



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Caline Gomes Ferraz

BENZOFENONAS, TRITERPENOS E  
ESTERÓIDES DE *CLUSIA burle-marxii*

Salvador  
2005

Caline Gomes Ferraz

**Caline Gomes Ferraz**

**BENZOFENONAS, TRITERPENOS  
E ESTERÓIDES DE *CLUSIA burle-marxii***

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz

Salvador  
2005

## AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em todos momentos de minha vida.

A minha família, pela compreensão, dedicação e apoio.

A Marlene por ter me feito acreditar que é possível recomeçar de novo.

Ao Prof. Frederico Guaré (Chefão) pela orientação, pelos conselhos, pelas palavras fortes e decididas, um verdadeiro cientista.

A Nelson, pelos bons momentos, incentivo, amizade.

Ao meu pequeno bichinho, essencial, um inspirador .

A Helen e Serginho, pela amizade, carinho, companheirismo.

As minhas amigas Ivoneide, Maiara, pelo conselhos em todos os momentos.

A minha grande amiga Isley, uma encorajadora, lutadora que sempre me incentivou a percorrer este caminho tão difícil.

A Vania e Luciana sempre generosas e pacientes. Obrigada pelos conselhos.

A Lourdes, pelo acréscimo de conhecimentos, respeito, atenção em diversos momentos.

Aos meus recentes amigos Giselle e Fernando pela força e amizade.

A todos meus colegas do GESNAT pelos bons momentos, pelas risadas.

Ao prof. Edilberto Silveira, coordenador do CENAUREMN e a Daniel pelos espectros de RMN 500 MHz.

Aos professores Miguel, José Roque, Lafaiete, Nídia, Silvio, Jorge, Dirceu pelo apoio científico.

A Cristovão, Paulo, Alice, Judth, Tadeu e todos meus colegas do departamento de Química Orgânica pelos momentos alegres e descontraídos.

A Capes pelo apoio financeiro.

## RESUMO

O presente trabalho relata o estudo fotoquímico do extrato hexânico do caule de *Clusia burle-marxii* (Clusiaceae). O espécime foi coletado nas proximidades da Cachoeira do Fraga no município de Rio de Contas, Chapada Diamantina, Bahia.

Do extrato hexânico do caule possibilitou o isolamento, identificação e determinação de algumas classes de metabólitos. Foram isolados dois triterpenos, quatro esteróides, dez benzofenonas e dez ésteres graxos. Estas substâncias foram obtidas por processos de fracionamento em coluna cromatográfica e cromatografia em camada delgada preparativa. Os triterpenos (Friedelina e Friedelinol), os esteróides ( $\beta$ - Sitosterol, Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, Estigmast-7-en- 3 $\beta$ -ol-6-ona) e a benzofenona (Nemorosonol) foram identificadas por análises de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , DEPT e por comparação com os dados descritos na literatura. Este procedimento foi usado para determinação estrutural do esteróide inédito Estigmast-7-en- 3 $\beta$ -ol-6-ona. Os ésteres graxos (Tetradecanoato de metila, Pentadecanoato de metila, Hexadecanoato de metila, Heptadecanoato de metila, Octadecanoato de metila, Nonadecanoato de metila, Eicosanoato de metila e Docosanoato de metila) foram identificados após análise de EM.

Para determinação estrutural da benzofenona inédita foram utilizadas as técnicas de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , DEPT, HMBC, HSQC.

Palavras-chave: Clusiaceae, *Clusia*, benzofenonas, triterpenos, esteróides, ésteres graxos.

## ABSTRACT

The present work described the phytochemistry study the wood hexane extracts studies of specie *Clusia burle-marxii*. The specie was collected nearby Cachoeira do Fraga in the Rio de Contas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil.

The wood hexane extracts allowed the isolations, identification and structural determination of some metabolites class. Two triterpenes, four steroids, ten benzophenones, ten fatty esters. These substances were obtained by fractionation through preparative thin layer chromatography and chromatography column. The triterpenes ( Friedeline and Friedelinol), the steroids ( $\beta$ - Sitosterol, Stigmast-5-ene-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, Stigmast-5-ene-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, and the benzophenone (Nemorosonol) were identified by  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT analysis and comparison with the data from literature. This same procedure was used in the novel steroid Stigmast-7-en-3 $\beta$ -ol-6-ona structural determination. The fatty esters (methyl tetradecanoate, methyl pentadecanoate, methyl hexadecanoate, methyl heptadecanoate, methyl octadecanoate, methyl nonadecanoate, methyl eicisanoate and methyl docosanoate) were identified by MS analysis.

The structural determination of the new benzophenone was performed by NMR spectroscopy techniques ( $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT, HMBC, HMQC).

Key works: Cluseaceae, *Clusia*, benzophenones, triterpenes, steroids, fatty esters.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DCM-diclorometano

*d*- duplete

*dd*- duplo duplete

*J*- constante de acoplamento

*m*- multiplete

*m/z*- relação massa/ carga do íon

ppm- parte por milhão

*s*- simpleto

*sl*- simpleto largo

*t*- tripleto

$\delta$ - deslocamento químico

CCDC- cromatografia em camada delgada comparativa

CCDP- cromatografia em camada delgada preparativa

DEPT- “ Distortionless Enhancement Polarization Transfer” (intensificação do sinal sem distorção por transferência de polarização)

EM- espectrometria de massa

GESNAT- Grupo de Estudos de Substancias Naturais

COSY- espectro de correlação homonuclear( hidrogênio-hidrogenio)

RMN de  $^1\text{H}$  - ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de  $^{13}\text{C}$ - ressonância magnética nuclear de carbono 13

CoA- Coenzima A

PAL- Fenilalanina Amônia Liase

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
Figura 1	Árvores, arbustos e trepadeiras de <i>Clusia</i>	3
Figura 2	Flores, folhas, látex e frutos de <i>Clusia</i>	3
Figura 3	Foto da excicata da espécie <i>Clusia burle-marxii</i>	5
Figura 4	Mapa histórico da Chapada Diamantina	7
Figura 5	Mapa do Município de Rio de Contas	8
Figura 6	Bifenila isolada de <i>Clusia melchiori</i>	9
Figura 7	Bifenilas isoladas de <i>Clusia paralycola</i>	10
Figura 8	Xantonas isoladas de <i>Clusia insignis</i> , <i>Clusia nemorosa</i> e <i>Clusia paralycola</i>	11
Figura 9	Formação das benzofenonas simples e preniladas	12
Figura 10	Estruturas das benzofenonas simples	13
Figura 11	Benzofenonas preniladas verdadeiras derivadas 2,4,6- trihidroxibenzofenona	14
Figura 12	Benzofenonas com lavandulil em um dos lados da cadeia	15
Figura 13	Benzofenonas preniladas verdadeiras derivadas 2,4,6- trihidroxibenzofenona, que possuem um ou mais grupos dimetilpireno	15
Figura 14	Benzofenonas preniladas verdadeiras derivadas 2,4,6- trihidroxibenzofenona, que possuem um ou mais grupos dimetilpireno	16
Figura 15	Benzofenona prenilada denominada Clusiachromena, dois pares de compostos isoméricos derivados da 2,4,6-trihidroxibenzofenona : Clusiacitrán A e B, Clusiaciclól A e B	16
Figura 16	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	17
Figura 17	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	18
Figura 18	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	19
Figura 19	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	20

Figura 20	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	21
Figura 21	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	22
Figura 22	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	23
Figura 23	Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona	24
Figura 24	Benzofenonas poliisopreniladas com grupo dimetilpireno	25
Figura 25	Benzofenonas com o grupo triciclo-[4.3.1.0 <sup>3,7</sup> ] decano-7-hidroxi-2,9-triona	25
Figura 26	Duas poliisopreniladas cetonas caracterizadas com uma cadeia lavandulil oxidada	26
Figura 27	Benzofenonas com o grupo 11- oxatriciclo [4.3.1.1 <sup>4,10</sup> ] undecano-7-9-diona	26
Figura 28	Benzofenonas com o grupo 11- oxatriciclo [4.3.1.1 <sup>4,10</sup> ] undecano-7-9-diona	27
Figura 29	Benzofenonas que apresentam anel adamantano	27
Figura 30	Benzofenonas que apresentam anel adamantano	28
Figura 31	Benzofenonas que apresentam anel adamantano	29
Figura 32	Benzofenona com o grupo 13-benzoil-6,6,8,14,14-pentametil-11-15-di(3-metil-2-butenil)-9-oxatetraciclo[11.3.1.0 <sup>1,10</sup> .0 <sup>3,8</sup> ] heptadec-10-eno-12,17-diona	29
Figura 33	Benzofenonas com o grupo biciclo[ 3.3.1] non-2-eno-4-9-diona, biciclo[ 3.3.1] non-3-eno-2-9-diona, biciclo[ 3.3.1] non-2-eno-2-9-diona.	30
Figura 34	Formação da 2,3`,4,6 tetrahidroxibenzofenona em células de <i>Centaurium erythraea</i>	31
Figura 35	Formação da 2,4,6- trihidroxibenzofenona em células de <i>Centaurium erythraea</i>	32
Figura 36	Formação da 2,3`,4,6 tetrahidroxibenzofenona em células de <i>Hypericum androsaemum</i>	33
Figura 37	Formação da 1,3,7 e 1,3,5 -trihidroxixantona	34
Figura 38	Formação do ácido chiquímico	36
Figura 39	Formação do ácido 3-hidroxibenzóico	37



Figura 40	Formação do ácido cinâmico	38
Figura 41	Formação do benzoil-CoA e acetil-CoA	39
Figura 42	Biogênese para a substância Sampsoniona A	40
Figura 43	Fluxograma de obtenção dos extratos hexânico e metanólico	42
Figura 44	Fluxograma do fracionamento do extrato hexânico	43
Figura 45	Fluxograma do fracionamento da fração CB1-8	46
Figura 46	Fluxograma do fracionamento da fração CB2 18-25	47
Figura 47	Fluxograma do fracionamento da fração CB3 11-22	48
Figura 48	Fluxograma do fracionamento da fração CB3 44-53	49
Figura 49	Fluxograma do fracionamento da fração CB6 54 -66	51
Figura 50	Estrutura da substância 1- Friedelina	53
Figura 51	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância Friedelina [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	54
Figura 52	Estrutura da substância 2 – Friedelinol	55
Figura 53	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância Friedelinol [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	57
Figura 54	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância Friedelinol [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	57
Figura 55	Espectro de DEPT 135° da substância Friedelinol [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	58
Figura 56	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB3 11-22 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	61
Figura 57	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da Fração CB3 11-22 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	61
Figura 58	Espectro de DEPT 135° da Fração CB3 11-22 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	62
Figura 59	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB3 11-22 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -1 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	62
Figura 60	Estrutura da substância 3 - $\beta$ -Sitosterol	63
Figura 61	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do Sitosterol [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	64
Figura 62	Estrutura da substância 4 - Estgmast-7-en-3 $\beta$ -ol-6-ona	65
Figura 63	Estrutura da substância 24-epi-makisterona A	66
Figura 64	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância Estgmast-7-en-3 $\beta$ -ol-6-ona [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	68
Figura 65	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância Estgmast-7-en-3 $\beta$ -ol-6-ona [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	68

Figura 66	Espectro de DEPT 135° da substância Estgmast-7-en-3β-ol-6-ona [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	69
Figura 67	Estrutura da substância substância 5 e substância 6	70
Figura 68	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias 5 e 6 em mistura [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	73
Figura 69	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C das substâncias 5 e 6 em mistura [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	73
Figura 70	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração submetida a reação de transesterificação [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	75
Figura 71	Cromatograma da fração CB10 4-18	75
Figura 72	Espectros de massa dos ésteres graxos	76
Figura 73	Espectros de massa dos ésteres graxos	77
Figura 74	Espectros de massa dos ésteres graxos	78
Figura 75	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB4 20-32-1 [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	80
Figura 76	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB4 20-32-1 após decomposição [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	80
Figura 77	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB5 40-41-1[300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	81
Figura 78	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da Fração CB5 40-41-1 [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	81
Figura 79	Espectro de DEPT 135° da Fração CB5 40-48-1[300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	82
Figura 80	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB5 40-48-1 após decomposição[300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	82
Figura 81	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 25-33[300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	84
Figura 82	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da Fração CB6 25-33 [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	84
Figura 83	Placa cromatográfica das Frações CB6 25-33, CB6 34-40, CB6 41-53 após metilação, respectivamente	85
Figura 84	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 25-33 metilada [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	85
Figura 85	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 25-33k1 [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	86
Figura 86	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 25-33 K2 [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	86
Figura 87	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da Fração CB6 25-33K1 [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	87

Figura 88	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do constituinte CB6 25-33K1 após decomposição [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	87
Figura 89	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do constituinte CB6 25-33K2 após decomposição [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	88
Figura 90	Estrutura da substância 7 – Nemorosonol	89
Figura 91	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB6 34-40 não metilada [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	92
Figura 92	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB6 34-40 metilada [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	92
Figura 93	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do constituinte CB6 34-40K3 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	93
Figura 94	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do constituinte CB6 34-40K4 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	93
Figura 95	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do constituinte CB6 34-40K3 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	94
Figura 96	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do constituinte CB6 34-40K4 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	94
Figura 97	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB6 34-40K3 após decomposição [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	95
Figura 98	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB6 34-40K4 após decomposição [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	95
Figura 99	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB6 41-53 [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	96
Figura 100	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Fração CB6 41-53 metilada [300MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	97
Figura 101	Estrutura da substância 8 – Burlemarxiona A	98
Figura 102	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	103
Figura 103	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Burlemarxiona A expandido (Substância 8) [500MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	104
Figura 104	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	105

Figura 105	Espectro de DEPT 135° da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	106
Figura 106	Espectro de COSY da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	107
Figura 107	Espectro de HSQC da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	108
Figura 108	Espectro de HMBC da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	109
Figura 109	Espectros de HMBC da Burlemarxiona A (parcial) (Substância 8) [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	110
Figura 110	Espectros de HMBC da Burlemarxiona A (parcial) (Substância 8) [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	111
Figura 111	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Burlemarxiona A (Substância 8) após decomposição [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	112
Figura 112	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 54-66 1[300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	114
Figura 113	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 54-66 1 após decomposição [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	114
Figura 114	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 67-73 1[300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	115
Figura 115	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 67-73 1 após decomposição [300MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	115
Figura 116	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 84-99 1[500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	116
Figura 117	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da Fração CB6 84-99 1[125MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	116
Figura 118	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da Fração CB6 84-99 1[125MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	117
Figura 119	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da Fração CB6 84-99 1 após decomposição [500MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ(ppm)]	117

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
Tabela 1	Atividades biológicas de benzofenonas	4
Tabela 2	Fracionamento do extrato hexânico	44
Tabela 3	Substâncias isoladas da fração CB3 11-22	48
Tabela 4	Amostras metiladas	52
Tabela 5	Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ [75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] da substância 2 e o triterpeno pentacíclico $\beta$ -Friedelinol .	56
Tabela 6	Dados de RMN $^{13}\text{C}$ [75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] para o $\beta$ -Sitosterol e o Sitosterol esterificado	60
Tabela 7	Dados de RMN de $^1\text{H}$ [300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] para o $\beta$ -Sitosterol	64
Tabela 8	Dados de RMN $^{13}\text{C}$ [75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] para a substância 4 e o 24-epi-makisterona A e do $\beta$ -Sitosterol.	67
Tabela 9	Dados de RMN de $^1\text{H}$ [300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] para as substâncias 5, Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, 6 e Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol	71
Tabela 10	Dados de RMN $^{13}\text{C}$ [75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] para as substâncias; 5, Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol , 6 e Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol	72
Tabela 11	Ésteres metílicos graxos obtidos na reação de transesterificação	76
Tabela 12	Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ [75MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] para a substância 7 o Nemorosonol. [DELLE MONACHE et al., 1988]	90
Tabela 13	Dados de RMN de $^1\text{H}$ [500MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)], RMN de $^{13}\text{C}$ [125MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] e COSY para a substância 8 (Bulermaxiona A)	102

# SUMÁRIO

Página

<b>1.0 APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 OBJETIVOS.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 A FAMÍLIA CLUSIACEAE E O GÊNERO <i>CLUSIA</i>.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 A ESPÉCIE <i>CLUSIA burle-marxii</i>.....</b>	<b>5</b>
<b>1.4 LOCAL DE COLETA DA ESPÉCIE <i>CLUSIA burle-marxii</i>.....</b>	<b>6</b>
<b>1.4.1 Chapada Diamantina .....</b>	<b>6</b>
<b>1.4.2 Rio de Contas.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS DO GÊNERO <i>CLUSIA</i>.....</b>	<b>9</b>
<b>1.5.1 BIFENILAS DE <i>CLUSIA</i>.....</b>	<b>10</b>
<b>1.5.2 XANTONAS DE <i>CLUSIA</i>.....</b>	<b>11</b>
<b>1.6 BENZOFENONAS DA FAMÍLIA CLUSIACEAE.....</b>	<b>12</b>
<b>1.6.1 BENZOFENONAS DE CLUSIACEAE.....</b>	<b>13</b>
<b>1.6.1.1 BENZOFENONAS SIMPLES.....</b>	<b>13</b>
<b>1.6.1.2 BENZOFENONAS PRENILADAS VERDADEIRAS.....</b>	<b>14</b>
<b>1.6.1.3 BENZOFENONAS POLIISOPRENILADAS.....</b>	<b>17</b>
<b>1.7 BIOSÍNTESE DE BENZOFENONAS.....</b>	<b>31</b>
<b>1.7.1 ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO.....</b>	<b>35</b>
<b>1.7.2 ROTA I - FORMAÇÃO DO ÁCIDO 3-HIDROXIBENZÓICO VIA ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO.....</b>	<b>36</b>
<b>1.7.3 ROTA II - FORMAÇÃO DO ÁCIDO BENZÓICO A PARTIR DO ÁCIDO CINÂMICO VIA ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO.....</b>	<b>37</b>
<b>1.7.4 BIOGÊNESE PARA BENZOFENONAS POLIISOPRENILADAS.....</b>	<b>40</b>
<b>2.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
<b>2.1 Coleta e Identificação botânica da espécie vegetal.....</b>	<b>41</b>
<b>2.2 Equipamentos e Materiais utilizados.....</b>	<b>41</b>
<b>2.3 Obtenção dos Extratos.....</b>	<b>42</b>

<b>2.3 SEPARAÇÃO, PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS.....</b>	<b>43</b>
2.3.1.1 Fracionamento do Extrato Hexânico.....	43
2.3.1.2 Estudo da fração CB1-8.....	45
2.3.1.3 Estudo da fase oleosa da fração CB2 18-25.....	46
2.3.1.4 Estudo da fração CB3 11-22.....	47
2.3.1.5 Estudo da fração CB3 44-53.....	49
2.3.1.6 Estudo da fração CB3 54-66.....	50
<b>2.4 Procedimentos experimentais das reações químicas realizadas em laboratório.....</b>	<b>52</b>
2.4.1 Reação de Metilação.....	52
2.4.2 Reação de Transesterificação.....	52
<b>3.0 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
<b>3.1 TRITERPENOS.....</b>	<b>53</b>
3.1.1 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 1.....	53
3.1.2 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 2.....	55
<b>3.2 ESTERÓIDES.....</b>	<b>59</b>
3.2.1 Identificação dos constituintes da fração CB3-11-22.....	59
3.2.2 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 3.....	63
3.2.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA 4.....	65
3.2.3 IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS 5 e 6.....	70
3.2.4 Identificação dos Ésteres Graxos.....	74
<b>4.0 BENZOFENONAS.....</b>	<b>79</b>
4.1.1 Discussão dos resultados da Fração CB3 44-53.....	79
4.1.2 Discussão dos resultados da fração CB 54-66.....	79
4.1.3 Discussão dos resultados da Fração CB6 25-33.....	83
4.1.4 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 7.....	89
4.1.5 Discussão dos resultados da Fração CB6 34-40.....	91
4.1.6 Discussão dos resultados da Fração CB6 41-53.....	96
4.1.7 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA 8.....	98
4.1.6 Discussão dos resultados das Frações CB6 54-66; CB6 67-73; CB6 84-99.....	113
<b>5.0 Considerações Finais.....</b>	<b>118</b>
<b>6.0 Referências Bibliográficas.....</b>	<b>119</b>

## 1.0– APRESENTAÇÃO

Este trabalho descreve o estudo fitoquímico do extrato hexânico do caule da espécie *Clusia burle-marxii* (Clusiaceae). Esta espécie está sendo estudada fitoquimicamente pela primeira vez, vindo a contribuir para o conhecimento químico do gênero. A espécie foi coletada nas proximidades do município de Rio de Contas, Chapada Diamantina-BA, um local de pesquisa onde os recursos biológicos propiciam um alto grau de biodiversidade.

A partir de relatos encontrados na literatura sobre o estudo de espécies de gênero *Clusia*, tem-se conhecimento do isolamento de vários metabólitos como: triterpenos, esteróides, flavanóides, xantonas, benzofenonas. Estas últimas chamam atenção devido a complexidade de suas estruturas, e são consideradas a principal classe de metabólitos isolados de espécies do gênero. Apresentam atividades biológicas das quais podemos citar: antimicrobial [BENNET & LEE, 1989], inibitória do vírus HIV [GUSTAFSON et al., 1992]. Alguns metabólitos como os triterpenos também apresentam atividades biológicas importantes como antiherbívoro [SEIGLER, 1998]

### 1.1 - OBJETIVOS

- ✚ Estudar a composição química, dos metabólitos secundários, do extrato hexânico da espécie vegetal *Clusia burle-marxii* que ocorre na Chapada Diamantina, Bahia. Purificar e determinar as estruturas desses metabólitos.

- ✚ Comparar criticamente a composição química das espécies do gênero *Clusia* presentes na Chapada Diamantina, com as das espécies, já estudadas.



## 1.2 - A FAMÍLIA CLUSIACEAE E O GÊNERO *CLUSIA*

A família Clusiaceae compreende 49 gêneros e mais de 1200 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo [OLIVEIRA et al., 1996]. Alguns gêneros e espécies desta família são endêmicos, como *Kielmeyera* confinado ao continente Sul Americano [SULTANBAWA, 1980].

A maioria das plantas desta família apresentam-se como:

- ✚ Arbóreas ou arbustivas, com ou sem lactescência, raras são as trepadeiras;
- ✚ Folhas inteiras, de disposição alternada, opostas ou verticiladas;
- ✚ Flores, em geral vistosas, isoladas ou reunidas em inflorescências, cíclicas ou hemicíclicas de simetria radial, geralmente hermafrodita ou de sexo separado;
- ✚ Fruto em geral seco, na forma de cápsula grossa;
- ✚ Tecidos com um látex viscoso e colorido abundantes [LOCKVAM, et al., 2000].

A família Clusiaceae oferece também uma ampla variedade de formas de frutos e sementes e madeira de grande valor [SULTANBAWA, 1980]. Na família Clusiaceae, o gênero mais representativo e importante devido ao seu uso na medicina popular é o *Clusia* [SALAMA, 1986]. Entre os seus usos mais destacados estão: tratamento de fraturas [MATHUR, 1972; SALAZAR & HASBUN, 1986], tratamento de lepra, hipertensão e ação hipotensiva [SALAZAR & HASBUN, 1986], cefaléias e cicatrização de umbigos de recém nascidos [SALAMA, 1986, ANDRADE et al., 1998], purgativo [ISHIGURO et al., 1998]. As espécies do gênero *Clusia* também são usadas como plantas ornamentais. A maioria dos tecidos destas plantas quando danificados liberam um látex viscoso que protege a planta contra o ataque de microorganismos (Figura 2) [LOKVAM et al., 2000].

O gênero *Clusia* compreende aproximadamente 200 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais [ANDRADE et al., 1998]. Mais de 100 espécies têm sua ocorrência limitada nas regiões tropicais e subtropicais das Américas do Sul e Central [DELLE MONACHE, et al 1991a]. Aproximadamente 40 destas espécies ocorrem na Colômbia, floresta amazônica e região dos Andes [GONZALEZ GONZALES et al., 1983].

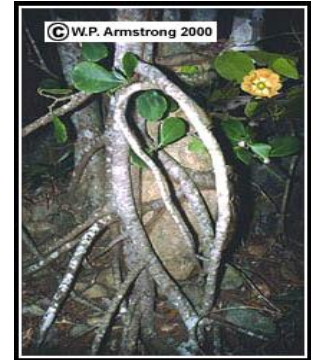
Na Figura 1, são mostradas, árvores, arbustos e trepadeiras de algumas espécies do gênero *Clusia*. Na Figura 2 mostra, flores, folhas, látex e os frutos de *Clusia*.



**Árvores**



**Arbustos**



**Trepadeiras**

Figura 1 - Árvores, arbustos e trepadeiras de *Clusia*

FONTE: Geraldo Maris, 1974



**Flores**



**Folhas**



**Látex**



**Frutos**

Figura 2 - Flores, folhas, látex e frutos de *Clusia*

FONTE: <http://www.botanypages.org/Nee/ambo/Checklist/dil.html>; [www.botgard.ucla.edu/](http://www.botgard.ucla.edu/).

As espécies do gênero *Clusia* são conhecidas como fontes de benzofenonas verdadeiras e benzofenonas poliisopreniladas, terpenos, benzoquinonas, flavanóides, dihidrofenantrenos e ácidos tocotrienolólicos [OLIVEIRA et al., 1999].

Através de estudos fitoquímicos de resinas florais de algumas espécies do gênero, foi constatado que o principal constituinte são as benzofenonas poliisopreniladas [NOGUEIRA et al., 2001]. A resina hidrofóbica é usada pelas abelhas na construção de seus ninhos e protege também contra a invasão de microorganismos devido a ação bactericida de seus constituintes [LOKVAM et al., 2000]. O estudo da própolis produzida por abelhas cubanas possibilitou o isolamento de uma benzofenona que apresenta atividade antimicrobiana e fungicida [RUBIO et al., 1999].

As benzofenonas também vêm sendo isoladas e identificadas a partir de extratos de folhas, frutos, raízes, e troncos de várias espécies tropicais e chamam atenção devido as suas atividades biológicas (Tabela 1).

Tabela 1 - Atividades biológicas de benzofenonas

ATIVIDADES BIOLÓGICAS	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
Antibiótica	ISHIGURO et al., 1985
Citotóxica	DELLE MONACHE et al., 1987
Hipotensiva	SALAZAR & HASBUN, 1986; NAGEN et al., 1983;
	HASBUN et al., 1989
Antimicrobiana	BENNET E LEE, 1989; PORTO et al., 2000
Inibitória do vírus HIV	GUSTAFSON et al., 1992
Bactericida	LOKVAM et al., 2000

### 1.3 - A ESPÉCIE *CLUSIA burle-marxii*

A espécie *Clusia burle-marxii* foi coletada nas proximidades da Cachoeira do Fraga no município de Rio de Contas, Chapada Diamantina, BA. A Prof<sup>ª</sup>. Maria Lenise Silva Guedes do Instituto de Biologia da UFBA, curadora do herbário “Alexandre Leal Costa”, identificou e catalogou a espécie sob o número ALCB - 61584. Este é o primeiro trabalho de investigação fitoquímica da espécie, pois não foi encontrada referência bibliográfica que tratasse do seu estudo.

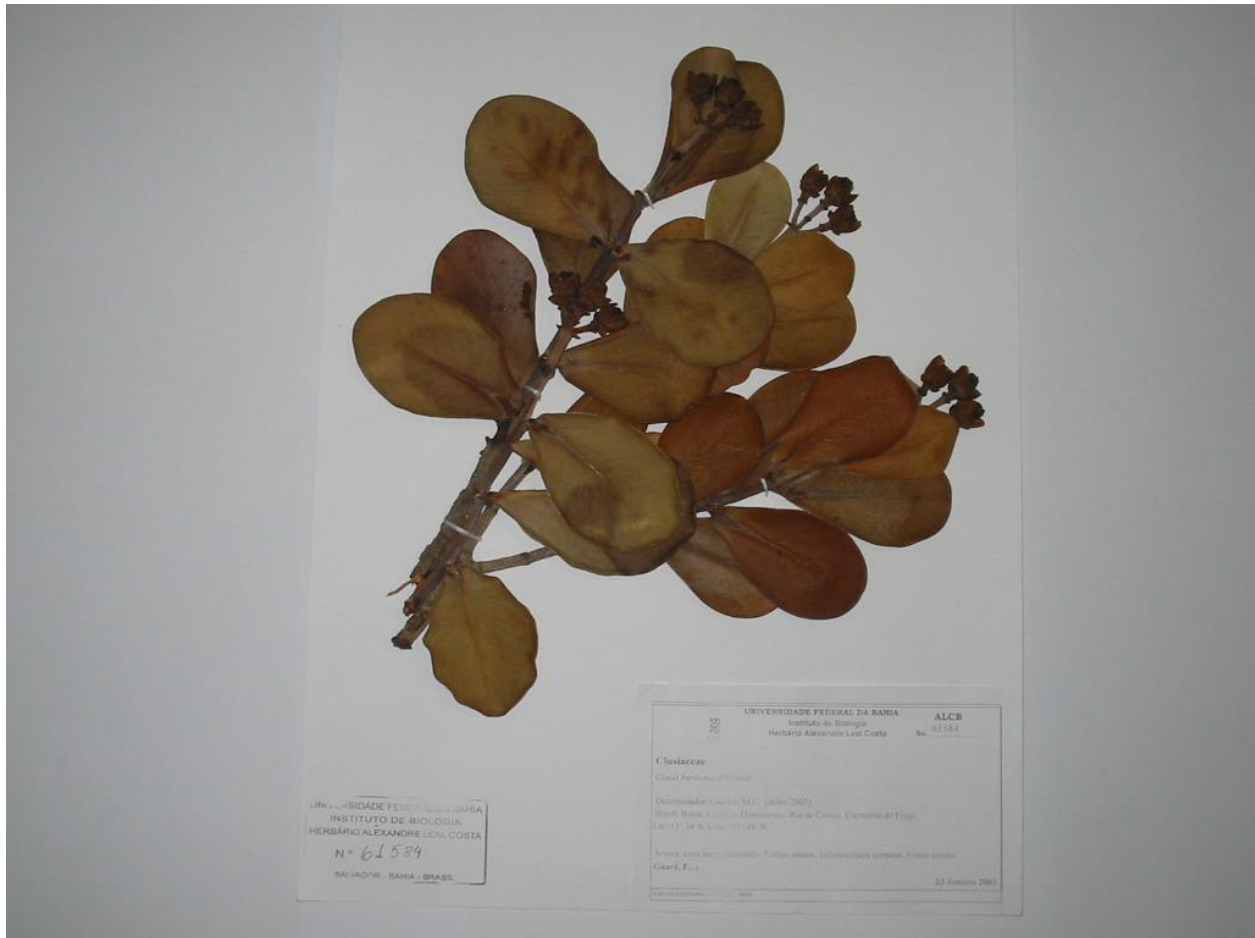


Figura 3 - Foto da excicata da espécie *Clusia burle-marxii*

## 1.4-LOCAL DE COLETA DA ESPÉCIE *CLUSIA burle-marxii*

### 1.4.1 Chapada Diamantina

Possuindo uma forma predominantemente tabular a Chapada Diamantina eleva-se como uma importante muralha de cotas altimétricas superiores até 2000 metros, chegando à altitude máxima de 2003 metros, separando o vale do São Francisco, situado a oeste, e a região que a leste se estende até o litoral, servindo, assim, de divisor de águas entre os rios que se dirigem para o oceano Atlântico.

A quantidade de rios é tão grande que a região é considerada um verdadeiro oásis dentro do sertão baiano [BANDEIRA, 1997]. Seus recursos hídricos proporcionam cenários de grande beleza em inúmeras cachoeiras, cascatas e balneários de águas cristalinas, tendo um papel destacado na manutenção dos ecossistemas.

A fauna é riquíssima e sua flora admirável. Temos na Chapada Diamantina, um gigantesco laboratório de pesquisa, com as condições climáticas e tipos de vegetação não encontradas em nenhuma das outras regiões do Nordeste. A zona mais elevada é de campo rupestre, formado por diversos tipos de vegetação, com uma flora única e colorida cuja riqueza compara-se apenas à encontrada em regiões de Mata Atlântica, da floresta Amazônica Ocidental, da península do Cabo (África do Sul) e do oeste da Austrália [BANDEIRA, 1997].

A vegetação rupestre oferece uma diversidade de espécies, que são comuns aos cerrados dentre as quais *Begonia aff. Grisea*, *B. ragozoni*, *Cássia cytosoides*, *C. mucronata*, *Clusia sp.*, *Declieuxia aspalathoides*, *Marcetia velutina*, *Siphocampylus imbricatus*, *Tibouchina aff. Hosericea* (quaresmeira) e *Zornia flemingioides* (arrozinho-da-serra) [CPRM, 1994].

### 1.4.2 - Rio de Contas

O município de Rio de Contas possui um clima quente e seco nos baixos ou caatingas, e temperado ou frio nas serranias ou nos gerais. A temperatura máxima atinge 23,5° C e a mínima 14,9° C, sendo a média de 19,5° C. A topografia é bastante montanhosa. Suas serras principais são: a das Almas, a da Tromba, a de Santo Antônio e a do Palmital. Os picos em destaque são: o do Itobira (Itambera ou Itauberá), o do morro do Tombadouro, os das Almas. Este é considerado a menina-de-olhos de Rio de Contas. Para chegar ao seu topo, são três horas a pé no meio de formações de quartzito que afloram da terra, orquídeas, bromélias e uma vegetação única. Em um levantamento

feito pela equipe do Jardim Botânico de Londres, o Kew Gardens, foram descobertas mais de 1200 espécies de plantas, 100 delas endêmicas, o que faz o Pico das Almas um dos lugares de maior diversidade.

Fontes: [BANDEIRA, 1997]

No que se refere a riquezas minerais, o município possui jazidas de ferro, ouro, cassiterita, platina, pedras preciosas. Além dessas riquezas temos nos arredores de Rio de Contas belíssimas cachoeiras como: Cachoeira do Brumado, Cachoeira das andorinhas e Cachoeira do Fraga.

#### MAPA DA CHAPADA DIAMANTINA HISTÓRICA



Figura 4 – Mapa histórico da Chapada Diamantina

# RIO DE CONTAS



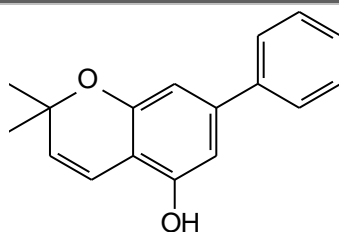
Figura 5 – Mapa do Município de Rio de Contas

## 1.5 - METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS DO GÊNERO *CLUSIA*

O estudo fitoquímico dos extratos de plantas do gênero *Clusia*, possibilitou o isolamento e identificação de vários metabólitos, tais como: triterpenos, esteróides, flavanóides, ácidos tocotrienolóicos, bifenilas, xantonas e benzofenonas.

Das espécies *C. ellipiticifolia* [GONZALES GONZALES et al., 1983; OLIVARES et al., 1994], *C. rosea* [MARTHUR, 1972; SALAMA, 1986], *C. coclensis* [HASBUN et al., 1989] e *C. flumunensis* [NAGEM et al., 1993] foram isolados também alguns triterpenos. Os esteróides foram isolados das seguintes espécies: *C. rosea* [MARTHUR, 1972], *C. arboricida* [NAGEM et al., 1992] e da *C. coclensis* [HASBUN et al., 1989] e flavanóides da *C. sadiensis* [DELLE MONACHE, 1991]. Os ácidos tocotrienóis de *C. grandiflora* [DELLE MONACHE et al., 1984a] e *C. obdeltifolia* [RIBEIRO et al., 2004]

As bifenilas (figuras 6 e 7) e xantonas (Figura 8) pouco são encontrados em espécies de *Clusia*. Do nosso conhecimento foram encontrados relatos da presença de bifenilas em extrato metanólico das raízes de *Clusia paralycola* [SEO et al., 1999; DELLE MONACHE et al., 2002] e do extrato diclorometânico de *Clusia melchiori* [CRUZ et al., 2001] (resultados ainda em fase de publicação). As xantonas foram isoladas a partir do estudo do extrato etanólico das flores de *Clusia insignis* [ISHIGURO et al., 1998], das resinas florais de *Clusia nemorosa* [OLIVEIRA et al., 1999] e dos extratos de raízes de *Clusia paralycola* [DELLE MONACHE et al., 2002].



2,2 dimetil-5-hidroxi-7-fenil- cromoeno

---

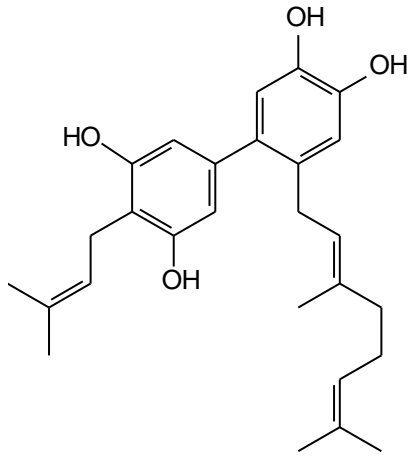
Figura 6 - Bifenila isolada de *Clusia melchiori*

[CRUZ et al., 2001].

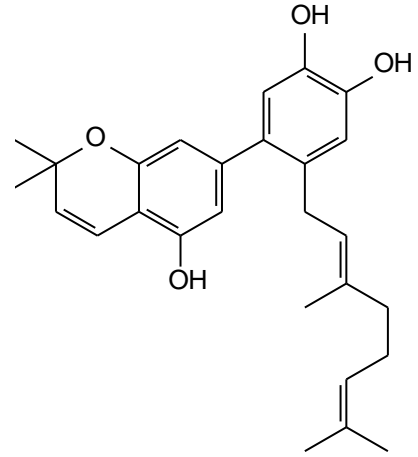


### 1.5.1-BIFENILAS DE *CLUSIA*

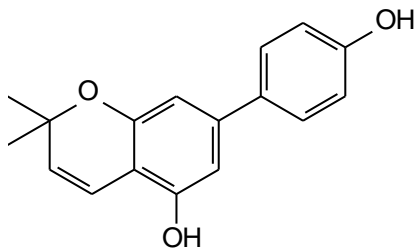
---



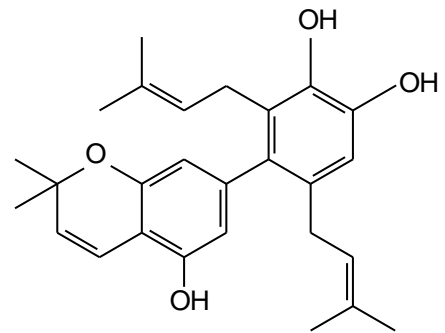
**Clusiaparacolina A**



**Clusiaparacolina B**



**Clusiaparacolina C**



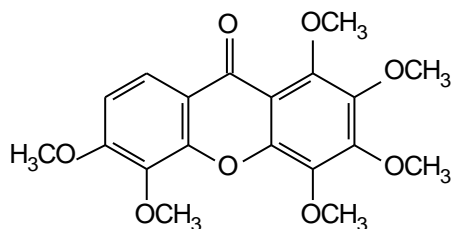
**Clusiaparacolina D**

---

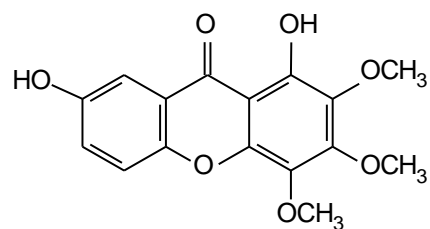
Figura 7 - Bifenilas aisladas de *Clusia paralycola*

[SEO et al., 1999]; [DELLE MONACHE et al., 2002]

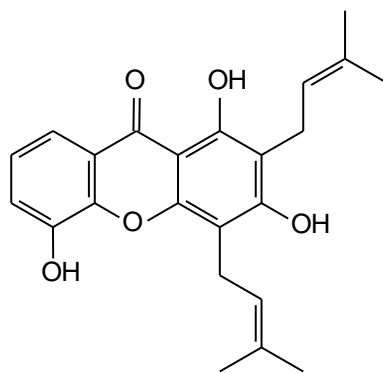
### 1.5.2 - XANTONAS DE *CLUSIA*



1,3,4,5,6-pentametoxixantona <sup>1</sup>



1,7-dihidroxi-3,4-dimetoxixantona <sup>3</sup>



Xantona diprenilada 1,3,5-trioxigenada <sup>2</sup>

Figura 8 - Xantonas isoladas de *Clusia insignis*, *Clusia nemorosa* e *Clusia paralycola*.

1-[ISHIGURO et al., 1998]; 2-[OLIVEIRA et al., 1999]; 3- [DELLE MONACHE et al., 2002].

As benzofenonas chamam atenção devido a suas estruturas complexas, de esqueletos modificados pela intervenção dos grupos prenilas através de reações de alquilação, onde em alguns casos podem sofrer ciclizações, levando a obtenção de benzofenonas de estruturas diferentes que podem conter cadeias bicíclicas, tricíclicas ou tetracíclicas. Podemos destacar também as suas atividades biológicas (Tabela 1, p. 4). No próximo item serão apresentadas as benzofenonas isoladas de *Clusia* como também de vários gêneros da família Clusiaceae, dos quais podemos destacar: *Garcinia*, *Vismia*, *Tovomita*, *Allanblakia* e *Symphonia*.

## 1.6 - BENZOFENONAS DA FAMÍLIA CLUSIACEAE

As benzofenonas são classificadas em simples e preniladas. As benzofenonas simples apresentam os dois anéis aromáticos preservados.

As Benzofenonas preniladas são divididas em dois grupos:

- ✚ Benzofenonas verdadeiras - Apresentam dois anéis aromáticos preservados;
- ✚ Benzofenonas poliisopreniladas - O anel derivado do acetato foi modificado pela ação dos grupos prenilas.

As benzofenonas simples e as preniladas possuem um esqueleto básico formado por dois anéis aromáticos intercalados por uma carbonila, constituindo desta forma um total de 13 átomos de carbono. O anel A ligado ao grupo CO é originado a partir da rota do ácido chiquímico e o anel B origina-se pela via do acetato (Figura 9).

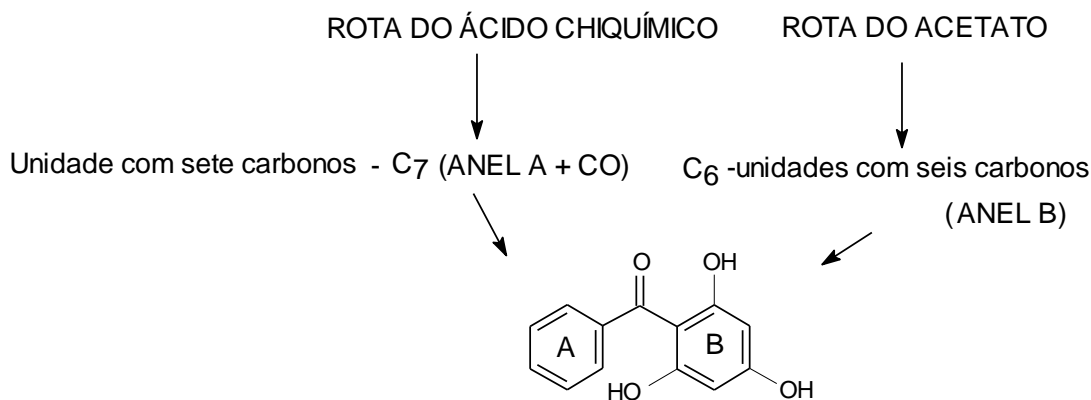
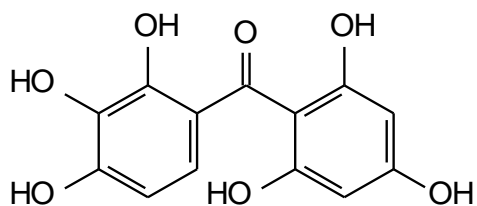


Figura 9 - Formação das benzofenonas simples e preniladas.

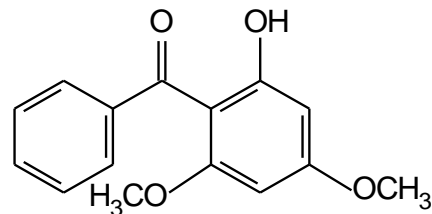
Não foram encontrados relatos na literatura de benzofenonas simples isoladas de *Clusia*, neste item serão mostradas as benzofenonas simples e preniladas de espécies de outros gêneros da família Clusiaceae (Figuras 10 a 33).

## 1.6.1 – BENZOFENONAS DE CLUSIACEAE

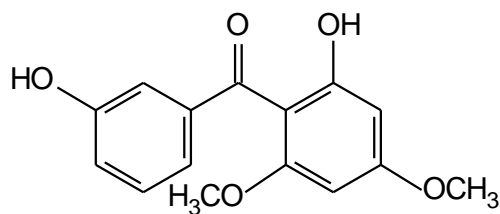
### 1.6.1.1 – BENZOFENONAS SIMPLES



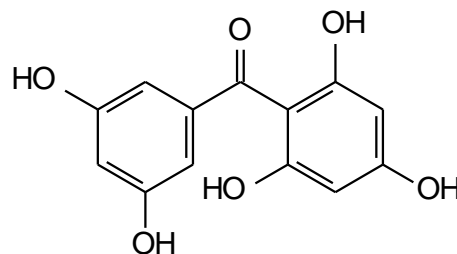
Maclurina  
*S. globulifera*<sup>1</sup>  
*G. xanthochymus*<sup>2</sup>  
*G. mangostana*<sup>2</sup>



Hidrocotoina  
*A. floribunda*<sup>3</sup>



2,3'-dihidroxi-4-6-dimetilbenzofenona  
*A. floribunda*<sup>3</sup>

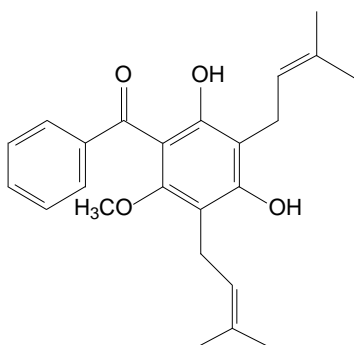


2,3',4,5',6-pentahidroxibenzofenona  
*G. pedunculata*<sup>4</sup>

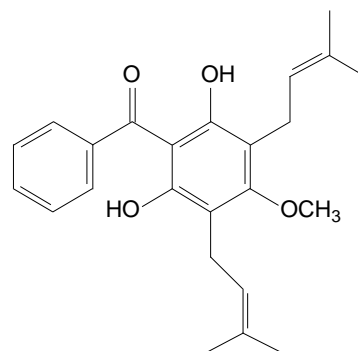
Figura 10 – Estruturas das benzofenonas simples.

