

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

CARACTERIZAÇÃO TEÓRICA DE PROPRIEDADES ESTRUTURAIS
E ELETRÔNICAS DO ÁCIDO BETULÍNICO DO PROGRAMA DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA NA UFAM

Bolsista: Carla Levina Gomes Santos

Manaus

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO PARCIAL
PIB – E – 0035/2014
CARACTERIZAÇÃO TEÓRICA DE PROPRIEDADES ESTRUTURAIS
E ELETRÔNICAS DO ÁCIDO BETULÍNICO

Bolsista: Carla Levina Gomes Santos, FAPEAM

Orientador: Prof^o Dr^o Kelson Mota Teixeira de Oliveira

Manaus

2015

RESUMO

A procura de novas drogas para os diversos males que acometem a humanidade tem sido um dos mais honrosos e perseguidos objetivos da Ciência. Entre os males gerais nenhum tem se mostrado de tão difícil entendimento em seus mecanismos particulares e específicos quanto o câncer. Semelhantemente, em termos amazônicos, a malária, tem se apresentado como o maior problema de saúde, e o maior desafio na elaboração de novos fármacos. Assim sendo, estudos se voltaram para extratos de plantas amazônicas, entre elas a *Ampelozizyphus amazonicus* (da família das *Rhamnaceae*) no qual tem tido atividade antimalarial comprovada.

O ácido betulínico é um triterpeno pentacíclico que vem sendo estudada devido as suas vastas e promissoras atividades biológicas, como por exemplo atividade antioxidante, antitumoral, antimalárica dentre tantas outras. Estudos sobre sua estrutura tem por finalidade melhorar suas atividades biológicas, bem como desenvolver novos fármacos.

Para o cálculo de Otimização e frequência, foi utilizado método semi-empírico, enquanto que para cálculos de Ressonância Magnética Nuclear e Ultravioleta fez-se uso do método DFT em diferentes conjuntos de bases. Este projeto tem como objetivo estudar através de abordagem teórica por meio de tratamento quantum-mecânico as propriedades estruturais e eletrônicas pertencentes ao ácido betulínico.

Através do estudo teórico, houve a obtenção dos dados estruturais, energéticos e espectroscópicos do ácido betulínico, dos quais foram analisados e comparados aos resultados encontrados na literatura, mostrando que o resultado teórico foi satisfatório e em muito se correlaciona aos resultados obtidos experimentalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVOS.....	7
2.1. OBJETIVO GERAL.....	7
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
4. METODOLOGIA.....	10
4.1. FERRAMENTAS.....	10
4.2. SOFTWARES UTILIZADOS.....	10
4.3. HARDWARES	10
4.4. PROCEDIMENTO	10
4.5. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	10
4.6. CRIAÇÃO DE INPUTS BÁSICOS E OTIMIZAÇÃO DE GEOMETRIA.....	10
4.7. CÁLCULO DE PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ELETRÔNICAS.....	11
4.8 ANÁLISE DOS DADOS ESTRUTURAIS E ELETRÔNICOS	11
4.9 CÁLCULO E SIMULAÇÃO DO ESPECTROS DE RMN ¹³ C E UV.....	11
4.10. COMPILAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS DADOS EXPERIMENTAIS E TEÓRICOS	11
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	12
6. CONCLUSÃO	16
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

8. CRONOGRAMA 20

9. ANEXOS 21

1. INTRODUÇÃO

No Amazonas, a malária tem se apresentado como sendo o maior problema de saúde, tornando-se o maior desafio quanto a elaboração de novos fármacos^[1] e, segundo a Organização Mundial da Saúde (2005), a doença tem sido responsável por mais de um milhão de óbitos por ano em todo o mundo^[2]. Contudo, apesar de os índices de infecção e mortalidade por malária tenham sofrido uma redução de aproximadamente 25% em todo o mundo na última década, a doença ainda é responsável pelo óbito de cerca de 660 mil pessoas a cada ano, principalmente em crianças^[3].

A causa é proveniente da infecção através de diversas espécies do parasita *plasmodium*, sendo transmitida por meio de mosquitos do gênero *Anopheles* e tem o *Plasmodium falciparum* como o mais resistente e letal^[4]. Assim, a busca por novos fármacos antimaláricos tem se voltado para substância originadas de plantas amazônicas, entre estas a *Ampelozizyphus amazonicus* (da família das *Rhamnaceae*)^[5], cujas propriedades e atividades antimaláricas tem sido comprovadas^[6].

Pesquisas conduzidas no laboratório do grupo de Química de Produtos Naturais e Desenvolvimento de Métodos Analíticos da UFAM (QPNMA) com extratos da *A. amazonicus*, de uso popular entre nativos da região para o tratamento paliativo da malária, tem identificado e isolado entre os componentes ativos, triterpenos pentacíclicos como o ácido betulínico. Encontrado em produtos naturais de várias partes do mundo, os triterpenos pentacíclicos betulínicos têm apresentado forte atividade como potentes agentes anti-HIV^{[7][8][9]}, anti-inflamatório^[10], antimalárico^{[11][12][1]} e anticancerígeno^[13].

