

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

ESTUDO QUÍMICO DE ESPÉCIES DE *SOLANUM*

TANIA MARIA SARMENTO DA SILVA

Seropédica, Rio de Janeiro

Maio de 2002

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

ESTUDO QUÍMICO DE ESPÉCIES DE *SOLANUM*

TANIA MARIA SARMENTO DA SILVA

Sob a Orientação dos Professores : Dr. Mário Geraldo de Carvalho e
Dr. Raimundo Braz-Filho

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

Seropédica, Rio de Janeiro
Maio de 2002

ESTUDO QUÍMICO DE ESPÉCIES DE SOLANUM

TANIA MARIA SARMENTO DA SILVA

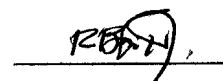
Aprovada em 17/105/2002

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (ICE-DQ-UFRRJ)



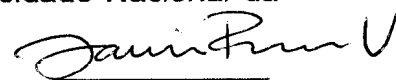
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho (LCQI-CCT-UENF)

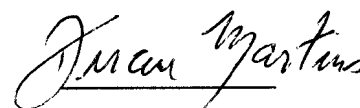


(Orientador e Suplente)

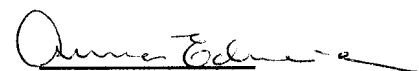
Prof. Dr. Javier Rincón Velandia (Depto de Farmácia, Universidade Nacional da Colômbia)



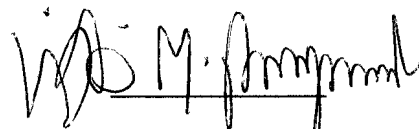
Prof. Dr. Dirceu Martins (IQ-UFBa)



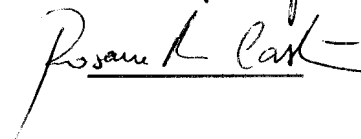
Profa Dra Áurea Echevarria (ICE-DQ-UFRRJ)



Prof. Dr. Victor Marcos Rumjanek (ICE-DQ-UFRRJ)



Profa Dra Rosana de Nora Castro (ICE-DQ-UFRRJ)



(Suplente)

Ficha Catalográfica

Silva, Tania Maria Sarmiento da

Estudo Químico de Espécies de *Solanum*.

Seropédica. Rio de Janeiro. Instituto de Ciências Exatas. 2002.

Tese de Doutorado.

Orientadores:

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (ICE-UFRRJ)

Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho (LCQI-CCT-UENF)

Instituição:

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (ICE-DQ)

Dedico esta tese ao meu grande esposo Celso de Amorim Câmara pelo amor e presença constantes e ao nosso Heitor que está chegando.

A meus pais José Francisco da Silva e Maria José Sarmento da Silva, heróis sertanejos e meus ídolos.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Dr. Mário Geraldo de Carvalho, pela orientação, amizade e ensinamentos indispensáveis à minha formação.
- Ao Professor Dr. Raimundo Braz-Filho, pela orientação, amizade e pelo exemplo de integridade e sabedoria.
- À UFRRJ, pela oportunidade e acolhimento.
- À Professora Dra. Áurea Echevarria (ICE-UFRRJ), pela ajuda e incentivo constantes, também pela realização dos testes biológicos junto com a aluna de Doutorado Andressa Esteves.
- À Professora Dra. Rosane Nora Castro (ICE-UFRRJ), que esteve sempre disponível para me auxiliar.
- À Professora Dra. Noema F. Grynberg e à Dra. Márcia Cristina de Oliveira (UFRRJ), pela realização dos testes biológicos com a enzima Topoisomerase.
- À Professora Dra. Bagnólia de Araújo Silva da UFPB, por ter me apresentado à pesquisa científica no LTF-UFPB, e também pela realização dos testes biológicos em músculo liso, juntamente com a aluna de Mestrado Fabiana Cavalcante e aos alunos de iniciação científica, em especial Joelmir Silva.
- À Professora Dra. Maria de Fátima Agra (LTF-UFPB), que me acompanhou durante a iniciação científica nos estudos iniciais com espécies de *Solanum*, me estimulando a também acreditar nestas espécies e em sua importância.
- À Professora Dra. Solange Brandolini e à aluna de iniciação científica (Departamento de Biologia-UFRRJ), pela colaboração nos testes biológicos com caramujos.
- À Professora Dra. Maria D. Vargas (IQ-UNICAMP) e ao Prof. Dr. Angelo C. Pinto (IQ-UFRJ), pelos espectros de EMAR e RMN.
- À Professora Dra. Cláudia M. Resende (IQ-UFRJ), e aos alunos Jenilce Martins e Sandra Fraga pela realização das análises de CG-MS.
- A todos os técnicos do ICE-UFRRJ, Renato, Francis, Eli, Carlão, Maurício, Áurea Tatagiba, Ceição, Fábio, Rui, Rogéria e Aldir.
- Aos alunos de Iniciação Científica Cleiser e Wellison que me acompanharam durante a realização deste trabalho.
- Aos colegas de laboratório Bia, Cássia, Patrícia, Ildomar, Lucinha, Kedma, Juliana, Marli e Janaína., cujo companheirismo me auxiliou bastante

- Aos colegas da pós-graduação, todos, sem exceção.
- À turma da sexta, Heloísa, Márcia, Rosane, Juliana, Braz, Áurea, Maronci e Valdô.
- A todos que, de algum modo, me ajudaram na realização deste trabalho.
- Aos meus pais, José Francisco da Silva e Maria José Sarmiento da Silva, que tudo fizeram para que eu saísse de Souza, no alto sertão da Paraíba, e estudasse sempre, em escola pública, com dignidade.
- Aos meus irmãos, Socorro, Eva, Aldair, Gerlânia, Francisco, Maria José e Gorete, que sempre me apoiaram e até coletaram espécimes de *Solanum* para estes estudos.
- Aos meus avós e padrinhos, Vô Chico (Francisco Furtado) e Vó Mocinha (Generosa Maria de Jesus), por acreditarem em mim.
- Aos meus sobrinhos que muito amo, Antônio José e Ana Karoline (também minha afilhada).
- Ao meu cunhado Gil Marques, pelo auxílio nos meus tempos de estudante.
- Aos meus tios, Manuel do Lastro e Maria dos Remédios, que me acolheram e incentivaram durante os meus estudos.
- Ao José Milton, Cássia, Ruth e Jonas, que coletaram espécies de *Solanum* para estudos.
- À aluna de doutorado da UFPE, Liana pelos espectros de massas
- Ao Prof. Dr Edilberto e ao técnico Daniel do CENAUREMN, Curso de Pós-graduação em Química Orgânica da UFC, pela obtenção dos espectros a 500 MHz,
- A Universidade Estadual do Norte Fluminense e em especial ao Prof. Jan Schripsema pela obtenção dos espectros a 400 MHz e dos espectros de massas.
- Desde já, à banca examinadora, pelas sugestões e correções sugeridas a este trabalho.
- À
CAPES e FAPERJ pelos auxílios e bolsas concedidas.
- E por fim agradeço especialmente ao Dr. Celso Câmara pelas sugestões e acompanhamento durante a realização de todo trabalho.

“Tudo que é ruim de passar, é bom de contar.”

Ariano Suassuna, Escritor Paraibano

SUMÁRIO**pág**

ÍNDICE GERAL	x
ÍNDICE DE TABELAS, ESQUEMAS E FIGURAS	xv
RESUMO	xxiv
ABSTRACT	xxvi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xxvii
SUBSTÂNCIAS NATURAIS ISOLADAS NESTE TRABALHO	xxviii
DERIVADOS OBTIDOS NESTE TRABALHO	xxx
Anexo A	199

Índice.....	pág
1. Introdução	1
2. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero <i>Solanum</i> (Solanaceae).....	1
2.1. Flavonas, Flavonóis e seus O-heterosídeos.....	2
2.2. Flavonas e Flavonóis.....	2
3. Aspectos Botânicos.....	11
3.1. <i>Solanum agrarium</i> Sendtner.....	11
3.2. <i>Solanum crinitum</i> Lam.....	12
3.3. <i>Solanum jabrense</i> Agra & M. Nee	13
3.4. <i>Solanum paludosum</i> Moric.	14
2.5. <i>Solanum paraibanum</i> Agra	15
3.6. <i>Solanum rhytidoandrum</i> Sendtn.	16
2.7. <i>Solanum stramonifolium</i> Jacq.....	17
4. Objetivos	19
5. Experimental Geral.....	20
5.1. Equipamentos e reagentes.....	20
5.2. Derivatizações	21
5.2.1. Metilação	21
a) Diazometano	21
b) Sulfato de dimetila	21
5.2.2. Acetilação com anidrido acético e piridina.....	22
6. Referências	22
CAPÍTULO I.....	28
ESTUDO QUÍMICO DE <i>SOLANUM PALUDOSUM</i> MORIC. E DERIVATIZAÇÃO DOS FLAVONÓIDES	28
I-1. Isolamento e purificação dos constituintes.....	29

I-2. Preparação do flavonóide iodado e dos derivados da morina e quercetina	30
I-3. Resultados e discussão	33
I-3.1. Determinação estrutural dos constituintes	33
I-3.1.1. Triterpenos	33
I-3.1.2. Derivado de ácido benzóico	40
I-3.1.3. Alcamida	40
I-3.1.4. Saponina esteroidal	47
I-3.1.5. Flavonóides	53
a) Flavonóide 13 da <i>SÉRIE a</i>	54
b) Flavonóide 8 da <i>SÉRIE b</i>	56
c) Flavonóide 2 da <i>SÉRIE c</i>	57
Espectro de RMN de ^1H dos flavonóis	58
Anel A	58
Anel B	59
Anel C	59
Análise dos dados de espectrometria de massas	60
Análise dos dados de espectrometria de RMN de ^{13}C	62
Metoxilas	63
Anel C	66
Anel B	67
Anel B mono-oxigenado	67
Anel B di-oxigenado	68
Anel A	69
Anel A di-oxigenado	70
Anel A tri-oxigenado	71

Aplicação de técnicas especiais 1D (NOEDIFF e DEPT) e experiências bidimensionais (2D) de correlação homonuclear de hidrogênio (^1H - ^1H -COSY e NOESY) e heteronuclear de hidrogênio e carbono [^1H - ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$: n=1, HMQC (probe inverso) ou HETCOR (método convencional); n=2 e 3, HMBC (probe inverso) ou COLOC (método convencional)]	72
SÉRIE c	73
SÉRIE b	74
SÉRIE a	75
I-3. Referências – Capítulo I	99
CAPÍTULO II	102
ESTUDO QUÍMICO DE <i>SOLANUM JABRENSE</i> AGRA & M. NEE	102
II.1. Isolamento e purificação dos constituintes	103
II.1.1. Parte aérea de <i>Solanum jabrense</i>	103
II.1.2. Folhas de <i>Solanum jabrense</i>	106
II.2. Resultados e discussão	106
II-2.1. Determinação estrutural dos constituintes	106
II.2.1.1. Ácidos graxos	106
II-2.1.2. Ésteres graxos	110
II-2.1.3. Esteróides	124
II-2.1.4. Sesquiterpeno	125
II-2.1.5. Alcalóides	136
II-2.1.6. Derivado de ácido benzóico	147
II-3. Referências – Capítulo II	149
CAPÍTULO III	151
ESTUDO QUÍMICO DE <i>SOLANUM CRINITUM</i> LAM.	151
III-1. Isolamento e purificação dos constituintes	152
III-2. Resultados e discussão	152

II-2.1. Determinação estrutural dos constituintes.....	152
III-3. Referências – Capítulo III.....	160
CAPÍTULO IV.....	163
ANÁLISE DE FLAVONÓIDES DE SEIS ESPÉCIES DE <i>SOLANUM</i> DO SUBGÊNERO <i>LEPTOSTEMONUM</i> POR CLAE: PARTES AÉREAS DE <i>SOLANUM AGRARIUM</i> SENDTN. E <i>S. JABRENE</i> AGRA & M. NEE, E TRICOMAS DE <i>S. RHYTIDOANDRUM</i> SENDTN., <i>S. PALUDOSUM</i> MORIC., <i>S. PARAIBANUM</i> AGRA. E <i>S. STRAMONIFOLIUM</i> JACQ.	163
IV.1. Objetivos.....	164
IV.2. Experimental.....	164
IV.2.1. Instrumental.....	164
IV.2.2. Material vegetal e isolamento dos flavonóides.....	164
IV.2.3. Reagentes e flavonóides padrões.....	165
IV.3. Resultados e discussão.....	166
IV.3.1. CLAE dos flavonóides padrões.....	166
IV.3.2. CLAE dos extratos de <i>Solanum</i> e identificação das substâncias.....	167
IV.4. Referências – Capítulo IV.....	171
CAPÍTULO V.....	172
TESTES BIOLÓGICOS.....	172
Observações.....	173
a) Atividade moluscicida.....	173
b) Citotoxicidade frente ao carcinoma de Erlich e inibição da enzima topoisomerase.....	173
c) Atividade espasmolítica.....	173
V.1. Objetivos.....	174
V.1.1. Geral.....	174
V.1.2. Específico.....	174

V.2. Atividade Moluscicida	175
V.2.1. Introdução.....	175
V.2.2. Materiais e métodos.....	181
V.2.2.1. Obtenção dos extratos	181
V.2.2.3. Procedimento para o teste (modificado de HOSTETTMANN, 1991 e DOS SANTOS, 1997).....	182
V.2.3. Resultados.....	183
V.2.3.1. Avaliação da atividade moluscicida frente ao <i>Biomphalaria glabrata</i>	183
V.3. Estudo da citotoxicidade da morina (morina tetrametilada, morina pentametilada e tilirosídeo frente ao carcinoma de Erlich.....	185
V.3.1. Materiais e métodos.....	185
V.3.1.1. Obtenção dos flavonóides	185
V.3.1.2. Procedimento experimental	186
V.3.2. Resultados.....	186
V.4. Atividade espasmolítica dos extratos de <i>Solanum</i> e do sesquiterpeno solavetivona isolado de <i>Solanum jabrense</i> Agra & M. Nee.....	186
V.4.1. Materiais e métodos.....	187
V.4.1.1. Obtenção dos extratos e do sesquiterpeno solavetivona.....	187
V.4.1.2. Procedimento experimental	187
V.4.2. Resultados.....	187
V.5. Avaliação da inibição da enzima humana DNA-topoisomerase II- α	189
V.5.1. Materiais e métodos.....	190
V.5.1.1. Obtenção dos flavonóides	190
V.5.1.2. Procedimento experimental	190
V.5.2. Resultados.....	190
V.5.3. Referências – Capítulo V.....	193

Índice de Tabelas, Esquemas, Figuras e Quadros.....	pág
Tabela 1. Ocorrência de flavonas e flavonóis glicosilados produzidos por espécies do gênero <i>Solanum</i> , família Solanaceae.	3
Tabela 2. Ocorrência de flavonas e flavonóis em <i>Solanum</i> , família Solanaceae.	8
Figura I.1. Espectro de IV de 26 (acetato de β -amirina)	34
Figura I.2. Espectro de IV de 27 (β -amirina).....	34
Figura I.3. Espectro de RMN de ^1H de 26 (acetato de β -amirina).....	34
Figura I.4. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT (B) de 26 (acetato de β -amirina)	35
Figura I.5. A: cromatograma (Coluna HP-5, Programação: 60 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min) e B: espectro de massas de 26.....	36
Figura I.6. Espectro de RMN de ^1H de 27 (β -amirina)	36
Figura I.7. Espectro de RMN DE ^{13}C (A) e DEPT (B) de 27 (β -amirina).....	37
Figura I.8. A: cromatograma (Coluna HP-5, Programação: 60 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min). e B: espectro de massas de 27.....	38
Tabela I.1. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e RMN de ^{13}C (50,2 MHz) de 26 (acetato de β -amirina) e 27 (β -amirina) em CDCl_3	39
Tabela I.2. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C ^1D e ^2D (500 e 125 MHz, respectivamente) de 24 (ácido protocatecuico) em acetona- D_6	40
Figura I.10. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, acetona- d_6) de 25 (N- <i>p</i> -coumaroiltiramina).....	42
Figura I.11. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135° (125 MHz, acetona- d_6) de 25 (N- <i>p</i> -coumaroiltiramina).....	43
Figura I.13. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, acetona- d_6) de 25 (N- <i>p</i> -coumaroiltiramina).....	44

Figura I.14. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, acetona- d_6) de 25 (N- p -coumaroiltiramina).....	45
Figura I.15. Espectro de massas de 25 (N- p -coumaroiltiramina).....	46
Tabela I.3. Dados de RMN-1D e 2D de ^1H e de ^{13}C (500 e 125 MHz, respectivamente) de 25 (N- p -coumaroiltiramina) em acetona- d_6	47
Figura I.16. Espectro de IV da mistura 28 e 29 (3-O- β -D-glicopiranosil sitosterol e 3-O- β -D-glicopiranosilestigmasterol).....	48
Figura I.17. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da mistura 30 e 31 (3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosil sitosterol e 3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosilestigmasterol).....	49
Figura I.18. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (B)] (50 MHz, CDCl_3) da mistura 30 e 31 (3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosil sitosterol e 3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosilestigmasterol).....	50
Figura I.19. Espectro de RMN COSY(200 MHz, CDCl_3) da mistura 30 e 31 (3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil sitosterol e 3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil estigmasterol).....	51
Tabela I.4. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da mistura 30 e 31 (3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosil sitosterol e 3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosil estigmasterol).....	52
Quadro I-1. Flavonóides naturais isolados de <i>Solanum paludosum</i> (1, 2, 7, 8, 12, 13, 17 e 18) e <i>Solanum jabrense</i> (1, 6 e 8), e os derivados metilados (3, 9), acetilados (4, 5, 10,11,14, 15) e com iodo (16).....	53
Quadro I-2. Flavonóides naturais isolados de <i>Solanum paludosum</i> (17 e 18) e os derivados metilados (20 e 21) e iodados (22 e 23). A substância 19 é o flavonóide morina comercial.....	54
Esquema I.2. Íons formados pela reação retro Diels-Alder (MARKHAM, 1989).....	61
Esquema I.3. Fragmento correspondente ao anel B resultante da reação de retro Diels-Alder no espectro de massa de alta resolução.....	62

Tabela I.5. Deslocamentos químicos dos hidrogênios em ppm (δ) dos flavonóides naturais e derivados.....	64
Tabela I.6. Deslocamentos químicos de carbono-13 em ppm (δ) dos flavonóides naturais e derivados.....	65
Modelo IV. Efeito nos deslocamentos químicos nos ^{13}C do anel benzeno quando um hidrogênio é substituído por um átomo de iodo.	72
Tabela I.7. Nomes triviais dos flavonóides isolados e referências que apresentam os dados de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C	77
Tabela I.8. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 1 (7-O-metilkanferol) em $\text{DMSO-}d_6$	78
Tabela I.9. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 2 (3,7-di-O-metilkanferol) em $\text{DMSO-}d_6$	79
Tabela I.10. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 3 (3,4'-di-O-metilkanferol) em $\text{DMSO-}d_6$	80
Tabela I.11. Dados de RMN de ^1H (300 MHz) e de ^{13}C (75 MHz) do flavonol 4 em CDCl_3	81
Tabela I.12. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 5 em CDCl_3	82
Tabela I.13. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 6 (7,4'-di-O-metilquercetina) em $\text{Acetona-}d_6$	83
Tabela I.14. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 7 (3-O-metilquercetina) em $\text{Acetona-}d_6$	84
Tabela I.15. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 8 (3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina) em CDCl_3	85
Tabela I.16. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 9 (3,5,7,3',4'-penta-O-metilquercetina) em CDCl_3	86
Tabela I.17. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 10 em CDCl_3	87

Tabela I.18. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (50 MHz) do flavonol 11 (quercetina acetilada) em CDCl_3	88
Tabela I.19. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina) em CDCl_3	89
Tabela I.20. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina) em CDCl_3	90
Tabela I.21. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 14 em CDCl_3	91
Tabela I.22. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 15 em CDCl_3	92
Tabela I.23. Dados de RMN de ^1H (300 MHz) e de ^{13}C (75 MHz) do flavonol 16 e 22 em CDCl_3	93
Tabela I.24. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 17 (7-O-metilapigenina) em $\text{DMSO}-d_6$	94
Tabela I.25. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 18 (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) em $\text{DMSO}-d_6$	95
Tabela I.26. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (50 MHz) do flavonol 19 (morina) em $\text{DMSO}-d_6$	96
Tabela I.27. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 20 (morina tetrametilada) em CDCl_3	97
Tabela I.28. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 21 (morina pentametilada) em CDCl_3	98
Esquema II.1. Marcha para o isolamento das substâncias de <i>S. jabrense</i>	105
Figura II.1. Espectro na região do IV da Fração A de <i>S. jabrense</i>	107
Figura II.2. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da Fração A de <i>S. jabrense</i>	107

Figura II.3. Cromatograma dos íons totais da Fração A de <i>S. jabrense</i> , coluna HP-1, Programação: 80 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min).....	108
Figura II.4. Espectro de massas das substâncias A1-A4 e comparação com os dados da biblioteca WILEY275.L	108
Figura II.4. (Continuação) Espectro de massas das substâncias A5-A12 e comparação com os dados da biblioteca WILEY275.L	109
Figura II.4. (Continuação) Espectro de massas das substâncias A13 e A14 e comparação com os dados da biblioteca WILEY275.L	110
Figura II.5. Espectro na região do IV da Fração D de <i>S. jabrense</i>	112
Figura II.6. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da Fração D de <i>S. jabrense</i>	112
Figura II.7. Cromatograma dos íons totais da Fração D de <i>S. jabrense</i> (Coluna HP-5, Programação: 60 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min).....	113
Figura II.8. Espectro de massas da substância D1.....	113
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D2-D4.....	114
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D5-D7.....	115
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D8-D10.....	116
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D11-D13...	117
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D14-D16...	118
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D17-D19...	119
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D20-D22...	120
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D23-D25...	121
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D26-D28...	122
Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D29-D31...	123
Figura II.9. Espectro de IV da mistura 32 + 33	124

Figura II.10. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) das substâncias 32 e 33 (sitosterol e estigmasterol)	125
Tabela II.3. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e RMN de ^{13}C 1D e 2D (125 MHz) de 34 (solavetivona) em CDCl_3	126
Figura II.11. Espectro de IV da substância 34 (solavetivona).....	127
Figura II.12. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 34 (solavetivona).....	128
Figura II.13. Expansões do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 34 (solavetivona).....	129
Figura II.14. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT (B) da substância 34, solavetivona, (125 MHz, CDCl_3).....	130
Figura II.15. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl_3) de 34 (solavetivona)	131
Figura II.16. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl_3) de 34 (solavetivona).	132
Figura II-17 Espectro de RMN NOESY (500 MHz, CDCl_3) de 3 (solavetivona).	133
Figura II.18. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de 34 (solavetivona)	134
Figura II.19. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) de 3 (solavetivona). Coluna SE-30, Progr.: 100 °C (2 min)-100-280 °C (5 °C/min).....	135
Esquema II.2. Interpretação do espectro de massas de 34, solavetivona, [m/z (%)]	135
Figura II.20. Rota biossintética para formação dos sesquiterpenos (fitoalexinas) na família Solanaceae, incluindo a solavetivona (REDDY & SIGNS, 1993).....	136
Figura II.21. Espectro de IV da substância 35 (Nb-metiltetraidro- β -carbolina).....	137
Figura II.22. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, MD_3OH) de 35 (Nb-metiltetraidro- β -carbolina)	138

Figura II.23. Espectro de RMN COSY (200 MHz, MD ₃ OH) de 35 (Nb-metiltetrahydro-β-carbolina)	139
Figura II.24. Espectro de RMN de ¹³ C (200 MHz, MD ₃ OH) de 35 (Nb-metiltetrahydro-β-carbolina)	140
Tabela II.4. Dados de RMN de ¹ H (200 MHz) e RMN de ¹³ C (50 MHz) de 35 (Nb-metiltetrahydro-β-carbolina)	141
Figura II.25 Espectro de massas de 35 (Nb-metiltetrahydro-β-carbolina).....	142
Esquema II.3. Interpretação do espectro de massas de 35, Nb-metiltetrahydro-β-carbolina, [m/z (%)]	142
Figura II.26. Espectro de IV da substância 36 (solasodina).....	144
Figura II.27. Espectro de RMN COSY da substância 36 (solasodina).....	145
Figura II.28. Espectro de DEPT da substância 36 (solasodina).....	146
Figura II.29. Espectro de IV da substância 37 (ácido vanílico)	147
Figura II.30. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de 37 (ácido vanílico)	148
Figura II.31. Espectro de RMN COSY (200 MHz, MD ₃ OH) de 37 (ácido vanílico)	148
Tabela III.1. Dados de RMN de ¹ H (400 MHz) e RMN de ¹³ C (100 MHz) de 38 (astragalina) e RMN de ¹ H (200 Hz) e RMN de ¹³ C (50 MHz) de 39 (tilirosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆	154
Figura III-1. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 38 (astragalina)	155
Figura III-2. Espectro de RMN de ¹³ C (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 38 (astragalina)	155
Figura III-3. Espectro RMN COSY (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 38 (astragalina)	156
Figura III-4. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 39 (tilirosídeo)	157
Figura III-5 Espectro RMN PENDANT (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 39 (tilirosídeo)	158

Figura III-6 Espectro RMN COSY (200 MHz, DMSO- d_6) de 39 (tilirosídeo)....	158
Figura III-7 Espectro de RMN HMQC (200 MHz, DMSO- d_6) de 39 (tilirosídeo)	159
Figura III-8 Espectro de RMN HMBC (200 MHz, DMSO- d_6) de 39 (tilirosídeo)	159
Figura III.9 Valores de ^{13}C mostrando o efeito do substituinte glicose nos carbonos C-2, C-3, C-4 e 2CH-2',6' dos flavonóides astragalina e tilirosídeo em relação ao Kanferol.....	160
Figura IV.1. Estruturas dos flavonóides.....	166
Figura IV.2. Cromatograma dos flavonóides padrões. As condições cromatográficas estão descritas na seção experimental. Os compostos são os seguintes: 1) miricetina; 2) morina; 3) quercetina; 4) Canferol; 5) 3,4',7,8- tetra-O-metil gossypetina; 6) 7-O-metilcanferol; 7) 3,7-O-dimetilcanferol, 8) 7- O-metilapigenina; 9) 3,3',4',7,8-penta-O-metilgossipetina e 10) 3,3',4',7-tetra- O-metilquercetina.....	167
Figura IV.3. Cromatogramas da CLAE dos extratos clorofórmicos de <i>Solanum</i> : tricomas de <i>S. paludosum</i> (A), <i>S. rhytidoandrum</i> (C), <i>S. paraibanum</i> (D) e <i>S.</i> <i>stramonifolium</i> (E), folhas de <i>S. jabrense</i> (B) e partes aéreas de <i>S. agrarium</i> (F). As condições cromatográficas estão descritas na seção experimental.	168
Figura IV.4. Tricomas estrelados presentes nas folhas de <i>Solanum jabrense</i> (A) e (B); <i>S. paludosum</i> (C), (D) e (E); e <i>S. rhytidoandrum</i> (F) e (G)......	170
Figura IV.5. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do extrato clorofórmico dos tricomas de <i>Solanum paludosum</i>	170
Figura V.1. Estruturas de alguns glicoalcalóides do tipo solanidano e spirosolano.....	179
Tabela V.1. Espécies do gênero <i>Solanum</i> com atividade moluscicida (NAPRALERT, junho de 2001).....	180

Tabela V.2. Triagem da ação moluscicida dos extratos de <i>Solanum</i> sobre <i>Biomphalaria glabrata</i> (5 caramujos por concentração) em laboratório após exposição de 48 horas, pH 6-7.	184
Tabela V.3. Ação moluscicida dos extratos metanólico e fase butanólica básica de <i>Solanum jabrense</i> sobre <i>Biomphalaria glabrata</i> (20 caramujos por concentração) em laboratório após exposição de 48 horas, pH 6-7.	185
Tabela V.4 Valores de IC ₅₀ dos flavonóides sobre o crescimento das células tumorais (carcinoma de Erhlich).	186
Tabela V.5. Efeito espasmolítico dos extratos de <i>Solanum</i> sobre órgãos isolados.	188
Tabela V.6. Efeito espasmolítico de solavetivona sobre órgãos isolados.	189
Figura V.2. Eletroforese em gel de agarose mostrando a ação dos flavonóides no relaxamento do DNA de fago por topoisomerase II. O kDNA (0,125 µg) foi incubado com duas unidades de topoisomerase II na ausência (8) ou na presença de drogas (200µM): 12, 15, 1, 2, 13, 10 e 8 (1-7) e etoposida 100µM (10).	191

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

δ	deslocamento químico (ppm)
M ⁺	pico do íon molecular
Ac	acetila
Ac ₂ O	anidrido acético
AcOEt	acetato de etila
AcOH	ácido acético
aq	aquoso
Ar	arila
APT	Attached Proton Test
Ax	axial
CC	cromatografia em coluna (pressão atmosférica)
CCD	cromatografia em camada delgada
CG-EM	cromatografia de gás acoplada ao espectro de massas
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
COLOC	Correlation spectroscopy via Long-range Couplings
COSY	correlated spectroscopy
d	dubleto
dd	duplo dubleto
dl	dubleto largo
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO _{d6}	dimetilsulfóxido deuterado
EM	espectroscopia de massas
EMAR	espectroscopia de massas de alta resolução
eq	equatorial
EtOH	etanol
Ext.	extrato
HBBD	Hydrogen Broad Band Decoupled
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence
Hz	Hertz
IV	Infra-vermelho
J	constante de acoplamento em Hertz
m	múltiplo

<i>m/z</i>	relação carga/massa
MeOH	metanol
MHz	megahertz
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
PND	Proton Noise Decoupling
q	quarteto
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13
s	singleto
sl	singleto largo
t	tripleto

OBS: As abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo químico de sete espécies de *Solanum*. O estudo dos extratos de *Solanum jabrense*, *S. paludosum* e *S. crinitum* foi realizado com técnicas cromatográficas rotineiras de laboratório, e as demais espécies foram estudadas através de análise por CLAE. De *Solanum jabrense* AGRA & M. NEE foram isolados dois esteróides, β -sitosterol e estigmasterol, um triterpeno (β -amirina), um sesquiterpeno (solavetivona), dois alcalóides (N_b-metiltetraidro- β -carbolina e solasodina) e o ácido vanílico. Das folhas jovens de *S. jabrense* também foram isolados os flavonóides: 3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina, 7,4'-di-O-metilquercetina e 7-O-metilkanferol.

A espécie *Solanum paludosum* Moric. forneceu dois triterpenos, acetato de β -amirina e β -amirina, uma alcalóide (N-*p*-coumaroiltiramina), ácido protocatecuico, duas saponinas esteroidais (3-O- β -D-glicopiranosil-sitosterol e 3-O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol) e oito flavonóides: 3,4',7,8-tetra-O-metilgossipetina, 3,3',4',7,8-penta-O-metilgossipetina, 3,3',4',7-tetra-O-metilquercetina, 3-O-metilquercetina, 7-O-metilapigenina, 3,7-di-O-metilkanferol, 7-O-metilkanferol e 3,7,8-tri-O-metilherbacetina. O extrato metanólico dos tricomas de *Solanum crinitum* Lam. forneceu dois flavonóides glicosilados, astragalina e tilirosídeo.

As estruturas foram identificadas pela análise dos espectros de IV, Massas e RMN, incluindo os experimentos de 2D das substâncias naturais e dos derivados metilados, acetilados e o novo derivado iodado dos flavonóides.

Os extratos dos tricomas de *Solanum rhytidoandrum* Sendtn., *S. paludosum* Moric., *S. paraibanum* Agra, *S. stramonifolium* Jacq. e das partes aéreas de *S. agrarium* Sendtn. and *S. jabrense* Agra & M. Nee foram analisados por CLAE para verificar a presença de flavonóides. As espécies estudadas são de quatro seções diferentes de *Solanum*, subgênero *Leptostemonum* (Dunal) Bitter.

Os testes biológicos, atividades espasmolítica e moluscicida, citotoxicidade frente ao carcinoma de Erlich e inibição da enzima topoisomerase foram realizados com os extratos de espécies de *Solanum*, solavetivona e com os flavonóides naturais e os derivados.

ABSTRACT

The chemical study of the aerial parts of a new and rare species of *Solanum jabrense* Agra & M. Nee resulted in the isolation of two steroids, β -sitosterol and stigmasterol, one triterpene β -amyrin, one sesquiterpene (solavetivone), two alkaloids N₆-methyltetrahydro- β -carboline and solasodine, beside vanillic acid. The leaves of *S. jabrense* furnished three flavonoids 3,7,3',4'-tetramethyl quercetin ether, 7,4'-dimethyl quercetin ether, and 7-methyl kaempferol ether.

The aerial parts of *Solanum paludosum* Moric. afforded two triterpenes β -amirine acetate and β -amyrin and its acetyl derivative, one alkamide N-p-coumaroyltyramine, protocatechuic acid, two steroidal saponins, 3 β -O- β -D-glicopyranosylsitosterol and 3 β -O- β -D-glicopyranosylstigmaterol and eight flavonoids: 3,4',7,8-tetramethylgossypetin ether, 3,3',4',7,8-pentamethyl gossypetin ether, 3,3',4',7-tetramethyl quercetin ether, 3-methyl quercetin ether, 7-methyl apigenin ether, 3,7-dimethyl kaempferol ether, 7-methyl kaempferol ether, and 3,7,8-trimethyl herbacetin ether. The structures were established from IR, Mass spectrum and NMR spectral data, including 2D NMR experiments of the natural substances and the acetyl, methyl and the new iodine derivative of flavonoids.

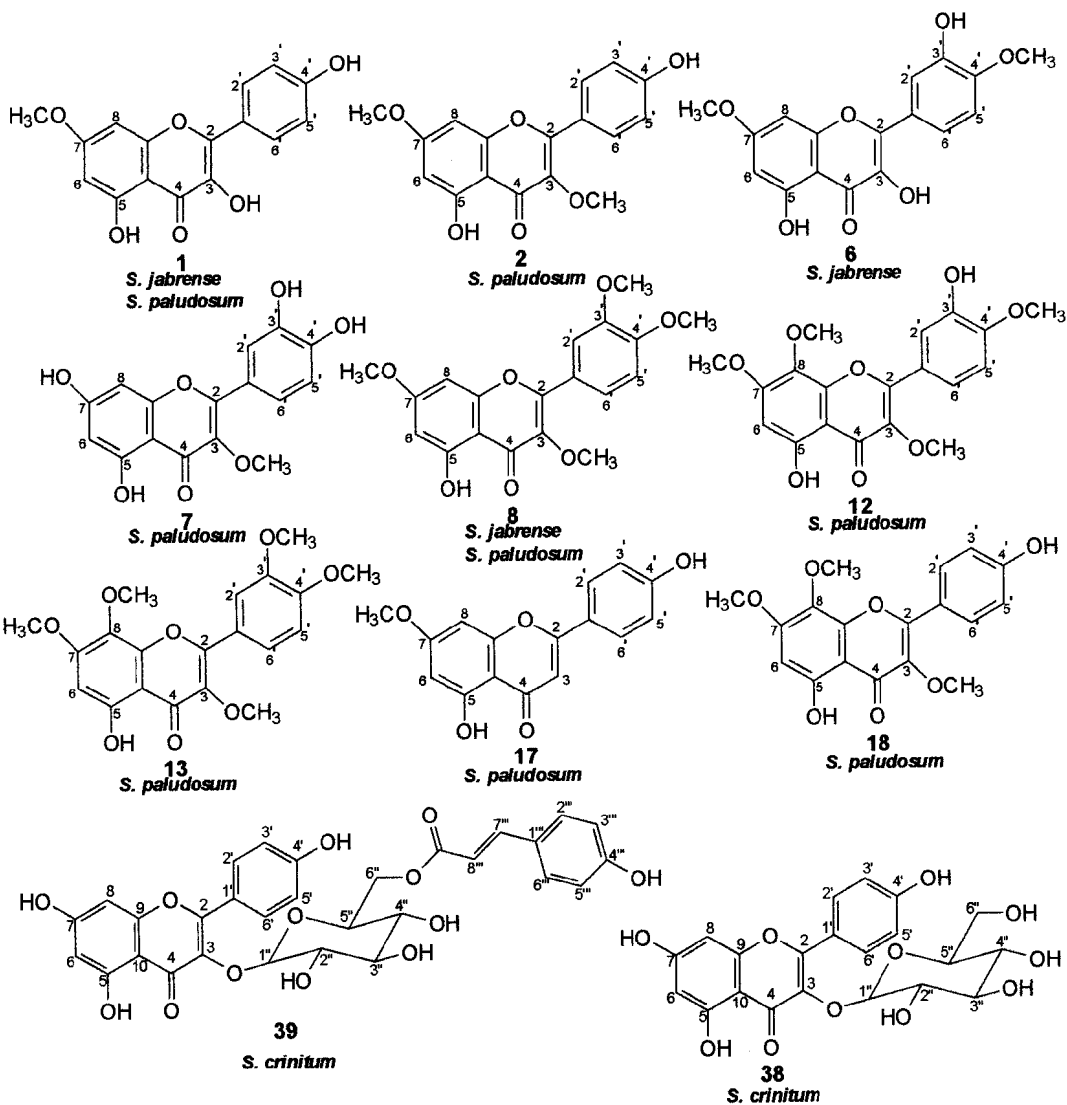
The methanolic extract of the trichomes of *Solanum crinitum* Lam. furnished O-glicosylflavonoids astragaline and tilliroside.

The analysis of flavonoids by HPLC was carried out with extracts of trichomes of *S. rhytidoandrum* Sendtn., *S. paludosum* Moric., *S. paraibanum* Agra, *S. stramonifolium* Jacq. and the extracts of the aerial parts of *S. agrarium* Sendtn. and *S. jabrense* Agra & M. Nee. The flavonoid profiles were compared by HPLC. The studied plants belong to four different sections of *Solanum* subg. *Leptostemonum* (Dunal) Bitter.

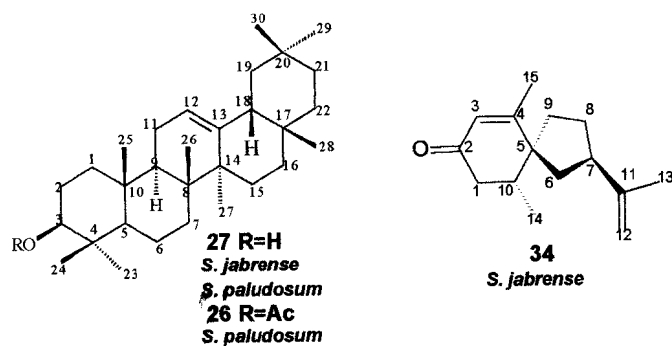
Biological tests were run for the *Solanum* extracts, for solavetivone and for the natural and derivatized flavonoids, including topoisomerase inhibition, spasmolytic and molluscicide activities, and cytotoxicity against Erlich cells.

Substâncias isoladas neste trabalho de espécies de *Solanum*

Flavonóides:

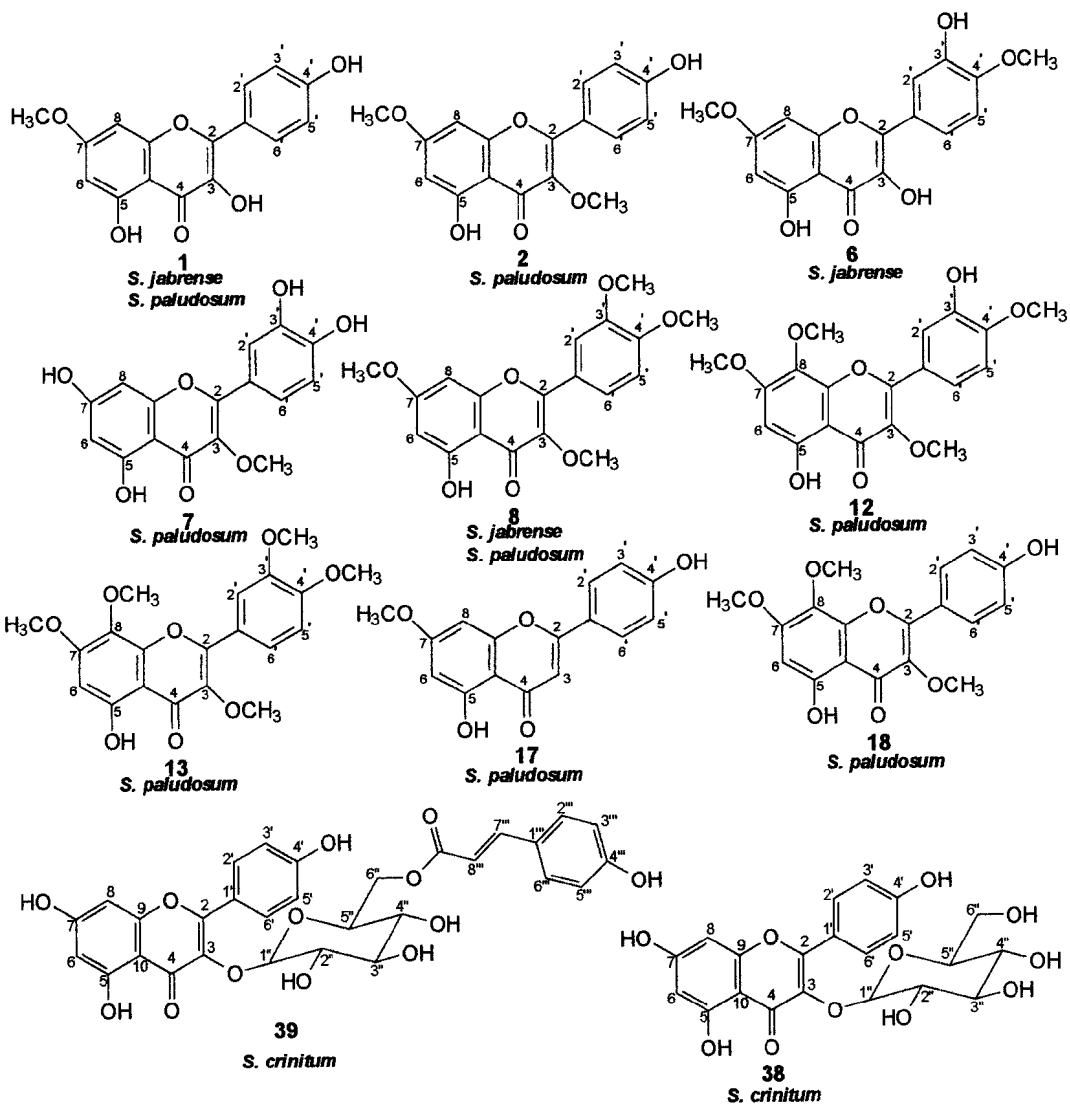


Terpenóides:

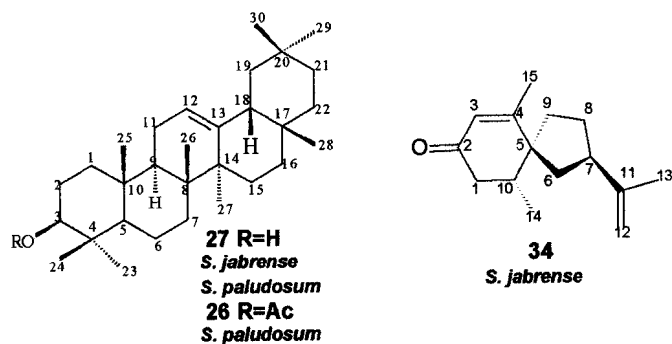


Substâncias isoladas neste trabalho de espécies de *Solanum*

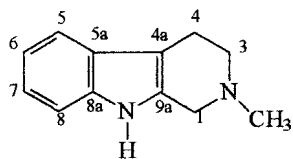
Flavonóides:



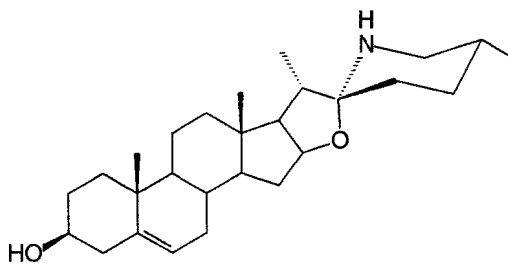
Terpenóides:



Alcalóides:

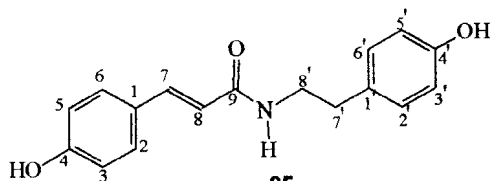


35
S. jabrense



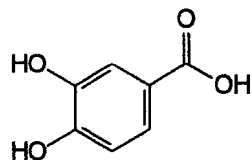
36
S. jabrense

Alcamida:

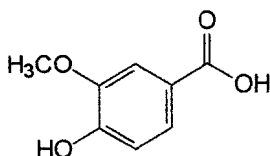


25
S. paludosum

Derivados do Ácido Benzóico:

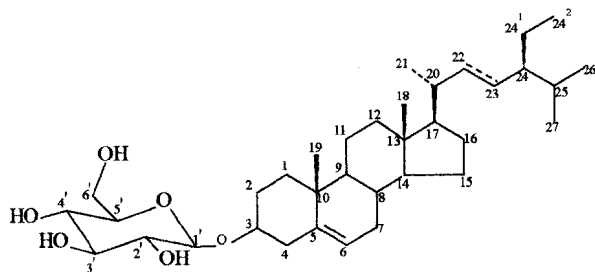


24
S. paludosum



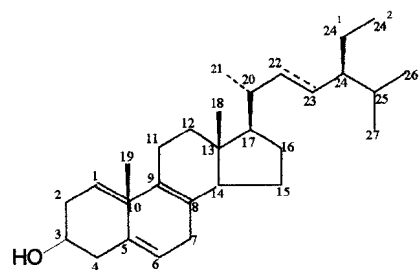
37
S. jabrense

Saponinas:



28=22,23-desidro
29=22,23-diidro
S. paludosum

Esteróides:



28=22,23-desidro
29=22,23-diidro
S. jabrense

1. Introdução

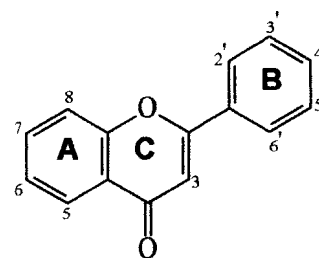
A família Solanaceae possui grande importância econômica por ser constituída de várias espécies que são usadas na alimentação humana. Como exemplo podemos citar a batatinha (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), beringela (*Solanum melongena* L.), jiló (*Solanum gilo*) e a pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.), outras espécies são tóxicas e muitas são produtoras de drogas de interesse farmacológico, como a atropina (*Atropa belladona*), nicotina (*Nicotiana tabacum* L.) entre outras (AGRA, 2000).

O gênero *Solanum* L. é o maior e mais complexo gênero da família Solanaceae, com cerca de 1500 espécies e 5000 epítetos habitando sistemas ecológicos estabelecidos pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo e tendo como centro de diversidade e distribuição a América do Sul (AGRA, 1999).

Além de alcalóides, os flavonóides constituem um dos grupos de substâncias mais frequentes em espécies do gênero *Solanum*. O número de trabalhos de sistemática química sobre o gênero *Solanum* é relativamente reduzido, aparentemente devido às dificuldades de se trabalhar com um gênero contendo um grande número de espécies morfológicamente variável (D'ARCY, 1979). Porém, dados químicos baseados nos padrões flavonoídicos contribuíram para uma compreensão sistemática dos táxons nos níveis mais inferiores de classificação na família (STEINHARTER *et al.*, 1986). A literatura relata um perfil químico de *Solanum* com base na frequência de flavonóides [HARBORNE (1962), WHALEN (1978), HARBORNE & SWAIN (1979), REZNIK & WIETSCHER (1979), WHALEN & MABRY (1979), SCHILLING (1984), ANDERSON *et al.* (1987), STEINHARTER (1986) e SILVA *et al.* (Dados não-publicados)].

2. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae)

As Tabelas 1 e 2 descrevem os flavonóides em ordem crescente de numeração e do número de grupos hidroxílicos/metoxílicos/açucares no esqueleto básico **1** (primeira coluna, contendo também o nome trivial entre parênteses), as espécies de onde foram isolados (segunda coluna) e as referências bibliográficas originais das citações



referentes às substâncias (terceira coluna). Algumas referências citadas foram obtidas somente de resumos do *Chemical Abstract* ou do NAPRALERT (NATURAL PRoduct ALERT). A ausência de informação na literatura sobre o número de espécies num gênero é indicada pela abreviação "Spp".

2.1. Flavonas, Flavonóis e seus O-heterosídeos

Muitos flavonóis (3-oxiflavonas) glicosilados descritos como bioprodutos de espécies deste gênero são geralmente derivados do kanferol (3,5,7,4'-tetraidroxiflavona) e quercetina (3,5,7,3',4'-pentaidroxiflavona), o mesmo ocorrendo também com os derivados metilados e acilados. Substâncias derivadas da isoramnetina (3,5,7,4'-tetraidroxi-3'-metoxiflavona) e miricetina (3,5,7,3',4',5'-hexaidroxiflavona) são mais restritas. A glicose e a ramnose aparecem como os carboidratos mais frequentes, podendo-se considerar a galactose, a arabinose e a xilose como de ocorrência relativamente rara. A única flavona glicosilada (Tabela 1) encontrada até o presente é derivada da luteolina (5,7,3',4'-tetraidroxiflavona).

2.2. Flavonas e Flavonóis

Os flavonóis livres ocorrem em um número menor de espécies e aparecem como agliconas em vários glicosídeos. Derivados da gossipetina (3,5,7,8,3',4'-hexaidroxiflavona), Silva *et al.* (2002), e da herbacetina (3,5,7,8,4'-pentaidroxiflavona), Silva *et al.*, 2002 e Silva *et al.*, dados não-publicados, foram relatados somente uma vez cada um. Relativamente poucos derivados das flavonas apigenina (5,7,4'-triidroxiflavona), luteolina (5,7,3',4'-tetraidroxiflavona) e crisoeriol (5,7,4'-triidroxi-3'-metoxiflavona) encontram-se descritos na literatura (Tabela 2).

Tabela 1. Ocorrência de flavonas e flavonóis glicosilados produzidos por espécies do gênero *Solanum*, família Solanaceae.

Flavonóide	Espécie de <i>Solanum</i>	Referência
5,7,3',4'-tetraidroxiflavona (luteolina)	<i>S. stoloniferum</i>	HARBONE (1962)
7-O-β-D-glicopiranosil (cinarosideo)		
3,5,7,4'-tetraidroxiflavonol (kanferol)	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
3-O-α-L-arabinofuranosil (avicularina)	<i>S. chimperianum</i>	ANGENOT (1969)
3-O-β-D-glicopiranosil (astragalina)	<i>S. crinitum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. dobium</i>	AFIFI, (1999)
	<i>S. dulcamara</i>	WALKOWIAK <i>et al.</i> (1990)
	<i>S. elaeagnifolium</i>	CHIALE <i>et al.</i> (1991)
	<i>S. interius</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. laciniatum</i>	SHABANA & EL-ALFY (1980)
	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. pseudocapsicum</i>	BIARD <i>et al.</i> (1974)
	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
	<i>S. santolallae</i>	HARBONE (1962)
3-O-β-D-galactopiranosil (trifolina)	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
3-O-α-L-ramnopiranosil-O-β-D-glicopiranosil**	<i>S. dulcamara</i>	WALKOWIAK <i>et al.</i> (1990)
	<i>S. pseudocapsicum</i>	BIARD <i>et al.</i> (1974)
	<i>S. hougasii</i>	HARBONE (1962)
	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-rutinosil (nicotiflorina)	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
	<i>S. unguiculatum</i>	ABBAS (1999)
	<i>S. brevidens</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. cardiophyllum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. clarum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. etuberosum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. fernandezianum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
	<i>S. jamesii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. juglandifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. lycopersicoides</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. melongena</i>	BARNABAS & NAGARAJAN (1989)
	<i>S. michoacanum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)

3-O-diglicopiranosil**	<i>S. morelliforme</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. ochranthum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. stenophyllidium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. chimperianum</i>	ANGENOT (1969)
	<i>S. chrenbergii</i>	HARBONE (1962)
3-O-soforosil	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
3-O-diramnopiranosil-glicopiranosil**	<i>S. pseudocapsicum</i>	BIARD <i>et al.</i> (1974)
3-O-glicopiranosil-ramnopiranosil-glicopiranosil**	<i>S. brachycarpum</i>	HARBONE (1962)
3-O-(2 ^o -glicosilrutinosil)	<i>S. tuberosum</i>	HARBONE (1967)
3-O-(2 ^o -ramnosilrutinosil)***	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-diglicopiranosil-7-O-ramnopiranosil**	<i>S. tuberosum</i>	HARBONE (1962)
3-O-soforotriosil-7-O-ramnopiranosil	<i>S. tuberosum</i>	SCHMID & HARBONE (1973)
	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-soforotriosil-7-O-ramnopiranosil***	<i>S. elaeagnifolium</i>	CHIALE <i>et al.</i> (1991)
3-O-(6''-cis-cimamoil-glicopiranosil)	<i>S. crinitum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
3-O-(6''-trans-cimamoil-glicopiranosil) (tiliroside)		
3-O-(6'''-O-2,5-dihidroxicinamoil)-β-D-glicopiranosil-(1→2)-glicopiranosil	<i>S. incanum</i>	LIN <i>et al.</i> (2000)
3-O-metil-7-O-glicopiranosilkanferol	<i>S. sarrachoides</i>	SCHILLING (1984)
4'-O-metilkanferol (canferideo)		
3-O-β-D-glicopiranosil	<i>S. laciniatum</i>	SHABANA & EL-ALFY (1980)
3,5,7,3',4'-pentaoidroxiavona (quercetina)		
3-O-β-L-arabinopiranosil (polistachiosideo)	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-β-D-xilopiranosil (reinoutrina)	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-α-L-ramnopiranosil (quercitrina)	<i>S. melongena</i>	BARNABAS & NAGARAJAN (1989)
3-O-β-D-glicopiranosil (isoquercitrina)	<i>S. agrimonifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. americanum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. ayacuchoense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. brevidens</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. capsibaccatum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. cardiophyllum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. chacoense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. chimperianum</i>	ANGENOT (1969)
	<i>S. clarum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. colombianum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)

	<i>S. commersonii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. douglasii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. dulcamara</i>	WALKOWIAK <i>ET AL.</i> (1990)
	<i>S. etuberosum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. fernandezianum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. furcatum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. gayanum</i>	REYES <i>et al.</i> (1988)
	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
	<i>S. interius</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. jamesii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. juglandifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. lycopersicoides</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. michoacanum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. morelliforme</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. moscopanum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. nigrum</i>	NAWWAR <i>et al.</i> (1989)
	<i>S. oblongifolium</i>	CUEVA & USUBILLAGA (1988)
	<i>S. ochranthum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. pinnatisectum</i>	HARBONE (1962)
	<i>S. pseudocapsicum</i>	BIARD <i>et al.</i> (1974)
	<i>S. pseudogratile</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. ptycantum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. retroflexum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. sarrachoides</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. scabrum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. stenophyllidium</i>	CUEVA & USUBILLAGA (1988)
	<i>S. tarjense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. valdiviense</i>	REYES <i>et al.</i> (1988)
	<i>S. villosum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. dobium</i>	AFIFI (1999)
3-O-β-D-galactopiranosil hiperosídeo)	(hiperina, <i>S. agrimonifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. ayacuchoense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. brevidens</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. capsibaccatum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. cardiophyllum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. chacoense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. clarum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. colombianum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. commersonii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)

	<i>S. etuberosum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. fernandezianum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. jamesii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. juglandifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. lycopersicoides</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. michoacanum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. morelliforme</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. moscopanum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. nigrum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. ochranthum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. stenophyllidium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. tarrijense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. unguiculatum</i>	ABBAS (1999)
3-O- α -L-ramnopyranosil-(1 \rightarrow 2)-galactopyranosil	<i>S. nigrum</i>	NAWWAR <i>et al.</i> (1989)
	<i>S. unguiculatum</i>	ABBAS (1999)
3-O-ramnopyranosil-glicopyranosil**	<i>S. dulcamara</i>	WALKOWIAK <i>et al.</i> (1990)
	<i>S. pinnatisectum</i>	HARBONE (1962)
	<i>S. pseudocapsicum</i>	BIARD <i>et al.</i> (1974)
3-O-rutinosil (rutina)	<i>S. angustifolium</i>	HUMPHREYS (1964)
	<i>S. brevidens</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. cardiophyllum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. chacoense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. chimperianum</i>	ANGENOT (1969)
	<i>S. clarum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. fernandezianum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
	<i>S. incanum</i>	KUBO <i>et al.</i> (1990)
	<i>S. jamesii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. juglandifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. lycopersicoides</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. michoacanum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. morelliforme</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. ochranthum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. stenophyllidium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. tuberosum</i>	BANDYUKOVA & SERGEEVA (1974)
3-O-diglicopyranosil**	<i>S. americanum</i>	SCHILLING (1984)

	<i>S. douglasii</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. ehrenbergii</i>	HARBONE (1962)
	<i>S. nigrum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. pseudogracile</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. retroflexum</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. scabrum</i>	SCHILLING (1984)
3-O-neohesperidosil	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-gentiobiosil	<i>S. nigrum</i>	NAWWAR <i>et al.</i> (1989)
3-O-soforosil	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
3-O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-galactopiranosil	<i>S. nigrum</i>	NAWWAR <i>et al.</i> (1989)
3-O-β-D-glicopiranosil-O-β-D-manopiranosil	<i>S. xanthocarpum</i>	DUBEY & GUPTA (1978)
3,7-O-β-D-diglicopiranosil	<i>S. chacoense</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
3-O-(2 ^G -apiosilrutinosil)	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
3-O-(2 ^G -ramnosilrutinosil)	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-glicopiranosil-ramnopiranosil-glicopiranosil**	<i>S. brachycarpum</i>	HARBONE (1962)
3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-[glicopiranosil-(1→6)-galactopiranosil]	<i>S. nigrum</i>	NAWWAR <i>et al.</i> (1989)
3'-O-metilquercetina (isoramnetina)		
3-O-β-D-galactopiranosil	<i>S. juglandifolium</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3-O-rutinosil	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
	<i>S. spp.</i>	REZNIK & WIETSCHER (1979)
3,5,7,3',4',5'-hexaidroxiflavona (miricetina)		
3-O-β-D-galactopiranosil	<i>S. pubescens</i>	KUMARI (1984)
3-O-rutinosil	<i>S. soukupii</i>	HARBONE (1962)
3,7-O-β-D-diglicopiranosil	<i>S. pinnatisectum</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
3-O-rutinosil-7-O-β-D-glicopiranosil	<i>S. brevidens</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)
	<i>S. jamesii</i>	WIETSCHER & REZNIK (1980)

*Dados não publicados

**A ligação que une os carboidratos não está definida

***Acilado com ácido *p*-cumárico ou ferúlico

Tabela 2. Ocorrência de flavonas e flavonóis em *Solanum*, família Solanaceae.

Flavonóide	Espécie de <i>Solanum</i>	Referência
5,7,4'-tridroxiflavona (apigenina)	<i>S. xanthocarpum</i>	DUBEY & GUPTA (1978)
7-O-metilapigenina (genkwanina)	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
5,7,3',4'-tetraidroxiflavona (luteolina)		
3'-O-metiluteolina (crisoeriol)		
7-O-metilcrisoeriol	<i>S. unguilatum</i>	ABBAS (1999)
7-O-metil-8-idroxicrisoeriol	<i>S. grayi</i>	WHALEN & MABRY (1979)
3,5,7,4'-tetraidroxiflavona (canferol)	<i>S. agrarium</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. dulcamara</i>	WALKOWIAK <i>et al.</i> (1990)
	<i>S. elaeagnifolium</i>	CHIALE <i>et al.</i> (1991)
	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
	<i>S. scabrum</i> ssp <i>Nigerium</i>	GBILE & ADESINA (1985)
	<i>S. scabrum</i> ssp <i>scabrum</i>	GBILE & ADESINA (1985)
3-O-metilkanferol (isocanferide)	<i>S. sarrachoides</i>	SCHILLING (1984)
7-O-metilkanferol (ramnocitrina)	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paraibanum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. rhytidoandrum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
3,7-di-O-metilkanferol (kumatakenina)	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
	<i>S. paraibanum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
	<i>S. rhytidoandrum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
3,4'-di-O-metilkanferol (ermanina)	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
3,7,4'-tri-O-metilkanferol	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
8-hidroxikanferol (herbacetina)		
3,7,8-tri-O-metilherbacetina	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
3,5,7,3',4'-pentaoidroxiflavona (quercetina)	<i>S. dulcamara</i>	WALKOWIAK <i>et al.</i> (1990)
	<i>S. gayanum</i>	REYES <i>et al.</i> (1988)
	<i>S. glaucophyllum</i>	RAPPAPORTT <i>et al.</i> (1977)
	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
	<i>S. scabrum</i> ssp <i>Nigerium</i>	GBILE & ADESINA (1985)
	<i>S. scabrum</i> ssp <i>Nigerium</i>	GBILE & ADESINA (1985)
	<i>S. valdiviense</i>	REYES <i>et al.</i> (1988)
3-O-metilquercetina	<i>S. sarrachoides</i>	SCHILLING (1984)
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
	<i>S. unguilatum</i>	ABBAS (1999)
3,3'-di-O-metilquercetina	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
7,4'-di-O-metilquercetina (ombufina)	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
3,7,3'-tri-O-metilquercetina (pachipodol)	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
3,7,4'-tri-O-metilquercetina (aianina)	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)

3,3',4'-tri-O-metilquercetina	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (retusin)	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
	<i>S. paraibanum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1985)
	<i>S. rhytidoandrum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
3,5,7,3',4',5'-hexaidroxiflavona (miricetina)		
3,4'- di-O-metilmiricetina	<i>S. unguifatum</i>	ABBAS (1999)
3,7,3'-tri-O-metilmiricetina	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1984)
3,7,3',5'-tetra-O-metilmiricetina	<i>S. pubescens</i>	KUMARI <i>et al.</i> (1984)
8-idroximiricetina (hibiscetina)		
3,7,4'-tri-O-metilhibiscetina	<i>S. citrullifolium</i>	WHALEN & MABRY (1979)
	<i>S. heterodoxum</i>	WHALEN & MABRY (1979)
	<i>S. tenuipes</i>	WHALEN & MABRY (1979)
3,7,8,4'-O-tetrametilhibiscetina	<i>S. citrullifolium</i>	WHALEN & MABRY (1979)
	<i>S. heterodoxum</i>	WHALEN & MABRY (1979)
	<i>S. tenuipes</i>	WHALEN & MABRY (1979)
3,5,7,8,3',4'-O-hexahidroxiflavona (gossipetina)		
3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
	<i>S. paraibanum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. rhytidoandrum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. stramonifolium</i>	SILVA <i>et al.</i> *
3,7,8,3',4'-tetra-O-metilgossipetina	<i>S. jabrense</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. paludosum</i>	SILVA <i>et al.</i> (2002)
	<i>S. paraibanum</i>	SILVA <i>et al.</i> *
	<i>S. rhytidoandrum</i>	SILVA <i>et al.</i> *

*Dados não publicados

A posição 5 dos flavonóides isolados das espécies da família Solanaceae apresenta-se ocupada por um grupo hidroxila (BOHM, 1999). As espécies do gênero *Solanum* destacam-se pela capacidade excepcional para produzir 3-O-glicosídeo flavonóis, mas também fornecem um número significativo de kanferol metilado, quercetina e miricetina como agliconas, muitos dos quais mostram 8-hidroxilação/glicosilação (STEINHARTER, 1986).

O acúmulo de flavonóides não glicosilados está relacionado com a existência de estruturas secretórias e a formação de outros produtos naturais lipofílicos. Assim, os flavonóides dos exsudatos são observados em famílias e gêneros distintos, espalhados no reino vegetal. Solanaceae (gêneros *Lycopersicum* e *Solanum*) é uma das famílias que acumulam externamente flavonóides livres (WOLLENWEBER & JAY, 1988). Recentemente foi demonstrado que tais flavonóides de *Solanum* Subg.

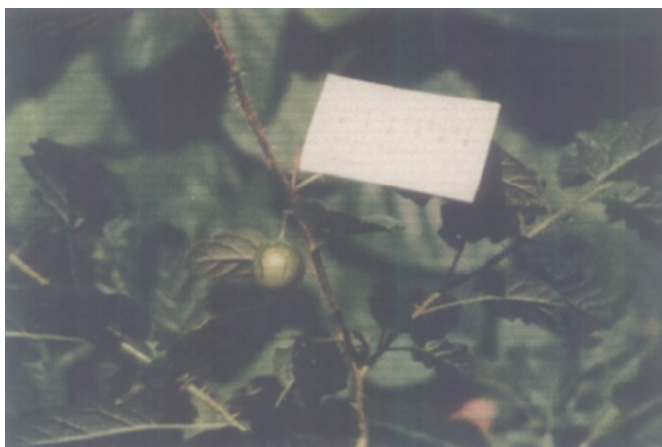
Leptostemonum estão localizados nos tricomas estrelados (SILVA *et al.*, 2002 e SILVA *et al.*, dados não-publicados).

A ocorrência de um padrão particular de substituição é frequentemente usado como um indicador de avanço filogenético (HARBONE, 1977 e SWAIN, 1980). STEINHARTER (1986) estabeleceu um esquema filogenético hipotético para as seções do gênero *Solanum*, mostrando o relacionamento entre cada seção com base na complexidade biossintética dos flavonóis bioproduzidos. No esquema proposto, a presença de metoxila em 3, 4' e 7 e hidroxila em C-8 foi usada para definir estados de caracteres avançados. A seção *Androceras* (Subg. *Leptostemonum*) revelou elevado grau de complexidade em flavonóis, exibindo caracteres de flavonóides avançados por trimetilação e 8-hidroxilação. Estes dados e os resultados obtidos recentemente através da investigação das espécies *Solanum paludosum*, *S. rhytidoandrum* e *S. jabrense* permitem agora colocar a seção *Erythrotrichum* (Subg. *Leptostemonum*) no mesmo nível da seção *Androceras*. Flavonóides isolados destas espécies podem ser classificados como complexos e como indicativo de avanço filogenético.

3. Aspectos Botânicos

Todas as espécies de plantas estudadas foram identificadas pela professora Doutora Maria de Fátima Agra (Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba) e as amostras do material vegetal estão depositadas no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), Universidade Federal da Paraíba.

3.1. *Solanum agrarium* Sendtner



Erva a sub-arbusto, ereto ou levemente prostrado, ramificado, fortemente armado, 500-900 mm de altura; caule cilíndrico 4-5 mm de largura; indumento glabrescente com diminutos tricomas glandular-estipitados e tricomas simples, uniserriados, hialinos, com 3-5 células, distribuídos esparso a moderadamente; fortemente armado de acúleos numerosos, agudos, aciculares, 0,2-10 mm, levemente reflexos, amarelos, esparsamente glandular-pubescentes no 1/3 inferior.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA: Brasil (Bahia, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro), Colômbia, Venezuela, Ilhas do Caribe. É considerada uma espécie nativa do Nordeste, embora não se tenha evidências para esta afirmação.

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA: Algumas informações quanto ao uso da espécie, foram encontradas em etiquetas de herbários, informando sobre a toxicidade das folhas para o gado, "provocam timpanite". Outras informações é sobre "frutos

comestíveis”. Popularmente o decocto da raiz é empregado como abortivo. O decocto das folhas é usado no tratamento das doenças venéreas.

NOMES LOCAIS: Baba, Gogóia, Melancia-da-praia (Agra, 1991)

3.2. *Solanum crinitum* Lam.



