

Figura 70 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV16** [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

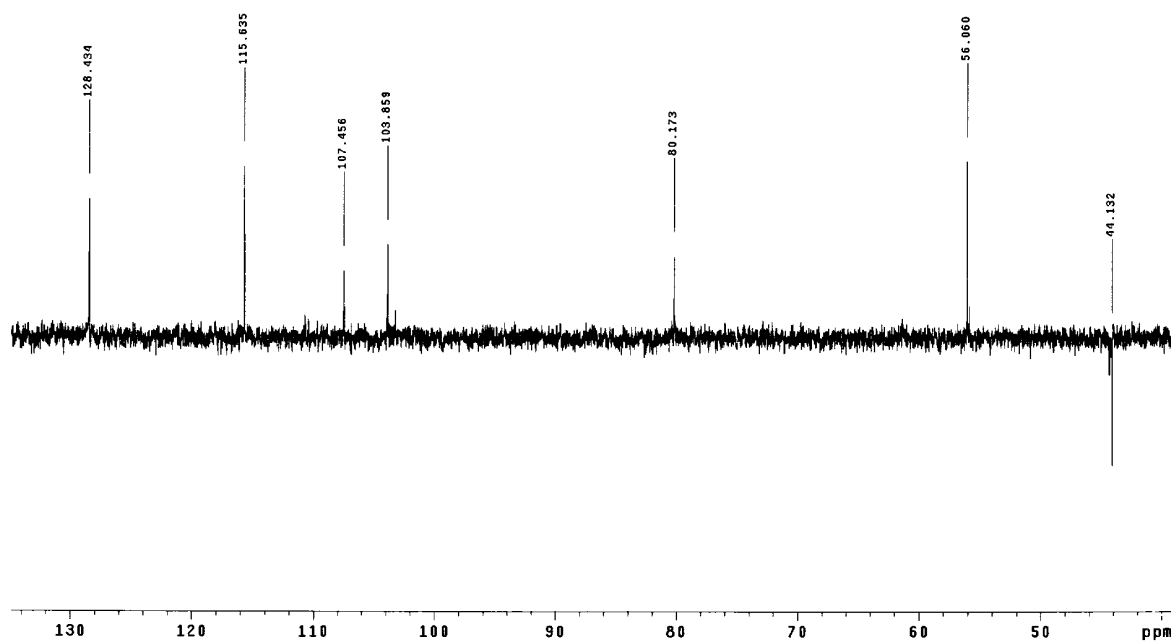


Figura 71 – Experimento DEPT  $135^\circ$  de **DV16** (ampliação) [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

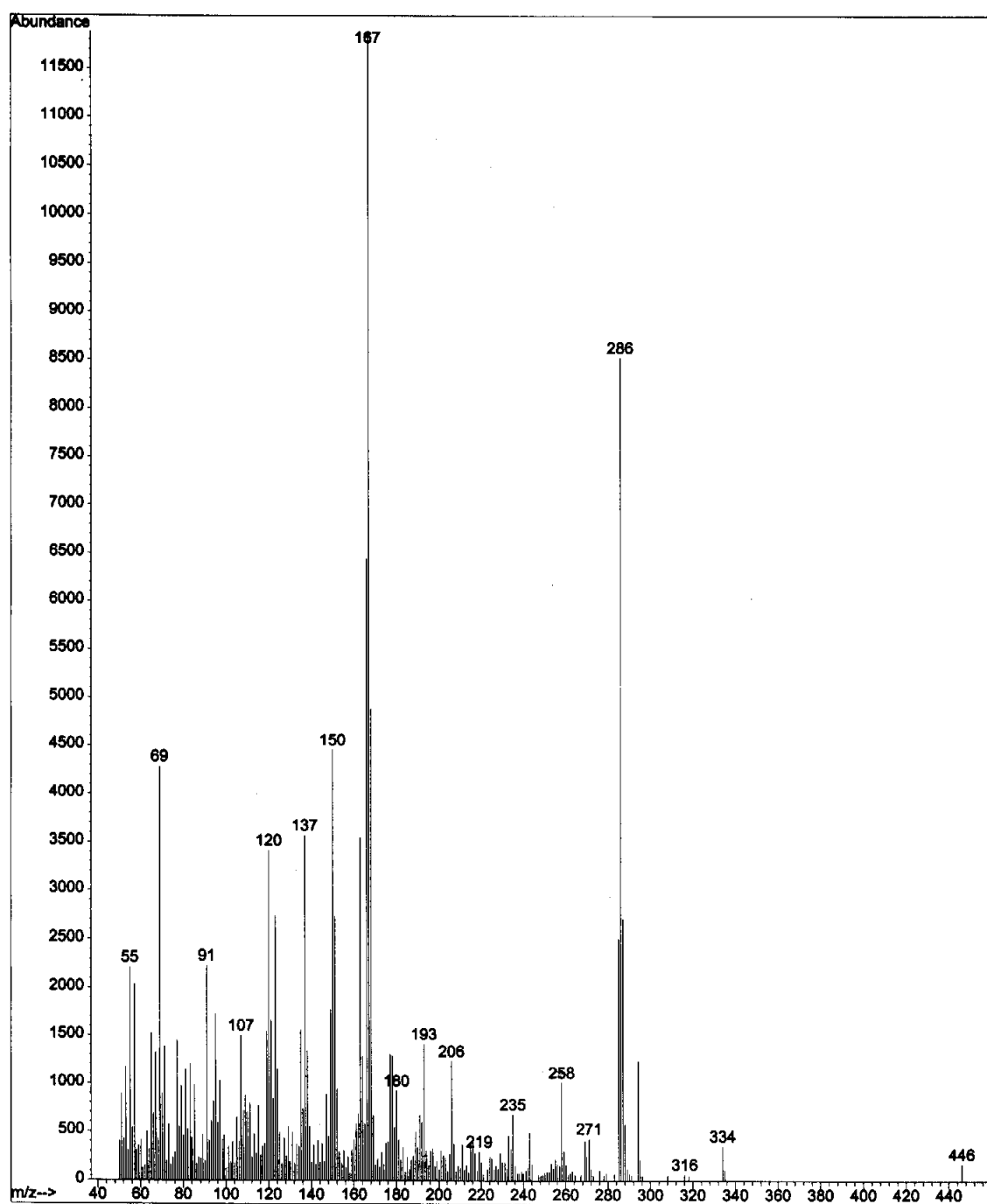


Figura 72 – EMIE 70 eV de **DV16**

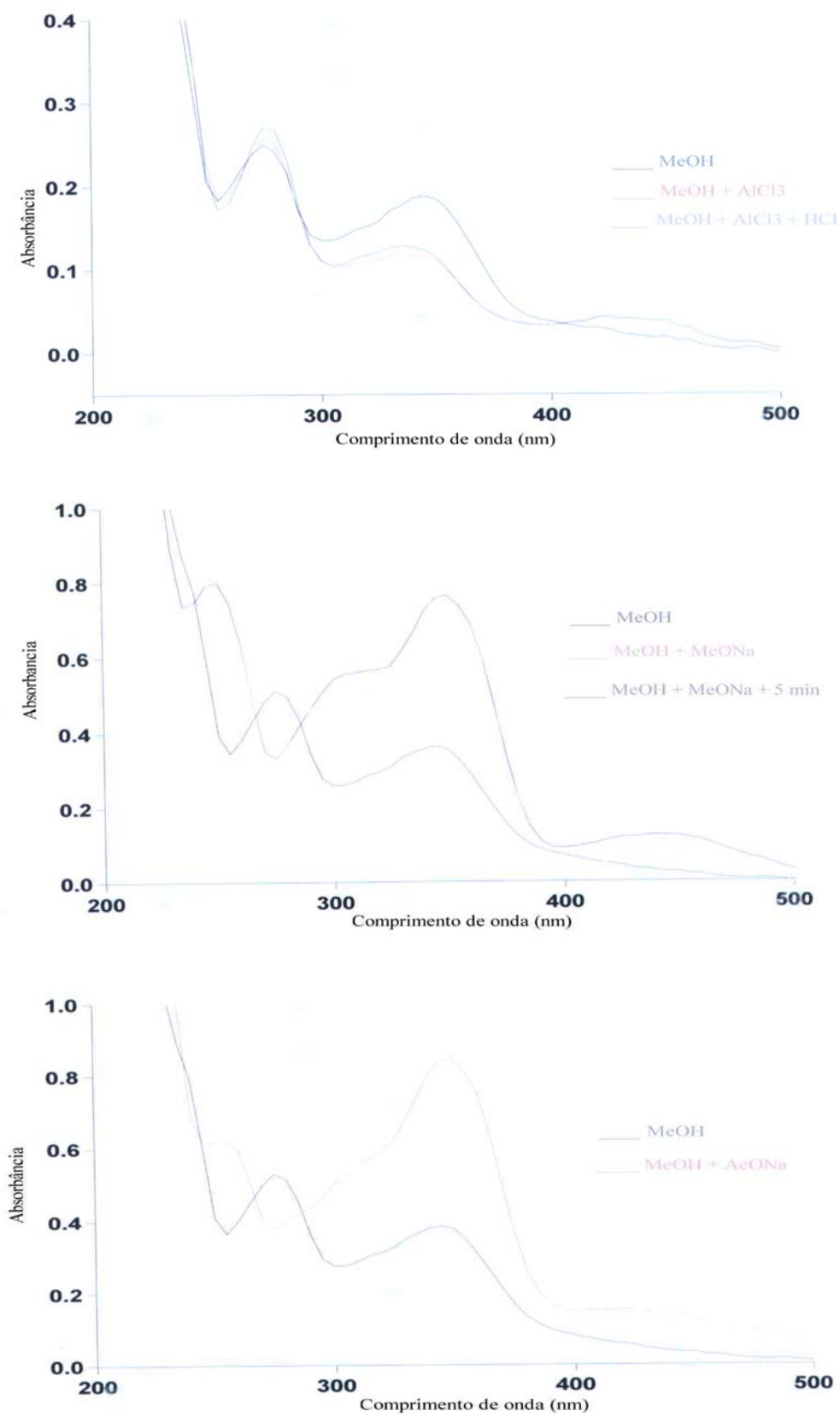


Figura 73 – Espectro no UV de **DV16** em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

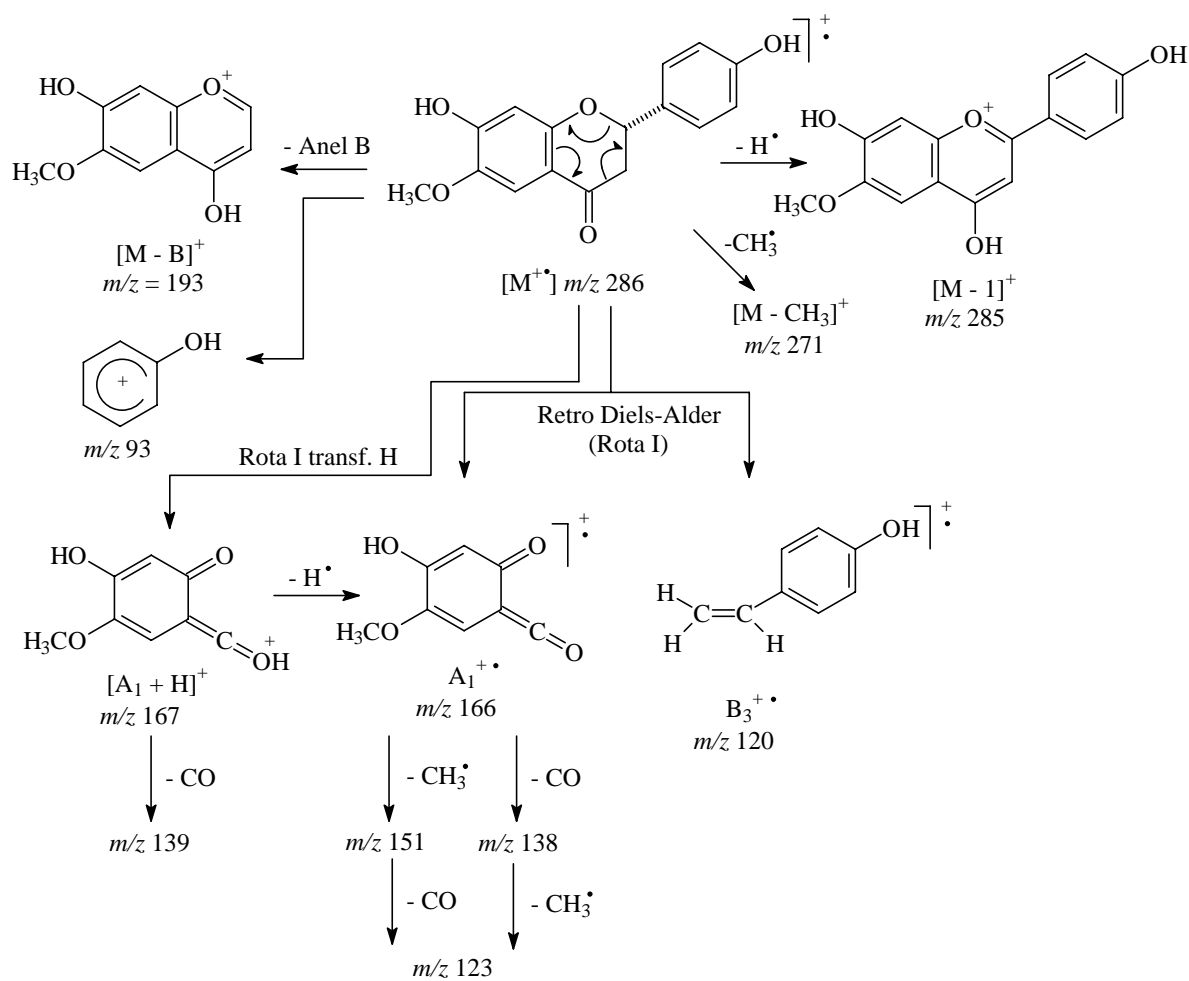
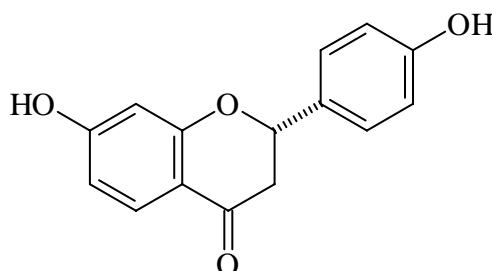


Figura 74 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV16

## 6.4.6. Identificação da 4',7-diidroxiflavanona

4',7-diidroxiflavanona (**DV18**)

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 79, p. 138) e  $^1\text{H}$  (Figuras 75 e 76, p. 137) de **DV18** aliados ao DEPT (Figura 80, p. 139) apresentaram sinais para 15 átomos de carbono e 10 átomos de hidrogênio. Estes dados em conjunto com íon molecular em  $m/z$  256 observado no EM (Figura 81, p. 139) permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ .

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 76, p. 137) levou a propor que a substância era uma flavanona. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  e experimentos DEPT  $135^\circ$  mostraram sinais para carbono oximetínico em  $\delta$  80,52, carbono metilênico em  $\delta$  44,66 e carbonila em  $\delta$  190,48, que confirmaram esta sugestão (Figuras 79 e 80, p. 138 e 139).

O EMIE da substância mostrou os fragmentos de RDA  $[\text{A}_1 + \text{H}]^+$  em  $m/z$  137 (pico base) e  $\text{B}_3^{+\bullet}$  em  $m/z$  120 que sugeriram presença de uma hidroxila no anel B e uma hidroxila no anel A (Figuras 81 e 83, p. 139 e 141).

Os dupletos observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$  7,12 e 6,61), integrando para 2H, indicaram a presença de sistema de *spins*  $\text{A}_2\text{X}_2$ , o que confirma a oxigenação no anel B na posição C-4' (Figura 77, p. 138; Tabela 37, 148). A proposição é confirmada pela análise dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\delta$  129,19 para C-2' e C-6' e em  $\delta$  116,42 para C-3' e C-5', além do carbono aromático oxigenado em  $\delta$  158,60 (Figuras 79 e 80, p. 138 e 139; Tabela 38, p. 149).

O espectro de UV revelou banda II de absorção mais intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 275$  nm que sugere ausência de 5-OH. O uso de  $\text{AlCl}_3$  não provocou deslocamento da banda II, que em conjunto com o deslocamento da carbonila em  $\delta$  190,48 confirmou a ausência de oxigenação em C-5 (Figura 82, p. 140). O uso de  $\text{MeONa}$  provocou um deslocamento batocrômico de 60 nm da banda II para  $\lambda_{\text{Max}} = 335$  nm acompanhado de efeito hiperocrômico, que confirma hidroxilação no anel A. O deslocamento batocrômico de 60 nm da banda II em presença de

CH<sub>3</sub>COONa para  $\lambda_{\text{Max}} = 335$  nm acompanhado de efeito hipercrômico sugeriu que havia hidroxila livre na posição 7 (Figura 82, p. 140).

Os deslocamentos de RMN <sup>1</sup>H em  $\delta$  7,45 *d* (J = 8,7),  $\delta$  6,29 *dd* (J = 2,4 e 8,7) e  $\delta$  6,14 *d* (J = 2,4) (Figuras 77 e 78, p. 138; Tabela 37, p. 148) mostraram a presença de três hidrogênios aromáticos num sistema AMX de *spins*, confirmando a substituição em C-7 no anel A, sendo que H-5 encontra-se em  $\delta$  7,45 devido ao efeito de desproteção da carbonila.

Todos estes dados e mais a comparação com dados da literatura (ACHENBACH, 1988) confirmaram que a substância **DV18** tratava-se da 7,4'-diidroxiflavanona (liquiritigenina), que foi isolada pela primeira vez de *Glycyrrhiza glabra* (SHINODA, J., 1934) e é de ocorrência comum em vegetais. O sinal negativo do  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -62,2$  confirmou sua configuração absoluta como 2*S*, tratando-se da (-)-(2*S*)-7,4'-diidroxiflavanona.

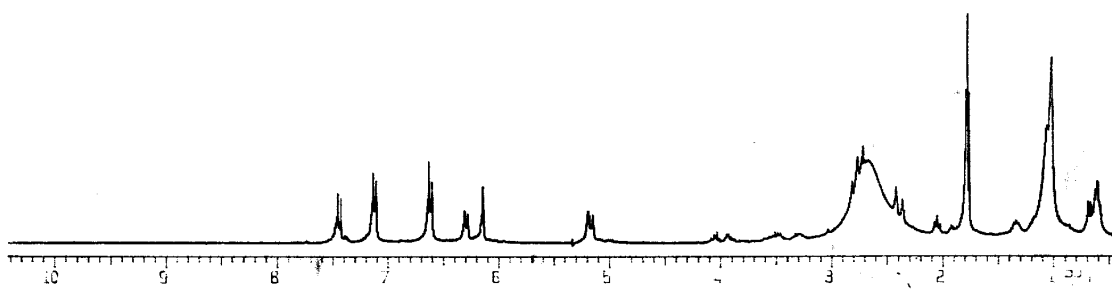


Figura 75 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H de **DV18** [300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO,  $\delta$  (ppm)]

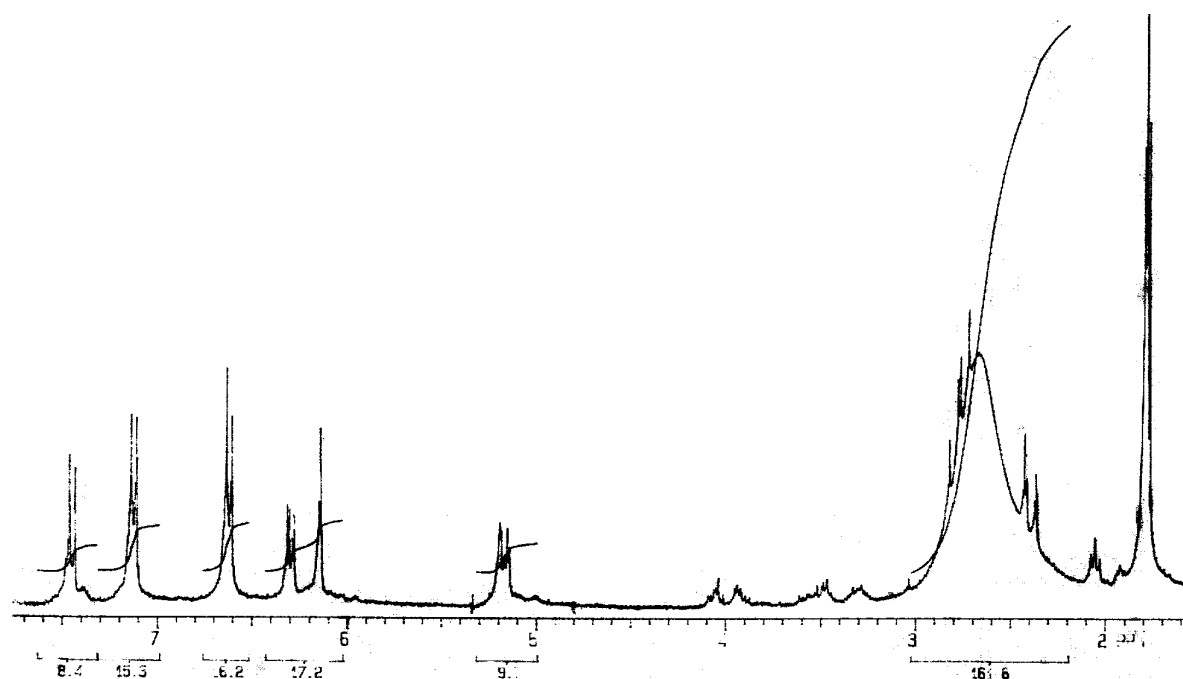


Figura 76 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H de **DV18** (integração) [300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO,  $\delta$  (ppm)]

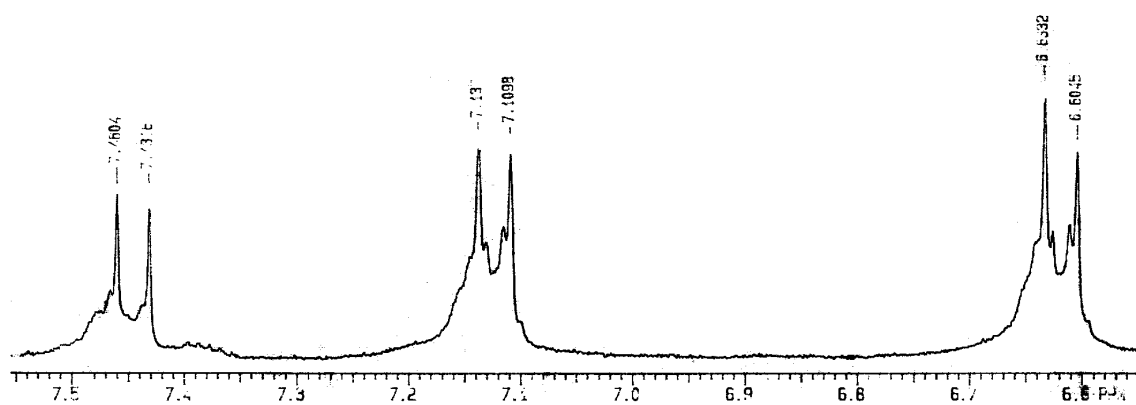


Figura 77 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV18** (ampliação) [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

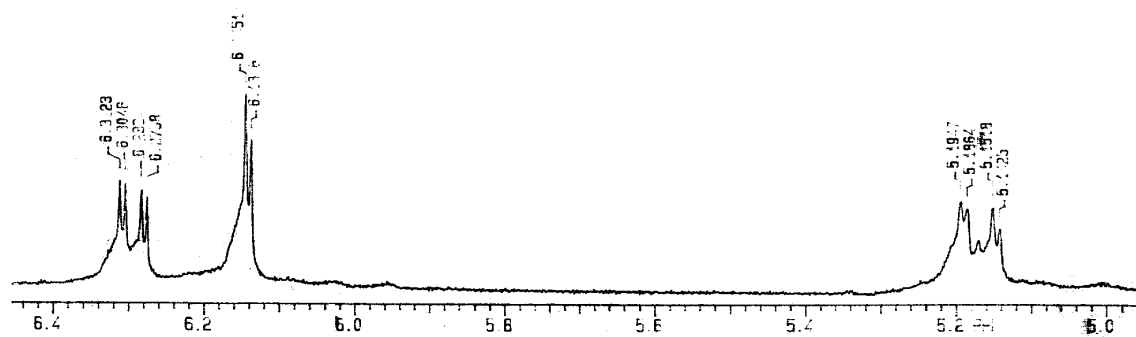


Figura 78 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV18** (ampliação) [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

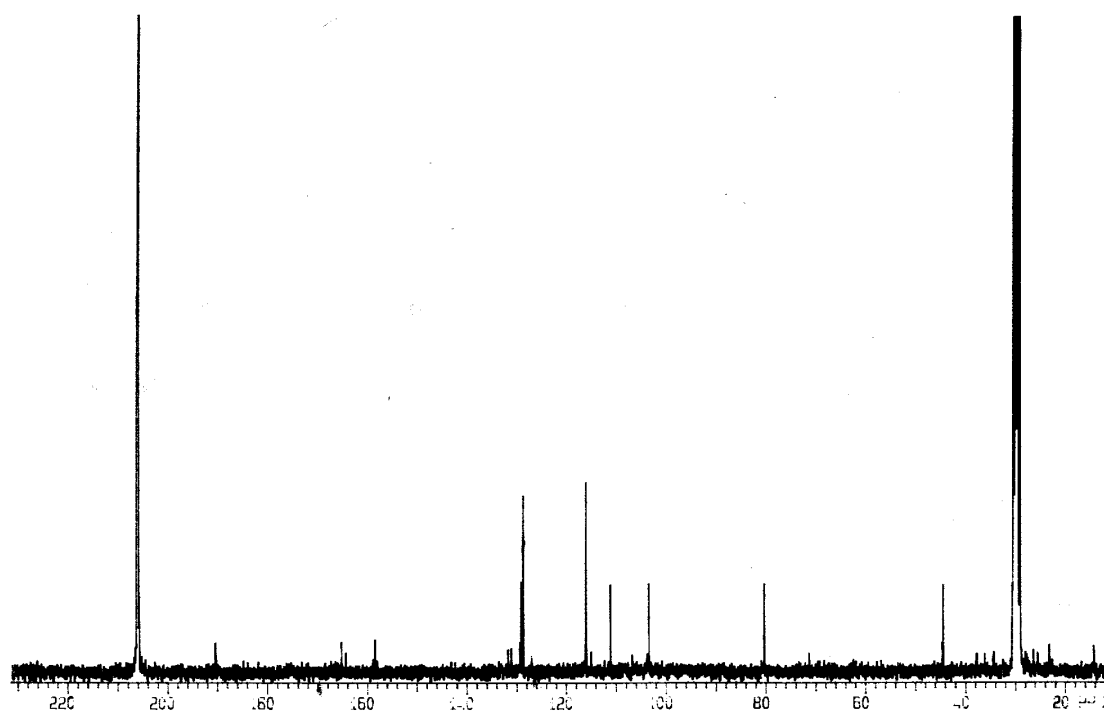


Figura 79 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV18** [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

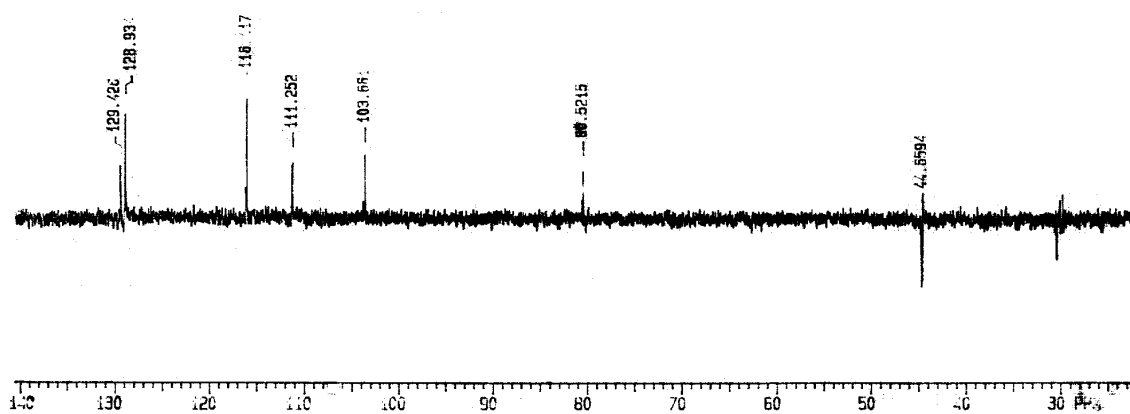


Figura 80 – Experimento DEPT 135° de **DV18** (ampliação) [75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, δ (ppm)]

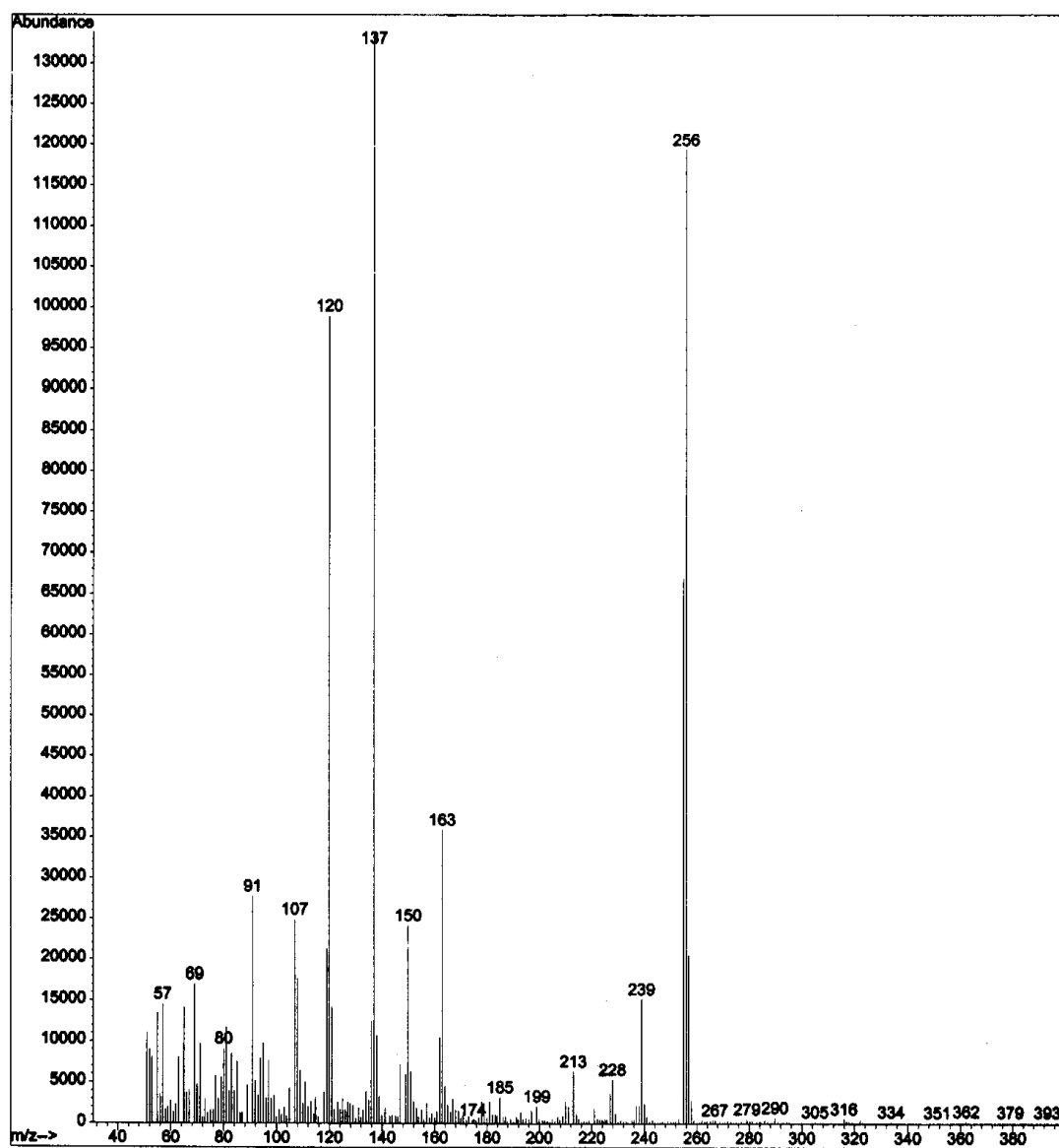


Figura 81 – EMIE 70 eV de **DV18**



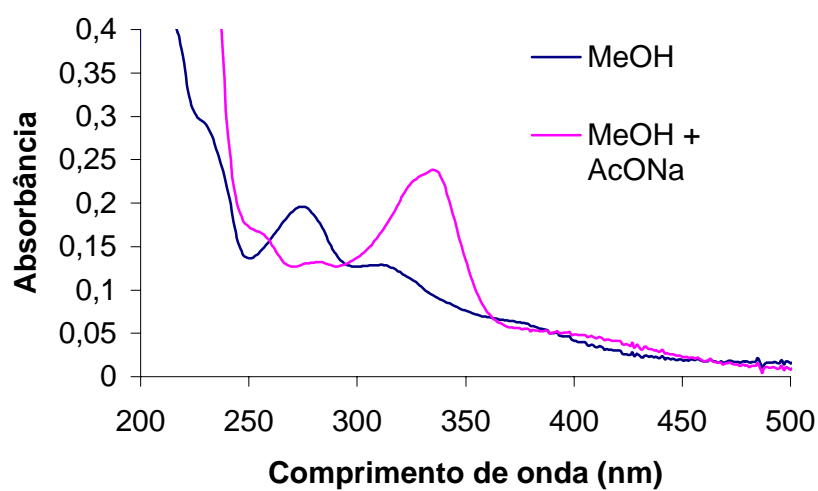
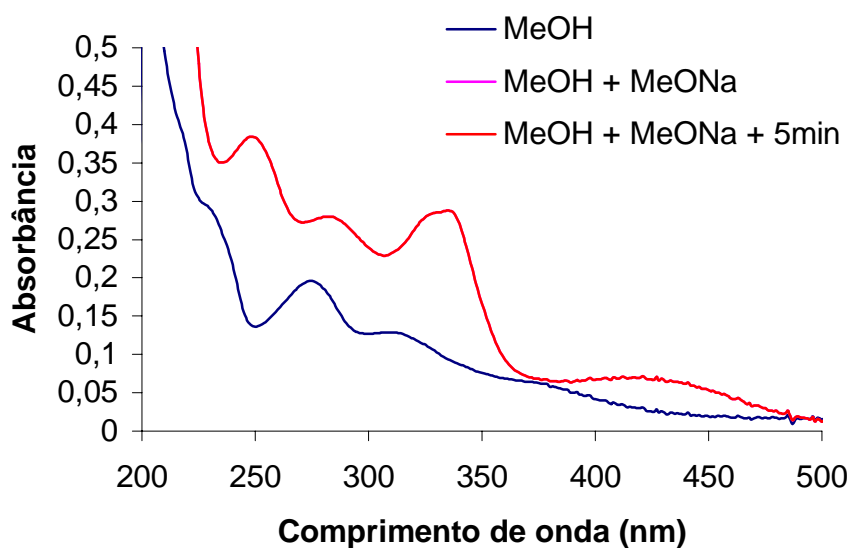
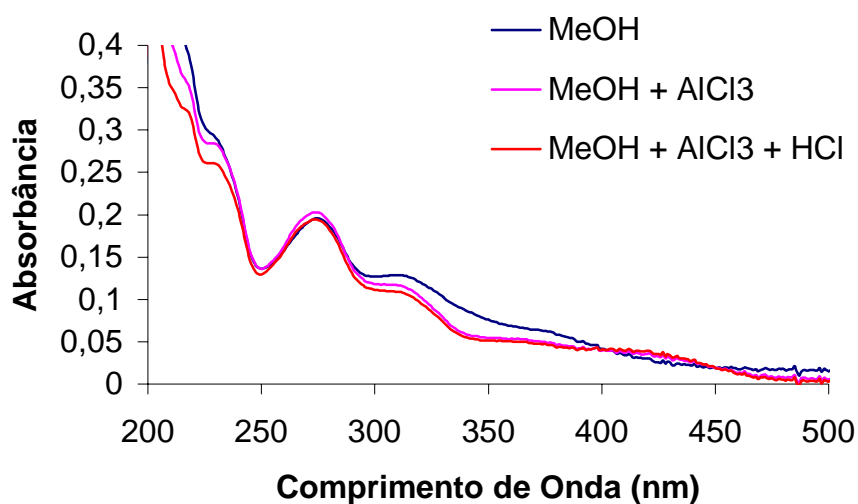


Figura 82 – Espectro no UV de DV18 em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

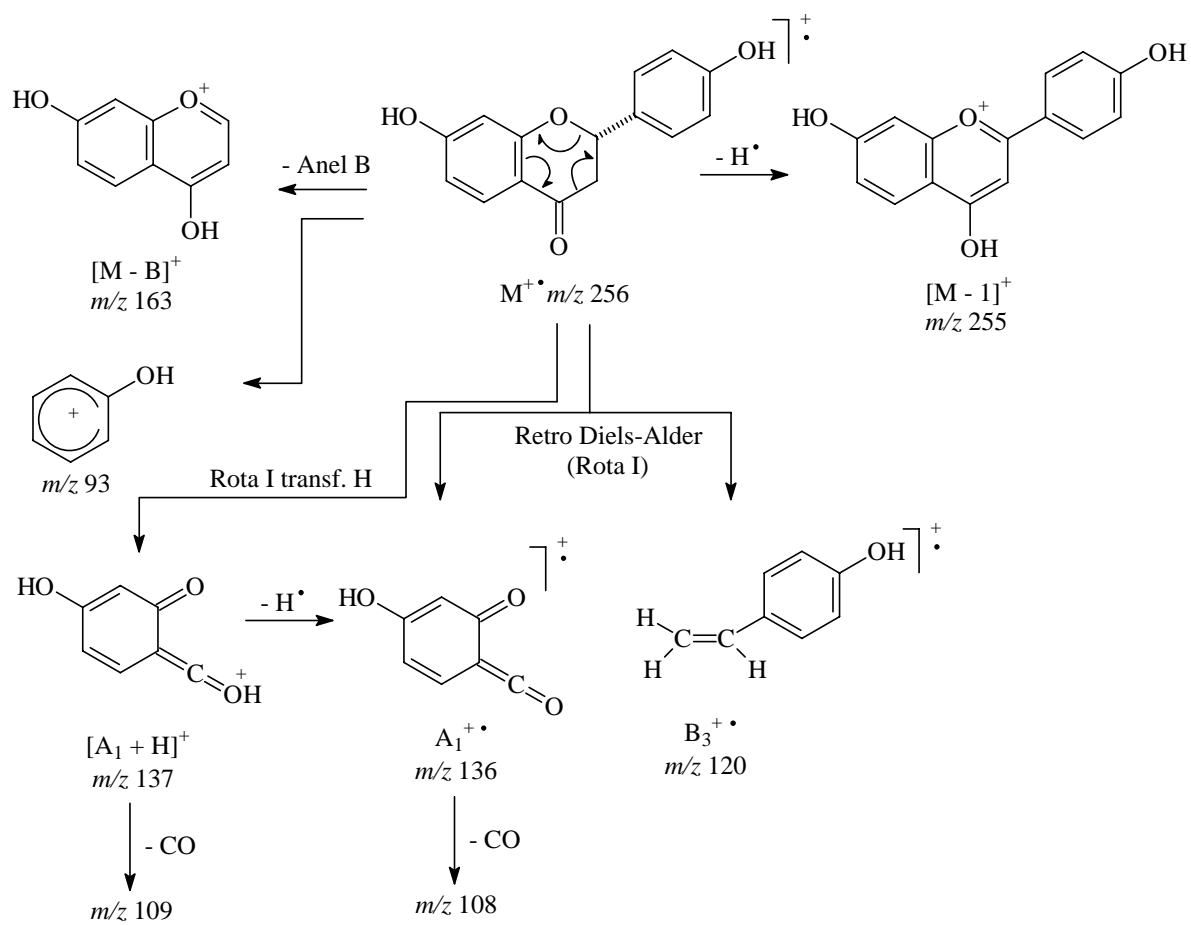
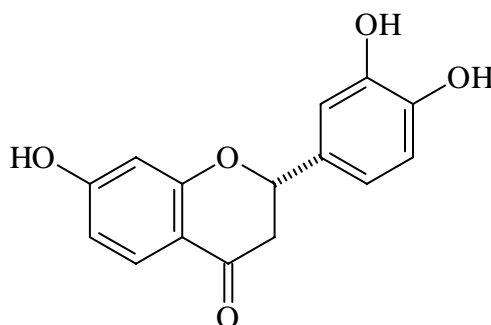


Figura 83 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de **DV18**

## 6.4.7. Identificação da 7,3',4'-triidroxiflavanona



7, 3',4'-Triidroxiflavanona  
( **DV19** )

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 87, p. 144) e  $^1\text{H}$  (Figura 84, p. 143) de **DV19** aliados ao DEPT (Figura 88, p. 145) apresentaram sinais para 15 carbonos e 12 hidrogênios. Estes dados em conjunto com íon molecular em  $m/z$  272 observado no EM (Figura 89, p. 145) permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ .

