

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS ESPÉCIES *Simaba subcymosa* e *Simaba suffruticosa* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA.

LARA FONSECA BARBOSA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

Maio- 2012

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS ESPÉCIES *Simaba subcymosa* e *Simaba suffruticosa* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA.

LARA FONSECA BARBOSA

“Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Naturais”.

Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira

Co-orientador: Prof. Raimundo Braz-Filho

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

Maio – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCT / UENF

44/2012

Barbosa, Lara Fonseca

Estudo Fitoquímico das espécies *Simaba subcymosa* e *Simaba suffruticosa* e avaliação da atividade antimalárica / Lara Fonseca Barbosa. – Campos dos Goytacazes, 2012.

264 f. : il.

Tese (Doutorado em Ciências Naturais) --Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências Químicas. Campos dos Goytacazes, 2012.

Orientador: Ivo José Curcino Vieira.

Co-orientador: Raimundo Braz Filho.

Área de concentração: Produtos naturais.

Bibliografia: f. 259-264.

1. *Simaba subcymosa* 2. *Simaba suffruticosa* 3. Atividade antimalárica 4. Quassinóides I. Universidade Estadual do Norte

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS ESPÉCIES *Simaba subcymosa* e *Simaba suffruticosa* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA.

LARA FONSECA BARBOSA

Aprovada em 02 de maio de 2012

Comissão Examinadora:

Prof^a Daniela Barros de Oliveira (D. SC. Produtos Naturais) - UENF

Prof^a Lanamar de Almeida Carlos (D. SC. Produção Vegetal) - UFSJ

Prof^a Leda Mathias (D. SC. Produtos Naturais) - UENF

Prof^o Ivo José Curcino Vieira (D. SC. Química Orgânica) - UENF
(Orientador)

Dedico este trabalho aos meus pais: Antônio Luiz e Maria Lúcia, sempre presentes e fundamentais em minha vida. À minha irmã Nathália, a minha sobrinha Gabriella e ao meu noivo Flávio por toda a dedicação, incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

Obrigada meu Deus por ter me dado força, coragem e a oportunidade de chegar onde eu cheguei. Obrigada senhor pela minha fé e esperança no senhor.

Ao professor Ivo José Curcino Vieira, obrigada por ter acreditado em mim e ter me dado a oportunidade de concluir mais uma etapa, mesmo com todas as limitações. Agradeço todos os ensinamentos, a orientação, a confiança, a amizade e principalmente os momentos agradáveis que passamos desde a minha iniciação científica.

Ao professor Raimundo Braz-Filho pela co-orientação e grande ajuda, principalmente nas elucidações dos espectros.

À amiga e professora Lanamar de Almeida Carlos, por ter se deslocado de tão longe para fazer parte da minha banca e principalmente pela amizade, os ensinamentos e por acreditar sempre em mim.

À professora Leda Mathias, por fazer parte da banca e por ter feito parte da minha formação, e por todos os momentos agradáveis que passamos juntas desde minha graduação.

À professora Daniela Barros de Oliveira por ter se disponibilizado a participar da banca.

Ao grupo de pesquisa da professora Dra. Alaíde Braga de Oliveira da UFMG pela realização dos testes de atividade antimalária.

Ao secretário Edson pela grande ajuda dada durante toda a etapa. À técnica Maristela pela realização dos espectros de infravermelho.

Aos amigos e colegas de laboratório Heloísa, Marina, Moema, Michelle, Cecília, Vinicius, Elaine, Hádria, Amanda, Wagner, Jéssica, Milena e Otoniel pelas boas conversas e risadas, pela colaboração e amizade. À amiga Raquel pela amizade, ajuda e pelo ótimo convívio. À Jucimar que sempre esteve presente, me apoiando e ajudando sempre com sua amizade e paciência. À amiga Virgínia, pelas boas conversas, grandes momentos e amizade. Em especial as minhas **grandes amigas** pelos bons e inesquecíveis momentos, que tornaram essa caminhada muito mais fácil e agradável. Que essa amizade possa ser levada para nossa vida!

Às amigas que mesmo longe sempre se fizeram presente nas palavras e no caminhar, com sua amizade verdadeira: Luciana e Érica.

Em especial a minha família que sempre foi meu tudo: minha mãe, meu pai, minha irmã, minha sobrinha e meu noivo que sempre me apoiaram, me incentivaram e me deram força para cumprir mais essa etapa. Sem vocês nada disso teria acontecido e não teria nenhum sentido de acontecer. Amo demais cada um de vocês.

A todos os professores que foram fundamentais na minha formação.

A todos aqueles que de uma maneira ou outra colaboraram para conclusão de mais essa etapa.

Muito obrigada sempre.

RESUMO

BARBOSA, Lara Fonseca; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Maio de 2012: Estudo fitoquímico das espécies *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa* (Simaroubaceae)

Orientador: Ivo José Curcino Vieira; Co-orientador: Raimundo Braz-Filho.

A Família Simaroubaceae é bioprodutora de quassinóides com diversas atividades biológicas. Dentro dessa família pode-se destacar o gênero *Simaba* que é rico na produção desses compostos. O presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das espécies *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa*, que apresentam pouco ou nenhum relato na literatura, e testar a atividade antimalárica do extrato metanólico das raízes de *S. suffruticosa* e das substâncias isoladas. O estudo fitoquímico da espécie *S. suffruticosa* é inédito e permitiu o isolamento de dois quassinóides: chaparrinona (I) e chaparrina (II), uma cumarina: escoparona (III), três triterpenos: teurileno (IV), niloticina (V) e lanostadienona (VI) e uma mistura de dois esteróides: sitosterol e estigmasterol (VII). De *S. subcymosa*, foram isolados dois alcalóides: 5-metoxicantin-6-ona (VIII) e 3-metoxicantin-2,6-diona (IX), um quassinóide: simarolido (X), duas misturas de esteróides: sitosterol, estigmasterol e campesterol (VII); sitostenona e estigmastenona (XI) e um novo triterpeno: acetato do teurileno (XII). O teste antimalárico realizado com o extrato e a substância niloticina (V) mostrou uma atividade significativa, o teste realizado com a substância chaparrinona (I), mostrou-se muito ativo, com um valor de CI_{50} muito próximo ao da cloroquina.

A determinação estrutural das substâncias isoladas foi feita a partir de dados de RMN de 1H e ^{13}C uni e bidimensionais, dados de espectrometria de massas (EM) e comparação com dados existentes na literatura.

A substância XII se mostra inédita na literatura até o momento, sendo todas inéditas na espécie *S. suffruticosa*, que nunca foi estudada anteriormente.

ABSTRACT

BARBOSA, Lara Fonseca; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2012, May: Phytochemical study of species *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa* (Simaroubaceae); Advisor: Ivo José Curcino Vieira; Co-advisor: Raimundo Braz-Filho.

The Simaroubaceae family is producer of quassinoids with various biological activities. Within this family you can detach the *Simaba* genus that is rich in the production of these compounds. This present work has objective the phytochemical study of the *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa*, who have little or no reports in the literature, and test the antimalarial activity of the methanol extract of the *S. suffruticosa* roots and the substances isolated. The phytochemical study of the *S. suffruticosa* is unprecedented and permitted the isolation of two quassinoids: chaparrinone (I) e chaparrin (II) one coumarin: scoparone (III), three triterpenes: teurilene (IV), niloticin (V) and lanostadienone (VI) and a mixture of two steroids: sitosterol and stigmasterol (VII). The *S. subcymosa* were isolated two alkaloids: 5-methoxycanthin-6-one (VIII) e 3-methoxycanthin-2,6-dione (IX), one quassinoid: simarolide (X), two mixtures of steroids: sitosterol, stigmasterol and campesterol (VII); sitostenone and stigmastenone (XI) and a new triterpene: teurilene acetate (XII). The antimalarial test realized with the extracts and substance niloticine (V) showed significant activity, the test realized with the substance chaparrinone (I) proved to be very active, with an IC₅₀ value very close to cloroquine.

The structures were elucidated by spectrometric data, especially NMR ¹H and ¹³C one and two dimensional, mass (MS) and comparison with literature data.

The substance XII have not been previously registered yet in the literature and all are new in the *S. suffruticosa*, never studied before.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Esqueleto básico dos quassinóides.	51
Figura 2 Espectro de infravermelho da substância I .	93
Figura 3 Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância I .	94
Figura 4 Ampliação da região de δ_{H} 1,0 – 2,9 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância I .	95
Figura 5 Ampliação da região de δ_{H} 3,4 – 4,5 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância I .	96
Figura 6 Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância I .	97
Figura 7 Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância I .	98
Figura 8 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância I .	99
Figura 9: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância I .	100
Figura 10: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância I .	101
Figura 11: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância I .	102
Figura 12: Mapa de correlação ^1H – ^1H –COSY em CDCl_3 da substância I .	103
Figura 13: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado IA .	104
Figura 14: Ampliação da região de δ_{H} 2,8 – 7,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado IA .	105
Figura 15: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 125 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado IA .	106
Figura 16: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 125 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado IA .	107
Figura 17: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 do derivado acetilado IA .	108

Figura 18: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	109
Figura 19: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	110
Figura 20: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	111
Figura 21: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	112
Figura 22: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	113
Figura 23: Mapa de correlação ¹ H- ¹ H-COSY em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	114
Figura 24: Ampliação do mapa de correlação ¹ H- ¹ H-COSY em CDCl ₃ do derivado acetilado IA .	115
Figura 25: Espectro de infravermelho da substância II .	120
Figura 26: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz) em piridina da substância II .	121
Figura 27: Ampliação da região de δ _H 1,0 – 2,1 do espectro de RMN ¹ H (400 MHz) em piridina da substância II .	122
Figura 28: Ampliação da região de δ _H 2,3 – 3,3 do espectro de RMN ¹ H (400 MHz) em piridina da substância II .	123
Figura 29: Ampliação da região de δ _H 3,7 – 4,6 do espectro de RMN ¹ H (400 MHz) em piridina da substância II .	124
Figura 30: Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz) em piridina da substância II .	125
Figura 31: Mapa de correlação do espectro de HMBC em piridina da substância II .	126
Figura 32: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em piridina da substância II .	127
Figura 33: Mapa de correlação do espectro de HMQC em piridina da substância II .	128
Figura 34: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em piridina da substância II .	129

Figura 35: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em piridina da substância II .	130
Figura 36: Espectro de infravermelho da substância X .	135
Figura 37: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância X .	136
Figura 38: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 2,2 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância X .	137
Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em CDCl_3 da substância X .	138
Figura 40: Ampliação da região de δ_{C} 0 – 82,0 do espectro de RMN ^{13}C - DEPTQ (100 MHz) em CDCl_3 da substância X .	139
Figura 41: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância X .	140
Figura 42: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância X .	141
Figura 43: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância X .	142
Figura 44: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância X .	143
Figura 45: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância X .	144
Figura 46: Espectro de infravermelho da substância III .	148
Figura 47: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância III .	149
Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância III .	150
Figura 49: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância III .	151
Figura 50: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância III .	152
Figura 51: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância III .	153
Figura 52: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	157
Figura 53: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 1,35 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	158
Figura 54: Ampliação da região de δ_{H} 1,4 – 1,7 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	159

Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	160
Figura 56: Ampliação da região de δ_{C} 14,0 – 40,0 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	161
Figura 57: Espectro de RMN ^{13}C (APT, 125 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	162
Figura 58: Ampliação da região de δ_{C} 17,0 – 40,0 do espectro de RMN ^{13}C (APT, 100 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	163
Figura 59: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT, 125 MHz) em CDCl_3 da substância IV .	164
Figura 60: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância IV .	165
Figura 61: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância IV .	166
Figura 62: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância IV .	167
Figura 63: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância IV .	168
Figura 64: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância IV .	169
Figura 65: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância IV .	170
Figura 66: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância IV .	171
Figura 67: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -NOESY em CDCl_3 da substância IV .	172
Figura 68: Espectro de infravermelho da substância V .	177
Figura 69: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância V .	178
Figura 70: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 1,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância V .	179
Figura 71: Ampliação da região de δ_{H} 2,0 – 3,6 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância V .	180
Figura 72: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância V .	181
Figura 73: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^\circ$, 125 MHz) em CDCl_3 da	182

substância **V**.

Figura 74: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **V**. 183

Figura 75: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **V**. 184

Figura 76: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **V**. 185

Figura 77: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância **V**. 186

Figura 78: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância **V**. 187

Figura 79: Espectro de massas da substância **VI**. 192

Figura 80: Espectro de infravermelho da substância **VI**. 193

Figura 81: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância **VI**. 194

Figura 82: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 1,7 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância **VI**. 195

Figura 83: Ampliação da região de δ_{H} 1,8 – 2,8 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância **VI**. 196

Figura 84: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância **VI**. 197

Figura 85: Ampliação da região de δ_{C} 12,0 – 53,0 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância **VI**. 198

Figura 86: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **VI**. 199

Figura 87: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **VI**. 200

Figura 88: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **VI**. 201

Figura 89: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **VI**. 202

Figura 90: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância **VI**. 203

Figura 91: Espectro de CG/EM da mistura **VII**. 207

Figura 92: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura VII .	208
Figura 93: Ampliação da região de δ_{H} 0,6 – 1,4 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura VII .	209
Figura 94: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da mistura VII .	210
Figura 95: Ampliação da região de δ_{C} 10,0 – 32,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da mistura VII .	211
Figura 96: Espectro de CG/EM da substância VIII .	215
Figura 97: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância VIII .	216
Figura 98: Ampliação da região de δ_{H} 7,2 – 8,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância VIII .	217
Figura 99: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ 135 $^\circ$, 125 MHz) em CDCl_3 da substância VIII .	218
Figura 100: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância VIII .	219
Figura 101: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância VIII .	220
Figura 102: Mapa de correlação ^1H – ^1H –COSY em CDCl_3 da substância VIII .	221
Figura 103: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IX .	225
Figura 104: Ampliação da região de δ_{H} 6,7 – 8,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IX .	226
Figura 105: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^\circ$, 125 MHz) em CDCl_3 da substância IX .	227
Figura 106: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância IX .	228
Figura 107: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância IX .	229
Figura 108: Ampliação do mapa de correlação ^1H – ^1H –COSY em CDCl_3 da substância IX .	230
Figura 109: Espectro de NOESY da substância IX .	231
Figura 110: Espectro de CG/EM da mistura XI .	234
Figura 111: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura XI .	235

Figura 112: Ampliação da região de δ_H 0,7 – 1,5 do espectro de RMN 1H (400 MHz) em $CDCl_3$ da mistura XI .	236
Figura 113: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 0 , 100 MHz) em $CDCl_3$ da mistura XI .	237
Figura 114: Ampliação da região de δ_C 10,0 – 31,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em $CDCl_3$ da mistura XI .	238
Figura 115: Ampliação da região de δ_C 31,0 – 43,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em $CDCl_3$ da mistura XI .	239
Figura 116: Espectro de CG/EM da substância XII .	244
Figura 117: Espectro de RMN 1H (500 MHz) em $CDCl_3$ da substância XII .	245
Figura 118: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 0 , 100 MHz) em $CDCl_3$ da substância XII .	246
Figura 119: Ampliação da região de δ_C 10,0 – 40,0 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em $CDCl_3$ da substância XII .	247
Figura 120: Mapa de correlação do espectro de HMBC em $CDCl_3$ da substância XII .	248
Figura 121: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em $CDCl_3$ da substância XII .	249
Figura 122: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em $CDCl_3$ da substância XII .	250
Figura 123: Mapa de correlação do espectro de HSQC em $CDCl_3$ da substância XII .	251
Figura 124: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HSQC em $CDCl_3$ da substância XII .	252
Figura 125: Ampliação do mapa de correlação 1H - 1H -COSY em $CDCl_3$ da substância XII .	253
Figura 126: Ampliação do mapa de correlação 1H - 1H -ROESY em $CDCl_3$ da substância XII .	254
Figura 127: Curvas dose-resposta das amostras testadas contra parasitos do ciclo sanguíneo de <i>P. falciparum</i> (cepa W2), mostrando os valores da concentração inibitória de 50% do crescimento (CI_{50}).	256

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Constituintes químicos de plantas do gênero <i>Simaba</i> .	31
Tabela 2 Quantidades de extratos obtidos.	57
Tabela 3 Análise cromatográfica do extrato SR .	59
Tabela 4 Análise cromatográfica da fração SR-6 .	60
Tabela 5 Análise cromatográfica da fração SR-8 .	61
Tabela 6 Análise cromatográfica da fração SR8-8 .	61
Tabela 7 Análise cromatográfica da fração SR88-5 .	62
Tabela 8 Análise cromatográfica do extrato SRM .	64
Tabela 9 Análise cromatográfica da fração SRM-1 .	65
Tabela 10 Análise cromatográfica da fração SRM1-0 .	65
Tabela 11 Análise cromatográfica da fração SRM1-3 .	66
Tabela 12 Análise cromatográfica da fração SRM13-1 .	66
Tabela 13 Análise cromatográfica da fração SRM1-6 .	67
Tabela 14 Análise cromatográfica da fração SRM16-1 .	67
Tabela 15 Análise cromatográfica da fração SRM16-2 .	68
Tabela 16 Análise cromatográfica da fração SRM-3 .	68
Tabela 17 Análise cromatográfica da fração SRM3-1 .	69
Tabela 18 Análise cromatográfica da fração SRM-4 .	69
Tabela 19 Análise cromatográfica da fração SRM4-3 .	70
Tabela 20 Análise cromatográfica do extrato SSM .	72
Tabela 21 Análise cromatográfica da fração SSM-4 .	73
Tabela 22 Análise cromatográfica do extrato SSRM	74
Tabela 23 Análise cromatográfica da fração SSRM-1 .	75
Tabela 24 Análise cromatográfica da fração SSRM1-6 .	75
Tabela 25 Análise cromatográfica da fração SSRM16-1 .	76
Tabela 26 Análise cromatográfica da fração SSRM1612-0 .	76
Tabela 27 Análise cromatográfica da fração SSRM16120-0 .	77
Tabela 28 Análise cromatográfica da fração SSRM1-7 .	77
Tabela 29 Análise cromatográfica da fração SSRM17-5 .	78

Tabela 30 Análise cromatográfica da fração SSRM175-1 .	78
Tabela 31 Análise cromatográfica da fração SSRM-6 .	79
Tabela 32 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância I , e as comparações com valores da literatura para o modelo Mo , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	91
Tabela 33 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do derivado acetilado I-A da substância I , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	92
Tabela 34 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância II , e as comparações com valores da literatura para os modelos Mo-1 e Mo-2 , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	119
Tabela 35 Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C -DEPTQ (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC da substância X , e as comparações com valores da literatura para o modelo Mo , os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.	134
Tabela 36 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) da cumarina III em CDCl_3 , e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz.	147
Tabela 37 Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno IV , e as comparações com valores da literatura para os modelos Mo , os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.	156
Tabela 38 Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do triterpeno V em CDCl_3 , e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores	176

de referência para o triterpeno nilocitina (**Mo**, Vieira, 1995).

Tabela 39 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno **VI**, e as comparações com valores da literatura (MULHOLLAND et. al., 1998) para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz. 191

Tabela 40 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da mistura dos esteróides **VII**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo-1 (sitosterol)**, **Mo-2 (estigmasterol)** e **Mo-3 (campesterol)**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz. 206

Tabela 41 Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HSQC e HMBC do alcalóide **VIII**, e as comparações com valores da literatura, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz. 214

Tabela 42 Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HSQC e HMBC do alcalóide **IX**, e as comparações com valores da literatura, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz. 224

Tabela 43 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da mistura **XI**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo-1 (sitostenona)** e **Mo-2 (estigmastenona)**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz. 233

Tabela 44 Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C -DEPTQ (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno **XII**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz. 243

Tabela 45 Percentual de redução (% Redução) do crescimento de *P. falciparum* cloroquina resistente (W2) na presença do extrato EMRSS e das frações SRM1610-1(niloticina) e SRM431-2 (chaparrinona). 255

Tabela 46 Concentração inibitória de 50% do crescimento (CI_{50}) do clone W2 (cloroquina-resistente) de *P. falciparum* contra o extrato EMRSS. 255

Tabela 47 Concentração inibitória de 50% do crescimento (CI ₅₀) do clone W2 (cloroquina-resistente) de <i>P. falciparum</i> contra as frações SRM1610-1 (niloticina) e SRM431-2 (chaparrinona).	255
--	-----

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1 Resumo das análises cromatográficas do extrato SR .	63
Fluxograma 2 Resumo das análises cromatográficas do extrato SRM .	71
Fluxograma 3 Resumo das análises cromatográficas do extrato SSM .	73
Fluxograma 4 Resumo das análises cromatográficas do extrato SSRM .	80

LISTA DE ESQUEMA

Esquema 1 Formação do <i>apo-eufol</i> ou <i>apo-tirucalol</i> .	52
Esquema 2 Proposta mecanística dos principais fragmentos de massas (70 eV) para a substância VI .	192
Esquema 3 Proposta mecanística dos principais fragmentos de massas para substância VIII .	214
Esquema 4 Proposta mecanística dos principais fragmentos de massas para a substância XII .	244

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APT	Attached Proton test
CC	Cromatografia em coluna
CCDP	Cromatografia em camada delgada em escala preparativa
COSY	CORrelation SpectroscopY
δ	Deslocamento químico em partes por milhão
d	duplete
dd	Duplo duplete
ddd	Duploduploduplete
EM	Espectro de massas
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamento medida em Hertz
m	multiplete
MHz	Megahertz
m/z	Relação massa/carga
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
RMN ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
s	Sinal Simples
sl	Sinal simples largo
t	Triplete
tl	Triplete largo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	25
3 REVISÃO DA LITERATURA	26
3.1 FAMÍLIA SIMAROUBACEAE	26
3.1.1 Atividades biológicas de Simaroubaceae	26
3.2 O GÊNERO <i>Simaba</i>	28
3.3 QUASSINÓIDES	50
3.3.1 Atividade biológica dos quassinóides	53
4 PARTE EXPERIMENTAL	56
4.1 ESCOLHA DAS ESPÉCIES VEGETAIS	56
4.2 COLETAS DAS PLANTAS	56
4.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS	56
4.4 MATERIAIS E MÉTODOS	57
4.5 ANÁLISES DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE <i>Simaba suffruticosa</i>	59
4.5.1 Análise cromatográfica do extrato SR	59
4.5.2 Análise cromatográfica do extrato SRM	64
4.6 ANÁLISES DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE <i>Simaba subcymosa</i>	72
4.6.1 Análise cromatográfica do extrato SSM	72
4.6.2 Análise cromatográfica do extrato SSRM	74
4.7 REAÇÃO DE ACETILAÇÃO	81
4.8 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMALÁRICA	81
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	83
5.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>S. suffruticosa</i> e <i>S. subcymosa</i>	83
5.2 RESULTADO DO TESTE DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA <i>in vitro</i> DO EXTRATO METANÓLICO DAS RAÍZES DE <i>S. suffruticosa</i> (EMRSS) E DAS SUBSTÂNCIAS NILOTICINA (SRM1610-1) E CHAPARRINONA (SRM431-2)	255

6 CONCLUSÕES	258
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	259

1 INTRODUÇÃO

Desde a descoberta do Brasil, espécies vegetais vêm sendo utilizadas pelo homem para diversos fins como: alimento, veneno, medicamentos, corantes, etc (PINTO et. al., 2007). Desde então esses vegetais vêm sendo utilizados cada vez mais pela população e recebendo apoio da própria Organização Mundial de Saúde (OMS), devido ao desenvolvimento dos estudos químicos e farmacológicos, na comprovação da eficácia dos mesmos (CASTRO et. al. 2001).

Os estudos sistemáticos com plantas medicinais envolvem várias áreas, como: antropologia, botânica, química, farmácia, biologia, etc. (CASTRO et. al. 2001). A química de produtos naturais tem como objetivo o isolamento e a determinação estrutural dos metabólitos presentes nas plantas medicinais (MATOS, 1997).

Cerca de 80% da população de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento são praticamente dependentes da medicina caseira, utilizando plantas para necessidades primárias de saúde (PINTO et. al., 2007).

Por exemplo, no Nordeste a maioria da população utiliza remédios caseiros, que são preparados com plantas disponíveis no meio-ambiente ou em mercados e feiras-livres, o que constitui a fitoterapia de base empírica. Das cerca de 700 espécies que são utilizadas nas práticas caseiras por automedicação, apenas 70 podem ser tidas como medicinais (MATOS, 2007).

O potencial químico dos organismos vivos estimula o interesse das indústrias farmacêuticas como fonte de novos fármacos (PINTO et. al., 2007). Muitas substâncias são utilizadas como intermediários na síntese de valiosas substâncias, como por exemplo, as sapogeninas extraídas dos carás (*Dioscorea spp*) ou do sisal (*Agave spp*), que foram utilizadas como matéria prima para a síntese de hormônios e anticoncepcionais (MATOS, 1997). No período de 1981 a 2002 foram registradas 877 novas substâncias químicas, sendo 49% destas originando-se de produtos naturais, semi-síntese e ou substâncias sintéticas baseados no grupo farmacofórico de substâncias isoladas de plantas (NOLDIN, 2005).

Existem cerca de 250.000 espécies de plantas superiores de onde podem ser extraídas muitas substâncias com atividade medicinal (PINTO et al., 2007). Porém, existe uma grande preocupação com a extração direta nos ecossistemas naturais

(extrativismo), que vem reduzindo as populações naturais de inúmeras espécies, acarretando assim a redução da flora e a descoberta de novos fármacos, além da biopirataria, uma vez que os laboratórios estrangeiros tem se apropriado de conhecimentos tradicionais das plantas medicinais (CASTRO et. al. 2001).

Dentre as diversas famílias de plantas existentes, destacamos a família Simaroubaceae, uma pequena, porém importante família da ordem Rutales, que se destaca pela bioprodução de quassinóides, classes de substâncias com destaque em várias atividades biológicas (FILHO, 1989). Através de dados da literatura, pode-se verificar a necessidade de ampliar o estudo de espécies dessa família, uma vez que esse estudo tem sido feito de forma desigual, alguns gêneros foram amplamente estudados, enquanto outros pouco ou nada constam na literatura (BIAGGIO, 1988). Dentro da família Simaroubaceae, destacamos o gênero *Simaba* com aproximadamente 50 espécies que podem ser encontradas em quase todo o território Brasileiro. Dentre as 50 espécies, apenas 14 foram investigadas fitoquimicamente até o momento, com mais de 100 substâncias isoladas (BARBOSA et. al., 2011).

Diante disto e aliado ao alto potencial farmacológico de espécies pertencentes à família Simaroubaceae, o presente trabalho tem como objetivo principal o estudo fitoquímico de *Simaba subcymosa*, e de *Simaba suffruticosa*, espécie esta muito utilizada por populações locais na região do triângulo Mineiro, como antielmíntico, com propriedades amebicidas.

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivos, isolar e identificar estruturalmente os constituintes químicos dos extratos hexânico e metanólico das cascas das raízes e folhas da espécie *Simaba suffruticosa*. Estudar a composição fitoquímica dos extratos hexânico e metanólico das cascas do caule, dos extratos hexânico e metanólico de folhas e raízes de *Simaba subcymosa*.

Avaliar a atividade antimalárica dos extratos e/ou substâncias isoladas da espécie *S. suffruticosa*, uma vez que espécies desse gênero têm uma grande utilização popular.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FAMÍLIA SIMAROUBACEAE

A família Simaroubaceae possui aproximadamente 32 gêneros e 200 espécies (NOLDIN, 2005), subdividas em seis subfamílias que se encontram principalmente na América tropical, Ásia e no oeste da África (PHILLIPSON e DARWISH, 1979). No Brasil é representada pelos gêneros *Quassia* e *Picrollema*, na região Amazônica; *Castela* e *Picrasma*, no Sul do país; *Simaba* e *Simarouba* em quase todas as regiões brasileiras (ALMEIDA et. al., 2007), sendo quase todas representantes lenhosas, arbustos ou árvores com folhas alternas compostas ou às vezes inteiras, sem pontuações, podendo ou não ter espinhos (NOLDIN, 2005). Muitas dessas espécies são utilizadas na medicina popular como antielmintico, com propriedades amebicidas (JOSHI et. al., 2003) e no tratamento da malária (MURAKAMI et. al., 2003). Na Ásia e na África espécies vêm sendo utilizada no tratamento de câncer (SHING e JIANG, 2000).

Diversos gêneros da família Simaroubaceae são distinguidos pela quantidade de substâncias amargas, sendo os quassinóides os mais relevantes, que recebem uma grande atenção por apresentarem atividades antitumoral, (NOVELLO et. al., 2003), antiviral, antimalárica, anti-leucêmica, etc. (JOSHI et. al., 2003). A presença ou ausência desses quassinóides levou alguns gêneros a serem excluídos dessa família, como foi o caso do gênero *Picramnia* e *Alvaradoa*, que agora pertencem à família Picramniaceae, sendo este um importante parâmetro de classificação quimiotaxonômica dessa família (ALMEIDA et al., 2007).

Outra classe de substância que recebe uma grande atenção, por ser encontrada nessa família, são os alcalóides do tipo β -carbinólicos que apresentam atividades citotóxicas contra várias células, atividades antifúngicas, antiviral (LI e SNYDER, 1994), e os alcalóides cantin-6-onas (BARBETTI et. al., 1990).

3.1.1 Atividades biológicas de Simaroubaceae

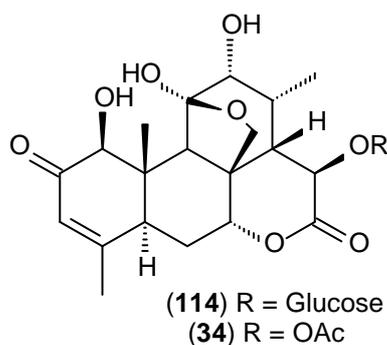
Muitas espécies dessa família apresentam atividade antimalárica. A malária é uma doença infecciosa aguda ou crônica causada por protozoário parasita do

gênero *Plasmodium*, transmitidos pela picada das fêmeas de mosquito do gênero *Anopheles* que mata 3 milhões de pessoas por ano, uma taxa só comparável à da AIDS, e afeta mais de 500 milhões de pessoas todos os anos (CORDEIRO et. al., 2002). Por exemplo, o extrato de *Brucea sumatrana* é eficiente no tratamento da malária, onde muitas frações desse extrato deram melhor resultado que a cloroquina, um medicamento usado nos anos 80 para combater a malária, quando testados com ratos infectados com *Plasmodium berghei* (VAN THU et. al., 1979).

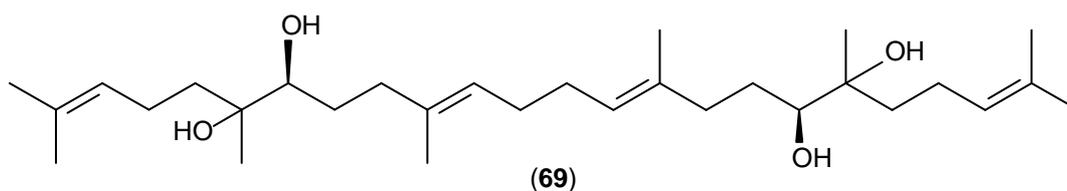
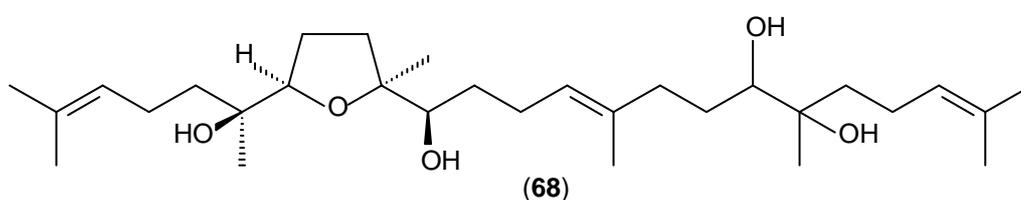
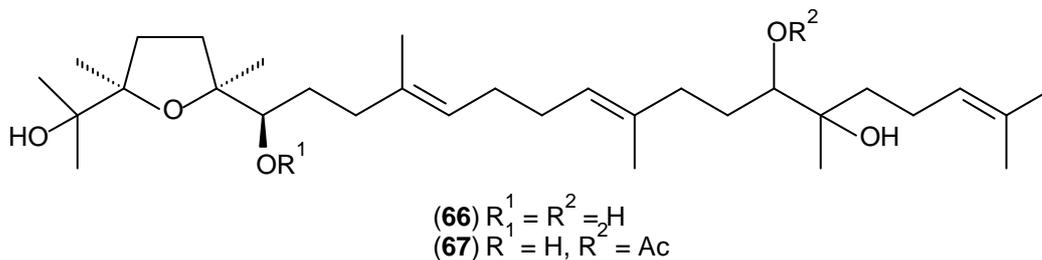
A espécie *Brucea javanica* (L.) Merr, conhecida como “Ya-dan-Zi”, no folclore chinês (SAKAKI et. al., 1986), que se encontra desde o sudeste da Ásia ao Nordeste da Austrália (KIM et. al., 2003), vem sendo utilizada na medicina chinesa para o tratamento de câncer, disenteria e malária (LIN et. al., 1990) e muitas substâncias dessa espécie vêm sendo investigadas quanto a sua atividade anti-leucêmica (SAKAKI et. al., 1986).

O extrato metanólico das cascas de *Brucea javanica* apresenta uma significativa atividade inibitória *in vivo* contra o Walker 256 carcino sarcoma e contra células linfocíticas P-388 em ratos (LEE et. al., 1979).

Os quassinóides glaucarubolona glicosilada (**114**) e holocantona (**34**), isolados de *Castela emoryi*, apresentaram propriedades contra *Reticulitermes flavipes*, assim como o extrato aquoso de *Quassia indica* (GUTIÉRREZ et. al., 1999).



Das raízes de *Quassia multiflora*, foi isolado um novo triterpeno do tipo esqualeno; quassiol A (**66**), que se encontra em um pequeno grupo de triterpenos esqualenos que possuem um ou mais anéis tetrahydrofurânicos que foram recentemente isolados de espécies de Simaroubaceae, onde muitos apresentam atividades antineoplásica, também foram isolados quassiol B (**67**), C (**68**) e D (**69**). O número desses triterpenos descritos na literatura vêm crescendo e foram isolados principalmente de algas marinhas, em especial do gênero *Laurencia*, e de espécies das famílias Simaroubaceae e Meliaceae (MILLER et al., 1995).



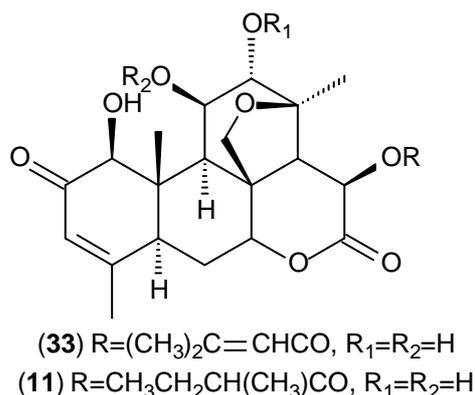
3.2 O GÊNERO *Simaba*

O gênero *Simaba* pertence a subfamília Simarouboideae, tribo Simaroubeae e subtribo Simaroubinae (BIAGGIO, 1988), com aproximadamente 50 espécies que podem ser encontradas em quase todo o território Brasileiro, dessas, apenas 14 foram investigadas fitoquimicamente (BARBOSA et. al., 2011).

Desde 1930 foram isolados mais de 100 constituintes químicos desse gênero dos quais 34,5% são quassinóides, 17,7% triterpenos, 16,8% alcalóides e 31% de outras classes (cumarinas, esteróides, substâncias fenólicas, antraquinonas, ácidos orgânicos, flavonóides, óleos essenciais e lignanas) como pode ser observado na **Tabela 1** (pág. 30) (BARBOSA et. al., 2011).

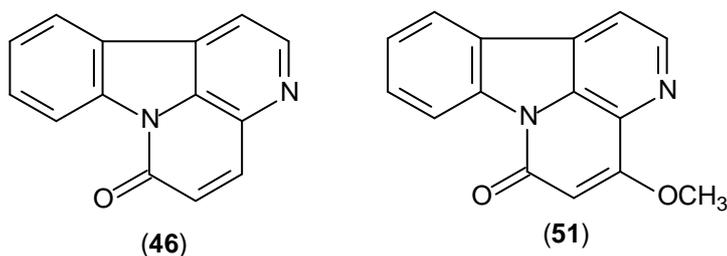
O extrato alcoólico de *Simaba multiflora* mostrou uma significativa atividade *in vitro* contra células derivadas de carcinomas humanos de nasofaringe (9KB) e *in vivo* contra a célula P-388 leucêmica (WANI et. al., 1978).

Simaba guianensis, é uma árvore pequena, encontrada em áreas inundadas da Amazônia chamada de "Cajurana". Suas frutas vermelhas são altamente apreciadas pelos peixes e suas cascas muito amargas são utilizadas pela população dessa região para o tratamento da febre. Dessa espécie foram isolados os quassinóides gutolactona (**33**) e simalikalactona D (**11**) que apresentam atividade antimalárica (CABRAL et. al., 1993).

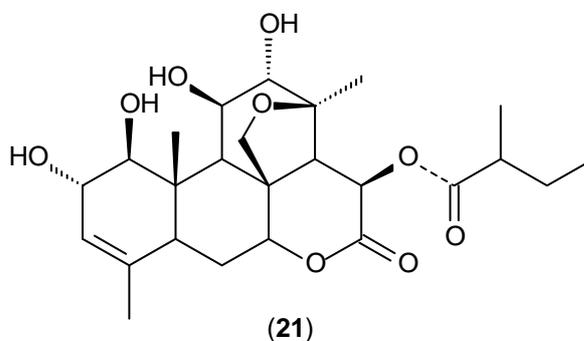


A espécie *Simaba polyphylla* é conhecida popularmente na Amazônia como "serve para tudo" ou "marupazinho" e é usada para tratamento de diversos tipos de febre. Além disso, o extrato metanólico dos galhos dessa espécie revelou-se muito ativo contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* (SARAIVA et. al., 2006).

Simaba ferruginea, popularmente conhecida como Calunga, é uma espécie típica do cerrado brasileiro, cujos rizomas são utilizados para tratar diarreias, úlceras gástricas, febres. Estudo fitoquímico realizado com rizomas dessa espécie levou ao isolamento de dois alcalóides; cantin-6-ona (**46**) e 4-metóxicantin-6-ona (**51**). Testes antiulcerogênicos realizados com o extrato metanólico do rizoma apresentou inibição acima de 80%, assim como a fração alcaloídica, que foi efetiva em diferentes vias de administração, superando a ação dos alcalóides isolados ou associados. Conclui-se que os rizomas de *Simaba ferruginea* apresentam atividades antiulcerogênicas, cuja atividade é atribuída aos alcalóides. Esses resultados confirmam os dados etnofarmacológicos sobre a planta. (NOLDIN, 2005).



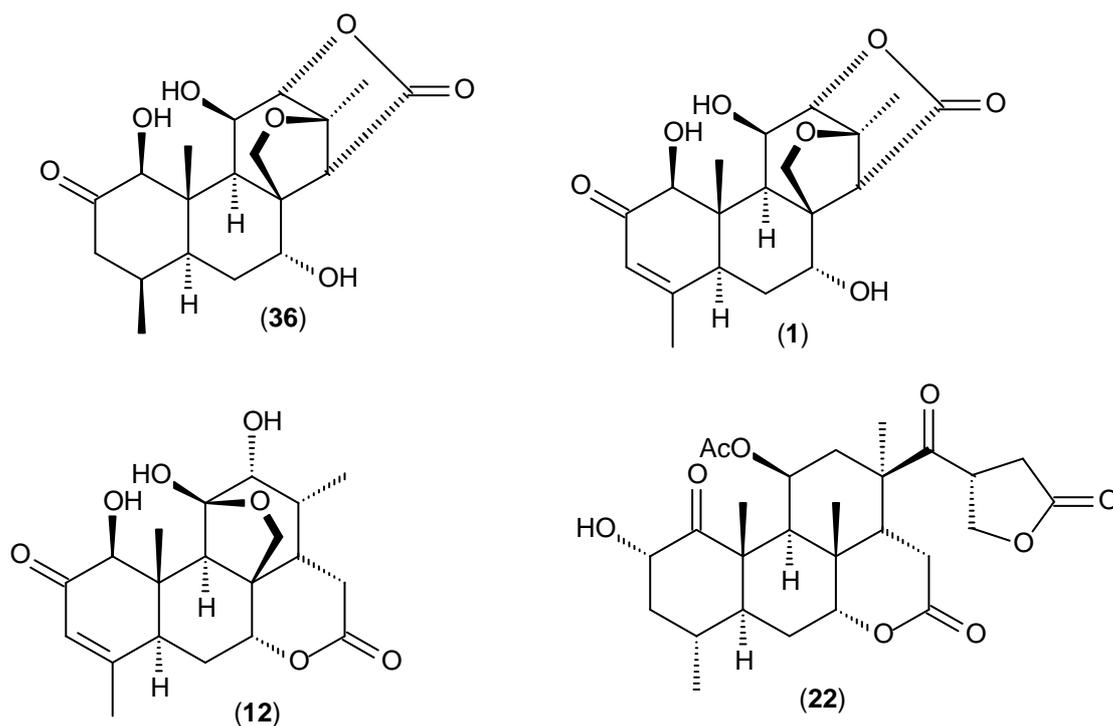
De *Simaba orinocensis*, foram isolados os quassinóides orinocinólida (**21**) e simalikalactona D (**11**), que apresentaram atividade contra *Plasmodium falciparum*, a substância (**11**) ainda apresentou melhor atividade contra *Leishmania donovani* que os fármacos pentamidina e anfotericina B (NOLDIN, 2005).



Simaba cuspidata Spruce, uma planta da América do Sul, teve seu extrato avaliado quanto à atividade antineoplásica. Os resultados foram significantes para inibição do crescimento do tumor da linhagem de células leucêmicas P-388 (POLONSKY et. al., 1980).

A espécie *Simaba cedron* Planchon conhecida popularmente como “cedron”, é muito utilizada para o tratamento de febre e de picadas de cobra. Os frutos são utilizados para cólica e tratamento da malária e a casca é utilizada como antiespasmódica. Suas sementes foram introduzidas no mercado para tratamento de problemas estomacais e infecções hepáticas (NOLDIN, 2005).

Das cascas de *Simaba subcymosa* foi isolado pela primeira vez o quassinóide; cimosanina (**36**), além dos já conhecidos cedronina (**1**), chaparrinona (**12**) e simarolido (**22**) (SOUZA et. al., 2005).



Os constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Simaba*, até o momento, estão representados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Constituintes químicos de plantas do gênero *Simaba* (BARBOSA et. al., 2011)

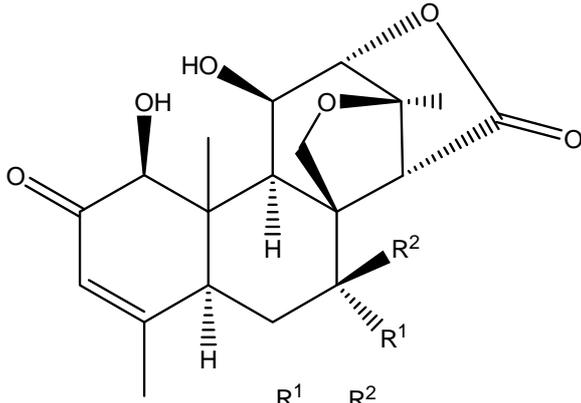
No.	Classe de substâncias e nomes	Espécie
	<i>Quassinóides</i>	
1	Cedronina	<i>S. cedron</i> <i>S. subcymosa</i>
2	Cedronilina	<i>S. cedron</i>
3	7- <i>epi</i> -cedronina	<i>S. cedron</i>
4	Cedronolactona A	<i>S. cedron</i>
5	Cedronolactona B	<i>S. cedron</i>
6	Cedronolactona C	<i>S. cedron</i>
7	Cedronolactona D	<i>S. cedron</i>
8	Cedronolactona E	<i>S. cedron</i>
9	Glaucarubolol	<i>S. cedron</i>
10	Glaucarubolona	<i>S. cedron</i>
11	Simalikalactona D	<i>S. cedron</i> <i>S. multiflora</i> <i>S. orinocensis</i> <i>S. guianensis</i> <i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
12	Chaparrinona	<i>S. cedron</i> <i>S. multiflora</i> <i>S. guianensis</i> <i>S. cuneata</i> <i>S. subcymosa</i>

13	Chaparrina	<i>S. cedron</i>
		<i>S. multiflora</i>
14	Glaucarubol	<i>S. cedron</i>
15	Samaderina Z	<i>S. cedron</i>
16	Guanepolida	<i>S. cedron</i>
		<i>S. orinocensis</i>
17	Ailanguassina A	<i>S. cedron</i>
18	Poliandrol	<i>S. cedron</i>
19	1,4-Dehidrocedronolactona A	<i>S. cedron</i>
20	Simarinolida	<i>S. orinocensis</i>
21	Orinocinolida	<i>S. orinocensis</i>
22	20(R)-Simarolido	<i>S. orinocensis</i>
		<i>S. subcymosa</i>
		<i>S. cuneata</i>
23	Picrasina A	<i>S. orinocensis</i>
24	Soulameolido	<i>S. orinocensis</i>
25	6 α -Tigloiloxichaparrina	<i>S. cuspidata</i>
		<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
26	6 α -Tigloiloxichaparrinona	<i>S. cuspidata</i>
		<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
27	6 α -Senecioiloxichaparrinona	<i>S. multiflora</i>
		<i>S. guianensis</i>
28	Karinolida	<i>S. multiflora</i>
29	6 α -Senecioiloxichaparrina	<i>S. multiflora</i>
30	13,18-Dehidro-6- α -senecioiloxichaparrina	<i>S. multiflora</i>
31	12-Dehidro-6 α -senecioiloxichaparrina	<i>S. multiflora</i>
32	6 α -Hidroxicaparrinona	<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
33	Gutolactona	<i>S. guianensis</i>
34	Holacantona	<i>S. guianensis</i>
35	20(S)-Simarolido	<i>S. cuneata</i>
36	Cimosanina	<i>S. subcymosa</i>
37	Glaucarubinona	<i>Q. undulata</i> (<i>S. undulata</i>)
38	15-Desacetilundulatona	<i>Q. undulata</i> (Syn. <i>S. undulata</i>)
39	Quassina	<i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
<hr/>		
	<i>Alcalóides</i>	
40	9-Metóxicantin-6-ona	<i>S. multiflora</i>
		<i>S. polyphylla</i>
41	10-Metóxicantin-6-ona	<i>S. multiflora</i>
42	10-Hidroxicantin-6-ona	<i>S. multiflora</i> A. Juss.
43	10-Hidroxi-3-metóxicantin-2,6-diona	<i>S. multiflora</i> A. Juss.
44	3-Metxicantin-2,6-diona	<i>S. multiflora</i>
		<i>S. cuspidata</i>
45	Cantin-2,6-diona	<i>S. multiflora</i>
		<i>S. polyphylla</i>
		<i>S. guianensis</i>

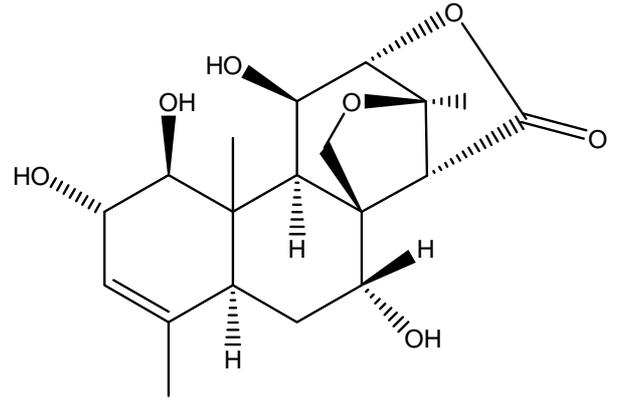
46	Cantin-6-ona	<i>S. cedron</i> <i>S. cuneata</i> <i>S. multiflora</i> <i>S. cedron</i> <i>S. ferruginea</i> <i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
47	8-Hidroxycantin-6-ona	<i>S. multiflora</i>
48	8-Metóxicantin-6-ona	<i>S. cuspidata</i>
49	5-Metóxicantin-6-ona	<i>S. cedron</i> <i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
50	3- <i>N</i> -Metilcantin-5,6-diona	<i>S. cedron</i>
51	4-Metóxicantin-6-ona	<i>S. ferruginea</i>
52	4,5-Dimetóxicantin-6-ona	<i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
53	ácido 1-propiónico- β -Carbolina	<i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
54	4-Metiltiocantin-6-ona	<i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)
55	Crenatina	<i>Q. undulata</i> (Syn. <i>S. undulata</i>)
56	1-Hidroxi-3- <i>N</i> -metilcantin-2,6-diona	<i>S. cuneata</i>
57	1-Metóxi-3- <i>N</i> -metilcantin-2,6-diona	<i>S. cuneata</i>
58	3- <i>N</i> -Metilcantin-2,6-diona	<i>S. cuneata</i>
<hr/>		
<i>Cumarinas</i>		
59	Escopoletina	<i>S. cedron</i> Planchon <i>Q. undulata</i> (Syn. <i>S. undulata</i>) <i>S. multiflora</i>
60	Eniotorina	<i>Q. undulata</i> (syn. <i>S. undulata</i>)
61	Cleomiscosina A	<i>S. multiflora</i>
62	Cumarina	<i>S. multiflora</i>
<hr/>		
<i>Triterpenos</i>		
63	3 <i>S</i> ,23 <i>R</i> ,25-Triidroxitirucalla-7-en-24-ona	<i>S. multiflora</i>
64	Hispidol B	<i>S. multiflora</i>
65	Glabretal	<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
66	Quassiol A	<i>Quassia multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
67	Quassiol B	<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
68	Quassiol C	<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
69	Quassiol D	<i>Q. multiflora</i> (Syn. <i>S. multiflora</i>)
70	Betulina	<i>S. obovata</i>
71	α -Amirina	<i>S. obovata</i>
72	β -Amirina	<i>S. obovata</i>

73	ácido 3-oxo-urs-12-en-27 α ,28-diólico	<i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)	<i>S.</i>
74	ácido 3 β -urs-12-en-27 α ,28-diólico	<i>Q. africana</i> (Syn. <i>S. africana</i>)	<i>S.</i>
75	Niloticina	<i>S. polyphylla</i>	
76	Dihidroniloticina	<i>S. cedron</i> <i>S. polyphylla</i> <i>S. cedron</i>	
77	Taraxerona	<i>S. polyphylla</i>	
78	3-oxo-tirucallen-7,24-dieno	<i>S. cuneata</i>	
79	3,21-dioxo-tirucallen-7,24-dieno	<i>S. cuneata</i>	
80	Piscidinol A	<i>S. cedron</i>	
81	23,24,25-Triidroxi-7-tirucallen-3-ona	<i>S. cedron</i>	
82	Bourjutinolona A	<i>S. cedron</i>	
<hr/>			
<i>Esteróides</i>			
83	Sitosterol	<i>S. cuneata</i> <i>S. obovata</i> <i>S. ferruginea</i> <i>S. cedron</i>	
84	Stigmasterol	<i>S. cuneata</i> <i>S. cedron</i>	
85	Campesterol	<i>S. cuneata</i> <i>S. cedron</i>	
86	Sitostenona	<i>S. cuneata</i>	
87	Stigmastenona	<i>S. cuneata</i>	
88	Campestenona	<i>S. cuneata</i>	
89	3-O- β -glicopiranosil-sitosterol	<i>S. cuneata</i> <i>S. obovata</i>	
90	3-O- β -glicopiranosil-stigmasterol	<i>S. cuneata</i>	
<hr/>			
<i>Outras classes</i>			
91	Emodina	<i>S. multiflora</i>	
92	Tricina	<i>S. multiflora</i>	
93	Antraquinona	<i>S. obovata</i>	
94	1,5-Diidroxi-3-metil-7-metóxi-antraquinona	<i>S. obovata</i>	
95	α -Tocoferol	<i>S. obovata</i>	
96	Mio-inositol	<i>S. obovata</i>	
97	Ácido gálico	<i>S. obovata</i>	
98	1-O- β -D-etilglicopiranosideo	<i>S. obovata</i>	
99	β -(<i>p</i> -Hidroxifenil)-etil álcool	<i>S. obovata</i>	
100	8-O-Metol retusina	<i>S. multiflora</i>	
101	Ácido vanílico	<i>S. multiflora</i>	
102	Quercetrina	<i>S. ferruginea</i> <i>S. cuneata</i>	
103	Precoceno I	<i>S. moiana</i>	
104	β -Cariofileno	<i>S. moiana</i>	
105	Geranial	<i>S. moiana</i>	
106	Ácido 2,3-bis[(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]-1,4-butanediil ester dodecanóico	<i>S. cuneata</i>	
107	Ácido 2,3-bis[(4-hidroxi-3-metóxfenil)metil]-1,4-butanediil ester tetradecanóico	<i>S. cuneata</i>	

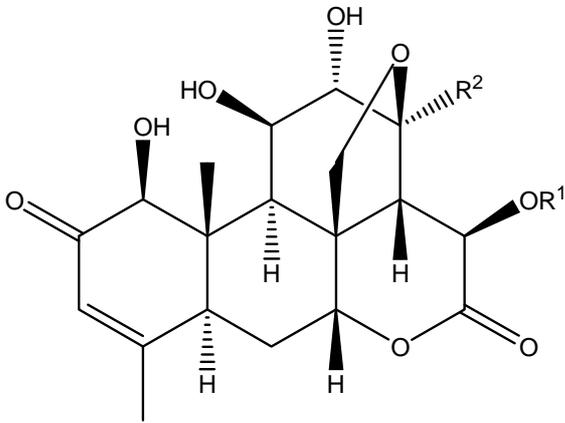
108	Ácido 2,3- <i>bis</i> [(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]-1,4-butanediil ester hexadecanóico	<i>S. cuneata</i>
109	Cedrin	<i>S. cedron</i>
110	Cedrol	<i>S. cedron</i>
111	Miricetina	<i>S. cuneata</i>
112	3',5-Dimetóxiamericanina	<i>S. cedron</i>
113	2-(3',4'-dihidroxi-5'metóxifenil)-6-(3'',4''-dihidroxi-5'metóxifenil)-3,7-dioxobiciclo	<i>S. cedron</i>



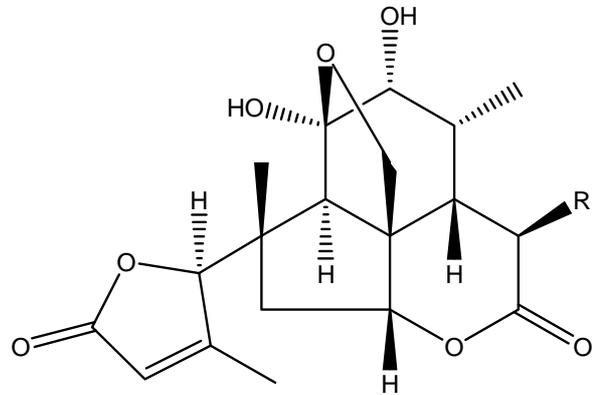
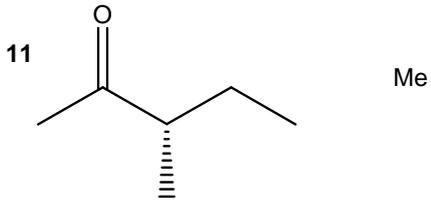
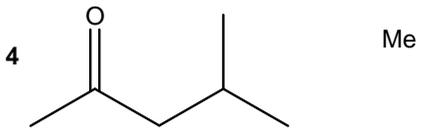
	R ¹	R ²
1	OH	H
3	H	OH



2

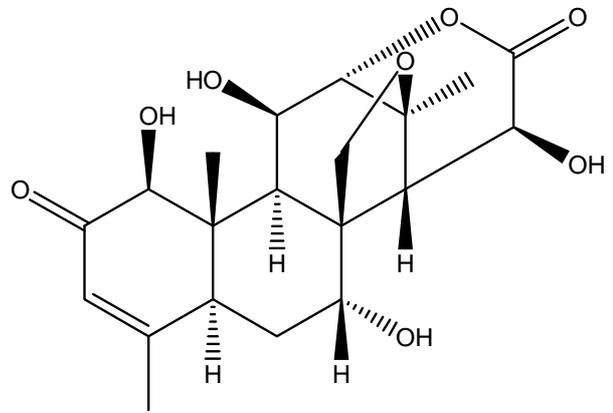


R ¹	R ²
----------------	----------------

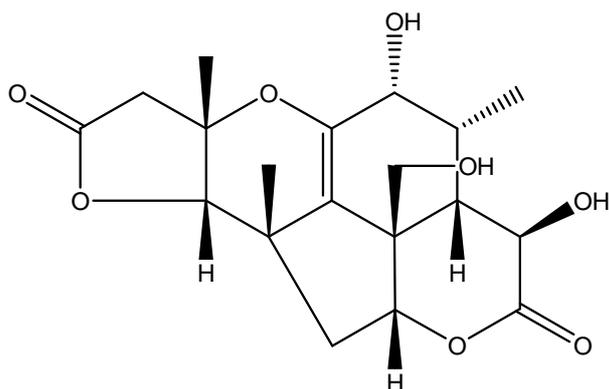


R

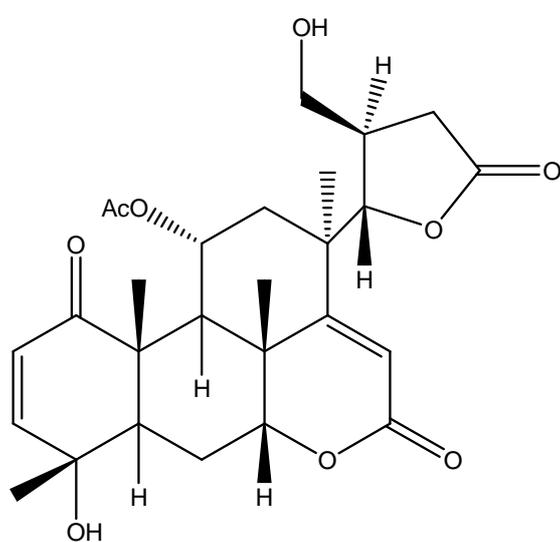
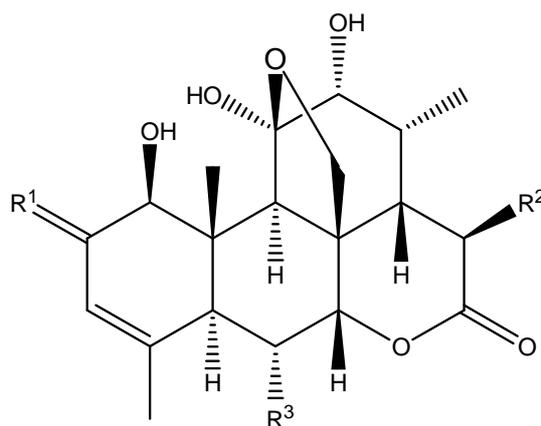
5	H
6	OH



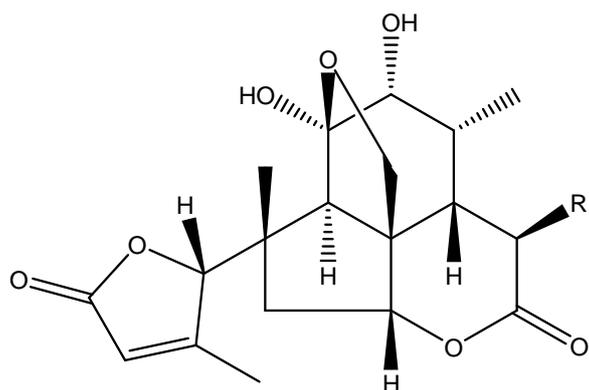
7



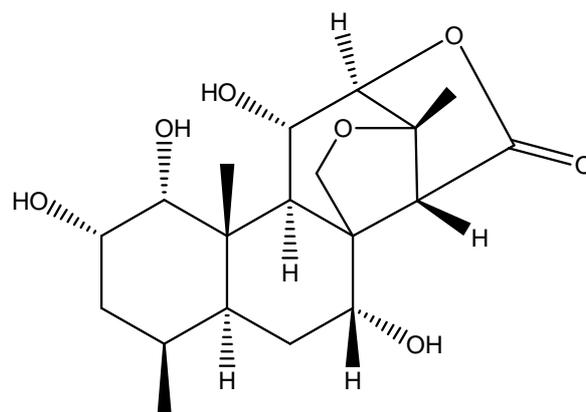
8



16

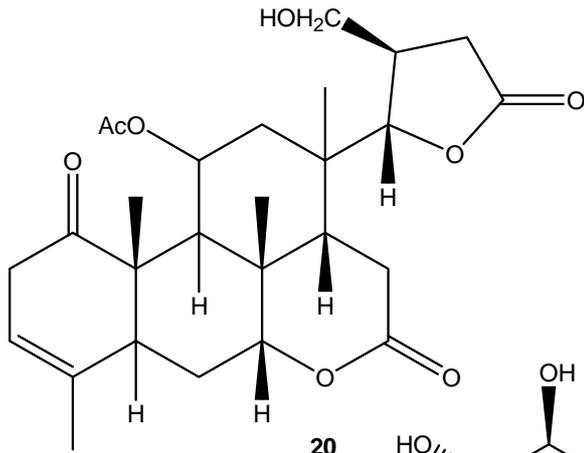


R
 17 H
 18 OH

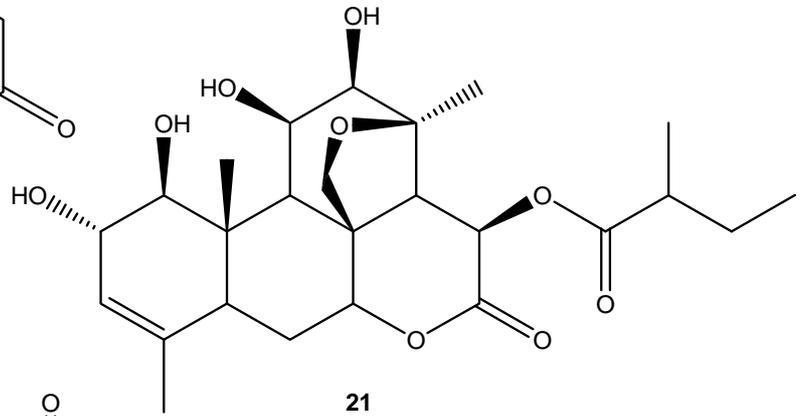


19

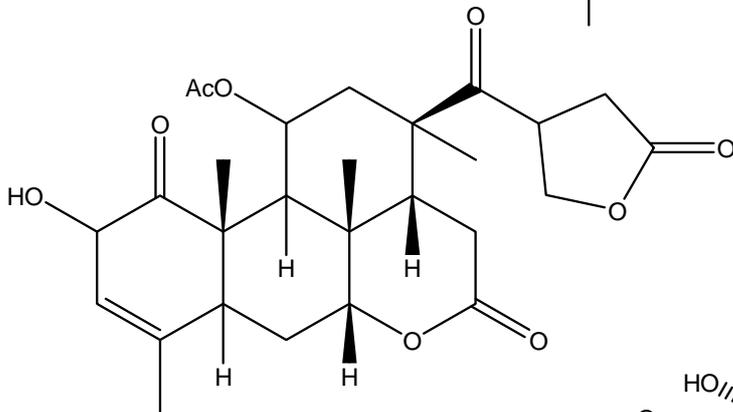
	R ¹	R ²	R ³
9	α -OH, H	OH	H
10	O	OH	H
12	O	H	H
13	α -OH, β -H	H	H
14	α -OH, β -H	OH	H
25	α -OH, β -H	H	tigloiloxi
26	O	H	tigloiloxi
27	O	H	senecioiloxi
29	α -OH, β -H	H	senecioiloxi
32	O	H	OH
34	O	OAc	H



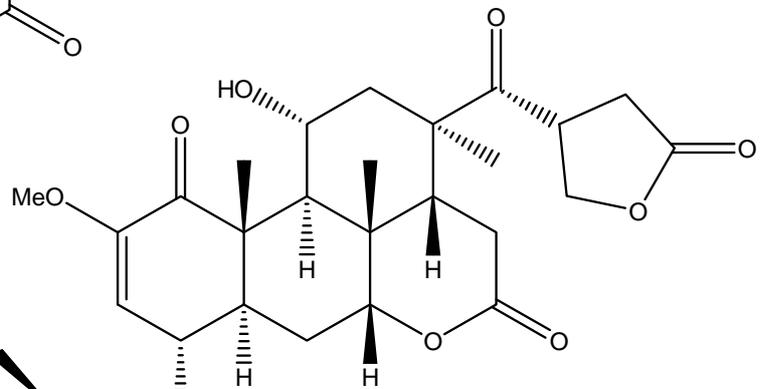
20



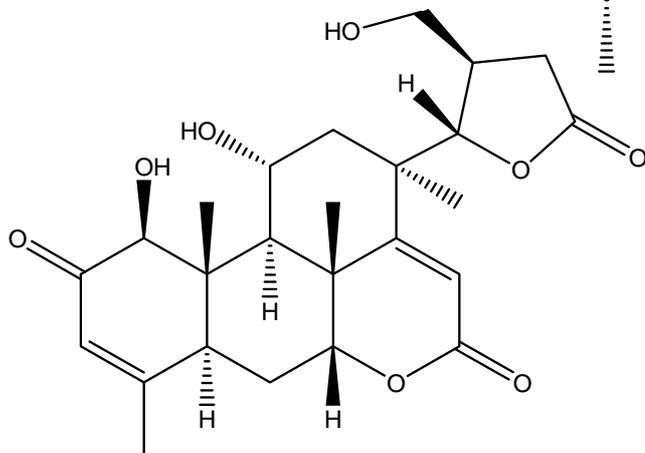
21



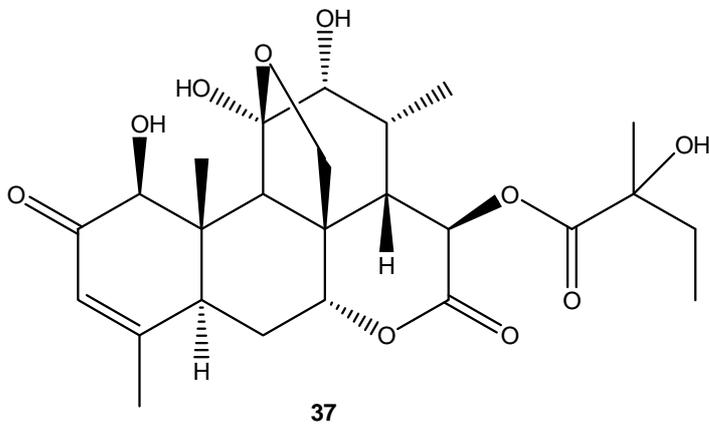
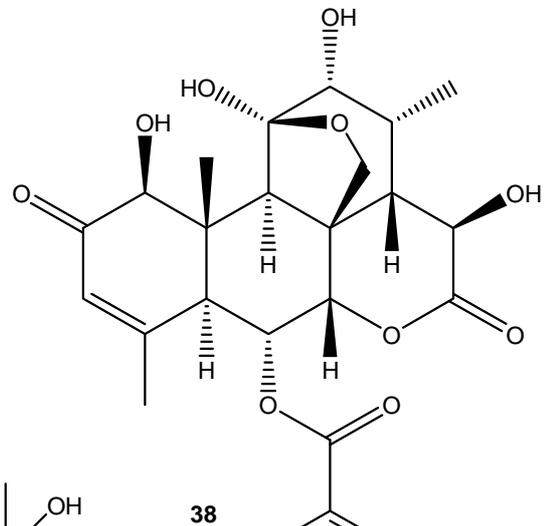
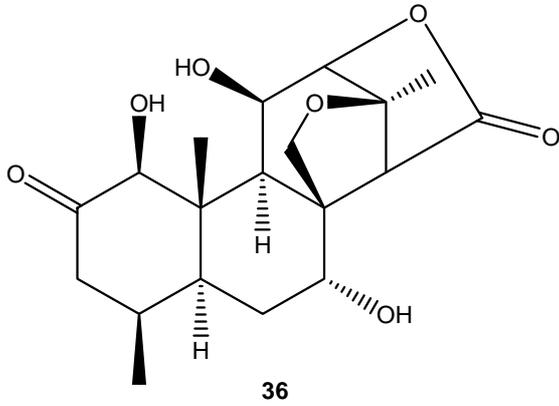
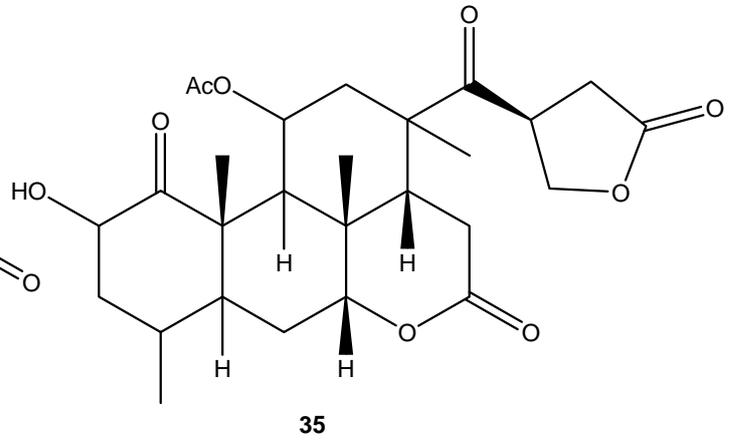
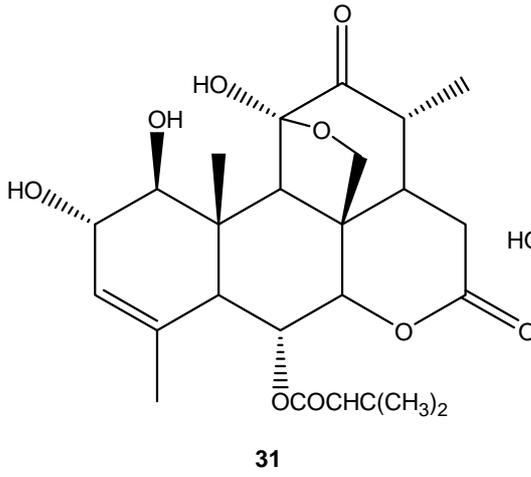
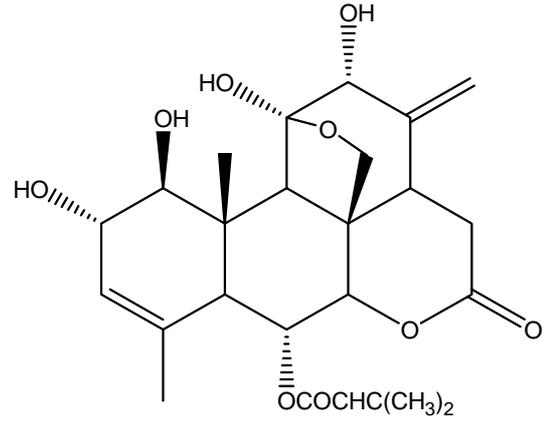
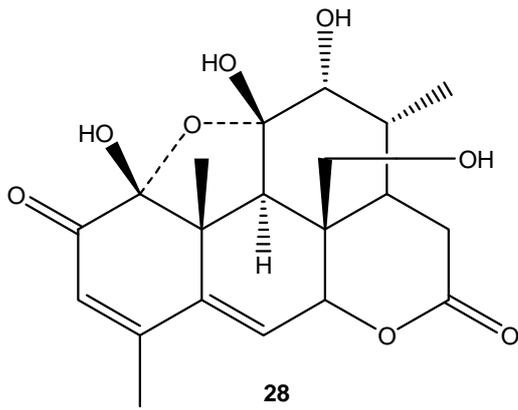
22

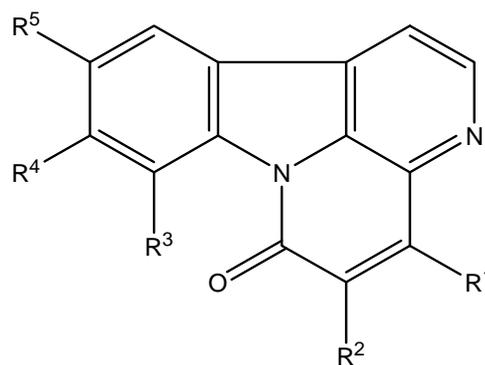
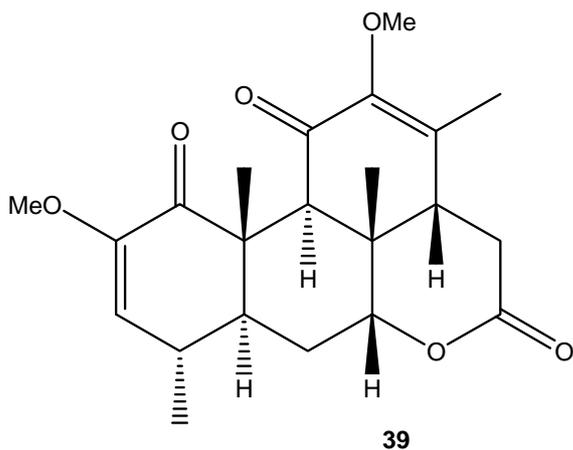


23

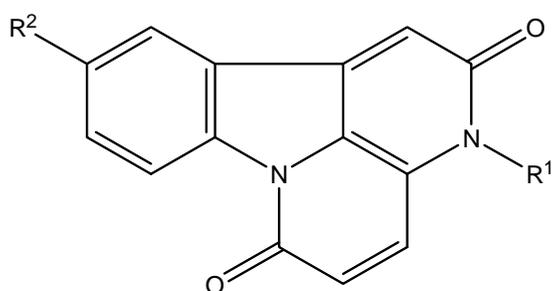


24

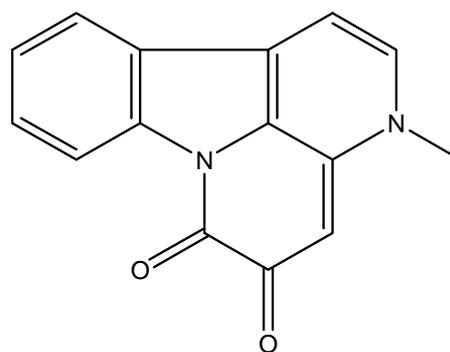
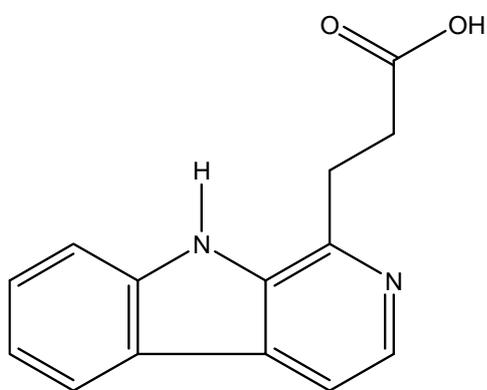
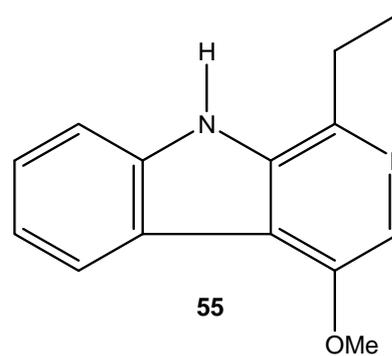


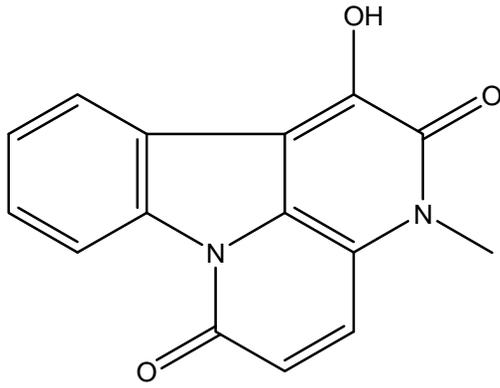


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
40	H	H	H	OMe	H
41	H	H	H	H	OMe
42	H	H	H	H	OH
46	H	H	H	H	H
47	H	H	OH	H	H
48	H	H	OMe	H	H
49	H	OMe	H	H	H
51	OMe	H	H	H	H
52	OMe	OMe	H	H	H
54	SMe	H	H	H	H

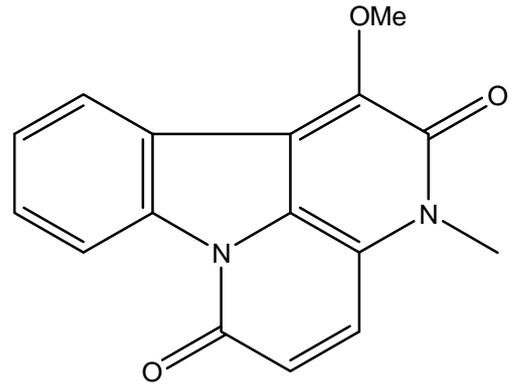


	R ¹	R ²
43	OMe	OH
44	OMe	OH
45	H	H

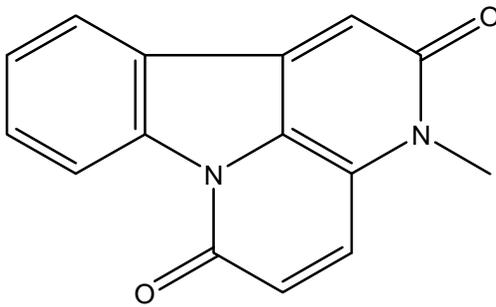
**50****53****55**



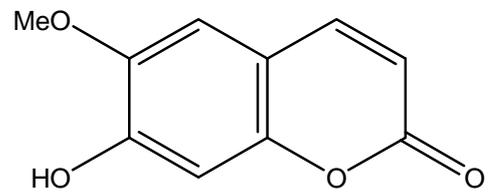
56



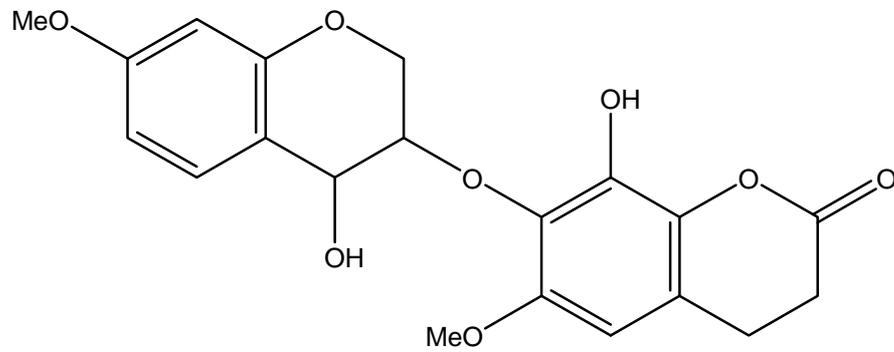
57



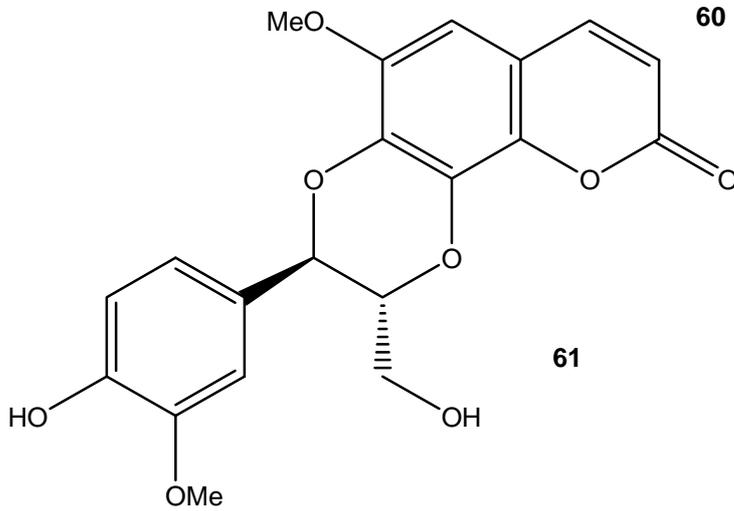
58



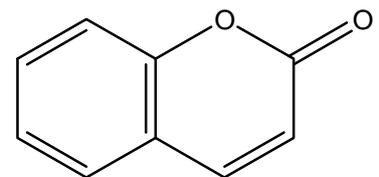
59



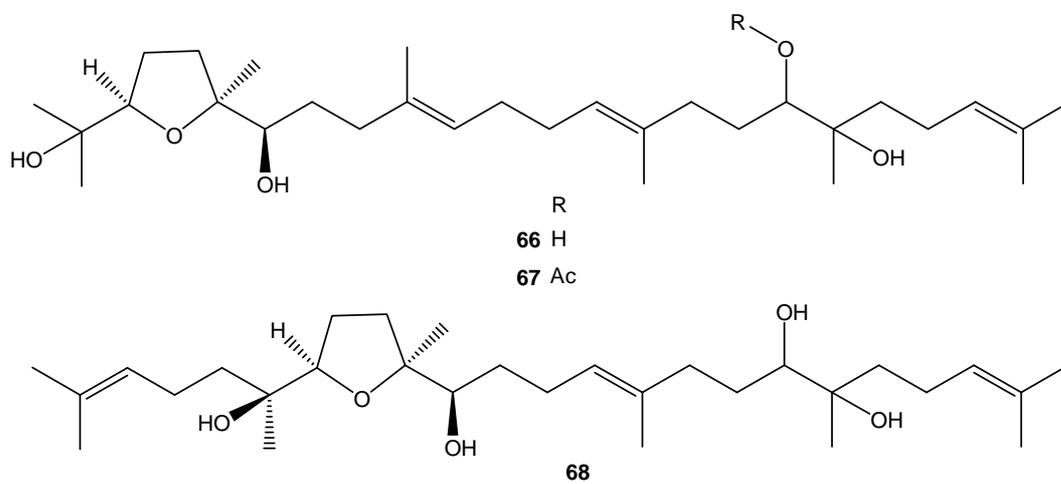
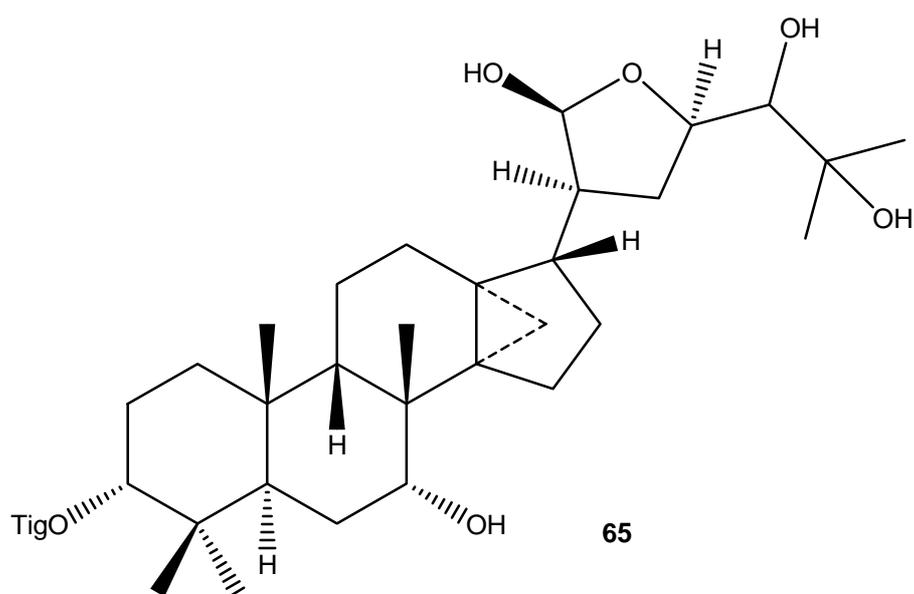
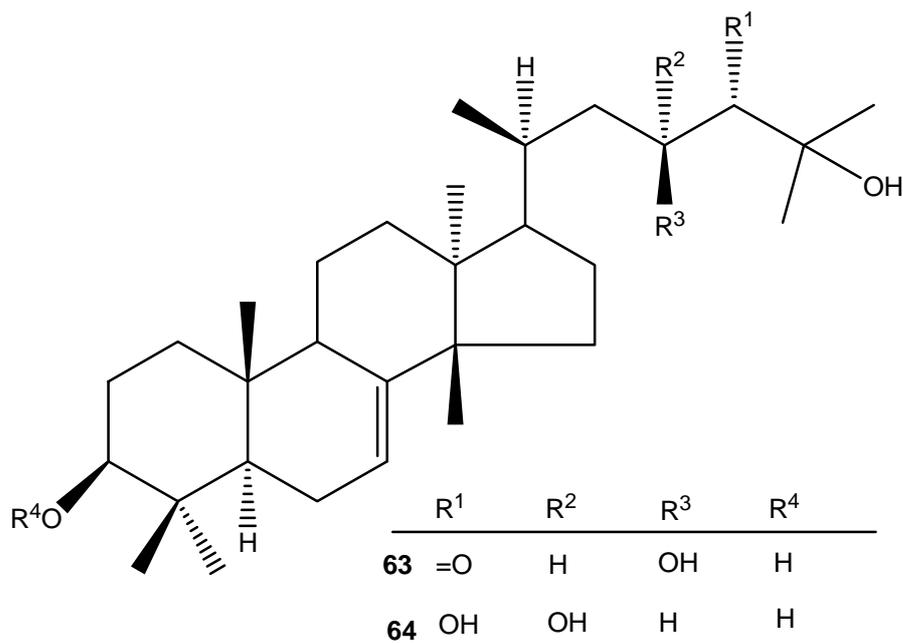
60

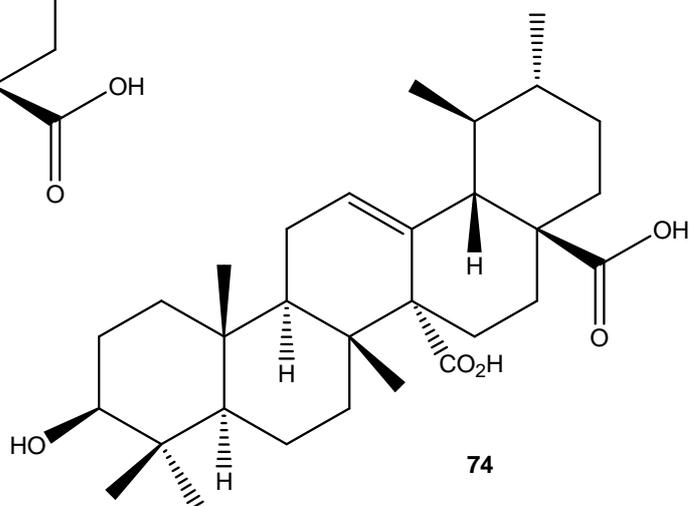
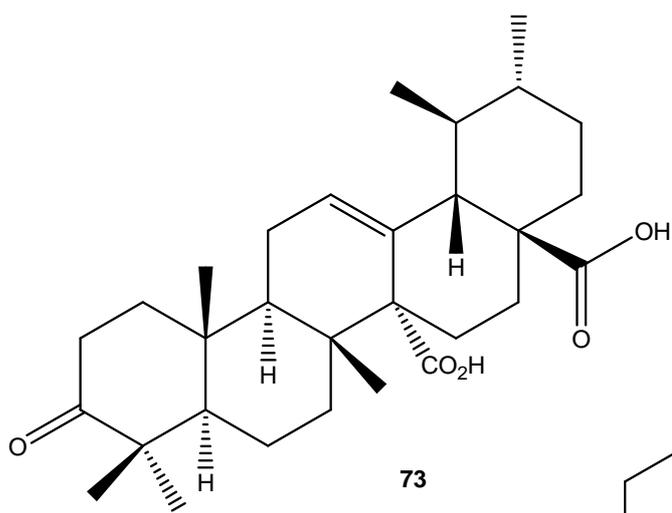
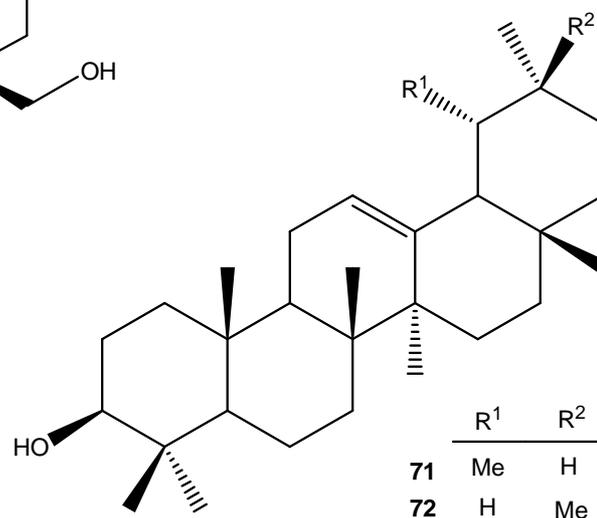
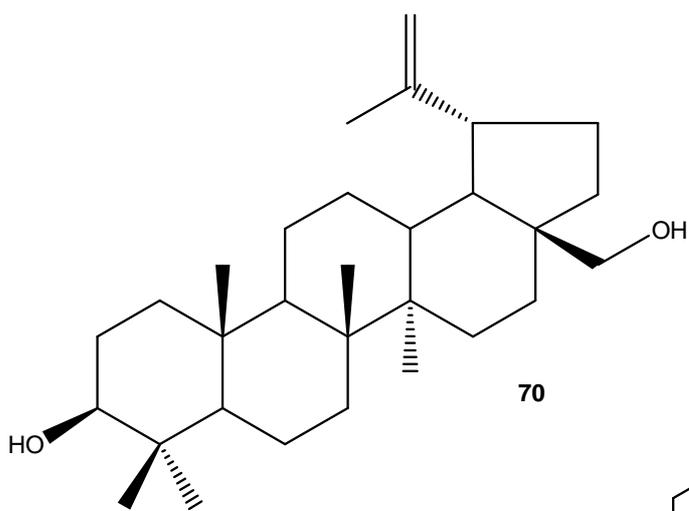
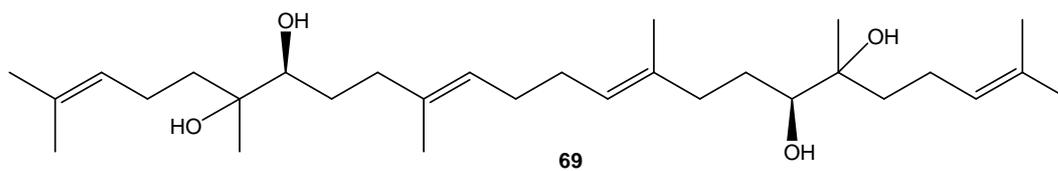