Arbusto a arvoreta, 2-4 m altura; ramos lenhosos, tomentosos. Folhas solitárias, fortemente armadas; pecíolo cilíndrico, indumento lanoso a cerdoso; lâmina inteira a lobado-angulada, 10-40 X 10-25 cm, oval-lanceoladas, oval-cordiformes a oval-elípticas; ápice agudo; base assimétrica, subcordiformes; indumento lanoso a cerdoso, tricomas estrelado-estipitados, estipes pluricelulares, multisseriadas; alguns com os raios decíduos; acúleos aciculares, ca. 1,0 cm compr. na venação principal. Inflorescências em cimeiras paucifloras, 5-10 flores; cálice campanulado, cerdoso, aculeado; corola rotáceo-estrelada, plicada, 6-10 cm diâm., cerúlea lilás a margenta; anteras amarelas, atenuadas para o ápice. Ovário súpero; estilete ca 2 cm compr., estigma glanduloso. Fruto globoso, tomentoso-velutino, 4-5 cm diâm.; sementes subreniformes, ca. 5 mm compr., testa bege a marron (AGRA, dados não-publicados)

3.3. *Solanum jabrense* Agra & M. Nee



Arbusto lenhoso, 1,5-2,5 m alt., ramificado, armado. Caule e ramos cilíndricos, eretos ou subescandentes, esbranquiçados e glabros na planta adulta, escabro a tomentoso, ferrugíneos, na planta jovem, tricomas glandular-estipitados misturados com tricomas estrelado-glandulares sésseis, raio central pluricelular, glandular apical, ca. 1 mm compr.; acúleos aciculares, 2-5 mm compr., ferrugíneos na base e amarelos no ápice, retos a levemente recurvos na planta adulta, comprimidos lateralmente e glandular puberulento no $\frac{1}{4}$ basal

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA: *Solanum jabrense* é uma espécie rara com uma distribuição restrita aos brejos de altitudes do Nordeste do Brasil. É encontrada em elevações acima de 1.000 m nos estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Bahia. A espécie tem sido coletada em áreas rochosas, constituídas por blocos graníticos e gnáissicos. Espécimens floridos e frutificados foram coletados de janeiro a agosto e dezembro (AGRA & NEE, 1997)

3.4. *Solanum paludosum* Moric.



Arbusto lenhoso, 1,5-3m de altura, ereto, ramificado, armado, caule e ramos cilíndricos, indumento tomentoso ferrugíneo na planta jovem, constituído de tricomas estrelados sésseis, ferrugíneos, com 8-10 células radiais, distribuídos compactamente na planta jovem, mais esparsos e até glabrescente na planta adulta armada com acúleos esparsos, deltóides 5-10 mm de comprimento, glabros, ferrugíneos, base comprimida, com ca. 5-7 mm de largura, ápice recurvo, agudo.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA: Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Brasil (Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Território de Roraima, Território do Amapá). Há evidências históricas que indicam ser esta espécie nativa do Nordeste brasileiro, de onde provém a maioria do material examinado.

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA: Nenhuma informação quanto a utilização na medicina popular ou na alimentação pelos frutos ou outra parte da planta foi encontrado na literatura ou mesmo nas etiquetas das amostras (AGRA , 1991). A triagem fitoquímica da raiz realizada por AGRA & BARBOSA-FILHO (1990) apresentou resultado positivo para os testes de alcalóides, esteróides, flavonóides e taninos. A presença de 0,67 % de solasodina pura nos frutos verdes foi determinada por BHATTACHARYYA (1984). Ensaio farmacológicos com a casca da raiz apresentaram atividade curarizante, produzida por uma substância não identificada, (ATAÍDE, 1992)

NOMES LOCAIS: Jurubeba, jurubeba-brava, jurubeba-roxa, todomaka (AGRA, 1991)

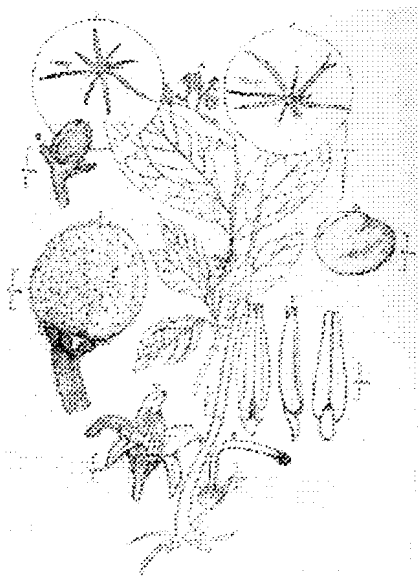
2.5. *Solanum paraibanum* Agra



Arbusto escandente, tomentoso-hirsuto, aculeado; caule e ramos cilíndricos, ca. 3-6 mm de diâmetro, revestido por indumento tomentoso-hirsuto, fusco-ferrugíneo, compacto nas partes mais jovens, constituído de tricomas estrelados sésseis, com a célula apical desenvolvida, unisseriada, 3-4 células osteolares, células radiais reduzidas; armado por acúleos pequenos, ca. 2-3 mm, de base comprimida e ápice recurvo.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT: *S. paraibanum* apresenta uma distribuição muito limitada, conhecida apenas de coletas realizadas no Campus I da UFPB, em área pouco alterada, remanescente da mata atlântica, formada por uma vegetação subperenifolia, constituída de árvores e cipós. O epíteto *paraibanum* é uma homenagem ao estado da Paraíba, local onde o tipo foi coletado (AGRA & NEE, 1997).

3.6. *Solanum rhytidoandrum* Sendtn.



Arbusto lenhoso, ereto, ramificado, ca. 1-2,0 m de alt.; ramos cilíndricos, ca. 3-5 mm de diâmetro, tomentoso-ferrugíneo nas partes mais jovens, folhas e inflorescência, constituído principalmente de dois tipos de tricomas misturados entre si, um tipo estrelado, longo apiculado (3-4 células ostiolares), séssil, e outro tipo estrelado, multiangulado, glanduloso-pedicelado e outro tipo estrelado, multiangulado, glanduloso-pedicelado e séssil formado de 6-8 células radiais maiores que se intercalam com 3 células menores, e a camada basal formada por 1-2 tricomas glandular-estipitado; acúleos esparsos, deltóides, 2-2,5 mm de comprimento, glabros, ferrugíneos, com base comprimida, ápice recurvo, agudo e ferrugíneo na planta adulta, aciculares e levemente retrorsos, ca. 5mm, na planta jovem.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA: Brasil: Bahia, Ceará, Goiás, Paraíba, Pernambuco, Piauí(?). Apresenta uma distribuição contínua na região Nordeste, onde a maioria das coletas foi realizada, principalmente na área da caatinga, onde foi coletada a maior parte das amostras examinadas. Estas evidências sugerem que é uma espécie nativa do Nordeste brasileiro, de onde é proveniente a maioria do material examinado.

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA: Nenhuma referência bibliográfica ou mesmo pessoal foi encontrada quanto ao uso na medicina popular ou pelo seu aproveitamento na alimentação (AGRA, 1991). Todavia, testes preliminares realizados com frutos

verdes para detecção de solasodina (BARBOSA-FILHO; AGRA & BATTACHARYYA, 1990) evidenciaram resultados bastante satisfatórios com o alto teor de solasodina, um alcalóide esteroidal precursor para a síntese de drogas esteroidais, ca. de 0.85% do peso seco dos frutos.

OBS.: *Solanum baturitense* Huber é o epíteto de *Solanum rhytidoandrum* Sendtn.

2.7. *Solanum stramonifolium* Jacq.



Arbusto, ereto ramificado, fortemente armado, 1-2 m de altura; caule cilíndrico 4-5 mm de largura; indumento tomentoso pulverulento constituído de tricomas adpresso estrelados, com 5-8 raios laterais de 0,1-0,2 mm, sem ou curto apiculados; distribuídos compactamente nos ramos jovens e esparsos nos ramos adultos; extremamente decíduos; acúleos esparsos, base lateralmente comprimida, ápice recurvo, agudo, ferrugíneo, glabrescentes, com tricomas estrelados, esparsos.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA: Panamá, Colômbia, Venezuela, Trinidad, Suriname, Guiana Francesa, Peru, Brasil (Amapá, Amazonas, Ceará, Maranhão, Pará, Paraíba, Pernambuco, Roraima), AGRA (1991).

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA: É uma espécie ocasionalmente cultivada no Peru e Colômbia pelos frutos comestíveis (WHALEN *et al.*, 1981). *S. stramonifolium* não é uma espécie utilizada na alimentação ou na medicina popular.

NOMES LOCAIS: "Jurubeba"; "Joa" (AGRA, 1991).

4. Objetivos

- a) Isolar e identificar os principais metabólitos especiais das partes aéreas e tricomas de espécies de *Solanum*.
- b) Avaliar as atividades espasmolítica e moluscicida, citotoxicidade frente ao carcinoma de Erlich e inibição da enzima topoisomerase de extratos e/ou substâncias naturais isoladas das diferentes partes das plantas ou de seus derivados.

5. Experimental Geral

5.1. Equipamentos e reagentes

Os pontos de fusão foram determinados em placa de aquecimento MEL-TEMP II, Laboratory Devices USA, utilizando capilar, sem correção dos valores. Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Perkin-Elmer 1600/1605 FT-IR em KBr e/ou filmes de NaCl. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear, ^1H e ^{13}C (incluindo experimentos em 2D) foram registrados em espectrômetros Bruker DRX-500, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente; Bruker ACX-200 (200 e 50 MHz); Bruker AMX-300 (300 e 75 MHz) e JEOL JNM-GX-400 (400 e 100 MHz). Como referência interna foi usado tetrametilsilano ou resíduo do solvente CHCl_3 (δ_{H} 7.27) e o pico central do tripleto em δ_{C} 77.00 do CDCl_3 . As rotações ópticas foram medidas em um polarímetro digital JASCO, modelo DIP 370. O espectro de massa de alta resolução foi obtido por impacto de elétrons (70 eV) em um aparelho Varian VG Autospec Autospectrometer (UNICAMP). Os espectros de massa de baixa resolução foram registrados em cromatógrafo a gás HP-5880A acoplado a espectrômetro de massas computadorizado HP-5897A de analisador de íons quadrupolo e ionização por impacto de elétrons, 70 eV; CG/EM Varian Saturn 2000; CG/EM HP-5989A.

Os dados referentes ao aparelho de CLAE estão descritos no capítulo IV, IV.2.1. Instrumental.

A cromatografia em coluna foi realizada tendo como suporte sephadex LH-20 (Sigma, USA); óxido de alumínio Merck, atividade II-III (neutro) segundo Brockmann e sílica gel (230-400 e 70-230 mesh, Vetec). A cromatografia em camada preparativa (CCP) foi feita em placas de sílica gel 60 PF₂₅₄, Merck e Vetec, sobre suporte de vidro e espessura de 1mm. As substâncias foram detectadas por irradiação ultravioleta. Foram usadas Placas de sílica gel 60 PF₂₅₄ Merck para cromatografia em camada fina (CCF) e como reveladores foram utilizados, além da detecção por irradiação ultravioleta (254 e 366 nm), reagentes de Draggendorff, Mayer e Liebermann-Burchard; soluções de $\text{AlCl}_3\text{-EtOH}$ (1%), ácido difenilbórico etanolamina-MeOH (NP, 1%), sulfato cérico (1%)- H_2SO_4 (10%), orcinol(1%)- H_2SO_4 (10%) e

anissaldeído 0.25%-H₂SO₄ 2%-AcOH. Alguns solventes comerciais foram destilados antes de serem utilizados.

5.2. Derivatizações

A preparação de derivados das substâncias isoladas das espécies de *Solanum* serviu para realização de testes biológicos dos mesmos e em alguns casos facilitou a análise dos dados espectrais devido o aumento da solubilidade em clorofórmio.

5.2.1. Metilação

a) Diazometano

A solução de diazometano era preparada de acordo com o VOGEL e adicionada em excesso às substâncias dissolvidas em CHCl₃ ou MeOH. O solvente era evaporado fornecendo as substâncias metiladas.

b) Sulfato de dimetila

Para a permetilação com sulfato de dimetila o flavonol foi dissolvido em acetona e adicionado 1,1 eq. de K₂CO₃ e 1,1 eq. de sulfato de dimetila para cada hidroxila livre. A mistura resultante foi agitada durante 2h a temperatura ambiente com monitoramento usando placa cromatográfica em camada fina. Após a reação, o solvente foi removido em rotavapor sob pressão reduzida e o óleo obtido suspenso em água (cerca de 50 mL). Foram adicionados 5 mL de solução de hidróxido de amônio concentrado e lavado com 3 vezes (15 mL) de CH₂Cl₂. As frações orgânicas reunidas foram secas com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotavapor. Em alguns casos foram feitas recristalizações em acetona ou MeOH (CAMARA *et al.*, 2001)

5.2.2. Acetilação com anidrido acético e piridina

As substâncias foram dissolvidas com anidrido acético e piridina (1:1) e deixou-se a mistura em repouso por 48 horas, então sendo lavada com água destilada gelada formando um precipitado. O precipitado foi filtrado e lavado várias vezes com água destilada, dissolvido em diclorometano e seco com sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente em rotavapor obtiveram-se as substâncias acetiladas (SHRINER, 1979).

6. Referências

- ABBAS, F. A. Flavonoidal content of *Solanum unguiculatum* (A.) Rich. *Zagazig. J. Pharm. Sci.* **8**(2), 1-6, 1999. CAN 134:219756 AN 2000:895228.
- AFIFI, M. S.; HASSAN, M. A.; EL – SHARKAWY, S. H. Antimicrobial flavonoids from *Solanum dohium* Fres. *Bull. Fac. Pharm. (Cairo Univ.)* **37**(2), 119-124, 1999. CAN 132:163461 AN 1999:809054.
- AGRA, M. F. & BARBOSA-FILHO, J. M. Levantamento da flora medicinal da Paraíba e triagem fitoquímica. *Rev. Bras. Farm.*, **71**(3), 72-76, 1990.
- AGRA, M. F. & NEE, M. A New Species of *Solanum* subgenus *Leptostemonum* (Solanaceae) from northeastern, *Brittonia* **49** (3), 350-353, 1997.
- AGRA, M. F. A new species of *Solanum* subgenus *Leptostemonum* (Solanaceae) from Chapada da Diamantina, Bahia, Brazil. *Novon* **9**, 292-295, 1999.
- AGRA, M. F. Estudo taxonômico do gênero *Solanum* (Solanaceae) no município de João Pessoa, Paraíba–Brasil, Tese de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, 1991.
- AGRA, M. F. Flora da Bahia: Solanaceae. Inédito (Dados não-publicados).

- AGRA, M. F. Revisão taxonômica de *Solanum* sect. *Erythrotrichum* Child (Solanaceae). [Tese de Doutorado-Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo], São Paulo, 2000.
- ANDERSON, G. J.; STEINHARTER, T. P.; COOPER-DRIVER, G. A. Foliar flavonoids and the systematics of *Solanum* sect. *Basarthrum*. *Systematic Botany* **12**(4), 534-540, 1987.
- ANGENOT, L. Spectrophotometric and chromatographic study of flavone and coumarin derivatives of *Solanum schimperianum*. *Plant. Med. Phytother.* **3**(4), 234-54, 1969. CAN 73:11373 AN 1970:411373.
- ATAÍDE J. R. Atividade farmacológica dos extratos de Jurubeba-roxa, *Solanum paludosum* Moric., Tese de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 1982, 99 p.
- BANDYUKOVA, V. A. & SERGEEVA, N. V. Rutin in some cultivated plants. *Chem. Nat. Comp.* **10**(4) 535-536, 1974.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; BHATTACHARYYA, J. Solasodina de *Solanum baturitense* Huber. In XLI Congresso Nacional de Botânica, Sociedade de Botânica do Brasil, Fortaleza, Livro de Resumos, p. 313, 1990.
- BARNABAS, C. G. G.; NAGARAJAN, S. Chemical and pharmacological studies on the leaves of *Solanum melongena*. *Fitoterapia*, **60**(1), 77-78, 1989.
- BHATTACHARYYA, J. Isolation of solasodine from the fruits of *Solanum asperum* and *Solanum paludosum*., *J. Nat. Prod.*, **47**(6), 1059, 1984.
- BIARD, J. F.; VERBIST, J. F.; MONNET, R. *Solanum pseudocapsicum*. II. Flavonoid glycosides. *Plant. Med. Phytother.* **8**(1), 63-71, 1974. CAN 81:60858 AN 1974:460858.
- BOHM, B. A. Introduction to Flavonoids. Harwood. Reading, 1999.

CAMARA, C. A., ROSA, M.A., PINTO, A.C., VARGAS, M.D., Secondary amines and unexpected aza-anthraquinones from 2-methoxylapachol, *Tetrahedron*, **57**(47), 9569-9574, 2001.

CHIALE, C.A.; CABRERA, J. L.; JULIANI, H. R. Kaempferol 3-(6"-cis-cinnamoylglucoside) from *Solanum elaeagnifolium*. *Phytochemistry*, **30**(3), 1042-1043 (1991).

CUEVA, L. E.; USUBILLAGA, A. N. Flavonoids of *Solanum oblongifolium*. *Fitoterapia* **59**(4), 339-340, 1988.

D'ARCY, W. G. In: The biology and taxonomy of the Solanaceae (Hawkes, J. G., Lester, R. N. and Skelding, A., eds), Academic Press, London, 3-49, 1979.

DUBEY, P. & GUPTA, P. C. A new flavonol glycoside from the flowers of *Solanum xanthocarpum*. *Phytochemistry* **17**(12) 2138-2138, 1978.

GBILE, Z. O. & ADESINA, S. K. Taxonomy and chemistry of Nigerian *Solanum scabrum*. *Fitoterapia* **56**(1), 11-16, 1985.

HARBORNE J. B. Plant polyphenols.6. Flavonol glycosides of wild and cultivated potatoes. *Biochem J.* **84**(1), 100-8, 1962.

HARBORNE, J. B. & SWAIN, T. In: The biology and taxonomy of the Solanaceae (Hawkes, J. G., Lester, R. N. and Skelding, A. D., eds), Academic Press, London, 257-268, 1979.

HARBORNE, J. B. Comparative biochemistry of flavonoids-V. Luteolin 5-glucoside and its occurrence in the umbelliferae. *Phytochemistry*, **6**, 1569-1573, 1967.

HARBORNE, J. B. Comparative biochemistry of the flavonoids, Academic Press, London, 1967.

HARBORNE, J. B. Flavonoids and Evolution of angiosperms. *Biochem. Syst. Ecol.* **5**(1), 7-22, 1977.

HUMPHREYS, F. R. The occurrence and industrial production of rutin in southeastern Australia. *Econ. Bot.* **18**, 195-256, 1964.

KUBO, I; VIEIRA, P. C.; FUKUHARA, K. Efficient isolation of the insect growth inhibitory flavone glycoside rutin from two tropical medicinal plants by rotation locular countercurrent chromatography (RLCC). *J. Liq. Chromatogr.* **13**(12), 2441-2448, 1990.

KUMARI, G. N. K.; RAO, L. J. M.; RAO, N. S. P. Flavonol 3-O-methyl ethers from *Solanum pubescens*. *J. Nat. Prod.* **48**(1), 149-50, 1985.

KUMARI, G. N. K.; RAO, L. J. M.; RAO, N. S. P. Myricetin methyl ethers from *Solanum pubescens*. *Phytochemistry*, **23**(11), 2701-2702, 1984.

LIN, YUN-LIAN; WANG, WAN-YI; KUO, YUEN-HSIUNG; CHIEH-FU. Nonsteroidal constituents from *Solanum incanum* L. *J. Chin. Chem. Soc.* **47**(1), 247-251, 2000.
CAN 132:332060 An 2000:191916.

NAWWAR, M. A. M.; EL-MOUSALLAMY, A. M. D.; BARAKAT, H. H. Quercetin 3-glycosides from the leaves of *Solanum nigrum*. *Phytochemistry*, **28**(6), 1755-7, 1989.
NEE, M. Solanaceae IV: Advances in Biology and Utilization, *Royal Botanic Gardens, Kew*, p. 285-333, 1999.

RAPPAPORTT, I; GIACOPELLO, D.; SELDES, A. M.; BLANCO, M. C.; DEULOFEU, V. Phenolic glycosides from *Solanum glaucophyllum*: A new quercetin triglycoside containing D-apiose. *Phytochemistry* **16**, 1115-1116, 1977.

REYES, A.; CUESTA, F.; GOMEZ, M. Scopoletin and scopoletin-7-O-glucoside in *Solanum valdiviense* and *Solanum gayanum*. *Rev. Latinoam. Quim.* **19**(1), 33, 1988.

REZNIK, H. & WIETSCHER, G. The flavonoid patterns of tuber-bearing *Solanum* species. I. Characterization of flavonoid glycosides, *Z. Pflanzenphysiol.* **95**(3), 239-53, 1979. CAN 92:3187 AN 1980:3187.

SCHILLING, E. E. Foliar flavonoids of North American *Solanum* Section *Solanum*. *Biochem. Syst. Ecol.* **12**(1), 53-55; 1984.

SCHMID, R. D. & HARBONE, J. B. Mass-spectrometric identification of a kaempferol tetraglycoside from *Solanum* seed, *Phytochemistry*, **12**(9), 2269-2273, 1973.

SHABANA, M. M. & EL-ALFY, T. S. Investigation of the constituents of *Solanum laciniatum* Ait. Flowers. *Egypt. J. Pharm. Sci.* **19**(1-4), 337-47. CAN 95:3392 AN 1981:403392.

SHRINER, R. L. The systematic identification of organic compounds, 6th ed., John Wiley & Sons, Singapore, p. 160, 1979.

SILVA, T. M. S.; BRAZ-FILHO, R., CARVALHO, M. G.; AGRA, M. F. Flavonoids and an alkaloid from *Solanum paludosum* Moric. *Biochem. Syst. Ecol.* **30**(5), 479-481, 2002.

SILVA, T. M. S.; BRAZ-FILHO, R., CARVALHO, M. G.; AGRA, M. F. Flavonoides isolados de *Solanum crinitum* Lam. (astragalina e tilirosida) e de *Solanum jabrense* (7,4'-O-dimetilquercetina, 7-O-metilkanferol e 3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina), Resultados dados não-publicados.

SILVA, T. M. S.; CASTRO, R. N.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, M. F. Flavonoid aglycones from trichomes and aerial parts of six species of *Solanum* subg. *Leptostemonum* (Solanaceae) by HPLC, Resultados dados não-publicados.

STEINHARTER, T. P.; COOPER-DRIVER, G. A.; ANDERSON, G. J. The phylogenetic relationship of *Solanum* flavonols. *Biochem. Syst. Ecol.* **14**(3), 299-305, 1986.

- SWAIN, T. In *Pigments in Plants* (Czygan, F., ed.). Fischer. Stuttgart, 224-236, 1980.
- VOGEL, A. I. *Vogel's Textbook of practical organic chemistry*, 5th ed., Longman, England, p. 433, 1989.
- WALKOWIAK, A.; TANIOCZNIK, B.; KOWALEWKI, Z. Flavonoid compounds of *Solanum dulcamara* L. *Herba Pol.* **36**(4), 133-7, 1990. CAN 116:231873 AN 1992:231873.
- WHALEN, M. D. & MABRY, T. J. New 8-hydroxyflavonoids from *Solanum* section *Androceras*. *Phytochemistry*, **18**, 263-265, 1979.
- WHALEN, M. D. Conspectus of species groups in *Solanum* subgenus *Leptostemonum*, *Gentes Herbarum* **12** (4), 179-292, 1984.
- WHALEN, M. D. Foliar flavonoids of *Solanum* section *Androceras*-Systematic survey, *Syst. Botany* **3**(3), 257-276, 1978.
- WHALEN, M. D.; COSTICH, D. E.; HEISER, C. B. Taxonomy of *Solanum* section *Lasiocarpa*, *Gentes Herbarum*, **12**(2), 41-129, 1981.
- WIETSCHER, G. & REZNIK, H. The flavonoid patterns of tuber-bearing *Solanum* species. II. The flavonoid glycosides of the species from series I-XVI. *Z. Pflanzenphysiol.* **97**(1), 79-88, 1980. CAN 92:143309 AN 1980:143309.
- WILLIAMS, C. A. & HARBONE, J. B. Flavone and flavonol glycosides. In: *The Flavonoids Harborne Advances in Research since 1986*, J. B. (Ed.), Chapman & Hall, London, 337-385, 1994.
- WOLLENWEBER, E. & JAY, M. Flavones and flavonols . In: *The Flavonoids Advances in Research since 1980*, Harbone, J. B. (Ed.), Chapman & Hall, London, 233-296, 1988

CAPÍTULO I
ESTUDO QUÍMICO DE *SOLANUM PALUDOSUM* MORIC. E DERIVATIZAÇÃO
DOS FLAVONÓIDES

I-1. Isolamento e purificação dos constituintes

A parte aérea de *Solanum paludosum* foi coletada em janeiro de 1999 no campus universitário de João Pessoa, Paraíba e colocada em estufa a 40 °C por uma semana.

O material seco e pulverizado (1,1 Kg), foi percolado com etanol (20 L) e metanol (15 L) até completa exaustão mostrada pela descoloração da solução extrativa. A solução extrativa foi concentrada em rotavapor a 40 °C sob pressão reduzida resultando em um extrato de cor verde escura (100,1 g). Este extrato foi dissolvido em ácido acético 20% (500 mL) e adicionada uma mistura de benzeno:éter (1:1, 500 mL), obtendo-se duas soluções extrativas, uma benzeno:éter etílico e outra ácida. A solução extrativa ácida foi alcalinizada com NH₄OH até pH 9-10 (100 mL), fornecendo um precipitado (PPT; 2,96 g) e uma solução extrativa básica (FAB). A solução extrativa básica foi lavada com clorofórmio (700 mL) e butanol (4 L) que após evaporação resultou em extrato clorofórmico básico (FCB; 0,41 g) e extrato butanólico básico (FBB; 39,0 g)

A solução extrativa benzeno:éter foi evaporada em rotavapor fornecendo o extrato benzeno etéreo (50,0 g) que foi suspenso em metanol:água (8:2, 500 mL) e particionado com hexano (3 L) e AcOEt (5 L). Os solventes hexano e AcOEt foram evaporados fornecendo os extratos hexânicos (31,5 g) e acetato de etila (12 g).

O extrato hexânico foi solubilizado com CH₂Cl₂ e precipitado com MeOH a frio. O resíduo da água mãe foi submetido à cromatografia em coluna com sílica gel usando como eluentes: hexano, AcOEt e MeOH em ordem crescente de polaridade fornecendo doze frações. A segunda fração forneceu cristais em forma de agulhas incolores, R_f 0,9 (CH₂Cl₂:hexano, 9:1) e ponto de fusão 240-242°C, substância **26** (30,4 mg). A terceira fração forneceu a substância **27** (233,0 mg), cristais em forma de agulhas incolores, R_f 0,5 (CH₂Cl₂:hexano, 9:1) e ponto de fusão 195-197°C. A quinta fração após recristalização rendeu 200 mg da substância **8**, cristais amarelos em forma de agulhas, R_f 0,5 (CH₂Cl₂) e ponto de fusão 160-161°C. Este flavonóide (20,0 mg) foi acetilado originando **10** (22,9 mg, P.F.:169-170 °C) e metilado com sulfato de dimetila fornecendo **9** (40,0 mg). A décima fração forneceu um precipitado amorfo, substâncias **26** e **27** (66,3 mg, P.F.: 277-280°C), R_f 0,6 (CH₂Cl₂) de cor azul-violácea quando corado com Liebermann, revelando a estrutura triterpênica. A sexta

fração foi submetida à cromatografia em coluna com sílica gel, tendo como eluentes: hexano, acetato de etila e metanol, em grau crescente de polaridade fornecendo quatro frações sendo que a terceira fração originou cristais em forma de agulhas amarelas, substância **13** [25,0 mg, Rf 0,4 (CH₂Cl₂), P.F.: 150-152°C] que foi acetilada (15,0 mg) fornecendo o flavonóide **14** (10,0 mg). As substâncias em mistura, **28** e **29** (30,0 mg) foram acetiladas com anidrido acético e piridina, fornecendo **30** e **31**.

O resíduo obtido da solução AcOEt (12 g) foi cromatografado em sephadex LH-20 (Coluna A), fornecendo quatro frações. A segunda fração (A-2) foi submetida a coluna rápida de sílica gel sob média pressão, coletando-se dez frações. As frações A-2/2 e A-2/3 forneceram um material cristalino amarelo, em forma de agulhas, que foi separado da água mãe e foi identificado como os flavonóides **12** (120,0 mg, P.F.: 185-186 °C) e **1** (40,0 mg, P.F.: 218-219 °C), respectivamente. O flavonóide **1** foi metilado (4,0 mg) e acetilado (10,0 mg) fornecendo a substância metilada **4** (4,0 mg, P.F.: 156-157 °C) e o flavonóide peracetilado **5** (10 mg, P.F.: 176-178 °C). A substância **12** (43,6 mg) também foi acetilado com anidrido acético na presença de piridina, fornecendo o produto **15** (40 mg P.F.:164-168 °C). A água mãe da fração A-2/3 foi submetida a várias filtrações em colunas de sephadex LH-20 e sílica gel sob média pressão, obtendo-se uma mistura contendo os flavonóides **1** e **17** (40 mg), o flavonóide **2** puro (50 mg P.F.:238-240 °C) e a mistura de **2** e **18** (19,8 mg). A terceira fração da coluna A (A-3) foi cromatografada em sephadex LH-20, obtendo-se uma mistura das substâncias **7** e **24** (10 mg), e a alcaloide **25** (5 mg, P.F.:235-238 °C). O flavonóide **2** (18,0 mg) foi acetilado e forneceu **4** (14,0 mg, P.F.:239-240 °C).

O Esquema I.1 mostra o procedimento usado para o isolamento das substâncias de *Solanum paludosum*.

I-2. Preparação do flavonóide iodado e dos derivados da morina e quercetina

O flavonol **8**, contendo apenas uma hidroxila livre na posição 5, é um excelente substrato para a funcionalização das posições 6 e 8 livres do flavonol. Relatos da literatura química envolvendo a funcionalização de moléculas análogas na síntese de bichalconas e biflavonas (ALI & ILYAS, 1986) nos motivaram a tentar o acoplamento oxidativo de **8** com KOH/I₂ na síntese de uma biflavona. Como resultado, foram isolados uma mistura de 8-iodo-flavonol (~75%), 6-iodo flavonol(~25%) e uma pequeníssima quantidade do derivado 6,8-diiodado.

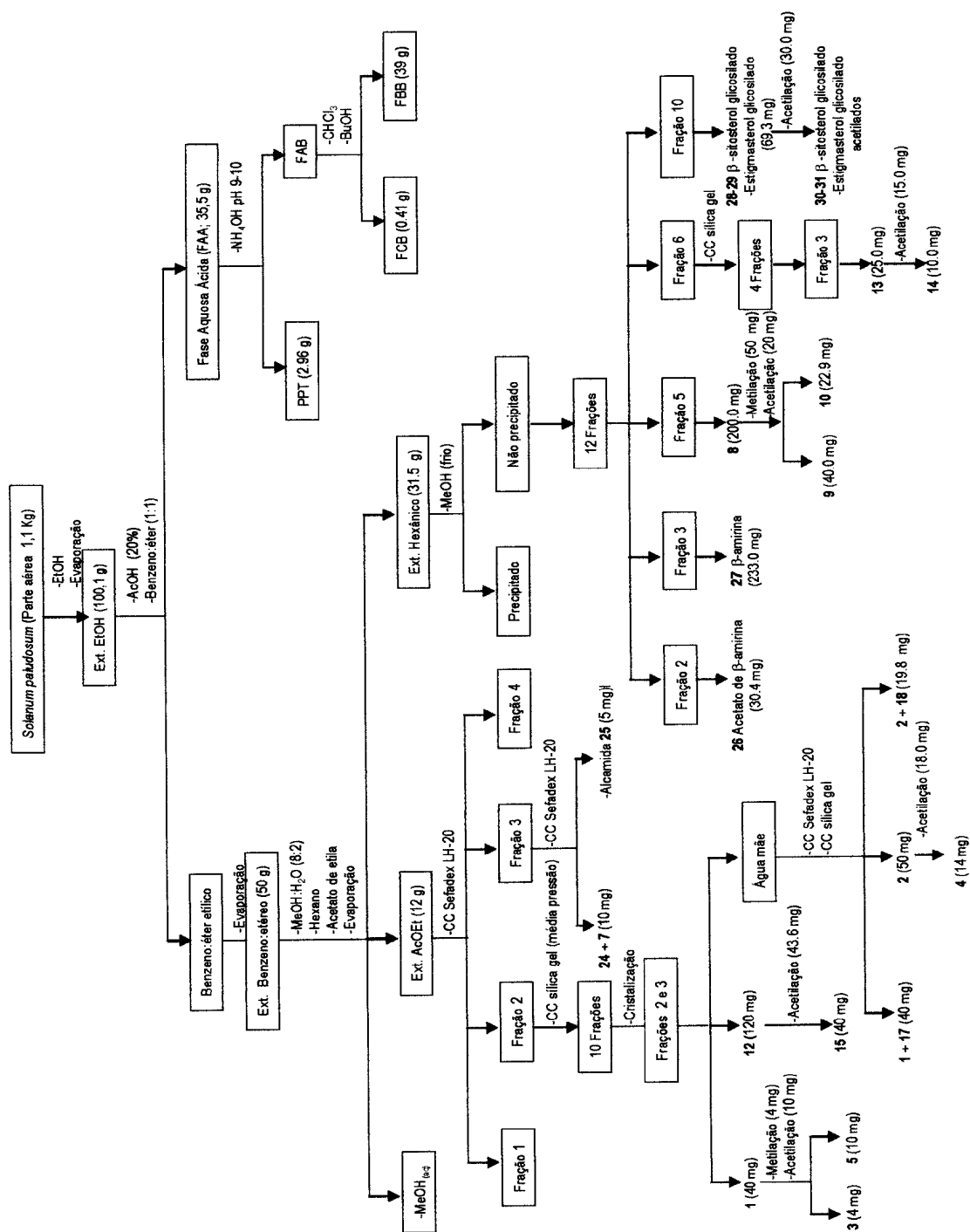
A substância **8** (20 mg, 17.9 mMol) foi dissolvido em MeOH e, a seguir, uma solução metanólica de KOH (40 mg) foi adicionada sob agitação contínua. Adicionou-se então iodo (10 mg, 0.04 mMol), em pequenas porções. A reação foi agitada por 3h a temperatura ambiente, extraída com CH₂Cl₂, lavada com H₂O destilada e evaporada para fornecer aproximadamente 20 mg da mistura **16**, **22** e **23** (cerca de 74% de rendimento, baseado em **8**).

Para confirmação da formação de flavonóides iodados, o derivado da morina, flavonol **20**, quando submetido às mesmas condições reacionais, originou um perfil de reação semelhante ao de **8** (dados não-publicados).

A quercetina (110 mg) foi acetilada com anidrido acético (1 mL) e piridina (1 mL), a mistura foi deixada em repouso por 48 horas e então lavada com água destilada gelada formando um precipitado. O precipitado foi filtrado e lavado várias vezes com água destilada, dissolvido com diclorometano e seco com sulfato de sódio anidro, evaporado em rotavapor fornecendo a substância **11**.

A Morina (**19**, 100 mg) foi metilada com diazometano, sendo dissolvida em MeOH e adicionado diazometano em excesso. O solvente foi evaporado fornecendo a substância **20** (50 mg)

Para obtenção da substância **21**, 100 mg (0,331 mMol) de Morina (**19**) foram dissolvidas com acetona (15 mL), adicionado 1,14 g de K₂CO₃ (5 eq. x 5OH) e 1,8 mL (1,1 eq. x 5OH). A mistura foi agitada durante 2h a temperatura ambiente e a reação foi controlada com placa cromatográfica em camada fina fornecendo 90 mg.



Esquema I.1- Marcha para o isolamento das substâncias de *Solanum paludosum*

I-3. Resultados e discussão

I-3.1. Determinação estrutural dos constituintes

I-3.1.1. Triterpenos

A análise dos espectros registrados na região de IV das substâncias **26** (Figura I.1) e **27** (Figura I.2) revelam absorções características de estiramentos e deformações de CH de carbono sp^3 em 2851 cm^{-1} e 2856 cm^{-1} , sinais de estiramento de carbonila de éster (1731 cm^{-1}) para a substância **26** e sinais de estiramento de álcool (3285 cm^{-1}) e C-O (1191 cm^{-1}) para a substância **27**. Os espectros de RMN de ^1H das duas substâncias (**26**, Figura I.3; **27**, Figura I.6) mostram características de triterpenos com o aparecimento dos sinais de metilas entre δ_{H} 0,8 e 1,5. A diferença entre os espectros das duas substâncias é o sinal do hidrogênio metínico (H-3) em **26** que aparece em campo mais baixo, δ_{H} 4,51 sugerindo a presença de um grupo acetoxila. No espectro de **27** H-3 é representado pelo multiplete em δ 3.22. No espectro de RMN ^{13}C e DEPT do triterpeno **27** (Figura I.7) o sinal do CH carbinólico possui δ 78.98, enquanto que em **26** este sinal ocorre em δ 80.91 revelando a desproteção exercida pelo grupo acetato (Figura I.4). A presença do grupo acetato em **26** foi confirmado também pelos sinais em δ 21,26 (metila) e δ 171.03 (carbonila). O espectro de massas de **26** (Figura I.5) obtido com CG-MS possui picos em 468 (M^+ $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$), 408 (M^+ - CH_3COOH), 218 (100%) e 203 (47%) e o espectro de **27** (Figura I.8) mostra os picos em 426 (M^+ $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$), 393, 218 (100%), 189, 135 e 119. Estes triterpenos são comuns no reino vegetal e são conhecidos como acetato de β -amirina (**26**) e β -amirina (**27**). Os assinalamentos dos deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono-13 (Tabela I.1) são semelhantes aos da literatura (AHMAD & ATTA-UR-RAHMAN, 1994).

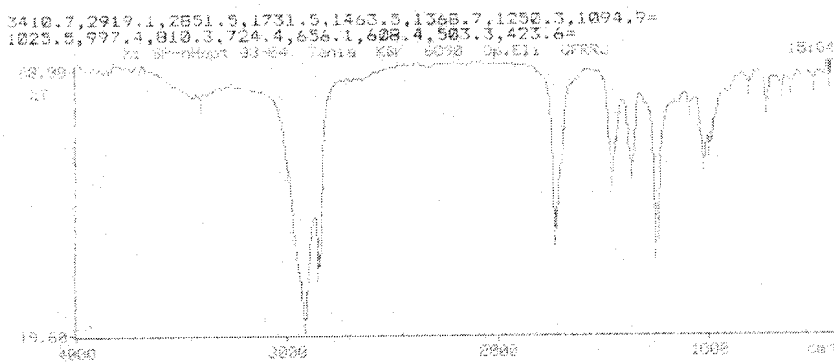


Figura I.1. Espectro de IV de 26 (acetato de β -amirina)

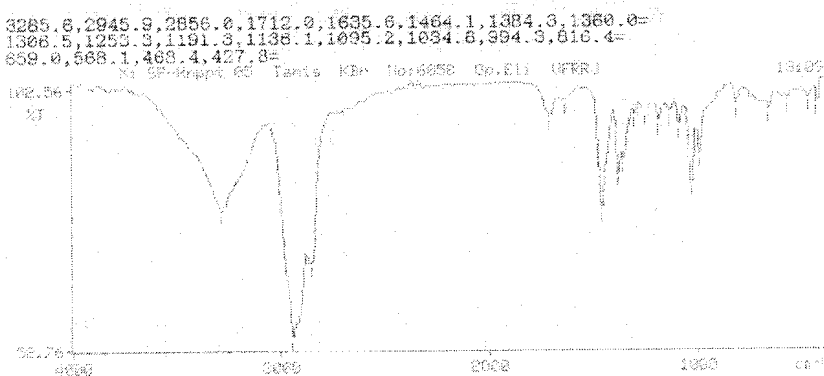


Figura I.2. Espectro de IV de 27 (β -amirina)

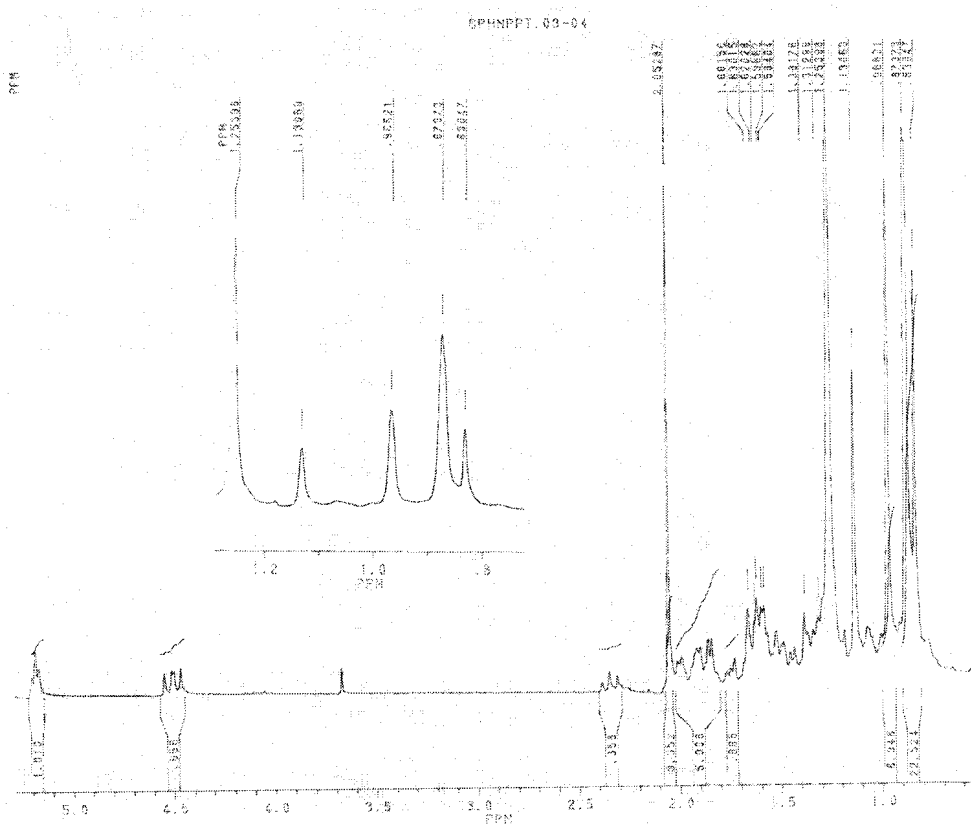


Figura I.3. Espectro de RMN de ^1H de 26 (acetato de β -amirina)

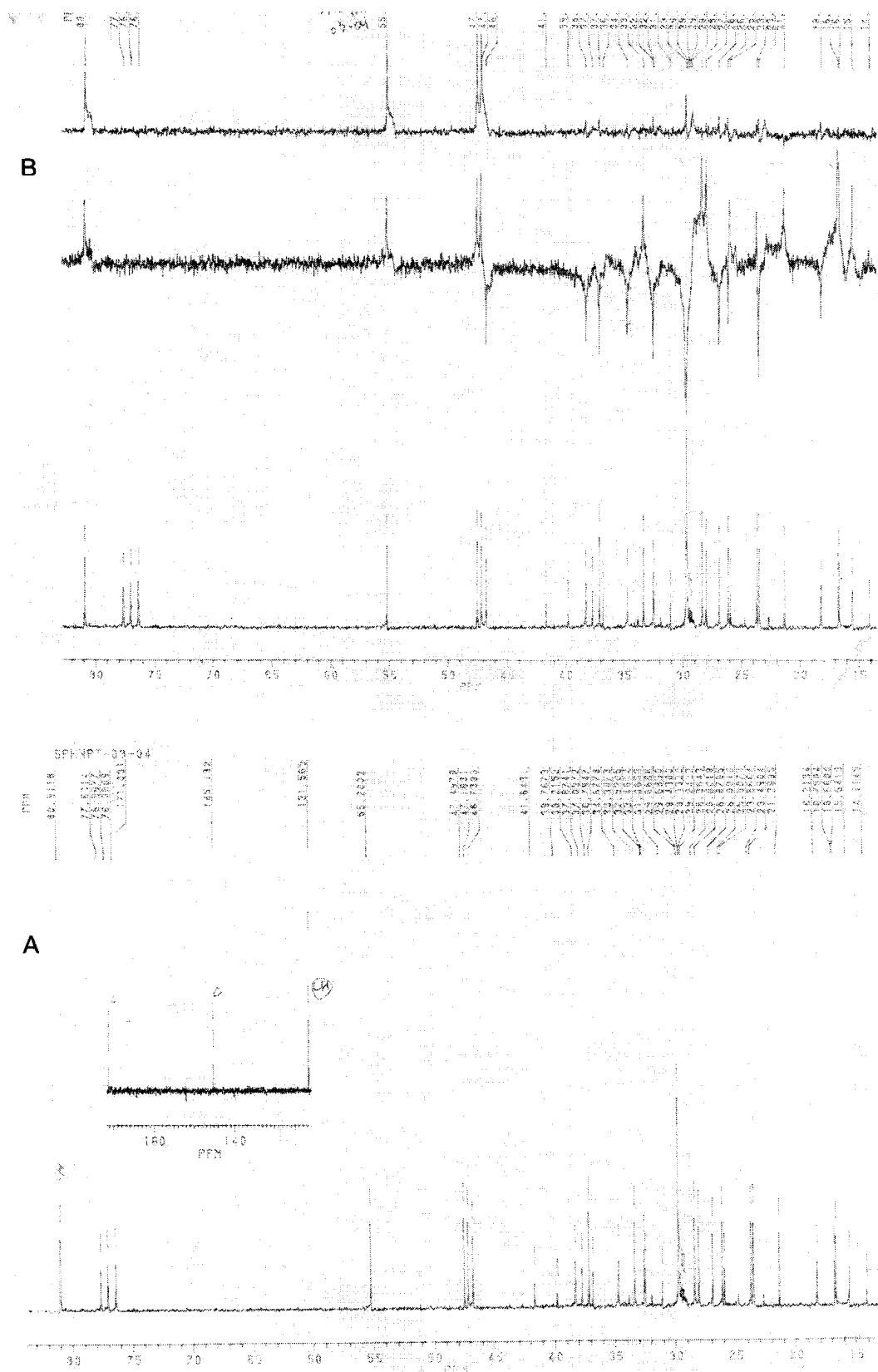


Figura I.4. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT (B) de 26 (acetato de β -amirina)

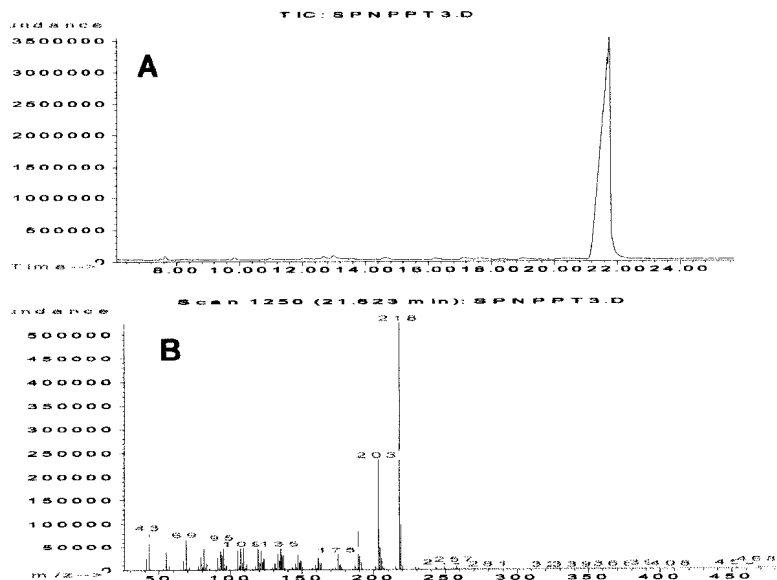


Figura I.5. A: cromatograma (Coluna HP-5, Programação: 60 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min) e B: espectro de massas de 26

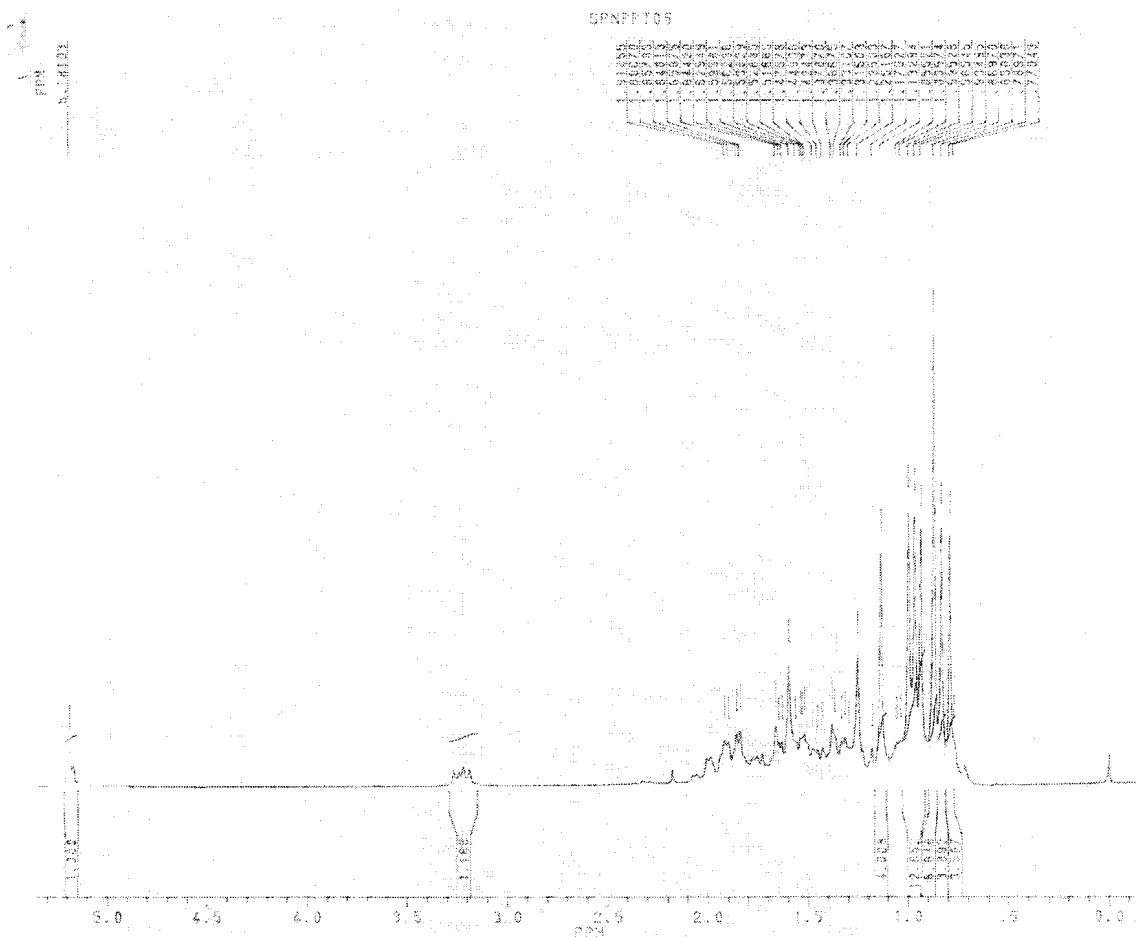


Figura I.6. Espectro de RMN de ^1H de 27 (β -amirina)

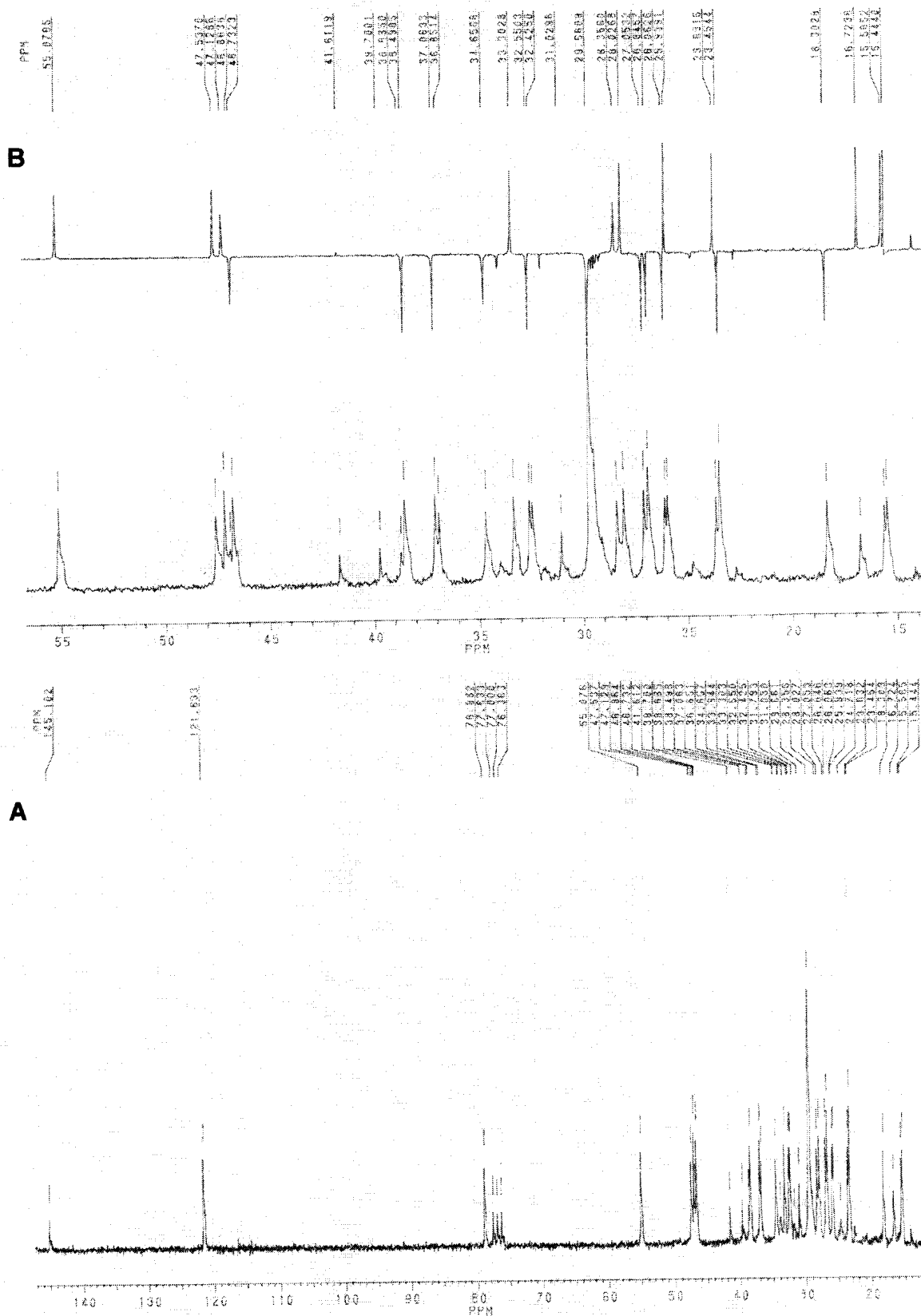


Figura I.7. Espectro de RMN DE ^{13}C (A) e DEPT (B) de 27 (β -amirina)

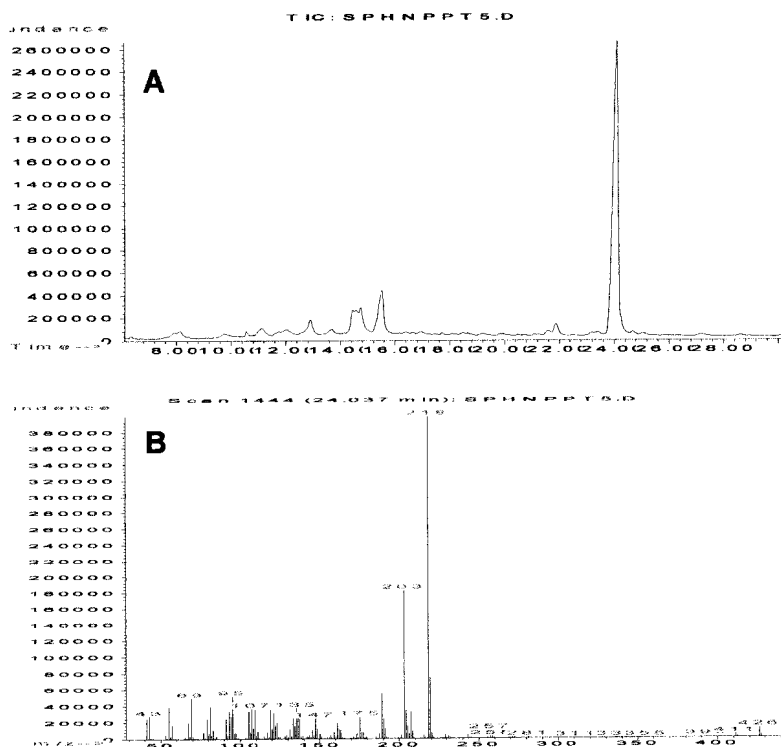
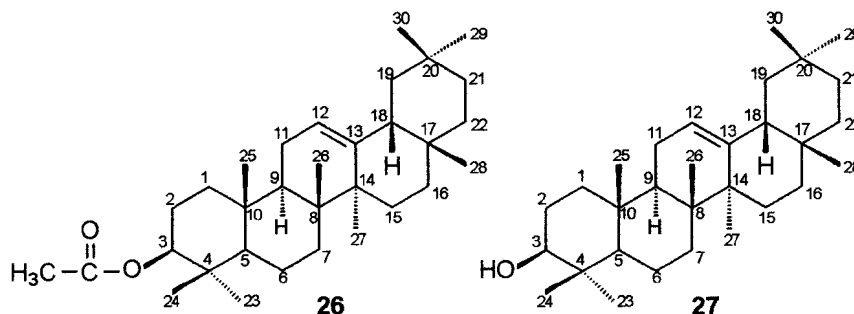


Figura I.8. A: cromatograma (Coluna HP-5, Programação: 60 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min). e B: espectro de massas de 27

Tabela I.1. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e RMN de ^{13}C (50,2 MHz) de 26 (acetato de β -amirina) e 27 (β -amirina) em CDCl_3

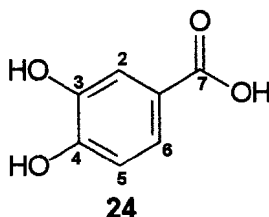


26		27		
C	δ_{C}	δ_{H} (mult)	δ_{C}	δ_{H} (mult)
4	37,64	-	38,69	-
8	39,73	-	39,70	-
10	36,76	-	36,85	-
13	145,13	-	145,10	-
14	41,61	-	41,61	-
17	32,49	-	32,43	-
20	31,03	-	31,03	-
CH				
3	80,91	4,51(dd)	78,98	3,22 (m)
5	55,20		55,08	0,77
9	47,46		47,54	1,66 (sl)
12	121,57	5,19 (t)	121,73	5,18 (t)
18	47,16		47,13	1,98
CH ₂				
1	38,18		38,49	1,88 (dd, 3,5, 11,3)
2	26,84		27,05	1,63
6	18,18		18,30	1,48
7	32,49		32,55	1,52
11	23,46		23,45	1,90
15	26,06		26,85	1,25
16	26,84		27,05	
19	46,70		46,73	1,64
21	34,64		34,66	
22	37,06		37,06	
CH ₃				
23	28,33	0,87 (s)	28,03	0,99 (s)
24	15,51	0,87 (s)	15,44	0,79 (s)
25	16,63	0,97 (s)	15,57	1,13 (s)
26	16,72	0,97 (s)	16,72	0,96 (s)
27	26,01	1,13 (s)	25,94	0,97 (s)
28	27,96	0,83 (s)	28,36	0,83 (s)
29	33,27	0,87 (s)	33,30	0,93 (s)
30	23,63	0,87 (s)	23,63	0,87 (s)
H ₃ C-CO	21,26	2,05 (s)		
H ₃ C-CO	171,03	-		

I-3.1.2. Derivado de ácido benzóico

A substância **24** foi identificada em mistura com o flavonóide **7**. O espectro de RMN de ^1H de **24** (Figura A.33 do anexo) e COSY ^1H - ^1H (Figura A.36 do anexo) mostra sinais de hidrogênios aromáticos em δ 7,47 (1H, dd, $J=2,0$ e $8,5$ Hz) acoplando com dois dubletos, um em δ_{H} 7,52 (1H, $J=2,0$ Hz) e outro em δ_{H} 6,89 (1H, $J=8,5$ Hz). Os espectros de RMN de ^{13}C (PND, Figura A.34 do anexo), DEPT (Figura A.35 do anexo) e 2D (HMQC, Figura A.37 e HMBC, Figura A.38 do anexo) asseguram inequivocamente que a substância **24** é o ácido protocatecuico, um derivado do ácido benzóico comumente encontrado em plantas. A tabela I.2 mostra os dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D). A integração dos sinais de **24** e de **7** mostra que estão presentes na mistura na proporção de aproximadamente 2:1.

Tabela I.2. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C ^1D e ^2D (500 e 125 MHz, respectivamente) de **24** (ácido protocatecuico) em acetona- D_6



C	^1H - ^{13}C -HMQC- $^1J_{\text{CH}}$		^1H - ^{13}C -HMBC- $^nJ_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	121,82	-	-	H-5
3	144,24	-	H-2	H-5
4	149,37	-	H-5	2H-2,6
7	166,23	-	-	2H-2,6
CH				
2	116,12	7,52 (d, 2,0)	-	H-6
5	114,35	6,89 (d, 8,5)	-	-
6	122,25	7,47 (dd, 8,5, 2,0)	-	H-2

I-3.1.3. Alcamida

O espectro de IV (Figura I.9) de **25** mostra absorção em 1659 cm^{-1} referente ao estiramento da carbonila de amida α - β -insaturada. O espectro de massas revelou o pico correspondente $[\text{M}]^+$ em m/z 283, consistente com a fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$. Um pico proeminente em m/z 164 é devido à perda de $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}$

a partir de $[M]^+$. O pico em m/z 147 foi atribuído ao fragmento $C_9H_7O_2$ e em 120 corresponde a C_8H_8O devido a quebra da ligação em C-8. Os fragmentos de massas da substância **25** são mostrados na própria estrutura (Figura I.15). O espectro de RMN de 1H (Figura I.10) e 1H - 1H -COSY (Figura I.11) mostra quatro pares de hidrogênios aromáticos participando de dois sistemas AA'-BB', um par em δ 7,06 (d, $J=8,2$) e δ 6,76 (d, $J=8,2$); e outro em δ 7,42 (d, $J=8,6$) e 6,85 (d, $J=8,2$) atribuídos a porção tiramina e coumaroil, respectivamente. Um dubleto em campo baixo δ 6,48 (d, $J=15,5$) referente a um hidrogênio olefínico mostra acoplamento *trans* com outro hidrogênio em δ 7,46 (d, $J=15,5$) e foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos 7 e 8 da porção coumaroil, respectivamente. Dois tripletos em campo alto δ 2,74 (t, $J=7,2$) e δ 3,48 (t, $J=7,2$) acoplando entre si foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos da porção tiramina 7' e 8', respectivamente. O espectro de RMN de ^{13}C junto com o DEPT (Figura I.12) mostra sinais para 17 carbonos, 5 quaternários, 10 metínicos e 2 metilênicos. A atribuição dos carbonos metínicos foi feita através da interpretação do espectro de HMQC (Figura I.13) e dos carbonos quaternários através do espectro de HMBC (Figura I.14). A estrutura N-*p*-coumaroiltiramina para **25** foi comprovada pela comparação com os dados da literatura (ZHAO *et al.*, 1992). Os dados de RMN de 1H e de ^{13}C (1D e 2D) estão na Tabela I.3. Esta substância foi equivocadamente dita como nova por RAHMAN (1992) que a chamou de **paprazine**, porém já existia com o nome de N-*p*-coumaroiltiramina (FUKUDA, 1983; ZHAO *et al.*, 1992) e foi isolada de cultura de células de *S. khasianum*. Como substância natural está sendo registrada agora no gênero *Solanum*.

