

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NARA RÚBIA PEREIRA

Isolamento de ácidos terpênicos de *Jacaranda caroba*, síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de derivados do ácido ursólico

Diamantina - MG

Julho/2018

NARA RÚBIA PEREIRA

Isolamento de ácidos terpênicos de *Jacaranda caroba*, síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de derivados do ácido ursólico

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Química da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Roqueline Rodrigues Silva

Diamantina - MG

Julho/2018

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P436i Pereira, Nara Rúbia
Isolamento de ácidos terpênicos de Jacaranda caroba, síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de derivados do ácido ursólico / Nara Rúbia Pereira. – Diamantina, 2018.
98 p. : il.

Orientadora: Roqueline Rodrigues Silva

Dissertação (Mestrado Profissional – Programa de Pós-Graduação em Química) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. Jacaranda caroba. 2. Ácido ursólico. 3. Ácido 3-epicorosólico.
I. Silva, Roqueline Rodrigues. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 540

NARA RÚBIA PEREIRA

**Isolamento de ácidos terpênicos de *Jacaranda caroba*, síntese e
avaliação da atividade antimicrobiana de derivados do ácido
ursólico**

Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM QUÍMICA, nível de
MESTRADO como parte dos requisitos
para obtenção do título de MAGISTER
SCIENTIAE EM QUÍMICA

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Roqueline
Rodrigues Silva

Data da aprovação : 30/07/2018


Prof. Dr.^a ROQUELINE RODRIGUES SILVA - UFVJM


Prof. Dr.^a PATRÍCIA MACIELADO DE OLIVEIRA - UFVJM


Dr. GUILHERME LUIZ DA COSTA LAGE - UFVJM

DIAMANTINA

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Maria e Sebastião, por todo incentivo, apoio e carinho nessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

A Deus por essa oportunidade e por se fazer presente em todos os momentos.

À minha orientadora Dra. Roqueline Silva, minha mais profunda gratidão por ter me aceitado como sua aluna e ter me orientado sempre de forma instrutiva e preocupada. Minha gratidão por ter me ensinado a ser uma pessoa comprometida com minhas responsabilidades e focada para com meus objetivos. Muito obrigada pelos conhecimentos transmitidos, paciência e amizade.

Ao professor Dr. Rodrigo Verly, agradeço por toda atenção e preocupação durante o mestrado, pela sua disposição, prontidão e energia em ajudar qualquer que fosse o problema, sempre preocupado com o bem-estar de todos. Muito obrigada por todo aprendizado.

À Professora Dra. Lucienir Duarte do Departamento de Química da UFMG, pela contribuição com seus conhecimentos e pela oportunidade de fazer parte dos experimentos da pesquisa no laboratório NEPLAM.

Aos professores, Dra. Patrícia Oliveira e Dr. Guilherme Lage, pela colaboração no trabalho desenvolvido, conhecimentos transmitidos e pela amizade.

À profesora Dra. Jacqueline Takahashi do Departamento de Química da UFMG pela colaboração nos ensaios microbiológicos.

Ao mentor Rafael, pelo carinho, dedicação e incansável paciência. Meu eterno agradecimento pela orientação na concepção das reações e RMN's. Muito obrigada pela convivência sempre agradável durante o período em que estive na UFMG. Sua alegria é contagiante!

Aos meus pais, em especial minha mãe, meu maior exemplo de fortaleza, espiritualidade e bondade. Sem suas palavras de sabedoria eu não teria chegado até aqui!

À minha irmã Neuma, muito obrigada pelo seu apoio, companheirismo incondicional e amizade. Serei eternamente grata a Deus por ter você! Muito obrigada por tudo!

Ao meu irmão Nilo pela torcida, seu apoio foi essencial.

À Cecília, minha companheira de laboratório e congressos, obrigada pelos ensinamentos diários e pelas valorosas contribuições para a realização deste trabalho.

Às amigas que o mestrado me presenteou: Carol, Lívia e Mainara obrigada pela amizade, alento nas horas de dificuldade e cervejas pós Campus 2 (rsrrrsr...), conversas e risadas. Obrigada pela boa convivência durante todo esse tempo. Todas vocês são muito especiais para mim!

Ao grupo de pesquisa NEPLAM: Grasy, Mariana, Fernanda, Valtair, Pedros, e em especial Josana, muito obrigada pela acolhida, convivência agradável, assistência e conhecimentos compartilhados.

À todos os funcionários do Departamento de Química da UFVJM que contribuíram para a concretização deste trabalho.

À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta Dissertação, muito obrigada!

RESUMO

Alicerçados na medicina popular, estudos envolvendo moléculas oriundas de produtos naturais visam garantir qualidade, eficácia e inovação na formulação de novos produtos, com ação no tratamento e prevenção de doenças. A flora brasileira possui uma vasta gama de espécies candidatas a pesquisas na intenção de descoberta de novos fármacos. Um exemplo é a *Jacaranda caroba*, que pode ser encontrada no cerrado, principalmente nos estados de SP, GO, MG e no DF. Em Minas Gerais, é popularmente conhecida como “carobinha”. As substâncias isoladas de espécies do gênero *Jacaranda* mostraram ações biológicas variadas: contra desordens gástricas; doenças de pele, hepáticas, respiratórias, inflamatórias, microbianas e tumorais. O presente trabalho objetivou isolar ácidos triterpênicos, que apresentam potenciais atividades antimicrobianas, e sintetizar derivados do ácido ursólico, promissor produto com potencial biológico. Folhas de *J. caroba* foram submetidas à extração com hexano, clorofórmio e etanol, seus respectivos extratos foram submetidos a métodos cromatográficos clássicos, sendo isolados e identificados os seguintes ácidos: ácido ursólico e ácido 3-epicorosólico, sendo este inédito na espécie. Neste trabalho foram sintetizados 8 ésteres a partir do triterpeno ácido ursólico, dentre eles dois são compostos inéditos na literatura. Os compostos sintetizados e os fitoconstituintes foram submetidos a testes de ação antibacteriana e antifúngica. Os resultados obtidos de inibição antimicrobiana frente a diferentes cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e ao fungo leveduriforme *Candida albicans*, apresentaram-se promissores. Os melhores resultados no teste antimicrobiano foram encontrados para (3 β)-3-[(naftalenobenzoil)oxi]urs-12-en-28-oico e para (3 β)-3-[(2-iodobenzoil)oxi]urs-12-en-28-oico, ambos evidenciaram porcentagens de inibição de crescimento de 99,5% contra a bactéria Gram-positiva *Listenia Monocytogenes*, superior ao padrão Ampicilina (88,3%).

.

Palavras-chaves: *Jacaranda caroba*, ácido ursólico, ácido 3-epicorosólico.

ABSTRACT

Based on popular medicine, studies involving molecules from natural products aim to guarantee quality, effectiveness and innovation in the formulation of new products, with action in the treatment and prevention of diseases. The Brazilian flora has a wide range of species that are candidates for research in the intention of discovering new drugs. An example is the *Jacaranda caroba*, which can be found in the cerrado, mainly in the states of SP, GO, MG and DF. In Minas Gerais, it is popularly known as "carobinha". Substances isolated from species of the genus *Jacaranda* showed varied biological actions: against gastric disorders; skin, liver, respiratory, inflammatory, microbial, and tumor diseases. The present work aimed to isolate triterpene acids, which present potential antimicrobial activities, and to synthesize the ursolic acid derivative, promising product with biological potential. Leaves of *J. caroba* were subjected to extraction with hexane, chloroform and ethanol, their extracts were submitted to classical chromatographic methods, being isolated and identified the following acids: ursolic acid and 3-epicorosolic acid, this being unheard of in the species. In this work 8 esters were synthesized from triterpene ursolic acid, among them two are compounds unpublished in the literature. The synthesized compounds and phytochemicals were submitted to antibacterial and antifungal tests. The results of antimicrobial inhibition against different strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria and the yeast fungus *Candida albicans*, were promising. The best results in the antimicrobial test were found for Urs-12-en-28-oic acid [(naphthalenobenzoyl) oxy] (3 β)-(3) and for Urs-12-en-28-oic acid [(2-iodobenzoyl)oxy] (3 β)-(3), both showed percentages of 99,5% growth inhibition against Gram-positive *Listenia Monocytogenes* bacteria, higher than the Ampicillin standard (88.3%).

Key-words: *Jacaranda caroba*, ursolic acid, 3-epicorosolic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Flores e folhas da espécie <i>Jacaranda caroba</i>	3
Figura 2: Esqueleto base dos triterpenos pentacíclicos.....	8
Figura 3: Estrutura química do ácido ursólico (1) e do ácido 3-epicorosólico (2)	10
Figura 4: Estrutura dos derivados do ácido ursólico 12-16	11
Figura 5: Estrutura dos derivados do ácido ursólico 17-20	12
Figura 6: Estrutura do derivado do ácido ursólico 21	13
Figura 7: Estrutura do derivado do ácido ursólico 21	13
Figura 8: Espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos triterpenos pentacíclicos isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).	29
Figura 9: Espectro de DEPT-135 da mistura dos triterpenos pentacíclicos isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).	30
Figura 10: Figura Espectro de RMN de ^{13}C Quantificado da mistura dos triterpenos pentacíclicos isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 75 MHz).	31
Figura 11: Espectro na região de IV de 1.....	34
Figura 12: Espectro de ^1H do ácido ursólico isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 400 MHz).....	36
Figura 14: Espectro de RMN de DEPT-135 do ácido ursólico isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , $\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).....	37
Figura 13: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido ursólico isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).....	37
Figura 15: Espectro na região de IV de 2.....	40
Figura 16: Espectro de ^1H do ácido 3-epicorosólico isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , CDCl_3 ; 400 MHz).	42
Figura 17: Espectro de ^{13}C do ácido 3-epicorosólico isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , CDCl_3 ; 100 MHz).	43
Figura 18: Espectro de DEPT-135 do ácido 3-epicorosólico isolado da planta <i>Jacaranda caroba</i> , CDCl_3 ; 100 MHz).	43
Figura 19: Representação do acoplamento entre o hidrogênio H-2 e H-3 do ácido 3-epicorosólico	44
Figura 20: Esquema geral de formação do derivado do ácido ursólico	45
Figura 21: Proposta mecanística para esterificação de Steglich	48
Figura 22: Proposta mecanística para o rearranjo 1,3 do intermediário O-acil-isoureia	49

Figura 23: Proposta de mecanismo para a participação de DMAP na esterificação.	49
Figura 24: Espectro de IV para o éster 5	52
Figura 25: Espectro de ^1H obtido para 5 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	53
Figura 26: Espectro de ^{13}C do composto 5 (CDCl_3 ; 100 MHz)	54
Figura 27: Subespectro DEPT-135 de 5 (CDCl_3 ; 100 MHz)	55
Figura 28: Espectro na região de IV de 3.	61
Figura 29: Espectro de RMN de ^1H de 3, obtido em aparelho de 400 MHz, (CDCl_3).....	62
Figura 30: Espectro de RMN de ^{13}C de 7, obtido em aparelho de 100 MHz, (CDCl_3).....	63
Figura 31: Espectro de DEPT-135 de 7, obtido em aparelho de 300 MHz, (CDCl_3).....	64
Figura 32: Espectro de RMN de ^1H obtido para 9 (CDCl_3 ; 400 Hz).....	66
Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C obtido para 9 (CDCl_3 ; 100 Hz)	66
Figura 34: Espectro DEPT-135 obtido para 9 (CDCl_3 ; 100 Hz)	67
Figura 35: Espectro de IV para o éster 10	70
Figura 36: Espectro de RMN de ^1H do éster 10 (CDCl_3), 400 Hz	71
Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C do éster 10, (CDCl_3)400 Hz	71
Figura 38: Espectro de DEPT-135 do éster 10, (CDCl_3) 400 Hz	72
Figura 39: Espectro de IV para o éster 11	76
Figura 40: Espectro de RMN de ^1H do éster 11 (CDCl_3 ;; 400 MHz)	77
Figura 41: Espectro de RMN de ^{13}C do éster 11 (CDCl_3 ; 100 MHz)	77
Figura 42: Espectro de DEPT-135 do éster 11, (CDCl_3 ; 100 Hz).....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultado do fracionamento de EC (coluna A) de <i>J. caroba</i>	21
Tabela 2- Resultado do fracionamento de EE (coluna B) de <i>J. caroba</i>	22
Tabela 3- Triagem fitoquímica dos extratos de <i>J. caroba</i>	27
Tabela 4- Triagem fitoquímica dos extratos de <i>J. oxyphylla</i>	28
Tabela 5- Atribuição dos sinais dos espectros de RMN ¹³ C obtidos para 1 e comparação com dados da literatura para o ácido ursólico.....	38
Tabela 6- Atribuição dos sinais dos espectros de RMN ¹³ C obtidos para 2 (CDCl ₃) e comparação com dados da literatura para o ácido 3-epicorosólico.	44
Tabela 7- Tabela de ésteres derivados do triterpeno ácido ursólico	46
Tabela 8- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 3 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oico.....	56
Tabela 9- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 1 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(1-Oxododecil)oxi]urs-12-en-28-oico.	57
Tabela 10- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 2 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(1-Oxotetradecil)oxi]urs-12-en-28-oico	58
Tabela 11- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 4 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(1-Oxoottadecil)oxi]urs-12-en-28-oico.....	59
Tabela 12- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 3 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)- 3-[(benzoil)oxi] urs-12-en-28-oico.	64
Tabela 13- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 6 (CDCl ₃ e C ₅ D ₅ N) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(4-nitrobenzoil)oxi]urs-12-en-28-oico.....	67
Tabela 14- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 10 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(1-naftalenoil)oxi]urs-12-en-28-oic.....	73
Tabela 15- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C obtidos para 11 (CDCl ₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)- 3-[(2-iodobenzoil)oxi] urs-12-en-28-oico.	78
Tabela 16- Resultado do ensaio antimicrobiano (% de inibição ± desvio padrão) dos ácidos isolados da <i>J. caroba</i> e os ésteres derivados do ácido ursólico.	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento químico
δ_C	Deslocamento químico de carbono
δ_H	Deslocamento químico de hidrogênio
ATCC	<i>American type collection culture</i>
BHI	<i>Brain heart infusion</i>
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
DEPT-135	<i>Distortionless enhancement by polarization transfer 135</i>
DIC	<i>N,N'</i> -di-isopropilcarbodi-imida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN de 1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
AU	Ácido ursólico
DCM	Diclorometano
DCC	Dicicloexilcarbodiimida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Plantas Medicinais e Produtos Naturais.....	5
2.2. Jacaranda caroba.....	6
2.3. Ácido ursólico e Ácido 3-epicorosólico.....	7
2.4. Síntese de derivados do ácido ursólico.....	10
2.5. Ensaio de Potencial Biológico.....	13
3. OBJETIVOS.....	15
4. METODOLOGIA.....	17
4.1. Métodos Gerais.....	17
4.2 Coleta e Identificação do Material Vegetal.....	18
4.3. Fitoquímica.....	18
4.3.1. Preparo dos extratos das folhas da J. caroba.....	18
4.3.2. Prospecção fotoquímica dos extratos.....	19
4.3.3. Fracionamento do extrato clorofórmico das folhas.....	21
4.3.4 Fracionamento do extrato etanólico das folhas.....	22
4.3.5. Fracionamento em sistema cromatográfico Isolera- One Biotage.....	23
4.4 Obtenção dos ésteres derivados do ácido ursólico por DIC/DMAP (adaptado de PEREIRA, 2016).....	25
4.5. Atividade Antimicrobiana e Antifúngica.....	25
5. RESULTADOS.....	27
5.1. Triagem fitoquímica.....	27
5.2. Determinação estrutural dos ácidos titerpênicos isolados.....	29
5.2.1. Determinação estrutural do Ácido ursólico (1).....	33
5.2.2. Determinação estrutural do Ácido 3-epicorosólico (2).....	39
5.3. Obtenção de ésteres derivados do ácido ursólico.....	45
5.3.1. Ácido (3 β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oic (5).....	51

5.3.2 Ácido (3 β)-3-[(benzoil)oxi]urs-12-em-28-oico (7)	61
5.3.3 Ácido (3 β)-3-[4-nitrobenzoil)oxi]urs-12-em-28-oico (9).....	65
5.3.4. Ácido (3 β)-3-[1-naftalenoil)oxi]urs-12-em-28-oico (10)	69
5.3.5. Ácido (3 β)-3-[2-iodobenzoil)oxi]urs-12-em-28-oico.....	75
5.4. Estudo da Atividade Antibacteriana e Antifúngica.....	79
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
ANEXOS	93

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais representam uma fonte abundante de moléculas bioativas. As plantas e os extratos vegetais possuem grande relevância para o desenvolvimento da qualidade de vida das pessoas, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e fonte de matérias-primas farmacêuticas. (SIMÕES; SCHENKEL, 2002).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente cerca de 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional para o tratamento de suas necessidades primárias de saúde e a maior parte da terapia tradicional envolve o uso de extratos de plantas ou de seus princípios ativos. As plantas medicinais constituem o único recurso terapêutico de uma parcela significativa da população brasileira, e de mais de dois terços da população do planeta (LUI; WANG, 2008). A OMS estima que aproximadamente 20.000 espécies de plantas superiores sejam empregadas como medicamento em todo o mundo (KHAN, 2006; SIMÕES; SCHENKEL, 2002). De acordo com Ministério do Meio Ambiente (MMA), os fitoterápicos representam aproximadamente 25% do mercado mundial, o que implica em uma movimentação financeira para moléculas derivadas de produtos naturais, situada entre US\$ 500 e 800 bilhões anuais (BRASIL, 2018).

Segundo o MMA, o Brasil apresenta a mais diversa flora do mundo, número superior a 55 mil espécies descritas (22% do total mundial), bem como alguns dos ecossistemas mais ricos em número de espécies vegetais - a Amazônia, a Mata Atlântica e o Cerrado (BRASIL, 2018).

Dentre as espécies encontradas no cerrado brasileiro, encontra-se a família Bignoniaceae, interessante tanto pela perspectiva biológica, quanto química.

Jacaranda é um gênero da família Bignoniaceae Juss. São dicotiledôneas que contém, de acordo com os respectivos tratamentos taxonômicos, 700-800 espécies agrupadas em 100-125 gêneros (GACHET; SCHÜHLY, 2009). A Bignoniaceae é especialmente comum nos trópicos da América do Sul e ocorre em habitats que consistem principalmente em árvores lenhosas, arbustos, lianas e, raramente, plantas herbáceas. Muitos dos representantes lenhosos de Bignoniaceae são conhecidos por seu uso na indústria madeireira por exemplo, *Tabebuia*, *Cybistax*, *Paratecoma*, *Stereospermum*, *Parmentiera*, *Jacaranda*, *Catalpa* ou como plantas ornamentais (*Jacaranda*, *Catalpa*, *Spathodea*). Alguns gêneros ocorrem principalmente como lianas (*Pandorea* e *Macfadyena*) (COSTA et al., 2011).

Tabebuia e *Jacaranda* são os gêneros mais importantes, devido ao maior número de estudos, à ampla utilização dessas espécies para recompor áreas degradadas e aos seus usos medicinais (CASTILLO; ROSSINI, 2010; MARTINS et al., 2008).

As espécies do gênero *Jacaranda* são nativas do continente americano e estão presentes, principalmente, na América do Sul e na América Central. São conhecidas 49 espécies desse gênero, constituídas principalmente de arbustos e árvores (MOSTAFA, et al., 2014), sendo que 39 são endêmicas do Brasil (GACHET; SCHÜHLY, 2009). Essas espécies são amplamente conhecidas devido ao uso ornamental em parques e avenidas, pelo emprego industrial da madeira e por utilização na medicina popular para tratar doenças hepáticas, respiratórias e desordens gástricas. Entretanto, não há relatos de estudos sobre a composição química e as atividades biológicas para a maioria das espécies (ARRUDA et al., 2011; GACHET; SCHÜHLY, 2009; RAHATULLAH et al., 2010).

A espécie *Jacaranda caroba* (Bignoniaceae) (Figura 1, pág. 3) é ocorrente no cerrado, denominada vulgarmente de caroba ou carobinha. Atinge 2,5 a 10 metros de altura, possui casca cinzenta e fina, flores arroxeadas e frutos elípticos (CESAR et al., 2004). *J.caroba* é encontrada em São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso (GACHET; SCHÜHLY, 2009). Suas cascas possuem sabor amargo e são utilizadas popularmente como adstringente, depurativo e diurético; já suas folhas são empregadas como tônico, anti-sifilítico e em banhos para o tratamento de infecções (PEREIRA, 2016). O uso do macerado das folhas em cachaça é empregado como cicatrizante e internamente para o tratamento de úlceras (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Dentre as substâncias descritas na literatura, isoladas a partir da espécie *J. caroba*, destacam-se como constituintes majoritários os triterpenos, que são compostos com 30 átomos de carbono, derivados biossinteticamente da ciclização do esqualeno. Os triterpenos compreendem um grande número de substâncias naturais, observando-se uma expressiva variedade de grupos funcionais (HONDA et al., 2000).

O ácido ursólico é um triterpeno de ampla distribuição, sendo encontrado em espécies alimentícias, medicinais e outras, seja na sua forma livre (aglicona) ou como heterosídeo (saponina). Durante as últimas décadas, diversos trabalhos relatando o isolamento, modificações estruturais, avaliação de atividades farmacológicas, toxicidade e ensaios clínicos foram publicados para este triterpeno, refletindo o grande interesse científico e as potencialidades dessa substância na terapêutica (LIU, 1995; LIU, 2005; MA, 2005; SULTANA; ALI, 1999).

A preparação de derivados de metabólitos secundários através de modificações estruturais é uma estratégia bastante promissora, na busca de moléculas com elevado potencial biológico. As reações químicas são as transformações mais frequentes e úteis para síntese de novos compostos. Diversos derivados sintéticos dos ácidos ursólico encontram-se descritos na literatura, os quais tiveram suas atividades biológicas avaliadas em modelos variados, indicando a potencialidade dessas substâncias como fonte de novas moléculas bioativas.

Nesse contexto, se insere o presente trabalho, cuja a pesquisa visa fornecer dados sobre a composição fitoquímica e de atividades biológicas da *Jacaranda caroba*, as transformações químicas do ácido ursólico, bem como a avaliação das atividades antibacteriana e antifúngica dos derivados obtidos.

Figura 1: Flores e folhas da espécie *Jacaranda caroba*



Fonte: autoria própria

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas Medicinais e Produtos Naturais

Os produtos naturais fundamentam uma fonte abundante de moléculas com propriedades biológicas. As variedades estruturais das moléculas bioativas configuram a principal justificativa para o estudo de alvos biológicos distintos, utilizados como modelo para a indústria farmacêutica. Diversas fontes de produtos naturais têm sido utilizadas na obtenção de medicamentos, incluindo as plantas terrestres, os micro-organismos, organismos marinhos, vertebrados e invertebrados terrestres (NEWMAN; GRAGG; SNADER, 2000).

Outro fator que justifica a pesquisa em produtos naturais é o valor potencial da biodiversidade brasileira. É notória a magnitude da flora brasileira, dada a sua riqueza em plantas produtoras de frutos alimentares, resinas, óleos, gomas, aromas, e, principalmente, o potencial medicinal, encontrado em muitas espécies (JACOBSON et al., 2005).

Segundo Martins, Castro e Cavalheiro (2008), plantas medicinais podem ser definidas como vegetais que possuem substâncias com ação terapêutica. O aproveitamento de plantas e seus extratos para assistência à saúde são devido a sua fácil aquisição e sua aceitabilidade no meio social. Seu uso é apontado tanto para a ação preventiva, quanto para remediação. Sua prescrição e dosologia na maioria das vezes são descritos e pautados em conhecimentos populares. (MOSELE; CECCHIN; DEL FRARI, 2010).

O uso de plantas consideradas medicinais pela população é bastante difundido no Brasil e suas potencialidades neste setor são reconhecidas mundialmente (SIMÕES et al., 2003). Estima-se que pelo menos metade das espécies nativas possua alguma propriedade medicinal (MARTINS; CASTRO; CAVALHEIRO, 2008). Entre os anos de 2013 e 2015, a busca por tratamentos à base de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) mais que dobrou: o crescimento foi de 161%, segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2018).

O princípio ativo das ervas medicinais é atribuído aos constituintes químicos da planta. Portanto, é indispensável o conhecimento prévio dos extratos e a natureza das substâncias presentes.

Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas concebem as atividades biológicas aos produtos naturais. Analisando a prospecção das plantas, cada táxon possui um sistema próprio, caracterizado por metabólitos específicos: alcalóides, terpenóides, fenólicos, etc. (PINTO, 2002).

Essa diversidade de classes de substâncias bioativas associada à ampla tradição no uso de plantas medicinais no país, justifica o ensejo inegável para a pesquisa fitoquímica e de atividades biológicas. Para o desenvolvimento futuro de fármacos e fitoterápicos é imprescindível um investimento em estudos químicos e biológicos que comprovem as atividades alegadas.

2.2 *Jacaranda caroba*

O cerrado brasileiro abriga uma vasta variedade de espécies com potenciais biológicos, dentre elas se encontra a família Bignoniaceae. Esta família é quase que inteiramente constituída de espécies ornamentais como, por exemplo, a peroba (*Paratecoma peroba*), o labão (*Tabebuia nodosa*), os ipês, também do gênero *Tabebuia* e espécies do gênero *Jacaranda*. Essas plantas se destacam devido ao tamanho e coloração de suas flores vistosas, tendo sua maior representação no Brasil (KUHLMANN; KUHN, 1997).

O gênero *Jacaranda* exibe expressiva quantidade de espécies. No Brasil, o gênero encontra-se distribuído no norte do Estado de São Paulo, oeste de Minas Gerais, sul de Goiás e Mato Grosso do Sul, sendo que 39 espécies são endêmicas do território (VALADARES, 2009).

Nesse gênero existem algumas espécies que já foram alvo de estudos fitoquímicos e/ou de atividades biológicas, os quais fornecem indícios sobre a química e as atividades biológicas do gênero (GACHET; SCHUHLY, 2009; VALADARES, 2009).

Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Jacaranda*, destaca-se a espécie *Jacaranda caroba* (Vell.) A. DC., nativa e endêmica do Brasil, conhecida popularmente como caroba, carobinha e caroba do campo (FENNER et al, 2006). Segundo SCUDELLER et al. (2004) sua descrição detalhada consiste:

Arbusto a arvoreta. Caule cilíndrico, lenticelas lanceoladas abundante nos ramos jovens. Folhas 2-pinadas; folíolos de segunda ordem 2,2-4,5 × 1-2 (2,8) cm, subcoriáceo, obovados a elípticos, base cuneada ou atenuada, ápice agudo a levemente acuminado, margem inteira, levemente assimétricos, sésseis, geralmente com glândulas pateliformes em ambas as faces, 5-7 nervuras secundárias, com ângulo de divergência levemente agudo. Inflorescência tirsóide terminal ou axilar; cálice roxo-vináceo, 0,6-1,1 × 0,4-0,5 cm, tubular, 5-lobado, glabro ou tomentoso; corola arroxeadada, interior do tubo branco, tubular, levemente curvada, tubo 4-4,8 × 1,2-1,3 cm, lobos 0,6-1,1 × 0,7-1,1 cm, tomentosa externamente nos lobos, glabra na base do tubo; inserção dos estames vilosa; ovário 0,2 × 0,1 cm, elíptico; disco nectarífero 0,2 × 0,1 cm, pateliforme. Cápsula elíptica-oblonga, 3,5-3,8 × 2,3-3,2 cm, superfície irregular, margem lisa a ondulada, ápice arredondado, base obtusa; semente alada, 1,3-1,5 × 0,6-0,8 cm.

Em uma revisão feita por Gachet e Schühly em 2009, a espécie *Jacaranda caroba* foi descrita por sua utilização como diurético e contra a sífilis. Em algumas regiões do Brasil, suas folhas são aplicadas externamente durante os banhos para o tratamento de infecções e infusões. Sua ingestão interna é amplamente praticada, pois auxilia no tratamento de úlceras.

Bacchi e colaboradores relataram em 1999 a atividade antiulcerogênica *in vivo* para as folhas de *J. caroba*. O extrato hidroalcoólico e a fração diclorometânica originados da planta, mostraram-se ativos na redução de úlceras induzidas por etanol e ácido clorídrico (70% e 100% de redução, respectivamente).

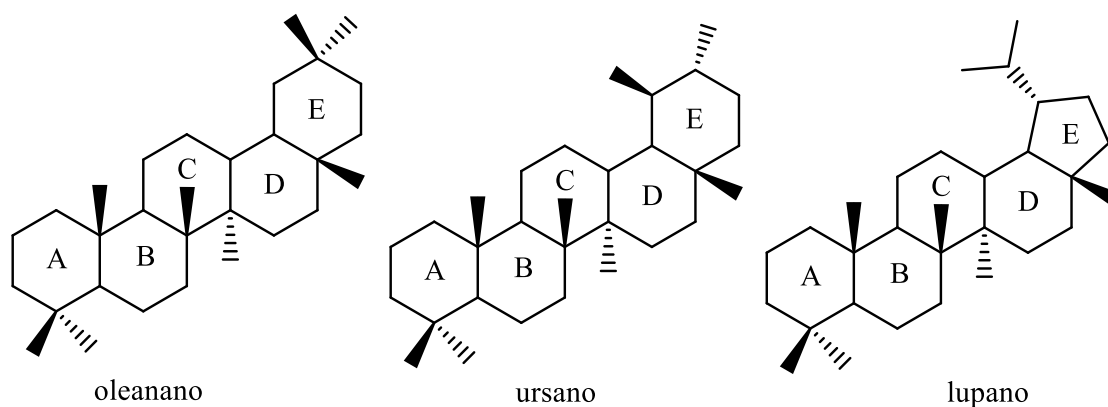
Em um estudo mais recente, a composição fenólica extraída das folhas da *J. caroba*, obtiveram resultados positivos: anti-colinérgico, anticolinesterásico e anti-MAO-A (monoamina oxidase A). A ingestão da infusão das folhas de *J. caroba* também foi apontada pode trazer benefícios para o tratamento da depressão (FERRERES et al, 2013).

2.3 Ácido ursólico e Ácido 3-epicorosólico

A prospecção do potencial biológico de extratos das espécies do gênero *Jacaranda* tem-se revelado altamente promissora, devido principalmente à ação terapêutica de seus constituintes metabólicos. Plantas possuem suas próprias defesas que as protegem de outras plantas, insetos fitófagos e herbívoros predadores de uma maneira geral. Normalmente, estas defesas envolvem substâncias do metabolismo secundário, as quais podem ser chamadas de fitotoxinas ou agentes aleloquímicos (PINTO, 2002). Esses metabólitos secundários são alvo de inúmeras pesquisas, por possuírem alguma atividade biológica na maioria das vezes.

Triterpenos pentacíclicos são metabólitos secundários da série oleanano, ursano e lupano (Figura 2, pág. 7), e constituem classes importantes de terpenos, pois possuem variadas atividades biológicas, tais como: anticancerígena, antifertilidade, anti-hiperglicemia, cicatrização de feridas, anti-úlceras, anti-cariogênica, efeitos hepatoprotetores, antibacterianas, antivirais, cardiovasculares e anti-inflamatórios (LIU, 2005; JÄGER et al., 2016). Os triterpenos constituem uma família extensa, composta por mais de 20.000 moléculas com uma diversidade química interessante e valores terapêuticos importantes (KASHYAP; TULI; SHARMA, 2016).

Figura 2: Esqueleto base dos triterpenos pentacíclicos



O ácido ursólico (1) e o ácido 3-epicorosólico (2), (Figura 3, pág. 9), são triterpenos pentacíclicos pertencentes à classe ursano, distinguindo-se apenas quanto à adição de hidroxila localizada em C-2 no anel A: no ácido 3-epicorosólico a hidroxila se localiza em C-2 e C-3 e em C-28, enquanto no ácido ursólico localiza apenas em C-3 e em C-28.

O ácido ursólico (1) possui ampla aplicação, sendo identificados diversos trabalhos relatando seu isolamento, modificações estruturais, avaliação de atividades biológicas e ensaios clínicos, refletindo o grande interesse científico e suas potencialidades na terapêutica (LIU; 1995; LIU, 2005; MA et al., 2005; SULTANA; ATA, 2008).

Nas pesquisas realizadas, o ácido ursólico apontou ser um agente antitumoral promissor. Verificou-se sua potencialidade em induzir a apoptose nas células tumorais e prevenir a transformação de células saudáveis em cancerígenas. Sua atuação foi descrita como agente quimiopreventivo / quimioprotetor em *práxis*, pois exerce atividade em vários estágios do desenvolvimento do tumor, inibindo efetivamente a angiogênese, invasão de células tumorais e metástase (SULTANA, 2011).

O ácido ursólico, ácido oleanólico e o ácido corosólico isolados da *J. oxyphylla* apresentaram alta ação antibacteriana contra as bactérias *Bacillus cereus* e *Salmonella typhimurium*, com valores de inibição do crescimento na faixa de 84 a 90% (PEREIRA et al, 2015).

De acordo com VALADARES (2009), são diversas as aplicações do ácido ursólico já relatadas, dentre elas, destacam-se as ações hepatoprotetora, anti-inflamatória, hipolipidêmica e antiaterosclerótica, hipocolesterolemiantes, tripanossomicida, imunomoduladora, antimicrobiana, anti-HIV, antibacteriana, antiúlcera gástrica e gastroprotetora, hipoglicêmica, antiosteoporótica, antidiabética e anticoncepcional.

O ácido 3-epicorosólico, um importante composto bioativo, possui seu isolamento descrito na literatura, dentre outros, no gênero *Jacaranda*, sendo encontrado na espécie *Jacaranda caucana* (OGURA, 1977) e na *Jacaranda filicifolia* (ALI; HOUGHTON, 1999).

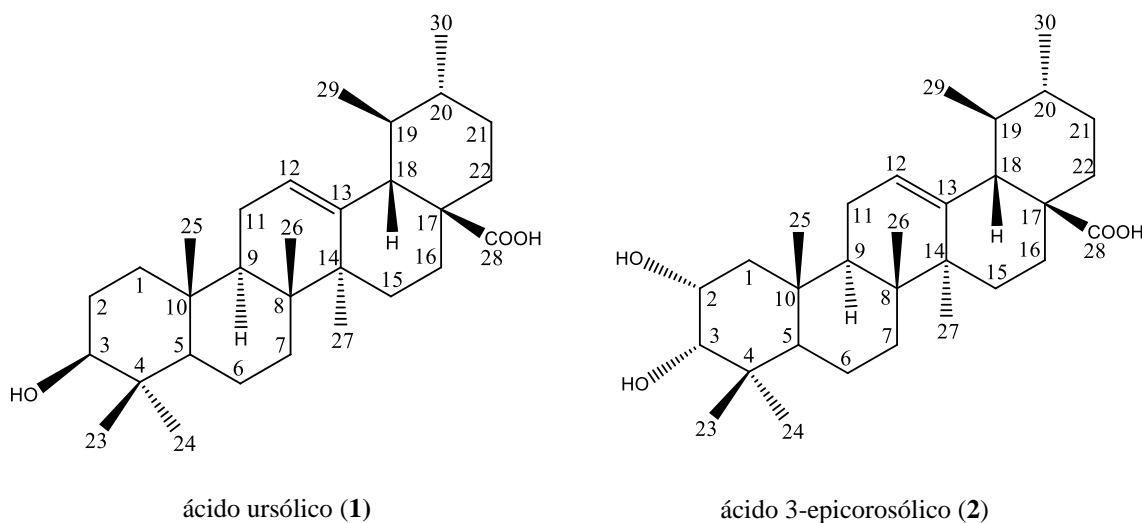
Estudos *in vitro* realizados com o ácido 3-epicorosólico isolado nos frutos da *Crataegus pinnatifida* relatou potencial atividade antidiabética, comportando-se como promissor composto para o desenvolvimento de novos fármacos bioativos contra diabetes. O fruto da *Crataegus pinnatifida* foi constatado sua utilização como alimento funcional para o tratamento de diabetes mellitus (CHOWDHURY, 2014; NAZARUK; BORZYM, 2015).

A atividade antialérgica *in vitro* também foi brevemente relatada para o ácido 3-epicorosólico. O estudo relata que o triterpeno é uma substância segura, capaz de atuar no tratamento de pele, tal como clareamento, prevenção de acne, anti-inflamação, prevenção da ocorrência de rugas e na hidratação da pele (SHIMIZU; IKEDA, 2018).

O ácido 3-epicorosólico apresentou atividade antitumoral *in vivo*, atuando como inibidor da iniciação, diferenciação e proliferação de células tumorais. Também apresentou atividade anti-inflamatória, avaliado quanto aos efeitos inibitórios sobre a inflamação induzida por 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) (1mg/ouvido) em ratos. O ácido 3-epicorosólico mostrou um efeito anti-inflamatório acentuado, com um efeito inibitório de 50% (IC50) de 0,03 a 0,43 mg por orelha. Além disso, demonstrou uma avaliação positiva contra o antígeno precoce do vírus *Epstein-Barr* (BANNO et al., 2005).

No levantamento bibliográfico realizado foram encontrados poucos relatos sobre isolamento, estudos fitoquímicos e biológicos para o triterpeno ácido 3-epicorosólico, evidenciando sua singularidade na constituição metabólica da planta.

