



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

FERNANDO ANTÔNIO DE MEDEIROS

Estudo Fitoquímico e Biológico de Espécies
Amazônicas: *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke
(Sapotaceae) e *Licania macrophylla* Bent.
(Chrysobalanaceae)

JOÃO PESSOA - PB
2008

FERNANDO ANTÔNIO DE MEDEIROS

Estudo Fitoquímico e Biológico de Espécies Amazônicas:
Pradosia huberi (Ducke) Ducke (Sapotaceae) e *Licania*
macrophylla Bent. (Chrysobalanaceae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Área de Concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

João Pessoa-PB

2008

M488e Medeiros, Fernando Antônio de.

Estudo fitoquímico e biológico de espécies amazônicas:
Pradosia huberi (Ducke) Ducke (Sapotaceae) e *Licania macrophylla* Bent. (Chrysobalanaceae) / Fernando Antônio de Medeiros.- João Pessoa, 2008.

269f. : il.

Orientador: Marcelo Sobral da Silva

Tese (Doutorado) – UFPB/CCS

1. Produtos naturais. 2. *Licania macrophylla*. 3. *Pradosia huberi*. 4. Estudo fitoquímico. 5. Atividades antiarreira e antimicrobiana.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

FERNANDO ANTÔNIO DE MEDEIROS

Estudo Fitoquímico e Biológico de Espécies Amazônicas: *Pradosia huberi*
(Ducke) Ducke (Sapotaceae) e *Licania macrophylla* Bent.
(Chrysobalanaceae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do
Centro de Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências
para a obtenção do título de Doutor em Produtos
Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de Concentração: Farmacoquímica.

APROVADO EM:

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
Universidade Federal da Paraíba- Orientador

Prof. Dra. Vanuzia Cavalcanti França
Universidade Estadual da Paraíba - Examinadora

Prof. Dra. Barbara Viviane de Oliveira Santos
Universidade Federal da Paraíba- Examinadora

Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Universidade Federal do Vale do São Francisco - Examinador

Prof. Dra. Ivana Maria Fechine Sette
Universidade Estadual da Paraíba - Examinadora

Dedicatórias

A meus pais, José Alves de Medeiros e Maria do Socorro Medeiros, pelo incentivo e valorização do conhecimento;

A minha esposa, Alessandra Medeiros, pelo companheirismo, incentivo, colaboração e compreensão;

A meus filhos, Fernanda Medeiros e Alecsander Medeiros.

A meus irmãos, Ângela, Ana, Cleide, Lúcia, Fátima e Marcos, pelo apoio e incentivo.

Agradecimentos

A DEUS pela vida concedida e por ser fonte de inspiração e luz.

Ao Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva, pela orientação, apoio e amizade, que nos anos de convivência, muito me ensinou, para meu crescimento científico e intelectual.

Ao colega de turma e prof. Dr. Josean Fachine Tavares, pelo apoio, incentivo e colaboração em todo o trabalho.

Ao amigo e técnico M.Sc. Vicente Carlos de Oliveira pela amizade, colaboração e obtenção dos espectros.

A Prof. Dra. Edeltrudes pelo apoio e colaboração nos ensaios microbiológicos;

Ao meu sogro Elimar Melo do Nascimento e minha sogra Maria de Fátima Azevedo, por todo apoio durante a realização deste trabalho.

A minhas primas D. Maria Ramos de Medeiros e D. Vanda Medeiros pela apoio e incentivo durante toda minha vida de estudo na universidade;

Às Profas. Dra. Maria de Fátima Vanderlei e Maria Célia de Oliveira Chaves, pela amizade, incentivo e colaboração.

Ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho, pela colaboração, incentivo e confiança a mim dispensado.

Ao Ex-Diretor do IEPA-AP Antônio Carlos Farias e aos Diretores atuais Benedito Rabelo, Terzinha, Ediluci Tostes e Cléia Lamarão, pela compreensão e apoio para realização deste trabalho.

Aos Diretores do Hospital da Mulher Mãe Luzia – AP, Acimor Coutinho, Maria do Socorro e César Costa, pela colaboração e compreensão para realização deste trabalho.

À Pesquisadora do IEPA M.Sc. Rosângela Sarquis e Sr. Jonas Cardoso (mateiro) pela coleta e identificação das espécies vegetais estudadas.

Ao Prof. Dr. Isac Almeida de Medeiros, pelo estímulo e confiança.

Aos funcionários do núcleo de pesquisa em produtos naturais e sintéticos bioativos: Nonato, Vicente, Crispim, Gilmário, Jailton, Seu Luís e Seu Biu pelo apoio técnico incondicional e indispensável à realização deste trabalho.

A todos os funcionários do LTF que em conjunto, nos proporciona um ambiente familiar de amizade e respeito.

“A ciência está destinada a desempenhar um papel cada vez mais preponderante na produção industrial. E as nações que deixarem de entender esta lição hão inevitavelmente de ser relegada à posição de nações escravas: cortadoras de lenha e carregadoras de água para os povos mais esclarecidos” (Lord Rutherford)

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

δ	Deslocamento Químico
APT	Attached Próton Test
ax	axial
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
COSY	CORrelation SpectroscopY
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
d	dubleto
dd	duplo dubleto
EMC	Extrato Metanólico das Cascas do Caule
EMF	Extrato Metanólico das Folhas
eq	equatorial
FACOEt	Fase em Acetato de Etila
Fr	Fração
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
Hz	Hertz
IEPA	Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá
J	Constante de Acoplamento
LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
m	multiplete
MHz	Megahertz
Ref	Referência
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s	singlete
t	triplete
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 Principais metabólitos secundários isolados de espécies de <i>Licania</i>	40
QUADRO 2 Principais atividades biológicas apresentadas por espécies de <i>Licania</i>	41
QUADRO 3 Metabólitos secundários isolados de espécies de Sapotaceae	44
QUADRO 4 Atividades biológicas apresentadas por espécies de Sapotaceae.....	45
QUADRO 5 Dados do fracionamento cromatográfico do EMC de <i>Licania macrophylla</i> .	55
QUADRO 6 Sistemas de solventes X fluxo de coluna usados em CLAE para eluição das frações 9 a 17 (Fr-9 a Fr-17).....	56
QUADRO 7 Relação das cepas bacterianas usadas, sua origem e histórico	65

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 Procedimentos experimentais empregados no fracionamento do EMC de <i>Licania macrophylla</i> Benth	56
ESQUEMA 2 Procedimentos experimentais empregados no fracionamento do EMF de <i>Licania macrophylla</i> Benth	58
ESQUEMA 3 Procedimentos empregados para o isolamento das substâncias codificadas de Ph – 1 a Ph -4.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de Lm-1	80
TABELA 2	Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de Lm-2.....	99
TABELA 3	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de Lm-3.....	116
TABELA 4	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de Lm-4.....	138
TABELA 5	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Lm-5 e 13 ² -hidroxi-(13 ² -S)-feofitina A.	164
TABELA 6	Dados de RMN ^{13}C de Lm-1a e Lm-1b e comparação com valores da literatura.....	173
TABELA 7	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Lm-7 e comparações com valores da literatura.....	178
TABELA 8	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Lm-8 e comparação com valores da literatura.....	184
TABELA 9	Dados de RMN de ^{13}C de Lm-9 e comparação com valores da literatura	191
TABELA 10	Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Ph-1 e comparação com valores da literatura.....	198
TABELA 11	Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Ph-2 e comparação com valores da literatura.....	204
TABELA 12	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Ph-3 e comparação com valores da literatura.....	211
TABELA 13	Dados de RMN de ^{13}C de Ph-4a e comparação com valores da literatura.....	218
TABELA 14	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Ph-5 e comparações com valores da literatura.....	225
TABELA 15	Parâmetros avaliados do cromatograma 1	245
TABELA 16	Parâmetros avaliados no cromatograma 2	246
TABELA 17	Parâmetros avaliados no cromatograma 3	246
TABELA 18	Parâmetros avaliados no cromatograma 4	247
TABELA 19	CIM do EMC de <i>Licania macrophylla</i> e Lm1-1, Lm-4 e Lm-9	254

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Foto da espécie <i>Licania macrophylla</i> Benth na reserva florestal do IEPA no município de Porto Grande – AP	42
FIGURA 2	Foto mostrando em detalhe as folhas da espécie <i>Licania macrophylla</i> Benth.	43
FIGURA 3	Foto da espécie <i>Pradosia huberi</i> (Ducke) Ducke na reserva florestal do IEPA no município de Porto Grande – AP	46
FIGURA 4	Estruturas químicas dos flavonóides isoladas das cascas do caule de <i>Licania macrophylla</i>	69
FIGURA 5	Estrutura químicas das feofitinas isoladas das folhas de <i>Licania macrophylla</i>	70
FIGURA 6	Estruturas químicas dos esteróides isolados das folhas de <i>Licania macrophylla</i>	71
FIGURA 7	Estruturas químicas dos triterpênicos isolados das folhas de <i>Licania macrophylla</i>	72
FIGURA 8	Estrutura química dos ésteres graxos de triterpenos isolado das folhas de <i>Pradosia huberi</i>	73
FIGURA 9	Estrutura química do esteróide isolado das folhas de <i>Pradosia huberi</i>	74
FIGURA 10	Estrutura química do flavonóide isolado das cascas do caule de <i>Pradosia huberi</i>	74
FIGURA 11	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-1 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	81
FIGURA 12	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-1 na região entre δ_{C} 135-180 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	81
FIGURA 13	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-1 na região entre δ_{C} 95-110 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	82
FIGURA 14	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-1 na região entre δ_{C} 60-93 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	82
FIGURA 15	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-1 na região entre δ_{C} 15-32 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	83
FIGURA 16	..Espectro de RMN ^1H de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	83

FIGURA 17	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-1 na região entre δ_{H} 6,70 – 6,90 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	84
FIGURA 18	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-1 na região entre δ_{H} 5,35 – 6,00 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	84
FIGURA 19	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-1 na região entre δ_{H} 4,00 – 5,00 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	85
FIGURA 20	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-1 na região entre δ_{H} 3,00 – 4,000 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	85
FIGURA 21	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-1 na região entre δ_{H} 1,00 – 3,00 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	86
FIGURA 22	Espectro de RMN ^1H de Lm-1 (500 MHz, DMSO, δ em ppm)	86
FIGURA 23	Espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD)....	87
FIGURA 24	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-1 na região entre δ 5,0-7,0 x 94-113 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).	87
FIGURA 25	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-1 na região entre δ 3,0-5,0 x 60-82 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	88
FIGURA 26	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-1 na região entre δ 1,0-3,0 x 15-35 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).	88
FIGURA 27	Espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD)	89
FIGURA 28	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 3,5-5,5 x 105-1145 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	89
FIGURA 29	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 5,7-6,2 x 155-160 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	90
FIGURA 30	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 5,7-6,2 x 155-160 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	90
FIGURA 31	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 2,5-6,8 x 94-113 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	91
FIGURA 32	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 4,5-7,3 x 80-120 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	91
FIGURA 33	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 2,5-5,2 x 10-115 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	92

FIGURA 34	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-1 na região entre δ 1,5-5,5 x 65-82 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).	92
FIGURA 35	Espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD , δ_{H} em ppm).	93
FIGURA 36	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	93
FIGURA 37	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	94
FIGURA 38	Espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-1 (500 MHz, CD_3OD)	94
FIGURA 39	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-1 na região entre δ_{H} 5,0-7,0 x 5,0-7,0 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	95
FIGURA 40	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-1 na região entre δ_{H} 1,0-5,3 x 1,0-5,3 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	95
FIGURA 41	Espectro de RMN ^1H de Lm-2 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	100
FIGURA 42	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-2 na região entre δ_{H} 5,8-5,6 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).	100
FIGURA 43	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-2 na região entre δ_{H} 2,5-5,0 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	101
FIGURA 44	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-2 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	101
FIGURA 45	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-2 na região entre δ_{C} 135-160 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	102
FIGURA 46	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-2 na região entre δ_{C} 78-110 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	102
FIGURA 47	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-2 na região entre δ_{C} 25-70 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	103
FIGURA 48	Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de Lm-2 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).	103
FIGURA 49	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-2 na região entre δ 5,5-6,8 x 94-110 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	104
FIGURA 50	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-2 na região entre δ 3,0-5,0 x 55-80 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	104

FIGURA 51	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Lm-2 na região entre δ 2,0-3,5 x 25-35 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	105
FIGURA 52	Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	105
FIGURA 53	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 3,5-7,0 x 130-156 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	106
FIGURA 54	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 4,5-5,5 x 150-163 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	106
FIGURA 55	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 5,6-6,3 x 152-162 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	107
FIGURA 56	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 2,5-3,0 x 150-160 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	107
FIGURA 57	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 3,5-7,5 x 80-155 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	108
FIGURA 58	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 5,6-6,0 x 94-102 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	108
FIGURA 59	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-2 na região entre δ 2,3-4,5 x 60-140 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	109
FIGURA 60	Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-2 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	109
FIGURA 61	Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Lm-2 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)	110
FIGURA 62	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-2 na região entre δ_{H} 2,5-5,0 x 2,5-5,0 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).....	110
FIGURA 63	Espectro de RMN ^1H de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	117
FIGURA 64	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-3 na região entre δ_{H} 8,3 – 9,9 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).	117
FIGURA 65	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-3 na região entre δ_{H} 5,5 - 8,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).	118
FIGURA 66	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-5 na região entre δ_{H} 3,0 – 5,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).	118
FIGURA 67	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-3 na região entre δ_{H} 0,7 – 2,2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).	119

FIGURA 68	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-3 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	119
FIGURA 69	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-3 na região entre δ_{C} 150-195 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	120
FIGURA 70	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-3 na região entre δ_{C} 125-147 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	120
FIGURA 71	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-3 na região entre δ_{C} 60-125 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	121
FIGURA 72	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-3 na região entre δ_{C} 35-55 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	121
FIGURA 73	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-3 na região entre δ_{C} 10-35 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	122
FIGURA 74	Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	122
FIGURA 75	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de Lm-3 na região entre δ 4,5-10,0 x 80-135 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	123
FIGURA 76	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de Lm-3 na região entre δ 3,0-7,0 x 40-75 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	123
FIGURA 77	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de Lm-3 na região entre δ 2,5 – 4,5 x 5,0 – 5,0 25,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	124
FIGURA 78	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de Lm-3 na região entre δ 0,5 – 2,2 x 10 - 42 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	124
FIGURA 79	Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	125
FIGURA 80	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 2,8-4,5 x 125-160 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	125
FIGURA 81	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 8,0 – 9,0 x 129 -135 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	126
FIGURA 82	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 5,5 – 6,7 x 134 -139 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	126
FIGURA 83	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 8,5 - 10,5 x 133 - 140 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	127

FIGURA 84	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 9,0 – 10,5 x 125 - 150 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	127
FIGURA 85	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 5,5 – 7,0 x 160 - 175 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	128
FIGURA 86	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 1,0 – 2,5 x 165 - 178 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	128
FIGURA 87	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 4,0 – 4,7 x 20 - 33 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	129
FIGURA 88	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 0,5 – 2,2 x 167 - 175 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	129
FIGURA 89	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 9,0 – 9,8 x 142 - 147 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	130
FIGURA 90	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de Lm-3 na região entre δ 1,3 – 2,0 x 135 - 150 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	130
FIGURA 91	Espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	131
FIGURA 92	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	131
FIGURA 93	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	132
FIGURA 94	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Lm-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	132
FIGURA 95	Espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-6 (200 MHz, CDCl_3)	133
FIGURA 96	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-3 na região entre δ_{H} 3,5-9,5 x 3,0-10,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	133
FIGURA 97	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-3 na região entre δ_{H} 1,0-6,3 x 1,0-6,3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	134
FIGURA 98	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de Lm-3 na região entre δ_{H} 0,5-3,5 x 0,5-3,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	134
FIGURA 99	Espectro de RMN ^1H de Lm-4 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	139

FIGURA 100	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-4 na região entre δ_{H} 7,5-11,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	139
FIGURA 101	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-4 na região entre δ_{H} 4,0 – 6,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	140
FIGURA 102	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-4 na região entre δ_{H} 3,0 – 4,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	140
FIGURA 103	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-4 na região entre δ_{H} 1,4 -3,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	141
FIGURA 104	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-4 na região entre δ_{H} 0,5 – 1,7 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	141
FIGURA 105	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)...	142
FIGURA 106	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 195-165 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	142
FIGURA 107	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 152-135 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	143
FIGURA 108	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 115-135 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	143
FIGURA 109	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 110 – 60 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	144
FIGURA 110	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 65 - 50 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	144
FIGURA 111	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 25 - 40 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	145
FIGURA 112	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-4 na região entre δ_{C} 10 - 30 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	145
FIGURA 113	Espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-4 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	146
FIGURA 114	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-4 na região entre δ 8,0 – 10,5 x 90 - 110 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	146
FIGURA 115	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-4 na região entre δ 4,5 – 6,5 x 110 - 125 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	147
FIGURA 116	Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Lm-4 na região entre δ 3,0 – 6,5 x 45 - 80 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	147

FIGURA 117	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Lm-4 na região entre δ 3,0 – 4,5 x 10 - 20 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	148
FIGURA 118	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Lm-4 na região entre δ 0,5 – 2,1 x 20 - 40 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	148
FIGURA 119	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Lm-4 na região entre δ 0,5 – 2,0 x 13 - 25 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	149
FIGURA 120	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 9,3 – 11,5 x 130-190 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	149
FIGURA 121	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 9,5 – 10,5 x 130-140 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	150
FIGURA 122	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 9,5 – 10,5 x 130-140 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	150
FIGURA 123	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 3,0 – 4,5 x 125-150 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	151
FIGURA 124	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 6,0 – 8,0 x 130 - 145 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	151
FIGURA 125	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 1,5 – 4,5 x 150 - 165 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	152
FIGURA 126	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 1,5 – 4,5 x 8,0 - 30 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	152
FIGURA 127	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 6,0 – 7,0 x 100 - 190 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	153
FIGURA 128	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 3,5 - 5,0 x 10 - 170 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	153
FIGURA 129	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 4,3 - 5,3 x 15 - 25 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	154
FIGURA 130	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 4,1 – 4,8 x 115 - 175 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	154
FIGURA 131	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 1,4 – 2,0 x 150 - 180 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	155
FIGURA 132	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre δ 1,4 – 2,0 x 35 - 55 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).	155

FIGURA 133	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 8,3 - 9,0 \times 50 - 150$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	156
FIGURA 134	Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-4 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	156
FIGURA 135	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 6,0 - 6,2 \times 6,0 - 6,2$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	157
FIGURA 136	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 4,0 - 5,5 \times 4,3 - 5,5$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	157
FIGURA 137	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 1,5 - 5,5 \times 1,5 - 5,5$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	158
FIGURA 138	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 2,0 - 3,0 \times 2,0 - 3,0$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	158
FIGURA 139	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 0,5 - 2,0 \times 0,5 - 2,0$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	159
FIGURA 140	Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Lm-4 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	159
FIGURA 141	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 8,0 - 12,0 \times 8,0 - 12,0$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	160
FIGURA 142	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 3,0 - 11,0 \times 3,0 - 11,0$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	160
FIGURA 143	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 1,5 - 5,0 \times 1,5 - 5,0$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	161
FIGURA 144	Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Lm-4 na região entre $\delta_{\text{H}} 0,0 - 3,5 \times 0,0 - 3,5$ (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	161
FIGURA 145	Espectro de RMN ^1H de Lm-5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	165
FIGURA 146	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-5 na região entre $\delta_{\text{H}} 7,5 - 10,0$ (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	165
FIGURA 147	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-5 na região entre $\delta_{\text{H}} 4,7 - 7,7$ (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	166
FIGURA 148	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-5 na região entre $\delta_{\text{H}} 2,5 - 4,8$ (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	166
FIGURA 149	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-5 na região entre $\delta_{\text{H}} 1,0 - 2,7$ (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	167

FIGURA 150	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-5 na região entre δ_{H} 2,5 – 4,8 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	167
FIGURA 151	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	168
FIGURA 152	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 170 - 195 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	168
FIGURA 153	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 140 - 165 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	169
FIGURA 154	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 115 - 140 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	169
FIGURA 155	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 60 - 110 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	170
FIGURA 156	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 30 - 40 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	170
FIGURA 157	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 24 - 30 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	171
FIGURA 158	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-5 na região entre δ_{C} 10 - 25 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	171
FIGURA 159	Espectro de RMN ^1H de Lm-6a e Lm-6b (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	174
FIGURA 160	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Lm-6a e Lm-6b na região entre δ_{H} 0,5 - 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	174
FIGURA 161	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-6a e Lm-61b (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).	175
FIGURA 162	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-6a e Lm-6b na região entre δ_{C} 110 - 155 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	175
FIGURA 163	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-6a e Lm-6b na região entre δ_{C} 35 – 75 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	176
FIGURA 164	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-6a e Lm-6b na região entre δ_{C} 35 – 75 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	176
FIGURA 165	Espectro de RMN ^1H de Lm-7 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm).....	179
FIGURA 166	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Lm-7 na região entre δ_{H} 0,5 - 2,5 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)	179

FIGURA 167	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-7 na região entre δ_{H} 0,5 - 2,5 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)	180
FIGURA 168	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Lm-7 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm).....	180
FIGURA 169	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-7 na região entre δ_{C} 90 - 170 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)	181
FIGURA 170	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-7 na região entre δ_{C} 54 - 80 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)	181
FIGURA 171	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-7 na região entre δ_{C} 28 - 55 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)	182
FIGURA 172	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-7 na região entre δ_{C} 12 - 28 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)	182
FIGURA 173	Espectro de RMN de ^1H de Lm-8 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	185
FIGURA 174	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Lm-8 na região entre δ_{H} 3,0 – 5,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	185
FIGURA 175	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Lm-8 na região entre δ_{H} 0,5 – 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	186
FIGURA 176	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-8 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	186
FIGURA 177	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-8 na região entre δ_{C} 75 –160 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	187
FIGURA 178	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-8 na região entre δ_{C} 480 - 65 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	187
FIGURA 179	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-8 na região entre δ_{C} 25 - 40 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	188
FIGURA 180	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-8 na região entre δ_{C} 14 - 27 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	188
FIGURA 181	Espectro de RMN de ^1H de Lm-9 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	192
FIGURA 182	Expansão do espectro de RMN ^1H de Lm-9 na região entre δ_{H} 2,5 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	192
FIGURA 183	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Lm-9 na região entre δ_{H} 0,5 – 2,2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	193
FIGURA 184	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-9 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	193

FIGURA 185	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-9 na região entre δ_{C} 120 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	194
FIGURA 186	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-9 na região entre δ_{C} 45 - 82 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	194
FIGURA 187	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-9 na região entre δ_{C} 28 - 42 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	195
FIGURA 188	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Lm-9 na região entre δ_{C} 13 - 30 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	195
FIGURA 189	Espectro de RMN ^1H de Ph-1 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	199
FIGURA 190	Expansão do espectro de RMN ^1H de Ph-1 na região entre δ_{H} 3,0 – 5,7 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	199
FIGURA 191	Expansão do espectro de RMN ^1H de Ph-1 na região entre δ_{H} 0,5 – 3,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	200
FIGURA 192	Espectro de RMN ^{13}C -APT de Ph-1 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	200
FIGURA 193	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Ph-1 na região entre δ_{C} 90 - 180 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	201
FIGURA 194	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Ph-1 na região entre δ_{C} 40 - 72 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	201
FIGURA 195	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Ph-1 na região entre δ_{C} 30 - 40 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	202
FIGURA 196	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Ph-1 na região entre δ_{C} 10 - 30 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	202
FIGURA 197	Espectro de RMN de ^1H de Ph-2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	205
FIGURA 198	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ph-2 na região entre δ_{H} 2,2 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	205
FIGURA 199	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ph-2 na região entre δ_{H} 0,5 – 2,2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	206
FIGURA 200	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-2 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)..	206
FIGURA 201	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-2 na região entre δ_{C} 120– 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	207
FIGURA 202	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-2 na região entre δ_{C} 38 - 82 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	207

FIGURA 203	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-2 na região entre δ_{C} 14 - 36 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	208
FIGURA 204	Espectro de RMN de ^1H de Ph-3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	212
FIGURA 205	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ph-3 na região entre δ_{H} 1,8 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	212
FIGURA 206	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ph-3 na região entre δ_{H} 0,7 – 2,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	213
FIGURA 207	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-3 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)..	213
FIGURA 208	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-3 na região entre δ_{C} 80 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	214
FIGURA 209	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-3 na região entre δ_{C} 35 - 60 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	214
FIGURA 210	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-3 na região entre δ_{C} 24 - 36 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	215
FIGURA 211	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-3 na região entre δ_{C} 13 - 25 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	215
FIGURA 212	Espectro de RMN de ^1H de Ph-4 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	219
FIGURA 213	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ph-4 na região entre δ_{H} 2,5 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).....	219
FIGURA 214	Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ph-4 na região entre δ_{H} 0,5 – 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	220
FIGURA 215	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-4 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)..	220
FIGURA 216	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-4 na região entre δ_{C} 110 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	221
FIGURA 217	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-4 na região entre δ_{C} 45 – 85 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	221
FIGURA 218	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-4 na região entre δ_{C} 25 - 50 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	222
FIGURA 219	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-4 na região entre δ_{C} 10 - 27 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	222
FIGURA 220	Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-5 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)..	226

FIGURA 221	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-5 na região entre δ_{C} 85 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	226
FIGURA 222	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ph-5 na região entre δ_{C} 67 - 78 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	227
FIGURA 223	Espectro de RMN ^1H de Ph-5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	227
FIGURA 224	Expansão do espectro de RMN ^1H de Ph-5 na região entre δ_{H} 4,5 – 6,7 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	228
FIGURA 225	Expansão do espectro de RMN ^1H de Ph-5 na região entre δ_{H} 3,0 – 4,3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	228
FIGURA 226	Expansão do espectro de RMN ^1H de Ph-5 na região entre δ_{H} 0,8 – 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	229
FIGURA 227	Espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Ph-5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	229
FIGURA 228	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Ph-5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	230
FIGURA 229	Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de Ph-5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)	230
FIGURA 230	Efeito de EMC, veículo e loperamida sobre a defecação normal.....	249
FIGURA 231	Efeito de EMC, veículo e loperamida sobre a diarreia induzida com óleo de rícino. Em (A) fezes totais e (B) fezes diarreicas	250
FIGURA 232	Efeito EMC, veículo e loperamida sobre o transito intestinal estimulado.....	251

RESUMO

O uso das plantas como recurso terapêutico tem ganhado destaque e tornado modismo no mundo. No Brasil não é diferente, e nos últimos anos alguns estados da federação vem implantando a fitoterapia como alternativa terapêutica para o sistema único de saúde. Porém algumas dificuldades são encontradas, entre elas a falta de informações científicas que subsidie o conhecimento tradicional de determinadas espécies. A espécie *Licania macrophylla* Benth pertence a família Chrysobalanaceae e é conhecida popularmente por “anauera” ou “anuera”. As cascas do caule dessa espécie é usada no estado do Amapá como antidiarréica e amebicida. A espécie *Pradosiahuberi* Ducke, pertence à família Sapotaceae, e é designada popularmente de “casca doce” ou “pau doce”, suas cascas do caule são usadas pelos povos amazônicos como auxiliar no tratamento de problemas gástricos e má digestão. No entanto o uso das cascas do caule dessas espécies na preparação de fitoterápico ou mesmo em preparações caseiras é uma prática predatória, pois a recuperação do dano causado pela retirada das cascas leva anos para sua reconstituição, quando não elimina o espécime. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo fitoquímico e biológico das espécies *Licania macrophylla* Benth e *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke e comparar a composição química entre folhas e cascas do caule das duas espécies, de forma a sugerir se é possível substituir o uso das cascas do caule pelas folhas, e assim contribuir com a conservação das espécies em discussão. As espécies estudadas foram coletadas no município de Porto Grande – Amapá – Brasil e exsicatas estão depositadas no Herbário Amapaense HAMAB do IEPA. O estudo fitoquímico das cascas do caule da espécie *L. macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae) levou ao isolamento de (-)-4'-O-metil-epigalocatequina-3'-O- α -L-raminosídeo (Lm-1), (-)-4'-metil-epigalocatequina (Lm-2), enquanto das folhas foram isoladas feofitina A (Lm-3), 13²-hidroxi-(13²-S)-feofitinaA (Lm-4), feofitina B (Lm-5), β -sitosterol (Lm-6a), estigmasterol (Lm-6b), β -O-glicosídeo-sitosterol (Lm-7), álcool betulínico (Lm-8) e ácido oleanólico (Lm-9), sendo o primeiro não relatado na literatura. Da espécie *Pradosiahuberi* foi isolado 2,3-dihidromiricetina-3- α -L-O-raminosídeo (Ph-1) e das folhas éster graxo do eritrodiol (Ph-2), éster graxo do ácido oleanólico (Ph-3), éster graxo do ácido betulínico (Ph-4) e espinasterol (Ph-5), todas identificadas através de técnicas de RMN de ¹H e ¹³C uni e bidimensionais e comparações com a literatura. A avaliação da atividade antidiarréica do extrato metanólico das cascas do caule (EMC) de *L. macrophylla* mostrou que esse não interfere nos parâmetros intestinais: modulação da defecação normal; diarreia induzida por agente catártico e trânsito intestinal estimulado. Porém EMC apresentou-se ativo frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 25928, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Escherichia coli* ATCC 10536, resultado semelhante ao obtido com Lm-1. O extrato metanólico das folhas (EMF) de *L. macrophylla* mostrou-se ativo frente as doze cepas bacterianas testadas, resultado semelhante ao observado com Lm-4 e Lm-9. No que se refere aos constituintes químicos isolados das cascas do caule e folhas nas duas espécies pode-se afirmar que não são semelhantes. Já em relação a atividade antimicrobiana do EMC e EMF esses apresentaram-se semelhantes, sugerindo que se a atividade antidiarréica fica comprovada que se deve apenas a ação antimicrobiana pode-se haver substituição do uso das cascas do caule pela folhas.

Palavras chaves: *Licania macrophylla*, *Pradosia huberi*, estudo fitoquímico, atividades antiarreica e antimicrobiana.

ABSTRACT

The use of plants as a treatment method has gained prominence and became fashionable in the world. In Brazil is not different. In recent years some Brazilian states have been implementing phytotherapy as an alternative therapy for the public health. However there are some drawbacks as the lack of scientific information that supporting traditional knowledge of some species. The *Licania macrophylla* Benth species belongs to the Chrysobalanaceae family and is known popularly as "anauera" or "anuera." The stem bark of this species is used in the state of Amapá like amebicide as antidiarrheal. The *Pradosia huberi* Ducke species belongs to the Sapotaceae family, and is popularly called "fresh bark" or "stick candy" and its stem bark is used by Amazonian peoples to assist in the treatment of stomach problems and indigestion. However the use of the stem bark of these species in the preparation of herbal formulation or even home preparation is a predatory practice, because recovery of the damage caused by removal of the bark takes years to rebuild, if not eliminates the specimen. The aim of this work was the phytochemical and biological study of the *Licania macrophylla* Benth and *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke species and compare the chemical composition of leaves and stem bark of both species, so as to suggest that you can replace the use of stem bark by the leaves, and thus contribute to the conservation of the species under discussion. The species studied were collected at Porto Grande - Amapá - Brazil and specimens are deposited in the Herbarium Amapaense HAMAB IEPA. The phytochemical study of the stem bark of the *L. macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae) species led to the isolation of (-)-4'-O-methyl-epigallocatechin-3'-O- α -L-ramanosídeo (Lm-1), (-)-4'-methyl-epigallocatechin (Lm-2), while the leaves were isolated pheophytin A (Lm-3), 132-hydroxy-(132-S) pheophytin A (Lm-4), pheophytin B (Lm-5), β -sitosterol (Lm-6a), stigmasterol (Lm-6b), β -sitosterol-O-glycoside (Lm-7), alcohol betulínco (Lm-8) and oleanolic acid (Lm-9), the first not reported in the literature. From species was isolated *Pradosia huberi* 2,3-dihidromiricetina-3- α -LO-ramanosídeo (Ph-1) and leaves the fatty ester erythrodiol (Ph-2), ester of fatty oleanolic acid (Ph-3) fatty ester betulínco acid (Ph-4) and espinasterol (Ph-5), all identified by techniques ^1H NMR and ^{13}C single and two-dimensional and comparisons with published literature. Evaluation of antidiarrhoeal activity of the methanol extract of the stem bark (EMC) of *L. macrophylla* showed that this does not interfere with intestinal parameters: modulation of normal defecation, cathartic agent-induced diarrhea and intestinal transit stimulated. But EMC had to be active against *Staphylococcus aureus* ATCC 25928, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 and *Escherichia coli* ATCC 10536, a result similar to that seen with Lm-1. The methanol extract of leaves (EMF) of *L. macrophylla* was active against the twelve bacterial strains tested, a result similar to that observed with Lm-4 and Lm-9. Regarding the chemical constituents isolated from the stem bark and leaves in two species can state that are not similar. Regarding the antimicrobial activity of EMC and EMF were similar, suggesting that the activity is antidiarrhoeal proven that one should only antimicrobial can be no substitution of the stem bark of the leaves.

Keywords: *Licania macrophylla*; *Pradosia huberi*; phytochemical study, antidiarrhoeal and antimicrobial activities.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	32
1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA CHRYSOBALANACEAE E SAPOTACEAE	37
1.1.1 Considerações Sobre a Família Chrysobalanaceae	37
1.1.1.1 Considerações Sobre o Gênero <i>Licania</i> Aubl	38
1.1.1.2 Considerações Sobre a Espécie <i>Licania macrophylla</i> Benth	42
1.1.2 Considerações Sobre a Família Sapotaceae	43
1.1.2.1 Família Sapotaceae	43
1.1.2.2 Gênero <i>Pradosia</i> Liais	45
1.1.2.3 Espécie <i>Pradosia huberi</i> (Ducke) Ducke	46
2 OBJETIVOS	48
2.1 OBJETIVO GERAL	49
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
3 EXPERIMENTAL	50
3.1 MATERIAIS E MÉTODOS	51
3.1.1 Métodos Cromatográficos	51
3.1.1.1 Cromatografia em Coluna	51
3.1.1.2 Cromatografia em Camada Delgada	51
3.1.1.3 Cromatografia líquida sob vácuo	52
3.1.1.4 Cromatografia líquida de alta eficiência	52
3.1.2 Métodos Espectroscópicos	52
3.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>Licania macrophylla</i> Benth (Chrysobalanaceae)	54
3.2.1 Coleta do Material Vegetal	54
3.2.2 Preparação do Material Vegetal	54
3.2.3 Preparação do Extrato Metanólico das Cascas do Caule e Folhas	54
3.2.4 Fracionamento Cromatográfico do EMC de <i>Licania macrophylla</i>	54
3.2.5 Desenvolvimento de Método Analítico por CLAE	55
3.2.6 Fracionamento Cromatográfico do EMF de <i>Licania macrophylla</i>	57
3.3 ESTUDOS FITOQUÍMICO DE <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Sapotaceae)	59
3.3.1 Coleta do Material Vegetal	54
3.3.2 Preparação do Material Vegetal	54

3.3.3 Preparação do Extrato Metanólico das Folhas de <i>Pradosia huberi</i>	59
3.3.4 Fracionamento Cromatográfico do EMF de <i>Pradosia huberi</i>	59
3.3.5 Estudo Fitoquímico das Cascas do Caule de <i>Pradosia huberi</i> Ducke Biomonitorado para Atividade Cardiovascular	60
3.3.5.1 Preparação do Extrato Etanólico das Cascas do Caule de <i>Pradosia huberi</i>	60
3.3.5.2 Fracionamento Cromatográfico do EEC de <i>Pradosia huberi</i>	61
3.3.5.3 Isolamento do Constituinte Majoritário.....	61
3.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS	62
3.4.1 Animais.....	62
3.4.2 Atividade Antidiarréica	62
3.4.2.1 Avaliação do EMC de <i>L. macrophylla</i> sobre a modulação da defecação normal ...	63
3.4.2.2 Avaliação dos Efeitos do EMC de <i>L. macrophylla</i> sobre a Diarréia Induzida por Óleo de Rícino	63
3.4.2.3 Efeito do EMC e EMF de <i>L. macrophylla</i> sobre o trânsito intestinal estimulado...	64
3.4.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana	64
3.4.3.1 Local da realização dos ensaios antimicrobianos	64
3.4.3.2 Microrganismos	65
3.4.3.3 Meios de cultura	65
3.4.3.4 Inoculo bacteriano	65
3.4.3.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	66
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	67
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.1 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE <i>Licania macrophylla</i> BENTH (CHRYSOBALANACEAE).....	69
4.2 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE <i>Pradosia huberi</i> (DUCKE) DUCKE (SAPOTACEAE)	73
4.3 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE <i>Licania macrophylla</i> Benth ...	75
4.3.1 Elucidação Estrutural e Identificação dos Flavonóides isolados das cascas do caule de <i>Licania macrophylla</i> Benth	75
4.3.1.1 Elucidação Estrutural de Lm-1	75
4.3.1.2 Identificação Estrutural de Lm-2.....	96
4.3.1.3 Identificação Estrutural de Lm-3.....	111

4.3.1.4 Identificação Estrutural de Lm-4.....	135
4.3.1.5 Identificação Estrutural de Lm-5.....	162
4.3.1.6 Identificação Estrutural de Lm-6.....	172
4.3.1.7 Identificação Estrutural de Lm-7.....	177
4.3.1.8 Identificação Estrutural de Lm-8.....	183
4.3.1.9 Identificação Estrutural de Lm-9.....	189
4.4 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS FOLHAS E CASCAS DO CAULE DE <i>Pradosia huberi</i> DUCKE (SAPOTACEAE).....	196
4.4.1 Identificação Estrutural dos Triterpenos Esterificados Isolados das Folhas de <i>Pradosia huberi</i> (Ducke) Ducke.....	196
4.4.1.1 Identificação Estrutural de Ph-1	196
4.4.1.2 Identificação Estrutural de Ph-2	203
4.4.1.3 Identificação Estrutural de Ph-3	209
4.4.1.4 Identificação Estrutural de Ph-4	216
4.4.1.5 Identificação Estrutural de Ph-5	223
4.5 CONSTANTES FÍSICAS	231
4.5.1 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-1	231
4.5.2 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-2	232
4.5.3 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-3.....	233
4.5.4 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-4.....	234
4.5.5 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-5.....	235
4.5.6 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-6.....	236
4.5.7 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-7.....	237
4.5.8 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-8.....	238
4.5.9 CONSTANTES FÍSICAS DE Lm-9.....	239
4.5.10 CONSTANTES FÍSICAS DE Ph-1	240
4.5.11 CONSTANTES FÍSICAS DE Ph-2	241
4.5.12 CONSTANTES FÍSICAS DE Ph-3	242
4.5.13 CONSTANTES FÍSICAS DE Ph-4	243
4.5.14 CONSTANTES FÍSICAS DE Ph-5	244
4.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES EM CLAE	245
4.6.1 Análise Cromatográfica da Fração Lm-1 em Diferentes Sistemas de Solventes e Fluxos da Coluna	245

4.7 RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS	249
4.7.1 Atividade Antidiarreica do Extrato Metanólico das Cascas do Caule (EMC) de <i>Licania macrophylla</i> Benth (Chrysobalanaceae)	249
4.7.1.1 Avaliação dos efeitos EMC de <i>L. macrophylla</i> na modulação da defecação normal.....	249
4.7.1.2 Avaliação dos efeitos do EMC de <i>L. macrophylla</i> sobre a diarreia induzida por óleo de rícino	250
4.7.1.3 Efeito do EMC de <i>L. macrophylla</i> sobre o trânsito intestinal estimulado.....	251
4.7.2 Avaliação do Efeito Antimicrobiano de Extratos e Substâncias Isoladas de <i>Licania macrophylla</i>	252
5 CONCLUSÃO.....	255
6 REFERÊNCIAS	257
7 ANEXOS	266

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o uso racional dos recursos naturais vem assumindo posição de destaque no cenário nacional e internacional. No mundo todo há um consenso no que diz respeito à preservação do meio ambiente e uso sustentável dos seus recursos, tendo como um dos marcos histórico nesse contexto a Conferência Internacional sobre Meio Ambiente ocorrida no Rio de Janeiro em 1992 (ECO-92), em que foram reunidos 179 chefes de Estados, tendo como foco da reunião o *desenvolvimento sustentável*. Essa reunião resultou em um documento chamado *Agenda 21*, onde estão priorizadas ações em que o progresso não tenha como carro chefe da exploração desmedida e irresponsável dos recursos naturais (SILVA et al., 2005). Nesse sentido, as pesquisas sobre o mercado de produtos naturais têm mostrado que a exploração deste setor com responsabilidade pode tornar-se um grande aliado da preservação do meio ambiente.

Diversos estudos sobre o mercado mundial de produtos derivados de plantas (fitoterápicos, fitocosméticos, repelentes, etc.) têm mostrado que esse setor vem passando por franca expansão no mundo, onde seu crescimento no mercado Norte Americano entre os anos 1990 a 1997 foi de 380%, e que a medicina natural é usada por cerca de 70% da população Alemã como primeira escolha para o tratamento de doenças menos graves (FUNARI et al., 2005).

Outros estudos demonstraram que o mercado de produtos farmacêuticos movimenta valores da ordem de 320 bilhões de dólares/ano. Considerando apenas o mercado de fitoterápicos e suplementos vitamínicos, o mundo movimentou no ano de 2001 mais de 40 bilhões de dólares. Porém, em uma análise detalhada dos mercados mundiais, observou-se que os mercados Norte Americano, Europeu e Japonês representam 65%, ou seja, os três juntos movimentam mais de 26 bilhões de dólares no ano, enquanto o Sul Americano comercializou apenas US\$ 1,4 bilhões (FUNARI et al., 2005). Diante do exposto, esperar-se-ia que países como Brasil, detentor de quase um terço da flora mundial (YUNES et al., 2001), que tem a maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta (PINTO et al., 2002), aproveitasse esse nicho tão importante do mercado farmacêutico. Porém, o que se observa é que a ausência de políticas públicas que priorize o aproveitamento sustentável da biodiversidade colabore para a exploração predatória do meio ambiente.

Apesar do Brasil possuir grande tradição tanto no uso popular de plantas medicinais, como nas pesquisas de bases na área de produtos naturais (fitoquímica,

farmacologia pré-clínica, análise química, etc.), nosso país não explora o mercado de fitoterápicos, ficando atrás de países menos desenvolvidos (YUNES et al., 2001), embora muitos estudos sobre farmacoeconomia com matérias-primas vegetais mostrem um importante impacto positivo na economia de países que adotaram essa política (DE SMET et al., 2000).

O Brasil possui hoje massa crítica na área de Produtos Naturais, claramente percebido pelo volume de trabalhos publicados em revistas nacionais e internacionais de grande impacto (PINTO et al., 2002), possui a maior base universitária das Américas, excluindo os Estados Unidos da América (EUA) (SIMÕES et al., 2002), contribui com aproximadamente 1,2% da produção científica mundial (FUNARI et al., 2005). Porém, uma forma de medir o grau de desenvolvimento tecnológico de uma nação é através do número de patentes concedidas internacionalmente, nessa área o Brasil possui um modesto número de patentes, entre os anos de 1976 e 2005 foram obtidas apenas 975 patentes internacionais, enquanto os EUA obtiveram 1.226.000, o Japão 556.000, Alemanha 183.000 e França 54.000 (OLIVEIRA et al., 2005). Esses dados indicam que ocorrem algumas dificuldades em nosso país que impedem a transformação do conhecimento científico gerado nas academias em produtos comercializados.

Alguns autores apontam a falta de articulação entre o setor produtivo (indústrias) e a academia (universidades e institutos de pesquisas) como sendo um dos principais fatores que colaboram para a disparidade entre volume de publicações e número de patentes (BRITO CRUZ, 2000). Outro fator considerado de grande relevância é a falta de articulação entre os grupos de pesquisas multidisciplinares que atuam na área (YUNES et al., 2001). A falta de uma política de fomento a pesquisa em volume e constância é apontada como um dos principais problemas que impedem o desenvolvimento da indústria nacional de base tecnológica (YUNES et al., 2001). Além destas dificuldades, as indústrias farmacêuticas brasileiras não têm tradição de investimento em pesquisa e desenvolvimento – P & D (SIMÕES et al., 2002).

No documento Parcerias Estratégicas – A Universidade, a Empresa e a Pesquisa que o país precisa, do Ministério da Ciência e Tecnologia, BRITO CRUZ (2000) mostra claramente a diferença entre os países com maior número de patentes e o Brasil, país com elevado número de publicações e baixo volume de patentes. Nesse documento foi considerado como uma das formas de medir a capacidade de transformação do conhecimento científico em riquezas, medindo o número de Cientistas e Engenheiros

(C&E) que desenvolve atividades de P&D e os locais em que desenvolvem suas atividades. No Brasil o percentual de C&E que se dedica exclusivamente a P&D é de apenas 0,11% da força de trabalho do país, valor considerado extremamente baixo quando comparando a outros países como EUA e Japão, onde esse percentual é de 0,8% em cada, ou com a Correia de Sul que é de 0,4%, um de nossos principais concorrentes em produtos de alta tecnologia. No que diz respeito ao local onde desenvolve suas atividades de P&D, no Brasil cerca de 80% dos C&E estão locados na academia e 11% nas empresas, enquanto nos EUA e Japão estes dados são invertidos, ou seja, aproximadamente 70% dos C&E desenvolvem suas atividades de P&D nas empresas e 20% nas instituições de ensino e pesquisa. Na Coreia do Sul 75.000 C&E encontra-se locados nas empresas contra apenas 9.000 do Brasil (BRITO CRUZ, 2000).

Duas diferenças entre os ambientes acadêmicos e empresariais, mostradas por BRITO CRUZ et al., (2000), justificam a importância da presença de C&E nas empresas:

- realizar pesquisas treinando estudantes leva muito mais tempo para conclusão de projetos do que fazer apenas pesquisas nas empresas, variável essencial do ponto de vista empresarial;
- o sigilo é essencial num projeto empresarial, enquanto a divulgação dos resultados de projetos é e precisa ser essencial nas academias.

Essa deficiência de mão-de-obra qualificada nas empresas causa profundos danos na competitividade da indústria brasileira. A tradição do país em destinar o papel de inovação tecnológica às universidades e instituições de pesquisa é considerada um grande equívoco, esse é um papel que deve ser desenvolvido pelas empresas.

Seja qual for a explicação para essas dificuldades encontradas na parceria entre empresas e universidades, o certo é que, essa relação precisa e já está sendo mudada. Nos últimos anos os órgãos de fomento a pesquisa no Brasil tem estimulado o trabalho conjunto entre empresa e universidade através de aberturas de editais específicos para projetos que obrigatoriamente tenha os dois atores. Esta iniciativa representa um avanço para as áreas consideradas como estratégicas, como é a área de fármacos, em especial a de fitoterápicos, considerada por muitos autores como vocação natural do Brasil. Visando ao estímulo da parceria na área de fitoterápicos o Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) vem lançando nos últimos anos editais de financiamento para pesquisa de validação de plantas em uso como fitoterápicos, valorizando assim a interação em instituições de pesquisas e empresas farmacêuticas nacionais (PINTO et al., 2002).

Desde a extinção da Central de Medicamento (CEME) em 1995, órgão ligado ao Ministério da Saúde, o Brasil não tinha uma política de plantas medicinais que deixasse claro as suas pretensões nesse campo. Em 2006, através do decreto presidencial no. 5813, o Ministério da Saúde criou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), reassumindo uma das suas principais vocações na área da Assistência Farmacêutica. Essa política tem por objetivo garantir a população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006). Nesse contexto o estado do Amapá é um dos poucos estados da federação a possuir em sua estrutura organizacional uma instituição de pesquisa, o Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá – IEPA, órgão ligado a Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado – SETEC-AP, cuja missão é dar suporte as políticas estaduais de ciência e tecnologia, com varias linhas de atuação, entre elas a área de plantas medicinais. Nesse campo o IEPA vem desenvolvendo pesquisas na área da botânica, etnofarmacologia, fitoquímica e farmacologia pré-clínica. Também possui uma área singela de produção artesanal de cosméticos a base de extratos de plantas, além de produtos intermediários (tinturas, alcolaturas e cápsulas de pó da parte da planta) que são comercializados localmente em uma farmácia própria da instituição. Além desses setores possui uma área de avaliação terapêutica, que inclui acompanhamento clínico e laboratorial e nutricional de grupo de pacientes que faz uso de produtos intermediários usados para determinadas patologias, como diabetes, pé diabético, entre outros, atualmente este setor encontra-se interditado pelo Conselho Regional de Medicina do Amapá (CRM/AP).

Dentre os diversos produtos intermediários que são produzidos pela farmácia do IEPA encontra-se a tintura de cascas do caule de *Licania macrophylla* Benth que é usado no estado do Amapá no combate a diarreia e como amebicida, indicação que vem do uso popular dessa parte da planta por ribeirinhos e comunidades tradicionais. Nenhum registro de estudo químico ou biológico foi encontrado em levantamento bibliográfico sobre essa espécie vegetal, motivo pelo qual escolheu-se essa espécie para realização de estudo químico e biológico. A segunda espécie que nos propomos a realizar o estudo fitoquímico foi a *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke, que tem sua casca do caule usada popularmente no combate a gastrite. Com base nessa indicação popular o IEPA elaborou um produto intermediário (tintura) a partir das cascas do caule que é comercializado locamente na sua própria farmácia. Levantamento bibliográfico realizados sobre essa espécie mostrou dois

artigos, um que trata do isolamento de quatro flavonóides (JACQUEMIN, 1985) e o outro que relata a atividade gastroprotetora do extrato etanólico das cascas do caule dessa espécie (KUSHIMA, 2005), esse ultimo publicado em colaboração com pesquisadores do IEPA. Diante do fato da existência de poucos estudos sobre as espécies *Licania macrophylla* e *Pradosia huberi* e do emprego das cascas do caule na medicina tradicional, além de serem usadas na elaboração de produtos intermediários, nos propormos a realizar o estudo fitoquímico das cascas do caule e folhas das duas espécies. O uso de parte da planta não renovável ou de difícil recuperação como cascas do caule é considerada uma prática predatória e pode levar a extinção de espécies de grande interesse econômico ou social. Estudos realizados por pesquisadores do IEPA (ainda não publicados) apontam as espécies *Pradosia huberi* e *Licania macrophylla* como de baixa e média ocorrência, respectivamente, sendo necessário um plano de manejo para que se tenha o uso sustentável, na ausência de um plano de manejo, é indicado que seja usada uma parte da planta que seja renovada. Foi com o propósito de conhecer a composição química de parte da planta que seja renovável que se propôs realizar o estudo fitoquímico das folhas, e através de comparação da composição química entre folhas e cascas do caule sugerir a troca da parte da planta usada. No entanto isso somente seria possível se a composição química entre as duas partes fossem semelhante, e ainda sim não substituiria a necessidade da realização dos estudos farmacológicos com as folhas, para se ter garantia da eficiência.

Dentro das diretrizes adotadas pelo PNPMF, o IEPA vem capacitando seus técnicos em várias áreas do conhecimento. Nesse contexto de capacitação de recursos humanos, desenvolvimento de pesquisas aplicadas, uso sustentável da biodiversidade e desenvolvimento da cadeia produtiva foi que propusemos desenvolver esse projeto, ora em conclusão apresentado na forma de tese, cujo objetivo foi realizar o estudo fitoquímico e farmacológico de *Licania macrophylla* Benth e *Pradosia Huberi* Ducke, ambas usadas na elaboração de produtos intermediários (tintura) pelo IEPA.

1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS FAMÍLIAS CHRYSOBALANACEAE E SAPOTACEAE

1.1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA CHRYSOBALANACEAE

1.1.1.1 Família Chrysobalanaceae

A família Chrysobalanaceae é constituída por 18 gêneros e 531 espécies, distribuídos nos dois trópicos, sendo sete deles neotropicais. Dentro da Reserva Ducke em Manaus – AM ocorrem cinco gêneros. São formadas por árvores, arbustos ou raramente sulfrúteis no cerrado (PRANCE, 2007).

No que se referem às suas características anatômicas e morfológicas PRANCE, (2007) descreve as seguintes:

Folhas - alternadas, simples, com margens inteiras, às vezes com formigas domacias na base (*Hirtella*). Seus pecíolos são muitas vezes com duas glândulas ou aglândular inserido na base da lâmina. As estípulas estão presentes (muitas vezes caduco precoce), quer axilar ou inserido na base do pecíolo;

Flores - suportados em cacho, panicular ou menos freqüentemente cimular ou fascicular, com brácteas e bracteolos espinhado ou com gargalos sésseis em algumas espécies de *Hirtella*. Seu cálice possui cinco lobos imbricados, muitas vezes glandulares (*Hirtella* e *Couepia longipendula*), com cinco pétalas, normalmente de cor branca ou roxa, imbricadas. Estames filiforme, decorrentes da base do óvulo. O ovário encontra-se inserido na base (*Chrysobalanus*, *Licania*) ou boca do receptáculo (Ducke outros gêneros), geralmente uniloculares com 2 óvulos ou bilocular com um óvulo em cada locus (*Parinari* e *Exellodendron*). Óvulos erecto, com micrópilas direcionadas à base;

Frutos – são secos carnudos ou drupa, geralmente com uma semente ou raramente duas;

Sementes – exalbuminosas, cotiledôneas planoconvexas, carnudas.

Quanto ao interesse de pesquisar espécies da família de Chrysobalanaceae deve-se ao seu largo emprego na medicina tradicional, principalmente na África para disenteria, dor de dente, doenças venéreas, epilepsia e malária (LEE et al., 1996) e na América do Sul para outras doenças, bem como muitas espécies desta família têm mostrado inúmeras atividades biológicas (BILIA et al., 1996a). Dentre as principais atividades biológicas comprovadas destacam-se as citotóxicas, principalmente aquelas apresentados pelos triterpenos pentacíclicos: ácido betulínico, ácido oleanólico e ácido pomólico, isolados das

folhas e frutos de *Licania tomentosa* Bench e das folhas de *Chrysobalanus icaco* L., sendo capazes de inibir o crescimento e induzir apoptose de uma linhagem de células eritroleucêmica K-562. Ainda mais importante, inibiu a proliferação de Lucena 1, uma linhagem de células derivadas de K-562 resistente a vincristina, que desenvolve características multidrogas resistente (FERNANDES et al., 2003). Outro efeito citotóxico importância foi observado no extrato metanólico das raízes de *Licania michauxii* Prance que mostrou um potente efeito citotóxico contra culturas de hepatoma humano (HepG2) e em carcinoma de cólon humano (Caco-2) (BADISA et al., 2000). Um estudo fitoquímico das raízes de *Licania michauxii* Prance biomonitorado para atividade citotóxica levou ao isolamento de dois diterpenos do tipo ent-cauranos, ácidos licamichauxioico A e B, caracterizando a atividade citotóxica dos dois diterpenos (CHAUDHURI et al., 2002). Outros dois diterpenos ent-caurano, 3-metoxi-15-oxozoapatlina e 13-hidroxi-15-oxozoapatlina isolados da casca da raiz *Parinari curatellifolia* Benth também mostrou efeito citotóxico em linhagens de células de câncer humano de mama (LEE et al., 1996). Além das atividades citotóxicas pode-se relatar outras atividades farmacológicas como antiviral para vírus da herpes simples resistentes a aciclovir (MIRANDA et al., 2002), atividade antioxidante de flavonóides de espécies de *Licania* (BRACA et al., 2002a), atividade moluscicida e piscicida de espécies de *Licania*, bem como de compostos isolados deste gênero, entre outras (BILIA et al., 2000).

Segundo CORADIN et al (1985) a composição química da família Chrysobalanaceae chama a atenção para os flavonóides, principalmente os glicosilados como sendo marcadores quimiotaxonômicos da família. Dentre os metabólitos secundários mais citados na literatura aparecem flavonóides (BRACA et al., 2002b; BRACA et al., 1999a), triterpenoides (BRACA et al., 2001b), triterpenos tipo lactonas (CASTILHO et al., 2005), diterpenóides (CHAUDHURI et al., 2002; LEE, 1996), esteróides e taninos (CASTILHO et al., 2001).

1.1.1.2 Gênero *Licania* Aubl.

O gênero *Licania* Aubl. pertence à família Chrysobalanaceae é constituído de 150 espécies amplamente distribuídas no Novo Mundo que ocorrem desde o México, Florida, Antilhas, até o sul do Brasil. Apresenta-se como árvores de pequeno a grande porte ou arbustos raramente sufrúteis (ANDRADE et al., 1998).

Segundo PRANCE et al., (2007) as principais características anatômicas e morfológicas para o gênero *Licania* são:

Flores – hermafroditas;

Folhas – glabras, quando acima da maturidade ou com cavidade estomática na superfície inferior. Pecíolos com dois ou mais glândulas sésseis, ou aglandular. É habitualmente bracteolar ou com brácteas aglandulares, geralmente pequenas, grandes e muito raramente juntando pequenos grupos de gemas florais;

Inflorescências - mais freqüentemente escassamente ramificada racemosa panicular, com uma freqüência menor de panículas em címulas ou em espiga. Receptáculo de 1- 8mm de comprimento, variando a partir de subgloboso ou campanulado para urceolado, o interior sempre púberes. Cálice com cinco lobos, agudo. Pétalas de 4-5 ou ausentes. Estames de 3-40, unilaterais ou inseridos em um círculo completo, filamentosos, geralmente livres na base e glabros; Ovário inserido no local ou perto do fundo do receptáculo, raramente inserido lateralmente, geralmente piloso. Carpelos uniloculares com 2 óvulos. Estames filiformes, variando de comprimento;

Frutos - de pequeno a grande, secos ou drupos carnosos, variando o exterior de tomentoso para pulverento ou glabro, com superfície lisa a densa ou verrugosa. Pericarpo às vezes em uma camada, mais freqüentemente divididas em um mesocarpo carnudo e um duro lenhoso ou endocarpo ossudo que não possui nenhum mecanismo especial para escapar das mudas;

Sementes - grandes, erectas, preenchendo o loculus. Hipógea germinação, primeira folhas alternadas.

Nos QUADROS 1 e 2 (págs. 40 e 41, respectivamente) são mostrados de forma resumida os principais metabólitos secundários isolado do gênero *Licania* e atividades biológicas apresentadas por substâncias isoladas ou extratos de partes da planta.

Continua

Espécie	Parte da Planta	Constituintes químicos isolados	Referência
<i>Licania apetala</i>	Folhas	Flavonóides glicosilados (miricetina-4'-O- α -L-raminosídeo, quercetina-3-O-rutenosídeo, kaempferol-3-O- β -galactosídeo, quercetina-3-O-arabnosídeo; taxifolin-3-O-raminosídeo e quercetina-3-O-raminosídeo)	BRACA, 2002b
<i>Licania arianae</i>	Folhas	Cromonas (5,7-dihidroxi-2-alquilcromona, 5,7-dihidroxi-6-cloro-2-alquilcromona e 5,7-dihidroxi-6,8-dicloro-2-alquilcromona	CARVALHO, 2005
<i>Licania carri</i>	Folhas	Triterpenos (ácidos betulínico; ursólico; 2- α -hidroxi-ursólico; maslínico e esteróide (β -sitosterol-3-O-glicosídeo); Flavonóides (miricetina-3-(2'')-xilósil) raminosídeo; quercetina-3-(2'')-xilósil) raminosídeo; quercetina-3-glicosídeo; quercetina-3-galactosídeo; rutina; miricetina-3-glicosídeo; miricetina-3-raminosídeo; miricetina-3'-metil-3-rutinosídeo; miricetina-3-rutinosídeo)	BILIA, 1996 (a)
<i>Licania densiflora</i>	Folhas	Flavonóides glicosilados (miricetina-3'-metileter-3-O-glicosídeo; miricetina-3-metileter-3-O-galactosídeo; miricetina-4-metileter-3-O-raminosídeo; miricetina-3,5-dimetileter-3-O-glicosídeo e miricetina-3,5-dimetileter-3-O-raminosídeo)	BRACA, 2001a
<i>Licania heteromorpha</i>	Folhas e partes aéreas	Triterpenos (ácidos betulínico; alfitólico; 3- β -O-trans-p-cumaroil alpitólico; 3- β -O-cis-p-cumaroil alfitólico; 3- β -O-trans-p-cumaroil maslínico e 3- β -O-cis-p-cumaroil maslínico)	BRACA, 2000
<i>Licania heteromorpha</i>	Partes aéreas	Flavonóides (miricetina-3,4'-O-di- α -L-raminosídeo, miricetina-7-metileter-3,4'-di-O- β -D-raminosídeo, miricetina-4'-metileter-3-O- β -L-galactosídeo)	BRACA, 1999b
<i>Licania heteromorpha</i>	-	Flavonóides (miricetina-3,4'-O-di- α -L-raminosídeo, miricetina-4'-metoxi-3-O- β -D-galactosídeo, miricetina-4'-metoxi-3-O- α -L-raminosídeo)	BRACA, 2002b
<i>Licania intrapetiolaris</i>	Raízes	Diterpenos (intrapetacina A e B) e o triterpeno (curcubitacina B)	OBERLIES, 2001
<i>Licania licaniaeflora</i>	-	Flavonóides (Kaempferol-3-O-rutinosídeo, kaempferol-3-O- α -L-(2'')- β -D-xilósil) raminosídeo, quercetina-3-O- α -L-arabinosídeo, miricetina-3-O- β -D-galactosídeo, taxifolina-3-O- α -L-raminosídeo e dihidromiricetina-3-O- α -L-raminosídeo)	BRACA, 2003
<i>Licania licaniaeflora</i>	Folhas	Triterpenos (ácidos oleanólico-3-O-arabinosídeo; oleanólico; maslínico; betulínico; tormêntico-glicosídeo Ester; pomólico e oleananodiol)	BRACA, 2001b
<i>Licania michauxii</i>	Raízes	Diterpeno (ácidos licamicauxiólico A e B)	CHAUDHURI, 2002

QUADRO 1 Principais metabólitos secundários isolados de espécies de *Licania*.

Conclusão

Espécie	Parte da Planta	Constituintes químicos isolados	Referência
<i>Licania pittieri</i>	Folhas	Flavonóides (catequina; epicatequina; quercetina, quercitrina; isoquercetina; hipericina e quercetina-3-arabinopiranosídeo); triterpenos (ác. oleananólico e ác. ursólico)	MENDEZ, 1995
<i>Licania pyrifolia</i>	Folhas	Flavonóides (Kaemferol; kaemferol-3-raminosídeo; kaemferol-3-(2"-xilossil)raminosídeo; kaemferol-3-arabinosídeo; quercetina; quercetina-3-raminosídeo; quercetina-3-(2"-xilossil)-raminosídeo; quercetina-3-arabinosídeo; miricetina; miricetina-3-raminosídeo; miricetina-3-(2"-xilossil)-raminosídeo; hipolaetina; 8-hidroxi-naringenina e 8-hidroxi-eriodictiol)	BILIA, 1996b
<i>Licania tomentosa</i>	Frutos	Triterpenos (licanolídeo, ác. betulínico)	CASTILHO, 2005
<i>Licania tomentosa</i>	Folhas e frutos	Triterpenos (licanolídeo, ácidos betulínico, oleanólico, ursólico, tormêntico; lupeol) e esteróides (β -sitosterol, estigmasterol)	CASTILHO, 2008
<i>Licania tomentosa</i>	Frutos	Mono e sesquiterpenos (1-hexanol, 4-heptanol, butanoato de 3-metilbutila, henanal e mirceno)	ANDRADE, 1998

QUADRO 1 Principais metabólitos secundários isolados de espécies de *Licania*.

Espécie	Parte da Planta	Atividade farmacológica	Referência
<i>Licania carri</i>	Folhas	Molucida (<i>Biompharia glabrata</i>)	BILIA, 2000
<i>Licania heteromorpha</i>	Compostos	Antimicrobiana (bactérias gram-positivas e gram-negativas)	BRACA, 2000
<i>Licania heteromorpha</i>	Folhas	Molucida (<i>Biompharia glabrata</i>)	BILIA, 2000
<i>Licania intrapetiolaris</i>	Compostos	Antifugica, citotóxica (células KB-6 de carcinoma humano)	OBERLIES, 2001
<i>Licania licaniaeflora</i>	Folha	Molucida (<i>Biompharia glabrata</i>)	BRACA, 2000
<i>Licania licaniaeflora</i>	Compostos	Antioxidante	BRACA, 2002a
<i>Licania michauxii</i>	Raízes	Citotóxicas – hepatoma humano (HepG2) e carcinoma humano de colon (Caco-2)	BADISA, 2000
<i>Licania pittieri</i>	Folhas	Molucida (<i>Biompharia glabrata</i>)	BILIA, 2000
<i>Licania pyrifolia</i>	Folhas	Molucida (<i>Biompharia glabrata</i>)	BILIA, 2000
<i>Licania tomentosa</i>	Compostos, folhas e frutos	Citotóxicas (antileucêmicas)	FERNANDES, 2003
<i>Licania tomentosa</i>	Frutos	Antiviral (herpes simples resistente a aciclovir – ACVr-HSV1)	MIRANDA, 2002
<i>Licania tomentosa</i>	Galhos	Molucida (<i>Biompharia glabrata</i>) e pícida	BILIA, 2000

QUADRO 2 Principais atividades biológicas apresentadas por espécies de *Licania*.

1.1.1.3 Espécie *Licania macrophylla* Benth

A espécie *Licania macrophylla* Benth, conhecida popularmente por “anauera” ou “anuera” é árvore mediana encontrada as margens da várzea das regiões do baixo Amazonas (RODRIGUES et al., 1989). Esta espécie tem pouco uso medicinal, porém é tida por algumas etnias indígenas, ao longo da bacia do Oyapoque, como um potente antidesintérico. Na Guiana Francesa, enquanto os Wayãpi utilizam a casca do caule como decocto, os Palikur e os Creoles preparam um macerado das sementes, sendo ambas as preparações consideradas como afrodisíaco pelos caboclos do sul do Pará e Amapá (GRENAND et al., 1987).

No entanto esta espécie é quase que desprovida de estudo científicos para atividades farmacológicas, assim como de estudos químicos, se reportando apenas a uma publicação de uma triagem fitoquímica das cascas do caule realizado por nossa equipe, que evidenciou a presença de compostos tipo; flavonóides, saponinas e taninos, bem como a ausência de alcalóides e esteróides (FERREIRA et al., 2005a), o que nos motivou a investigar, tanto do ponto de vista químico como farmacológico.



FIGURA 1 Foto da espécie *Licania macrophylla* Benth na reserva florestal do IEPA no município de Porto Grande - AP



FIGURA 2 Foto mostrando em detalhe as folhas da espécie *Licania macrophylla* Benth

1.1.2 Considerações sobre a família Sapotaceae

1.1.2.1 Família Sapotaceae

A família sapotaceae é constituída por 53 gêneros e 1100 espécies, com distribuição pantropical, em florestas pluviais situadas em altitudes inferiores a 1000 metros do nível do mar. Inclui arvores e arbustos sendo muitas frutíferas, com sementes oleaginosas ou possuidor de látex em suas cascas (STEVENS, 2005).

No Brasil, ocorrem 14 gêneros e cerca de 200 espécies, principalmente na Floresta Amazônica e em menor quantidade na Mata Atlântica, destacando-se a floresta do Espírito Santo e Sul da Bahia (PENNINGTON et al., 1990; 1991). Algumas espécies apresentam importância econômica, pois fornecem um látex usado na produção de goma comercial,

madeira de qualidade, matéria-prima para especiarias e frutos comestíveis (PENNINGTON et al., 1990).

No que diz respeito a estudos fitoquímicos e de atividades farmacológicas, muitos gêneros desta família não apresenta nenhum estudo, restringindo apenas a alguns deles, destacando-se o gênero *Pouteria* como o mais estudado. Os quadros que se seguem apresentam de forma resumida algumas espécies da família Sapotaceae, suas atividades biológicas, principais metabólitos secundários isolados, parte da planta usada no estudo e referências.

Espécie	Parte da planta	Constituintes químicos	Referência
<i>Microphilis guyanensis</i>	-	Alcalóide (criptolepina)	YANG, 1999
<i>Pradosia huberi</i>	Casca do caule	Flavonóides (Astilbina, angelentina, 2,3-dihidromiricetina, 2,3-dihidromiricetina-3- α -L-raminisídeo)	JACQUEMIN, 1985
<i>Pouteria caimito</i>	Fruto	Esteróides (eritrodiol, damarendiol); Triterpenos (α -amirina, lupeol)	PELLICCIARI, 1972
<i>Pouteria caimito</i>	Cascas	Triterpenos (acetato de taraxerol, taraxerol, taraxenona); Esteróide (β -sitosterol)	PELLICCIARI, 1972
<i>Pouteria caimito</i>	Cascas	Esteróide (espinasterol)	FRANÇA, 2006
<i>Pouteria cambodiana</i>	Galhos	Ácido 3,4-diidroxibenzóico	MANOSROI, 2005
<i>Pouteria campechiana</i> ; <i>P. sapota</i> e <i>P. viridis</i>	-	Flavonóides (miricitrina, galocatequina, catequina, epicatequina e dihidromiricetina); ácido gálico	MA, 2004; MAHATTANATAW EE, 2006
<i>Pouteria tomentosa</i>	-	Triterpeno (acetato de β -amirina)	CHE, 1980
<i>Pouteria torta</i>	Semente	Proteína (Pouterina)*	BOLETI, 2007
<i>Pouteria torta</i>	Ramos	Triterpenos (acetato α e β -amirina, Acido betulínico, acido ursólico)	CHE, 1980
<i>Pouteria torta</i>	Flores e frutos	Esteróides e triterpenóides	DAVID, 1993
<i>Pouteria torta</i>	Folhas	Esteróides (acetato lupeila), Triterpenos (α e β -friedelinol, α e β -amirina, ác. 12,13-dihidropomólico)	LOPEZ, 2005
<i>Pouteria torta</i>	-	Flavonóide (miricetina)	SILVA, 2006b
<i>Pouteria torta</i>	-	Triterpeno (acetato de lupeol)	PERFEITO, 2005
<i>Pouteria venosa</i>	Folhas	Esteróide (espinasterol)	MONTENEGRO, 2006
<i>Pouteria venosa</i>	-	Triterpeno (ácidos ursólico e miriântico, 19- α -23-diidroxiursólico e taraxerol)	MONTENEGRO, 2006
<i>Vitellaria paradoxa</i>	-	Flavonóides (galocatequina, catequina, epicatequina e epigalocatequina); ácido trans-cinâmico	MARANZ, 2003

* metabólito primário

QUADRO 3 Metabólitos secundários isolados de espécies de Sapotaceae.

Espécie	Parte da planta	Ativ. Farmacológica	Referência
<i>Argania spinosa</i>	-	antioxidantes, hipolipemiante e antiaterogênica	DRISSI, 2004
<i>Bumelia sartorum</i>	Entrecasca	Antiedematogênico e antinociceptiva	BISPO, 2000
<i>Bumelia sartorum</i>	Casca da raiz	Hipoglicemiante, antiinflamatório	ALMEIDA, 1985
<i>Mimusops elengi</i>	-	Hipotensor	DAR, 1999
<i>Pradosia huberi</i>	Casca do caule	Gastroprotetora e antisecretora	KUSHIMA, 2005
<i>Pouteria cambodiana</i>	Galhos	Imunomoduladora	MANOSROI, 2005
<i>Pouteria campechiana</i> ; <i>P. sapota</i> e <i>P. viridis</i>	-	Antioxidante	MA, 2004; MAHATTANATA WEE, 2006
<i>Pouteria ramiflora</i>	-	Antiinflamatória e antinociceptiva	NUNES, 2004; CHAGAS, 2003
<i>Pouteria ramiflora</i>	Folhas	Citotóxica para <i>Artemia salina</i>	RAMALHO, 2004
<i>Pouteria torta</i>	Semente	Inseticida e antifugica	BOLETI, 2007
<i>Pouteria torta</i>	-	Antimicrobiana	LOPEZ, 2005
<i>Pouteria torta</i>	-	Citotóxica para <i>Artemia salina</i>	PERFEITO, 2005
<i>Pouteria venosa</i>	Folhas, cascas do caule e caule	Antimalária, larvívica para <i>Aedes aegypti</i> , Antirradicalar e anticolinesterásico	MONTENEGRO, 2006

QUADRO 4 Atividades biológicas apresentadas por espécies de Sapotaceae.

1.1.2.2 Gênero *Pradosia* Liais

O gênero *Pradosia* é formado por árvores de grande porte medindo entre 30-40 metros em idade adulta, com ocorrência de 23 espécies na América do Sul e uma espécie estendendo pela América Central, principalmente confinado à floresta topical de vazia (VAN ROOSMALEN et al., 2000).

Os membros do gênero *Pradosia* são facilmente destacáveis anatomicamente de outras Sapotaceae Americanas pela presença de sílica na madeira e raios de micro cristais (cristal areia) no parênquima axial (KUKACHKA et al., 1981). Suas características anatômicas foram descritos por VAN ROOSMALEN et al., (2000) em um estudo de 153 espécies de Sapotaceae na Amazônia:

Folhas – são freqüentemente opostas ou verticilatas, algumas vezes arranjadas espiraladas, com freqüente nervação impressa na face superior, com estiletes pareados algumas vezes no pecíolo;

Inflorescência – usualmente cauliflora ou ramiflora, menos freqüente axilares; flores bissexuadas, corola freqüentemente vermelho escuro, cálice com única espira de cinco pétalas usualmente;

Frutos-dupros freqüentemente assimétrico, endocarpo finamente cartilaginoso, uma semente lisa, brilhante e com uma cicatriz diaxial alongando por todo comprimento da semente.

1.1.2.3 Espécie *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke

A espécie *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke é uma espécie da família Sapotaceae, nativa da floresta Amazônica, esta planta é conhecida popularmente como casca-doce, pau-doce, amapá-doce e pracauba. Possui em seu caule um látex esbranquiçado de sabor adocicado, considerado como seiva alimentícia (RODRIGUES et al., 1989). O uso das cascas do caule é amplamente difundido na medicina popular local como auxiliar no tratamento de problemas gástricos e digestivos. Esta espécie apresenta outra nomenclatura denominada de *Glycoxylon huberi* Ducke (CORRÊA, 1986).



FIGURA 3 Foto da espécie *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke na reserva florestal do IEPA no município de Porto Grande – AP.

No estudo de 153 espécies de Sapotaceae na Amazônia VAN ROOSMALEN et al., (2000) descreve as principais características morfológicas de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke:

Arvore - com 30m de altura, com sapopemas largas, casca branca acinzentada e adocicada, ocorre predominantemente em floresta permanente inundada, do Pará a Guiana Francesa.

Folhas – espaçadas ou livremente agrupadas, opostas, glabras, com 10-15 pares de veias secundárias, estipes ausentes, fascículos grupados abaixo das folhas.

Flores – de 2-5, brancas, com sépalas de 0,2cm de comprimento e pedúnculo 0,1-0,4cm de comprimento;

Frutos – ovóides ou elípticos, de 3-3,5cm de comprimento, ápice e base arredondados e globosos.

Em um estudo de triagem fitoquímico de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke FERREIRA et al., (2005b) refere-se à presença de compostos bioativos no extrato etanólico da casca do caule, do tipo: tanino, terpenóides, quinonas, flavonóides e saponinas. Outro relato da literatura refere-se ao isolamento e identificação de apenas quatro diidroflavonóides das cascas do caule, que são: astilbina, angelitina, 2,3-diidromiricetina e 2,3-diidromiricetina-3- α -L-raminosídeo (JACQUEMIN et al, 1985). Quanto a estudos das atividades biológicas de *Pradosia huberi* a literatura refere-se a apenas um estudo do extrato hidroalcoólico da casca do caule que apresentou atividade gastroprotetora e antissecretória, além de não tóxica na dose de 5000mg/Kg, via oral em camundongos (KUSHIMA et al., 2005).

Os flavonóides isolados de *Pradosia huberi*, também já foram obtidos de outras espécies e são referidos como detentores de muitas ações biológicas como: antinociceptiva e anti-edematogênica (CECHINEL-FILHO et al., 2000), antitumoral (MIZUTANI et al., 1998), hepatoprotetor (CLOSA et al., 1997;), agente terapêutico da artrite (CAI et al., 2003), supressor da hipersensibilidade tardia (CAI et al., 2003), inseticida (CINTRA et al., 2002), inibidor da peroxidação lipídica (YUN et al., 2000), promotor do crescimento capilar (HOTTA & IMOKAWA et al., 2003), tóxico para operários de *Apis melífera* (CINTRA et al., 2002), antiinflamatória (YUN et al., 2000), antagonista da contração uterina induzida pela bradicinina e acetilcolina em ratas (CARNEIRO et al., 1993), entre outras.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir com o estudo fitoquímico e biológico das espécies amazônicas *Licania macrophylla* Bent (Chrysobalanaceae) e *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (Sapotaceae).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo fitoquímico do extrato metanólico das cascas do caule e folhas de *Licania macrophylla*;
- Investigar a atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos das cascas do caule e folhas e substâncias isoladas de *Licania macrophylla* sobre bactérias reconhecidamente causadoras de infecção intestinal;
- Avaliar a atividade antidiarréica dos extratos metanólico das cascas do caule de *Licania macrophylla*;
- Realizar o estudo fitoquímico do extrato metanólico das cascas do caule e folhas de *Pradosia huberi*.

EXPERIMENTAL

3 EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS EMPREGADOS

3.1.1 Métodos Cromatográficos

3.1.1.1 Cromatografia em Coluna (CC)

Nas cromatografias de adsorção em coluna (CC) foi utilizada sílica gel 60, Art. 7734 da Merck, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200mm. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras e as quantidades de sílica a serem utilizadas. Como fase móvel foi usado hexano, clorofórmio (CHCl_3), acetato de etila (AcOEt) e metanol (CH_3OH), puros ou em misturas binárias, sempre em gradiente crescente de polaridade.

3.1.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Nas Cromatografias em Camada Delgada Analítica (CCDA) e Preparativa (CCDP) foram usadas para sua confecção sílica gel 60 PF₂₅₄ da Merck (Art. 7749) e placas de vidro (20x20, 10x20 ou 5x20). As CCD foram preparadas com uma suspensão de sílica, obtida com água destilada e em seguida distribuída sobre a placa de vidro através de um espalhador mecânico (do tipo “quick fit”).

As revelações das substâncias nas CCDA se deram por exposição das placas à lâmpada de irradiação ultravioleta em aparelho Mineralight, modelo UVGL-58 operando em dois comprimentos de onda (254 e 366nm) e/ou pela exposição das placas a vapores de iodo em cuba de vidro fechada.

O grau de pureza das substâncias foi evidenciado por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), determinando-se a pureza quando observada uma única mancha após eluição, em pelo menos três tipos de sistemas de solventes diferentes.

Para eluição das CCD foram usados os solventes hexano, CHCl_3 , AcOEt e CH_3OH , puros ou em misturas. Nos casos de recristalizações de substâncias foram utilizados solventes grau analítico (PA) da Merck.

3.1.1.3 Cromatografia Líquida sob Vácuo (CLV)

A CLV foi montada em funil de vidro com placa porosa, com dimensões de 4cm de diâmetro e 12cm de altura, o qual foi acoplado a um kitassato. No empacotamento da coluna foi usado como fase estacionária sílica gel 60 da Merck com partículas entre 0,040 – 0,063 (Art. 7734) e misturada a hexano. Após o empacotamento da coluna a amostra foi solubilizada em quantidade de solvente apropriado e misturando a sílica gel 60 até total adsorção da amostra na sílica, que foi então depositada sobre o topo da coluna. Foram usados como fase móvel os solventes orgânicos puros ou nas misturas: CHCl_3 ; CHCl_3 :AcOEt (1:1); AcOEt; AcOEt:CH₃OH (1:1) e CH₃OH. Para forçar a passagem do solvente na coluna foi aplicada uma pressão negativa (vácuo) no kitassato, sendo então formadas frações de acordo com o solvente aplicado.

3.1.1.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As análises em CLAE foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu, modelo SCL 10 AVP, equipado com uma bomba Shimadzu modelo LC-10AD, detector Shimadzu UV-Vis modelo SPD-10A operando em dois comprimentos de ondas simultaneamente, injetor manual e sistema de integração computadorizada com *software* CLASS-VP versão 5.02. Foi utilizada coluna analítica C-18 (4,6 x 250mm; 5 μ m, 100Å) Shimadzu.

3.1.2 Métodos Espectrométricos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN de ^1H e ^{13}C) uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros da Varian-Mercury (DRX 500), operando na frequência de 200MHz para hidrogênio e a 50,3MHz para carbono-13 ou a 500MHz para hidrogênio e 125MHz para carbono-13. As amostras submetidas à análise por RMN foram preparadas dissolvendo-se pequena quantidade das mesmas em solventes deuterados da CIL (Cambridge Isotopes Laboratories) (CDCl_3 , CD_3OD e DMSO-d_6). Os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados para RMN de ^1H pelos picos característicos dos hidrogênios pertencentes à fração não deuterada destes solventes em relação ao TMS: clorofórmio ($\delta_{\text{H}} = 7,24$), CD_3OD ($\delta_{\text{H}} = 3,33$) e DMSO-d_6 ($\delta_{\text{H}} = 3,28$) e para os espectros de RMN de ^{13}C pelos picos dos carbonos da fração não deuterada em relação ao TMS: clorofórmio ($\delta_{\text{C}} = 77,0$), CD_3OD ($\delta_{\text{C}} = 49,0$) e DMSO-d_6 ($\delta_{\text{C}} = 39,0$).

As multiplicidades das bandas de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: s (sinpleto), d (dupleto), dd (duplo dupleto), t (tripleto), q (quarteto), m (multipleto).

3.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Licania macrophylla* Benth (Chrysobanaceae)

3.2.1 Coleta do Material Vegetal

As cascas do caule e folhas das espécies *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae) e *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (Sapotaceae) foram coletadas em outubro de 2005 na Reserva Florestal do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA) localizada no município de Porto Grande - Amapá – Brasil. Exsicatas encontram-se depositadas no Herbário Amapaense HAMAB do IEPA sob os números 011310 e 12519, respectivamente, onde foram usadas na identificação das espécies por comparação com outros espécimes do acervo da coleção botânica do instituto.

3.2.2 Preparação do Material Vegetal

Os materiais vegetais coletados para estudo fitoquímico e farmacológico (cascas do caule e folhas) foram conduzidos ao Laboratório de Fitoquímica do IEPA onde foram submetidos a secagem em estufa de ar circulante à 45°C e moídos em moinho mecânico até serem reduzidas a partículas pequenas.

3.2.3 Preparação do Extrato Metanólico das Cascas do Caule e Folhas

As cascas do caule (2,3Kg) e folhas (600g) secas e trituradas de *Licania macrophylla* foram submetidas a extração por maceração com metanol comercial a temperatura ambiente, por um período de 10 dias. As soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo sob temperatura controlada (45°C), obtendo-se o Extrato Metanólico das Cascas do Caule (EMC) e o Extrato Metanólico das Folhas (EMF), cujos rendimentos foram: EMC = 15% (345g) e EMF = 7% (42g).

3.2.4 Fracionamento Cromatográfico do EMC de *Licania macrophylla*

O EMC de *Licania macrophylla* (20g) foi cromatografado em coluna usando como adsorvente 500g de sílica gel 60 da Merck (Art. 7734) empacotada em suporte de vidro. Após o empacotamento da coluna procedeu-se a eluição com hexano puro até que houvesse uma compactação adequada da sílica. Em seguida aplicou-se a mistura do EMC

com sílica sob o topo da coluna, procedendo-se a eluição com solventes orgânicos puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade (QUADRO 5).

Uma análise em CCDA das 29 frações obtidas, em três sistemas de solvente, revelou perfis cromatográficos diferentes, razão pela qual optou-se pela não reunião das frações. A fração 6 apresentou uma mancha mais intensa, sendo então encaminhada para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e recebeu o código **Lm-2**. As frações de maior polaridade (Fr-9 a Fr-17) foram usadas para o desenvolvimento de um método analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) que permitissem tanto uma análise preliminar do grau de pureza da fração como um método que pudesse ser usado para separação dos constituintes presentes.

Frações	Sistema de Solvente
Fr-1 a Fr-2	CHCl_3 (100%)
Fr-3 a Fr-6	CHCl_3 : CH_3OH (9 : 1)
Fr-7 a Fr-10	CHCl_3 : CH_3OH (8 : 2)
Fr- 11 a Fr-16	CHCl_3 : CH_3OH (6 : 4)
Fr-16 a Fr-22	CHCl_3 : CH_3OH (1 : 1)
Fr-22 a Fr-29	CHCl_3 : CH_3OH (3 : 7)

QUADRO 5 Dados do fracionamento cromatográfico do EMC de *Licania macrophylla*.

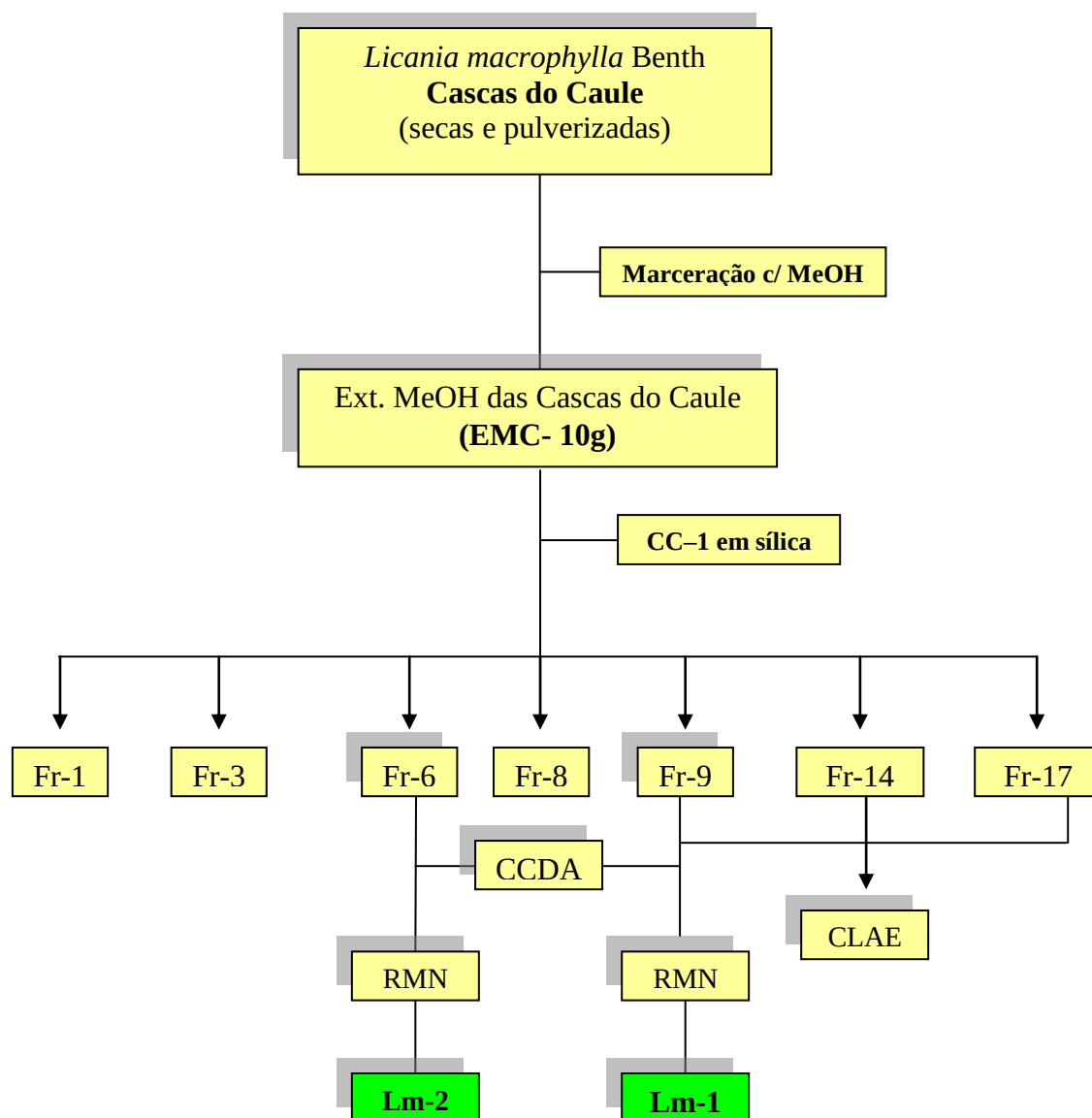
3.2.5 Desenvolvimento de Método Analítico por CLAE

Para o desenvolvimento do método analítico e de separação foi usado um Cromatógrafo da Shimadzu operando em sistema isocrático dotado de detector de UV-Vis com dois comprimentos de onda. Foi usada coluna analítica C-18 fase reversa (4,6 x 250 mm; 5 μm , 100Å) e os solventes orgânicos grau CLAE da Tédia (metanol e acetonitrila), além de água ultra pura (água Mille Q). No desenvolvimento do método foram variadas as proporções dos solventes na mistura e o fluxo de eluição da coluna (QUADRO 6, p.56). Foram obtidos três cromatogramas para cada sistema de solvente e fluxo usado.

Uma análise preliminar dos cromatogramas obtidos permitiu inferir que a fração 9 apresentava um bom grau de pureza, principalmente quando analisada no sistema de solvente com metanol, sendo então indicada para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bi dimensional e recebeu o código **Lm-1**.

Sistema de Solventes	Fluxo de Eluição
H ₂ O : CH ₃ OH (7 : 3)	1 mL/ min
H ₂ O : CH ₃ OH (7 : 3)	0,7 mL/ min
H ₂ O : CH ₃ OH (8 : 2)	1 mL/ min
H ₂ O : CH ₃ OH (8 : 2)	0,7 mL/ min
H ₂ O : CH ₃ OH (85 : 15)	1 mL/ min
H ₂ O : HCN (7 : 3)	1 mL/ min
H ₂ O : HCN (7 : 3)	0,7 mL/ min
H ₂ O : HCN (85 : 15)	1 mL/ min
H ₂ O : HCN (85 : 15)	0,7 mL/ min

QUADRO 6 Sistemas de solventes x fluxo de coluna usados em CLAE para eluição das frações 9 a 17 (Fr-9 a Fr-17).



ESQUEMA 1 Procedimentos experimentais empregados no fracionamento do EMC de *Licania macrophylla* Benth.

3.2.6 Fracionamento Cromatográfico do EMF de *Licania macrophylla*

O EMF de *Licania macrophylla* Benth (10g) foi cromatografado em coluna usando como adsorvente 300g de sílica gel 60 da Merck (Art. 7734) e como eluentes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura binária em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas frações de 120mL, num total de 254 frações, as quais foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com a semelhança de seus Rf.

As frações 62 a 66 apresentaram-se como cristais transparentes, que após analisadas em CCDA revelou duas bandas características de uma mistura de duas substâncias. A Fr-62 foi usada para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (200MHz) e recebeu posteriormente o código de **Lm-6**.

Uma análise em CCDA das frações 87 a 96 mostrou perfis cromatográficos semelhantes com pequenas diferenças de Rfs, sendo então encaminhadas para obtenção de espectro de RMN de ^1H isoladamente. A análise dos espectros obtidos revelou que as frações 87 a 89 correspondiam à mesma substância e as frações 91 a 95 a uma segunda substância. As frações 87 e 92 foram selecionadas para obtenção do conjunto de espectro de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional, sendo posteriormente codificadas como **Lm-3** e **Lm-4**, respectivamente.

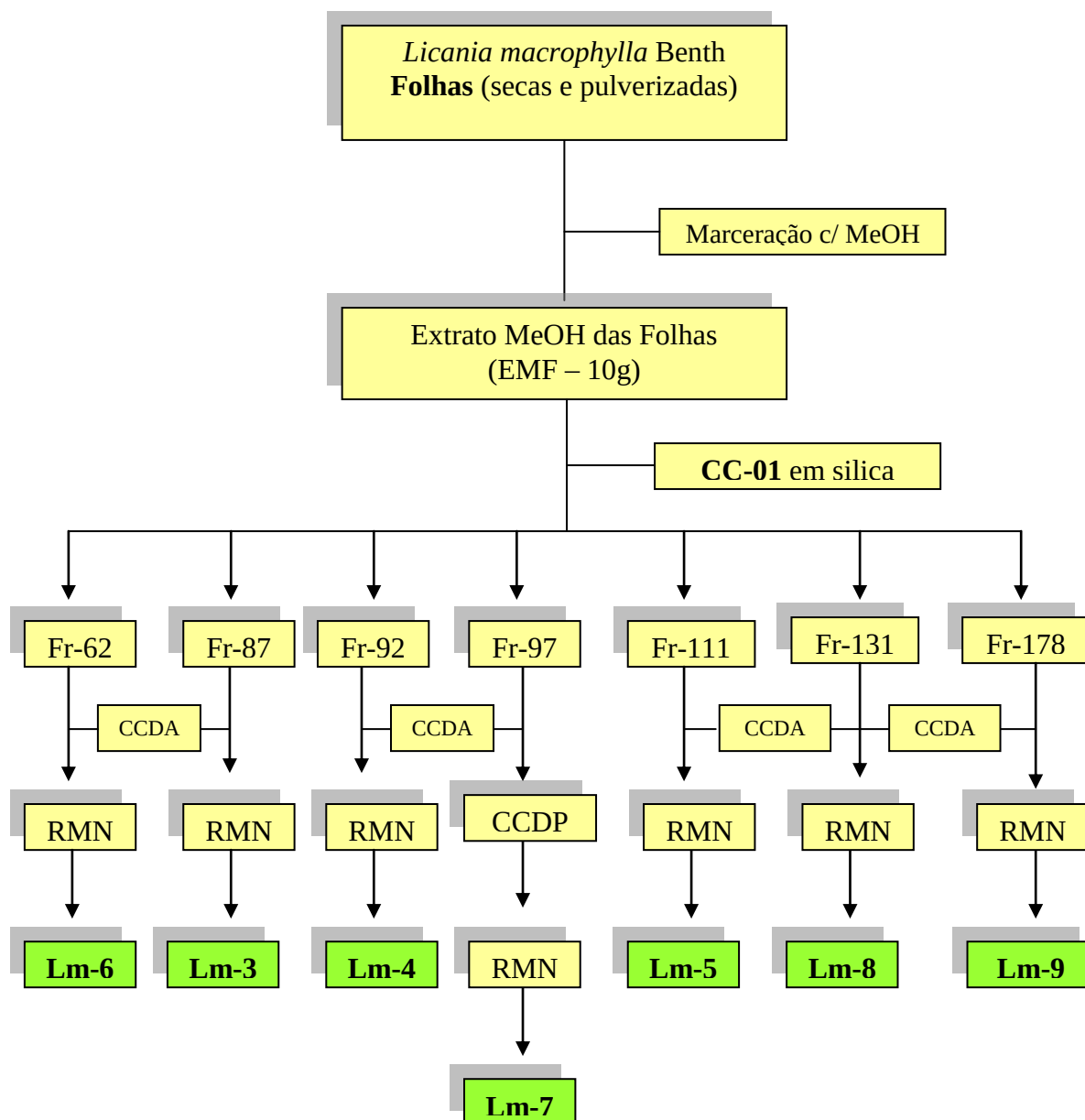
A fração 97 foi analisada em CCDA e mostrou a presença de duas manchas quando visualizada na luz ultravioleta, característica de mistura de duas substâncias. A substância majoritária foi purificada através de CDDP usando como fase móvel Hexano : AcOEt (8:2) e eluída por três vezes consecutivas. A substância purificada foi encaminhada para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , recebendo posteriormente o código de **Lm-8**.

A análise em CCDA das frações subseqüentes mostrou que as frações 111 e 131 apresentavam bom grau de pureza, sendo então encaminhadas para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais. A fração 111 recebeu posteriormente o código de **Lm-5** e a fração 131 o código de **Lm-9**.

As frações subseqüentes 178 a 181 formaram um precipitado em forma de pó branco, insolúvel em metanol. Estas foram purificadas através de sucessivas lavagens com metanol. A Fr-179 foi encaminhada para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e recebeu posteriormente o código **Lm-7**.

A ordem de isolamento das substâncias obedece rigorosamente ao seu grau de polaridade, estando essas de acordo com as teorias cromatográficas. Porém seus códigos foram atribuídos após análise de seus espectros de RMN, procedendo-se um agrupamento

e ordenamento por categoria química a que pertencesse cada uma das substâncias isoladas, por exemplo: flavonóides, esteróides, triterpenos, etc.



ESQUEMA 2 Procedimentos experimentais empregados no fracionamento do EMF de *Licania macrophylla* Benth.

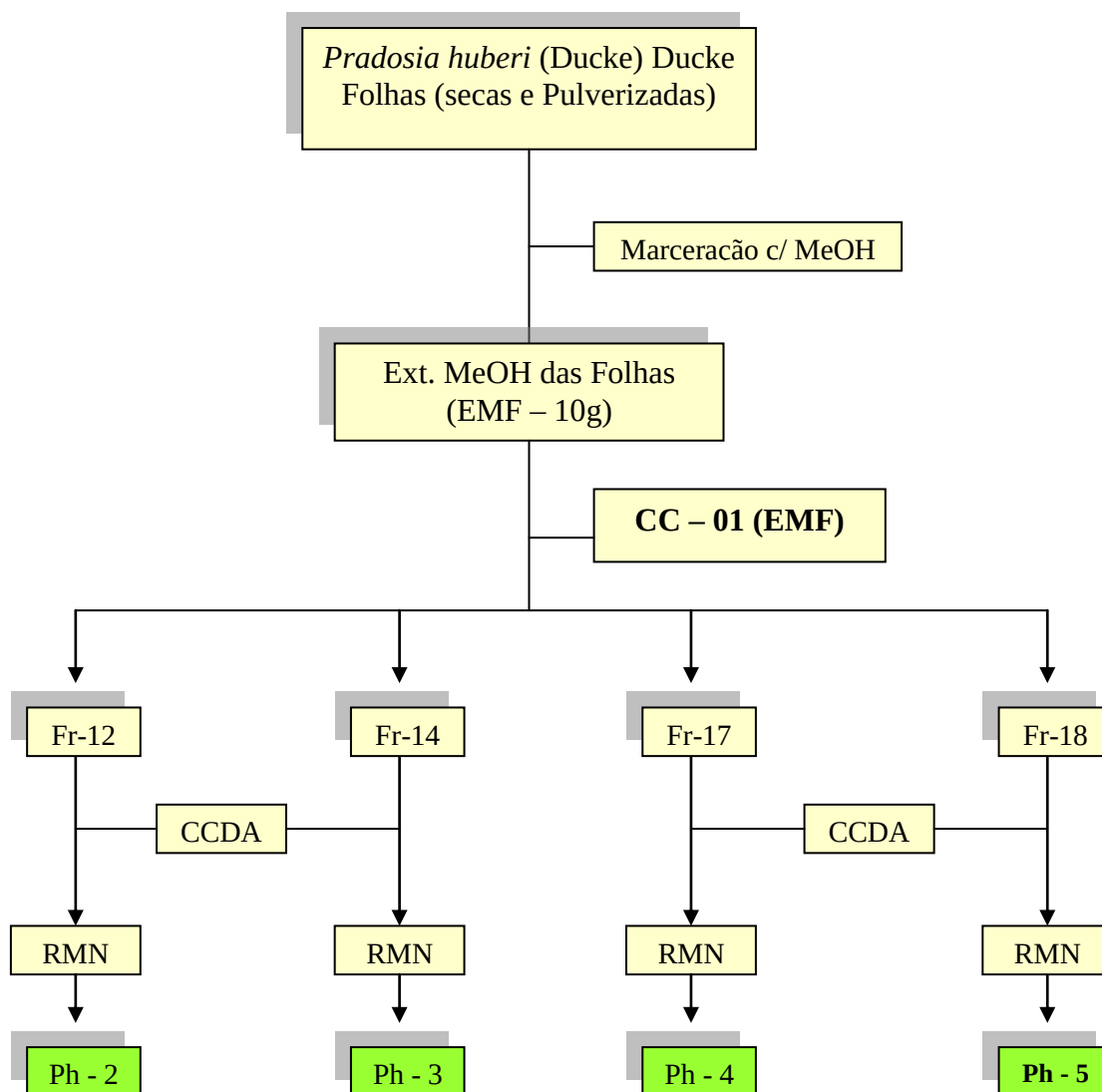
3.3 ESTUDOS FITOQUÍMICO DE *Pradosia huberi* Ducke (Sapotaceae)

3.3.1 Preparação do Extrato Metanólico das Folhas de *Pradosia huberi*

As folhas secas e pulverizadas (550g) de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke foram submetidas à extração por maceração com metanol comercial a temperatura ambiente, por um período de 10 dias. A solução extrativa obtida foi concentrada em evaporador rotativo sob temperatura controlada (45°C), resultando no Extrato Metanólico das Folhas (EMF), cujo rendimento foi 6,72% (EMF = 37g).

3.3.2 Fracionamento Cromatográfico do EMF de *Pradosia huberi*

O extrato metanólico das folhas de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (10g) foi cromatografado em coluna usando como adsorvente 300g de sílica gel 60 da Merck (Art. 7734) e como eluentes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura binária em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas frações de 120mL num total de 113 frações, as quais foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus Rfs. As frações de 12 a 19 mostraram Rfs diferentes, fato que indicou essas frações para obtenção de espectro de RMN de ^1H isoladamente. Uma análise cuidadosa dos espectros de prótons mostrou que as frações Fr-12, Fr-14, Fr-17 e Fr-18 apresentavam deslocamentos químicos diferentes para alguns sinais de hidrogênios norteadores, sugerindo tratar-se de substâncias diferentes e, portanto sendo indicativo de obtenção dos espectros de RMN de ^{13}C tanto para confirmação desta hipótese, como para determinação de suas estruturas. A análise do espectro de RMN de ^{13}C confirmou trata-se de quatro substâncias diferentes que receberam os seguintes códigos: Fr-12 = **Ph-2**, Fr-14 = **Ph-3**, Fr-17 = **Ph-4** e Fr-18 = **Ph-5**.



ESQUEMA 3 Procedimentos empregados para o isolamento das substâncias codificadas de Ph – 2 a Ph - 5.

3.3.3 Estudo Fitoquímico das Cascas do Caule de *Pradosia huberi* Ducke Biomonitorado para Atividade Cardiovascular

3.3.3.1 Preparação do Extrato Etanólico das Cascas do Caule de *Pradosia huberi*

As cascas do caule de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (3,3Kg) secas e pulverizadas foram maceradas com etanol a 95% a temperatura ambiente durante 10 dias. A solução

extrativa foi concentrada em evaporador rotativo a 45°C, obtendo-se o Extrato Etanólico das Cascas do Caule (EEC), cujo rendimento foi de 14,55% (EEC = 480g). Uma amostra de 2,0g do EEC foi encaminhada ao Laboratório de Farmacologia Cardiovascular para realização de ensaios farmacológicos da atividade vasorrelaxante.

3.3.3.2 Fracionamento Cromatográfico do EEC de *Pradosia huberi*

Uma alíquota de 10g do EEC de *Pradosia huberi* foi cromatografada em coluna filtrante sob vácuo, usando como fase estacionária sílica gel 60 Merck (Art. 7734) e como fase móvel os solventes: CHCl_3 ; CHCl_3 :AcOEt (1:1); AcOEt; AcOEt:CH₃OH (1:1) e CH₃OH. A filtração se deu usando os solventes puros ou nas misturas até que toda coloração desaparecessem das soluções. As frações obtidas foram concentradas em evaporador rotativo e tiveram os seguintes rendimentos: CHCl_3 = 0,2g; CHCl_3 :AcOEt (1:1) = 0,4g; AcOEt = 1,2g; AcOEt:CH₃OH (1:1) = 3,0g e CH₃OH = 4,0g respectivamente. Uma amostra de cada uma das frações obtidas foi usada nos ensaios farmacológicos para atividade vasorrelaxante.

3.3.3.3 Isolamento do Constituinte Majoritário

A fração metanólica foi escolhida para isolamento do constituinte majoritário por apresentar a melhor atividade vasorrelaxante frente às demais.

Uma amostra de 2,0g da fração metanólica foi cromatografada em coluna usando como fase estacionária sephadex LH-20 (Pharmacia®) e eluída com metanol puro. Deste fracionamento foram coletadas 28 frações de 30mL cada. Uma análise em CCDA permitiu reunir as frações em 6 grupos, de acordo com seus R_fs. A fração 14-22 foi recromatografada em sephadex LH-20 e eluída com metanol puro, obtendo-se seis frações. Uma análise em CCDA revelou que a fração 2 apresentava bom grau de pureza, além de ser a fração de maior rendimento, portanto foi considerada como o constituinte majoritário, recebendo o código **Ph-1** e foi submetido à espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C para identificação da mesma. Uma amostra de 30mg desta fração foi encaminhado para realização dos ensaios farmacológicos para atividade vasorrelaxante. Os resultados da atividade cardiovascular, tanto do extrato como das frações e substância isolada foi objeto de tese de outra aluna deste programa.

3.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

A espécie *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae) é usada por populações ribeirinhas do estado do Amapá no combate a diarreia e como amebicida. O IEPA produz uma tintura a partir das cascas do caule dessa espécie com as mesmas indicações, razão pela qual se escolheu esta espécie para a realização do estudo da atividade antiarréica e antimicrobiana.

3.4.1 Animais

Para realização dos ensaios da atividade antidiarréica foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) machos, pesando entre 25 e 35 gramas, provenientes do Biotério do Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá – LACEN-AP.

Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ \text{C}$) e submetidos a um ciclo claro-escuro de 12 horas (6 às 18 horas), tendo livre acesso à alimentação e água. Antes do experimento, os animais foram submetidos a um jejum de 18 horas, com livre acesso a água.

3.4.2 Atividade Antidiarréica

Foram avaliados os efeitos do Extrato Metanólico da Casca do Caule (EMC) de *Licania macrophylla* Benth para atividade antidiarréica, realizados através da influencia dos extratos EMC na Modulação da Defecação Normal, Diarreia Induzida por Óleo de Rícimo e no Trânsito Intestinal Estimulado. Foram usados a Loperamida (Imosec®) como droga padrão controle positivo e como controle negativo o veículo (solução aquosa de Cremofor-L a 6,4%).

Para a realização dos testes foram utilizados grupos de cinco camundongos para cada dose dos extratos testados (EMC: 25, 50, 100, 200 e 400 mg.Kg⁻¹), para o tratamento com loperamida (grupo controle positivo) e para o tratamento com o veículo (grupo controle negativo), todos administrados oralmente. Cada camundongo foi isolado em uma

gaiola de polietileno com papel de filtro ao fundo (GALVEZ et al., 1993). A quantidade total de fezes, de cada grupo, foi mensurada a cada hora, após os respectivos tratamentos, durante 4 horas.

3.4.2.1 Avaliação do EMC de *L. macrophylla* sobre a modulação da defecação normal

Inicialmente EMC foi administrado a cada um dos animais dos grupos testes nas doses mencionadas, loperamida ao grupo controle positivo e veículo ao grupo controle negativo. Decorrida uma hora da administração de EMC iniciou-se a contagem do número total de fezes em cada gaiola, sendo repetida a contagem de hora em hora até quatro horas. O número total de fezes excretadas pelos grupos que receberam extrato foi anotado e comparado com os grupos controle. Os resultados foram expressos em número total de fezes em 4h.

3.4.2.2 Avaliação dos Efeitos do EMC de *L. macrophylla* sobre a Diarréia Induzida por Óleo de Rícino

O extrato teste (EMC) nas concentrações mencionadas, a loperamida (controle positivo) e o veículo (controle negativo) foram administrados para grupos de cinco animais 30 minutos antes da administração do agente catártico (óleo de rícino 3mL/animal) (MELO et al., 1988). Após o tratamento, os animais foram colocados separadamente em gaiolas de polietileno com papel de filtro ao fundo, sendo trocado a cada hora. A severidade da diarréia foi avaliada a cada hora durante 4 horas, em uma escala arbitrária, que levou em consideração a consistência e o número de fezes presente em cada papel, como segue: 0 = nenhuma feze; 1 = fezes normais; 2 = fezes diarréicas (moles ou aquosas). O número total de fezes diarréicas excretadas foi anotado e comparado com a contagem do grupo controle positivo. Os resultados foram expressos em número total de fezes e número total de fezes diarréicas.

3.4.2.3 Efeito do EMC de *L. macrophylla* sobre o trânsito intestinal estimulado

Para a avaliação da diminuição do trânsito intestinal, foi utilizado o método descrito por VISHNER e CASALS-STENZEL (1982). Uma suspensão de carvão ativado a 2,0% em Agar 1,5% foi administrada oralmente aos grupos testes e controles (0,3mL/animal). A ação inibitória do extrato frente ao trânsito intestinal experimentalmente estimulado foi testada usando o seguinte procedimento: Inicialmente foi administrado o extrato nas doses mencionadas aos grupos testes, a loperamida ao grupo controle positivo e veículo ao grupo controle negativo. Decorridos 60 minutos da administração do extrato, loperamida e veículo procedeu a administração do óleo de rícino (0,3mL/animal) juntamente com a suspensão Agar-carvão ativo. Aos 60 minutos após a administração da suspensão agar-carvão ativo e óleo de rícino, um grupo de cinco animais foi sacrificado sendo individualmente submetidos a abertura abdominal e dessecação do trato gastrointestinal para verificação da distância percorrida pela suspensão marcadora. Foram medidos o comprimento total do intestino delgado e o comprimento da distância percorrida pela suspensão de Agar-carvão ativo. Os resultados foram expressos em percentagem da distância percorrida pelo corante em função do comprimento total do intestino delgado, calculado pela fórmula:

$$\% \text{ de transito intestinal} = \frac{\text{distância percorrida pelo carvão}}{\text{comprimento total do intestino delgado}} \times 100$$

3.4.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

3.4.3.1 Local da realização dos ensaios antimicrobianos

O ensaio da atividade antimicrobiana foi realizado no Laboratório de Micologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba, sob orientação da Prof. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima.

3.4.3.2 Microorganismos

As espécies bacterianas usadas nos ensaios microbiológicos foram fornecidas pelo Laboratório de Microorganismos de Referência, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FICRUZ) – Rio de Janeiro e pelo Laboratório de Micologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba – João Pessoa – PB, conforme relação no QUADRO 7 abaixo. Os microorganismos foram mantidos em Ágar Müller-Hinton à temperatura de 35°C e 4°C (refrigerador).

No.	Microorganismos	Fornecedor	História
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	FIOCRUZ	ATCC 13150
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	CCS/UFPB	ATCC 25923
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CCS/UFPB	ATCC 12228
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CCS/UFPB	ATCC 25853
5	<i>Escherichia coli</i>	FIOCRUZ	ATCC 11105
6	<i>Escherichia coli</i>	CCS/UFPB	ATCC 18739
7	<i>Escherichia coli</i>	CCS/UFPB	Clássica
8	<i>Escherichia coli</i>	CCS/UFPB	ATCC 10536
9	<i>Shigella flexiner</i>	CCS/UFPB	MM 412
10	<i>Shigella sonnei</i>	CCS/UFPB	LM 07
11	<i>Salmonella spp</i>	CCS/UFPB	LM 08
12	<i>Salmonella enterica</i>	CCS/UFPB	ATCC 6017

ATCC = American Type Culture Collection (EUA)

QUADRO 7 Relação das cepas bacterianas usadas, sua origem e histórico.

