

FLAVONÓIDES, NORISOPRENÓIDES E OUTROS TERPENOS DAS FOLHAS DE *Tapirira guianensis***Suzimone de J. Correia**

Departamento de Química e Exatas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 45206-190 Jequié – BA, Brasil

**Jorge M. David\* e Eliezer P. da Silva**

Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 40170-290 Salvador - BA, Brasil

**Juceni P. David**

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 40170-290 Salvador - BA, Brasil

**Lucia M. X. Lopes**

Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, 14801-970 Araraquara - SP, Brasil

**Maria Lenise S. Guedes**

Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, 40170-290, Salvador - BA, Brasil

Recebido em 21/2/08; aceito em 30/6/08; publicado na web em 31/10/08

FLAVONOIDS, NORISOPRENOIDS AND OTHER TERPENES FROM LEAVES OF *Tapirira guianensis*. From hexane fraction of methanol extract of leaves of *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) were obtained lupeol, 24-methylenecycloartan-3-ol, phytol,  $\alpha$ -amyrin,  $\beta$ -amyrin, sitosterol, sitostenone, glycosyl sitosterol, as well as sitosterol esterified with palmitic and stearic acids. Phytol,  $\alpha$ -amyrin and  $\beta$ -amyrin esterified with fatty acids were also identified from same extract. The EtOAc extract besides the norisoprenoids (6*S*,7*E*,9*S*)-6,9-dihydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one 9-*O*- $\beta$ -glucopyranoside and (6*S*,7*E*,9*R*)-6,9-dihydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one 9-*O*- $\beta$ -glucopyranoside also afforded kaempferol 3-*O*-rhamnoside, kaempferol 3-*O*-arabinofuranoside, quercetin 3-*O*-rhamnoside, and kaempferol. The structural elucidation of isolated compounds were based on UV, IR, MS, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data analysis.

Keywords: *Tapirira guianensis*; norisoprenoides; fatty acid esters of triterpenes.

## INTRODUÇÃO

Anacardiaceae é uma família constituída por 76 gêneros e 600 espécies. Cerca de 25% dos gêneros dessa família são conhecidos por possuírem espécies reconhecidas como tóxicas e causadoras de dermatite de contato severa. De modo geral, as espécies venenosas desta família estão restritas às tribos Anacardieae, Rhoeeae e Semecarpeae.<sup>1</sup> O gênero *Tapirira* é composto de aproximadamente 15 espécies que ocorrem principalmente na América do Sul. *Tapirira guianensis* Aubl. é uma árvore cuja altura varia de 8-14 m e que tem ocorrência em todo território brasileiro, principalmente em terrenos úmidos, em quase todas as formações vegetais. É conhecida popularmente como “pau-pombo” e é utilizada na medicina popular contra lepra, diarreia e sífilis.<sup>2,3</sup> Espécies da família Anacardiaceae são conhecidas por conterem lipídios fenólicos, compostos distinguidos por suas propriedades vesicantes, que são responsáveis pela toxicidade.<sup>4</sup> Em estudos anteriores realizados com espécies do gênero foram isolados terpenos, ferulatos e derivados de alquil e alquênol fenóis.<sup>2,5</sup> No presente trabalho encontra-se descrita a composição química dos extratos hexânico e AcOEt obtida a partir das folhas de um espécime de *T. guianensis*.

## PARTE EXPERIMENTAL

Os espectros de RMN foram registrados em espectrômetro de RMN Varian Gemini 2000 e Inova 500 (7,05 e 11,74 Tesla), operando a 300 e 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 75 e 125 MHz (<sup>13</sup>C), respectivamente. As aquisições dos espectros foram realizadas a 26 e 30 °C, respectivamente, utilizando-se solventes deuterados (CDCl<sub>3</sub>, metanol-*d*<sub>4</sub>, piridina-*d*<sub>5</sub>), com grau de pureza superior a 99,8%, das marcas Aldrich®, Merck®

ou Isotech. Os sinais dos espectros foram registrados com base nos sinais do solvente empregado em relação ao TMS.