Figura 3: Estrutura química do ácido ursólico (1) e do ácido 3-epicorosólico (2)



2.4 Síntese de derivados do ácido ursólico

Produtos naturais continuam estimulando o desenvolvimento da química orgânica, ocasionando avanços em metodologias de síntese na busca de análogos com melhores características farmacológicas e farmacocinéticas do que o produto natural original (HARVEY, 2008).

Foi constatado na literatura que os produtos naturais são as principais fontes de substâncias potencialmente ativas na formulação de novos fármacos, sendo que cerca de 80% dos medicamentos do mercado são originados de compostos naturais (HUSSAIN et al., 2017).

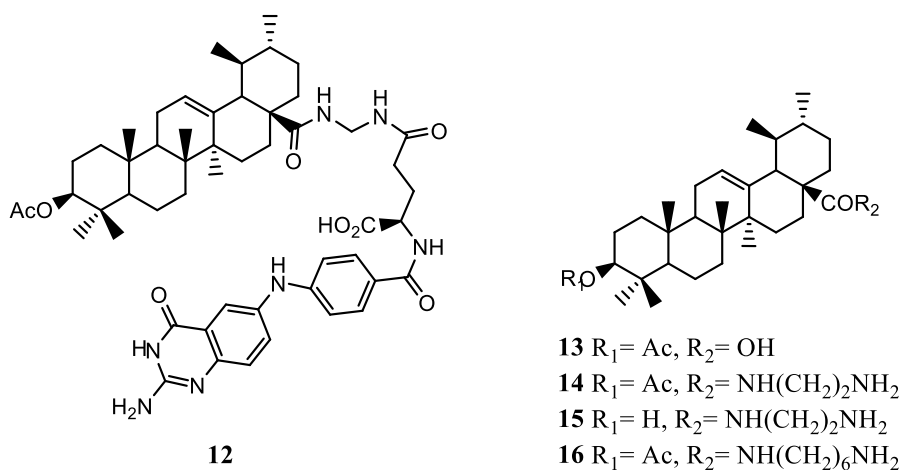
O interesse por substâncias farmacologicamente ativas com baixa citotoxicidade, advindas de fontes naturais, aumentou significativamente, resultando na síntese de moléculas bioativas. As reações utilizam como substrato os produtos naturais para a síntese de novas moléculas, que sejam capazes de atuarem em diversas áreas na terapêutica. (HUSSAIN et al., 2017).

Hussain e colaboradores descreveram em 2017 as diversas aplicações biológicas dos derivados do ácido ursólico (AU), destacando-se a potencialidade anticancerígena, anti-inflamatória e antidiabética, juntamente com antiarrítmicos, anti-hiperlipidêmicos, antimicrobianas, anti-hipercolesterolêmicos, e atividades anti-cardiovasculares.

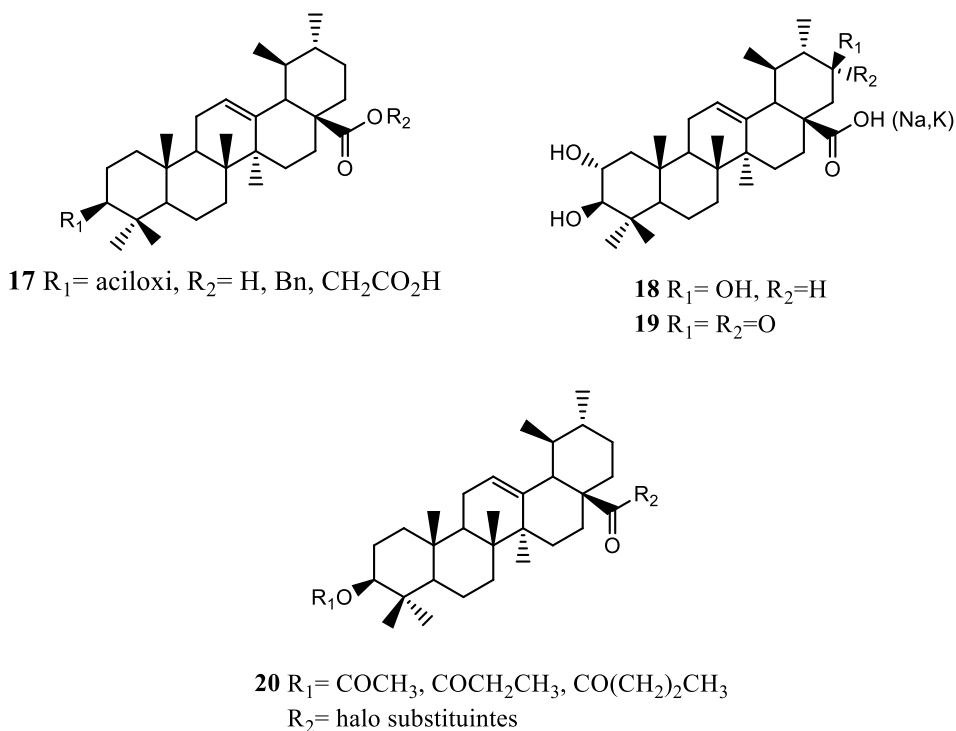
Em 2012, Shao e Wang descreveram as atividades anticancerígenas para quatro análogos sintetizados do AU, (**12-16**, Figura 4, pág. 11). Os resultados de sua atividade biológica demonstraram que os análogos possuíam atividades anticancerígenas significativas em relação a várias linhagens de células cancerígenas: câncer hepático (Hep-G2),

adenocarcinoma gástrico (BGC-823) e melanoma (A-375). Além disso, as atividades anticancerígenas dos análogos amino **12**, **14** e **15** foram maiores que as encontrada para o AU. O derivado **13** apresentou uma baixa toxicidade frente a células normais, mostrado pelo valor elevado de IC₅₀ para essas células (células HELF). O mesmo grupo de pesquisadores publicou outra patente em 2014 (SHAO; XING; YANG, 2014) na qual foi demonstrado que o análogo de aminoácido **16** (Figura 4) do UA pode ser empregado na prevenção e tratamento de tumores em metástase. Além disso, experimentos *in vivo* demonstraram que o composto **16** é capaz de reduzir experimentalmente a metástase pulmonar de melanoma B16-F10 de camundongo.

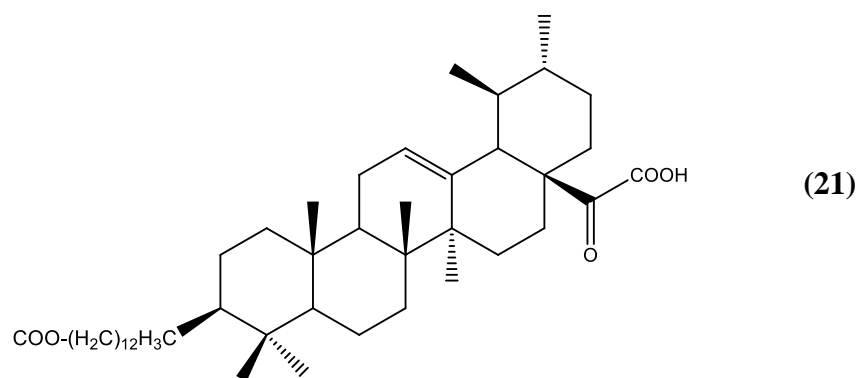
Figura 4: Estrutura dos derivados do ácido ursólico **12-16**



Aplicabilidade para tratamento de diabetes foi descrita por Zhao et al. (2015). A pesquisa demonstrou que os derivados do AU (estrutura geral **17**, Figura 5, pág 12) possuíam atividades significativas sobre a enzima α -glicosidase. Uma patente registrada por Feng et al. (2013), relatou os resultados de atividade inibitória da enzima α -glicosidase por dois derivados do UA isolados na *Cochliobolus lunatus*. Os resultados evidenciaram que os análogos do UA, (**18** e **19**, Figura 5, pág. 12) apresentaram potente atividade inibitória sobre a enzima α -glucosidase com valores de IC₅₀ de 52,7 e 32,9 μ M, respectivamente. O potencial no tratamento da hiperglicemia, diabetes e obesidade também foram relatadas para os derivados **20**, cuja obtenção se deu via reação entre o ácido ursólico e anidridos com diferenciadas estruturas.

Figura 5: Estrutura dos derivados do ácido ursólico **17-20**

A atividade antimicrobiana *in vitro* de derivados do ácido ursólico foi avaliada frente à bactéria gram negativa *Pseudomonas syringae*, sendo o composto **21** (Figura 6, pág. 13) cerca de 1,6 vezes mais ativo que a tetraciclina, empregada como padrão no controle de inibição de crescimento microbiano (VALADARES, 2009). Em 2007, Cunha relatou a atividade antimicrobiana do ácido ursólico, bem como de seus derivados sintéticos modificados nas posições 3 e 28 frente às bactérias: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus* e *Enterococcus faecalis*, microorganismos responsáveis pela formação de cáries dentais em humanos. Todos os triterpenos ensaiados mostraram atividade frente aos microorganismos, indicando sua potencialidade como agentes anti-placa e anti-cárie. Porém, os derivados sintéticos apresentaram atividade biológica inferior aos seus precursores, induzindo que a hidroxila livre em C-3 e a carboxila em C-28 são importantes para a ocorrência da atividade.

Figura 6: Estrutura do derivado do ácido ursólico **21**

2.5 Ensaios de potencial biológico

As infecções bacterianas e fúngicas são responsáveis por uma expressiva parcela de doenças. Simultâneo a essas enfermidades, ocorre o aumento nos encargos governamentais com a saúde pública. Há milhões de pessoas afetadas por doenças infecciosas atribuídas a bactérias e fungos em todo o mundo (DANISHUDDIN, 2012). Essas doenças encontram-se negligenciadas pelo mercado farmacêutico, a falta de interesse dos grandes laboratórios em agentes antibacterianos está relacionada a inúmeros fatores, dentre eles o fato de que na maioria dos casos de contaminação microbiana, apresentam-se associados à falta de saneamento básico, cenário característico de países subdesenvolvidos.

Além disso, a duração do tratamento com agentes antibacterianos é limitada, quando comparado a drogas utilizadas para o tratamento do câncer, doenças neurológicas ou cardiovasculares; o que significa uma menor rentabilidade para a indústria farmacêutica. Além disso, algumas doenças necessitam em geral, de medicamentos com preços mais elevados, como é o caso daqueles utilizados no tratamento do câncer (MOELLERING JR, 2011; BUSH et al., 2011).

Além do declínio na descoberta de novos fármacos, outro grande problema associado à terapia antimicrobiana é o aumento crescente da resistência dos patógenos. Segundo Mendes e colaboradores (2010), há relato do surgimento e a disseminação de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado. Prescrições de antibióticos inadequados ou desnecessários, o uso excessivo de antibióticos na pecuária e na agricultura e a falta de adesão dos pacientes ao período de tratamento são os principais contribuintes para o surgimento de resistência à antibióticos (GLICKMAN; SAWYERS, 2012; BOLOGA et al.,

2013). Dessa forma se faz necessária a busca de novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas, como as plantas utilizadas na medicina tradicional.

Moléculas de origem natural podem apresentar diversas atividades biológicas conferindo à elas grande potencial terapêutico. Inúmeros estudos científicos na área vêm sendo realizados com o intuito de aprimorar o conhecimento acerca dos benefícios das plantas medicinais. Ensaio biológicos já estabelecidos na literatura são aplicados para se detectar diferentes atividades. Dentre os diversos ensaios utilizados para evidenciar uma determinada atividade dos produtos naturais (substâncias isoladas ou semi-sintéticas) podem ser destacados os ensaios que procuram detectar as atividade antibacteriana e antifúngica.

Recentemente, estudos de atividade antimicrobiana com os extratos das espécies pertencentes ao gênero *Jacaranda* têm confirmado o grande potencial biológico das espécies. Essa atividade foi encontrada na *J. cuspidifolia*, onde o óleo essencial mostrou moderado efeito antimicrobiano contra *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*, enquanto não se observou inibição contra *P. aeruginosa* (YUANA et al., 2018). Para a espécie *J. oxyphylla*, a atividade antimicrobiana foi encontrada no extrato etanólico das folhas, obtendo-se atividade contra bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) e bactérias gram-negativas (*Escherichia coli*) (PEREIRA et al., 2015). Os resultados da triagem bacteriana mostraram que a *Jacaranda rugosa* apresentou atividade antimicrobiana superior a 90% de inibição (MALAFAIA et al., 2017). Tais resultados revelaram que as espécies pertencentes ao gênero *Jacaranda* são potenciais fontes para obtenção de novos protótipos antimicrobianos.

Diante do exposto, fica evidente que a descoberta de metabólitos secundários e a avaliação da potencialidades biológicas são alternativas promissoras para o desenvolvimento de novos compostos bioativos, seguros para o meio ambiente e para os seres humanos.

3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi dar continuidade às pesquisas com os membros da família Bignoniaceae, especificamente a espécie *Jacaranda caroba*, e avaliar a atividade antimicrobiana dos derivados do ácido ursólico. Neste contexto, o presente trabalho envolveu os seguintes objetivos específicos:

- ✓ Isolar ácidos de natureza terpênica a partir das folhas de *J. caroba*, com foco no ácido ursólico;
- ✓ Sintetizar derivados inéditos do ácido ursólico com potencial atividade biológica;
- ✓ Realizar o estudo detalhado de confirmação estrutural dos metabólitos secundários isolados, com diferentes técnicas (Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF) e Espectroscopia de Ressonância de Magnética Nuclear (RMN));
- ✓ Avaliar o rendimento e eficácia da metodologia utilizada;
- ✓ Avaliar a atividade antibacteriana e a atividade antifúngica dos metabólitos secundários, bem como dos derivados obtidos.

4. METODOLOGIA

4.1 Métodos Gerais

Neste trabalho, a purificação dos ácidos terpênicos e dos derivados foi realizada em cromatografia em coluna (CC). Para os procedimentos de separação foi utilizada a sílica gel (0,063-0,0200 mm, 70-230 Mesh) como fase estacionária. Os solventes empregados como fase móvel foram o hexano, clorofórmio e o acetato de etila, (puros ou combinados, em ordem crescente de polaridade).

Concomitantemente à cromatografia em coluna (CC) foi utilizada a cromatografia em coluna flash (isolera-preparativa), para o isolamento dos ácidos triterpênicos. Utilizou-se o aparelho Isolera TM One – Biotage (pertencente ao laboratório de pesquisa- NEPLAN da UFMG), com cartuchos adequados a quantidade de amostra, modo de detecção UV em duas faixas escolhidas de acordo com a natureza da amostra. A fase móvel foi escolhida a partir do padrão cromatográfico das amostras por cromatografia em camada delgada (CCD), anteriormente pré- purificadas em coluna CC.

Para acompanhamento das eluições foram executadas análises de cromatografia em CCD. Na preparação das cromatoplasmas utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60G (0,045mm, Merck) na espessura de aproximadamente 0,25 mm; como fase móvel utilizaram-se os solventes hexano, clorofórmio e acetato de etila (puros ou combinados). Como reveladores usou-se vanilina sulfúrica (solução de vanilina etanólica a 1% (p/v) e ácido sulfúrico a 3% (v/v)), seguido por aquecimento em estufa a 150 °C. Como critério de pureza das amostras, foi adotada a visualização de uma única mancha obtida na CCD. Para certificação da substância isolada, foi utilizada uma pequena quantidade de substância já identificada e com um grau de pureza certificado como padrão para comparação.

A faixa de fusão dos compostos isolados foi determinada em aparelho Ávila Científica.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV), na faixa de 4000-400 cm^{-1} foram obtidos utilizando-se principalmente o espectrômetro Varian IR (pertencente ao Departamento de Química da UFVJM), utilizando o dispositivo ATR, amostragem direta. Os espectros de RMN em 1D (^1H , ^{13}C e DEPT-135) foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance DRX-400 do Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química (DQ)- UFMG e o espectro de ^{13}C (Quantitativo) foi obtido no

espectrômetro Brucker Fourier do Laboratório de Ressonância Magnética do DEQUI-UFVJM, operando em 300K. Os solventes deuterados utilizados foram dependentes da solubilidade apresentada por cada amostra. Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm, usando tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna.

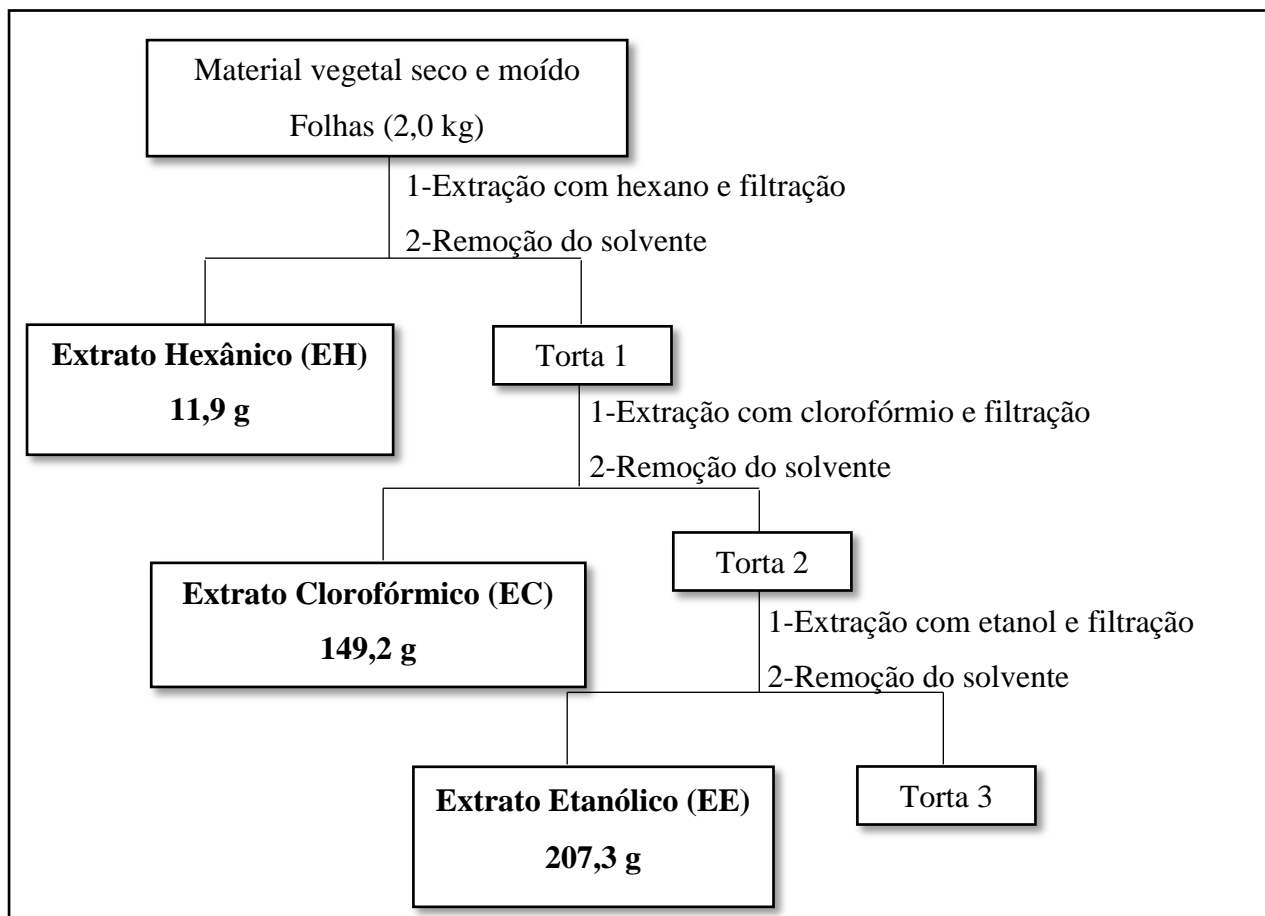
4.2 Coleta e identificação do material vegetal

As partes aéreas da espécie *J. caroba* foram coletadas entre os dias 10 e 17 de julho de 2016 na cidade de Diamantina-MG. A planta foi coletada em área de cerrado e campo rupestre, a elevação de 1355,71 metros, nas coordenadas: - Latitude: 18° 13' 56" S; - Longitude: 043° 39' 01" W. A exsicata foi identificada pela bióloga Darliana da Costa Fonseca e depositada no Herbário Florístico do Departamento de Ciências Biológicas da UFVJM (DIAM) sob o número 1293.

4.3 Fitoquímica

4.3.1 Preparo dos extratos das folhas da *J. caroba*

As partes aéreas da *J. caroba* foram secas ao abrigo de luz. Separadamente as folhas foram reduzidas a pó em moinho de facas, obtendo-se a massa de 2,0 kg. Posteriormente o material vegetal foi submetido à extração em temperatura ambiente, com solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, clorofórmio e etanol. Após a filtração, os extratos foram concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida, até peso constante. A extração foi realizada em triplicata, fornecendo os extratos hexânicos, clorofórmicos e etanólicos, respectivamente. A nomenclatura de cada extrato foi feita pela composição das iniciais do solvente utilizado (H= hexano, C=clorofórmio e E=etanol). Por exemplo, **EH** refere-se ao extrato hexânico (Figura 7, pág. 19).

Figura 7: Fluxograma de obtenção dos extratos das folhas de *J. caroba*

4.3.2 Prospecção fitoquímica dos extratos

Para a prospecção fitoquímica dos extratos da *J. caroba*, foram realizados estudos preliminares com vistas à identificação das classes de metabólitos secundários (terpenos e/ou esteroides, flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas e cumarinas) presentes nos extratos, através de reações cromogênicas e de precipitações e análises por CCD. Utilizou-se pequena quantidade dos extratos (EH, EC e EE) e a interpretação dos resultados foi baseada na observação de mudança de cor, turvação do sistema reacional ou revelação na presença de luz ultravioleta. Os testes realizados são aqueles descritos comumente na literatura (MATTOS, 1997; WAGNER, 1995).

Para a pesquisa de triterpenos e/ou esteroides, foi realizado o teste de Liebermann-Burchard, onde uma alíquota (~2,0 mg) dos extratos secos foram dissolvidos em 1,0 mL de clorofórmio e em seguida foi adicionado 2,0 mL de anidrido acético. Posteriormente, foi

acrescentado cuidadosamente três a quatro gotas de ácido sulfúrico concentrado ao recipiente contendo o sistema e agitou-se suavemente. A formação de coloração rósea indica a presença de triterpenos e a coloração verde indica a presença de esteroides.

Na pesquisa de flavonoides, uma alíquota de (~2,0 mg) dos extratos secos foram dissolvidos em 2,0 mL de água. Ao recipiente foi adicionado hidróxido de amônia até atingir pH=11. O aparecimento de coloração amarela é indicativo da presença de flavonas, flavonóis e xantonas. Coloração vermelha púrpura é indicativa da presença de chalconas e auronas. Por sua vez, a coloração vermelha alaranjada indica a presença de flavonóis na amostra.

Para a pesquisa de taninos, uma alíquota de (~2,0 mL) dos extratos secos foram diluídos em 2,0 mL de água, posteriormente acrescentou-se 3 gotas de solução aquosa de cloreto férrico a 1%. Reação positiva para taninos catéquicos ou condensados desenvolve coloração azul, enquanto que para taninos gálicos ou hidrolisáveis há formação de cor verde. Se for observada uma coloração marrom, indica presença de polifenóis.

Na pesquisa de alcaloides, uma alíquota de (~2,0 mg) dos extratos secos foram dissolvidos em 2,0 mL de água destilada, posteriormente adicionaram-se três gotas de reativo de Dragendorff (tetriodeto bismuto de potássio). A formação de precipitado floculoso empregando o reagente é indicativo da presença de alcaloides na amostra.

No ensaio de pesquisa às saponinas, recipientes contendo ~2,0 mg dos extratos secos diluídos em 2,0 mL de água destilada foram agitados vigorosamente por três minutos e deixados em repouso por trinta minutos. A reação positiva é indicada por aparecimento de espuma com altura superior a aproximadamente 1,0 cm e persistente após o repouso.

A pesquisa de cumarinas foi realizada com a preparação de cromatoplaca. Os extratos (EH, EC e EE) foram dissolvidos em solventes apropriados, posteriormente foram aplicados nos spots correspondentes. Como fase estacionária utilizou-se sílica gel 60G (0,045mm, Merck) na espessura de aproximadamente 0,25 mm; e como reagente utilizou-se uma mistura de acetato de etila P.A, ácido acético glacial, ácido fórmico e água destilada, nas proporções (100, 11, 11 e 26%), respectivamente. A placa cromatográfica foi revelada sob luz UV (360 nm). O aparecimento de coloração amarela é a confirmação da presença de cumarinas.

Os extratos clorofórmico e etanólico de *J. caroba* foram descritos na literatura por conterem uma expressiva quantidade de ácidos de natureza triterpênica, portanto optou-se por fazer o trabalho de isolamento e identificação apenas com os extratos de média e alta polaridade (PEREIRA, 2016).

4.3.3 Fracionamento do extrato clorofórmico das folhas

O extrato clorofórmico de *J. caroba* (EC) foi submetido à CC de sílica gel 60 (70-230 Mesh), utilizando uma massa de 131,7 g dessa amostra e 600,0 g de fase estacionária, sendo denominada **coluna A**. Os eluentes utilizados foram clorofórmio (CHCl₃) e acetato de etila (AcOEt). Foram coletadas 39 frações de aproximadamente 250 mL, que foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Após análise por CCD, as frações semelhantes foram reduzidas em grupos (Tabela 1).

Tabela 1- Resultado do fracionamento de EC (coluna A) de *J. caroba*

Fração coletada	Fase móvel	Grupo (Frações reunidas)	Massa (g)
1-16	CHCl ₃	A1(1-16)	14,6
17-29	CHCl ₃ : AcOEt(9:1)	A2 (17-20)	12,7
30-39	AcOEt	A3 (21-29)	7,6
		A4 (30-33)	7,7
		A5(34-39)	2,8

Com o intuito de buscar pelos ácidos de interesse, somente os grupos que possuíam o perfil cromatográfico compatível ao padrão utilizado, seguiram para a purificação.

O grupo A1 foi obtido como um sólido laranja pastoso (14,5 g), não apresentou uma mancha arroxeadada na análise por CCD, característica de substância de natureza triterpênica, foi utilizado a vanilina sulfúrica como agente revelador.

Os grupos A2, A3, A4 e A5 foram obtidos como sólidos amarelados. Nas placas de CCD apresentaram um perfil cromatográfico com a presença de três manchas principais. Devido à quantidade de clorofila presente nos grupos, identificada pela coloração amarela (observação visual). Somente o grupo A3 seguiu para purificação, uma vez que este grupo apresentou-se com uma menor quantidade de clorofila, determinado pela coloração amarela.

O grupo A3 apresentou-se como um sólido amarelo claro (7,6 g). A amostra foi submetida à purificação por CC de sílica gel 60 (300,0 g de fase estacionária), empregando clorofórmio e acetato de etila como eluentes (sozinhos ou combinados, em ordem crescente de polaridade). Foram obtidas 179 frações de aproximadamente 10 mL. Após análise por CCD, as frações 30-73 foram reunidas (grupo A3.3; 2,4 g). Para obter o isolamento dos ácidos, posteriormente a amostra seguiu para purificação no equipamento Isolera TM (Item 4.3.5, pág. 23).

4.3.4 Fracionamento do extrato etanólico das folhas

O extrato etanólico das folhas de *J. caroba* (**EE**) foi submetido à CC de sílica gel 60 (70-230 Mesh), utilizando uma massa de 148,8 g dessa amostra e 600,0 g de fase estacionária, sendo denominada **coluna B**. Os eluentes utilizados foram clorofórmio (CHCl₃) e acetato de etila (AcOEt) (sozinhos ou combinados, em ordem crescente de polaridade). Foram coletadas 95 frações de aproximadamente 250 mL, que foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Após análise por CCD, as frações semelhantes foram reunidas em grupos (Tabela 2).

Tabela 2- Resultado do fracionamento de **EE** (coluna B) de *J. caroba*

Fração coletada	Fase móvel	Grupo (Frações reunidas)	Massa (g)
1-4	CHCl ₃	B1(1-4)	3,0
5-18	CHCl ₃ : AcOEt(9:1)	B2 (5-6)	1,6
19-60	CHCl ₃ : AcOEt(7:3)	B3 (7-16)	3,7
60-95	AcOEt	B4 (17-35)	28,6
		B5 (36-40)	4,4
		B6 (41-68)	8,8
		B7 (69-95)	4,9

Com o intuito de buscar pelos ácidos de interesse, somente os grupos que possuíam o perfil cromatográfico compatível ao padrão utilizado, seguiram para a purificação.

Os grupos B1 e B7 foram obtidos como ceras verdes viscosas com 3,0 g e 4,9 g, respectivamente. Não apresentaram uma mancha arroxeadada na análise por CCD, característica de substância de natureza triterpênica. Portanto, esses grupos foram descartados.

Os grupos B2 a B6 pela observação das placas de CCD, apresentaram um perfil cromatográfico com a presença de três manchas principais. Entretanto, devido aos grupos B2, B4, B5 e B6 apresentarem-se como sólidos amarelados, somente o grupo B3 seguiu para a purificação.

O grupo B3 foi obtido como um sólido branco (3,7 g). A amostra foi submetida à purificação por CC de sílica gel (73,0 g de fase estacionária), empregando-se clorofórmio e acetato de etila como eluentes (sozinhos ou combinados, em ordem crescente de polaridade). Foram obtidas 268 frações de aproximadamente 10 mL. Após análise por CCD, as frações 118-143 foram reunidas, gerando o grupo B3.7 (84,5 mg), as frações 144-168 foram reunidas no grupo B3.8 (65,1 mg) e as frações 169-202 são pertencentes ao grupo B3.9 (869,8 mg). Na observação das placas de CCD, os grupos apresentaram um perfil cromatográfico contendo

duas manchas principais. Para obter o isolamento dos ácidos, posteriormente as amostras seguiram para purificação no equipamento Isolera TM .

Parte dessa amostra foi submetida à análise espectroscópica na região do IV, de RMN de ^1H e de ^{13}C . Os resultados desses experimentos permitiram concluir que o sólido do grupo B3.9 trata-se da mistura do ácido ursólico e do ácido 3-epicorosólico.

4.3.5 Fracionamentos em sistema cromatográfico Isolera One – Biotage

As purificações por cromatografia de adsorção (flash) em coluna foram realizadas utilizando-se sílica gel HP-Sphere 25 μm como fase estacionária em coluna SNAP Ultra 10,0 g e SNAP KP-SIL 100,0 g no sistema cromatográfico Isolera One – Biotage. Em ordem crescente de polaridade, foram empregados como eluentes: hexano, clorofórmio e acetato de etila (sozinhos ou combinados). Foi utilizado o modo de detecção UV, nas faixas de 220 e 254 nm, com o threshold de 20 mAU.

Nas corridas cromatográficas, concomitantemente à eluição, foi gerado um gráfico de absorção no Ultravioleta Visível *versus* frações coletadas (Gráfico 1, pág. 24). A análise do gráfico foi inconclusiva na determinação do perfil de separação, devido os ácidos triterpênicos absorverem a radiação UV-vis na mesma faixa de comprimento de onda.

O grupo A3.3 (2420,3 mg) obtido a partir do extrato clorofórmico e os grupos B3.7 (84,5 mg), B3.8 (65,1 mg) e B3.9 (869,8 mg) obtidos a partir do extrato etanólico foram reunidos e purificados no sistema cromatográfico Isolera One –Biotage.

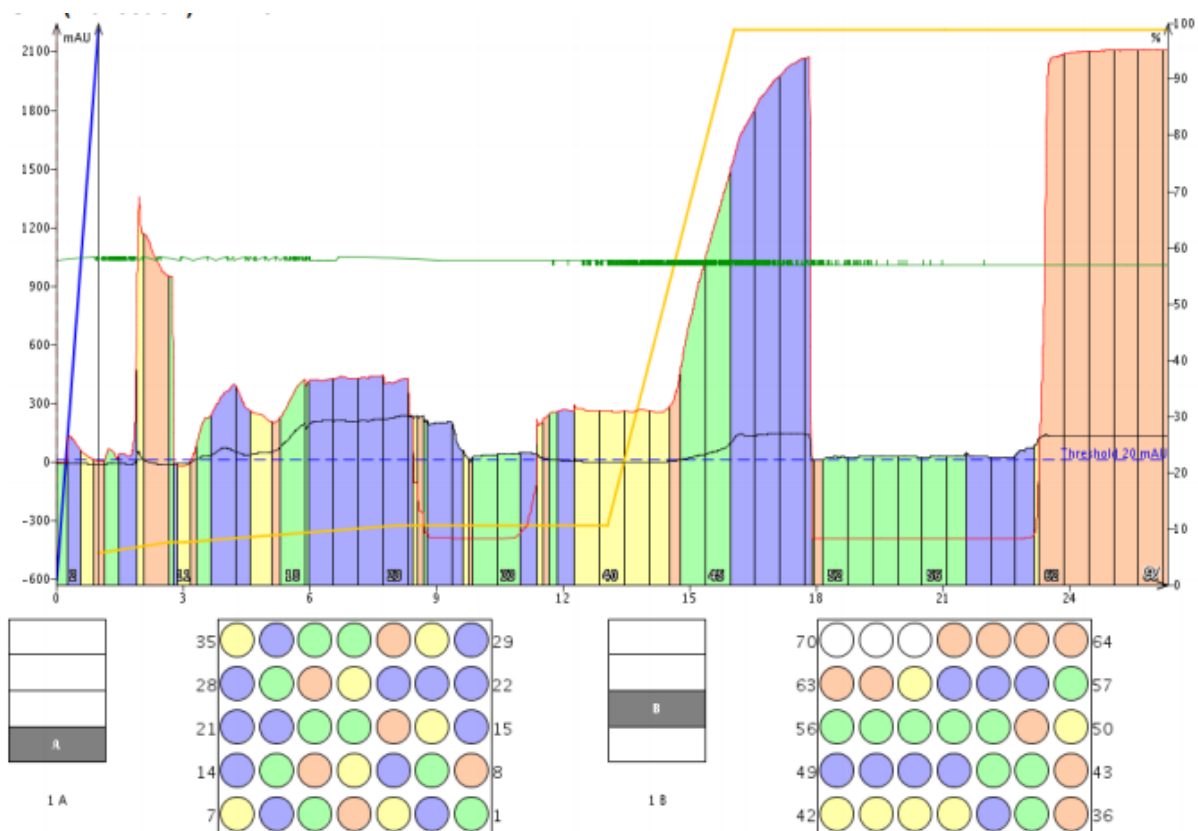
Para otimização do gradiente de eluição, foram feitas duas corridas cromatográficas (I1 e I2), utilizando-se uma massa de 300,0 mg de amostra em cada fracionamento e como fase estacionária utilizou-se sílica gel HP-Sphere 25 μm (1,0 g) em coluna SNAP Ultra 10,0 g. Foram coletadas aproximadamente 18 mL por fração, obtendo no total 44 e 64, respectivamente. Após a corrida cromatográfica foi realizada a análise por CCD e os grupos que apresentaram um perfil cromatográfico semelhante foram agrupadas.

Após a definição do melhor método de eluição, os grupos A3.3, B3.7, B3.8 e B3.9 foram submetidos à sucessivos fracionamentos, utilizando como fase estacionária coluna SNAP KP-SIL 100,0 g e como fase móvel hexano, clorofórmio e acetato de etila (combinados ou sozinhos, em ordem crescente de polaridade).

Foram realizadas 3 corridas cromatográficas, sendo denominadas I3, I4 e I5. Foram obtidas respectivamente; 19, 176 e 67 frações de aproximadamente 18 mL para I4 e I5; e 250

mL para I3. Após análise por CCD, as frações que continham um perfil cromatográfico contendo uma única mancha foram reunidas, obtendo-se os grupos I3G3 (544,0 mg), I4G9 (176,7 mg), I4G10 (199,4 mg) e I4G15 (33,6 mg). Parte dessas amostras foram submetidas à análise espectroscópica na região do IV, de RMN em 1D (^1H , ^{13}C e DEPT-135).

Gráfico 1- Perfil de eluição x absorção no UV-vis da corrida I5 obtida no Isolera One-Biotage



Fonte: Isolera One- Biotage, utilizando-se sílica gel HP-Sphere 25 μm como fase estacionária em coluna SNAP KP-SIL 100g e empregado como fase móvel hexano, clorofórmio e acetado de etila (sozinhos ou combinados) em ordem crescente de polaridade. Faixa de absorção (220 e 254 nm).

4.4 Obtenção dos ésteres derivados do ácido ursólico por DIC/DMAP (adaptado de Pereira, 2016)

Em balão de fundo redondo de 50 mL acoplado a tubo contendo CaCl_2 , foram solubilizados em diclorometano e sob agitação magnética: 0,2 mmol (2 Eq) do ácido (benzoico, ácido para-nitrobenzóico, ácido naftalenocarboxílico, ácido 2-iodo benzoico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico e o ácido esteárico) 0,2 mmol (2 Eq) de N,N'-diisopropilcarbodi-imida (DIC) e 0,2 mmol (2 Eq) ou quantidade catalítica (0,03 mmol) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). Decorrida uma hora de reação, foi acrescentado 0,1 mmol de ácido ursólico (1 Eq). A mistura foi mantida sob agitação à temperatura ambiente e o desenvolvimento da reação foi seguido por CCD. Após o fim da reação (tempo em torno de 24 horas), fez-se uma extração líquido-líquido para a retirada dos subprodutos. Foram transferidos para um funil de separação de 125 mL, o meio reacional juntamente com 10 mL de diclorometano e 10 mL de água destilada. A mistura foi agitada e posteriormente mantida em repouso para a separação completa das fases. A fase orgânica foi separada da fase aquosa e retornada novamente ao funil de separação. Novamente a fase orgânica foi extraída com 10 mL de água destilada. Removeu-se o solvente da fase orgânica utilizando evaporador rotatório. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel 60 (0,063-0,200 mm, 70 -230 Mesh) como fase estacionária. Os solventes empregados como fase móvel foram hexano, clorofórmio e acetato de etila (sozinhos ou combinados e em ordem crescente de polaridade).