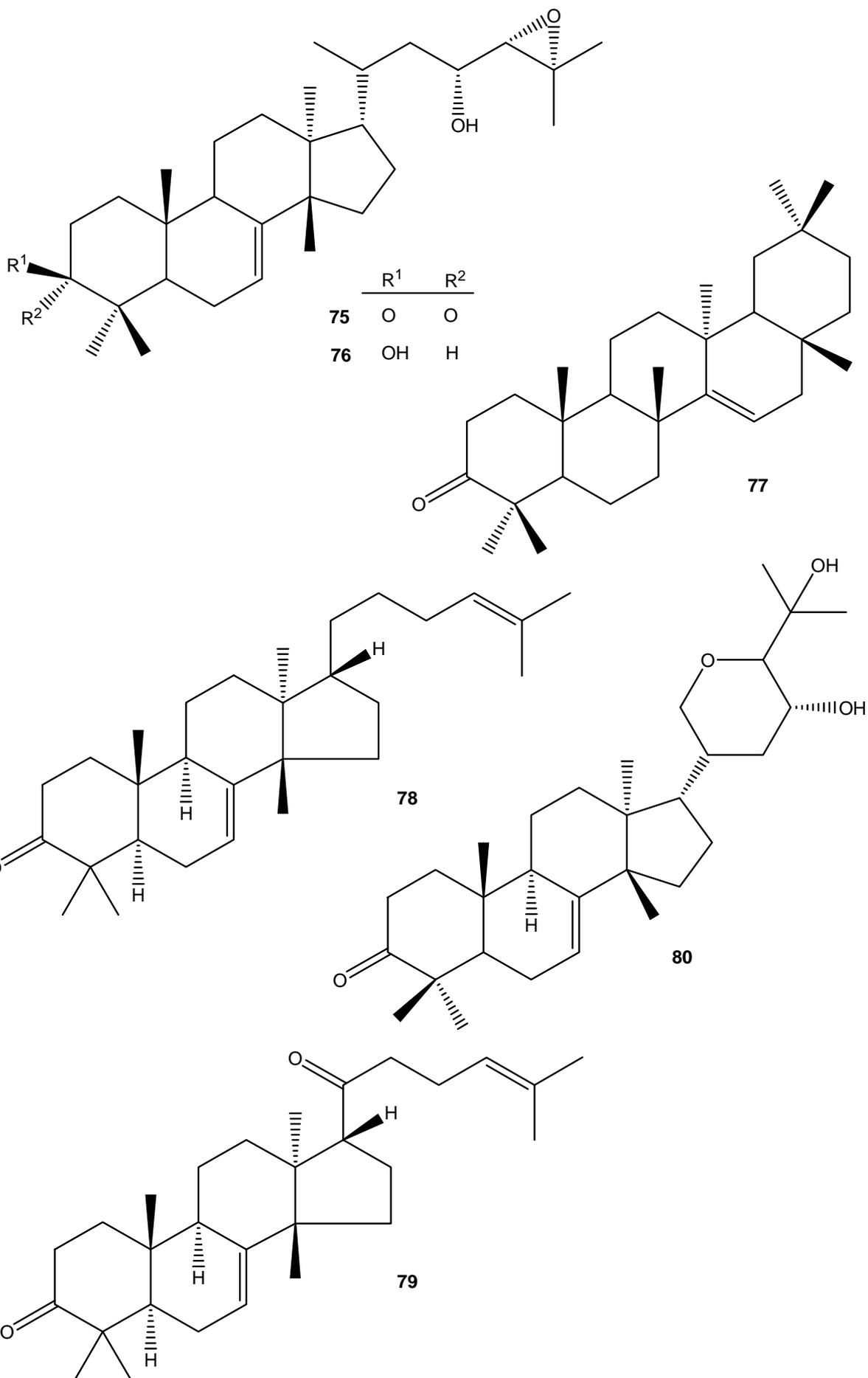
61

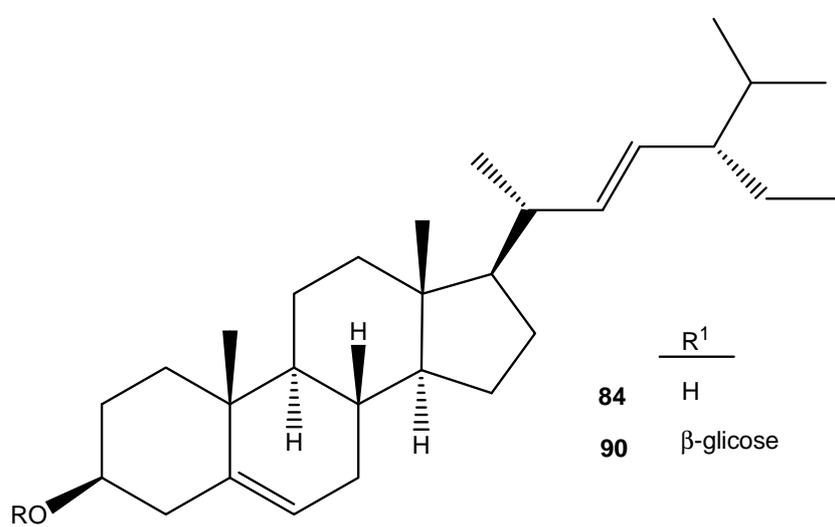
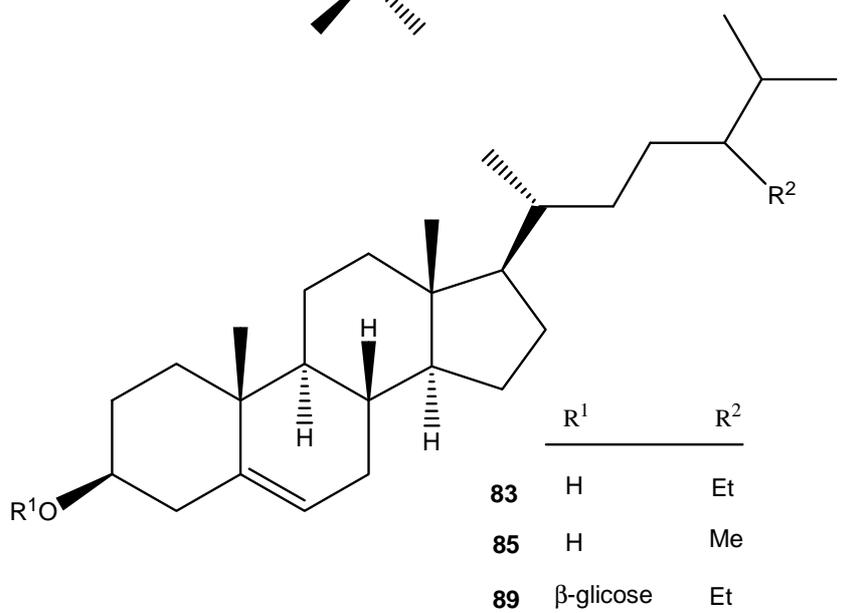
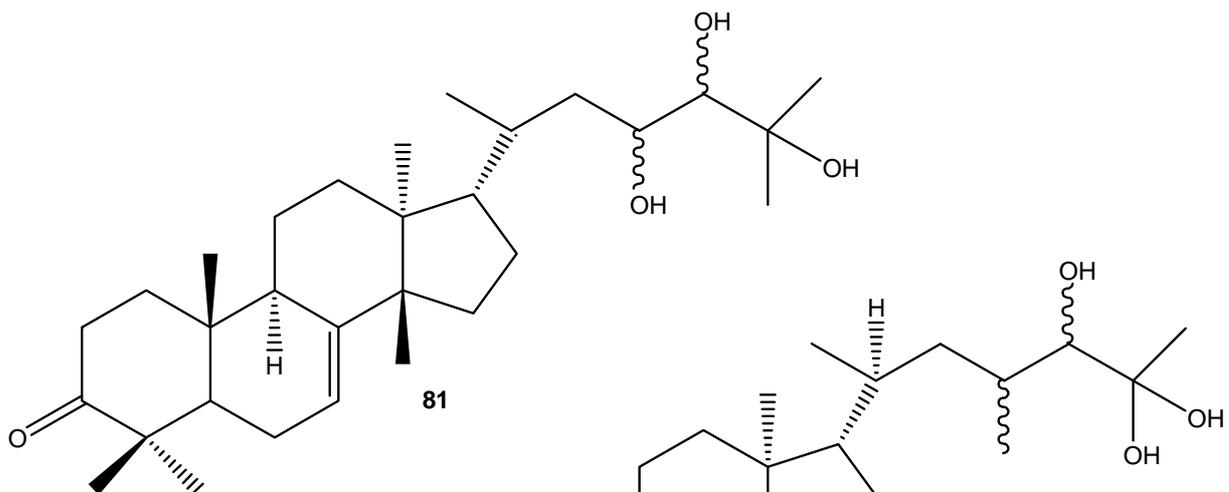


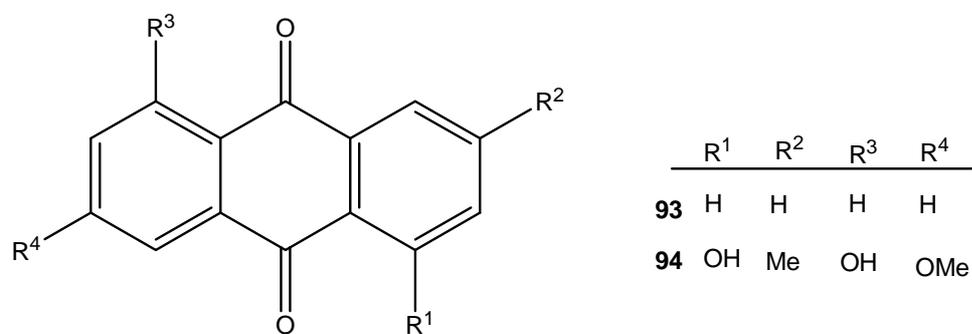
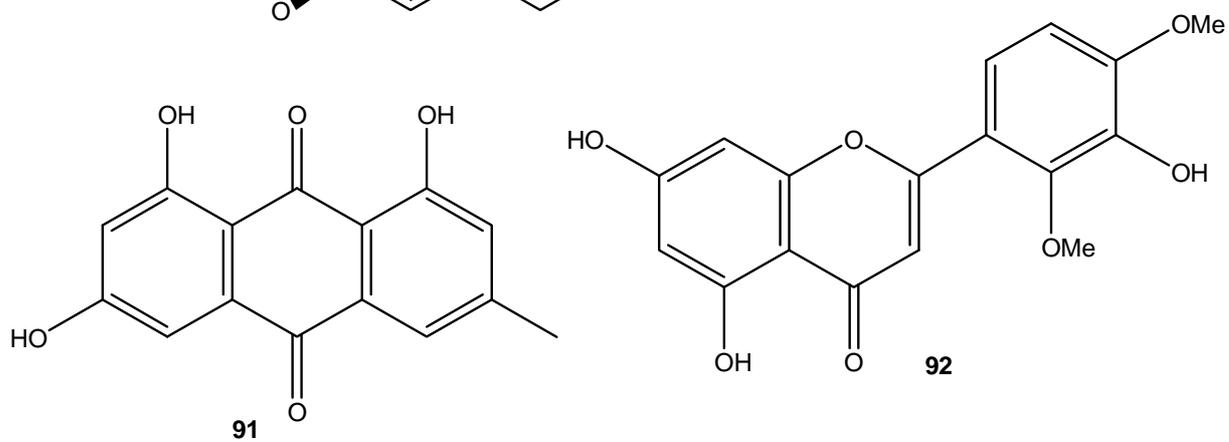
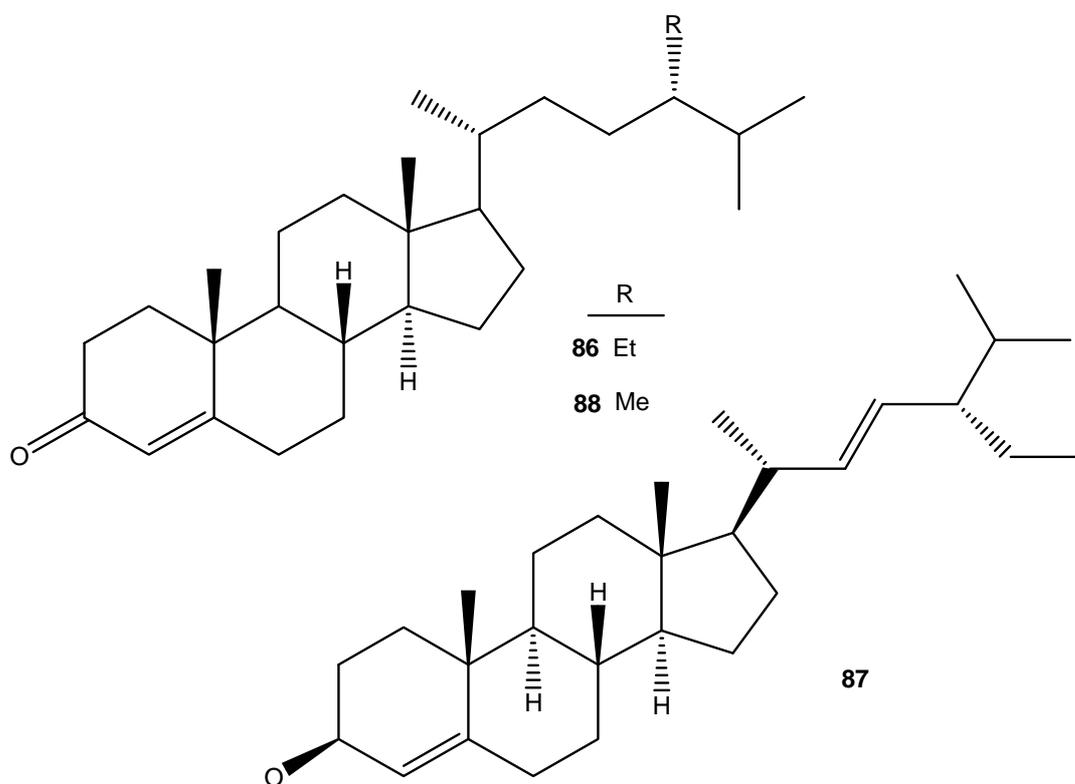
62

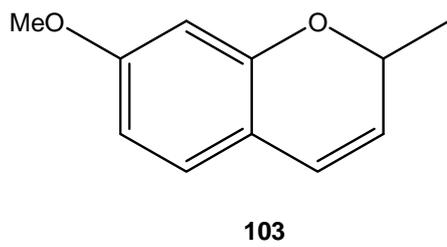
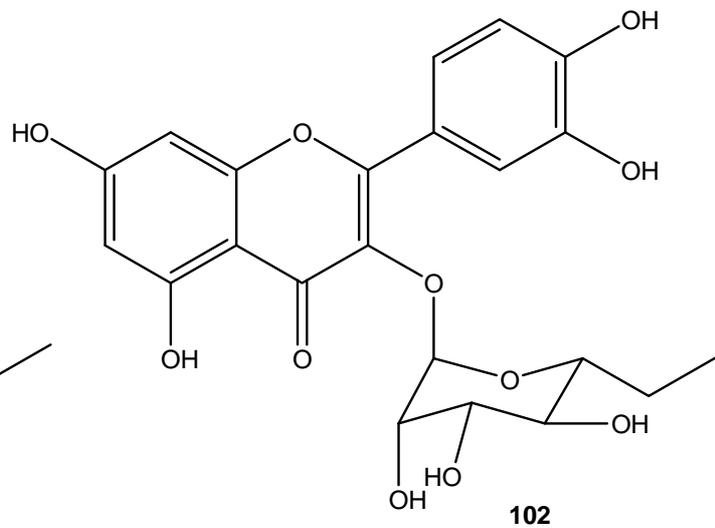
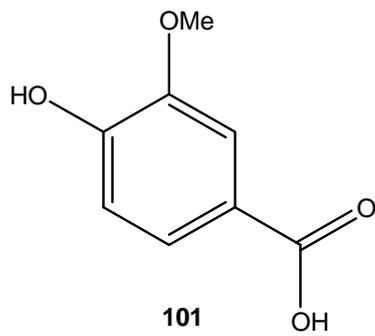
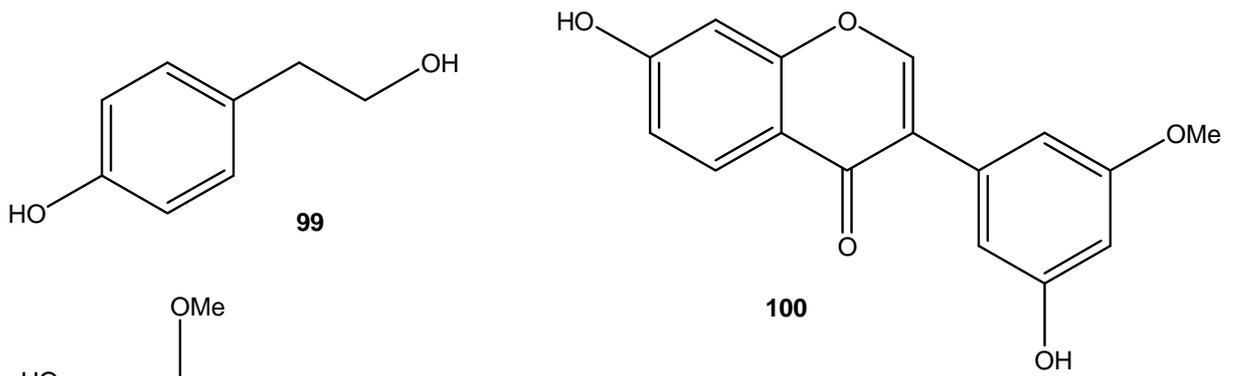
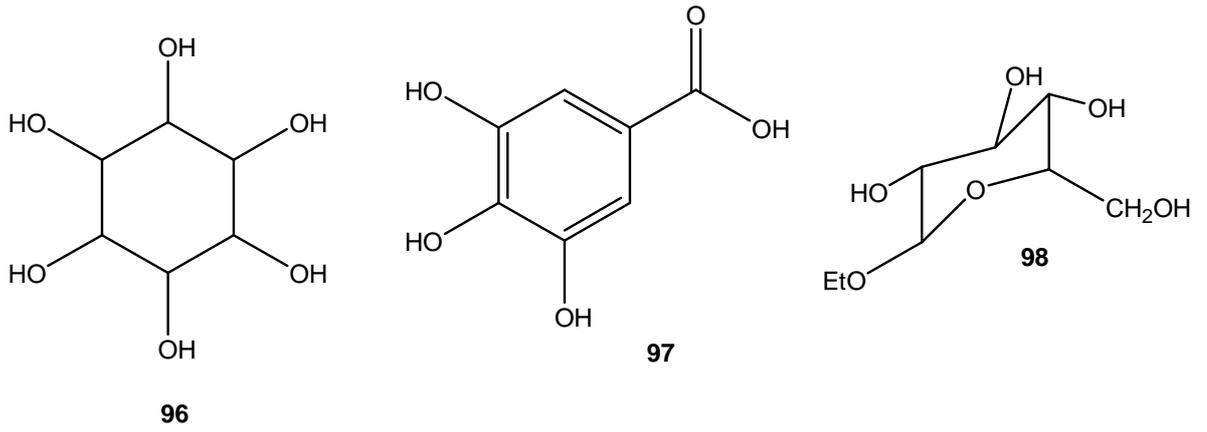
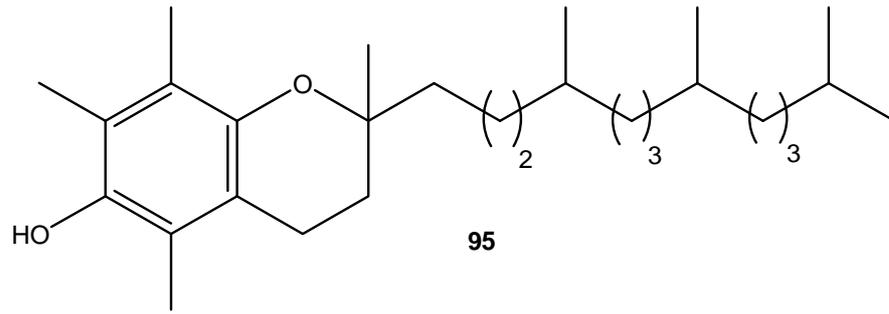


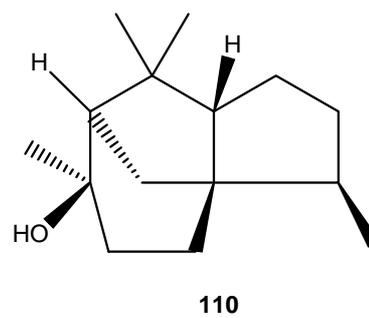
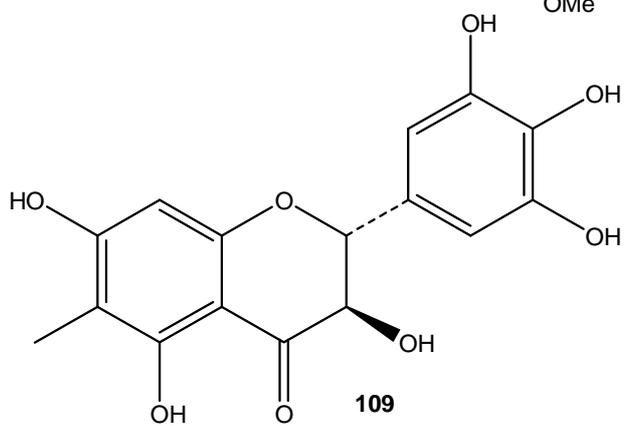
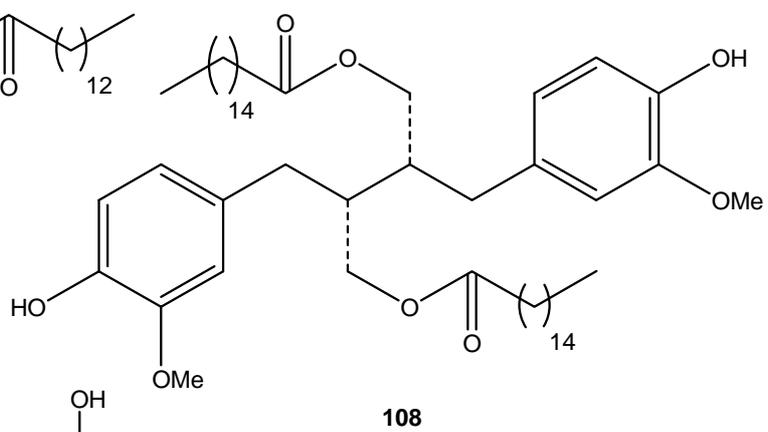
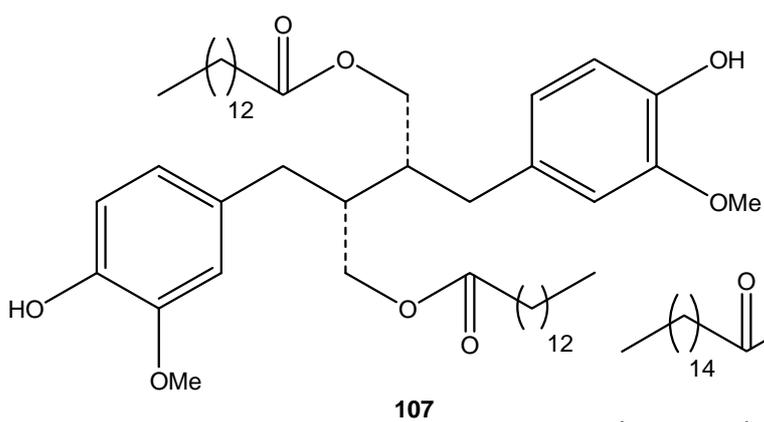
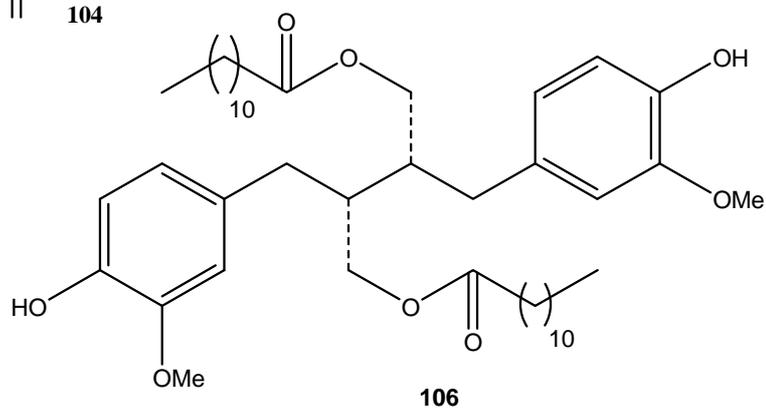
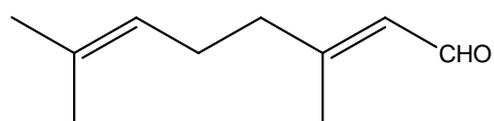
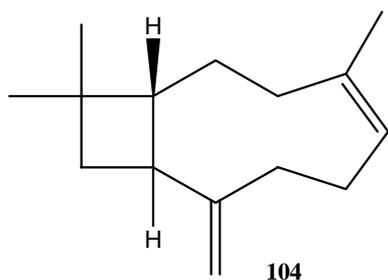


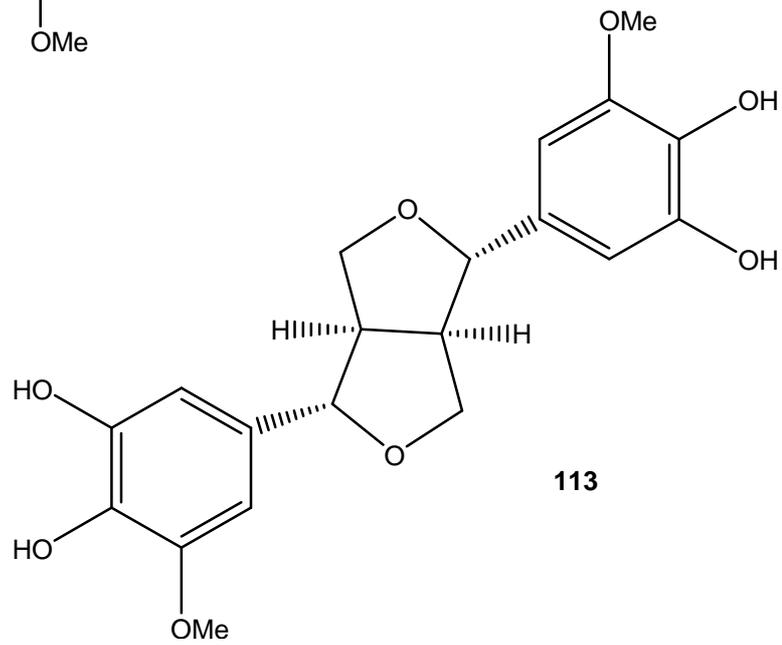
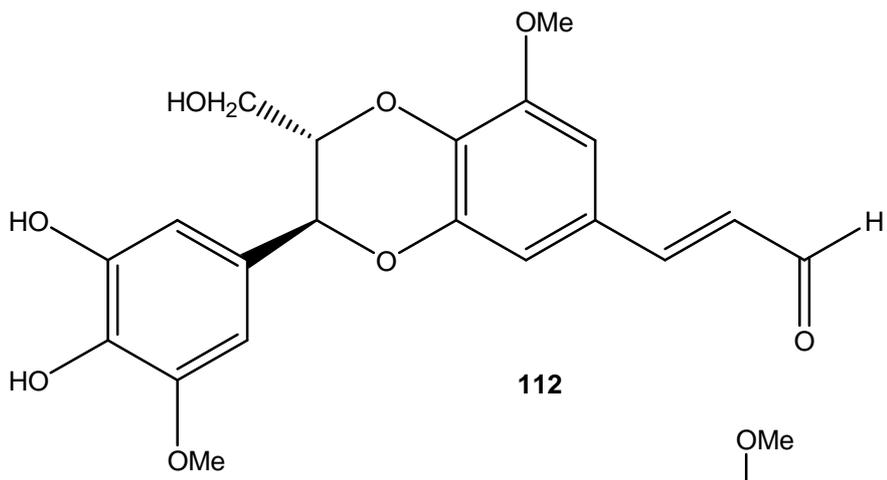
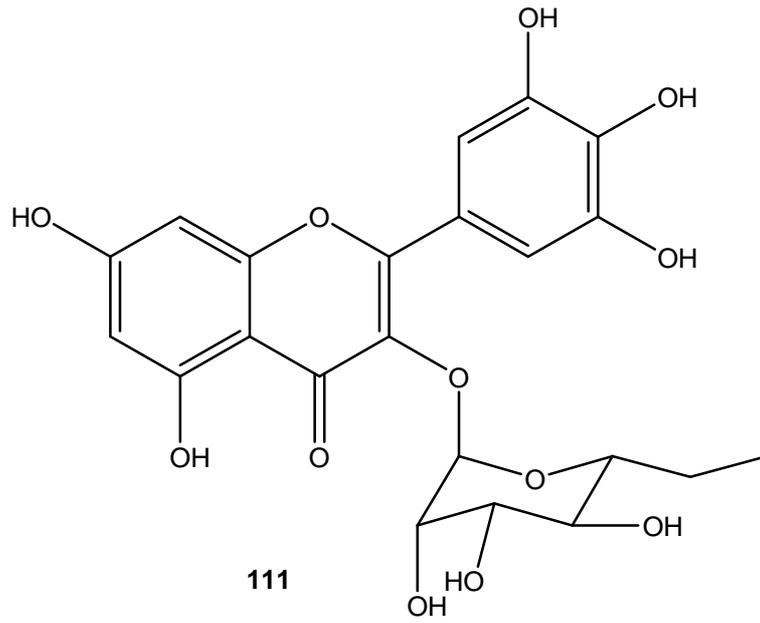








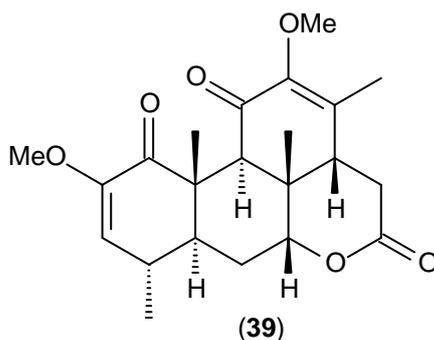




3.3 QUASSINÓIDES

Os quassinóides são os principais responsáveis pelo sabor amargo das plantas da família Simaroubaceae, sendo que a comunidade científica tem um grande interesse por causa de sua complexidade e diversidade de suas estruturas, e além de apresentarem diversas propriedades biológicas, (JACOBS et. al., 1987) tais como, atividade antitumoral, antiviral, antimalárica, antineoplásica, atividade fitotóxica, entre outras (NOLDIN, 2005).

O primeiro quassinóide foi isolado em 1937, a quassina (**39**), mas somente em 1950 ela foi caracterizada, a partir daí muitos quassinóides altamente oxigenados vêm sendo isolados e caracterizados (SHING e JIANG, 2000). Os quassinóides são considerados uma classe de triterpenos biodegradados com alto padrão de oxigenação (HAMBURGER e CORDELL, 1988).



Os quassinóides podem ser classificados em diferentes grupos, de acordo com seu esqueleto básico (**Figura 1, pág. 50**), C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₂ e C₂₅, sendo a maioria tem o esqueleto básico do tipo C₂₀ (ALMEIDA et. al. 2007).

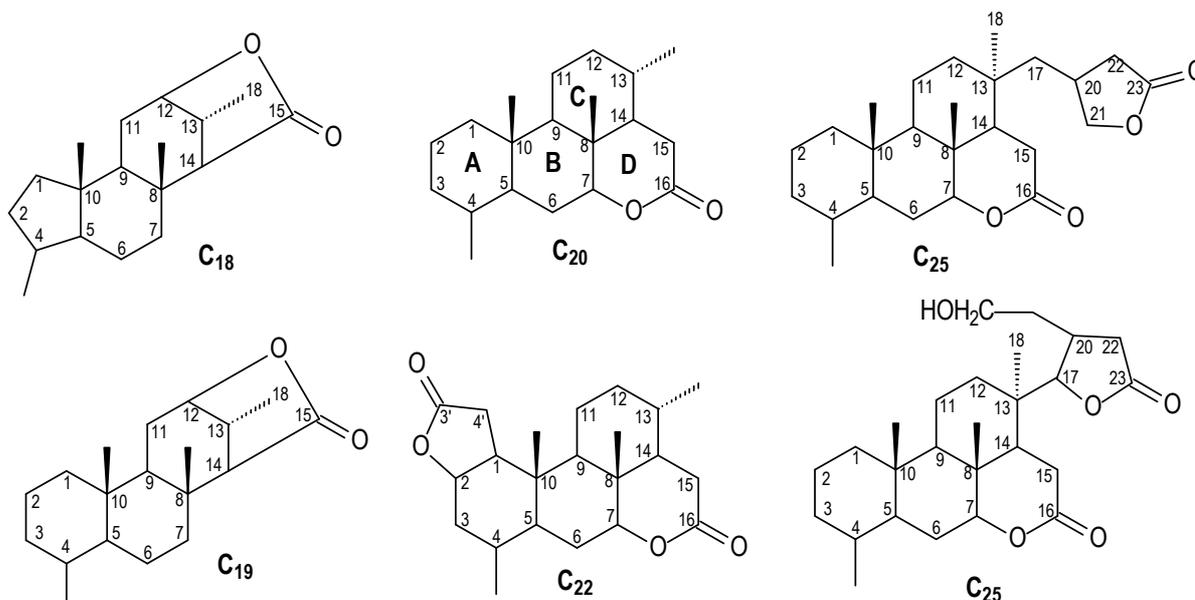


Figura 1: Esqueletos básicos dos quassinóides.

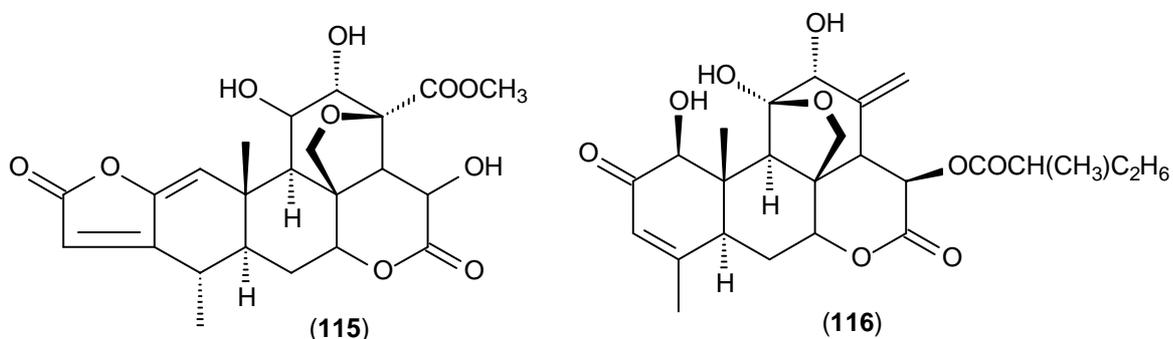
Os quassinóides são derivados de triterpenos da série eufol/tirucalol, quase sempre altamente oxigenados, apresentando lactonas em seus esqueletos básicos, na maioria das vezes com apenas uma ligação dupla. Diferentes grupos funcionais oxigenados podem estar presente em suas estruturas, com exceção das posições C-5, C-9, e dos grupos metilas nas posições C-4 e C-10 (ALMEIDA et. al. 2007).

O *apo*-eufol e seu epímero *apo*-tirucalol podem ser formados por dois caminhos biogénéticos. **Rota 1:** formado a partir do intermediário catiônico, que resulta da ciclização do 3,4-epóxido esqualeno, sem a formação do eufol ou tirucalol; ou pelo **Rota 2:** formado a partir do tirucalol ou eufol, com uma posterior retro-migração do grupo metila do carbono 14 para o carbono 8 (VIEIRA,1995), conforme ilustra o **Esquema 1** (pág. 51).

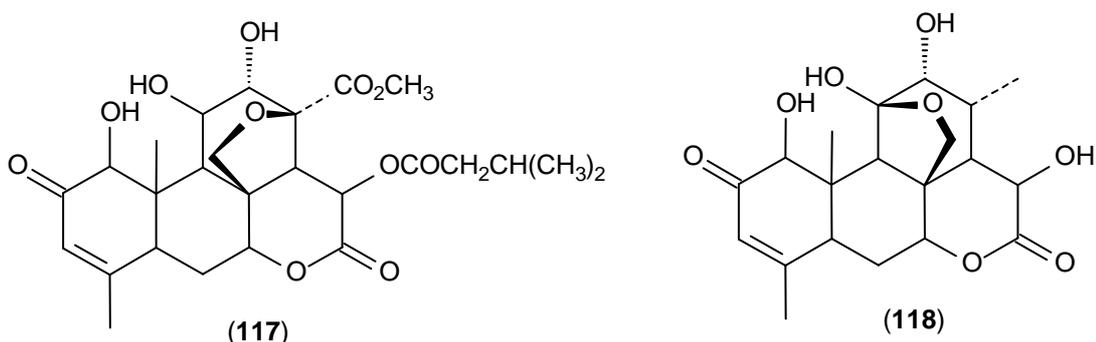
3.3.1 Atividade biológica dos Quassinóides

Os quassinóides apresentam uma ampla faixa de atividade biológica. Espécies da família Simaroubaceae são utilizadas há décadas pela medicina popular para diversos fins, estudos científicos vêm comprovando essas atividades e relacionando com a presença dessas substâncias (ALMEIDA et. al., 2007).

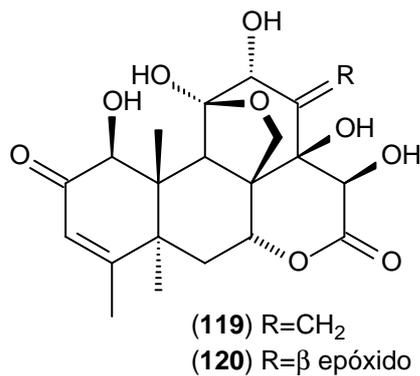
Os quassinóides; 15-deacetilsergeolido (**115**), isolado pela primeira vez do gênero *Picrolemma pseudocoffea* (POLONSKY et. al., 1984); e dehidroailantinona (**116**), isolado de *Pierreodendron kerstingii* (KUPCHAN e LACADIE, 1975) apresentaram uma forte atividade antileucêmica com células P-388.



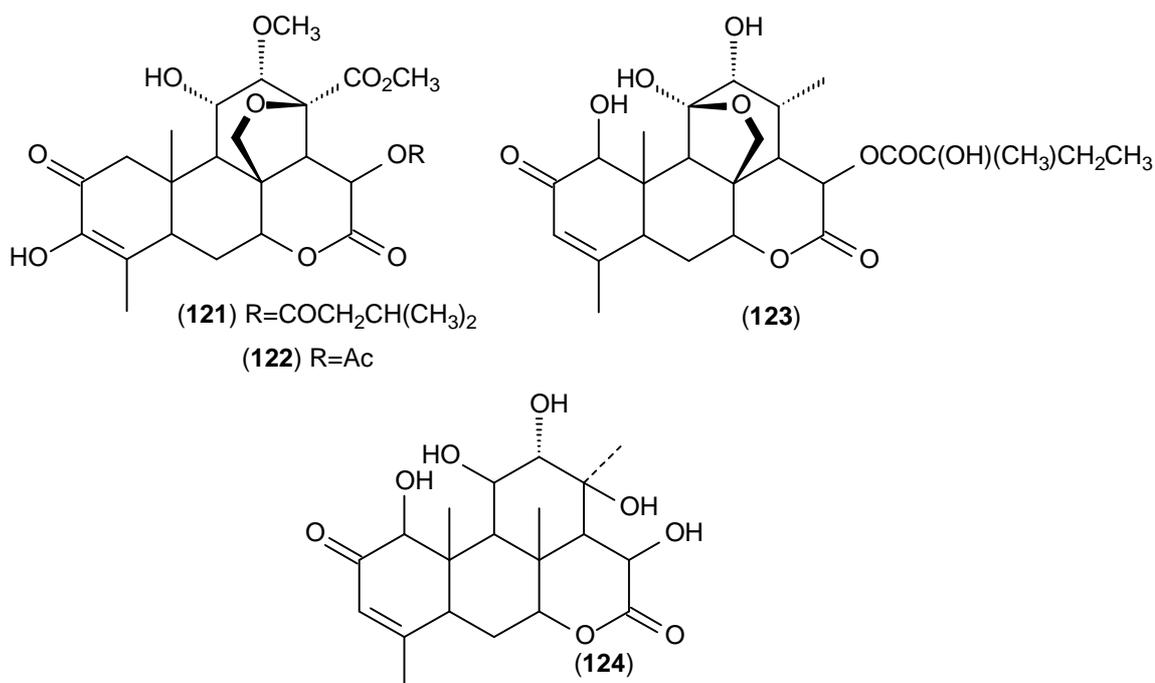
Isobruceina A (**117**), simalikalactona D (**11**), chaparrinona (**12**) e castelanona (**118**), apresentaram atividade antiviral *in vitro* contra o vírus oncogênico *Rous sarcoma*. O quassinóide simalikalactona D (**11**), apresentou ainda uma inibição de 0,002 µg/mL no crescimento de *Plasmodium falciparum* (NOLDIN, 2005).



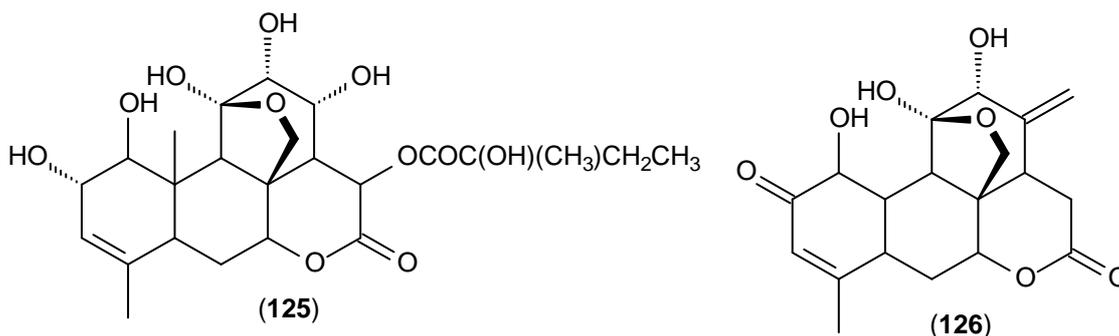
De *Eurycoma longifolia*, foram isolados os quassinóides: pasakbumina-A (**119**) e pasakbumina-B (**120**) que apresentaram atividade antiúlcera (TADA et al., 1991).



Estudos mostraram que os quassinóides bruceína A (121), bruceína B (122), glaucarubinona (123), chaparrinona (12), simalikalactona D (11) e soulameanona (124) exibiram atividade “antifedante” contra o terceiro estágio da larva *Locusta migratoria*. Os quassinóides bruceína B (122) e glaucarubinona (123) também apresentaram atividades inseticidas (NOLDIN, 2005).



Glaucarubina (125) tem atividade amebicida e é vendido na França como um medicamento. Um estudo feito *in vitro* com 17 quassinóides testados contra o parasita *Entamoeba histolytica*, revelou que o quassinóide bruceantina (126) foi o mais potente (NOLDIN, 2005).



Segundo ALMEIDA et al. para que essas substâncias apresentem atividades biológicas, especialmente citotóxica e antimalárica, é necessário ter um esqueleto de quatro anéis com uma lactona no anel D; uma cetona α,β -insaturada no C-2 e a presença de um grupo hidroxila livre, no anel A; um grupo éster em C-15 e/ou C-6.

Essas espécies bioativas estão, predominantemente, presentes em nove gêneros da família Simaroubaceae; *Brucea*, *Eurycoma*, *Ailanthus*, *Castela*, *Simaba*, *Simarouba*, *Quassia*, *Picrasma*, *Picrolemma* (ALMEIDA et. al., 2007).

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 ESCOLHAS DAS ESPÉCIES VEGETAIS

As espécies *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa* foram escolhidas por serem espécies da família Simaroubaceae, as quais são ricas em quassinóides e alcalóides do tipo cantinônico com diversas atividades biológicas. Outro fator da escolha dessas espécies deve-se ao fato delas apresentarem pouco ou nenhum estudo químico prévio.

4.2 COLETAS DAS PLANTAS

Foram coletadas raízes e folhas da espécie *Simaba suffruticosa* no município de Araguari – MG, em setembro de 2008.

As cascas das raízes, raízes e folhas de *Simaba subcymosa* foi coletada em outubro de 2009, próximo a Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce em Linhares – ES.

4.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

O material vegetal de *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa* foi seco ao ar livre, logo após a coleta, e moído em moinho de martelos. A extração dos componentes fixos foi feita a frio por maceração, usando solventes em ordem crescente de polaridade, hexano, diclorometano e metanol.

As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo fornecendo os extratos brutos como mostra a **Tabela 2**, pág. 56.

Tabela 2: Quantidades de extratos obtidos:

Espécie Botânica	Parte Botânica	Peso do material	Solventes	Peso dos extratos (g)	Códigos
<i>Simaba suffruticosa</i>	Raízes	2,1 Kg	a	31,6 g	SR
			c	107,2 g	SRM
	Folhas	76,0 g	a	2,9 g	SF*
			c	14,3 g	SFM*
<i>Simaba subcymosa</i>	Folhas	668,7 g	a	25,0 g	SHF*
			c	61,0 g	SMF*
	Casca	5,2 Kg	a	86,0 g	SSD*
			c	45,0 g	SSM
	Raízes	1,6 Kg	a	16,0 g	SSRD*
			c	10,9 g	SSRM

a- hexano c- metanol

* Extratos trabalhados, porém sem nenhuma substância identificada e/ou extratos não estudados por não terem resolução em CCD ou por serem semelhantes aos extratos já estudados.

4.4 MATERIAIS E MÉTODOS

As separações cromatográficas em coluna foram realizadas utilizando gel de sílica 60G (0,063-0,200 mm) e/ou alumina.

As análises comparativas, para determinar a composição de cada fração, foram feitas em cromatografia de camada delgada (CCD), utilizando cromatofolha de gel de sílica 60 F₂₅₄, e/ou alumina, que foram reveladas através da irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimentos de onda 254 e 365 nm e/ou com o revelador cromogênico H₂SO₄ conc./vanilina sulfúrica seguido de aquecimento, e/ou Dragendorff (solução de nitrato de bismuto básico II em ácido acético diluído com iodeto de potássio) (MERCK, 1972).

As análises em cromatografia em camada delgada em escala preparativa foram realizadas utilizando-se placas de vidro impregnadas com gel de sílica 60 GF₂₅₄. Para obtenção dessas placas, diluiu-se 20 g de gel de sílica em 70 mL de

água destilada. A solução foi distribuída manualmente em placas de vidro 20 X 20 cm.

Após a purificação das substâncias, foram feitas análises espectroscópicas na região do infravermelho, espectrometria de massas, ponto de fusão, ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C com experimentos uni e bidimensionais, e comparação dos resultados com os dados existentes em literatura para substâncias isoladas.

As análises de RMN foram realizadas no Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e no Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e carbono-13 (RMN ^{13}C) foram obtidos num espectrômetro Jeol (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C) e num Brüker (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C), juntamente com os bidimensionais. Os solventes utilizados foram clorofórmio deuterado (CDCl_3) e piridina, usando como padrão interno o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos (δ) foram obtidos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os trabalhos de elucidação estrutural de substâncias biorgânicas dependeram principalmente de técnicas de RMN ^1H e ^{13}C , RMN ^{13}C -DEPT-135, ^{13}C -APT e ^{13}C -DEPTQ, inclusive experiências bidimensionais de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (^1H - ^1H -COSY) e heteronuclear de carbono-13 e hidrogênio, como HSQC ($^1J_{\text{HC}}$ através de uma ligação entre ^1H - ^{13}C), HMBC [$^nJ_{\text{HC}}$ ($n= 2$ e 3) a longa distância, de duas e três ligações, entre os átomos de ^{13}C - ^1H] e de correlação espacial ^1H - ^1H -NOESY.

As análises de CG-EM foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no aparelho QP2010 Plus (Shimadzu), Coluna: Factor Four/VF-5ms (30x0,25x0,25), Volume de injeção: 1 μmL e Solvente: clorofórmio. Estas análises também foram realizadas em baixa e em alta resolução no Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste (LEMANOR) na Universidade Federal do Ceará.

As análises na região do infravermelho foram realizadas no Laboratório de Ciências Químicas na UENF, no aparelho de Espectrofotômetro na região

infravermelho da Shimadzu Modelo FTIR-8300.

As análises de ponto de fusão foram realizadas no Laboratório de Ciências Químicas na UENF, no Aparelho Kofler, marca Microquímica, modelo MQRPF-301.

4.5 ANÁLISES DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE *Simaba suffruticosa*

4.5.1 Análise cromatográfica do extrato hexânico das raízes de *S. suffruticosa* (SR) (28,0 g).

Inicialmente parte do extrato **SR** foi submetido a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade até 30%, onde inicialmente foram obtidas 24 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 15 novas frações. A **Tabela 03** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 03: Análise cromatográfica do extrato **SR**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	SR-0	166,9
1-4	SR-1	73,3
5	SR-2	5,4
6-9	SR-3	5626,4
10	SR-4	1508,9
11-12	SR-5	2020,4
13-14	SR-6	1884,4
15	SR-7	769,9
16	SR-8	1485,8
17-18	SR-9	3322,9
19	SR-10	2294,9
20	SR-11	1781,5
21	SR-12	1342,9
22	SR-13	1242,5
23	SR-14	1155,6

Análise cromatográfica da fração SR-6 (1,8844 g)

Inicialmente a fração **SR-6** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade até 20%, onde inicialmente foram obtidas 46 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 9 novas frações. A **Tabela 04** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 04: Análise cromatográfica da fração **SR-6:**

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-6	SR6-0	4,7	
7-8	SR6-1	9,3	
9	SR6-2	9,9	
10-34	SR6-3	733,0	
35-39	SR6-4	299,2	
40	SR6-5	93,4	
41	SR6-6	132,1	
42-44	SR6-7	365,3	Substância IV
45	SR6-8	82,6	

Análise cromatográfica da fração SR-8 (1,4858 g)

Inicialmente a fração **SR-8** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade de 7 a 40%, onde inicialmente foram obtidas 42 frações, que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 10 novas frações. A **Tabela 05** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 05: Análise cromatográfica da fração **SR-8**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-4	SR8-0	6,7	
5-6	SR8-1	14,9	
7-8	SR8-2	40,4	Substância IV impura
9-17	SR8-3	140,4	Substância IV impura
18-33	SR8-4	319,2	Substância IV impura
34	SR8-5	19,6	
35-37	SR8-6	211,8	
38-39	SR8-7	372,7	
40	SR8-8	160,1	
41	SR8-9	71,7	

Análise cromatográfica da fração SR8-8 (160,1 mg)

Inicialmente a fração **SR8-8** foi submetida a uma cromatografia em coluna com alumina, e eluída com CH₂Cl₂:AcOEt em concentração crescente de polaridade até 10%, onde inicialmente foram obtidas 71 frações, que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 10 novas frações. A **Tabela 06** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 06: Análise cromatográfica da fração **SR8-8**:

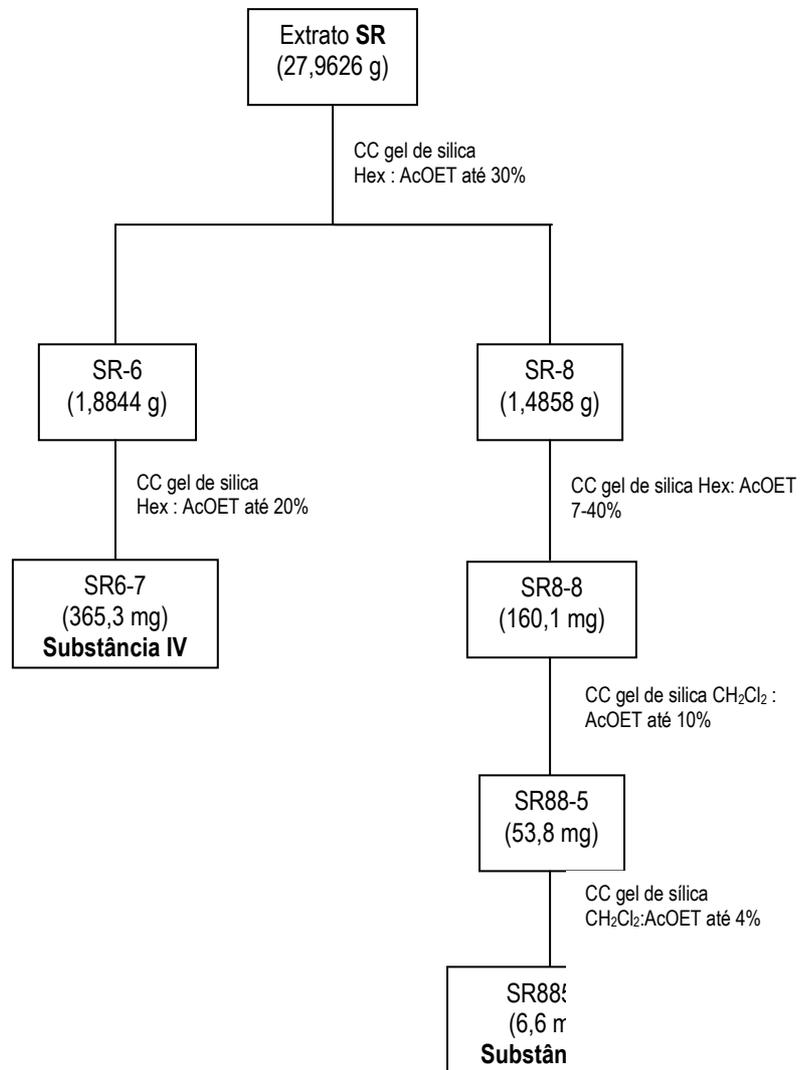
Frações	Código	Quantidades (mg)
0-2	SR88-0	21,8
3-6	SR88-1	14,8
7	SR88-2	3,8
8-10	SR88-3	7,8
11	SR88-4	6,1
12-14	SR88-5	53,8
15-17	SR88-6	26,9
18-33	SR88-7	7,5
34-67	SR88-8	9,0
68-70	SR88-9	2,6

Análise cromatográfica da fração SR88-5 (53,8 mg)

Inicialmente a fração **SR88-5** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:AcOEt em concentração crescente de polaridade até 4%, onde inicialmente foram obtidas 101 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 6 novas frações. A **Tabela 07** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 07: Análise cromatográfica da fração **SR88-5**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-70	SR885-0	2,0	
71-81	SR885-1	8,4	
82-94	SR885-2	30,0	
95	SR885-3	6,6	Substância V
96-98	SR885-4	3,3	
99-100	SR885-5	2,6	



Fluxograma 1: Resumo das análises cromatográficas do extrato hexânico das raízes de *S. suffruticosa* (SR).

4.5.2 Análise cromatográfica do extrato metanólico das raízes de *S. suffruticosa* (SRM) (31,5 g)

Inicialmente o extrato **SRM** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano e CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 100%, onde inicialmente foram obtidas 8 novas frações que após análise cromatográfica de camada fina não foram reunidas. A **Tabela 08** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 08: Análise cromatográfica da fração **SRM**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	SRM-0	569,2
1	SRM-1	2320,8
2	SRM-2	63,4
3	SRM-3	7629,6
4	SRM-4	12573,0
5	SRM-5	2765,9
6	SRM-6	4303,9
7	SRM-7	937,7

Análise cromatográfica da fração **SRM-1** (2,3208 g)

Inicialmente a fração **SRM-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 20%, onde inicialmente foram obtidas 35 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 9 novas frações. A **Tabela 09** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 09: Análise cromatográfica da fração **SRM-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	SRM1-0	400,0
1	SRM1-1	102,3
2-3	SRM1-2	100,5
4-6	SRM1-3	146,3
7-8	SRM1-4	61,8
9-10	SRM1-5	139,8
11-13	SRM1-6	742,6
14-15	SRM1-7	108,5
16-34	SRM1-8	194,7

Análise cromatográfica da fração SRM1-0 (400,0 mg)

A fração **SRM1-0** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade até 15%, onde inicialmente foram obtidas 83 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 6 novas frações. A **Tabela 10** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 10: Análise cromatográfica da fração **SRM1-0**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-2	SRM10-0	1,3
3	SRM10-1	13,1
4-12	SRM10-2	26,6
13-39	SRM10-3	220,4
40-81	SRM10-4	120,9
82	SRM10-5	3,8

Análise cromatográfica da fração SRM10-2 (26,6 mg)

Inicialmente a fração SRM10-2 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hexano:AcOEt 6%. Fornecendo a fração codificada de **SRM10211-A** contendo 3,0 mg (Substância **VI**).

Análise cromatográfica da fração SRM1-3 (146,3 mg)

Inicialmente a fração **SRM1-3** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 20%, onde inicialmente foram obtidas 66 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 novas frações. A **Tabela 11** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 11: Análise cromatográfica da fração **SRM1-3**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-19	SRM13-0	9,9
20-42	SRM13-1	40,4
43-62	SRM13-2	54,9
63-65	SRM13-3	26,9

Análise cromatográfica da fração SRM13-1 (40,4 mg)

Inicialmente a fração **SRM13-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 10%, onde inicialmente foram obtidas 37 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 novas frações. A **Tabela 12** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 12: Análise cromatográfica da fração **SRM13-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-4	SRM131-0	2,5	
5-7	SRM131-1	14,9	
8-33	SRM131-2	5,0	Mistura VII
34-36	SRM131-3	16,9	

Análise cromatográfica da fração SRM1-6 (742,6 mg)

Inicialmente a fração **SRM1-6** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 10%, onde inicialmente foram obtidas 27 frações que após análise

cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 novas frações. A **Tabela 13** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 13: Análise cromatográfica da fração **SRM16-6:**

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-3	SRM16-0	175,9
4-17	SRM16-1	482,4
18-26	SRM16-2	74,3

Análise cromatográfica da fração SRM16-1 (482,4 mg)

Inicialmente a fração **SRM16-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 40%, onde inicialmente foram obtidas 54 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 novas frações. A **Tabela 14** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 14: Análise cromatográfica da fração **SRM16-1:**

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-41	SRM1610-0	231,3	
42-52	SRM1610-1	16,0	Substância IV
53	SRM1610-2	211,7	Substância IV impura

Análise cromatográfica da fração SRM16-2 (74,3 mg)

Inicialmente a fração **SRM16-2** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 100% de MeOH, onde inicialmente foram obtidas 72 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 novas frações. A **Tabela 15** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 15: Análise cromatográfica da fração **SRM16-2:**

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-1	SRM161212-0	13,1	
2-6	SRM161212-1	14,8	
7-38	SRM161212-2	16,5	
39-44	SRM161212-3	10,9	Substância III
45	SRM161212-4	14,6	

Análise cromatográfica da fração SRM-3 (7,6296 g)

Inicialmente a fração **SRM-3** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 100% de MeOH, onde inicialmente foram obtidas 21 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 6 novas frações. A **Tabela 16** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 16: Análise da fração **SRM-3:**

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	SRM3-0	127,6
1-6	SRM3-1	4754,6
7-11	SRM3-2	1768,5
12-13	SRM3-3	203,5
14-18	SRM3-4	268,1
19-20	SRM3-5	488,9

Análise cromatográfica da fração SRM3-1 (4,7546 g)

Inicialmente a fração **SRM3-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 50%, onde inicialmente foram obtidas 47 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 10 novas frações. A **Tabela 17** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 17: Análise da fração **SRM3-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-10	SRM31-0	259,0	
11-13	SRM31-1	393,9	
14-19	SRM31-2	898,8	Substância I impura
20-24	SRM31-3	953,5	Substância I impura
25	SRM31-4	553,9	Substância I impura
26-28	SRM31-5	543,8	Substância I impura
29	SRM31-6	493,9	Substância I impura
30	SRM31-7	375,9	Substância I impura
31-38	SRM31-8	13,1	Substância I
39-46	SRM31-9	249,9	

Análise cromatográfica da fração SRM-4 (12,5730g)

Inicialmente a fração **SRM-4** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH_2Cl_2 :MeOH em concentração crescente de polaridade até 100% de MeOH, onde inicialmente foram obtidas 29 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 7 novas frações. A **Tabela 18** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 18: Análise cromatográfica da fração **SRM-4**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-1	SRM4-0	1292,1	
2-4	SRM4-1	67,9	Substância II
5	SRM4-2	1316,5	
6-8	SRM4-3	1110,9	
9-10	SRM4-4	2987,6	
11-23	SRM4-5	4667,9	
24-28	SRM4-6	997,9	

Análise cromatográfica da fração SRM4-3 (1,1109 g)

Inicialmente a fração **SRM4-3** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH_2Cl_2 :MeOH em concentração crescente de

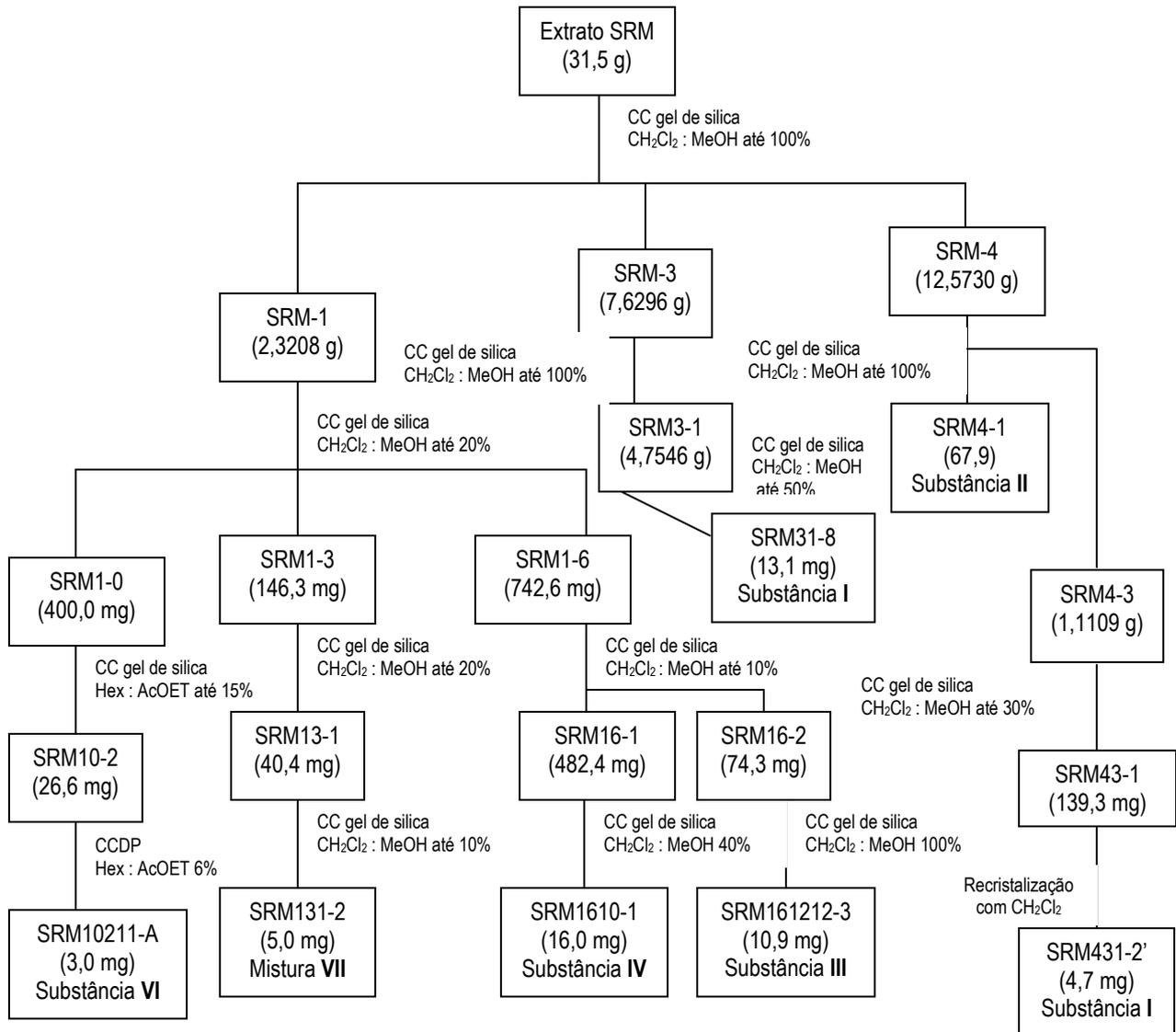
polaridade até 30%, onde inicialmente foram obtidas 76 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 novas frações. A **Tabela 19** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 19: Análise cromatográfica da fração **SRM4-3:**

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-47	SRM43-0	190,1
48-52	SRM43-1	139,3
53-58	SRM43-2	220,4
59-67	SRM43-3	392,6
68-72	SRM43-4	139,5

Análise cromatográfica da fração SRM43-1 (139,3 mg)

Inicialmente a fração **SRM43-1** foi recristalizada sucessivamente com CH_2Cl_2 até a obtenção de cristais brancos e puros, fornecendo a fração codificada de **SRM431-2'** com 4,7 mg da Substância I.



Fluxograma 2: Resumo das análises cromatográficas do extrato metanólico das raízes de *S. suffruticosa* (SRM).

4.6 ANÁLISES DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE *Simaba subcymosa*

4.6.1 - Análise cromatográfica do extrato metanólico das cascas de *S. subcymosa* (SSM) (12,4 g)

Inicialmente parte do extrato **SSM** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 50%, onde inicialmente foram obtidas 18 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 10 novas frações. A **Tabela 20** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 20: Análise cromatográfica do extrato **SSM**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-1	SSM-0	34,3
2	SSM-1	16,7
3-4	SSM-2	252,1
5	SSM-3	265,1
6-7	SSM-4	1762,2
8-10	SSM-5	331,5
11	SSM-6	27,2
12	SSM-7	3578,2
13-14	SSM-8	2435,6
15-17	SSM-9	1576,9

Análise cromatográfica da fração **SSM-4** (1,7622 g)

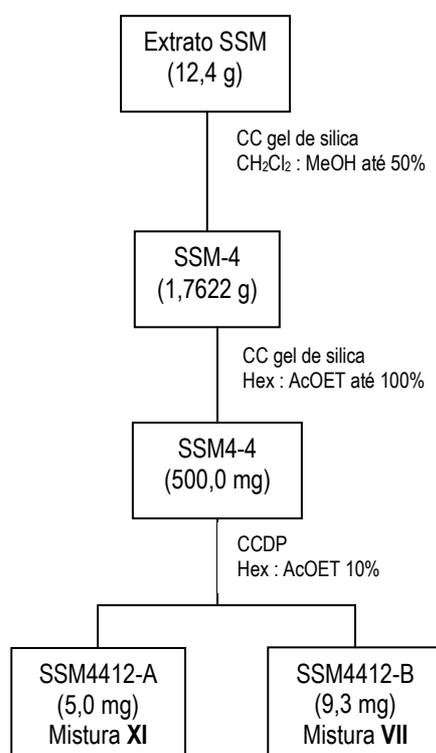
Inicialmente a fração **SSM-4** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade até 100% de AcOEt, onde inicialmente foram obtidas 24 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 9 novas frações. A **Tabela 21** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 21: Análise cromatográfica da fração **SSM-4**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-1	SSM4-0	98,3
2	SSM4-1	153,4
3-6	SSM4-2	183,1
7	SSM4-3	170,0
8-9	SSM4-4	500,0
10-12	SSM4-5	187,8
13-15	SSM4-6	145,2
16-19	SSM4-7	199,3
20-23	SSM4-8	97,9

Análise cromatográfica da fração SSM4-4 (500,0 mg)

Inicialmente a fração SSM441-2 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hexano:AcOEt 10%. Fornecendo a fração codificada de **SSM4412-A** contendo 5,0 mg da mistura **XI**, e a fração codificada de **SSM4412-B** contendo 9,3 mg da mistura **VII**.



Fluxograma 3: Resumo das análises cromatográficas do extrato metanólico das cascas de *S. subcymosa* (**SSM**).

4.6.2 - Análise cromatográfica do extrato metanólico das raízes de *S. subcymosa* (SSRM) (10,8741 g)

Inicialmente o extrato **SSRM** foi submetido a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 20%, onde inicialmente foram obtidas 25 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 10 novas frações. A **Tabela 22** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 22: Análise cromatográfica do extrato **SSRM**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	SSRM-0	546,9
1-3	SSRM-1	3575,2
4	SSRM-2	1239,0
5	SSRM-3	1009,8
6-10	SSRM-4	994,9
11	SSRM-5	334,9
12-14	SSRM-6	1346,2
15-16	SSRM-7	387,9
17-18	SSRM-8	672,8
19-24	SSRM-9	254,9

Análise cromatográfica da fração **SSRM-1** (3,5752 g)

Inicialmente a fração **SSRM-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade até 10%, onde inicialmente foram obtidas 30 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 8 novas frações. A **Tabela 23** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 23: Análise cromatográfica da fração **SSRM-1**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-1	SSRM1-0	39,1
2-4	SSRM1-1	616,1
5-6	SSRM1-2	60,9
7-11	SSRM1-3	432,4
12-20	SSRM1-4	102,2
21	SSRM1-5	51,1
22-27	SSRM1-6	1155,3
28-29	SSRM1-7	1057,9

Análise cromatográfica da fração SSRM1-6 (1,1553 g)

Inicialmente a fração **SSRM1-6** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de polaridade de 0,5 a 15%, onde inicialmente foram obtidas 88 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 6 novas frações. A **Tabela 24** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 24: Análise cromatográfica da fração **SSRM1-6**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-41	SSRM16-0	17,8
42-62	SSRM16-1	432,8
63-74	SSRM16-2	198,8
75-83	SSRM16-3	245,8
84-85	SSRM16-4	187,7
86-87	SSRM16-5	57,8

Análise cromatográfica da fração SSRM16-1 (432,8 mg)

Inicialmente a fração **SSRM16-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade de 40 a 100% de AcOEt, onde inicialmente foram obtidas 52 frações que

após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 7 novas frações. A **Tabela 25** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 25: Análise cromatográfica da fração **SSRM16-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-10	SSRM1612-0	210,7
11-24	SSRM1612-1	141,7
25-30	SSRM1612-2	19,5
31-35	SSRM1612-3	5,3
36-46	SSRM1612-4	18,4
47-50	SSRM1612-5	5,7
51	SSRM1612-6	24,0

Análise cromatográfica da fração SSRM1612-0 (210,7 mg)

Inicialmente a fração **SSRM1612-0** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade de 25 a 80%, onde inicialmente foram obtidas 79 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 2 novas frações. A **Tabela 26** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 26: Análise cromatográfica da fração **SSRM1612-0**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-54	SSRM16120-0	171,9
55-78	SSRM16120-1	24,8

Análise cromatográfica da fração SSRM16120-0 (171,9 mg)

Inicialmente a fração **SSRM16120-0** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de polaridade de 15 a 35%, onde inicialmente foram obtidas 70 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 27** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 27: Análise cromatográfica da fração **SSRM16120-0:**

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-19	SSRM161200-0	32,7	
20-21	SSRM161200-1	22,9	Substância XII
22-23	SSRM161200-2	11,4	
24-38	SSRM161200-3	84,8	
39-69	SSRM161200-4	10,0	

Análise cromatográfica da fração SSRM1-7 (1,0579 g)

Inicialmente a fração **SSRM1-7** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ em concentração crescente de polaridade até 12%, onde inicialmente foram obtidas 97 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 7 novas frações. A **Tabela 28** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 28: Análise cromatográfica da fração **SSRM1-7:**

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-11	SSRM17-0	120,7
12-19	SSRM17-1	81,7
20-22	SSRM17-2	119,5
23-46	SSRM17-3	99,3
47-57	SSRM17-4	325,4
58-71	SSRM17-5	58,7
72-97	SSRM17-6	224,0

Análise cromatográfica da fração SSRM17-5 (58,7 mg)

Inicialmente a fração **SSRM17-5** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ em concentração crescente de polaridade de 1 a 5%, onde inicialmente foram obtidas 71 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 7 novas frações. A **Tabela 29** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 29: Análise cromatográfica da fração **SSRM17-5**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-16	SSRM175-0	3,8
17-35	SSRM175-1	22,9
36-47	SSRM175-2	5,7
48-58	SSRM175-3	2,7
59-68	SSRM175-4	8,0
69-70	SSRM175-5	7,0
71	SSRM175-6	4,2

Análise cromatográfica da fração SSRM175-1 (22,9 mg)

Inicialmente a fração **SSRM175-1** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH_2Cl_2 :MeOH em concentração crescente de polaridade de 1,5 a 5%, onde inicialmente foram obtidas 76 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 novas frações. A **Tabela 30** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 30: Análise cromatográfica da fração **SSRM175-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-56	SSRM1751-0	4,2	
57-66	SSRM1751-1	7,1	
67-76	SSRM1751-2	10,7	Substância X

Análise cromatográfica da fração SSRM-6 (1346,2 mg)

A fração **SSRM-6** foi submetida a uma recristalização com CH_2Cl_2 . Essa fração após a recristalização forneceu um cristal vermelho, que foi codificada de **SSRM-6C** com 185,7 mg fornecendo a substância **VIII**.

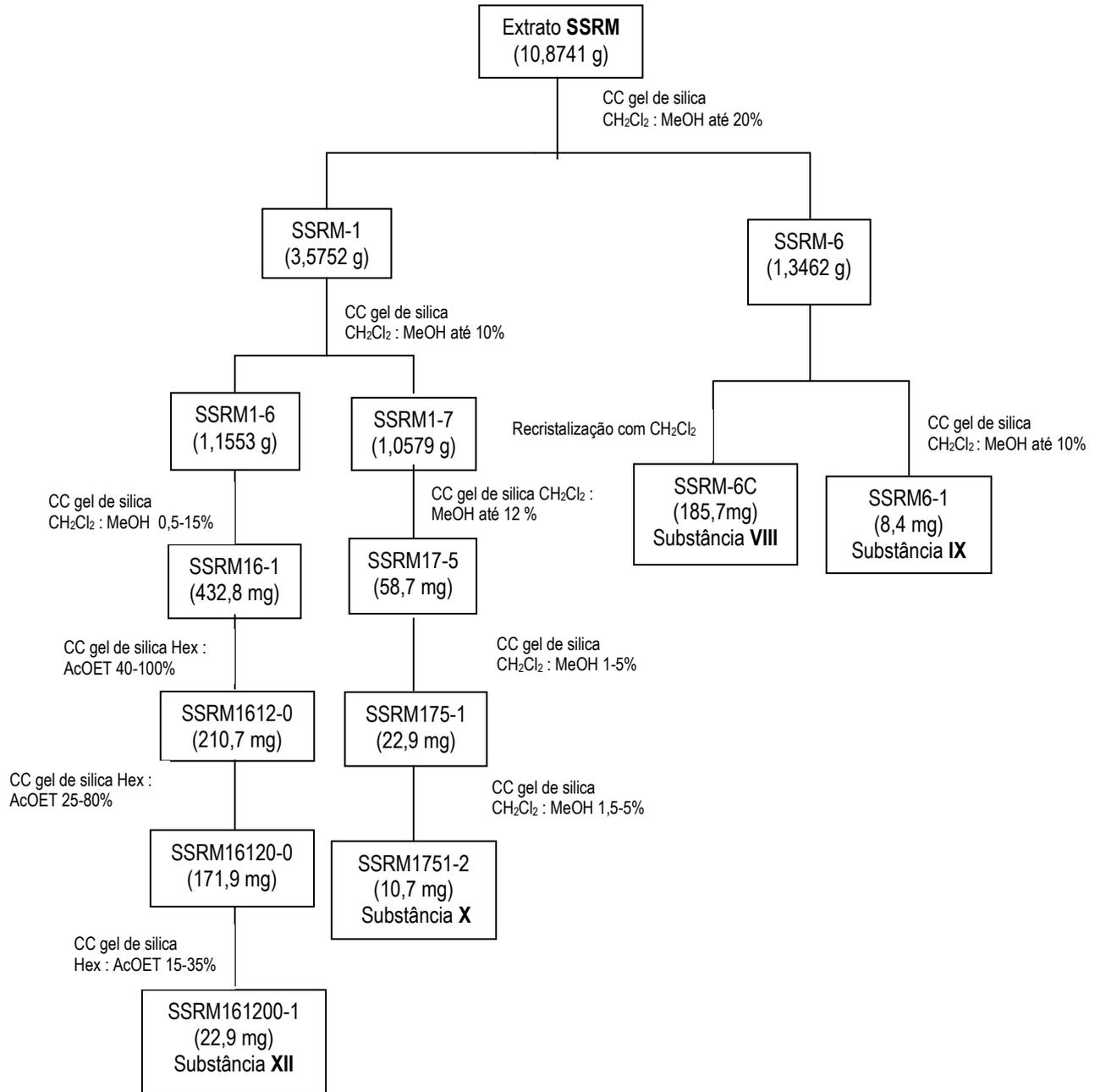
Análise cromatográfica da fração SSRM-6 (1,1605 g)

Inicialmente a fração **SSRM-6** foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH_2Cl_2 :MeOH em concentração crescente de polaridade até 10%, onde inicialmente foram obtidas 43 frações que após análise

cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 9 novas frações. A **Tabela 31** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 31: Análise cromatográfica da fração **SSRM-6**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	Substâncias
0-14	SSRM6-0	11,5	
15-17	SSRM6-1	8,4	Substância IX
18-21	SSRM6-2	48,9	
22-24	SSRM6-3	661,8	
25-28	SSRM6-4	99,2	
29-32	SSRM6-5	95,3	
33-36	SSRM6-6	49,9	
37	SSRM6-7	12,3	
38-43	SSRM6-8	82,6	



Fluxograma 4: Resumo das análises cromatográficas do extrato metanólico das raízes de *S. subcymosa* (SSRM).

4.7 REAÇÃO DE ACETILAÇÃO

A fração SRM31-8 (substância I) foi submetida a uma reação de acetilação para confirmar a sua estrutura. Inicialmente, a fração foi solubilizada em 2 mL de piridina, e adicionado 4 mL de anidrido acético. A amostra foi tampada e deixada em repouso por aproximadamente 24 horas.

A solução foi colocada em um funil de decantação e foi adicionado uma solução de H₂O : CH₂Cl₂ (1:1 v/v). Após a formação das duas fases, foi recolhida a parte orgânica e secada com sulfato de sódio anidro.

4.8 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMALÁRIA

Realizado pela UFMG pelo grupo de pesquisa da Professora Doutora Alaíde Braga de Oliveira.

O teste *in vitro* do extrato metanólico das raízes de *S. suffruticosa* e das frações SRM 1610-1 e SRM 431-2 foram realizados com hemácias infectadas por *P. falciparum*, clone W2, resistente à cloroquina, através do método de incorporação de [³H]-hipoxantina (DESJARDINS et. al., 1979).

1. Incubação parasito-droga: 20µL de cada diluição do extrato e das substâncias testadas foram colocadas em microplacas de 96 poços, em triplicata, onde já se encontravam 180µL da suspensão de hemácias infectadas (1% hematócrito, 1% de parasitemia), provenientes de um cultivo mantido por pelo menos três dias sem hipoxantina. Foram usados controles sem drogas, com hemácias infectadas (controle positivo) ou hemácias não infectadas (controle negativo).

2. As placas foram incubadas em atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C por 24h na presença dos extratos, seguindo-se a adição da [³H]-Hipoxantina (0,5µCi por poço) e mais 18 horas de incubação. Após esse período as microplacas foram congeladas (-20°C por no mínimo 24h), para promover a lise das hemácias.

3. O lisado celular foi transferido para filtros de fibra de vidro com auxílio de um coletor de células seguido de adição de líquido de cintilação e leitura da radioatividade, registrada em leitor automático.

Os percentuais de redução do crescimento dos parasitos foram calculados a partir da média de contagem por minuto (cpm). Aquelas que apresentaram percentual de redução de parasitemia igual ou maior que 50% nas duas concentrações testadas foram selecionadas para determinação das CI_{50} . Para tanto, as amostras foram testadas nas concentrações de 1,56 a 50 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados foram avaliados no programa Origin 8.0 com determinação das curvas dose-resposta traçadas com ajuste sigmoidal. Foram determinadas as concentrações inibitórias do crescimento de 50% dos parasitos (CI_{50}) em relação aos controles sem drogas. De acordo com os resultados, as amostras foram classificadas como (DESJARDINS et. al.,1979):

MUITO ATIVAS – valores de CI_{50} abaixo de 1 $\mu\text{g/mL}$;

ATIVAS -valores de CI_{50} de 1 até 15 $\mu\text{g/mL}$;

MODERADAMENTE ATIVAS - valores de CI_{50} entre 15,1 e 25 $\mu\text{g/mL}$,

POUCO ATIVAS – valores de CI_{50} entre 25,1 e 50 $\mu\text{g/mL}$,

INATIVAS - CI_{50} acima de 50 $\mu\text{g/mL}$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

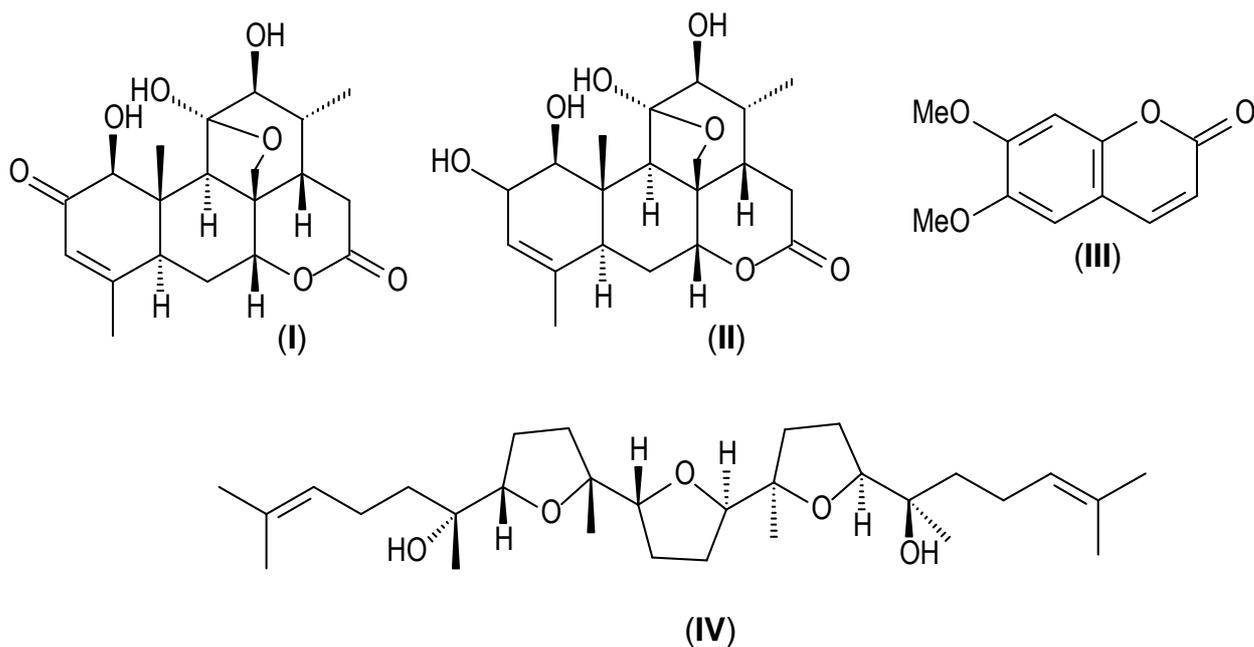
5.1 DETERMINAÇÕES ESTRUTURAIS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Simaba suffruticosa* e *Simaba subcymosa*

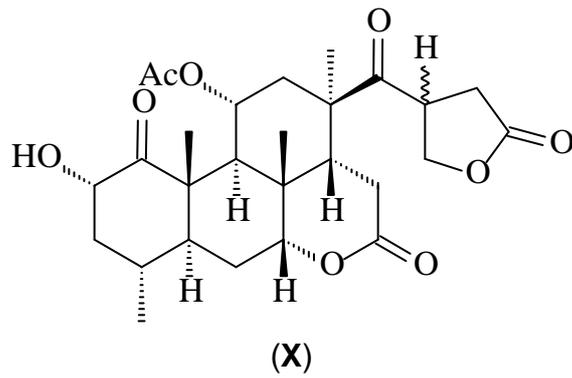
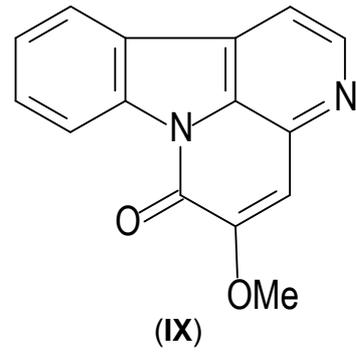
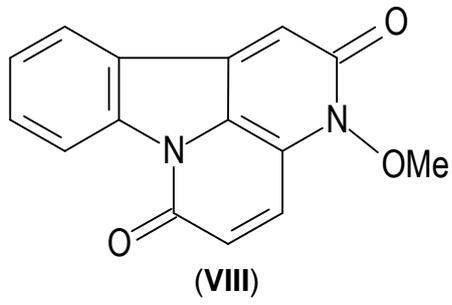
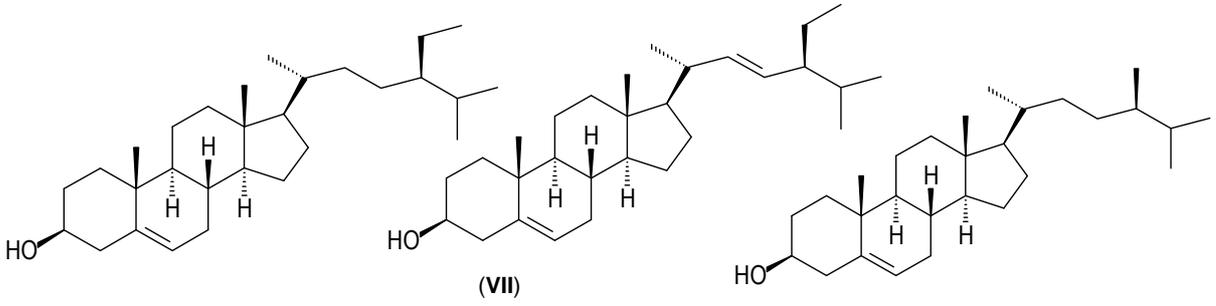
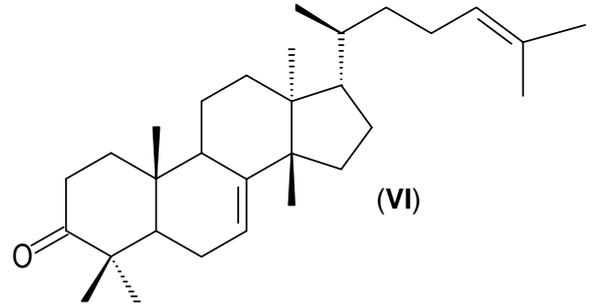
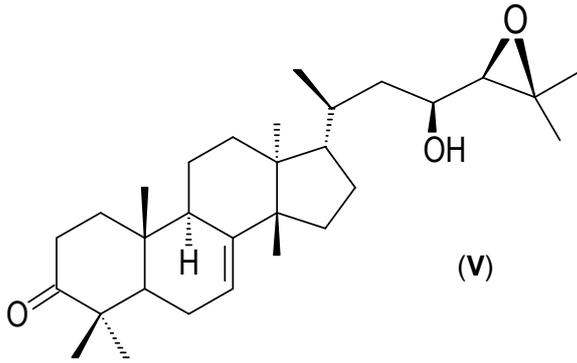
O estudo fitoquímico de *Simaba suffruticosa*, resultou no isolamento de dois quassinóides: chaparrinona (I) e chaparrina (II), uma cumarina: escoparona (III), três triterpenos: teurileno (IV), niloticina (V) e lanostadienona (VI) e uma mistura de dois esteróides: sitosterol e estigmasterol (VII).

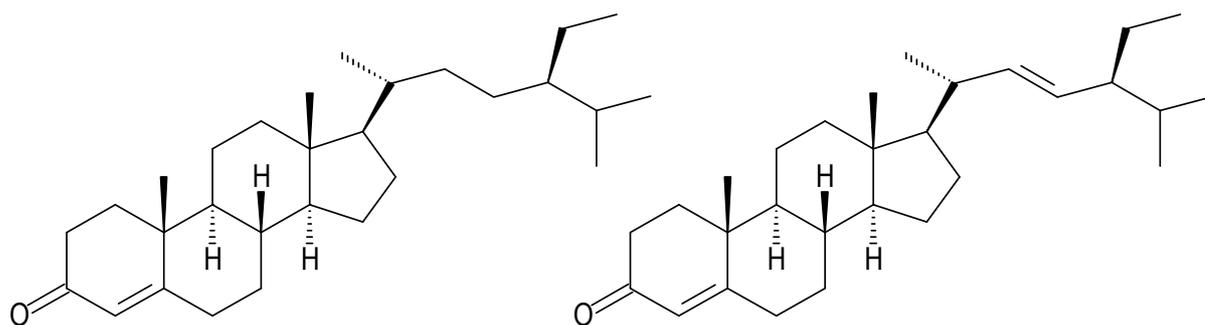
Do estudo fitoquímico de *Simaba subcymosa*, foram isolados dois alcalóides: 3-metoxicantin-2,6-diona (VIII) e 5-metoxicantin-6-ona (IX), um quassinóide: simarolido (X), duas misturas de esteróides: sitosterol, estigmasterol e campesterol (VII); sitostenona e estigmastenona (XI) e um novo triterpeno: acetato do teurileno (XII).

Todas as substâncias isoladas e identificadas da espécie *S. suffruticosa*, já foram descritas na literatura, sendo inéditas para essa espécie, nunca estudada anteriormente.

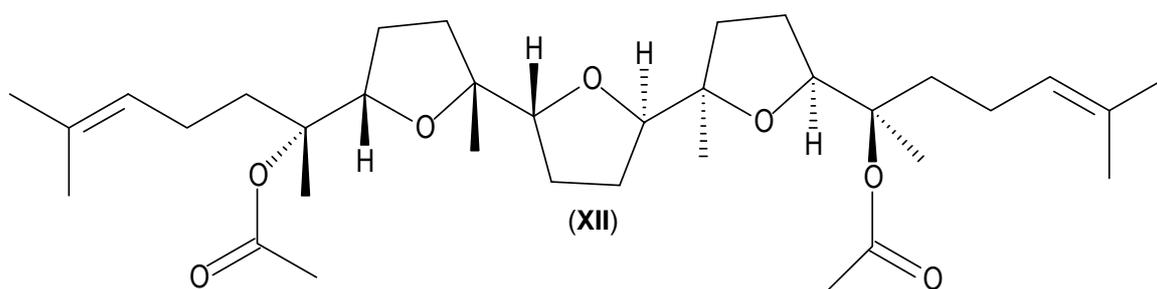
As substâncias isoladas de *S. subcymosa*, já foram descritas na literatura, sendo que apenas o quassinóide simarolido (X) já foi isolado dessa espécie. O acetato de teurileno (XII) se mostra inédito na literatura até o momento.