1-[LOCKSLEY et al., 1967]; 2-[BENNET & LEE, 1989]; 3-[LOCKSLEY & MURRAY., 1971]; 4-[RAMA RAO et al., 1974].

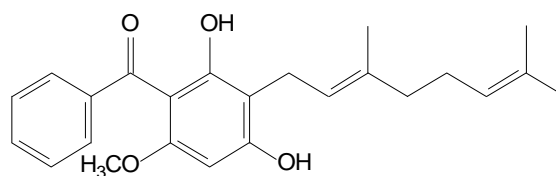
### 1.6.1.2 - BENZOFENONAS PRENILADAS VERDADEIRAS



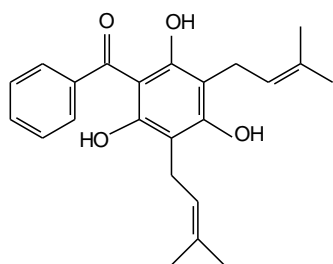
Vismiafenona A  
*V. decipiens*<sup>1</sup>  
*V. guaramirangae*<sup>2</sup>



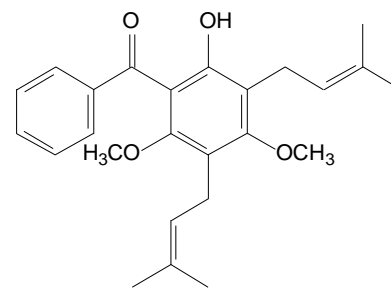
Vismiafenona C  
*G. myrtifolia*<sup>3</sup>  
*V. guaramiranga*<sup>2</sup>



Marupona  
*M. pulchra*<sup>5</sup>  
*H. japonicum*<sup>6</sup>



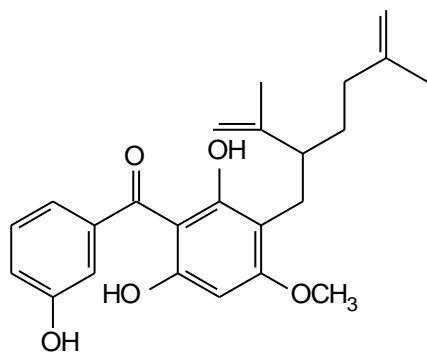
Clusiafenona B  
*C. sandiense*<sup>4</sup>



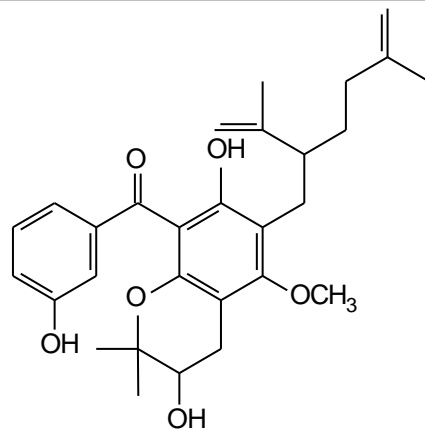
Mirtiafenona A  
*G. myrtifolia*<sup>3</sup>

Figura 11 - Benzofenonas preniladas verdadeiras derivadas 2,4,6- trihidroxibenzofenona.

1-[DELLE MONACHE et al., 1980]; 2- [DELLE MONACHE et al., 1983]; 3-[SPINO et al., 1995]; 4-[DELLE MONACHE et al., 1991c] ; 5-[DIAS et al., 1974]; 6-[SULTANBAWA, 1980].



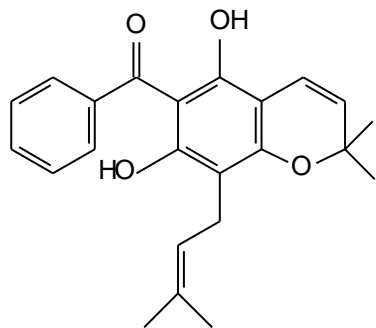
Tovofenona A  
*T. mangle*



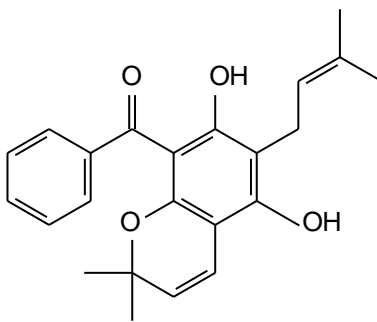
Tovofenona B  
*T. mangle*

Figura 12 - Benzofenonas com lavandulil em um dos lados da cadeia.

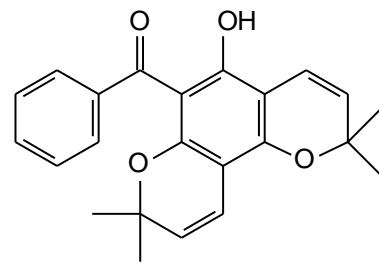
[DELLE MONACHE et al., 1984 b].



Vismiafenona B  
*V. decipiens*<sup>1</sup>  
*C. ellipticifolia*<sup>2,3</sup>



Isovismiafenona  
*V. decipiens*<sup>1</sup>  
*C. ellipticifolia*<sup>2,3</sup>



Clusiafenona A  
*C. ellipticifolia*<sup>2,3</sup>  
*C. sandiense*<sup>4</sup>

Figura 13 - Benzofenonas preniladas verdadeiras derivadas 2,4,6- trihidroxibenzofenona, que possuem um ou mais grupos dimetilpireno.

1-[DELLE MONACHE et al., 1980]; 2-[GONZALEZ GONZALEZ et al., 1983]; 3-[OLIVAREZ et al., 1994]; 4-[DELLE MONACHE et al., 1991c];

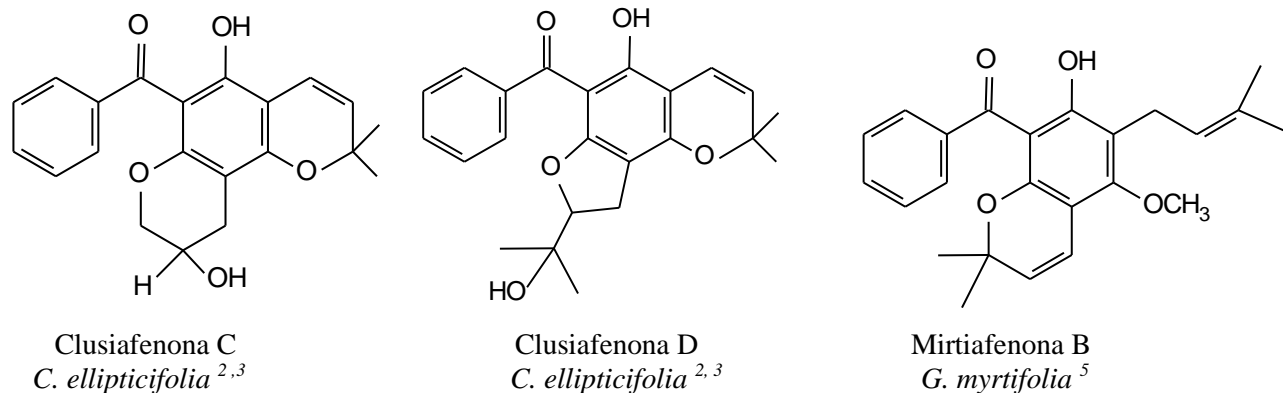


Figura 14 - Benzofenonas preniladas verdadeiras derivadas 2,4,6- trihidroxibenzofenona, que possuem um ou mais grupos dimetilpireno.

2-[GONZALEZ GONZALEZ et al, 1983]; 3-[OLIVAREZ et al., 1994]; 5- [SPINO., 1995].

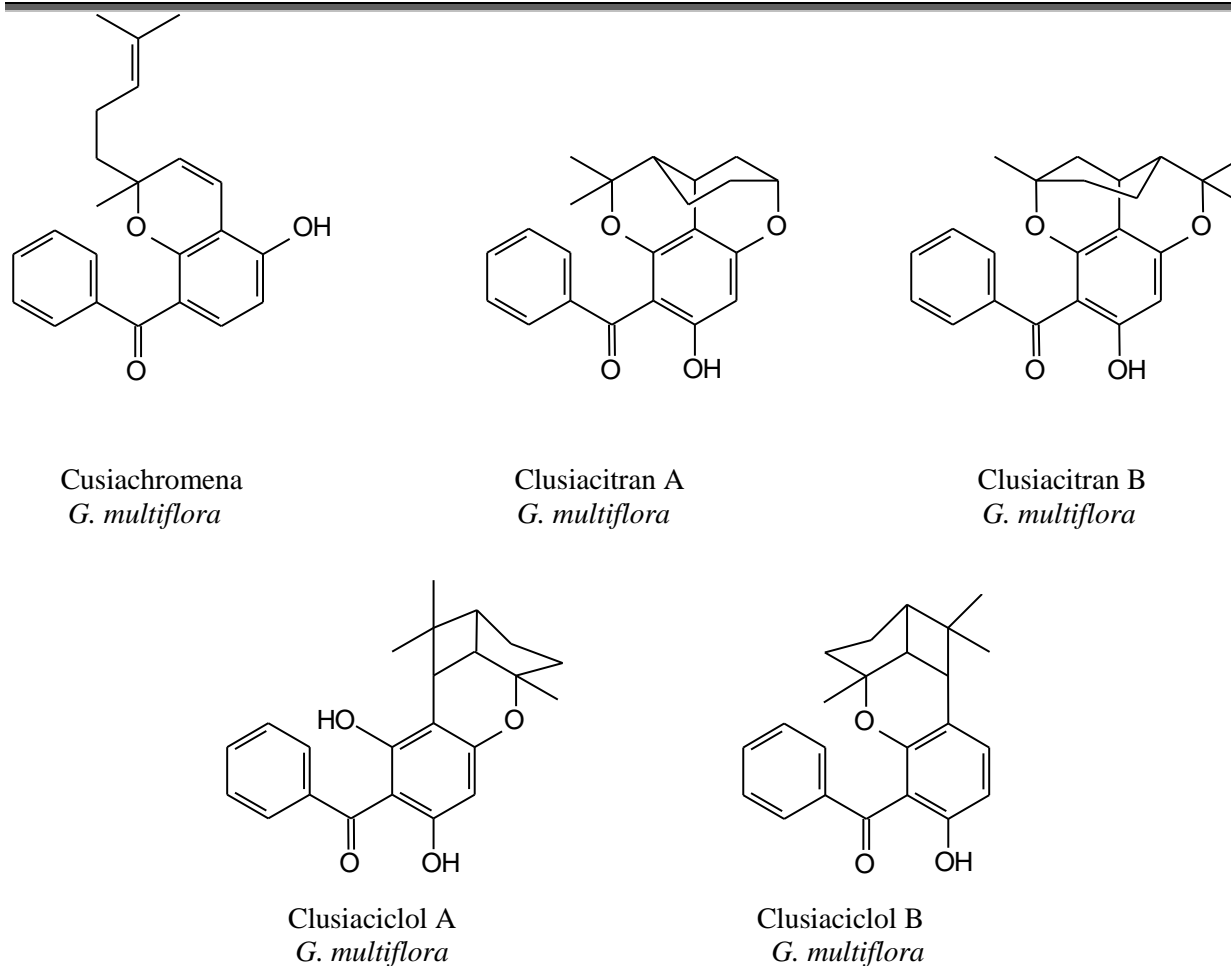
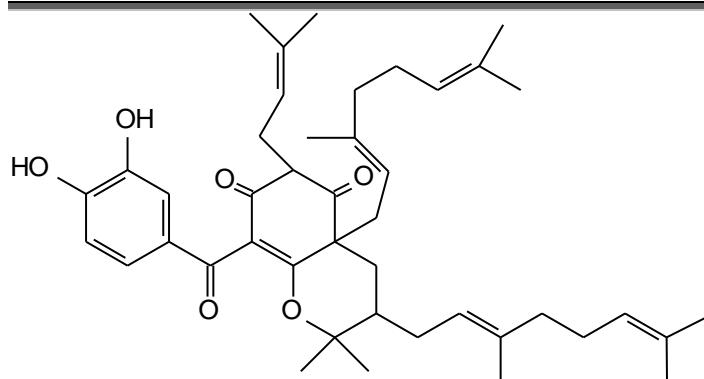


Figura 15 - Benzofenona prenilada denominada Clusiachromena, dois pares de compostos isoméricos derivados da 2,4,6-trihidroxibenzofenona : Clusiacitran A e B, Clusiaciocl A e B.

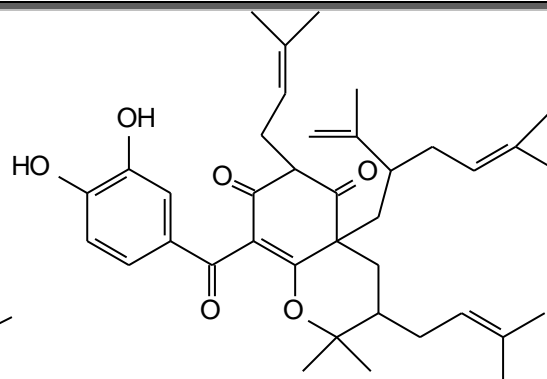
[GONZALEZ GONZALEZ et al., 1995].

## 1.6.1.3- BENZOFENONAS POLIISOPRENILADAS



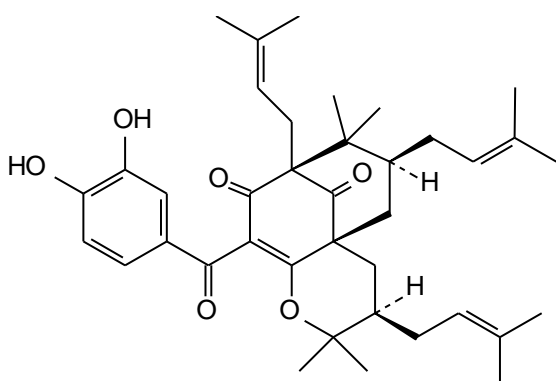
Bronianona

*G. hombroniana*<sup>1</sup>  
*H. japonicum*<sup>2</sup>



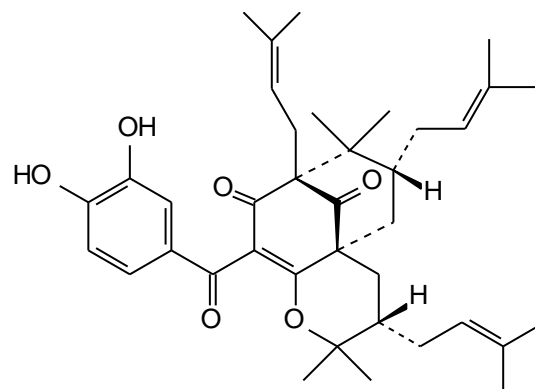
Xantochimol

*C. rosea*<sup>3</sup>  
*C. manni*<sup>4</sup>  
*G. staudii*<sup>4</sup>  
*G. xanthochimus*<sup>5</sup>  
*G. ovalifolia*<sup>4</sup>  
*G. polyantha*<sup>4</sup>



Isoxantochimol

*C. rosea*<sup>3</sup>  
*G. ovalifolia*<sup>4</sup>  
*G. polyantha*<sup>4</sup>  
*G. xanthochimus*<sup>5</sup>



Cambogino = Isogarcinol 1

*G. cambogia*<sup>6,7</sup>  
*G. penduculata*<sup>8</sup>

Figura 16-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



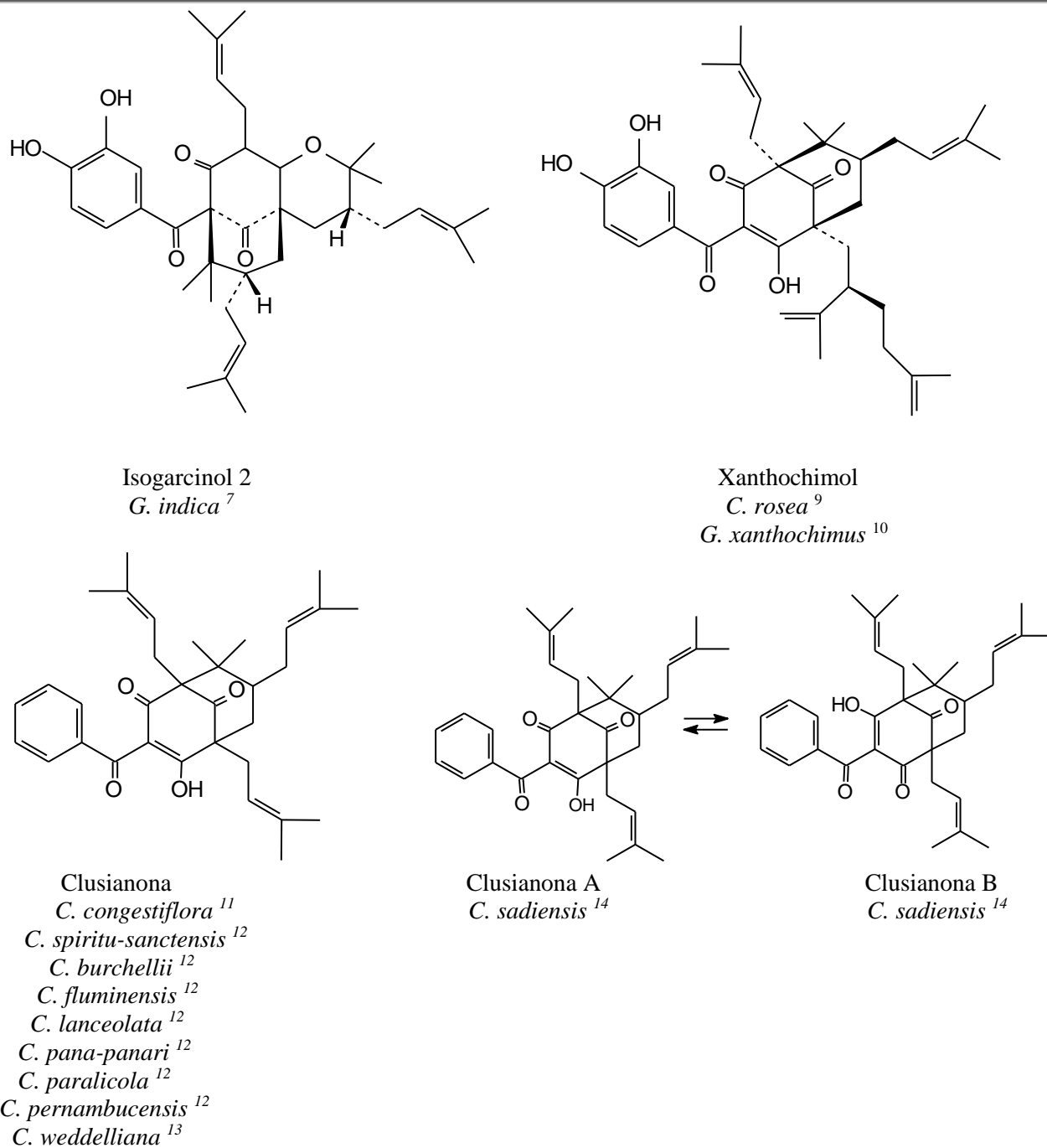
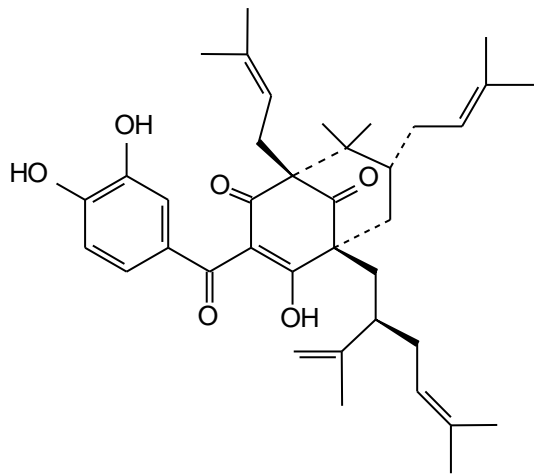
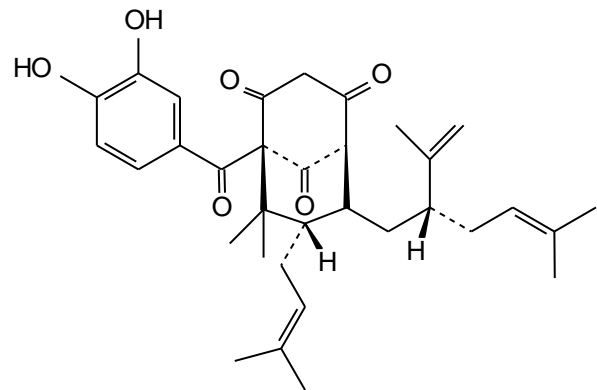


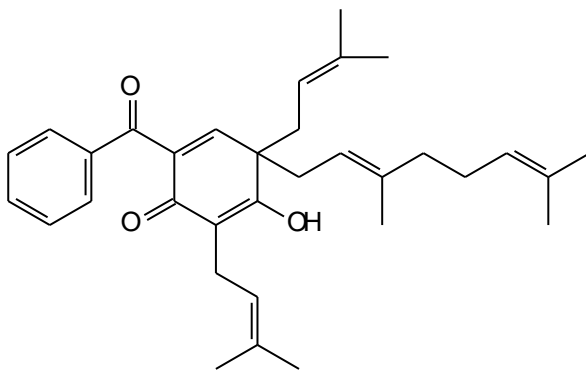
Figura 17-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o bicyclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



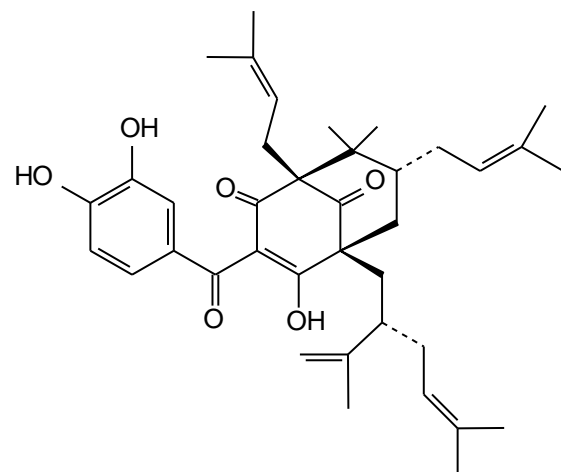
Camboginol 1 = garcinol  
*G. cambogia*<sup>6,7</sup>  
*G. indica*<sup>6</sup>



Camboginol 2  
*G. indica*<sup>7</sup>

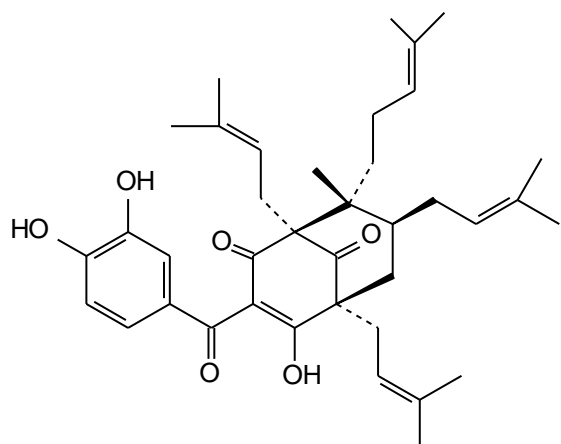


Kalonona  
*G. Kola*<sup>15</sup>

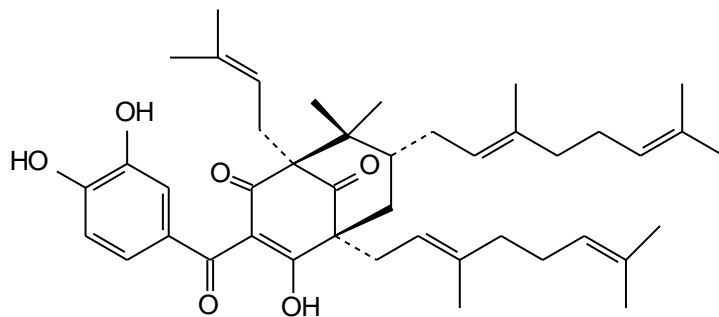


Pedunculol  
*G. pedunculata*<sup>8</sup>

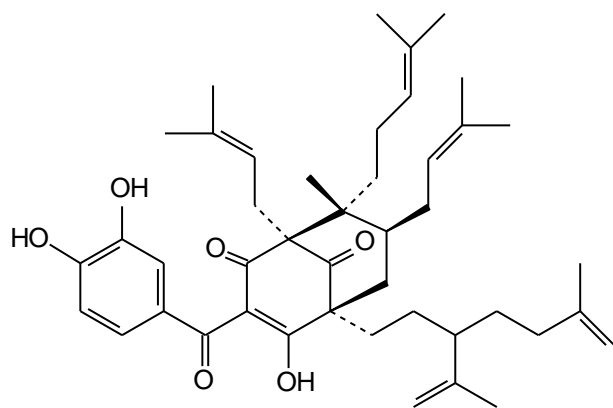
Figura 18-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



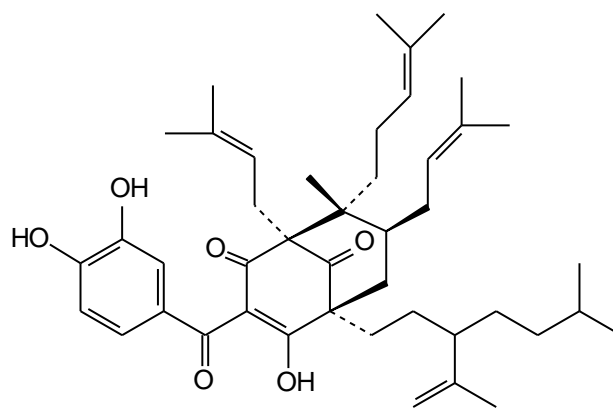
Guttiferona A  
*S. globulifera*<sup>10</sup>



Guttiferona B  
*S. globulifera*<sup>10</sup>

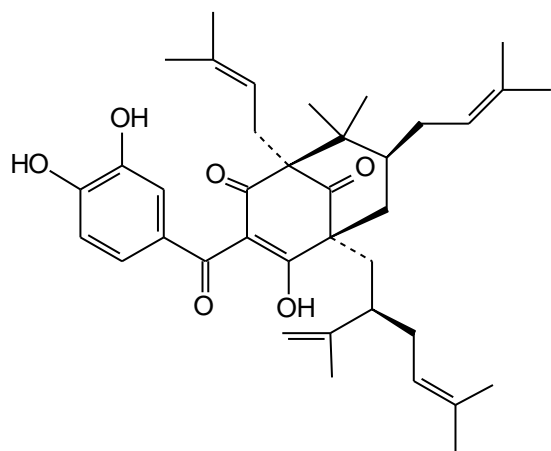


Guttiferona C  
*S. globulifera*<sup>10</sup>

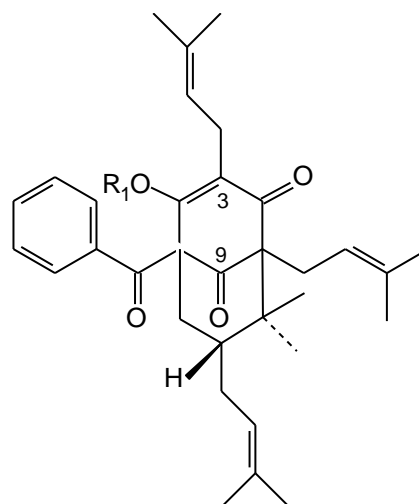
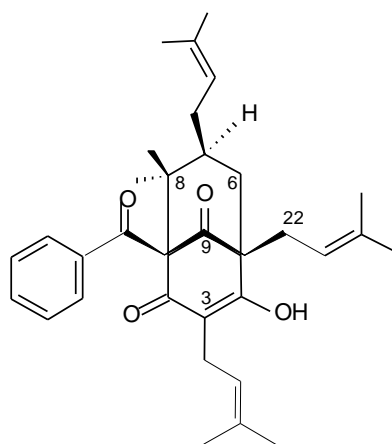


Guttiferona D  
*S. globulifera*<sup>10</sup>

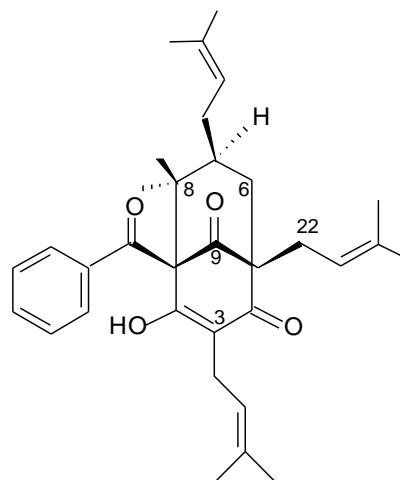
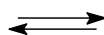
Figura 19-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



Guttiferona E

*S. globulifera*<sup>10</sup>R<sub>1</sub>= H - NemorosonaR<sub>1</sub>= Me- Metilnemorosona*C. grandiflora*;<sup>12,13</sup>*C. rosea*;<sup>12,13</sup>*C. insignis*;<sup>12,13</sup>*C. nemorosona*;<sup>12,13</sup>*C. hilariana*<sup>13</sup>

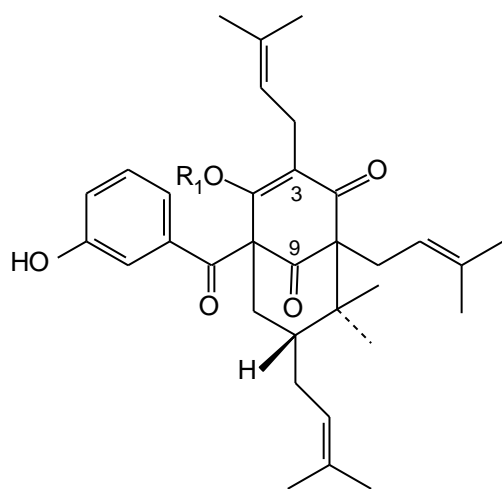
Nemorosona A

*C. rosea*<sup>16</sup>

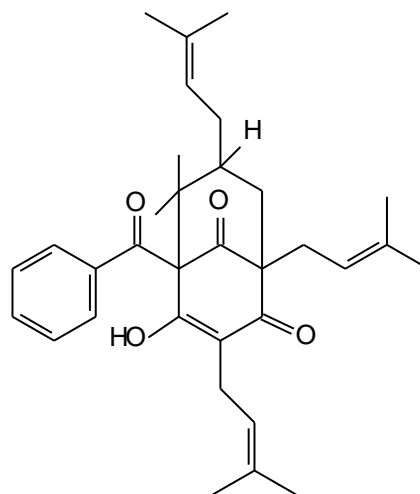
Nemorosona B

*C. rosea*<sup>16</sup>

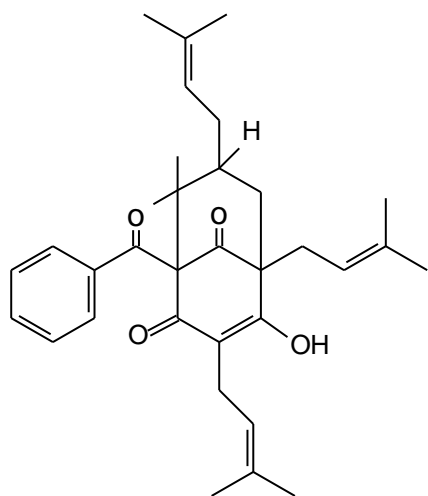
Figura 20-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



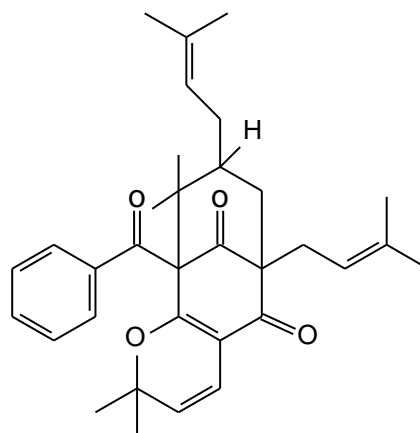
R<sub>1</sub> = H - Hidroxinemorosona  
 R<sub>2</sub> = Me - Metilhidroxinemorosona  
*C. nemorosa*<sup>12</sup>



Plukenetiona D  
*C. plukenetii*<sup>17</sup>

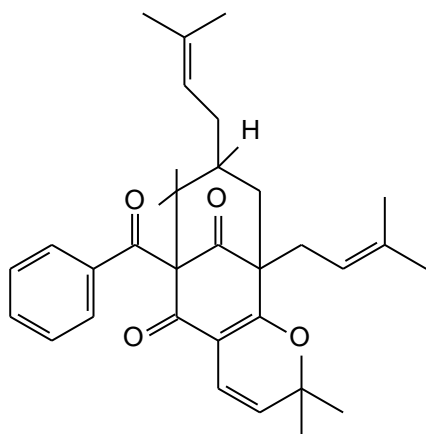


Plukenetiona E  
*C. plukenetii*<sup>17</sup>

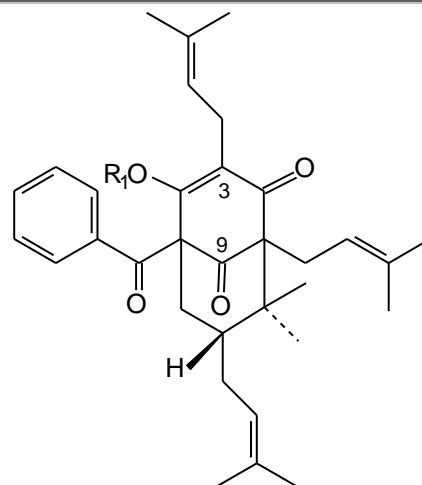


Plukenetiona F  
*C. plukenetii*<sup>17</sup>  
*C. havetiodes*<sup>18</sup>

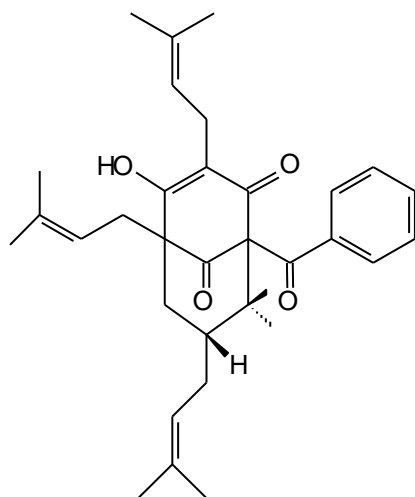
Figura 21-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



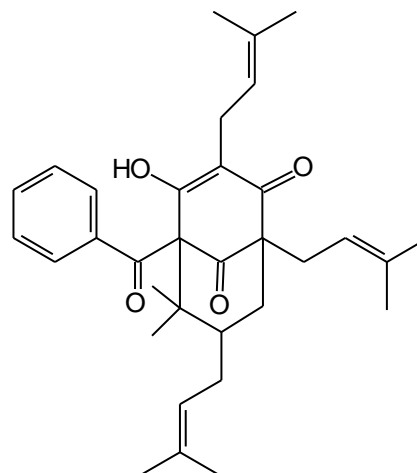
Plukenetiona G  
*C. plukenetii*<sup>17</sup>  
*C. havetiodes*<sup>18</sup>



R<sub>1</sub> - H - 7- epi-nemorosona  
 R<sub>2</sub> - Me - 7-epi-O-metilmemorosona  
*C. renggerioides*<sup>12, 13</sup>  
*C. insignis*<sup>12,</sup>

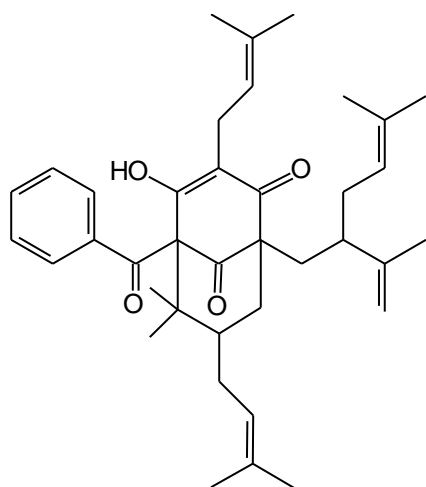


Nemorosona II  
*C. renggerioides*<sup>12, 13</sup>  
*C. rosea*  
*C. hilariana*<sup>13</sup>  
*C. grandiflora*<sup>19</sup>

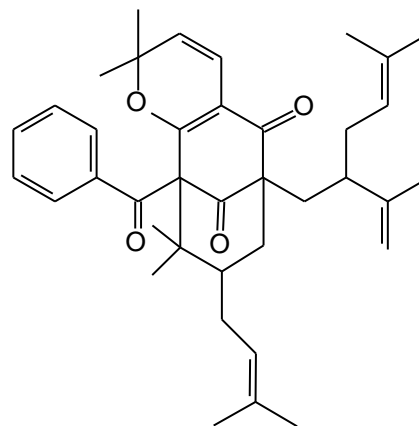


Nemorosona II  
*C. grandiflora*<sup>19</sup>

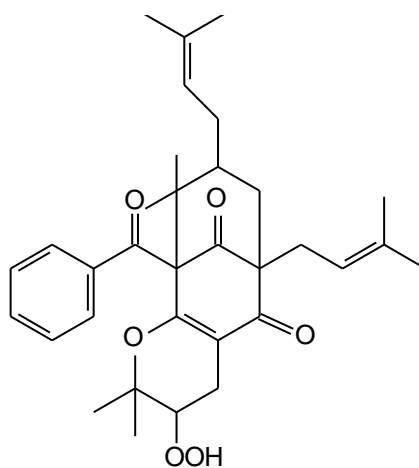
Figura 22-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o biciclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona (cont.).



Chamona I  
*C. grandiflora*<sup>19</sup>



Chamona II  
*C. grandiflora*<sup>19</sup>



15,16-dihidro-16-hidroperoxiplukenetiona F  
*C. havetiodes*<sup>18</sup>

Figura 23-Benzofenonas poliisopreniladas nas quais o anel benzeno derivado do acetato foi modificado para o bicyclo[3.3.1] nonano 2,4,9-triona.

1- [RAMA RAO et al., 1973]; 2- [SULTANBAWA, 1980]; 3-[DREYER, 1974]; 4- [HUSSAIN & WATERMAN, 1982]; 5-[KARANJGOAKAR et al., 1973]; 6- [RAMA RAO et al, 1980]; 7-[KRISHNAMURTHY et al, 1981]; 8-[SAHU et al., 1989]; 9- [BLOUT & WILLIAMS,1976]; 10- [GUSTAFSON, 1992]; 11-[McCANDLISH et al., 1976]; 12-[OLIVEIRA et al., 1996]; 13-[PORTO et al., 2000]; 14- [DELLE MONACHE et al., 1991c]; 15-[BENNET & LEE, 1989]; 16-[RUBIO, 1999; 2001]; 17- [HENRY et al., 1999]; 18-[CHRISTIAN et al., 2001]; 19-[LOKVAN, 2000].

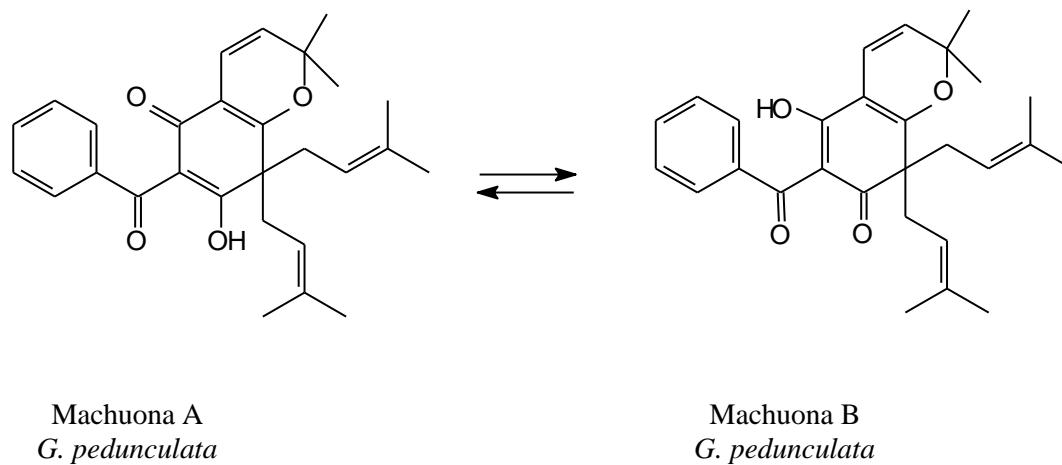


Figura 24 - Benzofenonas poliisopreniladas com grupo dimetilpireno.

[DELLE MONACHE et al., 1989]

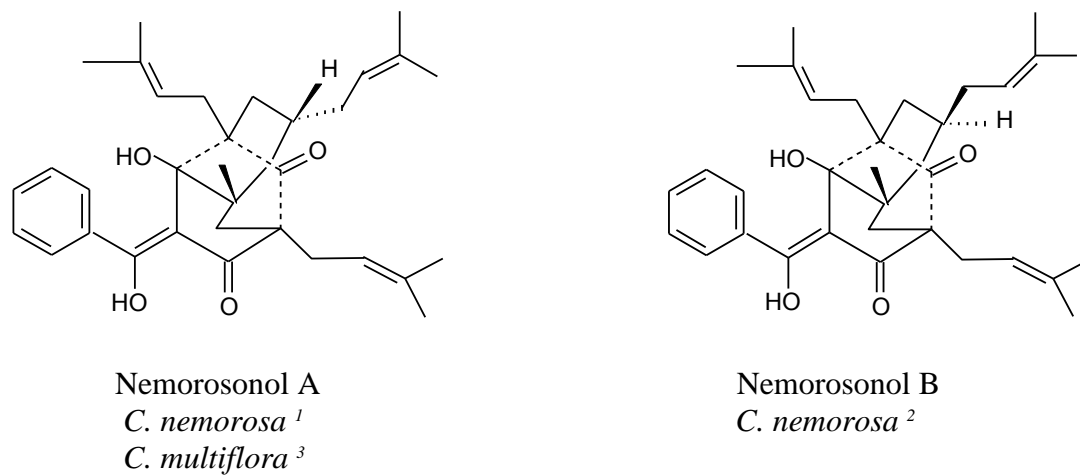


Figura 25 - Benzofenonas com o grupo triciclo-[4.3.1.0<sup>3,7</sup>] decano-7-hidroxi-2,9-triona.

1-[DELLE MONACHE et al., 1988]; 2-[CERRINI et al., 1993]; 3-[GONZALEZ GONZALEZ et al., 1995].



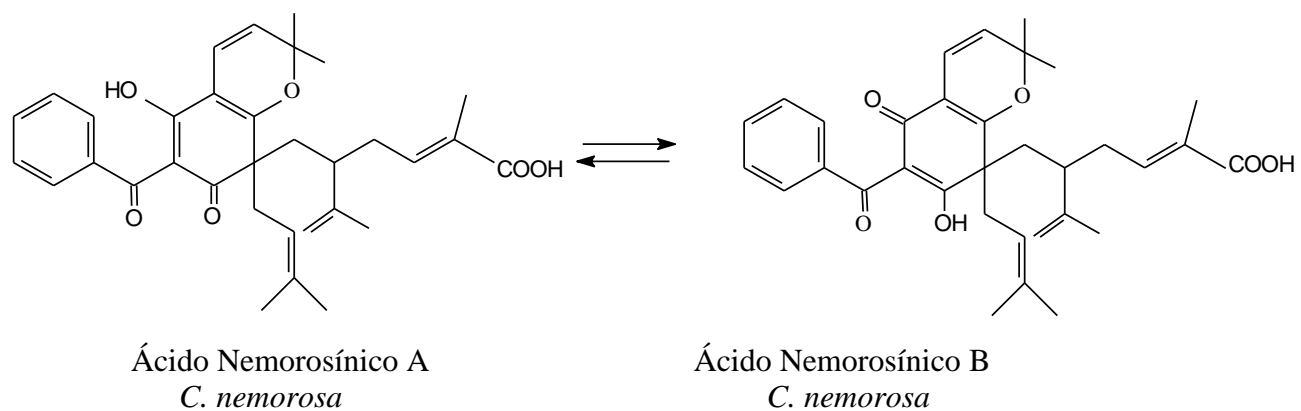


Figura 26 - Duas poliisopreniladas cetonas caracterizadas com uma cadeia lavandulil oxidada.

[DELLE MONACHE et al., 1991 b].

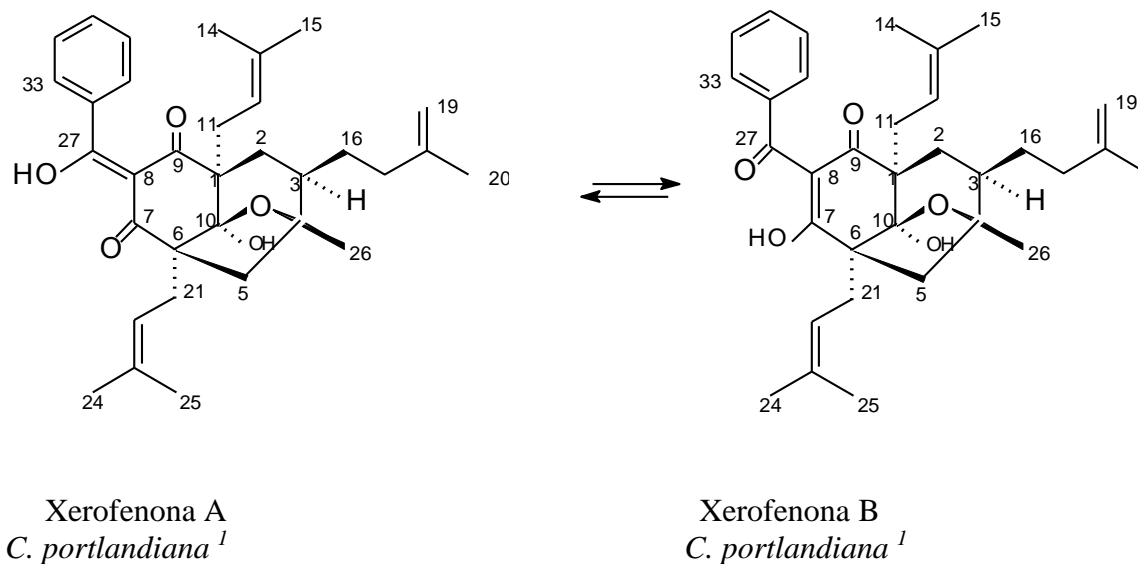


Figura 27 - Benzofenonas com o grupo 11- oxatriciclo [4.3.1.1<sup>4,10</sup>] undecano-7-9-diona.