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram identificados por CG-EM, empregando-se cromatógrafos da Varian mod. Saturn II e Hewlett Packard mod. 5970 equipados com coluna DB-5 30,0 m x 0,25 mm, com filme de 0,25  $\mu$ m. As condições de operação das análises cromatográficas foram as seguintes: temperatura programada da coluna de 50 °C por 1 min, velocidade de aquecimento 15 °C/min até 250 °C, mantida por 2 min; temperatura do injetor de 200 °C; temperatura da interface de 230 °C; hélio foi empregado como gás de arraste (fluxo 1,1 mL/min). A corrida com detector de massa foi feita na forma *scan*, com tempo de aquisição de 9 a 40 min; voltagem do filamento de 70 eV; voltagem do detector de 1,3 KV; analisador do tipo quadrupolo. Os ésteres metílicos foram identificados através de comparação com os espectros de massas das bibliotecas NIST 62 e NIST 12. Os espectros de absorções no IV foram registrados utilizando-se espectrofotômetros FT-IR Bolmen Hartmann & Braum, modelo MB100, Nicolet Impact 400 e Nicolet-730 FT-R, empregando-se pastilhas de KBr ou filme líquido. As rotações ópticas foram medidas em polarímetro Polamat A Carl Zeiss Jena à temperatura ambiente (19-25 °C). Os espectros de massas foram registrados em espectrômetro de massas de baixa resolução FISIONS-Modelo VG Platform II, no modo ESI positivo. Para obtenção das curvas de DC empregou-se espectropolarímetro da marca Jobin Yvon CD6.

## Extração e isolamento dos constituintes químicos

As folhas secas de *T. guianensis* (2668,0 g) foram maceradas por 48 h, por 3 vezes, seqüencialmente com hexano (5 L) e MeOH (3,5 L). O extrato metanólico (58,0 g) foi ressuspenso em solução de MeOH:H<sub>2</sub>O (9:1) e, submetido à partição líquido-líquido com solventes de polari-

\*e-mail: jmdavid@ufba.br

dade crescente: hexano e clorofórmio. A fase hidroalcoólica resultante foi submetida à destilação sob pressão reduzida para eliminação do metanol, parcialmente dissolvida em água e particionada com AcOEt (4 x 500 mL) e BuOH (4 x 500 mL), sucessivamente. O extrato hexânico foi lavado com MeOH:H<sub>2</sub>O (9:1, 4 x 500 mL). Após eliminação dos solventes, obteve-se a fração metanólica (22,3 g).

A fração AcOEt (8.1 g) foi submetida à CC empregando-se gel de sílica 60 eluída com misturas de CHCl<sub>3</sub>-AcOEt e AcOEt-MeOH. Foram coletadas 36 subfrações de 125 mL cada. Aquela eluída com CHCl<sub>3</sub>-AcOEt 7:3 (465,3 mg) foi refractionada em CC em sílica gel e, seguida de CCDP empregando CHCl<sub>3</sub>-AcOEt (3:2), fornecendo **1+2** (23,7 mg). A subfração da primeira coluna, eluída com CHCl<sub>3</sub>-AcOEt 6:4 (118,7 mg), foi também submetida à CCDP (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 4:1), levando à obtenção de **3** (25,8 mg), **4** (37,9 mg) e **5** (14,7 mg).

A fração metanólica do extrato hexânico (22,3 g) foi submetida à CC em e gel de sílica 60, eluída com misturas de hexano-AcOEt em gradiente crescente de polaridade. Deste fracionamento foram coletadas 36 frações de 250 mL cada. As frações eluída do extrato original com 5% de AcOEt (4,024 g) foram refractionadas em CC, empregando-se misturas de hexano-AcOEt como eluente. Assim, a fração eluída com 5% de AcOEt (178,7 mg) foi identificada como sendo as substâncias **6-8**.

A fração hexânica do extrato metanólico (11,83 g) foi submetida à CC utilizando-se como suporte gel de sílica 60, eluída com misturas de hexano-AcOEt, da qual foram coletadas 26 subfrações de 250 mL cada. A subfração eluída em hexano-AcOEt 19:1 (2,55 g), após fracionamento em CC, usando como eluente hexano:DCM (95:5), forneceu uma subfração constituída por uma mistura **9-12** (34,1 mg), da subfração eluída com hexano:DCM (9:1) obteve-se uma mistura (78,0 mg) constituída de alcanóatos de  $\alpha$ -amiririna, de lupeol (**13-14**) e de  $\beta$ -sitosterila (**15-16**). Além dos compostos **9-16**, das subfrações da CC empregando-se a fração hexânica do extrato metanólico, foram também sucessivamente isolados das frações desta coluna: sitosterol (**17**), glicosil sitosterol (**18**), sitostenona (**19**),  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina, fitol, lupeol e 24-metilenocicloartan-3-ol (**20**).<sup>5,6</sup>

