

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

TRITERPENOS ISOLADOS DE
Parahancornia amapa (Apocynaceae)

e

DITERPENOS ISOLADOS DE
Pinus caribaea var. *bahamensis* Barr et Golf

CARLOS RIBEIRO XAVIER VELLOSO

Seropédica, Rio de Janeiro

1998

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

TRITERPENOS ISOLADOS DE

Parahancornia amapa (Apocynaceae)

e

DITERPENOS ISOLADOS DE

Pinus caribaea var. *bahamensis* Barr et Golf

CARLOS RIBEIRO XAVIER VELLOSO

SOB ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR

DR. MÁRIO GERALDO DE CARVALHO

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau
de Mestre em Ciências. Área de
Concentração em Química Orgânica.

Seropédica, Rio de Janeiro

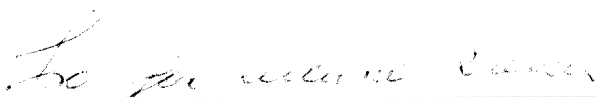
1998

TRITERPENOS ISOLADOS DE
Parahancornia amapa (Apocynaceae)
e
DITERPENOS ISOLADOS DE
Pinus caribaea var. *bahamensis* Barr et Golf
CARLOS RIBEIRO XAVIER VELLOSO

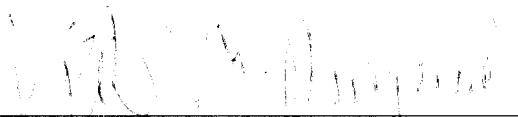
APROVADO EM 17 / 12 / 98.



Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho
DQ - UFRRJ
(Orientador e Presidente)



Prof. Dr. Ivo José Curcino Vieira
SQPN . LCQUI . CCTA - UENF



Prof. Dr. Victor Marcós Rumjanek
DQ - UFRRJ



Prof.ª Dr.ª Rosane Nora Castro
DQ - UFRRJ
(Suplente)

*" Não te mandei eu ? Esforça te, e tem bom ânimo; não pases,
nem te espantes: porque o SENHOR, teu Deus,
é contigo, por onde quer que andares "*

Josué 1:9

BIOGRAFIA

Carlos Ribeiro Xavier Velloso, filho de Ary Carlos Xavier Velloso e Marília Ribeiro Xavier Velloso, nasceu em Petrópolis, no Estado do Rio de Janeiro, em 16 de julho de 1973.

Graduou-se em Engenharia Química no ano de 1996 pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica do CNPq, no Departamento de Química, setor de Química Orgânica.

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela oportunidade concedida.

Ao Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho pela brilhante orientação, pelos conhecimentos transmitidos e amizade da qual me orgulho.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho pela cooperação, incentivo constante, dedicação e amizade.

Ao botânico Benedito Vítor Rabelo pela coleta e identificação do material vegetal de *Parahancornia amapa*.

Ao Prof. Dr. Acácio Geraldo de Carvalho (DPF-IF-UFRRJ) e à DURAFLORE pela coleta e fornecimento do material de *Pinus caribaea*.

À Coordenadora do Curso de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Prof^a. Dr^a. Áurea Echevarria Aznar Neves Lima, pelas colaborações e facilidades oferecidas.

A todos os professores pertencentes ao Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica da UFRRJ.

Ao Professor Dr. Heber dos Santos Abreu pelo apoio oferecido.

Ao Professor Dr. Willian Ferreira da Costa - Departamento de Química - UEM -PR - pelos espectros de CG-EM obtidos.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE GERAL	viii
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ABREVIATURAS	xxii
RESUMO	xxiv
ABSTRACT	xxvi
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. TRITERPENOS ISOLADOS DE <i>Parahancornia amapa</i>	05
2.1 .Introdução	05
2.2. A planta e seus constituintes	11
2.2.1. Aspectos botânicos da família Apocynaceae	11
2.2.2.Caracteres gerais da Família	12
2.2.3.Características da espécie <i>P.amapa</i> (Huber) Ducke	14
2.2.4.Constituintes químicos isolados das cascas e do látex de <i>P. amapa</i> em trabalho anterior ²⁰	14
2.2.5.Constituintes químicos isolados da raiz e do tronco de <i>P. amapa</i> neste trabalho	15

2.3.Determinação estrutural das substâncias isoladas de <i>P. amapa</i>	18
2.3. 1.Determinação estrutural de PARH-12 (1 + 2)	18
2.3.2.Determinação estrutural de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6)	21
2.3.3. Determinação estrutural de PACRH-A (7 + 8 + 9)	30
2.3.4. Determinação estrutural de PACRH-1 (10 + 11 + 12)	33
2.4. Parte experimental	50
2.4.1. Coleta da planta	50
2.4.2. Elaboração dos extratos	50
2.4.3. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos	51
2.4.3.1. Extrato hexânico da raiz	51
2.4.3.2. Extrato hexânico da casca da raiz	52
2.4.3.3. Extrato hexânico das folhas	52
2.4.3.4. Extrato hexânico do tronco	53
2.4.3.5. Extrato metanólico da raiz	53
2.4.4. Preparação dos derivados das substâncias isoladas	57
2.4.4.1. Hidrólise alcalina	57
2.4.4.2. Metilação com diazometano	57
2.4.4.3. Acetilação	57
2.4.4.4. Oxidação com PCC	58
3. DITERPENOS ISOLADOS DA MADEIRA DE <i>Pinus caribaea</i> var. <i>bahamensis</i> Barr et Golf	60
3.1. Introdução	60

3.2. A planta e seus constituintes	62
3.2.1. Características da espécie <i>Pinus caribaea</i> var. <i>bahamensis</i> Barr et Golf	62
3.2.2. Constituintes isolados da madeira de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>bahamensis</i>	63
3.3. Determinação estrutural dos diterpenos isolados de <i>Pinus</i> <i>caribaea</i> var. <i>bahamensis</i>	64
3.4. Parte experimental	68
3.4.1. Coleta da planta	68
3.4.2. Elaboração do extrato	68
3.4.3. Isolamento dos constituintes da planta	68
4. ESPECIFICAÇÃO DOS MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	70
5. BIOGÊNESE	72
5.1. Aspectos gerais da biogênese dos compostos isolados de <i>P.</i> <i>amapa</i> (Huber) Ducke e <i>Pinus caribaea</i> var. <i>bahamensis</i> Barr et Golf	72
5.1.1. Terpenóides	72
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
7. APÊNDICE	89

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1 : Interpretação do espectro de Massas de PARH-10 (4+5+6)	28
Esquema 2 : Interpretação do espectro de Massas de PARH-10 (3)	29
Esquema 3 : Elaboração dos extratos e posterior fracionamento cromatográfico da raiz de <i>P. amapa</i>	54
Esquema 4 : Elaboração dos extratos e posterior fracionamento cromatográfico da casca da raiz de <i>P. amapa</i>	55
Esquema 5 : Elaboração dos extratos das folhas de <i>P. amapa</i>	56
Esquema 6 : Elaboração dos extratos do tronco de <i>P. amapa</i>	56
Esquema 7 : Reações realizadas com 10 + 11 + 12	59
Esquema 8 : Elaboração dos extratos e posterior fracionamento cromatográfico da madeira de <i>Pinus caribaea</i> var. <i>bahamensis</i> .	69
Esquema 9 : Rota geral da biossíntese de terpenóides	74
Esquema 10 : Conversão do acetil-CoA em ácido mevalônico	75
Esquema 11 : Metabolismo do ácido mevalônico em isopentenil pirofosfato.	76
Esquema 12 : Isomerização do isopentenil pirofosfato	77
Esquema 13 : Ciclização do esqualeno e formação de triterpenos	78
Esquema 14 : Formação de triterpenos pentacíclicos a partir do C ⁺ -19	79

Esquema 15 : Formação dos esteróides estigmasterol e sitosterol	80
Esquema 16 : Biossíntese dos ácidos constituintes dos ésteres de lupeol (n = número par)	81
Esquema 17 : Biossíntese dos ácidos constituintes dos ésteres de lupeol (n = número ímpar)	82
Esquema 18 : Propostas biossintéticas dos diterpenos 13 e 14	83

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 : Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz) de PARH-12 (1+2) com os padrões da literatura (Mod. 1 e Mod.2)	19
Tabela2 : Comparação dos dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PARH-12 (1+2) com os padrões da literatura (Mod.1 e Mod.2)	20
Tabela 3 : Dados de IV de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) em KBr	23
Tabela 4 : Dados de RMN ^1H (200,13 MHz) de PARH-10 (4 + 5 + 6) em CDCl_3 e TMS como referência interna	24
Tabela 5 : Comparação dos dados de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de PARH-10 (4 + 5 + 6) com os padrões da literatura	25
Tabela 6 : Alguns dados de RMN 2D (HMQC e HMBC) usados para confirmar a presença de 3 na mistura	26
Tabela 7 : Algumas interações observadas no espectro 2D da mistura de 4, 5 e 6 que permitiram confirmar a localização da ligação dupla e do grupo hidroxila nas estruturas propostas	27
Tabela 8 : Dados de IV de PACRH-A (7 + 8 + 9) em KBr	31
Tabela 9 : Dados de RMN ^1H (200,13MHz) de PACRH-A (7+8+9) obtidos em CDCl_3 e TMS como referência interna	31

Tabela 10 : Dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) de 7 + 8 + 9 obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT (0:90 e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna	32
Tabela 11 : Dados de IV de PACRH-1 (10 + 11 + 12) em KBr	41
Tabela 12 : Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (10 + 11 + 12) com o padrão da literatura	42
Tabela 13 : Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND e DEPT (0:90 e 135°) da unidade terpênica de PACRH-1 (10 + 11 + 12) com o modelo da literatura (Mod.3)	43
Tabela 14 : Estruturas e dados de CG-EM dos ésteres metílicos obtidos da hidrólise de 10A-10J, 11A-11E e 12A-12B	44
Tabela 15 : Dados de RMN de ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C (50,3 MHz) de 11-OXI obtidos com experimentos 1D-2D e de 11-Ac (1D) obtidos em CDCl_3 e TMS como referência interna	49
Tabela 16 : Dados de RMN ^1H (200,13 MHz) de 13 + 14 em CDCl_3 e TMS como referência interna	66
Tabela 17 : Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de 13+14 comparados com valores da literatura	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 : Espectro de IV de PARH-12 (1+2) em KBr	90
Figura 2 : Espectro de RMN ¹ H (200,13 MHz) de PARH-12 (1+2) registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna	91
Figura 3: Espectro de RMN ¹³ C (50,3 MHz) de PARH-12 (1+2) totalmente desacoplado registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna.	92
Figura 4 : Espectro de IV de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) em KBr	93
Figura 5 : Espectro de RMN ¹ H (400 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna	94
Figura 5a : Espectro expandido de RMN ¹ H (400 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna	95
Figura 5b : Espectro expandido de RMN ¹ H (400 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna	96
Figura 5c : Espectro de RMN ¹ H (200,13 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna	97
Figura 6 : Espectro expandido de RMN ¹³ C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) totalmente desacoplado registrado em CDCl ₃ e TMS como referência interna	98

Figura 6a : Espectro expandido de RMN ^{13}C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) totalmente desacoplado registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	99
Figura 6b : Espectro expandido de RMN ^{13}C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) totalmente desacoplado registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	100
Figura 7 : Espectro expandido de RMN ^{13}C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) com DEPT ($\theta : 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	101
Figura 7a : Espectro expandido de RMN ^{13}C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) com DEPT ($\theta : 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	102
Figura 8 : Espectro de massas de 4 + 5 + 6	103
Figura 9 : Espectro de massas de 3	104
Figura 10 : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6	105
Figura 10a : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido)	106
Figura 10b : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido)	107
Figura 10c : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido)	108
Figura 10d : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido)	109

- Figura 10e : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=1) - HMQC de 3 + 4 +
5 + 6 (expandido) 110
- Figura 10f : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=1) - HMQC de 3 + 4 +
5 + 6 (expandido) 111
- Figura 11 : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 112
- Figura 11a : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 (expandido) 113
- Figura 11b : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 (expandido) 114
- Figura 11c : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 (expandido) 115
- Figura 11d : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 (expandido) 116
- Figura 11e : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 (expandido) 117
- Figura 11f : Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2, 3) - HMBC de 3 + 4
+ 5 + 6 (expandido) 118
- Figura 12 : Espectro de IV de PARCH-A (7 + 8 + 9) em Br 119
- Figura 13 : Espectro e RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-A (7 + 8 + 9)
registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 120
- Figura 14 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-A (7 + 8 + 9)
totalmente desacoplado registrado em CDCl_3 e TMS como
referência interna 121

Figura 15: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-A (7 + 8 + 9) com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	122
Figura 16 : Espectro de IV de PARCH-1 (10 + 11 + 12) em KBr	123
Figura 17: Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (10+11+12) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	124
Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (10+11+12) (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	125
Figura 19 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (10 +11+12) com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	126
Figura 20 : Espectro de IV de PARCH-1 (10+11+12), em filme de NaCl, fração ácida obtida na reação de hidrólise alcalina	127
Figura 21 : Espectro de IV dos ésteres metílicos dos ácidos obtidos na hidrólise alcalina de PARCH-1 (10+11+12) em filme de NaCl.	128
Figura22 : Cromatograma de PACRH-1. Esteres metílicos dos ácidos obtidos na hidrólise alcalina de PACRH-1 (10+11+12)	129
Figura 22a : Espectro de massas do ftalato de n-butila	30
Figura 23 : Espectro de massas de 10a	131
Figura 24 : Espectro de massas de 10b	132
Figura 25 : Espectro de massas de 11a	133
Figura 26 : Espectro de massas de 10c	134
Figura 27 : Espectro de massas de 10d	135
Figura 28 : Espectro de massas de 11b	136

Figura 29	: Espectro de massas de 10e	137
Figura 30	: Espectro de massas de 10f	138
Figura 31	: Espectro de massas de 11c	139
Figura 32	: Espectro de massas de 10g	140
Figura 33	: Espectro de massas de 12a	141
Figura 34	: Espectro de massas de 10h	142
Figura 35	: Espectro de massas de 11d	143
Figura 36	: Espectro de massas de 10i	44
Figura 37	: Espectro de massas de 12b	145
Figura 38	: Espectro de massas de 11e	146
Figura 39	: Espectro de massas de 10j	147
Figura 40	: Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (11), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna, após a reação de oxidação com PCC (11-OXI)	148
Figura 41	: Espectro de RMN ^{13}C (50,13 MHz) de PACRH-1 (11), totalmente desacoplado, registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna, após a reação de oxidação com PCC (11-OXI)	149
Figura42	:Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11)com DEPT (θ - 90 e 135°), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna, após reação de oxidação com PCC (11-OXI)	150
Figura 42a	: Espectro de RMN ^1H x ^{13}C de 11-OXI (expandido)	151
Figura 42b	: Espectro de RMN ^1H x ^{13}C de 11-OXI (expandido)	152
Figura 43	: Espectro de RMN JH (200,13 MHz) de PACRH-1 (11),	

- registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna, após a
reação de acetilação (11-Ac) 153
- Figura 44 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11)
totalmente desacoplado, registrado em CDCl_3 e TMS como
referência interna, após a reação de acetilação (11-Ac) 154
- Figura 45 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11) com
DEPT ($\theta=90$ e 135°), registrado em CDCl_3 e TMS como
referência interna, após a reação de acetilação (11-Ac) 155
- Figura 46 : Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (10),
registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 156
- Figura 47 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (10)
totalmente desacoplado, registrado e m CDCl_3 e TMS como
referência interna 157
- Figura48 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (10) com
DEPT ($\theta=90$ e 135°), registrado em CDCl_3 e TMS como
referência interna 158
- Figura 49 : Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (11),
registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 159
- Figura 50 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11)
totalmente desacoplado, registrado em CDCl_3 e TMS como
referência interna 160
- Figura 51 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11) com
DEPT ($\theta = 90$ e 135°), registrado em CDCl_3 e TMS como
referência interna 161

Figura 52 : Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de Pcb-1 (13 + 14) em CDCl_3 e TMS como referência interna 162

Figura 53 : Espectros de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de Pcb-1, totalmente desacoplado (a) e DEPT 135° (b) - 90° (c) da mistura de (13 + 14).. 163

ABREVIATURAS

1D	unidimensional
2D	bidimensional
AcOEt	acetato de etila
CC	cromatografia em coluna (a pressão atmosférica)
CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl_3	clorofórmio deuterado
CG - EM	cromatografia de gás acoplada a espectrômetro de massas
COSY	correlation spectroscopy
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DPF	Departamento de produtos florestais
δ	deslocamento químico medido em ppm
d	dubleto
dd	duplo dubleto
EM	espectroscopia de massas
Ext.	extrato
HMBC	heteronuclear multiple bond connectivity
HMQC	heteronuclear multiple quantum coherence

Hz	Hertz
IV	infravermelho
Int.	intensidade
Lit.	literatura
m	multipleteo
Me	metil
MeOH	metanol
MHz	megahertz
min	minutos
mL	mililitro
m/z	relação massa-carga
PCC	clorocromato de piridina ($C_5H_5NHCrO_3Cl$)
P.F.	ponto de fusão
PND	proton noise decoupling
q	quarteto
RDA	retro Dials-Alder
RMN 1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono-13
s	singleto
si	singleto largo
t	tripleto
tr	tempo de retenção
u.	unidades

RESUMO

O fracionamento cromatográfico dos extratos da casca e da madeira das raízes de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) levou ao isolamento de estigmasterol (1) + sitosterol (2); sitosterona (3), dos triterpenos pentacíclicos lupeol (4), α -amirina (5), β -amirina (6), seus derivados acetilados (7, 8 e 9) e dos ésteres 3 β -O-acil-lupeol (10, 11 e 12). A hidrólise dos ésteres e posterior metilação com diazometano forneceu a mistura de ésteres metílicos cuja análise com cromatografia de gás acoplada a espectrômetro de massas permitiu caracterizar as cadeias das unidades acila e identificar os ésteres 10A-10J, 11A-11E e 12A-12B. O grupo hidroxila no carbono 3' dos ésteres (11) foi confirmado pela preparação do derivado acetilado e pelo produto de oxidação do composto natural. As substâncias 1, 2 e 3 estão sendo registradas pela primeira vez no gênero *Parahancornia*. Os ésteres 10A-10D, 10F, 10H, 11A e 12A estão sendo registrados pela primeira vez na literatura.

O fracionamento cromatográfico e cristalização das frações do extrato hexânico da madeira de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* forneceu o ácido isopimárico (ácido isopimara -7,15- dien-18-óico) (13) e o ácido deidroabiético (ácido abieta-8,11,13-trien-18-óico) (14).

As estruturas das substâncias foram determinadas através de análise dos

dados de IV, RMN ^1H e ^{13}C , espectrometria de massas ou CG-EM das substâncias naturais ou de derivados.

ABSTRACT

From the hexane extract of the roots of *Parahancornia amapa*, Apocynaceae, were isolated and identified stigmasterol (1), sitosterol (2), sitosterone (3), the pentacyclic triterpenes : lupeol (4), α -amirine (5), β -amirine (6), their acetyl derivatives (7, 8 and 9), and the 3 β -O-acyl-lupeol esters (10, 11 and 12). The 3'-hydroxyl group in 11 was confirmed by the acetyl and oxidation derivatives. The analysis by CG-MS of the methyl esters obtained by hydrolysis and methylation led us to identify the acyl units of the esters (10a-10j, 11a-11e and 12a). Compounds 1, 2, 3 have not been previously detected in *Parahancornia* genus. The esters 10A-10D, 10F, 10H, 11A and 12A have not been previously registered in the literature.

Solvent partition and chromatographic fractionation of the wood's hexane extract of *Pinus caribaea* var. *bahamensis* afforded dehydroabietic acid and isopimaric acid. These acids have not been previously detected in this species.

The IR, ^1H and ^{13}C -NMR and Mass Spectral data of the natural compounds and derivatives were used to identify the substances.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A partir da década de 50 a Química de Produtos Naturais avançou de maneira surpreendente, devido, principalmente, ao aprimoramento das técnicas espectrométricas usadas na elucidação estrutural dos produtos do metabolismo de organismos vivos. Nesse sentido, o reino vegetal tem sido mais privilegiado quanto ao conhecimento de sua Química, tanto em relação aos metabólitos especiais quanto aos metabólitos primários.

A flora mundial conta com cerca de 600.000 espécies de plantas superiores. Este número representa um grande desafio para os pesquisadores interessados em ampliar o conhecimento da química das espécies vegetais. Frequentemente, a tendência da comunidade científica é desenvolver trabalhos na busca de novas substâncias que possam ser de utilidade para a humanidade, já que os vegetais são a principal fonte de substâncias que podem ser usadas diretamente ou podem servir de modelos para a produção industrial¹.

Estima-se que 80% da população dos países menos desenvolvidos dependem em grande quantidade da medicina caseira, utilizando-se de plantas para suas necessidades primárias de saúde. A curiosidade, motivada pelo uso freqüente e com sucesso de certas plantas, levou o homem a investigar seus princípios ativos. Em muitos casos, a pesquisa mostra o acerto com que são empregados e em outros nada tem sido comprovado. Esta investigação é

relevante, não só para o conhecimento do princípio ativo de plantas usadas pela população, como também para avaliar os perigos da adoção de determinados vegetais como medicamentos tradicionais.

Além das relevâncias citadas acima, o conhecimento da composição química das espécies vegetais em relação aos metabolitos especiais contribui para a química orgânica em geral, fornecendo modelos adequados para transformações químicas na obtenção de produtos úteis, como fontes de matéria prima para química fina e de substratos para testar reagentes e catalisadores, além de gerar novas idéias para entendimento dos processos biossintéticos. Outras áreas do conhecimento científico, como botânica, agricultura, evolução, ecologia e taxonomia química se beneficiam dos trabalhos dos químicos de produtos naturais.

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo estudo químico e farmacológico de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, tanto em congressos como em periódicos nacionais e internacionais.

O desenvolvimento dos métodos físicos de análise têm colaborado para que os químicos orgânicos consigam elucidar estruturas complexas de constituintes naturais com maior rapidez e propor estruturas para substâncias que até há pouco tempo eram difíceis de serem identificadas. A cada momento são relatadas na literatura novas moléculas, sendo que a ação farmacológica de muitas delas só é levada em consideração após anos desta divulgação. Como por exemplo, podemos citar o taxol, a forskolina, a artemisinina e etc. Neste contexto, a Química Orgânica e a Fitoquímica, aliadas à farmacologia, têm

contribuído, ao longo dos anos, para a obtenção de vários fármacos, que atualmente são amplamente utilizados como medicamentos²⁻⁵. Como exemplo podemos citar a morfina, a emetina, a vincristina, a colchicina e a rutina. Cabe mencionar que dados da literatura indicam que em 1980 os consumidores dos Estados Unidos pagaram mais de 8 bilhões de dólares em prescrições com produtos naturais.

A eficácia das substâncias naturais já conhecidas e a necessidade de se resolver problemas atuais da humanidade têm motivado investimentos para a avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de seus constituintes. Uma variedade de substâncias pertencentes a diversas classes de constituintes, como flavonóides, alcalóides, terpenóides e lignóides tem sido objeto de incessantes estudos farmacológicos através de testes pré-clínicos com animais⁶⁻⁹. Muitas destas substâncias têm grandes possibilidades de futuramente serem incluídas entre os agentes medicinais existentes.

Pode-se citar várias substâncias oriundas de plantas consideradas importantes como agentes medicinais. Entre elas podemos mencionar a forskolina, obtida de *Coleus barbatus*, que apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores¹⁰, a *artemisinina*, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente ação antimalárica¹¹, e o diterpeno anticancerígeno taxol, isolado de *Taxus brevifolia*, que após a sua síntese em escala industrial, já se encontra disponível no mercado farmacêutico, constituindo-se numa grande esperança para pessoas portadoras de câncer de ovário e pulmões¹²⁻¹⁵. Entretanto, estudos visando a cura de outros tipos de câncer e de outras enfermidades com deficiente profilaxia têm avançado significativamente tanto em termos de produtos sintéticos como naturais. Sob

este aspecto, é importante ressaltar que o sucesso das investigações na área de princípios ativos naturais depende, principalmente, do grau de interação entre a Botânica, a Química e a Farmacologia.

Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos especiais, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica clássica. A análise de substâncias ativas é muito mais complexa e longa já que, geralmente, os compostos presentes em menor proporção na planta são os que apresentam melhores efeitos biológicos. Por isso, tem-se empregado atualmente o sistema de estudo monitorado com testes específicos com análise de extratos, posterior fracionamento e finalmente, a análise dos compostos puros. Este tipo de trabalho tem sido feito pelos grupos que procuram chegar a resultados imediatos para exploração com finalidades específicas e descartam muitos materiais que poderiam ser usados para outros estudos científicos.

2. TRITERPENOS ISOLADOS DE *Parahancornia amapa*

2.1. INTRODUÇÃO

Entre as espécies que têm despertado maior interesse dos químicos de produtos naturais, devido ao uso muito difundido na medicina popular, em razão de suas inúmeras aplicações de caráter terapêutico, estão as pertencentes à família Apocynaceae. Existem cerca de 200 gêneros desta família distribuídos em três sub-famílias: Apocinoideae, Echitoideae e Plumerioideae. Esta última contém cerca de 84 gêneros, dos quais 30 possuem uma grande quantidade de alcalóides¹⁶⁻¹⁷. Algumas espécies estudadas revelaram, principalmente, a presença de terpenóides¹⁸⁻²², iridóides glicosilados^{18,23-25}, flavonóides glicosilados²⁶ e lignóides²⁷⁻²⁹.

Como exemplo podemos citar o caso das folhas de *Nerium oleander* (Apocynaceae), coletada na região Karachi no Paquistão, de onde foram isolados o ácido oleanderólico (1) e a kanerodiona (2). Esses triterpenos tem significativos potenciais farmacológicos. As frações contendo esses constituintes mostraram-se depressoras do sistema nervoso de ratos¹⁹.

A espécie *Parahancornia amapa*, escolhida para estudo neste trabalho, é botanicamente muito próxima do gênero *Plumeria* e sua química ainda é pouco conhecida. A literatura nos revela apenas um trabalho sobre a química do

gênero *Parahancornia*²⁰. Com o objetivo de ressaltar a importância de se conhecer a química deste gênero, pode-se analisar as citações da literatura sobre os gêneros *Plumeria* e *Allamanda*.

Em 1983, já existiam cerca de 210 trabalhos envolvendo o estudo do caule, folhas e raízes de várias espécies de *Plumeria* e *Allamanda*.

A espécie *Plumeria obtusa*, uma Apocynaceae da sub-família plumerioideae, forneceu vários triterpenóides da seque urso dos extratos das folhas²¹⁻²².

A espécie *Plumeria alba* é largamente utilizada na medicina popular por vietnamitas, devido à ação inibitória do crescimento de bactérias gram positivas e gram negativas. Estas manifestações foram atribuídas ao plumierídeo glicosilado (3)³⁰. Este plumierídeo glicosilado (3) foi, também, isolado do extrato metanólico da casca de *Plumeria obtusifolia*³¹.

Os iridóides isoplumericina (4), plumericina (5), isolados de *Nerium indicum*, o cumarato de plumerido (6) e o cumarato de glicosilplumerido (7), apresentam atividade algicida e boricida^{23,25}. Outro exemplo importante desta classe de substâncias é o iridóide alamandina (8), isolado do extrato etanólico de *Allamanda cathartica*. Este iridóide apresentou atividade biológica *in vivo* contra leucemia P-388 em rato e atividade *in vitro* contra células derivadas de carcinoma humano do nasopharynx (K.B.)²⁴.

A *Plumeria rubra* é originária da Indonésia e é utilizada no tratamento de gonorréia e nas Filipinas como purgativo e febrífugo. Esta espécie forneceu três iridóides: fulvoplumierina (9), alamancina (10) e alamandina (8) além da quinona, 2,5-dimetoxi-p-benzoquinona (11). Estas substâncias são constituintes das frações ativas dos extratos de éter de petróleo e clorofórmico da planta.

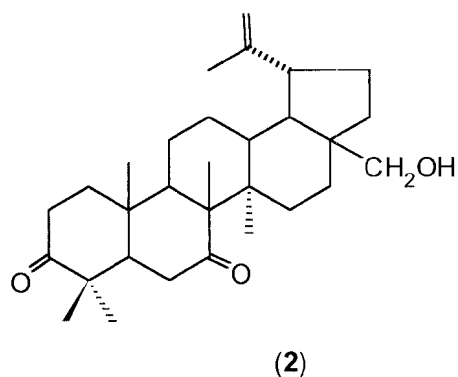
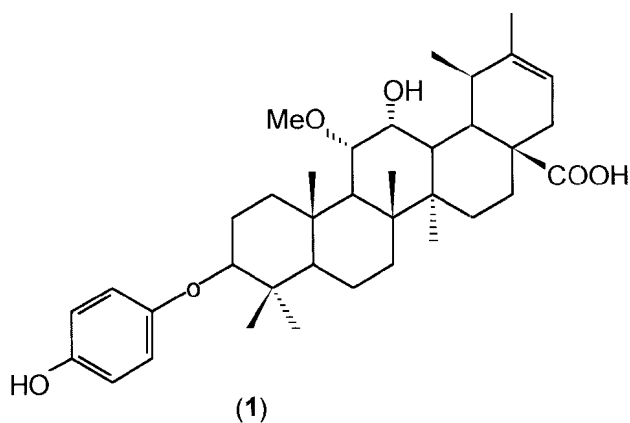
Foram isolados também compostos citotóxicos da fração aquosa das cascas de *Plumeria rubra*. Esta fração forneceu o iridóide plumericina (12) e a lignana, lirioidendrina (13). Estas substâncias apresentam atividade citotóxica, aplicadas a uma linhagem de células de leucemia linfocítica (P-388) de ratos, e em vários tipos de células cancerígenas humanas (seios, cólon, fibrosarcoma, K.B.). Os iridóides 15-dimetil plumierídeo (14), plumierídeo (3), α -alamancidina (15), β -alamancidina (16) e 13-O-*trans*-cumarato de plumierídeo (6) foram identificados como os constituintes inativos do extrato³². O iridóide fulvoplumierina (9), isolado de *Plumeria rubra*, demonstrou potencial atividade no sistema de HIV-1RT (IC₅₀ 45; mg/mL)³³.

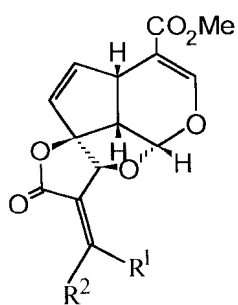
Outro gênero próximo ao estudado é o *Himatanthus*. A literatura revela apenas 6 trabalhos sobre o estudo químico de suas espécies^{18,34-37,40}. Da espécie *Himatanthus phagedaenica* foi isoladas uma mistura de triterpenos acetilados das séries oleonano, ursano e lupano, além do β -sitosterol e três lactonas sesquiterpênicas iridoidais (plumiericina, alamandina e isoplumericina). Do extrato aquoso acetilado foram isolados dois iridóides glicosilados, octa-O-acetil glicosil cumarato de plumierídeo (17) e penta-O-acetil glicosil plumierídeo (18) e uma mistura de acetato de sacarose acetilada (19).

As citações acima revelam a importância de se conhecer a química de espécies da sub-família Plumeroideae, principalmente os gêneros próximos a *Plumeria*, *Allamanda* e *Himatanthus*.

Como objetivo deste trabalho desenvolvemos o estudo químico de diferentes partes de *P. amapa* (Huber) Ducke (Apocynaceae) a fim de ampliar o conhecimento da química desta espécie. Esta é arbórea, ocorre na região amazônica e é comum no Estado do Amapá, onde é conhecida como

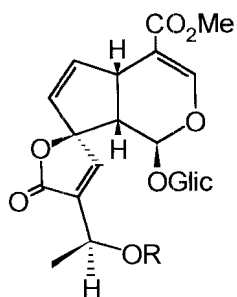
amapazeiro. As cascas do caule e o látex desta espécie têm sido utilizados na medicina popular local como tônico e anti-sifilítico²⁰. Em um estudo químico prévio dos extratos menos polares da casca e látex desta planta foram isolados triterpenos pentacíclicos: lupeol, α -amirina e β -amirina, fridelina, seus derivados acetilados, ácidos alifáticos e éster 3-O-acil-lupeol²⁰. Neste trabalho descrevemos o isolamento de oito ésteres (3-O-acil-lupeol) além do sitosterol, estigmasterol, sitosterona e dos triterpenos citados anteriormente. Os ésteres estão sendo registrados pela primeira vez na literatura.





(3) $R^1 = R^2 = \text{Me}$

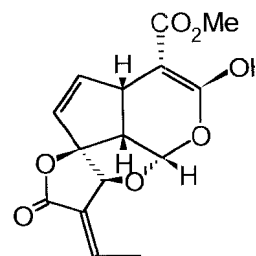
(4) $R^1 = \text{Me}, R^2 = \text{H}$



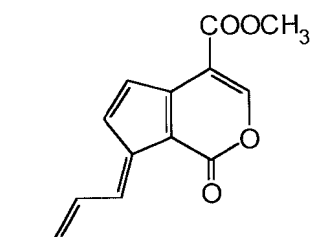
(5) $R = \text{H}$

(6) $R = -\text{COCH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$

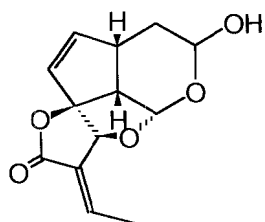
(7) $R = -\text{COCH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OGl}$



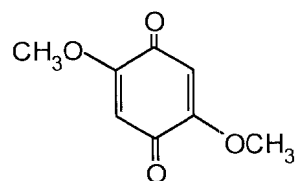
(8)



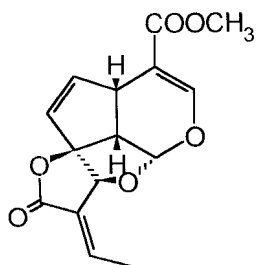
(9)



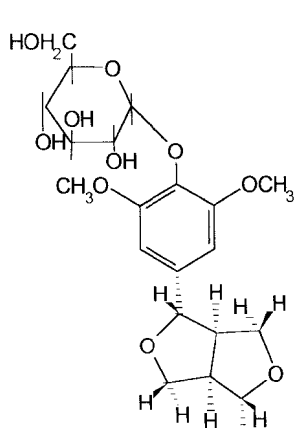
(10)



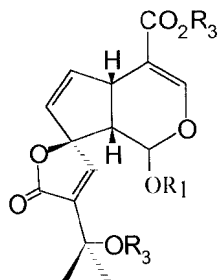
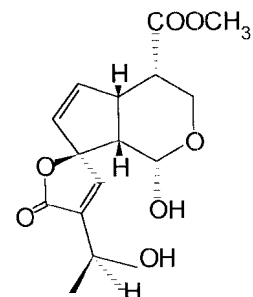
(11)



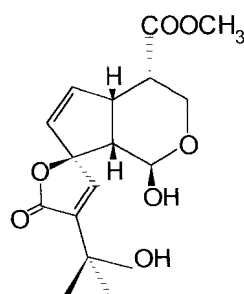
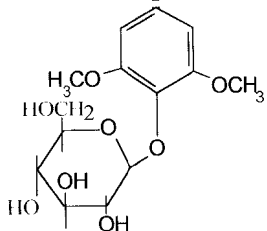
(12)



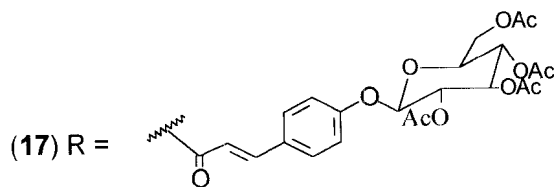
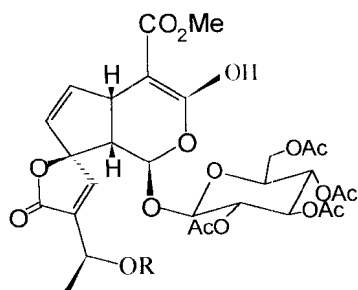
(13)

(14) R₁ = Gl, R₃ = H

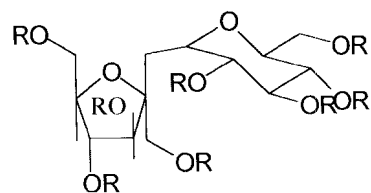
(15)



(16)



(18) R = Ac



(19) R = Ac

2.2. A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

2.2.1. Aspectos botânicos da família Apocynaceae

A família Apocynaceae é por natureza interessante sob vários pontos de vista. Ela fornece madeira, flores, gomas elásticas e, no interior do Brasil, dão frutos como a mangaba, mucugé e pequiá.

Os representantes desta família apresentam o porte variando desde as menores ervas e cipós até as mais frondosas árvores.

Antes do botânico Tournefort, quase todas as plantas produtoras de látex eram incluídas indistintamente na designação de *Apocynum*, originário da palavra grega "AÓKUYOY" dada a uma planta da Grécia utilizada no envenenamento de cães selvagens e outros animais. Este grupo abrangia indistintamente as famílias Asclepiadaceae, Euphorbiaceae e Apocynaceae. Coube a Tournefort fazer a primeira separação em três entidades genéricas, apesar de muitas Euphorbiaceae serem retiradas deste grupo, principalmente as de gênero *Euphorbia*.

Em 1759, B. de Jussieu admitiu a existência da família Apocynaceae sob o nome de Apocina, compreendendo também as Asclepiadeae. Neste tempo, os gêneros de Apocynaceae estavam dispersos em Sapoteae, Mursineae, entre outros.

Em 1810, Robert Brown estabeleceu os rudimentos fundamentais para a classificação da família Apocynaceae, separando-a das Asclepiadaceae, com o nome de *Apocyneae*.

Finalmente, em 1836 coube a Lindley empregar pela primeira vez o nome Apocynaceae que permanece em uso até a presente data³⁸.

2.2.2. Caracteres gerais da Família³⁸

Inflorescência : multivariada : freqüentemente em racemos modificados, cimos, particularmente dicásios escorpióides - cincinus, decásios, helicoidais, racemos, tirsos, dicásios agregados, panículas e corimbo.

Posição variada : lateral, axilar ou terminal.

Flores : actinomorfas, gamopétalas, heteroclamídeas, hermafroditas, pentâmeras, freqüentemente coloridas e vistosas.

Cálice : gamossépalo, via de regra 5 partid, lacínios iguais ou desiguais, geralmente imbricados, com ou sem escamas na base da face interna.

Escamas quando presentes, opostas, alternas ou indefinidamente distribuídas; cálice geralmente caduco, podendo ser, porém, persistente.

Corola : tipicamente gamopétala, geralmente hipocrateriforme ou infundibuliforme, raramente campanulada, 5 partida, 5 fendida ou 5 lobada, na pré-antese contorta, com lacínios sinistrosos ou dextrorsos.

Abertura superior do tubo da corola muitas vezes com listras longitudinais no tubo; face interna do tubo glabra ou pilosa.

Estames : 5 inseridos em diversas alturas no tubo da corola: na base, na parte média e na parte superior, anteras, geralmente formando um cone, livres ou soldadas ao estigma.

Totalmente férteis ou parcialmente estéreis; introrsas de várias formas: sagitadas, ovais, oblongas; pólen granuloso em grãos separados ou grupados em tétrades, filetes curtos ou quase nulos, livres, glabros ou pilosos na face interna.

Estigmas : de formas variadas: fusiforme umbraculiforme, pentagonal-sub-gloquidiano, pentagonal-umbraculiforme, pentagonal-fusiforme, capitado; o ápice pode ser inteiro ou bicúspide; e a base é, muitas vezes, membranaceae; estilete filiforme, geralmente fendido na base.

Ovário : súpero, 2 carpelar, apocarpo ou sincarpo.

Por exceção ínfero ou sub-ínfero; óvulos em número variável: poucos ou muitos.

Disco : geralmente presente.

Outras vezes pouco distinto ou nulo, quando presentes, pode ser livre ou condescido com o ovário, ou mais ou menos 2-5 lobado. 2 alternando com os carpelos ou 5 lobado, carnoso ou membranáceo.

Fruto : variado, geralmente folículo, em número de dois menos freqüentemente baga, raramente cápsula ou drupa.

Sementes : geralmente compridas lateralmente, aladas; com pincel de pêlos no ápice, ou sem esse caráter; totalmente pilosa ou glabra.

Folhas : geralmente opostas e descussadas, menos freqüentemente alternas mais raramente verticuladas, simples, inteiras, raramente com o limbo peltado, muito raramente dimorfas sobre a mesma planta.

Estipulas : ausentes.

(Ou muitas vezes substituídas por glândulas intrapeciolares em número variável).

Porte : ervas sub-lenhosas, sub-arbustos eretos, arbustos escandentes, arbustos e árvores, usualmente com látex, nunca parasitas.

2.2.3. Características da espécie *P. amapa* (Huber) Ducke

Parahancornia amapa é uma espécie arbórea, podendo atingir 10-15 m de altura, sendo nativa da região amazônica. É freqüente nos Estados do Parti e Amapá onde é conhecida como *amapazeiro*. As cascas e o látex são usados pelos nativos como tônico e anti-sifílico²⁰.

Botanicamente esta espécie é classificada como:

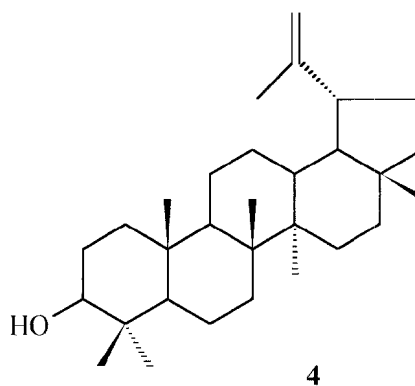
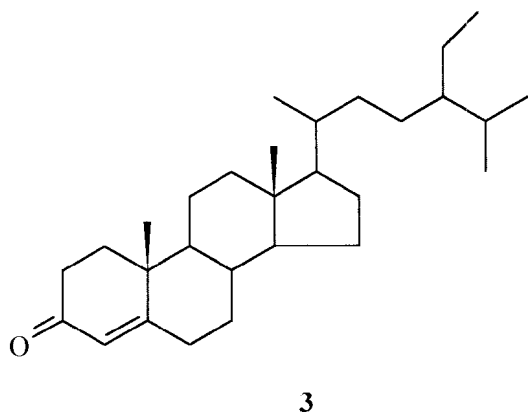
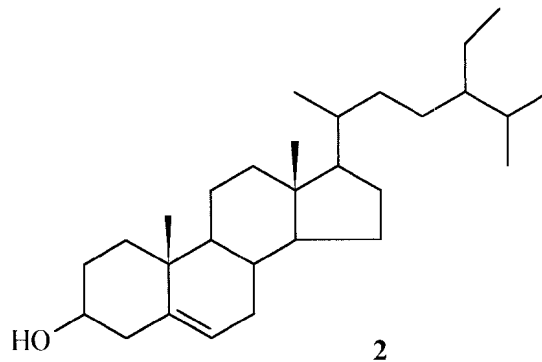
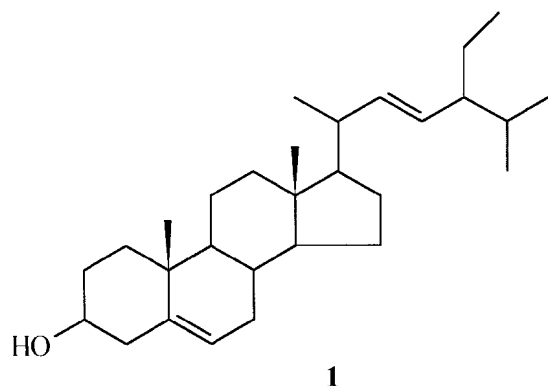
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophiton
Classe	Magnoliatae
Sub-classe	Asteridae
Ordem	Gentianales
Família	Apocynaceae
Gênero	<i>Parahancornia</i>
Espécie	<i>P.amapa</i> (Huber) Ducke
Denominação Vulgar	Amapazeiro

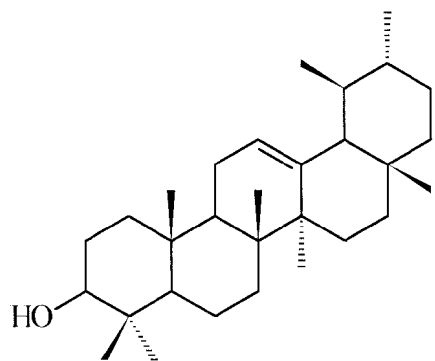
2.2.4. Constituintes químicos isolados das cascas e do látex de *P. amapa* em trabalho anterior²⁰.

O estudo fitoquímico realizado com as cascas desta espécie forneceu o ácido 3-hidroxi-tetraeicosanóico, fridelina, os triterpenos 4, 5 e 6, os ésteres 3-O-acil-lupeol: 10E, 10G, 10I, 10J, 11B, 11C, 11D, 11E, 12C e 12D e o éster 3-hidroxi-tetraeicosanoato de metila (11d). O látex forneceu os triterpenos lupeol, α -amirina e β -amirina (4, 5 e 6) e seus derivados acetilados 7, 8 e 9.

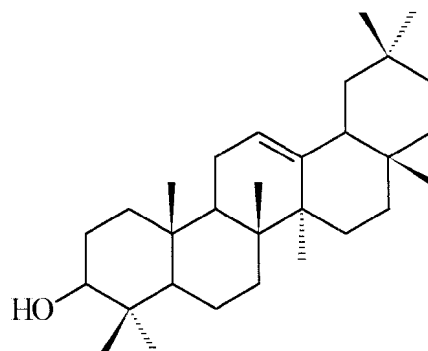
2.2.5. Constituintes químicos isolados da raiz e do tronco de *P. amapa* neste trabalho

O fracionamento cromatográfico da madeira e da casca da raiz desta planta forneceu os triterpenos isolados anteriormente (**4**, **5**, **6**, **7**, **8**, e **9**), além do estigmasterol (**1**), sitosterol (**2**), sitosterona (**3**) e dos ésteres 3-O-acil-lupeol: **10A**, **10B**, **10C**, **10D**, **10F**, **10H**, **11A**, **12A** e **12B** que estão sendo registrados pela primeira vez neste gênero. Os ésteres **10A**, **10B**, **10C**, **10D**, **10F**, **10H**, **11A** e **12A** estão sendo registrados pela primeira vez na literatura.

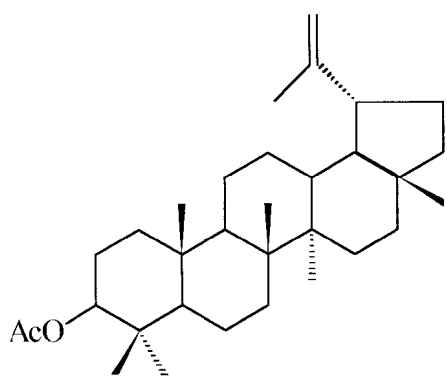




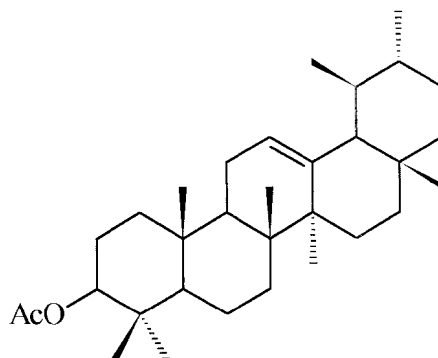
5



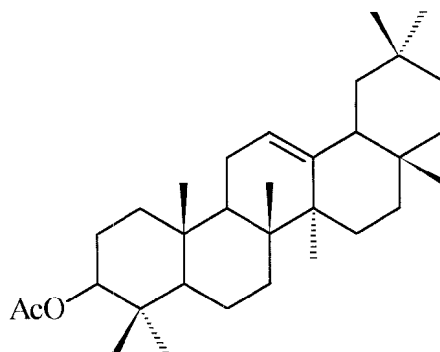
6



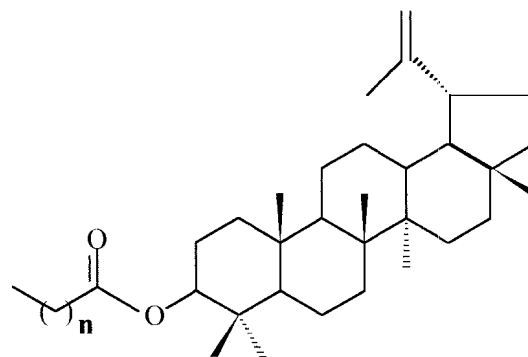
7



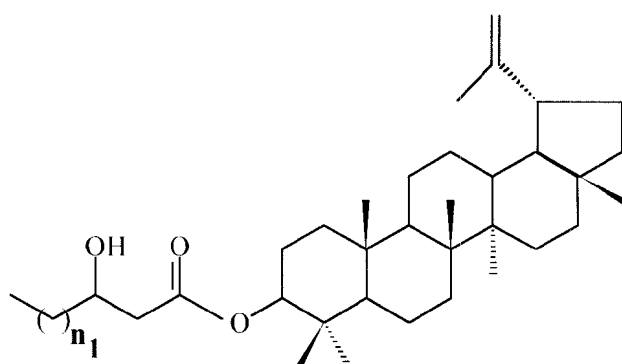
8



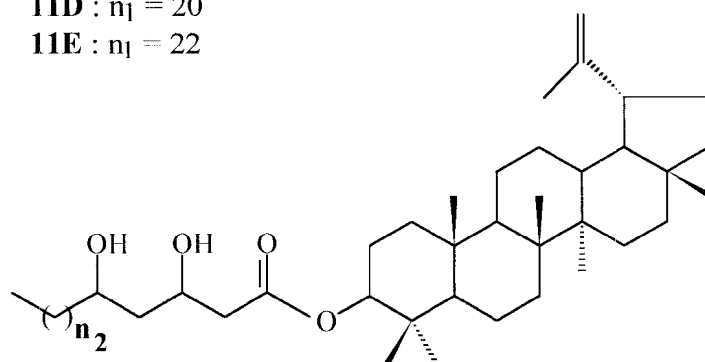
9



10

10A : $n = 14$ 10B : $n = 16$ 10C : $n = 18$ 10D : $n = 19$ 10E : $n = 20$ 10F : $n = 21$ 10G : $n = 22$ 10H : $n = 23$ 10I : $n = 24$ 10J : $n = 26$ 

11

11A : $n_1 = 14$ 11B : $n_1 = 16$ 11C : $n_1 = 18$ 11D : $n_1 = 20$ 11E : $n_1 = 22$ 

12

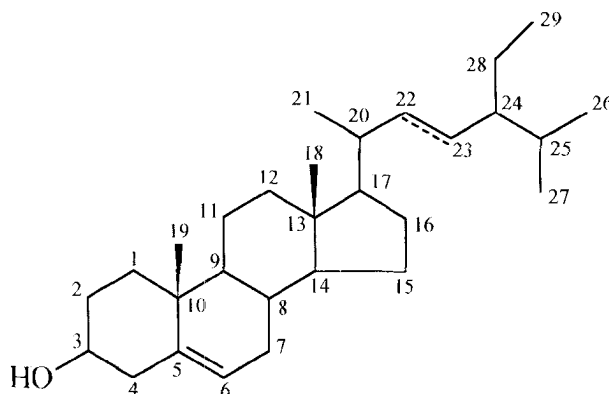
12A : $n_2 = 19$ 12B : $n_2 = 20$ 12C : $n_2 = 14$ 12D : $n_2 = 16$

2.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *P. amapa*

2.3.1. Determinação estrutural de PARH-12 (1+2)

O espectro de IV (Figura 1, pág. 90) revela a presença de bandas de absorção para grupos hidroxila (3347 cm^{-1} , estiramento O-H), para grupamentos C-H (2944 cm^{-1} , estiramento CH, CH₂, CH₃) e para ligação dupla di e tri-substituída (1640 cm^{-1} , estiramento C=C); (944 e 914 cm^{-1} , δ_{CH}).

O espectro de RMN ¹H (Tabela 1, pág.19; Figura 2, pág.91) revela sinais correspondentes a hidrogênios olefínicos em 5,32 (si) e 5,09 (m), sinal correspondente a hidrogênios carbinólicos em 3,50 (m). Estes dados aliados às feições dos sinais em 0,65 (s), 0,98 (s) e a série de sinais entre 0,80 δ e 0,98 δ estão de acordo com a mistura de esteróides. Levando em consideração as observações anteriores e os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos (δ_{H} 121,7, 129,2, 138,3 e δ_{C} 140,7) e dos demais sinais presentes no espectro de RMN ¹³C (PND, Figura 3, pág. 92) pode-se propor a mistura de estigmasterol e sitosterol. A comparação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos (Tabelas 1 e 2, págs. 19 e 20) de PARH-12 com os padrões da literatura^{39,41,42} serviu para confirmar as estruturas destes esteróides (1 e 2) para PARH-12.



(1) Δ 5 (6) , 22 (23) = Mod.1

(2) Δ 5 (6) = Mod.2

Tabela 1 : Comparação dos dados de RMN de ^1H (200,13 MHz, CDCl_3) de PARH-12 (**1** + **2**) com os padrões da literatura^{39, 41, 42} (Mod.1 e Mod.2).

H	1 + 2	Mod.1	Mod.2
6	5,32 (m)	5,35	5,35
22		5,15 (dd)	-
23	5,09 (m)	5,01	-
3	3,50 (m)	3,52	3,52
19	0,98 (s)	1,01	1,01
21	0,98 (s)	1,02	1,02
26	0,85 (d)	0,84	0,83
29	0,80 (sl)	0,80	0,84
27	0,80 (sl)	0,79	0,81 (d)
18	0,65 (sl)	0,69	0,68

Tabela 2 : Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de PARH-12 (1+2) com os padrões da literatura^{39, 41} (Mod.1 e Mod.2).