Dentre os triterpenos, o ácido betulínico é o que se apresenta em maior número de estudos, tanto do ponto de vista de atividade biológica como de modificação estrutural^[14]. Assim sendo, este trabalho tem por objetivo, através de uma abordagem teórico computacional, por meio de tratamento quantum-mecânico, calcular propriedades estruturais e eletrônicas do ácido betulínico, como forma de estudo prévio para avaliar a possibilidade de formação de um cluster estável, através de pontes de hidrogênio, com o intuito de estabelecer uma relação intrínseca entre a carboxila e a hidroxila e sua atividade antimalárica, conforme sugerido pela literatura por Kashiwada e Soler e seus colaboradores (1996) e Dang e seus colaboradores (2009).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL:

Estudar, através de abordagem teórica, via cálculos DFT, ab initio e semi-empíricos, a molécula de ácido betulínico, como investigação introdutória à formação de clusters deste ácido.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Modelar teoricamente o ácido betulínico, e obter parâmetros estruturais, energéticos e espectroscópicos.
- Simular os espectros teóricos RMN, RMN ^{13}C e UV e assinalar as principais bandas.
- Comparar os dados teóricos obtidos com experimentais, especialmente com os obtidos no Laboratório de Química de Produtos Naturais/UFAM.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em regiões tropicais e subtropicais do mundo, a malária tem se apresentado como sendo uma das principais doenças parasitárias, tendo como agentes etiológicos os protozoários do gênero *Plasmodium*. O Brasil apresenta-se com cerca de 40% do número total de ocorrências de malária nas Américas, dos quais quase 99% são ocorrentes da Amazônia legal, onde habitam 12% da população do país^[1].

O tratamento atual da malária causada pelo *P. falciparum*, consiste na aplicação de antimaláricos como a cloroquina e sulfadoxina-pirimina^[5] que gradativamente tem perdido a sua eficácia^{[15][16]}. No entanto, a literatura nos descreve diversos trabalhos de ensaios de atividade antimalárica envolvendo plantas ricas em triterpenos, nos quais muitas das vezes, o ácido betulínico é o principal componente responsável pelo efeito^{[17][18][19]}.

Triterpenos pentacíclicos apresentam em sua estrutura um esqueleto formado por 30 carbonos, dos quais podem apresentar configuração estrutural de cinco anéis de seis membros (ursanos e lanostanos), ou apresentar-se com estrutura de quatro anéis de seis membros e um anel de cinco membros (lupanos e hopanos)^[17]. O ácido betulínico (*figura 01*) caracteriza-se por ser um triterpeno pentacíclico do tipo lupano e por apresentar uma imensa variedade em atividades biológicas e farmacológicas. É amplamente distribuído no reino vegetal encontrando-se presente em diversas frutas e verduras^[16].

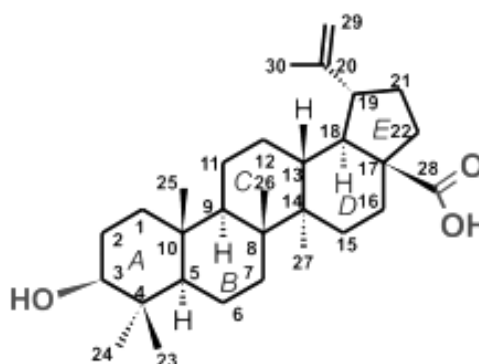


Figura 01: Ácido Betulínico.

A química teórica compreende desde a mecânica quântica (através dos métodos *ab initio*, semi-empírico, funcional de densidade...) e vai até a mecânica clássica (mecânica dinâmica, determinístico e monte carlo, estocástico...) e na última década tem se popularizado de forma notória ^[20]. Com aplicabilidade nas áreas de físico-química, química orgânica, inorgânica, analítica e bioquímica, o número de trabalhos químico-teóricos tem aumentado de maneira considerável ^[20].

Com base na físico-química, as principais metodologias para cálculos de propriedades eletrônicas em sistemas moleculares são os métodos *ab initio*, semi-empíricos e os métodos baseados na teoria do funcional de densidade^[21]. No que diz respeito aos métodos de *ab initio*, o método de Hartree-Fock é o mais popular e é deduzido a partir da equação de Schrödinger em um conjunto de aproximações e consiste em uma solução de “auto consistência” das equações de Roothaan-Hall. O método de Hartree-fock considera elétrons de spins opostos como sendo partículas independentes^[21].

Para o método semi-empírico, a otimização da geometria de um sistema pode levar alguns segundos ou até mesmo dias e tem resultados tão bons quanto os resultados experimentais que são utilizados na parametrização do método. Tem baixo custo computacional e faz aproximações com uma diminuição na qualidade dos resultados, porém, faz-se uso de parâmetros ajustáveis que melhoram a qualidade dos resultados, podendo ter resultados superiores aos obtidos pelo método *ab initio*^[21].