[HENRY et al., 1995]

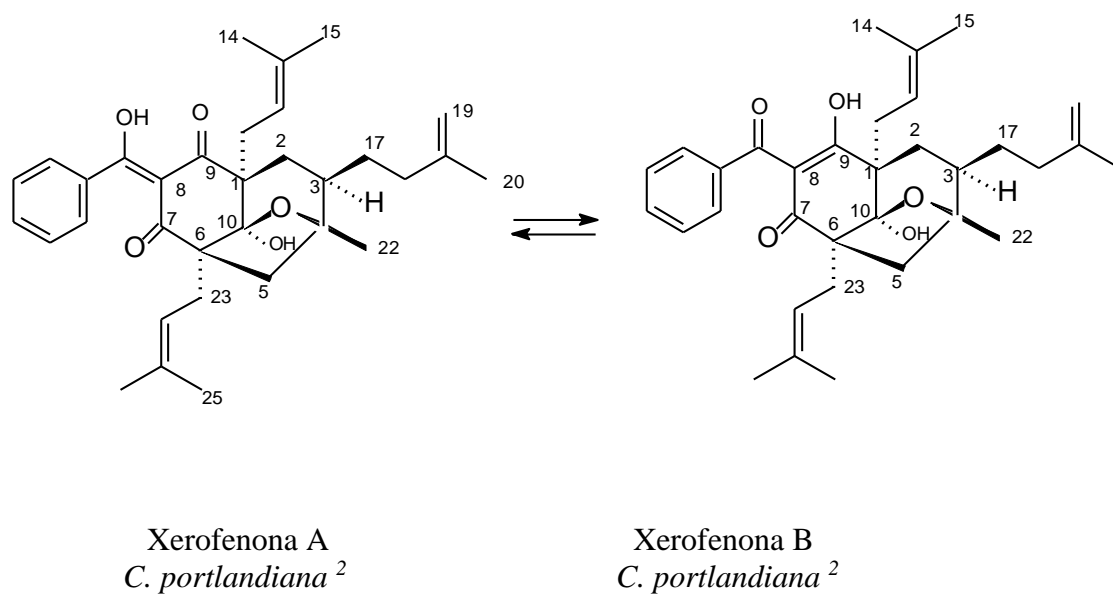


Figura 28 - Benzofenonas com o grupo 11- oxatriciclo [4.3.1.1<sup>4,10</sup>] undecano-7-9-diona.

[HENRY et al., 1999].

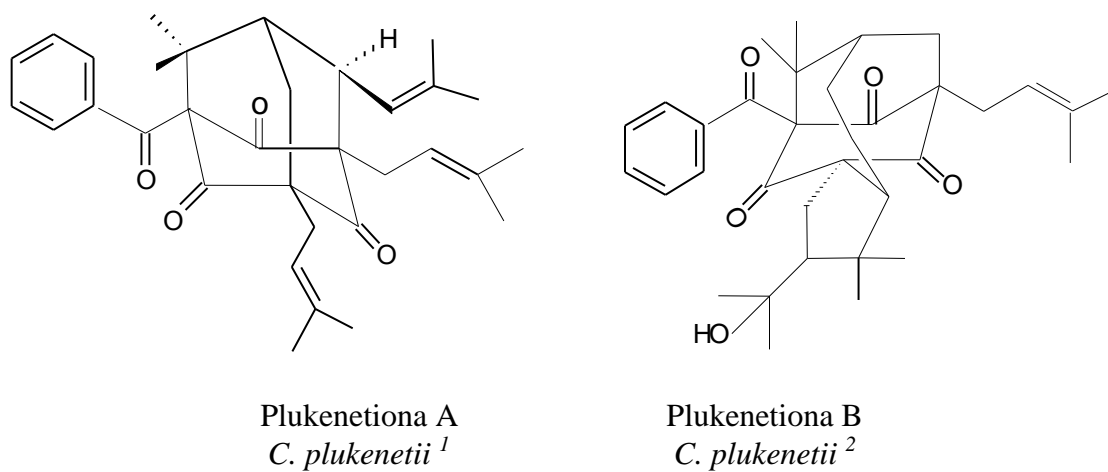
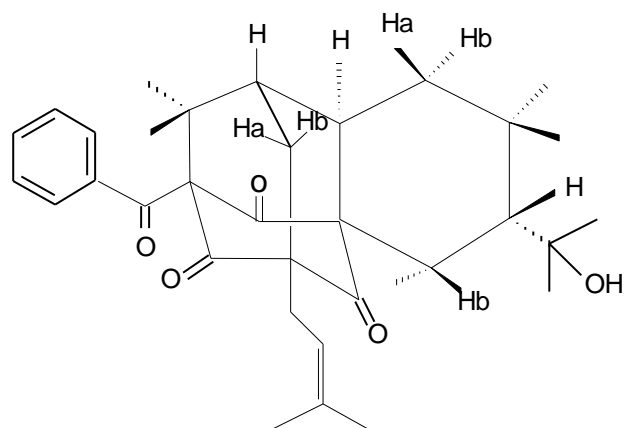
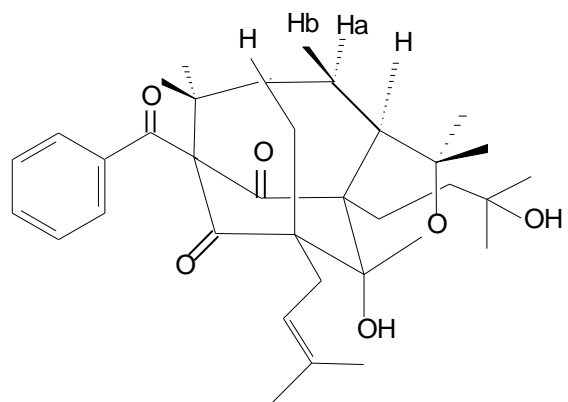


Figura 29 - Benzofenonas que apresentam anel adamantano.

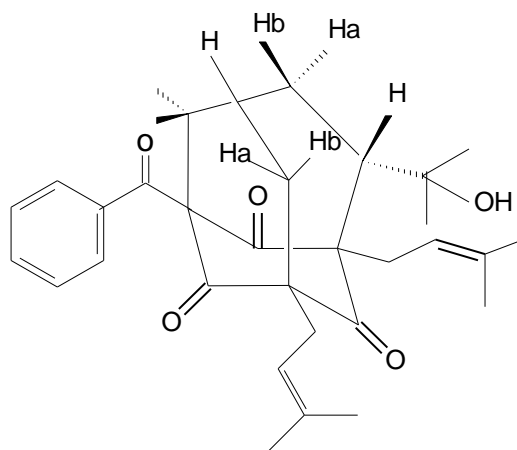
1-[HENRY et al., 1996]; 2- [HENRY et al., 1999]



Obdeltifoliona C  
*C. obdeltifolia*<sup>5</sup>



Obdeltifoliona E  
*C. obdeltifolia*<sup>4</sup>

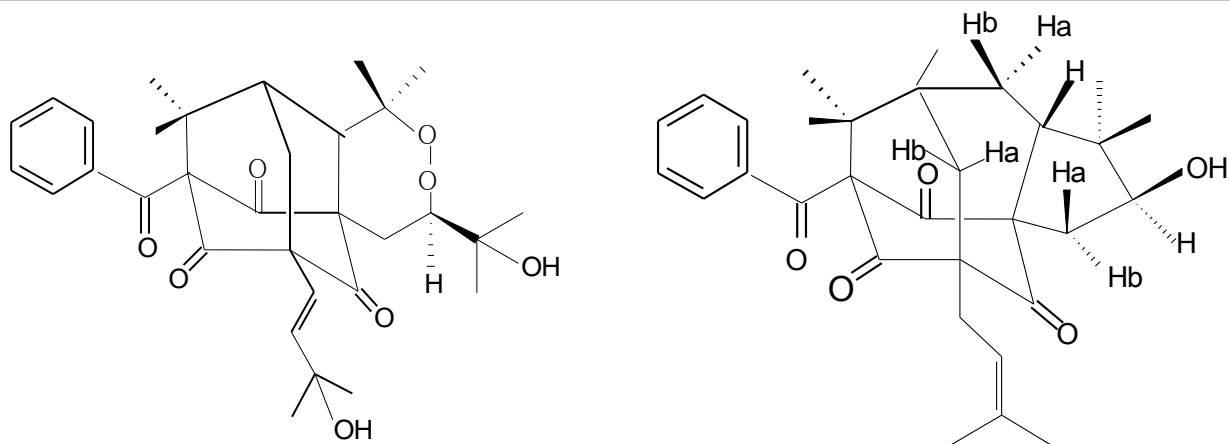


Obdeltifoliona F  
*C. obdeltifolia*<sup>4</sup>

---

Figura 30 - Benzofenonas que apresentam anel adamantano.

4-[CRUZ & TEIXEIRA, 2004]; 5-[CRUZ & TEIXEIRA, 2005]).



33-hidroperoxiisoplukenetiona C

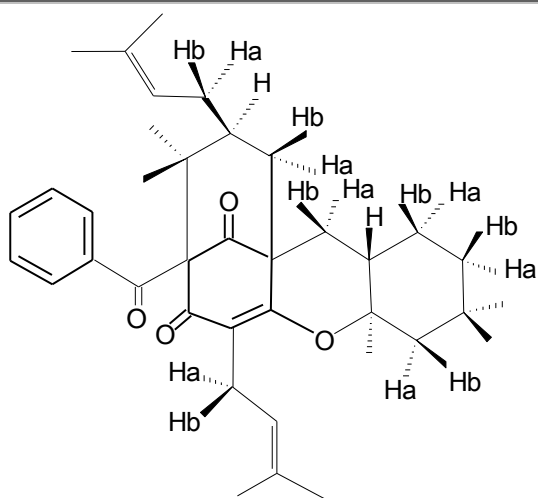
*C. havetiodes*<sup>3</sup>  
*C. obdeltifolia*<sup>5</sup>

Obdeltifoliona B

*C. obdeltifolia*<sup>4</sup>

Figura 31 - Benzofenonas que apresentam anel adamantano.

3-[CHRISTIAN et al., 2001]; 4-[CRUZ & TEIXEIRA, 2004]; 5-[CRUZ & TEIXEIRA, 2005].

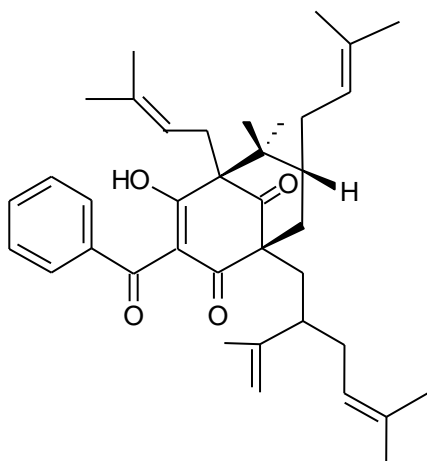


Obdeltifoliona H

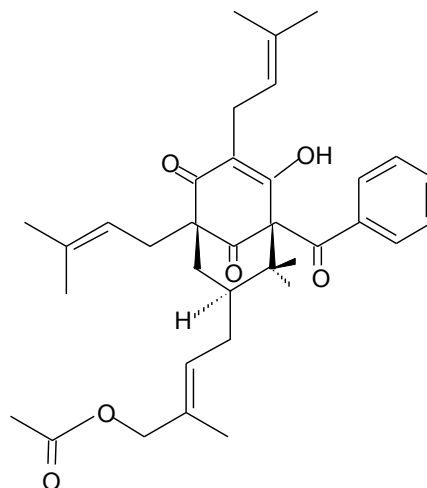
*C. obdeltifolia*

Figura 32 – benzofenona com o grupo 13-benzoil-6,6,8,14,14-pentametil-11-15-di(3-metil-2-butenil)-9-oxatetraciclo[11.3.1.0.<sup>1,10</sup>.0<sup>3,8</sup>]heptadec-10-eno-12,17-diona.

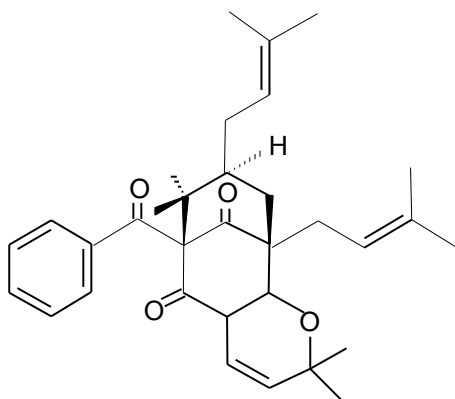
CRUZ & TEIXEIRA, 2005].



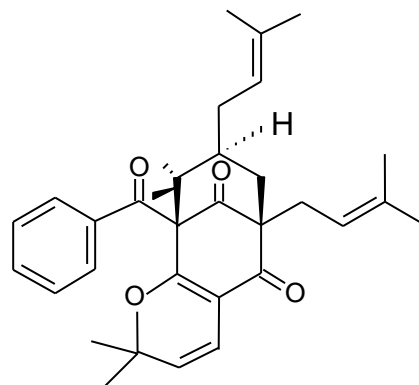
Spiritona  
*C. spiritu-sanctensis*



Insignona  
*C. insignis*



Scrobiculatona A  
*C. scrobiculata*



Scrobiculatona B  
*C. scrobiculata*

Figura 33-Benzofenonas com o grupo biciclo[ 3.3.1] non-2-eno-4-9-diona, biciclo[ 3.3.1] non-3-eno-2-9-diona, biciclo[ 3.3.1] non-2-eno-2-9-diona.

[PORTO et al., 2000].

## 1-7- BIOSÍNTESE DE BENZOFENONAS

As benzofenonas têm sua rota biossintética originada via rota do ácido chiquímico juntamente com a rota do acetato. Para o estudo da biossintese de benzofenonas, serão apresentadas duas rotas que estão de acordo com as informações obtidas pelo estudo de cultura de células das espécies *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) e *Hypericum androsaemum* (Hypericaceae)

Em culturas de células de *Centaurium erythraea* a benzofenona 2,3,4,6-tetrahidroxibenzofenona é obtida pela condensação de uma molécula de 3-hidroxibenzoil-CoA com três moléculas de malonil-CoA, a reação é catalisada pela enzima benzofenona sintase (Figura 34) [BEERHUES, 1996; SCHIMIDT & BEERHUES, 1997]. O benzoil-CoA, também foi utilizado na reação de condensação com as três moléculas de malonil-CoA para formação da 2,4,6-hidroxibenzofenona (Figura 35), porém o mais eficiente substrato frente a enzima benzofenona sintase foi o 3-hidroxibenzoil-CoA [BEERHUES, 1996].

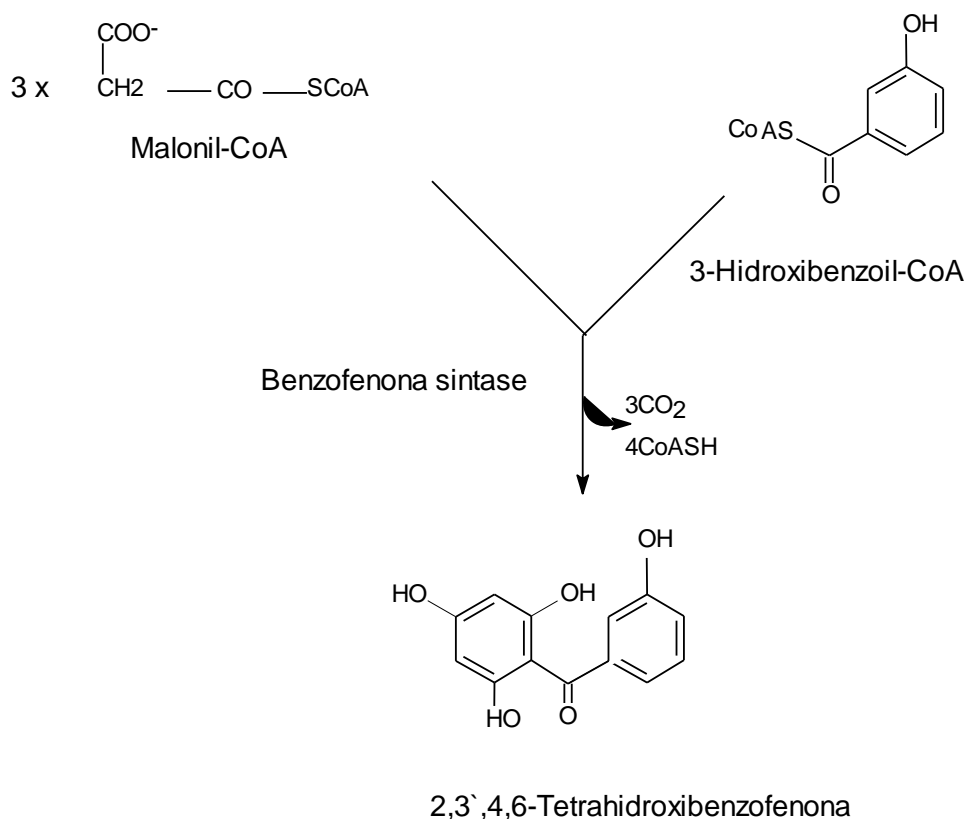


Figura 34 - Formação da 2,3,4,6 tetrahidroxibenzofenona em células de *Centaurium erythraea*

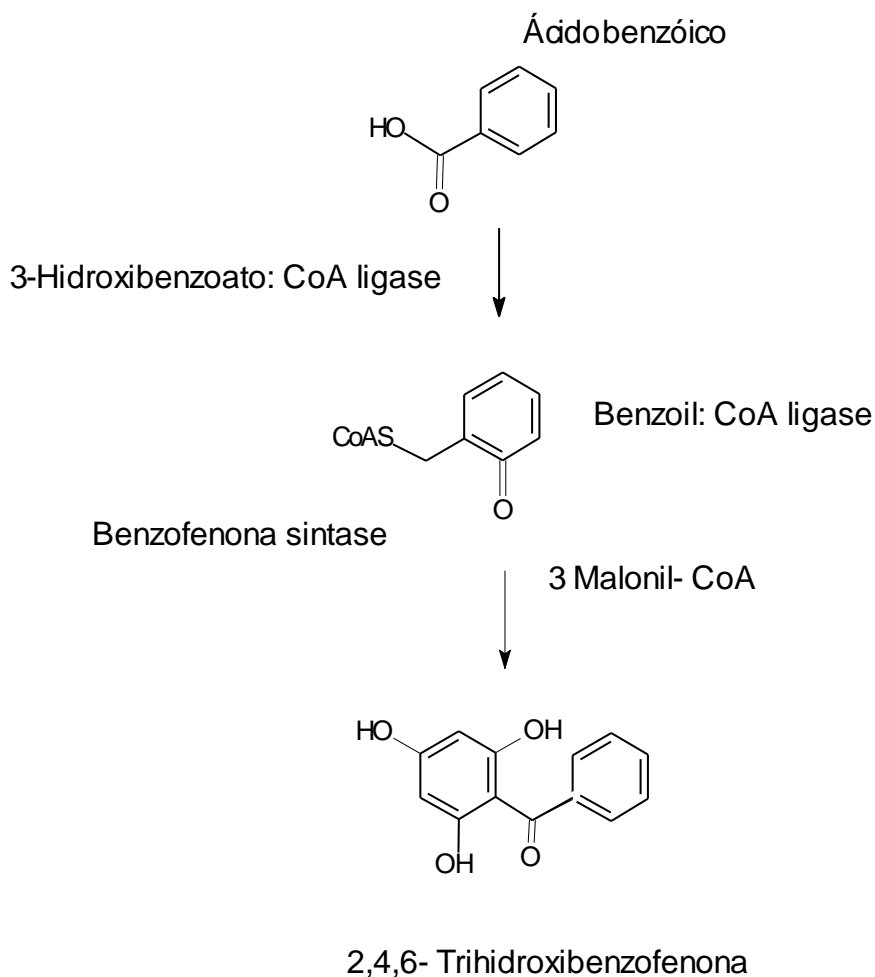


Figura 35 - Formação da 2,4,6- trihidroxibenzofenona em células de *Centaurium erythraea*

Em contraste, no estudo de *Hypericum androsaemum* a benzofenona sintase atua mais eficientemente em benzoil-Coa para a formação da 2,4,6- trihidroxibenzofenona do que em 3-hidroxibenzoil-Coa, esta é convertida em menor extensão ao ser incorporada com as três unidades de malonil-CoA para a formação da 2,3',4,6 tetrahidroxibenzofenona. O esquema dois (Figura 36) apresenta a 2,4,6- trihidroxibenzofenona com a ausência do grupo hidroxila ligado na posição meta do anel aromático, dessa forma a enzima benzofenona-3-hidrolilase leva à formação da 2,3',4,6-tetrahidroxibenzofenona [SCHIMIDT & BEERHUES, 1997].

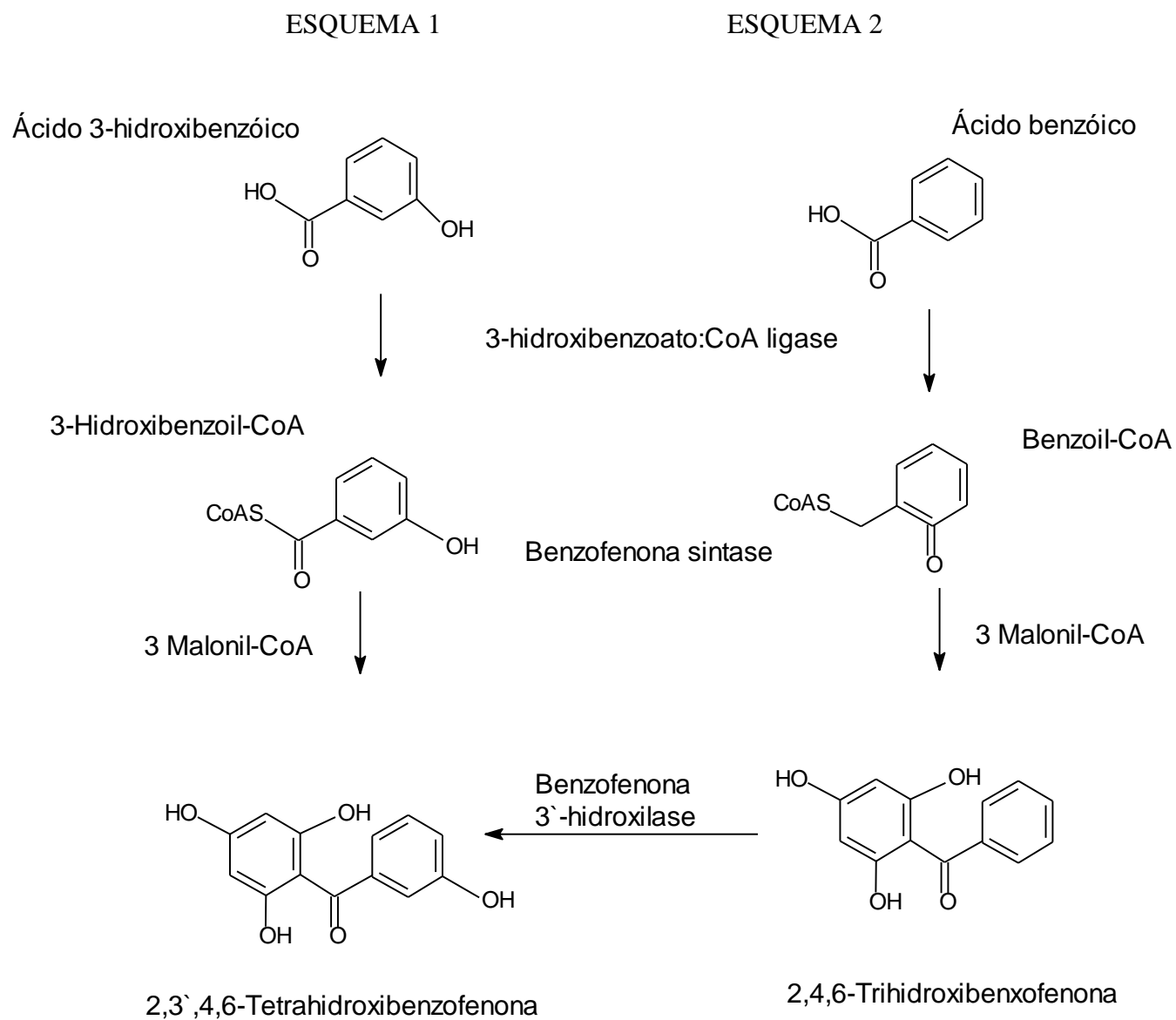


Figura 36 - Formação da 2,3,4,6 tetrahidroxibenzofenona em células de *Hypericum androsaemum*

As benzofenonas são precursoras das xantonas. Sabe-se que a enzima xantona sintase é a responsável pela ciclização da benzofenonas 2,3,4,6-tetrahidrobzofenona levando a obtenção de 1,3,7 e 1,3,5 -trihidroxixantona (Figura 37) [SCHMIDT & BEERHUES, 1997].



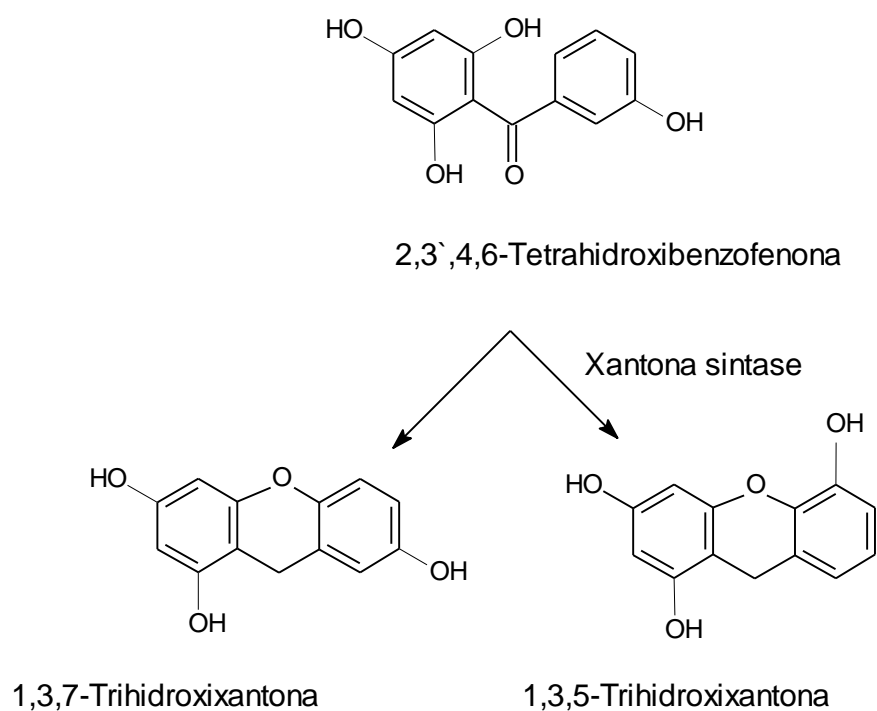


Figura 37 – Formação da 1,3,7 e 1,3,5 -trihidroxixantona

Em 1996, Beerhues observou que as células de *Centaurium erythraea* respondiam bem à adição de metil jasmonato, levando a formação e acúmulo da 1-hidroxi-3,5,6,7-tetrametoxixantona. Contudo não foi obtido aumento da atividade da enzima fenilalanina liase. Esta enzima promove a perda do íon  $\text{NH}_3^+$  por meio da reação de eliminação da fenilalanina levando à produção do ácido cinâmico via rota do ácido chiquímico. Já em 2001, El-Mawla e colaboradores ao realizarem experimentos utilizando os ácidos: benzóico, 3-hidroxibenzóico e cinâmico como precursores marcados, que foram tratados com metil jamonato, observaram que em culturas de *Centaurium erythraea* os ácidos cinâmico e benzóico não são incorporados na formação da 1-hidroxi-3,5,6,7-tetrametoxixantona, somente o ácido 3-hidroxibenzóico. Em culturas de *Hypericum androsaemum* existiu uma alta incorporação do ácido benzóico quando comparado com o ácido 3-hidroxibenzóico. O ácido cinâmico também foi incorporado, este é precursor do ácido benzóico na produção da 1,3,6,7-tetrahidroxi-8-prenilxantona. Houve aumento da atividade da enzima fenilalanina liase.

Assim, conclui-se que o ácido cinâmico é precursor do ácido benzóico em células de *Hypericum androsaemum* mas não é em *Centaurium erythraea*, já que este não foi incorporado. Então o ácido 3-hidroxibenzóico em cultura de *Centaurium erythraea* aparece como derivado direto do ácido chiquímico (Rota I), enquanto que em *Hypericum androsaemum* o ácido benzóico é o intermediário originado via ácido cinâmico produto da reação de eliminação do íon  $\text{NH}_3^+$  da fenilalanina na rota do ácido chiquímico (Rota II) [EL-MAWLA et al., 2001].

Inicialmente será demonstrada a rota do ácido chiquímico e dando seqüência, as Rotas I e II para obtenção das benzofenonas.

### 1.7.1-ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO

O caminho para obtenção do ácido chiquímico inicia-se com uma reação de condensação aldólica do fosfoenolpiruvato com a eritrose-4-fosfato catalisada pela enzima 3-desoxi-D-arabinoheptulosonato-7-fosfato sintase, produzindo o ácido 3-desoxi-D-arbinoheptulosônico-7-fosfato (DAHP). A eliminação do ácido fosfórico da DAHP seguida de uma reação aldólica intramolecular catalisada pela enzima 3-desidroquinato sintase leva à formação do primeiro intermediário cíclico, o ácido 3-desidroquímico. Este logo após uma desidratação é transformado no ácido 3-desidrochiquímico, catalisada pela ação da enzima 3-desidroquinato desidratase.

O ácido 3-desidrochiquímico é convertido no ácido chiquímico pela reação de redução catalisada pela enzima 3-desidrochiquimato redutase (Figura 38) [DEWICK,2002].

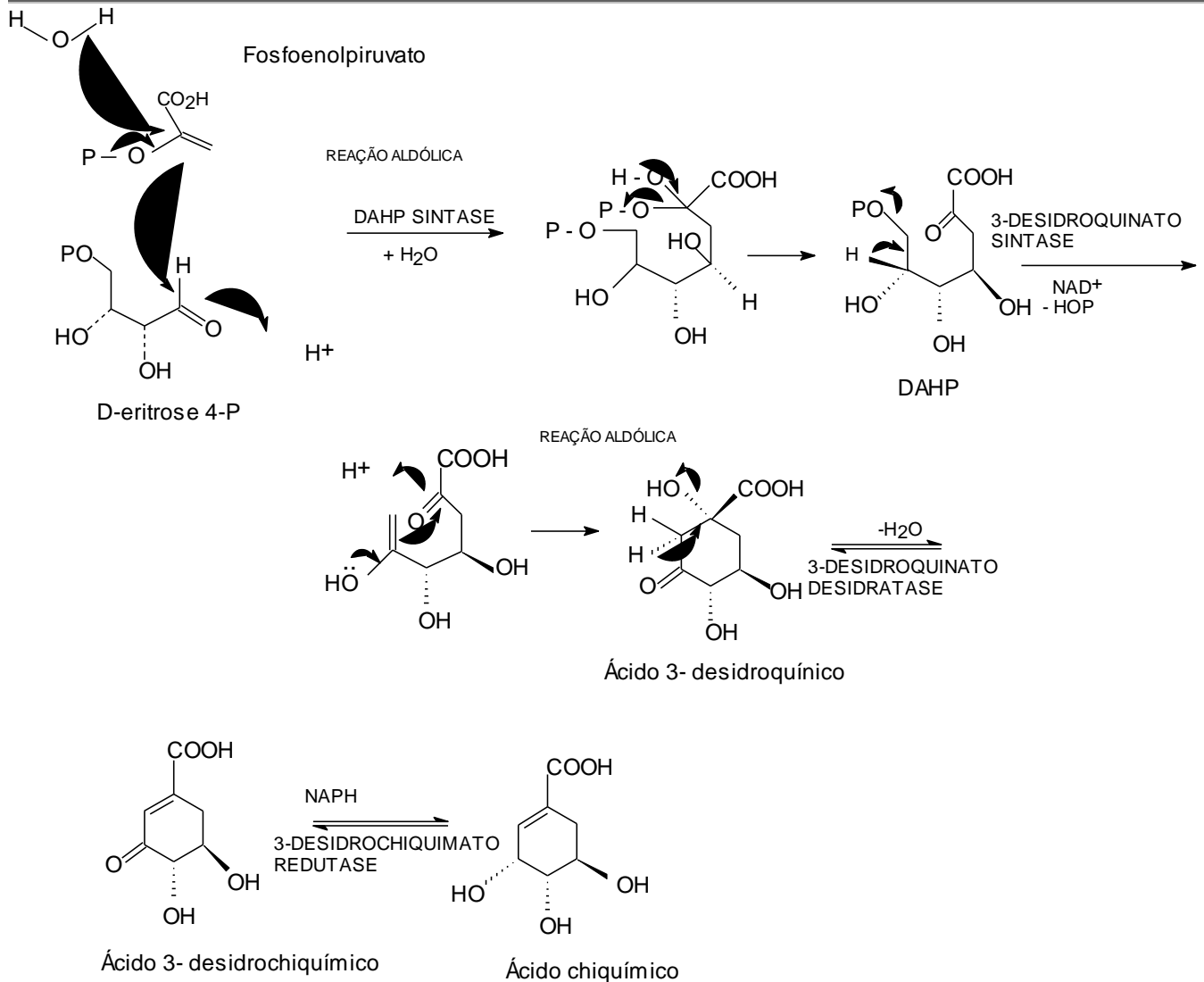


Figura 38 - Formação do ácido chiquímico

### 1.7.2 - ROTA I- FORMAÇÃO DO ÁCIDO 3-HIDROXIBENZÓICO VIA ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO

A figura mostra que um dos intrermediários formado na obtenção do ácido chiquímico é o ácido 3-desidroquínico. Este além de sofrer uma desidratação e uma posterior redução para a formação do ácido chiquímico, pode sofrer uma redução seguida por uma desidratação para a formação do 3-hidroxibenzóico (Figura 39 ).

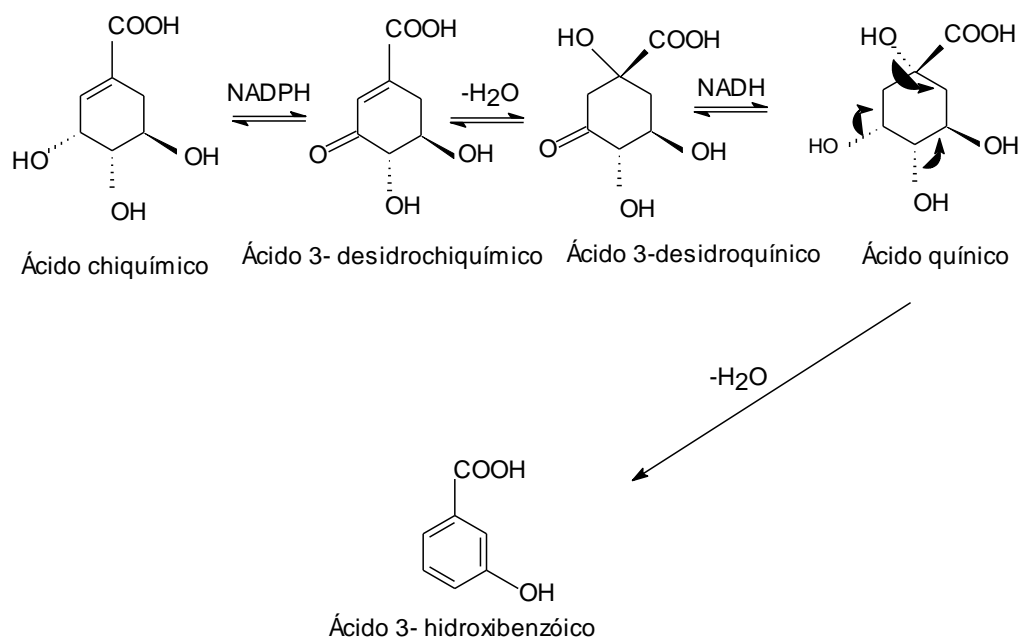


Figura 39 – Formação do ácido 3-hidroxi-benzóico

O ácido 3-hidroxi-benzóico é convertido em 3-hidroxi-benzóil-CoA pela ação da enzima 3-hidroxi-benzóil-CoA que através de uma reação de condensação com 3 unidades de malonil-CoA, catalisada pela enzima benzofenona sintase fornece a 2,3,4,6-tetra-hidroxi-benzofenona (Figura 34).

### 1.7.3 - ROTA II - FORMAÇÃO DO ÁCIDO BENZÓICO A PARTIR DO ÁCIDO CINÂMICO VIA ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO.

Pela ação da enzima chiquimato quinase e ATP o ácido chiquímico é convertido para o ácido chiquímico-3-fosfato. Este combina com o fosfoenol (PEP) através de uma reação de adição com posterior eliminação do ácido fosfórico, dando o ácido 5-enolpiruvilchiquímico-3-fosfato (EPSP) sob a ação da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase. A eliminação do hidrogênio e do grupo fosfato fornece o ácido corísmico que é convertido em ácido prefênico por uma reação de Claisen catalisada pela enzima corismato mutase. O ácido prefênico sofre uma reação de transaminação levando a produção do ácido aragônico, sob a ação da amino-transferase. O ácido aragônico sofre

uma descarboxilação e uma desidratação catalisada pela enzima aragonato desidratase e é transformado em fenilalanina.

A enzima fenilalanina amônia liase (PAL) promove a perda do íon  $\text{NH}_3^+$  convertendo a fenilalanina em ácido cinâmico (Figura 40).

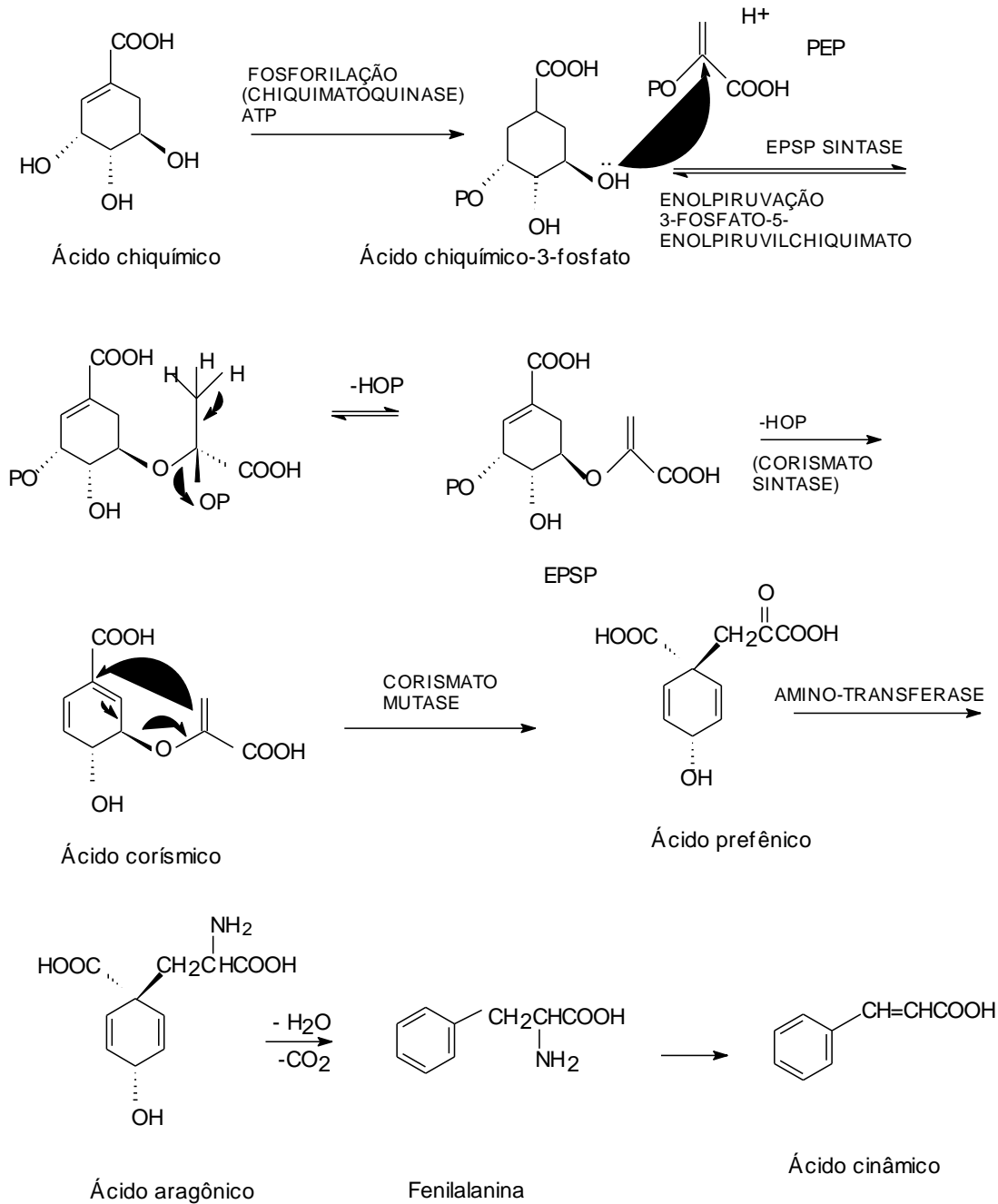


Figura 40 – Formação do ácido cinâmico

O ácido cinâmico sob ação da enzima cinnamato-CoA ligase é convertido em 3-fenilpropenoil-CoA, que em uma segunda etapa sofre uma quebra na dupla ligação pela adição da água, esta reação é catalisada pela enzima cinnamoil-Coa hidratase levando a formação do 3-hidroxi-3fenilpropanoil-CoA que na presença de  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  é oxidado à acetofenilacetil-CoA. Finalmente através de uma reação de Claisen reversa são obtidos o benzoil-CoA e acetil-CoA (Figura 41).

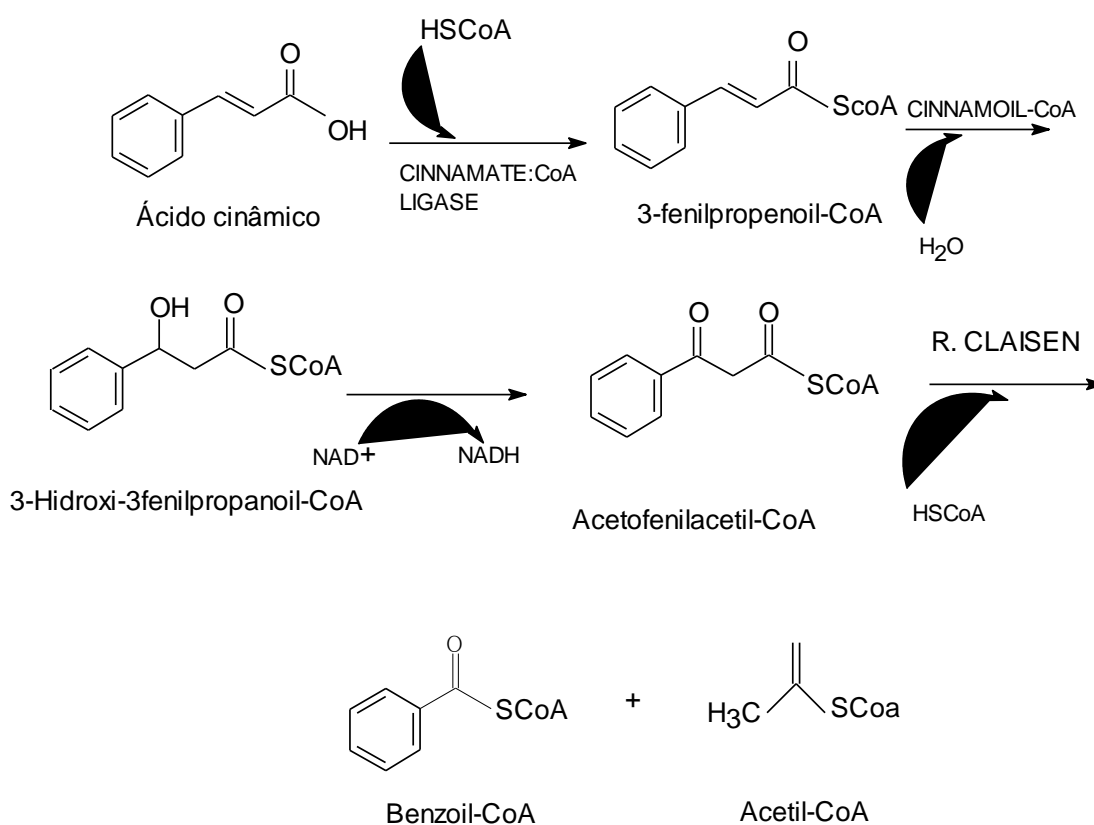


Figura 41 – Formação do benzoil-CoA e acetil-CoA

O benzoil-CoA através de uma reação de condensação com 3 unidades de malonil-CoA, catalisada pela enzima benzofenona sintase fornece a 2,4,6-trihidroxibenzofenona [Figura 36 ( esquema 2)].

### 1.7.4-BIOGÊNESE PARA BENZOFENONAS POLIISOPRENILADAS

Do estudo fitoquímico da espécie *Hypericum sampsonii* da família Hypericaceae foram isoladas benzofenonas com esqueleto modificado. Os pesquisadores Hu e Sim propuseram uma nova rota biossintética para as benzofenonas. De acordo com a proposta apresentada as benzofenonas sofrem reações de alquilação através da introdução de grupos prenilas [HU & SIM, 1998; 1999a; 1999b; 2000]. Como exemplo temos a Sampsoniona A que é o primeiro derivado de benzofenona a possuir um novo anel rígido 5-oxatetraciclo [7.3.1.0<sup>3,7</sup>.0<sup>4,11</sup>] tridecano-2-12-diona. Através da proposta biossintética a 2,4,6-trioxibenzofenona (1) sofre uma reação de alquilação pelo grupos geranil pirofosfato e 3,3-dimetilalil pirofosfato produzindo o intermediário (2), levando posteriormente ao biciclo [3.3.1.] nonanotrano (3), subseqüentemente uma epoxidação e uma ciclização intramolecular fornece o triciclo[4.3.1.1] undecanotriona (4) (Figura 42).