### Reações de transesterificação

O procedimento empregado na obtenção dos ésteres graxos dos triterpenos e esteróides consistiu no tratamento das misturas (5,0 mg) com solução de metóxido de sódio (0,5 M) em metanol (2,0 mL). O isolamento dos ésteres metílicos foi realizado após adição de água destilada à mistura reacional seguido de extração com hexano ou DCM.<sup>7</sup>

(6*S*,7*E*,9*S*)-6,9-diidroxi-megastigma-4,7-dien-3-ona 9-*O*- $\beta$ -glicopiranosídeo (**1**). Sólido amorfo, amarelo pálido. EM (ESI) 409 [M + Na]<sup>+</sup>, 387 [M + H]<sup>+</sup>. DC (CH<sub>3</sub>OH, c 2,6 10<sup>-4</sup> M),  $\Delta\epsilon$  ( $\lambda$  nm): 20,5° (240). Dados de RMN de <sup>1</sup>H [500 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ , *J* (Hz)]: 5,87 (s; H-4); 5,86 (m; H-7); 5,86 (m; H-8); 4,42 (dq; *J* 3,6 e 6,7 Hz; H-9); 2,60; (dd; *J* 2,2 e 2,6 Hz; H-2*eq*); 2,16 (dd; *J* 2,2 e *J* 2,6; H-2*ax*); 1,93 (d; *J* 11,0 Hz; *J* 1,5 Hz; H-13); 1,89 (s; H-12); 1,29 (d; *J* 6,7 Hz; H-10); 1,02 (s; H-11). RMN de <sup>13</sup>C (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ): 42,43(C-1); 50,68 (C-2); 201,22 (C-3); 127,16 (C-4); 167,29 (C-5); 80,01(C-6); 131,52 (C-7); 135,26 (C-8); 77,29 (C-9); 21,18 (C-10); 23,42 (C-11); 24,69 (C-12); 19,56 (C-13); 102,71 (C-1'); 75,23(C-2'); 78,34 (C-3'); 71,62 (C-4'); 78,09(C-5'); 62,80 (C-6').

(6*S*,7*E*,9*R*)-diidroxi-megastigma-4,7-dien-3-ona 9-*O*- $\beta$ -glucopiranosídeo (**2**). Sólido amorfo, amarelo pálido. EM (ESI) 409 [M + Na]<sup>+</sup>, 387 [M + H]<sup>+</sup>. DC (CH<sub>3</sub>OH, c 2,6 10<sup>-4</sup> M),  $\Delta\epsilon$  ( $\lambda$  nm): 20,5° (240). Dados de RMN de <sup>1</sup>H [500 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ , *J* (Hz)]: 5,87 (s; H-4); 5,97 (m; H-7); 5,73 (m; H-8); 4,53 (dq; *J* 4,0 e 7,8 Hz; H-9); 4,34 (d; *J* 8,0 Hz; H-1'); 3,85 (dd; *J* 2,0 e *J* 11,5 Hz; H-6');

3,26 (dd; *J* 9,5 e *J* 8,5 Hz; H-4'); 3,25 (dd; *J* 9,0 e *J* 8,5 Hz; H-5'); 3,24 (m; H-3'); 3,18 (m; H-2'); 2,60; (dd; *J* 2,2 e 2,6 Hz; H-2*eq*); 2,16 (dd; *J* 2,2 e 2,6 Hz; H-2*ax*); 1,93 (d; *J* 11,0; 1,5 Hz; H-13); 1,89 (s; H-12); 1,13 (d; *J* 6,5 Hz; H-10); 1,04 (s; H-11); RMN de <sup>13</sup>C (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ): 201,22 (C-3); 167,29 (C-5); 133,75 (C-7); 133,67 (C-8); 127,10 (C-4); 101,22 (C-1'); 80,01(C-6); 78,34 (C-3'); 78,34 (C-5'); 75,23(C-2'); 74,94 (C-9); 71,62 (C-4'); 62,80 (C-6'); 50,68 (C-2); 42,43(C-1); 24,69 (C-12); 23,42 (C-11); 22,20 (C-10); 19,56 (C-13).