C	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
	1	2	Mod.1	Mod.2
1	37,2	37,2	37,2	37,24
2	31,6	31,6	31,6	31,61
3	71,7	71,7	71,78	71,78
4	42,2	42,2	42,3	42,8
5	140,7	140,7	140,7	140,71
6	121,7	121,7	121,7	121,72
7	31,8	31,8	31,9	31,89
8	31,8	31,8	31,9	31,82
9	50,0	50,0	50,1	50,11
10	36,4	36,4	36,5	36,48
11	21,0	21,0	21,1	21,07
12	39,7	39,7	39,7	39,77
13	42,2	42,2	42,2	42,28
14	56,7	56,7	56,8	56,75
15	24,2	24,2	24,4	24,28
16	28,7	28,2	28,9	28,24
17	55,9	56,7	55,9	56,04
18	11,9	11,8	12,0	11,85
19	19,3	19,3	19,4	19,40
20	40,5	36,4	40,5	36,12
21	21,0	18,9	21,2	19,02
22	138,3	33,8	138,3	33,92
23	129,2	25,9	129,2	29,13
24	51,2	45,7	51,20	45,80
25	31,8	28,9	31,90	26,06
26	21,0	19,3	21,10	18,77
27	21,0	19,8	19,00	19,80
28	25,4	23,0	25,40	22,04
29	11,9	11,9	12,3	12,3

2.3.2. Determinação estrutural de PARH-10 (3+4+5+6)

O espectro de IV (Figura 4, pág. 93) apresentou banda de absorção em 3450 cm^{-1} sugerindo a presença de grupo hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$). As bandas existentes em 2980 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$), 1460 e 12170 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$) correspondem às absorções de CH, CH₂ e CH₃ (Tabela 3, pág. 23).

As substâncias β -amirina (6), α -amirina (5), lupeol (4) e sitosterona (3) foram reconhecidas na mistura pela análise de dados espectrais de RMN ¹H e ¹³C 1D e 2D. Os espectros de RMN ¹H (Figuras 5, 5a, 5b e 5c, págs. 94 a 97) mostram sinais correspondentes a grupos metila ligados a carbono sp³ [δ 0,7 a 1,4 (3-6)] e a carbono sp² [$\delta_{\text{C-H}}$ 1,60 (3H-30 de 4)], de hidrogênio carbinólico metínico [δ 3,20 (H _{β} -3 de 4-6)], de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 5,18 (m, H-12 de 6), 5,13 (m, H-12 de 5), 4,65 (s, H-29a de 4), 4,50 (s, H-29b de 4) e 5,73 (s, H-4 de 3). A comparação dos espectros de RMN ¹³C totalmente desacoplado (Figuras 6, 6a e 6b, págs. 98 a 100) e DEPT (Figuras 7 e 7a, págs. 101 e 102) permitiu identificar os sinais representantes de átomos de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e quaternários. Os deslocamentos químicos dos carbonos em δ_{C} 145,0 e 123,7, 139,5 e 124,3, e 150,9 (C) e 109,2 (CH₂) atribuídos a átomos de ligações dupla são compatíveis com triterpenos pentacíclicos das séries oleaneno, urseno e lupeno. Esta dedução foi baseada na localização da ligação dupla em C-12 e C-13 nas séries oleaneno e urseno cuja diferença no deslocamento químico é consequência do efeito γ de proteção do CH₃-30 sobre o carbono ¹³C $\delta = 145,0 - 139,5 = 5,5$)⁴⁰. Assim os valores δ_{C} 145,0/123,7 representam carbonos sp² do oleaneno e 139,5/124,3 são

dos carbonos sp^2 do urseno. A presença de lupeol é proposta devido aos sinais do grupamento vinila em 150,9 (C)/109,2 (CH_2). Destacam-se também os valores δ_C 199,7, 171,8 (C) e 121,6 (CH) atribuídos à presença de uma enona. Estas deduções e comparação dos valores dos deslocamentos químicos com modelos da literatura⁴⁰, e os picos presentes no espectro de massas (Figura 8, pág. 103; Esquema 1, pág. 28) são compatíveis com a β -amirina (4), α -amirina (5) e lupeol (6) já isolados anteriormente do látex desta espécie²⁰.

A presença da estigmast-4en-3-ona (3) foi sugerida pelos dados revelados acima e pela comparação do espectro de massas (Figura 9, pág. 104) obtido para o componente em PARH-10 e comparação com o espectro padrão (Figura 9) desta substância (Esquema 2, pág. 29). As tabelas 4 e 5 (págs. 24 e 25) mostram os deslocamentos químicos de hidrogênios e dos carbonos destes componentes comparados com valores da literatura⁴³.

A presença destes componentes na mistura foi confirmada pela análise dos espectros 2D [HMQC (Figura 10, pág. 105) e HMBC (Figura 11, pág. 112)] que permitiram confirmar as ligações carbono-hidrogênio a uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações nas estruturas propostas (Figuras 10a a 10f; 11a a 11f) (págs. 106 a 111 e 113 a 118) (Tabelas 6 e 7) (págs. 26 e 27).

O espectro de massas de (3) (Figura 9) apresentou o pico correspondente ao íon molecular (M^+) em m/z 412 daltons, além de picos relativos aos fragmentos em m/z 370, 327, 289, 229, 124 e 187 entre outros (Esquema 2, pág. 29).

Do espectro de massas (Figura 8, pág. 103) que apresentou o pico correspondente ao íon molecular (M^+) em m/z 426 daltons (4 + 5 + 6) pode-se destacar os fragmentos de m/z 411, 218 e 189, entre outros, (Esquema 1,

pág. 28) que são comuns para triterpenos pentacíclicos com ligação dupla no C-12 .

Tabela 3 : Dados de infra-vermelho (IV) de PARH-10 (**3** + **4** + **5** + **6**).

$\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}} \text{ (cm}^{-1} \text{)}$	ATRIBUIÇÕES
3450	$\nu_{\text{O-H}}$
2980	$\nu_{\text{C-H}} \text{ (CH , CH}_2 \text{ , CH}_3 \text{)}$
2950	$\nu_{\text{C-H}} \text{ (CH , CH}_2 \text{ , CH}_3 \text{)}$
1460	$\delta_{\text{C-H}} \text{ (CH}_2 \text{)}$
1370	δ_{C13}
1675	$\nu_{\text{C=O}} \text{ (conjugada , 3)}$
1640	$\nu_{\text{C=C}} \text{ (conj. com C = O , 3)}$

Tabela 4 : Dados de RMN de ^1H (200,13 MHz) de PARH-10 (**4 + 5 + 6**) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

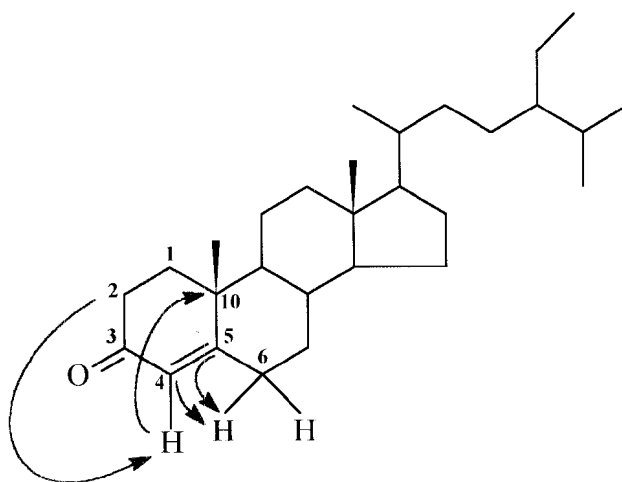
	4	6	5
H	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
01	1,63	1,63	1,63
02	1,70	1,70	1,50
03	3,40 (m)	3,40	3,40
04	-	-	-
05	0,72 (m)	0,72	0,72
06	1,47 / 1,54 (m)	1,47 / 1,54	1,47 / 1,54
07	1,47 (m)	1,26 (m)	1,26 (m)
08	-	-	-
09	1,24 (m)	1,42	1,42
10	-	-	-
11	1,44	1,00 / 1,13	1,00 / 1,13
12	-	5,2 (m)	5,10 (m)
13	1,64	-	-
14	-	-	-
15	-	-	1,30
16	-	-	-
17	-	-	-
18	2,28 (m)	-	-
19	2,35 (m)	2,35 (m)	1,40
20	-	-	-
21	-	-	-
22	1,38 (m)	-	1,40 (m)
23	0,94 (s)	1,05 (s)	1,02
24	0,82 (s)	0,82 (s)	1,02
25	0,77 (s)	0,94 (s)	0,82
26	0,92 (s)	1,00 (s)	0,77
27	0,82 (s)	0,84 (s)	0,99
28	0,75 (s)	0,95 (s)	1,02
29	4,50 (sl) ; 4,70 (sl)	0,88 (s)	0,85 (d)
30	1,67 (s)	0,99 (s)	1,00 (d)

Tabela 5 : Comparação dos dados de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de PARH-10 (**4** + **5** + **6**) com os padrões da literatura^{20,40}.

	lupeol	4	β -amirina	6	α -amirina	5
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
01	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7
02	27,4	27,4	27,3	27,3	27,2	27,2
03	78,9	79,0	79,0	79,0	78,3	79,0
04	38,8	38,8	38,8	38,8	38,7	38,7
05	55,3	55,3	55,3	55,3	55,2	55,2
06	18,3	18,3	18,5	18,5	18,3	18,3
07	34,2	34,3	32,8	32,4	32,9	32,9
08	40,8	40,8	38,8	38,9	40,0	40,3
09	50,4	50,4	47,7	47,7	47,7	47,7
10	37,1	37,1	37,6	37,1	36,9	36,4
11	20,9	20,4	23,6	23,6	23,3	23,3
12	25,1	25,1	121,8	121,7	124,3	124,4
13	38,0	38,0	145,1	-	139,3	139,0
14	42,8	42,8	41,8	40,8	42,0	42,8
15	27,4	27,4	26,2	25,1	28,7	28,7
16	35,5	35,5	27,0	27,3	26,6	26,0
17	43,0	42,9	32,5	32,5	33,7	33,7
18	48,2	48,3	47,4	47,9	58,9	59,0
19	47,9	47,4	46,9	46,8	39,6	39,6
20	150,9	150,9	31,1	31,0	39,6	39,6
21	29,8	29,8	34,8	34,2	31,2	31,2
22	40,0	39,9	37,2	37,2	41,5	41,5
23	28,0	28,0	28,2	29,1	28,1	28,1
24	15,4	15,4	15,5	15,6	15,6	15,9
25	16,1	16,1	15,6	15,6	15,6	15,6
26	15,9	15,4	16,9	16,8	16,8	16,8
27	14,5	14,5	26,0	26,0	23,3	23,5
28	18,0	17,9	28,4	28,1	28,1	28,1
29	109,3	109,3	33,3	33,3	17,4	17,4
30	19,3	19,3	23,7	23,5	21,3	21,3

Tabela 6 : Alguns dados de RMN 2D (HMQC e HMBC) usados para confirmar a presença de **3** na mistura.

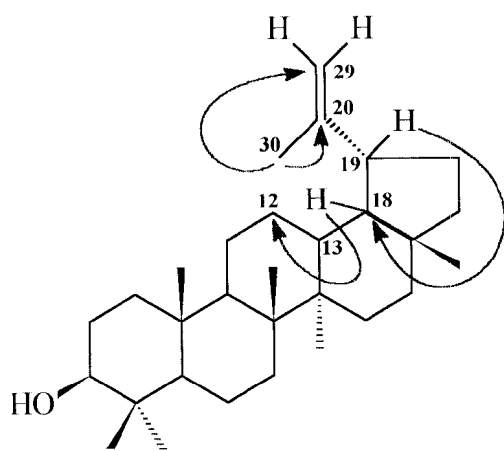
C	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	H	δ_H
3	200,0	-	-	-
4	123,0	5,72 (s)	H-6	2,28
5	170,0	-	H-6	2,28
2	33,7	2,30	H-4	5,72
10	39,9	-	H-4	5,72
6	34,8	2,28	-	-



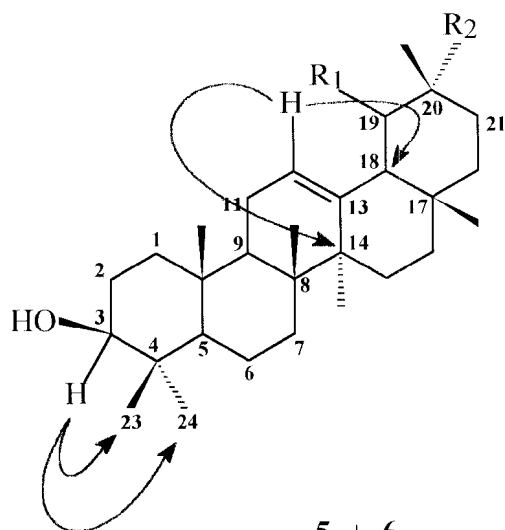
3

Tabela 7 : Algumas interações observadas no espectro 2D da mistura de **4**, **5** e **6** que permitiram confirmar a localização da ligação dupla e do grupo hidroxila nas estruturas propostas.

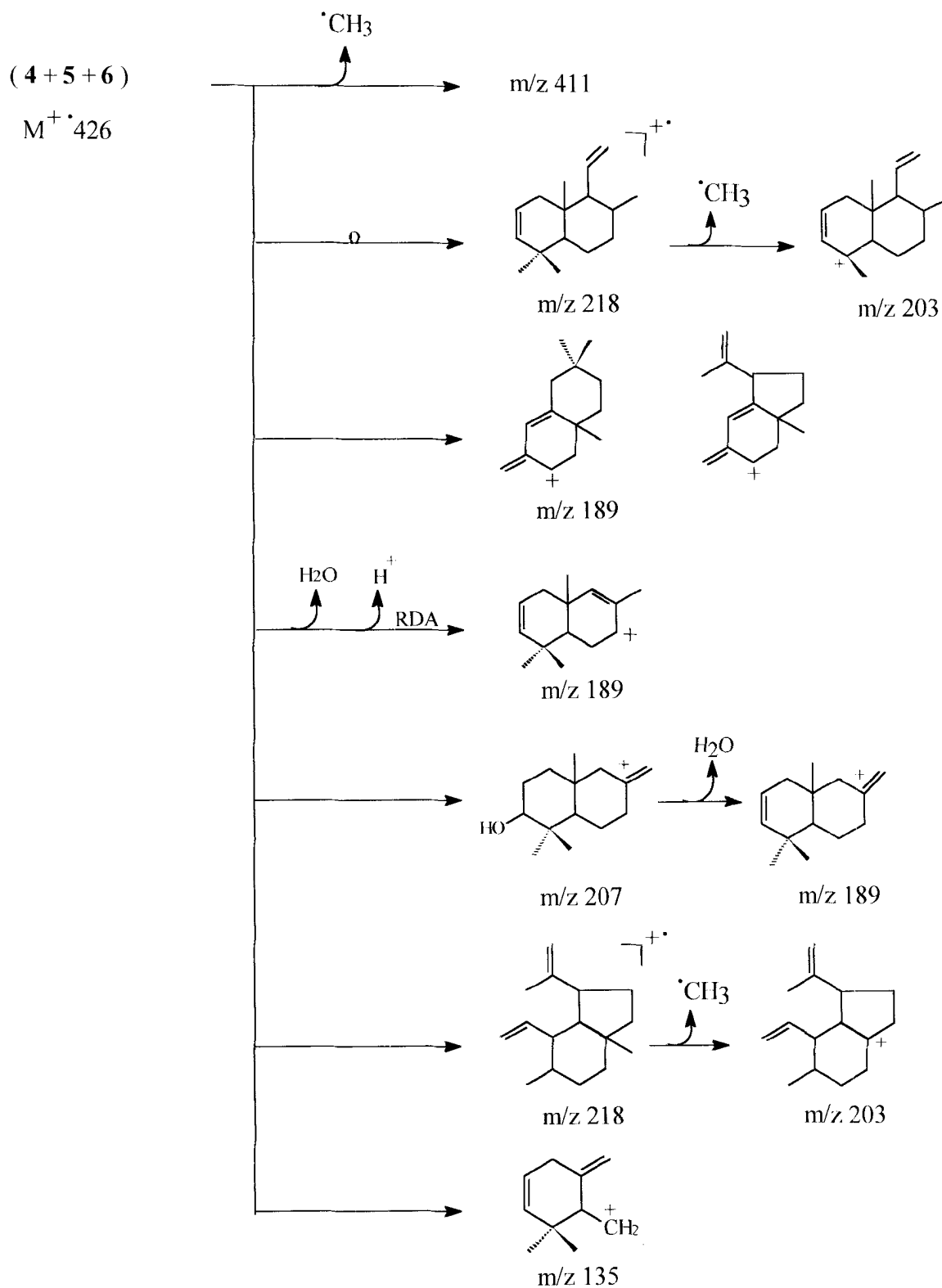
Componentes	C	<u>HMQC</u>		<u>HMBC</u>	
		δ_C	δ_H	H	δ_H
4, 5, 6	23	28,0/29,1/28,1	0,84/1,05/1,02	3	3,20
4, 5, 6	24	15,4	0,77 / 0,82	3	3,20
5, 6	14	40,8 / 42,8	-	12	5,12 / 5,18
5, 6	18	47,9	2,35	12	5,12 / 5,18
4	20	150,9	-	30	1,67
4	29	109,3	4,56 / 4,70	30	1,67
4	18	48,3	2,28	19	2,35
4	12	25,1	1,70	18	2,28



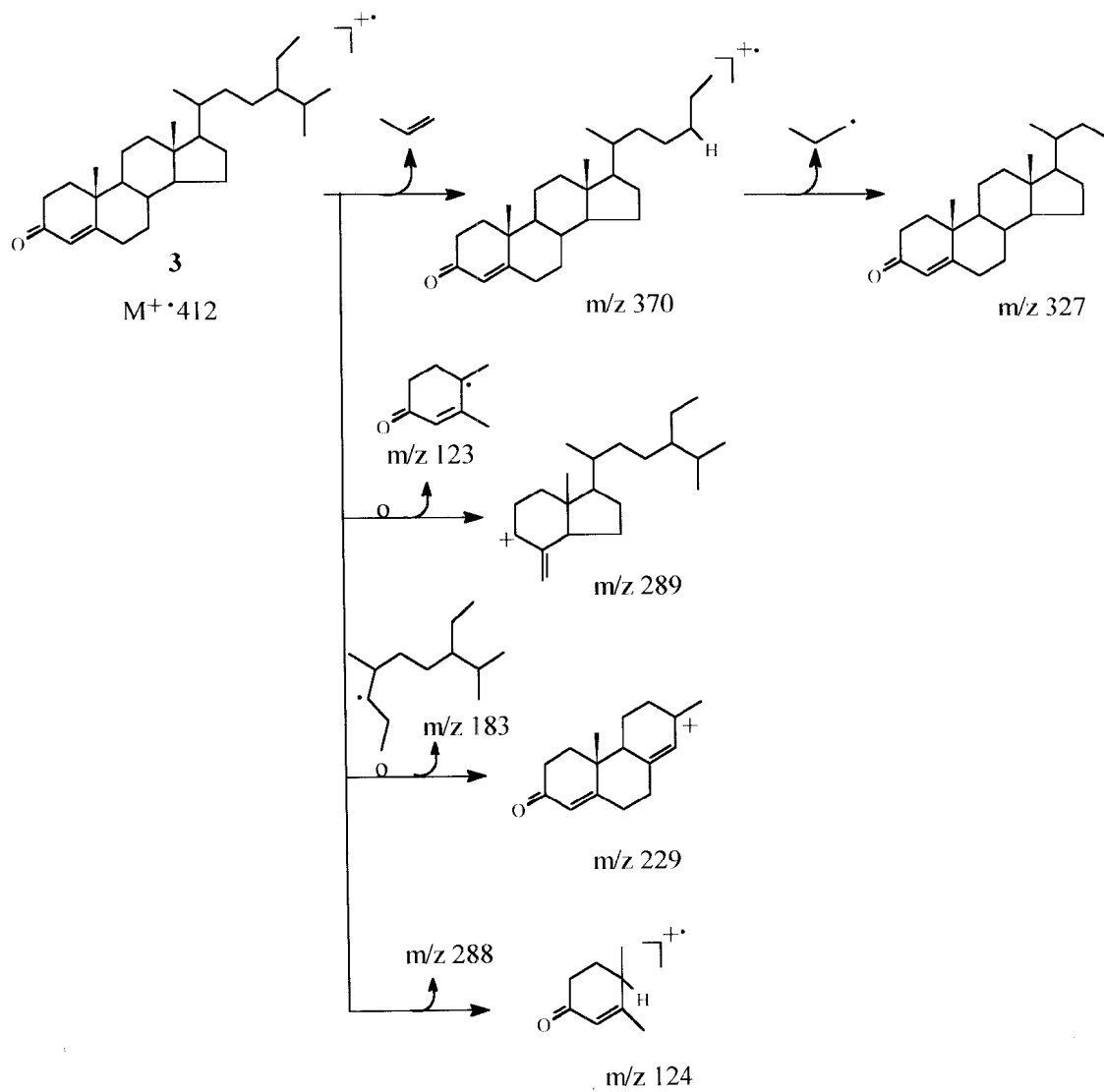
4



5 + 6



Esquema 1: Interpretação do espectro de massas de PARH-10 (4+5+6).



Esquema 2 : Interpretação do espectro de massas de PARH-10 (**3**).

2.3.3. Determinação estrutural da PACRH-A (7 + 8 + 9)

PACRH-A é constituída de terpenos semelhantes aos identificados na fração PARH-10. Esta dedução foi baseada na análise dos dados de IV (Figura 12, pág. 119), RMN ^1H (Figura 13, Tabela 9; págs.120 e 31) e RMN ^{13}C (PND e DEPT) (Figuras 14 e 15; págs.121 e 122) (Tabela 10, pág. 32). Os espectros de RMN ^{13}C [DEPT ($\theta = 135$ e 90°)] permitiram identificar os carbonos quaternários (C), metínicos (CH), metilênicos (CH_2) e metílicos (CH_3) e confirmar a mistura de triterpenos. A unidade de acetato foi identificada com base nos sinais de estiramento de $\text{C}=\text{O}$ (1735 cm^{-1}) e $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (1247 cm^{-1}) de ésteres (Tabela 8, pág. 31) presentes no espectro de IV e nos sinais de deslocamento químico do grupo metila de acetato (δ_{H} 2,00, s) e do deslocamento do hidrogênio H-3 em [δ_{H} 4,43 (m)] e compatível com hidrogênio carbinólico sob o efeito retirador de elétrons de grupo acetato.

A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos com valores descritos na literatura para o acetato de lupeol (7), acetato de α -amirina (8) e acetato de β -amirina (9) (Tabela 10, pág. 32) revelou estarem de acordo com as estruturas destes triterpenos na mistura já isolada do látex e casca desta espécie²⁰.

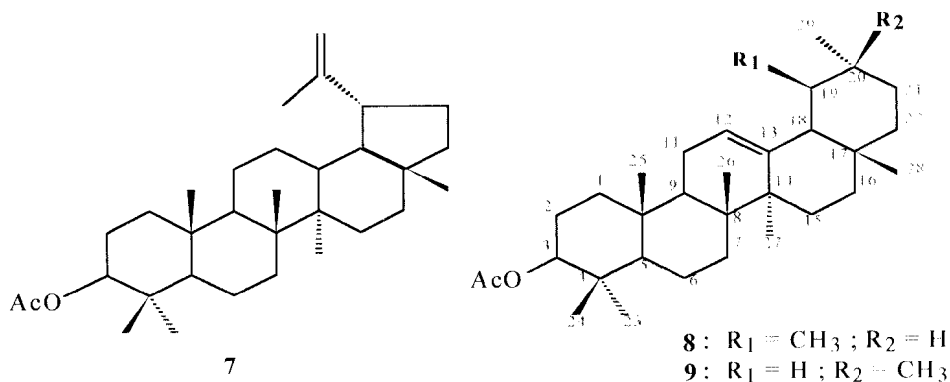


Tabela 8 : Dados de infra-vermelho (IV) DE PACRH-A (7 + 8 + 9).

$\nu^{\text{KBr}}_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	ATRIBUIÇÕES
3073	$\nu_{\text{H-C=C}}$
2942	$\nu_{\text{C-H}} (\text{CH ; CH}_2 ; \text{CH}_3)$
2869	$\nu_{\text{C-H}} (\text{CH ; CH}_2 ; \text{CH}_3)$
1735	$\nu_{\text{C=O}}$ (éster)
1641	$\nu_{\text{C=C}}$
1370	$\delta_{\text{C-H}} (\text{CH}_3)$
1247	$\nu_{\text{C-O-C}}$ (acetato)
978	$\delta_{\text{C-H}} (-\text{CH}=\text{CH}_2)$

Tabela 9 : Dados de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-A (7 + 8 + 9) obtidos em CDCl_3 e TMS como referência interna.

δ_{H}	H	SUBSTÂNCIA
5,14 (m)	H - 12	8 + 9
4,64 (s)	H - 29 ^a	7
4,53 (s)	H - 29 ^b	7
4,43 (m)	H - 3	7 + 8 + 9
2,35 (m)	H - 19	7
2,00 (s)	Ac	7 + 8 + 9
1,64 (s)	$\text{H}_3\text{C-30}$	7
0,99;0,93;0,81;0,75 (vários singletos)	$-\text{CH}_3$	7 + 8 + 9

Tabela 10 : Dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) de **7** + **8** + **9** obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT ($\theta : 90$ e 135^0) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	acet. de lupeol ²⁰	7	β -amirina 39	α -amirina 39	8	9
1	38,6	38,3	38,7	38,7	38,3	38,3
2	23,6	23,7	27,2	27,2	27,4	27,4
3	80,7	80,9	79,6	79,6	80,9	80,9
4	37,7	37,8	38,7	38,7	38,3	38,3
5	55,3	55,3	55,1	55,1	55,3	55,3
6	17,9	18,2	18,3	18,3	18,2	18,2
7	34,2	34,1	32,8	32,8	32,8	32,8
8	40,8	40,8	39,9	39,9	39,6	39,6
9	50,3	50,3	47,7	47,7	47,9	47,9
10	36,9	37,0	36,9	36,9	37,0	37,0
11	20,6	20,9	23,6	23,6	23,7	23,7
12	26,5	25,0	124,4	121,6	124,3	121,6
13	37,9	38,0	139,6	145,2	139,6	145,2
14	42,7	42,7	42,0	41,7	42,8	41,5
15	27,4	27,4	28,7	26,1	28,7	26,1
16	35,5	35,5	26,6	26,9	26,5	26,9
17	42,8	42,9	33,7	33,7	34,0	34,0
18	48,2	48,2	59,0	47,6	59,0	47,5
19	47,9	47,9	39,6	46,7	39,6	46,7
20	150,4	150,8	39,6	31,1	39,6	32,5
21	29,8	29,8	31,2	34,7	32,5	34,7
22	39,9	39,9	41,5	37,1	41,5	37,0
23	28,0	27,9	28,0	28,4	27,9	28,7
24	15,9	16,5	15,7	15,6	15,9	15,9
25	16,1	16,1	15,7	15,7	16,1	16,1
26	16,5	15,9	16,9	16,9	16,5	16,5
27	14,5	14,5	23,3	26,1	23,7	26,1
28	17,5	18,0	28,1	28,8	27,9	28,7
29	109,3	109,4	23,3	23,4	23,3	32,8
30	19,2	19,3	21,4	23,6	21,3	23,7
H3 -CO	21,2	21,3	-	-	21,3	21,3
H3C- O	170,4	170,9	-	-	170,9	170,9

2.3.4. Determinação estrutural de PACRH-1 (10 + 11 + 12)

O espectro de IV (Figura 16, pág. 123) apresentou banda de absorção para grupo hidroxila em 3505 cm^{-1} . Uma banda de absorção forte em 1729 cm^{-1} sugere a presença de carbonila de éster (Tabela 11, pág. 41).

A presença da mistura dos ésteres 3β -O-acil lupeol (10 + 11 + 12) foi reconhecida pela análise dos espectros de IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C (PND e DEPT) e comparação com dados da literatura²⁰.

O espectro de RMN ^1H (Figura 17, Tabela 12; págs. 124 e 42) revela a presença de singletos correspondentes a sete metilas sendo que uma delas (8, 1,64) é atribuída a metila ligada a carbono sp^2 . Também foram observados dois singletos largos em δ_{H} 4,53 e 4,64 correspondentes aos sinais dos hidrogênios vinílicos. A comparação dos espectros de RMN ^{13}C PND (Figura 18, pág. 125) e DEPT (Figura 19, pág. 126) permitiu identificar os sinais de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e quaternários (Tabela 13, pág. 43). Além dos sinais de CH semelhantes aos valores ($\delta_{\text{C}} = 37,8; 42,9; 47,9; 48,2; 55,4$), os três sinais de CH carbinólicos ($\delta_{\text{C}} = 68,2; 80,1$ e $81,4$) foram atribuídos ao C-3 da unidade triterpênica e ao C-3' da unidade atila. O multiplete em δ_{H} 4,50 é atribuído ao deslocamento químico do hidrogênio H-3 desprotegido devido à presença do grupo acila ligado a este carbono. A comparação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios (Tabela 12, pág. 42) e átomos de C (Tabela 13, pág. 43) do lupeol registrado na literatura²⁰ com os valores de PACRH-1 confirmaram a proposta dos ésteres acil-lupeol.

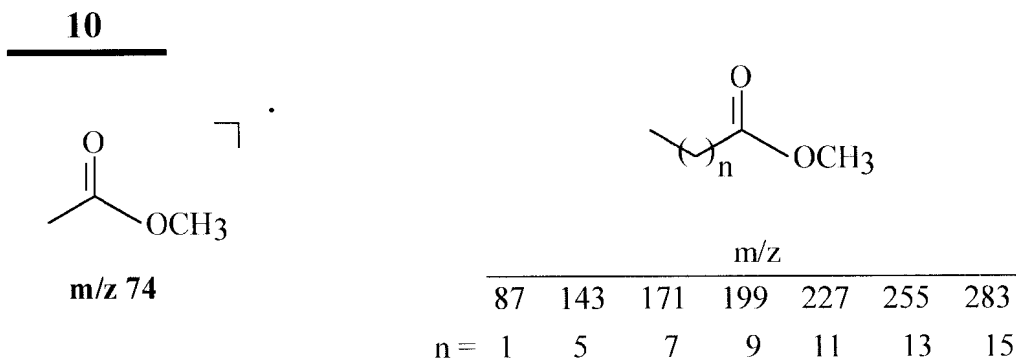
Os valores de δ_C CH_3 , CH_2 e de carbonila de ésteres estão de acordo com a unidade acila correspondente às substâncias 10 e 11.

O ácido 3'-hidroxi proposto para 11 foi confirmado através da atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de hidrogênio (Figura 49, Tabela 12 ; págs. 159 e 42) e carbono-13 (Tabela 13, pág. 43) após análise dos espectros totalmente desacoplado (Figura 50, pág. 160), DEPT (Figura 51, pág. 161).

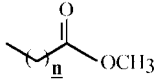
Para definir-se o tamanho da cadeia da unidade de ácido dos ésteres presentes na mistura fez-se a hidrólise alcalina (Figura 20, pág. 127) e posterior metilação (Figura 21, Esquema 7; págs.128 e 59) para obter-se os ésteres metílicos de cada unidade de 10 e 11. Esta mistura de ésteres metílicos foi analisada em um sistema CG-EM. O cromatograma resultante da segunda análise (Figura 22, pág. 129) forneceu uma série de picos cujos Tempos de Retenção e percentagem dos principais componentes estão relacionados na Tabela 14 (pág. 44). Obteve-se, o espectro de massas para cada componente (Figuras 23 a 39; págs. 131 a 147) cuja análise dos principais picos permitiu deduzir a natureza da unidade acila. A natureza dos ácidos de cadeia longa não hidroxilada (10) e 3'-hidroxi (11) foi deduzida pela presença de picos característicos e o tamanho da cadeia correspondente a cada componente na mistura foi deduzido pelo valor do M^+ , M^{+1} ou $M^+ -18$ (Tabela 14).

As unidades correspondentes a 10 foram deduzidas com base nos fragmentos propostos para os picos de m/z 143, 87 e 74 (Figuras 23, 24, 26, 27, 29, 30, 32, 34, 36 e 39; pág. 131, 132, 134, 135, 137, 138, 140, 142, 144 e 147) (Tabela 14) e nos valores de M^+ pela relação:

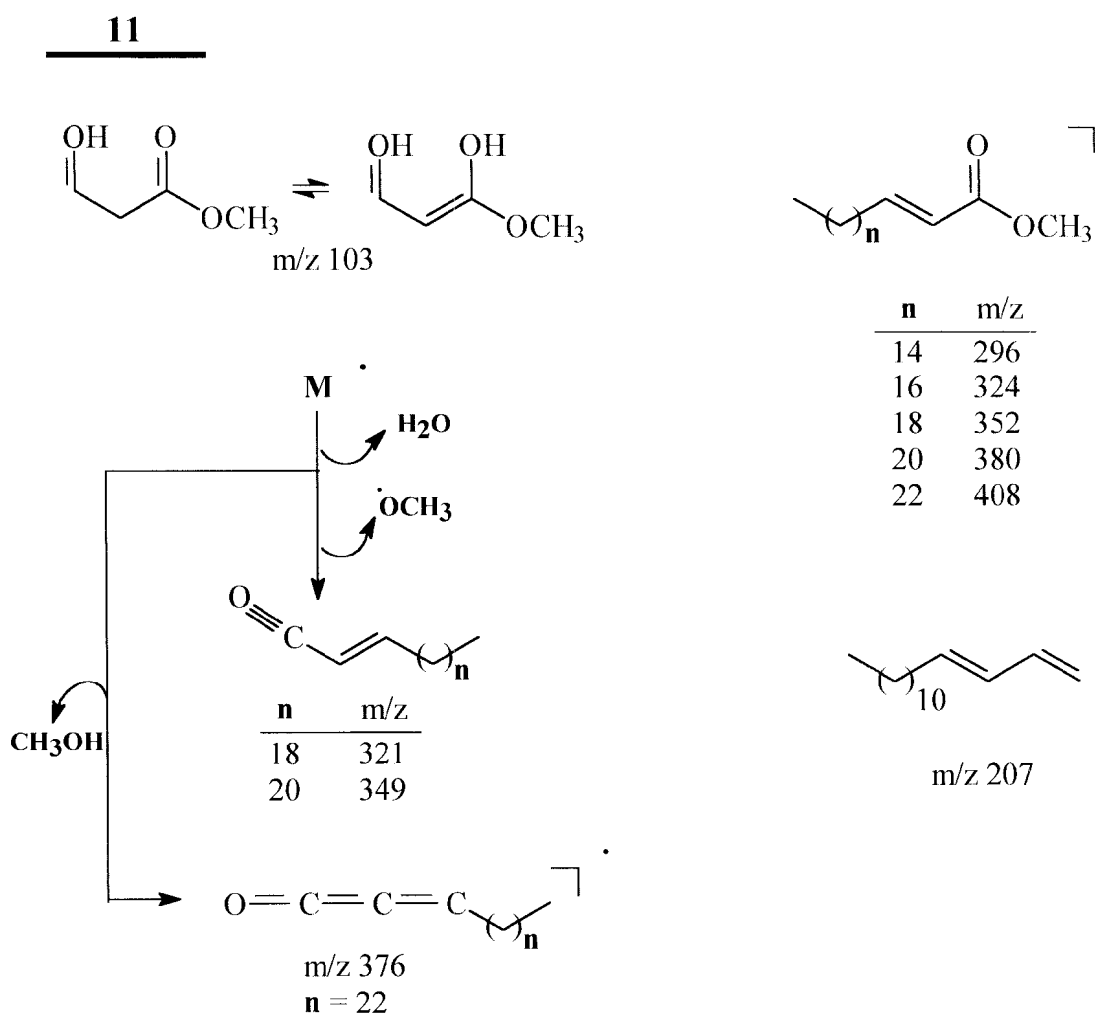
$$15+16+28+14n+15 = M^+ \rightarrow 74+14n = M^+ \therefore n = (M^+ -74)/14.$$



Com esta análise identificou-se os componentes da mistura de ésteres metílicos e deduziu-se as estruturas dos ésteres 3-O-β-acil-lupelila (**10A a 10J**).

	 <u>n</u>
10A : <i>hexadecanoato de lupelila</i>	14
10B : <i>octadecanoato de lupelila</i>	16
10C : <i>eicosanoato de lupelila</i>	18
10D : <i>heneicosanoato de lupelila</i>	19
10E : <i>docosanoato de lupelila</i>	20
10F : <i>tricosanoato de lupelila</i>	21
10G : <i>tetracosanoato de lupelila</i>	22
10H : <i>pentacosanoato de lupelila</i>	23
10I : <i>hexacosanoato de lupelila</i>	24
10J : <i>octacosanoato de lupelila</i>	26

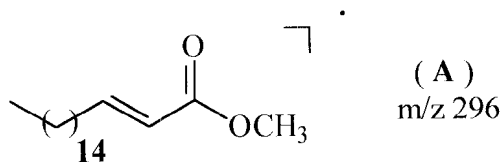
As unidades correspondentes a **11** (β -hidroxi-ácido) foram deduzidas com base nos fragmentos propostos para os picos de m/z 103 (100%) (Figuras 25, 28, 31, 35 e 38; págs. 133, 136, 139, 143 e 146) e nos valores dos picos que podem ser atribuídos a fragmentos que permitiram deduzir o tamanho da cadeia acíclica.



Foram identificados cinco constituintes de **11**. A identificação de cada componente está descrita a seguir :

⇒ **11A:**

a) O valor do pico m/z 296 é compatível com a estrutura abaixo :



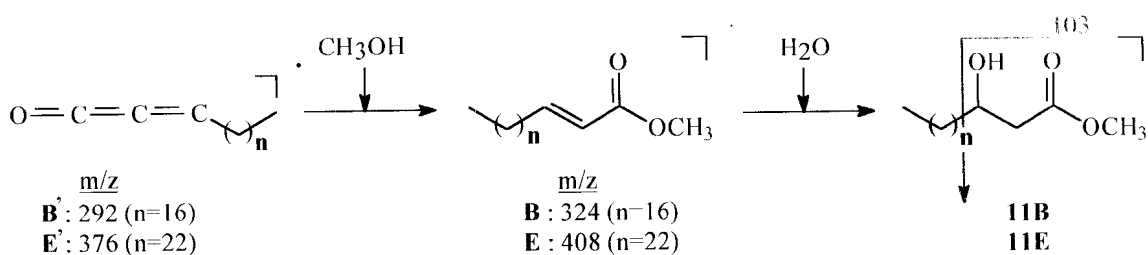
b) A proposta acima é confirmada pelo valor de m/z 281 [296 (A)-15].

c) O pico base de m/z 103 (página anterior) é compatível com o sistema β-hidroxi-éster que, aliado às deduções anteriores permite sugerir a estrutura do β-hidroxi-octadecanoato de lupelila para 11A.

d) O valor M^+ 314 não foi observado. Entretanto a ordem de eluição dos constituintes de 11 na coluna de gás justifica esta proposta. O t_r de 11A (n=14) é menor do que o t_r de 11B (n=16).

⇒ 11B e 11E:

a) Os valores de m/z 324 para 11B e 408 para 11E são compatíveis com as estruturas B e E apresentadas abaixo :



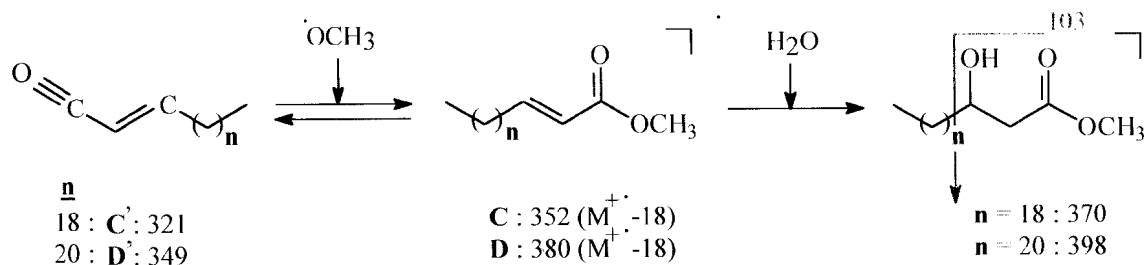
b) Os picos em m/z 292 e 376 correspondem a (B e E) -32u. ou seja B'e E'.

c) O pico base em m/z 103 justifica a estrutura β-hidroxi. Portanto 324 e 408 são os picos referentes a M^+ -18.

d) Destas observações propôs-se as estruturas do β-hidroxi-eicosanoato de lupelila para 11B e β-hidroxi-hexacosanoato de lupelila para 11E.

⇒11C e 11D:

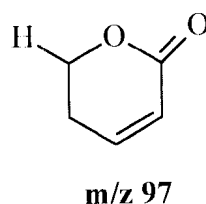
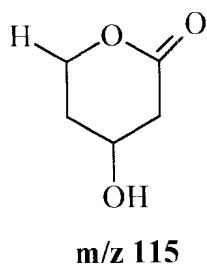
a) Raciocínio semelhante ao caso anterior foi aplicado para os valores de m/z 321,352 observados no espectro de 11C e 349, 380 observados no espectro de 11D.



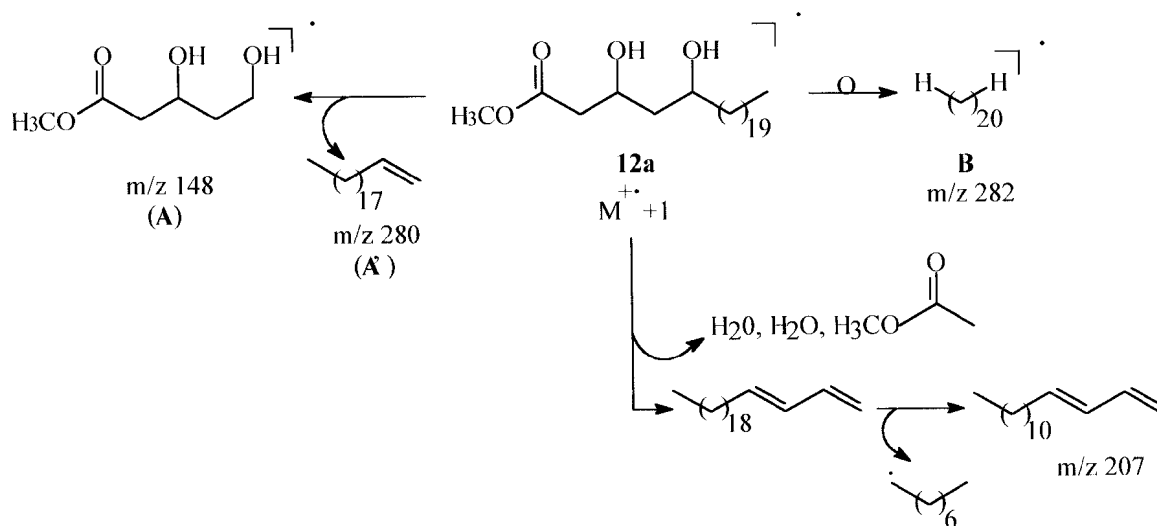
b) Estas observações permitiram propor as estruturas do β -hidroxidocosanoato de lupelila para 11C e β -hidroxitetracosanoato de lupelila para 11D.

As propostas das unidades acila tipo 12 (β,δ -dihidroxi-ácido) foram feitas com base nos picos de m/z 115 e 97 (Figuras 33 e 37, págs. 141 e 145) (Tabela 14). Os ésteres 12A e 12B não tinham sido identificados anteriormente nos espectros de RMN devido à baixa percentagem destes componentes na mistura. A seguir são feitas as observações sobre o comprimento da cadeia da unidade acila destes componentes :

⇒12A:

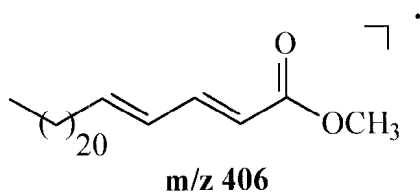


A estrutura 12A foi proposta através dos picos em m/z 97, 115 e 148 e do valor de $M^{+} + 1 = 429$ (esquema abaixo). A diferença $428 - 148 = 280$ corresponde a $20 \times 14u$. O fragmento A' é confirmado pelo pico m/z 282 (B). A união de A' com A (m/z 148) fornece 12a correspondente a estrutura do *3,5-diidroxipentacosanoato de lupelila* para 12A.



12B:

Os picos presentes no espectro de massas (Figura 37, pág. 145) não permitem propor com segurança a estrutura deste componente. Entretanto o valor de m/z 406 é compatível com o hexacosa-2,4-dienoato de metila. Os picos em m/z 97 e 115 permitem propor a estrutura 12b como *3,5-diidroxihexacosanoato de metila*. Destas observações propõe-se, sem muita segurança a estrutura do *3,5-diidroxihexacosanoato de lupelila* para 12B.



Para confirmar a posição da hidroxila em 3' na unidade acila de 11 fez-se as reações de oxidação com PCC (Figuras 40, 41, 42, 42a e 42b; págs. 148 a 152) e de acetilação desta substância (Figuras 43 a 45 ; págs. 153 a 155). As estruturas dos produtos 11-OXI e 11-Ac foram confirmadas através da interpretação dos espectros de RMN ^1H (Figuras 40 e 43) e ^{13}C (1D: PND e DEPT); 2D: ^1H , ^{13}C COSY (11-OXI: Figuras 41, 42, 42a e 42b) (11-Ac: Figuras 44 e 45) (Tabela 15, pág. 49). Os sinais do carbono carbonílico em δ_{C} 202 e do metileno em δ_{C} 49,2 e δ_{H} 3,4 (s) confirmaram o produto como sendo 11-OXI. Os sinais do grupo acetato [δ_{H} 1,99 (s) do H-3' em campo mais baixo [δ_{H} 5,15 (quinteto)] e do C-3' (δ_{C} 70,7) confirmaram a formação do derivado acetilado.

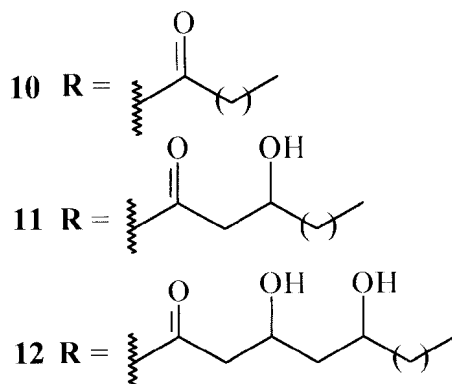
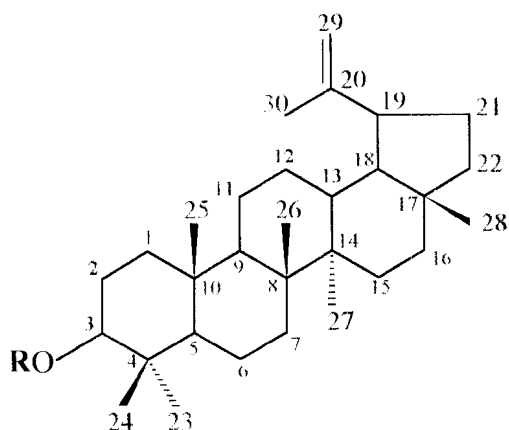
Os sinais adicionais no espectro de RMN ^1H (Figura 40) e de RMN ^{13}C (Figuras 41, 42, 42a e 42b) (Tabela 15) do produto de oxidação de 11 revelam a presença do enol resultante do equilíbrio ceto-enólico no sistema 1,3-dicarbonílico. A formação de 11''-OXI (C) e 11'-OXI (B) foi deduzida respectivamente, com base nos sinais δ_{C} 194,9 (C-3'); 172,6 (C-1') e δ_{C} 80,3 (C-3) para (C) e δ_{C} 178,6 (C-1'), 82,9 (C-2') e 173,5 (C-3') para (B) presentes nos espectros de RMN ^{13}C (Figuras 42, 42a e 42b; págs. 150 a 152).

Tabela 11 : Dados de infra-vermelho (IV) de PACRH-1 (10 + 11 + 12).

$\nu^{\text{KBr}}_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	ATRIBUIÇÕES
3505	$\nu_{\text{H-O}}$
2921	$\nu_{\text{C-H}} (\text{CH} ; \text{CH}_2 ; \text{CH}_3)$
2851	$\nu_{\text{C-H}} (\text{CH} ; \text{CH}_2 ; \text{CH}_3)$
1729	$\nu_{\text{C=O}}$
1642	$\nu_{\text{C=C}}$
1465	$\delta_{\text{C-H}} (\text{CH}_2)$
1380	$\delta_{\text{C-H}} (\text{CH}_3)$

Tabela 12 : Dados de RMN ^1H (200,13 MHz, CDCl_3) de PACRH-1 (**10** + **11**) com um modelo da literatura Mo-3 .

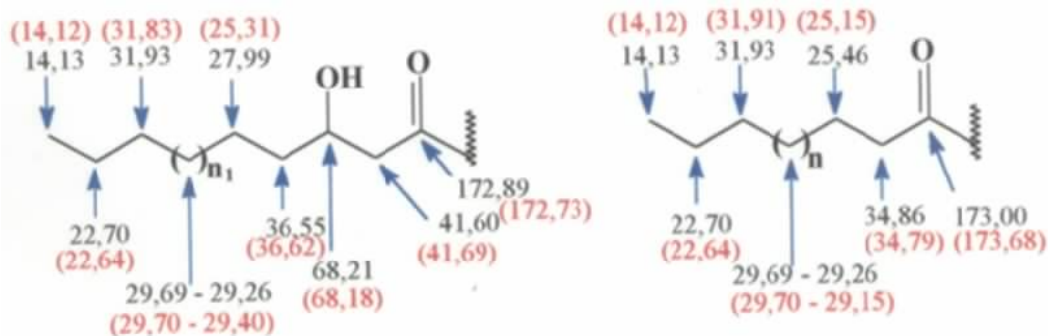
	10 + 11	Mod.3 ²⁰
POSIÇÃO	δ_{H}	δ_{H}
3	4,50 (m)	4,49 (s)
19	2,30 (m)	2,2 - 2,6 (m)
23	0,81 (s)	0,86 (s)
24	0,98 (s)	1,05 (s)
25	0,81 (s)	0,88 (s)
26	0,81 (s)	0,88 (s)
27	0,90 (s)	0,98 (s)
28	0,74 (s)	0,78 (s)
29	4,64 (s)	4,67 (s)
	4,53 (s)	4,56 (s)
30	1,64 (s)	1,68 (s)
2'	2,40 (m)	2,40 (d, J=6.4 Hz)
3'	1,34 (m) (10)	1,3 - 1,5
	38,0 (m) (11)	
CH-OH	3,95 (m)	4,00 (m)
(CH_2) _n	1,22 (m)	1,25 (m)
CH_3	0,80 (t)	0,95 (t, J=7,0 Hz)



Mod. 3 (11)

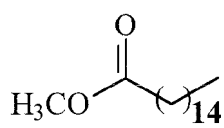
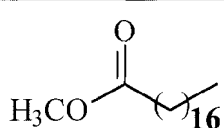
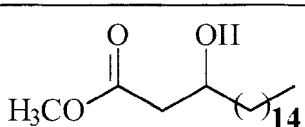
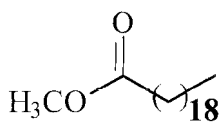
Tabela 13 : Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND e DEPT ($\theta : 90$ e 135°) da unidade terpênica de PACRH-1 (**10** + **11**) com modelos da literatura (Mod.3).

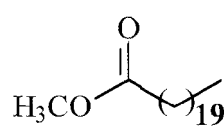
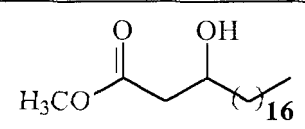
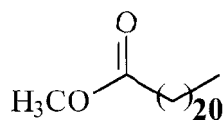
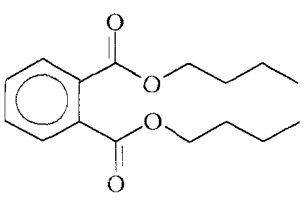
C	11	Mult.	Mod.3	10	C	11	Mult.	Mod.3	10
1	38,34	CH ₂	38,70	38,34	16	35,56	CH ₂	35,50	35,56
2	23,75	CH ₂	27,40	23,75	17	42,98	C	43,00	42,98
3	81,45	CH	77,90	80,60	18	48,26	CH	48,20	48,26
4	37,80	C	38,80	37,80	19	47,99	CH	47,90	47,99
5	55,36	CH	55,30	55,36	20	150,9	C	150,9	150,9
6	18,19	CH ₂	18,30	18,19	21	29,69	CH ₂	29,80	29,69
7	34,18	CH ₂	34,20	34,18	22	39,99	CH ₂	40,00	39,99
8	40,83	C	40,80	40,83	23	27,99	CH ₃	28,00	27,99
9	50,32	CH	50,40	50,32	24	15,97	CH ₃	15,40	15,97
10	37,07	C	37,10	37,07	25	16,16	CH ₃	16,10	16,58
11	20,94	CH ₂	20,90	20,94	26	16,58	CH ₃	16,80	16,16
12	25,08	CH ₂	25,10	25,08	27	14,52	CH ₃	14,50	14,52
13	38,02	CH	38,00	38,02	28	17,99	CH ₃	18,00	17,99
14	42,82	C	42,80	42,82	29	109,3	CH ₂	109,3	109,3
15	27,42	CH ₂	27,40	27,42	30	19,28	CH ₃	19,30	19,28

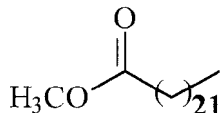
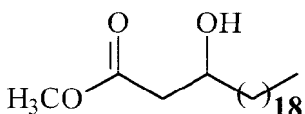
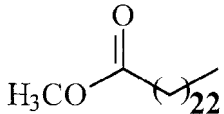
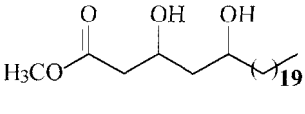
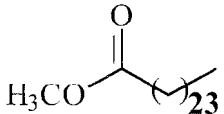


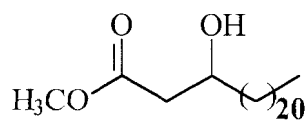
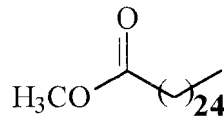
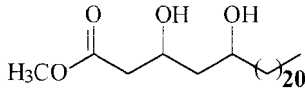
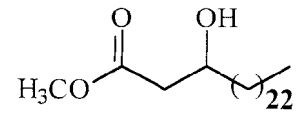
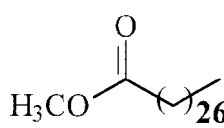
() : valores da Literatura ²⁰

Tabela 14 : Estruturas e dados de CG-EM dos ésteres metílicos da hidrólise de **10A-10J**, **11A-11E** e **12A-12B**.