4. METODOLOGIA

4.1. Ferramentas:

A metodologia a ser aplicada consistirá em uma abordagem teórica computacional a partir dos usos de softwares gráficos, objetivando a criação de inputs básicos necessários para os cálculos mecânico-quânticos.

4.2. Softwares utilizados:

Pacote Gaussian 03WTM;

Visualizador gráfico Gauss 03WiewTM;

Hyperchem 7.4TM

4.3. Hardware:

Computadores IntelTM Quadicore, com uso das plataformas Windows 8 e Linux Debian, v 5.0 RAM, existentes no Laboratório do grupo de Química Teórica e Computacional da Universidade Federal do Amazonas.

4.4. Procedimento:

O procedimento dá-se início a partir do levantamento bibliográfico para logo após dar início a preparação de inputs e por fim dar início aos cálculos para a obtenção de resultados.

4.5. Levantamento bibliográfico:

Durante o decorrer do projeto, foi feito constantemente o levantamento de dados bibliográficos necessários para a execução do projeto. Sites como SciFinder, Science Direct, Química Nova além de outros serviram como base para a obtenção do levantamento de dados.

4.6. Criação de inputs básicos e otimização de geometria:

Nesta etapa fez-se uso do programa de desenho e modelagem de estruturas Hyperchem 7.4TM para desenhar a estrutura do ácido betulínico em plataforma Windows versão 8. Em seguida, fez-se uso do Visualizador gráfico Gauss 03WiewTM para definir os padrões a

serem otimizados, sendo escolhido como padrão de otimização o método semi-empírico AM1.

4.7. Cálculo de propriedades estruturais e eletrônicas:

Para calcular as propriedades estruturais e eletrônicas do ácido betulínico fez-se uso do Pacote Gaussian 03WTM em plataforma Linux/Debian com computadores PC INTEL® *inside*TM QuadCoreTM com processadores CORETMi7, 8GB de memória RAM e 2GB de memória dedicada.

4.8 Análise dos dados estruturais e eletrônicos:

Após a obtenção dos resultados dos cálculos das propriedades estruturais e eletrônicas, houve uma análise comparativa dos dados obtidos e o que previa a literatura.

4.9 Cálculo e simulação do espectros de RMN ¹³C e UV:

Os cálculos espectroscópicos de RMN ¹³C foram feitos em nível de teoria B3LYP e bases 6-311G+(2d,p) e B3LYP 6-311G ++(2d,p). Para o cálculo com base B3LYP 6-311G ++(2d,p) foram efetuados cálculos do ácido betulínico com solvente, adotando como solvente o Clorofórmio e para o cálculo em base B3LYP 6-311G +(2d,p) foi realizado apenas o cálculo com solvente Clorofórmio. O cálculo de ultravioleta foi realizado em nível RTD-B3LYP-FC e base 6-311G++(2d,p). Todos calculados realizados em plataforma Linux/Debian com computadores PC INTEL® *inside*TM QuadCoreTM com processadores CORETMi7, 8GB de memória RAM e 4GB de memória dedicada.

4.10. Compilação e comparação dos dados experimentais e teóricos

Os resultados aqui obtidos foram ordenados em tabelas e comparados aos resultados previstos na literatura e posteriormente tirado a média de desvio padrão entre o resultado teórico obtido e o resultado experimental.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a obtenção das propriedades eletrônicas do ácido betulínico, foi realizado o cálculos em método semi-empírico AM1 de Otimização+Frequência. O método semi-empírico AM1 foi escolhido devido ao seu baixo custo computacional além do seu pouco tempo computacional fator que o torna favorável em aplicações para sistemas com algumas centenas de átomos, pois, seu cálculo leva apenas alguns minutos para finalizar [21]. Os resultados obtidos a partir desse cálculo estão dispostos na tabela 01 contendo os resultados obtidos a partir do cálculo de otimização+frequência do método semi-empírico AM1.

Tipo de cálculo	Otimização e frequência.
Método utilizado	Semi-empírico AM1
Conjunto de Bases	Sobreposição Diferencial Nula. (Zero Differential Overlap – ZDO)
Energia total do sistema	-0.30166769
Momento Dipolo	2.9085 (D)
Energia do orbital LUMO	1,132274676 eV
Energia do Orbital HOMO	9,723793144 eV
Tempo de Trabalho do CPU	1 minuto 10 segundos

Tabela 01. Resultados obtidos através do cálculo semi-empírico AM1

Tabela 02 Ângulos de ligações para os átomos que compõem a estrutura do ácido

Estrutura	Ângulo Esperado	Ângulo Obtido
O=C-O	120°	115.25778°
H-C-H	109,5°	107.63821°
C-O-H	109,5°	106.54926°
C-C-C	109,5°	109.76652°

betulínico

Hibridizações das ligações existentes podem ser preditas através da orientação espacial da molécula e seus ângulos de ligações.