3.4.3.3 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios microbiológicos foram Ágar Müller-Hinton (Merck) para bactérias. Os mesmos foram preparados e usados conforme as instruções dos fabricantes.

3.4.3.4 Inóculo bacteriano

Os inóculos das cepas bacterianas utilizadas nos ensaios microbiológicos foi obtido a partir de culturas de repiques de 24 horas a 35°C. As suspensões foram preparadas em tubos de ensaios (16 x 16mm), contendo 10mL de solução Salina (NaCl a 0,9%) esterilizadas. Em seguida, essas suspensões foram agitadas durante dois minutos com o

auxílio de aparelho Vortex. Após agitação, cada suspensão teve turbidez comparada e ajustada à turbidez apresentada pela solução de sulfato de bário 0,5 da escala de McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 10^6 UFC/mL. As suspensões bacterianas foram diluídas 1:9 v/v em solução salina, para obtenção de um inóculo final contendo, aproximadamente, 10^8 UFC/mL (CLEELAND e SQUIRES, 1991; HADACEK e GREGER, 2000; NCCLS, 2004).

3.4.3.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM foi realizada pela técnica de microdiluição em placas de poliestireno (TPP/ISSO 9001/Switzerland), com tampas esterilizadas (NCCLS M2/A7, 2000; HADACEK e GREGER, 2000; CLEELAND, SQUIRES, 1991).

Nas placas contendo 96 poços em forma de U, colunas de 1 a 12 e linhas de A a H, foram colocadas 100µL do caldo nutriente duplamente concentrado. Logo em seguida foi acrescentado 100µL do produto natural testado nos poços da linha A e colunas de 1 a 12, na concentração inicial de 10mg/mL para extrato e 1,0mg/mL para substância pura preparada na forma de solução aquosa ou solução aquosa com 10% de Cremofor. Foi realizada uma diluição seriada à razão de 2, ou seja, 10 a 0,16mg/mL para extrato e 1,0 a 0,016mg/mL para substância pura, a partir das linhas A até G. A linha H foi utilizada para controle de viabilidade da espécie bacteriana e a linha I foi utilizada como controle positivo com clorafenicol (50mg/mL). Uma vez feitas às diluições foi inoculada em todas as cavidades da placa 10µL das suspensões com os inóculos. Os ensaios foram realizados em duplicata e incubados a 35°C por 24 horas.

Com a finalidade de se evidenciar o CIM dos produtos frente às espécies bacterianas testadas, foi preparada e usada uma solução indicadora de resazurina sódica (SIGMA) em água destilada esterilizada na concentração de 0,01% (p/v). Depois de decorrido o tempo de incubação adequado, foi dispensado 20µL de solução de resazurina em cada cavidade por um período de três horas em estufa a 35°C. Em seguida foi feito uma leitura do resultado, sendo observada a mudança da coloração azul para rosa, indicando a redução da resazurina mediante crescimento das cepas bacterianas (Fotos, Anexos, p.266). A interpretação dos resultados foi visualizada com maior segurança em relação à CIM, definida como menor concentração do produto natural que inibe o crescimento bacteriano, pela evidência da cor azul do indicador utilizado (MANN e MARKHAM, 1998).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

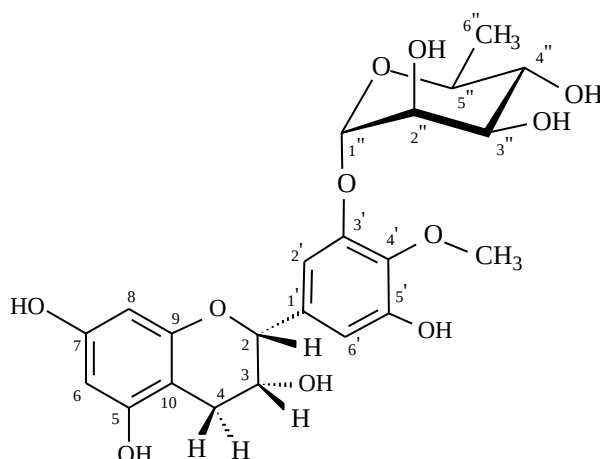
Os dados referentes aos experimentos farmacológicos supracitados foram expressos como $\text{media} \pm \text{erro padrão da média (e.p.m.)}$. Os valores médios do trânsito intestinal foram avaliados pelo *t*-teste de Student, enquanto o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os valores médios da atividade antidiarréica com o grupo controle. Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

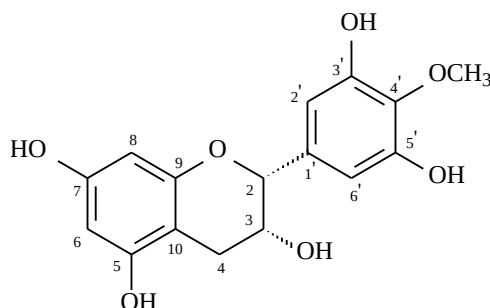
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE *Licania macrophylla* BENTH (CHRYSOBALANACEAE)

O estudo fitoquímico das cascas do caule de *Licania macrophylla* Benth levou ao isolamento, elucidação e identificação estrutural, respectivamente de dois flavonóides do tipo flavanol, Lm-1 [(-)-4'-O-metil-epigallocatequina-3'-O- α -L-raminosídeo] e Lm-2 [(-)-4'-metil-epigallocatequina], sendo o primeiro não relatado na literatura. Das folhas de *Licania macrophylla* Benth foram isolados e identificados três feofitinas, Lm-3 (feofitina A), Lm-4 (13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina A e Lm-5 (feofitina B); três esteróides, Lm-6a (β -sitosterol), Lm-6b (estigmasterol) e Lm-7 (sitosterol- β -O-glicosídeo) e dois triterpenos, Lm-8 (álcool betulínico) e Lm-9 (ácido oleanólico).

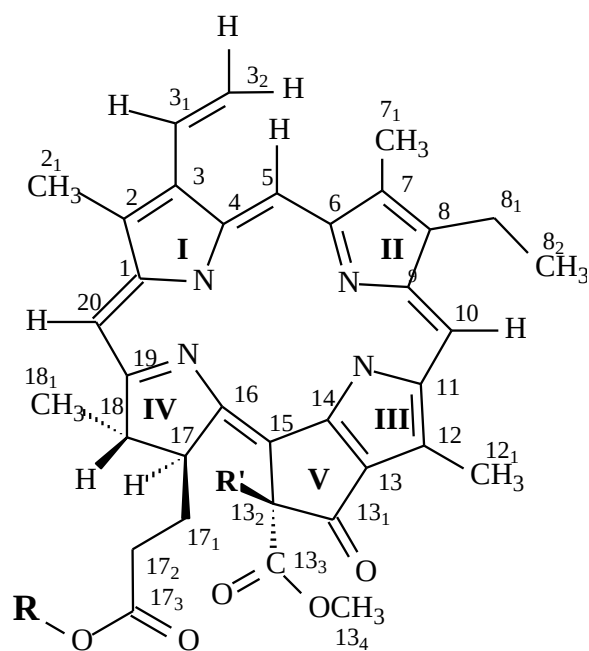


(-)-4'-O-metil-epigallocatequina-3'-O- α -L-raminosídeo (Lm-1)

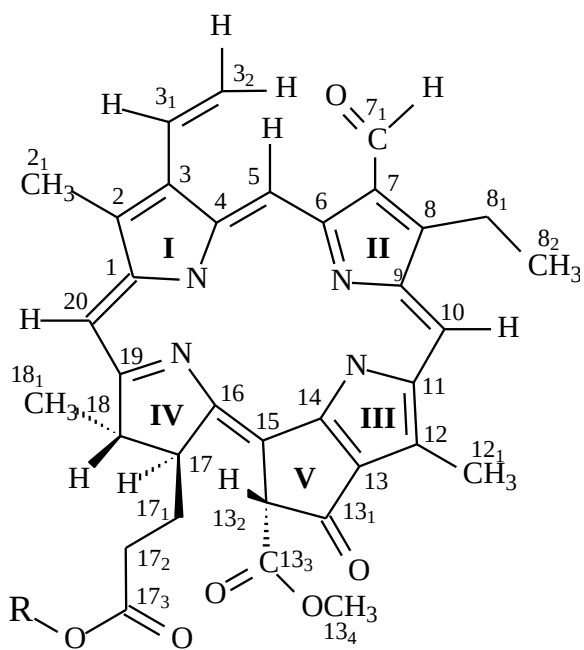


(-)-4'-O-metil-epigallocatequina (Lm-2)

FIGURA 4 Estruturas químicas dos flavonóides isoladas das cascas do caule de *Licania macrophylla*.

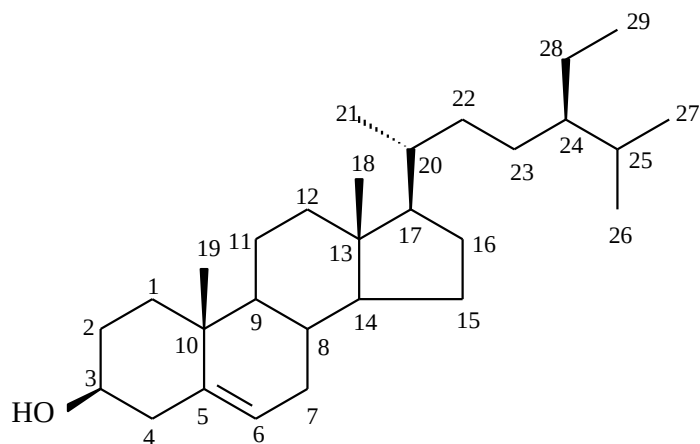


R' = H e R = fitil [Feofitina A (Lm-3)]; R' = OH e R = Fitil [13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina A (Lm-5)]

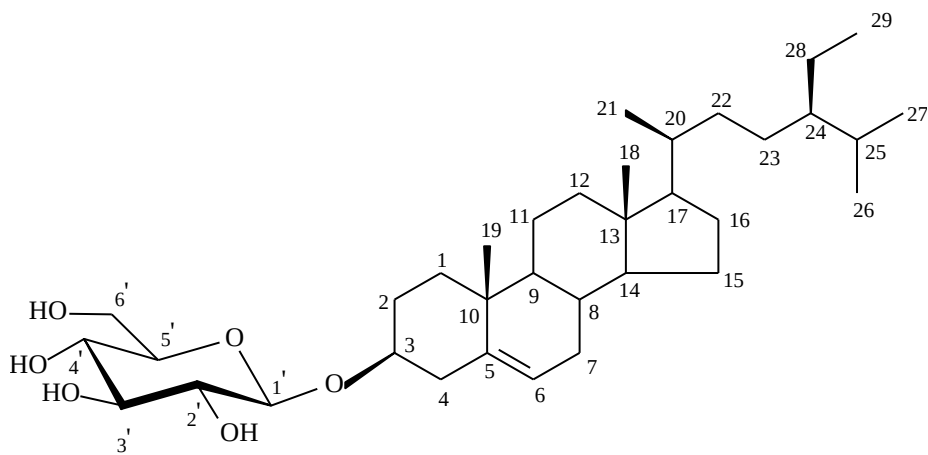


R = fitil [Feofitina B (Lm-4)]

FIGURA 5 Estrutura químicas das feofitinas isoladas das folhas de *Licania macrophylla*.

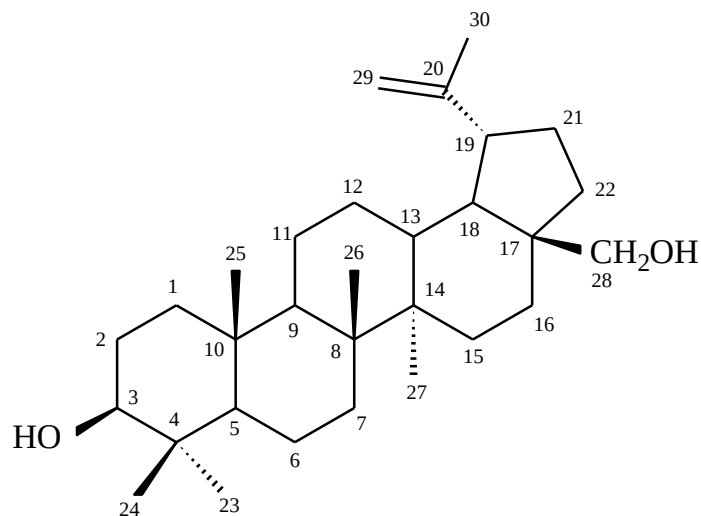


β -sitosterol (Lm-6a); Δ^{22-23} stigmasterol (Lm-6b)

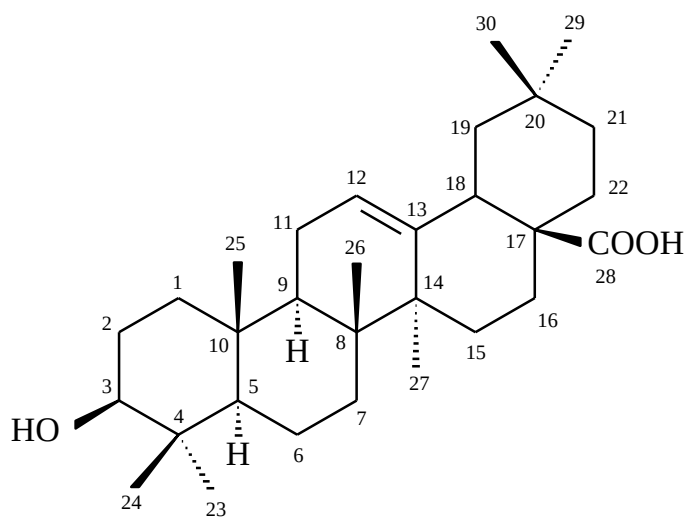


Sitosterol-3-O- β -glicosídeo (Lm-7)

FIGURA 6 Estruturas químicas dos esteróides isolados das folhas de *Licania macrophylla*.



Álcool Betulínico (Lm-8)

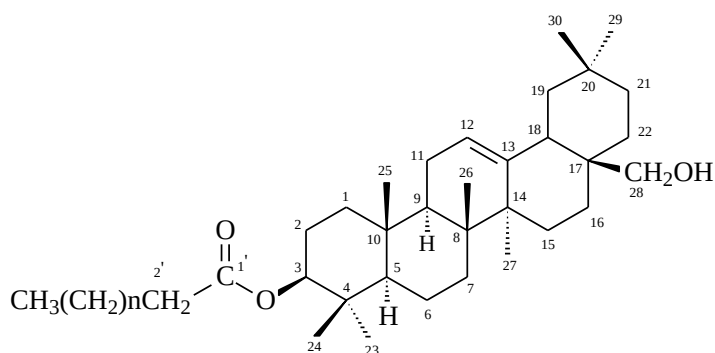


Ácido Oleanólico (Lm-9)

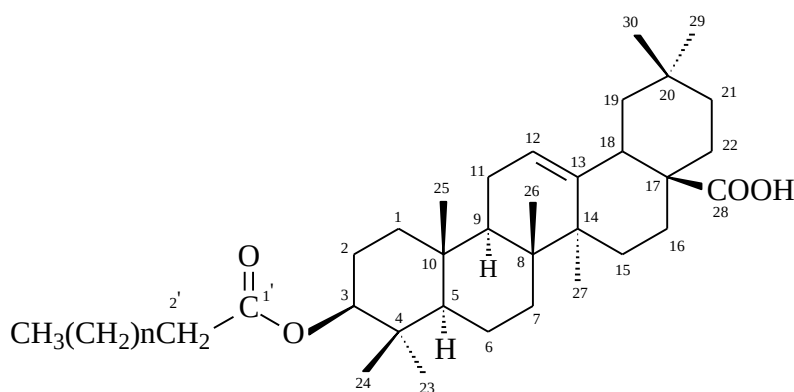
FIGURA 7 Estruturas químicas dos triterpênicos isolados das folhas de *Licania macrophylla*.

4.2 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS FOLHAS E CASCAS DO CAULE DE *Pradosia huberi* (DUCKE) DUCKE (SAPOTACEAE)

O estudo fitoquímico das folhas de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke levou ao isolamento e identificação estrutural de três ésteres de triterpenos e um esteróide: Ph-1 (éster graxo do eritrodíol); Ph-2 (éster graxo do ácido oleanólico); Ph-3 (éster graxo do ácido betulínico) e Ph-4 (uma mistura do éster graxo do ácido betulínico e o esteróide espinasterol). Das cascas do caule foram isolados e identificados de um flavonóide: Ph-5 (2,3-dihidromiricetina-3- α -L-O-raminosídeo).



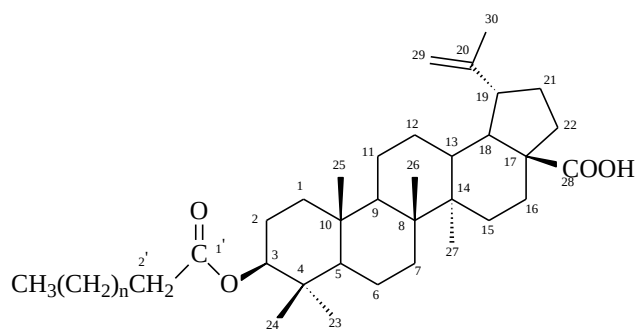
Éster graxo do álcool eritrodíol (Ph-1)



Éster graxo do ácido oleanólico (Ph-2)

FIGURA 8 Estrutura química dos ésteres graxos de triterpenos isolado das folhas de *Pradosia huberi*.

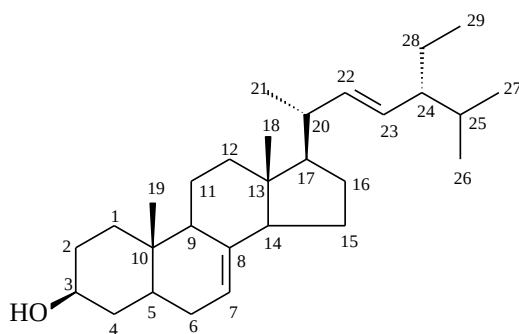
CONTINUA



Éster graxo do ácido betulínico (Ph-3)

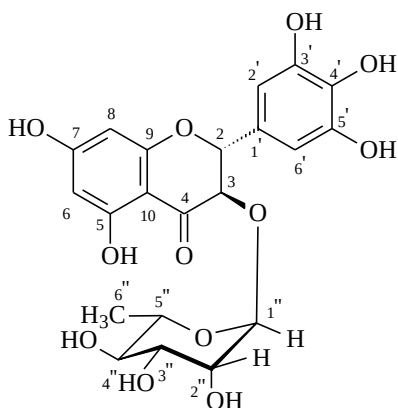
FIGURA 8 Estrutura química dos ésteres graxos de triterpenos isolado das folhas de *Pradosia huberi*.

CONCLUSÃO



Espinasterol (Ph-4)

FIGURA 9 Estrutura química do esteróide isolado das folhas de *Pradosia huberi*.



2,3-dihidromiricetina-3-α-L-O-raminosídeo (Ph-5)

FIGURA 10 Estrutura química do flavonóide isolado das cascas do caule de *Pradosia huberi*

4.3 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE *Licania macrophylla* Benth

4.3.1 Elucidação Estrutural e Identificação dos Flavonóides isolados das cascas do caule de *Licania macrophylla* Benth

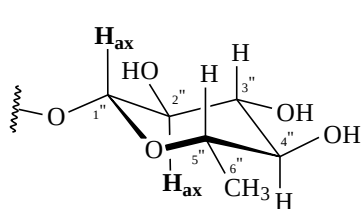
4.3.1.1 Elucidação Estrutural de Lm-1

A substância codificada como **Lm-1** apresentou-se como pó vermelho amorfo, solúveis em metanol.

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de **Lm-1** (FIGURA 11, p. 81) apresentou um total de 22 sinais. Pelos valores de deslocamentos químicos foi possível atribuir oito sinais a carbonos não hidrogenados, onze a carbonos metínicos, um a carbono metilênico, um metílico e um metoxílico. A presença de sinais característicos de carbonos aromáticos entre δ_{C} 157,97 e 95,88 (FIGURAS 12 e 13, p.81 e 82), juntamente com os sinais de carbonos oximetínicos entre δ_{C} 79,65 e 61,34 (FIGURA 14, p.82), sugeriram a estrutura de um flavonóide sustentando uma unidade osídica. A presença dos sinais norteadores característicos dos carbonos oximetínicos em δ_{C} 79,65 e 67,38, atribuídos a C-2 e C-3, respectivamente, além do sinal correspondente a carbono metilênico em δ_{C} 29,16 atribuído a C-4, juntamente com a ausência do sinal correspondente ao carbono carbonílico, comum em flavonóides, e comparação com valores reportados na literatura (AGRAWAL, 1989) permitiu sugerir um flavonóide do tipo flavanol. O conjunto de sinais característicos de carbonos oximetínico (δ_{C} 101,18; 73,82; 72,37; 72,20 e 70,97), além do sinal de carbono metílico em δ_{C} 17,99 (FIGURA 15, p.83), permitiram sugerir a unidade osídica como sendo a raminose (AGRAWAL, 1998).

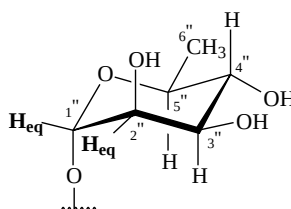
O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **Lm-1** (FIGURA 16, p.83) e sua expansão (FIGURA 17, p.84) apresentaram sinais característicos de hidrogênios aromáticos: δ_{H} 6,84 (d, $J = 2,0$ Hz, H); 6,74 (dd, $J = 0,5$ e $2,0$ Hz, 1H); 5,94 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) e 5,92 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), corroborando para a estrutura de flavonóide para **Lm-1**. Os valores de deslocamentos químicos, bem como as constantes de acoplamentos ($J = 2,0$ Hz) apresentadas pelos pares de dupletos, foram condizentes com acoplamento meta em anel B e A de flavonóides, respectivamente, e permitiu inferir um padrão 5,7,9,10-

tetrassubstituído para o anel A e 1',3',4' e 5'-tetrassubstituído para o anel B (REGASINI, 2008). Além desses foram observados sinais na região de prótons alifáticos (δ_H 1,22 – 5,40) característicos de hidrogênios oximetínicos, metilênicos, metílico e metoxílico. A presença dos dupletos em δ_H 5,40 (d, $J = 1,5\text{Hz}$, 1H) e em δ_H 1,22 (d, $J = 6,0\text{Hz}$, 3H), característicos de próton anomérico (H-1'') e metílico (H-6''), respectivamente, confirmaram a unidade osídica tipo raminose. Com base no valor da constante de acoplamento do próton anomérico ($J = 1,5\text{Hz}$), compatível com acoplamento equatorial-equatorial, verificou-se tratar da subunidade α -raminose (REGASINI, 2008; OHMORI, 2000; HUSSEIN, 1999).



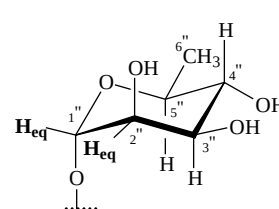
β -raminose

($J_{H_{ax}, H_{ax}} = 7,5\text{ Hz}$)



α -raminose

($J_{H_{eq}, H_{eq}} = 1,7\text{ Hz}$)



Lm-9

($J_{H_{eq}, H_{eq}} = 1,5\text{ Hz}$)

No mesmo espectro de RMN de ^1H , ainda foram observados os sinais: em δ_H 4,98 (d, $J = 4,5\text{Hz}$), compatível com H-2 (FIGURA 22, p.86) e dois duplos dupletos em δ_H 2,87 (dd, $J = 3,0$ e $16,5\text{Hz}$, 1H) e em δ 2,71 (dd, $J = 4,5$ e $16,5\text{Hz}$, 1H) (FIGURA 21, p.86), característicos dos hidrogênios metilênicos-benzílico (H-4) de esqueleto flavanol, confirmando a estrutura de Ph-1 como sendo de um flavanol que sustenta uma unidade osídica (raminose).

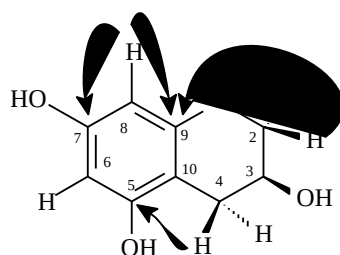
Através da análise do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (500 MHz, CD_3OD) de **Lm-1** (FIGURA 23, p. 87) e suas expansões, além de comparações de deslocamentos químicos com valores reportados na literatura (HUSSEIN, 1999) foi possível assinalar os carbonos oximetínicos, metínicos, metilênico, metoxílico e metílico (TABELA 1, p.80), sugerindo assim a estrutura de **Lm-1** como sendo o flavonóide do tipo **metoxi-flavanol-O-raminosídeo**.

Diante do exposto há várias possibilidades em que pode está ligada a metoxila e a raminose, no anel A (C-5 ou C-7), no anel B (C-3', C-4' ou C-5') ou no anel C (C-3). Para essa determinação analisaremos o espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (500 MHz,

CD₃OD) de **Lm-1** (FIGURA 27, p.89) e suas expansões, discutindo os assinalamentos por anel:

Assinalamento dos carbonos do anel A

A correlação observada no espectro ¹H x ¹³C-HMBC (FIGURA 29, p. 90) entre o sinal em δ_H 4,82 (H-2) com o sinal em δ_C 157,05 (³J) confirmou esse sinal para o carbono C-9, assim como a correlação de C-9 com o sinal em δ_H 5,92 (²J) permitiu identificar H-8. A correlação de H-4 (δ_H 2,71-2,86) com o sinal em δ_C 157,97 (FIGURA 29, p. 90) permitiu atribuir esse sinal ao carbono C-5. Também foi observada a correlação de C-5 (δ_C 157,97) com o sinal em δ_H 5,94 (FIGURA 30, p.90) confirmando H-6, que por sua correlação direta (HMQC) com o sinal em δ_C 96,53 (FIGURA 24, p.87) confirmou C-6. Os demais assinalamentos estão compilados na TABELA 1 (p.80). A ausência de correlação dos hidrogênios metoxílicos ou do hidrogênio anomérico com um dos sinais dos carbonos C-5 ou C-7 diminui a possibilidade de qualquer um dos dois substituintes estarem ligado ao anel A.

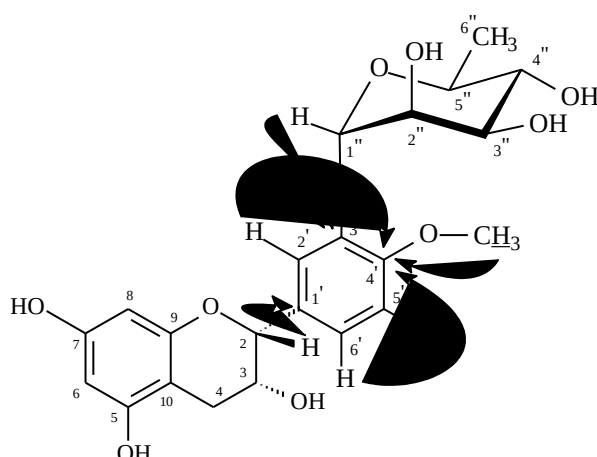


Principais correlações do anel A de **Lm-1** observadas no espectro HMBC.

Determinação dos substituintes do anel B:

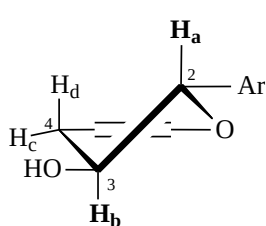
As correlações observadas no espectro ¹H x ¹³C-HMBC (FIGURA 28, p.89) entre o sinal δ_H 4,82 (H-2) com os sinais em δ_C 136,71 (²J), δ_C 108,48 (³J) e 110,41 (³J), confirmaram o primeiro deslocamento químico para C-1' e os dois últimos para C-2' e C-6'. As correlações observadas entre δ_H 6,74 e 6,84 (H-6' e H-2') com o sinal em δ_C 138,55 confirmou esse sinal para o carbono C-4', protegido em relação a C-3' e C-5'. Uma correlação intensa observada entre δ_H 3,81 (-OCH₃) com δ_C 138,55 (³J) sugeriu o grupo metoxílico ligado ao carbono C-4', deslocamentos químicos compatíveis com valores

reportados na literatura (REGASINI, 2008). Também foi observado uma correlação entre o sinal do hidrogênio anomérico em δ_H 5,39 (H-1'') com o sinal em δ_C 151,04 permitindo identificar o carbono ao qual a raminose estava ligado. Como o anel B é livre, ou seja, ele pode girar no espaço, o sinal em δ_C 151,04 pode ser atribuído a C-3' ou a C-5', porém obdesendo as normas de nomenclatura da IUPAC, obrigatoriamente a unidade osídica deve receber a menor numeração possível, sendo assim, o sinal em δ_C 151,04 foi atribuído ao carbono C-3', identificando a localização da ligação osídica. A correlação entre o sinal em δ_H 6,84 com C-3' (δ_C 151,04) confirmou H-2', uma vez que não pode ser detectado correlação de C-3' com H-6', e por correlação direta (HMQC) determinou-se o sinal em δ_C 108,48 para C-2'. Por eliminação foi assinalado os demais sinais do anel B (TABELA 1, p.80).



Principais correlações do anel B de **Lm-1** observadas no espectro HMBC.

A estereoquímica relativa de **Lm-1** foi proposta com base na constante de acoplamento de H-2 ($J = 4,5\text{Hz}$), cujo valor remete a um acoplamento equatorial-equatorial, sugerindo os substituintes de C-2 e C-3 em posições axiais. Da mesma forma foi possível determinar os deslocamentos químicos em δ_H 2,87 (dd, $J = 3,0$ e $16,5$ Hz, 1H) para 4-H_c, acoplamento eq-ax ($H_{b_{eq}}-H_{c_{ax}}$, $J = 3,0$ Hz) e em δ_H 2,71 (dd, $J = 4,5$ e $16,5$ Hz, 1H) para 4-H_d, acoplamento eq-eq ($H_{b_{eq}} - H_{d_{eq}}$, $J = 4,5\text{Hz}$) (OHMORI, 2000). Desta forma foi estabelecida a configuração **transdiequatorial** para o anel C de **Lm-1**.

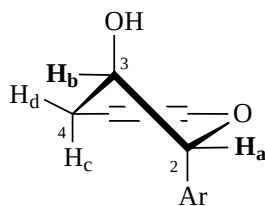


I

$$^3J_{\text{H}_a, \text{H}_b} = 9,0 \text{ Hz}$$

$$^3J_{\text{H}_b, \text{H}_c} = 6,0 \text{ Hz}$$

$$^3J_{\text{H}_b, \text{H}_d} = 9,0 \text{ Hz}$$

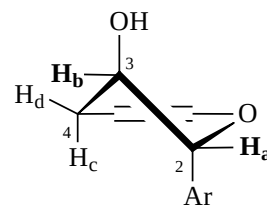


II

$$^3J_{\text{H}_a, \text{H}_b} = 5,0 \text{ Hz}$$

$$^3J_{\text{H}_b, \text{H}_c} = 4,0 \text{ Hz}$$

$$^3J_{\text{H}_b, \text{H}_d} = 5,0 \text{ Hz}$$



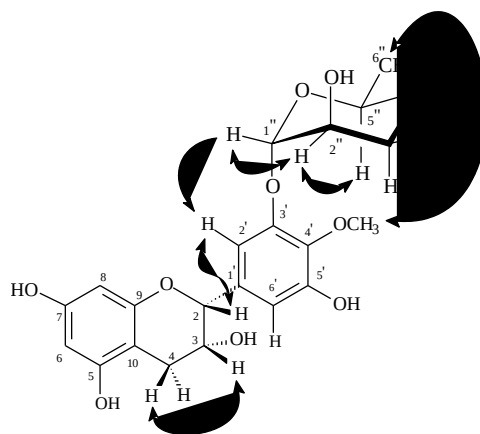
Lm-9

$$^3J_{\text{H}_a, \text{H}_b} = 4,5 \text{ Hz}$$

$$^3J_{\text{H}_b, \text{H}_c} = 3,0 \text{ Hz}$$

$$^3J_{\text{H}_b, \text{H}_d} = 4,5 \text{ Hz}$$

O espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (FIGURA 39, p.95) mostrou uma correlação entre o sinal do hidrogênio anomérico H-1'' (δ_{H} 5,39) com o sinal do hidrogênio H-2' (δ_{H} 6,84), ainda foi observada a correlação dos hidrogênios H-6'' (δ_{H} 1,24) com os hidrogênios metoxílicos (δ_{H} 3,81) (FIGURA 40, p.95), corroborando com a posição da ramnose em C-3'. As demais correlações observadas no espectro bidimensional NOESY são mostra na figura abaixo.



Principais correlações observadas no espectro NOESY de **Lm-1**.

Portanto, com base nos dados apresentado foi possível elucidar a estrutura química, bem como propor a estereoquímica relativa de **Lm-1**, que foi denomina de **(-)-4'-metil-epigallocatequina-3'-O- α -L-raminosídeo**, substância ainda não descrita na literatura.

TABELA 1 Dados de RMN ^1H e ^{13}C e uni e bidimensional de **Lm-1**

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY
	δ_{H}	δ_{C}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
5		157,97			
7		157,71			
9		157,05			
10		100,07			
1'		136,71			
3'		151,04			
4'		138,55			
5'		151,59			
CH					
2	4,82 (1H, d, $J = 4,5^*$)	79,65	C-1'	C-2'; C-6'; C-4	H-3
3	4,20 (1H, m)	67,38			H-2
6	5,94 (1H, d, $J = 2,0$)	96,53	C-5	C-10; C-8	
8	5,92 (1H, d, $J = 2,0$)	95,88	C-9	C-10; C-6	
2'	6,84 (1H, d, $J = 2,0$)	108,48	C-3'	C-6', C-4'	
6'	6,74 (1H, d, $J = 2,0$)	110,41	C-5'	C-2'; C-4'	
1''	5,39 (1H, d, $J = 1,5$)	101,18		C-3'; C-5'', C-3''	H-2''
2''	4,06 (1H, dd, $J = 3,5; 1,5$)	72,20	C-3''	C-4''	H-1''
3''	3,88 (1H, dd, $J = 3,5; 10,0$)	72,37	C-4''		H-4''
4''	3,46 (1H, dd, $J = 10,0; 10,0$)	73,82	C-3''; C-5''		H-5''; H-3''
5''	3,79 (1H, m)	70,97			H-6''; H-4''
CH₂					
4ax	2,86 (1H, dd, $J = 4,5; 16,5$)	29,04	C-10	C-5; C-9	H-4eq; H-3
4eq	2,71 (1H, dd, $J = 3,0; 16,5$)		C-10	C-5; C-9; C-2; C-3	H-4ax, H-3
CH₃					
6''	1,24 (3H, d, $J = 6,0$)	17,99	C-5''	C-4''	H-5''
OCH₃					
	3,81 (3H, s)	61,34		C-4'	

RMN (500 MHz, CD₃OD, J em Hz, *DMSO)

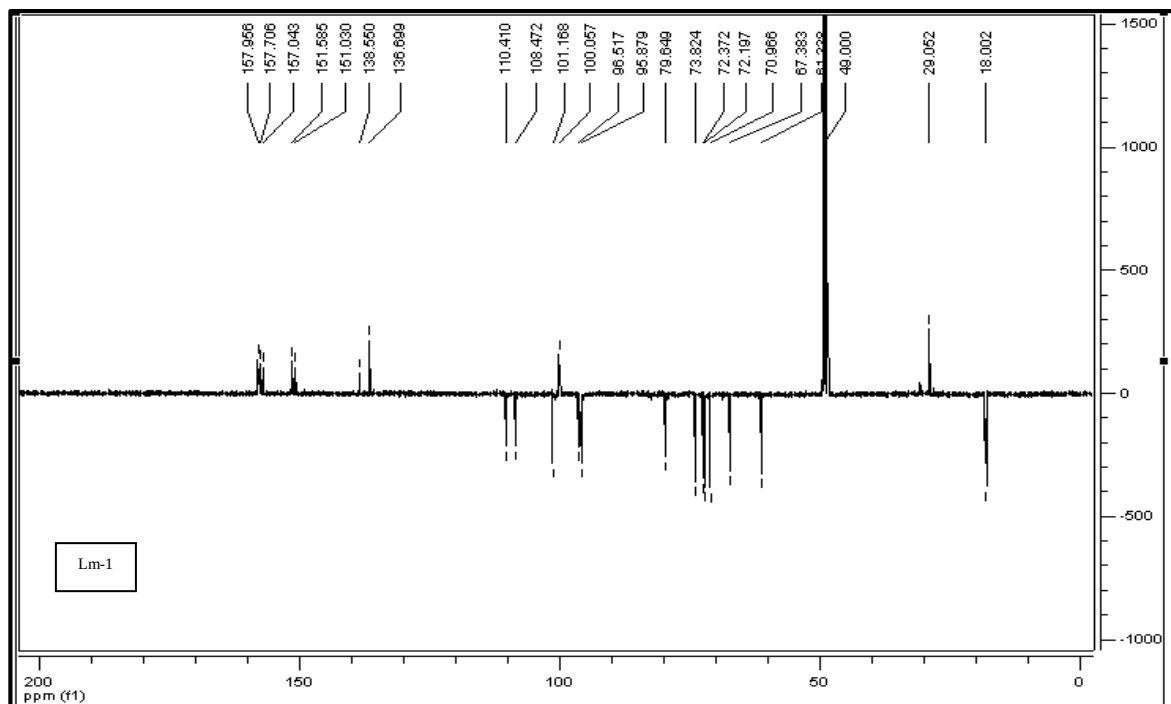


FIGURA 11 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-1** (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

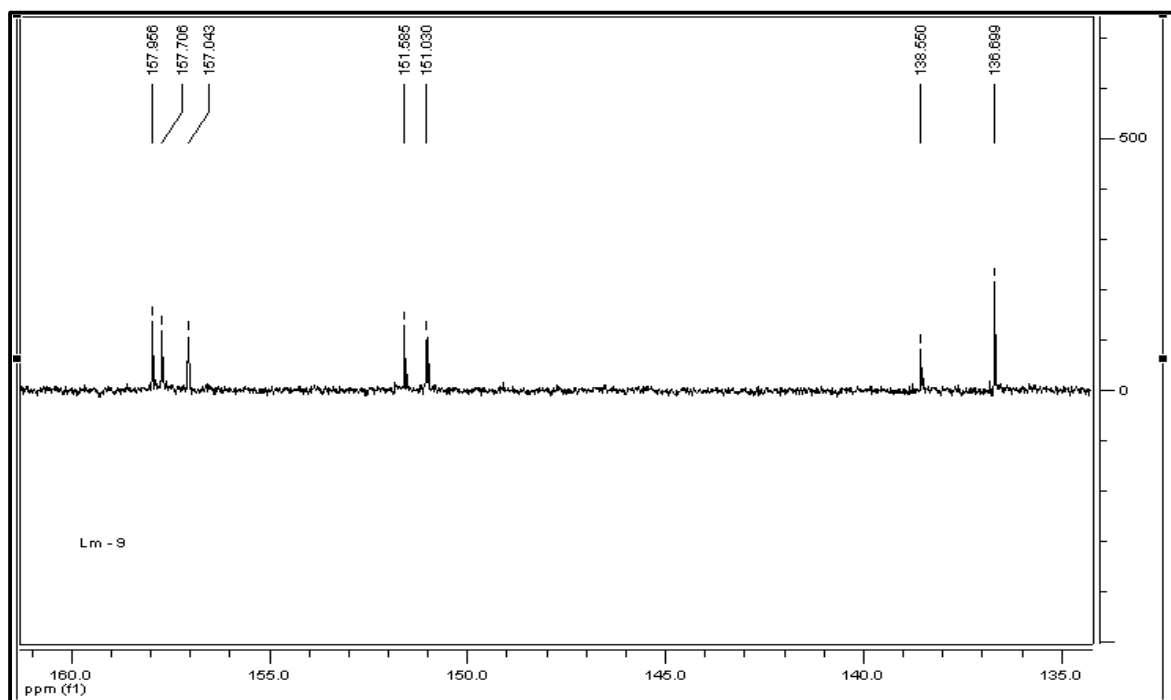


FIGURA 12 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-1** na região entre δ_{C} 135-180 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

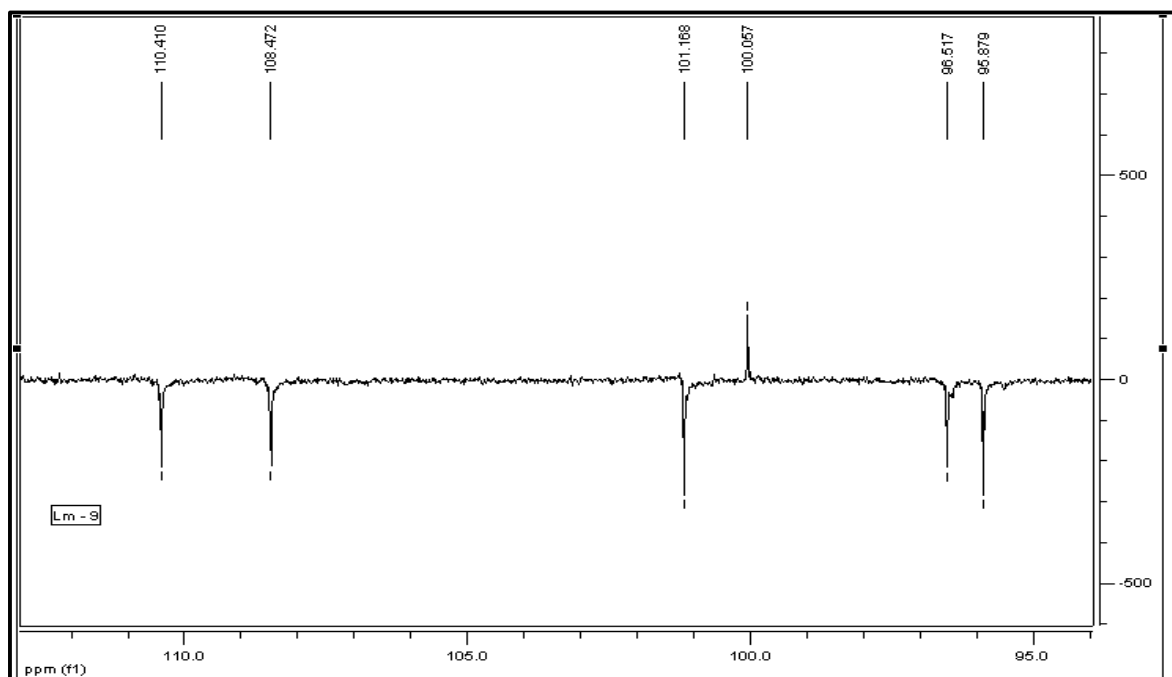


FIGURA 13 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-1** na região entre δ_{C} 95-110 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

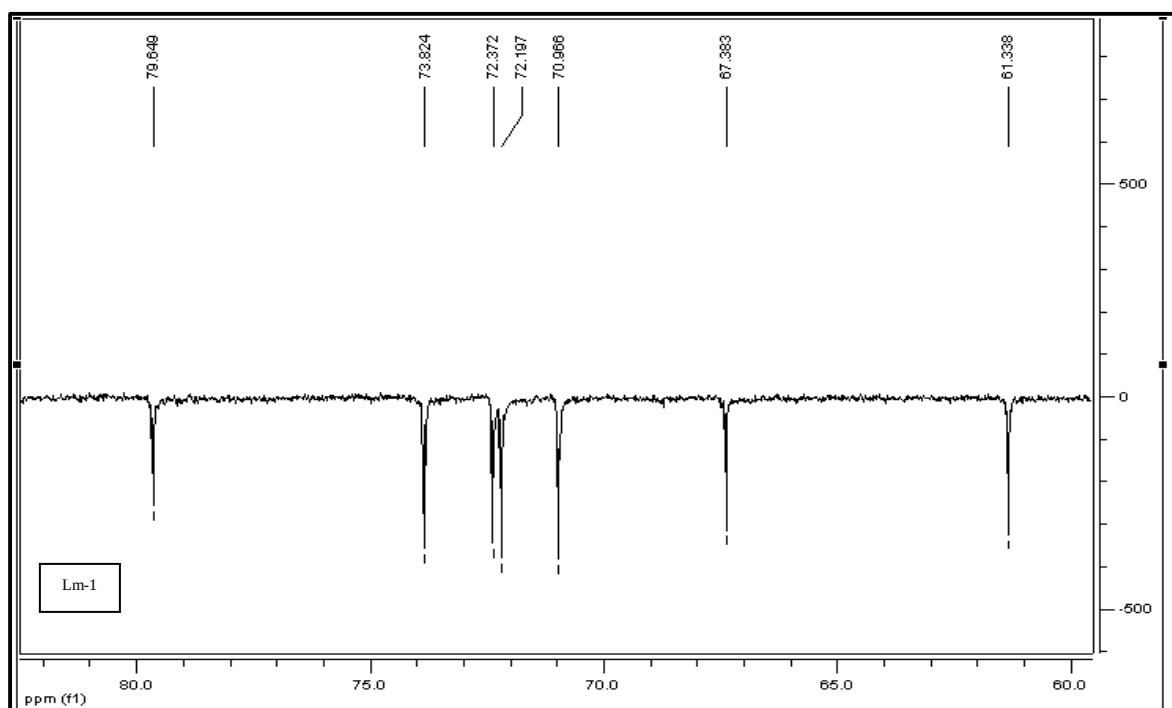


FIGURA 14 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-1** na região entre δ_{C} 60-93 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

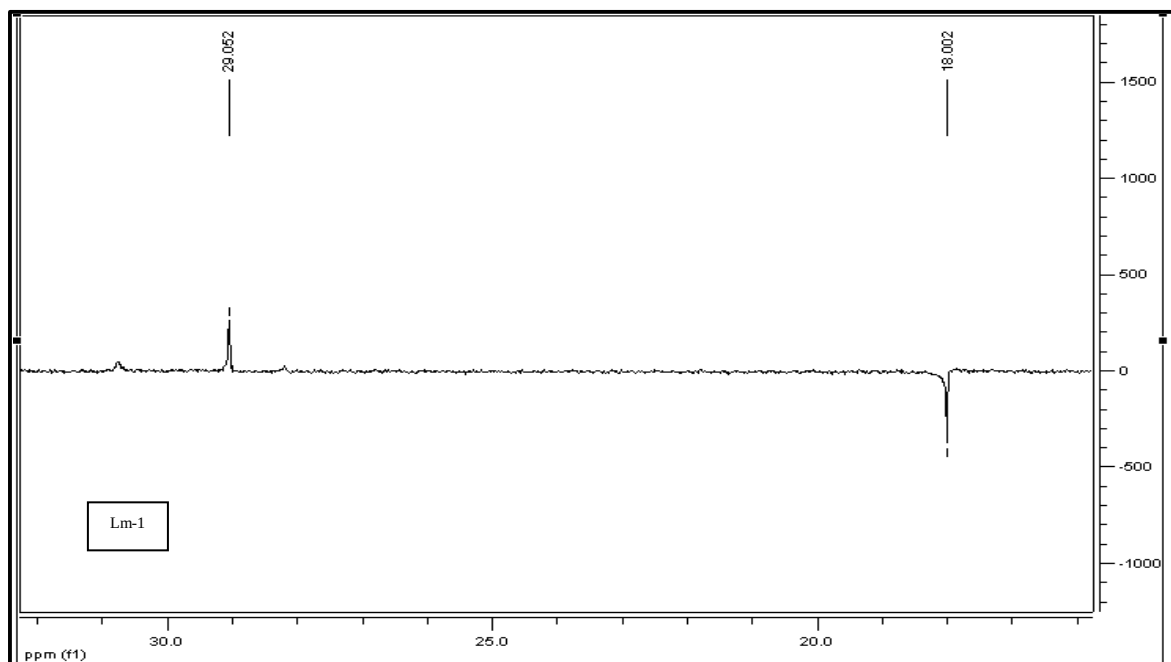


FIGURA 15 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-1** na região entre δ_{C} 15-32 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

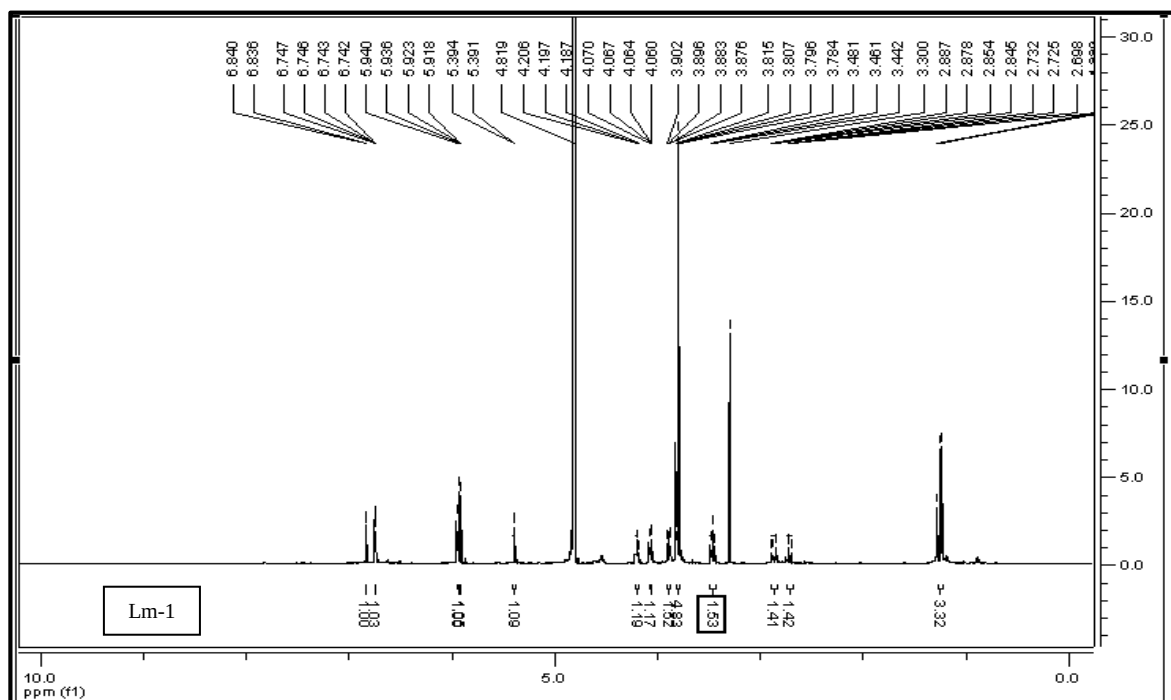


FIGURA 16 Espectro de RMN ^1H de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

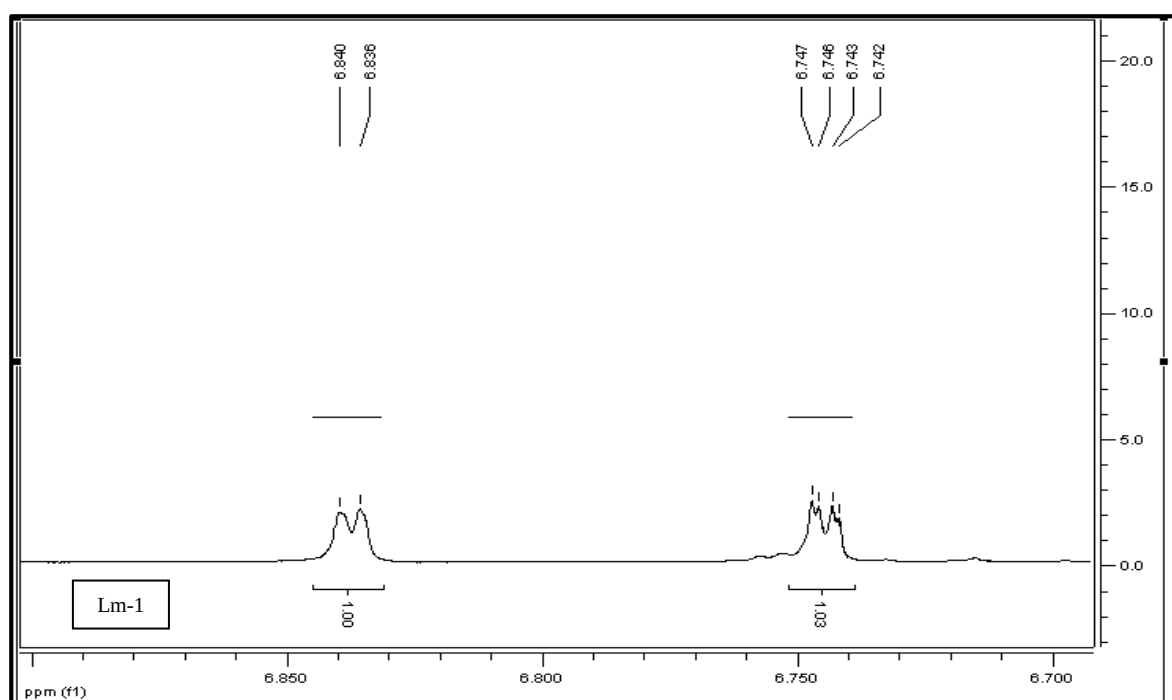


FIGURA 17 Expansão do espectro de RMN ¹H de **Lm-1** na região entre δ_H 6,70 – 6,90 (500 MHz, CD₃OD, δ em ppm).

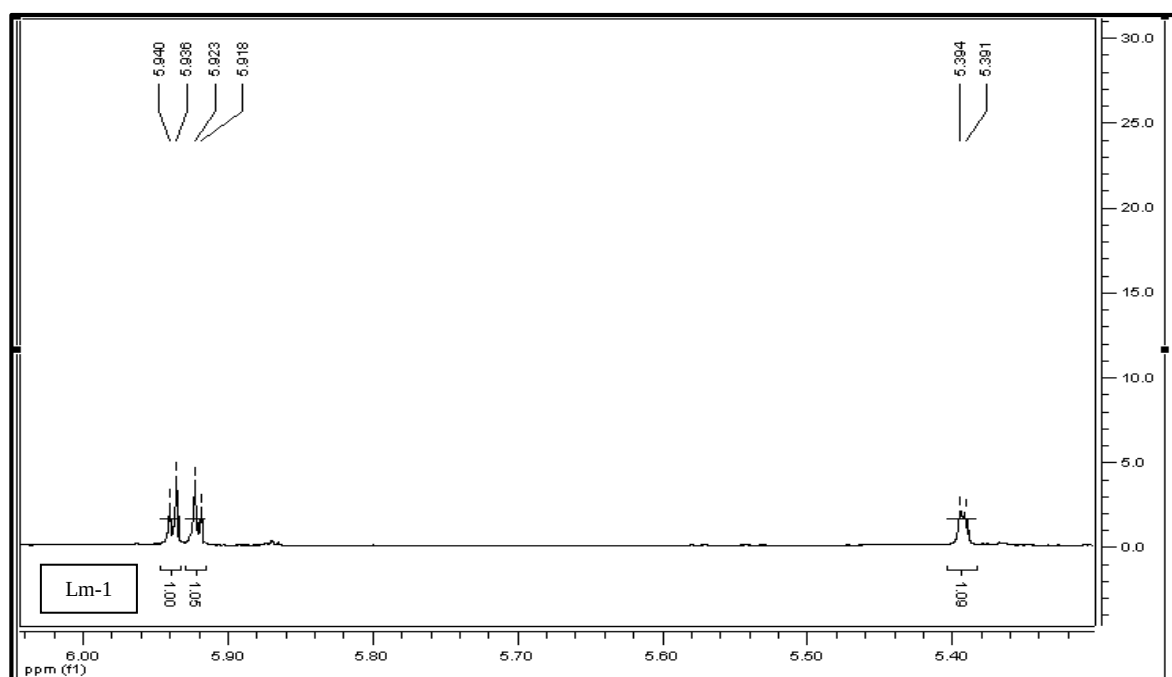


FIGURA 18 Expansão do espectro de RMN ¹H de **Lm-1** na região entre δ_H 5,35 – 6,00 (500 MHz, CD₃OD, δ em ppm).

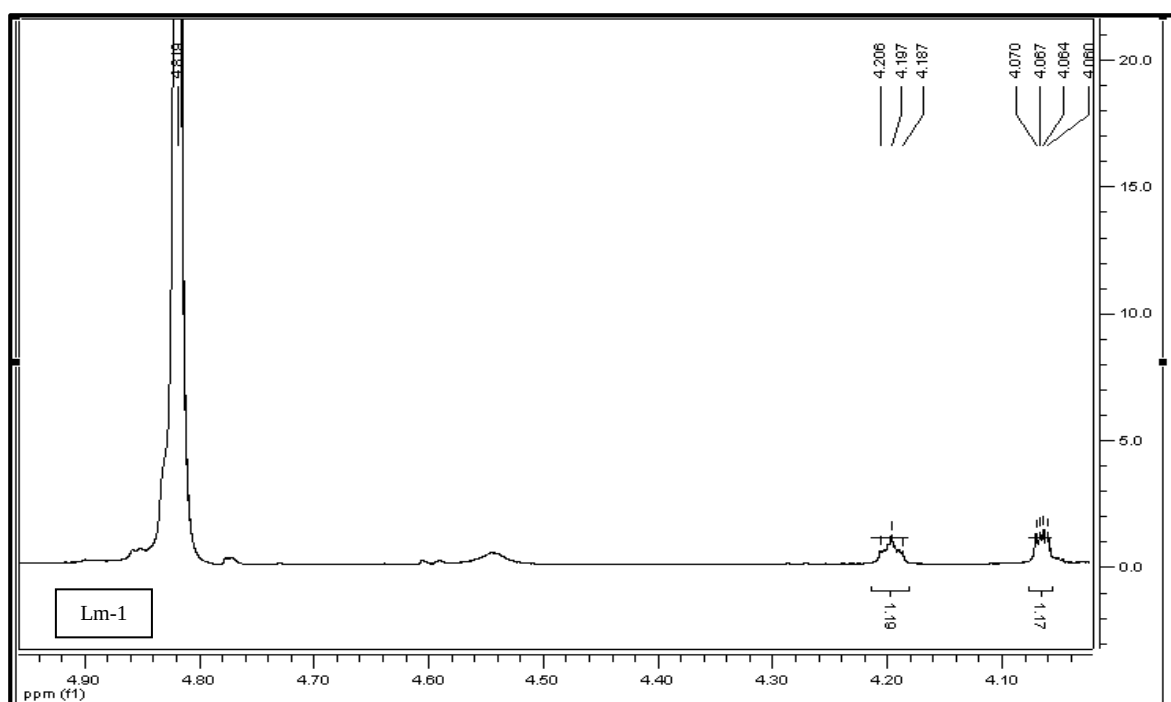


FIGURA 19 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-1** na região entre δ_{H} 4,00 – 5,00 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

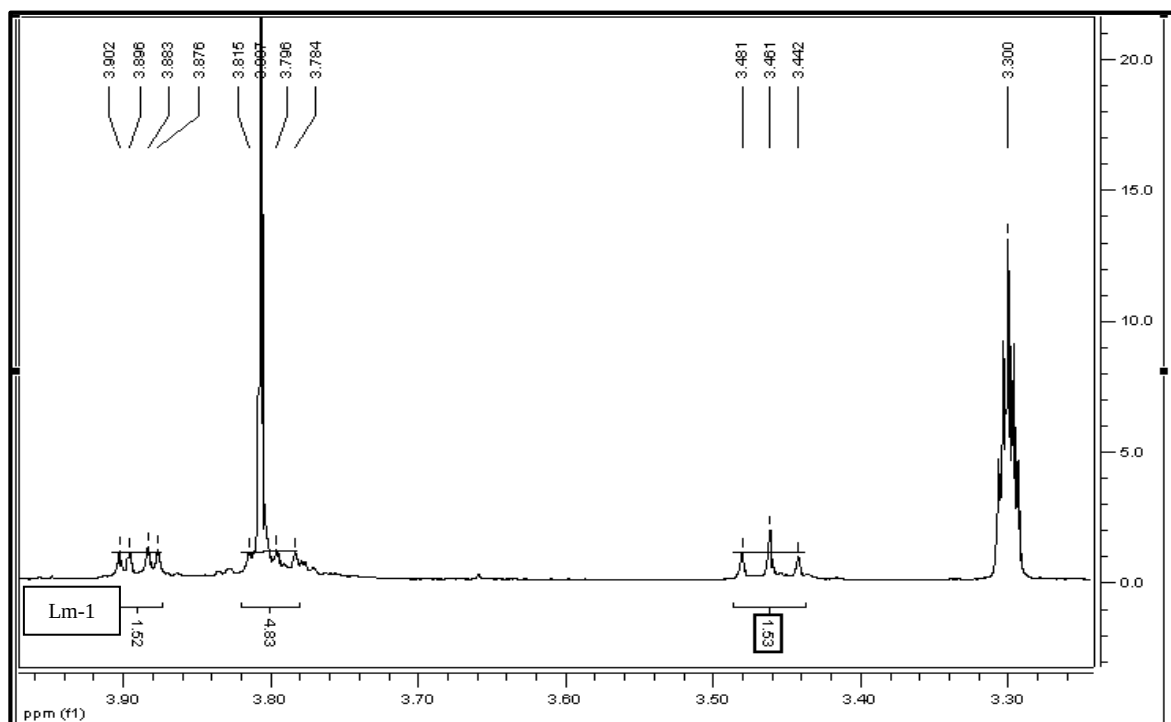


FIGURA 20 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-1** na região entre δ_{H} 3,00 – 4,000 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

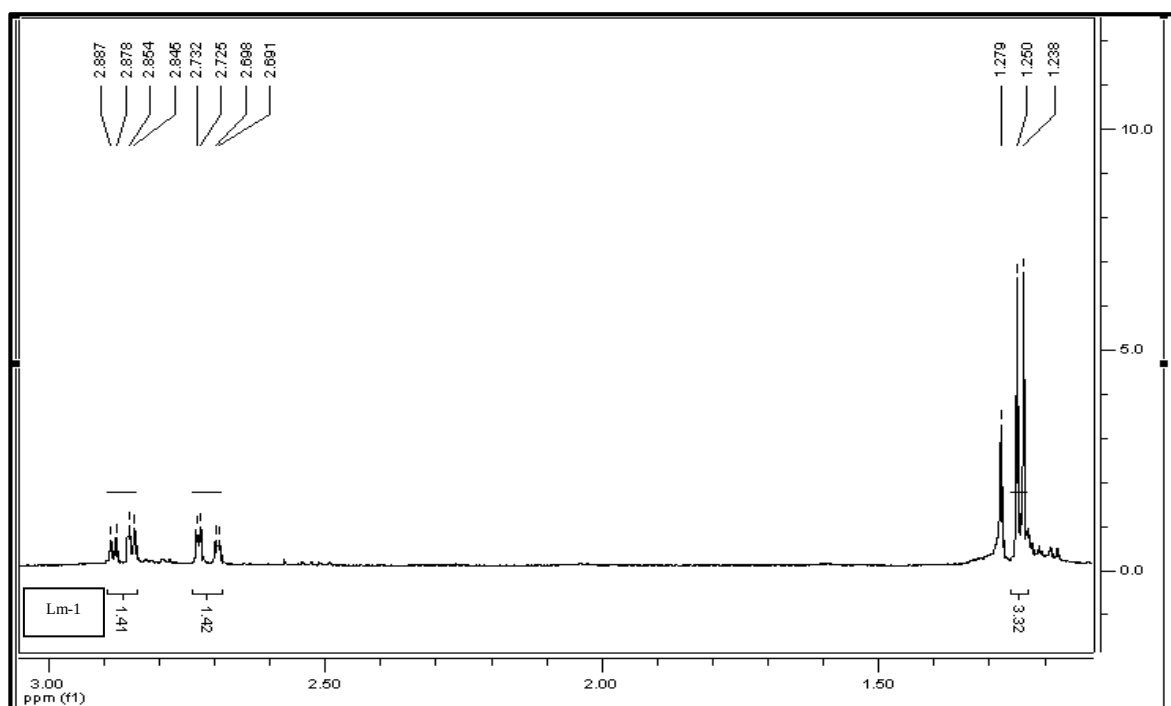


FIGURA 21 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-1** na região entre δ_{H} 1,00 – 3,00 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

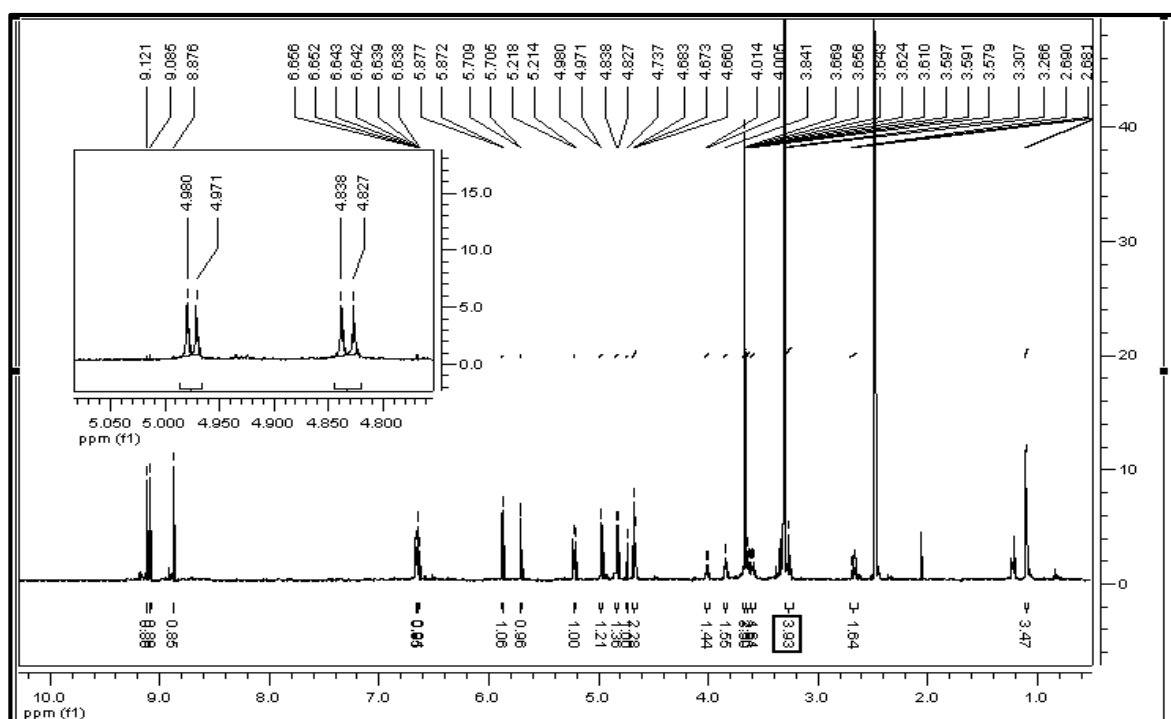


FIGURA 22 Espectro de RMN ^1H de **Lm-1** (500 MHz, DMSO, δ em ppm).

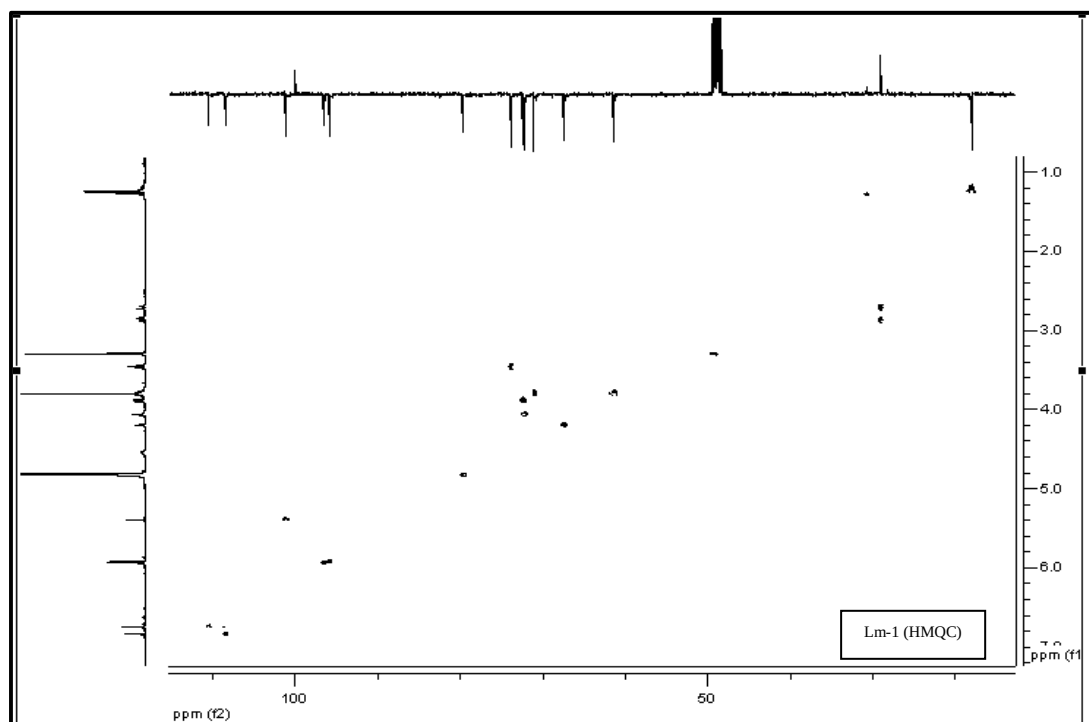


FIGURA 23 Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD).

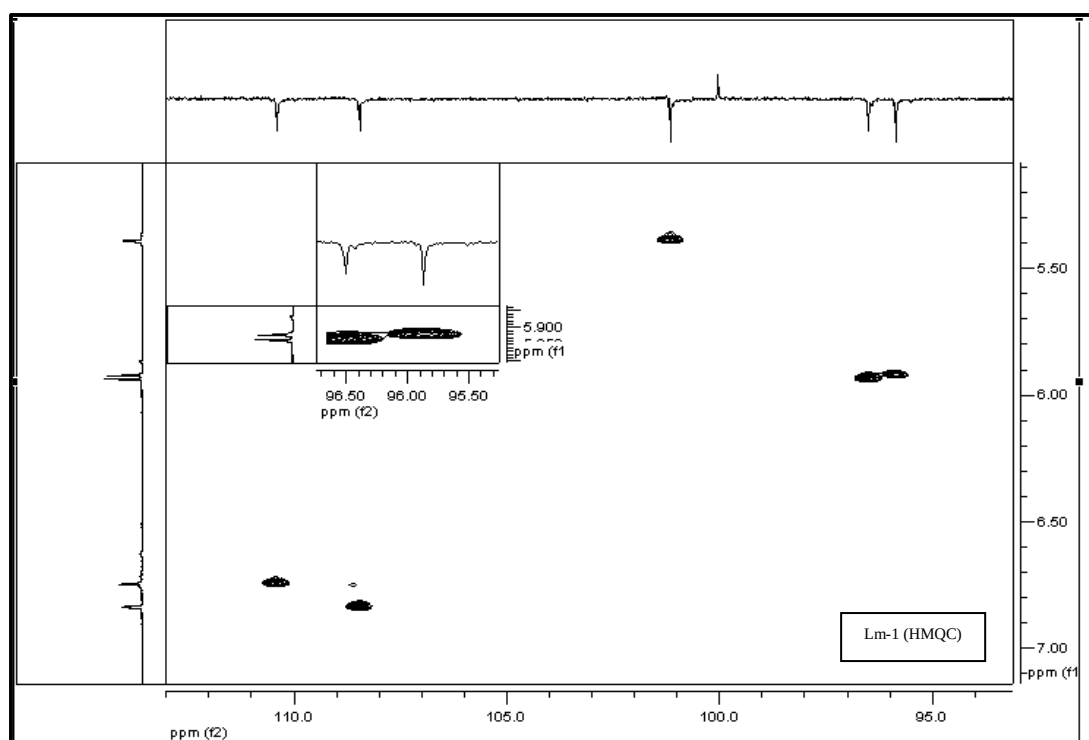


FIGURA 24 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-1** na região entre δ 5,0-7,0 x 94-113 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

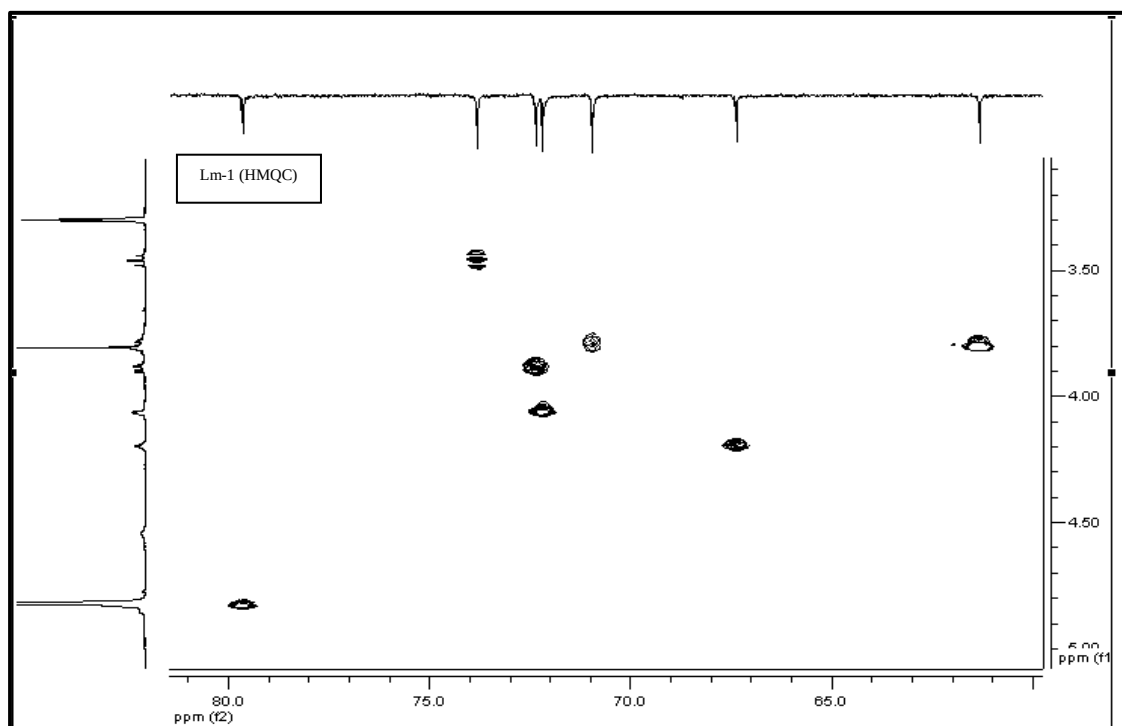


FIGURA 25 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-1** na região entre δ 3,0-5,0 x 60-82 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

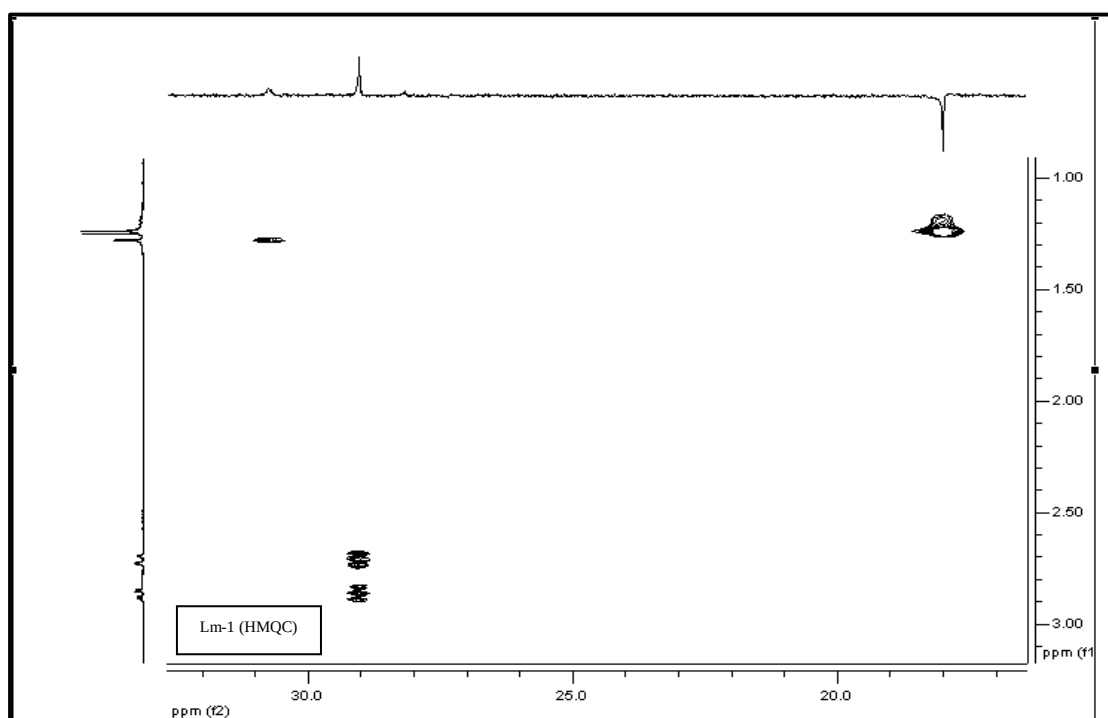


FIGURA 26 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-1** na região entre δ 1,0-3,0 x 15-35 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

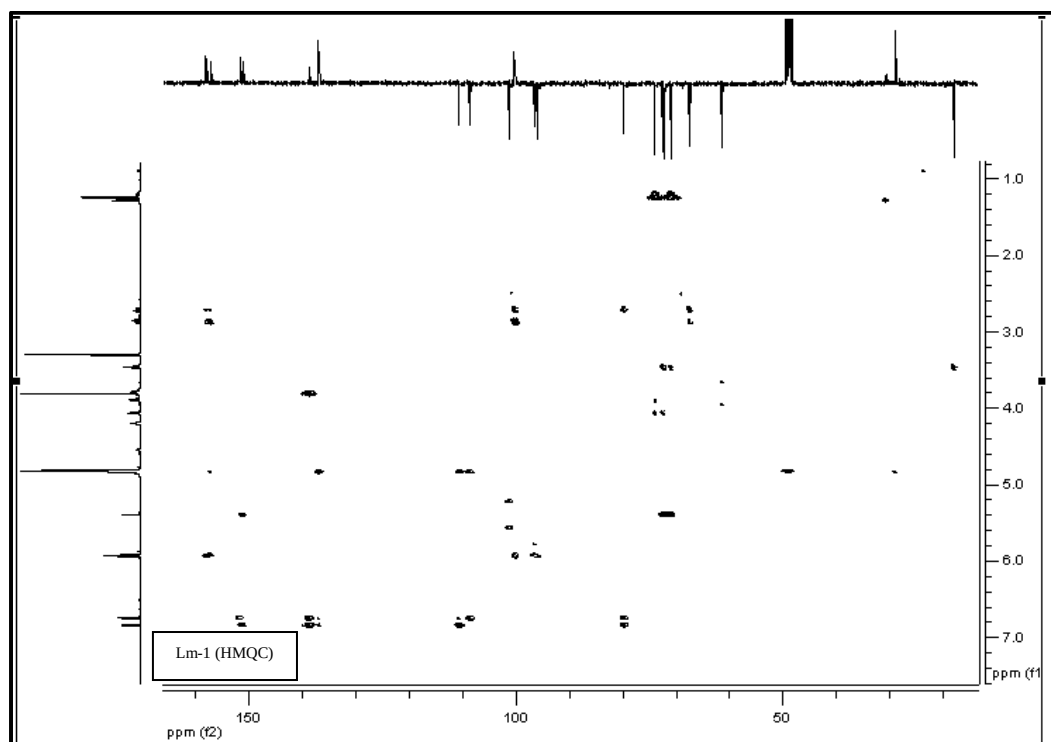


FIGURA 27 Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD).

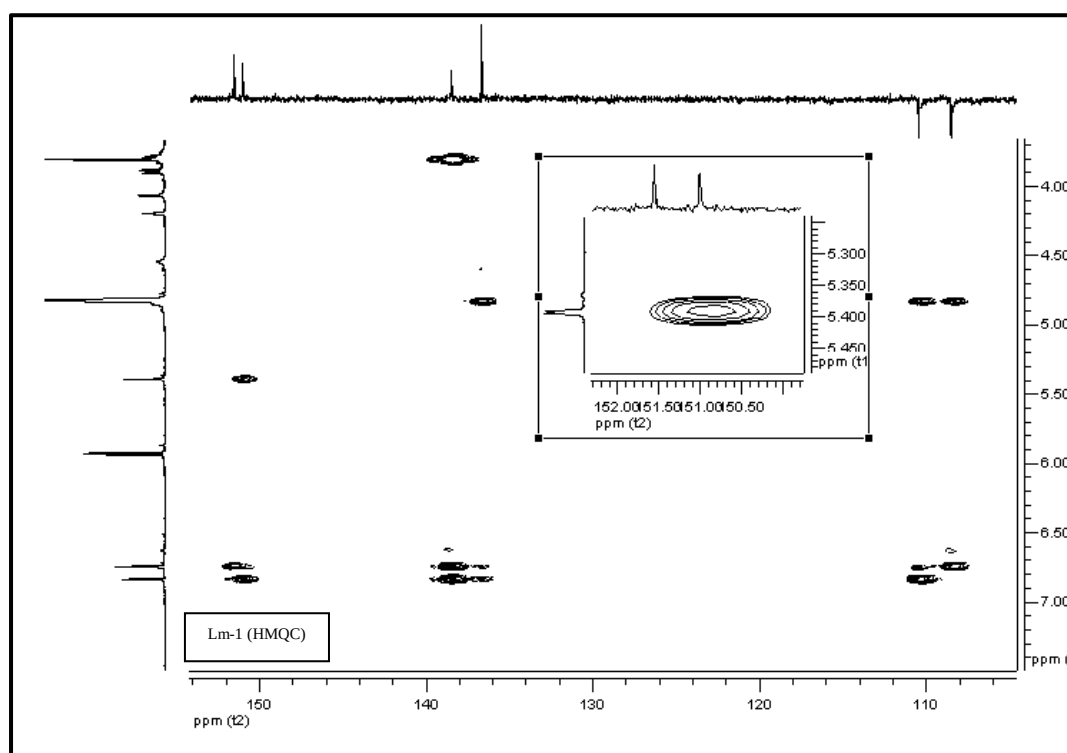


FIGURA 28 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 3,5-5,5 x 105-1145 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

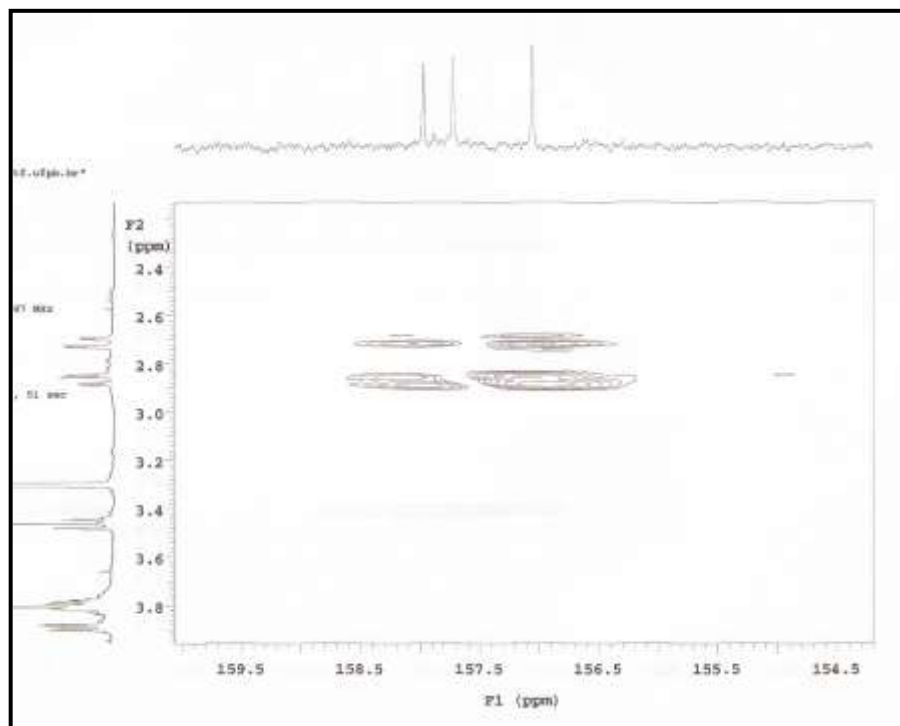


FIGURA 29 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 5,7-6,2 x 155-160 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

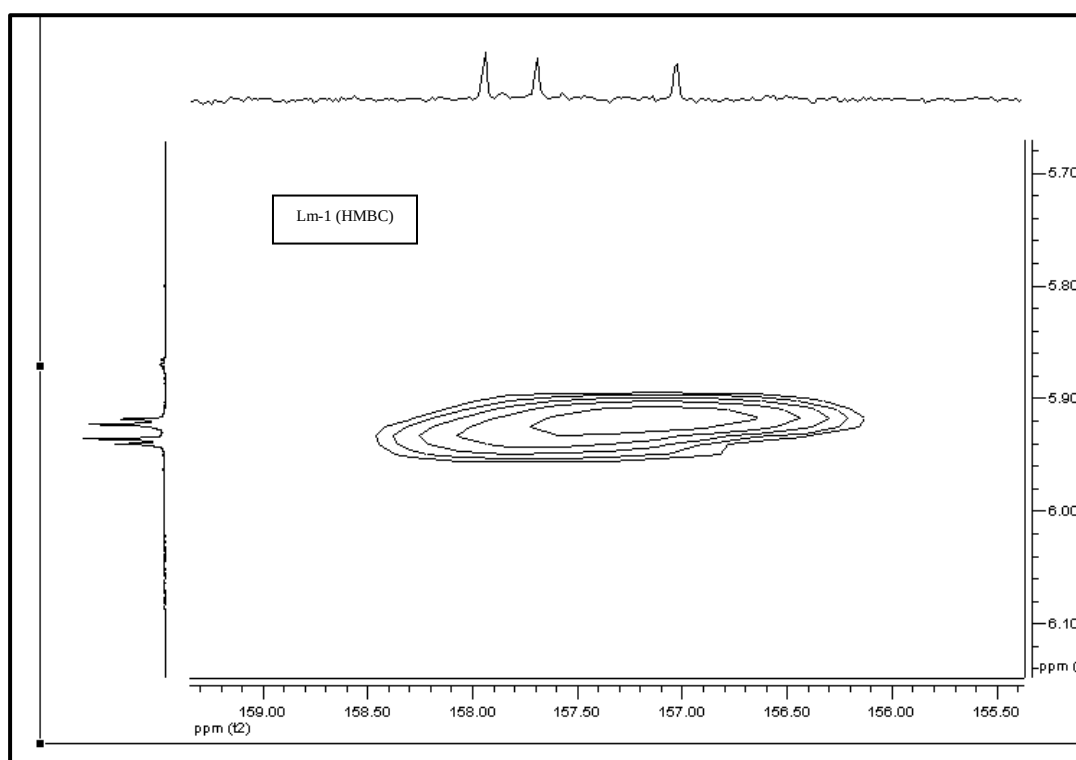


FIGURA 30 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 5,7-6,2 x 155-160 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

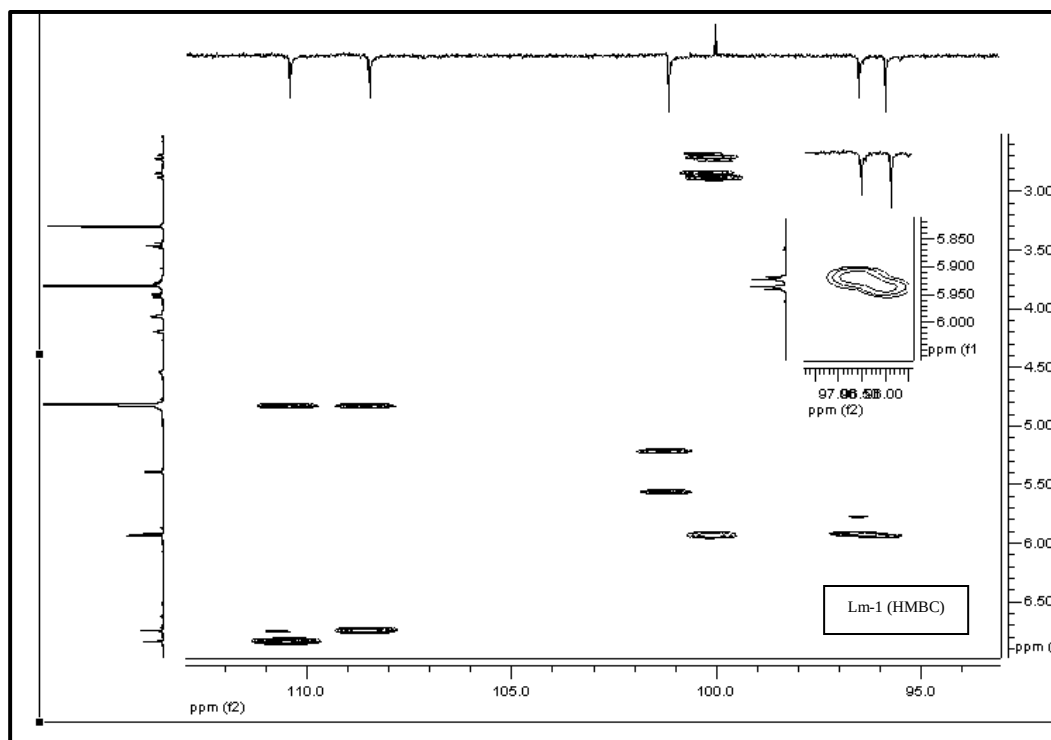


FIGURA 31 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 2,5-6,8 x 94-113 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

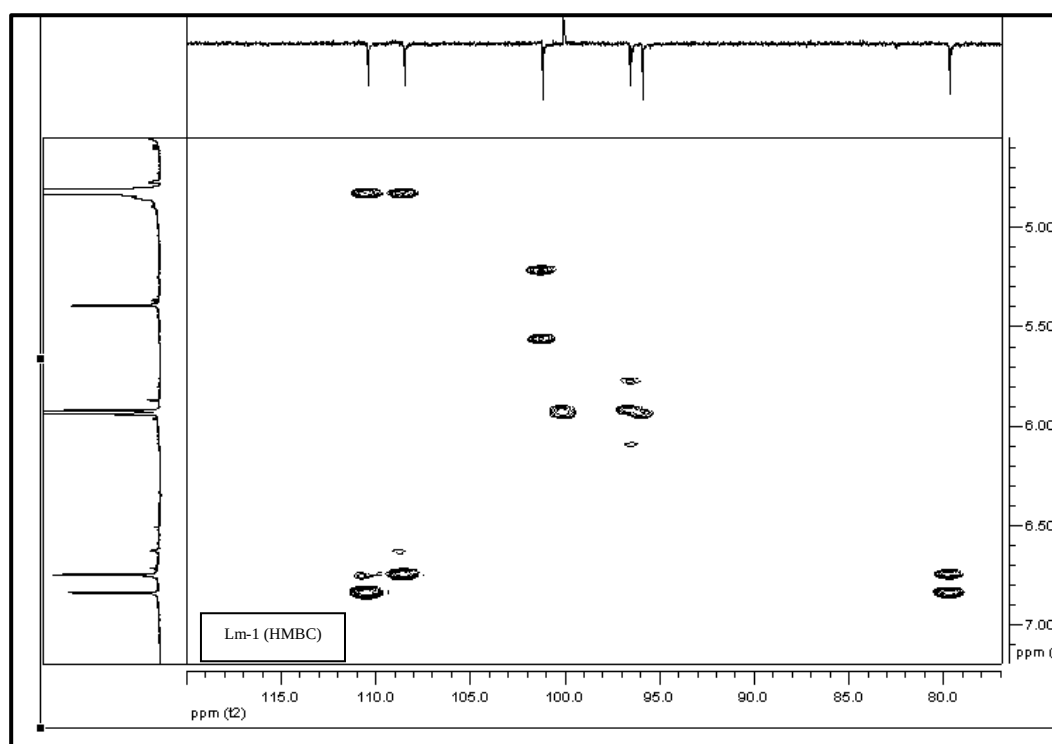


FIGURA 32 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 4,5-7,3 x 80-120 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

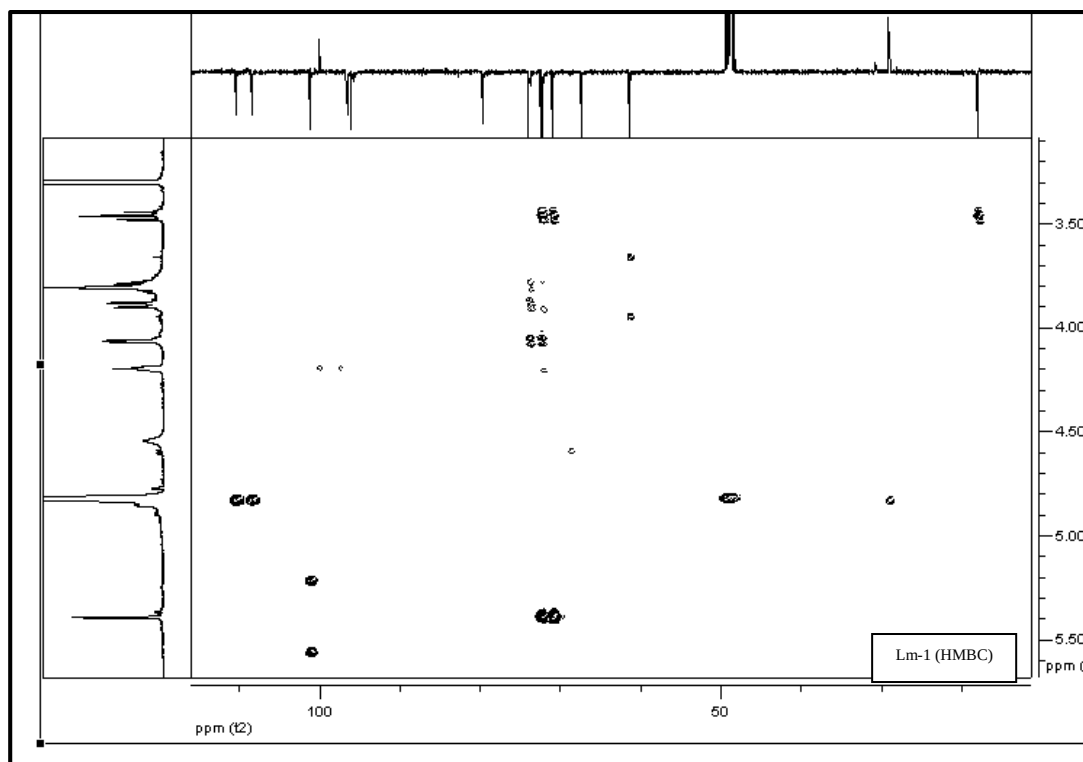


FIGURA 33 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 2,5-5,2 x 10-115 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

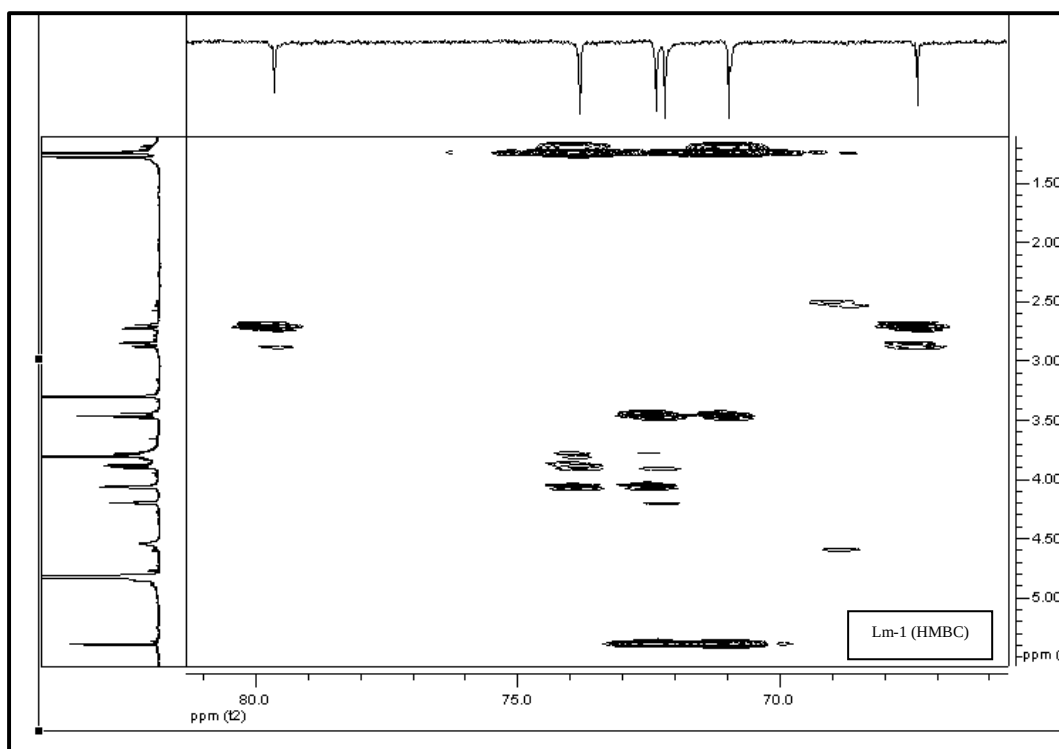


FIGURA 34 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-1** na região entre δ 1,5-5,5 x 65-82 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

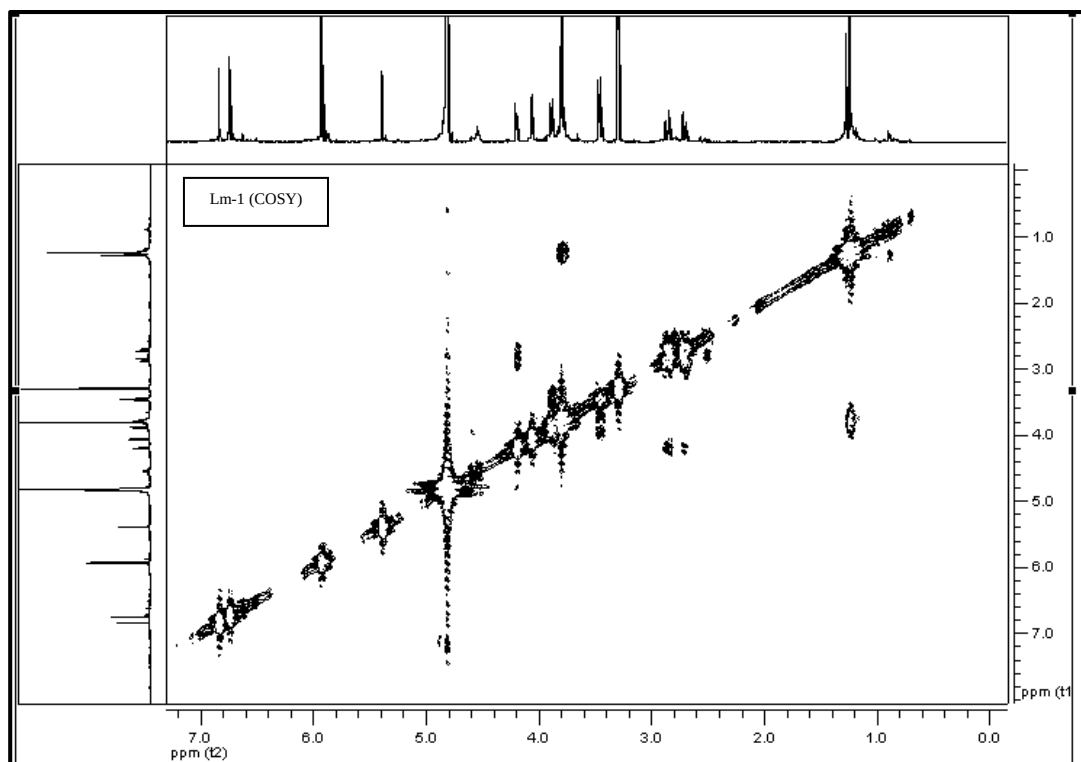


FIGURA 35 Espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

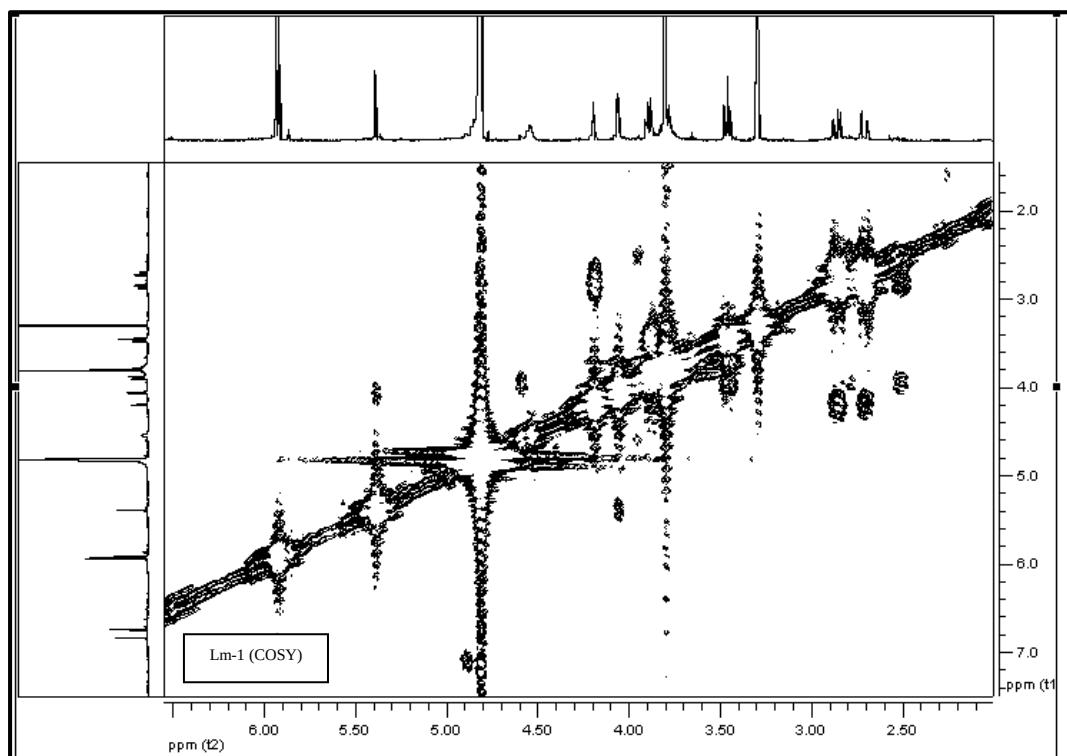


FIGURA 36 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

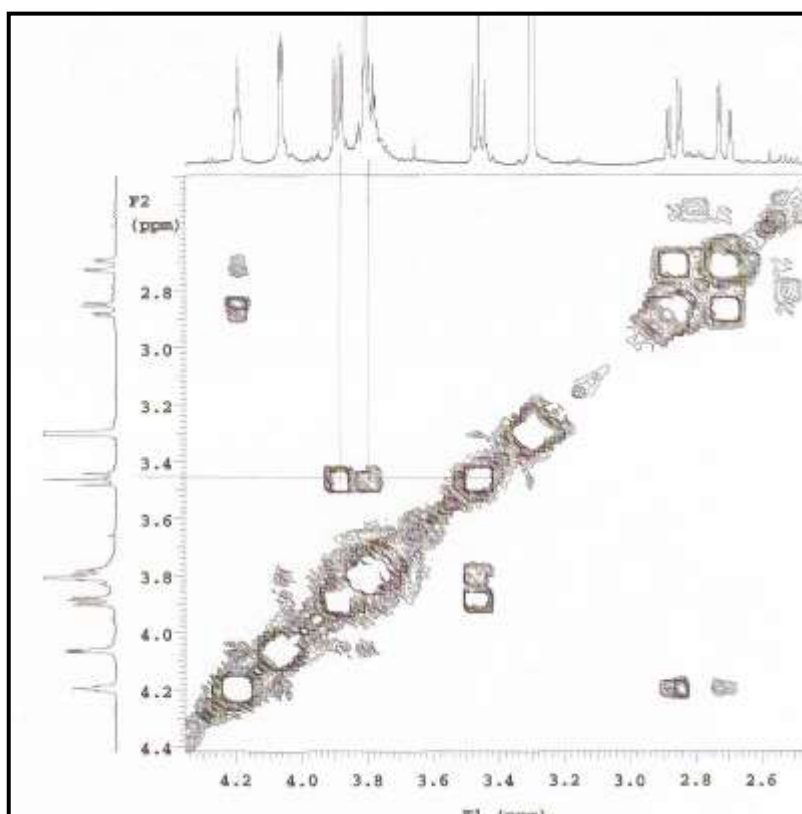


FIGURA 37 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

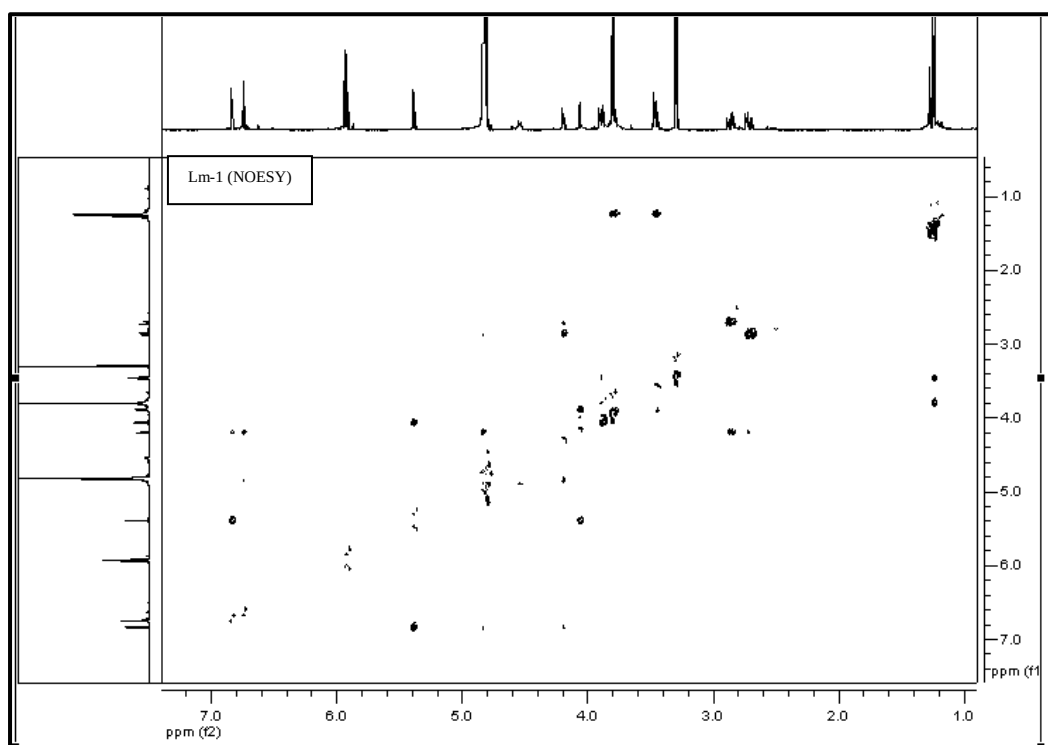


FIGURA 38 Espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-1** (500 MHz, CD_3OD).

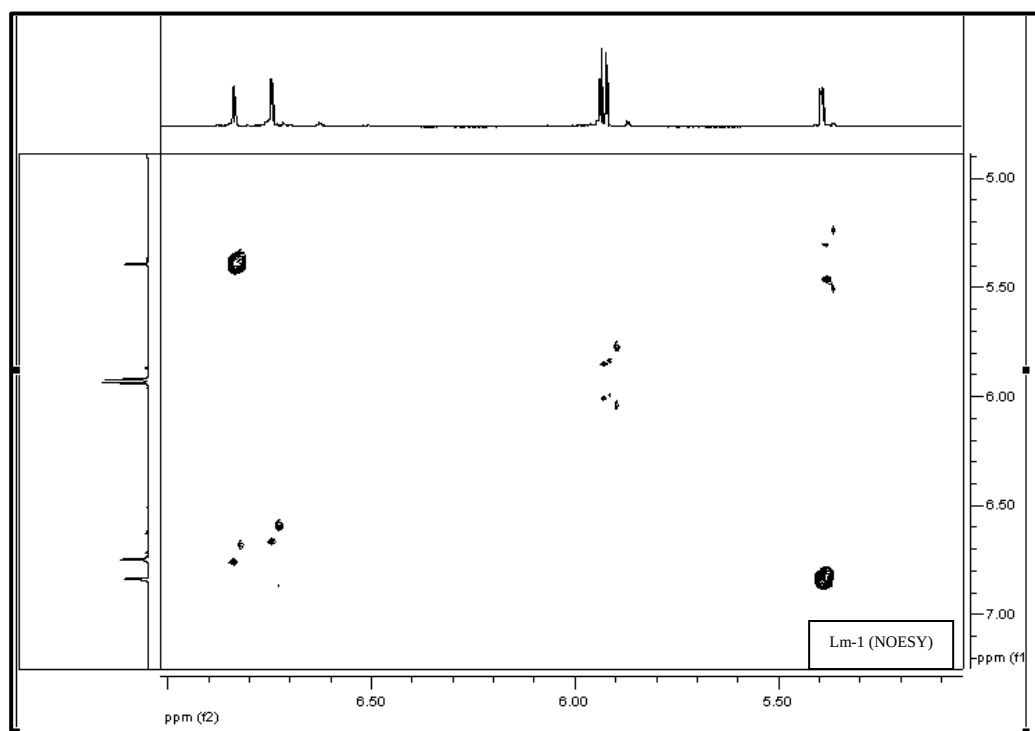


FIGURA 39 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-1** na região entre δ_{H} 5,0-7,0 x 5,0-7,0 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

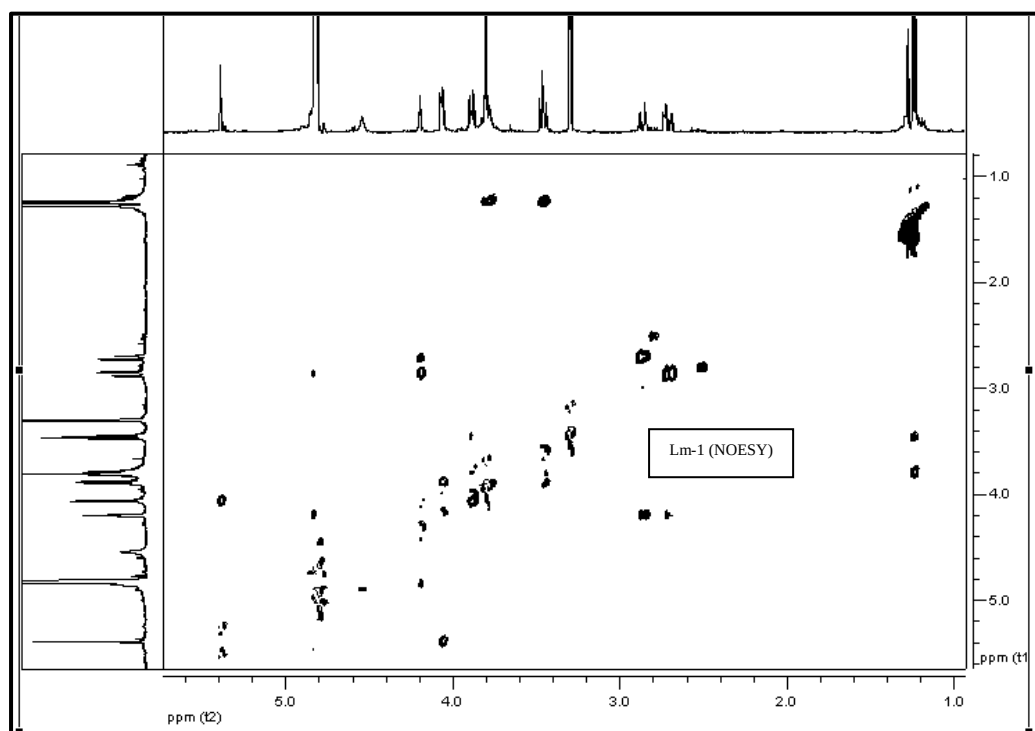


FIGURA 40 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-1** na região entre δ 1,0-5,3 x 1,0-5,3 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

4.3.1.2 Identificação Estrutural de Lm-2

A substância codificada como **Lm-2** apresentou-se como pó vermelho amorfo, solúveis em metanol.