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 84, p. 143; Tabela 37, 148) levou a propor que a substância era uma flavanona. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  e experimento DEPT  $135^\circ$  mostraram sinais para carbono oximetínico em  $\delta$  80,57, carbono metilênico em  $\delta$  44,74 e carbonila em  $\delta$  190,53, que confirmaram esta sugestão (Figuras 87 e 88, p. 144 e 145; Tabela 38, 149).

O EMIE da substância mostrou os fragmentos de RDA  $[\text{A}_1 + \text{H}]^+$  em  $m/z$  137 (pico base) e  $\text{B}_3^{+\bullet}$  em  $m/z$  136 o que sugeriu presença de duas hidroxilas no anel B e uma hidroxila no anel A (Figuras 89 e 91, p. 145 e 147).

Os sinais de deslocamento no RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  7,04 *d* ( $J = 1,4$ ),  $\delta$  6,85 *d* ( $J = 8,6$ ) e  $\delta$  6,89 *dd* ( $J = 2,3$  e  $8,6$ ) indicaram a presença de sistema AMX de *spins*, que confirma a presença de um grupo catecol no anel B, o qual encontra-se substituído nas posições C-3' e C-4' (Figuras 85 e 86, p. 144; Tabela 37, p. 148). A presença deste grupo é corroborada pelos dados de deslocamentos de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\delta$  114,71 (C-2'),  $\delta$  116,02 (C-5') e  $\delta$  119,19 (C-6'), além dos carbonos aromáticos oxigenados em  $\delta$  146,01 e  $\delta$  146,28 (Figuras 87 e 88, p. 144 e 145).

O espectro de UV revelou banda II de absorção mais intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 278$  nm que sugere ausência de 5-OH. O uso de  $\text{AlCl}_3$  não provocou deslocamento da banda II, informação que em conjunto com o sinal da carbonila no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\delta$  190,53 confirmou a ausência de oxigenação em C-5 (Figura 90, p. 146). No entanto, foi observado a complexação do  $\text{AlCl}_3$  com as hidroxilas vizinhas em *orto*, porém como o anel B não faz

parte do cromóforo principal, este deslocamento da banda I é muito pouco intenso. O espectro de UV com adição de MeONa provocou um deslocamento batocrômico de 57 nm da banda II para  $\lambda_{\text{Max}} = 335$  nm acompanhado de efeito hiperacrômico, que confirma a hidroxilação no anel A. O deslocamento batocrômico de 57 nm da banda II em presença de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  para  $\lambda_{\text{Max}} = 335$  nm acompanhado de efeito hiperacrômico sugeriu que a posição 7-OH encontrava-se livre (Figura 90, p 146). Os sinais de RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  7,72 *d* ( $J = 8,7$ ),  $\delta$  6,56 *dd* ( $J = 2,3$  e  $8,7$ ) e  $\delta$  6,42 *d* ( $J = 2,3$ ) (Figuras 85 e 86, p. 144) indicaram a presença de três hidrogênios aromáticos num sistema AMX de *spins*, fato que confirma a substituição em C-7 no anel A, sendo que H-5 encontra-se em  $\delta$  7,72 devido ao efeito de desproteção da carbonila.

As considerações acima aliadas à comparação com dados da literatura (BURGER, 1983) confirmaram que a substância **DV19** trata-se da 7,3',4'-triidroxiflavanona (butina), a qual foi isolada pela primeira vez de *Butea* (PERKIN, 1904). O sinal negativo do  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -69,2$  confirmou sua configuração absoluta como 2*S*, tratando-se da (-)-(2*S*)-7,3',4'-triidroxiflavanona.

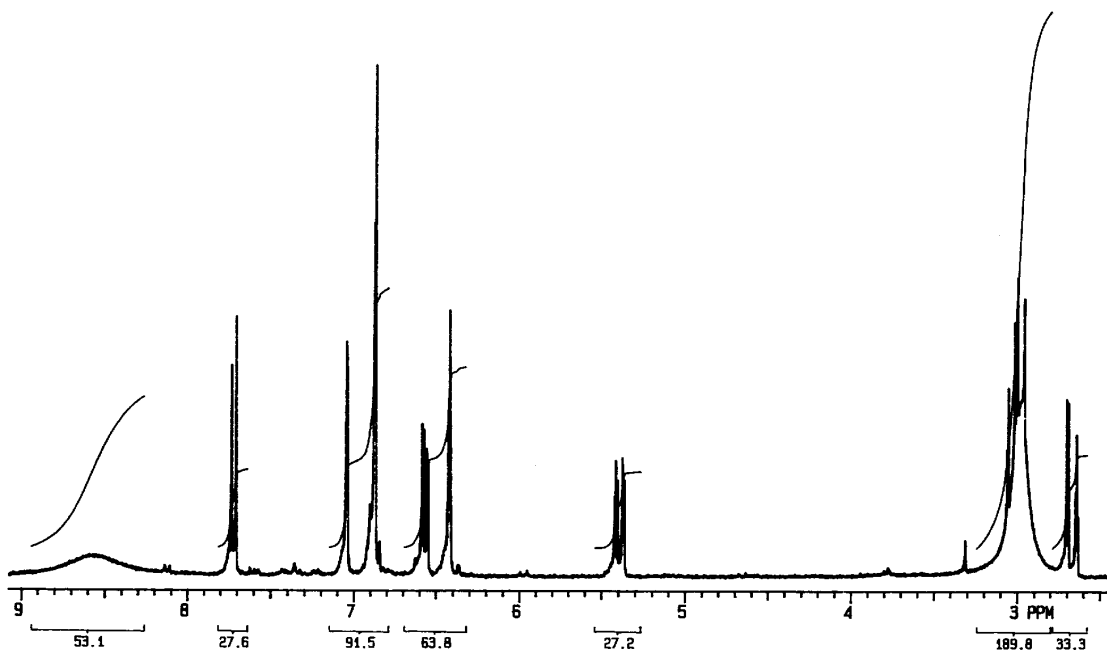


Figura 84 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV19** [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

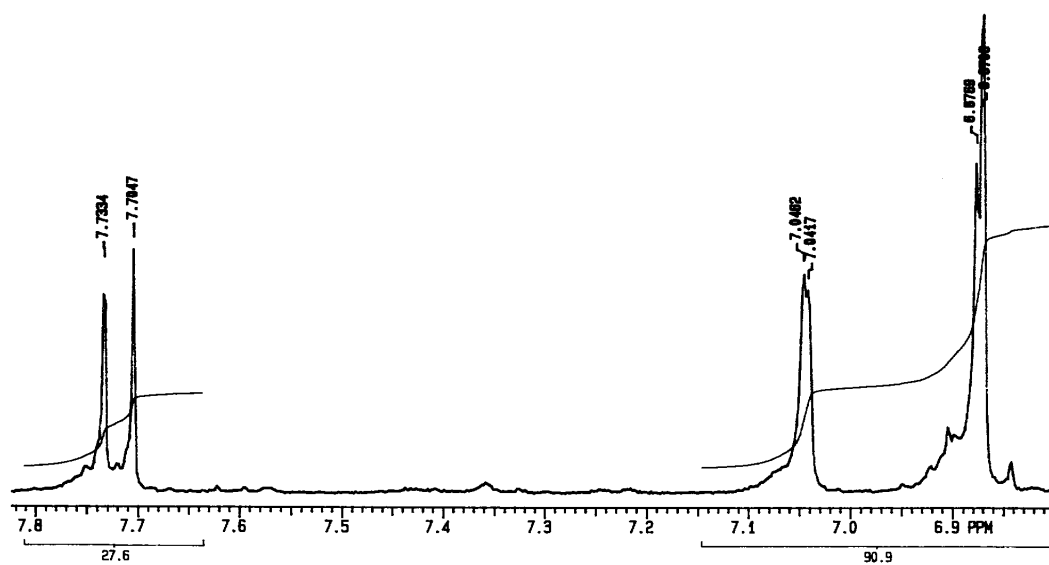


Figura 85 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV19** (ampliação) [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

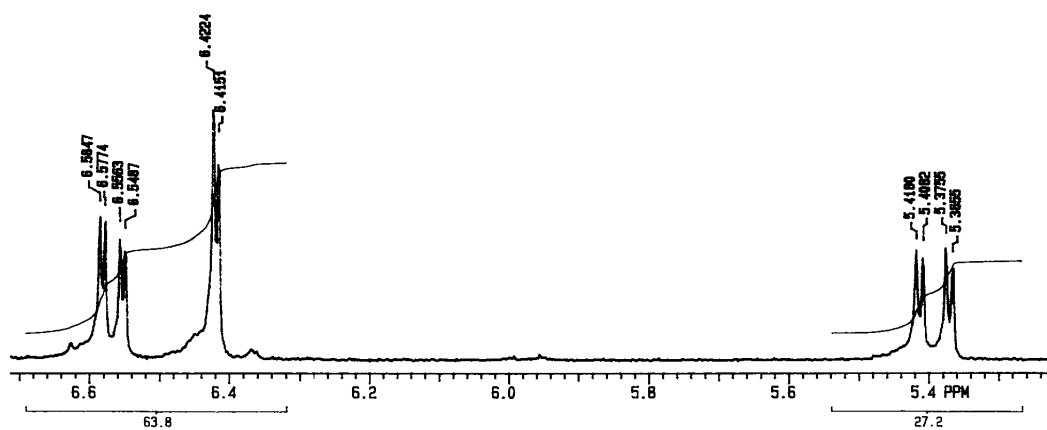


Figura 86 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV19** (ampliação) [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

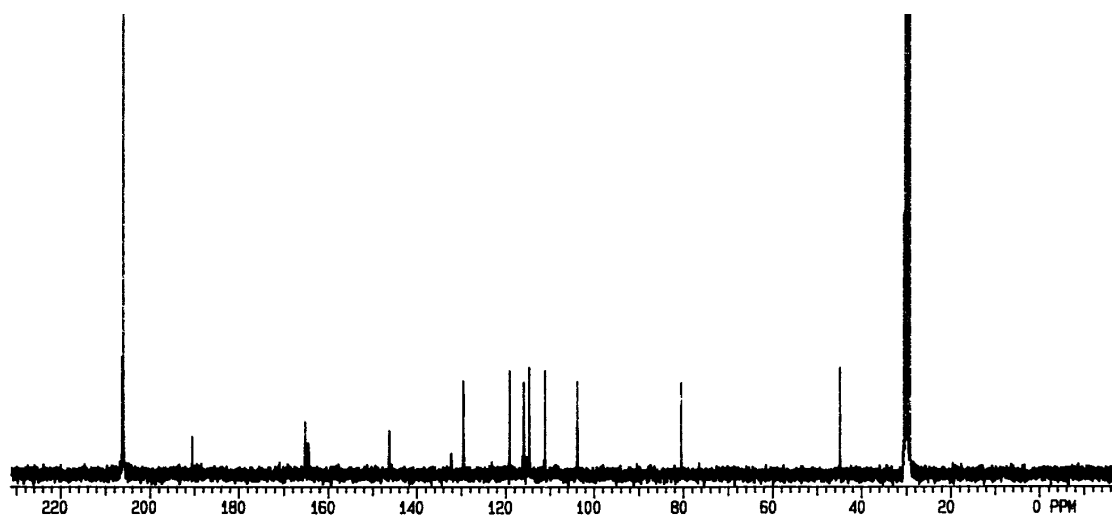


Figura 87 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV19** [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

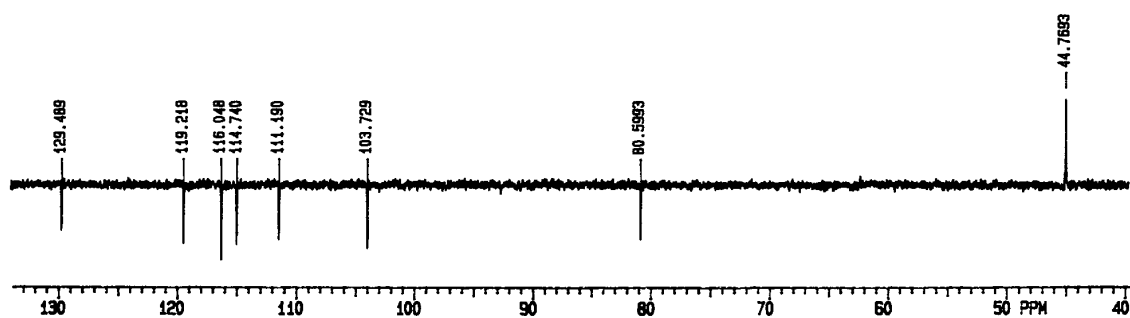


Figura 88 – Experimento DEPT 135° de **DV19** (ampliação) [75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, δ (ppm)]

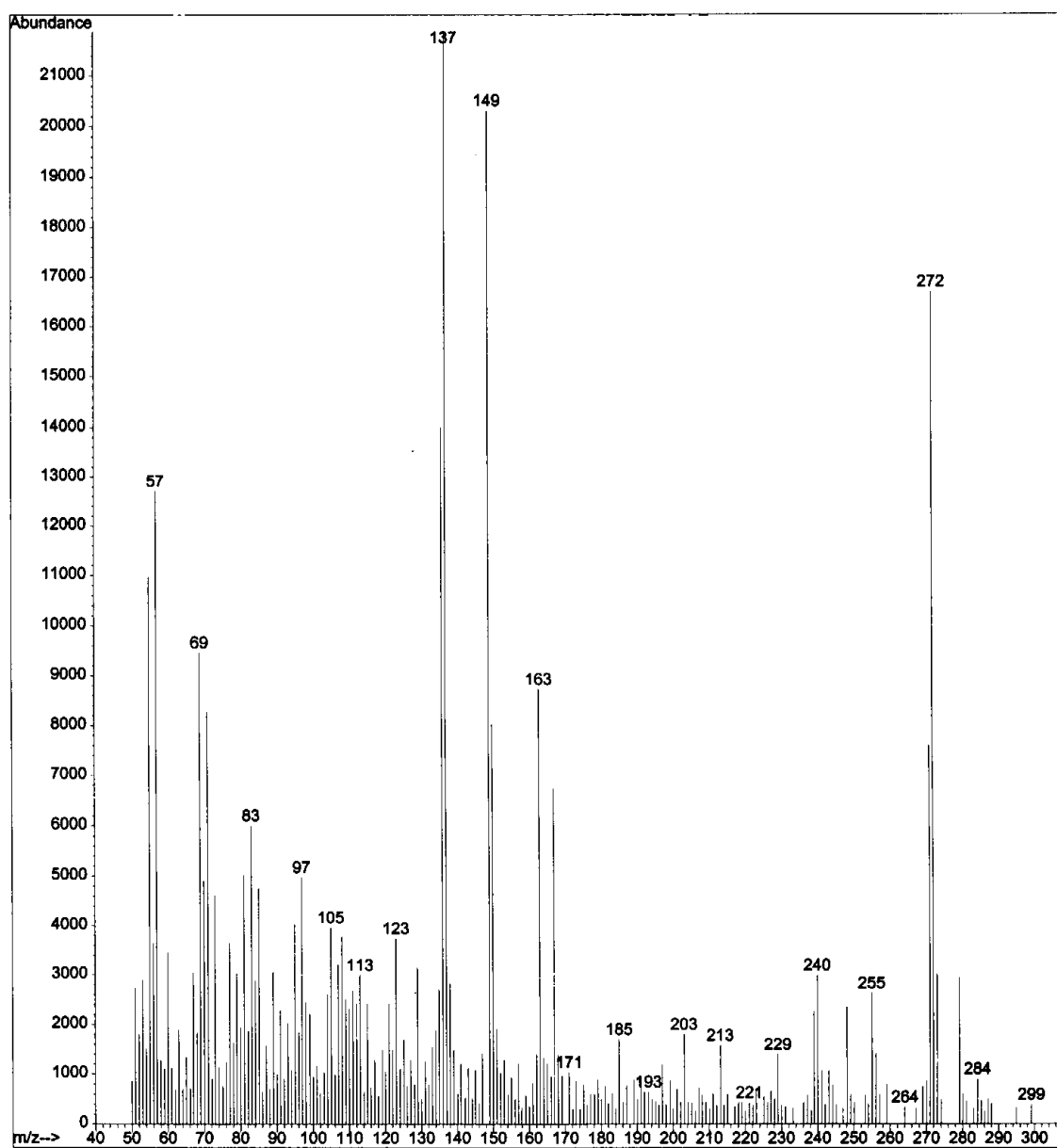


Figura 89 – EMIE 70 eV de **DV19**

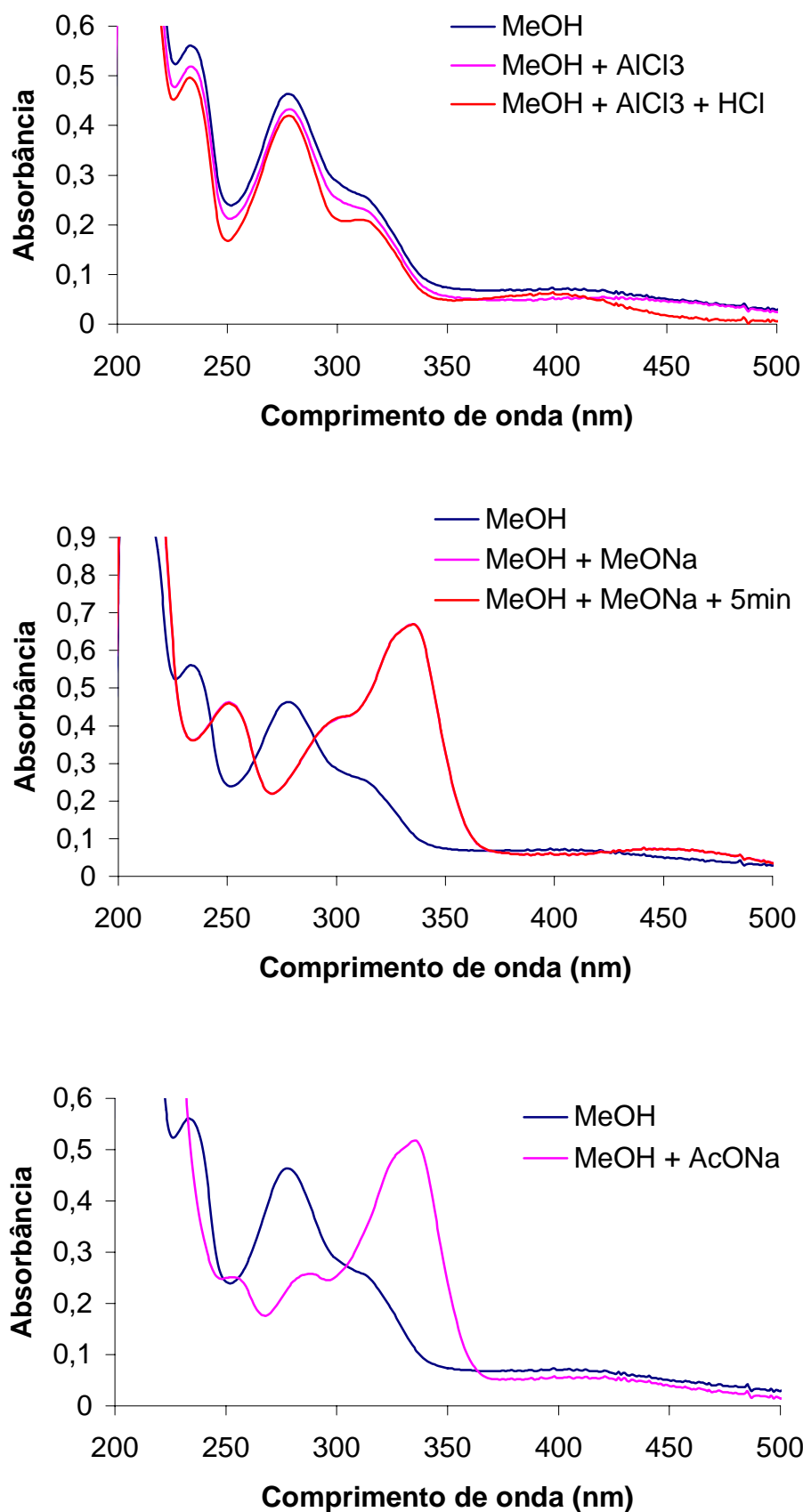


Figura 90 – Espectro no UV de DV19 em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

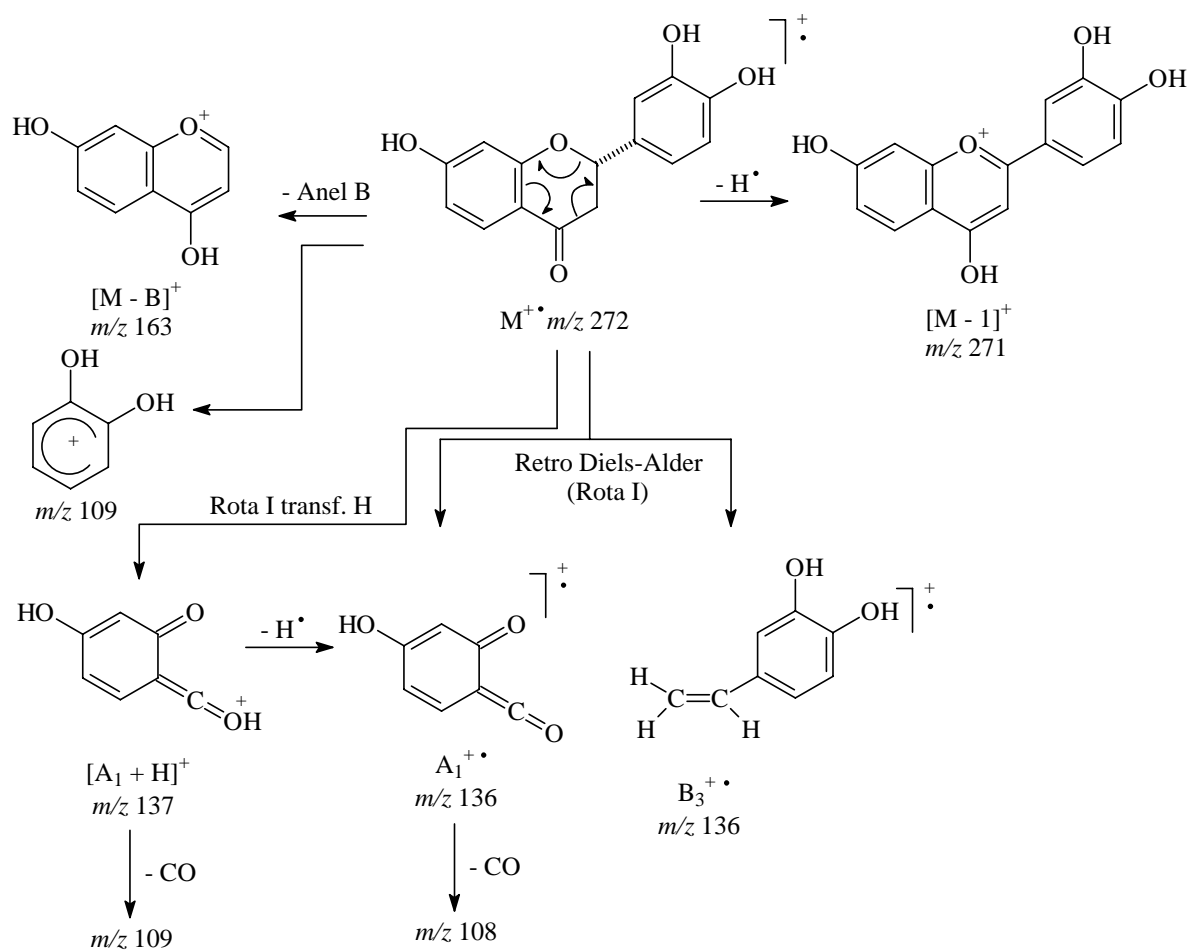


Figura 91 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV19



Tabela 37 – Dados de RMN <sup>1</sup>H das flavanonas [300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

H	DV7	DV9	DV10	DV13	DV16*	DV18*	DV19*
2	5,45 <i>dd</i> (3,1;13,0)	5,43 <i>dd</i> (3,1;12,9)	5,41 <i>dd</i> (3,1;12,8)	5,47 <i>dd</i> (3,1;13,1)	5,40 <i>dd</i> (3,0;12,9)	5,17 <i>dd</i> (2,6;13,0)	5,39 <i>dd</i> (3,0;12,8)
3 <sub>eq</sub>	2,83 <i>dd</i> (3,1;17,0)	2,83 <i>dd</i> (3,1;17,1)	2,83 <i>dd</i> (3,1;17,1)	2,84 <i>dd</i> (3,1;17,0)	2,66 <i>dd</i> (3,0;16,8)	2,40 <i>dd</i> (2,6;15,0)	2,67 <i>dd</i> (3,0;16,8)
3 <sub>ax</sub>	3,04 <i>dd</i> (13,0;17,0)	3,09 <i>dd</i> (12,9;17,1)	3,09 <i>dd</i> (12,8;17,1)	3,05 <i>dd</i> (13,1;17,0)	3,01 <i>dd</i> (12,9;16,8)	2,77 <i>dd</i> (13,0;15,0)	3,01 <i>dd</i> (12,8;16,8)
5	7,35 <i>s</i>	12,05 <i>s</i> OH	12,19 <i>s</i> OH	7,85 <i>d</i> (8,7)	7,25 <i>s</i>	7,45 <i>d</i> (8,7)	7,72 <i>d</i> (8,7)
6	-	6,01 <i>s</i>	6,15 <i>s</i>	6,58 <i>dd</i> (2,3;8,7)	-	6,29 <i>dd</i> (2,4;8,7)	6,56 <i>dd</i> (2,3;8,7)
7	6,3 <i>sl</i> OH	-	-	-	-	-	8,6 <i>sl</i> OH
8	6,60 <i>s</i>	6,01 <i>s</i>	OCH <sub>3</sub>	6,50 <i>d</i> (2,3)	6,45 <i>s</i>	6,14 <i>d</i> (2,4)	6,42 <i>d</i> (2,3)
2'	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,43 <i>m</i>	7,38 <i>d</i> (8,4)	7,12 <i>d</i> (8,6)	7,04 <i>d</i> (1,4)
3'	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,43 <i>m</i>	6,88 <i>d</i> (8,4)	6,61 <i>d</i> (8,6)	8,6 <i>sl</i> OH
4'	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,43 <i>m</i>	-	-	8,6 <i>sl</i> OH
5'	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,43 <i>m</i>	6,88 <i>d</i> (8,4)	6,61 <i>d</i> (8,6)	6,85 <i>d</i> (8,6)
6'	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,45 <i>m</i>	7,43 <i>m</i>	7,38 <i>d</i> (8,4)	7,12 <i>d</i> (8,6)	6,89 <i>dd</i> (8,6;1,4)
OCH <sub>3</sub>	3,93 <i>s</i>	-	3,96 <i>s</i>	-	3,85 <i>s</i>	-	-

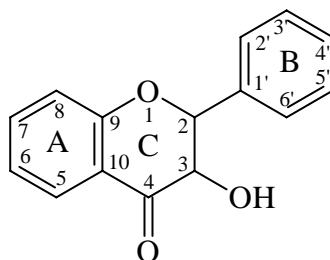
\*(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO

Tabela 38 – Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  das flavanonas [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]\*.

C	DV7	DV13	DV16 <sup>§</sup>	DV18 <sup>§</sup>	DV19 <sup>§</sup>
2	79,99	79,86	80,57	80,52	80,57
3	44,19	44,26	44,53	44,66	44,74
4	190,63	191,17	190,47	190,48	190,53
5	106,76	129,41	107,87	129,42	129,48
6	142,52	110,93	144,31	111,25	111,20
7	153,48	163,60	155,54	165,46	165,25
8	103,43	103,46	104,26	103,65	103,72
9	158,38	163,76	159,02	164,51	164,50
10	113,54	114,85	113,69	115,08	115,30
1'	138,99	138,81	131,31	131,25	132,15
2'	126,13	126,19	128,83	129,19	114,71
3'	128,77	128,82	116,04	116,42	146,01
4'	128,65	128,74	158,50	158,60	146,28
5'	128,77	128,82	116,04	116,42	116,02
6'	126,13	126,19	128,83	129,19	119,19
OCH <sub>3</sub>	56,42	-	56,47	-	-

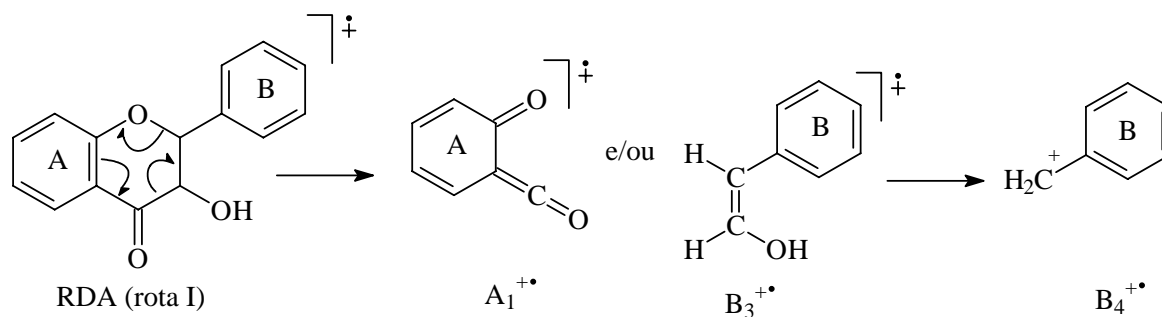
\*Multiplicidades obtidas por DEPT, <sup>§</sup>( $\text{CD}_3$ )<sub>2</sub>CO.

## 6.5. Diidroflavonóis

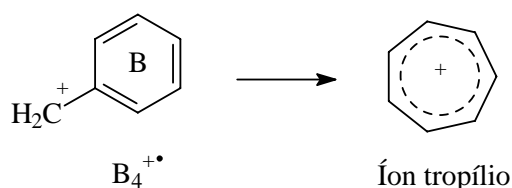


Os diidroflavonóis são flavonóides que apresentam como esqueleto base o grupo 2-fenil-3-hidroxibenzopiran-4-ona, sendo também denominados de flavanonóis ou 3-hidroxiflavanonas. Possuem dois carbonos assimétricos C-2 e C-3, o que amplia para 4 o número possível de isômeros ópticos. Biossinteticamente são intermediários entre as chalconas e os flavonóis (HARBORNE, 1967; BOHM, 1975).

Apresentam espectro no UV similar as flavanonas, devido à ausência de conjugação entre os anéis A e B, com uma banda de absorção intensa entre 270-295 nm (Banda II), e uma inflexão de pequena intensidade entre 300-330 nm (Banda I). A presença da 3-OH sem a presença de insaturação entre C-2 e C-3 exerce pouca ou nenhuma diferença no espectro UV, sendo estes praticamente idênticos aos das flavanonas, que foram abordados no item 6.4. (MABRY, 1970; MARKHAM, 1982).