Canferol 3- $\alpha$ -raminosídeo (**3**). Sólido amarelo. EM (ESI) em *m/z* 455 [M + Na]. RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ , *J* (Hz)]: 7,75 (d; *J* 8,7 Hz; H-2', H-6'); 6,94 (d; *J* 8,7Hz; H-3', H-5'); 6,34 (sl; H-8); 6,17 (sl; H-6); 5,36 (sl; H-1''); 4,23 (m; H-2''); 3,73 (m; H-3''); 3,41(m; H-5''); 3,37(m; H-4''); 0,92 (d; *J* 5,1 Hz ; H-6''). RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ): 179,33 (C-4); 166,62 (C-7); 163,12 (C-5); 161,56 (C-4'); 158,84 (C-9); 158,56 (C-2); 136,11 (C-3); 131,85 (C-2', C-6'); 122,59 (C-1'); 116,52 (C-3', C-5'); 105,67 (C-10); 103,46 (C-1''); 100,08 (C-6); 94,93 (C-8); 73,15 (C-4''); 72,08 (C-3''); 72,01 (C-2''); 71,90 (C-5''); 17,65 (CH<sub>3</sub>).

Canferol 3- $\alpha$ -arabinofuranosídeo (**4**). Sólido amarelo; EM (ESI) [M + Na]<sup>+</sup> em *m/z* 441. RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ , *J* (Hz)]: 6,18 (d; *J* 1,2 Hz; H-6); 6,39 (d; *J* 8,8 Hz; H-8); 6,94 (d; *J* 8,9 Hz; H-3' e H-5'); 7,94 (d; *J* 8,9 Hz; H-2' e H-6'); 5,24 (sl; H-1''); 4,33 (dd; *J* 0,8 e 2,7 Hz; H-3''); 3,92 (m; H-4''); 3,49(m; H-5''). RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ): 179,68 (C-4); 167,95 (C-7); 161,59 (C-5); 161,59 (C-4'); 161,60 (C-9); 159,08 (C-2); 134,74 (C-3); 131,89 (C-2', C-6'); 122,78 (C-1'); 116,53 (C-3', C-5'); 105,08 (C-10); 109,59 (C-1''); 100,52 (C-6); 95,25 (C-8); 88,04 (C-4''); 83,25 (C-2''); 78,59 (C-3''); 62,50 (C-5'').

Quercetina 3- $\alpha$ -raminosídeo (**5**). Sólido amarelo. EM (ESI) em *m/z* 455 [M + Na]. RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ , *J* (Hz)]: 7,34 (m; H-2'/H-6'); 6,91 (d; *J* 7,6 Hz; H-5'); 6,35 (sl; H-8); 6,18 (sl; H-6); 5,35 (sl; H-1''); 4,23 (m; H-2''); 3,77 (dd; *J* 7,5 Hz; *J* 1,5 Hz; H-3''); 3,42 (m; H-5''); 3,35 (m; H-4''); 0,94 (d; *J* 5,8 Hz ; H-6''). RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ ): 179,54 (C-4); 166,35 (C-7); 163,01 (C-5); 158,45 (C-2); 158,24 (C-9); 149,78 (C-4'); 146,36 (C-3'); 136,14 (C-3); 122,95 (C-1'); 122,86 (C-6'); 116,40 (C-2'); 116,96 (C-5'); 105,71 (C-10); 103,49 (C-1''); 100,04 (C-6); 94,89 (C-8); 73,26 (C-4''); 72,11 (C-3''); 71,99 (C-2''); 71,87 (C-5''); 17,62 (C-6').

Alcanóatos de fitila (**3**). Óleo. EM-IE (30eV); *m/z* (%) 257(100); 285 (25); 313(13); e 341(5); 369 (2) 648 (1); *m/z* 676 (5); *m/z* 704 (3) e *m/z* 732 (2). RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , *J* (Hz)]: 5,31 (*m*; H-2); 4,60 (*d*; 7,2 Hz; H-1); 2,29 (*t*; 7,5; H-4); 1,70 (*s*; H-20); RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 61,43 (C-1); 118,43 (C-2); 142,80 (C-3); 39,86 (C-4); 25,02 (C-5); 36,88 (C-6); 32,90 (C-7); 37,54 (C-8); 24,70 (C-9); 37,60 (C-10); 32,91 (C-11); 37,66 (C-12); 24,70 (C-13); 39,61 (C-14); 28,22 (C-15); 22,84 (C-16); 22,92 (C-17); 19,93 (C-18); 19,59 (C-19); 16,59 (C-20); 174,24 (C-1'); 34,66 (C-2'); 14,32 (CH<sub>3</sub>).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da fração AcOEt obtida do extrato metanólico das folhas de *T. guianensis* foram isolados, por técnicas cromatográficas, uma mistura de norisoprenóides diastereoisoméricos **1** e **2**, além dos flavonóides, **3**, **4** e **5** (Figura 1).

A fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> foi proposta para **1** e **2**, com base no espectro de massas (ESI-EM) pela presença dos íons *pseudo-moleculares m/z* 409 [M + Na]<sup>+</sup> e *m/z* 387 [M + H]<sup>+</sup>, aliado aos dados de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (incluindo experimento DEPT). A identificação

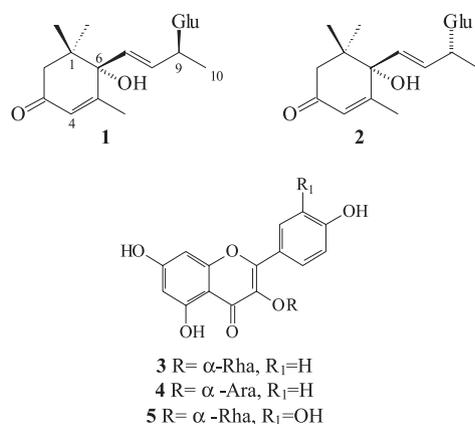


Figura 1. Substâncias isoladas de *Tapirira guianensis*

destas substâncias, incluindo a determinação das configurações relativa e absoluta das mesmas, pode ser realizada pelas análises detalhada dos espectros de RMN e das curvas de dicroísmo circular. O espectro de RMN <sup>1</sup>H evidenciou a presença de um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,86, além de dois duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  5,97 (15,0; 1,0 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  5,73 (15,0; 7,0 Hz) sugerindo a presença de ligação dupla com configuração *E*. Neste espectro também foi possível observar a presença de dois quartetos de dupletos, em  $\delta_{\text{H}}$  4,53 (7,8 e 3,9 Hz) e 4,42 (6,9 e 3,6 Hz) atribuíveis aos hidrogênios oximetínicos (H-9). Além destes foram verificados dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  4,34 ( $J = 8,0$  Hz) e 4,27 ( $J = 8,0$  Hz), indicativos de hidrogênios anoméricos da  $\beta$ -glicose. A presença de uma unidade glicosídica na estrutura foi confirmada pela análise dos demais sinais de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C e pela comparação com os dados da literatura.<sup>8</sup>

A presença de dois hidrogênios oximetínicos (H-9) constatada pelo espectro de RMN <sup>1</sup>H contribuiu para sugerir que a fração se tratava de uma mistura binária diastereoisomérica. Foi possível determinar por comparação dos valores de integração (1:0,97) dos sinais de H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  4,42;  $\delta_{\text{H}}$  4,53) que as substâncias se encontram, aproximadamente, na razão 1:1. Devido às pequenas diferenças nos deslocamentos químicos da maioria dos sinais de RMN <sup>1</sup>H dos componentes da mistura, a atribuição destes sinais para cada substância foi bastante dificultada. Porém a análise dos resultados do experimento TOCSY 1D possibilitou diferenciar de forma inequívoca os sinais de cada uma das substâncias da mistura, facilitando a interpretação dos espectros de RMN bidimensionais.

Pela análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C considerando deslocamento químico e intensidade dos sinais pôde-se evidenciar a presença dos sinais dos carbonos de dois sistemas carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados ( $\delta_{\text{C}}$  201,22;  $\delta_{\text{C}}$  127,16;  $\delta_{\text{C}}$  127,10;  $\delta_{\text{C}}$  167,29). Foram verificados também sinais para uma ligação dupla ( $\delta_{\text{C}}$  131,52 e  $\delta_{\text{C}}$  135,26), além de sinal de carbono oxigenado não hidrogenado ( $\delta_{\text{C}}$  80,01) e quatro carbonos metílicos ( $\delta_{\text{C}}$  21,18;  $\delta_{\text{C}}$  23,42;  $\delta_{\text{C}}$  24,69 e  $\delta_{\text{C}}$  19,56). A análise das correlações observadas no espectro HMQC permitiu atribuir para os carbonos metílicos os respectivos sinais de RMN <sup>1</sup>H. Pela multiplicidade dos sinais, pôde-se concluir que pelo menos dois grupos metílicos se encontram diretamente ligados a carbonos não hidrogenados.