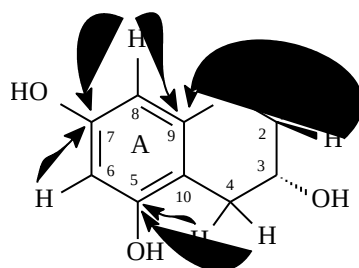
O espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de **Lm-2** (FIGURA 41, p.100) apresentou um total de 14 sinais, sendo os sinais em δ_{C} 151,36 e 107,18 proporcionais a dois carbonos equivalentes cada. Através dos valores de deslocamentos químicos foi possível atribuir oito sinais a carbonos não hidrogenados, seis a carbonos metínicos, um a carbono metilênico e um metoxílico. A presença de sinais característicos de carbonos aromáticos entre δ_{C} 157,97 e 95,90 (FIGURA 42 e 43, p.100 e 101), juntamente com os sinais de carbonos oximetínicos em δ_{C} 79,67 e 67,39 sugeriram a estrutura de um flavonóide para **Lm-2**. Semelhante a Lm-1, a presença dos sinais norteadores em δ_{C} 79,67 e 67,39 compatíveis com os carbonos C-2 e C-3, respectivamente e do sinal característico de carbono metilênico em δ_{C} 29,16 (FIGURA 44, p.101, juntamente com a ausência de sinal referente a carbono carbonílico e comparação dos deslocamentos químicos de Lm-2 com valores reportados na literatura (HUSSEIN, 1999) foi proposto uma estrutura de um flavonóide do tipo flavanol para **Lm-2**.

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **Lm-2** (FIGURA 45, p.102) e sua expansão (FIGURA 46, p.102) apresentou três sinais característicos de hidrogênios aromáticos: δ_{H} 6,52 (s, 2H); 5,94 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) e 5,92 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), corroborando com a estrutura de flavonóide para **Lm-2**. Os valores de deslocamento químico em conjunto com as constantes de acoplamentos apresentadas pelos dois dupletos ($J = 2,0$ Hz), foram condizentes com acoplamento meta em anel A de flavonóides, permite inferir um padrão 5,7,9,10-tetrassubstituído para esse anel. Por outro lado, o simpleto em δ_{H} 6,52 com integração para dois hidrogênios permitiu inferir um anel B tetrassubstituído nas posições 1', 3', 4' e 5' (REGASINI, 2008). Além desses sinais foram observados dois duplos dupletos em δ_{H} 2,84 (dd, $J = 4,5$ e 17Hz, 1H) e 2,72 (dd, $J = 2,5$ e 17Hz, 1H) (FIGURA 43, p.100), característicos de hidrogênios metilênicos-benzílico em esqueleto de flavanol (PIACETE, 1999). Ainda observou-se um simpleto largo em δ_{H} 4,78 (1H) e um multipeto em δ_{H} 4,18 (FIGURA 47, p.103), característicos dos hidrogênios H-2 e H-3, respectivamente, de esqueleto flavanol (HUSSEIN, 1999). A presença do simpleto em δ_{H} 3,79 (3H), corroborou para a existência de um grupo metoxílico.

Através da análise do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (500 MHz, CD_3OD) de **Lm-2** (FIGURA 48, p.103) e comparações dos deslocamentos químicos de Lm-2 com valores reportados na literatura (HUSSEIN, 1999) foram possíveis assinalar os carbonos metínicos, metilênico e metoxílico (TABELA 2, p.99).

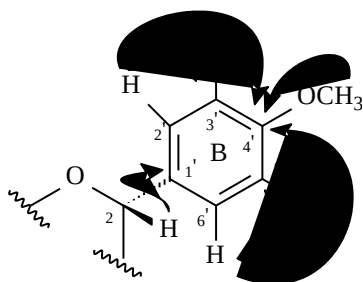
Diante do exposto, o grupo metoxílico pode apresenta-se no anel A (C-5 ou C-7), no anel B (C-3', C-4' ou C-5') ou ainda no anel C (C-3). Para determinar a sua posição lançou-se mão de experimento HMBC. O espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (500 MHz, CD_3OD) de **Lm-2** (FIGURA 52, p.106) e suas expansões permitiram assinalar inequivocamente todos os carbonos não hidrogenados de **Lm-2**.

Para o anel A foram observados as seguintes correlações: entre os sinais em δ_{H} 4,79 (H-2) com δ_{C} 157,16 confirmando o carbono C-9 (FIGURA 53, p.106), assim como a correlação de C-9 (δ_{C} 157,16) com δ_{H} 5,92 (FIGURA 54, p.106) confirmou o hidrogênio H-8, que por sua correlação direta (HMQC) confirmou o sinal em δ_{C} 95,90 para C-8. Através da correlação dos sinais em δ_{H} 2,72 e 2,84 de H-4 (FIGURA 55, p.107) com o sinal em δ_{C} 157,68 (^3J) confirmou o deslocamento químico do carbono C-5. Assim, a correlação entre o sinal em δ_{H} 5,94 atribuído a H-6 por eliminação, com o sinal em δ_{C} 157,97 (FIGURA 54, p.106) permitiu atribuí-lo ao carbono C-7.



Correlações observadas no espectro HMBC que definiu o anel A

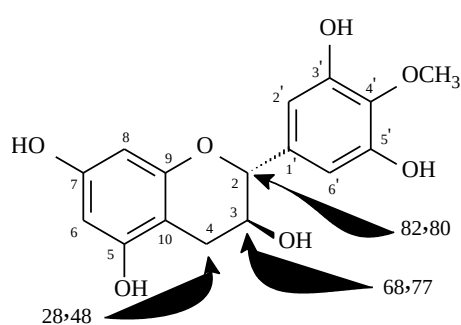
As correlações entre o sinal δ_{H} 6,52 (H-2' e H-6') com os sinais em δ_{C} 151,36 (^2J) e 136,10 (FIGURA 52, p.105), confirmaram o primeiro deslocamento químico para o carbono C-3' e C-5' e o segundo para os carbonos C-4' ou C-1'. A correlação entre δ_{H} 3,79 ($-\text{OCH}_3$) com δ_{C} 136,10 confirmou o deslocamento químico do carbono C-4', bem como sugeriu a ligação do grupo metoxílico no carbono C-4'. Ainda foi observado a correlação entre δ_{H} 4,79 (H-2) com δ_{C} 136,58 (FIGURA 56, p.107), confirmando o deslocamento químico do carbono C-1'.



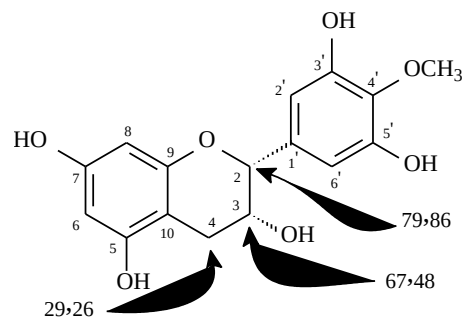
Correlações observadas no espectro HMBC que definiu o anel B

A definição da estereoquímica relativa para os centros quirais no anel C foi estabelecida por comparações de deslocamentos químicos de carbonos de **Lm-2** com valores da literatura (AGRAWAL, 1989). Foram observadas as seguintes variações de deslocamentos químicos de **Lm-2** em relação ao seu epímero (+)-epicatequina: para C-2 ($\Delta\delta - 3,13$), C-3 ($\Delta\delta - 1,38$) e C-4 ($\Delta\delta + 0,68$), de acordo também com outras literaturas (LÔBO, 2008; RUSSEIN, 1999) confirmando assim que **Lm-2** como **(-)-4'-O-metil-epigallocatequina**.

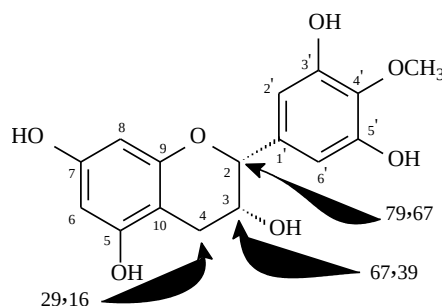
Todas as correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC observadas nas FIGURAS 52-59, p.104-108, estão compiladas na TABELA 2, p.99.



(+) - epicatequina



(-) – epicatequina



(-)-4'-O-metil-epigallocatequina (Lm-2)

TABELA 2 Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de **Lm-2**

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY
	δ_{H}	δ_{C}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
5		157,97			
7		157,68			
9		157,16			
10		100,07			
1'		136,58			
3'		151,36			
4'		136,10			
5'		151,36			
CH					
2	4,79 (1H)	79,67	C-1'	C-2' e C-6'	4ax
3	4,18(1H, m)	67,39			
6	5,94 (1H, d, $J = 2,5$)	96,46	C-5, C-7	C-8, C-10	
8	5,92 (1H, d, $J = 2,0$)	95,90	C-7, C-9	C-6, C-10	
2'	6,52 (2H, s)	107,18	C-1', C-3'	C-2, C-4', C-6'	
6'	6,52 (2H, s)	107,18	C-1', C-5'	C-2, C-4', C-2'	
CH₂					
4ax	2,84 (1H, dd, $J = 4,5$ e 17)	29,16	C-10		4eq
4eq	2,72 (1H, dd, $J = 2,5$ e 17)		C-3, C-10	C-2,	4ax
OCH₃					
	3,79 (3H, s)	60,76		C-4'	

RMN (500 MHz, J em Hz; CD₃OD)

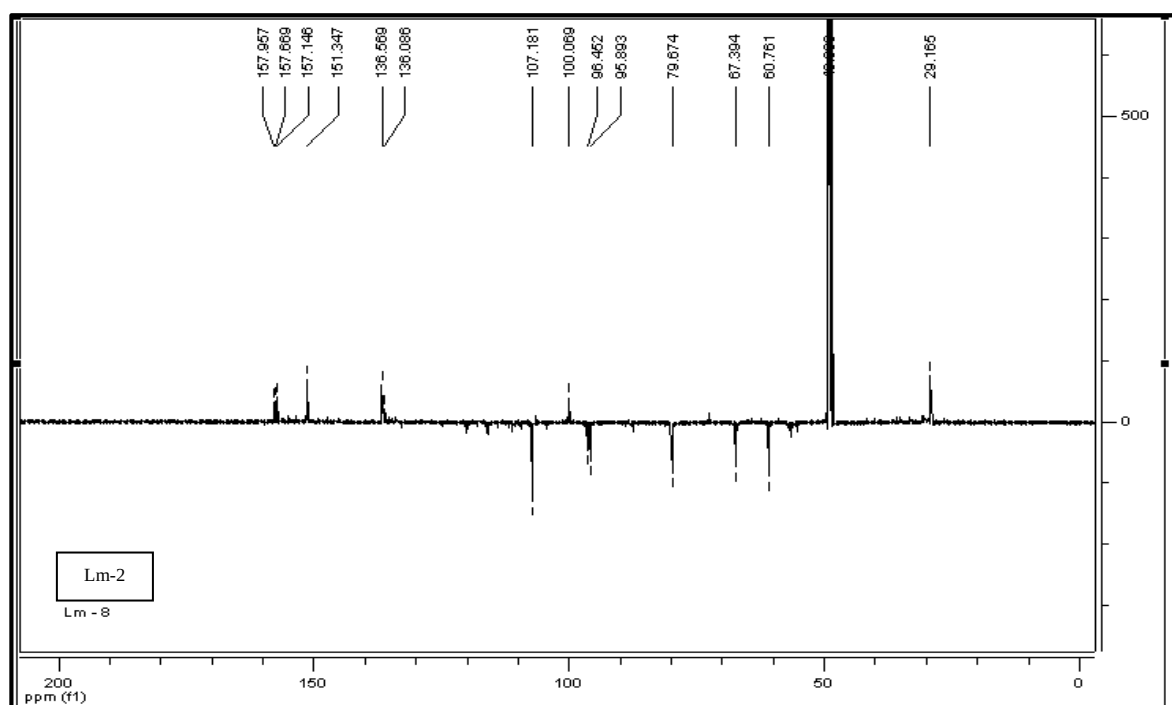


FIGURA 41 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-2** (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

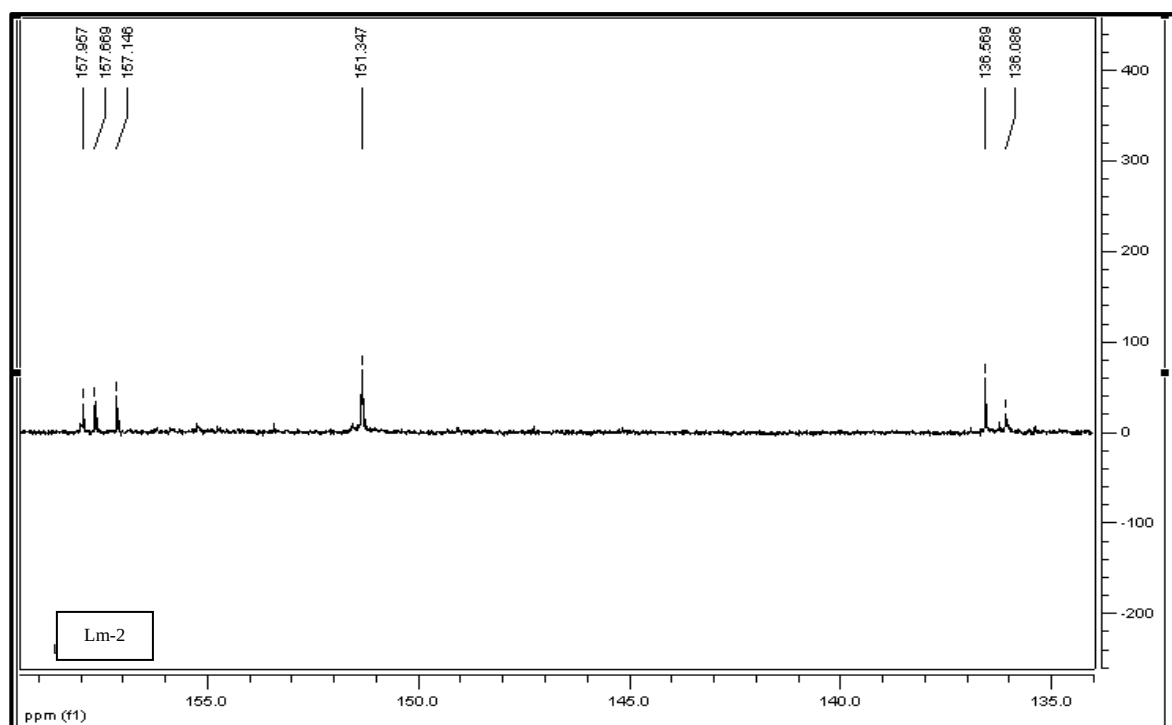


FIGURA 42 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-2** na região entre δ_{C} 135-160 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

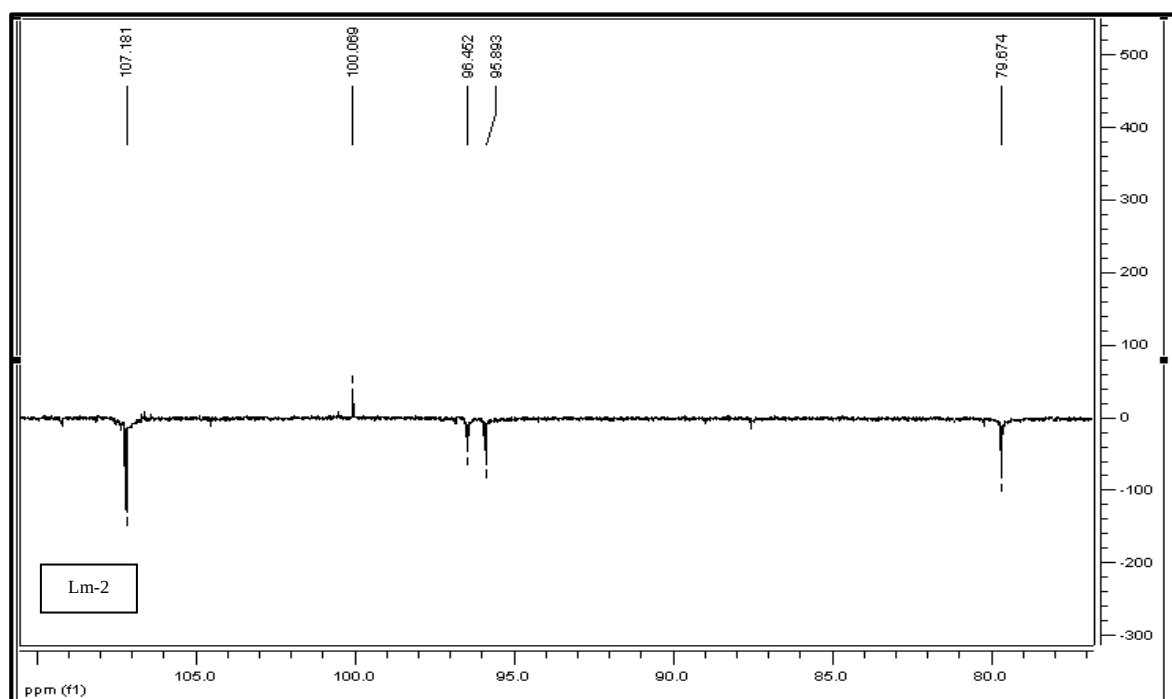


FIGURA 43 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-2** na região entre δ_{C} 78-110 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

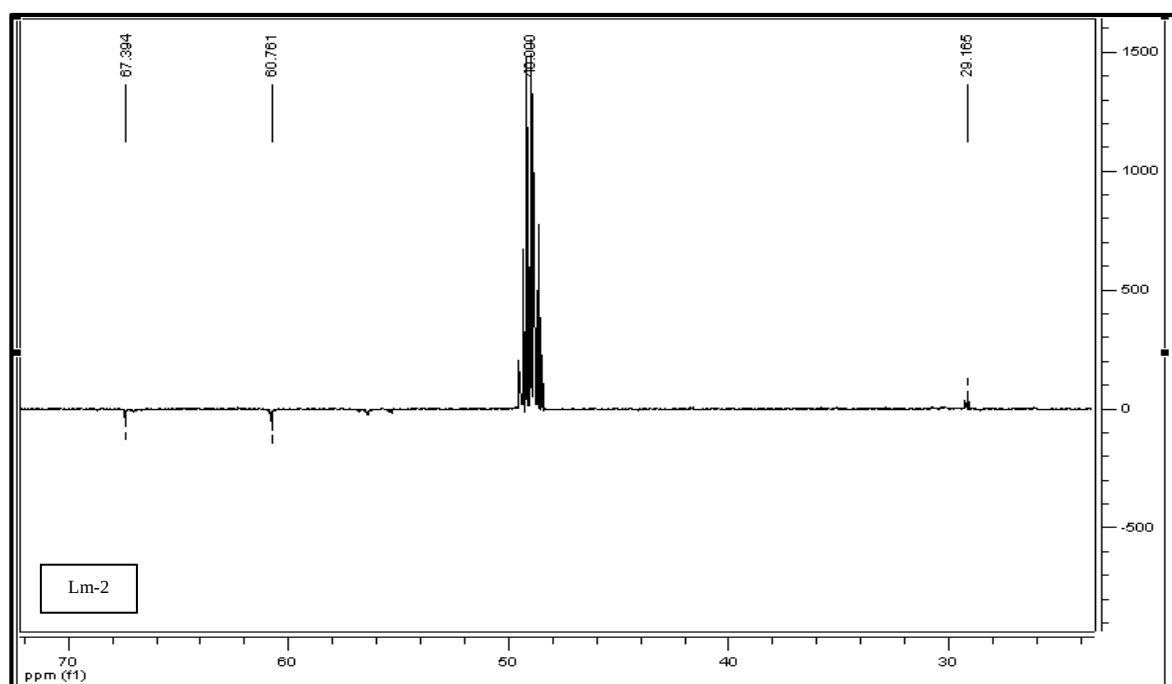


FIGURA 44 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-2** na região entre δ_{C} 25-70 (125 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

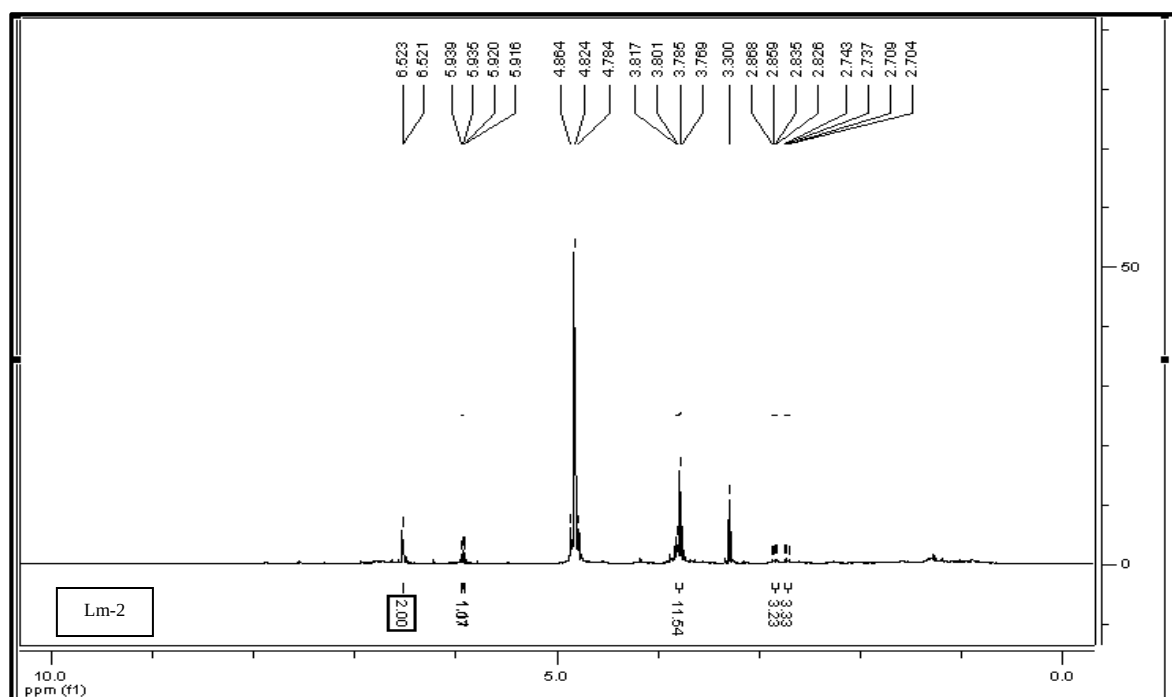


FIGURA 45 Espectro de RMN ^1H de **Lm-2** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

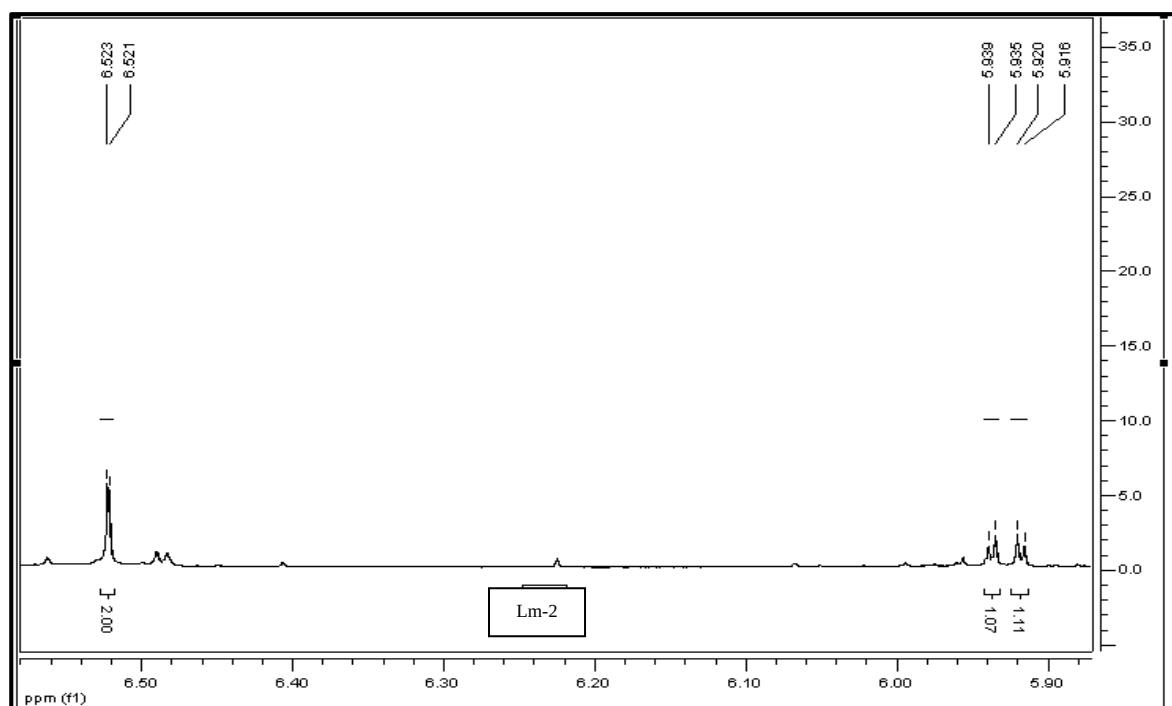


FIGURA 46 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-2** na região entre δ_{H} 5,8-5,6 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

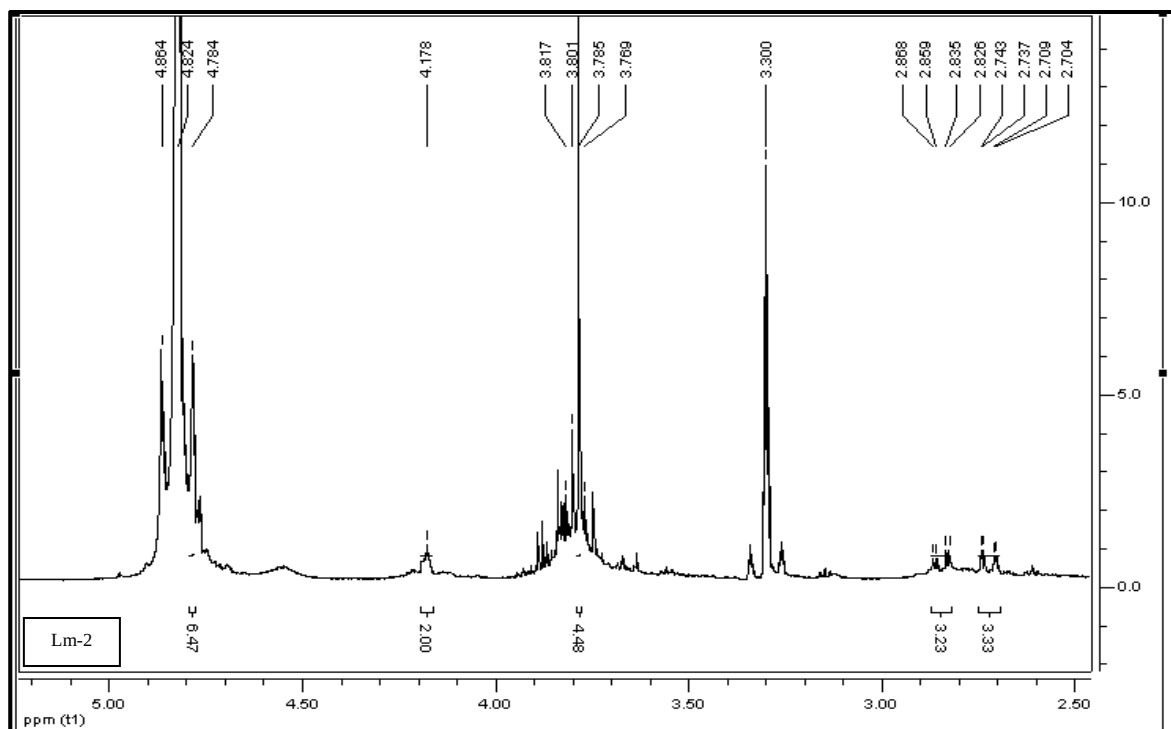


FIGURA 47 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-2** na região entre δ_{H} 2,5-5,0 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

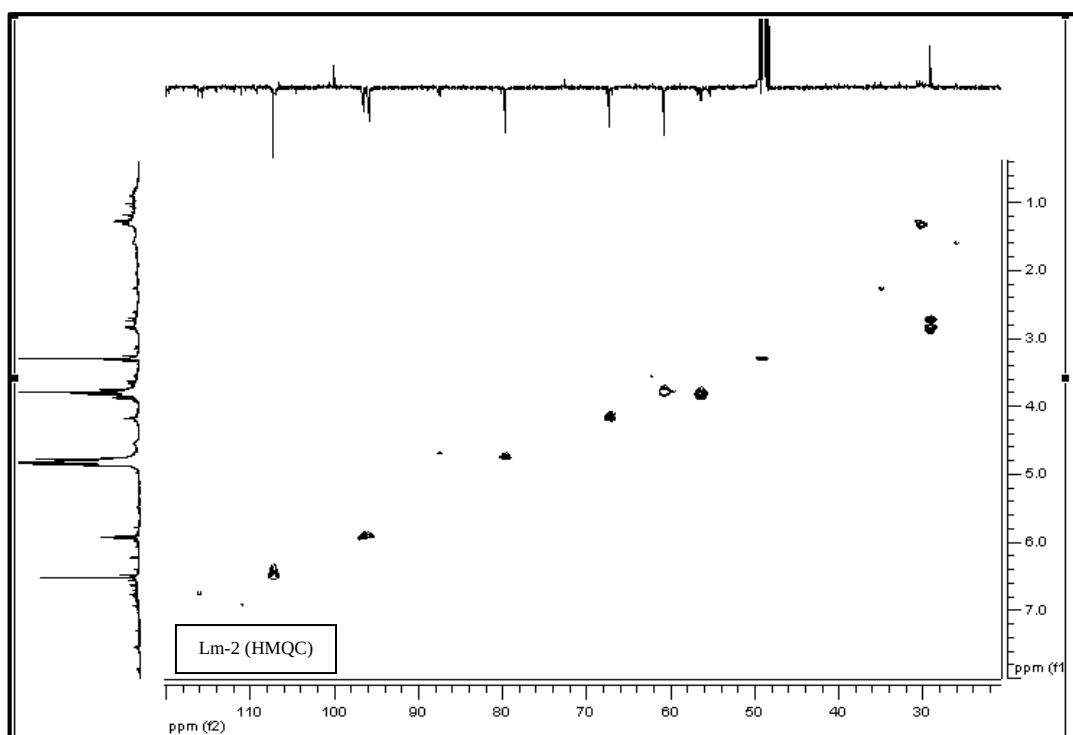


FIGURA 48 Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-2** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

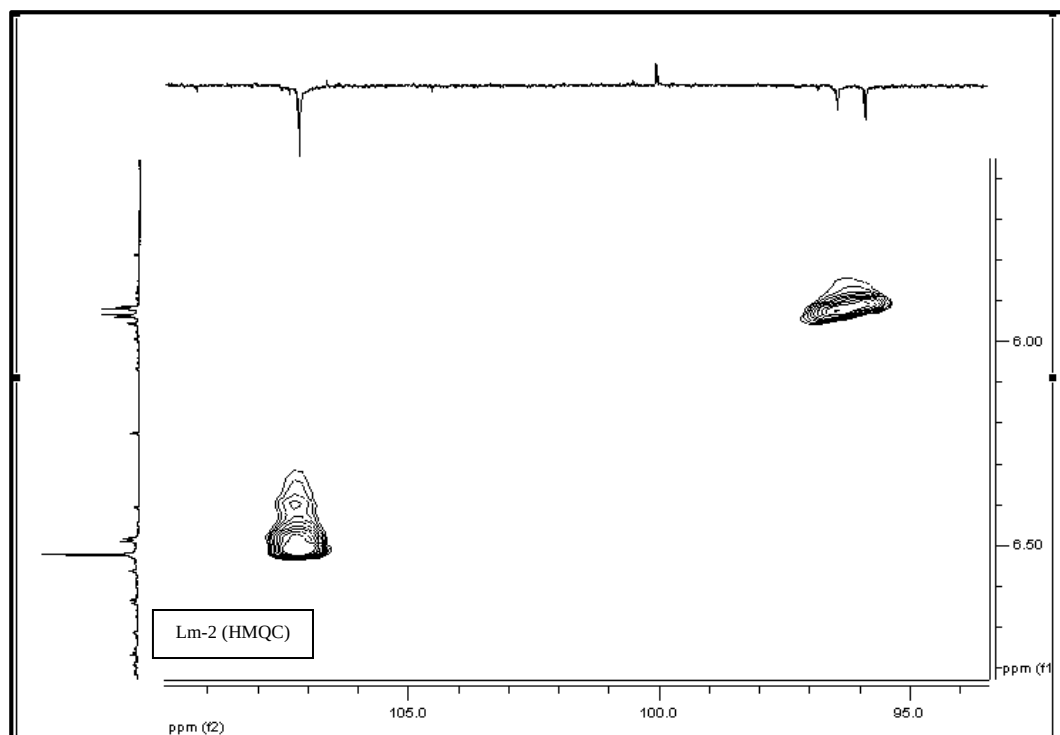


FIGURA 49 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-2** na região entre δ 5,5-6,8 x 94-110 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

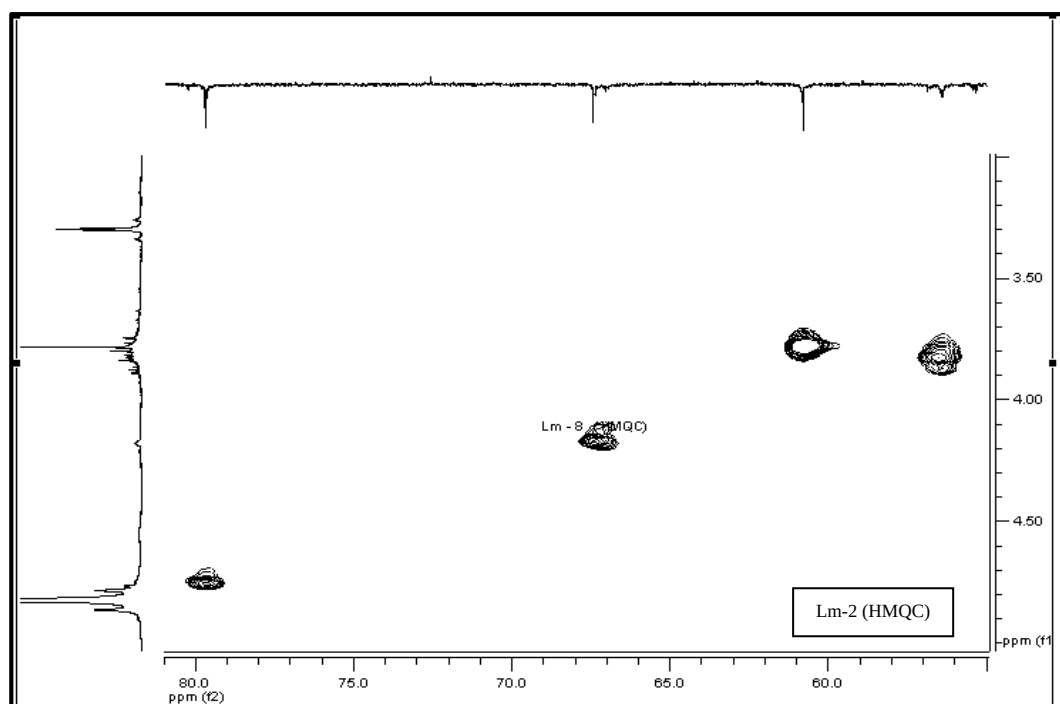


FIGURA 50 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-2** na região entre δ 3,0-5,0 x 55-80 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

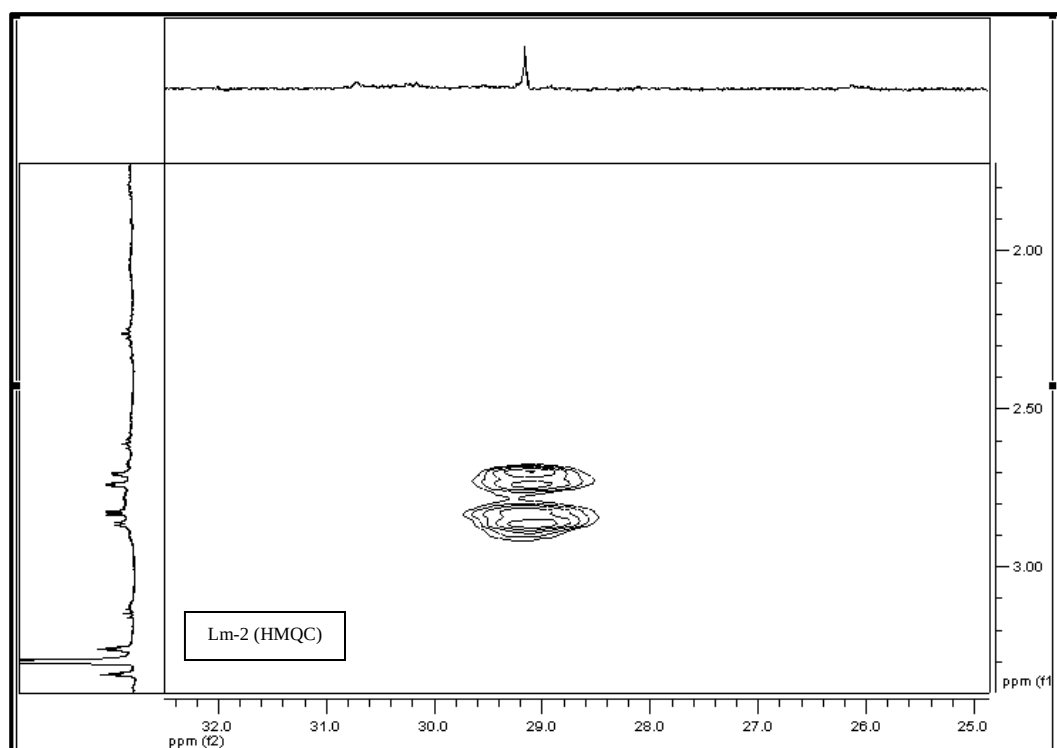


FIGURA 51 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-2** na região entre δ 2,0-3,5 x 25-35 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

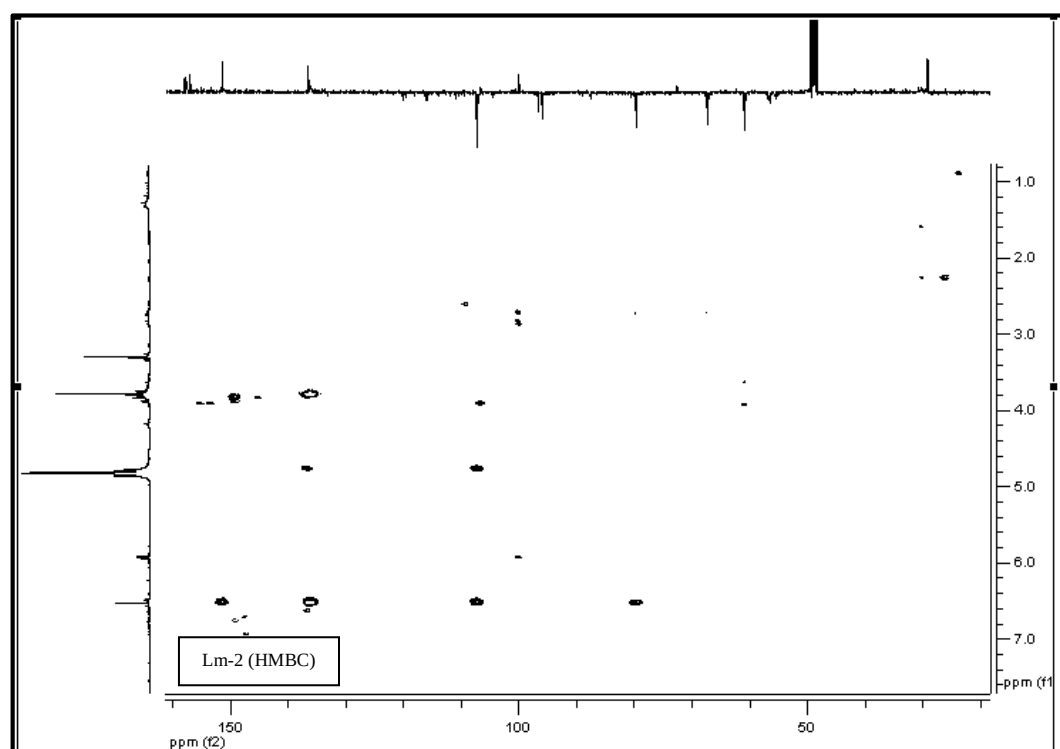


FIGURA 52 Espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de **Lm-2** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

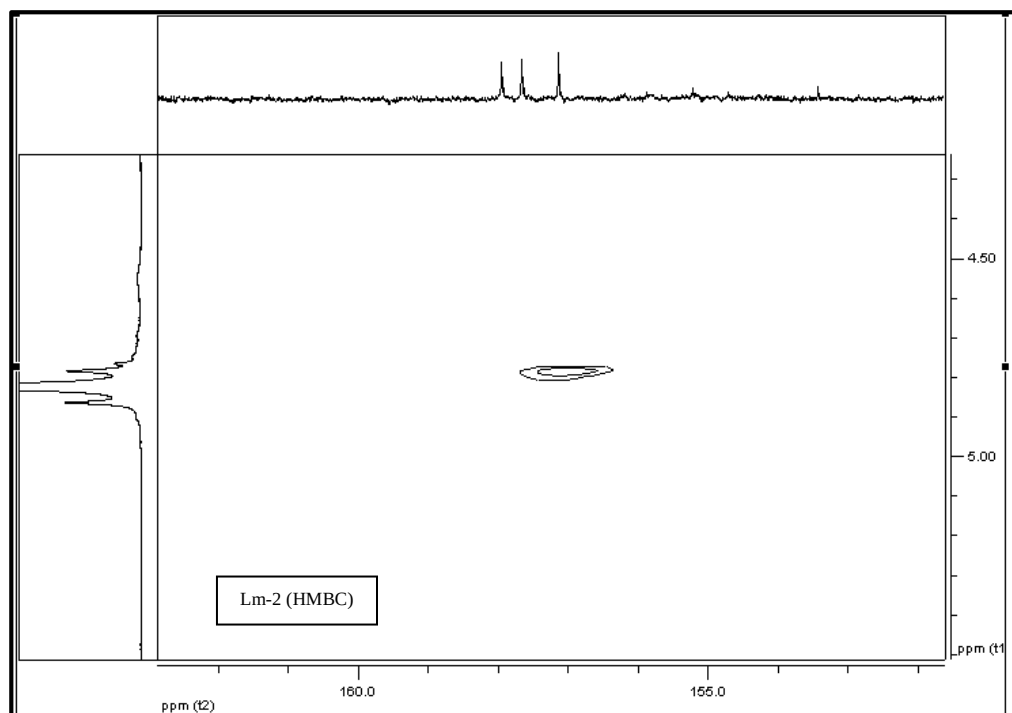


FIGURA 53 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 4,5-5,5 x 150-163 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

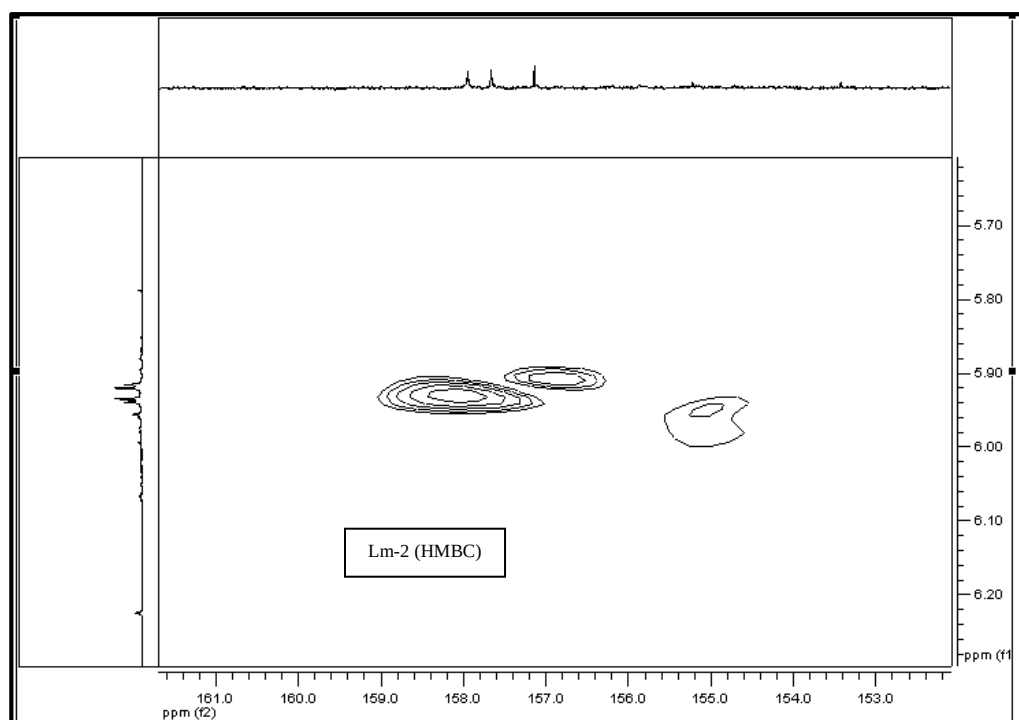


FIGURA 54 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 5,6-6,3 x 152-162 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

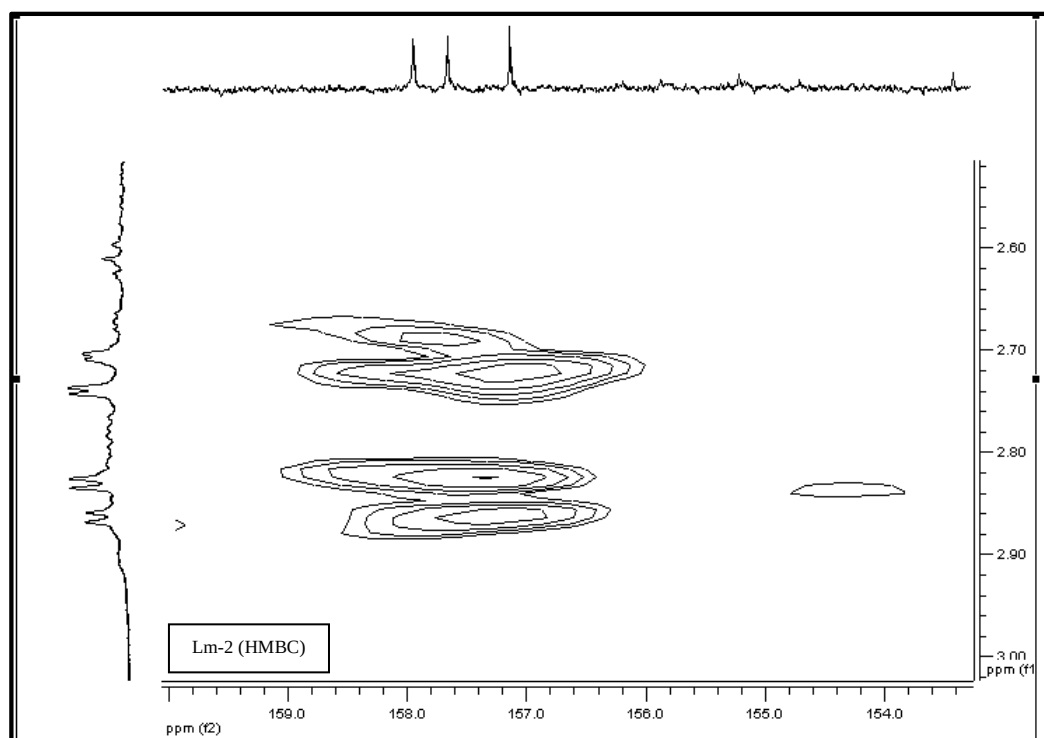


FIGURA 55 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 2,5-3,0 x 150-160 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

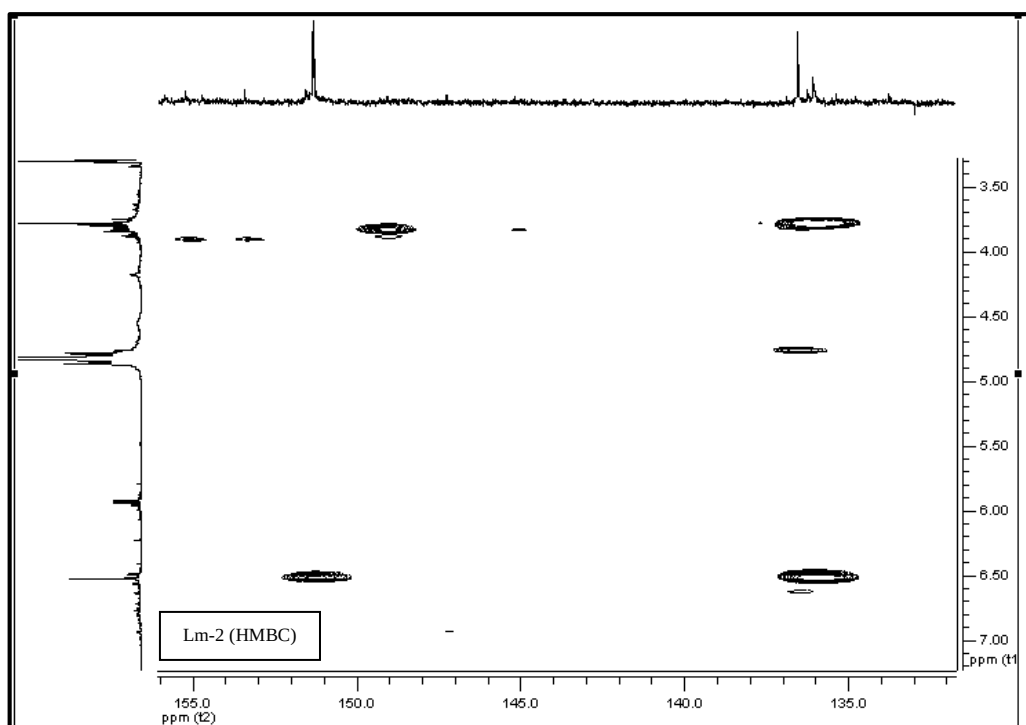


FIGURA 56 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 3,5-7,0 x 130-156 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

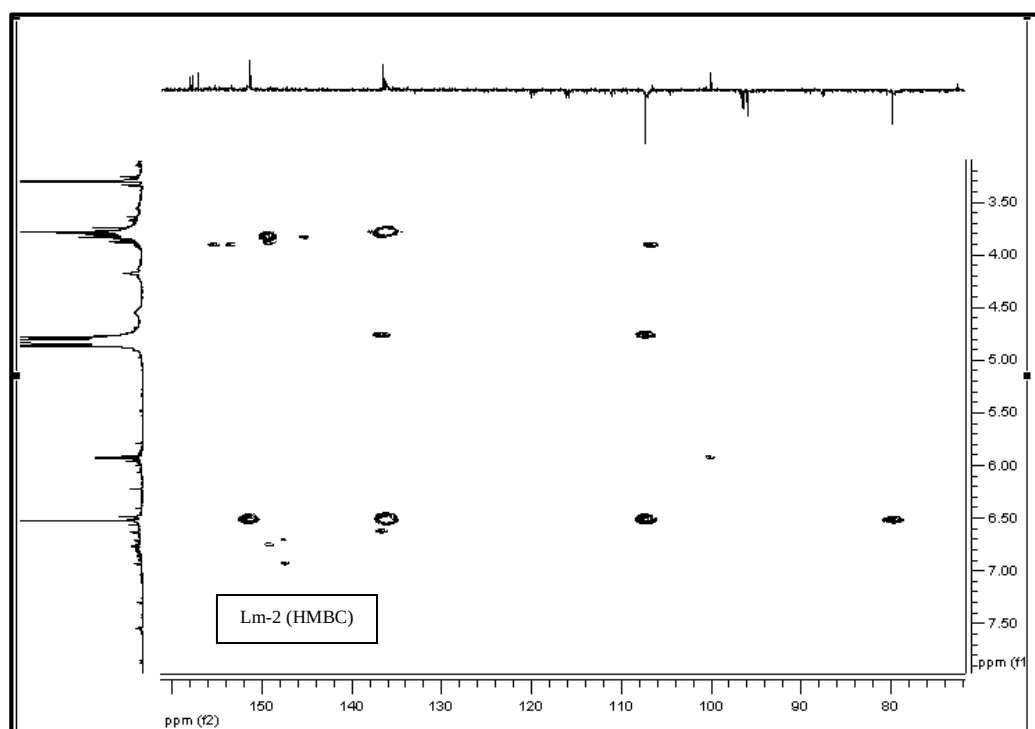


FIGURA 57 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 3,5-7,5 x 80-155 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

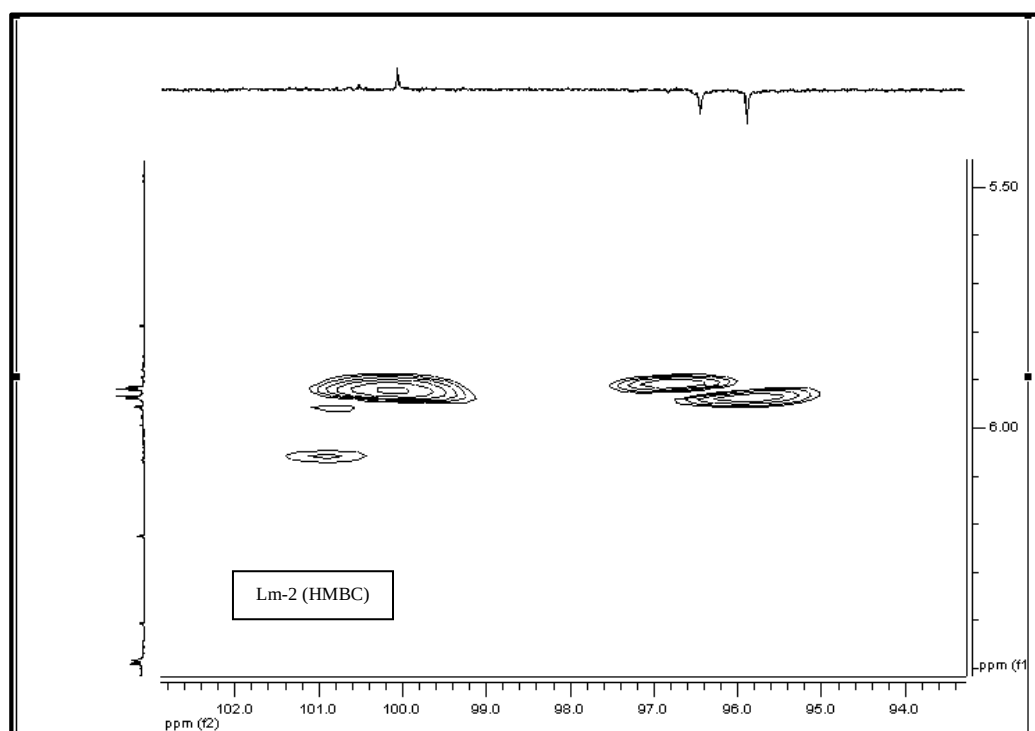


FIGURA 58 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 5,6-6,0 x 94-102 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

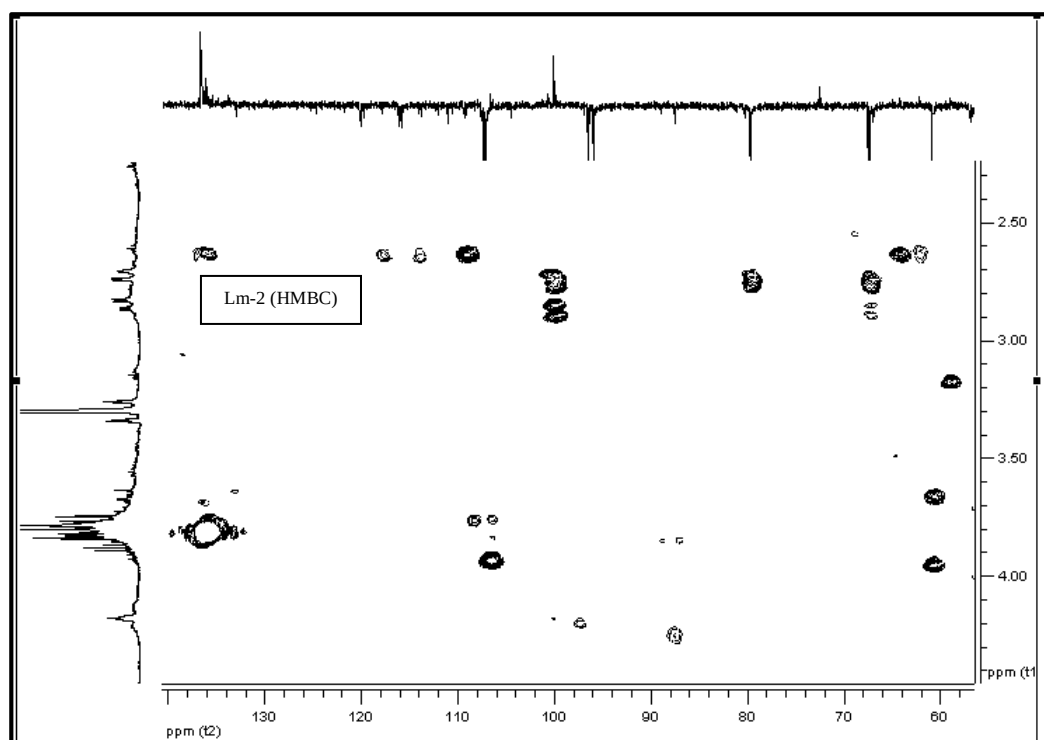


FIGURA 59 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-2** na região entre δ 2,3-4,5 x 60-140 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

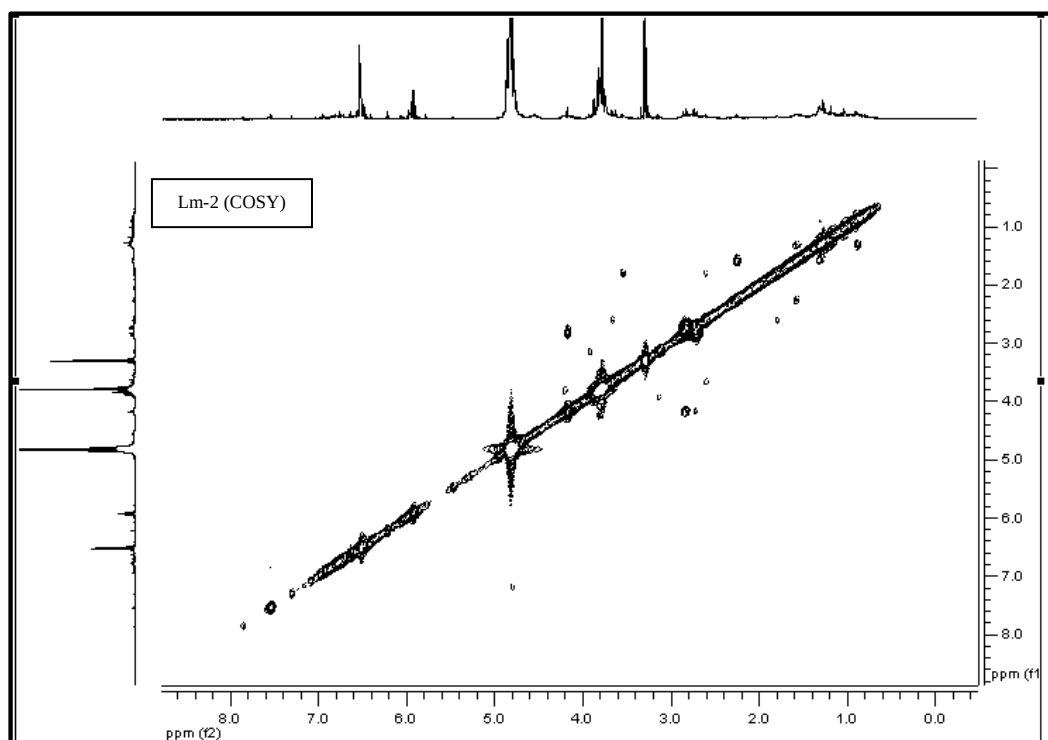


FIGURA 60 Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de **Lm-2** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm)

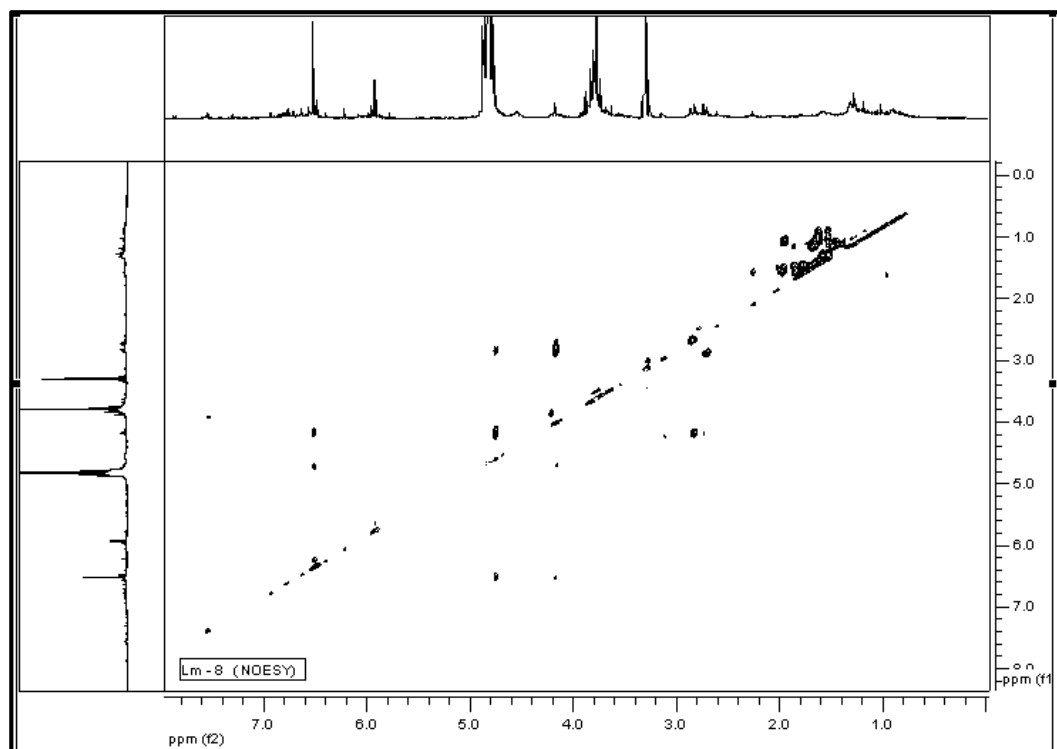


FIGURA 61 Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de **Lm-2** (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

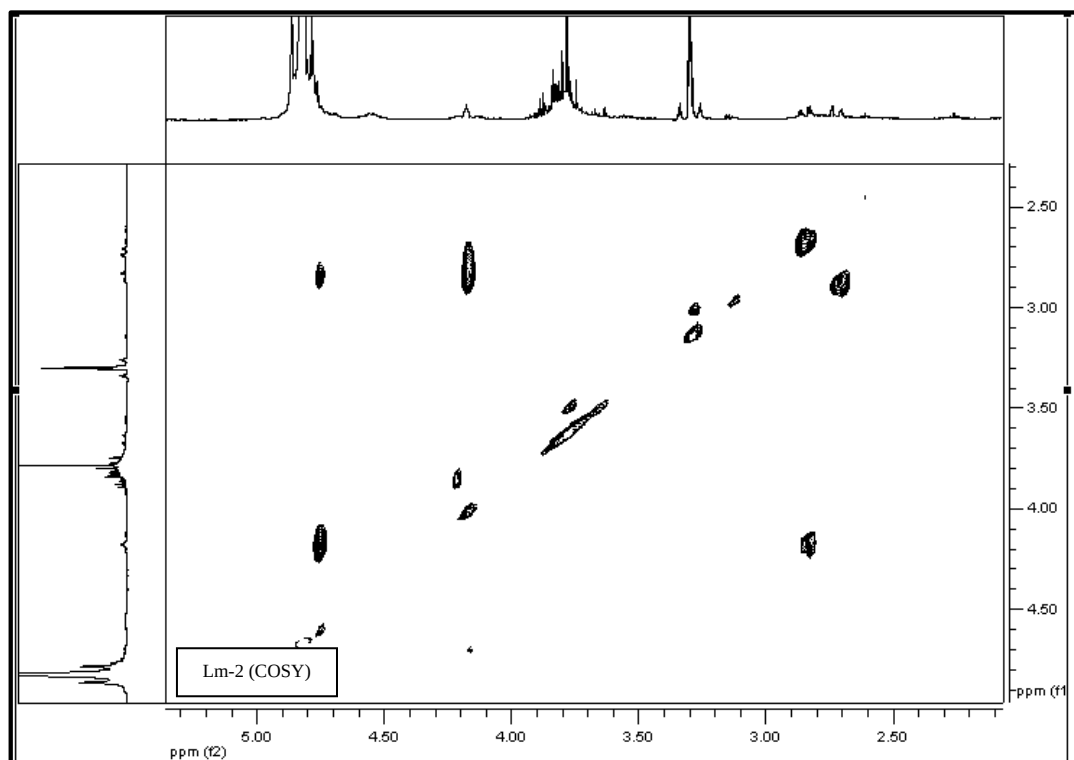


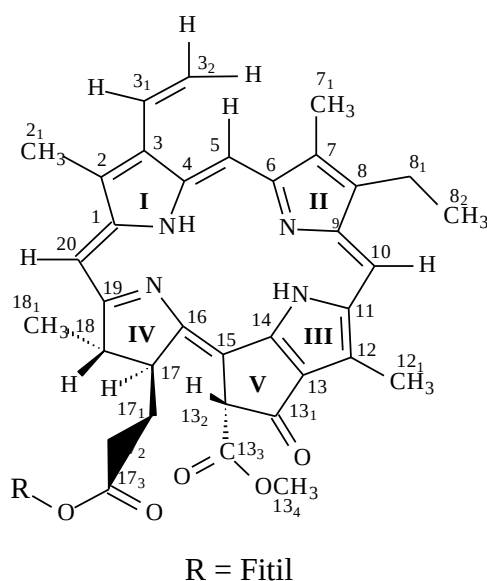
FIGURA 62 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de **Lm-2** na região entre δ_{H} 2,5-5,0 x 2,5-5,0 (500 MHz, CD_3OD , δ em ppm).

4.3.2 Identificação Estrutural das Feofitinas das folhas de *Licania macrophylla*

4.3.2.1 Identificação Estrutural de Lm-3

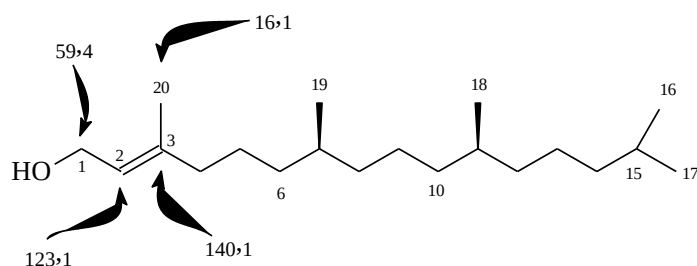
O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Lm-3** (FIGURA 63, p.117) revelou um conjunto de absorções característicos de núcleo porfirínico das feofitinas: foram observados três sinais de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 9,48 (s, 1H); 9,34 (s, 1H) e 8,53 (s, 1H) (FIGURA 64, p.117), condizentes com os hidrogênios 10, 5 e 20, respectivamente, de núcleo porfirínico de feofitina (JERZ, 2007, SILVA, 2006a). Também observou-se três sinais em δ_{H} 7,96 (dd, $J = 18,0$ e $11,2$ Hz, 1H); 6,26 (E) (dd, $J = 18,0$ e $1,4$ Hz, 1H) e 6,15 (Z) (dd, $J = 11,2$ e $1,4$ Hz, 1H) (FIGURA 65, p.118), compatíveis com os hidrogênios vinílicos 3^1 (1H) e 3^2 (2H); três sinais de metilas olefínicas em δ_{H} 3,66 (s, 3H), 3,38 (s, 3H) e 3,20 (s, 3H) (FIGURA 66, p.118), compatíveis com as metilas 12^1 , 2^1 e 7^1 , respectivamente (TOMAZ, 2008). Adicionalmente, observou-se os sinais em δ_{H} 3,89 (s, 3H), característico do grupo metoxílico; dois sinais em δ_{H} 3,64 (m) e 1,67 (m) (FIGURA 67, p.119), compatível com o grupo etil ligado a C-8 (TOMAZ, 2008, SILVA, 2006a).

Além dos dados apresentados observou-se ainda sinais característicos de hidrogênios do fitol: em δ_{H} 5,10 (H-2', m); 4,43 (H-1', m) (FIGURA 66, p.118); 1,66 (H-20, s) e 0,82 (d, $J = 6,6$ Hz) (FIGURA 67, p.119). Esses dados sugeriram a estrutura da feofitina A para **Lm-3**.

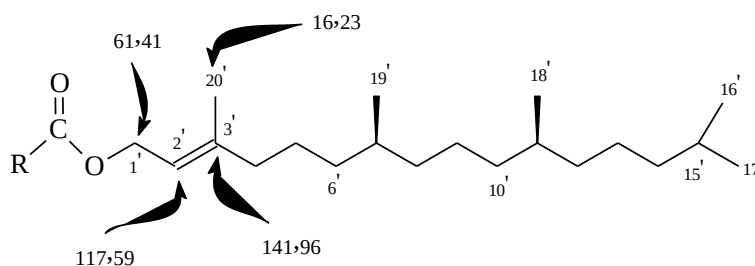


Estrutura química da Feofitina A

O espectro de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de **Lm-3** (FIGURA 68,p.119) apresentou um total de 55 absorções, compatíveis com o total de sinais das feofitinas. Foram observados sinais característicos de carbonos carbonílicos em δ_{C} 189,61; 172,90 e 172,17 (FIGURA 69, pág.120), característicos dos carbonos C-13¹, C-13³ e C-17³, respectivamente; Corroborando com a estrutura da **feofitina A** foram observados sinais típicos de carbonos olefínicos ligados a nitrogênio em anel porfirínico: δ_{C} 169,56; 161,17; 155,58; 150,90; 149,57; 145,16; 142,82; 137,84; 136,21 (FIGURA 69 e 70, p.119), atribuídos aos carbonos C-19, C-16, C-6, C-9, C-14, C-8, C-1, C-11 e C-4, respectivamente (MATSUO, 1996), além dos sinais de carbonos metínicos, metilênicos e metílicos, assinalados por interpretação do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC e compilados na TABELA 3, p.116. Foram observados ainda sinais característicos do grupo fitil éster, em δ_{C} 141,96; 117,59 (FIGURA 70, p.120); 61,41 (FIGURA 71, p.121) e 16,23 (FIGURA 73, p.122), atribuídos as carbonos C-3', C-2', C-1' e C-20', respectivamente, indicativo da esterificação pelos efeitos β de desproteção nos carbonos C-1' ($\Delta\delta$ 2,01 ppm) e efeito γ de proteção em C-2' ($\Delta\delta$ 5,51 ppm) quando comparados com C-1 e C-2, respectivamente, do fitol (MELOS, 2007). Esses dados corroboraram para determinação estrutural de **Lm-3**, como sendo a **feofitina A**.

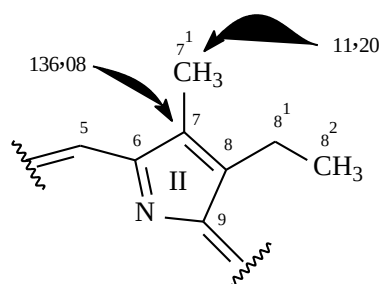


Fitol

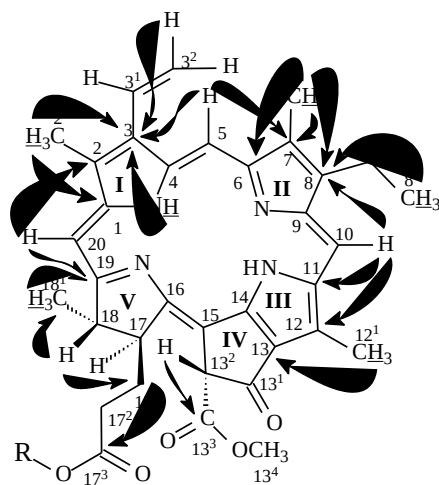


Fitol éster

A análise de espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (200 MHz, CDCl_3) de **Lm-3** (FIGURA 74, p.122) e suas expansões permitiu o assinalamento dos carbonos metínicos, metilênico e metílicos. Através das correlações entre os duplos dupletos em δ_{H} 7,96 (H-3^1) com δ_{C} 129,01 e em δ_{H} 6,26 e 6,15 (H-3^2) com δ_{C} 122,75 (FIGURA 75, p.123) confirmaram o primeiro deslocamento químico para o carbono C-3^1 e o ultimo para C-3^2 . As correlações entre os sinais em δ_{H} 9,48 (H-10); 9,34 (H-5) e 8,53 (H-20) com os sinais em δ_{C} 104,38; 97,46 e 93,07 (FIGURA 75, p.123) confirmaram os deslocamentos químicos para C-10, C-5 e C-20, respectivamente. A correlação entre os sinais em δ_{H} 6,25 (H-13^2) com o sinal em δ_{C} 64,63 (FIGURA 76, p.123) permitiu definir o carbono C-13^2 , atribuição chave para determinação do tipo de feofitina. Ainda foi possível assinalar outros carbonos metínicos através das correlações de δ_{H} 4,43 (H-18) e 4,16 (H-17) com os sinais em δ_{C} 50,04 e 51,03, atribuídos aos carbonos C-18 e C-17, respectivamente. A correlação entre o sinal em δ_{H} 3,89 (H-13^4) com o sinal em δ_{C} 52,82 (FIGURA 76, p.123), confirmou C-13^4 como sendo metoxila. Foi possível confirmar o grupo etil através das correlações entre os em δ_{H} 3,65 (H-8^1) e 1,66 (H-8^2) com os sinais em δ_{C} 19,41 (FIGURA 77, p.124) e 17,39 (FIGURA 78, p.124) atribuídos a C-8^1 e C-8^2 , respectivamente. Também, confirmou-se as metilas através das correlações dos sinais δ_{H} 3,66 (H-12^1) e 3,20 (H-2^1) com o sinal em δ_{C} 12,08, definindo as duas metilas (C-12^1 e C-2^1), e de δ_{H} 3,38 (H-7^1) com o sinal em δ_{C} 11,20 (FIGURA 77, p.124) permitiu atribuir ao carbono C-7^1 , sinal que confirmou o tipo de feofitina como derivado da **clorofila A** (BUCHANAN, 1996). Os demais a assinalamentos estão compilados na TABELA 3, p.116.

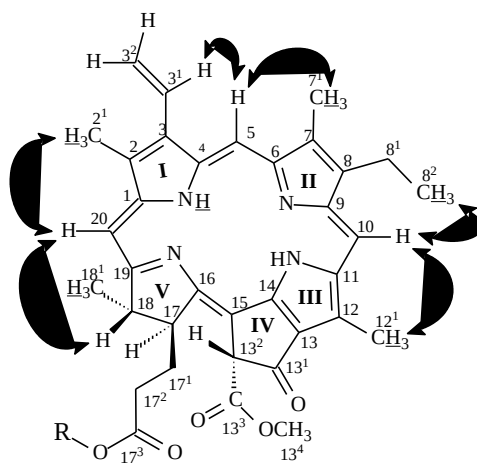


sinais em δ_C 142,82 (^3J), 136,21 (^3J) e 131,79 (^2J) (FIGURA 80, p.125), permitiram atribuí-los aos carbonos C-1, C-3 e C-2, respectivamente; A correlação de δ_H 3,20 (H-7¹) com os sinais em δ_C 155,58 (^3J), 145,16 (^3J) e 136,08 (^3J), permitiu atribuir os deslocamentos químicos aos carbonos C-6, C-8 e C-7, respectivamente e de δ_H 3,66 (H-12¹) com os sinais em δ_C 128,87 (^3J) e 128,84 (^2J), permitiu atribuir os deslocamentos químicos aos carbonos C-13 e C-12. O sinal em δ_C 131,79 (C-2) foi confirmado pela correlação (^2J) com o sinal δ_H 8,53 (H-20) (FIGURA 81, p.126), assim como o sinal em δ_C 136,21 (C-3) foi confirmado pela correlação (^3J) com os sinais em δ_H 6,15 e 6,26 (H-3²) (FIGURA 82, p.126) e com δ_H 9,34 (H-5). A correlação de δ_H 9,34 (H-5) com os sinais δ_C 136,43 e 136,08 permitiu atribuir o primeiro deslocamento químico ao carbono C-4 e confirmar o último para C-7 (FIGURA 83, p.127). A correlação do sinal em δ_H 9,48 (H-10) com os sinais δ_C 145,16 (^3J), 137,84 (^2J) e 128,98 (^3J) confirmou o primeiro deslocamento químico para C-8 e dois últimos para C-11 e C-12, respectivamente (FIGURA 84, p.127). A correlação do sinal δ_H 6,25 (H-13²) com o sinal em δ_C 169,56 (^2J), permitiu atribuí-lo ao carbono C-13³ (FIGURA 85, p.128), assim como a correlação de δ_H 1,78 (H-18¹) com δ_C 172,17 (^3J) confirmou o deslocamento para C-19 (FIGURA 86, p.128). Já a correlação do sinal em δ_H 4,43 (H-18) com os sinais em δ_C 29,65 (^3J) e 23,03 (^2J) confirmaram estes deslocamentos dos carbonos C-17¹ e C-18¹, respectivamente (FIGURA 87, p.129). A correlação do sinal δ_H 1,22 (H-17') com o sinal δ_C 173,99 permitiu atribuir o deslocamento químico do carbono C-17³ (FIGURA 88, p.129). Não foram detectadas correlações com os sinais de carbonos C-13¹, C-14, C-15 e C-16, porém seus assinalamentos basearam-se em valores de deslocamentos químicos e comparações com valores da literatura (SILVA, 2006a). As demais correlações observadas no espectro HMBC, assim como as correlações observadas no espectro de $^1H \times ^1H$ -COSY estão compiladas na TABELA 3, p.116.



R = Fitol

Principais correlações observadas nos espectros HMBC de **Lm-3**



R = Fitol

Principais correlações observadas nos espectros NOESY de **Lm-3**.

TABELA 3 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de Lm-3

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY
	δ_{H}	δ_{C}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1		142,82			
2		131,79			
2 ¹	3,38 (s, 3H)	12,08	C-2	C-1; C-3	
3		136,21			
3 ¹	7,96 (dd, $J=17,8$ e $11,2$; 1H)	129,01		C-2; C-4	3 ² (E, Z)
3 ²	6,26 (E)(dd, $J=18,0$ e $1,4$; 1H) 6,15 (Z) (dd, $J=11,4$ e $1,4$; 1H)	122,75		C-3	
4		136,43			
5	9,34 (s, 1H)	97,46	C-4	C-3; C-7	
6		155,58			
7		136,08			
7 ¹	3,20 (s, 3H)	11,20	C-7	C-6; C-8	
8		145,16			
8 ¹	3,65 (m, 2H)	19,41			H-8 ²
8 ²	1,67 (t, $J=7,6$; 3H)	17,39	C-8 ¹	C-8	
9		150,90			
10	9,48 (s, 1H)	104,38	C-11	C-8; C-12	
11		137,84			
12		128,98*			
12 ¹	3,66 (s, 3H)	12,08	C-12;	C-13	
13		128,87*			
13 ¹		189,61			
13 ²	6,25 (s, 1H)	64,63	C-13 ³		
13 ³		172,90			
13 ⁴	3,89 (s, 3H)	52,82			
14		149,57			
15		105,13			
16		161,17			
17	4,16 (m, 1H)	51,03			
17 ¹	1,22 (m, 2H)	29,65		C-17 ³	H-17 ²
17 ²	0,84 (m, 2H)	31,10			
17 ³		173,99			
18	4,43 (m, 1H)	50,04	C-18 ¹	C-17 ¹	H-18 ¹
18 ¹	1,78 (d, $J=7,2$)	23,03	C-18	C-19	
19		172,17			
20	8,53 (s, 1H)	93,07		C-2, C-19	

RMN (200 MHz e 50,3 MHz, δ em ppm, CDCl_3 , J em Hz)

* os assinalamentos podem estar trocados.

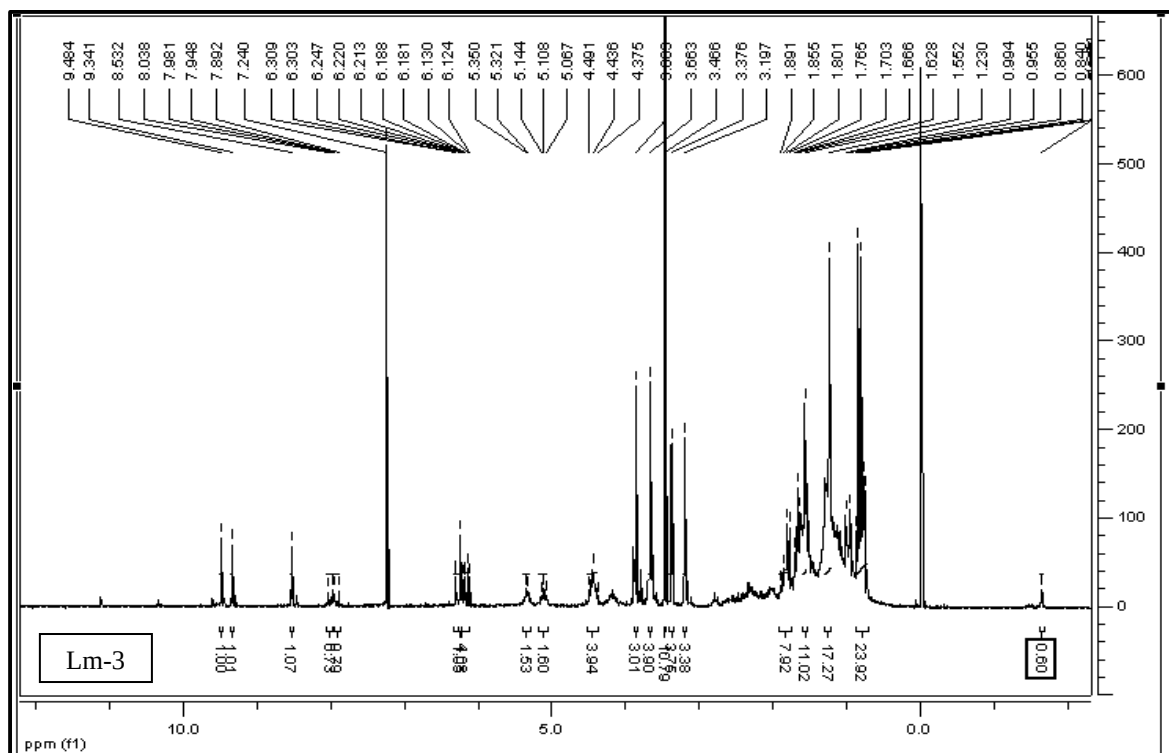


FIGURA 63 Espectro de RMN ^1H de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

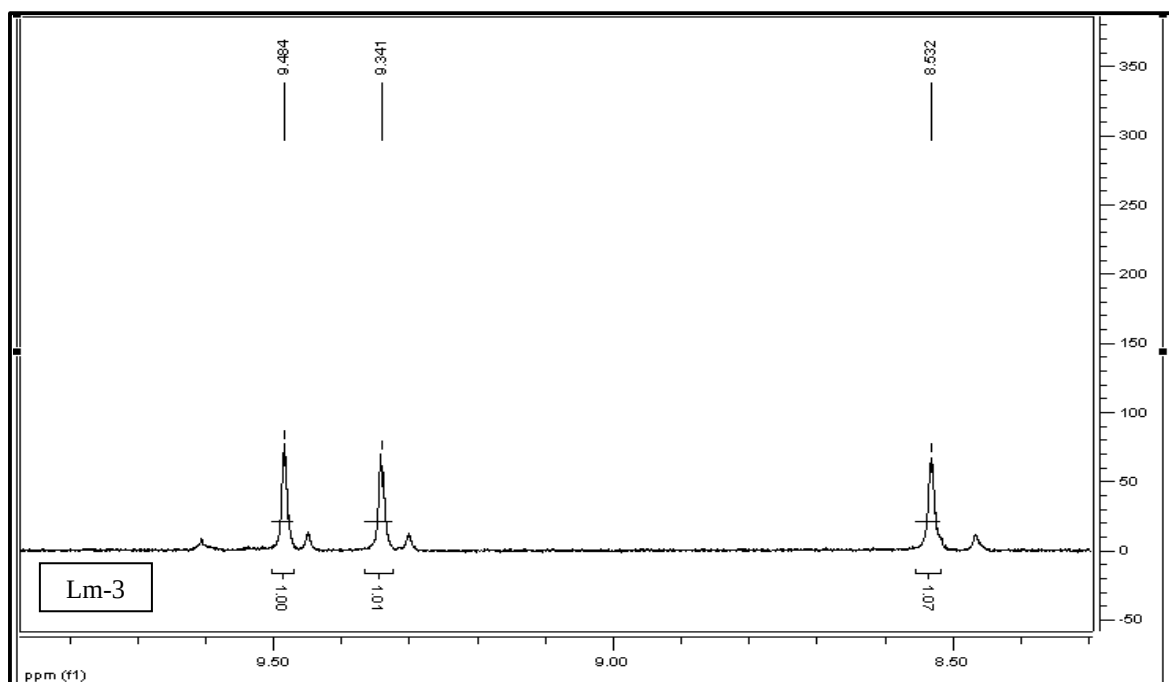


FIGURA 64 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-3** na região entre δ_{H} 8,3 – 9,9 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

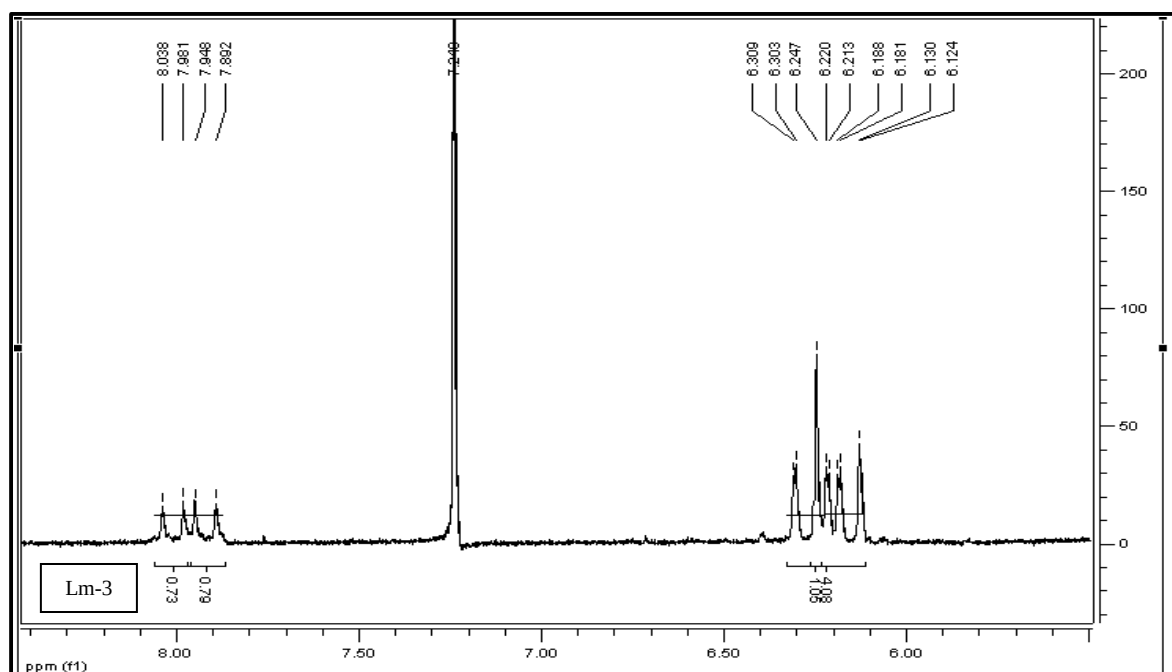


FIGURA 65 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-3** na região entre δ_{H} 5,5 - 8,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

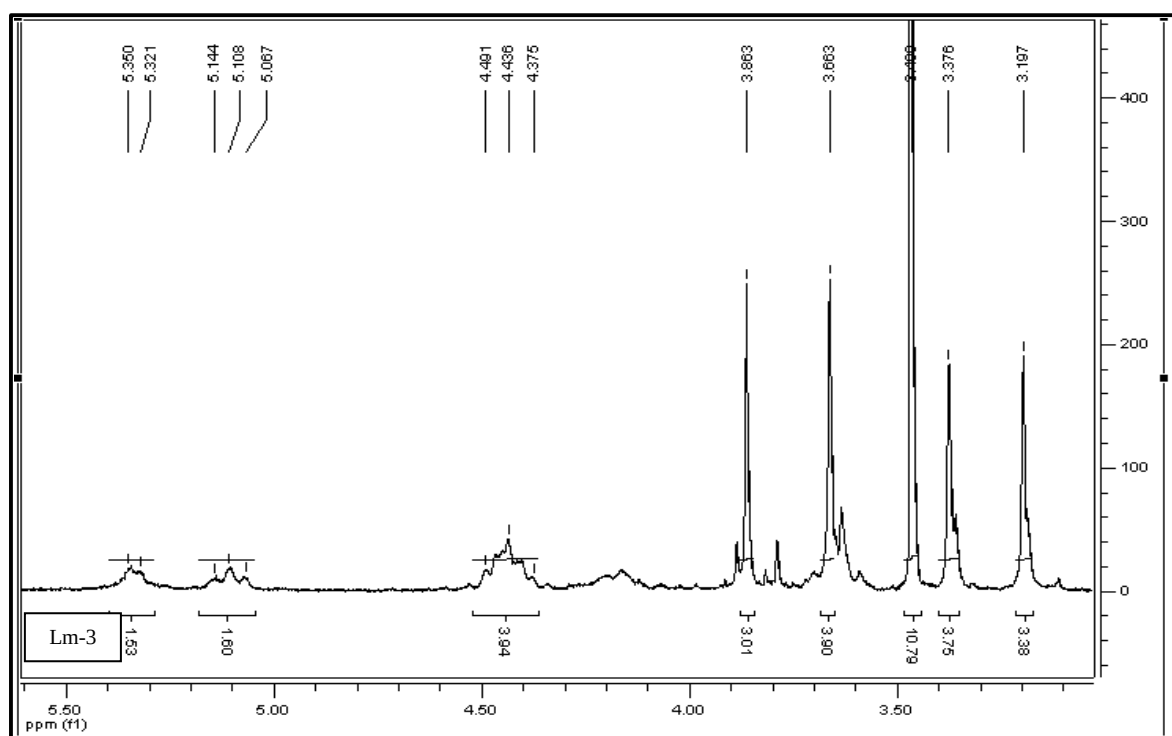


FIGURA 66 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-5** na região entre δ_{H} 3,0 – 5,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

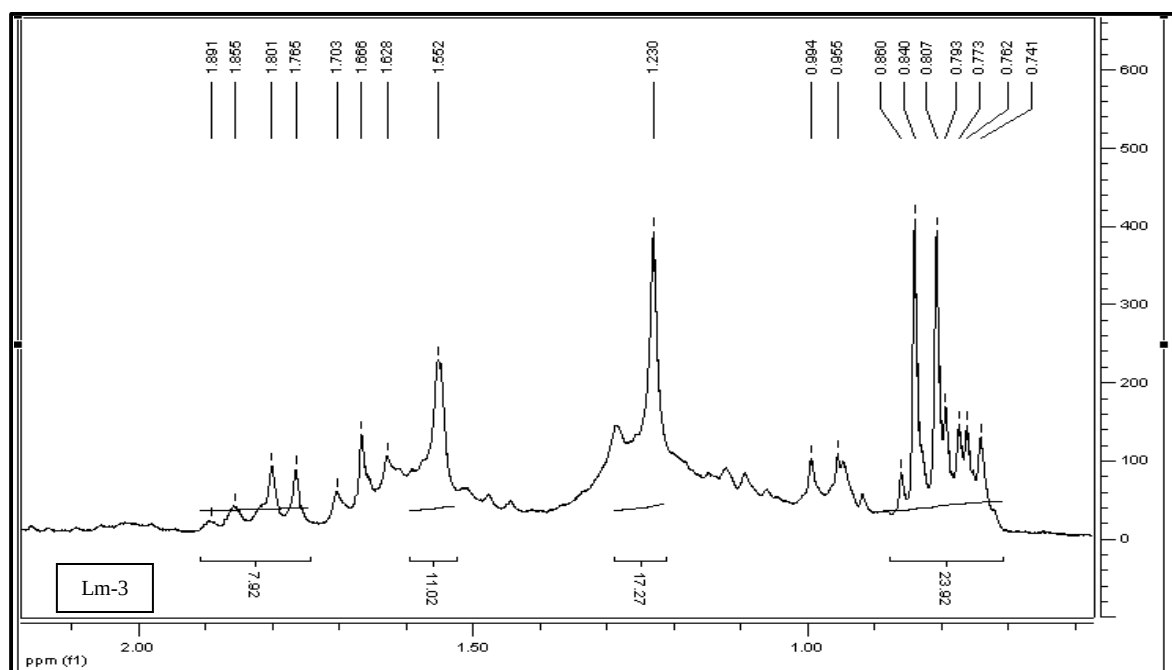


FIGURA 67 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-3** na região entre δ_{H} 0,7 – 2,2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

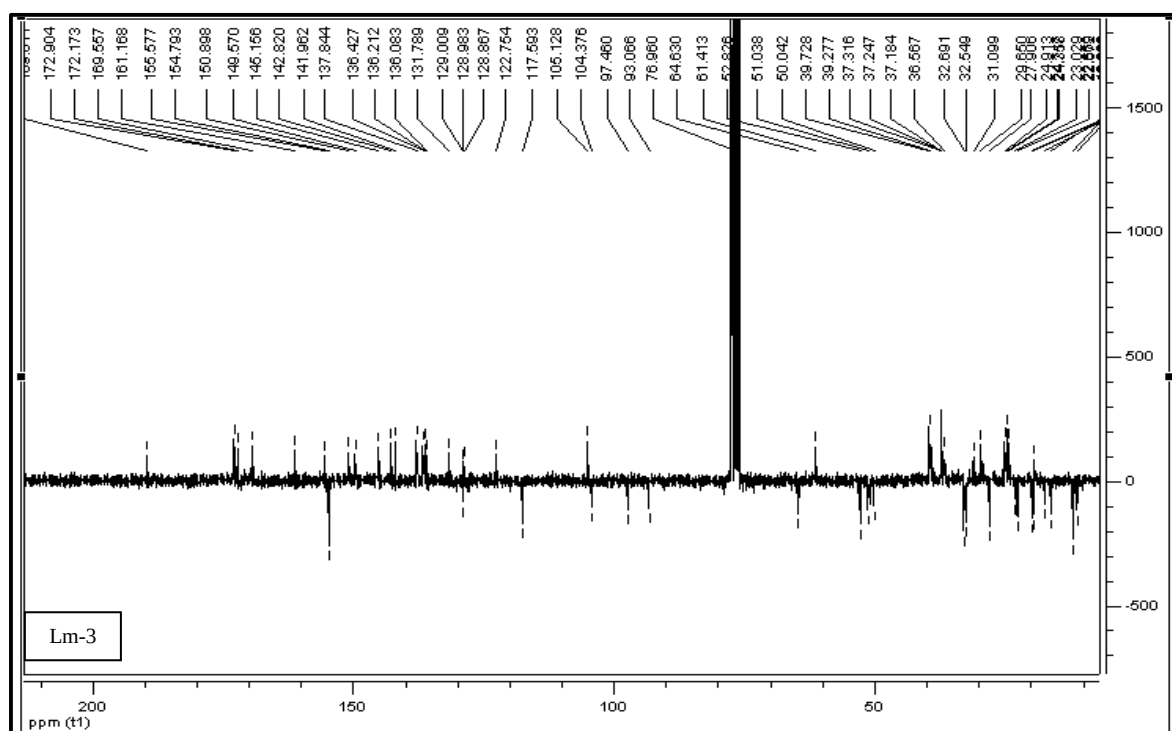


FIGURA 68 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-3** (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

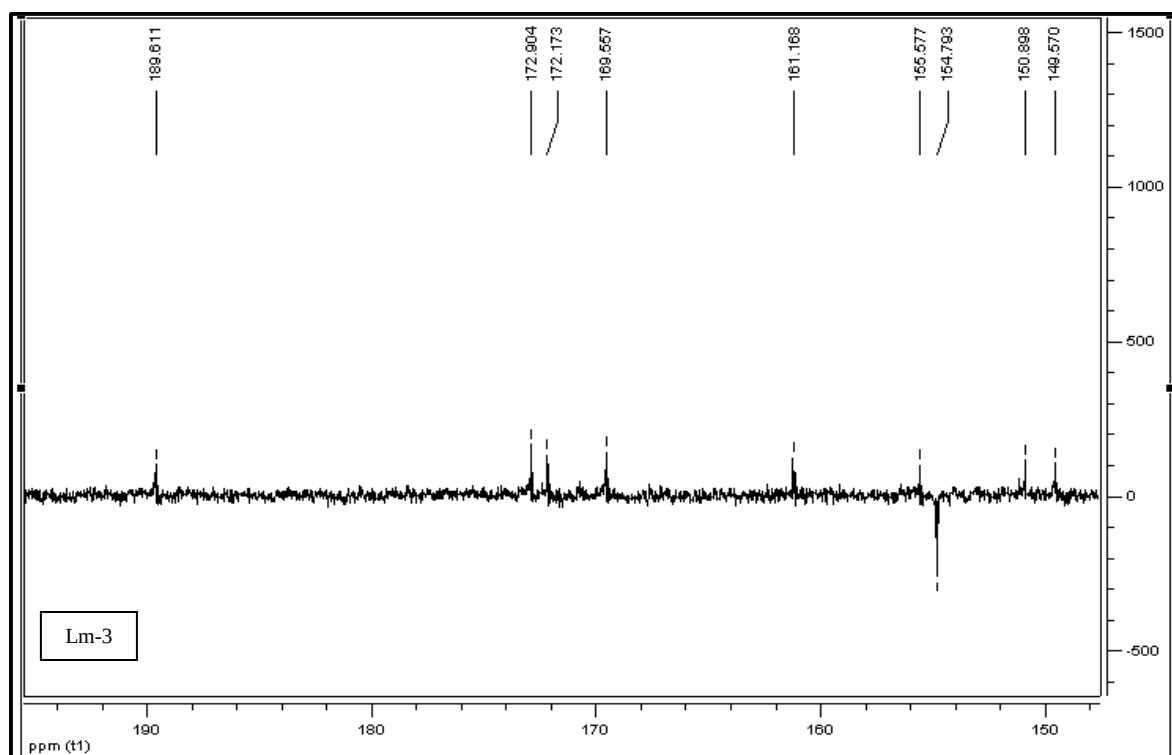


FIGURA 69 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-3** na região entre δ_{C} 150-195 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

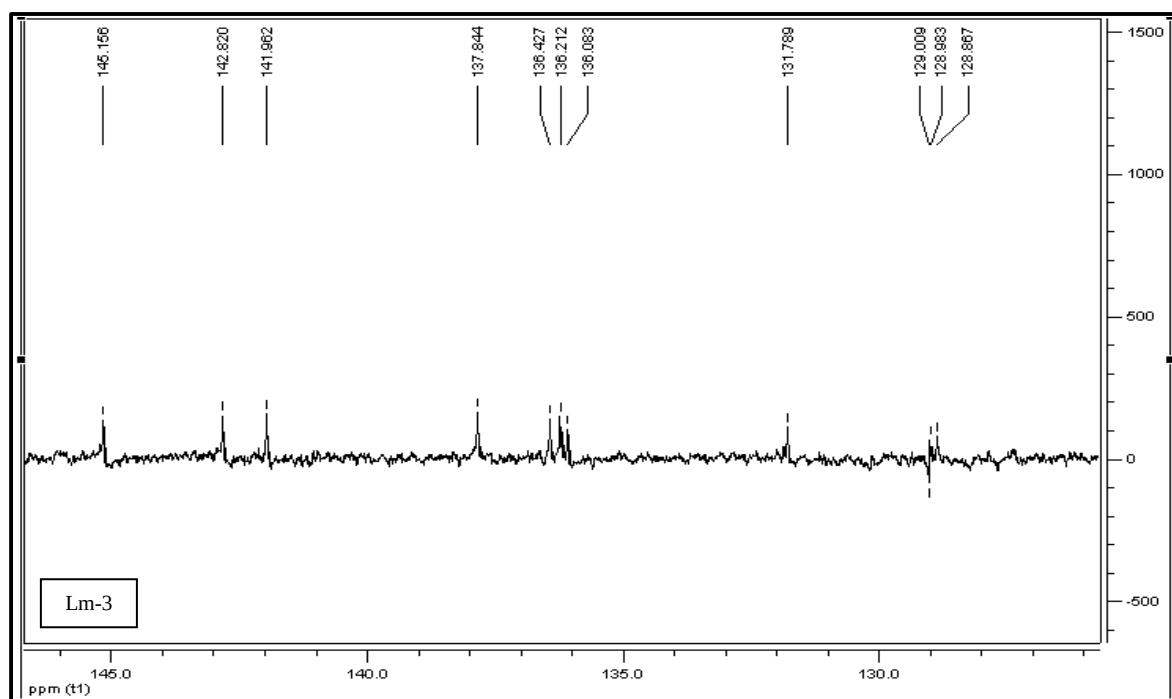


FIGURA 70 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-3** na região entre δ_{C} 125-147 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

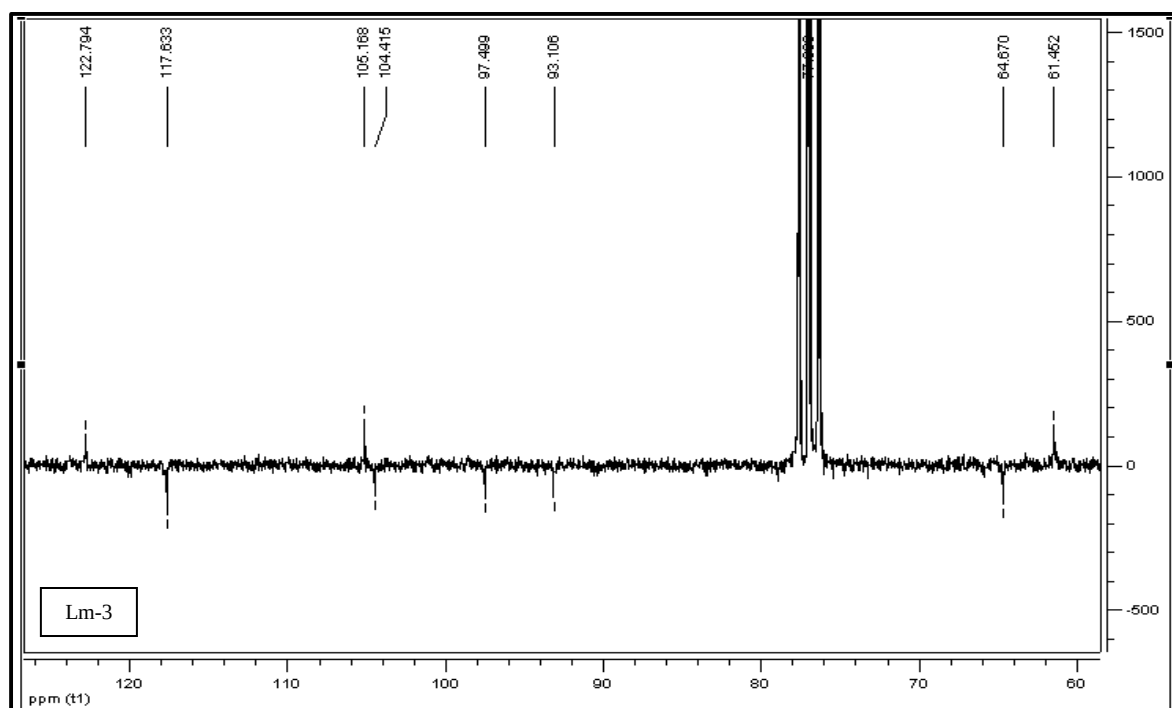


FIGURA 71 Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de **Lm-3** na região entre δ_C 60-125 (50,3 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

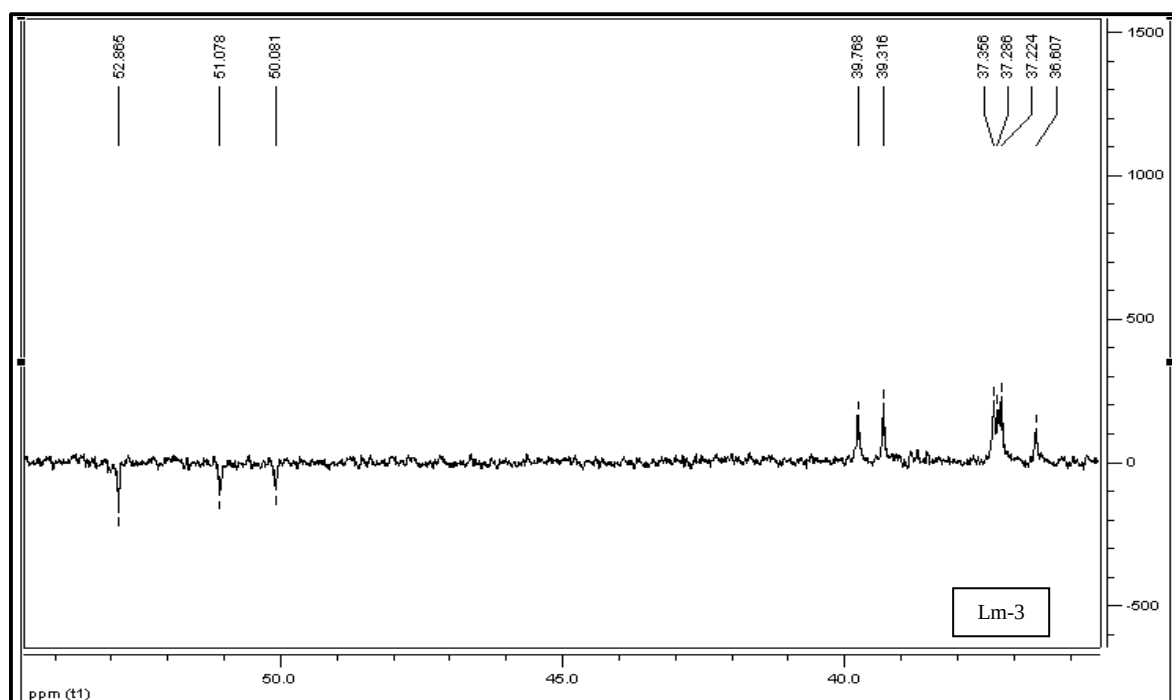


FIGURA 72 Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de **Lm-3** na região entre δ_C 35-55 (50,3 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

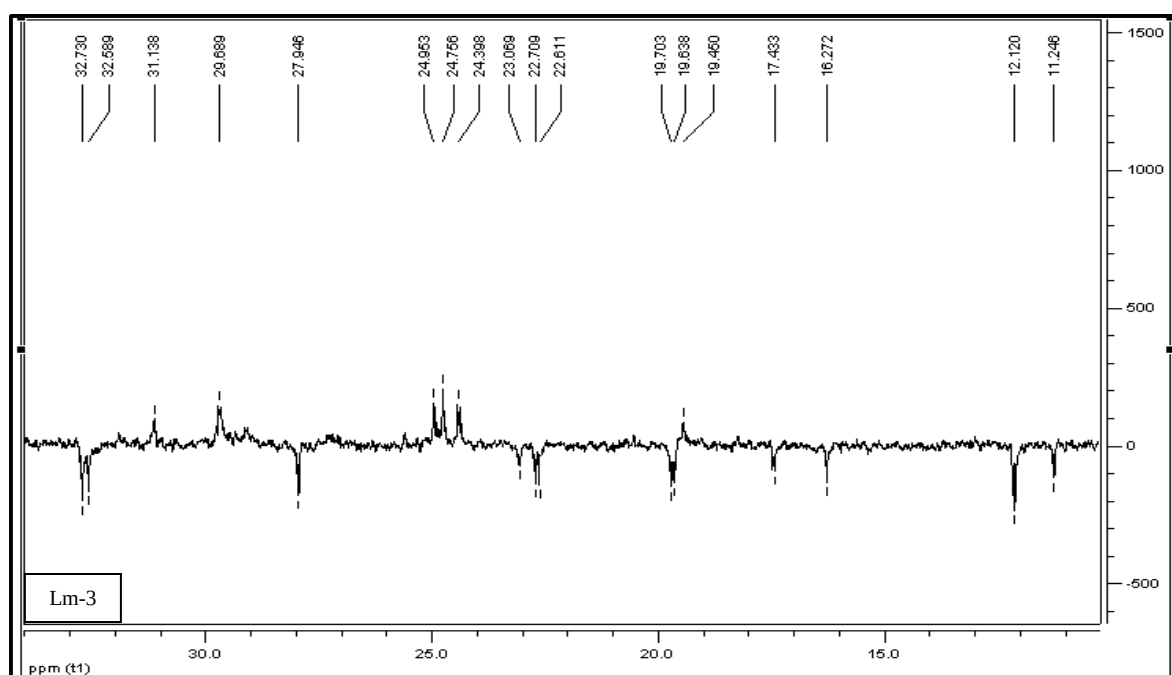


FIGURA 73 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-3** na região entre δ_{C} 10-35 (50,3 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