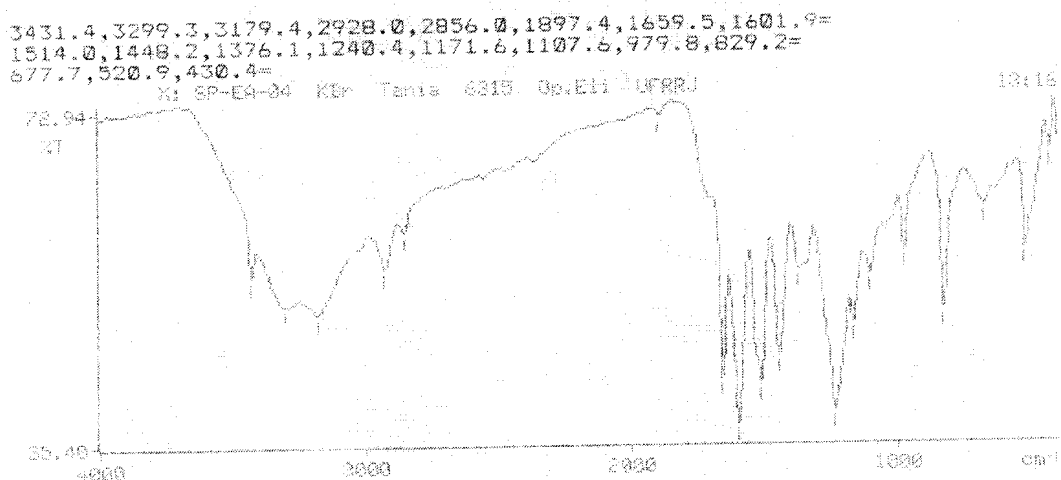


Figura I.9. Espectro de IV da substância **25** (N-*p*-coumaroiltiramina)

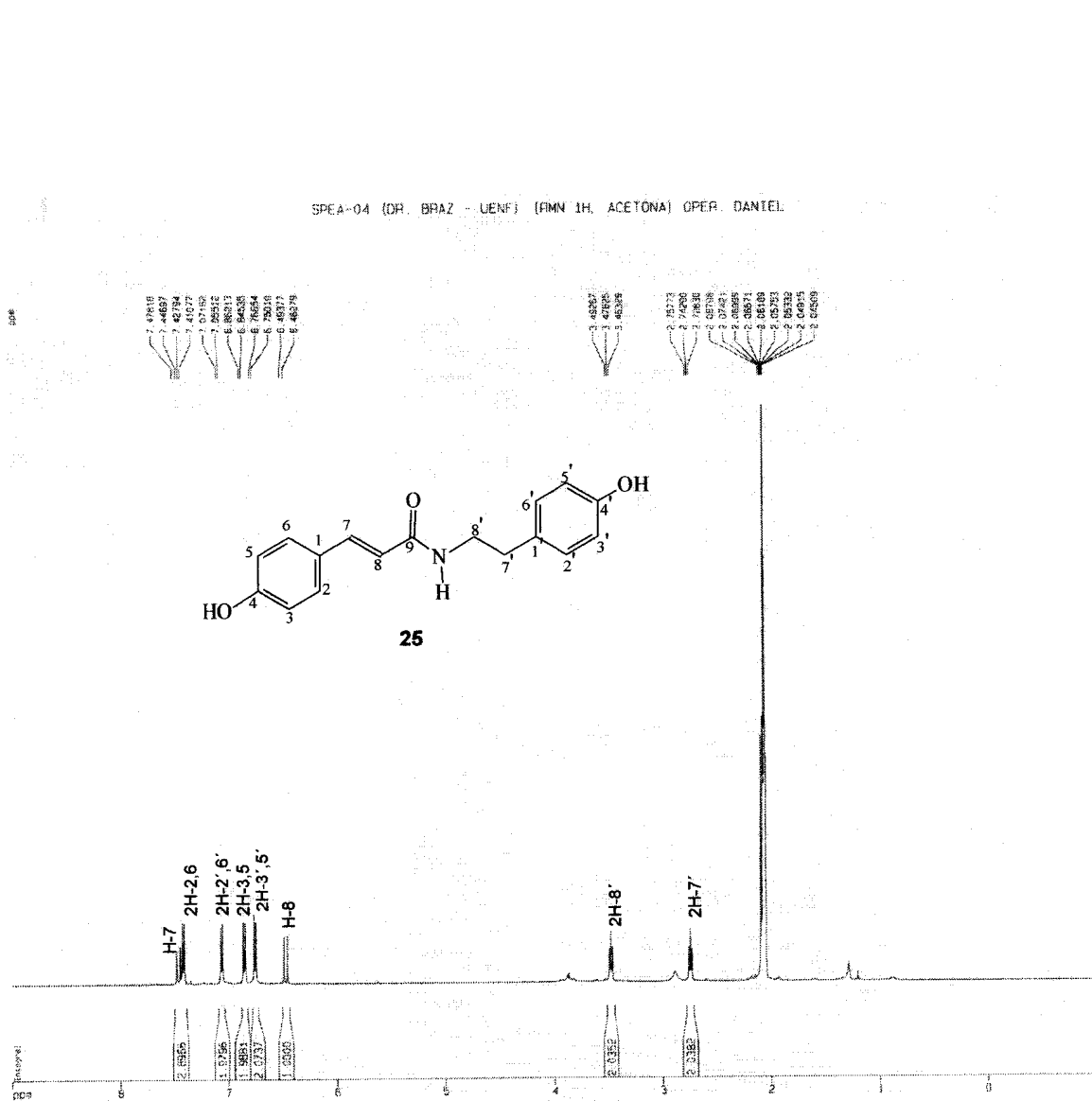
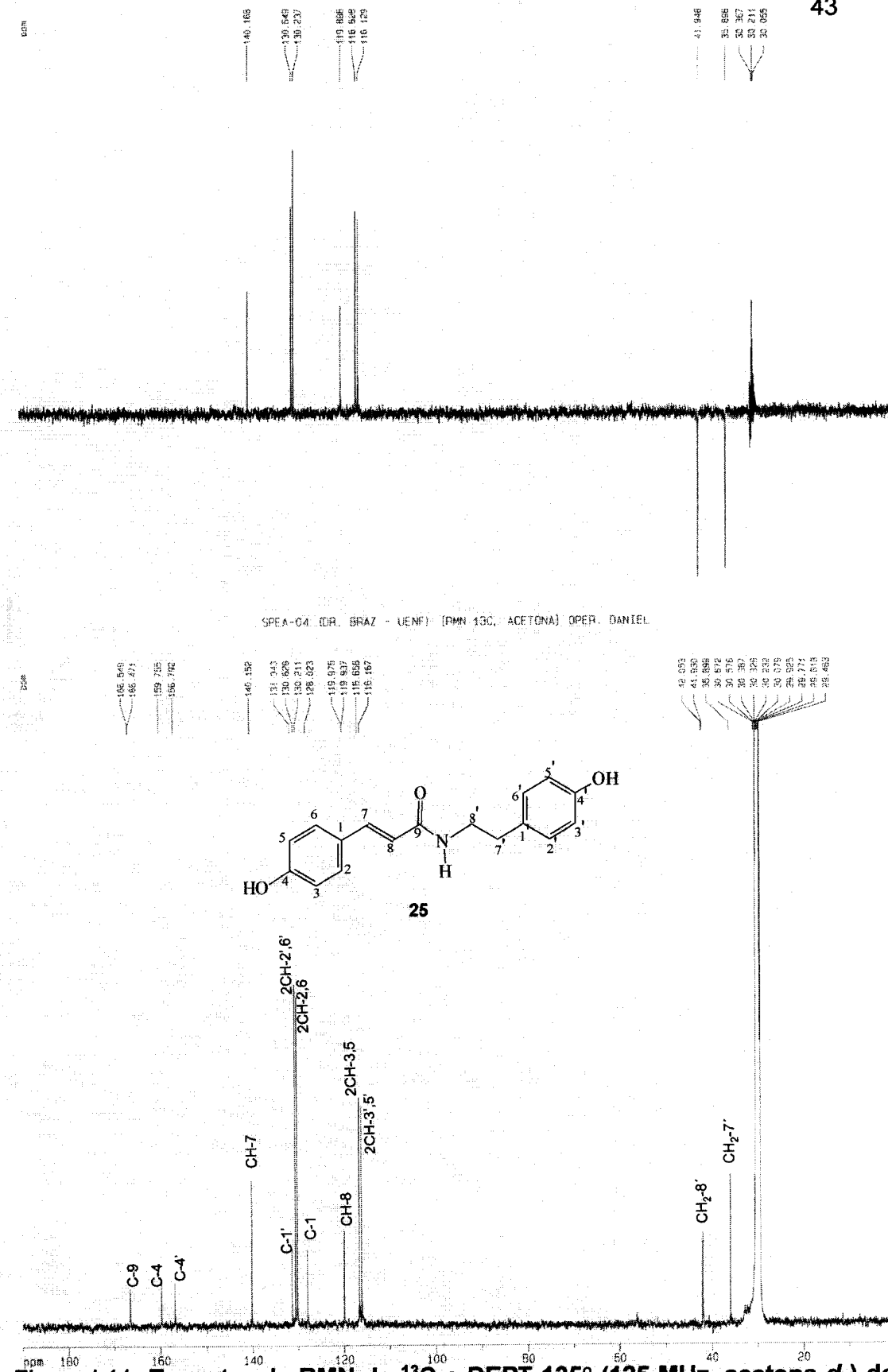


Figura I.10. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, acetona- d_6) de 25 (N-*p*-coumaroiltramina)



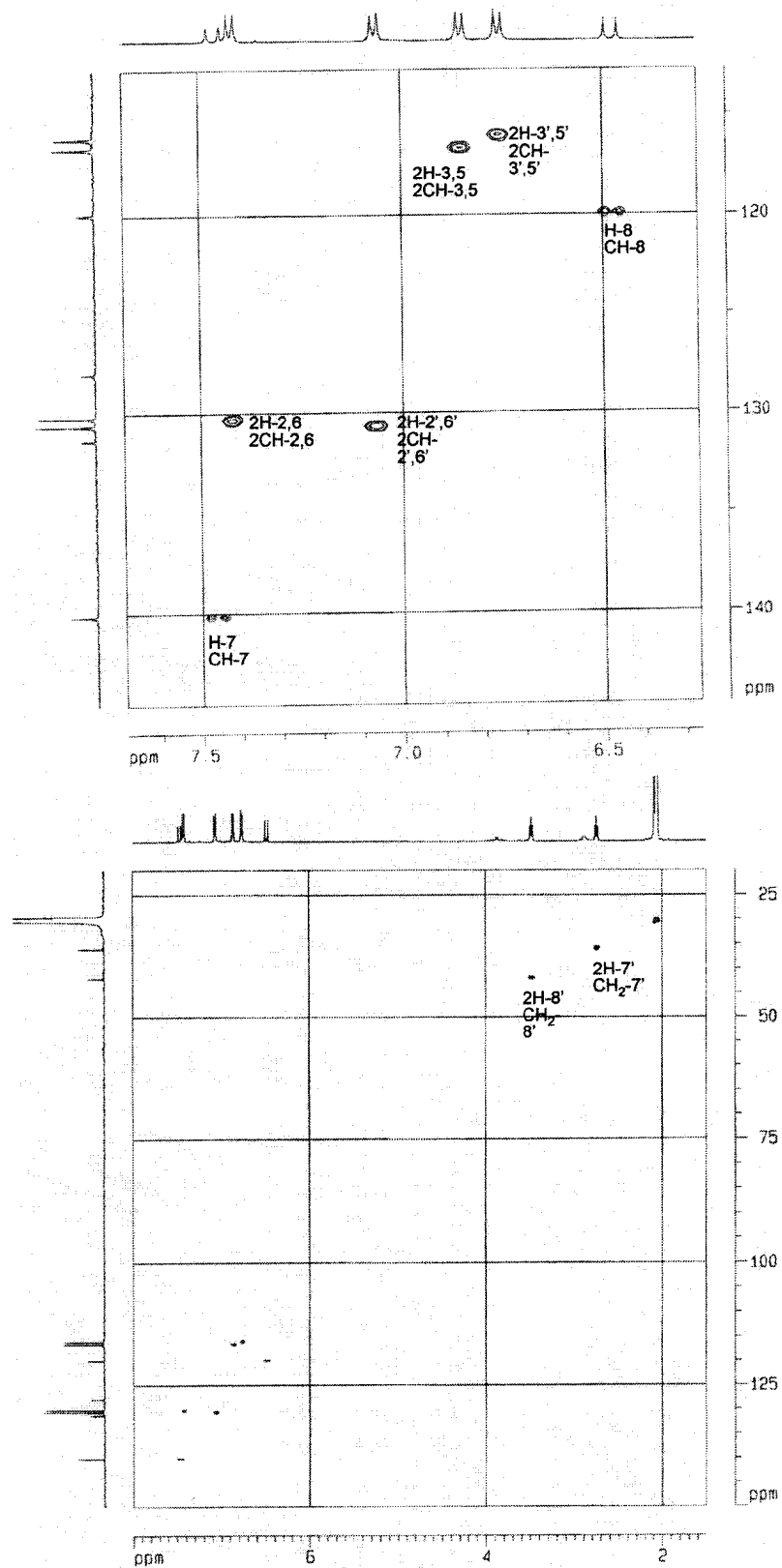


Figura I.13. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, acetona-*d*₆) de 25 (N-*p*-coumaroiltiramina)

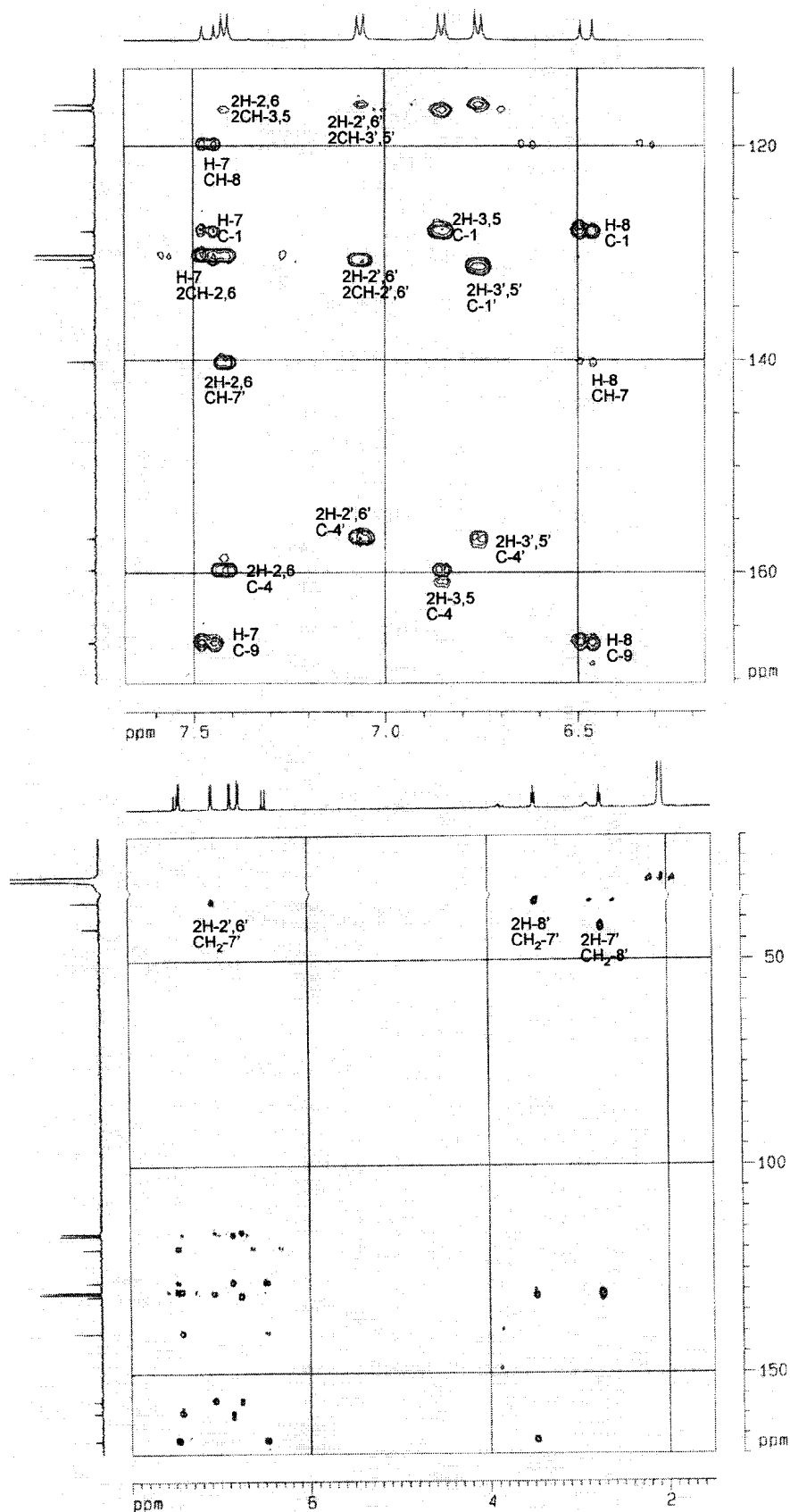


Figura 1.14. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, acetona-*d*₆) de 25 (N-p-coumaroiltiramina)

Tabela I.3. Dados de RMN-1D e 2D de ^1H e de ^{13}C (500 e 125 MHz, respectivamente) de 25 (N-*p*-coumaroiltiramina) em acetona- d_6

C	$^1\text{Hx}^{13}\text{C-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{Hx}^{13}\text{C-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	155,95	-	-	2H-2',6'
3	137,86	-	-	MeO-3
4	178,09	-	-	-
5	160,96	-	H-6	-
7	165,13	-	H-6,H-8	MeO-7
9	156,33	-	H-8	-
10	105,21	-	-	H-6,H-8
1'	120,52	-	-	2H-3',5'
4'	160,29	-	-	2H-2',6'
CH				
6	97,77	6,35 (sl)	-	H-8
8	92,37	6,74 (sl)	-	H-6
2'	130,24	7,96 (d, 8,6)	-	-
3'	115,68	6,94 (d, 8,7)	-	-
5'	115,68	6,94 (d, 8,7)	-	-
6'	130,24	7,96 (d, 8,6)	-	-
CH ₃				
MeO-3	59,72	3,78 (s)	-	-
MeO-7	56,10	3,84 (s)	-	-

I-3.1.4. Saponina esteroidal

O espectro de IV da mistura **28** e **29** (Figura I.16) revela uma banda larga em 3387 cm^{-1} (OH). As absorções em 2936 cm^{-1} e 1462 cm^{-1} são referentes a presença de CH, CH₂ e CH₃ e em 1164 cm^{-1} devido a estiramento C-O. A presença de hidroxila serviu de orientação para a preparação dos derivados acetilados **30** e **31**. A parte esteroidal da aglicona foi definida pelo espectro de RMN¹H que apresenta sinais de metilas (Figura I.17, sinais simples em δ 0,67 e δ 1,25, e múltiplos entre δ 0,80 e δ 1,15) e pelo espectro de RMN de ^{13}C e DEPT (Figura I.18) que mostra sinais para 27 carbonos não glicosídicos, seis CH-O e um CH₂O, sendo um em δ 99,53 de CH anomérico, δ 79,99 do CH-3 da aglicona, 4xCH e um CH₂ da glicose. Os sinais de carbono sp² em δ 140,22 e δ 122,09 mais intensos são compatíveis com a ligação dupla em 5,6 dos esteróides e em δ 138,25 e δ 129,18 podem ser atribuídos a dupla

22,23 do estigmasterol. O hidrogênio olefínico aparece em δ 5,36 como um duplete largo, típico de H-6 de fitosteróides. A parte glicosídica foi definida pela integração dos hidrogênios no espectro de RMN de ^1H . A unidade de açúcar é β -glicose devido às seguintes evidências: um duplete em δ 4,60 ($J=8$ Hz) que pode ser atribuído ao hidrogênio anomérico (H-1') acoplado com o hidrogênio H-2' *trans*-diaxial e os demais sinais de H-3', 4', 5' e 6' em que as interações de acoplamento são assinalados no espectro de COSY- ^1H - ^1H (Figura I.19). A comparação dos valores de ^1H e ^{13}C com os da literatura (KOJIMA *et al.*, 1990; CARVALHO, 2000) confirmaram as estruturas **28** e **29** como sendo o produto natural 3-O- β -D-glicopiranosilsitosterol e 3-O- β -D-glicopiranosilestigmasterol. Uma confirmação adicional foi feita através dos dados espectrométricos dos derivados acetilados **30** e **31** (3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosilsitosterol e 3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosilestigmasterol respectivamente). Os dados de ^1H e ^{13}C estão na Tabela I.4.

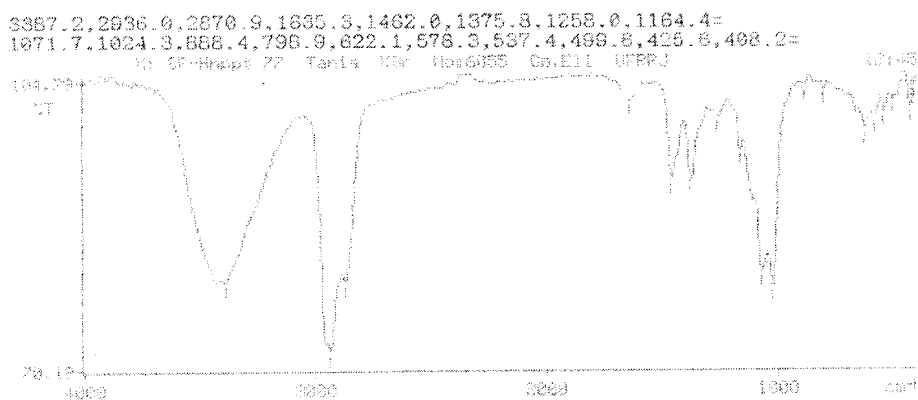


Figura I.16. Espectro de IV da mistura **28** e **29** (3-O- β -D-glicopiranosilsitosterol e 3-O- β -D-glicopiranosilestigmasterol)

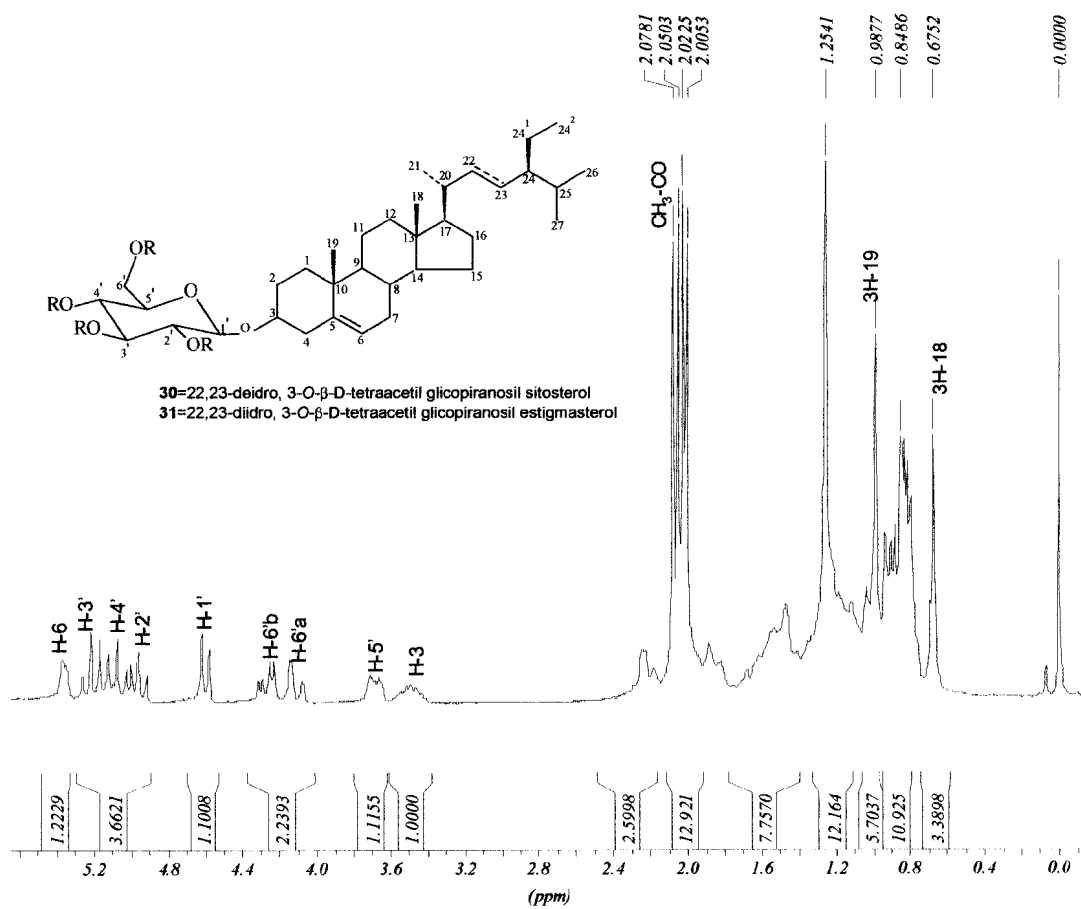


Figura I.17. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) da mistura 30 e 31 (3-O-β-D-tetraacetilglicopiranosil sitosterol e 3-O-β-D-tetraacetilglicopiranosil estigmasterol)

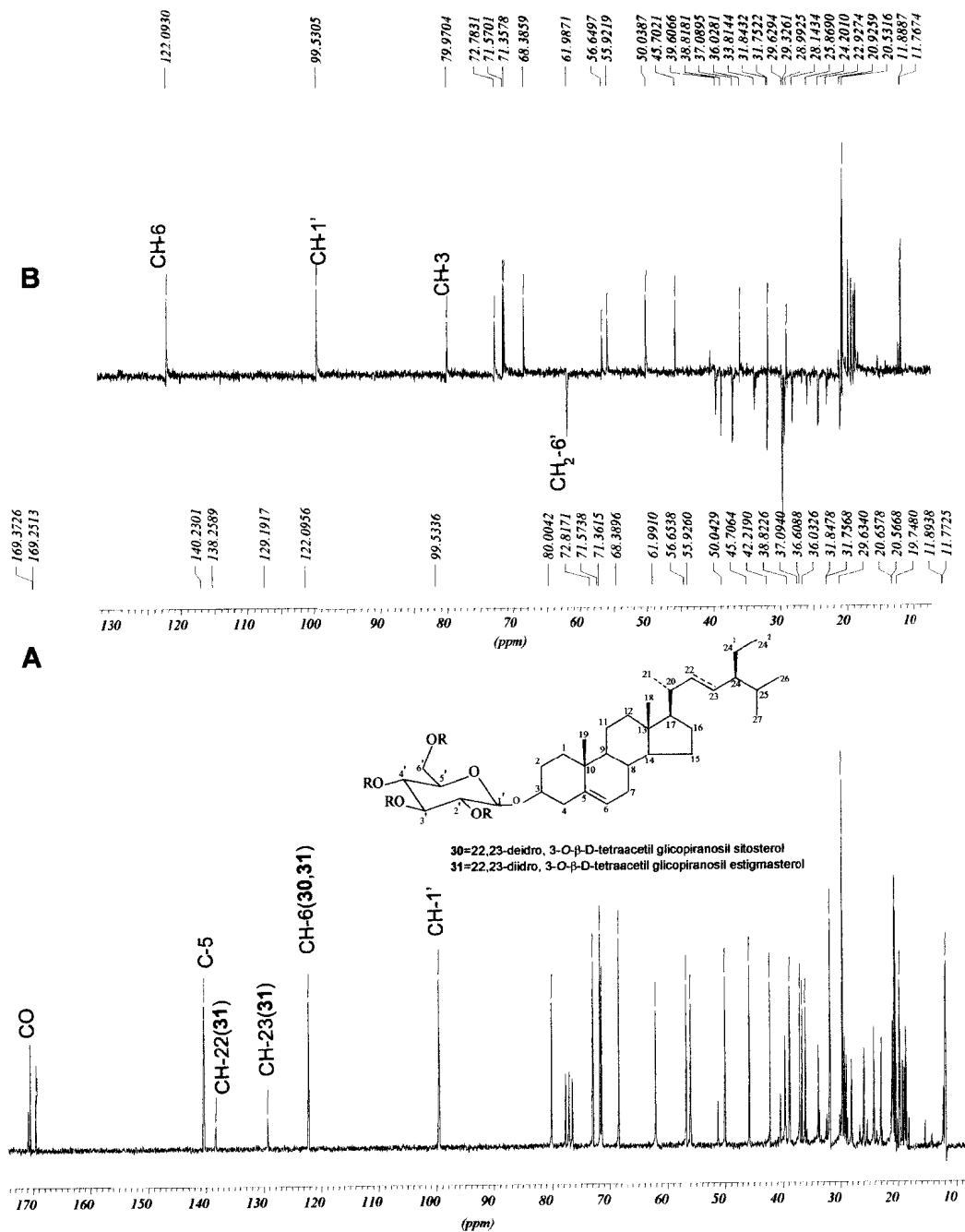
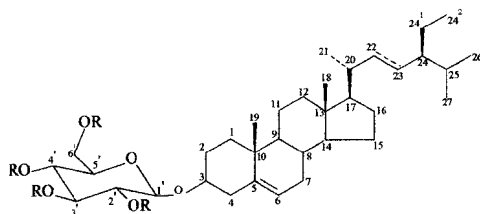


Figura I.18. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (B)] (50 MHz, CDCl_3) da mistura 30 e 31 (3-O-β-D-tetraacetilglicopiranosil sitosterol e 3-O-β-D-tetraacetilglicopiranosil estigmasterol)



30=22,23-deidro, 3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil sitosterol
 31=22,23-diidro, 3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil estigmasterol

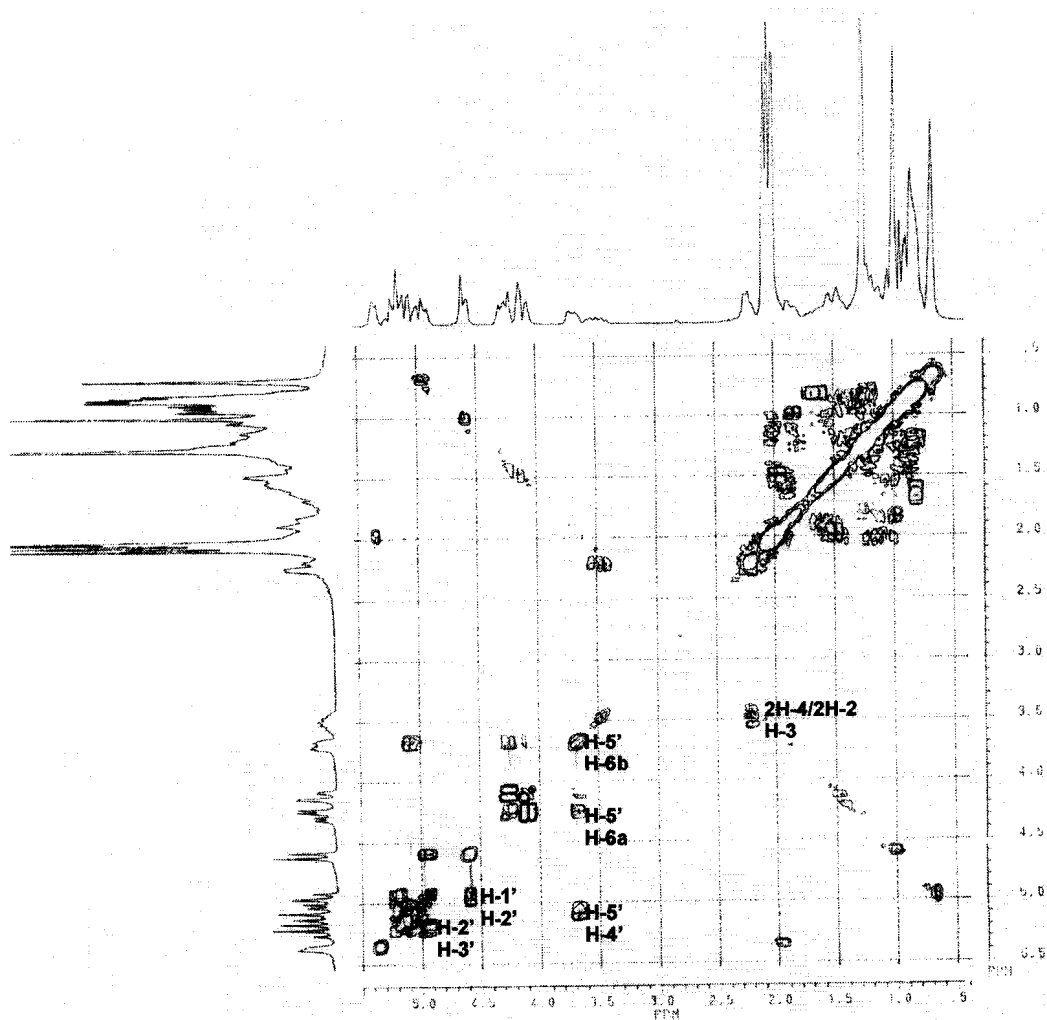
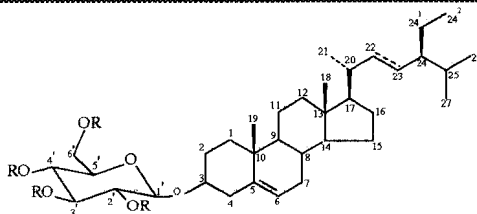


Figura I.19. Espectro de RMN COSY(200 MHz, $CDCl_3$) da mistura 30 e 31 (3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil sitosterol e 3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil estigmasterol)

Tabela I.4. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da mistura 30 e 31 (3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosilsterol e 3-O- β -D-tetraacetilglicopiranosil estigmasterol)



30=22,23-deidro, 3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil sitosterol
31=22,23-diidro, 3-O- β -D-tetraacetil glicopiranosil estigmasterol

	30		31	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} (mult)
5	140,22		140,22	
10	36,61	-	36,61	
13	42,22	-	42,22	
CH				
3	79,99	3,31 (m)	79,99	3,31 (m)
6	122,09		122,09	
8	31,76		31,76	
9	50,05		50,05	
14	56,65		56,65	
17	55,63		55,84	
20	36,04		40,43	
22	-		138,25	
23	-		129,18	
24	45,71		51,17 (CH)	
25	29,01		32,34	
1'	99,53	4,59 (d, 8,0)	99,53	4,59 (d, 8,0)
2'	71,37	4,96 (t, 10)	71,37	4,96 (t, 10)
3'	72,82	5,21 (t, 10)	72,82	5,21 (t, 10)
4'	68,39	5,02 (t, 10)	68,39	5,02 (t, 10)
5'	71,57	3,69 (m)	71,57	3,69 (m)
6'	61,99	4,27 (dd, 2,0; 8,0) 4,11 (dd, 2,0; 10)	61,99	4,27 (dd, 2,0; 8,0) 4,11 (dd, 2,0; 10)
CH ₂				
1	37,10			
2	29,35		29,35	
4	38,83	2,23 (sl)	38,83	
7	31,85	1,88 (sl)	31,85	
11	21,05		21,05	
12	39,64		39,64	
15	24,21		24,21	
16	28,16		28,85	
22	33,82		-	
23	25,91		-	
28	24,21		25,34	
CH ₃				
18	11,78	0,67 (s)	11,96	0,67 (s)
19	18,69	0,98 (s)	18,69	0,98 (s)
21	18,93	1,91 (d, 6,0)	21,15	1,91 (d, 6,0)
26	19,75	0,88 (s)	19,75	0,88 (s)
27	18,64	0,79 (sl)	21,05	0,79 (sl)
28	0,83	0,85 (sl)	25,34	0,85 (sl)
29	11,90	0,82 (sl)	11,90	0,82 (sl)
H ₃ C-CO	21,05-20,96	2,24-2,00 (s)	21,05-20,96	2,24-2,00 (s)
H ₃ C-CO	170,66-169,24		170,66-169,24	

Tabela 1.5 Deslocamentos químicos dos hidrogênios em ppm (δ) dos flavonóides naturais e derivados

Flavonóide	OH ou OMe ou AcO													
	H-3	H-6	H-8	H-2'	H-3'	H-5'	H-6'	3	5	7	8	2'	3'	4'
(1) 3,5,4'(OH)/7(OMe) ^a	-	6,32(sl)	6,71(sl)	8,06(d)	6,92(d)	6,92(d)	8,06(d)	10,14(s)	12,46(s)	3,84(s)	-	-	-	-
(2) 5,4'(OH)/3,7(OMe) ^a	-	6,35(sl)	6,74(sl)	7,96(d)	8,67(d)	8,67(d)	7,96(d)	3,78(s)	12,65(s)	3,84(s)	-	-	-	-
(3) 3,5(OH)/7,4'(OMe) ^a	-	6,36(d)	6,75(d)	8,09(d)	6,94(d)	6,94(d)	8,09(d)	10,14(s)	12,48(s)	3,87(s)	-	-	-	3,87(s)
(4) 5,4'(OAc)/3,7(OMe) ^b	-	6,62(d)	6,83(d)	8,11(d)	7,25(d)	7,25(d)	8,11(d)	3,81(s)	2,35(s)	3,92(s)	-	-	-	2,48(s)
(5) 3,5,7(OAc)/7(OMe) ^b	-	6,65(d)	6,84(d)	7,85(d)	7,25(d)	7,25(d)	7,85(d)	2,33(s)	2,44(s)	3,91(s)	-	-	-	2,35(s)
(6) 3,5,3'(OH)/7,4'(OMe) ^c	-	6,31(d)	6,68(d)	-	-	7,11(d)	7,81(dd)	-	12,13(s)	3,92(s)	-	-	-	3,93(s)
(7) 5,7,3',4'(OH)/3(OMe) ^c	-	6,25(d)	6,48(d)	7,69(d)	-	6,99(d)	7,57(dd)	3,86(s)	12,80(s)	-	-	-	-	-
(8) 5(OH)/3,7,3',4'(OMe) ^b	-	6,37(d)	6,46(s)	7,70(d)	-	7,00(d)	7,74(dd)	3,87(s)	12,64(s)	3,89(s)	-	-	3,97(s)	3,98(s)
(9) 3,5,7,3',4'(OMe) ^b	-	6,39(d)	6,57(d)	7,74(d)	-	7,02(d)	7,71(sl)	3,83(s)	3,96(s)	3,93(s)	-	-	3,98(s)	3,98(s)
(10) 5(OAc)/3,7,3',4'(OMe) ^b	-	6,61(d)	6,82(d)	7,67(d)	-	6,99(d)	6,69(dd)	3,97(s)	2,47(s)	3,91(s)	-	-	3,96(s)	3,97(s)
(11) 3,5,7,3',4'(OAc) ^b	-	6,88(d)	7,34(sl)	7,70(sl)	-	7,38(sl)	7,74(sl)	2,44(s)	2,34(s)	2,34(s)	-	-	2,34(s)	2,34(s)
(12) 5,3'(OH)/3,7,8,4'(OMe) ^b	-	6,41(s)	-	7,78(sl)	-	6,98(d)	7,76(sl)	3,87(s)	12,47(s)	3,94(s)	3,91(s)	-	-	3,97(s)
(13) 5(OH)/3,7,8,3',4'(OMe) ^b	-	6,43(s)	-	7,82(d)	-	7,03(d)	7,87(dd)	3,87	12,47(s)	3,93(s)	3,91(s)	-	3,96(s)	3,97(s)
(14) 5(OAc)/3,7,8,3',4'(OMe) ^b	-	6,66(s)	-	7,78(d)	-	7,01(d)	7,84(dd)	3,81	2,47(s)	3,96(s)	3,96(s)	-	3,97(s)	3,98(s)
(15) 5,3'(OAc)/3,7,8,4'(OMe) ^b	-	6,66(s)	-	7,91(d)	-	7,10(d)	8,08(dd)	3,81	2,46(s)	3,96(s)	3,89(s)	-	2,36(s)	3,96(s)
(16) 5(OH)/3,7,8,3',4'(OMe)/8(l) ^b	-	6,42(s)	-	7,98(d)	-	7,03(d)	8,06(dd)	3,91	12,92 (s)	3,98(s)	4,01(s)	-	4,01(s)	3,99(s)
(17) 5,4'(OH)/7(OMe) ^a	6,82(s)	6,32(sl)	6,71(sl)	7,94(sl)	6,92(d)	6,92(d)	7,94(sl)	-	12,94(s)	3,84(s)	-	-	-	-
(18) 5,4'(OH)/3,7,8(OMe) ^a	-	6,58(d)	-	7,97(d)	6,98(d)	6,98(d)	7,97(d)	3,80(s)	12,55(s)	3,91(s)	3,81(s)	-	-	10,27(s)
(19) 3,5,7,2',4'(OH) ^a	-	6,18(d)	6,29(sl)	-	6,32(d)	6,38(d)	7,23(d)	-	12,62(s)	-	-	-	-	-
(20) 5(OH)/3,7,2',4'(OMe) ^b	-	6,35(d)	6,37(d)	-	6,57(d)	6,60(dd)	7,37(d)	3,78(s)	12,68(s)	3,88(s)	-	3,84(s)	-	3,83(s)
(21) 3,5,7,2',4'(OMe) ^b	-	6,33(d)	6,43(d)	-	6,56(d)	6,59(dd)	6,37(d)	3,79(s)	3,96(s)	3,87(s)	-	3,85(s)	-	3,83(s)

Os espectros foram obtidos em a=DMSO- d_6 , b= $CDCl_3$ e c=Acetona- d_6 tendo como referência interna o TMS. As constantes de acoplamento para os sinais múltiplos foram de aproximadamente: $J_{6,8}=2.0$; Hz; $J_{2',3'}=8.5$ Hz; $J_{2',6'}=2.0$ Hz; $J_{5',6'}=8.5$ Hz.

Tabela I.6. Deslocamentos químicos de carbono-13 em ppm (δ) dos flavonóides naturais e derivados

Flavonóide																	OMe ou OAc ligado ao Carbono				
	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	3	5	7	8	3'	4'
(1) 3,5,4'(OH)/7(OMe) ^a	121,62	129,61	115,47	159,33	115,47	129,61	147,25	135,99	176,03	160,39	97,47	164,91	92,02	156,12	104,05	-	-	56,03	-	-	-
(2) 5,4'(OH)/3,7(OMe) ^a	120,52	130,24	115,68	160,29	115,68	130,24	155,95	137,86	178,09	160,96	97,77	165,13	92,37	156,33	105,21	59,72	-	56,10	-	-	-
(3) 3,5(OH)/7,4'(OMe) ^a	121,56	129,57	115,45	160,35	115,45	129,57	147,25	135,96	176,02	159,30	97,46	164,89	92,02	156,09	104,03	-	-	56,08	-	-	56,03
(4) 5,4'(OAc)/3,7(OMe) ^b	128,80	130,10	122,10	151,00	122,10	130,10	152,80	141,90	-	-	108,51	163,90	98,90	158,30	122,00	56,30	-	59,90	-	-	-
(5) 3,5,4'(OAc)/7(OMe) ^b	127,29	129,52	121,98	150,73	121,98	129,52	154,11	133,68	170,09	152,69	108,68	163,80	98,85	158,18	111,08	21,12	21,16	56,06	-	-	20,62
(6) 3,5,3'(OH)/7,4'(OMe) ^c	122,32	115,53	146,19	-	111,26	120,34	146,63	136,07	175,91	160,84	97,54	165,80	91,91	156,88	104,07	-	-	55,62	-	-	-
(7) 5,7,3',4'(OH)/3(OMe) ^c	121,68	114,92	144,59	147,78	114,19	120,78	155,43	137,94	178,94	161,87	98,03	163,57	93,10	156,49	104,59	58,84	-	-	-	-	-
(8) 5(OH)/3,7,3',4'(OMe) ^b	123,34	111,68	149,18	151,79	111,26	122,59	156,25	139,40	179,16	162,45	98,24	165,86	92,63	157,14	106,45	60,61	-	56,41	-	56,23	56,47
(9) 3,5,7,3',4'(OMe) ^a	122,81	111,04	148,47	150,85	110,73	121,72	153,27	140,72	174,39	160,61	95,71	164,17	92,34	158,64	108,77	59,64	55,67	55,78	-	55,57	55,84
(10) 5(OAc)/3,7,3',4'(OMe) ^b	123,06	111,24	148,73	151,10	110,83	121,87	154,19	140,88	173,14	150,50	108,03	163,26	98,64	157,74	111,38	60,00	21,18	55,97	-	56,06	55,97
(11) 3,5,7,3',4'(OAc) ^b	127,92	124,01	142,37	153,94	124,10	126,59	144,55	134,22	170,19	150,56	114,06	154,43	109,15	157,01	114,93	-	-	-	-	-	-
(12) 5,3'(OH)/3,7,8,4'(OMe) ^b	123,88	114,79	145,78	149,16	110,69	121,73	155,86	139,05	179,25	157,49	95,60	158,56	129,07	148,65	105,53	60,31	-	56,54	61,82	-	56,20
(13) 5(OH)/3,7,8,3',4'(OMe) ^b	123,53	111,56	149,22	151,88	111,41	122,73	156,02	139,18	179,42	157,79	95,83	158,80	129,20	148,86	105,75	60,56	-	56,79	61,96	56,33	56,42
(14) 5(OAc)/3,7,8,3',4'(OMe) ^b	123,38	111,19	148,95	151,37	111,19	122,26	154,19	142,30	173,60	145,73	104,49	156,01	134,94	150,28	112,41	60,16	21,34	56,69	61,64	56,09	56,15
(15) 5,3'(OAc)/3,7,8,4'(OMe) ^b	123,52	123,26	139,87	156,33	112,39	127,63	156,33	140,95	173,59	145,30	104,63	156,06	136,05	150,26	111,71	60,18	21,34	56,69	61,72	20,84	56,20
(16) 5(OH)/3,7,8,3',4'(OMe)/8(l) ^b	122,97	111,61	149,08	151,79	111,17	123,21	156,15	139,01	178,64	163,34	95,45	163,99	60,98	156,15	106,56	60,23	-	57,18	-	56,34	56,20
(17) 5,4'(OH)/7(OMe) ^a	121,09	128,57	115,99	161,22	115,99	128,57	164,07	130,03	181,95	161,30	97,96	156,13	92,67	157,24	104,68	-	-	56,03	-	-	-
(18) 5,4'(OH)/3,7,8(OMe) ^a	121,51	130,97	116,67	161,27	116,67	131,67	156,74	138,42	179,18	157,24	96,59	159,01	129,23	148,70	105,34	60,56	-	57,38	61,91	-	-
(19) 3,5,7,2',4'(OH) ^a	109,76	157,34	103,49	160,97	107,34	132,24	149,54	136,76	176,74	161,47	94,66	164,20	93,90	157,34	104,09	-	-	-	-	-	-
(20) 5(OH)/3,7,2',4'(OMe) ^b	112,61	158,92	99,06	163,13	106,71	131,84	156,71	140,25	179,01	162,27	97,95	165,44	92,39	157,62	106,71	60,75	-	55,73	-	2'=55,92	55,92
(21) 3,5,7,2',4'(OMe) ^b	112,90	159,40	98,87	162,57	104,61	131,64	153,09	142,22	173,99	161,09	95,63	163,65	92,54	158,65	109,98	60,32	56,37	55,71	-	2'=55,67	55,49

Os espectros foram obtidos em a=DMSO- d_6 , b=CDCI₃ e c=Acetona- d_6 tendo como referência interna o TMS.

Anel C

A distinção entre flavonas (H-3) e flavonóis (RO-3) é facilmente verificada pela ausência de sinal de carbono metínico em torno de δ_C 103 (CH-3 de flavonas) e a presença do sinal de C-3 em torno δ_C 136-140 (C-3, carbono não hidrogenado de flavonóis). O maior deslocamento químico do C-3 oxigenado justifica-se pelo efeito indutivo retirador de elétrons do átomo de oxigênio, que exerce efeito protetor por mesomeria sobre o átomo de carbono C-2 (AGRAWAL, 1989; MARKHAM *et al.*, 1982). O sinal de carbono C-3 oxigenado desloca-se para campo mais baixo ($> \Delta\delta_C = 30$ ppm) e o do C-2 para campo mais alto por cerca de $\Delta\delta_C=17$ ppm quando comparados com os valores correspondentes de uma flavona. O deslocamento químico do sinal da carbonila é influenciado pela interação da ligação intramolecular com o hidrogênio do grupo HO-3 e HO-5. O primeiro causando uma proteção de cerca de $\Delta\delta_C=5$ ppm e o último uma desproteção de magnitude similar. Assim, flavonas que não tem hidroxila em C-5 e 5-hidroxi-flavonóis apresentam sinais praticamente com o mesmo deslocamento químico para a carbonila, já que os efeitos acima referidos para as hidroxilas se anulam. A metilação de HO-5 elimina o efeito da ponte de hidrogênio quelatogênica sobre o C-4 e, conseqüentemente, os flavonóis com H-5 ou MeO-5 apresentam aproximadamente o mesmo deslocamento químico para a carbonila C-4. A metilação do grupo HO-3 somente reduz parcialmente este efeito sobre C-4, como pode ser visto quando comparamos o flavonol **1**, δ_{C-4} 176,03 (HO-3) com o **2** δ_{C-4} 178,09 (MeO-3).

Embora o sinal da carbonila possa fornecer informação quanto a substituição em C-5, a distinção entre flavonóis e seus 3-metoxi-derivados pode ser baseada nos deslocamentos químicos de C-2 e C-3. Comparando-se os dados de **1** com **2** pode-se deduzir claramente que a metilação do HO-3 causa uma desproteção de $\Delta\delta_C=8,7$ e 1,9 ppm nos sinais de C-2 e C-3, respectivamente. Um pequeno deslocamento nos sinais de C-10 (+1,1) e nos dois carbonos do anel C, C-1' (-1,1) e C-4' (+0,96) pode ser observado pela metilação de HO-3. Do mesmo modo, através da comparação entre a flavona **17** e o flavonol **1** nota-se que a troca de H-3 por hidroxila causa modificação nos deslocamentos químicos de C-4 ($\Delta\delta_C= +5,9$ ppm), C-2 ($\Delta\delta_C=16,8$ ppm) e C-4' ($\Delta\delta_C=1,9$ ppm).

Anel B

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos dos anéis A e B foi simplificada devido:

- 1- os efeitos dos substituintes no núcleo aromático não são significativos para os carbonos que ocupam posição *meta* em relação ao substituinte (NELSON *et al.* 1972);
- 2- separação dos sinais dos carbonos oxigenados e não-oxigenados com base nos valores dos deslocamentos químicos;
- 3- distinção dos sinais dos carbonos metínicos dos carbonos quaternários através dos espectros de DEPT-135° ou PENDANT. A separação dos sinais destes carbonos é especialmente importante para a atribuição dos deslocamentos químicos de C-1' e CH-6', já que os valores dos deslocamentos químicos destes carbonos são semelhantes nos flavonóides com oxigenação nos carbonos 3' e 4'.
- 4- nos casos com anel B mono-oxigenado aparecem dois sinais representando quatro carbonos metínicos (2CH-2',6' e 2CH-3',5') como consequência de equivalência química e nos di-oxigenados aparecem três sinais de CH com valores dependentes dos substituintes presentes.

Anel B mono-oxigenado

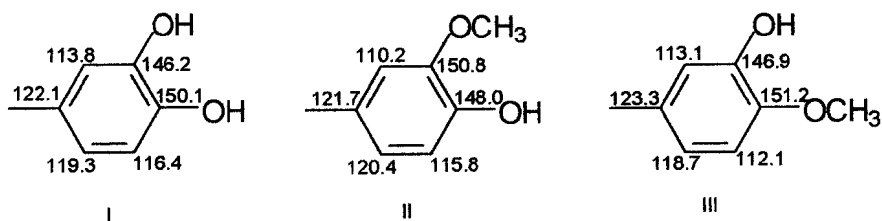
Os sinais dos carbonos do anel B dos flavonóis da **SÉRIE c** [1 (Figura A.63), 2 (Figura A.69), 3 (Figura A.75), 4 e 5 (Figura A.81)] e os excluídos das séries: 17 (Figuras A.63) e 18 (Figura A.85) foram facilmente assinalados, usando-se os efeitos dos substituintes sobre o deslocamentos químicos e a simetria promovida pela presença de um único substituinte oxigenado no anel aromático. Dois sinais no espectro de RMN de ^{13}C representando dois pares de carbonos metínicos, indicam que existe uma função oxigenada localizado em C-4'. O baixo deslocamento químico dos sinais metínicos (em torno de δ_{C} 130) é aproximadamente o mesmo deslocamento químico encontrado para o benzeno, revelando que estes carbonos ocupam posição *meta* em relação à oxigenação (KINGSBURY & LOOKER, 1975), sendo, portanto, CH-2' e CH-6'. O deslocamento químico do outro sinal (CH-3' e CH-5') é típico de carbonos localizados em posição *orto* em relação a uma função

oxigenada, cuja proteção mesomérica desloca o sinal para campo mais alto (quando comparado ao benzeno) para δ_c 115 (flavonóides **1**, **2** e **17**).

As substâncias **1** e **2** após a acetilação da HO em C-4' forneceram os derivados **4** e **5**, respectivamente, que apresentaram mudanças nos deslocamentos químicos correspondentes aos carbonos *ipso* (proteção $\Delta\delta_c = -9$ ppm), *orto* (desproteção, $\Delta\delta_c = +6$) e *para* (desproteção $\Delta\delta_c = +8$) como esperado (MARKHAM, 1989). Nestes valores inclui-se o efeito de solvente, já que, segundo PELTER et al (1976), nos espectros dos flavonóides o valor do deslocamento químico dos carbonos individualmente aumenta por 0,5 ppm quando o solvente é trocado de CDCl_3 para $\text{DMSO}-d_6$.

Anel B di-oxigenado

Os flavonóis desta categoria foram divididos em três grupos: dois representantes apresentando duas hidroxilas, **7** (Figura A.34) e **19** (Figura A.92); dois representantes com uma hidroxila e uma metoxila, **6** (Figura A.30) e **12** (Figura A.2), e oito flavonóides com duas metoxilas [**8-10** (Figuras A.41, A.49, A.54, respectivamente), **13** (Figura A.8), **14** (Figura A.15), **16** (Figura A.24), **20** (Figura A.96) e **21** (Figura A.100)]. Em adição, os produtos de acetilação serão também considerados. A comparação destes modelos permite também avaliar os efeitos da conversão de uma hidroxila em metoxila e em acetoxila. A localização das funções oxigenadas em carbonos adjacentes é visível pelos valores dos deslocamentos químicos em torno de δ_c 146-151, exibindo um efeito de proteção de $\Delta\delta_c = 10$ que cada oxigênio exerce no carbono *orto* (exceto para os flavonóides **11** e **16**, acetilado e iodado, respectivamente). A posição certa da oxigenação dos flavonóis **6** e **7** foi determinada através da comparação com os modelos I, II e III (BOHM, 1998). O flavonol **12** apresenta o anel B com o mesmo padrão de oxigenação de **6**, mas os espectros foram obtidos em CDCl_3 e acetona- d_6 (**6** e **7**) e, por isso, requerem comentários adicionais.



No modelo III (em relação a I, que é semelhante ao **7** no anel B) e no flavonol **6** a troca da hidroxila em C-4' por uma metoxila produz um deslocamento para campo mais alto (menor deslocamento químico) de aproximadamente $\Delta\delta_C = 4,0$ ppm no carbono 5', localizado em posição *orto*. O C-1' localizado em posição *para* apresentou uma desproteção de $\Delta\delta_C = 1,0$. Os carbonos C-2' e C-6' estão dispostos simetricamente em relação a um eixo imaginário contendo C-1' e C-4', sendo a diferença dos deslocamentos químicos dos seus sinais atribuída à presença do substituinte oxigenado em C-3'. Devido o oxigênio proteger mais o carbono metínico em *orto* do que o localizado em posição *para* (MARKHAM, 1982), o sinal com menor deslocamento químico (em campo mais alto) torna-se facilmente atribuído ao C-2'. O problema para determinar com relativa segurança a posição ocupada pelo grupo metoxila pode ser resolvido levando-se em consideração o efeito produzido pela metoxilação nos dois carbonos que ocupam a posição *para* (C-1' e C-6') em relação à posição que passa pela modificação com a metilação. A comparação entre os anéis B de **7** e **6** mostra que o CH-6' de **6** foi pouco afetado, enquanto no C-1' ocorre deslocamento para campo mais baixo de $\Delta\delta_C = 0,6$ indicando a mudança em C-4'.

Certamente, a acetilação da hidroxila presente no anel B de **12**, fornecendo o derivado **15** (Figura A.19), foi importante para confirmar inequivocamente os deslocamentos químicos dos carbonos e definir o padrão de substituição da substância **12**, em acordo com MARKHAM (1989).

O efeito de metilação da hidroxila do C-3' de **12**, observado nas substâncias **8**, **9**, **10**, **13**, **14** e **16**, foi refletido no carbono em posição *para*, CH-6', que apresentou um deslocamento de $\Delta\delta_C = 1,0$ ppm, e *orto*, CH-2', proteção de $\Delta\delta_C = 3,3$ ppm.

Anel A

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos do anel A apresenta algumas dificuldades quando comparada com a referente ao anel B, em decorrência principalmente da assimetria introduzida pelos dois pontos de ligação do anel A com o anel heterocíclico C.

O sinal de C-10 pode ser mais facilmente identificado pela comparação dos espectros de RMN¹³C-HBBD e RMN¹³C-DEPT (ou APT), permitindo a distinção entre os sinais de carbonos metínicos e quaternários, e pelo seu deslocamento

químico comparado com os dos sinais dos carbonos quaternários restantes oxigenados. O assinalamento dos sinais dos carbonos metínicos CH-6 e CH-8 do anel A de flavonóides do tipo floroglucinol é mais difícil, mas foi monitorado pelo modelo quercetina depois de considerações cuidadosas das correlações em espectro desacoplado a uma e três ligações C-H (LALLEMAND & DUTEIL, 1977). Os resultados mostram que o deslocamento químico para CH-8 é de $\Delta\delta_c = 5,0$ ppm menor do que o do CH-6. Baseado no efeito que a metilação de HO-3' exerce sobre o carbono vizinho (CH-2'), revelando a diminuição no deslocamento de $\Delta\delta_c = 3,3$ ppm, pode-se esperar também que o carbono CH-8 adjacente ao carbono eterificado C-9 seja deslocado para campo mais alto que o CH-6 adjacente ao carbono C-5 hidroxilado. Sendo assim, a ausência do valor mais baixo (≈ 93 ppm) significa a presença de um substituinte nesta posição, o que promoveria proteção nos carbonos 7 e 9.

Anel A di-oxigenado

Os valores dos deslocamentos químicos dos carbonos metínicos CH-6 ($\delta_c \sim 98$) e CH-8 ($\delta_c \sim 93$) flavonóides das **SÉRIES b e c** passam por modificação dependente dos grupos substituintes presentes em C-5 e C-7.

Os espectros de RMN de ^1H das substâncias naturais 1-3 da **SÉRIE c**, 6-9 da **SÉRIE b**, 17, e 19-21 revelaram sinal correspondente a hidroxila em ponte (HO-5) com o C-4 e permitiram reconhecer a presença de função oxigenada adicional no carbono C-7. Os demais flavonóides com o mesmo padrão de oxigenação (5,7-dioxigenados) são os derivados acetilados 4 e 5 (**SÉRIE c**), 10 e 11 (**SÉRIE b**) e os metilados 9 e 21.

A troca da hidroxila em C-7 do flavonol 7 por uma metoxila, 1-3, 6, 8, 17 e 20, não gerou modificação significativa nos deslocamentos químicos nos carbonos *ipso* e *orto*, resultado que pode ser justificado pela variação no uso de solventes na obtenção dos espectros de RMN de ^{13}C . O efeito de solvente revelado pela comparação de espectros obtidos em acetona e DMSO permitiu observar desproteção no carbono da hidroxila fenólica de $\Delta\delta_c = 0,6$ ppm (carbono *ipso*) e proteção de 0,5 no carbono *orto*, 0,3 no *meta* e 0,7 *para* (MARKHAM *et al.*, 1982). Os espectros de RMN de ^{13}C dos derivados acetilados 4, 5 e 10 revelaram proteção *C-ipso* e desproteção nos carbonos *orto* e *para*, como esperado. Nos espectros dos

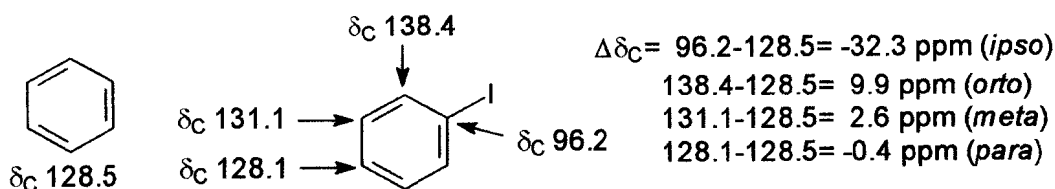
flavonóis **9** e **21** contendo metoxila no átomo de carbono C-5 observou-se, claramente, as modificações esperadas nos deslocamentos químicos (MARKHAM, 1989) quando comparados com os dos HO-5, principalmente em **21**, que envolveu a comparação de espectros obtidos no mesmo solvente, observando-se as alterações através das proteções de $\Delta\delta_C = 3,62$; $5,02$ e $1,18$ ppm nos carbonos C-2, C-4 e C-5, respectivamente e desproteção de $\Delta\delta_C = 1,97$ em C-3.

Anel A tri-oxigenado

Três flavonóis com anel A tri-oxigenado foram isolados com hidroxila em C-5 (**12**, **13** e **18**) e preparou-se dois derivados acetilados (**14** e **15**) com acetoxila em C-5. As outras duas funções oxigenadas poderiam ocupar as posições C-6 e C-7, C-7 e C-8 ou C-6 e C-8 deste anel. A última alternativa pode ser descartada por argumentação biogenética e pelo deslocamento químico apresentado pelo C-10, que é praticamente o mesmo dos flavonóis com anel A dioxigenado com oxigenação em C-7, que protege C-10 por efeito mesomérico. A determinação do padrão de oxigenação dos flavonóis contendo substituintes nos carbonos 5,7,8 ou 5,6,7 do anel A não pode ser definida com a necessária garantia pelo valor de deslocamento químico do carbono metínico, já que foi encontrado um valor médio (δ_C 95) para os deslocamentos químicos de CH-6 e CH-8, observando-se uma diferença de aproximadamente $\Delta\delta_C = 3$ ppm que pode ser tanto para o carbono CH-6 como para o CH-8 usando a substância **8** como modelo. Entretanto, os espectros de RMN de ^{13}C dos derivados acetilados **14** e **15**, obtidos através da reação de acetilação dos flavonóis **12** e **13** (conversão da hidroxila em C-5 em acetoxila) revelaram, como esperado, os sinais dos carbonos em posição *orto* (CH-6 e C-10) e *para* (C-8) com maiores valores de deslocamento químico (CH-6: δ_C 104,00; C-10: δ_C 111,70), que demonstram, claramente, a menor densidade eletrônica nestes carbonos (atenuação do efeito mesomérico doador de elétrons do átomo de oxigênio ligado ao C-5). Com base nestes valores de deslocamentos químicos foi possível assegurar inequivocamente o carbono metínico como sendo CH-6 e o quaternário C-10. Os carbonos localizados em posição *para* (C-8) também foram afetados, revelando uma diferença de deslocamento para campo mais baixo de $\Delta\delta_C = 6,0$ ppm.

A comparação dos espectros de RMN de ^{13}C da substância **16** (diferentemente dos outros flavonóides desta **SÉRIE**) e **13** permitiu observar

mudanças significativas nos deslocamentos químicos dos carbonos quaternários C-5 (δ_c 163,34), C-7 (δ_c 163,99), C-8 (δ_c 60,98), C-9 (δ_c 156,15) e apenas uma pequena desproteção em C-10 ($\Delta\delta_c = 1$ ppm). Estas modificações tornam-se compreendidas quando se observa os efeitos do átomo de iodo nos carbonos *ipso*, *orto*, *meta* e *para* através da comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos do benzeno e do iodobenzeno (Modelo IV). Assim, as modificações introduzidas pela presença do átomo de iodo podem ser analisadas, considerando-se a troca de uma metoxila em C-8 por um átomo de iodo, observando-se o efeito de proteção de $\Delta\delta_c = -69$ ppm no carbono *ipso* devido ao aumento de densidade eletrônica. Os mesmos efeitos produzidos nos deslocamentos químicos são também verificados na substância **22**, que contém o átomo de iodo localizado em C-6. Os flavonóis **16** e **22** foram otidos em mistura.



Modelo IV. Efeito nos deslocamentos químicos nos ^{13}C do anel benzênio quando um hidrogênio é substituído por um átomo de iodo.

Aplicação de técnicas especiais 1D (NOEDIFF e DEPT) e experiências bidimensionais (2D) de correlação homonuclear de hidrogênio (^1H - ^1H -COSY e NOESY) e heteronuclear de hidrogênio e carbono [^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$: $n=1$, HMQC (probe inverso) ou HETCOR (método convencional); $n=2$ e 3 , HMBC (probe inverso) ou COLOC (método convencional)]

Foram utilizadas as técnicas: 1D DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), COSY (CORrelation SpectroscopY) correlação espectroscópica homonuclear bidimensional (2D ^1H - ^1H -COSY) e heteronuclear bidimensional (2D ^1H - ^{13}C) através de uma ligação ($^1J_{\text{CH}}$, HMQC) e a longa distância envolvendo duas ($^2J_{\text{CH}}$) e três ($^3J_{\text{CH}}$) ligações (HMBC), 1D NOEDIFF (Nuclear Overhauser Effect) por subtração de espectros e 2D NOESY (Nuclear Overhauser effect spectroscopy). A aplicação destas permitiu a completa atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono-13 dos flavonóides.

Os espectros de DEPT foram usados para reconhecer os sinais correspondentes a carbonos metínicos ($\theta=90^\circ$, pulso de 90° na modulação de ^1H e aparecimento somente de sinais de CH), metilênicos e metílicos [$\theta=135^\circ$, aparecimento de sinais de CH e CH_3 em fase oposta aos de CH_2 , que após a subtração dos sinais de CH obtidos com $\theta=90^\circ$ forneceu os números de CH_2 e CH_3). Os sinais de carbono quaternários (não modulados nesta técnica devido à ausência de hidrogênio diretamente ligado) foram obtidos pela diferença entre os sinais dos espectros totalmente desacoplados (HBBB=Hydrogen Broad Band Decoupled, todos os sinais dos átomos de carbono aparecem como singletos) e os espectros modulados pela interação entre ^1H e ^{13}C ($^1J_{\text{CH}}$) para distinção entre os sinais de CH, CH_2 e CH_3 ($\theta=90$ e 135°). As interações spin-spin entre os átomos de hidrogênio e foram reveladas pelas experiências bidimensionais de correlação homonuclear (^1H - ^1H -COSY) e entre carbono e hidrogênio pela experiência 2D heteronuclear (^1H - ^{13}C - $^nJ_{\text{CH}}$). Os experimentos de NOE 1D por subtração de espectros realiza-se através da obtenção de espectros aplicando-se irradiações na frequência específica de um selecionado átomo de hidrogênio de uma molécula e em região livre de sinal de absorção, obtendo-se após a subtração dos espectros registrados nestas condições o resultado de NOE, já que os sinais sem tal efeito se anulam na subtração espectral. Os espectros NOE 2D (NOESY) foram também usados investigar as interações dipolares entre os átomos de hidrogênio espacialmente próximos (até no máximo 5 angstroms).

A atribuição inequívoca dos δ_{H} e δ_{C} das substâncias naturais **1**, **2**, **6-8**, **12**, **13**, **17** e **18** apoiou-se nas técnicas de 2D de RMN e nos dados espectrais dos derivados **3-5**, **9-11**, **14-16**, **19-22**. Estes derivados também forneceram informações adicionais importantes para elucidação estrutural. Nas Tabelas I.8 a I. 28 e nas figuras do ANEXO A encontram-se resumidos os dados obtidos da interpretação dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C [1D e 2D (para a maioria dos flavonóides)] das substâncias de **1-22**.

SÉRIE c

Os espectros de RMN de ^{13}C -DEPT 135° das substâncias naturais desta série, flavonóis **1** e **2**, apresentaram 5 (**1**) e 6 (**2**) sinais de carbonos hidrogenados sendo quatro atribuídos a carbonos metínicos (**1** e **2**) e uma metoxila (**1**) e duas

metoxilas (2). Os espectros HMQC (1, Figura A.64; 2, Figura A.70) permitiram estabelecer as correlações diretas ($^1J_{CH}$): CH-6 [δ_H/δ_C 6,35/97,77 (2) e 6,32/97,47(1)], CH-8 [δ_H/δ_C 6,74/92,37 (2) e 6,71/92,02(1)]; 2CH-3',5 [δ_H/δ_C 6,92/115,68 (2) e 6,32/115,47(1)]; 2CH-2',6' [δ_H/δ_C 7,96/130,24 (2) e 8,06/129,61(1)]. As posições das metoxilas foram estabelecidas pelos espectros HMBC: MeO-7/C-7, $^3J_{CH}$ [δ_H/δ_C 3,84/164,91 (1) e 3,84/165,13 (2)]; H-6/C-7, $^2J_{CH}$ [δ_H/δ_C 6,32/164,91 (1) e 6,35/165,13 (2)] e H-8/C-7, $^2J_{CH}$ [δ_H/δ_C 6,71/164,91 (1) e 6,74/165,13 (2)] e MeO-3/C-3, $^3J_{CH}$ [3,78/137,86 (2)]. A acetilação deste flavonol (1) forneceu o derivado 5, que foi usado também para obtenção do espectro de NOESY (Figura A.82) e confirmar a localização da metoxila em C-7 pelas interações espaciais com os hidrogênios H-6 (δ_H 6,65) e H-8 (δ_H 6,84).

A interpretação dos resultados obtidos pelas experiências 2D de RMN dos derivados desta série (Tabelas I.8, I.9 e I.11, Figuras no ANEXO A) seguiu o mesmo procedimento e forneceu informações adicionais úteis.

SÉRIE b

Os espectros de RMN de 1H (1D e 2D 1H - 1H -COSY) dos flavonóis 6, 7 e 8 desta série revelam sinais de átomos de hidrogênio atribuídos aos sistemas AB do anel A e ABC do anel B. Estes sistemas foram confirmados pelo espectro 2D 1H - 1H -COSY de 7 (Figura A.36) através de picos transversais correspondentes às interações spin-spin do H-6 (δ_H 6,25) com H-8 (δ_H 6,48) e do H-6' (δ_H 7,57) com H2' e H-5'. Os espectros de RMN de 1H e RMN de ^{13}C (HBBT e DEPT) indicam a presença de uma MeO em 7, quatro em 8 e 10 e cinco em 9. Os espectros HMQC de 7 (Figura A.37) e 8 (Figura A.43) foram usados para estabelecer as correlações dos carbonos metínicos e metoxílicos (uma em 7 e quatro em 8). O valor do deslocamento químico do carbono metoxílico (δ_C 58,84) e o espectro HMBC através da correlação do MeO-3 (δ_H 3,86) com C-3 (δ_C 137,94, $^3J_{CH}$) indicam indubitavelmente a presença da metoxila em C-3 do flavonóide 7 (Figura A.43). O espectro de RMN de 1H do flavonóide 8 mostra, além dos sinais das metoxilas (com integração para 4 MeO) e dos sistemas AB e ABC, sinal de HO-5 (hidroxila em ponte de hidrogênio com o C-4), permitindo a localização das 4 metoxilas nos carbonos C-3, C-7, C-3' e C-4', mesmo sem conhecer até este ponto os valores dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio de cada uma. Os picos

transversais correspondentes às interações heteronucleares ($^3J_{CH}$) de C-3 (δ_C 139,40) com MeO-3 (δ_H 3,87), C-7 (δ_C 165,86) com MeO-7 (δ_H 3,89), C-3' (δ_C 149,18) com MeO-3' (δ_H 3,97) e C-4' (δ_C 151,79) com MeO-4' (δ_H 3,98) observados no espectro HMBC permitiram definir o valor do deslocamento químico para cada metoxila. O espectro de NOESY (Figura A.46) mostra interações espaciais das metoxilas MeO-7 (δ_H 3,89) com H-6 (δ_H 6,37) e H-8 (δ_H 6,46), MeO-3' (δ_H 3,87) com H-2' (δ_H 7,70) e MeO-4' (δ_H 3,98) com H-5' (δ_H 7,00), confirmando, portanto, as atribuições dos δ_H dos grupos metoxílicos.