4.5 Atividade Antimicrobiana e Antifúngica

O ácido ursólico e o ácido 3-epicorosólico isolados nas folhas da *Jacaranda caroba* e os derivados ésteres do ácido ursólico, foram submetidos a ensaios antibacterianos e antifúngico (triagem) através do método de microdiluição em caldo adaptado (CUEVA, 2010). Foram testadas duas bactérias gram-positivas (*L. Monocytogenes* ATCC 15313 e *S. aureus* ATCC 29212), duas gram- negativas (*E. coli* ATCC 25922 e *C. Freundi* ATCC 8090) e um fungo leveduriforme (*Candida albicans* ATCC 18804). Os micro-organismos utilizados encontram-se na coleção do Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios (LABB) do Departamento de Química da UFMG.

Inicialmente, os compostos isolados e os derivados do ácido ursólico foram dissolvidos em DMSO até a concentração de $12,5 \text{ mg.mL}^{-1}$. Posteriormente, foram diluídos em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), utilizado como meio de cultura para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e em caldo *Ágar Sabouraud Dextrose*, utilizado como meio de cultura para o fungo leveduriforme *Candida albicans*, até atingir a concentração de $100 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$. Controles antimicrobianos e antifúngicos ($100 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$) também foram feitos, utilizando ampicilina para bactérias e nistatina para o fungo leveduriforme. Em microplacas de 96 poços, aplicou-se 100 μL das amostras testadas e foram adicionadas 100 μL dos inóculos microbianos, preparados previamente com água destilada estéril até atingir 74% a 75% de transmitância para bactérias e 75% a 76% para o fungo. Foi utilizado o espectrofotômetro (modelo SP-22, Bioespectro) a 625 nm, pertencente ao Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios (LABB) do Departamento de Química da UFMG.

Em paralelo fez-se o ensaio em branco para bactérias (100 μL das amostras diluídas em BHI e 100 μL de água destilada estéril), o controle positivo, (100 μL dos inóculos microbianos e 100 μL do caldo BHI) e o controle negativo, (100 μL de água destilada estéril e 100 μL do caldo BHI). Concomitantemente, realizou-se o ensaio em branco para o fungo (100 μL das amostras diluídas em caldo *Sabouraud* e 100 μL de água destilada estéril), o controle positivo, (100 μL dos inóculo fúngico e 100 μL do caldo *Sabouraud*) e o controle negativo, (100 μL de água destilada estéril e 100 μL do caldo *Sabouraud*). Cada micro-organismo foi testado em uma placa diferente e o ensaio foi realizado em quintuplicata.

As placas foram incubas em estufa (modelo Q-316, Quimis) a 35°C . Após 24 horas, as leituras de absorbância foram feitas em espectrofotômetro de microplacas (modelo ELx800, BioTek) a 495 nm. Os resultados desse teste foram expressos como % de inibição do crescimento antimicrobiano e antifúngico, sendo Abs=Absorbância, CP=Controle Positivo e CN= Controle Negativo, conforme a equação 1:

$$\% \text{ Inibição} = 100 - [(\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. branco}) / (\text{Abs. CP} - \text{Abs. CN}) \times 100]$$

(Equação 1)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Prospecção fitoquímica

Substâncias oriundas do metabolismo secundário vegetal fazem parte de um extenso grupo de compostos que desempenham a função de defesa frente às agressões externas. Essas substâncias, denominadas metabólitos secundários, estão divididas em diversas classes na natureza, de acordo com sua rota de síntese na planta e semelhanças estruturais.

Os ensaios de triagem fitoquímica evidenciaram os triterpenos como a principal classe de fitoconstituintes presentes nos extratos das folhas de *J. caroba*. Na literatura existem relatos do isolamento de diferentes esteroides e triterpenos em extratos das espécies do gênero *Jacaranda*. (GACHET; SCHUHLY, 2009). Para exemplificar, o esteroide β -sitosterol-glicosídeo e os triterpenos lupeol e ácido betulínico foram isolados anteriormente em extrato éter dietílico de *J. mimosifolia* (ZAGHLOUL et al., 2011).

Os extratos hexânicos e clorofórmicos evidenciaram a presença de triterpenos e cumarinas. Os extratos etanólicos de *J. caroba* revelaram a presença de outras quatro classes de compostos: taninos, flavonoides, alcaloides e saponinas. Essas classes foram descritas anteriormente para as espécies do gênero *Jacaranda* (GACHET; SCHÜHLY, 2009). Todos os resultados da análise fitoquímica preliminar dos extratos de *J. caroba* estão resumidos na Tabela 3. Para constatar a diferenciação química entre espécies diferentes pertencentes ao mesmo gênero foi realizada a triagem fitoquímica dos extratos clorofórmicos e etanólicos da espécie *Jacaranda oxyphylla* (Tabela 4, pág. 26).

Tabela 3- Triagem fitoquímica dos extratos de *J. caroba*

Extrato	Triterpenos e/ ou Esteroides	Taninos	Flavonoides	Alcaloides	Saponinas	Cumarinas
EH	+	-	-	-	-	+
EC	++	-	-	-	-	+
EE	++	+	+	+	+	-

++ = presença forte, + = presença moderada, - = não detectado.

Tabela 4- Triagem fitoquímica dos extratos de *J. oxyphylla*

Extrato ¹	Triterpenos e/ Esteroides	Taninos ou	Flavonoides	Alcaloides	Saponinas	Cumarinas
EC	++	-	-	-	-	+
EE	++	+	+	-	+	-

¹Obtido das folhas de *J. oxyphylla*, extrato cedido pelo laboratório NEPRONAT.

++ = presença forte, + = presença moderada, - = não detectado.

A análise de prospecção fitoquímica entre espécies distintas pertencentes ao mesmo gênero ratificou a importância da investigação minuciosa sobre a constituição química da planta. *J. caroba* e *J. oxyphylla* são espécies nativas do cerrado, ambas são plantas subarbustivas, possuindo flores arroxeadas no período de floração. (GENTRY, 1992; PEREIRA; MANSANO, 2008). Devido à grande semelhança, *J. oxyphylla* e *J. caroba* são frequentemente confundidas. Entretanto, essas espécies podem ser diferenciadas pela análise dos folíolos, que são elíptico-lanceolados, com 7-9 nervuras secundárias na espécie *J. oxyphylla* e são obovado a elíptico, com 5-7 nervuras na *J. caroba*. (CARVALHO, 2010; GENTRY, 1992; SCUDELLER, 2004).

A partir da análise das tabelas de resultados de triagem fitoquímica foi possível constatar uma diferenciação química encontrada entre as espécies. A espécie de *J. caroba* possui em sua composição a classe de alcaloides.

Alcaloides constituem uma importante classe de metabólitos secundários, inúmeros representantes auxiliaram na descoberta de protótipos de fármacos, por exemplo: alcaloides vincristina e vimblastina. Esses alcaloides foram isolados dos extratos das folhas da *Catharanthus roseus* e ambos são úteis no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e leucemia aguda infantil (BRANDÃO et al., 2010).

5.2 Determinação estrutural dos ácidos triterpênicos isolados

O grupo B3.9 (869,8 mg), obtido como um sólido branco, foi isolado do extrato etanólico de *J. caroba*. Na observação da placa de CCD, o grupo apresentou um perfil cromatográfico contendo duas manchas principais, o qual foi submetido a análise de RMN de ^{13}C e subspectro de DEPT-135.

A identificação das substâncias foi realizada em mistura, representada na Figura 9, onde foram analisados os sinais e deslocamentos correspondentes a cada triterpeno, podendo dessa forma caracterizá-los. A partir da análise do espectro de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (Figura 9 e 10, pág. 27 e 28, respectivamente) foi concluído que as duas manchas contidas na placa de CCD se tratavam de uma mistura de triterpenos. Os valores de deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos C-13 (δ_c 138,53 e δ_c 138,48) são característicos e inerentes ao ácido 3-epicorosólico e ao ácido ursólico, respectivamente (MAHATO; KUNDU, 1994).

Figura 8: Espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos triterpenos pentacíclicos isolado da planta *Jacaranda caroba*, ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).

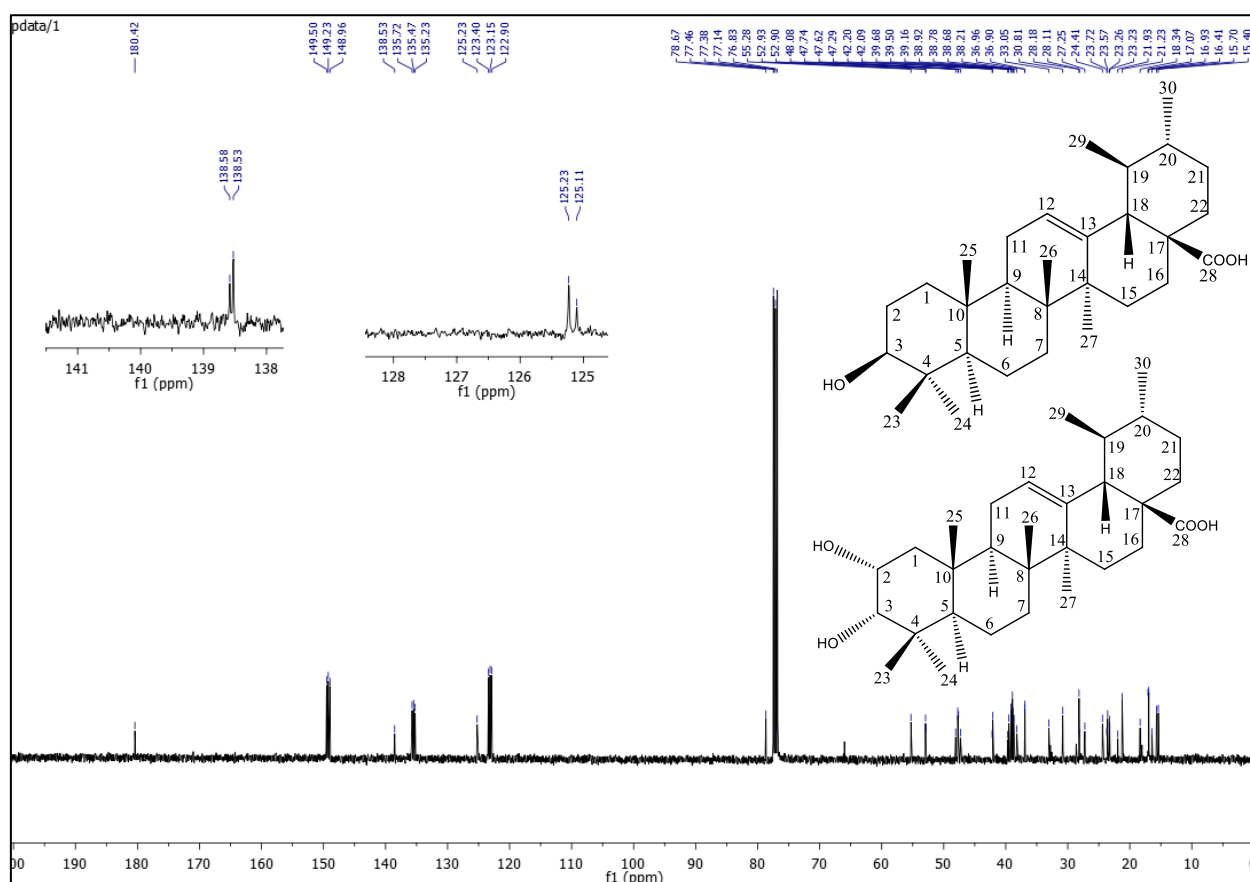
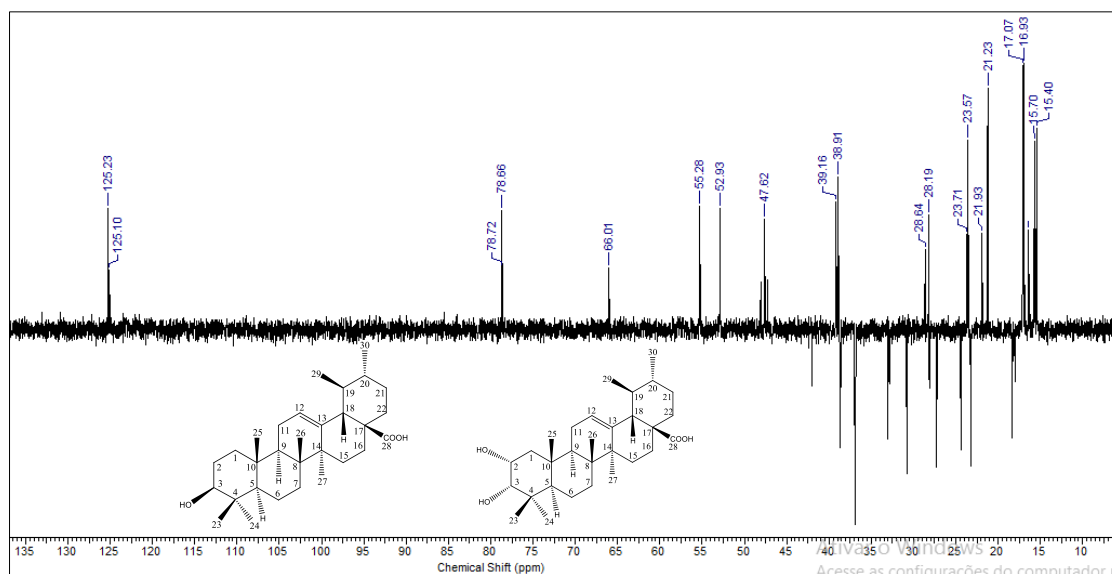
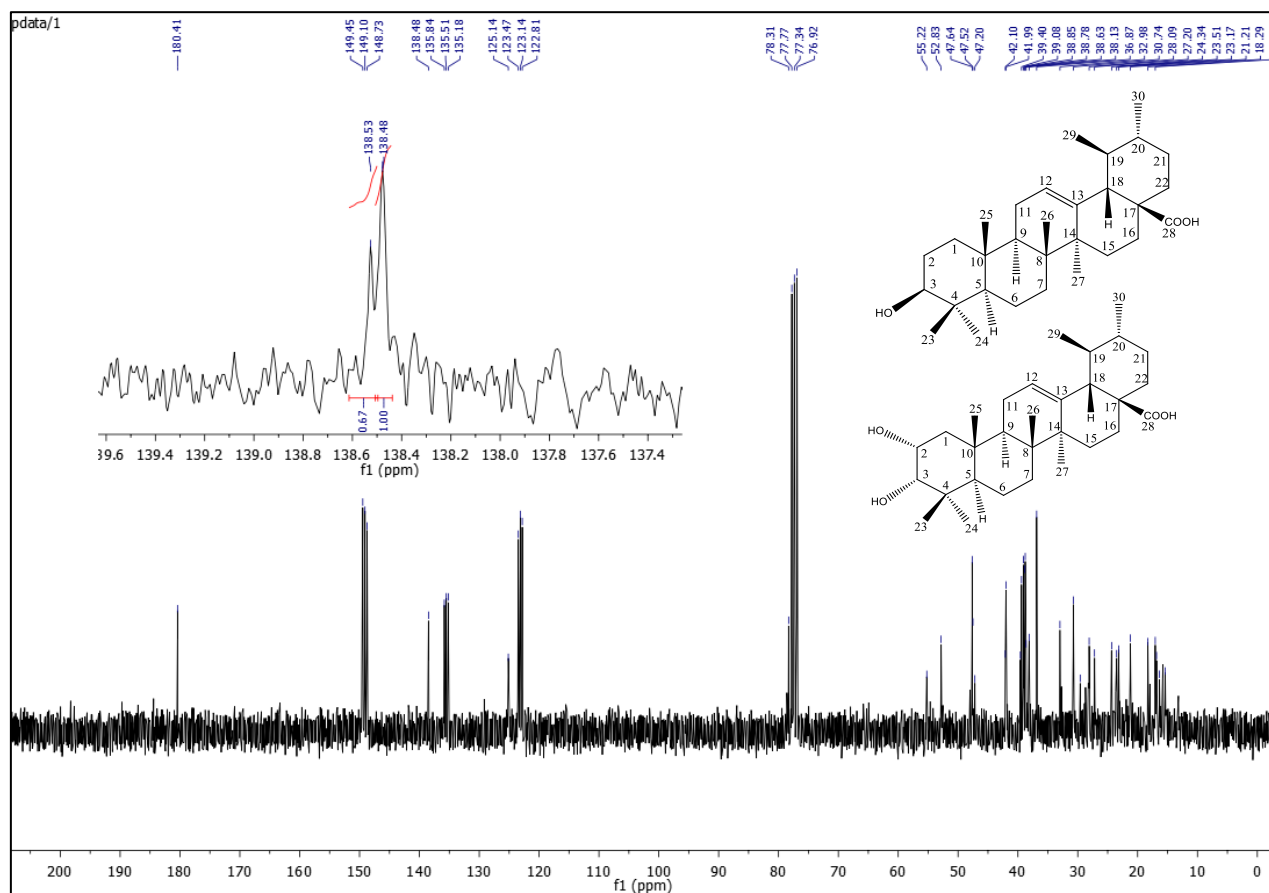


Figura 9: Espectro de DEPT-135 da mistura dos triterpenos pentacíclicos isolado da planta *Jacaranda caroba*, ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).



Foi realizado também o experimento de Carbono Quantitativo (Figura 11, pág. 29), para obter a proporção entre os ácidos presentes na mistura. Foi avaliada a proporção entre os dois deslocamentos característicos dos ácidos terpênicos C-13 (δ_c 138,53 e δ_c 138,48), obtendo-se dessa forma, a proporção entre esses dois ácidos na mistura.

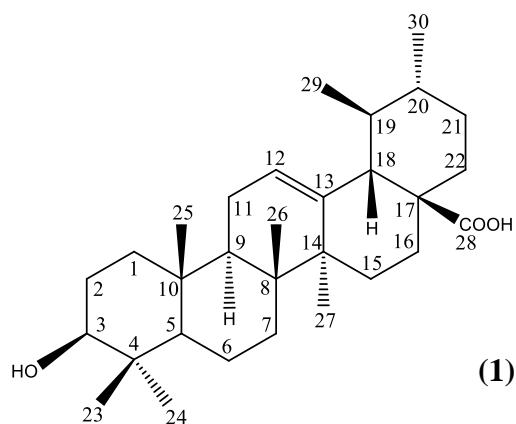
Figura 10: Figura Espectro de RMN de ^{13}C Quantificado da mistura dos triterpenos pentacíclicos isolado da planta Jacaranda caroba ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 75 MHz).



De acordo com a integração dos sinais (0,7 e 1,0) referentes aos deslocamentos δc 138,53 e δc 138,48, respectivamente, o ácido ursólico está presente na mistura de triterpenos pentacíclicos na proporção em massa de 33% maior que a do ácido 3-epicorosólico, ou seja, a proporção é de 2:1 (ácido ursólico : ácido 3-epicorosólico).

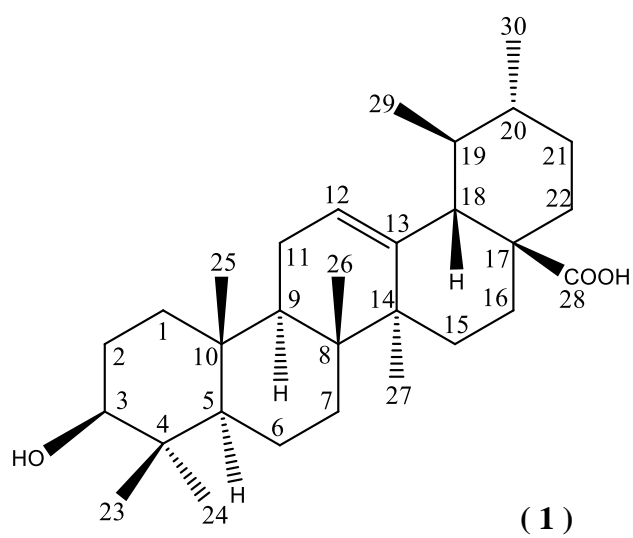
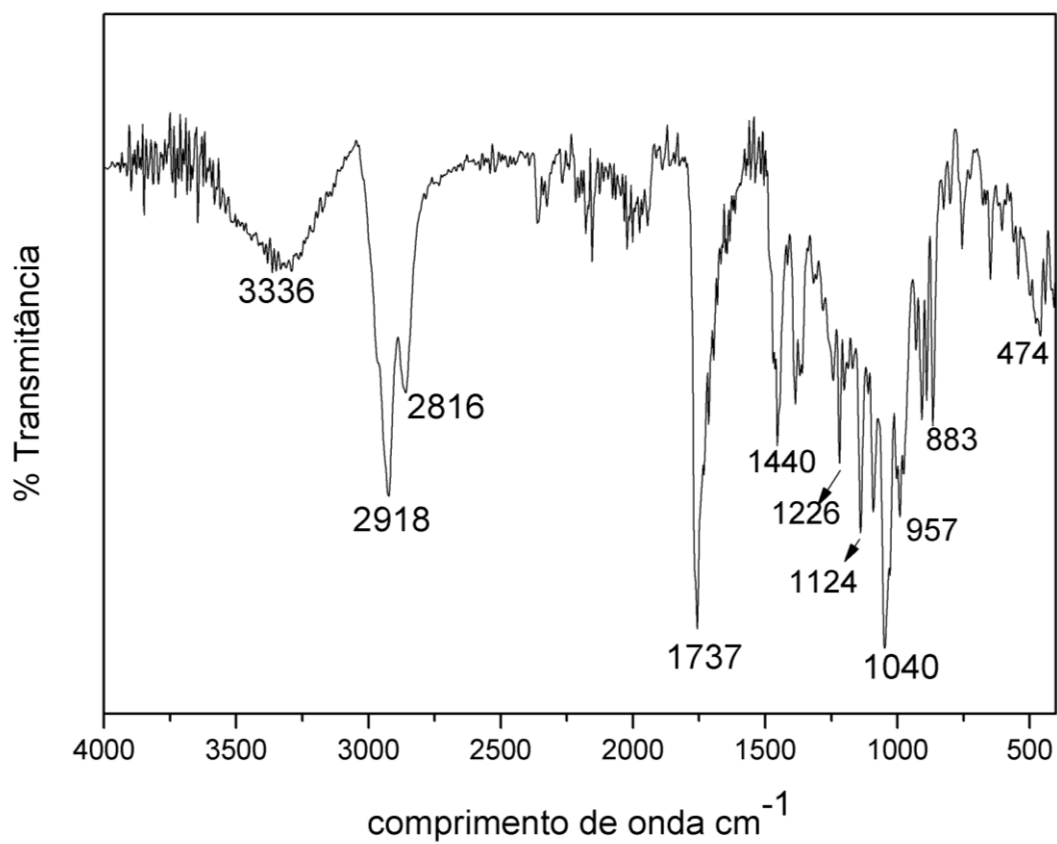
Nos extratos clorofórmico e etanólico foram obtidos dois metabólitos secundários, pertencentes à classe dos triterpenos. Posteriormente, os compostos foram isolados da mistura e seus dados de RMN estão disponíveis para confirmação estrutural.

5.2.1 Determinação estrutural do Ácido ursólico (1)



A substância **1** (544,0 mg) foi isolada dos extratos clorofórmico e etanólico das folhas de *J. caroba*. Esse triterpeno pentacíclico foi obtido como sólido branco cristalino, com temperatura de fusão na faixa entre 267- 270°C. A análise por CCD de sílica gel, utilizando-se vanilina sulfúrica como revelador, sugeriu a natureza triterpênica, devido ao aparecimento de uma única mancha roxa após revelação, mesmo quando testado em diferentes sistemas eluentes da mistura clorofórmio e acetato de etila.

O espectro na região do IV do triterpeno **1** (Figura 11, pág. 34) mostrou uma banda larga centrada em 3336 cm^{-1} , sendo atribuída à deformação axial do grupo O-H. As bandas de intensidade forte entre 2918 e 2816 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento C-H de grupos CH, CH₂ e CH₃ de compostos alifáticos. As absorções entre 1040 e 1440 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento da ligação C-O de álcool. Além disso, o triterpeno **1** apresentou banda de absorção em 1737 cm^{-1} , referente à presença de grupo carbonila de ácido carboxílico (BARBOSA, 2007).

Figura 11: Espectro na região de IV de **1**, ATR

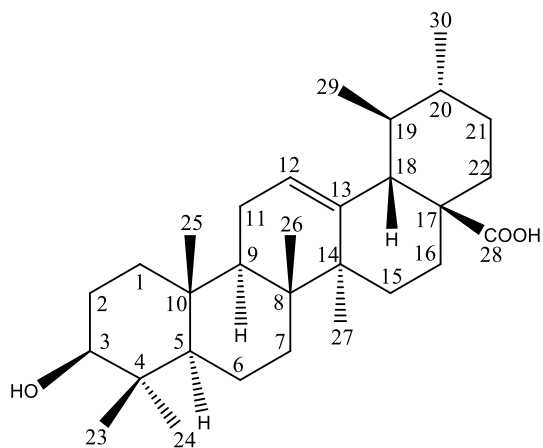
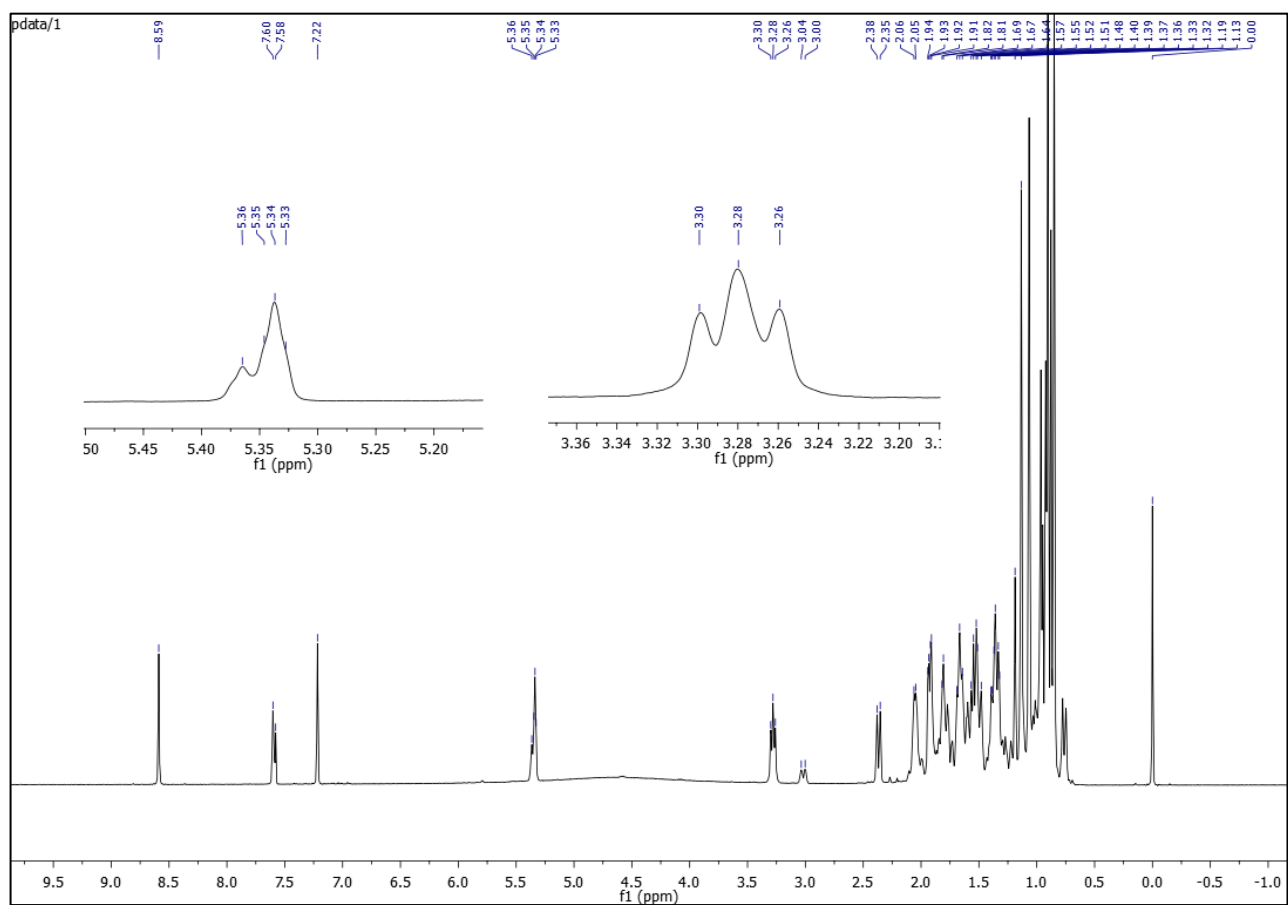
A análise do espectro de RMN de ^1H de **1** (Figura 12, pág. 36) apresentou sobreposição de sinais com deslocamentos químicos entre δ_{H} 0,86 e 2,20 ppm, característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos de natureza terpênica. Além disso, apresentou sinais entre δ_{H} 5,43-5,51, atribuído ao átomo de hidrogênio vinílico H-12; sinal em δ_{H} 3,40 (t, $J=8,0$, 1H), correspondente ao átomo de hidrogênio carbinólico H-3 e um sinal em δ_{H} 2,60 (d, $J=11,3$, 1H), referente a H-8 (SEEBACHER et al., 2003).

A análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 13, pág. 37) e do subespectro DEPT-135 (Figura 14, pág. 37) obtido para o triterpeno **1**, foram identificados sinais referentes a trinta átomos de carbono, sendo sete carbonos metílicos, nove metilênicos, sete metínicos e seis carbonos não hydrogenados (Tabela 5, pág. 38). Esses dados e os valores de deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos C-12 (δ 125,23) e C-13 (δ 138,48) sugeriram que **1** é um triterpeno pentacíclico da série ursano (MAHATO; KUNDU, 1994). O espectro de RMN de ^{13}C também permitiu identificar o carbono carbinólico C-3 (δ 78,67) e um sinal de carbonila de ácido carboxílico (δ 180,42).

No espectro de DEPT-135 (Figura 14, pág. 37) foi possível constatar a ausência de seis carbonos, constatando que o triterpeno **1** possui seis carbonos não hydrogenados, característico de triterpenos da série ursano. O ácido ursólico também foi evidenciado devido à presença de carbono metilênico C2(δ 28,64) presente no eixo negativo. A atribuição dos sinais dos espectros de RMN ^{13}C obtidos para **1** e a comparação com os dados da literatura encontra-se na Tabela 5 (pág. 38).

Os resultados espectroscópicos e a comparação com os dados da literatura (SEEBACHER et al., 2003) possibilitaram identificar o composto **1** como sendo o ácido 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-oico (ácido ursólico).

Figura 12: Espectro de ^1H do ácido ursólico isolado da planta *Jacaranda caroba*, ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 400 MHz).



ácido ursólico

Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido ursólico isolado da planta *Jacaranda caroba*, ($\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).

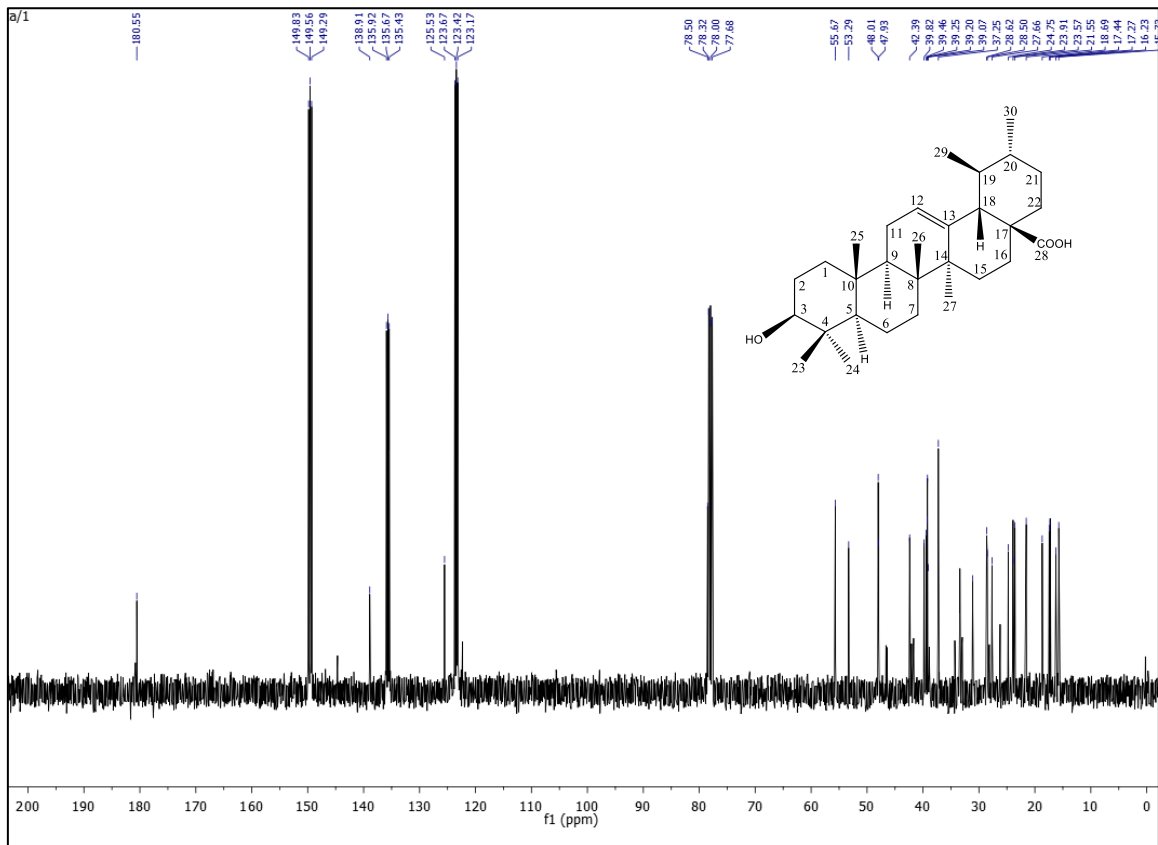


Figura 13: Espectro de RMN de DEPT-135 do ácido ursólico isolado da planta *Jacaranda caroba*, $\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz).

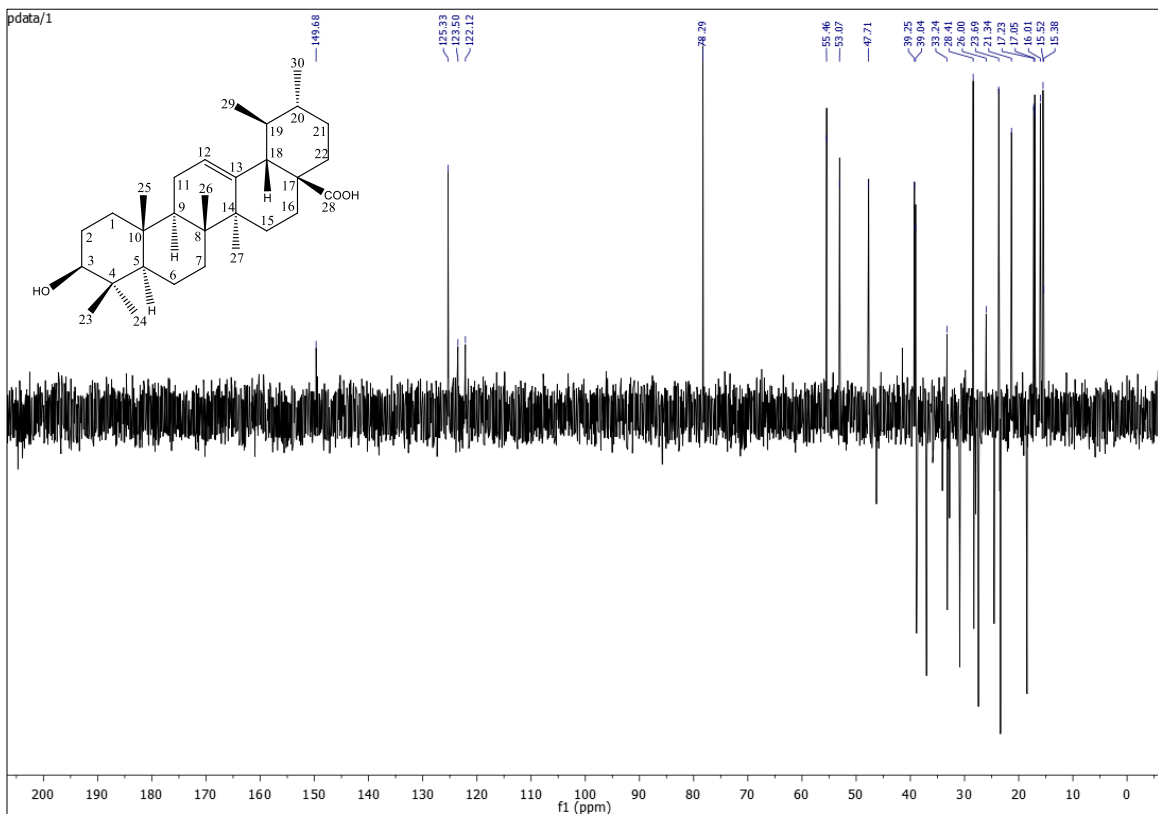
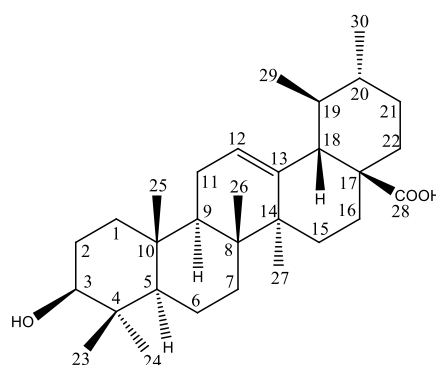


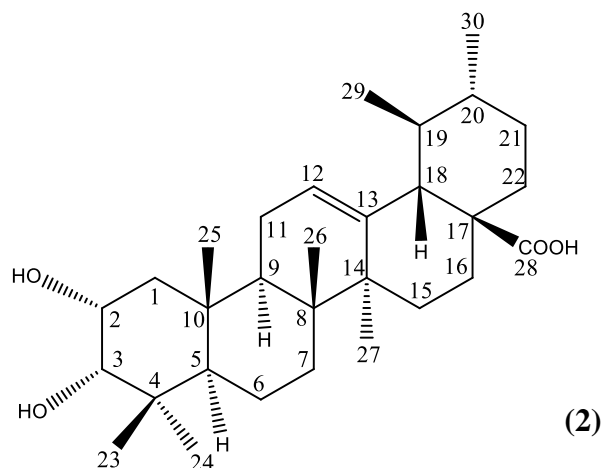
Tabela 5- Atribuição dos sinais dos espectros de RMN ^{13}C obtidos para **1** e comparação com dados da literatura para o ácido ursólico.