(XI)

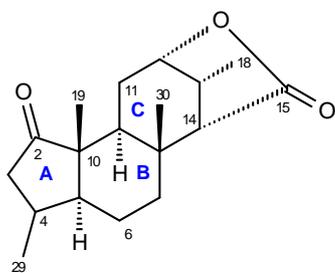


(XII)

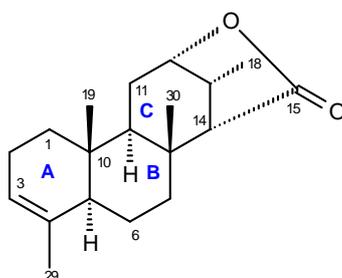
A determinação estrutural das substâncias isoladas foi realizada com a utilização de técnicas de RMN uni- ^1H e ^{13}C e bidimensionais ^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^1H -NOESY/ROESY, HMQC/HSQC, HMBC, utilização de dados espectrais de massas, na região do infravermelho, e por comparação com dados espectrais existentes na literatura.

Determinação estrutural dos quassinóides I, II e X

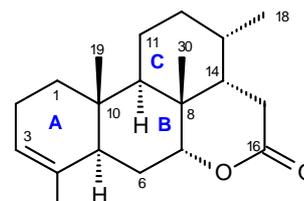
Como dito anteriormente os quassinóides são metabólitos exclusivos da família Simaroubaceae, podendo ser divididos em seis grupos distintos de acordo com seus esqueletos básicos descritos abaixo:



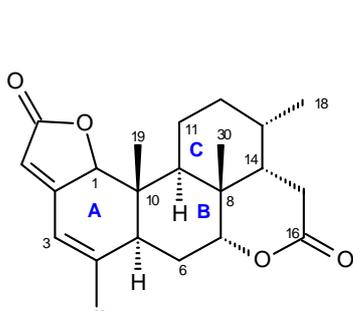
Esqueleto Lauricolactano C₁₈



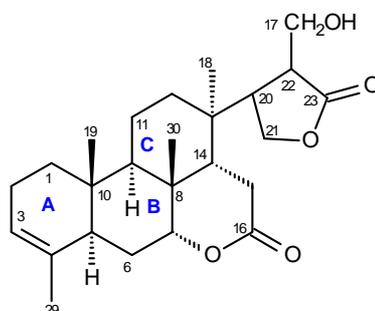
Esqueleto Cedridano C₁₉



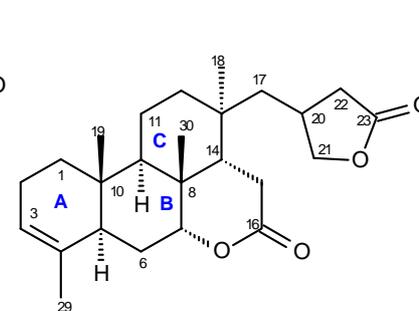
Esqueleto Quassolidano C₂₀



Esqueleto Picrollemadano C₂₂



Esqueleto Simarolidano C₂₅



Esqueleto Simarolidano C₂₅

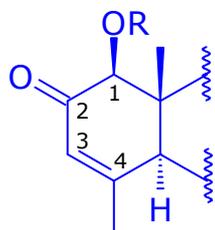
Na determinação estrutural dos quassinóides foram discutidos apenas os esqueletos contendo 20 e 25 átomos de carbono, pois somente estes foram isolados aqui neste trabalho.

Os quassinóides são substâncias altamente oxidadas, causando uma grande diversidade estrutural, necessitando assim de uma racionalização de fatores que são comuns a vários esqueletos, minimizando assim a dificuldade em suas determinações estruturais. Os trabalhos de Rodrigues-Filho (1992) e Vieira (1995) foram utilizados como modelo na identificação dos quassinóides isolados neste trabalho, onde abordaremos a seguir alguns fatores estruturais comuns, caracterizando cada parte dos esqueletos C₂₀ e C₂₅.

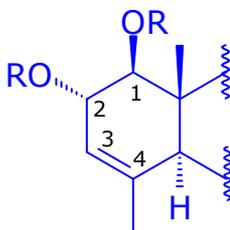
De forma geral serão abordados fatores sobre as estruturas dos anéis A, B, C e D dos esqueletos dos quassinóides isolados neste trabalho.

Os quassinóides têm apresentado uma grande variação de estruturas no anel A. A figura abaixo apresenta os três tipos de anel A encontrados nos quassinóides

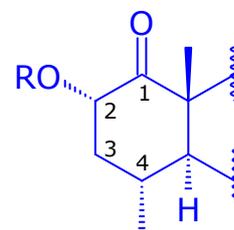
isolados das espécies de *Simaba* trabalhadas aqui, juntamente com seus deslocamentos químicos para os átomos de carbono.

**SRM-318**

C-1	78,0 ppm
C-2	196,0 ppm
C-3	124,5 ppm
C-4	164,6 ppm

**SRM-4**

C-1	84,2 ppm
C-2	73,2 ppm
C-3	128,0 ppm
C-4	135,0 ppm

**SSRM-1751c**

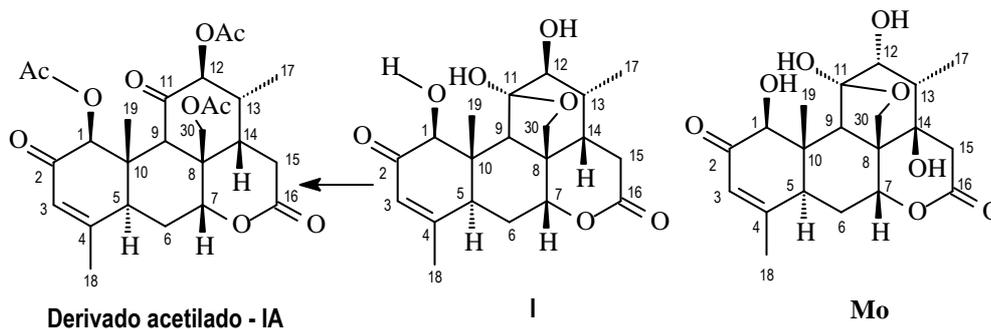
C-1	214,0 ppm
C-2	70,3 ppm
C-3	48,9 ppm
C-4	28,7 ppm

Portanto a definição do anel A dos quassinóides isolados neste trabalho foi feita principalmente com base nos dados de RMN ^{13}C , juntamente com o auxílio dos dados de RMN ^1H , IV e a confirmação com os experimentos bidimensionais heteronucleares de HMQC e HMBC.

Quanto ao anel C dos quassinóides, a presença de um grupo metila em C-30, sofrendo oxidação e formando um anel tetrahydrofurânico com o carbono C-11 ou com o carbono C-13 pode ser facilmente constatado pela presença de sinais duplos no espectro de RMN ^1H , relativos aos hidrogênios H-30a e H-30b, em aproximadamente δ_{H} 4,19 e δ_{H} 2,84, com uma constante de acoplamento em torno de 8,8 Hz.

Quando a formação do anel tetrahydrofurânico do tipo $\text{CH}_2\text{-30-O-C-11}$ com a formação do hemicetal em C-11, ocorre a presença de um sinal em torno de δ_{C} 110, relativo ao carbono C-11, enquanto que quando há formação do anel do tipo $\text{CH}_2\text{-30-O-C-13}$, ocorre a presença de um sinal em torno de δ_{C} 80, e o sinal em torno de δ_{C} 110 não se encontra presente no espectro de RMN ^{13}C .

Determinação estrutural da substância I



A substância **I** isolada do extrato metanólico das raízes de *Simaba suffruticosa* apresentou-se como um cristal branco, apresentando uma coloração rosa claro quando revelado com vanilina sulfúrica, indicando tratar-se de um quassinóide.

O espectro de RMN ^{13}C (**Figura 6**, p. 96, **Tabela 32**, p. 90) mostrou a presença de vinte sinais de carbono, indicando ser um quassinóide com esqueleto do tipo C_{20} e corroborado pelo mapa de correlação hetenonuclear HMQC (**Figuras 10 e 11**, p. 100 e 101, **Tabela 32**, p. 90).

O espectro na região do infravermelho (**Figura 2**, p. 92) da amostra apresentou bandas de absorção relativas ao estiramento de um grupo carbonila em 1728 cm^{-1} , bandas de absorção em 2964 , 2877 e 2835 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C-H para carbonos sp^3 , bandas em 1384 e 1494 cm^{-1} referentes ao estiramento das ligações de unidades CH_2 , bandas em 3659 , 3645 referentes aos estiramentos dos grupos hidroxila.

Os quassinóides têm apresentado uma grande variedade de tipos estruturais para o anel A, que podem ser identificados pelos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^{13}C (**Figura 6**, p. 96. **Tabela 32**, p. 90), como dito anteriormente.

O tipo de anel A da substância **I**, foi identificado pelo deslocamento químicos, característicos dos carbonos CH-1, C=O-2, CH-3 e C-4, com sinais em $\delta_{\text{C}} 78,0$, $\delta_{\text{C}} 196,0$, $\delta_{\text{C}} 124,5$ e $\delta_{\text{C}} 164,6$ respectivamente, apresentados no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 6**, p. 96. **Tabela 32**, p. 90).

A caracterização do anel foi corroborada através das correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras 7-9**, p. 97-99, **Tabela 32**, p. 90) $^2J_{\text{HC}}$, entre C=O-2 ($\delta_{\text{C}} 196,0$) com o hidrogênio carbinólico H-1 em $\delta_{\text{H}} 4,07$; C-4 ($\delta_{\text{C}} 164,6$) com hidrogênios do grupo

metila Me-18 em δ_{H} 2,02, e $^3J_{\text{HC}}$, entre CH-3 (δ_{C} 124,5) e CH-5 (δ_{C} 45,3) com Me-18 em δ_{H} 2,02; CH₃-19 (δ_{C} 9,7) e CH-9 (δ_{C} 45,6) com H-1 em δ_{H} 4,07.

A presença de dois sinais duplos em δ_{H} 3,67 e δ_{H} 3,96 com $J = 8,8$ Hz, no espectro de RMN ^1H (**Figuras** 3-5, p. 93-95, **Tabela** 32, p. 90), e corroborada pela correlação destes apresentados no mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura** 12, p. 102), referentes aos hidrogênios H-30a e H-30b, indicando que o grupo metila Me-30 sofreu uma oxidação para formar um anel tetraidrofurânico com C-11 ou C-13 (**Figura** 6, p. 96. **Tabela** 32, p. 90).

A formação do anel tetraidrofurânico do tipo CH₂-30-O-C-11 com formação do hemiacetal na posição C-11 pode ser confirmada pelo sinal do átomo de carbono hemiacetal C-11 em δ_{C} 108,8 e do sinal em δ_{C} 71,0, relativo ao grupo metileno CH₂-30 oxidado.

Caso o anel fosse do tipo CH₂-30-O-C-13, apareceria um sinal quaternário em torno de δ_{C} 80,0. Portanto, a ausência deste sinal, confirma a formação do anel tetraidrofurânico na posição C-11 (**Figura** 6, p. 96. **Tabela** 32, p. 90), como já dito anteriormente.

A caracterização do anel tetraidrofurânico na posição C-11 foi corroborada através das correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 7-9, p. 97-99 **Tabela** 32, p. 90) $^3J_{\text{HC}}$, entre o átomo de carbono hemiacetal C-11 (δ_{C} 108,8) com o hidrogênio H-30b em δ_{H} 3,67; CH-7 (δ_{C} 77,3) com o hidrogênio H-30a em δ_{H} 3,96 e CH- (δ_{C} 45,6) com os dois hidrogênios CH₂-30 em δ_{H} 3,67 e δ_{H} 3,96, confirmando assim a oxidação do grupo metila Me-30.

A caracterização do anel tetraidrofurânico na posição C-11 foi ainda caracterizada pela formação de um derivado acetilado **IA**. Quando o quassinóide **I** foi tratado com piridina/anidrido acético (1:2, v/v), ocorrendo a abertura do anel com formação da função cetona na posição C-11 em δ_{C} 203,1, e um dos hidrogênios dos dois dupletos do CH₂-30 sofre uma desproteção de aproximadamente 1,0 ppm, apresentando um deslocamento químico em δ_{H} 4,62, com uma constante de acoplamento de 12,9 Hz, enquanto que o outro hidrogênio permanece na mesma posição.

O derivado acetato do quassinóide **I** foi identificado através de métodos de RMN ^1H e ^{13}C , ^1H - ^1H -COSY, HMQC e HMBC (**Figuras** 13-24, p. 103-114, **Tabela** 33, p. 91).

A localização de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-12 em δ_C 77,3 e de um grupo metila Me-17 em δ_C 12,4 ligado ao átomo de carbono CH-13 no anel C do quassinóide **I** foi confirmado pelo mapa de correlação HMQC (**Figuras** 10 e 11, p. 100 e 101 **Tabela** 32, p. 90) e corroborado pelas correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 7-9, p. 97-99. **Tabela** 32, p. 90) $^2J_{HC}$, entre o átomo de carbono hemiacetalico C-11 (δ_C 108,8) com um duplete em δ_H 3,56 ($J= 3,5$ Hz), relativo ao hidrogênio carbinólico H-12, e das correlações $^2J_{HC}$, entre o átomo de carbono CH-13 (δ_C 30,4) com um duplete em δ_H 1,06 ($J= 8,8$ Hz), relativo aos hidrogênios do grupo Me-17.

O grupo metila ligado na posição 17, pode ser ainda confirmado pelas correlações $^3J_{HC}$, entre o duplete em δ_H 1,06 ($J= 8,8$ Hz), relativo aos hidrogênios do grupo Me-17 com os átomos de carbono CH-12 (δ_C 77,3) e com o átomo de carbono C-14 (δ_C 43,9).

Os valores dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono no anel D, do quassinóide **I**, onde o carbono carbonílico C=O-16 da lactona apresenta-se em δ_C 170,1, e do carbono metilênico CH₂-15 em δ_C 29,9, confirmam que o átomo de carbono CH₂-15 não se encontra oxidado segundo VIEIRA, 1995. Os deslocamentos químicos em δ_C 170,2 (C=O-16) e do carbono CH₂-15 em δ_C 29,9, confirmam que o átomo de carbono CH₂-15 encontra-se livre de substituintes.

A estereoquímica do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-12 no quassinóide **I** foi estabelecida baseando-se no deslocamento químico do átomo de carbono CH-9. Quando o grupo hidroxila apresenta configuração β , o sinal para o átomo de carbono CH-9 esta em torno de C-9 δ_C 46,0, já quando o sinal do grupo hidroxila encontra-se em torno de δ_C 41,0, devido ao efeito “ γ -gauche” provocado pela interação 1,3-diaxial do grupo hidroxila com a configuração α e o hidrogênio H-9 na mesma situação. Portanto, podemos concluir que o grupo hidroxila do quassinóide **I** apresenta conformação β , uma vez que este apresenta um sinal em δ_C 45,6, confirmando assim a estereoquímica β do grupo hidroxila em CH-12 (VIEIRA, 1995).

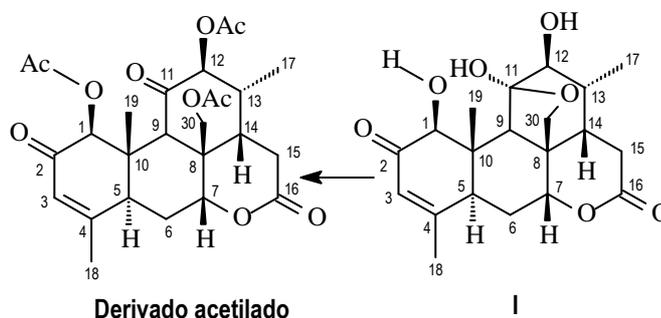
Os dados de RMN ^{13}C do quassinóide **I** foram atribuídos com base nos dados da literatura para o quassinóide chaparrinona, comprovando assim sua estrutura. Esses dados estão descritos na **Tabela 32**.

Tabela 32: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **I**, e as comparações com valores da literatura para o modelo **Mo**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância I					
	HMQC		HMBC		Mo
	δ_c	δ_H	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_c
C					
2	196,0	-	H-1		196,1
4	164,6	-	3H-18		164,6
8	42,1	-			45,5
10	43,0	-			45,0
11	108,8	-	H-12	H-20b	108,9
16	170,2	-	-	-	170,3
CH					
1	78,0	4,07 (s)		H-9; 3H-19	83,0
3	124,5	6,14 (sl)		3H-18	124,3
5	45,3	2,82 (dd; 14,1; 4,7)		3H-18; 3H-19	43,9
7	77,3	4,48 (m)		H-12a; H-20a	78,1
9	45,6	2,71 (s)		H-1; H-7; 2H-20	42,1
12	77,3	3,56 (d; 3,5)		3H-17	78,8
13	30,4	2,20	3H-17		30,4
14	43,9	2,0		3H-17	41,9
CH₂					
6	25,7	2,20; 2,02			25,7
15	29,9	2,86; 2,69 (dd; 19,3; 5,3)			29,8
30	71,0	3,96 (d; 8,8); 3,67 (d; 8,8)		H-9	71,1
CH₃					
17	12,4	1,06 (d; 8,8)			12,5
18	23,1	2,02 (sl)			23,1
19	9,7	1,19 (s)		H-1	9,6

*VIEIRA, 1995

Tabela 33: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do derivado acetilado I-A da substância I, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.



Substância IA						
	HMQC		HMBC		Substância I	
	δ_c	δ_H	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_c	δ_H
C						
2	190,9	-	H-1		196,0	-
4	160,1	-	H-5; 3H-18	H-6a	164,6	-
8	43,8	-	H-9; 2H-20	H-15b	42,1	-
10	44,0	-	H-9; 3H-19		43,0	-
11	203,1	-	H-9; H-12		108,8	-
13	-	-			-	-
14	-	-			-	-
16	169,4	-	2H-15		170,2	-
AcO-1	171,1		Me/AcO-1	H-1	-	-
AcO-12	169,6		Me/AcO-12	H-12	-	-
AcO-20	170,1		Me/AcO-20	2H-20	-	-
CH						
1	83,6	5,18 (s)		H-3; H-9; 3H-19	78,0	4,07 (s)
3	126,7	6,05 (s)		3H-18	124,5	6,14 (sl)
5	41,8	3,02 (d, 12,6)	H-6b	H-1; H-3; 3H-18; 3H-19	45,3	2,82 (dd, 14,1, 4,7)
7	77,6	4,60 (sl)	H-6a	2H-20	77,3	4,48 (m)
9	47,8	3,42 (s)		H-14; 3H-19	45,6	2,71 (s)
12	81,1	4,98 (d, 2,2)	H-13	H-9; H-14; 3H-17	77,3	3,56 (d, 3,5)
13	34,2	2,50(m)	H-13	H-15a	30,4	2,20
14	35,6	2,52 (m)	H-13; H-15b	H-12; 2H-20	43,9	2,0
CH₂						
6	25,2	2,27 (td, 12,6) 2,09			25,7	2,20, 2,02
15	27,7	3,33 (dd, 18,9, 12,4); 2,83 (dd, 18,9, 6,0)			29,9	2,86, 2,69 (dd, 19,3, 5,3)
30	61,3	4,62(d, 12,9) 3,92 (d, 12,9)		H-9	71,0	3,96 (d, 8,8) 3,67 (d, 8,8)
CH₃						
17	13,2	1,06 (d, 6,3)			12,4	1,06 (d, 8,8)
18	22,2	1,97 (s)			23,1	2,02 (sl)
19	11,5	1,42 (s)		H-1; H-9	9,7	1,19 (s)
AcO-1	20,7	2,27 (s)			-	-
AcO-12	20,8	2,07 (s)			-	-
AcO-20	20,8	2,10 (s)			-	-

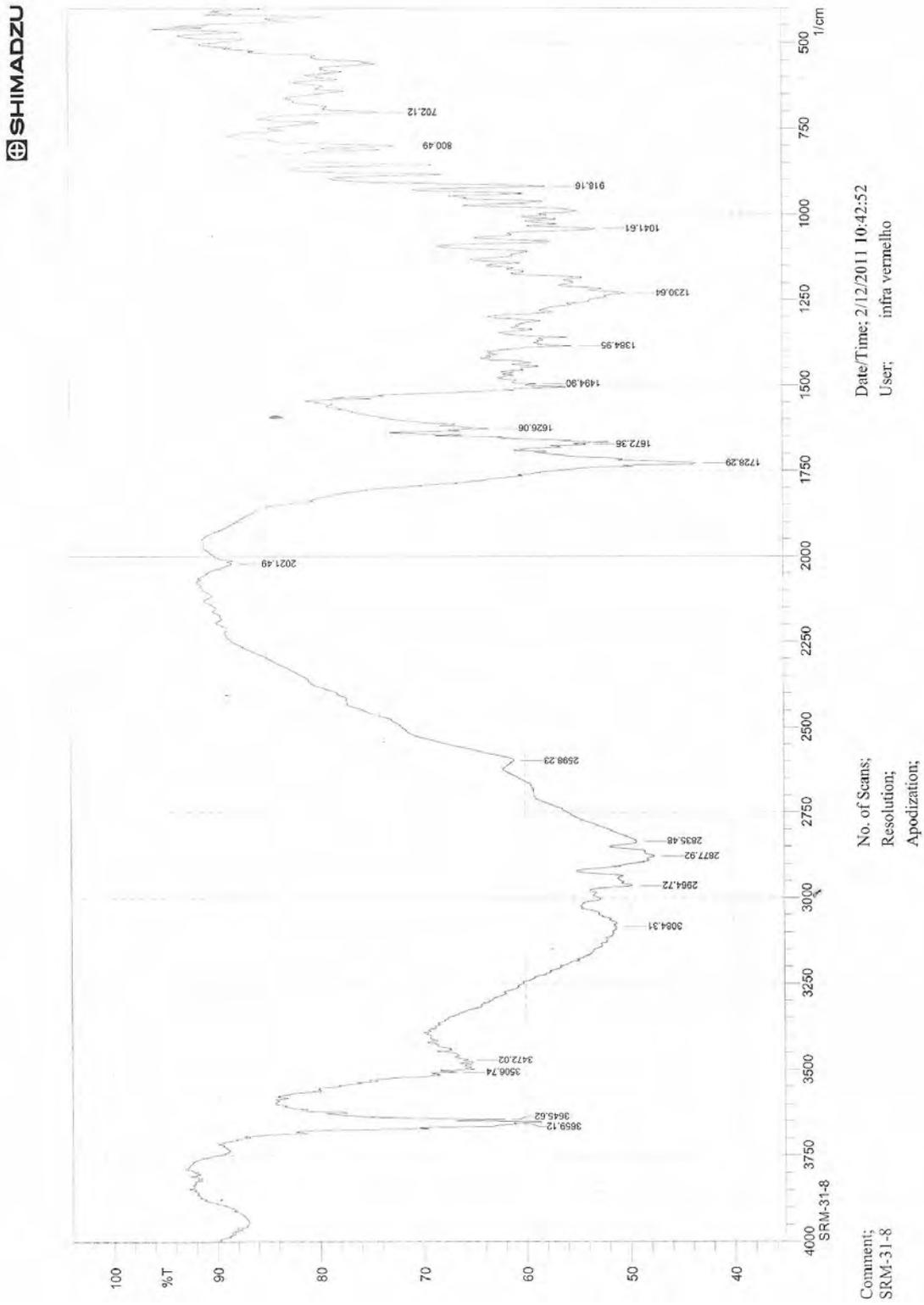


Figura 2: Espectro de infravermelho da substância I

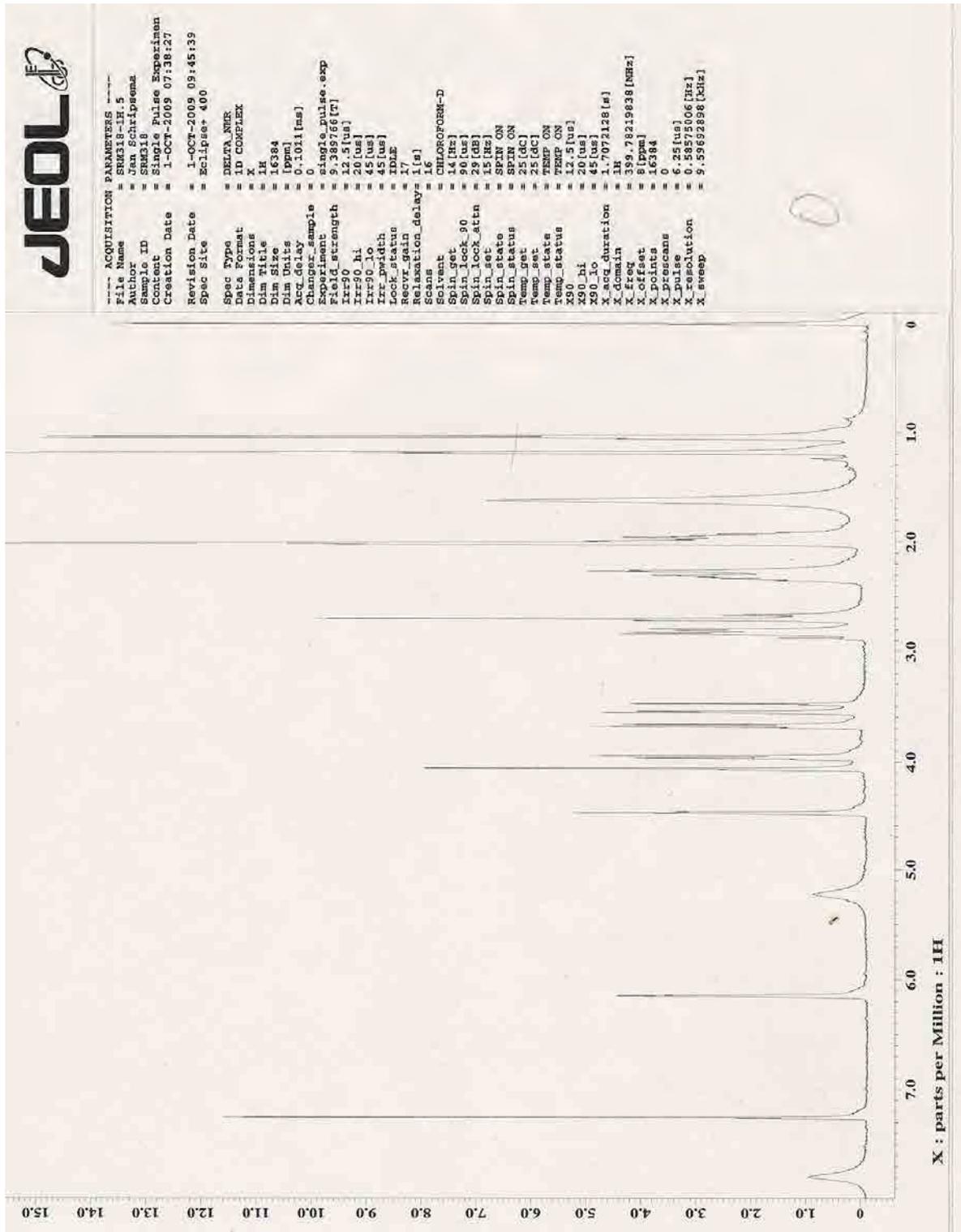


Figura 3: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância I

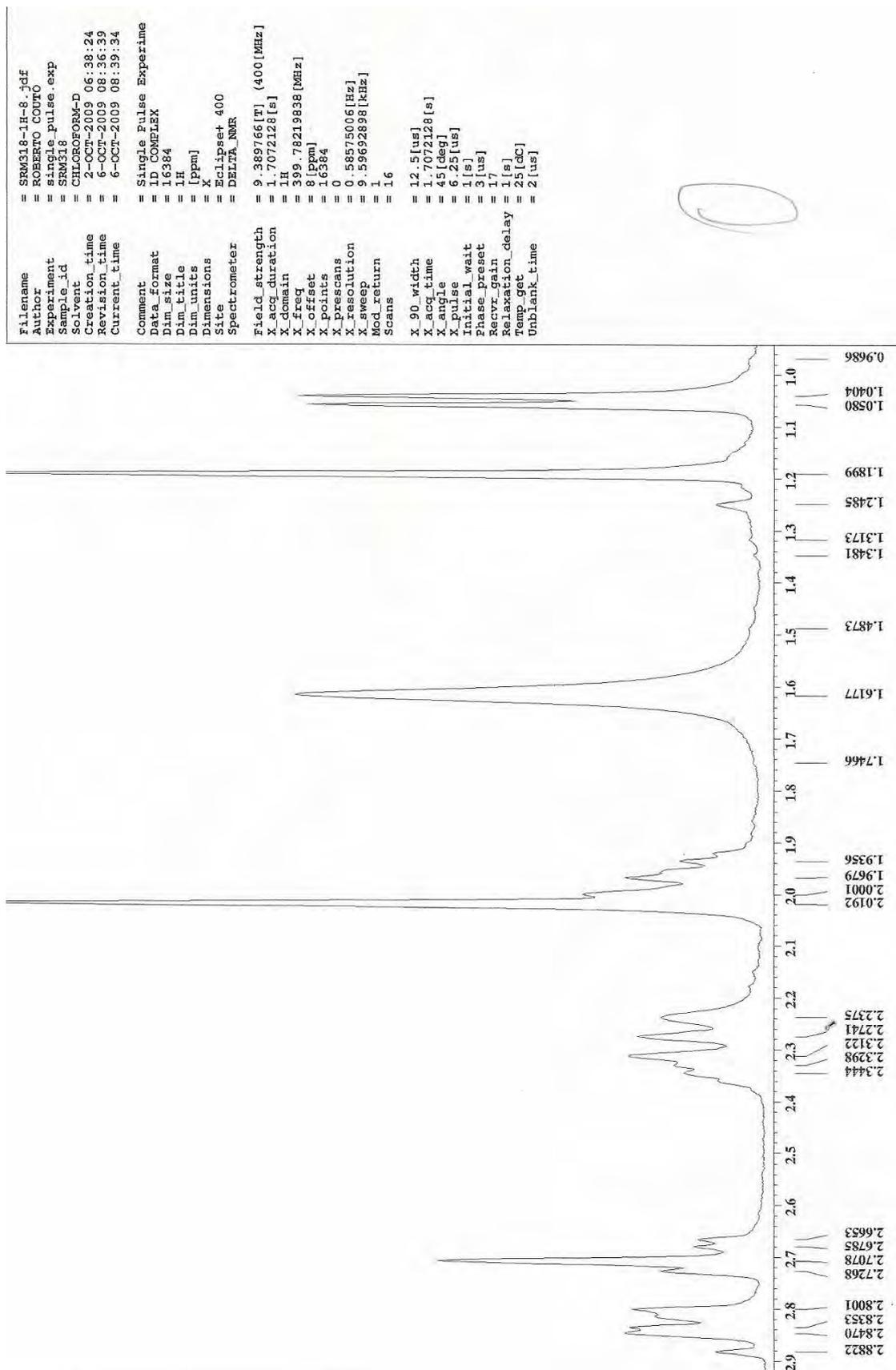


Figura 4: Ampliação da região de δ_H 1,0 – 2,9 do espectro de RMN 1H (400 MHz) em $CDCl_3$ da substância I

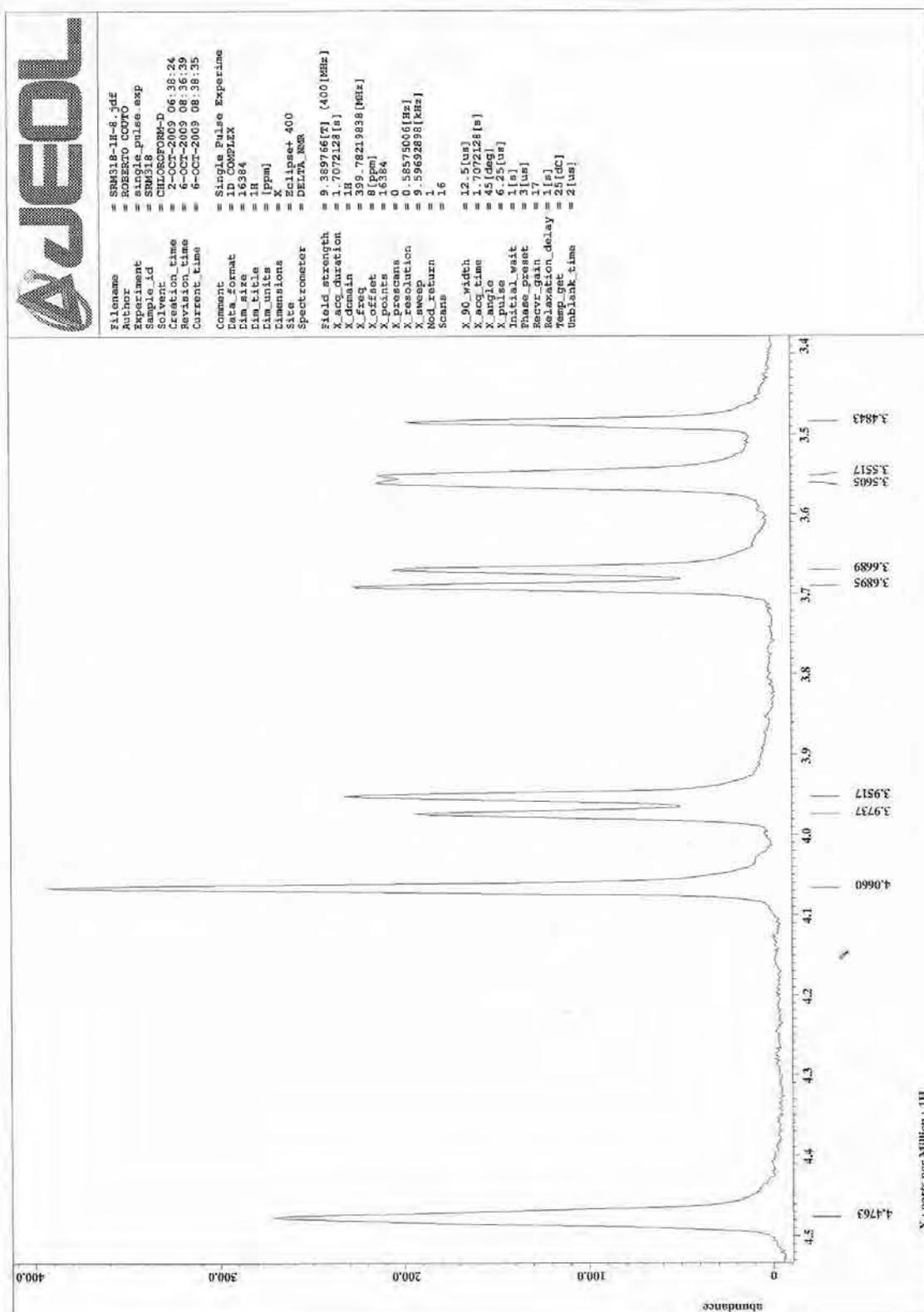


Figura 5: Ampliação da região de δ_{H} 3,4 – 4,5 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância I

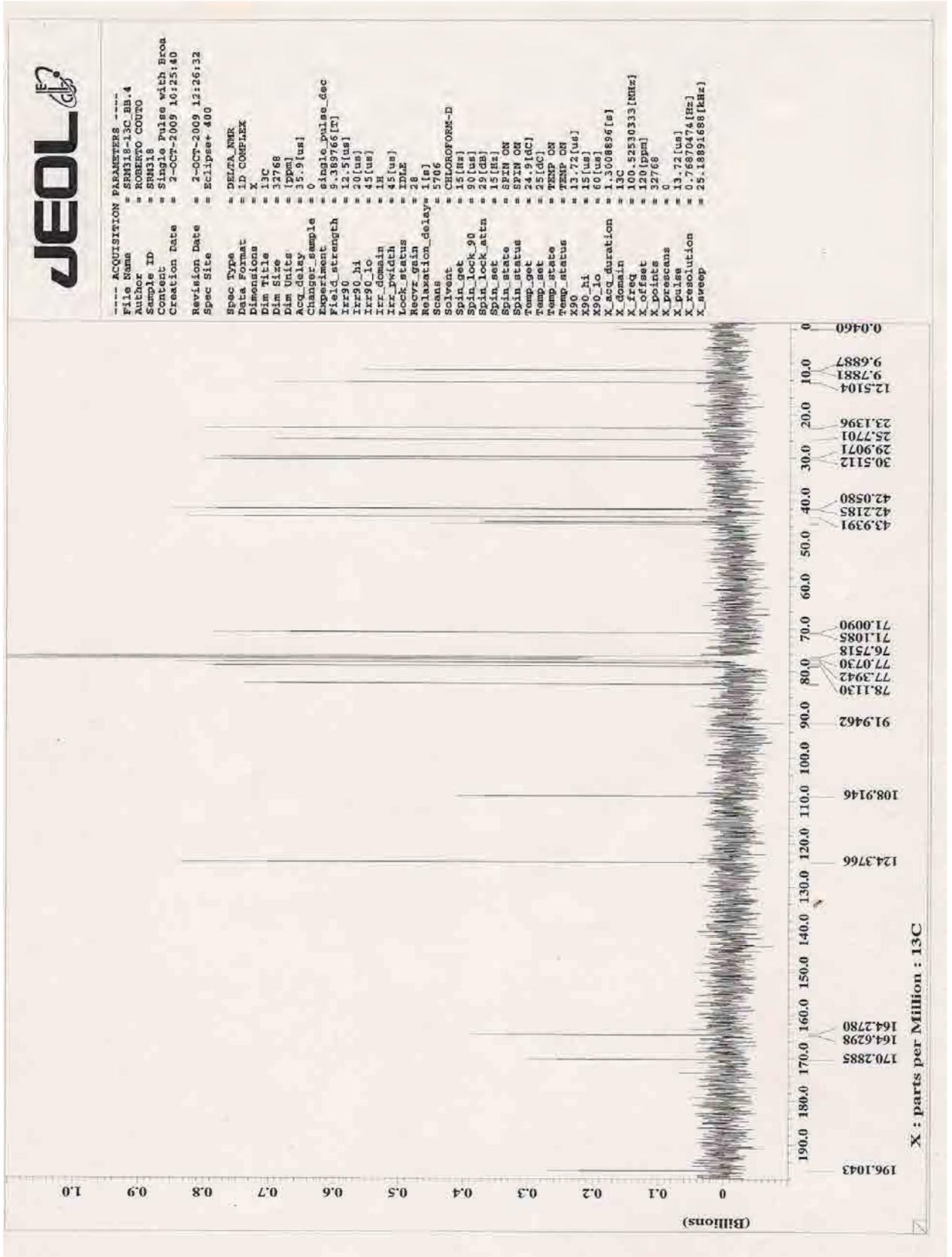


Figura 6: Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) em CDCl₃ da substância I

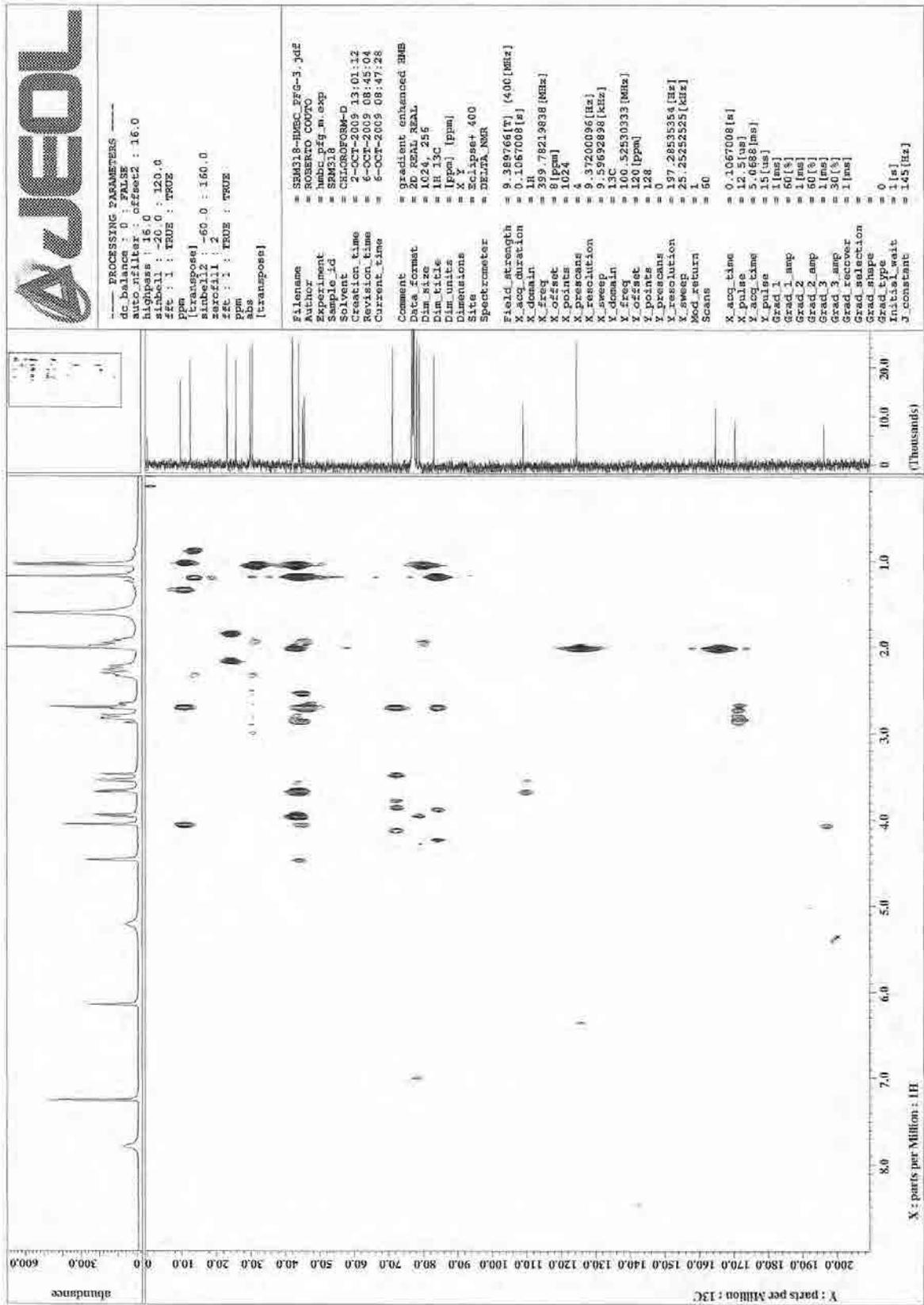


Figura 7: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ da substância I

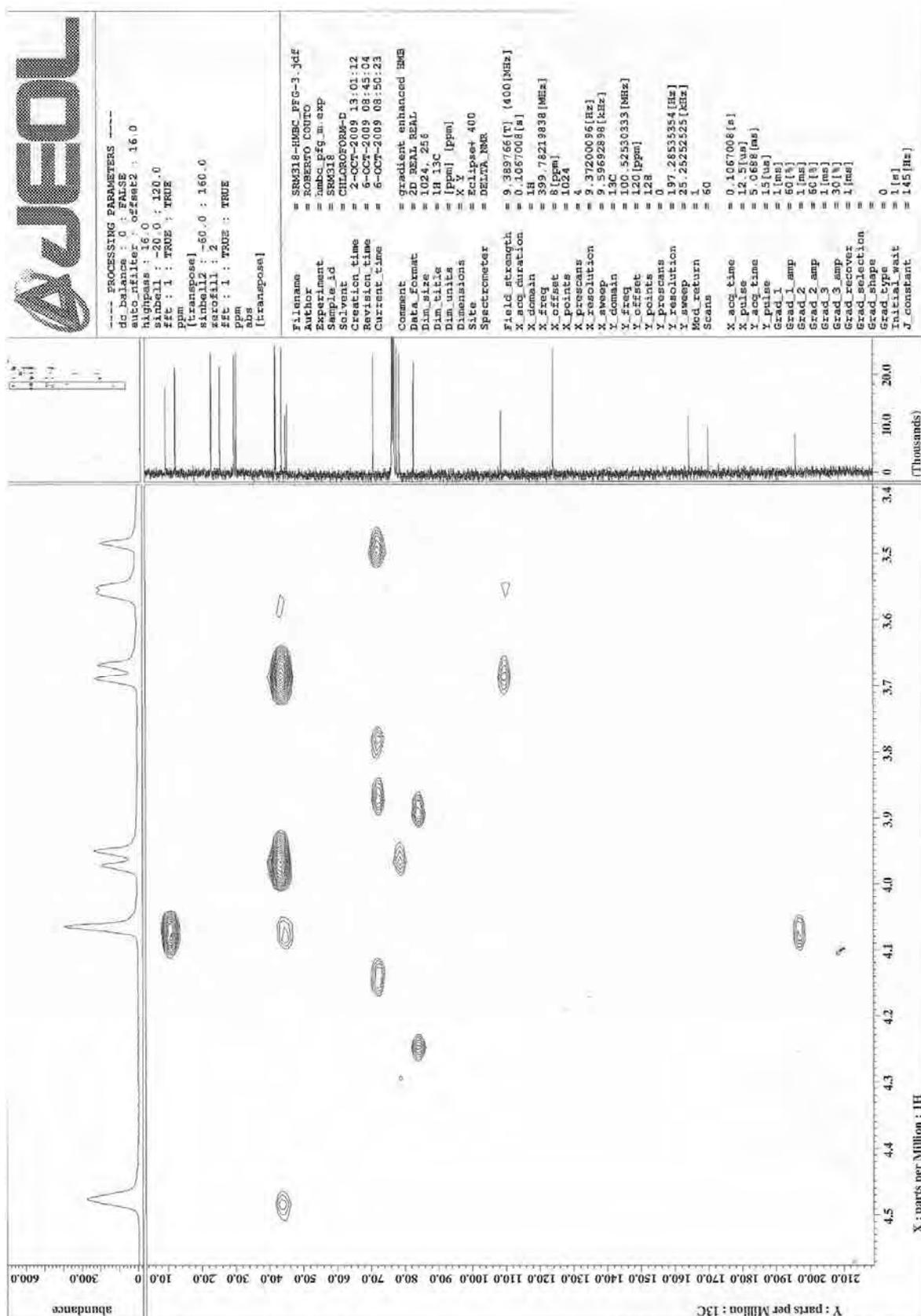


Figura 9: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância I

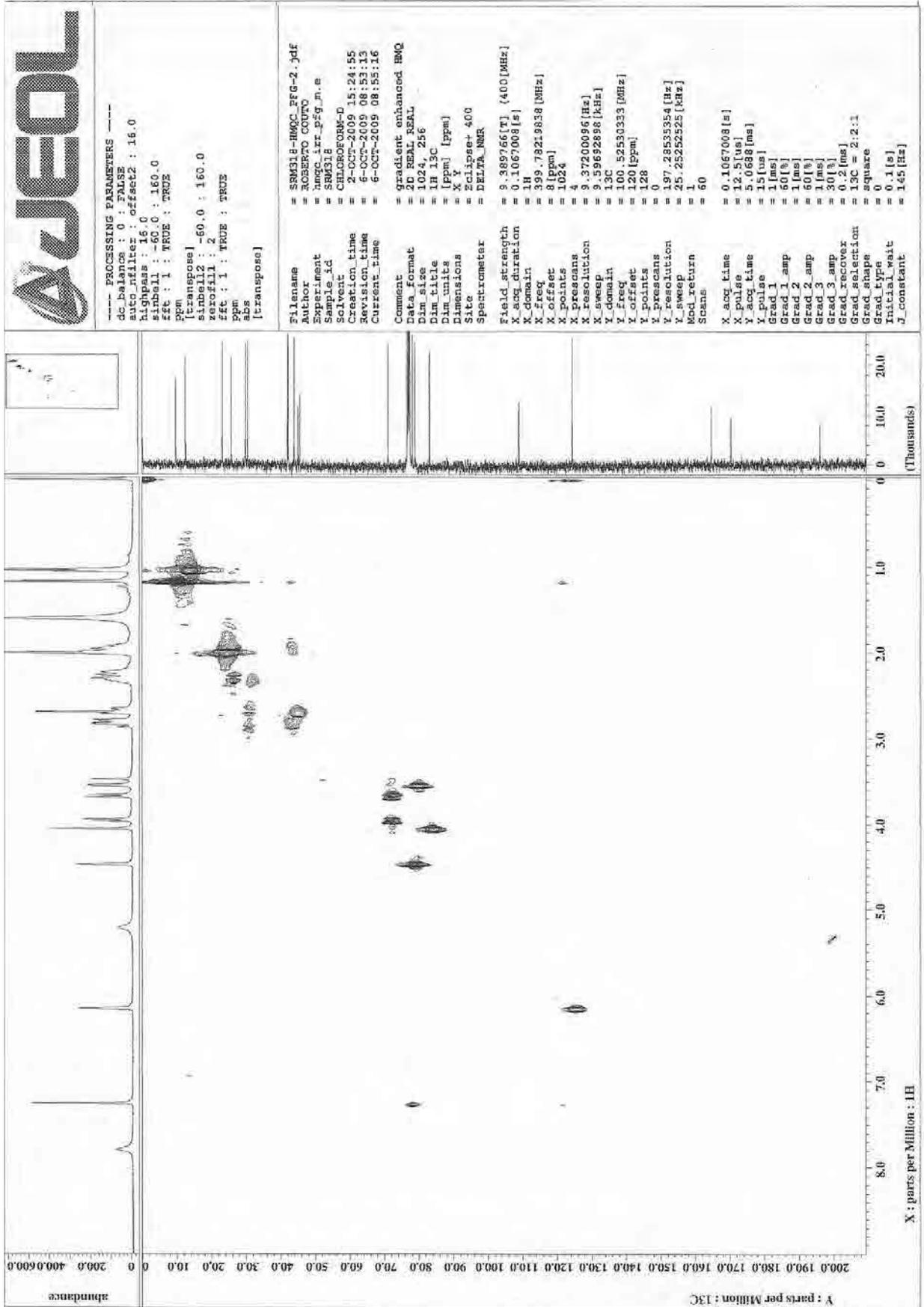


Figura 10: Mapa de correlação do espectro de HMOC em CDCl₃ da substância I

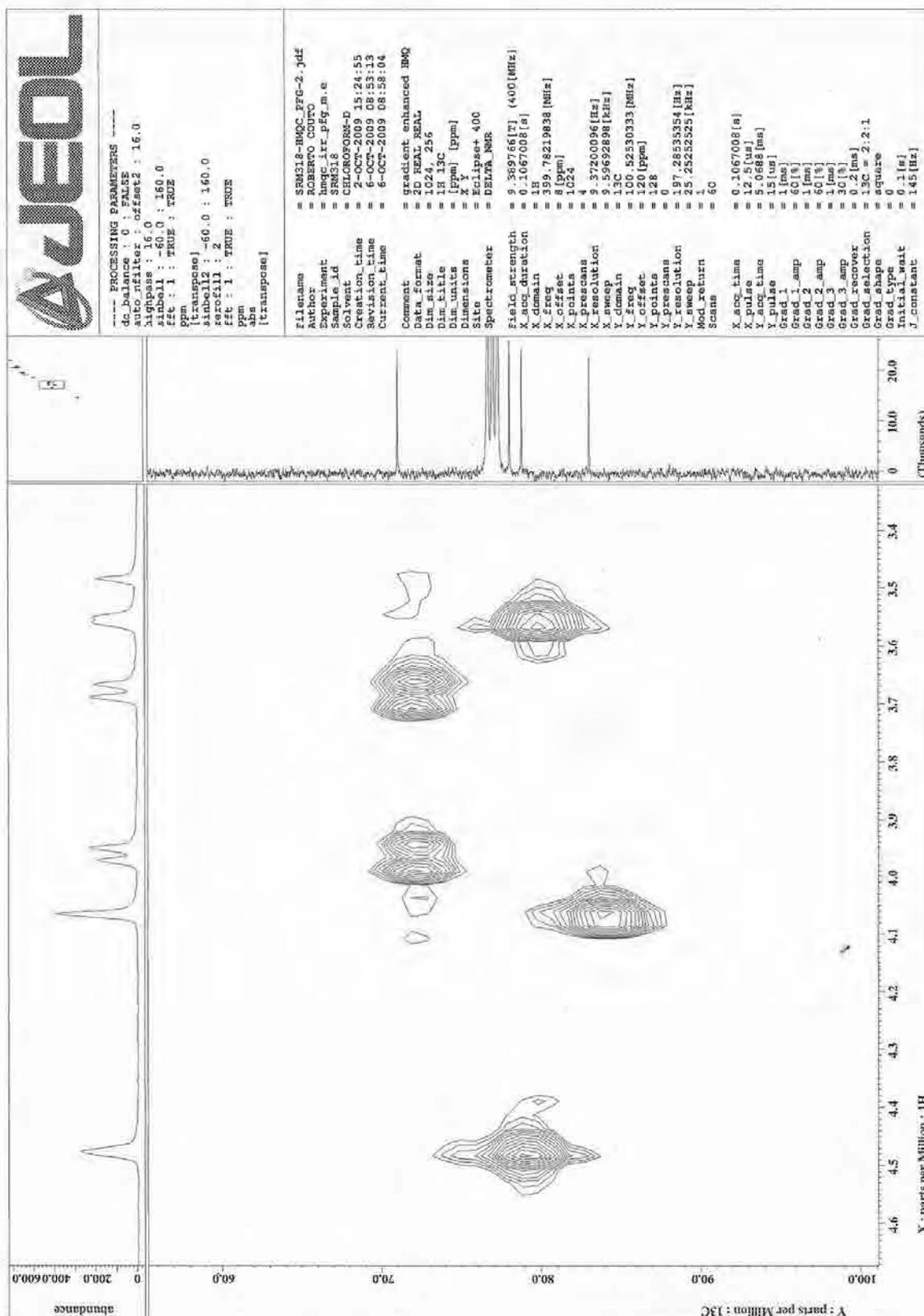


Figura 11: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância I

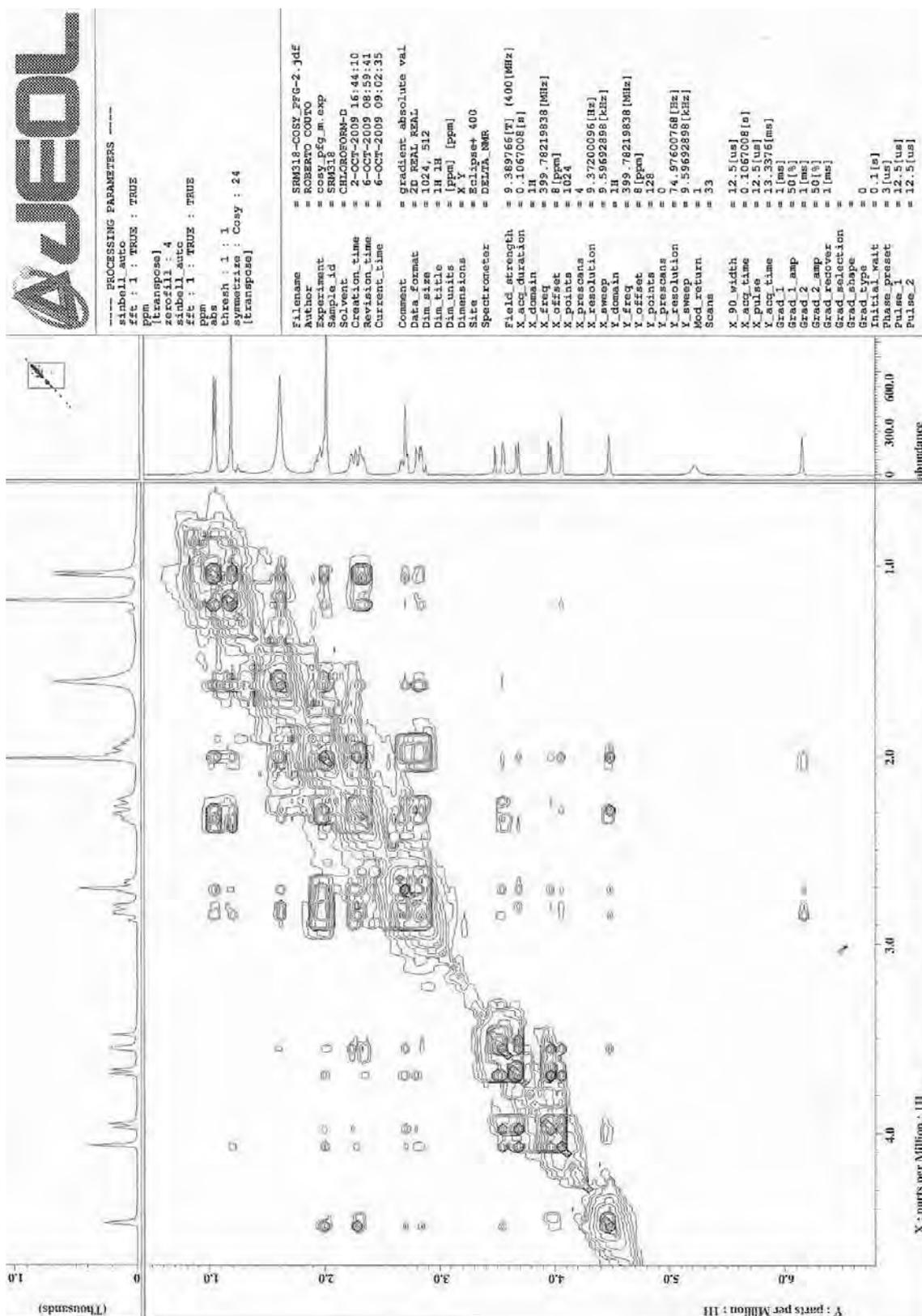


Figura 12: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância I

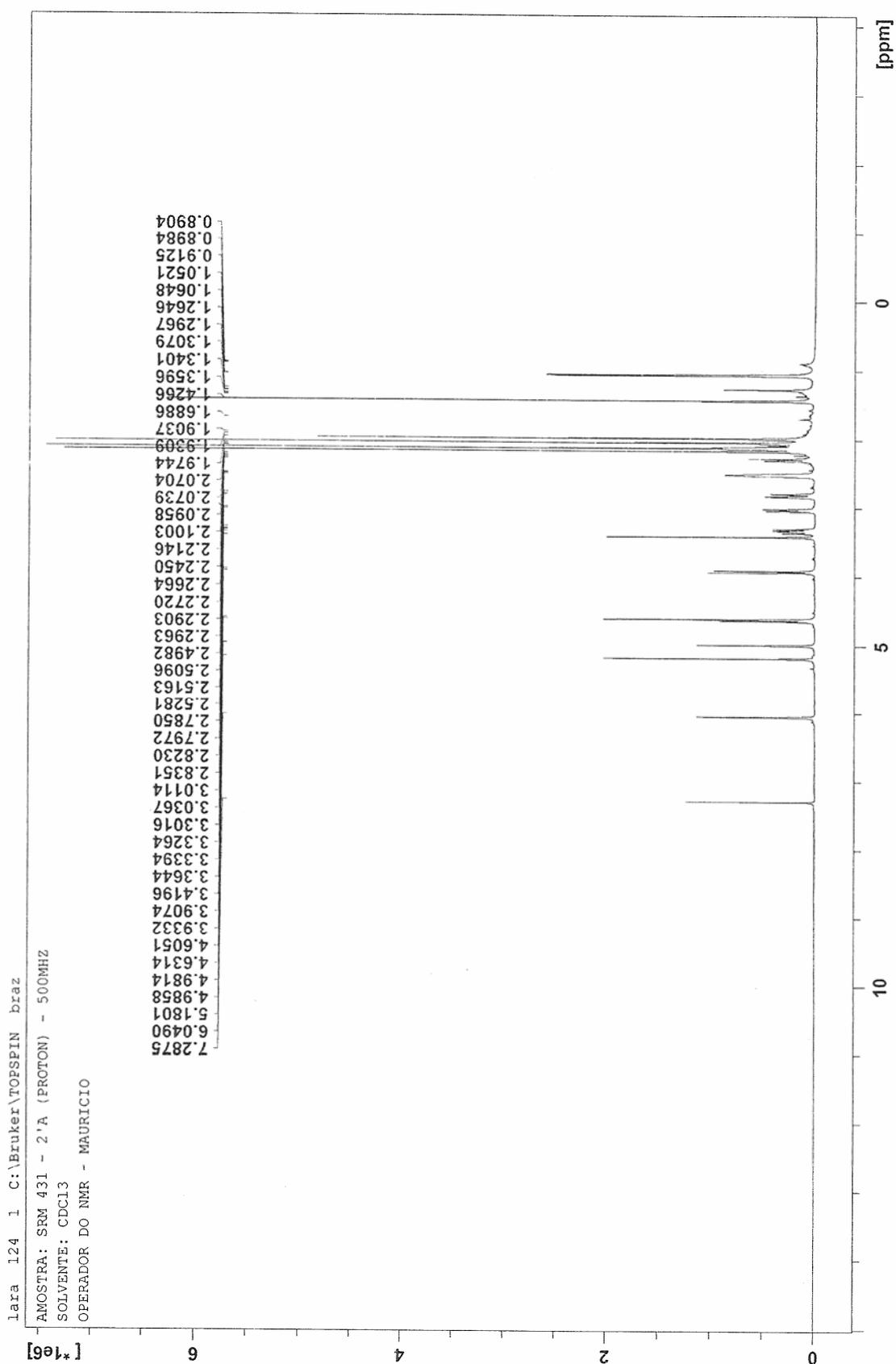


Figura 13: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado IA

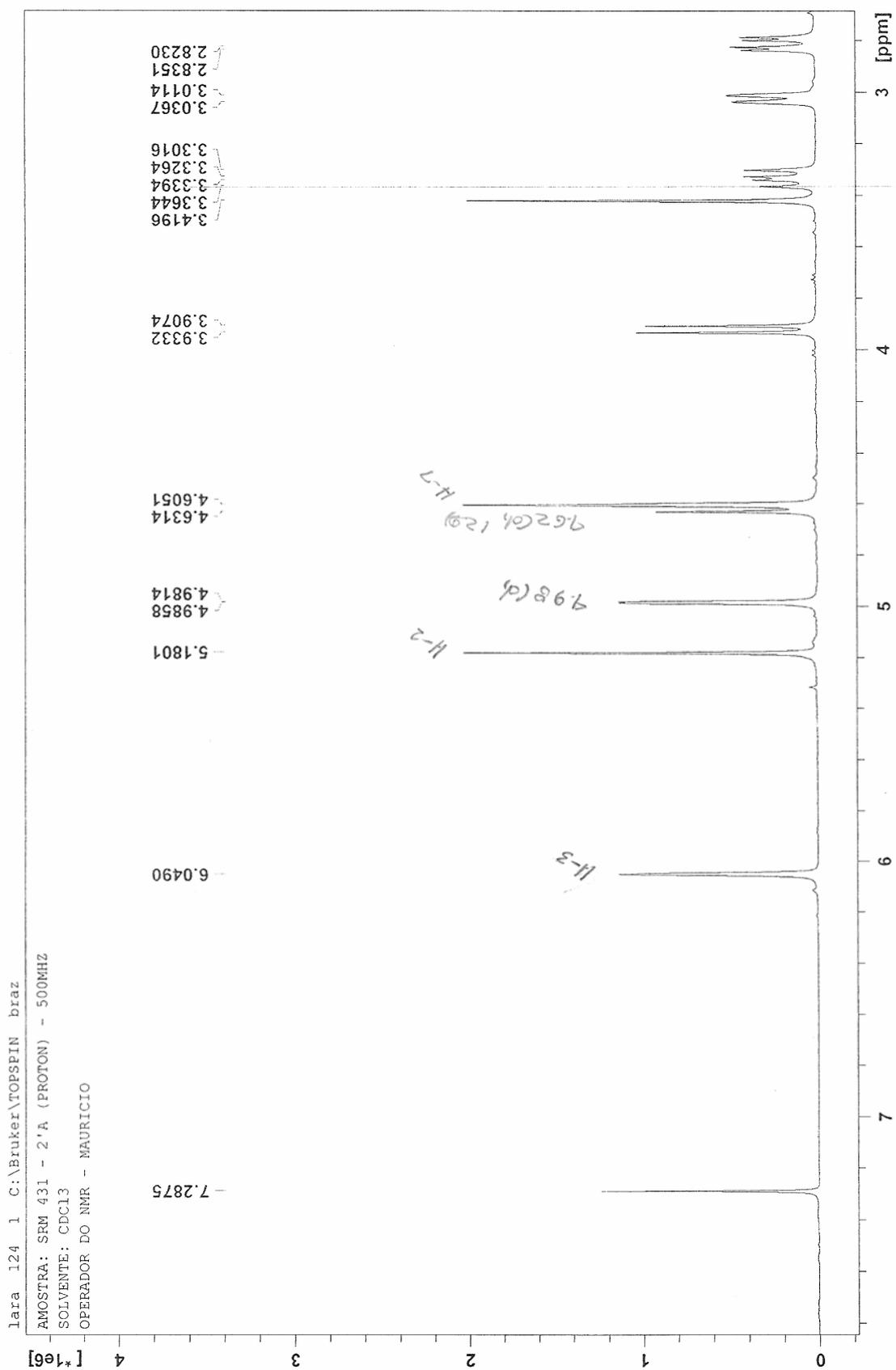


Figura 14: Ampliação da região de δ_{H} 2,8 – 7,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado **IA**

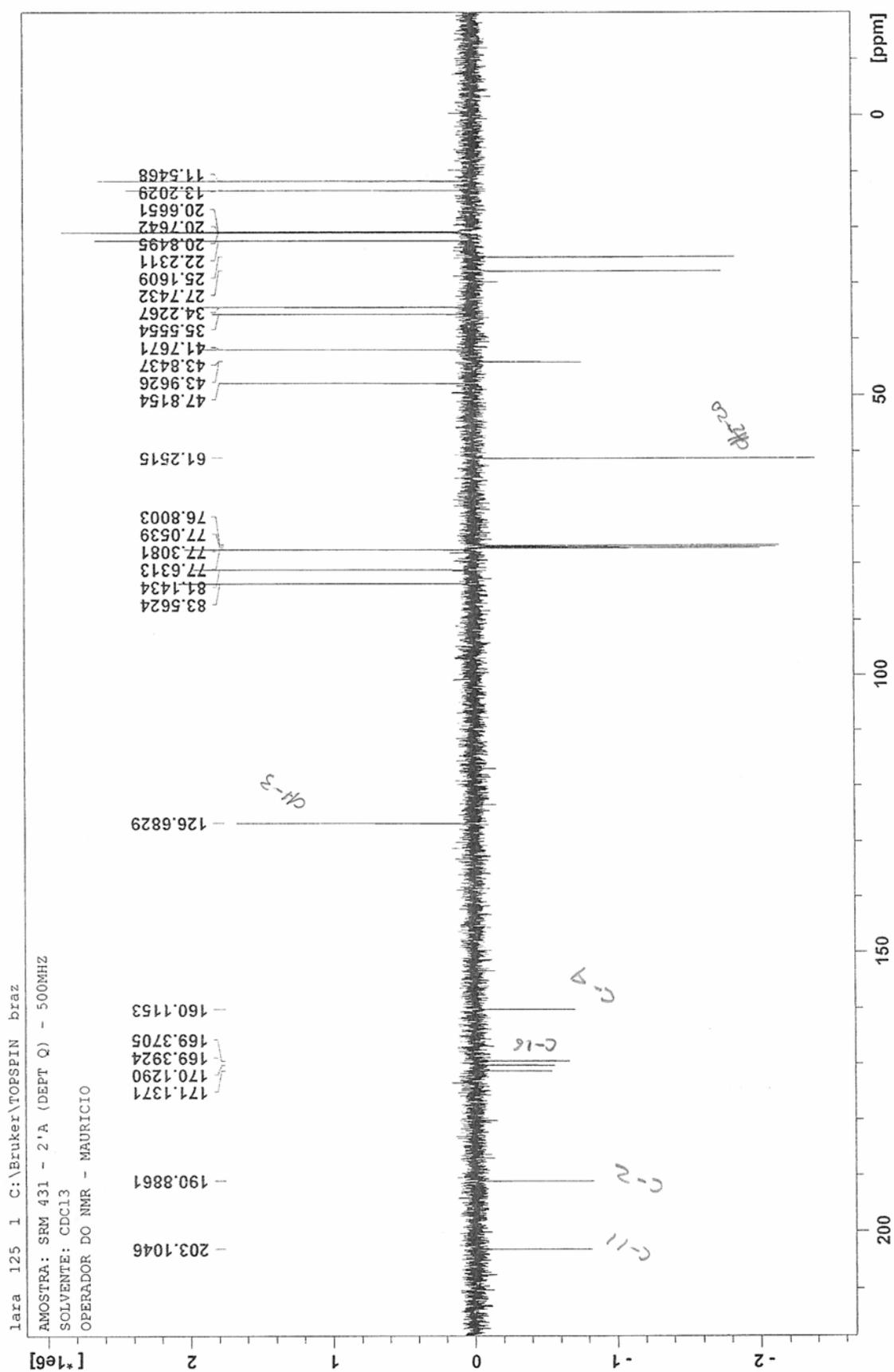


Figura 15: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 125 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado IA

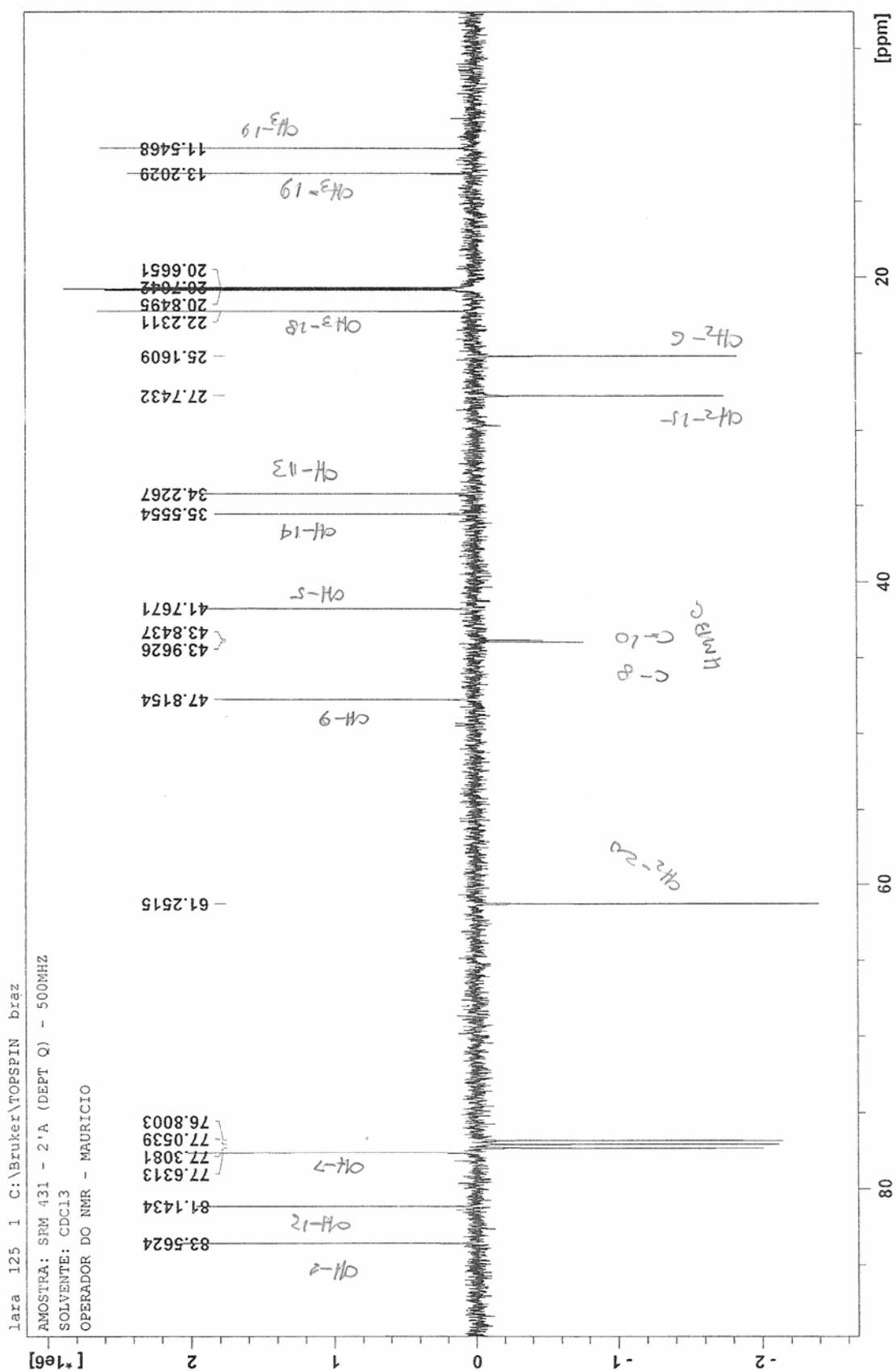


Figura 16: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 125 MHz) em CDCl_3 do derivado acetilado **IA**

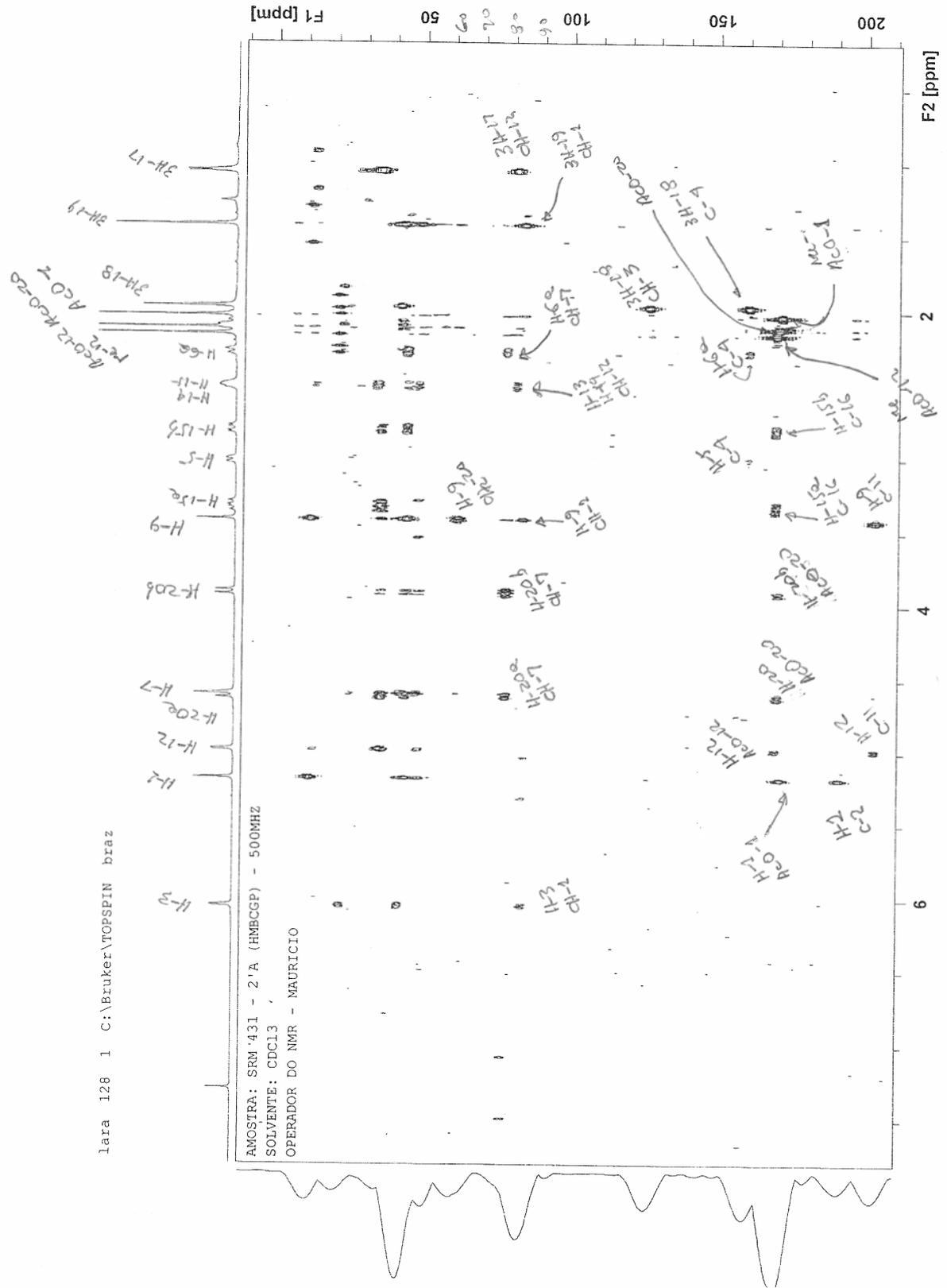


Figura 17: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ do derivado acetilado IA

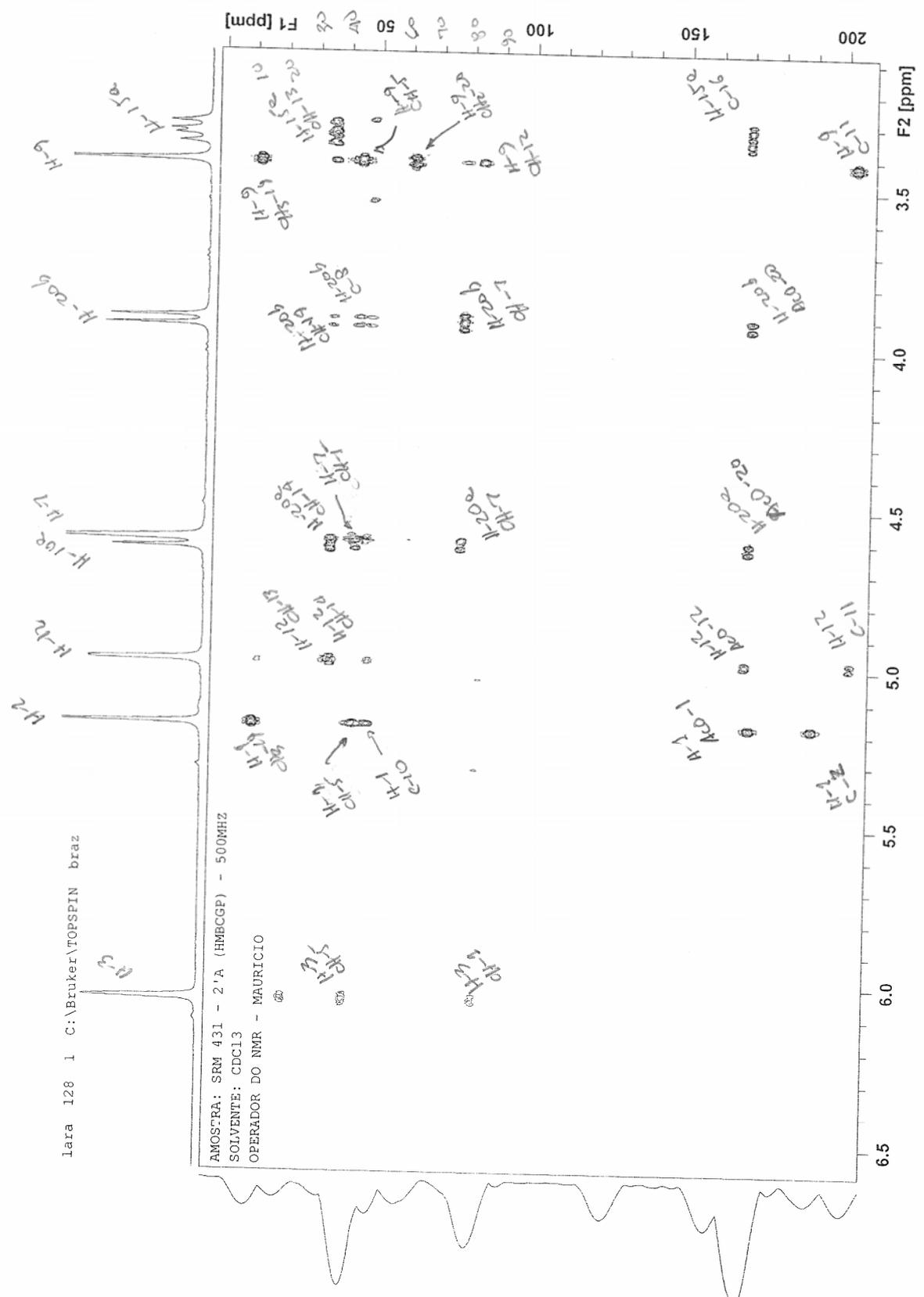


Figura 19: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ do derivado acetilado IA

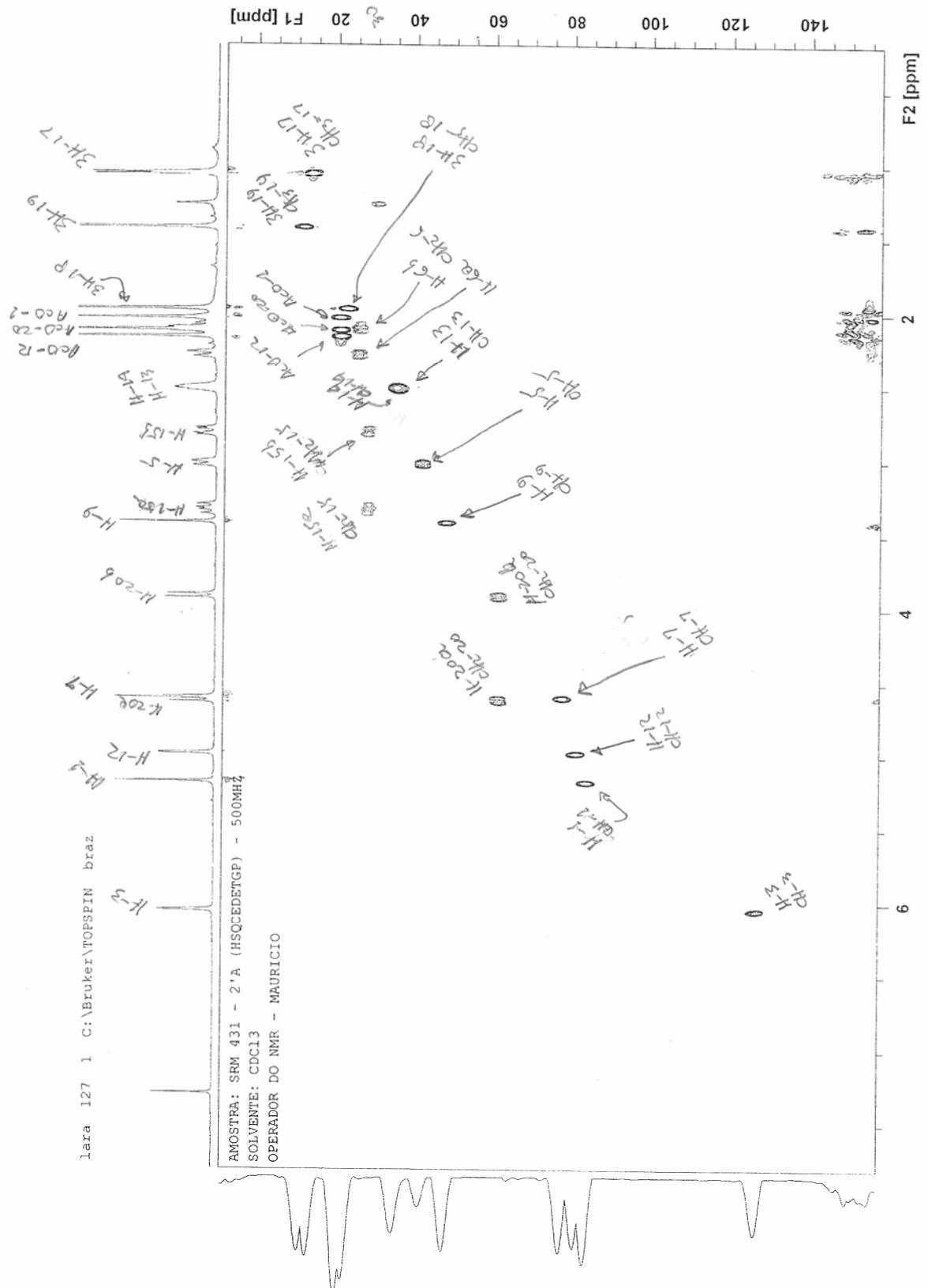


Figura 20: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl₃ do derivado acetilado IA

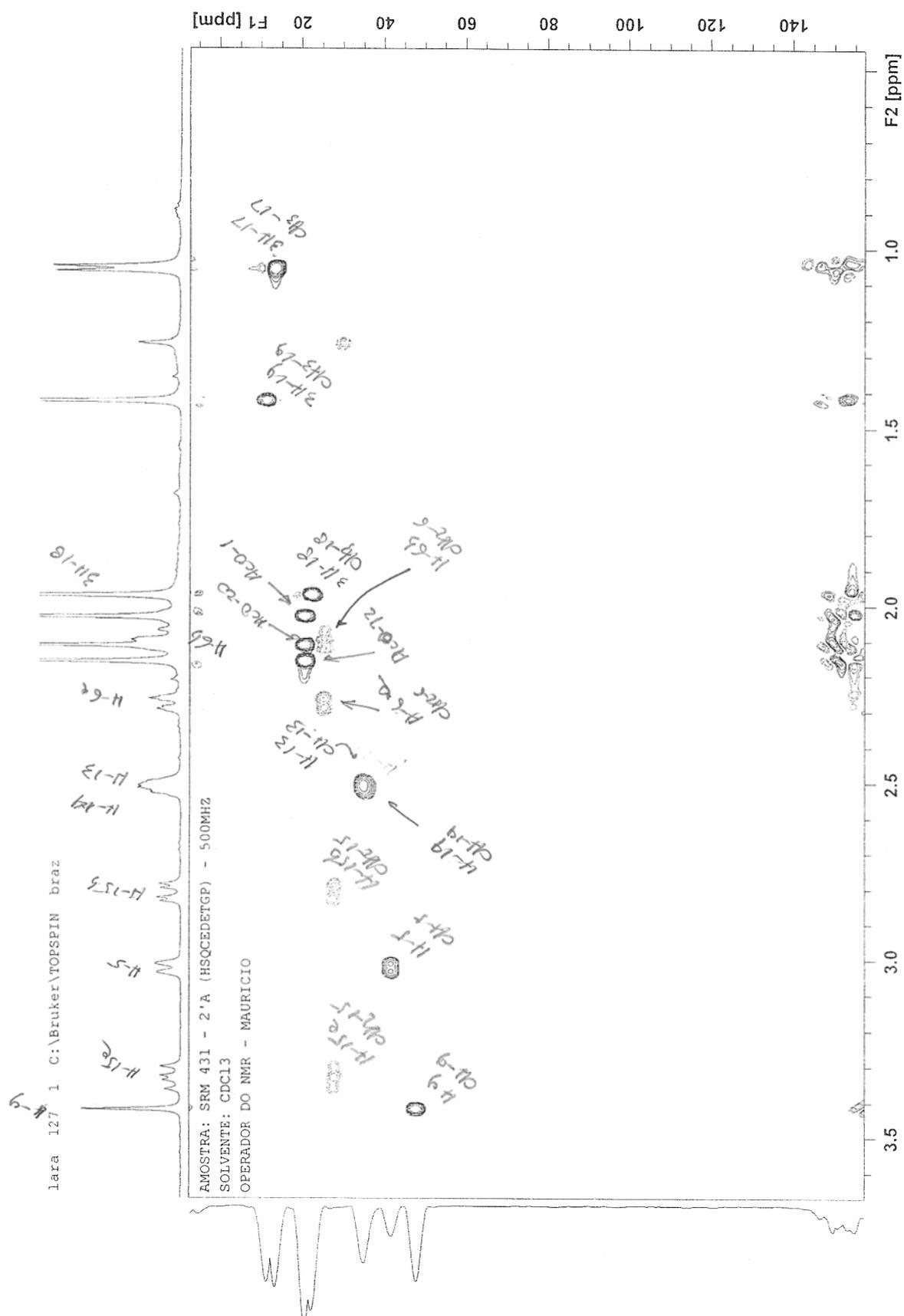


Figura 21: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 do derivado acetilado **IA**

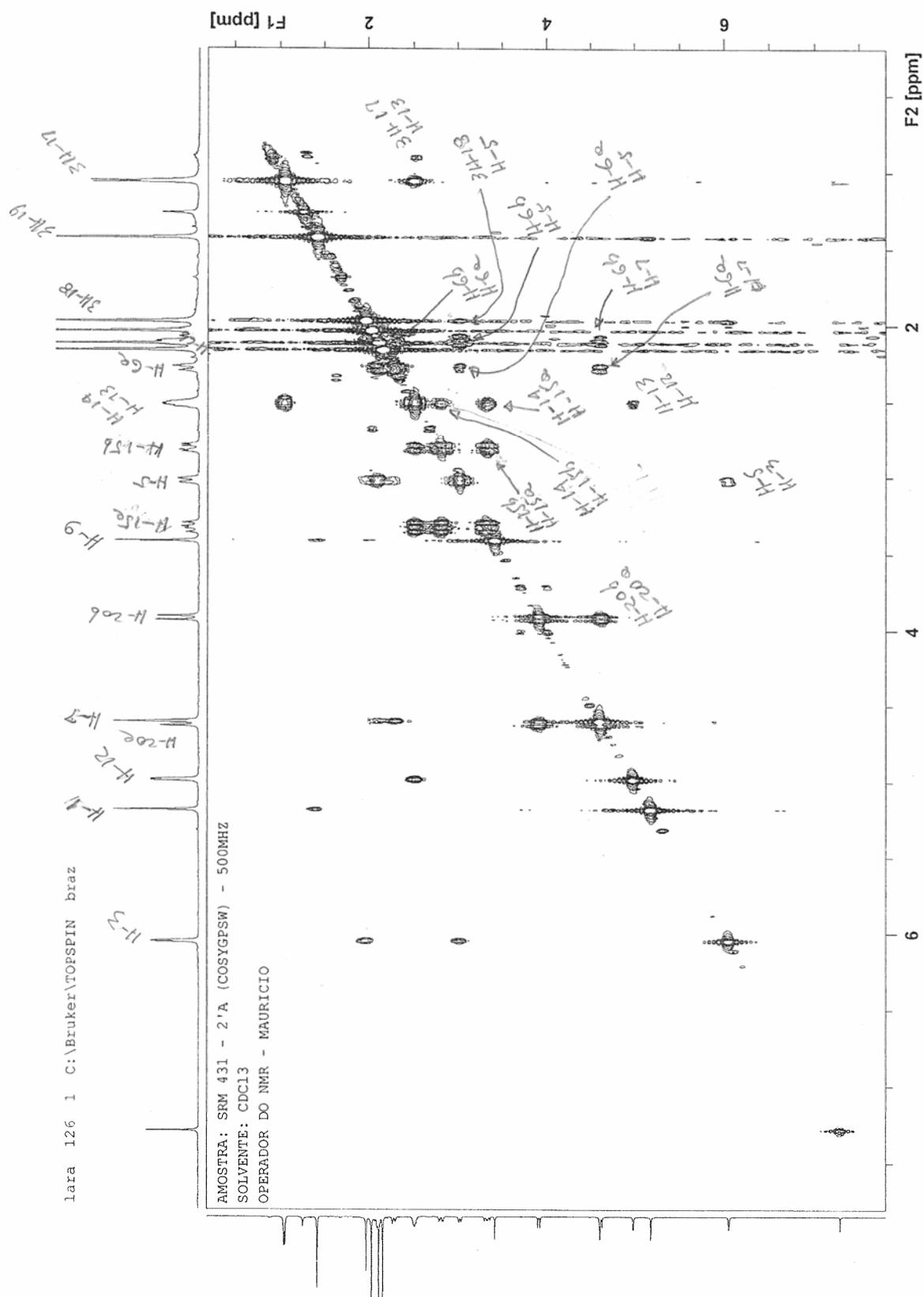


Figura 23: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 do derivado acetilado IA

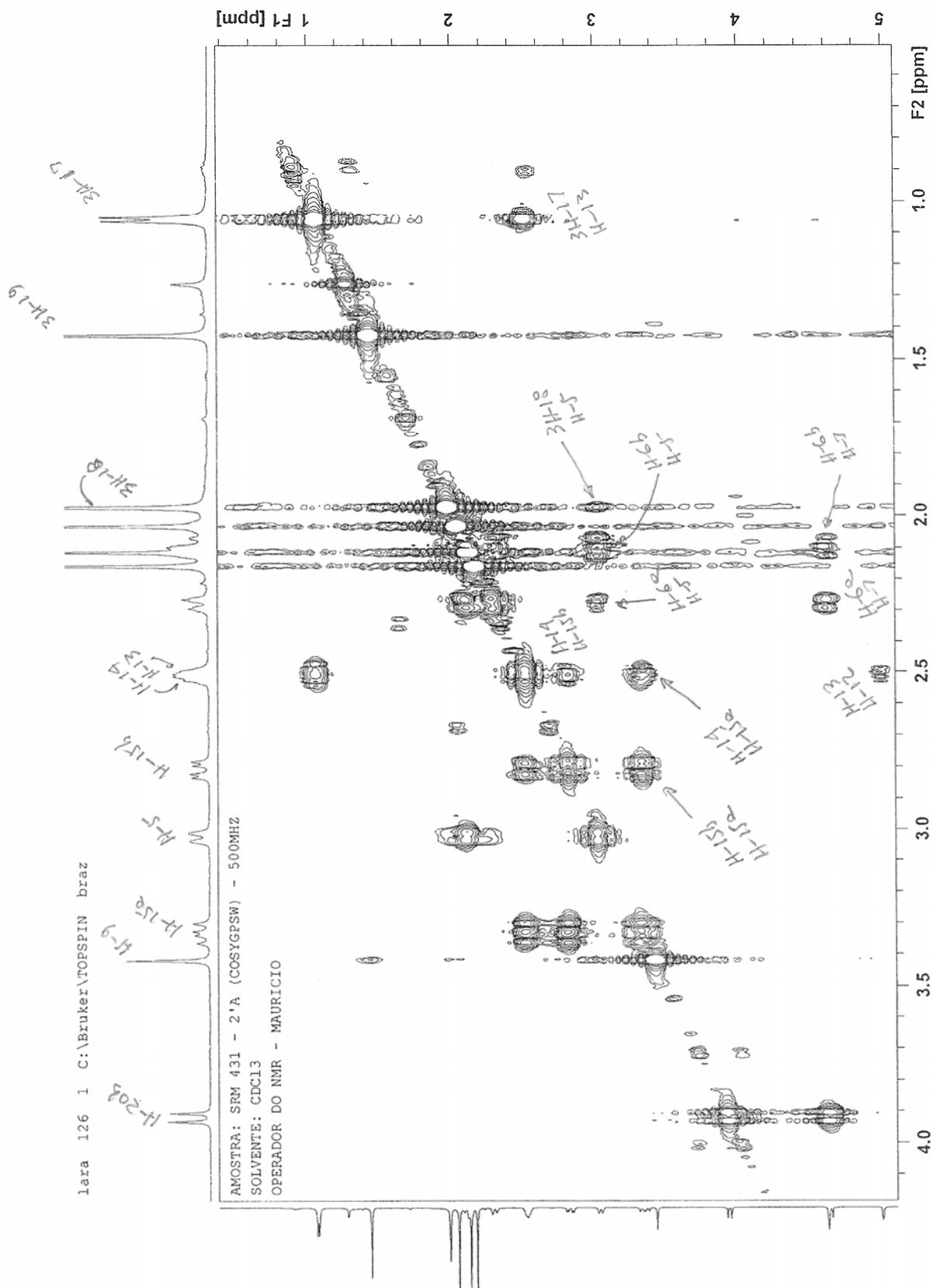
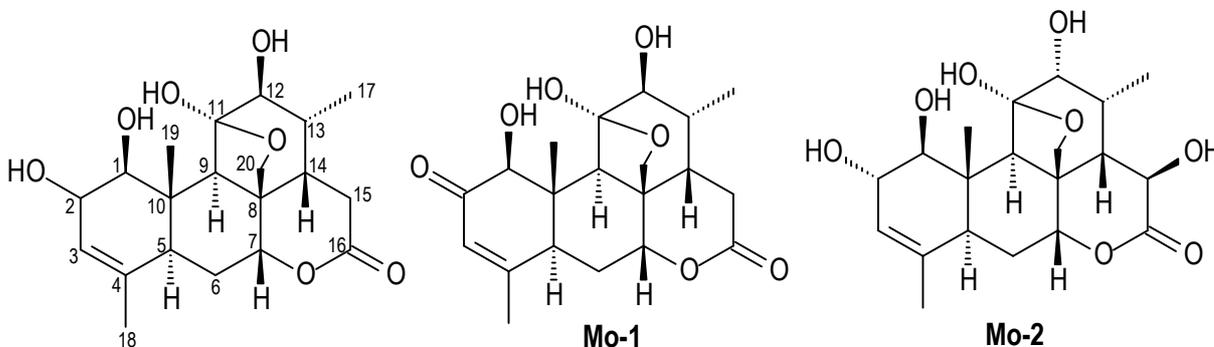


Figura 24: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 do derivado acetilado IA

Determinação estrutural da substância II



A substância **II** isolada do extrato metanólico das raízes de *Simaba suffruticosa* apresentou-se como um cristal branco, com ponto de fusão 250°C (decomposição), apresentando uma coloração rosa claro quando revelado com vanilina sulfúrica, indicando tratar-se de um quassinóide.