Os espectros de RMN de 1H do flavonol **6** desta série, que revela sinais para os sistemas AB e ABC e de duas metoxilas em δ_H 3,92 e 3,93, e de NOESY (Figura A.31), através das interações dipolares de MeO- 4' (δ_H 3,93) com H-5' (δ_H 7,11) e MeO- 7 (δ_H 3,92) com H-6 (δ_H 6,31) e H-8 (δ_H 6,68), permitiram a caracterização estrutural como 3,3',5-triidroxi-4',7-dimetoxiflavona

O flavonol permetilado **9** mostra sinais de interação espacial no espectro de NOESY (Figura A.51) das metoxilas MeO-7 (δ_H 3,93) com H-8 (δ_H 6,57), MeO-5 (δ_H 3,96) com H-6 (δ_H 6,39), MeO-3' (δ_H 3,98) com H-2' (δ_H 7,74) e MeO-4' (δ_H) com H-5' (δ_H 7,02).

SÉRIE a

A principal diferença observada na comparação dos espectros de RMN de 1H dos flavonóis **12** e **13** deve-se à presença de uma metoxila adicional em **12**. Os anéis A de **12** e **13** contêm somente um átomo de hidrogênio isolado. Os sinais simples correspondentes a estes átomos de hidrogênio aparecem em δ_H 6,41 (**12**) e δ_H 6,43 (**13**) nos espectros de RMN de 1H e apresentaram correlações com os carbonos metínicos em δ_C 95,83 e 95,60, respectivamente, nos espectros de HMQC. O espectro HMBC de **12** (Figura A.4) mostra correlação do H-6 (δ_H 6,41) através de duas ligações ($^2J_{CH}$) com os carbonos C-5 (δ_C 157,49) e C-7 (δ_C 158,56) e de três ligações ($^3J_{CH}$) com C-8 (δ_C 129,07) e C-10 (δ_C 105,53). Estes dados permitiram assegurar a localização da metoxila adicional do anel A no carbono C-8.

O NOE (8 %) observado no sinal de H-5' (δ_H 7,10) do derivado acetilado **15** (Figura A.22), revelado pela irradiação na frequência de absorção dos hidrogênios

metoxílicos representados pelo singlete em δ_H 3,96 (MeO-4') no espectro de RMN de 1H , serviu para confirmar a presença da metoxila realmente em C-4'. As irradiações também nas frequências dos hidrogênios das duas metoxilas em δ_H 3,87 (MeO-3) e 3,94 (MeO-7) mostram NOE de 1 e 2% nos sinais do H-2' (δ_H 7,78) e H-6' (δ_H 7,76) e de 5% em H-6 (δ_H 6,41), respectivamente.

O espectro de NOESY do flavonol **13** (Figura A.12) mostra interação das metoxilas em MeO-7 (δ_H 3,96, MeO-3' (δ 3,98) e MeO-4' (δ_H 3,99) com os átomos de hidrogênio H-6 (δ_H 6,43), H-2' (δ_H 7,82) e H-5' (δ_H 7,03), respectivamente.

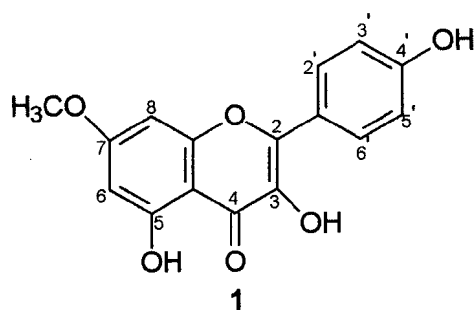
As posições corretas ocupadas pelos átomos de iodo nos componentes da mistura dos flavonóis iodados **16** e **22** foram confirmadas pelo espectro de HMBC (Figura A.27). Em **16** o C-8 (δ_C 60,98) e o C-5 (δ_C 163,34) apresentam correlações a três e duas ligações com o H-6 (δ_H 6,42), respectivamente. Do mesmo modo, em **22** o carbono que sustenta o iodo, C-6 (δ_C 75,19), apresenta correlação a três ligações com o HO-5 (δ_H 13,86) (Figura A.27) e o C-7 (δ_C 165,39) correlaciona-se a duas ligações com o H-8 (δ_H 6,48).

Todas os flavonóis naturais isolados de *Solanum paludosum* encontram-se descritos na literatura. A Tabela I.7 relaciona as substâncias com o nome trivial e as referências usadas na comparação dos dados espectrométricos de hidrogênio e carbono (1D). No gênero *Solanum* os flavonóides **1**, **6**, **12**, **13**, **17** e **18** estão sendo registrados pela primeira vez. Os derivados iodados **16**, **22** e **23** não se encontram descritos na literatura e não foi encontrado nenhum dado de formação deste tipo de substância partindo de um produto natural.

Tabela 1.7. Nomes triviais dos flavonóides isolados e referências que apresentam os dados de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C

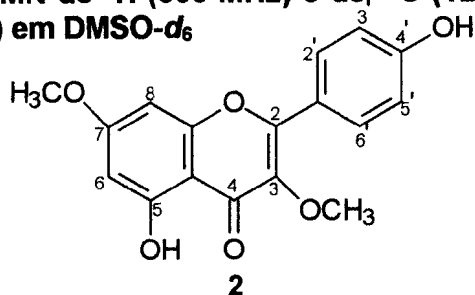
Flavonóide	Nome trivial	Referência
1	7-O-metilkanferol (ramnocitrina)	BARBERÁ <i>et al.</i> , 1986 AGRAWAL, 1989
2	3,7-di-O-metilkanferol (kumatakenina)	PARSONS <i>et al.</i> , 1993
6	7,4'-di-O-metilquercetina (ombuína)	AGRAWAL, 1989
7	3-O-metilquercetina	WAGNER <i>et al.</i> , 1972
8	3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (retusin)	-
12	3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina	-
13	3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina	FERRACIN <i>et al.</i> , 1998
17	7-O-metilapigenina (genkwanina)	MARKHAM <i>et al.</i> , 1982
18	3,7,8-tri-O-metilherbacetina	HORIE <i>et al.</i> , 1998

Tabela I.8. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 1 (7-O-metikanferol) em $\text{DMSO-}d_6$



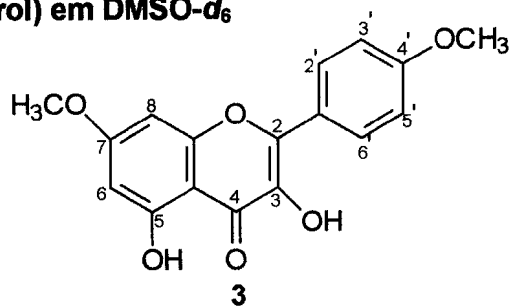
C	$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	147,25	-	-	2H-2',6'
3	135,99	-	-	MeO-3
4	176,03	-	-	-
5	160,39	-	H-6	-
7	164,91	-	H-6,H-8	MeO-7
9	156,12	-	H-8	-
10	104,05	-	OH-5	H-6,H-8
1'	121,62	-	2H-2', 6'	2H-3',5'
4'	159,33	-	2H-3', 5'	2H-2',6'
CH				
6	97,47	6,32 (sl)	HO-5	H-8
8	92,02	6,71 (sl)	-	H-6
2'	129,61	8,06 (d, 5,9)	-	-
3'	115,47	6,92 (d, 6,1)	-	-
5'	115,47	6,92 (d, 6,1)	-	-
6'	129,61	8,06 (d, 5,9)		-
CH₃				
MeO-7	56,03	3,84 (s)	-	-
OH-3	-	10,14 (s)	-	
OH-7	-	12,46 (s)	-	

Tabela I.9. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 2 (3,7-di-O-metilkanferol) em $\text{DMSO-}d_6$



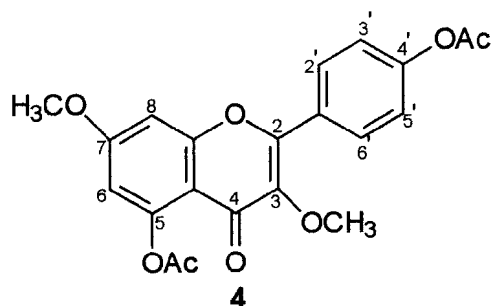
C	$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	155,95	-	-	2H-2',6'
3	137,86	-	-	CH ₃ O-3
4	178,09	-	-	-
5	160,96	-	H-6	-
7	165,13	-	H-6,H-8	CH ₃ O-7
9	156,33	-	H-8	-
10	105,21	-	-	H-6,H-8
1'	120,52	-	2H-2',6'	2H-3',5'
4'	160,29	-	2H-3',5'	2H-2',6'
CH				
6	97,77	6,35 (sl)	-	H-8, HO-5
8	92,37	6,74 (sl)	-	H-6
2'	130,24	7,96 (d, 8,6)	-	-
3'	115,68	6,94 (d, 8,6)	-	-
5'	115,68	6,94 (d, 8,6)	-	-
6'	130,24	7,96 (d, 8,6)	-	-
CH₃				
MeO-3	59,72	3,78 (s)	-	C-3
MeO-7	56,10	3,84 (s)	-	C-7

Tabela I.10. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 3 (3,4'-di-O-metilkanferol) em $\text{DMSO-}d_6$



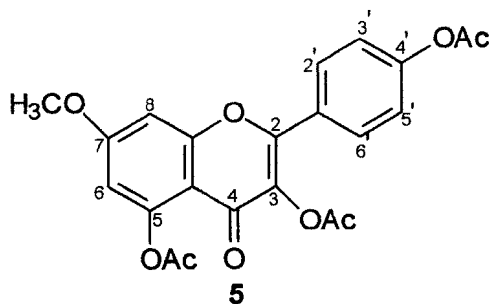
C	δ_{C}	δ_{H}
2	147,25	-
3	135,96	-
4	176,02	-
5	159,30	-
7	164,89	-
9	156,09	-
10	104,03	-
1'	121,56	-
4'	160,35	-
CH		
6	97,46	6,36 (d, 1,6)
8	92,02	6,75 (d, 1,6)
2'	130,10	8,09 (d, 8,1)
3'	129,57	6,94 (d, 8,4)
5'	115,45	6,94 (d, 8,4)
6'	129,57	8,09(d, 8,1)
CH₃		
MeO-7	59,72	3,87 (s)
MeO-4'	56,10	3,87 (s)

Tabela I.11. Dados de RMN de ^1H (300 MHz) e de ^{13}C (75 MHz) do flavonol 4 em CDCl_3



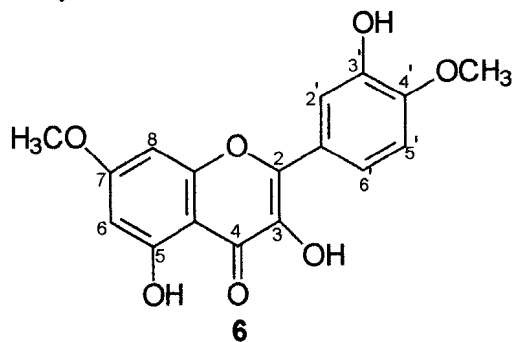
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	152,80	-	-	2H-2',6'
3	141,90	-	-	CH ₃ O-3
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
7	163,90	-	H-6,H-8	CH ₃ O-7
9	158,30	-	H-8	-
10	112,00	-	-	H-6,H-8
1'	128,80	-	-	2H-3',5'
4'	151,00	-	2H-3',5'	-
CH				
6	108,51	6,62 (d, 2,4)	-	H-8, HO-5
8	98,90	6,83 (d, 2,4)	-	H-6
2'	130,10	8,11 (d, 8,7)	-	-
3'	122,10	7,25 (d, 8,7)	-	-
5'	122,10	7,25 (d, 8,7)	-	-
6'	130,10	8,11 (d, 8,7)	-	-
CH₃				
MeO-3	56,50	3,81 (s)	-	C-3
MeO-7	59,90	3,92 (s)	-	C-7
AcO-5	21,51	2,35 (s)		
AcO-4'	21,50	2,48 (s)		
<u>CO</u>	170,00			
<u>CO</u>	169,50			

Tabela I.12. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 5 em CDCl_3



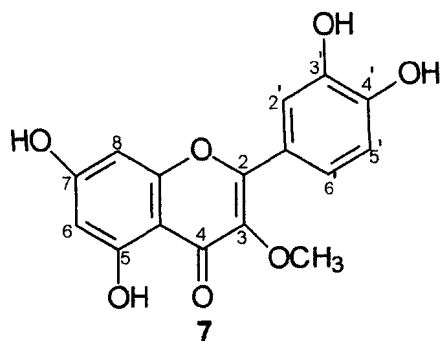
C	δ_{C}	δ_{H}
2	154,11	-
3	133,68	-
4	170,09	-
5	152,69	-
7	163,80	-
9	158,18	-
10	111,08	-
1'	127,29	-
4'	150,73	-
CH		
6	108,68	6,65 (d, 2,2)
8	98,85	6,84 (d, 2,2)
2'	129,52	7,85 (d, 9,0)
3'	121,98	7,25 (d, 7,8)
5'	121,98	7,25 (d, 7,8)
6'	129,52	7,85(d, 9,0)
CH₃		
MeO-7	56,06	3,91 (s)
AcO-3	21,12	2,33 (s)
AcO-5	21,16	2,35 (s)
AcO-4'	20,62	2,44 (s)

Tabela I.13. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 6 (7,4'-di-O-metilquercetina) em Acetona- d_6



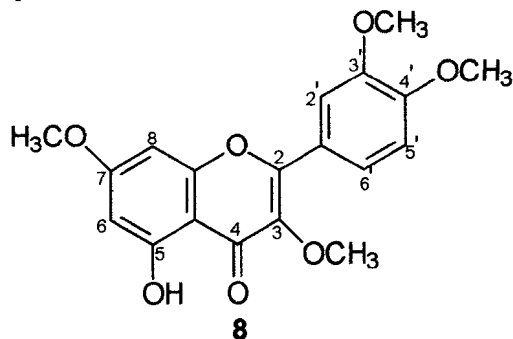
C	δ_c	δ_H
2	146,63	-
3	136,07	-
4	175,61	-
5	160,84	-
7	165,80	-
9	156,88	-
10	104,07	-
1'	122,32	-
3'	146,19	-
4'	159,58	-
CH		
6	97,54	6,31 (d, 2,2)
8	91,91	6,68 (d, 2,2)
2'	115,53	7,79 (d, 2,2)
5'	111,30	7,11 (d, 8,4)
6'	120,34	7,81 (dd, 8,4, 2,2)
CH₃		
MeO-7		3,92 (s)
AcO-4'		3,93 (s)
HO-5		12,13 (s)

Tabela I.14. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 7 (3-O-metilquercetina) em Acetona- d_6



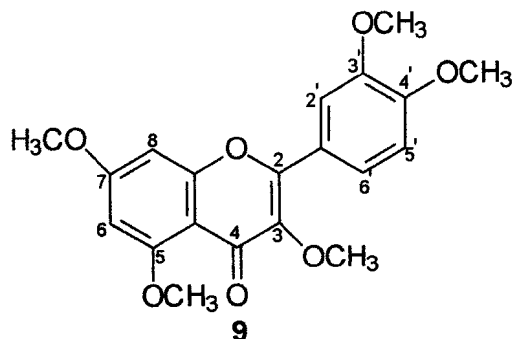
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1J_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-^nJ_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	155,43	-	-	2H-2',6'
3	137,94	-	-	MeO-3
4	178,94	-	-	-
5	161,86	-	H-6	-
7	163,57	-	H-6,H-8	MeO-7
9	156,49	-	H-8	-
10	104,59	-	H-8	H-6,H-8, HO-5
1'	121,68	-	2H-2',6'	H-5'
3'	144,59	-	2H-2'	H-5'
4'	147,78	-	H-5'	2H-2',6'
CH				
6	98,03	6,25 (d, 1,9)	-	H-8
8	93,10	6,48 (d, 1,9)	-	H-6
2'	114,92	7,69 (d, 1,8)	-	H-6'
5'	114,99	6,99 (d, 8,6)	-	-
6'	120,78	7,57 (d, 8,6, 1,8)	-	-
CH₃				
MeO-3	58,84	3,86 (s)	-	-
OH-5		12,80		

Tabela I.15. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 8 (3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina) em CDCl_3



C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	156,25	-	-	2H-2',6'
3	139,40	-	-	CH ₃ O-3
4	179,16	-	-	-
5	162,45	-	H-6	-
7	165,86	-	H-6,H-8	CH ₃ O-7
9	157,14	-	H-8	-
10	106,45	-		H-6,H-8
1'	123,34	-		H-5'
3'	149,18	-	H-2'	CH ₃ O -3', H-5'
4'	151,79		H-5'	CH ₃ O -4', 2H-2',6'
CH				
6	98,24	6,37 (d, 2,2)		H-8
8	92,63	6,46 (d, 2,2)	-	H-6
2'	111,68	7,70 (d, 2,0)	-	H-6'
5'	111,26	7,0 (d, 8,8)	-	-
6'	122,59	7,74 (dd, 8,8;2,0)		H-2'
CH₃				
MeO-3	60,61	3,87 (s)	-	-
MeO-7	56,41	3,89 (s)	-	
MeO-3'	56,23	3,97 (s)		
MeO-4'	56,47	3,98 (s)		
HO-5		12,64		

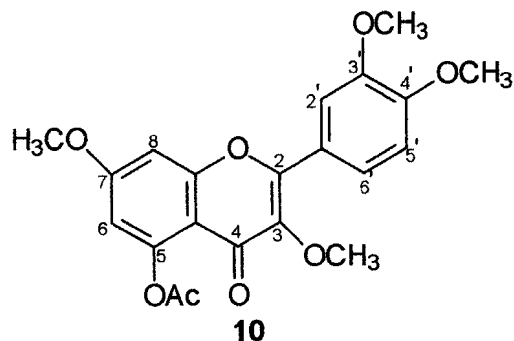
Tabela I.16. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 9 (3,5,7,3',4'-penta-O-metilquercetina) em CDCl_3



C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}^* - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}^* - \text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	153,27	-		2H-2',6'
3	140,72	-		CH ₃ O-3
4	174,39	-		
5	160,61	-		CH ₃ O-5
7	164,17	-	H-6, H-8	CH ₃ O-7
9	158,64	-	H-8	
10	108,77	-		2H-6,8
1'	122,81	-	H-2'	
3'	148,47	-		CH ₃ O-3'
4'	150,85	-		CH ₃ O-4'
CH				
6	95,71	6,39 (d, 2,0)		H-8
8	92,34	6,57 (d, 2,0)		H-6
2'	111,04	7,71 (d, 1,6)		H-6'
5'	110,73	7,02 (d, 8,4)		
6'	121,72	7,74 (d, 8,4, 1,6)		
CH₃				
MeO-3	59,64			
MeO-5	55,67			
MeO-7	55,78			
MeO-3'	55,57			
MeO-4'	55,84			

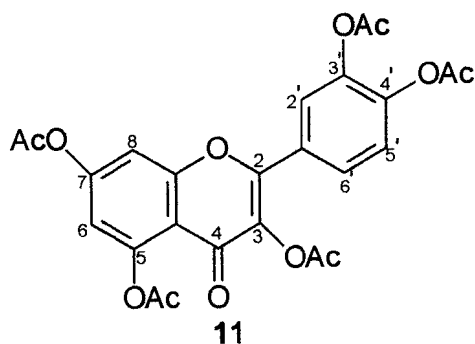
* Os espectros de HMQC e HMBC foram feitos em $\text{DMSO}-d_6$ (300 MHz)

Tabela I.17. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 10 em CDCl_3



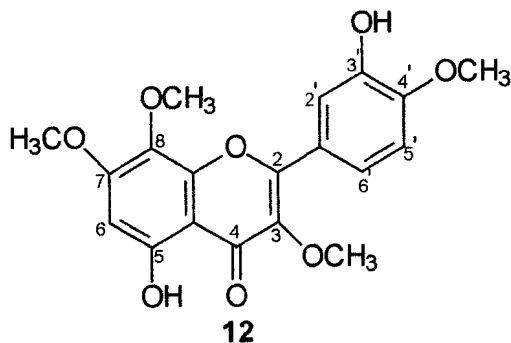
C	δ_{C}	δ_{H}
2	154,19	-
3	140,88	-
4	173,14	-
5	150,50	-
7	163,26	-
9	157,74	-
10	111,38	-
1'	123,06	-
3'	148,73	-
4'	151,10	-
CH		
6	108,03	6,61 (d, 2,4)
8	98,64	6,82 (d, 2,4)
2'	111,24	7,67 (d, 2,0)
5'	110,83	7,69 (d, 8,4)
6'	121,87	7,81 (dd, 8,4, 2,0)
CH₃		
MeO-3	60,00	3,79 (s)
MeO-7	55,97	3,91 (s)
MeO-3'	56,06	3,96 (s)
MeO-4'	55,97	3,97 (s)
AcO-5	21,18	12,13 (s)

Tabela I.18. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (50 MHz) do flavonol 11 (quercetina acetilada) em CDCl_3



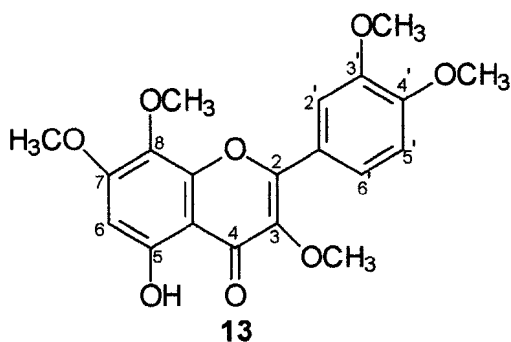
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}^*-\text{}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}^*-\text{}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	144,55	-		H-2'
3	134,22	-		
4	170,19	-		
5	150,56	-	H-6	
7	154,43	-	H-6	
9	157,01	-	H-8	
10	114,93	-		2H-6,8
1'	127,92	-		
3'	142,37	-	H-2'	H-5'
4'	153,94	-		2H-2',6'
CH				
6	114,06	6,88 (d, 1,8)		
8	109,15	7,34 (sl)		H-6
2'	124,01	7,70 (sl)		H-6'
5'	124,10	7,38 (sl)		
6'	126,59	7,74 (sl)		H-6'
CH₃				
AcO-3		2,44 (s)		
AcO-5		2,34 (s)		
AcO-7		2,34 (s)		
AcO-3'		2,34 (s)		
AcO-4'		2,34 (s)		

Tabela I.19. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina) em CDCl_3



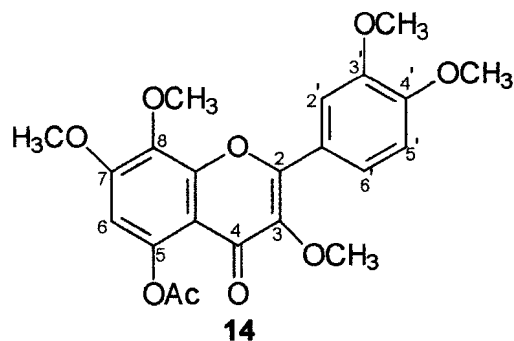
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}^*-\text{}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}^*-\text{}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	115,86	-	-	H-2',H-6'
3	139,05	-	-	MeO-3
4	179,25	-	-	MeO-4'
5	157,49	-	HO-5, H-6	-
7	158,56	-	H-6	MeO-7
8	129,07	-	-	H-6, MeO-8
9	148,65	-	-	-
10	105,53	-	-	HO-5, H-6
1'	123,88	-	-	H-5'
3'	145,78	-	H-2'	H-5'
4'	149,16	-	H-5'	H-2',H-6', MeO-4'
CH				
6	95,60	6,41 (s)		HO-5
2'	114,79	7,78 (sl)	-	H-6'
5'	110,69	6,98 (d)	-	-
6'	121,73	7,76 (sl)	-	H-2'
CH₃				
MeO-3	56,54	3,87 (s)	-	-
MeO-7	60,30	3,94 (s)	-	-
MeO-8	56,20	3,91 (s)	-	-
MeO-3'	-	-	-	-
MeO-4'	61,81,	3,97 (s)	-	-
HO-5		12,47 (s)		

Tabela I.20. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina) em CDCl_3



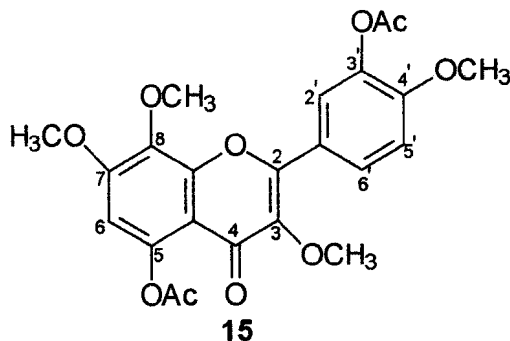
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	156,02	-	-	H-2', H-6'
3	139,18	-	-	MeO-3
4	179,42	-	-	-
5	157,79	-	HO-5, H-6	-
7	158,80	-	H-6	MeO-7
8	129,20	-	-	H-6, MeO-8
9	148,86	-	-	-
10	105,75	-	-	HO-5, H-6
1'	123,53	-	-	H-5'
3'	149,22	-	H-2'	H-5', MeO-3'
4'	151,88	-	H-5'	H-2', H-6', MeO-4'
CH				
6	95,83	6,43 (s)	-	HO-5
2'	111,56	7,82 (d, 2,0)	-	H-6'
5'	111,41	7,03 (d, 8,5)	H-6'	-
6'	122,73	7,87 (dd, 8,7;2,0)	-	H-2'
CH₃				
MeO-3	60,56	3,87	-	-
MeO-7	56,79	3,93	-	-
MeO-8	61,96	3,91	-	-
MeO-3'	56,33	3,96	-	-
MeO-4'	56,42	3,97	-	-
HO-5		12,47 (s)	-	-
	AcO-3'	-	-	-

Tabela I.21. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 14 em CDCl_3

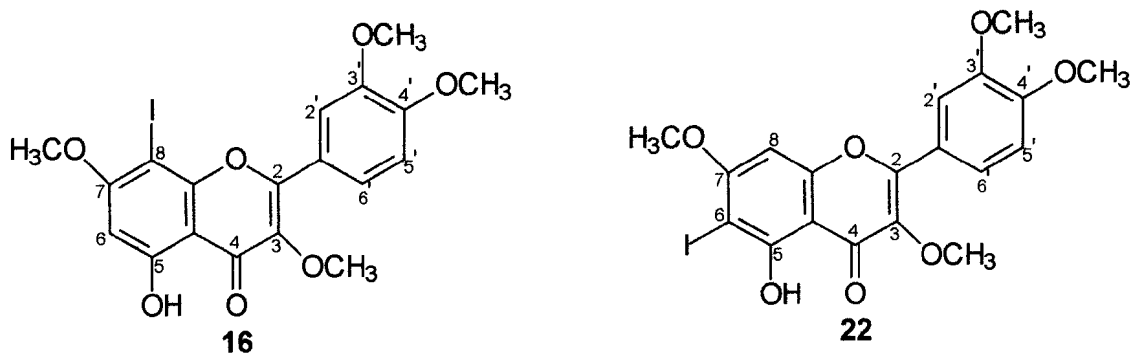


C	δ_{C}	δ_{H}
2	154,19	-
3	142,30	-
4	173,60	-
5	145,73	-
7	156,01	-
8	134,94	-
9	150,28	-
10	112,41	-
1'	123,38	-
3'	148,95	-
4'	151,37	-
CH		
6	104,49	6,66 (s)
2'	111,19	7,78 (d, 2,2)
5'	111,19	7,01 (d, 8,6)
6'	122,26	7,84 (dd, 8,6, 2,2)
CH₃		
MeO-3	60,16	3,81 (s)
MeO-7	56,69	3,96 (s)
MeO-8	61,64	3,96 (s)
MeO-3'	56,09	3,97 (s)
MeO-4'	56,15	3,98 (s)
AcO-5	21,34	2,47 (s)

Tabela I.22. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 15 em CDCl_3

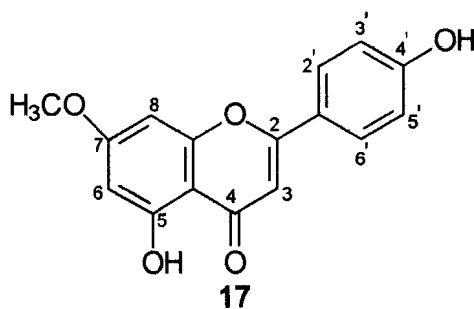


C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	153,33	-	-	H-2',H-6'
3	140,95	-	-	MeO-3
4	173,59	-	-	-
5	145,30	-	H-6	-
7	156,06	-	H-6	MeO-7
8	136,05	-	-	H-6, MeO-8
9	150,26	-	-	-
10	111,71	-	-	H-6
1'	123,52	-	-	H-5'
3'	139,87	-	H-2'	H-5'
4'	153,33	-	H-5'	H-2',H-6', MeO-4'
AcO-5	170,07	-	2,36 (CH ₃)	-
AcO-3'	168,97	-	2,46 (CH ₃)	-
CH				-
6	104,63	6,66 (s)	-	-
2'	123,26	7,91 (d, 2,4)	-	H-6'
5'	112,39	7,10 (d, 8,7)	-	-
6'	127,63	8,08 (dd, 8,7, 2,4)	-	H-2'
CH₃				
MeO-3	60,18	3,81 (s)	-	C-3
MeO-7	56,69	3,96 (s)	-	C-7
MeO-8	61,72	3,89 (s)	-	C-8
MeO-3'	-	-	-	-
MeO-4'	56,20	3,96 (s)	-	C-4'
AcO-5	21,30	2,46 (s)	-	-
AcO-3'	20,84	2,36 (s)	-	-

Tabela I.23. Dados de RMN de ^1H (300 MHz) e de ^{13}C (75 MHz) do flavonol 16 e 22 em CDCl_3 

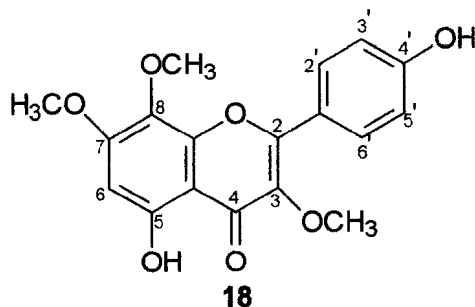
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	156,15			H-2'	156,96			
3	139,01			$\text{CH}_3\text{O-3}$	139,02			
4	178,64				177,99			
5	163,34		H-6		162,13		HO-5	
6	-		-		75,19			HO-5
7	163,99		H-6	$\text{CH}_3\text{O-7}$	165,39		H-8	
8	60,98			H-6	-			
9	156,15				155,10			
10	106,56			H-6	108,56			HO-5
1'	122,97			H-5'	122,48			
3'	149,08		H-2'	$\text{CH}_3\text{O-3'}$, H-5'	149,17			
4'	151,79		H-5'	$\text{CH}_3\text{O-4'}$, H-2', H-6'	152,18			
CH								
6	95,45	6,42 (s)			-	-		
8	-	-			94,74	6,42(s)		
2'	111,61	7,98 (d, 1,8)		H-6'	111,61	7,96(d, 1,9)		
5'	111,17	7,03 (d, 8,7)			111,25	7,04(d, 1,9)		
6'	123,21	8,06 (dd, 1,8, 8,7)		H-2'	123,47	8,06(dd)		
CH₃								
MeO-3	60,23	3,91 (s)			61,41	3,97(s)		
MeO-7	57,18	3,98 (s)						
MeO-3'	56,34	4,01 (s)						
MeO-4'	56,20	3,99 (s)						
HO-5		12,92 (s)	-		-	13,86(s)		

Tabela I.24. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 17 (7-O-metilapigenina) em $\text{DMSO}-d_6$



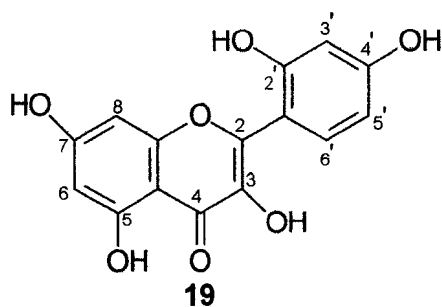
C	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	164,07		H-3	
3	103,03	6,82 (s)	-	
4	181,95	-	H-3	
5	161,30	-	H-6	
7	165,13	-	H-6, H-8	
9	157,24	-	H-8	
10	104,68	-	OH-5	H-3, H-6, H-8
1'	121,09	-	-	H-3, 2H-3', 5'
4'	161,22	-	-	2H-2', 6'
CH				
6	97,96	6,32 (sl)	OH-5	H-8
8	92,67	6,71 (sl)	-	H-6
2'	128,57	7,94 (sl)	-	-
3'	115,99	6,92 (d, 6,1)	-	-
5'	115,99	6,92 (d, 6,1)	-	-
6'	128,57	7,94 (sl)	-	-
MeO-7	56,03	3,84 (s)		-
HO-5		12,94 (s)	-	-

Tabela I.25. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) do flavonol 18 (3,7,8-tri-*O*-metilherbacetina) em $\text{DMSO-}d_6$



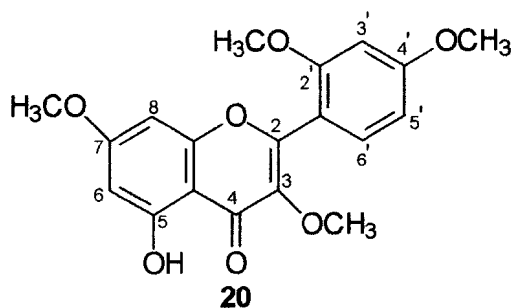
C	$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	156,74			2H-2',6'
3	138,42			CH ₃ O-3
4	179,18	-		
5	157,27	-	H-6	
7	159,01	-	H-6	CH ₃ O-7
8	129,23			H-6, CH ₃ O-8
9	148,70	-	H-8	
10	105,34	-		H-6
1'	121,51	-		2H-3',5'
4'	161,27	-	2H-3',5'	2H-2',6'
CH				
6	96,59	6,18 (d)	OH-5	
8	93,90	6,29 (sl)		
2'	130,97	-	-	-
3'	116,67	7,97 (d, 8,8)	-	-
5'	116,67	6,98 (d, 8,8)	-	-
6'	130,97	7,97 (d, 8,8)	-	-
MeO-3	60,56			
MeO-7	57,38	3,84 (s)		-
MeO-8	61,91			
HO-5		12,55 (s)	-	-
HO-4'		10,27 (s)		

Tabela I.26. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (50 MHz) do flavonol 19 (morina) em $\text{DMSO-}d_6$



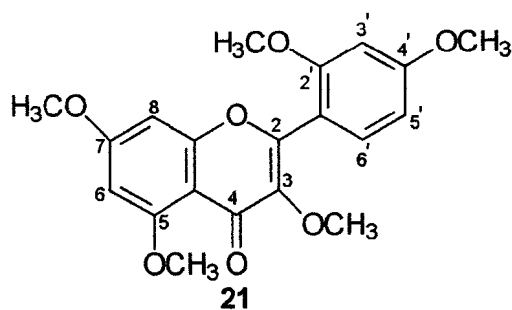
C	$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H-}^{13}\text{C-HMBC-}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	149,54			H-6'
3	136,76			
4	176,74	-		
5	161,47	-	H-6	
7	164,20	-	H-6, H-8	
9	157,34	-	H-8	
10	104,09	-		H-6, H-8
1'	109,76	-		2H-3',5'
2'	157,34		H-3'	
4'	160,97	-	H-5'	H-6'
CH				
6	94,66	6,18 (s)	OH-5	
8	93,90	6,29 (sl)	-	-
3'	103,49	6,32 (d)	-	-
5'	107,34	6,38 (d, 8,4)	-	-
6'	132,24	7,23 (d, 8,4)	-	-
HO-5		12,62 (s)	-	-
HO-4'		10,27 (s)		

Tabela I.27. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 20 (morina tetrametilada) em CDCl_3



C	δ_{C}	δ_{H}
2	156,71	-
3	140,25	-
4	179,01	-
5	162,27	-
7	165,44	-
9	157,62	-
10	106,71	-
1'	112,61	-
2'	158,92	-
4'	163,13	-
CH		
6	97,95	6,35 (d, 2,4)
8	92,39	6,37 (d, 2,4)
3'	99,06	6,57 (d, 2,4)
5'	106,71	7,01 (dd, 8,4, 2,4)
6'	131,84	7,84 (d, 8,4)
CH₃		
MeO-3	60,75	3,78 (s)
MeO-7	55,73	3,88 (s)
MeO-2'	55,92	3,84 (s)
MeO-4'	55,92	3,88 (s)
HO-5		12,68 (s)

Tabela I.28. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do flavonol 21 (morina pentametilada) em CDCl_3



C	δ_{C}	δ_{H}	COLOC
2	153,09		
3	142,22		$\text{CH}_3\text{O}-3$
4	173,99	-	
5	161,09	-	$\text{CH}_5\text{O}-3$
7	163,65	-	$\text{CH}_7\text{O}-3$
9	158,65	-	
10	109,98	-	
1'	112,90	-	
2'	159,40		
4'	162,57	-	
CH			
6	95,63	6,33 (d, 2,4)	
8	92,54	6,43 (2,4)	
3'	98,87	6,59 (dd, 8,0, 2,4)	-
5'	104,61	6,59 (d, 2,4)	-
6'	131,64	7,37 (d, 8,0)	-
MeO-3	60,32	3,79 (s)	
MeO-5	56,37	3,96 (s)	
MeO-7	55,71	3,87 (s)	
MeO-2'	55,67	3,85 (s)	-
MeO-4'	55,49	3,83 (s)	

I-3. Referências – Capítulo I

AGRAWAL, P. K., Methods in Signal Assignment. In: "Carbon-13 NMR of Flavonoids", Studies in Organic Chemistry-39, 41-94, Ed. Elsevier, Amsterdam, 1989.

AHMAD, V. U. & ATTA-UR-RAHMAN. Pentacyclic Triterpenoids. In: Handbook of Natural Products Data, Vol. 2, Ed. Elsevier, Amsterdam, 1994.

ALI, S. M. & ILYAS, M. Biomimetic approach to biflavonoids: oxidative coupling of 2'-hydroxychalcones with I₂ in alkaline methanol, *J. Org. Chem.*, **51**, 5415-5417, 1986.

BARBERÁ, O.; SANZ, J. F.; SÁNCHEZ-PARAREDA, J.; MARCO, J. A. Further Flavonol glycosides from *Anthyllis onobrychioides*, *Phytochemistry*, **25**(10), 2361-2365, 1986.

BOHM, B. A. Introduction to Flavonoids. Harwood. Reading, Amsterdam, p. 212, 1998.

CARVALHO, G. J. A. Outros constituintes químicos isolados de *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE (Lythraceae) e depsídeo e triterpenos isolados de *Ouratea floribunda* ST. Hill (Ochnaceae), Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2000.

FERRACIN, R. J.; SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. Flavonoids from fruits of *Murraya paniculata*, *Phytochemistry*, **47**(3), 393-396, 1998.

FUKUDA, N.; YONEMITSU, M.; KIMURA, T. Studies on the Constituents of the *Tinospora tuberculata* BEUMEE. 1. N-trans-feruloyltyramine, and a New Phenolic Glucoside, Tino-tuberide, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **31**(1), 156-161, 1983.

GOUDARD, M.; FAVRE-BONVIN, J.; LEBRETON, P.; CHOPIN, J. Differentiation des hydroxy-5 dimethoxy-6,7 ou 7,8 et des triméthoxy-5,6,7 ou 5, 7, 8 flavones par spectrometrie de masse, *Phytochemistry*, **18**, 186-187, 1979.

HORIE, T.; OHTSURU, Y.; SHIBATA, K.; YAMASHITA, K.; TSUKAYAMA, M.; KAWAMURA, Y. ¹³CNMR spectral assignment of the A-ring of polyoxygenated flavones, *Phytochemistry*, **47**(5), 865-874, 1998.

KINGSBURY C. A. & LOOKER, J. H. Carbon-13 spectra of methoxyflavones, *J. Org. Chem.*, **40**(8), 1120-1124.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Constituents of the Labiatae plants .5. Sterol glucosides from prunella vulgaris, *Phytochemistry*, **29**(7), 2351-2355, 1990.

LALLEMAND, J. Y. & DUTEIL, M., *Org. Magn. Reson.*, **9**, 179-, 1977.

MABRY, T. J. & MARKHAM, K. R. In: The Flavonoids (Harborne, J. B. and Mabry, T. J., eds.), Vol. I, Academic Press, New York, 1975.

MABRY, T. J., MARKAM, K. R.; THOMAS, M. B. The systematic identification of flavonoids, Springer, New York. 1970

MARKHAM, K. R. Flavones, flavonols and their glycosides. In: Methods in plant biochemistry (Harborne, J. B. and Mabry, T. J., eds.), Vol. I, 197-235, Academic Press, 1989.

MARKHAM, K. R.; CHARI, M.; MABRY, T. J. Carbon-13 NMR Spectroscopy of Flavonoids. In: The Flavonoids: Advances in Research (Harborne, J. B. and Mabry, T. J., eds.), 19-134, Chapman & Hall, London, 1982.

MÜHLENBECK, E.; KORTENBUSCH, A.; BARZ, W. Formation of hydroxycinnamoylamides and α -hydroxyacetovanillone in cell cultures of *Solanum khasianum*, *Phytochemistry*, **42** (6), 1573-1579, 1996.

NELSON, G. L.; LEVY, G. C.; CARGIOLI, J. D. Solvent effects in C-13 nuclear magnetic-resonance-electronic perturbation of aromatic systems. *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 3089-, 1972.

PARSONS, I. C.; GRAY A. I.; WATERMAN, P. G.; HARTLEY, T. G. New triterpenes and flavonoids from the leaves of *Bosistoa brassii*, *Journal of Natural Products*, **56**(1), 46-53, 1993.

PELTER, A.; WARD, R. S.; GRAY, T. I. *J. Chem. Soc. Chem. Perkin Trans. 1*, 2475, 1976.

RAHMAN, A. U.; BHATTI, M. K., AKHTAR F.; CHOUDHARY, M. I. Alkaloids of *Fumaria indica*, *Phytochemistry*, **31**(8), 2869-2872, 1992.

ZHAO, G. HUI, Y.; RUPPRECHT, J. K.; MCLAUGHLIN, J. L.; WOOD, K. V. Additional bioactive compounds and trilobacin, a novel highly cytotoxic acetogenin, from the bark of *Asimira triloba*, *Journal of Natural Products*, **55** (3), 347-356, 1992.

WAGNER, H.; IYENGAR, M. A.; SELIGMANN, O.; HÖRHAMMER, L.; HERZ, W. Compositae flavonoides in *Vernonia artem*, *Phytochemistry*, **11**, 3086-3087, 1972.

CAPÍTULO II

ESTUDO QUÍMICO DE *SOLANUM JABRENSE* AGRA & M. NEE

II.1. Isolamento e purificação dos constituintes

II.1.1. Parte aérea de *Solanum jabrense*

A parte aérea de *Solanum jabrense* foi coletada em janeiro de 1998 e colocada na estufa a 40 °C por uma semana. O material seco e pulverizado (1,4 Kg) foi percolado com 25 L de EtOH, até completa exaustão, demonstrado pela reação negativa para alcalóide com reagente de Mayer e Dragendorff, e pela descoloração da solução extrativa. A solução extrativa foi concentrada em rotavapor a 40 °C, fornecendo um resíduo de cor escuro (100,4 g). O extrato foi dissolvido em MeOH, tratado com carvão ativo (2 g) e filtrado sobre celite (terra de infusório). O filtrado foi concentrado em rotavapor, adicionado 1 L de MeOH:H₂O (4:1) e particionado com hexano (10 L) e CHCl₃ (6 L). As soluções extrativas foram concentradas e forneceram: 8,7 g do extrato hexânico, 44,2 g do CHCl₃ e 35,5 do MeOH aquoso.

O extrato hexânico foi diluído com CHCl₃ depois fracionado em sílica gel com hexano, CH₂Cl₂ e MeOH em ordem crescente de polaridade, as frações de 50 mL foram analisadas por cromatografia em camada analítica de sílica gel e as semelhantes foram reunidas fornecendo no final dez frações. A quarta fração, obtida da eluição com hexano:CH₂Cl₂ (7:3), foi cromatografada em placa preparativa com sílica gel, eluída com CH₂Cl₂, fornecendo três frações, **A** (67 mg), **B** (59 mg) e **C** (182 mg), a substância **34** (400 mg) e a mistura de duas substâncias **32** e **33** (200 mg).

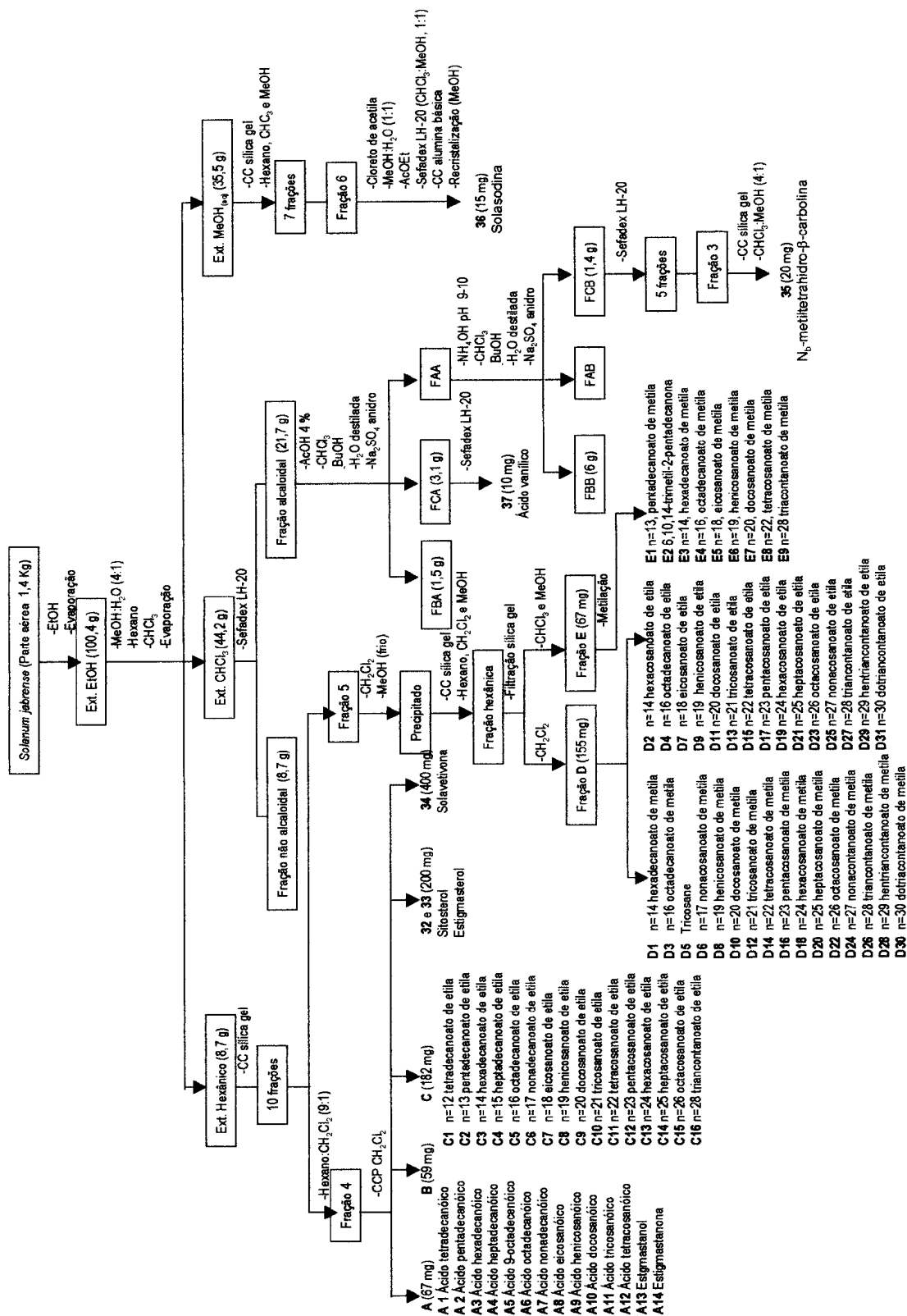
A quinta fração obtida da coluna com sílica do extrato hexânico com os solventes hexano: CH₂Cl₂, 7:3 e CH₂Cl₂ foi solubilizada em CHCl₃ e adicionado MeOH a frio para precipitação. O precipitado foi cromatografado em coluna de sílica gel com hexano, CH₂Cl₂ e MeOH em ordem crescente de polaridade fornecendo 5 frações. A primeira fração foi filtrada em sílica com CH₂Cl₂ fornecendo a fração **D** (155 mg) e com CHCl₃ e MeOH originando a fração **E** (67 mg).

O extrato clorofórmico foi solubilizado em CHCl₃:MeOH (1:1), depois fracionado em sephadex LH-20 com CHCl₃:MeOH (1:1) sucessivamente, resultando em duas frações: alcaloidal (21,7 g) e não alcaloidal (8,9 g), monitoradas pelos testes de Mayer e Dragendorff e por CCA com revelador de Dragendorff e UV.

A fração alcaloidal foi agitada com AcOH 4% (500 mL) e extraída com CHCl₃ (3,8 L) e BuOH (1,5 L). As soluções extrativas CHCl₃ e BuOH foram concentradas em rotavapor e denominadas respectivamente fase clorofórmica ácida [FCA (3,1 g)]

e fase butanólica ácida [FBA (1,5 g)]. A fase aquosa ácida foi alcalinizada com NH_4OH (85 mL) até pH 9-10 e extraída com CHCl_3 (5 L) e em seguida com BuOH (1,5 L). Depois de concentradas as soluções extrativas, os resíduos foram denominados fase clorofórmica básica [FCB (1,45 g)] e fase butanólica básica [FBB (6 g)]. Todas as soluções extrativas ácidas e básicas foram lavadas com H_2O , destiladas e secas com Na_2SO_4 anidro. O extrato FCA foi cromatografado com sephadex LH-20 sucessivamente usando como eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (1:1). Das sucessivas colunas e recristalização obteve-se a substância **37** (10 mg). O extrato FCB foi cromatografado em sephadex LH-20 usando com eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (1:1) e forneceu frações de 10 mL que foram juntas as semelhantes resultando em 4 frações. A fração 3 foi cromatografada em coluna de sílica gel usando como eluentes hexano, CHCl_3 e MeOH em ordem crescente de polaridade. A fração desta coluna (3) eluída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (4:1) forneceu 20 mg de um constituinte impuro, dando teste positivo para o reagente de Dragendorff, denominado substância **35**.

O extrato MeOH aquoso foi dissolvido em MeOH, tratado com carvão ativo e filtrado. O filtrado foi evaporado e feita uma coluna cromatográfica com sílica gel com hexano, CHCl_3 e MeOH em ordem crescente de polaridade e obtiveram-se 7 frações. A fração 6 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$, 4:1) foi tratada com cloreto de acetila, solubilizado com $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1) e extraída com AcOEt e este extrato AcOEt foi cromatografado em sephadex LH-20 com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (1:1) e em seguida em alumina básica (CH_2Cl_2). A recristalização destas frações com MeOH forneceu a substância **36** (15 mg) que apresentou teste positivo para o reagente de Dragendorff e ponto de fusão 201-202 °C. O procedimento para o isolamento das substâncias das partes aéreas de *S. jabrense* é mostrado no Esquema II.1.

Esquema II.1. Marcha para o isolamento das substâncias de *S. jabrense*

II.1.2. Folhas de *Solanum jabrense*

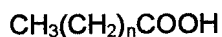
A parte experimental para a obtenção do extrato etanólico das folhas de *Solanum jabrense* está descrita no capítulo IV, item IV.2. Este extrato após cromatografia em coluna com sephadex LH-20 forceceu os flavonóides **1**, **6** e **8** já discutidos no capítulo I.

II.2. Resultados e discussão

II-2.1. Determinação estrutural dos constituintes

II.2.1.1. Ácidos graxos

A fração A corresponde a uma mistura de ácidos graxos e esteróides. O espectro de IV (Figura II.1) apresenta uma banda larga em 3376 cm^{-1} de hidroxila, absorções em 1725 e 1288 cm^{-1} , características de estiramento de carbonila e ligação C-O de ácidos, respectivamente, intensas absorções em 2930 e 2864 cm^{-1} relativas aos estiramentos dos grupos CH_3 e CH_2 sugerem a presença de uma longa cadeia carbônica e é confirmado pela presença da absorção em 733 cm^{-1} devido ao $\gamma_{\text{C-H}}$ de CH_2 . O espectro de RMN de ^1H (Figura II.2) mostra a superposição de sinais em δ_{H} 0,85 correspondentes a hidrogênios em carbono metílicos, δ_{H} 1,25 hidrogênios em carbono metilênico $(\text{CH}_2)_n$ e em carbonos metínicos δ_{H} entre 5,0 e 6,0. Pelo CG-EM e comparação com padrões da biblioteca WILEY275.L (Figuras II.3 e II.4) foi possível identificar 12 ácidos graxos **A1-A12** e dois esteróides **A13** e **A14**:



A1 n=12 ác. mirístico (tetradecanóico, 14:0)

A2 n=13 ác. pentadecanóico (15:0)

A3 n=14 ác. palmítico (hexadecanóico, 16:0)

A4 n=15 ác. margárico (heptadecanóico, 17:0)

A5 ác. oléico (9-octadecenóico, 18:1)

A6 n=16 ác. esteárico (octadecanóico, 18:0)

A7 n=17 ác. nonadecanóico (19:0)

A8 n=18 ác. araquidínico (eicosanóico, 20:0)

A9 n=19 ác. hencosanóico (21:0)

A10 n=20 ác. Docosanóico (behenico, 22:0)

A11 n=21 ác. tricosanóico (23:0)

A12 n=22 ác. tetradecanóico (24:0)

A13 estigmastanol

A14 estigmastanona

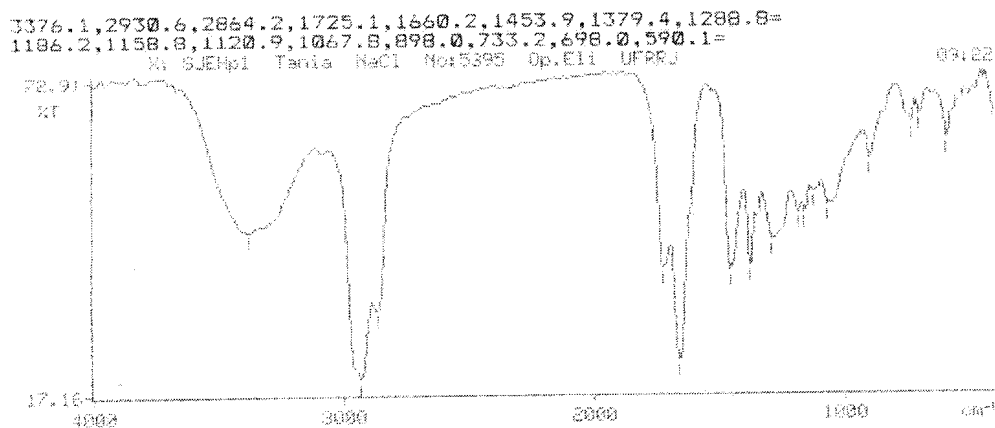


Figura II.1. Espectro na região do IV da Fração A de *S. jabrense*

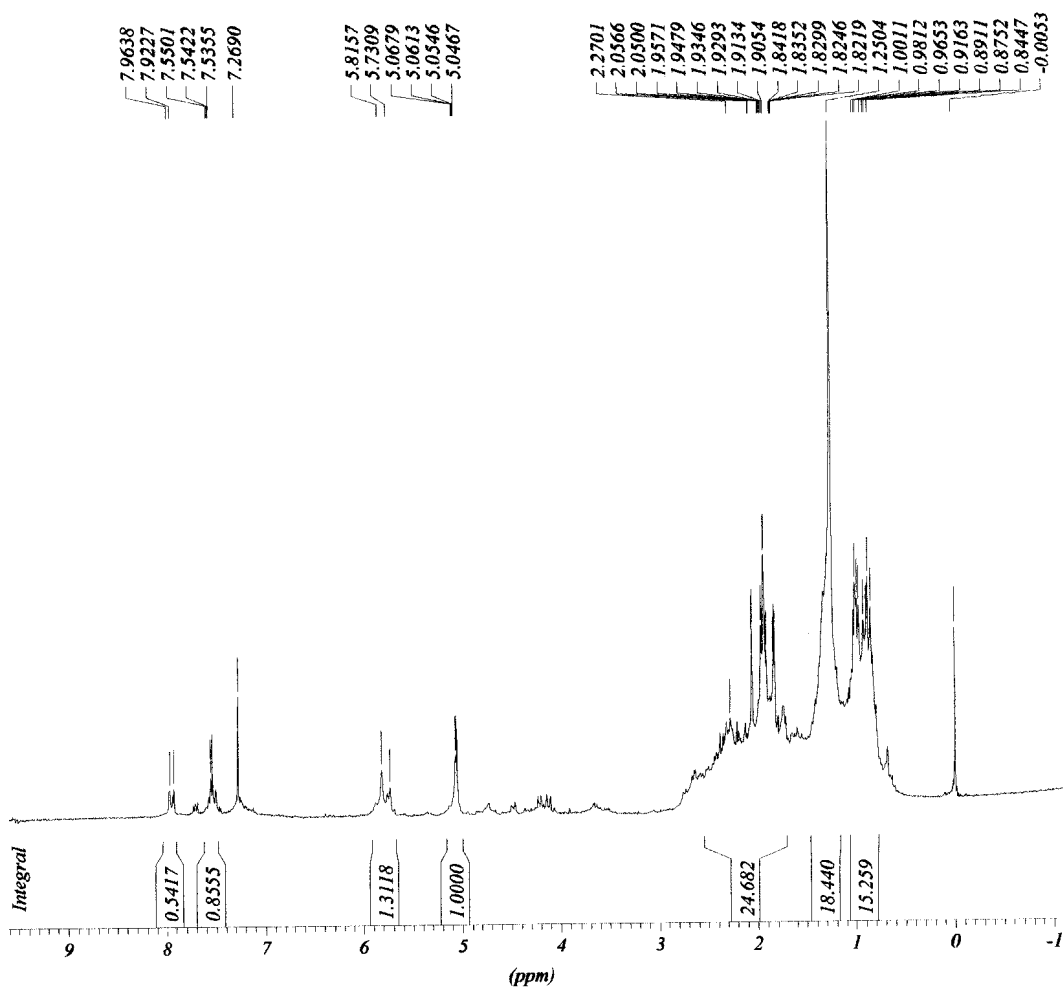


Figura II.2. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da Fração A de *S. jabrense*

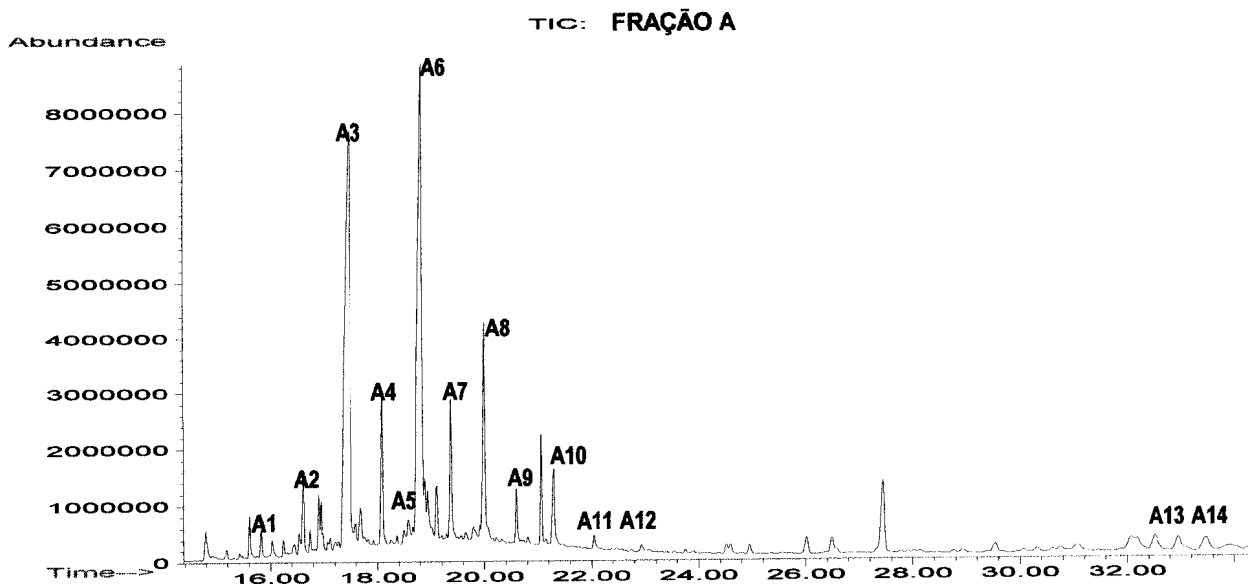


Figura II.3. Cromatograma dos íons totais da Fração A de *S. jabrense*, coluna HP-1, Programação: 80 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min).

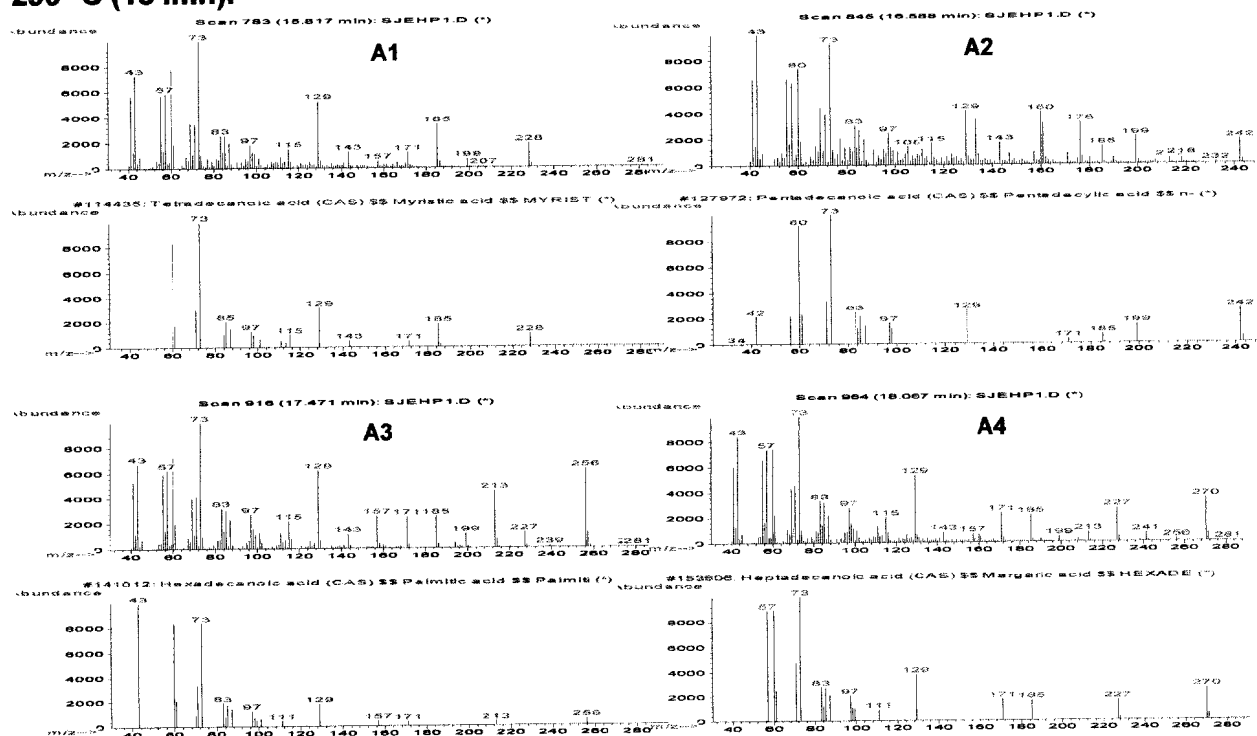


Figura II.4. Espectro de massas das substâncias A1-A4 e comparação com os dados da biblioteca WILEY275.L

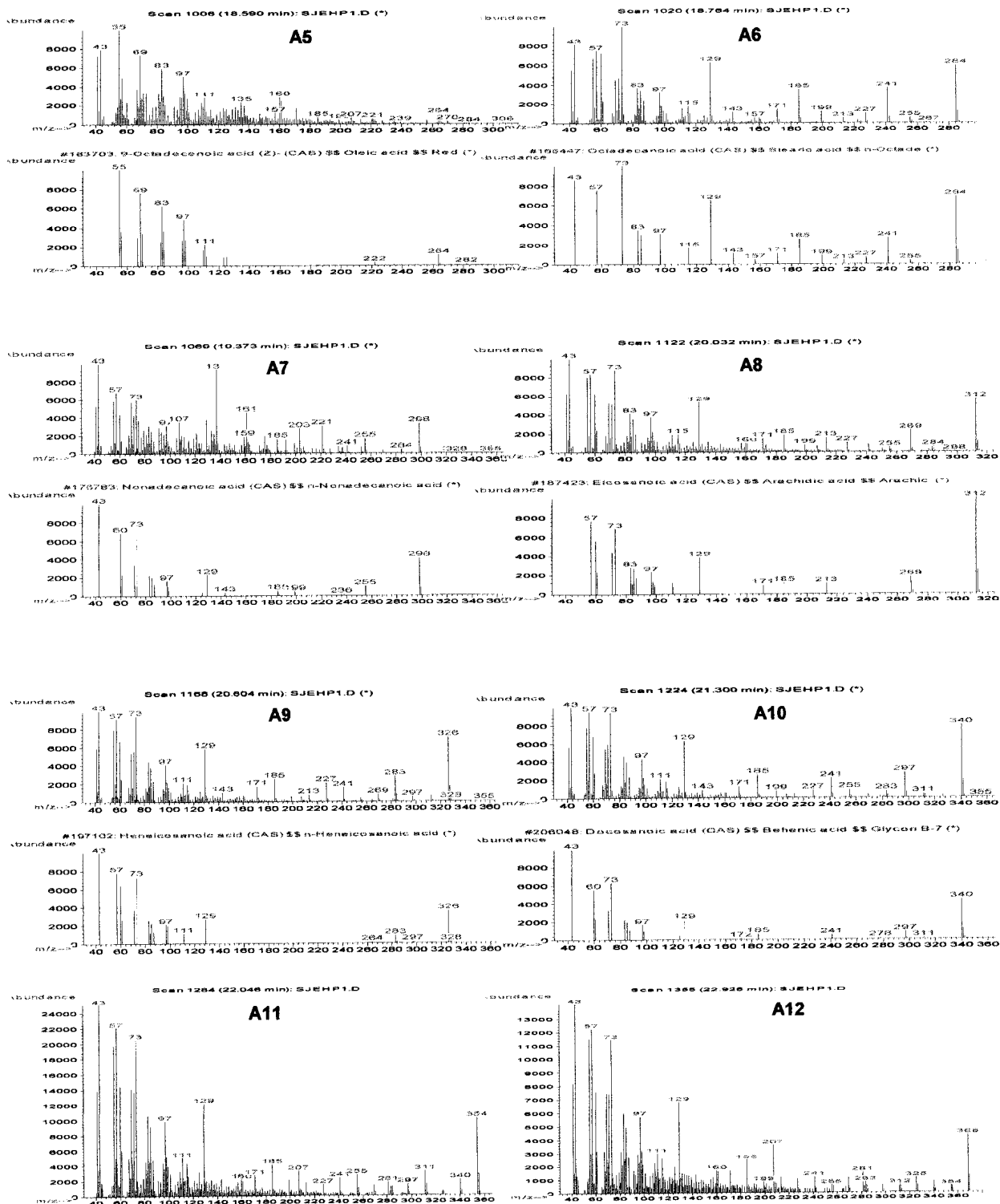


Figura II.4. (Continuação) Espectro de massas das substâncias A5-A12 e comparação com os dados da biblioteca WILEY275.L

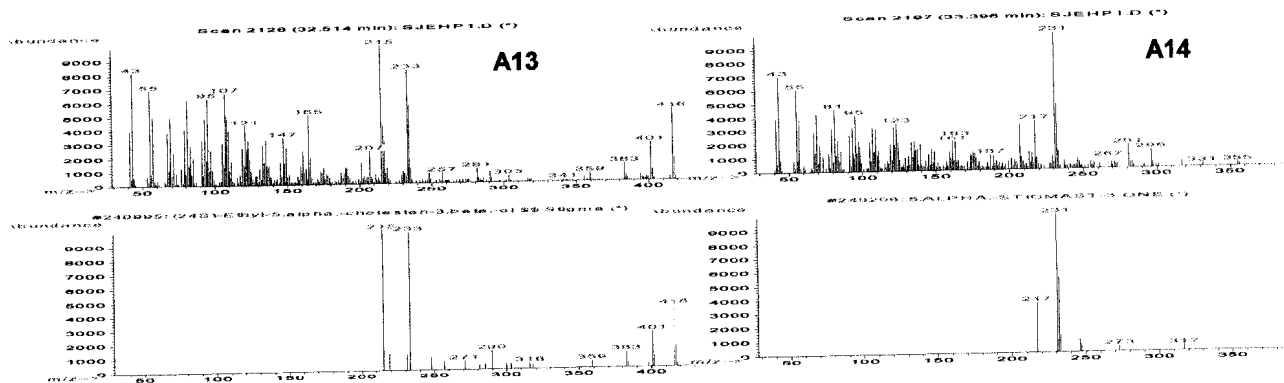
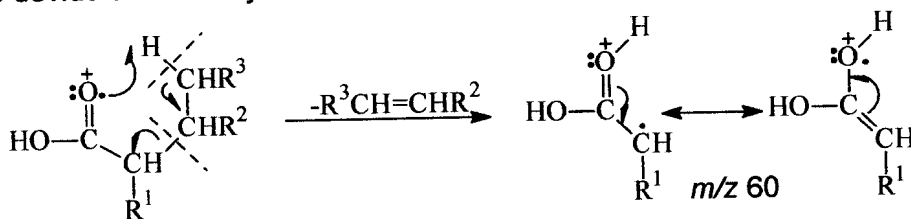


Figura II.4. (Continuação) Espectro de massas das substâncias A13 e A14 e comparação com os dados da biblioteca WILEY275.L

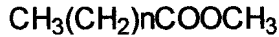
O pico mais característico dos ácidos monocarboxílicos lineares ocorre em m/z 60 e é devido ao rearranjo de McLafferty:



II-2.1.2. Ésteres graxos

As frações C e E correspondem a uma mistura de ésteres etílicos e metílicos de ácidos graxos, respectivamente. Para evitar a repetição das descrições dos espectros, somente a fração D será descrita, uma vez que apresenta a mistura de todos os ésteres metílicos e etílicos.