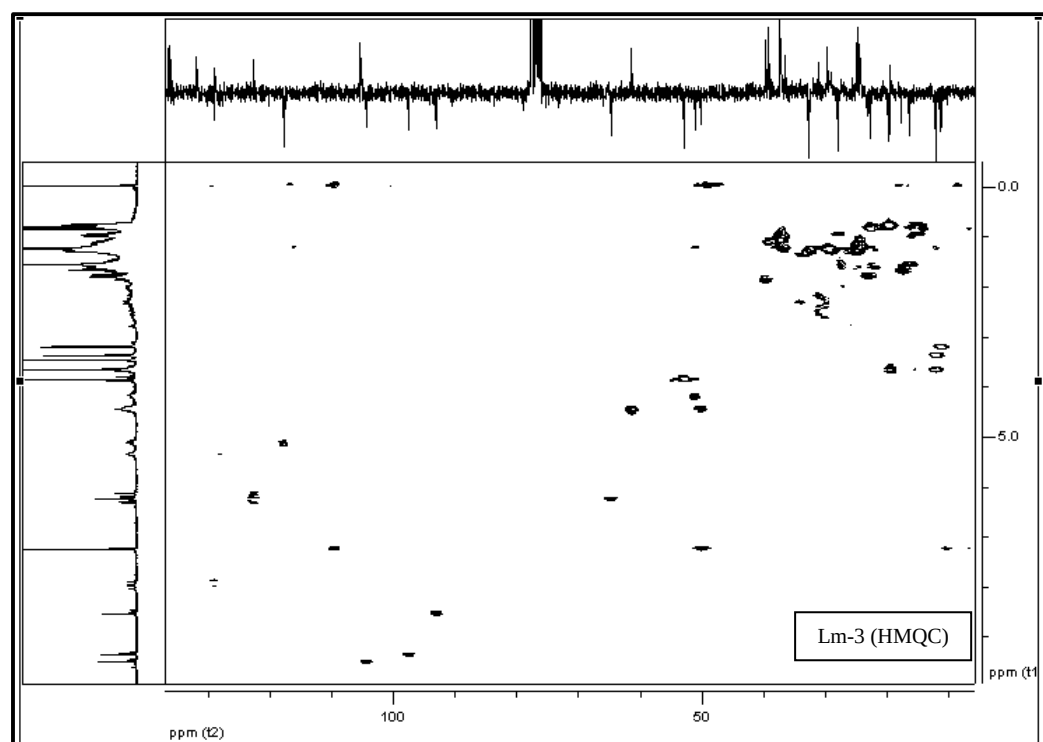


FIGURA 74 Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

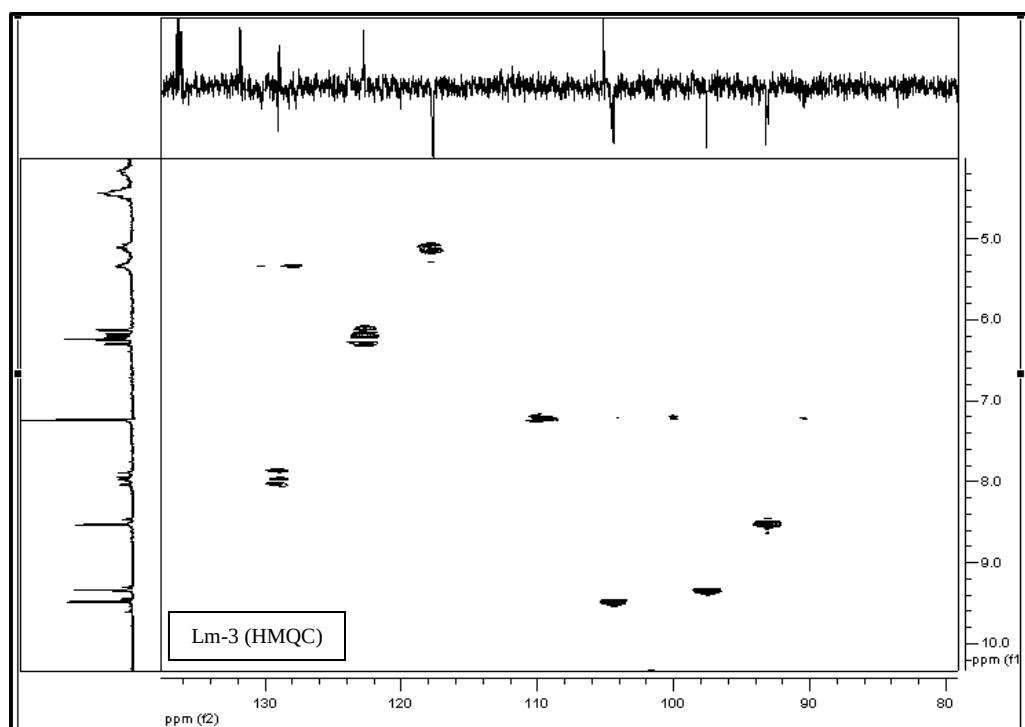


FIGURA 75 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-3** na região entre δ 4,5-10,0 x 80-135 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

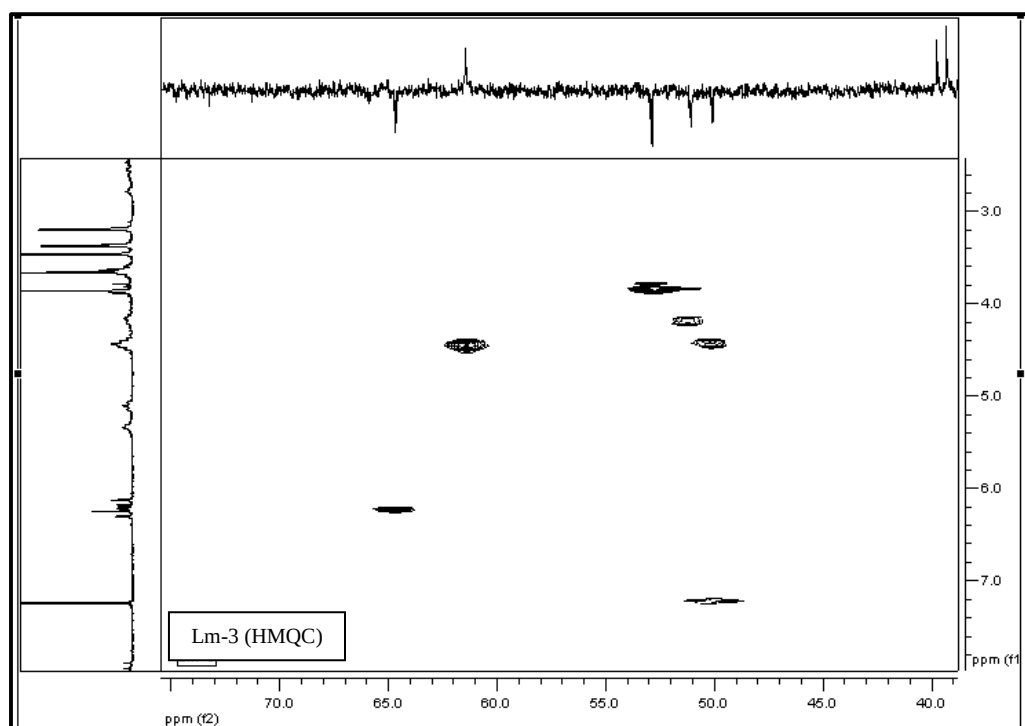


FIGURA 76 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMQC de **Lm-3** na região entre δ 3,0-7,0 x 40-75 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

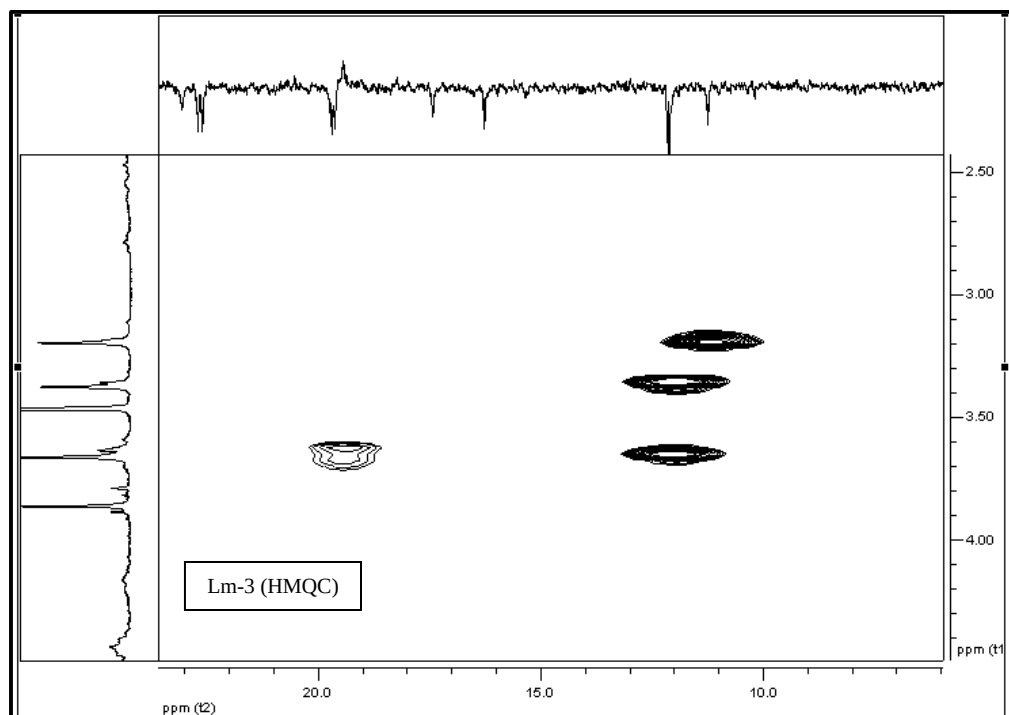


FIGURA 77 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMPC de **Lm-3** na região entre δ 2,5 – 4,5 x 5,0 – 25,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

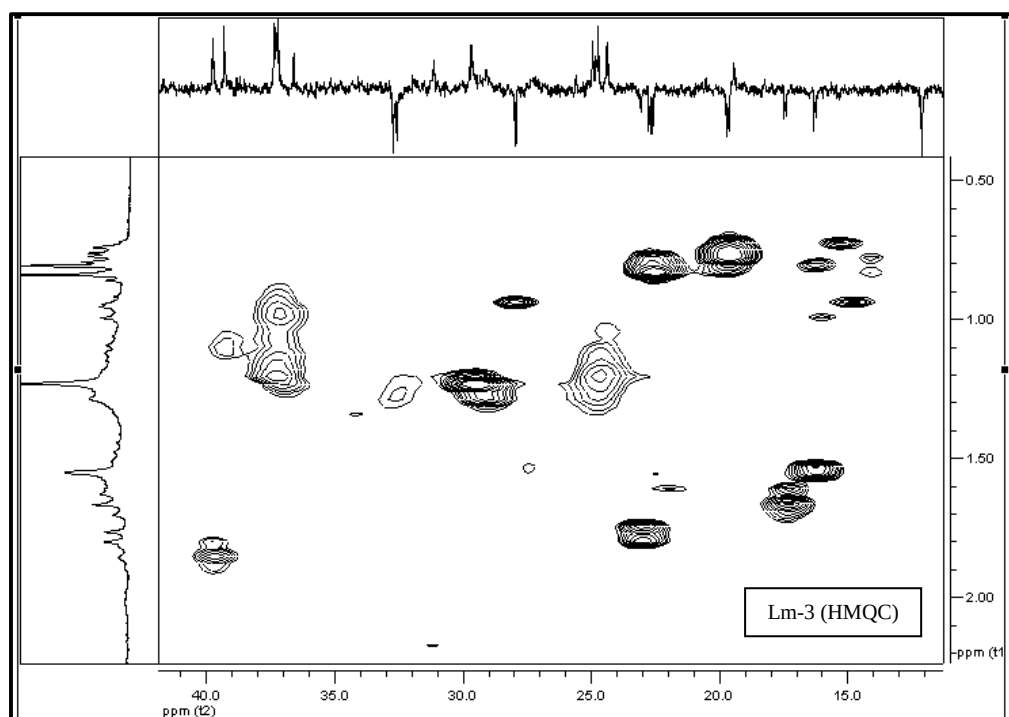


FIGURA 78 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMPC de **Lm-3** na região entre δ 0,5 – 2,2 x 10 – 42 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

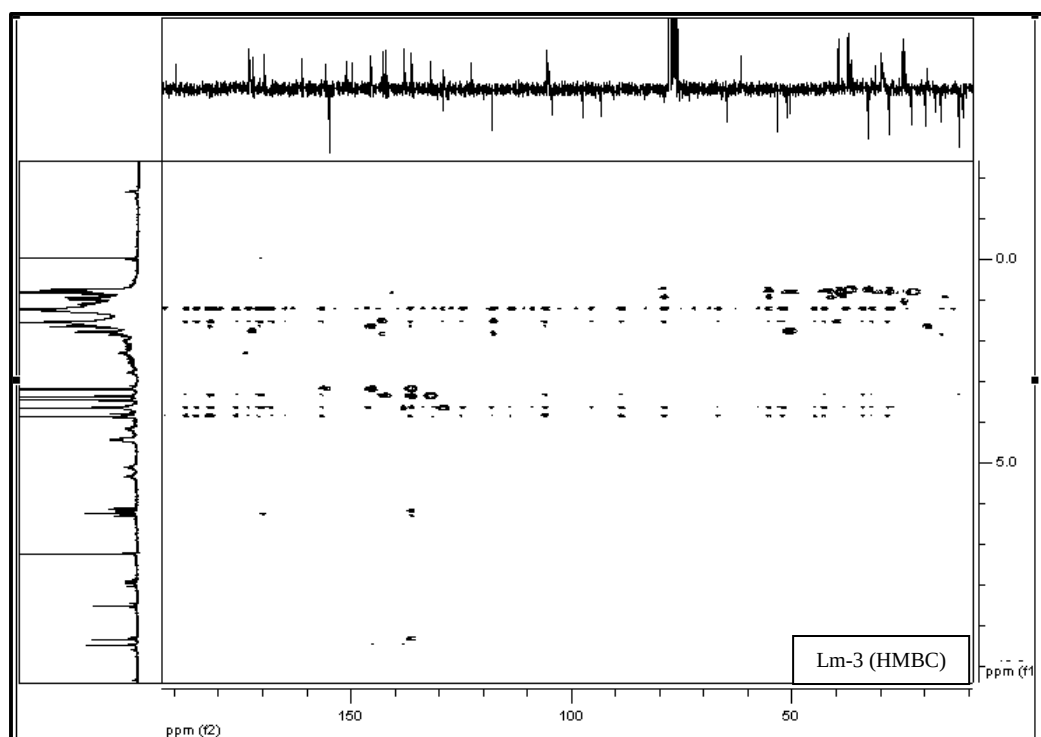


FIGURA 79 Espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

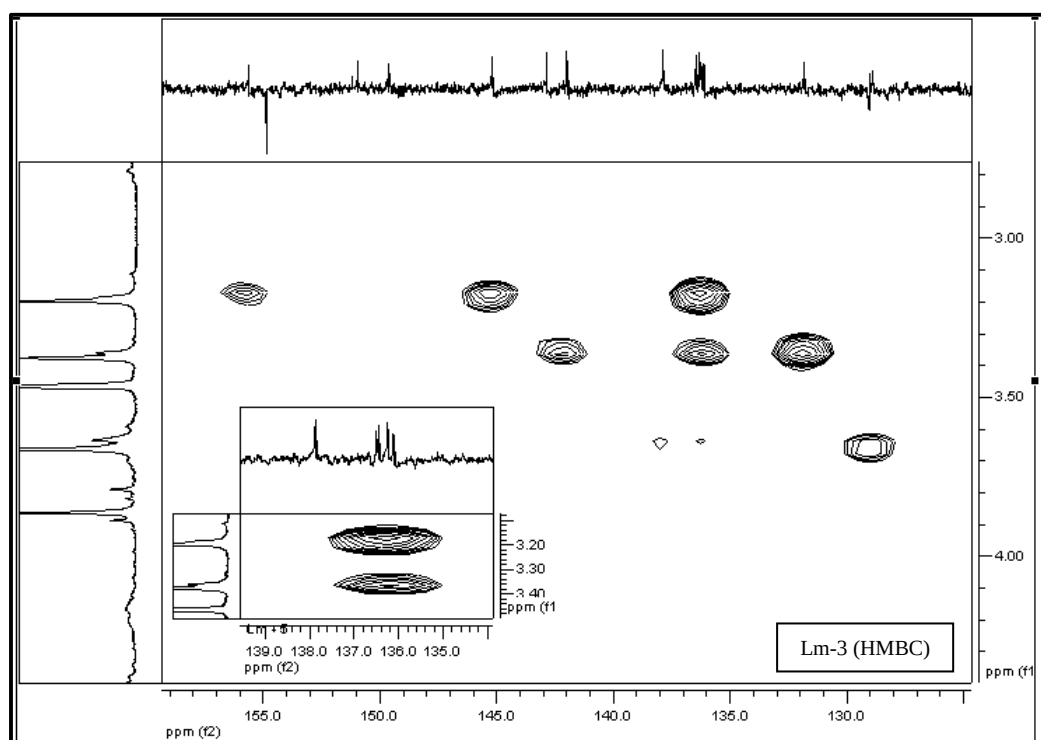


FIGURA 80 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 2,8-4,5 x 125-160 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

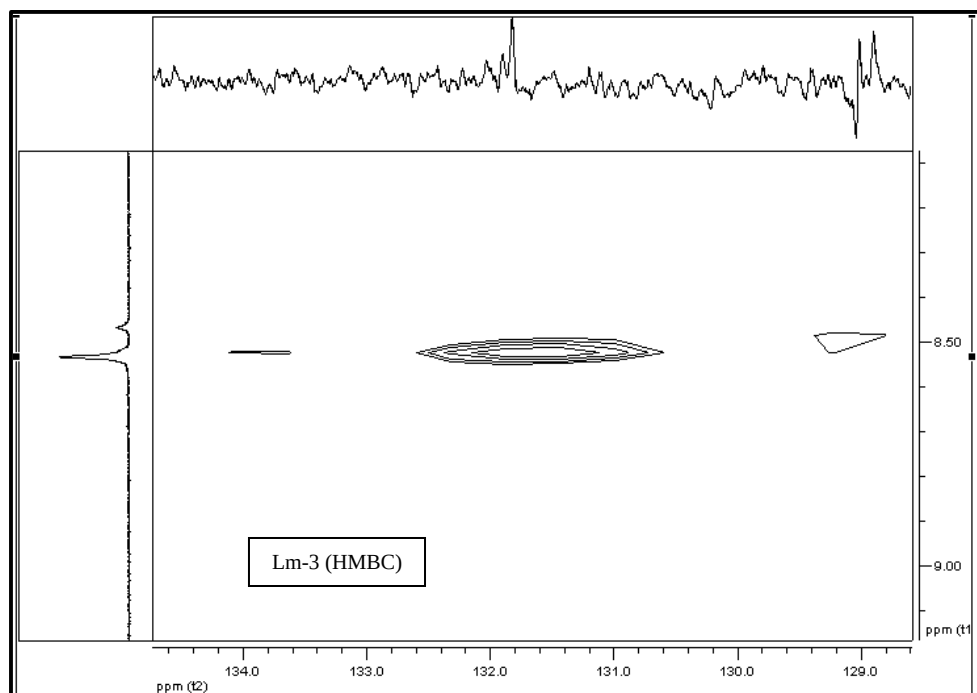


FIGURA 81 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 8,0 – 9,0 x 129 -135 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

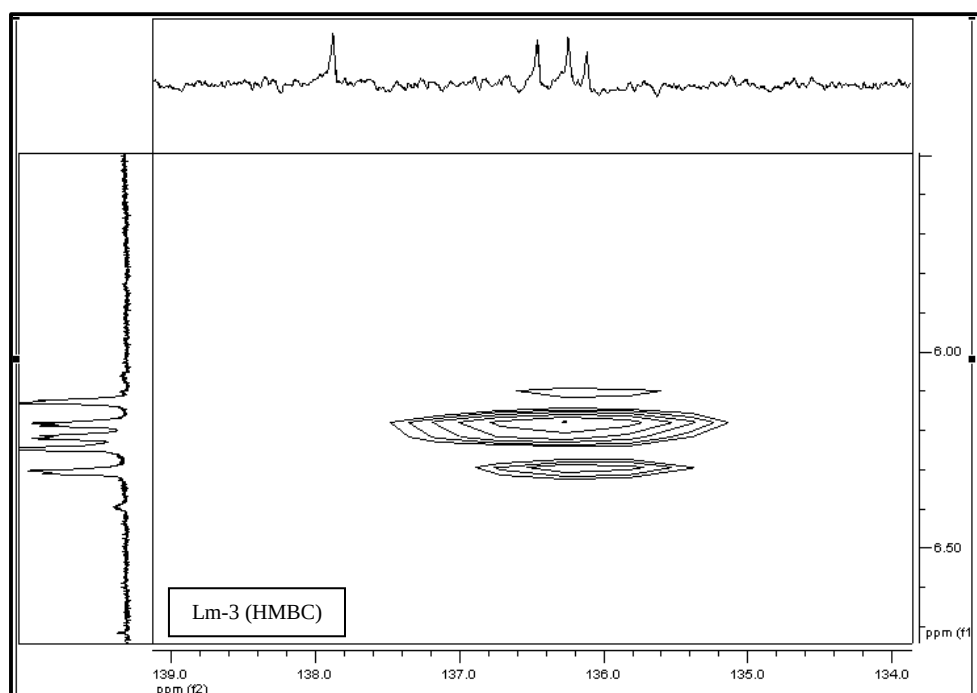


FIGURA 82 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 5,5 – 6,7 x 134 -139 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

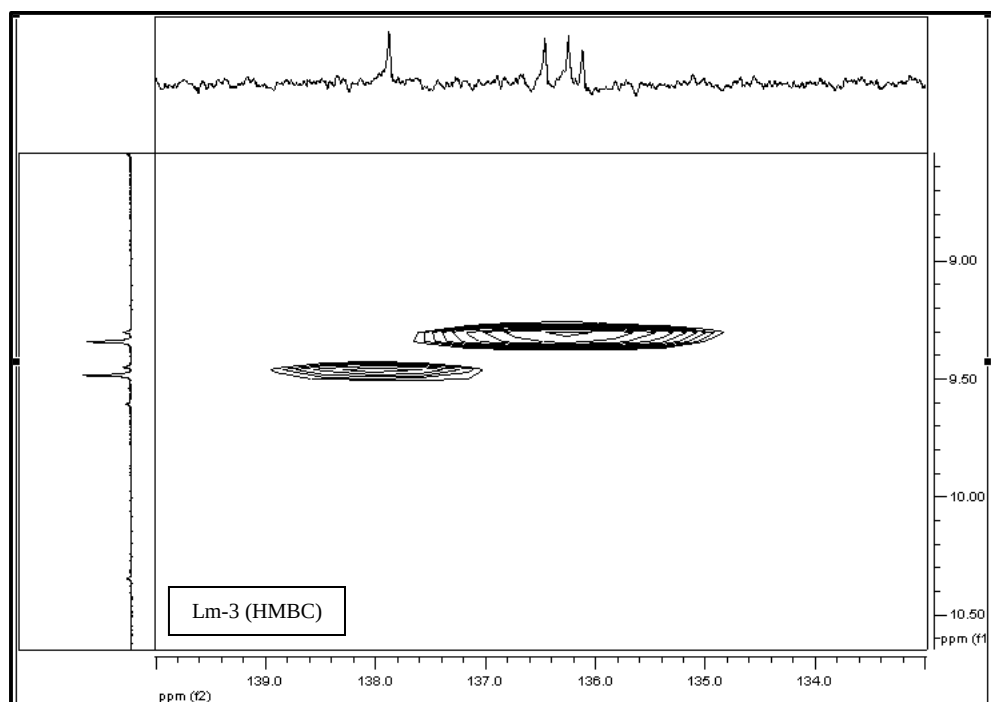


FIGURA 83 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 8,5 - 10,5 x 133 - 140 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

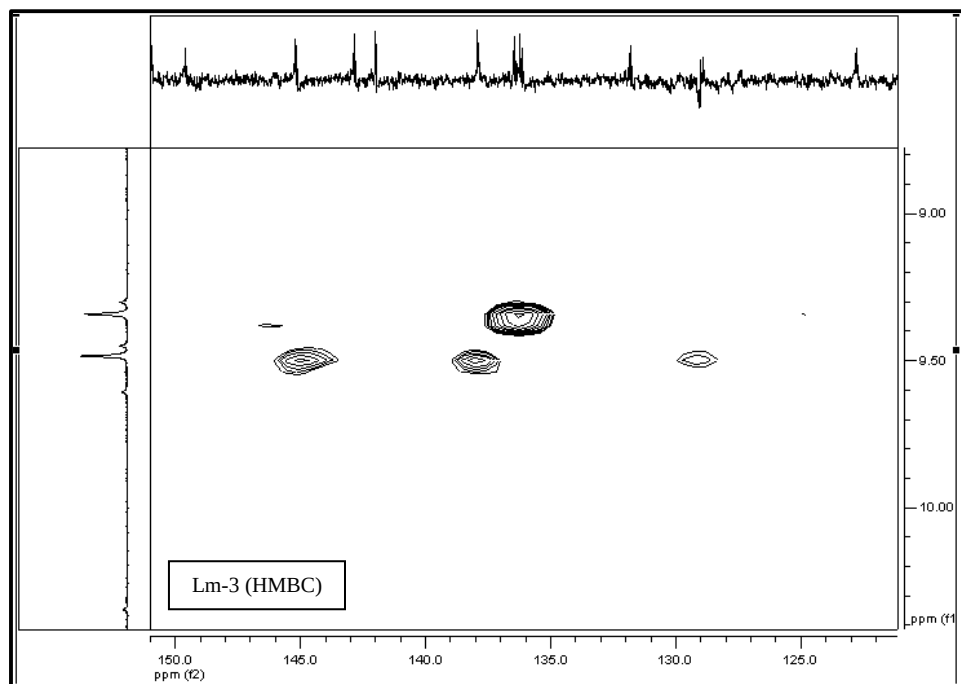


FIGURA 84 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 9,0 - 10,5 x 125 - 150 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

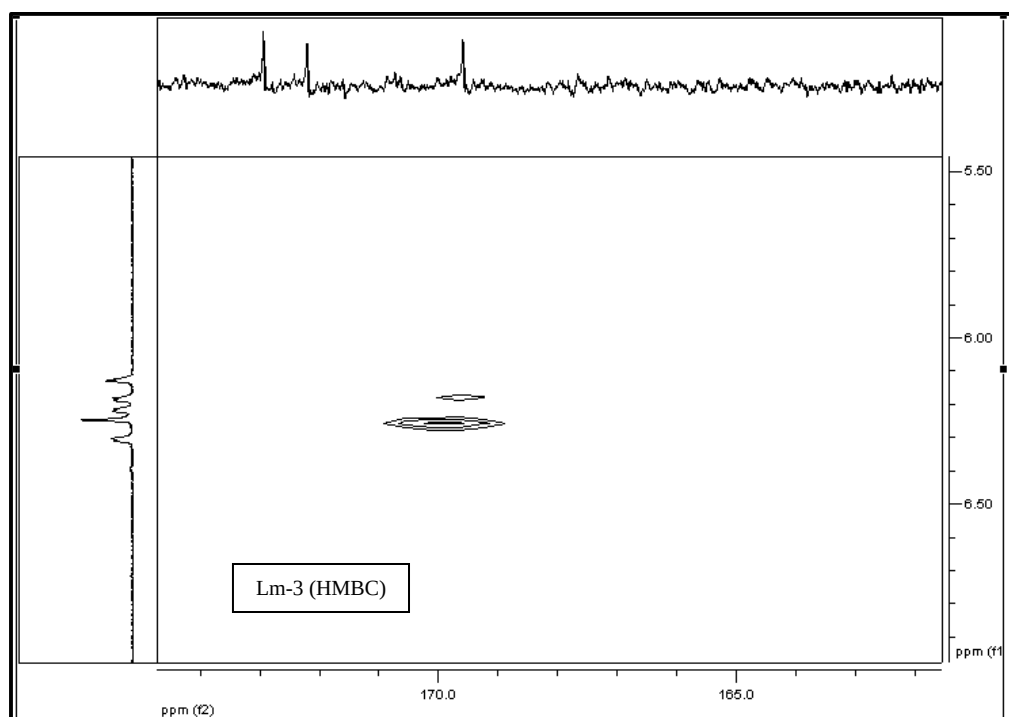


FIGURA 85 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 5,5 – 7,0 x 160 - 175 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

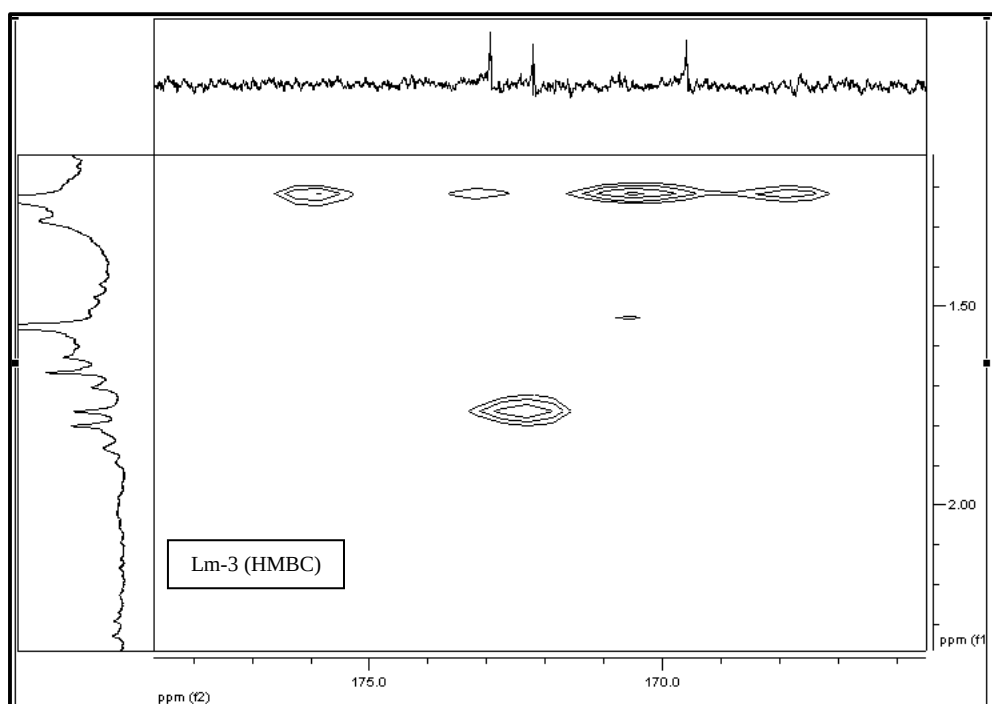


FIGURA 86 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 1,0 – 2,5 x 165 - 178 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

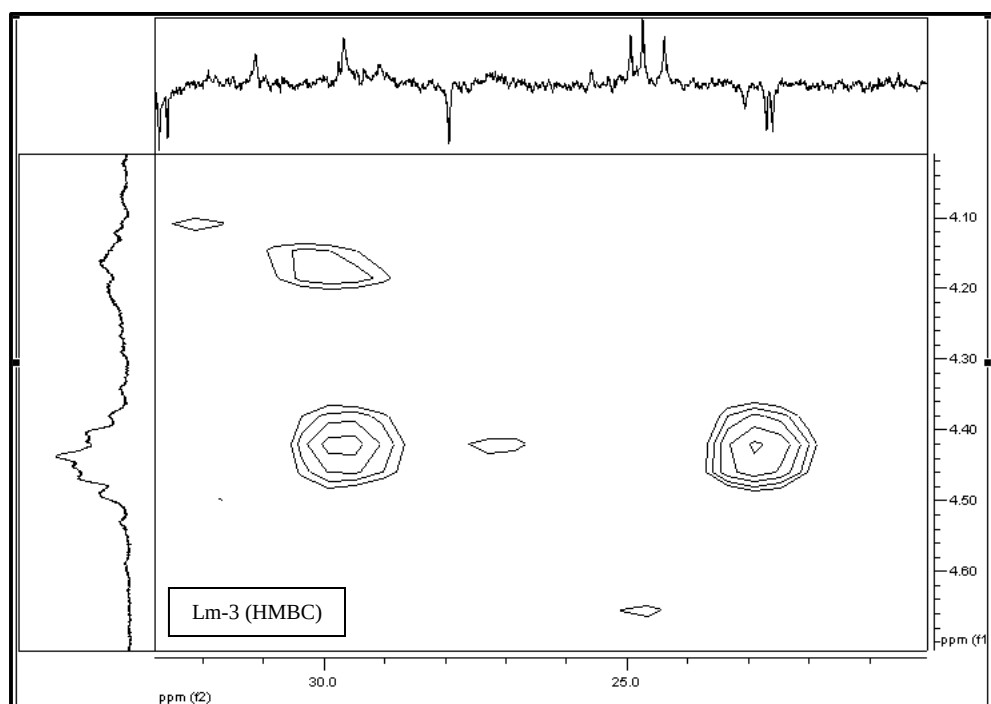


FIGURA 87 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 4,0 – 4,7 x 20 - 33 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

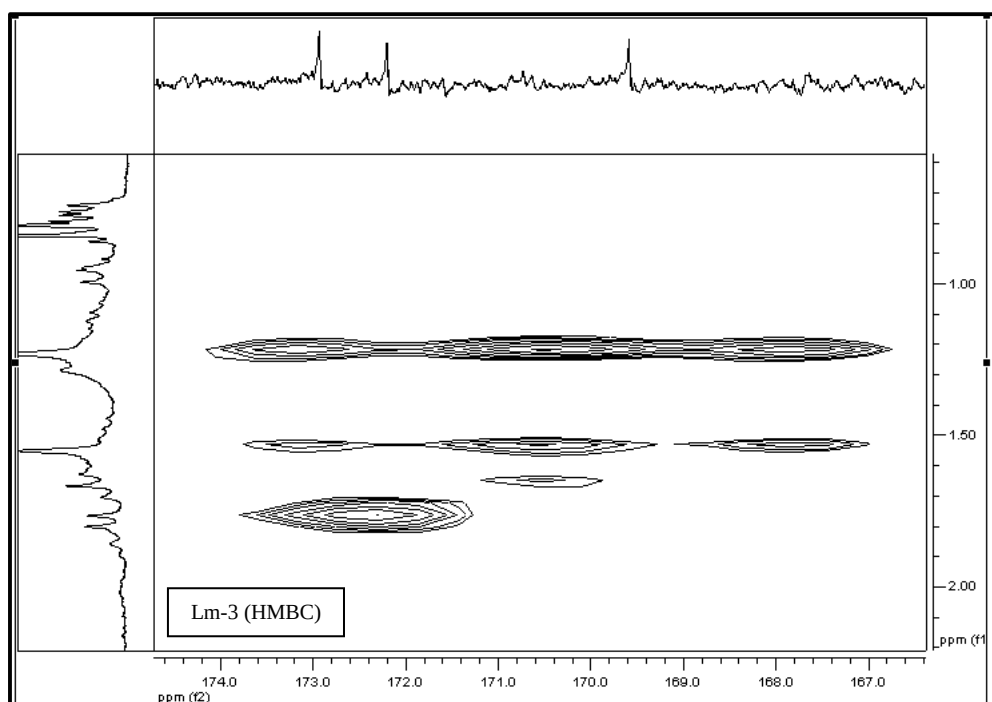


FIGURA 88 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 0,5 – 2,2 x 167 - 175 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

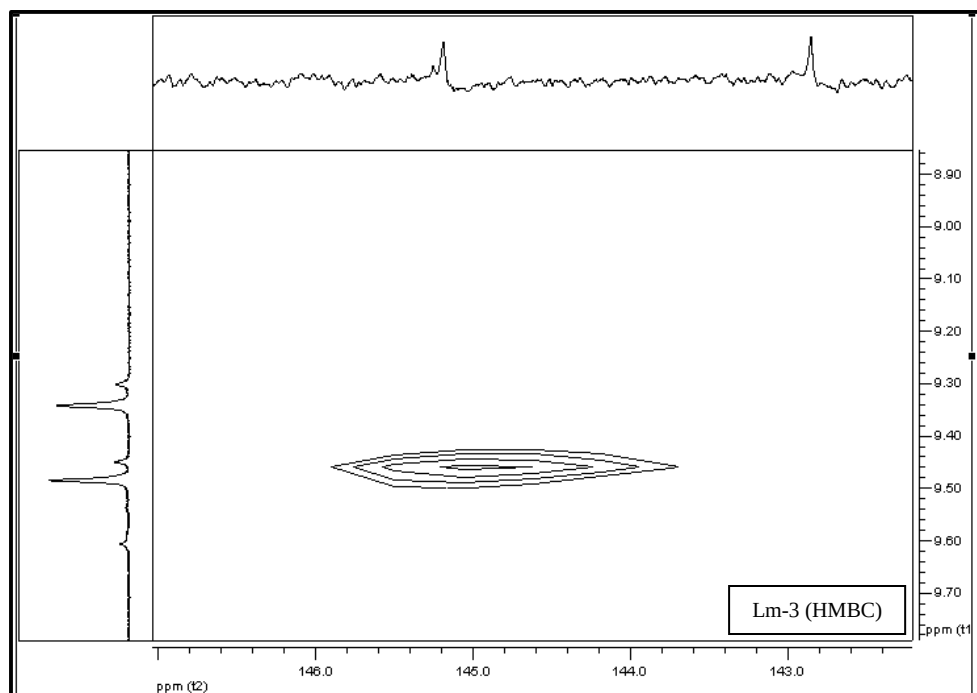


FIGURA 89 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 9,0 – 9,8 x 142 - 147 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

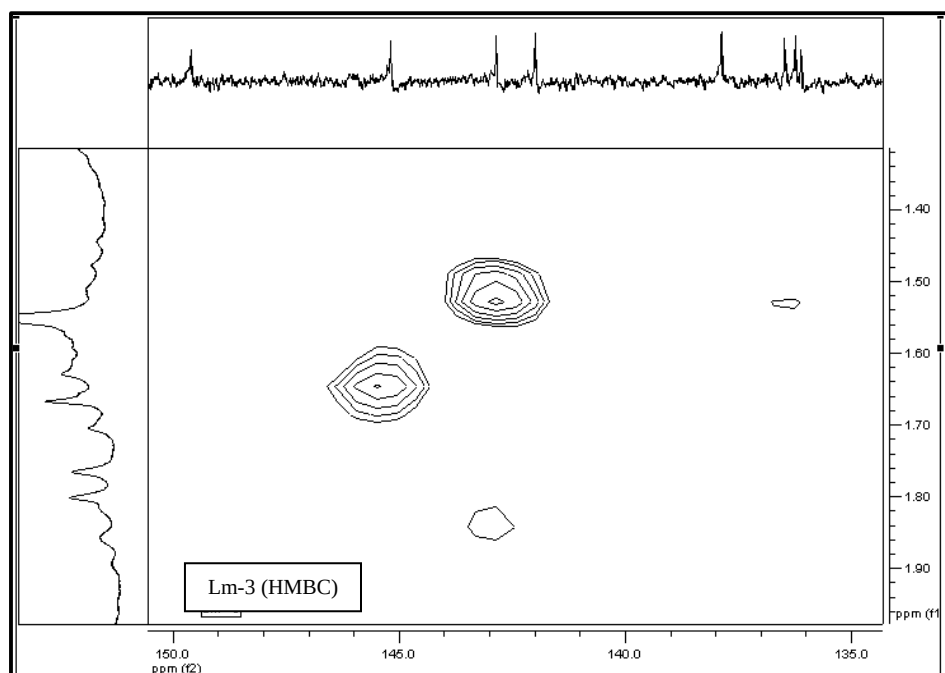


FIGURA 90 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^{13}C -HMBC de **Lm-3** na região entre δ 1,3 – 2,0 x 135 - 150 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

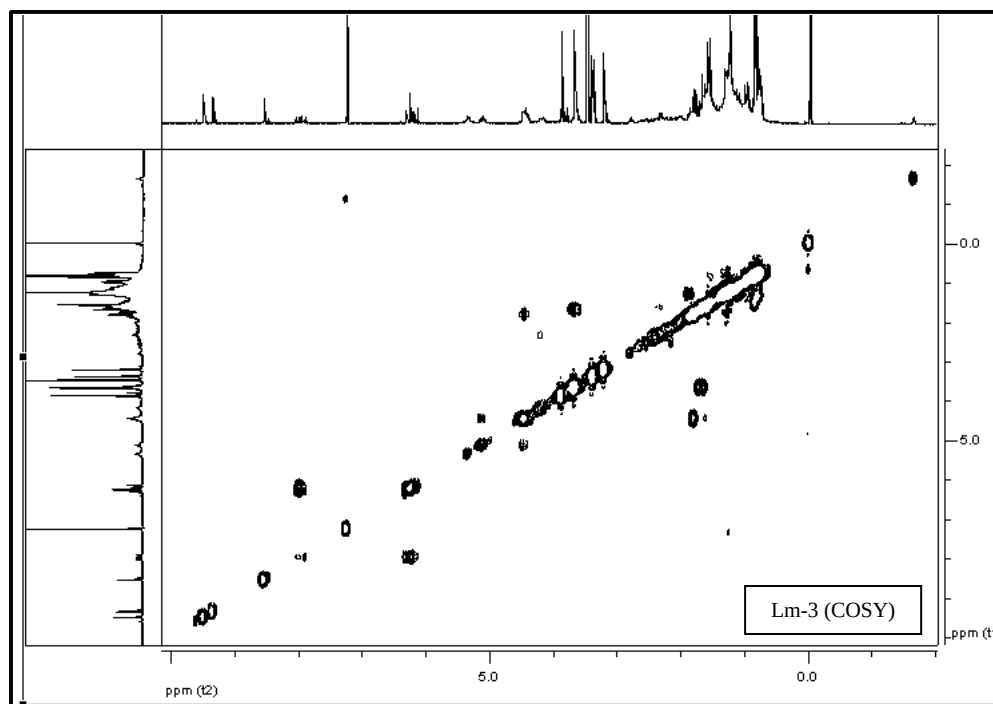


FIGURA 91 Espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

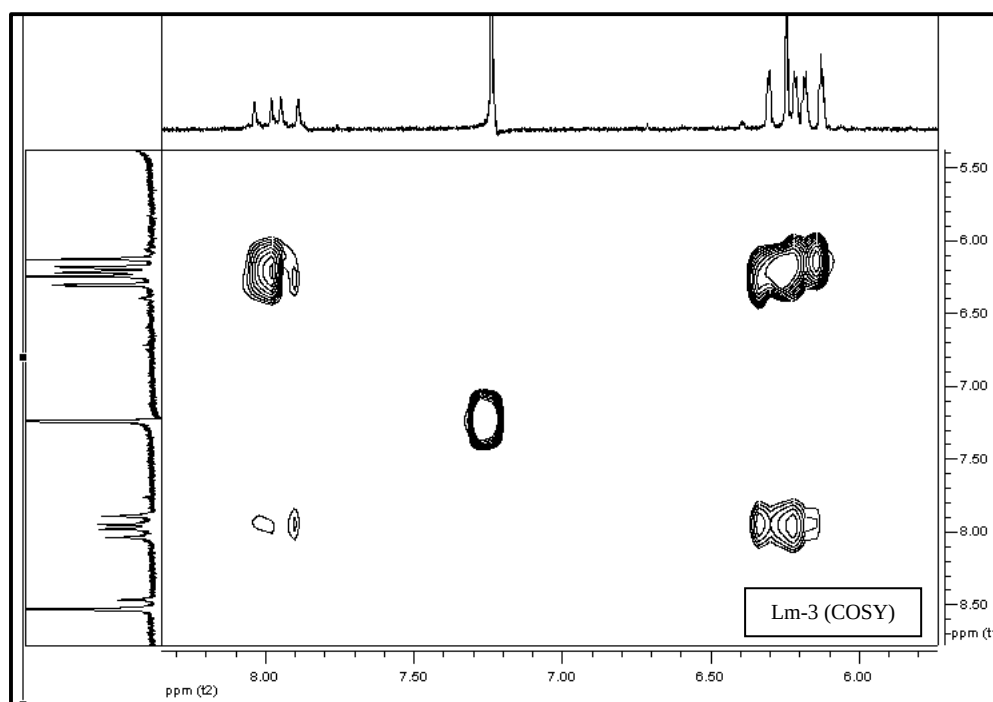


FIGURA 92 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

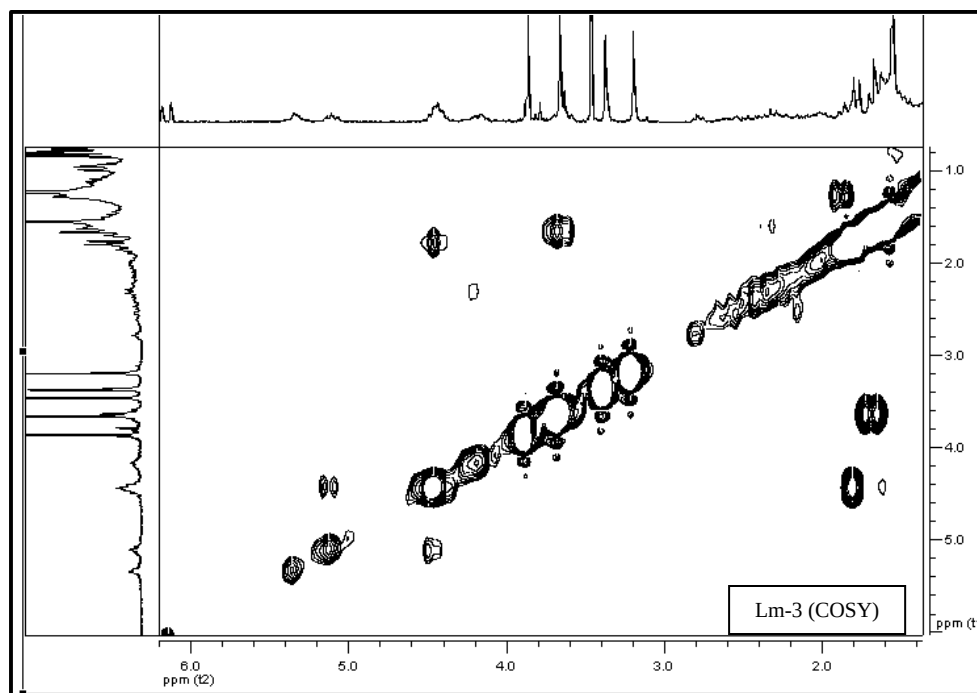


FIGURA 93 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

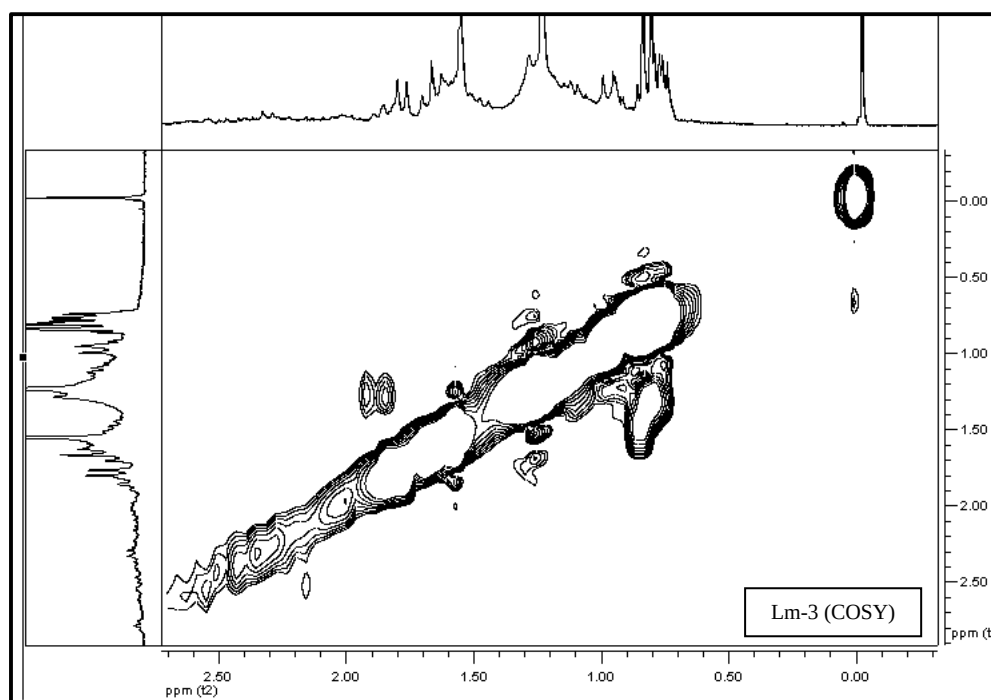


FIGURA 94 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

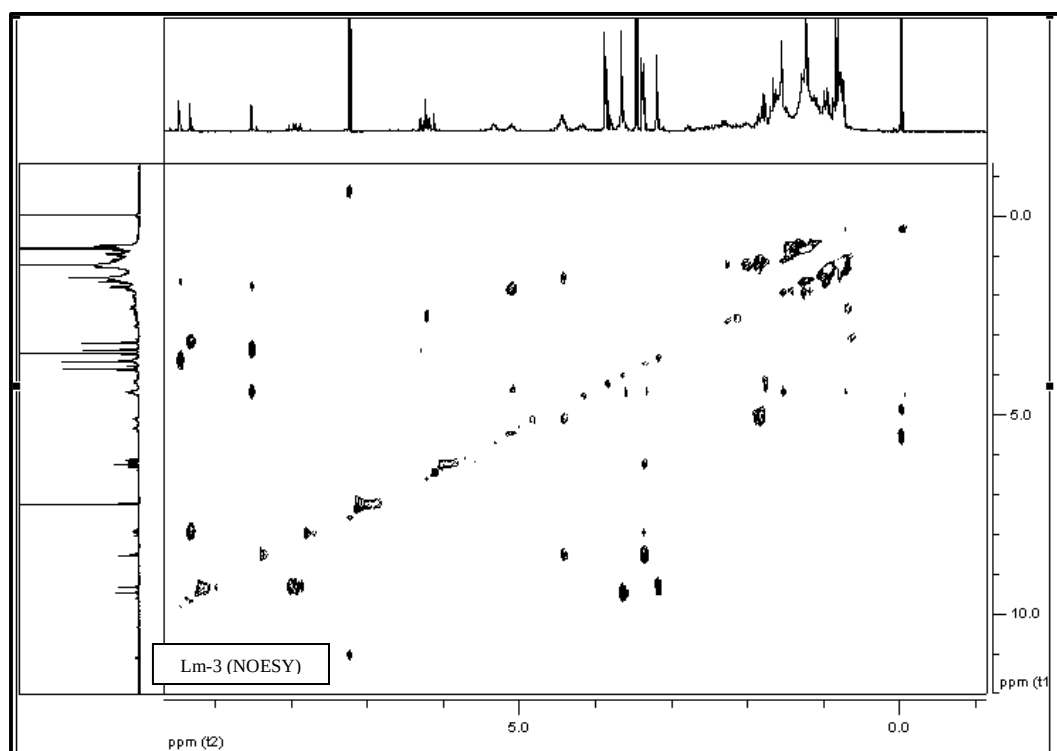


FIGURA 95 Espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-6** (200 MHz, CDCl_3).

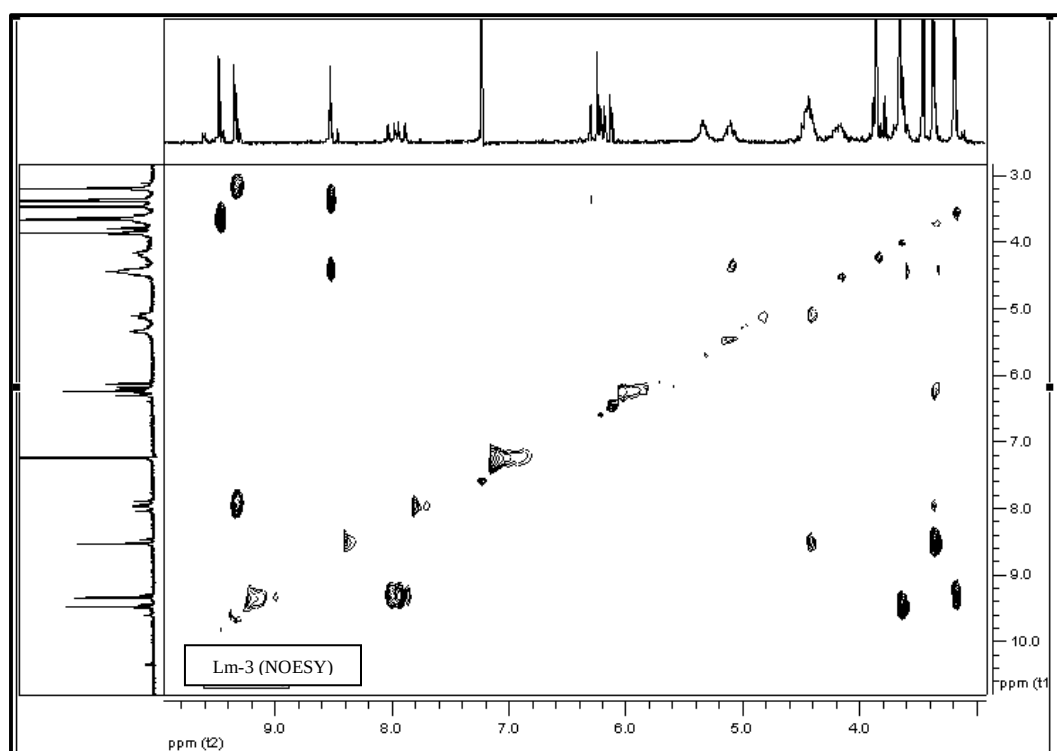


FIGURA 96 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-3** na região entre δ_{H} 3,5-9,5 x 3,0-10,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

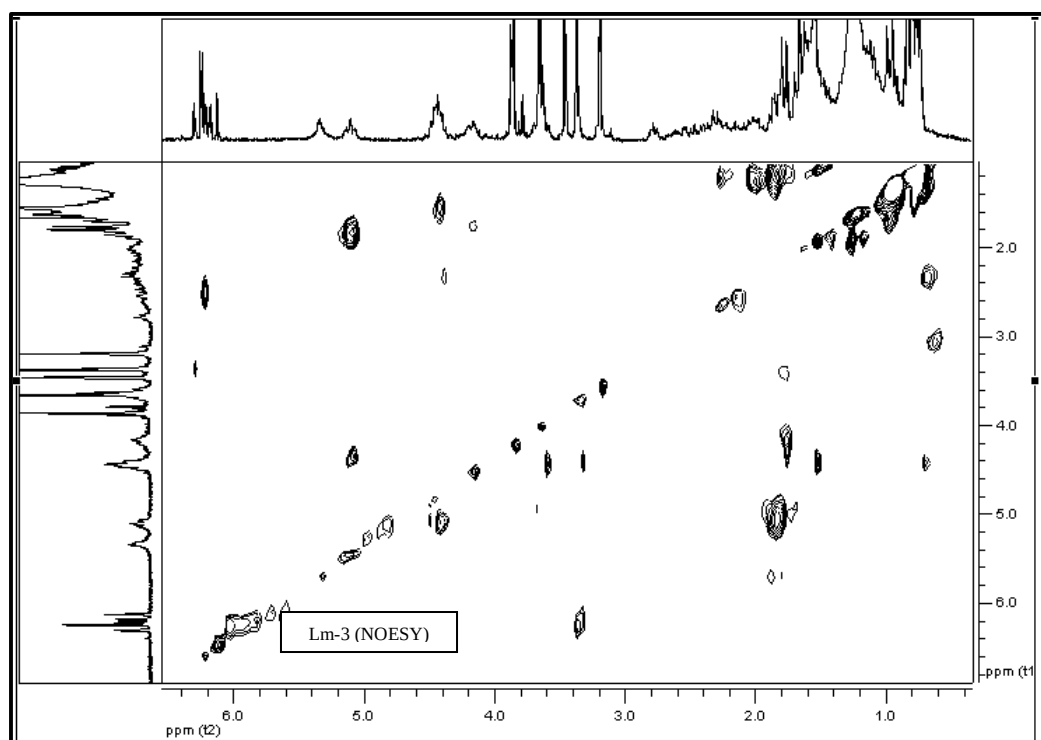


FIGURA 97 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-3** na região entre δ_{H} 1,0-6,3 x 1,0-6,3 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

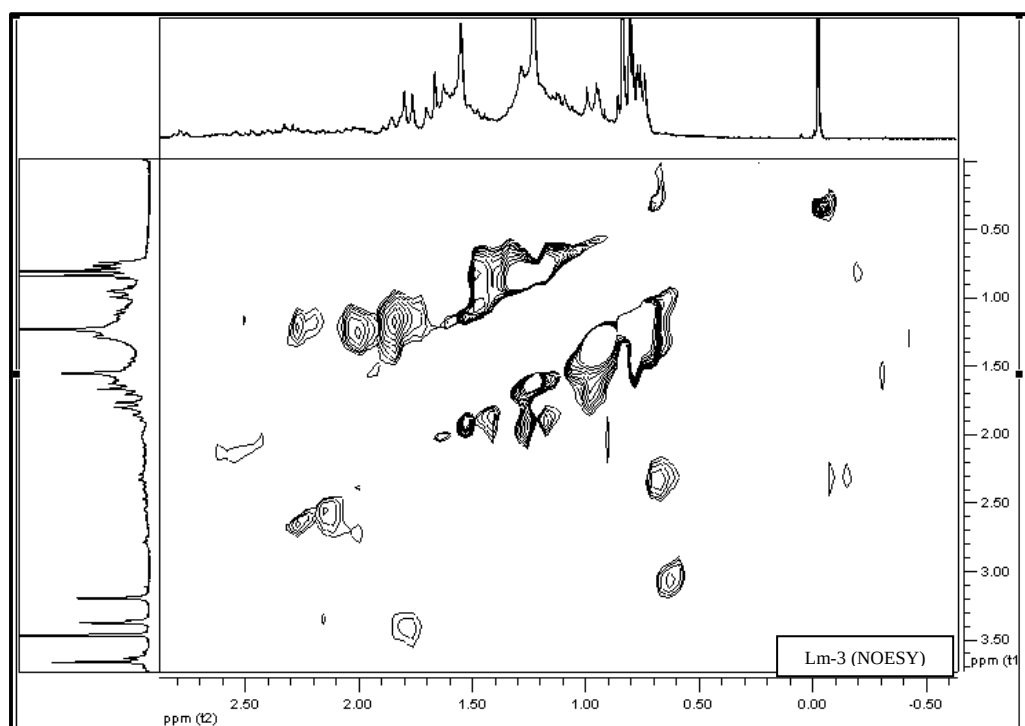
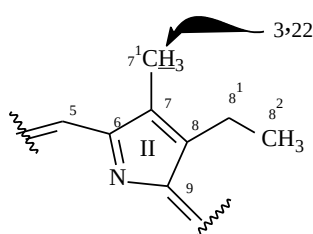


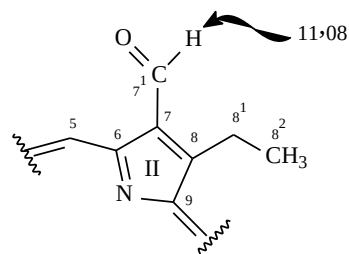
FIGURA 98 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -NOESY de **Lm-3** na região entre δ_{H} 0,5-3,5 x 0,5-3,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

4.3.2.2 Identificação Estrutural de Lm-4

A análise do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **Lm-4** (FIGURA 99, p.139) e suas expansões revelou um conjunto de sinais semelhantes aos apresentados por **Lm-3**, dentre estes foram observados sinais característicos do núcleo porfirínico das feofitinas: três sinais de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 10,29 (s, 1H); 9,56 (s, 1H) e 8,51 (s, 1H) (FIGURA 100, p.139), condizentes com os hidrogênios 10, 5 e 20, respectivamente, do núcleo porfirínico das feofitinas (JERZ, 2007, SILVA, 2006a). A presença do sinal em δ_{H} 7,96 (dd, $J = 18,0$ e $11,5$ Hz, 1H) e dos dois dupletos em δ_{H} 6,34 (*E*) (d, $J = 18,0$ Hz, 1H) e 6,20 (*Z*) (d, $J = 11,5$ Hz, 1H) (FIGURA 101, p.140), acoplando trans ($J = 18,0$ Hz) e cis ($J = 11,5$ Hz) permitiram atribuir o primeiro deslocamento químico ao hidrogênio vinílico 3^1 (1H) e os dois últimos aos hidrogênios 3^2 (2H); A presença de apenas dois sinais de metilas olefínicas em δ_{H} 3,65 (s, 3H), 3,38 (s, 3H) (FIGURA 102, p.140) compatíveis com as metilas 12^1 e 2^1 e a ausência do sinal em δ_{H} 3,20 ($\text{H}-7^1$), bem como a presença do sinal em δ_{H} 11,08 (1H) (FIGURA 100, p.139), sugeriu a existência de um grupo aldeído na posição 7^1 (SCHWIKKARD, 1998). Ainda observou-se os sinais em δ_{H} 3,89 (s, 3H), característico do grupo metoxílico 13^4 ; δ_{H} 3,97 (q, $J = 8,0$ Hz, 1H) e 1,78 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H), compatíveis com os hidrogênios $\text{H}-8^1$ e $\text{H}-8^2$, respectivamente (TOMAZ, 2008, SILVA, 2006a). Além dos dados apresentados ainda observou-se sinais característicos de hidrogênios do fitol: em δ_{H} 5,14 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 4,49 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H) (FIGURA 101, p.140), 1,56 (s, 3H) (FIGURA 103, p.141), compatíveis com os hidrogênios $\text{H}-2'$, $\text{H}-1'$ e $\text{H}-20'$, respectivamente. Esses dados sugeriram a estrutura da feofitina B para **Lm-4**.

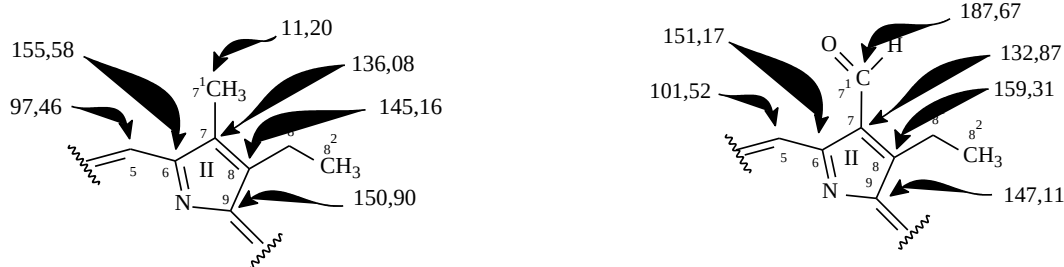


Derivado da feofitina a



derivado da feofitina b

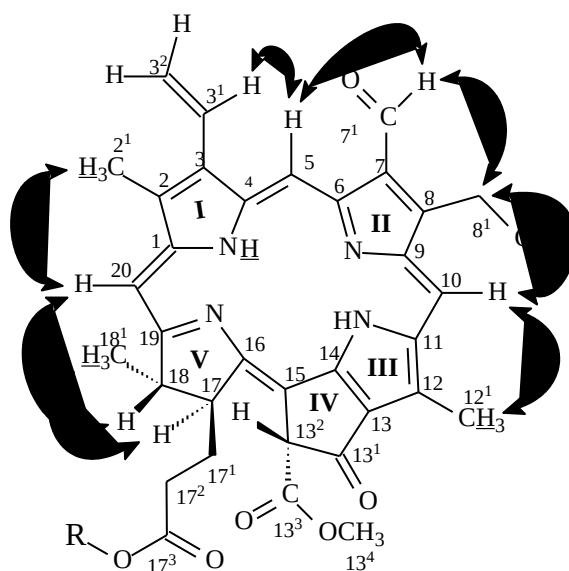
A análise do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **Lm-4** (FIGURA 105, p.142) mostrou um conjunto de sinais semelhantes aos apresentados por **Lm-3**, porém alguns sinais apresentaram deslocamento químico diferentes. Através de comparações com valores reportados na literatura (SCHWIKKARD, 1998) foi possível fazer seus assinalamentos (TABELA 4, p.138). A presença do sinal metínico em δ_{C} 187,68 (FIGURA 106, p.142) confirmou a existência do grupo aldeído molécula, assim como a ausência do sinal metílico em δ_{C} 11,20 permite localizar o grupo aldeído na posição 7^1 . Os efeitos da função aldeído na molécula são mostrados abaixo:



A análise do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (500 MHz, CDCl_3) permitiu o assinalar os carbonos metínicos, metilênicos, metílicos e metoxílico e estão compilados na TABELA 4, p.138.

O assinalamento dos principais carbonos não hidrogenados e confirmação de outros carbonos foram possíveis através da análise do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (500 MHz, CDCl_3) de **Lm-4** e suas expansões. O sinal em δ_{H} 11,20 atribuído a $\text{H}-7^1$ mostrou uma correlação direta com sinal em δ_{C} 187,68 (FIGURA 120, p.149) confirmando o deslocamento químico do aldeído. Também foram observadas correlações do sinal δ_{H} 11,20 ($\text{H}-7^1$) com os sinais δ_{C} 151,17 (^3J) e 132,87 (^2J), permitindo atribuir os deslocamentos aos carbonos C-6 e C-7, respectivamente (FIGURA 120, p.149). A correlação do sinal em δ_{H} 10,28 ($\text{H}-5$) com os sinais δ_{C} 137,74 (^3J) e 132,87 (^3J) permitiu relacionar o primeiro deslocamento a C-3 e confirmar o segundo para C-7 (FIGURA 121, p.150). A correlação do sinal em δ_{H} 9,56 ($\text{H}-10$) com os sinais δ_{C} 132,39 (^3J), 137,99 (^2J), 147,11 (^2J) e 159,31 (^3J) permitiram atribuir aos carbonos C-12, C-11, C-9 e C-8, respectivamente (FIGURA 122, p.150). A correlação do sinal δ_{H} 3,65 ($\text{H}-12^1$) com os sinais δ_{C} 132,39 (^2J), 137,99 (^3J) e 129,73 (^3J), confirmaram os dois primeiros deslocamentos para os carbonos C-12 e C-11, respectivamente, e permitiu correlacionar o último com o carbono C-13. A correlação do sinal em δ_{H} 3,97 ($\text{H}-8^1$) com os sinais em δ_{C}

147,11 (^3J) e 159,31 (^2J) (FIGURA 123 e 125, p.151 e 152) confirmam os deslocamentos dos carbonos C-9 e C-8, respectivamente. Estas correlações confirmaram os principais assinalamentos para os carbonos de **Lm-4** que sofreram alterações de deslocamento químico em relação a **Lm-3**. Outras correlações importantes, não observadas nos espectros de **Lm-3**, foram notadas entre o sinal em δ_H 6,22 (H-13 ^{2}) com os sinais δ_C 104,97 (^2J), 150,70 (^3J), 169,27 (^2J) e 189,46 (^2J) (FIGURA 127, p.153), permitindo atribuí-los aos carbonos C-15, C-14, C-13 ^{3} e C-13 ^{1} , respectivamente. Também foi confirmada a esterificação com o fitol através da correlação dos sinais dos hidrogênios metilênicos em δ_H 4,43 e 4,49 (H-1') com o sinal em δ_C 172,78 confirmando o deslocamento químico do carbono C-17 ^{3} , assim como o grupo fitol ligado ao mesmo. A correlação de δ_H 4,43 e 4,49 (H-1') com os sinais em δ_C 117,71 (^2J) e 142,91 (^3J) (FIGURA 130, p.154) confirmaram os deslocamentos químicos dos carbonos C-2' e C-3', respectivamente. As demais correlações observadas nos espectros de correlação $^1H \times ^{13}C$ -HMQC, $^1H \times ^{13}C$ -HMBC e $^1H \times ^1H$ -COSY estão apresentadas na TABELA 4, p.138. Abaixo esta mostrada as correlações observadas nos espectros $^1H \times ^1H$ -NOESY.



Correlações observadas no espectro $^1H \times ^1H$ -NOESY de **Lm-6**

TABELA 4 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional de **Lm-4**

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY
	δ_{H}	δ_{C}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1		143,54			
2		132,16			
2 ¹	3,36 (s, 3H)	12,03	C-2	C-1; C-3	
3		137,74			
3 ¹	7,96 (dd, $J=18\text{Hz}$, 12Hz , 1H)	128,64		C-2; C-4	3 ² (E, Z)
3 ²	6,34 (E)(d, $J=18\text{Hz}$, 1H) e 6,20 (Z) (d, $J=11,5\text{Hz}$, 1H)	123,53		C-3	
4		137,13			
5	10,28 (s, 1H)	101,52		C-3; C-7	
6		151,17			
7		132,87			
7 ¹	11,08 (s, 1H)	187,68	C-7	C-6	
8		159,31			
8 ¹	3,97 (q, $J = 8,0\text{Hz}$, 2H)	19,06	C-8 ² ; C-8	C-7; C-9	H-8 ²
8 ²	1,78 (t, $J = 8,0\text{Hz}$, 3H)	19,33	C-8 ¹	C-8	
9		147,11			
10	9,56 (s, 1H)	106,90	C-9; C-11	C-12; C-8	
11		137,99			
12		132,39			
12 ¹	3,65 (s, 3H)	12,22	C-12;	C-11; C-13	
13		129,73			
13 ¹		189,46			
13 ²	6,22 (s, 1H)	64,59	C-13 ¹ ; C-13 ³ ; C-15	C-14	
13 ³		169,27			
13 ⁴	3,89 (s, 3H)	52,95		C-13 ³	
14		150,70			
15		104,97			
16		164,04			
17	4,18 (m, 1H)	51,37			
17 ¹	1,85-1,89 (m, 2H)	27,39			H-17 ²
17 ²	1,89-1,85 (m, 2H)	33,48			
17 ³		172,78			
18	4,43 (m, 1H)	50,12	C-18 ¹ ; C-19		H-18 ¹
18 ¹	1,81 (d, $J=7,5\text{Hz}$)	23,05	C-18	C-17; C-19	
19		173,99			
20	8,51 (s, 1H)	93,34	C-1	C-2; C-18	
Éster Graxo					
1'	4,43 (q, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H e 4,49 (m, 1H)	61,65	C-2'	C-3'; C-17 ³	H-2'
2'	5,14 (t, $J = 7,5 \text{ Hz}$)	117,71			
3'		142,91			
20'	1,56 (s, 3H)				

RMN (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm e J em Hz)

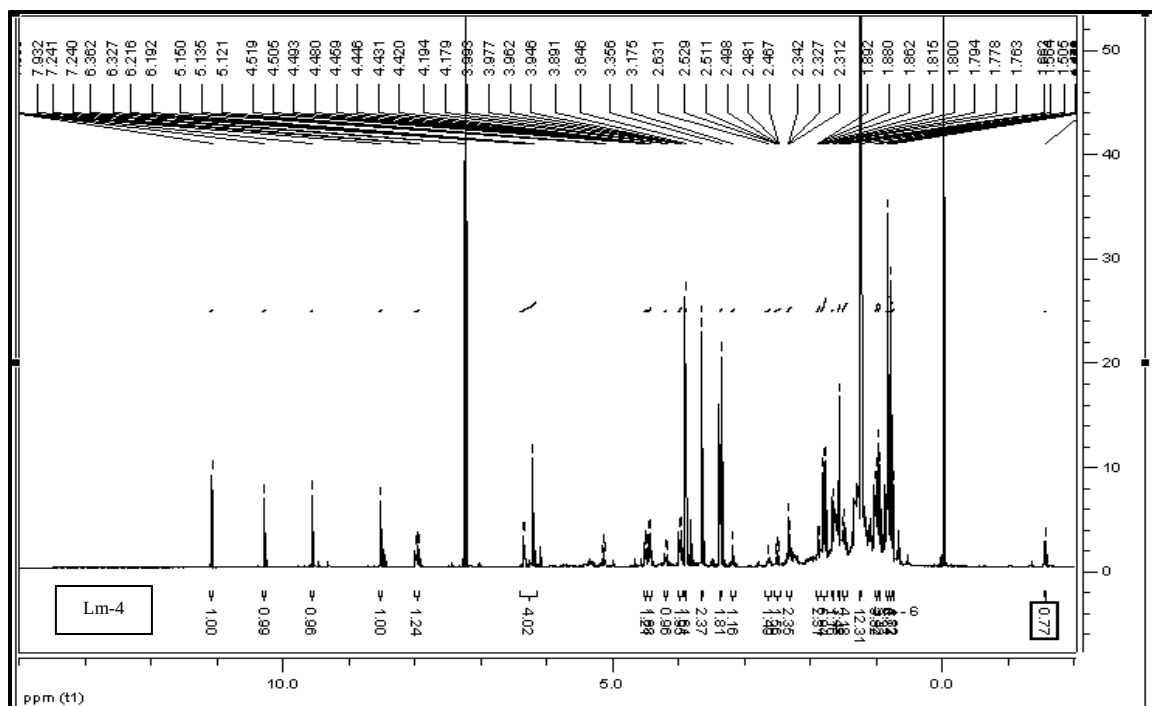


FIGURA 99 Espectro de RMN ^1H de **Lm-4** (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

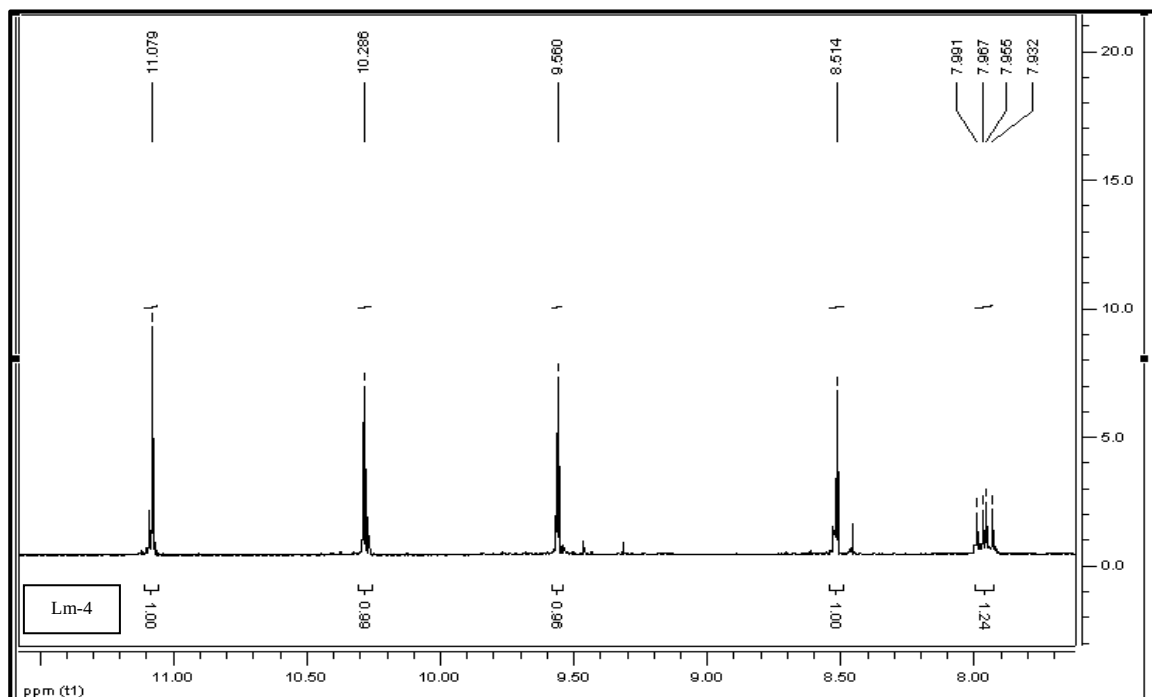


FIGURA 100 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-4** na região entre δ 7,5-11,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

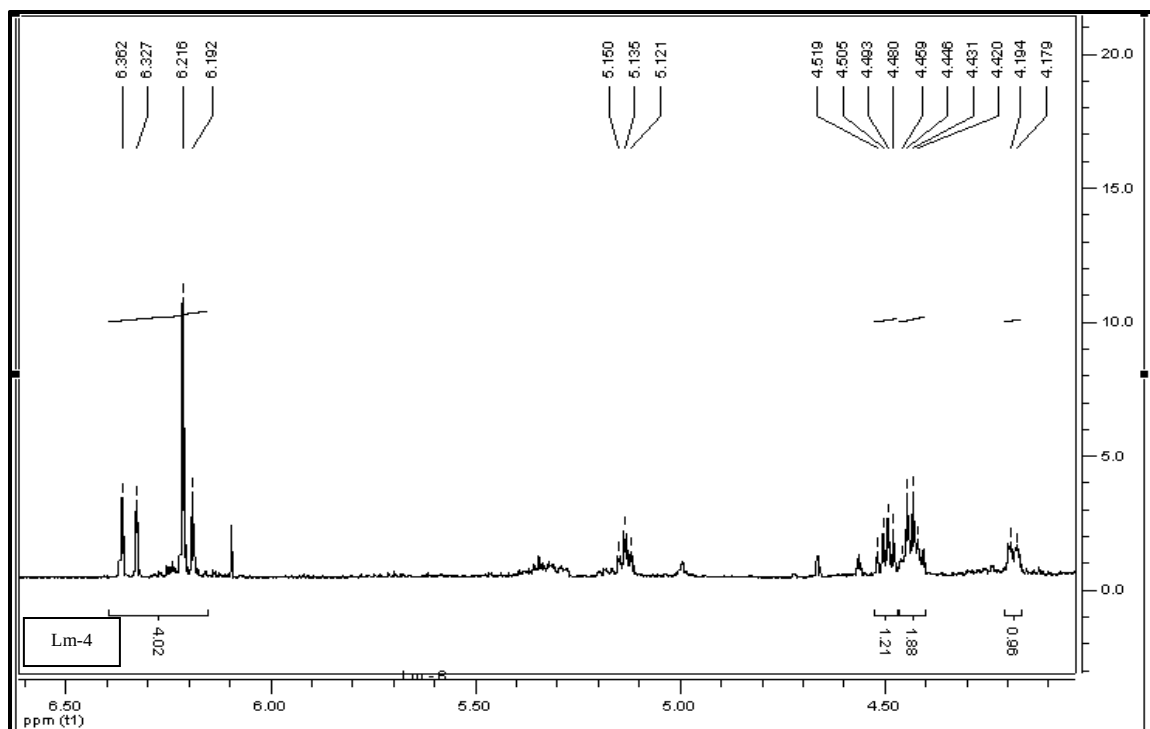


FIGURA 101 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-4** na região entre δ_{H} 4,0 – 6,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

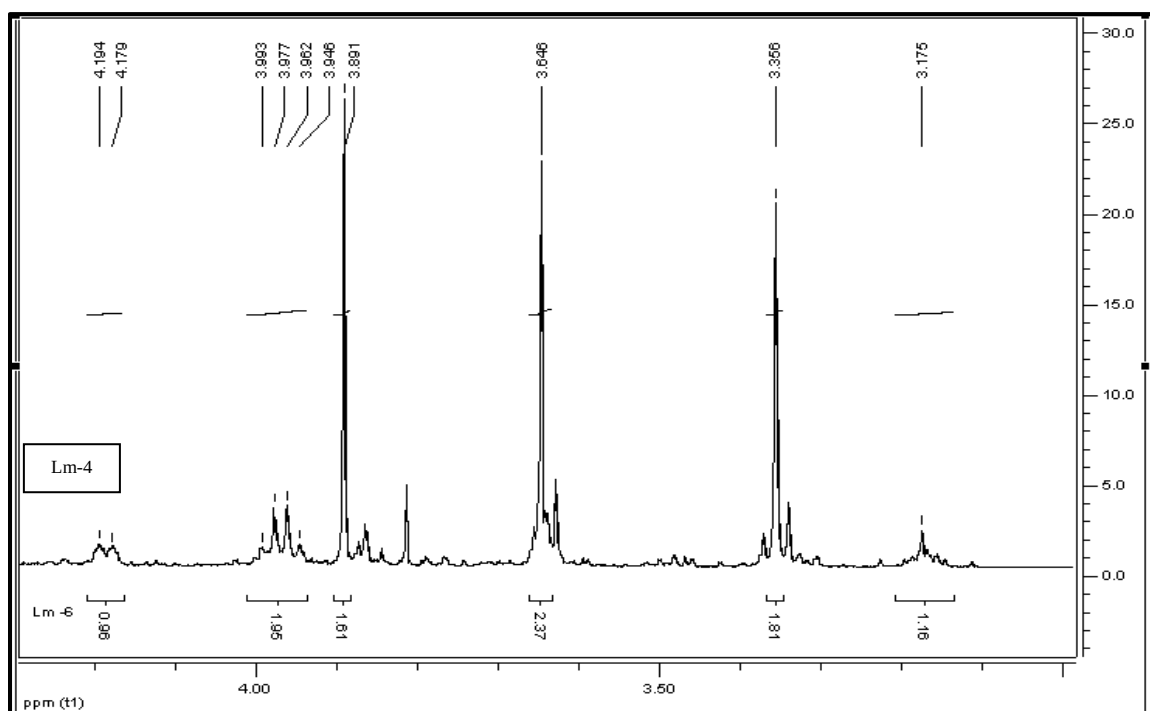


FIGURA 102 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-4** na região entre δ_{H} 3,0 – 4,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

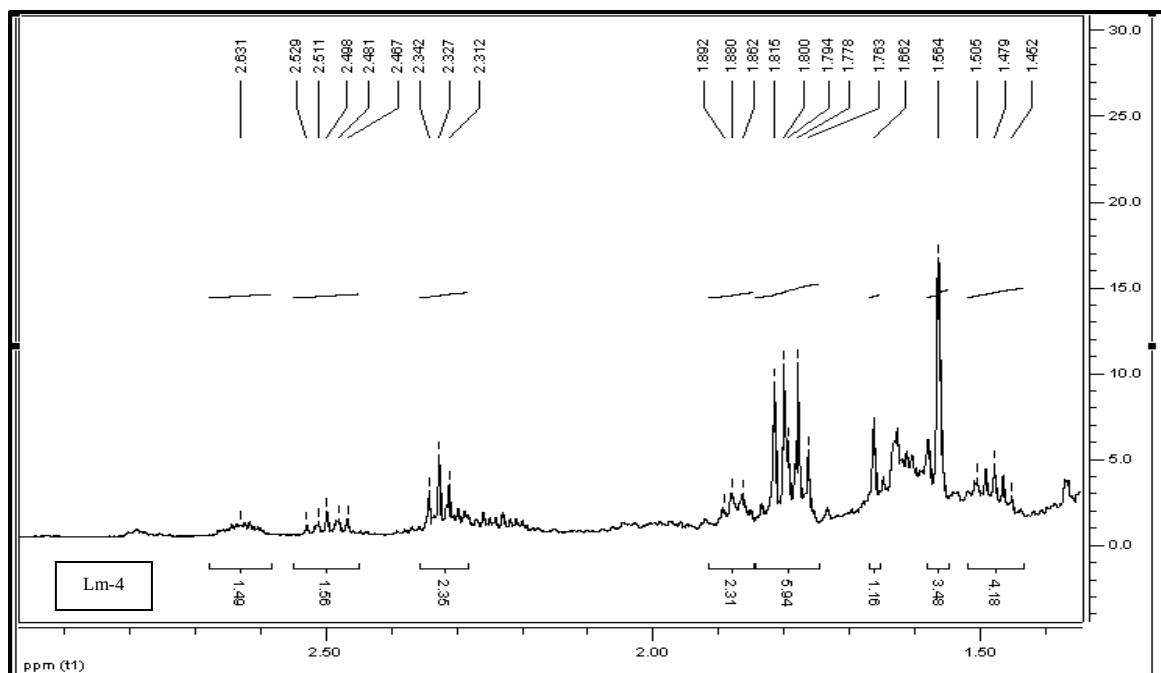


FIGURA 103 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-4** na região entre δ_{H} 1,4 -3,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

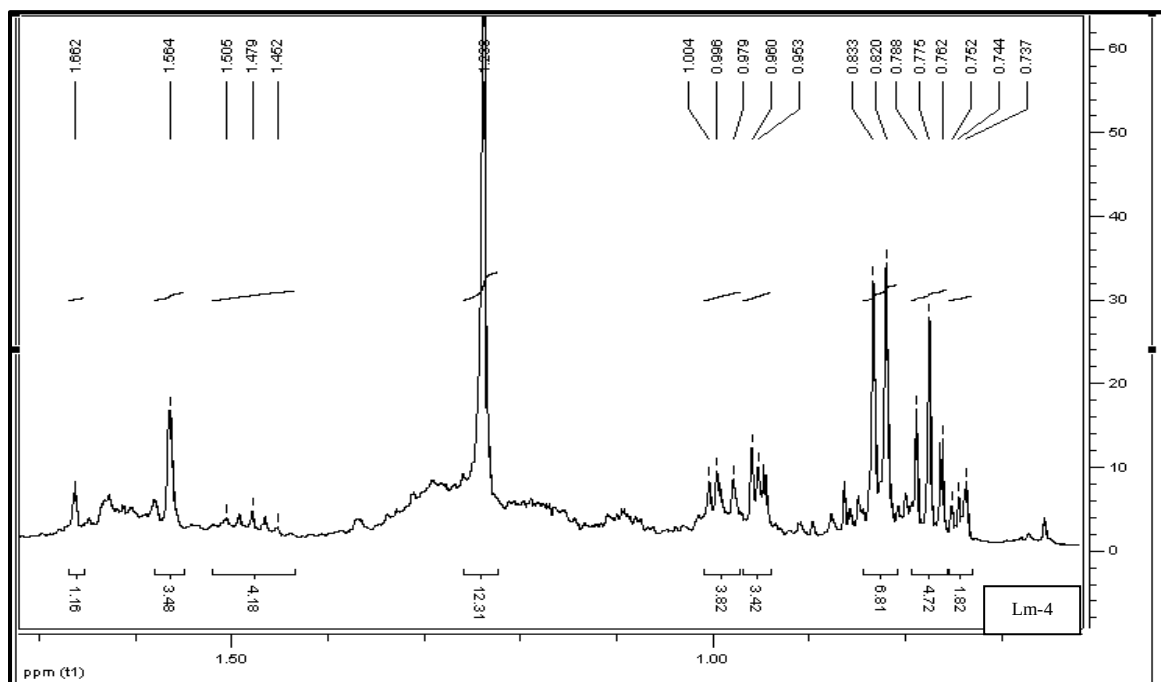


FIGURA 104 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-4** na região entre δ_{H} 0,5 – 1,7 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

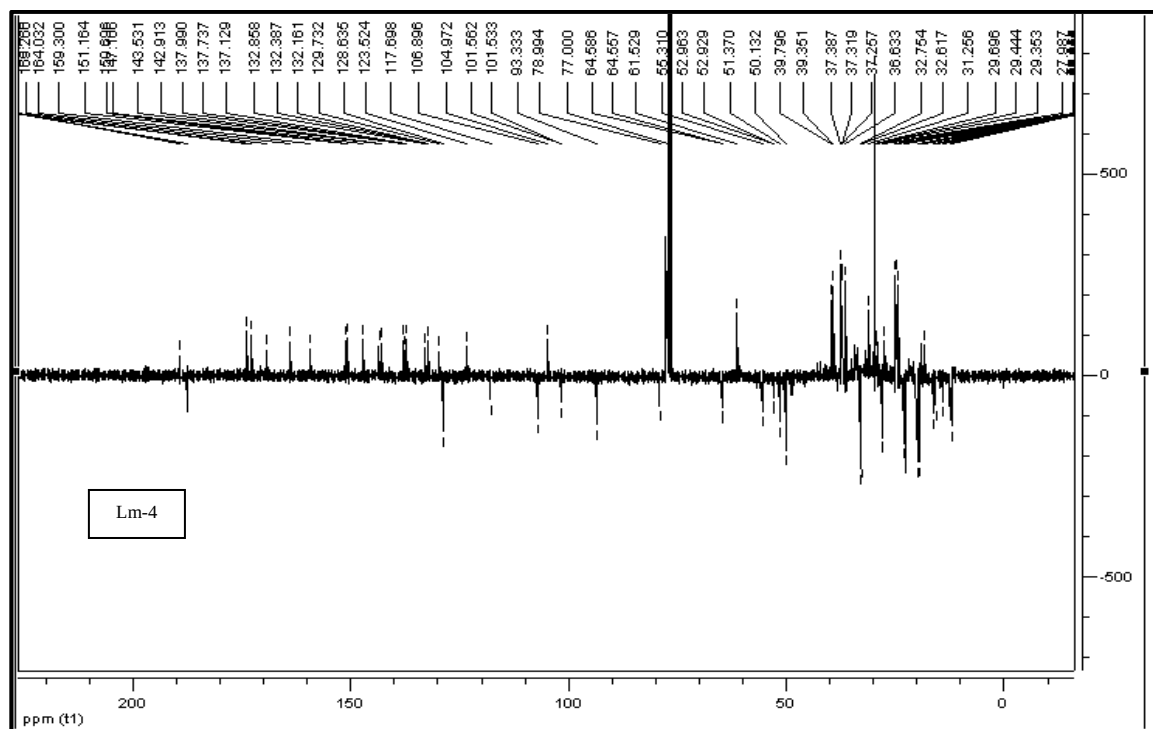


FIGURA 105 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-4** (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

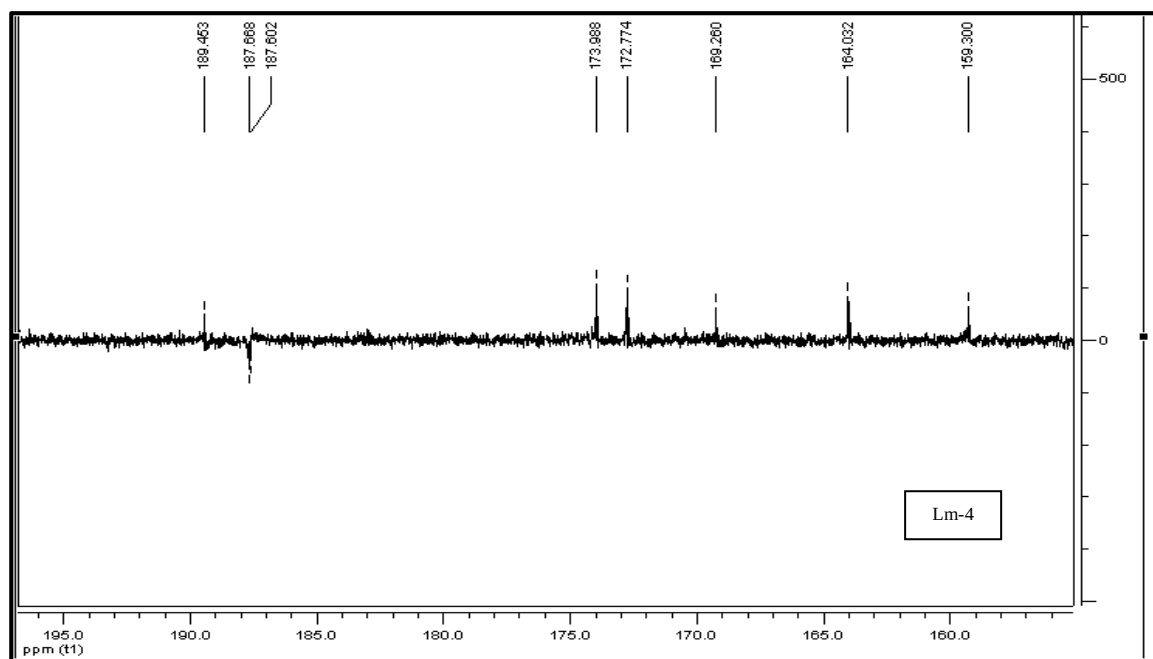


FIGURA 106 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-4** na região entre δ_{C} 195-165 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

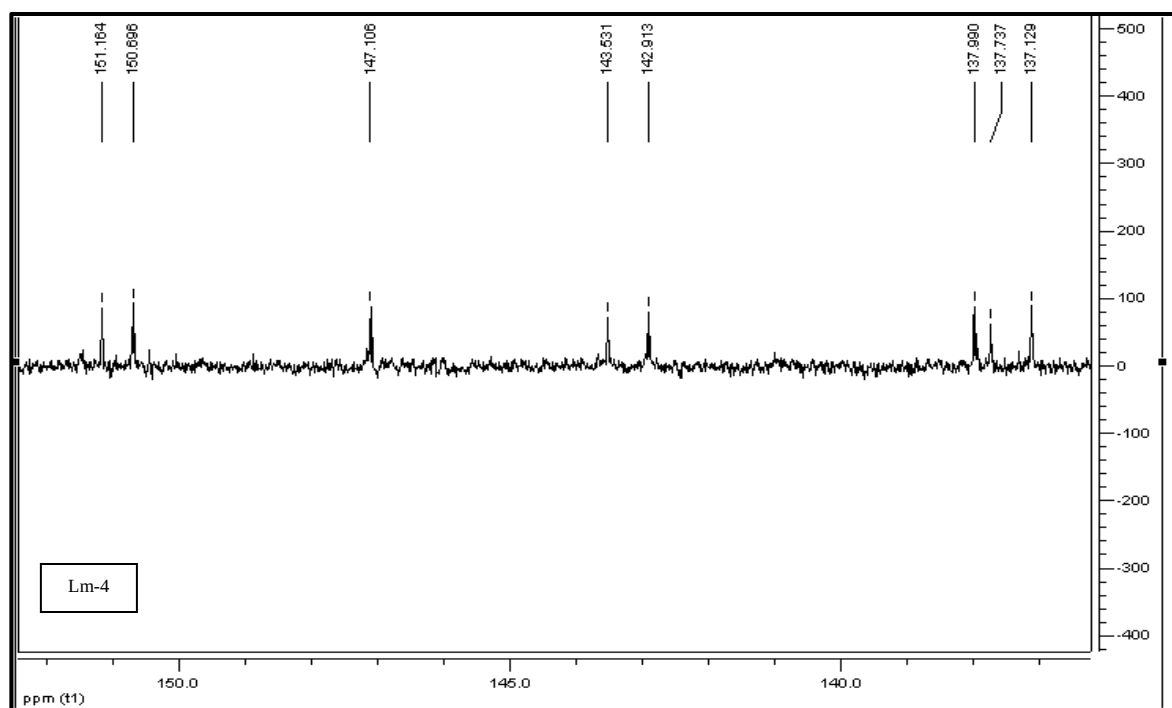


FIGURA 107 Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de **Lm-4** na região entre δ_C 152-135 (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

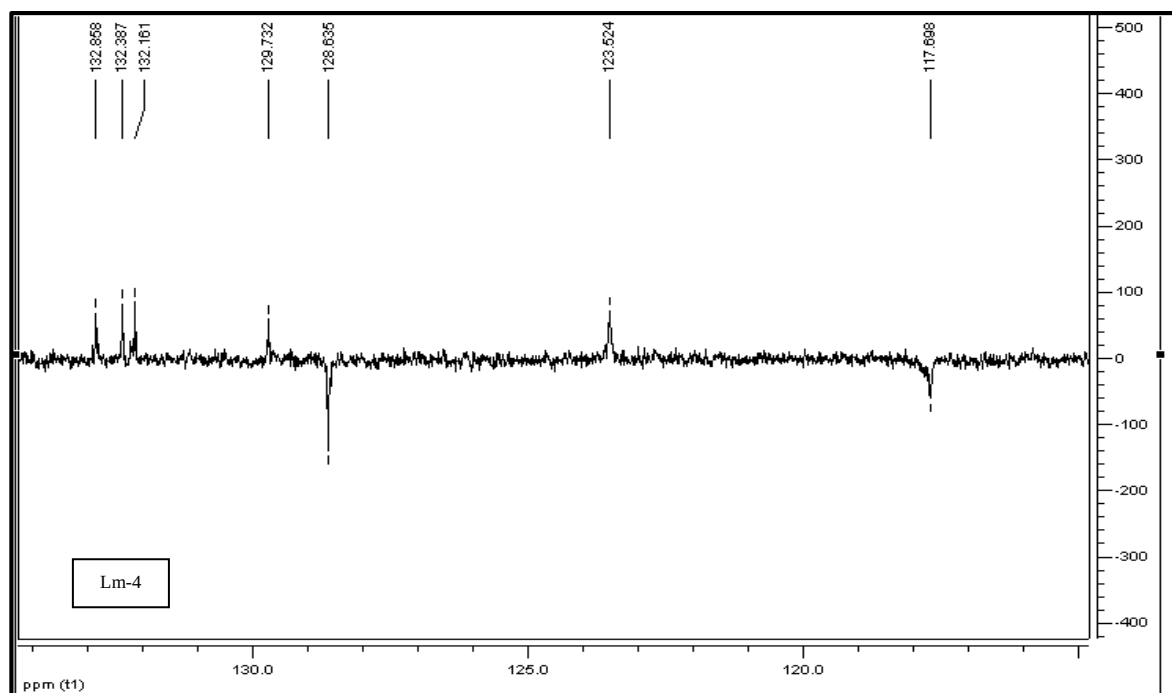


FIGURA 108 Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de **Lm-4** na região entre δ_C 115-135 (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

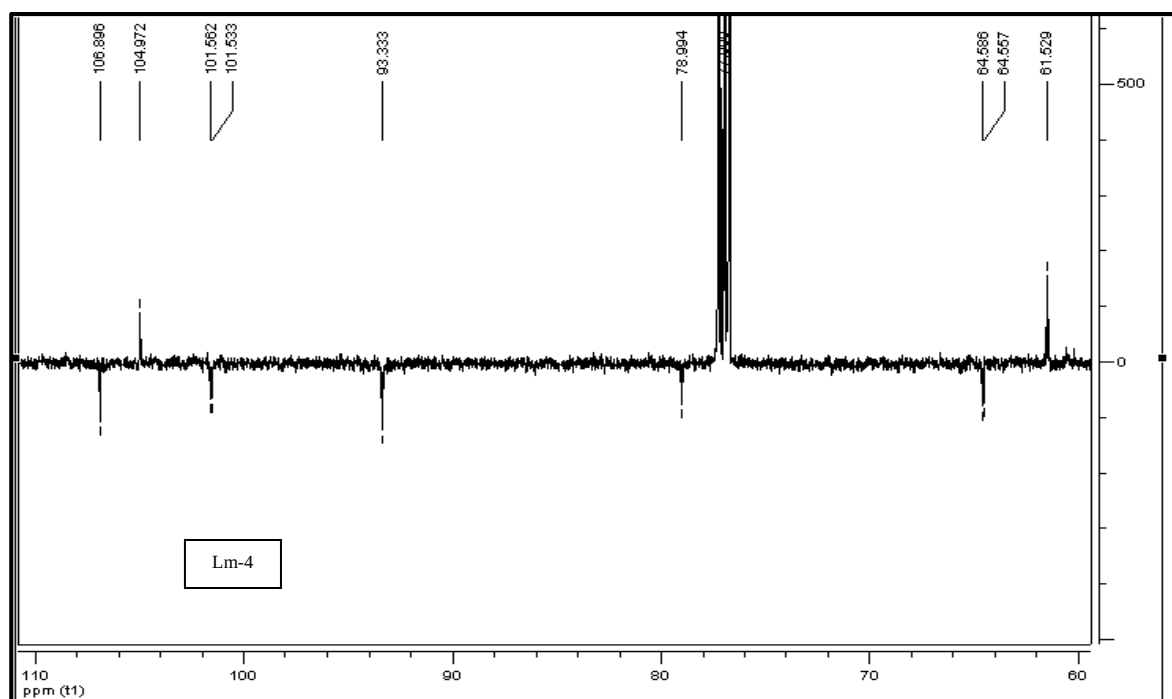


FIGURA 109 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-4** na região entre δ_{C} 110 – 60 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

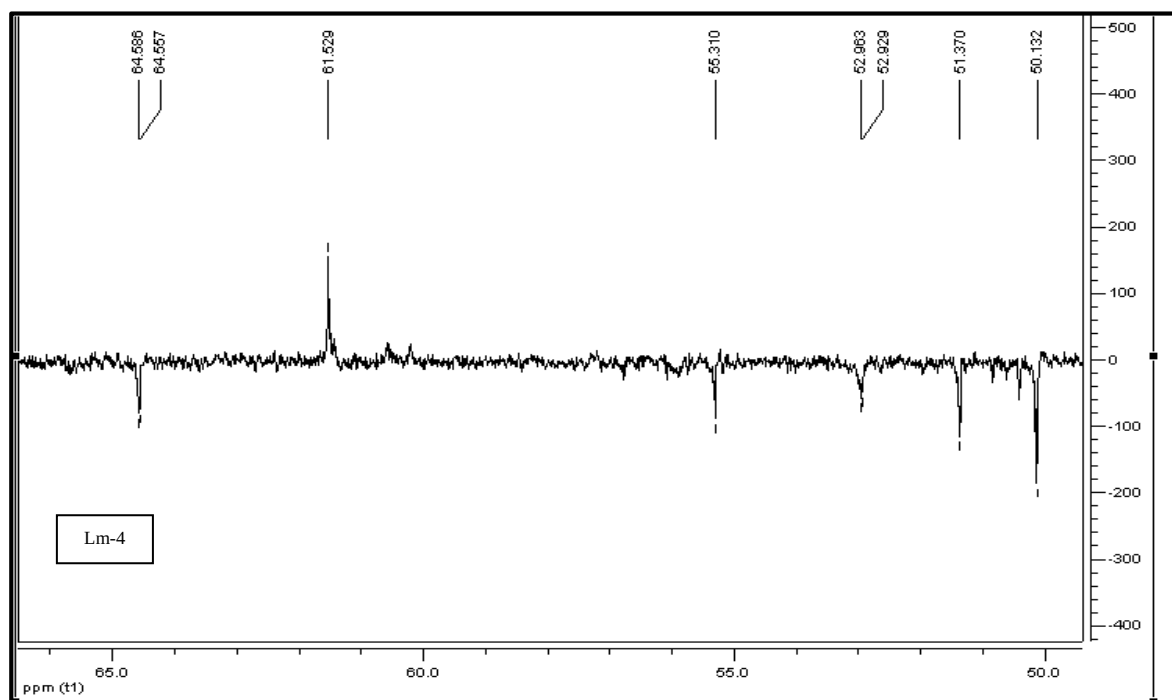


FIGURA 110 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-4** na região entre δ_{C} 65 - 50 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

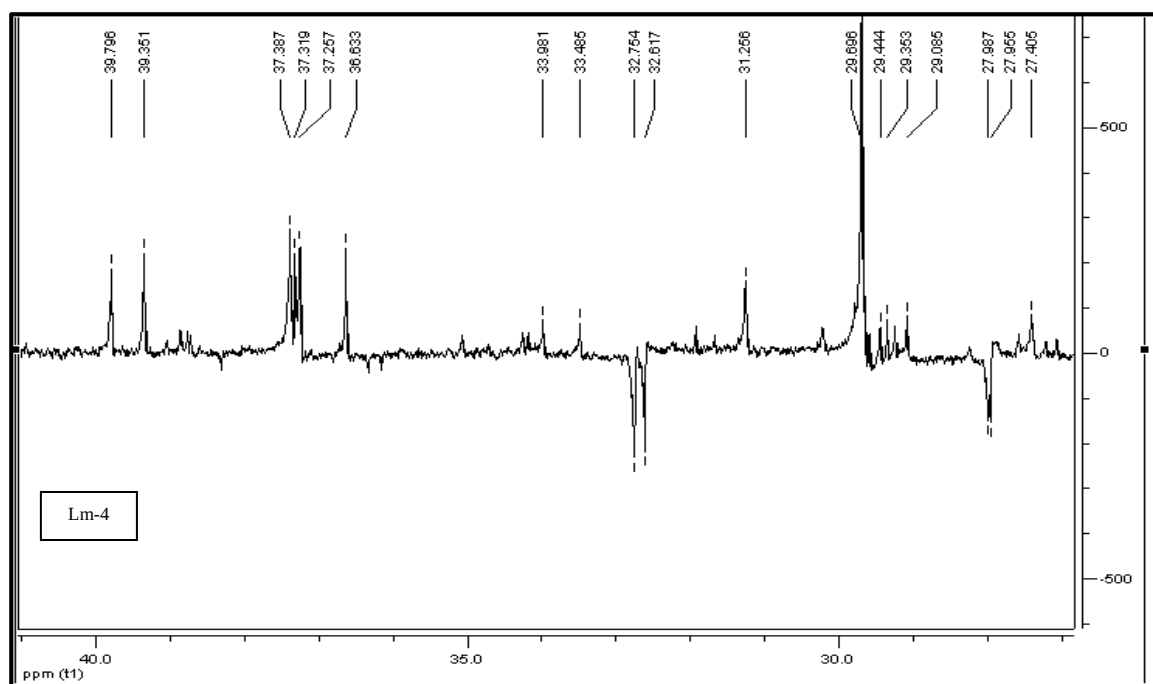


FIGURA 111 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-4** na região entre δ_{C} 25 - 40 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

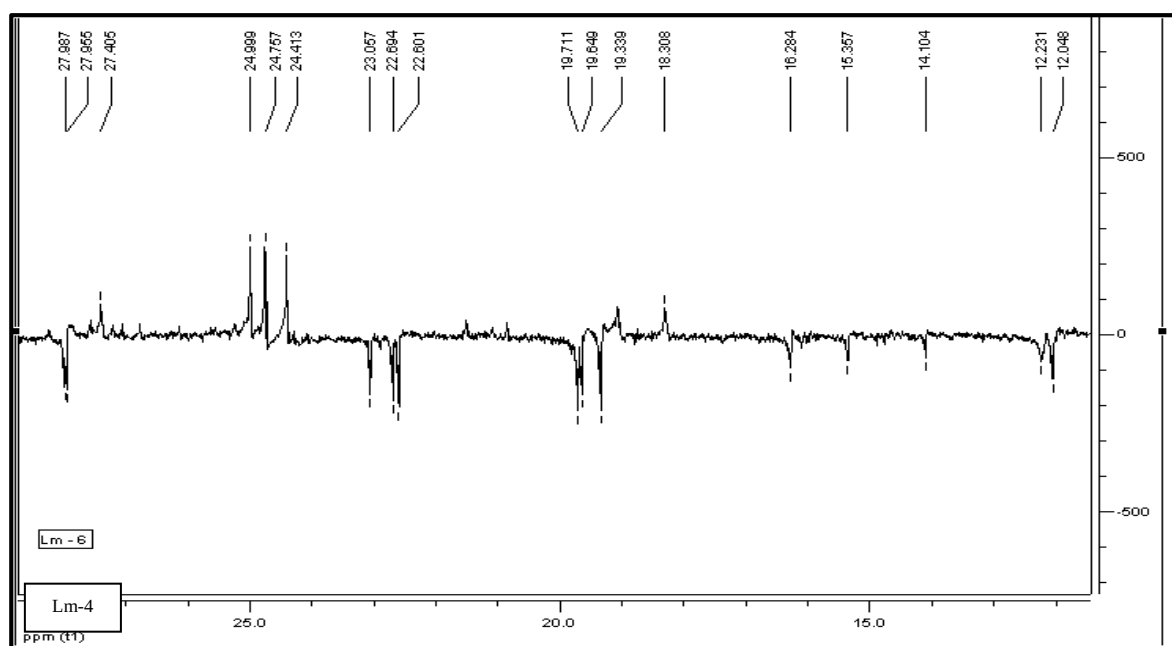


FIGURA 112 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-4** na região entre δ_{C} 10 - 30 (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

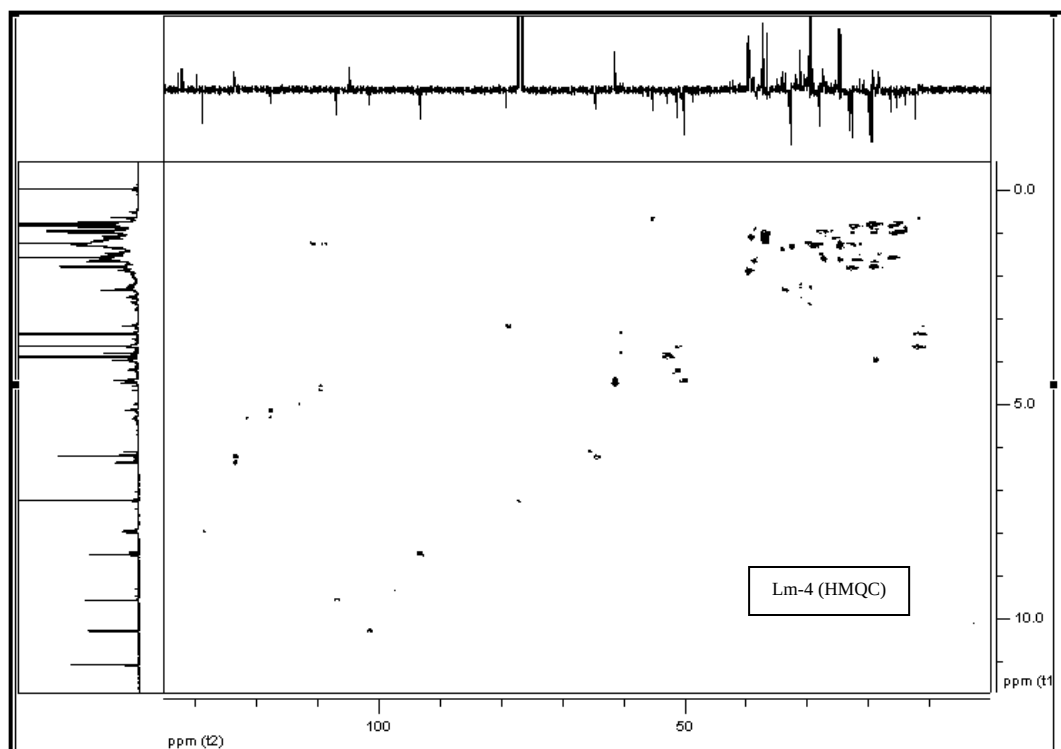


FIGURA 113 Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de **Lm-4** (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

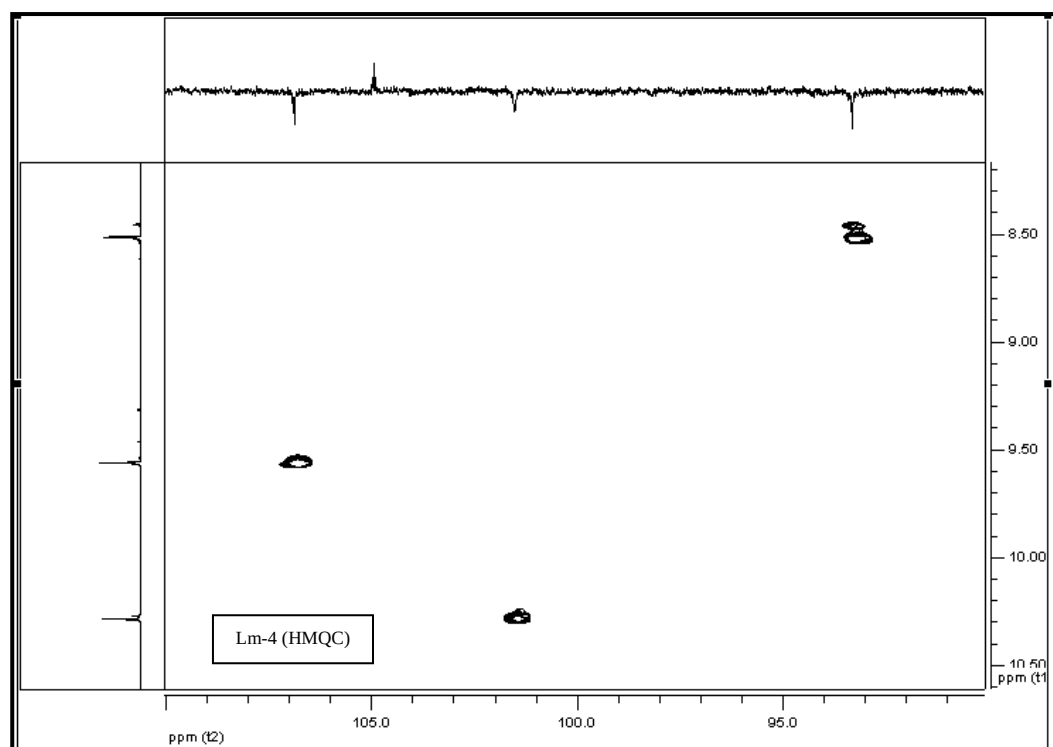


FIGURA 114 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de **Lm-4** na região entre δ 8,0 – 10,5 x 90 - 110 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