Após realizada a otimização das geometrias, deu-se início aos cálculos de RMN, dos quais os resultados dos deslocamentos químicos obtidos para o ^{13}C foram comparados

com os deslocamentos químicos experimentais. Para os dados teóricos obtidos, observou-se que para carbonos saturados sp^3 (sem a presença de elementos eletronegativos) os sinais se encontram na faixa de 14 a 65 (com exceção dos sinais em 60,22, 61,78 e 64,53 que ultrapassam a faixa limite aceita experimentalmente, que é de 10 a 60), enquanto que para os sinais de carbonos sp^2 encontram-se em 110,50 e 170,29 (C-29, C-20), referente ao acoplamento carbono-carbono da dupla exocíclica. Para o carbono carboxílico (C-28) o sinal está em 194,00ppm e para o carbono metínico sp^3 ligado a oxigênio (C-3) o sinal encontra-se em 84,69 ppm. Notou-se através da tabela 03 que para as principais bandas de RMN ^{13}C , o resultado obtido computacionalmente para a posição C-20 excede a faixa limite de erro trabalhada que é ± 10 . Apesar de haver extrapolação de limite na faixa de erro proposta pelo projeto, estudos comprovam que o deslocamento químico para o carbono carbonílico em ppm com referência TMS encontram-se na faixa dos valores de campos mais baixos (de 155 a 220), enquanto que para os carbonos hibridizados sp^2 o deslocamento químico está na faixa de 100 a 175 ppm^[22].

Posições δ	Teórico	Experimental	Desvio Médio
(C-28) RCOOH	193,27	177,34	8,33
(C-29) RC=CH ₂	110,84	109,75	0,375
(C-20) RC=CH ₂	169,96	149,46	10,415
(C-3) RC-OH	85,36	76,88	3,905

Tabela 03. Principais bandas de RMN ^{13}C , bandas de RMN teórico em nível B3LYP 6311++G(2d,p) e bandas do RMN experimental obtidos no Laboratório de Química de Produtos Naturais/UFAM.

Ao analisar os resultados teóricos e experimentais apresentados, observa-se que os modelos teóricos empregados B3LYP 6311G + (2d,p) e B3LYP 6311G ++ (2d,p) descrevem bem o deslocamento químico de RMN ^{13}C da molécula do ácido betulínico não havendo variações fora da faixa limite aceita (valores tabelados estabelecidos) entre os sinais existentes dos valores teóricos para com os valores experimentais.