A fração D constitui uma mistura de ésteres metílicos e etílicos. O espectro de IV (Figura II.5) mostra absorções intensas em 2919 e 2849 cm^{-1} de deformações axiais de C-H e 720 cm^{-1} que são características de cadeia linear longa hidrocarbônica. A absorção em 1709 cm^{-1} sugere a presença de carbonila. O espectro de RMN de ^1H apresenta um singlete intenso em δ_{H} 1,24 atribuído ao grupo $(\text{CH}_2)_n$, um quarteto em δ_{H} 4,11 ($J=14\text{ Hz}$) relativo ao CH_2 ligado ao oxigênio do éster e um multiplete em δ_{H} 2,29 para o CH_2 ligado também ao carbono do éster etílico. Para o CH_3 do éster metílico e do final da cadeia carbônica é observado a absorção em δ_{H} 3,63 e superposição de sinais em δ_{H} 0,86, respectivamente (Figura II.6). O tamanho da cadeia carbônica foi determinada pelo CG-EM e comparação com alguns padrões da biblioteca WILEY275.L (Figuras II.7 e II.8). Os ésteres são:



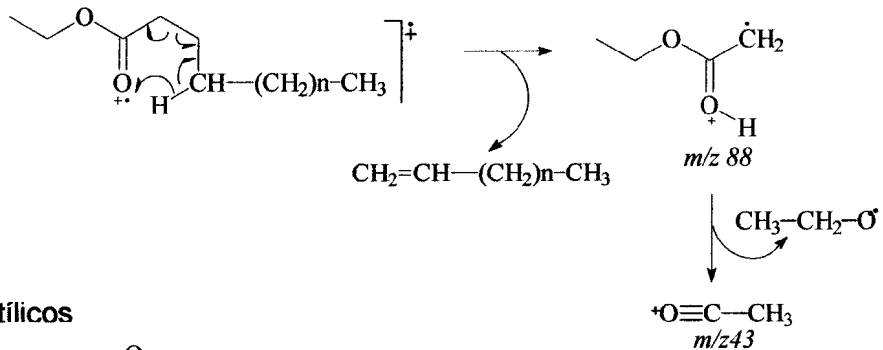
- D1** n=14 hexadecanoato de metila
D3 n=16 octadecanoato de metila
D5 Tricosane
D6 n=17 nonacosanoato de metila
D8 n=19 henicosanoato de metila
D10 n=20 docosanoato de metila
D12 n=21 tricosanoato de metila
D14 n=22 tetracosanoato de metila
D16 n=23 pentacosanoato de metila
D18 n=24 hexacosanoato de metila
D20 n=25 heptacosanoato de metila
D22 n=26 octacosanoato de metila
D24 n=27 nonacontanoato de metila
D26 n=28 triancontanoato de metila
D28 n=29 hentriancontanoato de metila
D30 n=30 dotriacontanoato de metila



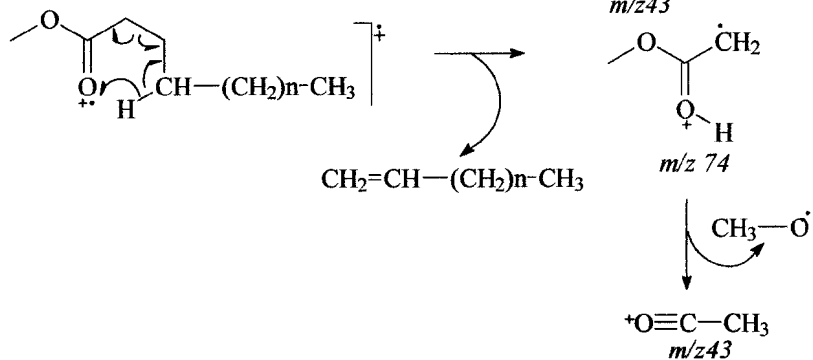
- D2** n=14 hexacosanoato de etila
D4 n=16 octadecanoato de etila
D7 n=18 eicosanoato de etila
D9 n=19 henicosanoato de etila
D11 n=20 docosanoato de etila
D13 n=21 tricosanoato de etila
D15 n=22 tetracosanoato de etila
D17 n=23 pentacosanoato de etila
D19 n=24 hexacosanoato de etila
D21 n=25 heptacosanoato de etila
D23 n=26 octacosanoato de etila
D25 n=27 nonacosanoato de etila
D27 n=28 triancontanoato de etila
D29 n=29 hentriancontanoato de etila
D31 n=30 dotriacontanoato de etila

Picos presentes no espectro de massas que justificam a presença dos ésteres etílicos e metílicos:

Ésteres etílicos



Ésteres metílicos



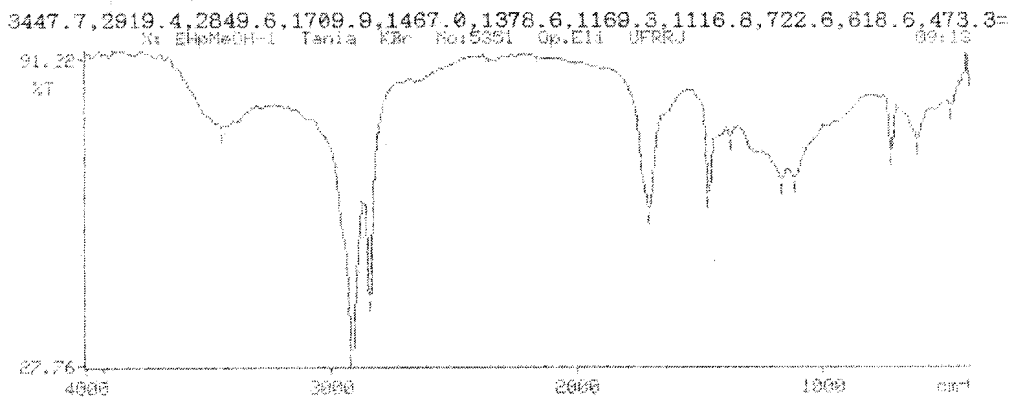


Figura II.5. Espectro na região do IV da Fração D de *S. jabrense*

FRAÇÃO D

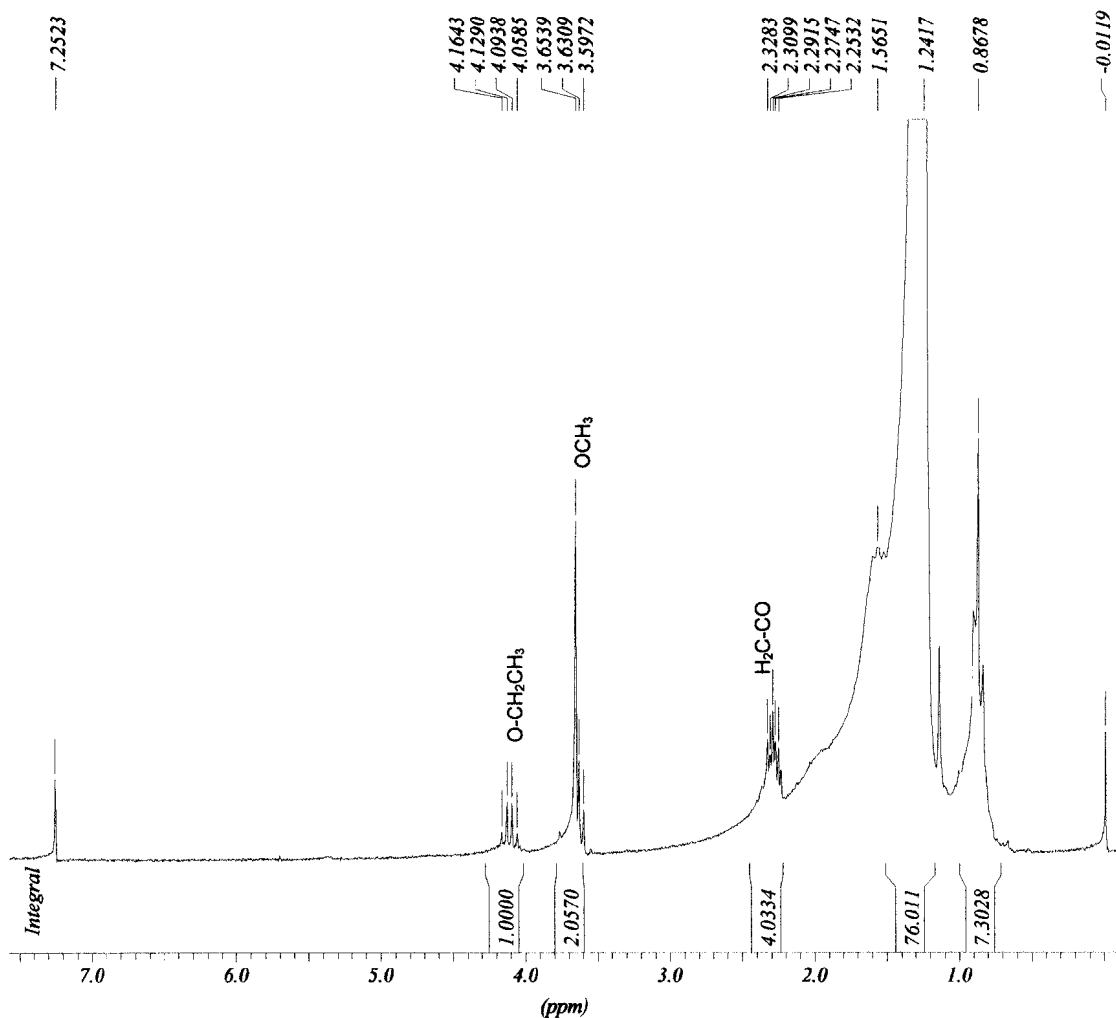


Figura II.6. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da Fração D de *S. jabrense*

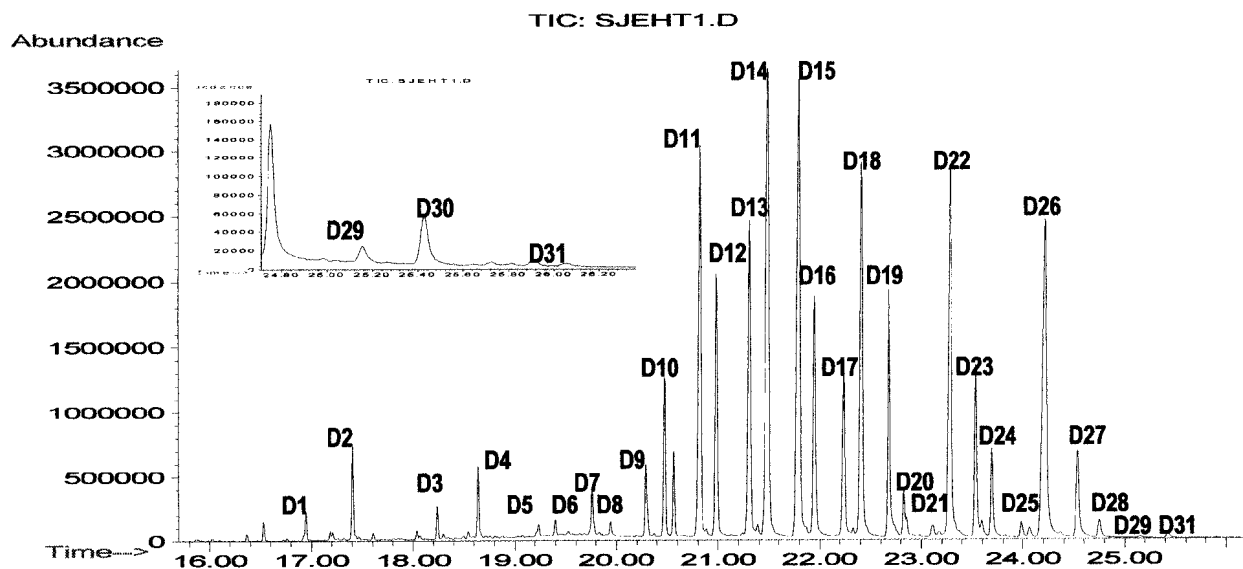


Figura II.7. Cromatograma dos íons totais da Fração D de *S. jabrense* (Coluna HP-5, Programação: 60 °C (2 min)-60-120 °C (6 °C/min)-120-290 °C (15 °C/min)-290 °C (15 min)).

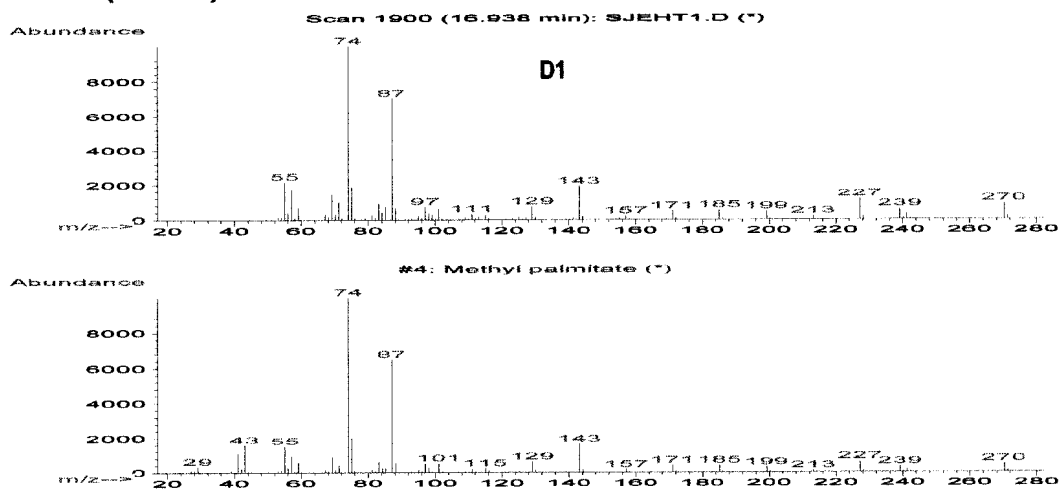


Figura II.8. Espectro de massas da substância D1

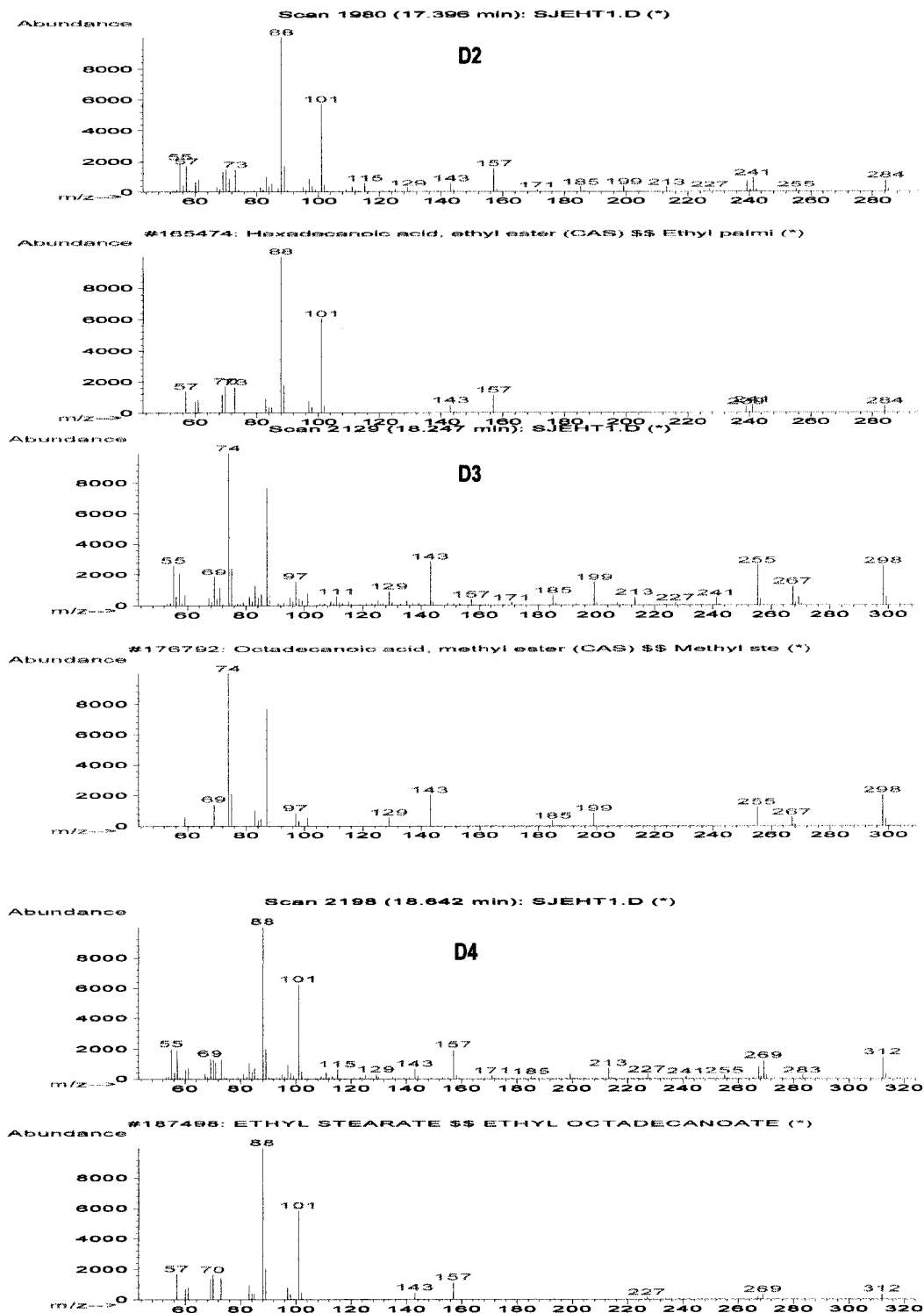


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D2-D4

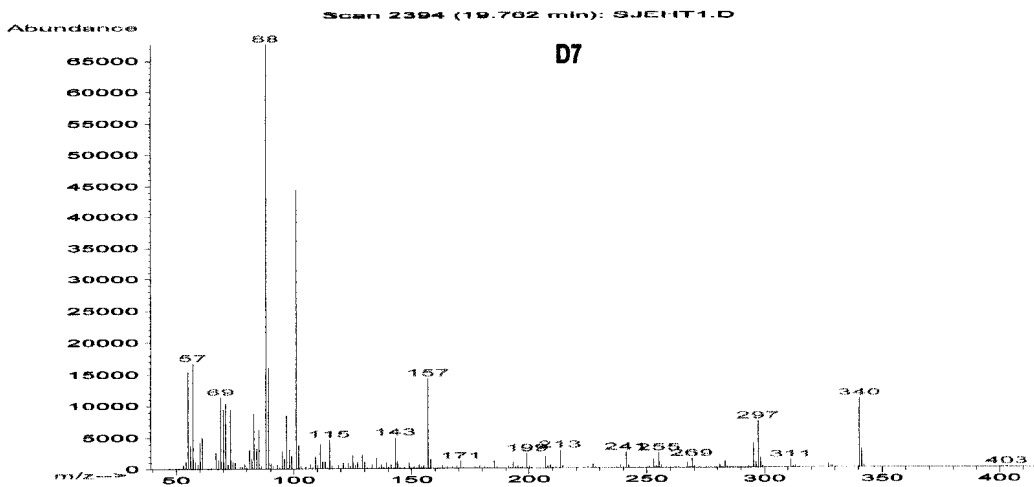
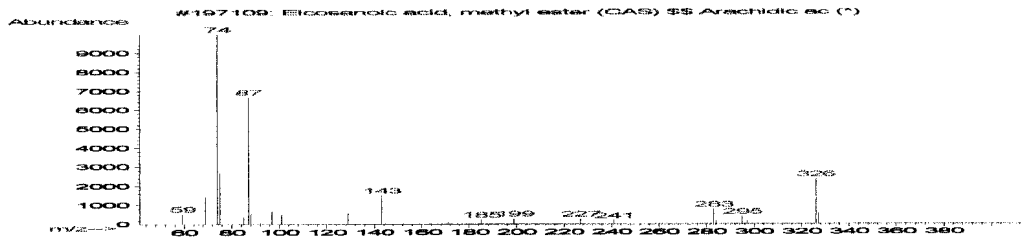
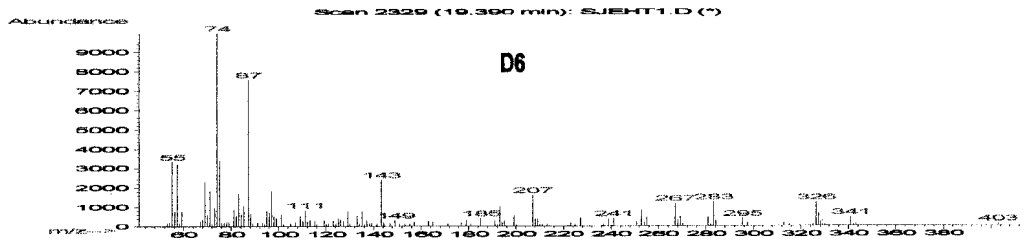
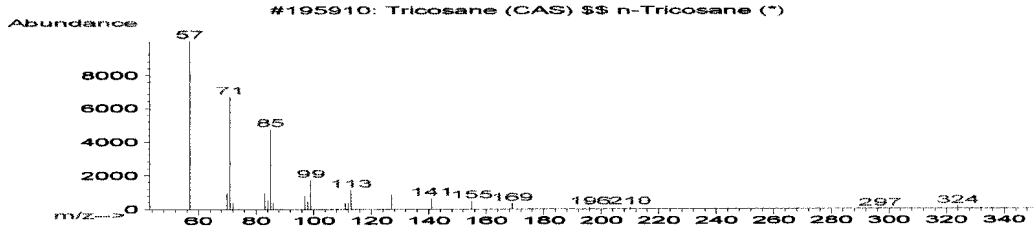
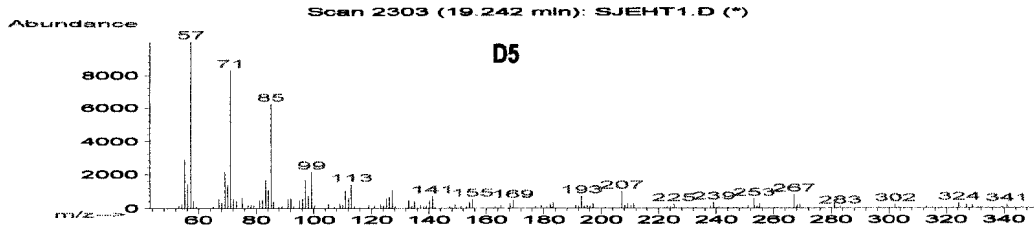


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D5-D7

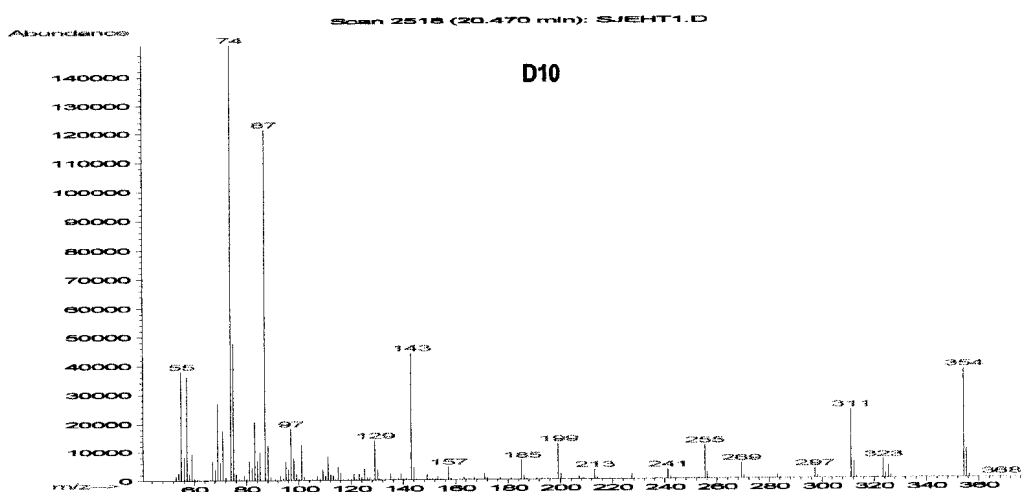
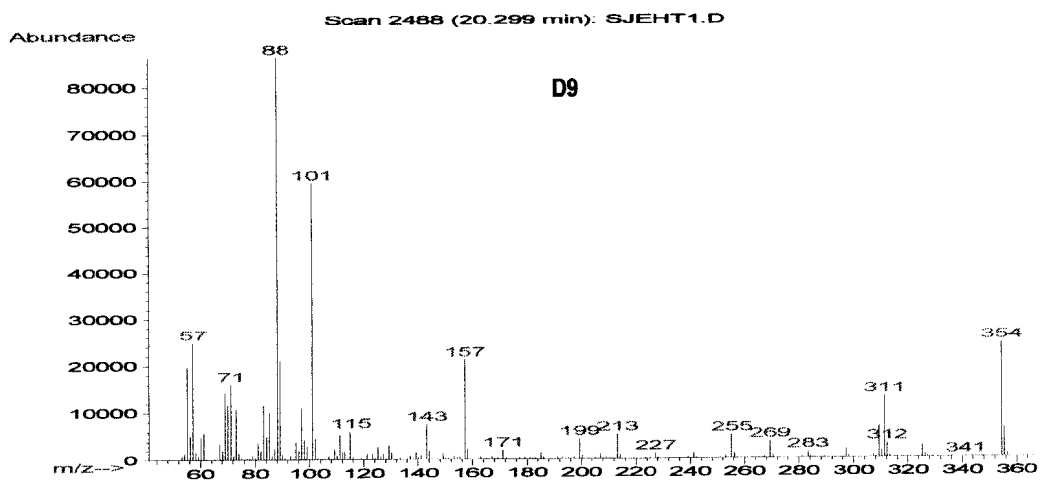
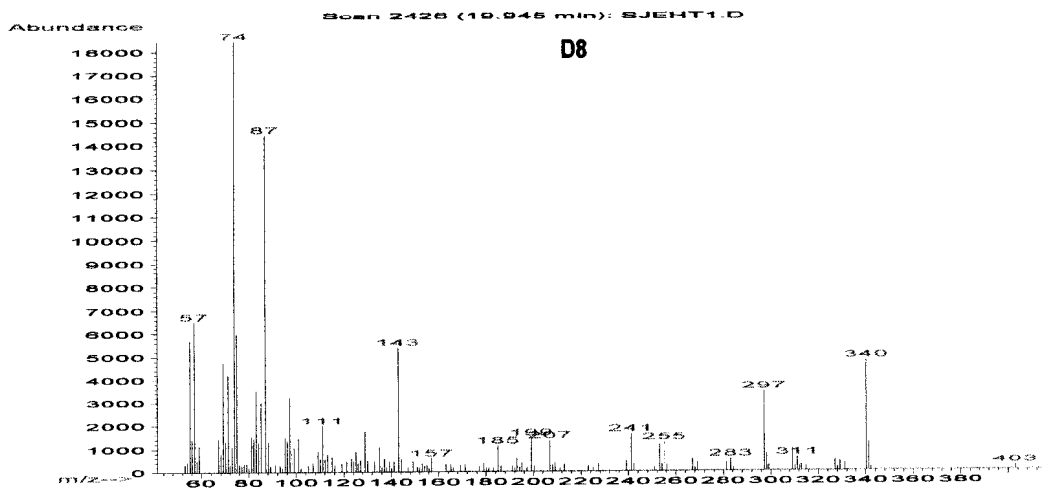


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D8-D10

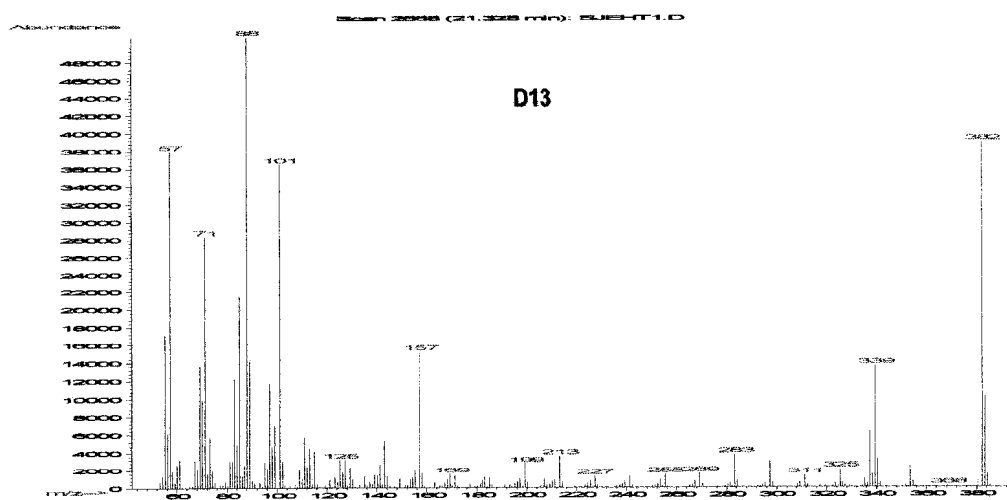
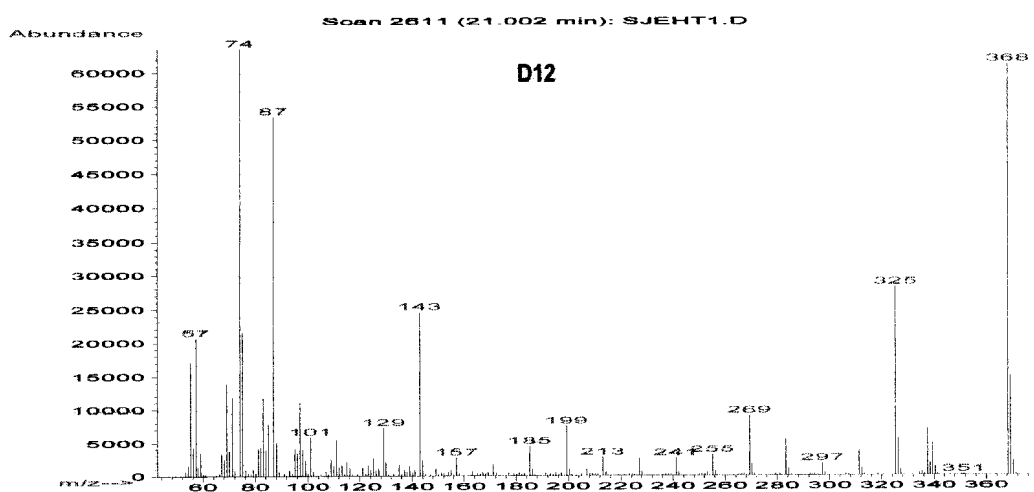
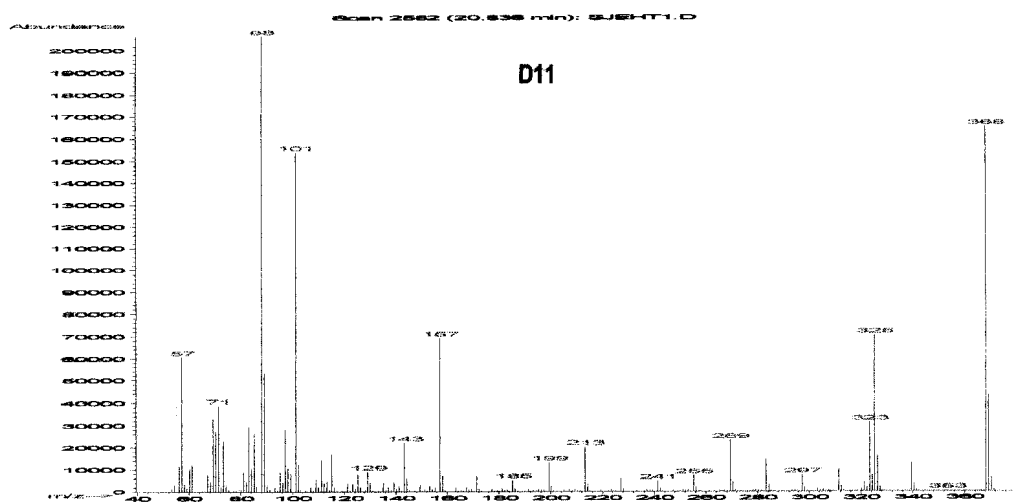


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D11-D13

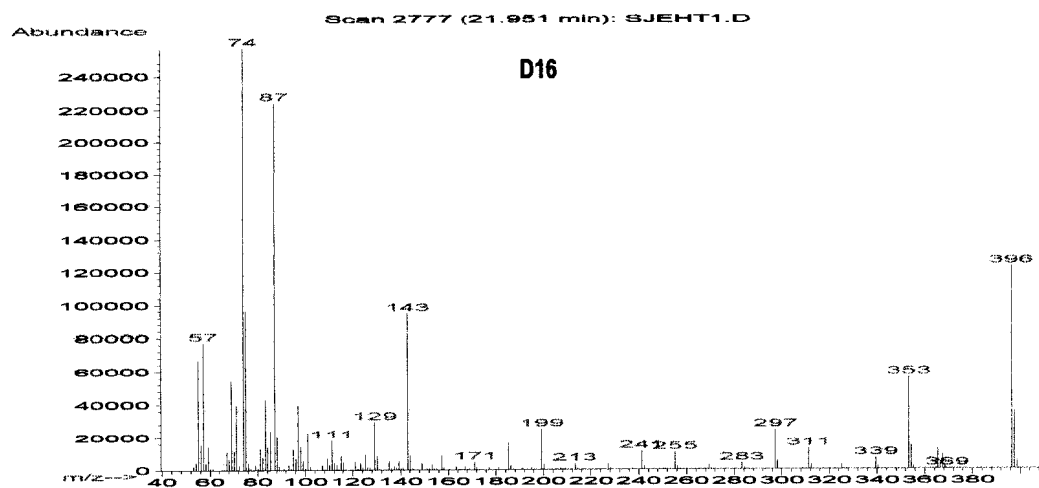
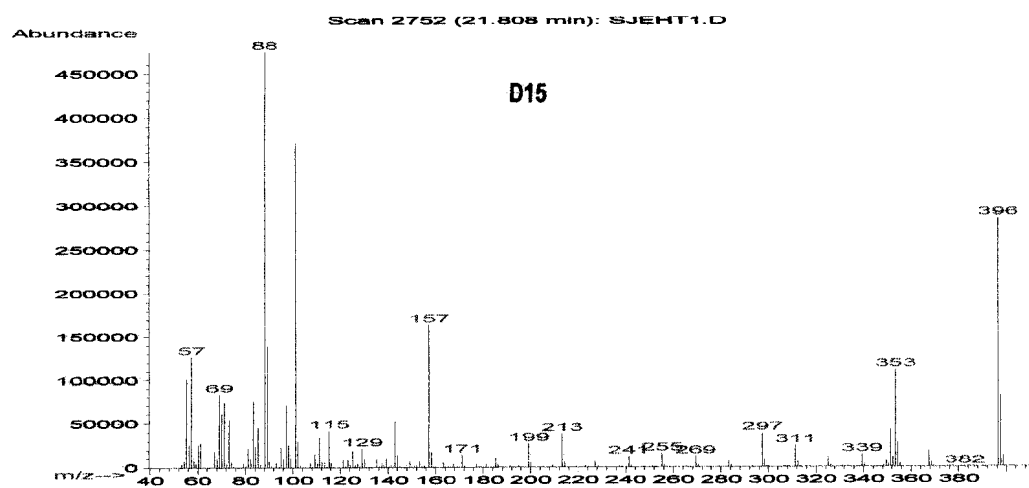
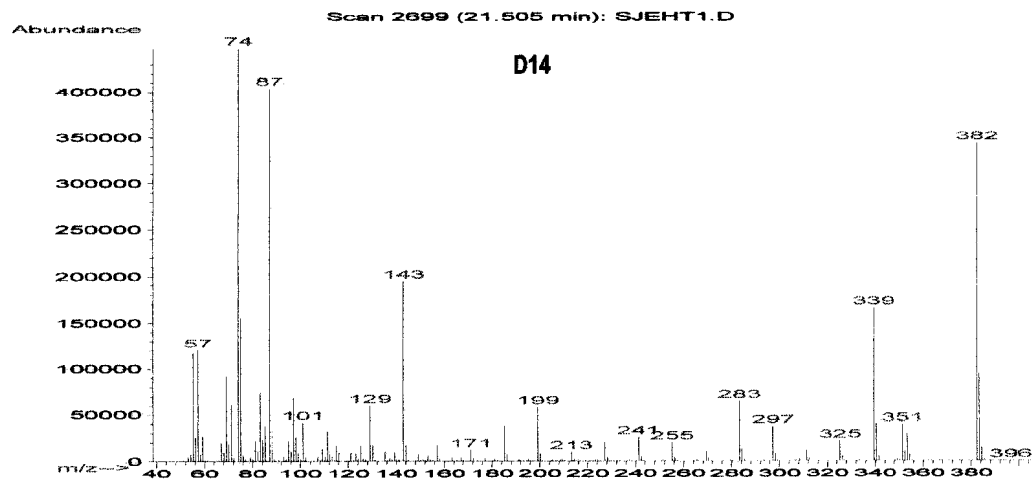


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D14-D16

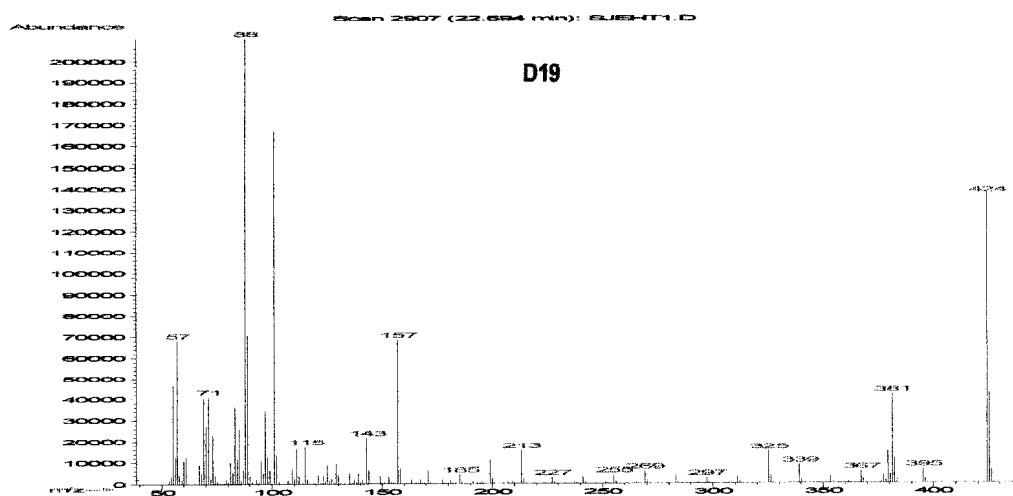
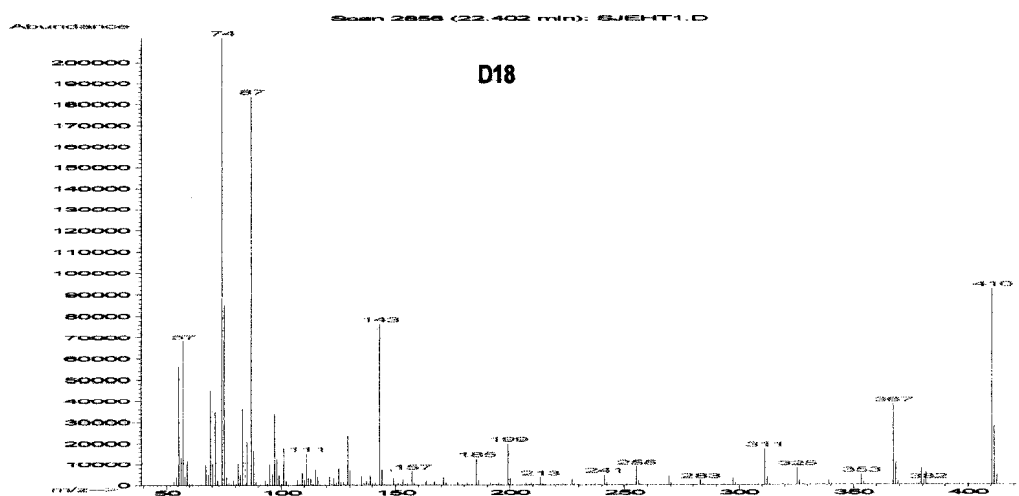
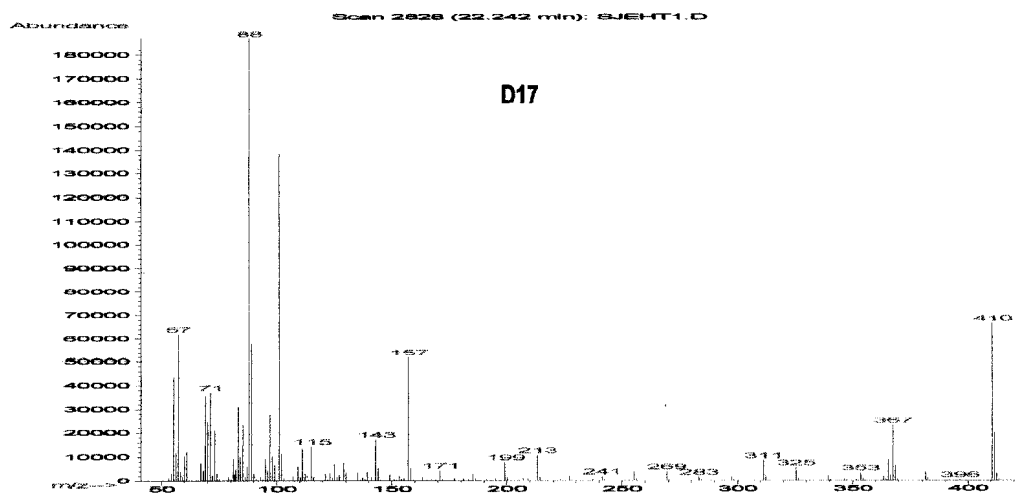


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D17-D19

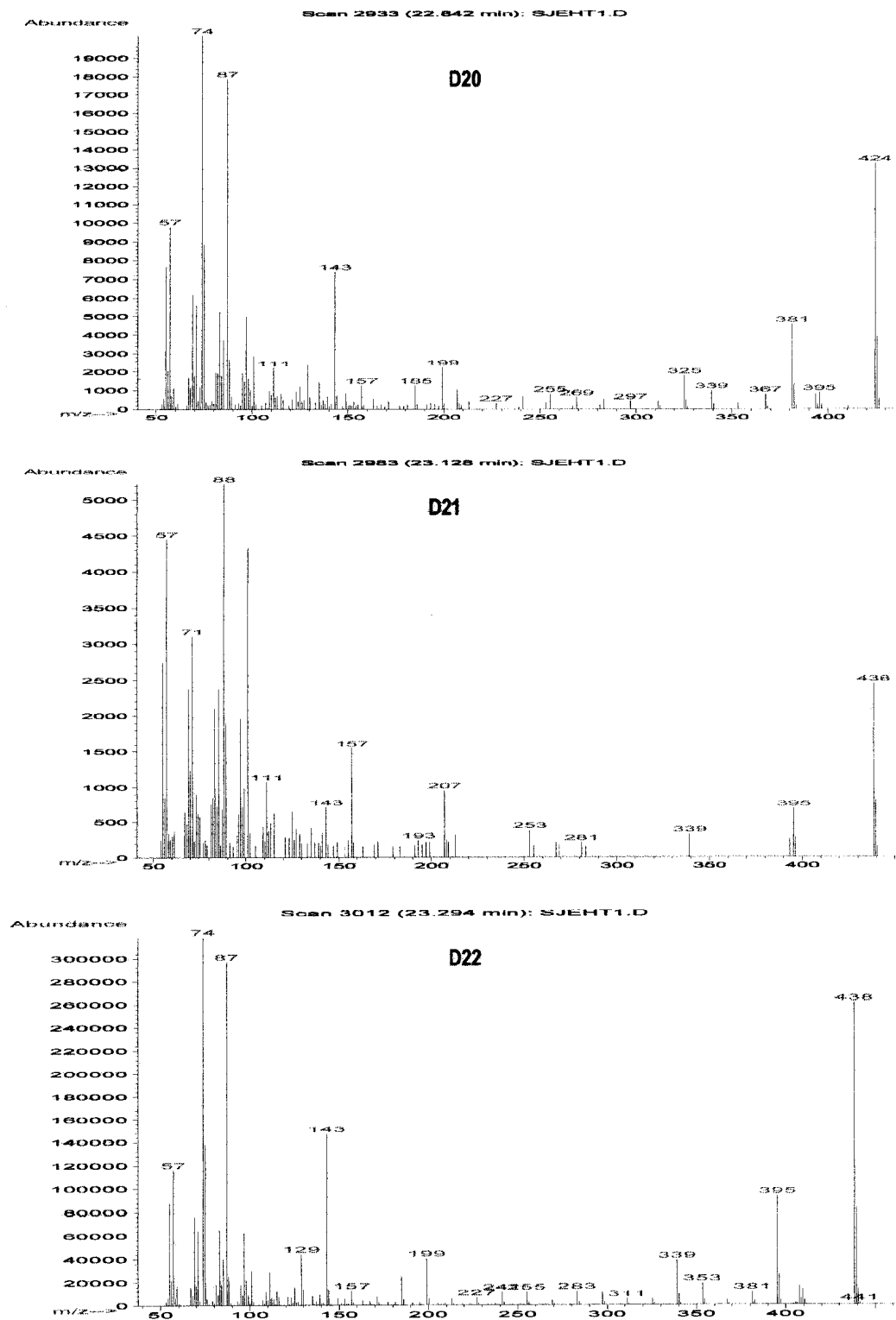


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D20-D22

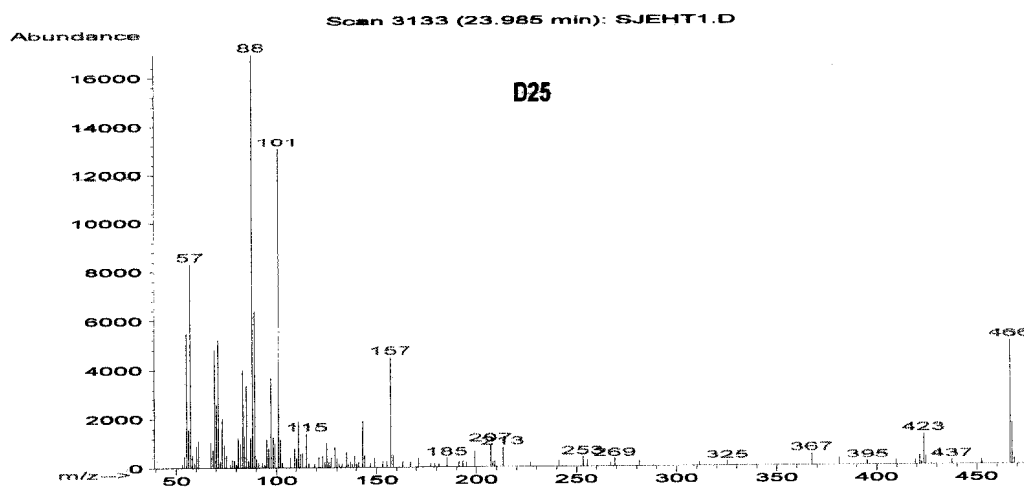
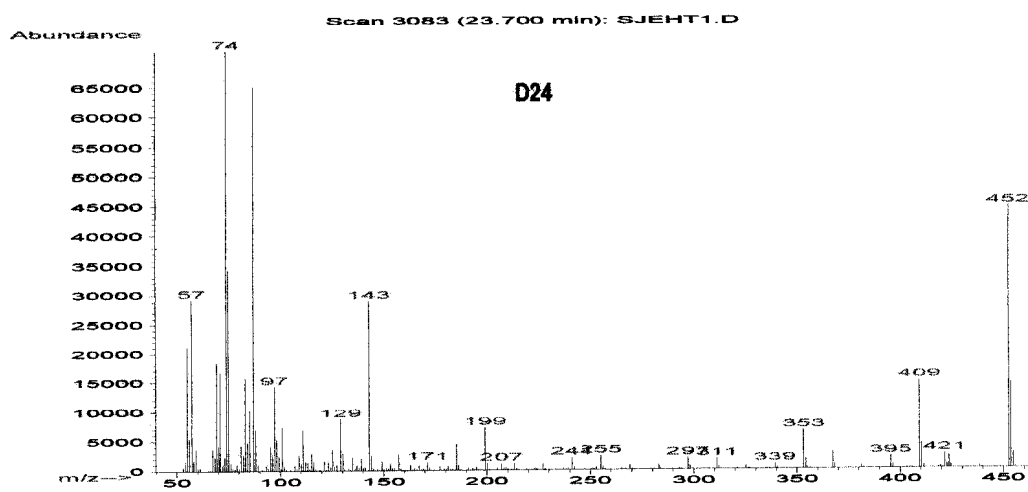
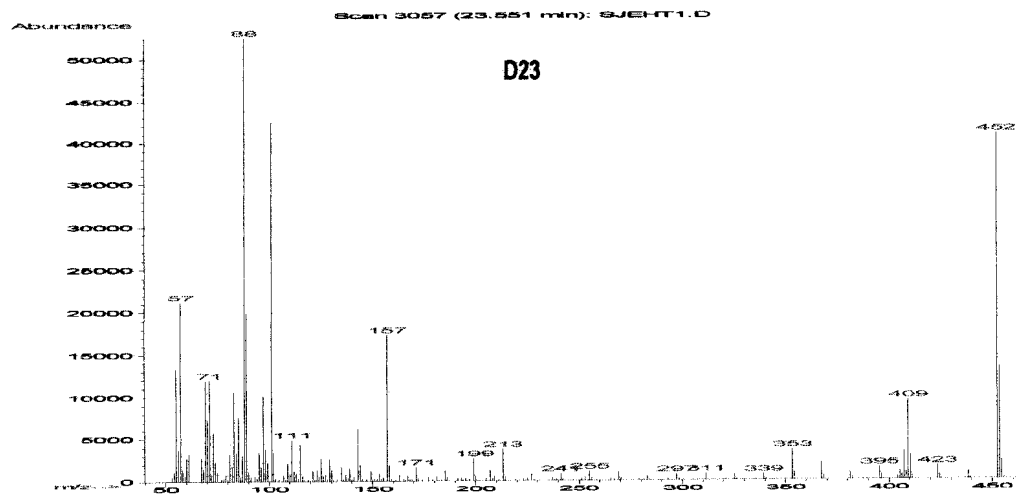


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D23-D25

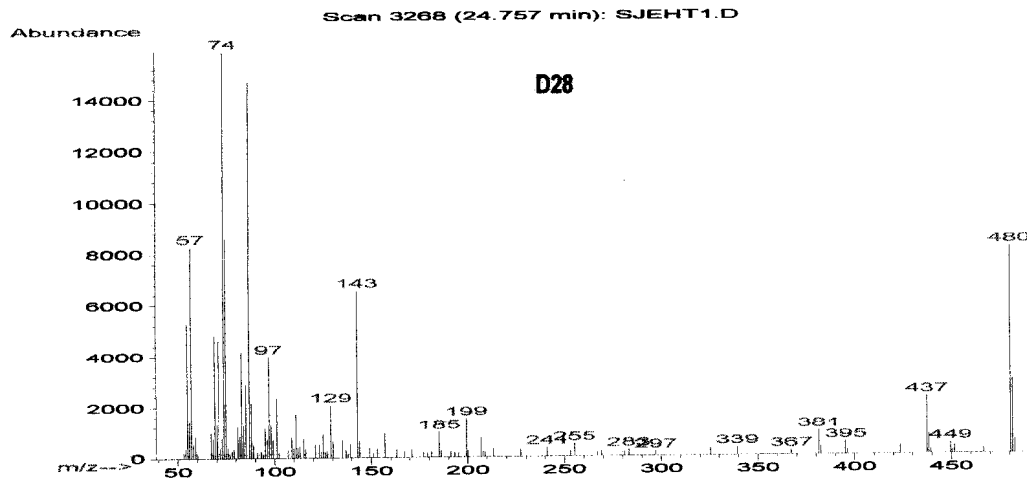
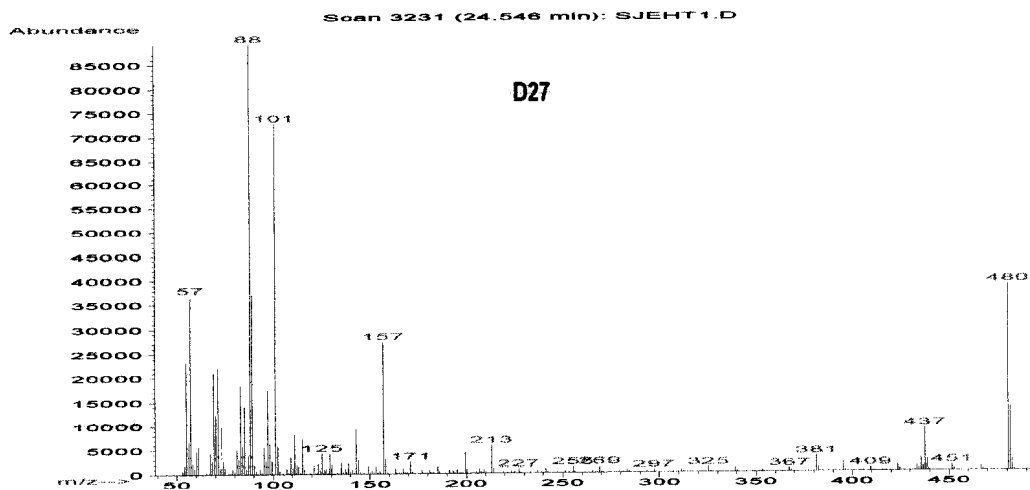
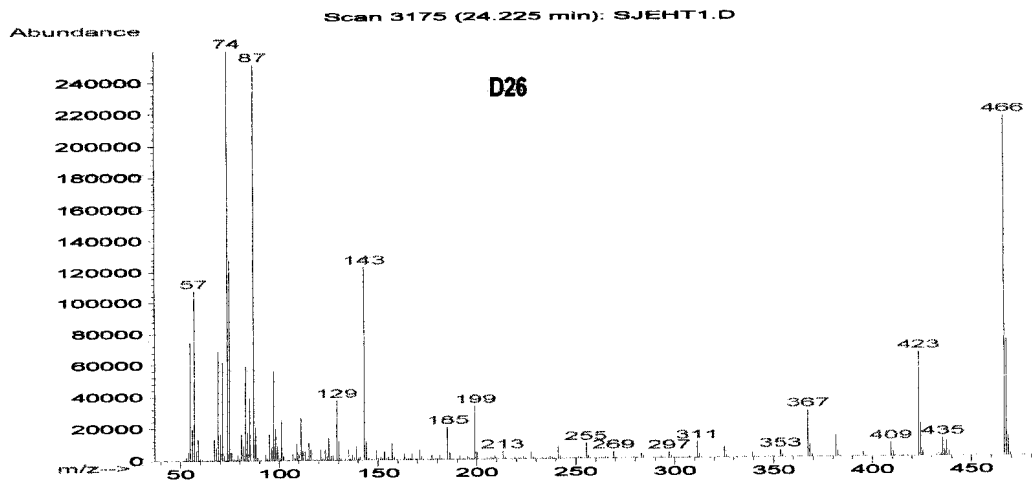


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D26-D28

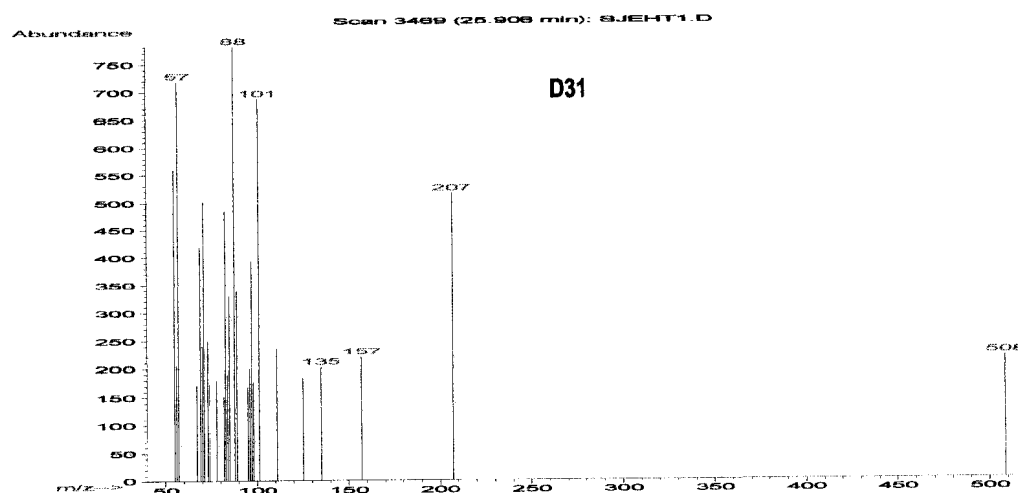
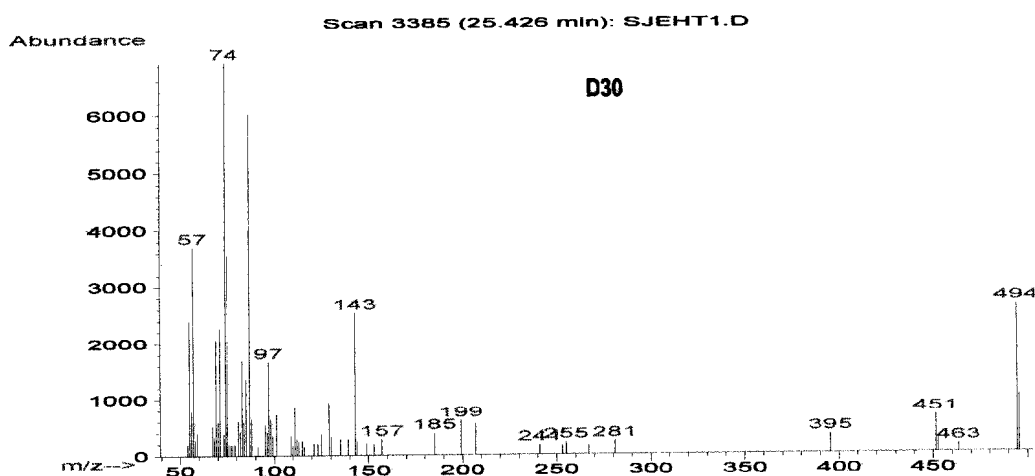
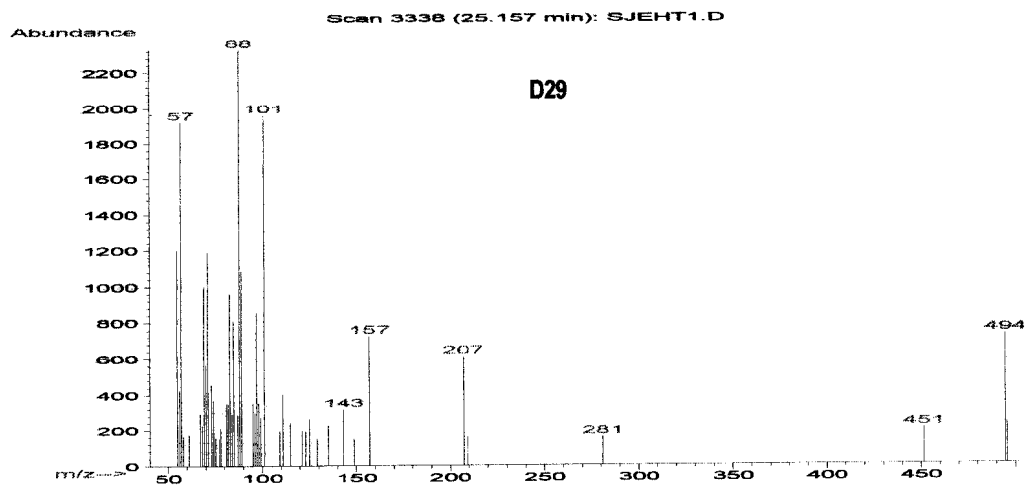


Figura II.8. (Continuação). Espectro de massas das substâncias D29-D31

II-2.1.3. Esteróides

As substâncias **32** e **33** constituem uma mistura de esteróides comumente encontrados na natureza vegetal, sitosterol e estigmasterol. O espectro de IV (Figura II.9) revela bandas de absorção para grupo hidroxila (3423 cm^{-1} , estiramento O-H), grupamentos CH_2 e CH_3 (2936 cm^{-1} e 2866), $\text{C}=\text{C}$ (1660 cm^{-1}) e $\text{C}-\text{O}$ (1054). O espectro de RMN de ^1H (Figura II.10) é bem característico quando apresenta sinais entre δ_{H} 0,8 e 2,0 de grupos metílicos, um multipeto próximo a δ_{H} 3,5 para o hidrogênio carbinólico H-3, um dubleto em δ_{H} 5,3 correspondente ao H-6 olefínico. No caso do estigmasterol, os hidrogênios olefínicos H-22 e H-23, aparecem como um multipeto em torno de δ_{H} 5,1. Estes valores estão de acordo com os dados da literatura (KOJIMA *et al.*, 1990).

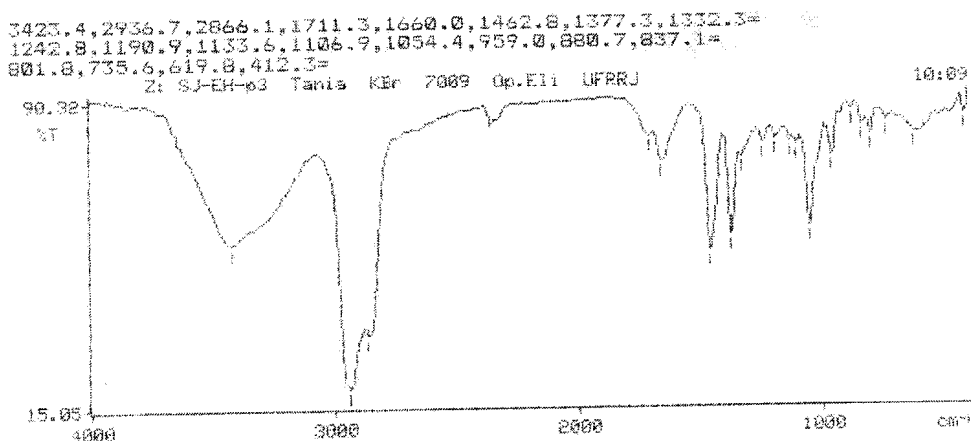


Figura II.9. Espectro de IV da mistura **32** + **33**

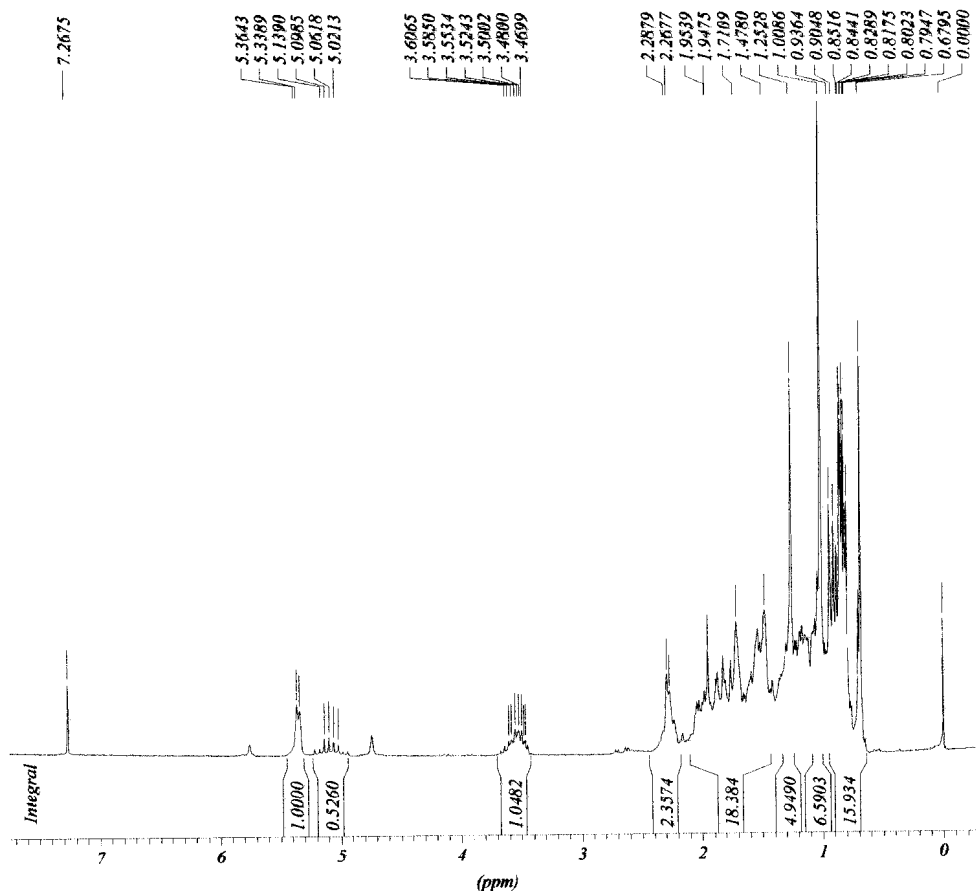


Figura II.10. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) das substâncias 32 e 33 (sitosterol e estigmasterol)

II-2.1.4. Sesquiterpeno

A substância **34** é um óleo amarelo claro, $[\alpha]_{20}^D -103,4$ ($c = 0,545$; CHCl_3), com um cheiro peculiar característico das folhas da espécie *in natura*. Em CCD quando borrifado com reagente de Liebermann Burchard apresentou cor amarelo laranja intenso.