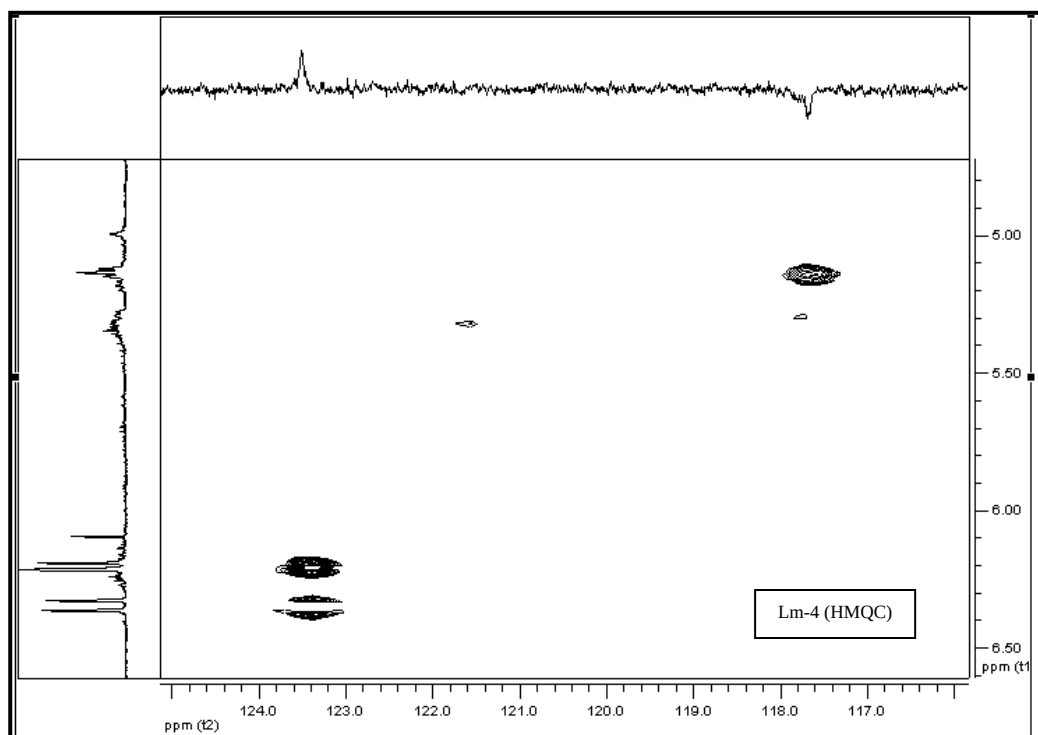


FIGURA 115 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de **Lm-4** na região entre δ 4,5 – 6,5 x 110 - 125 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

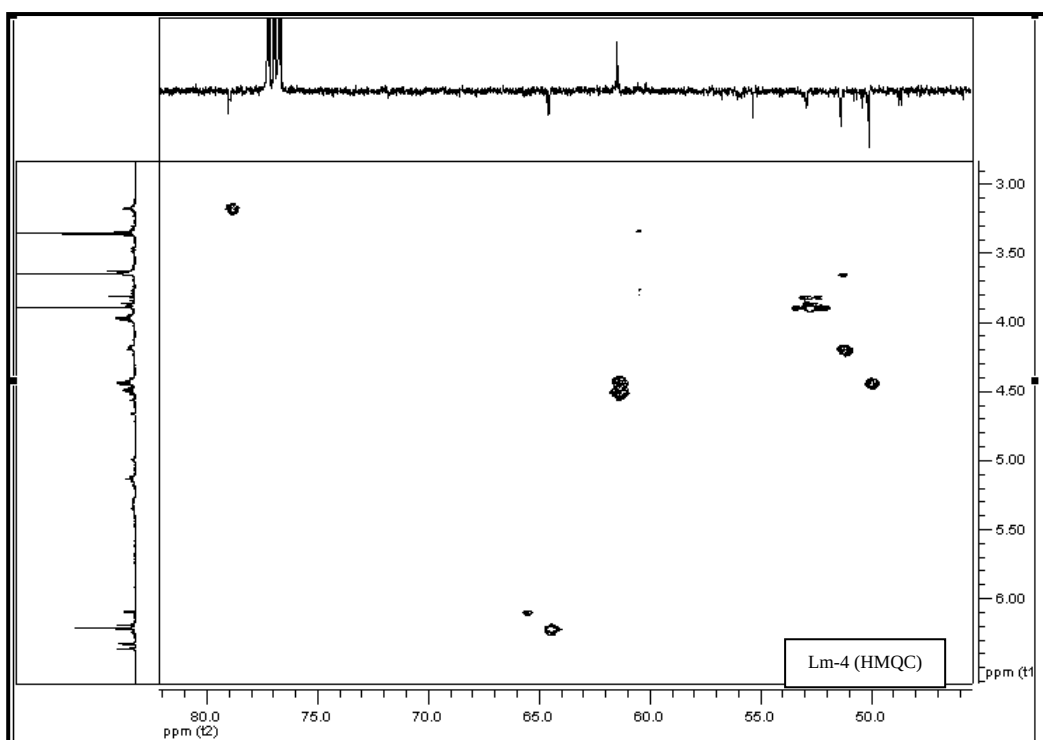


FIGURA 116 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de **Lm-4** na região entre δ 3,0 – 6,5 x 45 - 80 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

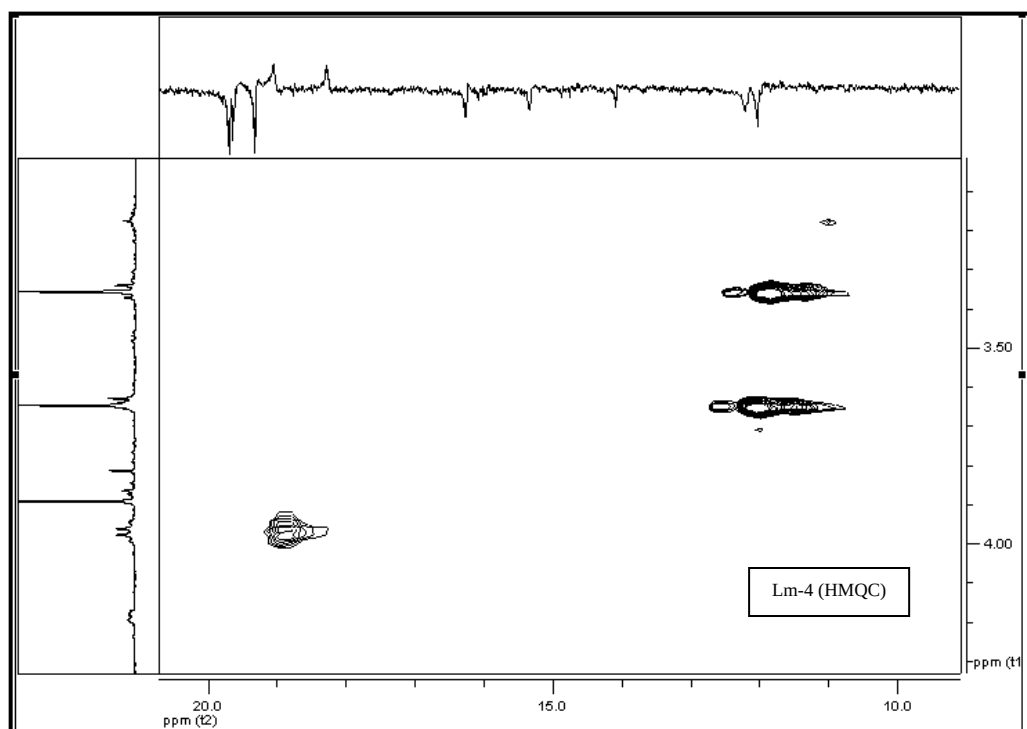


FIGURA 117 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de **Lm-4** na região entre δ 3,0 – 4,5 x 10 - 20 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

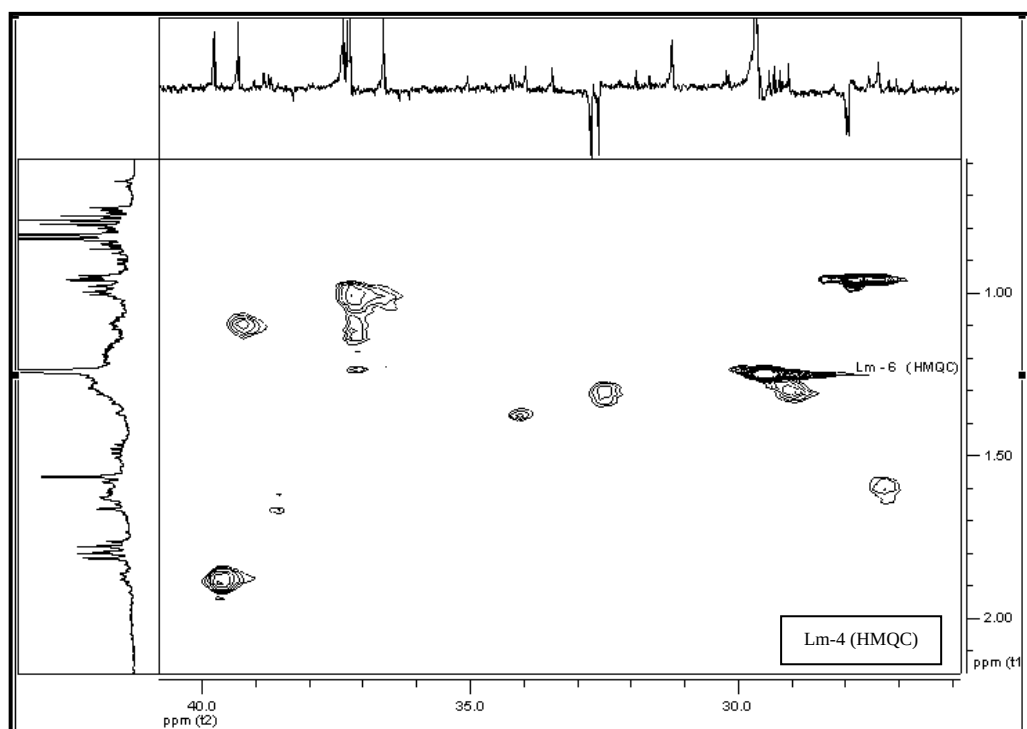


FIGURA 118 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de **Lm-4** na região entre δ 0,5 – 2,1 x 20 - 40 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

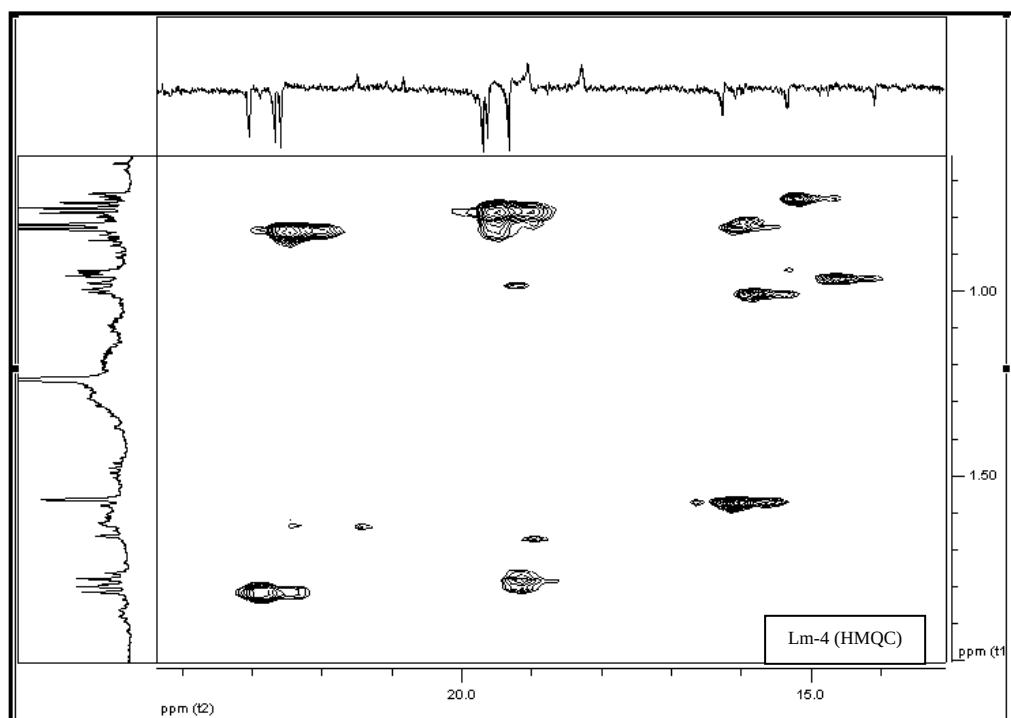


FIGURA 119 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de **Lm-4** na região entre δ 0,5 – 2,0 x 13 - 25 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

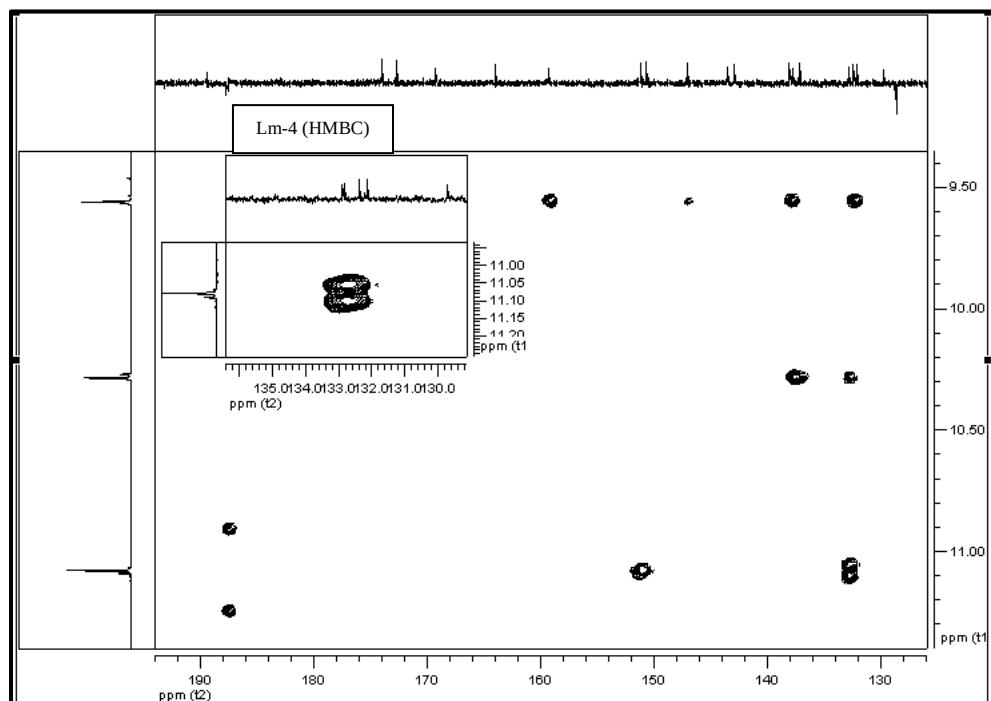


FIGURA 120 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 9,3 – 11,5 x 130-190 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

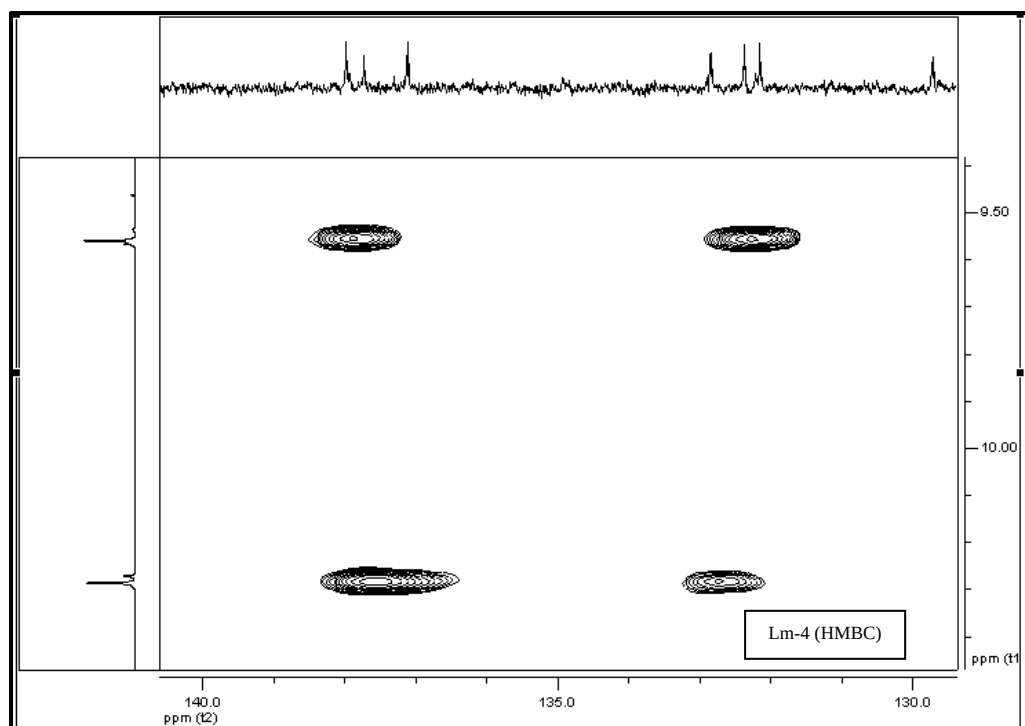


FIGURA 121 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 9,5 – 10,5 x 130-140 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

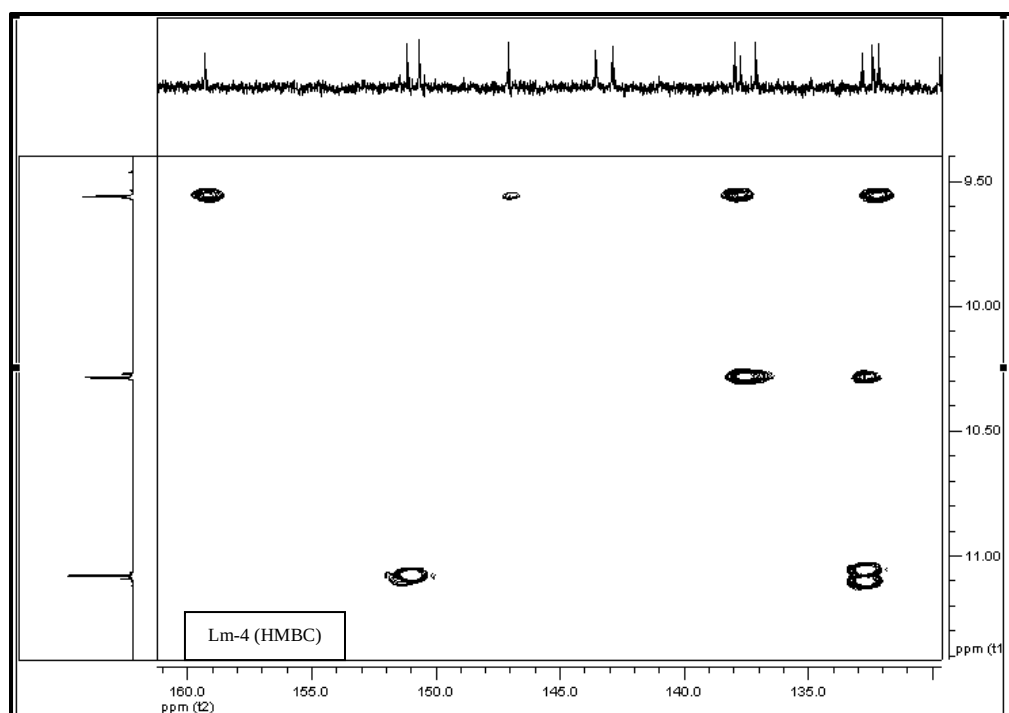


FIGURA 122 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 9,5 – 10,5 x 130-140 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

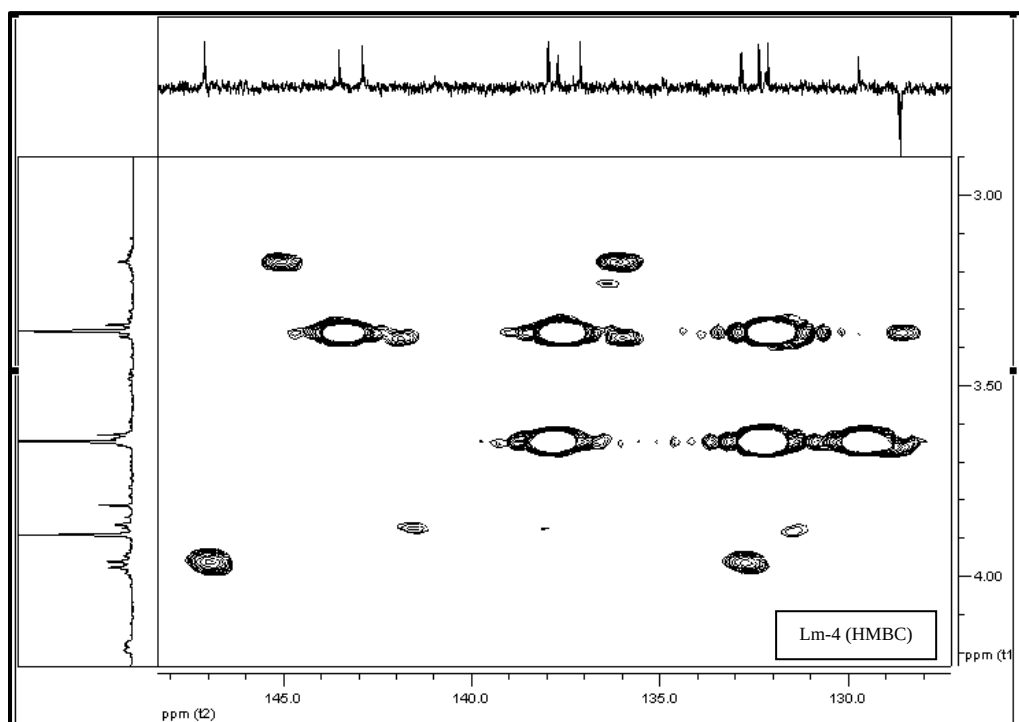


FIGURA 123 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 3,0 – 4,5 x 125-150 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

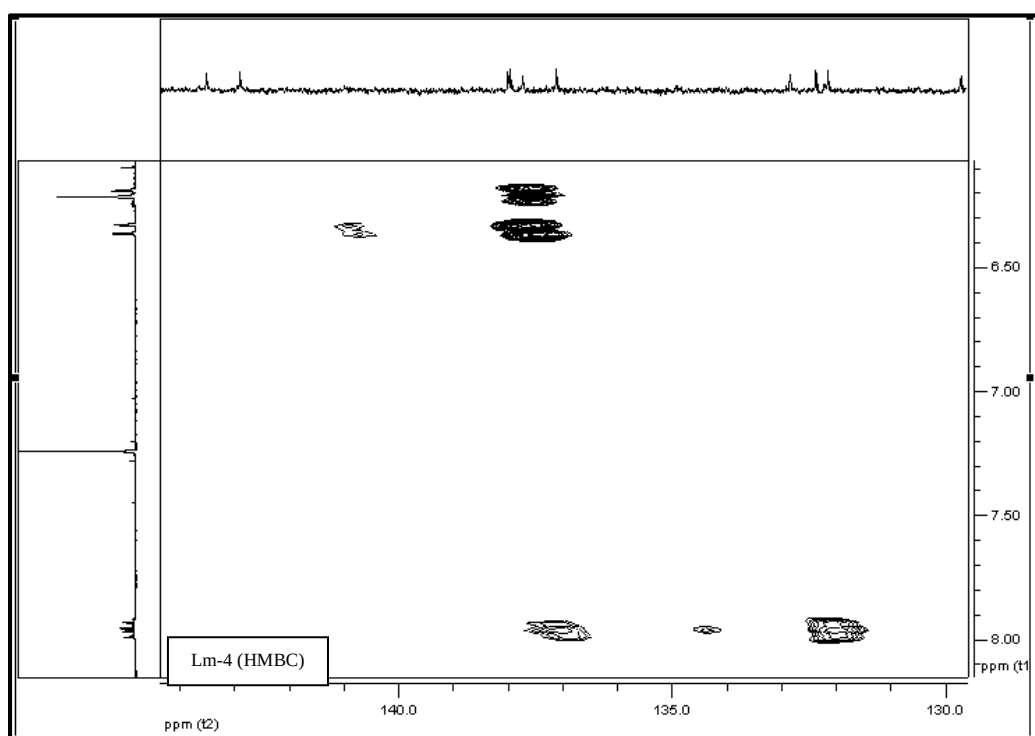


FIGURA 124 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 6,0 – 8,0 x 130 - 145 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

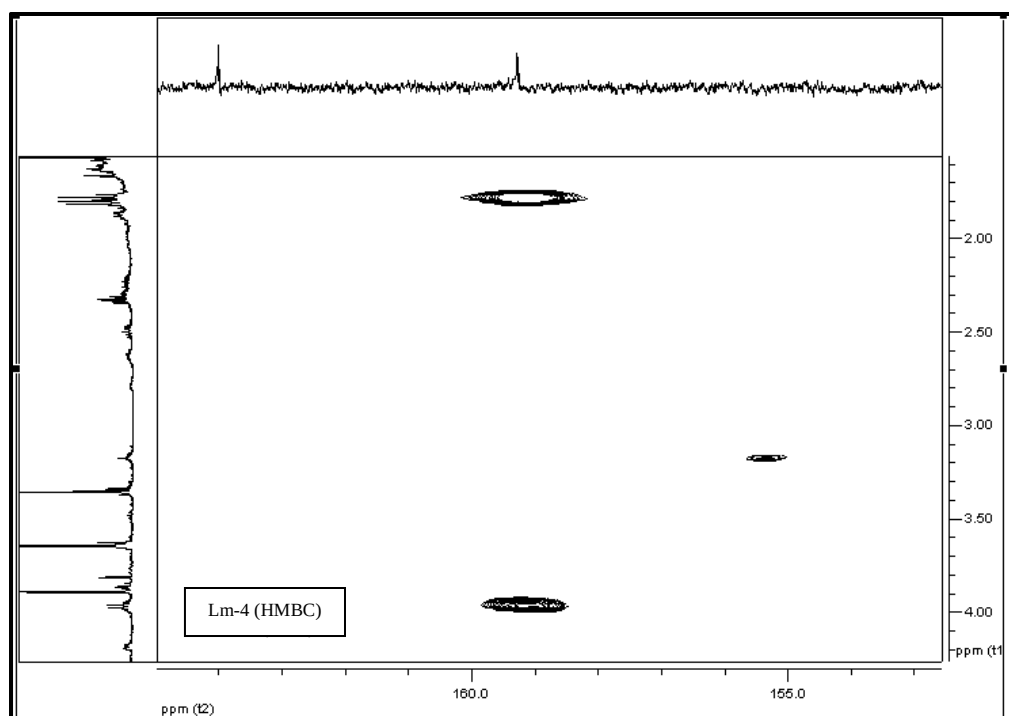


FIGURA 125 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 1,5 – 4,5 x 150 - 165 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

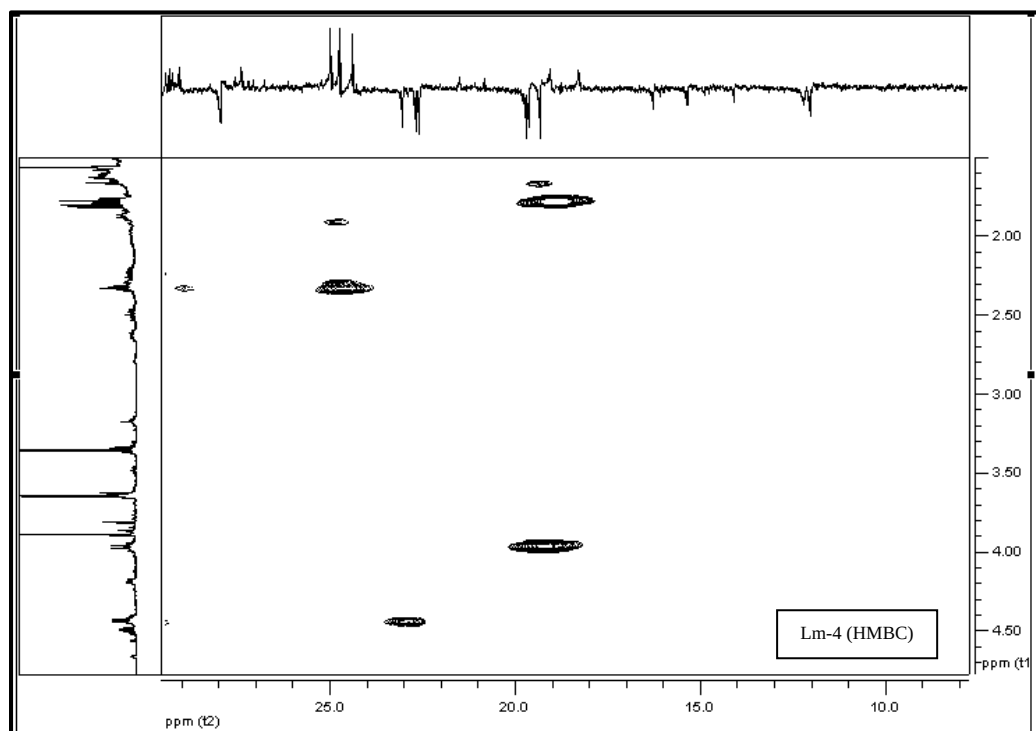


FIGURA 126 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 1,5 – 4,5 x 8,0 - 30 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

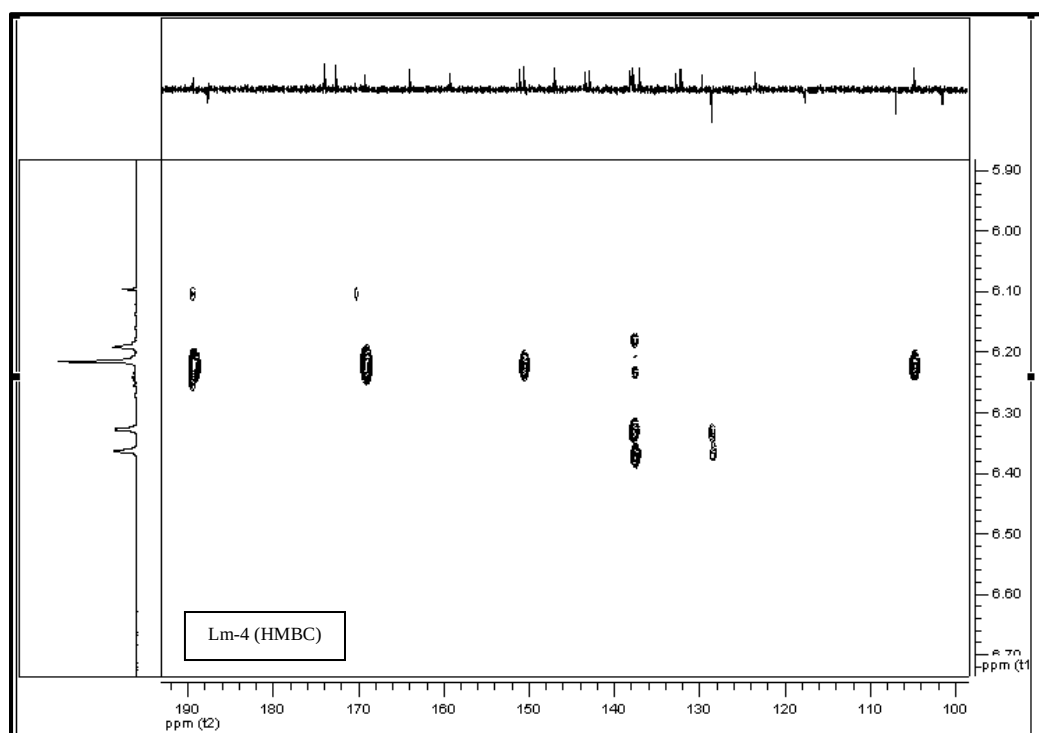


FIGURA 127 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 6,0 – 7,0 x 100 - 190 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

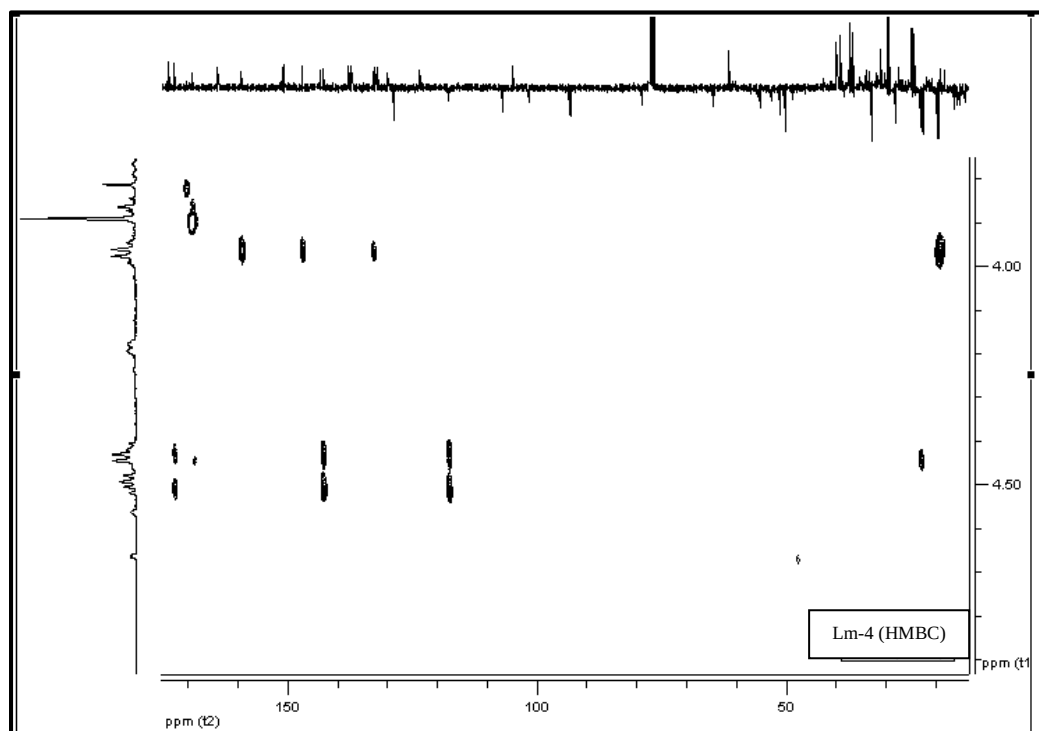


FIGURA 128 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 3,5 - 5,0 x 10 - 170 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

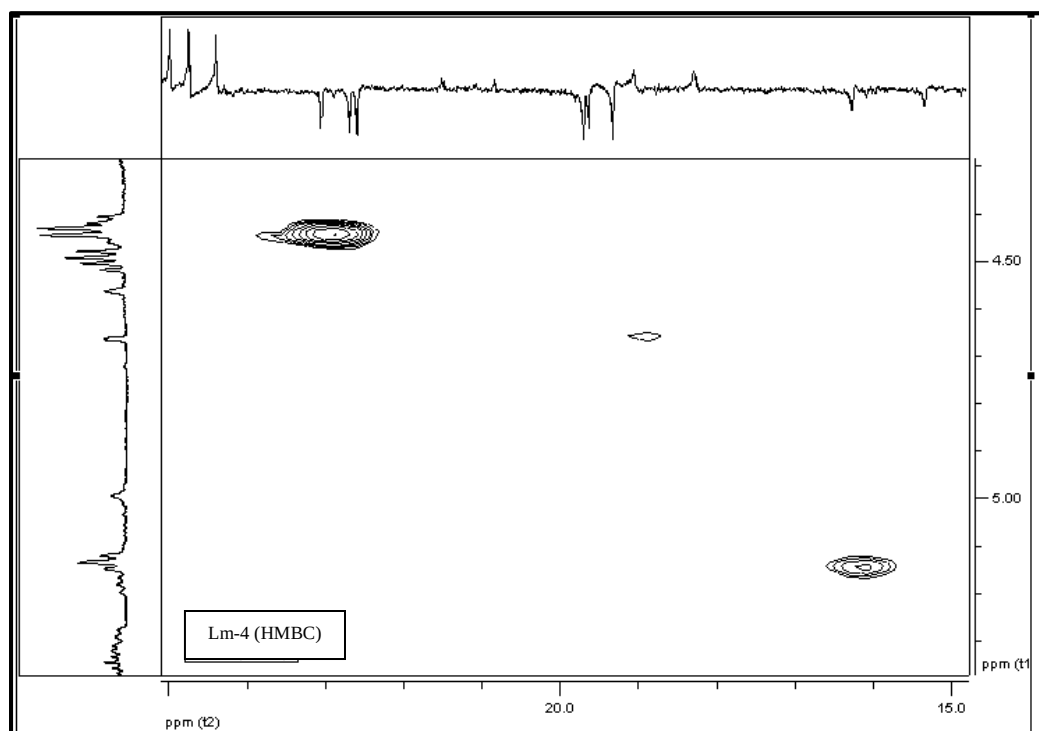


FIGURA 129 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 4,3 - 5,3 x 15 - 25 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

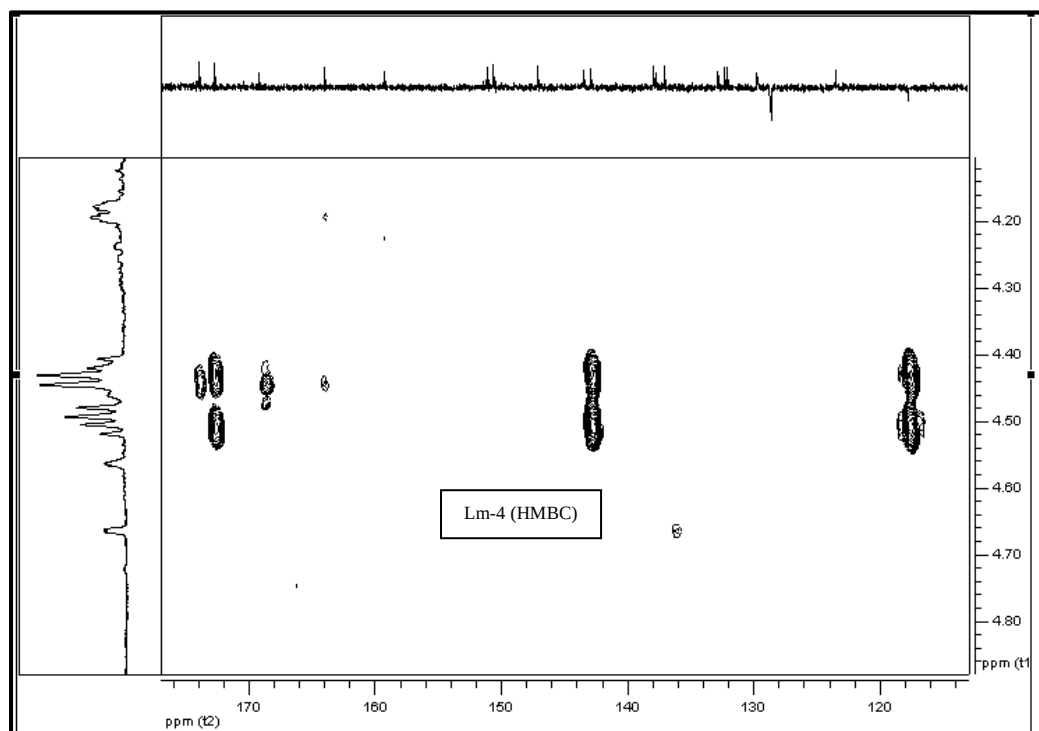


FIGURA 130 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 4,1 - 4,8 x 115 - 175 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

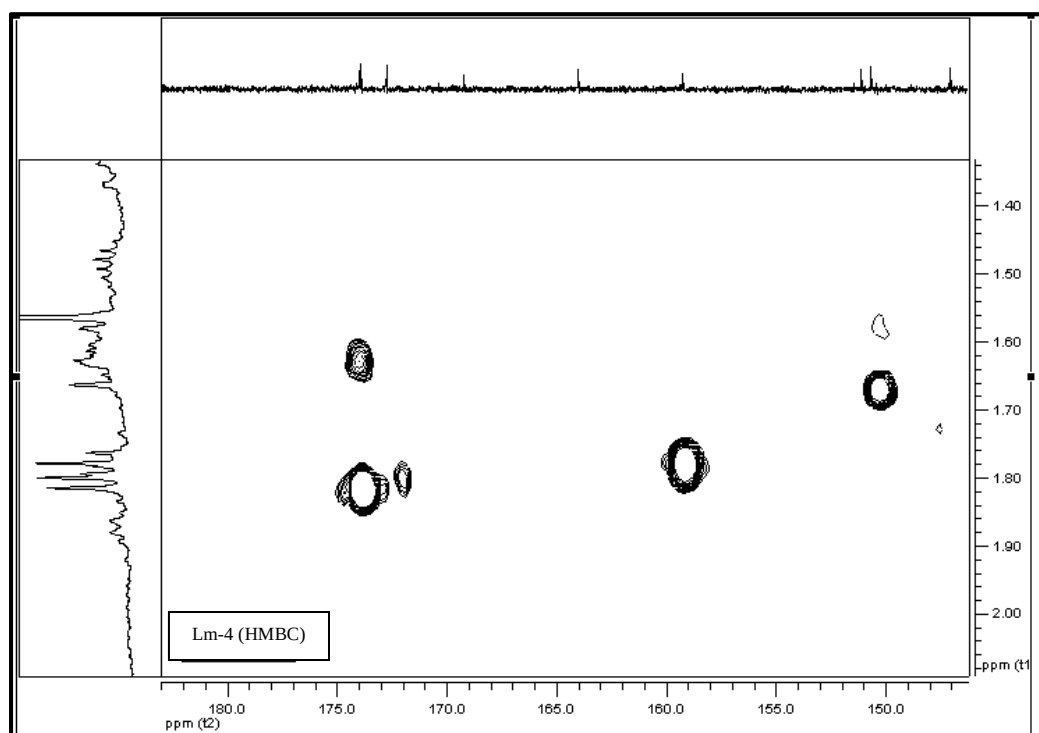


FIGURA 131 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 1,4 – 2,0 x 150 - 180 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

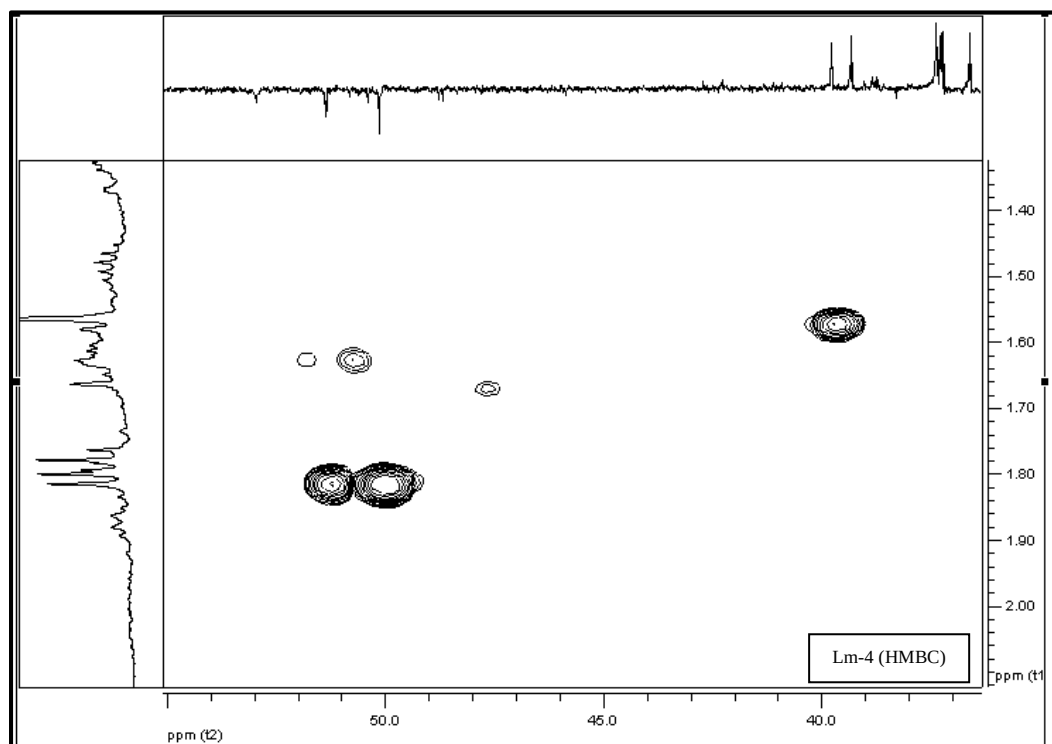


FIGURA 132 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 1,4 – 2,0 x 35 - 55 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

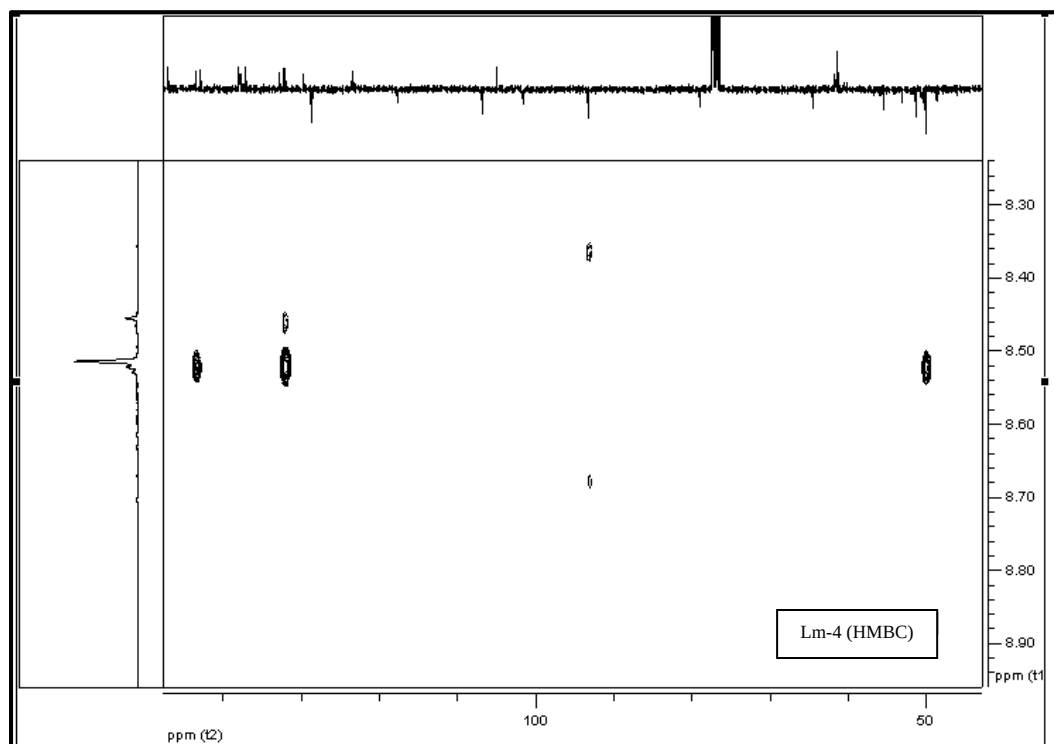


FIGURA 133 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de **Lm-4** na região entre δ 8,3 – 9,0 x 50 - 150 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

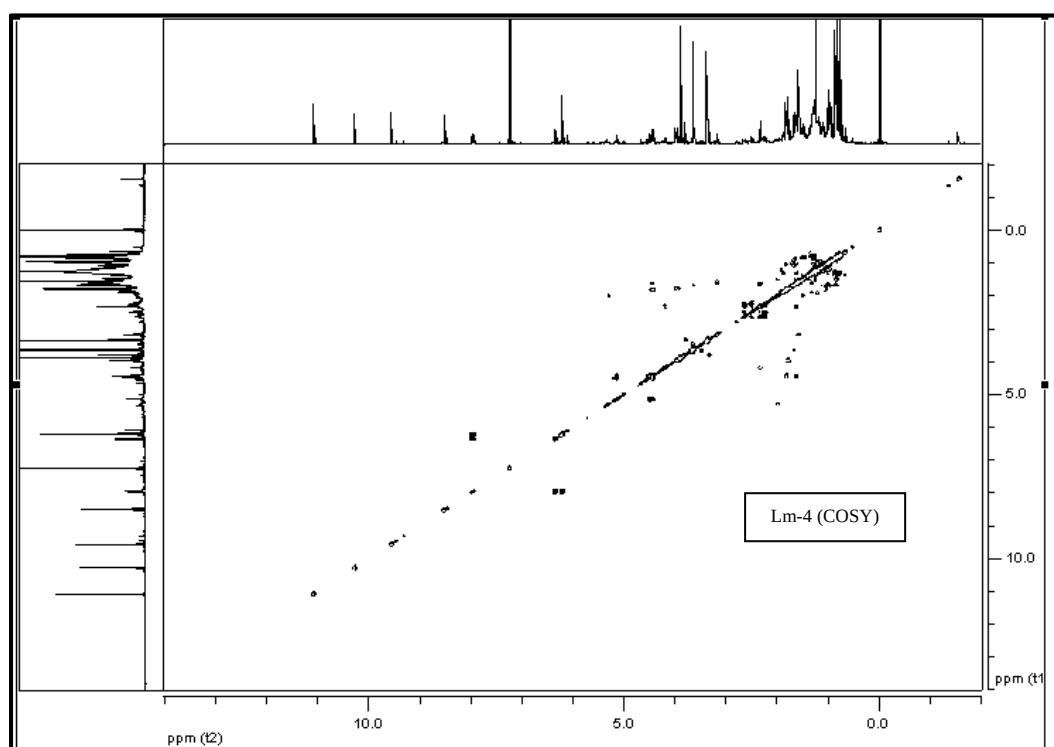


FIGURA 134 Espectro de correlação ^1H x ^1H -COSY de **Lm-4** (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

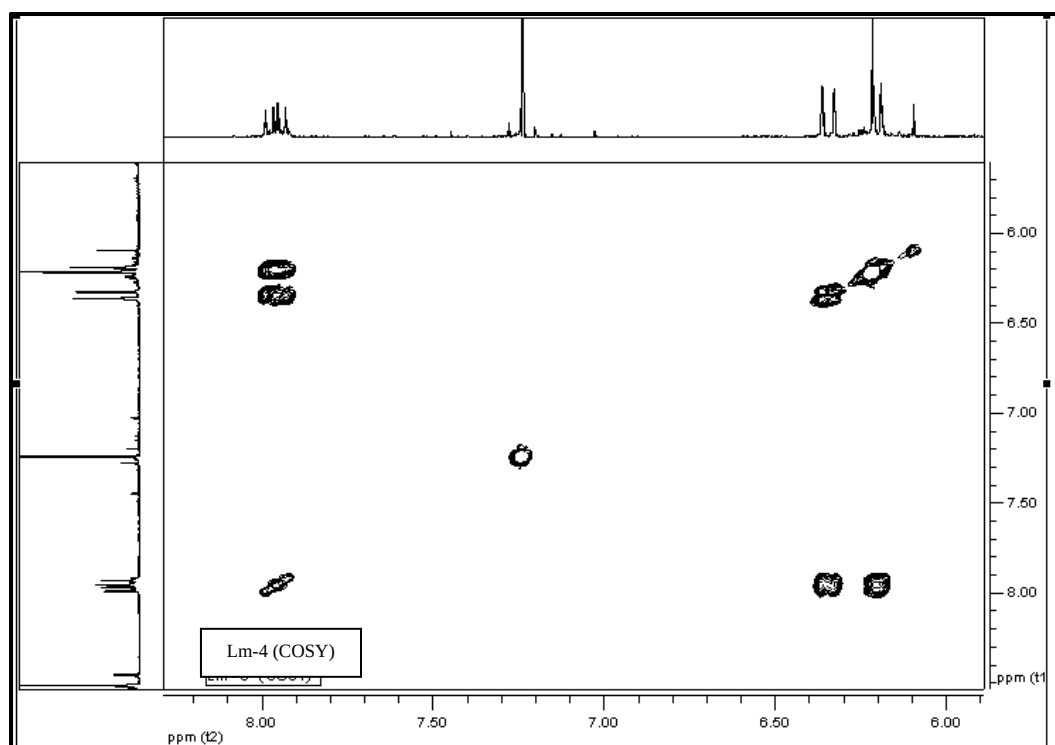


FIGURA 135 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 6,0 – 6,2 x 6,0 – 6,2 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

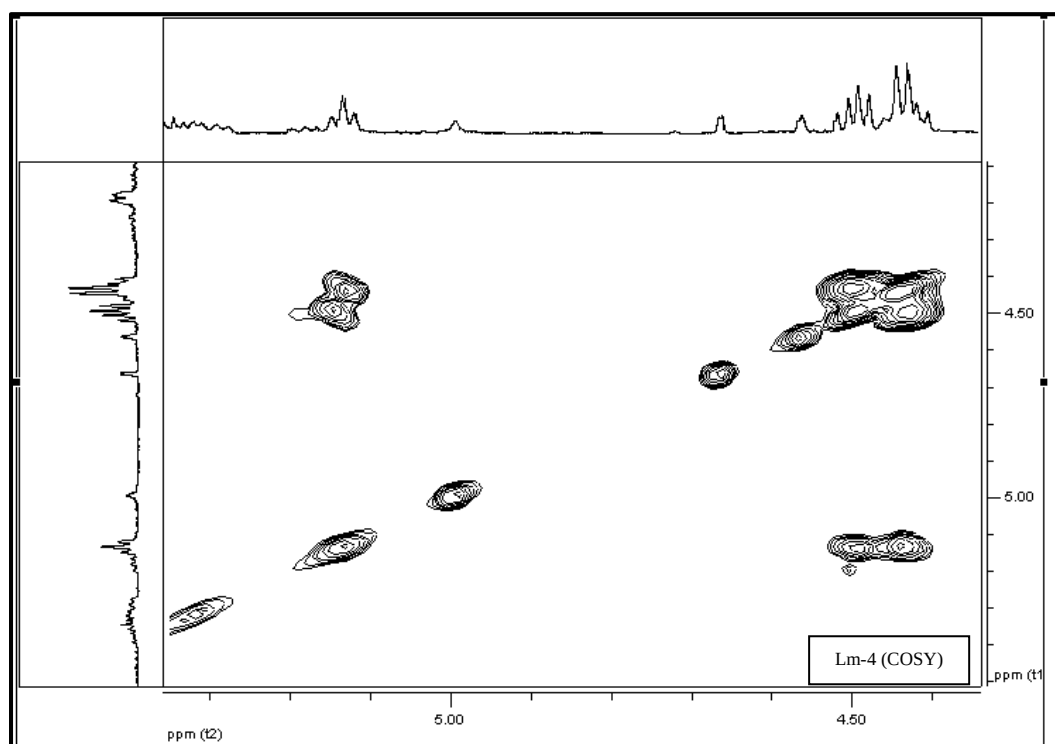


FIGURA 136 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 4,0 – 5,5 x 4,3 – 5,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

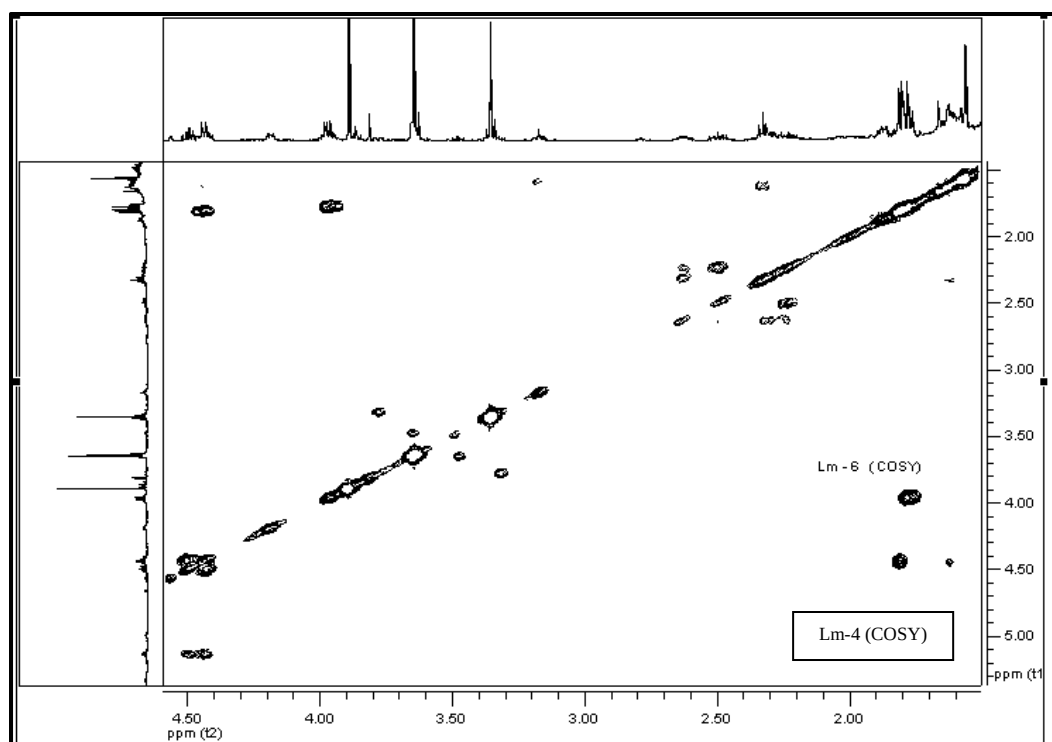


FIGURA 137 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -COSY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 1,5 – 5,5 x 1,5 – 5,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

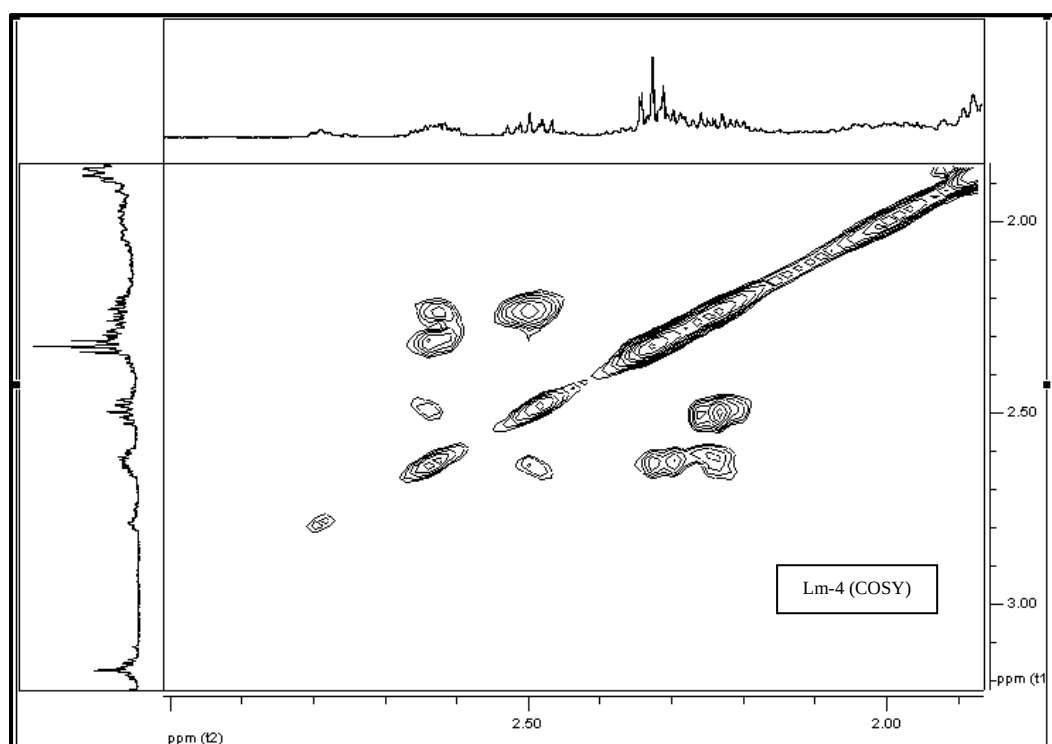


FIGURA 138 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -COSY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 2,0 – 3,0 x 2,0 – 3,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

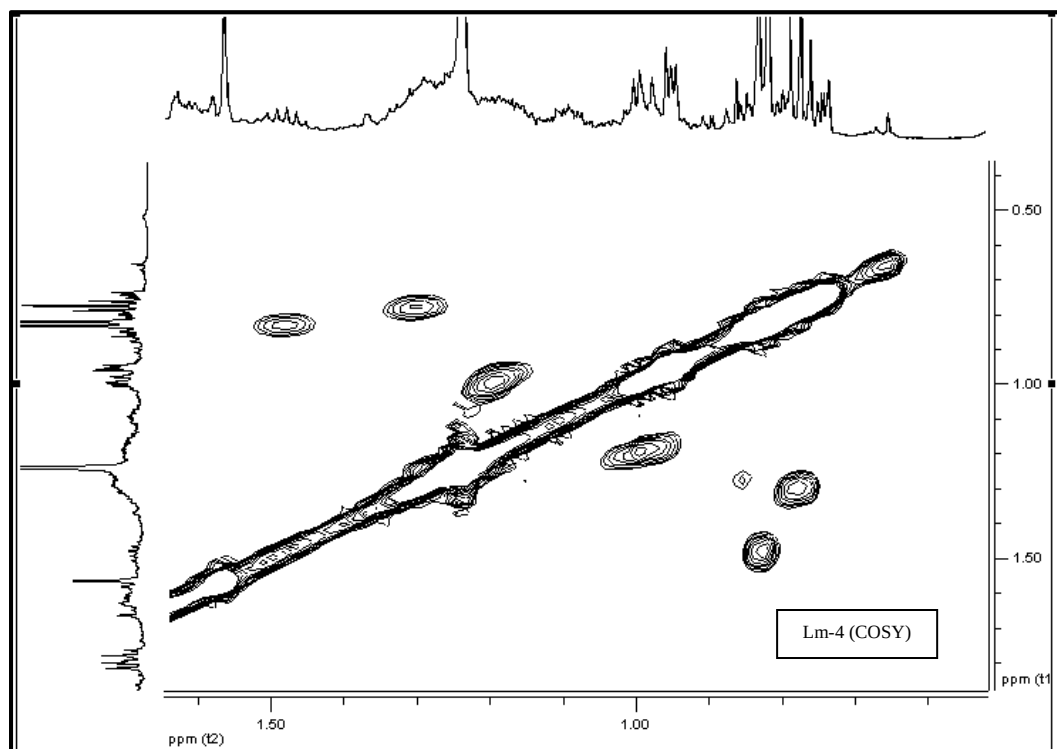


FIGURA 139 Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 0,5 – 2,0 x 0,5 - 2,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

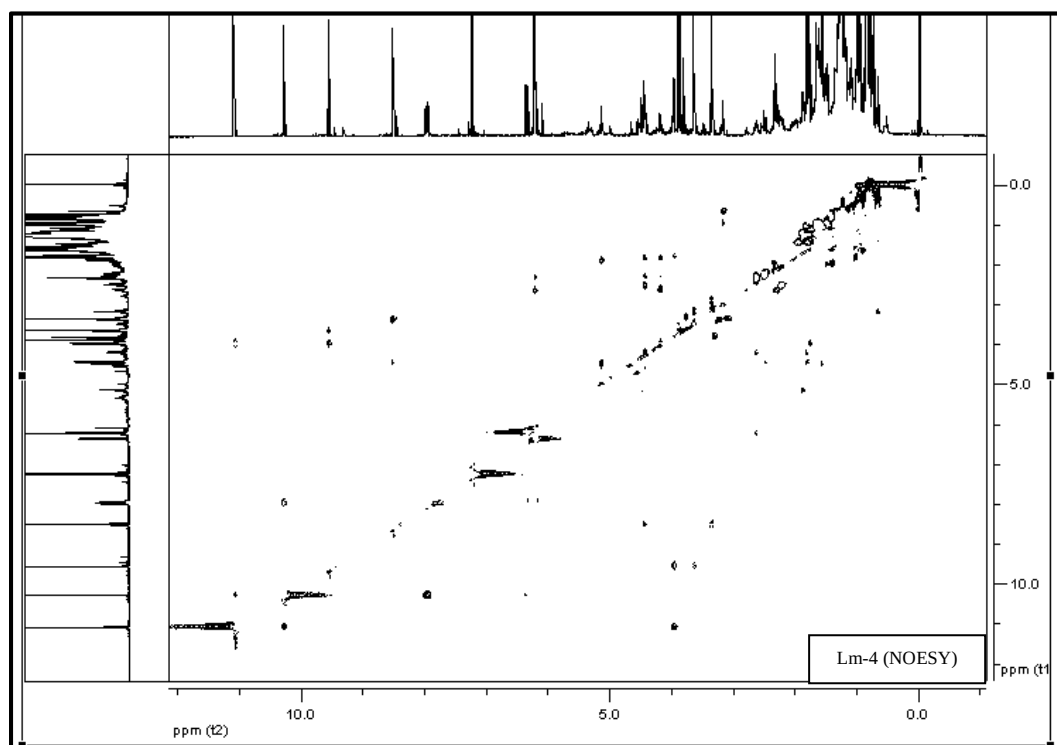


FIGURA 140 Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de **Lm-4** (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

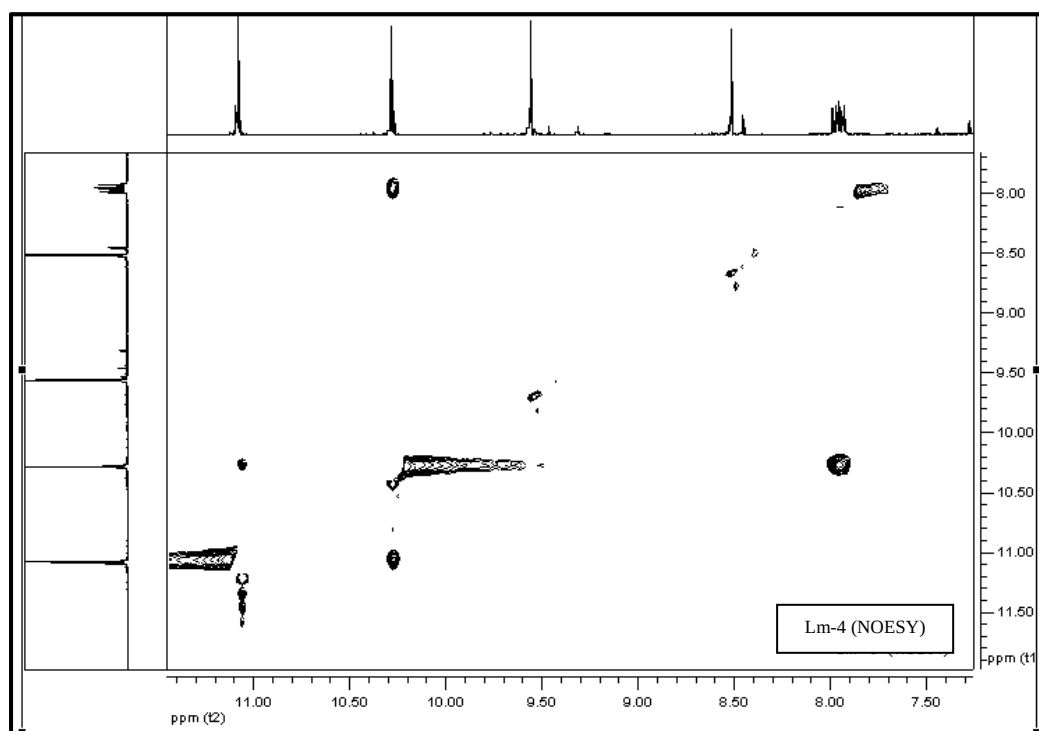


FIGURA 141 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 8,0 – 12,0 x 8,0 - 12,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

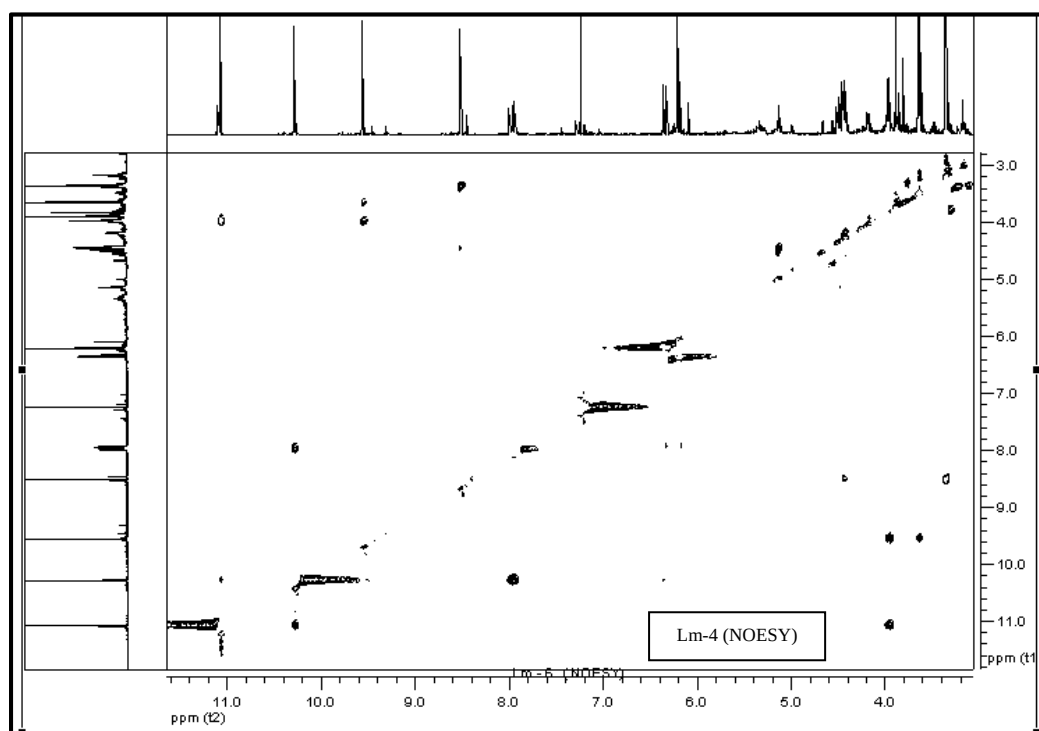


FIGURA 142 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 3,0 – 11,0 x 3,0 - 11,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

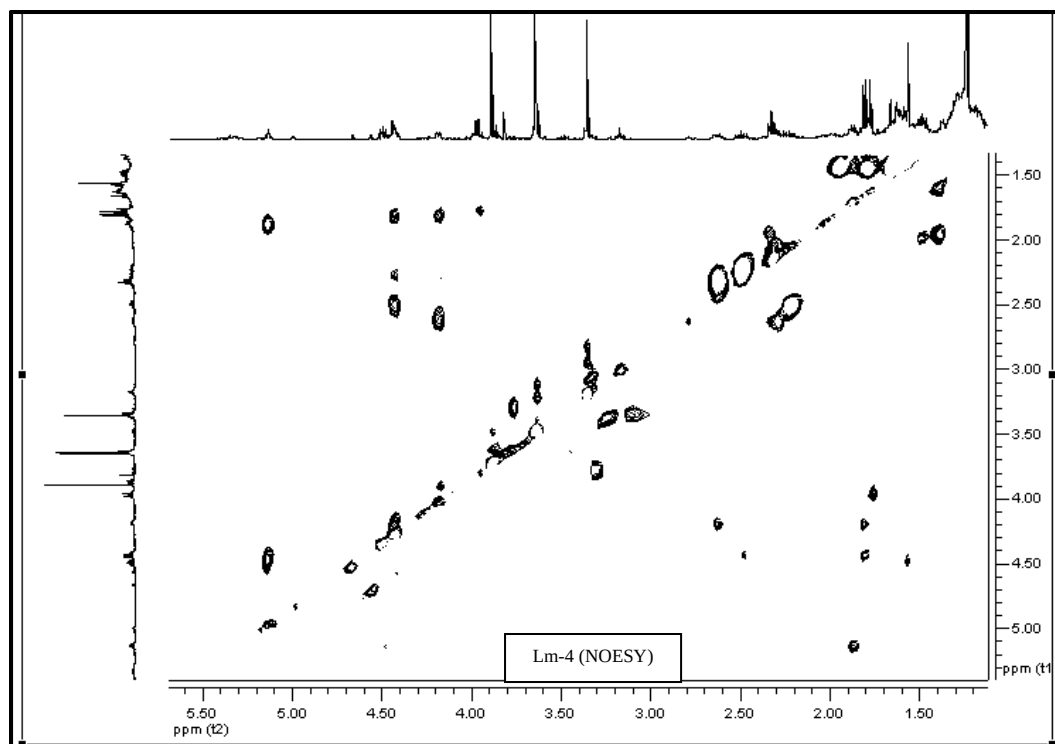


FIGURA 143 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 1,5 – 5,0 x 1,5 - 5,0 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

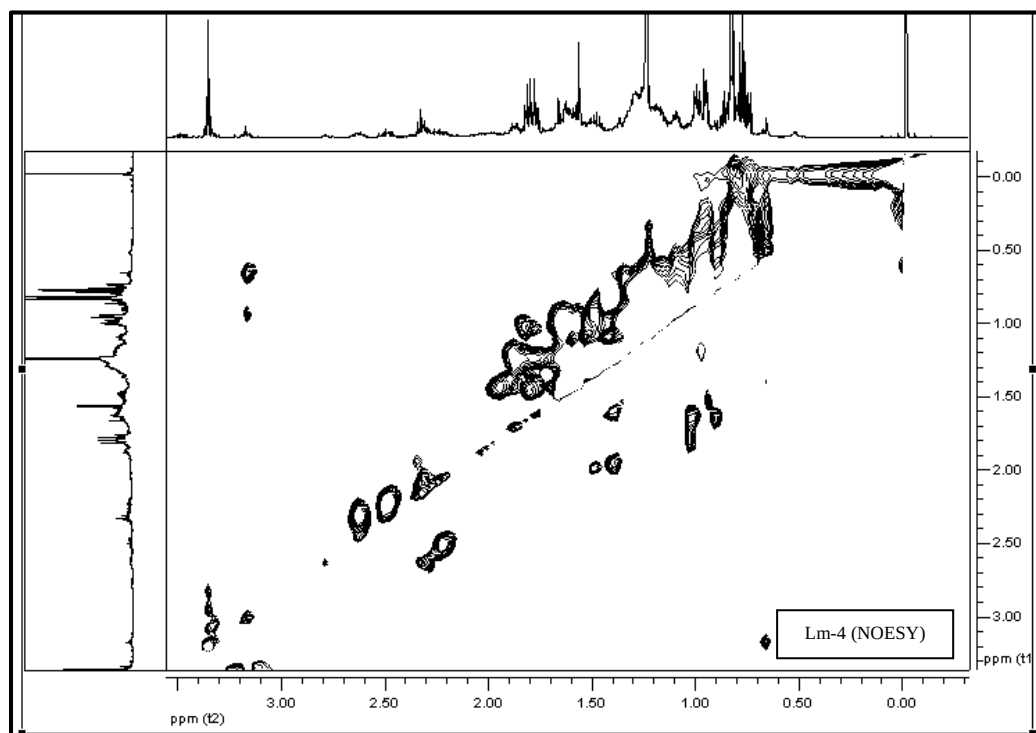
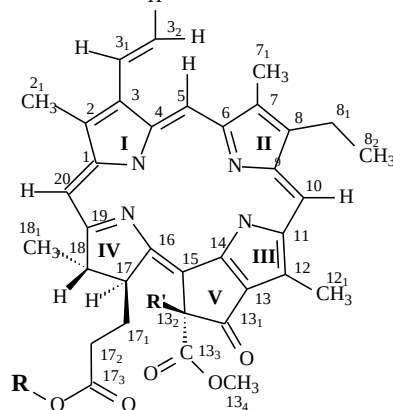


FIGURA 144 Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de **Lm-4** na região entre δ_{H} 0,0 – 3,5 x 0,0 – 3,5 (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

5.1.2.3 Identificação Estrutural de Lm-5

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Lm-5** (FIGURA 145, p.165) e suas expansões revelaram um conjunto de absorções semelhante aos apresentados por **Lm-3** e característicos de núcleo porfirínico das feofinitas: foram observados três sinais de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 9,59 (s, 1H); 9,45 (s, 1H) e 8,61 (s, 1H) (FIGURA 146, p.165), condizentes com os hidrogênios 10, 5 e 20, respectivamente, de núcleo porfirínico de feofitina (JERZ, 2007; SILVA, 2006a). Observou-se ainda três sinais em δ_{H} 8,00 (dd, $J = 18,0$ e $11,4$ Hz, 1H) (FIGURA 146, p.165); 6,28 (E) (d, $J = 18,0$ Hz, 1H) e 6,17 (Z) (d, $J = 11,6$ Hz, 1H) (FIGURA 147, p.166), sendo primeiro compatível com o hidrogênio vinílico 3^1 (1H) e os dois ultimos com os hidrogênios 3^2 (2H). Ainda observou-se três sinais de metilas olefínicas em δ_{H} 3,71 (s, 3H), 3,40 (s, 3H) e 3,24 (s, 3H) (FIGURA 148, p.166), compatíveis com as metilas 12^1 , 2^1 e 7^1 , respectivamente (TOMAZ, 2008). A presença da metila na posição 7^1 sugeriu uma feofitina derivada da clorofila A. Também observou-se os sinais em δ_{H} 3,59 (s, 3H) (FIGURA 148, p.166), característico do grupo metoxílico 13^4 ; dois sinais em δ_{H} 3,70 (m) e 1,68 (t) (FIGURA 149, p.167), sugerindo a presença do grupo etil ligado ao carbono C-8 (TOMAZ, 2008, SILVA, 2006a). Além dos dados apresentados ainda observou-se sinais característicos de hidrogênios do fitol: em δ_{H} 5,18 (H-2', m), 4,50 (H-1', m) (FIGURA 148, p.166), 1,66 (H-20, s) (FIGURA 149, p.167) e 0,82 (d, $J = 6,6$ Hz) (FIGURA 150, p.167). A ausência de um singlete em aproximadamente δ_{H} 6,20 (FIGURA 147, p.166), característico do hidrogênio H-13 ^{2} , tornou a estrutura química de **Lm-5** diferente da estrutura química de **Lm-3**, sugerindo a presença de um hiroxila ligada ao carbono C-13 ^{2} , (JERZ, 2007), compatível com a estrutura da **13 ^{2} -hidroxi-(13 ^{2} -S)-feofitina a**.



R = fitil e R' = OH

13 ^{2} -hidroxi-(13 ^{2} -S)-feofitina a

O espectro de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de **Lm-3** (FIGURA 151, p.168) apresentou um total de 55 absorções, compatíveis com os sinais das feofitinas. Foram observados sinais característicos de carbonos carbonílicos em δ_{C} 192,04; 173,60 e 172,77 (FIGURA 152, p.168), característicos dos carbonos C-13¹, C-17³ e C-13³, respectivamente; Corroborando com a estrutura da **feofitina A** foram observados sinais típicos de carbonos olefinicos ligados a nitrogênio em anel porfirínico: δ_{C} 172,40 (FIGURA 152, p.168); 162,43; 151,02; 155,33; 149,81; 145,21; 142,76 (FIGURA 153, p.169); 137,77; 136,26 (FIGURA 154, p.169), atribuídos aos carbonos C-19, C-16, C-6, C-9, C-14, C-8, C-1, C-11 e C-4, respectivamente (JERZ, 2007). Foram observados ainda sinais característicos do grupo fitil éster, em δ_{C} 142,00 (FIGURA 153, p.169); 117,79 (FIGURA 154, p.169); 61,56 (FIGURA 155, p.170) e 16,32 (FIGURA 158, p.171), atribuídos aos carbonos C-3', C-2', C-1' e C-20', respectivamente. A ausência do sinal em δ_{C} 64,63 (C-13²) referente a carbono metínico observado no espectro de RMN de ^{13}C de **Lm-3**, assim como a presença do sinal em δ_{C} 88,95 (C-13²), referente a carbono não hidrogenado, observado no espectro de RMN de ^{13}C de **Lm-5**, confirmou a existência da hidroxila no carbono C-13², estando compatível com a proposta estrutura para **Lm-5** de **13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a**. Todos os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos de **Lm-5** foram comparados a valores reportados na literatura (JERZ, 2007) e foram compilados na TABELA 5, p.164.

TABELA 5 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **Lm-5** e **13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina A**.

C	Lm-5		13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina A^(a)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		142,76		142,8
2		131,74		132,6
2 ¹	3,40 (s, 3H)	12,13	3,45 (s, 3H)	12,4
3		136,51		137,0
3 ¹	8,00 (dd, $J=18\text{Hz}$, 12Hz , 1H)	129,05	8,03 (dd, $J=17,8\text{Hz}$, $11,2\text{Hz}$, 1H)	129,4
3 ²	6,28 (E)(d, $J=18\text{Hz}$, 1H) e 6,17 (Z) (d, $J=11,5\text{Hz}$, 1H)	122,89	6,32 (E)(d, $J=18\text{Hz}$, 1H) e 6,23 (Z) (d, $J=11,4\text{Hz}$, 1H)	123,6
4		136,26		136,3
5	9,59 (s, 1H)	97,95	9,60 (s, 1H)	98,4
6		151,02		150,9
7		136,19		136,3
7 ¹	3,24 (s, 3H)	11,30	3,30 (s, 1H)	11,6
8		145,21		145,3
8 ¹	3,70 (m, 2H)	19,50	3,77(s, 2H)	19,9
8 ²	1,68 (t, $J=7,5\text{Hz}$, 3H)	17,48	1,70 (t)	17,6
9		155,33		155,4
10	9,49 (s, 1H)	104,25	9,47(s, 1H)	104,7
11		137,77		138,4
12		129,40		129,4
12 ¹	3,69 (s, 3H)	12,31	3,77 (s, 3H)	12,7
13		126,91		127,7
13 ¹		192,04		192,2
13 ²		88,95		89,4
13 ³		172,77		173,3
13 ⁴	3,71 (s, 3H)	53,41	3,62 (s, 3H)	53,8
14		149,81		150,9
15		107,65		107,1
16		162,43		164,0
17	4,16 (m, 1H)	51,79	4,17 (m, 1H)	52,6
17 ¹	2,05 e 2,78 (m, 2H)	29,13	2,22 e 2,95(m, 2H)	31,6
17 ²	2,32 (m, 2H)	31,56	2,55 (m, 2H)	32,0
17 ³		173,60		173,8
18	4,43 (m, 1H)	50,31	4,56 (m, 1H)	50,9
18 ¹	1,68 (m)	22,71	1,63 (d, $J=7,0\text{Hz}$)	22,9
19		172,40		173,0
20	8,61 (s, 1H)	93,63	8,76 (s, 1H)	95,0

(a) JERZ, 2007

RMN (200MHz, CDCl_3)

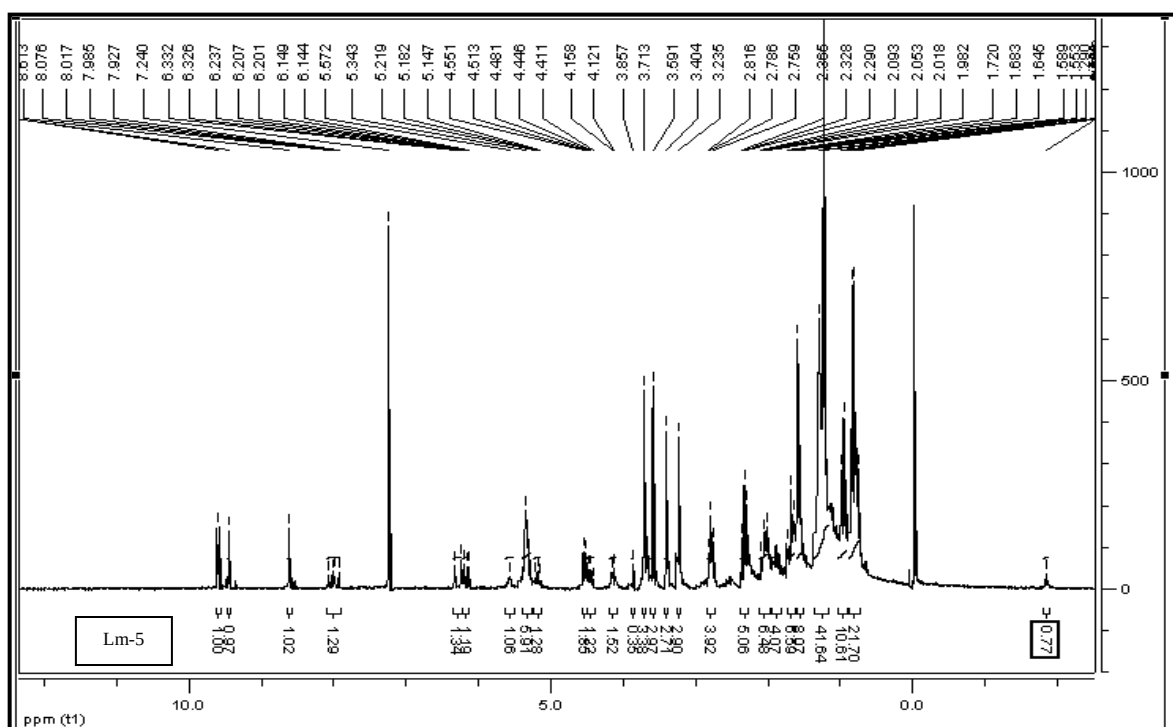


FIGURA 145 Espectro de RMN ^1H de **Lm-5** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

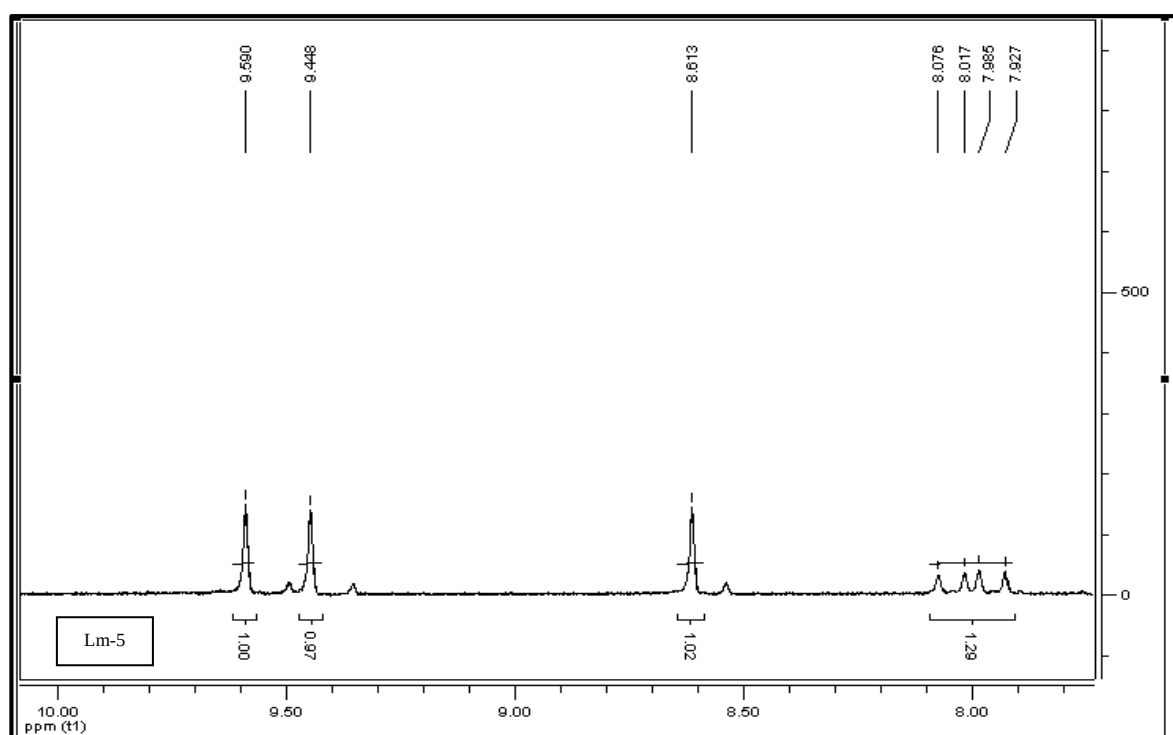


FIGURA 146 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-5** na região entre δ_{H} 7,5 – 10,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

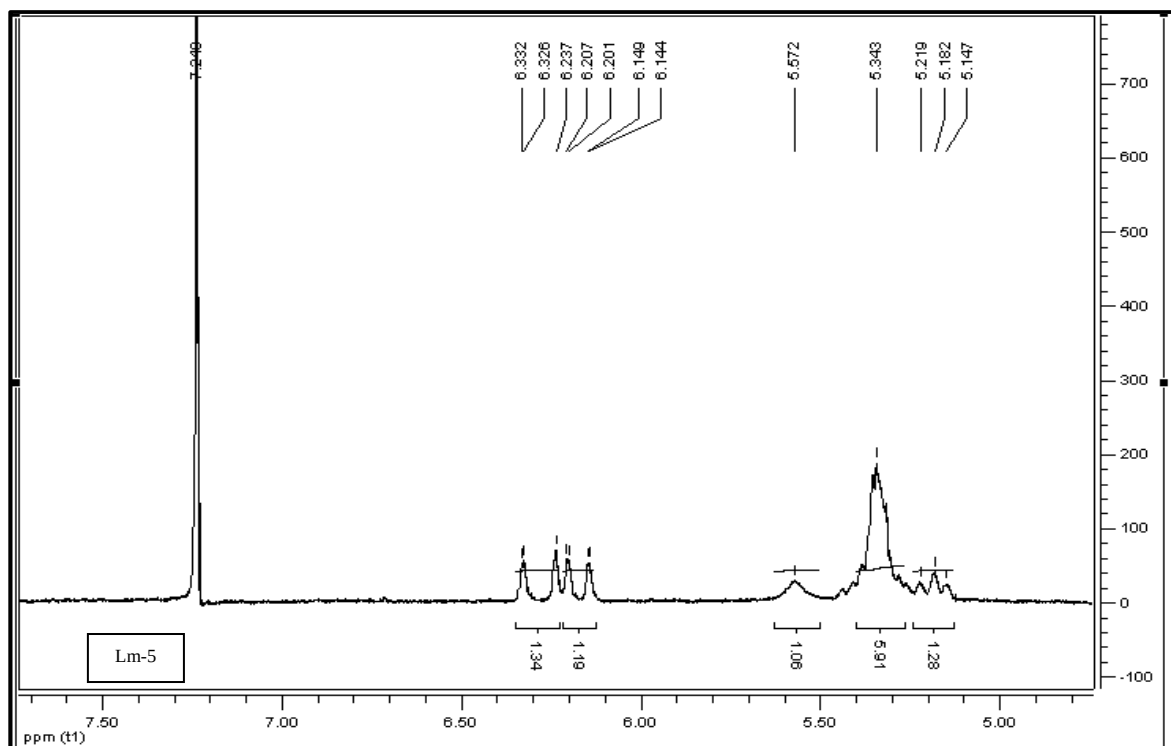


FIGURA 147 Expansão do espectro de RMN ¹H de **Lm-5** na região entre δ_H 4,7 – 7,7 (200 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

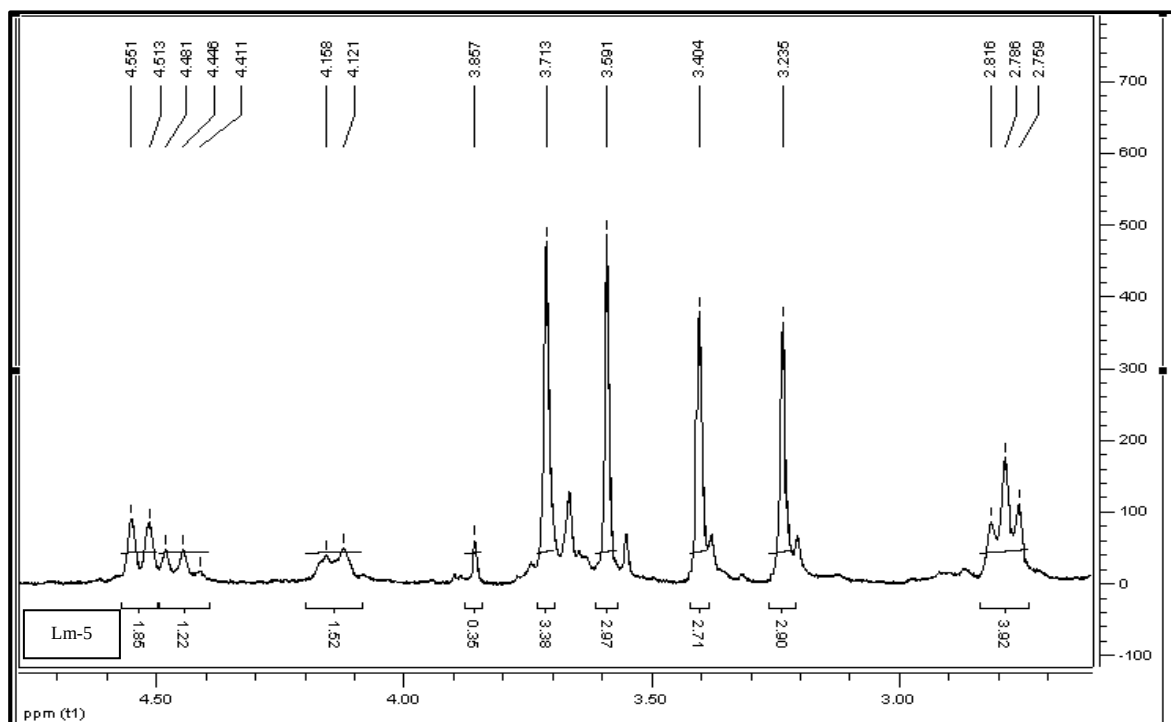


FIGURA 148 Expansão do espectro de RMN ¹H de **Lm-5** na região entre δ_H 2,5 – 4,8 (200 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

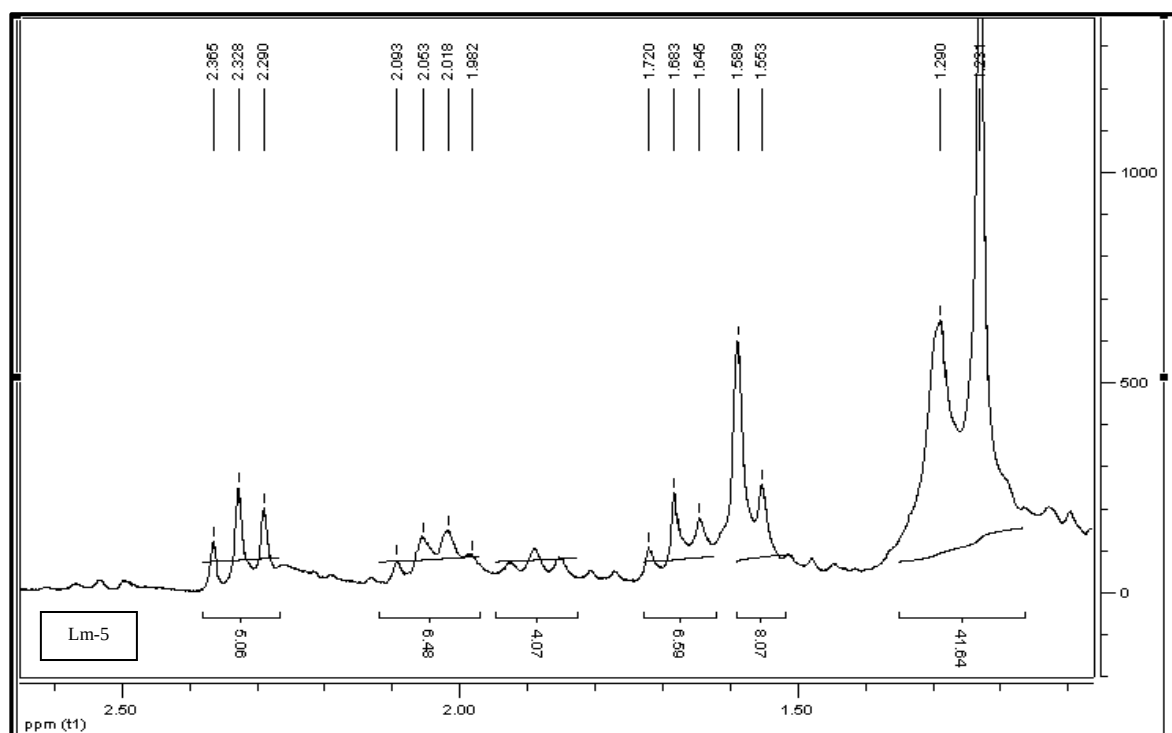


FIGURA 149 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-5** na região entre δ_{H} 1,0 – 2,7 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

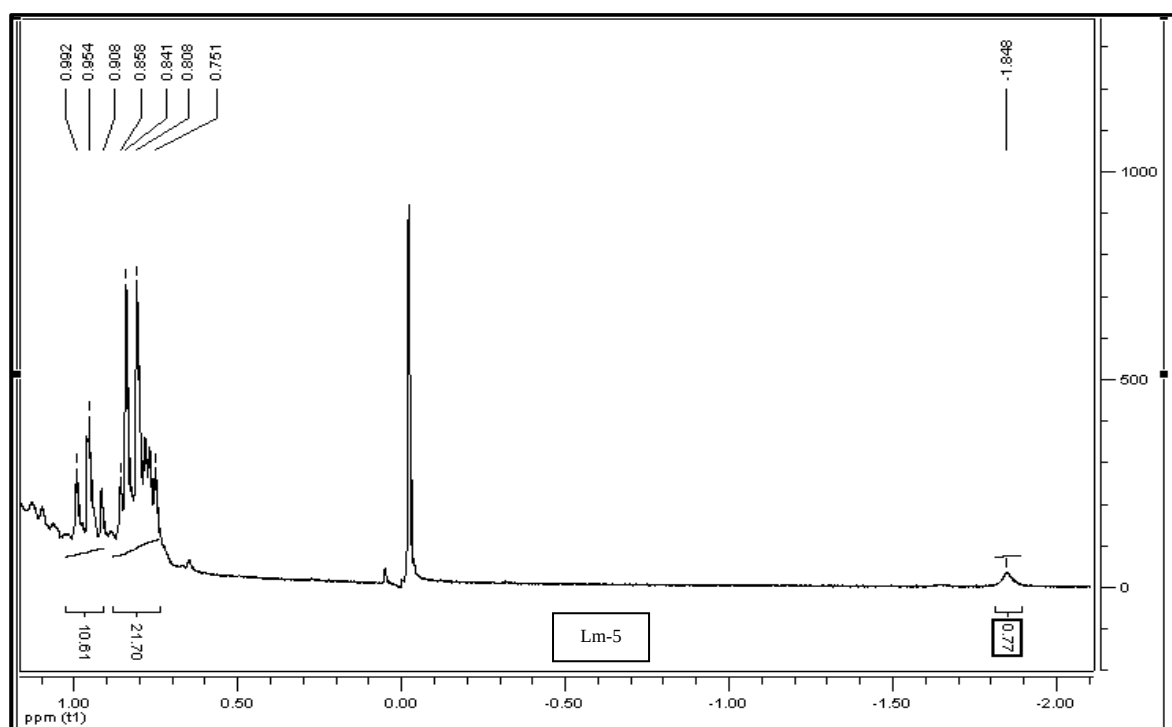


FIGURA 150 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-5** na região entre δ_{H} 2,5 – 4,8 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

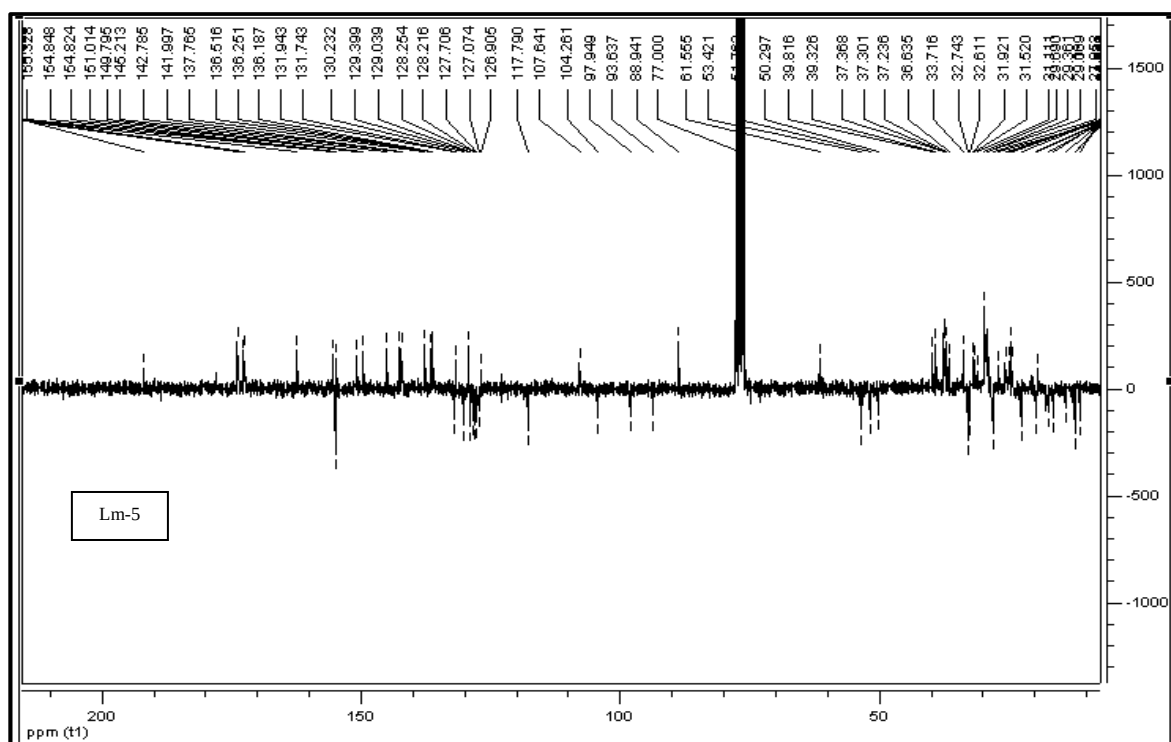


FIGURA 151 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-5** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

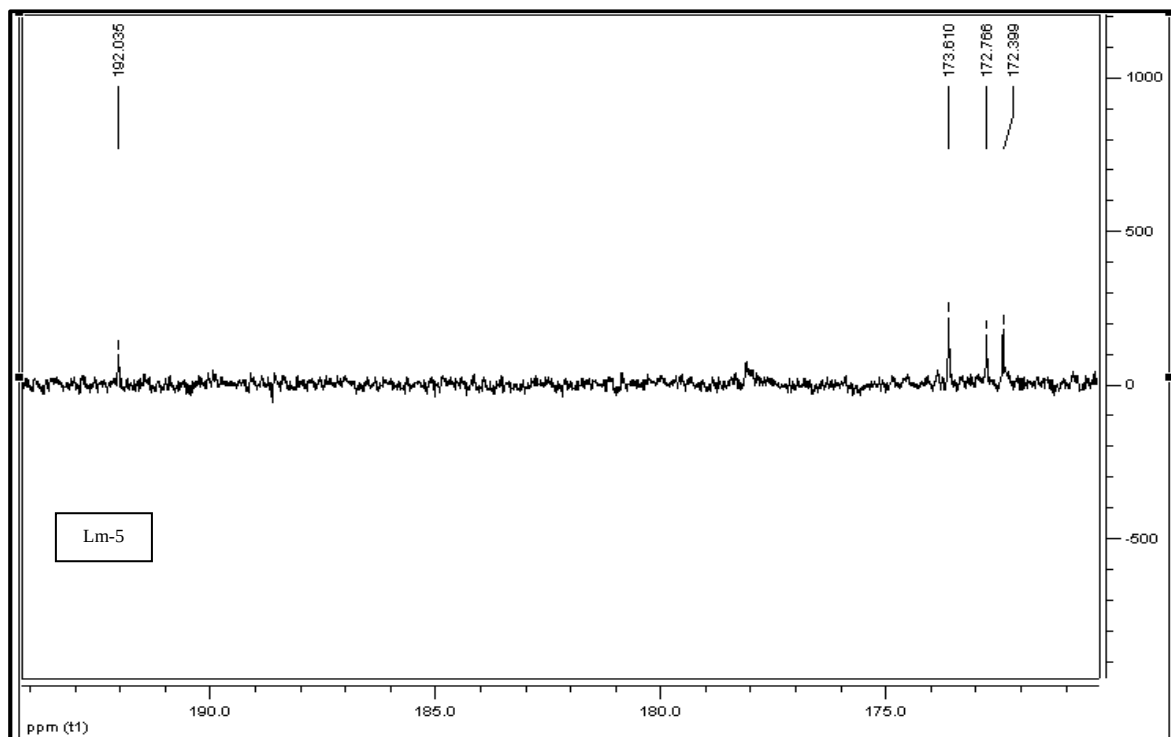


FIGURA 152 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-5** na região entre δ_{C} 170 - 195 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

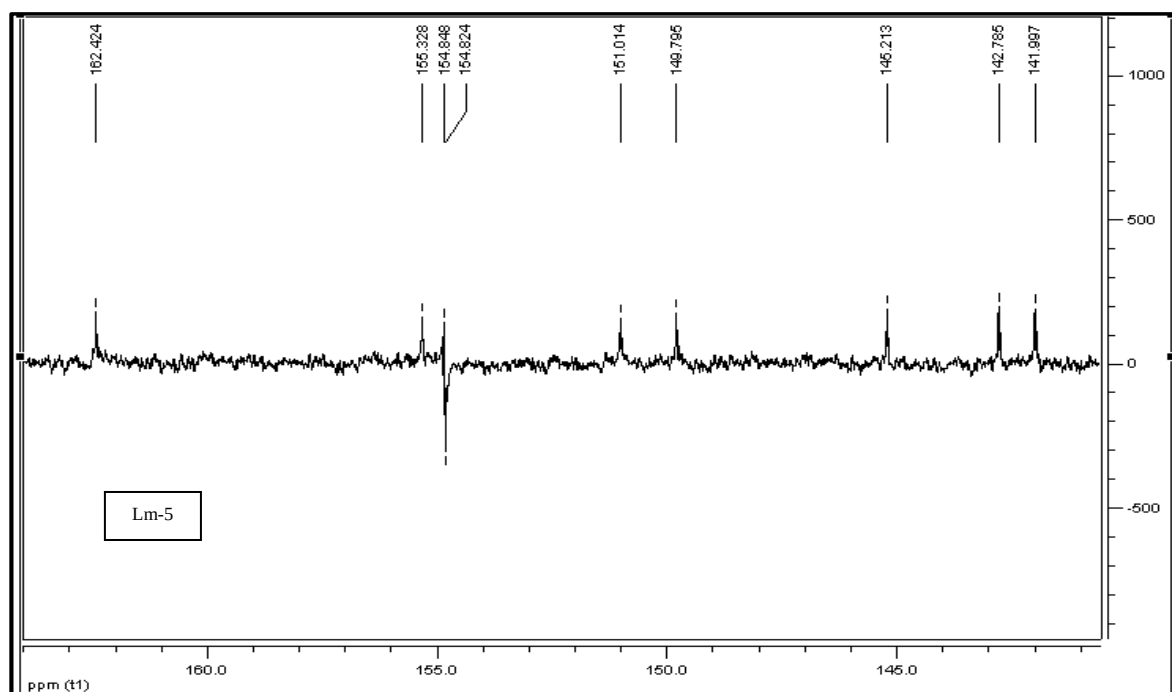


FIGURA 153 Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de **Lm-5** na região entre δ_C 140 - 165 (50 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

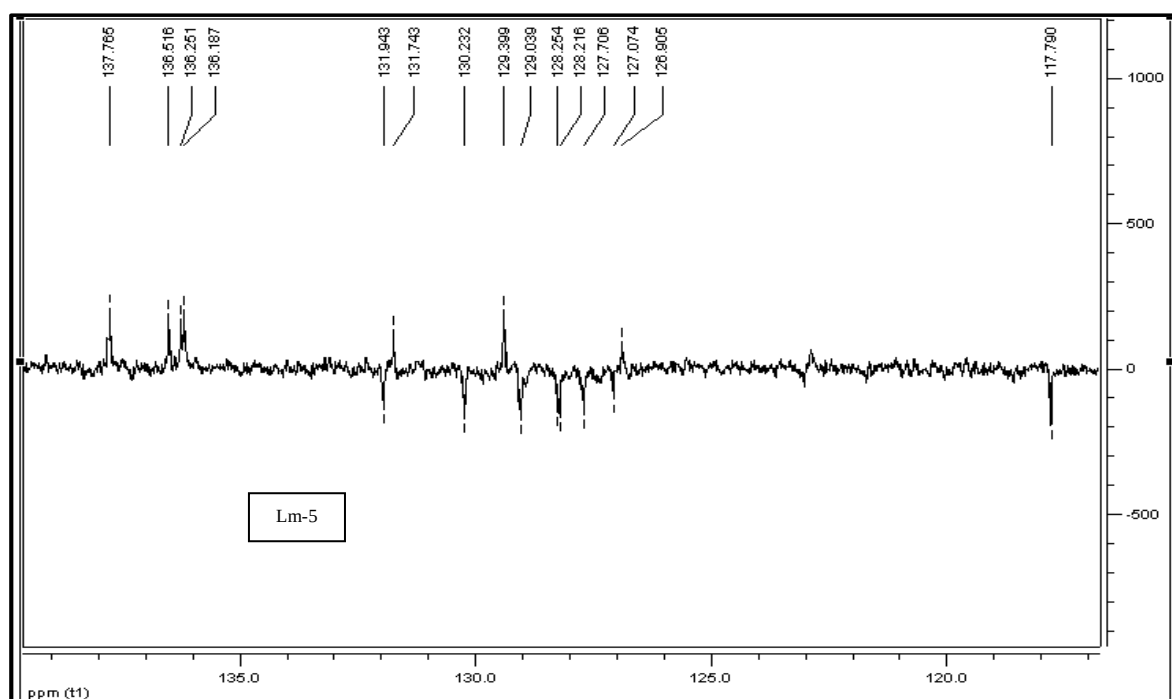


FIGURA 154 Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de **Lm-5** na região entre δ_C 115 - 140 (50 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

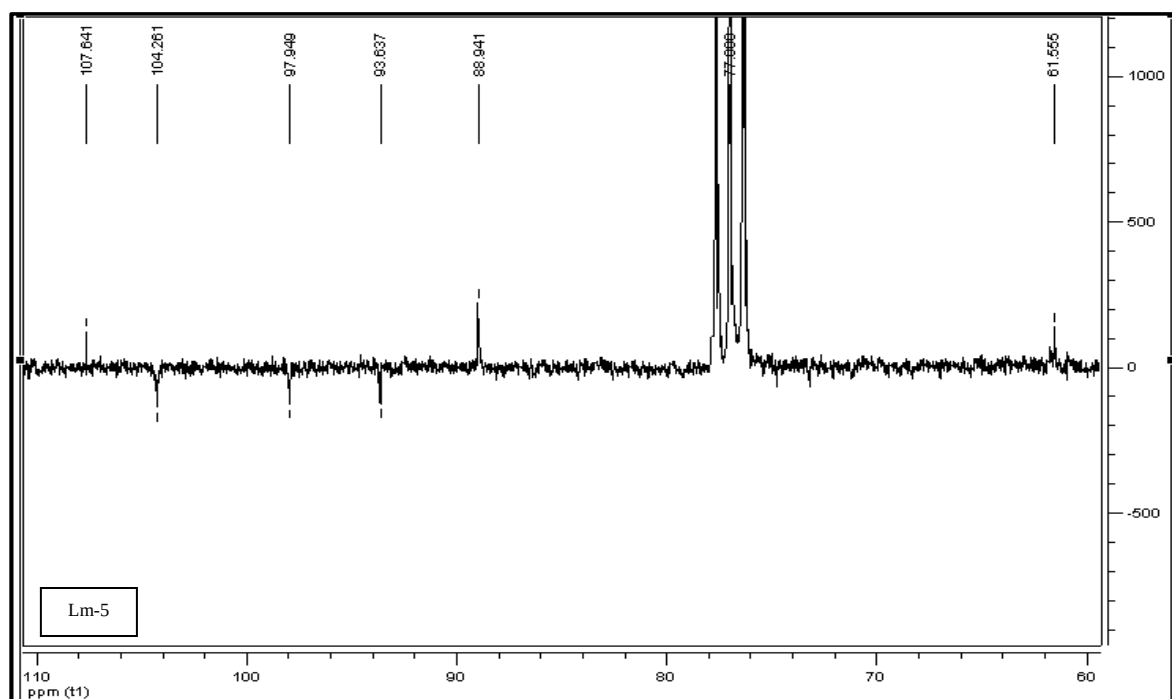


FIGURA 155 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-5** na região entre δ_{C} 60 - 110 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

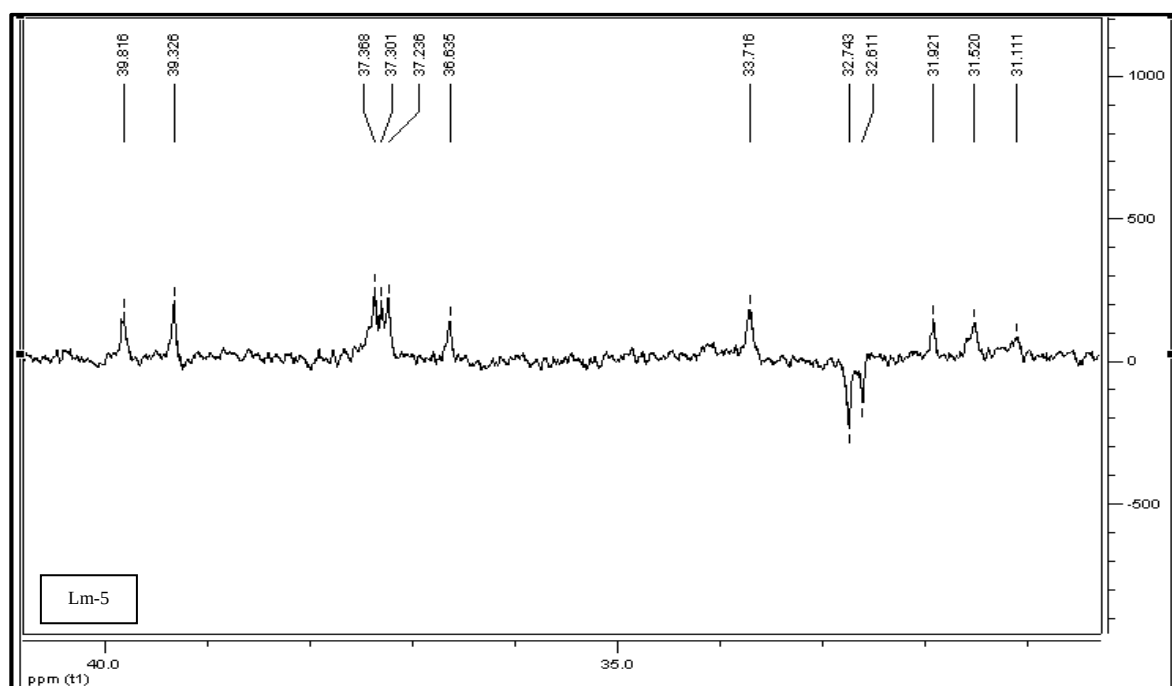


FIGURA 156 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-5** na região entre δ_{C} 30 - 40 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

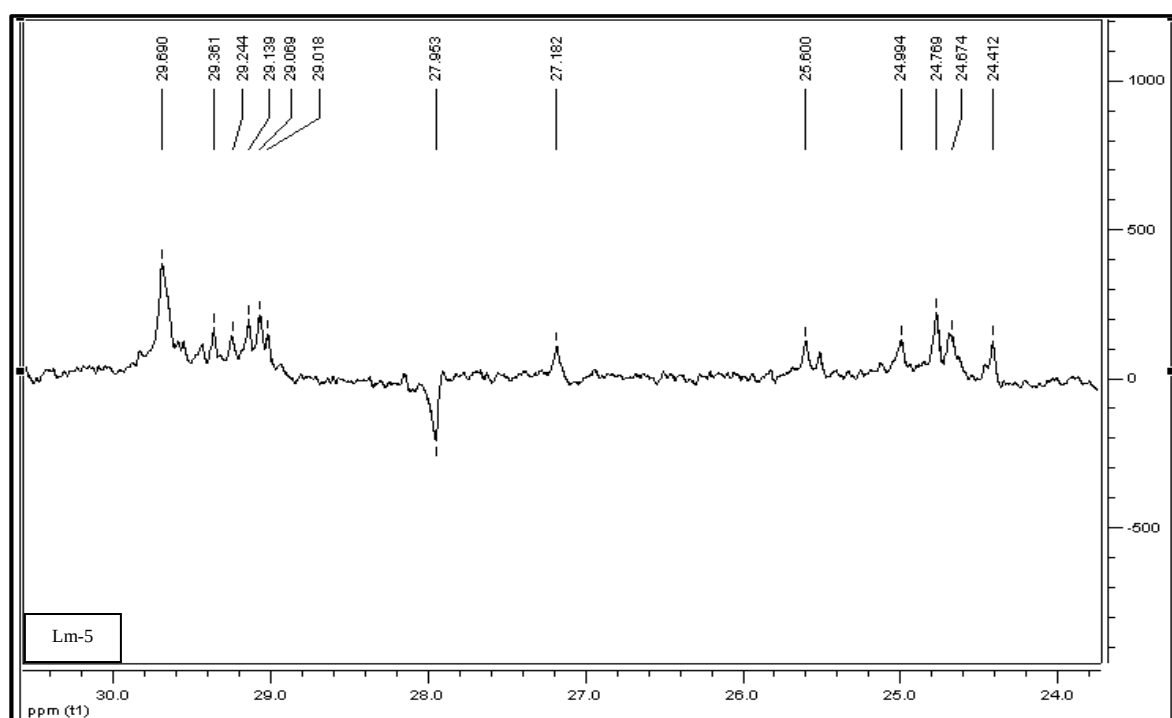


FIGURA 157 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-5** na região entre δ_{C} 24 - 30 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

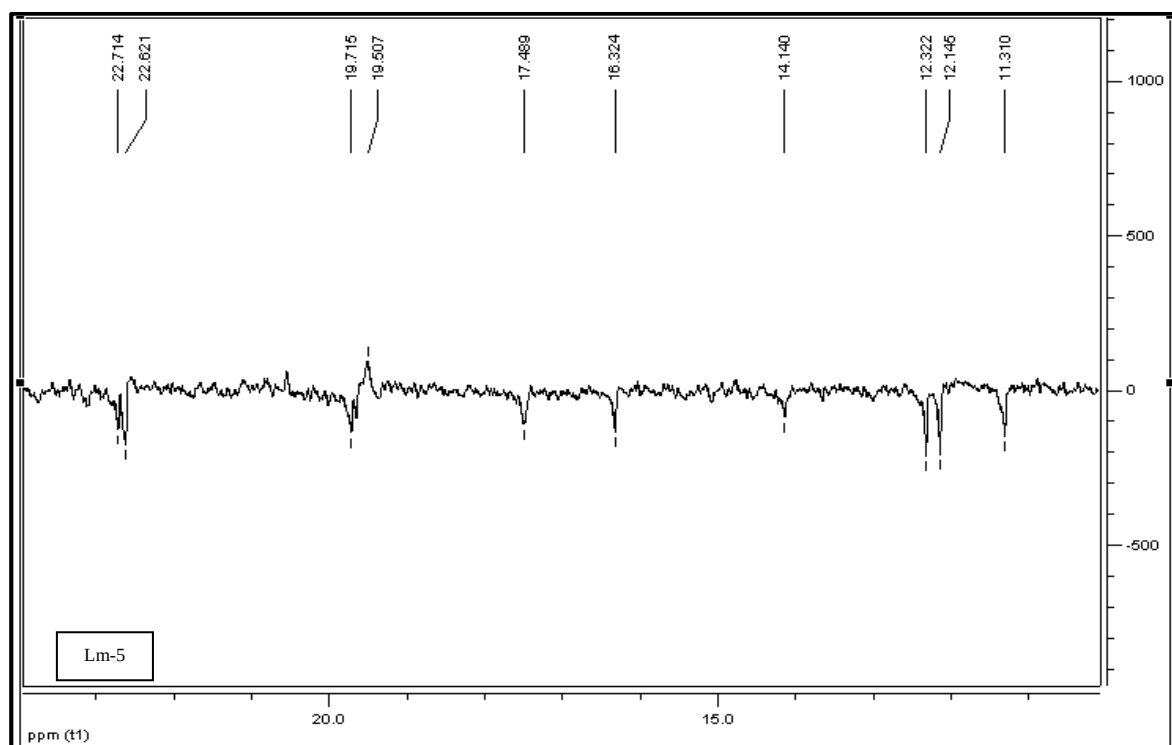


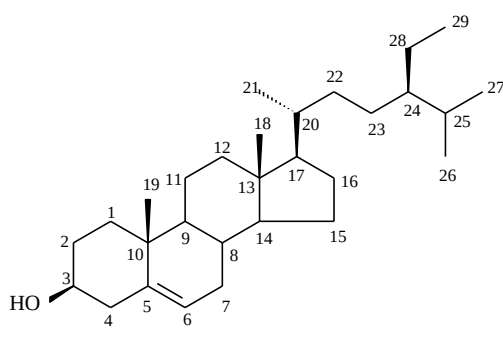
FIGURA 158 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-5** na região entre δ_{C} 10 - 25 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

4.3.3 Identificação Estrutural dos Esteróides Isolados das folhas de *Licania macrophylla*

4.3.3.1 Identificação Estrutural de Lm-6

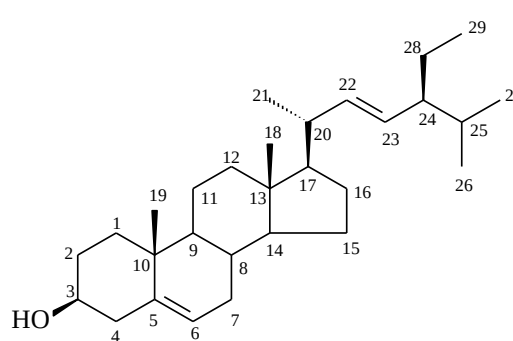
A substância codificada como **Lm-6** apresentou-se como cristais em forma de agulhas transparentes, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Lm-6** (FIGURA 159, p.174) e sua expansão (FIGURA 160, p.174) apresentou um conjunto de sinais entre δ_{H} 0,65 e 1,22 (simpletos) característicos de hidrogênios metílicos de estruturas triterpênicas ou esteroidais. Sinais característicos de mistura de dois esteróides Δ^5 foram observados em δ_{H} 3,49 (m) e 5,32 (dl, $J = 5,0$ Hz) atribuídos respectivamente a H-3 e H-6 (CHAVES, 2004). Adicionalmente a estes sinais observou-se dois duplos dupletos entre δ_{H} 4,92 e 5,19 compatíveis com os hidrogênios H-22 e H-23 respectivamente do estigmasterol. Corroborando com a proposta de mistura de dois esteróides, o espectro de RMN de ^{13}C (FIGURA 161, p.175) de **Lm-6** e sua expansão (FIGURA 162, p.175) apresentou sinais em δ_{C} 121,70 (CH), 140,71 (C), 129,22 (CH) e 138,30 (CH), característicos de carbonos olefínicos, sendo os dois primeiros deslocamentos químicos de intensidades maiores atribuídos respectivamente aos carbonos C-5 e C-6 do sitosterol e estigmasterol, e os dois últimos atribuídos respectivamente aos carbonos C-22 e C-23 do estigmasterol (CHAVES, 2004). Na TABELA 6, p.173 foram compilados todos os deslocamentos químicos para carbonos de **Lm-6** observados nas FIGURAS 161 a 164, p.175 e 176 e comparados a valores reportados na literatura (FALCÃO, 2003). Desta forma foi possível identificar **Lm-6** como a mistura de β -sitosterol (**Lm-6a**) e estigmasterol (**Lm-6b**).