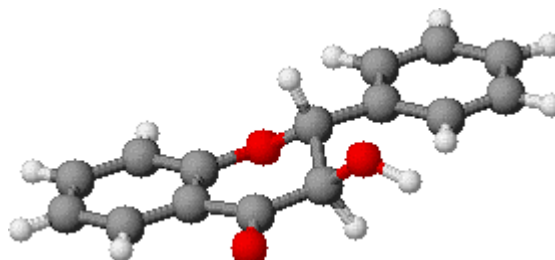


No EM, os fragmentos de RDA (rota I) dos diidroflavonóis são os íons mais intensos observados, juntamente com o íon molecular,  $[M - H]^+$ ,  $[M - HCO]^+$ ,  $[M - (\text{Anel B})]^+$  e  $[M - OH]^+$ . O fragmento diagnóstico para diidroflavonóis é  $B_4^+$ , derivado da transferência de H de C-3 para C-2 no fragmento  $B_3^+$  e, sua proeminência está relacionada ao seu rearranjo para formação do íon tropílio (MABRY, 1975).



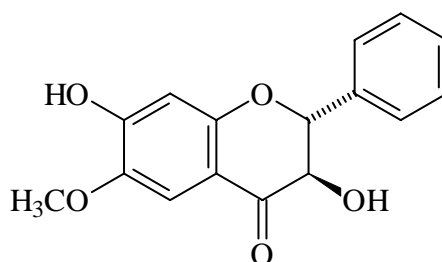
Os diidroflavonóis são facilmente reconhecidos por RMN  $^1\text{H}$  devido aos deslocamentos característicos para os hidrogênios oximetínicos no anel C. Na maioria destes compostos os H-2 e H-3 são *trans*-diaxiais, sendo registrados como dupletos com  $J \cong 11$  Hz. O H-2 por ser oxibenzílico encontra-se mais desprotegido ( $\delta$  4,9) que o H-3 ( $\delta$  4,3), sendo portanto facilmente diferenciáveis. A ocorrência de glicosilação em 3-OH desprotege H-2 e H-3. Todos os demais deslocamentos dos anéis A e B são equivalentes aos das flavanonas (MARKHAM, 1975 e 1994).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , os diidroflavonóis apresentam perfil de proteção e desproteção semelhante ao das flavanonas, sendo que a 3-OH exerce efeito de desproteção ao C-3 em 30,5 ppm e ao C-2 em 5,0 ppm. Enquanto que o valor do deslocamento de C-4 permanece inalterado. Os carbonos oximetínicos C-2 e C-3 têm deslocamento na faixa  $\delta$  70,9-85,6, porém, C-2 por ser oxibenzílico encontra-se mais desprotegido sendo registrado geralmente em  $\delta$  78,3-85,6, enquanto C-3 é registrado na faixa  $\delta$  70,9-74,1. A presença de grupo oxigenado em C-2' ou em C-2' e C-6' protege C-2 da mesma forma que nas flavanonas, levando seu sinal para  $\delta$  75,5-79,2. Na ausência de grupo oxi em C-2' ou C-6', o sinal do C-2 é registrado em  $\delta$  82,4-85,6 (AGRAWAL, 1989).



Os diidroflavonóis apresentam conformação mais estável com o anel B em *pseudo*-equatorial. A rotação da luz plano-polarizada está relacionada a estereoquímica absoluta, de forma que os (-)-dihidroflavonóis (levorrotatórios) possuem configuração *2S*, enquanto que os (+)-dihidroflavonóis (dextrorrotatórios) possuem configuração *2R*. Na natureza os diidroflavonóis são comumente encontrados na forma *trans-2R*. É interessante notar que o arranjo espacial das *2S* flavanonas é o mesmo dos *2R* diidroflavonóis, pois a prioridade nas regras de nomenclatura de Cahn, Ingold e Prelog é alterada devido a presença da hidroxila em C-3 (MARKHAN, 1982).

## 6.5.1. Identificação do 7-hidroxi-6-metoxiflavanonol

6-Metoxi-7-hidroxiididroflavonol  
( **DV8**)

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 94, p. 154) e  $^1\text{H}$  (Figuras 92 e 93, p. 153) de **DV8**, em conjunto com experimentos de DEPT (Figuras 95 e 96, p. 154), apresentaram sinais para 16 átomos de carbono e 12 átomos de hidrogênio. Estes dados aliados ao íon molecular em  $m/z$  286 observado no EM (Figura 100, p. 156) permitiu propor a fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$ .

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 93, p. 153; Tabela 39, p. 159) sugeriu que a substância era um diidroflavonol metoxilado. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  e experimentos DEPT  $135^\circ$  e  $90^\circ$  mostraram sinais para carbono oxibenzílico em  $\delta$  84,26, carbono oximetínico em  $\delta$  73,24 e carbonila em  $\delta$  192,67, dados que juntamente com o sinal do carbono oximetílico em  $\delta$  56,42 confirmaram esta sugestão (Figuras 94, 95 e 96, p. 154; Tabela 39, 159).

O EMIE de **DV8** apresentou fragmentos de RDA  $[\text{A}_1 + \text{H}]^+$  em  $m/z$  167 (pico base),  $\text{A}_1^{+\bullet}$  em  $m/z$  166 e  $\text{B}_3^{+\bullet}$  em  $m/z$  120, além de  $\text{B}_4^+$  em  $m/z$  91, que sugeriram ausência de substituição no anel B (Figuras 100 e 102, p. 156 e 158). Este padrão foi confirmado pelo multipletto registrado no RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  7,59, integrando para 5 hidrogênios, e pelos sinais no RMN  $^{13}\text{C}$  de carbonos metínicos aromáticos característicos (Figuras 94, 95 e 96, p. 154).

O espectro no UV apresentou banda II de absorção mais intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 280$  nm, que sugere ausência de 5-OH na estrutura do diidroflavonol. A adição de solução de  $\text{AlCl}_3$  na solução não provocou deslocamento do espectro (Figura 101, p. 157), uma vez que a 3-OH não pertence ao grupo cromóforo principal. Adição de solução de  $\text{MeONa}$  provocou um deslocamento batocrômico de 74 nm da banda II para  $\lambda_{\text{Max}} = 354$  nm acompanhado de efeito hiperacrômico, o que sugere presença de hidroxilação no anel A (Figura 101, p. 157). O deslocamento batocrômico de 73 nm da banda II em presença de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  para  $\lambda_{\text{Max}} = 353$  nm acompanhado de efeito hiperacrômico sugeriu a presença de um grupo hidroxila livre no C-7 (Figura 101, p. 157).

Análise detalhada do espectro de RMN  $^1\text{H}$  indicou a presença de dois simpletos  $\delta$  7,32 e  $\delta$  6,59 (Figura 93, p. 153; Tabela 39, p. 159) indicativos de dois hidrogênios ligados a carbonos aromáticos em relação *para*. Estes dados confirmaram a substituição em C-6 e C-7 no anel A, sendo que H-5 encontra-se em campo de desproteção devido ao efeito da carbonila.

Experimentos de “nOe diff” mostraram transferência de polarização de 11% para  $\text{OCH}_3$  quando H-5 foi irradiado (Figura 99, p. 156), confirmando a presença da metoxila em C-6. Por outro lado quando H-8 foi irradiado não houve transferência de polarização (Figura 98, p. 155) e irradiando-se o grupo metoxílico em C-3 foi observada transferência de polarização para H-5 (Figura 99, p. 156).

Estes dados aliados à comparação direta com dados da literatura (LIN, 1989) confirmaram que a substância **DV8** trata-se do 7-hidroxi-6-metoxiflavanonol, o qual foi isolado pela primeira vez de *Dalbergia ecastophyllum* (MATOS, 1970 e 1975) e posteriormente de *Spatholobus suberectus* (LIN, 1989), e *Abrus precatorius* (SONG, 1998). O sinal negativo do  $[\alpha]_D^{25} = -50,5$  confirmou sua configuração absoluta como 2R, tratando-se do (-)-(2R,3R)- 7-hidroxi-6-metoxiflavanonol.

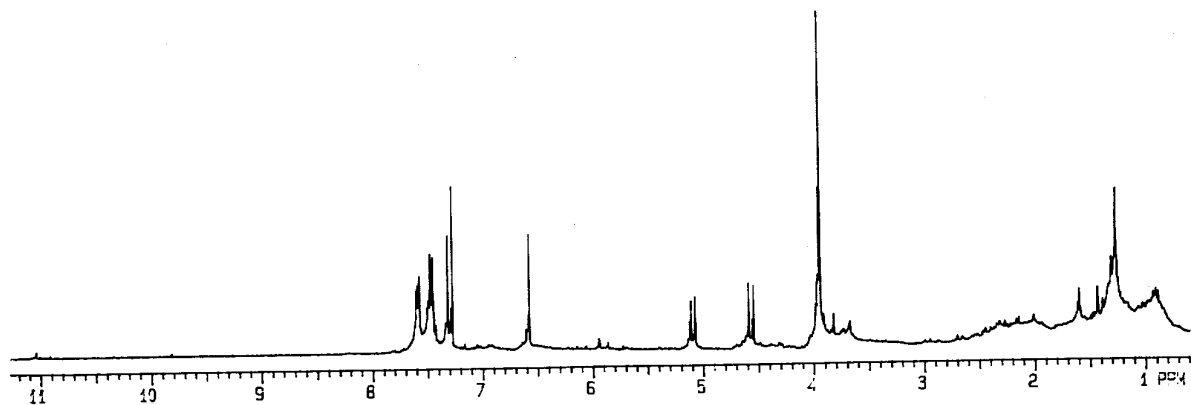


Figura 92 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV8** [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

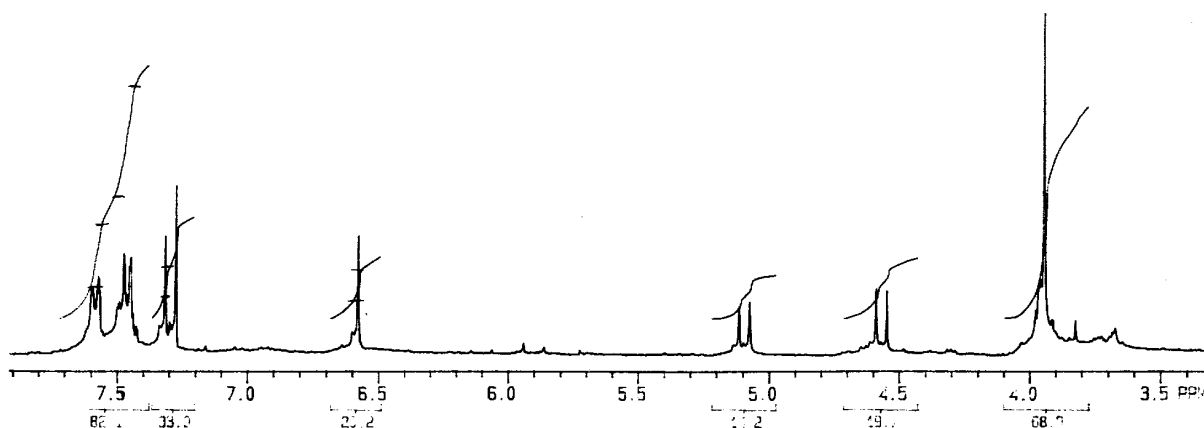


Figura 93 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV8** (integração) [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

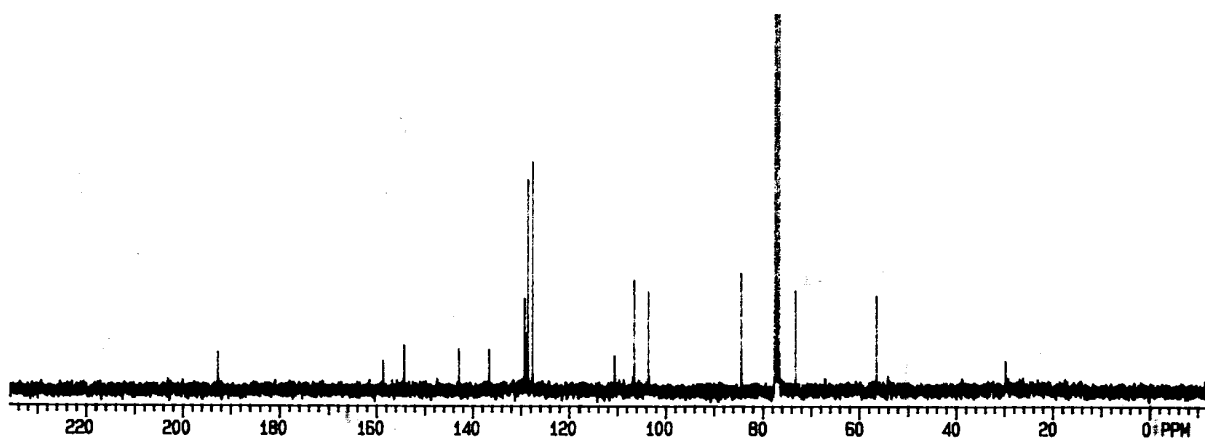


Figura 94 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de DV8 [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

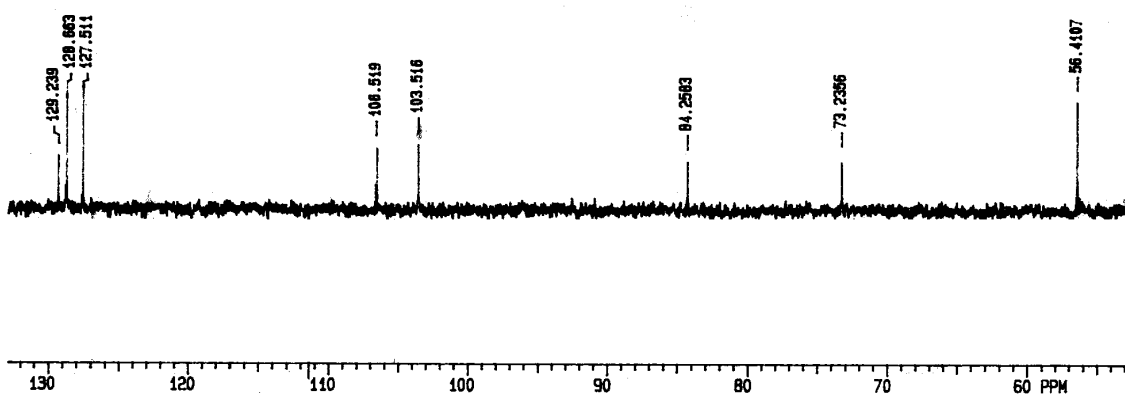


Figura 95 – Experimento DEPT 135° de DV8 (ampliação) [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

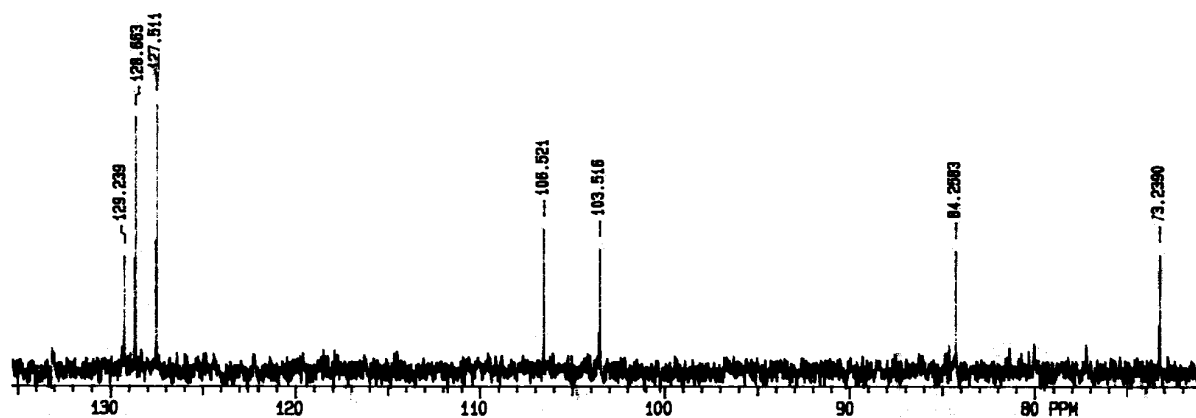


Figura 96 – Experimento DEPT 90° de DV8 (ampliação) [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

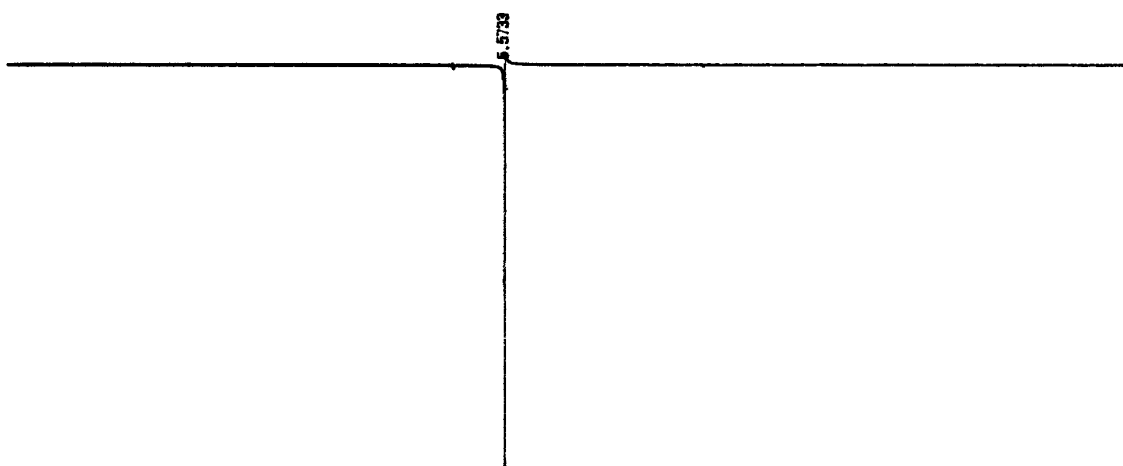


Figura 97 – Experimento nOe diff de **DV8** irradiando em  $\delta = 6,57$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

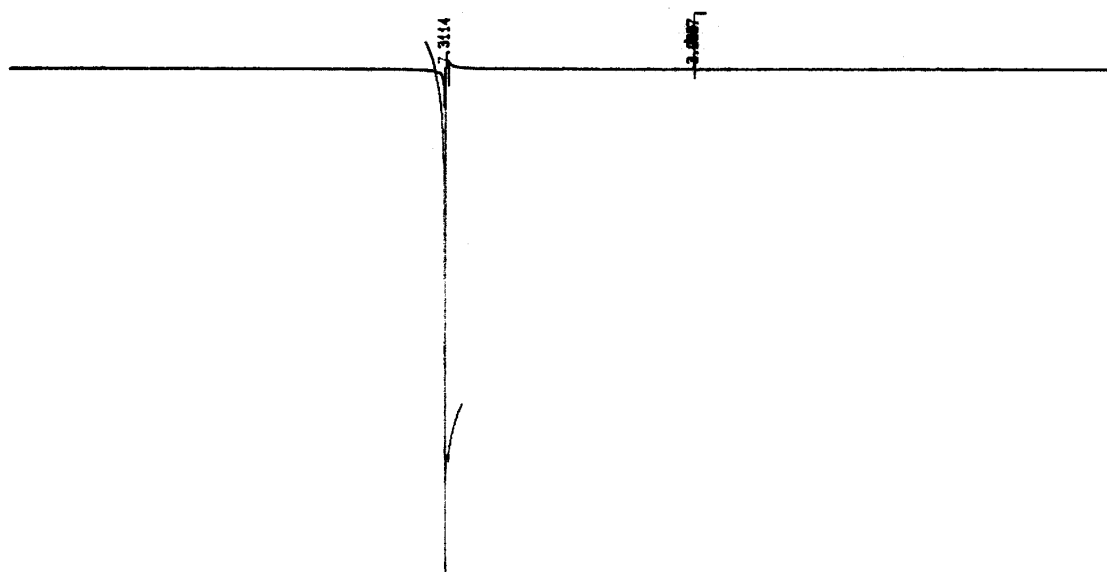


Figura 98 – Experimento nOe diff de **DV8** irradiando em  $\delta = 3,31$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]



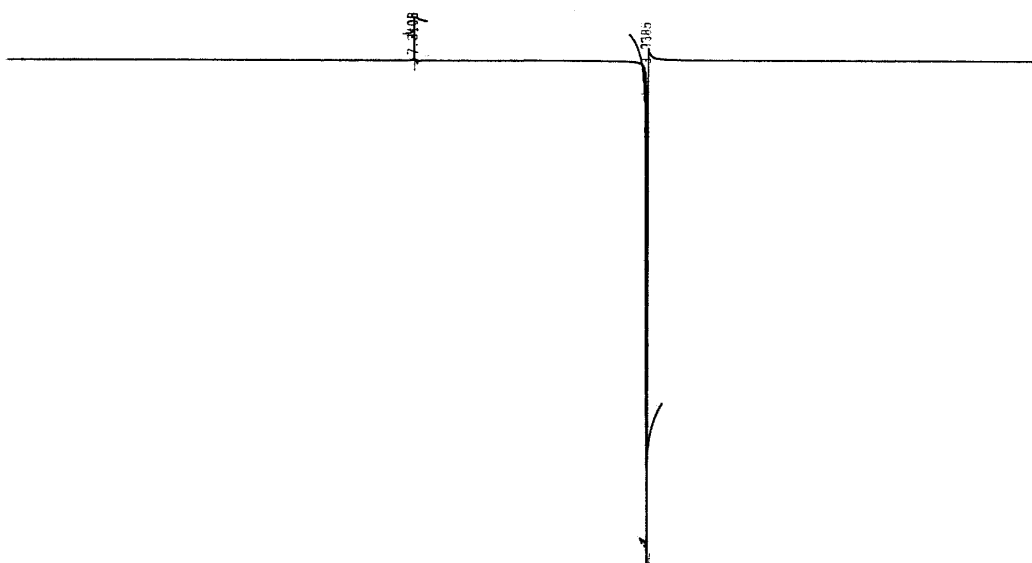


Figura 99 – Experimento nOe diff de **DV8** irradiando em  $\delta = 3,98$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

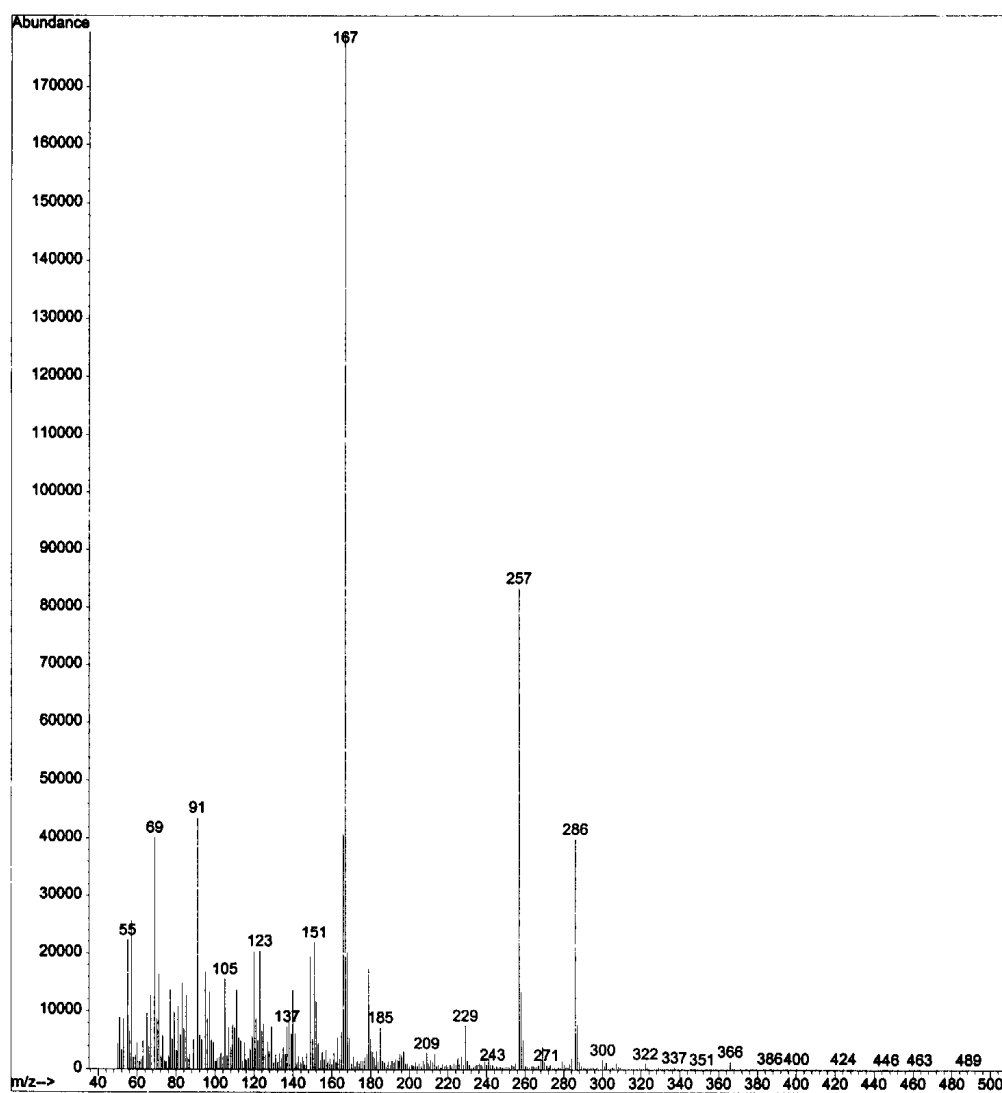


Figura 100 – EMIE 70 eV de **DV8**

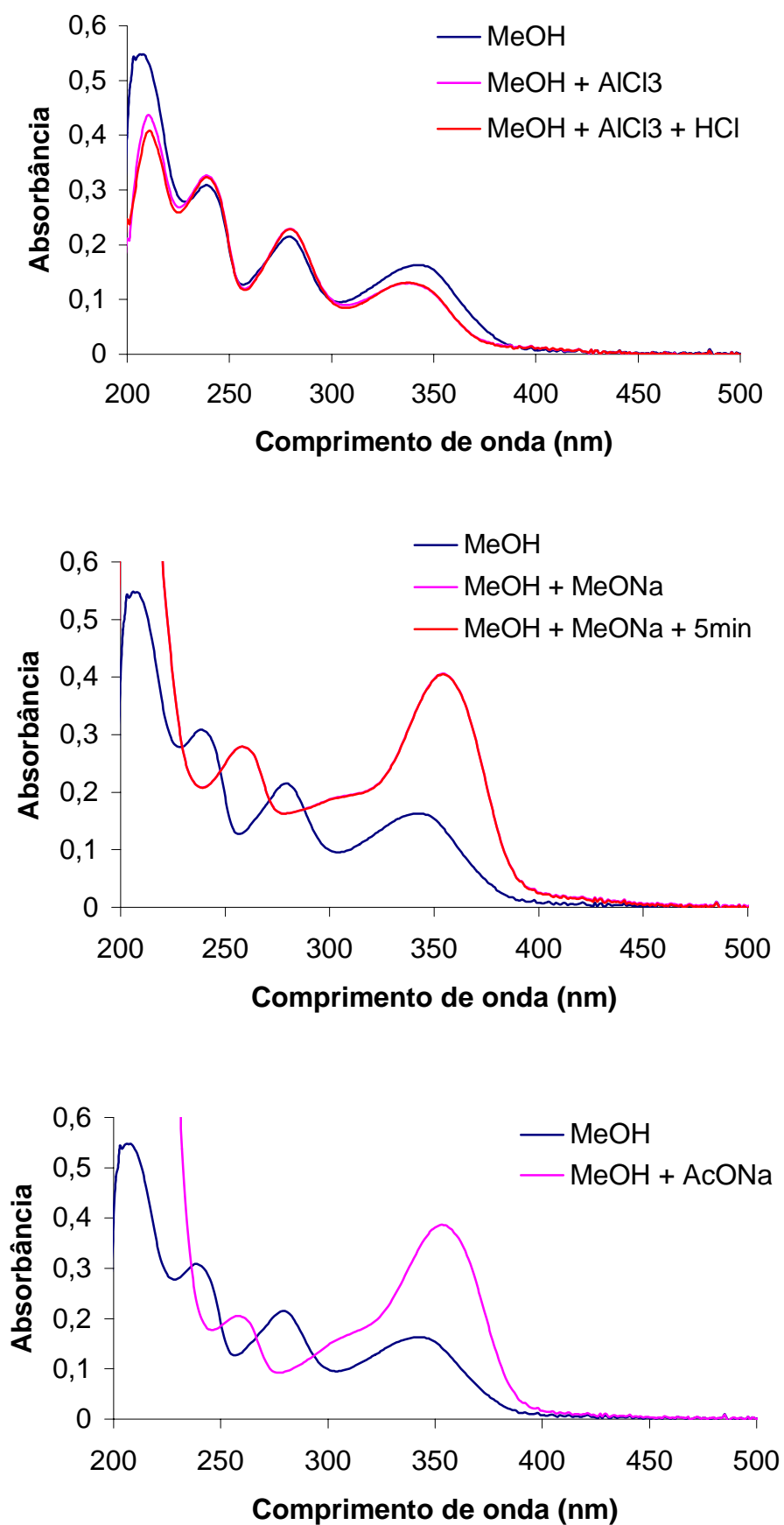


Figura 101 – Espectro no UV de DV8 em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

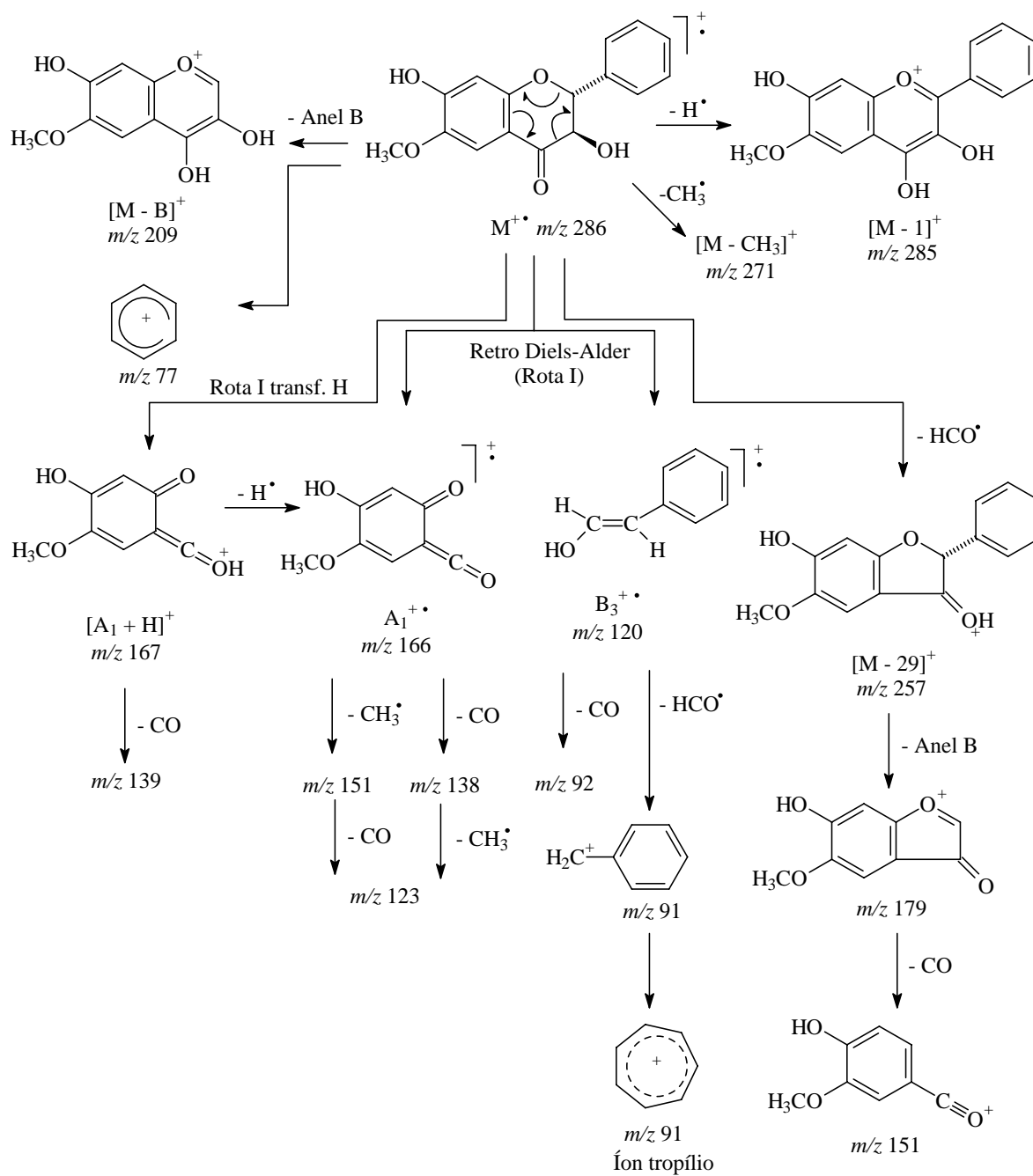


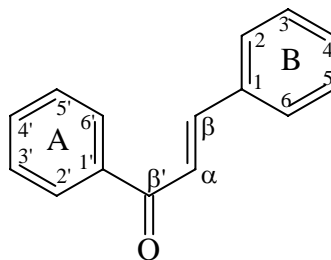
Figura 102 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV8

Tabela 39 – Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) do diidroflavonol [ $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]\*.

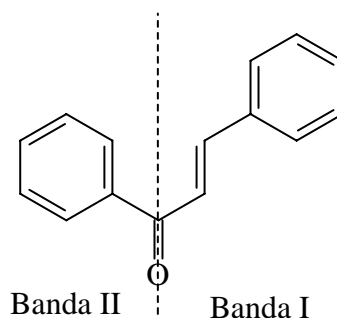
Posição	DV8	
	$\delta\text{-H}$ (J = Hz)	$\delta\text{-C}$
2	5,10 <i>d</i> (12,3)	84,26
3	4,58 <i>d</i> (12,3)	73,24
4	-	192,67
5	7,32 <i>s</i>	106,52
6	-	142,88
7	-	154,16
8	6,59 <i>s</i>	103,52
9	-	158,75
10	-	110,60
1'	-	134,80
2'	7,59 <i>dd</i> (1,8; 8,1)	127,51
3'	7,46 <i>m</i>	128,66
4'	7,46 <i>m</i>	128,24
5'	7,46 <i>m</i>	128,66
6'	7,59 <i>dd</i> (1,8; 8,1)	127,51
$\text{OCH}_3$	3,95 <i>s</i>	56,42

\*Multiplicidades obtidas por DEPT.

## 6.6. Chalconas

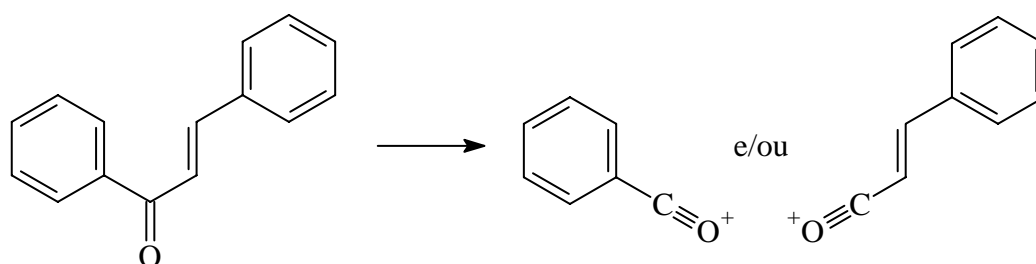


As chalconas são uma classe de flavonóides com o anel C aberto e são caracterizadas por um esqueleto base do tipo 1,3-difenil-prop-2-en-1-ona. O anel A, proveniente da rota biossintética do acetato, encontra-se normalmente hidroxilado nas posições C-2', C-4' e/ou C-6'. Já o anel B, derivado de um fenilpropanóide, é mais comum em chalconas o não substituído, o monosubstituído em C-4, o disubstituído em C-3 e C-4 ou o trisubstituído em C-3, C-4 e C-5. As chalconas são consideradas intermediárias na biossíntese dos demais flavonóides. A sua coloração amarela deve-se á conjugação entre o anel B, e o sistema carbonílico insaturado (HARBORNE, 1967; BOHM, 1975).