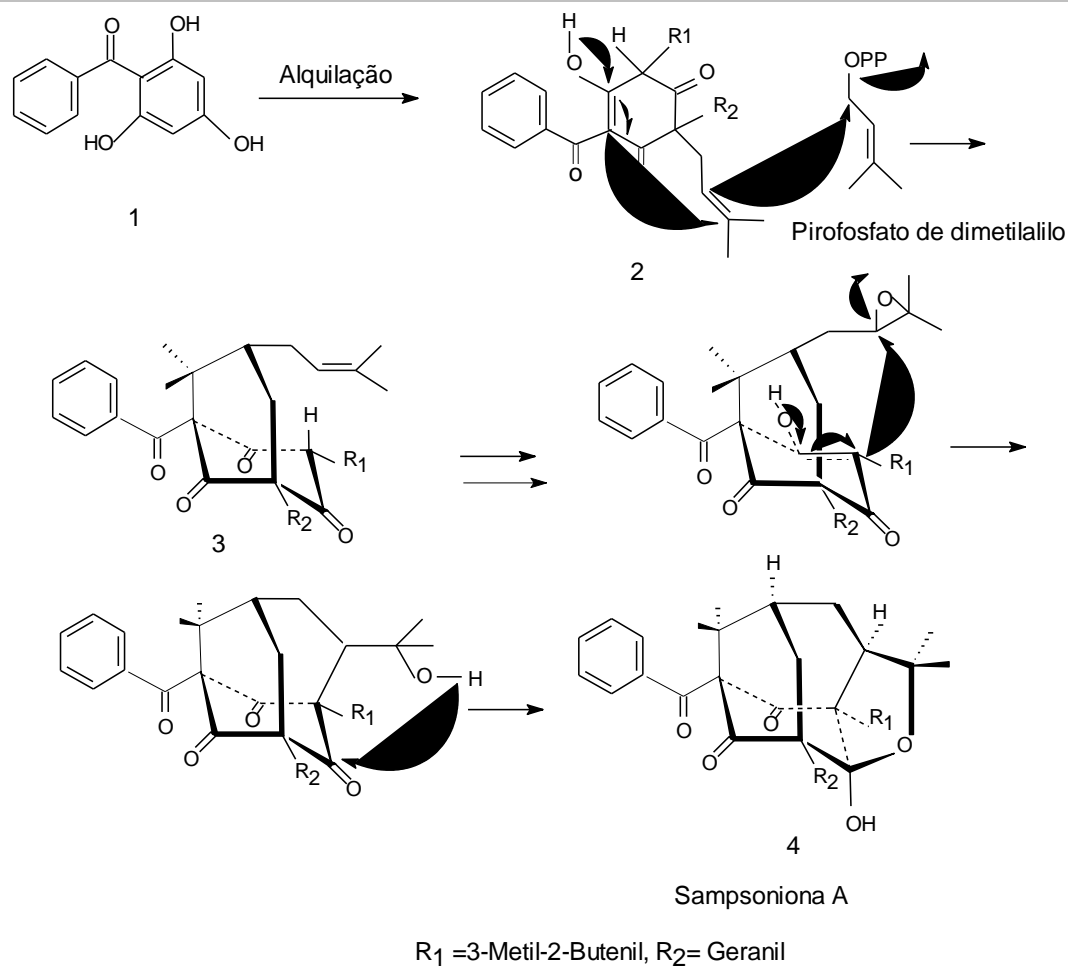


Figura 42 – Biogênese para a substância Sampsoniona A

## 2.0 – MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 - Coleta e Identificação botânica da espécie vegetal

Como descrito anteriormente a espécie *Clusia burle-marxii* foi coletada na Cachoeira do Fraga, nas proximidades do Município de Rio de Contas–Chapada Diamantina estado da Bahia, no mês de janeiro de 2003 pela equipe do GESNAT coordenada pelo professor Dr. Frederico Guaré Cruz (p.5; Figura 3).

### 2.2- Equipamentos e Materiais utilizados.

- Para trituração do caule da planta foi utilizado o moinho Thomas Wiley Laboratory Mill – Modelo 4.

- Os solventes utilizados foram produtos analiticamente puros da Merck, Grupo Química, Vetec, Quimex, CRQ e destilados para uso em CCDP.

- As concentrações dos extratos de algumas frações foram realizadas sob pressão reduzida utilizando evaporador rotativo BUCHI modelo R-3000, outras frações contidas em frascos de volume 10,0 mL foram deixados na capela para evaporação do solvente.

- Nas separações dos constituintes químicos por cromatografia em coluna, foi utilizada sílica gel 60 (70 - 230 mesh / 0,040-0,063 mm) da Merck.

- Nas cromatografias em camada delgada comparativa (CCDC) foram utilizadas como adsorvente sílica gel 60 GF<sub>254</sub> da Merk. As placas cromatográficas foram preparadas espalhando-se uma suspensão de sílica gel em água destilada sobre a placa de vidro. A suspensão de sílica em água destilada foi distribuída manualmente sobre placas de vidro de tamanho 2,5 x 7,0 cm e 5,0 x 20,0 cm.

- Nas cromatografias em camada delgada preparativa (CCDP) foram utilizadas como adsorvente sílica gel 60 GF<sub>254 + 366</sub> da Merk. A suspensão de sílica em água destilada foi distribuída com espalhador Heidelberg sobre placas de vidro de tamanho 20,0 x 20,0 cm e espessura de 1,00 mm.

- Os cromatogramas em camada delgada foram reveladas com irradiações de luz UV de 254 nm e 366nm, bem como vapores de iodo. As placas de Cromatografia em camada delgada preparativa foram reveladas com irradiações de luz UV de 254 e 356 nm.



-Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135°, foram obtidos em espectrofotômetro Varian Gemini 300 operando a 300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Utilizamos como solvente o  $\text{CDCl}_3$  e os deslocamentos químicos foram medidos em ppm tendo como referência interna o TMS.

-Os espectros de correlação HMBC e HMQC, foram registrados em espectrômetro Bruker 500, operando a 500 MHz, tendo como referência interna o TMS.

-Os fragmentogramas foram obtidos em espectrômetro HP 5973, todos por inserção direta e operando a 70 eV.

### 2.3 - Obtenção dos Extratos

O caule do espécimen a ser estudado, foi dividido em pequenos fragmentos e depois de seco à temperatura ambiente, foi fragmentado em um moinho obtendo-se uma serragem (3,896 kg). Esta foi colocada em um recipiente de vidro e em seguida adicionado hexano o qual foi deixado por três dias, este processo foi repetido por mais duas vezes consecutivas. Uma vez finalizado esta extração, foi filtrado em recipiente separado. À torta resultante foi adicionado metanol utilizando o mesmo procedimento descrito acima.

Os extratos hexânico e metanólico foram submetidos à concentração sob pressão reduzida, utilizando um rota-evaporador (Figura 43).

Foram feitas análises de RMN  $^1\text{H}$  com os dois extratos, e de posse dos espectros foi escolhido o extrato hexânico para ser trabalhado. O extrato metanólico foi guardado para trabalhos futuros.

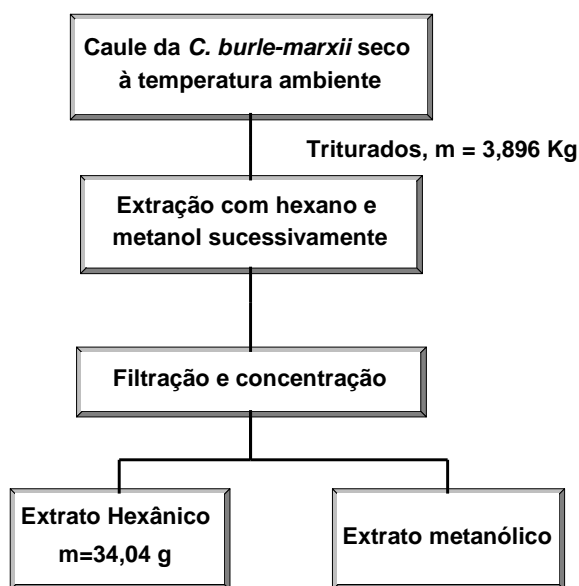


Figura 43 – Fluxograma de obtenção dos extratos hexânico e metanólico

## 2.3.1-SEPARAÇÃO, PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

### 2.3.1.1-Fracionamento do Extrato Hexânico

O extrato hexânico ( $m = 35,0$  g), foi submetido a uma coluna filtrante (Figura 44) empacotada com sílica gel 60 à seco (70-230 mesh), utilizando como sistema de eluente hexano/acetato de etila em gradiente crescente de polaridade.

As frações foram recolhidas em balões de 250 mL, que depois de concentradas à pressão reduzida em rota-evaporador foram obtidas 28 frações (CB1-1 a CB1-28). Estas frações foram analisadas por CCDC, sendo reunidas, restando 22 frações, denominadas (CB1-1 a CB1-22) (Tabela 2). Das 22 frações, foram escolhidas as frações CB1-8, CB1-10 e CB1-13, que possuíam maior massa para análise de RMN de  $^1\text{H}$ , as mesmas indicaram através da observação dos espectros serem ricas em metabólitos secundários. Então selecionamos a fração CB1-8 para ser estudada.

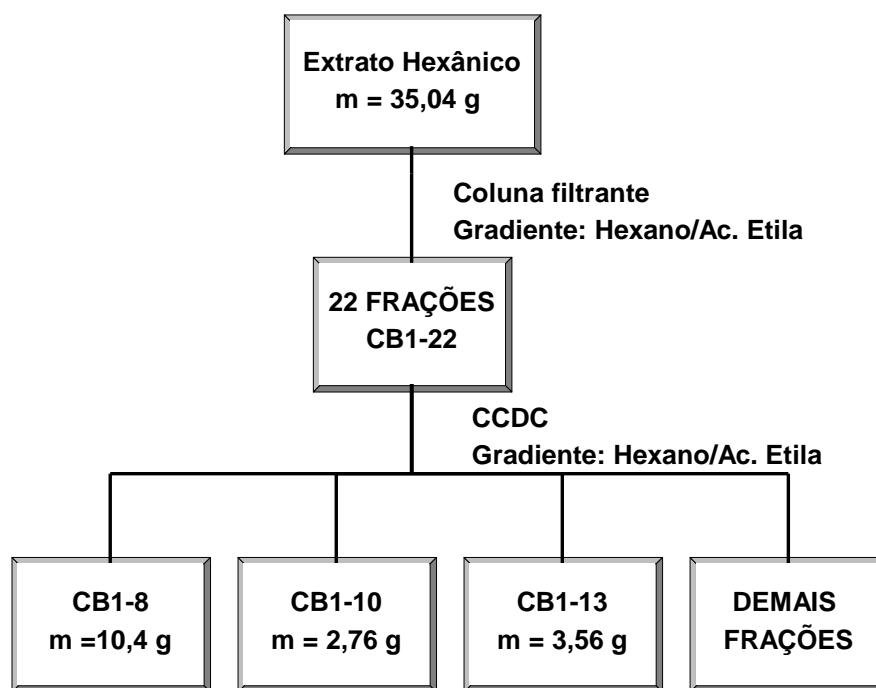


Figura 44 – Fluxograma do fracionamento do extrato hexânico

Tabela 2 – Fracionamento do extrato hexânico

<b>FRAÇÕES</b>	<b>SISTEMA DE SOLVENTES</b>	<b>MASSA (g)</b>	<b>MASSA TOTAL (g)</b>
CB1-1	Hexano	0,30	33,23
CB1-2	Hexano	0,39	
CB1-3	Hexano	0,07	
CB1-4	Hexano	0,11	
CB1-5	Hexano	0,03	
CB1-6	Hexano	0,42	
CB1-7	Hexano/ Acetato de etila 9:1	0,33	
CB1-8	Hexano/ Acetato de etila 9:1	10,44	
CB1-9	Hexano/ Acetato de etila 9:1	2,27	
CB1-10	Hexano/ Acetato de etila 9:1	2,76	
CB1-11	Hexano/Acetato de etila 8:2	2,10	
CB1-12	Hexano/Acetato de etila 8:2	1,24	
CB1-13	Hexano/Acetato de etila 8:2	3,56	
CB1-14	Hexano/Acetato de etila 7:3	1,15	
CB1-15	Hexano/Acetato de etila 7:3	0,53	
CB1-16	Hexano/Acetato de etila 7:3	1,18	
CB-17	Hexano/Acetato de etila 7:3	1,0	
CB-18	Hexano/Acetato de etila 6:4	2,48	
CB-19	Hexano/Acetato de etila 6:4	0,57	
CB-20	Acetato	0,50	
CB-21	Acetato	0,80	
CB-22	Metanol	1,0	

### 2.3.1.2 - Estudo da fração CB1-8

A fração CB1-8 (m = 10,4 g) (Figura 45) foi submetida a uma coluna cromatográfica, usando como adsorvente sílica gel 60 (70 - 230 mesh), utilizando como sistema de eluente hexano/acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 46 frações denominadas CB2-1 a CB2-46, recolhidas em balões de 250 mL, que foram posteriormente concentradas sob pressão reduzida, utilizando um rota-evaporador. Todas as frações foram colocadas em frascos de 40 mL, deixadas em capela, para a evaporação do solvente. Após evaporação do solvente foi observado que juntamente com a fase oleosa houve a formação de cristais brancos nas frações CB2-18 a CB2-28 (m = 2250 mg) (hexano/acetato de etila 98:2). As frações foram analisadas por CCDC em diversos sistemas de solventes onde foi observado que as frações CB2-18 a CB2-25 apresentavam o mesmo comportamento na placa. Algumas das frações foram selecionadas para análise de RMN de  $^1\text{H}$  sendo confirmada a semelhança.

As frações foram agrupadas e em sequência submetida a uma filtração, onde foram separadas a fase oleosa e o sólido. O sólido sofreu várias recristalizações em acetato de etila, que possibilitou o isolamento da substância 1 (m = 23 mg). O mesmo procedimento foi dado as frações CB2-26 a CB2-28 (m = 227 mg), onde foi isolada a substância 2 (m = 27 mg). A fase oleosa das frações CB2-18 a CB2-25 (m = 2,0 g) e CB2-26 a CB2-28 (m = 200 mg) foi submetido à análise de CCDC, e posteriormente a análise de RMN de  $^1\text{H}$  sendo verificado que as frações CB2-18 a CB2-25 (m = 2,0 g) eram iguais e ricas em metabólitos secundários, enquanto que a fração CB2-26 a CB2-28 (m = 200 mg) mesmo tendo semelhança espectral, era uma mistura de difícil separação. Assim a fração CB2-18-25 foi selecionada e submetida à uma coluna cromatográfica.

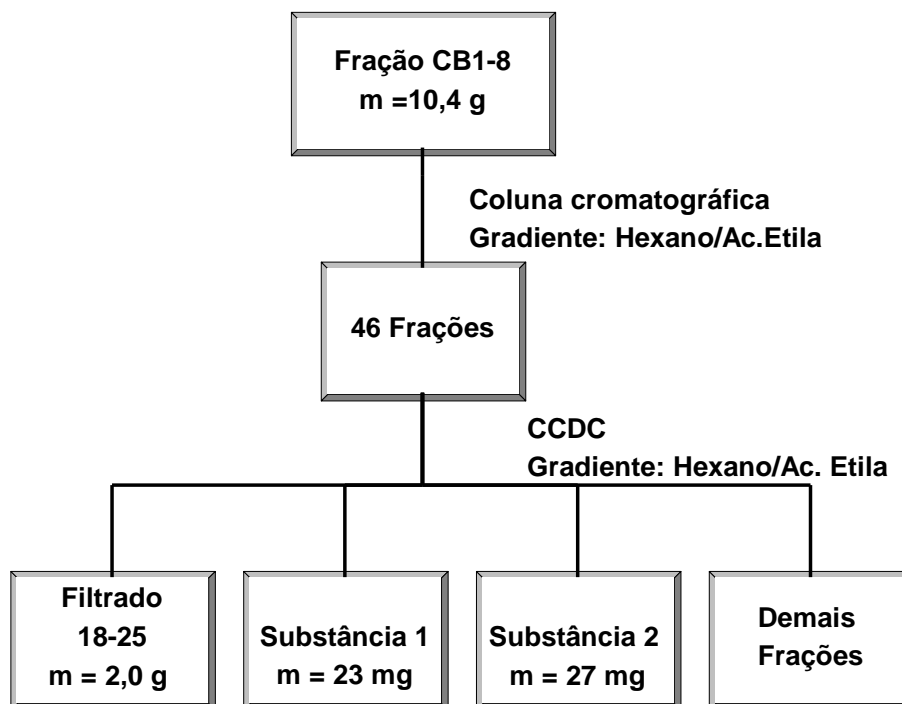


Figura 45 – Fluxograma do fracionamento da fração CB1-8

### 2.3.1.3 - Estudo da fase oleosa da fração CB2 18-25

A fração CB2 18-25 ( $m = 2,0$  g) (Figura 46) fase oleosa foi submetida a uma coluna cromatográfica, utilizando sílica gel 60 (70-230 mesh) e como fase móvel hexano e posteriormente mistura de hexano/acetato de etila em ordem crescente de polaridade, onde foram coletadas 81 frações denominadas CB3-1 a CB3-81 em balões de 50 mL, que em seguida foram concentradas em um evaporador rotatório. As frações CB3 11-22 ( $m = 290$  mg) (hexano/acetato de etila 99:1), CB3 44-53 ( $m = 182$  mg) (hexano/acetato de etila 99:1) e CB3 54-66 ( $m = 545$  mg) (hexano/acetato de etila 99:1) foram selecionadas para estudo tendo em vista o comportamento apresentado em CCDC e pelos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ .

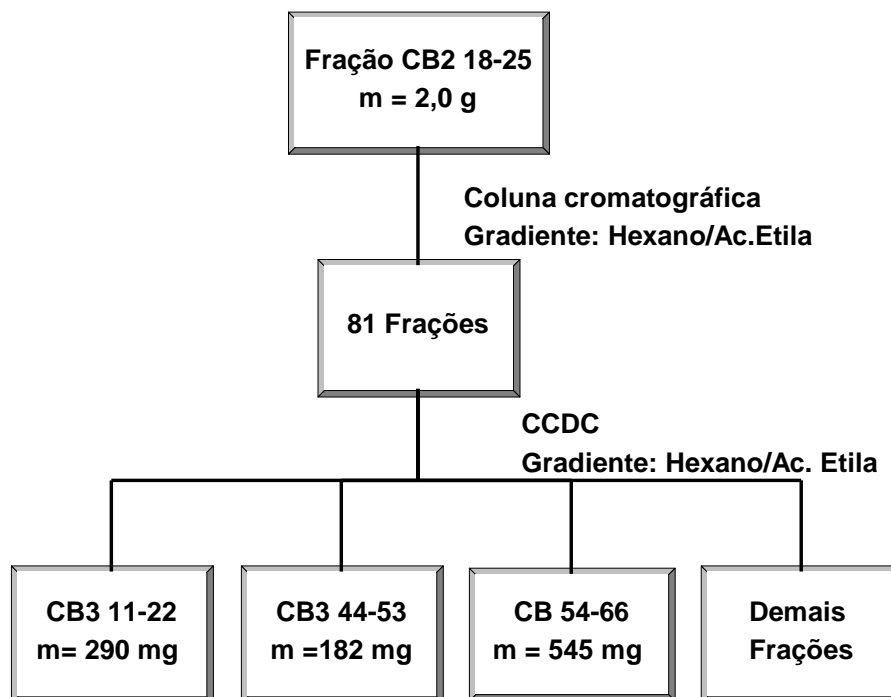


Figura 46 – Fluxograma do fracionamento da fração CB2 18-25

#### 2.3.1.4 - Estudo da fração CB3 11-22

A fração CB3 11-22 (m = 90 mg) foi submetida a uma reação de transesterificação (p. 52) da qual foram obtidas as fases diclometânicas 1 (m = 71 mg) e 2 (m = 10 mg). Da fase diclorometânica 1 foi feita uma coluna cromatográfica (Figura 47) empacotada com sílica gel 60 (0,040-0,063 nm) e fase eluente hexano e em sequência mistura de hexano/acetato de etila em ordem crescente de polaridade, sendo obtidas 71 frações denominadas CB4 1-71 que foram submetidas à análises de CCDC. As frações de mesmo comportamento cromatográfico foram reunidas e após análise de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  foram isolados os ésteres graxos e a substância 3, substância 4 e as substâncias 5 e 6 em mistura (Tabela 3).

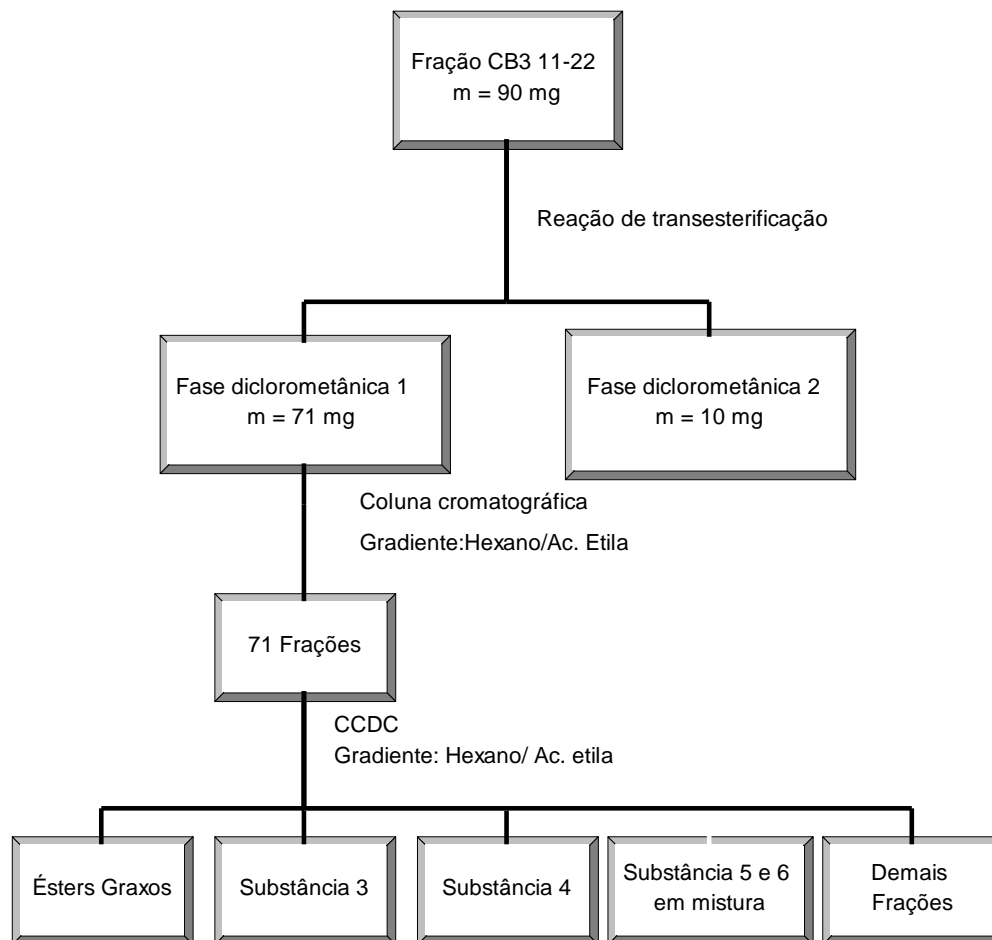


Figura 47 – Fluxograma do fracionamento da fração CB3 11-22

Tabela 3 - Substâncias isoladas da fração CB3 11-22

COMPONENTES	SISTEMA DE ELUENTE	MASSA (mg)
Ésteres graxos	Hexano/acetato de etila 98:2	10
Substância 3	Hexano/acetato de etila 95:5	23
Substância 4	Hexano/acetato de etila 70:30	15
Substância 5 e 6	Hexano/acetato de etila 50:50	10

### 2.3.1.5 - Estudo da fração CB3 44-53

A fração CB3 44-53 (m = 182 mg) (Figura 48), foi submetida a uma coluna cromatográfica empacotada com sílica gel 60 (0,040-0,063 nm), utilizando como eluente o mesmo sistema de solvente descrito para a fração CB3 11-22. Das 50 frações obtidas sob denominação de CB4 1 a CB4 50 e depois da análise de CCDC, foi selecionada a fração CB4 20-32 (m = 20 mg) (hexano/acetato de etila 97:3) com duas manchas na placa, CB4 40-48 (m = 20 mg) (hexano/acetato de etila 95:5) com três manchas na placa. A fração CB5 20-32 (m = 20 mg) foi submetida a uma CCDP tendo como sistema de eluição hexano/acetato de etila 98:2, foi isolado o componente CB5 20-32-1 (m = 10 mg). A fração CB5 40-48 foi submetida a uma reação de metilação (p. 52), e posteriormente a uma CCCP (hexano/acetato de etila 99:1) onde foi isolado o componente CB5 40-48-1 (m = 8 mg).

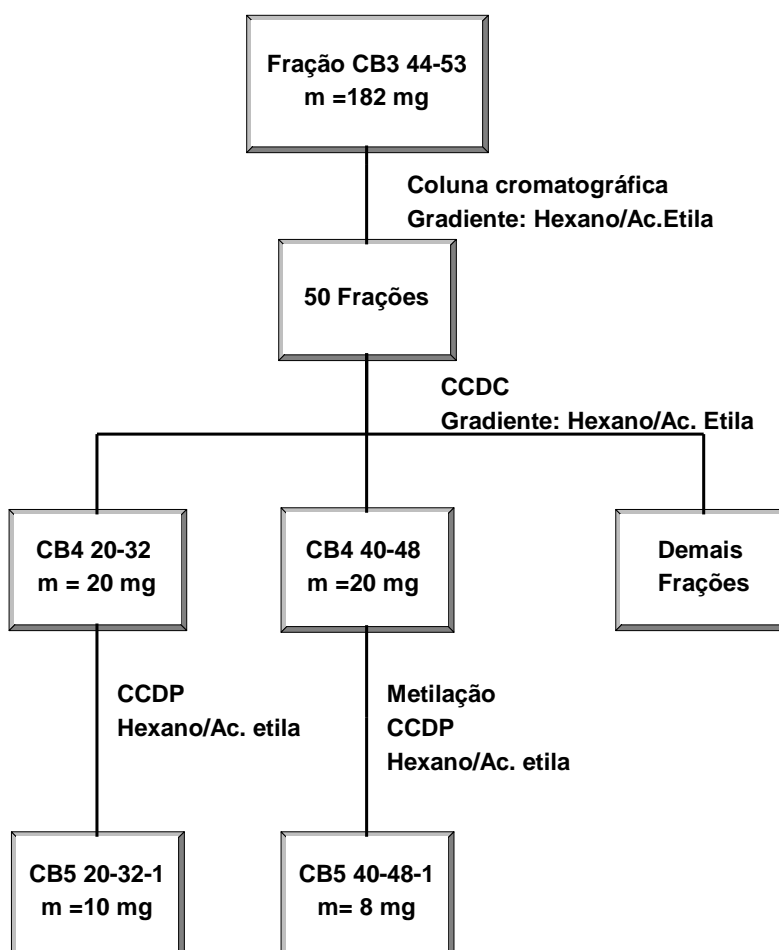


Figura 48 – Fluxograma do fracionamento da fração CB3 44-53



### 2.3.1.6 - Estudo da fração CB3 54-66

A fração 54-66 (m = 545 mg) (Figura 49) foi submetida a uma coluna cromatográfica usando como adsorvente sílica gel 60 (0,040-0,063 nm) e como mistura de solventes, hexano/acetato de etila em gradiente crescente de polaridade, onde foram obtidas 105 frações. As frações CB6 25-33 (m = 40 mg) hexano/acetato de etila 99:1, CB6 34-40 (m = 40mg) hexano/acetato de etila 99:1, CB6 41-53 (m = 92 mg ) hexano/acetato de etila 98:2, CB6 54-66 (40 mg) hexano/acetato de etila 97:3, CB6 67-73 (m = 36 mg) hexano/acetato de etila 95:5 e CB6 84-99 (m = 90mg) hexano/acetato de etila 95:5 foram selecionadas para tratamentos tendo em vista os dados apresentados em CCDC, seus espectros de RMN de  $^1\text{H}$ . Com os dados de RMN de  $^1\text{H}$  as frações CB6 25-33, CB6 34-40, CB6 41-53 foram submetidas à metilação (p. 52) e depois submetidas a CCDP usando como sistema de solvente éter de petróleo/acetato de etila 99:1, onde foram isolados os seus isômeros. As frações CB6 54-66, CB6 67-73, CB6 84-99 foram submetidas a CCDP tendo com sistema de eluição hexano/acetato de eila 99:1 e seus constituintes estão demonstrados no fluxograma a seguir.

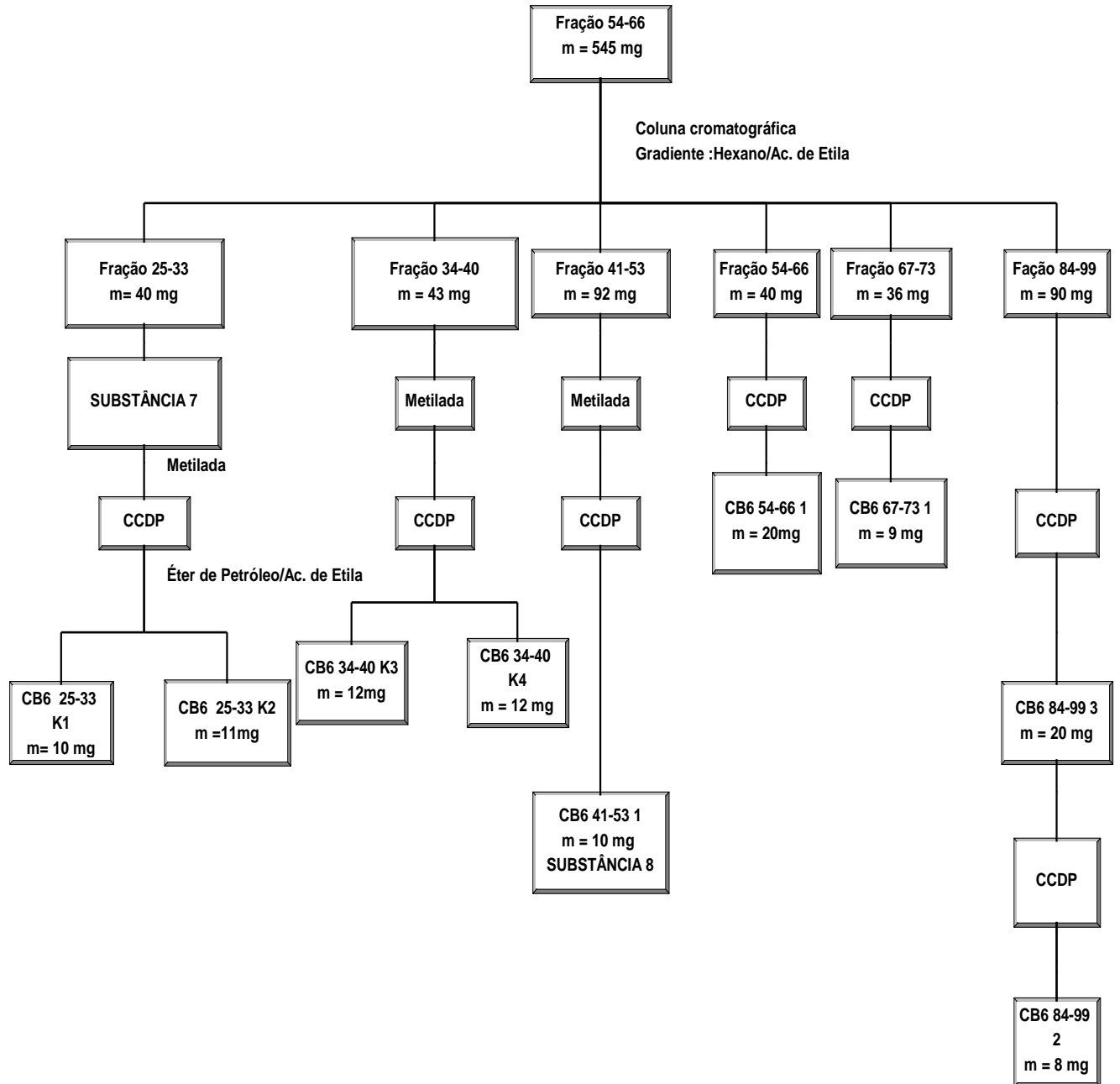


Figura 49 – Fluxograma do fracionamento da fração CB6 54 -66

## 2.4 - Procedimentos experimentais das reações químicas realizadas em laboratório

### 2.4.1 - Reação de Metilação

Dissolveu-se 2,14g de N-metil-p-toluenossulfonamida (Diazald) em 30 mL de éter. A esta solução adicionou-se uma solução de 0,4g de KOH em 10 mL de etanol a 96%, num reator de vidro acoplado no condensador. A mistura foi aquecida e a solução etérea do diazometano formada, foi coletada em um recipiente em banho de gelo, e depois cuidadosamente adicionada nas amostras.

Tabela 4 - Amostras metiladas

Amostras	Massa(mg)	Massa da amostra metilada(mg)
CB5 40-48	20	22
CB6 25-33	40	43
CB6 34-40	40	42
CB6 41-53	92	94

### 2.4.2 - Reação de Transesterificação

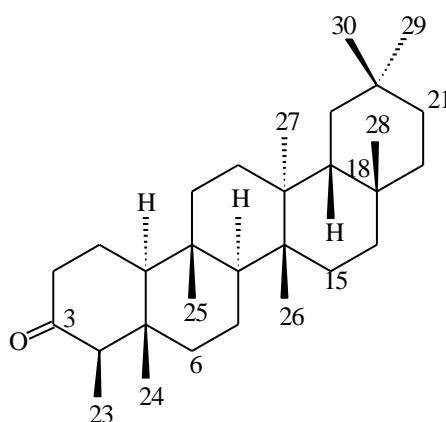
A reação de metilação foi realizada adicionando-se 90 mg da mistura em 5 mL de NaOMe-MeOH, sob refluxo, durante 4 horas. O desenvolvimento da reação foi acompanhado através de CCDC da mistura original e de aliquotas do meio reacional no sistema de solventes hexano/acetato de etila 90:10. Findo o processo o material obtido foi transferido para um funil de separação usando 4mL de água e depois adicionou-se 8 mL diclorometano por três vezes consecutivas durante o processo de extração. A fase diclorometânica 1 foi concentrada através de destilação à pressão reduzida. Aos poucos, adicionou-se a fase aquosa uma solução de HCl 10%, com controle de pH, até a neutralização. Foram feitas três extrações sucessivas com 8 mL de diclorometano e posterior eliminação do solvente em evaporador rotatório, obtendo-se a fase diclorometânica 2 [CHÁVEZ et al., 1996].

### 3.0-DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

#### 3.1-TRITERPENOS

##### 3.1.1-IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 1

---



---

Figura 50 – Estrutura da substância 1- Friedelina

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 51) da substância 1 apresentou sete simpletos e um duplete correspondentes a oito grupos metílicos em  $\delta$  0,73 (s);  $\delta$  0,87 (s);  $\delta$  0,88 (d,  $J = 6,0\text{Hz}$ );  $\delta$  0,95 (s);  $\delta$  1,01 (s);  $\delta$  1,01 (s);  $\delta$  1,05 (s);  $\delta$  1,18 (s) sugerindo um esqueleto triterpênico [SALAMA, 1986].

Não foram observados sinais na região entre  $\delta$  3,0-5,0 e  $\delta$  5,0-6,0 fatos que foram indicativos das ausências de hidrogênio ligado a carbono carbinólico e hidrogênios olefínicos, respectivamente. A presença de multipletos entre  $\delta$  2,20-2,40 sugeriu a presença de hidrogênios  $\alpha$ -carbinólicos.

A determinação do ponto de fusão da substância 1 na faixa de 260-262° C e a comparação com os dados obtidos na literatura para a Friedelan-3-ona (Friedelina) (Figura 50), sugeriu que se tratava da mesma substância [SALAMA, 1986].

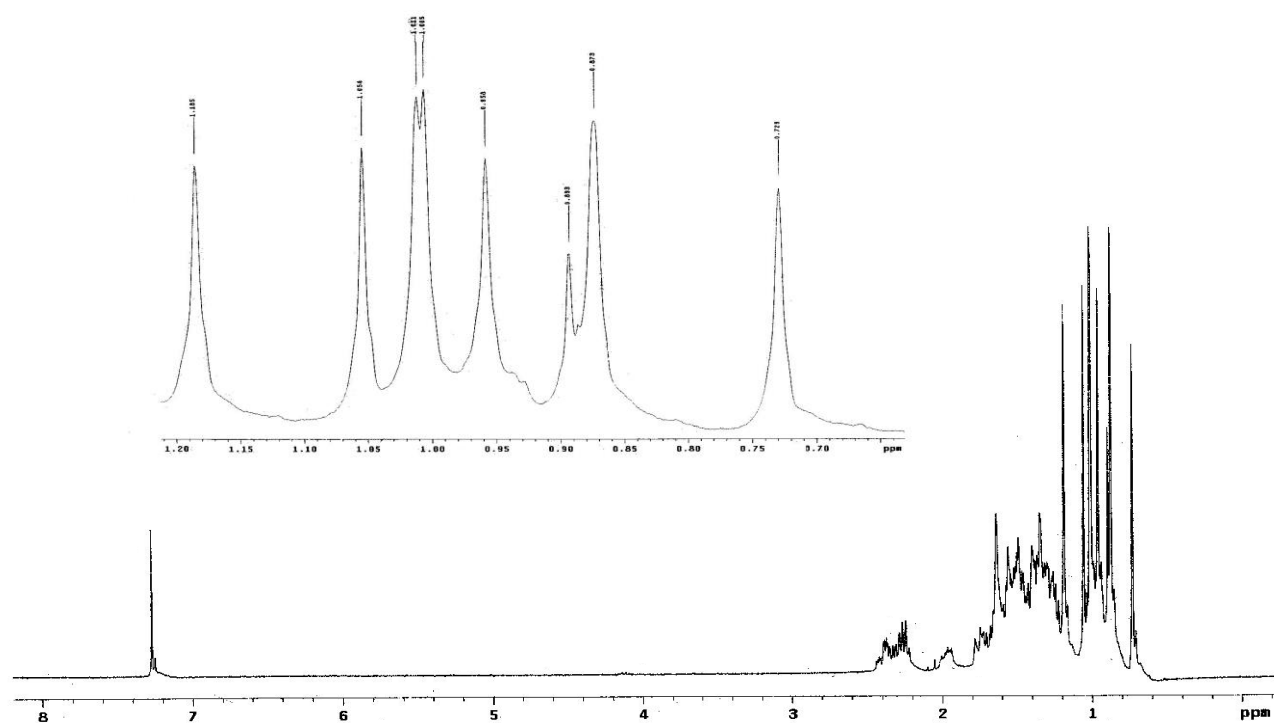


Figura 51 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da substância Friedelina [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

### 3.1.2-IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 2

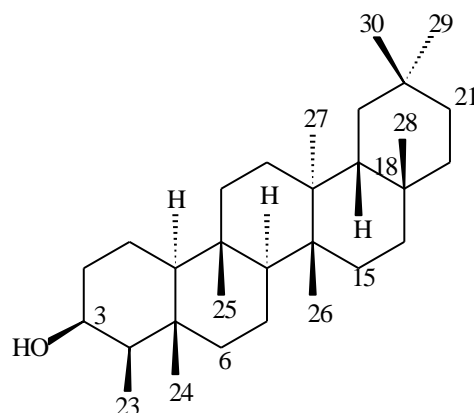


Figura 52 - Estrutura da substância 2 – Friedelinol

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 53) da substância 2 apresentou sinais correspondentes aos grupos metílicos de triterpeno em  $\delta$  0,86 (s);  $\delta$  0,94 (d,  $J = 6,3$  Hz);  $\delta$  0,95 (s);  $\delta$  0,97 (s);  $\delta$  0,99 (s);  $\delta$  1,00 (s);  $\delta$  1,01 (s);  $\delta$  1,18 (s) [SALAMA, 1986]. A presença de um simpleto largo em  $\delta$  3,74 sugere a presença de um hidrogênio metínico (H-3) ligado a carbono carbinólico. Não foram observados sinais na região aproximada de  $\delta$  5,0-6,0 atribuídos a hidrogênios olefínicos, indicando que a estrutura não apresenta insaturação.

A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 54) e DEPT 135° (Figura 55) indicou a presença de 6 carbonos não hydrogenados, 5 metínicos, 11 metilênicos e 8 metílicos, totalizando 30 carbonos e 52 hidrogênios, confirmando a natureza triterpênica da substância. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  apresentou um sinal em  $\delta$  72,8 (CH) que confirma a presença do carbono carbinólico, corroborando com a análise de RMN de  $^1\text{H}$ .

A determinação do ponto de fusão da substância 2, que se apresentou com um sólido cristalino branco, na faixa de 270- 272° C, e a comparação com os dados descritos na literatura para o  $\beta$ -Friedelinol (Figura 52), confirmou que se tratava da mesma substância [SALAMA,1986; CARVALHO et al.,1998].

A tabela a seguir, apresenta os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o metabólito.

Tabela 5 - Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] da substância 2 e o triterpeno pentacíclico  $\beta$ -Friedelinol.

C	Substância 2 ( $\beta$ -Friedelinol)	$\beta$ -Friedelinol
1	15,8	15,5
2	32,3	32,0
3	72,8	72,1
4	49,2	48,9
5	37,4	37,6
6	41,7	41,5
7	17,8	17,8
8	53,2	52,9
9	33,4	33,4
10	61,3	61,1
11	35,3	35,2
12	30,6	29,8
13	38,4	38,0
14	38,7	39,3
15	30,5	30,5
16	36,1	35,7
17	30,1	30,1
18	42,5	42,5
19	36,0	35,0
20	30,3	30,3
21	32,8	32,5
22	39,7	38,9
23	11,6	11,3
24	16,4	16,1
25	18,2	17,9
26	18,6	18,3
27	20,3	19,7
28	31,8	31,7
29	35,0	34,7
30	32,1	31,4

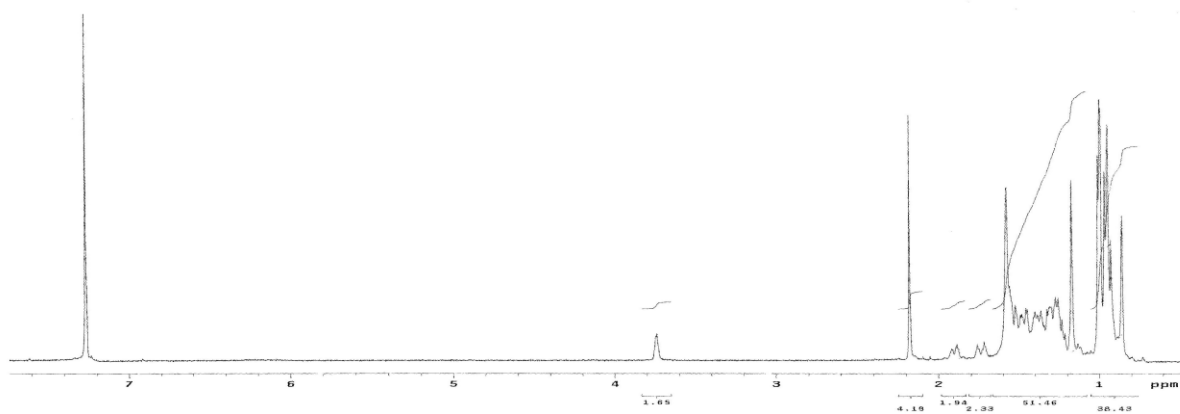


Figura 53 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância Friedelinol [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

---

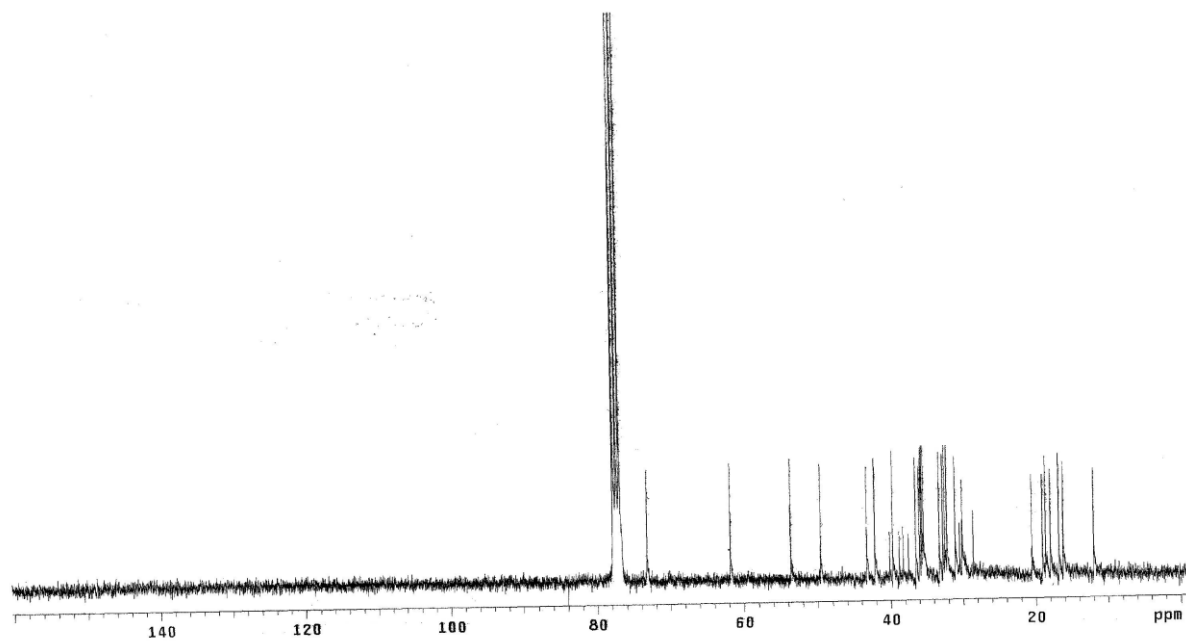


Figura 54 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância Friedelinol [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



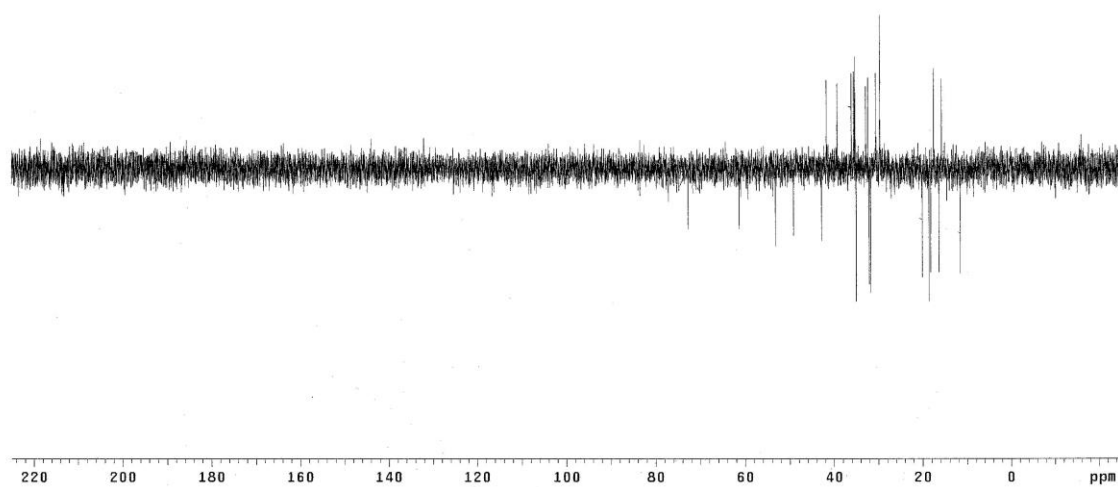


Figura 55 - Espectro de DEPT 135° da substância Friedelinol [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

## 3.2 - ESTERÓIDES

### 3.2.1-Identificação dos constituintes da fração CB3-11-22

A fração CB3-11-22 é uma mistura. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 56) da fração apresentou um multiplete em maior proporção entre  $\delta$  5,33-5,39 e outro de menor proporção entre  $\delta$  5,18-5,22 atribuídos aos hidrogênios olefínicos. Um multiplete em  $\delta$  4,55-4,68 atribuído a um hidrogênio metínico. O espectro também exibiu alguns simpletos em  $\delta$  0,68 (s);  $\delta$  1,02 (s) referentes aos grupos metílicos. Um simpleto intenso em  $\delta$  1,26 correspondente a hidrogênio pertencente à substância de natureza graxa.