β -sitosterol (**Lm-6a**)

e



estigmasterol (**Lm-6b**).

TABELA 6 Dados de RMN ^{13}C de **Lm-1a** e **Lm-1b** e comparação com valores da literatura

	Lm-1a	Lm-1b	β-sitosterol^a	Estigmaterol^a
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
5	140,6	140,7	140,8	140,8
8	31,6	31,6	31,9	31,9
10	36,4	36,4	36,5	36,5
13	42,2	42,2	42,3	42,3
CH				
3	71,7	71,7	71,8	71,8
6	121,7	121,7	121,7	121,7
9	50,1	50,1	50,1	50,1
14	56,7	56,8	56,7	56,7
17	56,0	55,9	56,0	56,0
20	36,1	36,1	36,1	36,8
22		138,3		138,3
23		129,2		129,2
24	45,8	51,2	45,8	51,2
25	29,1	31,8	29,1	31,9
CH₂				
1	37,2	37,2	37,2	37,2
2	31,6	31,9	31,6	31,9
4	42,3	42,2	42,5	42,2
7	31,9	31,9	31,9	31,9
11	21,0	21,0	21,1	21,1
12	39,7	39,7	39,7	39,7
15	24,3	24,4	24,4	24,4
16	28,2	28,2	28,2	28,2
22	33,9		33,9	
23	26,0		26,0	
28	12,0	12,0	11,9	12,0
CH₃				
18	11,8	11,8	11,9	11,9
19	19,4	19,4	19,4	19,4
21	18,7	19,8	18,8	20,5
26	19,8	21,0	19,8	21,2
27	19,0	19,8	19,1	19,8
29	11,9	11,9	12,1	12,1

 δ_{C} em ppm (CDCl₃, 50 MHz).^aFALCÃO, 2003.

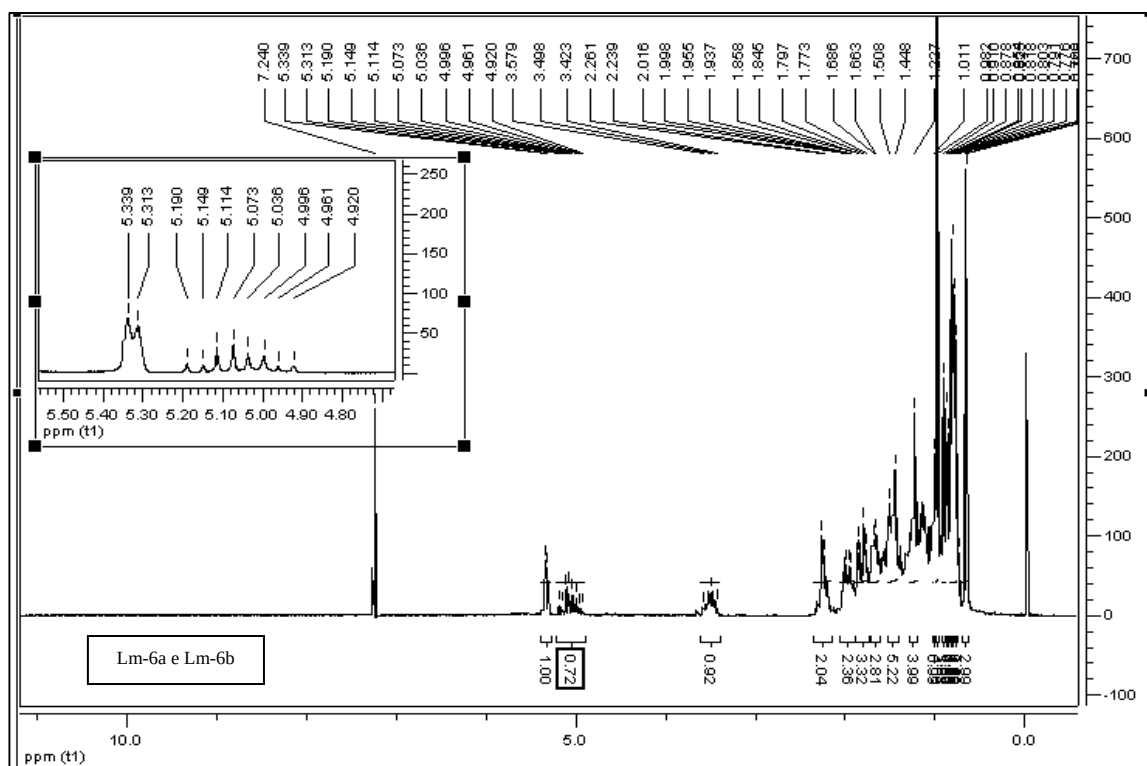


FIGURA 159 Espectro de RMN ^1H de Lm-6a e Lm-6b (200 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

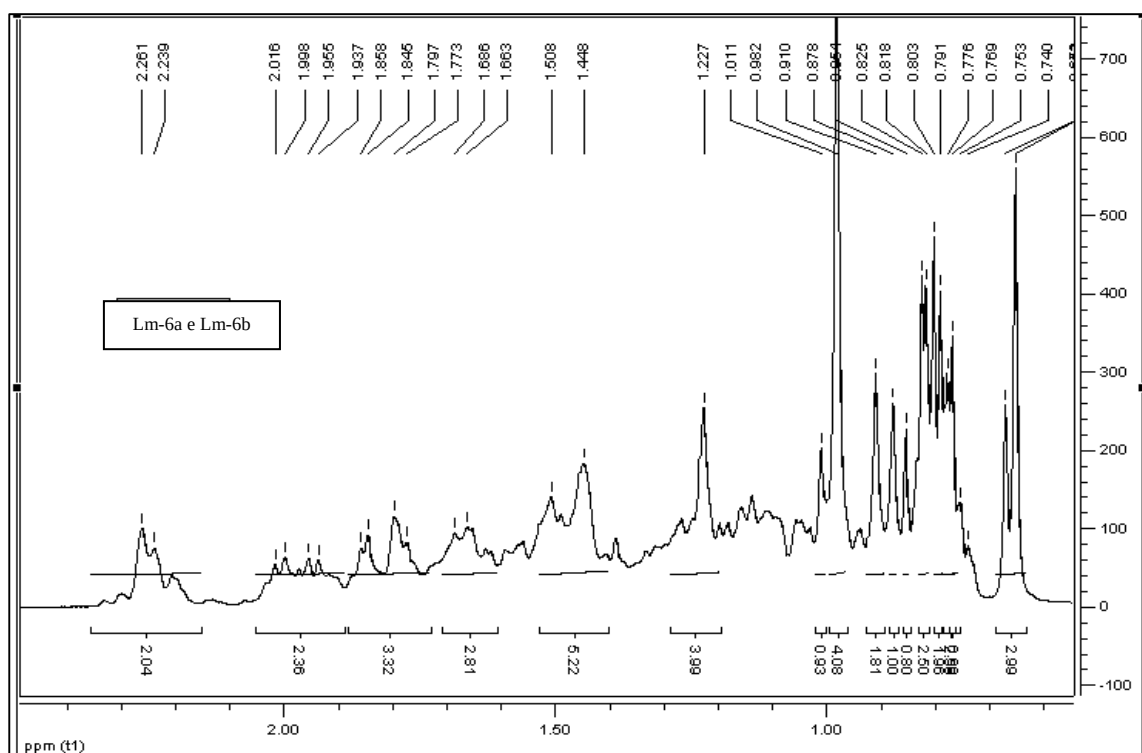


FIGURA 160 Expansão do espectro de RMN de ^1H de Lm-6a e Lm-6b na região entre δ_H 0,5 - 2,5 (200 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

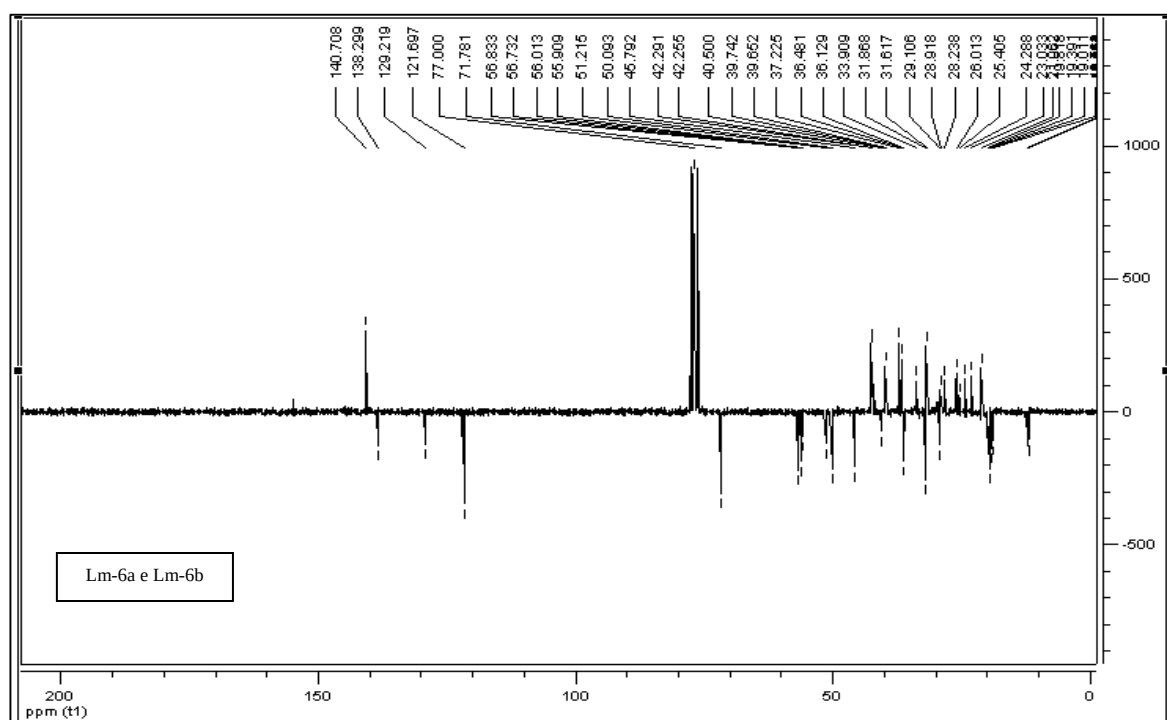


FIGURA 161 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-6a** e **Lm-61b** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

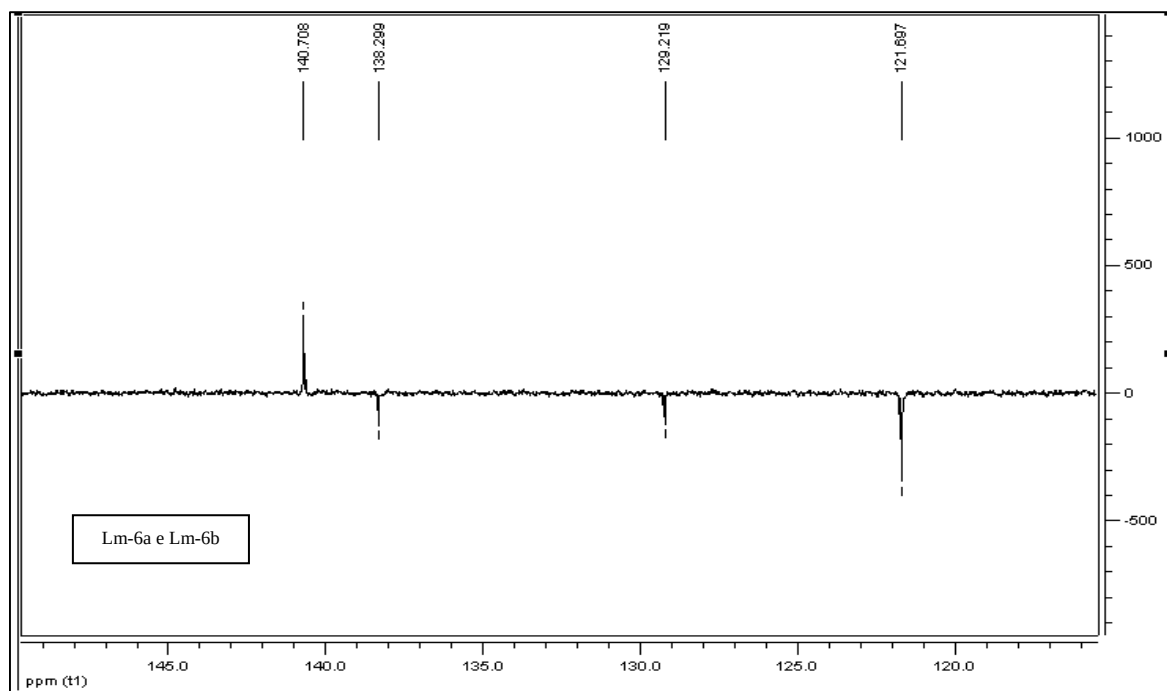


FIGURA 162 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-6a** e **Lm-6b** na região entre δ_{C} 110 - 155 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

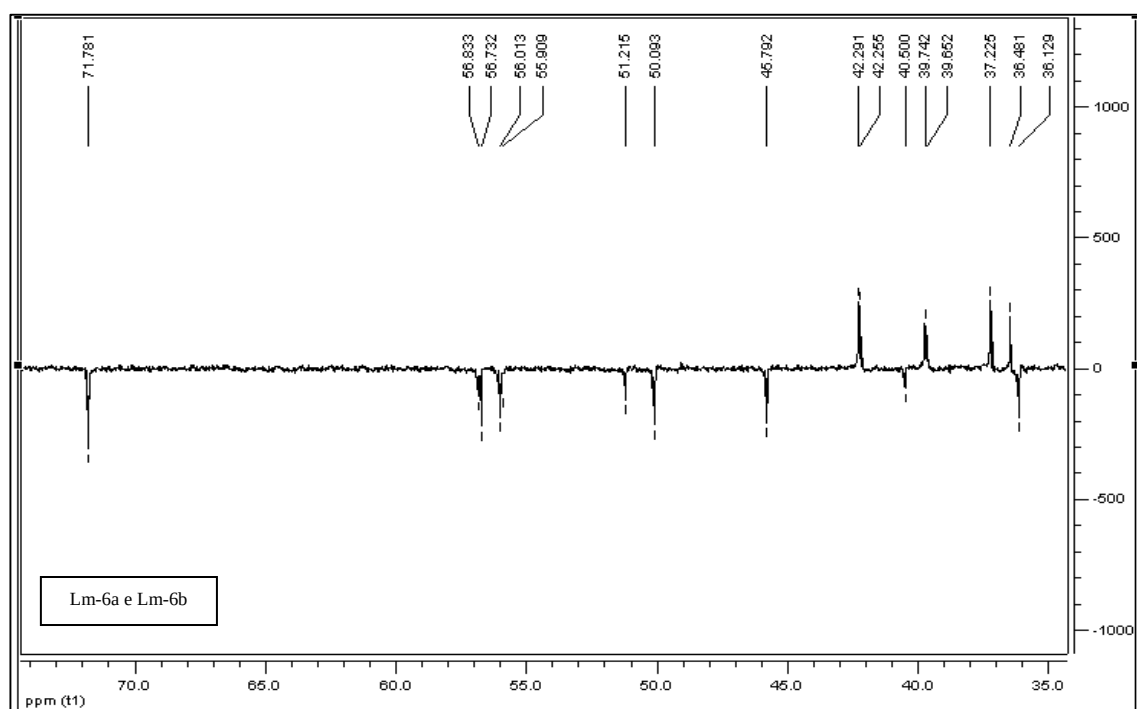


FIGURA 163 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-6a** e **Lm-6b** na região entre δ_{C} 35 – 75 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

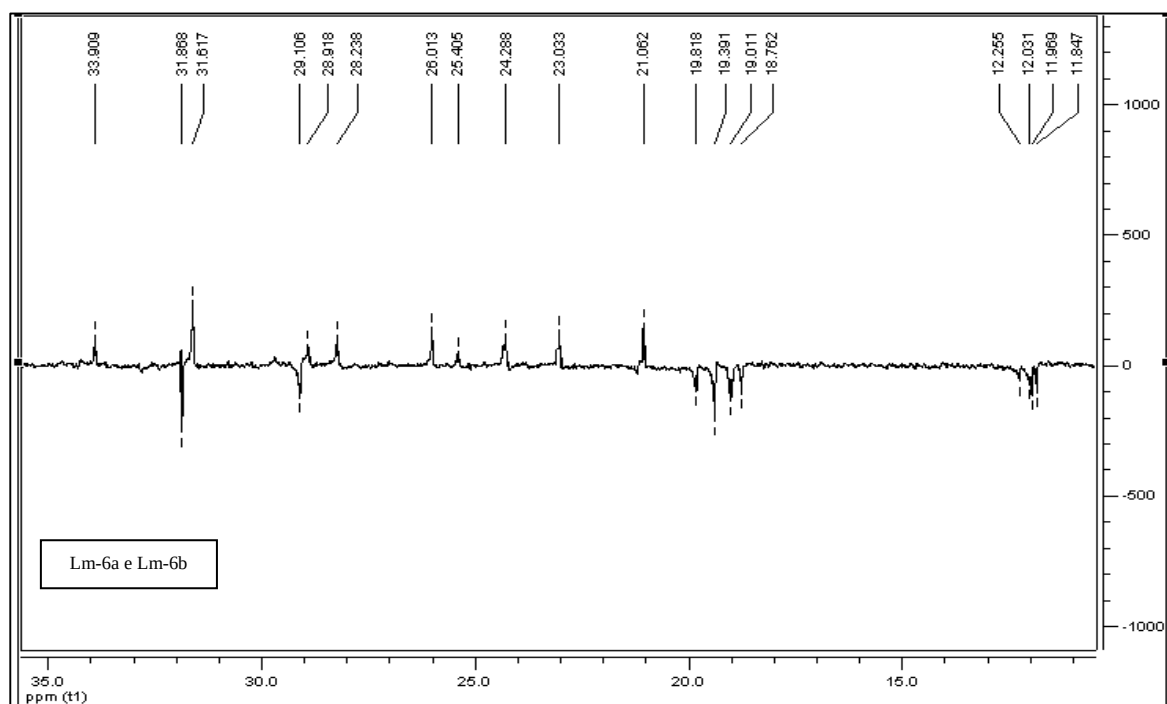


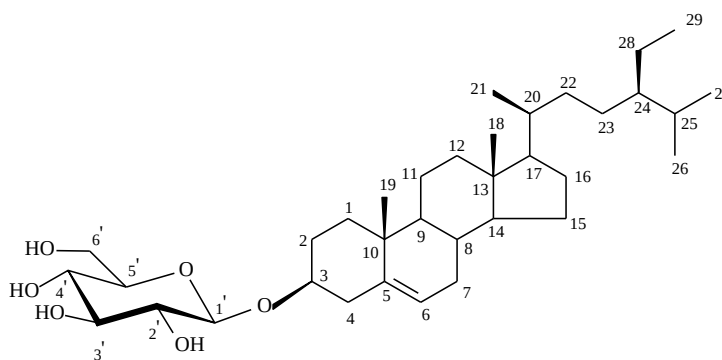
FIGURA 164 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-6a** e **Lm-6b** na região entre δ_{C} 10 - 35 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

4.3.3.2 Identificação Estrutural de Lm-7

A substância codificada como **Lm-7** apresentou-se como pó branco, solúveis em piridina.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) **Lm-7** (FIGURA 165, p.179) e sua expansão (FIGURA 167, p.180) apresentaram um conjunto de sinais semelhantes aos apresentados por **Lm-6**. Além dos simpletos entre δ_{H} 0,65 e 1,22, observou-se um conjunto de absorções entre δ_{H} 3,7 – 4,7 ppm (FIGURA 166, p.179), compatíveis com hidrogênios oximetínicos, sugerindo a presença de unidade osídica na substância. Um multiplete em δ_{H} 3,98 (FIGURA 166, p.179), compatível com sinal de hidrogênio oximetínico H-3, sugeriu a presença da unidade osídica ligado ao carbono C-3, tendo em vista mudança no deslocamento químico do hidrogênio H-3 para campo baixo quando o mesmo foi comparado ao do hidrogênio H-3 de **Lm-6** observado em δ_{H} 3,49 (FIGURA 159, p.174).

O espectro de RMN de ^{13}C (APT, 50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **Lm-7** (FIGURA 168, p.180) e suas expansões apresentaram um conjunto de sinais característico de estrutura esteroidal ligada à unidade osídica. A presença do sinal em δ_{C} 102,56 (CH) (FIGURA 169, p.181), atribuído ao carbono anomérico de açúcar C-1', e do sinal em δ_{C} 62,82 (FIGURA 170, p.181) característico de carbono metilênico de glicose, confirmou a presença da unidade osídica. Através de comparações dos deslocamentos químicos de carbono de **Lm-7** com valores relatados na literatura (TABELA 7, p.178) confirmou-se **Lm-7** como sendo **sitosterol-3-O- β -D-glicosídeo**.



Sitosterol-3-O- β -D-glicosídeo (Lm-7)

TABELA 7 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **Lm-7** e comparações com valores da literatura.

C	Lm-7		Literatura ^a	Literatura ^b
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
5	140,88		140,77	141,00
10	36,92		36,78	37,00
13	42,47		42,33	42,40
CH				
3	78,51	3,98 (m)	78,35	78,30
6	124,02	5,30 (m)	124,02	122,00
8	32,04		32,00	32,10
9	50,31		50,17	50,40
14	56,81		56,69	56,30
17	56,21		56,08	56,50
20	36,39		36,25	36,50
24	46,03		45,88	46,10
25	29,44		29,30	29,50
CH₂				
1	37,49		37,33	37,60
2	30,25		30,11	30,30
4	39,34		39,18	39,40
7	32,17		32,05	32,20
11	21,28		21,13	21,40
12	39,92		39,55	40,00
15	24,52		24,38	24,60
16	28,54		28,43	28,70
22	34,21		34,00	34,30
23	26,35		26,20	26,40
28	23,38		23,24	23,40
CH₃				
18	12,08		11,88	12,00
19	19,35		19,30	19,30
21	19,16		19,07	19,10
26	19,50		19,30	19,50
27	20,04		19,86	20,10
29	12,17		11,85	12,20
		Unidade Glicosídica	Unida de Glicosídica	
1'	102,56	4,20 (m)	102,42	102,60
2'	75,35		75,19	75,40
3'	78,62		78,35	78,70
4'	71,67		71,52	71,70
5'	78,07		77,98	77,50
6'	62,82		62,66	62,90

RMN (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)

(a) MAIA, 2008; (b) KOJIMA, 1990.

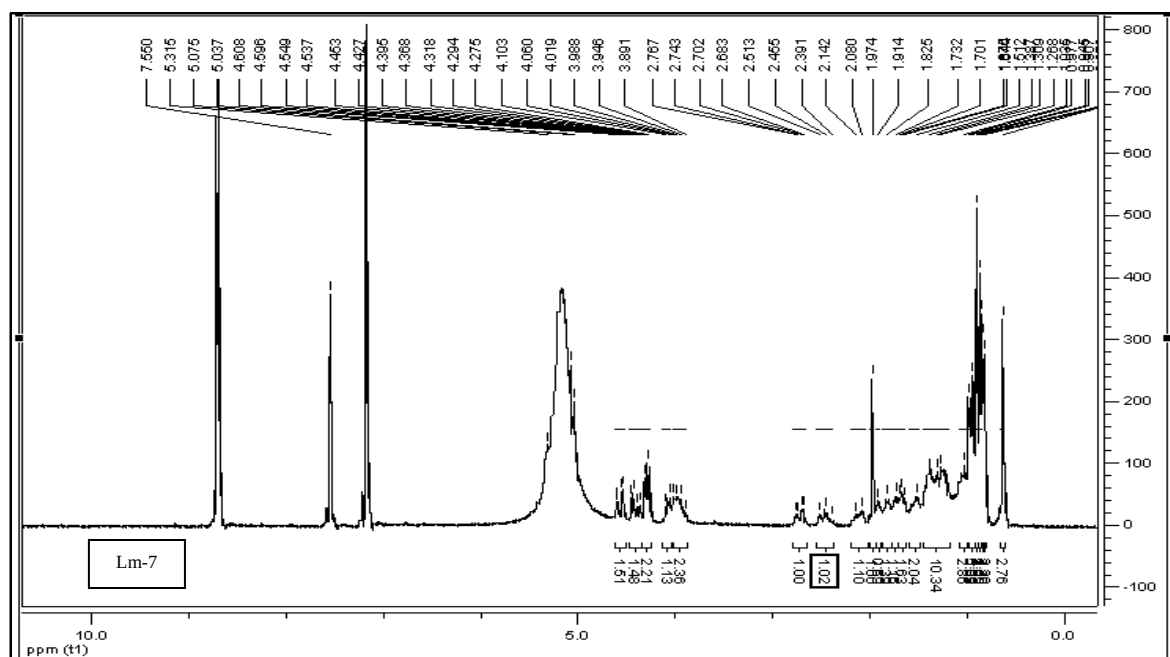


FIGURA 165 Espectro de RMN ^1H de **Lm-7** (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm)

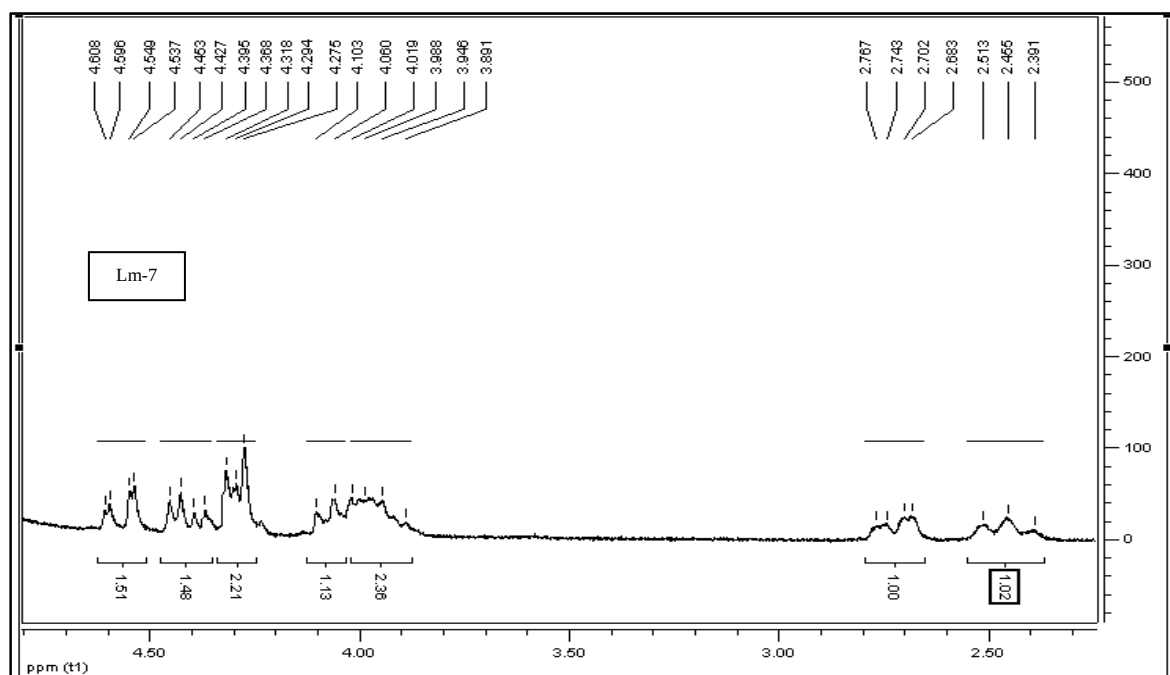


FIGURA 166 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Lm-7** na região entre δ_{H} 0,5 - 2,5 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm).

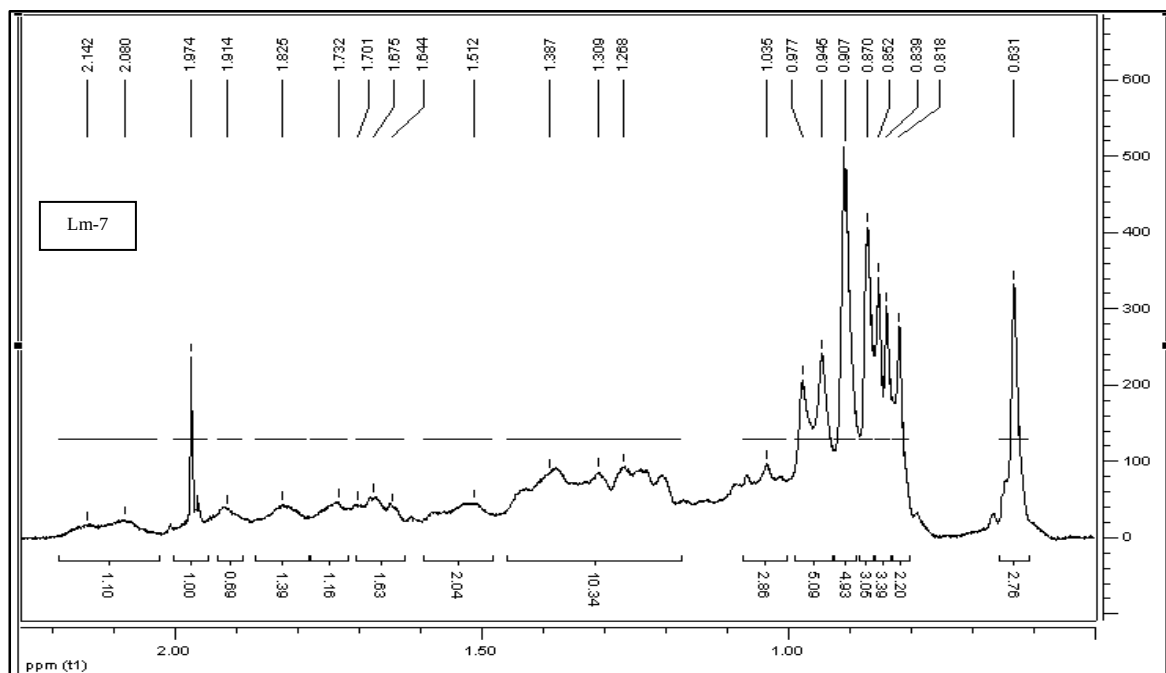


FIGURA 167 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-7** na região entre δ_{H} 0,5 - 2,5 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm).

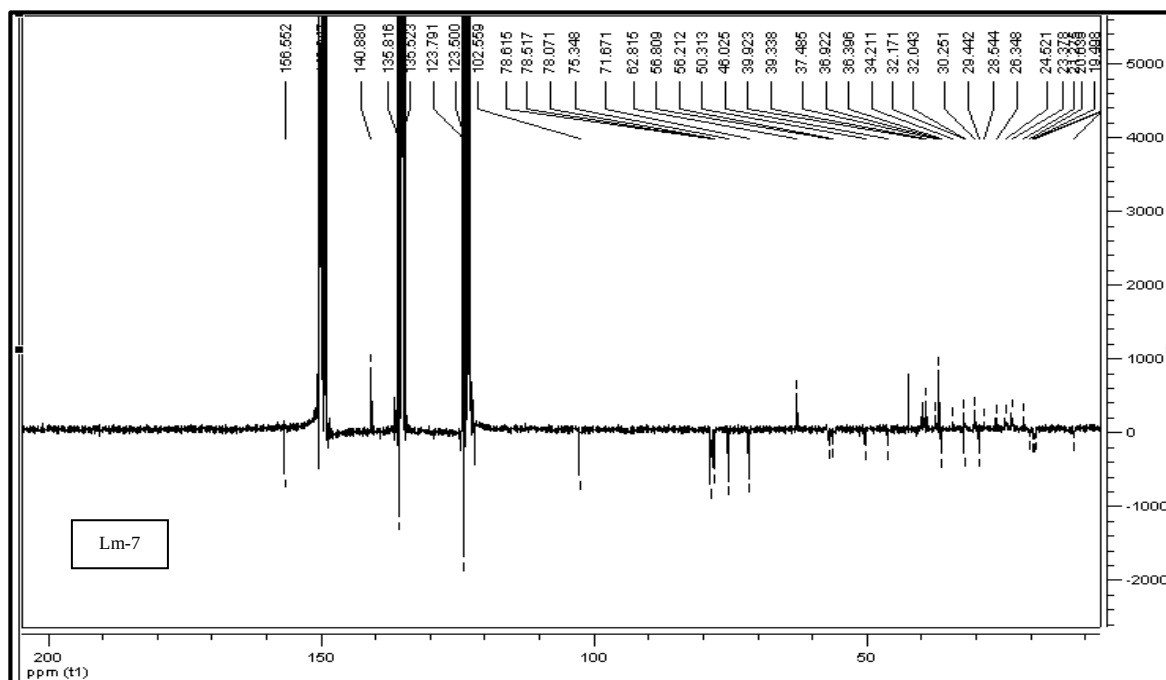


FIGURA 168 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Lm-7** (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ em ppm).

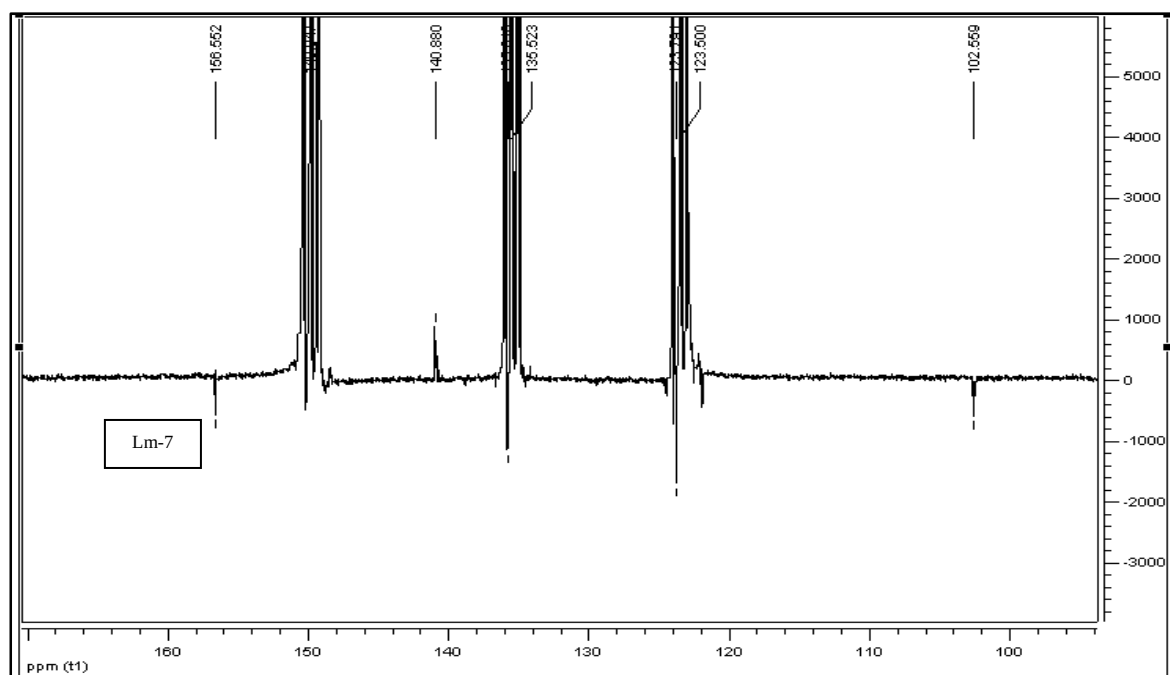


FIGURA 169 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Lm-7** na região entre δ_C 90 - 170 (50 MHz, C₅D₅N, δ em ppm).

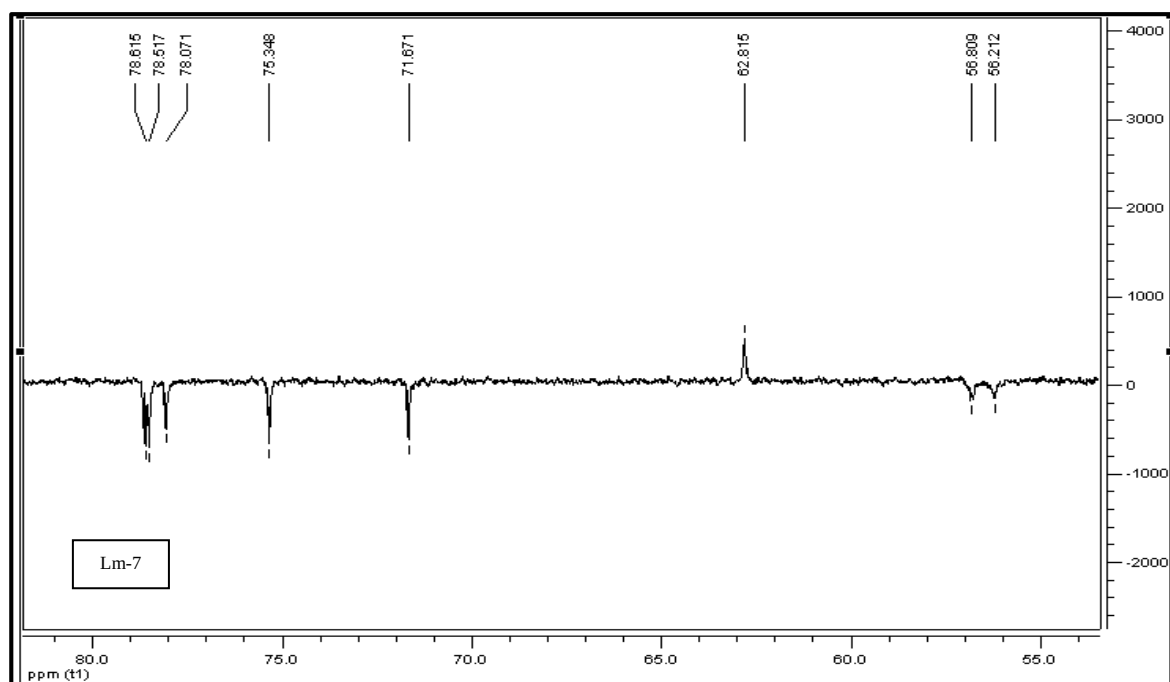


FIGURA 170 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Lm-7** na região entre δ_C 54 - 80 (50 MHz, C₅D₅N, δ em ppm).

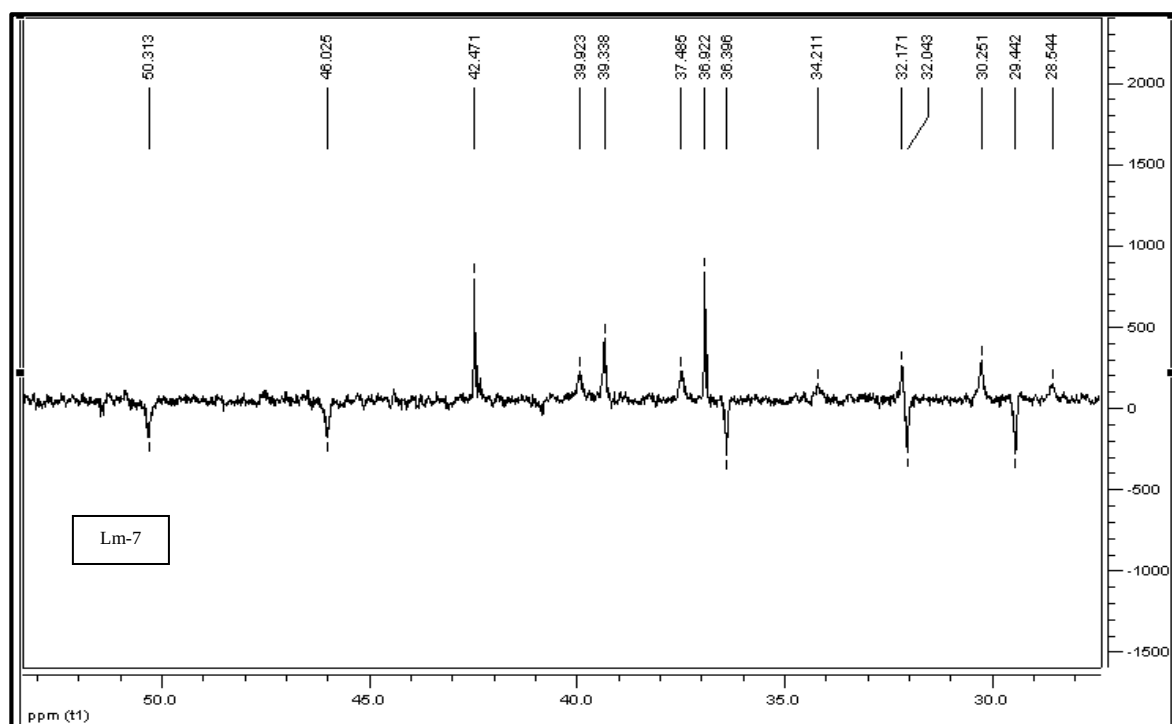


FIGURA 171 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Lm-7** na região entre δ_C 28 - 55 (50 MHz, C₅D₅N, δ em ppm).

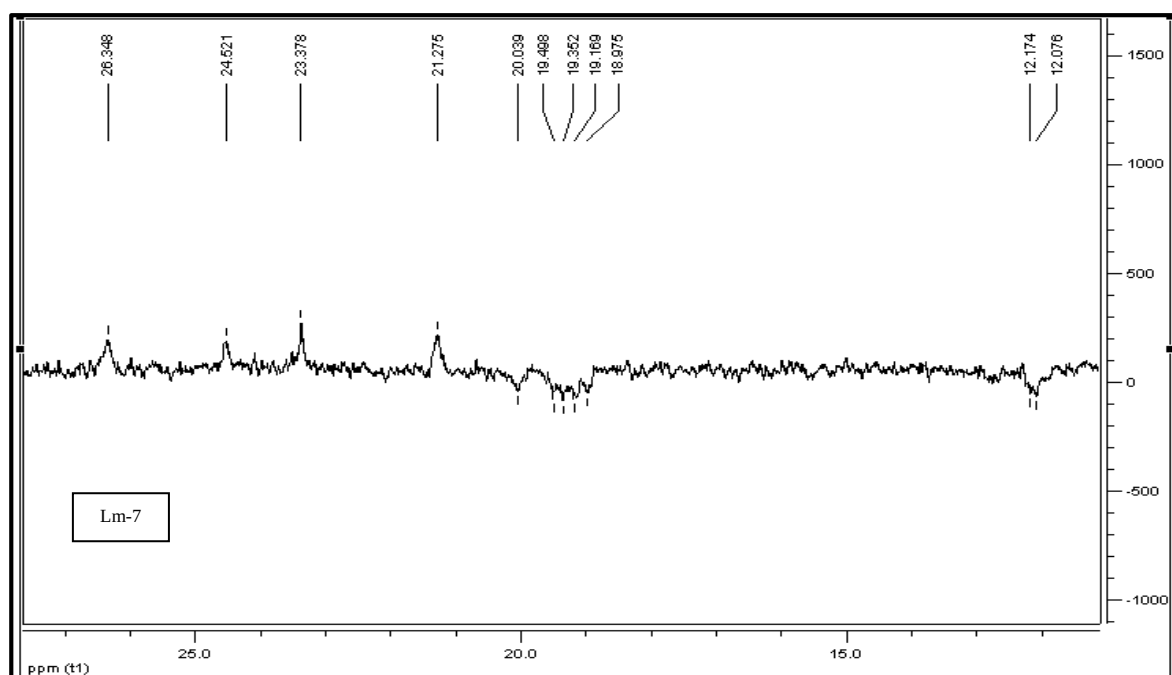


FIGURA 172 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Lm-7** na região entre δ_C 12 - 28 (50 MHz, C₅D₅N, δ em ppm).

4.3.4 Identificação Estrutural dos Triterpenos isolados das folhas de *Licania macrophylla* Benth

4.3.4.1 Identificação Estrutural de Lm-8

A substância codificada como **Lm-8** apresentou-se como pó amorfo branco, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Lm-8** (FIGURA 173, p.185) e suas expansões apresentou os seguintes sinais: um envelope de sinais entre δ_{H} 0,70 e 1,7 típicos de metilas triterpênicas; um simpleto em δ_{H} 1,65 (FIGURA 175, p.186), compatível com metila termina olefínica; os sinais em δ_{H} 4,66 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H) e um mutipletto em δ_{H} 4,55 (m, 1H) (FIGURA 175, p.186) são compatíveis com os hidrogênios geminais (H-29a e H-29b) em triterpenos da série lupano (MAIA, 2008); dois dupletos em δ_{H} 3,77 ($J = 11,0$ Hz, 1H) e em δ_{H} 3,30 ($J = 11,0$ Hz, 1H) compatíveis com os hidrogênios oximetilênicos H-28; um duplo dupletto em δ_{H} 3,16 ($J = 5,4$ e $10,0$ Hz), foi atribuído ao hidrogênio oximetínico H-3. Observou-se ainda um multipletto em δ_{H} 2,35 (1H) compatível com H-19, quando C-18 tem função álcool (FALCÃO, 2003). Assim, a análise desses dados permitiu sugerir **Lm-8** como sendo o **álcool betulínico**.

O espectro de RMN de ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) de **Lm-5** (FIGURA 176, p.186) apresentou um total de 30 sinais, compatíveis com estrutura triterpenica. A presença dos sinais de carbonos sp^2 em δ_{C} 150,46 e 109,69 (FIGURA 177, p.187) são característicos dos carbonos C-20 e C-29, respectivamente, de estrutura triterpênica da série lupano (DAVID, 2006). Adicionalmente, foram observados os sinais em δ_{C} 78,96 (FIGURA 177, p.187), característico de carbono oximetínico (C-3), e o sinal em δ 60,52 (FIGURA 178, p.187), característico de carbono oximetelênico compatível com C-28. Esses dados corroboraram para a proposta de **álcool betulínico** para **Lm-8**.

Através de comparações de deslocamentos químicos de **Lm-8** (TABELA 8, p.184) com valores reportados na literatura (MAIA, 2008) foi possível identificar **Lm-8** como sendo o **álcool betulínico** ou **Lup-20(29)-ene-3, 28-diol**, ainda não isolado no gênero *Licania*.

TABELA 8 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **Lm-8** e comparação com valores da literatura

C	Lm-3		Álcool betulínico ^a	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
4	38,83		38,83	
8	40,87		40,88	
10	37,12		37,12	
14	42,67		42,68	
17	47,70		47,72	
20	150,46		150,46	
CH				
3	78,96	3,16 (1H, dd, $J = 5,4; 10,4$)	78,97	3,16 (dd, $J = 6,0; 10,0$)
5	55,23		55,25	
9	50,34		50,36	
13	37,26		37,27	
18	47,77		47,75	
19	48,70	2,35 (1H, m)	48,72	2,30 (m)
CH₂				
1	38,66		38,67	
2	27,35		27,34	
6	18,27		18,28	
7	34,18		34,20	
11	20,79		20,80	
12	25,16		25,17	
15	27,00		27,01	
16	29,12		29,14	
21	29,69		29,71	
22	33,94		33,94	
28	60,52	3,30 (1H, d, $J = 11,0$); 3,77 (1H, d, $J = 11,0$)	60,52	
29	109,69	4,66 (1H, d, $J = 1,8$); 4,56 (1H, m)	109,67	4,65 (d, $J = 1,6$ Hz); 4,55 (m)
CH₃				
23	27,96	0,73 (3H, s)	27,96	0,73 (3H, s)
24	15,36	0,77 (3H, s)	15,34	0,79 (3H, s)
25	16,09	0,94 (3H, s)	16,09	0,94 (3H, s)
26	15,95	0,95 (3H, s)	15,95	0,95 (3H, s)
27	14,74	0,99 (3H, s)	14,74	0,99 (3H, s)
30	19,06	1,65 (3H, s)	19,06	1,65 (3H, s)

RMN (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)^(a)MAIA, 2008.

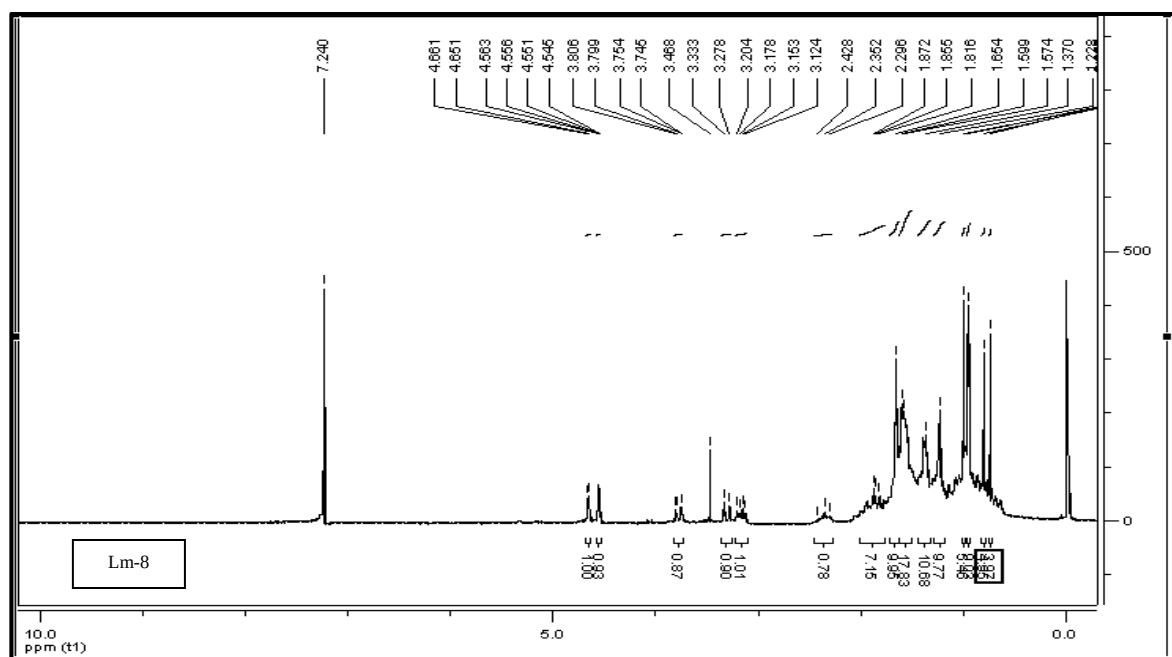


FIGURA 173 Espectro de RMN de ^1H de **Lm-8** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

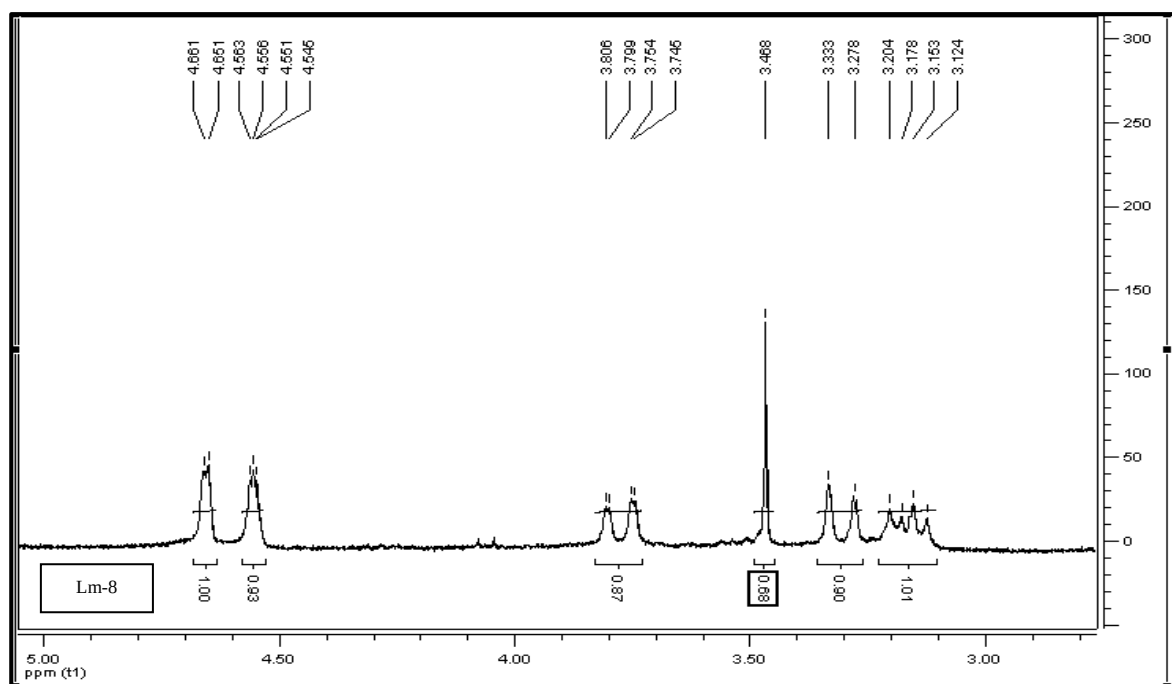


FIGURA 174 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Lm-8** na região entre δ_{H} 3,0 – 5,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

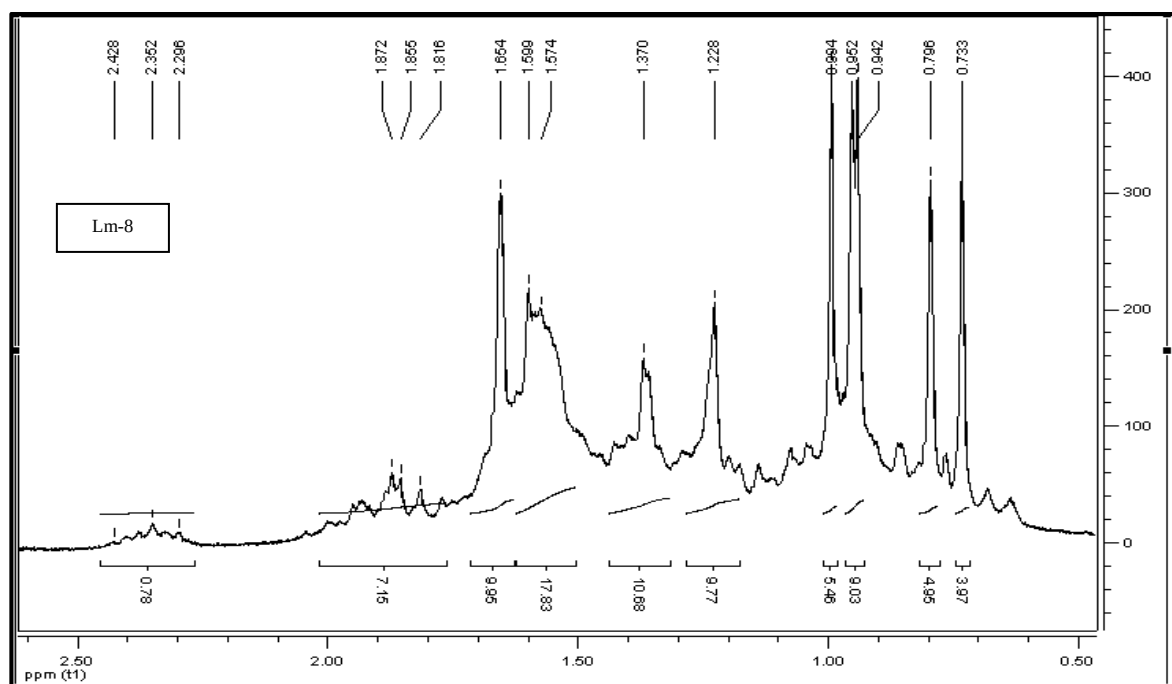


FIGURA 175 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Lm-8** na região entre δ_{H} 0,5 – 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

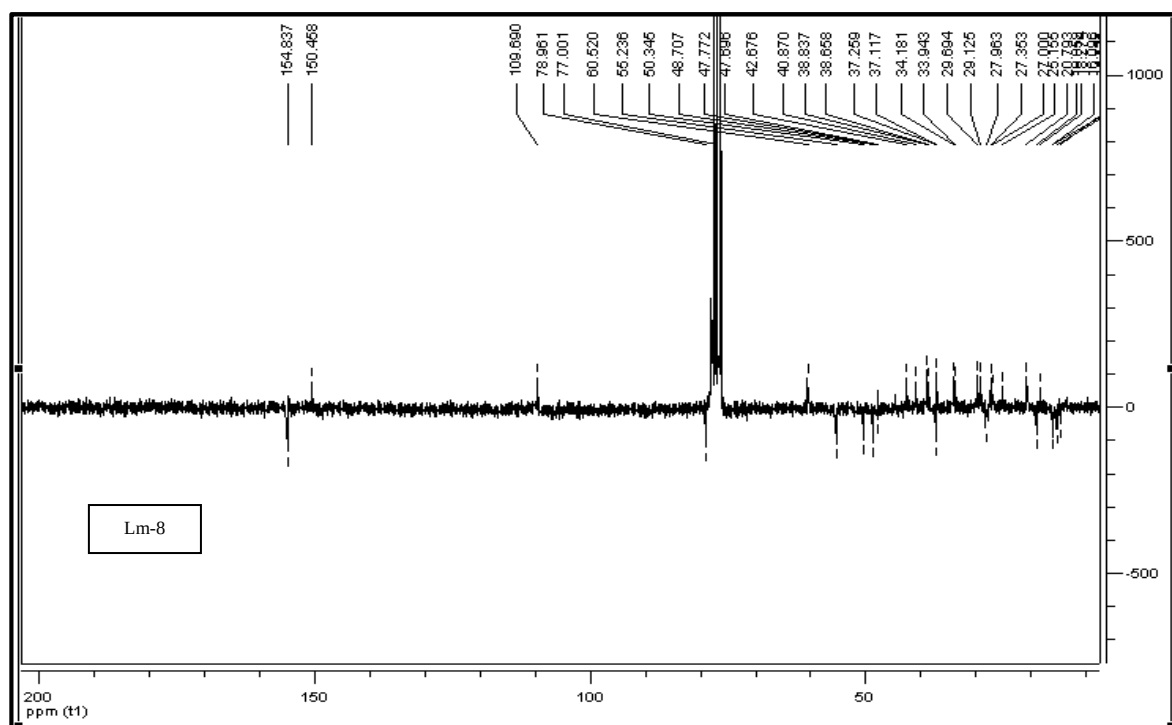


FIGURA 176 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-8** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

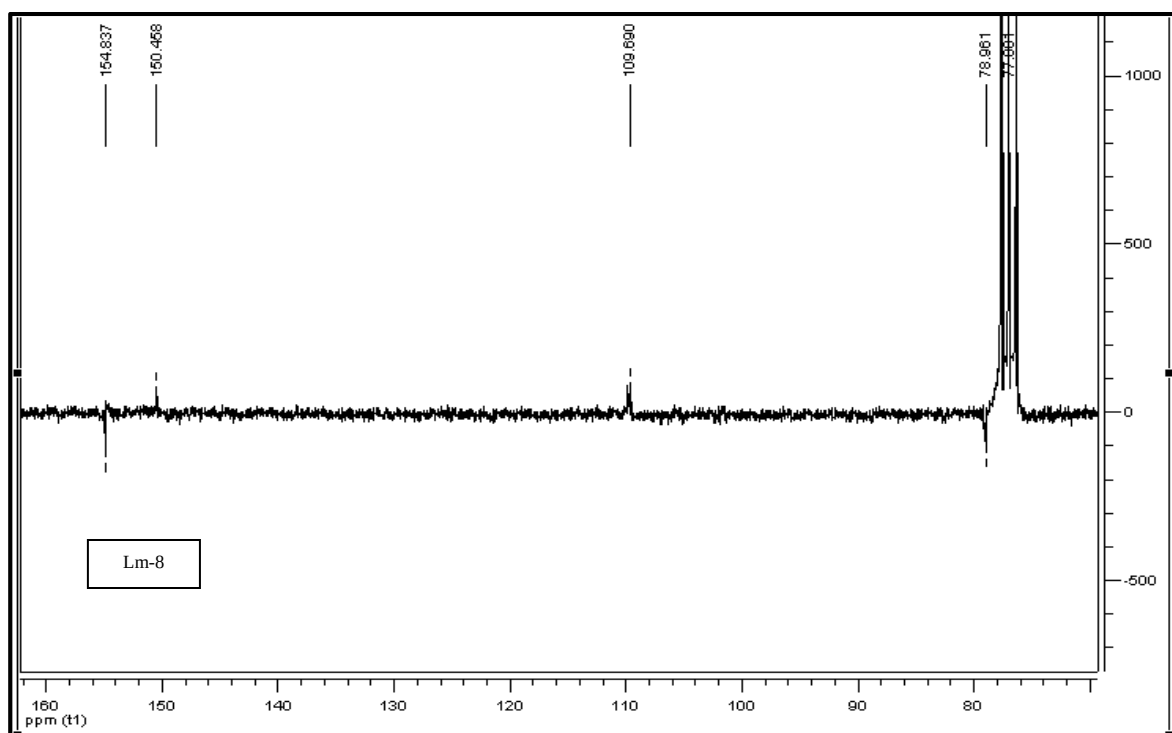


FIGURA 177 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-8** na região entre δ_{C} 75 – 160 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

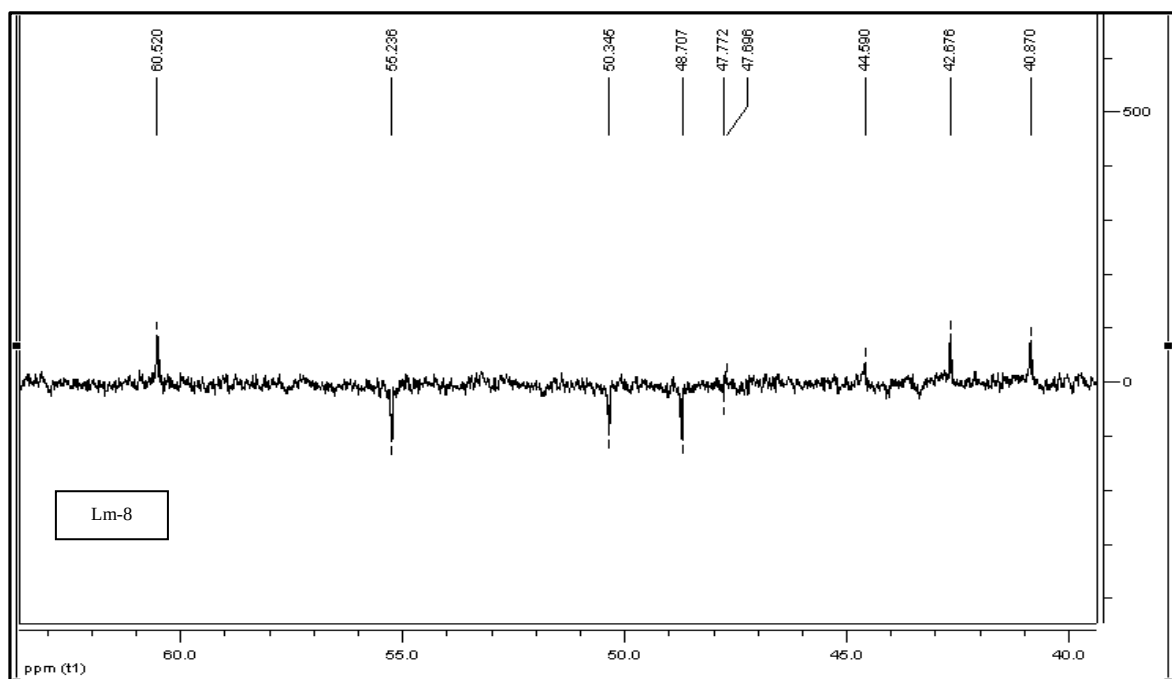


FIGURA 178 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-8** na região entre δ_{C} 480 - 65 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

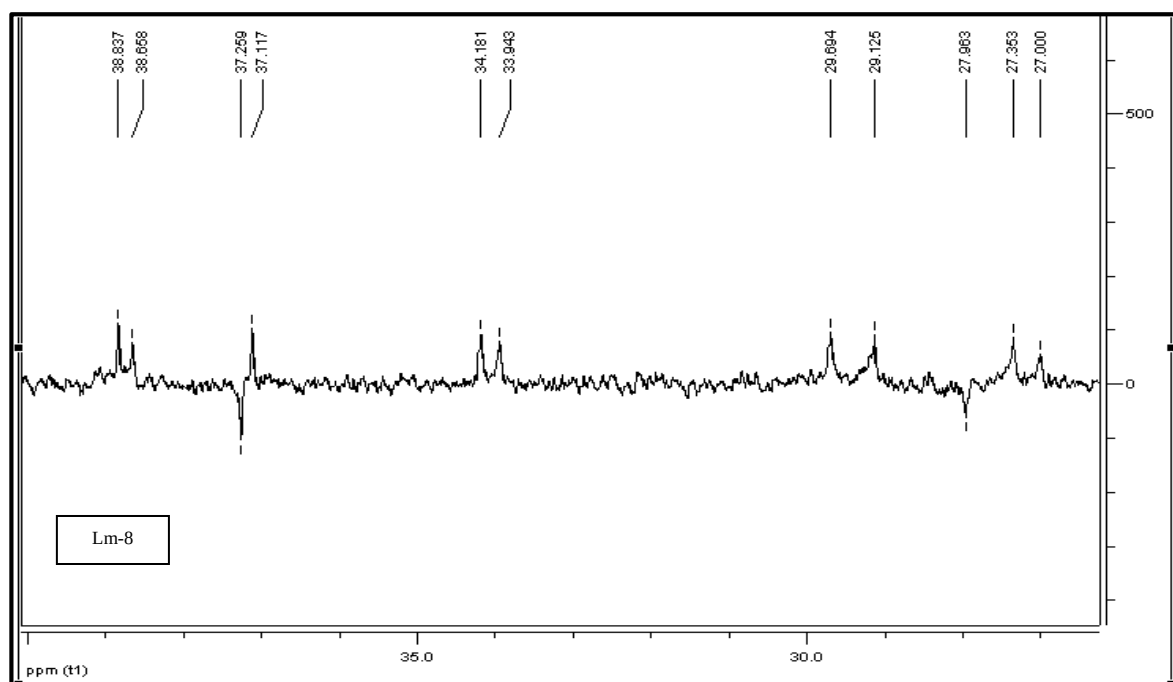


FIGURA 179 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-8** na região entre δ_{C} 25 - 40 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

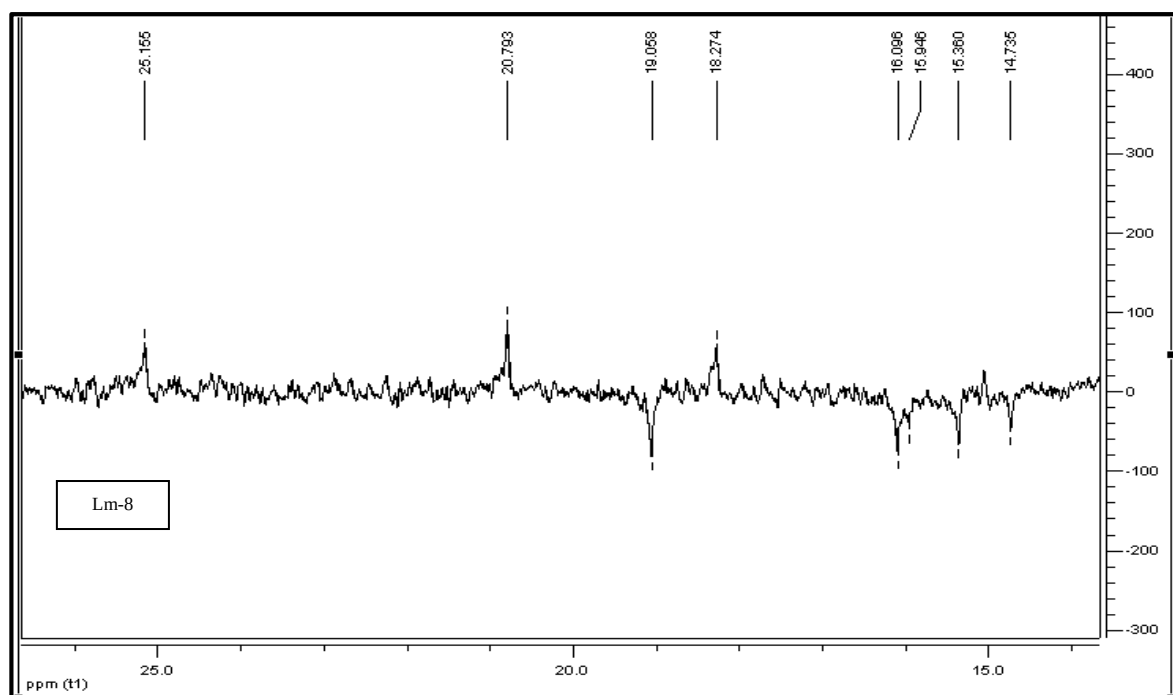


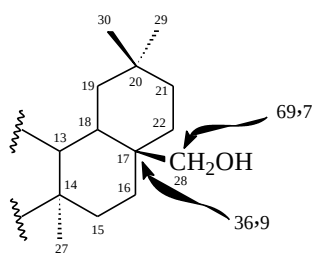
FIGURA 180 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-8** na região entre δ_{C} 14 - 27 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

4.3.4.2 Identificação Estrutural de Lm-9

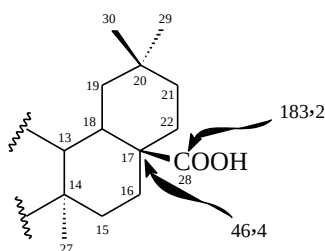
A substância codificada como **Lm-9** apresentou-se como pó branco amorfo, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Lm-9** (FIGURA 181, p.191) e sua expansão (FIGURA 183, p.192) apresentou um conjunto de sinais semelhantes aos apresentados por **Lm-8**, dentre estes, foi observado o envelope de sinais simples entre δ_{H} 0,70 e 1,2 característicos de metilas triterpênicas (PAULETTI, 2002); No entanto, foram observadas as ausências dos sinais referentes aos hidrogênios olefínicos H-29 (δ_{H} 4,66 e 4,56) e aos hidrogênios oximetilênicos H-28 (δ_{H} 3,77 e 3,30) (FIGURA 182, p.191) o que sugere uma estrutura triterpênica diferente do álcool betulínico. Adicionalmente a esses dados foram observados os sinais em δ_{H} 5,27 (m, 1H) característico do hidrogênio H-12 em esqueleto triterpênico $^{12}\Delta$ oleanano, e em δ_{H} 2,79 (dd, $J = 4,4$ e $14,0$ Hz) (FIGURA 182, p.192) compatível com o hidrogênio H-18 quando o carbono C-28 é função ácida (CARVALHO, 2001), além do multiplete em δ_{H} 3,20 (1H), atribuído ao hidrogênio H-3. A análise conjunta desses dados sugere um triterpeno ácido da série oleanano.

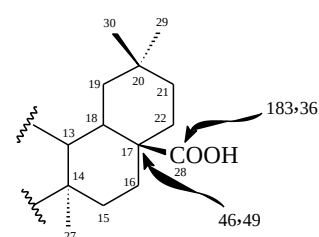
O espectro de RMN de ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) de **Lm-9** (FIGURA 184, p.192) apresentou um total de 30 sinais, corroborando para uma estrutura triterpênica. A ausência dos sinais em δ_{C} 150,46 e 109,69 (FIGURA 177, p.186) confirmaram uma estrutura triterpênica diferente de **Lm-8**. A presença dos sinais de carbonos sp^2 em δ_{C} 143,53 e 122,58 (FIGURA 185, p.193), compatíveis com os carbonos C-13 e C-12, respectivamente, confirmaram o esqueleto triterpênico $^{12}\Delta$ oleanano. A ausência do sinal em δ_{C} 69,69 (FIGURA 186, p.193) e a presença do sinal em δ_{C} 183,36 (FIGURA 185, p.193), compatível com carbonila de ácido, corroboram para função ácida no carbono C-28 (CARVALHO, 2001). Através de comparações com valores da literatura (PINTO, 2008) foi possível confirmar a função ácida em C-28.



Álcool oleanólico

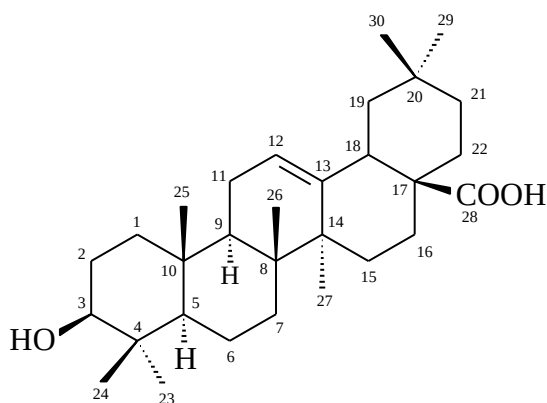


ácido oleanólico



Lm-8

A análise dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de **Lm-9** e comparação com valores da literatura (MAHATO, 1997) permitiram identificar **Lm-9** como sendo o **ácido oleanólico** ou **ácido 3- β -hidroxiolean-12-em-28-óico**, substância não reportada para gênero *Licania*.



Ácido oleanólico

TABELA 9 Dados de RMN de ^{13}C de **Lm-9** e comparação com valores da literatura

C	Lm-9		Ácido oleanólico ^a	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
4	38,71		38,7	
8	39,21		39,2	
10	37,02		37,0	
13	143,52		143,5	
14	41,55		41,5	
17	46,49		46,4	
20	30,65		30,6	
28	183,36		183,2	
CH				
3	79,01	3,20 (1H, dd, $J = 5,4$ e $10,0$)	79,0	3,2 (1H, dd, $J = 6,0$ e $9,4$)
5	55,15		55,1	
9	47,57		47,5	
12	122,58	5,27 (1H, m)	122,6	5,2 (sl)
18	40,92	2,79 (1H, dl, $J = 11,0$)	40,9	2,8 (dl, $J = 8,6$)
CH₂				
1	38,34		38,3	
2	27,13		27,1	
6	18,25		18,2	
7	32,56		32,6	
11	22,86		22,9	
15	27,63		27,6	
16	23,35		23,3	
19	45,82		45,8	
21	33,75		33,7	
22	32,38		32,4	
CH₃				
23	28,06	0,90 (3H, s)	28,0	0,9 (s)
24	15,53	0,73 (3H, s)	15,5	0,7 (s)
25	15,29	0,85 (3H, s)	15,2	0,8 (sl)
26	17,01	0,75 (3H, s)	17,1	0,7 (s)
27	25,91	1,11 (3H, s)	25,9	1,1 (s)
29	33,04	0,88 (3H, s)	33,0	0,8 (sl)
30	23,55	0,96 (3H, s)	23,5	0,9 (s)

RMN (200 MHz, CDCl_3 , J em Hz)^(a)PINTO, 2008

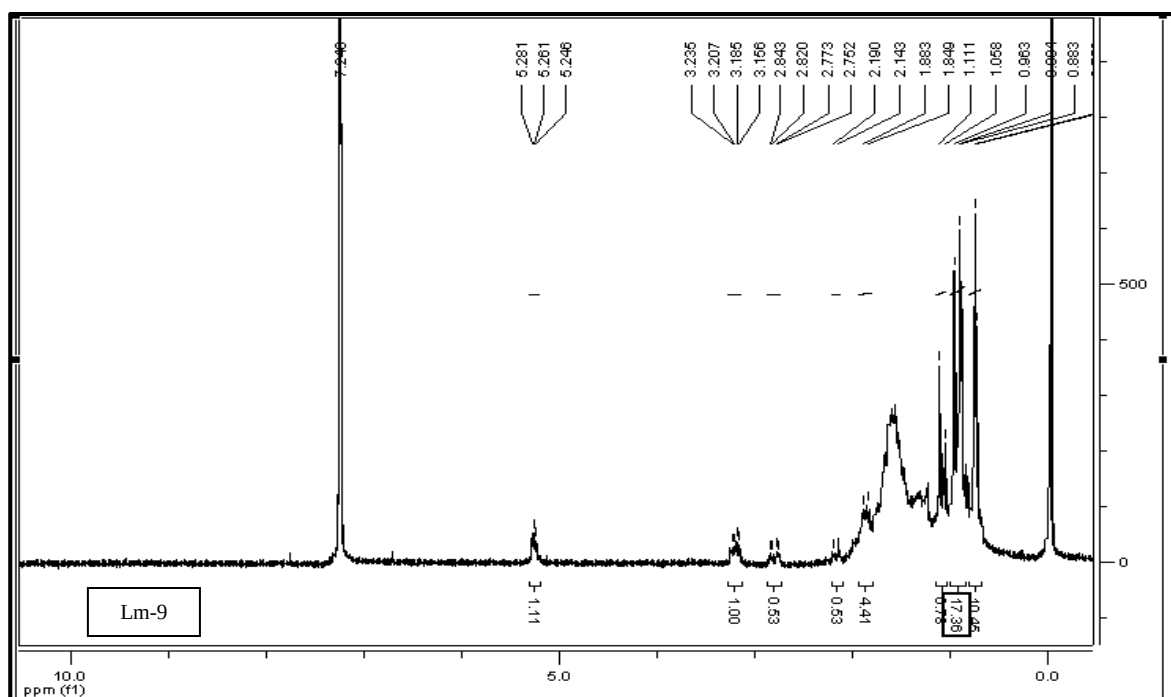


FIGURA 181 Espectro de RMN de ^1H de **Lm-9** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

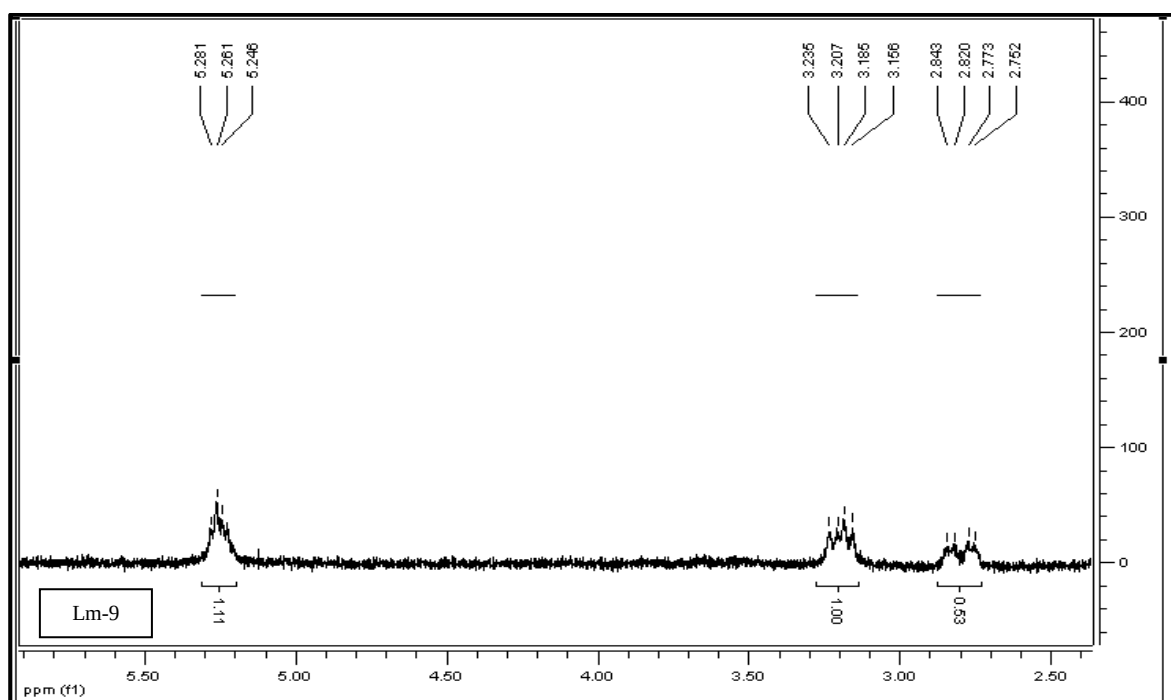


FIGURA 182 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Lm-9** na região entre δ_{H} 2,5 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

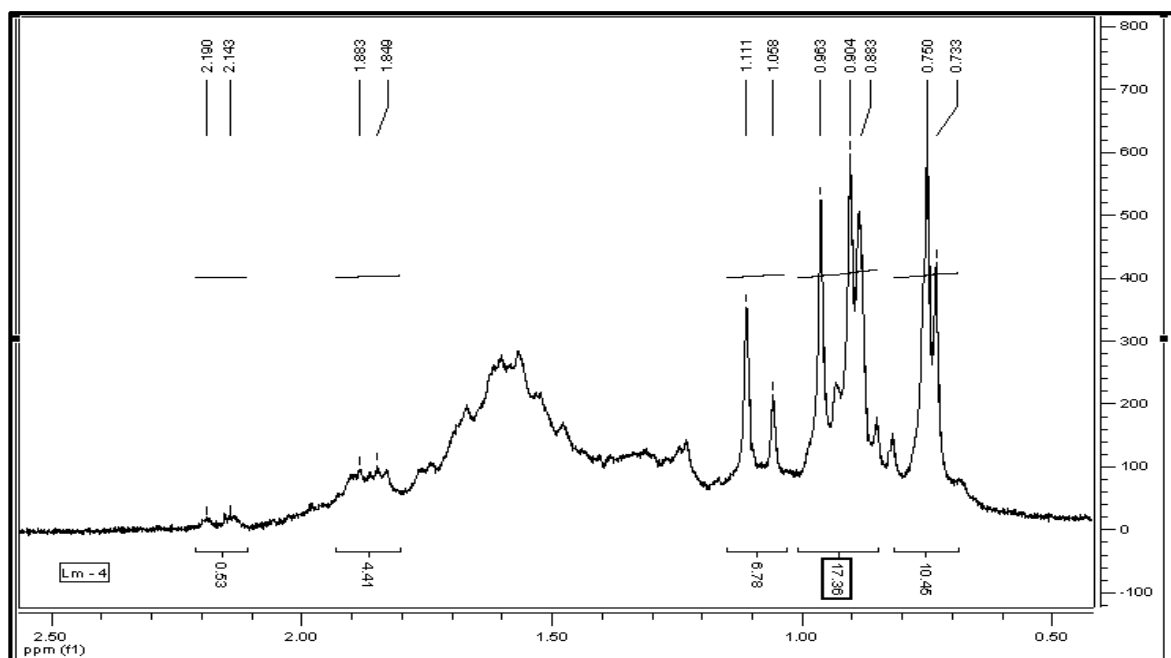


FIGURA 183 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Lm-9** na região entre δ_{H} 0,5 – 2,2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

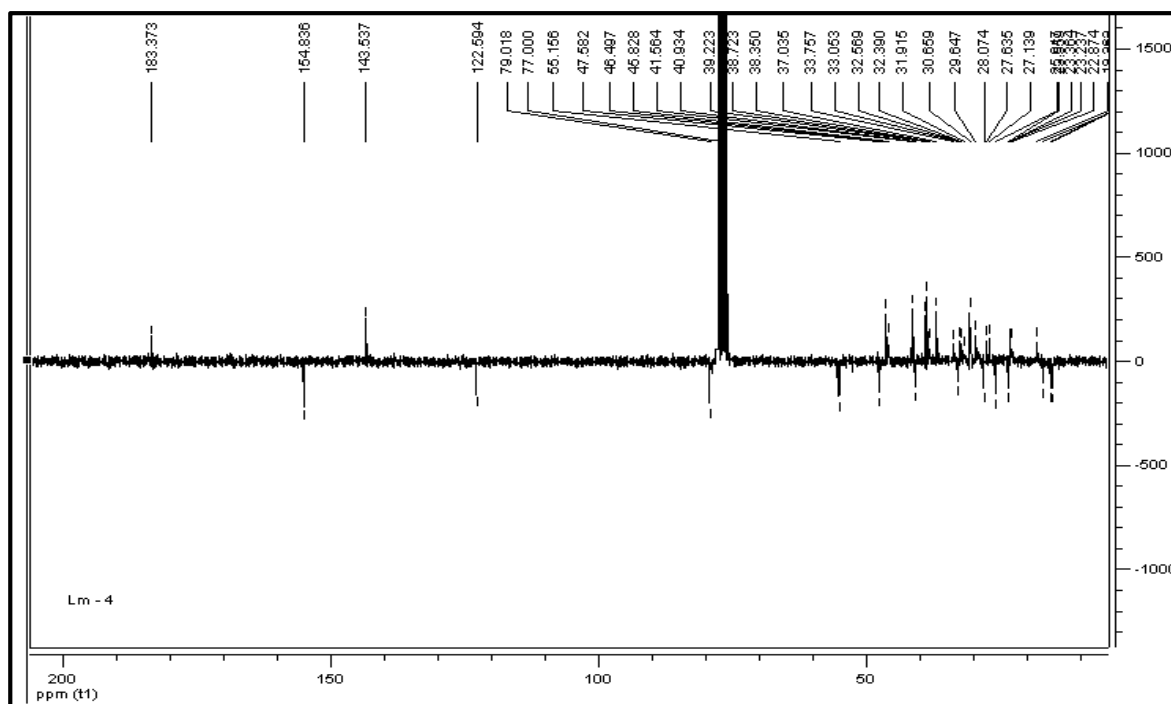


FIGURA 184 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-9** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm)

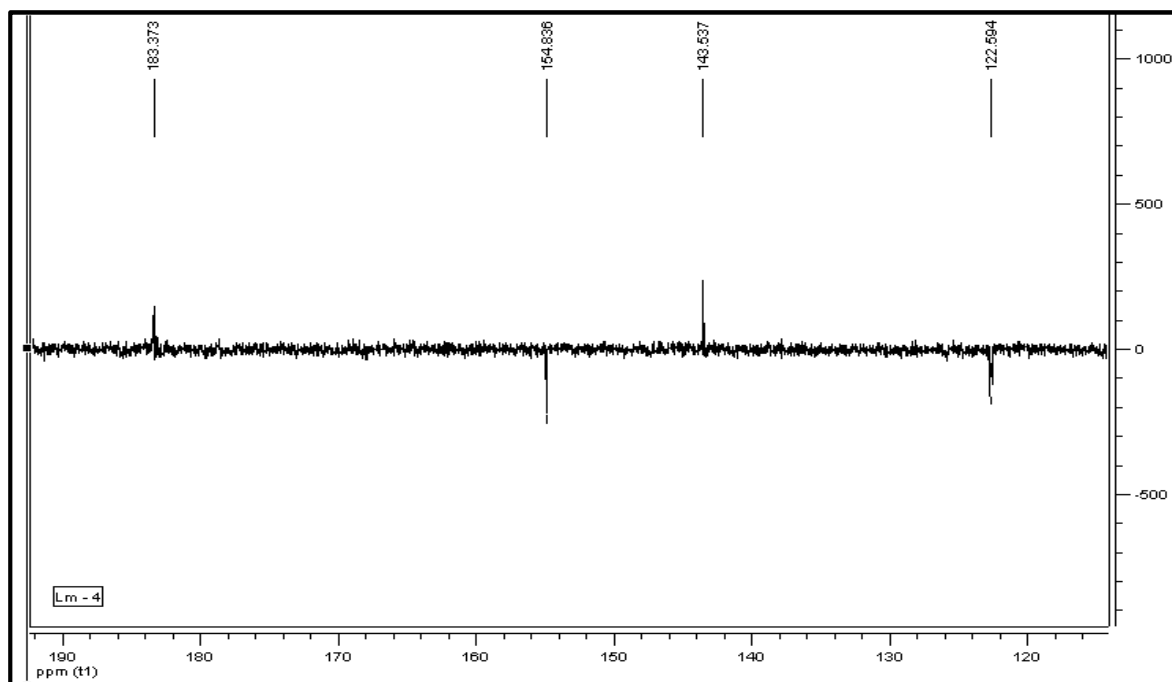


FIGURA 185 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-9** na região entre δ_{C} 120 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

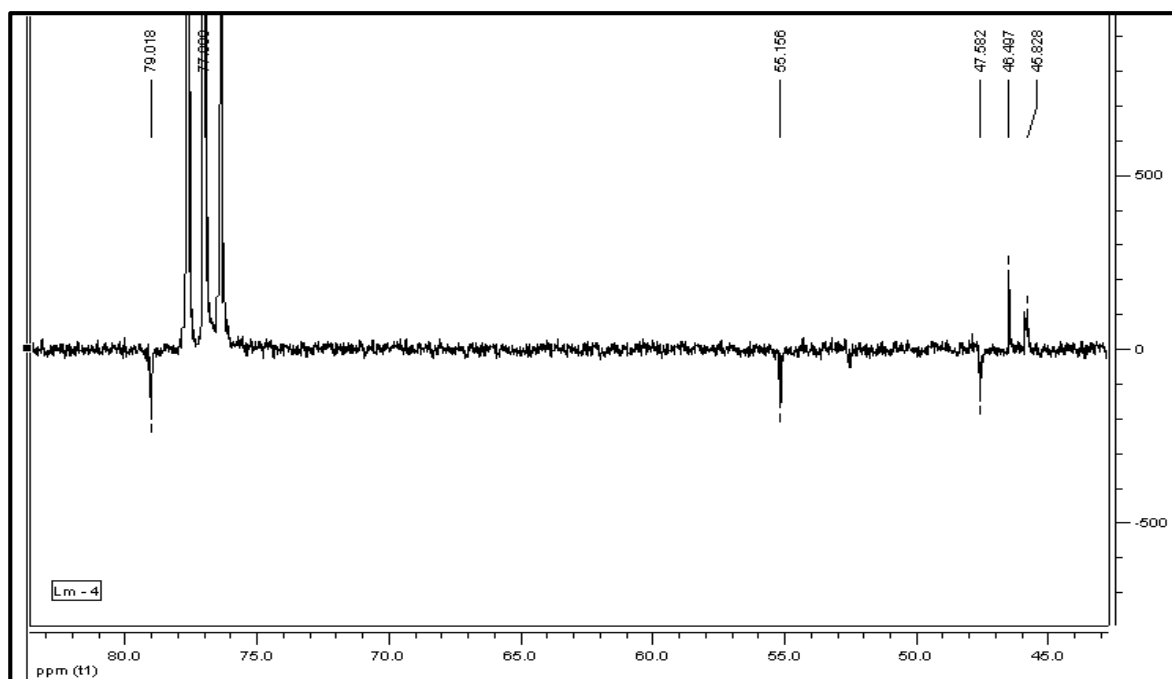


FIGURA 186 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-9** na região entre δ_{C} 45 - 82 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

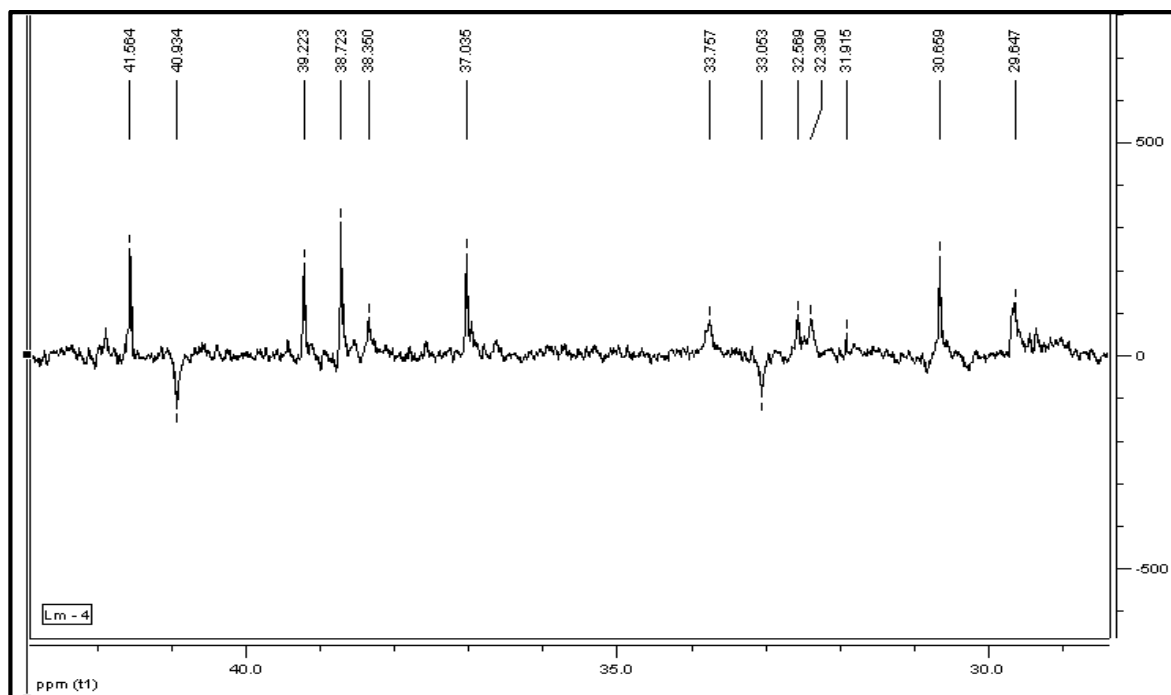


FIGURA 187 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-9** na região entre δ_{C} 28 - 42 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

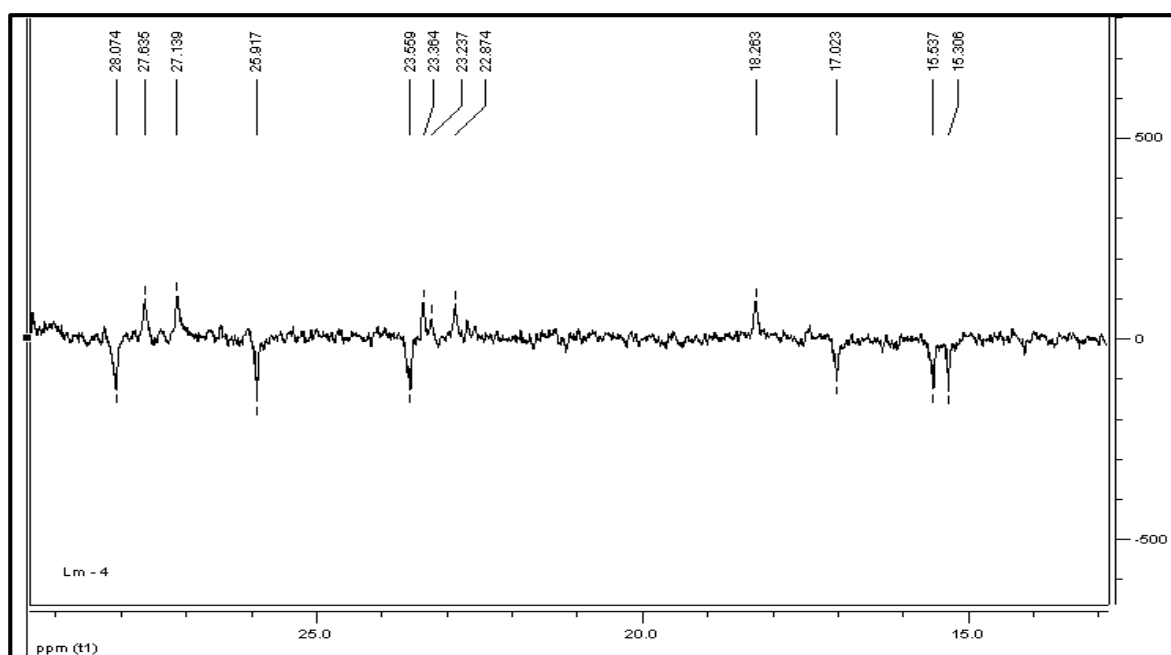


FIGURA 188 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Lm-9** na região entre δ_{C} 13 - 30 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

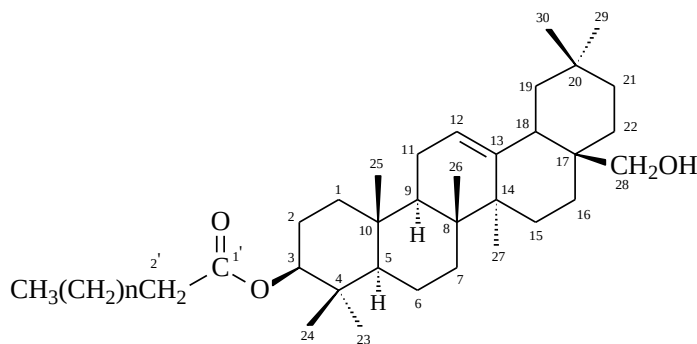
4.4 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS FOLHAS E CASCAS DO CAULE DE *Pradosia huberi* DUCKE (SAPOTACEAE)

4.4.1 Identificação Estrutural dos Triterpenos Esterificados Isolados das Folhas de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke

4.4.1.1 Identificação Estrutural de Ph-1

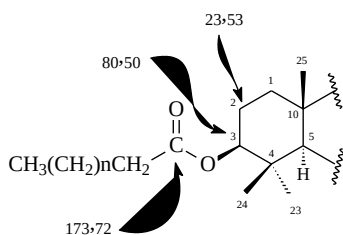
A substância codificada como **Ph-1** apresentou-se como pó amorfo branco, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Ph-1** (FIGURA 189, p.199) e sua expansão (FIGURA 191, p.200) apresentou um conjunto de sinais entre δ_{H} 0,80 e 1,3 característicos de grupos metílicos em estruturas triterpênicas ou esteroidais (PAULETTI, 2002). A presença de um sinal simples intenso em δ_{H} 1,22, característico de hidrogênios metilênicos (CH_2) de ácidos graxos, juntamente com o tripleto em δ_{H} 2,27 (2H, $J = 7,4$ Hz) (FIGURA 191, p.200) compatível com hidrogênio H-2' de éster graxo de triperpeno (CARVALHO, 2001), além do duplo duplete em δ_{H} 4,47 (1H, $J = 7,8; 8,0$ Hz) (FIGURA 190, p.199), compatível com sinal de hidrogênio oximetínico (H-3), quando o carbono C-3 encontra-se esterificado (BARREIROS, 2002), sugeriram a presença de uma função éster ligada ao átomo de carbono C-3. A presença de dois dupletos em δ_{H} 3,18 (1H, $J = 11,0$ Hz) e 3,53 (1H, $J = 11,0$ Hz) (FIGURA 190, p.199) característicos de hidrogênios oximetilênicos (H-28), e do tripleto em δ_{H} 5,16 (1H, $J = 3,0$ Hz), característicos de hidrogênio olefínico (H-12), juntamente com os dados anteriores, sugeriram a estrutura do **éster graxo do eritrodiol** para **Ph-1**.