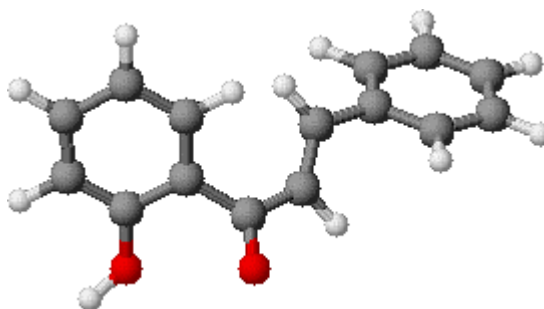
As chalconas apresentam espectro no UV característico, com uma banda de absorção intensa entre 340-390 nm (Banda I), e uma banda de menor intensidade entre 220-270 nm (Banda II). A absorção da Banda I ocorre em comprimentos de onda consideravelmente menores na ausência de oxigenação no anel B, porém o aumento no grau de oxigenação em A ou B resulta em deslocamento batocrômico da Banda I. Como nos outros flavonóides, o uso de agentes de deslocamento é útil na determinação do padrão de hidroxilação e da substituição nas flavanonas. Muitas chalconas tornam-se vermelhas ou laranja na presença de  $\text{CH}_3\text{ONa}$ , devido ao deslocamento batocrômico provocado na Banda I. Nas chalconas com OH livre no C-4, a adição de solução de  $\text{CH}_3\text{ONa}$  produz um deslocamento batocrômico da Banda I de 60-100 nm, acompanhado de um efeito hiperacrômico. Na ausência de 4-OH, mas presença de 2-OH ou 4'-OH também ocorre deslocamento batocrômico de 60-100 nm da Banda I, porém sem efeito hiperacrômico. O uso de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  causa deslocamento

batocrômico da Banda I para 4-OH e 4'-OH livres, não sendo observado deslocamento apreciável para outras hidroxilas. Chalconas com 3 hidroxilas adjacentes podem se decompor na presença de acetato. O uso de  $\text{AlCl}_3$  é útil na detecção de grupo catecol no anel B, pois, causa deslocamento batocrômico da Banda I de 40-70 nm, que, após adição de HCl, retorna aos valores anteriores. Hidroxilas vizinhas no anel A também podem ser detectadas, porém o efeito batocrômico na Banda I é menor. A presença de 2'-OH causa um deslocamento batocrômico de 48-64 nm na Banda I com adição de  $\text{AlCl}_3$ , que persiste com adição de HCl (MABRY, 1970; MARKHAM, 1982).



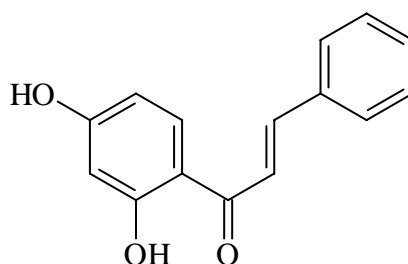
Os EM das chalconas apresentam íons intensos para  $\text{M}^{+\bullet}$ ,  $[\text{M} - \text{H}]^+$  e  $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$  (para chalconas metoxiladas), além dos fragmentos derivados da fissão em ambos os lados da carbonila  $\text{A}_2^+$  e  $\text{B}_5^+$ . As intensidades relativas de  $\text{A}_2^+$  e  $\text{B}_5^+$  depende do padrão de substituição nos anéis A e B. Existe um equilíbrio intramolecular entre os íons moleculares da chalcona e da flavanona, porém a isomerização completa não é observada, pois, a clivagem adjacente à carbonila se dá mais rapidamente, predominando portanto o EM da chalcona, com fragmentos da flavanona em menor intensidade (MABRY, 1975).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  das chalconas é bastante elucidativo quanto a estereoquímica, pois as chalconas *trans* apresentam constante de acoplamento de cerca de 16 Hz entre H- $\alpha$  e H- $\beta$ , enquanto que as chalconas *cis* apresentam constante de acoplamento de 12 Hz. O hidrogênio H- $\alpha$  encontra-se protegido por efeito de ressonância, apresentando deslocamento químico na faixa de  $\delta$  6,7-7,4, enquanto que H- $\beta$  encontra-se desprotegido por efeito de ressonância, na faixa de  $\delta$  7,3-7,7. Os deslocamentos do anel B são semelhantes aos deslocamentos das flavonas. Os hidrogênios H-3' e H-5' para as chalconas hidroxiladas em 2' podem não ser magneticamente equivalentes, devido à dissociação da ligação de H entre 2'-OH e a carbonila ser lenta para a escala de tempo de análise em aparelho de RMN. A altas temperaturas, em presença de  $\text{H}_2\text{O}$  ou ácido a dissociação da ligação de H é muito mais rápida, não sendo observada esta não equivalência (MARKHAM, 1975, 1994).



Todos os átomos de carbono do esqueleto base das chalconas apresentam sinais de deslocamento no RMN  $^{13}\text{C}$  na região de 90-195 ppm. As chalconas não substituídas ou mono-substituídas em C-4 e/ou C-4' apresentam apenas 11 sinais de deslocamento no RMN  $^{13}\text{C}$ , devido à equivalência química e magnética de C-2/6, C-3/5, C2'/6' e C-3'/5'. Qualquer substituinte em outra posição torna o anel assimétrico, o que aumenta o número de sinais registrados. Dois anéis assimétricos apresentam 15 sinais de RMN  $^{13}\text{C}$ . Dentre os deslocamentos observados, o mais facilmente atribuído é o da carbonila, por ser o sinal mais desprotegido do espectro em  $\delta$  187-195 ppm. A presença de substituintes em *meta* ou em *para* nos anéis aromáticos exerce efeito muito pequeno no deslocamento da carbonila. Por outro lado, a presença do grupo 2'-OH desprotege a carbonila cerca de 3-5 ppm, devido à ligação de H intramolecular. O carbono  $sp^2$  C- $\beta$  encontra-se desprotegido pela ressonância entre a carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada e o anel B, apresentando deslocamento em  $\delta$  136-147. No entanto, esta mesma conjugação protege C- $\alpha$ , que apresenta deslocamento em  $\delta$  116-129. A substituição em C-2 por grupo oxigenado desprotege o C- $\beta$  cerca de 3-5 ppm (AGRAWAL, 1989).

## 6.6.1. Identificação da 2',4'-diidroxichalcona



2',4'-Diidroxichalcona  
( **DV11** )

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 105, p. 165) e  $^1\text{H}$  (Figura 103, p. 164) de **DV11** em conjunto com experimento DEPT (Figura 106, p. 165) mostraram a presença de 15 carbonos e 10 hidrogênios. Estes dados em conjunto com íon molecular em  $m/z$  240, observado no EM (Figura 107, p. 166) permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3$ .

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  permitiu identificar os sinais característicos do esqueleto de uma chalcona (Figura 104, p. 164; Tabela 40, p. 181). Estes dados em conjunto com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  auxiliado por experimento DEPT  $135^\circ$  que mostraram dois sinais de deslocamento para carbono  $sp^2$  hidrogenado ( $\delta$  144,53 e  $\delta$  120,51), em conjunto com a carbonila ( $\delta$  192,00), confirmaram que a substância trata-se de uma chalcona (Figuras 105 e 106, p. 165).

Análise dos fragmentos observados no EMIE da substância mostrou fragmentação vizinha a carbonila  $\text{A}_2^+$  em  $m/z$  137 e  $\text{B}_5^+$  em  $m/z$  131. O pico base representou a perda do anel B [ $\text{M} - (\text{anel B})^+$   $m/z$  163, que juntamente com o fragmento  $\text{B}_4^+$  em  $m/z$  91 sugeriu ausência de substituição no anel B (Figuras 107 e 109, p. 166 e 168). Esta sugestão foi confirmada pelo multiplete registrado no RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  7,43, integrando para 3 átomos de hidrogênio, e pelo multiplete integrando para 2 átomos de hidrogênio em  $\delta$  7,66. Os sinais no RMN  $^{13}\text{C}$  de carbonos metínicos aromáticos também confirmaram este padrão de substituição (Figuras 105 e 106, p. 165; Tabela 40, p. 181).

Os sinais de RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  6,45 *d* ( $J = 2,1$ ),  $\delta$  6,47 *dd* ( $J = 2,1$  e  $8,6$ ) e  $\delta$  7,83 *d* ( $J = 8,6$ ), num sistema ABX de *spins* (Figura 104, p. 164) confirmaram a substituição em C-2' e C-4' no anel A.

O espectro no UV revelou banda I de absorção mais intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 316$  nm o que sugere ausência de hidroxilação no anel B. A adição de  $\text{AlCl}_3$  provocou deslocamento



batocrômico de 34 nm da banda I para  $\lambda_{\text{Max}} = 350$  nm, o que confirma a presença de 2'-OH (Figura 108, p. 167). O uso de MeONa provocou deslocamento batocrômico de 76 nm da banda I para  $\lambda_{\text{Max}} = 392$  nm, porém, sem apresentar efeito hiperacrômico. Esta observação confirma a ausência de 4-OH e sugere a presença de 4'-OH. O deslocamento batocrômico de 71 nm da banda I em presença de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  para  $\lambda_{\text{Max}} = 387$  nm confirmou a presença de hidroxila livre em C-4' (Figura 108, p. 167).

Todos estes dados aliados a comparação com descritos na literatura (WOLLENWEBER, 1982) confirmaram que a substância **DV11** tratava-se da 2',4'-diidroxichalcona, que foi isolada pela primeira vez de *Flemingia chappar* (ADITYACHAUDHURY, 1969) e de ocorrência comum em vegetais.

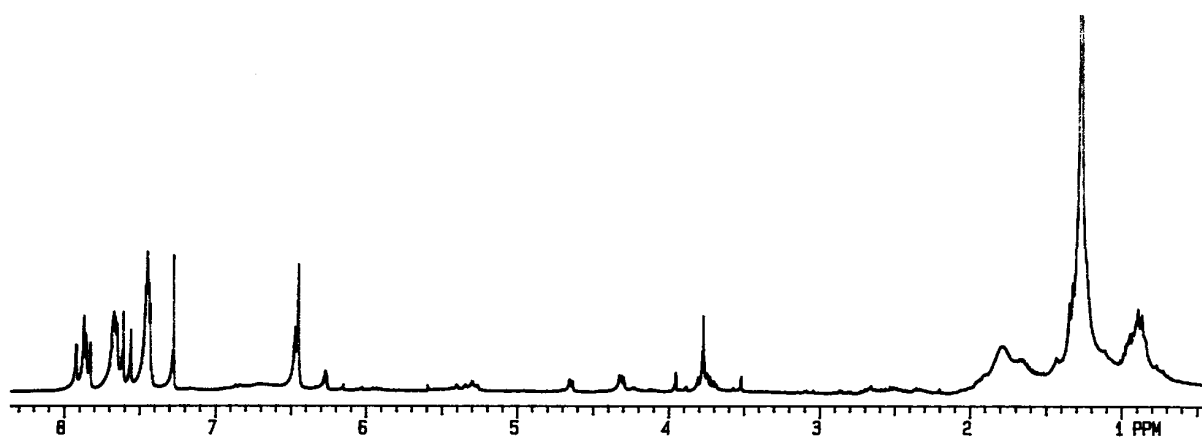


Figura 103 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV11** [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

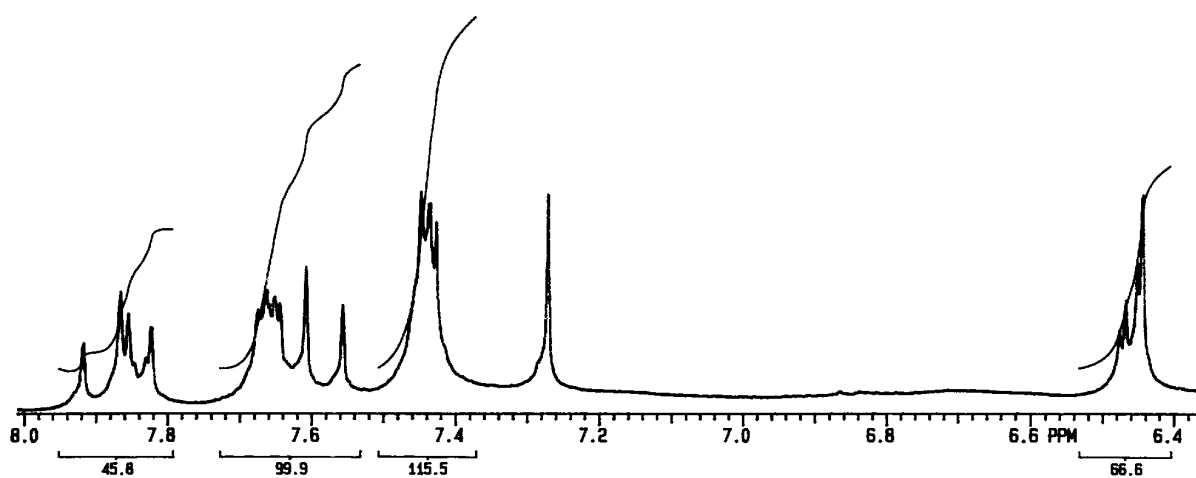


Figura 104 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV11** (integração) [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

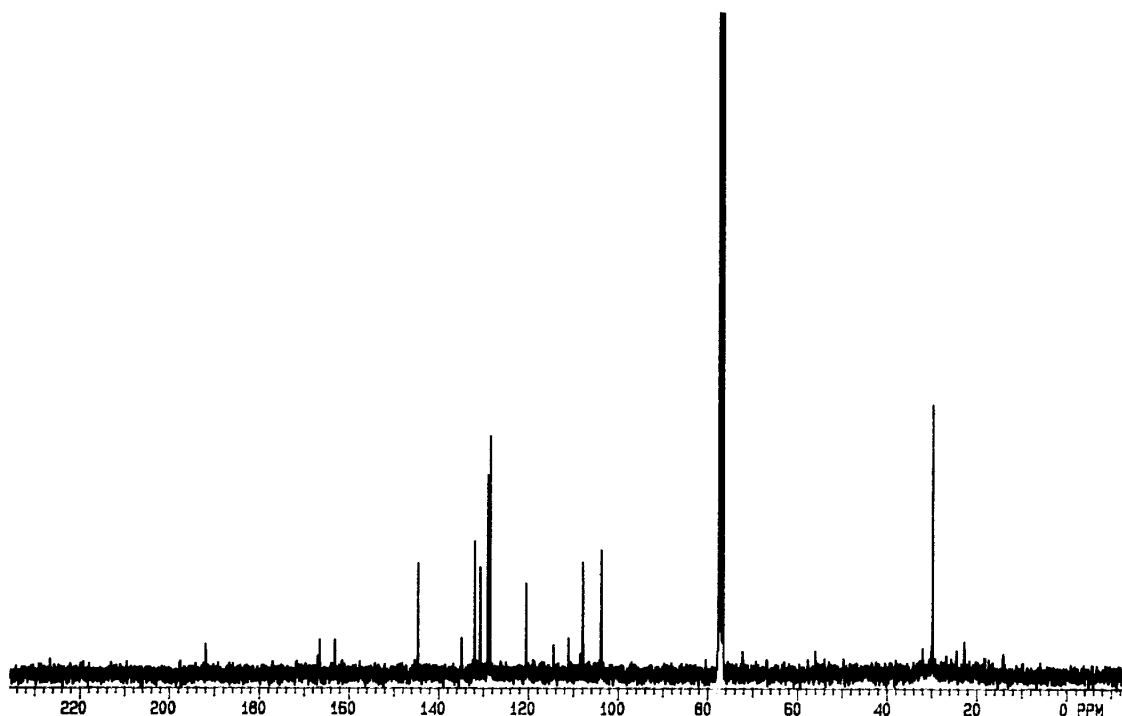


Figura 105 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de DV11 [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

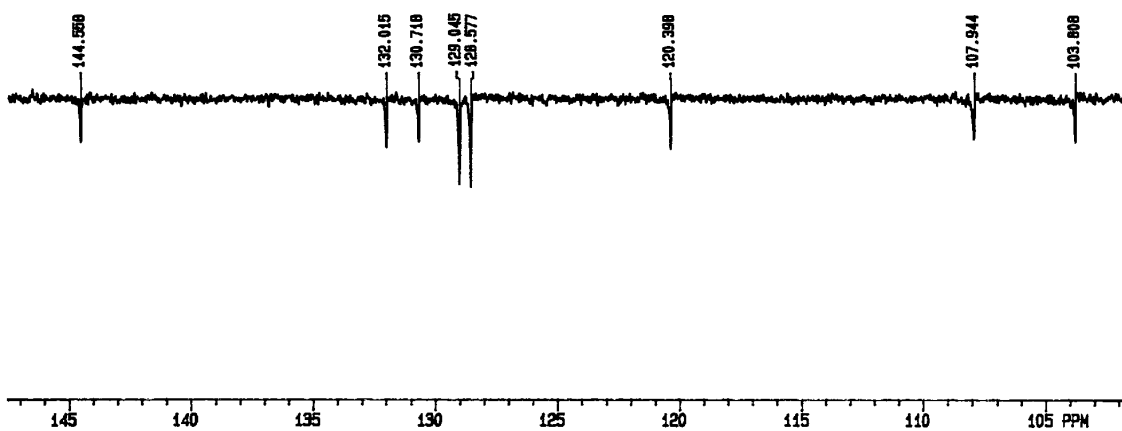


Figura 106 – Experimento DEPT  $135^\circ$  de DV11 (ampliação) [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

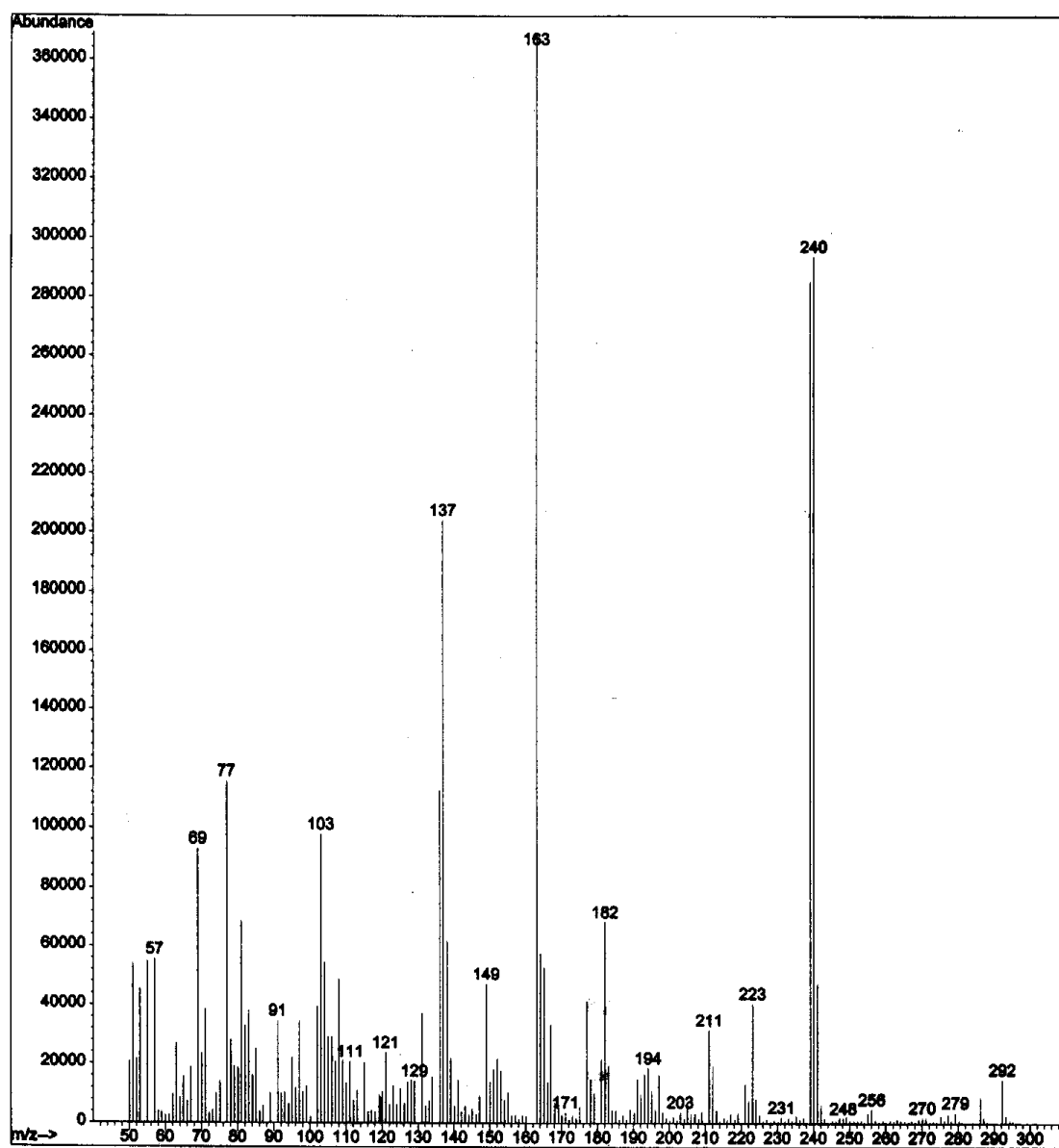


Figura 107 – EMIE 70 eV de DV11

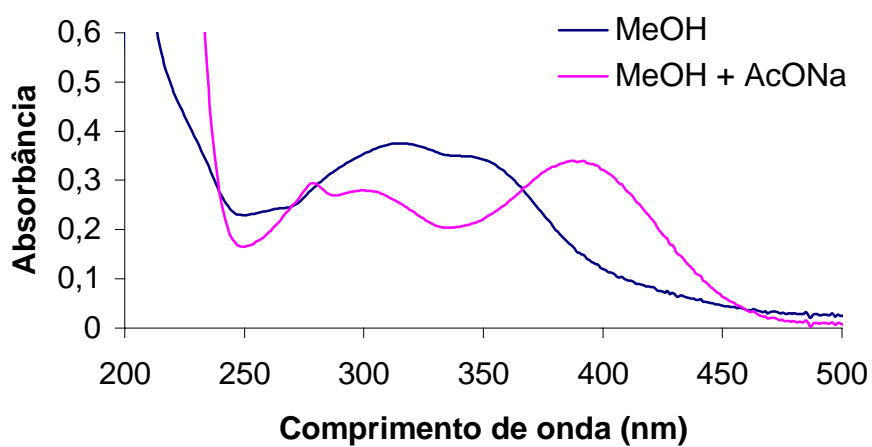
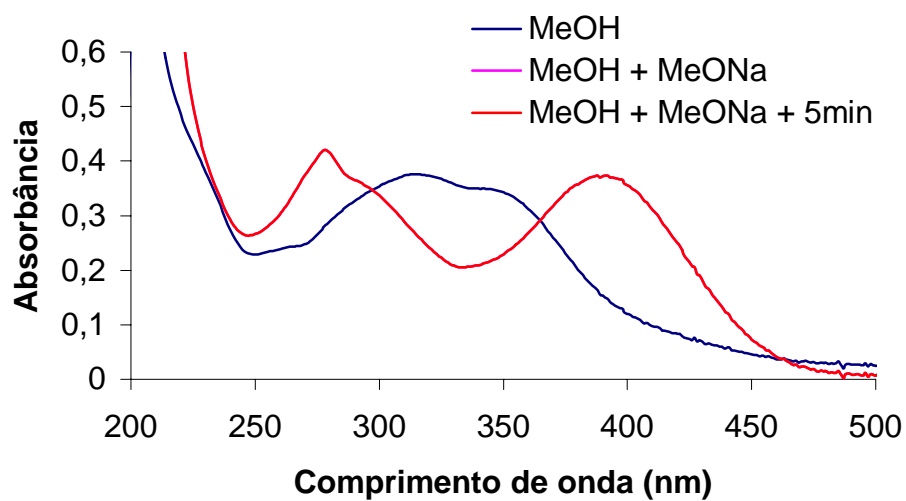
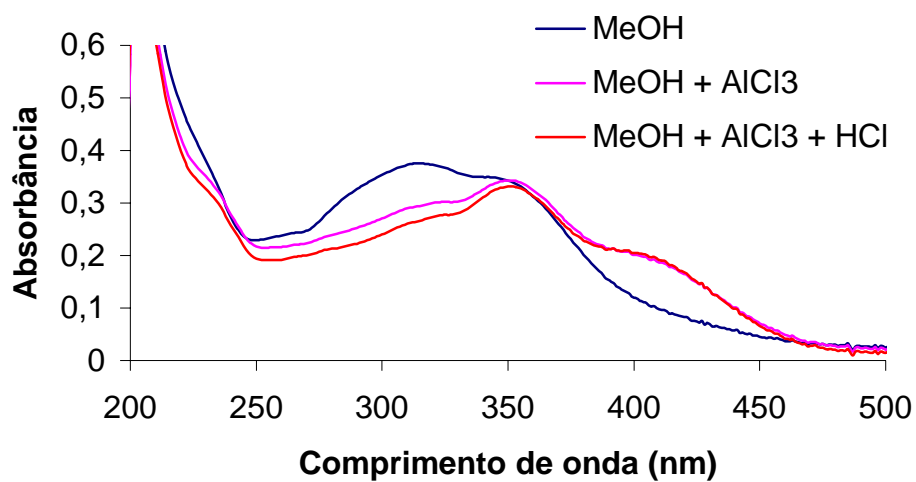


Figura 108 – Espectro no UV de **DV11** em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

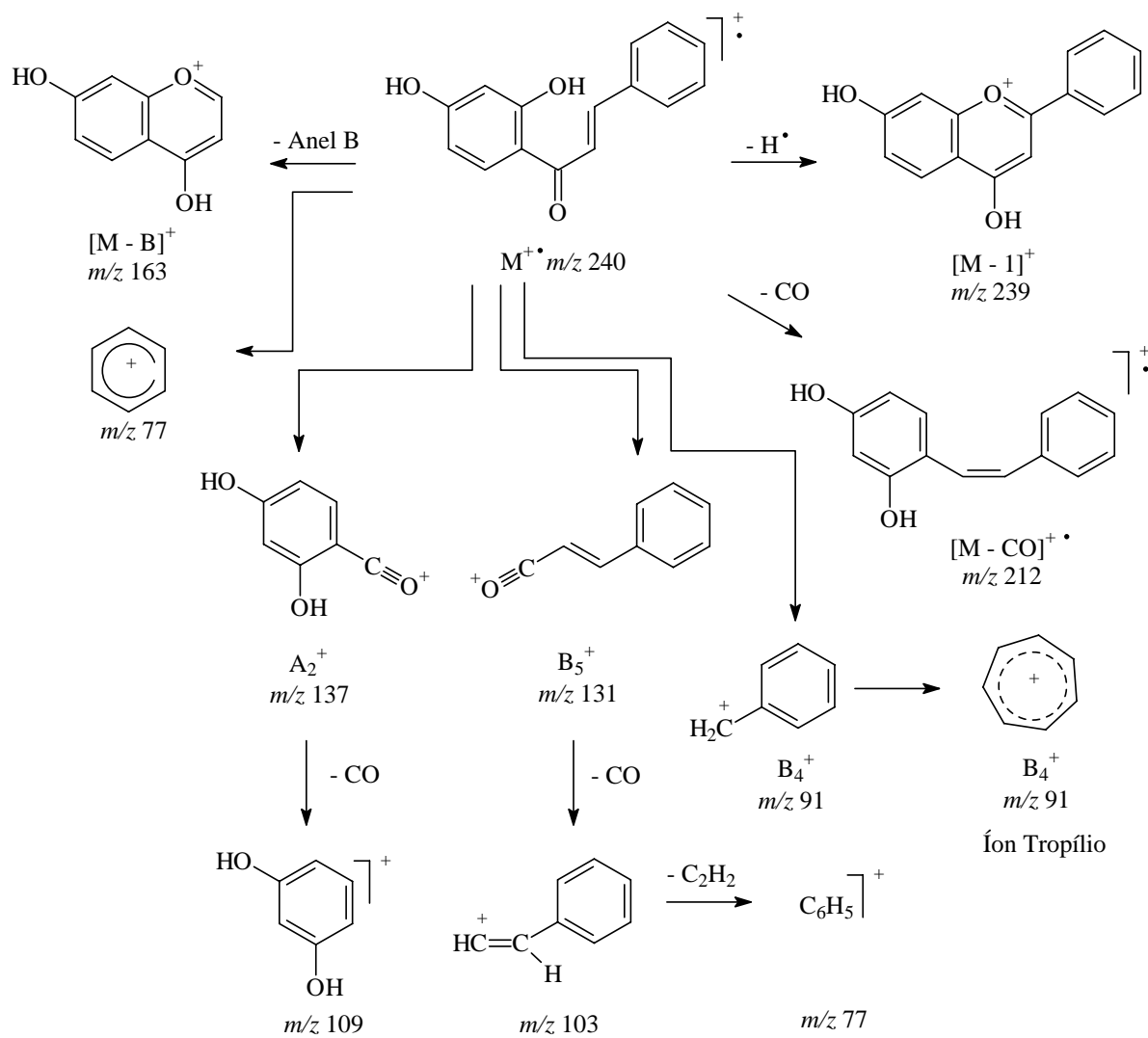
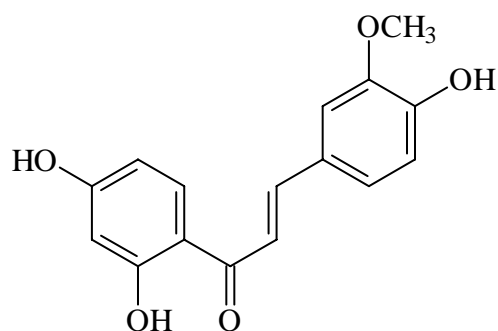


Figura 109 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV11

## 6.6.2. Identificação da 2',4,4'-triidroxi-3-metoxichalcona



3- Metoxi-2',4,4'-triidroxi-chalcona  
( **DV15** )

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 111, p. 171) e  $^1\text{H}$  (Figura 110, p. 170) de **DV15** em conjunto com experimento DEPT (Figura 112, p. 171) apresentaram sinais para 16 carbonos e 11 hidrogênios. Estes dados aliados ao íon molecular em  $m/z$  286 observado no EM (Figura 113, p. 172) permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$ .

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  permitiu identificar os sinais característicos do esqueleto de uma chalcona substituída por um grupo metoxílico (Figura 110, p. 170; Tabela 40, p. 181). Os dados do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , auxiliado por experimento DEPT  $135^\circ$ , mostraram a presença de dois sinais de deslocamentos de  $\text{C}-sp^2$  hidrogenados ( $\delta$  145,97 e  $\delta$  124,97), além da carbonila em  $\delta$  193,55 e de um grupo metoxílico em  $\delta$  56,56 (Tabela 40, p. 181). Estes dados, especialmente o sinal de  $\text{C}-\alpha$ , confirmaram que a substância tratava-se de uma chalcona (Figuras 111 e 112, p. 171).

Análise do EMIE da substância mostrou fragmentações vizinhas a carbonila  $\text{A}_2^+$  em  $m/z$  137 (pico base), e  $\text{B}_5^+$  em  $m/z$  177. O fragmento representando a perda do anel B [ $\text{M} - (\text{anel B})^+$  em  $m/z$  163, juntamente com os fragmentos  $\text{B}_5^+$  em  $m/z$  177 e  $\text{B}_4^+$  em  $m/z$  137 sugeriram presença de hidroxila e metoxila no anel B (Figuras 113 e 115). Esta sugestão foi corroborada pelos sinais observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$  7,37 *d*,  $\delta$  6,84 *d* e  $\delta$  7,71 *dd*) referentes aos hidrogênios acoplado num sistema AMX de *spins* (Tabela 40, p. 181). Os sinais observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  referentes a carbonos aromáticos hidrogenados (Tabela 40, p. 181) confirmam a presença de substituição em C-3 e C-4 no anel B. O efeito de desproteção observado em C-3 ( $\Delta\delta = 4,52$ ) em relação a **DV20**, e o efeito de proteção em C-5 ( $\Delta\delta = 4,24$ ) sugeriram que a metoxila encontrava-se na posição C-3 (Figuras 110 e 111, p. 170 e 171).

A presença de um outro sistema AMX de *spins* observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$  6,29,  $\delta$  6,41 e  $\delta$  8,00), confirmaram que no anel A as posições C-2' e C-4' encontram-se substituídas (Figura 110, p. 170).

O espectro no UV revelou banda I de absorção mais intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 374$  nm, que sugere hidroxilação no anel B. Adição de  $\text{AlCl}_3$  na solução provocou deslocamento batocrômico de 50 nm da banda I para  $\lambda_{\text{Max}} = 424$  nm, que não retornou em presença de HCl, o que confirmando a presença hidroxila em C-2' e ausência de grupo catecol no anel B (Figura 114, p. 173). O uso de MeONa provocou um deslocamento batocrômico de 70 nm da banda I para  $\lambda_{\text{Max}} = 444$  nm, acompanhado de efeito hiperacrômico, o que confirma a presença de 4-OH livre. Já o deslocamento batocrômico de 36 nm da banda I observado após adição de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ( $\lambda_{\text{Max}} = 410$  nm) confirmou que a posição 4'-OH encontrava-se livre. A metoxila, portanto encontra-se na posição C-3 (Figura 114, p. 173).

Estes dados aliados a comparação com dados descritos na literatura (LaDUKE, 1982) confirmaram que a substância **DV15** trata-se da 2',4,4'-trihidroxí-3-metoxichalcona (homobuteína), a qual foi isolada pela primeira vez de *Acacia neovernicosa* (CLARK-LEWIS, 1972) e posteriormente de *Tithonia* (LaDUKE, 1982), *Wedelia asperima* (CALANASAN, 1998) e *Erythrina abyssinica* (YENESEW, 2004).