Posição	Multip.	Lit ¹ (δc)	1 (δc)
1	CH ₂	39,2	39,2
2	CH ₂	28,2	28,2
3	CH	78,2	78,7
4	C	39,6	39,5
5	CH	55,9	55,3
6	CH ₂	18,8	18,3
7	CH ₂	33,7	33,0
8	C	40,1	42,0
9	CH	48,1	47,6
10	C	37,5	37,0
11	CH ₂	23,7	23,6
12	CH	125,7	125,2
13	C	139,3	138,5
14	C	42,6	42,2
15	CH ₂	28,8	28,7
16	CH ₂	25,0	24,5
17	C	48,1	48,0
18	CH	53,6	53,0
19	CH	39,5	39,5
20	CH	39,4	39,4
21	CH ₂	31,1	30,8
22	CH ₂	37,4	36,9
23	CH ₃	28,8	28,7
24	CH ₃	16,5	16,9
25	CH ₃	15,7	15,7
26	CH ₃	17,5	17,0
27	CH ₃	24,0	24,4
28	C	179,7	180,4
29	CH ₃	17,5	17,0
30	CH ₃	21,4	21,9



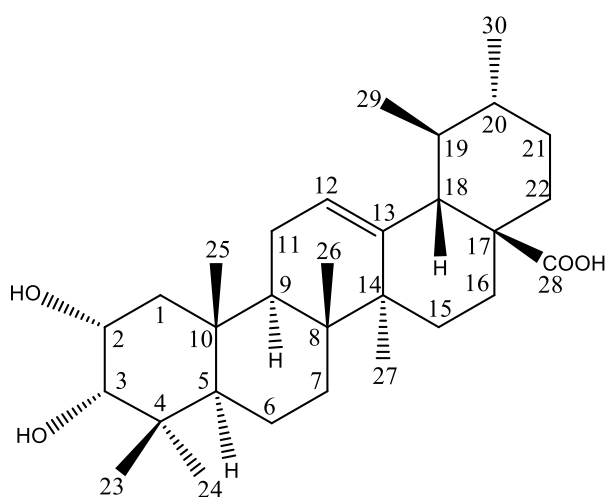
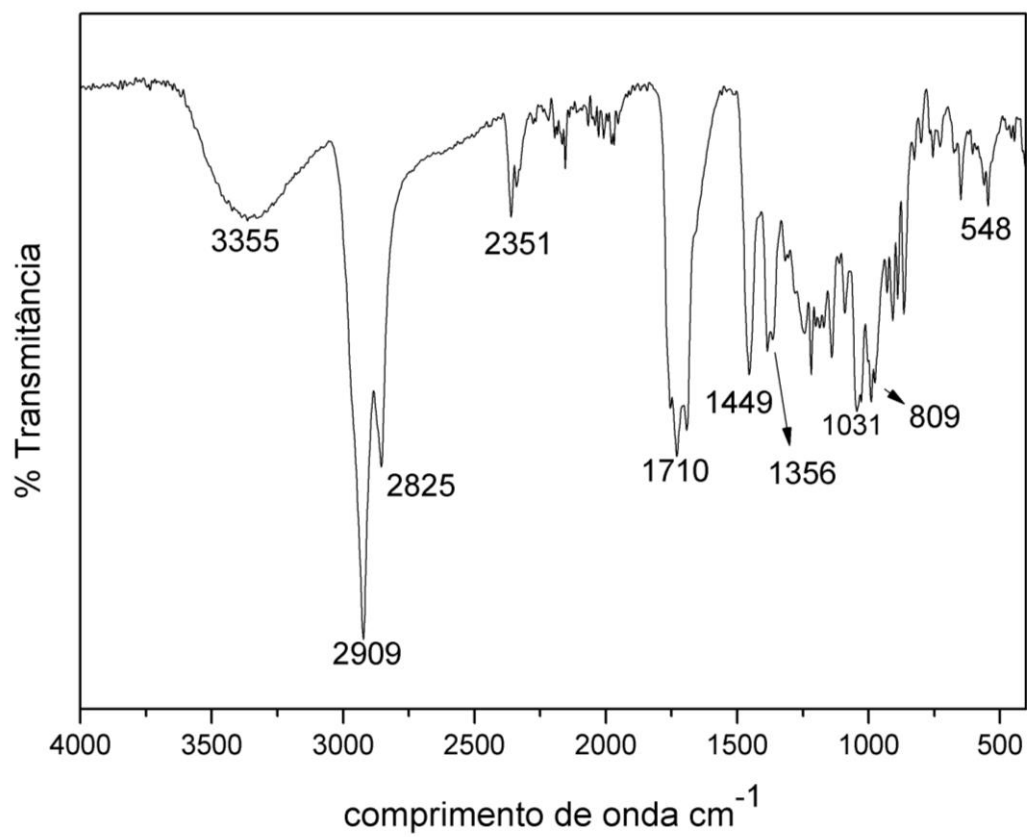
Multip.= Multiplicidade; Li¹: SEEBACHER et al., 2003.

5.2.2 Determinação Estrutural do Ácido 3-epicorosólico (2)



A substância **2** (33,6 mg) foi isolada dos extratos clorofórmico e etanólico das folhas de *J. caroba*. Esse triterpeno pentacíclico foi obtido como sólido branco cristalino, com temperatura de fusão na faixa entre 241-243°C. A análise por CCD de sílica gel, utilizando-se vanilina sulfúrica como revelador, sugeriu um triterpeno, devido ao aparecimento de uma única mancha azulada após revelação, mesmo quando testado em diferentes sistemas eluentes da mistura clorofórmio e acetato de etila.

O espectro na região do IV do triterpenos **2** (Figura 15, pág. 40) mostrou uma banda larga centrada em 3355 cm^{-1} , sendo atribuída à deformação axial do grupo O-H. As bandas de intensidade forte entre 2909 e 2825 cm^{-1} para a substância **2** foram atribuídas ao estiramento C-H de grupos CH, CH₂ e CH₃ de compostos alifáticos. As absorções entre 1356 e 1449 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento da ligação C-O de álcool. Além disso, o triterpeno **2** apresentou banda de absorção em 1710 cm^{-1} , referente à presença de grupo carbonila de ácido carboxílico (BARBOSA, 2007).

Figura 15: Espectro na região de IV de **2**, ATR.

A análise do espectro de RMN de ^1H de **2** (Figura 16, pág. 42) apresentou sobreposição de sinais com deslocamentos químicos entre δ_{H} 0,86 e 2,20, característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos de natureza terpênic. Além disso, apresentou sinais entre δ_{H} 5,43-5,46 (dd), atribuído ao átomo de hidrogênio vinílico H-12; sinal em δ_{H} 4,03 (dd) e δ_{H} 3,66 (d), correspondente ao átomo de hidrogênio carbinólico H-2 e H-3, respectivamente; e um sinal em δ_{H} 5,86 (d), referente a H-O do carbono C2, C3 e C28 (KOJIMA; OGURA et al., 1977).

A análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17, pág. 43) e do subespectro DEPT-135 (Figura 18, pág. 43) obtido para o triterpeno **2**, foram identificados sinais referentes a trinta átomos de carbono, sendo sete carbonos metílicos, oito metilênicos, oito metínicos e seis carbonos não hidrogenados (Tabela 6, pág. 44). Esses dados e os valores de deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos C-12 (δ 125,1) e C-13 (δ 138,5) sugeriram que **2** também se trata de um triterpeno pentacíclico da série ursano (MAHATO; KUNDU, 1994). O espectro de RMN de ^{13}C também permitiu identificar o carbono carbinólico C-3 (δ 78,67) e um sinal de carbonila de ácido carboxílico (δ 180,42).

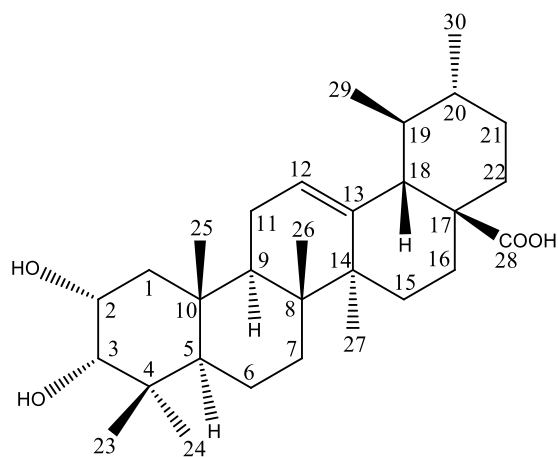
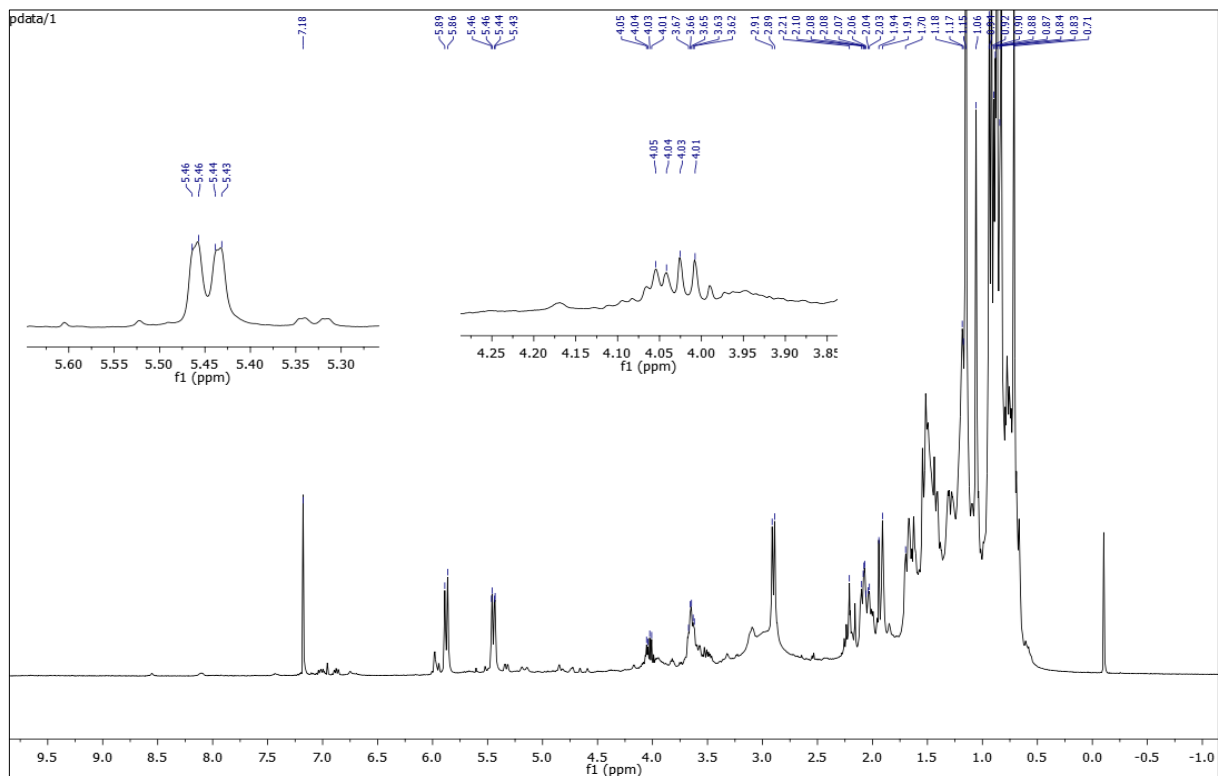
No espectro de DEPT-135 (Figura 19, pág. 43) foi possível detectar a ausência de seis carbonos, constatando que o triterpeno **2** possui seis carbonos não hidrogenados, característico de triterpenos da série ursano. O ácido 3-epicorosólico também foi evidenciado devido à presença de carbono metínico C2(δ 66,1) presente no eixo positivo, na região de carbono carbinólico. A atribuição dos sinais dos espectros de RMN ^{13}C obtidos para **2** e a comparação com os dados da literatura encontra-se na Tabela 6 (pág. 44).

Os resultados espectroscópicos e a comparação com os dados da literatura (KOJIMA; OGURA, 1989) possibilitaram identificar o composto **2** como sendo o ácido $2\alpha,3\alpha$ -hidroxi-urs-12-en-28-oico (ácido 3-epicorosólico).

O valor da constante de acoplamento entre os hidrogênios H-2 e H-3 foi usado para confirmar a estereoquímica dos mesmos. O valor encontrado de ($J= 5,1$) comprova que os hidrogênios tem acoplamento axil-equatorial, (Figura 19, pág. 44) levando a estereoquímica $2\alpha,3\alpha$ do triterpeno (PAVIA et al., 2010).

O ácido 3-epicorosólico identificado nos extratos das folhas da *J. caroba* já foi isolado em somente duas espécies do gênero *Jacaranda*. A presença do triterpeno pentacíclico foi relatada na espécie *Jacaranda caucana* (KOJIMA; OGURA et al., 1977) na *Jacaranda filicifolia* (ALI; HOUGHTON et al., 1999), sendo inédito seu isolamento na espécie *Jacaranda caroba*.

Figura 16: Espectro de ^1H do ácido 3-epicorosólico isolado da planta *Jacaranda caroba*, CDCl_3 ; 400 MHz).



Ácido 3-epicorosólico

Figura 17: Espectro de ^{13}C do ácido 3-epicorosólico isolado da planta *Jacaranda caroba*, CDCl_3 ; 100 MHz).

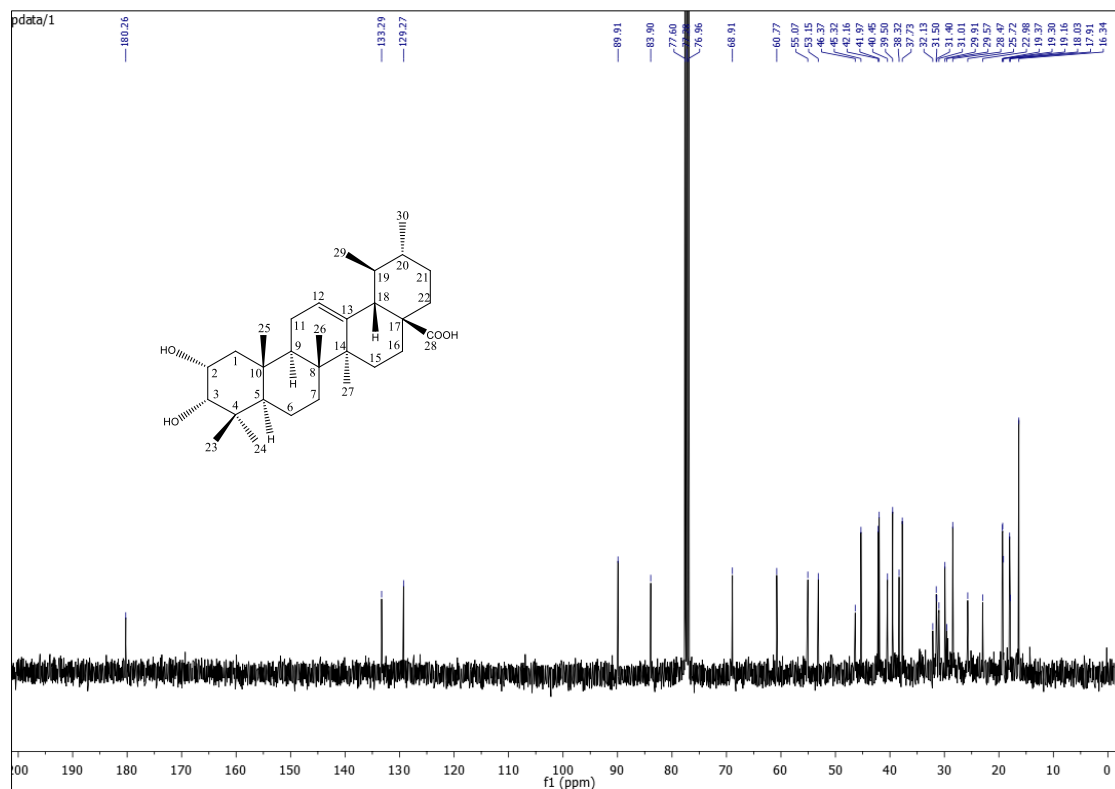


Figura 18: Espectro de DEPT-135 do ácido 3-epicorosólico isolado da planta *Jacaranda caroba*, CDCl_3 ; 100 MHz).

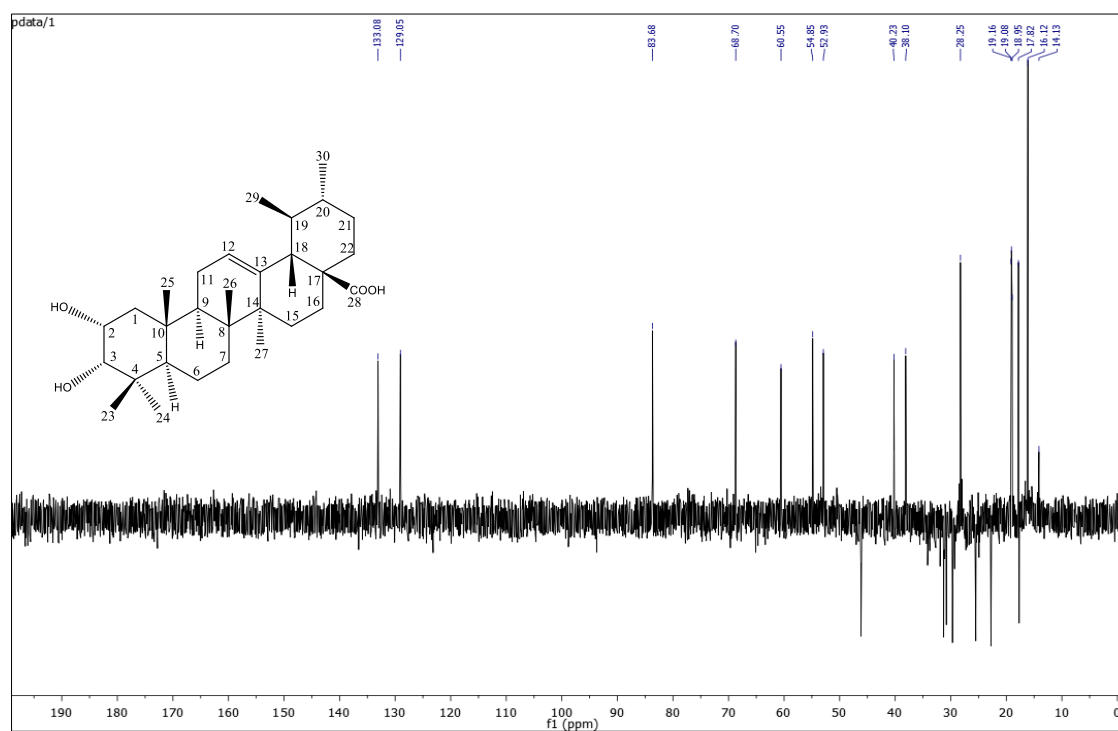
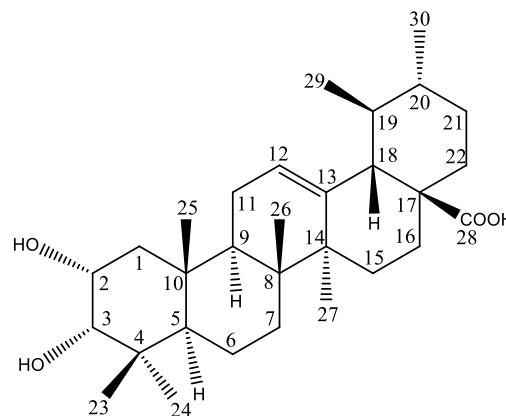


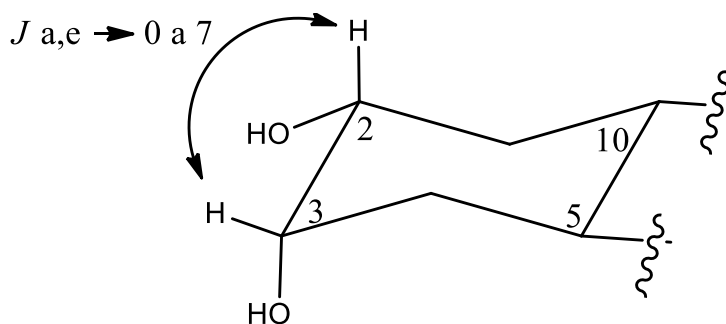
Tabela 6- Atribuição dos sinais dos espectros de RMN ^{13}C obtidos para **2** (CDCl_3) e comparação com dados da literatura para o ácido 3-epicorosólico.

Posição	Multip.	Lit ² (δc)	2 (δc)
1	CH_2	41,9	39,5
2	CH	66,5	66,1
3	CH	78,9	78,7
4	C	38,3	38,2
5	CH	48,1	48,0
6	CH_2	17,9	17,0
7	CH_2	32,7	30,8
8	C	39,6	39,5
9	CH	47,2	47,3
10	C	38,2	38,2
11	CH_2	23,2	23,3
12	CH	125,3	125,1
13	C	138,2	138,5
14	C	42,1	42,0
15	CH_2	27,9	28,1
16	CH_2	24,2	24,0
17	C	48,1	48,0
18	CH	52,8	52,9
19	CH	39,0	39,1
20	CH	38,8	38,9
21	CH_2	30,6	30,8
22	CH_2	36,6	36,9
23	CH_3	28,5	28,7
24	CH_3	21,8	21,9
25	CH_3	16,4	15,7
26	CH_3	16,9	16,9
27	CH_3	23,7	23,6
28	C	178,1	180,4
29	CH_3	17,0	17,0
30	CH_3	21,2	21,2



Multip.= Multiplicidade, Lit²: KOJIMA; OGURA et al., 1989

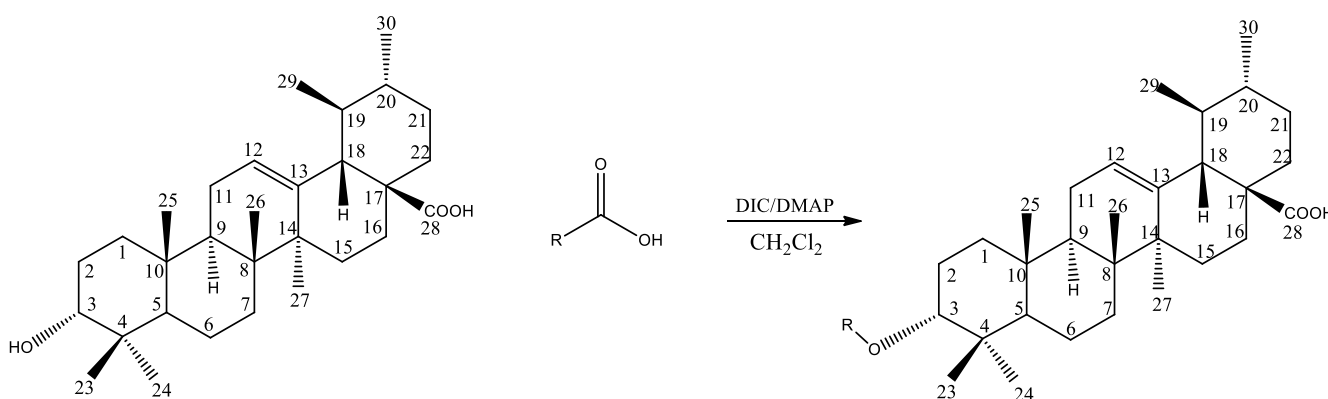
Figura 19: Representação do acoplamento entre o hidrogênio H-2 e H-3 do ácido 3-epicorosólico



5.3 Obtenção de ésteres derivados do ácido ursólico

Foram utilizados nove ácidos orgânicos para a síntese dos ésteres derivados do triterpeno ácido ursólico, sendo quatro alifáticos (ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico e o ácido esteárico) e cinco aromáticos (ácido p-hidroxibenzóico, ácido benzoico, ácido p-nitrobenzóico, ácido naftalenocarboxílico e o ácido 2-iodobenzóico). A formação do produto éster foi avaliada após 24 horas de reação por CCD, por comparação entre perfis cromatográficos. Para a caracterização dos produtos foram utilizadas técnicas espectroscópicas. Posteriormente fez-se o cálculo do rendimento das reações.

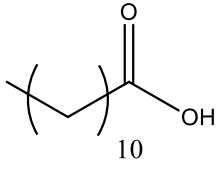
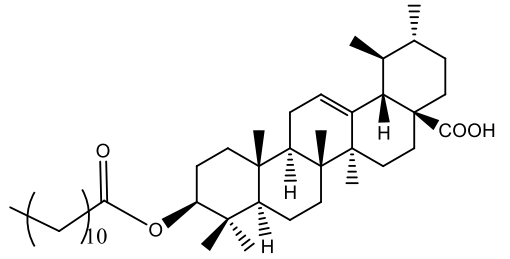
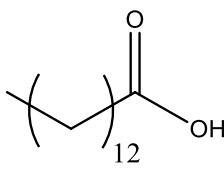
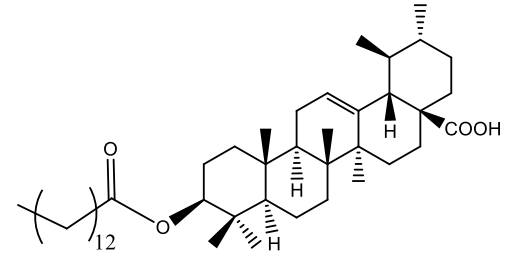
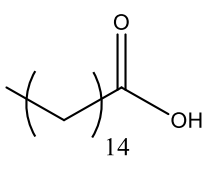
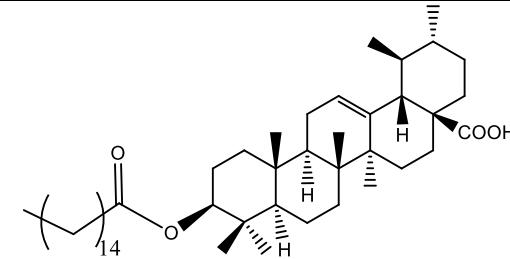
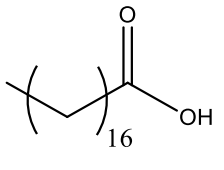
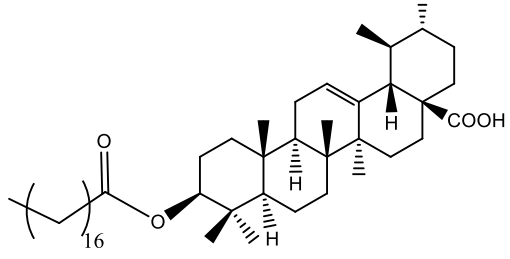
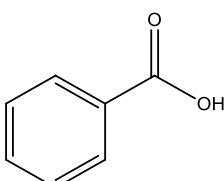
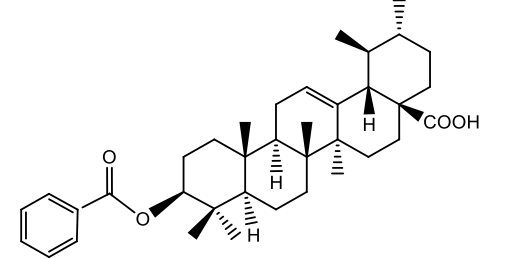
Figura 20: Esquema geral de formação do derivado do ácido ursólico

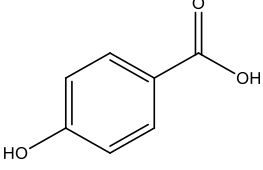
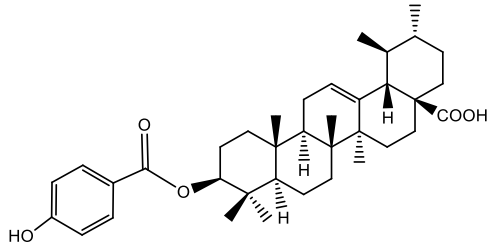
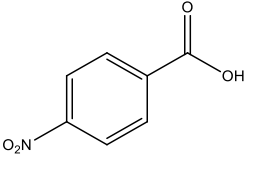
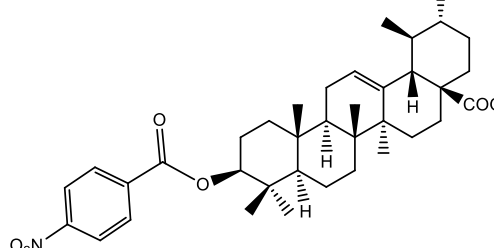
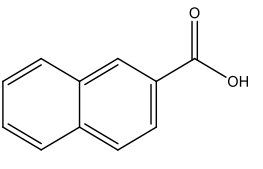
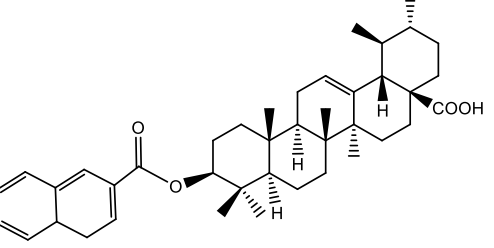
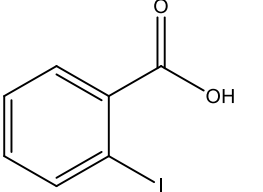
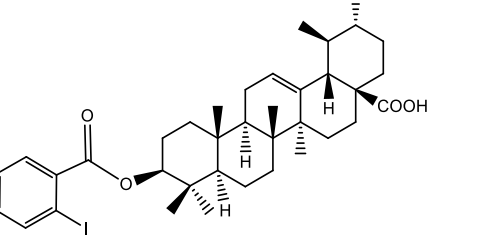


Para obtenção de derivados de éster do ácido ursólico, empregou-se o diisopropilcarbodi-imida (DIC) como reagente de acoplamento e o 4-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador. Esta é uma reação conhecida como esterificação de Steglich e consiste no uso de um reagente de acoplamento, como DIC ou DCC (dicicloexilcarbodi-imida), que é capaz de tornar o grupo hidroxila do reagente ácido carboxílico, um bom grupo abandonador (LAUE; PLAGENS et al., 2005).

Na tabela 7 (pág. 46) encontram-se representados as estruturas químicas dos ácidos orgânicos utilizados para a síntese dos derivados ésteres do ácido ursólico e a estrutura dos ésteres sintetizados e suas respectivas massas e rendimentos obtidos.

Tabela 7- Ácidos orgânicos na esterificação do AU, ésteres derivados e respectiva massa e rendimento das reações

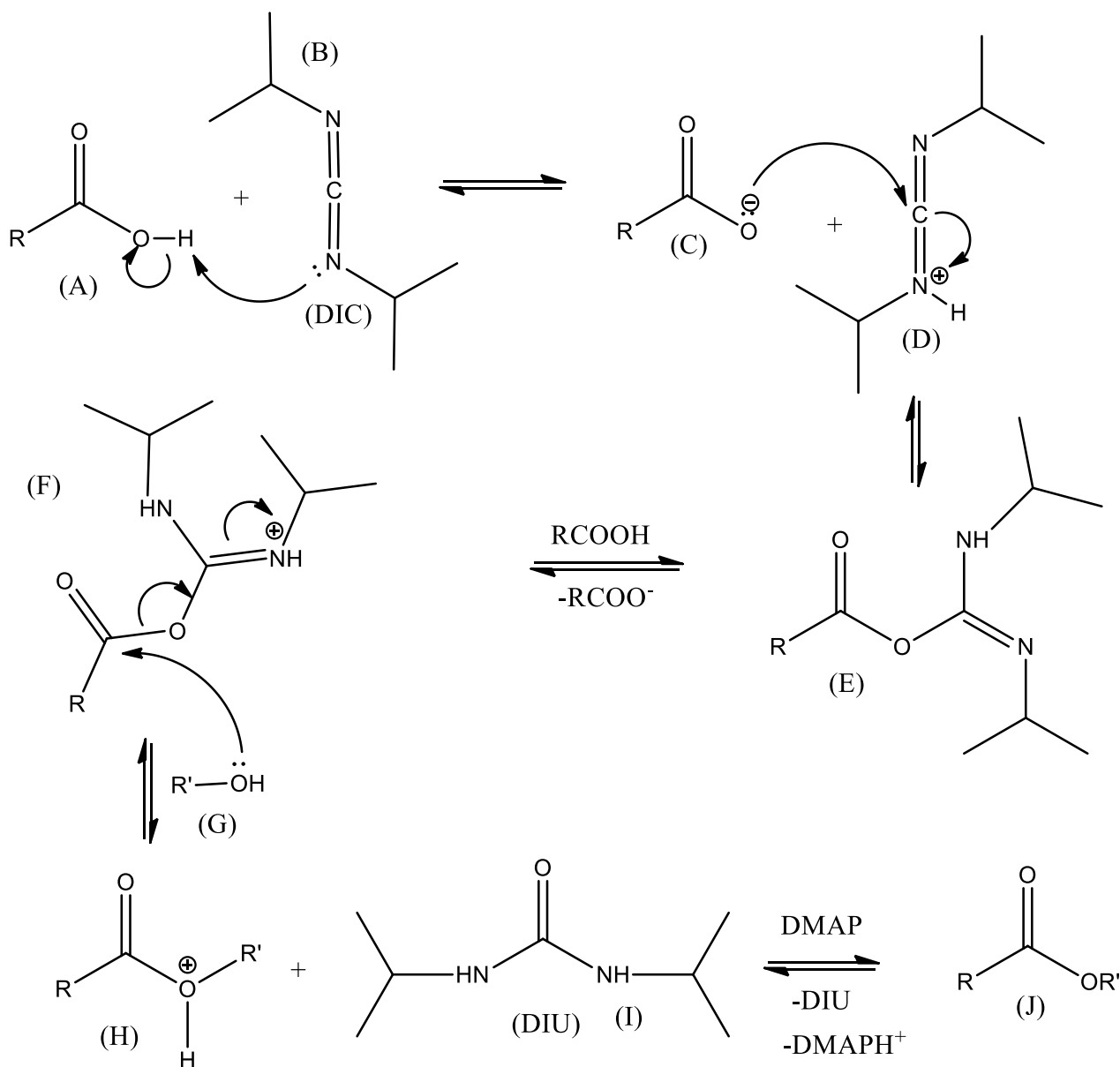
Ácido orgânico	Éster	Massa obtida	Rendimento (%)
		17,5 mg	25,0
		Composto: 3	
		Massa obtida	Rendimento (%)
		43,01 mg	29,5
Composto: 4			
		Massa obtida	Rendimento (%)
		43,5 mg	57,2
Composto: 5			
		Massa obtida	Rendimento (%)
		15,2 mg	20,2
Composto: 6			
		Massa obtida	Rendimento (%)
		17,8 mg	14,5
Composto: 7			

		Massa obtida	Rendimento (%)
		-	-
Composto: 8			
		Massa obtida	Rendimento (%)
		17,2 mg	13,0
Composto: 9			
		Massa obtida	Rendimento (%)
		29,4 mg	43,9
Composto: 10			
		Massa obtida	Rendimento (%)
		9,7 mg	12,9
Composto: 11			

Na reação de esterificação do ácido ursólico com o ácido *p*-hidroxibenzóico não foi observada a formação do produto principal (**8**). A hidroxila na posição *para* do anel benzênico do ácido *p*-hidroxibenzóico propicia o ataque nucleofílico do nitrogênio do DIC (**B**) ao hidrogênio pertencente ao substituinte, suprimindo a formação do éster derivado.