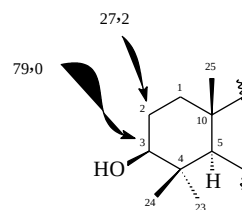


Éster graxo do eritrodiol

Na análise do espectro de RMN ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) de **Ph-1** (FIGURA 192, p.200) foi possível observar sinais correspondentes a 30 átomos de carbonos principais, além daqueles correspondentes a carbonos de éster graxo. Na expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (FIGURA 193, p.201) observou-se os sinais em δ_{C} 122,23 e 144,16 característicos dos carbonos olefínicos C-12 e C-13, respectivamente, de triterpenos com esqueleto olean-12-eno (BARREIROS, 2001). Na expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (FIGURA 194, p.201) foi possível observar o sinal em δ_{C} 69,69, característico de carbono oximetilênico (C-28), indicando assim que o esqueleto triterpenico tratava-se do eritrodiol (BARREIROS, 2002). Evidências da esterificação foram observadas pelos sinais em δ_{C} 173,72, característico de carbono carbonílico de éster (DAVID, 2003), e em δ_{C} 80,50 (FIGURA 193, p.201), característico de carbono oximetínico (C-3). A confirmação da esterificação na posição C-3, pode ser observada através dos efeitos de proteção para o carbono C-2 ($\Delta\delta$ 3,67 ppm) e de desproteção para o carbono C-3 ($\Delta\delta$ 1,50 ppm), quando os mesmos são comparados com eritrodiol (PAULETTI, 2002).

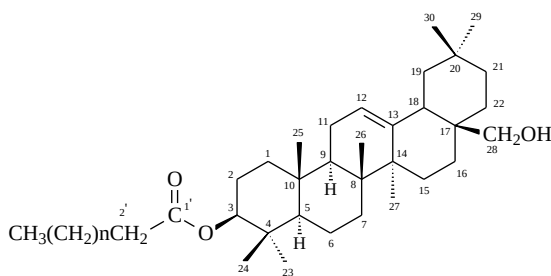


Fragmento do Éster graxo do eritrodiol



Fragmento do eritrodiol

Além das evidências mencionadas da presença de ésteres na molécula, observou-se ainda os sinais atribuídos ao éster em δ_{C} 34,85 (C-2'), 31,91 [CH_2 -(n-3)], 29,26 [$(\text{CH}_2)_n$], 22,66 [CH_2 -(n-2)], e 14,13 (CH_3 -n) (CARVALHO, 2001). Através da análise desses dados e comparações dos demais deslocamentos químicos com valores da literatura (TABELA 10, p.198) foi possível identificar **Ph-1** como sendo **éster graxo do eritrodiol** ou **3 β ,28-dihidroxi-olea-12-enil-éster**.



Éster graxo do eritrodiol (Ph-1)

TABELA 10 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Ph-1** e comparação com valores da literatura

C	Ph-1		Literatura ^a	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1'	173,72		173,73	
4	37,71		37,72	
8	39,74		39,76	
10	36,77		36,90	
13	144,16		144,18	
14	41,66		41,67	
17	36,77		36,78	
20	30,92		30,92	
CH				
3	80,50	4,47 (1H, dd, $J = 7,8; 8,0$)	80,53	4,50 (m)*
5	55,18		55,20	
9	47,44		47,45	
12	122,23	5,16 (1H, tl, $J = 3,0$)	122,24	5,18 (t, $J = \text{indt}$)*
18	42,30		42,31	
CH₂				
1	38,20		38,21	
2	23,53		23,49	
6	18,21		18,20	
7	32,46		32,46	
11	23,53		23,49	
15	25,49		25,49	
16	21,92		21,93	
19	46,37		46,38	
21	34,04		34,04	
22	31,01		31,01	
28	69,69	3,53 (1H, d, $J = 11,0$) 3,18 (1H, d, $J = 11,0$)	69,66	3,55 (d, $J = 11,0$); 3,21 (d, $J = 11,0$)*
29	33,17		33,16	
C-2'	34,85	2,27 (2H, t, $J = 7,4$)	34,8*	
(CH ₂) _n	29,46	1,22 [m, (CH ₂) _n]	29,1*	
CH ₂ -(n-2)	22,67		22,5*	
CH ₂ -(n-3)	31,91		31,9*	
CH₃				
23	28,01		28,02	
24	15,55		15,54	
25	16,69		16,70	
26	16,75		16,74	
27	25,88		25,88	
30	22,69		23,55	
CH ₃ -n	14,13	1,13 (m, CH ₃ -n)	14,10	

RMN (200 MHz; δ em ppm; CDCl₃, J em Hz)^(a) FALCÃO, 2003; (*)CARVALHO, 2001

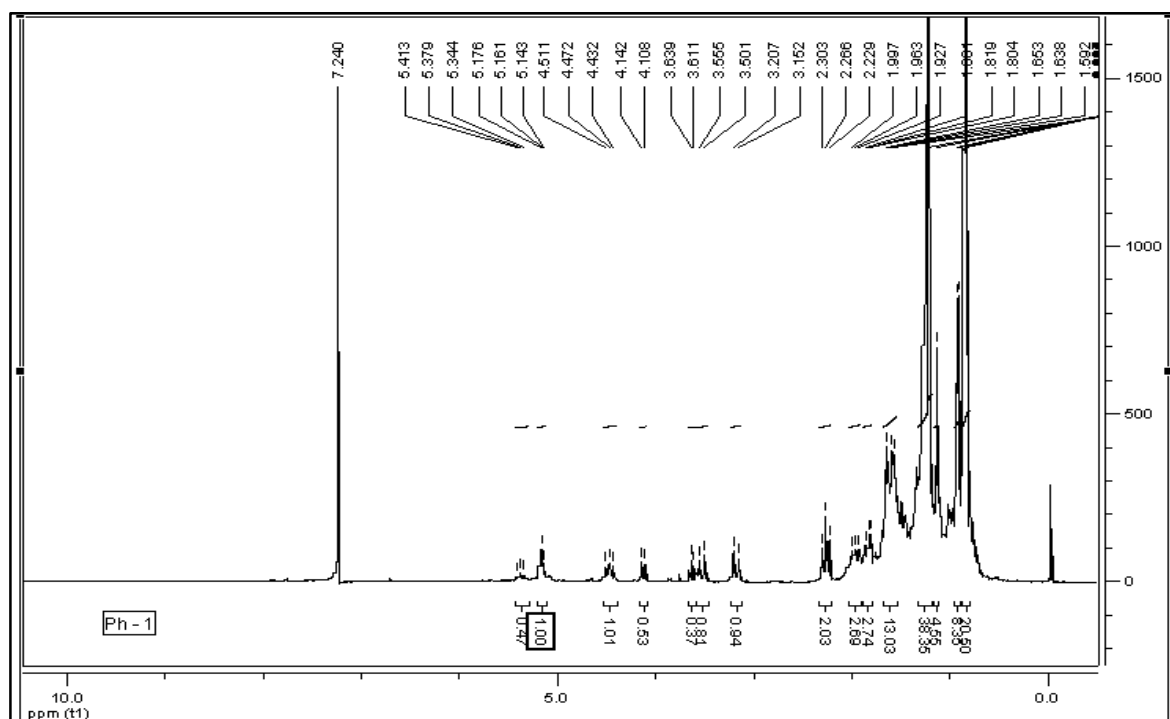


FIGURA 189 Espectro de RMN ^1H de **Ph-1** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

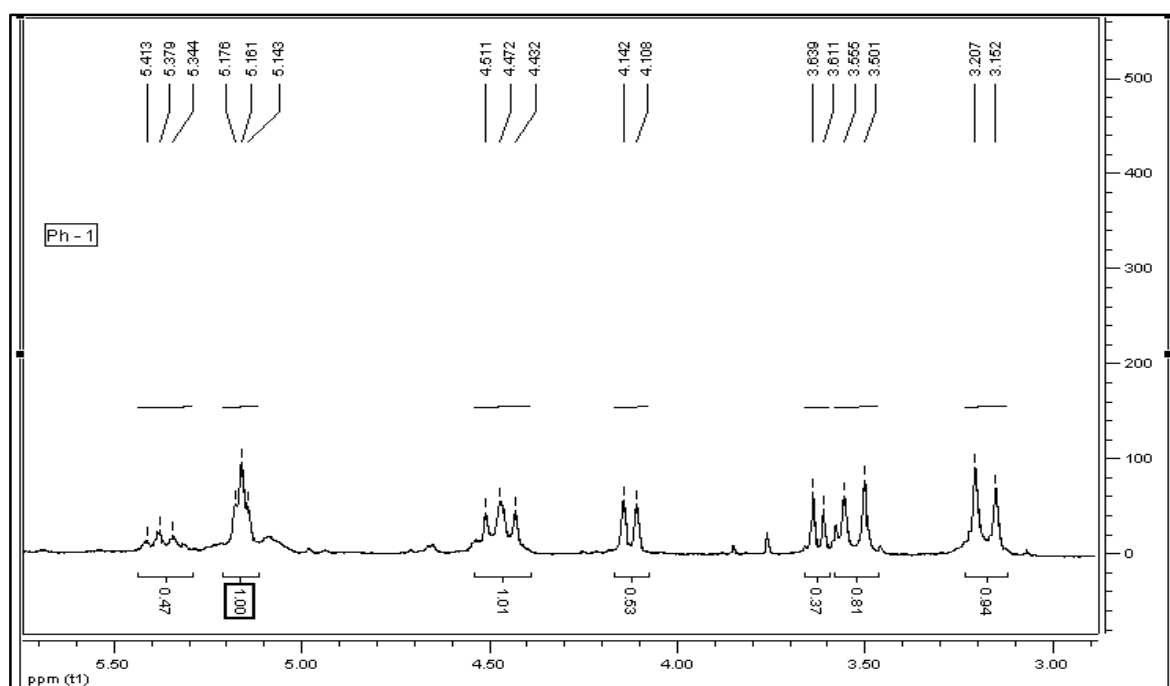


FIGURA 190 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Ph-1** na região entre δ_{H} 3,0 – 5,7 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

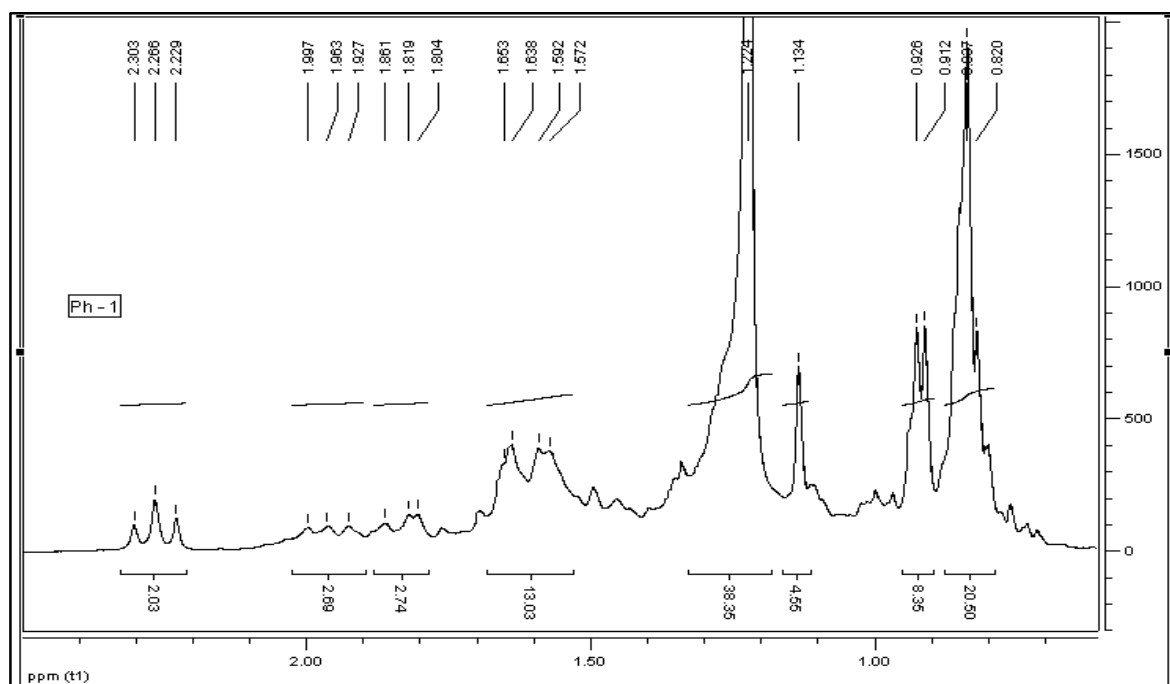


FIGURA 191 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Ph-1** na região entre δ_{H} 0,5 – 3,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

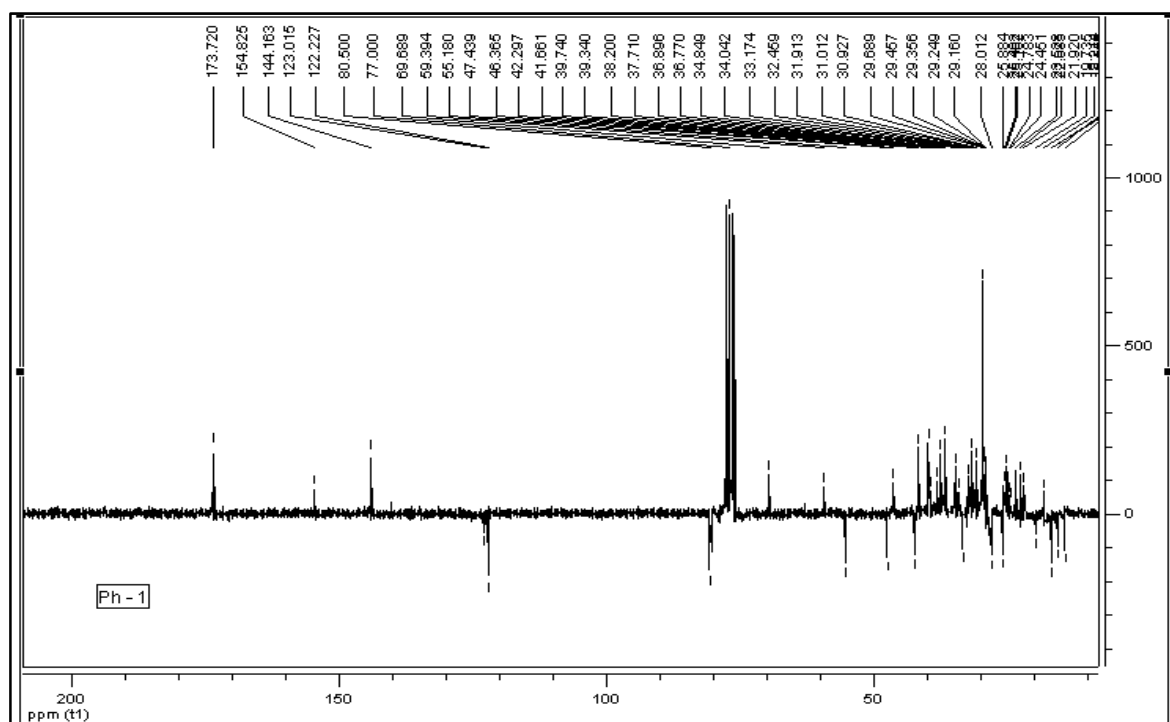


FIGURA 192 Espectro de RMN ^{13}C -APT de **Ph-1** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

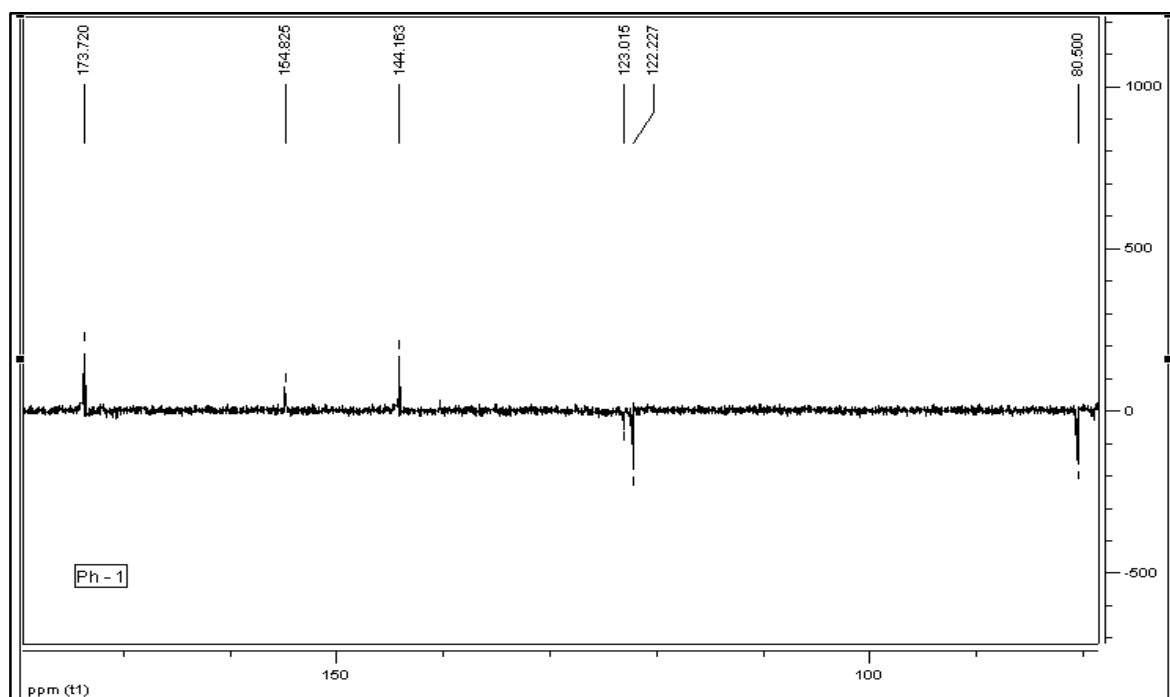


FIGURA 193 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Ph-1** na região entre δ_{C} 90 -180 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

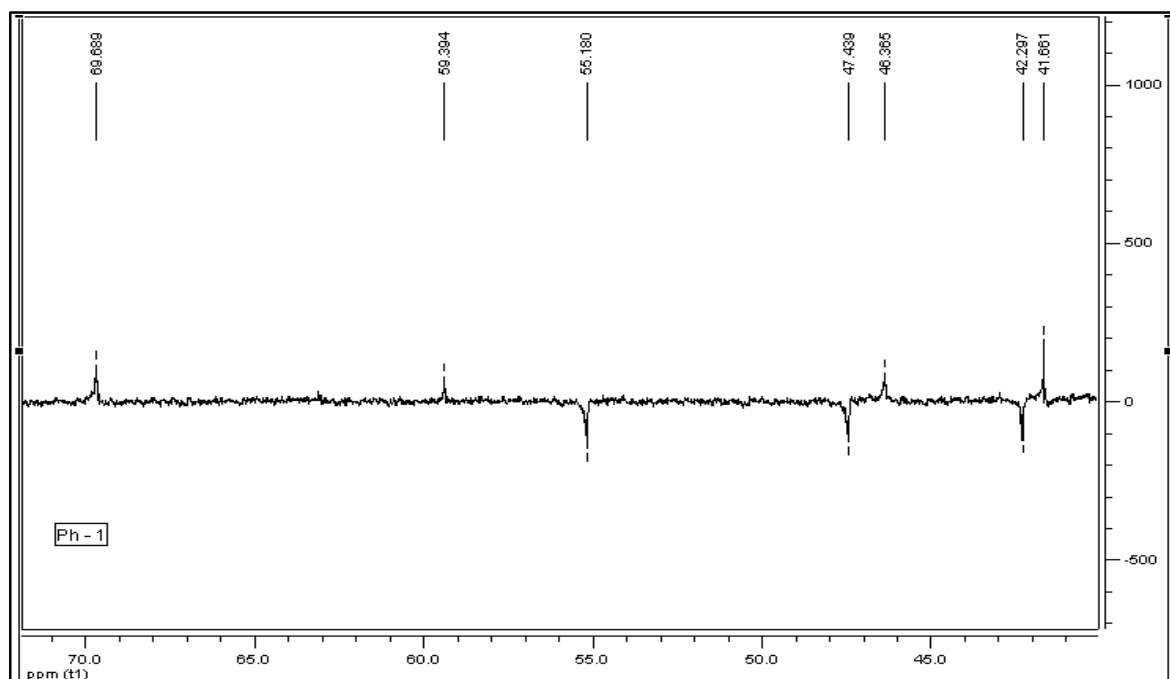


FIGURA 194 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Ph-1** na região entre δ_{C} 40 - 72 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

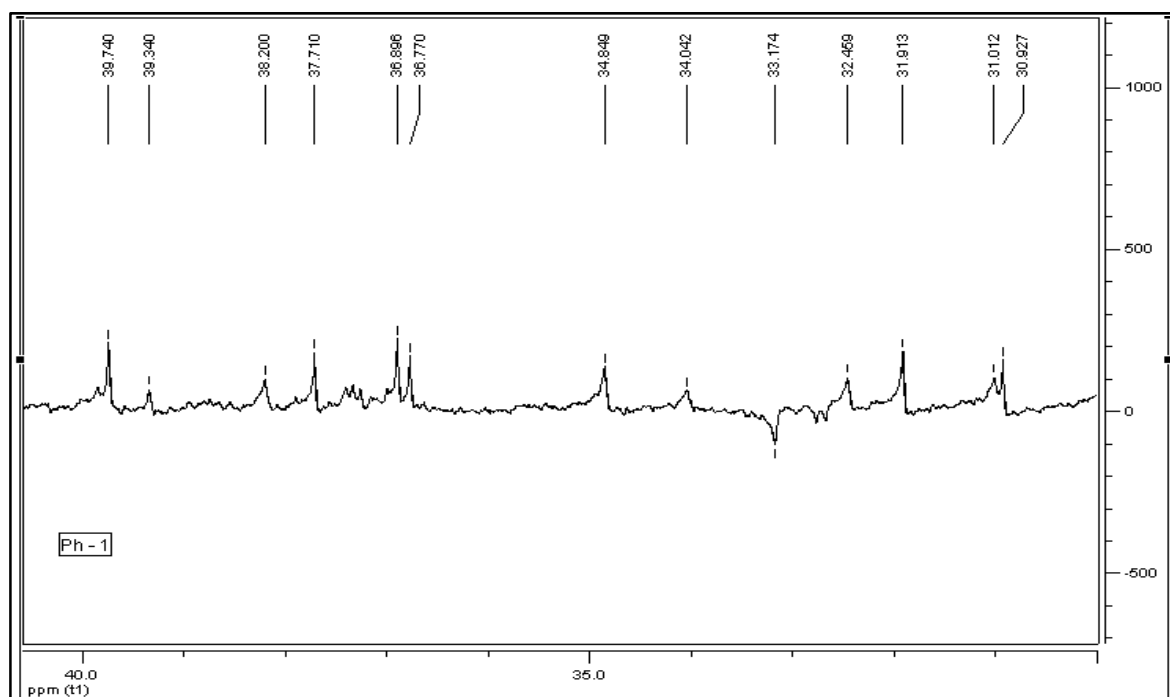


FIGURA 195 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Ph-1** na região entre δ_{C} 30 - 40 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

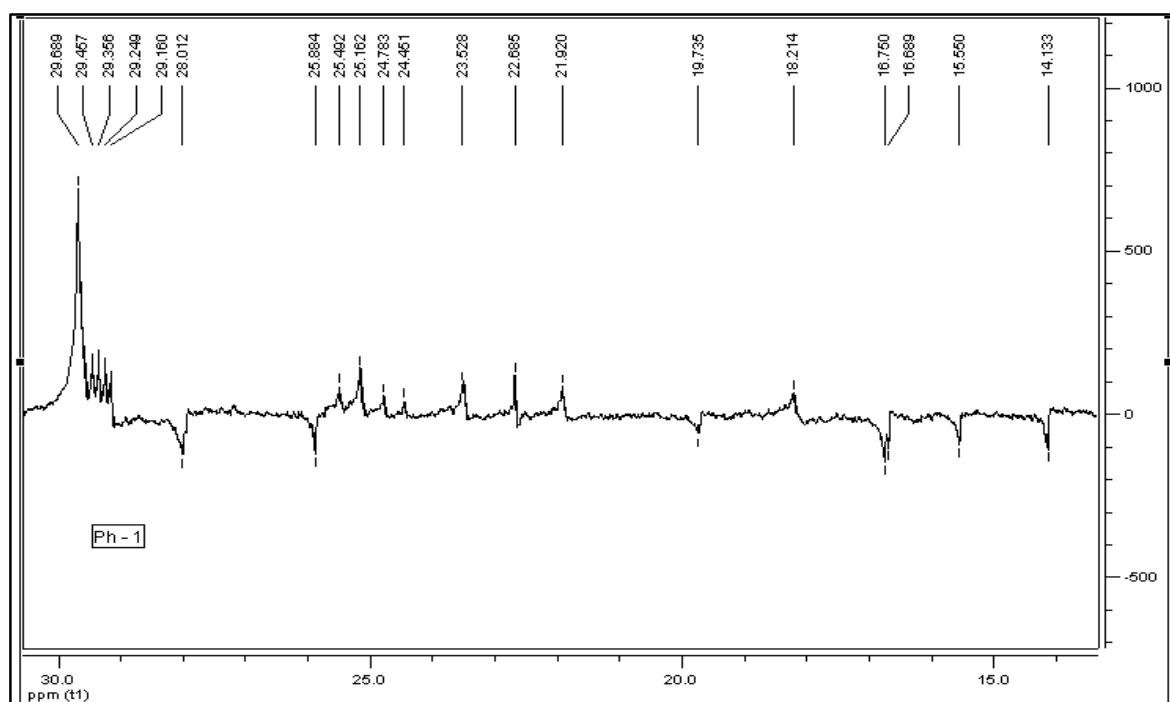


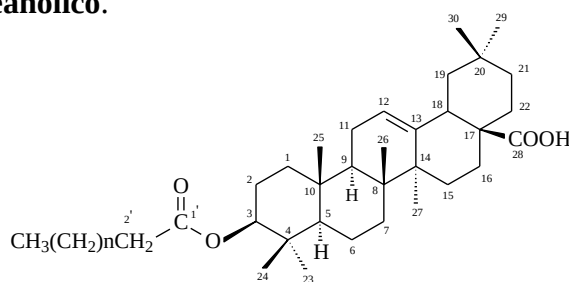
FIGURA 196 Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de **Ph-1** na região entre δ_{C} 10 - 30 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

4.4.1.2 Identificação Estrutural de Ph-2

A substância codificada como **Ph-2** apresentou-se como pó amorfo branco, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Ph-2** (FIGURA 197, p.205) e sua expansão (FIGURA 199, p.206) apresentou um conjunto de sinais semelhantes aos apresentados por **Ph-1**, entre eles o conjunto de sinais simples entre δ_{H} 0,70 e 1,3 característicos de metilas triterpênicas (PAULETTI, 2002). Na expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-2** (FIGURA 198, p.205) foram observados os seguintes sinais: um tripleto em δ_{H} 2,27 (2H, $J = 7,4$ Hz), atribuído ao hidrogênios H-2' do éster graxo; um multipletto em δ_{H} 5,25 (1H), atribuído ao hidrogênio H-12; um duplo dupletto em δ_{H} 4,47 (1H, $J = 8,0$ e $7,6$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-3. Porém observou-se a perda dos dupletos em δ_{H} 3,18 e 3,53, referentes aos hidrogênios oximetilênicos (H-28) encontrados em **Ph-1**, e a presença do duplo dupletto em δ_{H} 2,80 (1H, $J = 4,2$ e $14,2$ Hz) (FIGURA 198, p.205) compatível com o hidrogênio H-18, quando o carbono C-28 é uma função ácido carboxílico (CARVALHO, 2001). A análise desses dados sugeriu a porção triterpênica de **Ph-2** como sendo o ácido oleanólico.

Na análise do espectro de RMN ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) de **Ph-2** (FIGURA 200, p.206) foi possível observar sinais semelhantes aos apresentados por **Ph-1**, entre os quais os sinais em δ_{C} 122,50; 143,56 e 173,73 (FIGURA 201, p.207) atribuídos ao carbonos C-12, C-13 e C-1', respectivamente. Ainda foi possível observar a presença dos sinais em δ_{C} 183,70, compatível com o carbono carbonílico de ácido (C-28) e a ausência do sinal em δ_{C} 69,69 (FIGURA 202, p.207), confirmando assim a porção terpenica de **Ph-2** como sendo o ácido oleanólico (CARVALHO, 2001). A esterificação com ácido graxo em C-3 também foi confirmada pelos sinais em δ_{C} 80,54 (C-3); 31,91 [$\text{CH}_2\text{-(n-3)}$], 29,16 [$(\text{CH}_2)_n$], 23,54 (C-2), 22,69 [$\text{CH}_2\text{-(n-2)}$] e 14,10 ($\text{CH}_3\text{-n}$). Através da análise desses dados e comparação com valores da literatura foi possível identificar **Ph-2** como sendo o **éster graxo do ácido oleanólico**.



Éster graxo do ácido oleanólico (Ph-2)

TABELA 11 Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Ph-2** e comparação com valores da literatura

C	Ph-2		Ácido oleanólico ^a
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1'	173,74		173,7*
4	38,03		38,7
8	39,24		39,2
10	36,95		37,1
14	41,53		41,6
17	46,50		46,5
20	30,65		30,7
CH			
3	80,54	4,47 (1H, dd, $J = 7,8; 8,0$ Hz)	79,0
5	55,24		55,2
9	47,51		47,6
13	143,56		143,6
18	40,90		41,0
CH₂			
1	38,03		38,7
2	23,54		27,2
6	18,15		18,3
7	32,49		32,6
11	23,37		23,4
12	122,50	5,16 (1H, tl, $J = 3,0$ Hz)	122,6
15	27,62		27,7
16	23,54		23,4
19	45,82		45,8
21	33,78		33,8
22	32,42		32,4
28	183,70		183,5
29	32,49		33,1
C-2'	34,85	2,27 (2H, t, $J = 7,4$ Hz)	34,8*
(CH ₂) _n	29,17	1,22 [m, (CH ₂) _n]	29,1*
CH ₂ -(n-2)	22,69		22,5*
CH ₂ -(n-3)	31,91		31,9*
CH₃			
23	27,99		28,1
24	15,39		15,5
25	15,32		15,3
26	17,09		17,1
27	25,93		25,9
30	23,57		23,6
CH ₃ -n	14,10		14,1*

RMN (200 MHz; δ em ppm; CDCl₃, J em Hz).

(ª) FALCÃO, 2003; (*)CARVALHO, 2001.

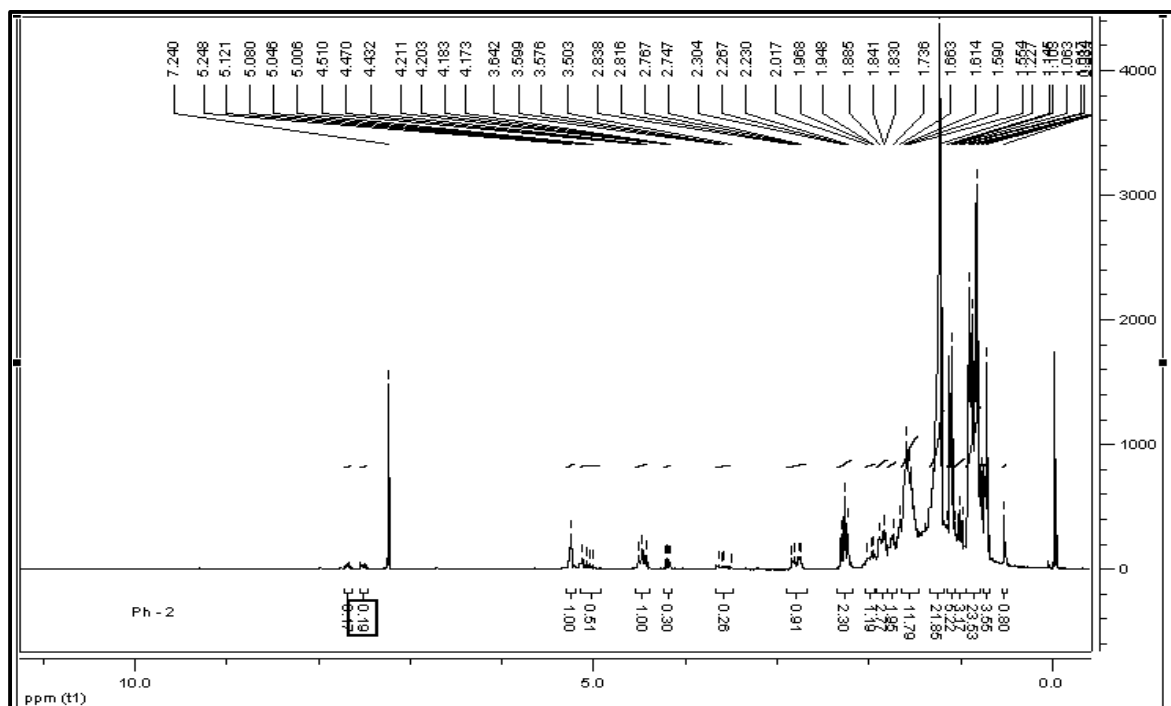


FIGURA 197 Espectro de RMN de ^1H de **Ph-2** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

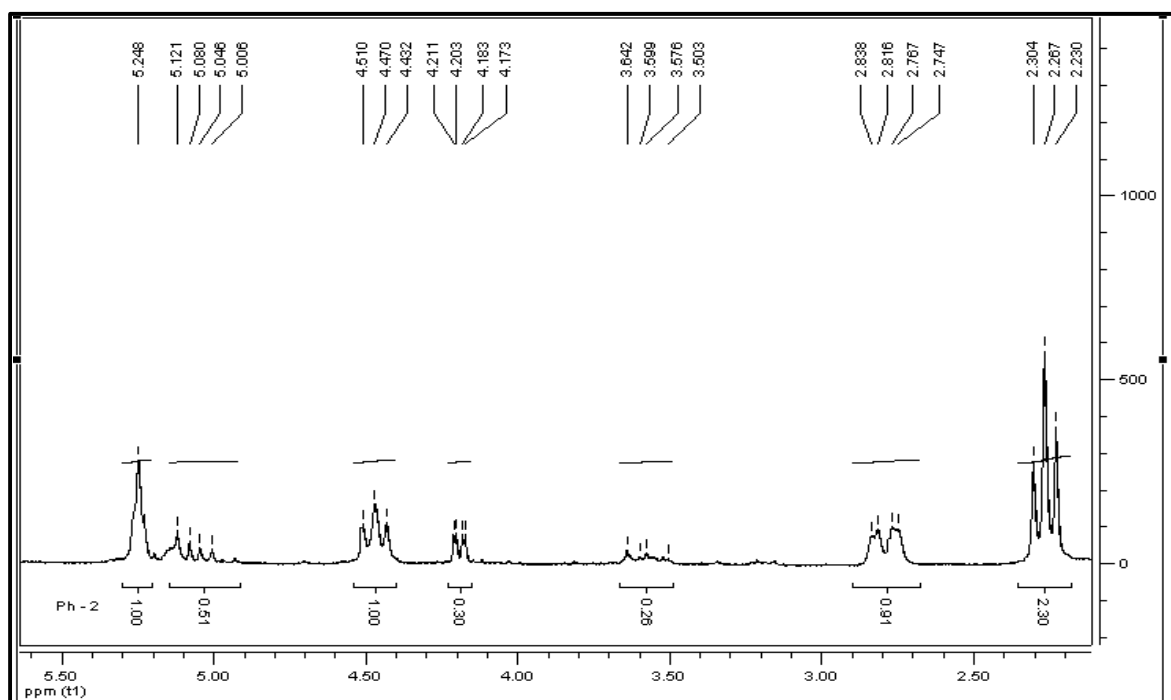


FIGURA 198 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-2** na região entre δ_{H} 2,2 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

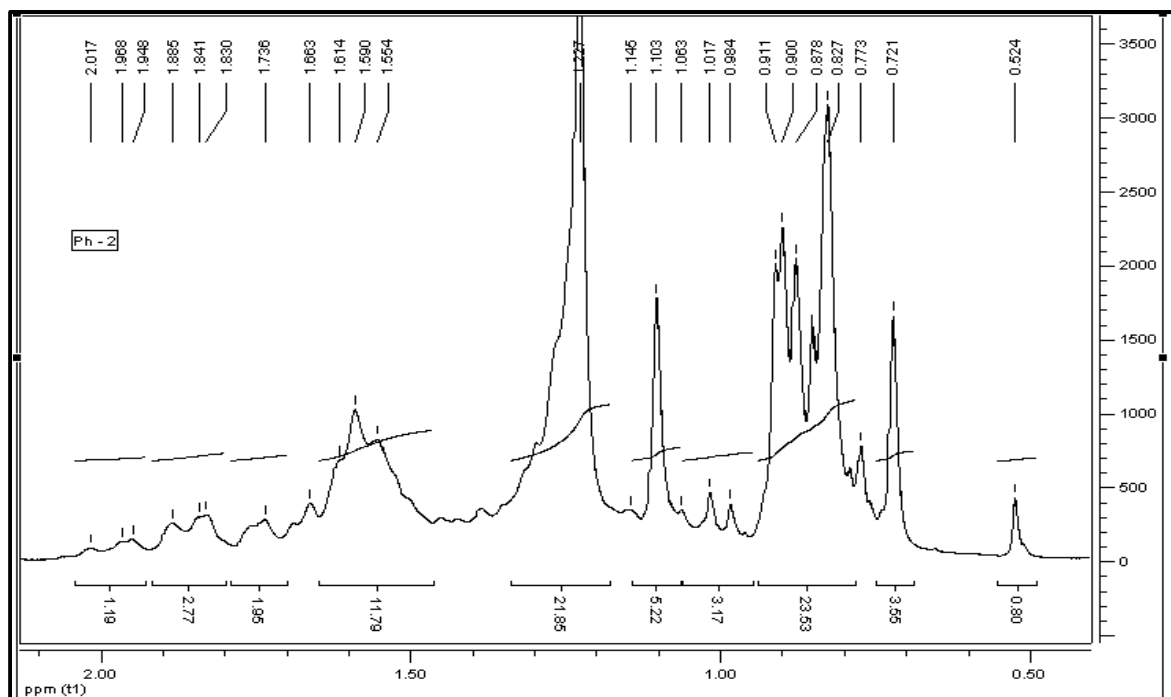


FIGURA 199 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-2** na região entre δ_{H} 0,5 – 2,2 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

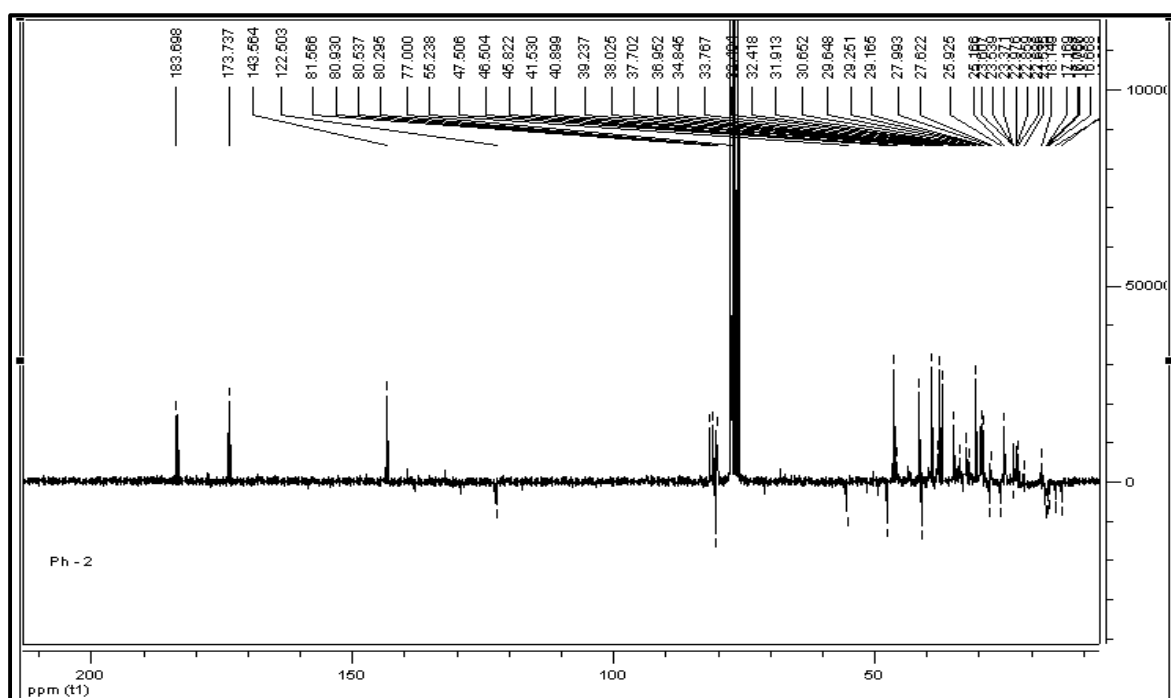


FIGURA 200 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-2** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

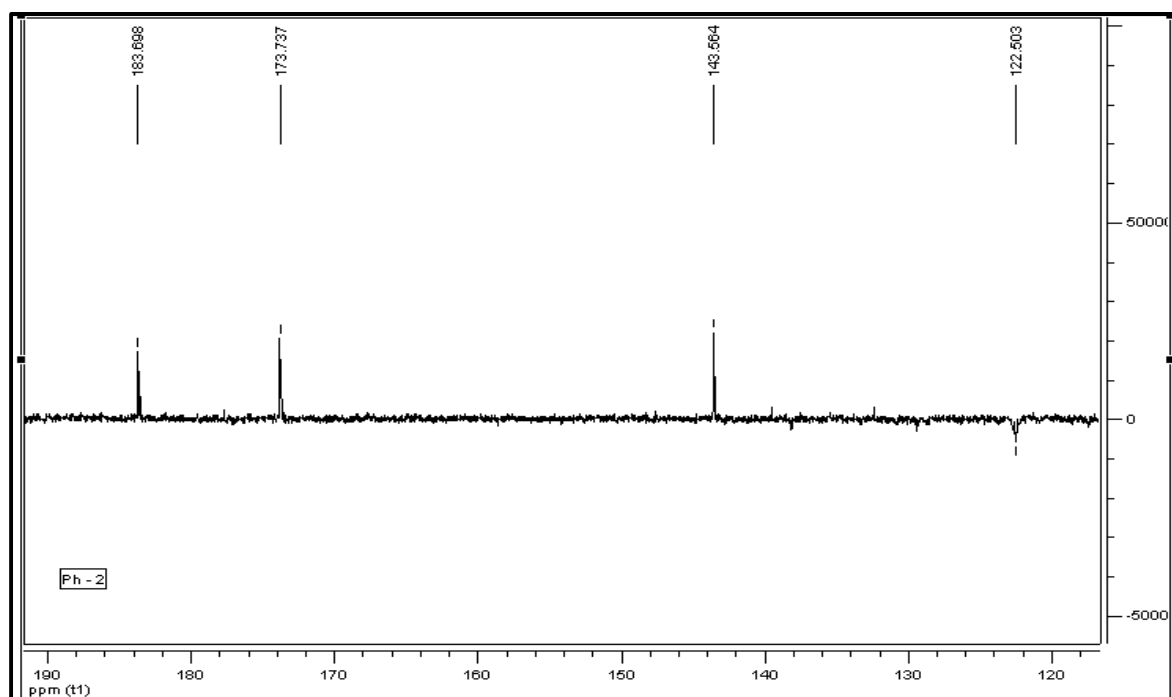


FIGURA 201 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-2** na região entre δ_{C} 120 – 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

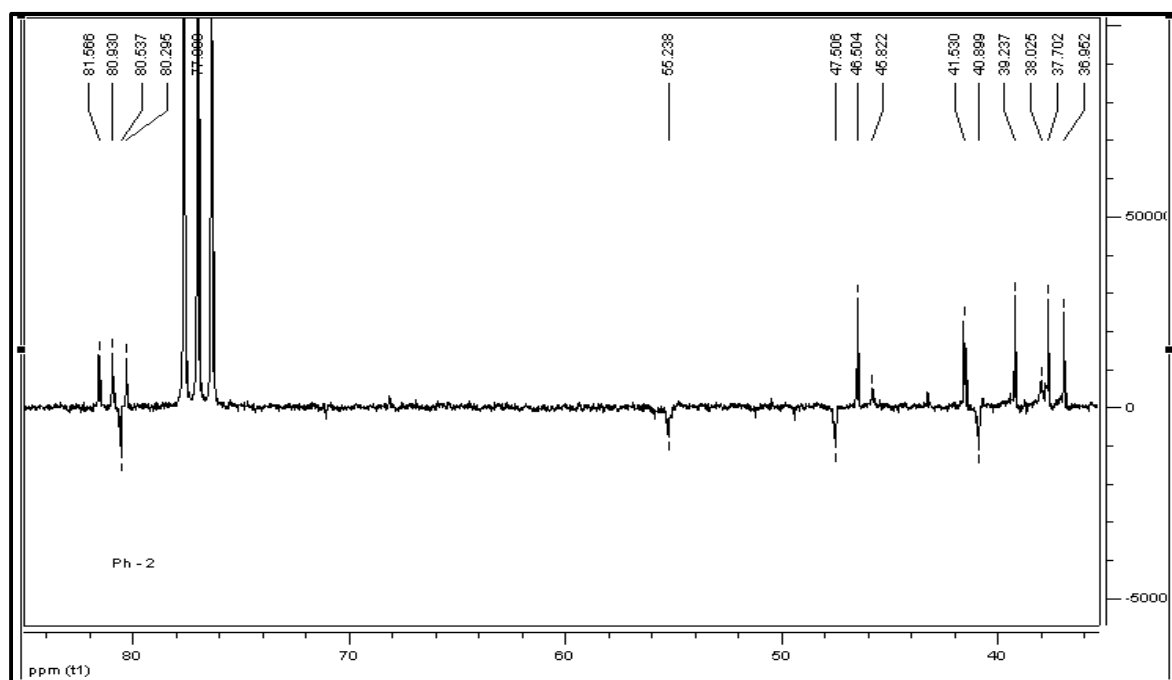


FIGURA 202 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-2** na região entre δ_{C} 38 - 82 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

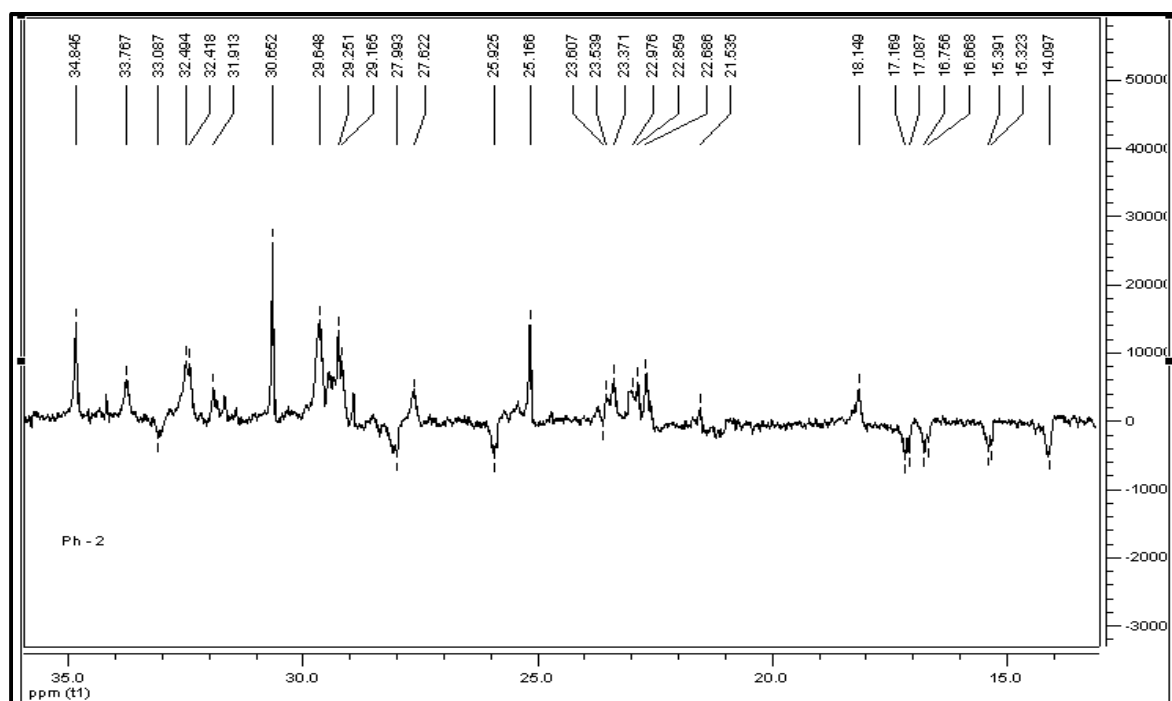


FIGURA 203 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Ph-2** na região entre δ_C 14 - 36 (50 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

4.4.1.3 Identificação Estrutural de Ph-3

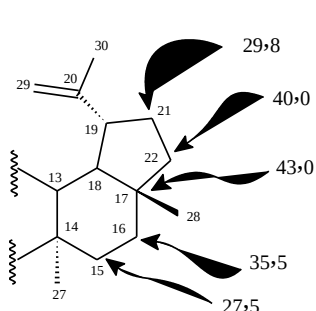
A substância codificada como **Ph-3** apresentou-se como pó amorfo branco, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Ph-3** (FIGURA 204, p.212) e sua expansão (FIGURA 206, p.213) apresentou um conjunto de sinais semelhante aos de **Ph-1** e **Ph-2**, entre estes observou-se o envelope de sinais entre δ_{H} 0,80 e 1,3 típicos das metilas triterpênicas; o tripleto em δ_{H} 2,27 (2H, $J = 7,2$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-2' do éster graxo e o duplo duplete em δ_{H} 4,45 (1H, $J = 5,6$ e $9,4$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-3, estes dados sugeriu um esqueleto triterpênico esterificado para **Ph-3**. Ainda foi observado um multiplete em δ_{H} 2,98 (FIGURA 205, p.112), semelhante ao duplo duplete (H-18) de **Ph-2** (FIGURA 198, p.205), sugerindo assim existência de função ácida em C-28.

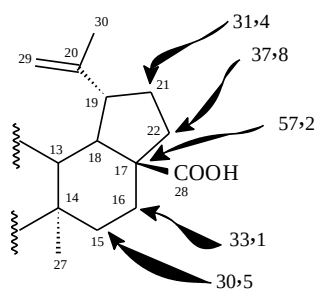
Com relação a diferenças entre os espectros de **Ph-3** e das duas substâncias anteriores Ph-1 e Ph-2, observou-se a ausência do tripleto em δ_{H} 5,16 atribuído ao hidrogênio H-12 e dos dupletos em δ_{H} 3,18 e 3,53 (FIGURA 190, p.199) em relação ao primeiro, sugerindo assim um esqueleto triterpenico diferente de ambos. Foi observada em **Ph-3** a presença de dois simpletos largos em δ_{H} 4,59 e 4,71 (FIGURA 205, p.212), compatíveis com os hidrogênios geminais olefínicos (H-29a e H-29b) de esqueleto lupano (DAVID, 2006). Assim, a realização de uma análise conjunta desses dados permitiu sugerir **Ph-3** como um **éster graxo do ácido betulínico**.

O espectro de RMN ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) de **Ph-3** (FIGURA 207, p.213) e sua expansão (FIGURA 208, p.214) mostrou sinais semelhantes aos apresentados por **Ph-2**, destes observou-se as absorções em δ_{C} 181,89; 173,77 e 80,59, sendo os dois primeiros atribuídos aos carbonos carbonílicos do ácido e do éster, respectivamente, e o último ao carbono oximetínico (C-3), confirmando assim, a presença do ácido na molécula, bem como a esterificação na posição C-3, semelhante a **Ph-1** e **Ph-2**. A ausência dos sinais em δ_{C} 144,0 e 122,0, observados nos espectro de **Ph-1** e **Ph-2** confirmaram um esqueleto triterpenico diferente do apresentado por esses. A presença dos sinais em δ_{C} 150,36 e 109,71 (FIGURA 208, p.214), compatíveis com os carbonos olefínicos C-20 e C-29, respectivamente, confirmaram o esqueleto lupânico (PERFEITO, 2005). A posição do ácido no esqueleto lupânico foi determinada por comparações dos valores de deslocamentos químicos de **Ph-3** com valores da literatura para lupeol (PERFEITO, 2005) e para o ácido betulínico (DAVID, 2006), os quais estão simplificados na ilustração

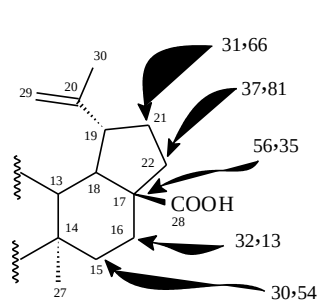
abaixo. Foram observados em **Ph-3** um efeitos de desproteção de $\Delta\delta$ 13,35 ppm para o carbono C-17 (efeito α) e de $\Delta\delta$ 3,04 e $\Delta\delta$ 1,86 ppm para os carbonos C-15 e C-21, respectivamente, (efeito γ). Também observou-se o efeito de proteção de $\Delta\delta$ 3,37 e $\Delta\delta$ 2,19 ppm para os carbonos C-16 e C-22, respectivamente, (efeito β), quando comparados com os deslocamentos químicos dos carbonos correspondentes do lupeol (PERFEITO, 2005), confirmando a função ácida em C-28.



Fragmentos de Lupeol,

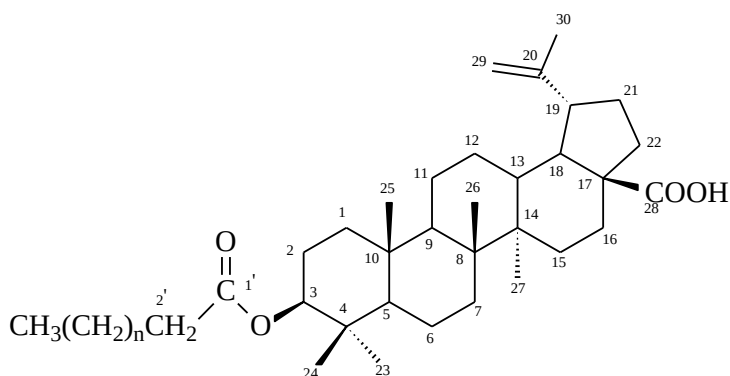


ácido betulínico



Ph-3

Através da comparação de todos os deslocamentos químicos de **Ph-3** com valores reportados na literatura (TABELA 12, p.211) foi possível identificar **Ph-3** como sendo o **éster graxo do ácido betulínico**.



Éster graxo do ácido betulínico

TABELA 12 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **Ph-3** e comparação com valores da literatura

C	Ph-3	Ph-3	Ácido betulínico ^a
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1'	173,77		173,3*
4	37,81		38,8
8	40,65		40,7
10	37,09		37,2
14	42,39		42,4
17	56,35		56,3
20	150,36		150,3
28	181,89		180,5
CH			
3	80,59		78,9
5	55,37		55,3
9	50,34		50,5
13	38,38		38,4
18	46,93		46,8
19	49,21		49,2
CH₂			
1	38,38		38,7
2	23,70		27,4
6	18,14		18,3
7	34,20		34,3
11	20,83		20,8
12	25,40		25,5
15	30,54		30,5
16	32,13		32,1
21	31,66		29,7
22	37,81		37,0
29	109,71		109,6
C-2'	34,84	2,27 (2H, t, $J = 7,4$ (Hz))	34,8*
(CH ₂) _n	29,24	1,22 [m, (CH ₂) _n]	29,1*
CH ₂ -(n-2)	22,68		22,5*
CH ₂ -(n-3)	31,67		31,9*
CH₃			
23	27,94		27,9
24	16,53		15,3
25	16,03		16,0
26	16,11		16,1
27	14,66		14,7
30	19,35		19,4
CH ₃ -n	14,06		14,1*

RMN (200 MHz; δ em ppm; CDCl_3 , J em Hz).(^a) FALCÃO, 2003; (*)CARVALHO, 2001.

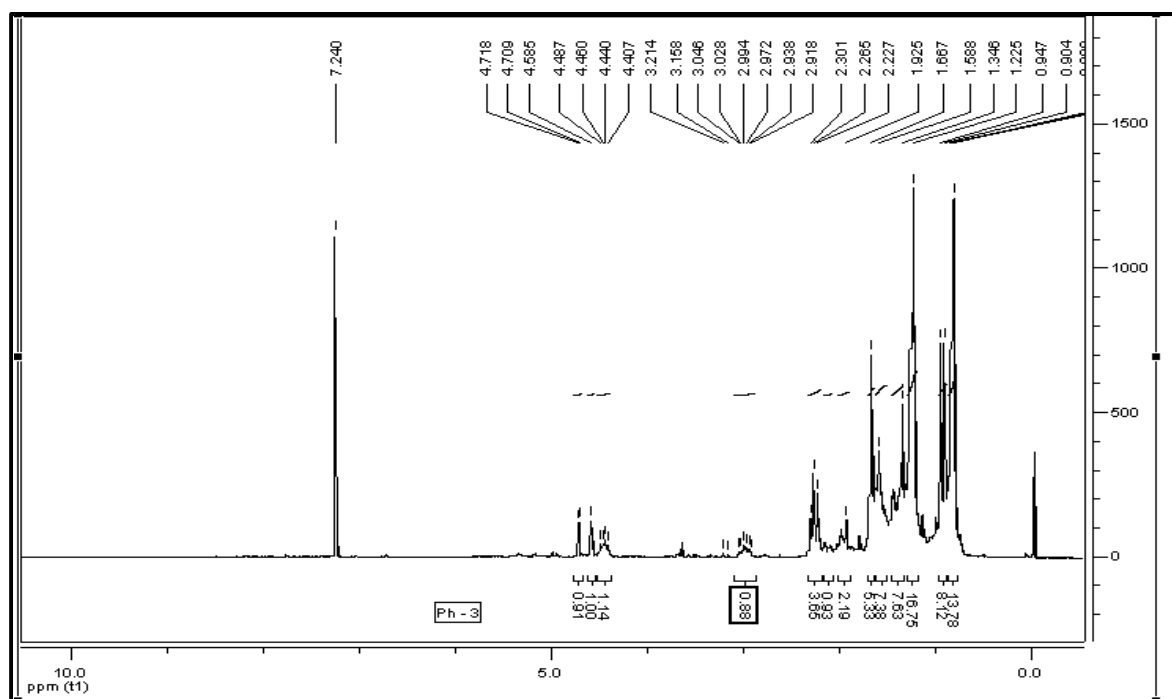


FIGURA 204 Espectro de RMN de ^1H de **Ph-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

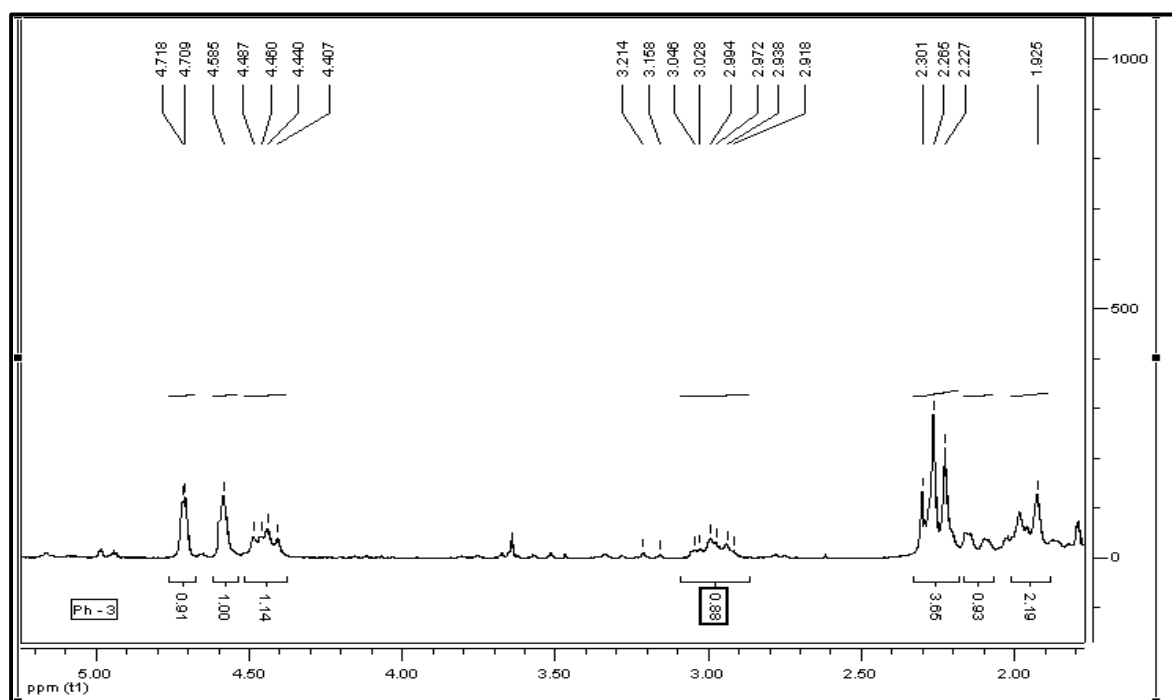


FIGURA 205 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-3** na região entre δ_{H} 1,8 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

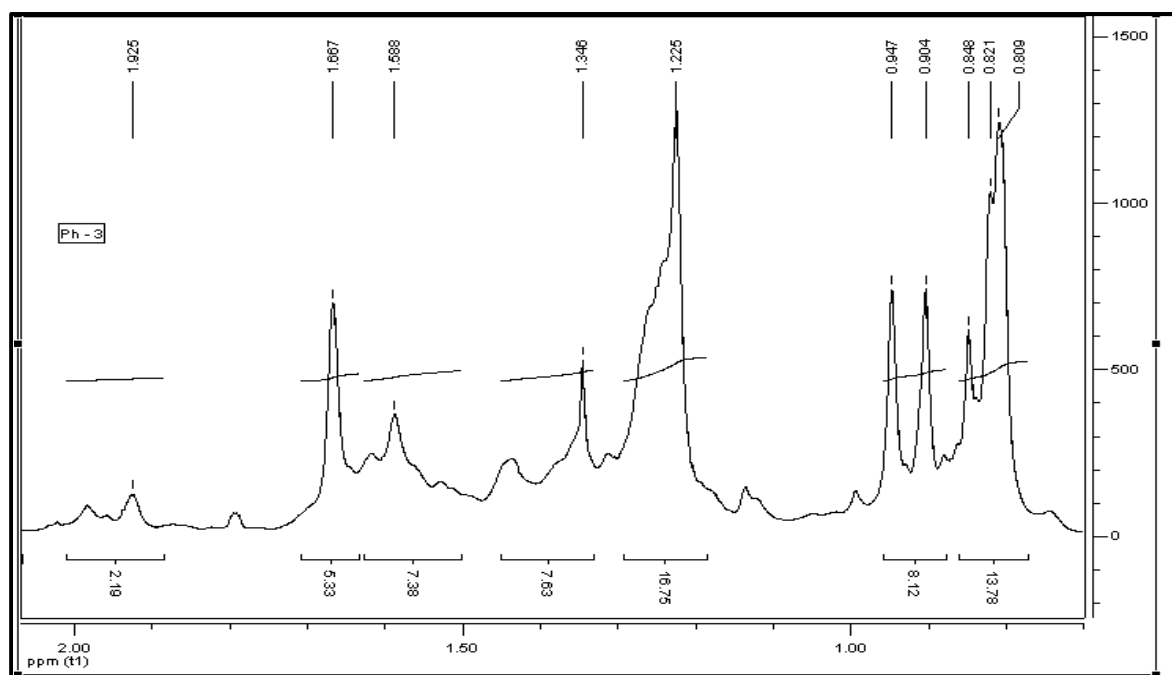


FIGURA 206 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-3** na região entre δ_{H} 0,7 – 2,0 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

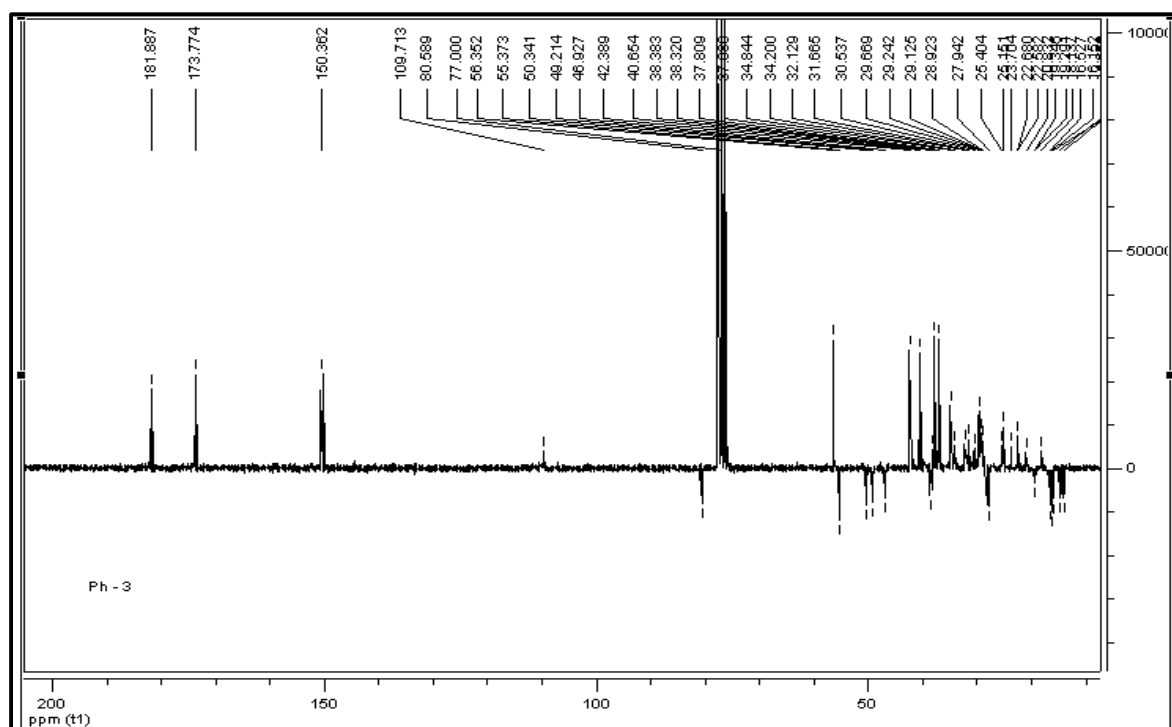


FIGURA 207 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-3** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

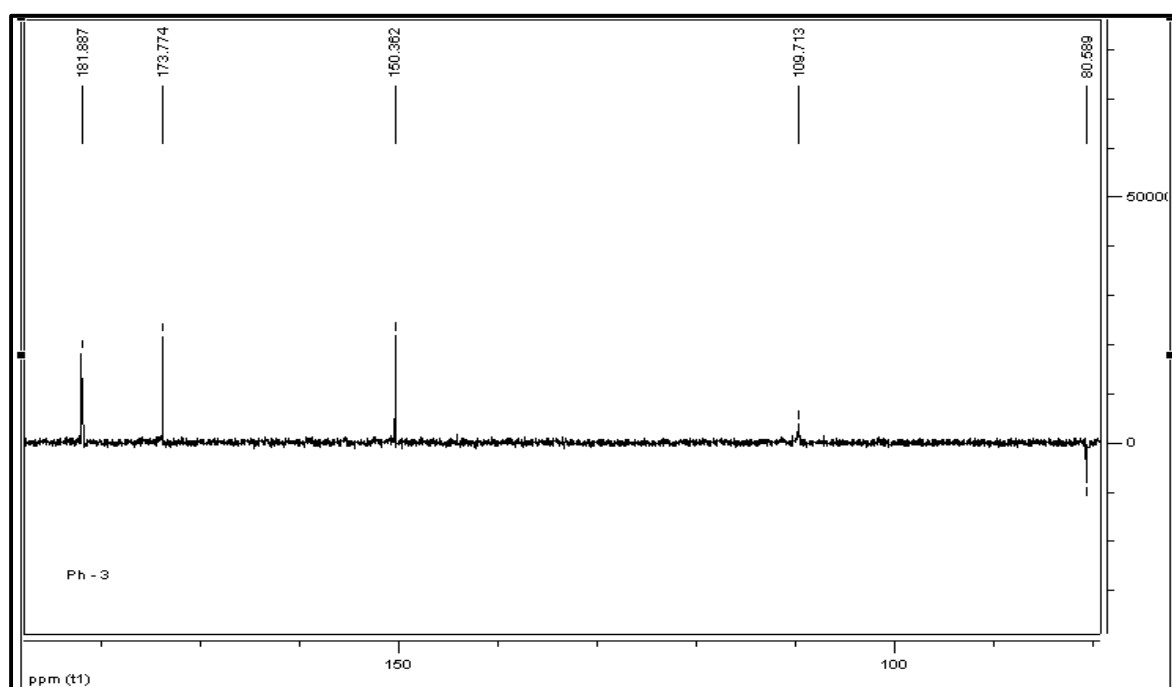


FIGURA 208 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-3** na região entre δ_{C} 80 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

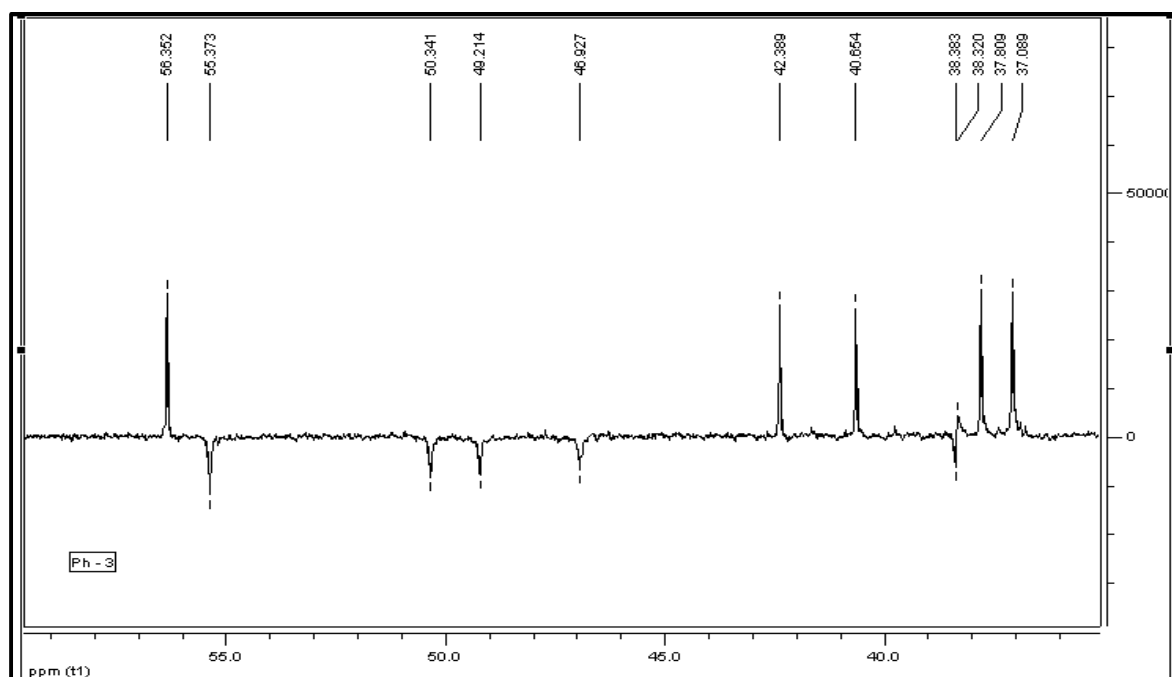


FIGURA 209 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-3** na região entre δ_{C} 35 - 60 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

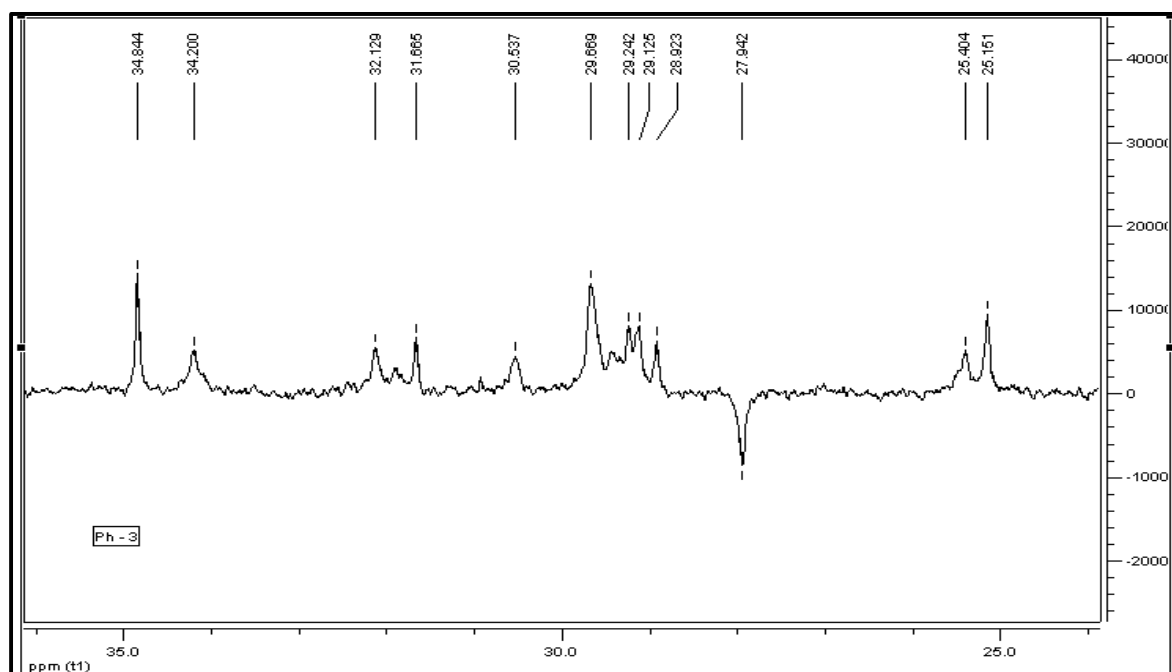


FIGURA 210 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Ph-3** na região entre δ_C 24 - 36 (50 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

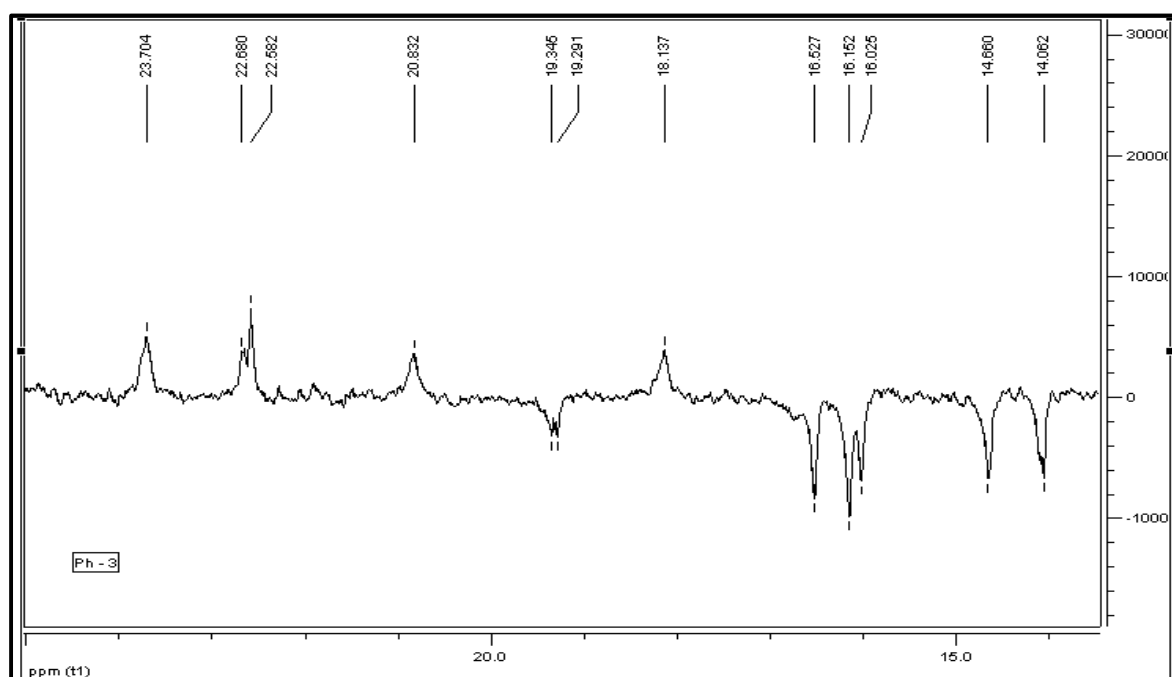


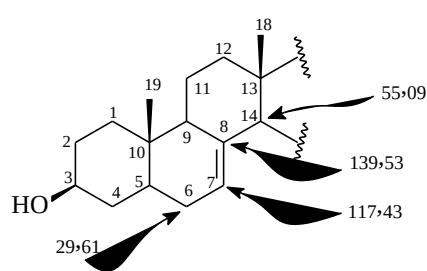
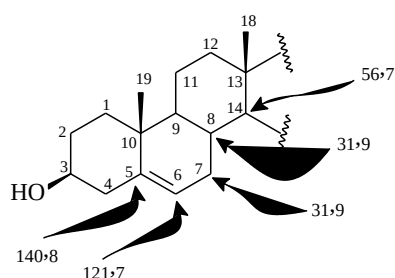
FIGURA 211 Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de **Ph-3** na região entre δ_C 13 - 25 (50 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

4.4.1.4 Identificação Estrutural de Ph-4

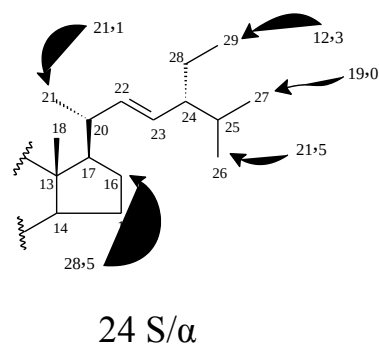
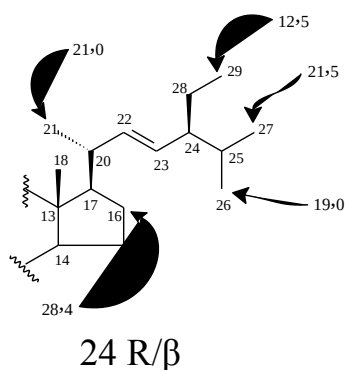
A substância codificada como **Ph-4** apresentou-se como pó amorfo branco, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **Ph-4** (FIGURA 212, p.219) e sua expansão (FIGURA 214, p.220) apresentou um conjunto de sinais semelhante aos apresentados por **Ph-2**, entre eles observou-se o envelope de sinais entre δ_{H} 0,50 e 1,3 típicos das metilas triterpênicas e esteroidais. Também foram observados os tripletos em δ_{H} 5,25 (1H, $J = 3,0$ Hz, H-12), 4,47 (1H, $J = 8,0$ Hz, H-3) (FIGURA 213, p.219) e 2,27 (2H, $J = 7,2$ Hz, H-2') e o duplo duplete em δ_{H} 2,80 (1H, $J = 4,8$ e 3,4 Hz, H-18) (FIGURA 214, p.220). Adicionalmente a esses sinais foram observados um simpleto largo em δ_{H} 5,12, compatível com o hidrogênio olefínico (H-7) de esterpóides; dois duplos dupletos em δ_{H} 4,98 ($J = 8,2$ e 15,2 Hz) e 5,14 ($J = 8,2$ e 15,2 Hz), compatíveis com os hidrogênios H-22 e H-23 e um multiplete em δ_{H} 3,53, compatível com hidrogênio oximetínico (H-3) de esteróides (ZANON, 2008). A análise desses dados sugeriu **Ph-4** como uma mistura de **Ph-2** e do esteróide **espinasterol**.

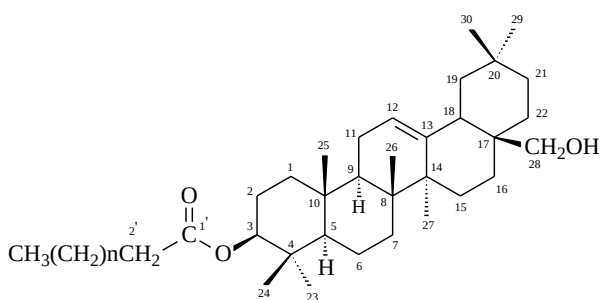
O espectro de RMN de ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) de **Ph-4** (FIGURA 215, p.220) apresentou um conjunto de sinais, compatíveis com uma mistura de duas substâncias. Na região do espectro de RMN de ^{13}C -APT entre δ_{C} 110 – 190 (FIGURA 216, p.221) observou-se os sinais em δ_{C} 183,65 e 173,74 compatíveis com os carbonos carbonílicos de ácido (C-28) e de éster (C-1'), respectivamente. Dois sinais para carbonos olefínicos em δ_{C} 143,57 e 122,49, compatíveis com os carbonos sp^2 C-13 e C-12, respectivamente, de triterpeno com esqueleto oleanano. Ainda foi observada a absorção em δ_{C} 80,53 (FIGURA 217, p.221), compatível com C-3 quando esterificado. Através de comparações de deslocamentos químicos de **Ph-4** com valores da literatura confirmou-se como um dos componentes da mistura de **Ph-4** o **éster graxo de ácido oleanólico (Ph-2)**. Além dos sinais compatíveis com **Ph-2** foram observados 29 sinais para carbonos, sugerindo uma estrutura esteroidal para o segundo componente da mistura. Desses sinais, quatro são característicos de carbonos sp^2 em δ_{C} 117,43; 129,37; 138,16 e 139,53 (FIGURA 216, p.221), o que sugeriu a presença de duas ligações duplas. Os sinais em δ_{C} 117,43 e 138,16 são característicos de insaturações entre C-7 e C-8 em esqueletos esteroidais.



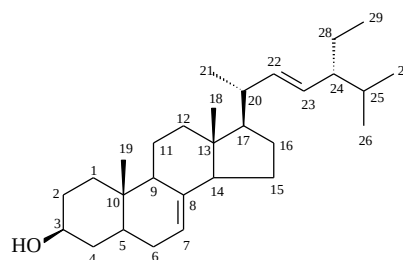
Já os sinais em δ_C 129,37 e 139,53 são característicos dos carbonos olefínicos esteroidais C-23 e C-22 respectivamente, estes dados corroboram para determinação do **espinasterol** como segundo componentes da mistura (ZANON, 2008). Através de comparações de deslocamento químico de **Ph-4** com valores da literatura foi possível assinalar todos os carbonos e estabelecer a configuração **24S/ α** para o **espinasterol** (SOUZA, 2001).



A análise dos dados discutidos acima levou a identificação de **Ph-4** como uma mistura de **Ph-2 (éster graxo do ácido oleanólico)** e do esteróide **espinasterol**.



éster graxo do ácido oleanólico (Ph-4a = Ph-2)



espinasterol (Ph-4b)

TABELA 13 Dados de RMN de ^{13}C de **Ph-4b** e comparação com valores da literatura

	Ph-4b	Espinasterol^a
C	δ_{C}	δ_{C}
8	139,53	139,5
10	34,18	34,2
13	43,25	43,3
CH		
3	71,05	73,5
5	40,21	40,1
7	117,43	117,3
9	49,39	49,3
14	55,09	55,1
17	55,83	55,9
20	40,85	40,8
22	138,16	138,1
23	129,37	129,4
24	51,22	51,2
25	31,86	31,9
CH₂		
1	36,94	36,8
2	27,62	27,5
4	33,75	33,8
6	29,61	29,5
11	21,52	21,5
12	39,42	39,4
15	23,00	23,0
16	28,51	28,5
28	25,40	25,4
CH₃		
18	12,03	12,1
19	13,04	13,0
21	21,11	21,1
26	21,37	21,5
27	18,97	19,0
29	12,26	12,3

(^a) SOUZA, 2001;
 RMN (200 MHz; δ em ppm; CDCl_3 , J em Hz).

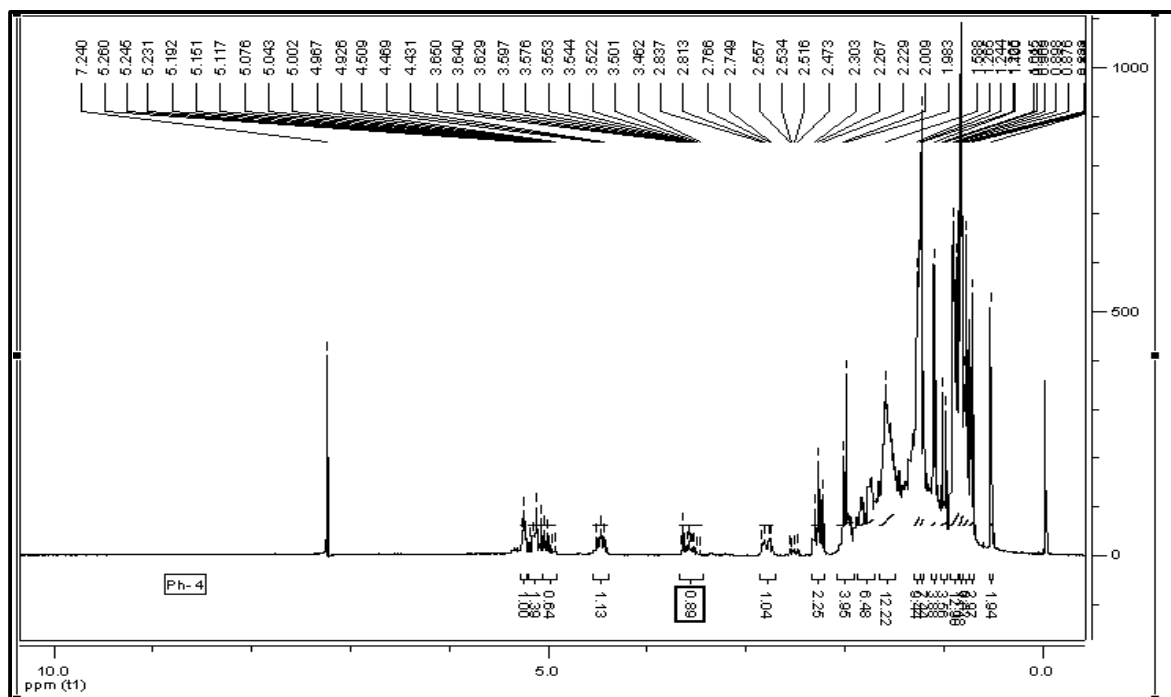


FIGURA 212 Espectro de RMN de ^1H de **Ph-4** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

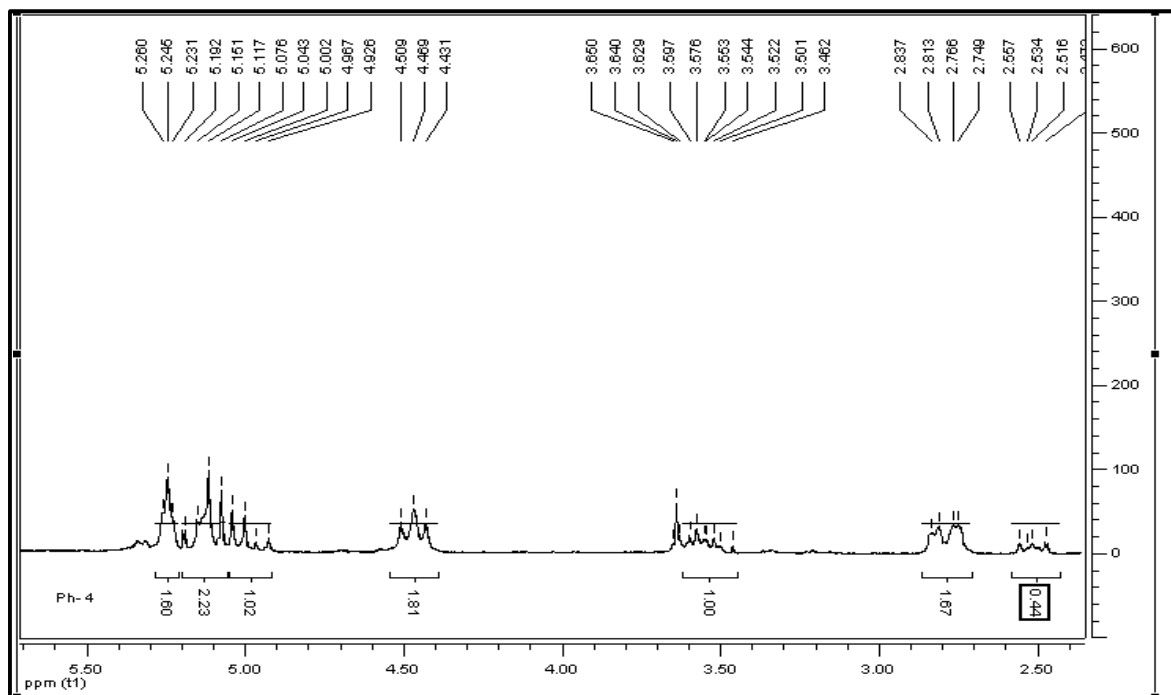


FIGURA 213 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-4** na região entre δ_{H} 2,5 – 5,6 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

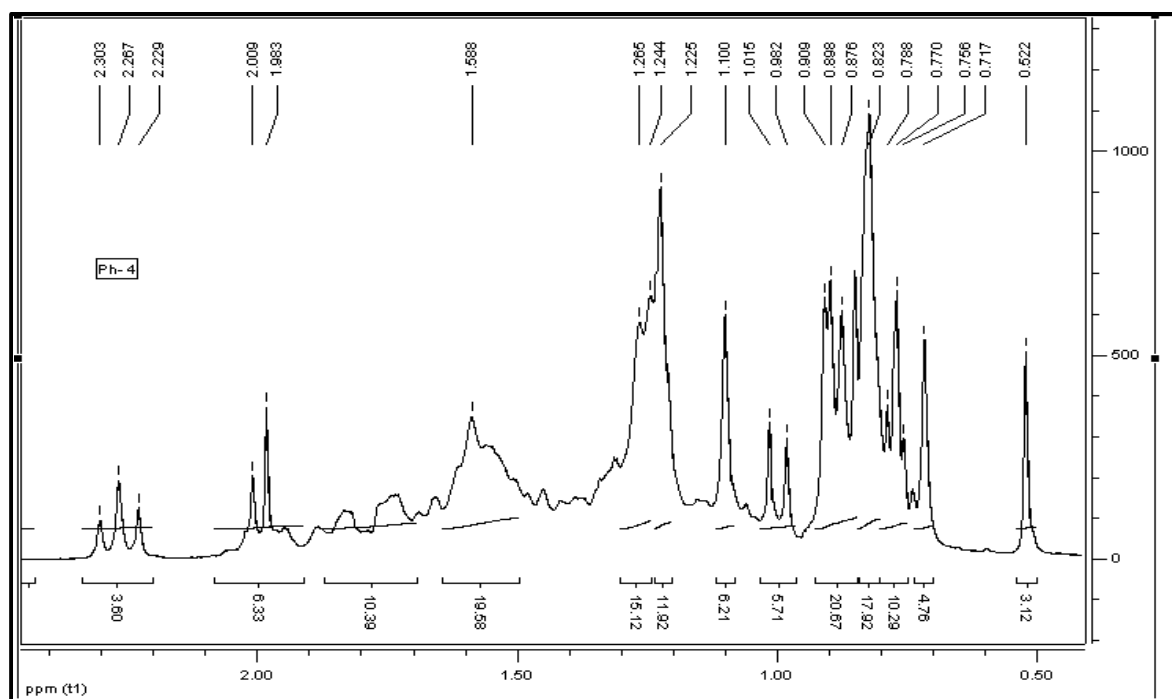


FIGURA 214 Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Ph-4** na região entre δ_{H} 0,5 – 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

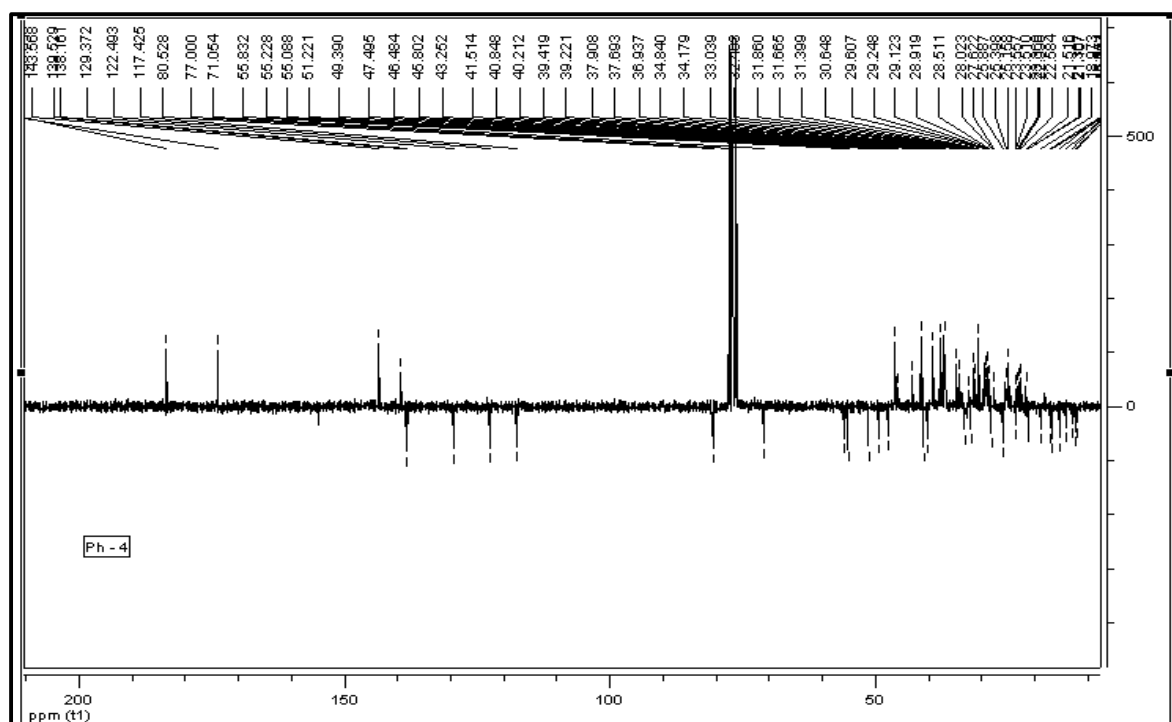


FIGURA 215 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-4** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

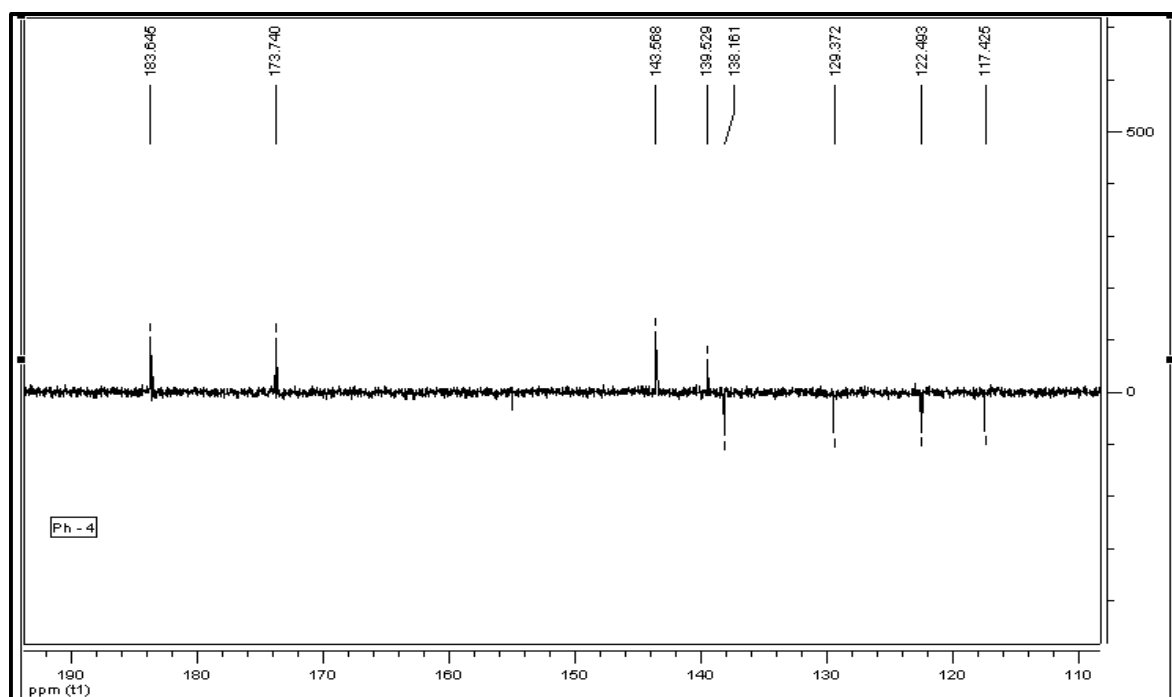


FIGURA 216 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-4** na região entre δ_{C} 110 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

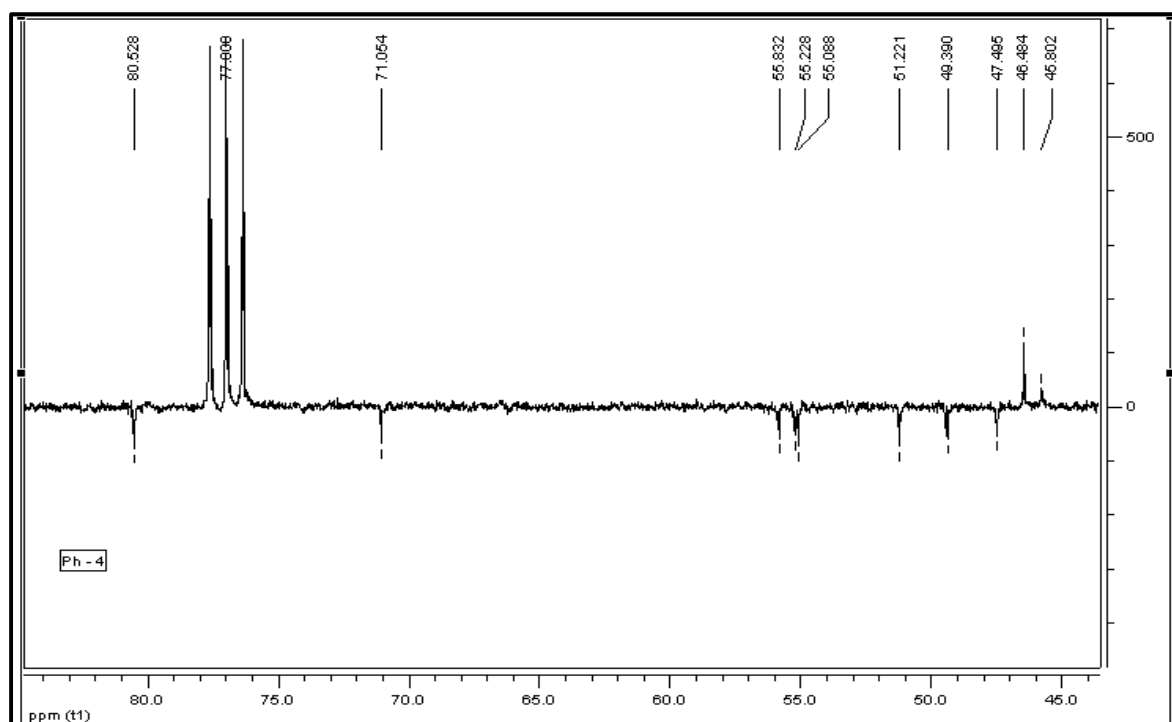


FIGURA 217 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-4** na região entre δ_{C} 45 - 85 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

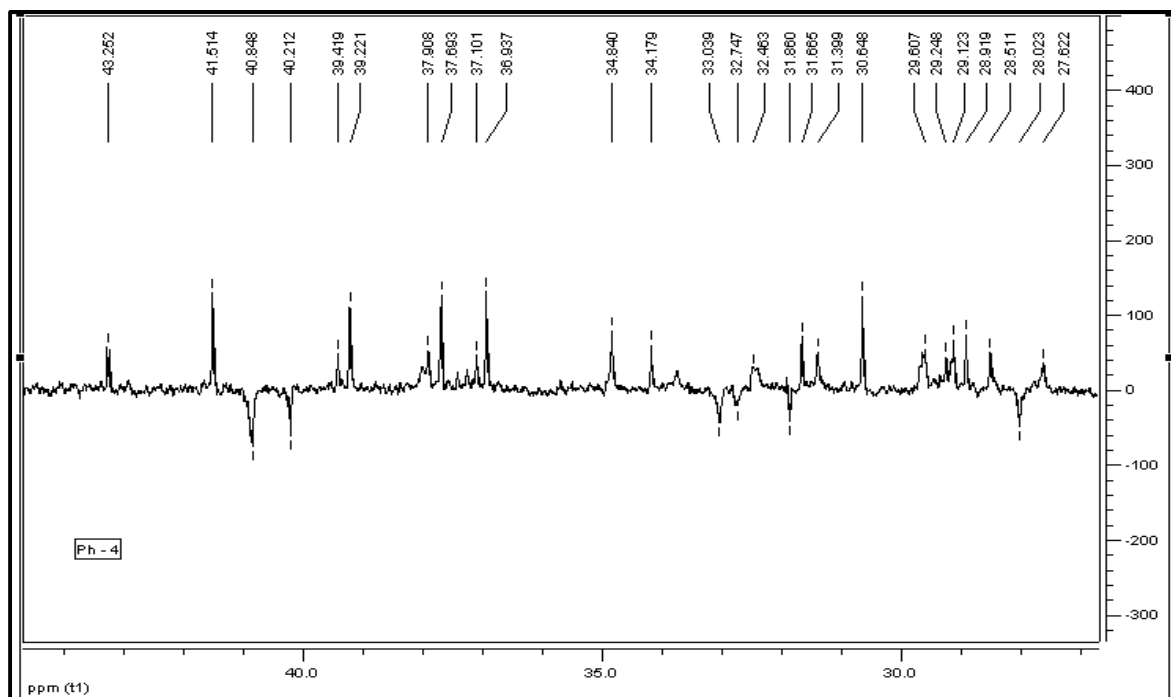


FIGURA 218 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-4** na região entre δ_{C} 25 - 50 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

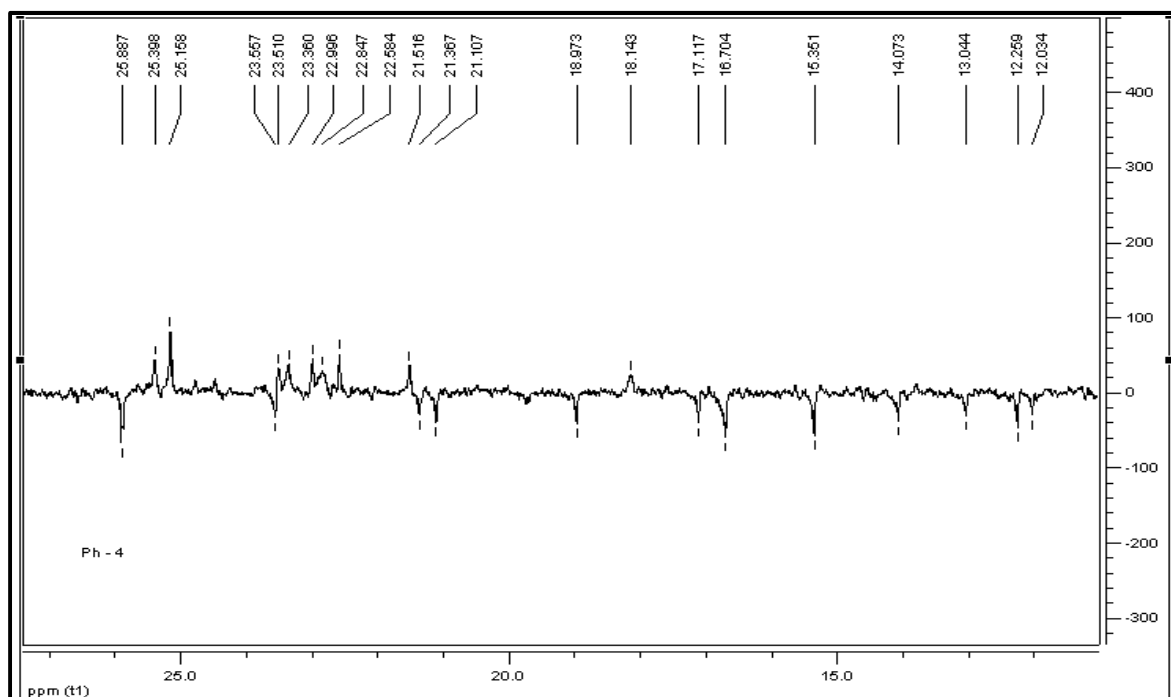


FIGURA 219 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-4** na região entre δ_{C} 10 - 27 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

4.4.2 Identificação Estrutural do Flavonóide Isolados das Cascas do Caule de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke

4.4.2.1 Identificação Estrutural de Ph-5

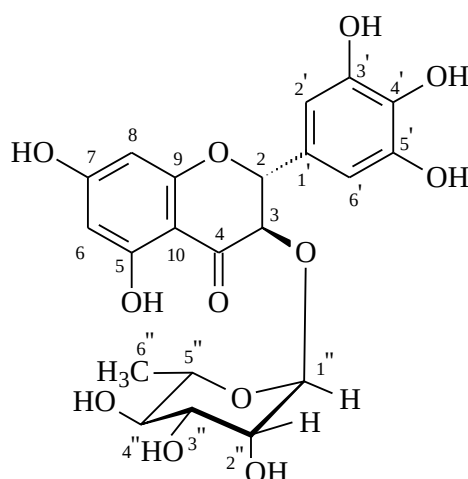
O espectro de RMN de ^{13}C (APT, 200 MHz, CD_3OD) de **Ph-5** (FIGURA 220, p.226) mostrou um total de vinte e um sinais, sendo nove para carbonos não hidrogenados, onze metínicos e um metílico. A presença de sinais entre δ_{C} 168,9 – 95,8 (FIGURA 221, p.226), característicos de carbonos aromáticos, juntamente com o sinal de carbono não hidrogenado em δ_{C} 197,4, característico do carbono carbonílico, além de comparação com valores da literatura (WU, 1998) e a quimiotaxonomia do gênero *Pradosia*, sugeriu um esqueleto flavonoídico para **Ph-5**. Os sinais em δ_{C} 147,0 e em δ_{C} 135,2 (FIGURA 221, p.226), sendo o primeiro deslocamento químico com intencidade para dois carbonos, foram atribuídos aos carbonos C-3' e C-5', e o segundo deslocamento químico foi atribuído ao carbono C-4', sugerindo o anel B tetrasubstituído nas posições 1', 3', 4' e 5'. A presença dos sinais em δ_{C} 83,7 e 76,8 (FIGURAS 221 e 222, p.221 e 222), compatíveis com os carbonos C-2 e C-3, sugeriu um esqueleto dihidroflavonol para **Ph-5**. Os sinais característicos de carbonos oximetínicos entre δ_{C} 71,9 - 69,2 (FIGURA 222, p.227), juntamente com o sinal de carbono metílico em δ_{C} 17,8 (FIGURA 220, p.226), sugeriu uma unidade osídica do tipo raminose. A variação de deslocamento químico (Δ 5,2 ppm) para campo baixo observado no espectro de RMN de ^{13}C para o C-3, em comparação com dados de 2,3-dihidromiricetina (SHEN, 1993), sugeriu a localização da L-raminose em C-3, estando este de acordo como outros relatos (DU, 2002).

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) de **Ph-5** (FIGURA 223, p.227) e suas expansões mostraram um padrão de prótons aromáticos entre δ_{H} 6,5 e 5,7 (FIGURA 224, p.228) e de açúcar entre δ_{H} 4,7 e 2,4 (FIGURA 225, p.228) além de um dubleto em δ_{H} 0,92 (d, $J = 6,2$ Hz) (FIGURA 226, p.229), corroborou para determinação de Ph-5 como um flavonóide-O-raminosídeo. Na expansão de espectro de RMN de ^1H de **Ph-5** (FIGURA 224, p.228) foram observados dois dubletos em δ_{H} 5,90 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H) e em δ_{H} 5,87 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H) atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-8, respectivamente. Esses dados sugeriram um flavonóide com anel A tetrasubstituído nas posições 5, 7, 9 e 10. A presença de um simpleto em δ_{H} 6,50 (s, 2H) compatível com os hidrogênios H-2' e H-6', corrobora para o anel B tetrasubstituído nas posições 1', 3', 4' e 5'. A presença de dois dupletos em

δ_H 4,86 (d; $J = 11,0$ Hz, 1H) e δ_H 4,61 (d; $J = 11,0$ Hz; 1H), característicos dos hidrogênios H-2 e H-3 em esqueleto de diidroflavanol, respectivamente, sugeriu o flavonóide **diidromiricetina-O-raminosídeo** para **Ph-5**. A determinação da estereoquímica relativa trans-diaxial entre os prótons H-2 e H-3 do esqueleto diidroflavanol foi evidenciada pela constante de acoplamento (J) de 11,0 Hz (SLIMESTAD, 1994).

Na expansão de espectro de RMN de ^1H de **Ph-5** (FIGURA 225, p.228) foram observados os seguintes sinais: um dubleto em δ_H 4,17 (d; $J = 2,8$ Hz; 1H) compatível com H-1''; um duplo dubleto em δ_H 4,00 (dd; $J = 3,2$ e 1,8 Hz; 1H), atribuído a H-2''; um duplo dubleto em δ_H 3,41 (dd; $J = 9,8$; 3,0 Hz) atribuído a H-3''; um duplo dubleto com δ_H 3,20 (dd; $j = 9,2$; 9,2 Hz) atribuído a H-4''; um duplo dubleto em δ_H 2,40 (dd, $J = 9,4$; 6,2 Hz, 1H) atribuído a H-5 e um dubleto em δ_H 0,92 (d; $J = 6,2$ Hz) atribuído ao H-6'', confirmam a presença da unidade osídica raminose na molécula.

Através de comparação da constante de acoplamento (J) do próton anomérico (H-1'') de 2,8Hz de Ph-5 com valores da literatura (DU, 2002; SLIMESTAD, 1994) foi possível estabelecer a configuração α raminosídeo para a unidade osídica. Desta forma determinou-se que **Ph-5** tratava-se da **2,3-dihidromiricetina-3-O- α -L-raminosídeo**. Os dados de RMN ^{13}C e ^1H de **Ph-5** e comparados com valores da literatura estão compilados na TABELA 14, p.225.



