



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE  
*Spondias tuberosa* Arr. Cam. (ANACARDIACEAE)**

**PATRÍCIA DE ASSIS SANTOS**

Salvador  
2014

**PATRÍCIA DE ASSIS SANTOS**

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE  
*Spondias tuberosa* Arr. Cam. (ANACARDIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química - Área: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Mauricio David

Salvador

2014

**PATRÍCIA DE ASSIS SANTOS**

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE  
*Spondias tuberosa* Arr. Cam. (ANACARDIACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Bahia e ao Programa de Pós-Graduação em Química, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Data da defesa: 30 de Abril de 2014

Resultado: \_\_\_\_\_.

Banca examinadora

Jorge Mauricio David – Orientador \_\_\_\_\_  
Doutor em Química pela Universidade de São Paulo  
Universidade Federal da Bahia

Ademir Evangelista do Vale \_\_\_\_\_  
Doutor em Química pela Universidade Federal da Bahia

Wilson Araújo Lopes \_\_\_\_\_  
Doutor em Química pela Universidade Federal da Bahia

Dedico este trabalho a minha família, em especial a minha filha Manuela e a todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para a concretização desse sonho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus pais, por toda dedicação, amor e formação moral durante toda minha vida.

Aos meus familiares por todos os conselhos, carinhos e compreensão.

A minha filha Manuela por sempre me fazer sorrir, com seus carinhos mesmo em momentos difíceis da vida.

Ao meu futuro marido André, por toda paciência e amor.

Ao prof<sup>o</sup> Dr. Jorge Mauricio David pela orientação, confiança e apoio durante toda minha vida acadêmica.

A prof<sup>a</sup> Dra. Larissa Cavalcante de Rezende pela co-orientação e incentivo.

Ao Dr. José Cândido Selva de Oliveira por estar sempre disponível em momentos de dificuldade no laboratório.

A CAPES pela bolsa e apoio financeiro.

Aos meus irmãos Priscila e Fábio pelos conselhos dados e companheirismo.

Aos queridos amigos que sempre estiveram presentes em minha vida: Roberta Carneiro, Charlene, Paula Bispo, Jaqueline, Daiane Requião, Marcio Aureliano, Sirlene, Lilia Bispo (*in memoriam*), Elane, Amanda e Laura.

Aos colegas do laboratório 110, pela ajuda constante e pelos momentos mais divertidos: Luciano, Clayton, Larissa loira, Jeferson, Bruno, Roberta, Eliezer, Raul, Darlan, Hugo, Bel, Vanessa, Klauber, Maísa, Daiana, Ramine, Fábio, Amanda, Angélica.

Aos professores do Instituto de Química, especialmente os de Química Orgânica, que contribuíram para a minha formação.

*“Umbuzeiro é a árvore sagrada do sertão. Sócio fiel das rápidas horas felizes e longos dias amargos dos vaqueiros. Representa o mais frisante exemplo de adaptação da flora sertaneja .”*

*(Euclides da Cunha em “Os sertões”)*

## RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico das sementes de *Spondias tuberosa* Arr. Cam., como aproveitamento de resíduos industrial. *Spondias tuberosa*, pertencente a família Anacardiaceae, é uma árvore endêmica do semi-árido brasileiro, cujos frutos conhecidos como umbu, são comercializados *in natura* ou em forma de polpa e suas raízes e folhas também podem ser utilizadas como alimento. O extrato metanólico bruto das sementes do umbu foi submetido à partição líquido-líquido e sua atividade citotóxica e antioxidante foi avaliada. O extrato hexânico obtido das sementes apresentou-se atóxico para o teste de letalidade de *Artemia salina* e os demais extratos foram moderadamente tóxicos. Em relação à atividade antioxidante, a fase AcOEt demonstrou ser a mais ativa, seguido da CHCl<sub>3</sub>. A partir de sucessivos fracionamentos cromatográfico da fase clorofórmica da sementes de *Spondias tuberosa* permitiu o isolamento de uma mistura de ácidos graxos que posteriormente foram submetidos à transesterificação obtendo-se onze ésteres metílicos, além de uma mistura de sitosterol e estigmasterol. Do fracionamento da fase acetato de etila foi isolado o 5-hidroxi metil-2-furfural (5-HMF). Do extrato hexânico foi isolado uma mistura de triglicerídeos que foi submetido à reação de saponificação seguida de esterificação obtendo-se assim, uma composição química com nove ésteres metílicos. A elucidação estrutural das substâncias isoladas foi baseada na análise de dados de espectros de Massas, dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, juntamente com a RMN de correlação (HMQC e HMBC) e comparação com dados da literatura.