<i>Estrutura</i>	<i>C G</i>		<i>m/z (%)</i>								
	<i>t_r</i> (min)	%	<i>M⁺</i>	<i>M⁺+1</i>	<i>M⁺-18</i>	115	103	97	87	74	43
10a 	15,42	3,84	270 (5)	271 (1)					(65)	(100)	(31)
10b 	16,77	2,22	298 (10)	299 (2)					(68)	(100)	(37)
11a 	17,98	2,25	314 (0)		296 (2)			(100)		(25)	(49)
10c 	18,28	5,77	326 (7)	327 (2)					(68)	(100)	(40)

<i>Estrutura</i>	<i>C G</i>		<i>m/z (%)</i>								
	<i>t_r</i> (min)	%	<i>M⁺</i>	<i>M⁺+1</i>	<i>M⁺-18</i>	115	103	97	87	74	43
10d 	19,06	1,55	340 (15)	341 (5)					(70)	(100)	(50)
11b 	19,72	14,16	342 (0)	343 (0.4)	324 (1)		(100)				(54)
10e 	20,02	10,45	354 (5)	355 (1)					(65)	(100)	(47)
X 	20,48		278 (8)	279 (1)							

<i>Estrutura</i>	<i>C G</i>		<i>m/z (%)</i>								
	<i>t_r</i> (min)	%	<i>M⁺</i>	<i>M⁺+1</i>	<i>M⁺-18</i>	115	103	97	87	74	43
10f 	20,97	0,97	368 (15)						(70)	(100)	(60)
11c 	21,85	11,23	370 (0)	371				(100)			(49)
10g 	22,16	5,77	382 (10)	383 (1)					(71)	(100)	(49)
12a 	23,15	2,40	428 (0)	429 (1)		(42)		(75)			(100)
10h 	23,35	0,93	396 (15)	397 (4)					(77)	(100)	(61)

<i>Estrutura</i>	<i>C G</i>		<i>m/z</i> (%)								
	<i>t_r</i> (min)	%	<i>M</i> ⁺	<i>M</i> ⁺ +1	<i>M</i> ⁺ -18	115	103	97	87	74	43
11d 	24,51	8,64	398 (0)	399	380		(100)				(45)
10i 	24,95	4,42	410 (0)	411 (18)					(77)	(100)	(53)
12b 	26,47	2,16				(37)		(68)			(100)
11e 	28,16	2,66	426 (1)		418 (2)		(100)				(47)
10j 	28,84	2,23	438 (0)	439 (22)					(77)	(100)	(64)

Isolados anteriormente da casca de *P. amapa*²⁰.

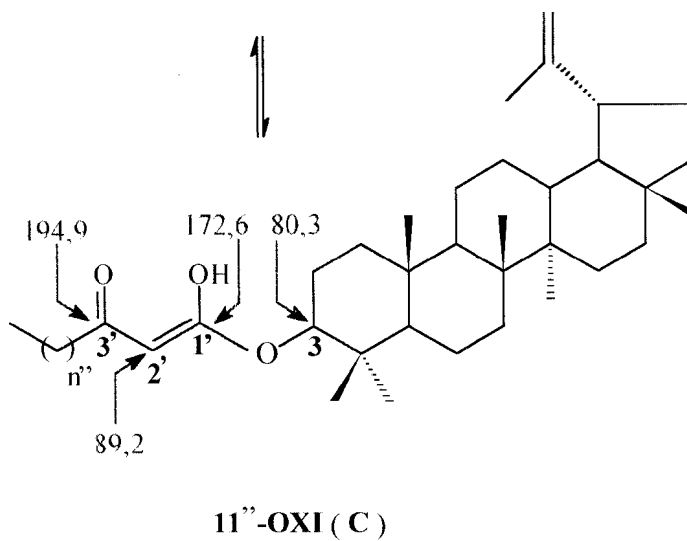
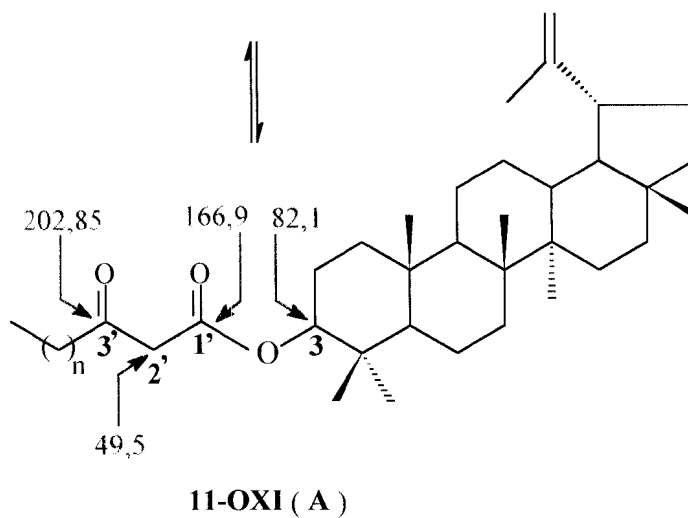
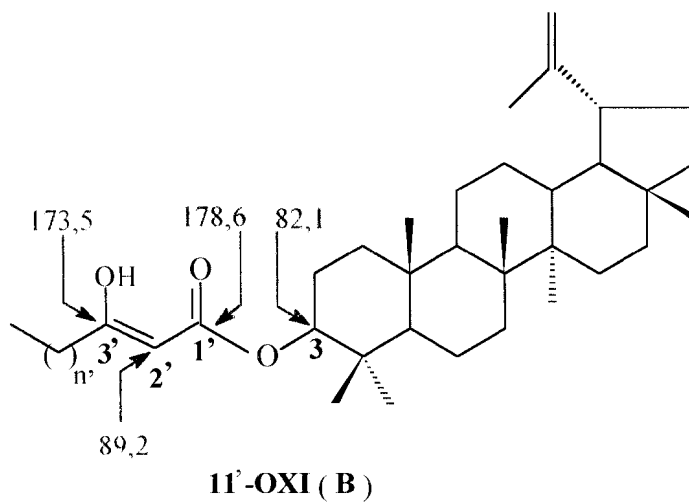


Tabela 15: Dados de RMN de ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C (50,3 MHz) de **11-OXI** obtidos com experimentos 1D e 2D e de **11-Ac** (1D) obtidos em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	11-OXI						11-Ac	
	A		B		C		δ_{C}	δ_{H}
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
3	82,1	4,53	82,1	4,53	80,3	4,53	81,3	4,47 (m)
1'	166,9	-	178,6	-	172,6	-	170,1	-
2'	49,5	3,40 (s)	89,2	4,90 (s)	89,2	4,90 (s)	39,9	2,53 (d)
3'	202,80	-	173,5	-	194,9	-	70,7	5,15 (m)
4'	43,0	2,49 (t)	43,0	2,49	43,0	2,49	33,8	2,30 (m)
5'	25,1	-	25,0	-	25,0	-	25,0	-
$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	31,9	1,22	31,9	1,22	31,9	1,22	31,9	1,24 (m)
$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_3$	22,6	-	22,6	-	22,6	-	22,6	-
$\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-CH}_2$	14,4	0,84 (t)	-	0,84	14,4	0,84	14,4	0,80 (t)
$\text{H}_3\text{C-CO}$	-	-	-	-	-	-	170,7	-
$\text{H}_3\text{C-CO}$	-	-	-	-	-	-	21,2	1,99

2.4. PARTE EXPERIMENTAL

2.4.1. Coleta da planta

O espécime de *Parahancornia amapa* foi coletado no Estado do Amapá e autenticado pelo botânico Benedito Vítor Rabelo. Um exemplar do espécime (nº07231) se encontra no herbário amapaense, HAMAB, da divisão botânica do Museu Ângelo Moreira da Costa Lima (IEPA), Macapá - AP, Brasil.

2.4.2. Elaboração dos extratos

O material vegetal após ser separado e seco naturalmente, foi reduzido a pó em moinho de facas.

O pó das raízes (800 g) foi submetido a extrações sucessivas em hexano e metanol, fornecendo 55,4 g de material do extrato hexânico PARH (*Parahancornia amapa*, Raiz, Hexano) e 30,0 g de material do extrato metanólico PARM (*Parahancornia amapa*, Raiz, Metanol) (Esquema 3, pág. 54).

O pó das cascas das raízes (400 g) foi submetido a extrações sucessivas em hexano e metanol, fornecendo 11,1 g de material do extrato hexânico PACRH (*Parahancornia amapa*, Casca, Raiz, Hexano) e 8,0 g de material do extrato metanólico PACRM (*Parahancornia amapa*, Casca, Raiz, Metanol) (Esquema 4, pág. 55).

O pó das folhas (790 g) foi submetido a extrações sucessivas em hexano e metanol, fornecendo 94,6 g de material do extrato hexânico PAFH

(*Parahancornia amapa*, Folha, Hexano) e 30,0 g de material do extrato metanólico de PAFM (*Parahancornia amapa*, Folha, Metanol) (Esquema 5, pág. 56).

O pó do tronco (410,2 g) foi submetido a extrações sucessivas em hexano e metanol, fornecendo 6,2 g de material do extrato hexânico PATH (*Parahancornia amapa*, Tronco, Hexano) e 38,1 g de material do extrato metanólico PATM (*Parahancornia amapa*, Tronco, Metanol) (Esquema 6, pág. 56).

2.4.3. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos

2.4.3.1. Extrato hexânico da raiz (PARH)

Após análise em cromatografia em camada delgada analítica de sílica gel (CCDA), o extrato hexânico foi submetido ao fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel. Utilizou-se como eluente misturas de hexano, acetato de etila e metanol em polaridade crescente. Através de análises comparativas em CCDA as frações semelhantes foram reunidas em grupos. Estas foram submetidas a outras técnicas de purificação como cromatografia em coluna ou camada preparativa de sílica gel normal e recristalização.

Recolheram-se 95 frações de 150 mL, as quais foram concentradas em evaporador rotativo. As frações 12 e 10 foram recristalizadas em hexano/AcOEt (95:5) para fornecer PARH-12 (40,7 mg), P.F. 139-41°C e PARH-10 (35,5 mg), P.F. 89-91 °C. As etapas envolvidas no isolamento de PARH-12 e PARH-10 aparecem resumidas no esquema 3 (pág. 54).

2.4.3.2. Extrato hexânico da casca da raiz (PACRH)

O resíduo obtido da solução hexânica foi cristalizado em acetona, fornecendo um material cristalino que foi denominado PACRH-1 (3,2 g), P.F. 58-88°C.

O solvente da água-mãe foi destilado e o resíduo foi cromatografado em coluna de sílica gel e as frações analisadas por cromatografia em camada delgada de sílica. A fração 16 foi recristalizada em hexano / clorofórmio 9:1 e forneceu PACRH-A (90,3 mg), P.F. 90-92°C. As etapas envolvidas no isolamento de PACRH-1 e PACRH-A aparecem resumidas no esquema 4 (pág. 55).

2.4.3.3. Extrato hexânico das folhas (PAFH)

O extrato hexânico das folhas (94,6g) foi fracionado por cromatografia líquida em coluna de sílica gel e eluído com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade (hexano-clorofórmio-metanol). Foram coletadas 225 frações de 150 mL cada. Estas foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida e reunidas com base na análise obtida por CCDA.

A análise das frações reunidas indicou a presença de mistura de terpenóides já estudados em outras partes das plantas, além de hidrocarbonetos alifáticos.

2.4.3.4. Extrato hexânico do tronco (PATH)

O extrato hexânico do tronco (6,2g) foi submetido a cromatografia em coluna de sílica e eluído com hexano-clorofórmio-metanol em ordem crescente de polaridade. Recolheu-se 85 frações de 150 mL que foram concentradas em evaporador rotativo e após comparação através de CCDA foram reunidas.

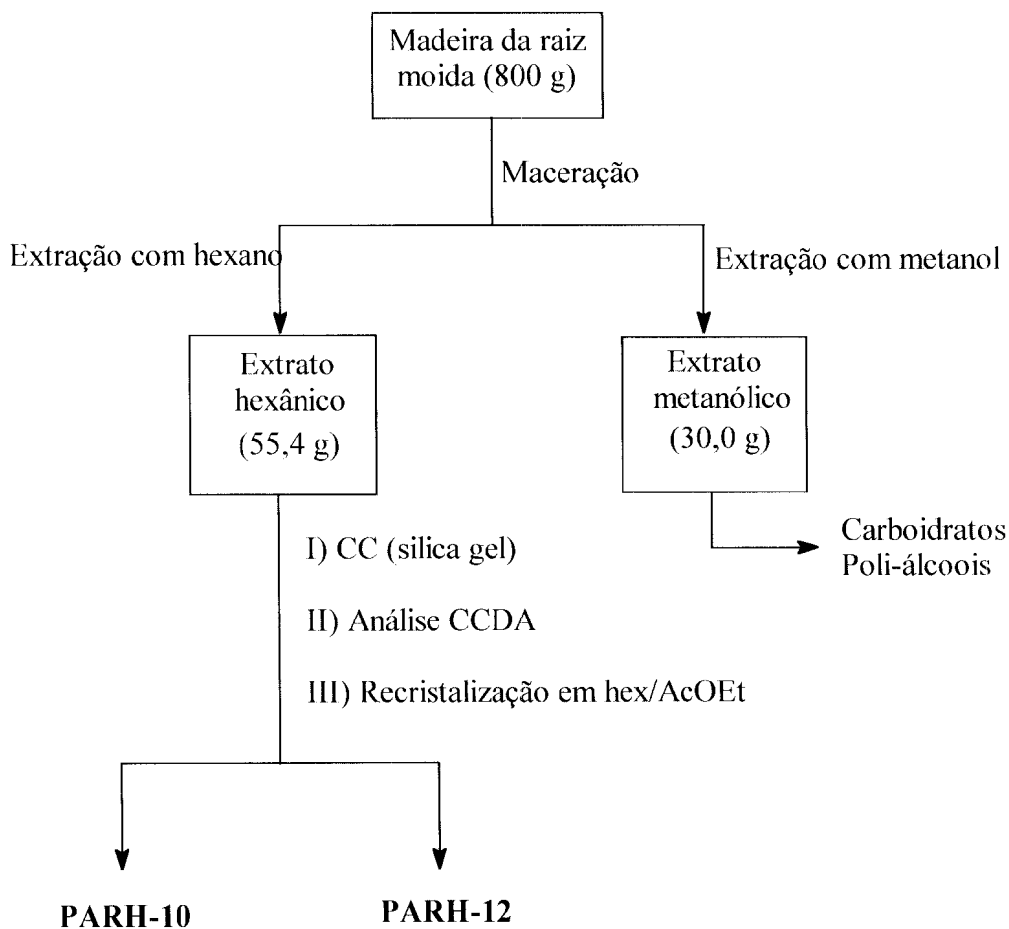
O estudo destas frações reunidas indicou a presença de hidrocarbonetos de cadeias longas, álcoois alifáticos e de terpenos já estudados anteriormente.

2.4.3.5. Extrato metanólico da raiz (PARM)

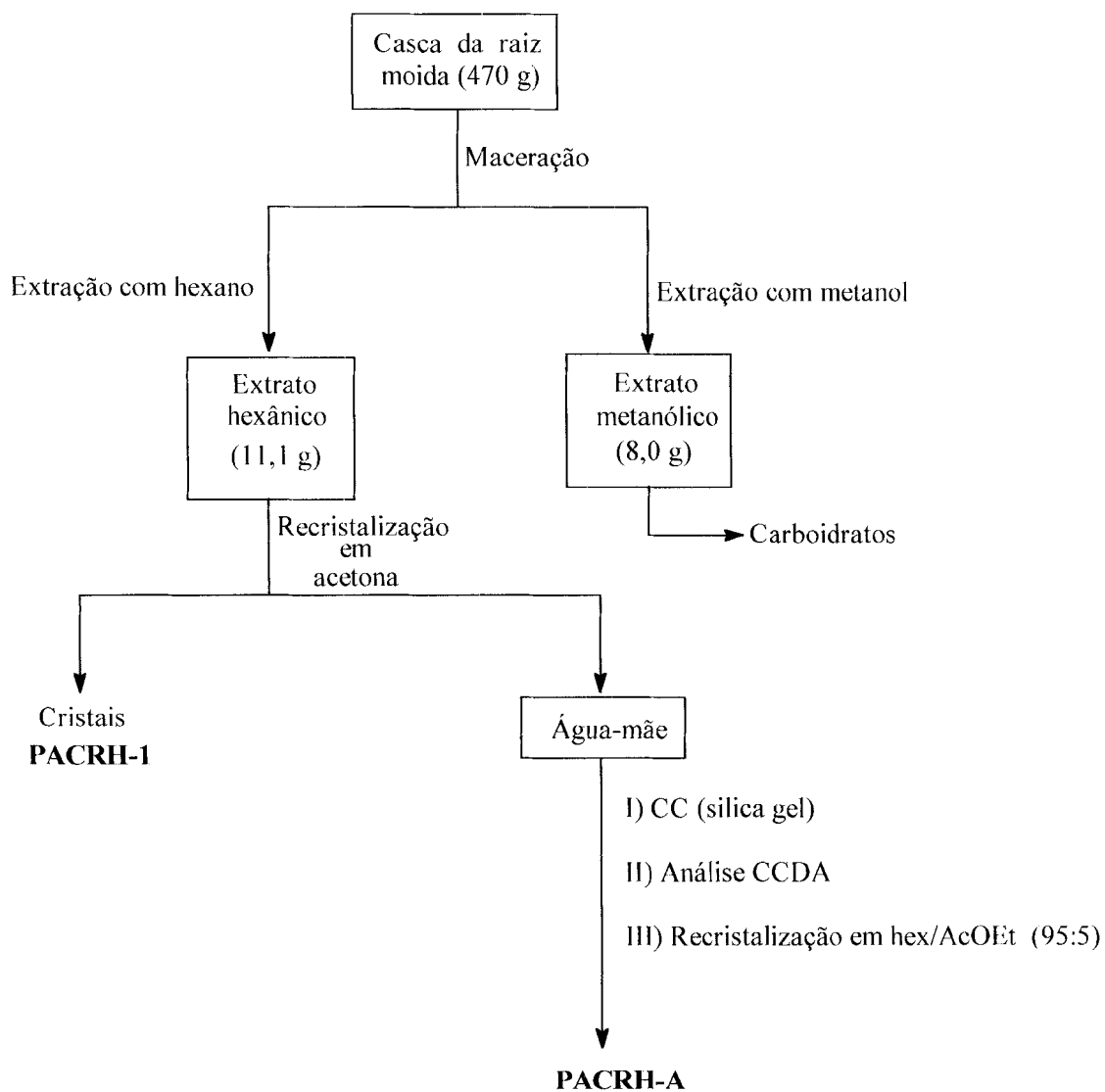
O extrato metanólico da raiz de *Parahancornia amapa* (30,0g) foi submetido a cromatografia em coluna de sílica gel sendo eluído com hexano-acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 251 frações de 150 mL cada. Estas frações foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas por CCDA com diversos sistemas de eluentes.

Com este procedimento não foi possível isolar nenhuma substância, apenas relatar que se trata de misturas ricas em carboidratos e poli-álcoois.

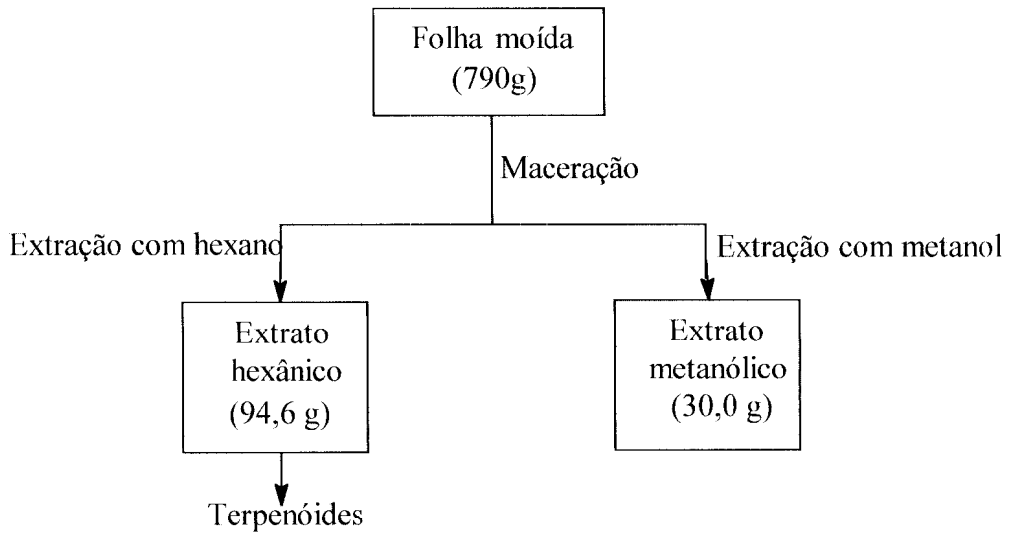
Os demais extratos serão estudados posteriormente.



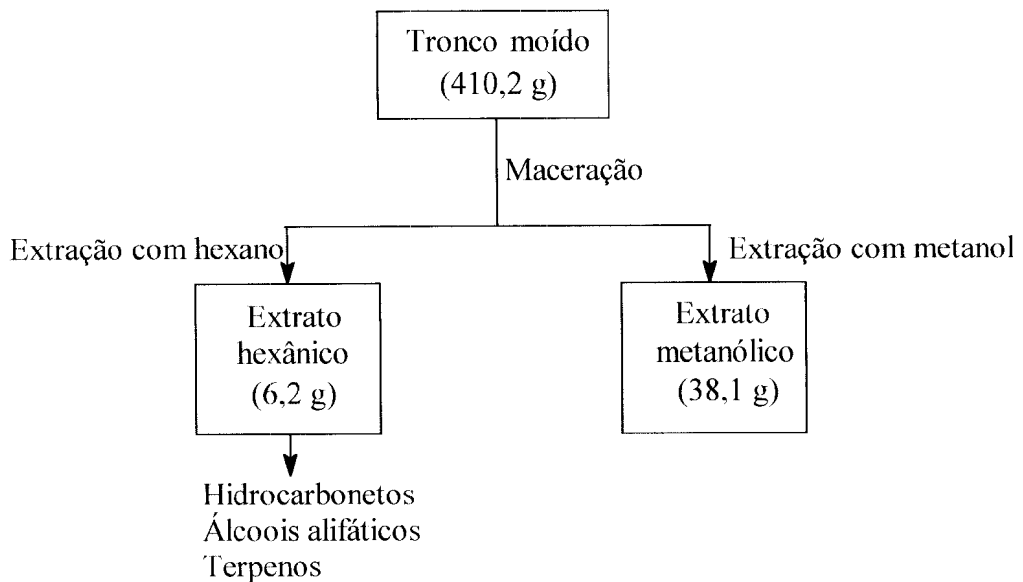
Esquema 3: Elaboração dos extratos e posterior fracionamento cromatográfico da raiz de *P. amapa*.



Esquema 4: Elaboração dos extratos e posterior fracionamento cromatográfico da casca da raiz de *P. amapa*.



Esquema 5: Elaboração dos extratos das folhas de *P. amapa*.



Esquema 6 : Elaboração dos extratos do tronco de *P. amapa*.

2.4.4. Preparação dos derivados das substâncias isoladas (Esquema 7)

2.4.4.1. Hidrólise Alcalina

A amostra a ser hidrolisada (100 mg) foi tratada com uma solução aquosa de NaOH (20%, 5mL) e mantida em refluxo por duas horas. A mistura reacional foi acidificada com HCl (10%) e extraída com éter etílico. A solução etérea foi concentrada e purificada por CC de sílica gel, fornecendo 43 mg de uma mistura de ácidos carboxílicos (P.F. 126-8°C, Figura 20, pág. 127).

2.4.4.2. Metilação com diazometano

O diazometano foi preparado a partir de uma solução etérea de N-metil-N-nitroso-*p*-tolueno-sulfonamida (Diazald[®]) tratada com uma solução de KOH e mantida em banho de gelo.

A amostra a ser metilada foi dissolvida em éter e tratada com excesso de diazometano, fornecendo 26 mg de uma mistura de esteres metílicos (P.F. 111-3°C, Figura 23, pág. 128).

2.4.4.3. Acetilação

A reação de acetilação foi realizada utilizando-se 1 mL de anidrido acético e 1 mL de piridina para 40 mg de material. A mistura reacional foi mantida em repouso durante 2,4 horas. A seguir adicionou-se água destilada gelada e extraiu-se o material com clorofórmio. A solução clorofórmica foi neutralizada com ácido clorídrico 10% para eliminar a piridina lavou-se com água destilada, secou-se com sulfato de sódio anidro e concentrou-se em evaporador rotativo, sob vácuo. Os derivados foram purificados por

recristalização. Obteve-se 28 mg de 11-Ac, que apresentou P.F. 59-61°C (figuras 43, 44 e 45 ; págs. 153 a 155).

2.4.4.4. Oxidação com PCC

A amostra a ser oxidada (40 mg) foi tratada com uma solução de clorocromato de piridina em CH_2C_{12} anidro (40%, 7mL) e mantida em refluxo por três horas. A mistura reacional foi concentrada e purificada por cromatografia em coluna de florisil, fornecendo 31 mg do composto 11-OXI (P.F. 57-59°C, Figuras 40,41, 42, 42'e 42"; págs. 148 a 152).

3. DITERPENOS ISOLADOS DA MADEIRA DE

Pinus caribaea var. *bahamensis* Barr et Golf

3.1. INTRODUÇÃO

A literatura relata o estudo químico de espécies de *Pinus* e revela a presença de constituintes químicos de importância farmacológica e industrial.

O gênero *Pinus* é constituído por espécies de crescimento rápido, boa rusticidade e alta qualidade de fibra de celulose. Possui diferentes espécies de alta adaptabilidade a diferentes regiões e também sua cultura possui manejo e tecnologia industrial conhecidos. Certamente o conhecimento mais profundo sobre a composição química desse gênero traz informações adicionais para as áreas florestal, ecológica e econômica. As espécies *P. strobus*, *P. taeda*, *P. caribaea*, *P. oocarpa* e *P. kaesia* são consideradas as mais adequadas em termos bioclimáticos para algumas áreas da região sudeste, sul de Goiás e Distrito Federal. Por isso, estas espécies merecem um estudo fitoquímico mais aprofundado para, então, serem melhor aproveitadas economicamente⁴⁶.

É possível que a longo prazo o conhecimento da química de espécies industrializadas venha a colaborar na resolução de problemas que afetam as culturas em grande escala. Como exemplo pode-se destacar os constantes prejuízos devido ao ataque de pragas como a vespa-da-madeira (*Sirex noctilio*) nos cultivares de *Pinus spp* no sul do país. Foi verificado que árvores mais

estressadas são mais atrativas para a vespa do que as sadias. Usa-se esta preferência dos insetos para elaborar armadilhas com a finalidade de estudar a fisiologia do inseto e inclusive, fazer avaliação da suscetibilidade de diferentes espécies de *Pinus* ao ataque da praga^{47, 48}.

Em relação à vespa-da-madeira (*Sirex noctilio*: Sericidae) torna-se relevante fazer um estudo para verificar quais dos metabólitos especiais produzidos pelas árvores estressadas atraem os insetos. Todavia também deve-se levar em consideração que apesar de fatores como menor pressão de resina e alto grau de umidade serem favoráveis à ovoposição, pode haver ou não, o desenvolvimento das larvas dependendo da composição química do hospedeiro. Esta interferência química pode ocorrer diretamente sobre as larvas ou indiretamente, inibindo ou favorecendo a proliferação do fungo associado ao inseto (*Amilosterum areolatum*) que serve de alimento para as mesmas⁴⁷.

O fungo *Amilosterum areolatum* está associado a *Sirex noctilio*, uma praga encontrada no cultivo de pinus tropicais no sul do Brasil. A diferença no crescimento deste fungo em diferentes extratos da madeira de sete espécies de *Pinus* motivou o estudo químico e o correlacionamento com os metabólitos especiais presentes nos extratos das diferentes espécies⁴⁹.

Em avaliação de laboratório observou-se um desenvolvimento significativo do fungo *A. areolatum* nos extratos de *P. taeda* e *P. caribaea* var. *bahamensis*, inclusive com produção de toxina⁵⁰. Já foi constatado em trabalhos de campo que esta praga prolifera-se com muita facilidade em *Pinus taeda*. O estudo químico dos extratos da madeira de *P. taeda* revelou a presença de ácidos diterpênicos e esteróides⁵¹. Em *P. strobus* var. *chiapensis* não foi observado o crescimento do fungo nos extratos avaliados⁵² e desta

espécie foram isolados e identificados flavonóides, estilbenos e esteróides como constituintes majoritários, além de uma pequena quantidade de mistura de ácidos diterpênicos⁵³. A literatura revela que a presença de flavonóides e estilbenos pode reduzir o desenvolvimento de fungo no meio de cultura⁵⁴. Com o objetivo de colaborar para o conhecimento da química das espécies cultiváveis no Brasil, estamos desenvolvendo o estudo químico de *Pinus caribaea* var. *bahamensis*. Até o momento foi desenvolvido apenas o trabalho clássico de fitoquímica desta espécie e constatou-se a presença de ácidos diterpênicos nos extratos hexânico e de acetato de etila da madeira desta planta. Estes ácidos estão sendo identificados pela primeira vez nesta espécie, apesar de já serem conhecidos na literatura. O crescimento do fungo *A. aerolatum* nos extratos desta espécie pode ser justificada pela ausência de flavonóides e estilbenos nos extratos analisados.

3.2. A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

3.2.1. Características da espécie *Pinus caribaea* var. *bahamensis* Barr et Golf

A espécie *Pinus caribaea* é uma conífera e está incluída entre as *Pinus* tropicais utilizadas em reflorestamento. Os fatores mais relevantes para o reflorestamento é a adequação à ecologia das diferentes regiões e nos rendimentos quantitativos e qualitativos satisfatórios. A espécie de *Pinus* mais cultivada na região nordeste do Estado de São Paulo é o *Pinus elliotti* que

produz em média 10m³/hectare / ano. A espécie *Pinus caribaea* possui maior proximidade geográfica e morfológica ao *Pinus elliotti* e rende em média 25m³/hectare / ano.

A espécie *Pinus caribaea* var. *bahamensis* Barr et Golf é nativa de várias ilhas do arquipélago das Bahamas: New Providence, Grand Bahamas, Andros, Abaco e Caícos. Cresce nestas ilhas, que são desenvolvidas em rochas calcárias, quase ao nível do mar em litossolos com pH entre 7 e 8,5. Clima tropical com temperaturas médias anuais entre 25-26°C e chuvas tipo estacionais entre 1200 e 1400 mm por ano e período seco que dura entre 5 e 6 meses.

No Brasil tem sido pouco plantada devido à dificuldade de se conseguir suas sementes. O maior plantio desta espécie está localizado em Agudos - SP, além de outros menores em SP, MG, ES e PE⁴⁶.

3.2.2. Constituintes isolados da madeira de *Pinus caribaea* var. *bahamensis*

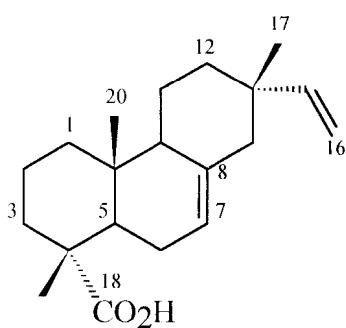
O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico da madeira de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* (Esquema 8, pág. 69) permitiu o isolamento e identificação de dois diterpenos (13 e 14), além de mistura de álcoois, ésteres e ácidos alifáticos. Estes ácidos diterpênicos já estão registrados na literatura e são conhecidos como ácidos isopimárico e dehidroabiético^{55, 56}.

3.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS DITERPENOS ISOLADOS DE *Pinus caribaea* var. *bahamensis*

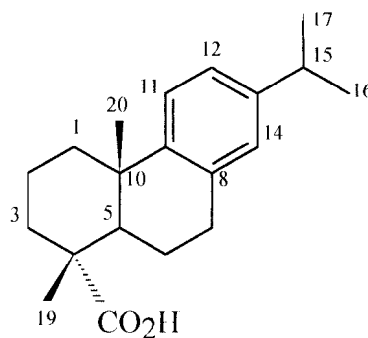
O espectro de RMN ^{13}C da fração contendo os diterpenos (Figura 53, pág. 163) mostra sinal correspondente à função ácido carboxílico em δ_{C} 185,52. Um grupo vinila é identificado pelos sinais característicos do sistema ABX em δ_{H} 5,79 (dd, $J=17,6$ e $10,6$ Hz, 1H) e 4,85 (dd, $J=10,6$ e $1,3$ Hz, 1H) presentes no espectro de RMN ^1H (Figura 52, Tabela 16 ; págs.162 e 66) e pelos sinais em δ_{C} 150,30 (CH) e 109,20 (CH_2) revelados nos espectros de RMN ^{13}C desacoplado (Figura 53a) e DEPT (Figuras 53b e 53c). A integração do sinal em δ_{H} 5,33 (dl, $J=4,6$ Hz) e a mesma do duplo dubleto em 5,79 (grupo vinila). Isto permitiu sugerir a presença de um hidrogênio olefínico que possui o grupo vinila. A dupla ligação que sustenta este hidrogênio olefínico foi confirmada pelos sinais de deslocamentos químicos de carbono sp^2 em 120,9 (CH) e 136,0 (C) presentes no espectro de RMN ^{13}C . O espectro de RMN ^1H mostrou três sinais de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 7,16 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 6,98 (dd, $J=8,0$ e $2,0$ Hz, 1H) e 6,88 (d, $J=2,0$ Hz, 1H). Este anel aromático trissubstituído é identificado pelos demais sinais de deslocamentos químicos de C- sp_2 presentes nos espectros de RMN ^{13}C em δ_{C} 146,7; 145,7; 134,7 e δ_{H} 126,8; 123,8 e 124,1. A diferença de integração entre o sinal de um hidrogênio aromático e os sinais atribuídos para hidrogênios olefínicos citados acima (1,05 : 0,78) garante a proposta da presença de dois componentes na amostra analisada. O espectro de RMN ^1H mostra singletos em 0,86; 0,90;

1,20 (d, $J=6$ Hz, 6H) ; 1,23 (s, 3H) e o sinal em 1,27 (s, intensidade atribuível a mais de um grupo metila).

Levando em consideração as informações citadas acima e a contagem do número de CH_3 , CH_2 , CH e C revelados nos espectros de RMN ^{13}C e comparação com valores citados na literatura^{54,55,56} (Tabela 17, pág. 63) foi possível sugerir a presença de dois ácidos diterpênicos: um da série dos pimaranos (13) e outro correspondente ao ácido dehidroabiético (14). Os sinais em δ_{CH_2} 46,3 ppm, δ_{CH} 120,9; δ_{C} 136,0 presentes nos espectros de RMN ^{13}C [desacoplado (Figura 53a) e DEPT (Figuras 53b e c)] e a feição do sinal de absorção de hidrogênio olefinico (5,32; dl) são semelhantes às respectivas frequências de absorção do C-14, C-7, C-8 e do H-7 do ácido isopimarico^{55, 56}. A comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C com dados da literatura permitiu confirmar as estruturas do ácido 7,15-isopimaradien-18-óico para 13 e do ácido 8,11,13-abietatrien- 18-óico para 14.



13



14

Tabela 16 : Dados de RMN ^1H (200 MHz) de **13** e **14** em CDCl_3 e TMS como referência interna.

δ_{H} (mult.), J (Hz) , n ^o de H	A t r i b u i ç õ e s	
	13	14
0,85 (s, 3H)	CH ₃ -20	-
0,90 (s,3H)	CH ₃ -17	-
1,20 (d, 6,0, 6H)	-	2 x CH ₃ - 17 + 16
1,23 (s, 3H)	-	CH ₃ -20
1,16 (s, 2 x 6H)	CH ₃ -19	CH ₃ -19
1,40 - 1,96 (m)	CH , CH ₂	CH , CH ₂
2,25 (m)	H-6 , H-14	H-7 α
2,80 (sept)	-	H-15
2,89 (m)	-	H-7 β
4,85 (dd, 10,6 e 1,3, 1H)	H-16 a	-
4,95 (dd, 17,6 e 1,3, 1H)	H-16 b	-
5,32 (dl, 1H)	H-7	-
5,79 (dd, 10,6 e 17,6, 1H)	H-15	-
6,88 (d, 1,5, 1H)	-	H-14
6,98 (dd, 8,0 e 1,5, 1H)	-	H-12
7,16 (d, 8,0, 1H)	-	H-11

Tabela 17 : Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de **13** e **14** comparados com valores da literatura ^{54, 55 e 56}.

	13	Lit.1	14	Lit.2
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	38,7	39,2	37,8	37,9
2	17,9	17,9	18,5	18,5
3	36,9	37,2	36,7	36,5
4	46,0	46,4	47,4	47,4
5	44,9	45,4	44,5	44,5
6	24,7	25,7	21,7	21,7
7	120,9	121,5	29,9	29,2
8	135,0	136,0	134,7	134,4
9	51,9	52,4	146,7	146,1
10	36,4	35,5	36,9	36,8
11	19,9	20,5	124,1	123,9
12	36,8	36,0	123,8	123,7
13	34,9	37,5	145,7	145,4
14	46,3	46,5	126,9	126,7
15	150,3	150,7	33,4	33,4
16	109,2	109,7	23,9	23,9
17	21,7	21,9	23,9	23,9
18	185,5	183,9	185,5	185,5
19	17,3	17,3	16,5	16,1
20	15,0	15,7	25,1	25,1

3.4. PARTE EXPERIMENTAL

3.4.1. Coleta da planta

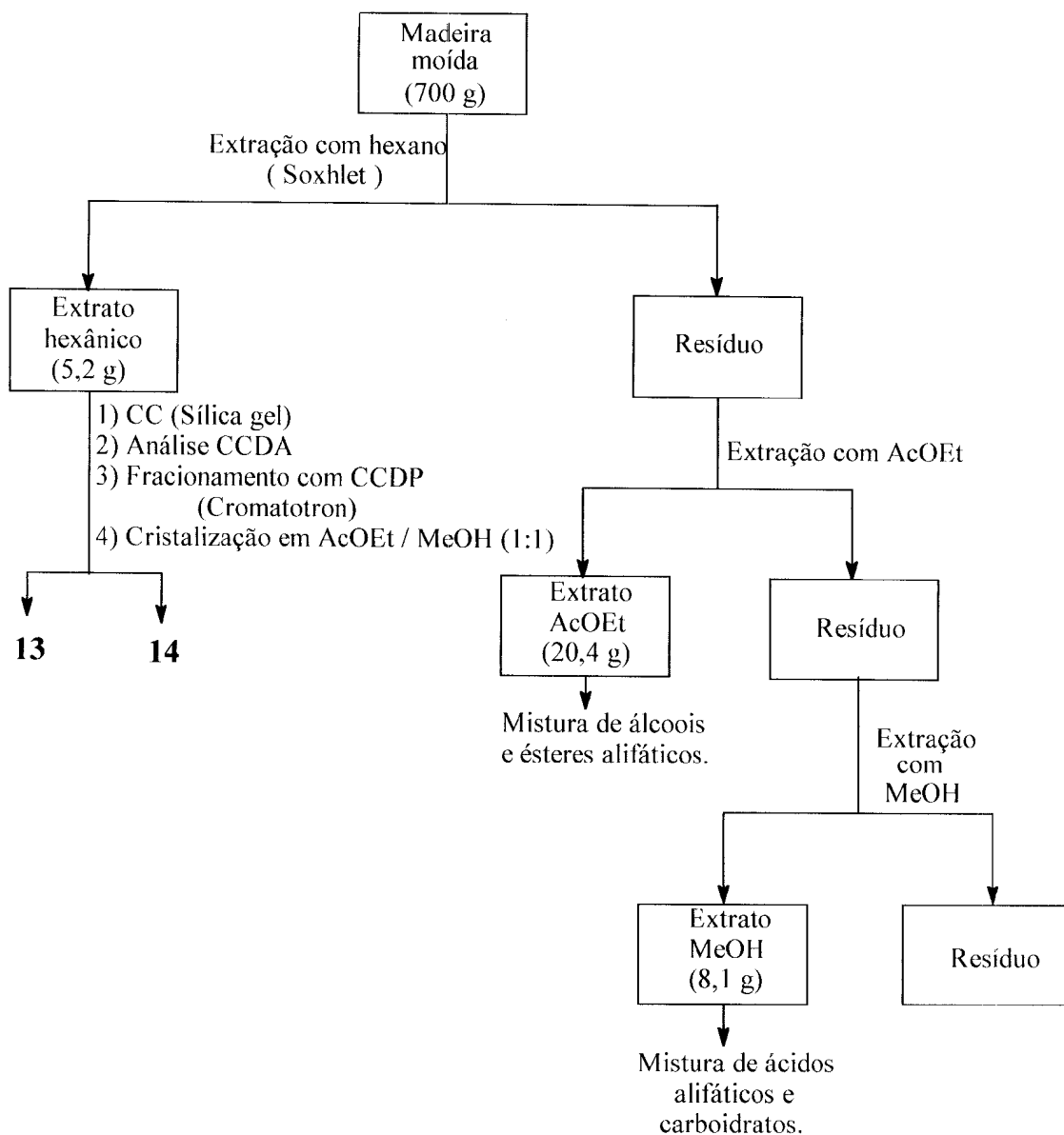
O material botânico correspondente a uma porção do tronco de uma árvore adulta com diâmetro entre 10 e 15 cm e comprimento entre 4 e 4,5 m medidos da base para o ponteiro da árvore. Foi coletado na fazenda Monte Alegre no município de Agudos, São Paulo, pela equipe técnica da DURAFLOA⁴⁸ com a colaboração do Prof. Dr. Acácio Geraldo de Carvalho (DPF, Instituto de Florestas, UFRRJ).

3.4.2. Elaboração do extrato

700 g de madeira seca e moída foram submetidos à extração com hexano em extrator Soxhlet. A solução foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida fornecendo 5,2 g de resíduo (Esquema 8, pág. 69).

3.4.3. Isolamento dos constituintes da planta

Uma porção do extrato (5,1 g) foi fracionada em coluna de sílica gel usando diclorometano como eluente inicial e polaridade crescente com acetato de etila até metanol. Foram recolhidas 164 frações de 50 mL cada. As frações foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas através de cromatografia em camada analítica de sílica gele reunidas em 53 grupos de frações. As frações 12/17 foram submetidas a cristalização usando mistura de acetato de etila e metanol (1:1) e obteve-se 42 mg de um material puro cristalino (P.F. 160°C) (Esquema 8).



Esquema 8 : Elaboração dos extratos e posterior fracionamento cromatográfico da madeira de *Pinus caribaea* var. *bahamensis*.

4. ESPECIFICAÇÃO DOS MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Os solventes de grau analítico da Merck, Grupo Química e Vetec, após destilação, foram utilizados para extrações, partições e sistemas cromatográficos.

Para cromatografia em coluna sob pressão atmosférica utilizou-se como adsorvente sílica-gel 60 da Merck, partículas 63-210 μm .

Para cromatografia em coluna rápida utilizou-se como adsorvente sílica-gel 60 230-400 mesh da Aldrich.

Para CCDA (espessura de 0,25 mm) e CCDP (espessura de 1,0 mm) utilizou-se como adsorvente sílica-gel 60 da Merck. As placas analíticas foram reveladas com vapores de iodo e irradiação no UV (254 e 356 nm) e as preparativas com irradiação no UV (254 e 356 nm).

Os espectros de RMN ^1H uni (1D) e bidimensional (2D) foram registrados em espectrômetro Bruker AC-200 (JH: 200MHz ; ^{13}C : 50 MHz); e UN-400 (^1H : 400MHz; ^{13}C : 100 MHz), utilizando-se como solvente CDCl_3 e TMS como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades ppm (δ) da frequência aplicada e as áreas relativas dos picos de absorção obtidas por integração eletrônica.

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em espectrômetro Perkin Elmer FT - IR 1600, em pastilhas de KBr ou filme sobre cristal de NaCl. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de número de ondas (cm^{-1}) e os espectros calibrados com filme de poliestireno de 0,5 mm de espessura, utilizando a absorção em 1601 cm^{-1} como referência.

Os espectros de massas foram registrados em um espectrômetro VG Quatro-Gc 8000 Triple quadripolo/GD/MS-MS - da Fisions Instruments.

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Kofler e não foram corrigidos.

5. BIOGÊNESE

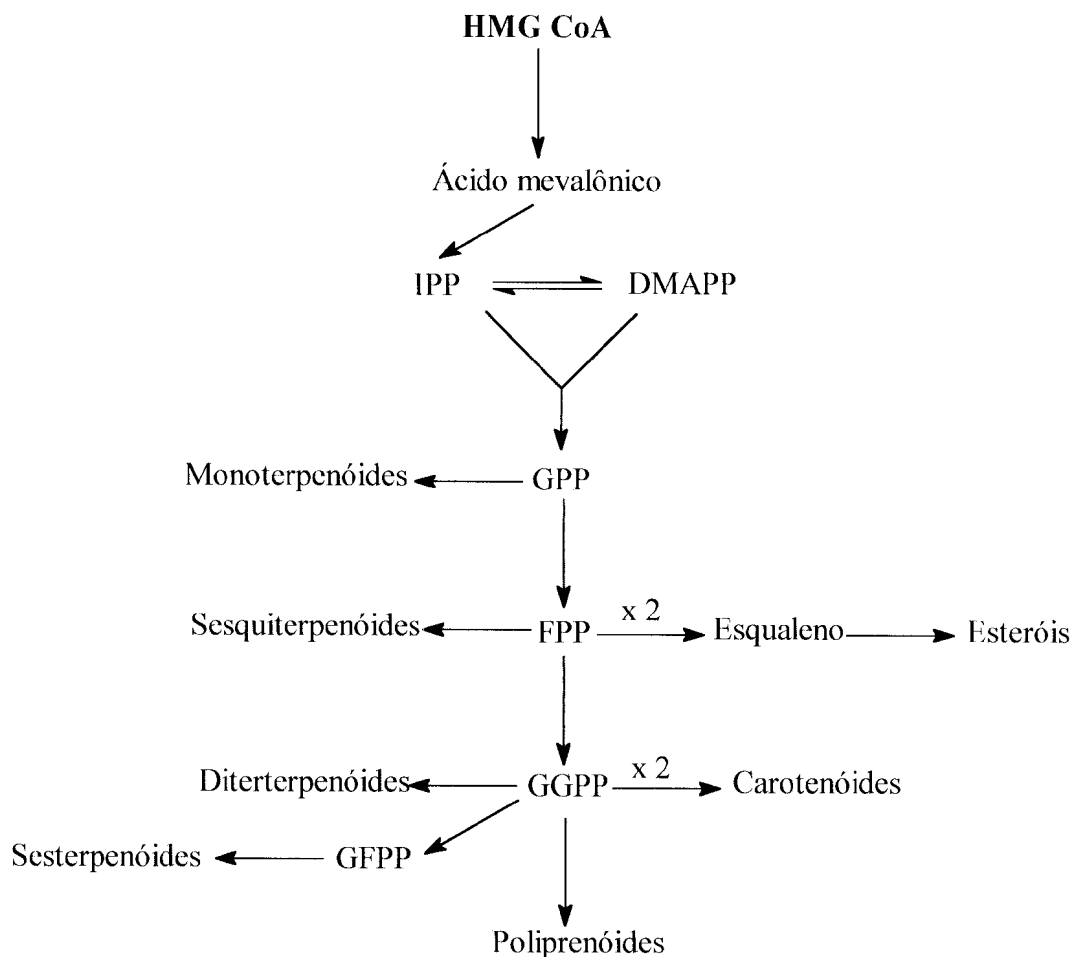
5.1. ASPECTOS GERAIS DA BIOGÊNESE DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE *P. amapa* (Huber) Ducke e *Pinus caribaea* var. *bahamensis* Barr et Golf

Para o químico de produtos naturais o conhecimento dos precursores e, às vezes, das etapas necessárias para as elaborações das diferentes classes de substâncias naturais é a base fundamental de raciocínio para a determinação estrutural das substâncias isoladas.

5.1.1. Terpenóides

Em 1887 Wallach propôs a "regra do isopreno" para a formação de terpenóides. Esta regra, na essência, foi criada devido à observação de ligações do tipo C-isopreno nas estruturas de muitas substâncias de ocorrência natural. Esta hipótese foi afastada e a regra foi estendida por Ruzicka que desenvolveu a *regra biogenética do isopreno* e propôs que todos os terpenóides são sintetizados de um precursor comum chamado "isopreno ativo". Isto tornou-se uma realidade bioquímica quando Lynen identificou esta substância como sendo o \blacktriangle^3 -isopentenil pirofosfato (IPP). O precursor do IPP é o ácido (3R)-mevalônico no qual foi demonstrado por Folkers em 1956⁴⁴.

Os esquemas a seguir mostram as propostas biossintéticas das substâncias isoladas de *Parahancornia amapa* (Esquemas 9 a 17; págs. 74 a 82) e de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* (Esquema 18, pág. 83) que, aliadas aos dados físicos obtidos, permitiram chegar às estruturas dos constituintes descritos neste trabalho.



Abreviaturas :

HMG CoA → Hidroxi-metil-glutaril CoA

IPP → Isopentenil pirofosfato

DMAPP → Dimetil-alil pirofosfato

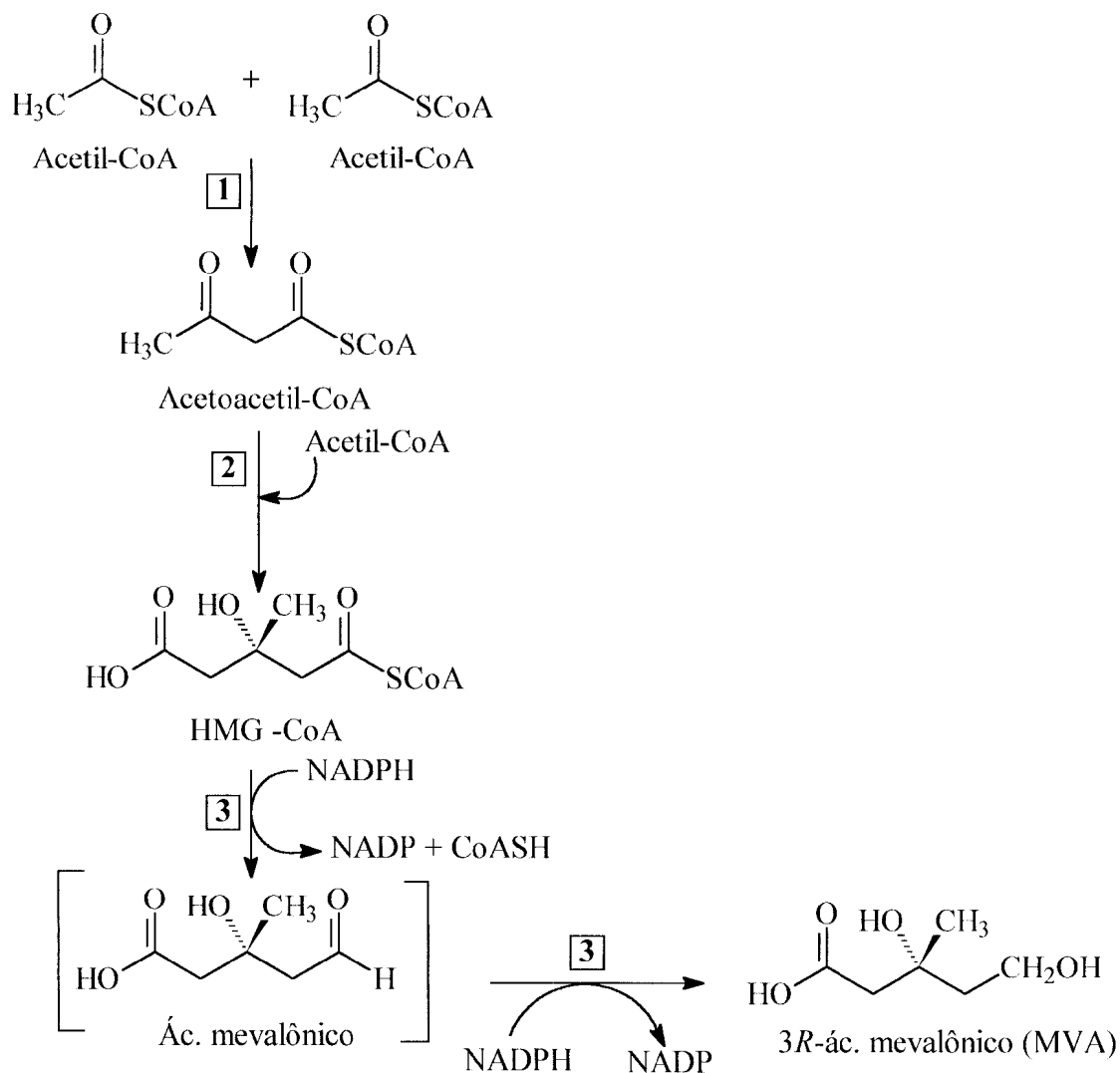
GPP → Geranil pirofosfato

FPP → Farnesil pirofosfato

GGPP → Geranil-geranil pirofosfato

GFPP → Geranil-farnesil pirofosfato

Esquema 9 : Rota geral da biossíntese de terpenóides.