As análises dos espectros de RMN de ^1H (Figuras II.12 e II.13) e ^{13}C (PND e DEPT, Figura II.14), junto com hetero-COSY (HMQC, Figura II.15) permitiu identificar tres grupos metílicos, δ 21,31, δ 20,92 e δ 15,91 ligados aos respectivos hidrogênios em δ (1,71; sl); (1,90; sl) e (0,94, d, $J=6,9$ Hz), quatro metilenos sp^3 δ_{C} 42,99 [δ_{H} 2,61 e 2,16 com um sistema ABX $J_{\text{AB}}=16,8$ Hz; $J_{\text{AX}}=J_{\text{BX}}=4,5$ Hz], 40,85 [δ_{H} 2,05 (m) e 1,53 (dd, $J=13,2$ e 11,8 Hz)], 34,14 [δ_{H} 1,85 (m) e 1,65 (m)], 32,79 [δ_{H} 1,88 (m) e 1,57 (m) e um sp^2 , 109,07 [δ_{H} 4,69 e 4,68 (sl, 2H)], dois carbonos

metínicos sp^3 , δ_C 46,58 [δ_H 2,50 (m)] e 39,28 [δ_H 2,07 (m)], e um sp^2 , δ_C 125,53 ligado ao hidrogênio com δ_H 5,70 (s). A presença de quatro carbonos quaternários, sendo um sp^3 (δ_C 50,14) e três sp^2 (δ_C 199,09; 166,64; e 147,15) compatíveis aos carbonos de um grupo vinila e de uma enona. Estas informações permitiram identificar a fórmula expandida $(H_3C)_3, (C H_2)_4(CH)_2(C)(=C-H)(=C-)_2(=CH_2)(C=O)$ e deduzir a fórmula molecular $C_{15}H_{22}O$ compatível com a estrutura molecular de um sesquiterpeno para **34**. A análise dos espectros de IV (Figura II.11) e comparação com valores registrados na literatura (COXON *et al.*, 1974) foi possível propor para **34** a estrutura de solavetivona. A análise do CG-EM (Figura II.19) confirmou a estrutura proposta (m/z 218 (50, M^{+*}), 190 (50, 1a), 175 (40, 1b), 133 (70,1c), 108 (100,1d), entre outros. A tabela II.1 mostra a atribuição dos dados de RMN¹H e RMN¹³C após análise detalhada dos espectros de RMN 2D [¹H-¹H-COSY (Figura II.16), ¹H-¹H-NOESY (Figura II.17) e ¹H-¹³C-COSY (HMBC, Figura II.18)]. Os dados de RMN estão descritos na Tabela II.3 abaixo.

Tabela II.3. Dados de RMN de ¹H (500 MHz) e RMN de ¹³C 1D e 2D (125 MHz) de **34** (solavetivona) em CDCl₃

	¹ H- ¹³ C-HMQC- ¹ J _{CH}		¹ H- ¹³ C-HMBC- ⁿ J _{CH}	
	δ_C	δ_H (Mult, MHz)	² δ_{CH}	³ δ_{CH}
C				
2	199,09	-	2H-1	H-10
4	166,64	-	3H-15	2H-9, 2H-6, H-10
5	50,14	-	2H-9, H-10	H-3, 2H-1, 2H-8, 3H-
11	147,15	-	H-7, 2H-12, 3H-13	H-6b
CH				
3	125,53	5,70 (s)	-	3H-15, H-1b
7	46,58	2,50 (m)	2H-8,2H-6	2H-12, 3H-13, 2H-8, 2
10	39,28	2,07 (m)	2H-1, 3H-14	2H-6, H-9b
CH₂				
1	42,99	2,61 (dd, 4,5; 16,8, 1a) 2,16 (dd, 4,5; 16,8, 1b)	H-10	H-3, 3H-14
6	40,85	2,05 (m, 6a) 53 (dd, 13,2; 11,2, 6b)	H-7	-
8	32,79	1,89 (m, 8a) 1,57 (m, 8b)	H-7, 2H9	H-6a
9	34,41	1,85 (m, 9a) 1,65 (m, 9b)	2H-8	H-7, 2H-6
12	109,07	4,69 (s) 4,68 (s)	-	H-7, 3H-13
CH₃				
13	21,31	1,71 (sl)	-	2H-12, H-7
14	15,91	0,94 (d, 6,9)	H-10	2H-1
15	20,92	1,90 (sl)	-	H-3

Este sesquiterpeno foi isolado anteriormente da espécie *Solanum tuberosum*. Os sesquiterpenos do tipo vetispirano são produzidos em tecidos dos tubérculos da batatinha em resposta ao fungo *Phytophthora infestans*, portanto são considerados fitoalexinas (COXON *et al.*, 1974). O entendimento da formação das fitoalexinas é muito difícil devido a compreensão do caminho biossintético, e os sesquiterpenos fungitóxicos elaborados por membros da família Solanaceae é um excelente modelo de caracterização dos mesmos. Devido a importância agrônômica das plantas desta família (que inclui tomate, batatinha, pimenta e tabaco) as pesquisas têm-se intensificado para a compreensão da formação biossintética destes sesquiterpenos (REDDY & SIGNS, 1993; WHITEHEAD *et al.*, 1989). A Figura II.20 mostra a rota biossintética para formação dos sesquiterpenos (fitoalexinas) em Solanaceae.

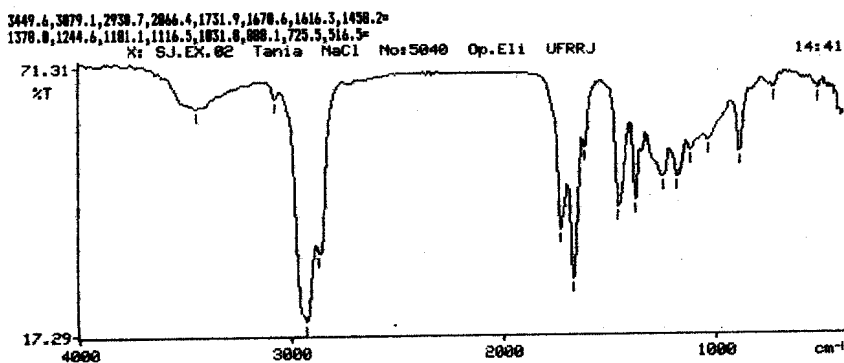


Figura II.11. Espectro de IV da substância 34 (solavetivona)

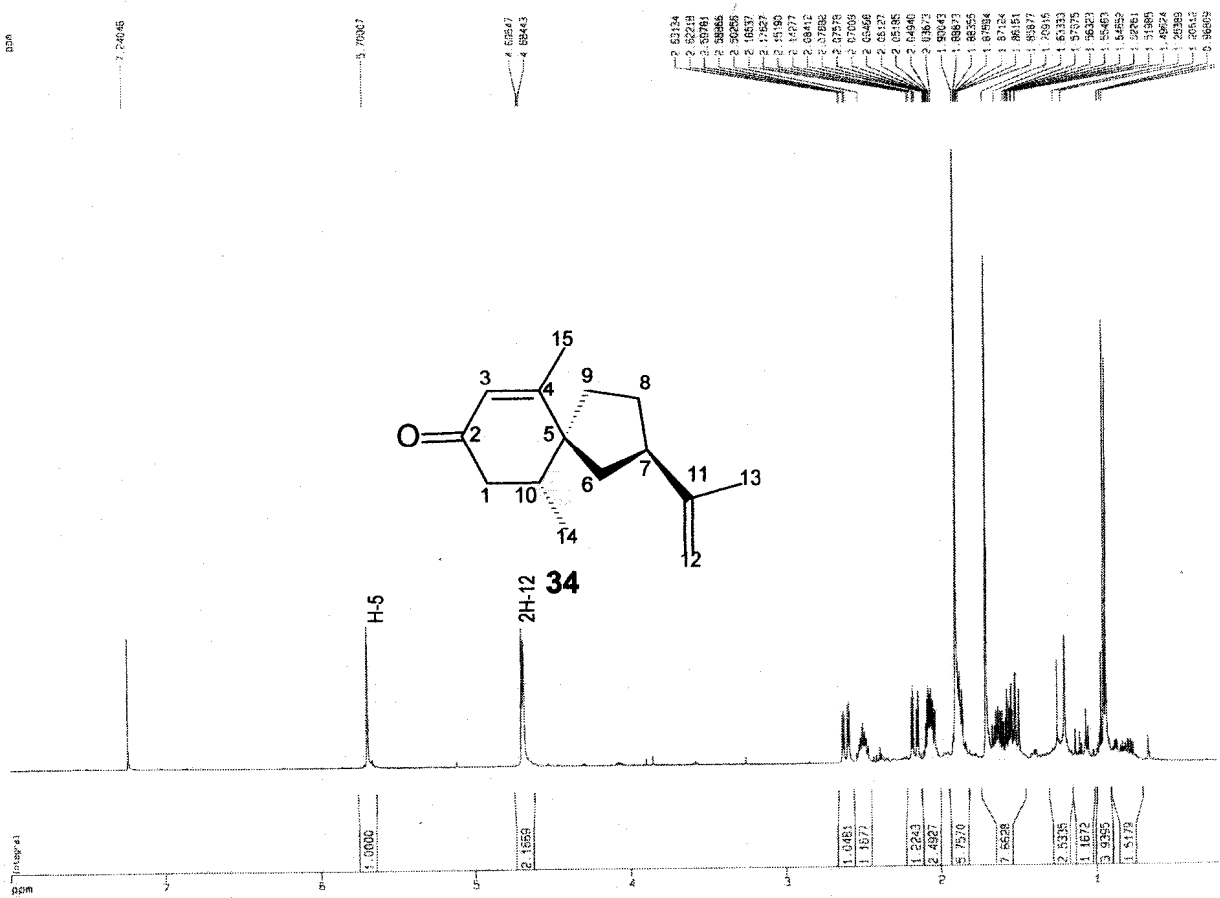


Figura II.12. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 34 (solavetivona)

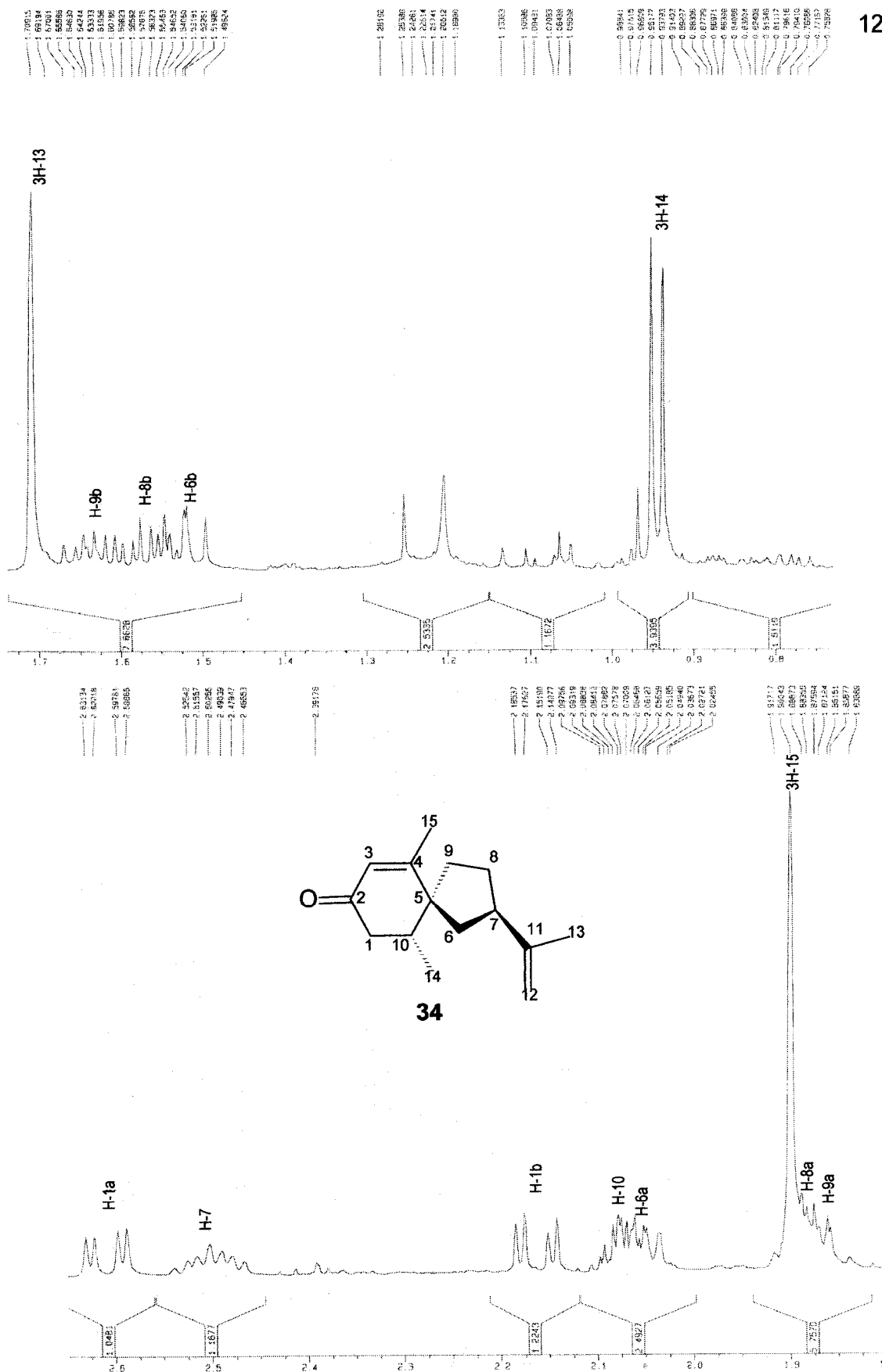


Figura II.13. Expansões do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 34 (solavetivona)

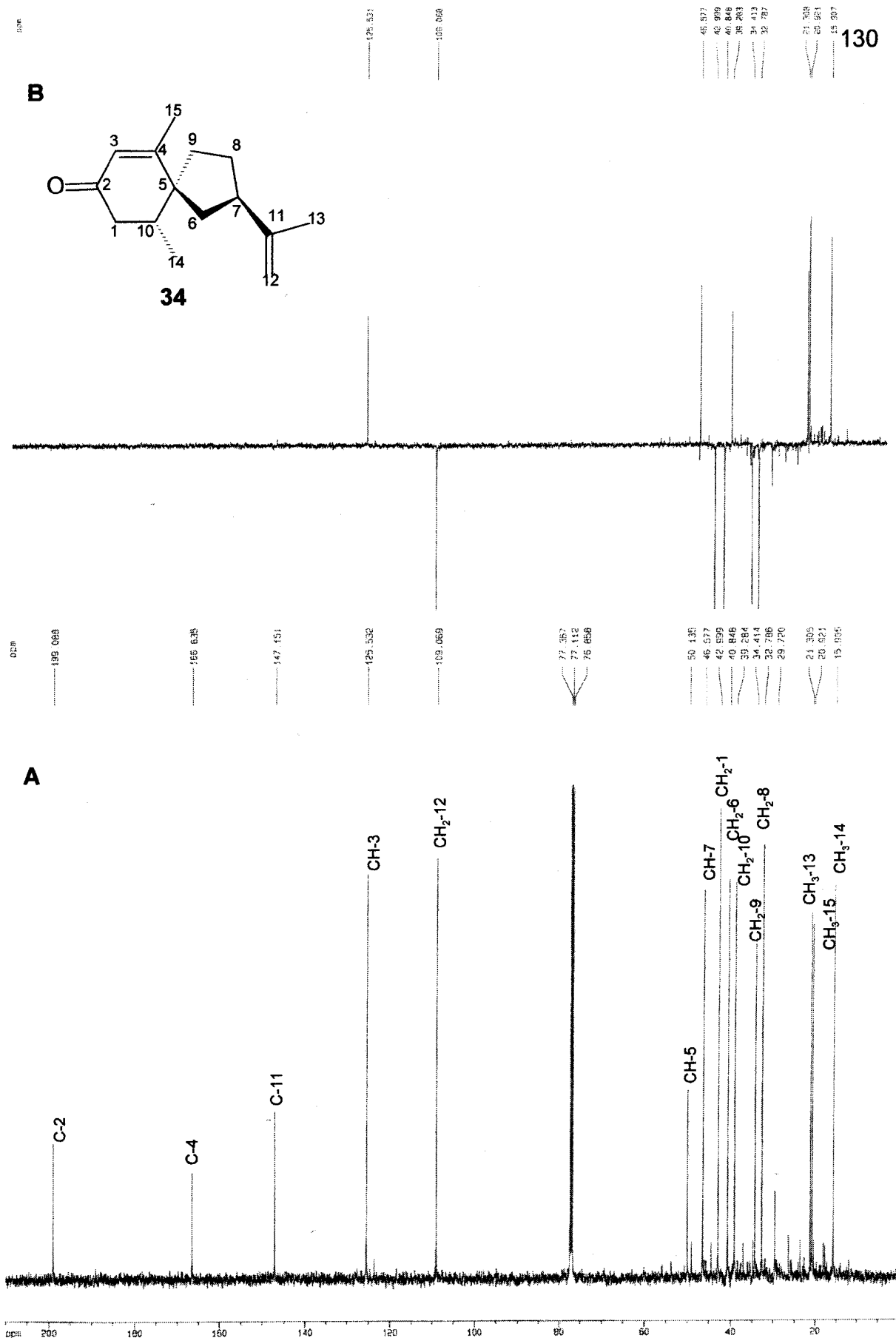


Figura II.14. Espectro de RMN de ¹³C (A) e DEPT (B) da substância 34, solavetivona, (125 MHz, CDCl₃)

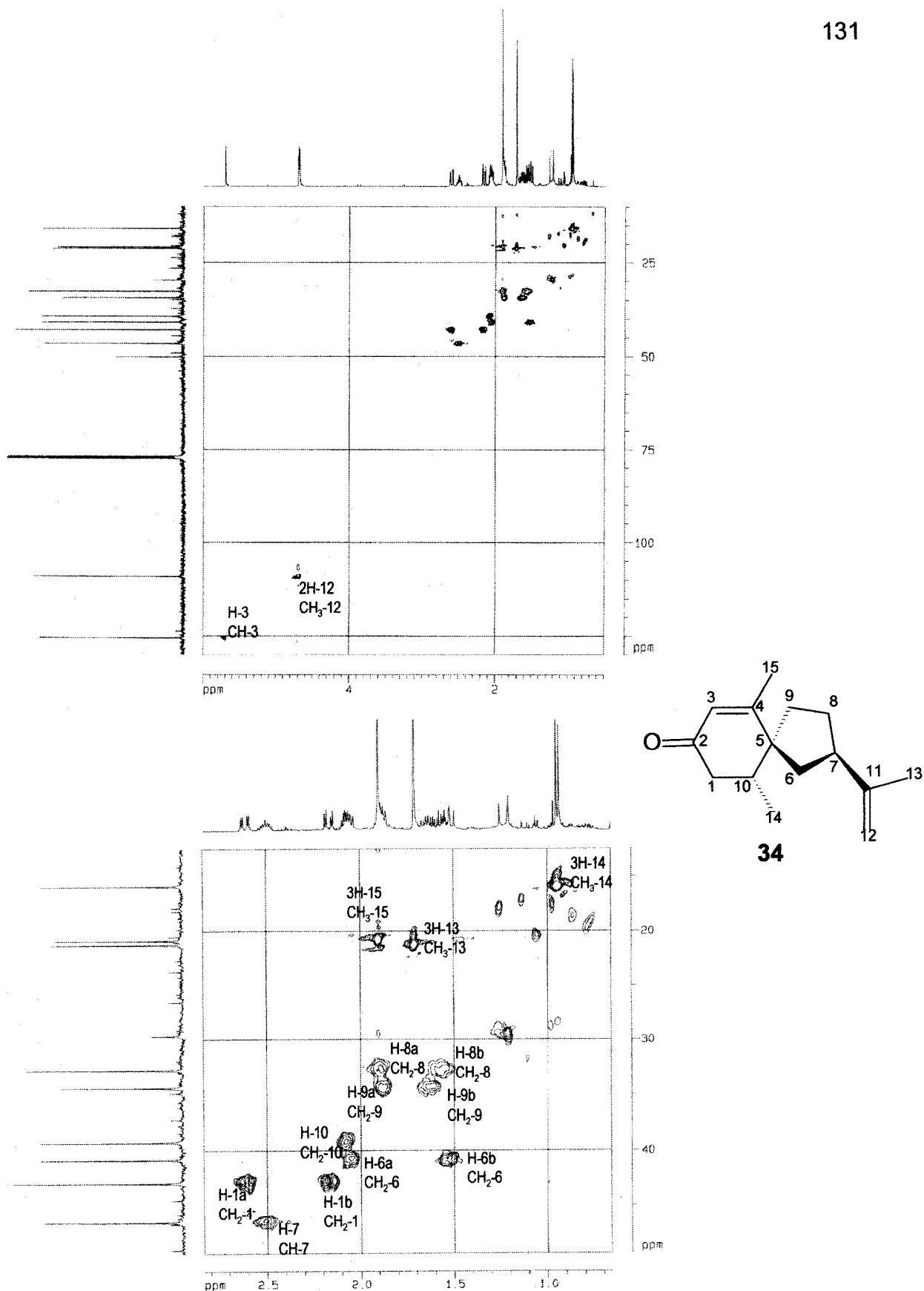


Figura II.15. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl₃) de 34 (solavetivona)

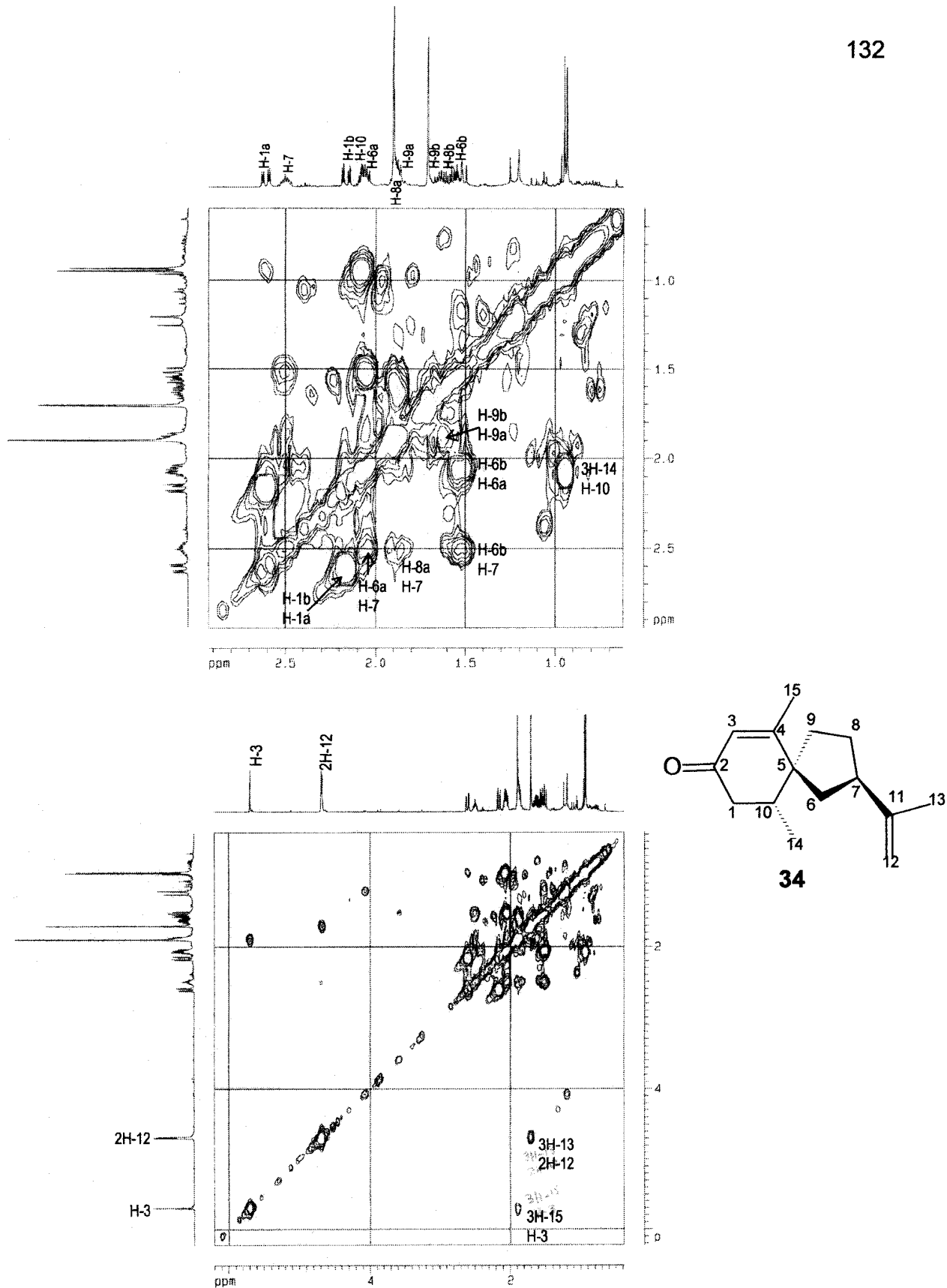


Figura II.16. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl_3) de 34 (solavetivona).

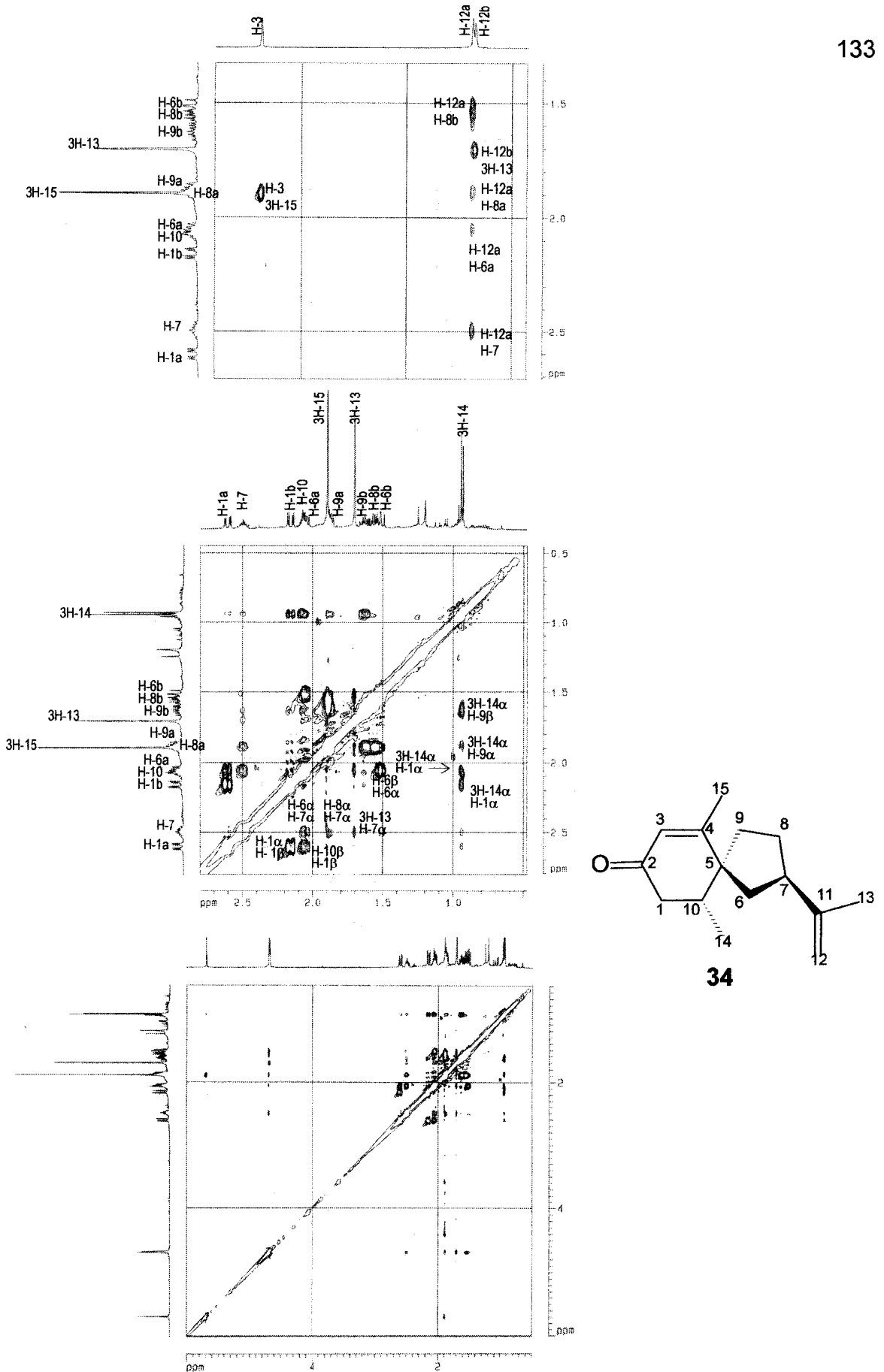


Figura II-17 Espectro de RMN NOESY (500 MHz, CDCl₃) de 3 (solavetivona).

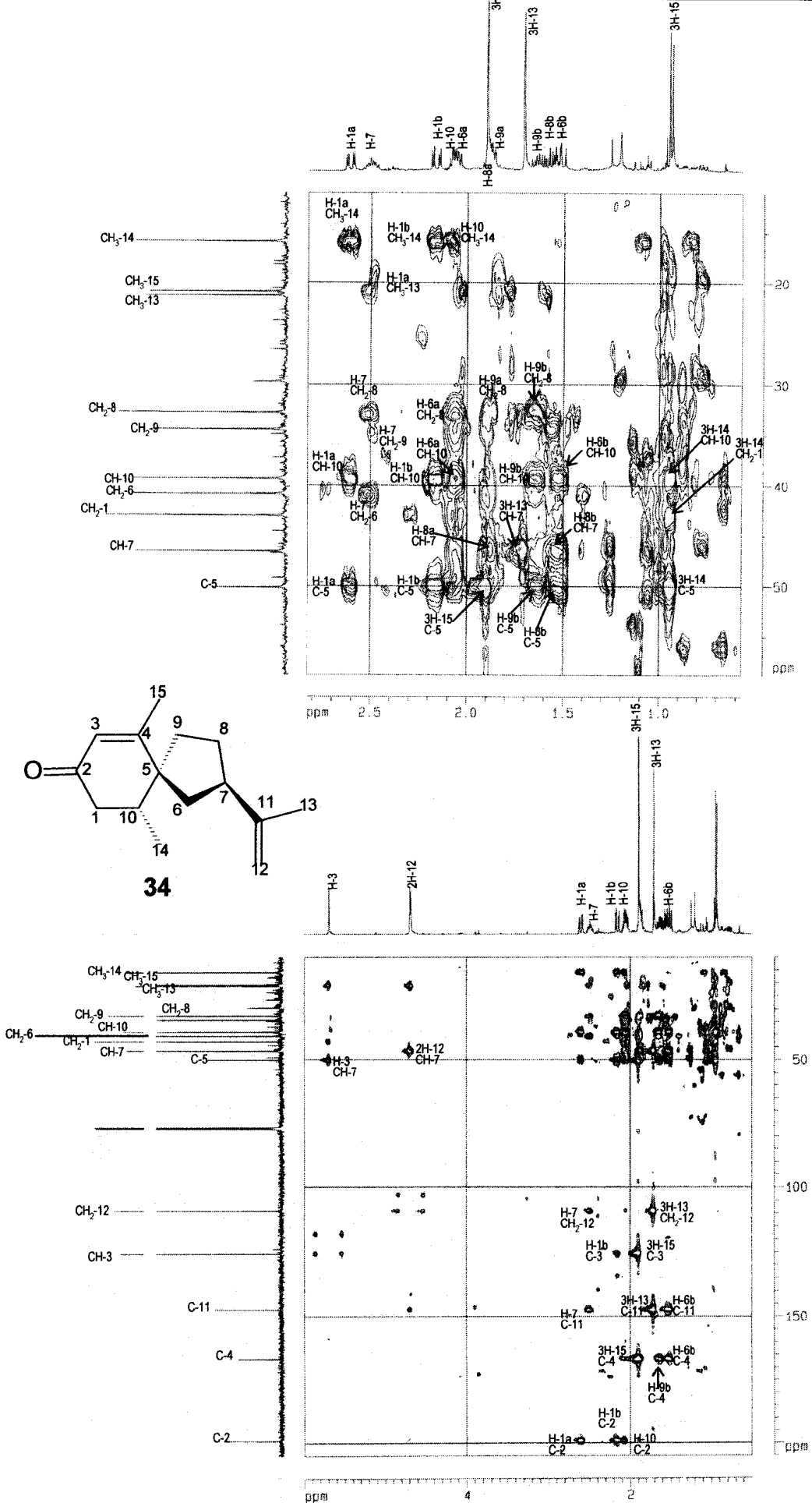


Figura II.18. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl₃) de 34 (solavetivona)

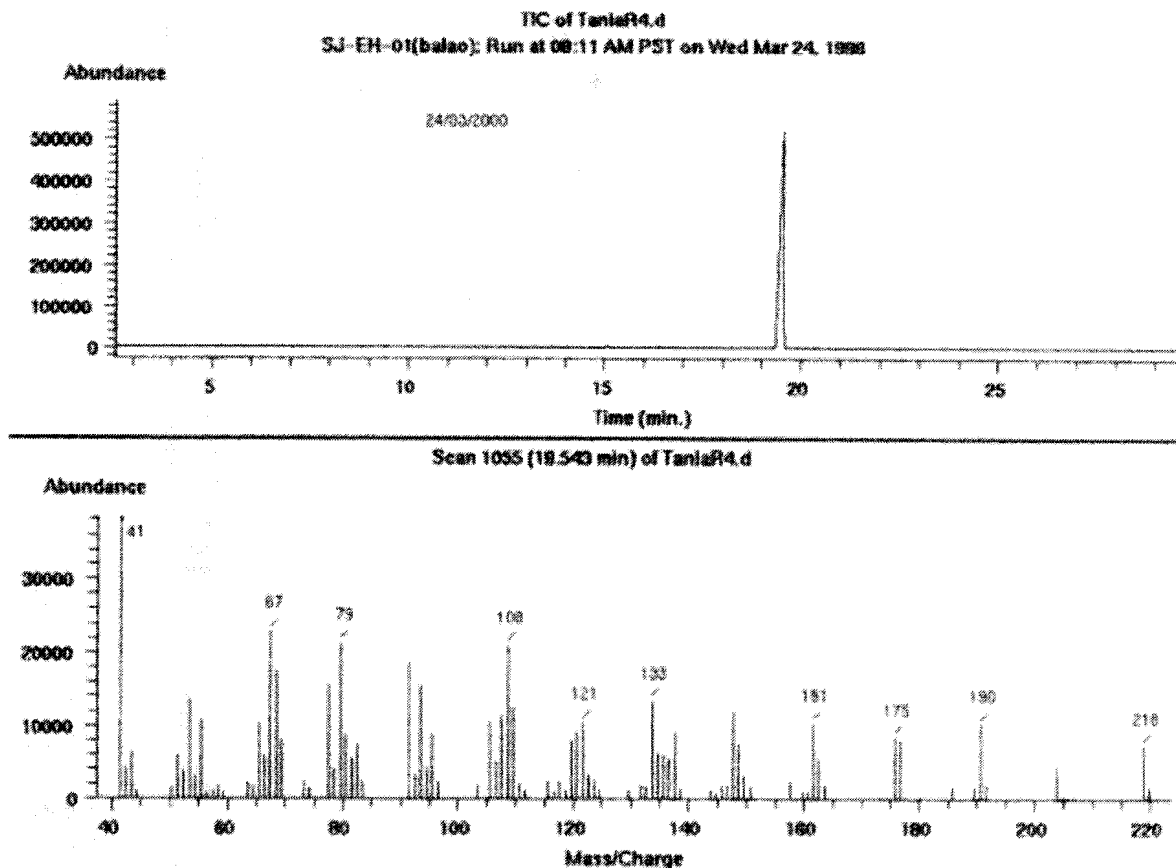
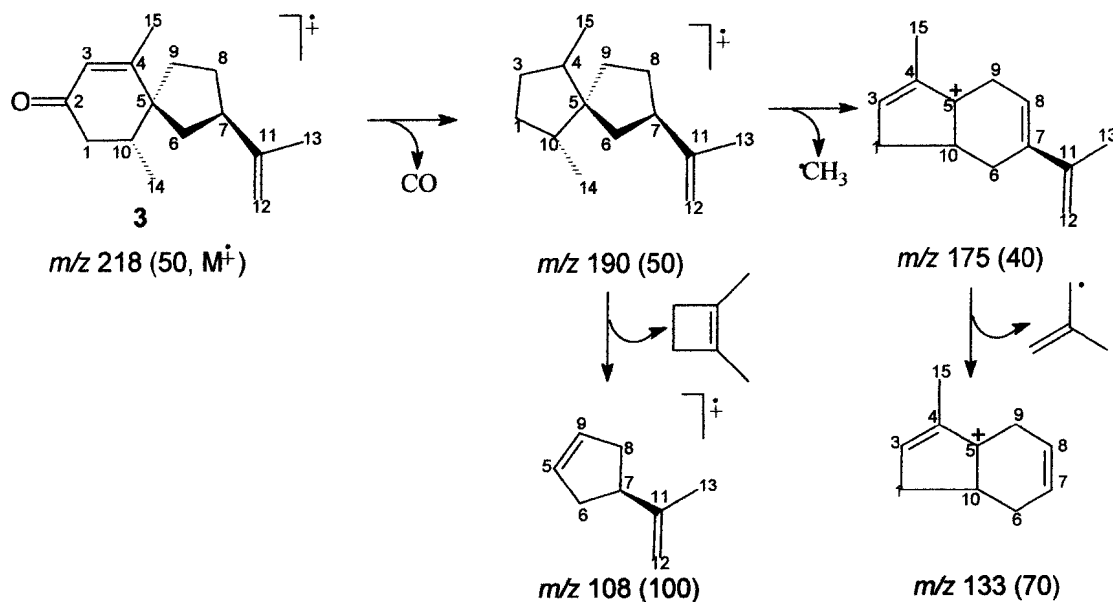


Figura II.19. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) de 3 (solavetivona). Coluna SE-30, Progr.: 100 °C (2 min)-100-280 °C (5 °C/min).



Esquema II.2. Interpretação do espectro de massas de 34, solavetivona, [m/z (%)]

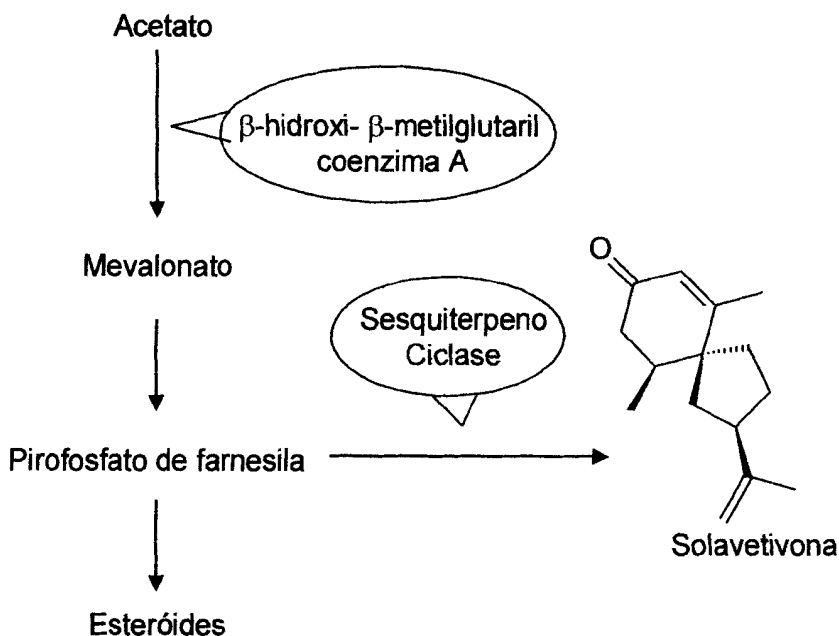


Figura II.20. Rota biossintética para formação dos sesquiterpenos (fitoalexinas) na família Solanaceae, incluindo a solavetivona (REDDY & SIGNS, 1993)

II-2.1.5. Alcalóides

A substância **35** apresentou teste positivo para o reagente de Dragendorff. O espectro de IV (Figura II.21) mostra absorções em 3391 cm^{-1} (N-H), $2931\text{-}2853\text{ cm}^{-1}$ (C-H) e 1566 cm^{-1} (C=C) e permite caracterizá-lo como um alcalóide com um sistema aromático. O espectro de RMN de ^1H (Figura II.22) possui quatro sinais em δ 6,99 (t, 1H) e δ 7,09 (t, 1H) que acopla, respectivamente, com os hidrogênios representados pelos dubletos em δ 7,32 e δ 7,43 ($^1\text{H}\text{-}^1\text{H}\text{-COSY}$, Figura II.23). Estes dados estão de acordo com um sistema aromático dissustituído com 4H vizinhos. Estas informações e os sinais de hidrogênios metilênicos representado por dois tripletos em δ 3,24 ($J=5,8$) e 2,97 ($J=5,8$) e um singleto em δ_{H} 4,09 permitiu deduzir a substância como sendo um alcalóide β -carbolínico (N_{b} -metiltetraidro- β -carbolina) com um grupo metila ligado no N (δ 2,79, s). Esta proposta foi confirmada pelos sinais do espectro de RMN de ^{13}C (PND, Figura II.24) e comparação com dados da literatura (KUMAR *et al.*, 1985), Tabela II.4. Os fragmentos descritos no Esquema II.3 justificam os picos observados no espectro de massas (Figura II.25).

A presença deste tipo de alcalóide está sendo registrada pela primeira vez no gênero *Solanum*.

Os alcalóides β -carbolínicos simples têm uma distribuição taxonômica difundida e isto reflete indubitavelmente a facilidade relativa de formação a partir de precursores que também têm distribuição difundida. A ocorrência frequente como compostos menores em espécies contendo alcalóides indólicos mais complexos justifica a presença nestas espécies como produtores não enzimáticos do metabolismo do triptofano. Entretanto, em certos gêneros eles representam o maior grupo de alcalóides presentes e em níveis que sugere que a formação é catalizada enzimaticamente (ALLEN & HOLMSTEDT, 1980).

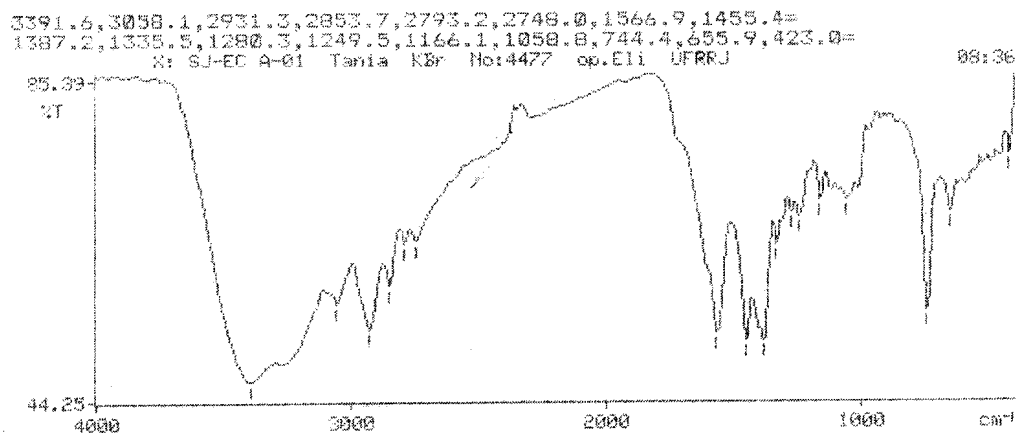


Figura II.21. Espectro de IV da substância 35 (Nb-metiltetraidro- β -carbolina)

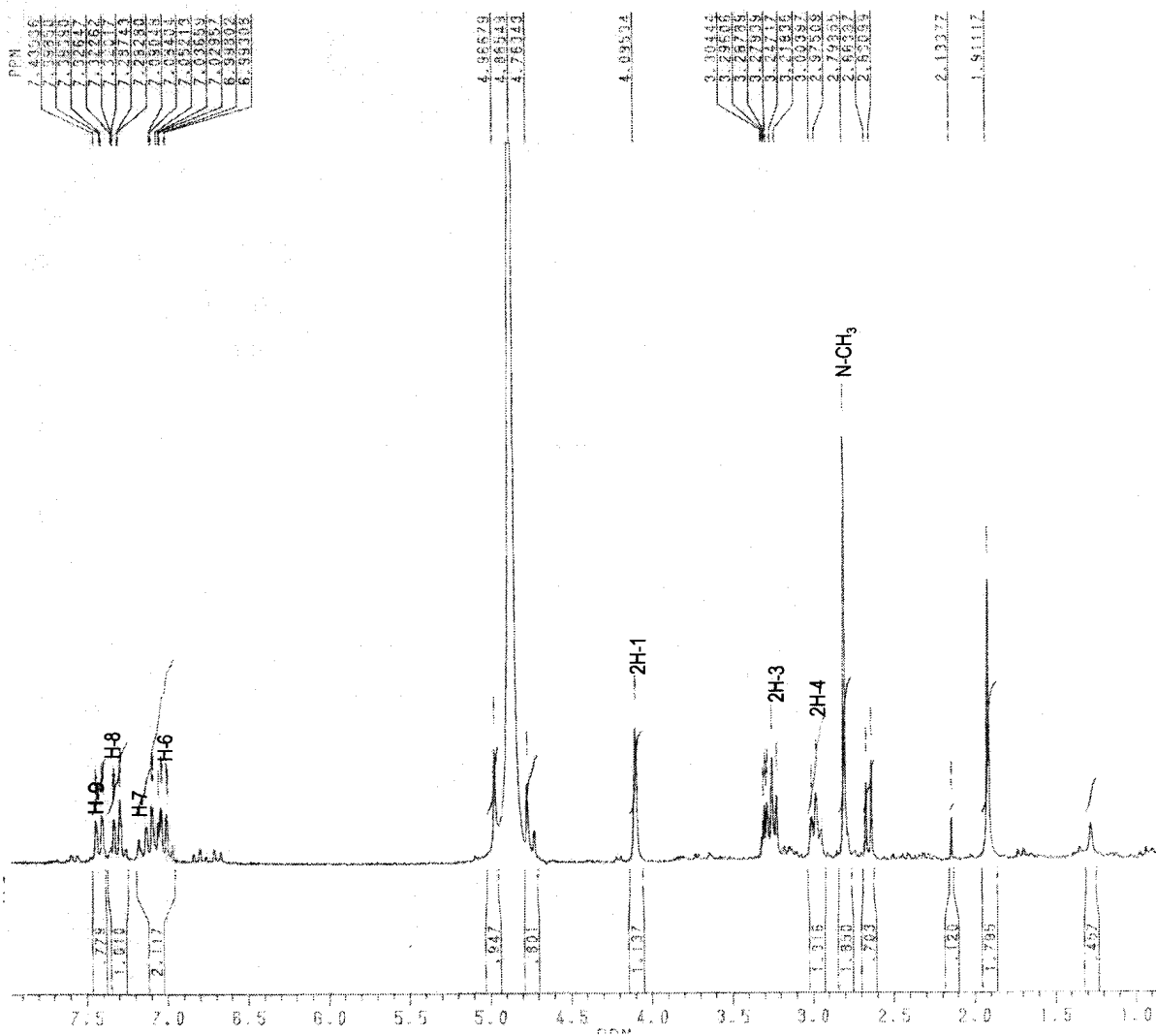
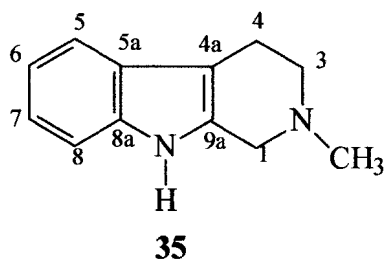


Figura II.22. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, MD_3OH) de 35 (Nb-metiltetraidro- β -carbolina)

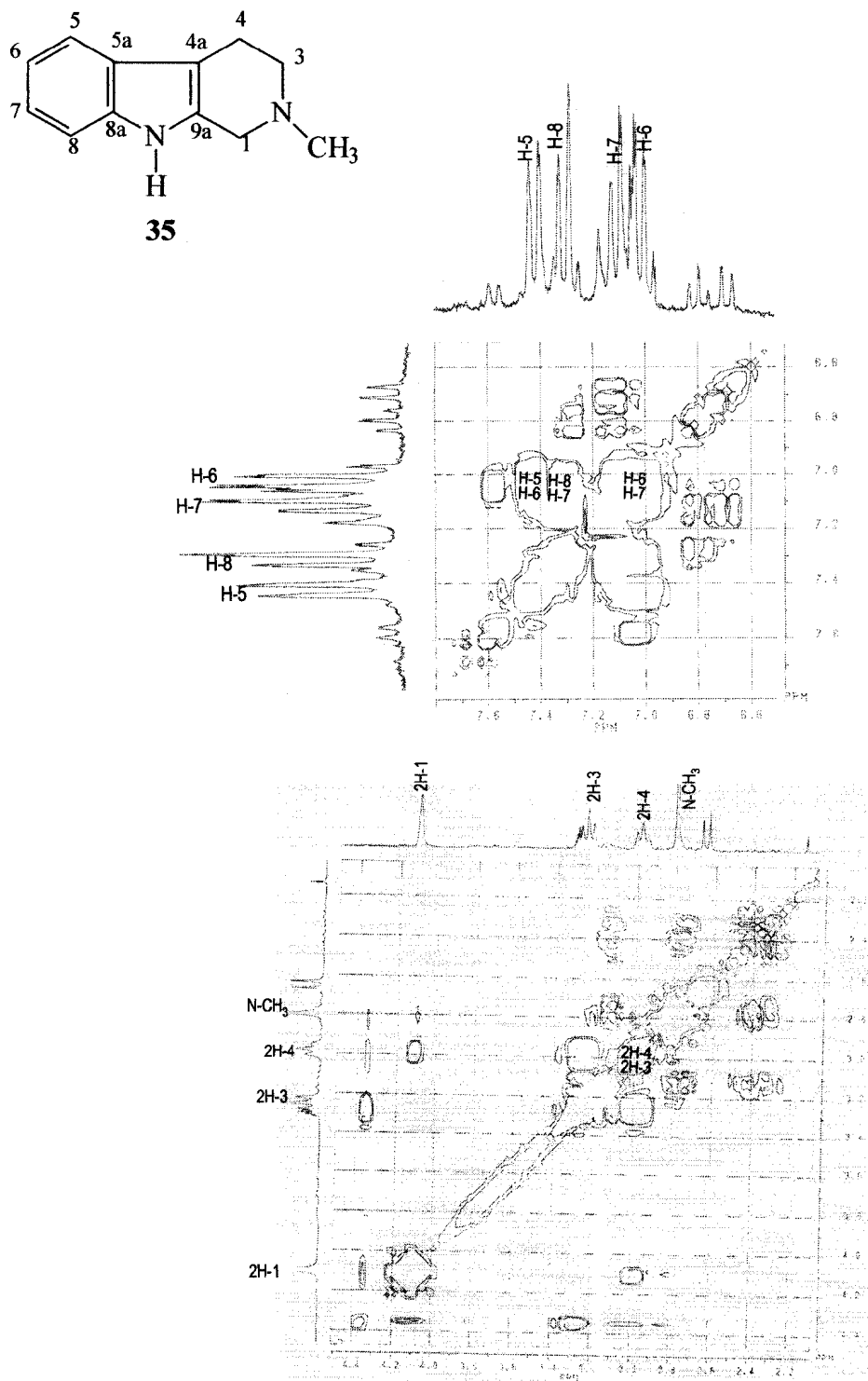


Figura II.23. Espectro de RMN COSY (200 MHz, MD₃OH) de 35 (Nb-metiltetrahydro-β-carbolina)

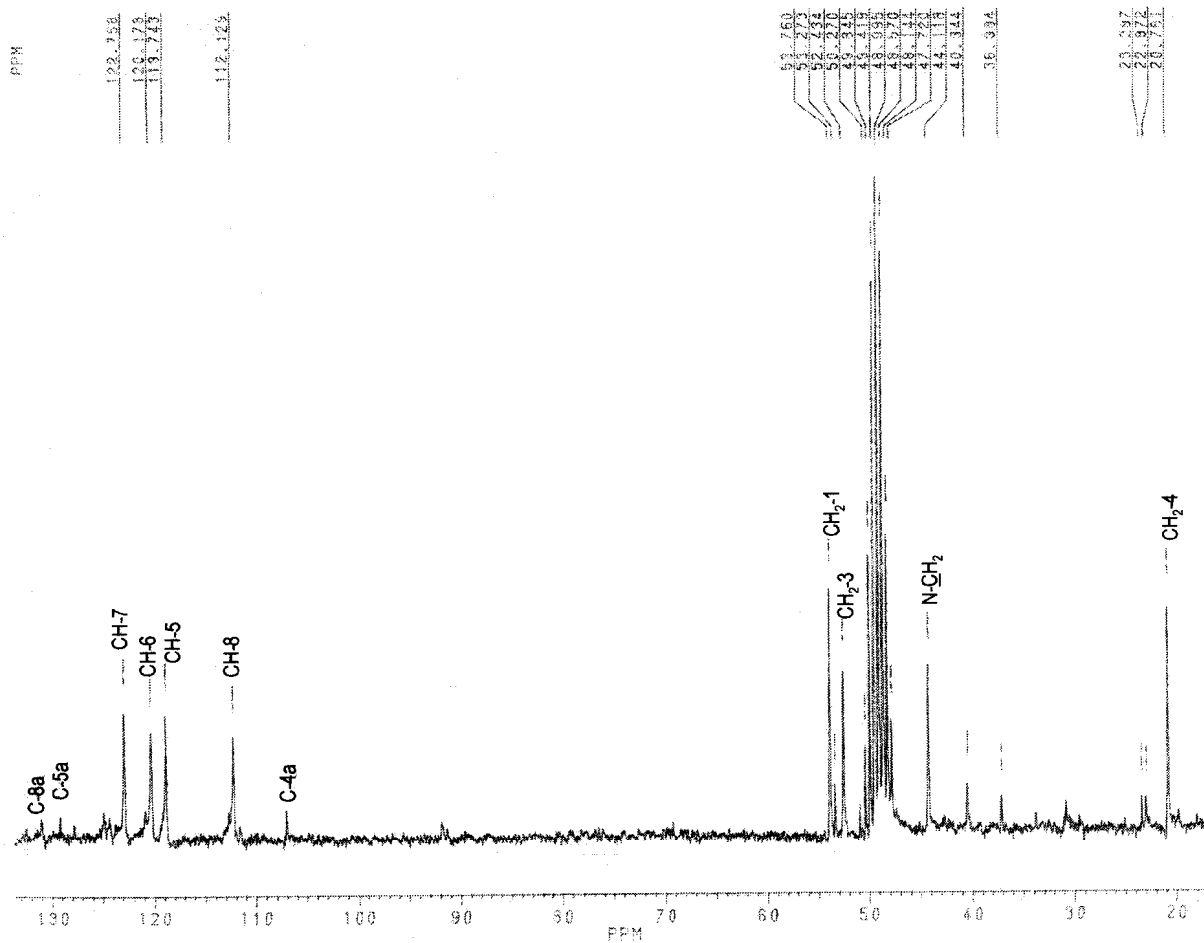
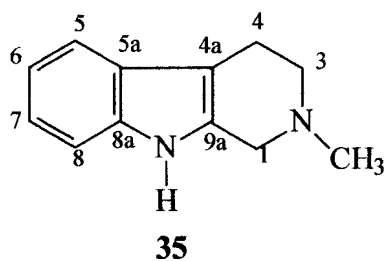


Figura II.24. Espectro de RMN de ^{13}C ([200 MHz, MD_3OH) de 35 (N-metiltetraidro- β -carbolina)

Tabela II.4. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e RMN de ^{13}C (50 MHz) de 35 (Nb-metiltetraidro- β -carbolina)

Carbono	δ_{C}	δ_{H} (Mult,Hz)
1	53,8	4,09 (s)
3	52,4	3,25 (t; 5,8)
4	20,8	2,97 (t; 5,8)
4a	44,1	-
5	118,7	7,41 (d; 7,3)
5a	129,0	-
6	120,2	6,99 (t; 7,0)
7	122,8	7,04 (t; 7,0)
8	112,1	7,32 (d; 8,0)
8a	131,0	-
9a	136,5	-
N-Me	44,11	2,79 (s)

Comment: AMOSTRA SJ-EC A-01 (TANIA)

LIANA

Average of: 1289 to 1293 Minus: 1281 to 1285

100% = 11758027

100%

143

SMP

BKG

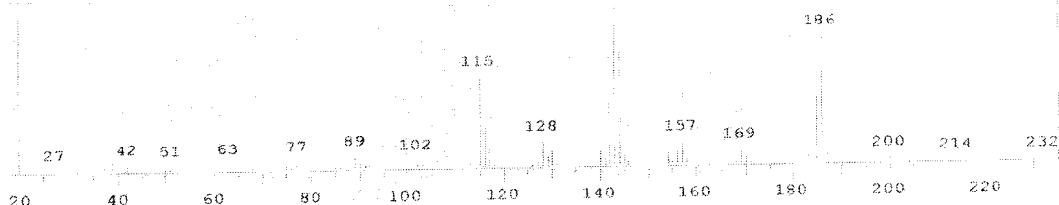
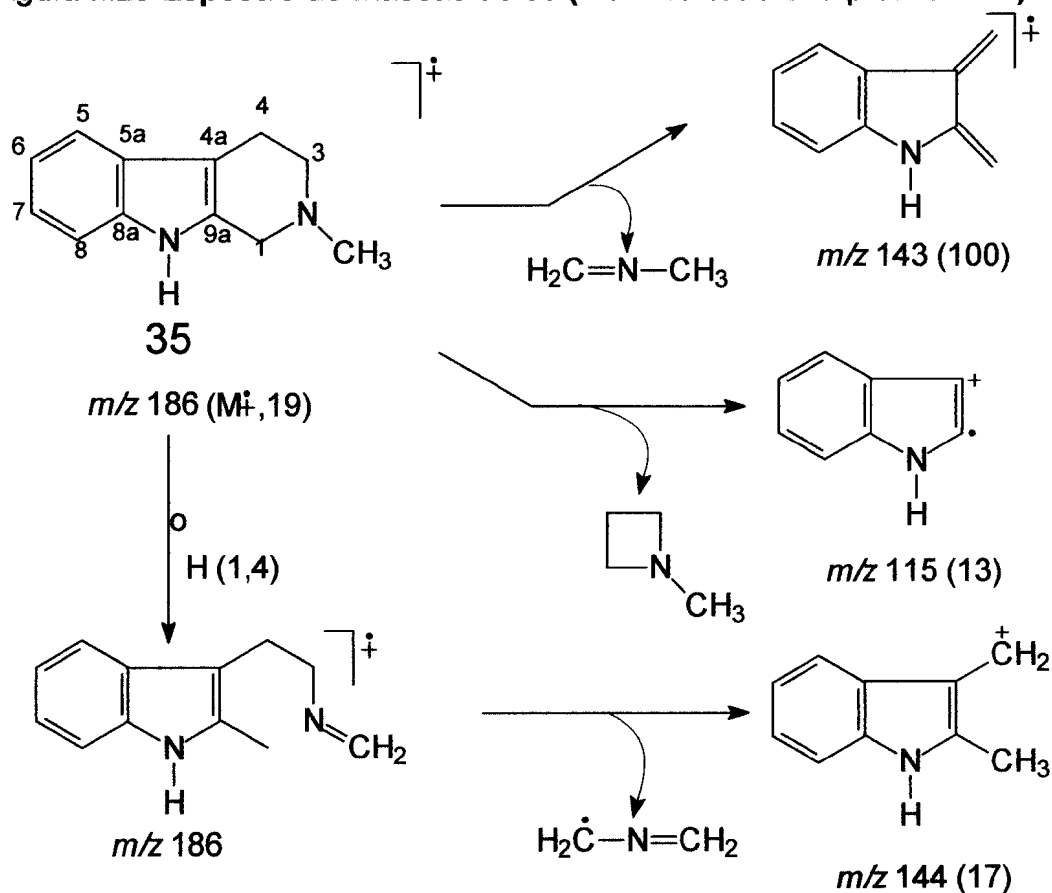


Figura II.25 Espectro de massas de 35 (Nb-metiltetraidro- β -carbolina)



Esquema II.3. Interpretação do espectro de massas de 35, Nb-metiltetraidro- β -carbolina, [m/z (%)]

O espectro de IV (Figura II.26) da substância **36** mostra bandas de absorções intensas em 3355 e 3441, característica de nitrogênio e hidroxila, respectivamente, e em 2870-2947 cm^{-1} (C-H). O espectro de RMN de ^1H (não mostrado) e RMN COSY (Figura II.27) é típico de alcalóide esteroidal do tipo espirosolano por apresentar as seguintes características: mostra dois dubletos para duas metilas secundárias (C-21 e C-27) em δ_{H} 0,81 e 0,91 e singletos para duas metilas terciárias (C-19 e C-18) que aparecem em δ_{H} 0,99 e 0,78, respectivamente. Os alcalóides do tipo espirosolanos têm dois anéis piperidínico e tetrahydrofurano ligados em espiro, isto fornece uma característica peculiar no espectro. O multipletto com deslocamento químico em campo mais baixo, em δ_{H} 4,24 é devido ao hidrogênio metínico geminal (C-16) ao oxigênio do anel tetrahydrofuranico. Os hidrogênios metilênicos geminal ao nitrogênio (C-26) têm deslocamentos químicos em δ_{H} 2,61 (H- α) e 2,56 (H- β). No espectro de RMN de ^{13}C e DEPT (Figura II.28) foi observado a presença do C-22, um carbono quaternário com deslocamento em δ_{C} 98,10 que é característico de todos alcalóides do tipo espirosolanos (RADEGLIA *et al.*, 1977). A estrutura de **36** foi atribuída a solasodina por comparação com amostra autêntica em CCD, ponto de fusão e principalmente por comparação com dados da literatura (PURI *et al.*, 1993).

Os alcalóides esteroidais são uma importante classe de metabólitos secundários que ocorrem em plantas e também em certos animais superiores e invertebrados marinhos. Eles possuem um esqueleto esteroidal básico (ciclopentanofenantreno) com um átomo de nitrogênio incorporado como parte integral da molécula, tanto no anel ou como parte da cadeia lateral. Diferentemente de muitas outras classes de alcalóides, as bases esteroidais não são derivadas de aminoácidos. Biogeneticamente, eles são considerados serem derivados de esteróides e triterpenóides, e são freqüentemente chamados de “aminas esteroidais” ao invés de alcalóides propriamente. Devido a similaridade estrutural com anabolizantes, hormônios esteroidais e corticosteroides, os alcalóides esteroidais têm sido alvos de investigações farmacológicas. O interesse recente tem sido devido a demanda mundial na busca de material de partida para esteróides, devido a escassez de diogenina, o mais importante material de partida para a indústria de esteróides. Muitos alcalóides esteroidais podem ser convertidos em valiosos hormônios esteroidais bioativos por simples conversões químicas e microbiais. Muitos corticosteróides usados contra doenças de pele podem ser obtidos por

conversão química de alcalóides esteroidais estruturalmente parecidos (RAHMAN & CHOUDHARY, 1998).

Solasodina é um importante membro desta classe de composto, e é isolada de muitas espécies de *Solanum* (RAHMAN, 1990), e tem sido alvo de interesse como material de partida para produção comercial de drogas esteroidais. Foi considerada como a “Diosgenina da próxima década” (PRELOG & JEGER, 1960).