O mecanismo para essa reação está apresentado na figura 21 (pág. 48). Na primeira etapa, acontece a protonação de um dos nitrogênios do DIC (**B**) pelo ácido carboxílico (**A**). A DIC estando protonada (**D**) e apresentando um carbono com relevante caráter eletrofílico, facilita o ataque pelo carboxilato (**C**) para originar o intermediário *O*-acil-isoureia (**E**). Após uma nova protonação de 5, há uma adição nucleofílica do reagente álcool (**G**) à *O*-acil-isoureia protonada (**6**), levando à formação do éster protonado (**H**) e à eliminação de *N*²,*N*²-di-isopropilureia (DIU, **I**), que é um excelente grupo abandonador. Na última etapa desse mecanismo, acontece a desprotonação de **8** e obtém-se o éster desejado (**J**).

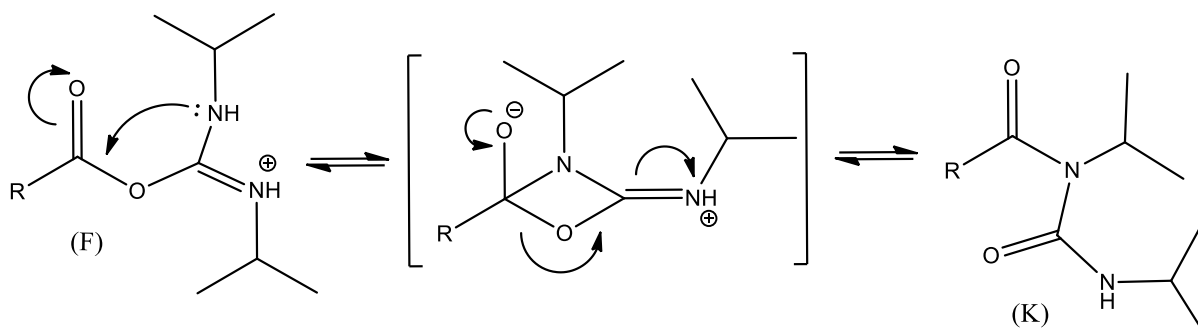
Figura 21: Proposta mecanística para esterificação de Steglich



Fonte: SILVA, 2014

Na presença de nucleófilos fortes, como as aminas, a formação de amida acontece rapidamente pela adição de amina ao intermediário protonado *O*-acil-ureia (**F**). No caso de uso de nucleófilos mais fracos como os álcoois, a reação de esterificação normalmente é lenta e há enorme possibilidade de reação lateral (Figura 22, pág. 46), havendo um rearranjo 1,3 do intermediário protonado *O*-acil-ureia (**F**), com a formação de *N*-acil-isoureia (**K**). A formação deste produto impossibilita a reação com o álcool para formar o éster de interesse (SILVA, 2014).

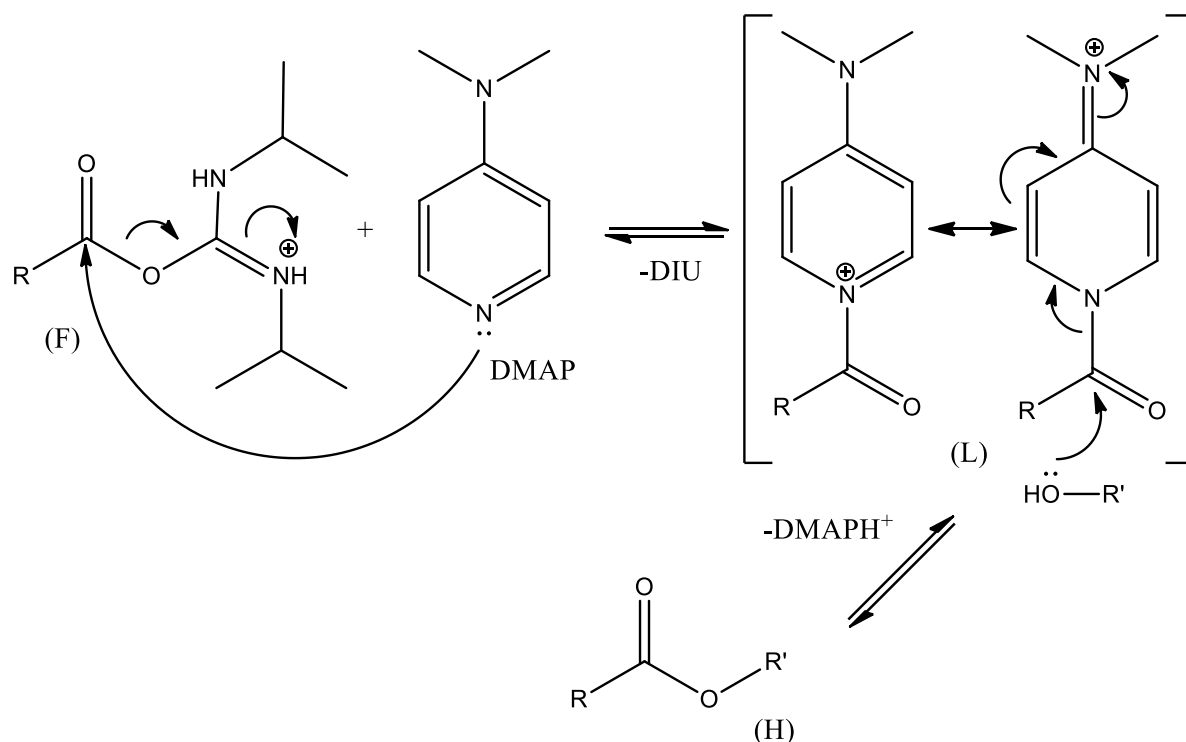
Figura 22: Proposta mecânica para o rearranjo 1,3 do intermediário O-acil-isoureira



Fonte: SILVA, 2014

Para evitar a formação do produto (**K**), utilizou-se o DMAP. Por ser um nucleófilo mais forte que o álcool, substitui o grupo *O*-acil-ureia como grupo abandonador e forma uma nova espécie acilante (**L**). Essa nova espécie produzida não é passível de sofrer rearranjo e será rapidamente atacada pelo álcool para formar o produto éster desejado (**H**). Conforme representado na figura a seguir (Figura 23).

Figura 23: Proposta de mecanismo para a participação de DMAP na esterificação.



Fonte: SILVA, 2014

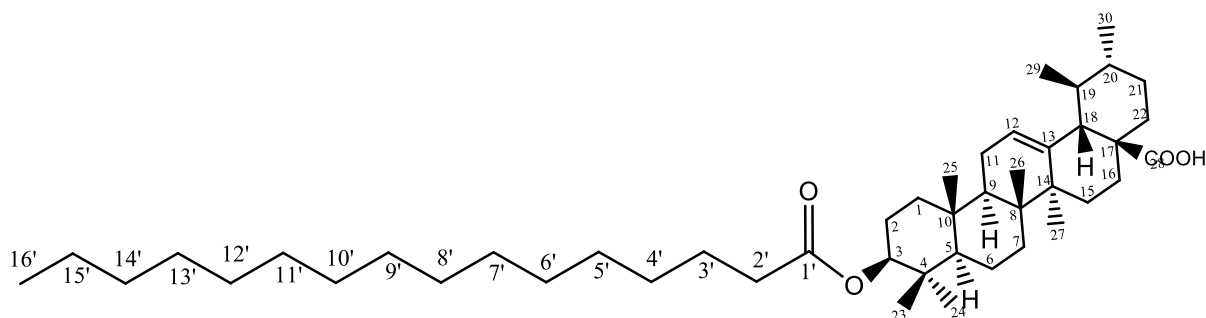
Numa primeira tentativa, utilizando-se quantidade catalítica de DMAP, não foi observada a formação do produto de interesse ou este foi obtido em rendimento muito baixo (em análise por CCD, as frações não continham um perfil cromatográfico correspondente ao éster esperado), o que não permitiu a caracterização do éster como sendo o produto principal. A partir dessa observação empírica, foi possível supor que houve a reação lateral de rearranjo 1,3 do intermediário protonado *O*-acil-ureia (**F**) para a formação de *N*'-acil-isourea (**K**); dessa forma, a reação de esterificação do ácido ursólico acabou sendo suprimida. Além do mais, o produto de rearranjo (**K**) apresenta-se como um sólido branco cristalino, podendo ocorrer erro na identificação visual do produto desejado.

Visando minimizar essa reação paralela, foi empregada outra metodologia acrescentando o ácido ursólico posteriormente à 1 hora decorrida de reação. Foi observada a formação do éster de interesse.

Para a caracterização química dos ésteres derivados do ácido ursólico, a observação de algumas mudanças nos espectros no IV e de RMN de ^1H e ^{13}C são fundamentais para confirmação da formação dos produtos: 1) Presença de uma banda intensa no espectro de IV entre 1732 e 1708 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C=O de éster; 2) Deslocamento do sinal do átomo de hidrogênio H-3 para a região mais desblindada do espectro, passando de δ_{H} 3,48 (ácido ursólico) para valores acima de δ_{H} 4,70 (produto éster); 3) Presença no espectro de RMN de ^{13}C do sinal correspondente a carbonila de éster (δ_{C} entre 173 e 162) e deslocamento do sinal do carbono carbinólico C-3, passando de δ_{C} 78,2 (ácido ursólico) para valores acima de δ_{C} 80,5 ppm (produto éster) (PEREIRA, 2016).

Para os ésteres alifáticos, será apresentada a elucidação do composto **5**, (ácido (3 β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oico), como exemplo, os demais compostos foram sintetizados de forma semelhante e seus espectros no IV e de RMN estão disponíveis no Anexo (Figuras A1-A12, pág. 93 a 98). A elucidação estrutural dos ésteres aromáticos será apresentada individualmente.

5.3.1 Ácido (3 β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oic (5)



O ácido (3 β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oico (**5**) foi sintetizado via uma reação de esterificação entre o ácido ursólico e o ácido palmítico.

A faixa de fusão encontrada para a substância (**5**) foi entre 194,0-198,0 °C.

O espectro na região do IV (Figura 24, pág. 52) do éster **5** apresenta bandas de intensidade forte entre 2909 cm⁻¹ e 2825 cm⁻¹; 2937 cm⁻¹ e 2806 cm⁻¹, que correspondem aos estiramentos da ligação C-H característicos de átomos de carbono hibridizado em Csp³ e Csp², respectivamente. O produto **5** apresenta uma banda larga centrada em 3392 cm⁻¹ sendo atribuída à deformação axial do grupo O-H, característico de ácido carboxílico. A absorção em 1784 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento da ligação C=O, referente à presença de grupo carbonila de éster, a absorção em 1691 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento da ligação C=O referente à presença de grupo carbonila de ácido carboxílico. O estiramento em 725 cm⁻¹ pertence à região de baixo comprimento de onda, sendo atribuída à ligação C-H, pertencente a ligação CH₂, característico de deformação angular de cadeia longa (n > 3).

A análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 25, pág. 53) do éster **5** revelou a presença de sinais entre δ_H 0,66 e 2,22 característicos do esqueleto triterpênico do ácido ursólico e da porção alifática do derivado. O sinal observado em δ_H 5,15 foi atribuído ao para o hidrogênio da ligação O-H, referente ao C28, em sobreposição a 5,15 ppm, atribuído ao átomo de hidrogênio H-12 do esqueleto triterpênico. Um importante resultado que prova a ocorrência da esterificação é o deslocamento do sinal de H-3 para a região mais desblindada do espectro, que passou de δ_H 3,48 (ácido ursólico) para δ_H 4,43 (produto éster **5**).

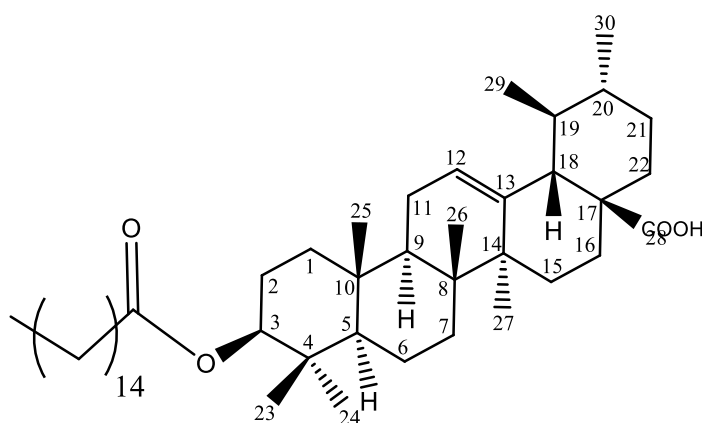
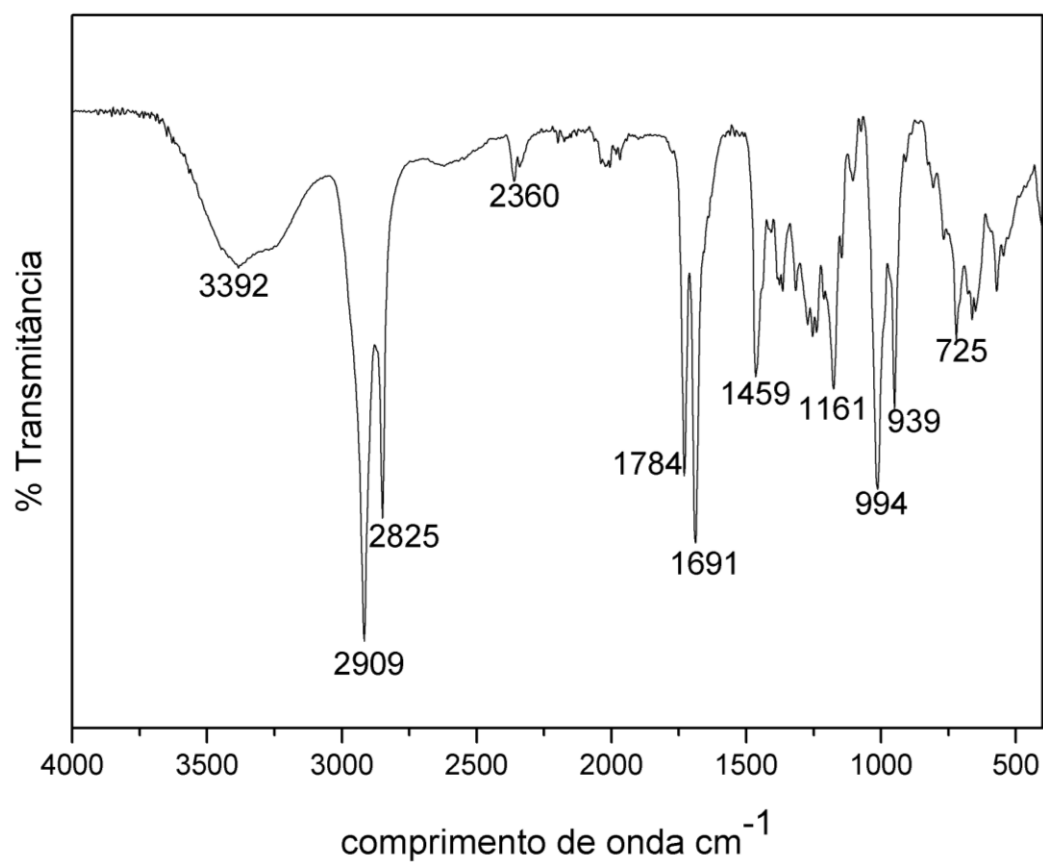
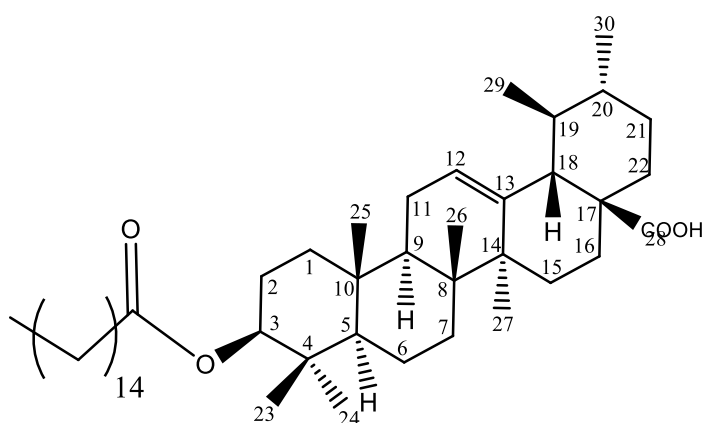
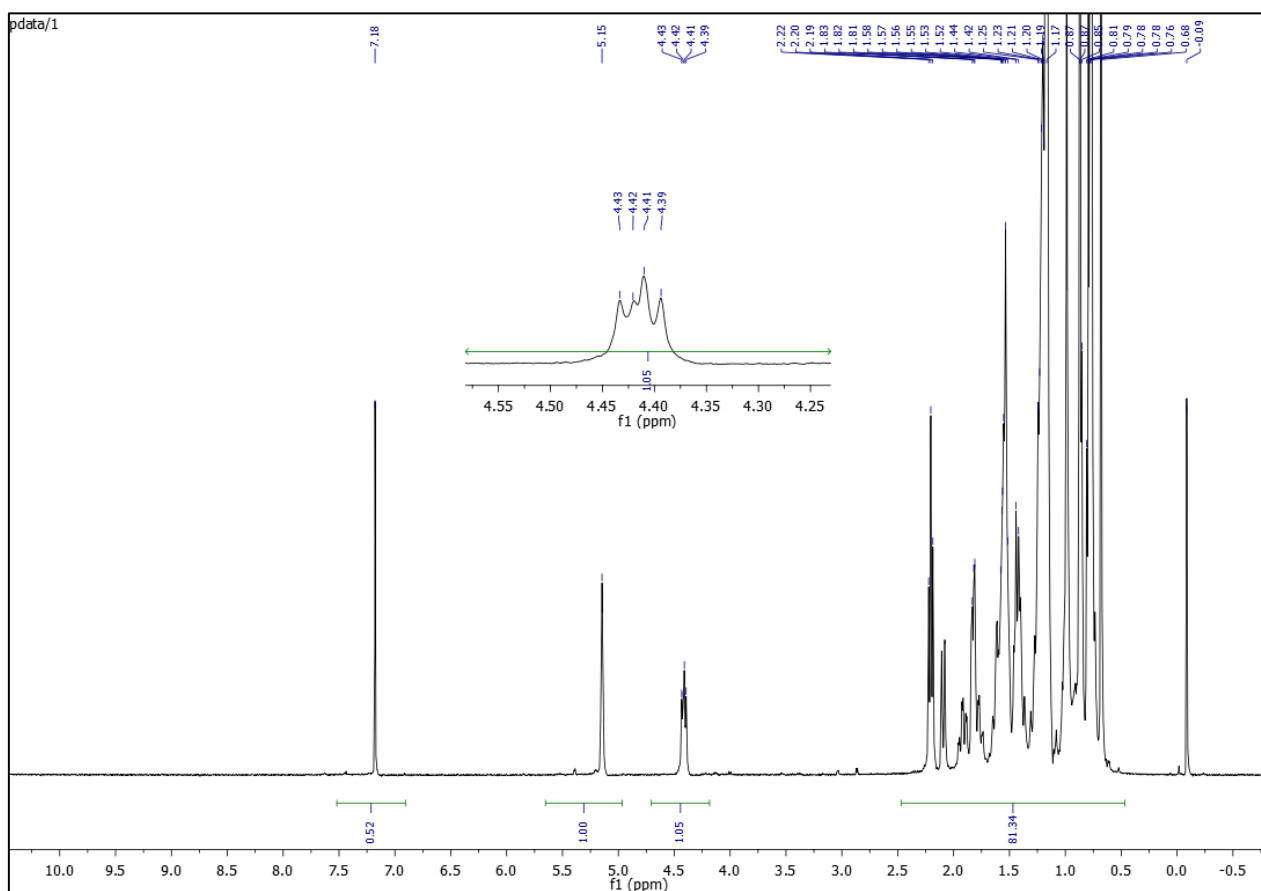
Figura 24: Espectro de IV para o éster **5**

Figura 25: Espectro de ^1H obtido para **5** (CDCl_3 ; 400 MHz)

A partir do espectro de RMN de ^{13}C pertencente ao éster **5** (Figura 26) e do subespectro DEPT-135 (Figura 27, pág. 55), foram observados 56 sinais de carbono, sendo oito CH_3 , vinte e quatro CH_2 , sete CH e sete C . O sinal correspondente ao átomo de carbono C-18' e C-16' em δc 14,1 e o sinal do carbono carbinólico C-3 em δc 80,6 para o éster **5** (mais desblindado em comparação ao carbono pertencente ao ácido ursólico, δc 78,2 ppm) são importantes evidências da formação dos derivados.

Outros deslocamentos químicos característicos do éster **5** foram observados no espectro de RMN de ^{13}C : δc 29,5 atribuído aos átomos de carbono da porção alifática da molécula C-7' a C13'. Os sinais que referem-se aos átomos de carbono olefínicos do esqueleto ursânico C-12 e C-13, possuem δc 125,9 e 138,1 ppm, respectivamente. A atribuição de todos os sinais do espectro de RMN de ^{13}C obtidos para **5** e a comparação com os dados calculados usando o programa ACD/Labs (versão 6.0) encontram-se na Tabela 8 (pág. 56). Após as análises espectroscópicas realizadas foi possível confirmar que o produto **5** trata-se do ácido (3 β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oic.

Figura 26: Espectro de ^{13}C do composto **5** (CDCl_3 ; 100 MHz)

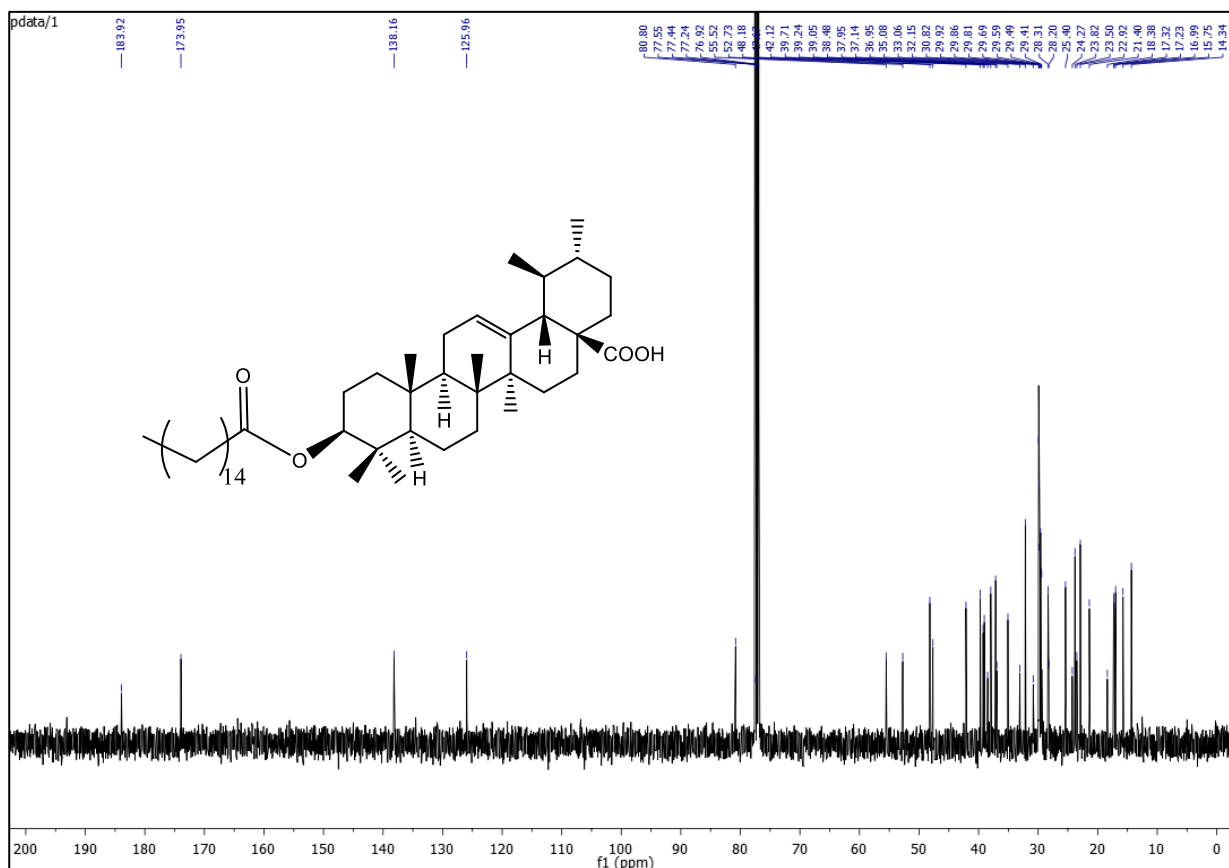


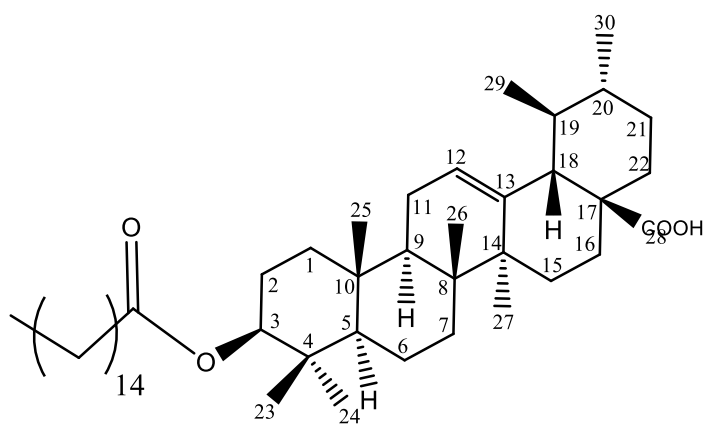
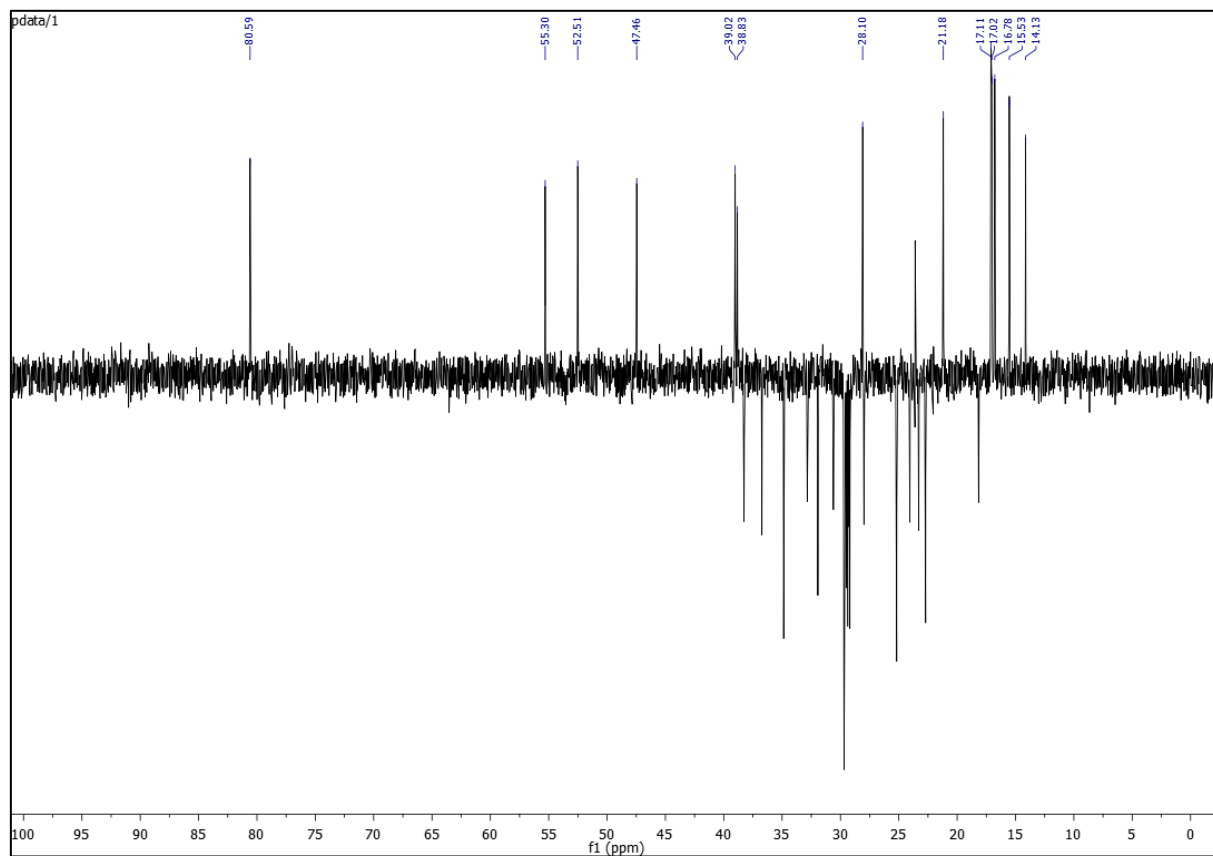
Figura 27: Subespectro DEPT-135 de **5** (CDCl₃; 100 MHz)

Tabela 8- Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C obtidos para **5** (CDCl_3) e comparação com dados calculados para o ácido (3 β)-3-[(1-Oxohexadecil)oxi]urs-12-en-28-oico.

Posição	Multip.	5 (δC)	Ref.(δC)	Posição	Multip.	5 (δC)	Ref.(δC)
1	CH ₂	37,9	38,1	24	CH ₃	23,8	23,6
2	CH ₂	25,4	26,4	25	CH ₃	15,5	15,5
3	CH	80,6	80,5	26	CH ₃	16,8	16,5
4	C	37,9	37,7	27	CH ₃	23,5	23,4
5	CH	55,5	55,5	28	C	183,9	184,0
6	CH ₂	18,4	18,3	29	CH ₃	16,8	16,8
7	CH ₂	33,0	32,8	30	CH ₃	21,2	21,0
8	C	39,0	39,3	1'	CH ₂	173,9	173,6
9	CH	47,5	47,4	2'	CH ₂	35,0	34,7
10	C	36,9	36,9	3'	CH ₂	25,4	25,1
11	CH ₂	23,5	23,4	4'	CH ₂	29,5	29,4
12	CH	125,9	125,5	5'	CH ₂	29,6	29,6
13	C	138,1	137,8	6'	CH ₂	29,7	29,6
14	C	42,1	41,7	7'	CH ₂	29,5	29,5
15	CH ₂	28,2	27,9	8'	CH ₂	29,5	29,5
16	CH ₂	23,8	23,9	9'	CH ₂	29,5	29,5
17	C	47,8	47,8	10'	CH ₂	29,9	29,7
18	CH	52,7	52,3	11'	CH ₂	29,5	29,5
19	CH	39,0	38,8	12'	CH ₂	29,6	29,6
20	CH	38,8	38,7	13'	CH ₂	29,4	29,3
21	CH ₂	30,8	30,4	14'	CH ₂	32,2	31,8
22	CH ₂	36,9	36,8	15'	CH ₂	22,9	22,6
23	CH ₃	21,2	21,6	16'	CH ₃	14,1	14,3

Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

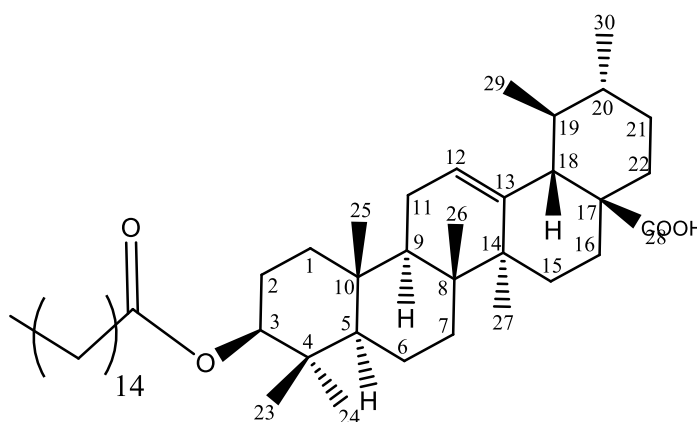
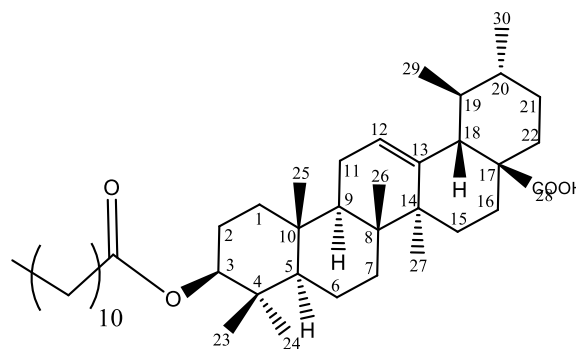


Tabela 9- Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C obtidos para **3** (CDCl_3) e comparação com dados calculados para o ácido (3 β)-3-[(1-Oxododecil)oxi]urs-12-en-28-oico.

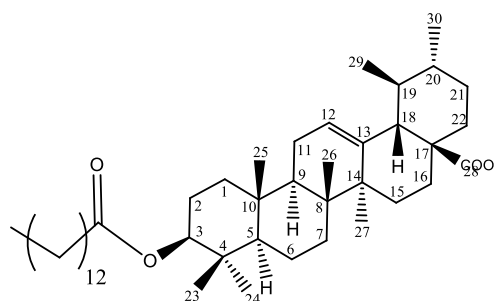
Posição	Multip.	3 (δC)	Ref. (δC)
1	CH ₂	37,7	38,1
2	CH ₂	25,2	26,5
3	CH	80,6	80,5
4	C	37,7	37,7
5	CH	55,3	55,5
6	CH ₂	18,2	18,3
7	CH ₂	31,2	32,8
8	C	39,3	39,3
9	CH	47,5	47,4
10	C	36,9	36,9
11	CH ₂	23,6	23,4
12	CH	125,7	125,5
13	C	137,9	137,8
14	C	41,9	41,7
15	CH ₂	28,1	27,9
16	CH ₂	23,6	23,9
17	C	47,9	47,8
18	CH	52,6	52,3
19	CH	38,8	38,8
20	CH	38,8	38,7
21	CH ₂	29,6	30,4
22	CH ₂	36,9	36,5
23	CH ₃	21,2	21,6
24	CH ₃	23,6	23,6
25	CH ₃	15,5	15,5
26	CH ₃	16,7	16,5
27	CH ₃	23,6	23,4
28	C	182,9	184,0
29	CH ₃	17,0	16,8
30	CH ₃	21,2	21,0
1'	CH ₂	173,7	173,6
2'	CH ₂	34,8	34,7
3'	CH ₂	25,1	25,1
4'	CH ₂	29,5	29,4
5'	CH ₂	29,6	29,6
6'	CH ₂	29,6	29,7
7'	CH ₂	29,5	29,5
8'	CH ₂	29,5	29,5
9'	CH ₂	29,3	29,3
10'	CH ₂	31,9	31,8
11'	CH ₂	22,7	22,7
12'	CH ₂	14,1	14,0
13'	CH ₂		
14'	CH ₂		



Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

Tabela 10- Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C obtidos para **4** (CDCl_3) e comparação com dados calculados para o ácido (3 β)-3-[(1-Oxotetradecil)oxi]urs-12-en-28-oico

Posição	Multip.	4 (δC)	Ref. (δC)
1	CH ₂	38,0	38,1
2	CH ₂	25,9	26,5
3	CH	80,6	80,5
4	C	37,7	37,7
5	CH	55,3	55,5
6	CH ₂	18,2	18,3
7	CH ₂	32,6	32,8
8	C	39,3	39,3
9	CH	47,6	47,4
10	C	37,0	36,9
11	CH ₂	23,4	23,4
12	CH	122,6	125,5
13	C	143,6	137,8
14	C	41,6	41,7
15	CH ₂	28,0	27,9
16	CH ₂	23,6	23,9
17	C	47,6	47,8
18	CH	55,3	52,3
19	CH	39,3	38,8
20	CH	38,0	38,7
21	CH ₂	30,6	30,4
22	CH ₂	37,0	36,5
23	CH ₃	23,6	21,6
24	CH ₃	23,6	23,6
25	CH ₃	15,4	15,5
26	CH ₃	16,7	16,5
27	CH ₃	23,4	23,4
28	C	183,6	184,0
29	CH ₃	17,1	16,8
30	CH ₃	23,6	23,4
1'	CH ₂	173,7	173,6
2'	CH ₂	34,8	34,7
3'	CH ₂	25,2	25,1
4'	CH ₂	29,4	29,4
5'	CH ₂	29,6	29,6
6'	CH ₂	29,6	29,6
7'	CH ₂	29,5	29,5
8'	CH ₂	29,7	29,0
9'	CH ₂	29,5	29,5
10'	CH ₂	29,6	29,6
11'	CH ₂	29,3	29,3
12'	CH ₂	31,9	31,9
13'	CH ₂	22,7	22,7
14'	CH ₂	14,1	13,9

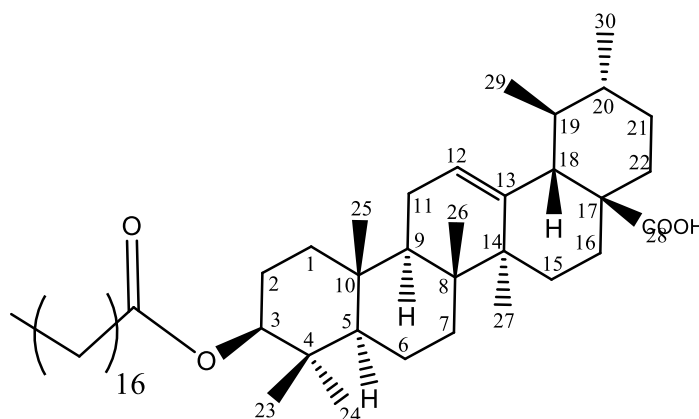


Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

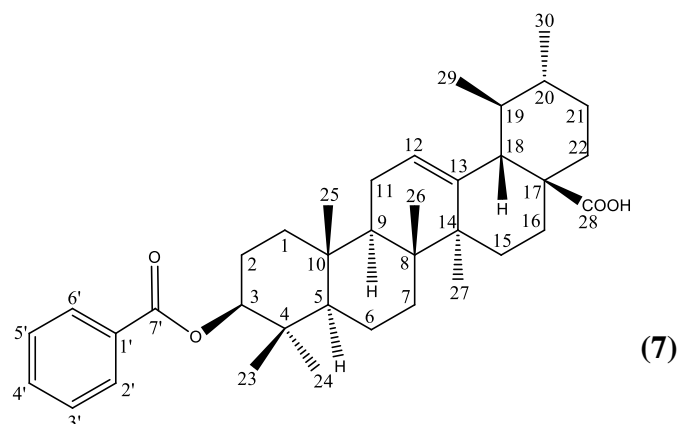
Tabela 11- Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C obtidos para **6** (CDCl_3) e comparação com dados calculados para o ácido (3 β)-3-[(1-Oxoctadecil)oxi]urs-12-en-28-oico.