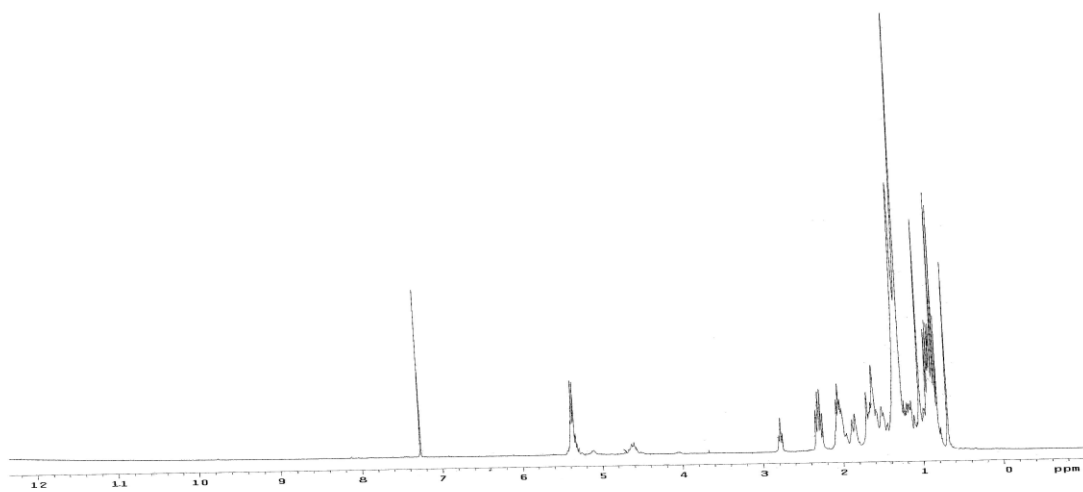
A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 57) e DEPT 135° (Figura 58), confirmou que a amostra é uma mistura. Após minucioso estudo dos espectros e comparação com dados descritos na literatura [GRECA et al., 1990 ; CARVALHO et al., 1998] foi possível confirmar que a fração CB3 11-22 possuía como componente majoritário o Sitosterol esterificado. O sinal em  $\delta$  173,2 (C) atribuído à carboxila de éster, juntamente com o sinal em  $\delta$  73,2 (CH) bastante desprotegido, que corrobora com o sinal em  $\delta$  4,55-4,68 no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  possibilitou a confirmação da afirmação acima. Os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o  $\beta$ -Sitosterol descrito na literatura [GRECA et al., 1990 ; CARVALHO et al., 1998] e o da amostra CB3 11-22 estão listados na tabela 6.

Devido a semelhança estrutural entre os esteróides Sitosterol e Estigmasterol, existiu a possibilidade de um dos componentes da mistura ser o estigmasterol, porém o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  não apresentou os sinais em  $\delta$  138,0 (CH) e o sinal em  $\delta$  129,0 (CH) atribuídos à dupla olefínica nos carbonos C-23 e C-24 respectivamente.

A impossibilidade da determinação do número de carbonos ligados à carboxila do éster, sugeriu a realização de uma reação de transesterificação (p.52), tendo como objetivo a identificação dos ésteres graxos e confirmação do esteróide Sitosterol. Finda a reação as duas fases diclorometânicas 1 (Figura 59) e 2 foram submetidas a análise de RMN de  $^1\text{H}$  onde podemos observar que houve a separação das substâncias. Os sinais de duplas olefínicas apresentadas no espectro da fase diclorometânica 1 sugeriu a existência de outros esteróides. Desta forma a fase diclorometânica 1 foi submetida à uma coluna cromatográfica (p. 48) onde foram isolados e identificados os ésteres graxos e as substâncias 3, 4, 5 e 6 em mistura. No próximo item será apresentada a descrição dos metabólitos.

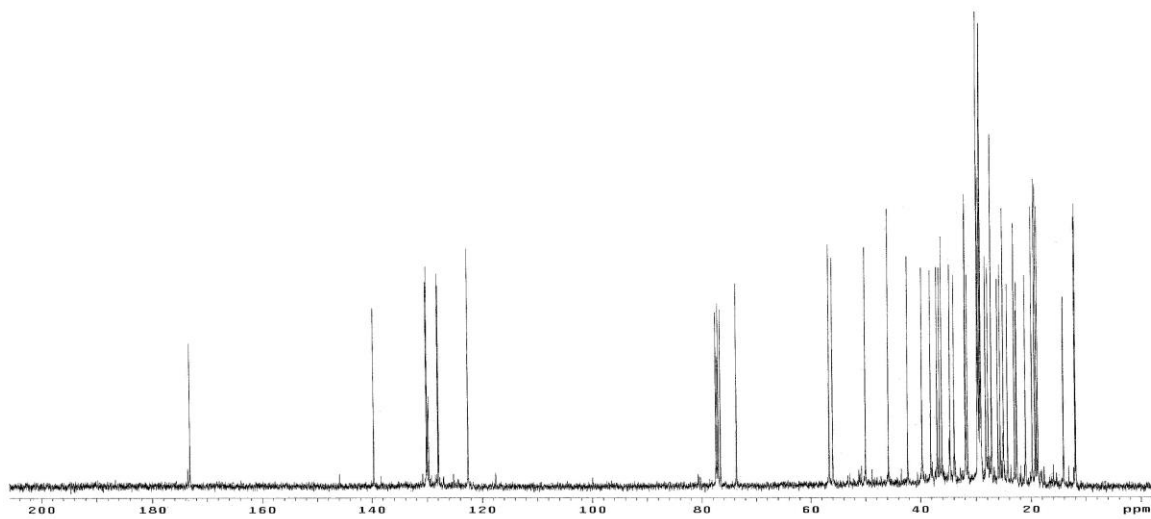
Tabela 6 - Dados de RMN<sup>13</sup>C [75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)] para o β-Sitosterol e o Sitosterol esterificado.

C	β-Sitosterol	Sitosterol esterificado
1	37,3	37,0
2	31,6	31,5
3	71,7	73,2
4	42,2	42,0
5	140,1	139,6
6	121,6	122,5
7	31,9	31,9
8	31,8	31,8
9	51,3	50,0
10	36,4	36,6
11	21,1	21,0
12	39,8	39,7
13	42,4	42,3
14	56,7	56,6
15	24,1	24,3
16	28,2	28,2
17	56,0	56,0
18	11,8	11,9
19	19,5	19,3
20	36,0	36,1
21	18,7	18,8
22	33,9	33,9
23	26,1	26,8
24	45,8	45,8
25	29,1	29,1
26	19,8	19,0
27	19,2	19,1
28	23,1	23,0
29	11,8	11,8
OOC-	-	173,2
n(CH <sub>2</sub> )		29,6; 29,3;33,9
CH <sub>3</sub>		14,0



---

Figura 56 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB3 11-22 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



---

Figura 57 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da Fração CB3 11-22 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

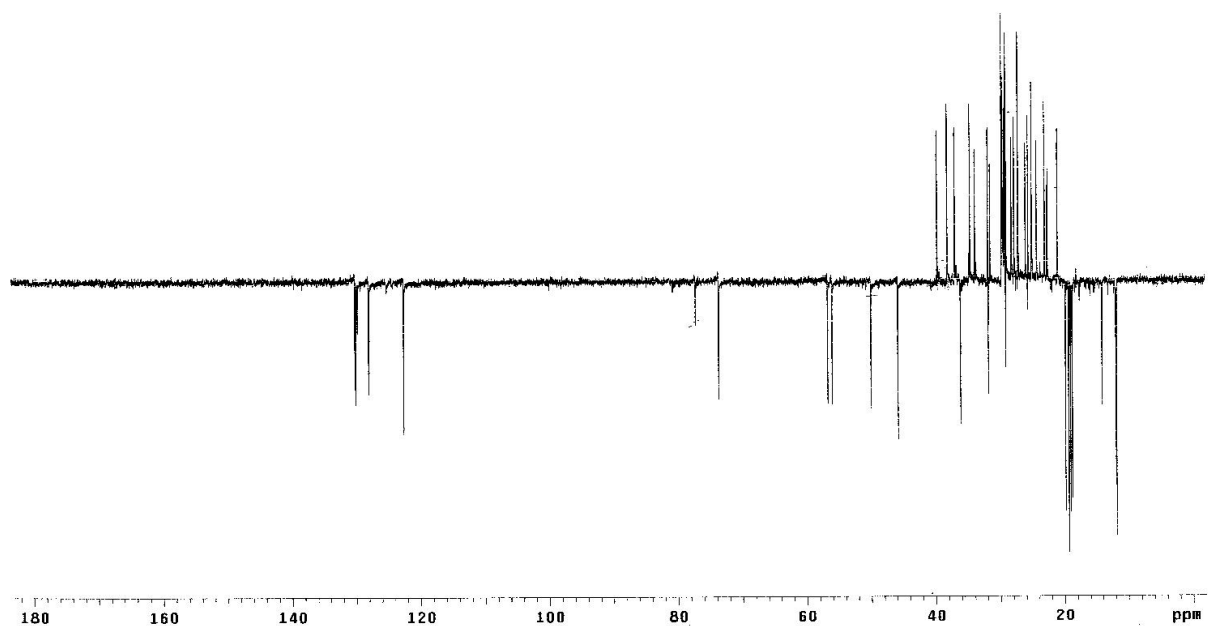


Figura 58 - Espectro de DEPT 135° da Fração CB3 11-22 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

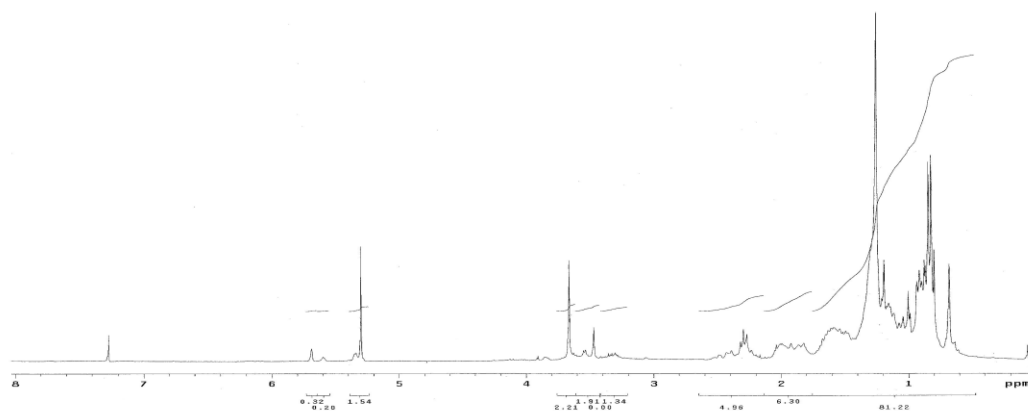
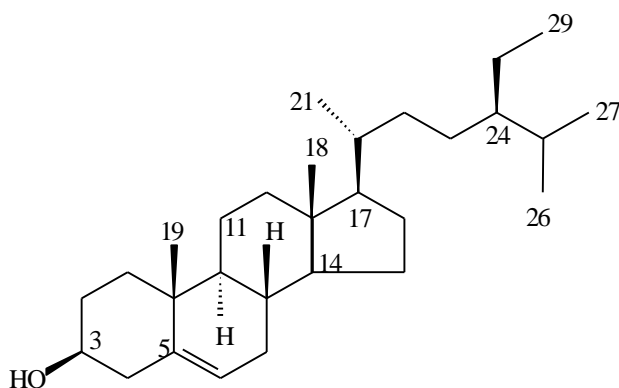


Figura 59 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB3 11-22 da fase CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> -1 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

### 3.2.2 - IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 3

---



---

Figura 60 - Estrutura da substância 3 -β-Sitosterol

A identificação da substância 3 (Figura 60) foi estabelecida através da análise dos dados espectrométricos de RMN de  $^1\text{H}$  e comparação com dados relatados na literatura [GRECA et al., 1990 ; CARVALHO et al., 1998].

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 61) apresentou um simpleto largo em  $\delta$  5,38 que foi atribuído ao hidrogênio (H-6) de um  $\Delta^5$  esteróide. Um multipeto em  $\delta$  3,42-3,68 correspondente a um hidrogênio metínico (H-3), ligado a um carbono carbinólico. Os sinais em  $\delta$  0,68 (s);  $\delta$  0,93 (d) e entre  $\delta$  0,81-0,88 correspondentes aos sinais sobrepostos de dois dupletos coincidentes e um tripleto totalizam os seis grupos metílicos de esteróide. Estes dados comparados com dados de RMN de  $^1\text{H}$  listados na literatura para o β-Sitosterol [GRECA et al., 1990] confirmaram que se tratava da mesma substância. Na tabela 7 estão listados os dados de RMN de  $^1\text{H}$  para o β-Sitosterol.

Tabela 7 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] para o  $\beta$ -Sitosterol

$^1\text{H}$	$\beta$ - Sitosterol
H-3	3,42-3,58 (m)
H-6	5,38 (sl)
H-18	0,69 (s)
H-19	1,02 (s)
H-21	0,93 (d, 6,3)
H-26	0,83 (d, 6,3)
H-27	0,81 (d, 6,9)
H-29	0,85 (t, 7,2)

Valores de J em Hz estão entre parênteses

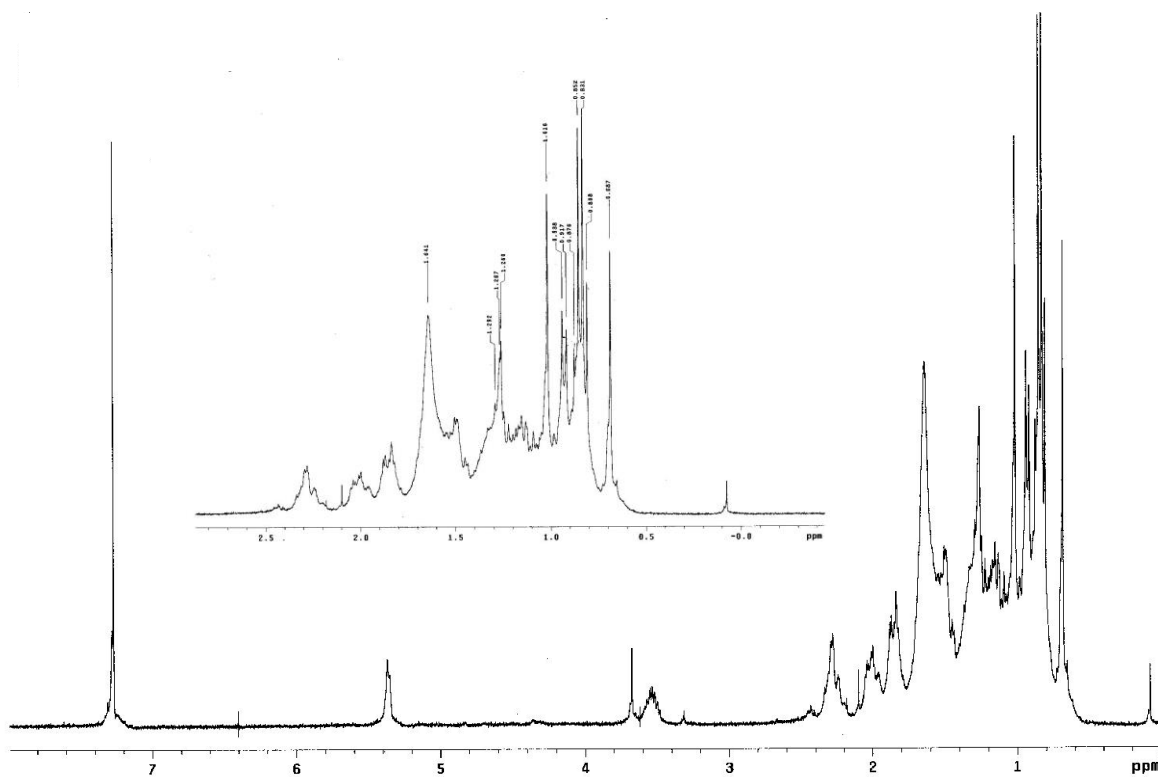


Figura 61 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do Sitosterol [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ (ppm)]

### 3.2.3-DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA 4

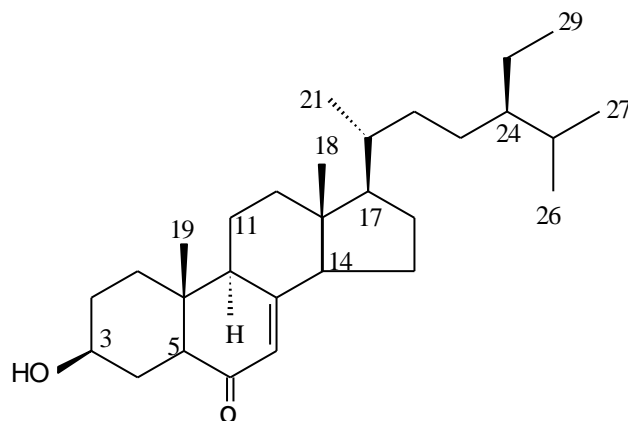


Figura 62 - Estrutura da substância 4 - Estgmast-7-en-3 $\beta$ -ol-6-ona

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 64) da substância 4 apresentou um simpleto largo em  $\delta$  5,70 referente ao hidrogênio olefínico. A presença de um multipeto em  $\delta$  3,68 que foi atribuído a um hidrogênio metínico (H-3) ligado ao carbono carbinólico, dois simpletos em  $\delta$  0,69 e  $\delta$  1,21, um dupeto em  $\delta$  0,93 e sinais superpostos de outros grupos metílicos entre  $\delta$  0,81 e  $\delta$  0,87 muito parecidos com sinais encontrados para o  $\beta$ -Sitosterol (p.63). Estes dados levaram-nos a suspeitar que a substância 4 tratava-se de um esteróide com uma cadeia lateral em C-17 semelhante à do  $\beta$ -Sitosterol [GRECA et al., 1990].

A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 65) totalmente desacoplado e DEPT 135° (Figura 66) demonstrou a presença de um grupo carbonílico com sinal em  $\delta$  202,3, possivelmente conjugado a uma ligação dupla carbono-carbono cujos sinais estavam em  $\delta$  165,1 e  $\delta$  126,1 pertencentes, respectivamente, a um carbono não hydrogenado e a um carbono metínico. Esses espectros apresentaram ainda um sinal em  $\delta$  70,5 atribuído a um carbono metínico. No total, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  apresentou 28 sinais. Desses um sinal em  $\delta$  29,7 foi atribuído a carbonos metilênicos de uma impureza de natureza graxa, o sinal em  $\delta$  12,0 foi atribuído a dois grupos metílicos e o sinal em  $\delta$  49,9 foi atribuído a dois carbonos metínicos. Foi confirmada a presença de 6 grupos metílicos através dos sinais em  $\delta$  12,0 correspondentes a dois grupos metílicos,  $\delta$  17,3,  $\delta$  18,9,  $\delta$  19,0 e  $\delta$  19,8. No total, foi verificada a presença de 4 carbonos não hydrogenados, 9 metínicos, 10



metilênicos e 6 metílicos sugerindo um esqueleto carbônico com 29 átomos de carbono semelhante ao  $\beta$ -Sitosterol [RIBEIRO et al., 1999; GRECA et al., 1990].

O sinal em  $\delta$  70,5 foi atribuído ao C-3 ao qual foi adicionado um grupo hidroxílico. Esta atribuição está de acordo com os dados relatados na literatura para esteróides com este carbono hidroxilado [RIBEIRO et al., 1999; GRECA et al., 1990]. A localização do grupo carbonílico a uma ligação dupla trissubstituída poderia ser feita de várias maneiras. A princípio foi imaginado que ligação dupla poderia estar entre os carbonos 5 e 6 e o grupo carbonílico no C-7. Os dados encontrados na literatura para a substância  $3\beta$ -hidroxiestigmast-5-en-7-ona relatados na literatura [GRECA et al., 1990] foram  $\delta$  169,3,  $\delta$  126,1 e  $\delta$  204,2, respectivamente para os carbonos C-5, C-6 e C-7. Portanto, essa não poderia ser a posição para o sistema conjugado da substância 4. Uma busca na literatura revelou que a substância 24-epi-makisterona A (Figura 63) [ZHU et al., 2001] apresenta um sistema conjugado com o grupo carbonílico em C-6 e a ligação dupla entre C-7 e C-8. Considerando que os carbonos olefínicos não sofrem efeitos consideráveis quando apresentam grupos hidroxílicos na posição  $\beta$  e que carbonos olefínicos metínicos sofrem efeito de proteção de cerca de 4 a 5 ppm quando apresenta um grupo hidroxílico na posição  $\gamma$  [GARCEZ et al., 1981; DELMONT et al., 1981], seria razoável considerar que a substância 4 apresentaria o mesmo sistema conjugado que a 24-epi-makisterona A. Na tabela 8 encontram-se os dados para substância 4 e para as substâncias 24-epi-makisterona A e para o  $\beta$ -Sitosterol que foram utilizados como modelos. As informações sugeriram que a substância 4 poderia ser um esteróide inédito.

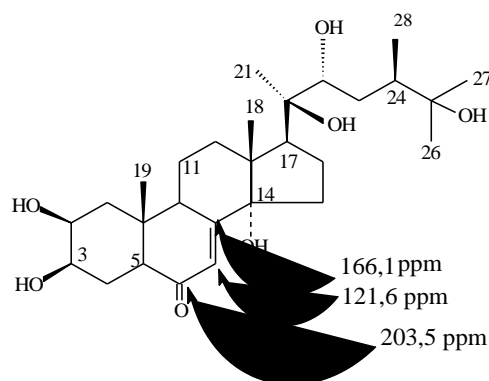
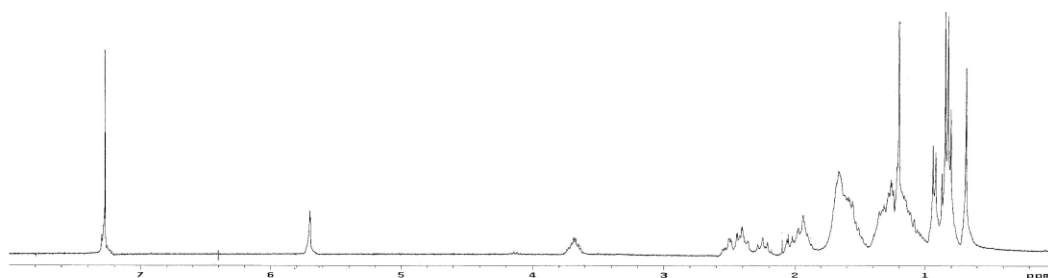


Figura 63 - Estrutura da substância 24-epi-makisterona A

Tabela 8 - Dados de RMN<sup>13</sup>C [75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)] para a substância 4 e o 24-epi-makisterona A e do β-Sitosterol.

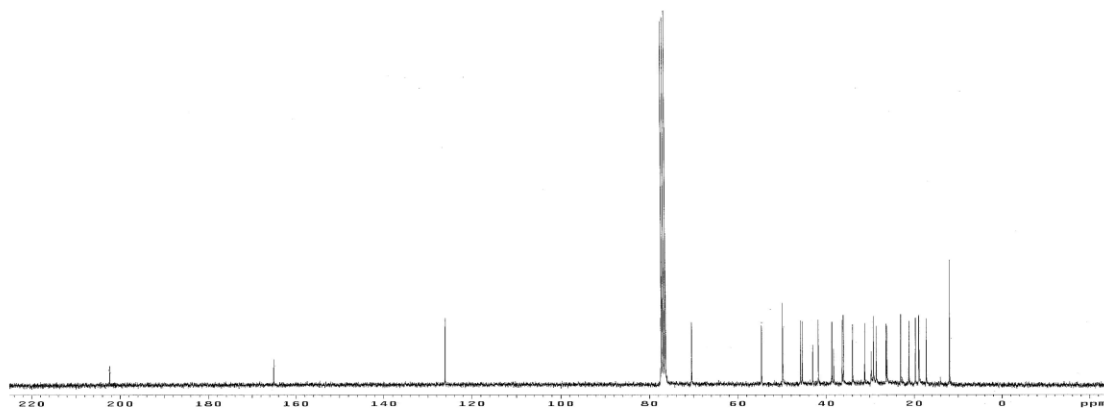
C	SUBSTÂNCIA 4	24-epi-makisterona A	β-Sitosterol
1	36,5	38,0	37,3
2	31,2	68,1	31,6
3	70,5	68,1	71,7
4	41,8	32,5	42,2
5	49,9	51,4	140,1
6	202,3	203,5	121,6
7	126,0	121,6	31,9
8	165,0	166,1	31,8
9	45,4	34,4	51,3
10	38,3	38,6	36,4
11	21,2	21,1	21,1
12	38,7	31,7	39,8
13	43,1	48,1	42,4
14	49,9	84,1	56,7
15	26,3	32,0	24,1
16	28,5	21,5	28,2
17	54,7	49,9	56,0
18	12,0	17,9	11,8
19	17,3	24,5	19,5
20	36,1	77,0	36,0
21	18,9	21,3	18,7
22	33,9	76,1	33,9
23	26,1	35,1	26,1
24	45,8	43,5	45,8
25	29,1	72,2	29,1
26	19,8	26,9	19,8
27	19,0	29,0	19,2
28	23,0	16,7	23,1
29	12,0	-	11,8



---

Figura 64 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da substância Estgmast-7-en-3β-ol-6-ona [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

---



---

Figura 65 - Espectro de RMN de <sup>13</sup>C da substância Estgmast-7-en-3β-ol-6-ona [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

---

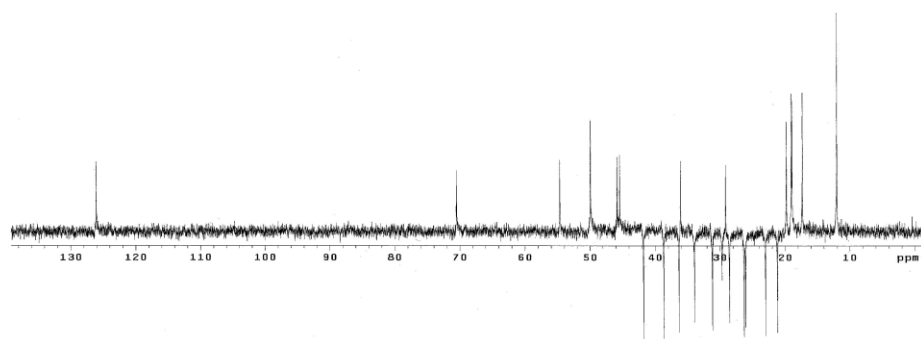


Figura 66 - Espectro de DEPT 135° da substância Estgmast-7-en-3β-ol-6-ona [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

### 3.2.3-IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS 5 e 6

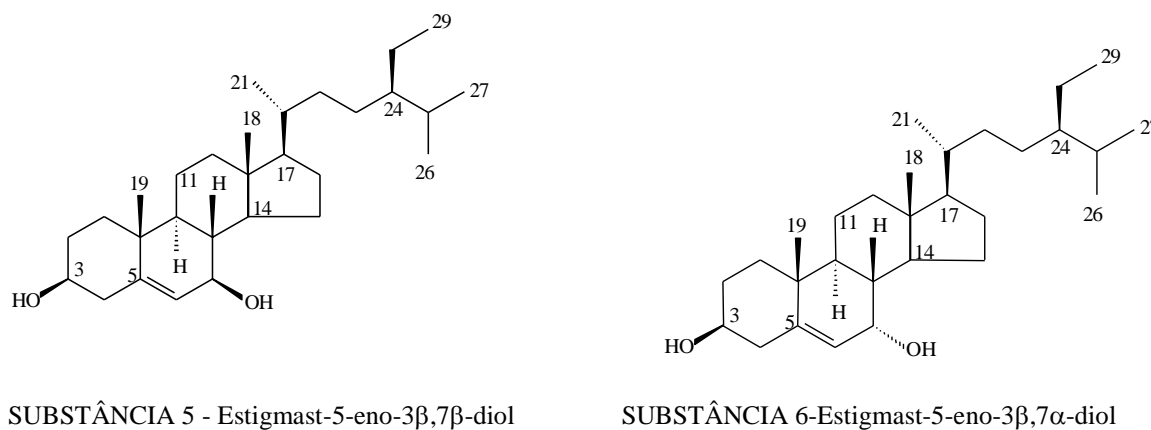


Figura 67 - Estrutura da substância substância 5 e substância 6

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 68) apresentou sinais em  $\delta$  5,62 e  $\delta$  5,30 atribuíveis a hidrogênios olefínicos. Apresentou ainda multipletos em  $\delta$  3,86 e em  $\delta$  3,62 e  $\delta$  3,57 atribuíveis a hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos. Na região dos hidrogênios metílicos foi possível observar uma série de sinais com padrão de substituição semelhante ao  $\beta$ -Sitosterol (p. 63) [GRECA et al., 1990] e com alguns sinais com uma diferença de frequência mínima e com diferentes intensidades indicando pelo menos duas substâncias em mistura. É possível observar dois simpletos em  $\delta$  0,69, de maior intensidade e,  $\delta$  0,70, de menor intensidade; outros dois simpletos em  $\delta$  1,00, de maior intensidade e  $\delta$  1,06 de menor intensidade e um dupletos em  $\delta$  0,94 que pela largura e feição das bandas parecem tratar-se de dois dupletos quase coincidentes.

Este conjunto de sinais levaram-nos a suspeitar da existência na mistura de dois esteróides com esqueleto carbônico semelhante ao  $\beta$ -Sitosterol e com uma oxidação extra na cadeia carbônica.

A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 69) demonstrou a existência de dois carbonos olefínicos não hidrogenados em  $\delta$  146,2 e  $\delta$  143,5 e dois carbonos olefínicos metínicos em  $\delta$  125,4 e  $\delta$  123,9. Estes sinais juntamente com mais 4 sinais de carbonos metínicos carbinólicos em  $\delta$  73,4,  $\delta$  71,4,  $\delta$  71,4 e  $\delta$  65,4 confirmaram a suspeita de que tínhamos uma mistura de dois esteróides dihidroxilados. Foi feita então uma tentativa de atribuição dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$

comparando-se com os modelos de Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol e Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol encontrados na literatura [GRECA et al., 1990] (Tabelas 9 e 10).

A partir da comparação dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  para as substâncias 5 e 6 e os dados da literatura para os esteróides Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol e Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, foi possível confirmar que a substância 5 e o Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, assim como a substância 6 e o Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol são as mesmas substâncias.

Tabela 9 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] para as substâncias 5, Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, 6 e Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol .

C	Substância 5	Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol	Substância 6	Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol
<b>H-3</b>	3,57 (m)	3,56(m)	3,62 (m)	3,59 (m)
<b>H-6</b>	5,30 (s)	5,30 (s)	5,62 (s)	5,62 (d, 4,8)
<b>H-7</b>	3,86 (m)	3,86 (d, 4,4)	3,86 (m)	3,86 (m)
<b>H-18</b>	0,70(s)	0,70 (s)	0,69 (s)	0,69 (s)
<b>H-19</b>	1,06 (s)	1,05 (s)	1,00 (s)	0,99 (s)
<b>H-21</b>	0,94 d (6,3)	0,93(d, 6,6)	0,94 d (6,3)	0,93 (d, 6,6)
<b>H-26</b>	0,84 d (6,6)	0,85(d, 6,6)	0,84 d (6,6)	0,83 (d, 6,7)
<b>H-27</b>	0,81 d (6,6)	0,81 (d, 6,7)	0,81d (6,6)	0,82 (d,6,7)
<b>H-29</b>	0,85 t (7,2)	0,85 (t, 7,2)	0,85 t (7,2)	0,85 (t, 7,2)

Tabela 10- Dados de RMN<sup>13</sup>C [75 MHz, CDCL<sub>3</sub>, δ (ppm)] para as substâncias; 5, Estigmast-5-eno-3β,7β-diol , 6 e Estigmast-5-eno-3β,7α-diol

C	Substância 5	Estigmast-5-eno-3β,7β-diol	Substância 6	Estigmast-5-eno-3β,7α-diol
1	36,9	36,9	37,0	37,0
2	31,5	31,6	31,1	31,4
3	71,4	71,4	71,4	71,3
4	41,7	41,7	42,0	42,0
5	143,4	143,9	146,2	143,9
6	125,4	125,4	123,9	123,9
7	73,3	73,3	65,4	65,4
8	40,9	40,9	37,5	37,5
9	48,3	48,3	42,2	42,3
10	36,4	36,4	37,4	37,4
11	21,1	21,1	20,7	20,7
12	39,6	39,5	39,1	39,2
13	42,9	42,9	42,1	42,1
14	55,4	55,4	49,4	49,4
15	26,4	26,4	25,9	25,9
16	28,5	28,5	28,3	28,3
17	55,9	55,9	55,7	55,7
18	11,8	11,8	11,6	11,6
19	19,1	19,1	18,2	18,2
20	36,1	36,1	36,1	36,1
21	18,8	18,8	18,8	18,8
22	33,9	34,0	33,9	33,9
23	26,1	26,1	25,9	26,0
24	45,8	45,8	45,8	45,8
25	29,1	29,1	29,1	29,1
26	19,7	19,8	19,8	19,8
27	19,0	19,0	19,0	19,0
28	23,0	23,0	23,0	23,0
29	11,9	11,9	11,9	12,0

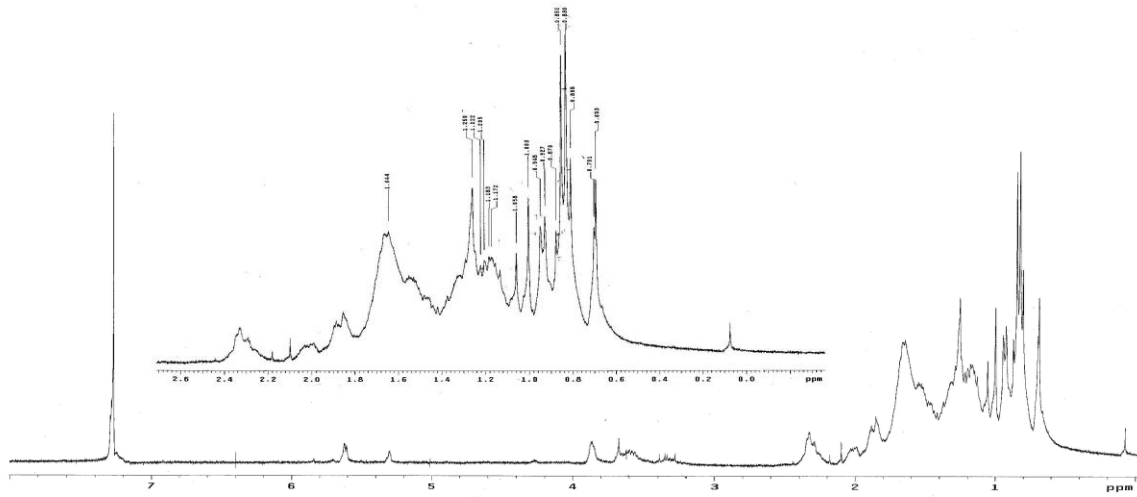


Figura 68 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  das substâncias 5 e 6 em mistura [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

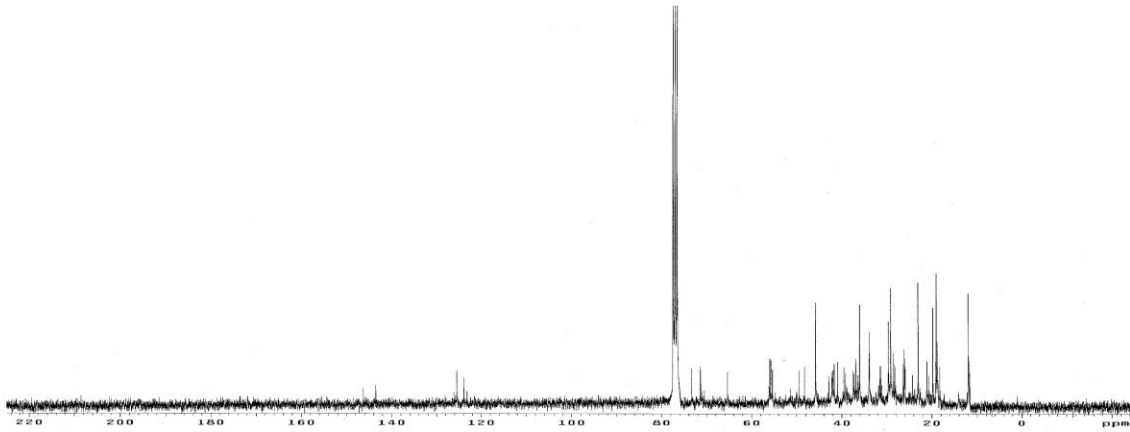


Figura 69 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  das substâncias 5 e 6 em mistura [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



### 3.2.4 - Identificação dos Ésteres Graxos

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 70) da fração proveniente da reação de transesterificação (p. 53) confirmou que a amostra se constitui de substâncias de natureza graxa. O sinal em  $\delta$  3,65 foi atribuído ao hidrogênio do grupo metoxílico dando indicativo da ocorrência de mistura de ésteres metílicos. Esta mistura foi submetida a uma análise de CG/FID (Figura 71) e CG/EM, que forneceu um cromatograma apresentando dez picos com tempos de retenção na região aproximada de 34,20; 37,70; 41,10; 44,00; 46,10; 47,20; 49,90; 52,80; 57,00; 58,00 minutos, os quais podem ser atribuídos à ocorrência de dez ésteres graxos distintos. Os espectros de massas (Figuras 72 a 74) das substâncias apresentam os picos principais em  $m/z$  243,  $m/z$  256,  $m/z$  271,  $m/z$  284,  $m/z$  297,  $m/z$  298,  $m/z$  312,  $m/z$  326,  $m/z$  294,  $m/z$  354, respectivamente, alguns são coincidentes com os valores dos pesos moleculares para os ésteres graxos que serão apresentados na tabela 11, a seguir.