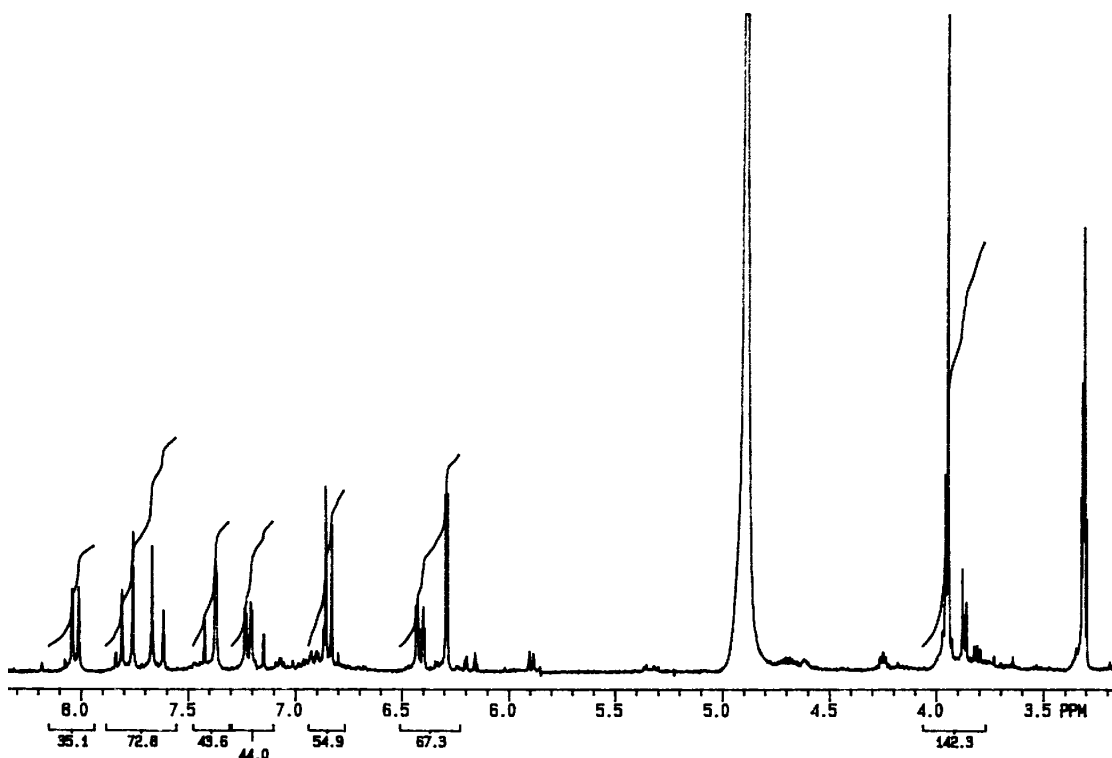


Figura 110 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV15** [300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm)]

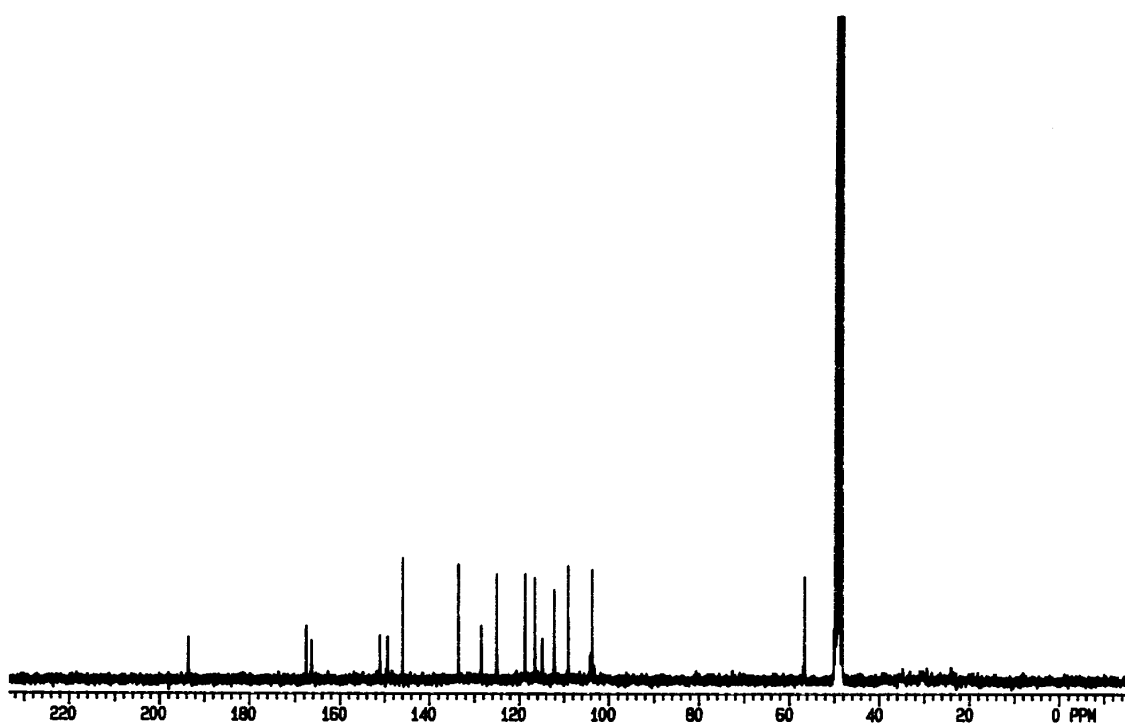


Figura 111 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de DV15 [75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm)]

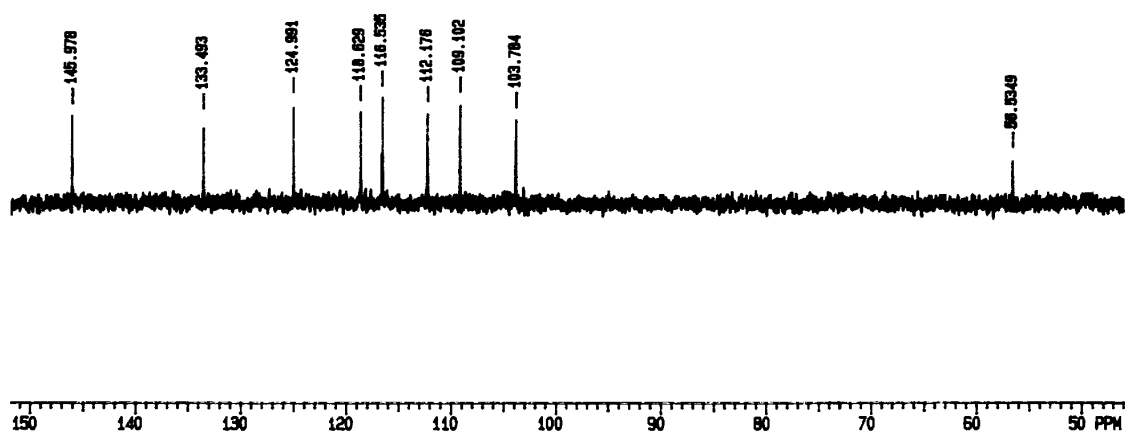
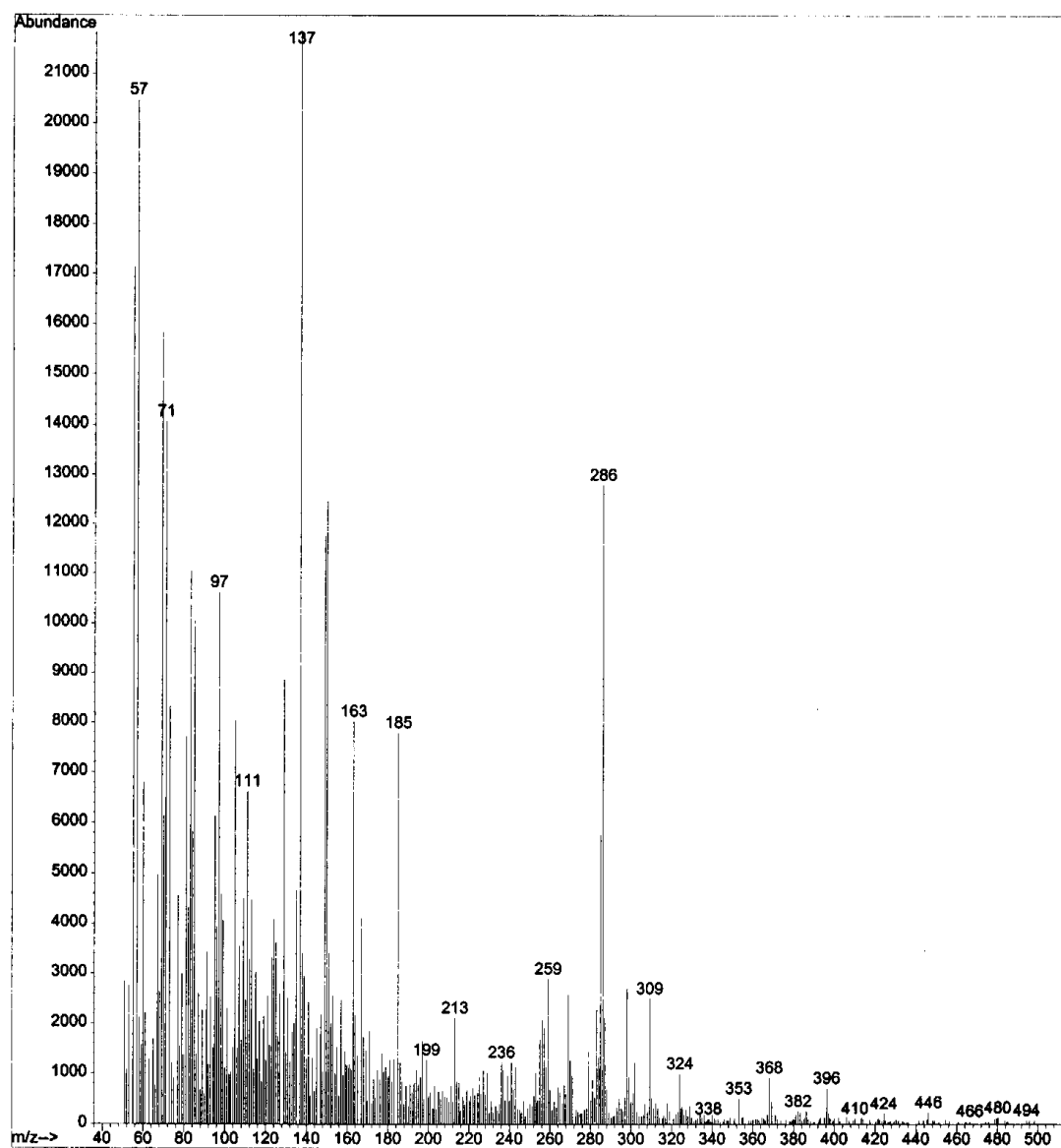


Figura 112 – Experimento DEPT 135° de DV15 (ampliação) [75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm)]



Figura 113 – EMIE 70 eV de **DV15**

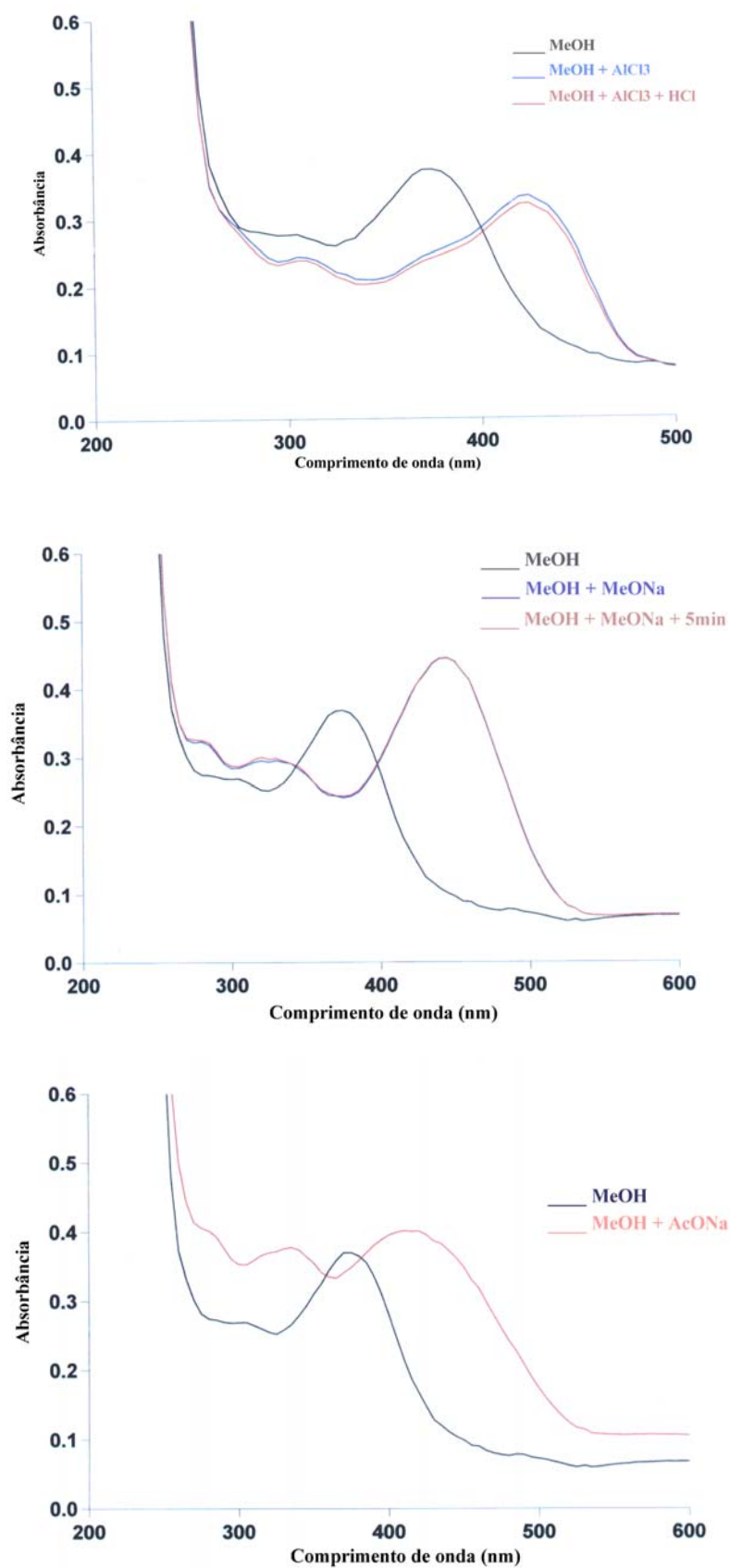


Figura 114 – Espectro no UV de **DV15** em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

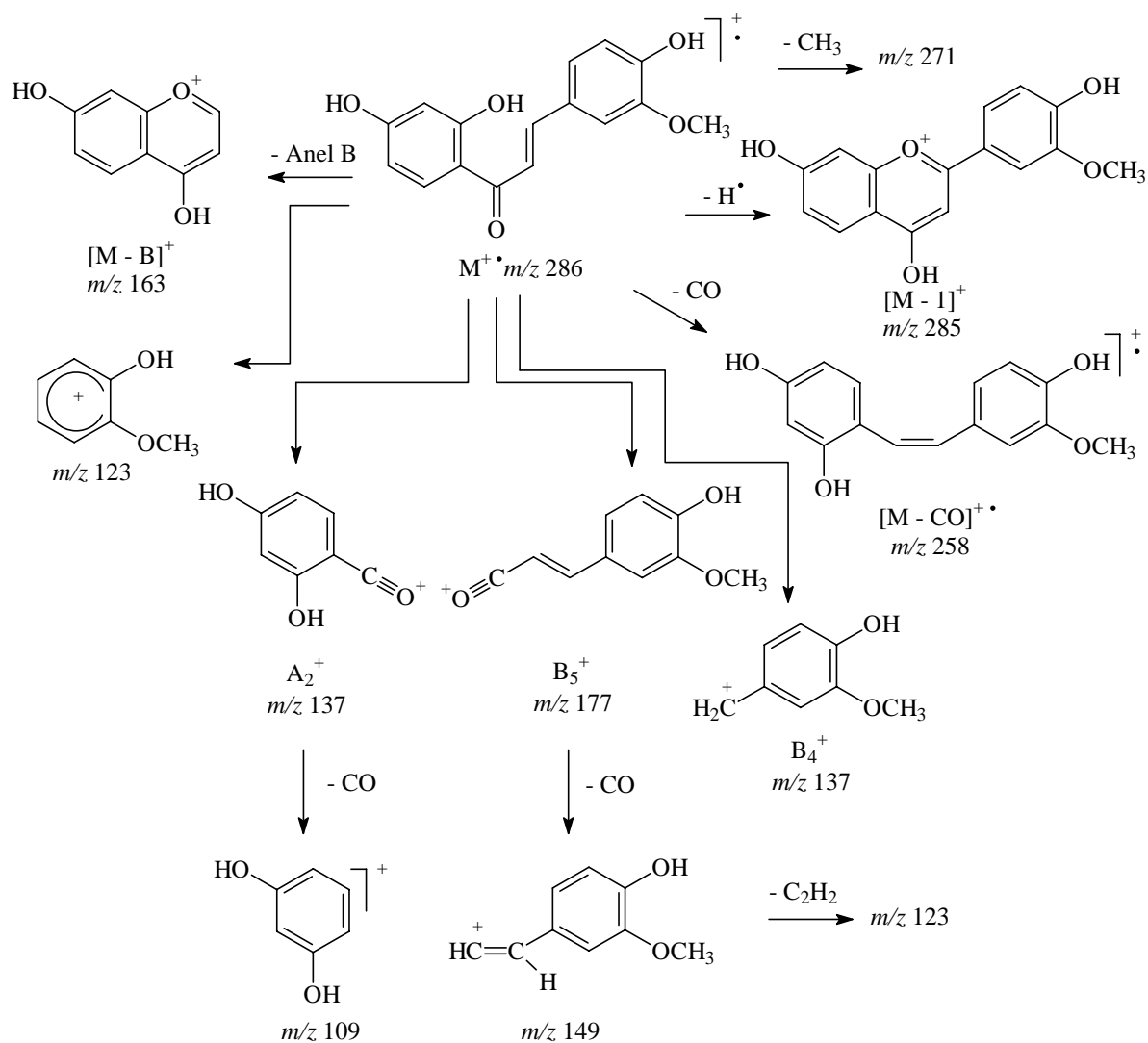
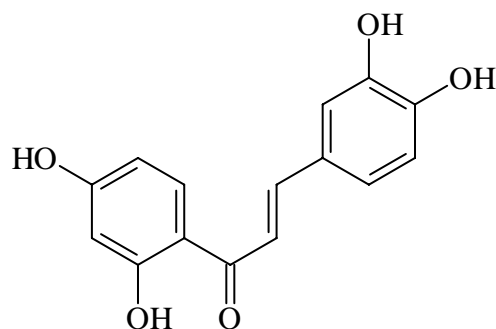


Figura 115 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV15

## 6.6.3. Identificação da 2',3,4,4'-tetraidroxichalcona



2',3,4,4'-Tetrahidroxichalcona  
( **DV20** )

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 118, p. 177) e  $^1\text{H}$  (Figura 116, p. 176) de **DV20** em conjunto com o experimento DEPT (Figura 119, p. 177) apresentaram sinais para 15 carbonos e 8 hidrogênios. Estes dados aliados ao íon molecular em  $m/z$  272 observado no EM (Figura 120, p. 178) permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ .

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  permitiu identificar os sinais característicos do esqueleto de chalcona (Figura 117, p. 176; Tabela 40, p. 181). Estes dados em conjunto com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , auxiliado por experimento DEPT  $135^\circ$ , mostraram dois sinais de deslocamento para  $\text{C-sp}^2$  hidrogenados ( $\delta$  145,52 e  $\delta$  123,43) que em conjunto com a carbonila ( $\delta$  190,46) confirmaram que a substância tratava-se de uma chalcona (Figuras 118 e 119, p. 177; Tabela 40, p. 181).

O EMIE da substância mostrou as fragmentações vizinhas a carbonila características  $\text{A}_2^+$  em  $m/z$  137 (pico base) e  $\text{B}_5^+$  em  $m/z$  163. Os fragmentos  $\text{A}_2^+$  e  $\text{B}_5^+$  sugeriram a presença de duas hidroxilas no anel B e duas hidroxilas no anel A (Figuras 120 e 122, p. 178 e 180). Esta sugestão foi reforçada pelos sinais de um sistema AMX de *spins* de H no RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$  7,35 *d*,  $\delta$  6,91 *d* e  $\delta$  7,22 *dd*) (Tabela 40, p. 181). Os sinais no RMN  $^{13}\text{C}$  obtidos em mistura com **DV19** de mostraram a presença de carbonos metínicos aromáticos (Tabela 40, p. 181) que também confirmam a substituição em C-3 e C-4 (Figura 118, p. 177).

A presença de outro sistema AMX de *spins* observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$  6,36,  $\delta$  6,46 e  $\delta$  7,95), confirmaram que no anel A as posições C-2' e C-4' encontram-se substituídas (Figura 117, p. 176).

O espectro no UV revelou banda I de absorção mais intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 383$  nm, sugerindo hidroxilação no anel B. Adição de  $\text{AlCl}_3$  na solução provocou deslocamento batocrômico de

74 nm da banda I para  $\lambda_{\text{Max}} = 457$  nm e deslocamento hipsocrômico de 30 nm em presença de HCl retrocedendo para  $\lambda_{\text{Max}} = 427$  nm, o que confirmou a presença de 2'-OH e a presença de grupo catecol no anel B (Figura 121, p. 179). O uso de MeONa provocou deslocamento batocrômico de 58 nm da banda I para  $\lambda_{\text{Max}} = 441$  nm, acompanhado de efeito hiperocrômico, o que confirma a presença de 4-OH livre. O deslocamento batocrômico de 58 nm da banda I em presença de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  para  $\lambda_{\text{Max}} = 441$  nm confirmou que a presença de hidroxila livre em C- 4' (Figura 121, p. 179).

Estes dados aliados à comparação com os da literatura (LIN, 1989) confirmaram que a substância **DV20** trata-se da 2',3,4,4'-tetraidroxichalcona (buteína), a qual foi isolada pela primeira vez de *Butea frondosa* (PERKIN, 1904) e é de ocorrência comum em vegetais.

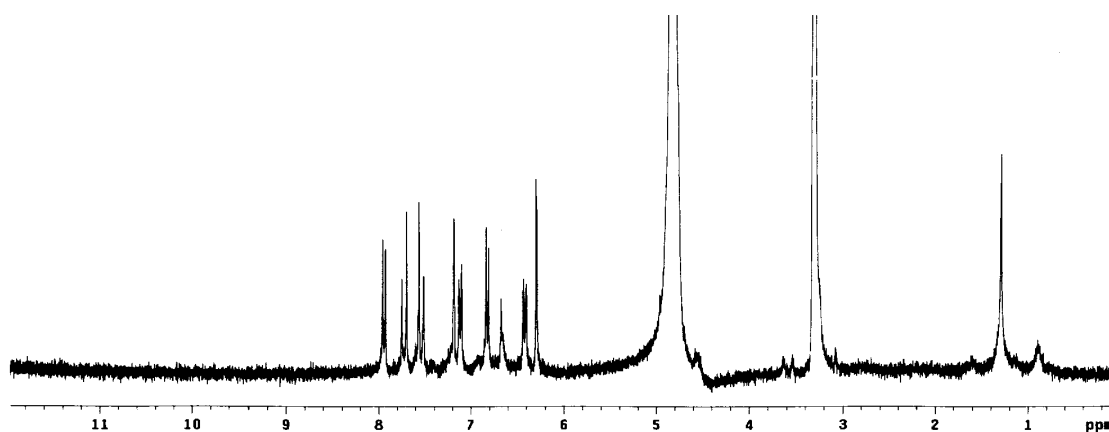


Figura 116 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV20** [300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm)]

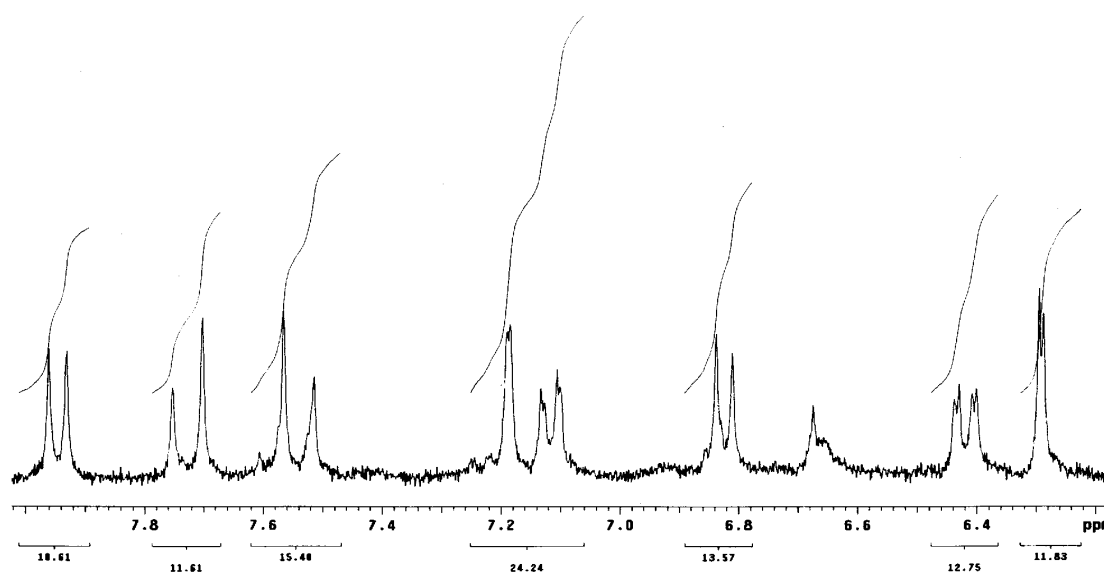


Figura 117 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV20** (integração) [300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm)]

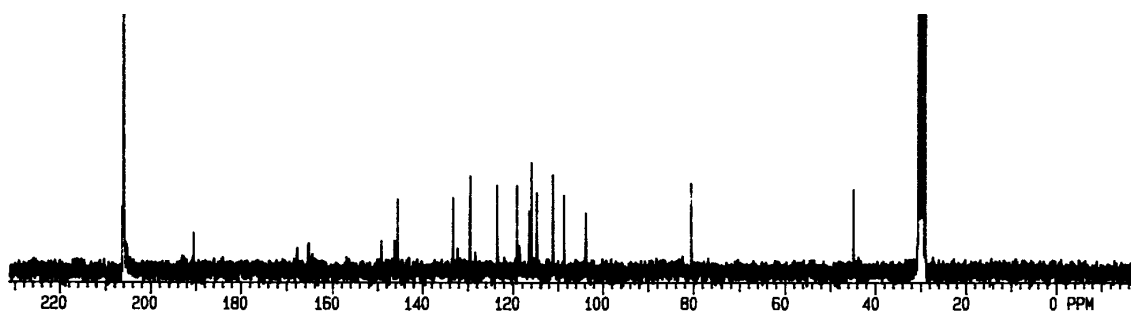


Figura 118 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV20 + DV19** [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

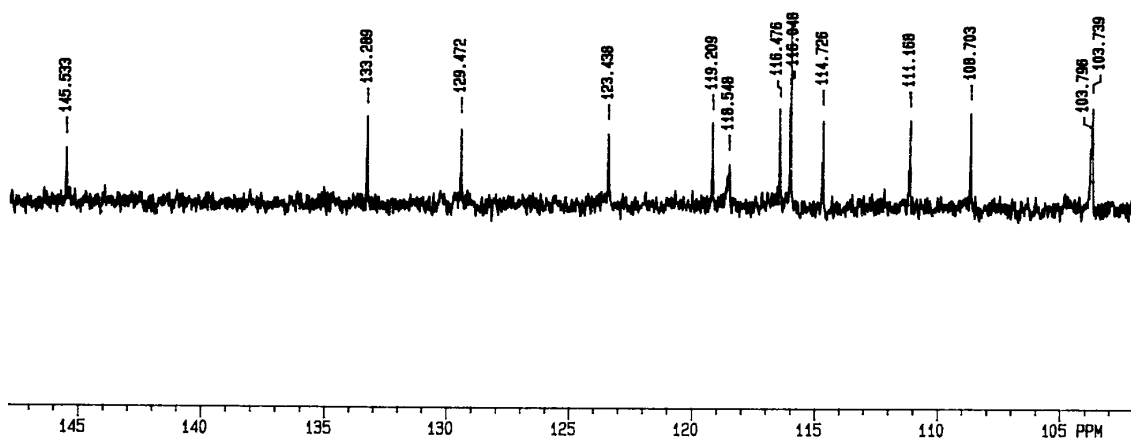


Figura 119 – Experimento DEPT 135° de **DV20 + DV19** (ampliação) [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

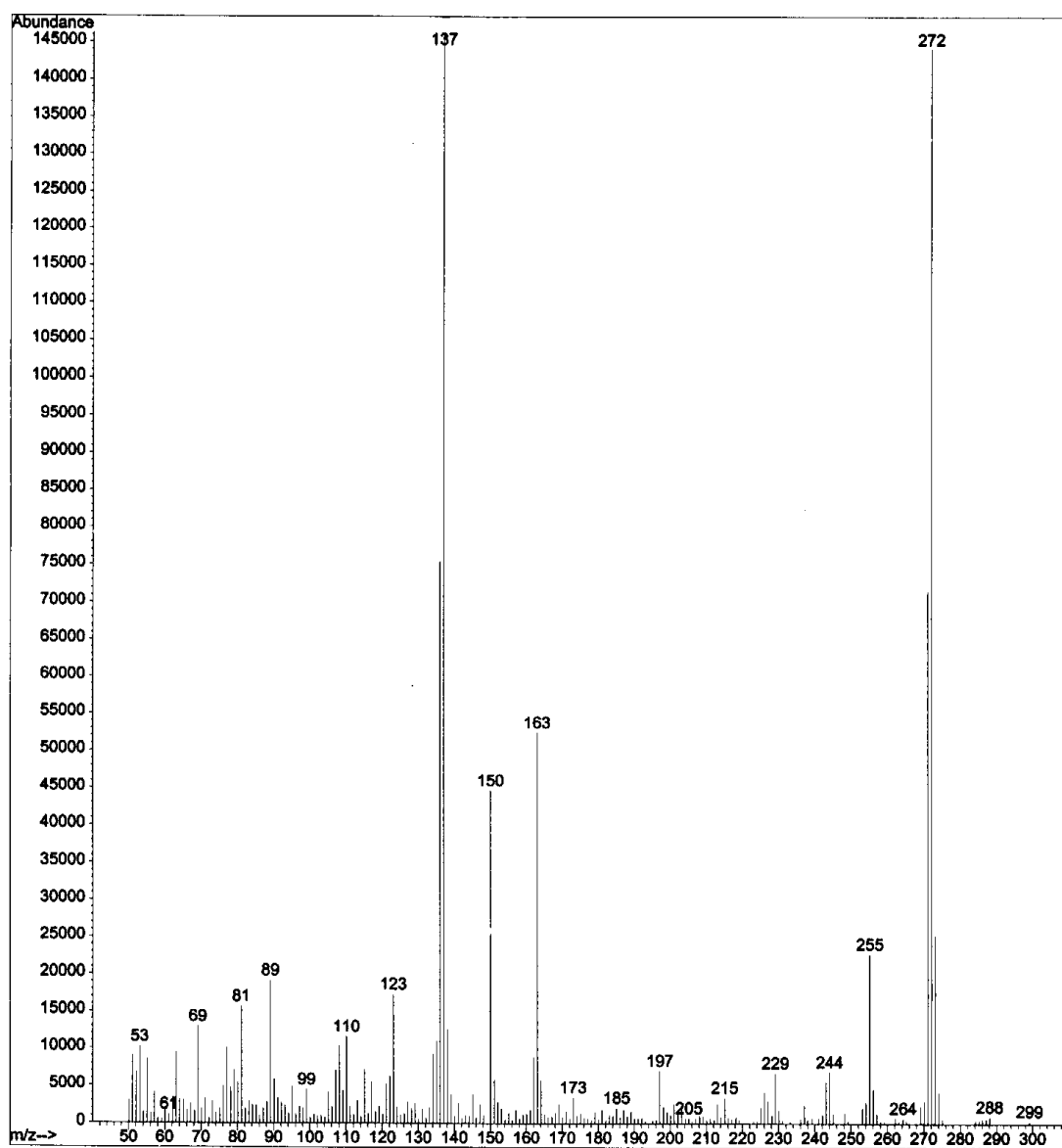


Figura 120 – EMIE 70 eV de DV20

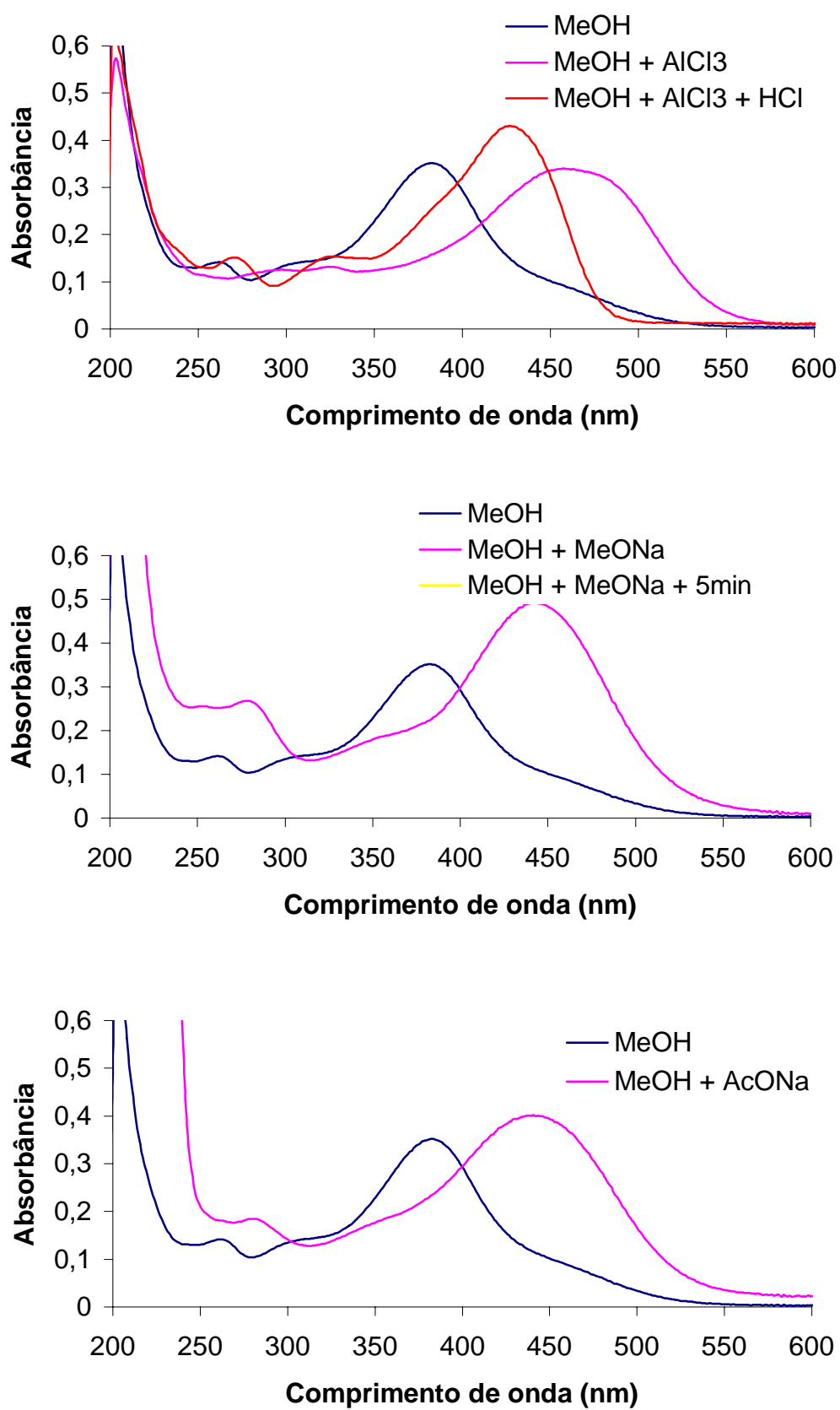


Figura 121 – Espectro no UV de **DV20** em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa



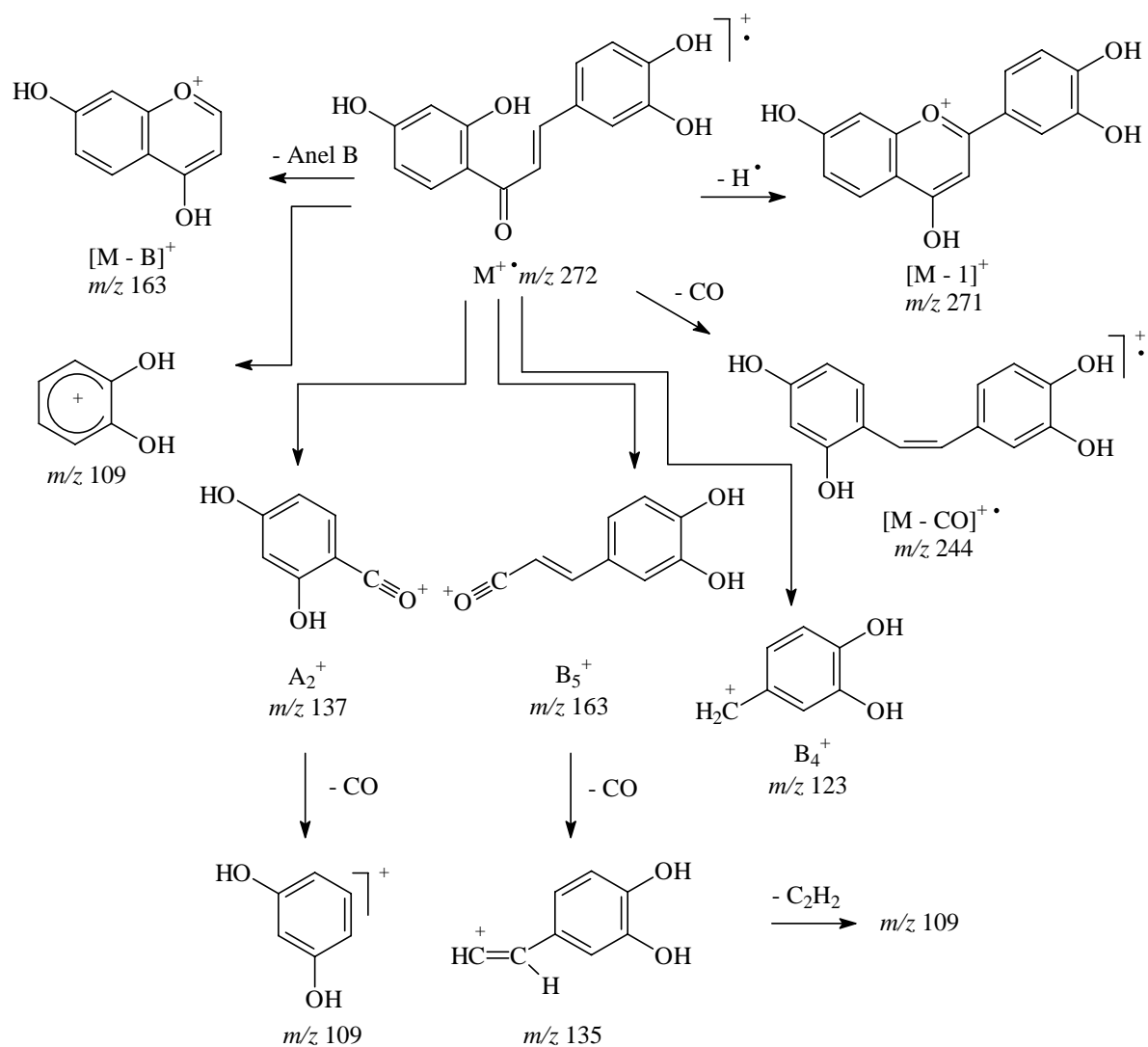


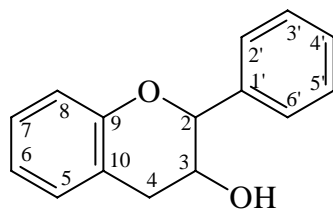
Figura 122 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV20

Tabela 40 – Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) das chalconas [ $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

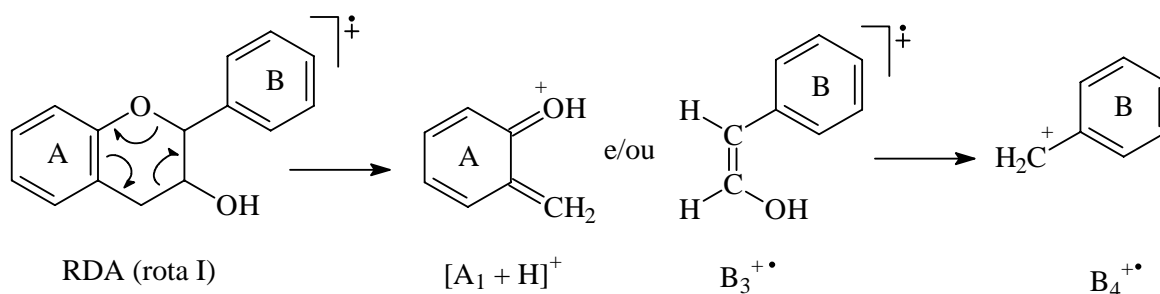
Posição	DV11		DV15		DV20	
	$\delta\text{-H}$	$\delta\text{-C}$	$\delta\text{-H}^{\S}$	$\delta\text{-C}^{\S}$	$\delta\text{-H}^{\S}$	$\delta\text{-C}^*$
$\beta$	7,89 <i>d</i> (15,5)	144,53	7,78 <i>d</i> (15,4)	145,97	7,73 <i>d</i> (15,6)	145,52
$\alpha$	7,58 <i>d</i> (15,5)	120,51	7,64 <i>d</i> (15,4)	124,97	7,54 <i>d</i> (15,6)	123,43
$\beta'$	-	192,00	-	193,55	-	190,46
1'	-	114,51	-	114,76	-	114,73
2'	-	163,03	-	166,36	-	165,58
3'	6,45 <i>d</i> (2,1)	103,83	6,29 <i>d</i> (2,4)	103,80	6,36 <i>d</i> (2,1)	103,83
4'	-	166,54	-	167,51	-	167,62
5'	6,47 <i>dd</i> (2,1; 8,6)	107,85	6,41 <i>dd</i> (2,4; 8,9)	109,11	6,46 <i>dd</i> (2,1; 8,9)	108,71
6'	7,83 <i>d</i> (8,6)	131,98	8,00 <i>d</i> (8,9)	133,49	7,95 <i>d</i> (8,9)	133,28
1	-	134,91	-	128,45	-	128,40
2	7,66 <i>m</i>	128,53	7,37 <i>d</i> (1,8)	116,56	7,35 <i>d</i> (2,0)	116,06
3	7,43 <i>m</i>	129,00	-	150,97	-	146,45
4	7,43 <i>m</i>	130,64	-	149,46	-	149,25
5	7,43 <i>m</i>	129,00	6,84 <i>d</i> (8,2)	112,25	6,91 <i>d</i> (7,8)	116,49
6	7,66 <i>m</i>	128,53	7,71 <i>dd</i> (1,8; 8,2)	118,67	7,22 <i>dd</i> (2,0; 7,8)	118,58
$\text{OCH}_3$	-	-	3,94 <i>s</i>	56,56	-	-

Multiplicidade obtida por DEPT,  $\S\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $*(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .

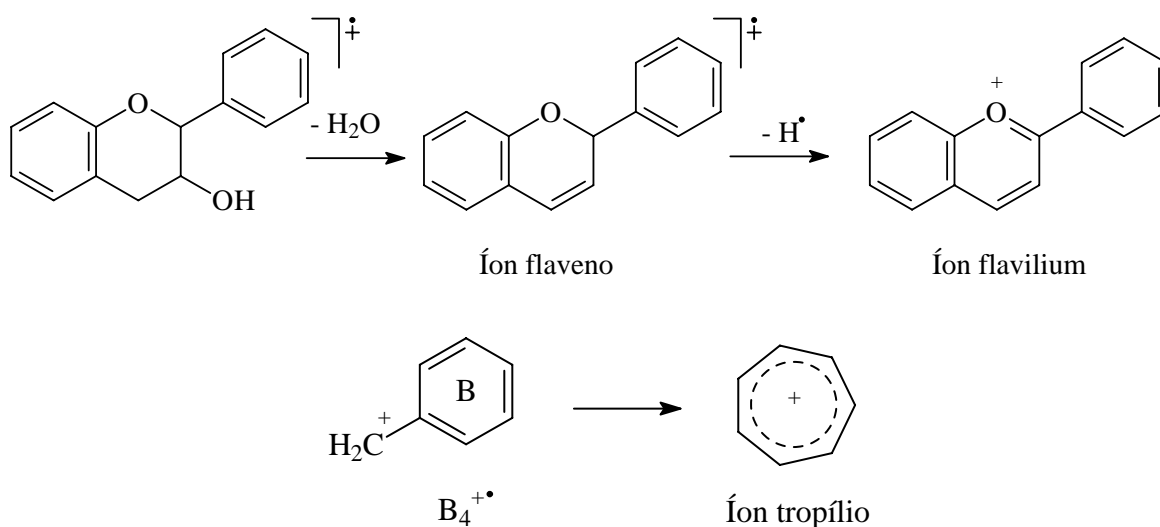
## 6.7. Flavan-3-ol



Os flavan-3-óis, também denominados de catequinas, pertencem à classe dos flavanóides, que não possuem o grupo 4-C=O nem conjugação entre os anéis A e B. Por este motivo sua absorção máxima no UV é observada em comprimentos de onda mais baixos, dificultando a análise do espectro no UV (AGRAWAL, 1989).

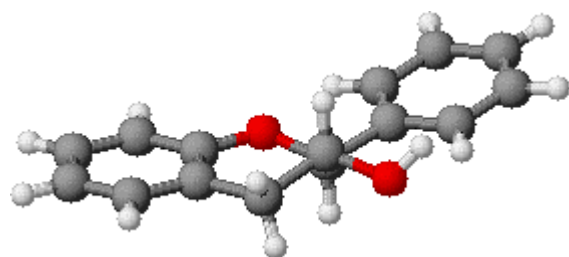
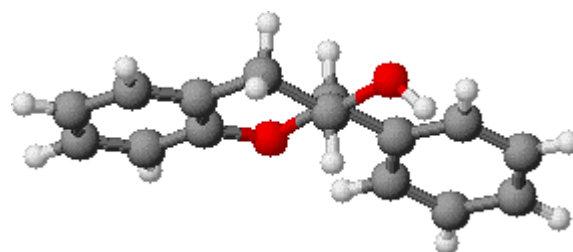
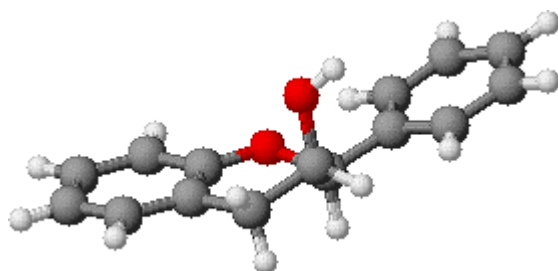
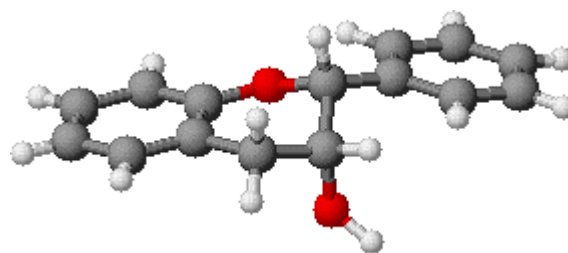


O espectro de massas por impacto de elétrons (EMIE) dos flavan-3-óis apresenta íon molecular  $[M]^{+\bullet}$  pouco intenso, sendo dominado pelos fragmentos de RDA pela rota I e pelos íons derivados destes fragmentos. O pico base em geral é o fragmento que conserva o anel A com transferência de H  $[A_1 + H]^+$ . Outros fragmentos que se destacam são  $[M - H_2O]^{+\bullet}$  (íon flaveno),  $[M - H_2O - H]^{+\bullet}$  (íon flavílium),  $[M - H_2O - (\text{anel})B]^{+\bullet}$  e o íon tropílio proveniente do rearranjo de  $B_4^+$  (MABRY, 1975).

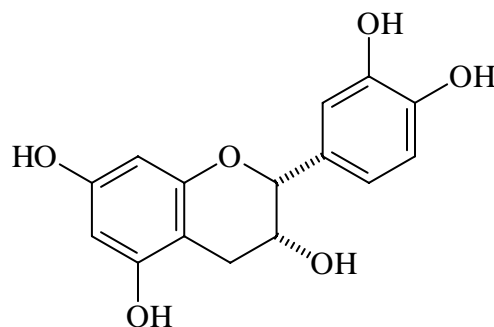


Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos flavan-3-óis são caracterizados pelos hidrogênios alifáticos presentes no anel C, sendo que estes dependem da estereoquímica e da conformação deste anel. O hidrogênio oximetínico H-2 encontra-se mais desprotegido tanto na *epicatequina* ( $\delta \sim 4,74$ ) que possui OH axial em C-3, quanto na *catequina* ( $\delta \sim 4,49$ ) que possui OH equatorial em C-3, devido a desproteção adicional do anel B. O H-3 $_{eq}$  da *epicatequina* encontra-se mais desprotegido ( $\delta \sim 4,01$ ) que o H-3 $_{ax}$  da *catequina* ( $\delta \sim 3,83$ ). Os hidrogênios metilênicos benzílicos H-4 $_{ax}$  e H-4 $_{eq}$  encontram-se mais protegidos em ambas ( $\delta 2,80-2,30$ ), sendo ligeiramente mais protegidos na *catequina*. Os demais deslocamentos de hidrogênio dos anéis A e B aromáticos pouco diferem dos demais flavonóides, sendo difícil distinguir algumas vezes entre H-6 e H-8 (MARKAN, 1994).

Os deslocamentos no RMN  $^{13}\text{C}$  dos flavanóides podem ser divididos em duas regiões bem distintas, os C- $sp^3$  C-2, C-3 e C-4 do anel C são registrados em  $\delta$  abaixo de 90 e os C- $sp^2$  em  $\delta$  acima de 90. Os valores de deslocamento dos C- $sp^2$  dependem da hidroxilação e substituição nos anéis A e B, já tendo sido discutidos em outras classes de flavonóides. Já os valores de deslocamento dos C- $sp^3$  dependem da substituição e funcionalização, assim como da estereoquímica do anel C. A conformação mais estável é geralmente aquela em que o anel B encontra-se em posição equatorial, porém a introdução de um substituinte volumoso em C-3 força o anel B para posição axial. Nos flavan-3-óis a conformação adotada é a de meia-cadeira e o anel B é quase exclusivamente equatorial. Portanto, na *epicatequina* a 3-OH será axial e na *catequina* a 3-OH será equatorial. Os deslocamentos de carbono serão então controlados pela orientação do grupo 3-OH. O C-2 oximetínico apresenta deslocamento em  $\delta 76,7-82,3$ , cerca de 12-15 ppm mais desprotegido que C-3 oximetínico em  $\delta 65,1-69,5$  devido ao efeito de desproteção do anel B. Enquanto que o sinal do carbono metilênico benzílico é registrado em  $\delta 24,0-32,6$ . A diferença epimérica entre a *catequina/epicatequina* é  $\Delta\delta + 3,4$  (C-2),  $\Delta\delta + 2,1$  (C-3) e  $\Delta\delta - 0,7$  (C-4) (AGRAWAL, 1989).

(-)-2*S*,3*R*-catequina(+) -2*R*,3*S*-catequina(+) -2*S*,3*S*-epicatequina(-) -2*R*,3*R*-epicatequina

Os flavan-3-óis, assim como os demais flavonóides que possuem centro de assimetria, apresentam a estereoquímica absoluta intimamente ligada à rotação da luz planopolarizada  $[\alpha]_D$ . Assim, a (-)-*epicatequina* (levorrotatória) apresenta configuração 2*R*,3*R* e a (+)-*epicatequina* (dextrorrotatória) apresenta configuração 2*S*,3*S*. De forma semelhante a (-)-*catequina* apresenta configuração 2*S*,3*R* e a (+)-*catequina* apresenta configuração 2*R*,3*S* (MARKAN, 1982).

6.7.1. Identificação da *epicatequina*

*epicatequina*  
(**DV22**)

Análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 125, p. 187) e  $^1\text{H}$  (Figura 123, p. 186) de **DV22** auxiliada por experimento DEPT (Figura 126, p. 187) apresentou sinais para 15 carbonos e 9 hidrogênios. Estes dados em conjunto com seu íon molecular em  $m/z$  290 observado no EM (Figura 127, p. 188) permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ .

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 124, p. 186) apresentou perfil característico para um flavan-3-ol. Esta observação foi confirmada pelos deslocamentos no RMN  $^{13}\text{C}$  para os C- $sp^3$  hidrogenados observados para C-2, C-3 e C-4 (Figuras 125 e 126, p. 187; Tabela 41, p. 191).

Os fragmentos de RDA  $[\text{A}_1 + \text{H}]^+$  em  $m/z$  139 (pico base) e  $\text{B}_3^{+\bullet}$  em  $m/z$  152 sugeriram a presença de duas hidroxilas no anel A e três hidroxilas distribuídas entre B e C. O íon  $\text{B}_4^{+\bullet}$  que rearranja para o íon tropílio em  $m/z$  123 confirmou a presença de duas hidroxilas em B e sugere que a terceira se encontra em C na posição C-3 (Figuras 127 e 129, p. 188 e 190).

O espectro no UV mostrou banda I de absorção pouco intensa em  $\lambda_{\text{Max}} = 370$  nm, que apresentou deslocamento batocrômico de 54 nm para  $\lambda_{\text{Max}} = 424$  nm acompanhado de efeito hiperacrômico em presença de  $\text{AlCl}_3$  (Figura 128, p. 189). Este deslocamento sugere a presença de duas hidroxilas em *orto* no anel B. Os deslocamentos no RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  7,05 *d* ( $J = 1,8$  Hz),  $\delta$  6,79 *d* ( $J = 8,1$  Hz) e  $\delta$  6,90 *dd* ( $J = 1,8$  e 8,1 Hz) de sistema ABX de *spins* (Figura 124, p. 186) em conjunto com os deslocamentos de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 125, p. 187) confirmaram que o anel B apresenta hidroxilas em C-3 e C-4 (Tabela 41, p. 191).

Os sinais de RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  5,93 *d* ( $J = 2,4$  Hz) e  $\delta$  6,03 *d* ( $J = 2,4$  Hz) acoplando num sistema AX de *spins* (Figura 124, p. 186) sugeriu que o anel A encontrava-se hidroxilado nas posições C-5 e C-7 (Tabela 41, p. 191).

Análise destes dados e comparação com dados da literatura (JACQUES, 1974), confirmaram que **DV22** trata-se da 3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavana (*epicatequina*). O sinal

negativo do  $[\alpha]_D^{25} = -16,0$  confirmou a estereoquímica como sendo *2R,3R*, tratando-se portanto de (-)-*epicatequina*.

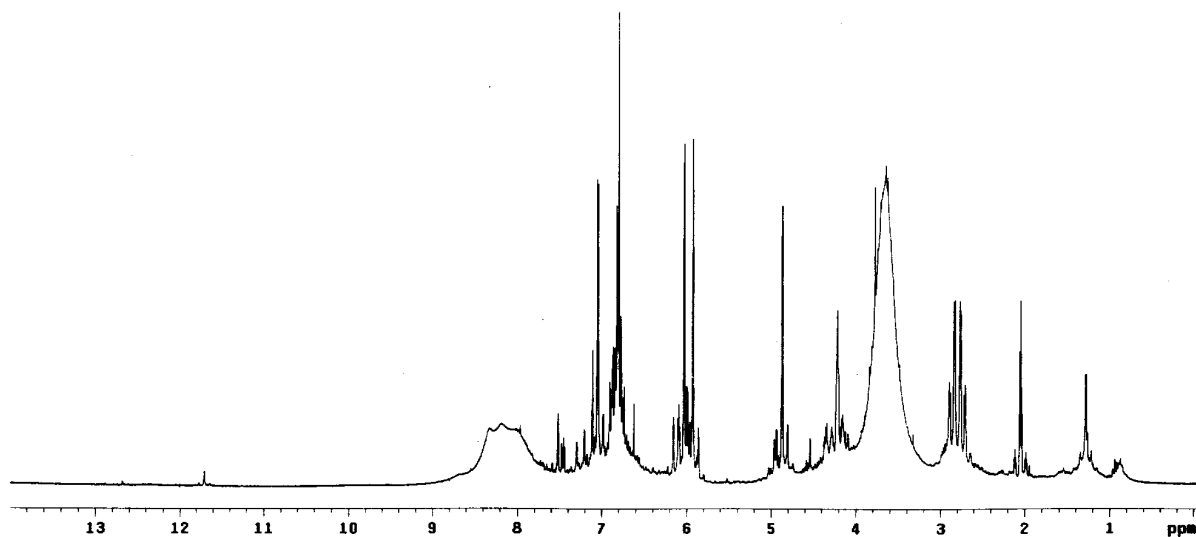


Figura 123 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV22** [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

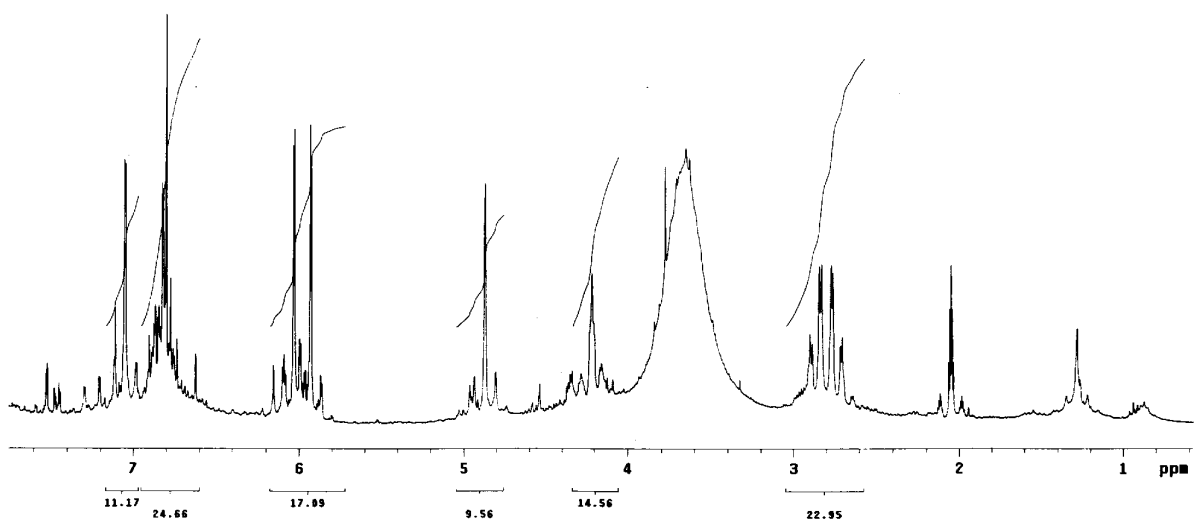


Figura 124 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV22** (integração) [300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

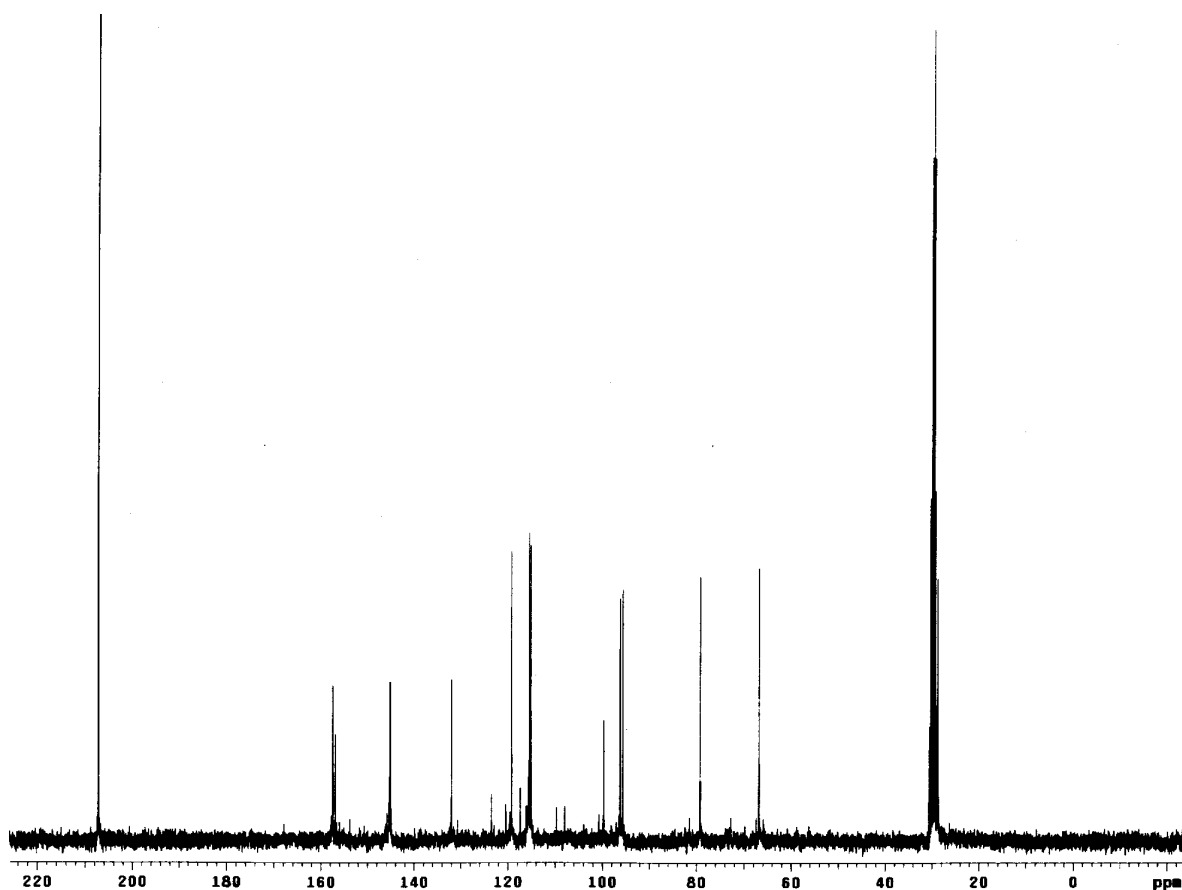


Figura 125 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de DV22 [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]

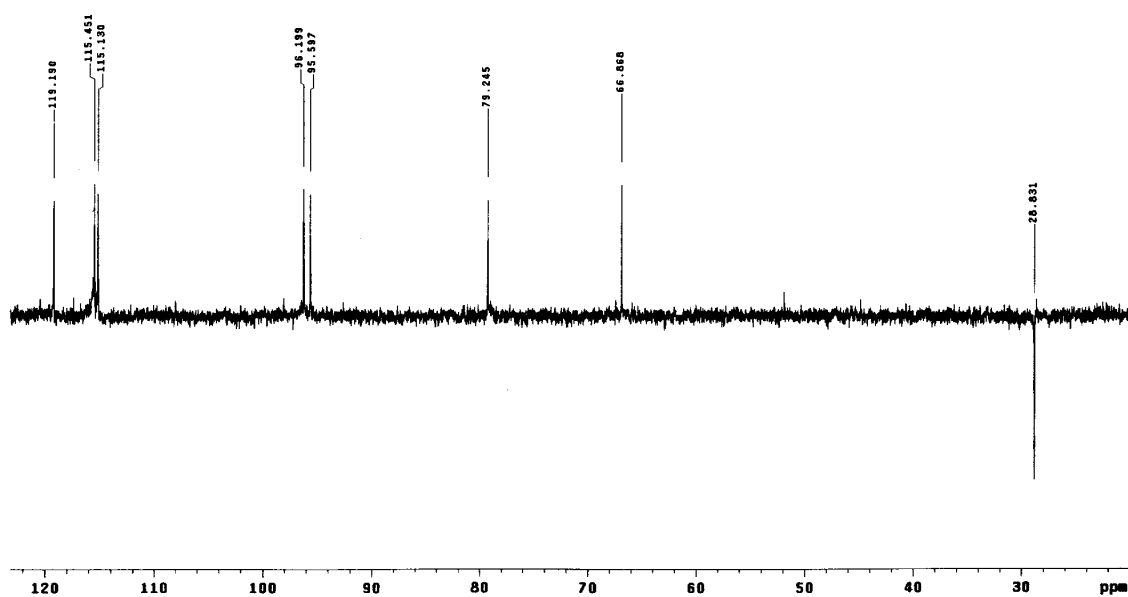


Figura 126 – Experimento DEPT 135° de DV22 (ampliação) [75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\delta$  (ppm)]



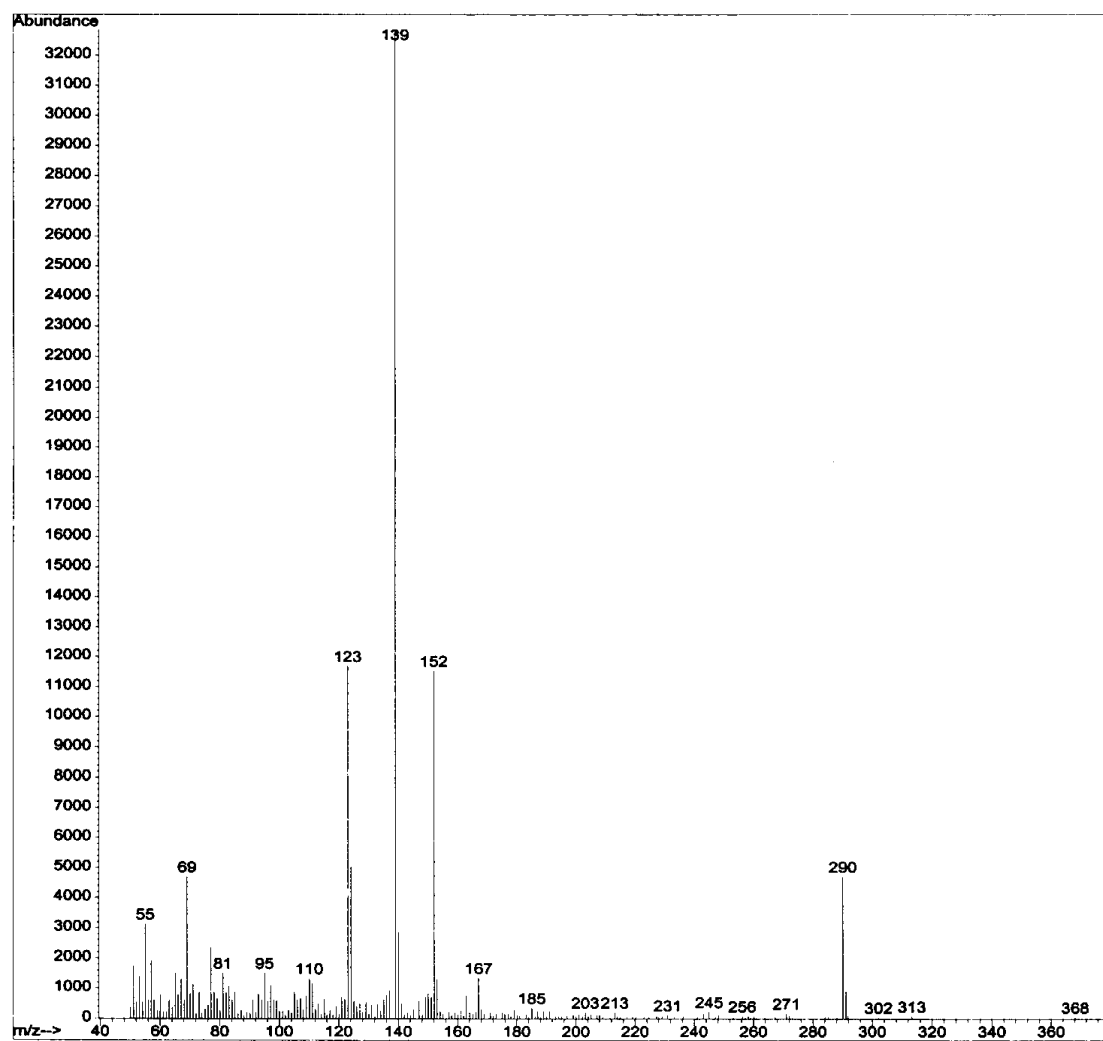


Figura 127 – EMIE 70 eV de DV22

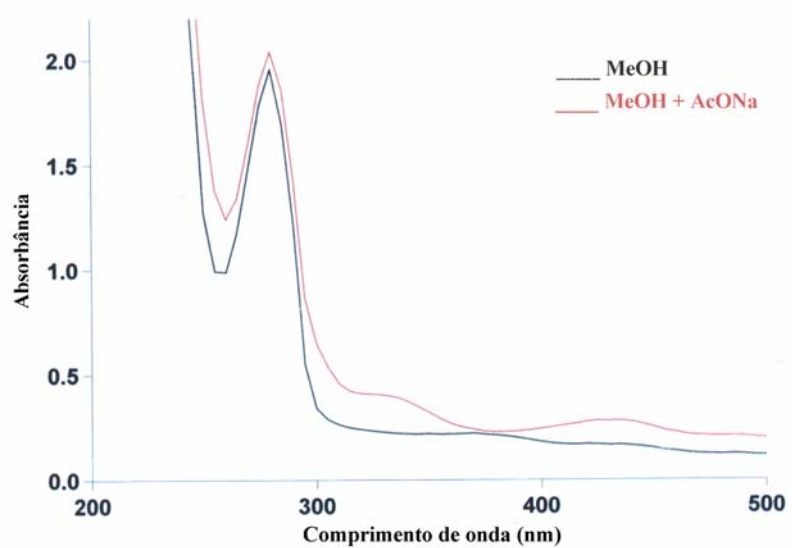
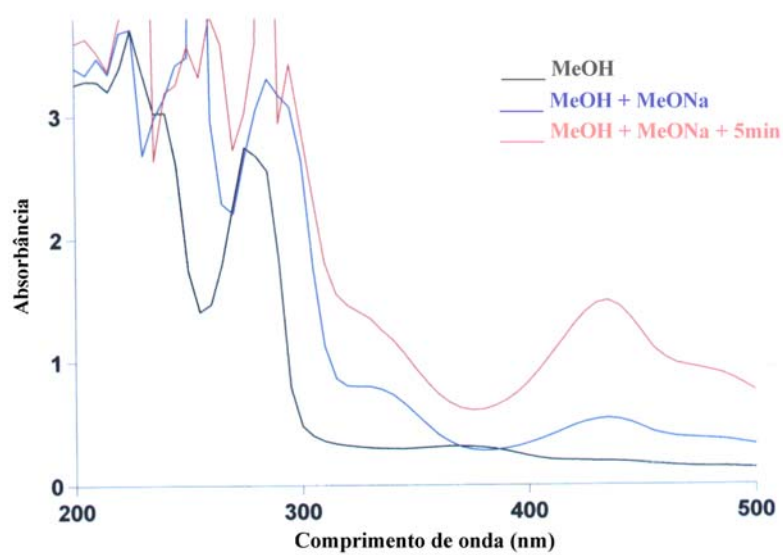
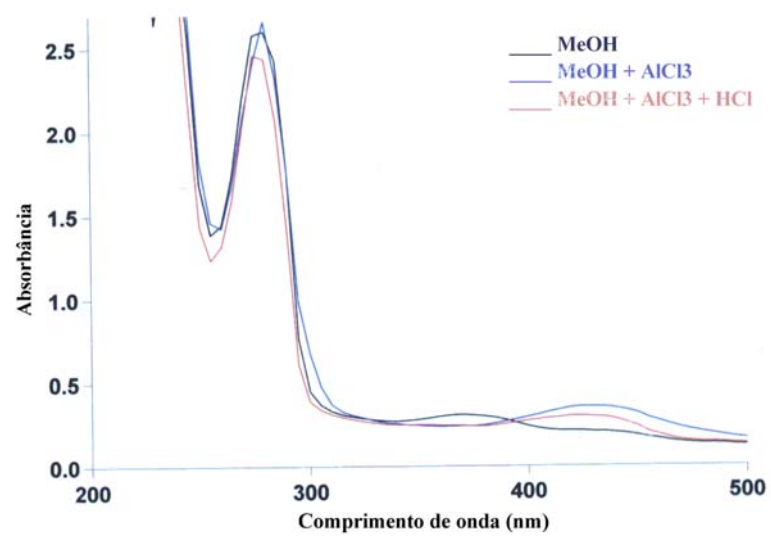


Figura 128 – Espectro no UV de DV22 em CH<sub>3</sub>OH com: a) AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub> + HCl, b) MeONa, c) AcONa