Posição	Multip	δ (C)	Ref. (δ C)	Posição	Multip	δ (C)	Ref. (δ C)
1	CH ₂	37,9	38,1	25	CH ₃	15,5	15,4
2	CH ₂	26,1	26,4	26	CH ₃	16,7	16,5
3	CH	80,8	80,5	27	CH ₃	23,6	23,4
4	C	37,2	37,7	28	C	184,0	184,0
5	CH	55,3	55,5	29	CH ₃	16,8	16,8
6	CH ₂	18,4	18,3	30	CH ₃	21,2	21,0
7	CH ₂	32,1	32,8	1'	CH ₂	173,9	173,6
8	C	39,2	39,3	2'	CH ₂	35,0	34,7
9	CH	47,6	47,4	3'	CH ₂	25,4	25,1
10	C	36,9	36,9	4'	CH ₂	29,5	29,4
11	CH ₂	23,6	23,4	5'	CH ₂	29,7	29,6
12	CH	125,7	125,5	6'	CH ₂	29,7	29,6
13	C	138,2	137,8	7'	CH ₂	29,5	29,5
14	C	41,8	41,7	8'	CH ₂	29,5	29,5
15	CH ₂	28,2	27,9	9'	CH ₂	29,5	29,5
16	CH ₂	23,8	23,9	10'	CH ₂	29,5	29,5
17	C	47,7	47,8	11'	CH ₂	29,5	29,5
18	CH	52,7	52,3	12'	CH ₂	29,6	29,7
19	CH	39,0	38,8	13'	CH ₂	29,5	29,5
20	CH	39,0	38,7	14'	CH ₂	29,7	29,6
21	CH ₂	30,9	30,4	15'	CH ₂	29,5	29,5
22	CH ₂	36,9	36,5	16'	CH ₂	32,1	32,0
23	CH ₃	17,4	17,7	17'	CH ₂	22,9	22,5
24	CH ₃	28,2	27,5	18'	CH ₃	14,1	14,3

Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

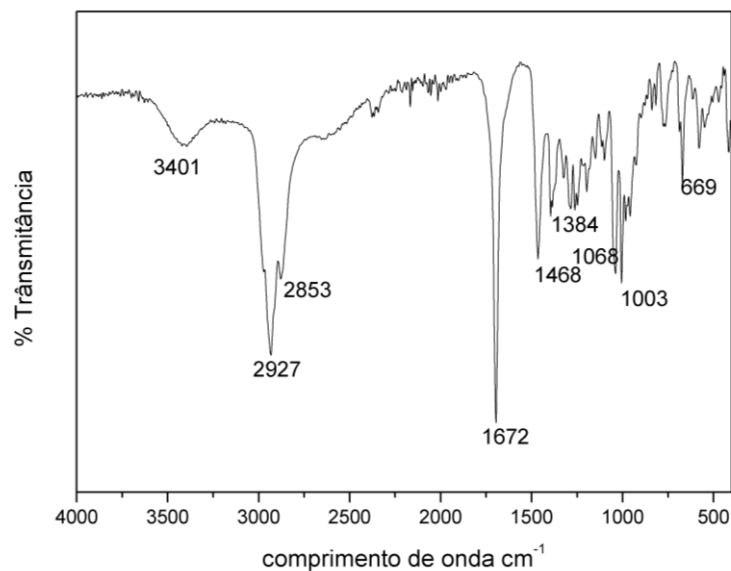


5.3.2 Ácido (3 β)-3-[(benzoil)oxi] urs-12-en-28-oico (7)



O Ácido (3 β)-3-[(benzoil)oxi] urs-12-en-28-oico (7) foi sintetizado a partir da esterificação do ácido ursólico e o ácido benzóico. O espectro na região do IV do éster 7 (Figura 28) mostra bandas características do esqueleto do ácido ursólico e da porção esterificada aromática. Observou-se bandas centradas em 2927-2853 que foram atribuídas ao estiramento da ligação C-H de grupos CH, CH₂ e CH₃ de compostos alifáticos e entre 1468 e 1384 cm⁻¹ referem-se à deformação angular de ligação simples C-H. Observou-se uma banda centrada em 3401 cm⁻¹ característica do estiramento da ligação O-H. A banda de absorção em 1672 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento da ligação C=O de éster. As absorções entre 1068 e 1003 cm⁻¹ foram atribuídas ao estiramento da ligação C-O-C de grupo alquil aril éter. . (BARBOSA, 2007).

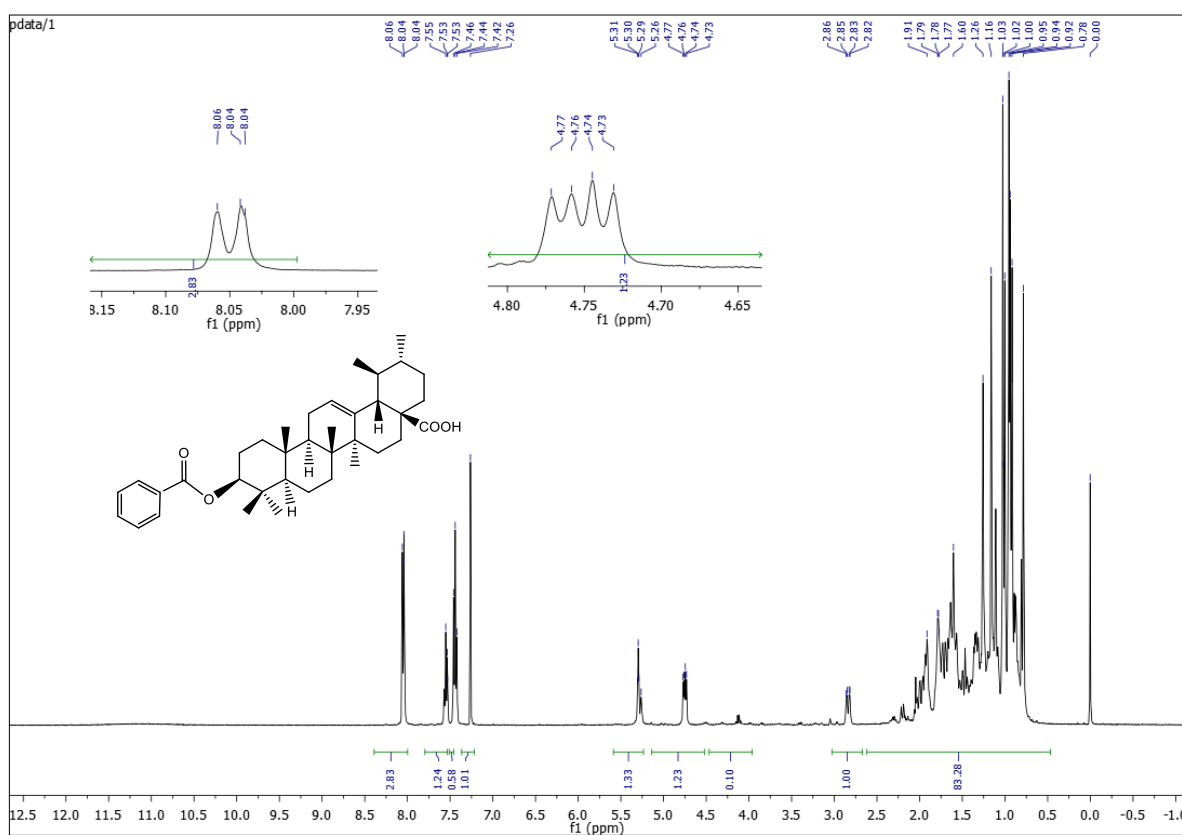
Figura 28: Espectro na região de IV de 7, ATR.



A análise do espectro de RMN de ^1H do éster **7** (Figura 29) revelou a presença de sinais característicos do esqueleto triterpênico do ácido ursólico, bem como a porção aromática da substância. Os sinais observados em δ_{H} 7,31 e 5,26 foram atribuídos aos átomos de hidrogênio aromáticos H-2',6' e ao átomo de hidrogênio H-12 do esqueleto triterpênico, respectivamente. Um importante resultado que prova a ocorrência da esterificação é o deslocamento do sinal de H-3 para a região mais desblindada do espectro, que passou de δ_{H} 3,48 (ácido ursólico) para δ_{H} 4,73 (produto éster **7**).

A partir do espectro de RMN de ^{13}C e do subspectro DEPT-135 (Figura 30 e 31, pág. 63 e 64, respectivamente), foram observados 37 sinais de carbono, sendo sete CH_3 , nove CH_2 , doze CH e nove C . O sinal correspondente ao átomo de carbono C-7' em δ_{C} 166,3 e o sinal do carbono carbinólico C-3 em δ_{C} 81,7 (mais desblindado em comparação ao carbono pertencente ao ácido ursólico, δ_{C} 78,2) são importantes evidências da formação do produto éster **3**.

Figura 29: Espectro de RMN de ^1H de **3**, obtido em aparelho de 400 MHz, (CDCl_3)



Outros deslocamentos químicos característicos do éster **7** foram observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 30): δc 128,3; δc 132,7; δc 131,0 e δc 129,6, atribuídos aos átomos de carbono da porção aromática da molécula C-3',5'; C-4'; C-1' e C-2', 6', respectivamente. Os sinais em δc 143,0 e 122,6 referem-se aos átomos de carbono olefínicos do esqueleto ursânico C-13 e C-12, respectivamente. A atribuição de todos os sinais do espectro de RMN de ^{13}C obtidos para **7** e a comparação com os dados calculados usando o programa ACD/Labs (versão 6.0) encontram-se na Tabela 12. Após as análises espectroscópicas realizadas foi possível confirmar que o produto **7** trata-se do ácido (3 β)-3-[(benzoil)oxi] urs-12-en-28-oico.

Figura 30: Espectro de RMN de ^{13}C de **7**, obtido em aparelho de 100 MHz, (CDCl_3)

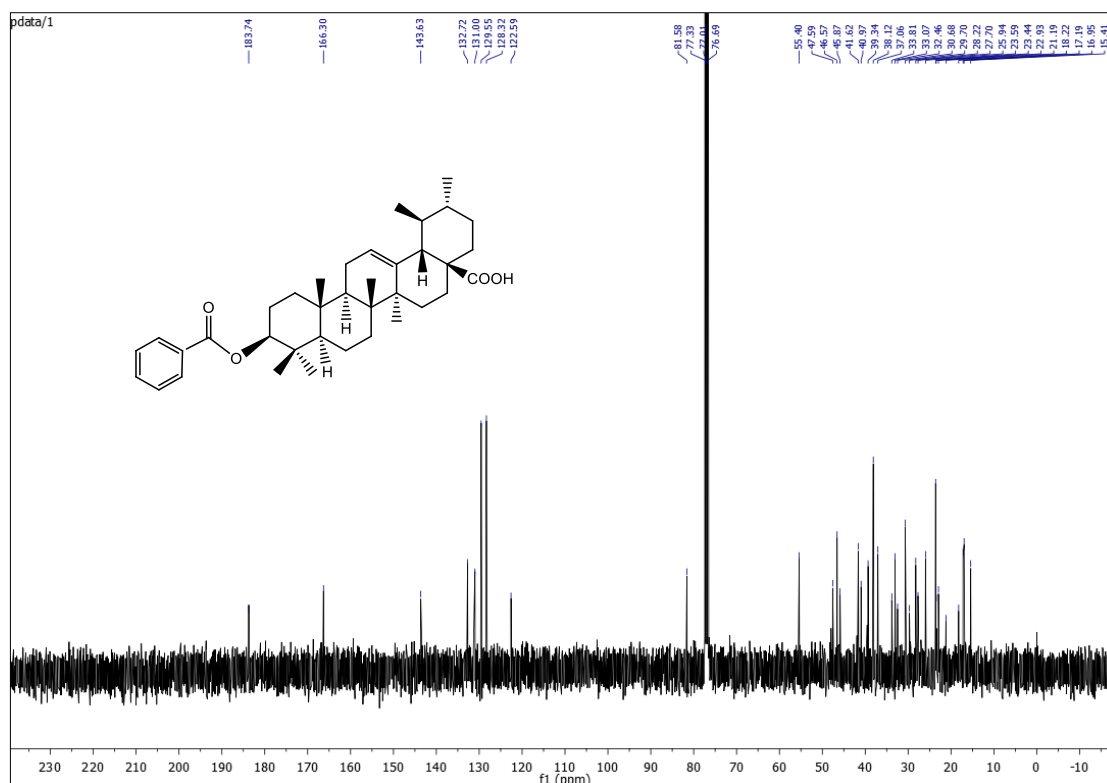


Figura 31: Espectro de DEPT-135 de **7**, obtido em aparelho de 300 MHz, (CDCl₃)

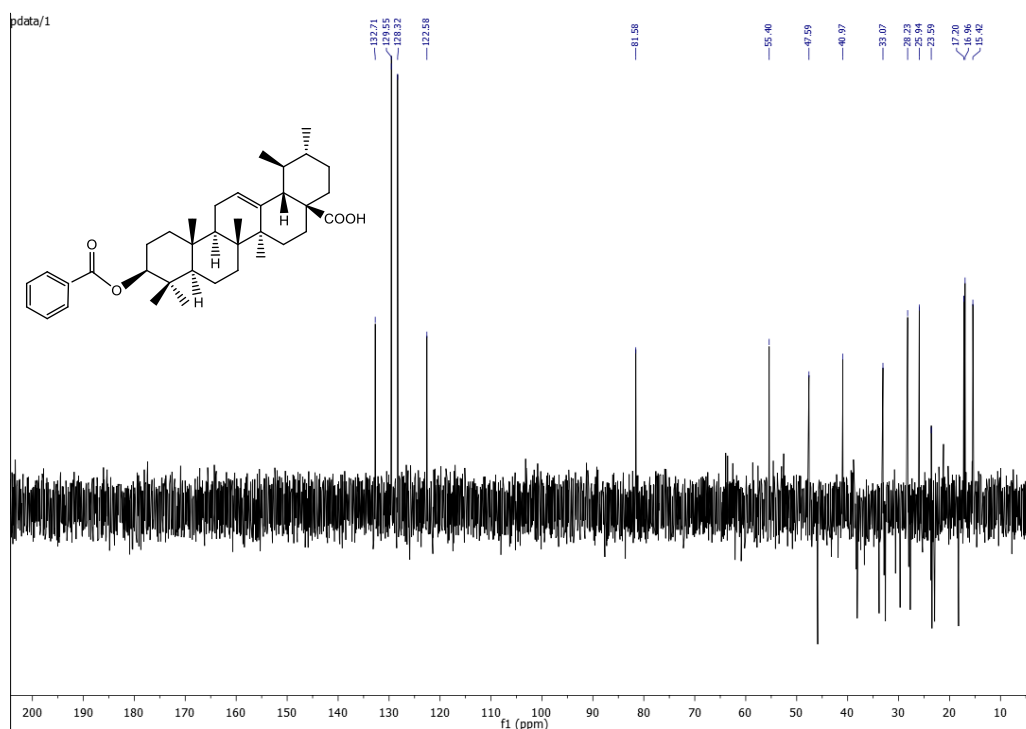
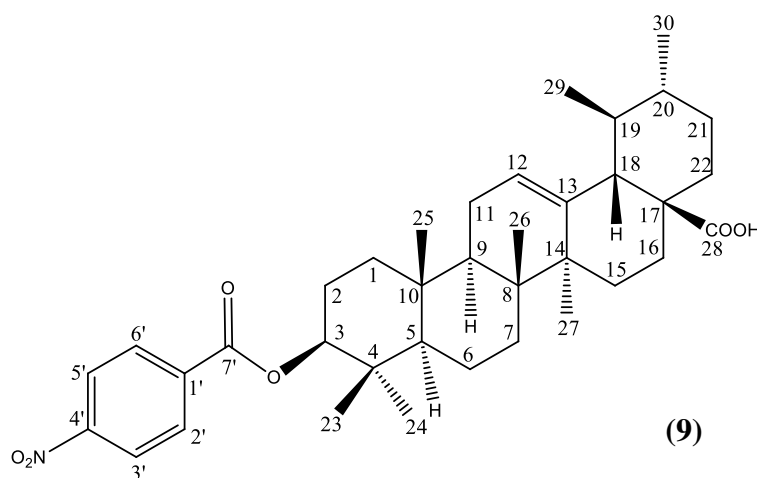


Tabela 12- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³C obtidos para **7** (CDCl₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)- 3-[(benzoil)oxi] urs-12-en-28-oico.

Posição	Multip.	7 (δC)	Ref. (δC)	Posição	Multip.	7 (δC)	Ref. (δC)
1	CH ₂	38,1	38,5	20	CH	40,2	38,7
2	CH ₂	26,6	23,8	21	CH ₂	30,7	30,4
3	CH	81,6	79,6	22	CH ₂	37,0	36,5
4	C	38,1	37,8	23	CH ₃	28,2	27,9
5	CH	55,4	57,4	24	CH ₃	17,2	17,3
6	CH ₂	18,2	18,2	25	CH ₃	15,4	15,5
7	CH ₂	33,8	33,9	26	CH ₃	16,9	16,7
8	C	40,9	40,6	27	CH ₃	24,6	23,4
9	CH	47,6	48,0	28	C	183,7	184,0
10	C	38,1	37,9	29	CH ₃	16,9	16,8
11	CH ₂	23,6	24,1	30	CH ₃	17,2	21,0
12	CH	122,6	118,9	1'	C	131,0	131,0
13	C	143,6	139,4	2'	CH	129,6	129,6
14	C	41,6	41,7	3'	CH	128,4	128,7
15	CH ₂	27,7	27,9	4'	CH	132,7	133,0
16	CH ₂	23,6	23,9	5'	CH	128,3	128,7
17	C	46,6	47,8	6'	CH	129,6	129,6
18	CH	55,4	52,3	7'	C	166,3	166,5
19	CH	40,4	38,8				

Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

5.3.3 Ácido (3 β)-3-[(4-nitrobenzoi)oxi]urs-12-en-28-oico (9)



O ácido (3 β)-3-[(4-nitrobenzoi)oxi]urs-12-en-28-oico é um derivado éster, sintetizado a partir do ácido ursólico com o ácido *p*-nitobenzóico.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 32, pág.66) do éster **9** revelou a presença de sinais entre δ_{H} 0,75 e 2,17 característicos do esqueleto triterpênico do ácido ursólico. Os sinais observados em δ_{H} 7,23 e 5,25 foram atribuídos aos átomos de hidrogênio aromáticos H-2' a H-6' e ao átomo de hidrogênio H-12 do esqueleto triterpênico, respectivamente. Um importante resultado que prova a ocorrência da esterificação é o deslocamento do sinal de H-3 para a região mais desblindada do espectro, que passou de δ_{H} 3,48 (ácido ursólico) para δ_{H} 4,72 (triplete) ppm (produto éster **9**).

A partir do espectro de RMN de ^{13}C e do subespectro DEPT-135 (Figura 32 e 33, pág. 66 e 67, respectivamente), foram observados 37 sinais de carbono, sendo sete CH_3 , nove CH_2 , doze CH e nove C . O sinal correspondente ao átomo de carbono C-7' em δ_{C} 164,6 ppm e o sinal do carbono carbinólico C-3 em δ_{C} 83,1 (mais desblindado em comparação ao carbono pertencente ao ácido ursólico, δ_{C} 78,2) importantes evidências da formação do produto éster **9**.

Outros deslocamentos químicos característico do éster **9** foram observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 32, pág. 66): δ_{C} 123,8; δ_{C} 150,7; δ_{C} 136,5,0 e δ_{C} 130,8 ppm, atribuídos aos átomos de carbono da porção aromática da molécula C-3',5'; C-4'; C-1' e C-2', 6', respectivamente. A atribuição de todos os sinais do espectro de RMN de ^{13}C obtidos para **9** e a comparação com os dados calculados usando o programa ACD/Labs (versão 6.0)

encontram-se na Tabela 13 (pág. 67). Após as análises espectroscópicas realizadas foi possível confirmar que o produto **9** trata-se respectivamente do ácido (3 β)-3-[(4-nitrobenzoil)oxi]urs-12-en-28-oico.

Figura 32: Espectro de RMN de ^1H obtido para **9** (CDCl_3 ; 400 MHz)

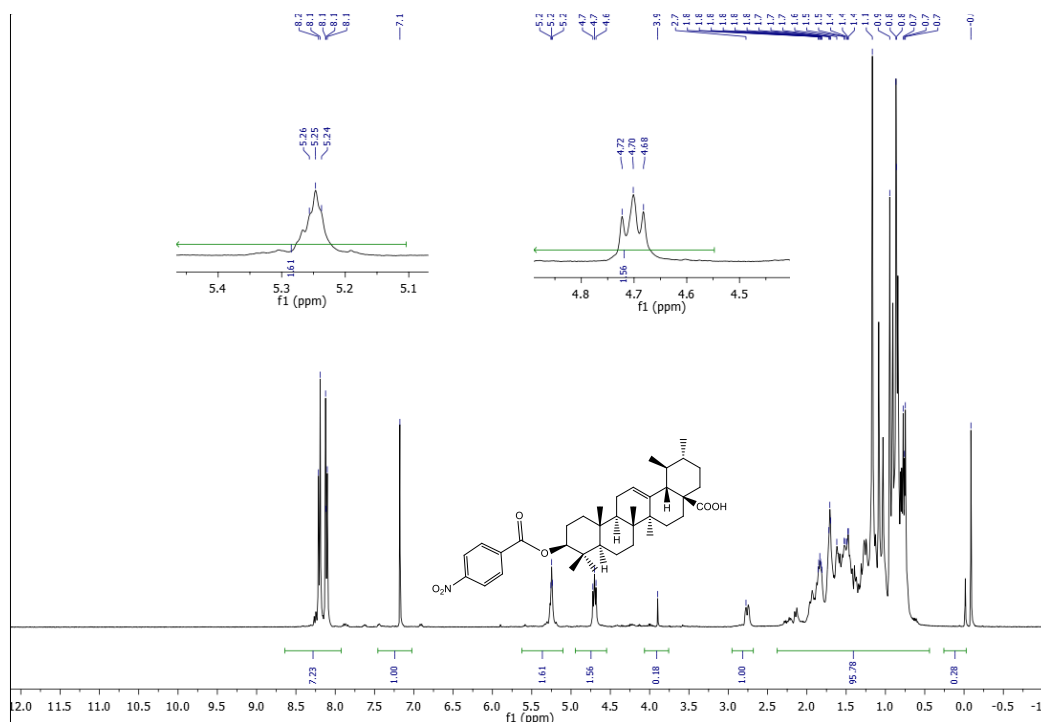


Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C obtido para **9** (CDCl_3 ; 100 Hz)

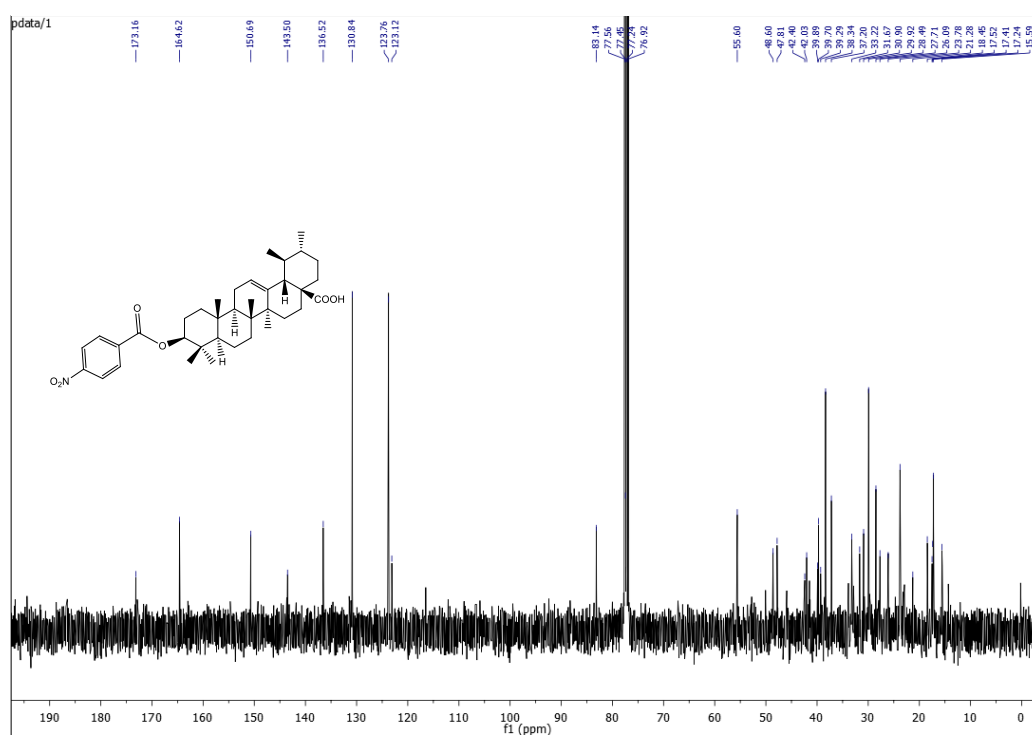
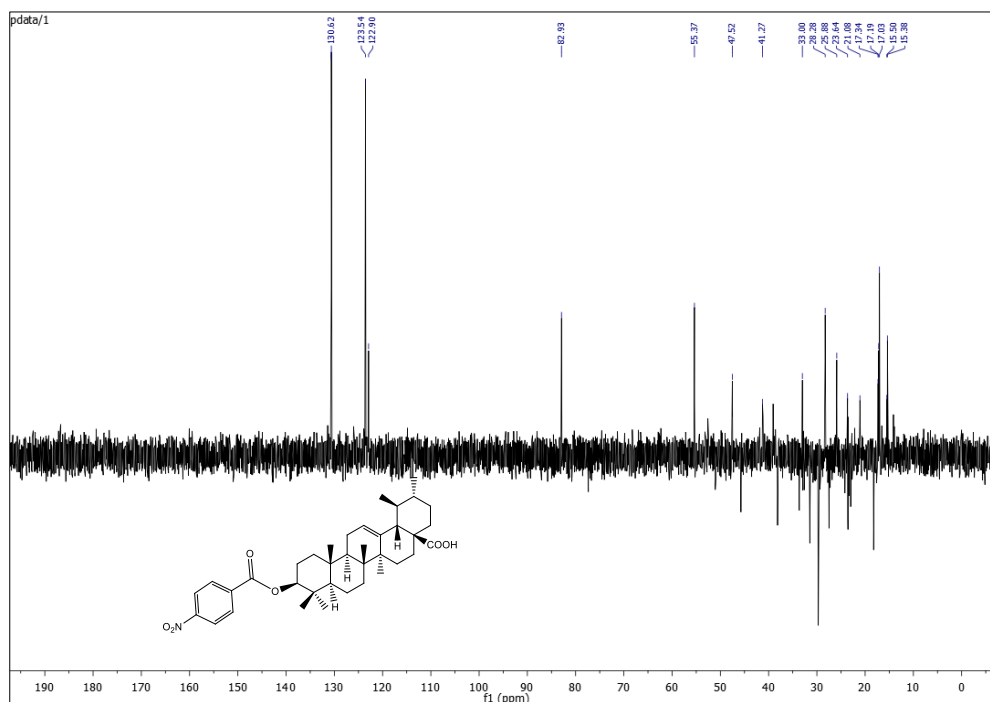
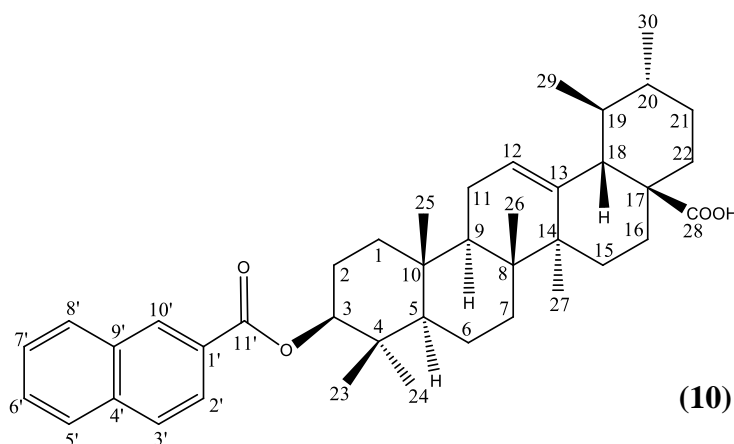


Figura 34: Espectro DEPT-135 obtido para **9** (CDCl₃; 100 Hz)Tabela 13-Atribuição dos sinais de RMN de ¹³C obtidos para **9** (CDCl₃ e C₅D₅N) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)-3-[(4-nitrobenzoi)oxi]urs-12-en-28-oico.

Posição	Multip.	9 (δC)	Ref. (δC)	Posição	Multip.	9 (δC)	Ref. (δC)
1	CH ₂	38,4	38,5	20	CH	41,2	38,7
2	CH ₂	23,8	23,9	21	CH ₂	30,9	30,4
3	CH	83,1	79,6	22	CH ₂	37,2	36,5
4	C	37,2	37,8	23	CH ₃	21,0	20,4
5	CH	55,6	54,4	24	CH ₃	25,9	24,8
6	CH ₂	18,5	18,2	25	CH ₃	15,5	15,5
7	CH ₂	33,2	32,7	26	CH ₃	17,0	16,5
8	C	39,3	39,3	27	CH ₃	23,6	23,4
9	CH	47,5	47,3	28	C	173,1	184,0
10	C	37,2	36,9	29	CH ₃	17,2	16,8
11	CH ₂	23,8	23,4	30	CH ₃	21,0	21,0
12	CH	123,5	125,5	1'	C	136,5	135,8
13	C	136,5	137,8	2'	CH	130,8	130,6
14	C	42,0	41,7	3'	CH	123,8	123,6
15	CH ₂	27,7	27,9	4'	CH	150,7	150,4
16	CH ₂	23,8	23,9	5'	CH	123,1	123,6
17	C	47,8	47,8	6'	CH	130,8	130,6
18	CH	55,4	52,3	7'	C	164,6	167,0
19	CH	41,2	38,8				

Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

5.3.4 Ácido (3 β)-3-[(1-naftalenoil)oxi]urs-12-en-28-oico (10)



O ácido (3 β)-3-[(1-naftalenoil)oxi]urs-12-en-28-oico é um derivado éster, sintetizado a partir do ácido ursólico com o ácido naftalenocarboxílico.

A faixa de fusão encontrada para a substância (10) foi 220-224 °C.

O espectro na região do IV (Figura 35, pág. 70) do éster (10) apresenta banda de intensidade forte em 3308 cm⁻¹, atribuída à deformação axial do grupo O-H, característico de ácido carboxílico. Estiramentos em 2909 e 2816 cm⁻¹, referem-se à ligação C-H característicos de carbono hibridizado em de Csp³ e Csp², respectivamente. A absorção em 1691 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento da ligação C=O, referente à presença de grupo carbonila de éster. Os estiramentos em 1282 e 994 cm⁻¹, foram atribuídas a ligação C-O.

A análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 36, pág. 71) do éster 10 revelou a presença de sinais entre δ_H 0,84 e 1,5 característicos do esqueleto triterpênico do ácido ursólico. Os sinais observados entre δ_H 7,87 a 8,70 (m) foram atribuídos aos átomos de hidrogênio aromáticos H-2',10' do anel naftaleno e o sinal em δ_H 5,2 foi atribuído ao átomo de hidrogênio H-12 do esqueleto triterpênico. Um importante resultado que prova a ocorrência da esterificação é o deslocamento do sinal de H-3 para a região mais desblindada do espectro, que passou de δ_H 3,48 (ácido ursólico) para δ_H 4,84 (t) (produto éster 10).

A partir do espectro de RMN de ¹³C e do espectro DEPT-135 (Figura 37 e 38, pág. 71 e 72, respectivamente), foram observados 41 sinais de carbono, sendo sete CH₃, nove CH₂, quatorze CH e onze C. O sinal correspondente ao átomo de carbono C-11' em δ_c 166,7 e o sinal do carbono carbinólico C-3 em δ_c 79,0 (mais desblindado em comparação ao carbono

pertencente ao ácido ursólico, δ_c 78,2) importantes evidências da formação do produto éster **10**.

Outros deslocamentos químicos característico do éster **10** foram observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 37, pág. 66): δ_c 134,3; δ_c 123,4; δ_c 127,8; δ_c 126,8; δ_c 126,9; δ_c 125,3; δ_c 126,7; δ_c 131,1; δ_c 132,0 e δ_c 128,8, atribuídos aos átomos de carbono da porção aromática da molécula C-1' a C-10', respectivamente. A atribuição de todos os sinais do espectro de RMN de ^{13}C obtidos para **10** e a comparação com os dados calculados usando o programa ACD/Labs (versão 6.0) encontram-se na Tabela 14 (pág. 73). Após as análises espectroscópicas realizadas foi possível confirmar que o produto **10** trata-se respectivamente do ácido (3 β)-3-[(1-naftalenoil)oxi]urs-12-en-28-oico.