2,3-dihidromiricetina-3-O- α -L-raminopiranosídeo

TABELA 14 Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **Ph-5** e comparações com valores da literatura

C	Ph-5		1	1	2
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
4		197,5		197,4	194,3
5		165,4		163,2	163,3
7		168,9		166,7	166,9
9		164,2		162,4	162,1
10		101,9		100,4	101,0
1'		129,0		127,1	126,8
3'		147,0		145,6	145,8
4'		135,2		133,4	145,1
5'		147,0		145,6	115,3
CH					
2	4,86 (d, $J=11,0$ Hz)	83,7	5,04(d, $J=10\text{Hz}$)	83,2	81,5
3	4,61 (d, $J=11,0$ Hz)	76,8	4,65(d, $J=10\text{Hz}$)	71,6	75,6
6	5,90 (d, $J=2,2$ Hz)	96,3	5,93 (d, $J=1,5\text{Hz}$)	95,9	96,0
8	5,87 (d, $J=2,2$ Hz)	95,8	5,88(d, $J=1,5\text{Hz}$)	94,9	95,0
2''	6,50 (s)	108,0	6,40(s)	106,9	114,7
6''	6,50 (s)	108,0	6,40(s)	106,9	118,7
1'''	4,17 (d, $J= 2,8$ Hz)	102,7	4,95(s)		100,0
2'''	4,00 (dd, $J=3,2; 1,4$ Hz)	71,9			70,1
3'''	3,41 (dd, $J=9,8; 3,0$ Hz)	71,9			70,4
4'''	3,20 (dd, $J=9,2; 9,2$ Hz)	70,3			71,6
5'''	2,40 (dd, $J=9,4; 6,2\text{Hz}$)	69,2			68,9
CH₃					
6'''	0,92 (d, $J=6,2$ Hz)	17,8	0,87(d, $J=7,0\text{Hz}$)		17,6

RMN (200, CD₃OD, δ em ppm);

(1) Du, Q. et al, 2002.

(2) SHEN, C. C. et al, 1993.

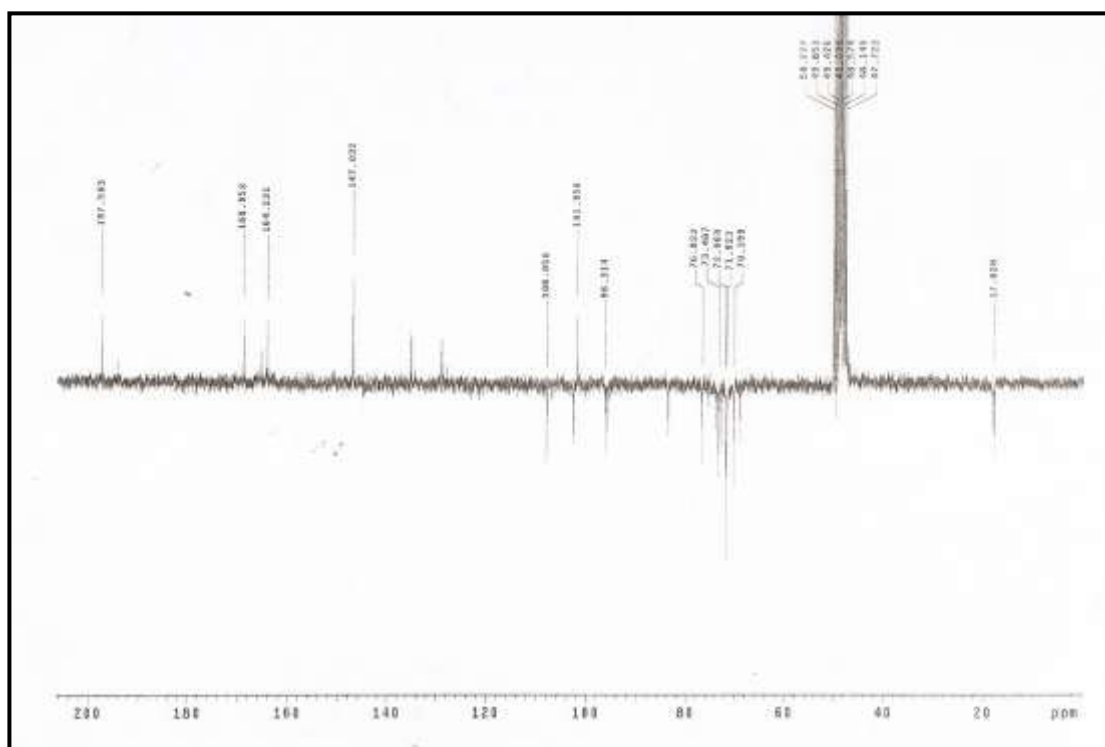


FIGURA 220 Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-5** (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

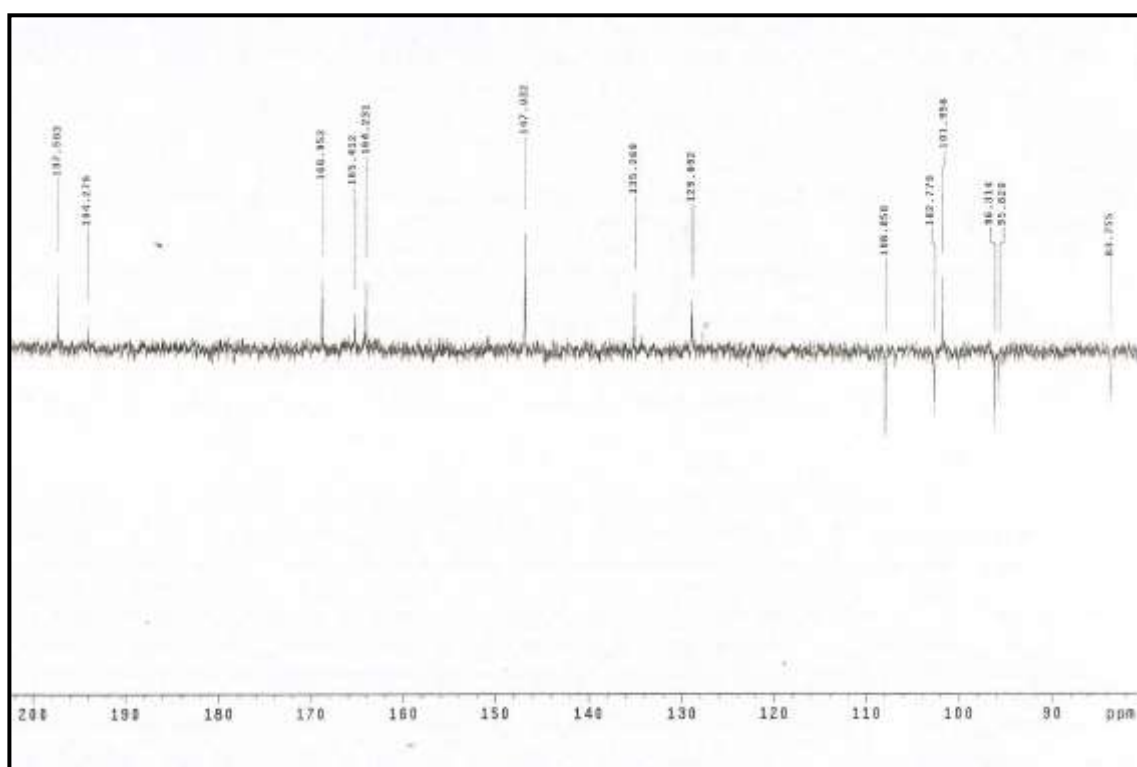


FIGURA 221 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-5** na região entre δ_{C} 110 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

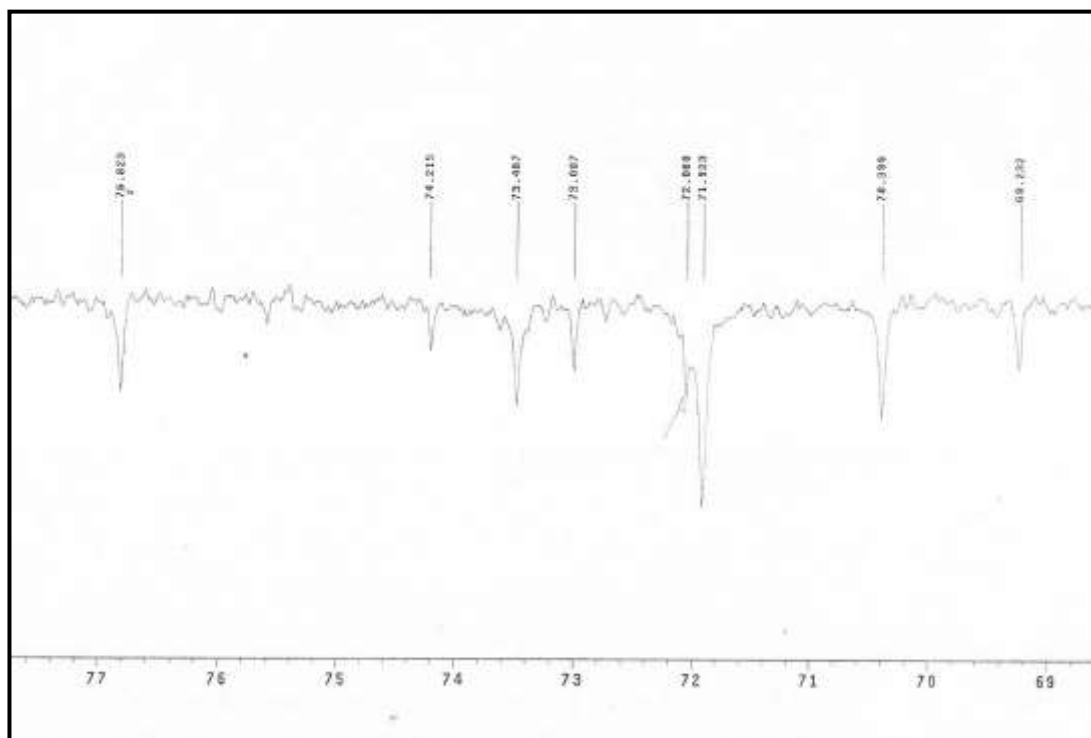


FIGURA 222 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Ph-5** na região entre δ_{C} 110 - 190 (50 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

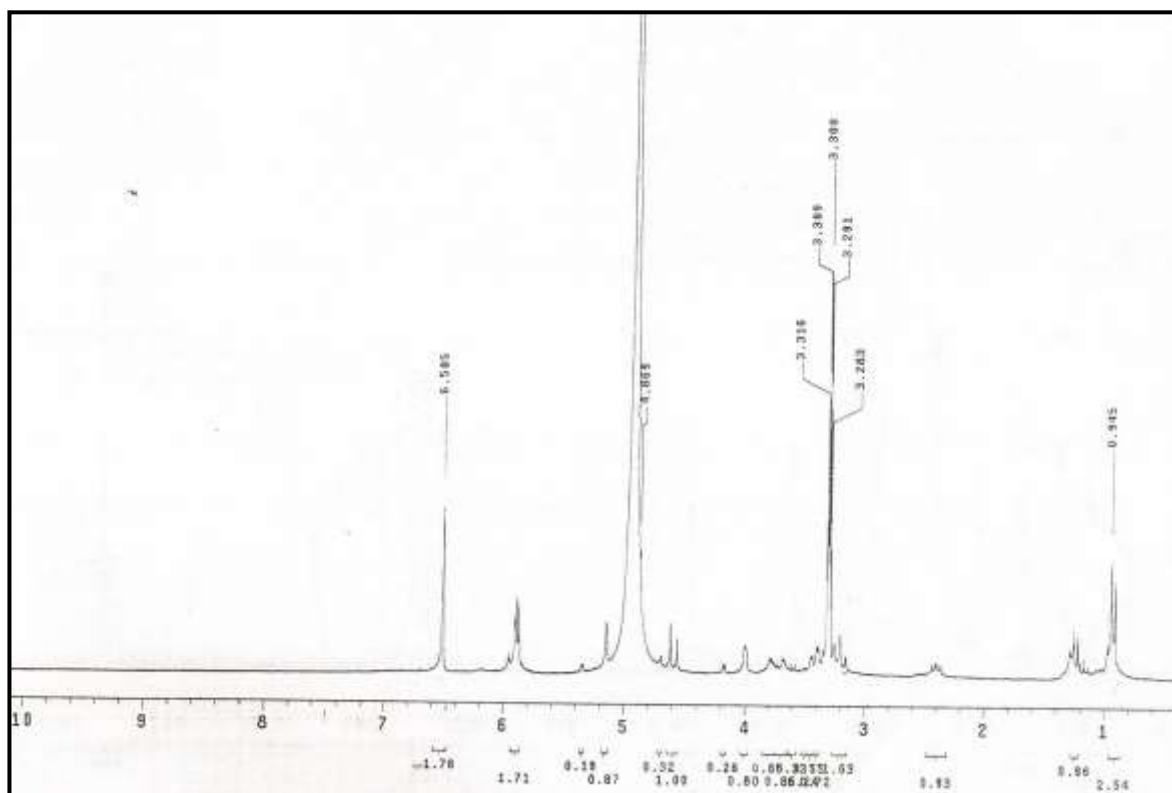


FIGURA 223 Espectro de RMN ^1H de **Ph-5** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

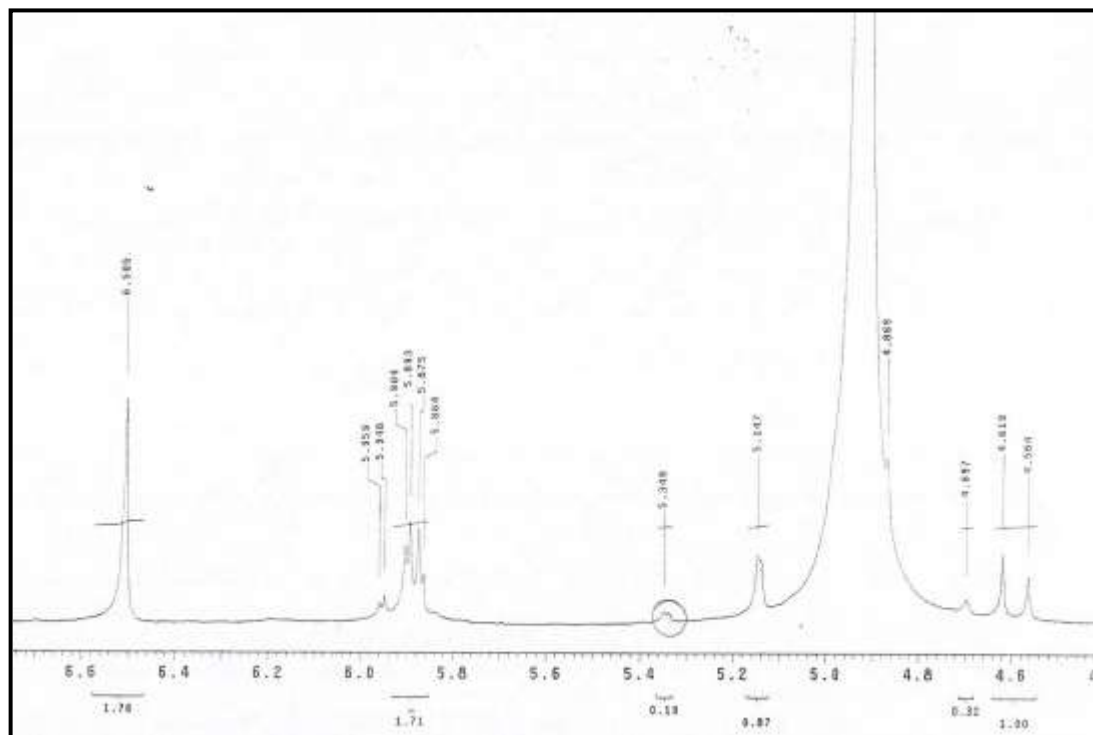


FIGURA 224 Expansão do espectro de RMN ¹H de **Ph-5** na região entre δ_H 4,5 – 6,7 (200 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

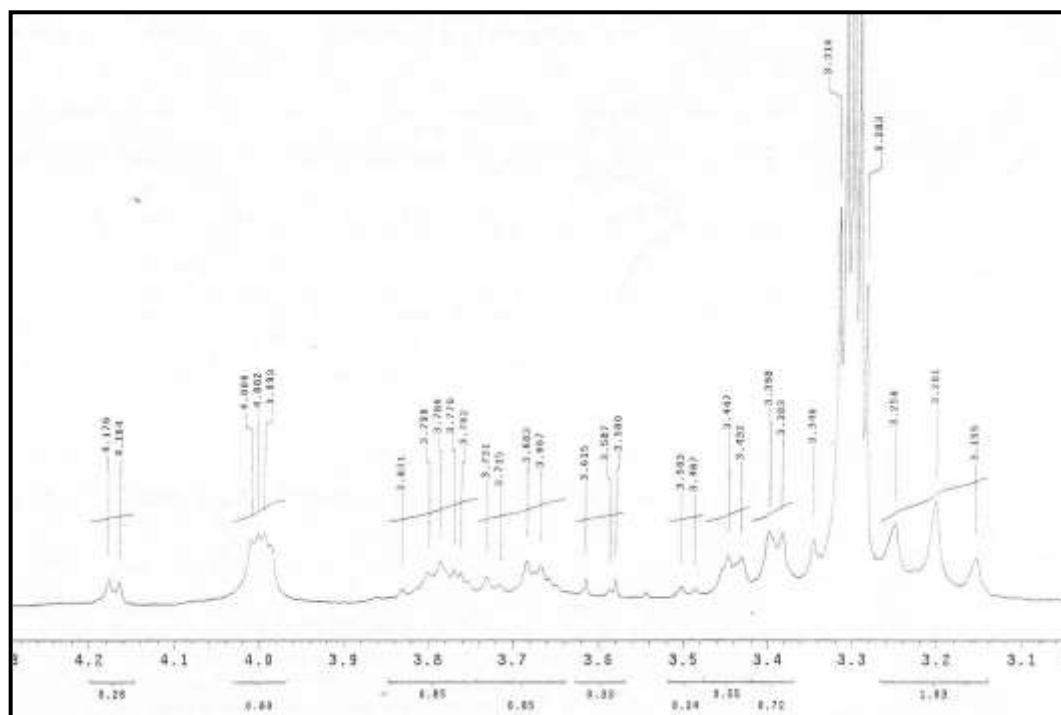


FIGURA 225 Expansão do espectro de RMN ¹H de **Ph-5** na região entre δ_H 3,0 – 4,3 (200 MHz, CDCl₃, δ em ppm).

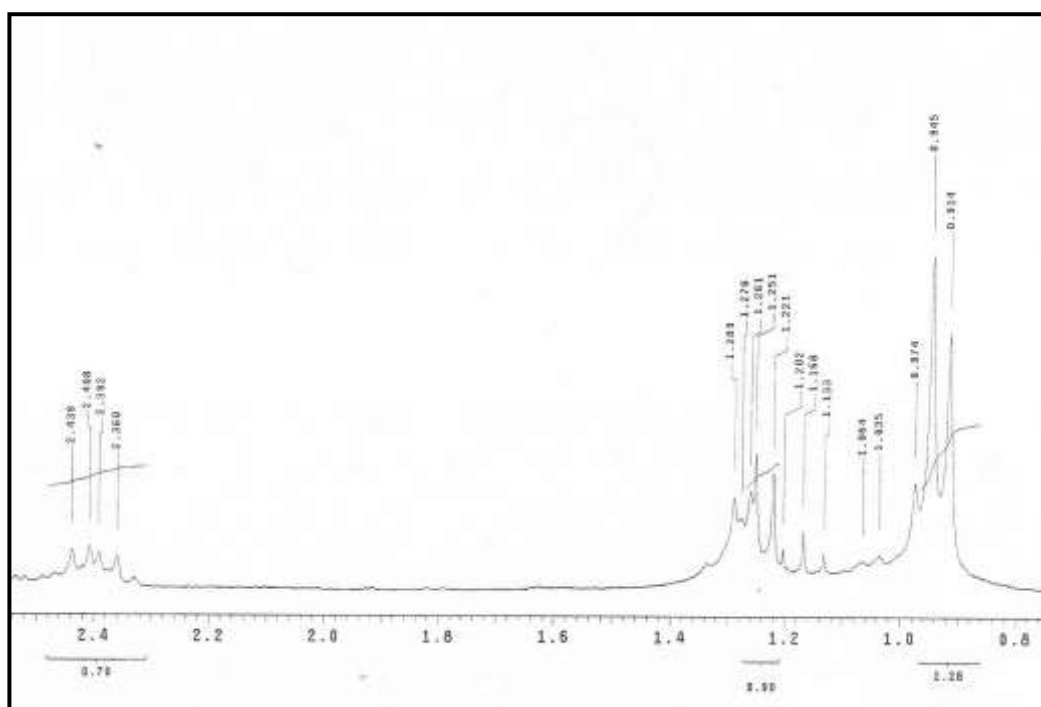


FIGURA 226 Expansão do espectro de RMN ^1H de **Ph-5** na região entre δ_{H} 0,8 – 2,5 (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

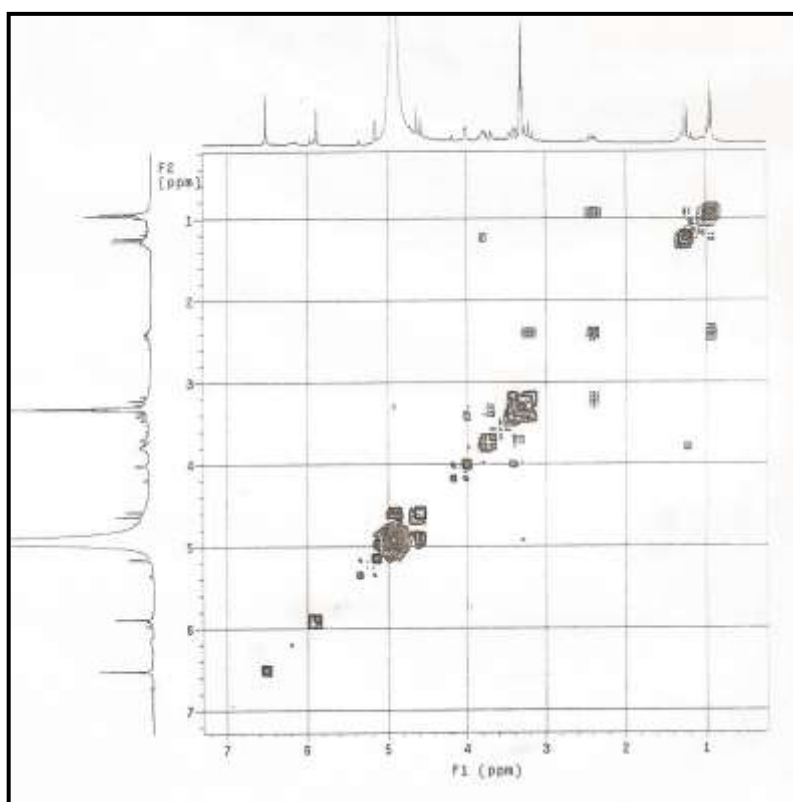


FIGURA 227 Espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Ph-5** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

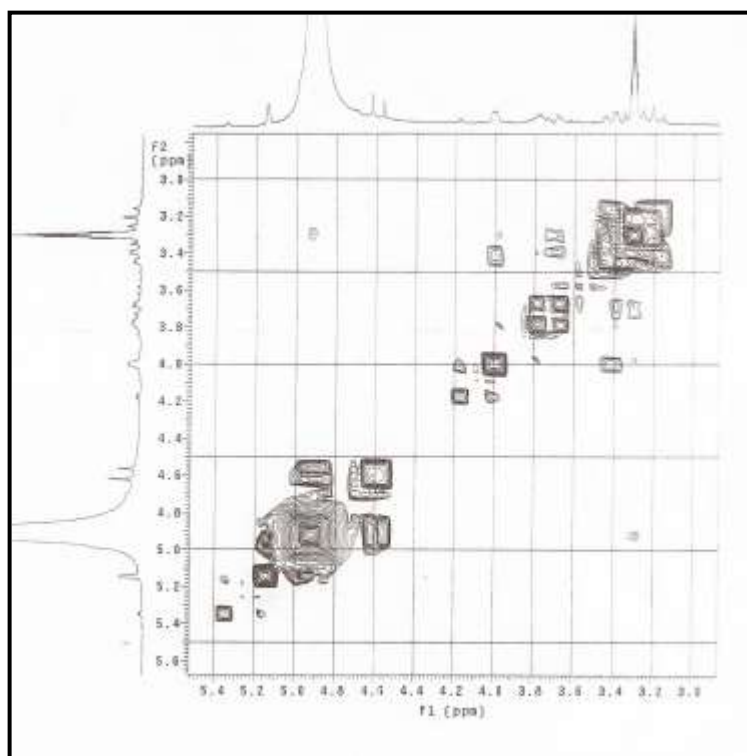


FIGURA 228 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

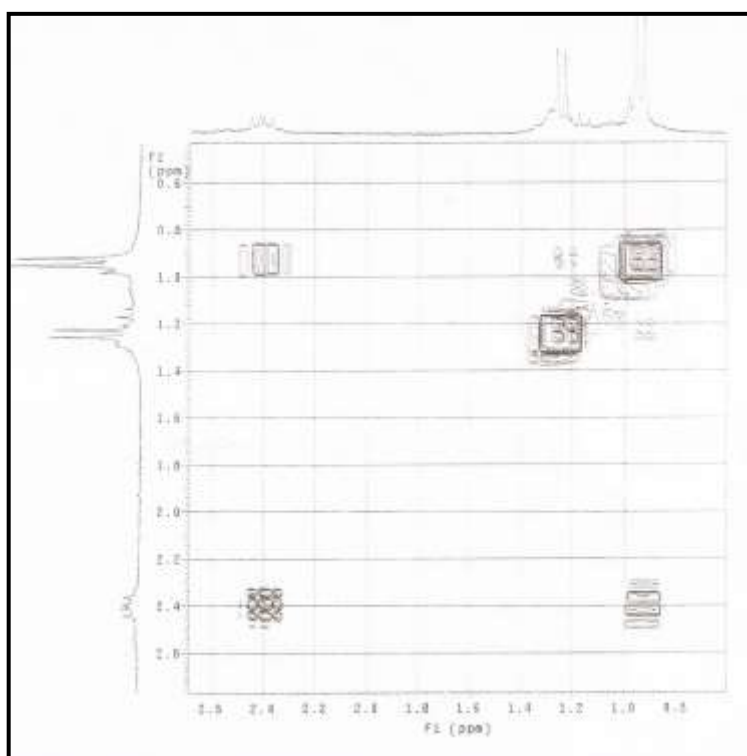


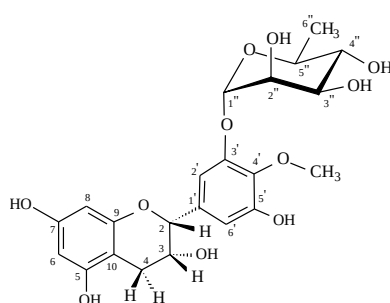
FIGURA 229 Expansão do espectro de correlação ^1H - ^1H -COSY de **Lm-3** (200 MHz, CDCl_3 , δ em ppm).

4.5 COSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROSCÓPICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae) e *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (Sapotaceae)

4.5.1 Costantes Físicas e Dados Espectroscópicos das Substâncias Isoladas de *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae)

Lm-1

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: (-)-4'-O-metil-epigallocatequina-3'-O-α-L-raminosideo

Aspectos Físicos: sólido avermelhado

Formula Molecular: C₂₂H₂₆O₁₁

Massa Molecular: 467,1575

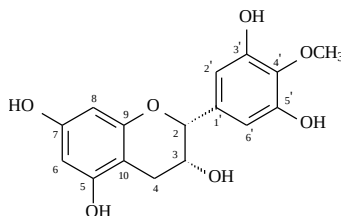
Solubilidade: metanol

Dados de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 4,82 (1H, d, *J* = 4,5 Hz, H-2); 4,20 (1H, m, H-3); 2,86 (1H, dd, *J* = 4,5; 16,5 Hz, H-4_{ax}); 2,71 (1H, dd, *J* = 3,0; 16,5 Hz, H-4_{eq}); 5,94 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6); 5,92 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-8); 6,84 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'); 6,74 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6'); 5,39 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-1''); 4,06 (1H, dd, *J* = 3,5; 1,5 Hz, H-2''); 3,88 (1H, dd, *J* = 3,5; 10,0 Hz, H-3''); 3,46 (1H, dd, *J* = 10,0; 10,0 Hz, H-3''); 3,46 (1H, dd, *J* = 10,0; 10,0 Hz, H-4''); 3,79 (1H, m, H-5''), 1,24 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6'') e 3,81 (3H, s, OCH₃).

Dados de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 79,65 (C-2); 67,38 (C-3); 29,04 (C-4); 157,97 (C-5); 96,53 (C-6); 157,71 (C-7); 95,88 (C-8); 157,05 (C-9); 100,07 (C-10); 136,71 (C-1'); 108,48 (C-2'); 151,04 (C-3'); 138,55 (C-4'); 151,59 (C-5'); 110,41 (C-6'); 61,34 (OCH₃); 101,18 (C-1''); 72,20 (C-2''); 72,37 (C-3''); 73,82 (C-4''); 70,97 (C-5'') e 17,99 (C-6'').

Lm-2

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: (-)-4'-O-metil-epigallocatequina.

Aspectos Físicos: sólido vermelho

Formula Molecular: C₁₆H₁₆O₇

Massa Molecular: 320 u.m.a.

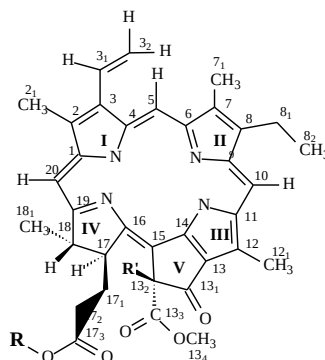
Solubilidade: metanol

Dados de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 4,79 (1H, m, H-2); 4,18 (1H, m, H-3); 2,84 (1H, dd, *J* = 4,5 e 17 Hz, H-4_{ax}); 2,72 (1H, dd, *J* = 2,5 e 17 Hz, H-4_{eq}); 5,94 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H-6); 5,92 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-8); 6,52 (2H, s, H-2'); 6,52 (2H, s, H-6'); e 3,79 (3H, s, OCH₃).

Dados de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 79,67 (C-2); 67,39 (C-3); 29,16 (C-4); 157,97 (C-5); 96,46 (C-6); 157,68 (C-7); 95,90 (C-8); 157,16 (C-9); 100,07 (C-10); 136,58 (C-1'); 107,18 (C-2'); 151,36 (C-3'); 136,10 (C-4'); 151,36 (C-5'); 107,18 (C-6') e 60,76 (OCH₃).

Lm-3

Fórmula Estrutural:



R = Fítíl e R' = H

Nome Químico: feofitina A

Aspectos Físicos: pó amorfo verde escuro

Formula Molecular: $C_{55}H_{72}O_5N_4$

Massa Molecular: 868 u.m.a.

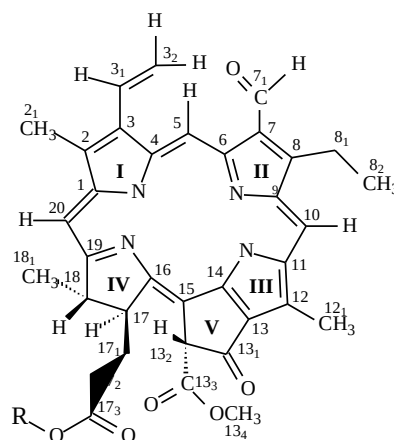
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3,38 (3H, s, H-2¹); 7,96 (1H, dd, $J=17,8$ e 11,2; H-3¹); 6,26 [(*E*)(1H, dd, $J=18,0$ e 1,4 Hz) e 6,15 (*Z*) (1H, dd, $J=11,4$ e 1,4 Hz), H-3²]; 9,34 (1H, s, H-5); 3,20 (3H, s, H-7¹); 3,65 (2H, m, H-8¹); 1,67 (3H, t, $J=7,6$ Hz, H-8²); 9,48 (1H, s, H-10); 3,66 (3H, s, H-12¹); 6,25 (1H, s, H-13²); 3,89 (3H, s, H-13⁴); 4,16 (1H, m, H-17); 1,22 (2H, m, H-17¹); 0,84 (2H, m, H-17²); 4,43 (1H, m, H-18); 1,78 (d, $J=7,2$ Hz, H-18¹) e 8,53 (1H, s, H-20).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 142,82 (C-1); 131,79 (C-2); 12,08 (C-2¹); 136,21 (C-3); 129,01 (C-3¹); 122,75 (C-3²); 136,43 (C-4); 97,46 (C-5); 155,58 (C-6); 136,08 (C-7); 11,20 (C-7¹); 145,16 (C-8); 19,41 (C-8¹); 17,39 (C-8²); 150,90 (C-9); 104,38 (C-10); 137,84 (C-11); 128,98 (C-12); 12,08 (C-12¹); 128,87 (C-13); 189,61 (C-13¹); 64,63 (C-13²); 172,90 (C-13³); 52,82 (C-13⁴); 149,57 (C-14); 105,13 (C-15); 161,17 (C-16); 51,03 (C-17); 29,65 (C-17¹); 31,10 (C-17²); 173,99 (C-17³); 50,04 (C-18); 23,03 (C-18¹); 172,17 (C-19) e 93,07 (C-20).

Lm-4

Fórmula Estrutural:



R = Fitol

Nome Químico: feofitina B

Aspectos Físicos: pó amorfo verde escuro

Formula Molecular: $C_{55}H_{70}O_6N_4$

Massa Molecular: 882 u.m.a.

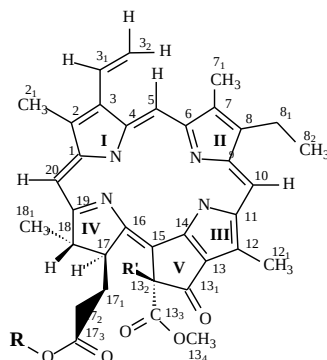
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3,36 (3H, s, H-2¹); 7,96 (1H, dd, $J=18$ e 12 Hz, H-3¹); [6,34 (*E*)(1H, d, $J=18$ Hz) e 6,20 (*Z*)(1H, d, $J=11,5$ Hz), H-3²]; 10,28 (1H, s, H-5); 11,08 (1H, s, H-7¹); 3,97 (2H, q, $J = 8,0$ Hz, H-8¹); 1,78 (3H, t, $J = 8,0$ Hz, H-8²); 9,56 (1H, s, H-10); 3,65 (3H, s, H-12¹); 6,22 (1H, s, H-13²); 3,89 (3H, s, H-13⁴); 4,18 (1H, m, H-17); 1,85-1,89 (2H, m, H-17¹); 1,89-1,85 (2H, m, H-17²); 4,43 (1H, m, H-18); 1,81 (d, $J=7,5$ Hz, H-18¹); 8,51 (1H, s, H-20); 4,43 (1H, q, $J = 7,5$ Hz e 4,49 1H, m, H-1'); 5,14 (t, $J = 7,5$ Hz, H-2') e 1,56 (3H, s, H-20').

Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 143,54 (C-1); 132,16 (C-2); 12,03 (C-2¹); 137,74 (C-3); 128,64 (C-3¹); 123,53 (C-3²); 137,13 (C-4); 101,52 (C-5); 151,17 (C-6); 132,87 (C-7); 187,68 (C-7¹); 159,31 (C-8); 19,06 (C-8¹); 19,33 (C-8²); 147,11 (C-9); 106,90 (C-10); 137,99 (C-11); 132,39 (C-12); 12,22 (C-12¹); 129,73 (C-13); 189,46 (C-13¹); 64,59 (C-13²); 169,27 (C-13³); 52,95 (C-13⁴); 150,70 (C-14); 104,97 (C-15); 164,04 (C-16); 51,37 (C-17); 27,39 (C-17¹); 33,48 (C-17²); 172,78 (C-17³); 50,12 (C-18); 23,05 (C-18¹); 173,99 (C-19); 93,34 (C-20); 61,65 (c-1'); 117,71 (C-2') e 142,91 (C-3').

Lm-5

Fórmula Estrutural:



R = Fitol e R' = OH

Nome Químico: 13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a

Aspectos Físicos: pó amorfo verde escuro

Formula Molecular: C₅₅H₇₂O₆N₄

Massa Molecular: 884 u.m.a.

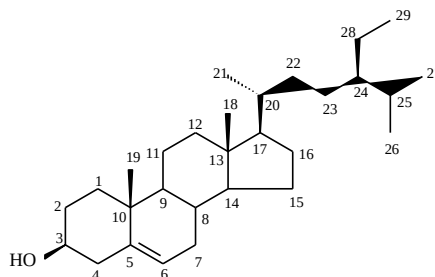
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ_H: 3,40 (3H, s, H-2¹); 8,00 (1H, dd, J=18 e 12 Hz, H-3¹); [6,28 (*E*)(d, J=18Hz, 1H) e 6,17 (*Z*) (d, J=11,5Hz, 1H), H-3²]; 9,59 (1H, s, H-5); 3,24 (3H, s, H-7¹); 3,70 (2H, m, H-8¹); 1,68 (3H, t, J=7,5 Hz, H-8²); 9,49 (1H, s, H-10); 3,69 (3H, s, H-12¹); 3,71 (3H, s, H-13⁴); 4,16 (1H, m, H-17); 2,05 e 2,78 (2H, m, H-17¹); 2,32 (2H, m, H-17²); 4,43 (1H, m, H-18); 1,68 (d, J=7,2 Hz, H-18¹) e 8,61 (1H, s, H-20).

Dados de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃) δ_C: 142,76 (C-1); 131,74 (C-2); 12,13 (C-2¹); 136,51 (C-3); 129,05 (C-3¹); 122,89 (C-3²); 136,26 (C-4); 97,95 (C-5); 151,02 (C-6); 136,19 (C-7); 11,30 (C-7¹); 145,21 (C-8); 19,50 (C-8¹); 17,48 (C-8²); 155,33 (C-9); 104,25 (C-10); 137,77 (C-11); 129,40 (C-12); 12,31 (C-12¹); 126,91 (C-13); 192,04 (C-13¹); 88,95 (C-13²); 172,77 (C-13³); 53,41 (C-13⁴); 149,81 (C-14); 107,65 (C-15); 162,43 (C-16); 51,79 (C-17); 29,13 (C-17¹); 31,56 (C-17²); 173,60 (C-17³); 50,31 (C-18); 22,71 (C-18¹); 172,40 (C-19) e 93,63 (C-20).

Lm-6

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: β -sitosterol (**Lm-6a**);

Aspectos Físicos: cristais em forma de agulhas

Formula Molecular: $C_{29}H_{50}O_1$

Massa Molecular: 414 u.m.a.

Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3,49 (m, H-3); 5,32 (dl, $J = 5,0$ Hz, H-6).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 37,2 (C-1); 31,6 (C-2); 71,7 (C-3); 42,3 (C-4); 140,6 (C-5); 121,7 (C-6); 31,9 (C-7); 31,6 (C-8); 50,1 (C-9); 36,4 (C-10); 21,0 (C-11); 39,7 (C-12); 42,2 (C-13); 56,7 (C-14); 24,3 (C-15); 28,2 (C-16); 56,0 (C-17); 11,8 (C-18); 19,4 (C-19); 36,1 (C-20); 18,7 (C-21); 33,9 (C-22); 26,0 (C-23); 45,8 (C-24); 29,1 (C-25); 19,8 (C-26); 19,0 (C-27); 12,0 (C-28) e 11,9 (C-29).

Nome Químico: Δ^{22-23} estigmaterol (**Lm-6b**)

Aspectos Físicos: cristais em forma de agulhas

Formula Molecular: $C_{29}H_{48}O_1$

Massa Molecular: 412 u.m.a.

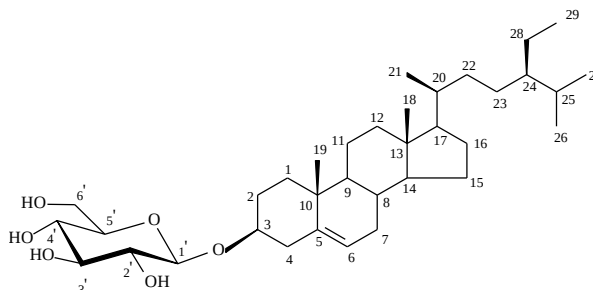
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3,49 (m, H-3); 5,32 (dl, $J = 5,0$ Hz, H-6); 4,92 (m, H-22) e 5,19 (m, H-23).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 37,2 (C-1); 31,9 (C-2); 71,7 (C-3); 42,2 (C-4); 140,7 (C-5); 121,7 (C-6); 31,9 (C-7); 31,6 (C-8); 50,1 (C-9); 36,4 (C-10); 21,0 (C-11); 39,7 (C-12); 42,2 (C-13); 56,8 (C-14); 24,4 (C-15); 28,2 (C-16); 55,9 (C-17); 11,8 (C-18); 19,4 (C-19); 36,1 (C-20); 19,8 (C-21); 138,3 (C-22); 129,2 (C-23); 51,2 (C-24); 31,8 (C-25); 21,0 (C-26); 19,8 (C-27); 12,0 (C-28) e 11,9 (C-29).

Lm-7

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: Sitosterol-3-O-β-glicosídeo

Aspectos Físicos: pó branco amorfo

Formula Molecular: C₃₅H₆₀O₆

Massa Molecular: 576 u.m.a.

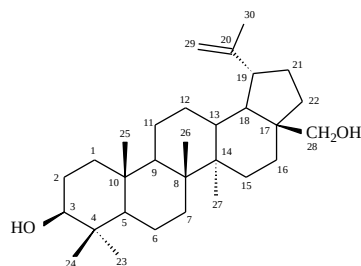
Solubilidade: piridina

Dados de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ_H: 3,98 (m, H-3); 5,30 (m, H-6), 4,20 (m, H-1').

Dados de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃) δ_C: 37,49 (C-1); 30,25 (C-2); 78,51 (C-3); 39,34 (C-4); 140,88 (C-5); 124,02 (C-6); 32,17 (C-7); 32,04 (C-8); 50,31 (C-9); 36,92 (C-10); 21,28 (C-11); 39,92 (C-12); 42,47 (C-13); 56,81 (C-14); 24,52 (C-15); 28,54 (C-16); 56,21 (C-17); 12,08 (C-18); 19,35 (C-19); 36,39 (C-20); 19,16 (C-21); 34,21 (C-22); 26,35 (C-23); 46,03 (C-24); 29,44 (C-25); 19,50 (C-26); 20,04 (C-27); 23,38 (C-28); 12,17 (C-29); 102,56 (C-1'); 75,35 (C-2'); 78,62 (C-3'); 71,67 (C-4'); 78,07 (C-5') e 62,82 (C-6').

Lm-8

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: Lup-20(29)-ene-3, 28-diol ou álcool betulínico

Aspectos Físicos: cristais em forma de agulhas

Formula Molecular: $C_{30}H_{50}O_2$

Massa Molecular: 442 u.m.a.

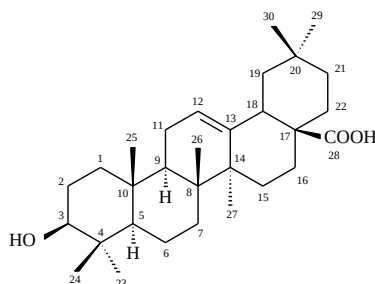
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3,16 (1H, dd, $J = 5,4; 10,4$ Hz, H-3); 2,35 (1H, m, H-19); 0,73 (3H, s, H-23); 0,77 (3H, s, H-24); 0,94 (3H, s, H-25); 0,95 (3H, s, H-26); 0,99 (3H, s, H-27); [3,30 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) e 3,77 (1H, d, $J = 11,0$ Hz), H-28]; [4,66 (1H, d, $J = 1,8$ Hz) e 4,56 (1H, m), H-29] e 1,65 (3H, s, H-30).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 38,66 (C-1); 27,35 (C-2); 78,96 (C-3); 38,83 (C-4); 55,23 (C-5); 18,27 (C-6); 34,18 (C-7); 40,87 (C-8); 50,34 (C-9); 37,12 (C-10); 20,79 (C-11); 25,16 (C-12); 37,26 (C-13); 42,67 (C-14); 27,00 (C-15); 29,12 (C-16); 47,70 (C-17); 47,77 (C-18); 48,70 (C-19); 150,46 (C-20); 29,69 (C-21); 33,94 (C-22); 27,96 (C-23); 15,36 (C-24); 16,09 (C-25); 15,95 (C-26); 14,74 (C-27); 60,52 (C-28); 109,69 (C-29) e 19,06 (C-30).

Lm-9

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: ácido 3-β-hidroxiolean-12-em-28-óico ou ácido oleanólico.

Aspectos Físicos: pó branco amorfo

Formula Molecular: $C_{30}H_{48}O_3$

Massa Molecular: 453 u.m.a.

Solubilidade: clorofórmio

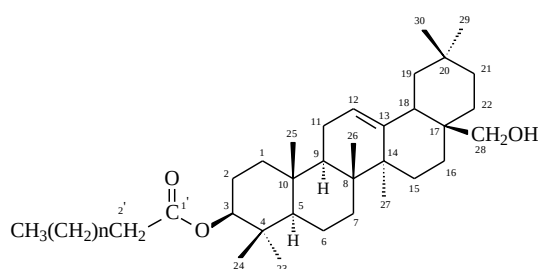
Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 3,20 (1H, dd, $J = 5,4$ e $10,0$ Hz, H-3); 5,27 (1H, m, H-12); 2,79 (1H, dl, $J = 11,0$ Hz, H-18); 0,90 (3H, s, H-23); 0,73 (3H, s, H-24); 0,85 (3H, s, H-25); 0,75 (3H, s, H-26); 1,11 (3H, s, H-27); 0,88 (3H, s, H-29), 0,96 (3H, s, H-30).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 38,34 (C-1); 27,13 (C-2); 79,01 (C-3); 38,71 (C-4); 55,15 (C-5); 18,25 (C-6); 32,56 (C-7); 39,21 (C-8); 47,57 (C-9); 37,02 (C-10); 22,86 (C-11); 122,58 (C-12); 143,52 (C-13); 41,55 (C-14); 27,63 (C-15); 23,35 (C-16); 46,49 (C-17); 40,92 (C-18); 45,82 (C-19); 30,65 (C-20); 33,75 (C-21); 32,38 (C-22); 28,06 (C-23); 15,53 (C-24); 15,29 (C-25); 17,01 (C-26); 25,91 (C-27); 183,36 (C-28); 33,04 (C-29) e 23,55 (C-30).

4.5.2 Costantes Físicas e Dados Espectroscópicos das Substâncias Isoladas de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (Sapotaceae)

Ph-1

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: éster graxo do eritrodíol.

Aspectos Físicos: cristais transparentes

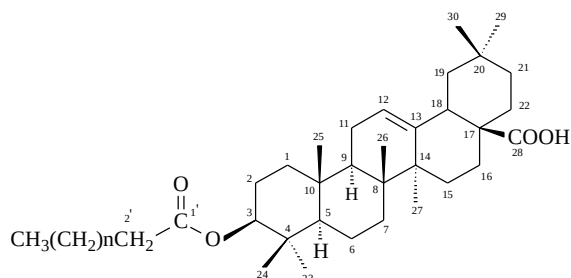
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 4,47 (1H, dd, $J = 7,8; 8,0$ Hz, H-3); 5,16 (1H, t, $J = 3,0$ Hz, H-12); [3,53 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) e 3,18 (1H, d, $J = 11,0$ Hz), H-28]; 2,27 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-2'); 1,22 [m, $(\text{CH}_2)_n$] e 1,13 (m, CH_3 -n).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 38,20 (C-1); 23,53 (C-2); 80,50 (C-3); 37,71 (C-4); 55,18 (C-5); 18,21 (C-6); 32,46 (C-7); 39,74 (C-8); 47,44 (C-9); 36,77 (C-10); 23,53 (C-11); 122,23 (C-12); 144,16 (C-13); 41,66 (C-14); 25,49 (C-15); 21,92 (C-16); 36,77 (C-17); 42,30 (C-18); 46,37 (C-19); 30,92 (C-20); 34,04 (C-21); 31,01 (C-22); 28,01 (C-23); 15,55 (C-24); 16,69 (C-25); 16,75 (C-26); 25,88 (C-27); 69,69 (C-28); 33,17 (C-29); 22,69 (C-30); 173,72 (C-1'); 34,85 (C-2'); 29,46 [$(\text{CH}_2)_n$]; 22,67 [CH_2 -(n-2)]; 31,91 [CH_2 -(n-3)] e 14,13 (CH_3 -n).

Ph-2

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: éster graxo do ácido oleanólico

Aspectos Físicos: cristais transparentes

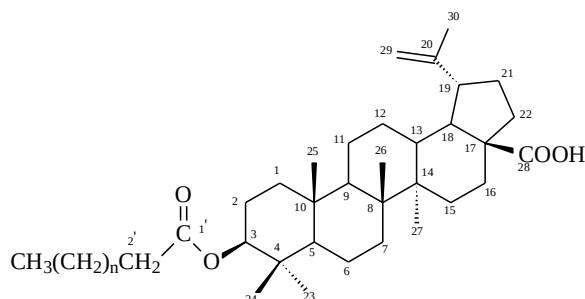
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 4,47 (1H, dd, $J = 7,8; 8,0$ Hz, H-3); 5,16 (1H, t, $J = 3,0$ Hz, H-12); 2,27 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-2') e 1,22 [m, $(\text{CH}_2)_n$].

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 38,03 (C-1); 23,54 (C-2); 80,54 (C-3); 38,03 (C-4); 55,24 (C-5); 18,15 (C-6); 32,49 (C-7); 39,24 (C-8); 47,51 (C-9); 36,95 (C-10); 23,37 (C-11); 122,50 (C-12); 143,56 (C-13); 41,53 (C-14); 27,62 (C-15); 23,54 (C-16); 46,50 (C-17); 40,90 (C-18); 45,82 (C-19); 30,65 (C-20); 33,78 (C-21); 32,42 (C-22); 27,99 (C-23); 15,39 (C-24); 15,32 (C-25); 17,09 (C-26); 25,93 (C-27); 183,70 (C-28); 32,49 (C-29); 23,57 (C-30); 173,74 (C-1'); 34,85 (C-2'); 29,17 [$(\text{CH}_2)_n$]; 22,69 [$\text{CH}_2-(n-2)$]; 31,91 [$\text{CH}_2-(n-3)$] e 14,10 (CH_3-n).

Ph-3

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: Éster graxo do ácido betulínico

Aspectos Físicos: cristais transparentes

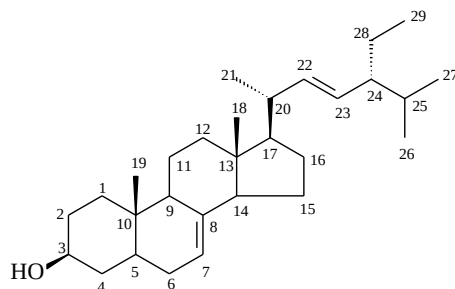
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 2,27 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-2') e 1,22 [m, $(\text{CH}_2)_n$].

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 38,38 (C-1); 23,70 (C-2); 80,59 (C-3); 37,81 (C-4); 55,37 (C-5); 18,14 (C-6); 34,20 (C-7); 40,65 (C-8); 50,34 (C-9); 37,09 (C-10); 20,83 (C-11); 25,40 (C-12); 38,38 (C-13); 42,39 (C-14); 30,54 (C-15); 32,13 (C-16); 56,35 (C-17); 46,93 (C-18); 49,21 (C-19); 150,36 (C-20); 31,66 (C-21); 37,81 (C-22); 27,94 (C-23); 16,53 (C-24); 16,03 (C-25); 16,11 (C-26); 14,66 (C-27); 181,89 (C-28); 109,71 (C-29); 19,35 (C-30); 173,77 (C-1'); 34,84 (C-2'); 29,24 [$(\text{CH}_2)_n$]; 22,68 [$\text{CH}_2-(n-2)$]; 31,67 [$\text{CH}_2-(n-3)$] e 14,06 (CH_3-n).

Ph-4

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: espinasterol

Aspectos Físicos: cristais em forma de agulhas

Formula Molecular: $C_{29}H_{48}O_1$

Massa Molecular: 412 u.m.a.

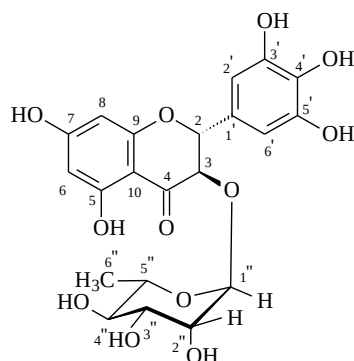
Solubilidade: clorofórmio

Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 4,47 (1H, $J = 8,0$ Hz, H-3); 5,12 (1H, s, H-7); 5,25 (1H, $J = 3,0$ Hz, H-12); 2,80 (1H, $J = 4,8$ e 3,4 Hz, H-18); 4,98 ($J = 8,2$ e 15,2 Hz, H-22) e 5,14 ($J = 8,2$ e 15,2 Hz, H-23).

Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 36,94 (C-1); 27,62 (C-2); 71,05 (C-3); 33,75 (C-4); 40,21 (C-5); 29,61 (C-6); 117,43 (C-7); 139,53 (C-8); 49,39 (C-9); 34,18 (C-10); 21,52 (C-11); 39,42 (C-12); 43,25 (C-13); 55,09 (C-14); 23,00 (C-15); 28,51 (C-16); 55,83 (C-17); 12,03 (C-18); 13,04 (C-19); 40,85 (C-20); 21,11 (C-21); 138,16 (C-22); 129,37 (C-23); 51,22 (C-24); 31,86 (C-25); 21,37 (C-26); 18,97 (C-27); 25,40 (C-28) e 12,26 (C-29).

Ph-5

Fórmula Estrutural:



Nome Químico: 2,3diidromiricetina-3-O- α -L-raminosideo

Aspectos Físicos: pó amorfo avermelhado

Formula Molecular: $C_{21}H_{22}O_{12}$

Massa Molecular: 466 u.m.a.

Solubilidade: metanol

Dados de RMN ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 4,86 (d, $J=11,0$ Hz, H-2); 4,61 (d, $J=11,0$ Hz, H-3); 5,90 (d, $J=2,2$ Hz, H-6); 5,87 (d, $J=2,2$ Hz, H-8); 6,50 (s, H-2'); 6,50 (s, H-2''); 4,17 (d, $J=2,8$ Hz, H-1''); 4,00 (dd, $J=3,2; 1,4$ Hz, H-2''); 3,41 (dd, $J=9,8; 3,0$ Hz, H-3''); 3,20 (dd, $J=9,2; 9,2$ Hz, H-4''); 2,40 (dd, $J=9,4; 6,2$ Hz, H-5'') e 0,92 (d, $J=6,2$ Hz, H-6'').

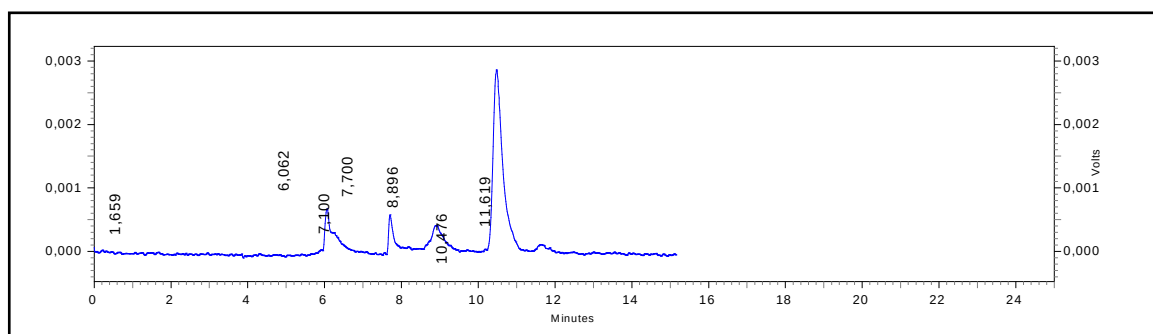
Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 83,7 (C-2); 76,8 (C-3); 197,5 (C-4); 165,4 (C-5); 96,3 (C-6); 168,9 (C-7); 95,8 (C-8); 164,2 (C-9); 101,9 (C-10); 129,0 (C-1'); 108,0 (C-2'); 147,0 (C-3'); 135,2 (C-4'); 147,0 (C-5'); 108,0 (C-6'); 102,7 (C-1''); 71,9 (C-2''); 71,9 (C-3''); 70,3 (C-4''); 69,2 (C-5'') e 17,8 (C-6'').

4.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANALISES EM CLAE

4.6.1 Análise Cromatográfica da Fração Lm-1 em Diferentes Sistemas de Solventes e Fluxos da Coluna

Condições de análise da amostra:

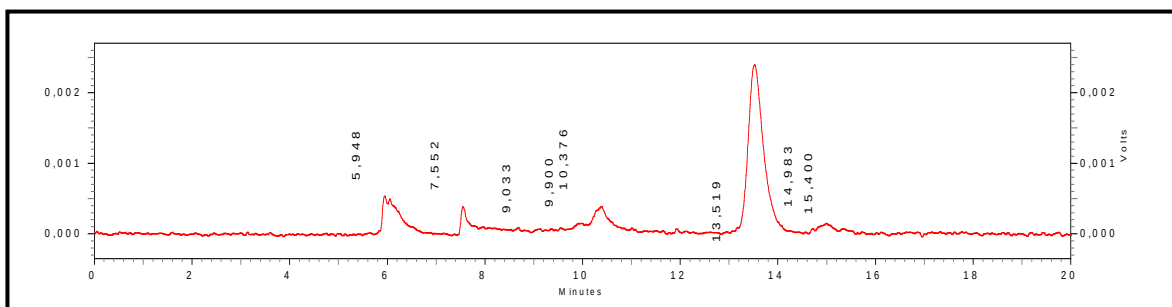
Sistema isocrático usando coluna fase reversa, analisado a 260nm, amostra preparada em MeOH: H₂O (1:1) na concentração de 0,5mg/mL.



Cromatograma 1 Fração Lm-1(Solvente: H₂O:AC₃CN (80:20); fluxo de 0,5 mL/min)

TABELA 15 Parâmetros avaliados no cromatograma 1

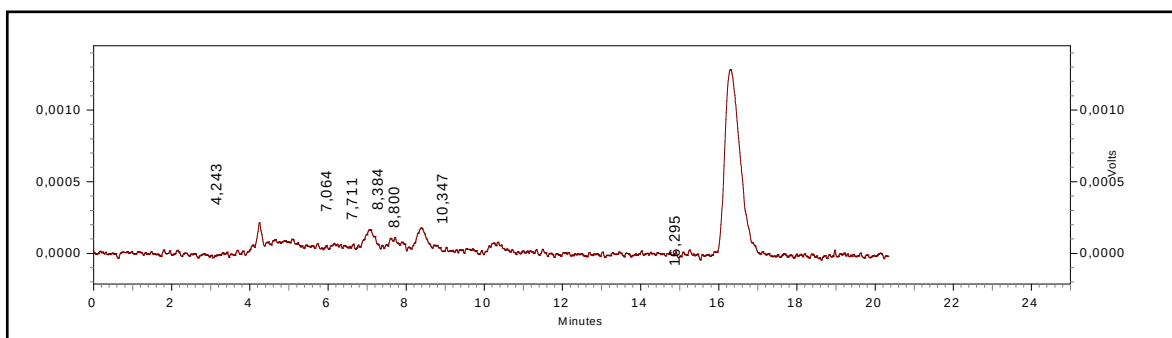
Detector A - 1 (260nm)						
Pico	Tempo de retenção	Area	Area %	Altura	Altura %	
1	1,659	678	0,814	39	0,826	
2	6,062	14035	16,860	730	15,396	
3	7,100	827	0,993	39	0,828	
4	7,700	5055	6,073	574	12,108	
5	8,896	8894	10,684	389	8,193	
6	10,476	51168	61,465	2849	60,073	
7	11,619	2590	3,111	122	2,576	
Total		83247	100,000	4742	100,000	



Cromatograma 2 Fração Lm-1(Solvente: H₂O:AC₃CN 85:15; fluxo de 0,5 mL/min)

TABELA 16 Parâmetros avaliados no cromatograma 2

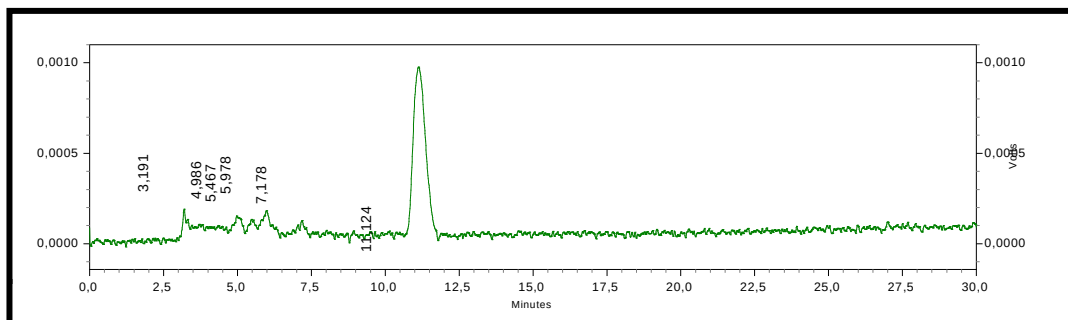
Detector A - 1 (260nm)						
Pico	Tempo de retenção	Area	Area %	Altura	Altura %	
1	5,948	12501	14,784	529	13,348	
2	7,552	3459	4,091	371	9,354	
3	9,033	1442	1,706	29	0,736	
4	9,900	2077	2,456	105	2,640	
5	10,376	7231	8,552	344	8,665	
6	13,519	53563	63,344	2382	60,061	
7	14,983	3350	3,962	147	3,698	
8	15,400	934	1,105	59	1,499	
Total		84559	100,000	3966	100,000	



Cromatograma 3 Fração Lm-1(Solvente: H₂O:MeOH 7:3; fluxo de 0,7 mL/min)

TABELA 17 Parâmetros avaliados no cromatograma 3

Detector A - 1 (260nm)						
Pico	Tempo de retenção	Area	Area %	Altura	Altura %	
1	4,243	1689	3,695	168	8,656	
2	7,064	2385	5,218	132	6,815	
3	7,711	1713	3,748	83	4,248	
4	8,384	2836	6,206	156	8,009	
5	8,800	415	0,907	38	1,976	
6	10,347	1603	3,509	73	3,774	
7	16,295	35059	76,716	1293	66,521	
Total		45699	100,000	1944	100,000	



Cromatograma 4 Fração Lm-1(Solvente: H₂O:MeOH 7:3; fluxo de 1,0 mL/min)

TABELA 18 Parâmetros avaliados no cromatograma 4

Detector A - 1 (260nm)					
Pico	Tempo de retenção	Area	Area %	Altura	Altura %
1	3,191	1217	3,401	135	9,375
2	4,986	1645	4,599	91	6,298
3	5,467	1252	3,500	72	4,980
4	5,978	2957	8,266	133	9,246
5	7,178	910	2,543	70	4,867
6	11,124	27795	77,692	940	65,234
Total		35776	100,000	1441	100,000

Em uma análise de parâmetros cromatográficos isoladamente, notou-se algumas diferenças entre eles: analisando a altura dos picos nos diferentes cromatogramas, parâmetro que está diretamente ligado a concentração da substância na amostra, percebeu-se que no cromatograma 1 a substância majoritária (pico 6) tem aproximadamente o dobro da altura do mesmo constituinte nos cromatogramas 3 e 4, pico 7 e 6, respectivamente. Isto sugere que esse constituinte está mais concentrado, e que se usar este método para separação dos constituintes, pode-se ter um melhor rendimento da substância do que se usar os dois últimos métodos (cromatogramas 3 e 4). No entanto esta diferença pode ter decorrido de erro de aplicação da amostras, uma vez que a injeção foi manual, porém as aplicações foram realizadas em triplicatas e os resultados se repetiram.

Se analisarmos a área percentual dos picos, parâmetro que está diretamente ligado ao percentual dos componentes da amostra, percebeu-se que o constituinte majoritário (pico

6) no cromatograma 4, correspondeu a aproximadamente 78% da amostra, ao passo que esse mesmo constituinte nos cromatogramas 1 e 2 foram de aproximadamente 61,4% e 63,3%, respectivamente. Isto pode ter ocorrido por uma melhor solubilidade dos constituintes minoritários nos sistemas de solventes usados nos métodos 1 e 2 (cromatogramas 1 e 2).

No que diz respeito ao tempo de retenção e perfil do pico, todos os cromatogramas apresentaram um tempo de retenção para o constituinte majoritário variando de 10 a 16 minutos, tempo considerado bom para análise qualitativa e quantitativa. Quanto ao perfil do pico, todos apresentaram uma simetria no pico correspondente ao constituinte majoritário, significando que todos apresentam picos bem resolvidos.

No que diz respeito às resoluções entre os picos, apenas os cromatogramas 1 e 2 permitiram uma análise, pois nos cromatogramas 3 e 4, as quantidades dos constituintes minoritários na amostra eram pouco representativas, o que dificulta uma melhor interpretação dos resultados. Considerando os quatro constituintes majoritários nos dois primeiros cromatogramas, ambos mostram uma boa resolução entre os picos, indicando uma boa seletividade do método empregado.

Nos cromatogramas acima, onde variou-se os sistemas de solventes e fluxos da coluna, não foram observadas diferenças significativas entre si, e todos os cromatogramas mostraram resoluções boas entre picos, indicando boa seletividade do método e podendo qualquer um deles ser usado como método para separação dos componentes da amostra. Ainda sugere este método para análise do extrato bruto ou do fitoterápico que é produzido da casca do caule de *Licania macrophylla*, porém isto não dispensa o ensaio variando outros parâmetros.

4.7 RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.7.1 Atividade Antidiarreica do Extrato Metanólico das Cascas do Caule (EMC) de *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae)

4.7.1.1 Avaliação dos efeitos EMC de *L. macrophylla* na modulação da defecação normal

Na avaliação da modulação da defecação normal em camundongos foram administrado EMC de *Licania macrophylla* em diferentes concentrações, veículo e loperamida (droga padrão). Uma análise dos resultados obtidos (FIGURA 230) mostrou que o EMC de *Licania macrophylla* nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg não diminuiu de maneira significativa a defecação normal quando comparado ao grupo controle negativo (veículo), sugerindo que nessas doses o EMC não interfere de maneira significativa na modulação da defecação normal. O grupo controle positivo (loperamida), mostrou diferença significativa quando comparado ao veículo, sugerindo que este produto interferir na defecação normal, confirmando assim os dados da literatura (POONIA, 2007).

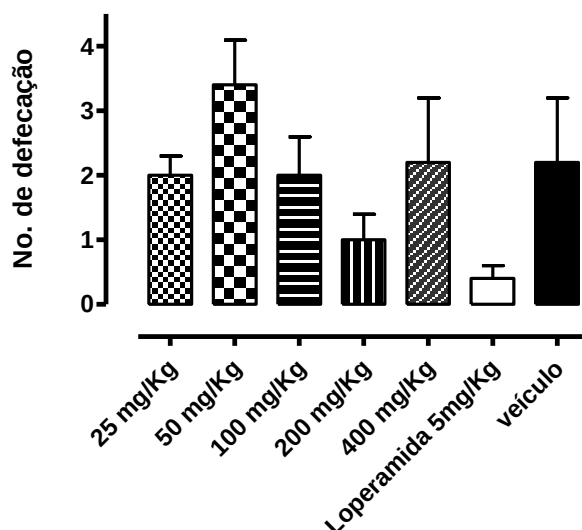


FIGURA 230 Efeito EMC (25, 50, 100, 200, 400 mg/Kg, n=5 para cada dose), veículo e loperamida (5mg/kg) sobre a defecação normal. Resultados expressos como média ± erro padrão da média.

4.7.1.2 Avaliação dos efeitos do EMC de *L. macrophylla* sobre a diarreia induzida por óleo de rícino

O EMC de *Licania macrophylla*, nas doses de 25, 50, 100, 200, 400 mg/kg, não foi capaz de inibir de maneira significativa o número de fezes totais (normais + diarreicas), nem fezes diarreicas (moles e aquosas) na diarreia induzida por um agente cartático (óleo de rícino 0,3 mL) quando comparado ao efeito promovido pelo veículo (Solução de Tween 80). Quando comparou-se o efeito da droga padrão antidiarréica (loperamida 5mg/Kg) ao efeito do veículo observou-se que houve uma diminuição significativa, tanto nas fezes totais quanto nas fezes diarreicas, confirmando assim os resultados encontrados na literatura (TANGPU, 2004). Comparando os valores absoluto da dose de 25 mg/Kg nas fezes totais e as doses de 25 e 50 mg/Kg nas fezes diarreicas ao valor absoluto do veículo, observou-se uma ligeira tendência a estimulantes da defecação, porém estatisticamente não significativa.

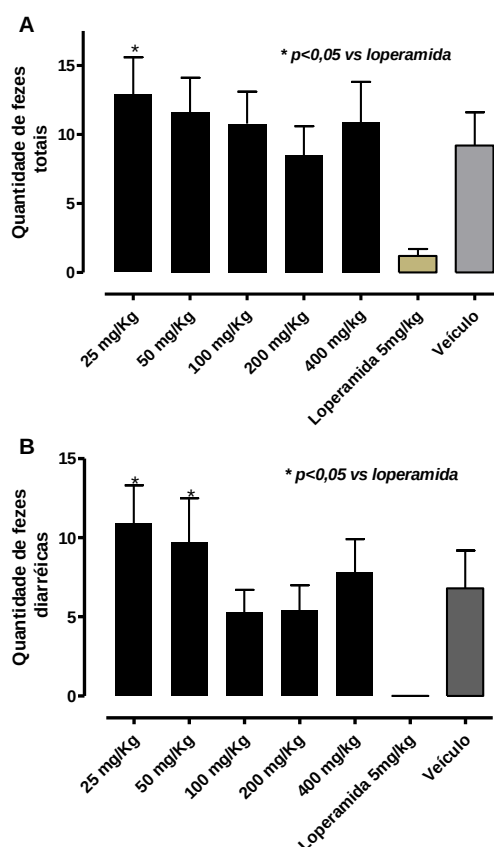


FIGURA 231 Gráficos mostrando o efeito de diferentes doses de EMC de *Licania macrophylla*, veículo e loperamida (5mg/kg) sobre a diarreia induzida com óleo de rícino. Em (A) fezes totais e (B) fezes diarreicas. Resultados expressos como média $\pm$ erro padrão da média, significância para $p < 0,05$.

4.7.1.3 Efeito do EMC de *L. macrophylla* sobre o trânsito intestinal estimulado

O efeito de EMC de *Licania macrophylla* nas doses de 25, 50, 100, 200, 400 mg/Kg, sobre o trânsito intestinal estimulado em camundongos não foi significativamente diferente do efeito observado em animais que receberam apenas o veículo (controle negativo), sugerindo que o EMC não interfere no trânsito intestinal estimulado. Quando comparou-se o valor encontrado para o grupo controle positivo (loperamida) ao grupo controle negativo (veículo), notou-se uma diferença significativa na diminuição do trânsito intestinal estimulado, confirmando os valores encontrados na literatura para esta droga (TANGPU, 2004).

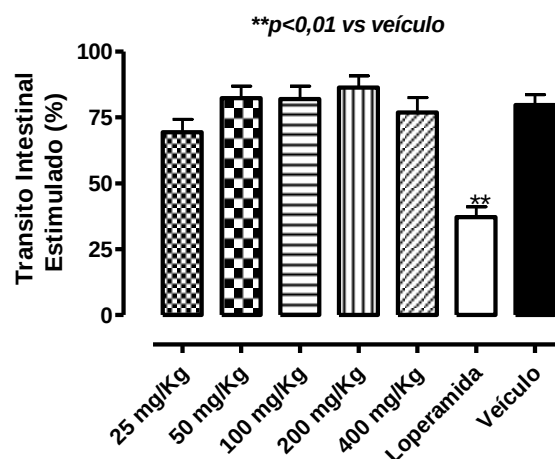


FIGURA 232 Efeito EMC (25, 50, 100, 200, 400 mg/Kg, n=5 para cada dose), veículo e loperamida (5mg/kg) sobre o trânsito intestinal estimulado. Resultados expressos como média $\pm$ erro padrão da média.

Os resultados até aqui obtidos mostraram que o EMC de *Licania macrophylla*, nas doses empregadas, não influenciou os parâmetros intestinais avaliados, seja em condições normais ou patologicamente induzidas.

4.7.2 Avaliação do Efeito Antimicrobiano de Extratos e Substâncias Isoladas de *Licania macrophylla*

Os extratos e substâncias isoladas de *Licania macrophylla* Benth foram avaliadas quanto a sua capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de bactérias patogênicas. Para a realização do teste da CIM foi utilizado o método de microdiluição em ágar, empregando doze cepas bacterianas, sendo três do grupo gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 13150, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 25923) e nove do grupo gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853, *Escherichia coli* ATCC 11105, *Escherichia coli* ATCC 18739, *Escherichia coli* Clássica, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Shigella flexner* MM 412, *Shigella sonnei* LM 07, *Salmonella spp* LM 08 e *Salmonella enterica* ATCC 6017).

Em ANEXO (p.266) são mostrados os resultados dos extratos e substâncias frente às diferentes linhagens de bactérias. Nas colunas de 1 a 12 (da esquerda para direita) foram distribuídas as bactérias especificadas no QUADRO 7 (pág. 65) e nas linhas A a F (de cima para baixo) foram distribuídos os extratos ou substâncias nas concentrações especificadas anteriormente.

Para classificação da atividade antimicrobiana foram considerados os seguintes critérios: atividade entre 10 e 100 µg/mL, foi considerado como boa; 101 a 500 µg/mL, como moderada; 501 a 1000 µg/mL, como fraca e acima de 1000 µg/mL como inativa. Este critério já foi empregado por outros autores (PETTO et al, 2005; HOLETZ et al, 2002).

O ensaio da CIM revelou que o EMC de *Licania macrophylla* apresentou atividade antimicrobiana semelhante à apresentada por **Lm-1**, sendo ativos contra as linhagens de *Staphylococcus aureus* ATCC 25928, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Escherichia coli* ATCC 10536. Utilizando a classificação adotada, o EMC apresentou atividade antibacteriana moderada para a linhagem de *Staphylococcus aureus* ATCC 25928 e fraca para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Escherichia coli* ATCC 10536, enquanto **Lm-1** apresentou boa atividade para *Staphylococcus aureus* ATCC 25928 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e fraca atividade para *Escherichia coli* ATCC 10536. Este resultado sugeriu que a atividade antibacteriana do EMC provavelmente se deve a presença de **Lm-1** nesse extrato, de onde foi isolado, sugerindo que esta substância

pode ser usada como marcador químico de produtos fitoterápicos preparados a partir deste extrato ou da parte da planta do qual foi obtido.

O EMF de *Licania macrophylla* apresentou-se ativo frente às diferentes cepas bacterianas testadas. Usando o critério de classificação adotado, EMF foi considerado moderadamente ativo contra as linhagens de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC10536 e *Salmonella enterica* ATCC 6017 e para as demais cepas foi considerada de atividade antibacteriana fraca (TABELA 19, pág. 254). Já **Lm-9** foi ativo contra a maioria das cepas bacterianas testadas, apresentando boa atividade para a linhagem de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e fraca atividade para as linhagens de *Staphylococcus aureus* ATCC 13150, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 11105, *Escherichia coli* ATCC 18739, *Escherichia coli* ATCC 10536 e *Shigella flexiner* MM 412. Enquanto que **Lm-4** foi ativo contra todas as cepas bacterianas testada, considerado de boa atividade para as linhagens de *Staphylococcus aureus* ATCC 13150, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Escherichia coli* ATCC 10536 e fraca atividade para todas as demais cepas testada (TABELA 19, pág. 254). Comparando as atividades de EMF, **Lm-4** e **Lm-9**, percebeu-se uma semelhança entre as atividades do extrato e dos compostos. Este resultado talvez resulte do fato dos dois compostos (**Lm-4** e **Lm-9**) terem sido isolados do EMF, o que indica que a atividade do extrato se deva em parte a presença desses constituintes.

As interpretações dos resultados do EMF e de **Lm-9** foram dificultadas pela presença de coloração, confundindo com a cor azul do indicador, o que sugere uma confirmação dos resultados obtidos através do emprego de outras técnicas experimentais.

TABELA 19 Concentração Inibitória Mínima (CIM) do EMC e EMF de *Licania macrophylla* e Lm1-1, Lm-4 e Lm-9

Microorganismo	EMF (µg/mL)	EMC (µg/mL)	Lm-1 (µg/mL)	Lm-4 (µg/mL)	Lm-9 (µg/mL)
<i>S. aureus</i> ATCC 13150	1000	-	-	50	100
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	500	250	25	25	50
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	1000	-	-	100	100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25853	1000	1000	50	50	100
<i>E. coli</i> ATCC 11105	1000	-	-	100	100
<i>E. coli</i> ATCC 18739	1000	-	-	100	100
<i>E. coli</i> Clássica	1000	-	-	100	-
<i>E. coli</i> ATCC 10536	500	1000	100	50	100
<i>S. flexiner</i> MM 412	1000	-	-	100	100
<i>S. sonnei</i> LM 07	1000	-	-	100	-
<i>Salmonella spp</i> LM 08	1000	-	-	100	-
<i>S. enterica</i> ATCC 6017	500	-	-	100	-

(-) não detectado

Em uma análise conjunta dos resultados obtidos com EMC sobre a atividade antidiarreica e antimicrobiano foi considerado que EMC a pesar de não ter exercido nenhuma influência nos parâmetros intestinais avaliados, mostrou um bom resultado frente a diversas bactérias causadoras de infecções intestinas, muitas vezes responsáveis por diarreias severas. Este achado auxilia a justificar o uso popular desta espécie, bem como o emprego de um fitoterápico a base de tintura da casca do caule como antidiarréico. No entanto, este fato não isenta o aprofundamento dos estudos químicos e farmacológicos de maneiras coordenadas, a fim de comprovar a atividade a qual é empregada, bem respaldar o uso pela população.

CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das cascas do caule e folhas das espécies *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae) e *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (Sapotaceae) levou ao isolamento e identificação de quinze substâncias, sendo 3 flavonoides, 3 feofitinas, 4 esteróides, 2 triterpenos e 3 ésteres de triterpenos, as quais foram identificadas através de técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e comparações com valores da literatura.

Da espécie *Licania macrophylla* foram obtidos o extrato metanólico das cascas do caule (EMC) e extrato metanólico das folhas (EMF). Do EMC foram isolados dois flavonóides, Lm-1 [(-)-4'-O-metil-epigallocatequina-3'-O- α -L-raminosídeo] e Lm-2 [(-)-4'-metil-epigallocatequina], sendo o primeiro não relatado na literatura. Do EMF foram isolados três feofitinas, Lm-3 (feofitina A), Lm-4 (13²-hidróxi-(13²-S)-feofitina A) e Lm-5 (feofitina B); três esteróides, Lm-6a (β -sitosterol), Lm-6b (estigmasterol) e Lm-7 (β -O-glicosídeo-sitosterol) e dois triterpenos, Lm-8 (ácido betulínico) e Lm-9 (ácido oleanólico).

Da espécie *Pradosia huberi* também foram obtidos o extrato metanólico das cascas do caule (EMC) e extrato metanólico das folhas (EMF). Do EMC foi isolado um flavonóide, Ph-1 (2,3-dihidromiricetina-3- α -L-O-raminosídeo), Ph-2 (éster graxo do eritrodíol); Ph-3 (éster graxo do ácido oleanólico); Ph-4 (éster graxo do ácido betulínico) e Ph-5 (uma mistura de Ph-2 e o esteróide espinasterol).

O resultado da avaliação da atividade antidiarreica do EMC de *Licania macrophylla* mostrou que esse não interfere nos parâmetros intestinais: modulação da defecação normal; diarreia induzida por agente catártico e trânsito intestinal estimulado. Já quando esse mesmo extrato foi testado em cepas bacterianas de diferentes linhagens, foi ativo frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 25928, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Escherichia coli* ATCC 10536, resultado semelhante ao obtido para Lm-1, mostrando uma relação direta entre o extrato e a substância isolada, sugerindo que a ação do extrato se deve, ao menos em parte, a presença desta substância. Este fato auxilia na justificativa do uso popular das cascas do caule de *Licania macrophylla* como antidiarréico. O EMF de *Licania macrophylla* mostrou-se ativo frente a todas as cepas bacterianas testadas, resultado semelhante foi observado para Lm-4 e Lm-9.

No que se referem às avaliações dos perfis cromatográficos em CLAE, os resultados mostraram que os métodos testados não apresentaram diferenças significantes entre eles, e

que foram seletivos para a substância majoritária, podendo servir de parâmetros no desenvolvimentos de métodos analítico para uso em controle de qualidade ou como método de separação dos componente do extrato.

Do ponto de vista da quimiotaxonomia das famílias Chrysobalanaceae e Sapotaceae, o isolamento de um flavonóide glicosilado na espécie *Licania macrophlla*, substância reconhecida pela literatura como marcador quimiotaxonômico da família Chrysobalanaceae, juntamente com outras substâncias como triterpenos, anteriormente isoladas neste gênero ou em outros, resalta a contribuição deste trabalho para a quimiotaxonomia desta família. Da mesma forma, as substâncias isoladas da espécie *Pradosia huberi*, como flavonóide glicosilado, anteriormente isolado na mesma espécie, assim com como a presença dos ésteres de triterpenos e o espinasterol isolados em outros gêneros da família Sapotaceae, configuram marcadores quimiotaxonômicos desta família.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids**. New York: Elsevier, 1998. 563p.
- ALMEIDA, R. N.; BARBOSA FILHO, J. M.; NAIK, S. R. Chemistry and pharmacology of an ethanol extract of *Bumelia sartorum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.14, n.2-3, p.173-185, 1985.
- ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. ; MAIA, J. G. S. Constituintes químicos voláteis dos frutos de *Licania tomentosa* Benth. **Acta Amazônica**, v.28, n.1, p.55-58, 1998.
- BADISA, R. et al. *Licania michauxii* Prance root extract induces hsp 70 mRNA and necrotic cell death in cultured human hepatoma and colon carcinoma cell lines. **Cancer Letters**, v.149, p.61-68, 2000.
- BARREIROS, M. L. et al. Fatty acid esters of triterpenes from *Erythroxylum passerinum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.13, n.5, p. 660-673, 2002.
- BARREIROS, M. L.. **Ácidos Graxos Esterificados com Triterpenos de Espécies do Gênero Erythroxylum**. 2001. 116f.. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001.
- BILIA, A. R. ; MENDEZ, J.; MORELI, I. Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids and triterpenoids from *Licania carii*. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v.71, n.3, p.191-197, 1996a.
- BILIA, A. R. et al. Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids from *Licania pyrifolia*. **Pharmaceutics Acta Helvetiae**, p.7 1, p.199-204, 1996b.
- BILIA, A. R. et al. Molluscicidal and piscicidal activities of venezuelan chrysobalanaceae plants. **Life Sciences**, v.66, n.4, p.53-59, 2000.
- BISPO, M. D. et al. Avaliação da atividade antiedematogênica e antinociceptiva do extrato aquoso de *Bumelia sartorum* mart. **Bioogia Geral Experimental**, v.1, n.1, p. 36–41, 2000.
- BOLETI, A. P. A. et al. Insecticidal and antifungal activity of a protein from *Pouteria torta* seeds with jectin-like properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v.55, p.2653-2658, 2007.
- BRACA, A. et al. Flavonoids and triterpenoids from *Licania heteromorpha* (Chrysobalanaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.27, p.527-530, 1999a.
- BRACA, A. et al. Three flavonoids from *Licania heteromorpha*. **Phytochemistry**, p.51, p.1121-1124, 1999b.
- BRACA, A. et al. Antimicrobial triterpenoids from *Licania heteromorpha*. **Planta Medica**. v.66, n.8, p.768-769, 2000.

BRACA, A. et al. Myricetin glycosides from *Licania densiflora*. **Fitoterapia**, v.72, p.182-185, 2001a.

BRACA, A. et al. Triterpenes from *Licania licaniaeflora*. **Fitoterapia**, v.72, p.585-587, 2001b.

BRACA, A. et al. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p.379-381, 2002a.

BRACA, A.; LUNA, D.; MENDEZ, J. Flavonoids from *Licania petala* and *Licania licaniaeflora* (Chrysobalanaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, p.271-273, 2002b.

BRACA, A. et al. Chemical and biological studies on *Licania* genus. **Studies in Natural Products Chemistry 28 (Bioactive Natural Products (Part I))**, p.35-67, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**, 2006. 148 p.

BRITO CRUZ, C. H. A Universidade, a empresa e a pesquisa que o país precisa. **Política e organização da Inovação tecnológica**, v.8, p.5-30, 2000.

BUCHANAN, M. S.; HASHIMOTO, T.; ASAKAWA, Y. Phytol esters and phaeophytins the hornwort *Megaceros flagellaris*. **Phytochemistry**, v.41, n.5, p.1373-1376, 1996.

CAI, Y.; TING, C.; XU, Q. Astilbin suppresses delayed-type hypersensitivity by inhibiting lymphocyte migration. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.55, n.5, p.691-696, 2003.

CARNEIRO, E. et al. Isolation, chemical identification, and pharmacological evaluation of eucryphin, astilbin, and engelitin obtained from the bark of *Hymenaea martiana*. **Internacional Journal of Pharmacognosy**, v. 31, n. 1, p. 38-46, 1993.

CARVALHO, G. J. A. de et al. Diterpenos, triterpenos e esteróides das folhas de *Wedelia paludosa*. **Química Nova**, v.24, n.1, p. 24-26, 2001.

CARVALHO, M. G. et al. Chromones from *Licania arianeae* (Chrysobalanaceae). **Natural Product Research**, v.19, n.1, p.7-12, 2005.

CASTILHO, R. O. **Química de *Chrysobalanus icaco* L. e *Licania tomentosa* Benth (Chrysobalanaceae): Plantas brasileiras com potencial terapêutico**. 2001. Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2001.

CASTILHO, R. O.; KAPLAN, M. A. C. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* benth. (Chrysobalanaceae). **Química Nova**, v.31, n.1, p.66-69, 2008.

CASTILHO, R. O.; OLIVEIRA, R. R.; KAPLAN, M. A. C. Licanolide, a new triterpene lactone from *Licania tomentosa*. **Fitoterapia**, v.76, p.562–566, 2005.

CECHINEL-FILHO, V. et al. Antinociceptive and anti-edematogenic properties of astilbin, taxifolin and some related compounds. **Planta Medica**, v.50, n.3, p.281-285, 2000.

CHAGAS, L. S. et al. Avaliação antinociceptiva de *Pouteria*. In: **XVIII Reunião Anual da FESBE, 2003**, Curitiba, Paraná. Anais da XVIII Reunião Anual da FESBE, 2003.

CHAUDHURI, S. K. et al. Licamichauxiioic-a and -b acids – two ent-kaurene diterpenoids from *Licania michauxii*. **Natural Product Letters**, v.16, n.1, p.39–45, 2002.

CHAVES, M. H. et al. Caracterização Química do Óleo da Amêndoa de *Sterculia striata* ST. HIL. ET. NAUD. **Química Nova**, v.27, n.3, p. 404-408, 2004.

CHE, C. T. et al. Triterpenos of *Pouteria torata* (Sapotaceae). **Planta Medica**, v.43, n.3, p.420-421, 1980.

CINTRA, P. et al. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.13, n.1, p.115-118, 2002.

CLEELAND, R., SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D., ed. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 739-789, 1991.

CLOSA, D. et al. Prostanoids and free radicals in C14C-induced hepatotoxicity in rats: effect of astilbin. **Prostaglandins, leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.56, n.4, p. 331-334, 1997.

CORADIN, L.; GIANNASI, D. E.; PRANCE, A. T. Chemosystematic studies in the Chrysobalanaceae. Flavonoids in *Parinari*. **Brittonia**, v.37, n.2, p.169-178, 1985.

DAR, A. et al. Hypotensive effect of the methanolic extract of *Mimusops elengi* in normotensive rats. **Phytomedicine**, v.6, n.5, p.373-8, 1999.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**, Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926-1978, IV, 111p. 1986.

DAVID, J. M. et al. Estudo Fitoquímico de *Dalvillia rugosa*: flavonóides e terpenóides. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, p.105-108, 2006.

DAVID, J. M. et al. Flavonóides e triterpenos de *Stigmaphyllon paralias*. **Química Nova**, v.26, n.4, p. 484-487, 2003.

DAVID, V. Aplicação de técnicas cromatográficas na separação e identificação de triterpenos e hidrocarbonetos presentes nas flores, frutos e xilopódio de *Pouteria torta*. 1993. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1993.

DE SMET, P. A. G. M. et al. Introduction to the pharmacoeconomics of herbal medicines. **Pharmacoeconomics**, v.18, n.1, p.1-7, 2000.

DRISSI A. et al. Evidence of hypolipemiant and antioxidante properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). **Clinical Nutrition**, v.23, n.5, p.1159-1166, 2004.

DU, Q.; et al. Purification of (+)-dihydromyricetin from leaves extract of *Ampelopsis grossedentata* using high-speed countercurrent chromatography with scale-up triple columns. **Journal of Chromatography A**, v.973, p.217-220, 2002.

FALCÃO, D. Q. **Estudo químico e farmacológico de quatro espécies de *Hyptis* do estado do Rio Grande do Sul**. 2003. 178f.. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

FERNANDES, J. et al. Pentacyclic triterpenes from Chrysobalanaceae species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines. **Cancer Letters**, v.190, p.165–169, 2003.

FERREIRA, E. S.; MEDEIROS, F. A. e MEDEIROS, A. A. N. Estudo Fitoquímico Preliminar de *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae). **56º. Congresso Nacional de Botânica**, Curitiba-PR, 2005a.

FERREIRA, E. S.; MEDEIROS, F. A. e MEDEIROS, A. A. N. Estudo Fitoquímico Preliminar de *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke (Sapotaceae). **56º. Congresso Nacional de Botânica**, Curitiba-PR, 2005b.

FRANÇA, C. V. et al. Fitoquímica do extrato hexano de *Pouteria camito*. In: **XII Congresso de Iniciação Científica da UnB e 3º Congresso de Iniciação Científica do DF, 2006**. Brasília, Livro de Resumos, 2006.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n.2, p.178-182, 2005.

GALVEZ, J., ZARZUELO, A., CRESPO, M.E., Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid. **Planta Medica**, v.59, p.333–336, 1993.

GRENAND, P., MORETTI, C., JACQUEMIN, H. **Pharmacopées Traditionnelles en Guyane**. Paris: Institut François de Recherche Scientifique pour le Developpement en Coopération, ORSTOM, 186p, 1987.

HADACEK, F. and GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice, **Phytochemical Analysis**, v.11, p.137–147, 2000.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.1027-1031, 2002.

HOTTA, M. & IMOKAWA, G. Effect of flavanone on hair growth. **Fragrance Journal**, v.31, n.2, p.33-40, 2003.

HUSSEIN, G. et al. Phenolics from *maytenus senegalensis*. **Phytochemistry**, v.50, p.689-694, 1999.

JACQUEMIN, H.; et al. Flavonoids of *Glycoxylon huberi* Ducke. **Annual Pharmacology France**, v. 43, n.5, p. 521-525, 1985.

JERZ, G. et al. Structural chracterization of 13²-hydroxy-(13²-S)-phaephytin-a from leaves and stems of *Amaranthus tricolor* isolated by high-speed countercurrent chromatography. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.8, p.413-418, 2007.

KOJIMA, H. et al. Sterol glycosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v.29, p.2351-2355, 1990.

KUKACHKA, B. F. Wood anatomy of the neotropical Sapotaceae. XXII. Pradosia Florest Products Lab Madson Wi, 1981.

KUSHIMA, H. et al. Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulphhydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v.101, n.1, p.61-67, 2005.

LEE, IK-SOO et al. Cell-cycle specific cytotoxicity mediated by rearranged ent-kaurene diterpenoids isolated from *Parinari curatellifolia*. **Chemico-Biological Interactions**, v.99, p. 193-204, 1996.

LÔBO, L. T. et al. Potencial alelopático de catequinas de *Tachigali myrmecophyla* (Leguminosae). **Química Nova**, v.31, n.3, p.493-497, 2008.

LOPEZ, K. S. E. **Estudo Químico e Atividade Biológica de *Pouteria torta* (Mart.) Raldk (Sapotaceae)**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

MA, J. et al. Analysis of polyphenolic antioxidant from the fruits of the three *Pouteria* species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.5873-5878, 2004.

MAHATO, S. B.; SEN, S. Advances in triterpenoid research, 1990-1994. Review article number 118. **Phytochemistry**, v.44, n.7, p.1185-1236, 1997.

MAHATTANATAWEE, K. et al. Total antioxidant acivity and fiber content of select Florida-grown topical fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.7355-7363, 2006.

MAIA, G. L. A. **Estudo fitoquímico da espécie *Anadenanthera columbrina* var. *cebil* (Griseb.) Reis (Fabaceae).** 2008. 151p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB, João Pessoa, 2008.

MANN, C. M. and MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.84, p.538–544, 1998.

MANOSROI, A.; SARAPHANCHOTTIWITTHAYA, A.; MANOSROI, J. *In vitro* immunomodulatory effects of *Pouteria cambodiana* (Pierre ex Dubard) Baheni extrat. **Journal of Ethnopharmacology**, v.101, n.1-3, p.90-94, 2005.

MARANZ, S.; WIESMAN, Z. Phenolic constituents of shea kernels (*Vitellaria paradoxa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.21, p.6268-6273, 2003.

MATSUO, A. et al. Pheophytins from a Cell Suspension Culture of the Liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v.42, p.427-430, 1996.

MELO, L., THOMAS, G., MUKHERJEE, R., Antidiarrheal activity of bisnordihydroxytoxiferine isolated from the root bark of *Strychnos trinervis* (Vell) Mart (Loganiaceae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.40, p.79–82, 1988.

MELOS, J. L. R. et al. Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum tetraphyllum* humb. & bonpl. ex. willd (Pteridaceae). **Química Nova**, v.30, n.2, p.292-297, 2007.

MENDEZ, J.; BILIA, A. R.; MORELLI, I. Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids and triterpenoids from *Licania pittieri*. **Pharmaceutics Acta Helvetiae**, P.70, P.223-226, 1995.

MIRANDA, M. M. F. S. et al. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). **Phytomedicine**, v.9, p.641–645, 2002.

MIZUTANI, K. et al. Antitumor-promotion activities of dihydroflavonoids from kohki tea the leaves of *Engelhardtia chrysolepis*. **Food Factors for Cancer Prevention**, p.607-612, 1998.

MONTENEGRO, L. H. M. et al. Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, (Supl.), p.611-617, 2006.

NCCLS. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th ed. NCCLS document M2-A7. NCCLS, Wayne, Pa.

NCCLS. 2004. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Fourteenth informational supplement. NCCLS document M100-514. NCCLS, Wayne, Pa.

NUNES, M. M. **Atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Redlk., Sapotaceae.** 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

OBERLIES, N. H. et al. Bioactive Constituents of the Roots of *Licania intrapetiolaris*. **Journal of Natural Products**, v.64, p. 497-501, 2001.

OHMORI, K. et al. Firts synthesis of astilbin, biologically active glycosyl flavonoid isolated from Chinese folk medicine. **Tetrahedron Letters**, v.41, p.5537-5541, 2000.

OLIVEIRA, L. G. et al. Informação de patentes: ferramenta indispensável para a pesquisa e o desenvolvimento tecnológico. **Química Nova**, v. 28, (Supl), p.36-40, 2005.

PAULETTI, P. M. et al. Triterpenos de *Styrax camporum* (Styracaceae). **Química Nova**, v.25, n.3, p. 349-352, 2002.

PELLICCIARI, R.; ARDON, A.; BELLAVISTA, V. Terpene from *Pouteria caimito*. **Planta Medica**, v.22, p.196-200, 1972.

PENNINGTON T. D. **The genera of Sapotaceae.** Royal Botanic Gardens, Kew and The New York Botanical Garden, 1991.

PENNINGTON T. D. **Sapotaceae Flora Neotropica.** Monograph 52. The New York Botanical Garden, New York, p.1-770, 1990.

PERFEITO, J. P. et al. Characterization and biological properties of *Pouteria torta* extracts: a preliminary study. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.3, p.183-186, 2005.

PETTO, J. B. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the South of Brazil. **Journal Ethnopharmacology**, v.90, p.135-143, 2004.

PIANCETE, S. et al. Anadanthoside: a flavonol-3-O- β -D-xylopyranoside from *Anadenanthera macrocarpa*. **Phytochemistry**, v.51, p.709-711, 1999.

PINTO, ANGELO C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, supl.1, p.45-61, 2002.

PINTO, D. S. **Primeiros estudo quimiotaxonômicos do gênero *Richardia*: Fitoquímica da espécie *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae).** 2008. 146p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB, João Pessoa, 2008.

PRANCE, G. T. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Chrysobalanaceae. **Rodriguésia** v.58, n.3, p.493-531, 2007.

POONIA, B. S.; SASMAL, D.; MAZUNDAR, P. M. Anti-diarrheal activity of methanol extract of *Litsea polyantha* bark in mice. **Fitoterapia**, v.78, p.171–174, 2007.

RAMALHO, L. S. et al. Avaliação da atividade citotóxica e antimicrobiana de extratos de *Pouteria ssp.* In: **Congresso Ibero-americano de Plantas Medicinais. III Jornada de Fitoterapia do Rio de Janeiro, 2004**, Angra dos Reis. Livro de Resumos, 2004.

REGASINI, L. O. et al. Constituintes químicos das flores de *Pterogyne nitens* (Caesalpinioideae). **Química Nova**, v.31, n.4, p.802-806, 2008.

RODRIGUES, R. M. et al. **A Flora da Amazônia**, Belém: CEJUR, p.33-34, 1989.

SCHWIKKARD, S. L.; MULHOLLAND, D. A.; HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fischeri*. **Phytochemistry**, v.49, n.8, p.2391-2394, 1998.

SHEN, CHIEN-CHANG et al. Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroflavonoids. **Phytochemistry**, v.34, n.3, p.843-845, 1993.

SILVA, F. M.; LACERDA, P. S. B.; JONES JUNIOR, J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química Nova**, v.28, n.1, p.103-110, 2005.

SILVA, D. A. et al. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Dida galheirensis* ULBR. (Malvaceae). **Química Nova**, v.29, n.6, p.1250-1254, 2006a.

SILVA, J. C. et al. Obtenção de fração flavonoídica do extrato etanólico de *Pouteria torta*. In.: XII Congresso de Iniciação Científica da UnB e 3º Congresso de Iniciação Científica do DF, 2006, Brasília. Livro de Resumos, 2006b.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia : da planta ao medicamento**. 4ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRS, 2002.

SLIMESTAD, R.; ANDERSEN, O. M.; FRANCIS, G. W., Ampelopsin-7-O-glucoside and other dihydroflavonol-7-O-glucosides from needles of *Picea abies*. **Phytochemistry**, v.35, n.2, p.550-552, 1994.

SOUZA, A. D. L. et al. Constituintes químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae). **Química Nova**, v.24, n.4, p.439-442, 2001.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**, v.6, 2005. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>. Acesso em: 20 maio de 2005.

TANGPU, V.; YADAV, A. V. Antidiarrhoeal activity of *Rhus javanica* ripen fruit extract in albino mice. **Fitoterapia**, v.75, p.39-44, 2004.

TOMAZ, A. C. A. et al. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n1, p.47-52, 2008.

VAN ROOSMALEN, M. G. M; GARCIA, O. M. C. G. Fruits of the amazonian forest. Part II: Sapotaceae. **Acta Amazônica**, v.30, n.2, p.187-290, 2000.

VISHER, P., CASALS-STENZEL, J., Influence of prostacyclin and indomethacin on castor oil induced gastrointestinal effects in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.35, p.152–155, 1982.

WU, QING-LI et al. Cromone Glycosides and flavonoids from *Hipericum japonicum*. **Phytochemistry**, v.49, n.5, p.1417-1420, 1998.

YANG, SHU-WEI, et al. Synthesis and biological evaluation of analogues of cryptolepine, an alkaloid isolated from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products**, v.62, n.7, p.976-983, 1999.

YUN, B. et al. Lipid peroxidation inhibitory activity of some constituents isolated from the stem bark of *Eucalyptus globulus*. **Archives of Pharmacal Research**, v.23, n.2, p.147-150, 2000.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova** 24 (1): 147- 152, 2001.

ZANON, R. B. et al. Fitoconstituintes isolados da fração em diclorometano das folhas de *Vernonia tweediana* Baker. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.226-229, 2008.

ANEXOS

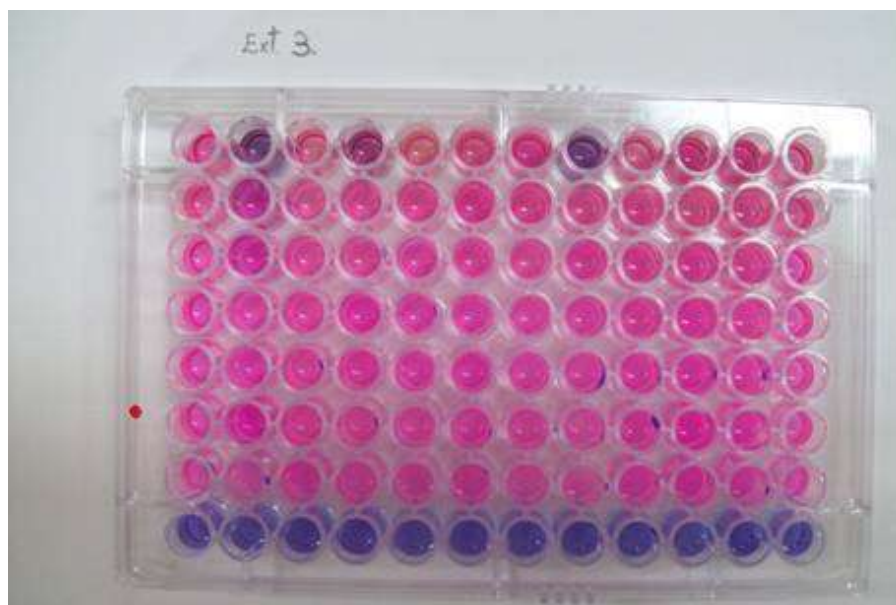


FOTO 1 Ensaio de CIM do EMC de *Licania macrophylla* frente as bactérias selecionadas

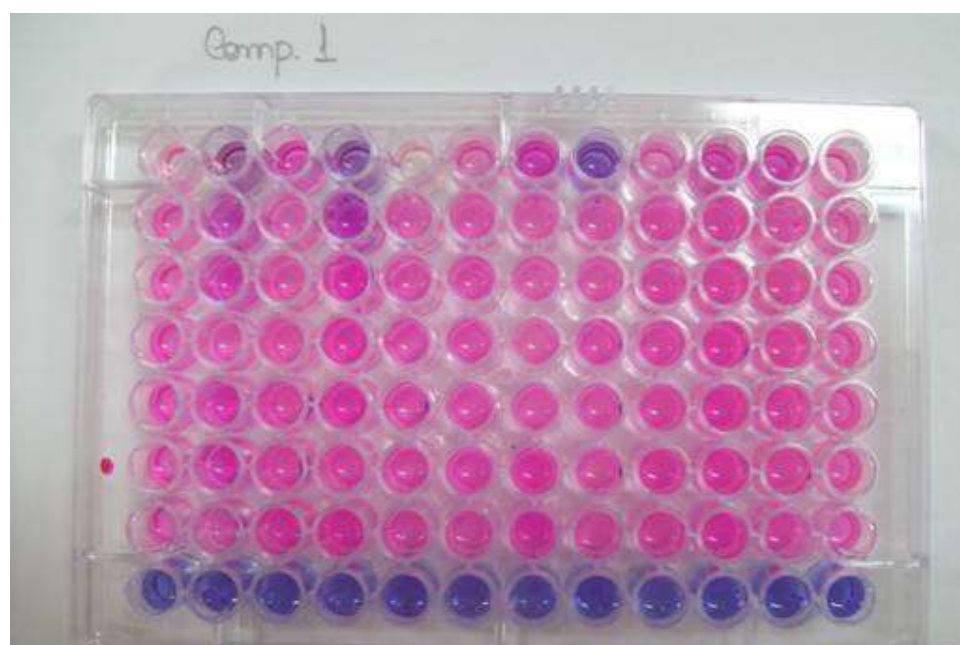


FOTO 2 Ensaio de CIM do Lm-1 (epigallocatequina-3'-raminosídeo) isolado de *Licania macrophylla* frente as bactérias selecionadas

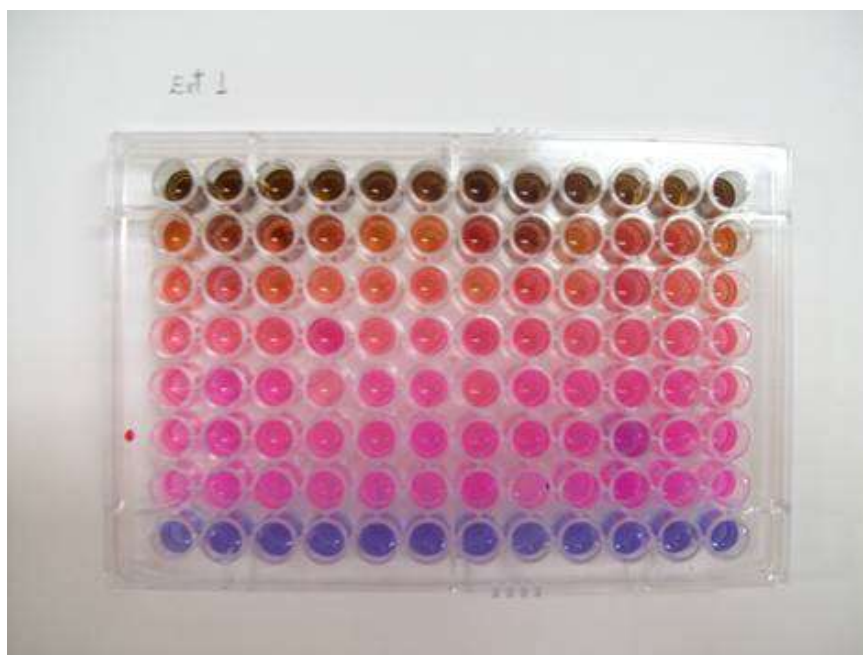


FOTO 3 Ensaio da CIM do EMF de *Licania macrophylla* frente as bactérias selecionadas

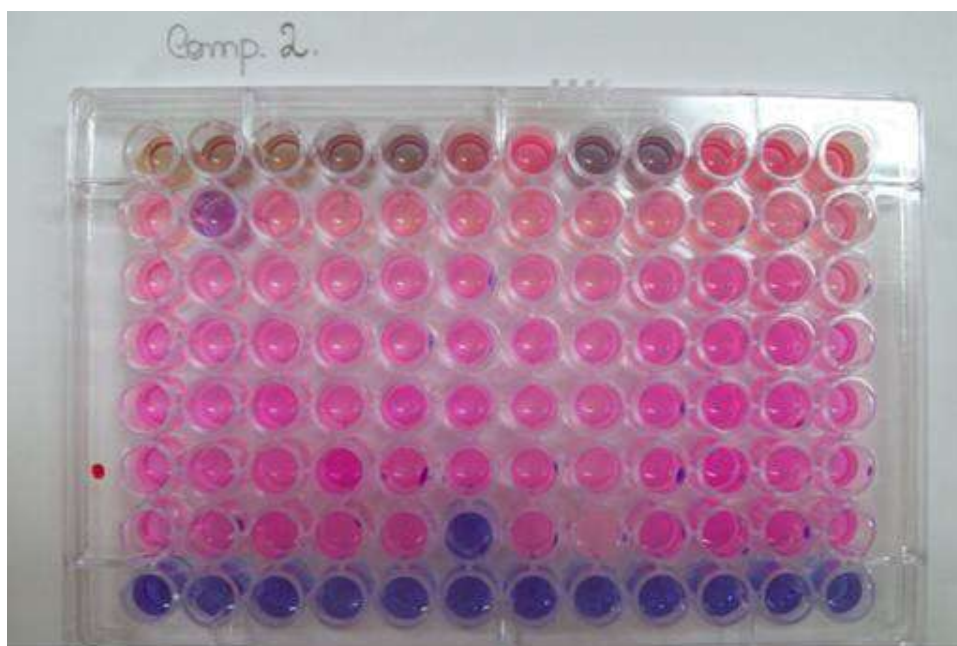


FOTO 4 Ensaio de CIM de Lm-9 (ácido oleanólico) isolado do EMF de *Licania macrophylla* frente as bactérias selecionadas

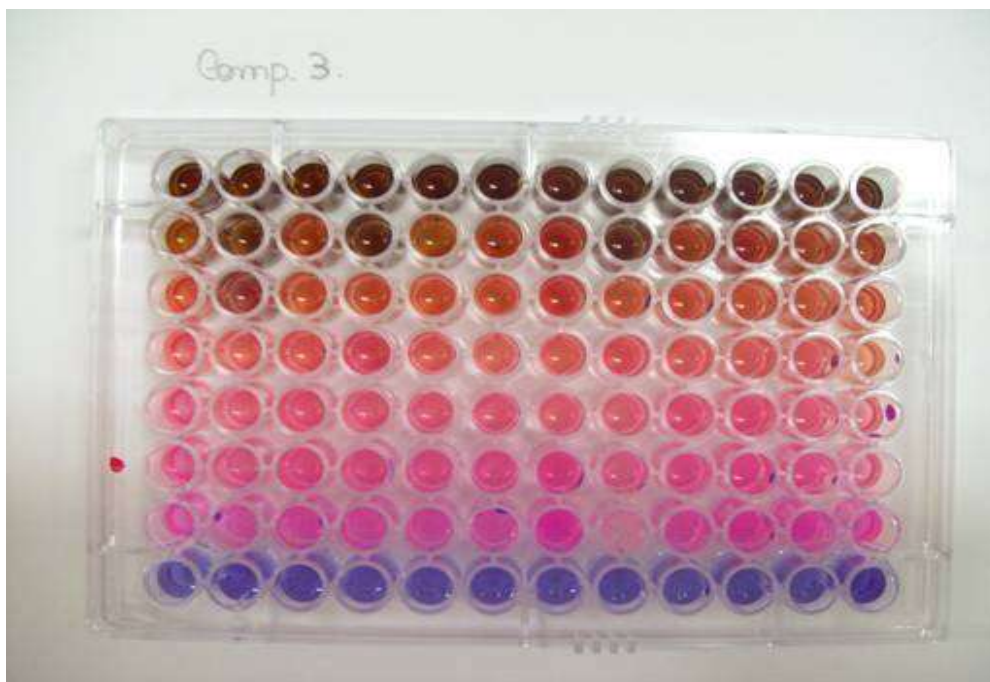


FOTO 5 Ensaio de CIM da Lm-4 (Feofitina B) isolado do EMF de *Licania macrophylla* frente as bactérias selecionadas