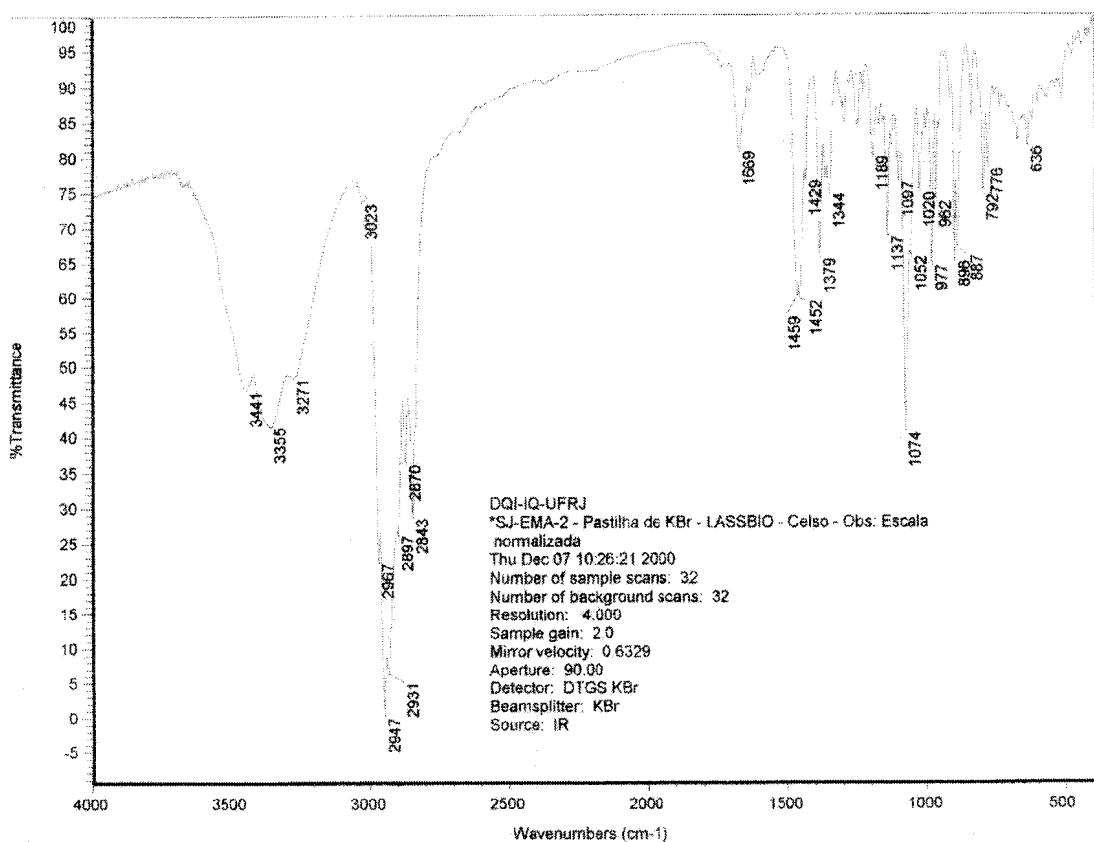


Figura II.26. Espectro de IV da substância 36 (solasodina)

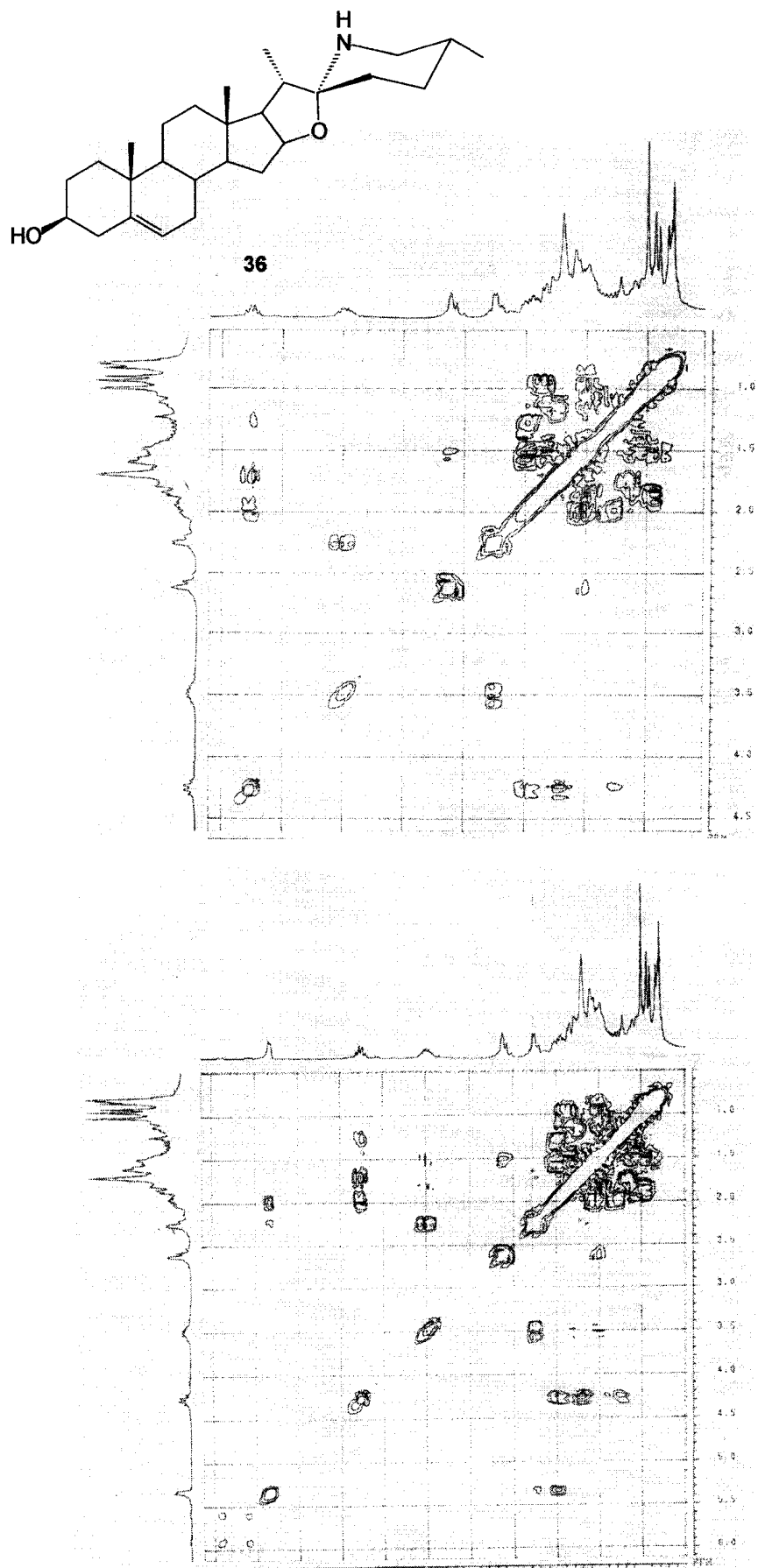


Figura II.27. Espectro de RMN COSY da substância 36 (solasodina)

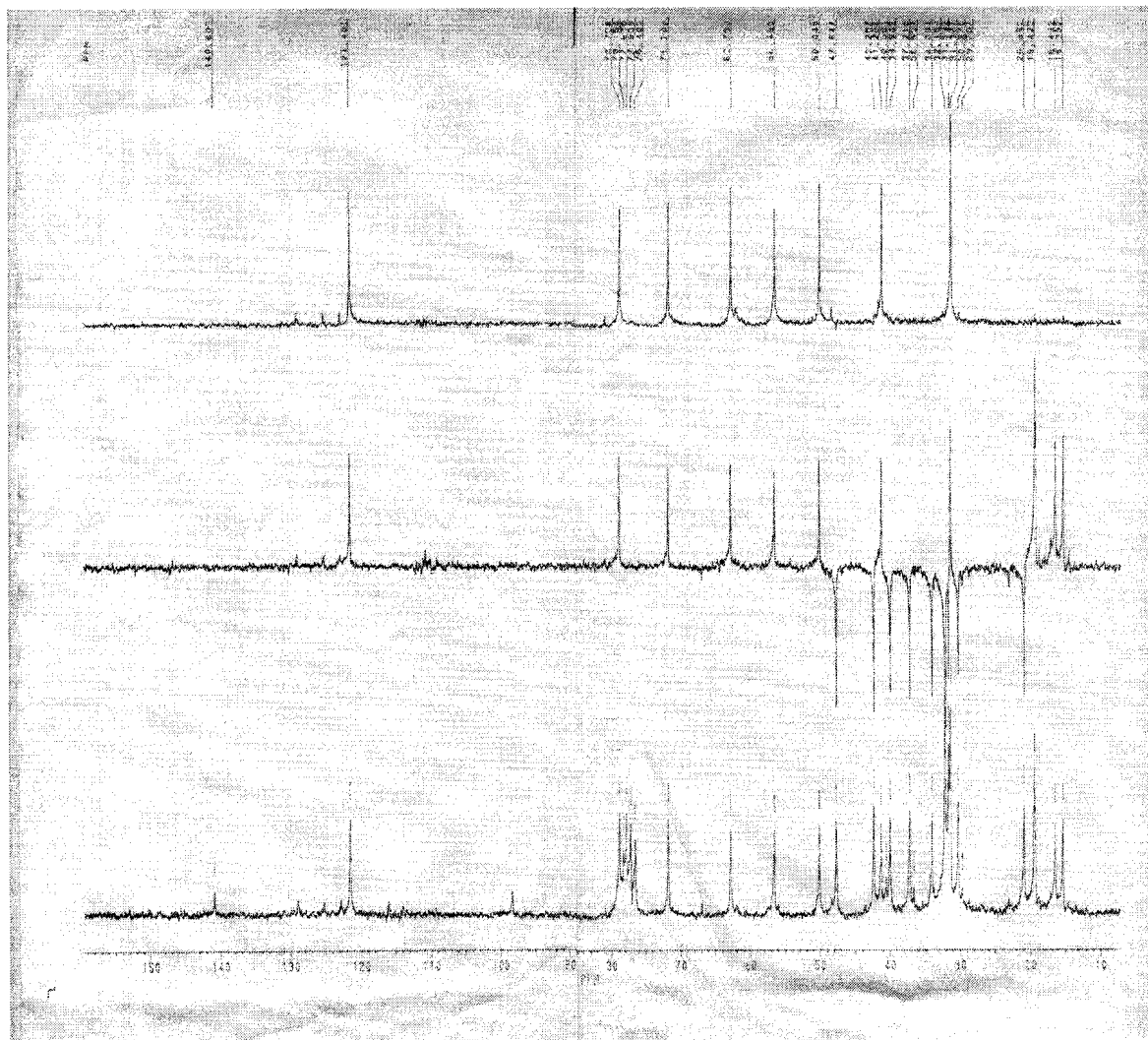
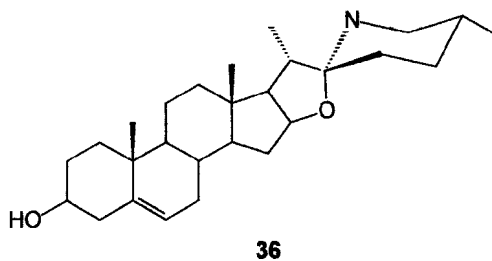


Figura II.28. Espectro de DEPT da substância 36 (solasodina)

II-2.1.6. Derivado de ácido benzóico

O espectro de IV (Figura II.29) da substância **37** apresenta absorções em 3483 cm^{-1} (OH), 1680 cm^{-1} característica de carbonila de ácido carboxílico conjugado e em 1599 , 1521 e 1493 cm^{-1} de C=C aromático. O espectro de RMN de ^1H (Figura II.30) e ^1H - ^1H -COSY (Figura II.31) mostra sinais integrando para sete hidrogênios, sendo um duplo dubleto em δ_{H} 7,69 (1H, $J=1,8$ e $8,4$) acoplado com dois dubletos, um em δ_{H} 7,57 (1H, $J=1,8\text{ Hz}$) e outro em δ_{H} 6,95 (1H, $J=8,4\text{ Hz}$). Estes hidrogênios da região aromática fazem parte de um sistema ABC. Um singlete correspondente a uma hidroxila aromática aparece em δ_{H} 6,09. A integração para os 3 hidrogênios restantes é verificado como um singlete em δ_{H} 3,95, correspondente aos hidrogênios da metoxila. Esta substância foi confirmada como sendo ácido vanílico por comparação com amostra autêntica em CCD. Os derivados hidroxilados dos ácidos benzóicos são comumente encontrados no reino vegetal.

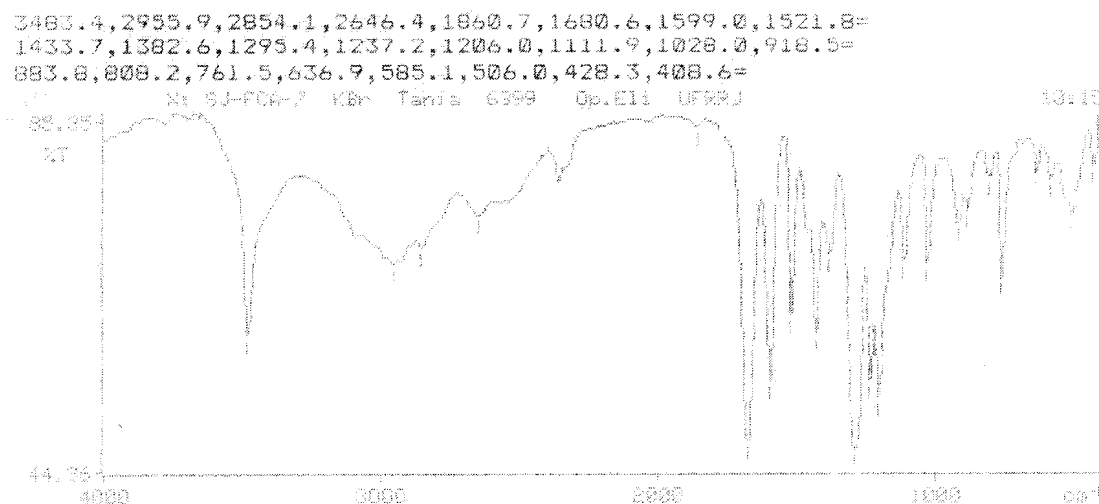


Figura II.29. Espectro de IV da substância **37** (ácido vanílico)

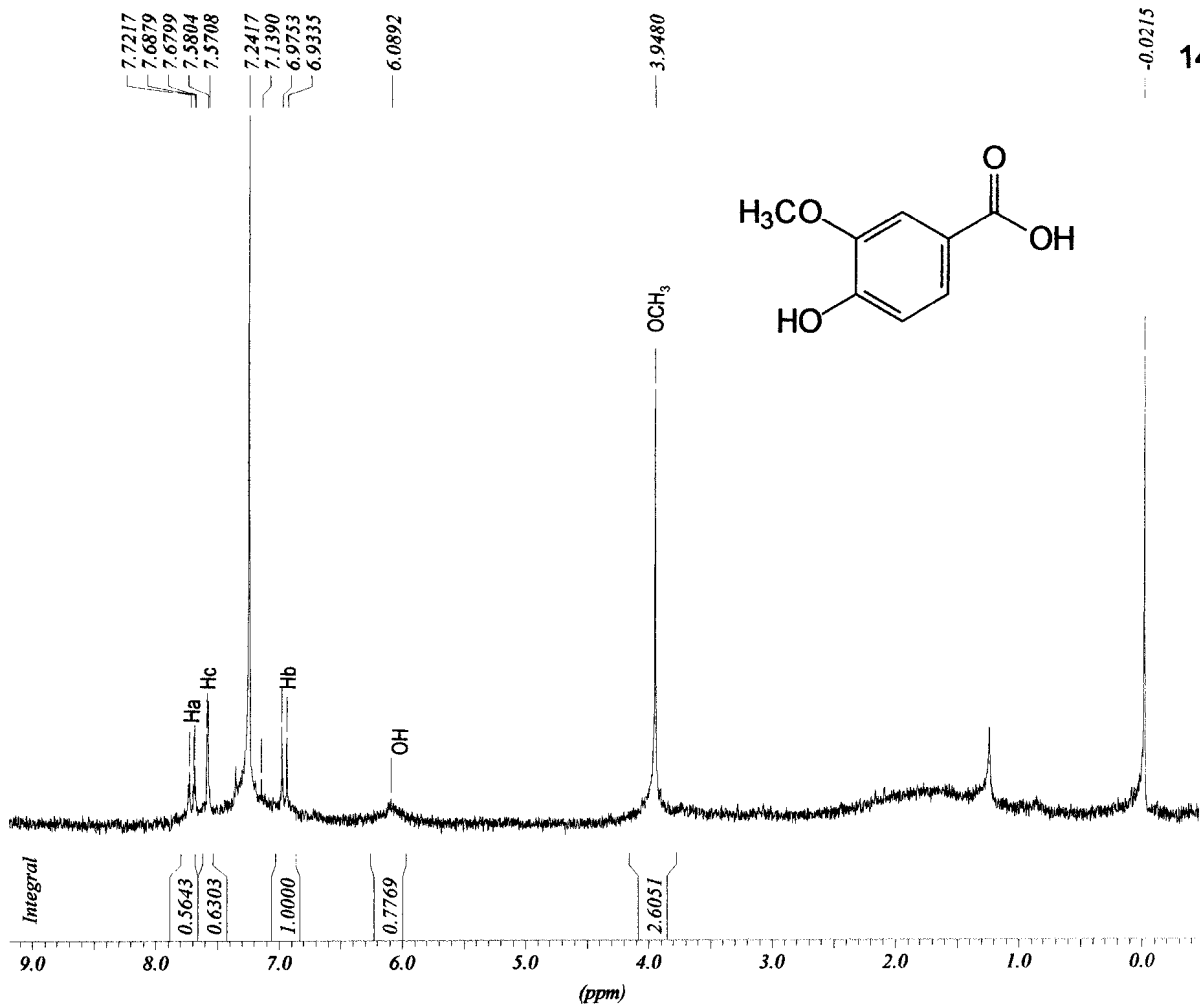


Figura II.30. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) de 37 (ácido vanílico)

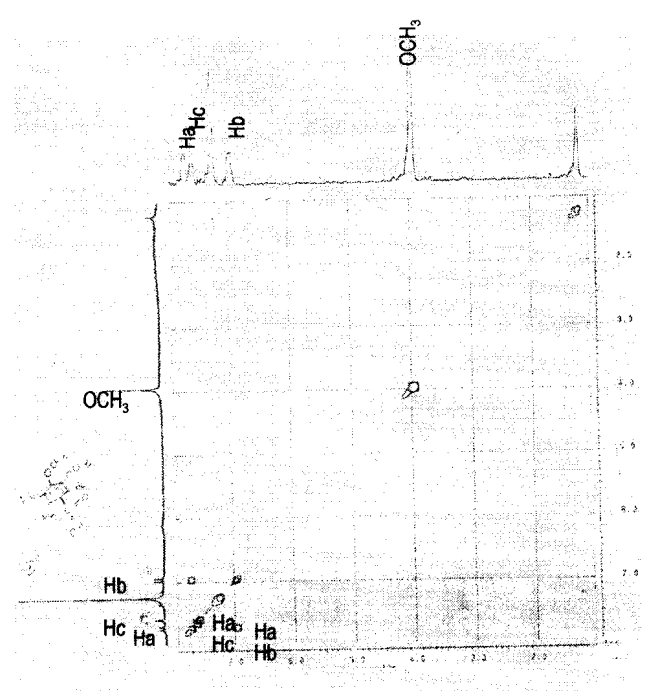


Figura II.31. Espectro de RMN COSY (200 MHz, MD₃OH) de 37 (ácido vanílico)

II-3. Referências – Capítulo II

ALLEN, J. R. F. & HOLMSTEDT, B. R. The simple β -carboline alkaloids, *Phytochemistry*, **19**(8), 1573-1582, 1980.

ATTA-UR-RAHMAN & CHOUDHARY, I. Chemistry and biology of steroidal alkaloids. In "The alkaloids" (G. A. Cordell, ed.), Vol. 50, 61-108, Academic Press, San Diego, 1998.

ATTA-UR-RAHMAN. Diterpenoid and Steroidal Alkaloids, Vol. 1, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1990.

COXON, D. T.; Keith, R. P.; Howard, B.; Osman, S. F.; Kalan, E. B.; Zacharius, R. M. Two new vetispirane derivatives: stress metabolites from potato (*Solanum tuberosum*) tubers, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 2921-2924, 1974.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Constituents of the Labiatae plants .5. Sterol glucosides from prunella vulgaris, *Phytochemistry*, **29**(7), 2351-2355, 1990.

KUMAR, S.; SAHAI, M.; RAY, A. B. Chemical constituents of the leaves of *Flueggea microcarpa*, *Planta Medica*, 466, 1985.

PRELOG, V. & JEGER, O. In "The Alkaloids" (R. H. F. Manske, ed.), Vol. VII, 343, Academic Press, New York, 1960.

PURI, R.; WONG, T. C.; PURI, R. K. Solasodine and Diosgenin: ^1H and ^{13}C assignments by two-dimensional NMR spectroscopy, *Magnetic Resonance in Chemistry*, **31**, 278-282, 1993.

RADEGLIA, R.; ADAM, G.; RIPPERGER, H. ^{13}C NMR Spectroscopy of *Solanum* steroid alkaloids, *Tetrahedron Lett.*, **18**(11), 903-906, 1977.

REDDY, G. R. & SIGNS, M. W. Reversed-phase liquid chromatographic isolation of lubimim and solavetivone from *Hyoscyamus muticus* "hairy" root cultures, *Journal of Chromatography A*, **657**, 440-444, 1993.

WHITEHEAD, I. M.; THRELFALL, D. R.; EWING, D. F. 5-*Epi*-aristolochene is a common precursor of the sesquiterpenoid phytoalexins capsidiol and debneyol, *Phytochemistry*, **28**(3), 775-779, 1989.

CAPÍTULO III
ESTUDO QUÍMICO DE *SOLANUM CRINITUM* LAM.

III-1. Isolamento e purificação dos constituintes

Os ramos jovens de *Solanum crinitum* foram coletados em maio de 2001 no horto florestal do Km 50 da antiga estrada Rio-São Paulo, Seropédica, Rio de Janeiro para retirada dos tricomas presentes no caule e folhas. Os tricomas (9,7 g) foram extraídos com CHCl_3 e MeOH em banho de ultrassom. Depois da evaporação dos solventes obtiveram-se os extratos CHCl_3 (310 mg) e MeOH. O extrato MeOH foi cromatografado em sephadex LH-20 fornecendo 13 frações. Nas frações 7 e 8 estavam 10 mg da substância **38** e em 9 e 10, 25 mg de **39**.

III-2. Resultados e discussão

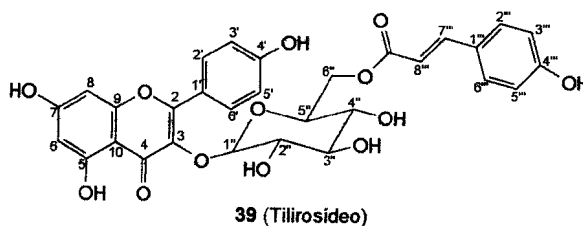
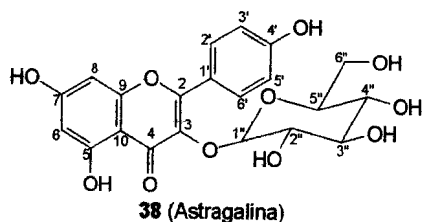
III-2.1. Determinação estrutural dos constituintes

O espectro de RMN de ^1H das substâncias **38** (Figura III.1) e **39** (Figura III.4) apresentam sinais típicos de substituição para o padrão kanferol. O anel A de **38** apresenta os dubletos em δ 6,20 ($J=2,0$ Hz) e δ 6,43 ($J=2,0$ Hz) referentes a H-6 e H-8, respectivamente. O sinal em δ 12,60 é atribuído a HO-5 em ponte com a carbonila C-4. A substância **39** apresenta o mesmo padrão de substituição, os sinais em δ 6,15 (d, $J=1,7$), δ 6,38 (d, $J=1,7$) e o singlete em δ 12,58 são referentes aos hidrogênios H-6, H-8 e OH-5, respectivamente. O anel B dos dois flavonóides com sistema AA'-BB' apresentou os dubletos em δ 6,87 (2H-3',5'; $J=8,8$ Hz) e δ 8,02 ((2H-2',6'; $J=8,8$ Hz) para **38** e δ 6,85 (2H-3',5'; $J=8,8$ Hz) e δ 8,00 ((2H-2',6'; $J=8,8$ Hz) para **39**. Os dois flavonóides mostram sinais de absorções no espectro de RMN de ^1H correspondentes a uma unidade de açúcar representados pelos sinais de hidrogênio ligados em carbono carbinólico, podendo destacar o sinal em δ 5,44 (d, 7,2 Hz, H-1' do carbono anomérico em **38**) e δ 5,47 (sl, **39**). A unidade de carboidrato pode ser localizada no C-3 com base na análise dos valores dos deslocamentos químicos dos carbonos [(**38**, Figura III.2) e PENDANT (**39**, Figura III.5)] e comparação com a literatura (AGRAWAL, 1989; MARKHAM, 1989). As desproteções verificadas nos carbonos C-2 ($\delta\Delta$ 10,0), C-4 ($\delta\Delta$ 1,7), 2H-2',6' ($\delta\Delta$ 1,7) e proteção em C-3 ($\delta\Delta$ 2,0) quando comparados com o kanferol (AGRAWAL, 1989), Figura III.9. A unidade de açúcar foi proposta como sendo a β -D-glicose pelo valor

de $J=7,2$ Hz apresentado pelo hidrogênio anomérico H-1' e pelos acoplamentos verificados no COSY- ^1H - ^1H em **38** e **39** (Figuras III.3 e III.6, respectivamente).

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do flavonóide **39** possui sinais adicionais com uma unidade coumaróila. A comparação dos δCH_2 de **39** com o de **38** verifica-se uma desproteção de δ 2,6 (carbono 6') e uma proteção de δ 2,6 no CH vizinho (C-5'), AGRAWAL & BANSAL., 1989. Esta unidade adicional foi identificada pelo sistema AA'-BB' observado no RMN de ^1H em δ 6,80 (2H-3'',5''; d, 8,6) e δ 7,37 (2H-2'',6''; d, 8,6) e pelos os dubletos em 6,12 ($J=16,1$) e 7,34 ($J=6,1$) no espectro de RMN de ^1H (Figura III.4).O assinalamento completo foi feito com o auxílio dos espectros de RMN 2D: HMQC (Figura III.7), HMBC (Figura III.8). A comparação com dados da literatura permitiu identificar o flavonóide **38** como sendo astragalina (MARKHAM & GEIGER, 1994; AGRAWAL & BANSAL, 1989) e o **39** como tilirosideo (MARKHAM, 1989). A astragalina já havia sido isolada das espécies de *Solanum*: *Solanum chimperiarum* (ANGENOT, 1969), *S. dobium* (AFIFI, 1999), *S. dulcamara* (WALKOWIAK *et al.*, 1990), *S. elaeagnifolium* (CHIALE *et al.*, 1991), *S. interius* (SCHILLING, 1984), *S. laciniatum* (SHABANA & EL-ALFY, 1980), *S. pinnatisectum* (WIETSCHHEL & REZNIK, 1980), *S. pseudocapsicum* (BIARD *et al.*, 1974), *S. pubescens* (KUMARI *et al.*, 1985) e *S. Santolallae* (HARBORNE, 1962). Esta é a primeira vez que o flavonóide tilirosideo é registrado no gênero *Solanum*.

Tabela III.1. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e RMN de ^{13}C (100 MHz) de 38 (astragalina) e RMN de ^1H (200 Hz) e RMN de ^{13}C (50 MHz) de 39 (tilirosideo) em $\text{DMSO}-d_6$



C	39				38	
	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMQC}-^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-HMBC}-^n\text{J}_{\text{CH}}$		δ_{C}	δ_{H}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$		
2	156,84	-		2H-2',6'	156,20	
3	133,54	-			133,14	
4	177,89	-			177,42	
5	161,64	-	HO-5; H-6		161,17	
7	164,65	-	H-6; H-8		164,17	
9	156,92	-	H-8		156,34	
10	104,36	-		HO-5;H-6;H-8	103,94	
1'	121,25	-		2H-3',5'	120,84	
4'	160,48	-		2H-2',6'	161,17	
1''	125,41	-		2H-3'',5'', H-8''	-	
4''	160,28	-		2H-2'',6''	-	
9''	166,66	-	H-8''	H-7''	-	
CH						
6	99,26	6,15 (d, 1,7)		HO-5; H-8	98,67	6,20 (d, 2,0)
8	94,16	6,38 (d, 1,7)		H-6	93,63	6,43 (d,2,0)
2',6'	131,32	8,00 (d, 8,8)			130,84	8,02 (d, 8,8)
3',5'	115,58	6,85 (d, 8,8)		HO-4'	115,07	6,87 (d, 8,8)
1''	101,45	5,47 (4,47 sl)			100,82	5,44 (d, 7,2)
2''	74,61				74,12	
3''	76,60			H-1''	76,39	
4''	70,43				69,85	
5''	74,71				77,47	
2'',6''	130,66	7,37 (d, 8,6)		H-7''		
3'',5''	116,24	6,80 (d, 8,6)		OH-4''		
7''	145,09	7,34 (d, 16,1)		2H-2'',6''		
8''	114,12	6,12 (d, 16,1)				
CH ₂						
6''	63,43	4,27 (dl, 11,2) 4,02 (dd, 11,2; 6,3)			60,47	4,26 (tl, 10,8) 3,55 (dd, 10,8; 6,4)
HO-5	-	12,58 (s)				
HO-7	-	10,85 (sl)				
HO-4'	-	10,16 (s)				
HO-4''	-	10,02(s)				

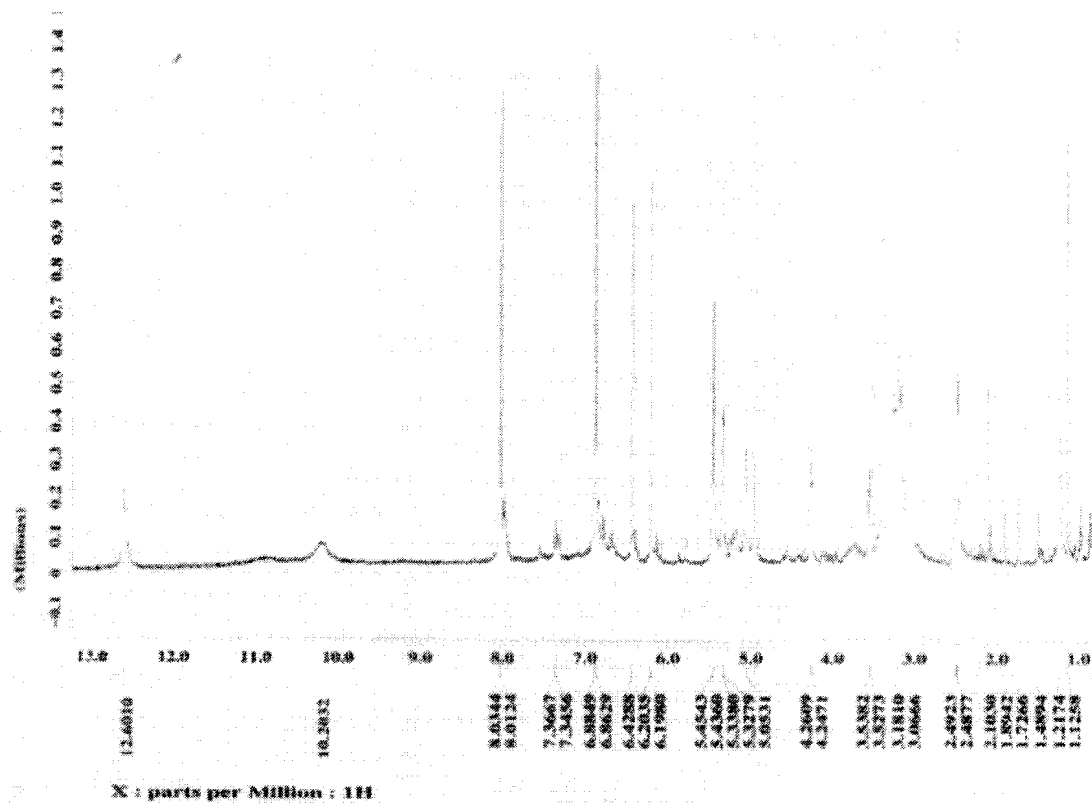


Figura III-1. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 38 (astragalina)

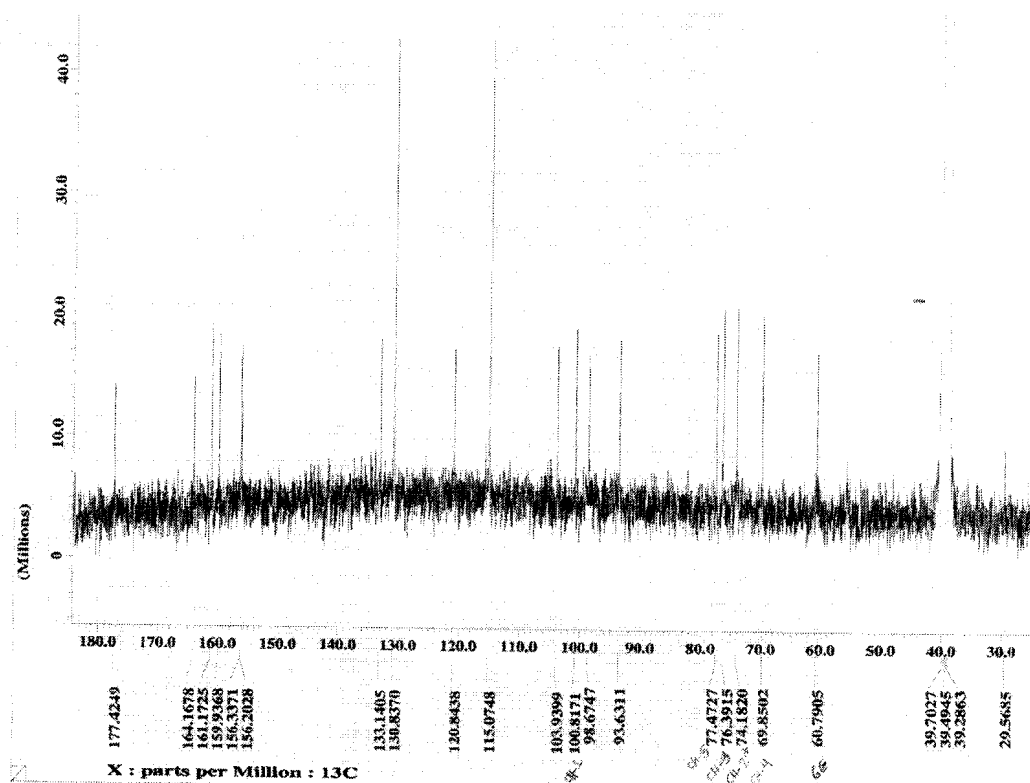


Figura III-2. Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 38 (astragalina)

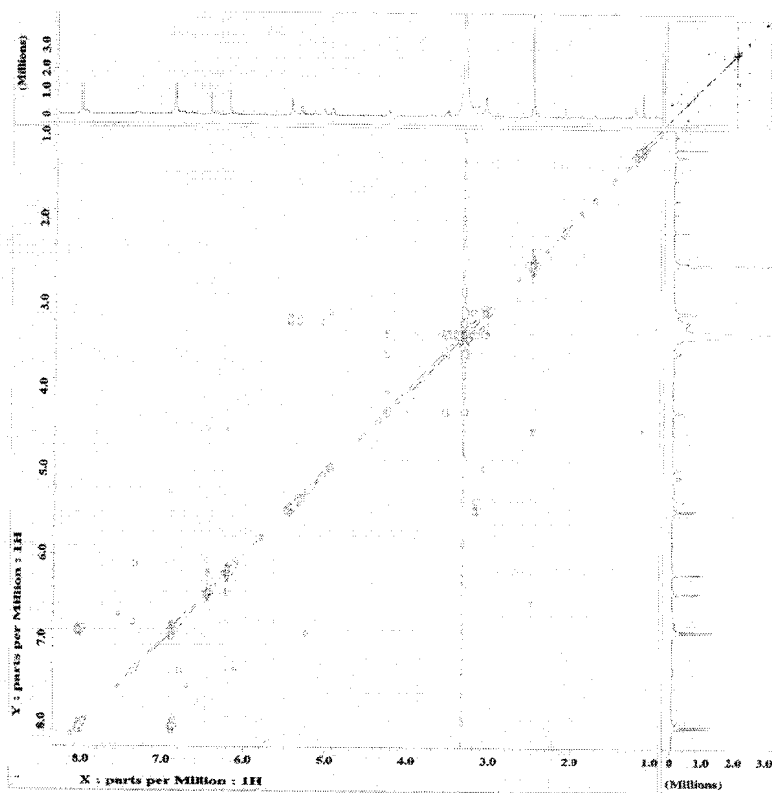
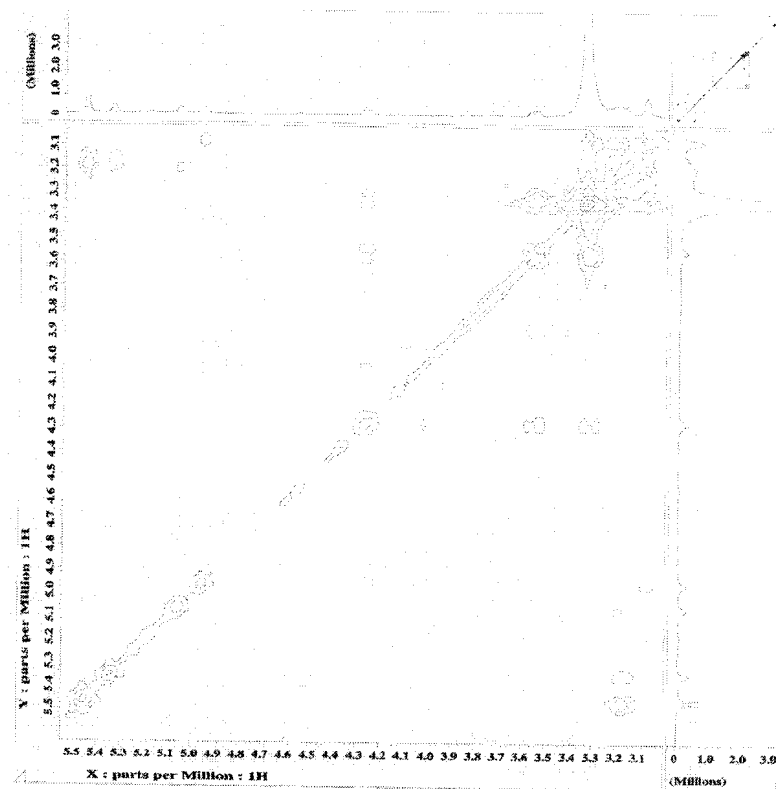


Figura III-3. Espectro RMN COSY (400 MHz, DMSO-*d*₆) de 38 (astragalina)

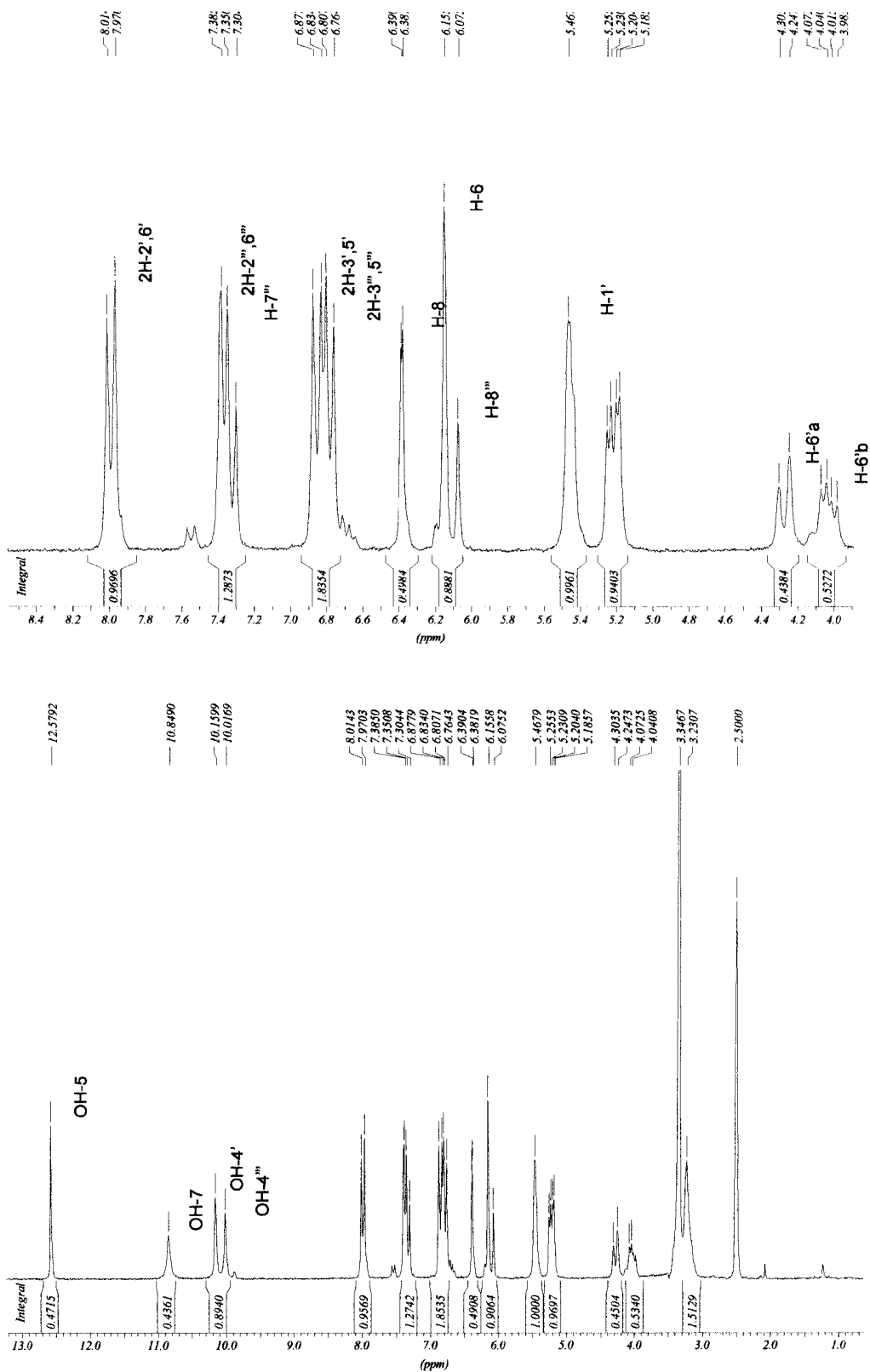


Figura III-4. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 39 (tilirosídeo)

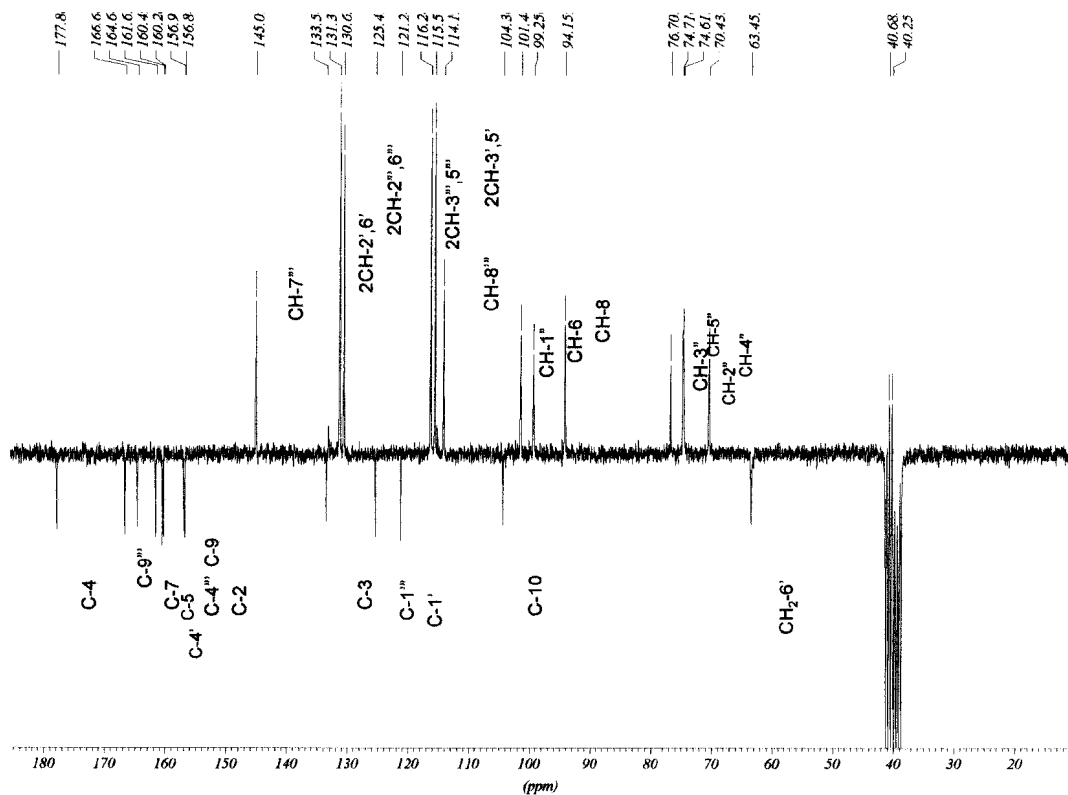


Figura III-5 Espectro RMN PENDANT (200 MHz, DMSO-*d*₆) de 39 (tilirosídeo)

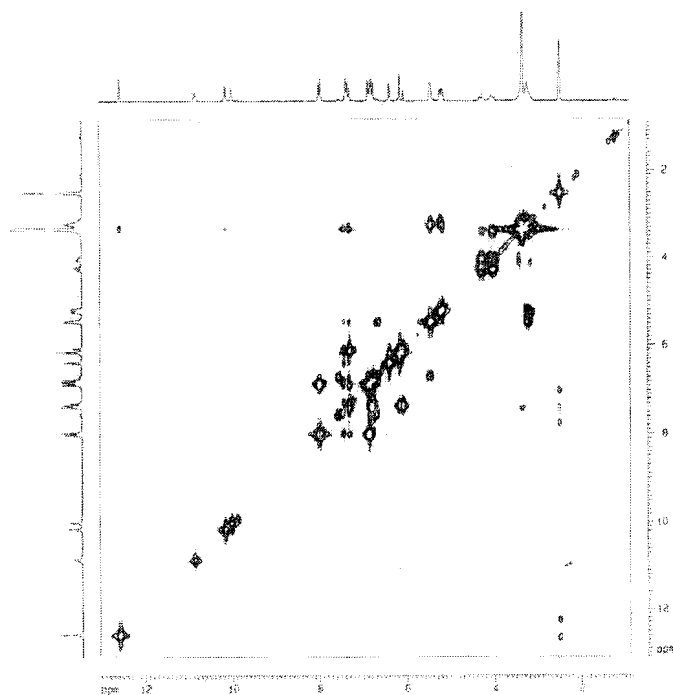


Figura III-6 Espectro RMN COSY (200 MHz, DMSO-*d*₆) de 39 (tilirosídeo)

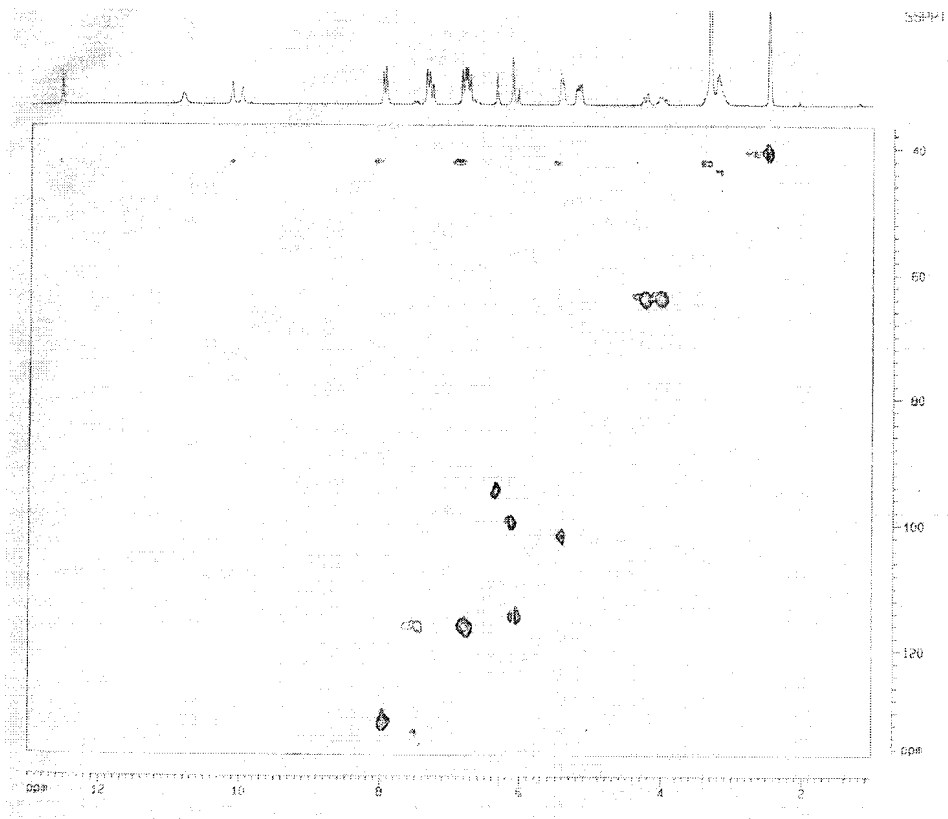


Figura III-7 Espectro de RMN HMQC (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 39 (tilirosídeo)

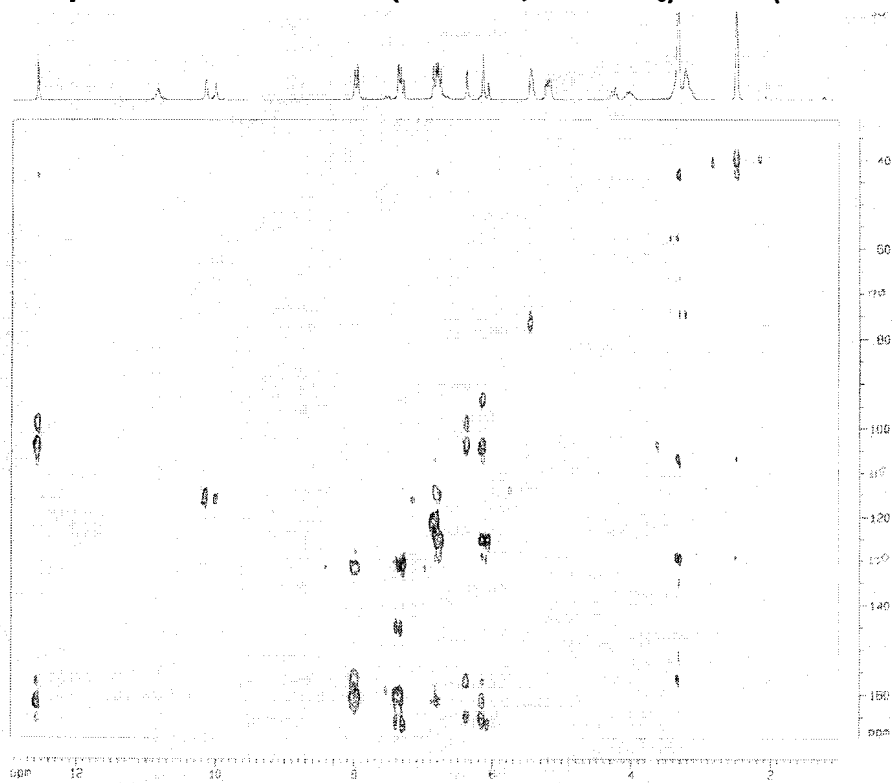


Figura III-8 Espectro de RMN HMBC (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 39 (tilirosídeo)

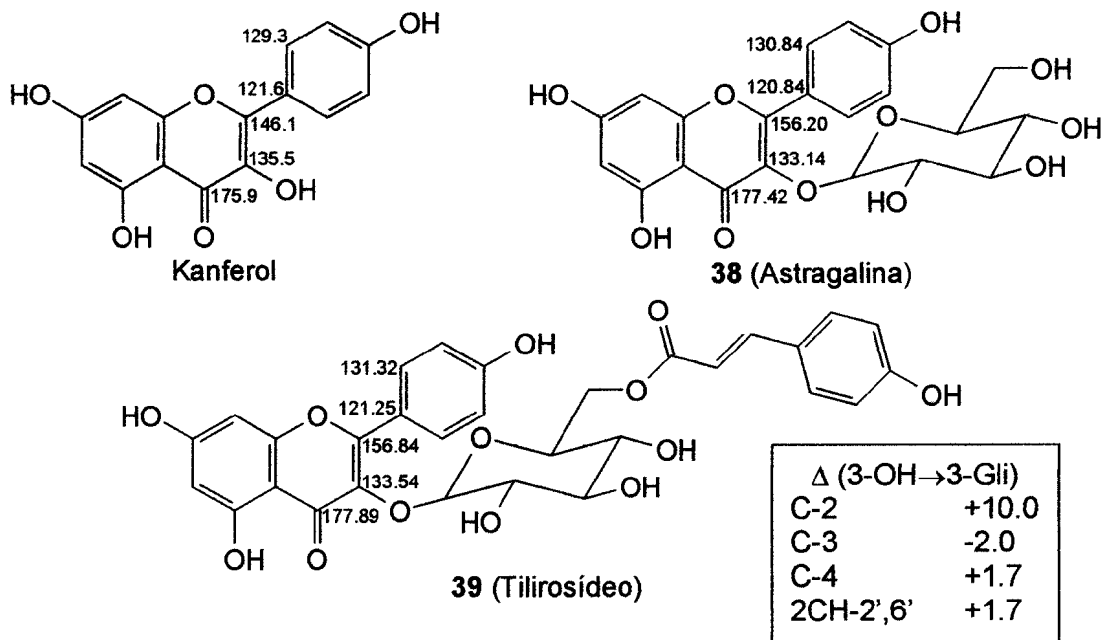


Figura III.9 Valores de ^{13}C mostrando o efeito do substituinte glicose nos carbonos C-2, C-3, C-4 e 2CH-2',6' dos flavonóides astragalina e tilirosideo em relação ao Kanferol

III-3. Referências – Capítulo III

AFIFI, M. S.; HASSAN, M. A.; EL – SHARKAWY, S. H. Antimicrobial flavonoids from *Solanum dohium* Fres. *Bull. Fac. Pharm. (Cairo Univ.)* **37**(2), 119-124, 1999. CAN 132:163461 AN 1999:809054.

AGRAWAL, P. K., Methods in Signal Assignment. In: "Carbon-13 NMR of Flavonoids", Studies in Organic Chemistry-39, 41-94, Ed. Elsevier, Amsterdam, 1989.

AGRAWAL, P. K. & BANSAL, M. C. Flavonoid glycosides. In: "Carbon-13 NMR of Flavonoids", Studies in Organic Chemistry-39, 362-364, Ed. Elsevier, Amsterdam, 1989.

ANGENOT, L. Spectrophotometric and chromatographic study of flavone and coumarin derivatives of *Solanum schimperianum*. *Plant. Med. Phytother.* **3**(4), 234-54, 1969. CAN 73:11373 AN 1970:411373.

BIARD, J. F.; VERBIST, J. F.; MONNET, R. *Solanum pseudocapsicum*. II. Flavonoid glycosides. . *Plant. Med. Phytother.* **8**(1), 63-71, 1974. CAN 81:60858 AN 1974:460858.

CHIALE, C.A.; CABRERA, J. L.; JULIANI, H. R. Kaempferol 3-(6"-cis-cinnamoylglucoside) from *Solanum elaeagnifolium*. *Phytochemistry*, **30**(3), 1042-1043 (1991)

HARBORNE J. B. Plant polyphenols.6. Flavonol glycosides of wild and cultivated potatoes. *Biochem J.* **84**(1), 100-&, 1962.

KUMARI, G. N. K.; RAO, L. J. M.; RAO, N. S. P. Flavonol 3-O-methyl ethers from *Solanum pubescens*. *J. Nat. Prod.* **48**(1), 149-50, 1985.

MARKHAM, K. R. & GEIGER, H. ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In: *The Flavonoids Advances in Research since 1986*, (Harborne, J. B. eds.), 441-473, Chapman & Hall, London, 1994.

MARKHAM, K. R. Flavones, Flavonols and their Glycosides. In: *Methods in Plant Biochemistry* (Harborne, J. B. and Mabry, T. J., eds.), Vol. I, 197-235, Academic Press, 1989.

SCHILLING, E. E. Foliar flavonoids of North Americanum *Solanum* Section *Solanum*. *Biochem. Syst. Ecol.* **12**(1), 53-55; 1984.

SHABANA, M. M. & EL-ALFY, T. S. Investigation of the constituents of *Solanum laciniatum* Ait. Flowers. *Egypt. J. Pharm. Sci.* **19**(1-4), 337-47. CAN 95:3392 AN 1981:403392.

WALKOWIAK, A.; TANIOCZNIK, B.; KOWALEWKI, Z. Flavonoid compounds of *Solanum dulcamara* L. *Herba Pol.* **36**(4), 133-7, 1990. CAN 116:231873 AN 1992:231873.

WIETSCHEL, G. & R., HANS. The flavonoid patterns of tuber-bearing *Solanum* species. II. The flavonoid glycosides of the species from series I-XVI. *Z. Pflanzenphysiol.* **97**(1), 79-88, 1980. CAN 92:143309 AN 1980:143309.

CAPÍTULO IV

**ANÁLISE DE FLAVONÓIDES DE SEIS ESPÉCIES DE *SOLANUM* DO
SUBGÊNERO *LEPTOSTEMONUM* POR CLAE: PARTES AÉREAS DE *SOLANUM*
AGRARIUM SENDTN. E *S. JABRENE* AGRA & M. NEE, E TRICOMAS DE *S.*
RHYTIDOANDRUM SENDTN., *S. PALUDOSUM* MORIC., *S. PARAIBANUM*
AGRA. E *S. STRAMONIFOLIUM* JACQ.**

IV.1. Objetivos

- a) Estabelecer uma metodologia eficiente para o isolamento de flavonóides livres das partes aéreas de plantas do gênero *Solanum*;
- b) Verificar se os flavonóides presentes no gênero *Solanum* estão localizados nos tricomas e
- c) Fazer a correlação comparando a estrutura (esqueleto) dos flavonóides com a posição seccional no subgênero *Leptostemonum*.

IV.2. Experimental

IV.2.1. Instrumental

O sistema de cromatografia líquida de alta eficiência consiste de uma bomba de solvente modelo LC-10AS, equipado com um detector UV-VIS SPD-10A (Shimadzu), Corp., Kyoto, Japan) e o integrador de dados modelo CR-6A Chromatopac. As amostras foram injetadas em um injetor Rheodyne 7125i com um loop de 20 μ L. A separação cromatográfica foi feita com uma coluna LiChrocart RP-18 (125 mmx4mmx5 μ m, Merck. Darmstadt, Germany), usando água:ácido fórmico (99:1, solvente A) e acetonitrila:metanol:ácido fórmico (48:48:1, solvente B) como fase móvel.

Depois de tentar diferentes gradientes de solventes, o melhor sistema de eluição encontrado foi o seguinte: 0 min 30% B, 20 min. 50% B, 30 min 60% B e 40 min. 70% de B, fluxo de 1.5 mL/min. A eluição foi feita em 340 nm em temperatura ambiente. Os picos cromatográficos foram identificados por comparação com os tempos de retenção das substâncias padrão.

IV.2.2. Material vegetal e isolamento dos flavonóides

As partes aéreas de *Solanum agrarium* e as folhas de *S. jabrense* foram coletadas na Paraíba, Nordeste do Brasil em janeiro e setembro de 2000, respectivamente.

Os procedimentos desenvolvidos para o isolamento dos flavonóides totais dos extratos foram: O pó seco e moído de *Solanum agrarium* (179 g) e *S. jabrense* (34 g) foram extraídos com EtOH em temperatura ambiente até completa exaustão. A solução extrativa foi concentrada sob pressão reduzida fornecendo 58,3 g de extrato

EtOH de *S. agrarium* e 5,3 g de *S. jabrense*. Uma parte do resíduo de *S. agrarium* (3,8 g) e o extrato de *S. jabrense* foram suspensos em H₂O:AcOH (8:2) e extraídos com hexano:éter (1:1). Estes solventes foram evaporados e o extrato hexano etéreo foi dissolvido em MeOH:H₂O (4:1) e extraídos com hexano e AcOEt. Os extratos acetato de etila (1,0 g de *S. agrarium* e 1,2 g de *S. jabrense*) foram cromatografados com sephadex LH-20 em CHCl₃:MeOH (1:1) para remoção da clorofila dos flavonóides totais. As frações flavonoídicas obtidas de *S. agrarium* e *S. jabrense* foram analisadas em placas cromatográficas de camada fina com sílica gel 60 F254 e a visualização foi feita com a solução de difenilboriloxietilamina (NP, 1%) em MeOH e AlCl₃-EtOH (1%), sendo observado na luz ultravioleta em 366 nm. As frações foram separadamente filtradas com CHCl₃ e MeOH em cartuchos de sílica C-18 (Sep-Pak C-18). As frações clorofórmicas foram evaporadas, redissolvidas em MeOH e filtradas sobre a membrana de 0,45 µm (Millipore) antes da análise por CLAE.

Os tricomas de *Solanum paludosum* (28,0 mg), *S. paraibanum* (70,0 mg), *S. rhytidoanadrum* (698,0 mg) e *S. stramonifolium* (205,0 mg) foram separados dos ramos jovens através de raspagem branda com uma lâmina de vidro e depois foi feita a extração com EtOH em banho de ultra-som. A solução extrativa foi concentrada sobre vácuo e o resíduo foi dado submetido a partição com CHCl₃ e MeOH. As duas fases foram separadamente filtradas em cartuchos de Sep-Pak C18 e depois concentradas. Os extratos resultantes forneceram para: *S. paludosum* (CHCl₃ 5,0 mg; MeOH 3,0 mg), *S. paraibanum* (CHCl₃ 3,9 mg; MeOH 5,0 mg), *S. rhytidoanadrum* (CHCl₃ 22,0 mg; MeOH 28,7 mg) e *S. stramonifolium* (CHCl₃ 3,0 mg; MeOH 6,0 mg). Os resíduos clorofórmicos foram dissolvidos em MeOH e filtrados em membrana de 0,45 µm (Millipore) antes da análise por CLAE.

IV.2.3. Reagentes e flavonóides padrões

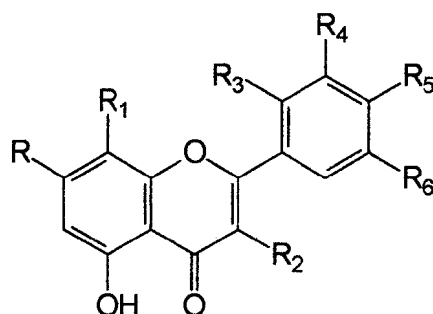
Todos os solventes utilizados eram de grau analítico e para CLAE (Tedia, Brasil). O ácido fórmico (Merck) foi usado para ajustar o pH. Miricetina (1), Morina (2), Quercetina (3), Kanferol (4) foram compradas da Merck (Darmstadt, Alemanha). Os outros seis padrões de flavonóides, 3,4',7,8-tetra-O-metilgossipetina (5), 7-O-metilkanferol (6), 3,7-di-O-metilkanferol (7), 7-O-metilapigenina (8), 3,3',4',7,8-penta-

O-gossipetina (9) e 3,3',4',7-tetra-O-metilquercetina (10) foram isolados de *S. paludosum*. Todos os padrões foram preparados em MeOH (solução estoque).

IV.3. Resultados e discussão

IV.3.1. CLAE dos flavonóides padrões

Na Figura IV.1 estão as estruturas dos flavonóides padrões: Miricetina (1), Morina (2), Quercetina (3), Canferol (4) 3,4',7,8-tetra-O-metilgossipetina (5), 7-O-metilcanferol (6), 3,7-di-O-metilcanferol (7), 7-O-metilapigenina (8), 3,3',4',7,8-penta-O-gossipetina (9) e 3,3',4',7-tetra-O-metilquercetina (10). Todos foram cromatografados separadamente ou em combinação para determinar o tempo de retenção. O cromatograma obtido por CLAE é mostrado na Figura IV.2.



Nº. da Substância	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
1 Myricetina	OH	H	OH	H	OH	OH	OH
2 Morina	OH	H	OH	OH	H	OH	H
3 Quercetina	OH	H	OH	H	OH	OH	H
4 Canferol	OH	H	OH	H	H	OH	H
5 3,4',7,8-tetra-O-metilgossipetina	OMe	OMe	OMe	H	OH	OMe	H
6 7-O-metilcanferol	OMe	H	OH	H	H	OH	H
7 3,7-O-dimetilcanferol	OMe	H	OMe	H	H	OH	H
8 7-O-methylapigenina	OMe	H	H	H	H	OH	H
9 3,3',4',7,8-O-pentamethylgossipetina	OMe	OMe	OMe	H	OMe	OMe	H
10 3,3',4',7-O-tetrametilquercetina	OMe	H	OMe	H	OMe	OMe	H

Figura IV.1. Estruturas dos flavonóides

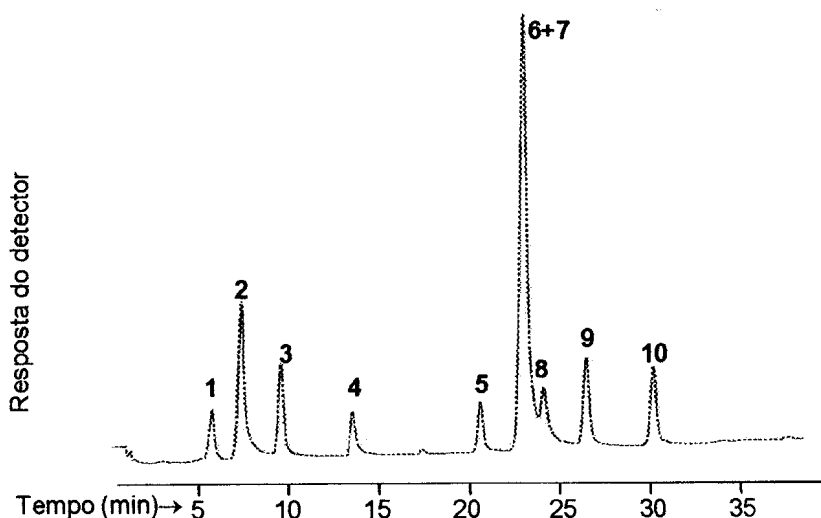


Figura IV.2. **Cromatograma dos flavonóides padrões.** As condições cromatográficas estão descritas na seção experimental. Os compostos são os seguintes: 1) miricetina; 2) morina; 3) quercetina; 4) Canferol; 5) 3,4',7,8-tetra-O-metil gossypetina; 6) 7-O-metilcanferol; 7) 3,7-O-dimetilcanferol, 8) 7-O-metilapigenina; 9) 3,3',4',7,8-penta-O-metilgossipetina e 10) 3,3',4',7-tetra-O-metilquercetina.

IV.3.2. CLAE dos extratos de *Solanum* e identificação das substâncias

As análises por CLAE dos extratos clorofórmicos das partes aéreas de *S. agrarium*, folhas de *S. jabrense* e dos tricomas de *S. paludosum*, *S. paraibanum* e *S. stramonifolium* são mostradas na Figura IV.3.

A identificação das substâncias nos extratos foi feita por (1) comparação dos tempos de retenção entre os picos desconhecidos e os flavonoides padrões e (2) co-cromatografia dos extratos com os flavonóides padrões.

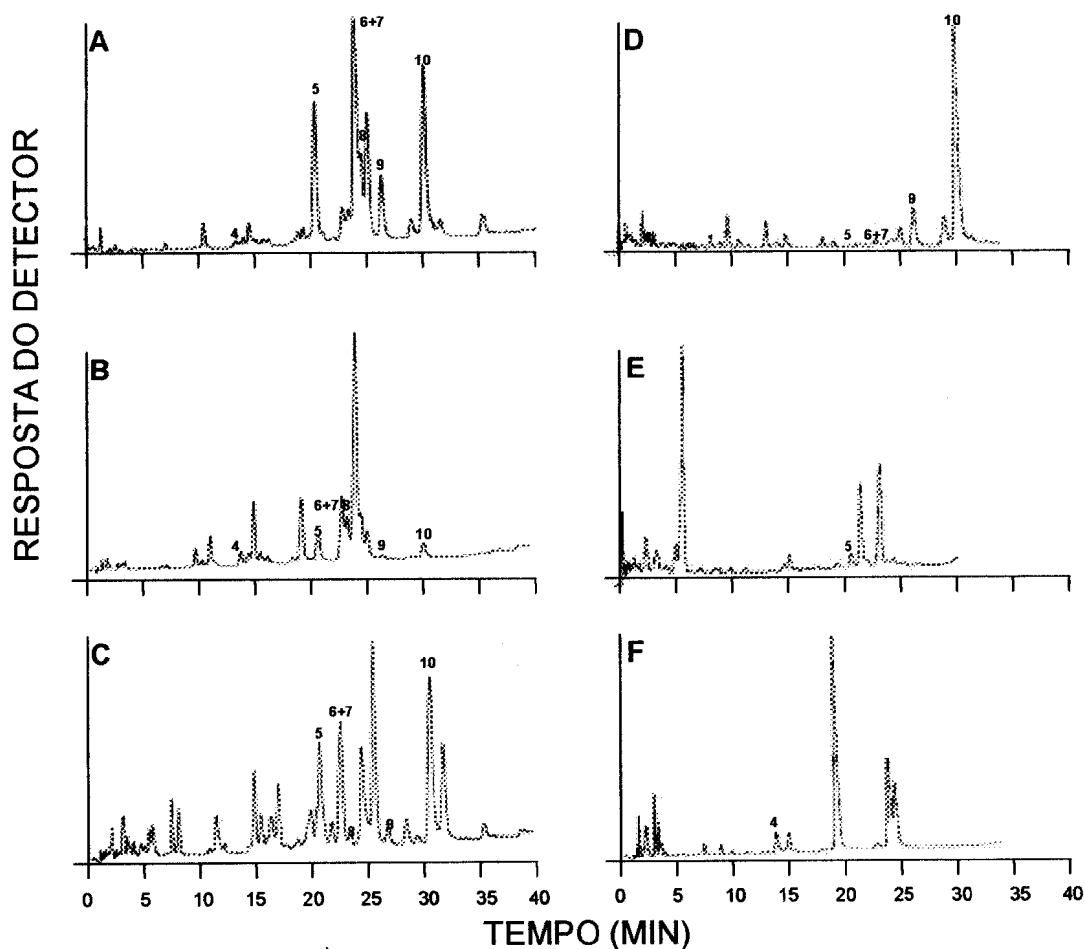


Figura IV.3. Cromatogramas da CLAE dos extratos clorofórmicos de *Solanum*: tricomas de *S. paludosum* (A), *S. rhytidoandrum* (C), *S. paraibanum* (D) e *S. stramonifolium* (E), folhas de *S. jabrense* (B) e partes aéreas de *S. agrarium* (F). As condições cromatográficas estão descritas na seção experimental.