**Palavras-chave:** *Spondias tuberosa*, Avaliação antioxidante, Avaliação biológica, triglicerídeos e 5-hidroxi metilfurfural.

## ABSTRACT

This paper reports the chemical study of seeds of *Spondias tuberosa* Arr. Cam., As utilization of industrial waste. *Spondias tuberosa*, belonging to Anacardiaceae family, is an endemic tree from the Brazilian semi-arid region, known as umbu whose fruits are sold fresh or in the form of pulp and the leaves and roots can also be used as food. The crude extract from the seeds of umbu methanol was subjected to liquid-liquid partition and their cytotoxic and antioxidant activity was evaluated. The hexane extract obtained from the seeds showed up were nontoxic to moderately toxic lethality test of *Artemia salina* and other extracts. In relation to the antioxidant activity, the EtOAc phase was shown to be the most active, followed by CHCl<sub>3</sub>. From successive chromatographic fractionation of the chloroform phase seeds *Spondias tuberosa* allowed isolation of a mixture of fatty acids which were subsequently subjected to transesterification to give methyl esters eleven, and a mixture of sitosterol and stigmasterol. The fractionation of the ethyl acetate phase was isolated 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF). The hexane extract was isolated a mixture of triglycerides which was subjected to saponification reaction followed by esterification thereby obtaining a chemical composition with nine methyl ester. The structural elucidation of the isolated compounds was based on the analysis of spectral data Masses, the NMR spectra of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR along with the correlation (HMQC and HMBC) and comparison with literature data.

**Keywords:** *Spondias tuberosa*, Antioxidant Activity, Biological Evaluation, and triglycerides, 5-hydroxymethylfurfural.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> Espécies da família Anacardiaceae.....	2
<b>Figura 2</b> Constituintes químicos da <i>S. tuberosa</i> .....	4
<b>Figura 3</b> Espécie <i>Spondias tuberosa</i> .....	7
<b>Figura 4</b> Náuplios de <i>Artemia salina</i> .....	15
<b>Figura 5</b> Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante.....	16
<b>Figura 6</b> Estruturas químicas do $\beta$ -caroteno e do Ácido linolênico.....	18
<b>Figura 7</b> CCDC das subfrações agrupadas de FCSU 3.0 (10-21).....	21
<b>Figura 8</b> % SRL do extrato metanólico e ácido gálico.....	25
<b>Figura 9</b> % SRL Da fase clorofórmica e ácido gálico.....	26
<b>Figura 10</b> % SRL da fase acetato de etila e ácido gálico.....	27
<b>Figura 11</b> % I do extrato metanólico e BHT.....	28
<b>Figura 12</b> % I das fases clorofórmica, acetato de etila e BHT.....	29
<b>Figura 13</b> Espectro genérico de RMN $^{13}\text{C}$ de óleos vegetais (REDA, 2007).....	30
<b>Figura 14</b> Representação genérica de um triglicerídeo.....	31
<b>Figura 15</b> Espectro genérico de RMN $^1\text{H}$ de óleos vegetais (GUILLÉN <sup>a</sup> , 2003)..	33
<b>Figura 16</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ dos triglicerídeos [(500 MHz), $\text{CDCl}_3$ ].....	33
<b>Figura 17</b> Ampliação do espectro de $^1\text{H}$ [(500 MHz), $\text{CDCl}_3$ ] do EHSU.....	34
<b>Figura 18</b> Ampliação do espectro de $^1\text{H}$ [(500 MHz), $\text{CDCl}_3$ ] do EHSU.....	34
<b>Figura 19</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ dos triglicerídeos [(125 MHz), $\text{CDCl}_3$ ].....	35
<b>Figura 20</b> Sinais referentes aos carbonos carboxílicos e olefínicos.....	35
<b>Figura 21</b> Sinais referentes aos carbonos do C1 e C2 do glicerol.....	35
<b>Figura 22</b> Espectro de IV do EHSU de semente de <i>S. tuberosa</i> .....	37
<b>Figura 23</b> Cromatograma dos ésteres metílicos obtidos.....	39
<b>Figura 24</b> Ampliações do cromatograma dos ésteres metílicos.....	39
<b>Figura 25</b> RMN $^1\text{H}$ [ $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz] de <b>FCSU 3.2</b> .....	40
<b>Figura 26</b> RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) <b>FCSU 3.2</b> .....	41
<b>Figura 27</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 <sup>0</sup> [ $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz] <b>FCSU 3.2</b> .....	42
<b>Figura 28</b> Esteróides isolados, em mistura, das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	42
<b>Figura 29</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de ácidos graxos.....	44
<b>Figura 30</b> Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de ácidos graxos...	44
<b>Figura 31</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da mistura de ácidos graxos.....	45