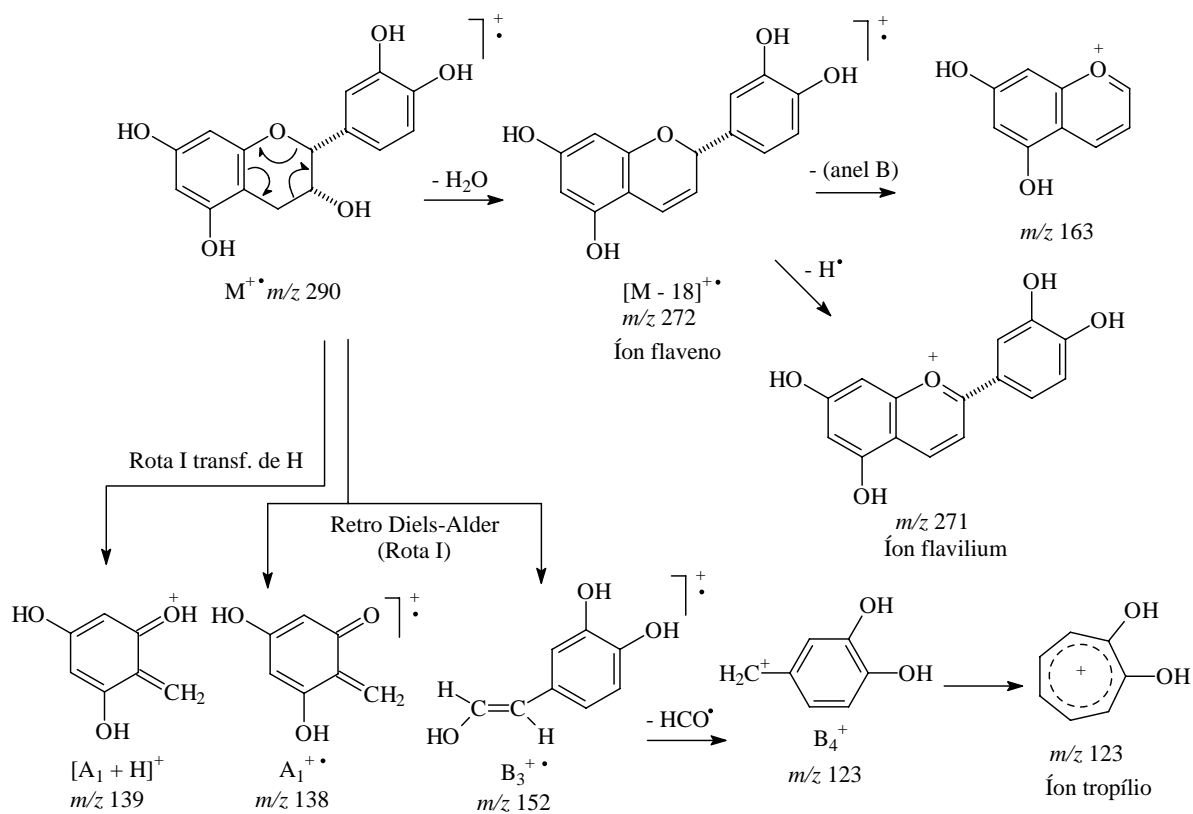


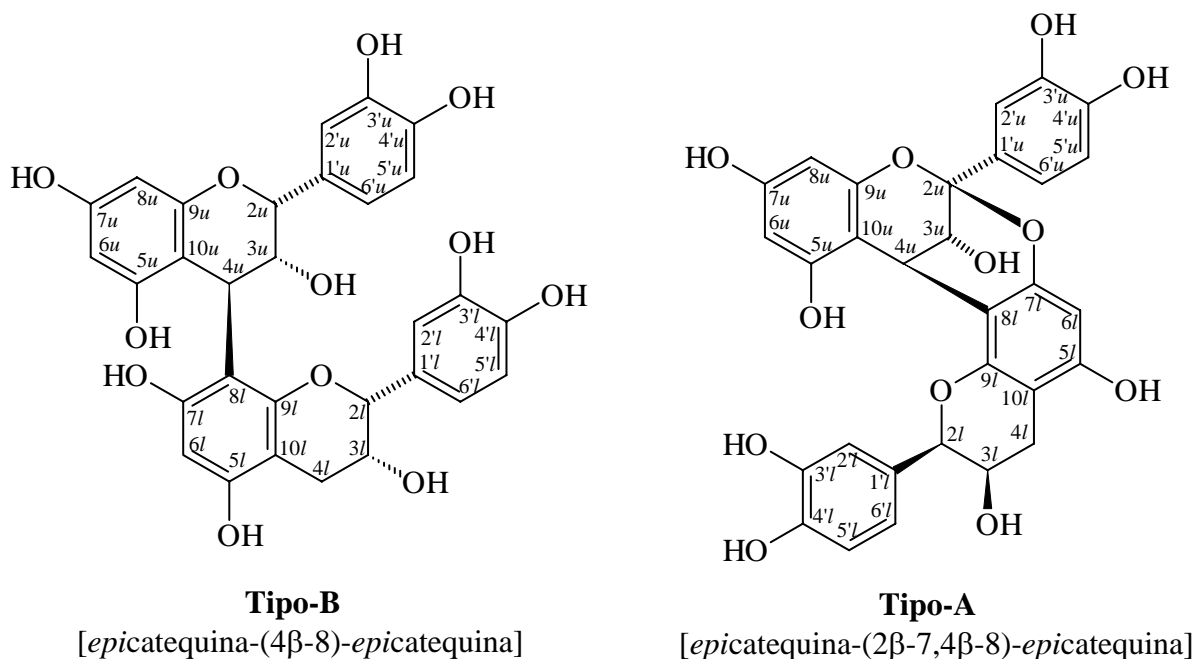
Figura 129 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV22

Tabela 41 – Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do flavan-3-ol  $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}]^*$ 

Posição	DV22	
	$\delta\text{-H}$	$\delta\text{-C}$
2	4,87 <i>sl</i>	79,25
3	4,21 <i>m</i>	66,87
4 <sub>ax</sub>	2,86 <i>dd</i> (4,5; 16,8)	28,83
4 <sub>eq</sub>	2,74 <i>dd</i> (3,0; 16,8)	
5	-	156,92
6	5,93 <i>d</i> (2,4)	95,06
7	-	157,41
8	6,03 <i>d</i> (2,4)	96,20
9	-	157,39
10	-	99,66
1'	-	132,02
2'	7,05 <i>d</i> (1,8)	115,13
3'	-	145,29
4'	-	145,15
5'	6,79 <i>d</i> (8,1)	115,45
6'	6,90 <i>dd</i> (1,8; 8,1)	119,19

\*Multiplicidade obtida por DEPT.

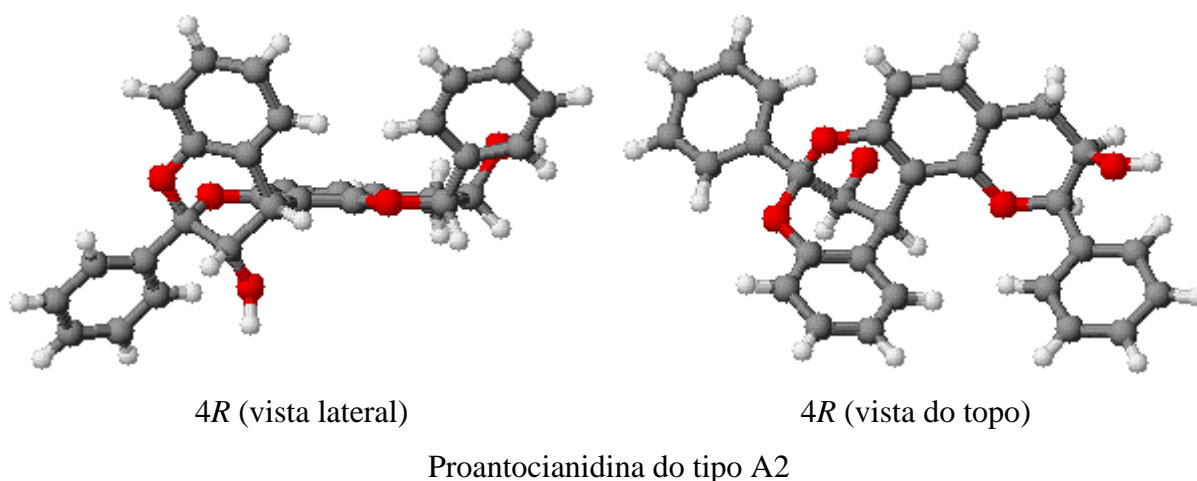
## 6.8.Proantocianidinas



As proantocianidinas são a classe mais abundante dos flavanóides. Podem existir como biflavonóides, triflavonóides ou poliflavonóides. Estes poliflavonóides também são conhecidos como taninos condensados. Em todos os tipos a unidade superior é sempre derivada de flavanóide e a inferior pode pertencer a qualquer classe de flavonóides. A numeração segue a regra dos flavonóides, acrescentando as letras *u* (upper) e *l* (low) para as unidades superiores e inferiores, respectivamente. Uma característica das proantocianidinas é a formação das antocianidinas através de hidrólise em meio ácido. As proantocianidinas mais comuns são oligômeros ou polímeros de flavan-3-óis polihidroxilados, em geral catequina ou epicatequina, apresentando uma ligação C-C entre as posições  $4u \rightarrow 8l$  ou  $4u \rightarrow 6l$  nas proantocianidinas do tipo-B, ou uma ligação éter adicional C-O-C entre as posições  $2u \rightarrow 7l$  nas proantocianidinas do tipo-A. Os subtipos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>,..., A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>,..., são definidos pelas configurações absolutas e relativas nos centros estereogênicos (PORTER, 1994).

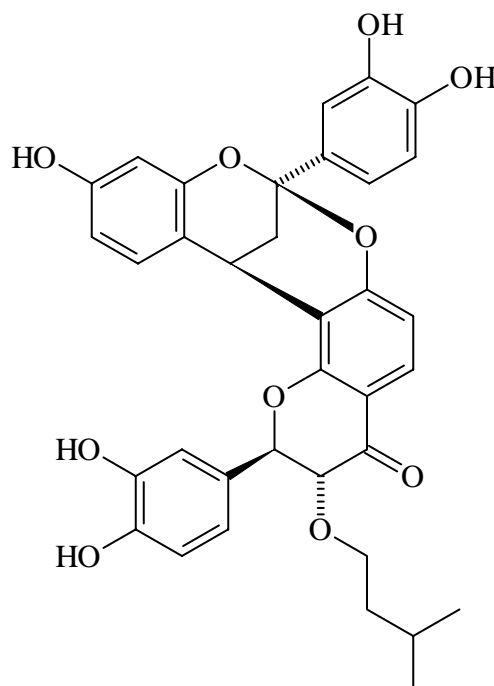
Os EMIE apresentam fragmentos típicos para seus monômeros, além de fragmentos que conservam a ligação entre as unidades de flavonóides, característicos também para biflavonóides (MABRY, 1975). Em geral o método de impacto de elétrons não permite identificar o íon molecular  $[M]^{+\bullet}$ , sendo necessário o uso de técnicas menos energéticas como ionização química (IQ) ou bombardeamento por átomos rápidos (FAB). Atualmente as técnicas de elétron *spray* (ES) ou ionização química à pressão atmosférica (APCI) são também utilizadas.

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  das proantocianidinas diferem das flavanas em geral principalmente nos deslocamentos dos carbonos em que se dão as ligações interflavonóide. Para as do tipo-B o deslocamento de C-4 é registrado ao redor de  $\delta$  37-38 tanto para a configuração 2,3-*cis* quanto para a configuração 2,3-*trans*. Para os flavonóides com ausência de grupos oxigenados no C-5, o C-4 é desblindado, sendo o sinal registrado em  $\delta$  41-44. Já o C-8 apresenta ressonância em  $\delta$  108 para ligação 4 $\rightarrow$ 8, enquanto que para o C-6 essa aparece em  $\delta$  108-106, encontrando-se protegido em 0-2 ppm para ligação 4 $\rightarrow$ 6. Uma das características nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  das proantocianidinas do tipo-A é o sinal do C-2, que se encontra desprotegido próximo de  $\delta$  99, enquanto que o C-4 ( $\delta$  29) encontra-se protegido em relação à do tipo-B. Outra diferença entre os tipos A e B é a rigidez observada para o tipo-A devido ao sistema bicíclico, o que torna os sinais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  mais bem resolvidos (AGRAWAL, 1989).



A rigidez do anel bicíclico das proantocianidinas do tipo-A torna fácil a determinação da configuração relativa dos centros assimétricos através de experimentos de “nOe diff” ou mesmo através da análise das constantes de acoplamento. Já a estereoquímica absoluta não pode ser determinada apenas por  $[\alpha]_D$ , devido à abundância de centros estereogênicos. Deste modo, é necessário a obtenção de curvas de dicroísmo circular (DC), pois o efeito Cotton na região de 220-230 nm está diretamente relacionado à configuração absoluta de C-4, sendo 4*R* se positivo e 4*S* se negativo (BARRETT, 1979).

6.8.1. Determinação estrutural da 3',4',7-triidroxiflavana-(2 $\beta$ →7,4 $\beta$ →8)-3-prenil-fustina



3',4',7-triidroxiflavana-(2 $\beta$ →7,4 $\beta$ →8)-3-prenil-fustina

**DV21**

A estrutura desta nova proantocianidina do tipo A foi proposta baseada somente na análise detalhada dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figuras 130 e 131, p. 197),  $^{13}\text{C}$  (Figura 135, p. 199) inclusive DEPT 135° (Figuras 139 e 140, p. 201), “nOe diff” (Figuras 141 e 142, p. 202), HMQC (Figura 143, p. 203) e HMBC (Figura 145, p. 205). Análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV21** auxiliada por experimentos DEPT mostrou a presença de 35 carbonos sendo 15 não hidrogenados, 15 carbonos metínicos, 3 carbonos metilênicos e 2 carbonos metílicos, mostrando portanto a presença de 27 hidrogênios. Estes dados estão de acordo com a integração do espectro de RMN  $^1\text{H}$ . Estes dados aliados ao número de carbonos oxigenados observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Tabela 42, p. 224) permitiram sugerir a presença de 10 oxigênios e propor a fórmula molecular  $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{O}_{10}$ , MM = 612.

Os deslocamentos dos hidrogênios ligados a C- $sp^2$  observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 132, p. 198) podem ser divididos em 4 sistemas de *spins* distintos. Dois sistemas AMX característicos de anéis aromáticos trissubstituídos (grupo catecol) que puderam ser identificados pelos sinais em  $\delta$  6,73 *d* (J = 2,0 Hz),  $\delta$  7,62 *d* (J = 8,7 Hz) e  $\delta$  6,51 *dd* (J = 2,0 e 8,7 Hz) e em  $\delta$  7,68 *d* (J = 2,4 Hz),  $\delta$  6,72 *d* (J = 8,7 Hz) e  $\delta$  7,54 *dd* (J = 2,4 e 8,7 Hz), que

constituem os anéis B das duas unidades flavanoídicas. A presença destes dois grupos pode ser corroborada pelos sinais observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\delta$  131,61 (C-1'*u*),  $\delta$  115,61 (C-2'*u*),  $\delta$  144,92 (C-3'*u*),  $\delta$  145,07 (C-4'*u*),  $\delta$  115,39 (C-5'*u*) e  $\delta$  119,59 (C-6'*u*) para um dos anéis e, em  $\delta$  131,71 (C-1'*l*),  $\delta$  115,11 (C-2'*l*),  $\delta$  145,70 (C-3'*l*),  $\delta$  147,30 (C-4'*l*),  $\delta$  114,89 (C-5'*l*) e  $\delta$  119,36 (C-6'*l*) para o outro. Estes sinais foram atribuídos com base nas correlações observadas no espectro HMQC (Figuras 143, 144 e 147, p. 203, 204 e 207) e no HMBC (Figuras 145, 146 e 147, p. 205, 206 e 207). Pode-se observar no espectro RMN de  $^1\text{H}$  um terceiro sistema AMX em  $\delta$  7,68 *d* ( $J = 8,7$  Hz),  $\delta$  6,88 *dd* ( $J = 8,7$  e  $2,1$  Hz) e  $\delta$  6,28 *d* ( $J = 2,1$  Hz), com valores um pouco mais protegidos em relação aos anteriores, característicos de anel A. Este sistema sugere ausência de OH no C-5 e ausência de vizinhança de C=O (C-4). Estes dados são corroborados pelos deslocamentos de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabela 42, p. 224). O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  também apresenta dois dupletos ( $\delta$  7,90 e  $\delta$  6,86), com constante de acoplamento  $J = 9,3$  Hz, num sistema AX de *spins* característico da posição *orto* entre dois hidrogênios no anel A, em outro anel aromático, sendo que o sinal mais desprotegido é indicativo da presença de carbonila em C-4 vizinha. Os sinais de RMN  $^{13}\text{C}$  dos carbonos deste anel, auxiliados pelos experimentos DEPT, HMQC e HMBC, corroboram esta afirmação (Tabela 42, p. 224). O deslocamento de carbono em  $\delta$  128,36, observado para o carbono não hidrogenado C-8, é indicativo da presença de substituição nesta posição. Este se encontra mais desprotegido em relação a **DV23** e **DV24** devido à ausência de OH em C-5. Esta é possivelmente a posição da ligação C-C entre as duas unidades flavonoídicas (Figuras 136, 137, 138 e 140, p. 200 e 201; Tabela 42, p. 224).

Os valores dos deslocamentos observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  na região referente aos hidrogênios ligados à C-*sp*<sup>3</sup> (Figuras 133 e 134, p. 198 e 199) podem ser agrupados em três conjuntos. O primeiro conjunto apresenta dois hidrogênios em  $\delta$  4,95 *d* ( $J = 11,4$  Hz) e  $\delta$  4,39 *d* ( $J = 11,4$  Hz) acoplado em *trans*, num sistema AX de *spins*, característico para diidroflavonóis. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  auxiliado pelo DEPT confirma esta observação através do registro de dois carbonos oxibenzílicos e de uma carbonila (Figuras 136, 137, 139 e 140, p. 199, 200 e 201; Tabela 42, p. 224). Estes deslocamentos em conjunto com os observados para os carbonos aromáticos, sugeriram que a unidade inferior era formada pelo 7,3',4'-trihidroxiidroflavonol (fustina).

O segundo conjunto de hidrogênios é composto por um multipletto referente a dois hidrogênios metilênicos ( $\delta$  1,28) e um multipletto em  $\delta$  3,35 *m* referente a um hidrogênio benzílico. A multiplicidade do hidrogênio benzílico não está clara, pois o sinal encontra-se



parcialmente encoberto pelo sinal da água do solvente. O sinal em  $\delta$  3,35 *m* é atribuído ao hidrogênio ligado ao C-4*u*, condizente com o carbono metínico observado no RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$  38,09), devido à ausência de OH em C-5. O carbono não hidrogenado em  $\delta$  101,63 (C-2*u*) indica a segunda ligação do tipo C-O-C entre os dois flavonóides (Tabela 42, p. 224). A unidade superior foi então identificada como sendo a 7,3',4'-triidroxiflavana.

Os demais sinais observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  4,13 *dd*,  $\delta$  1,23 *m*,  $\delta$  1,35 *m*,  $\delta$  0,88 *d* e  $\delta$  0,85 *d* caracterizam a presença de um grupo prenil saturado (Figura 138, p. 200; Tabela 42, p. 224). Estes dados são confirmados pelos deslocamentos observados no RMN de  $^{13}\text{C}$  (Tabela 42, p. 224). Estes dados foram atribuídos com base nas correlações observadas nos experimentos HMQC (Figuras 143, 144 e 147, p. 203, 204 e 207) e HMBC (145, 146 e 147, p. 205, 206 e 207). A figura 147 sumariza as correlações observadas no espectro bidimensional HMBC. A prenila foi localizada na posição C-3*l* com base nos incrementos de “nOe diff” observados ao irradiar o hidrogênio em  $\delta$  4,13 (H-1''), que mostrou uma transferência de polarização de 28% para o H-2*l* (Figura 141, p. 202).

A configuração relativa foi proposta com base nas constantes de acoplamento entre C-2*l* e C-3*l* em *trans* e nos incrementos de “nOe diff” observados. Ao irradiar H-4*u* foi observada uma transferência de polarização de 16% para H-2*l*, o que mostra que ambos encontram-se vizinhos espacialmente (Figura 142, p. 224).

Todos os dados expostos sugeriram que a substância **DV21** tratava-se da 3',4',7-triidroxiflavana-(2 $\beta$ →7,4 $\beta$ →8)-3-prenil-fustina.

É necessária ainda a obtenção do EM pela técnica FAB ou IQ da substância, além de experimento de DC para determinação da configuração absoluta em C-4*u*, e, por conseguinte em toda a estrutura. Vale salientar que devido à ausência de 3-OH na unidade superior, as regras de Cahn, Ingold e Prelog irão alterar a nomenclatura para 4*R* se o efeito Cotton for negativo e 4*S* se o efeito Cotton for positivo na região de 220-230 nm.

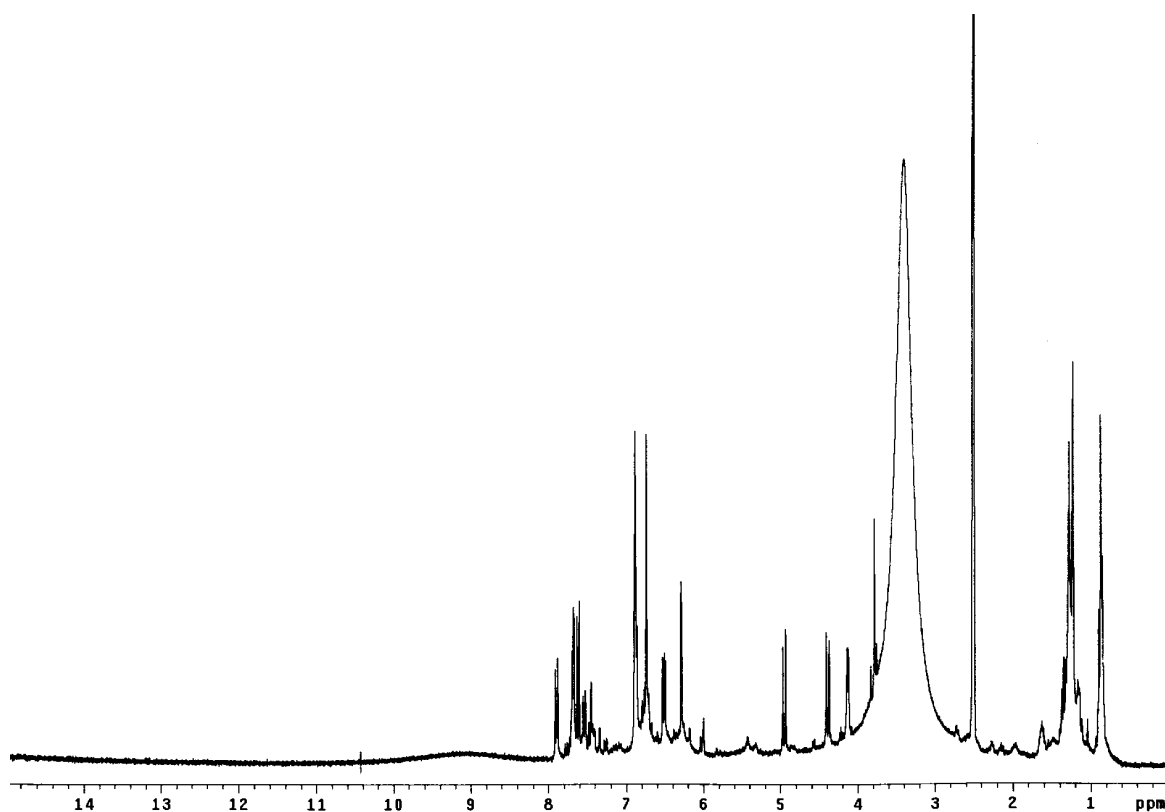


Figura 130 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV21** [300 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

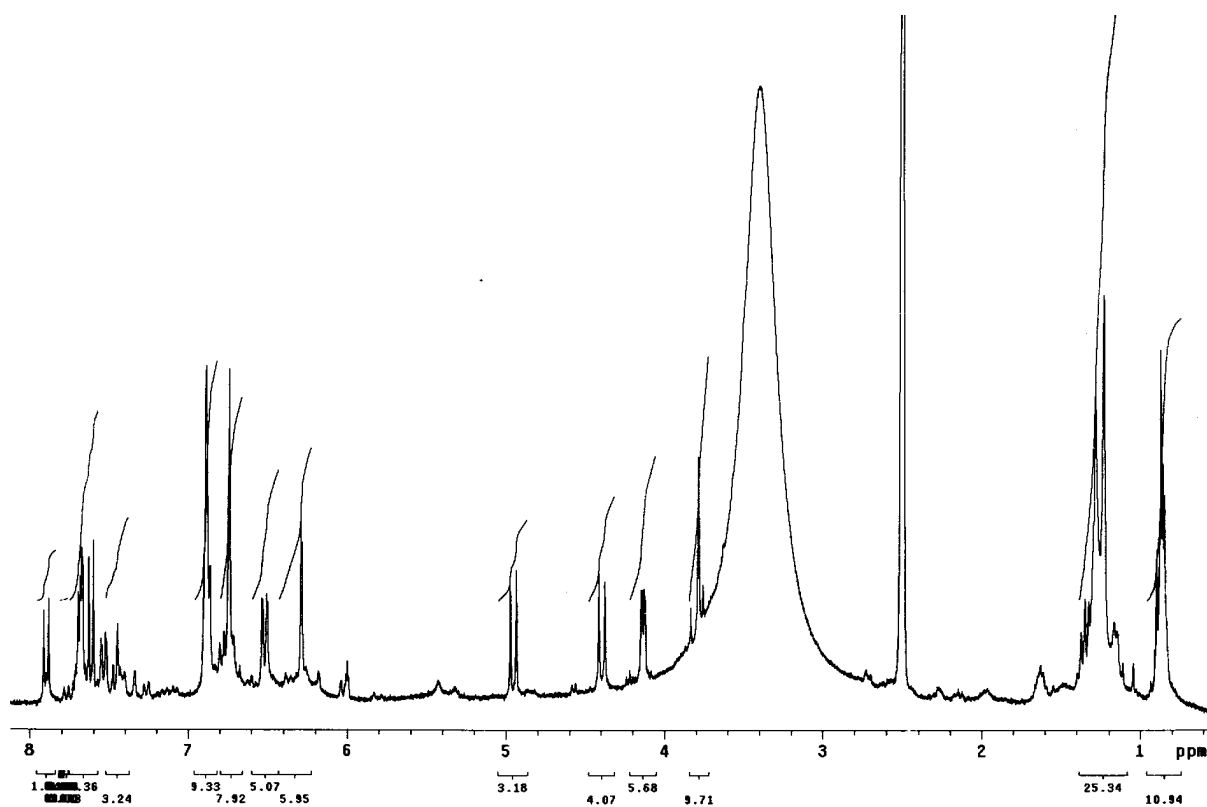


Figura 131 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV21** (integração) [300 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

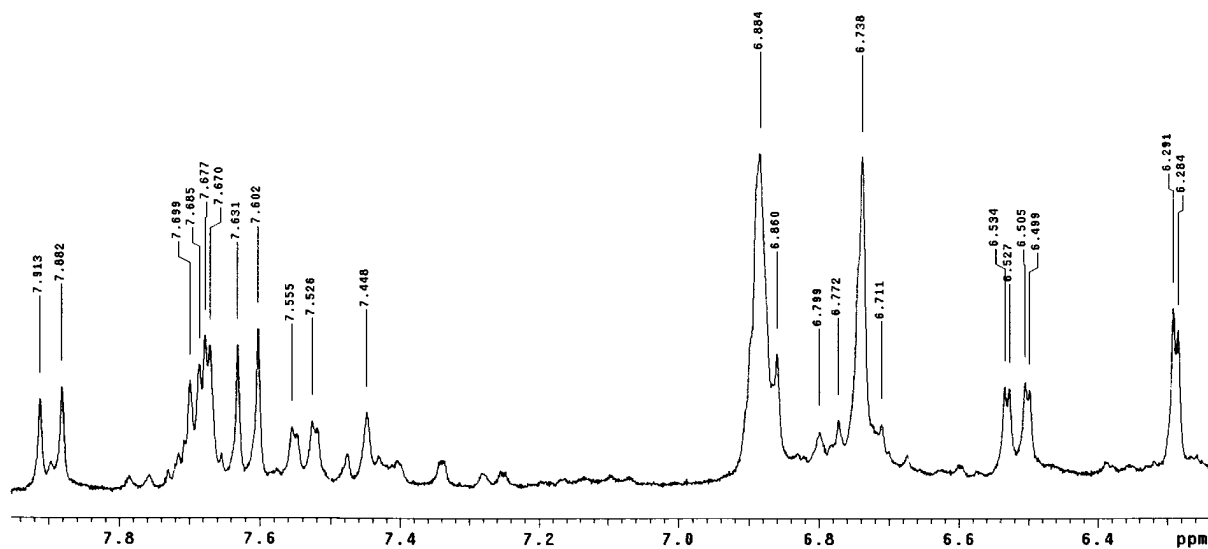


Figura 132 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H de DV21 (ampliação) [300 MHz, DMSO, δ (ppm)]

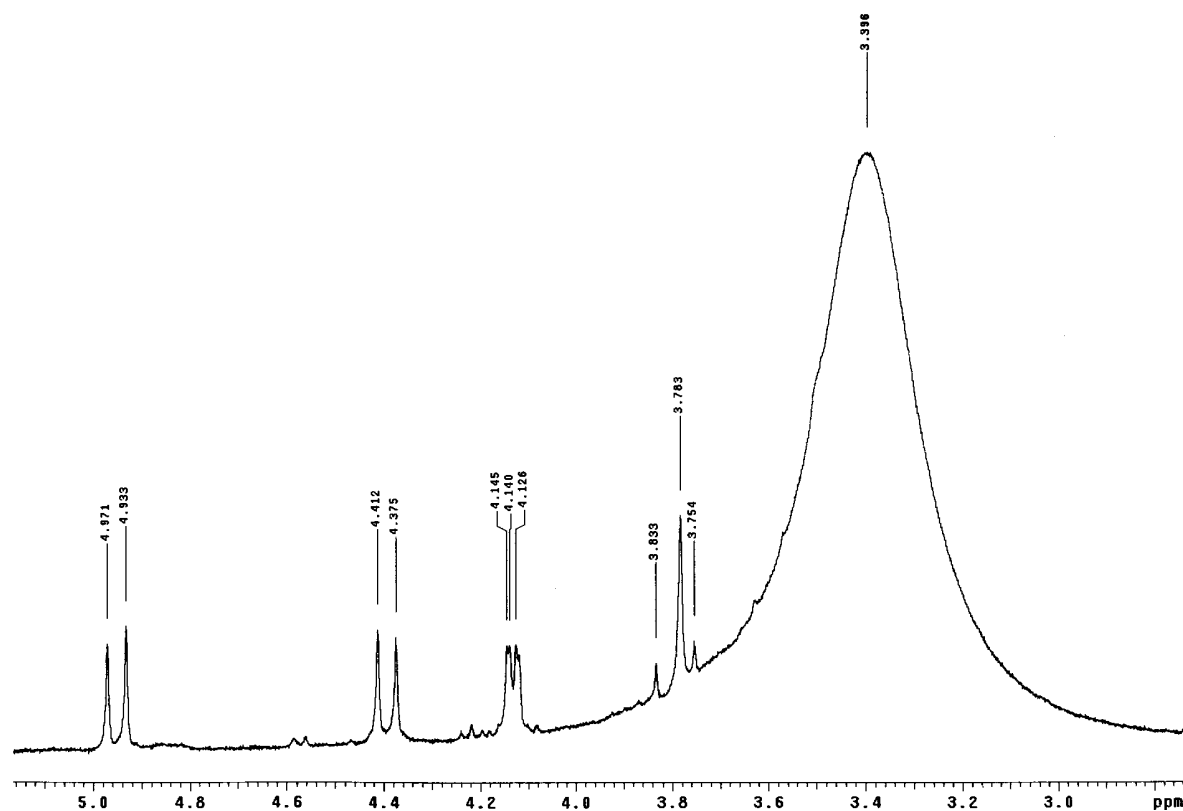


Figura 133 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H de DV21 (ampliação) [300 MHz, DMSO, δ (ppm)]

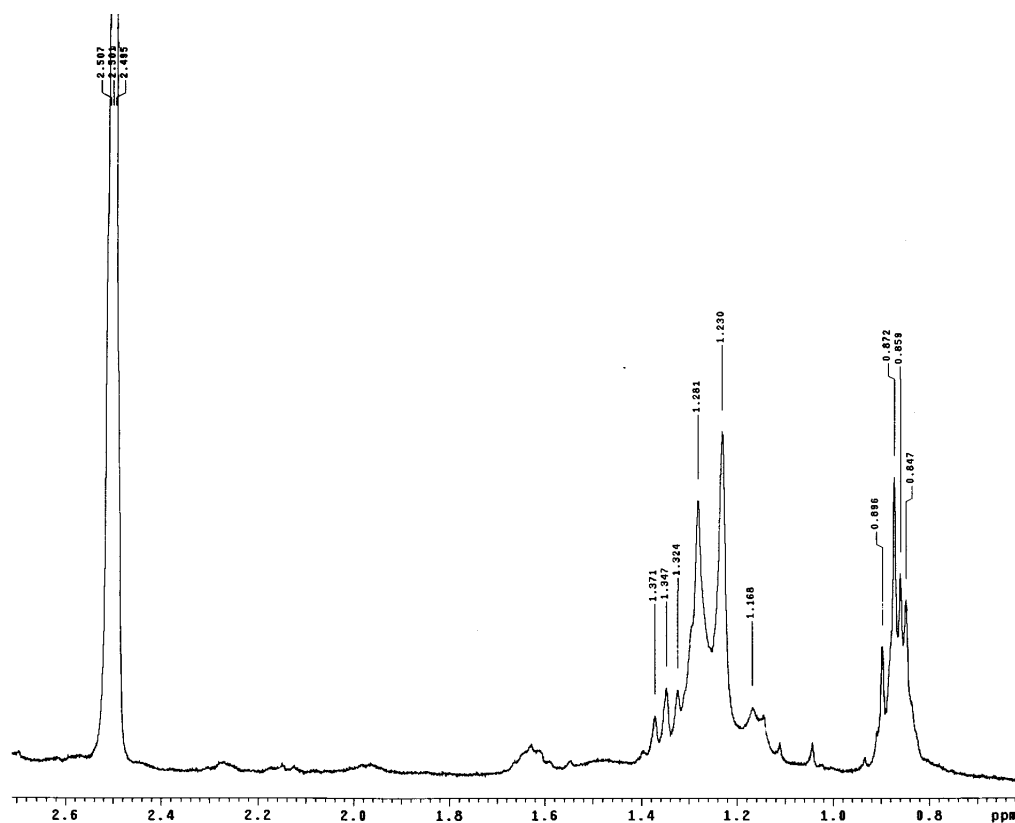


Figura 134 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **DV21** (ampliação) [300 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

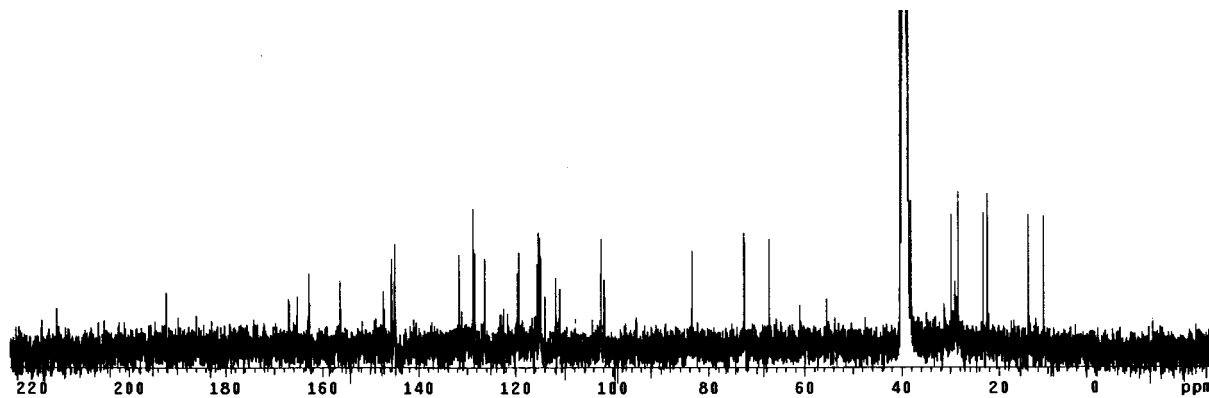


Figura 135 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV21** [75 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