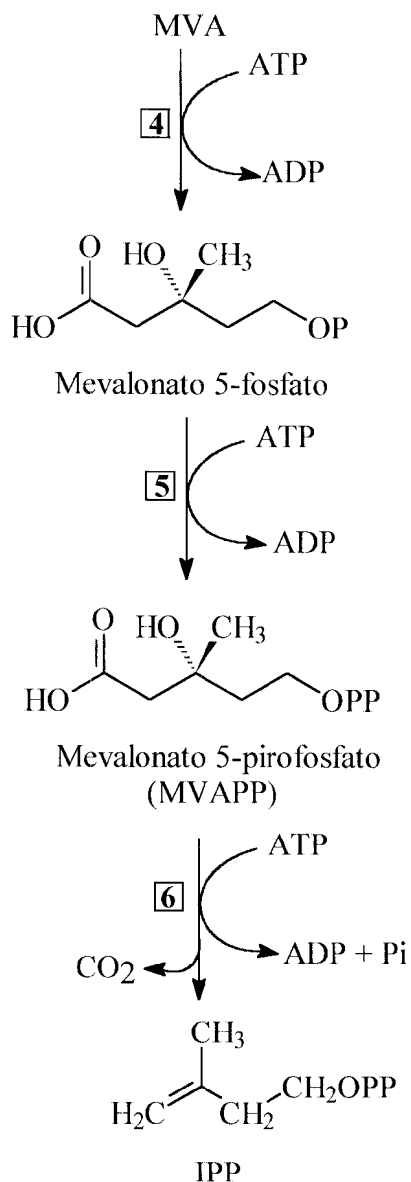
Enzimas :

1 → acetoacetil CoA tiolase

2 → HMG-CoA sintase

3 → HMG-CoA redutase

Esquema 10 : Conversão do acetil-CoA em ácido mevalônico.



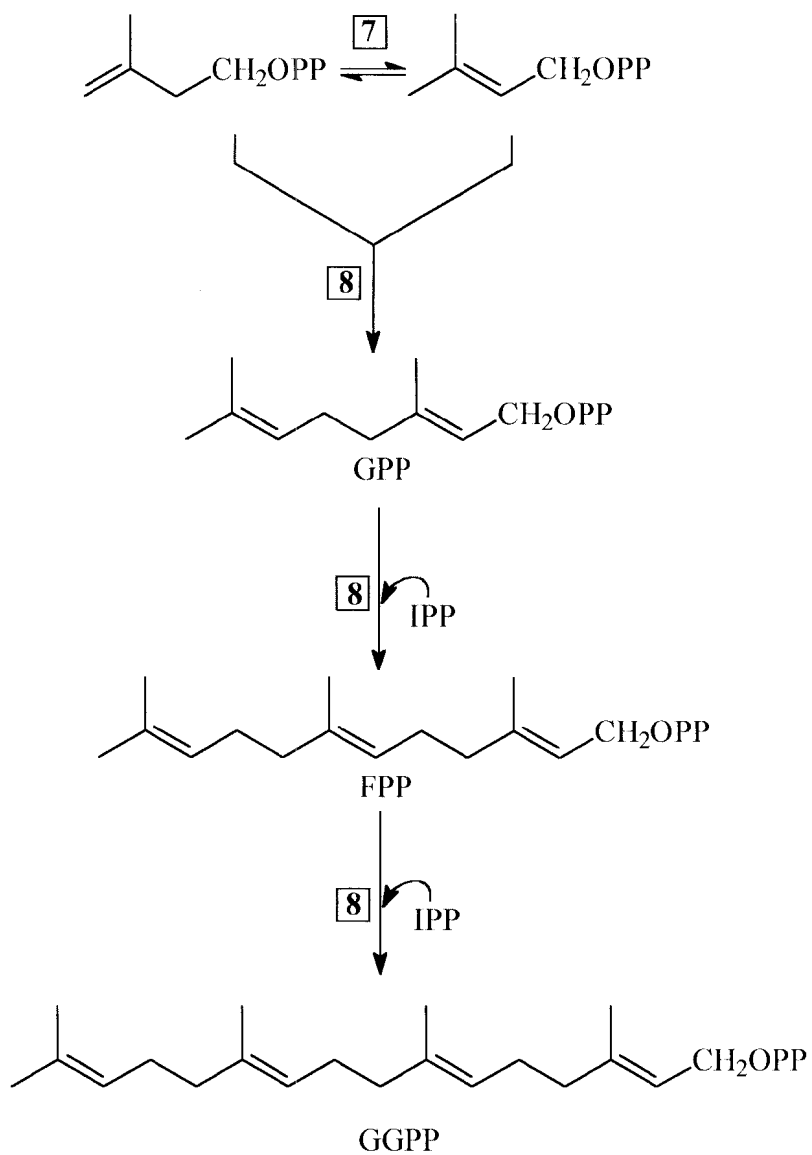
Enzimas :

4 → MVA quinase

5 → Mevalonato 5-fosfato quinase

6 → Mevalonato 5-difosfato descarboxilase

Esquema 11 : Transformação do ácido mevalônico em isopentenil pirofosfato.

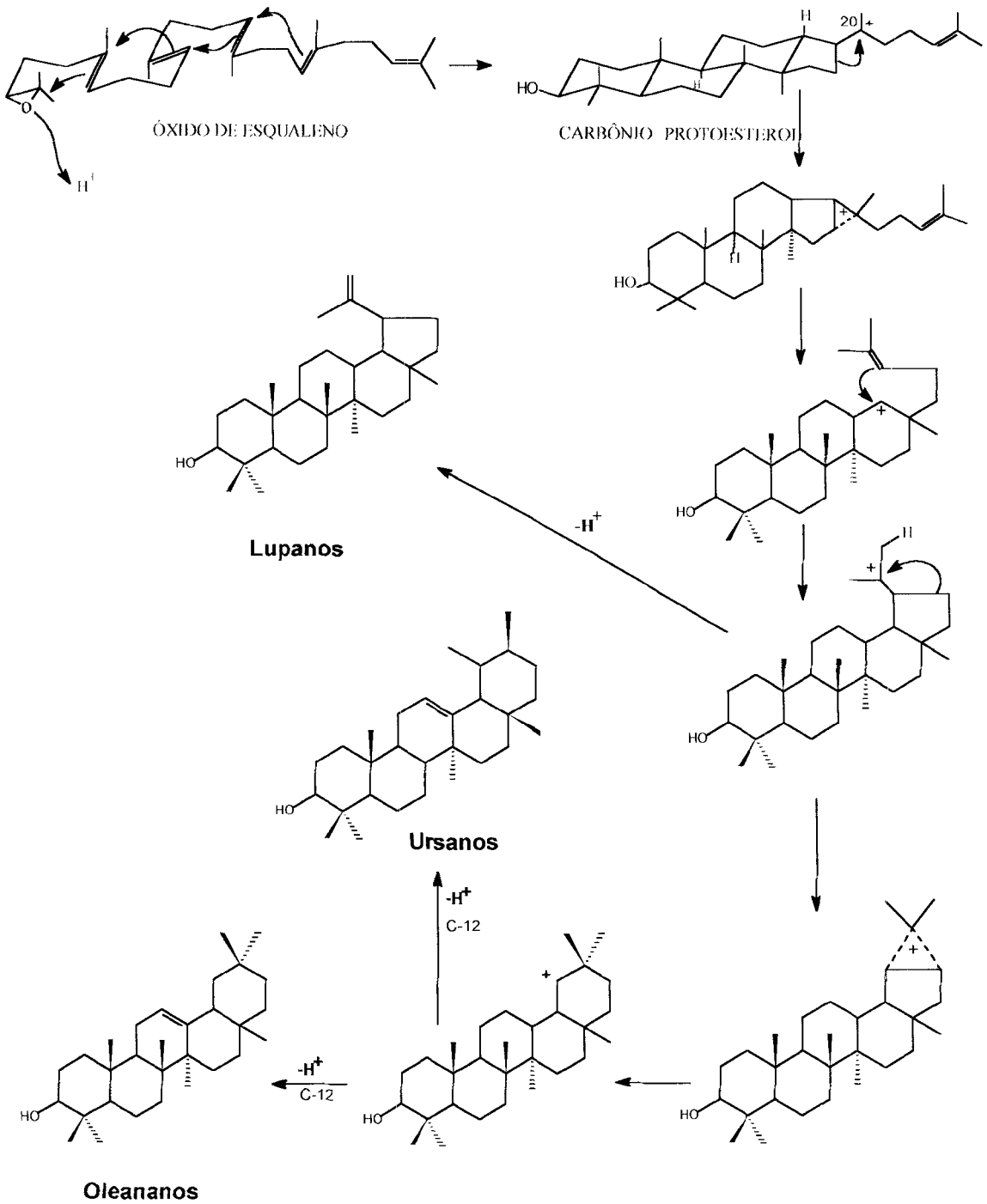


Enzimas :

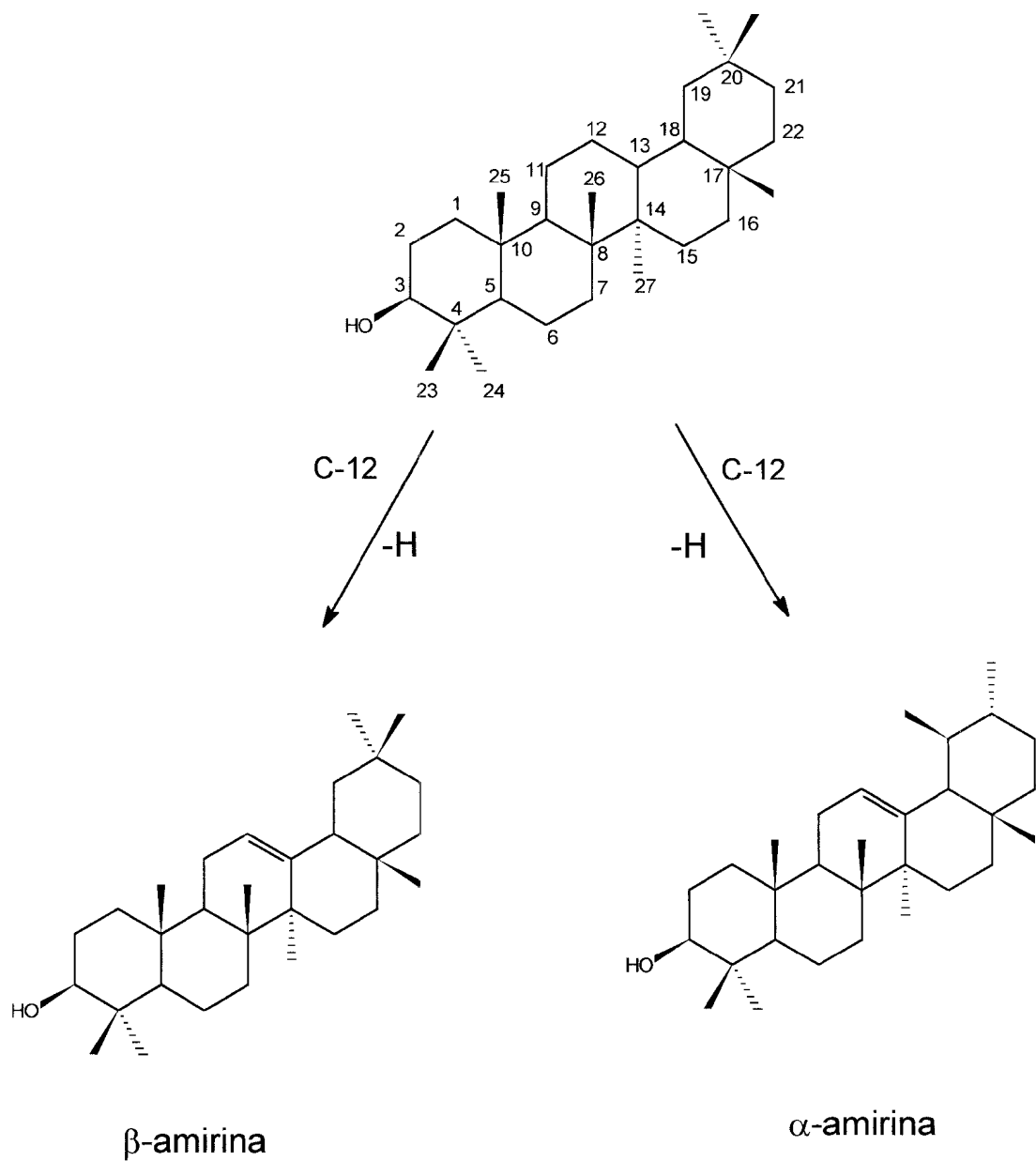
7 → IPP isomerase

8 → Prenil transferase

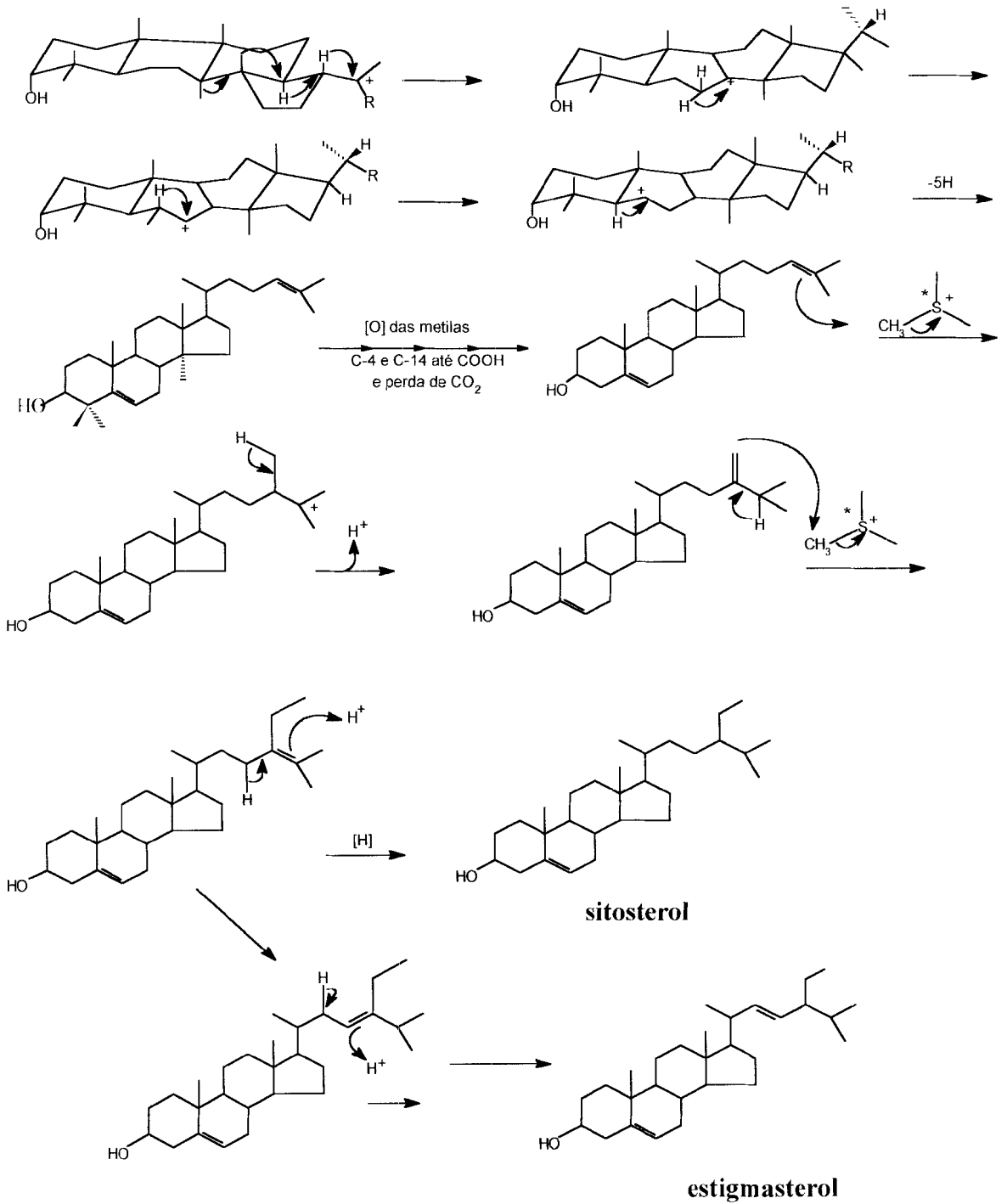
Esquema 12 : Isomerização do isopentenil pirofosfato.



Esquema 13: Ciclização do esqualeno e formação de triterpenos pentacíclicos.



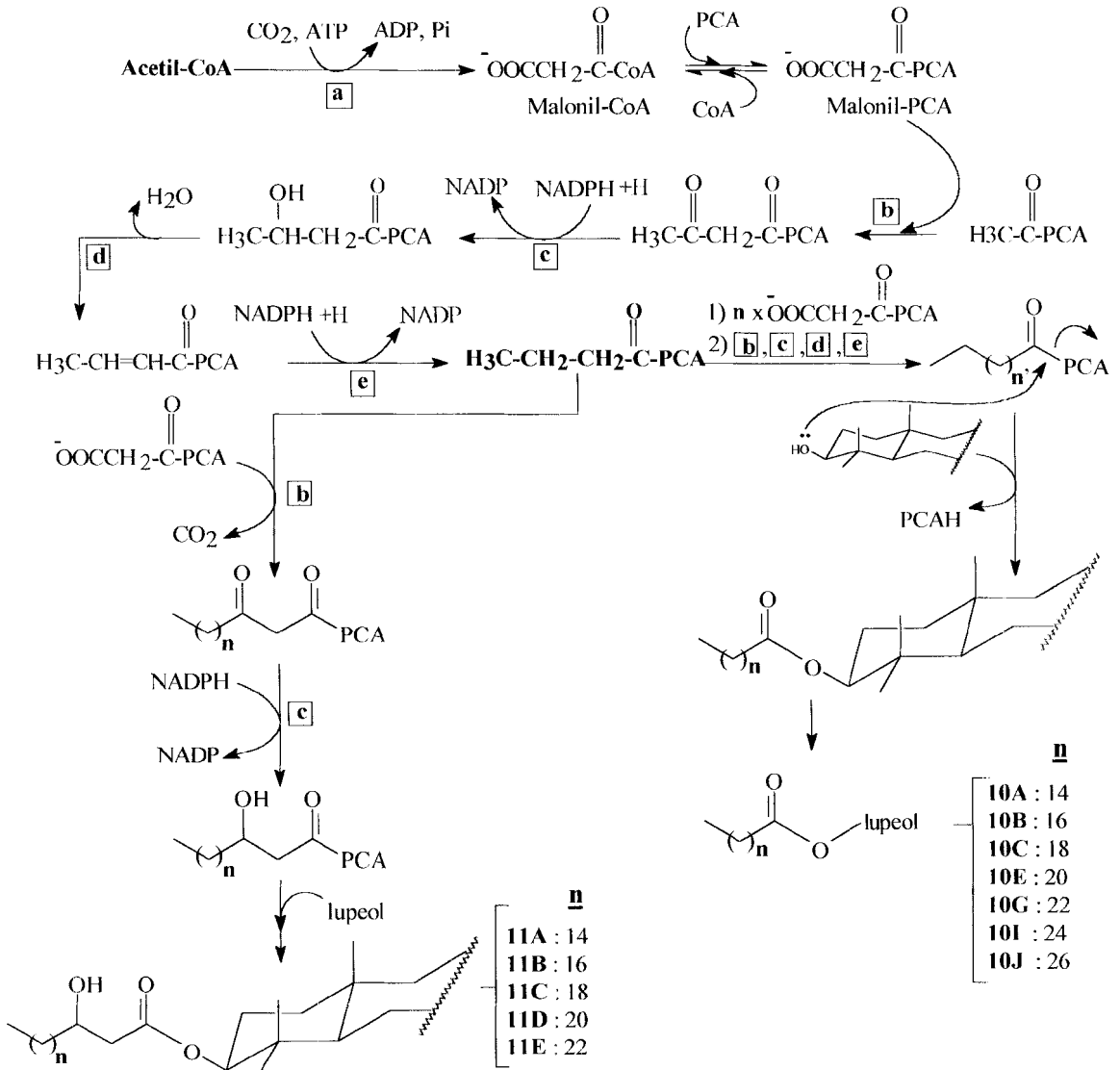
Esquema 14 : Formação de triterpenos pentacíclicos a partir do cátion de C-19^{34,44,45}.



* (S-Adenosil-metionina)

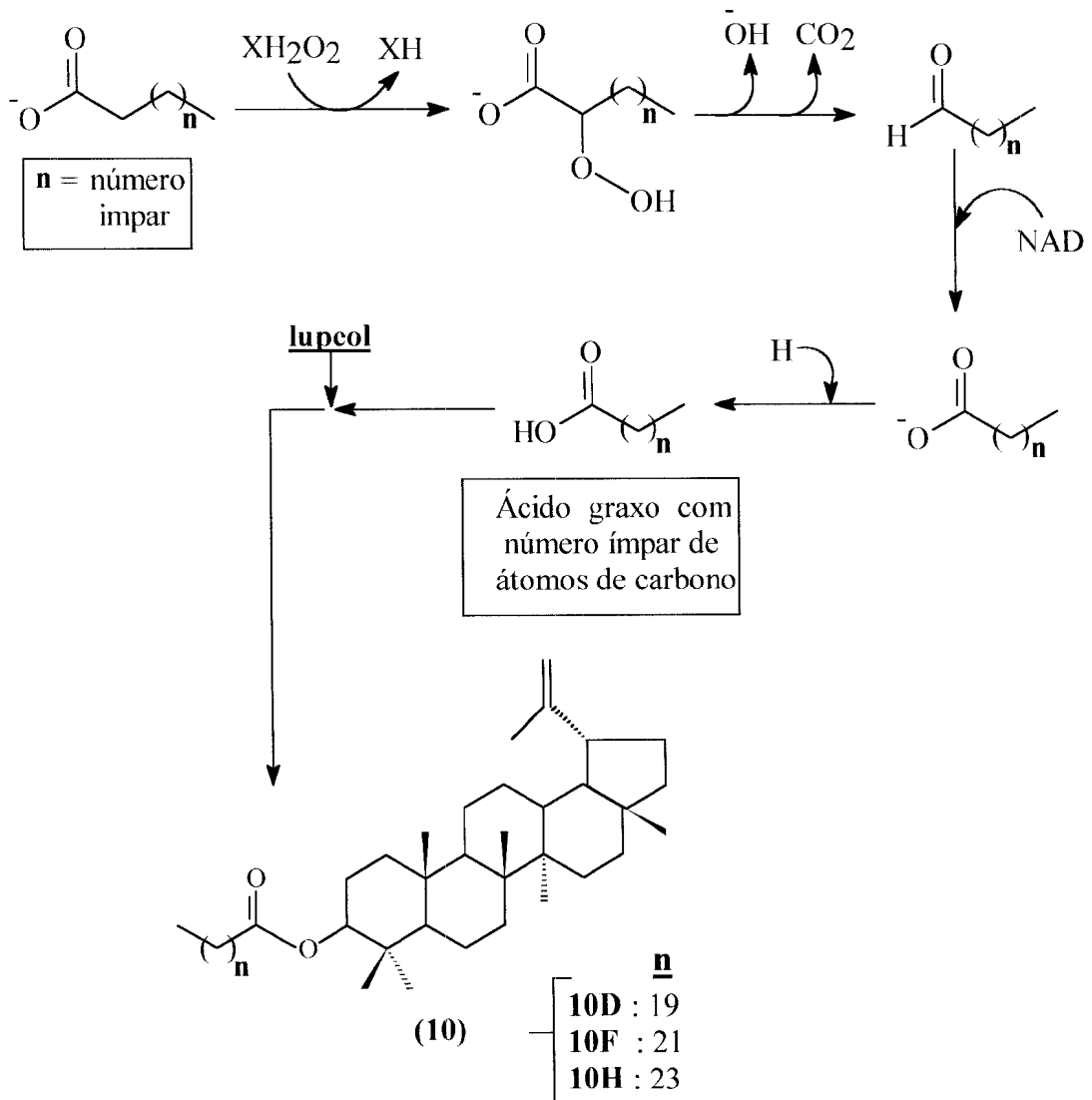
Esquema 15 : Formação dos esteróides estigmasterol e sitosterol.

A maioria dos ácidos graxos naturais possui número par de carbonos. Para a biossíntese destes ácidos graxos o iniciador é o Acetil-CoA. A seqüência de condensação gerando dois carbonos adicionais na cadeia é feita pelo malonil-PCA.

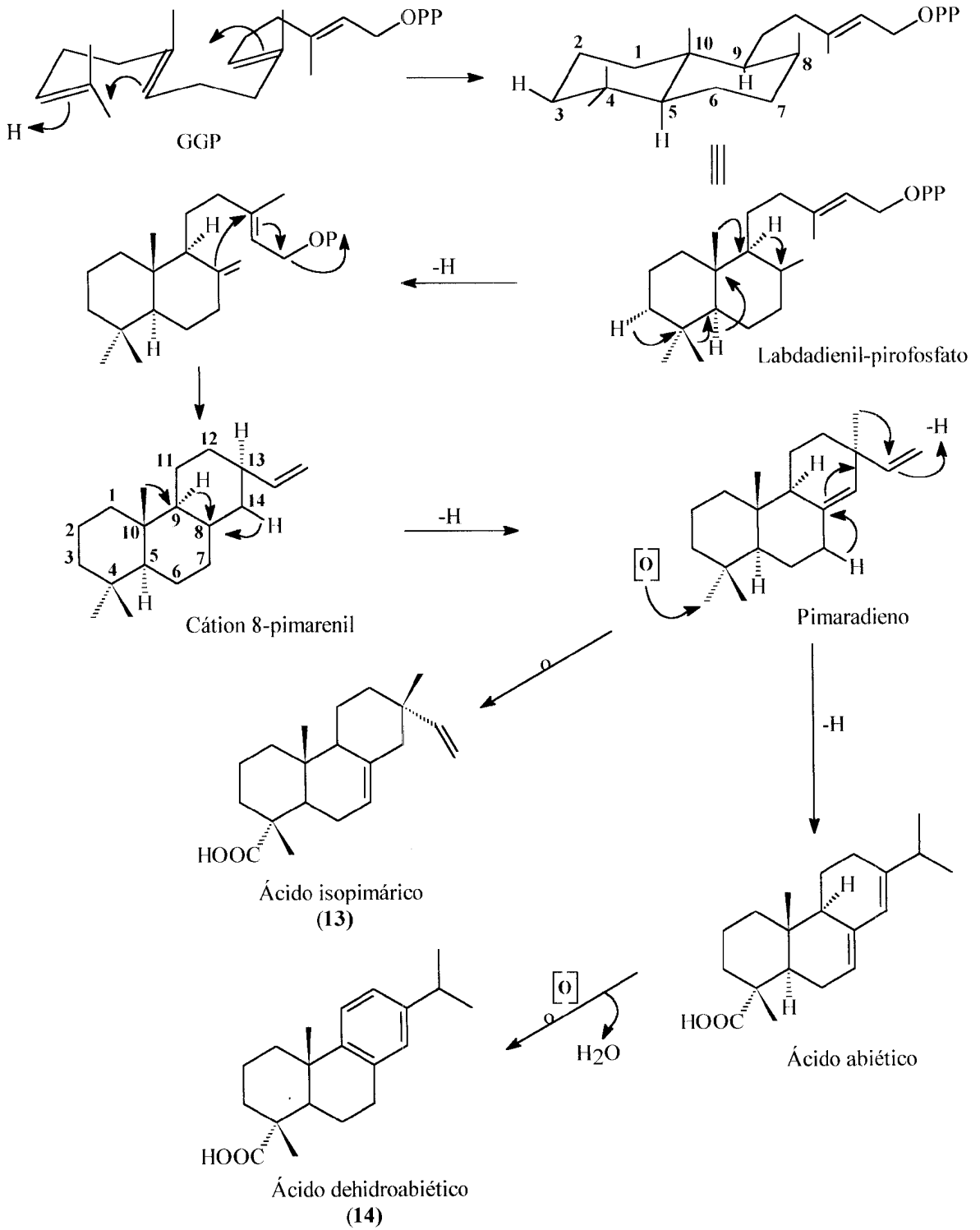


Esquema 16 : Biossíntese dos ácidos constituintes dos ésteres de lupeol
 (n = número par).

Os ácidos graxos com número ímpar de carbonos não são comuns em plantas. Entretanto, verifica-se que a oxidação α de ácidos graxos pode produzi-los⁵⁷.



Esquema 17 : Biossíntese dos ácidos constituintes dos ésteres de lupenol (n = número ímpar).



Esquema 18 : Propostas biossintéticas para os diterpenos **13** e **14**.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. GOTTLIEB, O.R., KAPLAN, M. A.C.,1990. *Ciência Hoje* **11**(61), 18.
02. FARNSWORTH, N.R.; *J.Ethnopharmacol.* **1980**, 2, 173.
03. MATOS, F.J.A.; *Revista Extensão-Desafio* (UFC). **1990**, 3, 5-13.
04. CORDELL, G.A.; *Phytochemistry.* **1995**, 40, 1585.
05. TESKE, M., TRENTINI, A.M.M.; *Compêndio de Fitoterapia*, 2^a ed., Herbarium Lab.Botânico, Curitiba, PR, **1995**.
06. HAVSTEEN, B.; *Biochem.Pharmacol.* **1983**, 32, 1141.
07. CALIXTO, J.B., YUNES, R.A., RAE, G.A., MEDEIROS, Y.S., *In Bradykinin Antagonists: Basic and Clinical Research*; R.M. Burch, Marcel Dekker Inc. New York, **1990**, p.88.
08. SAMUELSSON, G.; *Acta Pharm. Fenn.* **1992**, 101, 33.
09. CECHINEL FILHO, V., *Tese de Doutorado em Química*, UFSC, Florianópolis, SC, **1995**.
10. DE SOUZA, N.J.; *J.Ethnopharmacol.* **1993**, 38, 177.
11. KAMCHONWONGPAISON, S., MESHNICK, S.R.; *Gen. Pharmac.* **1996**, 27, 587.

12. KINGSTON, D.G.I.; *Pharmac. Ther.* **1991**, 52, 1.
13. HORWITZ, S.B.; *Nature.* **1994**, 367, 593.
14. Fitoterapia, **1995**, 62. Suplemento dedicado inteiramente à química e farmacologia do taxol e derivados .
15. CORRÊA, A.G.; *Química Nova.* **1995**, 18, 460.
16. RAFFAUF, R.F.; *Lloydia* ,27/ 4/ 286-98. (1964)
17. GANZINGER, D., MANFRED, H. ; *Lloydia* ,39/ 5/ 326-49. (1976)
18. VANDERLEI, M. de F., SILVA, M.S., GOTTLIEB, H.E., BRAZ-FILHO, R.; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2/ 2/ 51-5.** (1991)
19. SIDDIQUI, S.; BEGUM, S.; HAFFEZ, F.; SIDDIQUI, B; *Phytochemistry*, **28/ 4/ 1187-91.** (1989)
20. SOBRINHO , D. C. ; HAUPTLI, M. B. ; APPOLINÁRIO , E. V.; KOLLENZ , C .L . M. ; CARVALHO, M.G.de ; BRAZ-FILHO, R. ; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2/ 1/ 15-20.** (1991)
21. SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B.S.; NAEED, A.; BEGUN, S.; *Phytochemistry*, **29/ 11/ 3615-20.** (1990)
22. SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B.S.; NAEED, A.; BEGUN, S.; *Journal of Natural Products*, **53/ 5/ 1332-36.** (1990)
23. COPPEN, J.J.W., COBB, A.L., *Phytochemistry*, **22/ 1/ 125-8.** (1983)
24. KUPCHAN, S.M., DESSERTINE, A.L., BLAYLOCK, B.T., BRYAN, R.F., *The Journal of Organic Chemistry* , **39/ 17/ 2477-82.** (1974)
25. COPPEN, J.J.W., *Phytochemistry*, **22/ 1/ 179-82.** (1983)
26. KARDONO, L.B.S., TSAURI, S., PADMAWINATA, K., KINGORN, A.D., *Phytochemistry*, **29/ 9/ 2995-97.** (1990)

27. ASCHENBACH, H., WAIBEL, R., MENSAH, J.A. , *Phytochemistry* **22/**
3/ 749-53. (1983)
28. NISHIBE, S., HISADA, S., INAGAKI, I., *Phytochemistry*, **11/** 1/ 3084-5.
(1972)
29. INAGAKI, I., HISADA, S., NISHIBE, S., *Phytochemistry*, **10/** 1/ 211-3.
(1971)
30. HARRINSON, J., SANTISTEBAN, A.S., ROJAS, B.R. *Boletin de la*
Sociedad Quimica del Peru, **39/** 2/ 89-92. (1973)
31. ADAM, G., KHOI, N.H., BERGNER, C., LIEN, N.T., *Phytochemistry*,
18/ 1/ 1399-40. (1979)
32. KARDONO, L.B.S., TSAURI, S., PADMAWINATA, K, PEZZUTO,
J.M., KINGORN, A.D., *Journal of Natural Products*, **53/** 6/ 1447-55.
(1990)
33. TAN, G.T., PEZZUTO, J.M., KINGHORN, A.D., *Journal of Natural*
Products, **54/** 1/ 143-54. (1991)
34. VANDERLEI, M.F., *Tese de Mestrado* UFPb, João Pessoa, PB (1985).
35. FERRIGNI, V., NELSON, R., HASEGAWA, M., *Revista Latino Amer.*
Quím., / 7/ 146. (1976)
36. KAPLAN, M.A.C., *Tese de Mestrado* UFRRJ, Rio de Janeiro (1967).
37. PLUMMEL, M.M., *Compte Rendu des Seances de la Societe de*
Biogeographie, **66/3/**103-27. (1990)
38. AZAMBUJA, D., *Arquivo do Serviço florestal* 3 nº único 13-24, 31-8 e
41-2. (1947)
39. KOJIMA, H., SATO, N., HATANO, A., OGURA, H. *Phytochemistry*, **29/**
7/ 2351-55. (1990)

40. BARRETO, A.de S., CARVALHO, M.G. de, NERY,I. de A., KAPLAN, M.A.C. and GONZAGA, L., (1998); *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **9/ 5/** (in press).
41. RUBINSTEIN, L., GOAD, L.J., CLAGUE, A.D.H., MULHEIRN, L.J. *Phytochemistry*, **15/ 1/** 195-200. (1976)
42. ITOH, T., YOSHIDA, K., TAMURA, T., MATSUMOTO, T., *Phytochemistry*, **21/ 3/** 727-30. (1982)
43. OLEA, R.S.G., ROQUE, N.F., *Química Nova*, **13**, 278. (1990)
44. TORSELL, K.B.G., *Natural Product Chemistry* , John Wiley & Sons Limited , p.172-223 (1983) .
45. GEISSMAN, T.A., CROUT, D.H.G., *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism* , Freeman Cooper & Company, (1991).
46. GOLFARI, L., CASER, R.L., MOURA, V.P.G., *Zoneamento Ecológico esquemático para reflorestamento no Brasil*, PRODEPEF - PNDU/FAO/IBDF/BRA-4, série técnica, (1978), **11**.
47. CARVALHO, A.G., *Bioecologia de Sirex noctilio F., (Hymenoptera; Siricidae) em Povoamento de P.taeda L.*, Tese de Doutorado, UFPR, Curitiba - PR, (1992).
48. Equipe Técnica da DURAFLOA S/A., *Susceptibilidade de toras de pinheiros tropicais ao ataque da vespa-da-madeira - Sirex noctilio (Hymenoptera; Siricidae)*, (1992), Diretoria Florestal Botucatu .
49. CARVALHO, M.G. de, LOPES, J. de J. S., RUMJANEK, V.M., CARVALHO, A.G.,de,1992. *Resumos-SBQ*, PN-48 (a).CARVALHO, M.G. de, CRANCHI, D.C., MELEIRO, L.A. da C., CARVALHO, A.G.,de ,1993. *Resumos-SBQ*, PN-81 (b). CARVALHO, M.G. de,

- CRANCHI, D.C., CARVALHO, A.G.,de ,1994. *Resumos-SBQ*, PN-86 (c). CARVALHO, M.G. de, VELLOSO, C.R.X., CARVALHO, A.G.,de ,CASTELLANO, C. 1995. *Resumos-SBQ*, PN-65 (d).
50. CARVALHO, M.G. de, CASTELLANO, C., CARVALHO, A.G.,de, 1993. *Avaliação do desenvolvimento do fungo Amilosterum areolatum em extratos orgânicos de sete espécies de Pinus tropicais*. Dados ainda não publicados.
51. CARVALHO, M.G. de, LOPES, J. de J. S., RUMJANEK, V.M., CARVALHO, A.G.,de, 1988. *Diterpenes isolated from Pinus taeda*, *Phytochemistry*. (in press)
52. CARVALHO, M.G. de, CRANCHI, D.C., CARVALHO, A.G.,de, *Journal of the Braziliam Chemical Society*. 7/ 3/ 187-91. (1996)
53. KEMP,M.S., BURDEN, R.S. 1986. REVIEW ARTICLE NUMBER 17, *Phytoalexins and Stress Metabolites in the sapwood of trees*, *Phytochemistry* **25**(6): 1261.
54. ATTA-UR-RAHMAN, AHMAD, V.U. 1992 *¹³C-NMR of Natural Products, Diterpenes*, vol.2, Plenum Press, New York, 264-97.
55. WENKERT, E., AFONSO,A., BEAK, P.,CARMEY, R.W.J., JEFFS, P.W. and McCHERNEY, J.D.1964. *J.Am.Chem.Soc.*, **30**: 713-22.
56. DARLING,T.R., TURRO, N.J. 1972. *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Natural Occurring Substances X and XI* , *J.Am.Chem.Soc.* (**12**): 4367-9.
57. HARWOOD, J.L., “*Plant Lipid Metabolism*” in “*Plant Biochemistry*”. Academic Press, 1997.(ISBN-O-12214674-3), p.257.

7. APÊNDICE

ESPECTROS E CROMATOGRAMAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

DE

Parahancornia amapa

e

Pinus caribaea var. *bahamensis*

3347.2, 3068.1, 2944.5, 2860.2, 1640.2, 1456.2, 1380.9, 1301.4=
1190.5, 1141.5, 1106.0, 1081.6, 1039.0, 981.1, 944.3, 914.9=
880.5, 689.3, 640.7, 546.8=

X: PARH-12 Carlos KBr No:4280 op.Eli UFRRJ

14:55

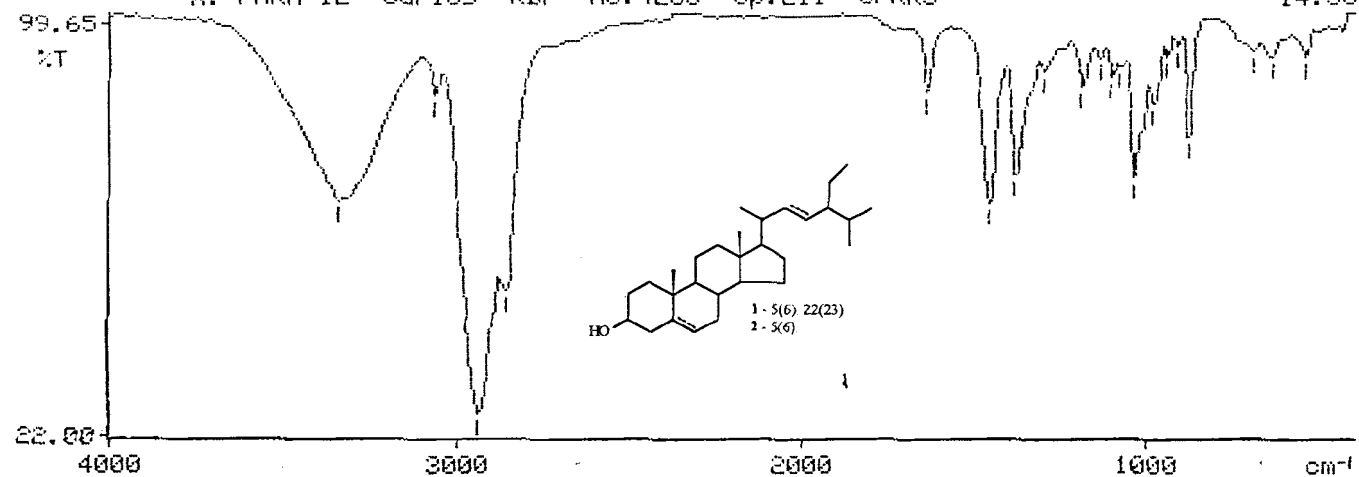


Figura 1 : Espectro de IV de PARH-12 (1+2) em KBr .

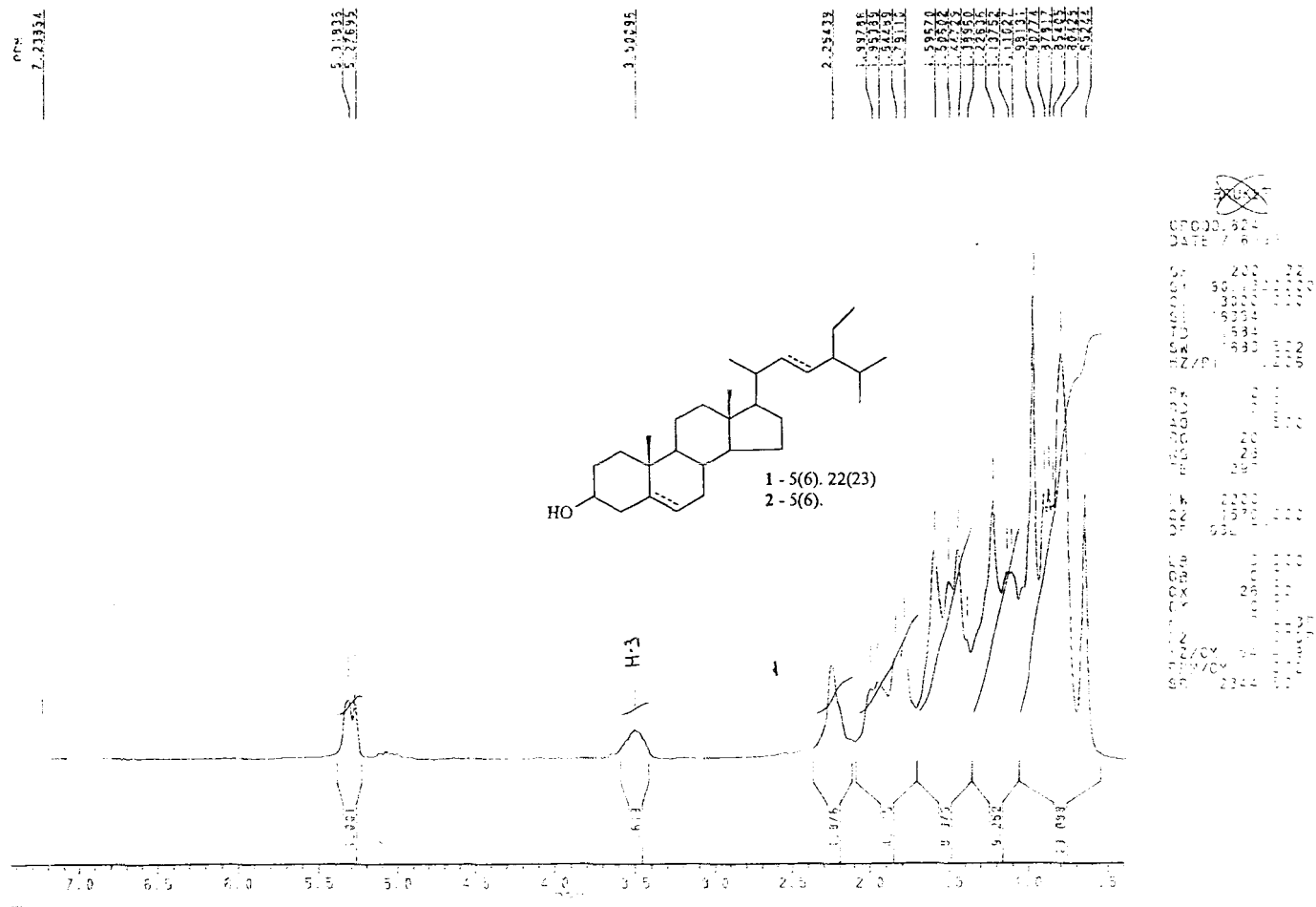


Figura 2 : Espectro de RMN ¹H (200,13 MHz) de PARH-12 (1+2) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

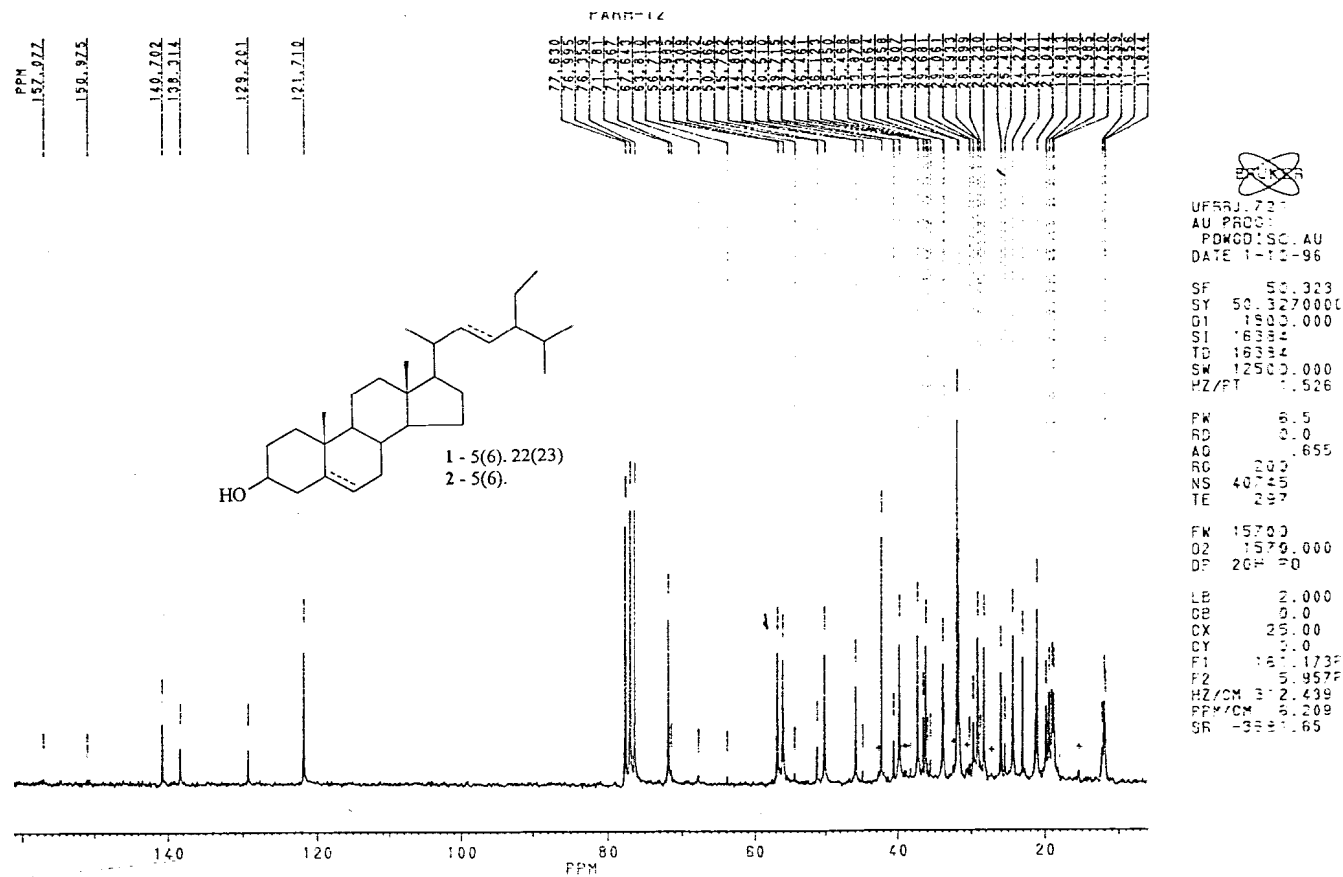


Figura 3 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PARH-12 (1+2) totalmente desacoplado registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

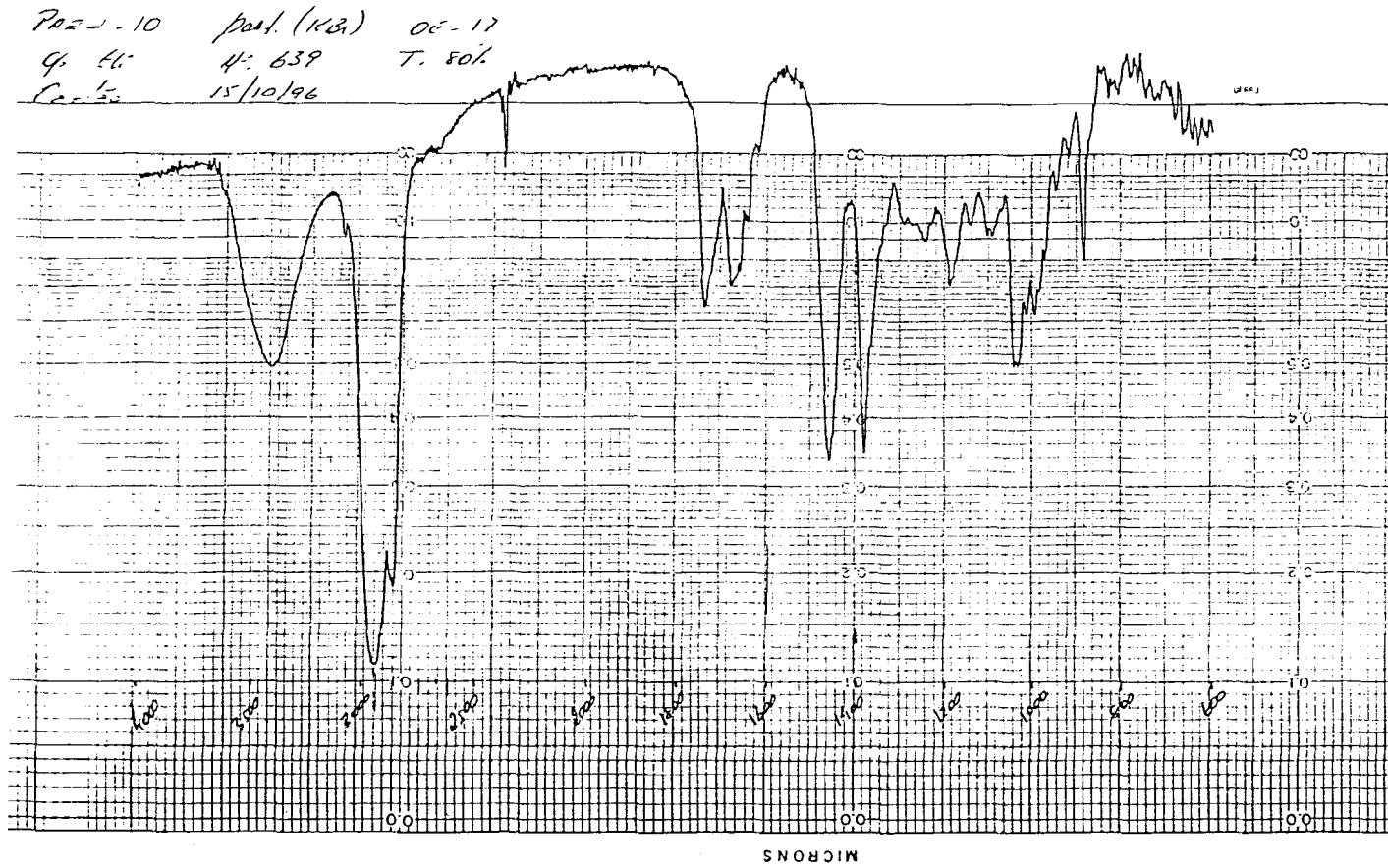


Figura 4 : Espectro de IV de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) em KBr .