As correlações verificadas no espectro HMBC entre os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  1,29 (C-10) com os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  77,29 e 135,26 possibilitaram estabelecer a conectividade de três carbonos (C-8, C-9 e C-10). A partir deste espectro também pôde ser verificada a correlação entre os sinais de H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5,87) e os sinais dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  19,56 e 80,01. Estes dados aliados às correlações observadas entre os sinais de H-2 equatorial ( $\delta_{\text{Heq}}$  2,60) e axial ( $\delta_{\text{Hax}}$  2,16) e os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  23,42; 42,43; 80,01 e 201,22 auxiliaram a se estabelecer a conectividade entre os

carbonos do anel de seis membros de **1**. Finalmente, o espectro HMBC possibilitou inferir a posição da glicosilação pela correlação entre o hidrogênio anomérico ( $\delta_{\text{H}}$  4,34) e o respectivo carbono carbinólico C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  77,29). A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios para **2** foi realizada de forma análoga.

A configuração absoluta do centro estereogênico C-6 foi determinada com base nas análises das curvas de dicroísmo circular de **1+2** e naquelas de compostos modelos, cujas configurações absolutas estão bem estabelecidas na literatura, como para o (6*S*)-hidroxi-3-oxo- $\alpha$ -ionol.<sup>9</sup> Estes compostos caracterizam-se como 6*R* quando apresentam um sinal de efeito Cotton negativo na região de 240 nm, e 6*S* quando apresentam um efeito positivo na mesma região espectral. Como foi observado para **1+2** um efeito Cotton positivo em 240 nm ( $\epsilon\Delta = 20,5$ ), causado pela helipticidade entre a enona e a ligação dupla em C-7, pôde-se concluir que **1** e **2** apresentam configuração 6*S*.<sup>8</sup> A determinação da configuração do centro estereogênico C-9 foi baseada na comparação dos valores dos deslocamentos químicos destes carbonos com aqueles descritos na literatura para o 3- $\alpha$ -ionol- $\beta$ -glicopiranosídeo, cuja configuração absoluta foi determinada após análises dos produtos da reação com reagentes de Mosher.<sup>9</sup> Assim, estabeleceu-se a configuração 9*S* para os carbonos (C-9) que apresentam  $\delta \sim 74$  e 9*R* para aqueles com  $\delta \sim 77$ . Logo, a substância **1** deve ter a configuração absoluta 6*S*,7*E*,9*R* e **2** a configuração 6*S*,7*E*,9*S*.<sup>10</sup>

Os flavonóides **3-5** foram identificados pela análise detalhada dos dados de RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e pela comparação com os dados daqueles já descritos na literatura para flavonóides glicosilados.<sup>11</sup> Baseado nas diferenças dos deslocamentos químicos dos carbonos C-2 e C-3 quando comparadas ao da aglicona, foi possível identificar os flavonóides como sendo canferol 3- $\alpha$ -raminosídeo (**3**), canferol 3- $\alpha$ -arabinofuranosídeo (**4**) e quercetina 3- $\alpha$ -raminosídeo (**5**), também conhecida como quercetrina.

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C de **6-8** (Figura 2) apresentaram evidências compatíveis com um derivado do fitol. No espectro de RMN <sup>1</sup>H puderam ser identificados sinais característicos do fitol, tais como do H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  5,31), além do duplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,60 ( $J = 7,2$  Hz) referente aos hidrogênios oximetilênicos 2H-1. O valor do deslocamento químico destes hidrogênios foi indicativo de que **6-8** se tratavam de derivados esterificados do fitol. Foram observados no espectro de RMN de <sup>13</sup>C, além dos sinais relativos aos carbonos da ligação dupla ( $\delta_{\text{C}}$  142,80 e  $\delta_{\text{C}}$  118,43), um sinal de carbono não hidrogenado ( $\delta_{\text{C}}$  174,24), típico de um carbono acílico de éster. Esta inferência pode ser confirmada pelo espectro de absorção no IV, pela presença das bandas de estiramento em 1724 e em 1203 cm<sup>-1</sup>. No espectro de RMN de <sup>13</sup>C foi observado o sinal de carbono metilênico oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  61,43, mais desprotegido que o correspondente C-1 do fitol, devido ao efeito da acilação. Os deslocamentos químicos dos carbonos observados para a maioria dos demais sinais foram similares aos do fitol. Entretanto, sinais típicos de uma cadeia alquílica linear saturada foram observados no espectro. Pela análise por CG-EM dos ésteres metílicos obtidos da reação de transesterificação dos componentes da fração foi possível concluir que a mistura **6-8** era constituída por pelo menos três ésteres metílicos majoritários. Este dado foi revelado pela presença de três picos, correspondentes aos íons moleculares  $m/z$  270; 298 e 326. Estes íons moleculares e o padrão de fragmentação destes ésteres metílicos permitem propor que os ácidos hexadecanóico, octadecanóico e eicosanóico estão esterificados com o fitol na mistura **6-8**.