O espectro de RMN ^{13}C (**Figura 30**, p. 124, **Tabela 34**, p. 118) mostrou a presença de vinte sinais de carbono, indicando ser um quassinóide com esqueleto do tipo C_{20} , corroborado pelo mapa de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras 33-34**, p. 127-128, **Tabela 34**, p. 118).

O espectro na região do infravermelho (**Figura 25**, p. 119) da substância **II** apresentou bandas de absorção relativas ao estiramento de um grupo carbonila em 1728 cm^{-1} (característico de lactona), bandas com absorção em 2974, 2966, 2933, 2906 e 2875 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C-H para carbonos sp^3 , bandas em 1514 e 1392 cm^{-1} referentes ao estiramento das ligações de unidades CH_2 , bandas em 3470, 3391 cm^{-1} referentes aos estiramentos dos grupos hidroxila presentes na molécula.

O tipo de anel A da substância **II**, foi identificado pelos deslocamentos químicos, característicos dos carbonos CH-1, CH-2, CH-3 e C-4, com sinais em δ_{C} 84,2, δ_{C} 73,2, δ_{C} 128,0 e δ_{C} 135,0 respectivamente, apresentados no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 30**, p. 124, **Tabela 34**, p. 118).

A caracterização do anel foi corroborada através das correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras 31 e 32**, p. 125 e 126, **Tabela 34**, p. 118) $^2J_{\text{HC}}$, CH-3 (δ_{C} 128,0) com H-2 em δ_{H} 4,61 e C-4 (δ_{C} 135,0) com hidrogênios do grupo metila Me-18 em δ_{H} 1,59, e $^3J_{\text{HC}}$,

entre CH-1 (δ_C 84,2) com H-3 em δ_H 5,78, com H-9 em δ_H 3,06 e com hidrogênios do grupo metila Me-19 em δ_H 1,62; CH-3 (δ_C 128,0) com hidrogênios do grupo metila Me-18 em δ_H 1,59; C-4 (δ_C 135,0) com H-2 em δ_H 4,61 e CH-5 (δ_C 42,4) com H-1 em δ_H 3,96, H-9 em δ_H 3,06, Me-18 em δ_H 1,59 e Me-19 em δ_H 1,62; CH₃-19 (δ_C 11,2) com H-1 em δ_H 3,96.

A ausência do sinal de um carbono quaternário em torno de δ_C 196,0 referente ao C=O-2, mostra que nessa posição não existe uma carbonila e sim um carbono substituído por uma hidroxila que aparece com sinal em δ_C 73,2, característico de carbono carbinólico, de acordo com VIEIRA, 2005. Esse resultado pode ser confirmado pelas correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 31 e 32, p. 125 e 126, **Tabela** 34, p. 118) $^2J_{HC}$, CH-3 (δ_C 128,0) com H-2 em δ_H 4,61 e $^3J_{CH}$, entre o C-4 (δ_C 135,0) com H-2 em δ_H 4,61.

A presença de dois sinais duplos em δ_H 4,19 e δ_H 3,78 com $J = 8,7$ Hz, no espectro de RMN 1H (**Figuras** 26-29, p. 120-123, **Tabela** 34, p. 118), e corroborada pela correlação destes apresentados no mapa de correlação homonuclear 1H - 1H -COSY (**Figura** 35, p. 129), referentes aos hidrogênios H-30a e H-30b, indicando que o grupo metila Me-30 sofreu uma oxidação para formar um anel tetraidrofurânico com C-11 ou C-13 (**Figura** 30, p. 124, **Tabela** 34, p. 118).

A formação do anel tetraidrofurânico do tipo CH₂-30-O-C-11 com formação do hemiacetal na posição C-11 pode ser confirmada pelo sinal do átomo de carbono hemiacetal C-11 em δ_C 111,2 e do sinal em δ_C 72,2, relativo ao grupo metileno CH₂-30 oxidado.

A ausência do sinal quaternário em torno δ_C 80,0 confirma a formação do anel tetraidrofurânico na posição C-11 e não na posição C-13 (**Figura** 30, p. 124, **Tabela** 34, p. 118), como já mencionado anteriormente.

A caracterização do anel tetraidrofurânico na posição C-11 foi corroborada através das correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 31 e 32, p. 125 e 126 **Tabela** 34, p. 118) $^3J_{HC}$, entre o átomo de carbono hemiacetal C-11 (δ_C 111,2) com o hidrogênio H-30a e H-30b em δ_H 4,19 e 3,78, respectivamente e CH-7 (δ_C 79,8) com o hidrogênio H-30a em δ_H 4,19, confirmando assim a oxidação do grupo metila Me-30.

A localização de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-12 em δ_C 80,1 e de um grupo metila Me-17 em δ_C 13,8 ligado ao átomo de carbono CH-13 no anel C do quassinóide **II** foi confirmado pelo mapa de correlação HMQC (**Figuras** 33 e 34, p. 127 e 128, **Tabela** 34, p. 118) e corroborado pelas correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 31 e 32, p. 125 e 126, **Tabela** 34, p. 118) $^2J_{HC}$, entre o átomo de carbono hemiacetalico C-11 (δ_C 111,2) com um duplete em δ_H 3,98 ($J= 8,2$ Hz), relativo ao hidrogênio carbinólico H-12, e das correlações $^2J_{HC}$, entre o átomo de carbono CH-13 (δ_C 32,2) com um duplete em δ_H 1,11 ($J= 8,7$ Hz), relativo aos hidrogênios do grupo Me-17.

O grupo metila ligado na posição 17, pode ser ainda comprovado pelas correlações $^3J_{HC}$, entre o duplete em δ_H 1,11 ($J= 8,7$ Hz), relativo aos hidrogênios do grupo Me-17 com os átomos de carbono CH-12 (δ_C 80,1) e com o átomo de carbono C-14 (δ_C 43,2).

Os valores dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono no anel D, do quassinóide **II**, onde o carbono carbonílico C=O-16 da lactona apresenta-se em δ_C 171,1, e do carbono metilênico CH₂-15 em δ_C 31,1, confirmando a não oxidação do átomo de carbono CH₂-15 oxidado segundo VIEIRA, 1995.

A estereoquímica do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-12 no quassinóide **II** foi estabelecida baseando-se no deslocamento químico do átomo de carbono CH-9. Quando o grupo hidroxila apresenta configuração β o sinal para o átomo de carbono CH-9 esta em torno de C-9 δ_C 46,0, já quando o sinal do grupo hidroxila encontra-se em torno de δ_C 41,0, devido ao efeito “ γ -gauche” provocado pela interação 1,3-diaxial do grupo hidroxila com a configuração α e o hidrogênio H-9 na mesma situação. Portanto, podemos concluir que o grupo hidroxila do quassinóide **II** apresenta conformação β , uma vez que este apresenta um sinal em δ_C 45,0, confirmando assim a estereoquímica β do grupo hidroxila em CH-12 (VIEIRA, 1995).

Os deslocamentos químicos dos carbonos carbonílico da lactona em δ_C 171,1 (C=O-16) e do carbono CH₂-15 em δ_C 31,1, confirmam que o átomo de carbono CH₂-15 encontra-se livre de substituintes.

Os dados de RMN ^{13}C do quassinóide **II** foram atribuídos com base nos dados da literatura para o quassinóide chaparrina, comprovando assim sua estrutura (KUBOTA et al., 1996). Esses dados estão descritos na **Tabela 34**.

Tabela 34: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **II**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância II						
	HMQC		HMBC		Mo-1 ^{*1}	Mo-2 ^{*2}
	δ_c	δ_H	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_c	δ_c
C						
2	-	-	-	-	197,6	-
4	135,0	-	3H-18	H-2	162,3	135,0
8	46,8	-	H-9; H-14; 2H-20	2H-6; H-15a	46,5	47,4
10	42,8	-	3H-19		45,3	45,7
11	111,2	-	H-9; H-12	2H-20	110,7	111,0
13	-	-	-		74,2	-
16	171,1	-	2H-15		170,2	174,3
CH						
1	84,2	3,96 (m)	H-3	H-9; 3H-19	84,6	83,7
2	73,2	4,61 (dl, 7,0)			-	72,7
3	128,0	5,78 (sl)	H-2	3H-18	126,3	126,9
5	42,4	2,62 (d, 12,3)		H-1; H-9; 3H-18; 3H-19	42,6	41,6
7	79,8	4,49 (sl)	2H-6	H-9; H-14; H-20a	78,2	78,7
9	45,0	3,06 (s)		H-7; 3H-19	44,8	41,9
12	80,1	3,98 (d, 8,2)		3H-17	83,0	80,5
13	32,2	2,46 (m)	3H-17		-	33,1
14	43,2	1,90	H-13; 2H-15	H-7; H-9; 3H-17	49,0	49,6
CH₂						
6	26,6	2,05 (dl, 14,0) 1,90 (dd, 14,6; 4,6)			26,1	26,2
15	31,1	3,24 (dd, 18,7; 14,1) 2,84 (dd, 18,7; 5,3)	H-14	H-13	31,8	68,7
30	72,2	4,19 (d, 8,7) 3,78 (d, 8,7)		H-9	71,2	71,8
CH₃						
17	13,8	1,11 (d, 8,7)	H-13		26,2	16,4
18	21,1	1,59 (s)			22,4	21,2
19	11,2	1,62 (sl)		H-1; H-9	10,7	11,0

*¹ KUBOTA et al., 1996

*² VIEIRA, 1995

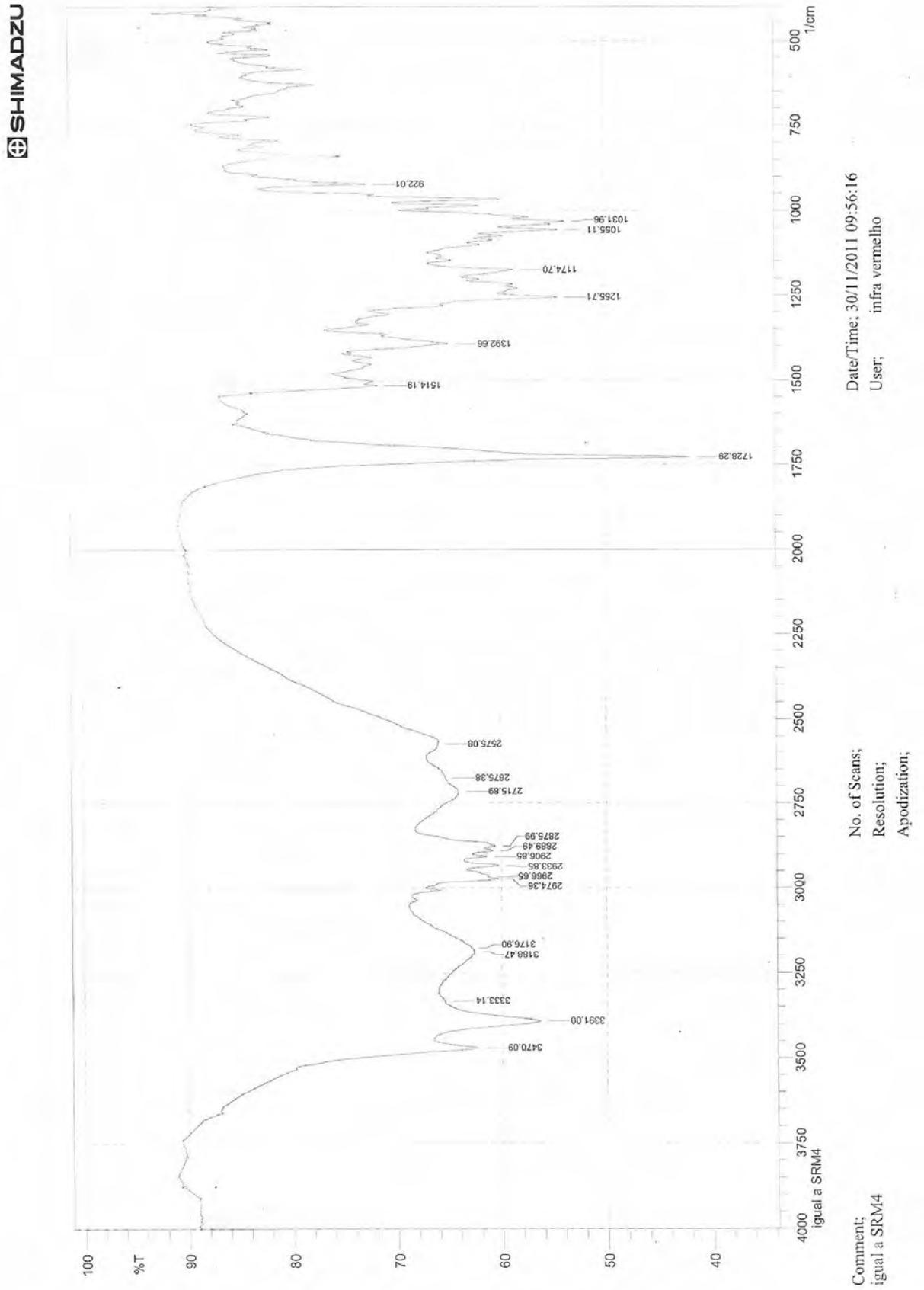


Figura 25: Espectro de infravermelho da substância II

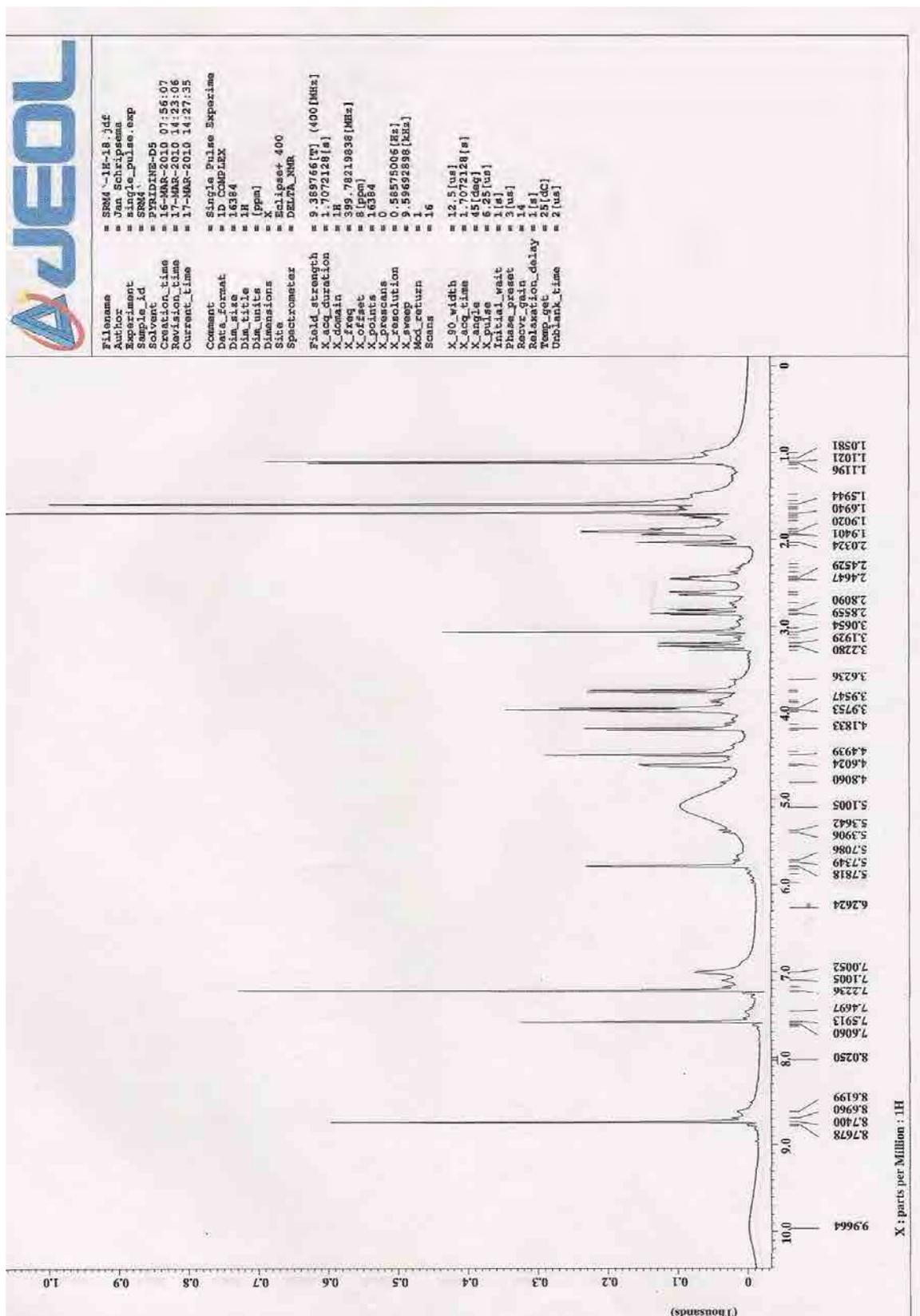


Figura 26: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em piridina da substância II

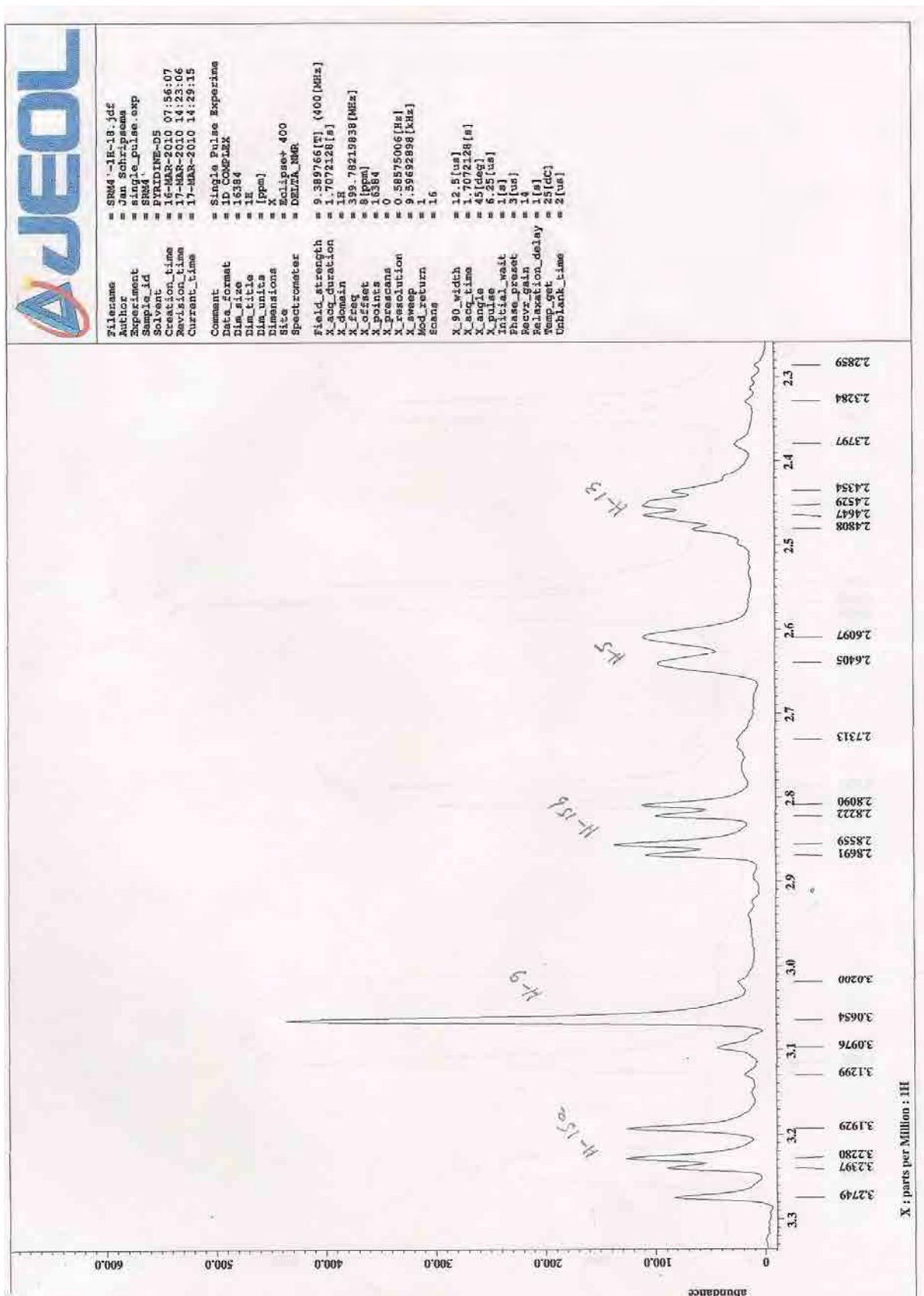


Figura 28: Ampliação da região de δ_H 2,3 – 3,3 do espectro de RMN 1H (400 MHz) em piridina da substância II

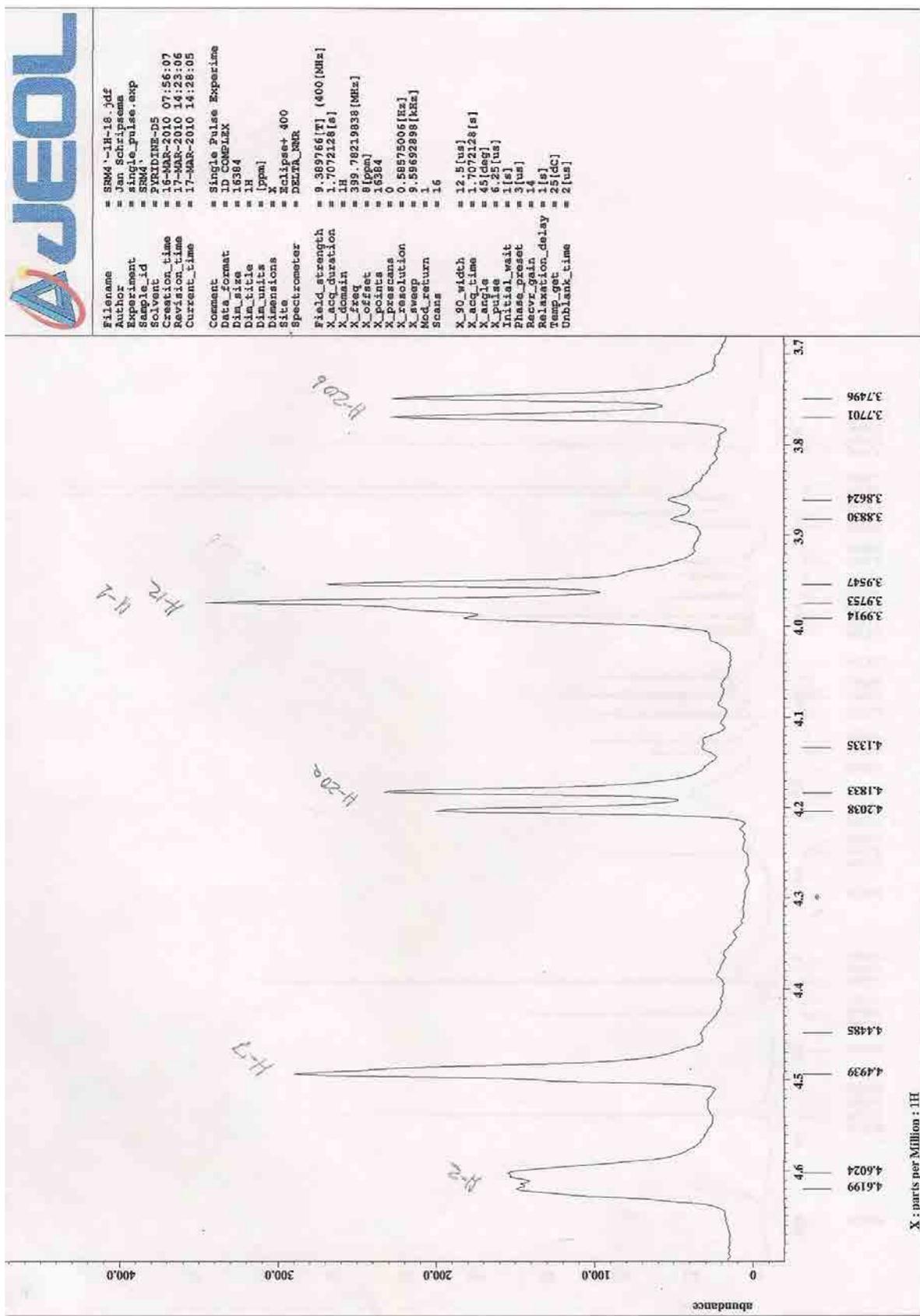


Figura 29: Ampliação da região de δ_{H} 3,7 – 4,6 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em piridina da substância II

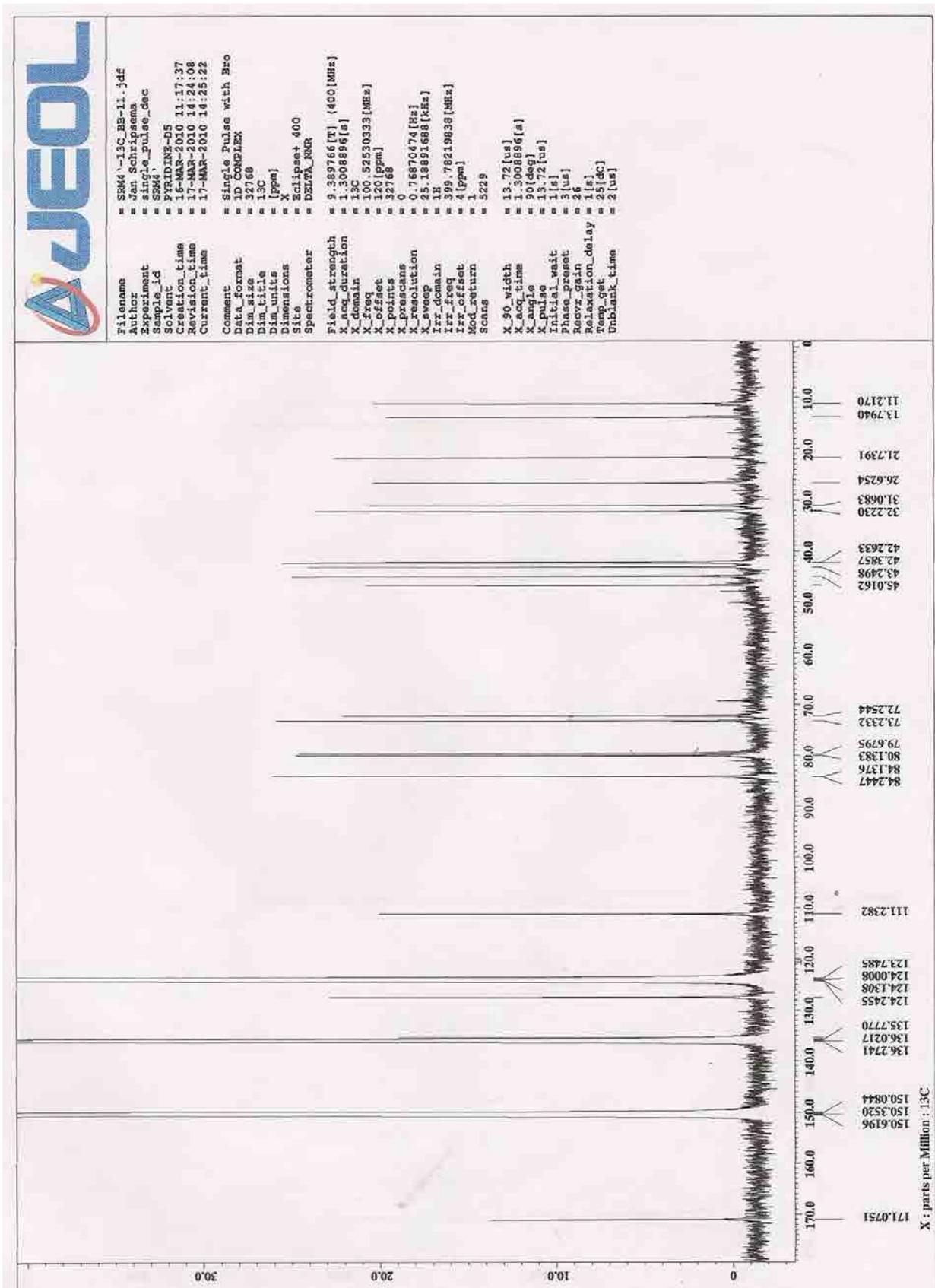


Figura 30: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em piridina da substância II

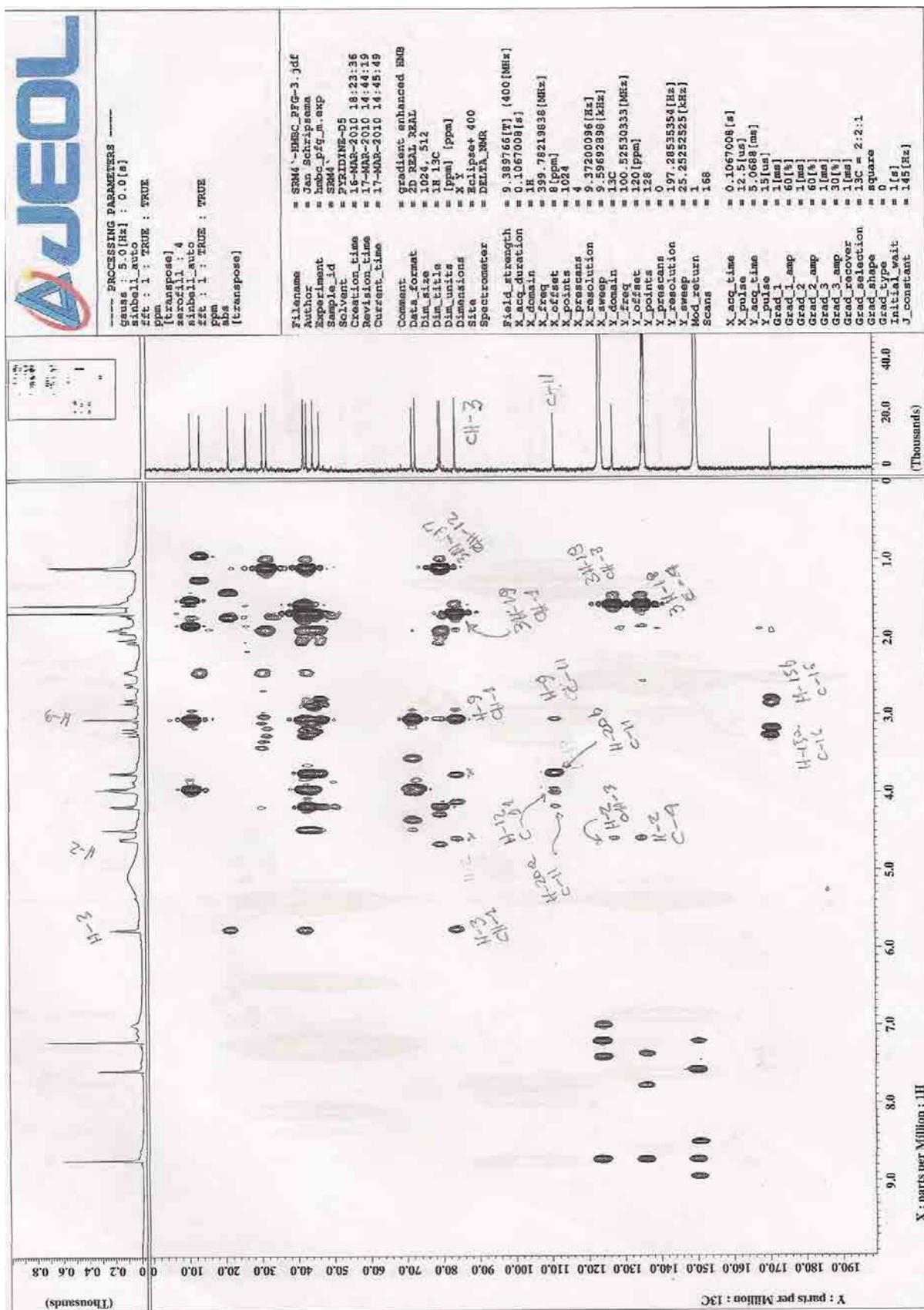


Figura 31: Mapa de correlação do espectro de HMBC em piridina da substância II

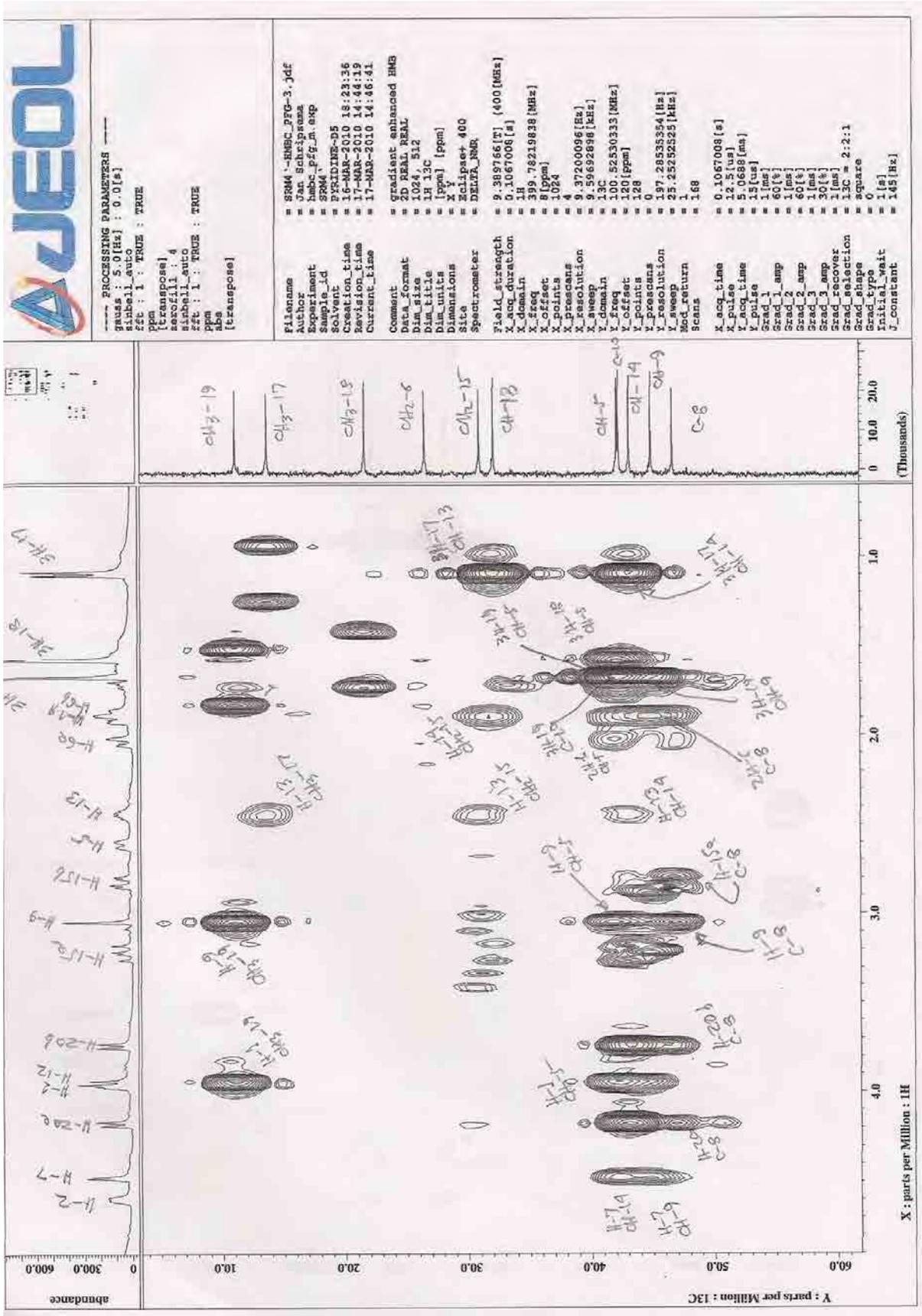


Figura 32: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em piridina da substância II

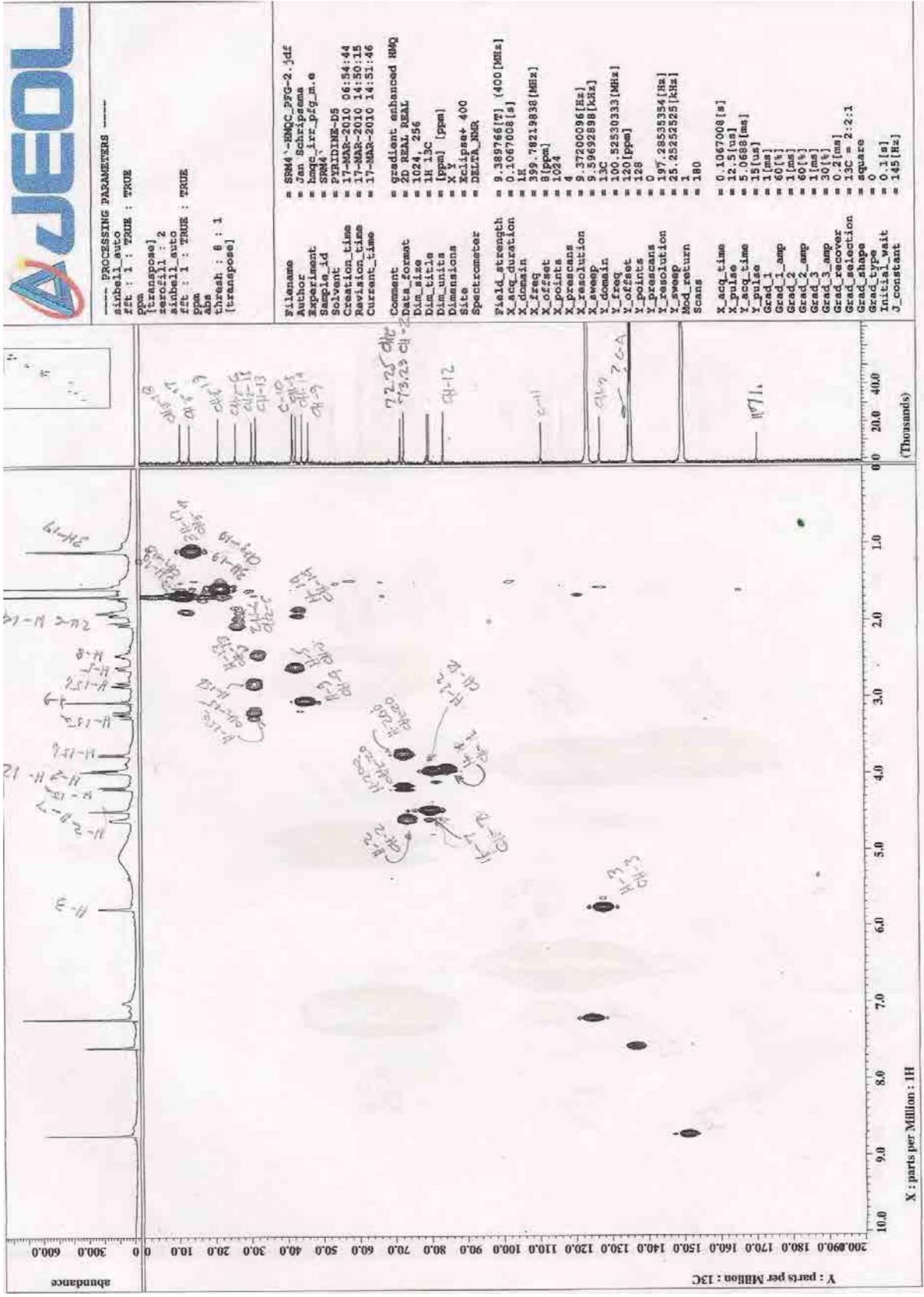


Figura 33: Mapa de correlação do espectro de HMQC em piridina da substância II

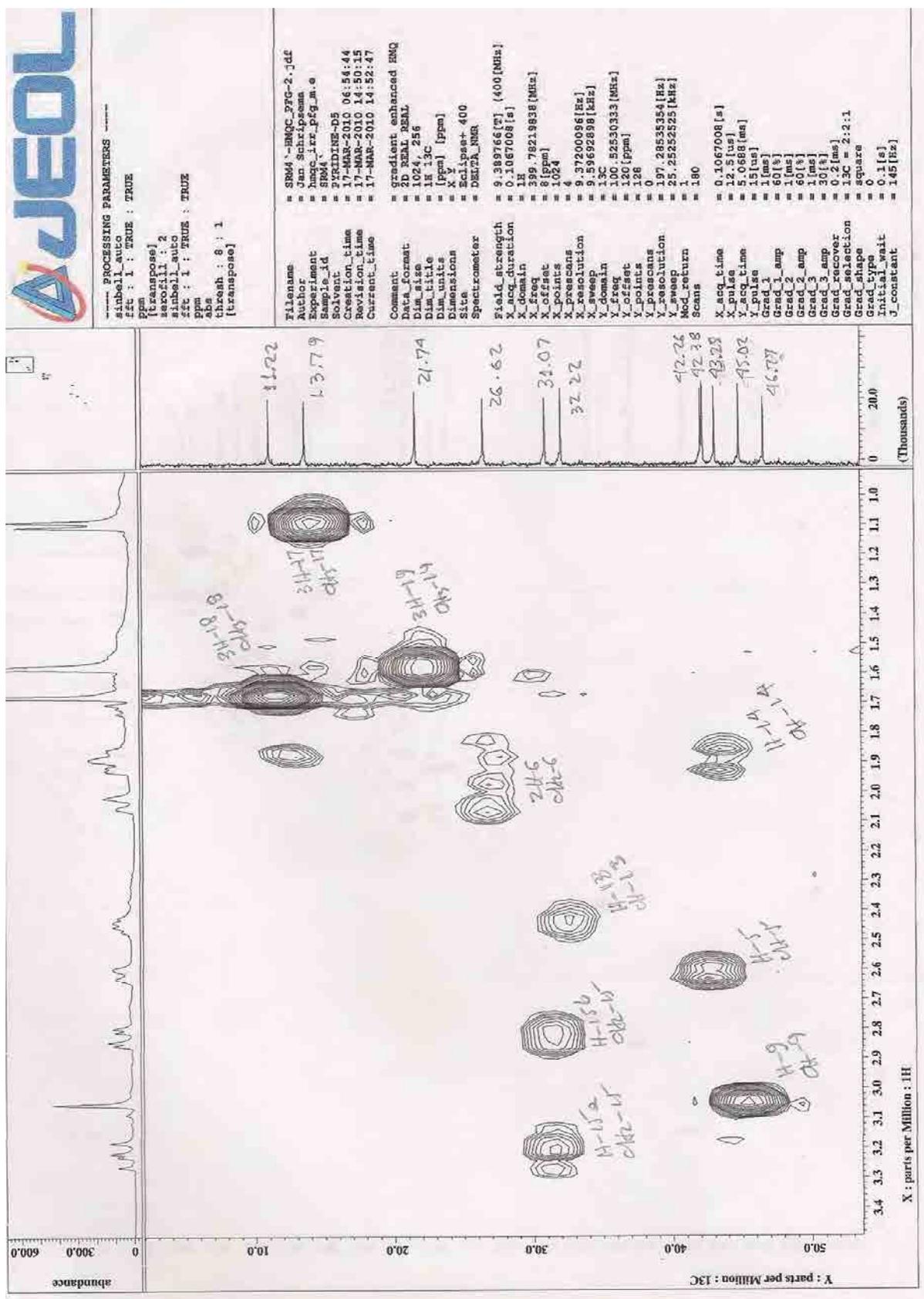


Figura 34: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em piridina da substância II

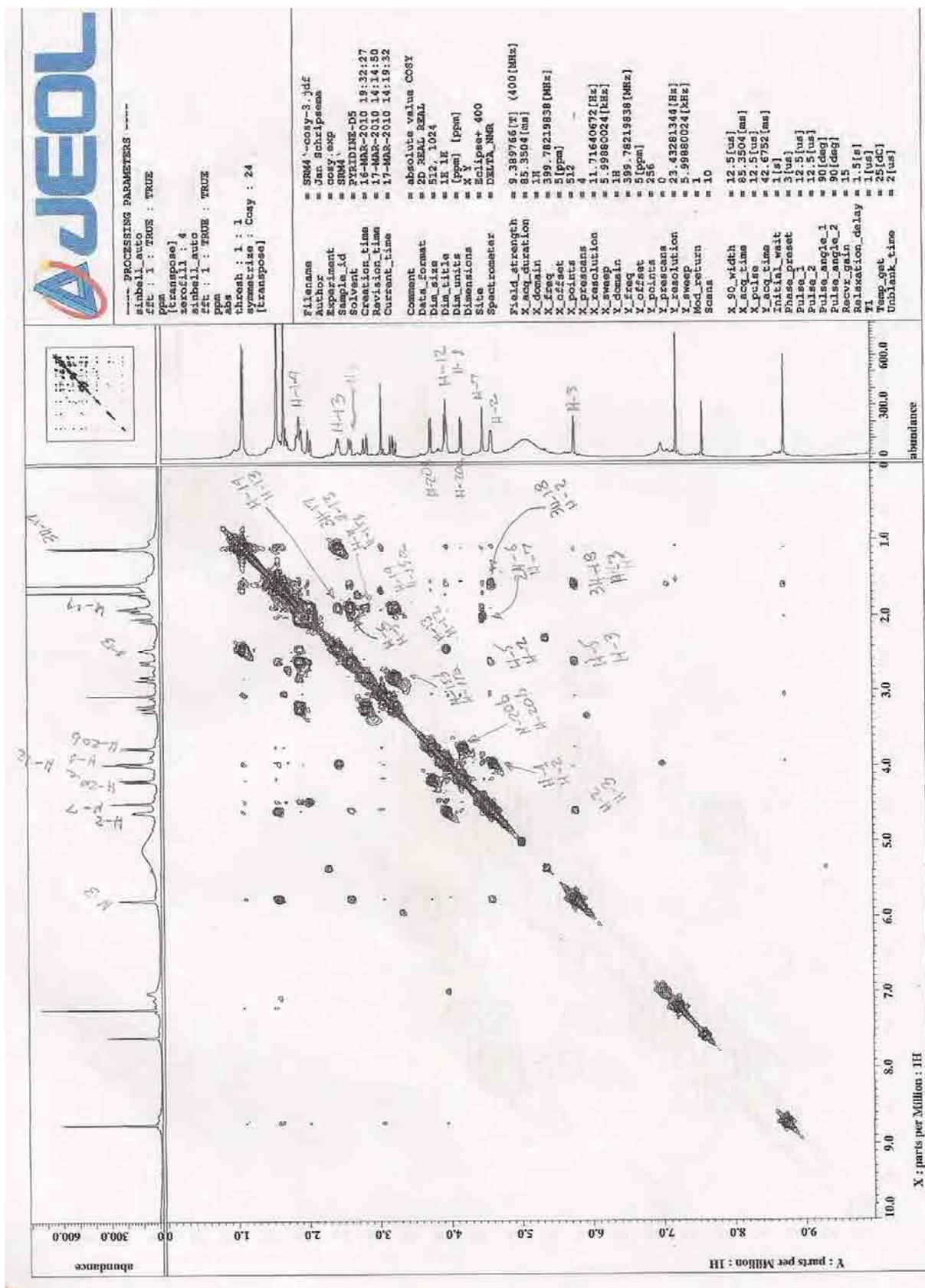
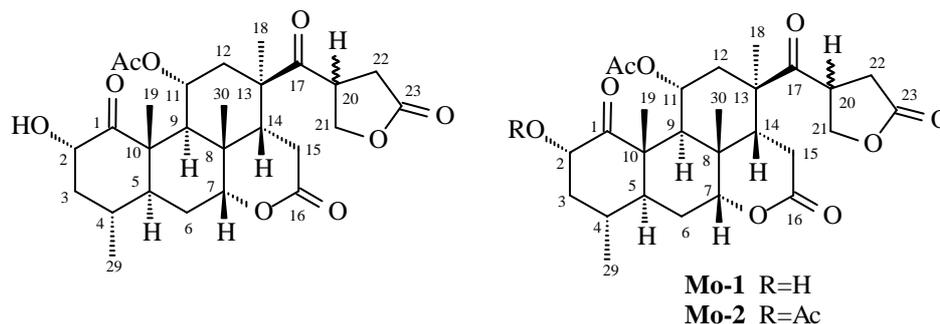


Figura 35: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em piridina da substância II

Determinação estrutural da substância X



A substância **X** isolada do extrato metanólico das raízes de *Simaba subcymosa* apresentou-se como um cristal branco, com ponto de fusão entre 180 - 185 °C, apresentando uma coloração rosa claro quando revelado com vanilina sulfúrica, indicando tratar-se de um quassinóide.

O espectro de DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133) mostrou a presença de vinte e cinco sinais de carbono, indicando ser um quassinóide com esqueleto C₂₅ do tipo simarolido, que foi isolado pela primeira vez de *Simarouba amara* (VIEIRA, 1995) e corroborado pelo mapa de correlação heteronuclear HSQC (**Figuras** 43 e 44, p. 141 e 142, **Tabela** 35, p. 133).

O espectro na região do infravermelho (**Figura** 36, p. 134) da amostra apresentou bandas de absorção relativas ao estiramento de grupo carbonila em 1778 e 1726 cm⁻¹, bandas de absorção em 2963, 2930 e 2874 cm⁻¹ referentes aos estiramentos das ligações C-H para carbonos sp³, bandas em 1371 e 1468 cm⁻¹ referentes ao estiramento das ligações de unidades CH₂, bandas em 3603, 3524 e 3487 referentes aos estiramentos dos grupos hidroxila.

Os quassinóides têm apresentado uma grande variedade de tipos estruturais para o anel A, que podem ser identificados pelos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³C-DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138 **Tabela** 35, p. 133), como dito anteriormente.

O tipo de anel A da substância **X**, foi identificado pelo deslocamento químicos, característicos dos carbonos C=O-1, CH-2, CH₂-3 e CH-4, com sinais em δ_C 214,0, δ_C 70,3, δ_C 48,9 e δ_C 28,7 respectivamente, apresentados no espectro de RMN ¹³C-DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133). O sinal do CH-2, indica a presença de uma hidroxila nessa posição.

A caracterização do anel A foi corroborada através das correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC

(**Figuras** 41 e 42, p. 139 e 140. **Tabela** 35, p. 133) $^2J_{\text{HC}}$, entre CH-2 (δ_{C} 70,3) com os hidrogênios metilênicos 2H-3 em δ_{H} 2,50 e 1,05; CH-4 (δ_{C} 28,7) com 2H-3 em δ_{H} 2,50 e 1,05 e com os hidrogênios do grupo metila Me-29 em δ_{H} 0,89, e $^3J_{\text{HC}}$, entre CH₂-3 (δ_{C} 49,9) com Me-29 em δ_{H} 0,89; CH₃-19 (δ_{C} 13,3) com H-5 em δ_{H} 1,45 e o carbono metílico CH₃-29 (δ_{C} 18,3) com 2H-3 em δ_{H} 2,50 e 1,05.

As interrelações apresentadas no mapa de correlação ^1H - ^1H (COSY) (**Figura** 45, p. 143) pelo multiplete em δ_{H} 4,73 referente ao hidrogênio H-2 com os sinais em δ_{H} 1,05 (m) e 2,50 (m) referentes aos hidrogênios H-3b e H-3a confirmam a estrutura do anel A.

A ausência do sinal do átomo de carbono hemiacetalico C-11 em δ_{C} 108,8 e do sinal em δ_{C} 71,0, relativo ao grupo metileno CH₂-30 oxidado, indica que o grupo metila Me-30 não sofreu uma oxidação para formar um anel tetrahydrofurânico em C-11 ou C-13. Podemos observar a presença de um sinal de carbono metílico em δ_{C} 28,5 no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133), referente ao CH₃-3. Esses dados podem ser confirmados através das correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figura** 41 e 42, p. 139 e 140, **Tabela** 35, p. 133) $^3J_{\text{HC}}$, entre os átomos de carbonos CH-7 (δ_{C} 81,7), CH-9 (δ_{C} 36,6) e CH-14 (δ_{C} 43,7) com os hidrogênios do grupo metila Me-30 em δ_{H} 0,92.

A ausência dos dupletos em aproximadamente δ_{H} 3,00 e 4,50 (J 8,0 Hz) relativos aos hidrogênios H-30a e H-30b e a presença de quatro sinais em δ_{H} 0,89 (d, 6,8), 0,92 (s), 1,08 (s) e 1,17 (s), que podem ser observados no espectro de RMN ^1H (**Figuras** 42-45, p. 140-143, **Tabela** 35, p. 138), são referentes aos grupos metílicos, confirmando mais uma vez, que o grupo Me-30 encontra-se não oxidado.

O deslocamento químico em δ_{H} 4,97 (m) observado no espectro de RMN ^1H (**Figuras** 37 e 38, p. 135 e 136, **Tabela** 35, p. 133), referente ao H-11b e o sinal em δ_{C} 67,7 apresentado no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133) para o C-11, confirma a substituição de grupo acetil ligado a esse carbono. Podemos ver as correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 41 e 42, p. 139 e 140, **Tabela** 35, p. 133) $^2J_{\text{HC}}$, entre o átomo de carbono carbonílico do grupo acetato C-AcO-11 (δ_{C} 170,5) com os 3 hidrogênios do grupo metila Me-AcO-11 em δ_{H} 1,92.

A localização de um grupo metila ligado ao átomo de carbono C-13 em δ_C 23,2 no anel C do quassinóide **X** foi confirmado pelo mapa de correlação HSQC (**Figuras** 43 e 44, p. 141 e 142, **Tabela** 35, p. 133) e corroborado pelas correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 41 e 42, p. 139 e 140, **Tabela** 35, p. 133) $^3J_{HC}$, entre o átomo de carbono CH-14 (δ_C 43,7) e CH₂-12 (δ_C 36,1) com os 3H em δ_H 1,08 da metila Me-18.

Podemos observar que o C-12 em δ_C 36,1 apresentado no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133), encontra-se livre de substituinte, o que pode ser confirmado pelas correlações heteronucleares a longa distancia apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 41 e 42, p. 139 e 140, **Tabela** 35, p. 133) $^2J_{HC}$, entre o átomo de carbono CH-11 (δ_C 67,7) e C-13 (δ_C 51,6) e $^3J_{HC}$, entre o átomo de carbono CH₂-9 (δ_C 36,6) com os 2H em δ_H 1,70 e 2,52 da metila Me-12 e da correlação $^3J_{HC}$ CH₂-14 (δ_C 51,6) com o H-12a em δ_H 2,52.

As interações apresentados no mapa de correlação 1H - 1H -COSY (**Figura** 45, p. 143) entre o multipletto em δ_H 2,52 (m, H-12b) com os sinais em δ_H 1,70 (m, H-12a) e 4,97 (m, H-11b) e a interação entre o multipletto em δ_H 1,70 (m, H-12a) com o sinal em δ_H 4,97 (m, H-11b), corroboram para a caracterização do anel C do quassinóide **X**.

Os valores dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono no anel D, do quassinóide **X**, onde o carbono carbonílico C=O-16 da lactona apresenta-se em δ_C 169,4, e do carbono metilênico CH₂-15 em δ_C 28,6, confirmam que o átomo de carbono CH₂-15 não se encontra oxidado segundo VIEIRA, 1995.

Parte da cadeia lateral no carbono C-13 pode ser confirmado pela presença dos sinais em δ_C 212, referente ao carbono C-17, que pode ser observado no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133) e ainda pelos sinais no espectro de RMN 1H em δ_H 4,57 (m, H-21b), 4,27 (m, 21a), 4,26 (m, H-20), 2,82 (m, H-22b) e 2,69 (m, H-22a), (**Figuras** 37 e 38, p. 135 e 136, **Tabela** 35, p. 133), correlacionados entre si, como pode ser observado no mapa de correlação 1H - 1H COSY (**Figura** 45, p. 143).

No espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 39 e 40, p. 137 e 138, **Tabela** 35, p. 133) podemos observar os sinais em δ_C 70,6 relativo ao carbono acetil carbinólico C-21, δ_C 174,6 relativo ao carbono carbonílico C-23 e o sinal em δ_C 33,8 referente ao carbono *alfa* carbonílico C-22, indicando a presença de uma lactona com anel de

cinco membros na cadeia lateral, confirmando a proposta estrutural para o quassinóide **X**.

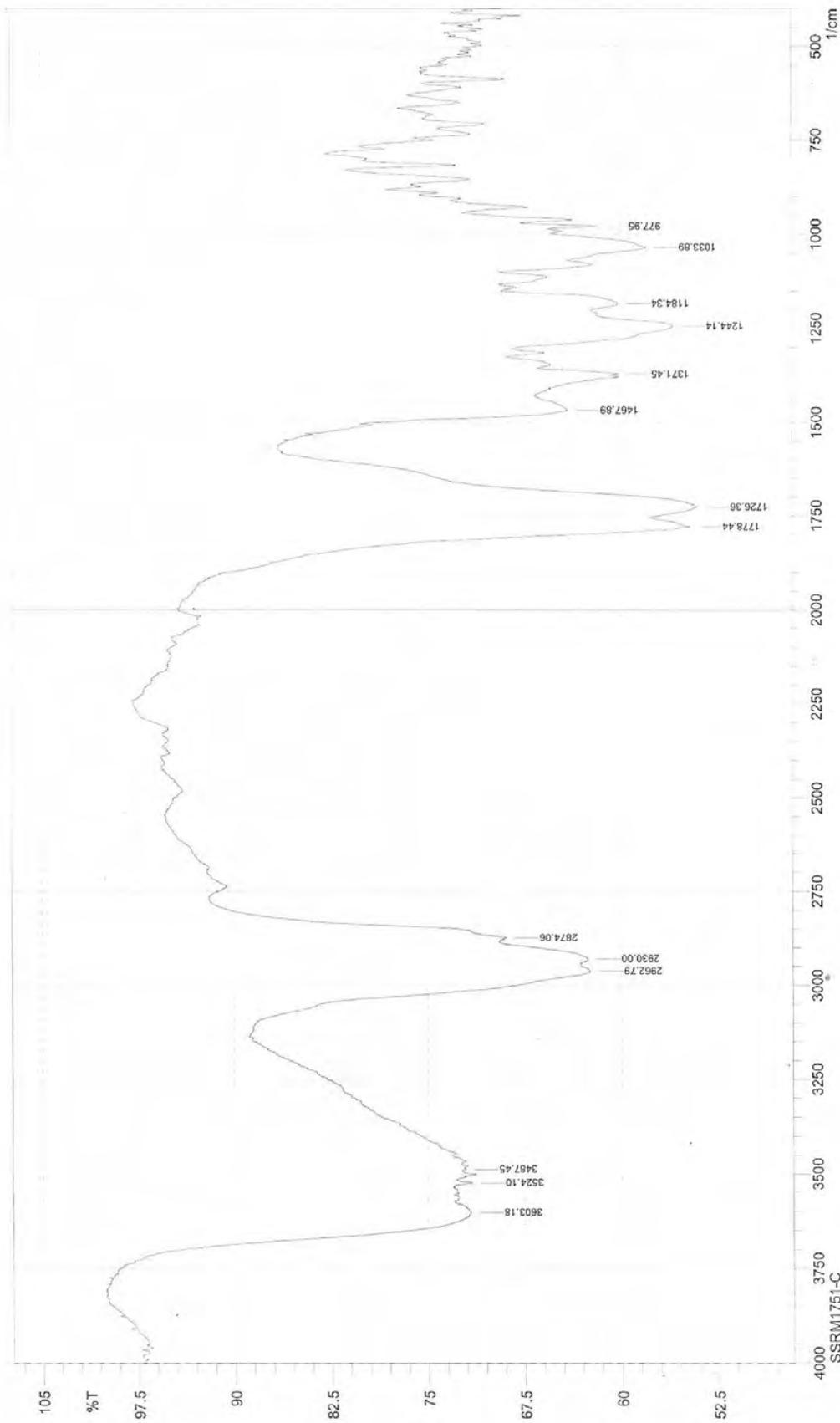
Os dados de RMN ^{13}C -DEPTQ do quassinóide **X** foram atribuídos com base nos dados da literatura para o quassinóide simarolido, comprovando assim sua estrutura (VIEIRA, 1995). Esses dados estão descritos na **Tabela 35**.

Tabela 35: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C -DEPTQ (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC da substância **X**, e as comparações com valores da literatura para o modelo **Mo**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância X					Mo-1*	Mo-2*
C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{C}
1	214,0	-			206,6	206,7
8	36,8	-	H-9	H-6a; H-7	36,8	36,8
10	48,8	-	H-14; 3H-19		49,2	49,3
13	51,6	-	2H-12; H-15a	H-14	51,4	51,4
16	169,4	-			169,2	169,3
17	212,0	-			211,9	212,0
23	174,6	-	2H-22	2H-21	174,4	174,5
AcO-2	-	-			169,9	170,0
AcO-11	170,5	-	3H do Ac		171,7	171,7
CH						
2	70,3	4,73 (m)	2H-3		72,4	72,5
4	28,7	1,96 (m)	2H-3; 3H-29		28,6	28,7
5	47,8	1,45 (m)		H-9; 3H-19; 3H-29	46,6	46,7
7	81,7	4,18 (m)	H-6a	3H-30	81,6	81,6
9	36,6	2,83 (m)		H-7; 2H-12; 3H-19; 3H-30	36,1	36,2
11	67,7	4,97 (m)	H-9; 2H-12		67,6	67,4
14	43,7	2,60 (m)	H-9;	2H-12a; 3H-18; 3H-30	43,5	43,6
20	41,6	4,26 (m)	H-21b; 2H-22		41,5	41,6
CH₂						
3	48,9	2,50 (m) 1,05 (m)		3H-29	42,0	42,0
6	26,3	1,93 (m) 1,78 (m)			26,1	26,2
12	36,1	2,52 (m) 1,70 (m)		3H-18	36,3	36,4
15	28,6	2,69 (m) 1,93 (m)			28,6	28,6
21	70,6	4,57 (m) 4,27 (m)		2H-22	70,3	70,2
22	33,8	2,82 (m) 2,69 (m)			33,8	33,9
CH₃						
18	24,2	1,08 (s)			24,1	24,3
19	13,3	1,17 (s)		H-5; H-9	13,0	13,1
29	18,3	0,89 (d, 6,8)		2H-3	18,5	18,5
30	28,5	0,92 (s)		H-6b; H-9	23,3	23,5
AcO-2	-	-			20,6	20,6
AcO-11	22,1	1,92 (s)			21,0	21,1

*VIEIRA, 1995

SHIMADZU



Date/Time; 27/1/2012 14:32:58
User; infra vermelho

No. of Scans;
Resolution;
Apodization;

Comment;
SSRM1751-C

Figura 36: Espectro de infravermelho da substância X

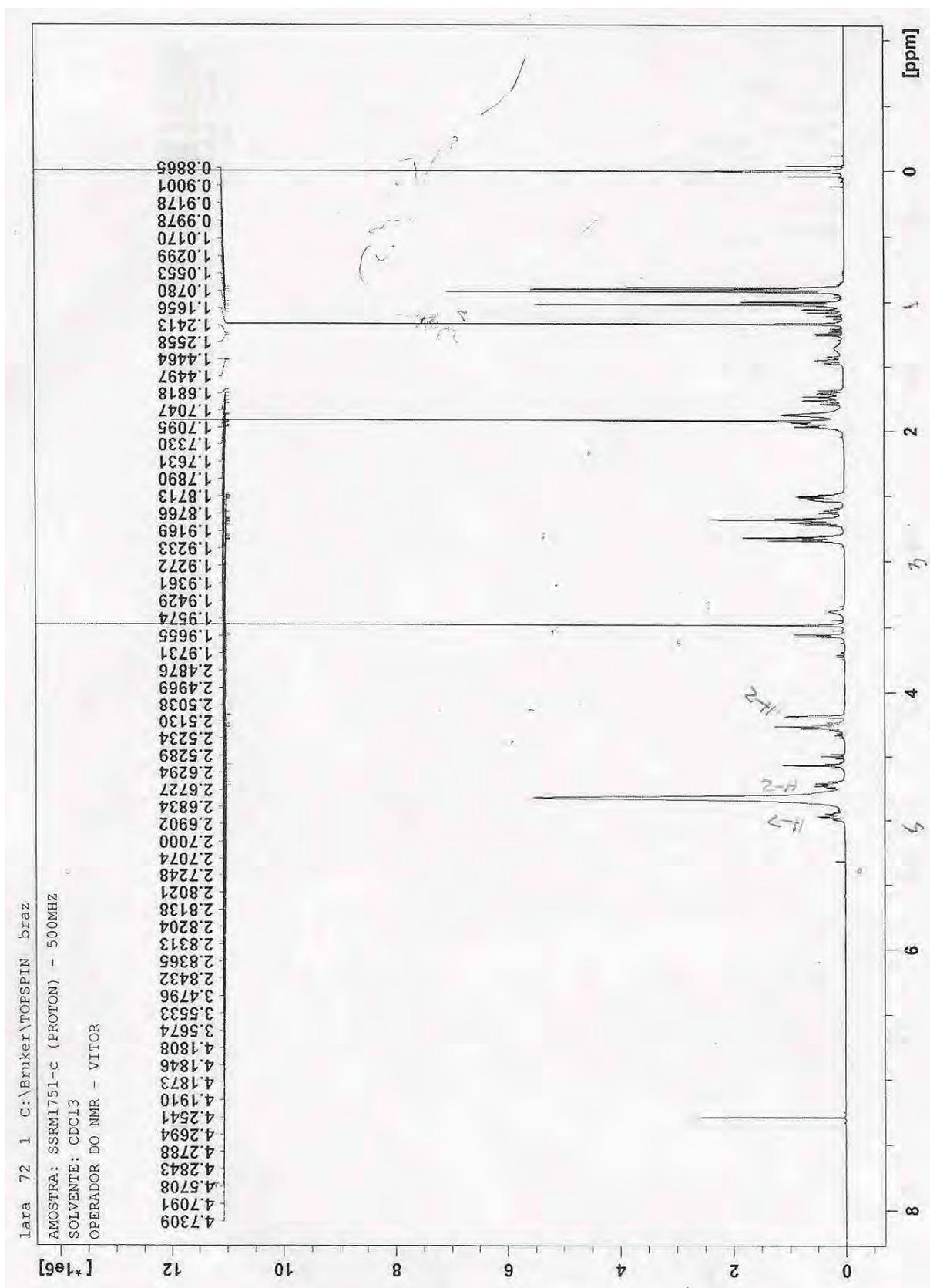


Figura 37: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância X

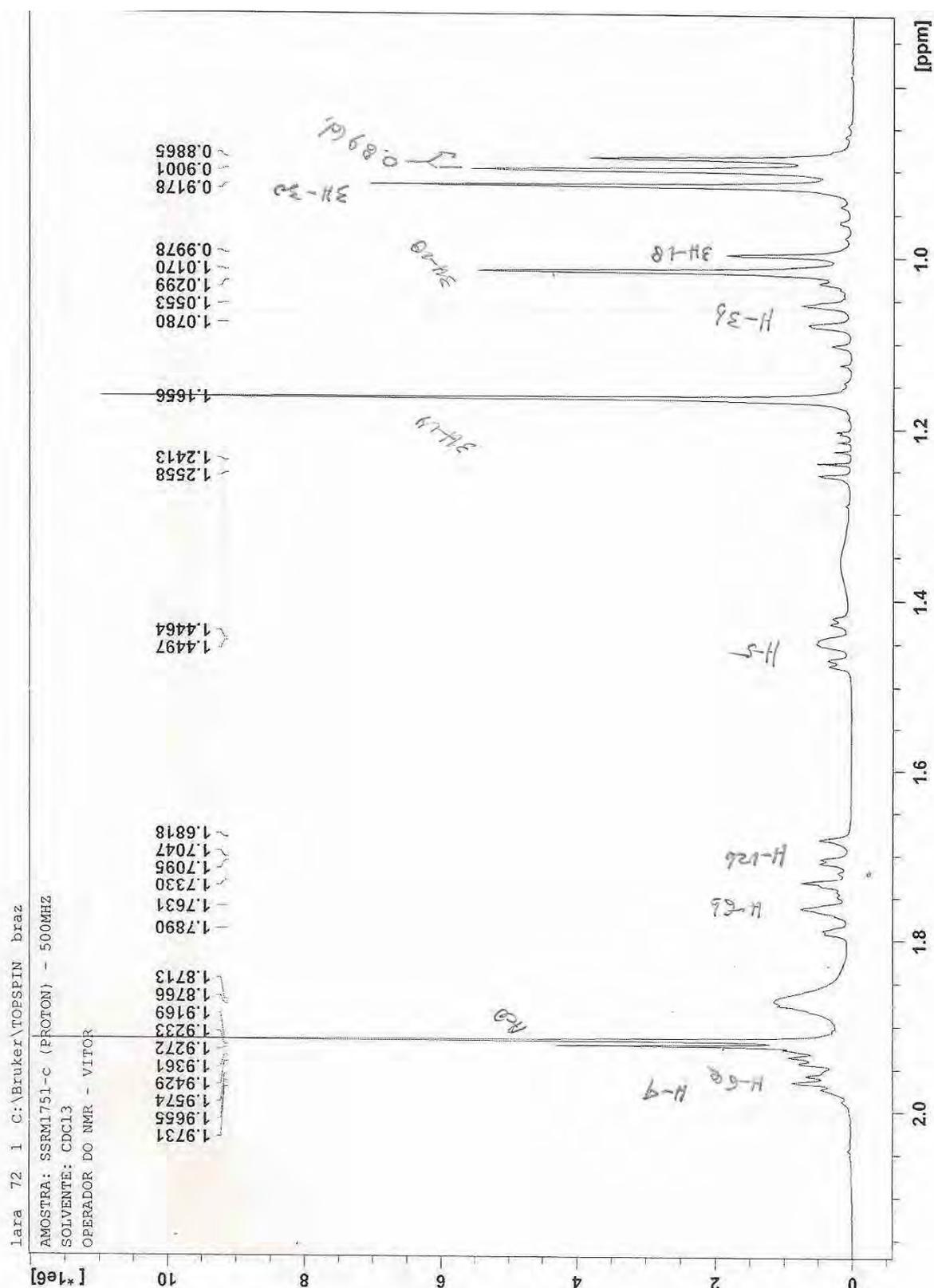


Figura 38: Ampliação da região de δ_H 0,8 – 2,2 do espectro de RMN 1H (500 MHz) em $CDCl_3$ da substância X

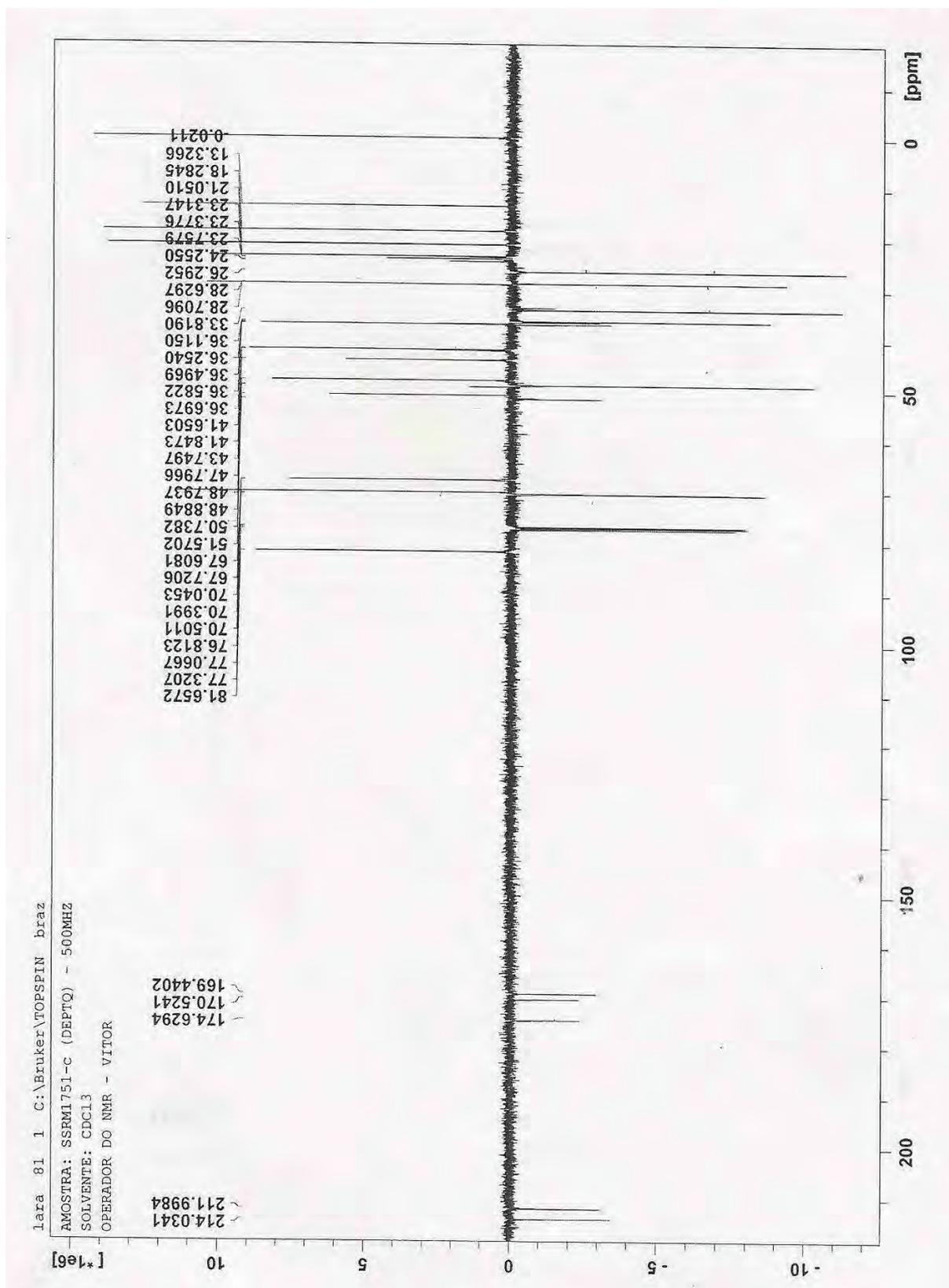


Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^{\circ}$, 125 MHz) em CDCl_3 da substância X

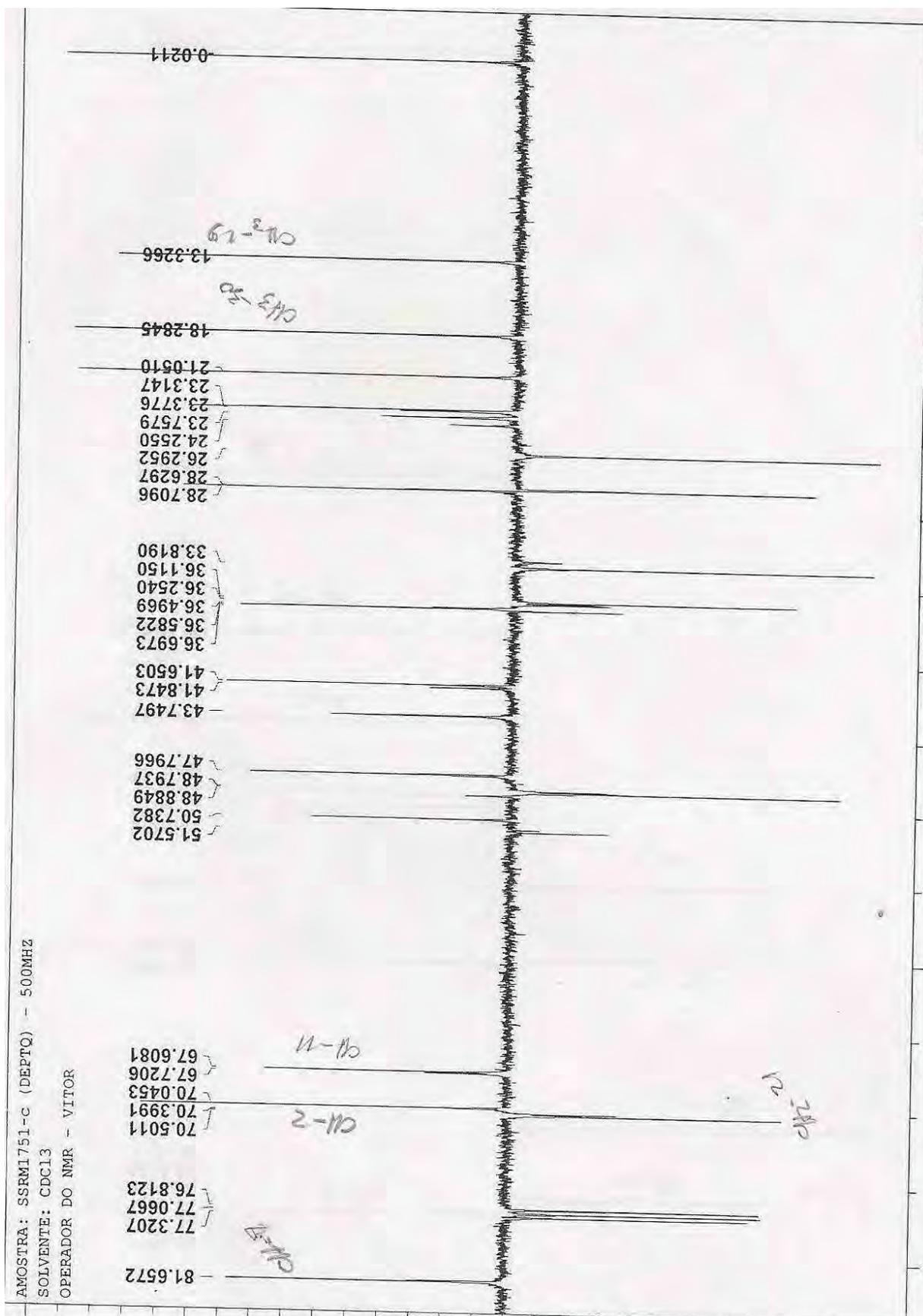


Figura 40: Ampliação da região de δ_c 0 – 82,0 do espectro de RMN ^{13}C - DEPTQ (100 MHz) em CDCl_3 da substância X

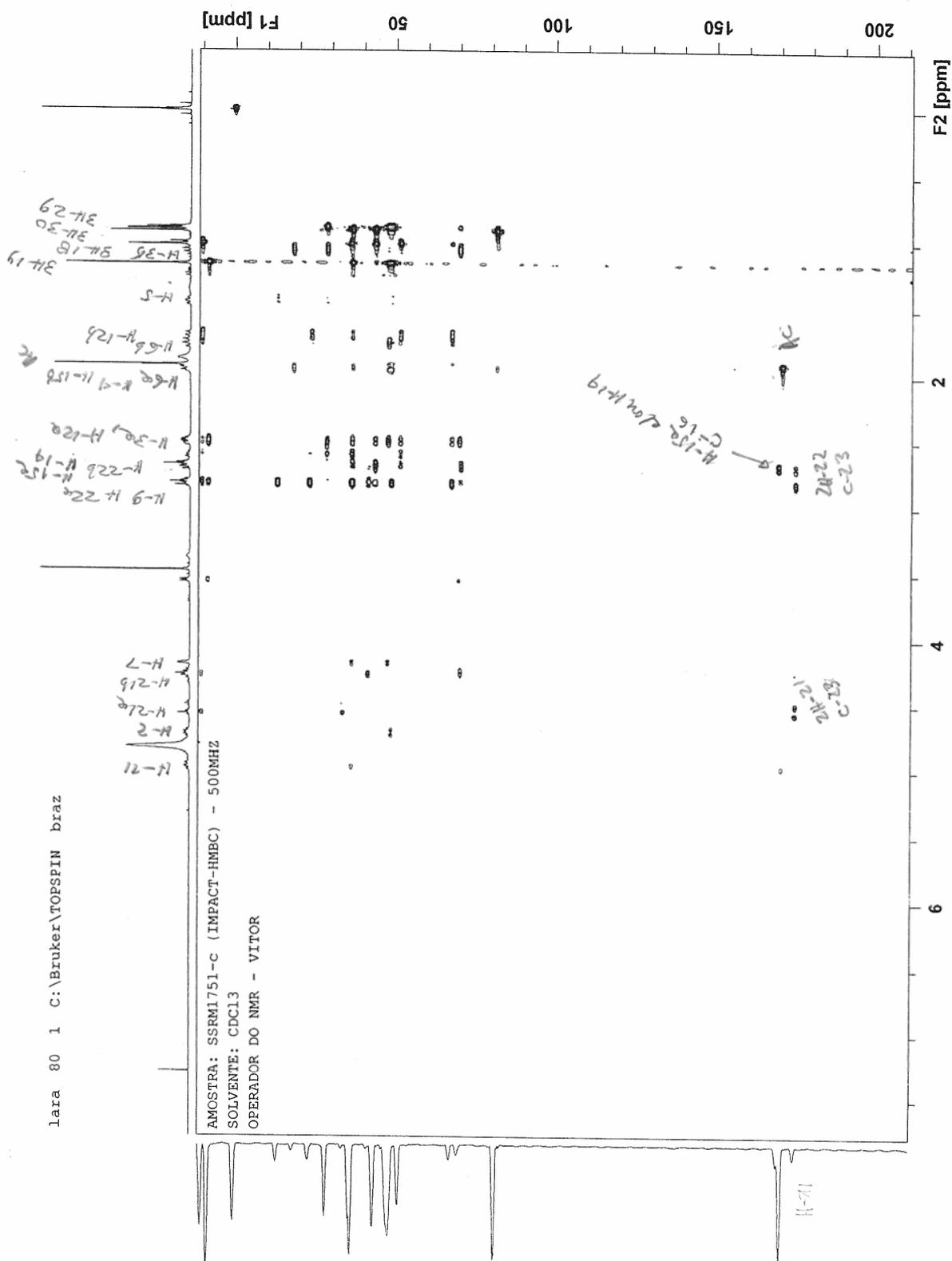


Figura 41: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância X

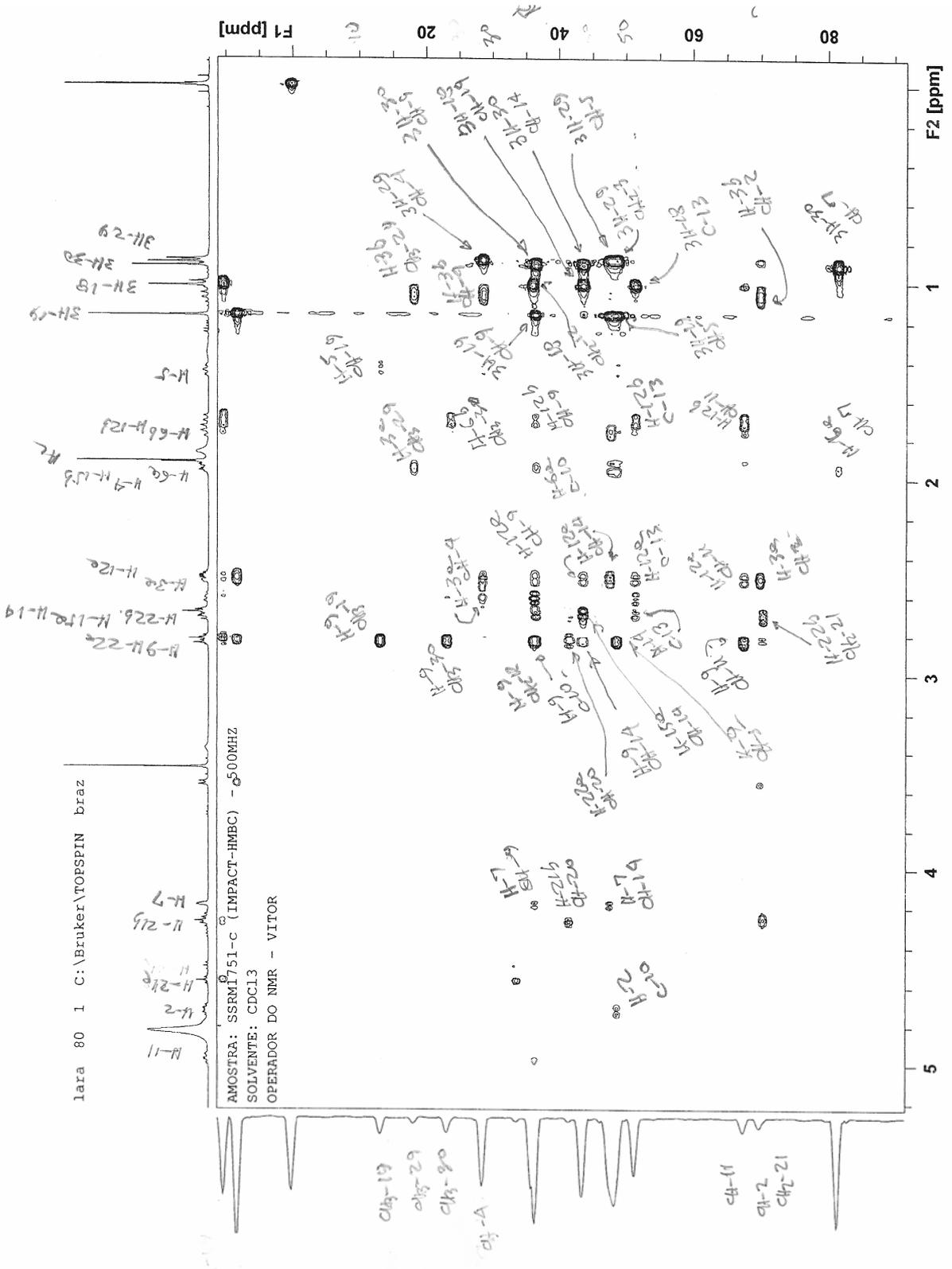


Figura 42: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ da substância X

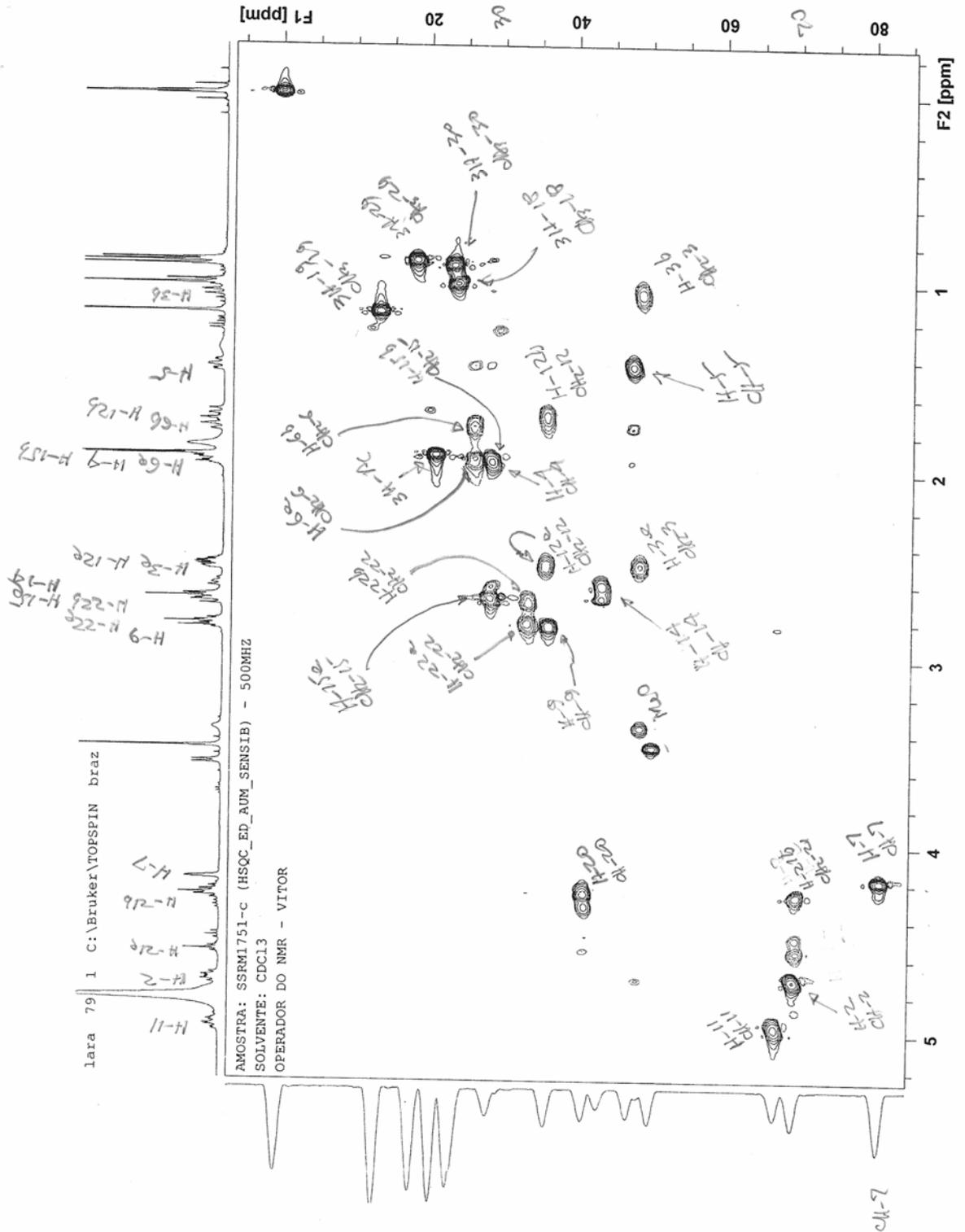


Figura 44: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl₃ da substância X

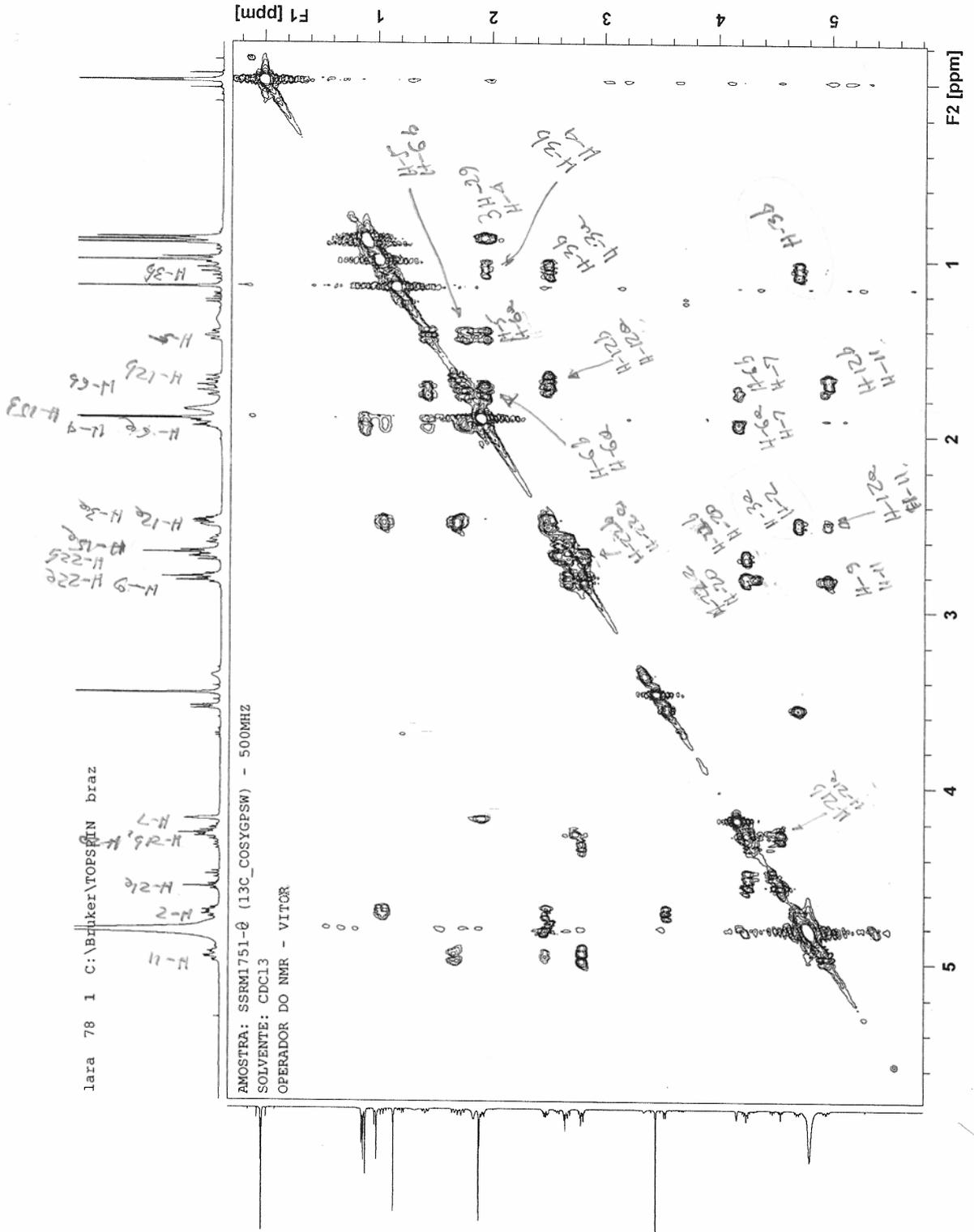
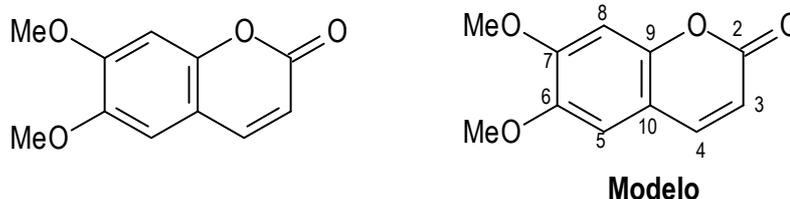


Figura 45: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância X

Determinação Estrutural da Substância III



A substância **III**, isolada do extrato metanólico das raízes de *Simaba suffruticosa*, apresentou-se como um sólido amarelo e quando analisada por CCDA e exposta à luz ultravioleta (254 nm) apresentou-se uma fluorescência azul, confirmando ser uma cumarina, de acordo com o observado por VIEIRA, 1995.