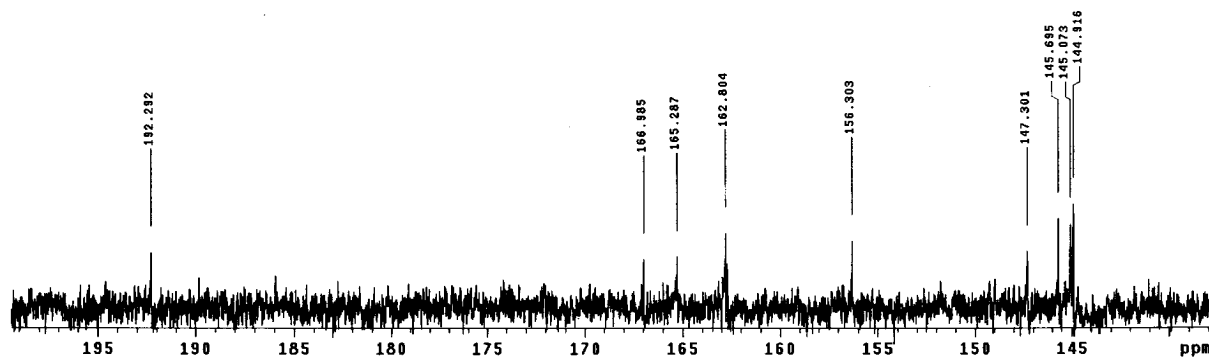


Figura 136 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **DV21** (ampliação) [75 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

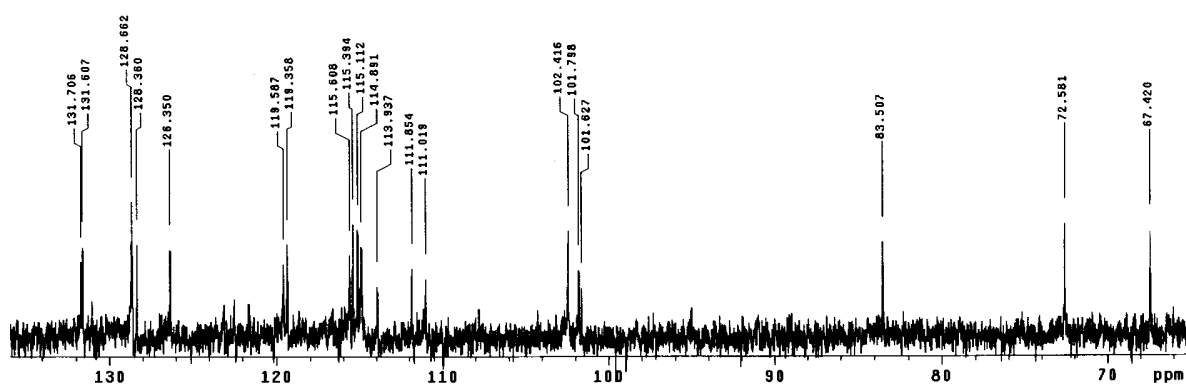


Figura 137 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de DV21 (ampliação) [75 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

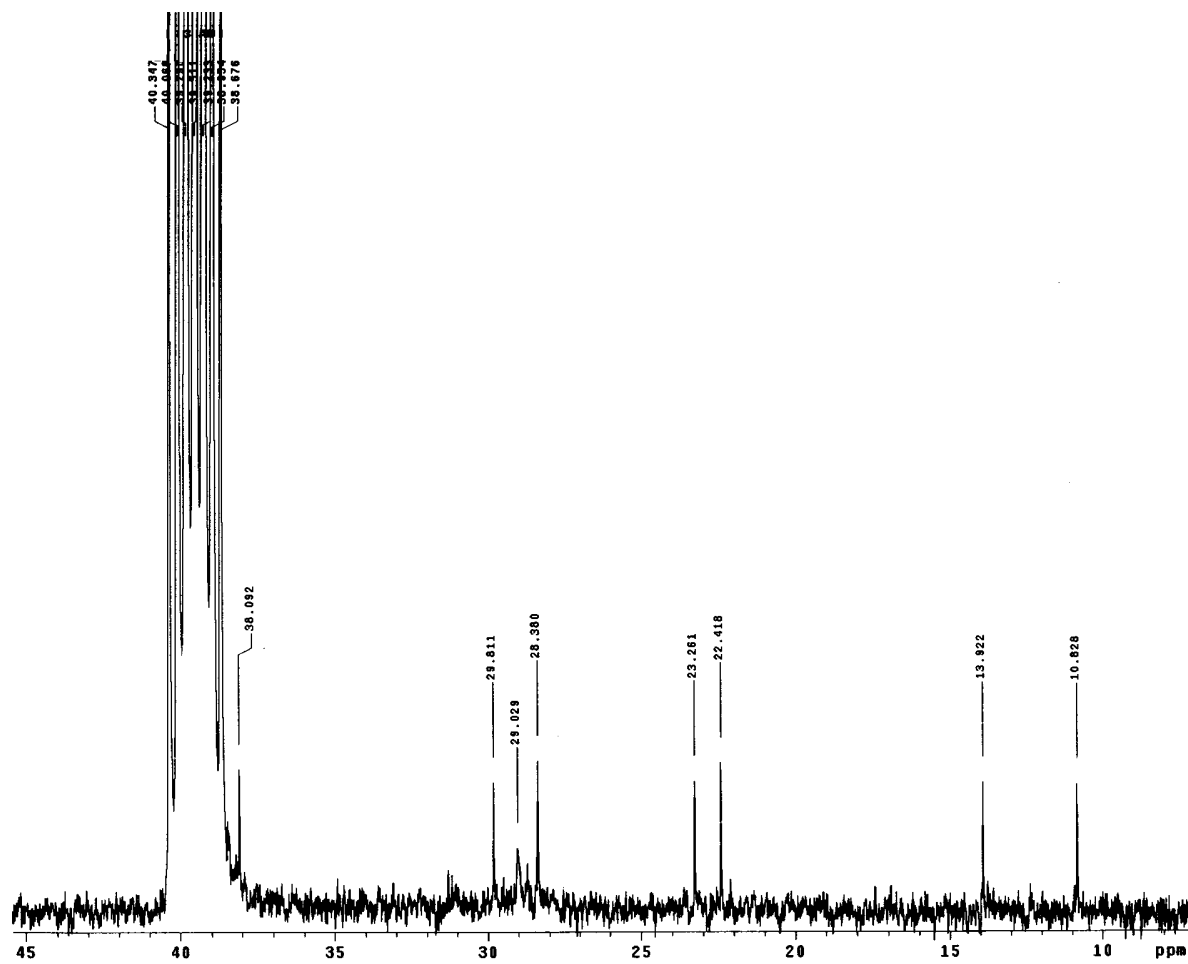


Figura 138 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de DV21 (ampliação) [75 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

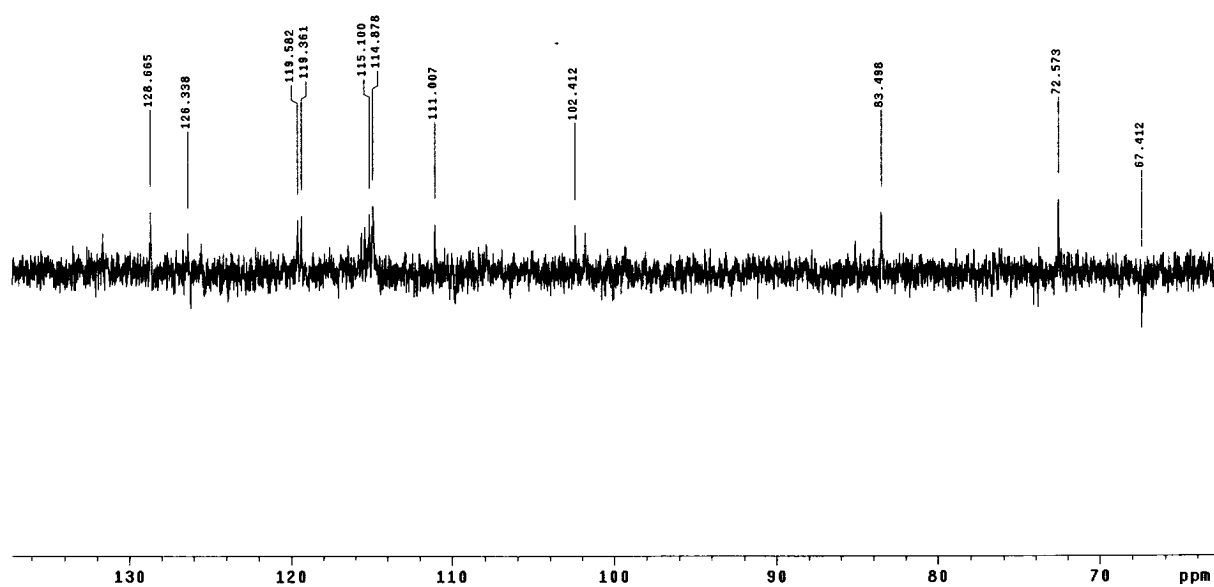


Figura 139 – Experimento DEPT 135 de **DV21** (ampliação) [75 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

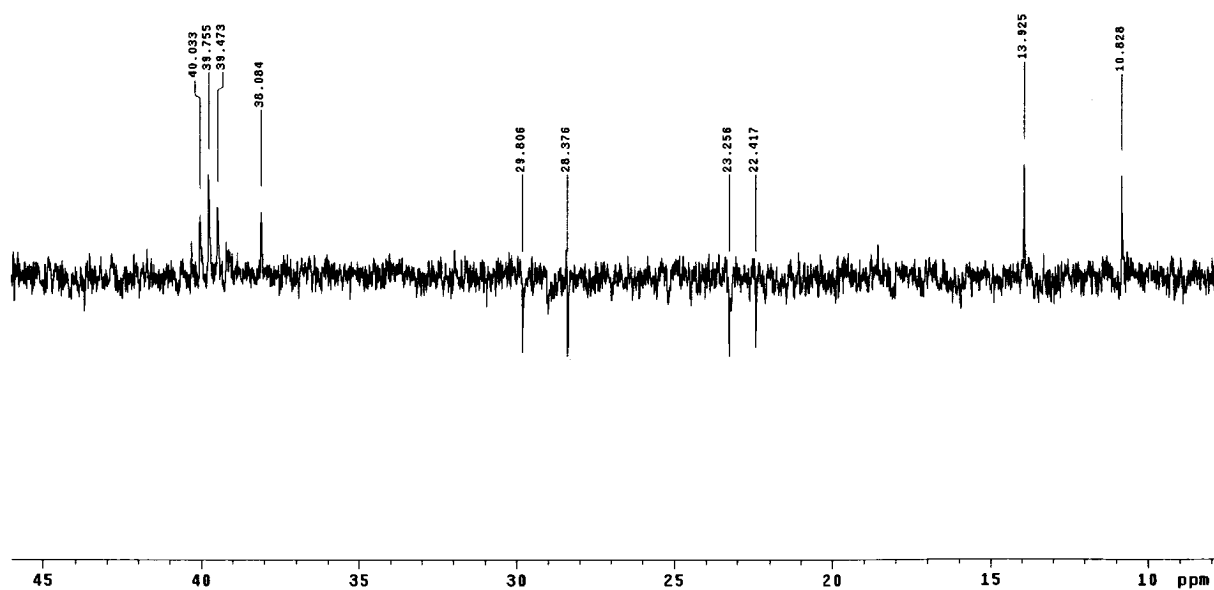


Figura 140 – Experimento DEPT 135 de **DV21** (ampliação) [75 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

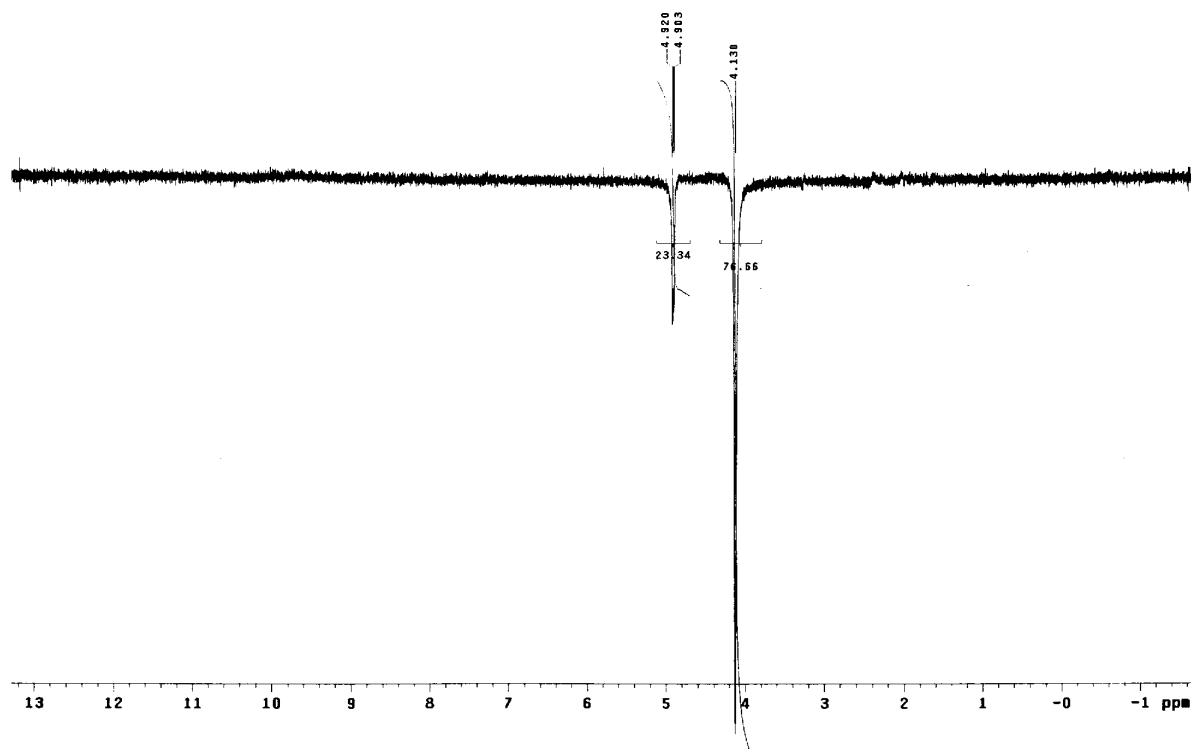


Figura 141 – Experimento nOe irradiando em  $\delta$  4,13 ppm de **DV21** [300 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

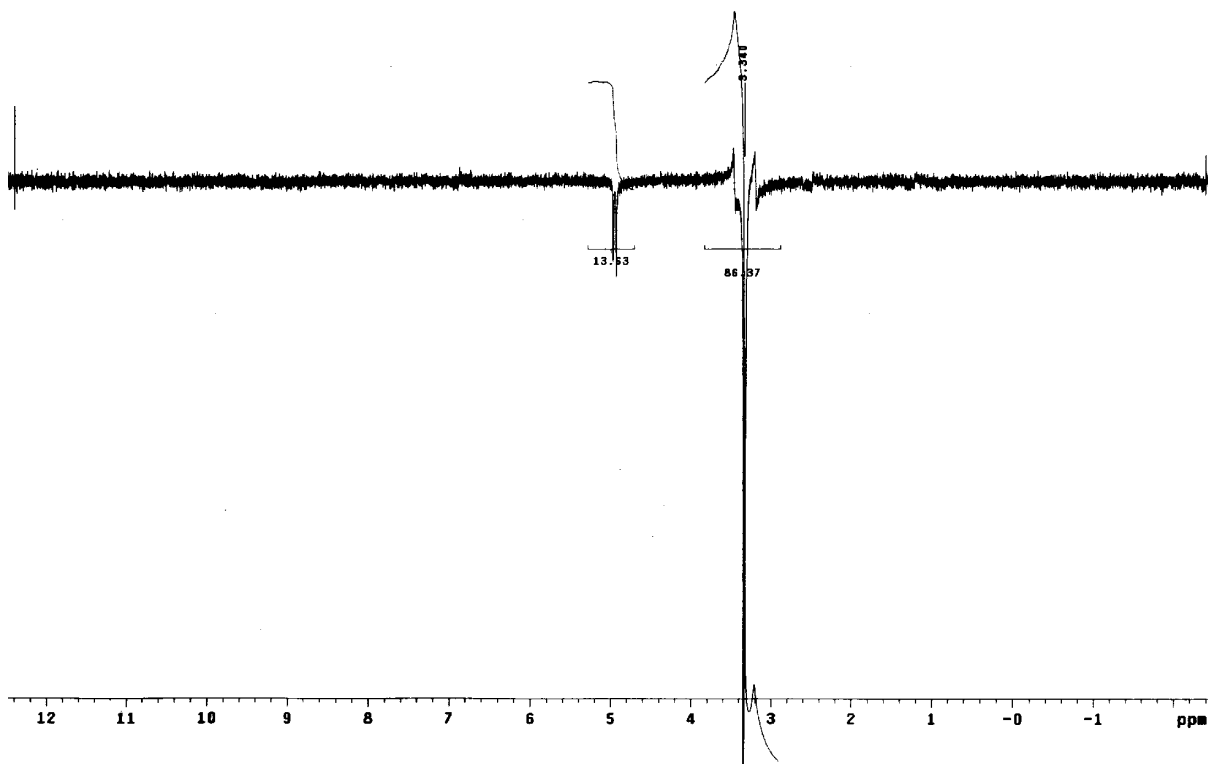


Figura 142 – Experimento nOe irradiando em  $\delta$  3,35 ppm de **DV21** [300 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

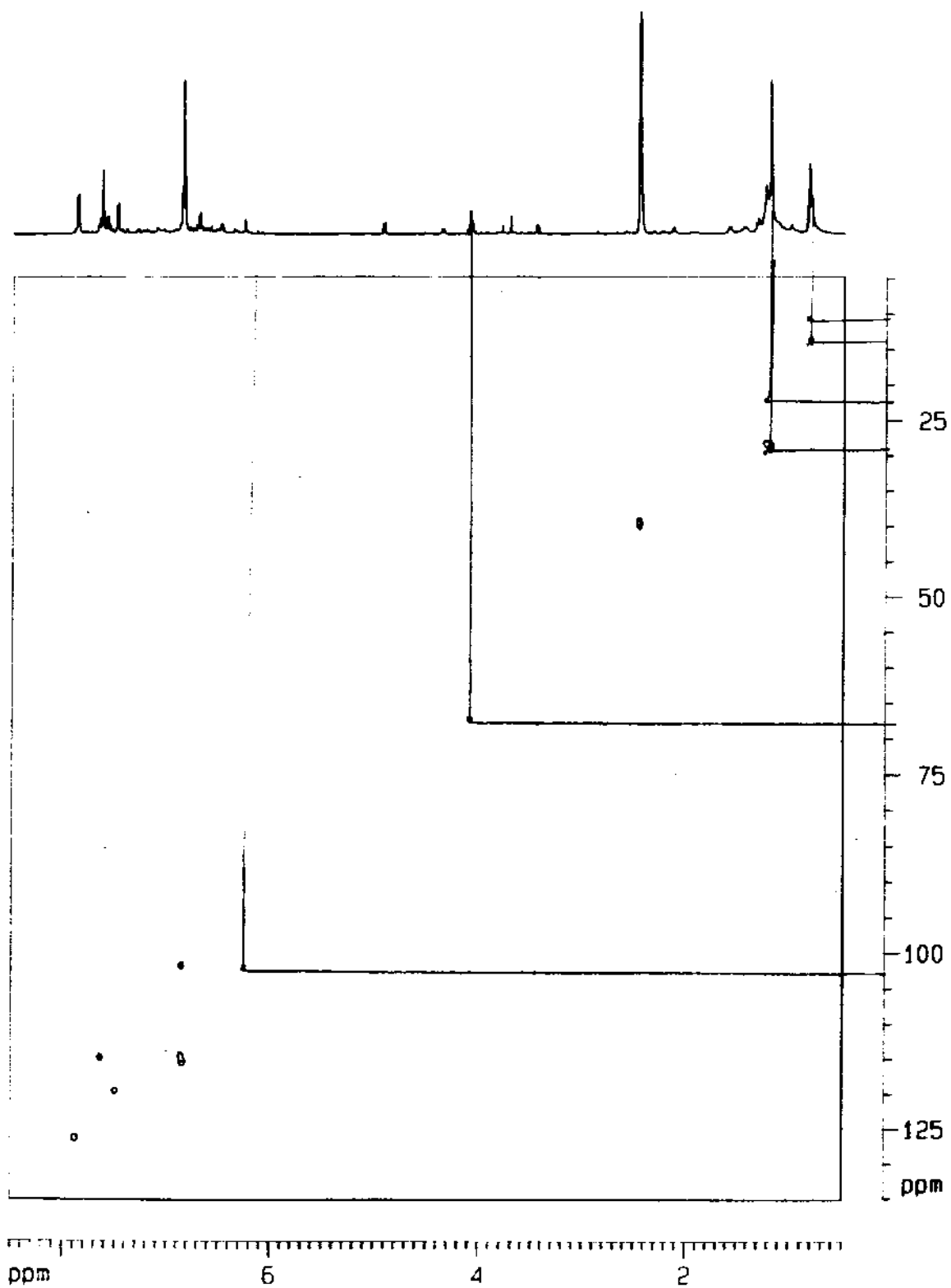


Figura 143 – Experimento HMQC de **DV21** [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]



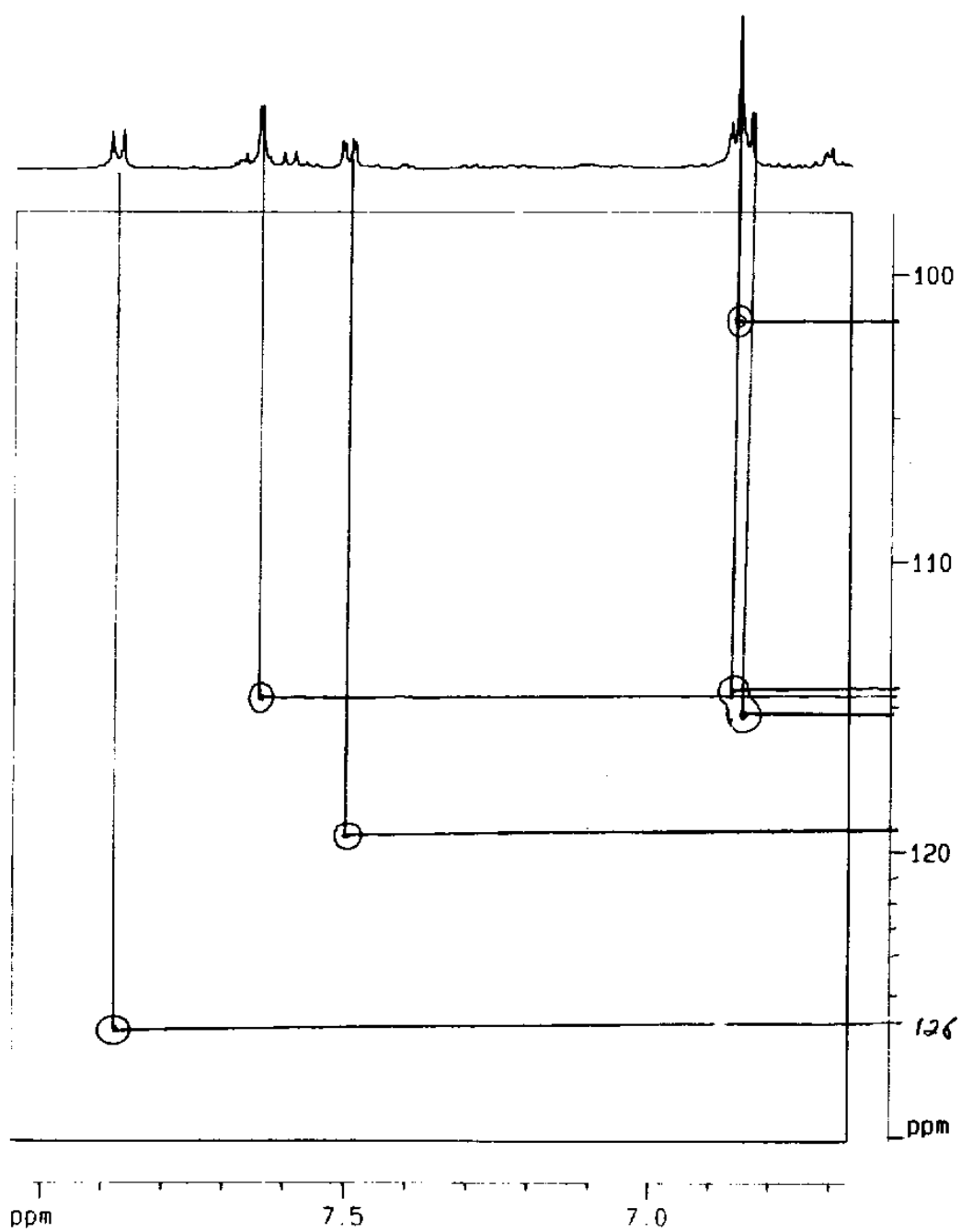


Figura 144 – Experimento HMPC de **DV21** (ampliação) [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

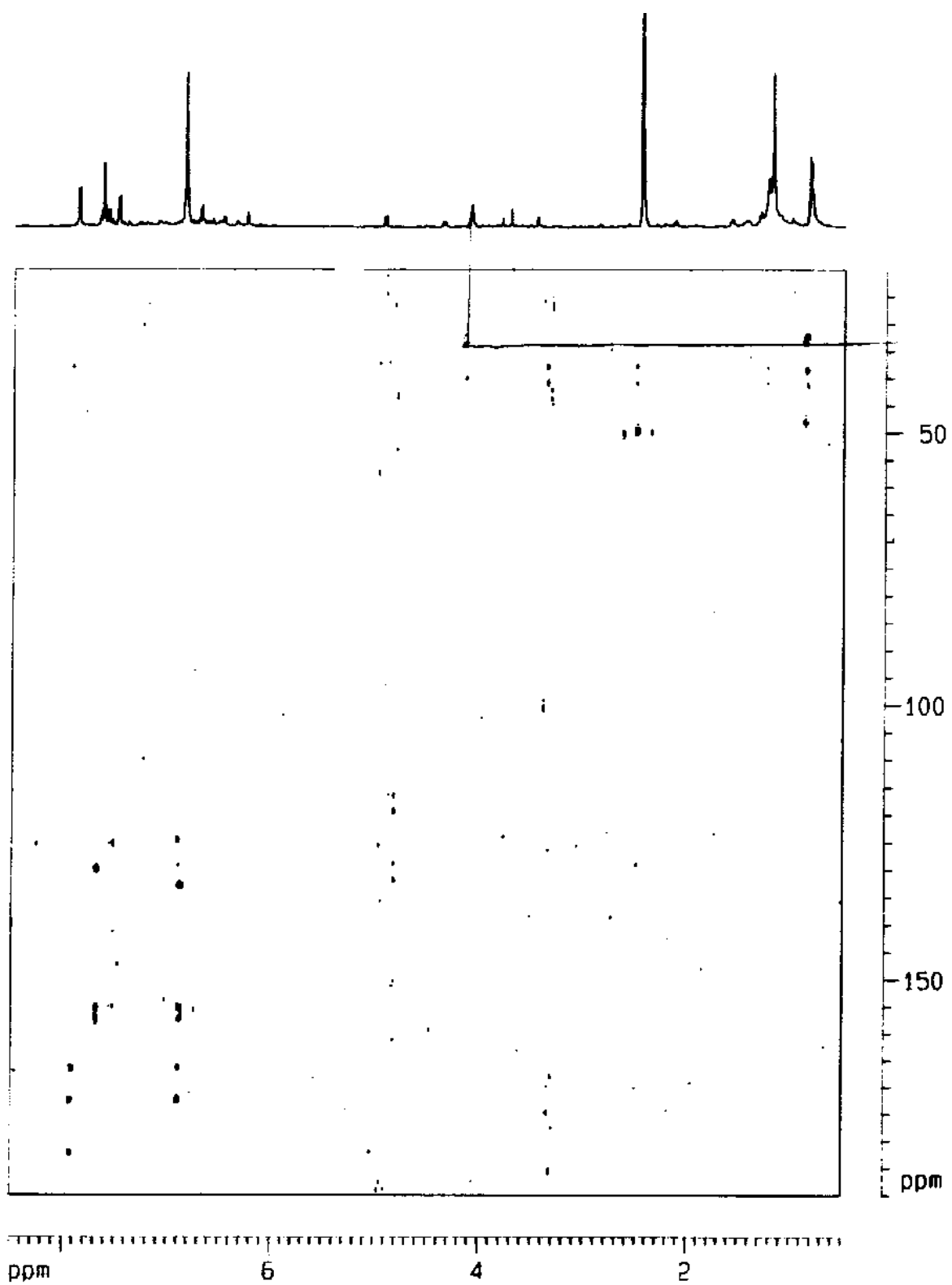


Figura 145 – Experimento HMBC de **DV21** [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

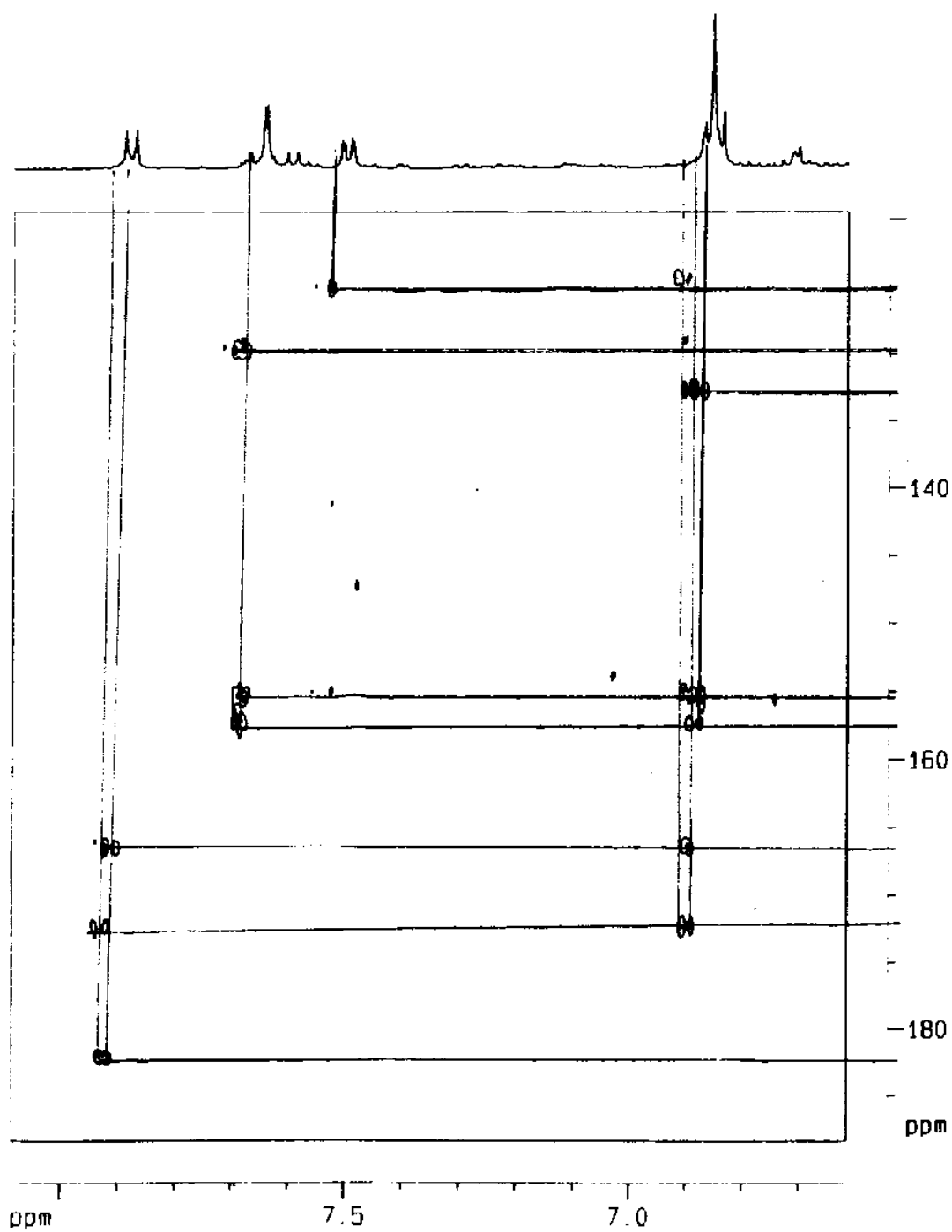
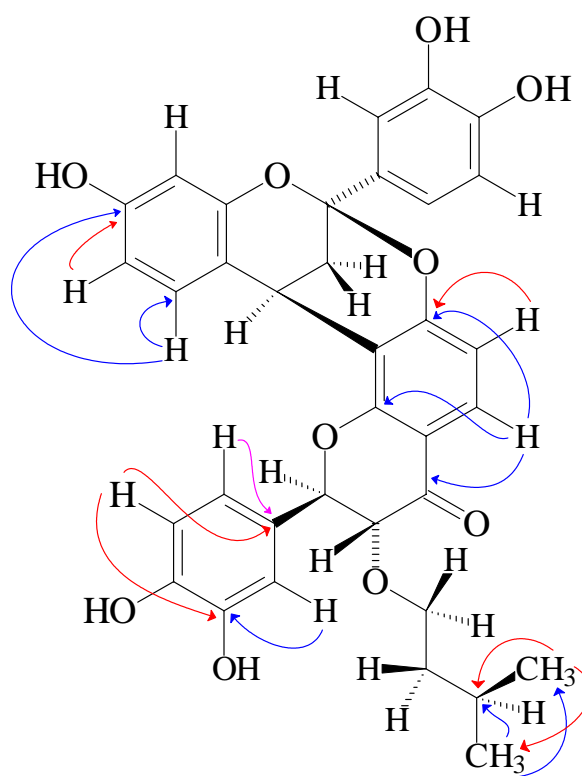
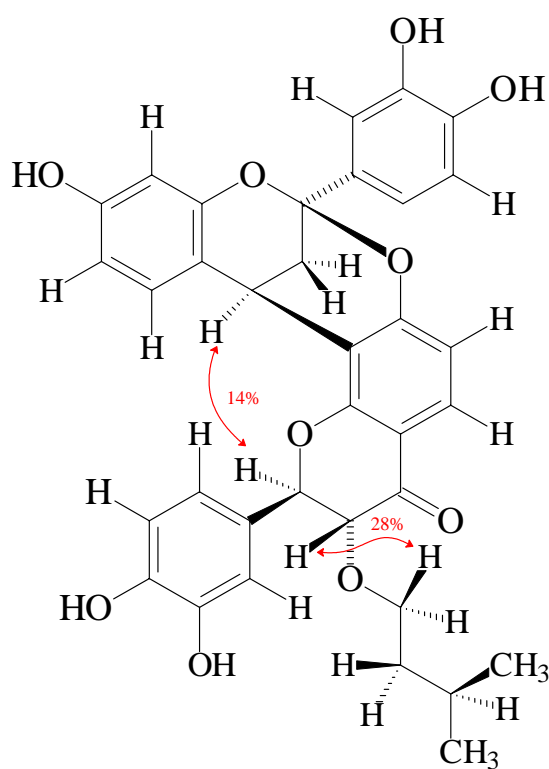


Figura 146 – Experimento HMBC de **DV21** (ampliação) [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]



HMBC



"nOe diff"

Figura 147 – Correlações observadas no espectro HMBC e incrementos de "nOe diff" de DV21