A mistura dos ácidos graxos esterificados com  $\alpha$ -amirina (**9-12**) foi identificada a partir dos dados observados nos espectros de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C, que se mostraram compatíveis com os observados para o derivado de  $\alpha$ -amirina esterificado com ácido graxo de cadeia longa.<sup>12</sup> A análise dos espectros de massas dos ésteres metílicos obtidos após transesterificação destes compostos possibilitou identificar os

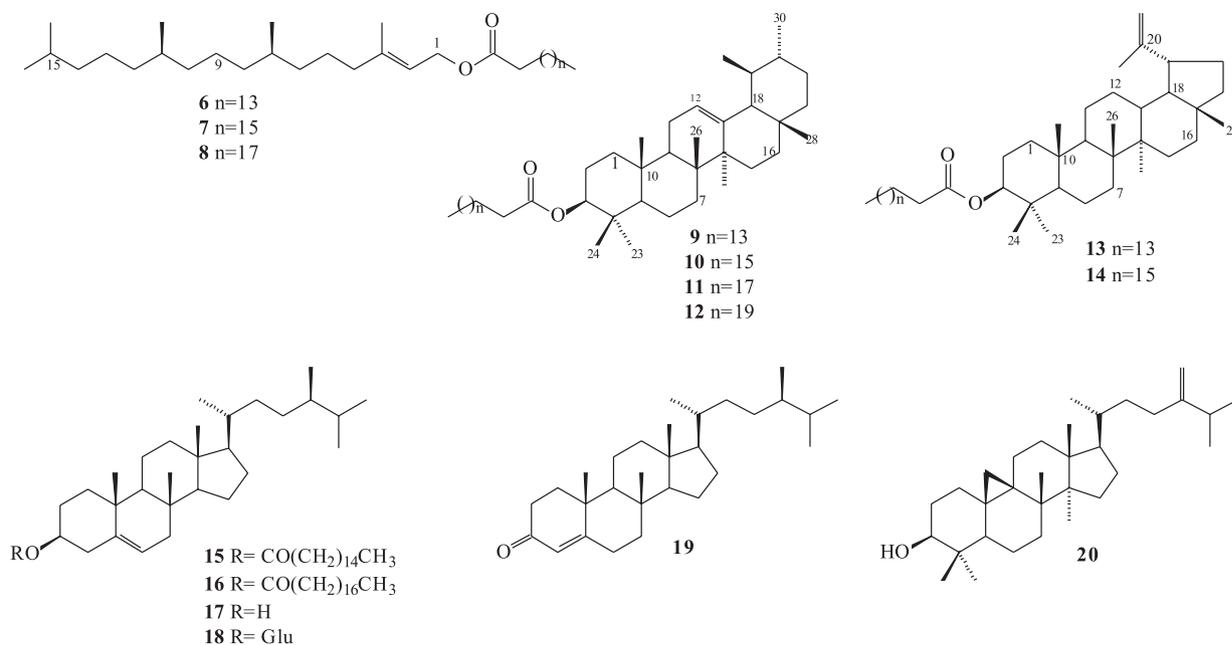


Figura 2. Terpenóides de *T. guianensis*

ácidos graxos esterificados com o triterpeno como sendo os ácidos hexadecanóico, octadecanóico, eicosadecanóico e dodecisanóico. Pela área dos picos observados TIC constatou-se que os derivados dos ácidos C-16 e C-18 eram os majoritários. Assim, pôde-se concluir que a fração era constituída de derivados de quatro ácidos de cadeia longa, hexadecanoato (**9**), octadecanoato (**10**), eicosanoato (**11**) e dodecisanóico (**12**) de  $\alpha$ -amirnila. Para a identificação dos constituintes da mistura dos alcanóatos de fitila, lupeol e sitosterila considerou-se principalmente o espectro de RMN <sup>13</sup>C.