A proposta estrutural para a substância **III** foi baseada através de técnicas de RMN uni ^1H e ^{13}C e bidimensionais, ^1H - ^1H -COSY, HMQC e HMBC. A estrutura da substância foi confirmada através da comparação com os dados descritos por VIEIRA (1995). (**Tabela 36**, p. 146).

O espectro de RMN ^{13}C (**Figura 48**, p. 149, **Tabela 36**, p. 146) apresentou sinais referentes a 11 átomos de carbonos para a substância **III**, sendo dois sinais para dois grupos metoxila (OCH_3) em δ_{C} 56,5, quatro sinais para grupos metínicos (CH) em δ_{C} 113,4 (CH -3); 143,3 (CH -4); 107,5 (CH -5); 103,2 (CH -8) e cinco sinais para átomos de carbono quaternário em δ_{C} 161,4 ($\text{O}=\text{C}$); 144,0 (C -6); 149,6 (C -7); 149,7 (C -9); 111,5 (C -10).

O mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura 51**, p. 152) apresentou uma correlação entre os hidrogênios H-3 (δ_{H} 6,25) e H-4 (δ_{H} 7,58), confirmando a presença de apenas um par de hidrogênios vizinhos existente na molécula acoplado entre si com uma constante de acoplamento de 9,4 Hz, característica de hidrogênios de ligação dupla *cis*.

A partir do mapa de correlação heteronuclear HMQC (**Figura 50**, p. 151) pode-se correlacionar os valores de deslocamentos químicos de hidrogênio (δ_{H}) com os valores de deslocamentos químicos de carbono-13 (δ_{C}) ligados diretamente, confirmando a existência dos quatro carbonos metínicos (CH) (**Tabela 36**, p. 146).

No espectro de RMN ^1H (**Figura 47**, p. 148, **Tabela 36**, p. 146) foram observados os dois dupletos em δ_{H} 6,25 ($J= 9,4$ Hz) e δ_{H} 7,58 ($J= 9,4$ Hz), acoplado entre si, que foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-3 e H-4, caracterizando os

hidrogênios de uma ligação *cis* conjugada com grupo carbonila e com anel aromático. A atribuição desses dois dupletos característicos do anel lactônico em cumarinas é bastante simples, uma vez que o hidrogênio H-4 está mais desprotegido que o hidrogênio H-3, devido à contribuição da estrutura de ressonância na qual se verifica uma deficiência eletrônica sobre o átomo de carbono CH-4, a que este se encontra ligado (VIEIRA, 1995).

A presença de dois sinais simples, um em δ_H 6,84 e outro em δ_H 6,91, mostra a existência de dois hidrogênios aromáticos na molécula, sendo atribuídos aos hidrogênios H-5 e H-8, respectivamente, evidenciando duas posições livres de substituintes no anel benzênico e mostrando que estes estão *para* relacionados.

A presença de dois sinais simples, um em δ_H 6,84 e outro em δ_H 6,91, pode ser confirmada pelo mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 49**, p. 150, **Tabela 36**, p. 146) através das correlações a longa distância $^3J_{HC}$ entre o átomo de carbono C-9 (δ_C 149,7) e o hidrogênio H-5 (δ_H 6,84) e entre o átomo de carbono C-10 (δ_C 111,5) e o hidrogênio H-8 (δ_H 6,91), confirmando que as posições 5 e 8 estão livres de substituintes. As demais correlações estão descritas na **Tabela 36**, p. 146.

A presença de um sinal em δ_H 3,97, integrando para seis hidrogênios, nos indica que posições C-6 e C-7 encontram-se substituídas por dois grupos metoxila. A presença desses dois grupos metoxila nas posições 6 e 7 foi confirmada pelo mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 49**, p. 150, **Tabela 36**, p. 146) através das correlações a longa distância $^3J_{HC}$ entre o átomo de carbono C-7 (δ_C 149,6) e os hidrogênios OCH₃-7 (δ_H 3,97), e entre o átomo de carbono C-6 (δ_C 144,0) e os hidrogênios OCH₃-6 (δ_H 3,97). As demais correlações estão descritas na **Tabela 36**, p. 146.

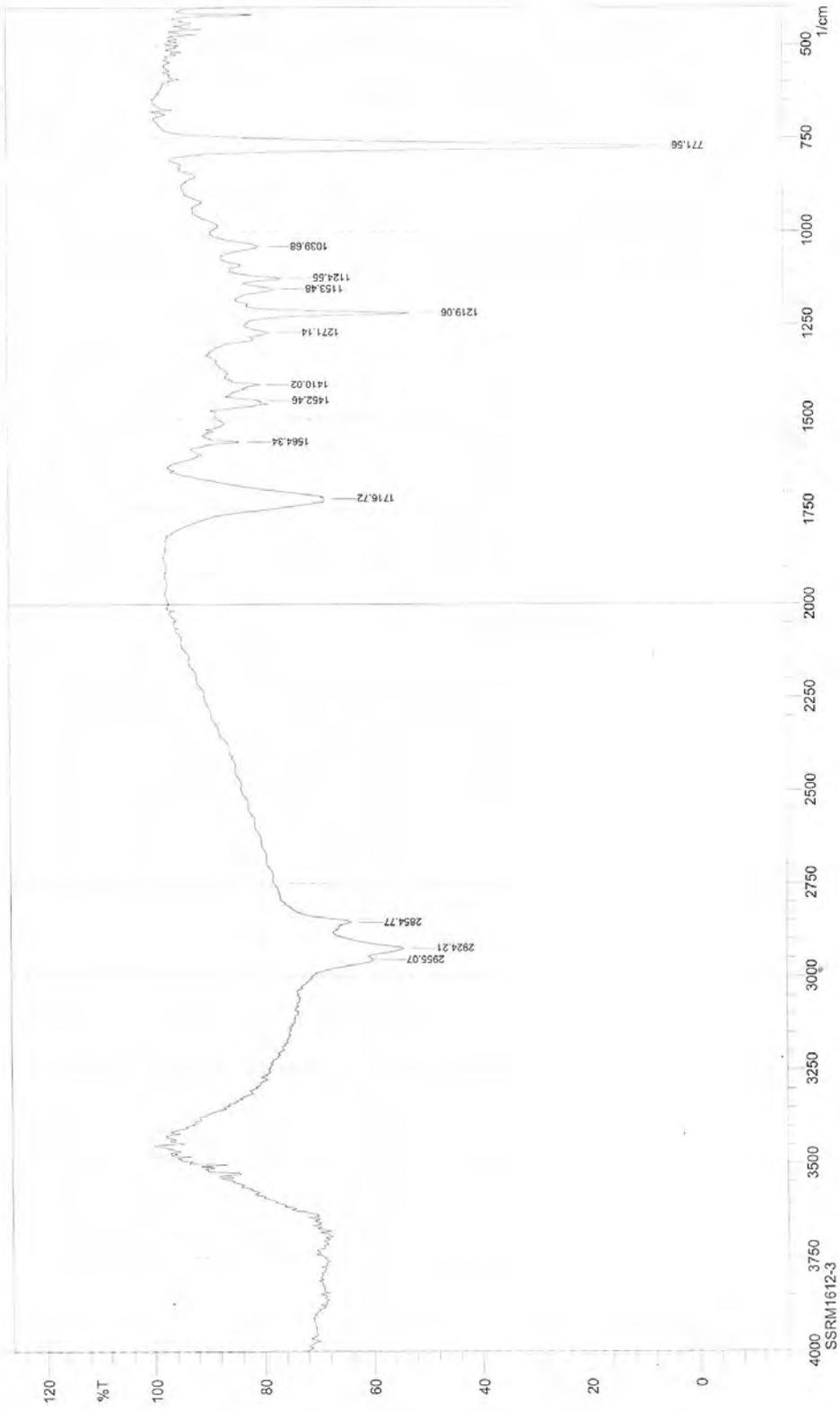
Os dados de RMN ^{13}C e 1H estão listados na Tabela abaixo. Os dados descritos na Tabela abaixo foram comparados com os dados descritos por VIEIRA (1995), de onde se conclui que a substância **III**, trata-se da cumarina 6,7-dimetóxicumarina, denominada de escoparona.

Tabela 36: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) da cumarina **III** em CDCl_3 , e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

Substância III						
	HMQC		HMBC		Mo*	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{H}
C						
2	161,4	-	H-3	H-4	161,2	-
6	144,0	-		H-8; MeO-6	147,4	-
7	150,0	-		MeO-7	154,0	-
9	150,0	-	H-8	H-4; H-5	-	-
10	111,5	-		H-3; H-8	112,7	-
CH						
3	113,4	6,27 (d, 9,4)			113,7	6,23 (d, 9,5)
4	143,3	7,60 (d, 9,4)		H-5	144,5	7,89 (d, 9,5)
5	107,5	6,85 (s)		H-4	109,5	7,17 (s)
8	103,2	6,92 (s)			100,7	6,94 (s)
CH₃						
6-OCH ₃	56,4	3,95 (s)			56,5	3,93 (s)
7-OCH ₃	56,4	3,95 (s)			56,4	3,85 (s)

* VIEIRA, 1995

SHIMADZU



Date/Time; 1/2/2012 11:15:14
User; infra vermelho

No. of Scans;
Resolution;
Apodization;

Comment;
SSRM1612-3

Figura 46: Espectro de infravermelho da substância III

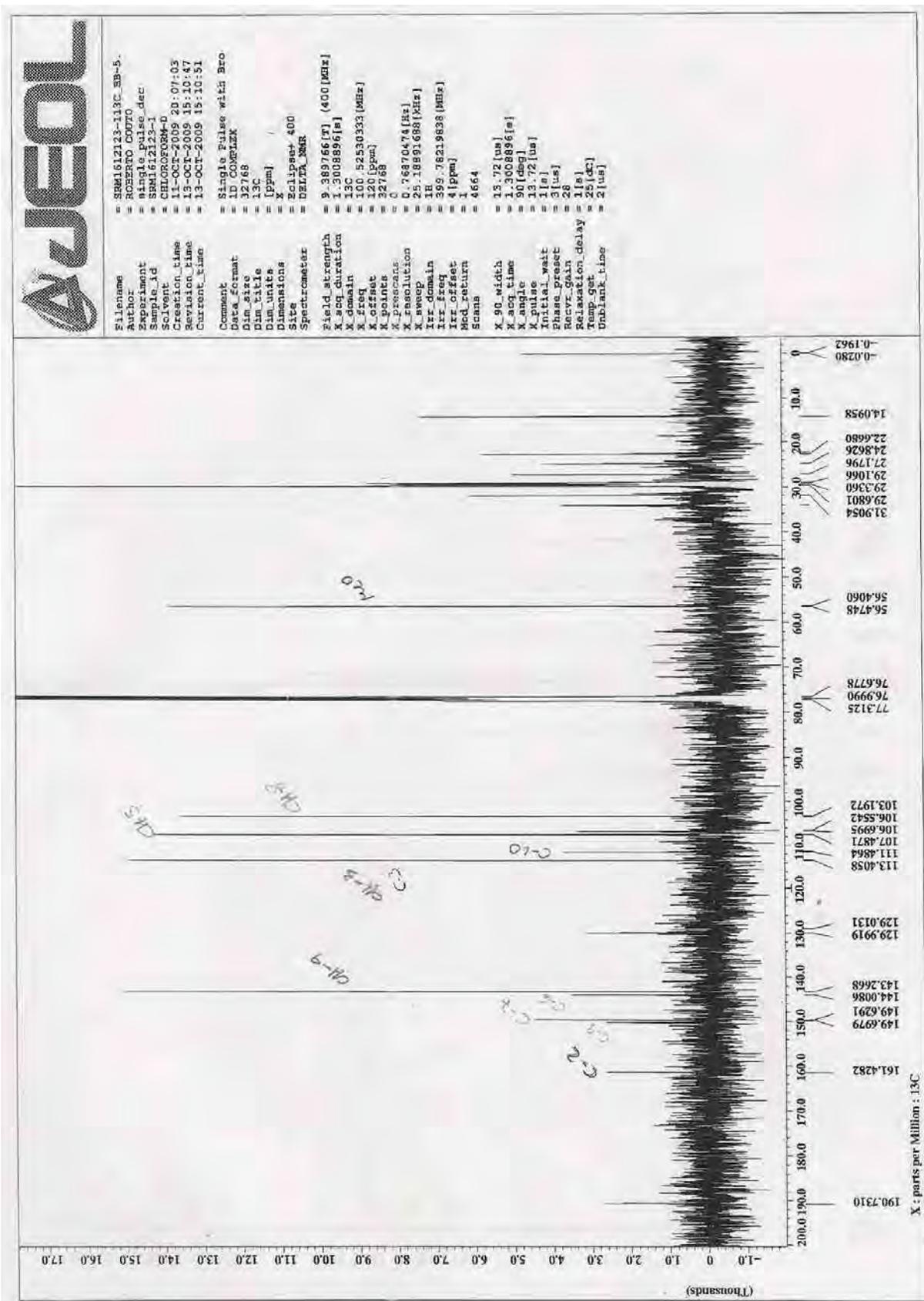


Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância III

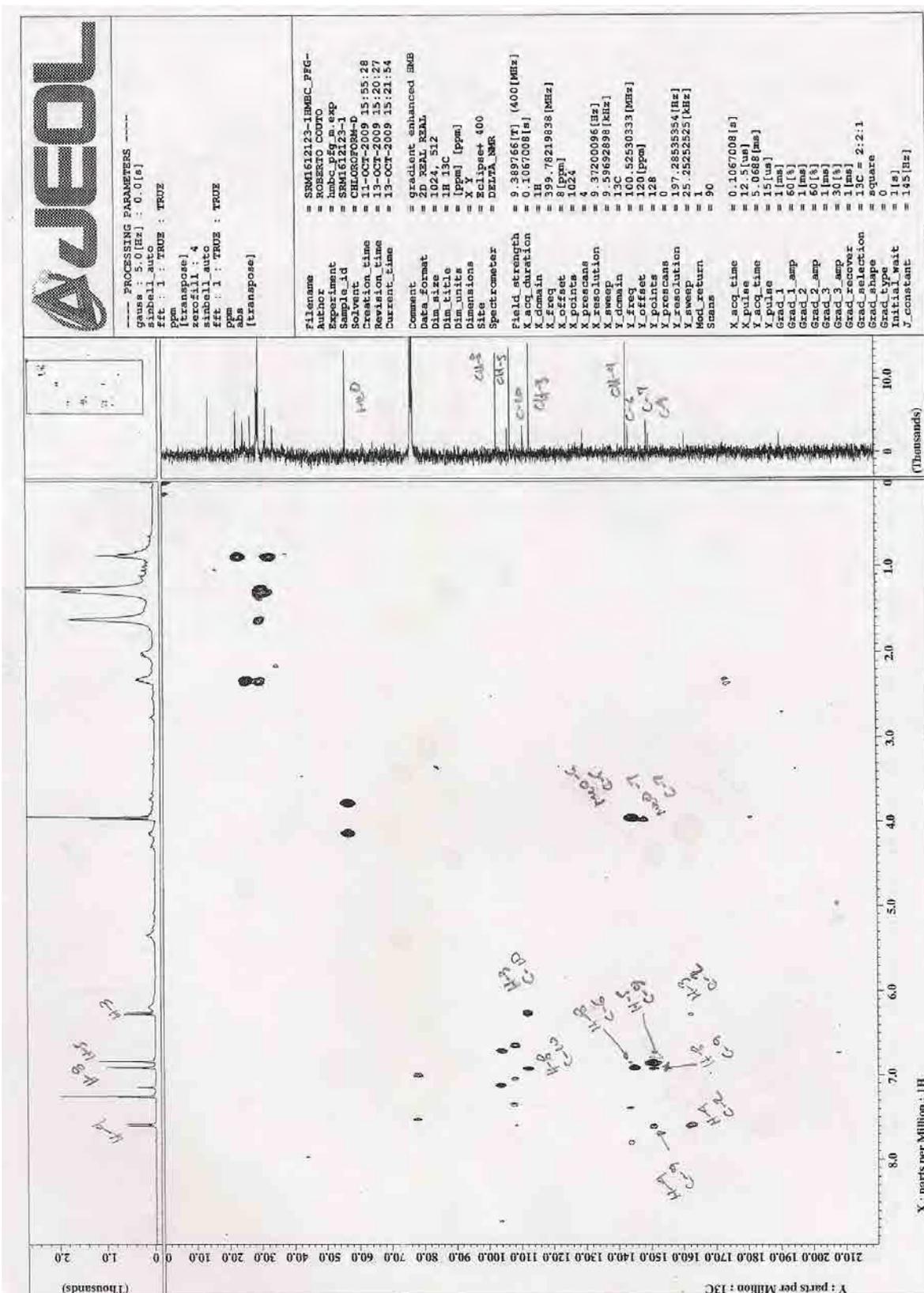


Figura 49: Mapa de correlação do espectro de HMB em CDCl_3 da substância III

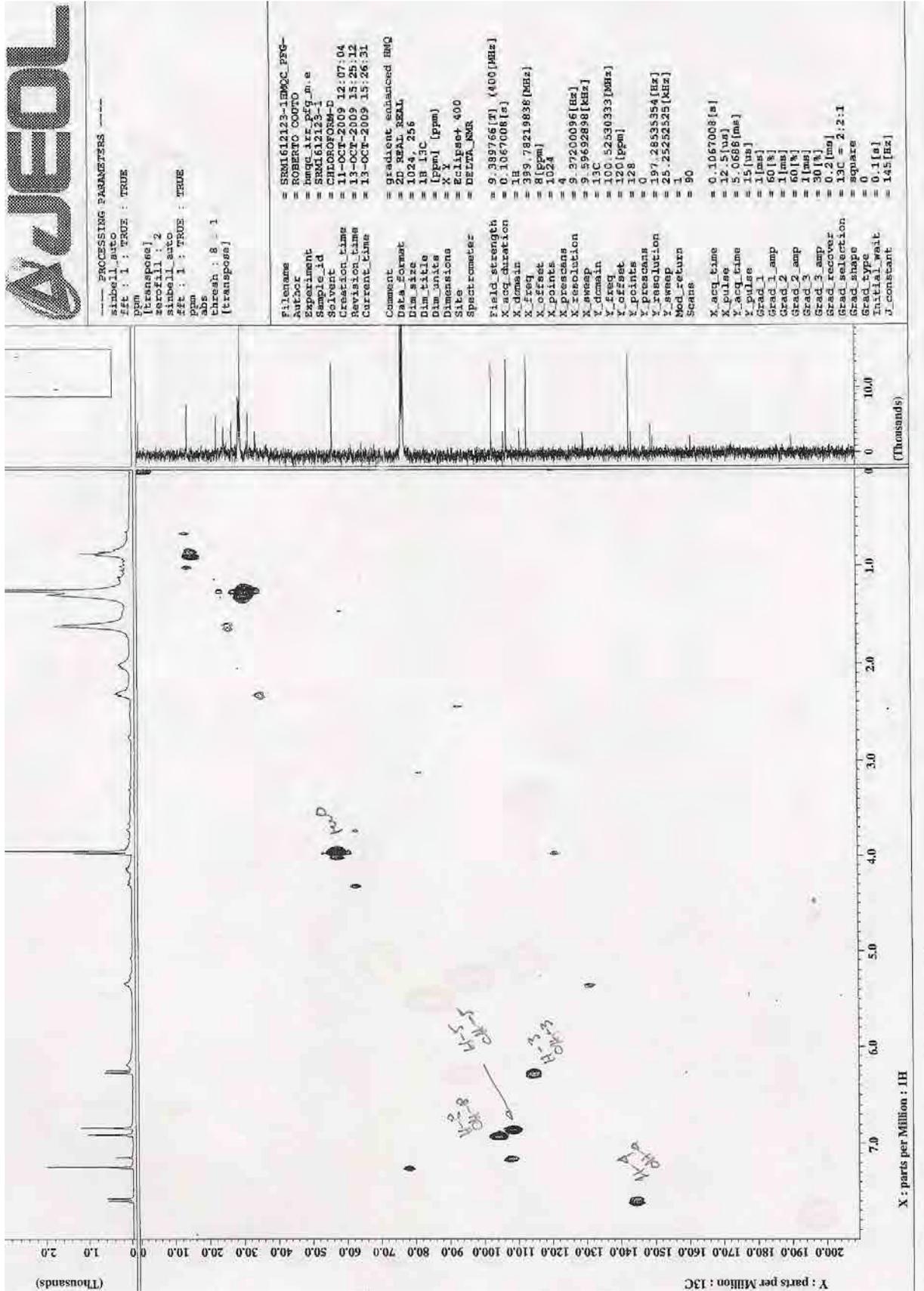


Figura 50: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl₃ da substância III

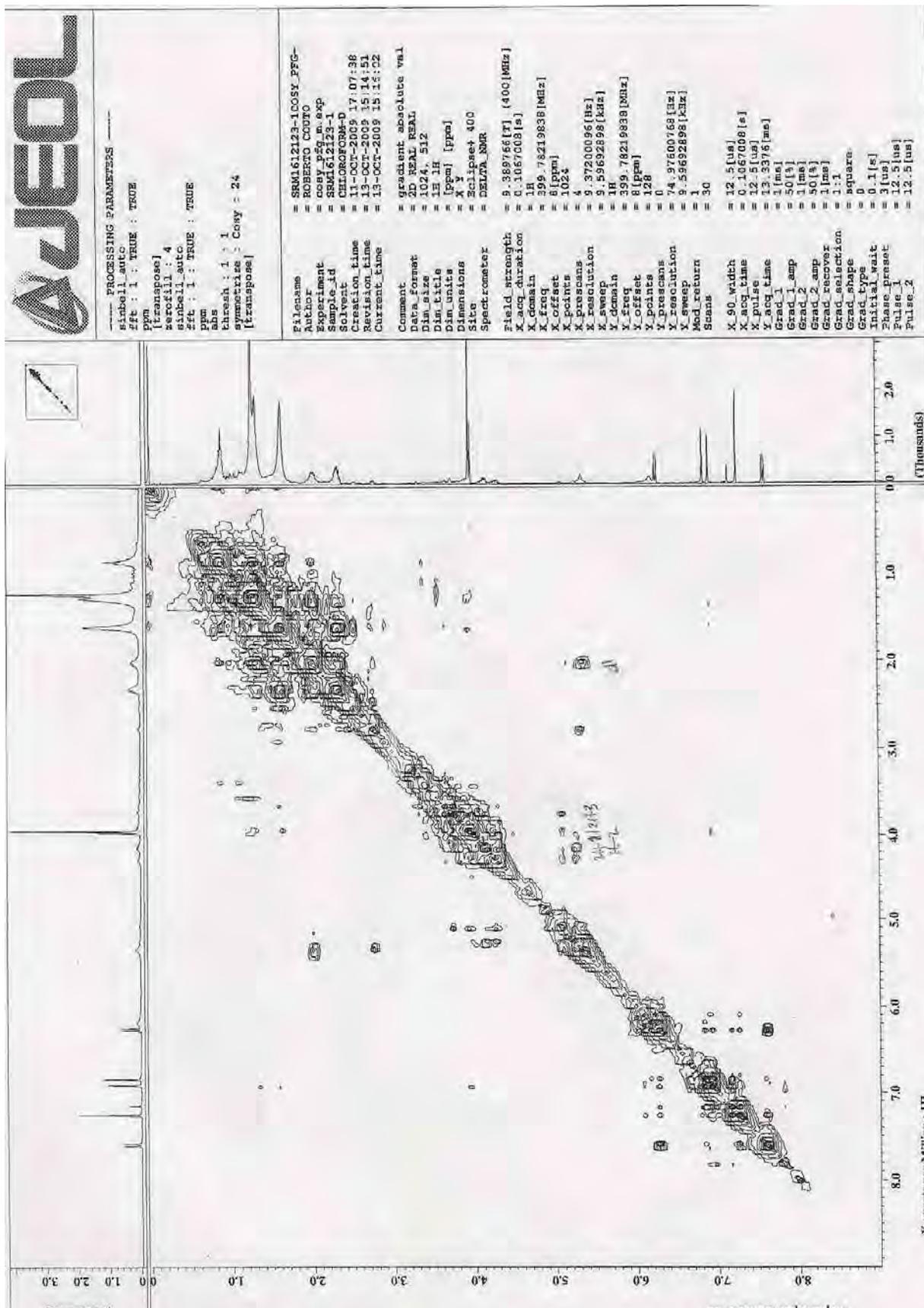
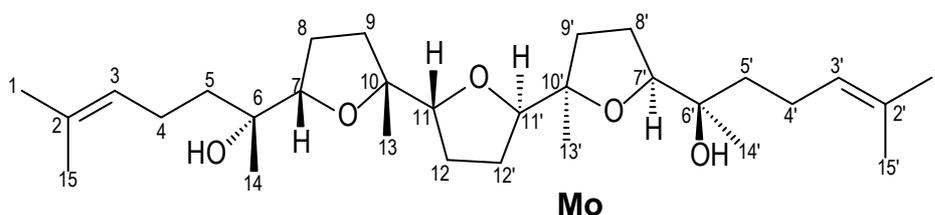


Figura 51: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância III

Determinação estrutural da substância IV



A substância **IV** isolada da fração hexânica das raízes de *Simaba suffruticosa* apresentou-se como um óleo amarelo.

A determinação estrutural da substância **IV** foi feita a partir de dados de RMN ^1H e ^{13}C (uni e bidimensionais), e comparação com dados de literatura descritos para o triterpeno teurileno, um derivado do esqualeno (HASHIMOTO et. al., 1991).

No espectro de RMN ^1H (**figuras** 52-54, p. 156-158, **Tabela** 37, p. 155) foi observado um tripleto em δ_{H} 5,10, região de hidrogênios olefínicos ($J= 5,5$ Hz) atribuídos aos dois hidrogênios H-3 e H-3', e dois duplos dupletos, um em δ_{H} 4,08 ($J= 12,0$ e $3,0$ Hz; H-11 e H-11'), e outro em δ_{H} 3,81 ($J= 5,5$ e $4,0$ Hz; H-7 e H-7'), ambos referentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, compatíveis com carbonos de anel tetrahydrofurânico (SIMOTE, 2006).

Estes valores foram comprovados pelo mapa de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras** 63 e 64-84, p. 167 e 168, **Tabela** 37, p. 168), onde se observou as correlações $^1J_{\text{HC}}$ entre os átomos de carbono C-11/C-11' em δ_{C} 85,2 com os dois hidrogênios em δ_{H} 4,08 (H-11 e H-11') e entre os átomos de carbono C-7/C-7' em δ_{C} 84,3 com os dois hidrogênios em δ_{H} 3,81 (H-7 e H-7'), como dito anteriormente, compatíveis com deslocamentos químicos de carbonos com anel tetrahydrofurânico.

O tripleto em δ_{H} 5,10, região de hidrogênios olefínicos ($J= 5,5$ Hz) atribuídos aos dois hidrogênios H-3 e H-3' foi comprovado através das correlações heteronucleares observadas no mapa de correlação HMBC, através das correlações $^2J_{\text{HC}}$ entre o carbono CH-3 em δ_{C} 125,0 com os dois grupos metilênicos 2H-4 e 2H-4' em δ_{H} 2,08 e 1,97, respectivamente, e a $^3J_{\text{HC}}$ com os grupos metílicos 3H-1/3H-1' (δ_{H} 1,67), 3H-15/3H-15' (δ_{H} 1,60) e com os dois grupos metilênicos 2H-5 e 2H-5' em δ_{H} 1,44 e δ_{H} 1,27.

O acoplamento entre os hidrogênios H-3/H-3' com os dois grupos metilênicos 2H-4 e 2H-4' foi confirmada também pelo mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figuras** 65 e 66, p. 169-170).

A presença de mais quatro grupos metílicos no triterpeno **IV** foi confirmada também através das correlações heteronucleares observadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 60-62, p. 164-166, **Tabela** 37, p. 155) através das correlações $^3J_{\text{HC}}$ entre os átomos de carbono CH_3 -13/ CH_3 -13' em δ_{C} 23,4 com os dois grupos metilênicos 2H-9 e 2H-9' em δ_{H} 2,03 e 1,50, respectivamente, e CH_3 -14/ CH_3 -14' em δ_{C} 24,3 com os dois grupos metilênicos 2H-5 e 2H-5' em δ_{H} 1,44 e 1,27.

A presença de dois grupos hidroxilas no triterpeno **IV** foi notada presença do sinal nos experimentos de RMN ^{13}C , APT e DEPT (**Figuras** 57-62, p. 161-166, **Tabela** 37, p. 155) através do sinal em δ_{C} 73,0, característicos de carbonos carbinólicos, relativos aos carbonos C-6 e C-6'.

A proposta da estereoquímica relativa do triterpeno **IV** pode ser vista pelo mapa de correlação ^1H - ^1H -NOESY (**Figura** 67, p. 171) através das interações espaciais dos hidrogênios do anel tetrahidrofurânico H-7 com os grupos metílicos Me-13 e Me-14, e do hidrogênio H-7' com os grupos metílicos Me-13' e Me-14'; e entre os grupos metila Me-13 com H-11, e do grupo metila com hidrogênio H-11'. As demais interações podem ser observadas no mapa de correlação ^1H - ^1H -NOESY (**Figura** 67, p. 171).

Através dessas interações nos permitiram deduzir uma simetria na molécula, comprovando assim a proposta estrutural para a molécula do triterpeno **IV**.

Os valores dos deslocamentos de RMN ^{13}C e ^1H , descritos na **Tabela** 37 abaixo foram comparados com os dados de literatura para o triterpeno teurileno, comprovando assim a proposta estrutural (HASHIMOTO et. al., 1991).

O teurileno, um derivado do esqualeno, foi isolado pela primeira vez em 1985 da alga vermelha *Laurencia obtusa*. Sua estrutura foi caracterizada como um elo de três anéis tetrahidrofurânicos no centro da molécula. Essa substância apresenta uma alta atividade citotóxica em células KB ($\text{CI}_{50} = 7,0 \mu\text{g/mL}$) (HASHIMOTO et. al., 1991).

Tabela 37: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno **IV**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância IV					
	HMQC		HMBC		Mo*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}
C					
2/2'	131,0	-	3H-1/3H-1'; 3H-15/3H-15'	2H-4/2H-4'	130,9
6/6'	73,0	-	H-5b/H-5b'; 3H-14/3H-14'	2H-8/2H-8'	73,0
10/10'	85,3	-	H-9a/H-9'a; 3H-13/3H-13'	H-12b/H-12'b	85,3
CH					
3/3'	125,0	5,10 (t, 5,5)	2H-4/2H-4'	3H-1/3H-1'; 2H-5/2H-5'; 3H-15/3H-15'	125,0
7/7'	84,3	3,81 (dd, 5,5; 4,0)		H-9b/H-9b'; 3H-14/3H-14'	84,3
11/11'	85,2	4,08 (dd, 12,0; 3,0)	H-12b/H-12'b	3H-13/3H-13'	85,1
CH₂					
4/4'	22,3	2,08 (m); 1,97 (m)	2H-5/2H-5'		22,3
5/5'	38,6	1,44 (m); 1,27 (m)	2H-4/2H-4'	3H-14/3H-14'	38,6
8/8'	25,3	2,05 (m); 1,83 (m)	2H-9/2H-9'		25,3
9/9'	30,7	2,03 (m); 1,50 (m)	H-8b/H-8'b	3H-13/3H-13'	30,6
12/12'	29,4	1,93 (m); 1,56 (m)	2H-12/2H-12'		29,4
CH₃					
1/1'	25,6	1,67 (sl)		3H-15/3H-15'	25,6
13/13'	23,4	1,10 (s)		2H-9/2H-9'	23,4
14/14'	24,3	1,24 (s)		2H-5/2H-5'	24,2
15/15'	17,6	1,60 (s)		3H-1/3H-1'	17,6

*HASHIMOTO et. al., 1991

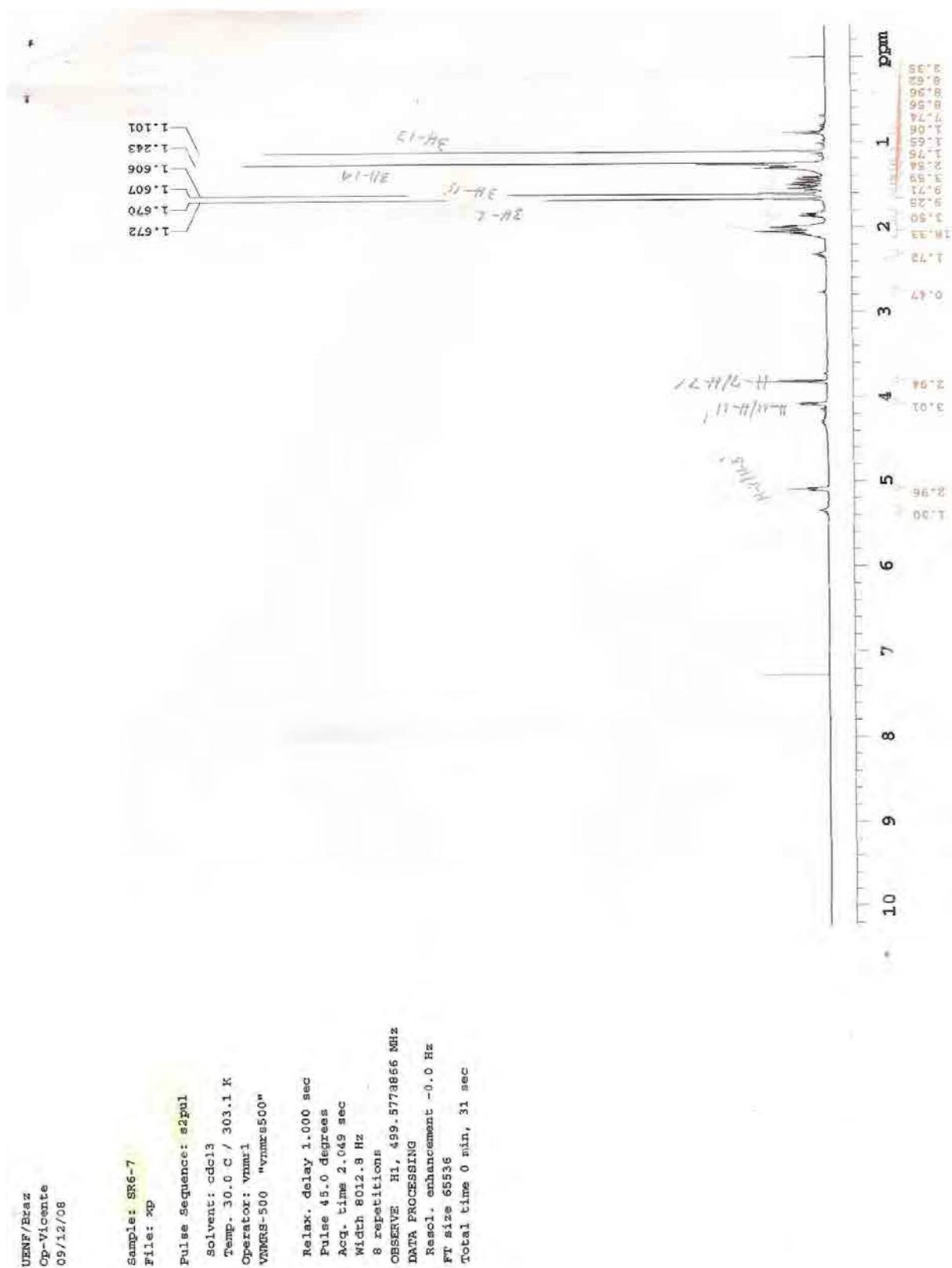


Figura 52: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IV

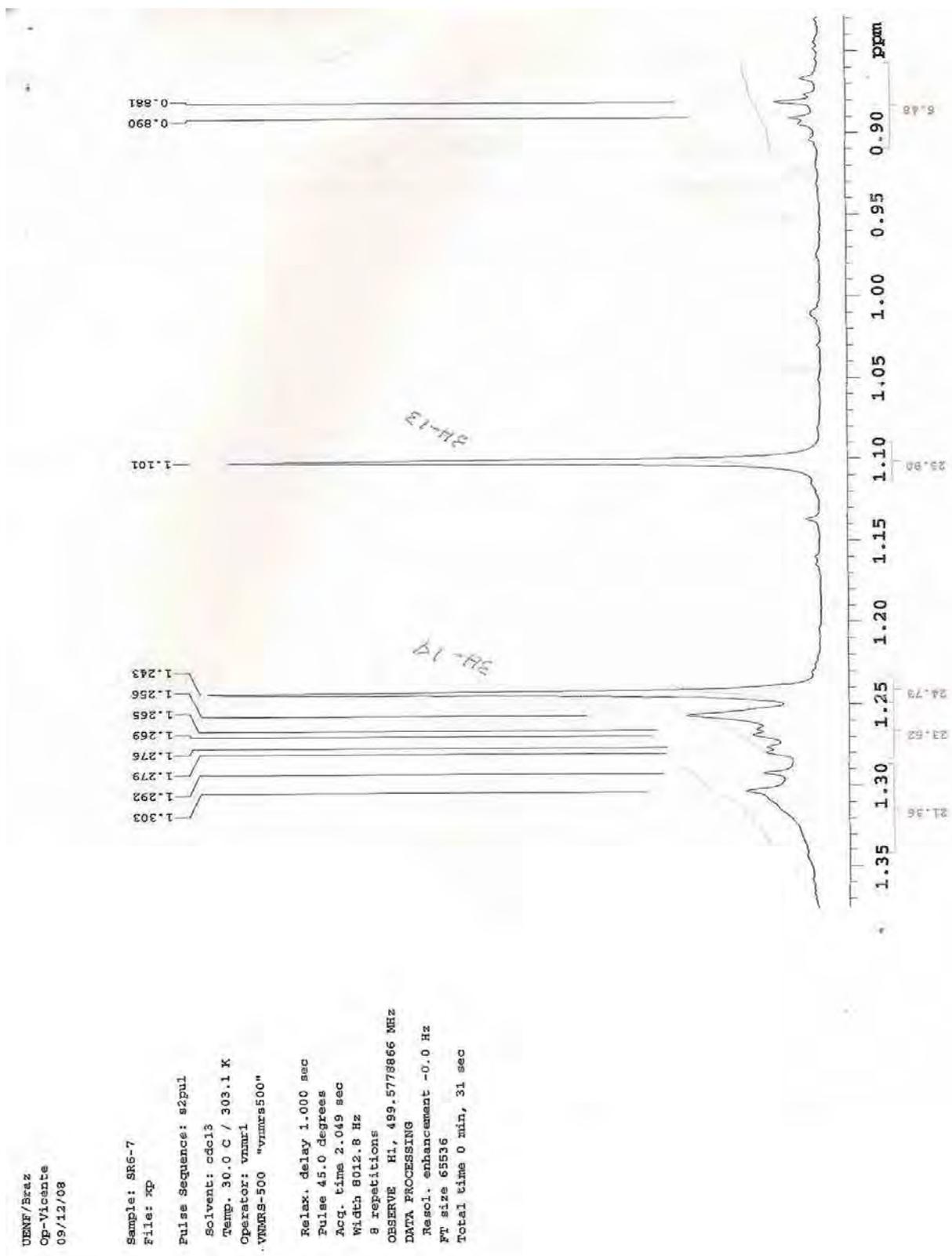


Figura 53: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 1,35 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

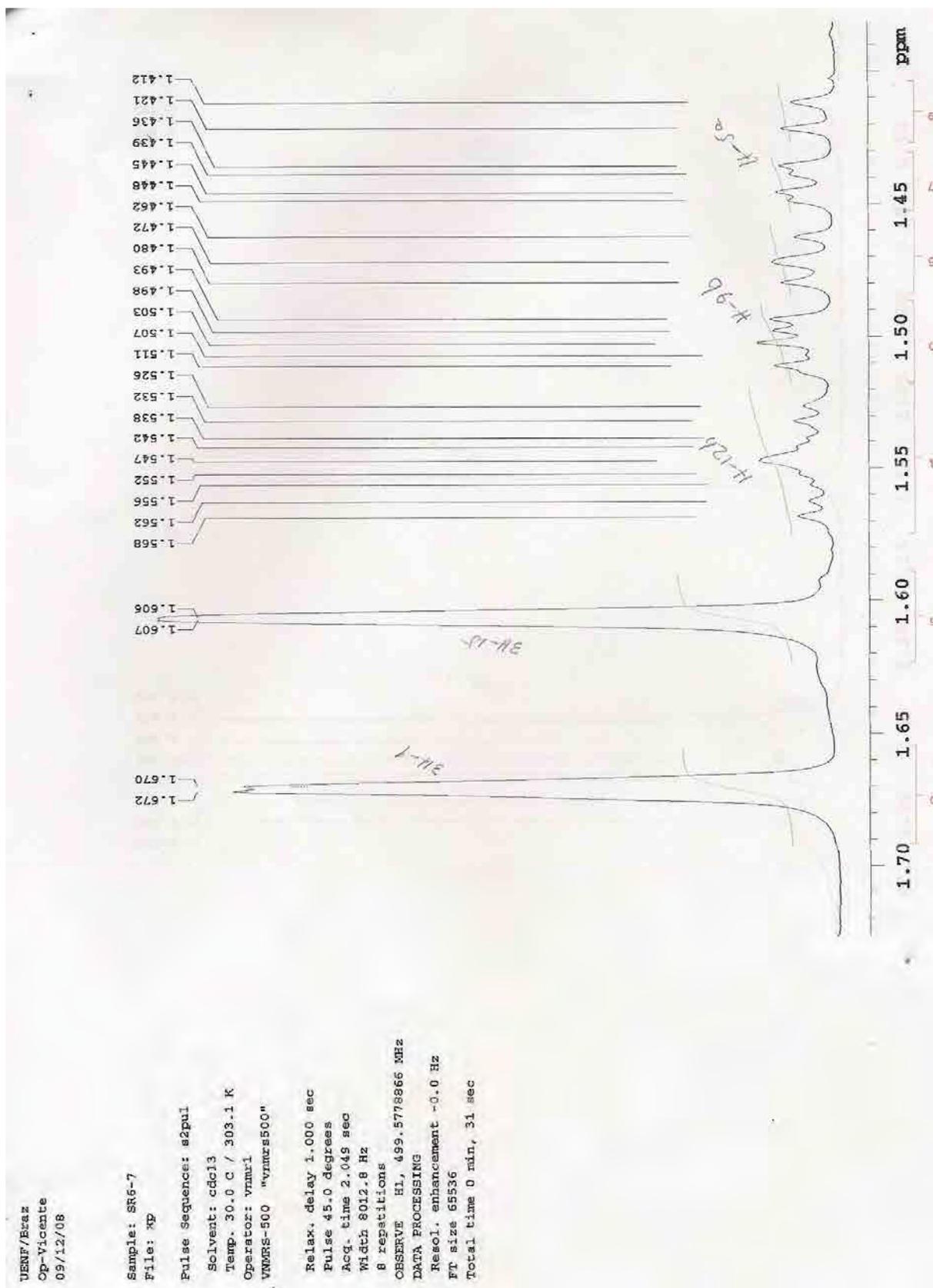


Figura 54: Ampliação da região de δ_{H} 1,4 – 1,7 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

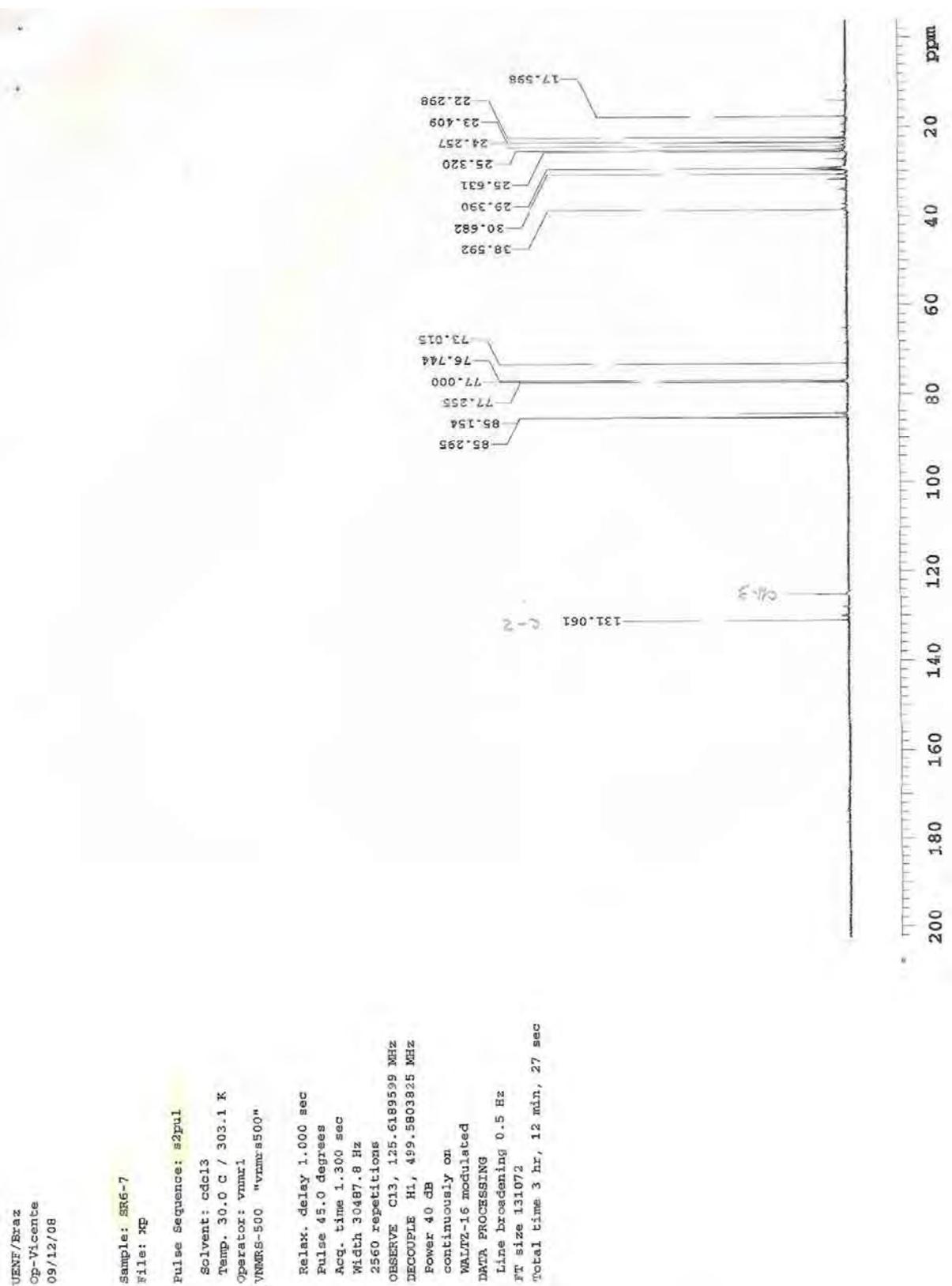


Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância IV

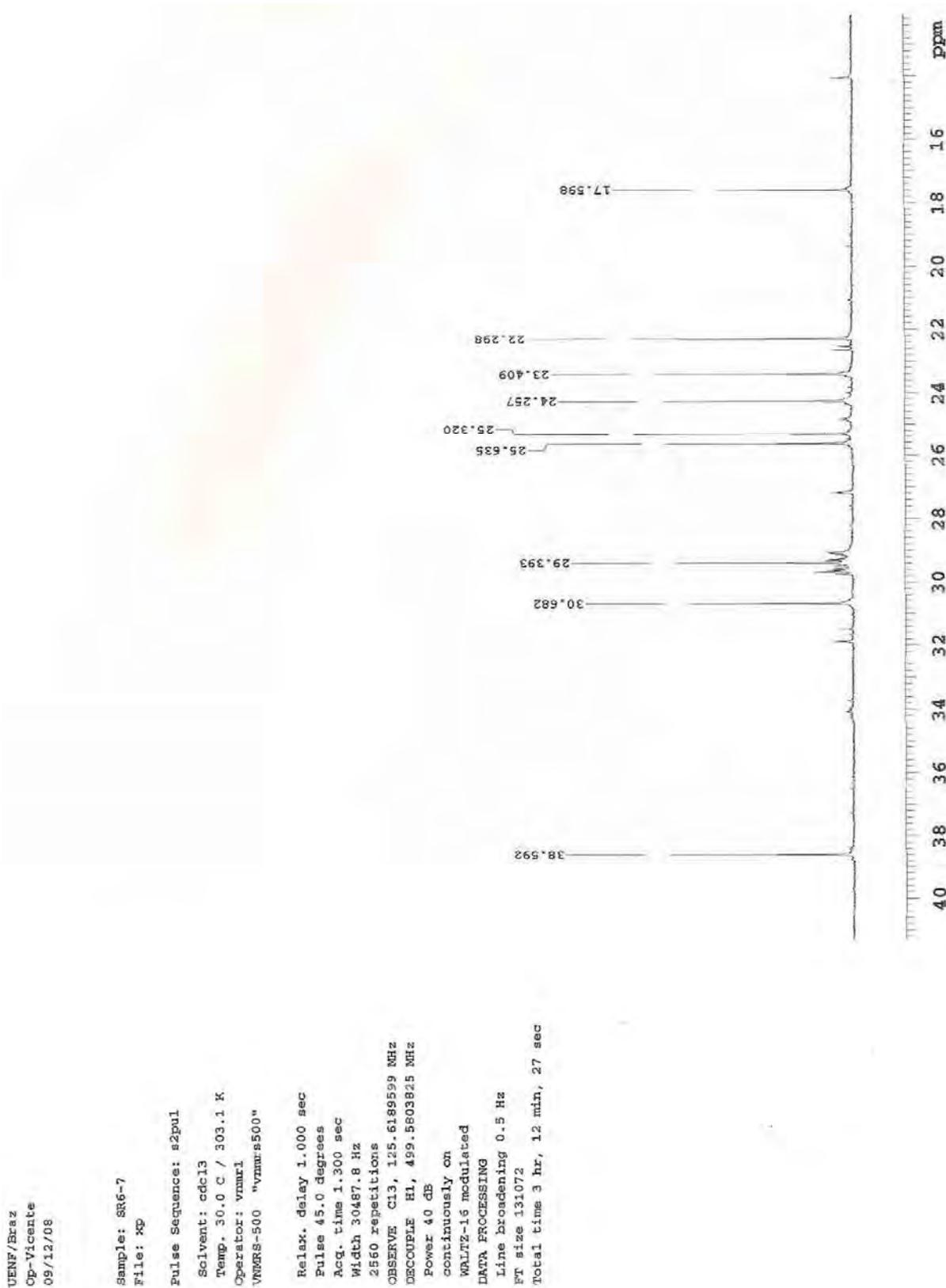


Figura 56: Ampliação da região de δ_c 14,0 – 40,0 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

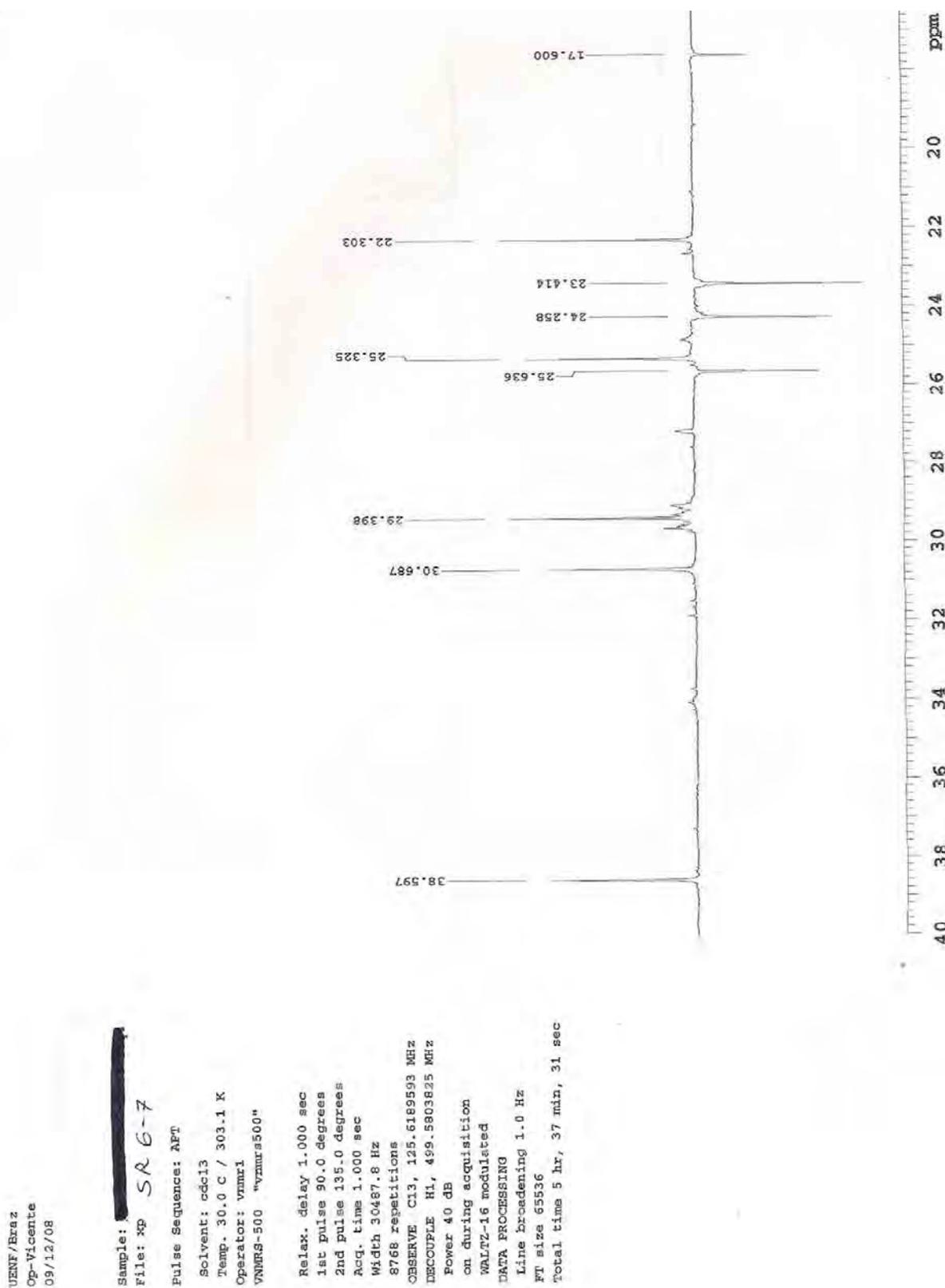


Figura 58: Ampliação da região de δ_C 17,0 – 40,0 do espectro de RMN ^{13}C (APT, 100 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

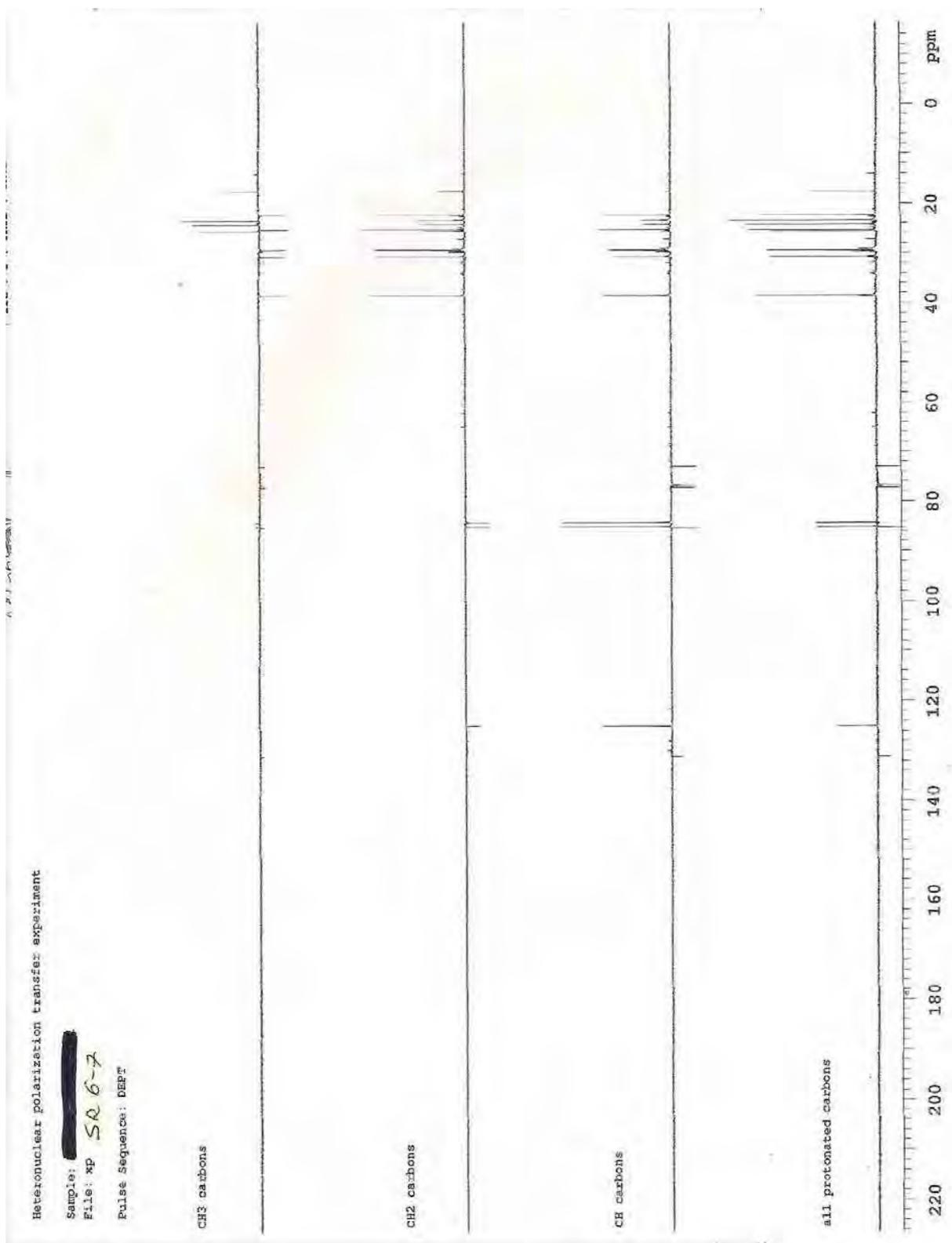


Figura 59: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT, 125 MHz) em CDCl_3 da substância IV

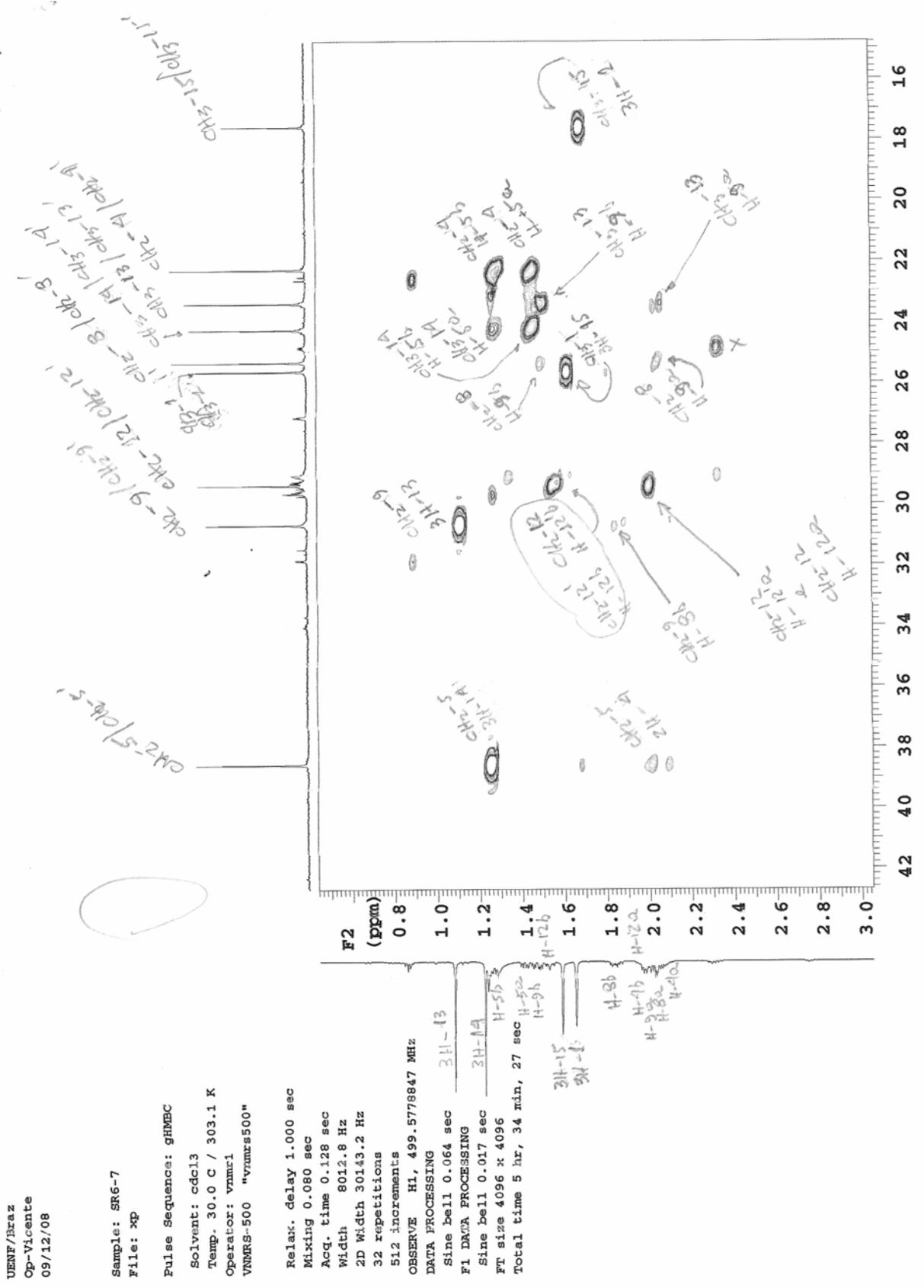


Figura 60: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em $CDCl_3$ da substância IV

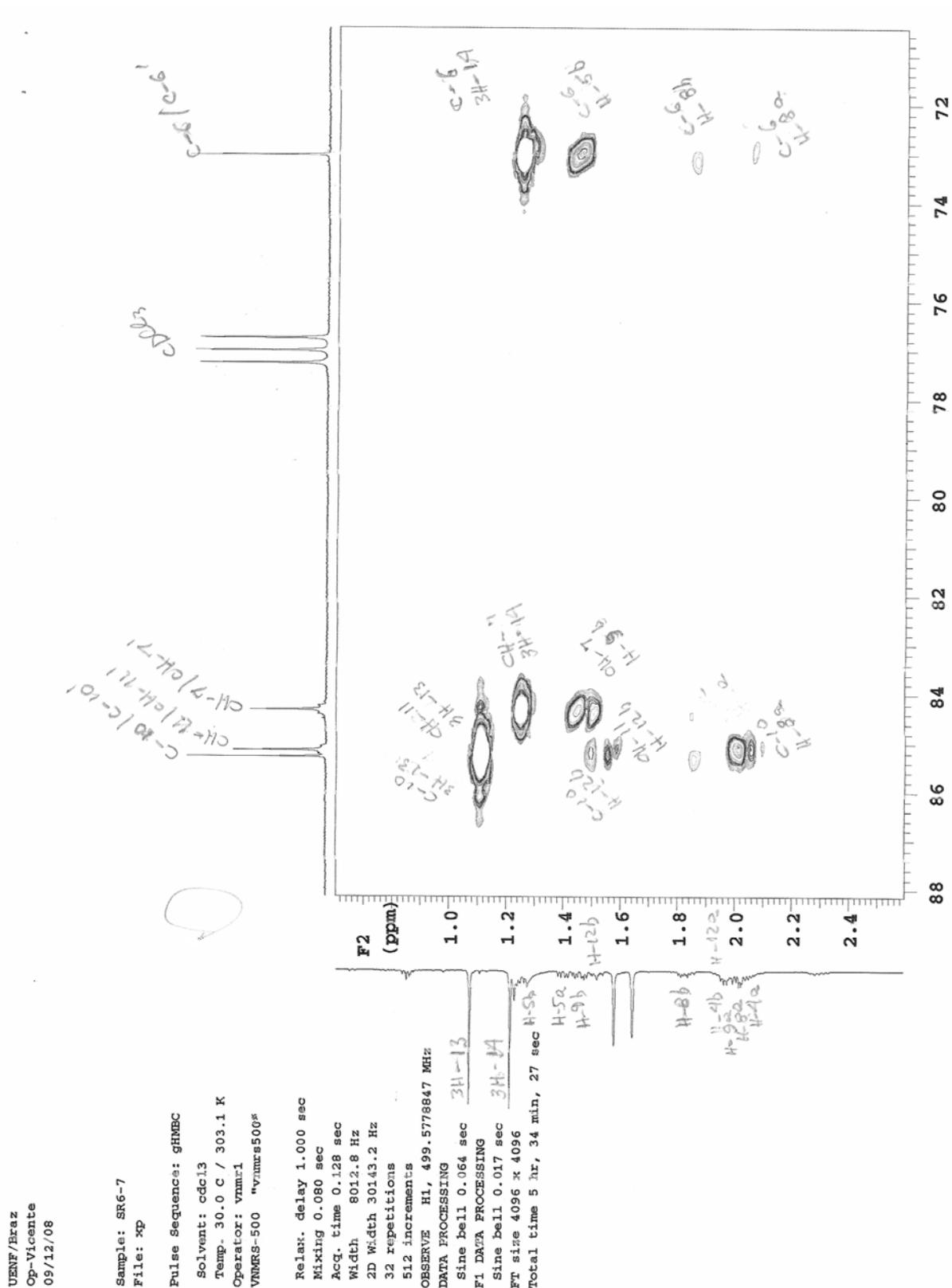


Figura 61: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ da substância IV

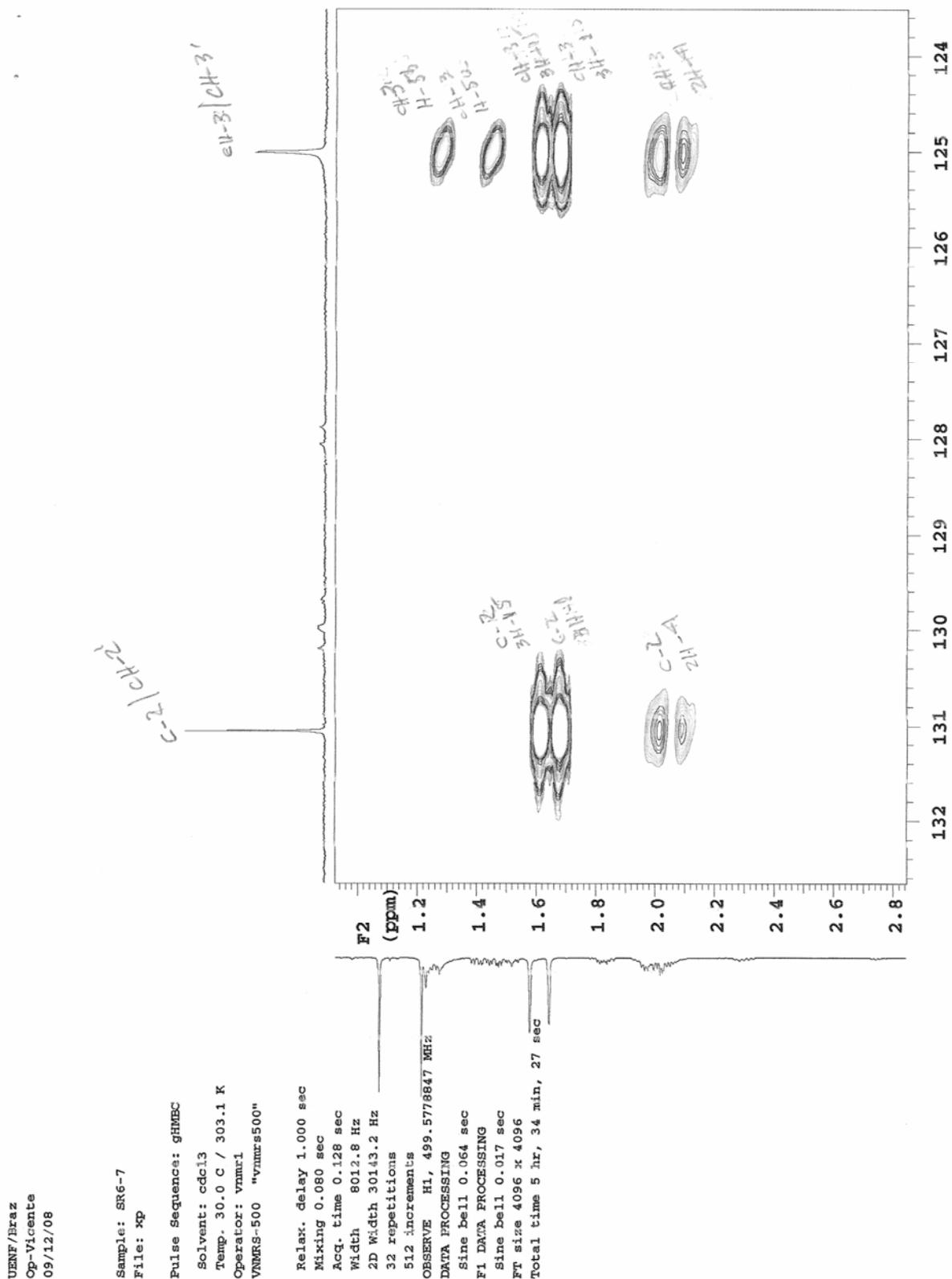


Figura 62: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância IV

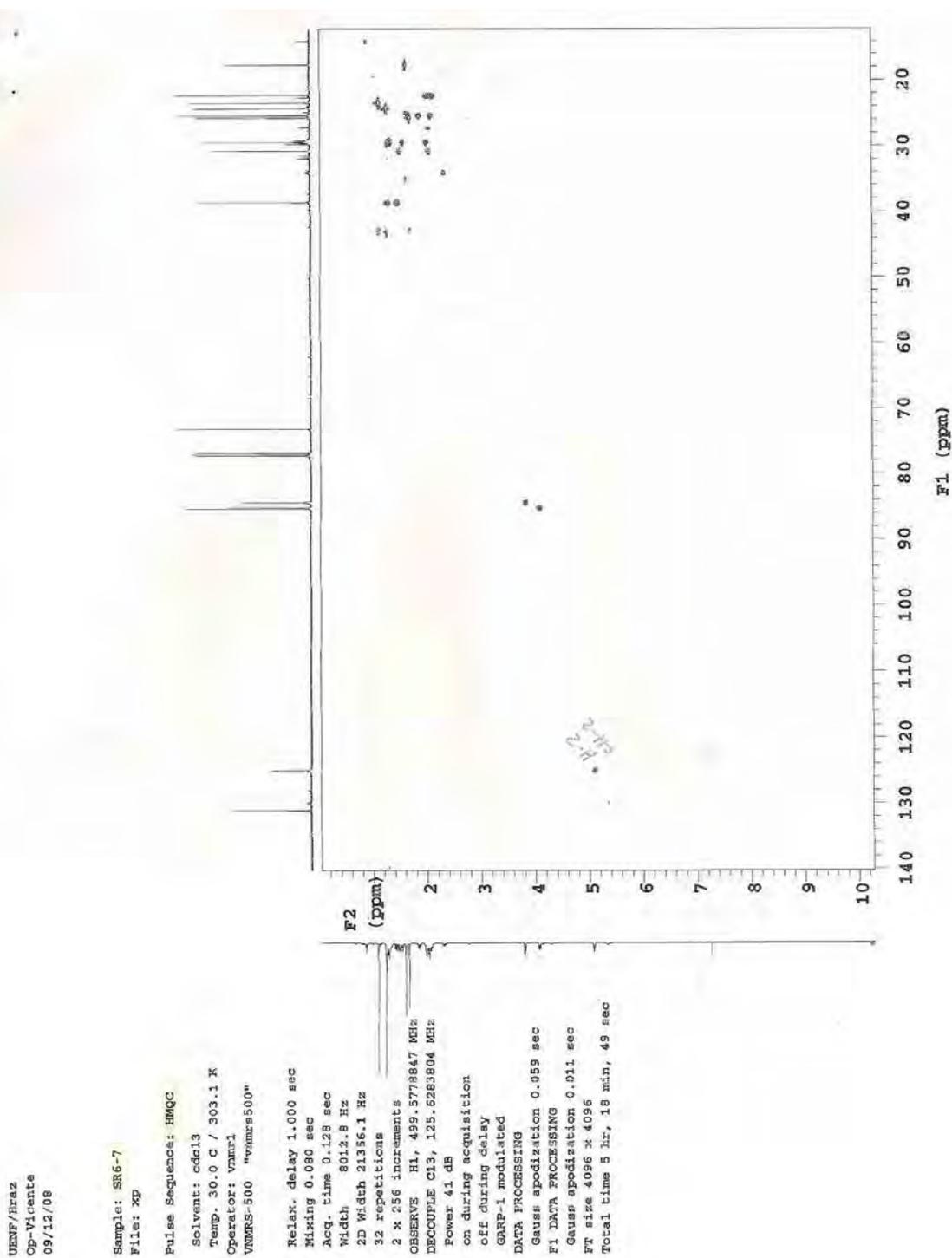


Figura 63: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância IV

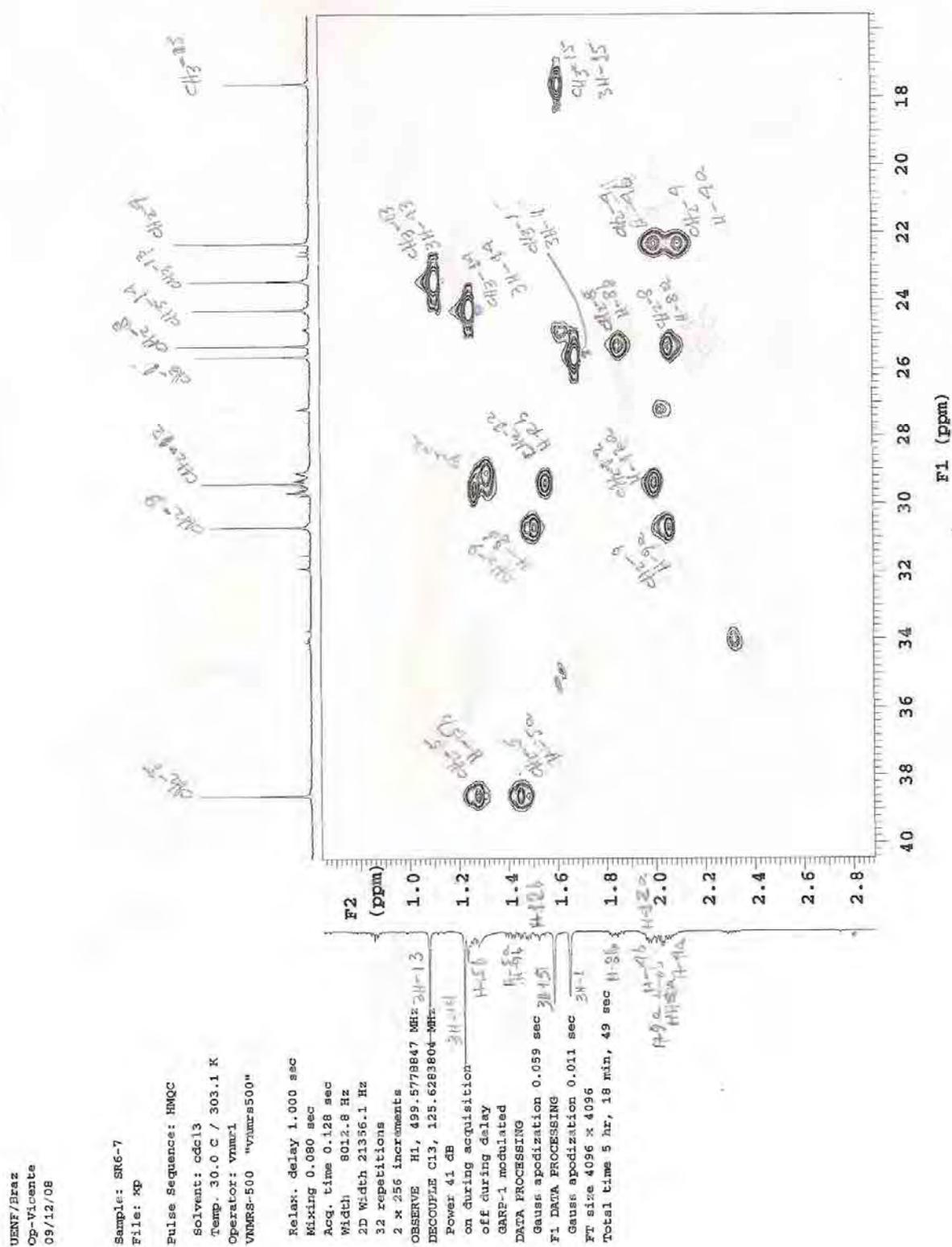


Figura 64: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância IV

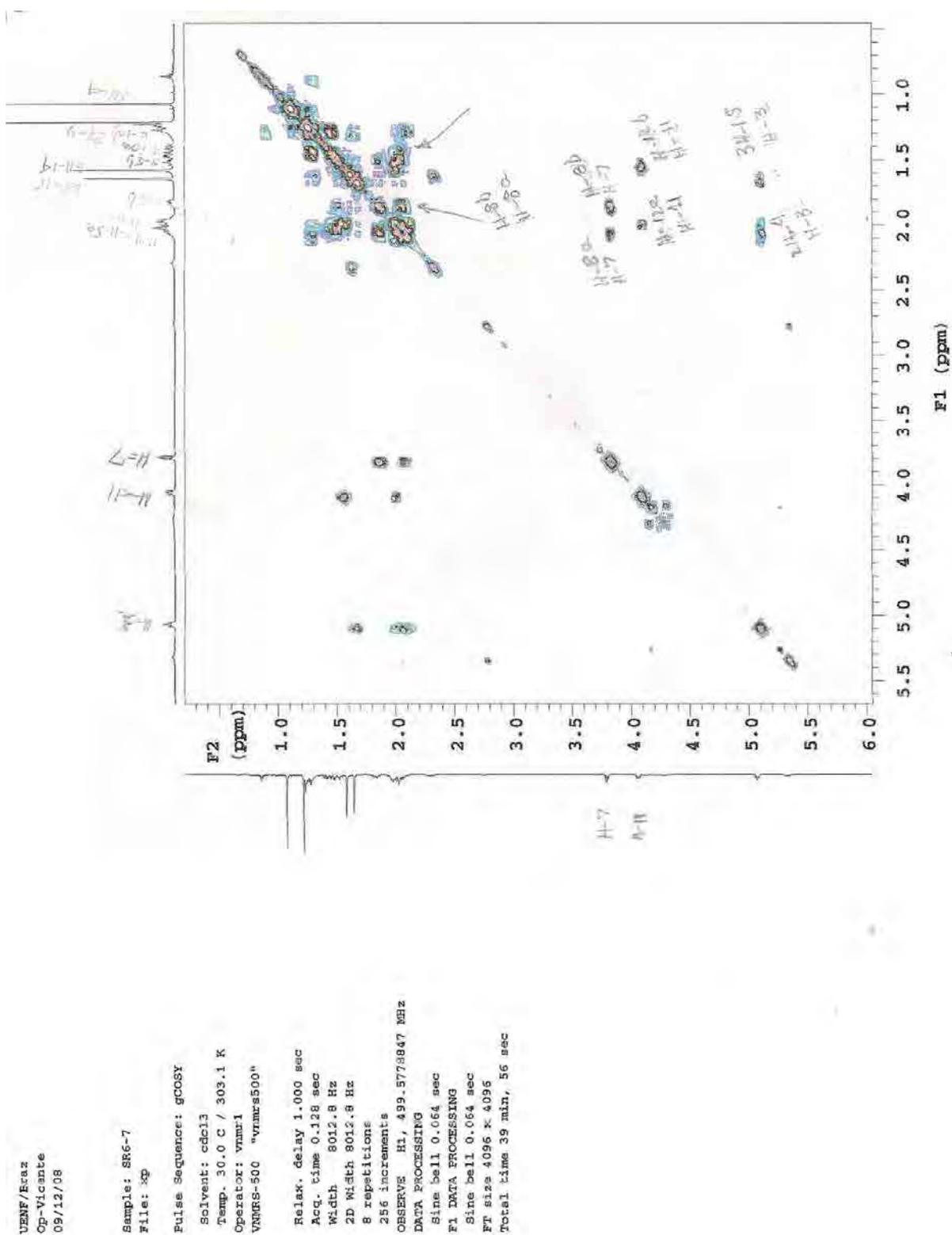


Figura 65: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância IV

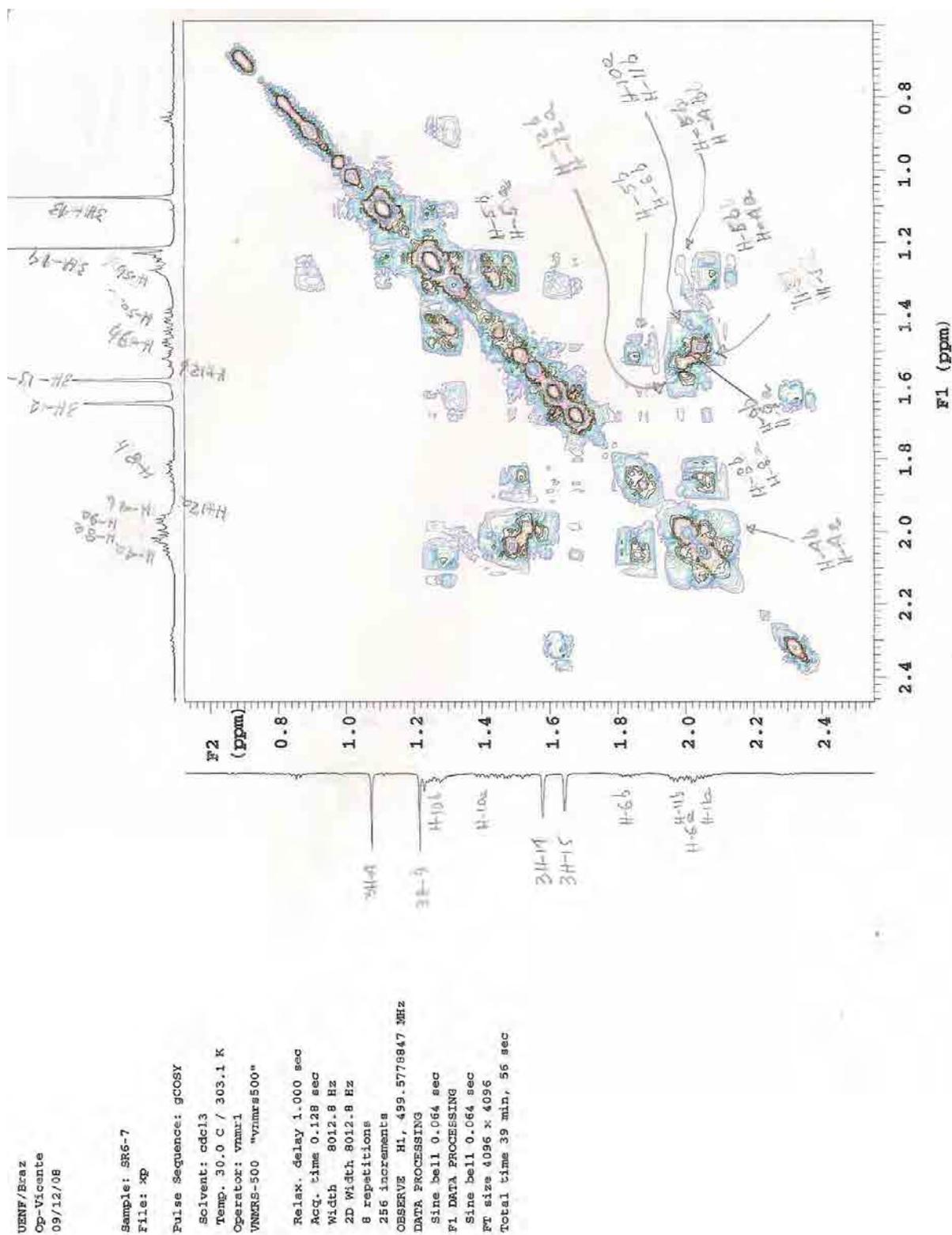


Figura 66: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância IV

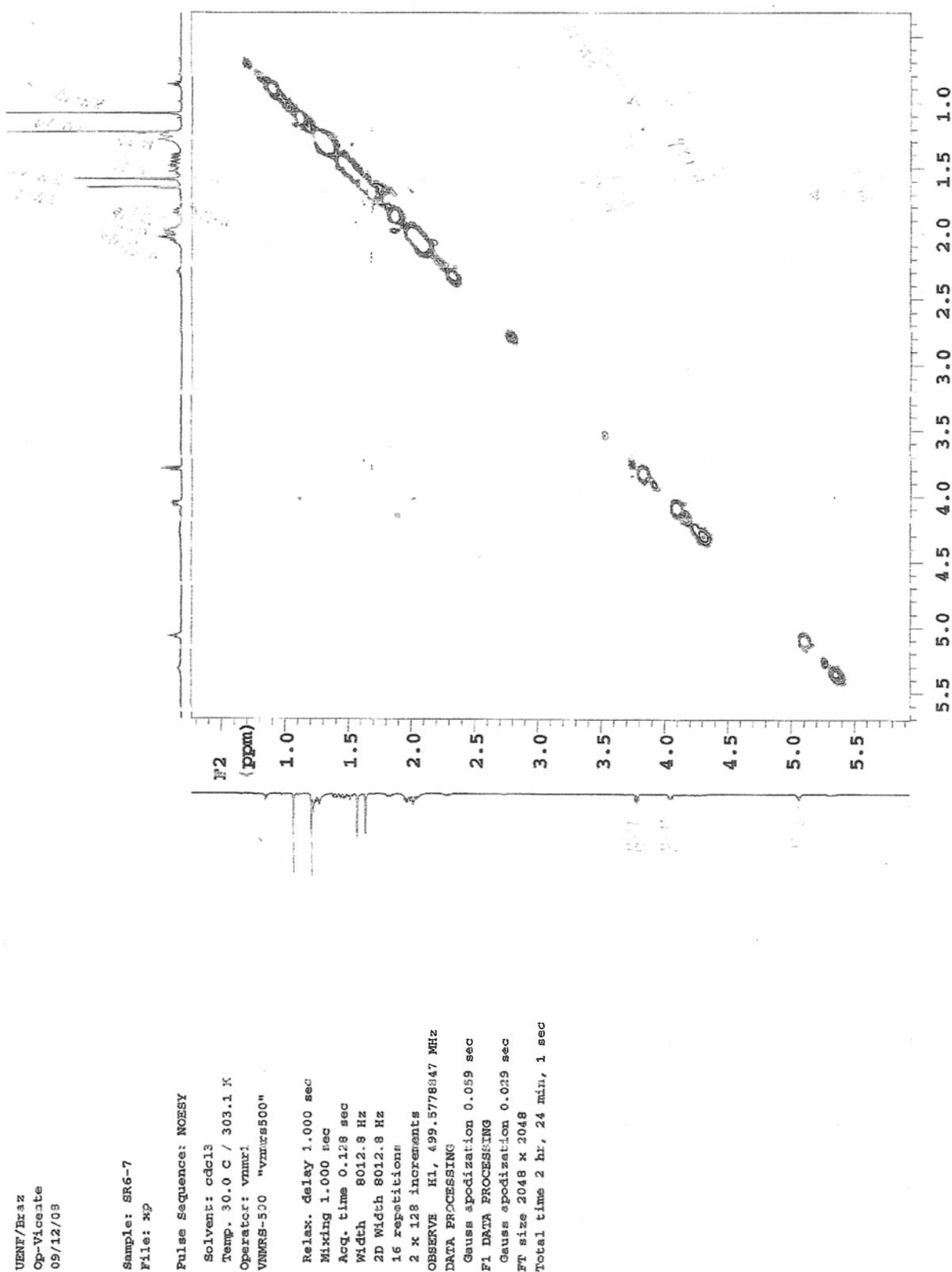
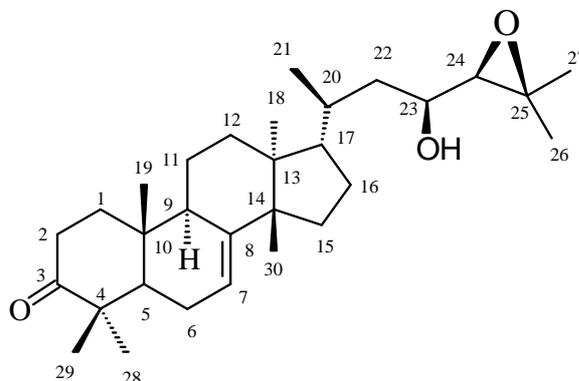


Figura 67: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -NOESY em CDCl_3 da substância IV

Determinação estrutural da substância V



A substância **V**, isolada do extrato hexânico das raízes de *S. suffruticosa*, apresentou-se como um sólido amorfo.