PARH-10
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 360.140 MHz
 SPECTRAL WIDTH 6024.1 Hz
 ACQUISITION TIME 5.438 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 6.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.2 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 6 minutes
 04-17-97
 Virginia Tech STC NMR Facility

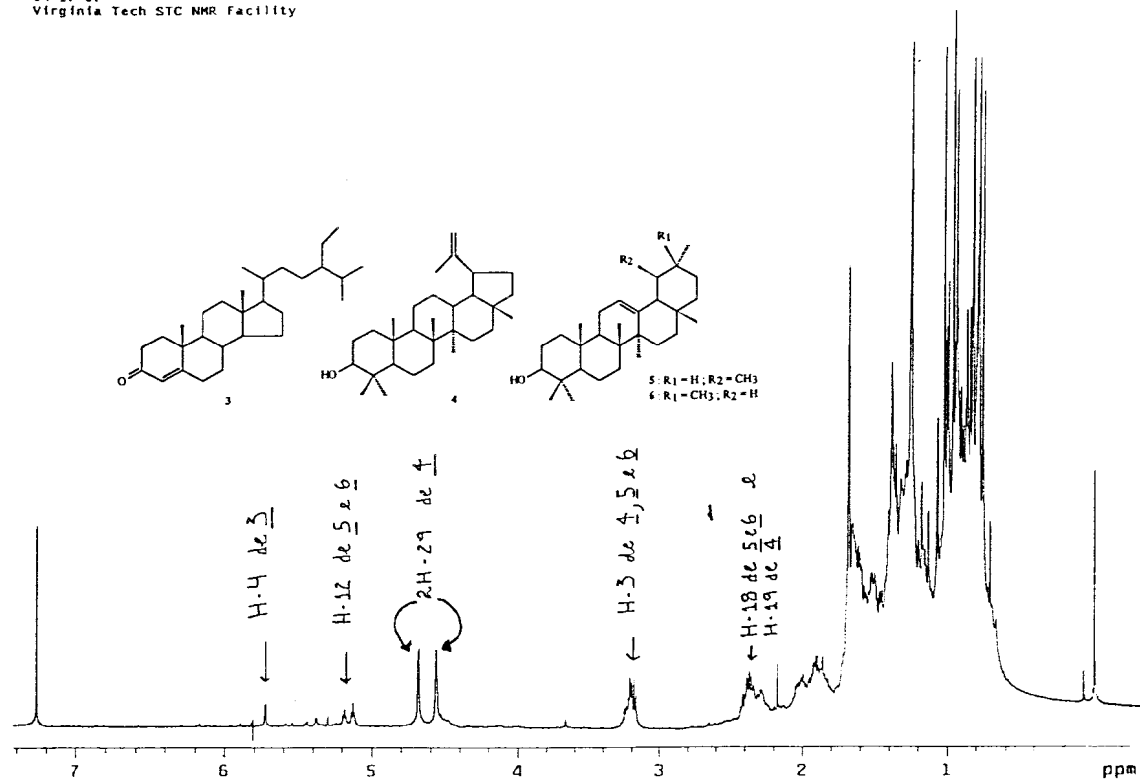


Figura 5 : Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

PARH-10
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 360.140 MHz
 SPECTRAL WIDTH 6024.1 Hz
 ACQUISITION TIME 5.439 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 6.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.2 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 6 minutes
 04-17-97
 Virginia Tech STC NMR Facility

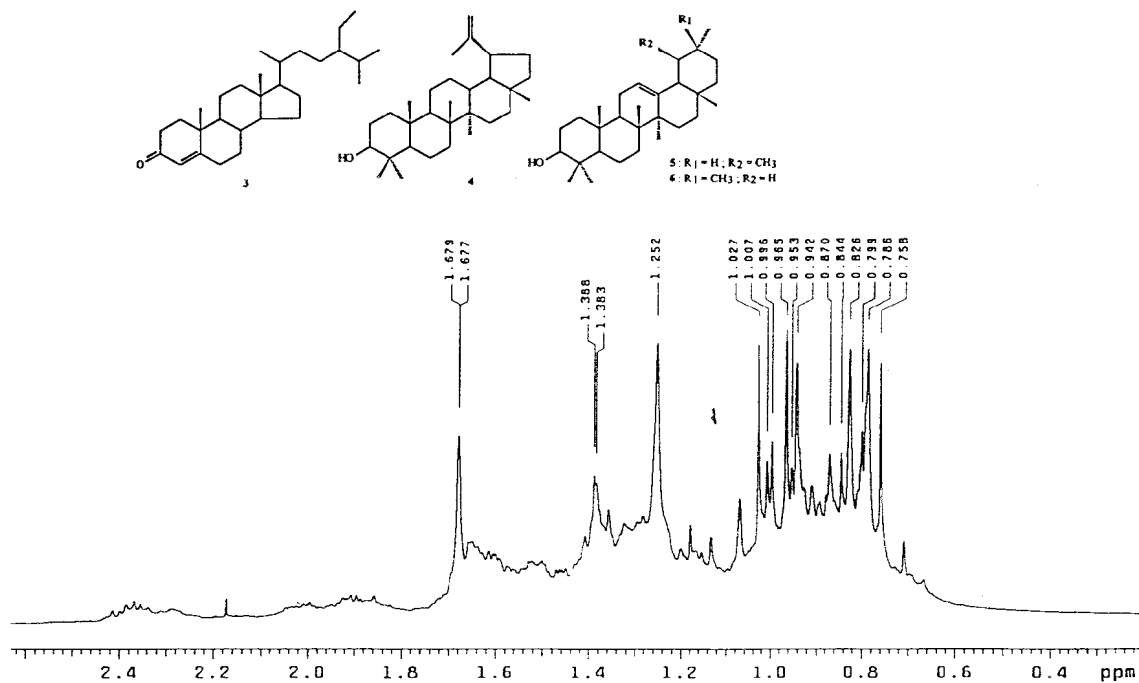


Figura 5a : Espectro expandido de RMN ¹H (400 MHz) de PARH-10 (**3** + **4** + **5** + **6**) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

PARH-10
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 360.140 MHz
 SPECTRAL WIDTH 6024.1 Hz
 ACQUISITION TIME 5.438 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 6.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.2 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 6 minutes
 04-17-97
 Virginia Tech STC NMR Facility

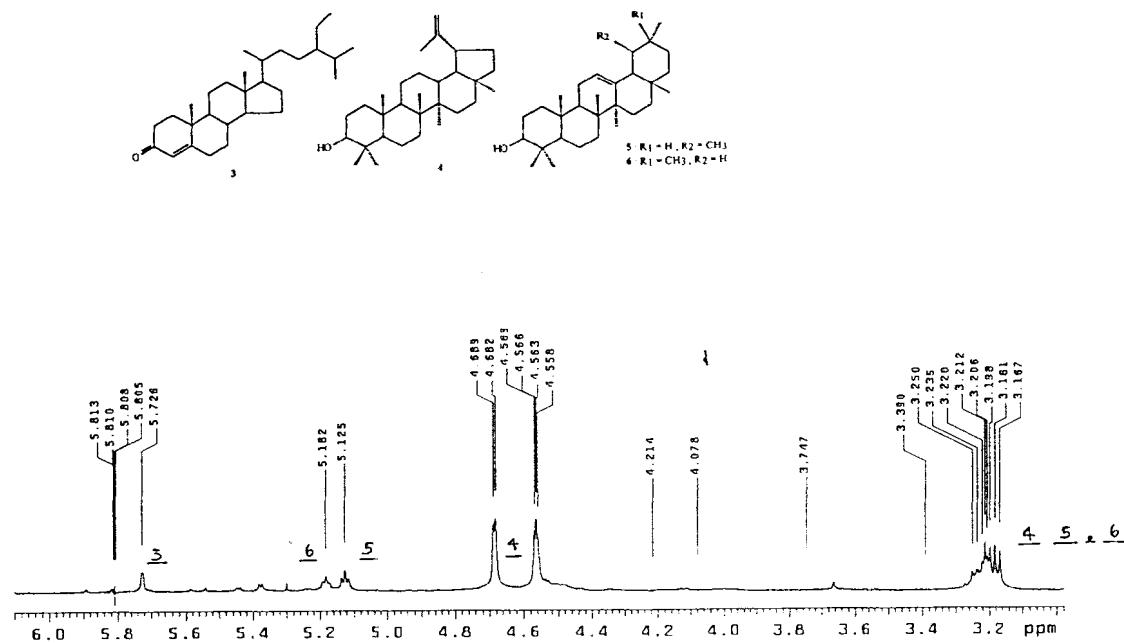


Figura 5b : Espectro expandido de RMN ^1H (400 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

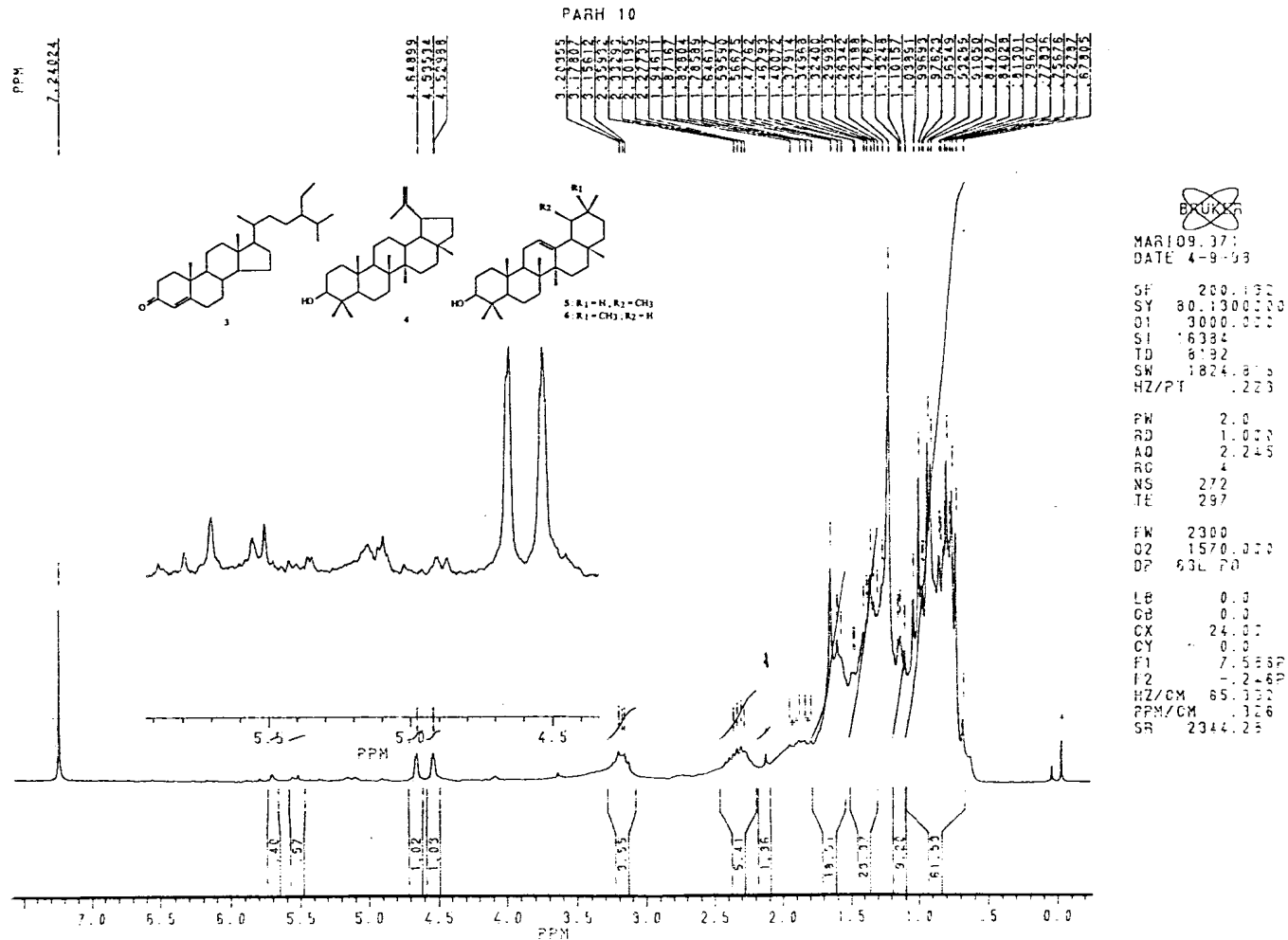


Figura 5c : Espectro de RMN ¹H (200,13 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

PARH-10
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 90.562 MHz
 SPECTRAL WIDTH 21738.1 Hz
 ACQUISITION TIME 0.754 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 3.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.5 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 548
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 1.0 Hz
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 16 minutes
 04-17-97
 Virginia Tech SIC NMR Facility

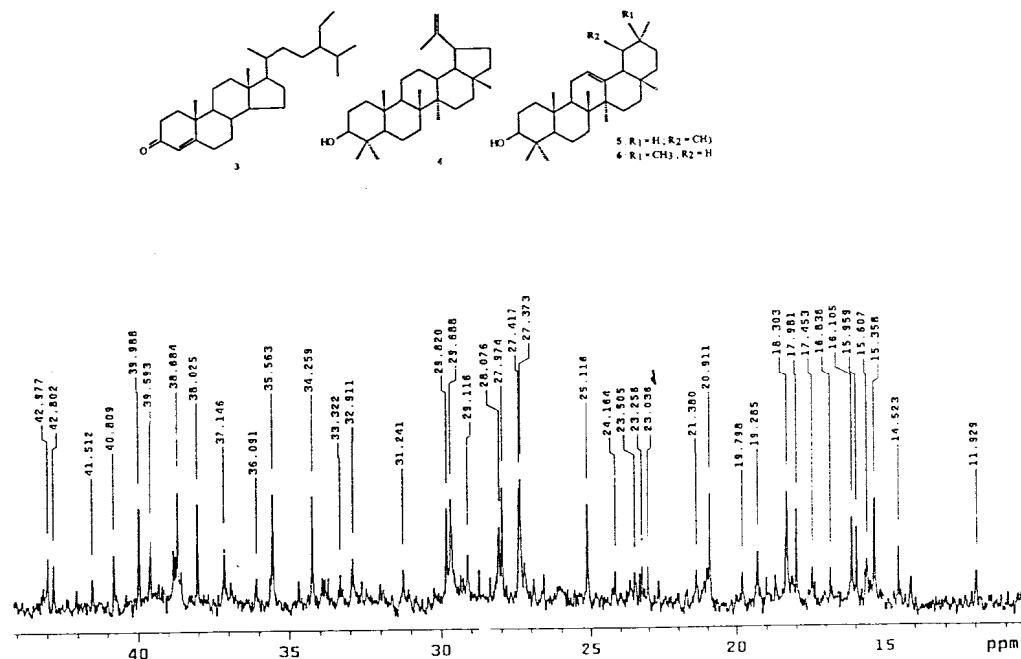


Figura 6 : Espectro expandido de RMN ¹³C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) totalmente desacoplado registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

PARH-10
 PULSE SEQUENCE bruker
 DESERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 80.562 MHz
 SPECTRAL WIDTH 21735.1 Hz
 ACQUISITION TIME 0.754 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 3.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.5 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 543
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 1.0 Hz
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 16 minutes
 04-17-87
 Virginia Tech STC NMR Facility

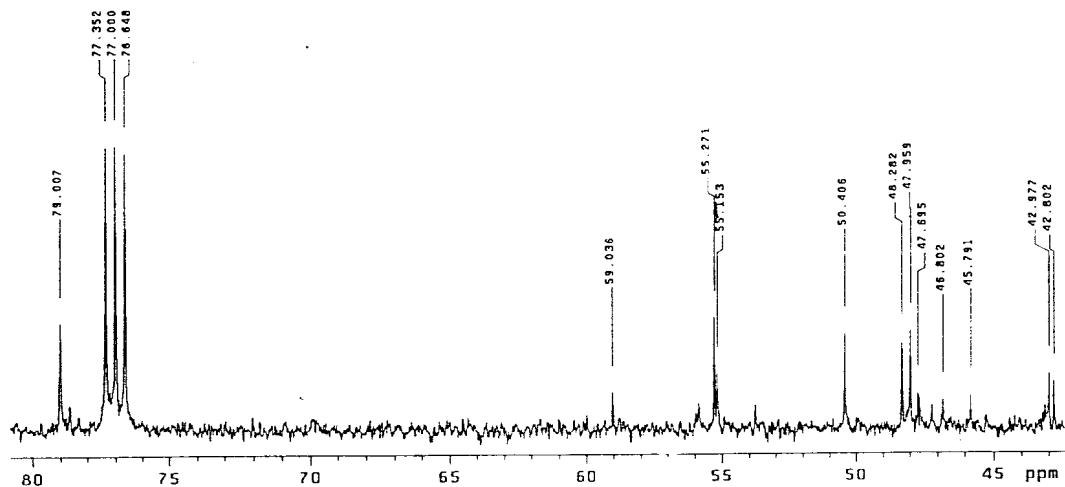
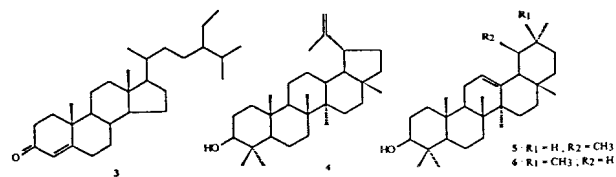


Figura 6a : Espectro expandido de RMN ¹³C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) totalmente desacoplado registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

PARH-10
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 10.562 MHz
 SPECTRAL WIDTH 21733.1 Hz
 ACQUISITION TIME 0.754 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 3.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.5 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 549
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 1.0 Hz
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 16 minutes
 04-17-97
 Virginia Tech STC NMR Facility

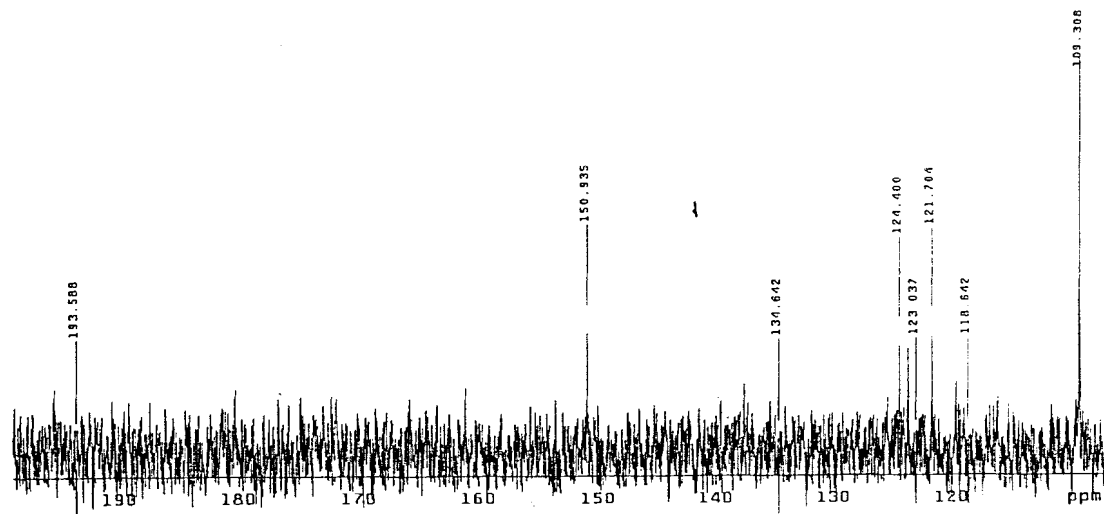
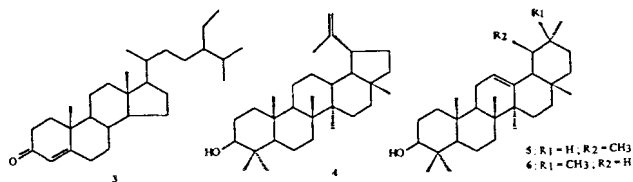


Figura 6b : Espectro expandido de RMN ¹³C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) totalmente desacoplado registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

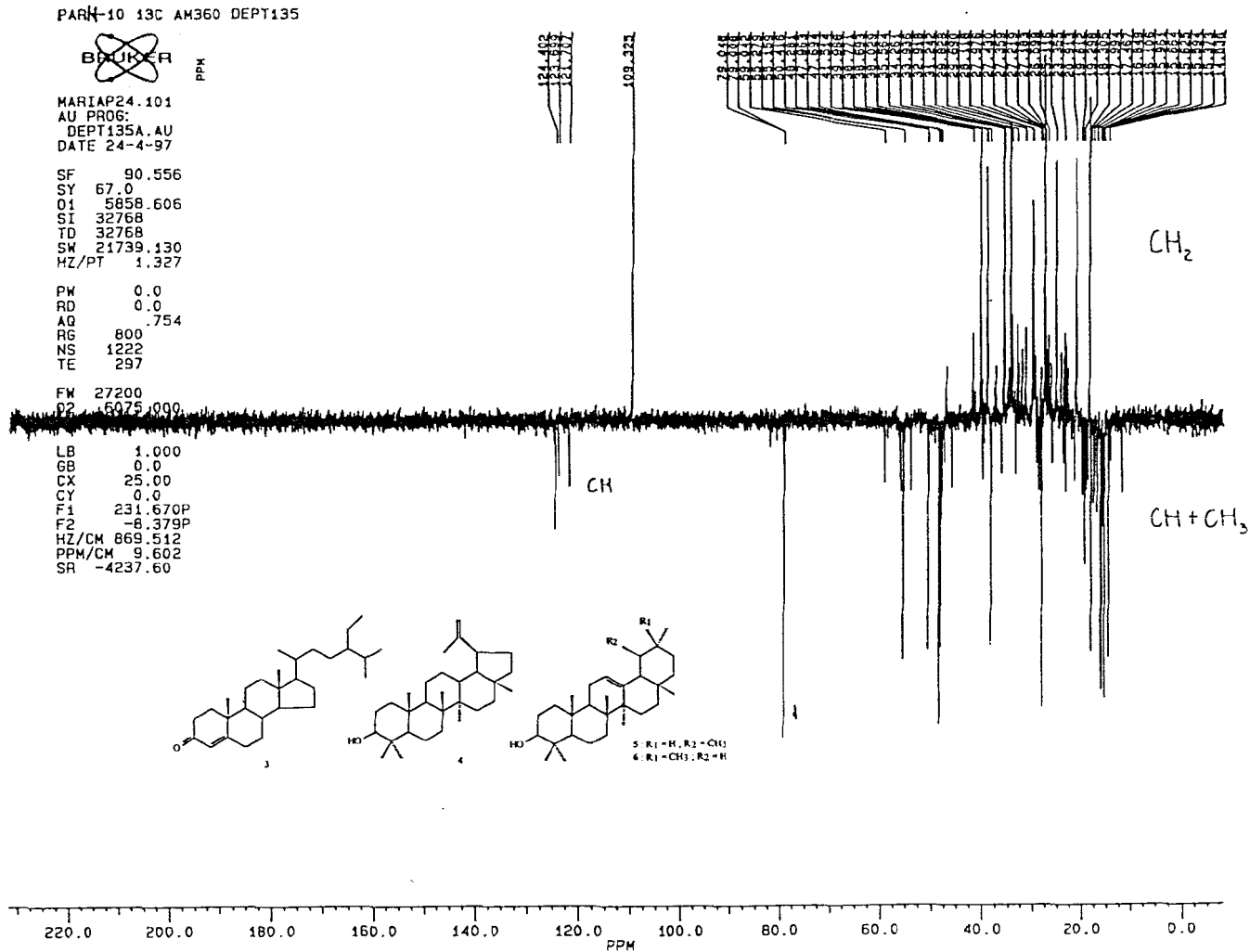
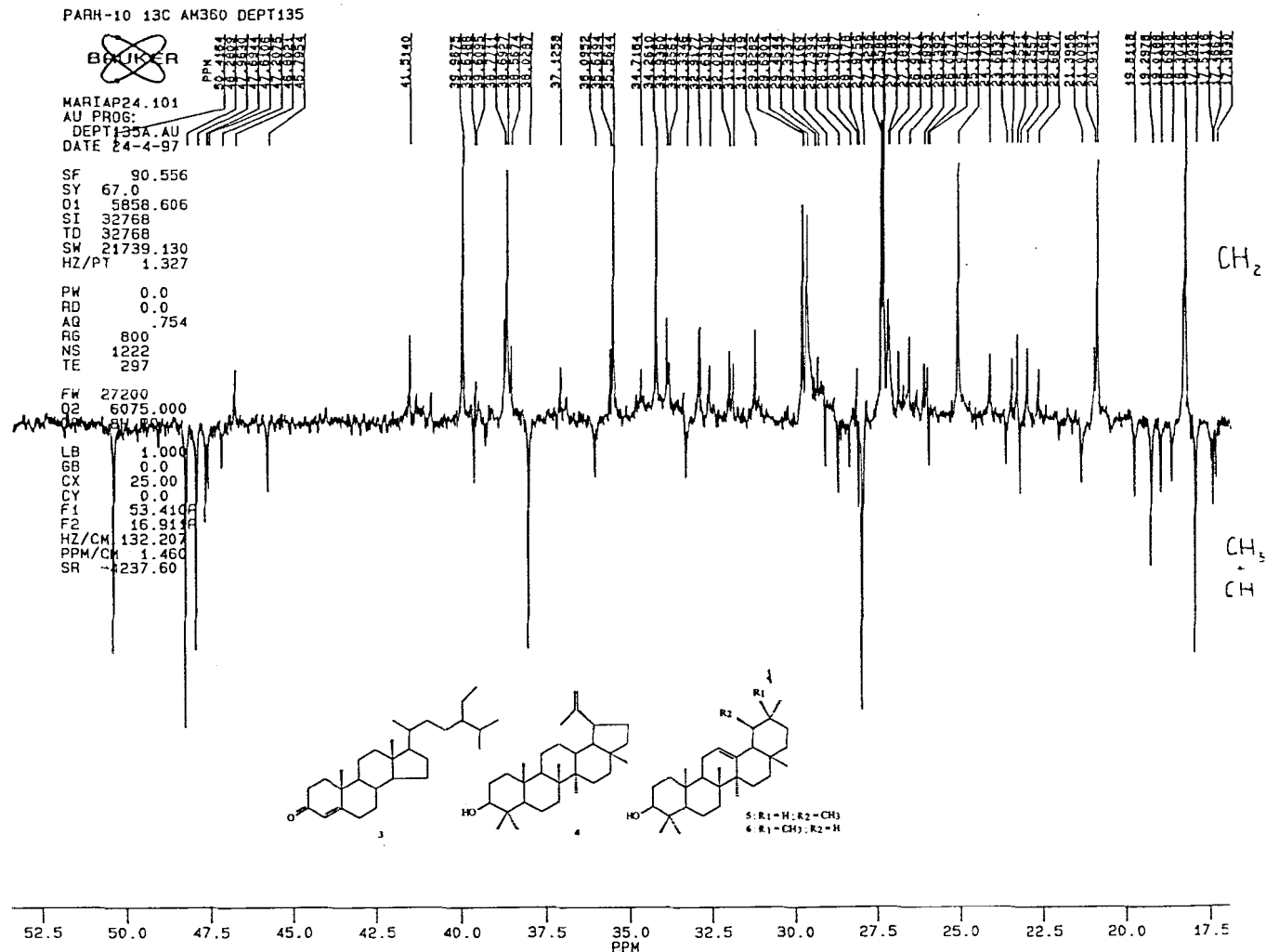


Figura 7 : Espectro expandido de RMN ¹³C (100 MHz) de PARH-10 (3 + 4 + 5 + 6) com DEPT (θ : 90 e 135°) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .



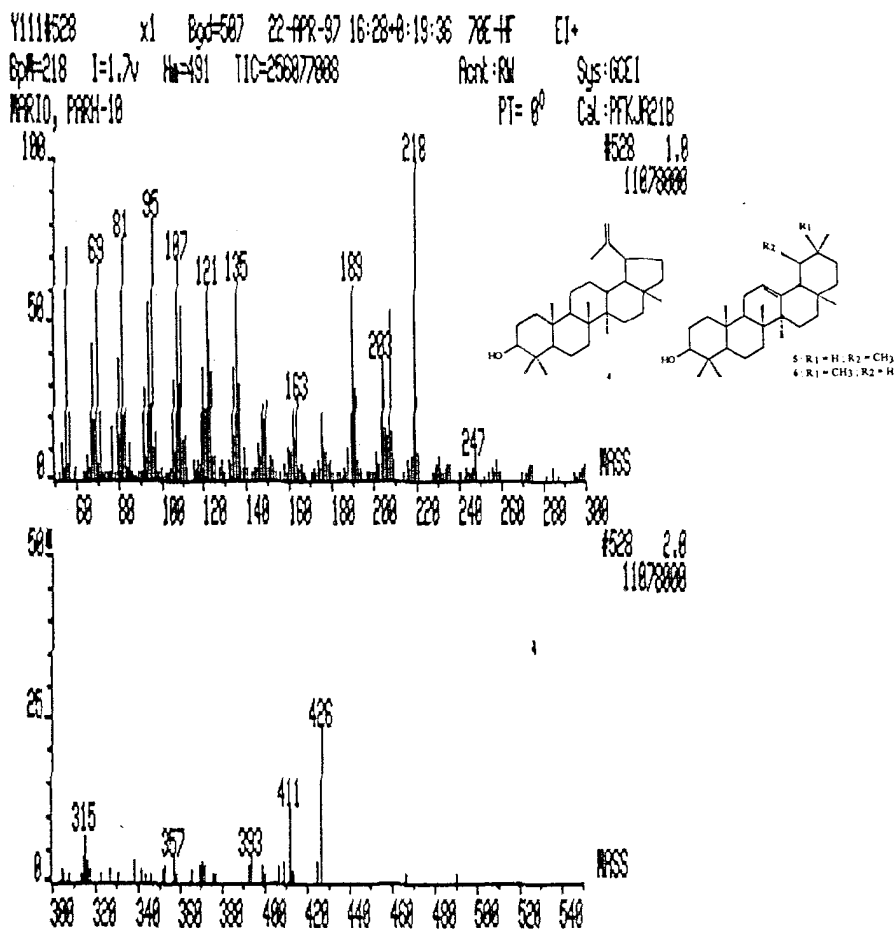


Figura 8 : Espectro de massas de 4 + 5 + 6 .

LIBFITS111* x1 Bgc=1 SPESUB00 +0:00:00
 STIGMAST-4-EN-3-ONE P597 #893 r686 RW:1858-61-3
 C29.H48.O. Lib:MS 36322 Bpk: 124 Mt: 412

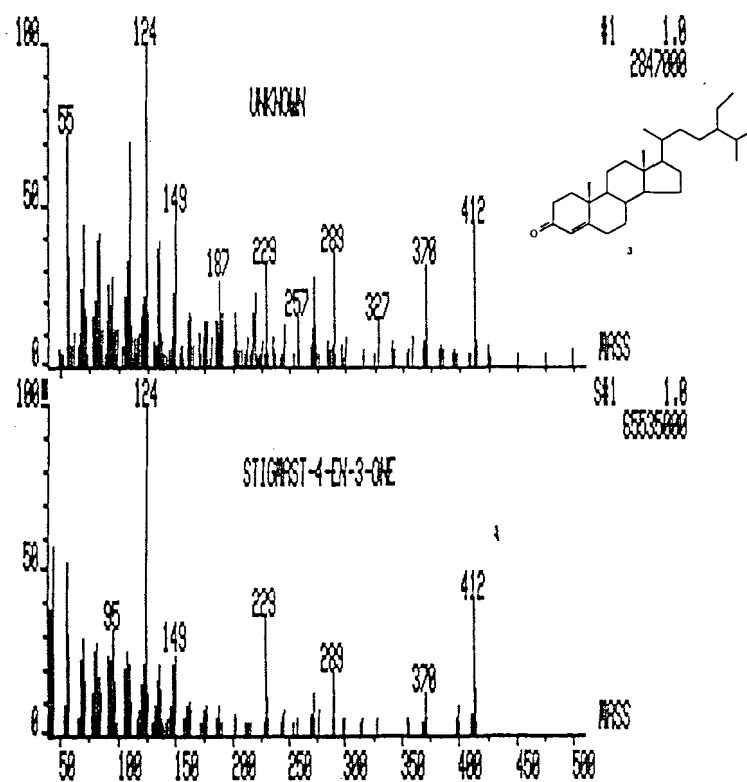


Figura 9 : Espectro de massas de 3 .

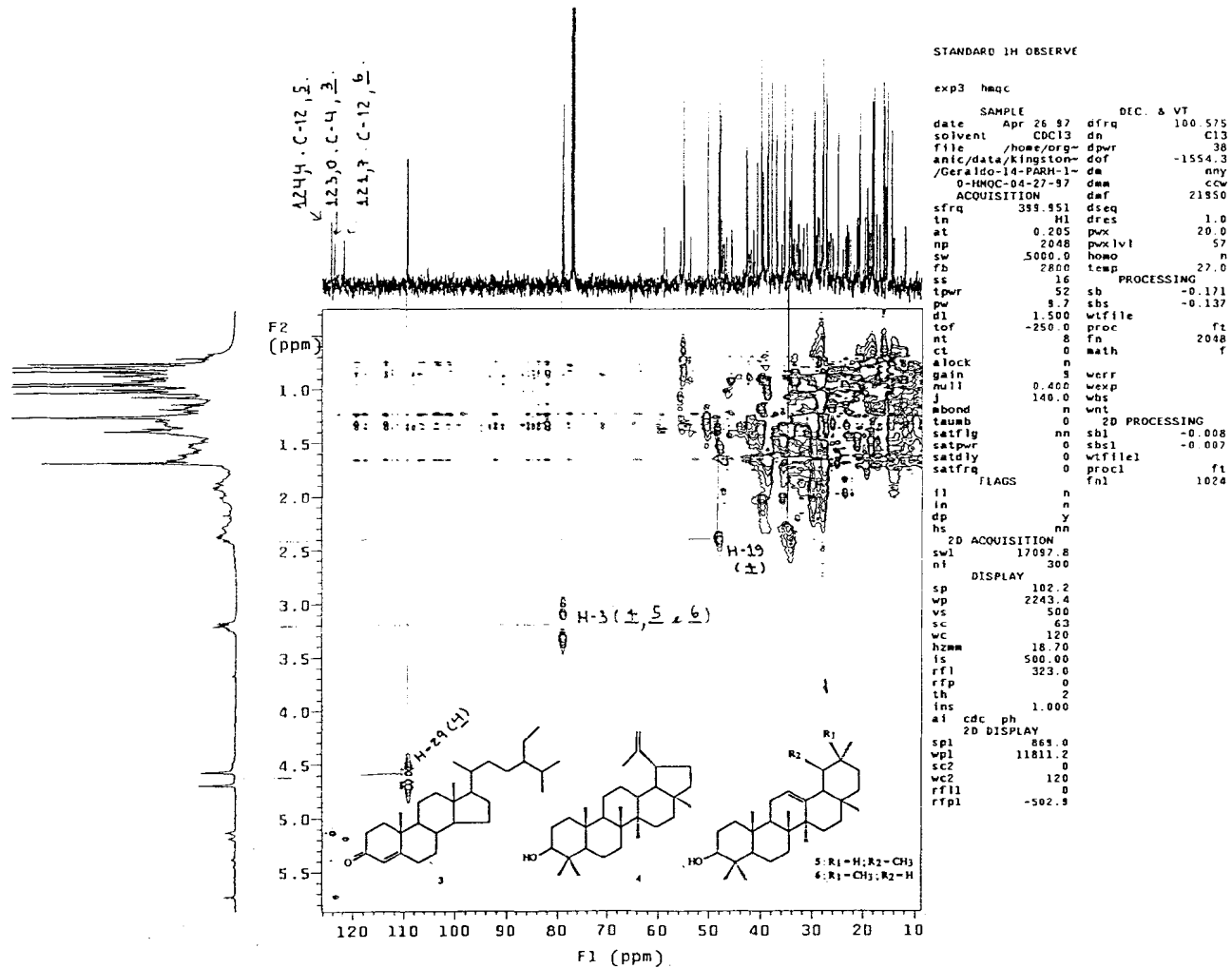


Figura 10 : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6.

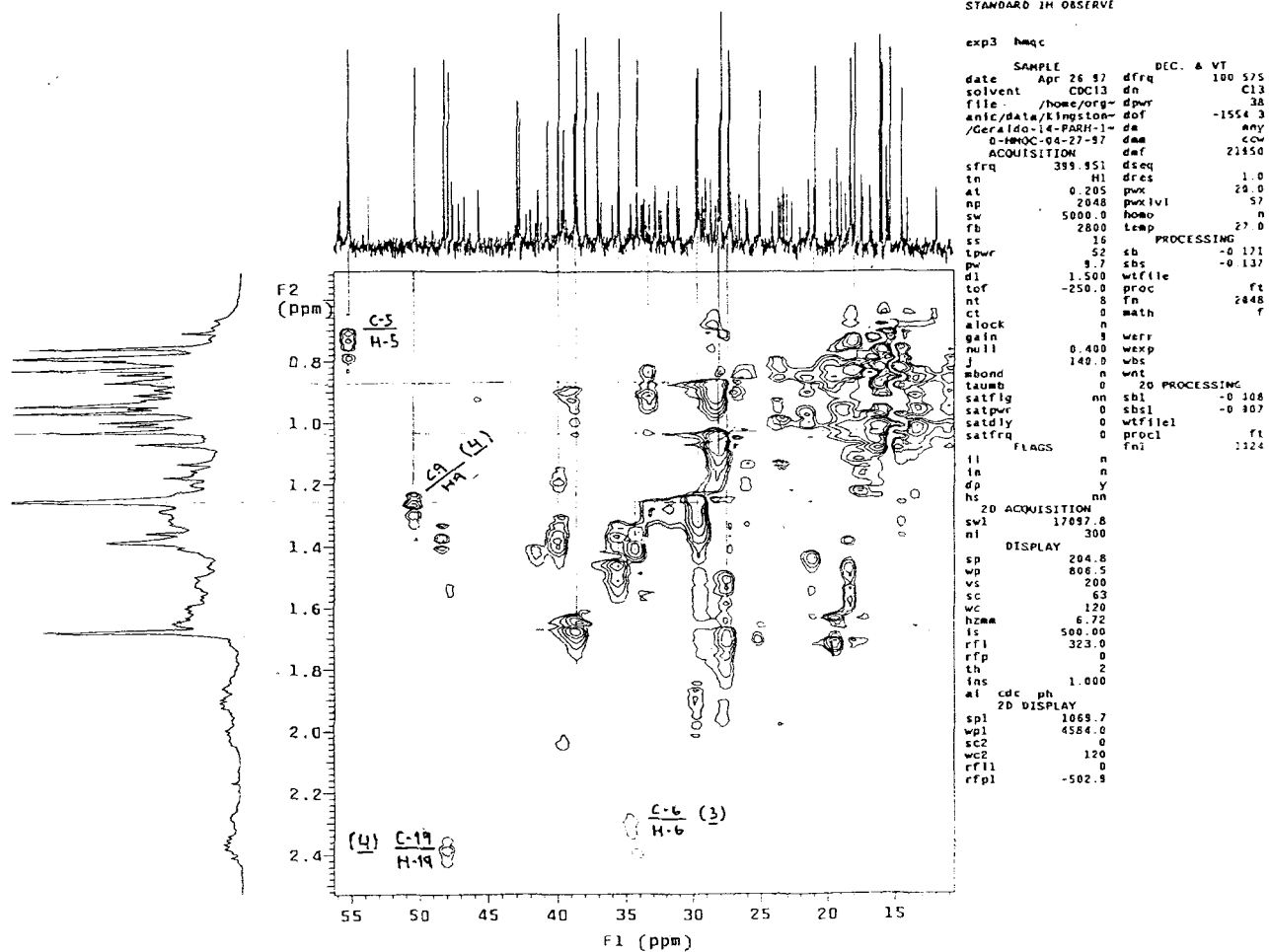


Figura 10a : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}} (n = 1)$ - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

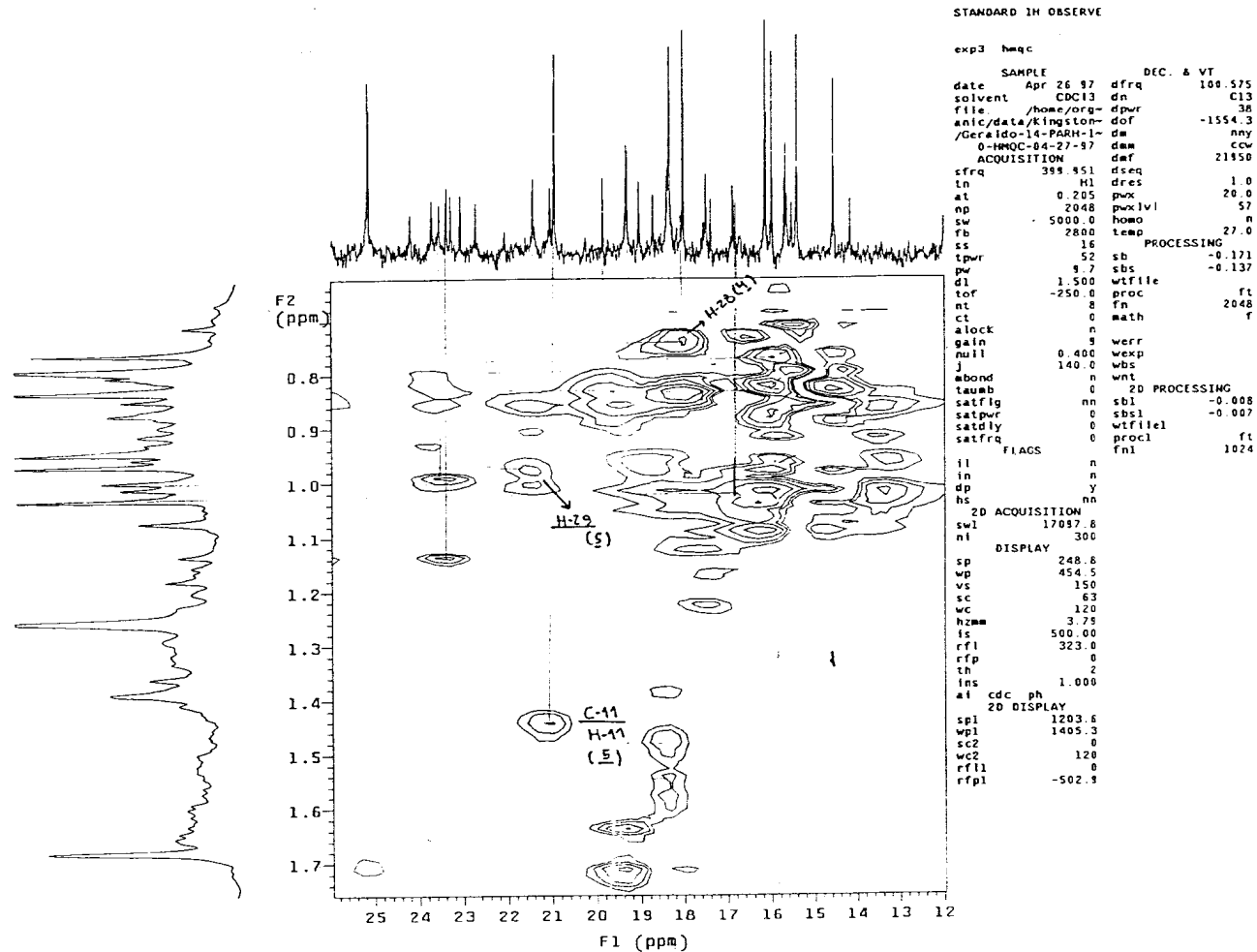


Figura 10b : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 1$) - HMQC de **3 + 4 + 5 + 6** (expandido).

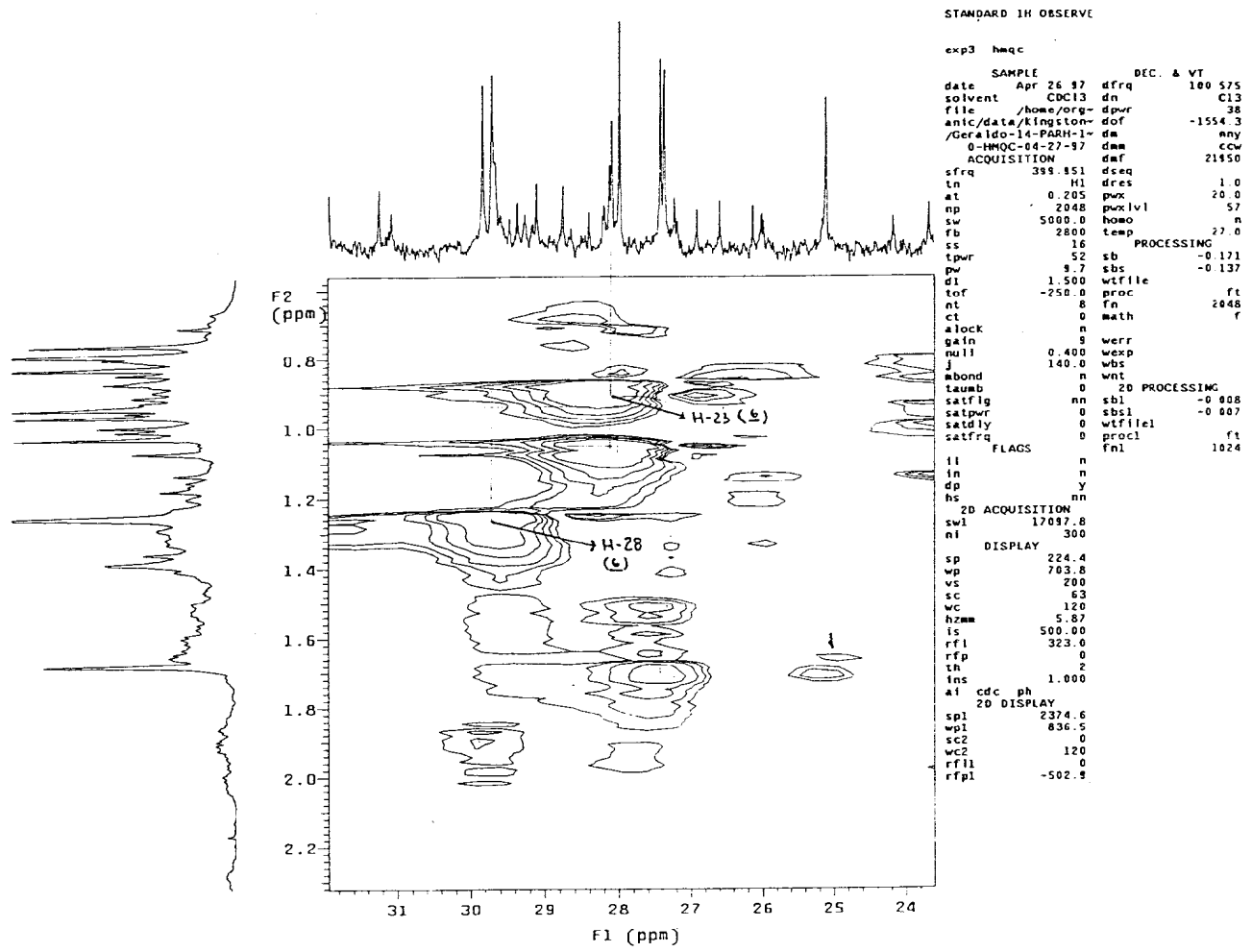


Figura 10c : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}} (n = 1)$ - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

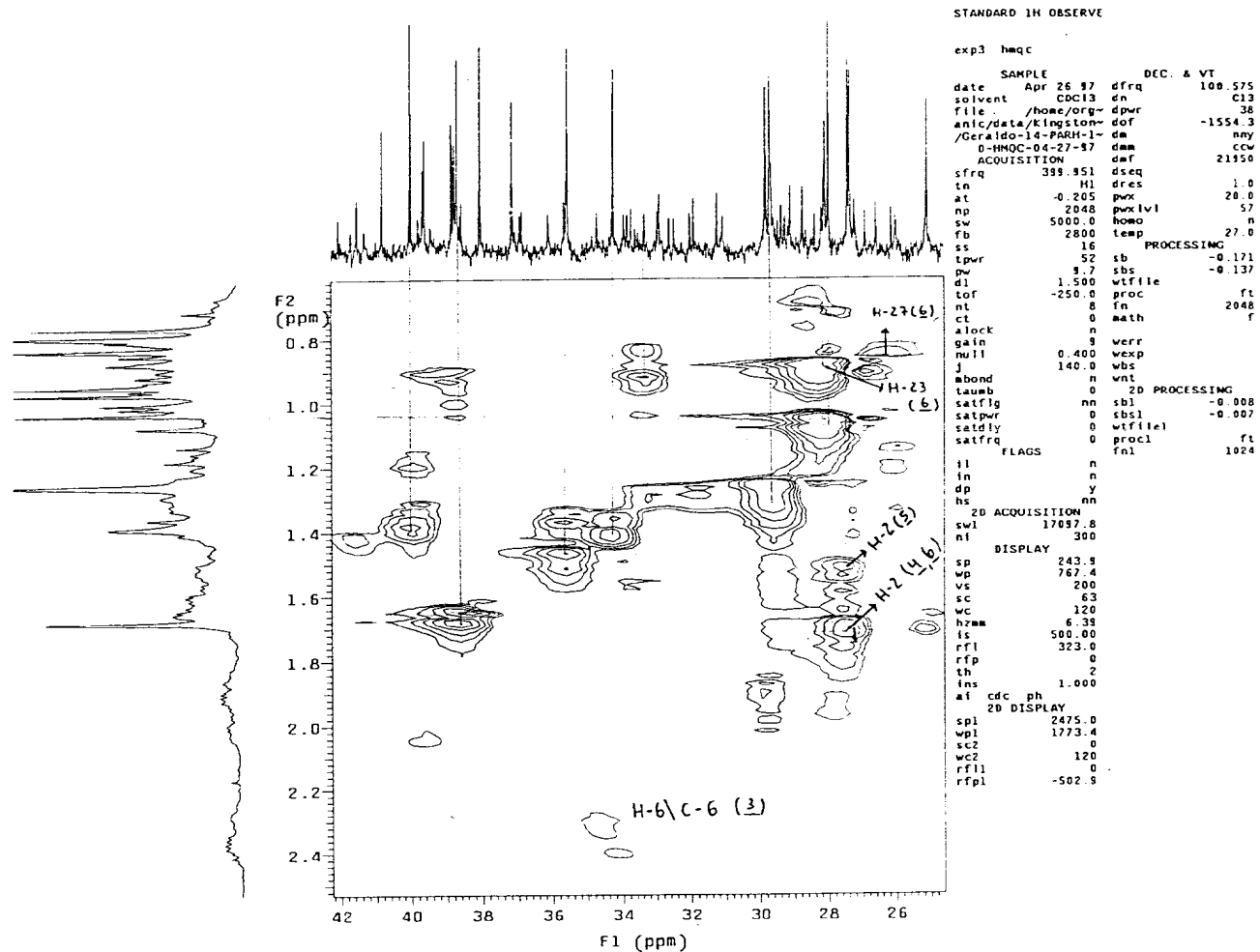


Figura 10d : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}} (n = 1)$ - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido) .