<b>Figura 32</b> Ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ <b>FCSU 4.5</b> .....	45
<b>Figura 33</b> Ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ <b>FCSU 4.5</b> .....	46
<b>Figura 34</b> Espectro de IV da mistura de ácidos graxos.....	46
<b>Figura 35</b> Cromatograma dos ésteres metílicos obtidos a parti de <b>FCSU 4.5</b> .....	49
<b>Figura 36</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ [300 MHz, $\text{DMSO-d}^6$ ] do <b>FASU 1.2</b> .....	50
<b>Figura 37</b> Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ do <b>FASU 1.2</b> .....	50
<b>Figura 38</b> Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ do <b>FASU 1.2</b> .....	50
<b>Figura 39</b> Espectro de HMQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ de <b>FASU 1.2</b> .....	51
<b>Figura 40</b> Ampliações dos espectros de HMQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ de <b>FASU 1.2</b> .....	52
<b>Figura 41</b> Correlações observadas no HMBC de <b>FASU 1.2</b> .....	53
<b>Figura 42</b> Espectro de RMN HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ de <b>FASU 1.2</b> .....	54
<b>Figura 43</b> Ampliações do espectro de RMN HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ de <b>FASU 1.2</b> .....	54
<b>Figura 44</b> Ampliações do espectro de RMN HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ de <b>FASU 1.2</b> .....	55
<b>Figura 45</b> Ampliações do espectro de RMN HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ de <b>FASU 1.2</b> .....	55
<b>Figura 46</b> Correlações observadas no HMBC de <b>FASU 1.2</b> .....	56
<b>Figura 47</b> 5-metilhidroxi- 2-furfural isolado das sementes da <i>S. tuberosa</i> .....	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Rendimento dos extratos obtidos das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	18
<b>Tabela 2-</b> Rendimento das fases obtidas das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	19
<b>Tabela 3-</b> Frações obtidas CC da <b>FCSU</b> .....	20
<b>Tabela 4-</b> Frações obtidas da CC da subfração <b>FCSU 3.0</b> (10-21).....	20
<b>Tabela 5-</b> Frações obtidas da CC da subfração <b>FCSU 4.0</b> (22-24).....	21
<b>Tabela 6-</b> Frações obtidas da CC do <b>FASU</b> .....	22
<b>Tabela 7-</b> Valores de % SRL do extrato MeOH das sementes de <i>S. tuberosa</i> ..	24
<b>Tabela 8-</b> Valores de % SRL da fase CHCl <sub>3</sub> das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	25
<b>Tabela 9-</b> Valores de % SRL da fase AcOEt das sementes de <i>S.tuberosa</i> .....	26
<b>Tabela 10-</b> %I Do extrato MeOH das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	27
<b>Tabela 11-</b> %I da fase AcOEt e CHCl <sub>3</sub> das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	28
<b>Tabela 12-</b> Sinais dos espectros de RNM de <sup>1</sup> H de amostras de óleos vegetais	31
<b>Tabela 13-</b> Dados de RMN <sup>13</sup> C [125 MHz, δ (ppm)], <sup>1</sup> H [500 MHz, δ (ppm)].....	36
<b>Tabela 14-</b> Composição de ésteres metílicos da mistura de triglicerídeos.....	38
<b>Tabela 15-</b> Deslocamentos químicos de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C <b>FCSU 3.2</b> .....	43
<b>Tabela 16-</b> Composição de ésteres metílicos da mistura de ácidos graxos.....	48
<b>Tabela 17-</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H [300 MHz] e de <sup>13</sup> C [125 MHz] [DMSO-d <sup>6</sup> , δ (ppm)]	51
<b>Tabela 18-</b> Acoplamentos observados no HMBC de <b>FASU 1.2</b> .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
AA	Atividade Antioxidante
CC	Cromatografia em coluna
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CCDC	Cromatografia em Camada Delgada Comparativa
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal Mínima
°C	graus Celsius
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	1,2-difenil-2-picril-hidrazil
δ	deslocamento químico
d	duplete
EHSU	Extrato hexânico da semente do umbu
EM	Espectrometria de massas
FASU	Fase acetato de etila da semente do umbu
FCSU	Fase clorofórmio da semente do umbu
g	gramas
Hex	Hexano
HSQC	<i>Heteronuclear Single-Quantum Correlation</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento
LPPN	Laboratório de Pesquisa Produtos Naturais
MHz	Megahertz
ppm	parte por milhão
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SRL	Seqüestro de Radical Livre
UV/Vis	Ultravioleta/Visível
t <sub>R</sub>	Tempo de retenção
%I	Percentual de inibição da oxidação