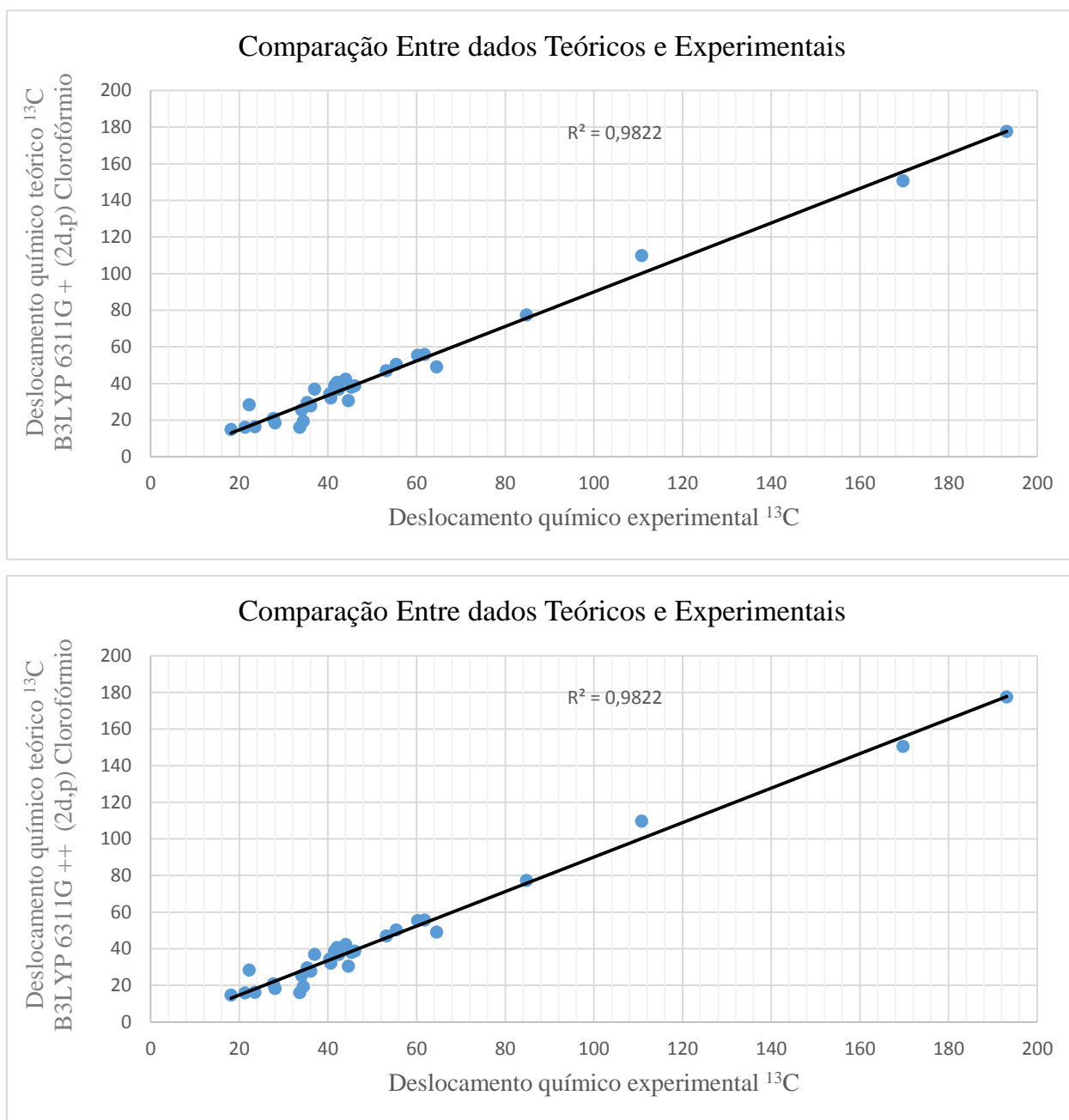


Figura 02. Gráficos de correla o do deslocamento químico de ¹³C

A varia o que houve entre os valores teóricos e experimentais se mostrou satisfatória, sendo ambos os valores (Figura 02) de coeficiente de determina o (R^2) próximos a 1, porém, dos dois o cálculo de Base B3LYP 6311G + (2d,p) se mostrou com melhor resultado tendo valor mais aproximado a 1. Com o auxílio da correla o existente entre os dados teóricos e experimentais, p de-se notar que o uso de ferramentas teórico-

computacionais nos servem de auxílio quanto a elucidação estrutural da molécula em estudo de forma a atribuir sinais próximos aos sinais experimentais.

Todas as tabelas com comparativo entre deslocamentos teórico e experimental contendo todos os carbonos seguem como anexo 1.

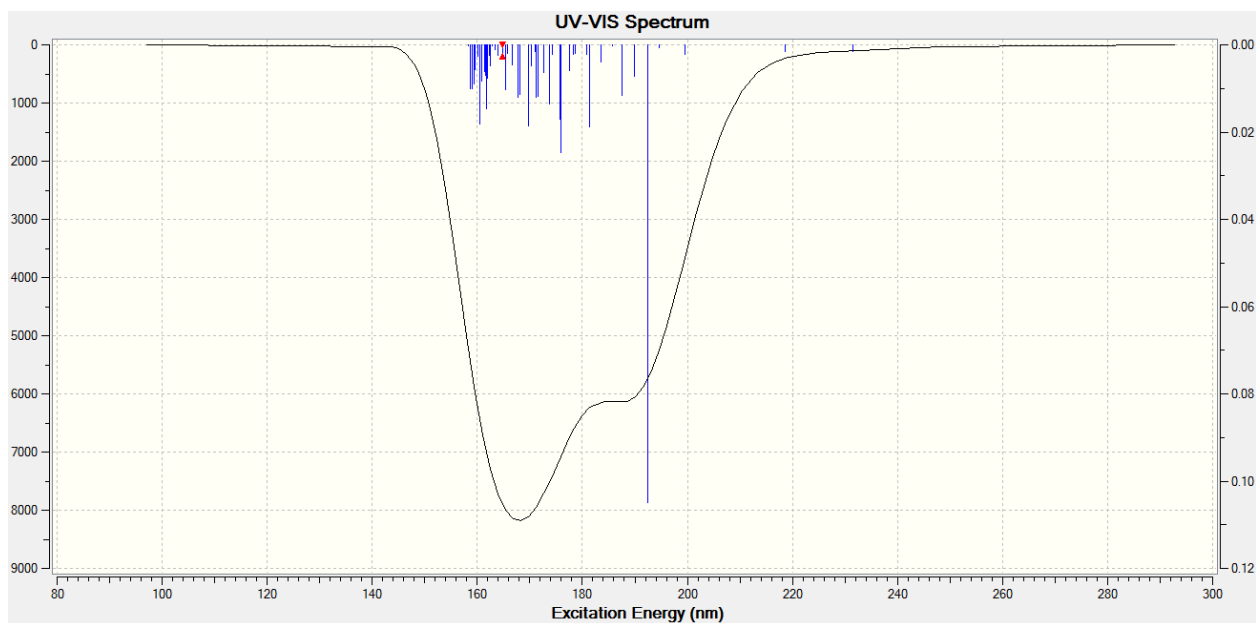


Figura 03. Espectro teórico obtido de ultravioleta

Após analisar o espectro teórico de ultravioleta (*Figura 03*) obtido, foram observados dois picos. O primeiro e mais intenso pico tem seu λ observado em 168,64 nm se caracterizando como sendo a região da hidroxila (C-3). Seu pico de menor intensidade tem seu λ observado em 190,5 nm sendo característico do carbono carbonílico (C-28) na molécula.