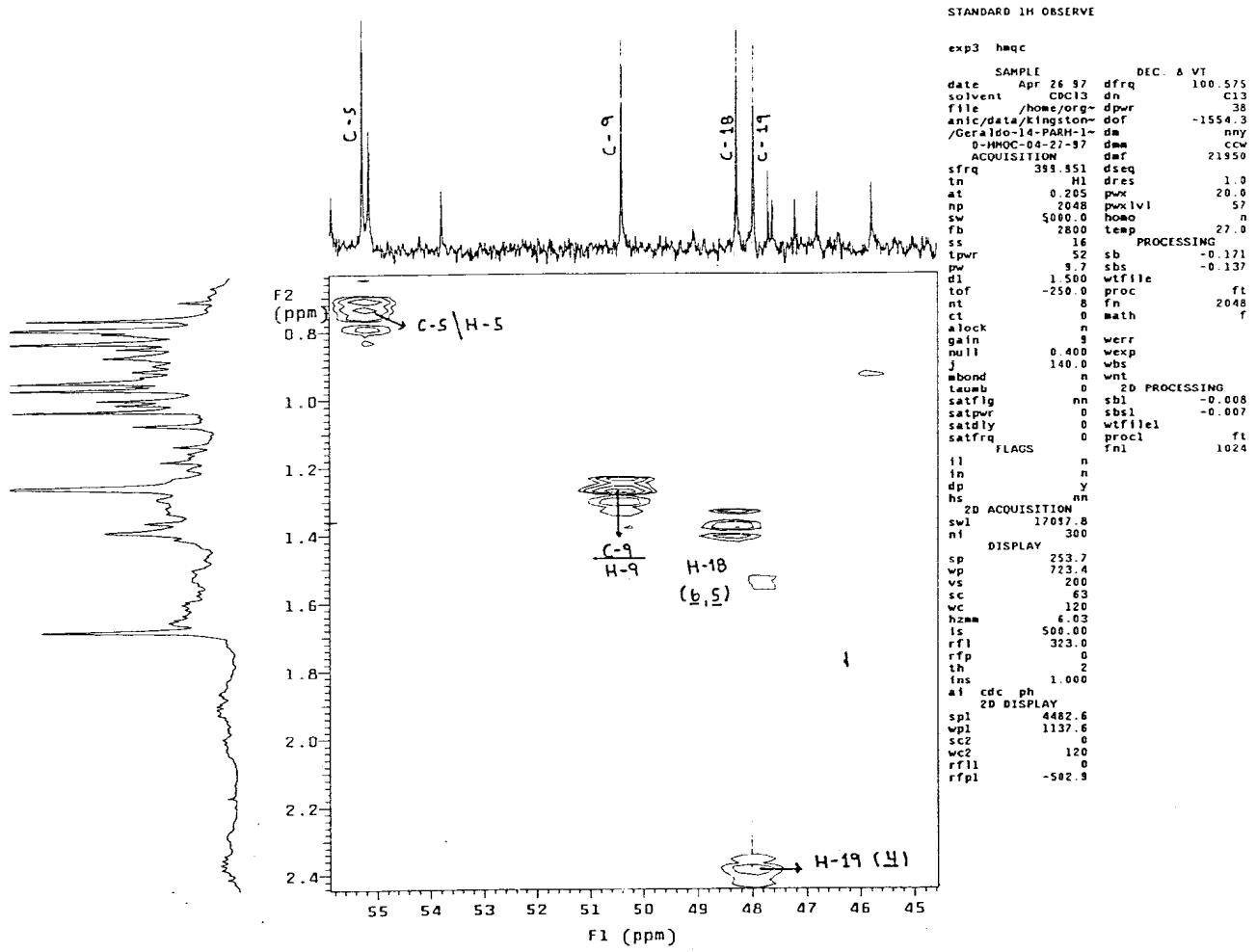


Figura 10e : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

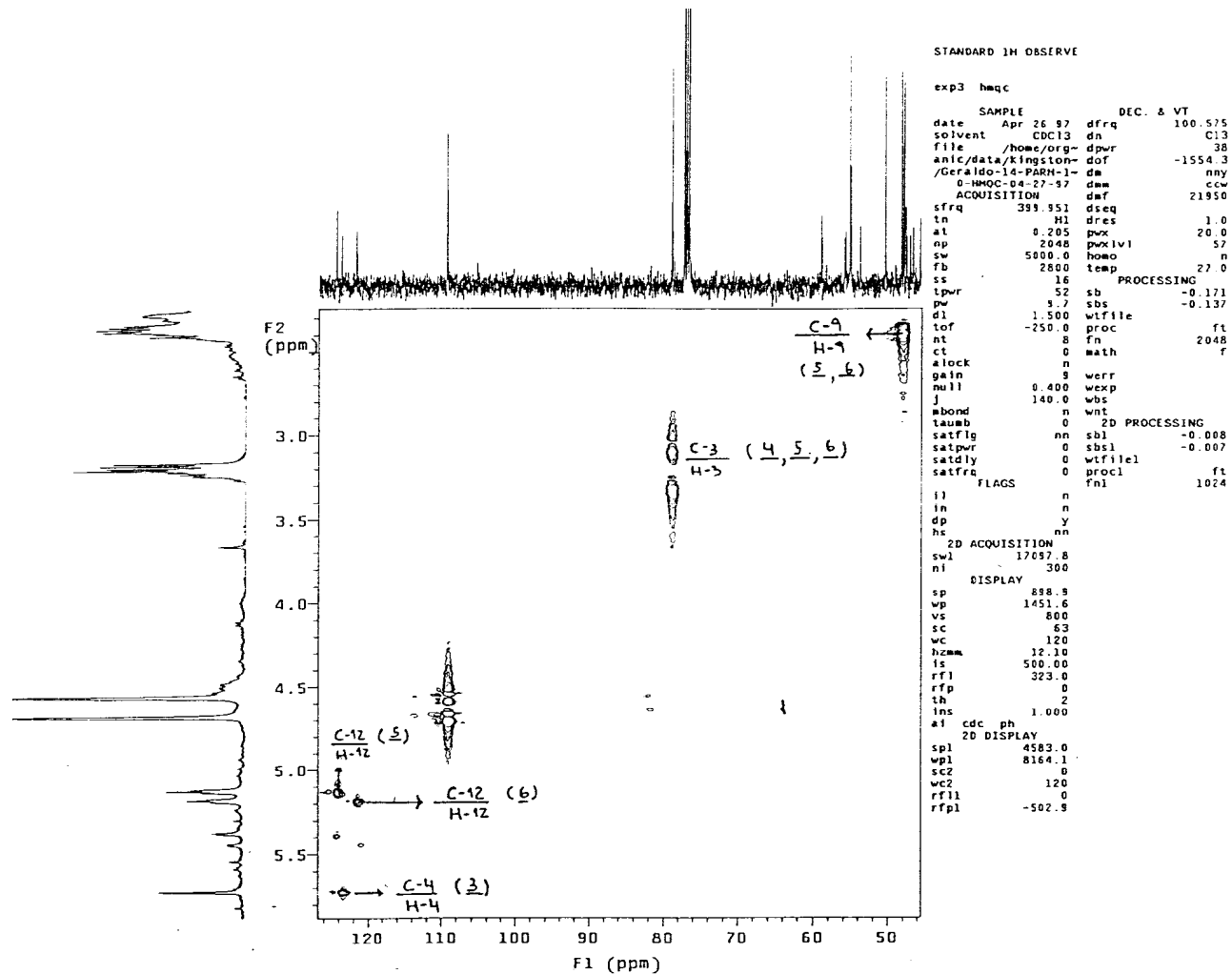


Figura 10f : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 1$) - HMQC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido) .

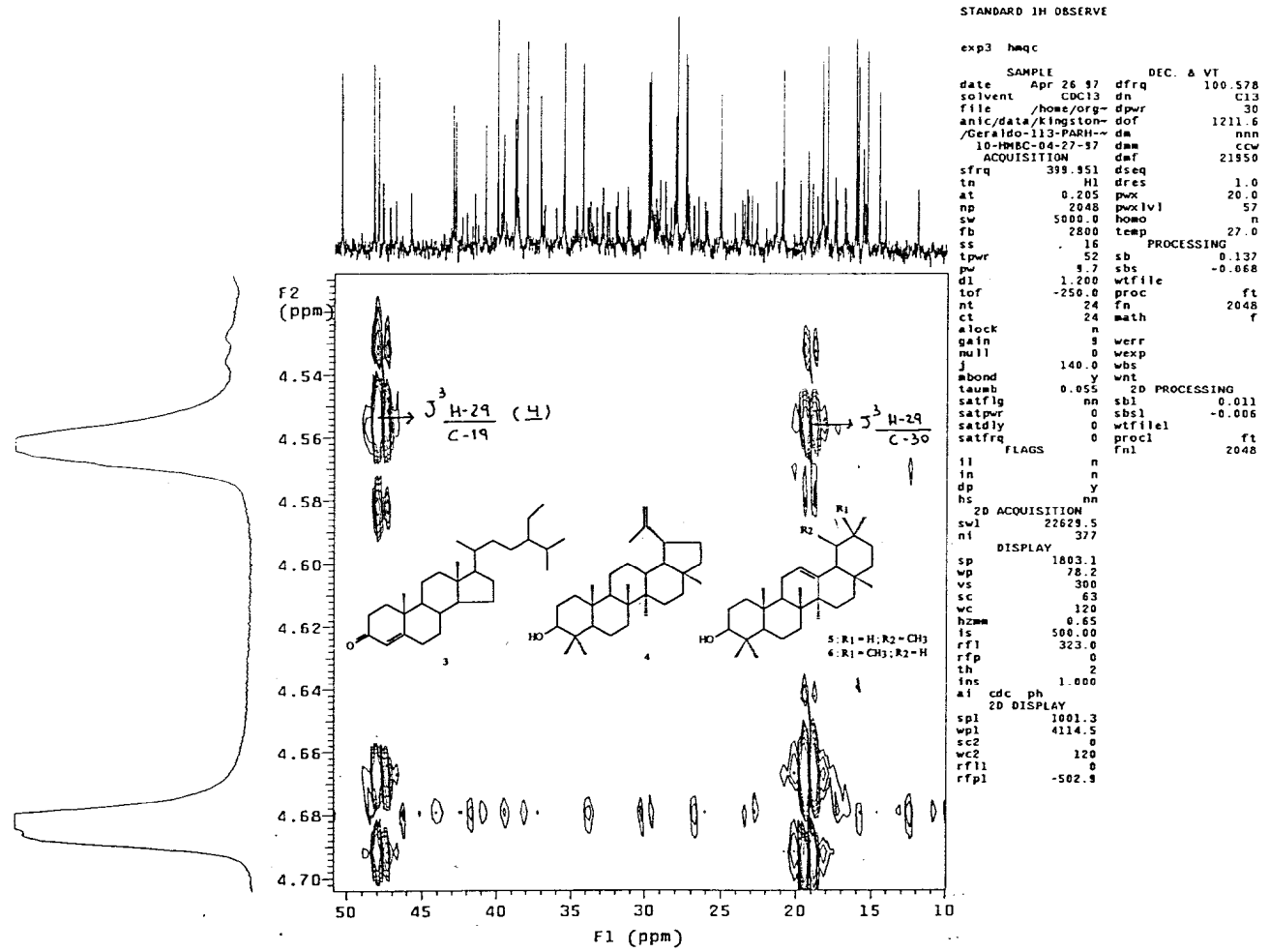


Figura 11 : Espectro de RMN $^1H \times ^{13}C - {}^nJ_{CH}$ (n = 2, 3) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 .

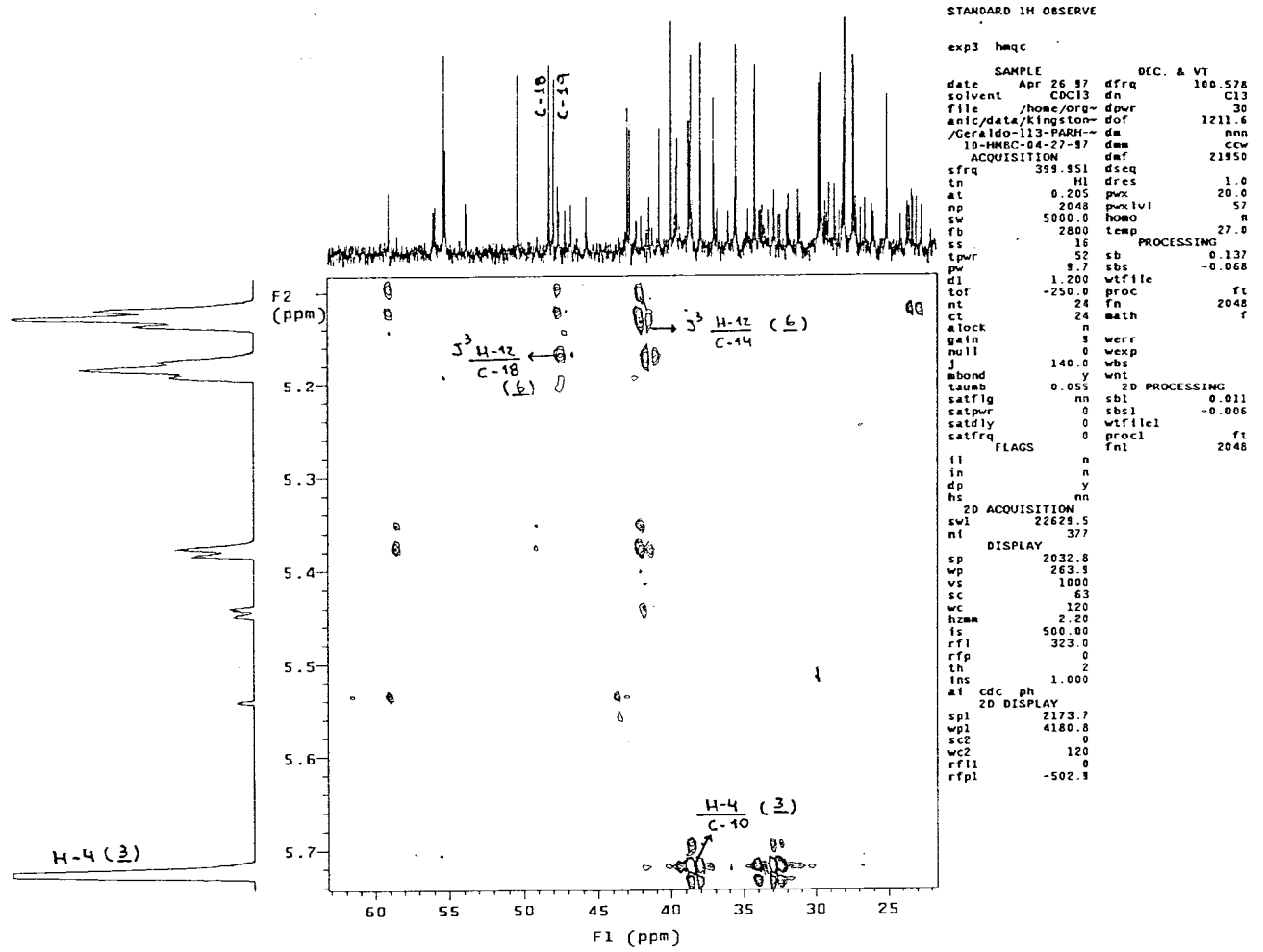


Figura 11a : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2, 3$) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

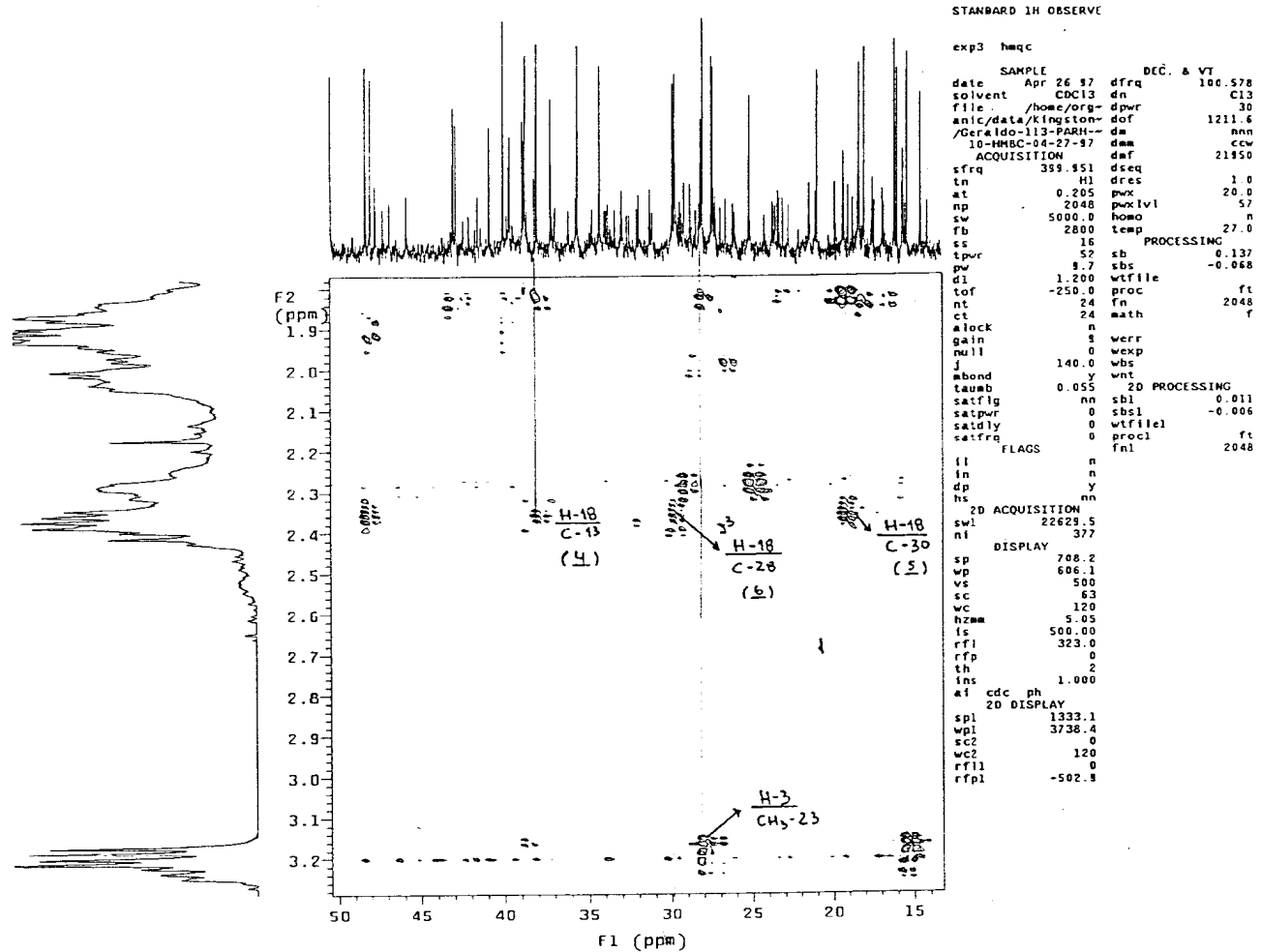


Figura 11b : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2, 3$) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

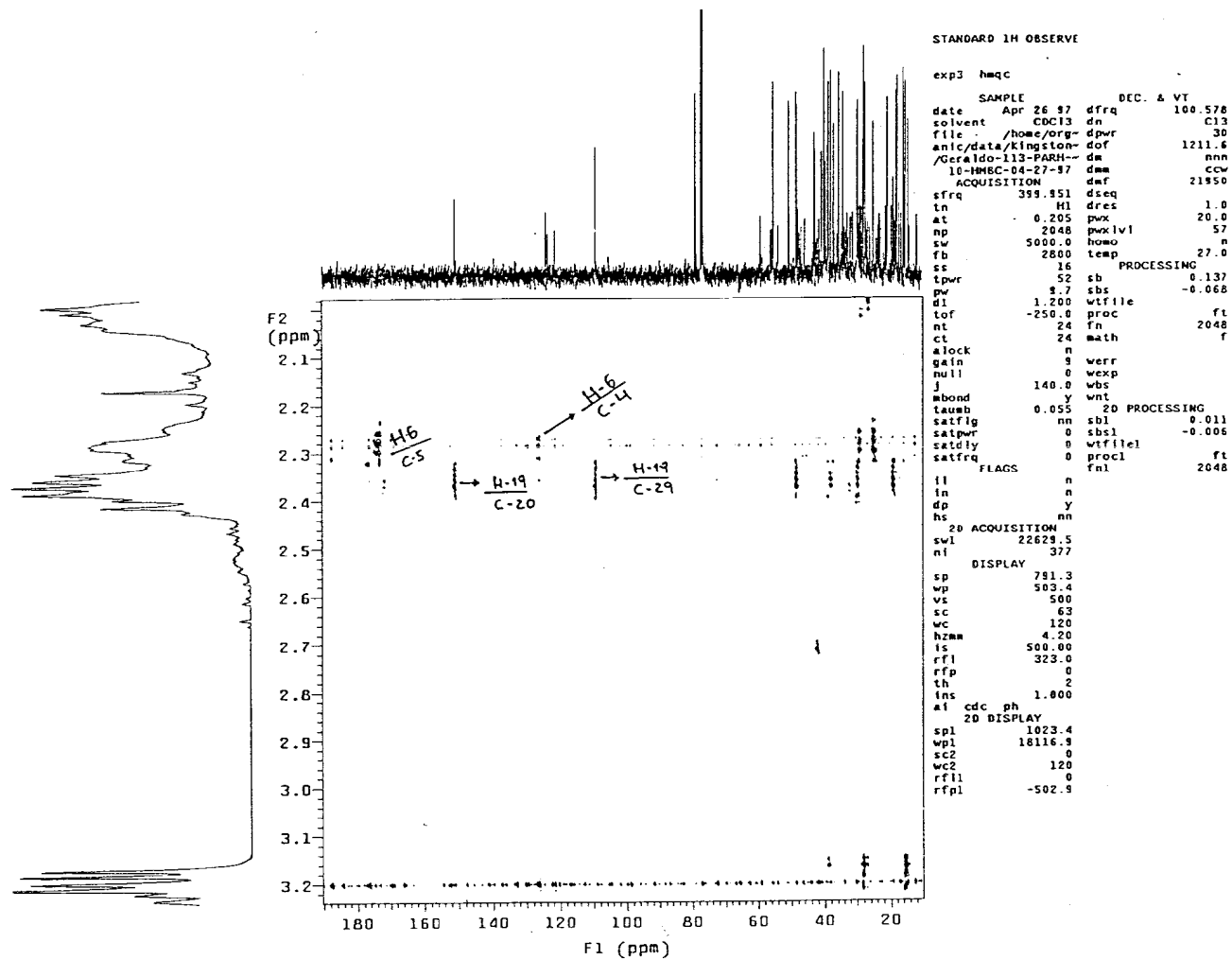


Figura 11c : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2, 3$) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

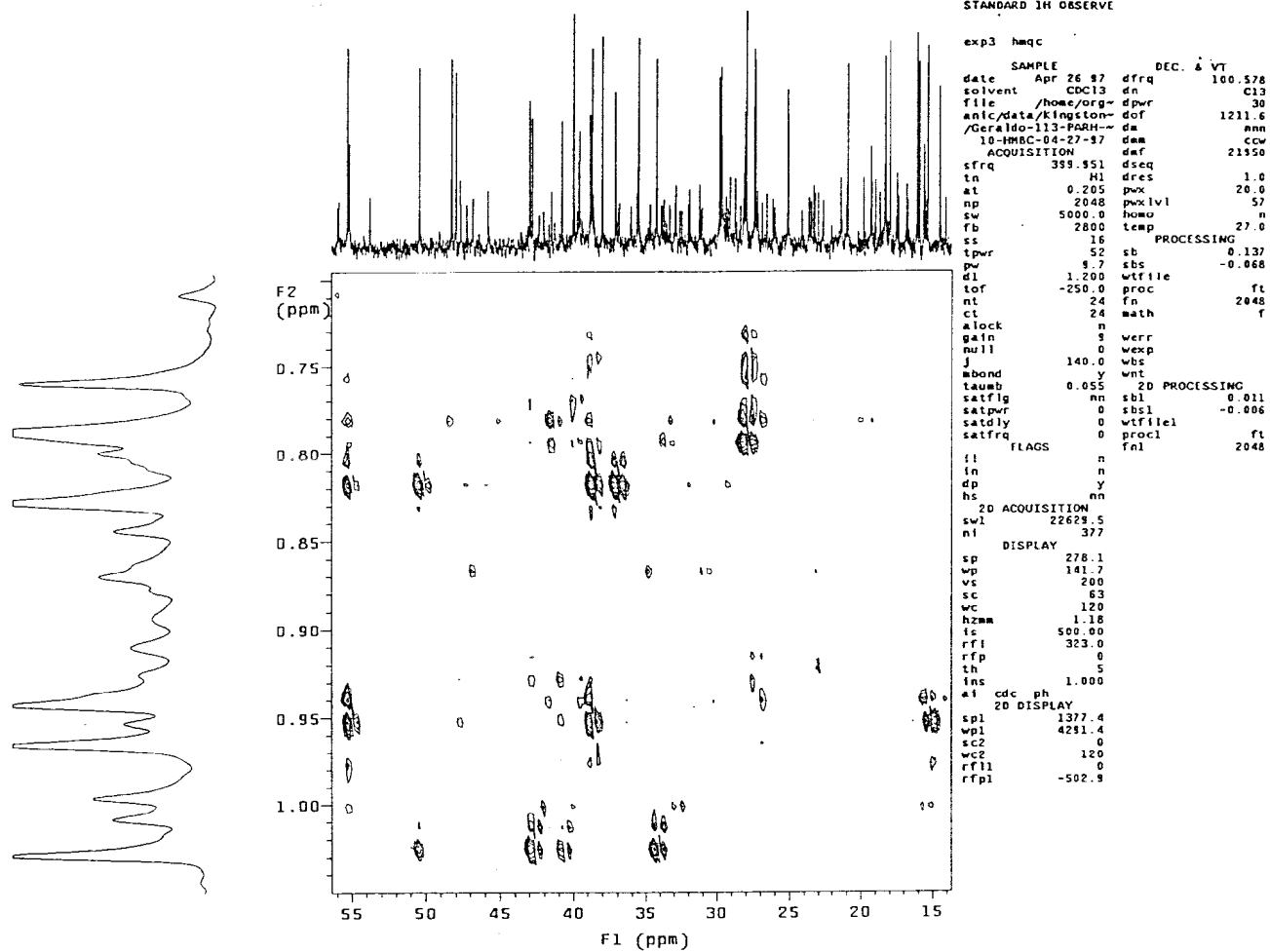


Figura 11d : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2, 3$) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

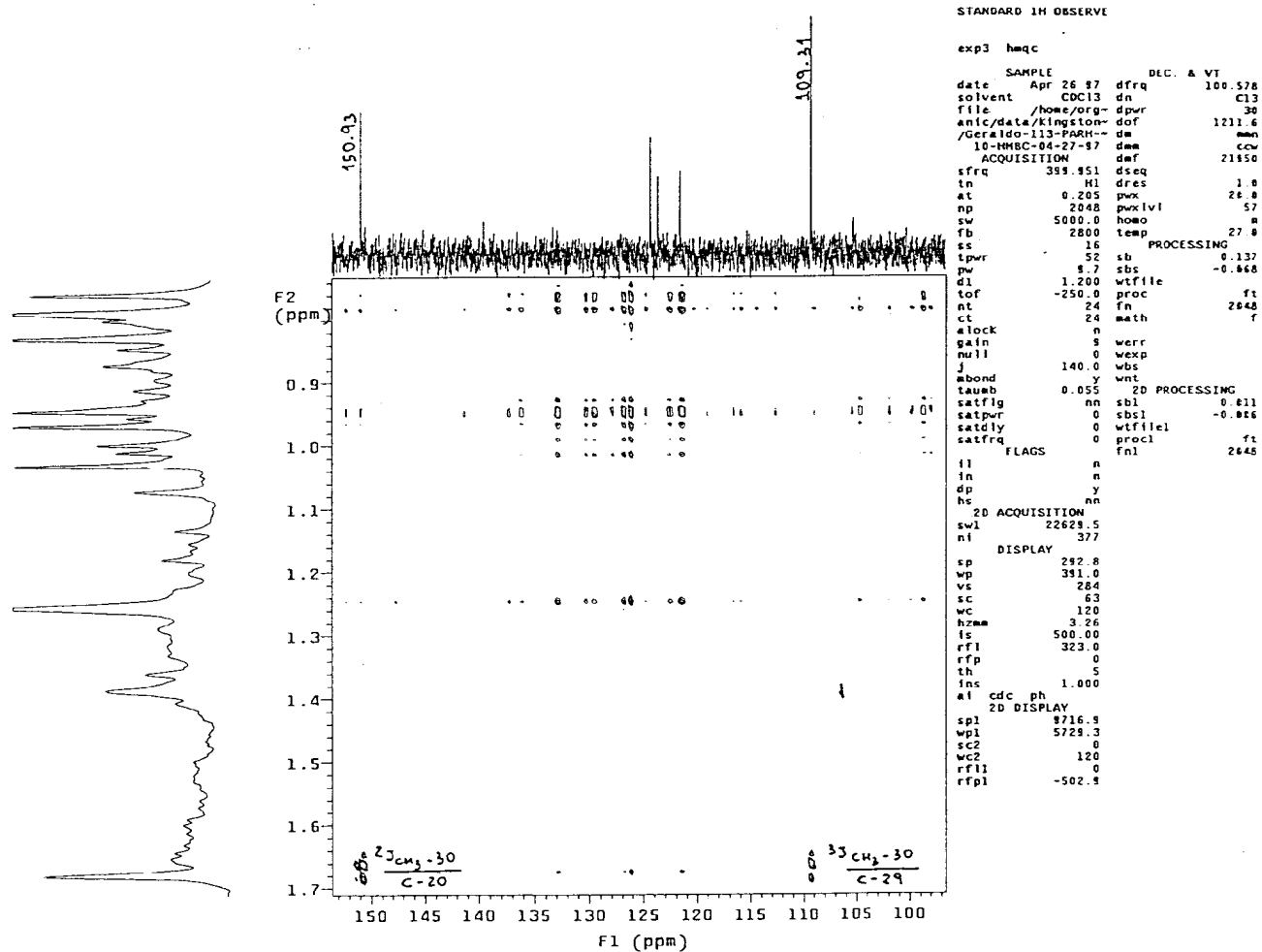


Figura 11e : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2, 3$) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido) .

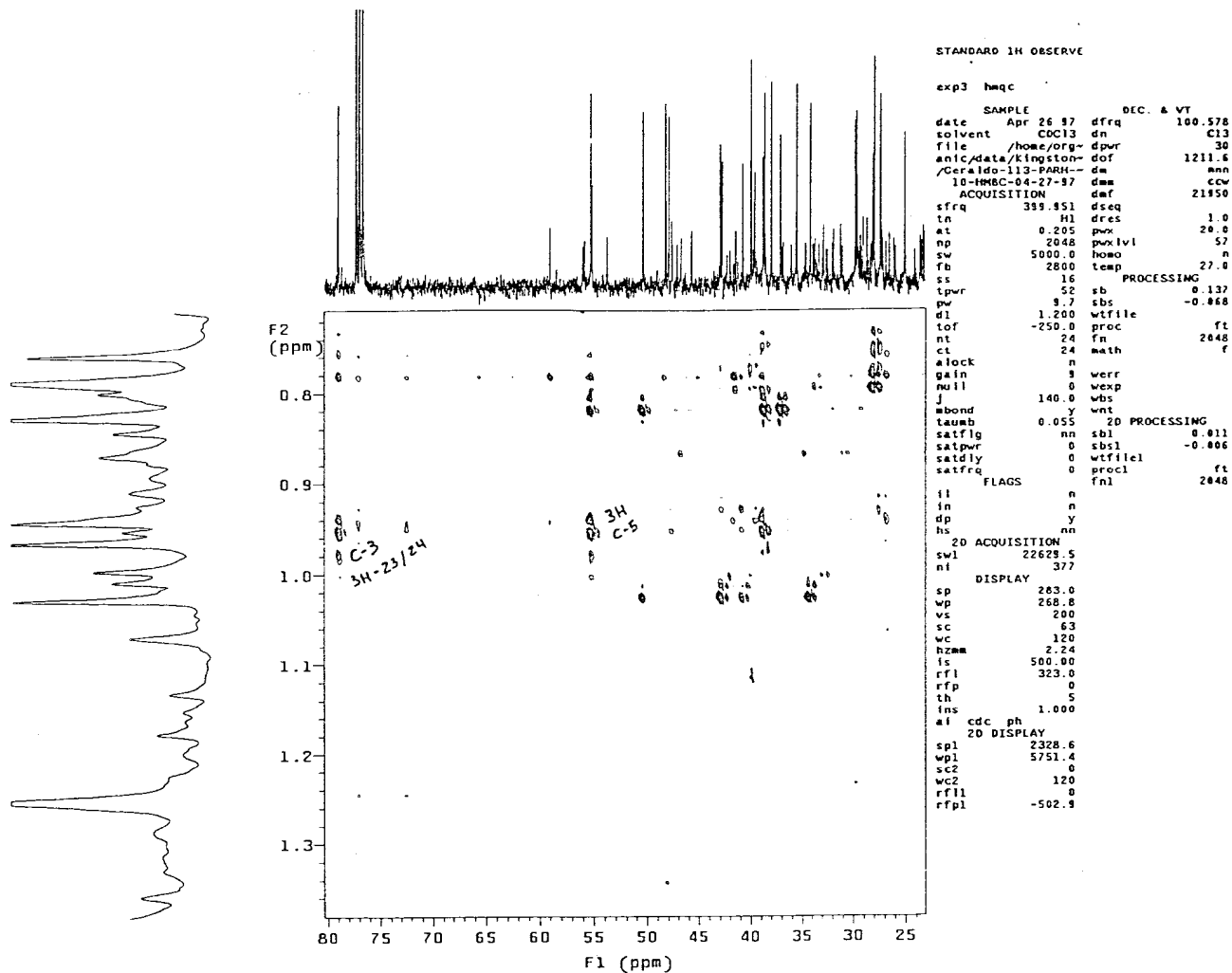


Figura 11f : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2, 3$) - HMBC de 3 + 4 + 5 + 6 (expandido).

3446.0, 3073.3, 2942.1, 2869.2, 1735.7, 1641.1, 1455.4, 1370.1, 1247.1, 1146.4, 1101.1, 1021.5, 978.9, 876.7, 657.4, 607.5, 547.6=

X: PARCH-A Carlos op.Eli KBr No:3261 UFRRJ

12:33

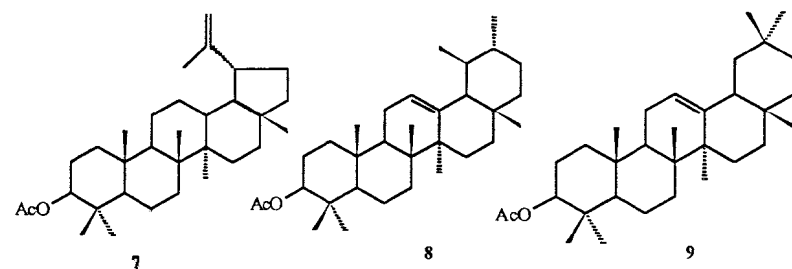
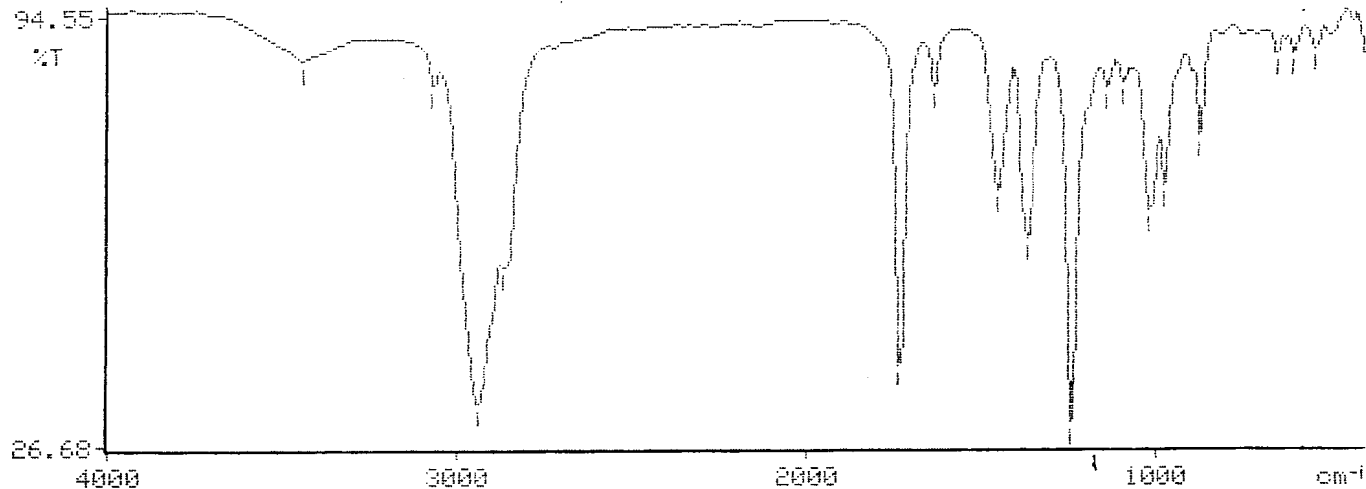


Figura 12 : Espectro de IV de PARCH-A (7 + 8 + 9) em KBr .

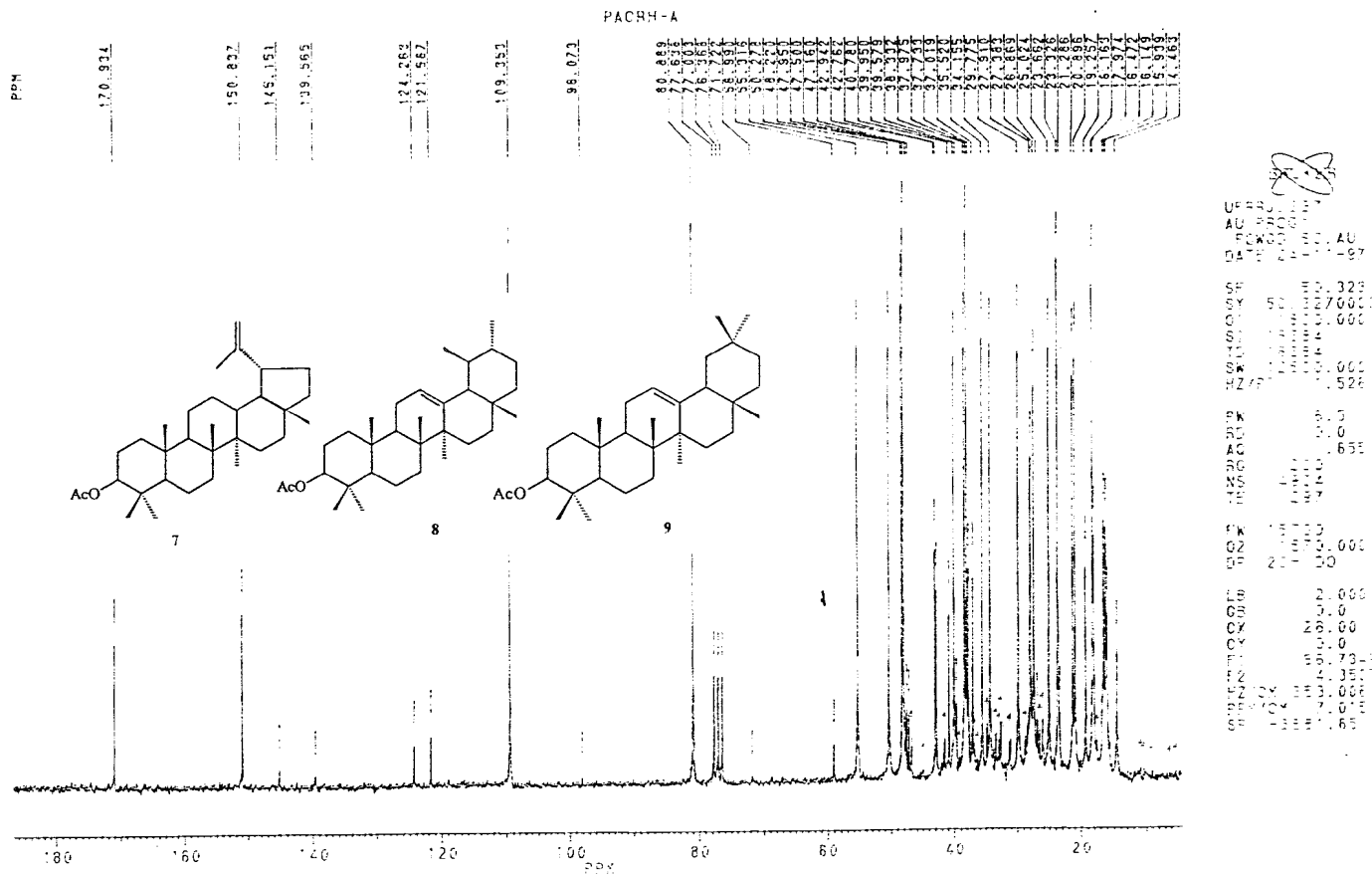


Figura 14 : Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz) de PACRH-A (7 + 8 + 9) totalmente desacoplado registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

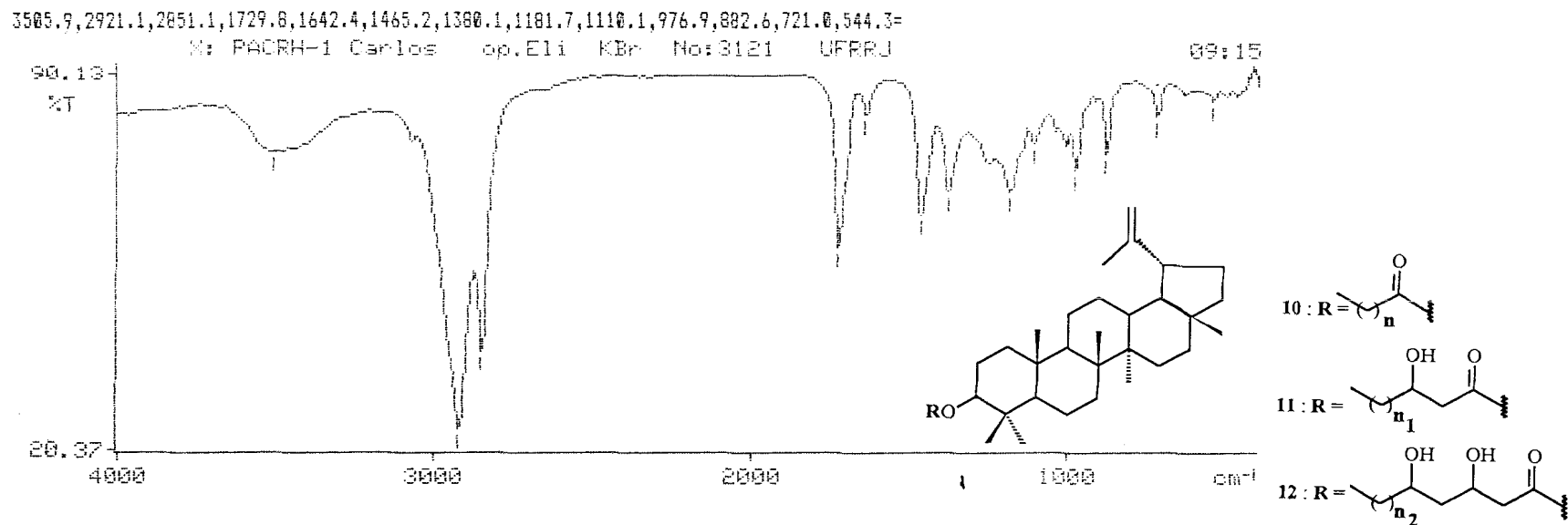


Figura 16 : Espectro de IV de PARH-1 (10 + 11 + 12) em KBr .

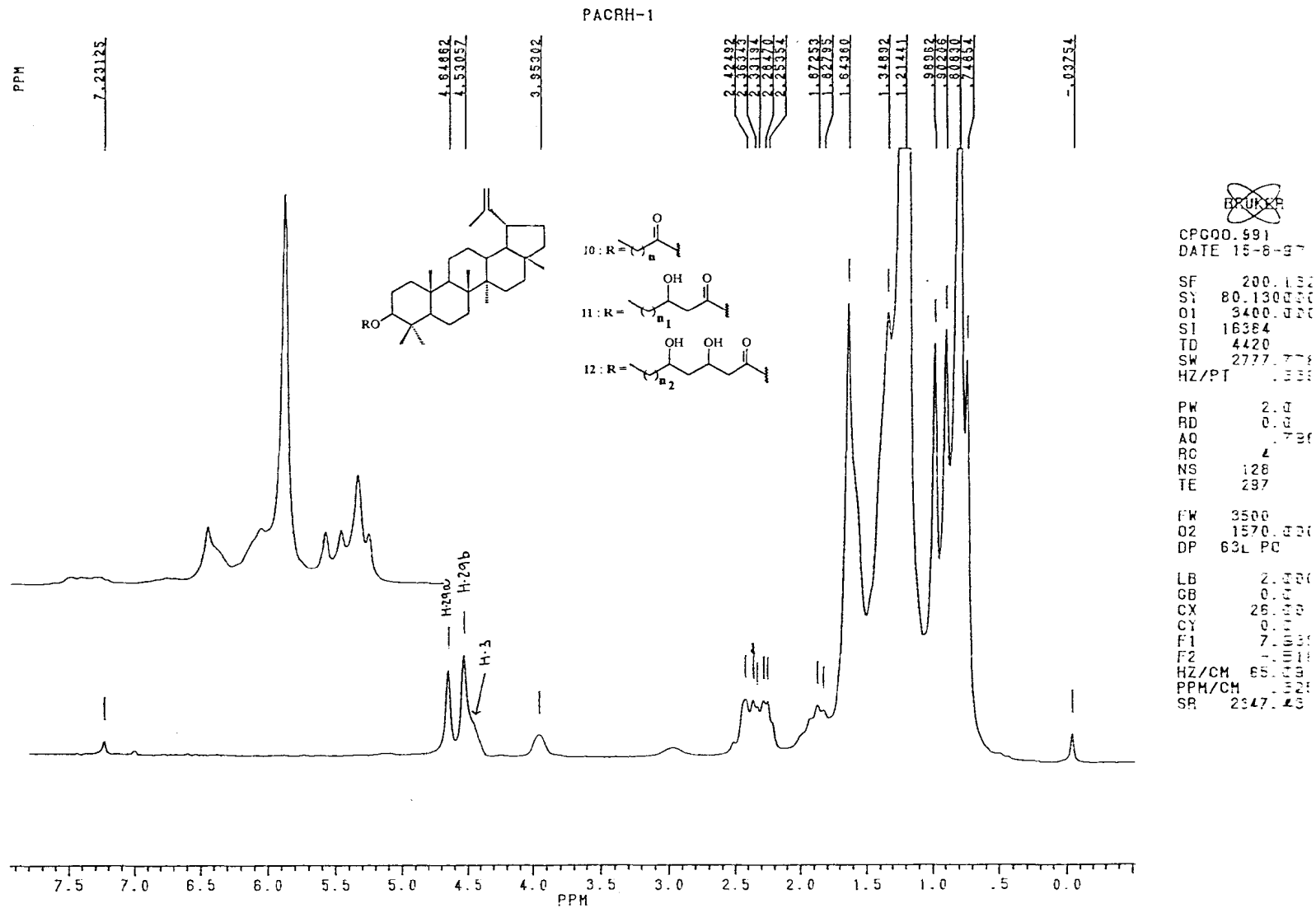


Figura 17 : Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (10 + 11 + 12) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna

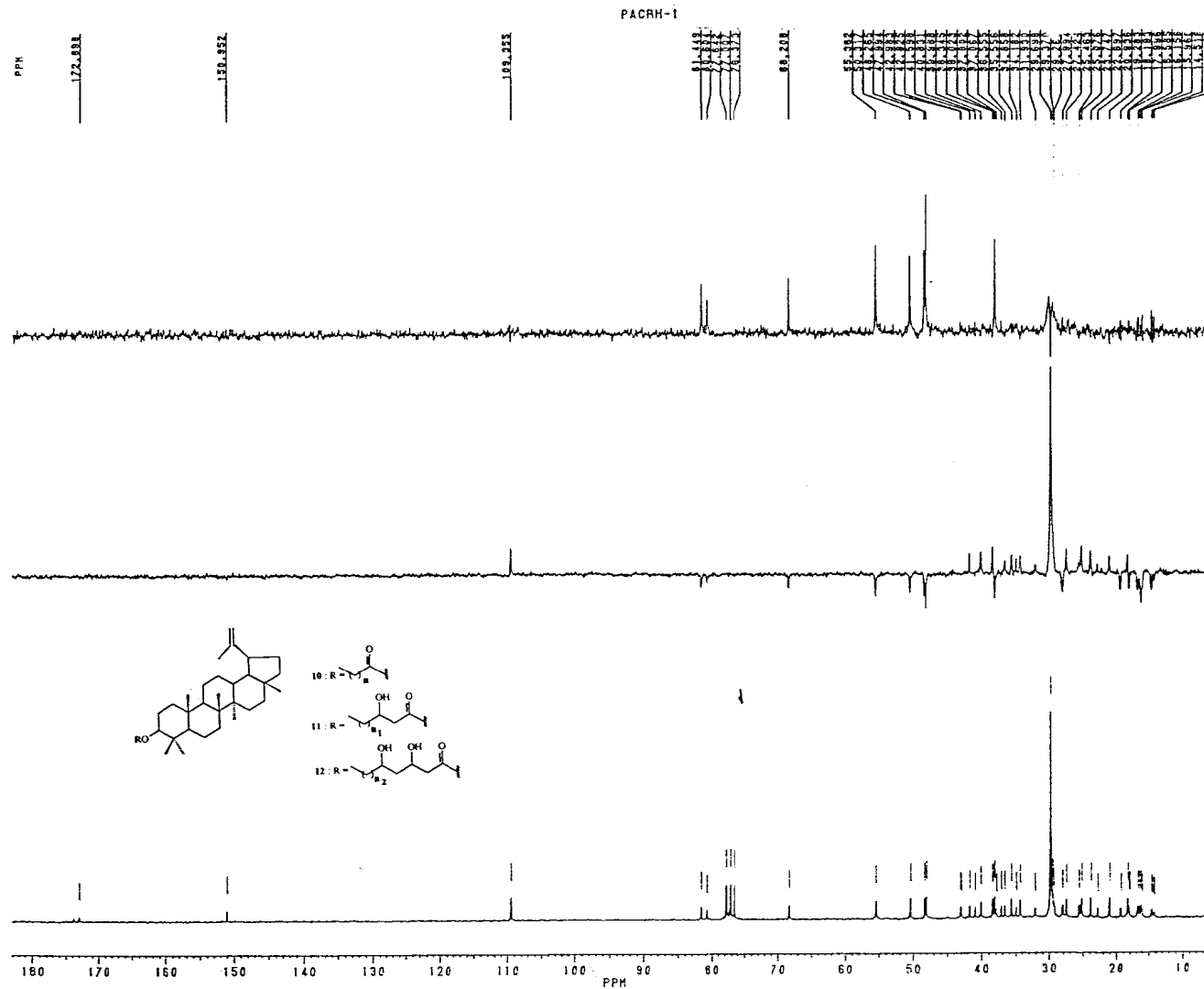


Figura 19 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (10 + 11 + 12) com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

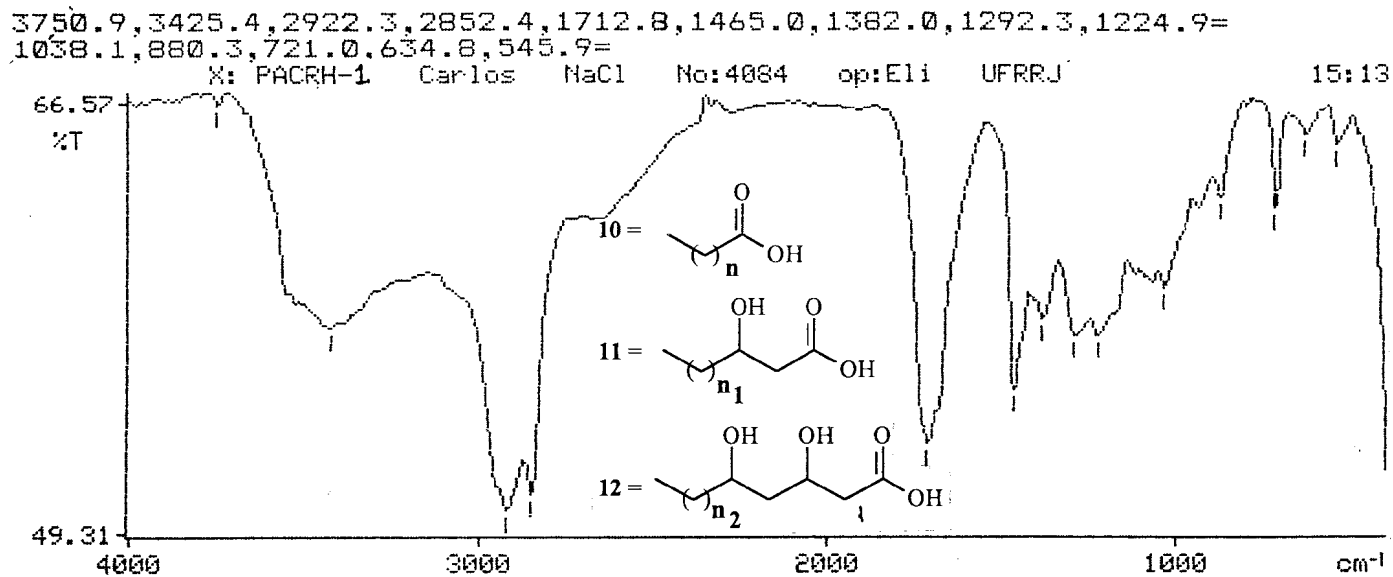


Figura 20 : Espectro de IV de PARCH-1 (10 + 11 + 12), em filme de NaCl, após reação de hidrólise alcalina .

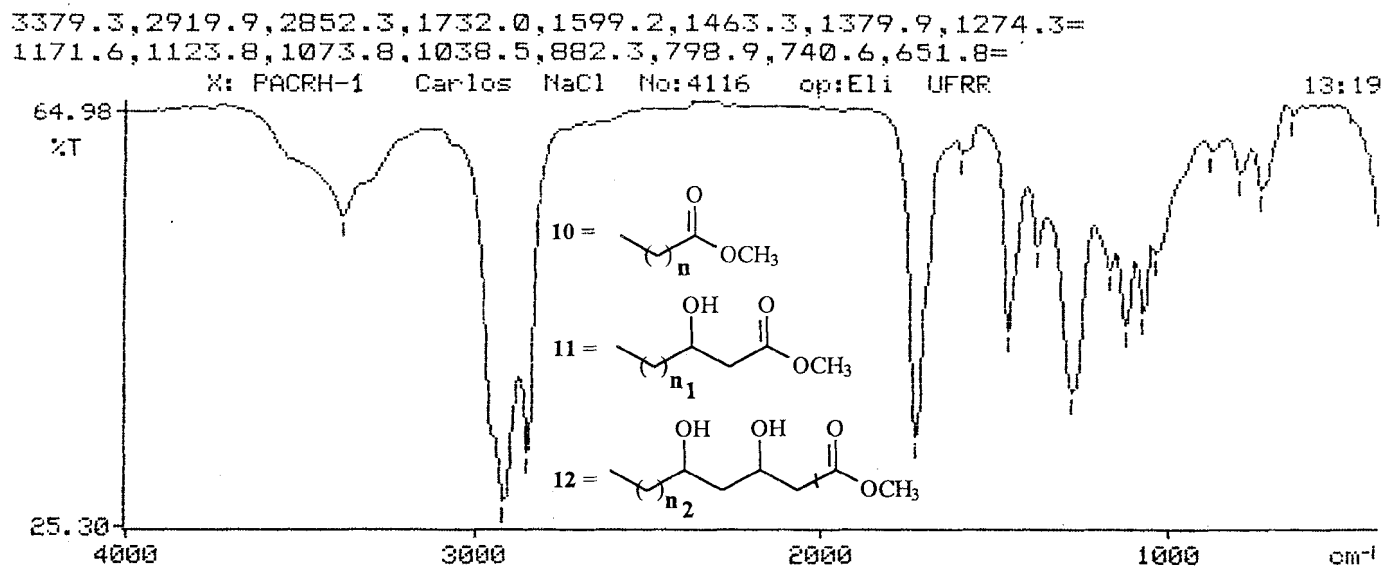


Figura 21 : Espectro de IV dos ésteres metílicos dos ácidos obtidos na hidrólise alcalina de PACRH-1 (10 + 11 + 12), em filme de NaCl.