Tabela 11 - Ésteres metílicos graxos obtidos na reação de transesterificação

Ésteres Graxos	Fórmula Molecular
Tetradecanoato de metila	$\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_2$
Pentadecanoato de metila	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$
Hexadecanoato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
Heptadecanoato de metila	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$
-	-
Octadecanoato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$
Nonadecanoato de metila	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$
Eicosanoato de metila	$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$
-	-
Docosanoato de metila	$\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{O}_2$

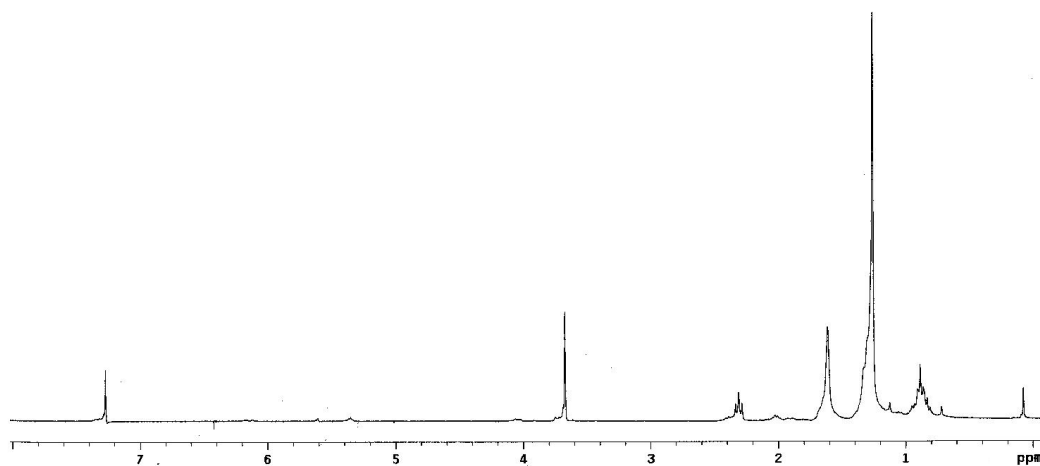


Figura 70 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração submetida a reação de transesterificação [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

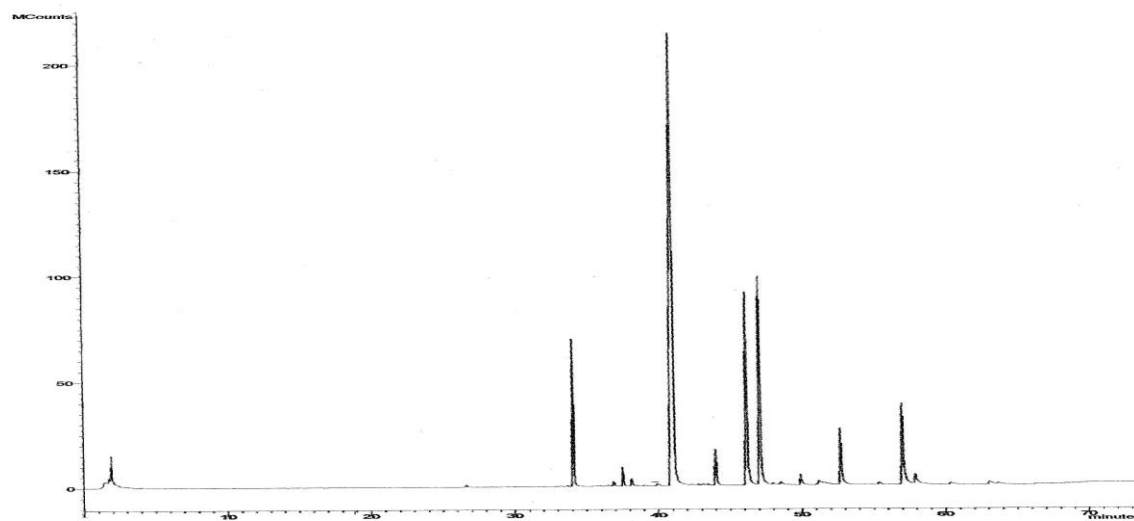


Figura 71 – Cromatograma da fração CB10 4-18

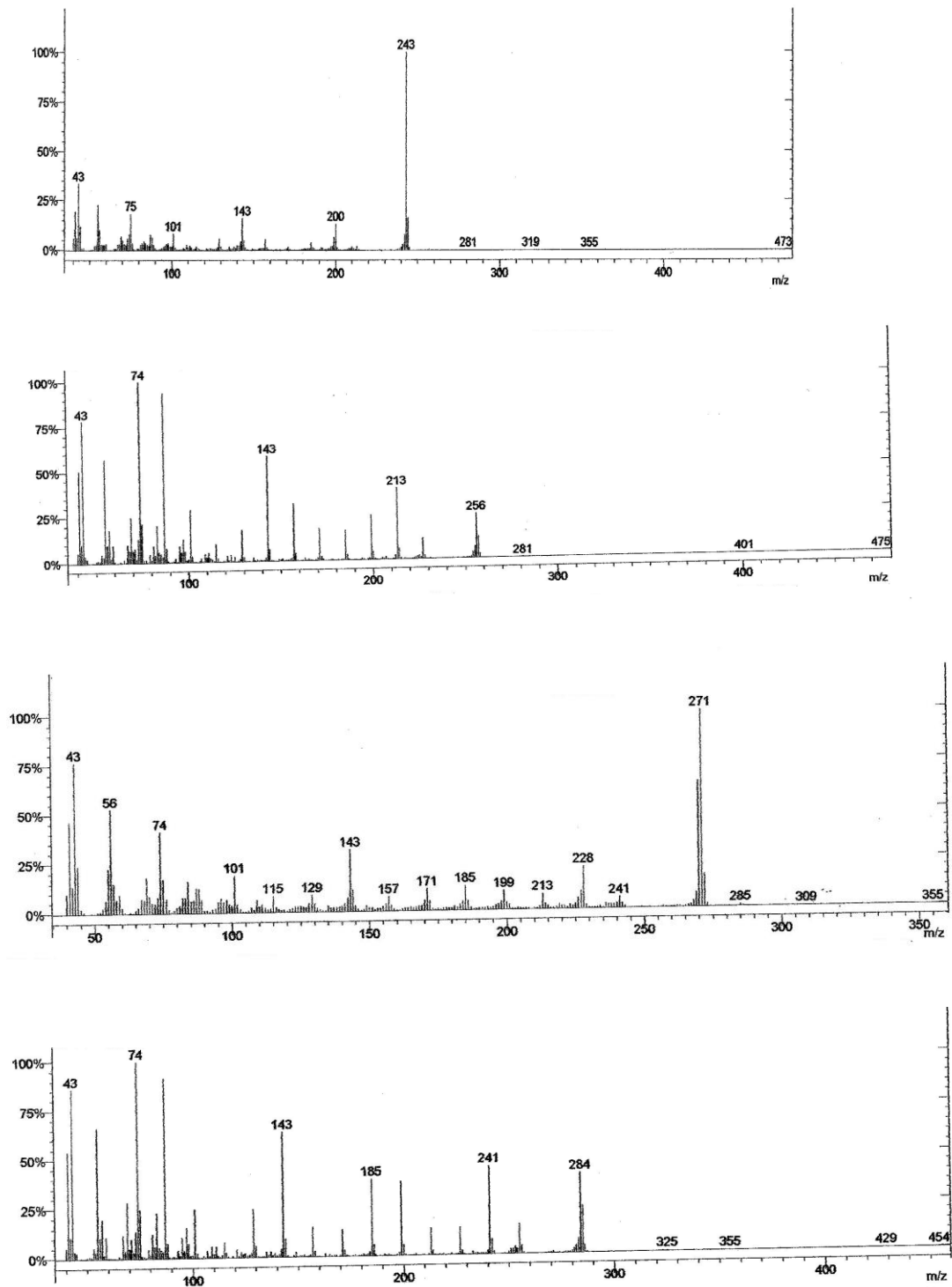


Figura 72 - Espectros de massa dos ésteres graxos

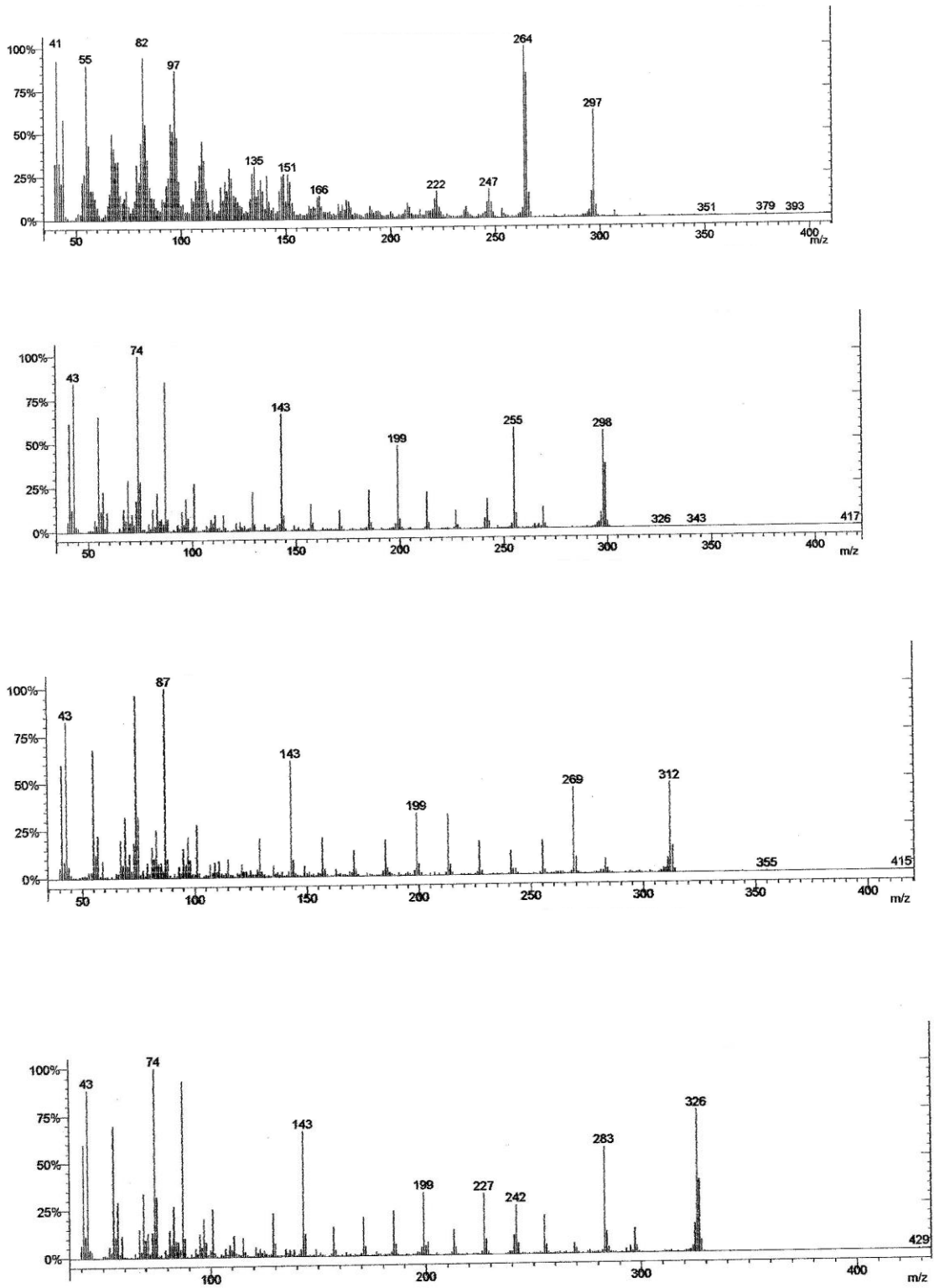


Figura 73 - Espectros de massa dos ésteres graxos

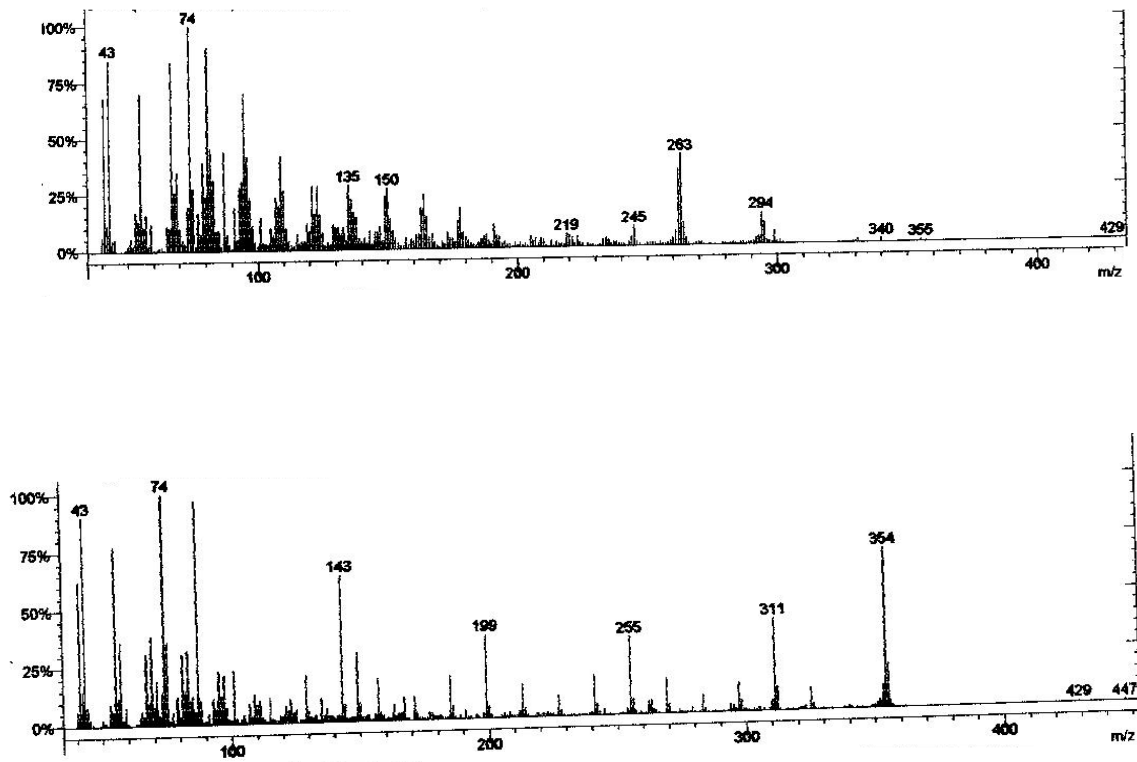


Figura 74 - Espectros de massa dos ésteres graxos

## 4.0 - BENZOFENONAS

Foram isoladas dez benzofenonas neste trabalho, porém somente duas tiveram sua identificação e determinação estrutural definidas, as substâncias 7 e 8 respectivamente, que posteriormente sofreram decomposição como as outras.

### 4.1.1 - Discussão dos resultados da Fração CB3 44-53

A partir do que foi comentado no fracionamento da fração CB3 44-53 (p. 49) duas frações foram selecionadas para tratamentos. A fração CB4 20-32 que foi submetida a uma CCDP onde foi isolada a fração CB5 20-32-1. Esta foi submetida a análise de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 75). Este espectro mostrou sinais característicos de benzofenonas. A fração apresentou-se em duas fases, uma sólida e outra oleosa. Depois de um processo de filtração para purificação da fase oleosa submetemos a fração a uma nova análise de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 76), onde foi observado que a mesma sofreu decomposição sendo assim impossível outras análises espectrométricas para determinação estrutural da substância. Já a fração CB 4 40-48 foi submetida a uma reação de metilação (p. 52) e depois a uma CCDP, para separação dos seus constituintes. Foi obtida a fração CB5 40-48-1. Desta fração, temos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 77), RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 78 ) totalmente desacoplado e DEPT 135° (Figura 79), que apresentaram sinais característicos de esqueleto de benzofenonas. Foi impossível também fazer análise bidimensionais desta fração pois esta também sofreu decomposição como é mostrado em um novo espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 80).

### 4.1.2-Discussão dos resultados da fração CB 54-66

A partir da CC na fração CB 54-66 (p. 50) foram selecionadas as frações CB6 25-33, CB6 34-40, CB6 41-53, CB6 54-66, CB6 67-73, CB6 84-99. Estas passaram por um processo de purificação em CCDP. Nos próximos itens serão feitas as descrições para as frações citadas.

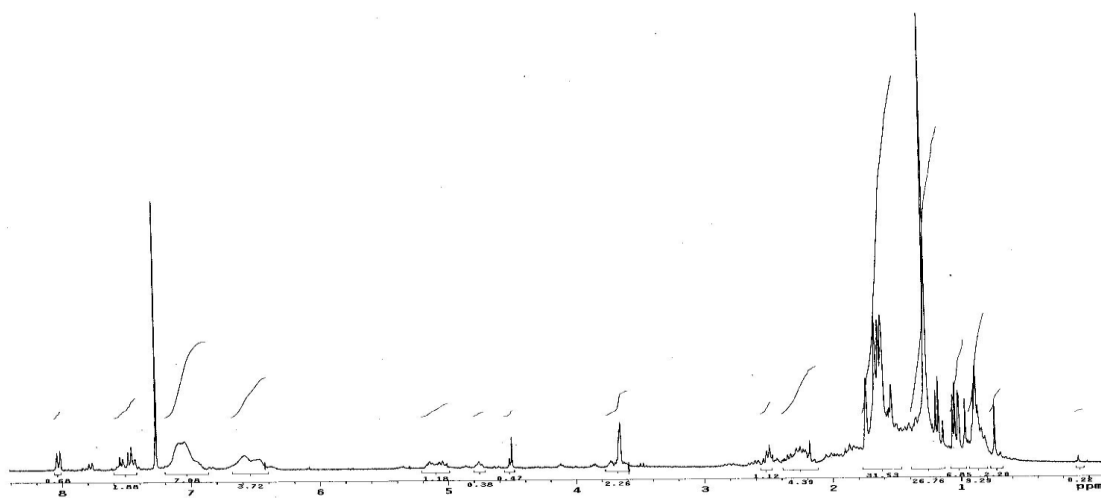


Figura 75 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB4 20-32-1 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

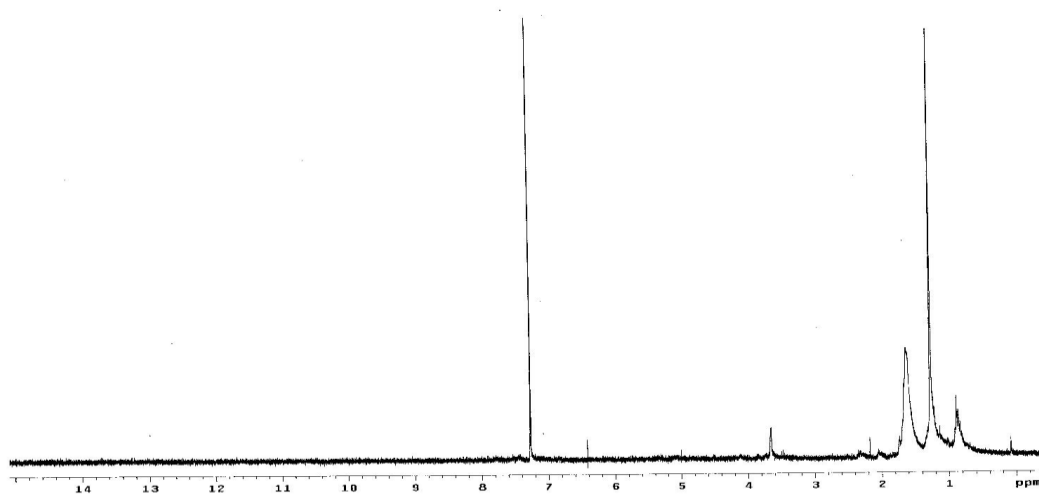


Figura 76 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB4 20-32-1 após decomposição [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

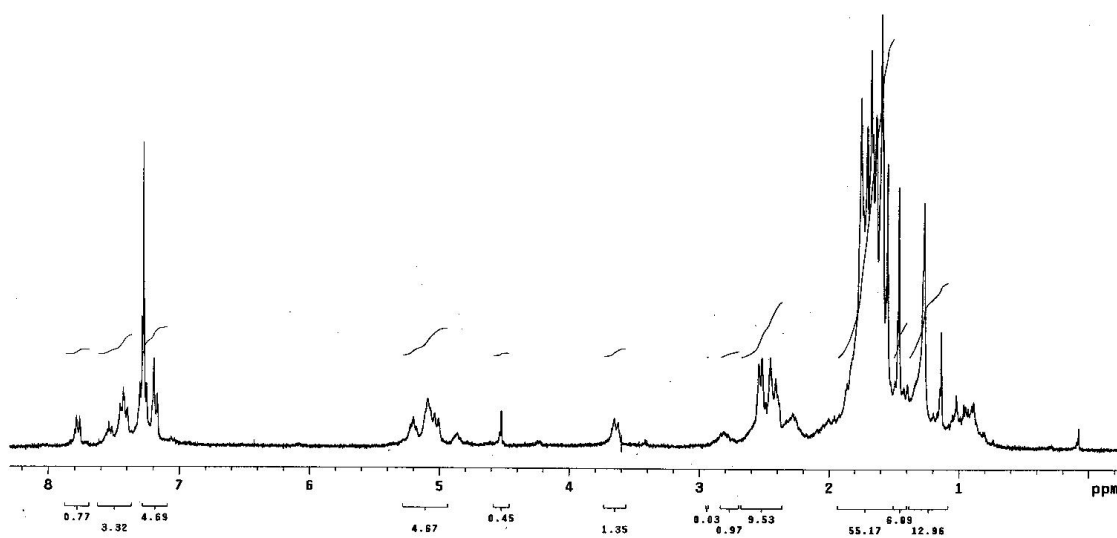


Figura 77 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB5 40-41-1 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

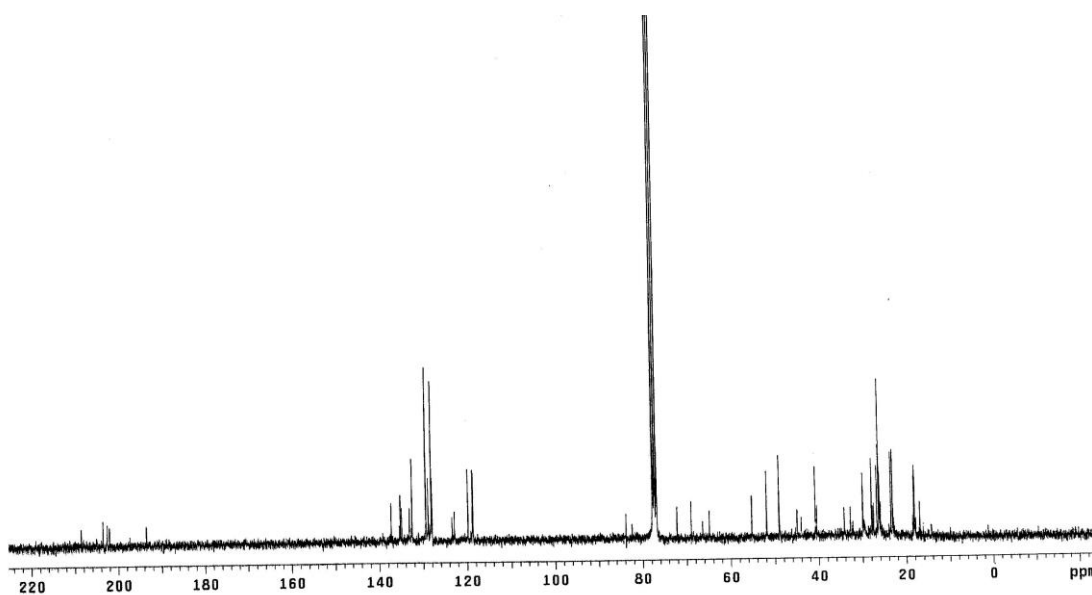


Figura 78 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da Fração CB5 40-41-1 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



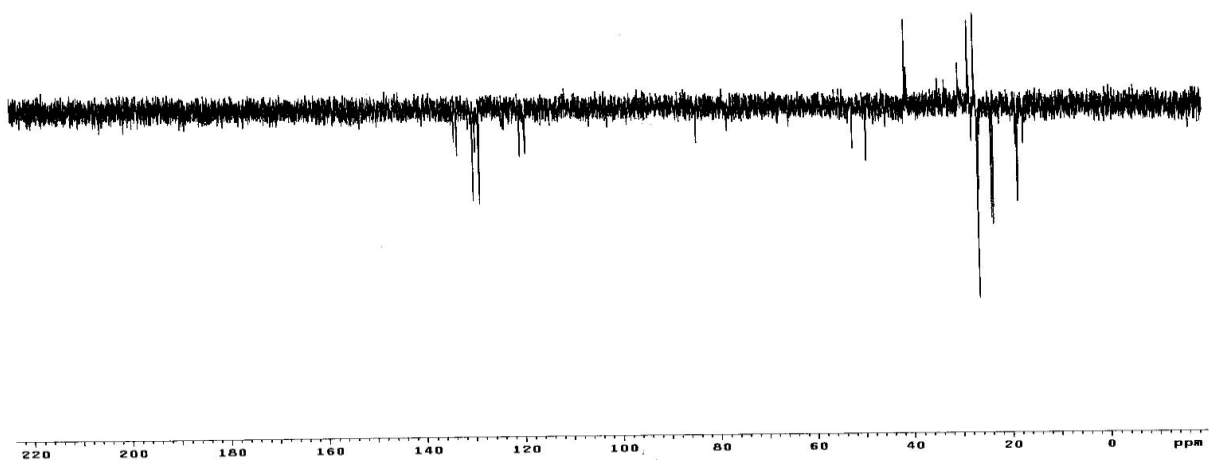


Figura 79 - Espectro de DEPT 135° da Fração CB5 40-48-1 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

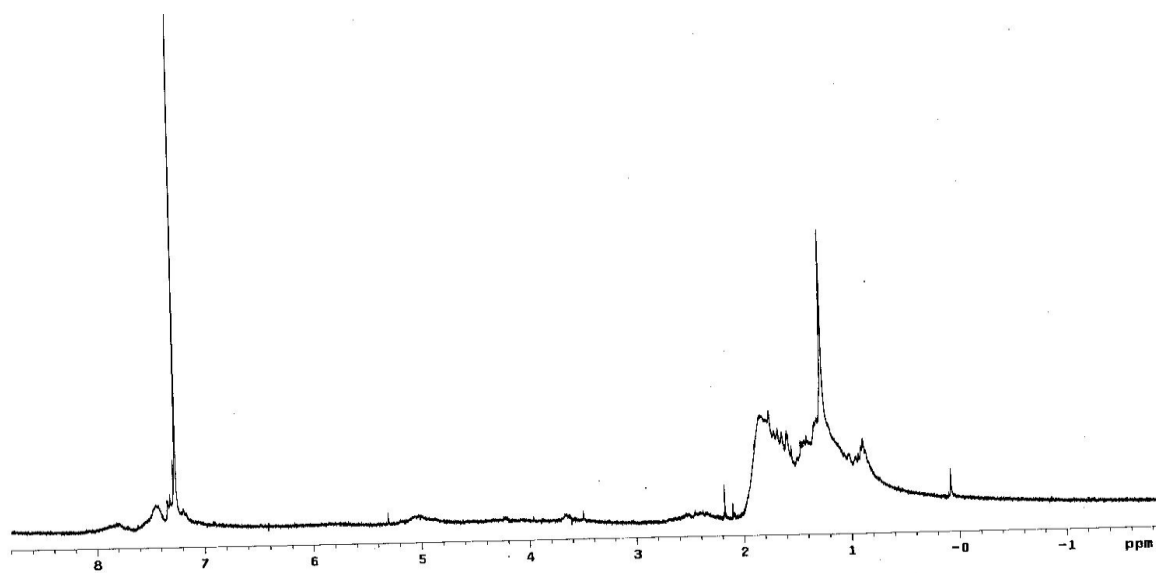


Figura 80 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB5 40-48-1 após decomposição [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

### 4.1.3-Discussão dos resultados da Fração CB6 25-33

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 81) da fração CB6 25-33 exibiu uma mistura de componentes. Dois sinais em  $\delta$  15,35 e  $\delta$  15,32 foram atribuídos a prótons hidroxílicos enólicos quelados com grupos carbonílicos.

A fração depois de submetida a uma análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 82), foi comparada com os dados descritos na literatura, confirmando que um dos constituintes da mistura era o Nemorosonol [DELLE MONACHE et al., 1988]. Os dados revelaram que as substâncias presentes na mistura não eram isômeros tautoméricos.

A fração CB6 25-33 foi submetida a uma reação de metilação e posteriormente a uma CCDC, onde foi verificado a separação dos seus constituintes (Figura 83), em sequência foi feita uma análise de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 84), confirmando a metilação da fração CB6 25-33.

A fração metilada foi submetida a uma CCDP, da qual foram separados os constituintes CB6 25-33K1 e CB6 25-33K2. Estes foram submetidos a análises de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 85 e 86), e apenas da fração CB6 25-33K1 foi obtido o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 87). Devido a pequena quantidade de amostra não foi possível a realização das análises bidimensionais para determinação estrutural das substâncias. Estas foram enviadas para o CENAUREMN na UFC para que fossem feitos os espectros bidimensionais que possibilitassem a determinação estrutural das substâncias. Foi observado a partir dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 88 e 89) que as frações CB6 25-33K1 e CB6 25-33K2 sofreram decomposição.

Os dados dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração CB6 25-33K1 foram comparados com os dados do composto conhecido metilado e não foi encontrado semelhança entre os mesmos. No próximo item será descrita a identificação estrutural do Nemorosonol proveniente da fração CB6 25-33 antes da reação de metilação.

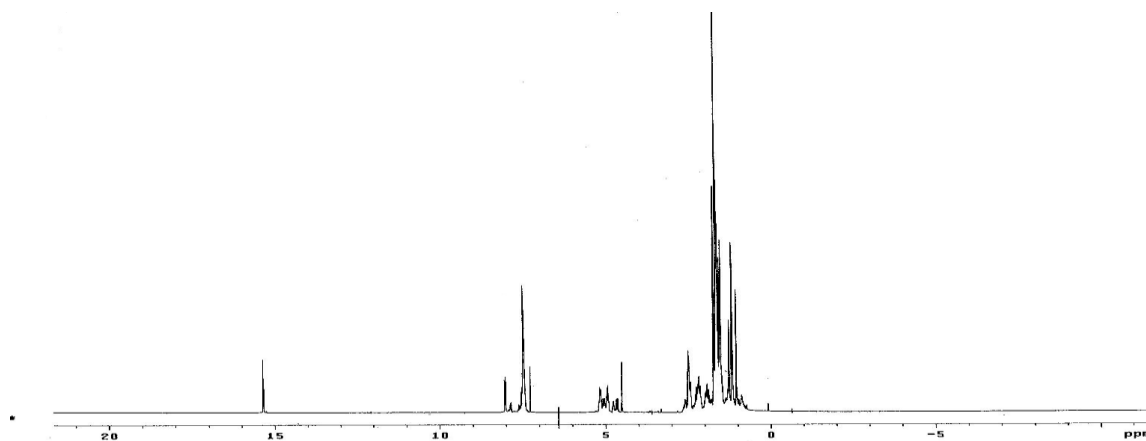


Figura 81 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 25-33 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

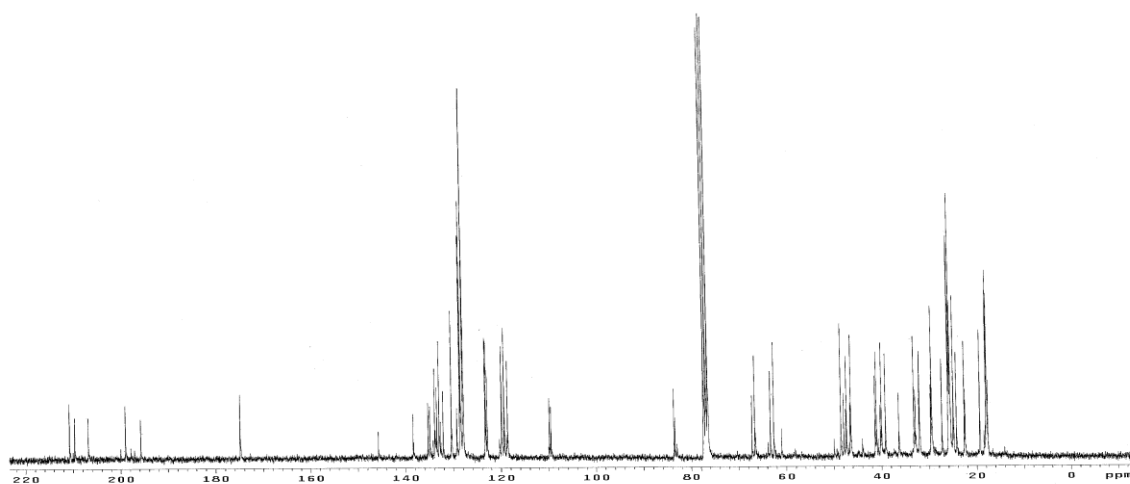


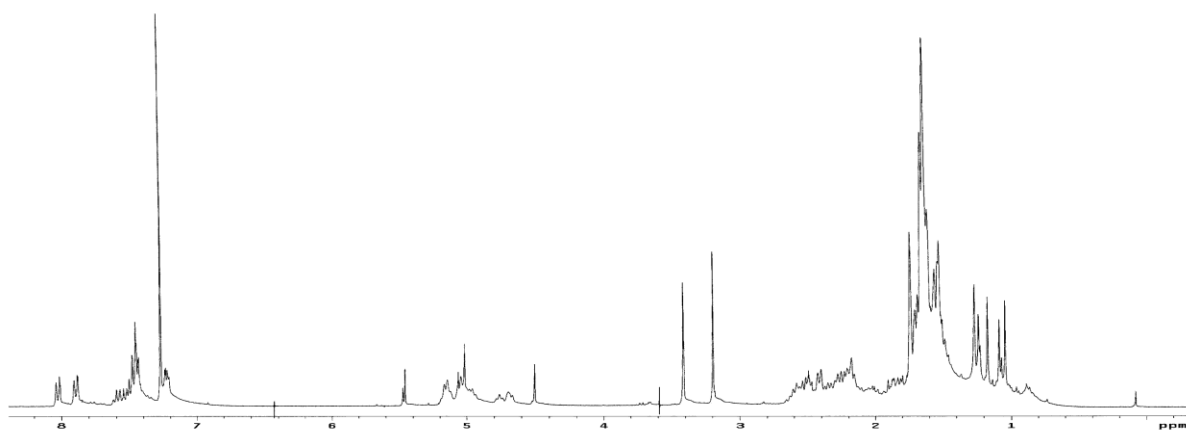
Figura 82 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da Fração CB6 25-33 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



---

Figura 83 - Placa cromatográfica das Frações CB6 25-33, CB6 34-40, CB6 41-53 após metilação, respectivamente.

---



---

Figura 84 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 25-33 metilada [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

---

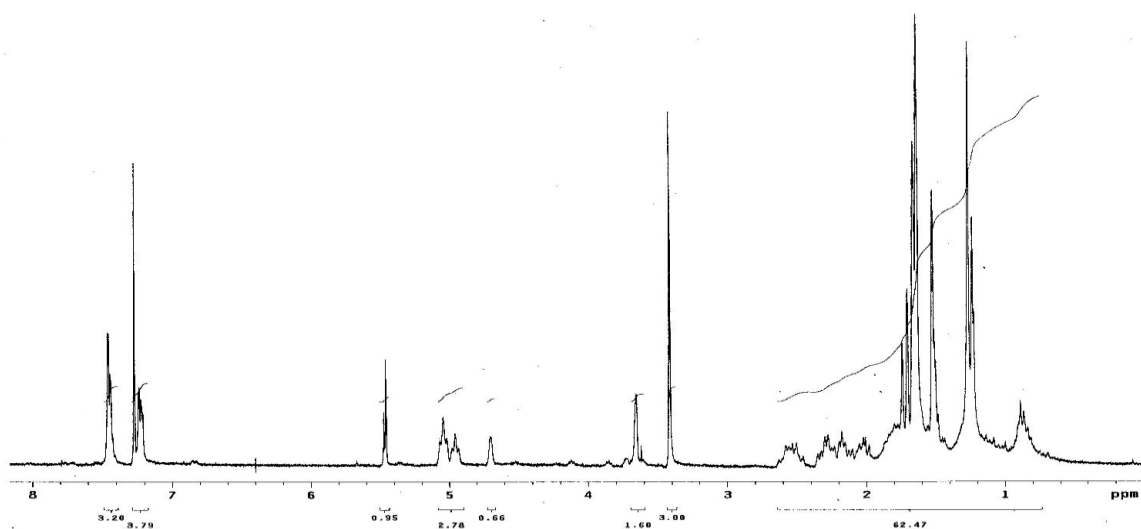


Figura 85 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 25-33k1 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

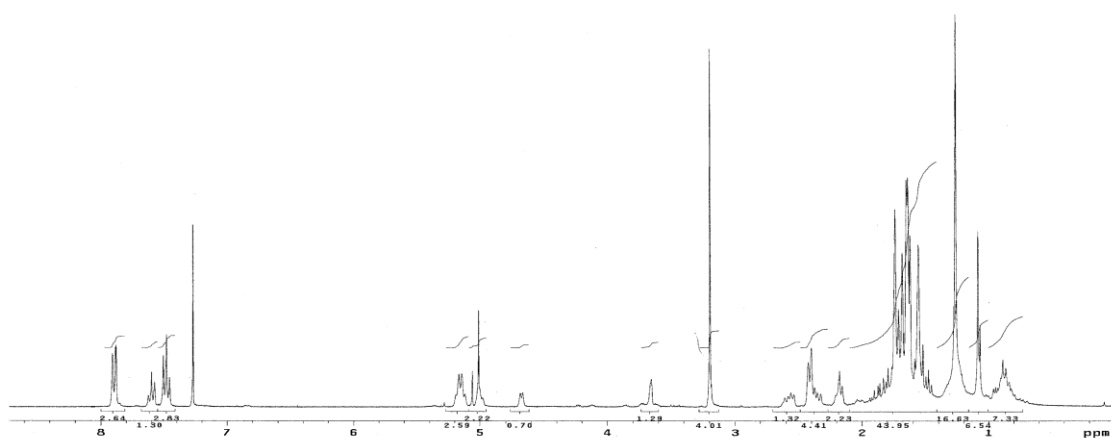
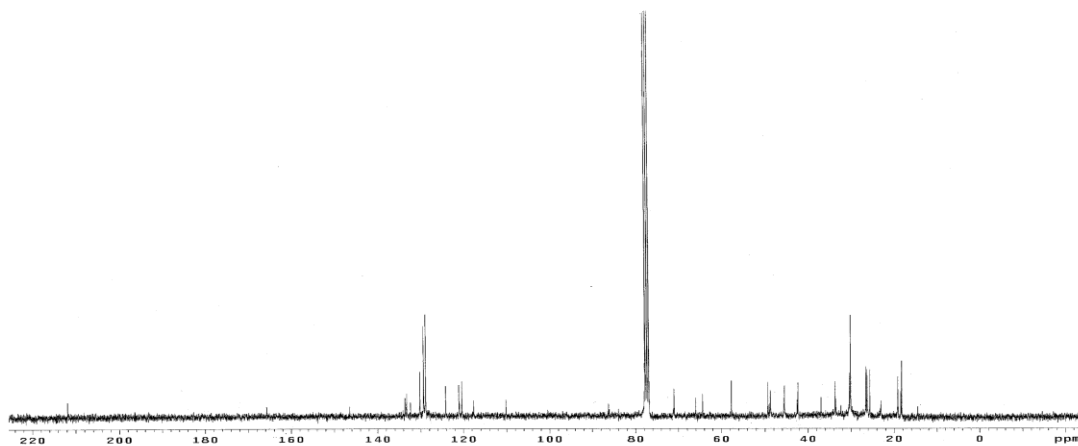


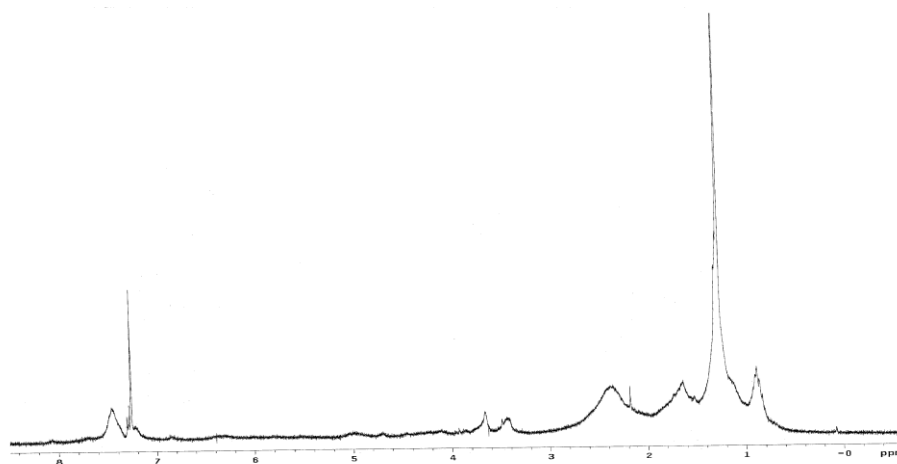
Figura 86 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 25-33 K2 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]



---

Figura 87 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da Fração CB6 25-33K1 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

---



---

Figura 88 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do constituinte CB6 25-33K1 após decomposição [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

---

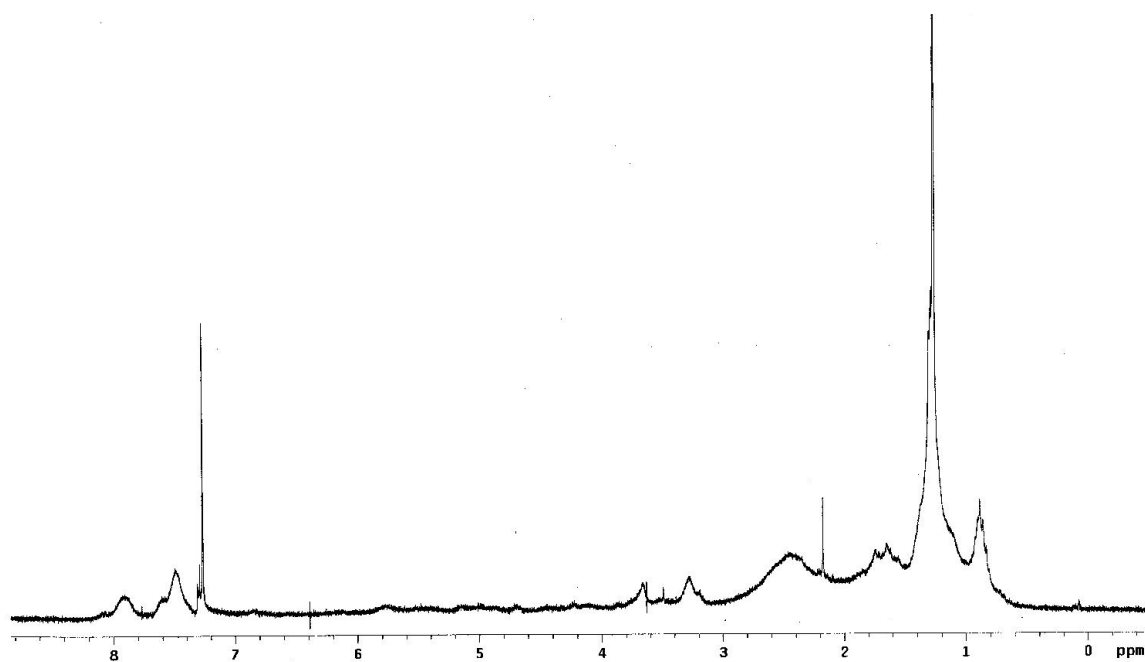


Figura 89 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do constituinte CB6 25-33K2 após decomposição [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

#### 4.1.4 - IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 7

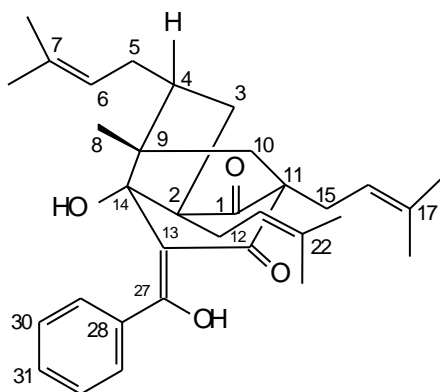


Figura 90 - Estrutura da substância 7 - Nemorosonol

A proposta estrutural da substância 7 está fundamentada na análise dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 81) e RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 82) e comparação com dados relatados na literatura [DELLE MONACHE et al., 1988].

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 81) apresentou dois simpletos em  $\delta$  15,35 e  $\delta$  15,32 atribuídos a prótons hidroxílicos enólicos quelados com grupos carbonílicos. O multipletto entre  $\delta$  7,40-7,60 característicos de anel aromático monossustituído. Três multipletos em  $\delta$  4,93,  $\delta$  5,01,  $\delta$  5,16 correspondentes aos hidrogênios olefinícos. Em  $\delta$  4,51 um simpleto de hidrogênio pertencente provavelmente ao grupo hidroxílico. Sinais em  $\delta$  1,80-2,45 atribuídos aos hidrogênios metilênicos e metínicos.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresentou ainda sete simpleto em  $\delta$  1,73;  $\delta$  1,64;  $\delta$  1,61;  $\delta$  1,56;  $\delta$  1,51;  $\delta$  1,18;  $\delta$  1,17 destes seis são alílicos. Em  $\delta$  1,26 foi observado um sinal correspondente a hidrogênios metilênicos da substância graxa.

O espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 82) da mistura apresentou-se bastante complexo. Fizemos uma tentativa de tentar agrupar os sinais pela diferença de intensidade entre eles. Uma busca na literatura por benzofenonas poliisopreniladas indicou que a mistura possuía alguns sinais característicos do Nemorosonol. A comparação cuidadosa com os sinais desta substância permitiu



sugerir que um dos componentes da mistura seria o Nemorosonol. Na tabela 12 encontram-se os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância 7 e os do Nemorosonol.

Tabela 12 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  [75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ] para a substância 7 o Nemorosonol. [DELLE MONACHE et al., 1988].

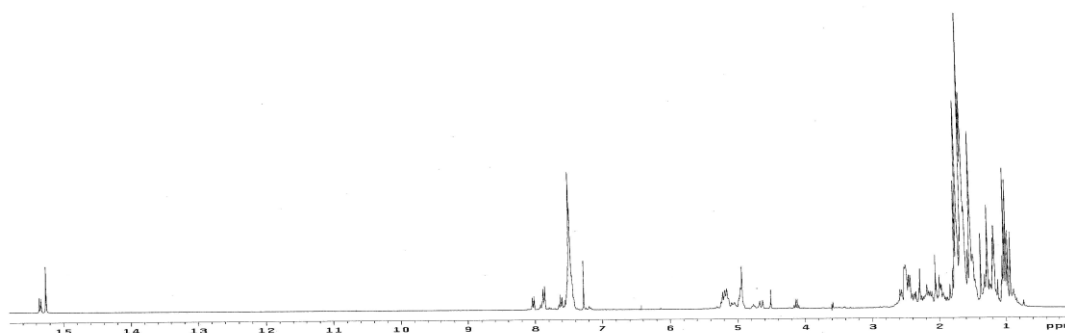
C	Substância 7	Nemorosonol
1	209,6	209,4
2	62,6	62,8
3	40,0	40,4
4	48,5	48,6
5	33,2	33,5
6	123,3	123,8
7	132,1	131,6
8	19,1	19,1
9	47,3	47,3
10	46,5	46,4
11	63,1	63,6
12	199,0	199,1
13	109,9	109,8
14	83,6	83,8
15	25,9	25,3
16	119,3	120,2
17	133,5	133,4
18	26,0	26,1
19	19,7	19,7
20	29,4	29,8
21	119,8	120,3
22	133,0	133,1
23	26,0	26,0
24	17,8	17,7
25	25,8	25,8
26	18,0	17,9
27	174,9	174,8
28	135,3	135,7
29-33	128,3	128,3
30-32	130,4	130,1
31	128,4	128,3

#### 4.1.5-Discussão dos resultados da Fração CB6 34-40

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 91) da fração CB6 34-40 exibiu um padrão semelhante ao espectro da fração CB6 25-33, a presença de três sinais em  $\delta$  15,25,  $\delta$  15,32 e  $\delta$  15,35 que foi atribuído a prótons hidroxílicos enólicos quelados com grupos carbonílicos em anéis de seis membros.

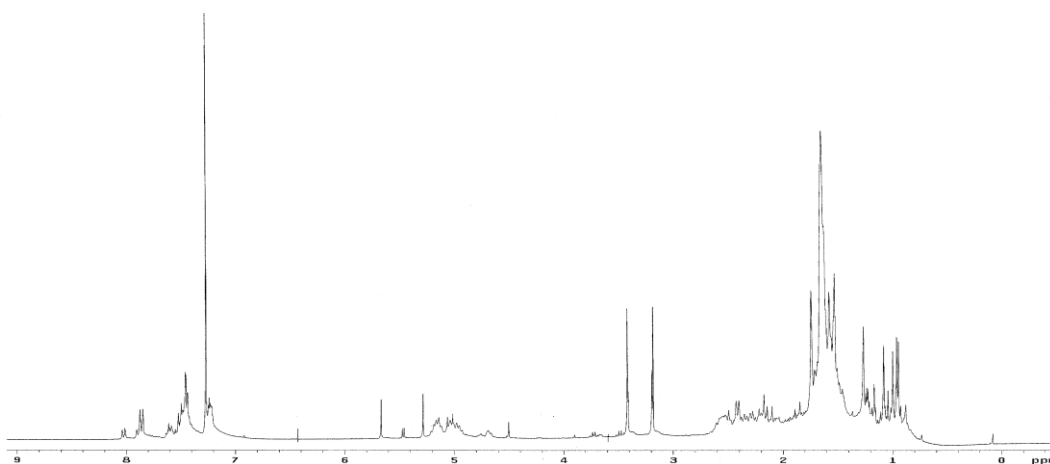
A fração foi submetida a uma reação de metilação e depois a uma CCDC, onde foi constatado a separação de seus constituintes (Figura 83), isto foi confirmado através da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 92). Foi realizada uma CCDP da fração onde foram isolados os constituintes CB6 34-40K3 e CB6 34-40K4. Foram feitas as análise de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 93 e 94) e de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figuras 95 e 96) para as frações metiladas. Assim como as frações CB6 25-33K1 e CB6 25-33K2 as frações CB6 34-40K3 e CB6 34-40K4 também foram enviadas para o CENAUREMN na UFC para que fossem feitos os espectros bidimensionais que possibilitassem a determinação estrutural das substâncias. Foi observado pelos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 97 e 98) que as frações metiladas sofreram decomposição.

Foram observadas algumas semelhanças nos espectros das frações metiladas CB6 25-33K1, CB6 25-33K2, CB6 34-40K3 e CB6 34-40K4. Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  das frações metiladas CB6 34-40K3 e CB6 34-40K4 foram comparadas com os dados da literatura descritos para o Nemorosonol metilado [DELLE MONACHE et al., 1988], porém não foi constatada semelhança estrutural entre eles.