6. CONCLUSÃO

Através da Química Quântica pode-se ser realizado diversos cálculos dos quais são passíveis de obter resultados referentes aos dados de estrutura e eletrônicos da molécula em estudo, além de sua conformação. Com todos os métodos de cálculos oferecidos, conceitos fundamentais da química podem ser explorado em maior profundidade ao se relacionar com a química quântica. Contudo, pode-se concluir que os níveis de teoria adotados no projeto para cálculos de RMN, UV, Otimização e Frequência tornam-se satisfatórios em descrever a estrutura do ácido betulínico de forma a não exigir um elevado custo computacional e fornecendo um resultado bem aproximado ao resultado experimental. Notando-se melhor resultado para o espectro teórico de RMN calculado em nível de teoria DFT B3LYP 6311G+ (2d,p)

A aplicação dos métodos teóricos podem ser de importante uso as demais áreas da química, uma vez que através destes cálculos podemos prever interações da molécula, realizar estudos espectroscópicos, calcular seu momento dipolo e obter a energia do sistema além de tantas outras informações nas quais podem ser obtidas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] DOLABELA, M.F; OLIVEIRA, S. G; NASCIMENTO, J. M; PERES, J. L; WAGNER, H; PÓVOA, M.M; OLIVEIRA, A.B. In vitro antiplasmodial activity of extract and constituents from *Esenbeckia febrifuga*, a plant traditionally used to treat malaria in the Brazilian Amazon. *Phytomedicine*, 15(5) (2008) 367-372.

[2] WHO (2005). Global Malaria Situation. World Health Organization. World Malaria Report, Geneva (2005);

[3] SLUTSKER, L.; KACHUR, S. P. It is time to rethink tactics in the fight against malaria. *Malaria Journal*, v. 12, p. 140, 2013.

[4] WEIS, R; KAISER, M; BRUN, R; SAF, R; SEEBACHER, W. Hydrazones and new oximes of 4-aminobicyclo[2.2.2]octanones and their antiprotozoal activities. *Monatshefte fur Chemie*, 137 (10) (2006) 1365-1374

[5] AMARAL, A. C. F; FERREIRA, J. L. P; MOURA, D. F; CARVALHO, J. R; OHANA, D. T; ECHEVARRIA, A; ROSÁRIO, V. E; LOPES, D; SILVA, J. R. A. Updated studies on *Ampelozizyphus amazonicus*, a medicinal plant used in the Amazonian Region. *Pharmacognosy Reviews*, 2(4) (2008) 308-316.

[6] AGUIAR, A.C.C; DE SANTOS, R.M.; FIGUEIREDO, F.J.B; CORTOPASSI, W.A; PIMENTEL, A.S; FRANÇA, T.C.C; MENEGHETTI, M.R; KRETTLI, A.U. Antimalarial activity and mechanisms of action of two novel 4-aminoquinolines against chloroquine-resistant parasites. *PLoS ONE*, 7(5) (2012) art. no. e37259.

[7] SOLER, F; POUJADE, C; EVERS, M; CARRY, J; HENIN, Y; BOUSSEAU, A; HUET, T; PAUWELS, R; DE CLERCQ, E; MAYAUX, J; LE PECQ, J; DEREU, N. Betulinic Acid Derivatives: A New Class of Specific Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Entry. *J. Med. Chem.* 39 (1996) 1069-1083.

[8] DANG, Z.; HO, P.; ZHU, L.; QIAN, K.; LEE, K.-H.; HUANG, L.; CHEN, C.-H. New betulinic acid derivatives for bevirimat-resistant human immunodeficiency virus type-1. *J. Med. Chem.* 56 (2013) 2029-203

[9] DANG, Z.; LAI, W; QIAN, K; HO, P; LEE, K; CHEN, C; HUANG, L. Betulinic Acid Derivatives as Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Inhibitors. *J. Med. Chem.* 52 (2009) 7887–7891.

[10] YOGEE SWARI, P.; SRIRAM. D. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties. *Curr. Med.*, v.12, n.6, p.657-666, 2005.

[11] ZIEGLER, H. L; FRANZYK, H; SAIRAFIANPOUR, M; TABATABAI, M; TEHRANI, M. D; BAGHERZADEH, K; HAGERSTRAND, H; STÆRK, D; JAROSZEWSKI, J. W. Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of *Plasmodium falciparum* growth: structure– activity relationships for betulinic acid analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 12 (2004) 119–127.

[12] STEELE, J.C.P; WARHURST, D. C; KIRBY, G. C; SIMMONDS, M. S. J. In Vitro and In Vivo Evaluation of Betulinic Acid as an Antimalarial. *Phytother. Res.* 13 (1999) 115–119.