Chromatogram
 Comment: PACRH-15

File: mario2.01

98-08-26 18:40

Scan: 1 to 1654 Int: 1504126(=100%)

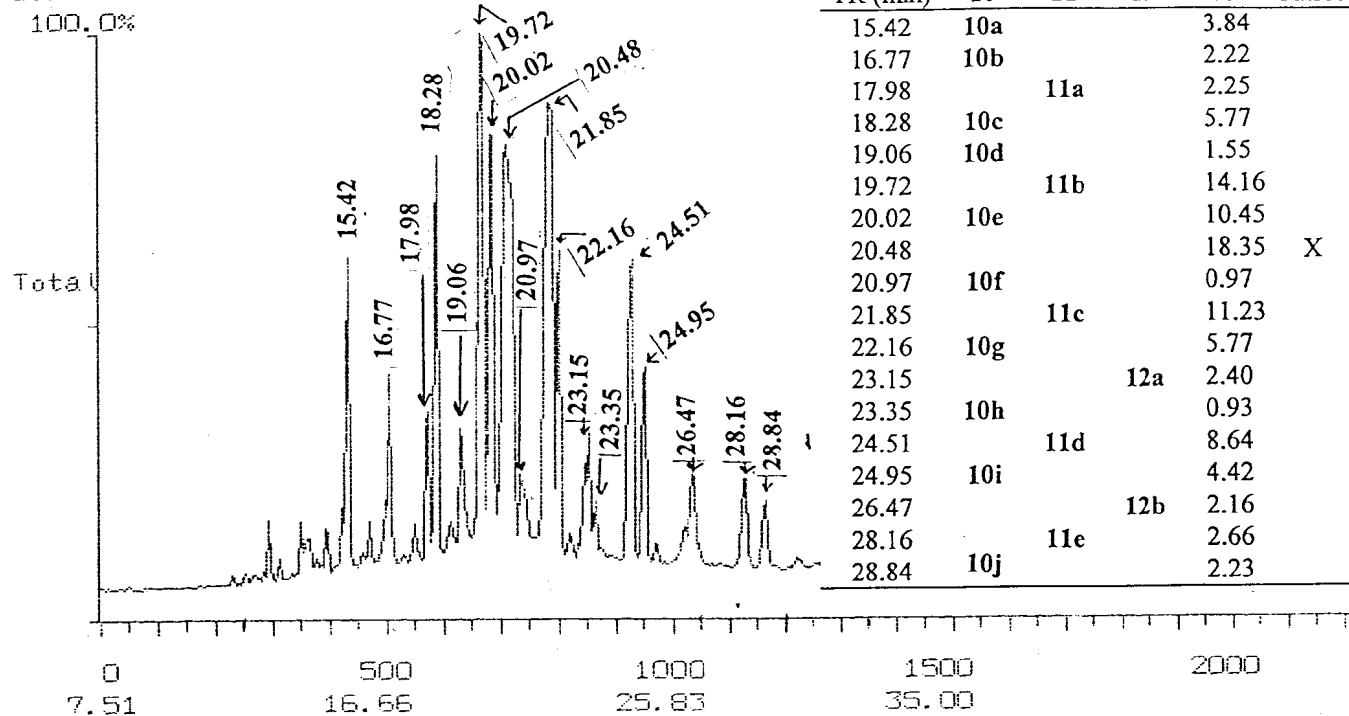


Figura 22 : Cromatograma de PACRH-1. Ésteres metílicos dos ácidos obtidos na hidrólise alcalina de PACRH1 (10 + 11 + 12).

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mar102.D 33-08-06 13:40

Scan: 708 0- 0) R.T.: 20.48min Base Peak: 149.0 Int: 41110 100.0%

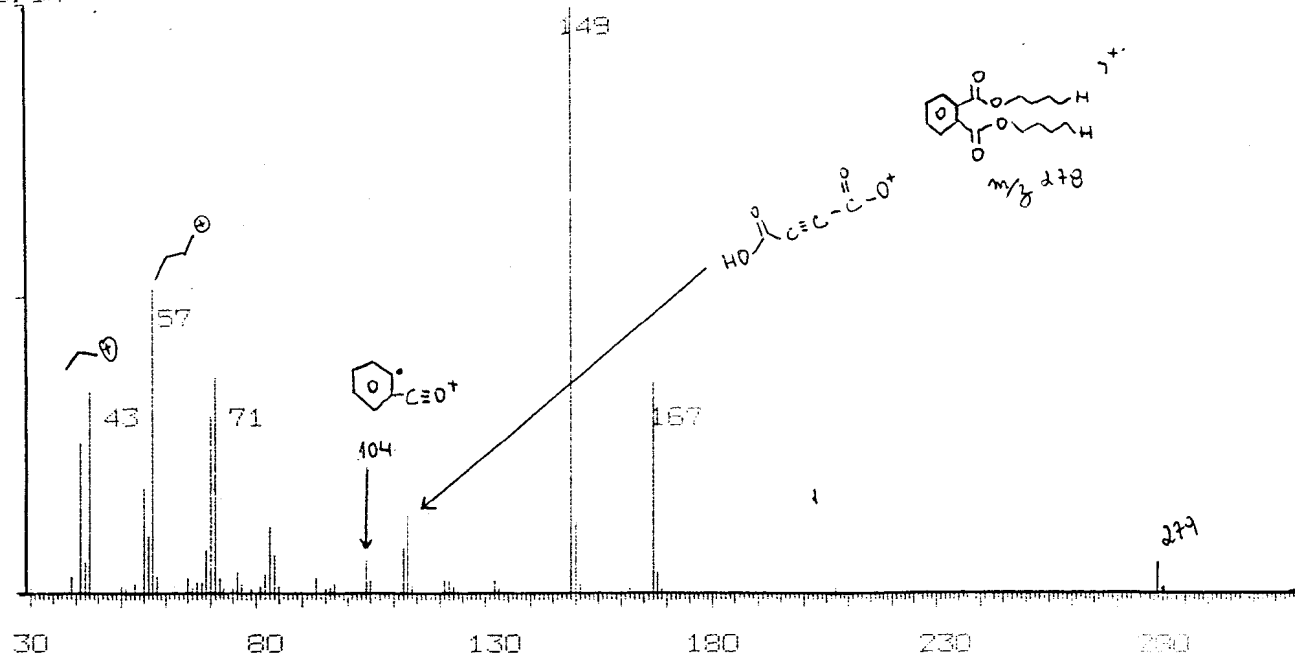


Figura 22a : Espectro de massas do ftalato de n-butila .

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.01 98-08-26 18:40

Scan: 432 (0- 0) R.T.: 15.42min Base Peak: 74.0 Int:191800(=100%)

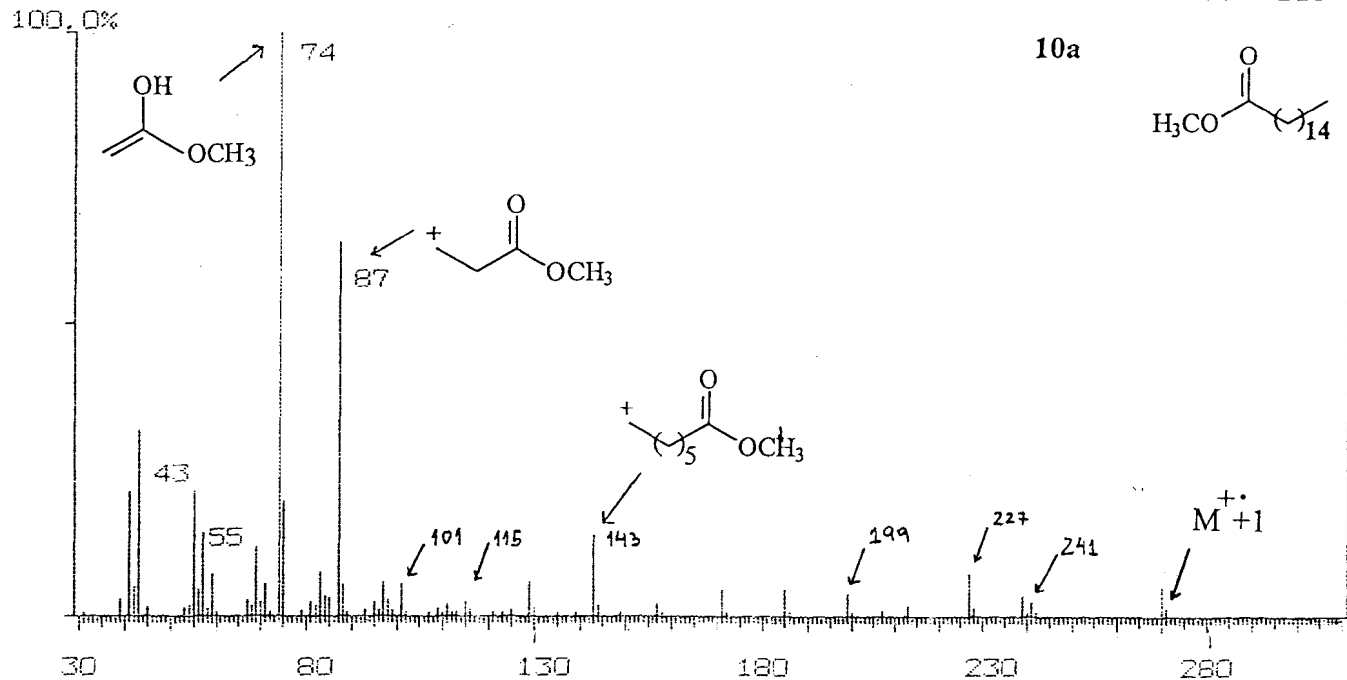


Figura 23 : Espectro de massas de 10a .

Mass Spectrum File: mario2.01 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 506 (0- 0) R.T.: 16.77min Base Peak: 74.0 Int:106000(=100%)

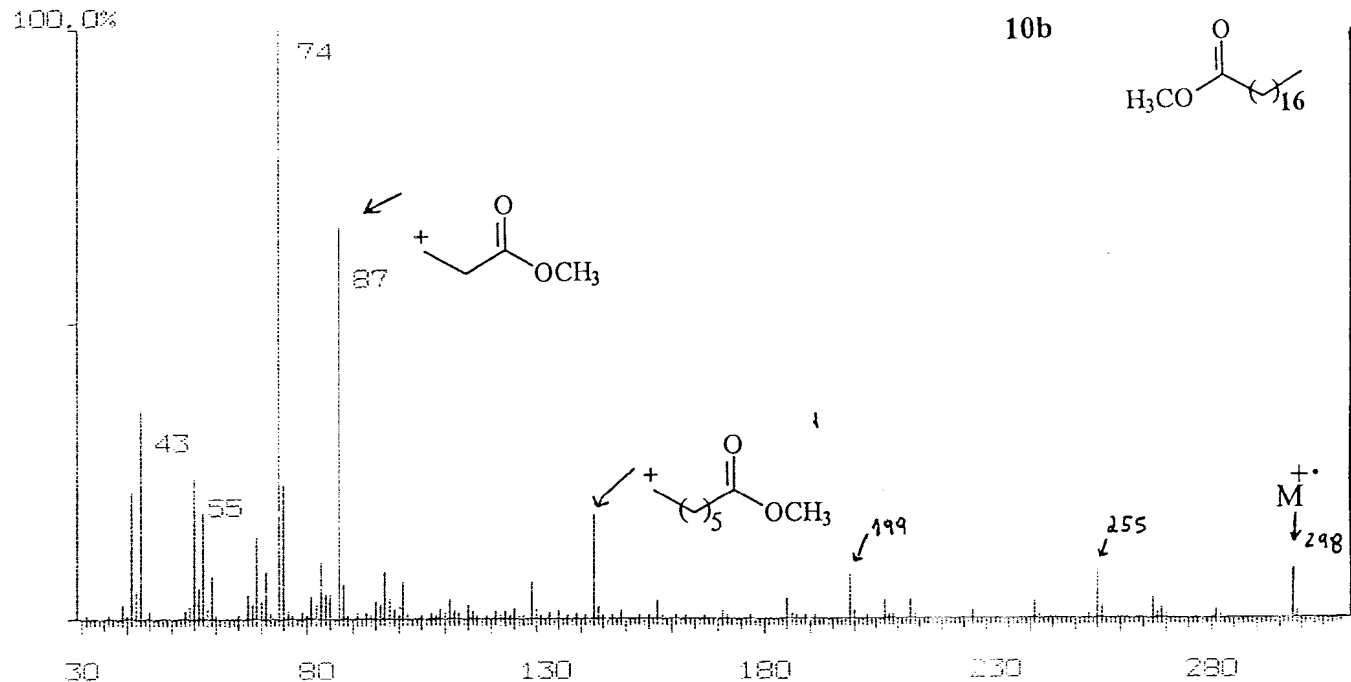


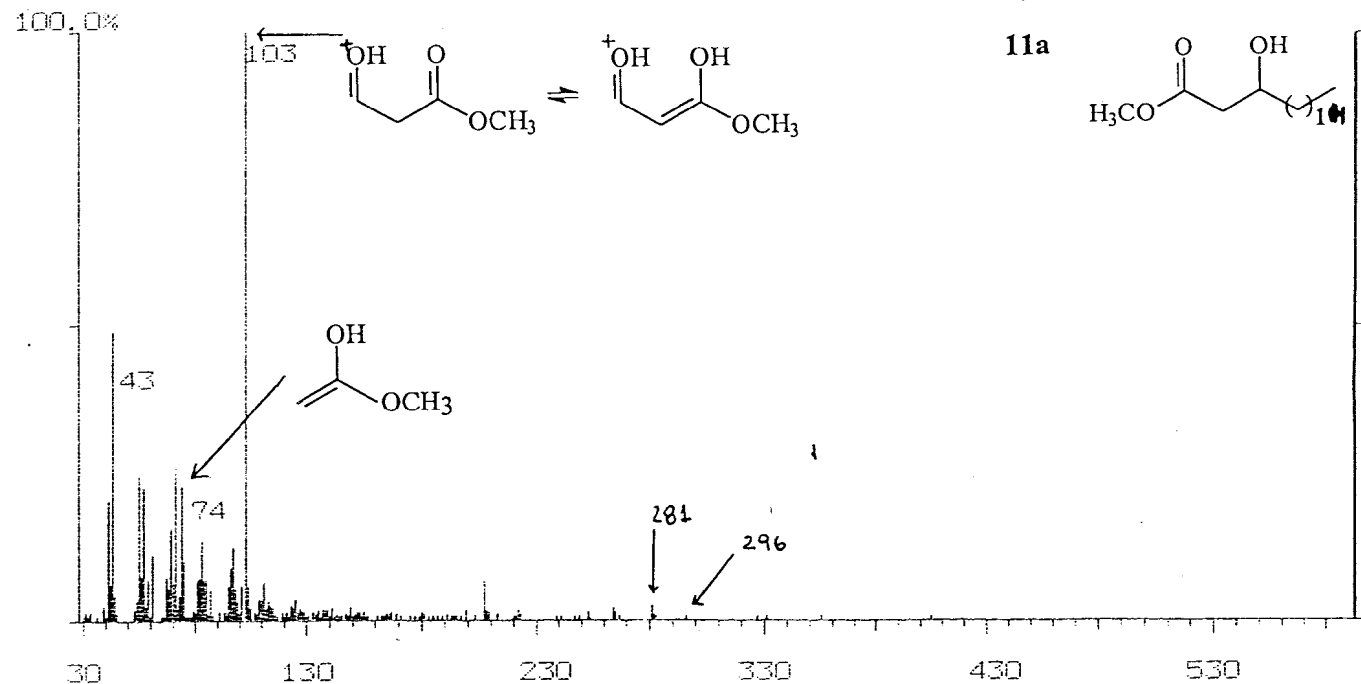
Figura 24 : Espectro de massas de 10b .

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.01

98-08-26 18:40

Scan: 572 (0- 0) R.T.: 17.98min Base Peak: 103.0 Int: 79000(=100%)



* Picos observados na análise na faixa de massas de 281 a 794.

* $\left[\begin{array}{l} 281 - 100 \\ 296 - 105 \end{array} \right]$

Figura 25 : Espectro de massas de 11a .

Mass Spectrum File: mario2.01 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 588 (0- 0) R.T.: 18.28min Base Peak: 74.0 Int:221700(=100%)

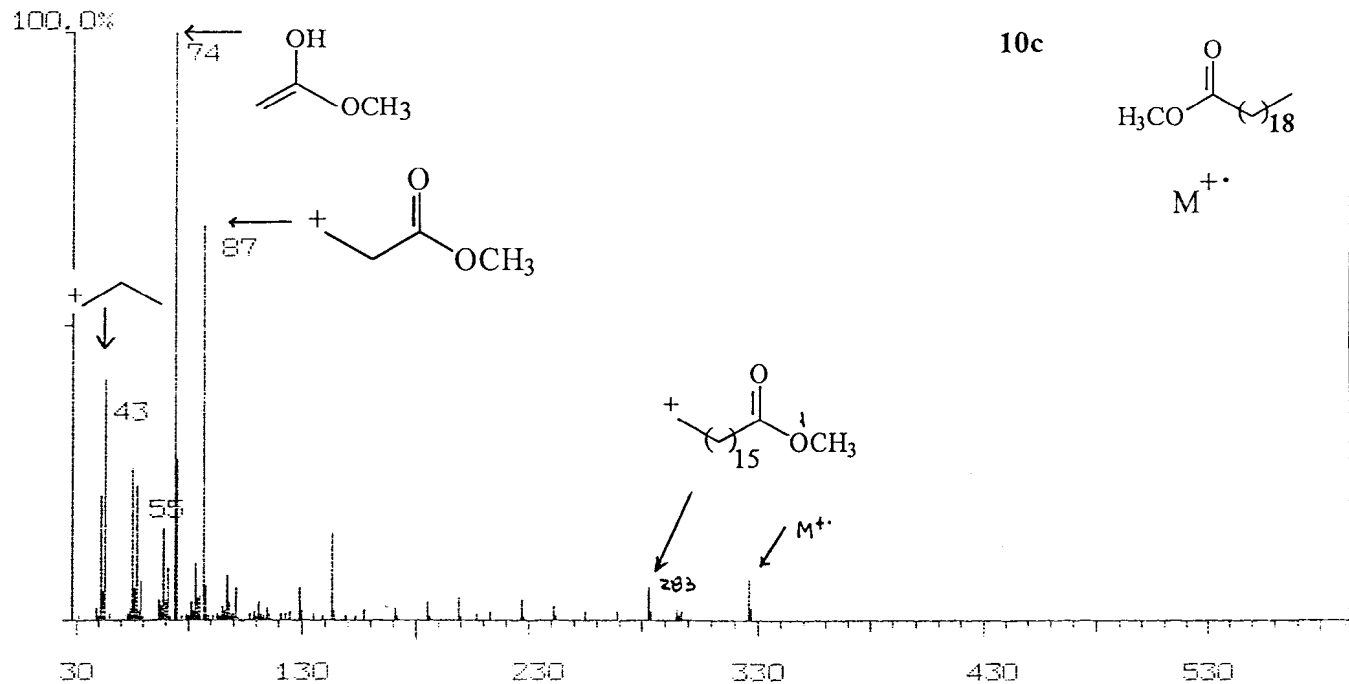


Figura 26 : Espectro de massas de 10c .

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.01

99-08-26 18:40

Scan: 531 (0- 0) R.T.: 19.05min Base Peak: 74.0 Int: 59600(=100%)

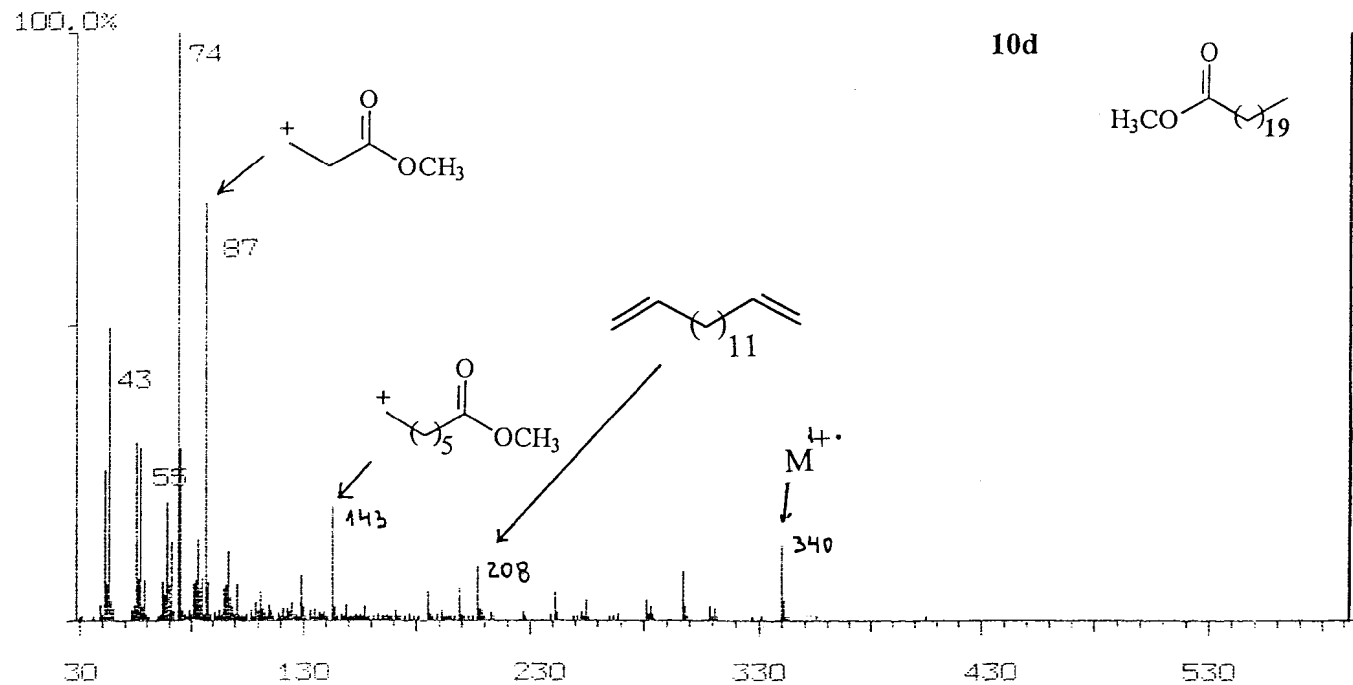


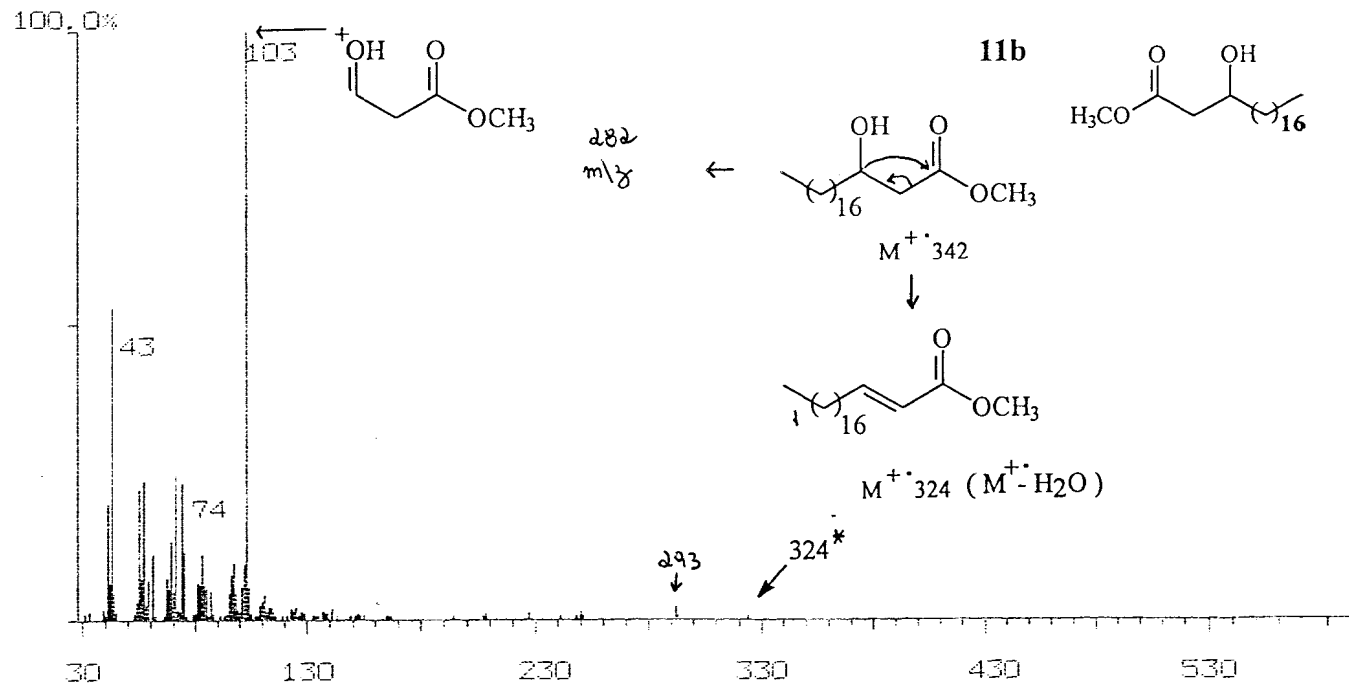
Figura 27: Espectro de massas de 10d .

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.01

98-08-26 18:40

Scan: 667 (0- 0) R.T.: 19.72min Base Peak: 103.0 Int:283600(=100%)



* Picos observados após análise das massas na faixa 291 - 370.

Figura 28 : Espectro de massas de 11b .

* $\begin{cases} 292 - 100 \\ 324 - 20.8 \\ 341 - 5.4 \end{cases}$

Mass Spectrum File: maria2.01 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 683 (0- 0) R.T.: 20.02min Base Peak: 74.0 Int:214400(=100%)

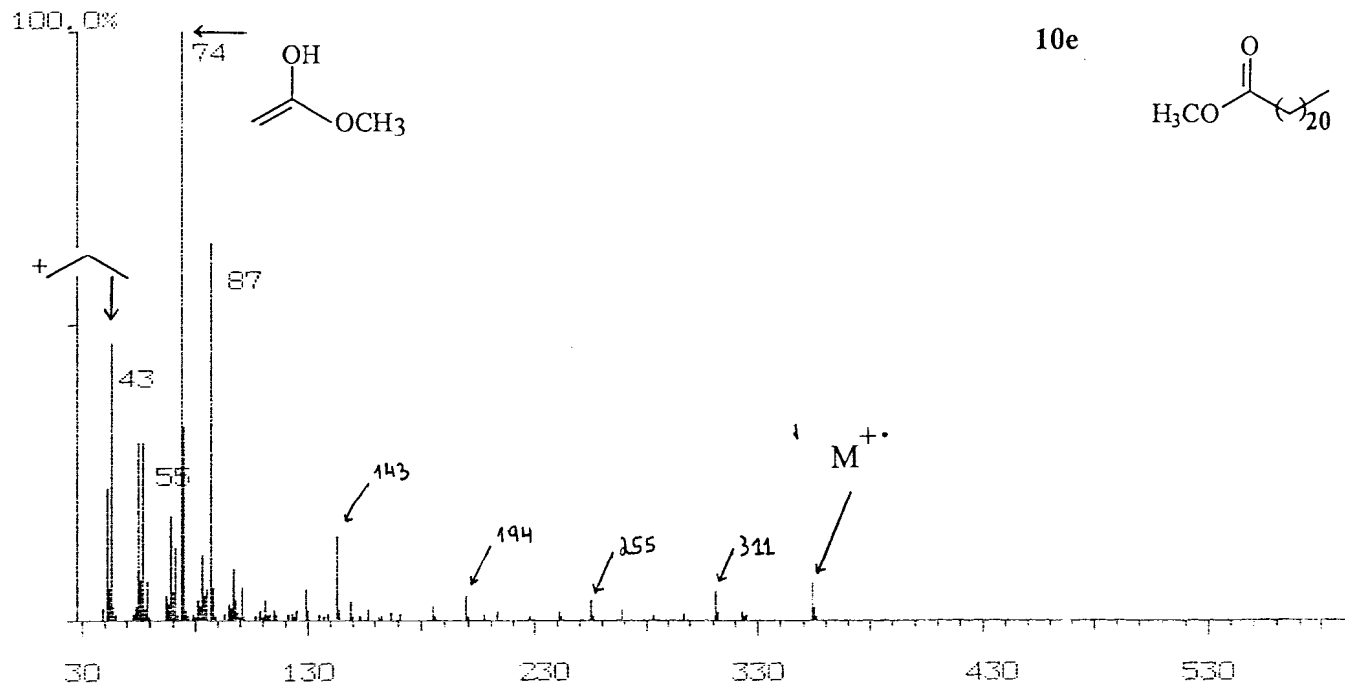


Figura 29 : Espectro de massas de 10e .

Mass Spectrum File: mario2.01 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 735 (0- 0) R.T.: 20.97min Base Peak: 74.0 Int: 34140(=100%)

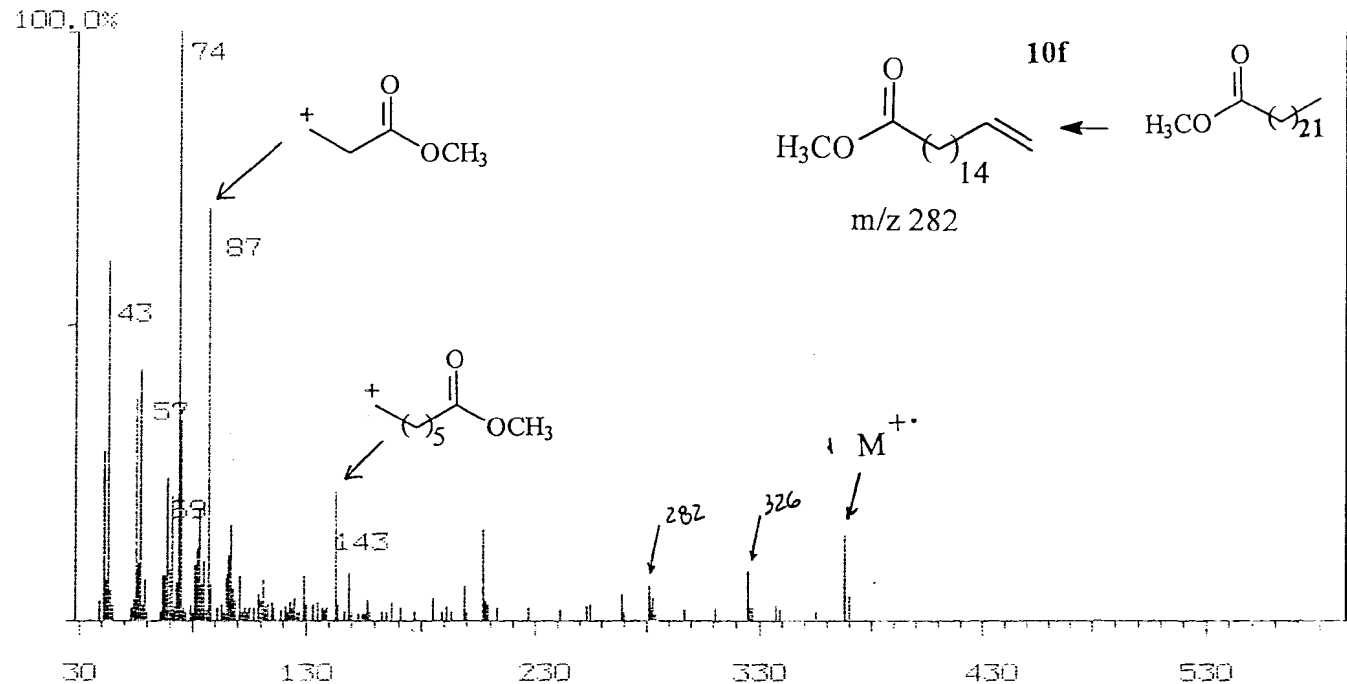


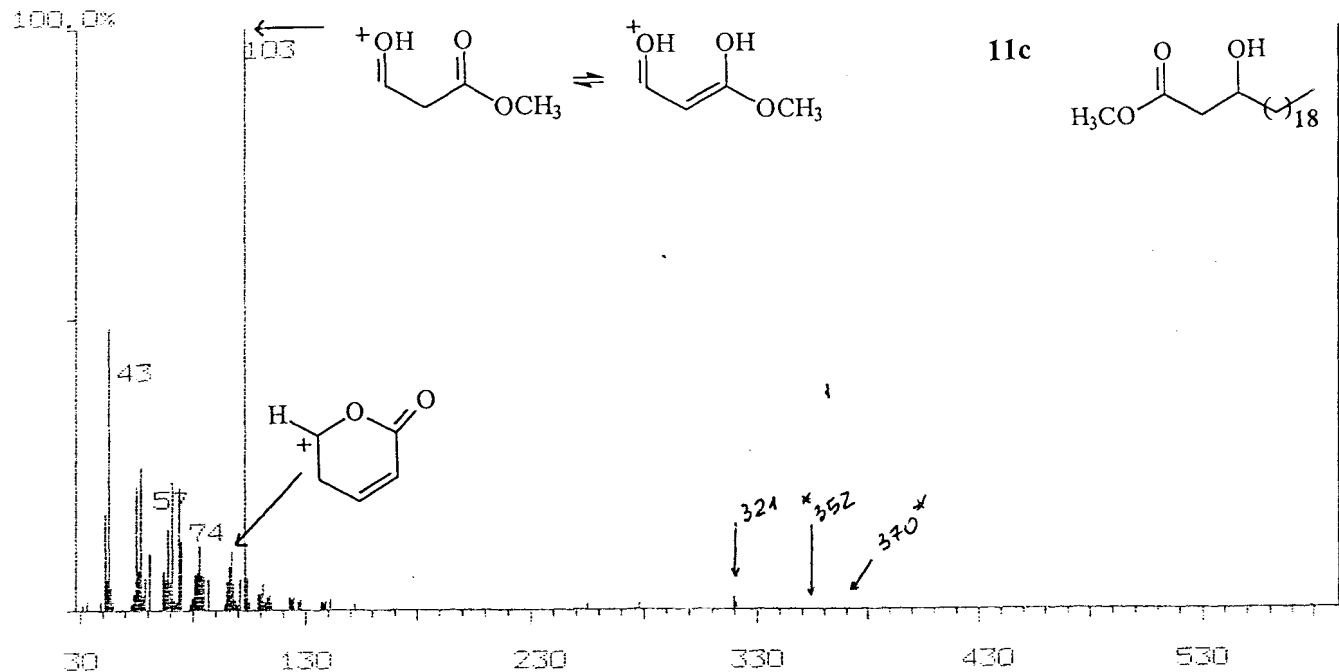
Figura 30 : Espectro de massas de 10f.

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.01

98-08-26 18:40

Scan: 783 (0- 0) R.T.: 21.85min Base Peak: 103.0 Int:258400(=100%)



* Picos observados após análise das massas na faixa 321 - 762.

Figura 31 : Espectro de massas de 11c .

* [321 - 100
352 - 63
371 - 10.6

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mar102.02

98-08-26 18:40

Scan: 1 0- 0) R.T.: 22.16min Base Peak: 74.0 Int:140000(=100%)

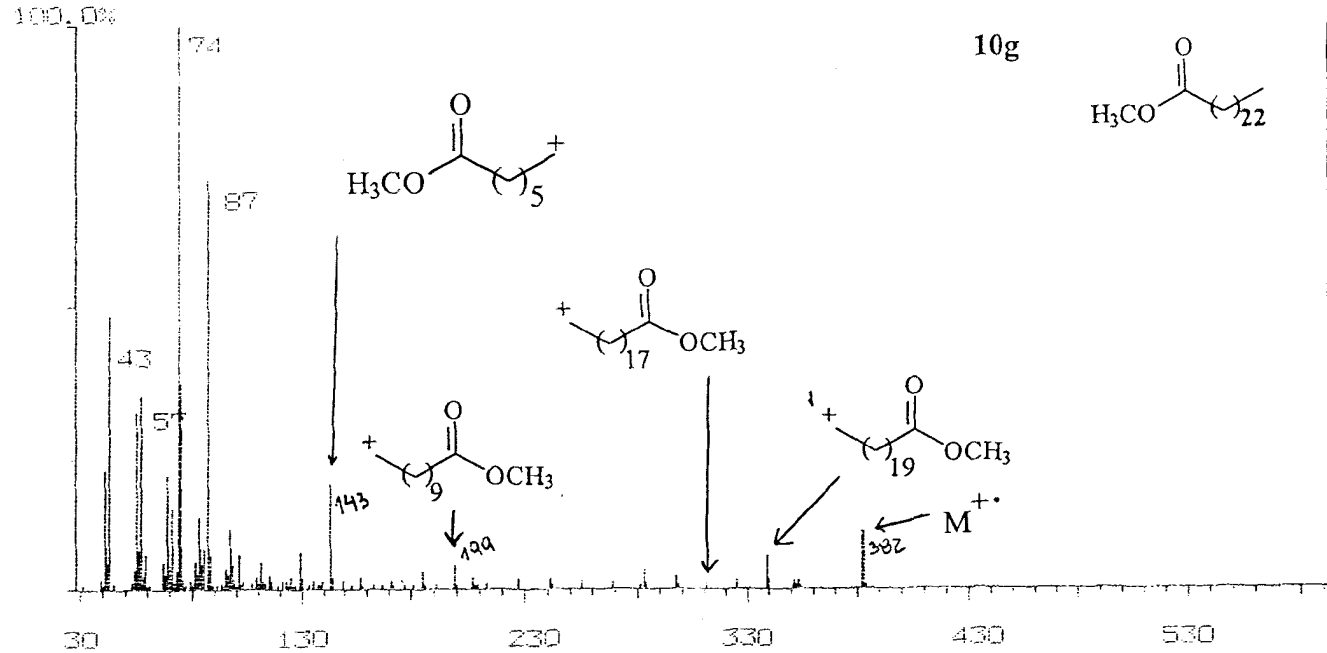


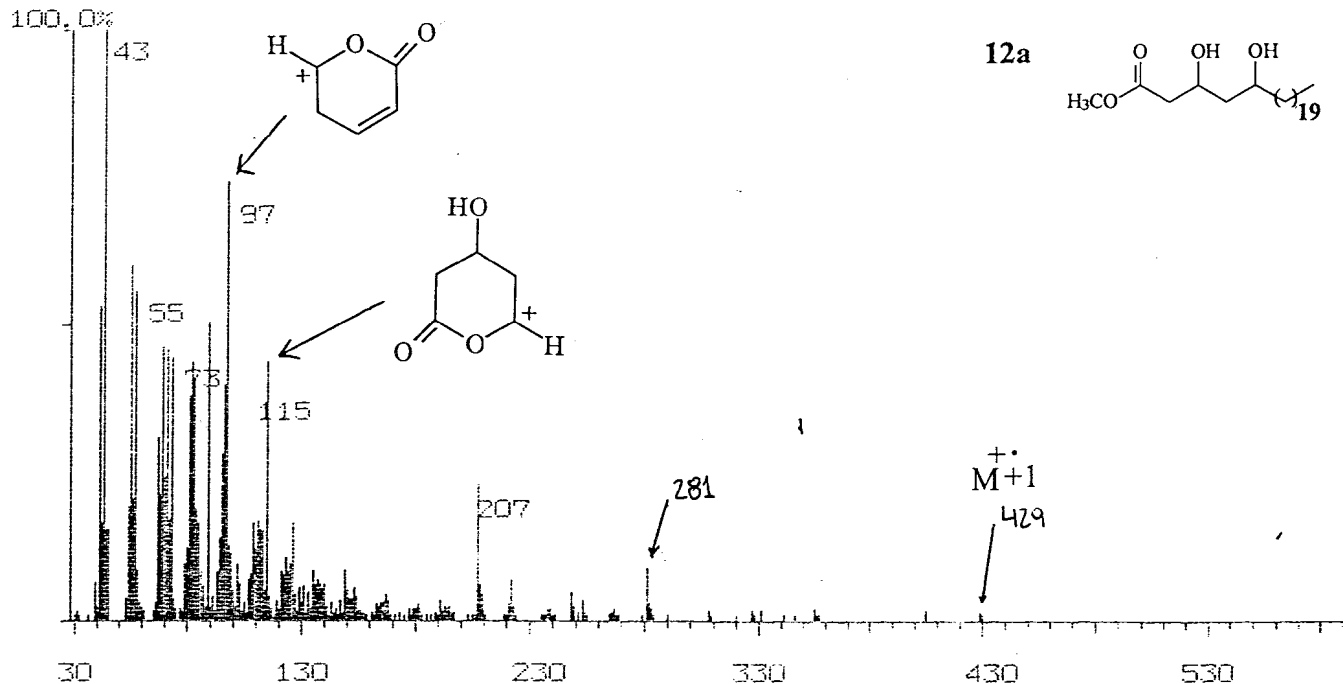
Figura 32 : Espectro de massas de 10g .

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.02

98-08-26 18:40

Scan: 55 (0- 0) R.T.: 23.15min Base Peak: 43.0 Int: 26400(=100%)



* Picos observados na análise na faixa de massas de 281 a 430.

Figura 33 : Espectro de massas de 12a.

* $\left[\begin{array}{l} 281 - 100 \\ 282 - 33 \\ 429 - 15 \end{array} \right]$

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.02

98-08-26 18:40

Scan: 66 (0- 0) R.T.: 23.35min Base Peak: 74.0 Int: 24790(=100%)

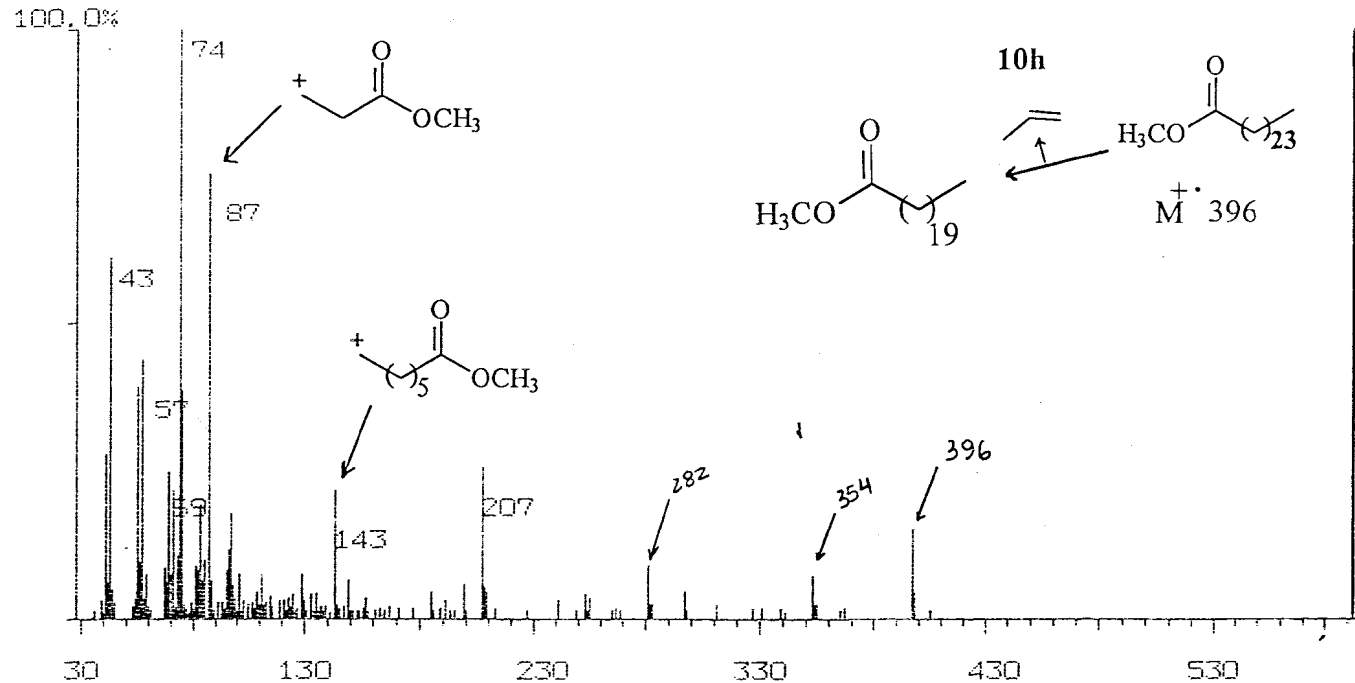
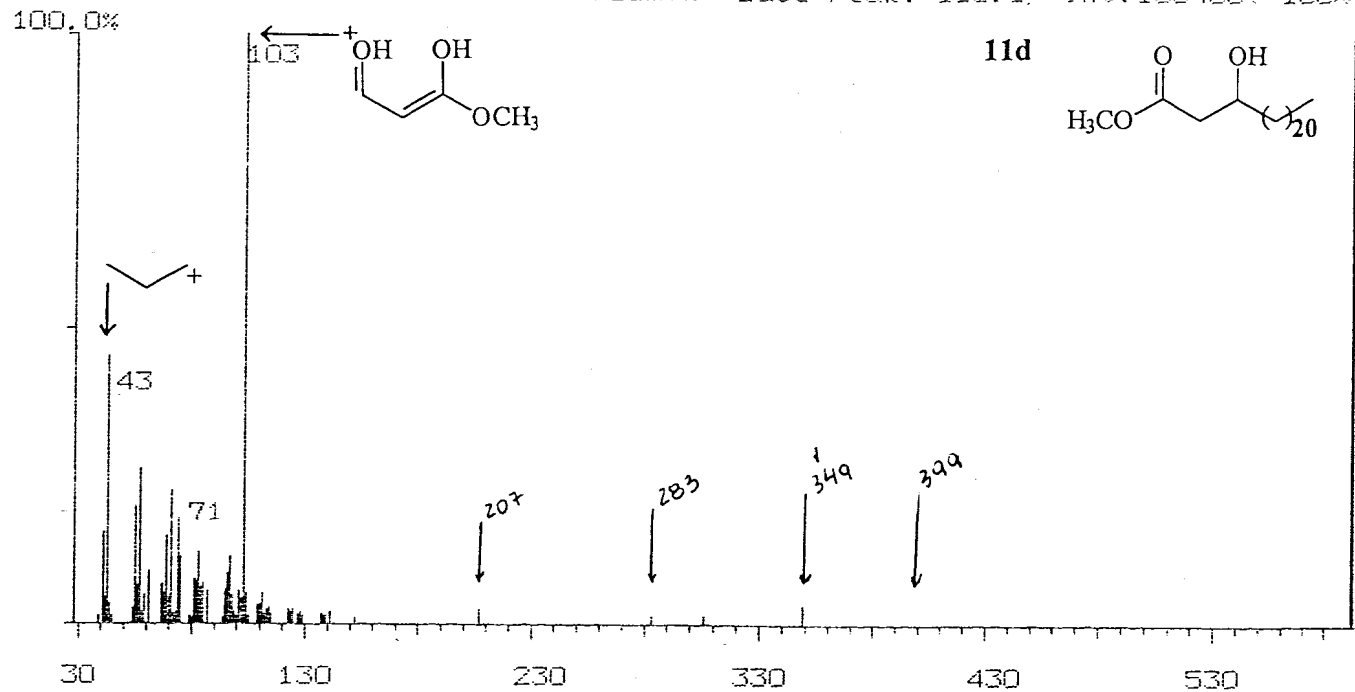


Figura 34 : Espectro de massas de 10h .

Mass Spectrum File: mar102.02 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 129 (0- 0) R.T.: 24.51min Base Peak: 103.0 Int:166400(=100%)



* Picos observados na análise na faixa de massas de 347 a 800.

Figura 35 : Espectro de massas de 11d .

* [349 - 100
381 - 31
399 - 4

Mass Spectrum File: mario2.02 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 153 (0- 0) R.T.: 24.95min Base Peak: 74.0 Int: 80000(=100%)

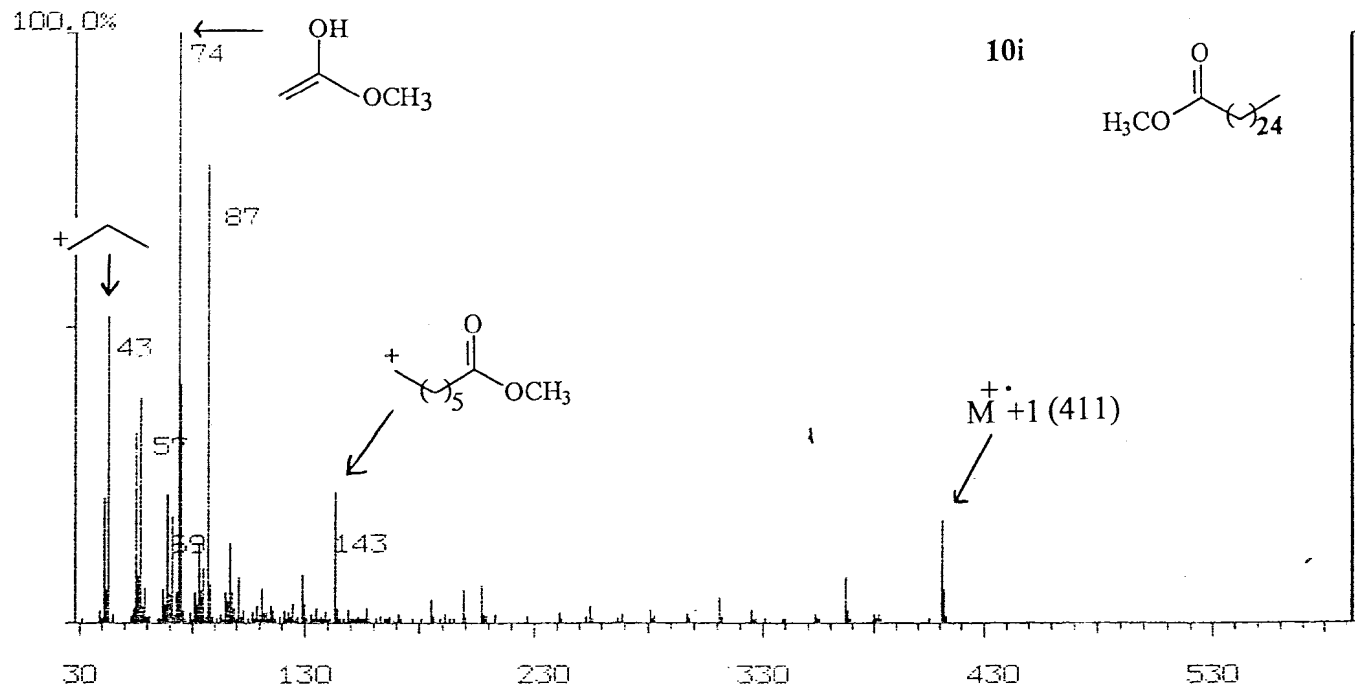


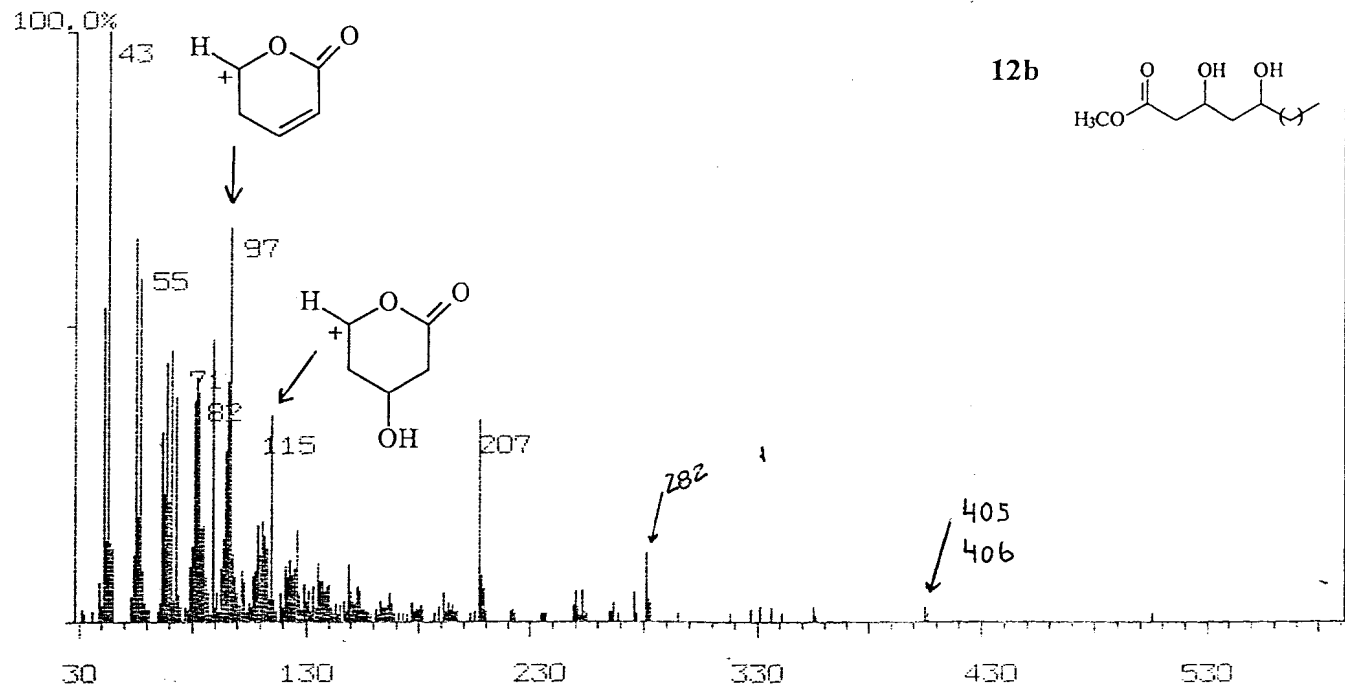
Figura 36 : Espectro de massas de 10i .