Figura 35: Espectro de IV para o éster 10

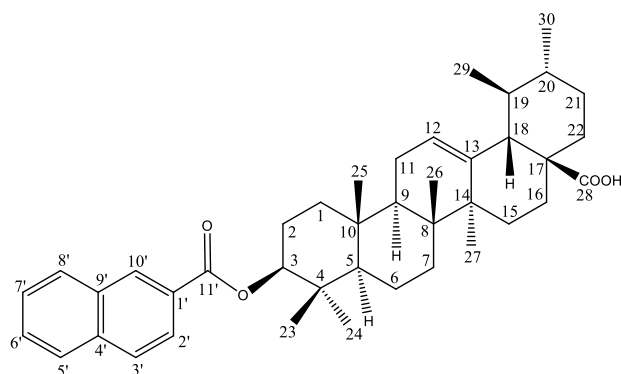
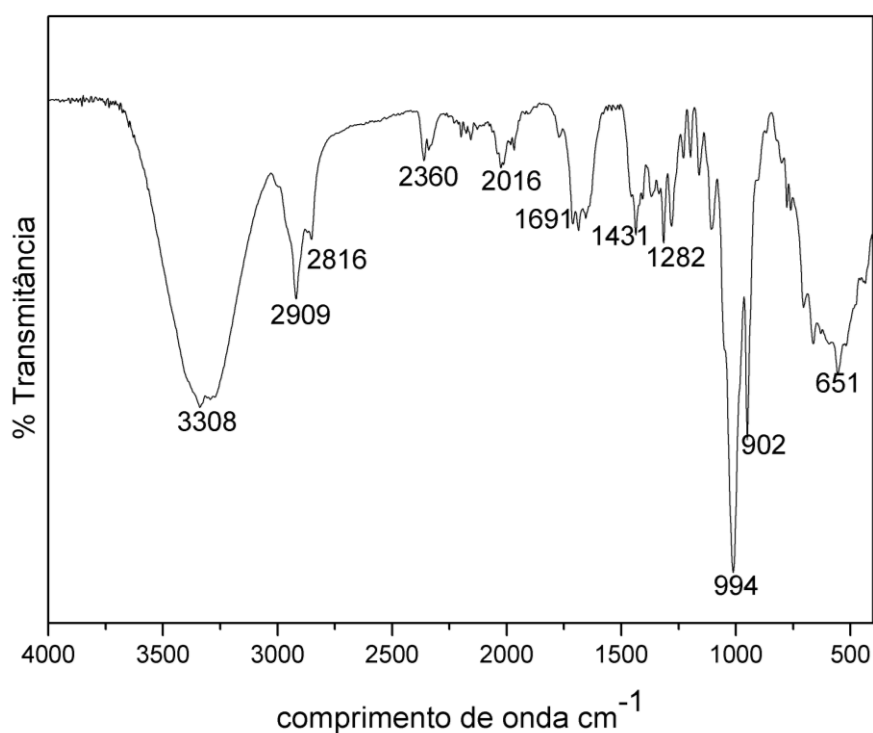


Figura 36: Espectro de RMN de ^1H do éster **10** (CDCl_3), 400 Hz

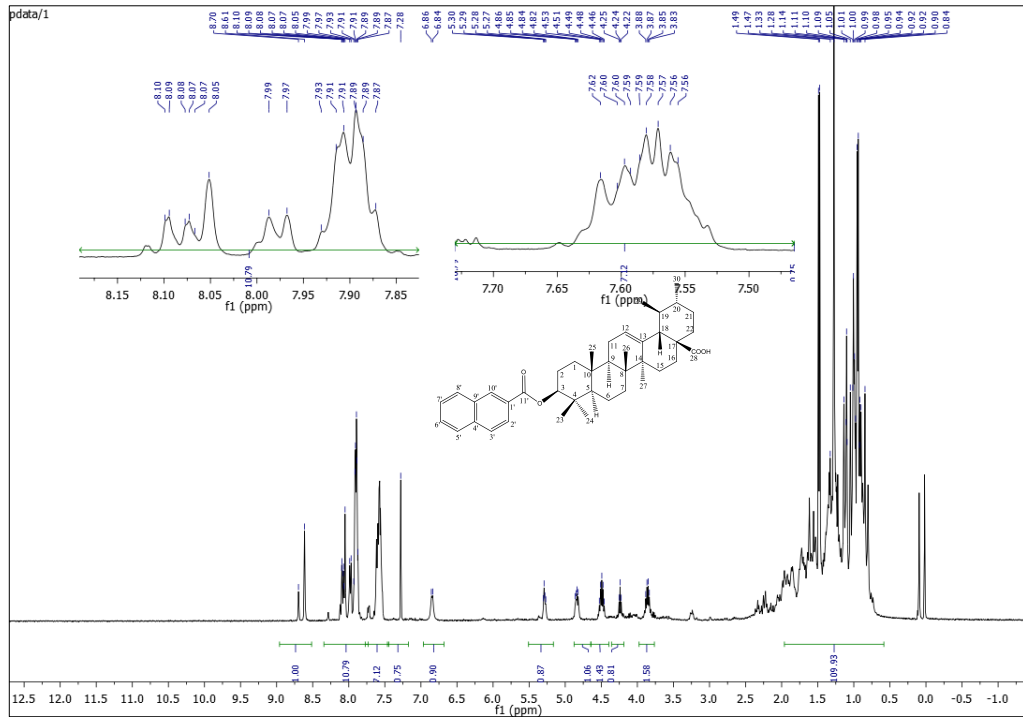


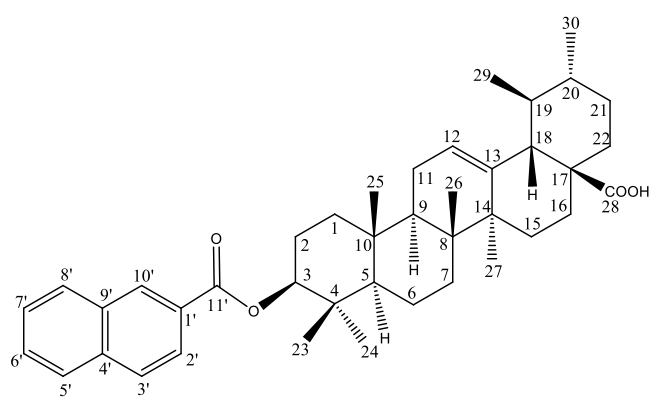
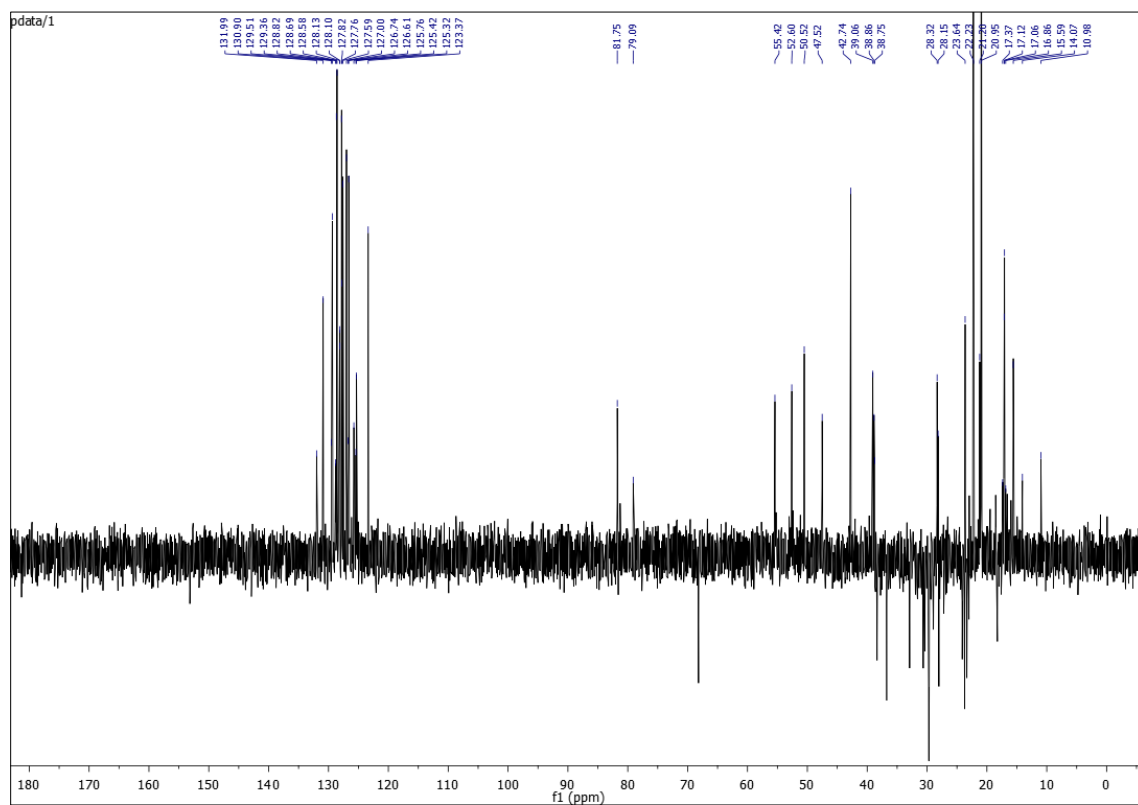
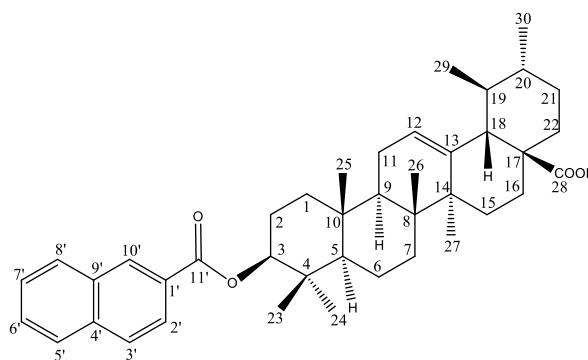
Figura 38: Espectro de DEPT-135 do éster **10**, (CDCl₃) 400 Hz**(10)**

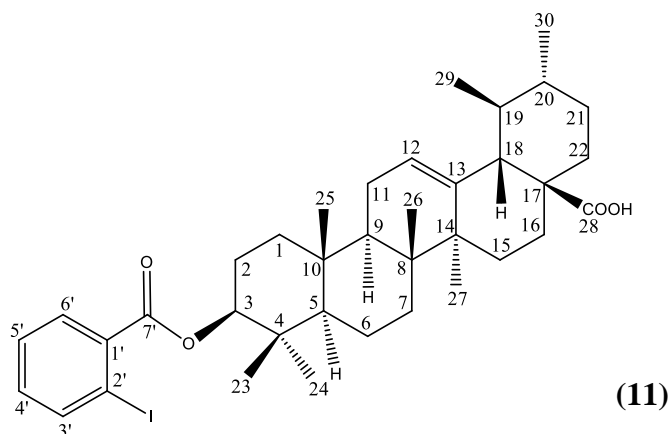
Tabela 14- Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C obtidos para **10** (CDCl_3) e comparação com dados calculados para o ácido (3 β)-3-[(1-naftalenoil)oxi]urs-12-en-28-oico.

Posição	Multip.	10 (δC)	Ref. (δC)
1	CH ₂	38,6	38,5
2	CH ₂	23,9	23,9
3	CH	79,0	79,6
4	C	38,4	37,8
5	CH	55,7	54,4
6	CH ₂	18,5	18,2
7	CH ₂	31,0	32,7
8	C	39,3	39,3
9	CH	47,5	47,3
10	C	36,9	36,9
11	CH ₂	23,9	23,4
12	CH	125,5	125,5
13	C	138,2	137,8
14	C	39,8	41,7
15	CH ₂	28,2	27,9
16	CH ₂	23,9	23,9
17	C	47,7	47,8
18	CH	52,6	52,3
19	CH	38,8	38,8
20	CH	38,7	38,7
21	CH ₂	30,9	30,4
22	CH ₂	36,9	36,5
23	CH ₃	20,9	20,4
24	CH ₃	23,6	24,7
25	CH ₃	15,6	15,5
26	CH ₃	16,9	16,5
27	CH ₃	23,6	23,4
28	C	172,8	184,0
29	CH ₃	16,8	16,8
30	CH ₃	21,2	21,0
1'	C	134,3	133,9
2'	CH	123,4	124,7
3'	CH	127,8	127,5
4'	C	126,8	126,8
5'	CH	126,9	126,8
6'	CH	125,3	125,0
7'	CH	126,7	126,3
8'	CH	131,1	131,0
9'	C	132,0	132,5
10'	CH	128,8	128,9
11'	C	166,7	166,5



Multip.=Multiplicidade; Referência: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

5.3.5 Ácido (3 β)-3-[(2-iodobezoil)oxi]urs-12-en-28-oico (11)



O ácido (3 β)-3-[(2-iodobezoil)oxi]urs-12-en-28-oico é um derivado éster, sintetizado a partir do ácido ursólico com o ácido 2-iodo benzóico.

A faixa de fusão encontrada para a substância (9) foi 280-284,0 °C.

O espectro na região do IV (Figura 39, pág. 76) do éster **11** apresenta bandas com estiramentos fortes em 2927 e 2788 cm^{-1} de ligação C-H característicos de carbono hibridizado em sp^3 e sp^2 , respectivamente. As absorções em 1635 e 1691 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento da ligação C=O, referente à presença de grupo carbonila de éster e de ácido carboxílico, respectivamente. Os estiramentos em 1273 e 994 cm^{-1} , foram atribuídas a ligação C-O.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 40, pág. 77) do éster **11** revelou a presença de sinais entre δ_{H} 0,81 e 1,6 característicos do esqueleto triterpênico do ácido ursólico. Os sinais observados em torno δ_{H} 7,8 e 5,3 foram atribuídos aos átomos de hidrogênio aromáticos e ao átomo de hidrogênio H-12 do esqueleto triterpênico, respectivamente. Um importante resultado que prova a ocorrência da esterificação é o deslocamento do sinal de H-3 para a região mais desblindada do espectro, que passou de δ_{H} 3,48 (ácido ursólico) para δ_{H} 4,82 (t) ppm (produto éster **11**).

A partir do espectro de RMN de ^{13}C e do subespectro DEPT-135 (Figura 41 e 42, pág. 77 e 78 respectivamente), foram observados 37 sinais de carbono, sendo sete CH_3 , nove CH_2 , doze CH e nove C. O sinal correspondente ao átomo de carbono C-7' em δ_{C} 167,9 e o sinal do carbono carbinólico C-3 em δ_{C} 76,9 (mais desblindado em comparação ao carbono

pertencente ao ácido ursólico, δ_c 78,2) importantes evidências da formação do produto éster **11**.

Outros deslocamentos químicos característico do éster **11** foram observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 41, pág. 77): δ_c 132,7; δ_c 129,0 e δ_c 131,1, atribuídos aos átomos de carbono da porção aromática da molécula C-1', 3'; C-2' e C-4', 5', 6' respectivamente. A atribuição de todos os sinais do espectro de RMN de ^{13}C obtidos para **11** e a comparação com os dados calculados usando o programa ACD/Labs (versão 6.0) encontram-se na Tabela 15 (pág.78). Após as análises espectroscópicas realizadas foi possível confirmar que o produto **11** trata-se respectivamente do ácido (3 β)-3-[(2-iodobezoilo)oxi]urs-12-en-28-oico.

Figura 39: Espectro de IV para o éster **11**

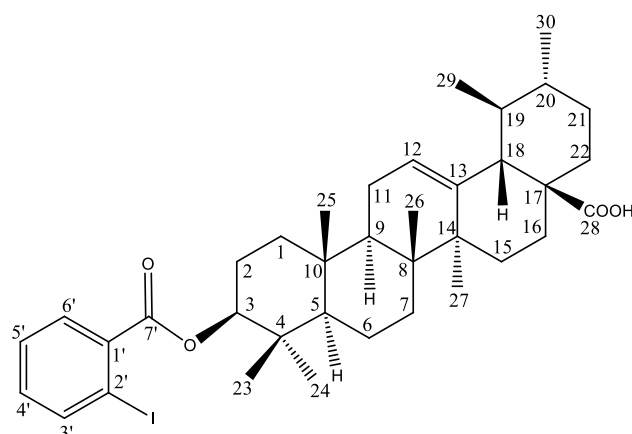
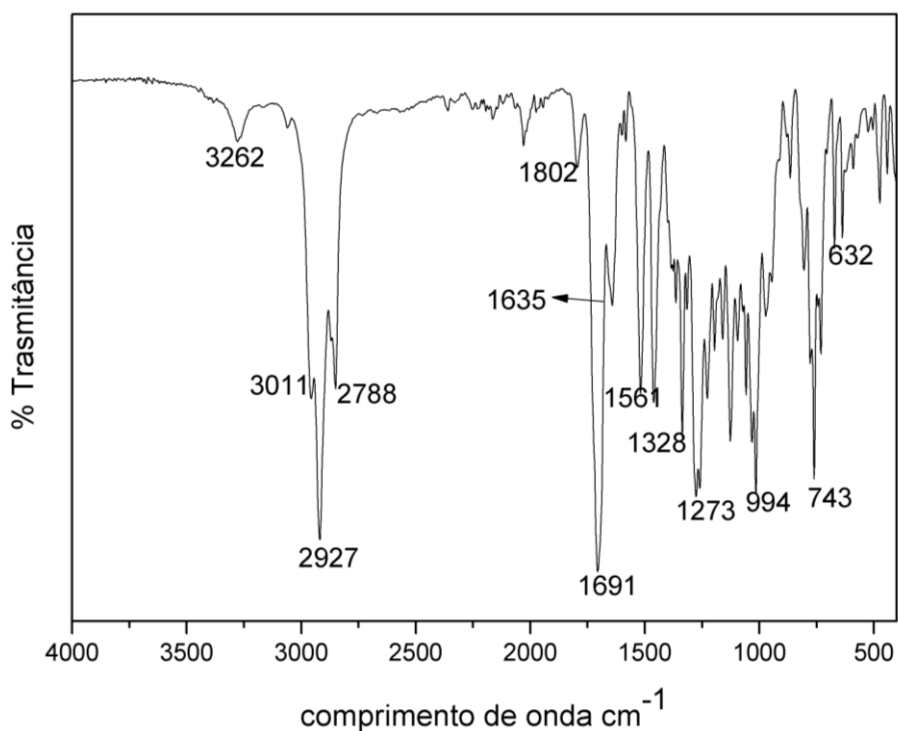
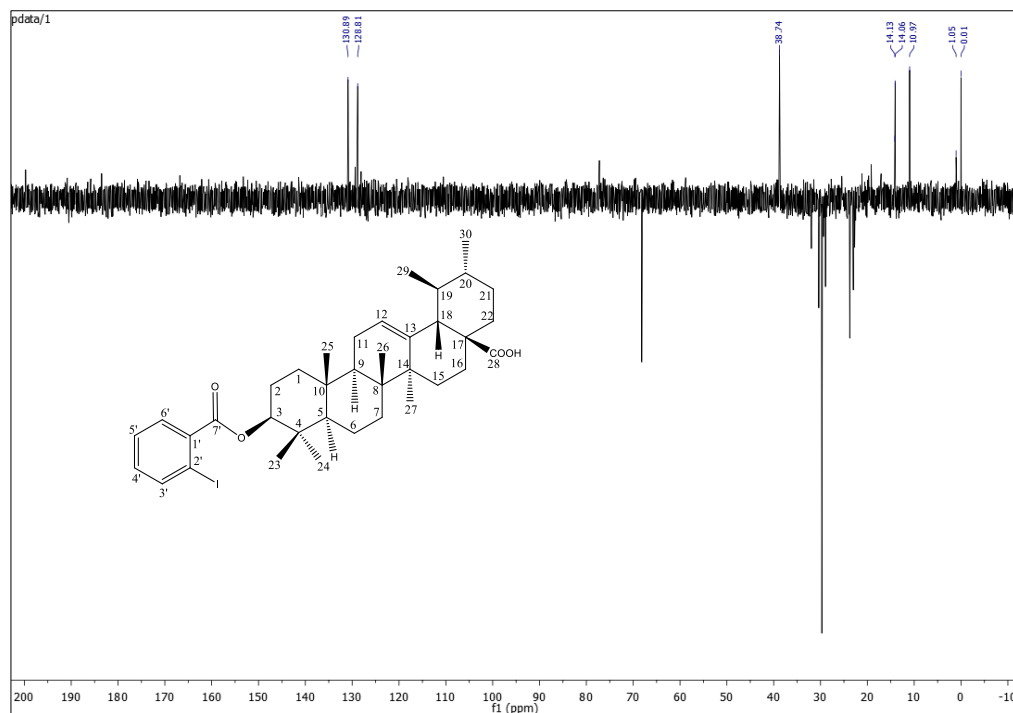


Figura 42: Espectro de DEPT-135 do éster **11**, (CDCl₃; 100 Hz)Tabela 15- Atribuição dos sinais de RMN de ¹³C obtidos para **11** (CDCl₃) e comparação com dados calculados para o ácido (3β)- 3-[(2-iodobenzoi)oxi] urs-12-en-28-oico.

Posição	Multip.	11 (δC)	Ref. (δC)	Posição	Multip.	11 (δC)	Ref. (δC)
1	CH ₂	38,9	38,5	20	CH	38,9	38,7
2	CH ₂	23,9	23,9	21	CH ₂	30,6	30,4
3	CH	76,9	79,6	22	CH ₂	38,9	36,5
4	C	38,9	37,8	23	CH ₃	22,9	20,4
5	CH	68,9	54,4	24	CH ₃	23,9	24,8
6	CH ₂	14,4	18,3	25	CH ₃	14,4	15,5
7	CH ₂	32,1	32,7	26	CH ₃	14,4	16,5
8	C	38,9	39,3	27	CH ₃	23,4	23,4
9	CH	38,9	47,3	28	C	-	184,0
10	C	38,9	36,9	29	CH ₃	14,2	16,8
11	CH ₂	23,2	23,4	30	CH ₃	22,9	21,0
12	CH	129,0	125,5	1'	C	133,2	132,7
13	C	132,7	137,8	2'	CH	93,4	129,0
14	C	38,9	41,7	3'	CH	141,3	132,7
15	CH ₂	29,1	27,9	4'	CH	132,1	131,1
16	CH ₂	23,9	23,9	5'	CH	127,5	131,1
17	C	38,9	47,8	6'	CH	129,8	131,1
18	CH	38,9	52,3	7'	C	168,1	167,9
19	CH	38,9	38,8				

Multip.=Multiplicidade; Referencia: Programa ACD/Labs (versão 6.0)

5.4 Estudo da Atividade Antibacteriana e Antifúngica

A Tabela 16 apresenta os resultados do ensaio de potencial biológico realizado com o ácido ursólico (**1**), o ácido 3-epicorosólico (**2**) (ambos isolados da *J. caroba*) e os ésteres derivados do ácido ursólico.

Tabela 16- Resultado do ensaio antimicrobiano (% de inibição \pm desvio padrão) dos ácidos isolados da *J. caroba* e os ésteres derivados do ácido ursólico.

Amostra ou padrão	Micro-organismo				
	S. Aureus	C. Freundi	L. Mono.	E. coli	C. albicans
1	27,8 \pm 2,6	16,5 \pm 1,2	24,3 \pm 1,7	27,9 \pm 3,9	66,5 \pm 2,1
2	38,7 \pm 1,4	31,4 \pm 0,5	17,4 \pm 3,2	48,2 \pm 3,1	65,3 \pm 1,9
3	35,1 \pm 2,1	57,4 \pm 2,1	0	34,2 \pm 3,2	21,7 \pm 1,0
4	3,02 \pm 0,6	28,4 \pm 2,6	0	0	31,4 \pm 0,6
5	0	0	0	0	38,9 \pm 2,5
6	0	0	0	0	19,6 \pm 3,4
7	19,6 \pm 3,2	18,10 \pm 2,7	32,92 \pm 3,8	22,4 \pm 5,5	0
9	49,7 \pm 8,2	73,6 \pm 1,3	55,3 \pm 2,9	61,4 \pm 4,1	68,4 \pm 2,1
10	42,3 \pm 3,8	47,2 \pm 3,6	100,0 \pm 2,4	51,3 \pm 1,8	73,4 \pm 7,2
11	69,3 \pm 5,1	38,9 \pm 0,7	100,0 \pm 1,7	68,1 \pm 0,9	81,1 \pm 2,6
Ampicilina	51,7 \pm 2,5	90,2 \pm 1,3	88,3 \pm 2,1	76,4 \pm 1,7	-
Nistatina	-	-	-	-	85,2 \pm 4,1

As amostras foram testadas na concentração 12,5 mg.mL⁻¹

Para os fitoconstituintes isolados de *J. caroba*, os triterpenos ácido ursólico (**1**) e o ácido 3-epicorosólico (**2**) apresentaram mediana ação antimicrobiana frente às bactérias gram-positivas e gram-negativas. Para a atividade contra a *Cândida albicans*, os fitoconstituintes apresentaram proeminente ação contra o fungo leveduriforme, inibindo 66,5 e 65,3% (ácido ursólico e ácido 3-epicorosólico, respectivamente), em comparação ao padrão Nistatina, 85,2% de inibição.

Dentre os ésteres sintetizados, **10** e **11** apresentaram melhores resultados de atividade antimicrobiana frente às bactérias gram-positivas. A porcentagem de inibição de crescimento de ambos os ésteres foram de 99,5% para a bactéria *Listenia Monocytogenes*, em comparação ao padrão Ampicilina (88,3%). Ação antimicrobiana contra a *Staphylococcus aureus* também foi verificada nos ésteres **10** e **11**, com inibição de 42,3 e 69,3%, respectivamente.

No que diz respeito aos derivados graxos **5** e **6**, os compostos não apresentaram potencial ação antimicrobiana frente às bactérias gram-positivas e gram-negativas, enquanto **3** e **4**

apresentaram baixa atividade. A porcentagem de inibição de crescimento do fungo leveduriforme apresentou-se baixa, comparado ao precursor ácido ursólico (66,5%).

A diferença estrutural entre **7** e **10** é que o composto **10** apresenta um anel aromático fundido em outro anel. Em comparação entre os derivados, observou-se a diferença de potencial antimicrobiano para as bactérias gram-positivas e gram-negativas e a atividade antifúngica, sendo que o derivado éster **7** não apresentou ação contra o fungo leveduriforme.

O composto **9** apresentou proeminente ação contra a bactéria gram-positiva *S. Aureus* apresentando uma inibição de 49,7% em comparação com o padrão Ampicilina (51,7%).

Melhor ação antimicrobiana frente à bactéria gram-negativa *E. coli* foi observada para o composto **9** e **11**, possuindo respectivamente 61,4 e 68,1% de inibição, em comparação com o padrão Ampicilina (76,4%).

Para a atividade contra *C. albicans*, o derivado **11** mostrou-se altamente promissor no combate a esse fungo leveduriforme, inibindo o crescimento em 81,1%.

Em síntese, ficou evidente a potencial ação dos triterpenos isolados da *J. caroba* contra a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, comparado ao padrão Ampicilina (51,7%). Alguns ésteres apresentaram pronunciada ação antimicrobiana e antifúngica, evidenciando que os metabólitos triterpênicos e os ésteres derivados do ácido ursólico podem apresentar-se como favoráveis modelos de reatividade biológica, decorrentes de características estruturais peculiares.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo com as folhas da *Jacaranda caroba* evidenciou a partir de fracionamentos fitoquímicos a presença de triterpenos pentacíclicos, sendo um deste incomum na espécie. O ácido ursólico e o ácido 3-epicorosólico foram isolados e identificados por meio de técnicas espectroscópicas, em destaque a técnica de Ressonância Magnética Nuclear que mostrou-se eficaz na diferenciação dos triterpenos pentacíclicos.

Tendo em vista as diversas atividades biológicas já relatadas para o ácido ursólico, bem como para seus derivados sintéticos, além da baixa toxicidade dessas substâncias, é grande o interesse na síntese de derivados inéditos do ácido ursólico, visando obter substâncias bioativas que poderão viabilizar estudos futuros para o desenvolvimento de novos fármacos.

Em vista disso, neste trabalho foram sintetizados oito ésteres derivados do ácido ursólico, sendo dois inéditos. Dentre essas substâncias, quatro foram obtidas a partir de ácidos alifáticos e quatro a partir de ácidos aromáticos. Para a obtenção das substâncias biologicamente ativas, os derivados do ácido ursólico foram sintetizados através de modificações nas posições C-3 do esqueleto triterpênico empregando a metodologia de esterificação via uma reação utilizando DIC/DMAP em diclorometano. Os derivados obtidos foram submetidos a teste de atividade antibacteriana e antifúngica.

Os resultados obtidos de inibição antimicrobiana frente a diferentes cepas de bactérias gram-positivas e gram-negativas e ao fungo leveduriforme *Candida albicans*, apresentaram-se promissores. Os melhores resultados no teste antimicrobiano foram encontrados para (3 β)-3-[(naftalenobenzoil)oxi]urs-12-en-28-oico (**10**) e para (3 β)-3-[(2-iodobenzoil)oxi]urs-12-en-28-oico (**11**), inéditos na literatura, ambos evidenciaram porcentagens de inibição de crescimento de 99,5% contra a bactéria gram-positiva *Listeria Monocytogenes*, superior ao padrão Ampicilina (88,3%).

Em suma, observou-se que o aumento da cadeia carbônica nos ésteres alifáticos não apresentou atividade biológica. Com os testes de atividade antimicrobiana, foi possível constatar a potencial atividade antibacteriana e antifúngica dos triterpenos isolados e dos derivados do ácido ursólico. Portanto, essas substâncias podem ser úteis modelos para o desenvolvimento de novos fármacos alternativos para o combate de micro-organismos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, R. M.; HOUGHTON, P. J. A new phenolic fatty acid ester with lipoxygenase inhibitory activity from *Jacaranda filicifolia*. *Planta Med.*, 65 (5), 455-457, **1999**.

ARRUDA, A. L. A.; VIEIRA, C. J. B.; SOUSA, D. G.; OLIVEIRA, R. F.; CASTILHO, R. O. *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae) as an antibacterial agent. *J. Med. Food*, 14 (12), 1604-1608, **2011**.

ARRUDA, A. L. A. Contribuição ao estudo de atividade biológica de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae). 2009. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, **2009**.

BANNO, N., AKIHISA, T., TOKUDA, H., YASUKA, W. A. K., TAGUCHI Y., AKAZAWA, H., UKIYA, M., KIMURA, Y., SUZUKI, T., and NISHINO H. Anti-inflammatory and Antitumor-Promoting Effects of the Triterpene Acids from the Leaves of *Eriobotrya japonica*. *Biol. Pharm. Bull.* 28(10) (1995—1999) **2005**.

BRAGA, F.C.; VALADARES, Y.M.; COSTA, M.A.; LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 13 (supl. 2), 28-31, **2003**.

BRANDÃO, H. N.; David, J. P.; Couto, R. D.; Nascimento, J. A. P.; David, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Quim. Nova*, 33,1359-1369, **2010**.

BRASIL. Ministério da Saúde. <http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2016/06/uso-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-sobe-161> acesso em 05/07/2018.

BOLOGA, C. G.; URSU, O.; OPREA, T. I.; MELANÇON III, C. E.; TEGOS, G. P. Emerging trends in the discovery of natural product antibacterials. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 13, 678-687, **2013**.

BUSH, K.; COURVALIN, P.; DANTAS, G.; DAVIES, J.; EISENSTEIN, B.; HUOVINEN, P.; JACOBY, G. A.; KISHONY, R.; KREISWIRTH, B. N.; KUTTER, E.; LERNER, S. A.; LEVY, S.; LEWIS, K.; *Nat Rev Microbiol*, 9(12), 894-896, **2011**.

CARVALHO, M. B.; ISHARA, K. L.; MAIMONI-RODELLA, R. C. S. Vascular Flora of a Cerrado *sensu stricto* remnant in Pratânia, state of São Paulo, southeastern Brazil. *Check List*, 6 (3), 350-357, **2010**.

CARVALHO, C. A.; LOURENÇO, M. V.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, P. S.; FACHIN, A. L.; PEREIRA, A. M. S. Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 19 (2B), 592-598, **2009**.

CASTILLO, L.; ROSSINI, C. Bignoniaceae metabolites as semiochemicals. *Molecules*, 15, 7090-7105, **2010**.

CASTRO, R. A.; ALBIERO, A. L. M. The raw material market for phytotherapy industry. *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, Vol, 10(1), 1-93, Jan-Mar **2016**. DOI 10.5935/2446-4775.20160006.

CESAR, A. T.; SOLLERO, P. A.; PEREIRA, C.; SOLLERO, G. Jacarandá caroba, medicamento de Mure. *Cultura Homeopática*, v. 6, p. 6-7, **2004**.

CHO, K. M.; KIM, W. G.; LEE, C. K.; YOO, I. D. Terreulactones A, B, C, and D: novel acetylcholinesterase inhibitors produced by *Aspergillus terreus*. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *J. Antibiot.*, 56 (4), 344-350, **2003**.

COSTA R. S.; ORTOLANI F. A.; MÔRO F. V.; PAULA R. C. Caracterização morfológica de folhas e flores de espécies de *Jacaranda* (Bignoniaceae), cultivadas em Jaboticabal – SP. *Revista de biologia e ciências da terra issn 1519-5228* . **2011**.

CHOWDHURY, S. S.; ISLAM, M. N.; JUNG, H. A.; CHOI, J. S. In vitro antidiabetic potential of the fruits of *Crataegus pinnatifida* Source: Research in Pharmaceutical Sciences, Volume: 9, Issue: 1, Chowdhury/1-Chowdhury/12, 12 pp., Journal, **2014**.

CUEVA, C.; MORENO-ARRIBAS, M. V. MÁRTIN-ALVAREZ, P. J.; BILLS, G.; VICENTE, M. F.; BASILIO, A. RIVAS, C. L.; REQUENA, T.; RODRÍQUEZ, J. M.; BARTOLOMÉ, B. Antimicrobial activity of phenolic acids against comensal, probiotic and pathogenic bacteria. Ver. Microbial., 161 (5), 372-82, **2010**.

GLICKMAN, M. S.; SAWYERS, C. L. Converting Cancer Therapies into Cures: Lessons from Infectious Diseases. Cell, 148, 1089-1098, **2012**.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. Biochimica et Biophysica Acta, 1830(6), 3670-3695, **2013**.

DANISHUDDIN, M.; KAUSHAL, L.; BAIG, M. H.; KHAN, A. U. AMDD: Antimicrobial Drug Database. Genomics Proteomics Bioinformatics, 10, 360-363, **2012**.

DANESHTALAB, M MA, C.; CAI, J.; WANG, R.; TU, P.; HATTORI, M.;. The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives. European journal of Medicinal Chemistry, v. 40, p. 582-589, **2005**.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. (Org.). Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2 ed. São Paulo: Editora Unesp, **2002**.

FENG X., CHU Z., WANG J. Corosolic acid derivative, and preparing method and application in manufacture of antidiabetic drugs thereof.CN103204894. **2013**.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 3, p. 369-392, **2006**.

FERRERES F.; GROSSO C., GIL-IZQUIERDO A. A, VALENTÃO P., ANDRADE P. B.. Phenolic compounds from Jacaranda caroba (Vell.) A. DC.: Approaches to neurodegenerative disorders. *Food and Chemical Toxicology* 57 (91–98). **2013**.

GACHET, M. S.; KUNERT, O.; KAISER, M.; BRUN, R.; MUÑOS, R. A.; BAUER, R.; SCHÜHLY, W. Jacaranone-derived glucosidic esters from *Jacaranda glabra* and their activity against *Plasmodium falciparum*. *J. Nat. Prod.*, 73 (4), 553-556, **2010**.

GACHET, M. S.; SCHÜHLY, W. Jacaranda – An ethnopharmacological and phytochemical review. *J. Ethnopharmacol.*, 121 (1), 14-27, **2009**.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae – part II. (tribe Tecomeae). *Flora Neotropica*, 25 (2), 370 p **1992**.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G. L.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. *Megadiversidade*, 1 (1), 52-61, **2005**.

HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. *Drug Disc. Today*, 13, 894-901, **2008**.

HONDA, T.; GRIBBLE, G. W.; SUH, N.; FINLAY, H. J.; ROUNDS, B. V.; BORE, L.; FAVALORO, F. G.; WANG, Y.; SPORN, M. B. Novel synthetic oleanane and ursane triterpenoids with various enone functionalities in ring A as inhibitors of nitric oxide production in mouse macrophages. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 43, p. 1866- 1877, **2000**.

HUSSAIN H.; GREEN I. R., ALI, I. KHAN I. A., ZULFIQAR A., ABDULLAH M. AL-SADI AND ISHTIAQ A. Ursolic acid derivatives for pharmaceutical use: a patent review (2012-2016), *Expert Opinion on Therapeutic Patents* **2017**.

KOJIMA, H.; OGURA, H. Configurational studies on hydroxy groups at C-2, 3 and 23 or 24 of oleanene and ursene-type triterpenes by NMR spectroscopy. *Phytochemistry*, vol.28, no 6, pp 1703-1710, **1989**.

JÄGER S., TROJAN, H., KOPP T, Pentacyclic triterpene distribution in various plants– rich sources for a new group of multi-potent plant extracts. *Molecules*. **2016**.

JACOBSON T. K. B, GARCIA J., SANTOS S. C., DUARTE J. B., FARIAS J. G., KLIEMANN H. J. Influência de fatores dáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de barbatimão. *Pesqui Agropecu Trop*; 35(3):163-9. **2005**.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier *Science*, 325, 161-165, **2009**.

LIU, J. Pharmacology of oleanolic and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 92-94, **2005**.

LIU, J. Oleanolic acid and ursolic acid: Research perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 49, p. 57-68, **1995**.

LUI, Y.; WANG, M. Botanical drugs: challenges and opportunities contribution to Linnaeus Memorial Symposium 2007. *Life Sciences*, v. 82, p. 445-449, **2008**.

KHAN, I. A. Issues related botanicals. *Life Sciences*, v. 78, p. 2033-2038, **2006**.

KASHYAP D, TULI H. S, SHARMA A. K. Ursolic acid (UA): A metabolite with promising therapeutic potential. *Life Sci.*;146:201-213. **2016**.

KUHLMANN, M.; KUHN, E. A flora do distrito de Ibiti (Ex. Monte Alegre), município de Amparo: inventário florístico - subsídios para o estudo da biocinese regional. São Paulo: Instituto de Botânica, 120 p. (Publicação da Série B). **1997**.

MA, C.; CAI, J.; WANG, R.; TU, P.; HATTORI, M.; DANESHTALAB, M. The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives. *European journal of Medicinal Chemistry*, v. 40, p. 582-589, **2005**.

MALAFAIA C. B.; JARDELINO A. C. S.; SILVA A. G.; SOUZA E. B.; MACEDO A. J.; CORREIA M. T. S.; SILVA M. Effects of Caatinga Plant Extracts in Planktonic Growth and Biofilm Formation in *Ralstonia solanacearum*. Springer Science+Business Media, LLC **2017**.

MARTINS, M. B. G.; CASTRO, A.; CAVALHEIRO, A. J. Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 18, 600-607, **2008**.

MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. 2. Ed. Fortaleza: UFC, 141p. **1997**.

MENDES, L. P. M.; MACIEL, K.M.; VIEIRA, A. B. R.; MENDONÇA, L. C. V.; SILVA, R. M. F.; ROLIM NETO, P. J. BARBOSA, W. L. R.; VIEIRA, J. M. S. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa* . *Rev Ciênc Farm Básica Apl*,;32(1):121-125 ISSN 1808-4532 **2011**.

MOELLERING J. R. Discovering new antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 37, 2-9, **2011**.

MOHARRAM, F. A.; MARZOUK, M. S. A. A novel phenylethanoid dimer and flavonoids from *Jacaranda mimosaefolia*. *Z. Naturforsch.*, 62B, 1213-1220, **2007**.

MOSELE, S. H; CECCHIN, D.; DEL FRARI, R. V Estudo em inteligência competitiva para a cadeia produtiva de plantas medicinais e condimentares. UFSC, Perspectiva, Florianópolis, v.34, n.127, p.73 – 83. **2010**. ISSN: 2175-795X

MOSTAFA, N. M.; ELDAHSHAN, O. A.; SINGAB, A. N. B. The Genus *Jacaranda* (Bignoniaceae): An Updated Review. *Phcog Commn.*; 4(3), 31-39, **2014**.