---

Figura 91 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 34-40 não metilada [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]



---

Figura 92 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 34-40 metilada [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

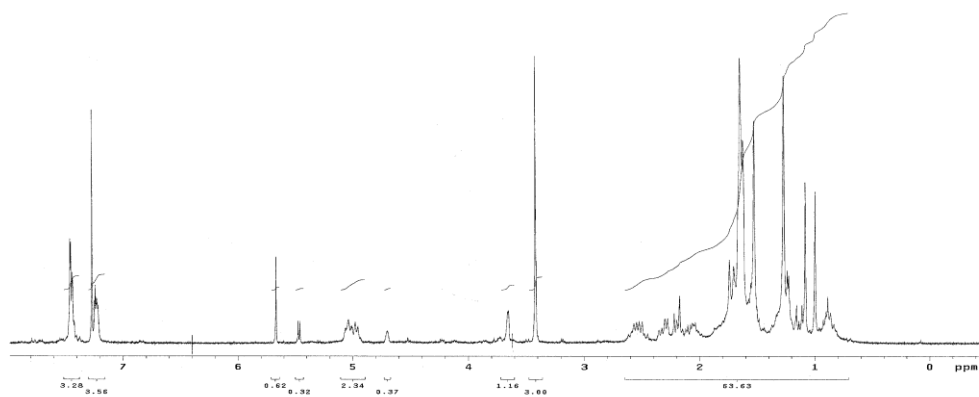


Figura 93 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do constituinte CB6 34-40K3 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

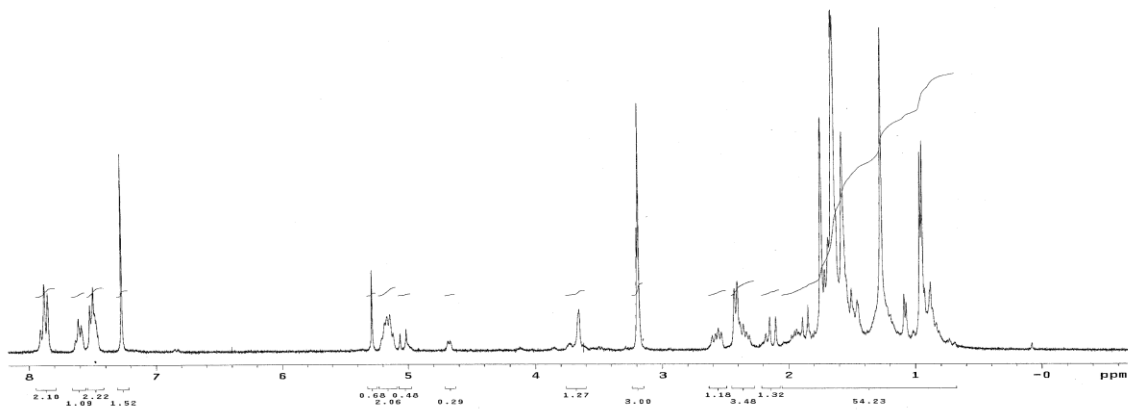


Figura 94 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do constituinte CB6 34-40K4 [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

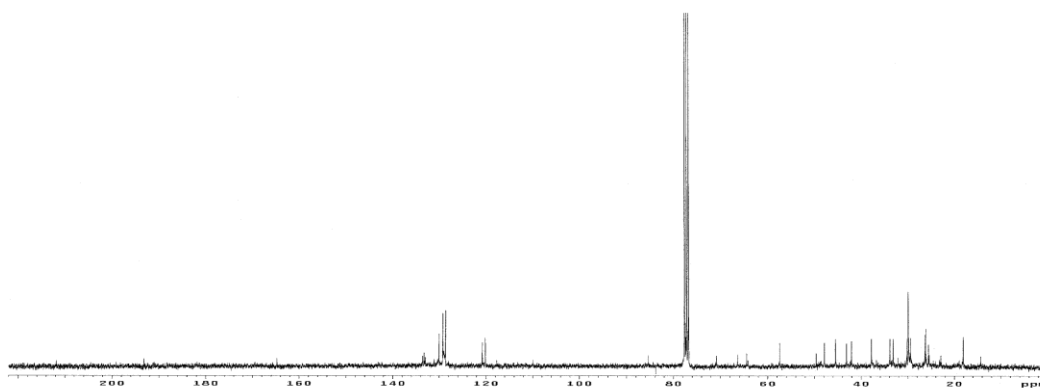


Figura 95 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ do constituinte CB6 34-40K3 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

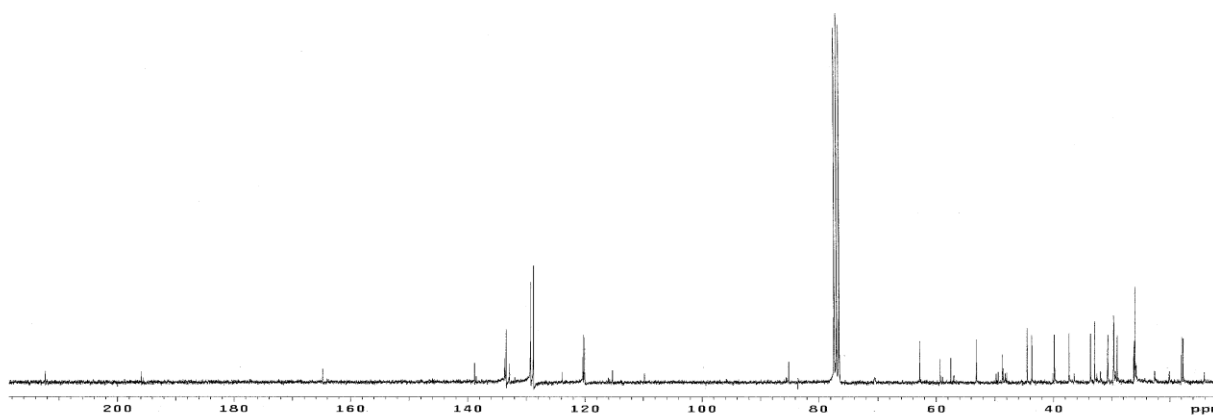


Figura 96 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ do constituinte CB6 34-40K4 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

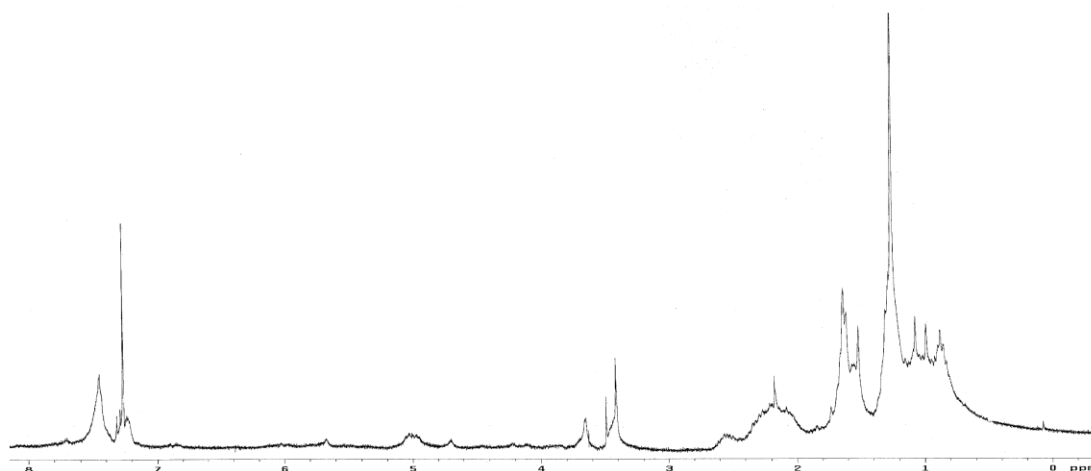


Figura 97 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 34-40K3 após decomposição [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

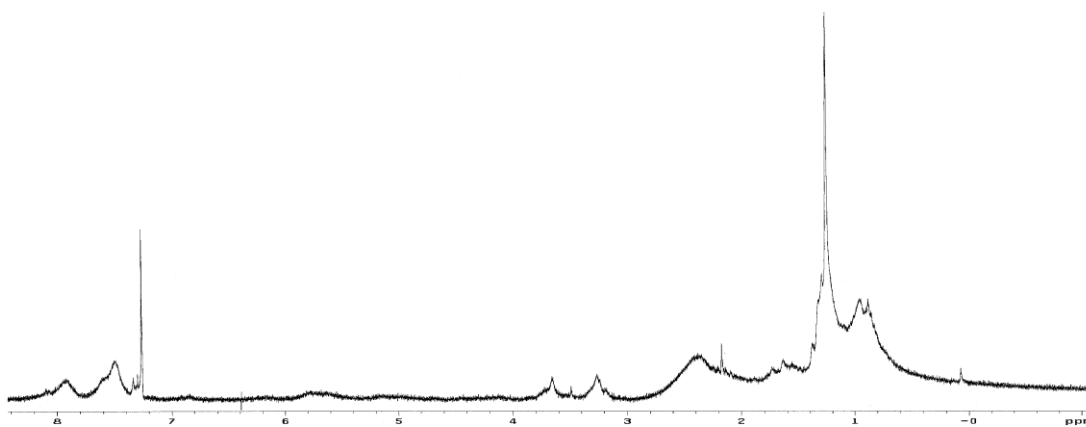
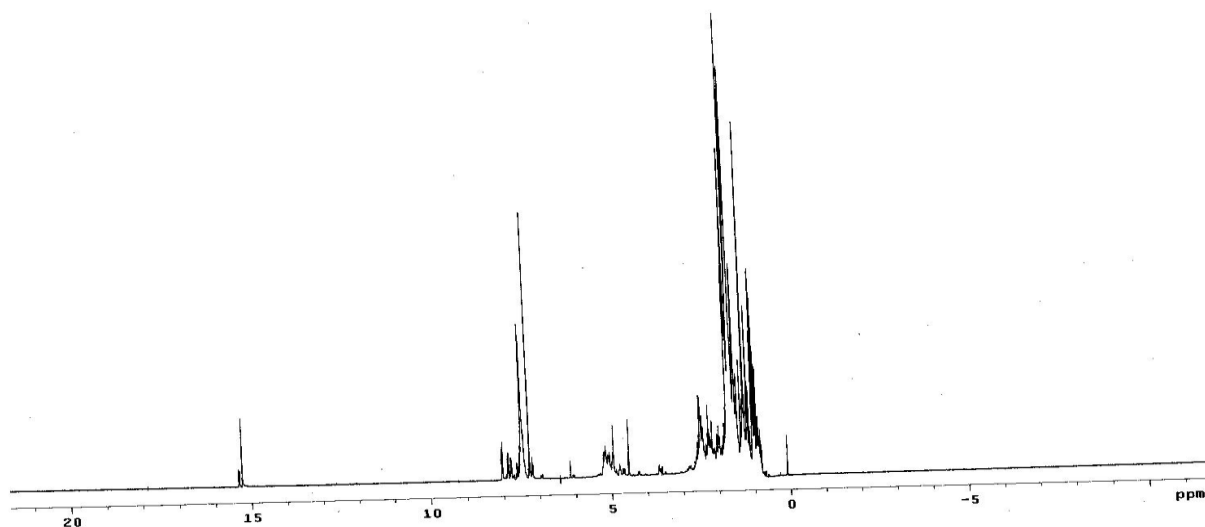


Figura 98 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 34-40K4 após decomposição [300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

#### 4.1.6 - Discussão dos resultados da Fração CB6 41-53

A fração CB6 41-53 apresentou o mesmo comportamento que as frações CB6 25-33, CB6 34-40, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 99) apresentou de três sinais em  $\delta$  15,25,  $\delta$  15,32 e  $\delta$  15,35 que foi atribuído a prótons hidroxílicos enólicos quelados com grupos carbonílicos em anéis de seis membros. Esta também foi submetida a uma reação de metilação (p.52) e posteriormente a uma CCDC, onde foi confirmada a separação dos constituintes (Figura 83). Dando sequência foi feita uma CCDP, tendo como fração isolada a CB6 41-53-1 (Figura 100). Esta também foi enviada para o CENAUREMN na UFC para que fossem feitos os espectros bidimensionais que possibilitassem a determinação estrutural das substâncias. A partir das análises foi possível determinar a estrutura da substância 8 descrita no próximo item.



---

Figura 99 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 41-53 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

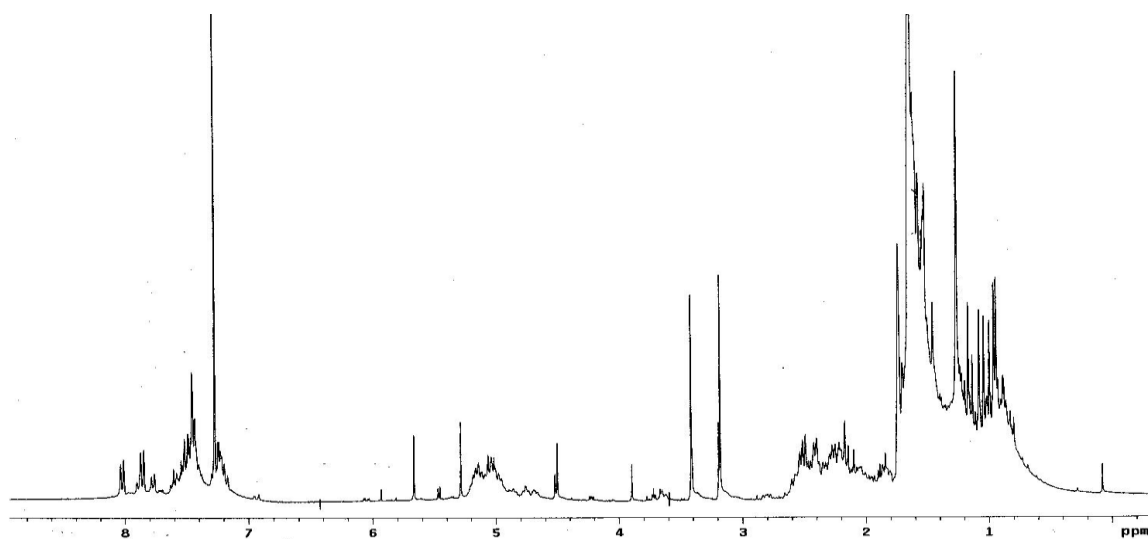


Figura 100 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 41-53 metilada [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



#### 4.1.7 - DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA 8

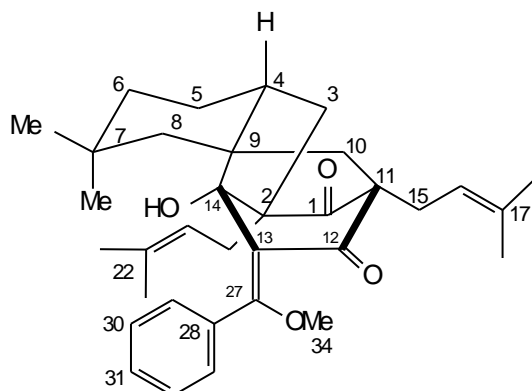


Figura 101 - Estrutura da substância 8 – Burlemarxiona A

A substância 8 foi isolada em pequena quantidade do extrato hexânico (p.42) da espécie *Clusia burle-marxii* na forma de óleo de cor amarela após metilação com diazometano. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 102 e 103) apresentou grupos de sinais em  $\delta 7,45$  e  $\delta 7,23$  integrando para 3 e 2 hidrogênios, respectivamente, indicando a presença de um grupo fenílico. Apresentou ainda dois tripletos em  $\delta 5,03$  e  $\delta 4,98$  integrando para um hidrogênio cada ao lado dos sinais de quatro grupos metílicos em  $\delta 1,65$ ;  $\delta 1,64$ ;  $\delta 1,62$ ;  $\delta 1,52$  sugerindo a presença de dois grupos prenílicos na molécula. Além dos grupos metílicos citados foram observados dois simpletos em  $\delta 1,00$  e  $\delta 1,08$  integrando para três hidrogênios cada, totalizando, desta forma seis grupos metílicos. Um sétimo grupo metílico apareceu em  $\delta 3,42$  indicando a presença de um grupo metoxílico.

O espectro supracitado exibiu ainda um simpleto com integração para um hidrogênio em  $\delta 5,68$ , cinco duplos dupletos em  $\delta 2,58$ ;  $\delta 2,49$ ;  $\delta 2,31$ ;  $\delta 2,16$  e  $\delta 2,07$  e dois dupletos em  $\delta 2,19$  e  $\delta 1,14$ .

A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 104) totalmente desacoplado e de DEPT  $135^\circ$  (Figura 105) indicou a presença de doze carbonos não hidrogenados, oito carbonos metínicos, sete carbonos metilênicos e sete grupos metílicos, totalizando trinta e quatro carbonos e quarenta e quatro hidrogênios. Dentre os sinais de carbono não hidrogenados, os sinais em  $\delta 213,2$  e  $\delta 194,6$  são

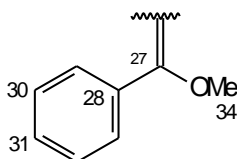
referentes a presença de duas carbonilas cetônicas, sendo uma delas conjugada e o sinal em  $\delta$  166,1 foi atribuído a existência de um carbono  $sp^2$  oxigenado.

A presença do grupo fenila foi confirmada pelos sinais na região de  $\delta$  130,0-134,3. As prenilas foram caracterizadas através dos sinais em  $\delta$  122,1 e  $\delta$  121,5,  $\delta$  134,9 e  $\delta$  134,6 atribuídos aos carbonos olefínicos e os sinais em  $\delta$  27,7;  $\delta$  27,5;  $\delta$  19,5 e  $\delta$  19,4 dos quatro grupos metílicos. O sinal em  $\delta$  86,7 indicou a presença de um carbono  $sp^3$  oxigenado, possivelmente ligado a um grupo hidroxílico. Levando-se estes dados em consideração é possível estimar a sua fórmula molecular como sendo  $C_{34}H_{44}O_4$ .

Para determinação estrutural da substância 8, foram necessários os espectros de HSQC, HMBC e COSY (Figura 106), cujas análises serão descritas a seguir.

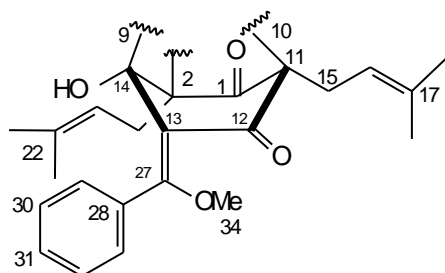
O espectro de HSQC (Figura 107) possibilitou a definição das correlações dos hidrogênios ligados aos carbonos. O espectro de HMBC (Figuras 108, 109, 110), possibilitou as correlações entre os hidrogênios e os carbonos a duas e a três ligações.

O sinal em  $\delta$  7,23 foi atribuído aos hidrogênios H-29 e H-33 e apresentou correlações com os sinais em  $\delta$  131,4 (C-31) e  $\delta$  166,1 (C-27). Os hidrogênios H-30, H-31 e H-32 foram conferidos ao sinal em  $\delta$  7,45. Este apresentou correlação com os sinais em  $\delta$  130,0 (C-30 e C-32),  $\delta$  130,6 (C-29 e C-33) e  $\delta$  134,3 (C-28). Foi observada uma correlação entre os sinais  $\delta$  3,41 (H-34) e  $\delta$  166,1 (C-27). Estes dados possibilitaram a confirmação do fragmento abaixo:

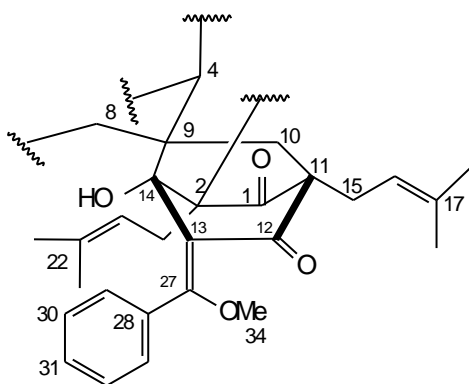


O fragmento estrutural ligado ao C-27 da estrutura acima foi determinado a partir das correlações entre os sinais  $\delta$  5,68 (14-OH) com  $\delta$  119,9 (C-13),  $\delta$  65,8 (C-2) e  $\delta$  86,7 (C-14),  $\delta$  2,58 (H-20a) com  $\delta$  65,8 (C-2);  $\delta$  86,7 (C-14);  $\delta$  122,1 (C-21) e  $\delta$  134,6 (C-22), sendo que H-20a ( $\delta$  2,58) está acoplado com H-20b ( $\delta$  2,50) e com H-21 ( $\delta$  5,03) e pela correlação entre os sinais  $\delta$  2,50 (H-20b) com  $\delta$  65,8 (C-2);  $\delta$  122,1 (C-21) e  $\delta$  134,6 (C-22), sendo possível deduzir a presença de um grupo prenilico ligado ao carbono quaternário C-2 ( $\delta$  65,8). As correlações entre os sinais  $\delta$  2,16 (H-15a) com  $\delta$  67,7 (C-11);  $\delta$  121,5 (C-16) e  $\delta$  134,9 (C-17) e  $\delta$  2,31 (H-15b) com  $\delta$  49,2 (C-10);  $\delta$  67,7 (C-11);  $\delta$  121,5 (C-16) e  $\delta$  134,9 (C-17) juntamente com os dados do COSY, que revelou o

acoplamento entre os sinais referentes aos hidrogênios H-15a e H-15b, supracitados, e destes com o sinal em  $\delta$  4,98 (H-16) permitiram deduzir a existência de um segundo grupo prenílico ligado ao carbono C-11 ( $\delta$  67,7). Diante da presença de correlação entre o sinal de H-15b com um sinal em  $\delta$  49,2 (C-10) foi possível supor que este carbono metilênico estivesse também ligado ao carbono C-11. Após minuciosa análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , HSQC e HMBC foi possível determinar a presença de dois hidrogênios em aproximadamente  $\delta$  1,62 ligados ao carbono C-10 ( $\delta$  49,2), isto aliado as correlações entre os sinais desses hidrogênios com os sinais em  $\delta$  194,6 (C-12) e  $\delta$  67,7 (C-11) corroboraram com a suposição de que o carbono metilênico em  $\delta$  49,2 estava ligado ao carbono C-11 ( $\delta$  67,7).

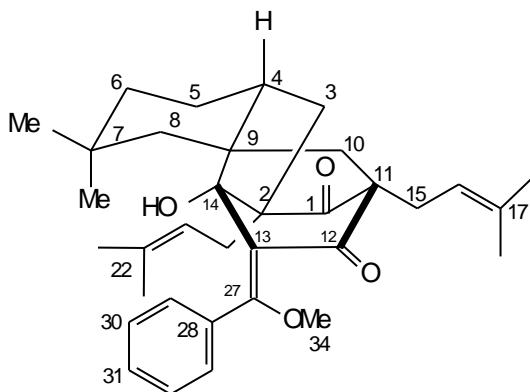


As correlações dos sinais em  $\delta$  1,62 (H-10) com os sinais em  $\delta$  44,4 (C-8);  $\delta$  46,8 (C-4);  $\delta$  51,0 (C-9) e  $\delta$  86,7 (C-14), sugeriram a existência do fragmento abaixo:



Os sinais em  $\delta$  1,14 (H-8a) e  $\delta$  2,19 (H-8b) que apresentaram correlações com os sinais em  $\delta$  46,8 (C-4),  $\delta$  49,2 (C-10),  $\delta$  51,0 (C-9) e  $\delta$  86,7 (C-14) estão de acordo com a estrutura parcial proposta acima. Os hidrogênios H-8a e H-8b também apresentaram correlações com os sinais em  $\delta$

31,2 (C-7),  $\delta$  34,5 (C-25),  $\delta$  35,3 (C-26),  $\delta$  39,2 (C-6), sugerindo um novo fragmento para a molécula:



As correlações dos sinais em  $\delta$  1,00 e  $\delta$  1,08 pertencentes aos dois grupos metílicos e destes com os carbonos em  $\delta$  31,2 (C-7),  $\delta$  39,2 (C-6),  $\delta$  44,4 (C-8) confirmou a existência de um grupo gem-dimetil ladeado por dois carbonos metilênicos.

As correlações dos hidrogênios com sinais em  $\delta$  1,67 (H-3a) e  $\delta$  2,07 (H-3b) respectivamente com os sinais em  $\delta$  46,8 (C-4),  $\delta$  65,8 (C-2),  $\delta$  51,0 (C-9),  $\delta$  86,7 (C-14), permitiram a colocação do carbono  $\delta$  43,4 (C-3) ligado aos carbonos C-2 e C-4.

As correlações dos sinais em  $\delta$  1,22 e  $\delta$  1,62 (H-6) e dos sinais em  $\delta$  1,28 e  $\delta$  1,55 (H-5) com o sinal em  $\delta$  46,8 (C-4), permitiram a finalização do esqueleto carbônico da molécula. A benzofenona 8 foi denominada Burlemarxiona A. Foi realizada a análise do espectro de massa porém esta não foi utilizada para confirmar a substância pois outra análise de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 111), confirmou a decomposição da mesma. Não foram encontrados relatos na literatura para essa substância, portanto trata-se de uma substância inédita.

Tabela 13 – Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)], RMN de  $^{13}\text{C}$  [125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] e COSY para a substância 8 (Bulermaxiona A ).

Nº	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	HMBC	COSY
1		213,2		
2		65,8	14-OH; H-20a; H-20b; H-3a; H-3b	
3	1,67a (sb) 2,07b (dd; 7,9;12,5)	43,4		
4	1,55 (dd;7,0;14,2)	46,8	H-10, H-8a; H-8b; H-3a; H-3b; H-5; H-6	
5	1,28 (sb) 1,55 (sb)	30,8		
6	1,22 (sb) 1,62 (sb)	39,2	H-8a; H-8b; H-25; H-26	
7		31,2	H-8a; H-8b; H-25; H-26	
8	1,14a (d ;13,8) 2,19b (d; 13,8)	44,4	H-10; H-25; H-26	
9		51,0	H-10; H-8a; H-8b; H-3a; H-3b	
10	1,62 (sb)	49,2	H-15b; H-8a; H-8b	
11		67,7	H-15a; H-15b; H-10	
12		194,6	H-10	
13		119,9	14-OH;	
14		86,7	14-OH; H-20a; H-10; H-8a; H-8b; H-3a; H-3b	
15	2, 16a ( dd ; 6,4; 14,7) 2,31b (dd ; 6,7 ; 14,7)	26,9		H-15b H-15a
16	4,98 (t ; 8,7)	121,5	H-15a; H-15b	H-15a; H-15b
17		134,9	H-15a; H-15b	
18	1,52 (s)	19,4		
19	1,64 (s)	27,5		
20	2,58a (dd; 7,3; 13,4) 2,50b (dd 8,9; 13,9)	31,5		H-20b
21	5,03 (t ; 5,8)	122,1	H-20a; H-20b	H-20a H-20a
22		134,6	H-20a; H-20b	
23	1,62 (s)	19,5		
24	1,64 (s)	27,7		
25	1,08 (s)	34,5	H-8a; H-8b	
26	1,00 (s)	35,3	H-8a; H-8b	
27		166,1	H-29; H-33 ; H-34	
28		134,3	H-30; H-31; H-32	
29	7,23 (m)	130,6	H-30; H-31; H-32	
30	7,45 (m)	130,0	H-31; H-32	
31	7,45 (m)	131,4	H-29; H-31;H-33	
32	7,45 (m)	130,0	H-30; H-31	
33	7,23 (m)	130,6	H-30; H-31; H-32	
34	3,41 (s)	58,9		
OH	5,68 (s)			

Valores de J EM Hz; sb (sobreposição de sinais)

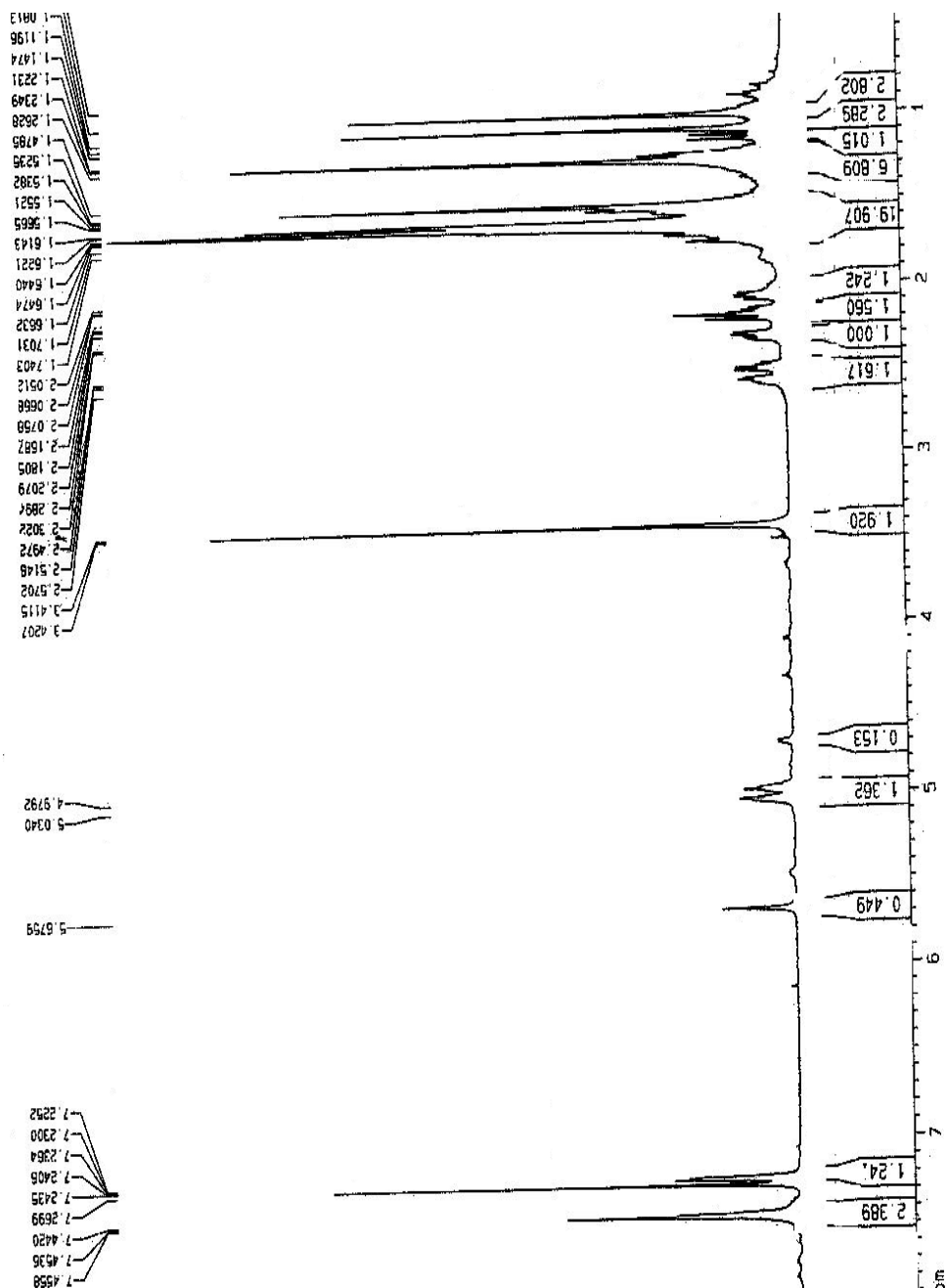


Figura 102 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ (ppm)]

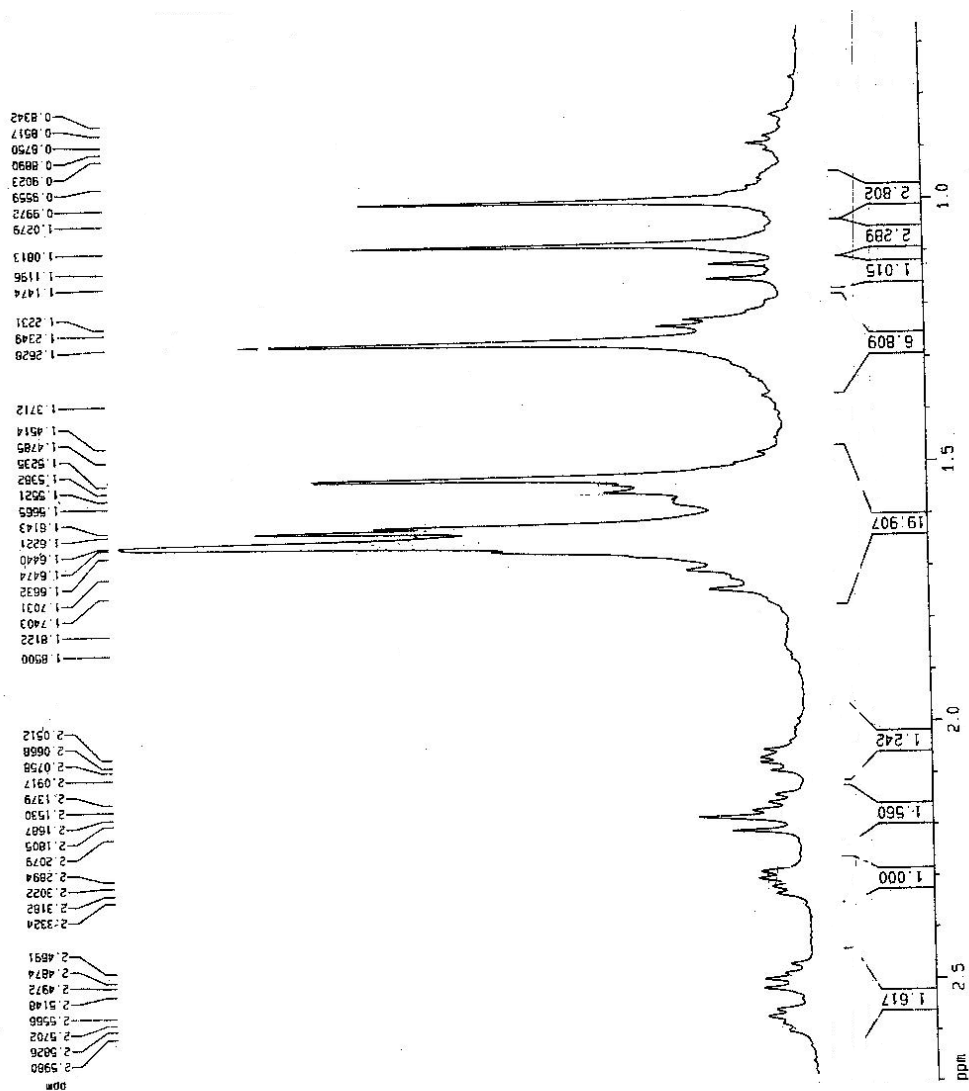


Figura 103 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Burlemarxiona A expandido (Substância 8) [500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

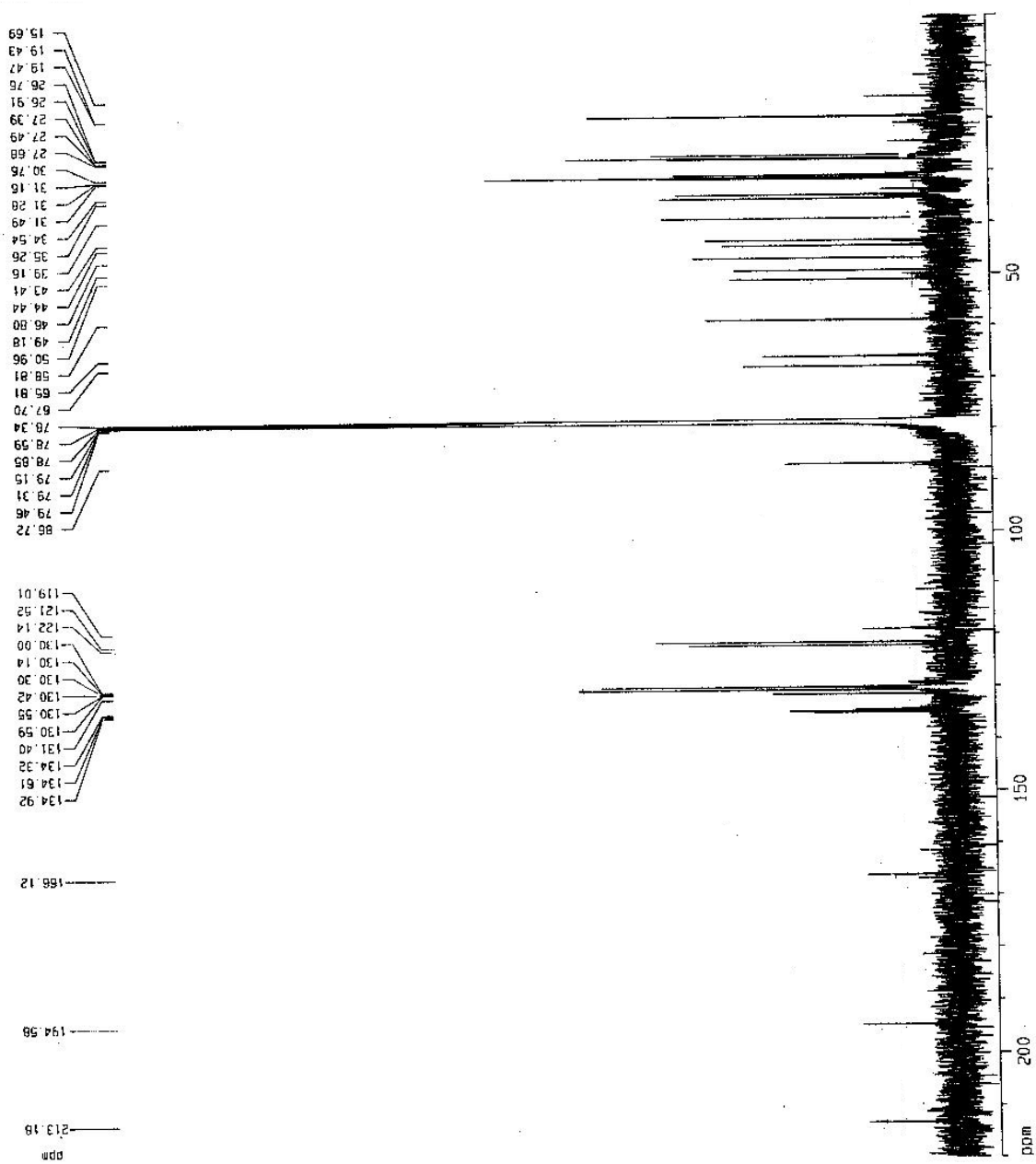


Figura 104 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



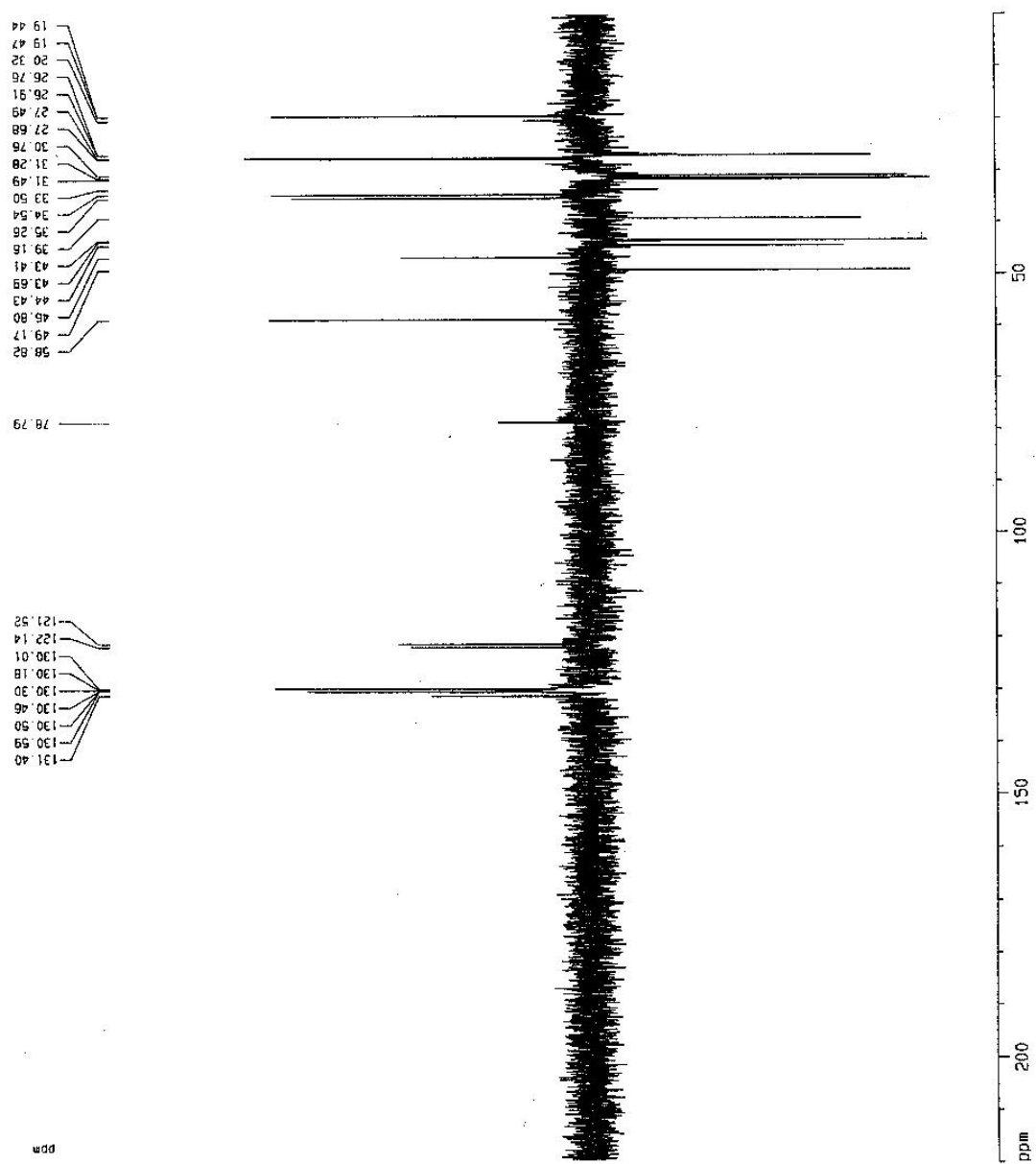


Figura 105 - Espectro de DEPT 135° da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

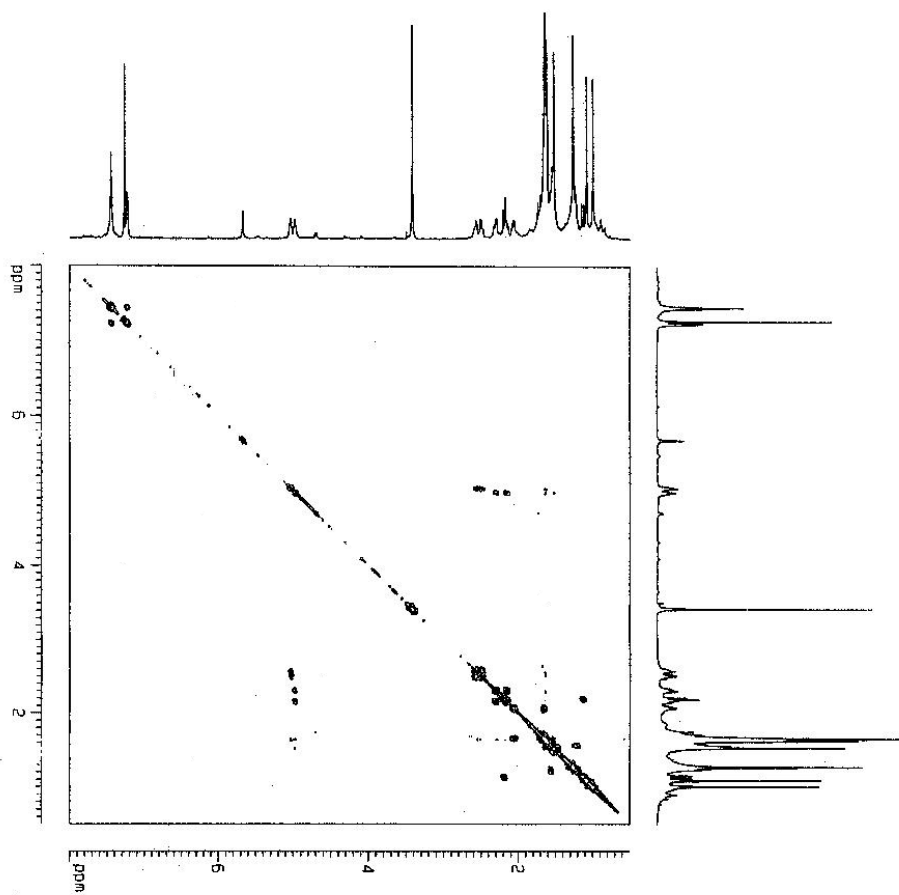


Figura 106 - Espectro de COSY da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

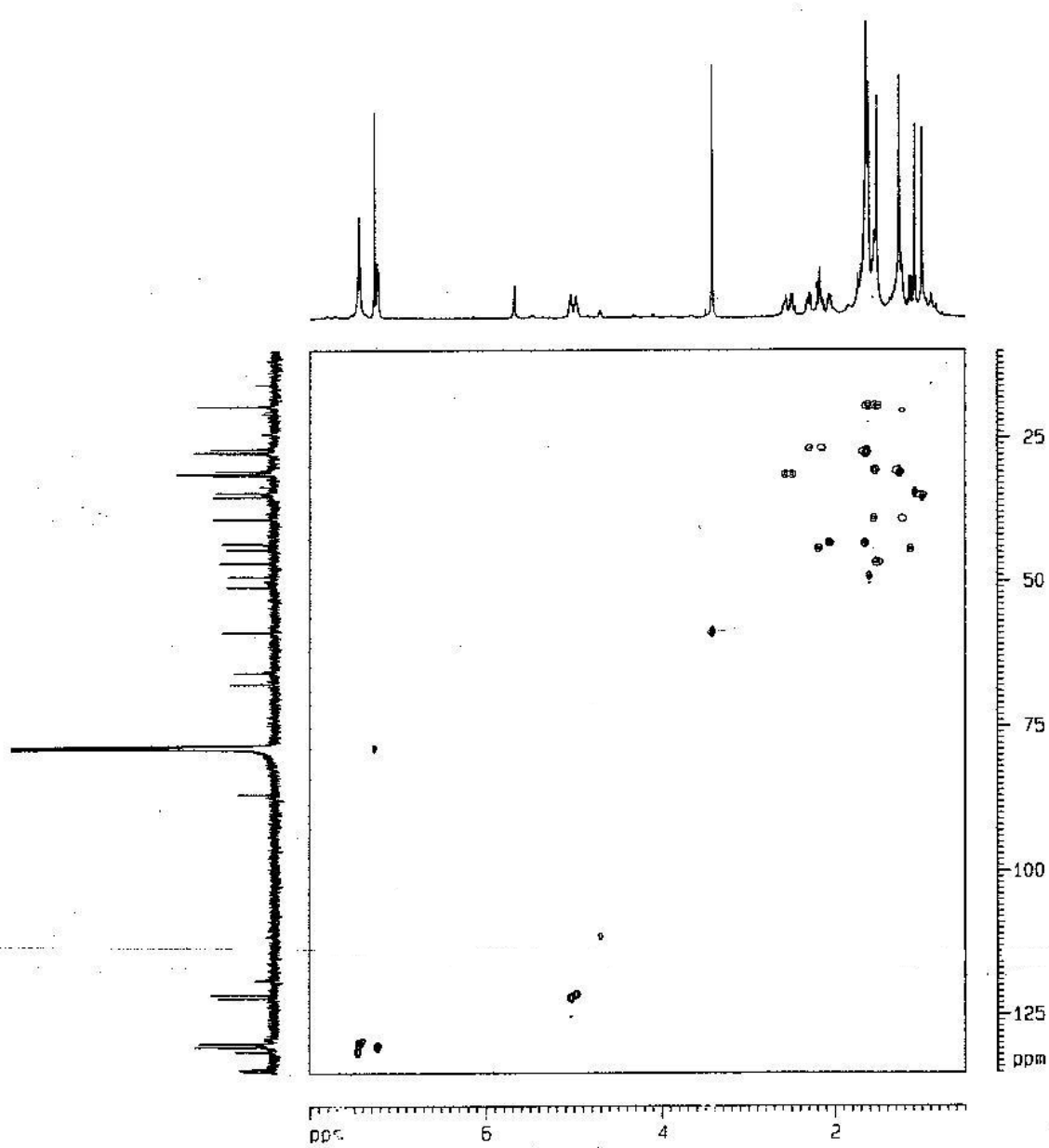


Figura 107 - Espectro de HSQC da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