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.02

98-08-26 18:40

Scan: 236 (0- 0) R.T.: 26.47min Base Peak: 43.0 Int: 19650(=100%)



* Picos observados após análise das massas na faixa 378 - 545.

Figura 37 : Espectro de massas de 12b .

* [405 - 100
406 - 61
505 - 57

Mass Spectrum
Comment: PACRH-15

File: mario2.03

98-08-26 18:40

Scan: 68 (0- 0) R.T.: 28.16min Base Peak: 103.0 Int: 45100(=100%)

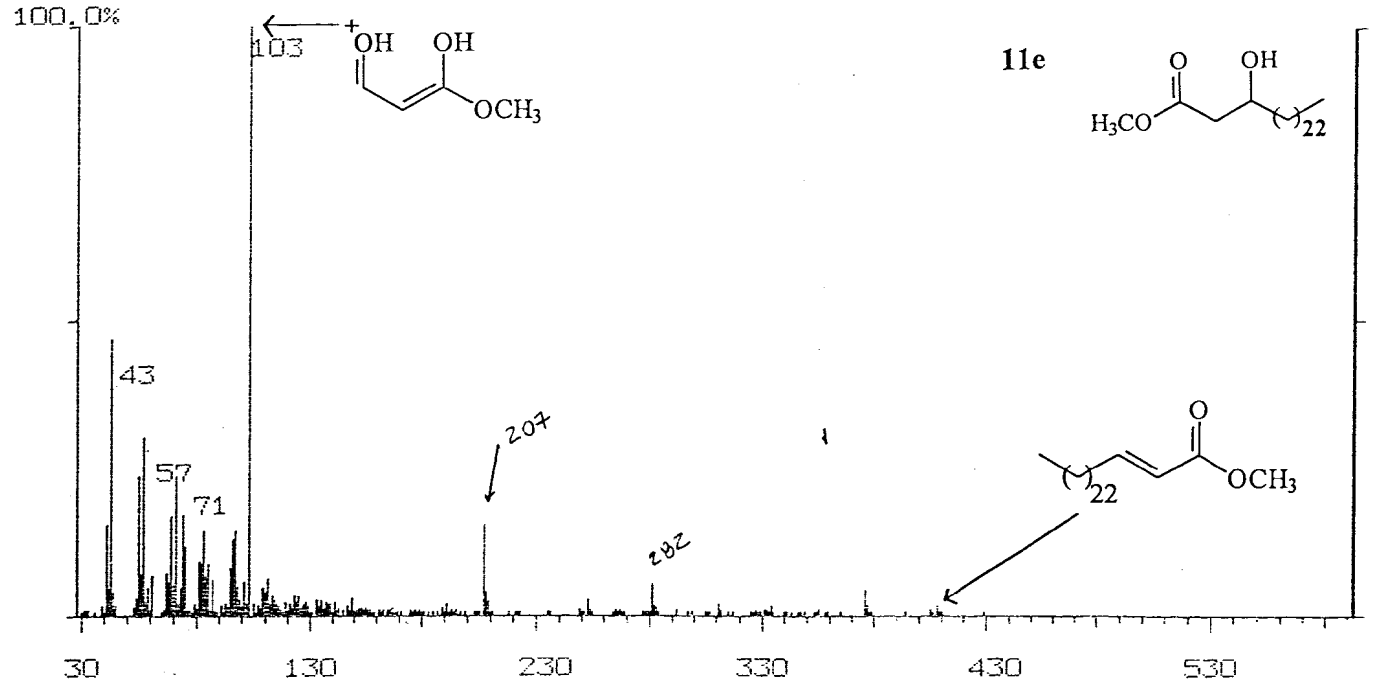


Figura 38 : Espectro de massas de 11e .

Mass Spectrum File: mar102.D3 98-08-26 18:40
Comment: PACRH-15

Scan: 105 (0- 0) R.T.: 28.84min Base Peak: 74.0 Int: 24840(=100%)

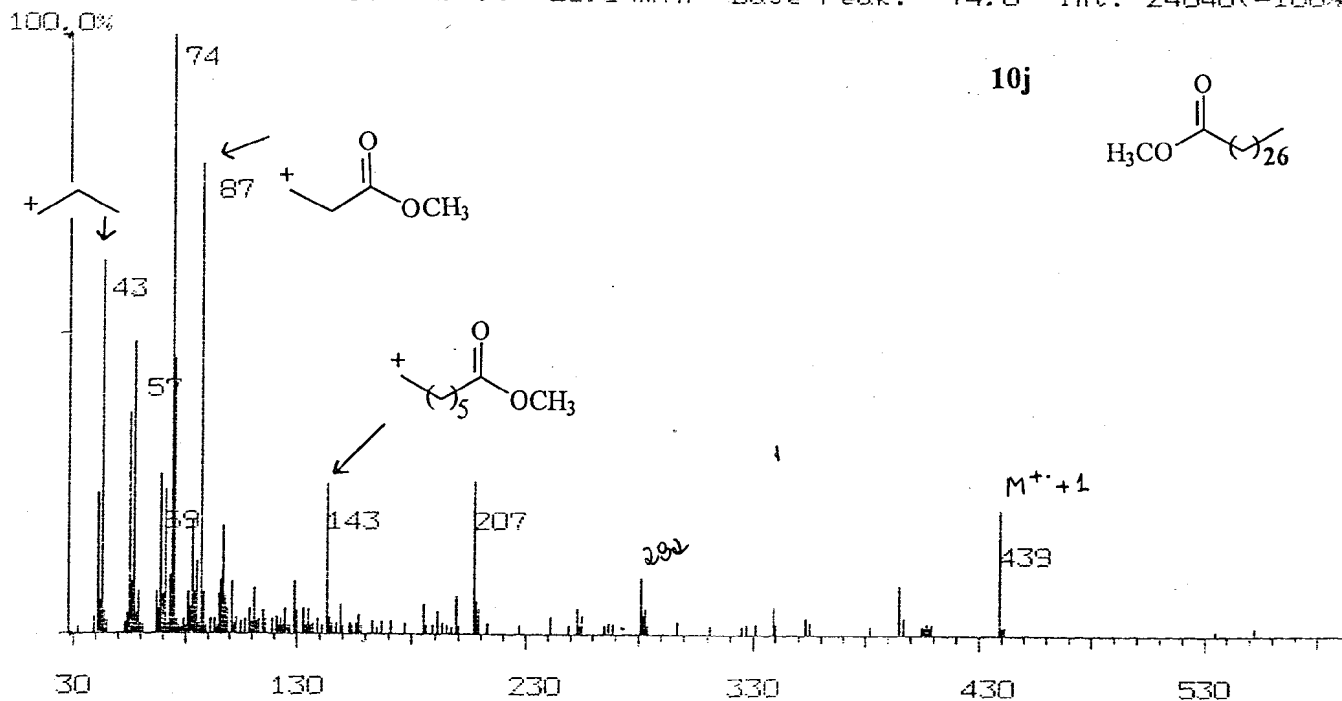


Figura 39 : Espectro de massas de 10j .

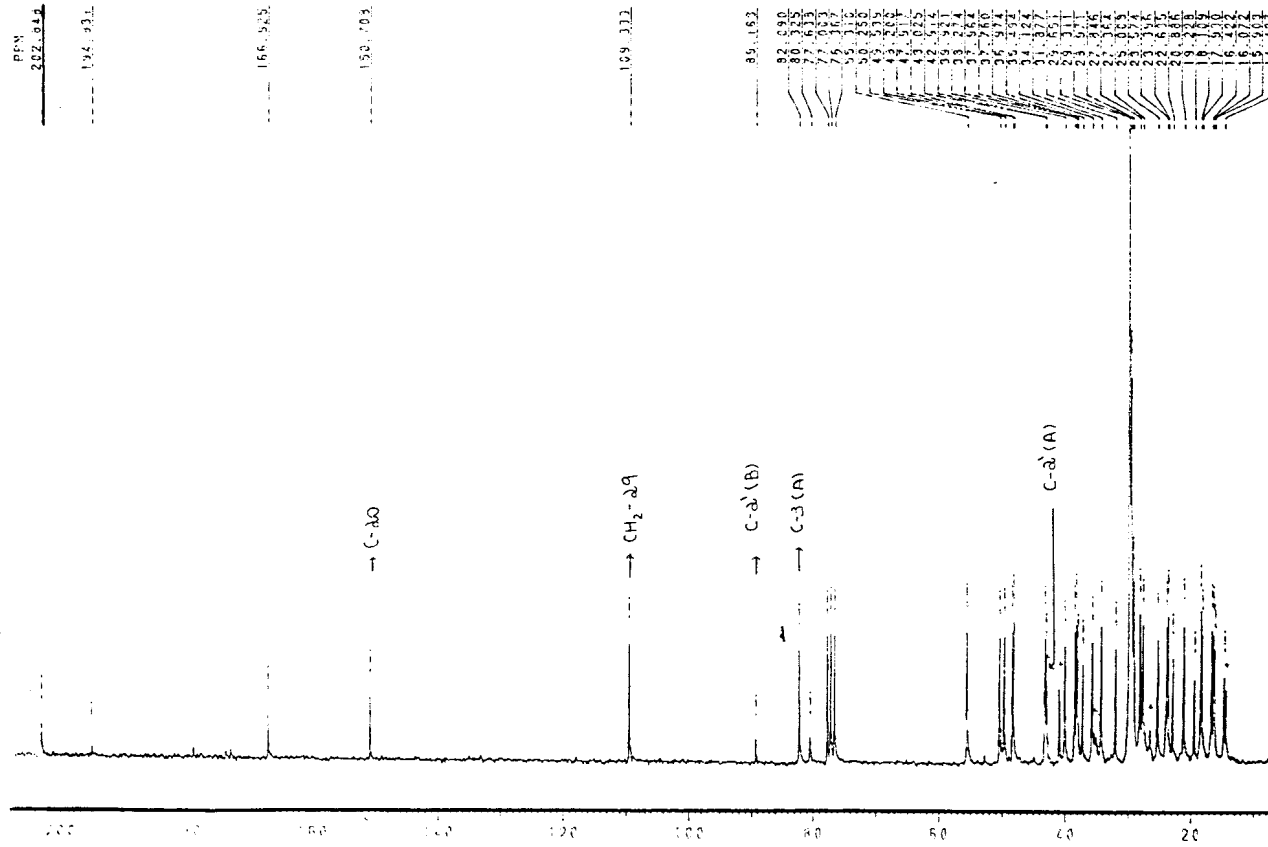


Figura 41 : Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz) de PACRH-1 (**11**) totalmente desacoplado, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna, após a reação de oxidação com PCC .

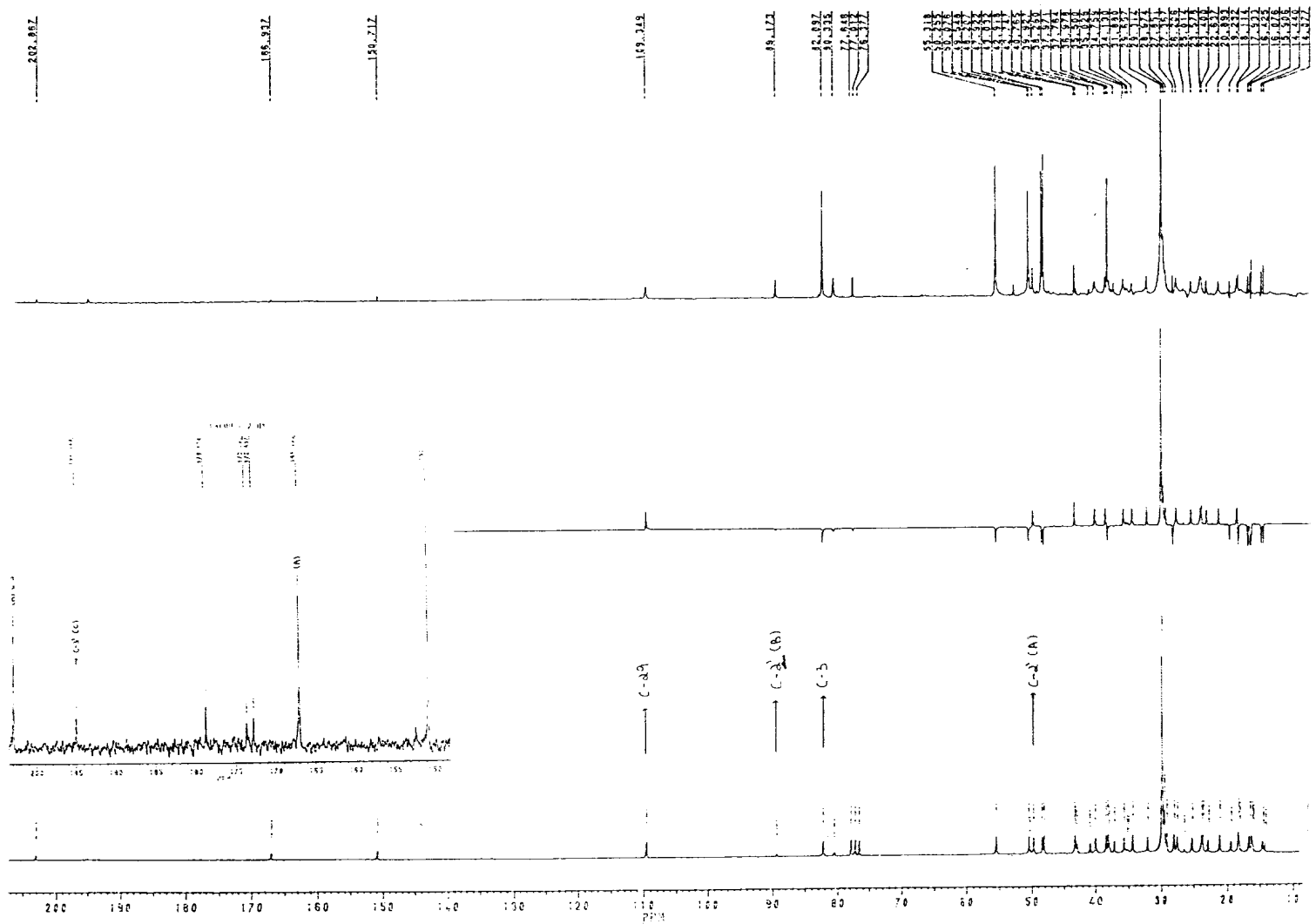


Figura 42 : Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11) com DEPT ($\theta = 90$ e 135°), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna, após a reação de oxidação com PCC .

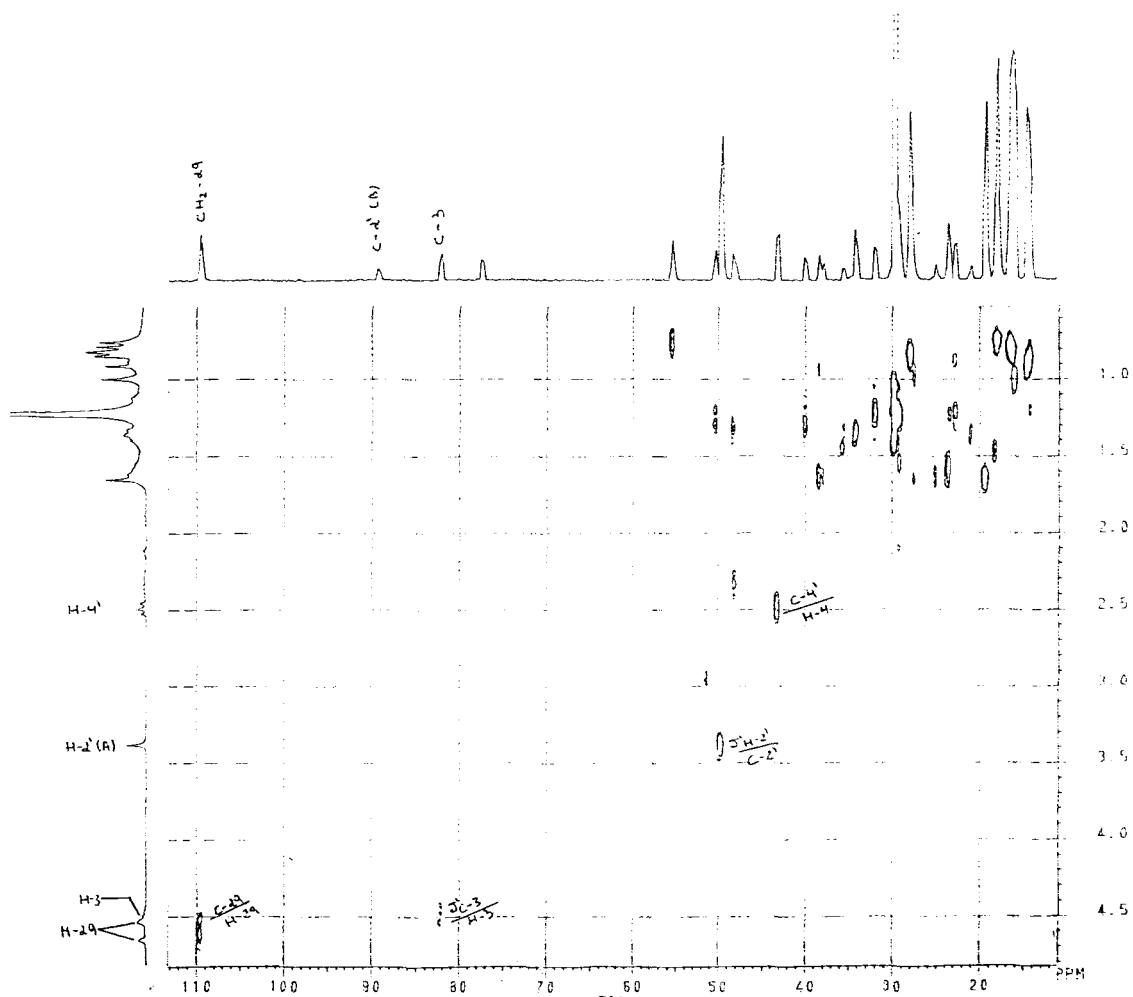


Figura 42a : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de 11-OXI (expandido).

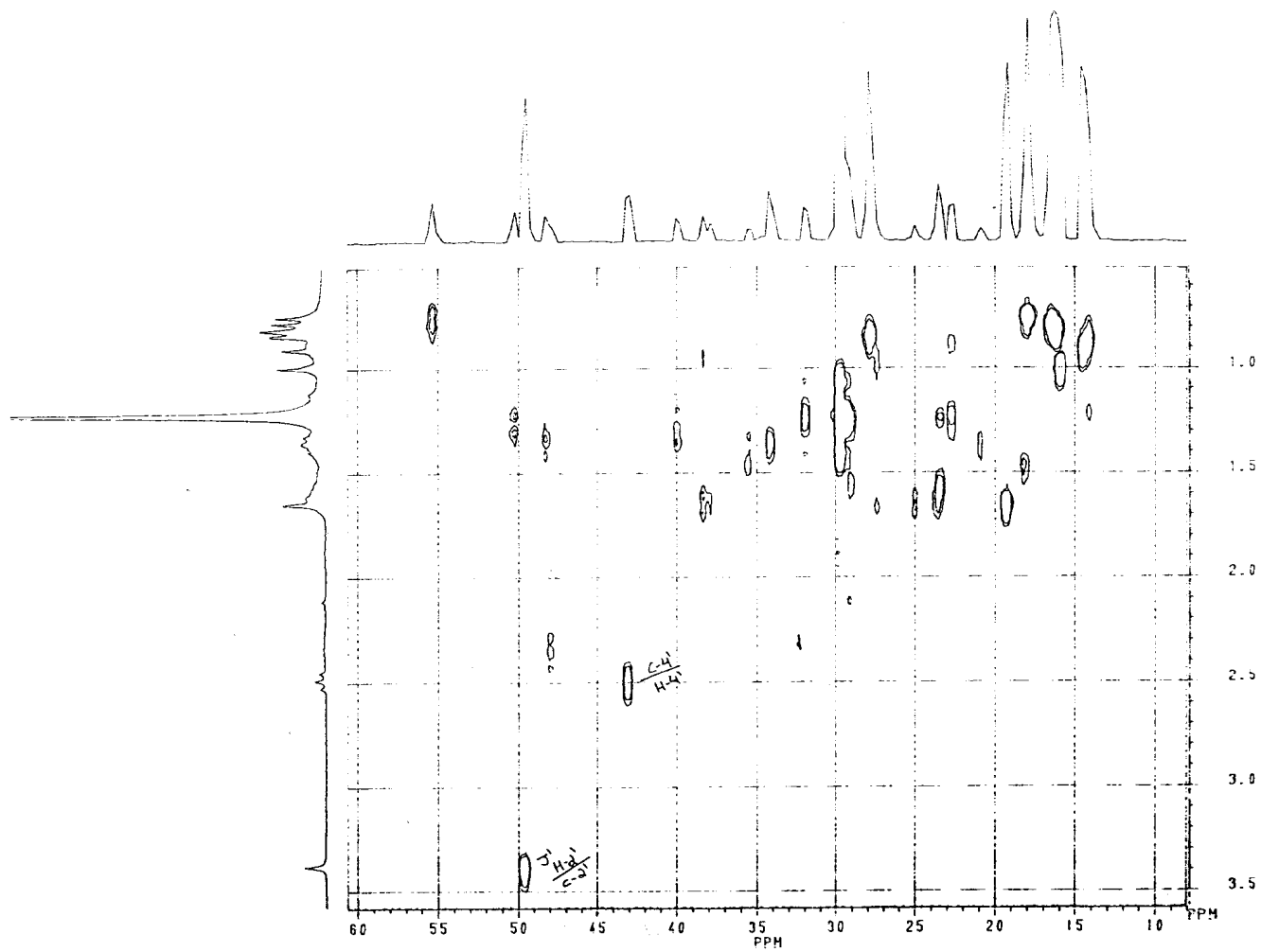


Figura 42b : Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de 11-OXI (expandido).

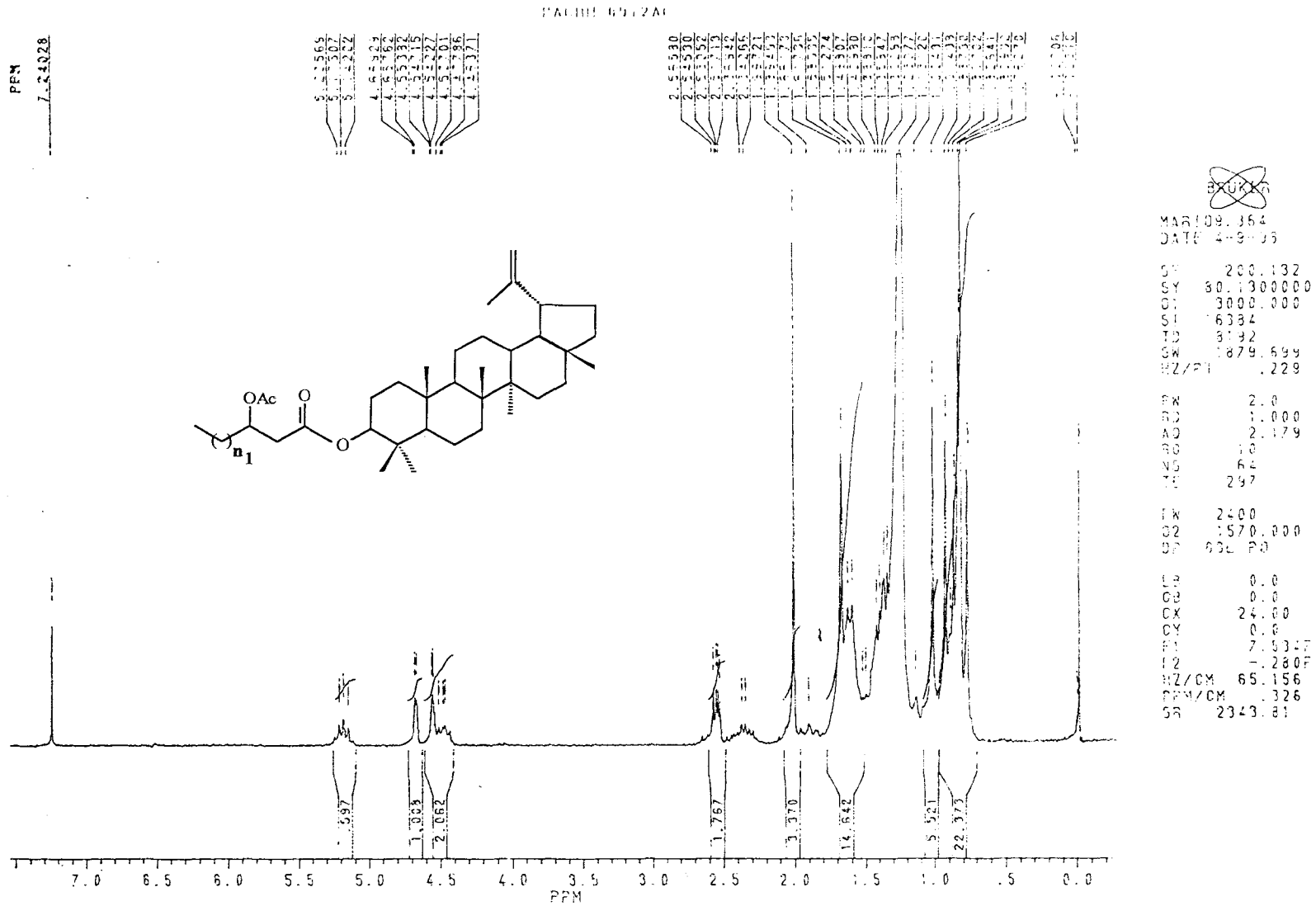


Figura 43 : Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (11), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna, após a reação de acetilação .

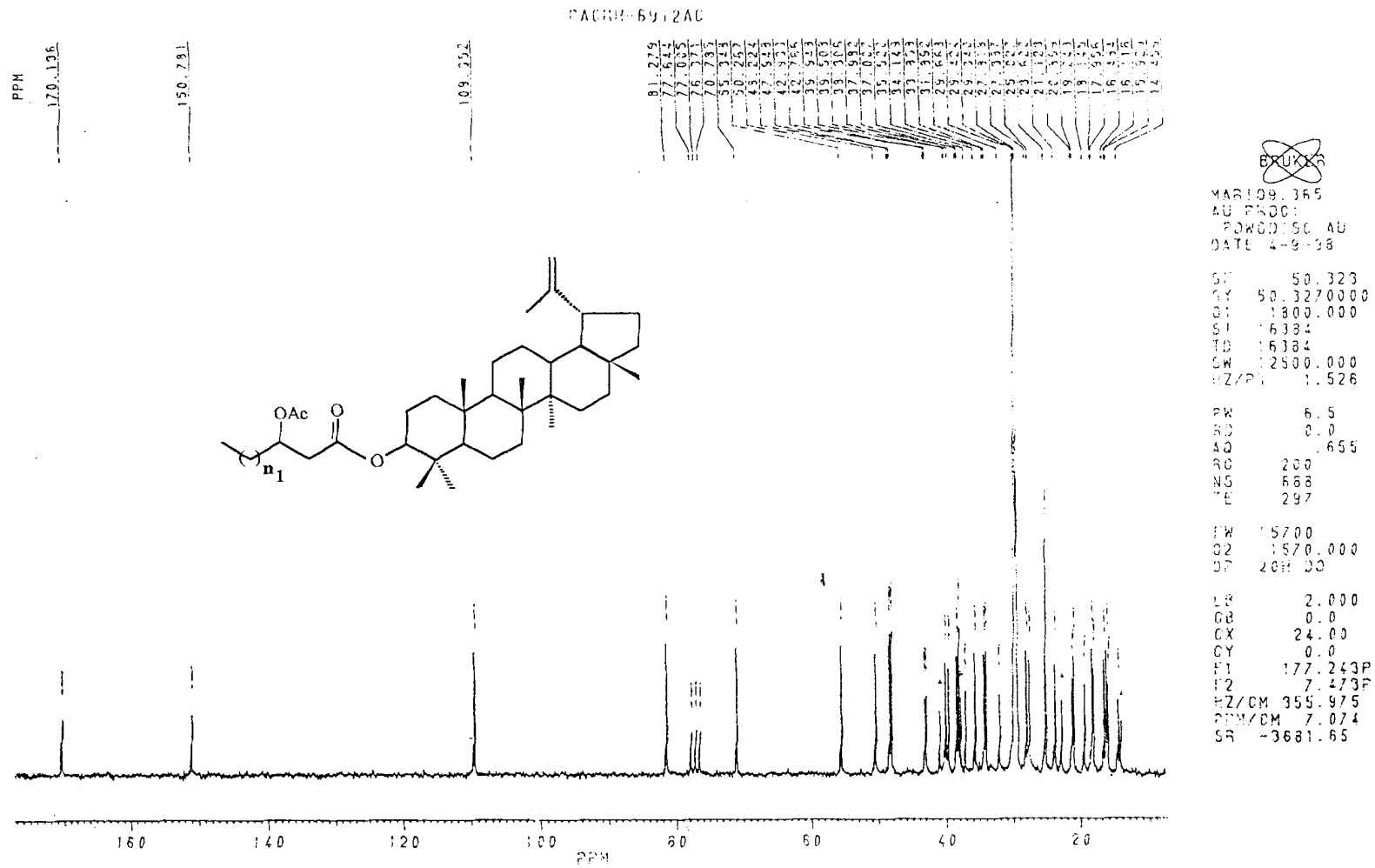
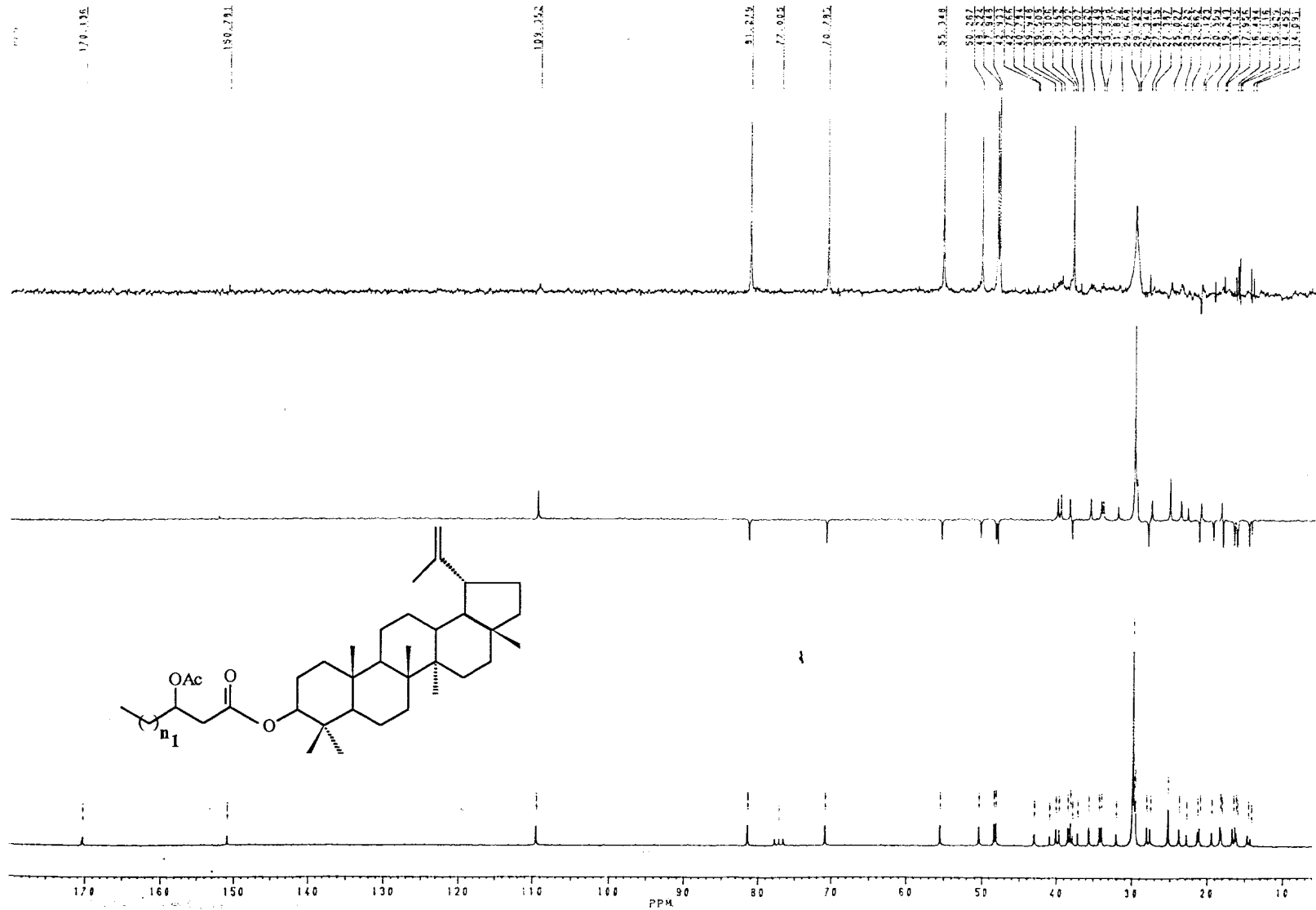


Figura 44 : Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11) totalmente desacoplado, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna, após a reação de acetilação .



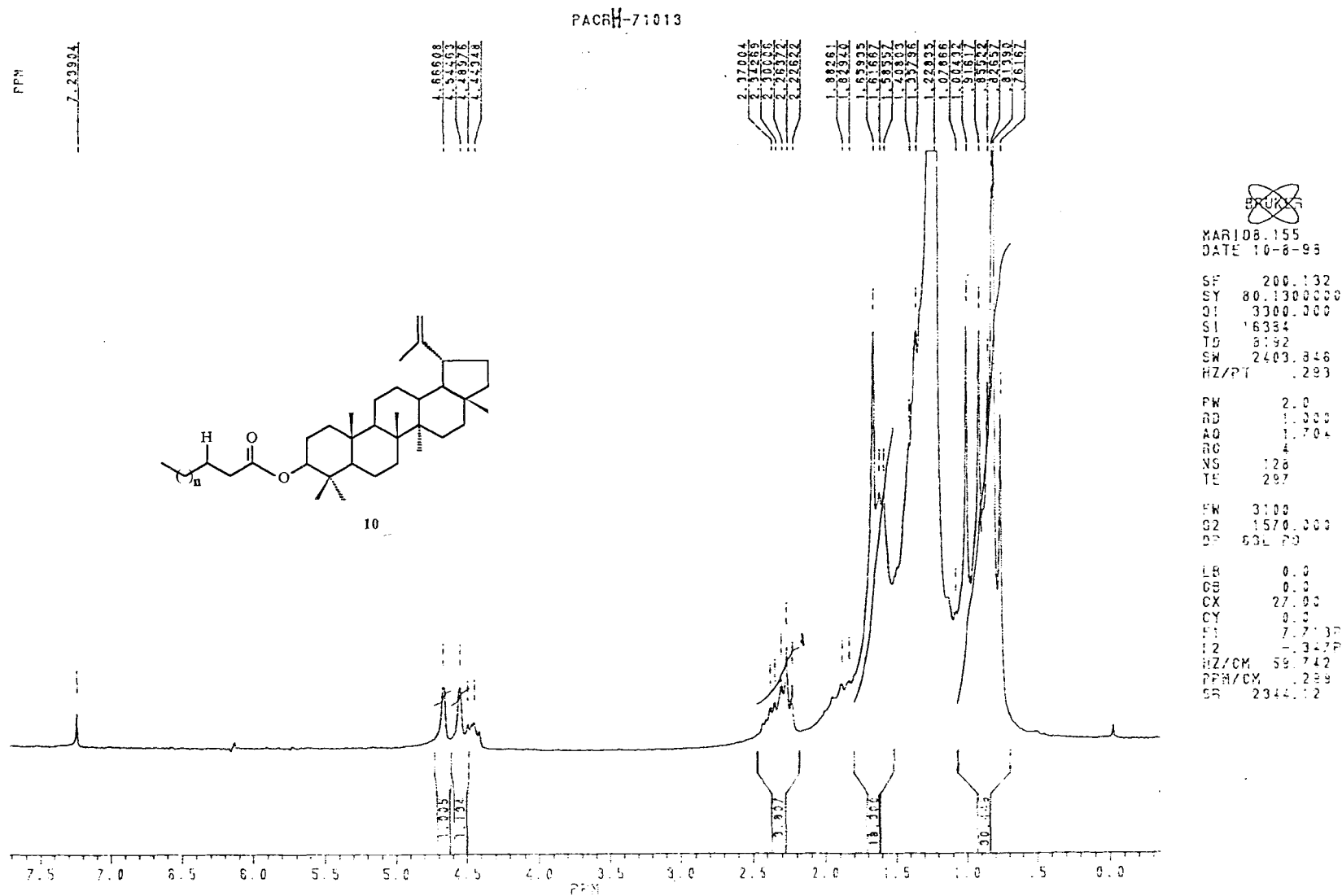


Figura 46 : Espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) de PACRH-1 (10), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

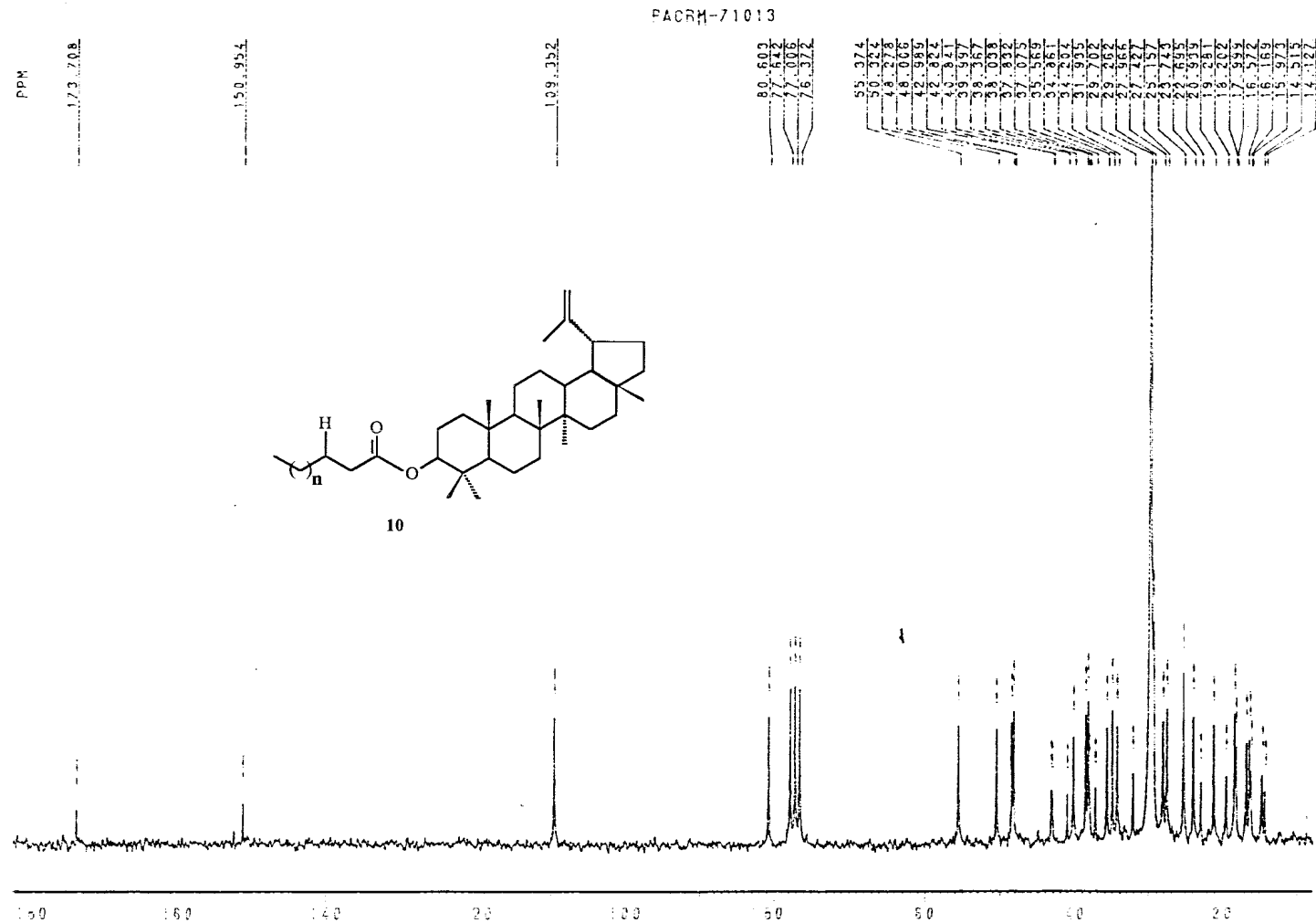


Figura 47 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (10) totalmente desacoplado, registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

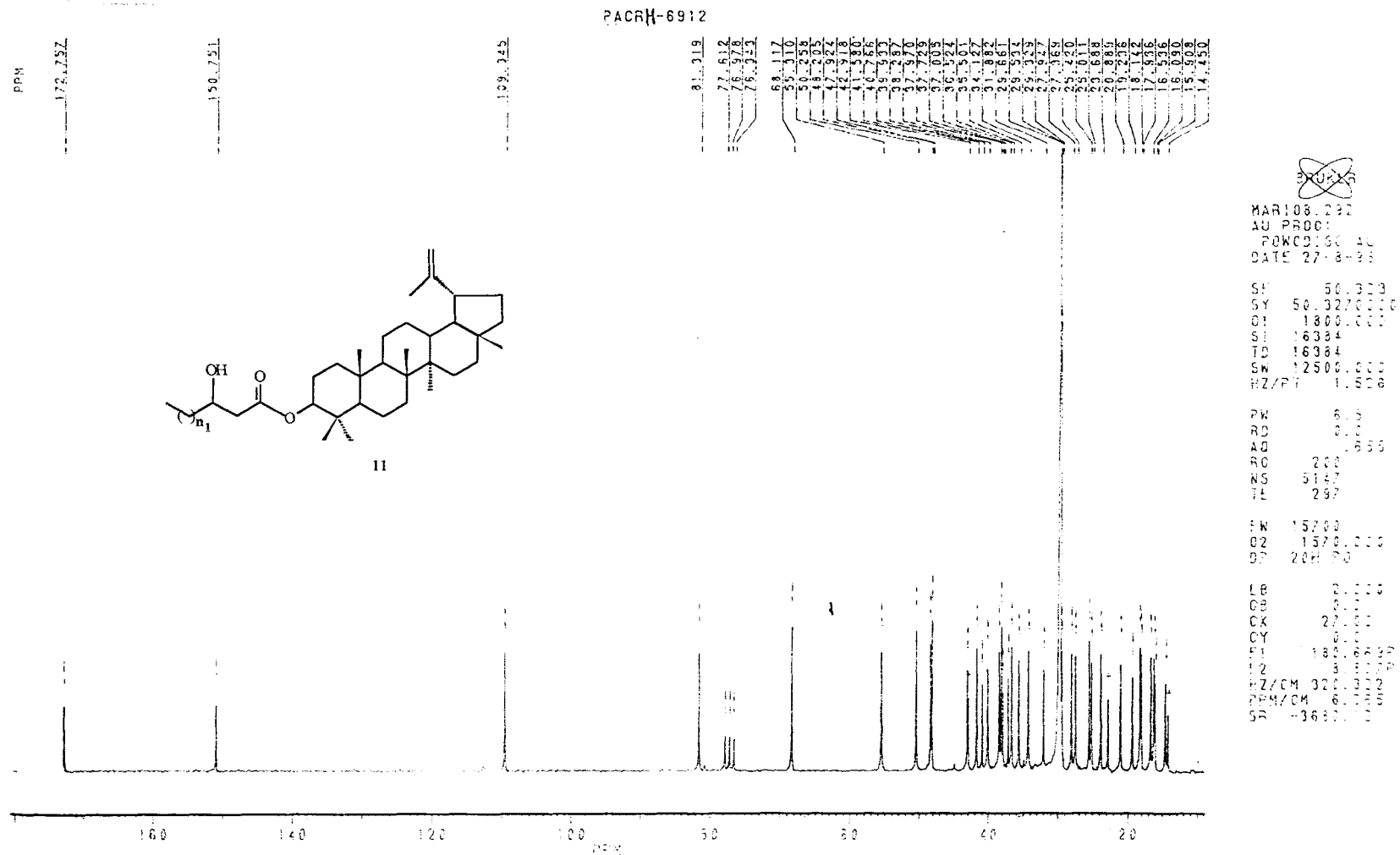


Figura 50 : Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11) totalmente desacoplado, registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna .

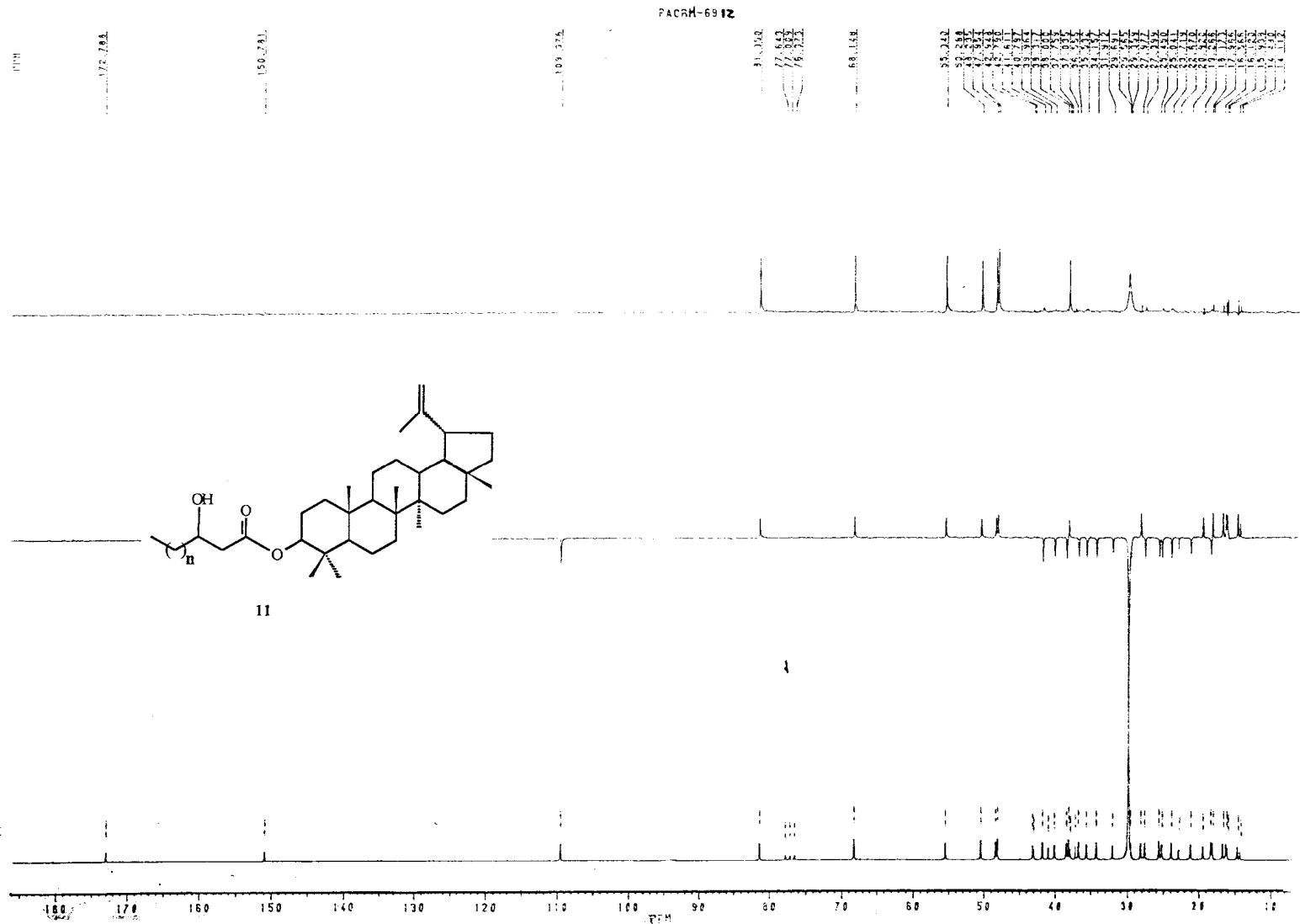


Figura 51 : Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz) de PACRH-1 (11) com DEPT (θ = 90 e 135°), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna .

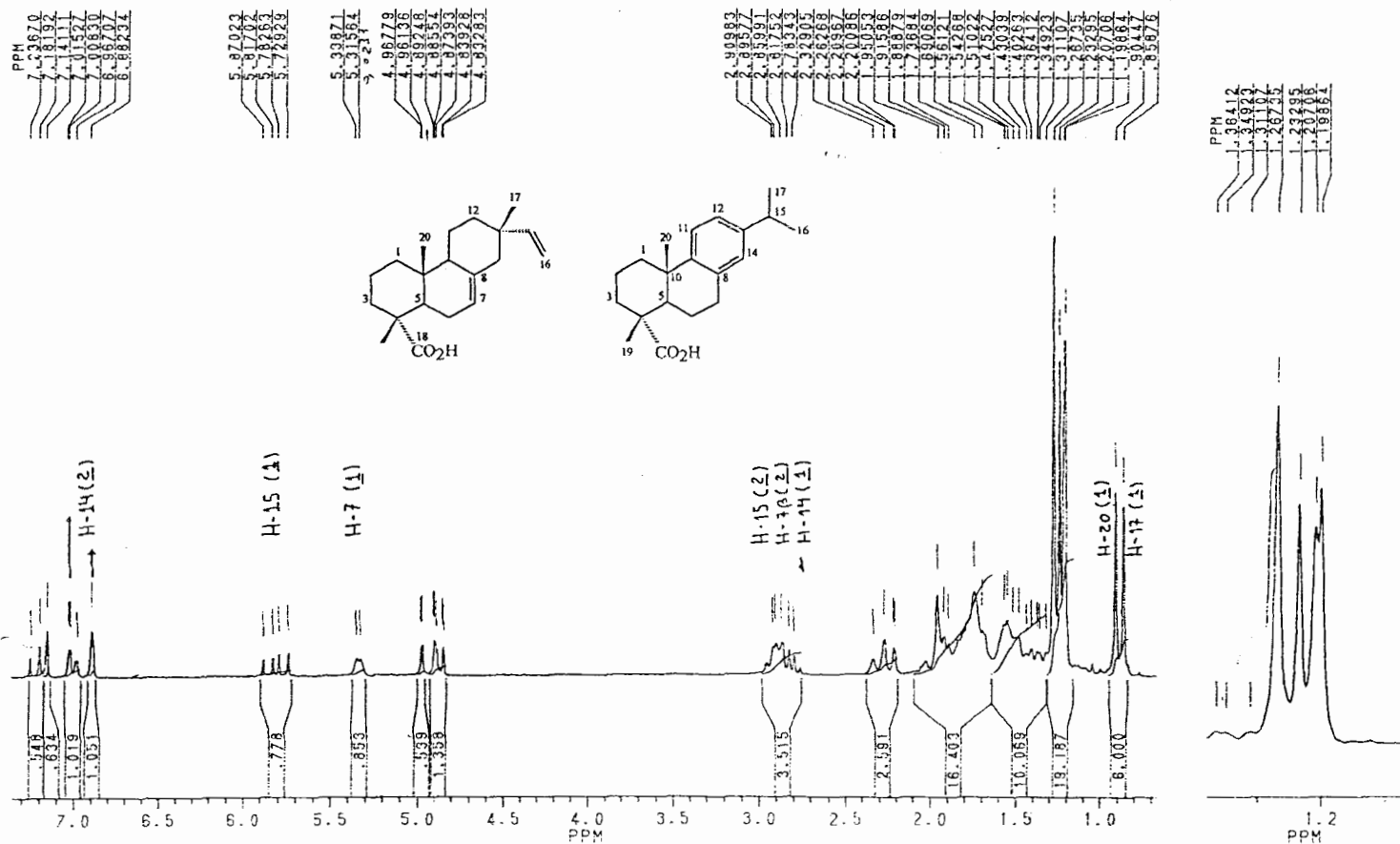


Figura 52 : Espectro de RMN ¹H (200,13 MHz) de Pcb-1 (13 + 14) em CDCl₃ e TMS como referência interna .