O espectro na região do infravermelho (**Figura 68**, p. 176) da amostra apresentou bandas de absorção relativo ao estiramento de um grupo carbonila em 1711 cm^{-1} , bandas de absorção em 2970 , 2947 e 2883 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C-H para carbonos sp^3 , bandas em 1379 e 1456 cm^{-1} referentes ao estiramento das ligações de unidades CH_2 e uma banda larga em 3400 cm^{-1} referente ao estiramento das ligações O-H com interações do tipo ligação de hidrogênio.

O espectro de RMN ^{13}C (**Figura 72**, p. 180, **Tabela 38**, p. 175) em conjunto com espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (**Figura 73**, p. 181) e com o mapa de correlação heteronuclear HMQC (**Figura 76**, p. 184, **Tabela 38**, p. 175) da substância **V** apresentou sinais para 30 átomos de carbono, sendo oito sinais para carbonos metílicos (CH_3) em δ_{C} 21,8 (CH_3 -18), 12,8 (CH_3 -19), 19,6 (CH_3 -21), 25,1 (CH_3 -26), 19,9 (CH_3 -27), 24,8 (CH_3 -28), 21,6 (CH_3 -29) e 27,6 (CH_3 -30), oito sinais para carbonos metilênicos (CH_2) em δ_{C} 38,8 (CH_2 -1), 35,2 (CH_2 -2), 24,5 (CH_2 -6), 18,3 (CH_2 -11), 33,7 (CH_2 -12), 34,2 (CH_2 -15), 29,0 (CH_2 -16) e 41,0 (CH_2 -22), sete sinais para carbonos metínicos (CH) em δ_{C} 52,6 (CH -5), 118,4 (CH -7), 48,5 (CH -9), 53,5 (CH -17), 33,6 (CH -20), 69,5 (CH -23) e 68,6 (CH -24) e sete sinais para átomos de carbonos quaternários em δ_{C} 217,1 ($\text{O}=\text{C}$ -3), 48,1 (C -4), 146,0 (C -8), 35,2 (C -10), 43,8 (C -13), 51,5 (C -14) e 60,5 (C -25).

Os sinais no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 72**, p. 180, **Tabela 38**, p. 175) em δ_{C} 118,4 (CH -7), 146,0 (C -8) e δ_{C} 27,6 (CH_3 -30), indicam que o triterpeno em

questão trata-se de um triterpeno com esqueleto tirucalânico que possui um esqueleto tetracíclico (VIEIRA, 1995). x, p. y,

A análise dos espectros de RMN ^1H (**Figuras** 69-71, p. 177-179, **Tabela** 38, p. 175) para o triterpeno **V** revela a presença de um grupo cetona ligada ao átomo de carbono C-3 (δ_{C} 217,1) no anel A, através do deslocamento químico e da multiplicidade do hidrogênio H-2_{ax} em δ_{H} 2,76 (*dt*, $J = 5,4$ e $14,6$ Hz).

A função cetona presente no átomo de carbono C-3 no anel A, pode ser comprovada através das correlações heteronucleares a longa distância $^2J_{\text{HC}}$ entre o carbono C-3 em δ_{C} 217,1 com o sinal em δ_{H} 2,76, referente ao hidrogênio H-2_{ax}, e a $^3J_{\text{HC}}$ com os dois grupos metila em δ_{H} 1,12 (Me-28) e 1,05 (Me-29), apresentada no mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figuras** 74 e 75, p. 182 e 183, **Tabela** 38, p. 175).

A ligação dupla localizada entre os átomos de carbono CH-7/C-8 pode ser observada através dos sinais em δ_{C} 118,4 (CH-7) e 146,0 (C-8) presentes no espectro de RMN ^{13}C (**Figura** 72, p. 180, **Tabela** 38, p. 175) e confirmada pela correlação à longa distância $^3J_{\text{HC}}$ entre o átomo de carbono C-8 (δ_{C} 146,0) com os hidrogênios do grupo metila (CH₃-30) em δ_{H} 1,03, apresentada no mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figuras** 74 e 75, p. 182 e 183, **Tabela** 38, p. 175).

O espectro de RMN ^1H (**Figuras** 69-71, p. 177-179, **Tabela** 38, p. 175) do triterpeno **V** apresentou na região de absorção de hidrogênios metilênicos e metílicos, um duplete integrando para três hidrogênios em δ_{H} 0,97 ($J = 5,9$ Hz), referente ao grupo metila Me-21 que, juntamente com os outros sete sinais simples, completam oito grupos metílicos do esqueleto tirucalânico, comprovando assim a não oxidação de nenhum destes grupos.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Figura** 72, p. 180, **Tabela** 38, p. 175) do triterpeno **V** apresentou três sinais na região de absorção de carbonos oxigenados em δ_{C} 69,5, 68,6 e 60,5, relativos aos átomos de carbono CH-23, CH-24 e C-25, reforçando a proposta para a estrutura da cadeia lateral com oxigenações.

A presença de um duplete em δ_{H} 2,67 ($J = 8,2$ Hz) no espectro RMN ^1H (**Figuras** 69-71, p. 177-179, **Tabela** 38, p. 175) e confirmado pelo mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figuras** 77 e 78, p. 185 e 186) acoplado com um hidrogênio carbinólico é típico de um hidrogênio oximetínico de uma função epóxido como descrito por VIEIRA, 1995.

A presença da função epóxido na cadeia lateral foi confirmada pelas correlações a longa distância $^2J_{\text{HC}}$ entre o átomo de carbono C-25 (δ_{C} 60,5) com os seis hidrogênios dos dois grupos metila (CH₃-26 e CH₃-27) em δ_{H} 1,33 e 1,34, apresentadas no mapa de correlação heteronuclear HMBC ((**Figuras** 74 e 75, p. 182 e 183, **Tabela** 38, p. 175). As demais correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela** 38.

Os dados espectrais da substância **V** estão de acordo com os dados descritos na literatura para o triterpeno niloticina isolado de *Simaba cedron* e descrito por VIEIRA, 1995 (**Tabela** 38), confirmando assim a proposta estrutural para o triterpeno **V**.

Tabela 38: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do triterpeno **V** em CDCl_3 , e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno nilocitina (**Mo**, Vieira, 1995).

Substância V					
	HMQC		HMBC		Mo
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}
C					
3	217,1	-	H-2a, H-2b	H-1b, 3H-28, 3H-29	217,0
4	48,1	-	H-5, 3H-28		47,9
8	146,0	-		3H-30	145,7
10	35,2	-	3H-19		35,0
13	43,8	-	3H-18	3H-30	43,5
14	51,5	-	3H-30	H-7, 3H-18	51,2
25	60,5	-	3H-26, 3H-27		60,3
CH					
5	52,6	1,73		H-9, 3H-28, 3H-29, 3H-19	52,3
7	118,4	5,32 (d, 2,8)			118,0
9	48,5	2,30		3H-19	48,5
17	53,5	1,46		3H-21, 3H-18	53,3
20	33,6	1,83	3H-21		33,7
23	69,5	3,59 (m)	H-24		69,2
24	68,6	2,67 (d, 8,2)	H-23	3H-26, 3H-27	68,5
CH₂					
1	38,8	2,01 e 1,43		3H-19	38,5
2	35,2	2,76 (dt, 14,4; 5,4) 2,26 (td)		H-1a, H-1b	34,9
6	24,5	2,11	H-5		24,5
11	18,3	1,59			18,2
12	33,7	1,83 e 1,68		3H-18	33,6
15	34,2	1,43			34,0
16	29,0	2,06 e 1,24			28,8
22	41,0	1,66 e 1,41		3H-21	40,4
CH₃					
18	12,8	0,82 (s)			13,0
19	21,8	1,02 (s)		H-1a, H-1b, H-5	19,8
21	19,6	0,97 (d, 5,9)			19,9
26	20,0	1,33 (s)	-		21,6
27	25,1	1,34 (s)			24,8
28	24,8	1,13 (s)		3H-29	24,9
29	21,6	1,06 (s)		3H-28	21,8
30	27,6	1,03 (s)			27,4

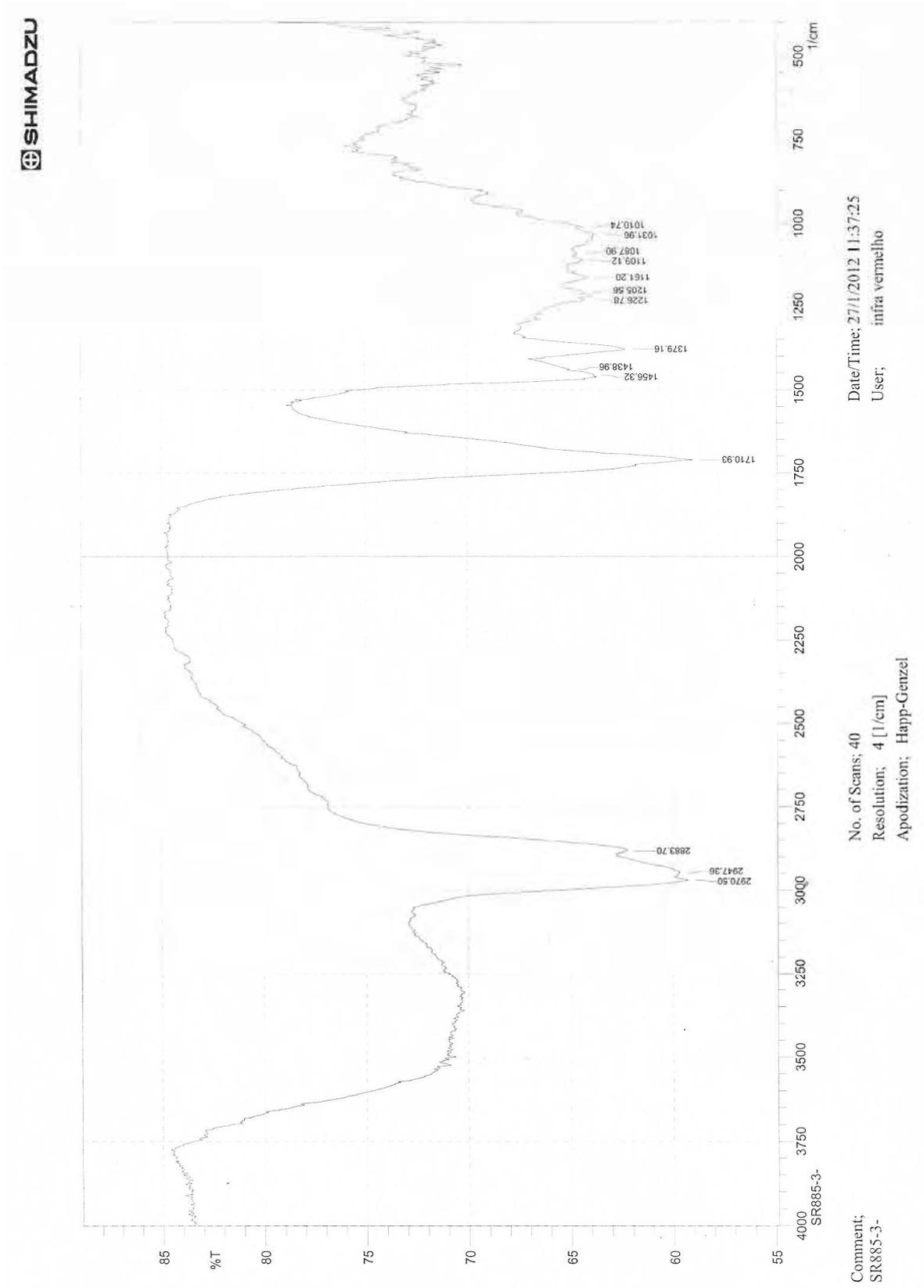


Figura 68: Espectro de infravermelho da substância V.

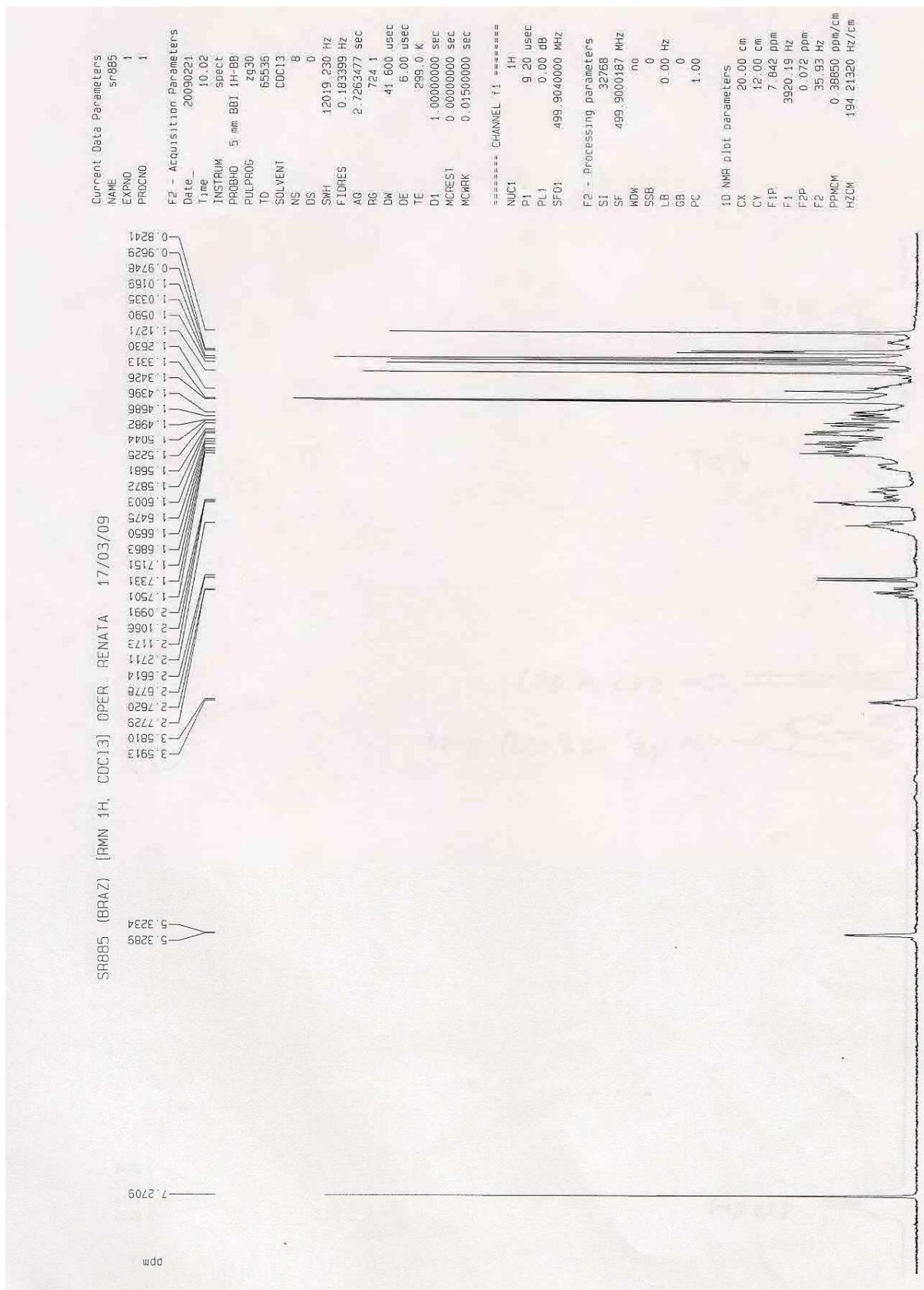


Figura 69: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância V

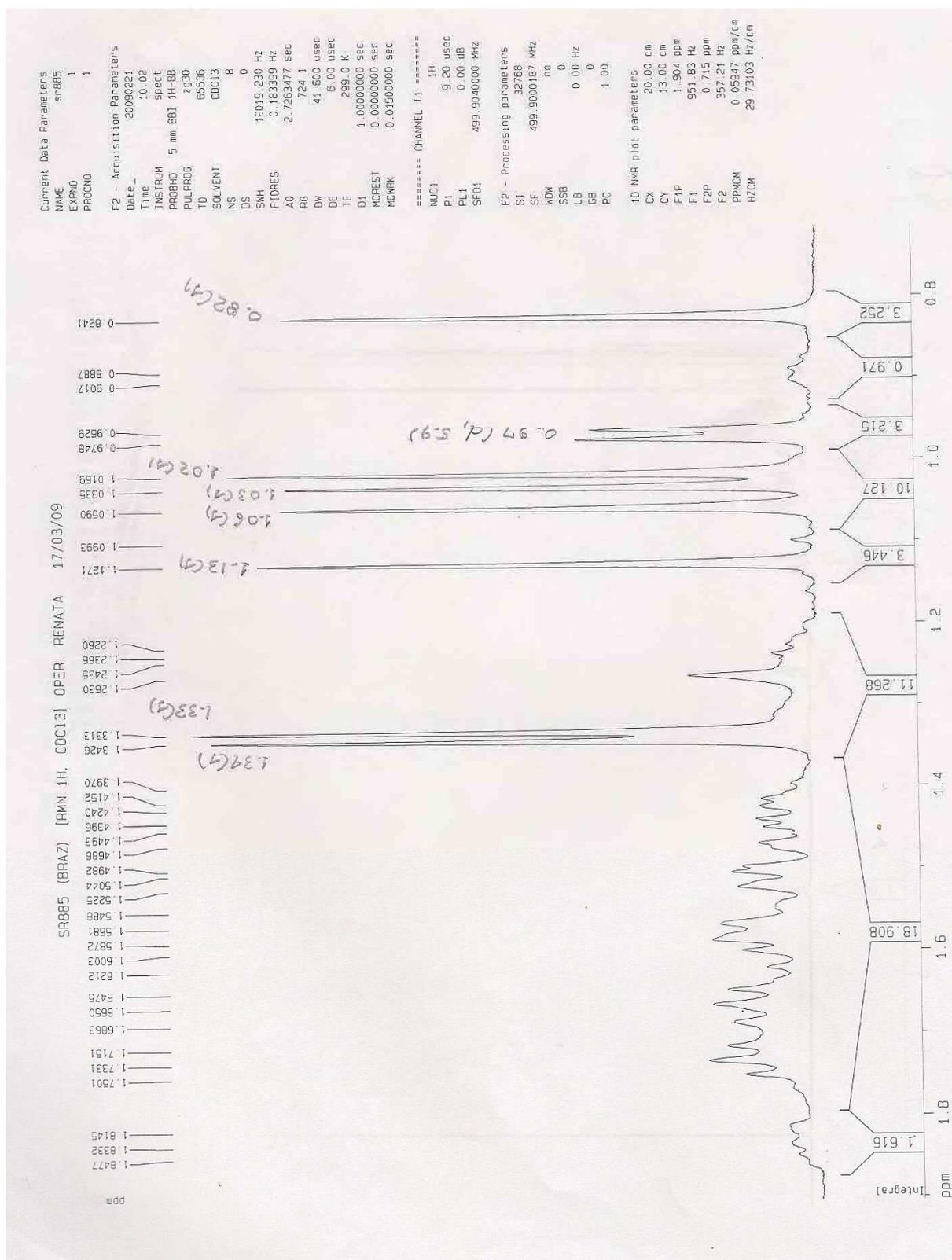


Figura 70: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 1,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância **V**

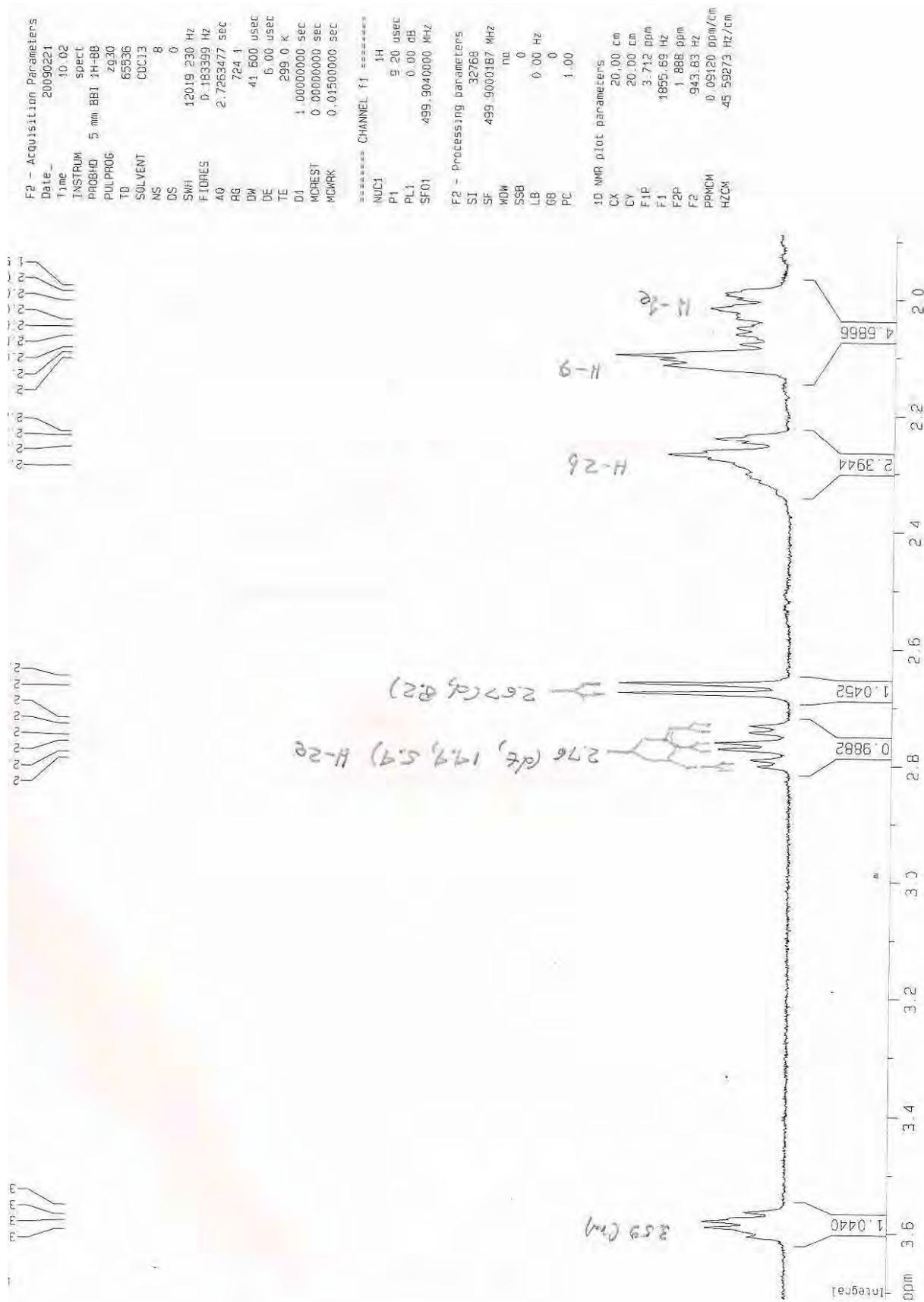


Figura 71: Ampliação da região de δ_{H} 2,0 – 3,6 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância **V**

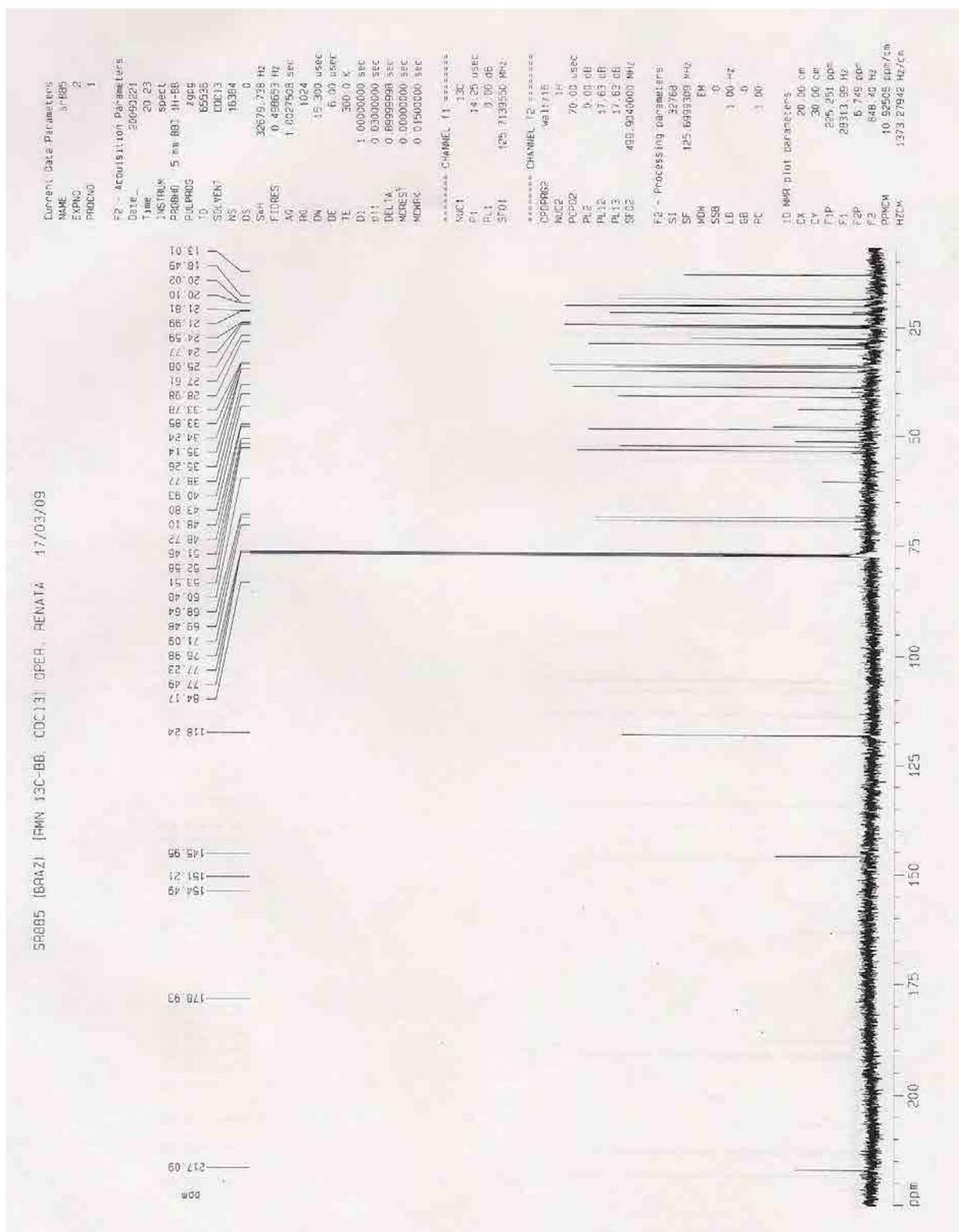


Figura 72: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância V

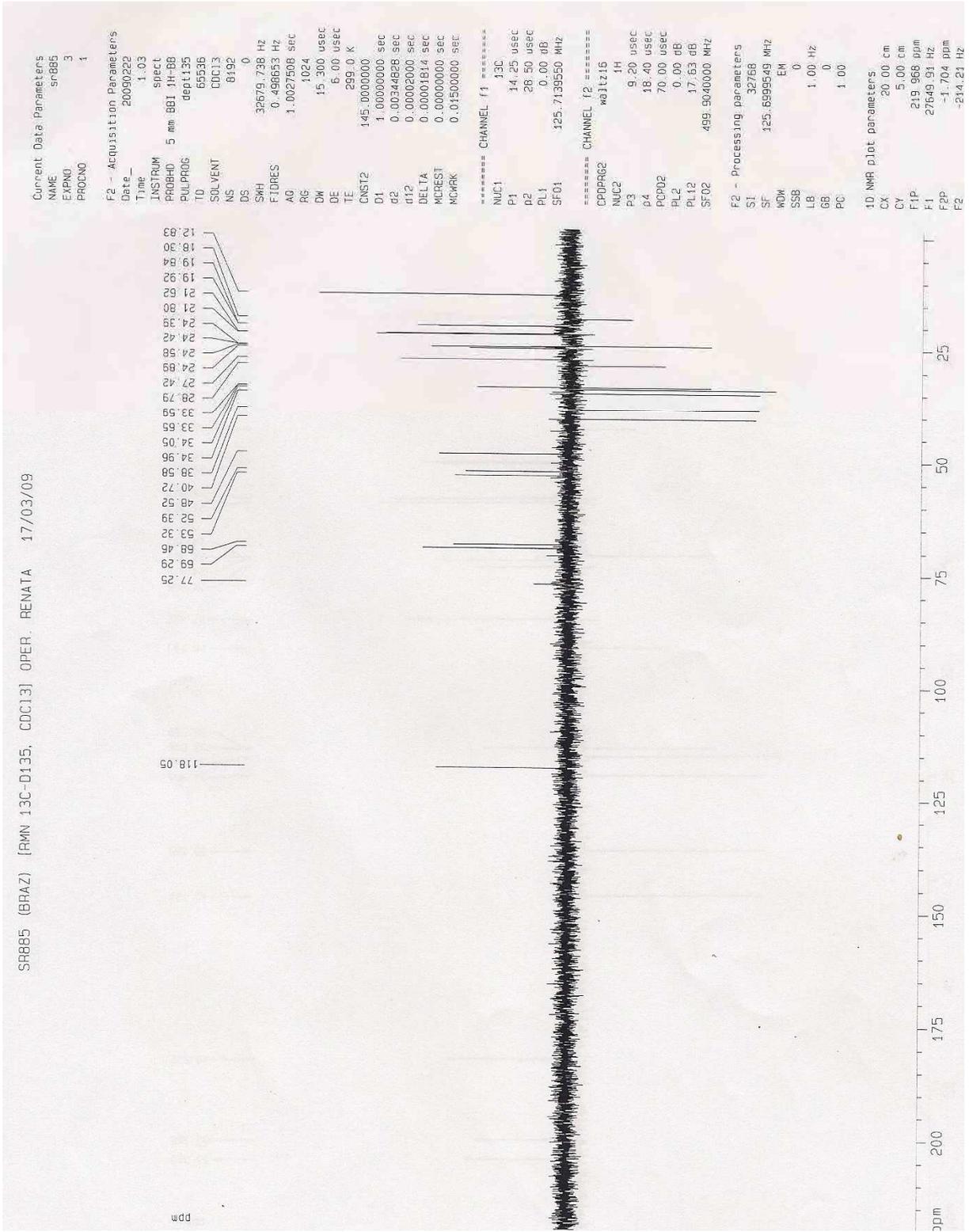


Figura 73: Espectro de RMN ¹³C (DEPT 135⁰, 125 MHz) em CDCl₃ da substância V

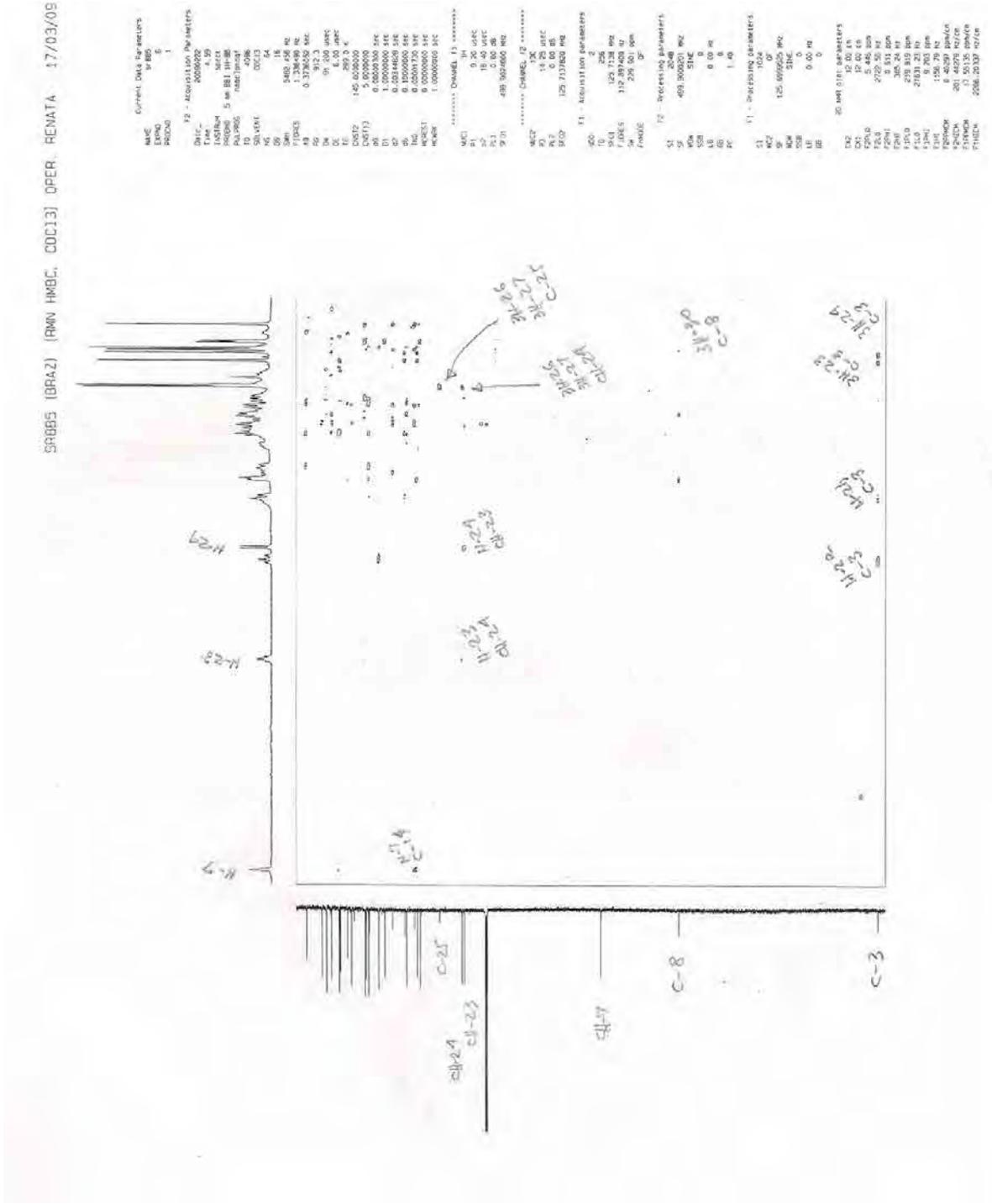


Figura 74: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ da substância V

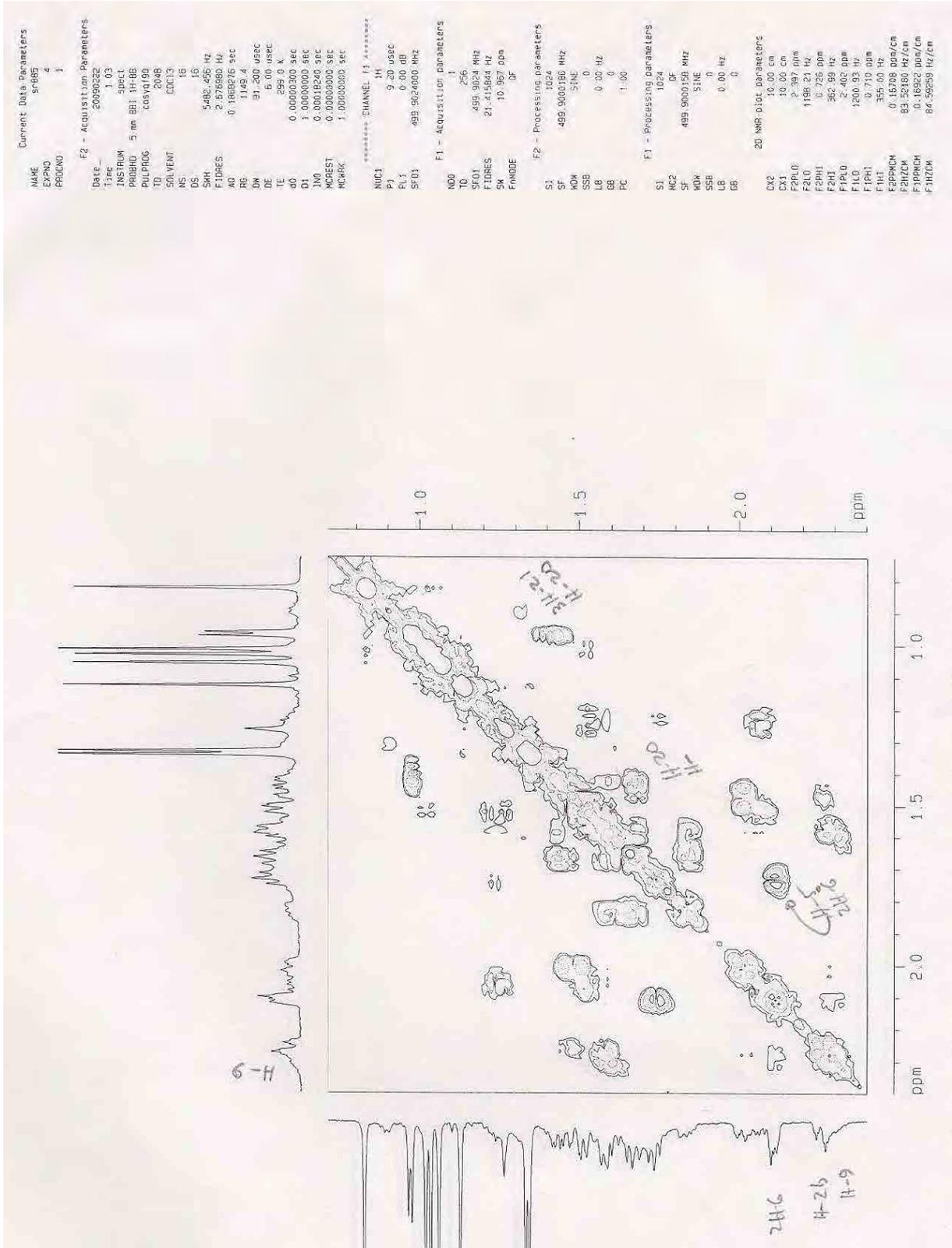
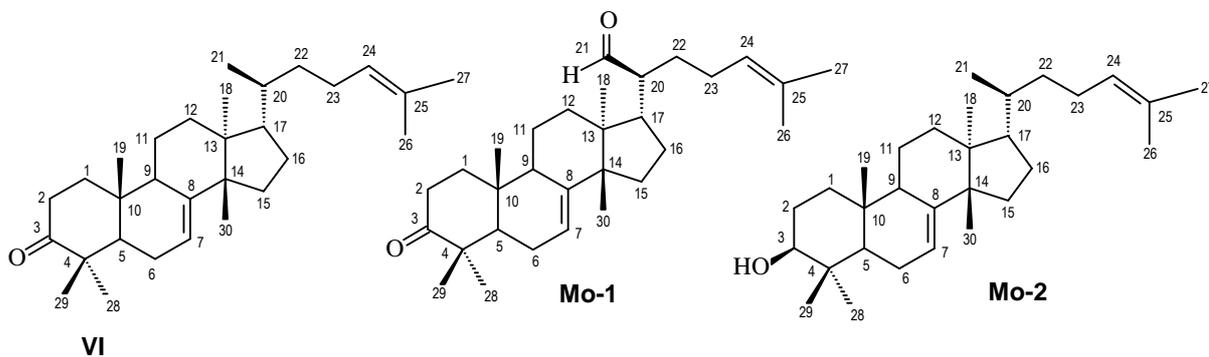


Figura 78: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância V

Determinação estrutural da substância VI



A substância **VI**, isolada do extrato metanólico das raízes de *S. suffruticosa*, apresentou-se como sólido amorfo de cor branca.

O espectro na região do infravermelho (**Figura 80**, p. 192) da amostra apresentou bandas de absorção relativas ao estiramento de um grupo carbonila em 1722 cm^{-1} , bandas de absorção em 2968 , 2931 e 2875 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C-H para carbonos sp^3 , bandas em 1379 e 1469 cm^{-1} referentes ao estiramento das ligações de unidades CH_2 .

O espectro de RMN ^{13}C (**Figuras 84 e 85**, p. 196 e 197, **Tabela 39**, p. 190) em conjunto com o mapa de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras 88 e 89**, p. 200 e 201, **Tabela 39**, p. 190) da substância **VI** apresentou sinais para 30 átomos de carbono, sendo oito sinais para carbonos metílicos (CH_3) em δ_{C} 21,8 (CH_3 -18), 12,9 (CH_3 -19), 18,3 (CH_3 -21), 25,7 (CH_3 -26), 17,6 (CH_3 -27), 24,6 (CH_3 -28), 21,6 (CH_3 -29) e 27,5 (CH_3 -30), nove sinais para carbonos metilênicos (CH_2) em δ_{C} 38,5 (CH_2 -1), 35,0 (CH_2 -2), 34,3 (CH_2 -6), 18,3 (CH_2 -11), 33,7 (CH_2 -12), 34,1 (CH_2 -15), 28,2 (CH_2 -16), 36,2 (CH_2 -22) e 25,0 (CH_2 -23), seis sinais para carbonos metínicos (CH) em δ_{C} 53,0 (CH-5), 117,8 (CH-7), 48,5 (CH-9), 53,4 (CH-17), 35,9 (CH-20) e 125,2 (CH-24) e sete sinais para átomos de carbonos quaternários em δ_{C} 217,0 (O=C-3), 47,9 (C-4), 146,0 (C-8), 35,0 (C-10), 43,5 (C-13), 51,2 (C-14) e 131,0 (C-25).

A fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$ da substância **VI** foi estabelecida com base na análise do espectro de massas, que apresenta pico do íon molecular a $m/z= 424$ Dalton, juntamente com presença de 30 sinais de carbono no espectro de RMN ^{13}C , o qual mostram a presença de sete carbonos quaternários, seis carbonos metínicos, nove metilênicos e oito metílicos. Este conjunto de dados permite propor a fórmula molecular para a substância **VI**, bem como um IDH igual a sete.

Os sinais no espectro de RMN ^{13}C (**Figuras** 84 e 85, p. 196 e 197, **Tabela** 39, p. 190) em δ_{C} 117,8 (CH-7), 146,0 (C-8) e δ_{C} 27,5 (CH₃-30), indicam que o triterpeno em questão trata-se de um triterpeno com esqueleto tirucalânico que possui um esqueleto tetracíclico (VIEIRA, 1995).

A análise dos espectros de RMN ^1H (**Figura** 81-83, p. 193-195, **Tabela** 39, p. 190) para o triterpeno **VI** revela a presença de um grupo cetona ligada ao átomo de carbono C-3 (δ_{C} 217,0) no anel A, através do deslocamento químico e da multiplicidade do hidrogênio H-2_{ax} em δ_{H} 2,75 (*dt*, $J= 5,4$ e $14,6$ Hz).

A função cetona presente no átomo de carbono C-3 no anel A, pode ser comprovada através das correlações heteronucleares a longa distância $^3J_{\text{HC}}$ entre o carbono C-3 em δ_{C} 217,0 com os dois grupos metila em δ_{H} 1,04 (Me-28 e Me-29), apresentada no mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figura** 86 e 87, p. 198 e 199, **Tabela** 39, p. 190).

A ligação dupla localizada entre os átomos de carbono CH-7/C-8 pode ser observada através dos sinais em δ_{C} 117,6 (CH-7) e 146,0 (C-8) presentes no espectro de RMN ^{13}C (**Figuras** 84 e 85, p. 196 e 197, **Tabela** 39, p. 190) e confirmada pela correlação à longa distância $^3J_{\text{HC}}$ entre o átomo de carbono C-8 (δ_{C} 146,0) com os hidrogênios do grupo metila (CH₃-30) em δ_{H} 1,00, apresentada no mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figuras** 86 e 87, p. 198 e 199, **Tabela** 39, p. 190).

O espectro de RMN ^1H (**Figuras** 81-83, p. 193-195, **Tabela** 39, p. 190) do triterpeno **VI** apresentou na região de absorção de hidrogênios metilênicos e metílicos, um duplete integrando para três hidrogênios em δ_{H} 0,88 ($J= 6,4$ Hz), referente ao grupo metila Me-21 o qual, juntamente com os outros sete sinais simples, completam oito grupos metílicos do esqueleto tirucalânico, comprovando assim a não oxidação de nenhum destes grupos.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Figuras** 84 e 85, p. 196 e 197, **Tabela** 39, p. 190) do triterpeno **VI** revelou ainda a presença de outra ligação dupla através dos sinais em δ_{C} 131,0 e 125,2, relativos aos átomos de carbono C-25 e CH-24, indicando a proposta para a estrutura da cadeia lateral com uma ligação dupla.

A presença de um tripleto em δ_{H} 5,10 ($J= 7,0$ Hz) no espectro RMN ^1H (**Figuras** 81-83, p. 193-195, **Tabela** 39, p. 190) e confirmado pelo mapa de

correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura 90**, p. 202) acoplando com dois hidrogênios metilênicos confirmam a presença da ligação dupla na cadeia lateral.

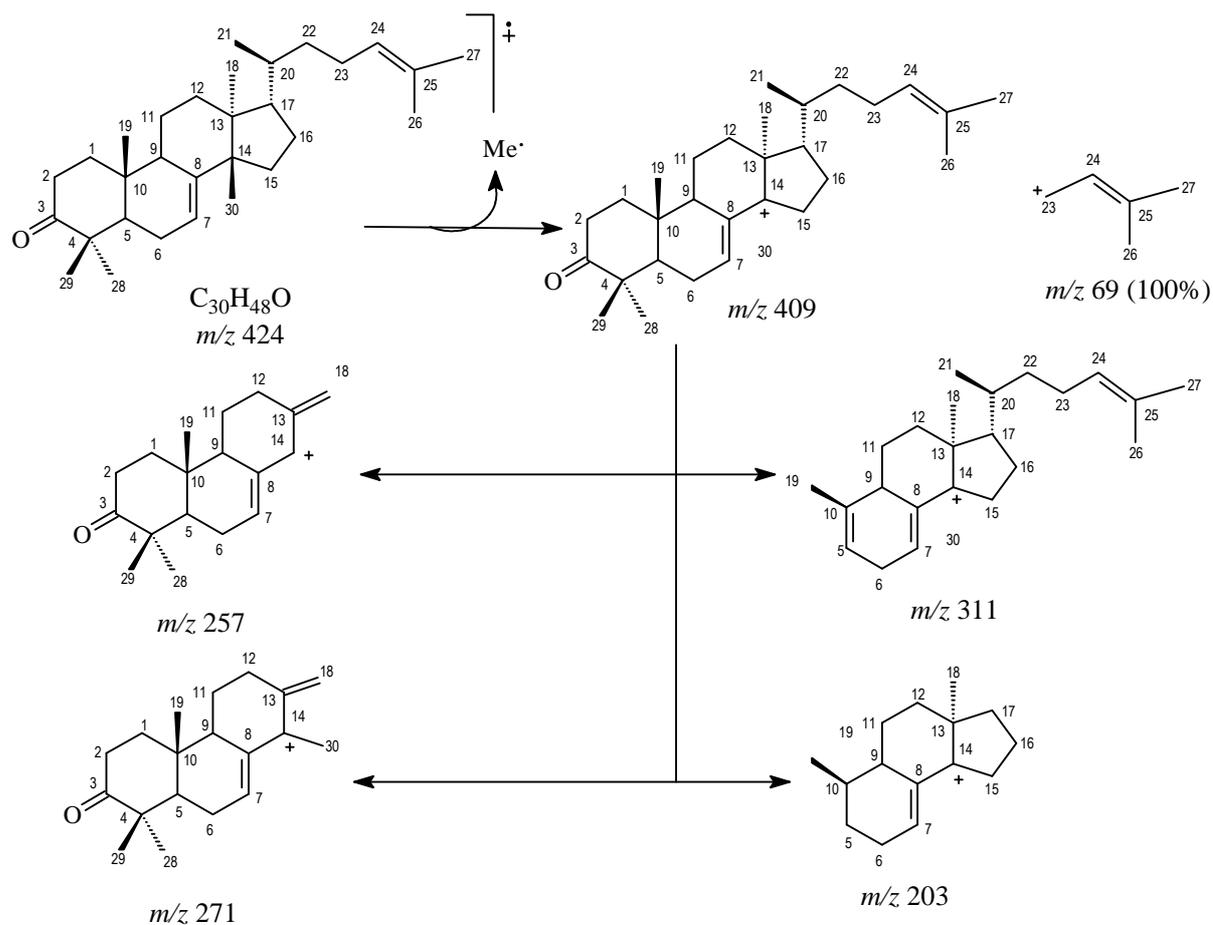
A presença da ligação dupla na cadeia lateral pode ainda ser confirmada pelas correlações a longa distância $^2J_{\text{HC}}$ entre os átomos de carbono C-25 (δ_{C} 131,0) e CH-24 (δ_{C} 125,2) com os seis hidrogênios dos dois grupos metila (CH_3 -26 e CH_3 -27) em δ_{H} 1,60 e 1,70, apresentadas no mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 86 e 87**, p. 198 e 199, **Tabela 39**, p. 190). As demais correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela 39**.

A presença da ligação dupla na cadeia lateral foi corroborada pelo fragmento $m/z= 69$ (100%) apresentado no espectro de CG/EM (**Figura 79**, p. 191, **Esquema 2**, p. 218).

Os dados espectrais de RMN ^{13}C e ^1H descritos na **Tabela 39** abaixo para substância **VI** estão de acordo com os dados descritos na literatura para o triterpeno (13 α ,14 β ,7 α)-lanosta-7,24-dien-3-ona, confirmando assim a proposta estrutural para o triterpeno **VI**.

Tabela 39: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno **VI**, e as comparações com valores da literatura (MULHOLLAND et. al., 1998) para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância VI						
	HMQC		HMBC		Mo-1	Mo-2
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{C}
C						
3	217,0	-		3H-28; 3H-29	216,7	216,0
4	47,9	-	3H-28; 3H-29		47,8	47,8
8	146,0	-		3H-30	145,2	145,9
10	35,0	-	3H-19		35,0	34,9
13	43,5	-	3H-18	3H-30	43,3	43,4
14	51,2	-	3H-30	3H-18	50,9	51,1
25	131,0	-	3H-26; 3H-27		132,5	73,2
CH						
5	53,0	1,75		3H-19; 3H-28; 3H-29	55,2	53,1
7	117,8	5,30			118,3	117,8
9	48,5	2,27		3H-19	52,2	52,3
17	52,4	1,70		3H-18; 3H-21	48,2	48,4
20	35,9	1,50	3H-21		48,2	35,9
24	125,2	5,10 (t, 7,0)		3H-26; 3H-27	123,5	78,6
CH₂						
1	38,5	1,90; 1,40		3H-19	38,3	38,5
2	35,0	2,75 (dt. 14,6) 2,28			34,8	34,9
6	34,3				24,3	24,3
11	18,3	1,50			17,7	18,2
12	33,7			3H-18	31,9	42,9
15	34,1			3H-30	33,6	34,0
16	28,2				29,2	28,2
22	36,2			3H-21	26,9	28,4
23	25,0	2,08			25,9	33,6
CH₃						
18	21,8	0,80 (s)			21,5	21,5
19	12,9	1,00 (s)			12,7	12,7
21	18,3	0,88 (d, 6,4)		3H-21	205,8	18,2
26	17,6	1,60 (sl)			17,8	24,5
27	25,7	1,70 (sl)			24,5	26,5
28	24,6	1,04 (s)		3H-29	25,6	23,1
29	21,6	1,04 (s)		3H-28	22,8	21,9
30	27,5	1,00 (s)			27,2	27,4



Esquema 2: Proposta mecânica dos principais fragmentos de massas (70 eV) para a substância VI.

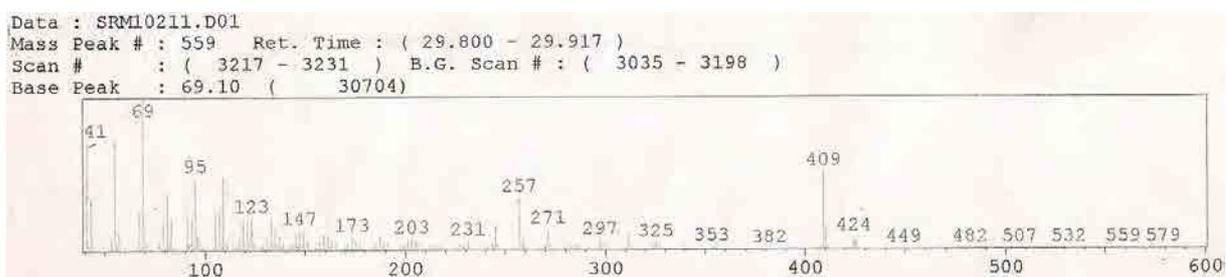
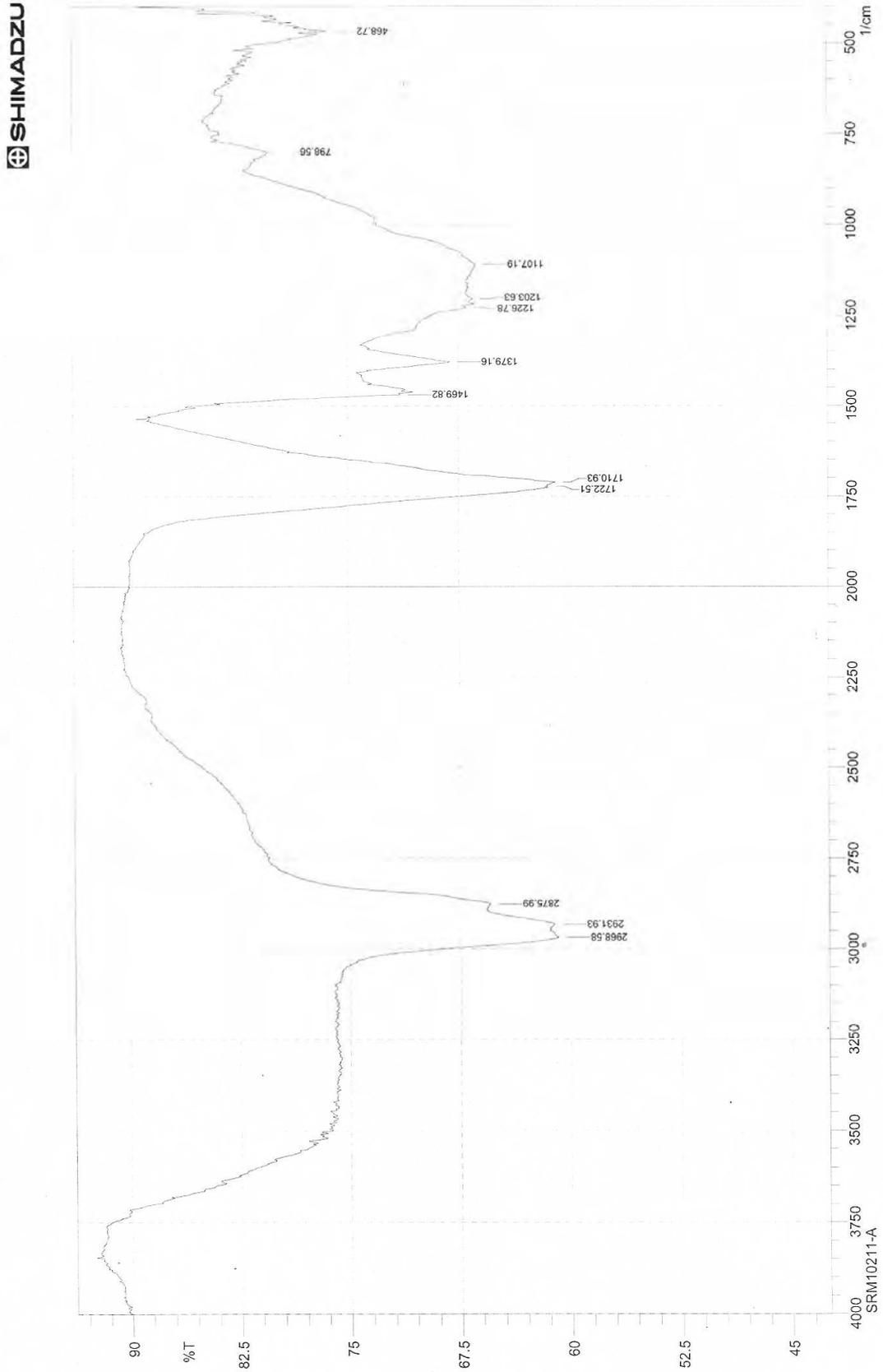


Figura 79: Espectro de massas da substância VI



Date/Time; 27/11/2012 11:27:41
User; infra vermelho

No. of Scans;
Resolution;
Apodization;

Comment;
SRM10211-A

Figura 80: Espectro de infravermelho da substância VI

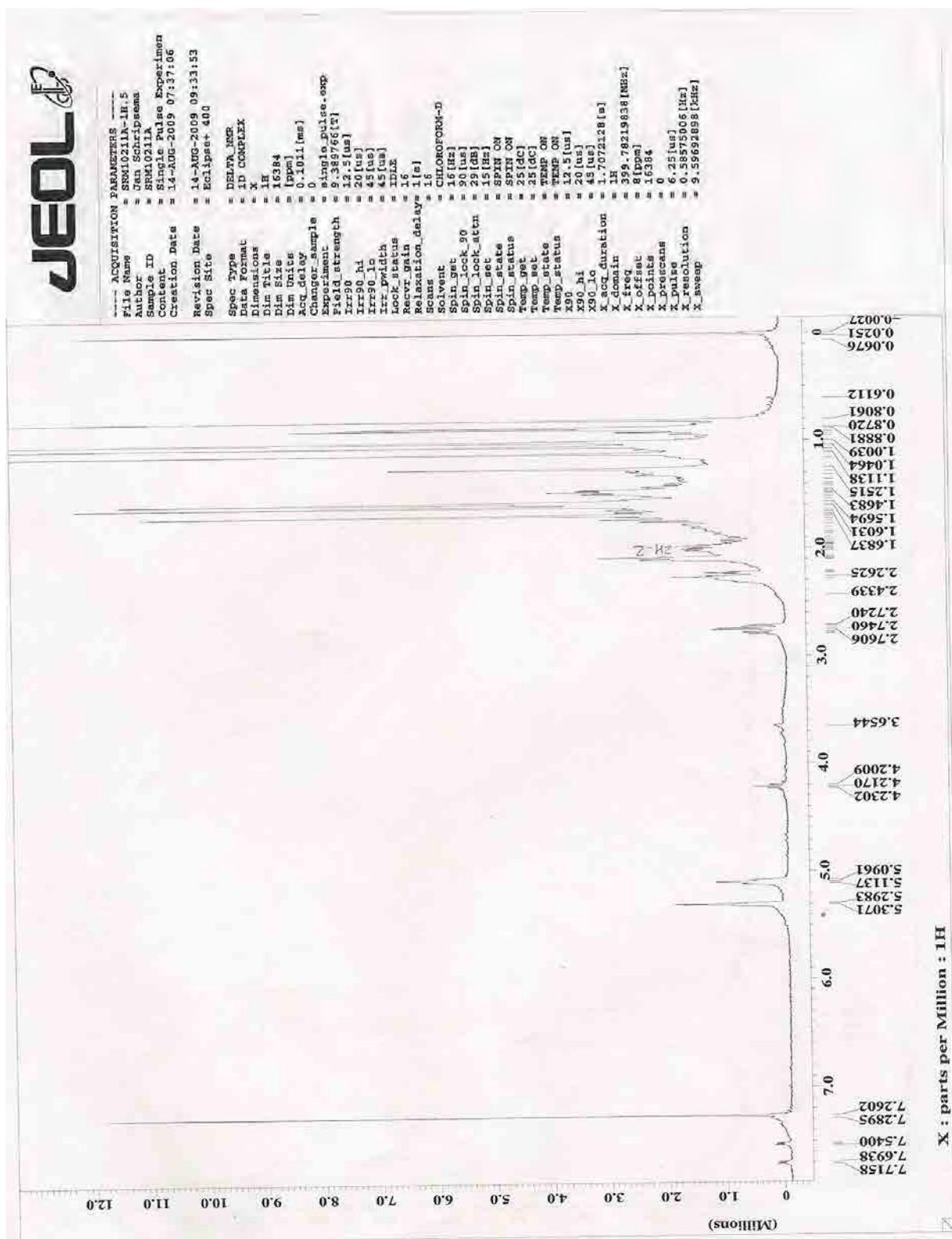


Figura 81: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância VI

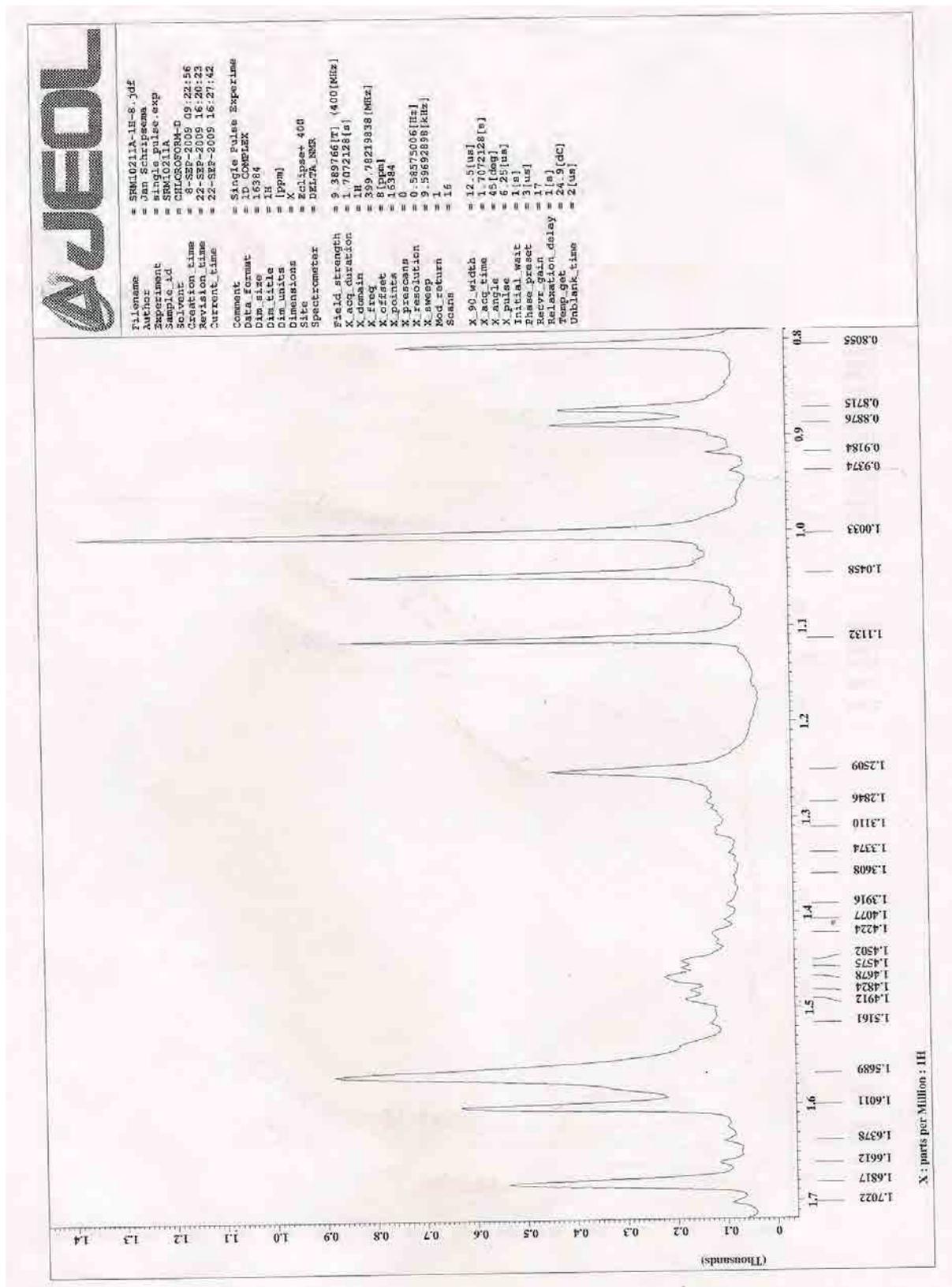


Figura 82: Ampliação da região de δ_{H} 0,8 – 1,7 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância VI

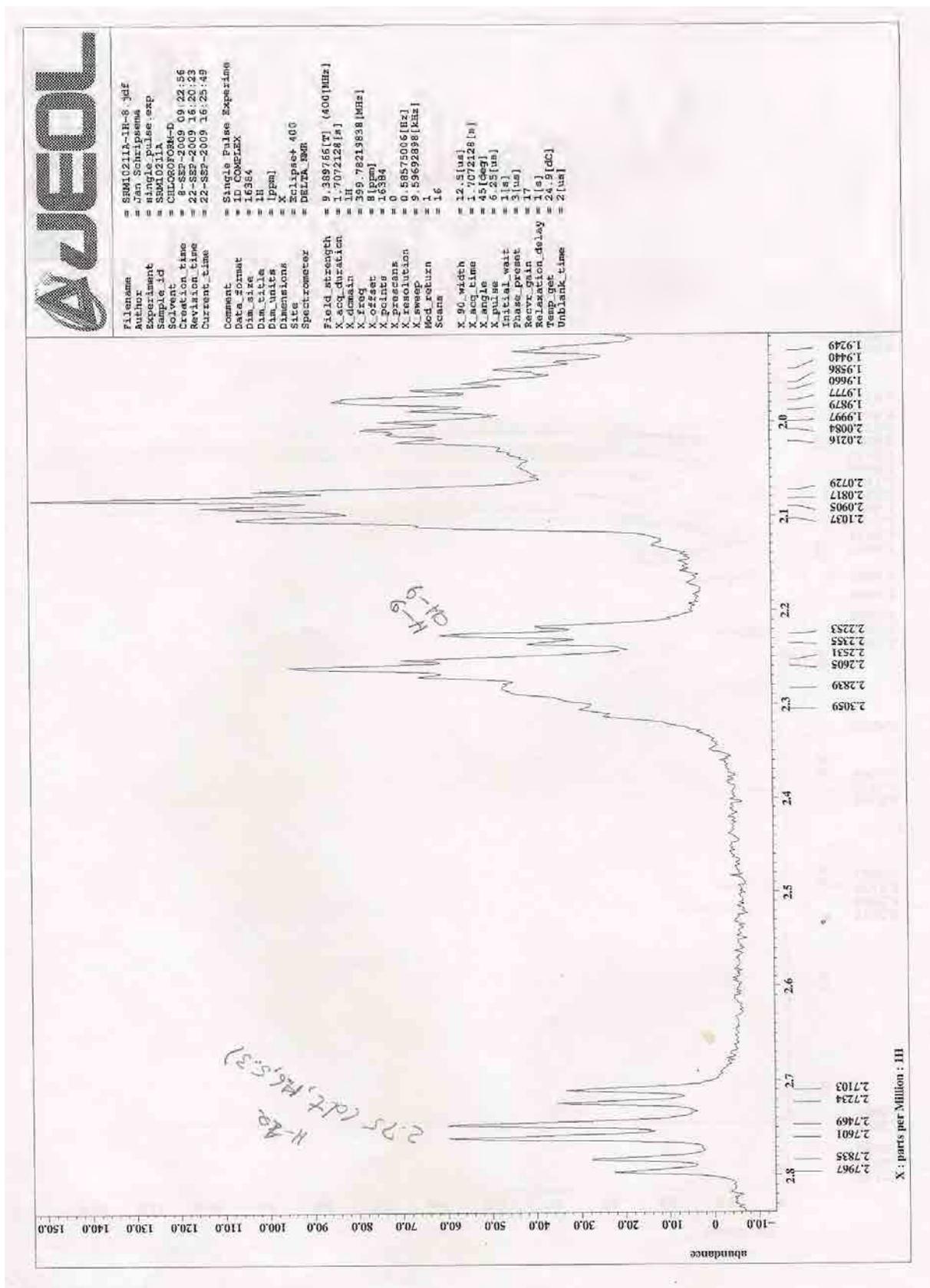


Figura 83: Ampliação da região de δ_{H} 1,8 – 2,8 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância **VI**

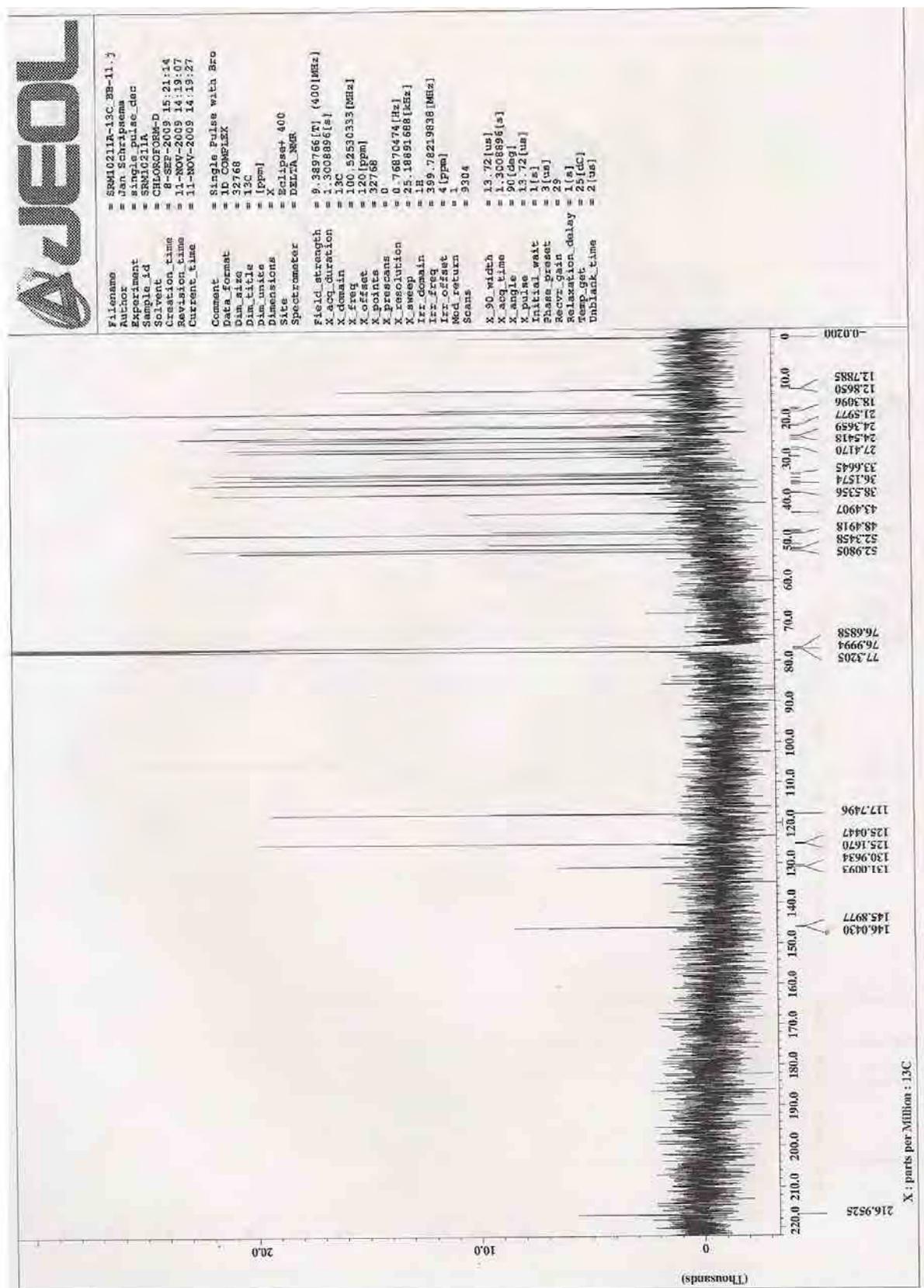


Figura 84: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância VI

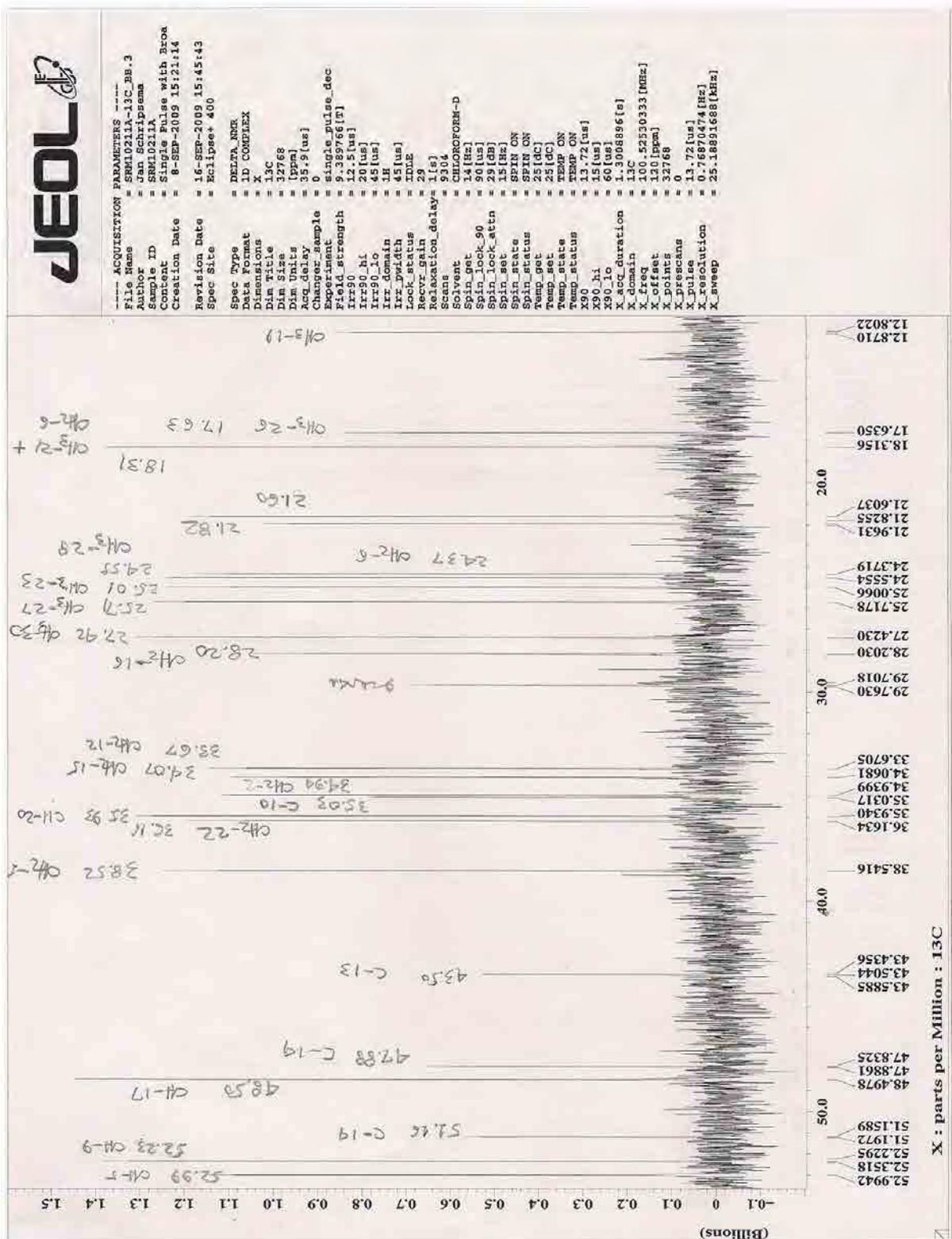


Figura 85: Ampliação da região de δ_c 12,0–53,0 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da substância VI

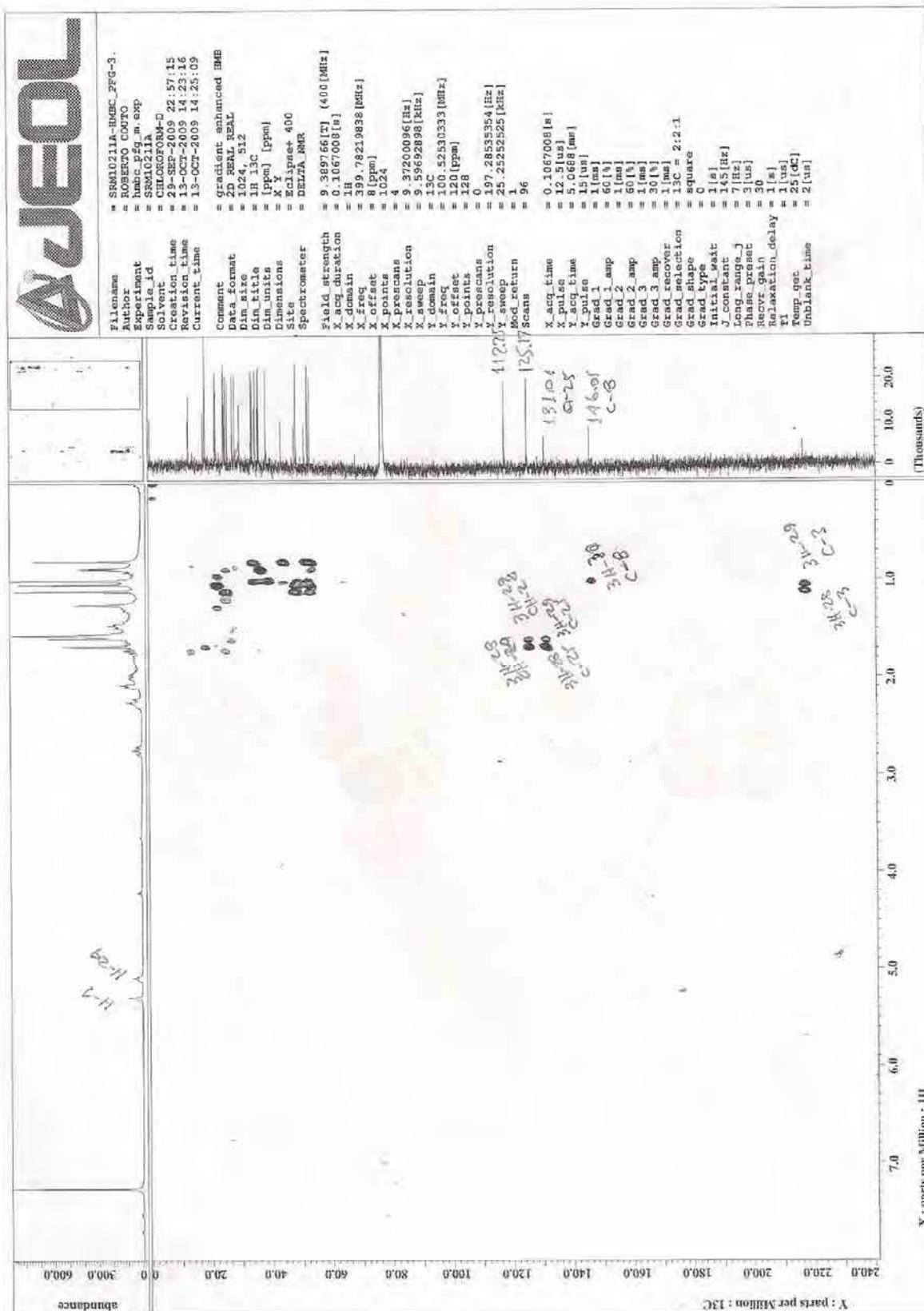


Figura 86: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl₃ da substância VI

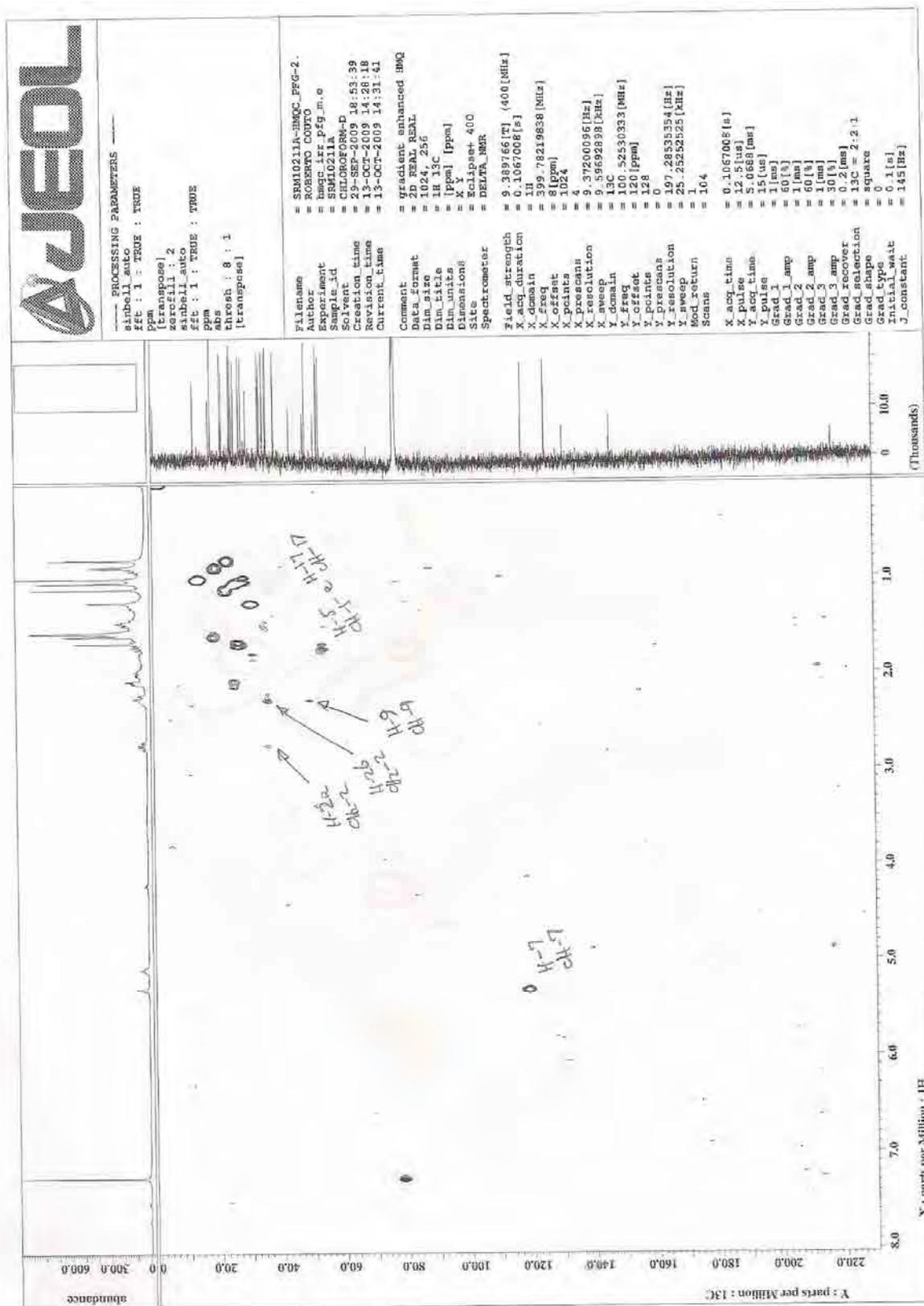


Figura 88: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância VI

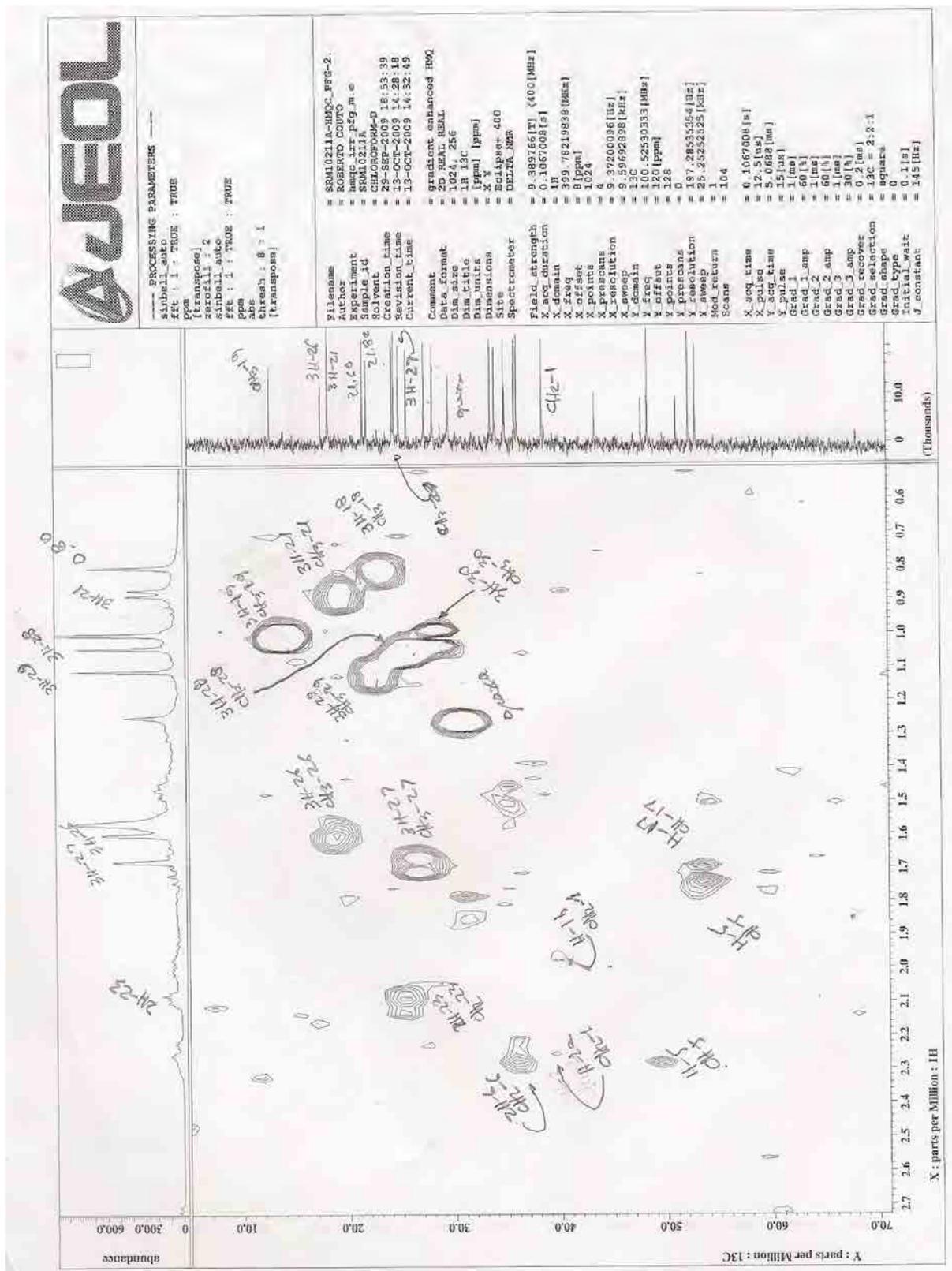
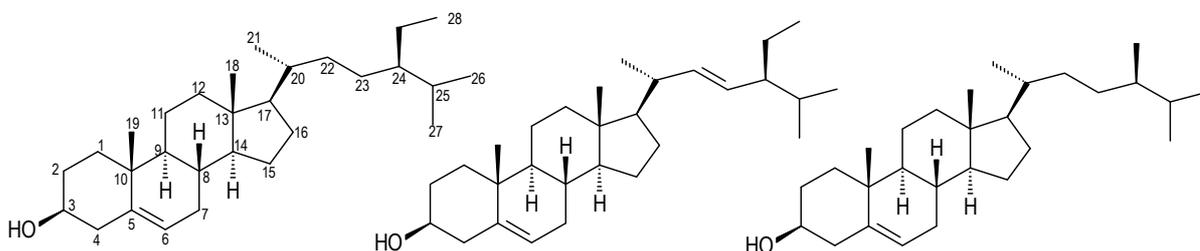


Figura 89: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância VI

Determinação estrutural da mistura VII



A mistura **VII**, um sólido branco, foi isolada do extrato de *S. subcymosa* como uma mistura de sitosterol, estigmasterol e campesterol. Da espécie *S. suffruticosa*, foi isolada uma mistura de sitosterol e estigmasterol, como um sólido branco.