[13] KURIMOTO, S; KASHIWADA, Y; LEE, KUO-HSIUNG; TAKAISHI, Y; Triterpenes and a triterpene glucoside from *Dysoxylum cumingianum*. *Phytochemistry*, 72(17) (2011) 2205– 2211

[14] KVASNICA, M.; SAREK, J. Synthesis of phthalates of betulinic acid and Betulin with cytotoxic activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 13, p. 3447–3454, 2005.

[15] NOEDL, H; SE, Y; SCHAECHER, K; SMITH, B.L; SOCHEAT, D; FUKUDA, M.M. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *New England J. Medicine*, 359(2008) 2619-2620.

[16] DE SÁ, M.S; COSTA, J.F.O; KRETTLI, A.U; ZALIS, M.G; MAIA, G.L.A; SETTE, I.M.F; CÂMARA, C.A; BARBOSA FILHO, J.M; GIULIETTI-HARLEY, A.M; DOS SANTOS, R.R; SOARES, M.B.P. Antimalarial activity of betulinic acid and derivatives in vitro against *Plasmodium falciparum* and in vivo in *P. berghei*-infected mice. *Parasitol. Res.* 105 (2009) 275–279.

[17] DANTAS, B. M. Efeito do ácido betulínico no tratamento de dislipidemia e diabetes em camundongos. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza 2012.

[18] SÁ, M. S. Avaliação da atividade antimalárica de substâncias obtidas de espécies vegetais nativas ou endêmicas do semi-árido brasileiro e derivados sintéticos. Dissertação (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa). Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia. 2011.

[19] OLIVEIRA, D. R.; COSTA, A.L.M.A.; LEITÃO, G. G.; CASTRO, N. G.; SANTOS, J. P.; LEITÃO, S. G. Estudo etnofarmacognóstico da saracuramirá (*Ampelozizyphus amazonicus* Ducke), uma planta medicinal usada por comunidades quilombolas do Município de Oriximiná-PA, Brasil. *Acta Amazônica* 41: p. 383-392. 2011.

[20] MARGON, N. H.; Computação em química teórica: Informações técnicas. *Quim. Nova*, Vol. 24, No. 5, 676-682, 2001.

[21] GIACOMOLLI, D.A.; Funções que aproximam expoentes ótimos de orbitais tipo-Slater de átomos em moléculas. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

[22] PAVIA, L. D.; LAMPMAN, M. G., KRIZ, S. G., VYVYAN, R. J. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

[23] FOO, J. B.; YAZAN, L. S.; TOR, Y. S.; WIBOWO, A.; ISMAIL, N.; HOW, C. W.; ARMANIA, N.; LOH, S. P.; ISMAIL, I. S.; CHEAH, Y. K.; ADBULLAH, R. Induction of cell cycle arrest and apoptosis by betulinic acid-rich fraction from *dillenia suffruticosa* root in MCF-7 cells involved p53/p21 and mitochondrial signaling pathway. *Journal of Ethnopharmacology* 166 (2015) 270–278.

[24] AGUIRRE MC, DELPORTE C, BACKHOUSE N, ERAZO S, LETELIER ME, CASSELS BK, SILVA X, ALEGRÍA S, NEGRETE R. Topical anti-inflammatory activity of 2 alfa-hydroxy pentacyclic triterpene acids from the leaves of *Ugni molinae*. *Bioorg Med Chem*. 2006 Aug 15;14(16):5673-7. Epub 2006 May 11.

9. ANEXOS

POSIÇÃO δ	(DFT B3LYP 6311G ++ 2d,p)	EXPERIMENTAL 1 ^[23]	EXPERIMENTAL 2 ^[24]
C-1	46,08	36,3	38,8
C-2	36,16	27,1	27,8
C-3	84,80	76,8	77,4
C-4	41,53	38,5	38,9
C-5	60,22	54,9	55,4
C-6	28,06	18,0	18,4
C-7	40,43	33,9	34,4
C-8	42,11	40,2	40,7
C-9	55,39	49,9	50,4
C-10	37,02	36,7	37,0
C-11	27,69	20,4	20,9
C-12	34,06	25,1	25,5
C-13	45,33	38,2	38,0
C-14	43,98	42,0	42,4
C-15	35,32	29,2	29,6
C-16	40,67	31,7	32,2
C-17	61,78	55,4	55,8
C-18	64,53	46,6	49,1
C-19	53,18	48,5	47,0
C-20	169,77	150,3	150,6
C-21	44,60	30,1	30,6
C-22	42,43	37,5	37,0
C-23	22,26	28,1	28,4
C-24	33,66	15,7	16,1
C-25	23,55	15,8	16,3
C-26	21,34	15,9	16,0
C-27	18,14	14,4	14,82
C-28	193,12	177,2	177,6
C-29	110,80	109,6	109,8
C-30	34,45	18,9	19,4

Tabela 04. Comparativo entre resultados teóricos e experimentais de RMN ¹³C. Usou-se o Clorofórmio como solvente para o cálculo teórico e o Clorofórmio deuterado para os resultados 1 e 2 experimentais, para o resultado experimental 3, o autor usou uma mistura de clorofórmio deuterado e dimetil sulfóxido deuterado.