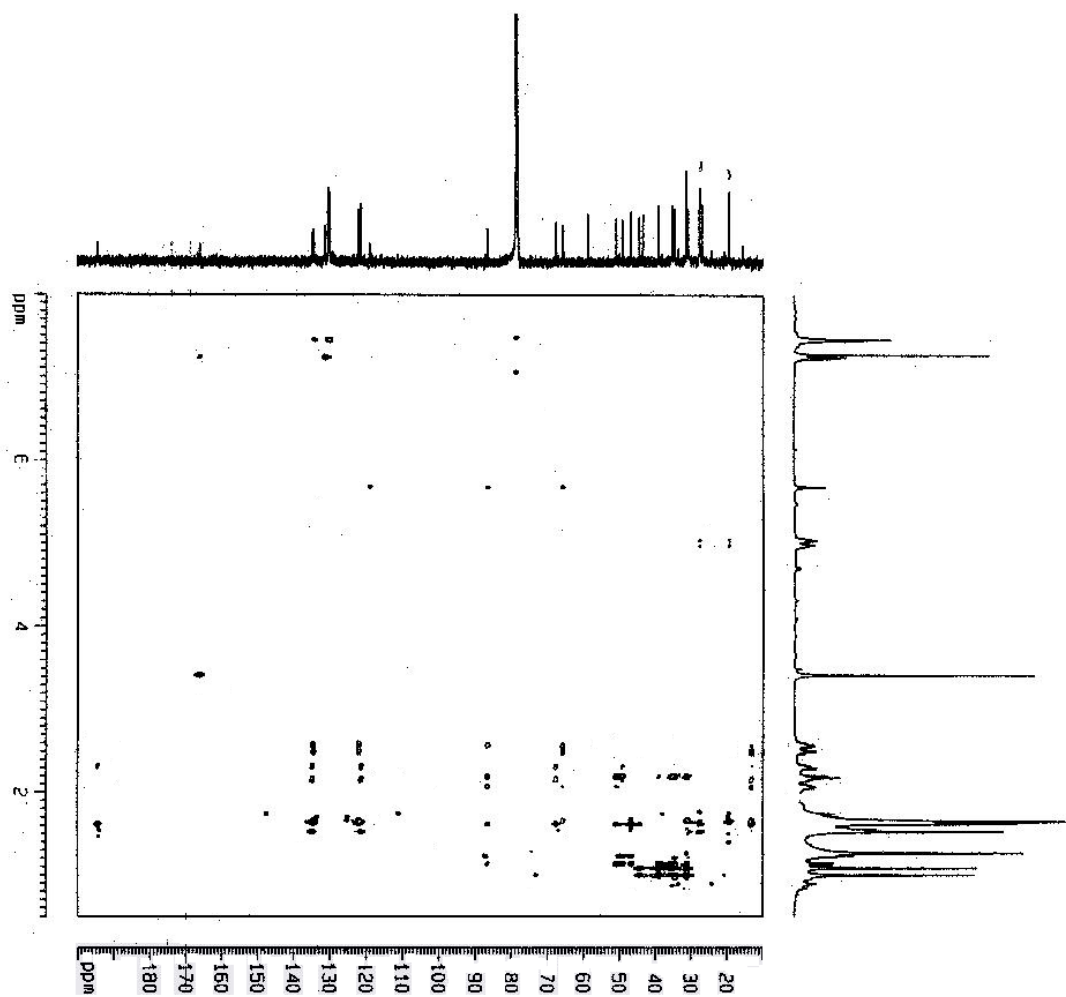


Figura 108 - Espectro de HMBC da Burlemarxiona A (Substância 8) [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

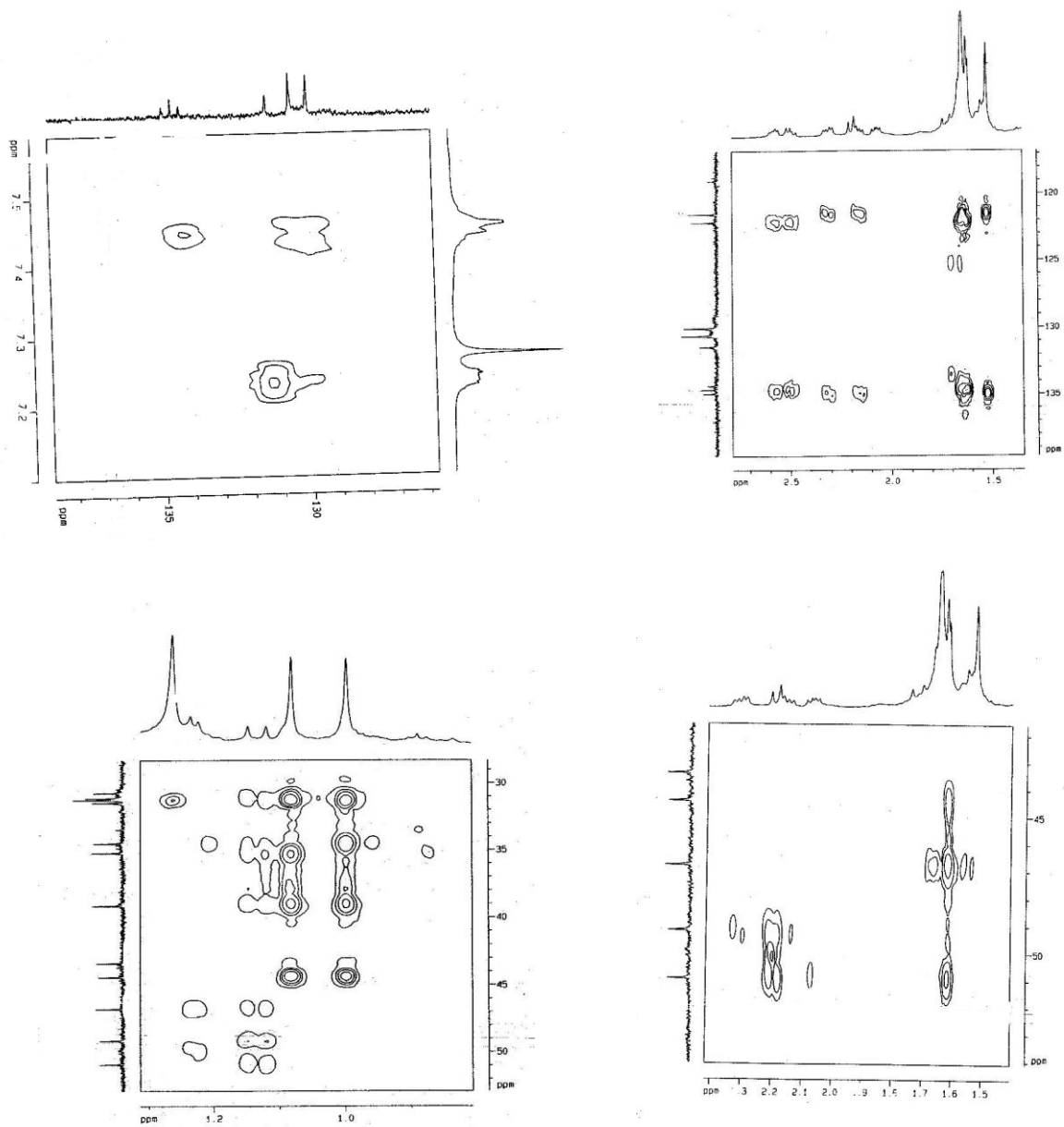


Figura 109 - Espectros de HMBC da Burlemarxiona A (parcial) (Substância 8) [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

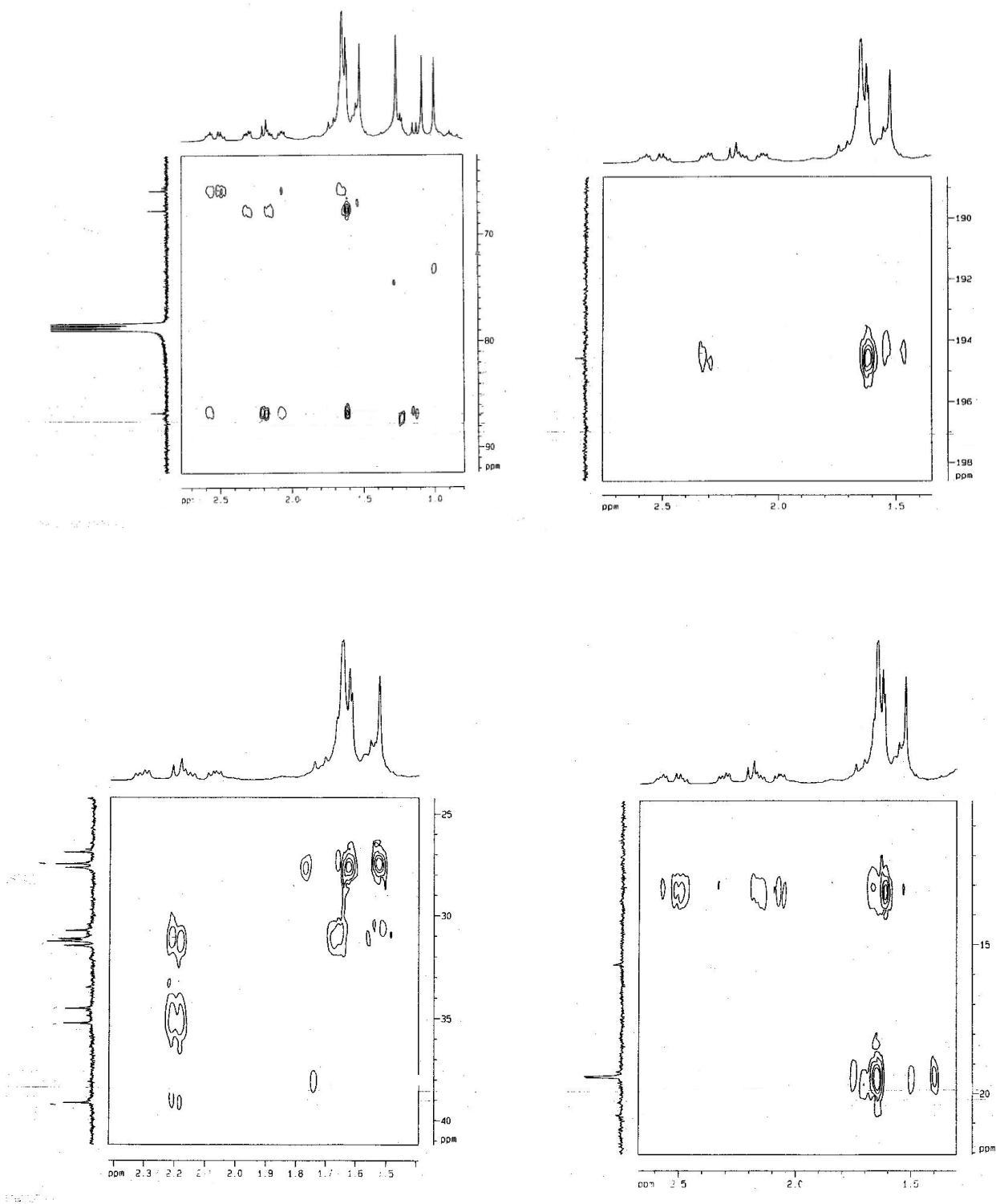


Figura 110 - Espectros de HMBC da Burlemarxiona A (parcial) (Substância 8) [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

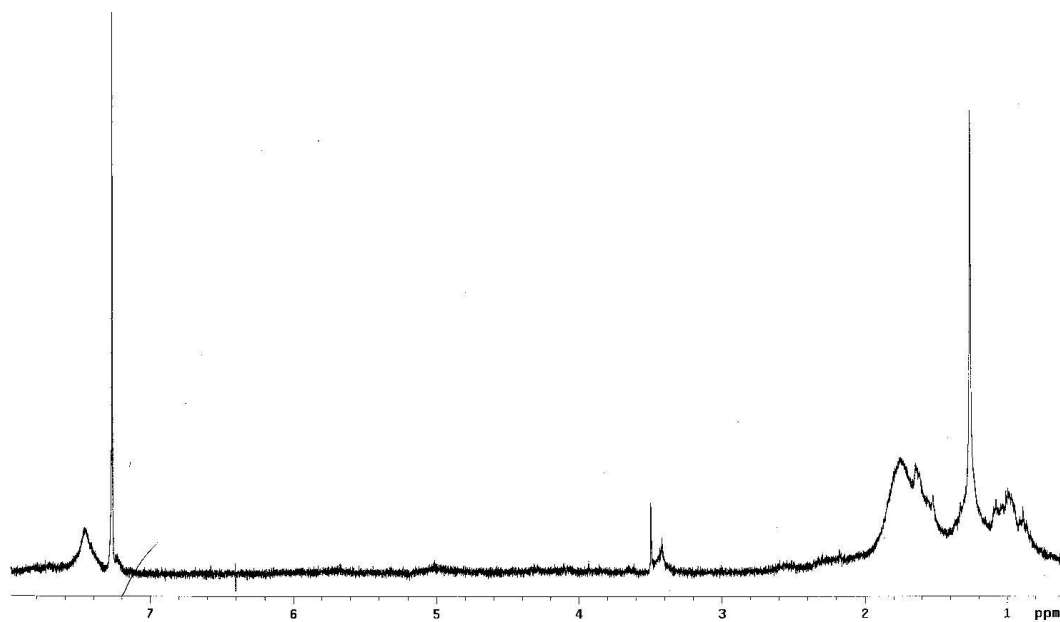


Figura 111 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Burlemarxiona A (Substância 8) após decomposição [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

#### 4.1.6 – Discussão dos resultados das Frações CB6 54-66; CB6 67-73; CB6 84-99

As frações CB6 54-66; CB6 67-73; CB6 84-99 foram obtidas a partir do fracionamento em coluna cromatográfica da fração 54-66 (p. 50). A fração CB6 54-66 foi submetido a um processo de purificação em CCDP onde foi isolado o constituinte CB6 54-66 1, o qual foi submetido a análises de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 112), RMN de  $^{13}\text{C}$ , HMBC e HMQC. Os dados destas análises não foram suficientes para que uma proposta de estrutura fosse apresentada, porém, outras análises não foram realizadas em virtude de sua decomposição (figura 113). Mesmo assim os dados sugeriram que o constituinte isolado pertencia à classe de benzofenonas. As frações CB6 67-73 e CB6 84-99 foram submetidas ao mesmo processo de fracionamento citado, de onde foram isolados os constituintes CB6 67-73 1 e CB6 84-99 1. Foi realizado para a fração CB6 67-73 somente a análise de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 114) em virtude de sua decomposição como mostra o espectro abaixo (Figura 115). Para CB6 84-99 1 foram realizadas as análises de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 116), RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 117), DEPT 135° (Figura 118), HMBC e HSQC, sendo que o DEPT 135° só foi realizado um mês após as outras análises e já decomposta como demonstrado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 114). Mesmo com os dados dessas análises não foi possível determinar e/ou identificar a substância.



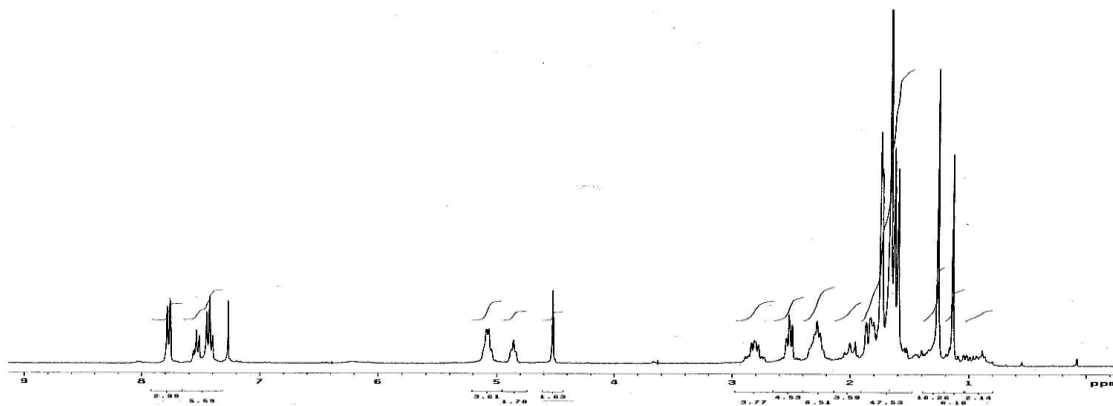


Figura 112 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 54-66 1 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

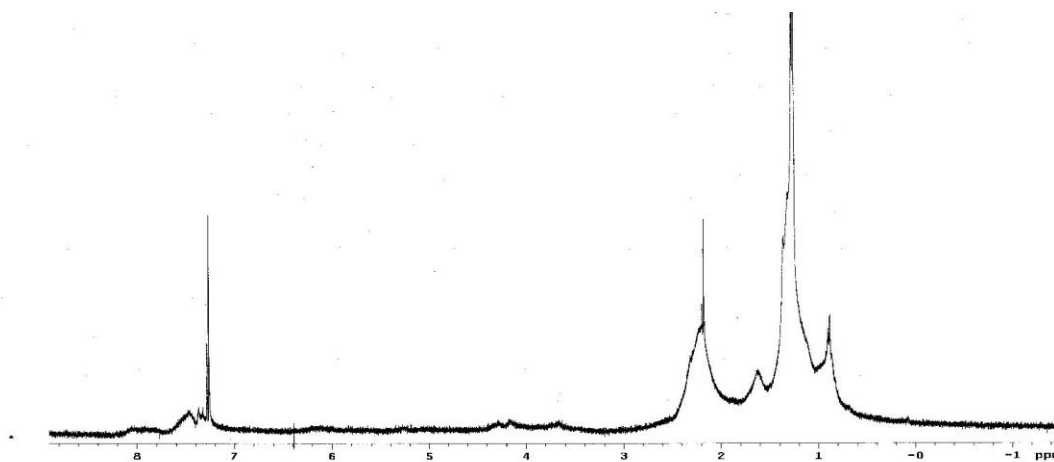


Figura 113 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 54-66 1 após decomposição [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

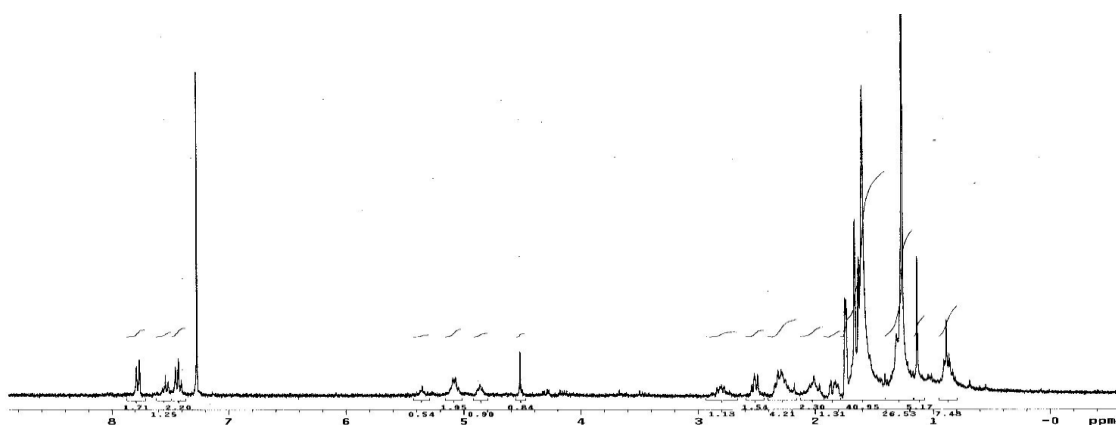


Figura 114 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 67-73 1 [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

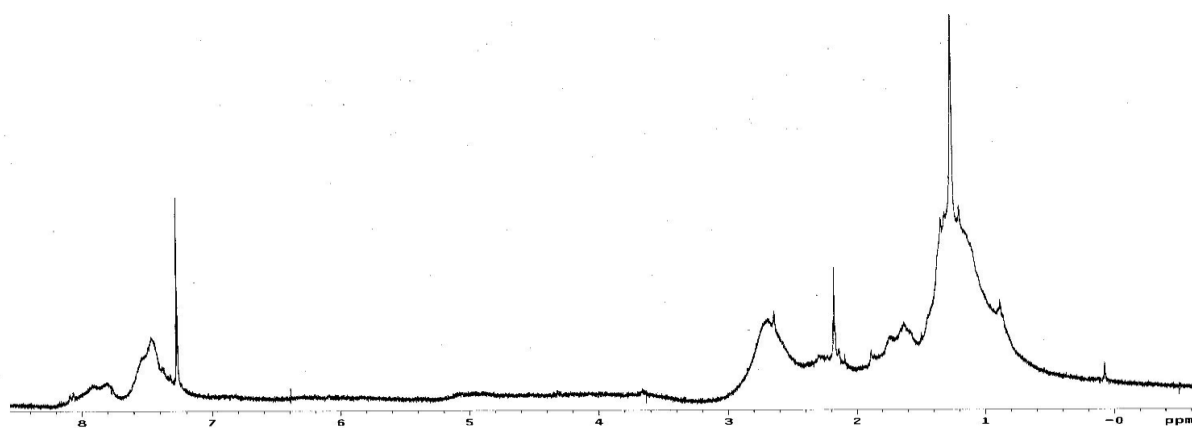


Figura 115 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 67-73 1 após decomposição [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

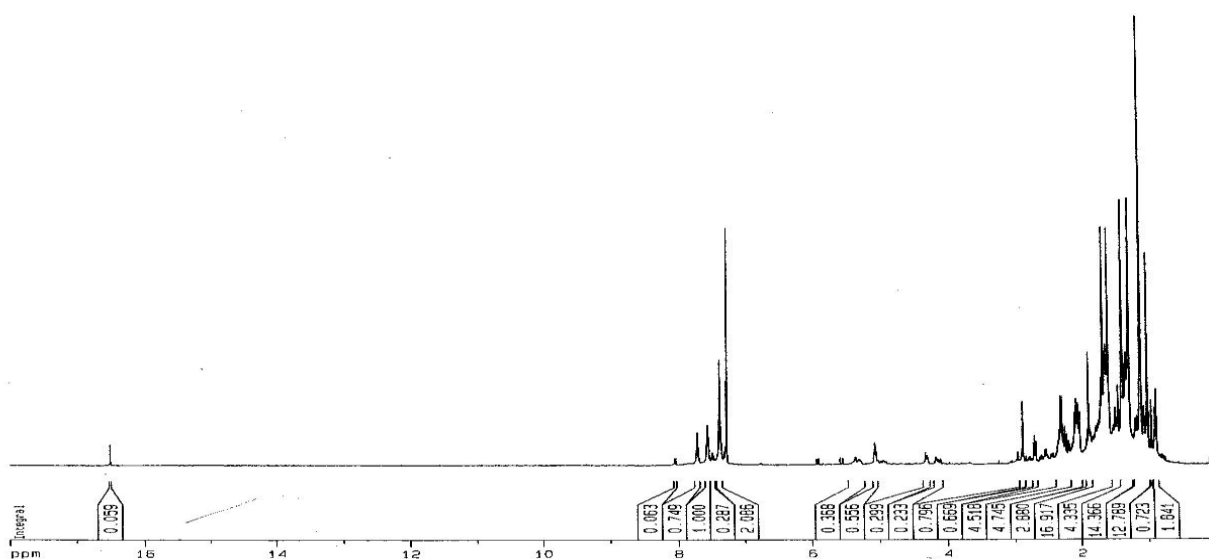


Figura 116 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Fração CB6 84-99 1 [500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

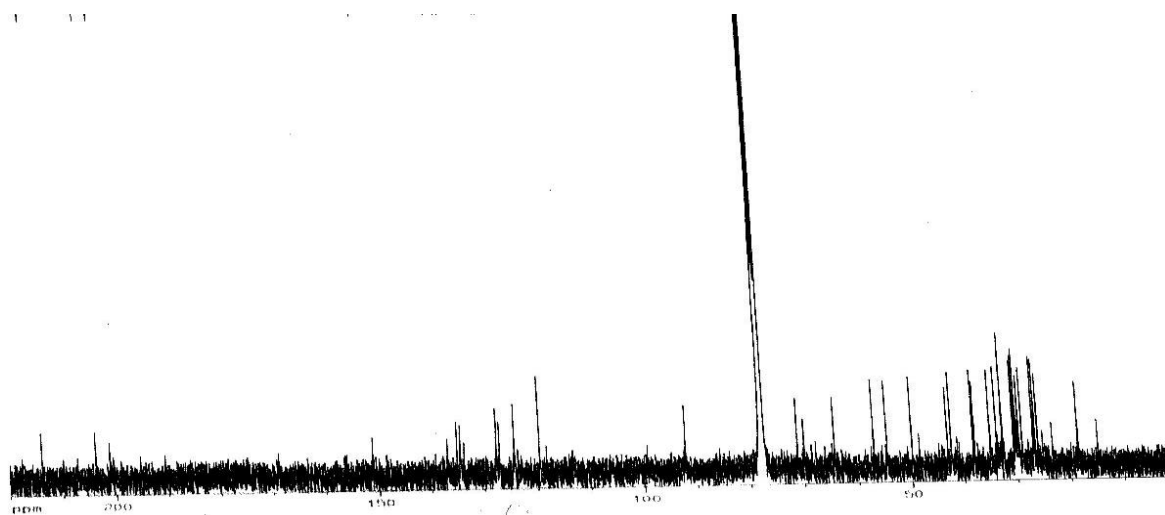


Figura 117 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da Fração CB6 84-99 1 [125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

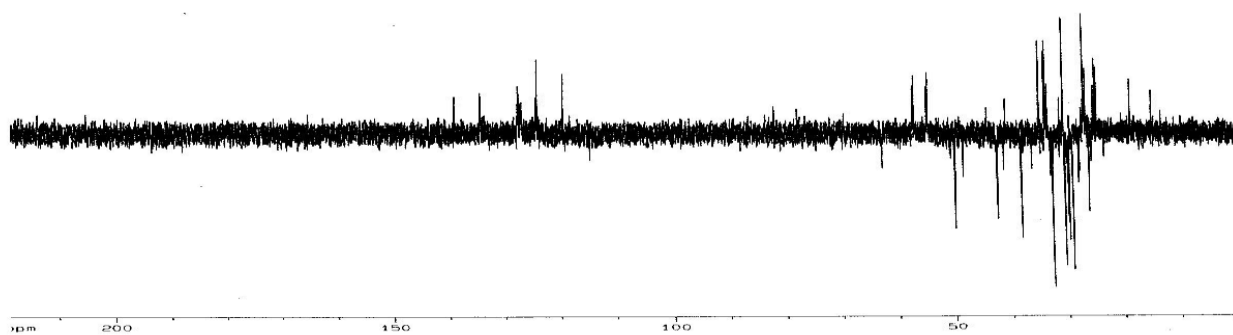


Figura 118 - Espectro de DEPT 135° da Fração CB6 84-99 1 [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]



Figura 119 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da Fração CB6 84-99 1 após decomposição [500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

## 5.0-CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho relatou o estudo fitoquímico do caule da espécie *Clusia burlemarxii* (Clusiaceae), coletada nas proximidades da Cachoeira do Fraga no município de Rio de Contas na Chapada Diamantina-BA, o qual resultou na obtenção de dezesseis substâncias. Dois Triterpenos: Friedelina (1), Friedelinol (2), quatro esteróides sendo um inédito (4):  $\beta$ -Sitosterol (3), Estigmast-7-en-3 $\beta$ -ol-6-ona (4), Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol (5), Estigmast-5-eno-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol (6), e dez benzofenonas, porém somente duas destas foram identificadas, o Nemorosonol (7) e a Burlemarxiona. As demais sofreram decomposição. No total foram identificadas no neste trabalho oito substâncias. Além destas dez ésteres graxos, dos quais oito foram identificados Tetradecanoato de metila, Pentadecanoato de metila, Hexadecanoato de metila, Heptadecanoato de metila, Octadecanoato de metila, Nonadecanoato de metila, Eicosanoato de metila, Docosanoato de metila.

Apenas uma fração da coluna filtrante obtido do extrato hexânico foi estudada, desta forma, sugere-se que as outras frações sejam estudadas.

É recomendável diante dos resultados apresentados que seja realizada nova coleta do espécimen para que novos estudos sejam realizado com o objetivo de isolar novamente estes metabólitos que foram decompostos, pois a partir do estudo realizado em outras espécies do gênero a principal classe de metabólito presente são as benzofenonas que foi confirmado a partir do presente trabalho. Realizar testes biológicos para as substâncias a serem isoladas, para que sejam conhecidas suas atividades farmacológicas e contribuir no conhecimento científico.

## 6.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, M. R.; ALMEIDA, E. X.; CONSERVA, L. M. Alkyl chromone and other compounds from *Clusia nemorosa*. *Phytochemistry*, v. 47, n. 7, p. 1431-1433, 1998.
- BANDEIRA, Renato Luis Sapucaia. Chapada Diamantina, história, riquezas e encantos. Editora Onavlis, Salvador, 1997. p. 84-89.
- DELMONT, B., TARAN, M., VALADE, J., PETRAUD, M., BARBE, B. <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Several Hydroxy Diterpene Derivatives. *Organic Magnet Resonance*, v. 17, n. 3, p. 207-213, 1981.
- BENNETT, G. J.; LEE, H. Xanthonenes from Guttiferae. *Phytochemistry*, v. 28, n. 4, p. 967-988, 1989.
- BLOUNT, J. F.; WILLIAMS, T. H. Revised structure by xanthochimol. *Tetrahedron Letters*, v17, n. 34, p. 2921-2924, 1976.
- CARVALHO, M. G., VELANDIA, J. R., OLIVEIRA, L. M., BEZERRA, F. B. Triterpenos isolados de *Eschweira longipes miers* (Lecythidaceae). *Química nova*, 21(6), p. 740-742, 1998.
- CERRINI, S.; LAMBA, D.; DELLEMONACHE, F.; PINHEIROS, R. M. Nemorosonol, a derivative, of tricyclo-[4.3.1.0<sup>3,7</sup>]-decane-7-hidroxy-2,9-dione from *Clusia nemorosa*. *Phytochemistry*, v.32, n.4, p. 1023-1028, 1993.
- CHAVEZ, J. P., SANTOS, I. D., CRUZ, F. G., DAVID, J. M. Flavanoids and triterpene ester derivatives from *erythroxylum leal costae*. *Tetrahedron Letters*, v. 41, n. 3, p. 941-943, 1996.
- CHRISTIAN, O. E.; HENRY, G. E.; JACOBS, H.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. Prenylated benzophenone derivatives from *Clusia havetiodes* var. *stenocarpa*. *Journal of Natural Products*, v.64, n. 1, p. 23-25, 2001.
- CPRM – Companhia de pesquisa de recursos Minerais. Projeto Chapada Diamantina – BA: Informações básicas para Gestão Territorial: Diagnóstico do Meio Físico e da Vegetação. Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais – CPRM. Salvador, 1994, p. 33-74.
- CRUZ, F. G.; MOREIRA, L. M. M.; GUEDES, M. L. S. Estudo fitoquímico de *Clusia melchiori* (Clusiaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 24<sup>a</sup>, 2001, Poços de Caldas. Livro de Resumos. Minas Gerais: SBQ, 2001. p.
- CRUZ, F. G.; TEIXEIRA, J. S. R. Polyprenylated benzophenones with a tricyclo [4.3.1.1<sup>3,8</sup>] undecane skeleton from *Clusia obdeltifolia*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.15, n. 4, p. 504-508, 2004.
- CRUZ, F. G.; TEIXEIRA, J. S. R. Polyisoprenylated benzophenone derivatives from *Clusia obdeltifolia*. *Tetrahedron Letters*, 46, p. 2813-2816, 2005.

CUESTA-RUBIO, O.; VELEZ-CASTRO H; FRONTANA-URIBE B. A; CÁRDENAS, J. Nemorosone, the major constituent of floral resins of *Clusia rosea*. **Phytochemistry**, v. 57, n. 2; p. 279-283, 2001.

CUESTA-RUBIO O.; CUELLAR CUELLAR, A.; ROJAS, N.; CASTRO, H. V.; RASTRELLI, L.; AQUINO, R. A polyisoprenylated benzophenone from cuban propolis. **Journal of Natural Products**, v.62, n. 7, p. 1013-1015, 1999.

DELLA GRECA, M., P., MONACO., PREVITERA, L. *Stigmasterols from Typha latifolia*. **Phytochemistry**, v. 53, n. 6; p. 1430 - 1435, 1990.

DELLE MONACHE, F. Flavonoid-C-glycosides from *Clusia sandiesis*. **Revista Latinoamericana de Química**, v.22, n. , p. 27-29, 1991.

DELLE MONACHE, F.; DELLEMONACHE, G.; BETTOLO, G. B. M. Two benzophenones with lavandulyl side chain from *Tovomita mangle G. mariz* (Guttiferae). **Gazzetta Chimica Italiana**, v.114, n. 1-2, p.55-60, 1984.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; CAVALCANTI, J. F.; PINHEIRO, R. M. An unexpected dihydrophenanthrene from *Clusia-paralycola*. **Tetrahedron Letters**, v.28, n. 5, p.563-566, 1987.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; GÁCS-BAITZ, E. O. A biphenyl, a dihydrophenanthrene and a xanthone from *Clusia paralycola*. **Heterocycles**, v.56, n.1-2 p.589-597, 2002.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; GÁTS-BAITZ, E. O. Chemistry of the *Clusia* genus .5. 2 Polyisoprenylated ketones from *Clusia-nemorosa* **Phytochemistry**, v.30, n. 2, p. 703-705, 1991.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; GÁTS-BAITZ, E. O. Chemistry of the *Clusia* genus .6. Prenylated benzophenones from *Clusia-sandiesis*. **Phytochemistry**, v. 30, n.6 ,p. 2003 - 2008, 1991.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; PINHEIRO, R. M.; RADICS, L. Chemistry of *Clusia* genus .3. Nemorosonol, a derivative of tricyclo-[4.3.1.0<sup>3,7</sup>]-decane-7-hydroxy-2,9-dione from *clusia-nemorosa*. **Phytochemistry**, v. 27, n.7, p. 2305 - 2308, 1988.

DELLE MONACHE, G.; GONZALEZ, J. G.; DELLE MONACHE, F.; BETTOLO, G. B. M. Chemistry of the *Vismia* genus .6. Prenylated benzophenones from *Vismia-decipiens* **Phytochemistry**, v.19, n.9 , p. 2025 - 2028, 1980.

DELLE MONACHE, F.; MAC-QUHAE, M.; DELLE MONACHE, G.; BELLOTO, G. B. M.; LIMA, R. A. Chemistry of the *Vismia* genus .9. Xanthones, xanthonolignoids and other constituents of the roots of *Vismia-guaramirangae*. **Phytochemistry**, v.22, n.1 , p. 227-232, 1983.

DELLE MONACHE, F.; MARTA, M.; MAC-QUHAE, M. M.; NICOLETTI, M. Two new tocotrienoloic acids from the fruits of *Clusia grandiflora* splith. *Gazzetta Chimica Italiana*, v.114, n.3-4, p. 135-137, 1984.

DREYER, David L. Xanthochymol from *Clusia rosea* (Guttiferae). *Phytochemistry*, v.13, n. 12, p. 2883-2884, 1974.

DIAS, J. P. P.; GOTTLIEB, O. R.; MESQUITA, A. A. L. Chemistry of brazilian guttiferiae .33. marupone, a benzophenone from *Moronobea-pulchra*. *Phytochemistry*, v.13, n. 9, p. 1953-1955, 1974.

DEWICK, P.M. A Biosynthetic Approach. *Medicinal Natural Products*.p. 122, 2002.

ABD EL-MAWLA, A. M. A.; BEERHUES, L. Benzoic acid biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum*. *Planta*, v. 214, n. 5 , p. 727-733, 2002.

ABD EL-MAWLA, A. M. A.; SCHMIDT, W.; BEERHUES, L. Cinnamic acid is a precursor of benzoic acid in cell cultures of *Hypericum androsaemum* L. but not in cell cultures of *Centauriom erythraea* RAFN. *Planta*, v. 212, n.2, p. 288-293, 2001.

GARCEZ, S, V., PEREIRA, L, M., QUEIROZ, S, P, P., SILVA, S, R., RMN <sup>13</sup>C de Diterpenos com esqueleto pimarano. *Química nova*, p. 16-122, 1981.

GONZALEZ GONZALEZ, J.; CUELAR, V.; BETANCOURT, A.; PINZON, M. I.; A Benzophenone from the fruits of *Clusia ellipticifolia*. *Phytochemistry*, v.22, n. 9, p. 2088 - 2090, 1983.

GONZALEZ GONZALEZ, J.; OLIVARES, E. M.; DELLEMONACHE, F. Citrans and cyclols from *Clusia multiflora*. *Phytochemistry*, v. 38, n. 2, p. 485-489, 1995.

GUSTAFSON, K.R.; BLUNT, J. W.; MUNRO, M. H. G.; FULLER, R. W.; MCKEE, T. C.; CARDELLINA, J. H.; MCMAHON, J. B.; CRAGG, G. M.; BOYD, M. R. HIV inhibitory natural-products .8. The Guttiferones, HIV-inhibitory benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusia rosea*. *Tetrahedron*, v.48, n. 46 , p. 10093-10102, 1992.

HASBUM, C.; CASTRO, O.; DELLE MONACHE, F.; *Fitoterapia*, v.60, p.190, 1989.

HENRY, G. E.; JACOBS, H.; CARRINGTON, C. M. S.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. Plukenetione A. An unusual Adamantyl ketone from *Clusia plukenetii* (Guttiferae). *Tetrahedron Letters*, v.37, n. 48, p. 8663-8666, 1996.

HENRY G. E.; JACOBS, H.; CARRINGTON, C. M. S.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. Prenylated benzophenone derivatives from Caribbean *Clusia species* (Guttiferae). Plukenetiones B-G and Xerophenone A. *Tetrahedron*, v.55, n. 6, p. 1581-1586, 1999.

HENRY, G. E.; JACOBS, H.; McLEAN, S.; REYNOLDS, W. F.; YANG, JI-PING; Xerophenones A and B. new isoprenylated derivatives of 11-oxatricyclo[4.3.11<sup>4,10</sup>]undecane-7,9-dione from *Clusia portlandiana* (Guttiferae). *Tetrahedron Letters*, v.36, n. 26, p. 4575-4578, 1995.



HUSSAIN, R. A.; WATERMAN, P. G. Lactones, flavonoids, and benzophenones from *Garcinia conrauana* and *G. mannii*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 6, 1393-1366, 1982.

ISHIGURO, K.; CHAUDHURI, S. W.; KURO, I. A xanthone from *Clusia insignis*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2531-2532, 1998.

HUSSAIN, R. A.; WATERMAN, P. G. Lactones, flavonoids and benzophenones from *Garcinia-conrauana* and *Garcinia-mannii*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 6, p.1393-1396, 1982.

ISHIGURO, K.; YAMAKI, S.; TAKAGI, S.; YAMAGATA, Y.; TOMITA, K. X-RAY crystal-structure of sarothralin, a novel antibiotic compound from hypericum-japonicum **Journal of the Chemical Society** -Chemical Communications n.1, p. 26-27 1985.

KARANJGOABAR, C. G.; RAMA RAO, A.V.; VENKATARAMAN, K.; YEMUL, S. S.; PALMER, K. J. The constitution of xanthochimol and isoxanthochimol. **Tetrahedron Letters**, v. 50, p. 4977-3980, 1973.

KRISHNAMURTHY, N.; RAVINDRANATHY, B.; ROW, T. N. G.; VENKATESAN, K. Crystal and molecular structure of isogarcinol. **Tetrahedron Letters**, v. 23, n. 21, p. 2233-2236,1982.

LOCKSLEY, H. D.; MURRAY, I. G. Extractives from guttiferæ .19. isolation and structure of 2 benzophenones, 6 xanthenes and 2 biflavonoids from heartwood of allanblackia-floribunda oliver **Journal of the Chemical Society C-Organic**, n.7, p. 1332-, 1971.

LOCKSLEY, H. D.; MOORE, I.; SCHEINMANN, F. Extractives from guttiferæ—VI : The significance of maclurin in xanthone biosynthesis. **Tetrahedron**, v.23, n. 5, p. 2229, 1967.

LOKVAM, J.; BRADDOCK, J. F.; REICHARDT, P. B.; CLAUSEN, T. P. Two polyisoprenylated benzophenones from the trunk latex of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v. 55, n. 1, p. 29-34, 2000.

BEERHUES, L.; Benzofhenone synthase from cultured cells of *Centaurium erythraea*. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, 383, p. 264-266, 1996.

McCANDLISH, L. E.; HANSON, J. C.; STOUT, G. H.; The structures of two derivatives of biciclo[3,3,1]nonane-2,4,9-trione. A natural product: clusianone, and Trimethylated Catechinic Acid, C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>. **Acta Crystallographica**- Section B-Structural Science, n. 32, p. 1793-1801, 1976.

MARIZ, G. ; **Chaves para as espécies de Clusia nativas no Brasil** – Men. Inst. Bioc. Universidade Federal de Pernambuco – Recife – PE. 1974.

MATHUR, S. B. Triterpenoid constituents of *Clusia rosea*. **Phytochemistry**, v.11, n. 4, p. 1513-1514, 1972.

NOGUEIRA, P. C. D.; BITTRICH, V.; SHEPHERD, G. J.; LOPES, A. V.; MARSAIOLI, A. J. The ecological and taxonomic importance of flower volatiles of *Clusia* species (Guttiferae). **Phytochemistry**, v. 56, n. 5, p. 443-452, 2001.

NAGEM, T. J.; SILVA, M. C.; MESQUITA, A. A. L. SILVA. R. *Fitoterapia*, v.87, n. 1992.

NAGEM, T. J.; MESQUITA, A. A. L.; SILVA. R. *Fitoterapia*, v. 64, n. 380, 1993.

OLIVARES, E. M.; GONZALEZ GONZALEZ, J.; DELLEMONACHE, F. Benzophenones from *Clusia ellipticifolia*. *Phytochemistry*, v. 36, n.2, p. 473-475, 1994.

OLIVEIRA, C. M. A. DE.; PORTO, A. M.; BITTRICH, V.; VENCATO, I.; MARSAIOLI, A. J. Floral resins of *Clusia spp.*: Chemical composition and biological function. *Tetrahedron Letters*, v. 37, n. 36, p. 6427-6430, 1996.

OLIVEIRA, C. M. A.; PORTO, A. L. M.; BITTRICH, V.; MARSAIOLI, A. J. Two polyisoprenylated benzophenones from the floral resins of three *Clusia species*. *Phytochemistry*, v.50, n. 6, p. 1073-1079, 1999.

PORTO, A. L. M.; MACHADO, S. M. F.; DE OLIVEIRA, C. M.A.; BITTRICH, V.; AMARAL, M. D. E.; MARSAIOLI, A. J. Polyisoprenylated benzophenones from *Clusia* floral resins. *Phytochemistry*, v. 55, n. 7, p. 755-768, 2000.

RIBEIRO, J. S.; **Benzofenonas, Triterpenos e Esteróides de *Clusia obdeltifolia* (Clusiaceae)**. Salvador, 1999. Dissertação de mestrado - Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia.

RAMA RAO, A.V.; SARMA, M. R.; VENKATAR, K.; YEMUL S. S. benzophenone and xanthone with unusual hydroxylation patterns from heartwood of *garcinia-pedunculata*. *Phytochemistry*, v. 13, n. 7, p. 1241-1244, 1974.

RAMA RAO, A. V.; VENKATSWAMY, G.; PENDSE, A. V. Camboginol and cambogin. *Tetrahedron Letters*, v. 21, n. 20, p. 1975-1978, 1980.

RAMA RAO, A. V.; VENKATSWAMY, K.; YEMUL, S. S. The structure of bronianone. *Tetrahedron Letters*, v.13, n. 50, p. 4981, 1973.

SAHU, A.; DAS, B.; CHATTERJEE, A. Polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia pendunculata*. *Phytochemistry*, v. 28, n. 4, p. 1233-1235, 1989.

SALAMA, A. M.; Aislamiento de friedelina y friedelinol de la corteza de *Clusia ellipticifolia* Cuatr. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm*, v.15, n. , p. 99-104, 1986.

SALAZAR, J. V.; HASBUN, C. The effect of *Clusia coclensis* on the blood pressure of dogs. *Fitoterapia*, v.57, n. , p. 375-376, 1986.

SCHMIDT, W., BEERHUES, L.; Alternative pathways of xanthone biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum* L. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 420, p. 143 - 146, 1997.

SEIGLER, D. S.; Plant Secondary Metabolism. Boston, Klumer. *Academic Publishers*, 1998, p.139.

SEO E K; HUANG L; WALL M E; WANI M C; NAVARRO H; MUKHERJEE R; FARNSWORTH N R; KINGHORN A D. New biphenyl compounds with DNA strand-scission activity from *Clusia paralicola*. *Journal of Natural Products* .v. 62, n.11, 1484-1487, 1999.

SPINO, C.; LAL, J.; SOTHEESWARAN, S.; AALBERSBERG, W. Three prenylated phenolic benzophenones from *Garcinia myrtifolia*. *Phytochemistry*, v. 38, n. 1, p. 233-236, 1995.

SULTANBAWA, M. S.U. Xanthonoids of tropical plants. *Tetrahedron*, v.36, n. 11, p. 1465-1506, 1980.

ZHU, N., KIKUZAKI, H., NAKATANI, N. Ecdysteroides of Quinoa Seeds (*Chenopodium Quinoa Willd.*). *J. Agric. Food. Chem.*. 49, 2576-2578, 2001.