Os fitoesteroides mais comuns são o β -sitosterol e o estigmasterol que freqüentemente são encontrados dentro do reino vegetal (MOREIRA, 2009). Essas substâncias geralmente ocorrem em misturas devido as suas semelhanças estruturais, dificultando suas separações através de técnicas cromatográficas usuais. Suas identificações vêm sendo feitas através de CG/EM e RMN ^{13}C .

Na análise do espectro de RMN ^1H (**Figuras 92 e 93**, pág. 207 e 208, **Tabela 40**, pág.205) pode se observar um grande acúmulo de sinais intensos na região de δ_{H} 0,69 a 2,3 que pode ser atribuído aos vários grupos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos comprovando a existência de um esqueleto esteroidal.

Em δ_{H} 3,54 pode-se observar a presença de um multipletto, característico de um átomo de hidrogênio oxigenado, atribuindo esse sinal ao H-3. Um dupletto em δ_{H} 5,36 característico de um átomo de hidrogênio olefínico do esqueleto esteroidal pode ser relacionado ao H-6 desse esqueleto, comum a todos os compostos da mistura.

A presença do estigmasterol na mistura pode ser confirmada pelos sinais no espectro de RMN ^1H (**Figuras 92 e 93**, p. 207 e 208, **Tabela 40**, p. 205) em δ_{H} 5,00 (dd, $J= 8,76$ e $15,16$ Hz, H-23) e δ_{H} 5,13 (dd, $J= 8,56$ e $15,12$ Hz, H-22) indicando a presença de hidrogênios olefínicos de cadeia lateral.

No espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras 94 e 95**, p. 209 e 210, **Tabela 40**, p. 205) podemos observar os sinais em δ_{C} 121,72 e 140,76, que podemos atribuir aos C-6 e C-5, o sinal em δ_{C} 71,78 que é o sinal correspondente de um carbono oxigenado, indicando a presença de um grupamento hidroxila no átomo de carbono CH-3, comum a todas as estruturas propostas. Os sinais em δ_{C} 129,3 e 138,3 (C-23

e C-22), presentes somente no esteróide estigmasterol, confirmando sua presença na mistura.

O campesterol apresenta uma grande semelhança com o sitosterol, com exceção de um grupo metilênico a menos em C-24 na cadeia lateral, o que o torna praticamente indistinguível do sitosterol.

Pela análise dos dados de CG/EM pode-se confirmar a presença dos três esteróides na mistura. Foram obtidos sinais com tempo de retenção $t_R = 29,5$ min. (19,16%), $t_R = 30,2$ min. (17,03%) e $t_R = 31,9$ min. (57,7%). Os espectros de massas obtidos para cada sinal permitiu identificar essas substâncias como o esteróide campesterol ($m/z = 400$), esteróide estigmasterol ($m/z = 412$) e o esteróide β -sitosterol ($m/z = 414$) (**Figura 91**, p. 206).

Os dados escritos em conjunto com os dados existentes na literatura para esses compostos (MOREIRA, 2009) confirma a mistura proposta acima como sendo uma mistura dos esteróides campesterol, estigmasterol e β -sitosterol.

Os dados de RMN ^{13}C e ^1H encontram-se descritos na **Tabela 40**.

Tabela 40: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da mistura dos esteróides **VII**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo-1 (sitosterol)**, **Mo-2 (estigmasterol)** e **Mo-3 (campesterol)**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Mistura VII									
	HMQC						Mo-1	Mo-2	Mo-3*
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
C									
5	140,8	-	140,8	-	140,8	-	140,7	140,7	140,7
10	36,2	-	36,2	-	36,2	-	36,1	36,1	36,1
13	42,3	-	42,3	-	42,3	-	42,3	42,3	42,3
CH									
3	71,8	3,54 (m)	71,8	3,54 (m)	71,8	3,54 (m)	71,8	71,8	71,8
6	121,7	5,36 (m)	121,7	5,36 (m)	121,7	5,36 (m)	121,7	121,7	121,7
8	31,9		31,9		31,9		31,9	31,9	31,9
9	50,1		50,1		50,1		50,1	50,1	50,1
14	56,8		56,8		56,8		56,8	56,8	56,8
17	56,1		56,1		56,1		56,0	56,0	56,0
20	39,8		39,8		37,3		39,8	39,8	37,3
22	-	-	138,3	5,13 (dd, 8,56; 15,12)	-	-	-	138,3	-
23	-	-	129,3	5,00 (dd, 8,76; 15,16)	-	-	-	129,3	-
24	45,8		51,2		45,8		45,8	51,2	45,8
25	29,2		31,9		31,9		29,0	31,9	31,9
CH₂									
1	37,3		37,3		37,3		37,3	37,3	37,3
2	31,9		31,92		31,9		31,9	31,9	31,9
4	42,3		42,3		42,3		42,2	42,2	42,2
7	33,9		33,9		33,9		33,9	33,9	33,9
11	21,1		21,1		21,1		21,1	21,1	21,1
12	39,8		39,8		39,8		39,8	39,8	39,8
15	24,31		24,3		24,3		24,3	24,3	24,3
16	28,2		28,2		28,2		28,9	28,9	28,9
22	31,9		-	-			32,0	-	32,0
23	26,0		-	-	31,7		26,0	-	31,6
28	23,1		25,4		-	-	23,0	25,4	-
CH₃									
18	18,3		12,3		12,3		12,3	12,3	12,3
19	19,4		19,4		19,4		19,4	19,4	19,4
21	18,8		20,5		14,1		18,8	20,5	14,1
26	19,8		21,2		21,2		19,8	21,2	21,2
27	19,8		19,8		20,2		19,8	19,8	20,2
28	-	-	-	-	18,3		-	-	18,2
29	11,9		11,9		-	-	11,8	11,9	-

* MOREIRA, 2009

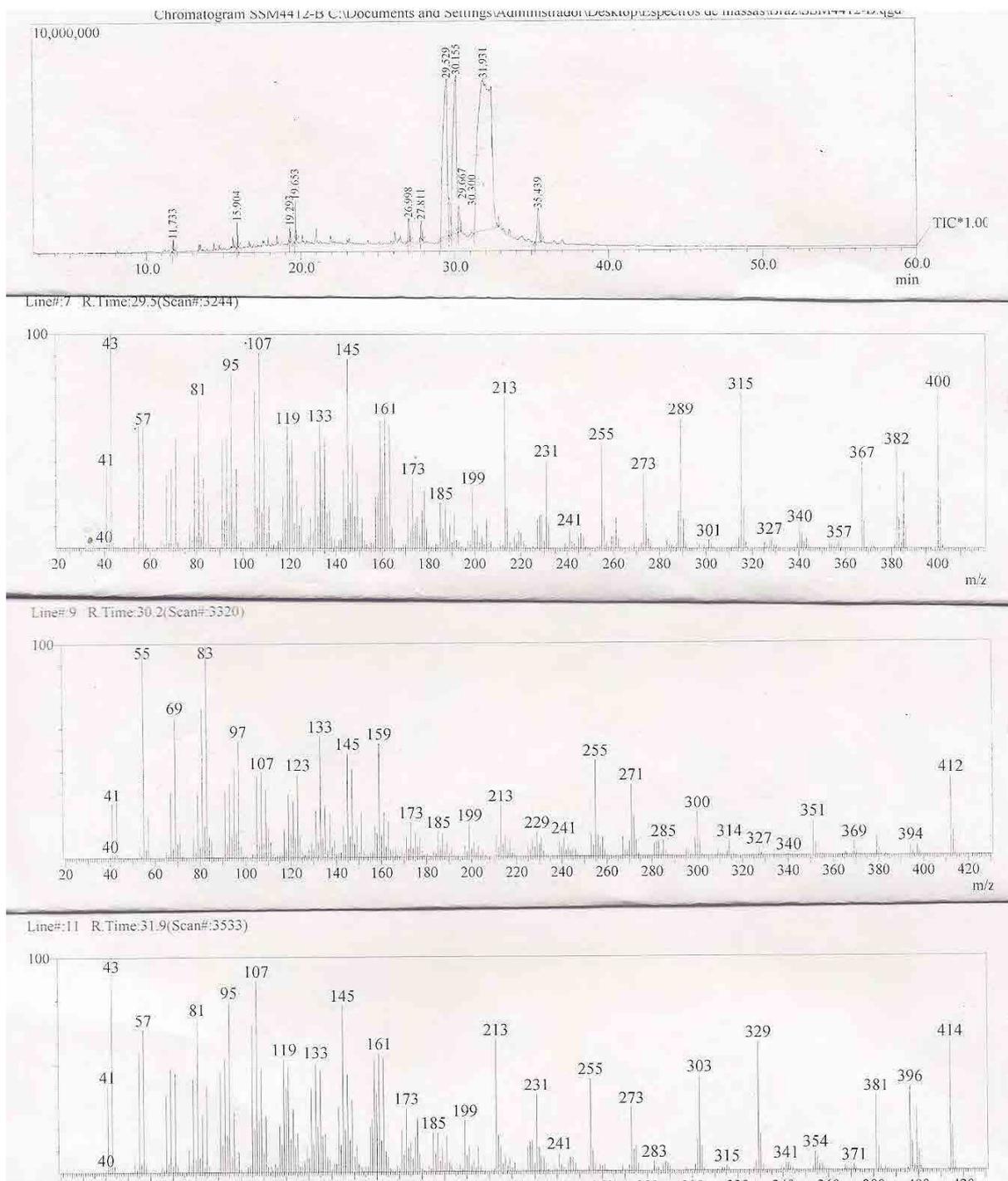


Figura 91: Espectro de CG/EM da mistura VII

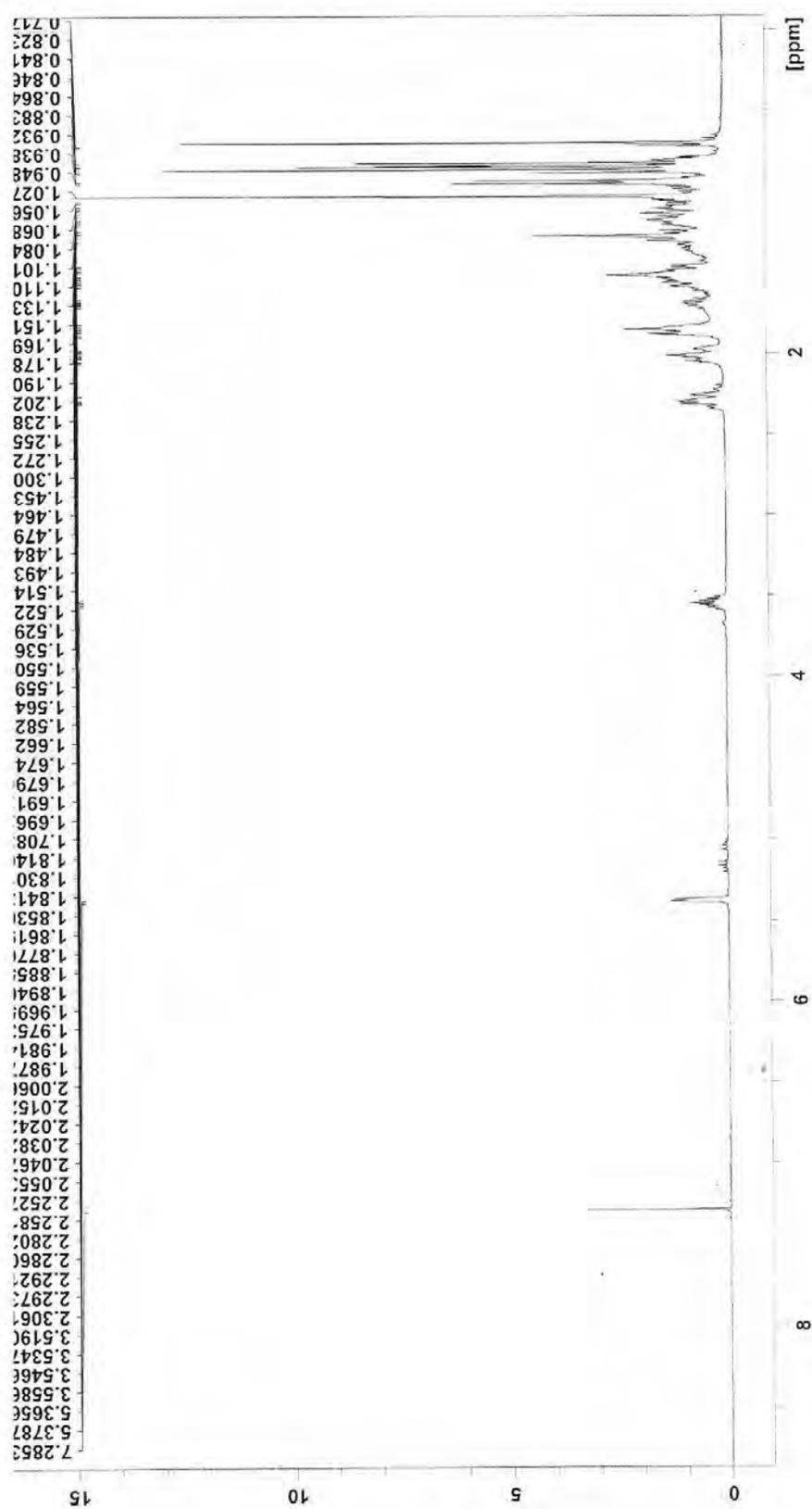


Figura 92: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura VII

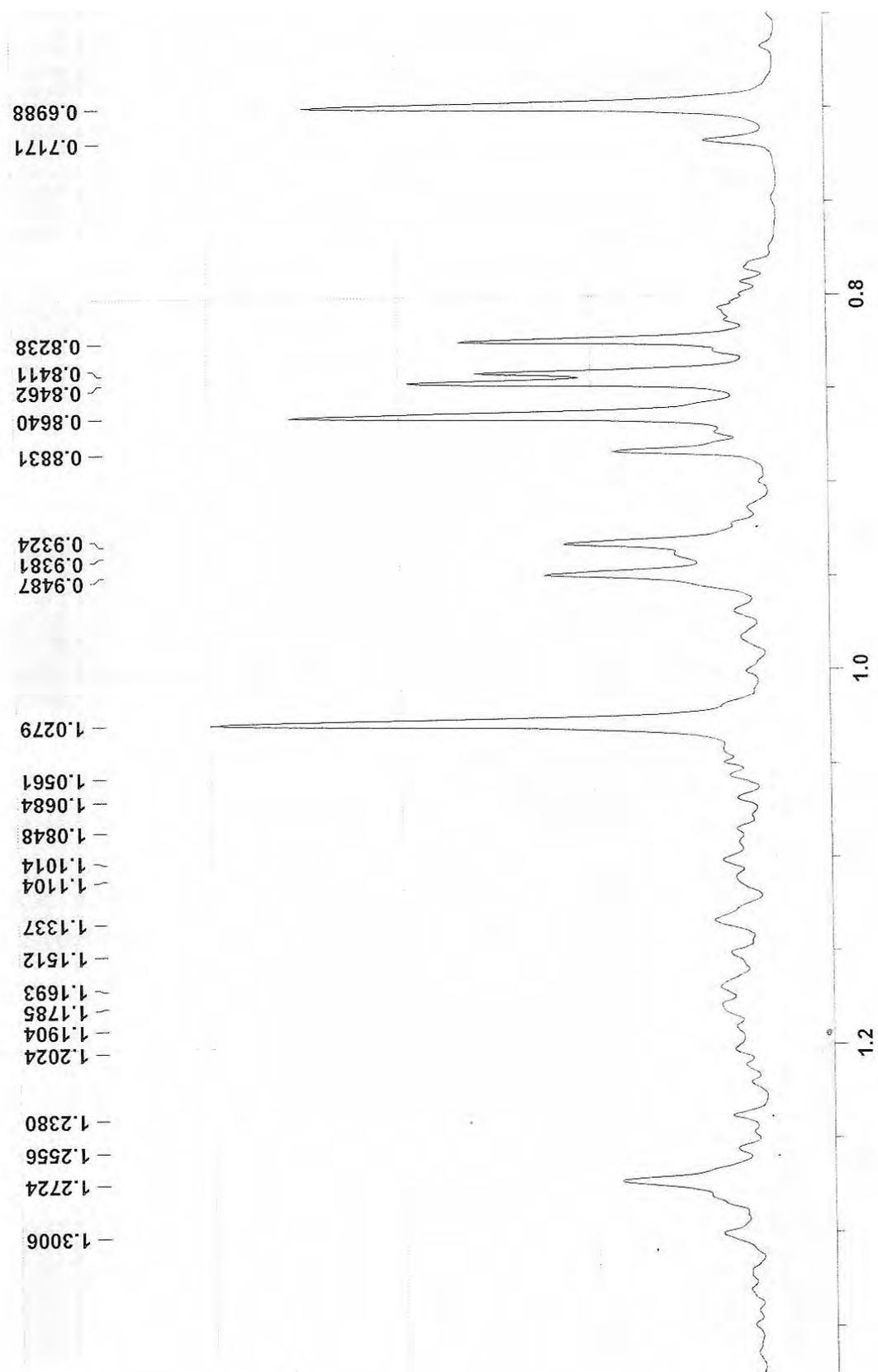


Figura 93: Ampliação da região de δ_{H} 0,6 – 1,4 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura VII

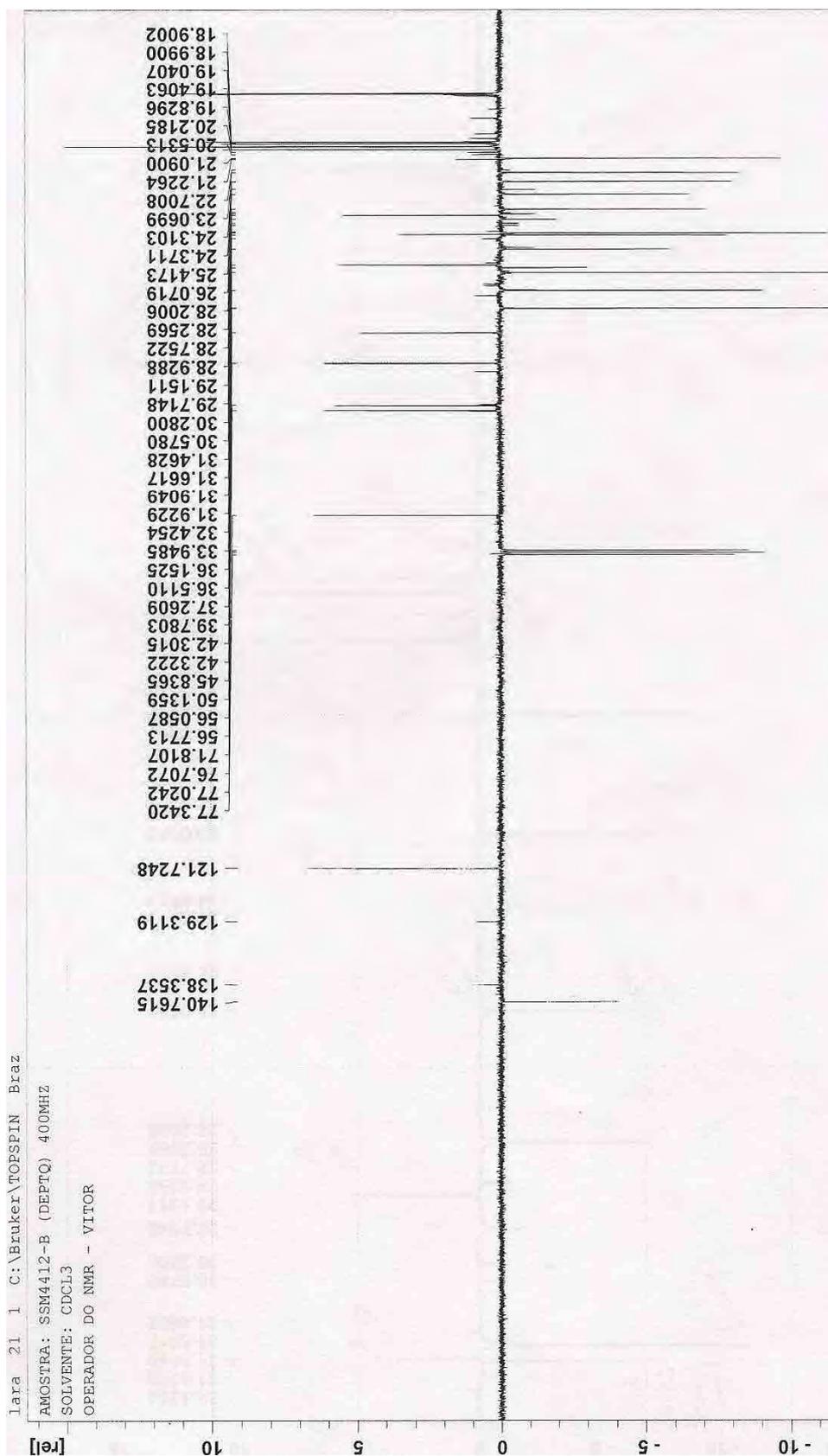


Figura 94: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da mistura VII

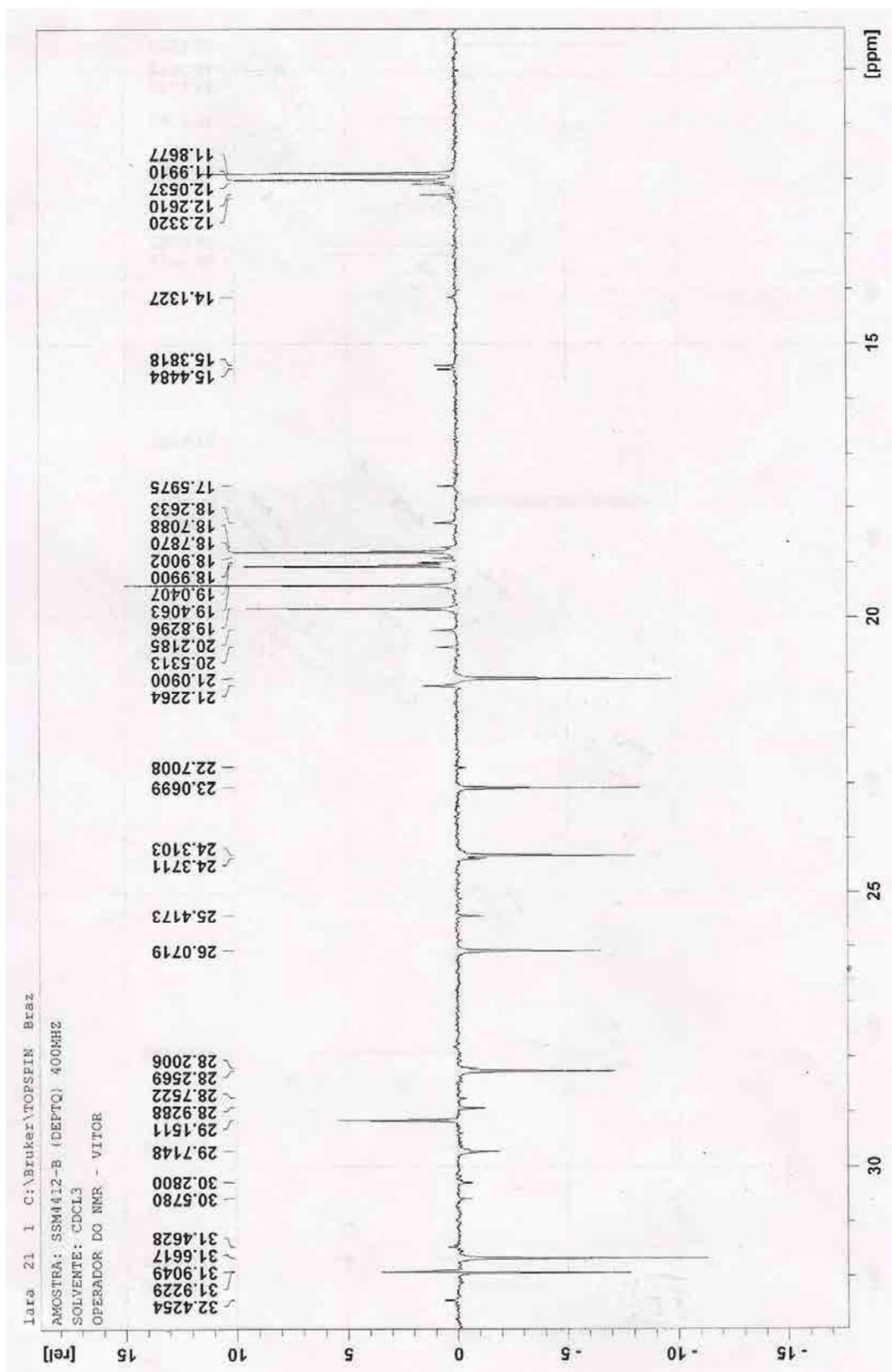
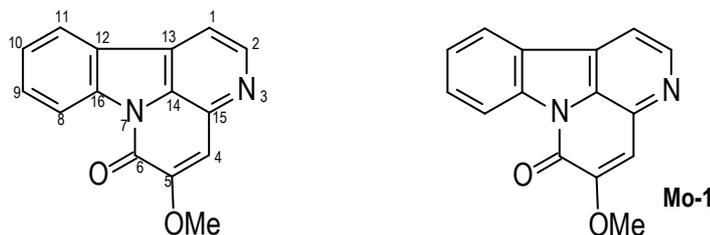


Figura 95: Ampliação da região de δ_C 10,0 – 32,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em $CDCl_3$ da mistura **VII**

Determinação estrutural da substância VIII



A substância **VIII** foi isolada do extrato metanólico das raízes de *S. subcymosa* como um óleo.

A análise dos dados de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 99**, p. 217, **Tabela 41**, p. 213) apresentou somente 8 sinais de átomos de carbono, sendo sete metínicos ligados a carbonos sp^2 e um metílico, característico de grupo metoxila.

Esses dados, em conjunto com os dados do mapa de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 100**, p. 218, **Tabela 41**, p. 213), juntamente com o espectro de CG/EM o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z = 250$ Dalton (**Figura 96**, p. 214) nos permitiram apresentar mais sete átomos relativos a carbonos quaternários, propondo a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ para o alcalóide **VIII** do tipo cantin-6-ona.

O espectro de RMN ^1H (**Figuras 97 e 98**, p. 215 e 216, **Tabela 41**, p. 213) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios de um núcleo benzênico acoplado entre si, mostrado no espectro de ^1H - ^1H -COSY (**Figura 102**, p. 220) em δ_{H} 8,71 (1H, d, $J = 8,2$ Hz; H-8), δ_{H} 7,73 (1H, t, $J = 8,2$ Hz; H-9), δ_{H} 7,56 (1H, t, $J = 8,2$ Hz; H-10), δ_{H} 8,11 (d; $J = 7,7$ Hz; H-11), característico de um núcleo indólico livre de substituintes no anel A (AZOUG et. al., 1995) confirmado pelas correlações heteronucleares (HSQC) (**Figura 101**, p. 219, **Tabela 41**, p. 213) onde se observam as correlações $^1J_{\text{HC}}$ entre CH-8 (δ_{C} 117,6)/H-8 (δ_{H} 8,71), CH-9 (δ_{C} 130,6)/H-9 (δ_{H} 7,73), CH-10 (δ_{C} 125,9)/H-10 (δ_{H} 7,56) e CH-11 (δ_{C} 112,6)/H-11 (δ_{H} 8,11).

A presença do núcleo benzênico livre de substituintes foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figura 100**, p. 218, **Tabela 41**, p. 213) onde se observam as correlações $^3J_{\text{HC}}$ entre C-16 (δ_{C} 139,2)/H-9 (δ_{H} 7,73)/H-11 (δ_{H} 8,11); CH-8 (δ_{C} 117,6)/H-10 (δ_{H} 7,56); CH-10 (δ_{C} 125,9)/H-8 (δ_{H} 8,71); CH-11 (δ_{C} 122,6)/H-9 (δ_{H} 8,11) e C-13 (δ_{C} 128,6)/H-11 (δ_{H} 8,11).

A presença de dois dupletos acoplado entre si apresentados no espectro de RMN ^1H e no mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura** 102, p. 220, **Tabela** 41, p. 213), em δ_{H} 7,86 e δ_{H} 8,78 com uma constante de acoplamento de 5,2 Hz característicos do núcleo indólico de alcalóides com esqueleto cantinônico, os quais apresentam correlações no mapa de correlação heteronuclear HSQC (**Figura** 101, p. 219, **Tabela** 41, p. 213) $^1J_{\text{HC}}$ CH-1 (δ_{C} 113,9)/H-1 (δ_{H} 7,86) e CH-2 (δ_{C} 145,9)/H-2 (δ_{H} 8,78).

A presença de dois dupletos acoplado entre si em δ_{H} 7,86 e δ_{H} 8,78 foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 100, p. 218, **Tabela** 41, p. 213) onde se observam as correlações $^2J_{\text{HC}}$ entre CH-1 (δ_{C} 113,9)/H-2 (δ_{H} 8,78) e CH-2 (δ_{C} 145,9)/H-1 (δ_{H} 7,86) e a $^3J_{\text{HC}}$ entre H-1 (δ_{H} 7,86)/C-12 (δ_{C} 125,4)/C-14 (δ_{C} 127,5) e entre H-2 (δ_{H} 8,78)/C-13 (δ_{C} 128,6)/C-15 (δ_{C} 136,2).

A presença de dois sinais simples um em δ_{H} 7,28 integrando para um hidrogênio e outro em δ_{H} 4,07 integrando para três hidrogênios, relativo a um grupo metoxila reforçam a proposta de um esqueleto cantin-6-ona substituído na posição 5.

A presença destes dois sinais simples em δ_{H} 7,28 e δ_{H} 4,07 foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 100, p. 218, **Tabela** 41, p. 213) onde se observam as correlações $^2J_{\text{HC}}$ entre H-4 (δ_{H} 7,28)/C-15 (δ_{C} 136,2)/C-5 (δ_{C} 154,6) e a $^3J_{\text{HC}}$ com C-14 (δ_{C} 127,5).

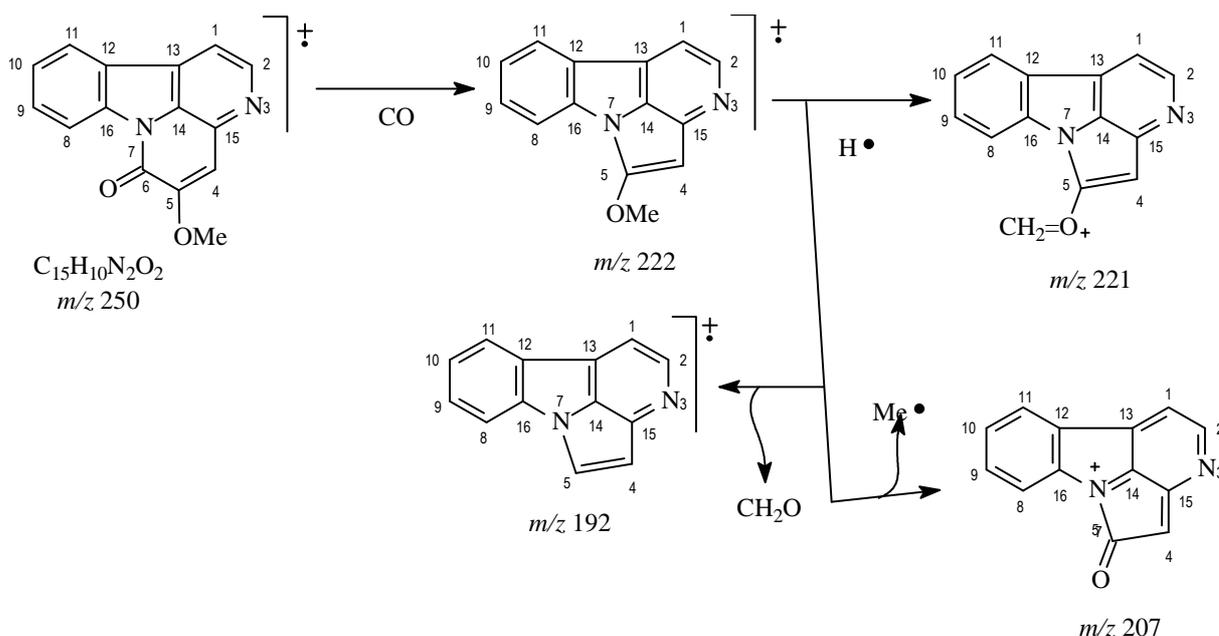
A localização do grupo metoxila na posição 5 no anel lactâmico da molécula, foi definida pela correlação heteronuclear a longa distância (HMBC) (**Figura** 100, p. 218, **Tabela** 41, p. 213) onde se observa a correlação do carbono quaternário a $^3J_{\text{HC}}$ entre C-5 (δ_{C} 154,6) com MeO-5 (δ_{H} 4,07).

A localização do grupo metoxila na posição 5 no anel lactâmico da molécula, foi corroborada pelo fragmento $m/z= 221$ Dalton (**Esquema** 3, p. 213).

O conjunto de dados do alcalóide **VIII** em questão permitiu definir um esqueleto do alcalóide 5-metoxicantín-6-ona (**Mo-1**) (VIEIRA, 1995) um alcalóide já isolado de *Simaba cedron* (VIEIRA, 1995).

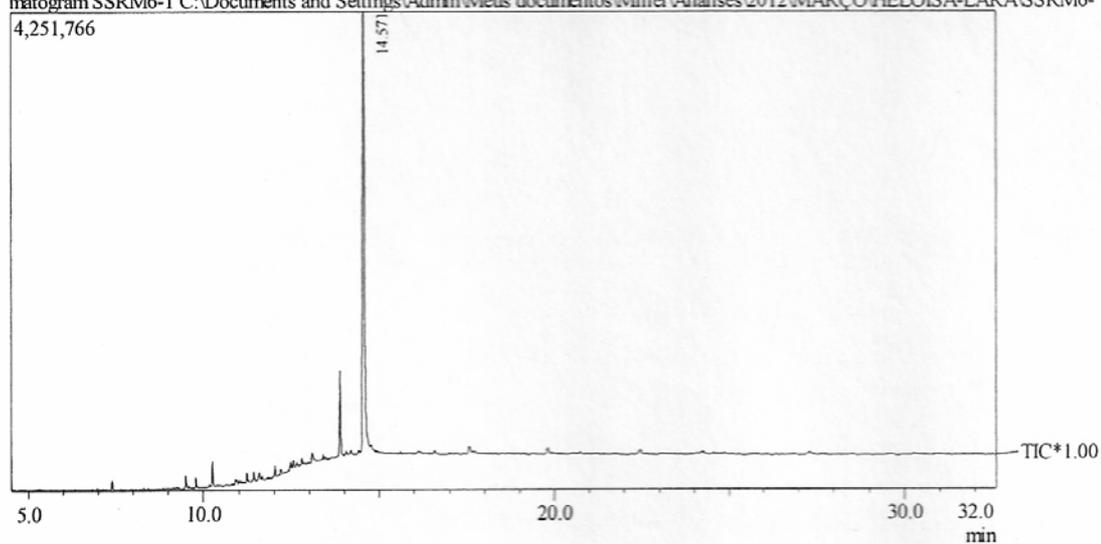
Tabela 41: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HSQC e HMBC do alcalóide **VIII**, e as comparações com valores da literatura, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância VIII						
C	HSQC		HMBC		Mo-1	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{H}
C						
5	154,6	-	H-4	MeO-5	154,4	-
6	154,6	-			155,2	-
12	125,4	-		H-1;	125,1	-
13	128,6	-		H-2; H-11	129,2	-
14	127,5	-		H-1; H-4	127,3	-
15	136,2	-	H-4	H-2	136,7	-
16	139,2	-		H9; H-11	138,9	-
CH						
1	113,9	7,86 (d, 5,1)	H-2		113,7	7,83 (d, 5,1)
2	145,9	8,78 (d, 5,1)	H-1		145,8	8,76 (d, 5,1)
4	109,8	7,28 (s)			109,8	7,12 (s)
8	117,6	8,71 (d, 8,2)		H-10	117,4	8,70 (d, 7,6)
9	130,6	7,73 (d, 8,2)			130,5	7,70 (t, 7,6)
10	125,9	7,56 (t, 8,2)		H-8	125,7	7,53 (t, 7,6)
11	122,6	8,11 (d, 7,7)		H-9	122,6	8,10 (d, 7,6)
CH₃						
MeO-5	57,0	4,07 (s)			56,9	4,07 (s)



Esquema 3: Proposta mecanística dos principais fragmentos para substância **VIII**.

matogram SSRM6-1 C:\Documents and Settings\Admin\Meus documentos\Miller\Análises\2012\MARÇO\HELOISA-LARA\SSRM6-4,251,766



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Peak Report TIC		Height	Height%	A/H	Mark	N
				Area	Area%					
1	14.571	14.517	14.617	11460602	100.00	3443366	100.00	3.32	MI	
				11460602	100.00	3443366	100.00			

BG Mode:None Group 1 - Event 1

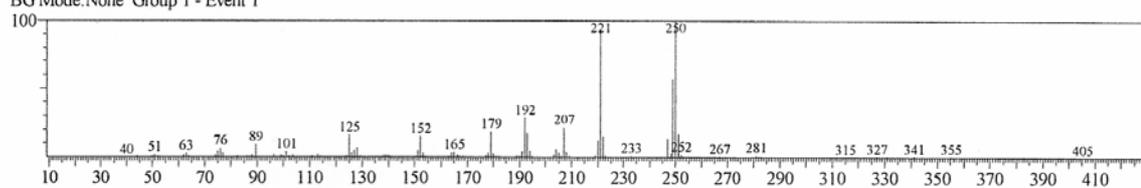


Figura 96: Espectro de CG/EM da substância VIII

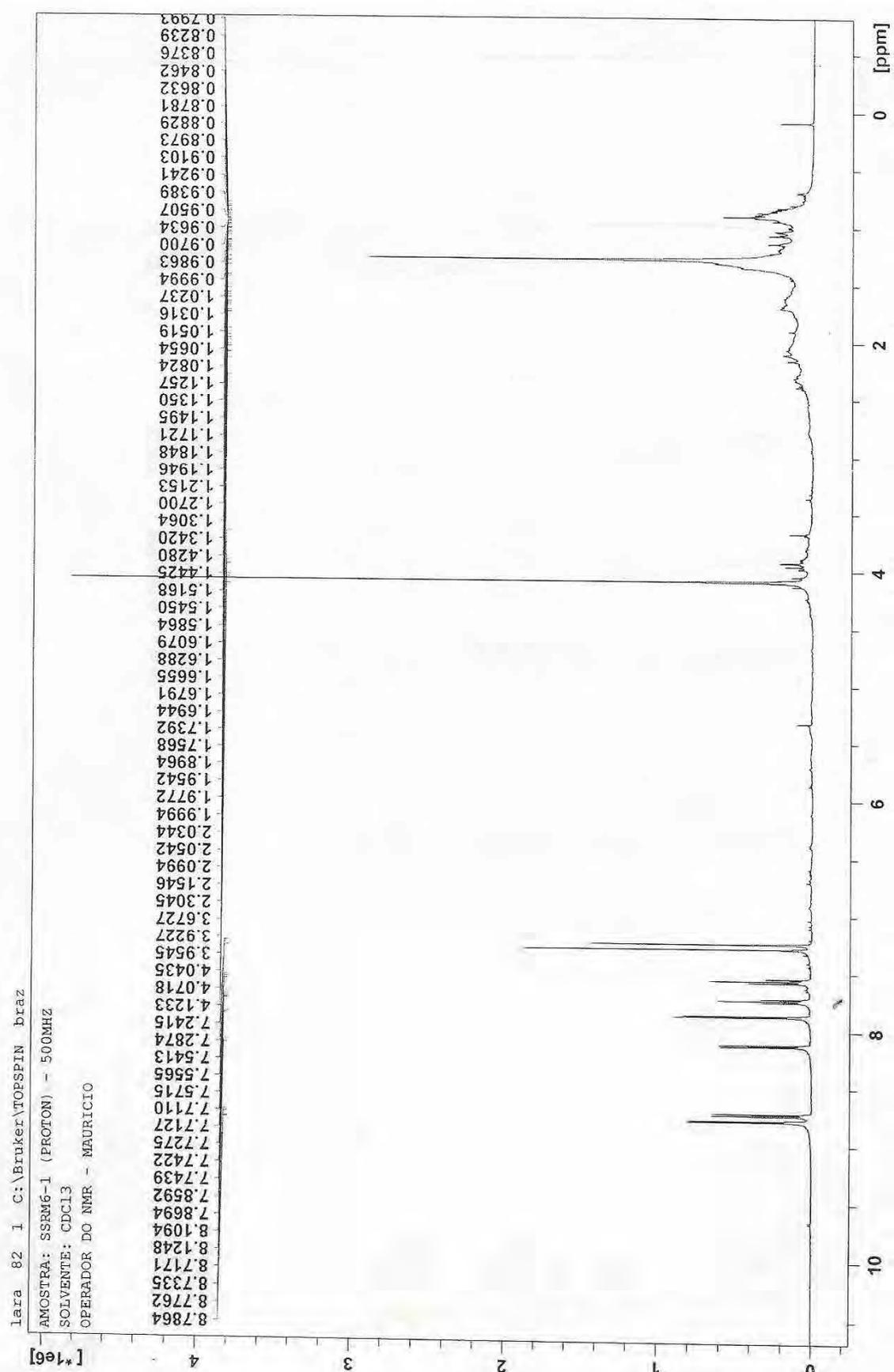


Figura 97: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância VIII

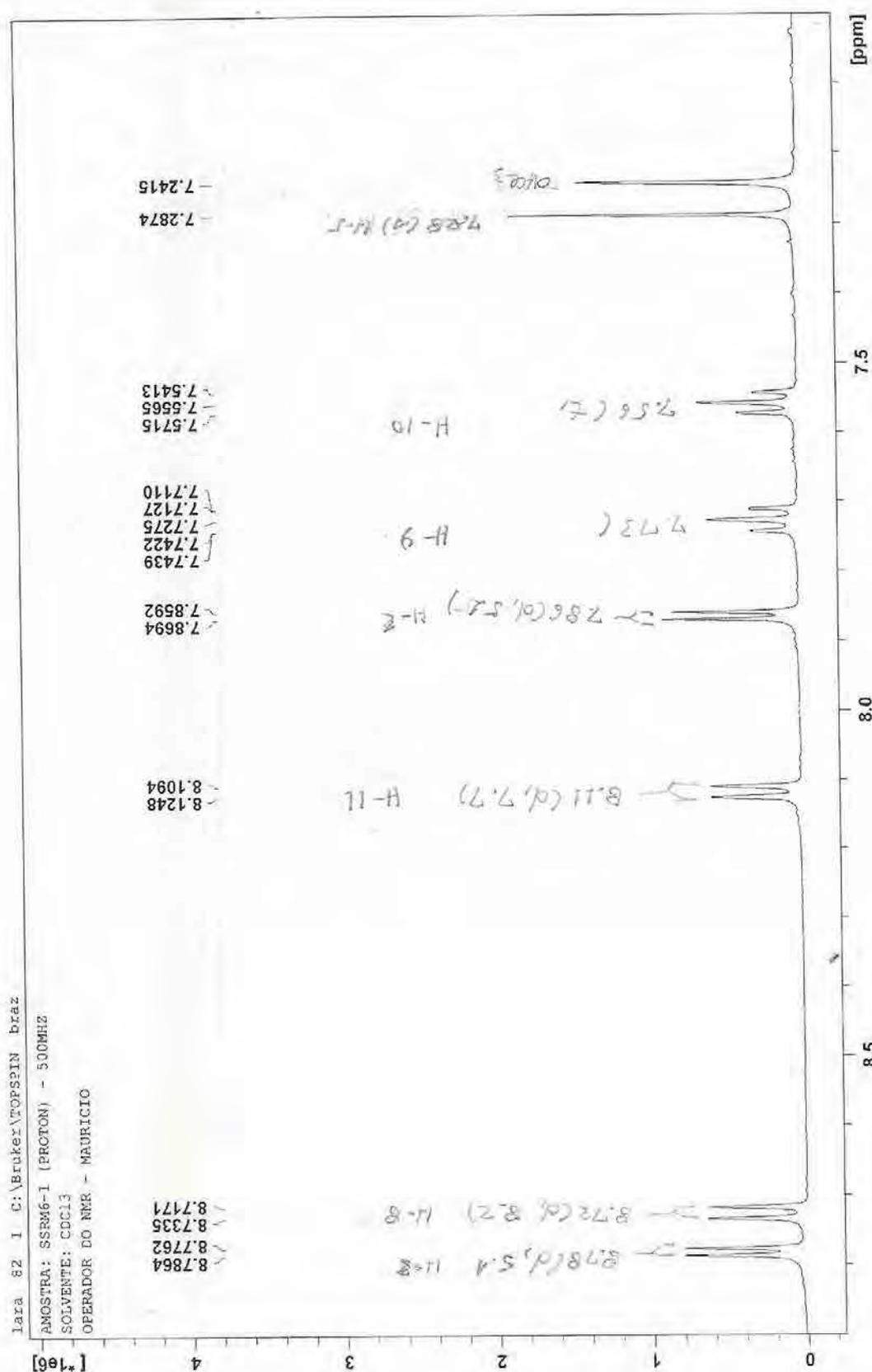


Figura 98: Ampliação da região de δ_H 7,2 – 8,8 do espectro de RMN 1H (500 MHz) em $CDCl_3$ da substância VIII

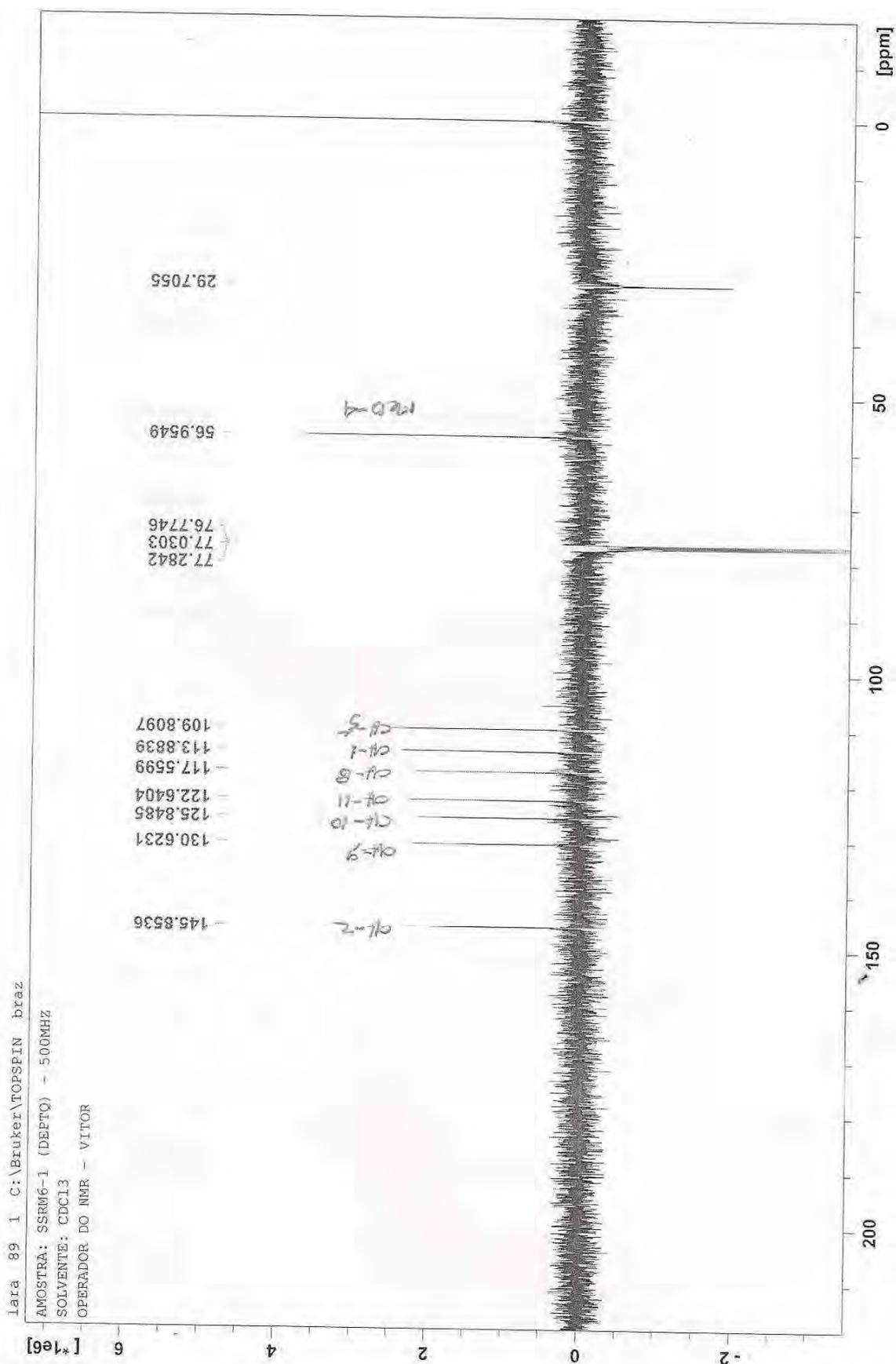


Figura 99: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ 135° , 125 MHz) em CDCl_3 da substância VIII

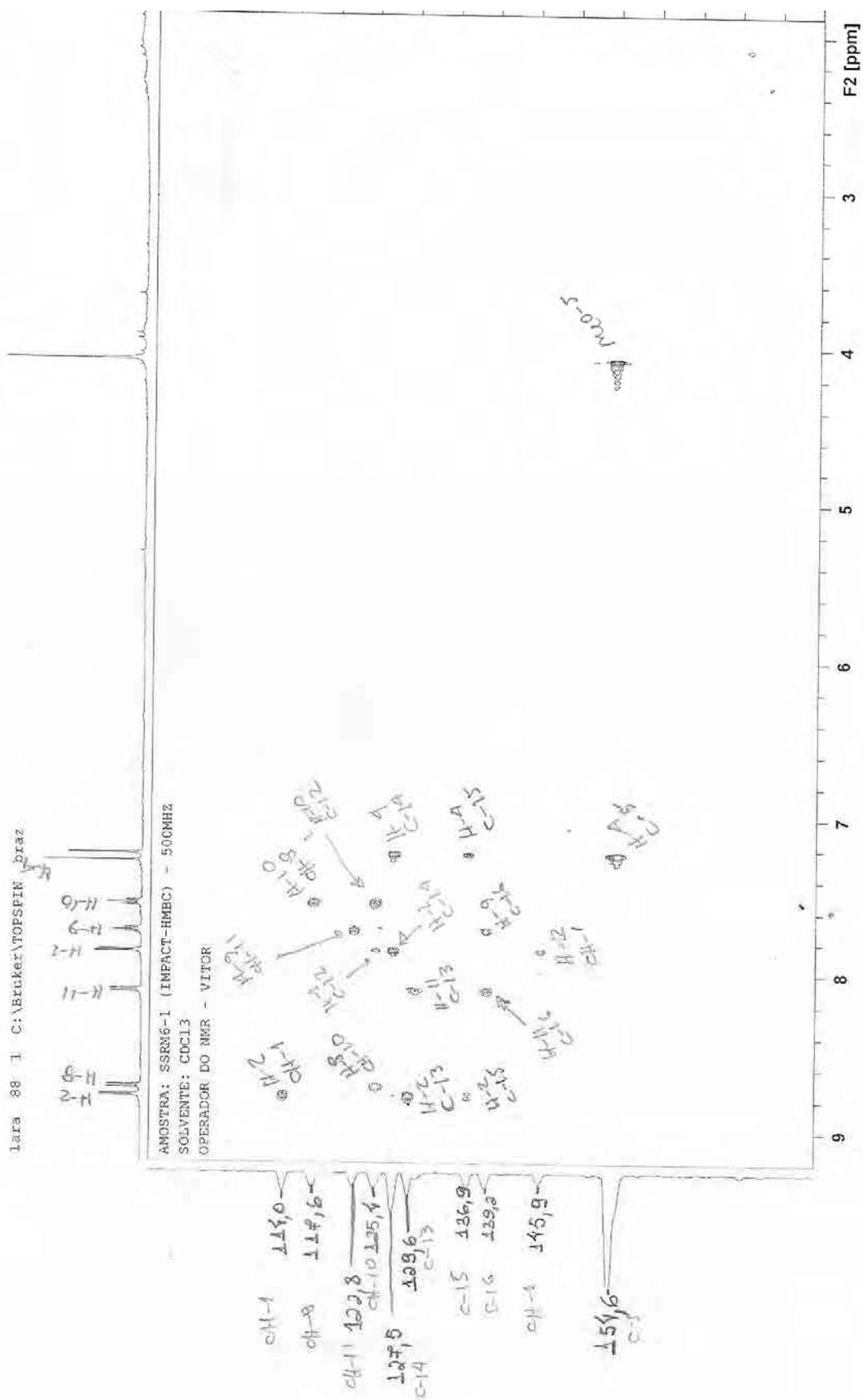


Figura 100: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância VIII

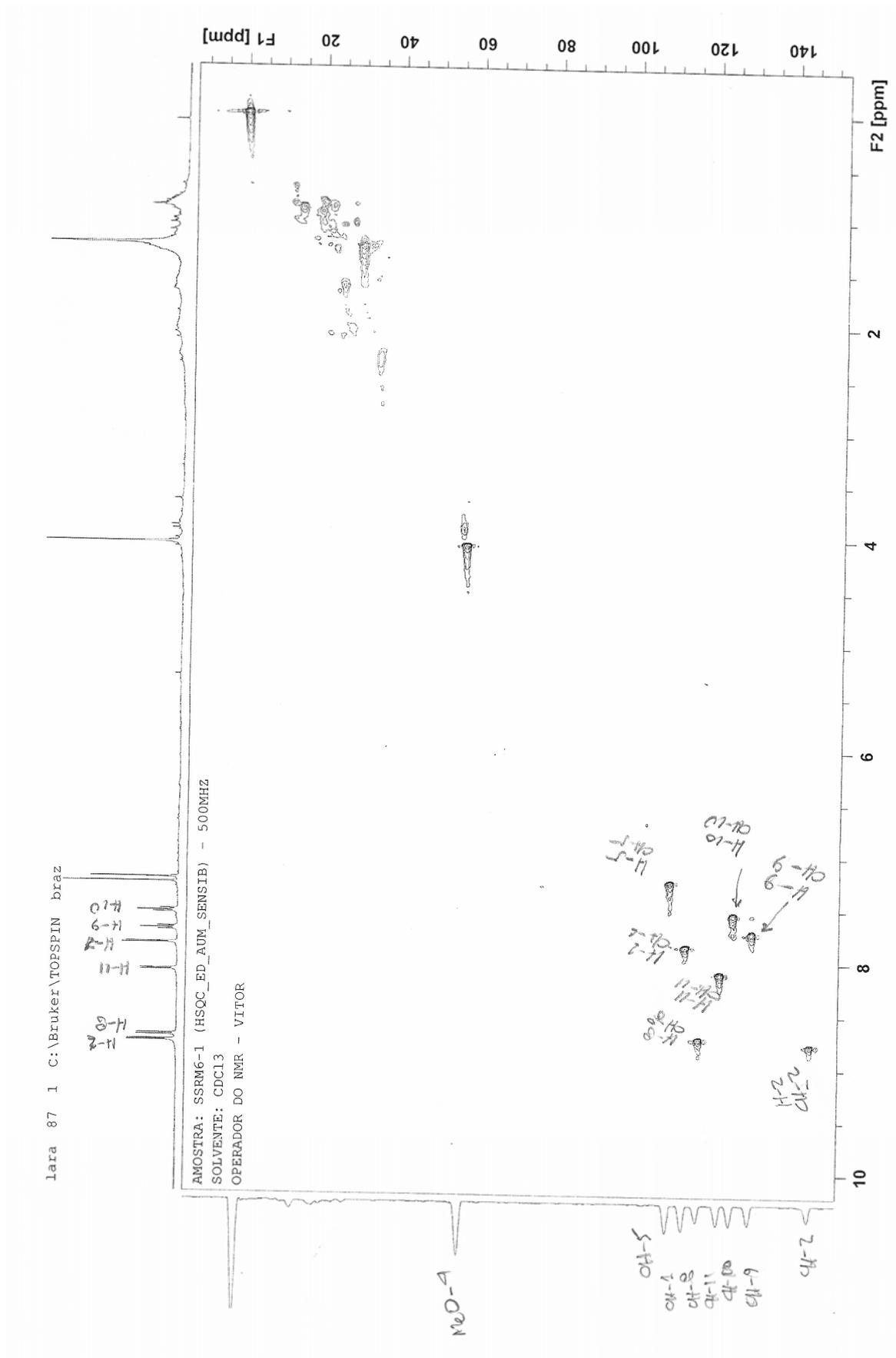


Figura 101: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância VIII

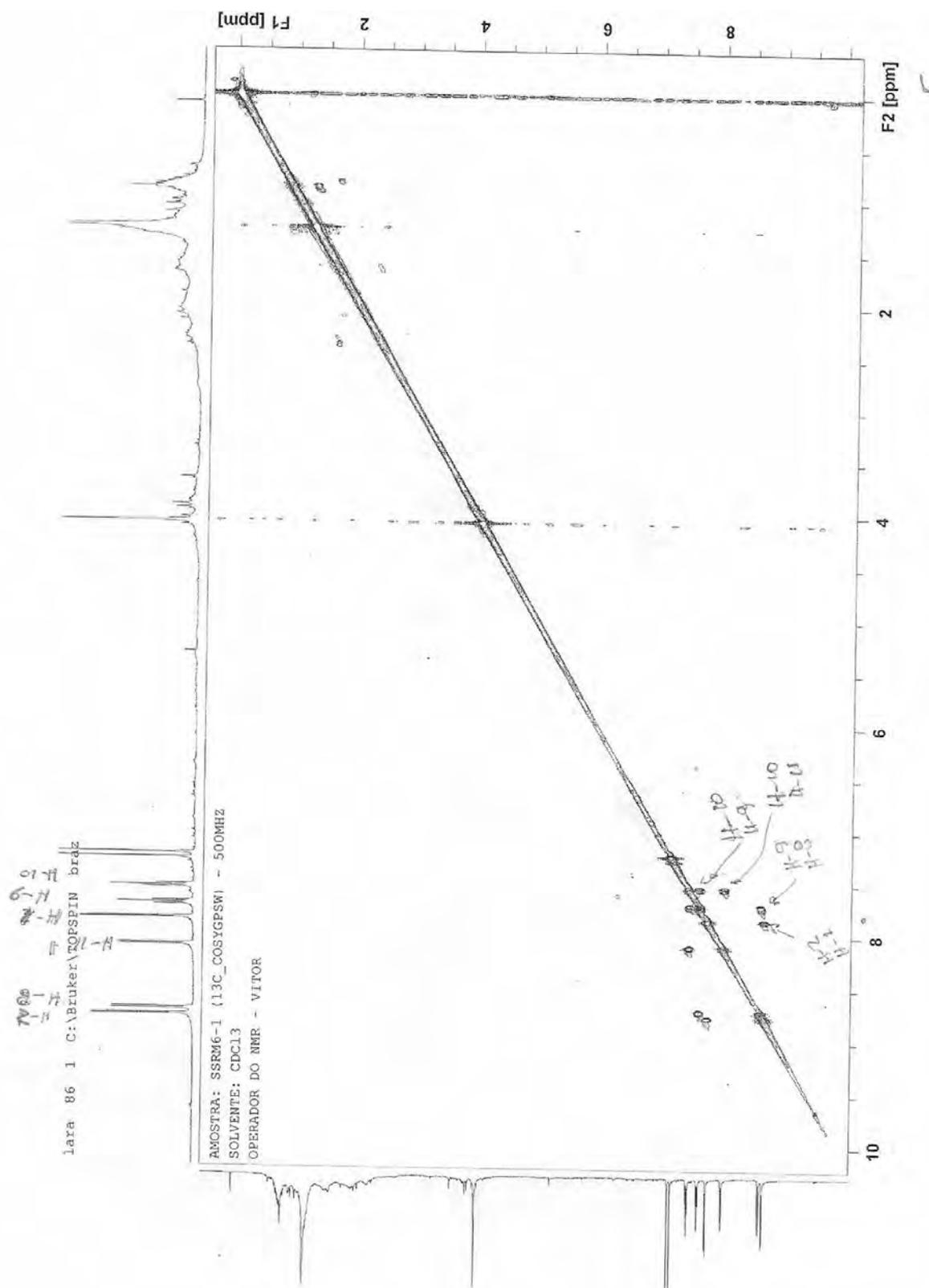
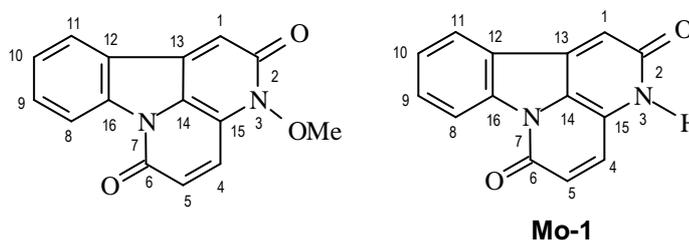


Figura 102: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância VIII

Determinação estrutural da substância IX



A substância **IX** foi isolada do extrato metanólico das raízes de *S. subcymosa* como um sólido laranja, com ponto de fusão 207 °C.

A análise dos dados de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura** 105, p. 226, **Tabela** 42, p. 223) apresentou 15 sinais de átomos de carbono, sendo sete metínicos ligados a carbonos sp^2 , um metílico característico de grupo metoxila e sete carbonos quaternários, sendo característicos de carbono carbonílico.

Esses dados, em conjunto com os dados dos mapas de correlação heteronucleares HSQC e HMBC (**Figuras** 106 e 107 p. 227-228, **Tabela** 42, p. 223), nos permitiram apresentar mais sete átomos relativos a carbonos quaternários, propondo a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$ para o alcalóide **IX** com esqueleto do tipo cantin-2,6-diona.

O espectro de RMN ^1H (**Figura** 103 e 104, p. 224 e 225, **Tabela** 42, p. 223) bastante semelhante ao do alcalóide **VIII**, apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios de um núcleo benzênico acoplado entre si, mostrado no espectro de ^1H - ^1H -COSY (**Figura** 108, p. 230) em δ_{H} 8,68 (1H, d, $J = 8,1$ Hz; H-8), δ_{H} 7,70 (1H, dt, $J = 8,1$ e 7,7 Hz; H-9), δ_{H} 7,51 (1H, t, $J = 8,1$ e 7,7 Hz; H-10), δ_{H} 7,96 (d; $J = 7,7$ Hz; H-11), característico de um núcleo benzênico livre de substituintes no anel A (AZOUG et. al., 1995) confirmado pelas correlações heteronucleares (HSQC) (**Figura** 107, p. 228, **Tabela** 42, p. 223) onde se observam as correlações $^1J_{\text{HC}}$ entre CH-8 (δ_{C} 117,9)/H-8 (δ_{H} 8,68), CH-9 (δ_{C} 132,3)/H-9 (δ_{H} 7,70), CH-10 (δ_{C} 126,5)/H-10 (δ_{H} 7,51) e CH-11 (δ_{C} 123,7)/H-11 (δ_{H} 7,97).

A presença do núcleo benzênico livre de substituintes foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 106, p. 227, **Tabela** 42, p. 223) onde se observam as correlações $^2J_{\text{HC}}$ entre C-16 (δ_{C} 142,3)/H-8 (δ_{H} 8,68), CH-9 (δ_{C} 132,3)/H-10 (δ_{H} 7,51), CH-10 (δ_{C}

126,5)/H-9 (δ_{H} 7,70) e $^3J_{\text{HC}}$ entre C-16 (δ_{C} 142,3)/H-9 (δ_{H} 7,70)/H-11 (δ_{H} 7,97); CH-8 (δ_{C} 117,9)/H-10 (δ_{H} 7,51); CH-10 (δ_{C} 126,5)/H-8 (δ_{H} 8,68); CH-11 (δ_{C} 123,7)/H-9 (δ_{H} 7,70) e C-13 (δ_{C} 135,7)/H-10 (δ_{H} 7,51). As demais correlações estão descritas na **Tabela 42**, p. 223.

A presença de dois dupletos acoplado entre si apresentados no espectro de RMN de ^1H e no mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura 108**, p. 230, **Tabela 42**, p. 223), em δ_{H} 7,76 e δ_{H} 6,85 com uma constante de acoplamento de 9,7 Hz característicos do anel lactâmico de alcalóides com esqueleto cantinônico, os quais apresentam correlações no mapa de correlação heteronuclear HSQC (**Figuras 107**, p. 228, **Tabela 42**, p. 223) $^1J_{\text{HC}}$ CH-4 (δ_{C} 125,9)/H-4 (δ_{H} 7,76) e CH-5 (δ_{C} 128,4)/H-5 (δ_{H} 6,95).

A presença de dois dupletos acoplado entre si em δ_{H} 7,76 e δ_{H} 6,85 foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figura 106**, p. 227, **Tabela 42**, p. 223) onde se observam as correlações $^3J_{\text{HC}}$ entre H-4 (δ_{H} 7,76)/C-6 (δ_{C} 157,3)/C-14 (δ_{C} 123,3) e entre H-5 (δ_{H} 6,95)/C-15 (δ_{C} 122,9).

A presença de dois sinais simples um em δ_{H} 7,29 integrando para um hidrogênio e outro em δ_{H} 4,22 integrando para três hidrogênios, relativo a um grupo metoxila reforçam a proposta de um esqueleto cantin-2,6-diona substituído na posição 3.

A presença destes dois sinais simples em δ_{H} 7,29 e δ_{H} 4,22 foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figura 106**, p. 227, **Tabela 42**, p. 223) onde se observam as correlações $^2J_{\text{HC}}$ entre H-1 (δ_{H} 7,29)/C-2 (δ_{C} 157,8) e a $^3J_{\text{HC}}$ com C-14 (δ_{C} 123,3).

A localização do grupo metoxila ligado no átomo de nitrogênio na posição 3 em um dos anéis lactâmico da molécula, foi definida pelo valor do deslocamento químico em δ_{C} 64,7 (bastante desprotegido) apresentado no RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 105**, p. 226, **Tabela 42**, p. 256).

Tal confirmação dessa localização foi corroborada através do mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (**Figura 109**, p. 231), o qual apresentou uma interação espacial entre H-4 em δ_{H} 7,29 com os hidrogênios em δ_{H} 4,22 relativos aos hidrogênios do grupo MeO-3.

O conjunto de dados do alcalóide **IX** em questão permitiu definir um esqueleto ao do alcalóide 3-metóxicantin-2,6-diona, comparando com os dados de RMN ^1H e ^{13}C para o alcalóide cantin-2,6-diona (**Mo-1**) um alcalóide isolado de *Simaba cuneata* (VIEIRA, 1995) e com o alcalóide 3-metoxicantin-2,6-diona isolado de *S. multiflora* (ARISAWA, et. al., 1983).

Tabela 42: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos mapas de correlação heteronucleares HSQC e HMBC do alcalóide **IX**, e as comparações com valores da literatura, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância IX						
	HSQC		HMBC		Mo-1	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{H}
C						
2	157,8	-	H-1		157,7	-
6	157,6	-	H-5	H-4	157,8	-
12	123,4	-		H-8; H-10	123,0	-
13	135,7	-	H-1	H-11	135,8	-
14	123,3	-		H-1; H-4	123,4	-
15	122,9	-		H-5	122,8	-
16	142,3	-	H-8	H-9; H-11	142,5	-
CH						
1	115,0	7,29 (s)			115,1	7,30 (s)
4	125,9	7,76 (d, 9,7)			126,0	7,77 (d, 9,7)
5	128,4	6,95 (d, 9,7)			128,7	6,96 (d, 9,7)
8	117,9	8,68 (d, 8,1)		H-10	117,9	8,63 (d, 8,1)
9	132,3	7,70 (dt, 7,7, 8,1)	H-10	H-11	132,4	7,72 (t, 8,1)
10	126,5	7,51 (dt, 7,7, 8,1)	H-9	H-8	126,7	7,52 (t, 8,1)
11	123,7	7,97 (d, 7,7)		H-9	124,0	7,98 (d, 7,6)
CH₃						
MeON-3	64,7	4,22 (s)			-	-

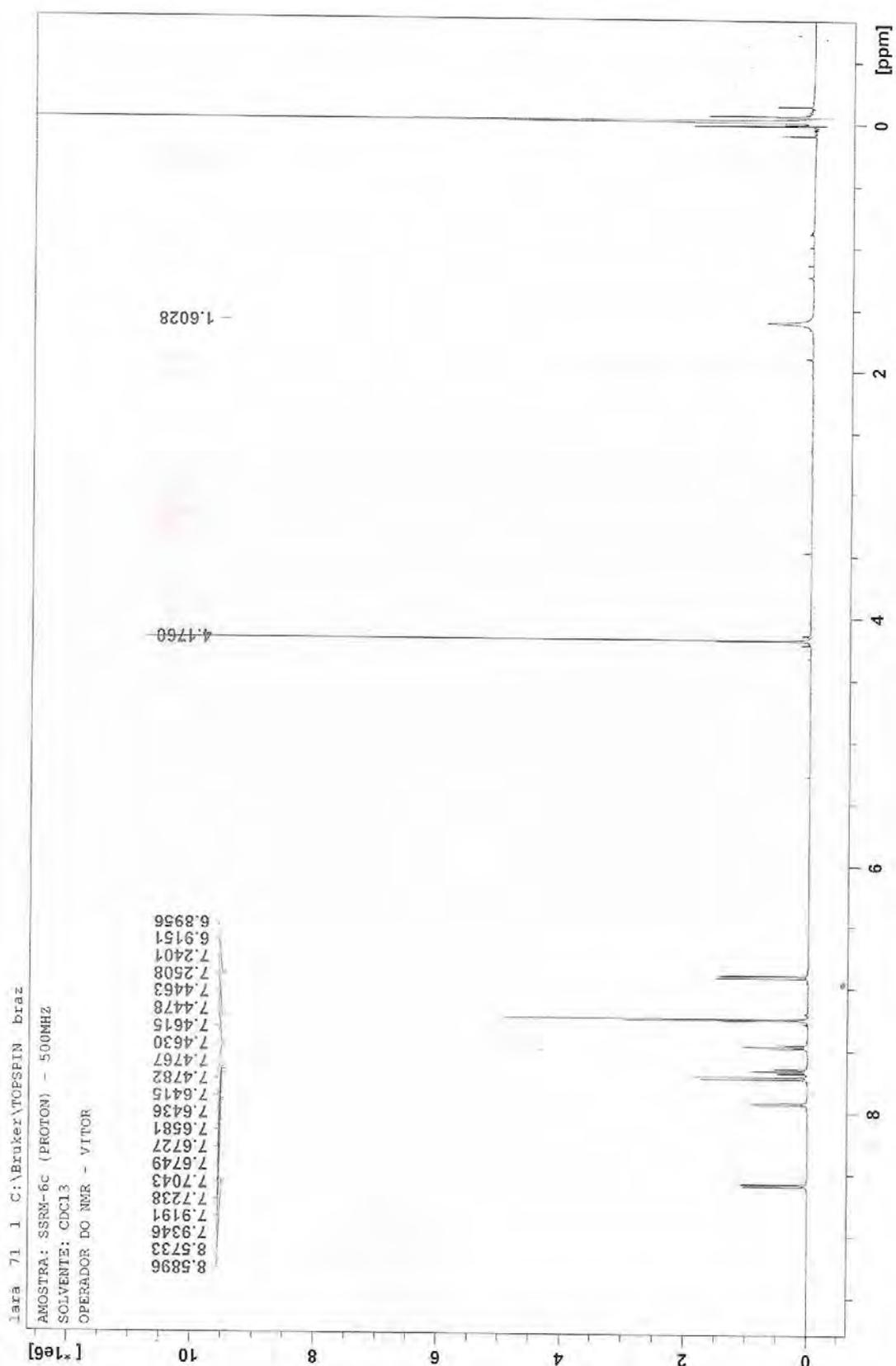


Figura 103: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IX

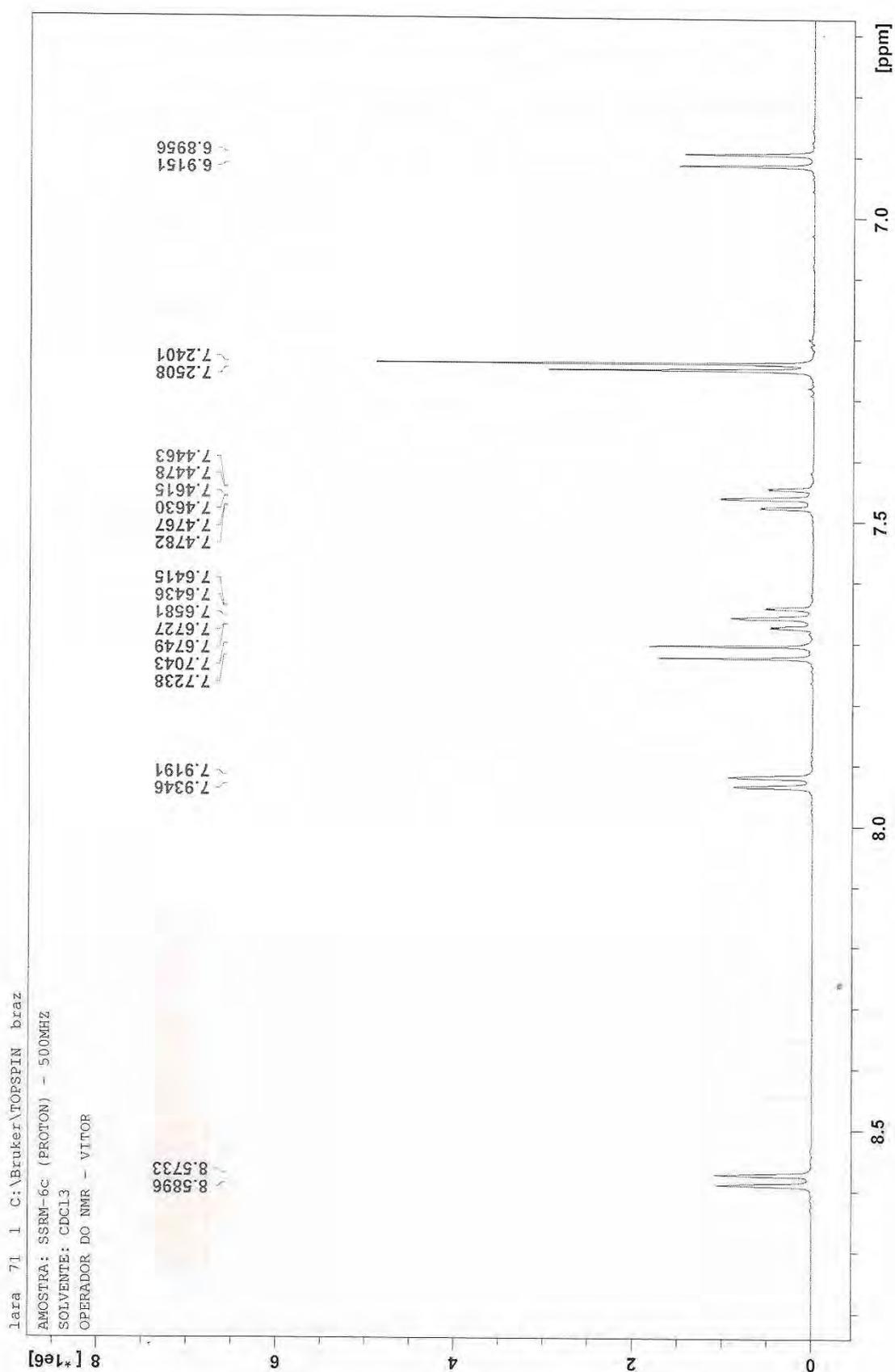


Figura 104: Ampliação da região de δ_{H} 6,7 – 8,8 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância **IX**

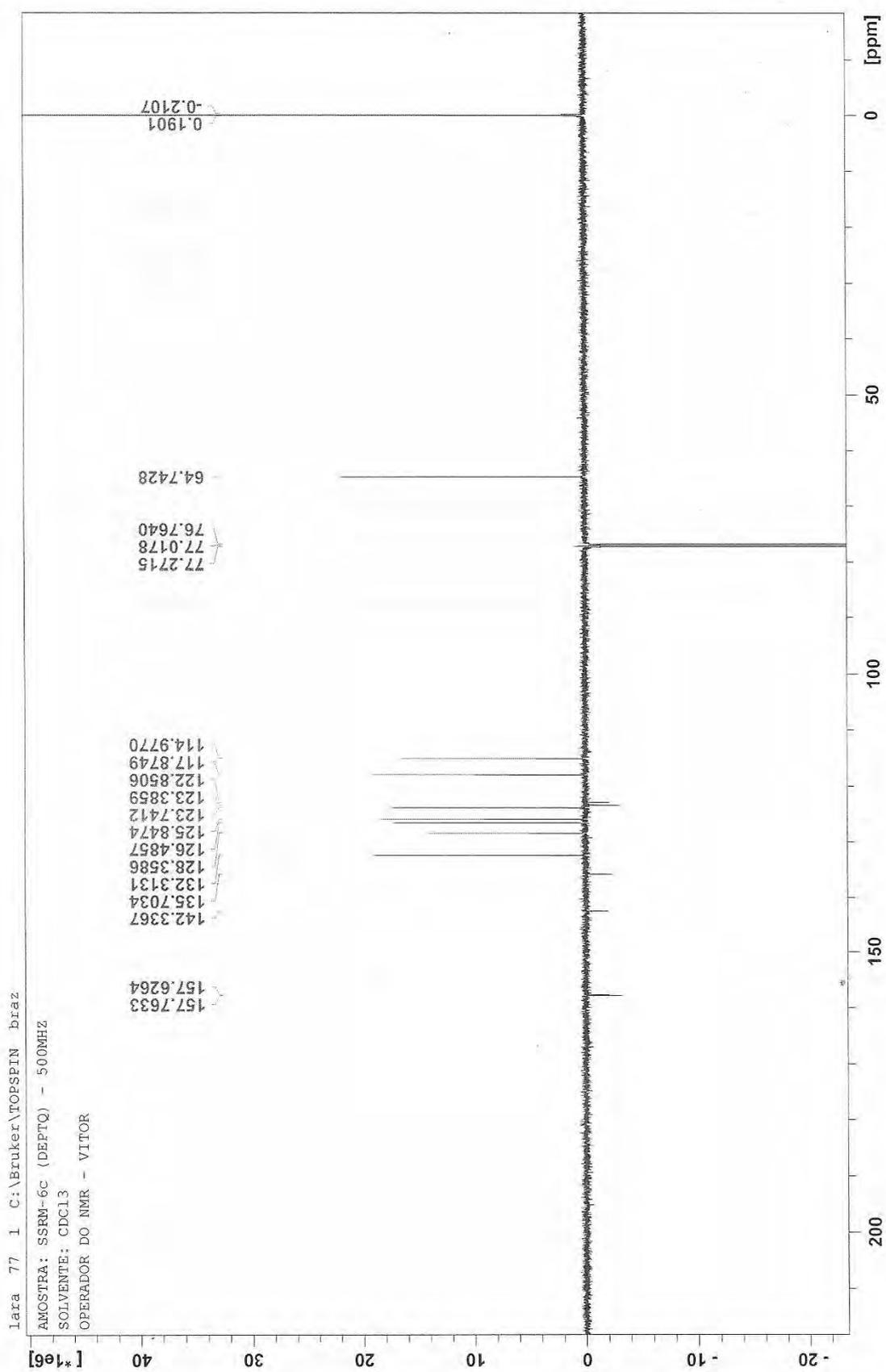


Figura 105: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 125 MHz) em CDCl_3 da substância IX

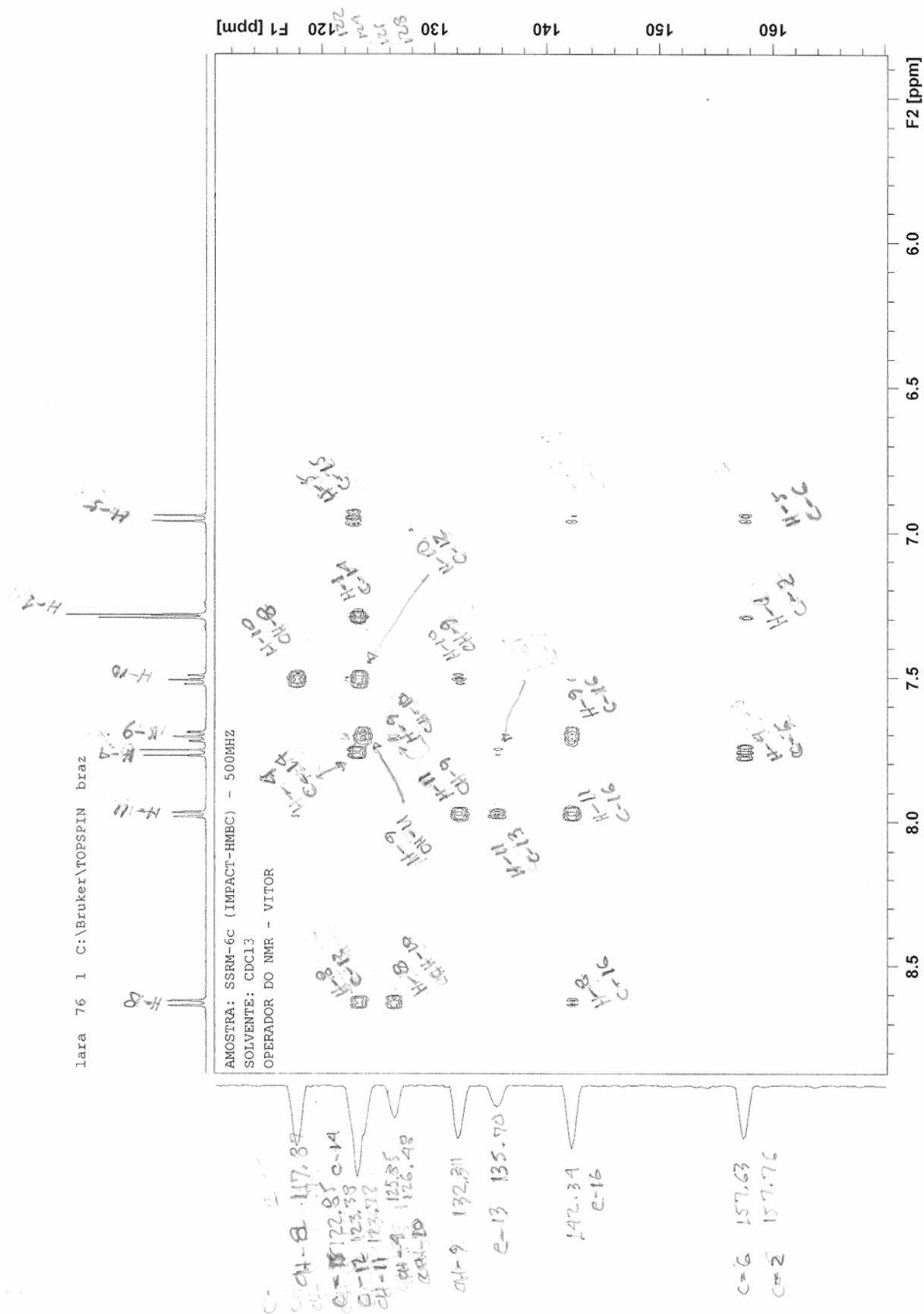


Figura 106: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância IX

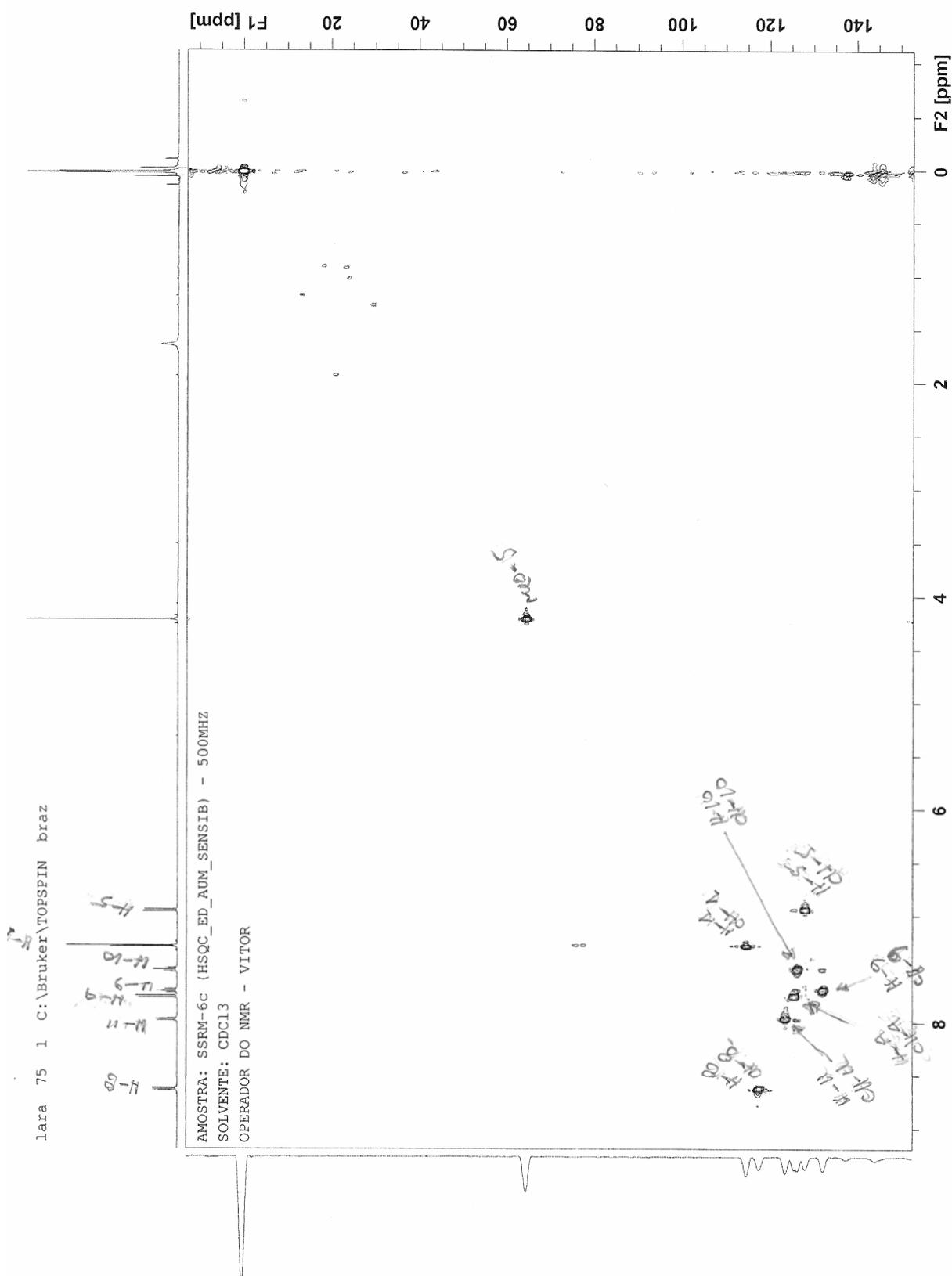


Figura 107: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância IX

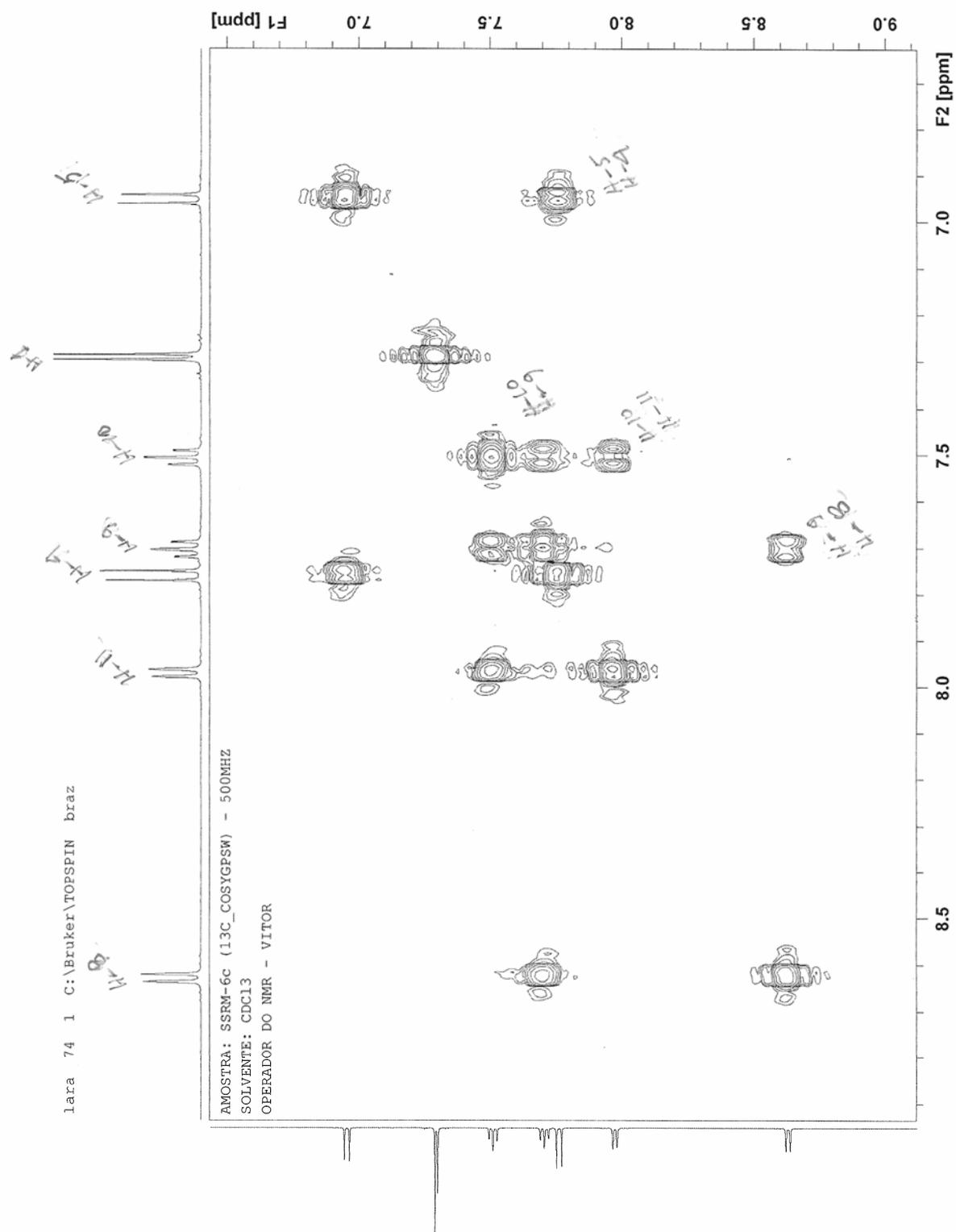


Figura 108: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância IX

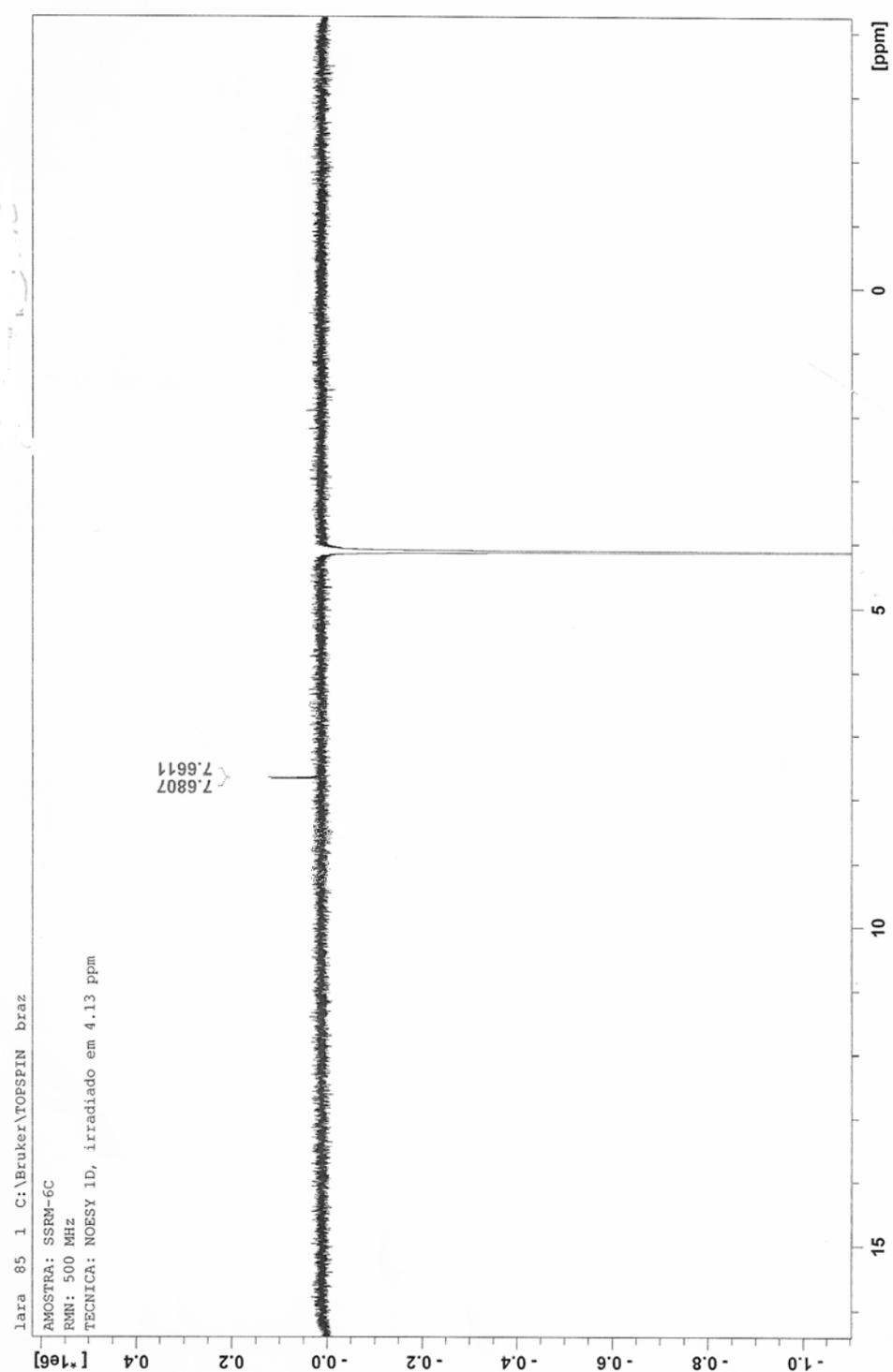
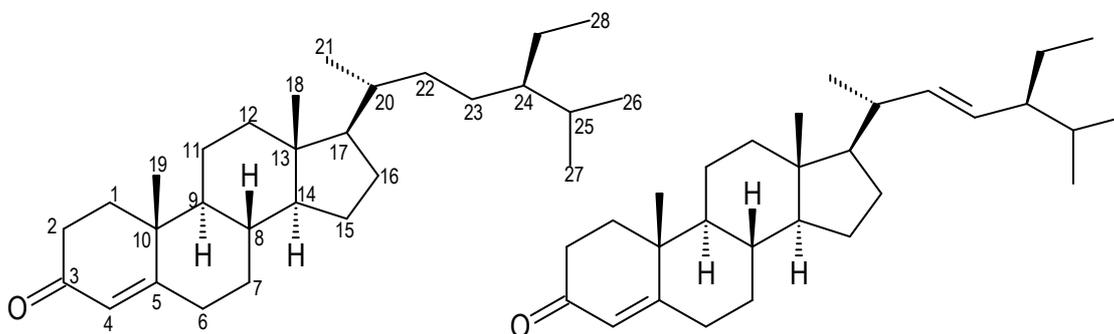


Figura 109: Espectro de NOESY da substância IX

Determinação estrutural da mistura XI



A mistura **XI** obtida da fração do extrato metanólico de *S. subcymosa*, apresentou-se como um sólido branco.