Usando a metodologia empregada para identificação de substâncias terpenoídicas em mistura,<sup>13</sup> foi possível identificar a mistura **13-16** a partir das intensidades e multiplicidades dos sinais de RMN <sup>13</sup>C (incluindo experimento DEPT) dos carbonos das ligações duplas e carbonos oxigenados das diferentes substâncias. Assim, os sinais  $\delta_c$  150,56; 109,24 e 80,38 foram considerados pertencentes ao esqueleto terpenoídico das substâncias **13-14** e os sinais em  $\delta_c$  139,49; 122,39 e 73,47 das substâncias **15-16**. Após derivatização da mistura por meio da reação de transesterificação e obtenção dos ésteres metílicos correspondentes, estes foram analisados por CG-EM. No cromatograma foram registrados dois picos majoritários com diferentes tempos de retenção, e cada um deles originou um espectro de massas cujos respectivos íons moleculares em  $m/z$  298 e em 270 e fragmentos são correspondentes ao estearato de metila e ao palmitato de metila, respectivamente. Estes resultados permitem sugerir que os compostos da mistura se encontram esterificados, principalmente com os ácidos palmítico e esteárico.

Este é o primeiro relato da ocorrência dos derivados glicosilados de norisoprenóides (megastimanos), de alcanóatos de fitila, bem como de terpenos esterificados com ácidos graxos em Anacardiaceae. Previamente só foram descritos a presença de triterpenos livres na família.<sup>2</sup> Os flavonóides **3** e **5** foram previamente encontrados em *Sclerocarya birrea*,<sup>14</sup> no entanto, esta é a primeira descrição da ocorrência de **4** em Anacardiaceae.

#### AGRADECIMENTOS

À CAPES, ao CNPq, IMSEAR e à FAPESB pelas bolsas e apoio financeiro e à Profa. Dra. L. Beltramini (UFSCar) pela obtenção das curvas de difração circular.

#### REFERÊNCIAS

- Vogl, O.; Mitchell, J. D.; *Pure Appl. Chem.* **1996**, *33*, 1581; Correia, S. J.; David, J. M.; David, J. P.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1287; Evans, F. J.; Schmidt, R. J.; *Planta Med* **1980**, *38*, 289.
- David, J. M.; Chavez, J. P.; Chai, H. B.; Pezzuto, J. M.; Cordell, G. A.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 287.
- Lorenzi, H.; *Árvoreas Brasileiras. Instituto Plantarum*, Ed. Nova Odessa: São Paulo, 2002.
- Goetz, G. M.; Lepoittevin, J. P.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1141.
- Correia, S. J.; David, J. M.; David, J. P.; Chai, H.-B.; Pezzuto, J. M.; Cordell, G. A.; *Phytochemistry* **2001**, *56*, 781.
- Matsuda, N.; Isawa, K.; Kikuchi, M.; *Phytochemistry* **1997**, *45*, 777.
- Schuchardt, U.; Sercheli, R.; Vargas, R. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1998**, *9*, 199.
- Pabst, A.; Barron, D.; Sémon, E.; Schreier, P.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1649.
- Çalış, I.; Kuruüzüm-Uz, A.; Lorenzetto, P. A.; Rüedi, P.; *Phytochemistry* **2002**, *59*, 451.
- Peng, Z. F.; Strack, D.; Baumert, A.; Subramaniam, R.; Goh, N. K.; Chia, T. F.; Tan, S. N.; Chia, L. S.; *Phytochemistry* **2003**, *62*, 219; Fossen, T.; Larsen, A.; Kiremire, B. T.; Andersen, Ø. M.; *Phytochemistry* **1999**, *51*, 1133; Guo, J.; Yu, D.; Xu, L.; Zhu, M.; Yang, S. L.; *Phytochemistry* **1998**, *48*, 1445.
- Agrawal, P. K.; Thakur, R. S.; Bansal, M. C.; Foo, L. Y.; Markham, K. R.; Porter, K. J. Em *Carbon-13 NMR of Flavonoids*; Agrawal, P. K., ed.; Elsevier: Amsterdam, 1989.
- Mahato, S. B.; Kundu, A. P.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1517; Chávez, J. P.; Dos Santos, I. D.; Cruz, F. G.; David, J. M.; *Phytochemistry* **1996**, *41*, 941.
- Gallejos, R. S.; Roque, N. F.; *Quim. Nova* **1990**, *13*, 278.
- Braca, A.; Politi, M.; Sanago, R.; Sanou, H.; Morelli, I.; Pizza, C.; De Tommasi, N.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6689.