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1-</b> Obtenção dos extratos e fases das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	13
<b>Esquema 2-</b> Fracionamento da fase $\text{CHCl}_3$ das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	22
<b>Esquema 3-</b> Fracionamento da fase AcOEt das sementes de <i>S. tuberosa</i> .....	23

# SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	
RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE ILUSTRAÇÃO	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS E SÍMBOLOS	
LISTA DE ESQUEMAS	
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1 GÊNERO SPONDIAS</b> .....	2
1.1 ESPÉCIE <i>SPONDIAS TUBEROSA</i> .....	5
1.2 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DE <i>SPONDIAS TUBEROSA</i> .....	6
1.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DE <i>S. TUBEROSA</i> .....	7
<b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....	8
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	8
<b>3 EXPERIMENTAL</b> .....	8
<b>3.1 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	8
3.1.1 Transesterificação da mistura dos triglicerídeos obtidos.....	10
3.1.2 Reação de esterificação dos ácidos graxos livres isolados.....	10
3.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS.....	10
3.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	10
3.2.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	11
3.2.3 Espectroscopia no Ultravioleta/Visível (UV/Vis).....	11
3.3 Análises por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas...	11
3.4 MATERIAL PARA EXTRAÇÃO.....	12
3.4.1 Partição do Extrato Metanólico de <i>S. tuberosa</i> .....	12
3.5 TESTES BIOLÓGICOS.....	13
3.5.1 Teste de Letalidade Contra <i>Artemia salina</i> .....	13
3.5.2 Teste do Seqüestro do Radical livre DPPH.....	15
3.5.3 Teste da Inibição da Auto-oxidação do $\beta$ -caroteno.....	16
3.6 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO.....	18
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
4.1 RENDIMENTO DOS EXTRATOS E FASES.....	18
4.2 ISOLAMENTOS DAS FASES E EXTRATO.....	19
4.2.1 Isolamento dos Triglicerídeos do Extrato Hexânico.....	19
4.2.2 Isolamento dos Constituintes da Fase Clorofórmica.....	19
4.2.3 Isolamento dos Constituintes da Fase Acetato de etila.....	22
4.3 LETALIDADE CONTRA <i>ARTEMIA SALINA</i> .....	23
4.4 TESTE DO SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH.....	24
4.5 TESTE DA INIBIÇÃO DA AUTO-OXIDAÇÃO DO $\beta$ -CAROTENO.....	27
4.6 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.....	29
4.6.1 Identificação dos Triglicerídeos Presentes em <i>S. tuberosa</i> .....	29

4.6.2 Identificação de ECSU 3.2 (2-4) (Sitosterol e Estigmasterol).....	39
4.6.3 Identificação de ECSU 4.5.....	43
4.6.4 Identificação de EASU 1.2.....	49
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>59</b>