NAZARUK J.; BORZYM K. M.. The role of triterpenes in the management of diabetes mellitus and its complications. *Phytochem Rev* 14:675–690. **2015**.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat Prod Rep.*, 17, 215-234, **2000**.

OGURA, M.; CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R. Potential anticancer agents. IV. Constituents of *Jacaranda caucana* Pittier (Bignoniaceae). *Lloydia*, 40 (2), 157-168, **1977**.

OGURA, M.; GEOFFREY, A.C.; NORMAN, R.F. Potential anticancer agents. IV. Constituents of *Jacaranda caucana* Pittier (Bignoniaceae). *Lloydia*, v.40, p.157-168, **1977**.

PAVIA D. L.; LAMPMAN G. M.; KRIZ G. S.; VYVYAN J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª Ed. Norte-americana. Cengage Learning. **2010**.

PEREIRA, P. H.; MANSANO, V. F. Estudos taxonômicos da tribo Tecomeae (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Itatiaia, Brasil. *Rodriguésia*, 59 (2), 265-289, **2008**.

PEREIRA V. V., SILVA R. R., SANTOS M. H., DIAS D. F., MOREIRA M. E. C. e TAKAHASHI J. A. Antioedematogenic activity, acetylcholinesterase inhibition and antimicrobial properties of *Jacaranda oxyphylla*. *Natural Product Research*, **2015**.

PEREIRA, V.V.; Fitoquímica e triagem biológica de *Jacaranda oxyphylla* Cham., biotransformação, síntese e atividade antimicrobiana de ésteres derivados do ácido ursólico. Tese (Doutorado em Ciências-Química) Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, **2016**.

PEREIRA, V. V.; SILVA R. R., DUARTE L. P. E TAKAHASHI J. A. Chemical Constituents of *Jacaranda oxyphylla* and their Acetylcholinesterase Inhibitory and Antimicrobial Activities. *Rec. Nat. Prod.* 10:3 (392-96). **2016**.

PINTO A. C., SILVA D. H. S., E BOLZANI V. S., LOPES N. P., EPIFANIO R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas *Quim. Nova*, Vol. 25, Supl. 1, 45-61, **2002**.

PRAKASH, L.; GARG, G. Chemical examination of the root barks of *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don and *Tabebuia pentaphylla* (Linn) Hemsl. *Pharmazie*, 35 (10), 649, **1980**.

RAHMATULLAH, M.; SAMARRAI, W.; JAHAN, R.; RAHMAN, S.; SHARMIN, N.; MIAJEE, Z.U.M.E.; CHOWDHURY, M.H.; BARI, S.; BASHAR, A.B.M.A.; AZAD, A.K.; AHSAN, S. An ethnomedicinal, pharmacological and phytochemical review of some Bignoniaceae family plants and a description of Bignoniaceae plants in folk medicinal uses in Bangladesh. *Adv. Nat. Appl. Sci.*, 4 (3), 236-253, **2010**.

ROJAS, J. J.; OCHOA, V. J.; OCAMPO, S. A.; MUÑOZ, J. F. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC Complem. Altern. M.*, 6 (2), 1-6, **2006**.

ROLSTON, K. V. New antimicrobial agents for the treatment of bacterial infections in cancer patients. *Hematol. Oncol.*, 27 (3), 107-114, **2009**.

SCUDELLER, V. V. Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional da Serra da Canastra – Minas Gerais, Brasil. *Iheringia Sér. Bot.*, 59 (1), 59-73, **2004**.

SEEBACHER, W.; SIMIC, N.; WEIS, R.; SAF, R.; KUNERT, O. Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonance of oleanolic acid, 18α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives. *Magn. Reson. Chem.* 41 (8), 636-638, **2003**.

SHAO J, WANG J. Ursolic acid derivative with anticancer activity, their preparation methods and application. CN102516351. **2012**.

SHAO J, XIANG L, YANG X. Application of ursolic acid derivative in preparation of medicines for preventing and treating tumor metastasis. CN103933048. **2014**.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. (org.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5. ed. Florianópolis, Porto Alegre: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, **2003**.

SILVA, T. H. A.; Alves, R. J.; Prado, M. A. F. *Gênese dos Fármacos*. In: Gomes, M. J. V. M.; Reis, A. M. M. *Ciências farmacêuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar*. 1 ed. São Paulo: Editora Atheneu, **2014**.

SILVA M. L, DAVID J. P, SILVA L. C. R. C. Bioactive oleanane, lupane and ursane triterpene acid derivatives. *Molecules*.;17:12197-12205. **2012**.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12 (1), p. 35-40, **2002**.

SINGH, R.P., MURTHY, K.N.C., JAYAPRAKASHA, G.K., Studies on the antioxidant activity of Pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (1), 81-86, **2002**.

SHIMIZU, K.; IKEDA, K., Antiallergic agent containing triterpenoids extracted from leaves of *Eriobotrya japonica*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 19pp., Patent, CODEN: JKXXAF. **2018**.

SNEADER W. *Drug Prototypes and Their Exploitation*. .Wiley, UK **1996**.

SULTANA, N.; ATA, A. Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, v. 23, n. 6, p. 739-756, **2008**.

SULTANA Nighat. Clinically useful anticancer, antitumor, and antiwrinkle agent, ursolic acid and related derivatives as medicinally importante natural product. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*,; 26(5): 616–642. Informa UK, Ltd. **2011**.

VALADARES, Y. M. *Remijia ferruginea* D.C., *Jacaranda caroba* D.C. e *Solanum paniculatum* L: fitoquímica, atividades biológicas e síntese de derivados dos ácidos ursólico e oleanólico. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, **2009**.

WAGNER H, BLADT S. *Plant Drug Analysis - A Thin Layer Chromatography Atlas*. Berlin: Springer. **1995**.

YUANA J., GANA T., LIUA Y., GAOA H., XUA W., ZHANGB T., TANA R., CAIA Z. and JIANGA H. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from the branches of *Jacaranda cuspidifolia* Mart. growing in Sichuan, China. *Natural Product Research*, VOL. 32, NO. 12, 1451–1454 **2018**.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna*. 1. ed. Chapecó: ARGOS, 523p. **2001**.

ZHAO S., ZHANG K., LI D. Ursolic acid derivative as α -glucosidase inhibitor useful in treatment of diabetes mellitus and its preparation. CN104877000. **2015**.

8. ANEXO- Dados Suplementares

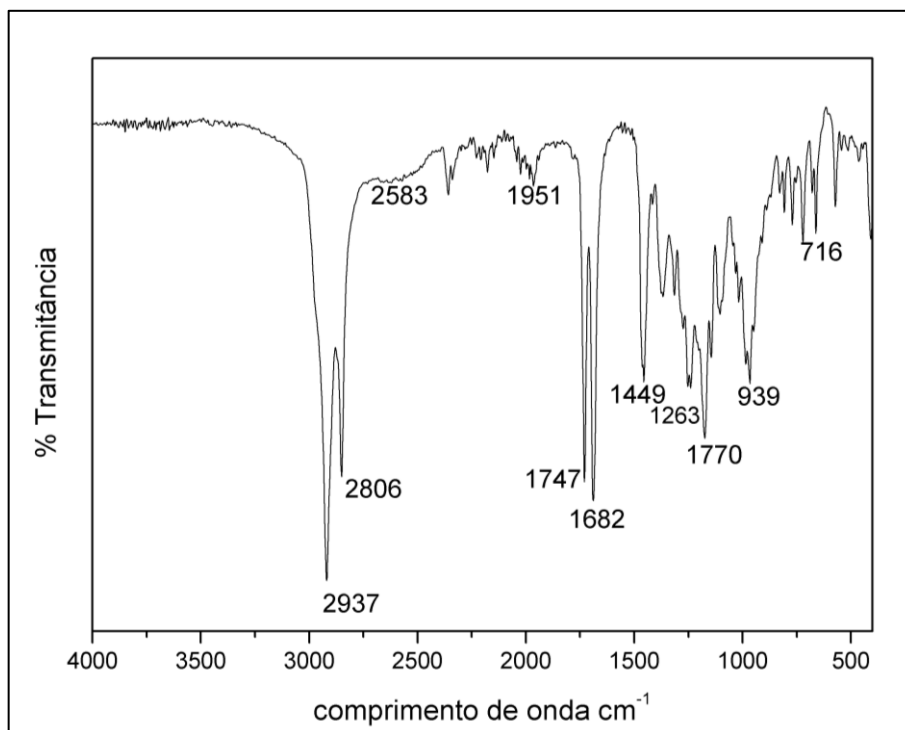
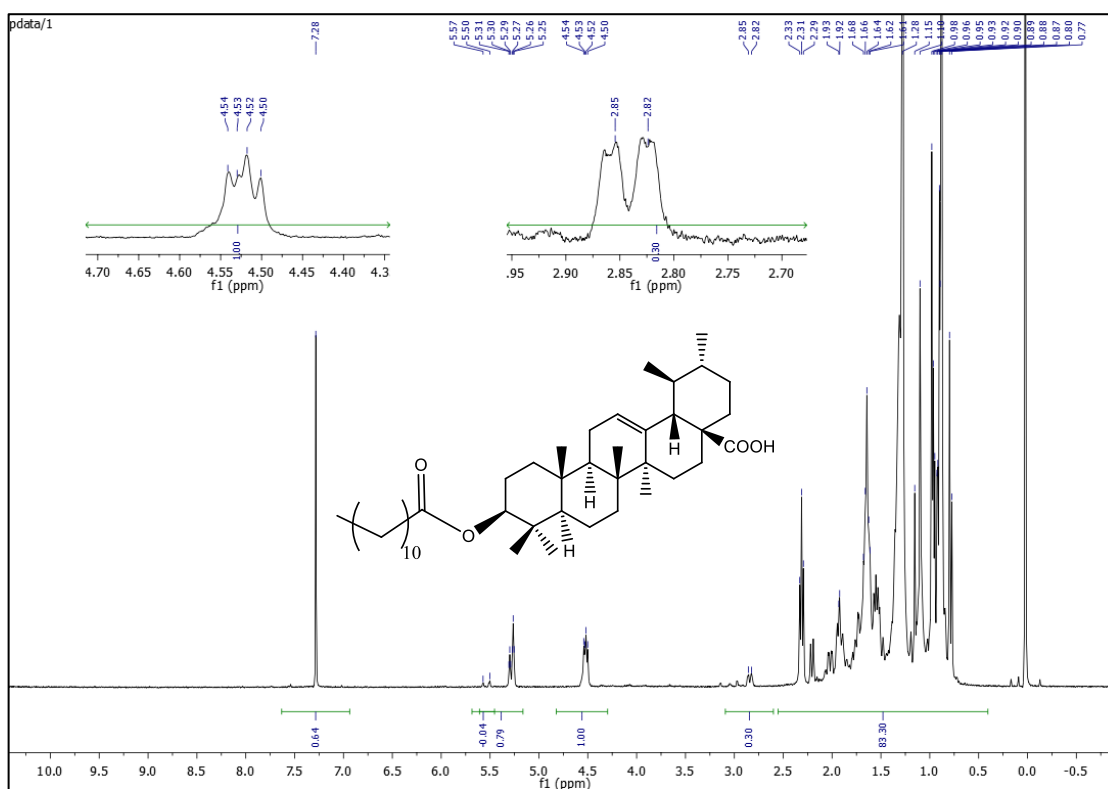
Figura A1: Espectro de IV de **3**Figura A2: Espectro de RMN de ^1H de **3** (CDCl_3 ; 400 MHz)

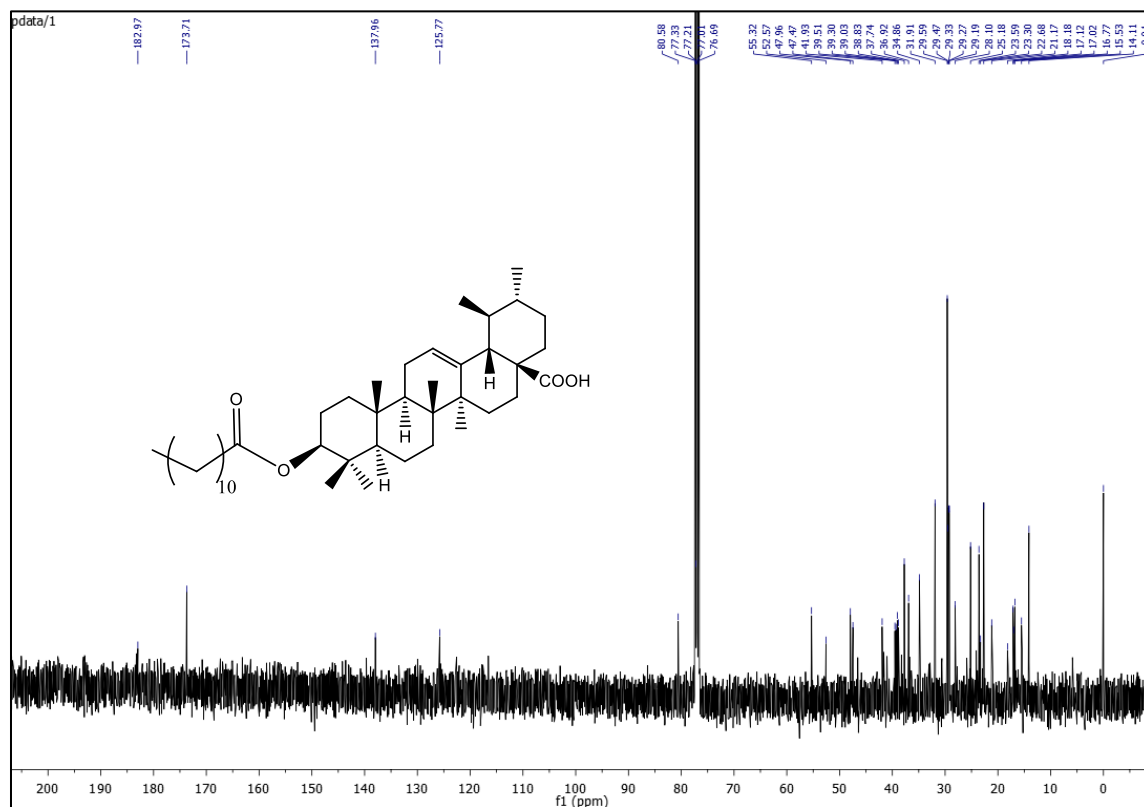
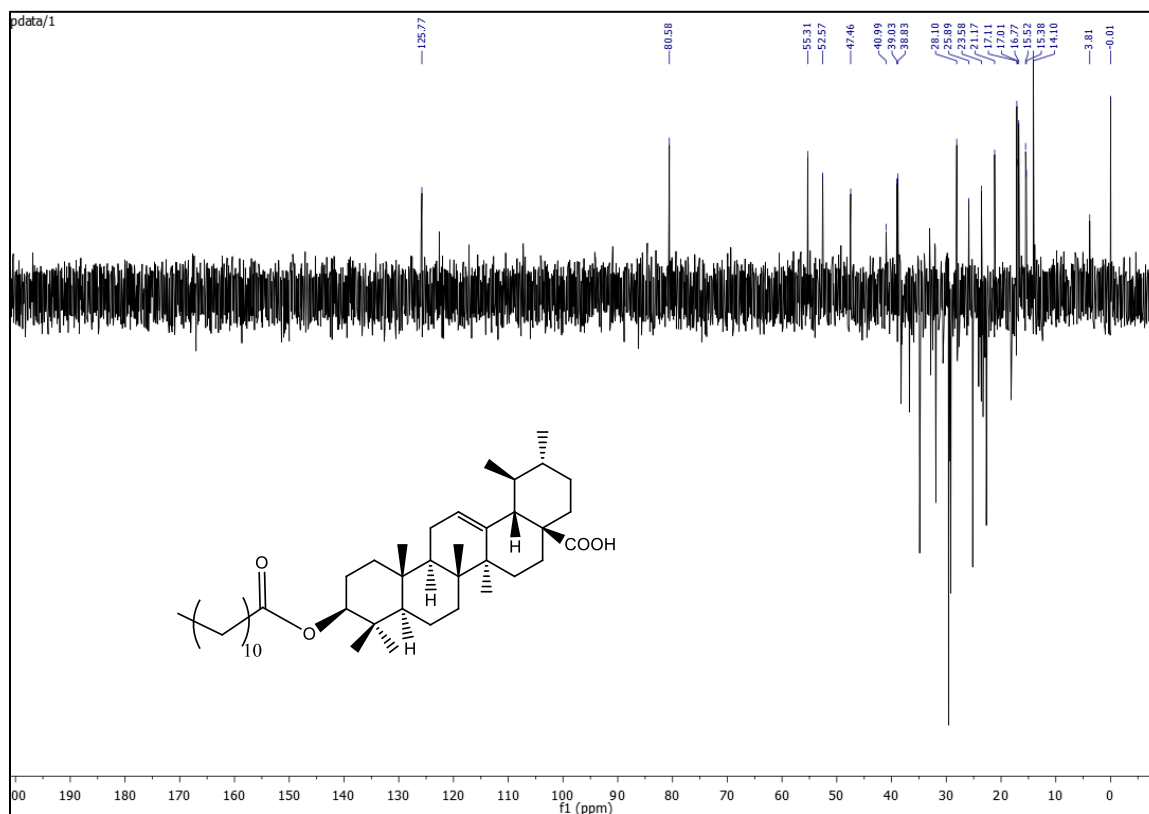
Figura A3: Espectro de ^{13}C de **3** (CDCl_3 ; 100 MHz)Figura A4: Espectro de DEPT-135 de **3** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Figura A5: Espectro de IV de 4

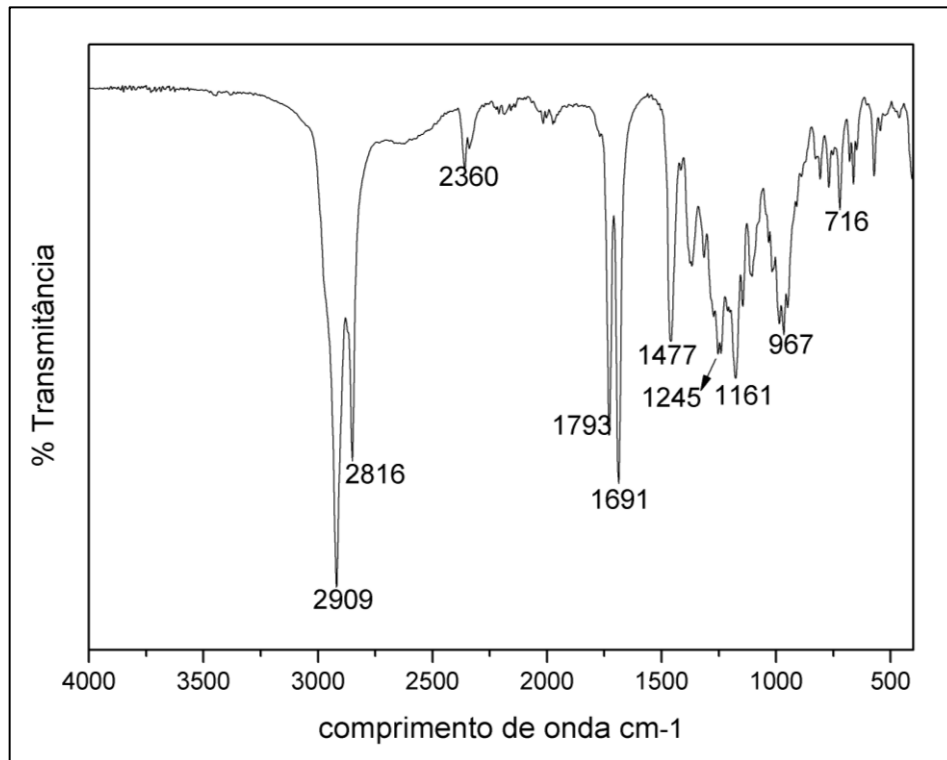
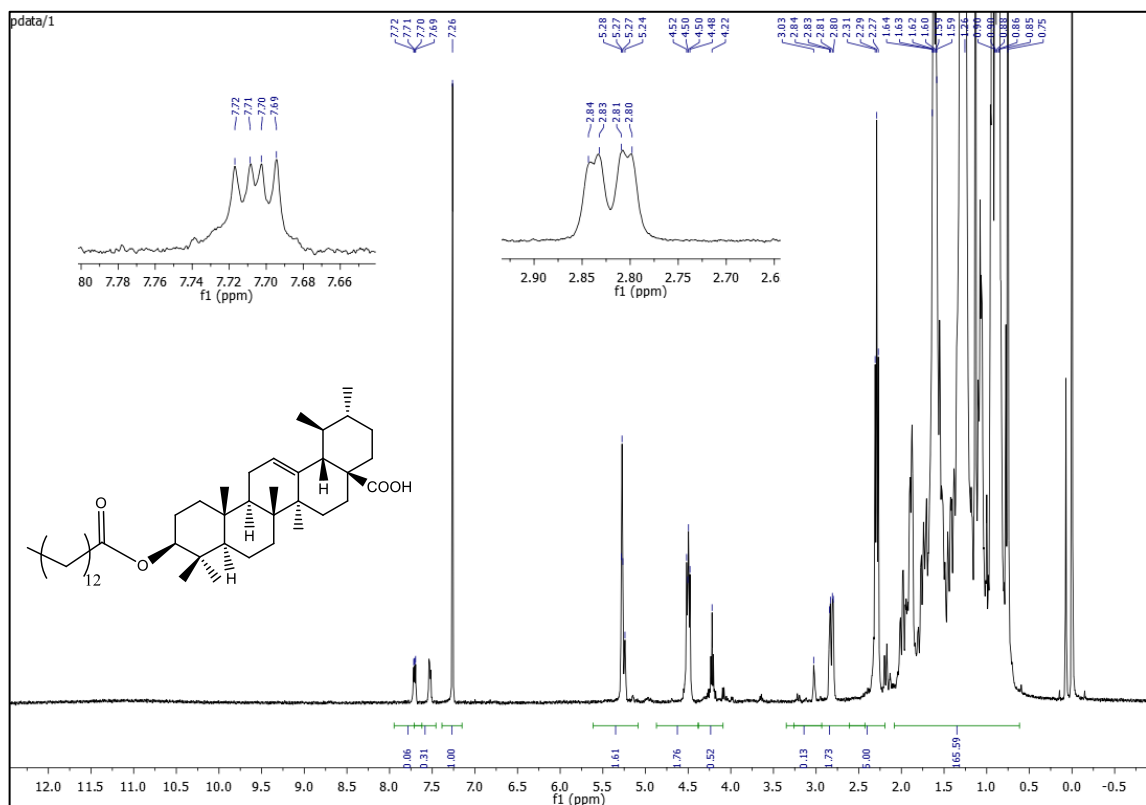
Figura A6: Espectro de RMN de ^1H de 4 (CDCl_3 ; 400 MHz)

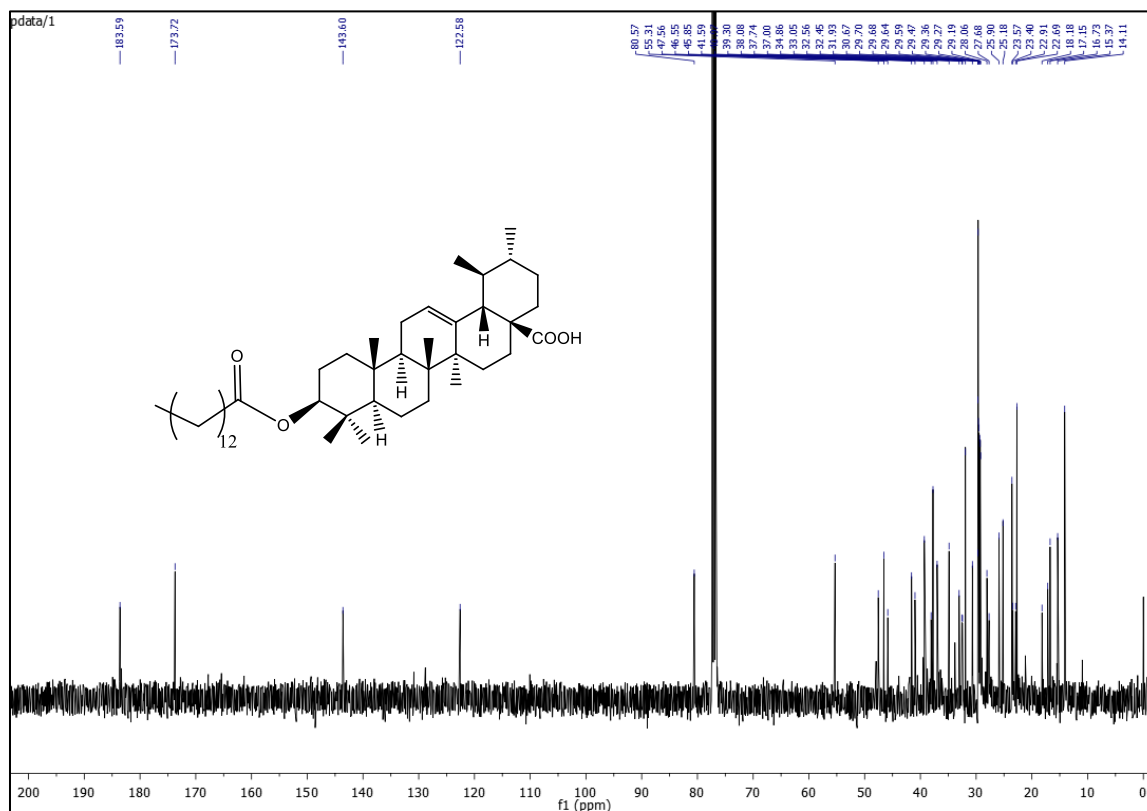
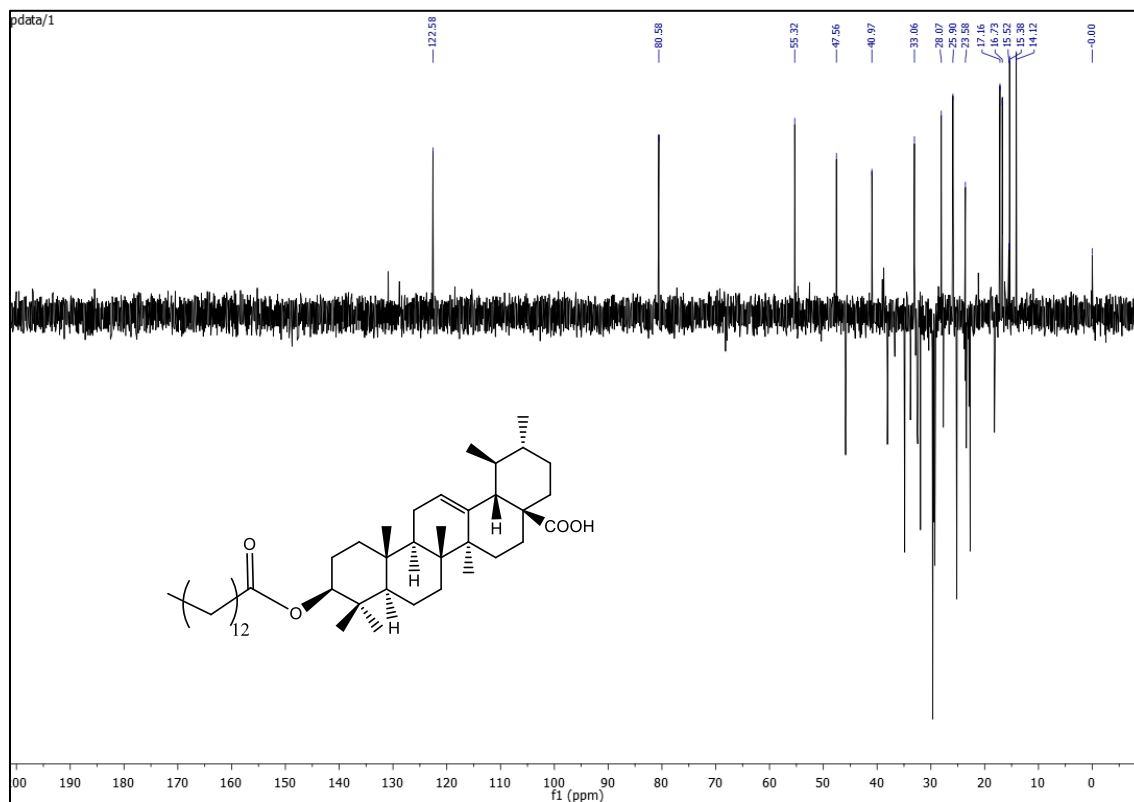
Figura A7: Espectro de ^{13}C de **4** (CDCl_3 ; 100 MHz)Figura A8: Espectro de DEPT-135 de **4** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Figura A9: Espectro de IV de 6

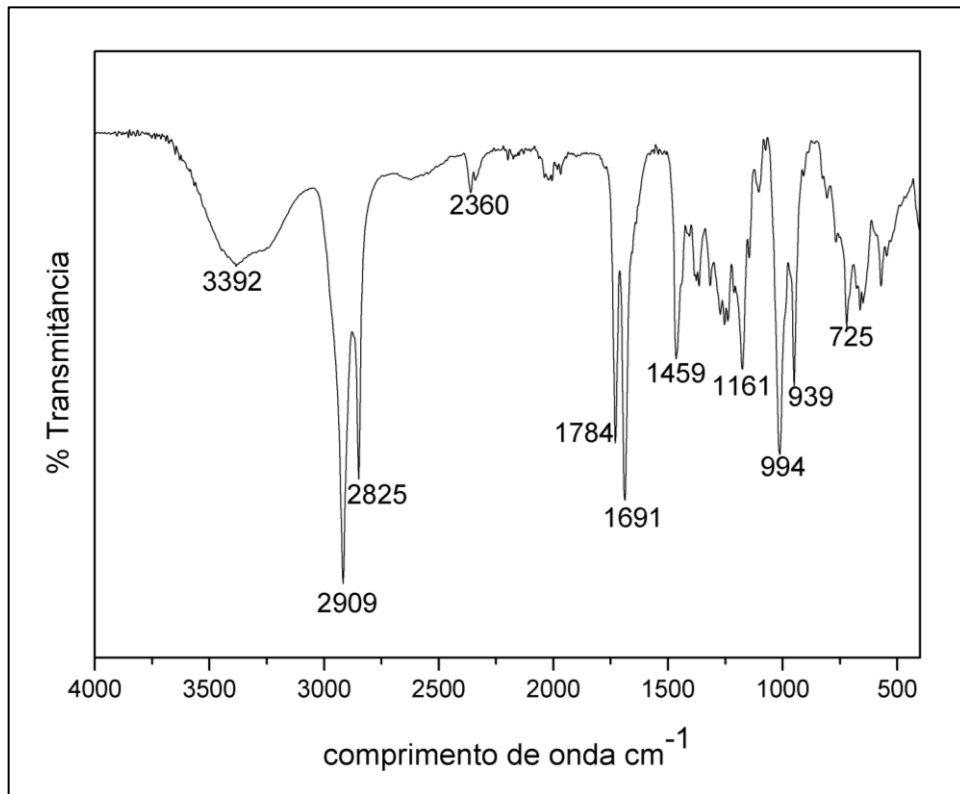
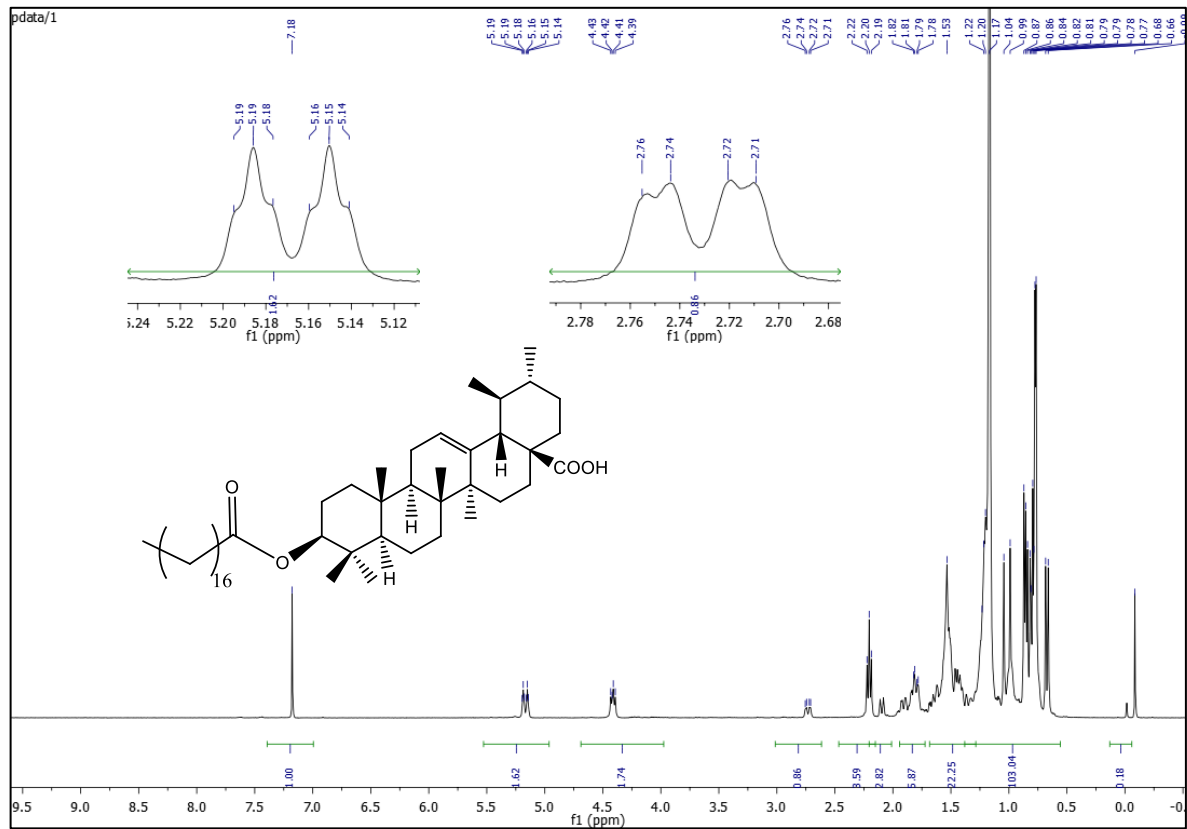
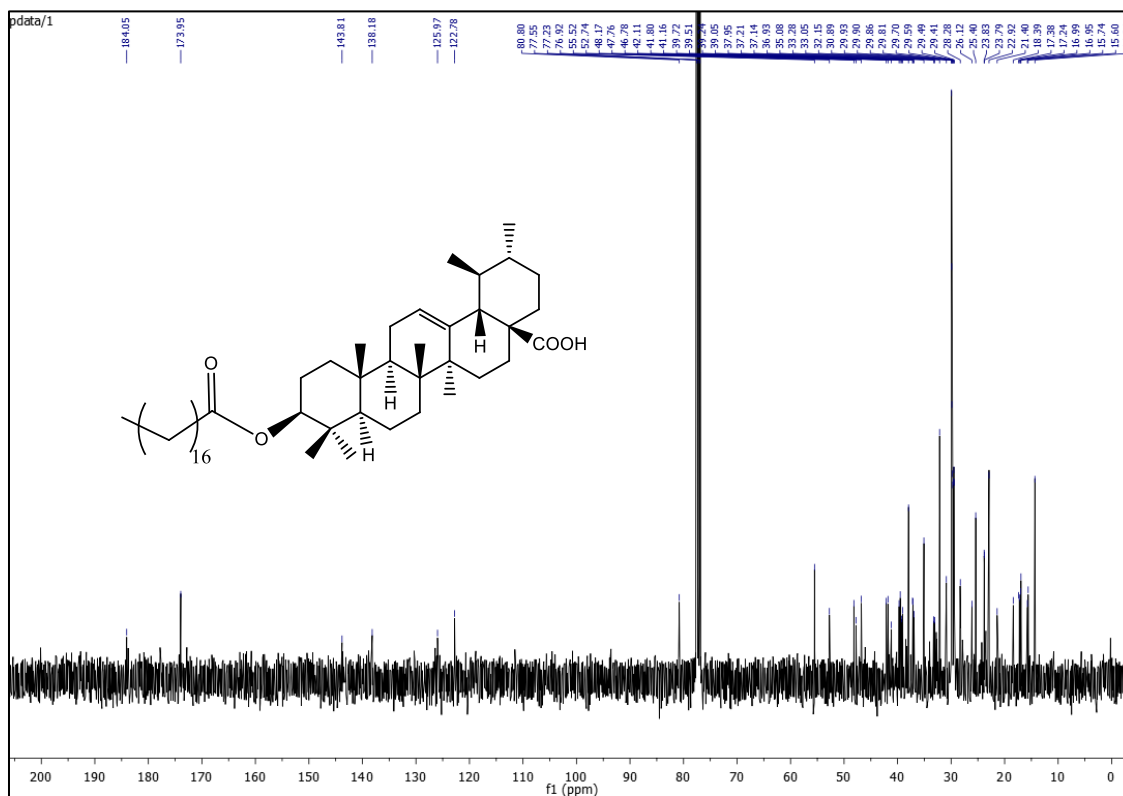
Figura A10: Espectro de RMN de ¹H de 6 (CDCl₃; 400 MHz)

Figura A11: Espectro de RMN de ^{13}C de **6** (CDCl_3 ; 100 MHz)Figura A12: Espectro de DEPT-135 de **6** (CDCl_3 ; 100 MHz)