POSIÇÃO δ	(DFT B3LYP 6311G + 2d,p)	EXPERIMENTAL 1 ^[23]	EXPERIMENTAL 2 ^[24]
C-1	46,38	36,3	38,8
C-2	37,46	27,1	27,8
C-3	85,36	76,8	77,4
C-4	43,17	38,5	38,9
C-5	60,47	54,9	55,4
C-6	26,92	18,0	18,4
C-7	40,72	33,9	34,4
C-8	43,76	40,2	40,7
C-9	55,95	49,9	50,4
C-10	36,83	36,7	37,0
C-11	27,66	20,4	20,9
C-12	34,53	25,1	25,5
C-13	45,54	38,2	38,0
C-14	43,76	42,0	42,4
C-15	35,94	29,2	29,6
C-16	40,18	31,7	32,2
C-17	61,25	55,4	55,8
C-18	64,25	46,6	49,1
C-19	52,92	48,5	47,0
C-20	169,96	150,3	150,6
C-21	43,76	30,1	30,6
C-22	42,99	37,5	37,0
C-23	22,57	28,1	28,4
C-24	33,44	15,7	16,1
C-25	24,07	15,8	16,3
C-26	21,39	15,9	16,0
C-27	18,69	14,4	14,82
C-28	193,27	177,2	177,6
C-29	110,84	109,6	109,8
C-30	34,14	18,9	19,4

Tabela 05. Comparativo entre resultados teóricos e experimentais de RMN ¹³C. Usou-se o Clorofórmio como solvente para o cálculo teórico e o Clorofórmio deuterado para os experimental 1, para o resultado experimental 3, o autor usou uma mistura de clorofórmio deuterado e dimetil sulfóxido deuterado.

POSIÇÃO δ	(DFT B3LYP 6311G + 2d,p) e EXPERIMENTAL	(DFT B3LYP 6311G + 2d,p) e EXPERIMENTAL
	1	2
C-1	7,127636	5,359869
C-2	7,325626	6,830652
C-3	6,052834	5,62857
C-4	3,302189	3,019346
C-5	3,938585	3,585031
C-6	6,307392	6,02455
C-7	4,822468	4,468915
C-8	2,5173	2,163747
C-9	4,277996	3,924443
C-10	0,091924	0,120208
C-11	5,133595	4,780042
C-12	6,668017	6,385174
C-13	5,190164	5,331585
C-14	1,244508	0,961665
C-15	4,7659	4,483057
C-16	5,996266	5,642712
C-17	4,136575	3,853732
C-18	12,48043	10,71267
C-19	3,125412	4,186072
C-20	13,90172	13,68959
C-21	9,659079	9,305525
C-22	3,882016	4,23557
C-23	3,9103	4,122433
C-24	12,54407	12,26123
C-25	5,847773	5,49422
C-26	3,882016	3,811306
C-27	3,033488	2,736503
C-28	11,36321	11,08036
C-29	0,876812	0,735391
C-30	10,77631	10,42275

Tabela 06 desvio padrão entre o resultado teórico obtido e os resultados experimentais.

A faixa de erro adotada para este projeto é de ± 10 .

POSIÇÃO δ	(DFT B3LYP 6311G ++ 2d,p) e EXPERIMENTAL	(DFT B3LYP 6311G ++ 2d,p) e EXPERIMENTAL
	1	2
C-1	6,915504	5,147737
C-2	6,406387	5,911413
C-3	5,656854	5,23259
C-4	2,142534	1,859691
C-5	3,761808	3,408255
C-6	7,113494	6,830652
C-7	4,617407	4,263854
C-8	1,350574	0,997021
C-9	3,882016	3,528463
C-10	0,226274	0,014142
C-11	5,154808	4,801255
C-12	6,335677	6,052834
C-13	5,041671	5,183093
C-14	1,400071	1,117229
C-15	4,327494	4,044651
C-16	6,342748	5,989194
C-17	4,511341	4,228499
C-18	12,67842	10,91066
C-19	3,30926	4,36992
C-20	13,76737	13,55524
C-21	10,25305	9,899495
C-22	3,486036	3,83959
C-23	4,129504	4,341636
C-24	12,69964	12,4168
C-25	5,480078	5,126524
C-26	3,846661	3,77595
C-27	2,644579	2,347595
C-28	11,25714	10,9743
C-29	0,848528	0,707107
C-30	10,99551	10,64196

Tabela 07 desvio padrão entre o resultado teórico obtido e os resultados experimentais.

A faixa de erro adotada para este projeto é de ± 10 .