No espectro de RMN ^{13}C (**Figuras** 113 e 115, p. 236 e 237, **Tabela** 43, p. 232) podemos observar um sinal em δ_{C} 199,7 referente a um carbono oxidado que pode ser relacionado ao C-3. Os sinais em δ_{C} 123,7 e δ_{C} 171,7 característicos de carbonos com dupla ligação podem ser atribuídos aos carbonos CH-4 e C-5 respectivamente, comprovando então a existência de um sistema enônico.

O espectro de RMN ^1H (**Figuras** 111 e 112, p. 234 e 235, **Tabela** 43, p. 232) da mistura apresenta um singleto em δ_{H} 5,74 que pode ser atribuído ao hidrogênio H-4, o qual confirma a presença de uma ligação dupla nessa posição.

A presença de dois duplos dupletos em δ_{H} 5,00 e δ_{H} 5,12 no espectro de RMN ^1H (**Figuras** 111 e 112, p. 234 e 235, **Tabela** 43, p. 232) referentes aos hidrogênios H-22 e 2H-23 confirmam a existência da estigmastenona na mistura.

A análise por CG/EM indicou a presença dos derivados oxidados em C-3, sitostenona $m/z= 412$ e estigmastenona $m/z= 410$ (**Figura** 110, p. 233).

Os dados descritos acima e presentes na **Tabela** 43 quando comparados com dados existentes na literatura (VIEIRA, 1995) confirmam a presença das estruturas propostas para a sitostenona (**Mo-1**) e estigmastenona (**Mo-2**).

Tabela 43: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da mistura XI, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo-1 (sitostenona)** e **Mo-2 (estigmastenona)**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Mistura XI						
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	Mo-1	Mo-2
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
C						
3	199,7	-	199,7	-	200,1	200,1
5	171,7	-	171,7	-	172,5	172,5
10	35,7	-	35,7	-	36,1	36,1
13	42,3	-	42,3	-	42,7	42,7
CH						
4	123,7	5,74 (s)	123,7	5,74 (s)	123,8	123,8
8	35,6		35,6		35,8	35,8
9	53,8		53,8		54,0	54,0
14	55,8		55,8		55,9	55,9
17	55,9		55,9		56,1	56,1
20	36,1		40,5		36,3	40,7
22	-	-	138,1	5,12 (dd; 8,68; 15,24)	-	138,4
23	-	-	129,4	5,00 (dd; 8,48; 14,92)	-	129,6
24	45,8		51,2		45,9	51,4
25	29,1		32,0		29,3	31,9
CH₂						
1	38,6		38,6		38,8	38,8
2	34,0		34,0		34,1	34,1
6	33,0		33,0		32,1	32,1
7	32,4		32,4		32,0	32,0
11	21,0		21,0		21,2	21,2
12	39,6		39,6		39,8	39,8
15	24,2		24,2		24,3	24,3
16	28,2		28,2		29,3	29,3
22	34,0		-	-	34,0	-
23	26,0		-	-	26,2	-
28	23,1		25,4		23,3	25,6
CH₃						
18	12,2	0,71 (s)	12,2	0,71 (s)	12,2	12,2
19	17,4	1,19 (s)	17,4	1,19 (s)	17,5	17,5
21	18,7		21,2		18,9	21,3
26	19,8		20,5		19,2	20,4
27	19,0	0,90 (d; 4,16)	19,0	0,90 (d; 4,16)	18,6	18,6
29	11,9		11,9		12,2	12,2

* VIEIRA, 1995

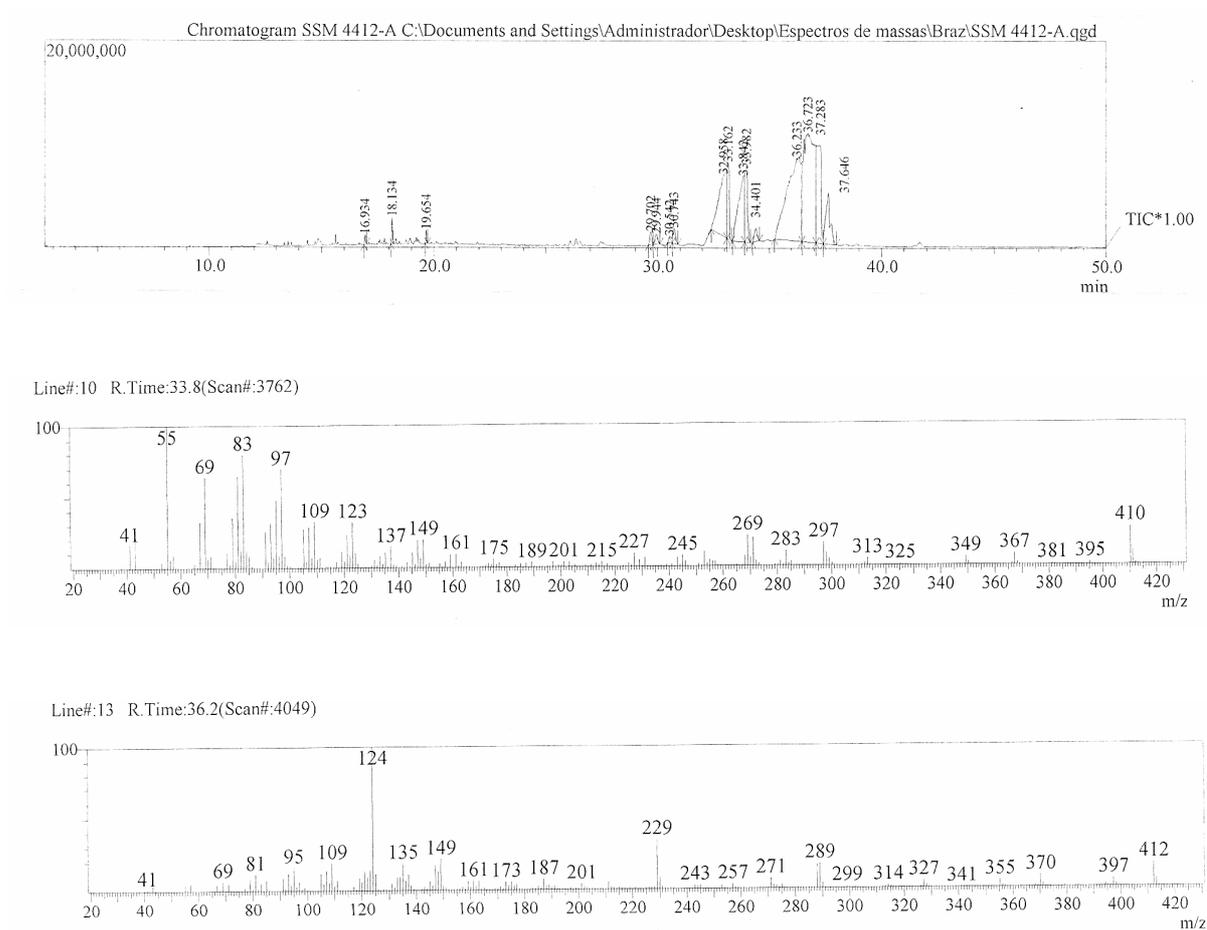


Figura 110: Espectro de CG/EM da mistura XI

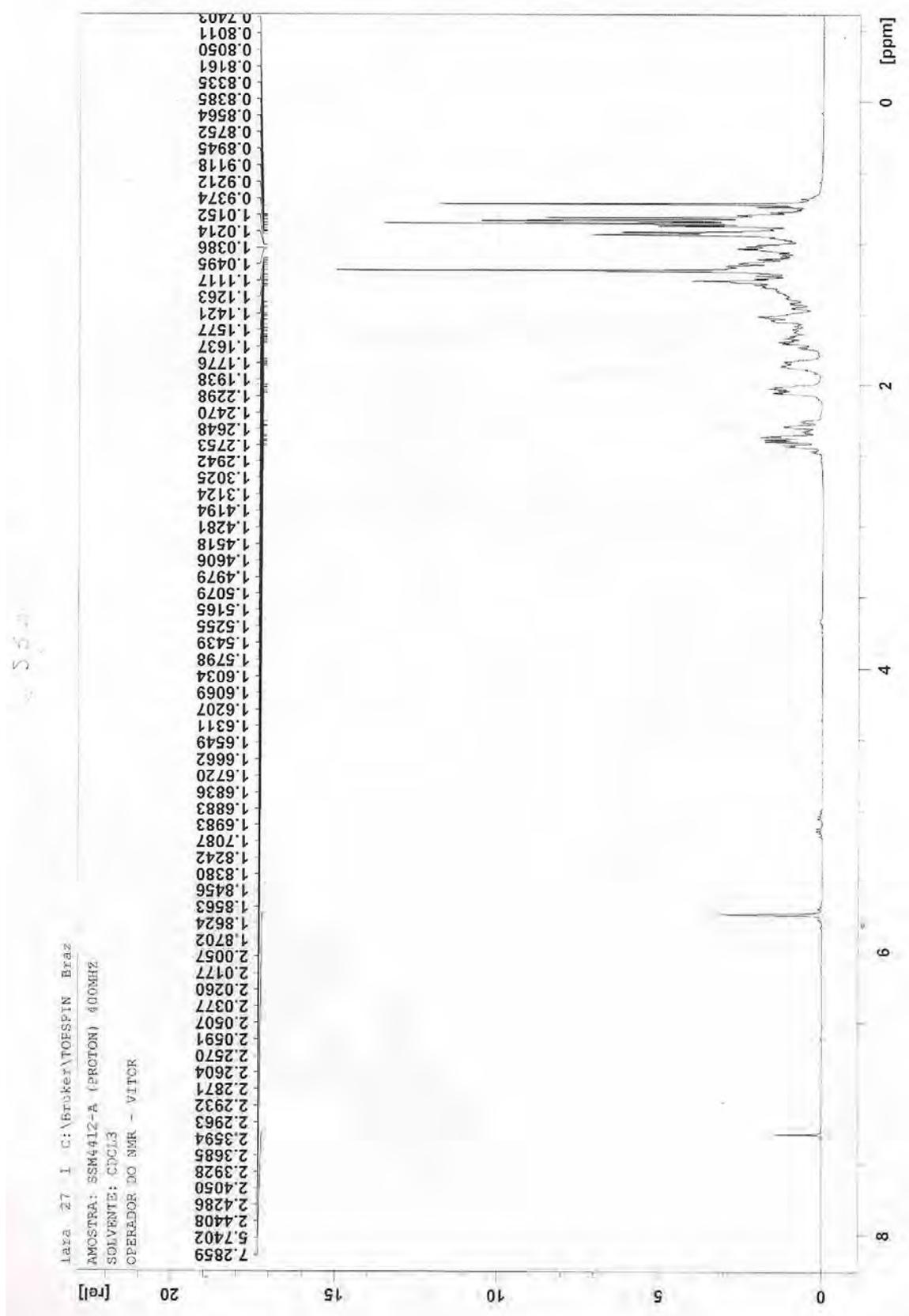


Figura 111: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura XI

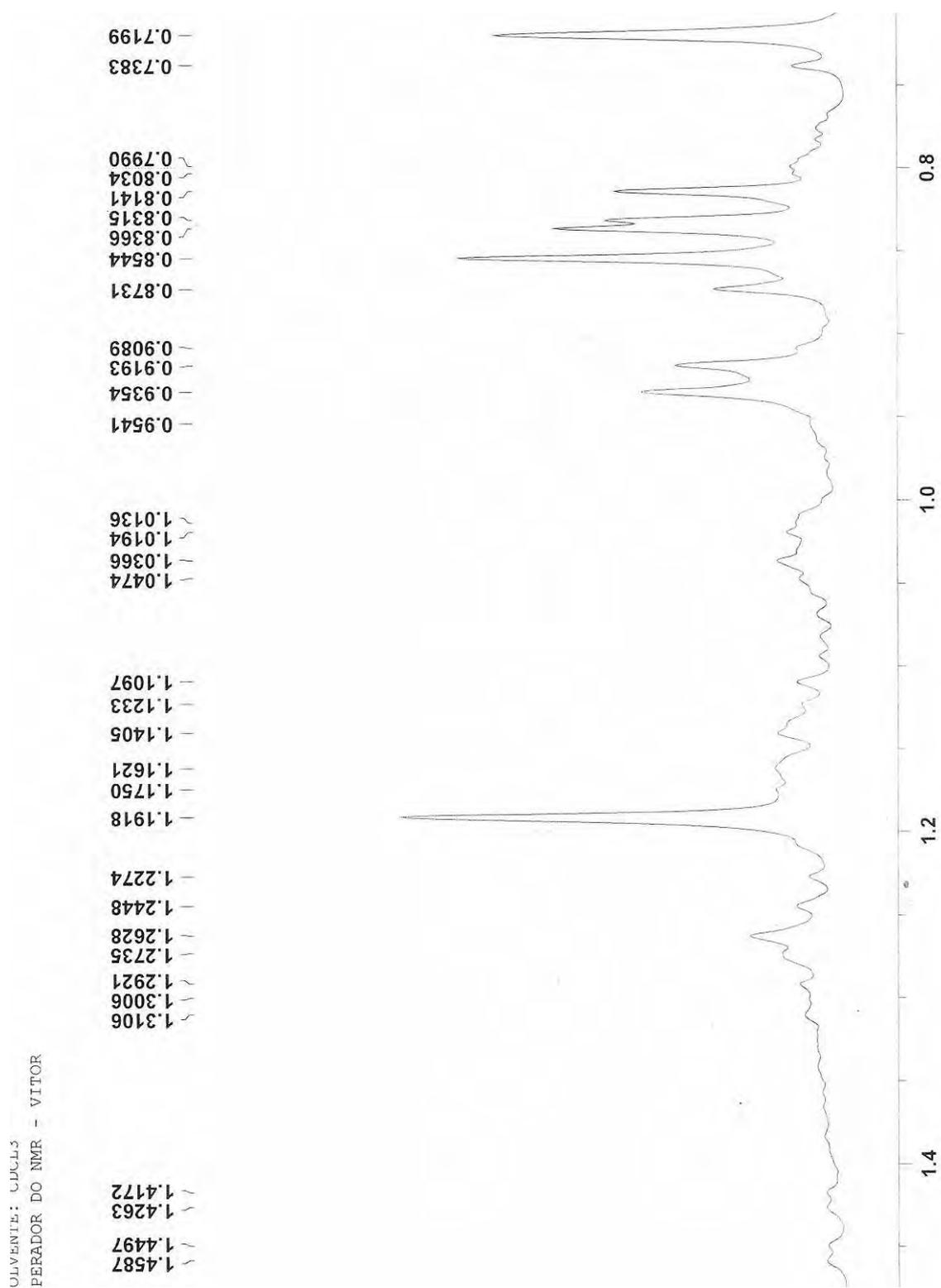


Figura 112: Ampliação da região de δ_{H} 0,7 – 1,5 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura **XI**

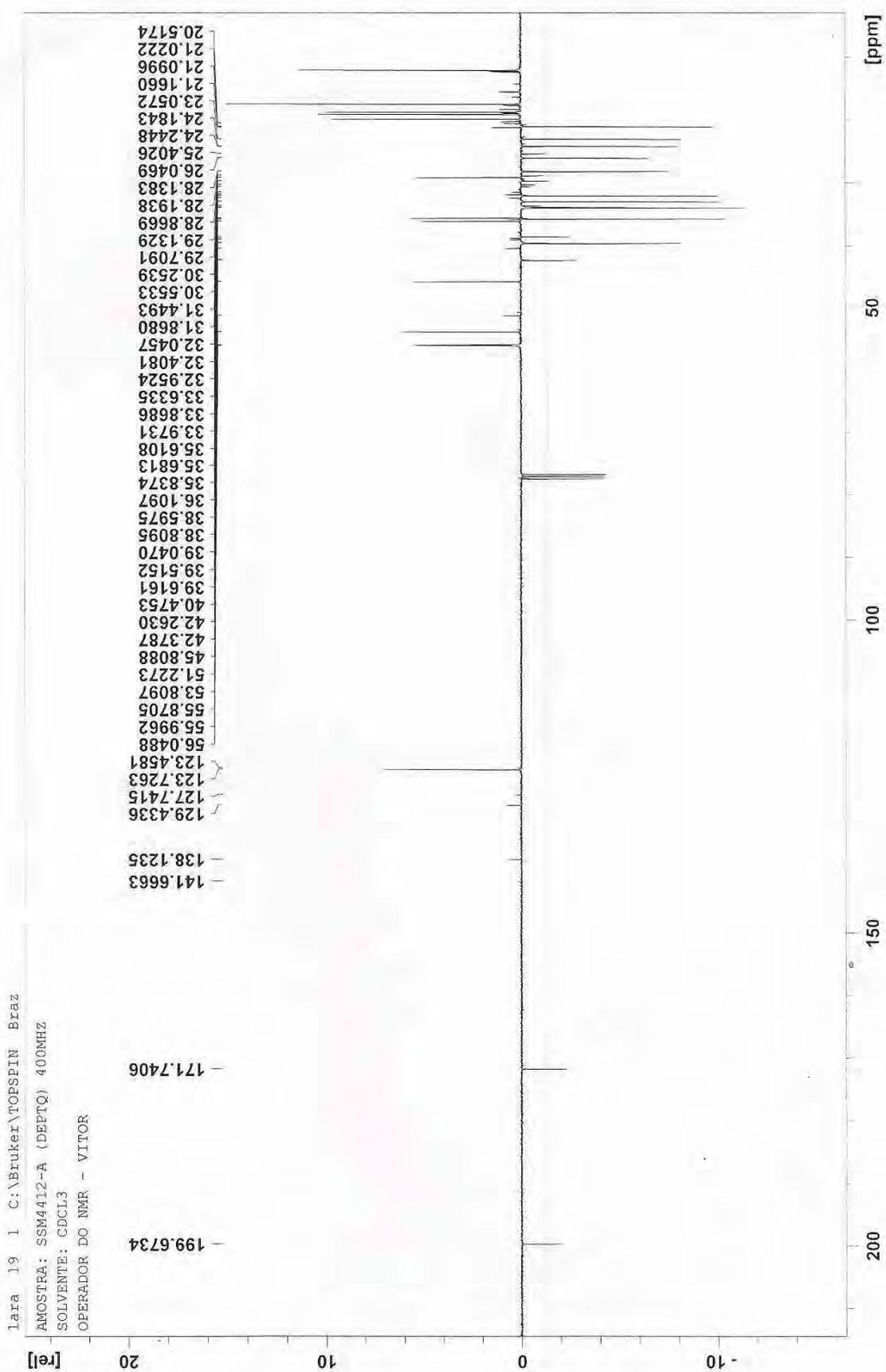


Figura 113: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 100 MHz) em CDCl_3 da mistura IX

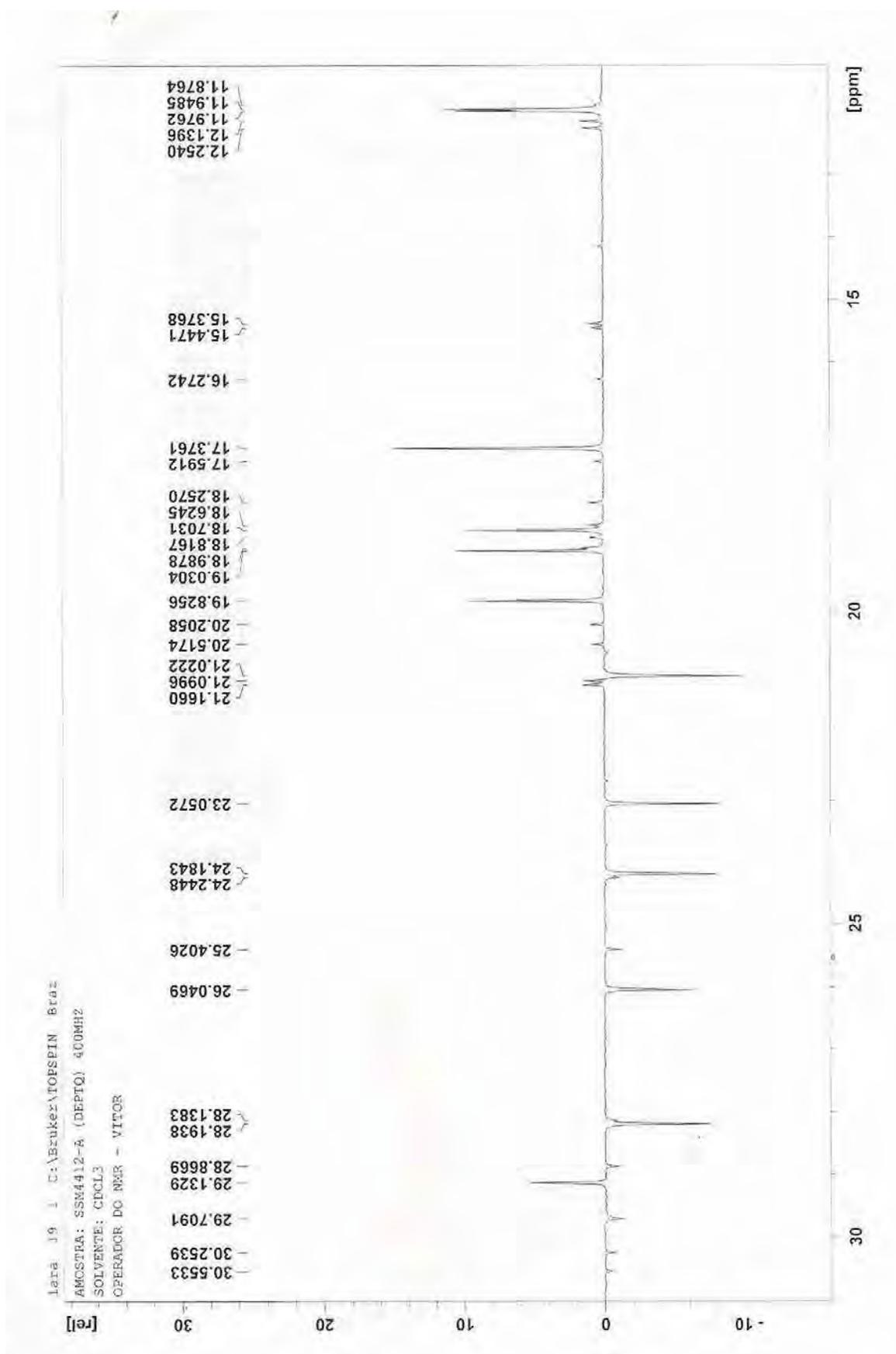


Figura 114: Ampliação da região de δ_c 10,0 – 31,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da mistura **XI**

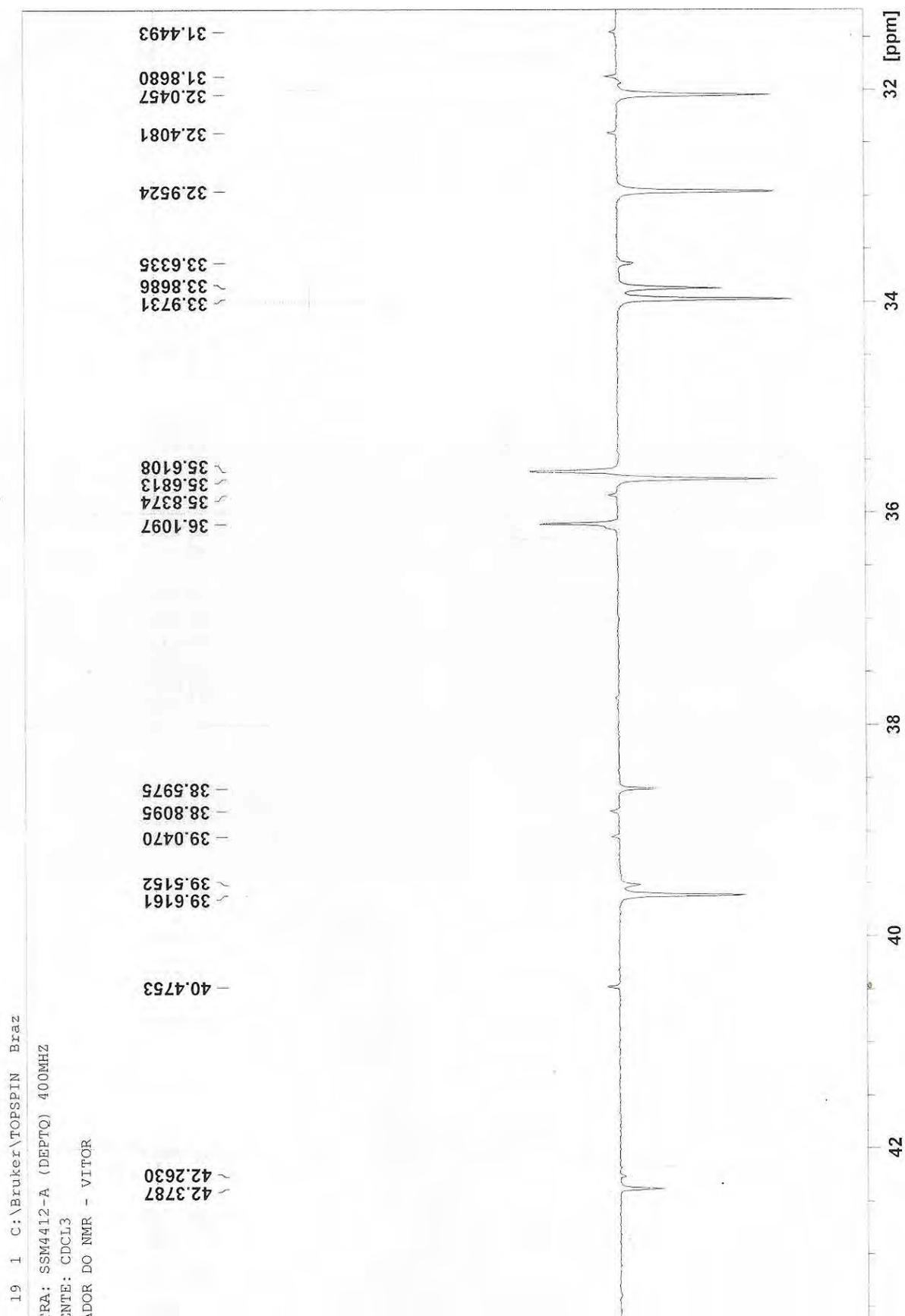
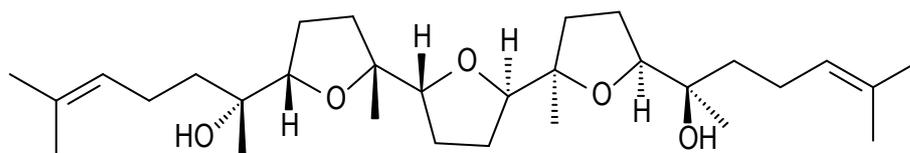
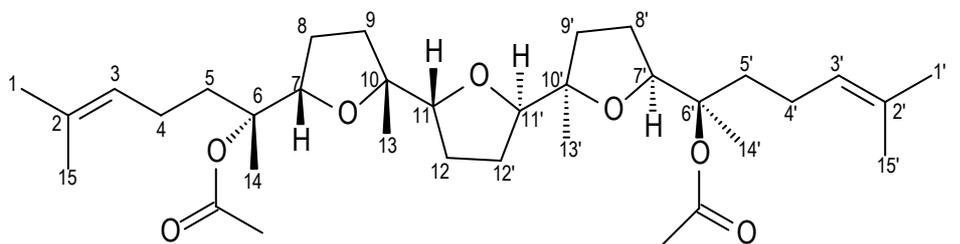


Figura 115: Ampliação da região de δ_c 31,0 – 43,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da mistura **XI**

Determinação estrutural da substância XII



Mo-1

A substância **XII** isolada da fração metanólica das raízes de *Simaba subcymosa* apresentou-se como um óleo branco.

O espectro na região do infravermelho da amostra apresentou bandas de absorção em 2968, 2926 e 2862 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C-H para carbonos sp^3 , bandas de absorção em 1741 e 1732 cm^{-1} referentes aos estiramentos dos grupos carbonílicos e uma banda em 1072 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-O.

A substância **XII** apresentou-se bastante semelhante ao teurileno (**Substância IV**), a diferença é que essa substância apresentou um efeito γ -gauche de proteção nos hidrogênios H-7/H-7'. Sua determinação estrutural foi feita a partir de dados de RMN ^1H e ^{13}C -DEPTQ-uni e bidimensionais.

No espectro de RMN ^1H (**Figura 117**, p. 244, **Tabela 44**, p. 242) foi observado um duplo triplete em δ_{H} 5,11, região de hidrogênios olefínicos ($J= 8,4$ e $7,9$ Hz) atribuídos aos dois hidrogênios H-3 e H-3', e três duplos dupletos, um em δ_{H} 4,39 ($J= 9,5$ e $7,5$ Hz; H-7 e H-7'), outro em δ_{H} 3,72 ($J= 8,7$ e $5,0$ Hz; H-11') e outro em δ_{H} 3,78 ($J= 8,2$ e $6,7$; H-11), ambos referentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, compatíveis com carbonos de anel furânico (SIMOTE, 2006).

Estes valores foram comprovados pelo mapa de correlação heteronuclear HSQC (**Figuras 123 e 124**, p. 250 e 251, **Tabela 44**, p. 242), onde se observou as correlações $^1J_{\text{HC}}$ entre os átomos de carbono C-11' em δ_{C} 86,6 com o hidrogênio em δ_{H} 3,72 (H-11'), C-11 em δ_{C} 84,4 com o hidrogênio em δ_{H} 3,78 (H-11) e entre os átomos de carbono C-7/C-7' em δ_{C} 78,1 e 77,6 com os hidrogênios em δ_{H} 4,39 (H-7

e H-7'), integrando para dois hidrogênios, como dito anteriormente, compatíveis com deslocamentos químicos de carbonos com anel furânico.

O duplo tripleto em δ_H 5,11, região de hidrogênios olefínicos ($J = 8,4$ e $7,9$ Hz) atribuídos aos dois hidrogênios H-3 e H-3' foi comprovado através das correlações heteronucleares observadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 120-122, p. 247-249, **Tabela** 44, p. 242), através das correlações $^2J_{HC}$ entre o carbono CH-3 em δ_C 124,5 com os dois grupos metilênicos 2H-4 e 2H-4' em δ_H 2,10 e 1,95, respectivamente, e a $^3J_{HC}$ com os grupos metílicos 3H-1/3H-1' (δ_H 1,68), 3H-15/3H-15' (δ_H 1,62) e com os dois grupos metilênicos 2H-5 e 2H-5' em δ_H 1,50 e δ_H 1,45.

A presença de mais quatro grupos metílicos no triterpeno **XII** foi confirmada também através das correlações heteronucleares observadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras** 120-122, p. 247-249, **Tabela** 44, p. 242) através das correlações $^3J_{HC}$ entre os átomos de carbono CH₃-1/CH₃-1' em δ_C 25,7 com os dois grupos metínicos H-3 e H-3' em δ_H 5,11 e com os dois grupos metílicos 3H-15 e 3H-15' em δ_H 1,62, CH₃-14/CH₃-14' em δ_C 22,8 e 22,6 com os dois grupos metínicos H-7 e H-7' em δ_H 4,39, e dos carbonos CH₃-15/CH₃-15' em δ_C 17,66 com os dois grupos metínicos H-3 e H-3' em δ_H 5,11 e os grupos metílicos 3H-1/3H-1' em δ_H 1,68.

A presença de dois grupos acetatos no triterpeno **XII** foi notada pelos sinais no experimento de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 118 e 119, p. 245 e 246, **Tabela** 44, p. 242) através dos sinais em δ_C 171,0 e 170,9, característicos de carbonos carbonílicos, relativos aos grupos carbonila do grupo acetato. Pelo espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras** 118 e 119, p. 245 e 246, **Tabela** 44, p. 242), pode-se observar os sinais em δ_C 21,2 e 21,1, que foram atribuídos às metilas do grupo acetato. No espectro de RMN de 1H (**Figura** 117, p. 244, **Tabela** 44, p. 242), foi observado os sinais em δ_H 2,09 (s) e 2,08 (s) integrando para os três hidrogênios das metilas do grupo acetato.

A presença dos grupos acetatos ligados aos C-6 e C-6' pode ser confirmada, pela desprotonação dos H-7 e H-7' com sinais em δ_H 4,89 quando comparados com os sinais do teorileno (**substância IV**) que apresenta os sinais dos hidrogênios H-7 e H-7' em δ_H 3,81 (HASHIMOTO et. al., 1991)

A proposta da estereoquímica relativa do triterpeno **XII** pode ser vista pelo mapa de correlação 1H - 1H -ROESY (**Figura** 126, p. 253) através das interações espaciais dos hidrogênios do anel furânico H-7 com os grupos metílicos Me-13 e Me-

14, e do hidrogênio H-7' com os grupos metílicos Me-13' e Me-14'; e entre os grupos metila Me-13 com H-11, e do grupo metila com hidrogênio H-11'. As demais interações podem ser observadas no mapa de correlação ^1H - ^1H -ROESY (**Figuras** 126, p. 253).

Através dessas interações nos permitiram deduzir uma proposta estrutural para a molécula, comprovando assim a simetria da molécula do triterpeno **XII**.

Os dados de RMN em conjunto com os dados do espectro de massas de baixa resolução a 70 eV (**Figura** 116, p. 243), que apresentou sinal do pico do íon molecular com $m/z= 576$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{34}\text{H}_{56}\text{O}_7$ para o triterpeno **XII**, sugerindo a presença de um triterpeno derivado do esqualeno com a fórmula estrutural acima, com fragmentos em $m/z= 211, 193, 137, 135, 109, 69$ e 43 Dalton (**Esquema** 4. p. 243).

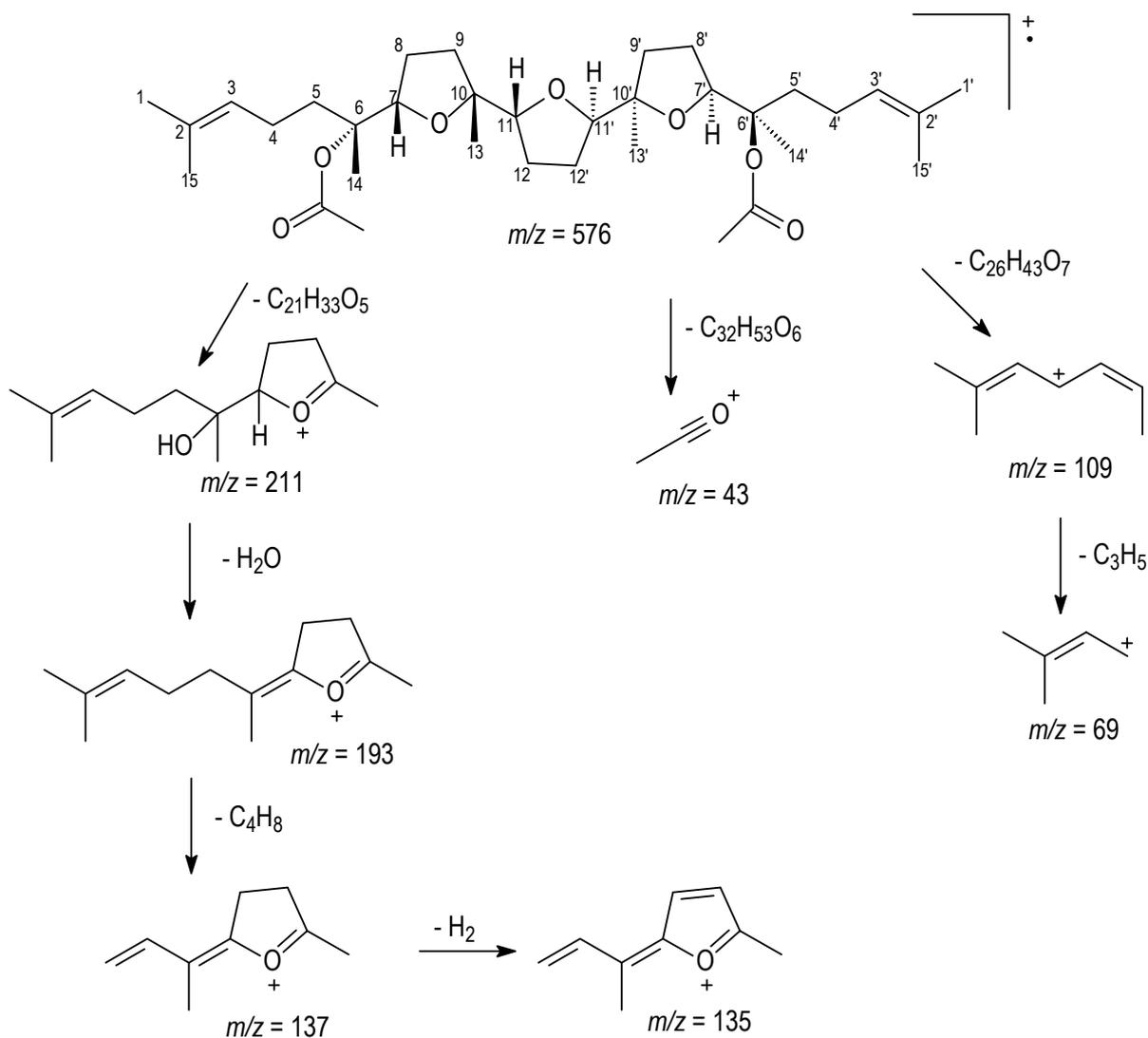
O conjunto desses dados permitiu definir um esqueleto do tipo triterpeno derivado do esqualeno, e propor a estrutura para triterpeno **XII** com um substituinte acetato nos átomos de carbonos C-6 e C-6', inédito na literatura até o presente momento.

Os valores dos deslocamentos de RMN ^{13}C -DEPTQ e ^1H , descritos na **Tabela** 44 abaixo foram comparados com os dados de literatura para o triterpeno teurileno (HASHIMOTO et. al., 1991).

Tabela 44: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C -DEPTQ (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno **XII**, e as comparações com valores da literatura para os modelos **Mo**, os valores das constantes de acoplamento (J) estão em Hertz.

Substância XII					
HMQC			HMBC		Mo [*]
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}
C					
2/2'	131,6	-	3H-1/3H-1'; 3H-15/3H-15'	2H-4/2H-4'	130,9
6/6'	72,7/72,0	-	2H-5/2H-5'; 3H-14/3H-14'	2H-8/2H-8'	73,0
10/10'	83,8/83,6	-	3H-13/3H-13'	H-7/H-7'; 2H-8/2H-8'	85,3
AcO-6/6'	171,0/170,9	-			-
CH					
3/3'	124,5	5,11 (dt, 8,4, 7,9)	2H-4/2H-4'	2H-5/2H-5'; 3H-1/3H-1'; 3H-15/3H-15'	125,0
7/7'	78,1/77,6	4,89 (dd, 9,5; 7,5)	2H-8/2H-8'	2H-9/2H-9'; 3H-14/3H-14'	84,3
11/11'	86,6/84,4	3,72 (dd, 8,7; 5,5) 3,78 (dd, 8,2; 6,7)	2H-12/2H-12'	2H-9/2H-9'; 3H-13/3H-13'	85,1
CH₂					
4/4'	22,1	2,10; 1,95	H-3/H-3'; 2H-5/2H-5'		22,3
5/5'	37,5/37,2	1,50; 1,45	2H-4/2H-4'	H-3/H-3'; 3H-14/3H-14'	38,6
8/8'	27,0/26,8	1,55	H-7/H-7'		25,3
9/9'	34,8/34,1	1,90; 1,60		H-7/H-7'; H-11/H-11'; 3H-13/3H-13'	30,6
12/12'	25,8/25,5	1,85	H-11/H-11'		29,4
CH₃					
1/1'	25,7	1,68 (sl)		H-3/H-3'; 3H-15/3H-15'	25,6
13/13'	24,2/24,0	1,20 (s); 1,18 (s)			23,4
14/14'	22,8/22,6	1,18 (s); 1,16 (s)		H-7/H-7'	24,2
15/15'	17,7	1,62 (s)		3H-1/3H-1'; H-3/H-3'	17,6
AcO-6/6'	21,2/21,1	2,09(s); 2,08 (s)			-

* HASHIMOTO et. al., 1991



Esquema 4: Proposta mecanística dos principais fragmentos para o triterpeno XII.

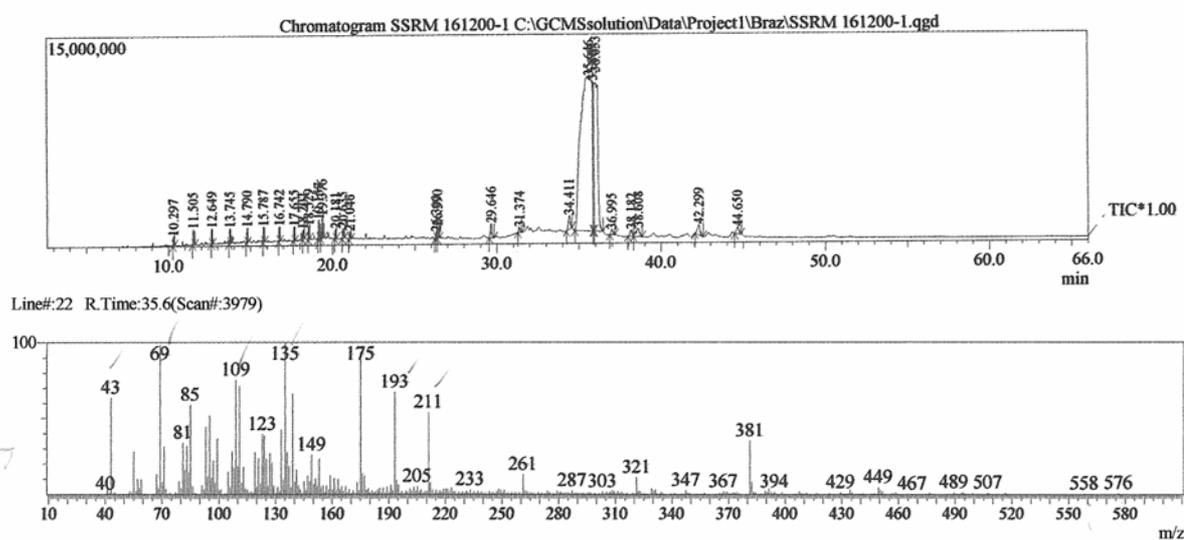


Figura 116: Espectro de CG/EM da substância XII

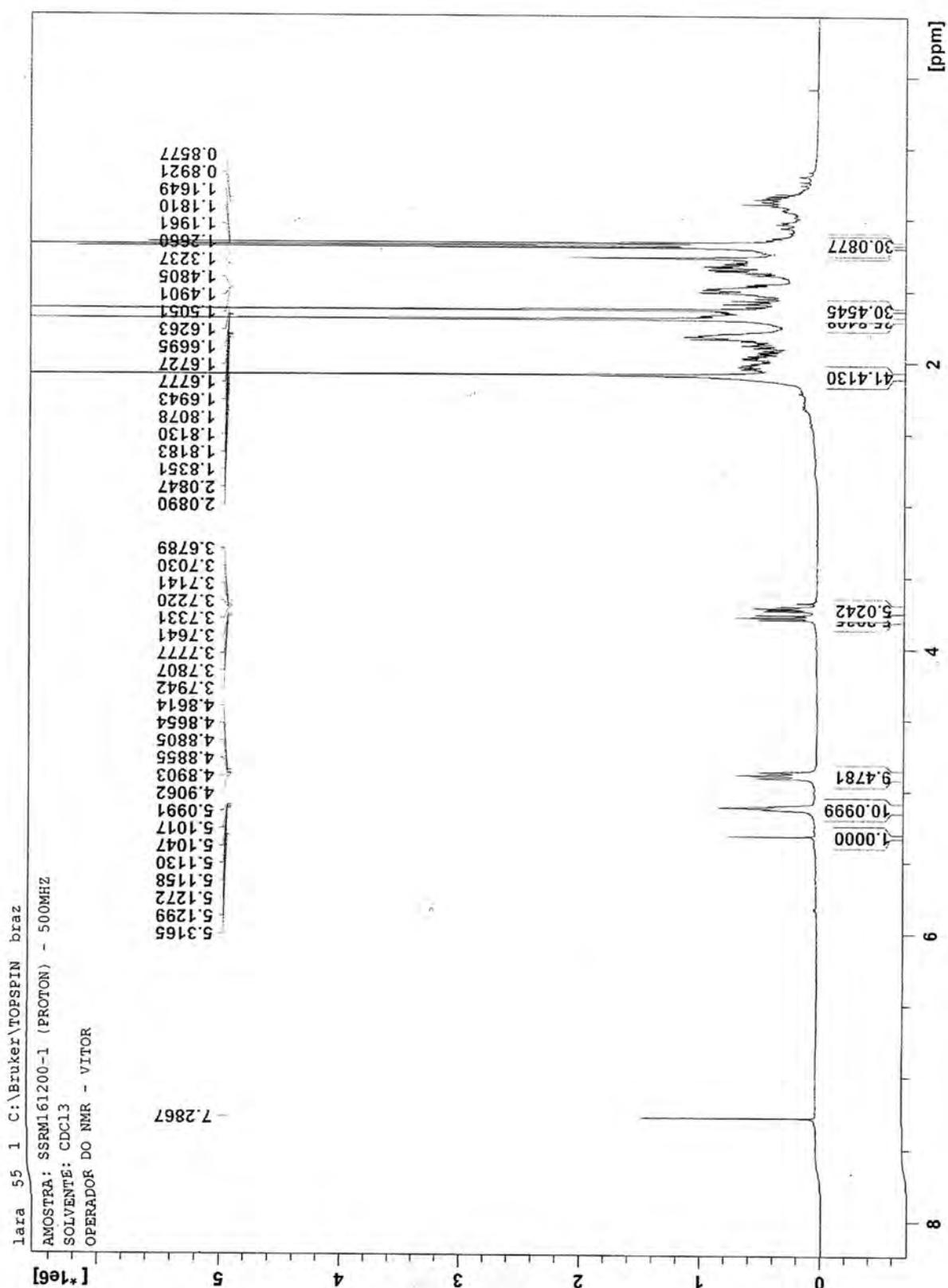


Figura 117: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância XII

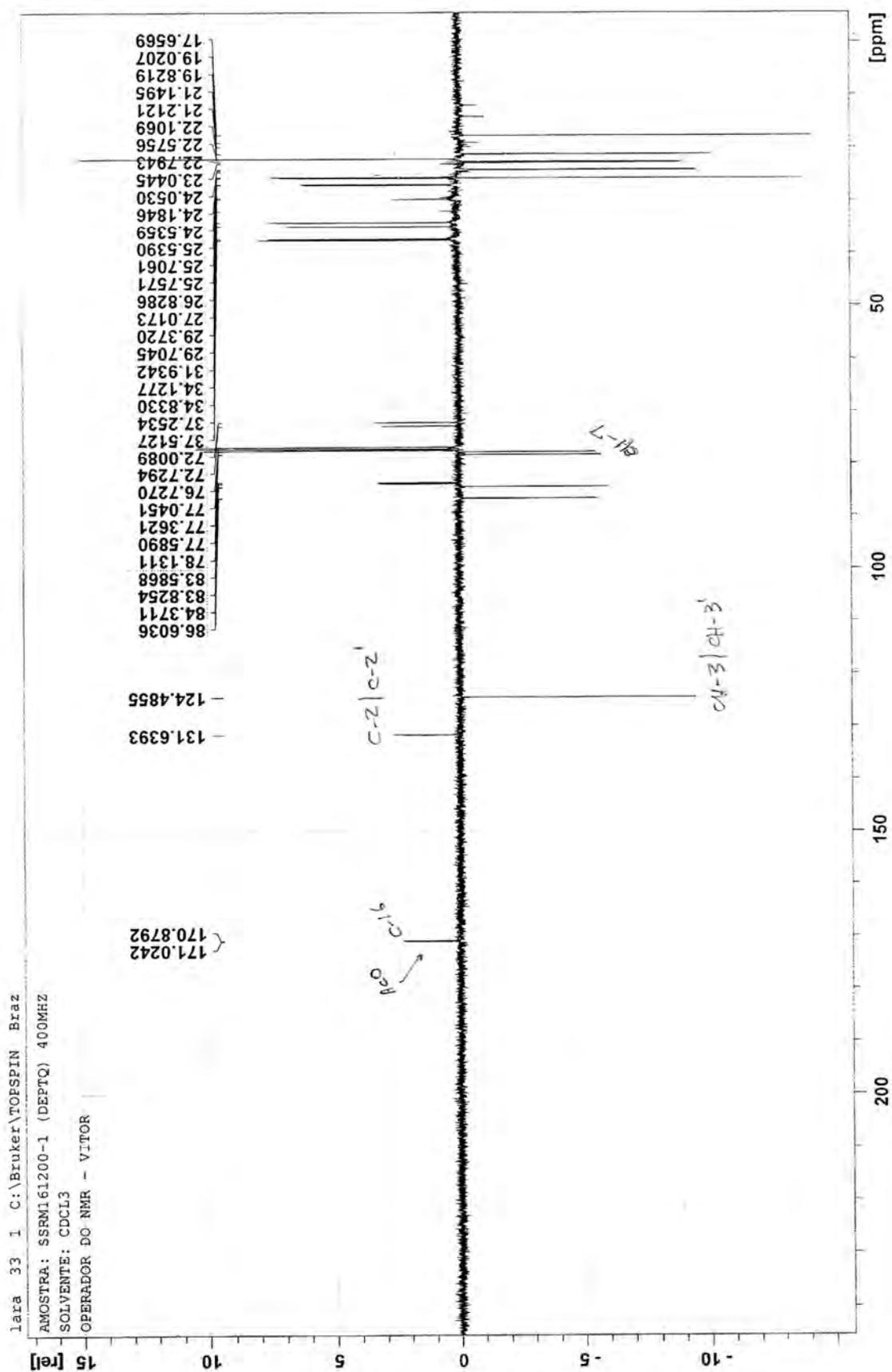


Figura 118: Espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da substância XII

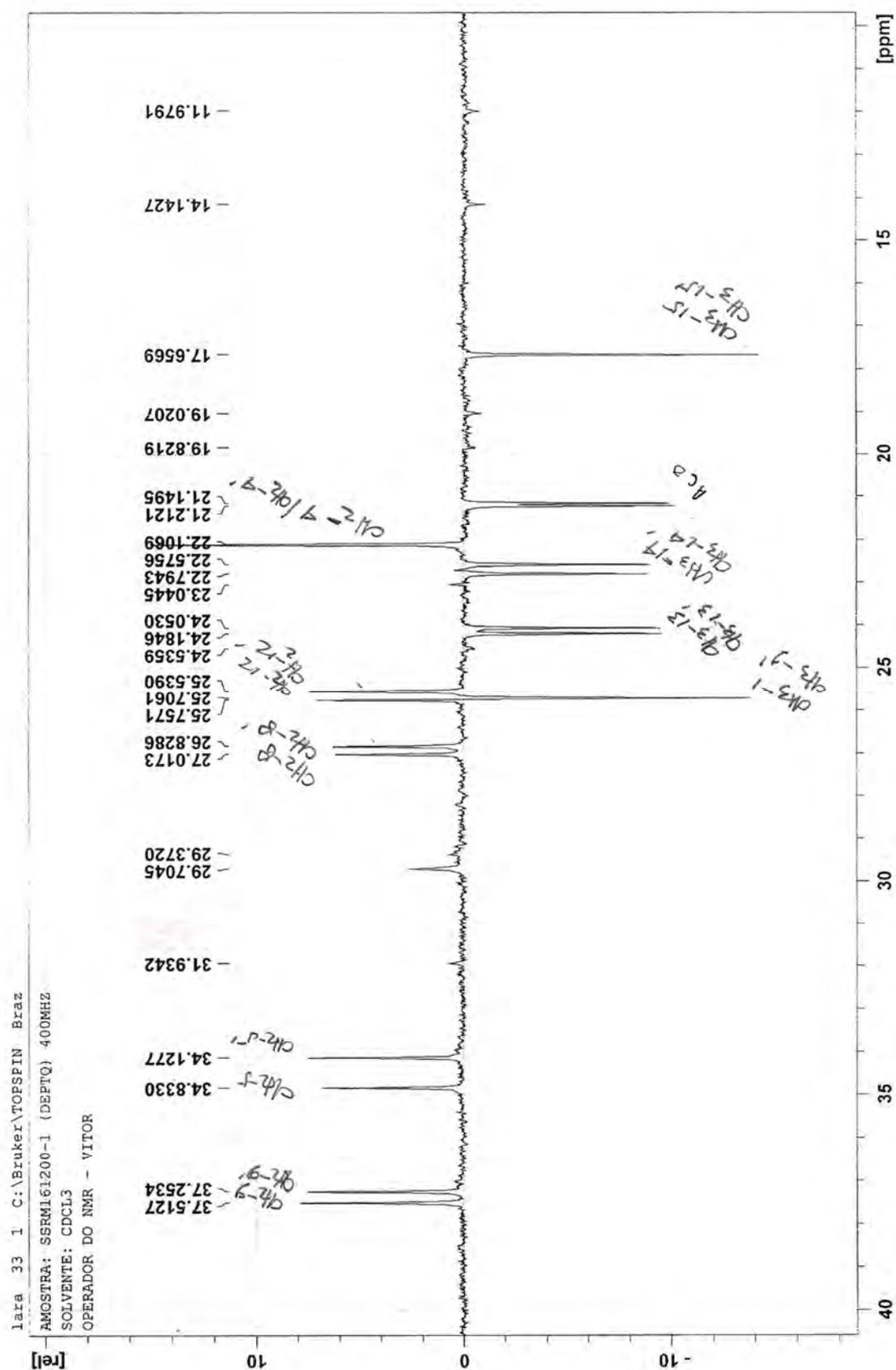


Figura 119: Ampliação da região de δ_c 10,0 – 40,0 do espectro de RMN ^{13}C (DEPTQ, 100 MHz) em CDCl_3 da substância **XII**

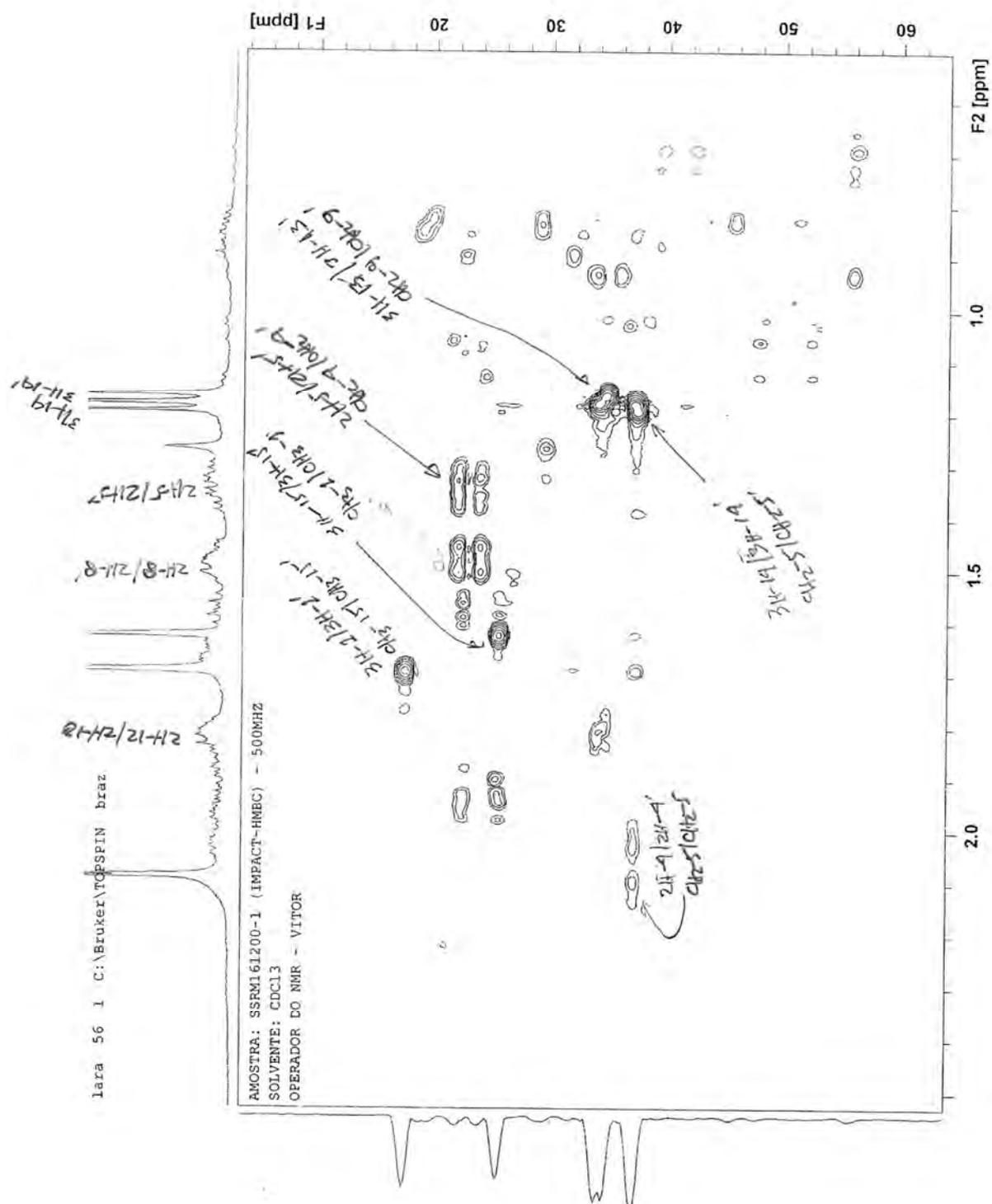


Figura 121: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **XII**

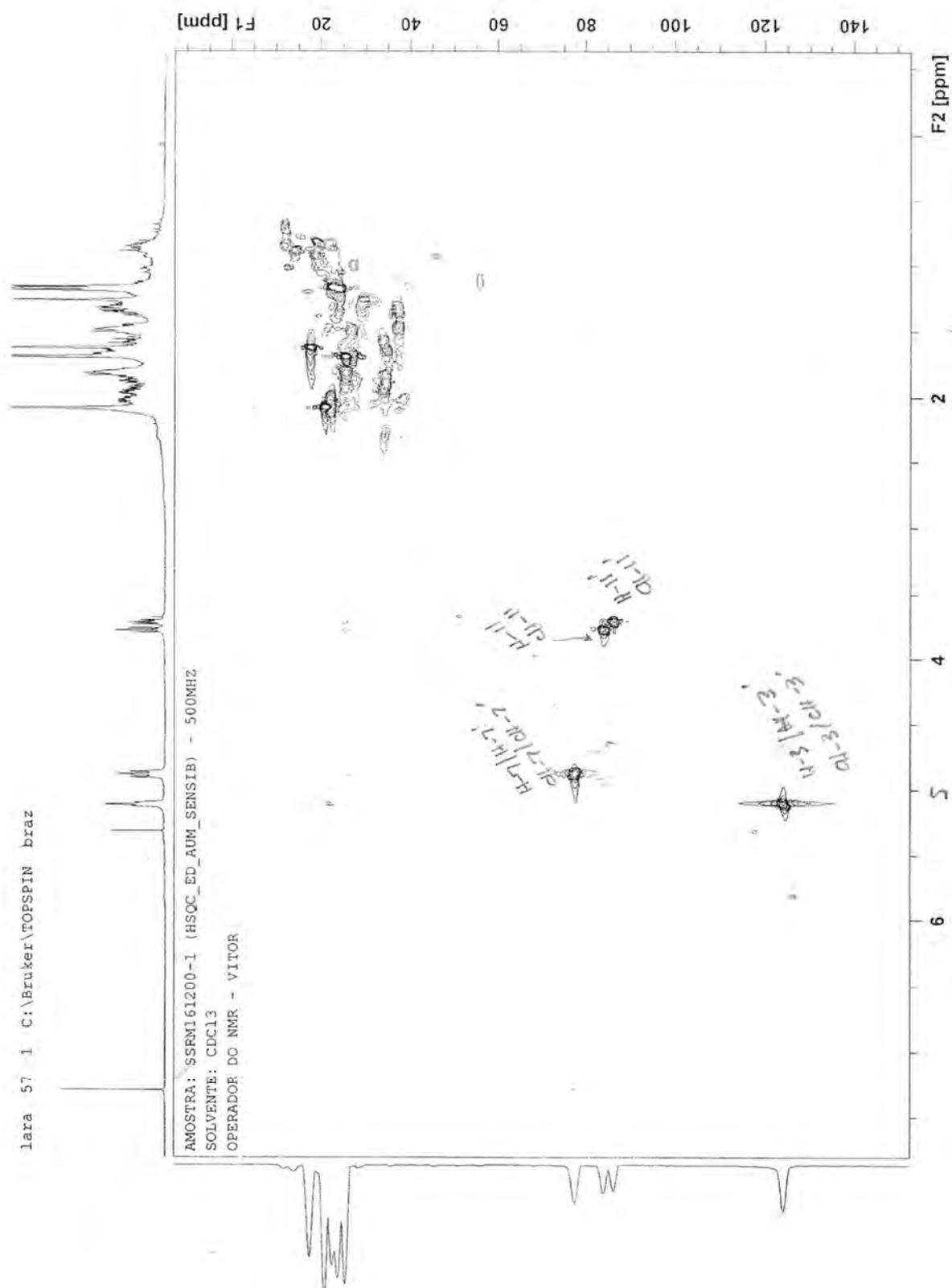


Figura 123: Mapa de correlação do espectro de HSQC em CDCl_3 da substância XII

5.2 RESULTADOS DO TESTE DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA *in vitro* DO EXTRATO METANÓLICO DAS RAÍZES DE *S. suffruticosa* (SRM) E DAS SUBSTÂNCIAS NILOTICINA (SRM1610-1) E CHAPARRINONA (SRM431-2).

O extrato e as substâncias foram avaliados em três experimentos independentes resumidos nas tabelas e figura abaixo. Em uma triagem inicial, o extrato e as substâncias foram testados em duas concentrações, 25 µg/mL e 50 µg/mL, utilizando como padrão a cloroquina. O extrato e as frações testados apresentaram percentual de redução de parasitemia maior que 50% nas duas concentrações testadas. Com esse resultado, **Tabela 45**, o extrato e as frações, foram selecionados para determinação das CI_{50} **Tabela 46** e **Tabela 47**.

Tabela 45- Percentual de redução (% Redução) do crescimento de *P. falciparum* cloroquina resistente (W2) na presença do extrato EMRSS e das substâncias niloticina (SRM1610-1) e chaparrinona (SRM431-2).

	% Redução	
	Concentração 25 µg/mL	Concentração 50 µg/mL
SRM	99	100
Niloticina (SRM1610-1)	76	89
Chaparrinona (SRM431-2)	100	100
Cloroquina	100	100

Tabela 46- Concentração inibitória de 50% do crescimento (CI_{50}) do clone W2 (cloroquina-resistente) de *P. falciparum* contra o extrato EMRSS.

Amostras	CI_{50} (µg/mL) Média ± DP	Classificação
SRM	2,73 ± 0,33	Ativa
Cloroquina	0,102 ± 0,028	Muito ativa

Tabela 47- Concentração inibitória de 50% do crescimento (CI_{50}) do clone W2 (cloroquina-resistente) de *P. falciparum* contra as frações SRM1610-1 (niloticina) e SRM431-2 (chaparrinona).

Amostras	CI_{50} (µg/mL)	Classificação
Niloticina (SRM1610-1)	4,85	Ativa
Chaparrinona (SRM431-2)	0,067	Muito ativa
Cloroquina	0,060	Muito ativa

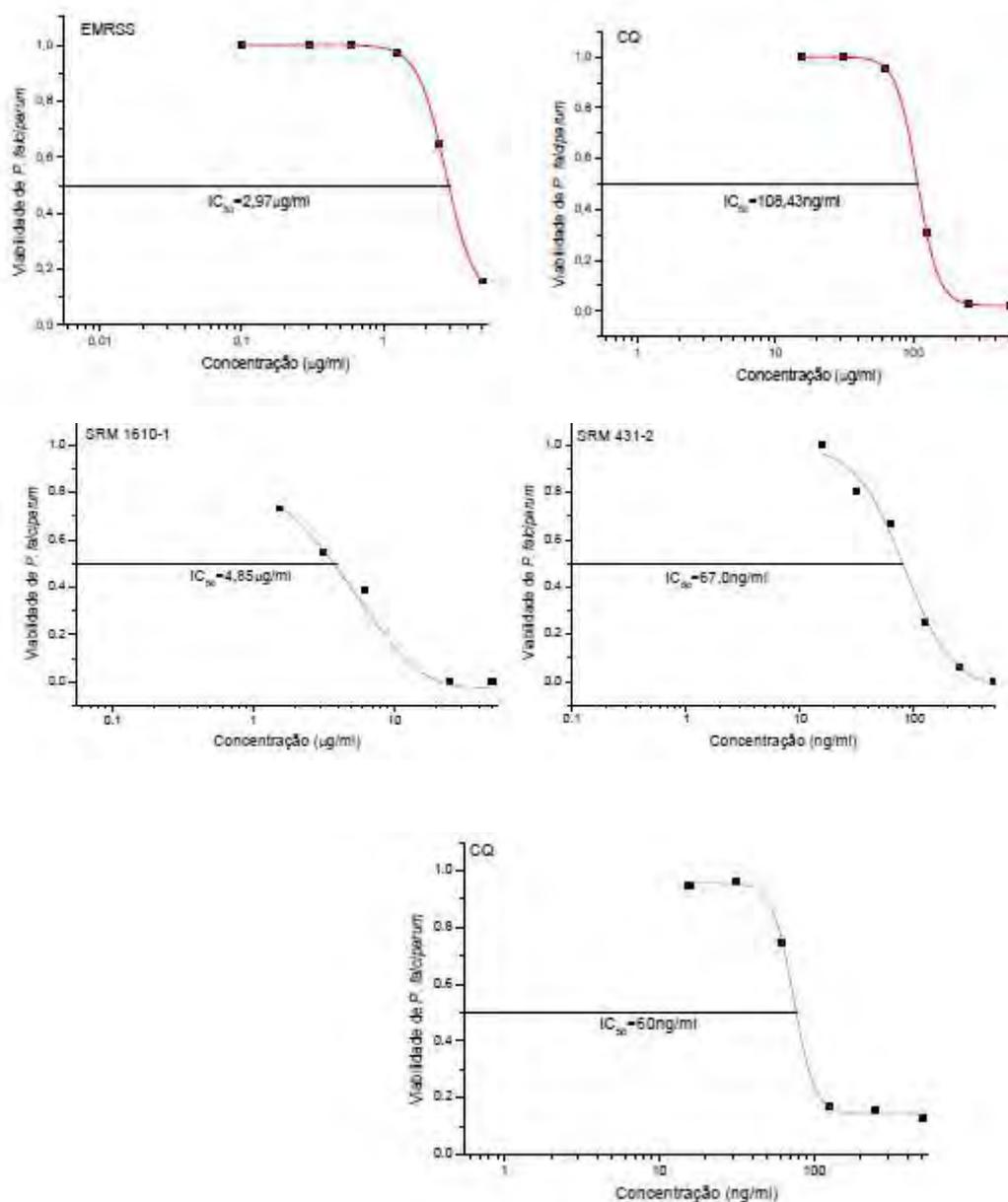


Figura 127: Curvas dose-resposta das amostras testadas contra parasitos do ciclo sanguíneo de *P. falciparum* (cepa W2), mostrando os valores da concentração inibitória de 50% do crescimento (CI_{50}).

O extrato EMRSS testado apresentou um valor de CI_{50} de 2,73 $\mu\text{g/mL}$, apresentando uma boa atividade antimalárica. Nesse teste, a cloroquina, utilizada como antimalárico padrão foi considerada como muito ativa apresentando CI_{50} = 0,102 $\mu\text{g/mL}$.

O teste realizado com as frações SRM1610-1 (niloticina) e SRM431-2 (chaparrinona) apresentou valores de CI_{50} de 4,85 $\mu\text{g/mL}$ e 0,067 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Esses resultados mostram que a substância niloticina (SRM1610-

1) é ativa, porém, a substância (SRM431-2) é muito ativa, podendo ser comparada com a atividade da cloroquina que nesse teste apresentou um CI_{50} de 0,060 $\mu\text{g/mL}$.

A atividade antimalárica dessa espécie pode ser relacionada à presença do quassinóide chaparrinona (SRM431-2).

O quassinóide chaparrinona (SRM431-2) mostrou-se bastante promissor.

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico da espécie *Simaba suffruticosa* foi realizado pela primeira vez, e permitiu o isolamento e a identificação de dois quassinóides: chaparrinona e chaparrina, uma cumarina: 6,7-dimetoxicumarina, três triterpenos: teurileno, niloticina e lanostadienona e uma mistura de dois esteróides: sitosterol e estigmasterol.

O estudo fitoquímico da espécie *Simaba subcymosa*, levou ao isolamento de dois alcalóides: 5-metoxicantin-6-ona e 3-metoxicantin-2,6-diona, um quassinóide: simarolido, duas misturas de esteróides: sitosterol, estigmasterol e campesterol; sitostenona e estigmastenona e um novo triterpeno: acetato de teurileno.

O teste da atividade antimalárica *in vitro* do extrato metanólico das raízes de *S. suffruticosa* e da fração SRM1610-1 (niloticina) apresentaram uma boa atividade antimalárica quando comparada com a cloroquina, a fração SRM431-2 (chaparrinona), apresentou-se como MUITO ATIVA com um valor de CI_{50} muito próximo ao valor da cloroquina, que foi utilizada como padrão, (0,067 $\mu\text{g/mL}$), mostrando-se altamente promissora.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. M. B.; ARRIAGA, A.M.C.; SANTOS, A.K.L.; LEMOS, T.L.G.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I.J.C. (2007), Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década, *Química Nova*, v.30, n.4, p.935-951.

ARISAWA, A.; KINGHORN, A.D.; CORDELL, G.A.; FARNSWORTH, N.R. (1983), Plants Anticancer Agents. XXIV. Alkaloid Constituents of *Simaba multiflora*, *Journal of Natural Products*, v.30, n.2, p.222-225.

AZOUG, M.; LOUKACI, A.; RICHARD, B.; NUZILLARD, J.M.; MORETI, C.; ZÈCHES-HANROT, M.; LE MEN-OLIVIER, L. (1995), Alkaloids from stem bark and leaves of *Peschiera buchtieni*, *Phytochemistry*, v.39, p.1223-1228.

BARBETTI, P.; GRANDOLINI, G.; FARDELLA, G.; CHIAPPINI, I.; MASTALIA, A. (1990), New canthin-6-one alkaloids from *Quassia amara*, *Planta Medica*, v.56, p.216-217.

BARBOSA, L.F.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I.J.C. (2011), Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae), *Chemistry & Biodiversity*, v.8, n.16, p.2163-2178.

BIAGGIO, R. M. T. T. (1988), Contribuição à quimiosistemática de Simaroubaceae; Espectroscopia de alcalóides –Carbolínicos e cantinônicos e estudo fitoquímico de *Picramnia*, *Dissertação de mestrado*, São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, 172p.

CABRAL, J.A.; MCCHESENEY, J.D.; MILHOUS, W.K. (1993), A new antimalarial quassinoid from *Simaba guianensis*, *Journal of Natural Products*, v.56, n.11, p.1954-1961.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H.; MOSQUIM, P.R. (2001), *Contribuição ao estudo das plantas medicinais Metabólitos secundários*, Editora UFV, 104p.

CORDEIRO, C.E.S.; FILOMENO, C.R.M.; COSTA, C.M.A.; COUTO, A.A.R.A. (2002), Perfil epidemiológico da malária no Estado do Pará em 1999 com base numa série histórica de dez anos (1989-1999), *Informe Epidemiológico do SUS*, v.11, n.2, p. 69-77.

DESJARDINS. R.E.; CANFIELD, C.J.; HAYNES, J.D.; CHULAY, J.D. (1979), Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semi automated microdilution technique, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.16, n.6, p. 710-718.

FILHO, E.R. (1989). Estudos fitoquímico de *Picramnia riedeli* e *Picramnia bahiense*: uma contribuição à quimiosistemática da família Simaroubaceae, *Dissertação de mestrado*, São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, 131p.

GUTIÉRREZ, C.; GONZALES-COLOMA, A.; HOFFMANN, J.J. (1999), Antifeedant properties of natural products from *Parthenium argentatum*, *P. argentatum*, *P. tomentosa* (Asteraceae) and *Castela emoryi* (Simaroubaceae) against *Reticulitermes flavipes*, *Industrial Crops and Products*, v.10, p.35-40.

HAMBURGER, M.O.; CORDELL, G.A. (1988), ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopic studies of selected quassinoids, *Planta Medica*, p.352-355.

HASHIMOTO, M.; HARIGAYA, H.; YANAGIYA, M.; SHIRAHAMA, H. (1991), Total synthesis of the meso-triterpene polyether teurilene, *Journal Organic Chemistry*, v.56, n.7, p.2299-2311.

JOSHI, B.C.; PANDEY, A.; SHARMA, R.P.; KHARE, A. (2003), Quassinoids from *Ailanthus excelsa*, *Phytochemistry*, v.62, p. 579-584.

JACOBS, H.; LEWIS, D.E.; SAWYER, J.F.; McLEAN, S. (1987), Cedronin and 7-*epi*-cedronin: x-ray crystal structure analysis, *Journal of Natural Products*, v.50, n.4, p.700-705.

KIM, I.H.; SUZUKI, R.; HITOTSUYANAGI, Y.; TAKEYA, K. (2003), Three novel quassinoids, javanicolides A and B, and javanicoside A, from seeds of *Brucea javanica*, *Tetrahedron*, v. 59, p. 9985-9989.

KUBOTA, K.; FUKAMIYA, N.; HAMADA, T.; OKANO, M.; TAGAHARA, K.; LEE, K.H. (1996), Two new quassinoids, ailantinols A and B, and related compounds from *Ailanthus altissima*, *Journal of Natural Products*, v.59, n.7, p.683-686.

KUPCHAN, S.M.; LACADIE, J.A. (1975), Dehydroailanthinone, a new antileukemic quassinoid from *Pierreodendron kerstingii*, *Journal Organic Chemistry*, v.40, n.5, p.654-656.

LEE, R.H.; IMAKURA, Y.; SUMIDA, Y.; WU, R.Y., HALL, I.H. (1979), Antitumor agents. 33. Isolation and Structural elucidation of bruceoside A and B, novel antileukemic quassinoid glycosides, and brucein D and E from *Brucea javanica*, *Journal Organic Chemistry*, v.44, n.13, p. 2180-2185.

LI, J.H.; SNYDER, K. (1994), Selective Oxidation of Canthines to Canthin-6-ones with Triethylbenzylammonium Permanganate, *Tetrahedron Letters*, v.35, n.10, p.1485-1488.

LIN, L.Z.; CORDELL, G.A.; NI, C.Z.; CLARDY, J. (1990), A quassinoid from *Brucea Javanica*, *Phytochemistry*, v.29, n.8, p. 2720-2722.

MATOS, F.J.A., (1997), *Introdução à fitoquímica experimental*, 2^o edição, Editora UFC, Fortaleza, 141p.

MATOS, F.J.A. (2007). A gênese da química dos produtos naturais no Brasil. In: MORAIS, Selene Maia & BRAZ-FILHO, Raimundo. *Produtos Naturais Estudos Químicos e Biológicos*. 2^a Ed. Editora da UECE, p. 105-122.

MERCK, E. (1972). Reativos de coloración para cromatografía em capa fina y em papel. Darmstadt Alemanha, p.130.

MILLER, S.L.; TINTO, W.F.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W.F.; YU, M.; CARTER, C.A.G. (1995), Quassiols B-D, new squalene triterpenes from *Quassia multiflora*, *Tetrahedron*, v.51, n.44, p.11959-11966.

MOREIRA, V.F. (2009), Constituintes químicos de *Borreria verticillata*, *Dissertação de mestrado*, Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 173p.

MULHOLLAND, D.A.; KOTSOS, M.; MAHOMED, H.A.; TAYLOR, D.A.H. (1998), Triterpenoids from *Owenia cepiodora*, *Phytochemistry*, v.49, n.8, p.2457-2460.

MURAKAMI, N.; SUGIMOTO, M.; KAWANISHI, M.; TAMURA, S.; KIM, H.S.; BEGUM, K.; WATAYA, Y.; KOBAYASHI, M. (2003), New Semisynthetic Quassinoids with *in vivo* Antimalarial Activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, V.46, p.638-641.

NOLDIN, V.F. (2005). Estudos fitoquímico das folhas e rizomas de *Simaba ferruginea* ST. HIL. E avaliação da atividade antiúlcera e antinociceptiva dos extratos e compostos isolados, *Dissertação de mestrado*, Itajaí, Universidade do Vale do Itajaí, 91p.

NOVELLO, C.R.; FERREIRA, A.G.; MARQUES, L.C.; CORTEZ, D.A.G. (2003), Quassinoids from *Picrasma crenata*, *Natural Product Research*, v.17, n.3, p.145-148.

PHILLIPSON, J.D.; DARWISH, F.A. (1979), TLX-5 Lymphoma Cells in Rapid Screening for Cytotoxicity in *Brucea* Extracts, *Journal of Medicinal Plant Research*, v.35, p.308-315.

PINTO, A.C.; ALENCASTRO, R.B.; SANTOS, N.P. (2007), A gênese da química dos produtos naturais no Brasil. *In*: MORAIS, Selene Maia & BRAZ-FILHO,

Raimundo. *Produtos Naturais Estudos Químicos e Biológicos*. 2ª Ed. Editora da UECE, p. 47-62.

POLONSKY, J.; VARON, Z.; MORETTI, C.; PETTIT, G.R.; HERALD, C.L.; RIDEOUT, J.A.; SAHA, S.B.; KHASTGIR, H.N. (1980), The antineoplastic quassinoids of *Simaba cuspidata* Spruce and *Ailanthus grandis* Prain, *Journal of Natural Products*, v.43, n.4, p.503-509

POLONSKY, J.; BHATNAGAR, S. (1984), 15-deacetylsergeolide, a potent antileukemic quassinoid from *Picrolemma pseudocoffea*, *Journal of Natural Products*, v.47, n.6, p.994-996.

SARAIVA, R.C.G.; PINTO, A.C.; NUNOMURA, S.M.; POHLIT, A.M. (2006), Triterpenos e alcalóide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W.W. Thomas (Simaroubaceae), *Química Nova*, v.29, n.2, p. 264-268.

SAKAKI, T.; YOSHIMURA, S.; TSUYUKI, T.; TAKAHASHI, T.; HONDA, T. (1986), Yadanzioside p, a new antileukemic quassinoid glycoside from *Brucea javanica* (L.) Merr with the 3-O-(β -D-glucopyranosyl) Bruceatin structure, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v.34, n.10, p.4447-4450.

SHING, T.K.M.; JIANG, Q. (2000), Total synthesis of (+)-Quassin, *Journal Organic Chemistry*, v.65, p.7059-7069.

SIMOTE, S.Y. (2006), Estudo Fitoquímico de *Helietta puberula* (Rutaceae), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) e Busca de um Processo de Microencapsulação de Compostos Ativos, Visando o Controle de Formigas Cortadeiras, *Tese de doutorado*, São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, 200p.

SOUZA, R.P.; BARBOSA, L.F.; OLIVEIRA, A.F.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I.J.C. (2005), Cymosanine, a novel C₁₉-quassinoid from *Simaba subcymosa*, *Natural Products Research*, v.19, n.2, p.151-155.

TADA, H.; YASUDA, F.; OTANI, K.; DOTEUCHI, M.; ISHIHARA, Y.; SHIRO, M. (1991), New antiulcer quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.26, p.345-349.

VAN THU, N.; VAN KIM, N.; VAN NHU, T.; BOI HOAN, D.; THUY MAI, N.; THI THANH, D. (1979), Effectiveness of *Brucea sumatrana* plant against malaria, *Duoc Hoc*, v.4, p.15-17.

VIEIRA, I.J.C. (1995), Uma contribuição à Família Simaroubaceae, *Tese de doutorado*, São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, 318p.

WANI, M.C.; TALOR, H.L.; THOMPSON, J.B.; WALL, M.E. (1978), Plant antitumor agents, XVI. 6 α -seneciolyloxy-chaparrinone, a new antileukemic quassinoid from *Simaba multiflora*, *Lloydia*, v.41, n.6, p.578-583.