As seis espécies de *Solanum* analisadas pertencem ao subgênero *Leptostemonum* (Dunal) Bitter e são de quatro seções diferentes. De acordo com NEE (1999) este subgênero tem cerca de 450 espécies e 10 seções. É caracterizado pela pubescência estrelada, ervas espinhosas e apresenta anteras atenuadas, está bastante concentrado na América tropical, África e Austrália (WHALEN, 1984).

Solanum paludosum, *S. rhytidoandrum* e *S. jabrense* pertencem a mesma seção *Erythrotrichum* Child e apresentam cromatogramas parecidos, mostrando a similaridade química destas espécies. A espécie *S. paraibanum* é da seção *Micracantum* Dunal e mostra apenas alguns flavonóides metoxilados que são semelhantes aos flavonóides das espécies da seção *Erythrotrichum*. A substância

presente em *S. stramonifolium*, a única espécie estudada representante da seção *Lasiocarpum* (Dunal) D'Arcy, é o 3,4',7,8-tetra-O-metilgossipetina (5) que também está presente nas espécies de *Micracantha* e *Erythrotrichum*. As substâncias presentes em *S. agrarium*, seção *Acanthophora* Dunal, são totalmente diferentes das outras seções estudadas do mesmo subgênero.

Esta análise é de importância quimiotaxonômica e confirma a presença de flavonóides agliconas nos tricomas estrelados (Figuras IV.4 e IV.5) da pubescência das espécies de *Solanum* subg. *Leptostemonum*. Nós também encontramos um método eficiente para o isolamento de flavonóides livres dos extratos, bem como uma simples e precisa análise por cromatografia líquida de alta eficiência usando fase reversa que permite a separação dos principais flavonóides.

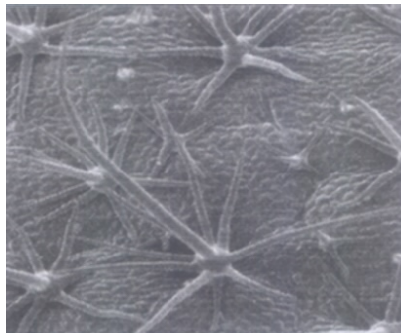
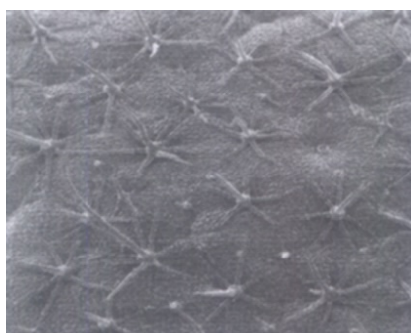
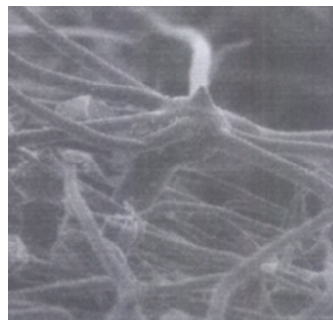
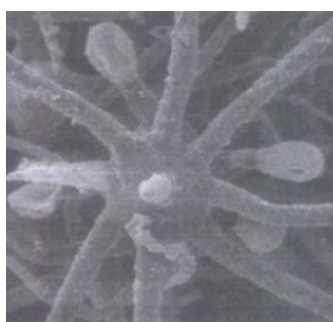
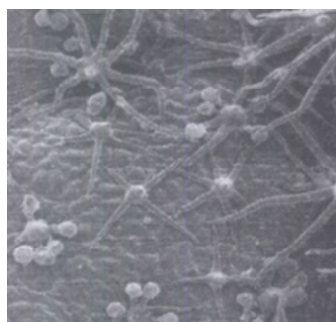
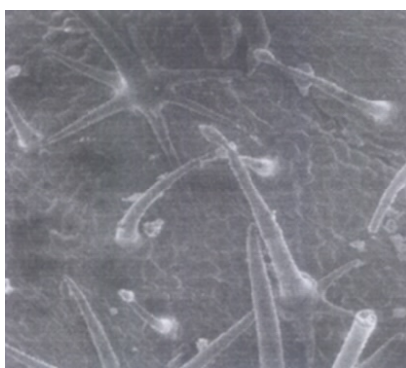


Figura IV.4. Tricomas estrelados presentes nas folhas de *Solanum jabrense* (A) e (B); *S. paludosum* (C), (D) e (E); e *S. rhytidoandrum* (F) e (G).

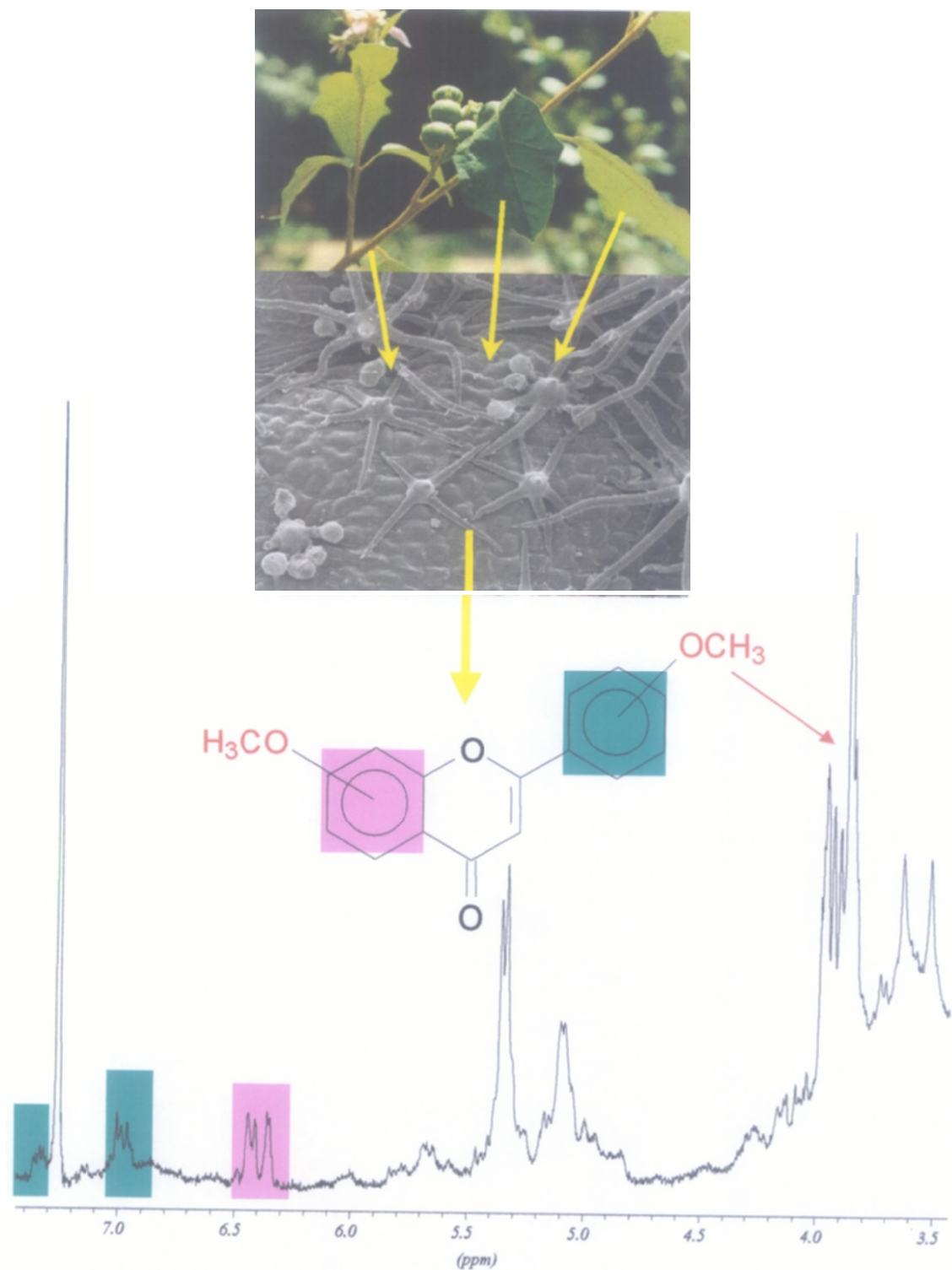


Figura IV.5. Espectro de RMN^1H (200 MHz, CDCl_3) do extrato clorofórmico dos tricomas de *Solanum paludosum*

IV.4. Referências – Capítulo IV

NEE, M. (1999). Solanaceae IV: Advances in Biology and Utilization, Royal Botanic Gardens, Kew, p. 285-333.

WHALEN, M. D. Conspectus of species groups in *Solanum* subgenus *Leptostemonum*, *Gentes Herbarum* **12** (4), 179-292, 1984.

CAPÍTULO V
TESTES BIOLÓGICOS

Observações

-Todos os testes biológicos foram feitos em colaboração com outros grupos de pesquisa. Estes grupos e os respectivos testes são relacionados abaixo:

a) Atividade moluscicida

Feito em colaboração com o Departamento de biologia, Laboratório de Biologia Animal, UFRRJ, com a ajuda da bióloga Dra. Solange Viana Paschoal Blanco Brandoline e a graduanda Luciana da Silva Paschoal (aluna de iniciação científica do curso de biologia)

b) Citotoxicidade frente ao carcinoma de Erhlich e inibição da enzima topoisomerase

Realizado pelo grupo de pesquisa das professoras Dras. Noema F. Grynberg e Áurea Echevarria do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Com a participação da aluna de doutorado Andressa Esteves-Souza (realização do teste toxicidade) e da Dra. Marcia Cristina de Oliveira (Avaliação da inibição da enzima topoisomerase)

c) Atividade espasmolítica

Realizado no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, sob a coordenação da Professora Dra. Bagnólia Araújo da Silva. Inclusive os resultados obtidos do extrato hexânico de *Solanum jabrense* e do sesquiterpeno solavetivona fazem parte da tese de mestrado da aluna Fabiana de Andrade Cavalcante intitulada: Mecanismo de ação espasmolítica de solavetivona, sesquiterpeno isolado das partes aéreas de *Solanum jabrense* AGRA & NEE (SOLANACEAE).

V.1. Objetivos

V.1.1. Geral

Contribuir para o estudo das atividades farmacológicas da família Solanaceae
Testar a atividade biológica das substâncias isoladas em maior quantidade.
Sendo os testes direcionados de acordo com o esqueleto das substâncias

V.1.2. Específico

Avaliar a atividade moluscicida (*Biomphalaria glabrata*) dos extratos de quatro espécies de *Solanum* do Nordeste: *Solanum agrarium* Sendtn., *S. jabrense* Agra & M. Nee, *S. paludosum* Moric. e *S. paraibanum* Agra, utilizando as partes renováveis das espécies.

Avaliar a atividade citotóxica frente a células do carcinoma de Erlich dos flavonóides: morina (**19**), morina tetrametilada (**20**), morina pentametilada (**21**) e tilirosídeo (**39**).

Verificar a atividade inibitória da enzima topoisomerase da enzima humana II- α pelos flavonóides naturais: 7-O-metilkanferol (**1**), 3,7-di-O-metilkanferol (**2**), 3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (**8**), 3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina (**12**), 3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina (**13**) e os derivados acetilados destes flavonoides **5**, **10** e **15**.

Avaliar as atividades espasmolíticas dos extratos de *Solanum* e do sesquiterpeno solavetivona

V.2. Atividade Moluscicida

V.2.1. Introdução

A doença parasitária esquistossomose é o maior problema de saúde em muitos países tropicais e mais de 300 milhões de pessoas estão infectadas. Os caramujos aquáticos são os hospedeiros intermediários para o parasita e por causa disto, a infecção é transmitida para os humanos através do contato com a água contaminada, principalmente em áreas rurais com o fornecimento precário de água para o consumo doméstico e pobres instalações sanitárias. A erradicação da doença é impossível com os recursos disponíveis, entretanto o objetivo imediato é o controle da mortalidade. Apesar do sucesso de alguns programas de controle, a prevalência da esquistossomose continua constante, devido principalmente ao crescimento da população e ao aumento de áreas de irrigação (WHO, 1993).

No Brasil 8 milhões são infectados, com distribuição em vastas regiões, desde Belém do Pará até o Norte do Paraná, com dois focos isolados em Santa Catarina (KATZ, 1997) e um caso no Rio Grande do Sul (CARVALHO *et al.*, 1998).

É uma doença provocada pelo *Schistosoma mansoni*, caracteriza-se por uma fase aguda, muitas vezes despercebida, e uma crônica, na qual podem surgir formas graves, evidenciadas principalmente pela hipertensão porta ou pulmonar (PRATA, 1987).

A esquistossomose é o fruto da pobreza e da ignorância, mas em outras circunstâncias, o progresso e o desenvolvimento podem até certo ponto agravá-la, uma vez que as áreas de irrigação constituem locais ideais para a transmissão desta doença, devido a criação de novos habitats para o caramujo e de sua migração promovendo o aumento na população deste planorbídeo em áreas antes não infestadas (BERGQUIST, 1993).

Existe uma necessidade urgente para encontrar um moluscicida seletivo e eficiente para o controle dos caramujos, especialmente porque os compostos utilizados ou as formulações em geral são biocidas, afetando também muitos animais e plantas (ou ambos) onde os caramujos habitam. Por esta razão, tem-se aumentado a procura por substâncias derivadas de plantas com atividade moluscicidas, na esperança de que plantas disponíveis localmente possam ser usadas para o controle da doença em áreas endêmicas (KLOOS & MCCULLOUGH, 1982; MARSTON & HOSTETTMANN, 1985, MARSTON & HOSTETTMANN, 1991).

Niclosamida é o moluscicida sintético mais utilizado desde 1960, promovendo 100% de mortalidade sobre o caramujo adulto, *B. glabrata*, na concentração de 1,5 ppm

em 2 horas de exposição. Além disso o sal de niclosamida etanolamina promove imobilização e morte das larvas de *S. mansoni*, numa concentração de 0,3 mg/L em minutos. A principal desvantagem da niclosamida é apresentar uma atividade piscicida equivalente a moluscicida o que causa um sério problema, uma vez que os peixes são uma importante fonte alimentar nestas regiões. Estudos sobre a toxicidade da niclosamida em animais de laboratório determinaram que esta não apresenta efeitos tóxicos cumulativos quando administrado via oral ou cutânea (PERRET & WHITFIELD 1995)

O critério para uma planta apresentar atividade moluscicida é definido como:

- a) O extrato bruto da planta (peso seco) é ativo quando mata 90% dos caramujos expostos por 24h com a temperatura da água constante e a concentração igual ou menor a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (ppm)
- b) O extrato aquoso frio ou quente da planta é ativo quando mata 90% dos caramujos expostos por 24h com a temperatura da água constante e a concentração igual ou menor a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$
- c) Opcionalmente, um extrato de planta alcoólico (metanólico) é ativo quando mata 90% dos caramujos expostos por 24h com a temperatura da água constante e a concentração igual ou menor a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$
- d) Opcionalmente, um extrato de planta lipofílico é ativo quando mata 90% dos caramujos expostos por 24h com a temperatura da água constante e a concentração igual ou menor a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$.
- e) As plantas devem ser de crescimento abundante na área endêmica ou de fácil cultivo. Além disso, é preferencial que as partes utilizadas sejam os frutos, folhas ou flores
- f) Visando a redução do custo financeiro, é preferível que os constituintes ativos sejam extraídos com água ao invés de solventes orgânicos
- g) O extrato da planta moluscicida deve apresentar uma baixa toxicidade para organismos não alvos (incluindo o homem). Sendo vantajoso para o estudo do impacto ambiental e toxicológico, o isolamento dos princípios ativos da planta
- h) As técnicas de aplicação devem ser simples e seguras para o operador (MARSTON & HOSTETTMANN, 1985)

A primeira tentativa para o controle da esquistossomose pelo uso de plantas moluscicidas foi realizada em 1930, quando ARCHIBALD *et al.*, 1933 e WAGNER, 1936 plantaram palma do deserto *Balanites aegyptiaca* e *B. maughamii*, ao longo do curso das águas do Sudão e Sudeste da África, respectivamente.

Testes no campo e em laboratório, realizados por estes cientistas, indicaram que os frutos destas plantas derrubadas na água inibiam o aumento da densidade populacional dos caramujos (KLOOS & MCCULLOUGH, 1982). Desde então, mais de 1100 espécies de plantas foram testadas e muitas apresentaram atividade moluscicida significativa.

Plantas de várias famílias com diferentes classes de compostos vêm sendo testadas e os resultados são bastante promissores (MARSTON & HOSTETTMANN, 1991; SPARG *et al.* 2000).

No Brasil a pesquisa é intensificada pelo grupo da FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz) com plantas da família Euphorbiaceae, especialmente com o látex de *Euphorbia splendens* var. *histopii* (N.E.B.), conhecida popularmente como “Coroa de cristo”. Trabalhos realizados com esta planta mostram a atividade moluscicida e os testes experimentais estão sendo feitos em Áreas endêmicas no Estado de Minas Gerais. (SCHALL *et al.*, 1991a; FREITAS *et al.*, 1991; SCHALL, 1991b; SCHALL *et al.*, 1991c; MENDES *et al.*, 1992; BAPTISTA *et al.*, 1992; BAPTISTA *et al.*, 1994; MENDES *et al.*, 1997; BAPTISTA *et al.*, 1997; SCHALL *et al.*, 1998; SCHALL *et al.*, 2001; GIOVANELLI *et al.*, 2001).

O gênero *Solanum* apresenta grande importância econômica. Espécies de *Solanum* produzem uma grande variedade de saponinas esteroidais e alcalóidicas responsáveis pela resistência contra inimigos. Cerca de 200 alcalóides com bases esteroidais diferentes (esqueleto colestano C₂₇ divididos em 5 tipos de estruturas) já foram isolados e se apresentam na planta na forma livre e como glicoalcalóides (ATTUR-RAHMAN & CHOUDHARY, 1998).

Dos muitos compostos que compõem o perfil dos compostos secundários das plantas, os glicoalcalóides estão entre os mais interessantes não somente por razões químicas e biológicas, mas também por exercerem uma importante influência em vários aspectos da atividade e comportamento humano. Os glicoalcalóides estão presentes em mais de 350 espécies de plantas principalmente da família Solanaceae (e em menor extensão a família Liliaceae). Cerca de 75 estruturas do tipo aglicona que ocorrem naturalmente (alcaminas) são conhecidas e apresentam esqueleto colestano C₂₇ com um anel adicional contendo nitrogênio ou grupos que dão basicidade e algumas das atividades biológicas. Em adição, uma porção significativa das atividades biológicas dos glicoalcalóides originam da porção oligossacarídica (incluindo cinco unidades monossacarídicas e usualmente ligadas no carbono 3 a qual faz a molécula anfipática. Algumas estruturas importantes estão na Figura V.1. Deste modo, embora sejam

chamados de glicoalcalóides, muitos destes compostos também apresentam características de saponinas de plantas monodesmosídicas. Muitos glicoalcalóides exibem dois principais tipos de atividades biológicas que reflete muito a natureza química 'dual', *viz.* atividade antiacetilcolinesterase reminiscente de alguns alcalóides e a propriedade de lise da membrana, similar as saponinas.

A conseqüência da atividade é considerada do ponto de vista da planta produtora e dos humanos. O terceiro maior tema é sobre o sinergismo da atividade biológica que ocorrem entre certos glicoalcalóides, isto pode ter implicações importantes para o papel desempenhado por estes alleloquímicos com a planta e para os efeitos que exercem em humanos.

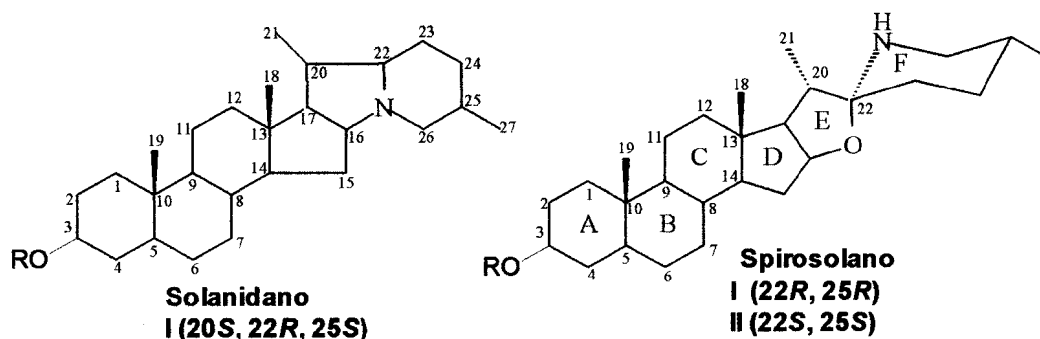
Os glicoalcalóides de Solanaceae são indiscutivelmente um dos grupos de drogas mais pesquisados de produto secundário de plantas em termos de sua habilidade para influenciar outros organismos. Isto é primariamente a conseqüência da presença de duas plantas colhidas de significância global, batata e tomate, e das que causam envenenamento em humanos. O ímpeto adicional veio também de seu papel proposto como fator de resistência contra patógenos e pestes destas plantas. Por comparação, muito pouco é conhecido sobre a atividade biológica dos glicoalcalóides de plantas selvagens.

Os glicoalcalóides causam efeitos prejudiciais principalmente em organismos impedindo o *spectrum* biológico de viroses em humanos e os efeitos variam com a complexidade dos organismos. Em microorganismos e plantas a toxicidade é geralmente manifestada prejudicando o crescimento, desenvolvimento, permeabilidade ou o metabolismo. Em animais inferiores a atividade alimentar, crescimento, desenvolvimento e mortalidade são os parâmetros mais comumente quantificados enquanto que em mamíferos de laboratório uma grande variedade de parâmetros fisiológicos/farmacológicos são registrados os quais variam em natureza e intensidade. Informações de toxicidade em humanos são principalmente de casos de envenenamento acidental (somente poucos casos experimentais foram registrados).

Embora uma variedade de efeitos seja produzida pelos glicoalcalóides, muitos resultam de um limitado número de ações bioquímicas. Um dos mais conhecidos destes é a capacidade para romper a membrana celular e causar a perda dos solutos vitais. Os glicoalcalóides podem também inibir a ação da enzima acetilcolinesterase, um efeito que é obviamente limitado a animais em que o sistema nervoso central é bem desenvolvido. Em organismos mais complexos é difícil saber o exato modo da toxicidade devido a variedade de células diferentes e tipos de organismos que podem ser afetados, a

presença de sistemas de transportes, absorções diferentes, metabolismo, características excretórias, etc.

Sobre o rompimento das membranas, a primeira opinião favorece as propriedades surfactantes dos glicosídeos anfipáticos como a base da atividade. Porém, a demonstração de que o glicoalcalóide do tomate α -tomatina (Figura V.1) forma um complexo estável 1:1 molecular com 3β -hidroxi esteróides como o colesterol *in vitro* foi a maior descoberta para resolver esta questão. Os esteróides livres ajudam a estabilizar a camada de lipídeos de membranas eucarióticas, mas acredita-se que a ligação com os glicoalcalóides comprometa este papel levando para perda da permeabilidade.



Glicoalcaloide	R=H Aglicona	R= Oligossacarídeo	R=H Aglicona	Glicoalcaloide
α -Solanina	(I) Solanidina ($\Delta^{5,6}$)	Solatriose	(II) Solanidina ($\Delta^{5,6}$)	Solasonina
Leptina II	(I) Acetilleptidina ($\Delta^{5,6}$, 23-acetil)	Solatriose	(II) Tomatidenol (Δ^5 insat)	α -Solamarina
α -Chaconina	(I) Solanidina ($\Delta^{5,6}$)	Chacotriose	(II) Solasodina (Δ^5 insat)	Solamargina
Leptina I	(I) Acetilleptidina ($\Delta^{5,6}$, 23-acetil)	Chacotriose	(II) Tomatidenol (Δ^5 insat)	β -Solamarina
Demissina	(I) Demissidina	Licotetraose	(III) Tomatidina	α -Tomatina
Commersonina	(I) Demissidina	Commentetraose	(III) Tomatidina	Sisunina

Figura V.1. Estruturas de alguns glicoalcalóides do tipo solanidano e spirosolano

Conseqüências danosas têm sido freqüentemente correlacionadas a um influxo de metabólitos secundários. Entretanto um influxo de compostos fisiologicamente potenciais (ex. íons cálcio) pode ser prejudicial para algumas células. A presença de esteróides nas membranas de células de muitos eucarióticos provavelmente explica o largo espectrum de ação dos glicoalcalóides (RODDICK, 1996).

Muitas plantas do gênero *Solanum* apresentam atividade moluscicida, e esta atividade pode estar associada a presença de glicoalcalóides esteroidais (Tabela V.1)

Tabela V.1. Espécies do gênero *Solanum* com atividade moluscicida (NAPRALERT, junho de 2001)

Espécies de <i>Solanum</i>	Partes testadas (Extrato*)	Conc. testada	Mortalidade (%)	DL ₅₀ , DL ₉₀	Moluscos testados	Referências
<i>S. aculeastrum</i>	Fruto (M)	-	-	36.48, 72.5 mg/mL	<i>Biomphalaria sudanica</i>	ODYER et al., 1992
<i>S. aculeastrum</i>	Fruto (M)	-	-	33.21, 50.29 mg/mL	<i>Biomphalaria pfeifferi</i>	ODYER et al., 1992
<i>S. aculeastrum</i>	Fruto (M)	-	-	23.24, 34.80 mg/mL	<i>Bulinus B. forskalii</i>	ODYER et al., 1992
<i>S. aculeastrum</i>	Fruto (M)	-	-	26.03, 40.84 mg/mL	<i>Lymnaea natalensis</i>	ODYER et al., 1992
<i>S. aculeatum</i>	Fruto seco (A)	25 mg/L	58	-	<i>Biomphalaria pfeifferi</i>	MKOJI et al., 1989
<i>S. aculeatum</i>	Fruto seco (A)	50 mg/L	83	-	<i>Bulinus globulus</i>	MKOJI et al., 1989
<i>S. aculeatum</i>	Fruto seco (A)	50 mg/L	64	-	<i>Lymnaea natalensis</i>	MKOJI et al., 1989
<i>S. aculeatum</i>	Fruto cong (A)	25 mg/L	63	-	<i>Biomphalaria pfeifferi</i>	MKOJI et al., 1989
<i>S. aculeatum</i>	Fruto cong (A)	25 mg/L	80	-	<i>Bulinus globulus</i>	MKOJI et al., 1989
<i>S. aculeatum</i>	Fruto cong (A)	25 mg/L	70	-	<i>Lymnaea natalensis</i>	MKOJI et al., 1989
<i>S. elaeagnifolium</i>	Fruto seco (E:D)	-	-	DL ₅₀ =9.5 ppm	<i>Bulinus truncatus</i>	BEKKOUCHE et al., 2000
<i>S. mammosum</i>	Fruto seco (A)	100 ppm	25	-	<i>L. cubensis</i>	ALZERRECA et al., 1981
<i>S. mammosum</i>	Fruto seco (Fração)	10 ppm	Forte atividade	-	<i>L. cubensis</i>	ALZERRECA & HART., 1981
<i>S. mammosum</i>	Fruto seco (M)	-	-	DL ₉₀ =25 ppm	<i>L. cubensis</i>	ALZERRECA et al., 1981
<i>S. mammosum</i>	Fruto fresco (SA)	-	-	DL ₁₀₀ =100 ppm	<i>L. columella</i>	MEDINA & WOODBURY, 1979
<i>S. mammosum</i>	Fruto fresco (SA)	-	-	DL ₁₀₀ =100 ppm	<i>L. cubensis</i>	MEDINA & WOODBURY, 1979
<i>S. nigrum</i>	Fruto seco (A)	-	-	-	<i>B. pfeifferi</i>	KLOOS et al., 1987
<i>S. nigrum</i>	Fruto	-	-	CL ₅₀ =17.8 mg/L	<i>Bulinus</i>	AHMED et al.,

	seco (A)				<i>truncatus</i>	1997.
<i>S. nigrum</i>	Fruto seco (A)	-	-	CL ₅₀ =24.5 ng/L	<i>L. natalensis</i>	AHMED <i>et al.</i> , 1997.
<i>S. nigrum</i>	Fruto seco (A)	-	-	CL ₅₀ =35.5 mg/L	<i>B. alexandrina</i>	AHMED <i>et al.</i> , 1997
<i>S. nigrum</i>	Raiz seco (A)	-	-	-	<i>B. pfeifferi</i>	KLOOS <i>et al.</i> , 1987
<i>S. nodiflorum</i>	Planta int. fresca (A)	-	-	DL ₁₀₀ =100 ppm	<i>L. columella</i>	MEDINA & WOODBURY, 1979
<i>S. nodiflorum</i>	Planta int. fresca (A)	-	-	DL ₁₀₀ =100 ppm	<i>L. cubensis</i>	MEDINA & WOODBURY, 1979
<i>S. nodiflorum</i>	Folha seca (A)	-	-	DL ₅₀ =40 ppm	<i>B. glabrata</i>	MEDINA & RITCHIE, 1980
<i>S. nodiflorum</i>	Folha seca (A)	-	-	DL ₅₀ =45 ppm	<i>Fossaria cogumela</i>	MEDINA & RITCHIE, 1980
<i>S. nodiflorum</i>	Folha seca (A)	-	-	DL ₅₀ =58 ppm	<i>Fossaria cubensis</i>	MEDINA & RITCHIE, 1980
<i>S. nodiflorum</i>	Folha seca (A)	-	-	DL ₅₀ =90 ppm	<i>Physa cubensis</i>	MEDINA & RITCHIE, 1980
<i>S. nodiflorum</i>	Raiz seca (A)	-	-	DL ₅₀ =67 ppm	<i>Fossaria cubensis</i>	MEDINA & RITCHIE, 1980
<i>S. panduraeforme</i>	Fruto seco (M)	400 ppm	-	-	<i>B. glabrata</i>	CEPLEANU <i>et al.</i> , 1994
<i>S. sodomeum</i>	Folha seca (E:D)	-	-	DL ₅₀ =14.5	<i>Bulinus truncatus</i>	BEKKOUCHE <i>et al.</i> , 2000
<i>S. sodomeum</i>	Semente seca (E:D)	-	-	DL ₅₀ =15.5	<i>Bulinus truncatus</i>	BEKKOUCHE <i>et al.</i> , 2000
<i>S. torvum</i>	Folha fresca (A)	-	-	DL ₁₀₀ =1000ppm	<i>L. columella</i>	MEDINA & WOODBURY, 1979
<i>S. torvum</i>	Raiz seca (M)	50 ppm	ativo	-	-	DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1885

*M=metanólico, A=aquoso, E:D=Etanol:Diclorometano, E= Etanólico, SA= Suspensão aquosa

V.2.2. Materiais e métodos

V.2.2.1. Obtenção dos extratos

Os extratos testados de *Solanum jabrense* e *Solanum paludosum* foram obtidos de acordo com os esquemas I.1 e II.1, descritos nos capítulos I e II, respectivamente.

Os outros extratos foram obtidos através de maceração com EtOH e/ou MeOH. Após evaporação dos solventes os extratos foram testados. Os extratos obtidos foram: extrato etanólico das folhas de *Solanum paraibanum*, extratos etanólicos das folhas e frutos de *Solanum agrarium*, extratos etanólico, metanólico, metanólico aquoso e fase butanólica básica de *Solanum jabrense*, e etanólico de fase clorofórmica básica de *Solanum paludosum*.

V.2.1.2. Bioensaio com o Caramujo *Biomphalaria glabrata*

Testes para verificação da atividade moluscicida envolve basicamente a introdução da substância ou extrato da planta em um recipiente contendo os caramujos e depois observar a mortalidade. Para plantas, o ensaio pode ser feito através da suspensão do extrato da planta em água.

A OMS recomenda um método padrão para o *screening* da atividade moluscicida em laboratório (WHO, 1965, citado no livro de HOSTETTMANN, 1991), mas na prática a procedência é difícil devido a avialidade local dos caramujos, qualidade da água, etc. (HOSTETTMANN, 1991).

V.2.2.3. Procedimento para o teste (modificado de HOSTETTMANN, 1991 e DOS SANTOS, 1997)

1. Caramujos com 10-23 mm de diâmetro (adultos)
2. Água desclorada
3. Provetas
4. Copos de 125 mL e 250 mL para cinco concentrações, n=4)
5. Cremophor (detergente para ajudar na solubilidade da amostra)
6. Cápsula de porcelana.
7. Balões volumétricos
8. Solução estoque de 100 µg/mL: era colocada uma gota de cremophor (detergente) no extrato previamente pesado e adicionada água até completar o volume para 1L.
9. Para o ensaio preliminar eram transferidos 125 mL da solução estoque para os copos e em seguida mergulhados 5 caramujos. A relação era sempre de 25 mL de solução por caramujo. Se o extrato apresentasse atividade, o ensaio era feito nas concentrações de 50 e 10 µg/mL
10. Para o ensaio final: as concentrações para o ensaio definitivo eram escolhidas de acordo com o resultado preliminar. Alíquotas da solução estoque eram completadas com água desclorada para dois copos de 250 mL, em seguida 10 caramujos eram mergulhados. Para cada concentração eram utilizados 20 caramujos
11. Depois de 24 h ou 48h os caramujos são transferidos para uma placa de Petri e verificado se havia reação aos estímulos provocados com espátulas. Para

confirmação da mortalidade, os caramujos eram transferidos para um becher contendo apenas água desclorada. Depois de 24 h, era feito novo exame.

12. O controle era feito com 1 gota de cremophor e água desclorada. Os caramujos eram transferidos para um copo com 125 mL ou 250 mL e $n=2$.

13. O cálculo da CL_{50} era realizado utilizando a concentração em função da percentagem de vivos pela reta da regressão linear

V.2.3. Resultados

V.2.3.1. Avaliação da atividade moluscicida frente ao *Biomphalaria glabrata*

Os resultados dos testes preliminares (triagem) com os extratos de *Solanum* sobre os moluscos, *B. glabrata*, são apresentados na Tabela V.2 e dos testes definitivos dos extratos de *Solanum jabrense* (extrato metanólico e fase butanólica básica) estão na Tabela V.3.

Pela tabela Tabela V.2 pode ser verificado que os extratos etanólico das folhas de *S. agrarium*; etanólico, metanólico e fase butanólica básica das partes aéreas de *S. jabrense*; etanólico das partes aéreas de *S. paludosum* e metanólico das folhas de *S. paraibanum* apresentaram atividade moluscicida, em análise preliminar. Estes extratos estão sendo submetidos ao teste definitivo para encontrar o valor da DL_{50} .

Os dois extratos de *Solanum jabrense* (Tabela V.3) que foram submetidos ao ensaio definitivo apresentaram $DL_{50}=30.3 \mu\text{g/mL}$ e $56.9 \mu\text{g/mL}$ para os extratos fase butanólica básica e metanólico, respectivamente.

Tabela V.2.Triagem da ação moluscicida dos extratos de *Solanum* sobre *Biomphalaria glabrata* (5 caramujos por concentração) em laboratório após exposição de 48 horas, pH 6-7.

Espécies de <i>Solanum</i>	Partes testadas (Extrato*)	Diâmetro do caramujo (mm)	Conc. Testada $\mu\text{g/mL}$	Mortalidade (%)	Atividade
<i>S. agrarium</i>	Folhas (E)	10-12mm	100	60	Inativo
<i>S. agrarium</i>	Fruto (E)	11-13mm	100	20	Inativo
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (E)	9-11mm	100	100	Ativo
			50	100	
			10	0	
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M)	9-10mm	100	100	Ativo
			50	40	
			10	0	
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M _{aq})	9-10mm	100	0	Inativo
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (FBB)	10-11mm	100	100	Ativo
			50	100	
			10	0	
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea (E)	9-11	100	100	Ativo
			50	0	
			10	0	
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea (FBB)	11-14	100	0	Inativo
<i>S. paraibanum</i>	Folha (E)	9-11	100	0	Inativo
<i>S. paraibanum</i>	Folha (M)	11-12	100	100	Ativo

*M=metanólico, FBB=Fase Butanólica Básica, E= Etanólico, Maq=metanólico aquoso.

Tabela V.3. Ação moluscicida dos extratos metanólico e fase butanólica básica de *Solanum jabrense* sobre *Biomphalaria glabrata* (20 caramujos por concentração) em laboratório após exposição de 48 horas, pH 6-7.

Espécies de <i>Solanum</i>	Partes testadas (Extrato*)	Diâmetro do caramujo (mm)	Conc. Testada $\mu\text{g/mL}$	DL ₉₀ /DL ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M)	10-15mm	100	80.8/56.9
			80	
			60	
			40	
			20	
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (FBB)	10-15mm	50	47.9/30.3
			40	
			30	
			20	
			10	

V.3. Estudo da citotoxicidade da morina (morina tetrametilada, morina pentametilada e tilirosídeo frente ao carcinoma de Erhlich

Os flavonóides são substâncias fenólicas isoladas de uma grande variedade de plantas. Apresentam cerca de 8000 compostos conhecidos. Eles agem nas plantas como antioxidantes, antimicrobianos, fotoreceptores, atraentes visuais, repelentes de insetos e protetores solar. Muitos estudos sugerem que os flavonóides exibem uma vasta atividade biológica (PIETTA, 2000). Dentre as atividades destacam-se as atividades antialérgica, antiinflamatória, antiviral, antiproliferativa e anticarcinogênica (MIDDLETON JR & KANDASWAMI, 1994).

V.3.1. Materiais e métodos

V.3.1.1. Obtenção dos flavonóides

Os derivados da morina foram obtidos segundo descrito no capítulo I, item I-1.1, e o tilirosídeo de acordo com o capítulo III, item III.1.

V.3.1.2. Procedimento experimental

A análise da citotoxicidade da morina (19), da morina tetrametilada (20), da morina pentametilada (21) e do tilirosídeo (39) foi realizada segundo o método do MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) com células ascíticas de carcinoma de Ehrlich (1×10^6 cel/mL) mantidas em camundongos portadores do tumor com 7-9 dias de crescimento. Os ensaios (em triplicata) foram feitos em microplacas de 96 wells em meio RPMI 1640 suplementado 5% de soro fetal bovino. As drogas foram adicionadas em doses ascendentes de 0 a 200 μ M (até 0.5% de DMSO). As culturas foram mantidas sob atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C por 48 h. Após isto, as culturas foram incubadas com 10 μ L de MTT por 3 h, e ao final deste tempo, adicionou-se 100 μ L de isopropanol acidificado para dissolver a formazana. A leitura foi realizada por espectrofotômetro ELISA a 570nm.

V.3.2. Resultados

A Tabela V.4 mostra os valores das concentrações que inibiram 50% o crescimento das células tumorais, IC₅₀. Pelos valores observa-se que dos quatro flavonóides testados, apenas a morina (19) não apresentou atividade citotóxica.

Tabela V.4 Valores de IC₅₀ dos flavonóides sobre o crescimento das células tumorais (carcinoma de Ehrlich)

Flavonóide	IC ₅₀ (μ M)
Morina	Inativa
Morina tetrametilada	33
Morina pentametilada	69
Tilirosídeo	80

V.4. Atividade espasmolítica dos extratos de *Solanum* e do sesquiterpeno solavetivona isolado de *Solanum jabrense* Agra & M. Nee

O interesse em investigar plantas com atividade sobre a musculatura lisa reside no fato de que as substâncias espasmolíticas têm uma vasta aplicação em vários processos fisiopatológicos com a asma, hipertensão, diarréias, espasmos tanto intestinais como uterinos, etc. Além disso como os mecanismos de contração e relaxamento muscular envolvem mobilizações de íons cálcio e este íon media

grande parte das ações das drogas no nosso organismo, o modelo do músculo liso se apresenta como meio relativamente simples para se investigar mecanismos de ação de substâncias que envolvem o metabolismo do cálcio (CAVALCANTE, 2001).

Como não havia nenhum estudo farmacológico realizado com a espécie *Solanum jabrense* e baseado no critério de que outras espécies de *Solanum* apresentam vários metabólitos secundários com atividade espasmolítica iniciou-se a abordagem farmacológica sobre os músculos lisos isolados (aorta de rato, útero rata, traquéia e íleo de cobaia).

V.4.1. Materiais e métodos

V.4.1.1. Obtenção dos extratos e do sesquiterpeno solavetivona

Os extratos foram obtidos como indicado anteriormente neste capítulo. Os extratos em análise são: hexânico, clorofórmico, metanólico e metanólico aquoso das partes aéreas de *Solanum jabrense*, metanólico das partes aéreas de *Solanum paludosum* e etanólico do caule de *S. paraibanum*.

A substância solavetivona (34) foi obtida do extrato hexânico de *Solanum jabrense* como descrito no capítulo II, Esquema II.1.

V.4.1.2. Procedimento experimental

Os órgãos para os experimentos eram isolados de ratos (*Rattus norvegicus*) e cobaias (*Cavia porcellus*)

Os tecidos eram suspensos em cubas (6 mL) contendo soluções nutritivas e a temperaturas adequadas. As contrações isométricas eram monitoradas com um transdutor de força acoplado a um fisiógrafo e as contrações isotônicas eram registradas por uma alavanca isotônica de inscrição frontal em cilindros esfumados de um quimógrafo.

V.4.2. Resultados

Foi realizada uma triagem preliminar farmacológica com extratos de várias espécies de *Solanum* e com um sesquiterpeno isolado da espécie *Solanum jabrense*. Os órgãos utilizados foram aorta isolada de rato, útero isolado de rata, traquéia e íleo isolados de cobaia. Os resultados com os extratos de *Solanum* são

mostrados na Tabela V.5 e os resultados obtidos com a solavetivona estão na Tabela V.6

Tabela V.5. Efeito espasmolítico dos extratos de *Solanum* sobre órgãos isolados

Espécies de <i>Solanum</i>	Partes testadas (Extrato*)	Órgão	Agente contrátil	Cl₅₀ (µg/mL)	Repetições (n)
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	Aorta com endotélio	fenilefrina	308,8±57,3	4
		Aorta sem endotélio		224,1±49,3	4
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	íleo (pré-incubado)	carbacol	30,4 ± 3,9	5
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	íleo (pré-incubado)	histamina	31,9 + 4,8	5
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	íleo (tônica)	KCl	51,9±10,2	6
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	íleo (tônica)	carbacol	32,7±10,3	6
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	íleo (tônica)	histamina	31,1±4,7	6
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	Útero	ocitocina	13,7±1,6	3
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (H)	Útero	carbacol	22,1±2,7	3
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M)	íleo (pré-incubado)	histamina	144,5±19,9	4
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (Maq)	íleo (pré-incubado)	histamina	338±33,4	4
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M)	íleo (cont. tônica)	histamina	15,9±4,6	5
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (Maq)	íleo (cont. tônica)	histamina	46±10,4	5
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M)	íleo (cont. tônica)	KCl	inativo	4
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (Maq)	íleo (cont. tônica)	KCl	inativo	4
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (M)	Aorta com endotélio	fenilefrina	181,47±18,18	6
		Aorta sem endotélio		292,80±20,75	4
<i>S. jabrense</i>	Parte aérea (C)	íleo	histamina	206,08±1,49	3
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea (M)	aorta	fenilefrina	inativo	4
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea (M)	íleo	KCl	26,50±5,37	4
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea (M)	íleo	carbacol	159,59±21,09	4
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea (M)	útero	carbacol	51,36±9,42	5
<i>S. paludosum</i>	Parte aérea	útero	ocitocina	60,03±9,19	5

		(M)			
<i>S. paraibanum</i>	Caule (E)	Íleo	KCl	86,3±15,6	5
		Íleo	histamina	51,5±2,4	5
		Íleo	acetilcolina	15,5±2,2	5
		útero	ocitocina	112,5±56,2	4

*M=metanólico, H=Hexânico, E= Etanólico, M=Metanólico, Maq=Metanólico aquoso

Tabela V.6. Efeito espasmolítico de solavetivona sobre órgãos isolados

ORGÃO TESTADO	AGENTE CONTRÁTIL	Cl ₅₀ [μG/ML]	N
Aorta com endotélio	Fenilefrina	NS	4
Aorta sem endotélio	Fenilefrina	NS	4
Útero	Ocitocina	3,1 ± 0,7 x 10 ⁻⁵	6
Útero	Carbacol	2,9 ± 0,5 x 10 ⁻⁵	6
Traquéia	Carbacol	NS	4
Traquéia	Tônus espontâneo	NS	4
Íleo (pré incubado)	Carbacol	5,8 ± 0,7 x 10 ⁻⁵	6
Íleo (pré incubado)	Histamina	5,2 ± 0,6 x 10 ⁻⁵	6
Íleo (tônica)	KCl	1,4 ± 0,3 x 10 ⁻⁵	6
Íleo (tônica)	Carbacol	1,2 ± 0,1 x 10 ⁻⁵	6
Íleo (tônica)	Histamina	1,3 ± 0,1 x 10 ⁻⁵	6

NS = efeito não significante

V.5. Avaliação da inibição da enzima humana DNA-topoisomerase II-α

As enzimas DNA-topoisomerasas são necessárias para a viabilidade de todos os organismos desde as bactérias até o homem, devido ao seu papel vital em vários processos no metabolismo do DNA, como transcrição, replicação, recombinação e segregação dos cromossomos durante a divisão celular. As topoisomerasas estão envolvidas no controle e na interconversão de diferentes formas topológicas do DNA, por catalizar a quebra concertada de uma ou de ambas as fitas. Elas alteram o estado topológico do DNA circular, mas não a sua estrutura covalente (LIU, 1989; SCHNEIDER *et al.*, 1990; LIU, 1994; GUPTA *et al.* 1995; WANG, 1996).

O interesse nas topoisomerasas se deve a que, muitas drogas, intercalantes ou não do DNA e que possuem atividades antitumorais, antifúngicas, antivirais e antibacterianas têm como alvo tais enzimas e influenciam etapas chaves do seu

ciclo catalítico (CHEN & LIU, 1994; CAPRANICO & ZUNINO, 1995; CAPRANICO et al., 1997).

Os produtos naturais vêm sendo testados na UFRRJ para avaliação da inibição da enzima topoisomerase (GRYNBERG *et al.*, 1999) e os flavonóides têm despertado grande interesse (GRYNBERG, 1999)

V.5.1. Materiais e métodos

V.5.1.1. Obtenção dos flavonóides

A obtenção dos flavonóides naturais: 7-O-metilkanferol (**1**), 3,7-di-O-metilkanferol (**2**), 3,7,3',4'-tetra-O-metilquercetina (**8**), 3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina (**12**), 3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina (**13**) e os derivados acetilados destes flavonoides **5**, **10** e **15** está descrita no capítulo I, Esquema I.1.

V.5.1.2. Procedimento experimental

O efeito sobre a topoisomerase foi medido pelo desanelamento do kDNA formando minicírculos. O kDNA anelado (0,125 µg) e duas unidades de topoisomerase II foram incubados com as drogas na concentração de 200µM, numa reação contendo tampão tris (10mM pH 7,8), Mg⁺⁺ (10mM) e ATP (1mM) por 30 minutos a 37°C. Os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%. Os géis foram corados com brometo de etídio e fotografados sob luz UV.

V.5.2. Resultados

Os resultados mostraram que as substâncias **12**, **15**, **1**, **2** e **10** na concentração de 200µM inibiram a atividade da topoisomerase II-α (Figura V.2), linhas 1,2,3,4 e 6, comparadas com a etoposida (100µM), linha 10. As substâncias **13** e **8** não inibiram a atividade da topoisomerase (linhas 5 e 7). As linhas 8 e 9 correspondem ao kDNA e ao DNA na presença da topoisomerase II, respectivamente.

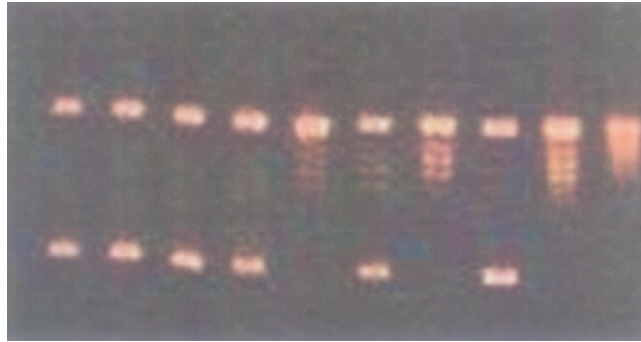


Figura V.2. Eletroforese em gel de agarose mostrando a ação dos flavonóides no relaxamento do DNA de fago por topoisomerase II. O kDNA (0,125 μ g) foi incubado com duas unidades de topoisomerase II na ausência (8) ou na presença de drogas (200 μ M): 12, 15, 1, 2, 13, 10 e 8 (1-7) e etoposida 100 μ M (10).

Conclusões

- a) O estudo químico das partes aéreas de *Solanum paludosum* resultou no isolamento de catorze substâncias, sendo oito flavonóides, dos quais seis estão sendo registrados pela primeira vez neste gênero.
- b) O estudo de uma nova espécie, *S. jabrense*, resultou no isolamento de dez substâncias, sendo duas novas no gênero, o alcalóide Nb-metil-tetrahydro-beta-carbolina e o flavonóide ombuína.
- c) O isolamento dos flavonóides glicosilados dos tricomas de *S. crinitum*, mostra ser possível a obtenção de substâncias de uma fonte ainda não explorada neste gênero.
- d) A análise dos flavonóides por CLAE com as espécies de *Solanum* de diferentes seções mostrou que espécies da mesma seção apresentam a mesma composição química e de seções diferentes as substâncias são diferentes. Portanto este estudo demonstra a importância de correlacionar as substâncias com estudos quimiotaxonômicos.
- e) O estudo biológico dos extratos de *Solanum*, substâncias naturais e dois derivados mostraram resultados promissores para utilização destas plantas como fonte de drogas que possam ser usadas na terapêutica como moluscicidas, tratamento de doenças relacionadas com o músculo liso (asma, hipertensão, diarreias, etc) e no combate ao câncer.
- f) Os derivados iodados foram obtidos através de uma reação simples, com reagentes baratos, sendo novos na literatura, e também excelentes substratos para a síntese de diversos derivados, incluindo-se biflavonas.

V.5.3. Referências – Capítulo V

AHMED, A. H.; RAMZY, R. M. R. Laboratory Assessment of the Molluscicidal and Cercaricidal Activities of the Egyptian Weed, *Solanum nigrum* L. *Ann Trop Med Parasitol*, **91** (8), 931-937, 1997.

ALZERRECA, A.; ARBOLEDA, B.; HART, G. Molluscicidal Activity of Natural Products. the Effects of *Solanum* Glycosidic Alkaloids on *Lymnaea Cubensis* Snails, *J Agr Univ Puerto Rico*, **65**, 69-72, 1981.

ALZERRECA, A.; HART, G. Molluscicidal Steroid Glycoalkaloids Possessing Spirosolane Structures, *Toxicol Lett*, **12**, 151-155, 1981.

ARCHIBALD, R. G. The use of the fruit of the tree *Balanites aegyptiaca* in the control of schistosomiasis in the Sudan, *Trans. Roy. Soc. Trop. Méd. Hyg.* **27**, 207-211, 1933.

ATTA-UR-RAHMAN & CHOUDHARY, I. Chemistry and Biology of Steroidal Alkaloids. Em: *The Alkaloids* (G. A. Cordell, ed.), **50**, p. 61-107, Academic Press, San Diego, 1998.

BAPTISTA, D. F.; SOARES, L. H. J.; VASCONCELLOS, M. C.; LOPES, F. H.; PAZ, I. S.; SCHALL, V. T. Vegetative development and Seed germination of *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* a biomolluscicidal species, *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, **40** (2), 435-441, 1997.

BAPTISTA, D. F.; VASCONCELLOS, M. C.; FERREIRA-LOPES, F. E.; SILVA, L. P.; SCHALL, V. T. Evaluation of the molluscicidal property of *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* (N.E.B.) (Euphorbiaceae). Investigation in lotic habitat, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **87** (4): 553-549, 1992.

BAPTISTA, D. F.; VASCONCELLOS, M. C.; FERREIRA-LOPES, F. E.; SILVA, L. P.; SCHALL, V. T. Perspectives of using *Euphorbia splendens* as a molluscicides in

schistosomiasis control programs, *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **25** (3), 340-345, 1994.

BEKKOUCHE, K.; MARKOUK, M.; LARHSINI, M.; JANA, M.; LAZREK, H. B. Molluscicidal Properties of Glycoalkaloid Extracts from Moroccan *Solanum* Species, *Phytother Res*, **14** (5), 366-367, 2000.

BEKKOUCHE, K.; MARKOUK, M.; LARHSINI, M.; JANA, M.; LAZREK, H. B. Molluscicidal Properties of Glycoalkaloid Extracts from Moroccan *Solanum* Species, *Phytother Res* **14** (5), 366-367, 2000.

BERGQUIST, R. Schistosomiasis, *Trop. Dis. Res. – Eleventh Prog. Rep.*, 29-36, 1993.

CAPRANICO, G.; BINASHI, M.; BORGNETTO, M. E.; ZUNINO, F.; PALUMBO, M. A. Protein-mediated mechanism for DNA sequence-specific action of topoisomerase II poisons, *Trends Pharmacol. Sci.*, **18**, 303-346, 1997.

CAPRANICO, G.; ZUNINO, F. Antitumor inhibitors of DNA Topoisomerases, *Current Pharmaceutical Design*, **1**, 1-14, 1995.

CARVALHO, O. S.; NUNES, I. M.; CALDEIRA, R. L. First Report of *Biomphalaria glabrata* in the State of Rio Grande do Sul, Brazil, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **93**(1): 39-40, 1998.

CAVALCANTE, F. A. Mecanismo de ação espasmolítica de Solavetivona, sesquiterpeno isolado das partes aéreas de *Solanum jabrense* AGRA & NEE (SOLANACEAE), [Tese de Mestrado-Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba], João Pessoa, 2001.

CEPLEANU, F.; HAMBURGER, M. O.; SORDAT, B.; MSONTHI, J. D.; GUPTA, M. P.; SAADOU, M.; HOSTETTMANN, K. Screening of Tropical Medicinal Plants for Molluscicidal, Larvicidal, Fungicidal and Cytotoxic Activities and Brine Shrimp Toxicity, *Int. J. Pharmacog*, **32** (3), 294-307, 1994.

- CHEN, A. Y.; LIU, L. F. DNA Topoisomerases: Essential enzymes and lethal targets, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **34**, 191-218, 1994.
- DOMINGUEZ, X. A.; ALCORN, J. B. Screening of Medicinal Plants Used by Huastec Mayans of Northeastern Mexico, *J Ethnopharmacol*, **13** (2), 139-156, 1985.
- DOS SANTOS, A. D. - Estudo de Plantas com Atividade Nematicida e/ou moluscicida e Re-exame da *Jatropha elliptica* Muell Arg. Alagoas, 1997. [Tese Mestrado – Universidade Federal de Alagoas].
- FREITAS, J. C. B.; PRESGRAVE, O. A. F.; FÍNGOLA, F. F.; MENEZES, M. A. C.; VASCONCELLOS, M. C., SCHALL, V. T.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Toxicological study of the molluscicidal latex of *Euphorbia splendens*: irritant action on skin and eye, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **86** (Suppl. II), 87-88, 1991.
- GIOVANELLI, A.; SILVA, L. P.; MEDEIROS, L.; VASCONCELLOS, M. C. The Molluscicidal Activity of the Latex of *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* on *Melanoides tuberculata* (thiaridae), a Snail Associated with Habitats of *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae), *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **96** (1): 123-125, 2001.
- GRYNBERG, N. F. Mecanismo de ação e atividade antitumoral de flavonóides, diterpenos e derivados mesoiônicos em tumores experimentais [Tese de Doutorado- Departamento de química orgânica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 1999.
- GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A.; LIMA, J. E.; PAMPLONA, S.S.R.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A.M. Anti-tumor activity of two 19-nor-clerodane diterpenes, trans-dehydrocrotonin and trans-crotonin, from *Croton cajucara*, *Planta medica*, **65**, 687-689, 1999.
- GUPTA, M.; FUGIMORI, A.; POMMIER, Y. Eukaryotic DNA topoisomerases I, *Biochem. Biophys. Acta*, **1262**, 1-14, 1995.

KLOOS, H. & MC CULLOUGH, F. S. Plant Molluscicides, *Planta Medica*, **46**, 195-209, 1982.

KLOOS, H.; THIONGO, F. W.; OUMA, J. H.; BUTTERWORTH, A. E. Preliminary Evaluation of Some Wild and Cultivated Plants for Snail Control in Machakos District, Kenya, *J. Trop Med Hyg*, **90** (4), 197-204, 1987.

LIU, L. F. DNA Topoisomerase poisons as antitumor drugs, *Ann. Rev. Biochem.*, **58**, 351-375, 1989.

LIU, L. F. DNA Topoisomerases: Biochemistry and molecular Biology. Advances in pharmacology, 29, 1-320, Academic press, 1994.

MARSTON, A. & HOSTETTMAN, K. Antifungal, molluscicidal and cytotoxic compounds from plants used in traditional medicine. In *Biologically Active Natural Products: Annual Proceedings of the Phytochemical Society of Europe* (Hostettmann and Lea eds.), Oxford, Clarendon Press, p. 65-83. 1987.

MARSTON, A. & HOSTETTMANN, K. – Assays for molluscicidal, cercaricidal, schistotomicidal and Piscicidal Activities. In: *Methods in Plant Biochemistry*, (Dey, P. M. and Harbone, J. B. eds), **6**, Academic Press, London, p. 153-178, 1991.

MARSTON, A. & HOSTETTMANN, K. Plant molluscicides, *Phytochemistry*, **24** (4), 639-652, 1985.

MEDINA, F. R. & WOODBURY, R. Terrestrial Plants Molluscicidal to Lymnaeid Hosts of Fascioliasis Hepatica in Puerto Rico, *J Agr Univ Puerto Rico*, **63**, 366-376, 1979.

MEDINA, F.R.; RITCHIE, L. S. Molluscicidal Activity of the Puerto Rican Weed *Solanum nodiflorum* Against Snail Hosts of *Fasciola Hepatica*, *Econ Bot*, **34**, 368-375, 1980.

MENDES, N. M.; BAPTISTA, D. F.; VASCONCELLOS, M. C.; SCHALL, V. T. Evaluation of the molluscicidal properties of *Euphorbia splendens* var. *hislopii*

(N.E.B.) (Euphorbiaceae). Experimental test in a lentic habitat, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **87** (1), 21-23, 1992.

MENDES, N. M.; VASCONCELLOS, M. C.; BAPTISTA, D. F.; ROCHA, R. S.; SCHALL, V. T. Evaluation of the molluscicidal properties of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (N.E.B.) latex: Experimental test in a endemic area in the state of Minas Gerais, Brasil, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **92** (5): 719-724, 1997.

MIDDLETON JR, E. & KANDASWAMI, C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: *The Flavonoids Advances in Research since 1986*, Harbone, J. B. (Ed.), Chapman & Hall, London, 619-679, 1994.

MKOJI, G. M.; NJUNG, K.; KIMANI, G.; KOFI-TSEKPO, B.; MUNGAI, B. N.; KAMAU, T.; MUTHAURA, R.; KIBAYA, R.M.; WAMBAYI, E. Molluscicidal Activity of *Solanum aculeatum* (family: Solanaceae) Berries Against *Biomphalaria pfeifferi*, *Bulinus globosus* and *Lymnaea natalensis*, *Trop Med Parasitol*, **40**, (2), 119-120, 1989.

ODYEK, O.; MAKANGA, B.; BYARUHANGA, M. A. Larvicidal and Molluscicidal Activities of *Solanum aculeastrum* Berry Methanol Extract, *Fitoterapia*, **63** (1), 71-72, 1992.

PERRET, S. & WHITFIELD, P. J. Currently available molluscicides, *Parasit. Today*, **12** (4), 156-159, 1995.

PIETTA, P. G. Flavonoids as Antioxidants, *Journal of Natural Products*, **63**, 1035-1042, 2000.

PRATA, A. Esquistossomose mansônica. Em: *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 7ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara, 1987, p. 885-904.

RODDICK, J. G. Steroidal Glycoalkaloids: Nature and Consequences of Bioactivity. In: *Saponins Used in Traditional and Modern Medicine* (George R. Waller and Kazuo Yamasaki eds), Plenum Press, New York, p. 277-295, 1996.

SCHALL, V. T. Coroa de Cristo: uma planta ornamental no controle da esquistossomose, *Ciência Hoje*, **72**, 56-57, 1991b.

SCHALL, V. T.; VASCOCELLOS, M. C.; VILLACA-COELHO, A. L.; FERREIRA-LOPES, F. E.; SILVA, L. P. Evaluation of temporal, seasonal and geographic stability of the molluscicidal property of *Euphorbia splendens* látex, *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **34** (3): 183-191, 1991c.

SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; SOUZA, C. P.; BAPTISTA, D. F. The molluscicidal activity of "Crow of Christ" (*Euphorbia splendens* var. *hislopianae* (N.E.B.) latex on mollusks acting as intermediate host of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **58** (1), 7-10, 1998.

SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; SOUZA, C. P.; ROCHA, R. S.; MENDES, N. M. The control of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata* by the plant molluscicide *Euphorbia splendens* var. *hislopianae* (Syn *E. milli* Des. Moul): a longitudinal study on an endemic area in Brazil, *Acta Tropica*, **79**, 165-170, 2001.

SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; VALENTE, G. U.; SATO, M. L. Z.; FURLAN, E. V.; SANCHEZ, P.S. Evaluation on the genotoxic activity and acute toxicity of *Euphorbia splendens* látex, a molluscicide for the control of schistosomiasis, *Brazilian J. Méd. Biol. Res.*, **24**, 573-582, 1991a.

SPARG, S. G. VAN STADEN, J. JÄGER, A. K. Efficiency of traditionally used South African plants against schistosomiasis, *J. Ethnopharm.*, **73**, 209-214, 2000.

WAGNER, V. A. The possibility of eradicating billarzia by extensive planting of the tree *Balanites*, *South Afr. Méd. J.*, **10**, 10-11, 1936.

WANG, J. C. DNA Topoisomerases, *Ann. Rev. Biochem.*, **65**, 633-692, 1996.

TANIA MARIA SARMENTO DA SILVA

ANEXO A

2002

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

ESTUDO QUÍMICO DE ESPÉCIES DE *SOLANUM*

TANIA MARIA SARMENTO DA SILVA

ANEXO A

ESPECTROS DOS FLAVONÓIDES DO CAPITULO I

SEROPÉDICA, RIO DE JANEIRO
MAIO DE 2002

Índice de Figuras.....	Pág
Figura A.1. Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz (A) e 400 MHz (B) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina).....	01
Figura A.2. Espectro de RMN de ^{13}C (A) [125 MHz, CDCl_3] e DEPT (B) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina).....	02
Figura A.3. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl_3) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina).....	03
Figura A.4. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina).....	04
Figura A.5. Expansões do espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina).....	05
Figura A.6. Espectro de massas de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina).....	06
Figura A.7. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina).....	07
Figura A.8. Espectro de RMN de ^{13}C (A) [125 MHz, CDCl_3] e DEPT (B) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina).....	08
Figura A.9. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl_3) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina).....	09
Figura A.10. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl_3) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina).....	10
Figura A.11. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina).....	11
Figura A.12. Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl_3) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina).....	12
Figura A.13. Espectro de massas de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)...	13
Figura A.14. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 14	14
Figura A.15. Espectro de RMN de ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de 14	15
Figura A.16. Espectro de massas de 14 e 15	16
Figura A.17. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 14	17
Figura A.18. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl_3) de 15	18
Figura A.19. Espectro de RMN de ^{13}C (A) [125 MHz, CDCl_3] e DEPT 135° (B) de 15	19
Figura A.21. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de 15	21

Figura A.22. Espectro de NOE (200 MHz, CDCl ₃) de 15	22
Figura A.23. Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da mistura 16 e 22	23
Figura A.24. Espectro de RMN de ¹³ C (300 MHz, CDCl ₃) da mistura 16 e 22	24
Figura A.25. Espectro de PENDANT (300 MHz, CDCl ₃) da mistura 16 e 22	25
Figura A.26. Espectro de RMN HMQC (300 MHz, CDCl ₃) de 16 e 22	26
Figura A.27. Espectro de RMN HMBC (300 MHz, CDCl ₃) de 16 e 22	27
Figura A.28. Espectro de massas de alta resolução de 16 , 22 e 23	28
Figura A.29. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 6 (7,4'- <i>O</i> -dimetilquercetina) e 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol).....	29
Figura A.30. Espectro de RMN de ¹³ C (400 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 6 (7,4'- <i>O</i> -dimetilquercetina) e 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol).....	30
Figura A.31. Espectro de NOESY (400 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 6 (7,4'- <i>O</i> -dimetilquercetina) e 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol).....	31
Figura A.32. Espectro de massas da mistura 6 (7,4'- <i>O</i> -dimetilquercetina) e 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol).....	32
Figura A.33. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	33
Figura A.34. Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	34
Figura A.35. Espectro de DEPT (θ=135°, 125 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	35
Figura A.36. Espectro de RMN COSY (500 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	36
Figura A.37. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	37
Figura A.38. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, Acetona- <i>d</i> ₆) da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	38
Figura A.39. Espectro de massas da mistura 7 (3- <i>O</i> -metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico).....	39
Figura A.40. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'- <i>O</i> -tetrametilquercetina).....	40
Figura A.41. Espectro de RMN de ¹³ C (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'- <i>O</i> -tetrametilquercetina).....	41

Figura A.42. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina).....	42
Figura A.43. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina).....	43
Figura A.44. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina).....	44
Figura A.45. Expansão do espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina).....	45
Figura A.46. Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl ₃) de 8 (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina).....	46
Figura A.47. Espectro de massas de 8 e 10	47
Figura A.48. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de 9 (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina).....	48
Figura A.49. Espectro de RMN de ¹³ C (A) [100 MHz, CDCl ₃] e PENDANT (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 9 (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina).....	49
Figura A.50. Espectro de NOESY (A) [400 MHz, CDCl ₃] e RMN HMQC (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 9 (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina).....	50
Figura A.51. Espectro de RMN HMBC (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 9 (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina).....	51
Figura A.52. Espectro de massas de 9	52
Figura A.53. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de 10	53
Figura A.54. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de 10	54
Figura A.55. Espectro de RMN HMQC (400 MHz, CDCl ₃) de 10	55
Figura A.56. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de 11 (quercetina peracetilada)	56
Figura A.57. Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) de 11 (quercetina peracetilada).....	57
Figura A.58. Espectro de RMN HMQC (400 MHz, CDCl ₃) de 11 (quercetina peracetilada).....	58
Figura A.59. Espectro de RMN HMBC (400 MHz, CDCl ₃) de 11 (quercetina peracetilada).....	59
Figura A.60. Espectro de massas de 11 (quercetina peracetilada).....	60
Figura A.61. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da mistura 1 (7-O-metilkanferol) e 17 (7-O-metilapigenina).....	61

Figura A.62. Espectro de RMN COSY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da mistura 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol) e 17 (7- <i>O</i> -metilapigenina).....	62
Figura A.63. Espectro de RMN de ¹³ C (A) e DEPT 135° (B) [125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆] da mistura 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol) e 17 (7- <i>O</i> -metilapigenina).....	63
Figura A.64. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da mistura 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol) e 17 (7- <i>O</i> -metilapigenina).....	64
Figura A.65. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da mistura 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol) e 17 (7- <i>O</i> -metilapigenina).....	65
Figura A.66. Expansão do espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da mistura 1 (7- <i>O</i> -metilkanferol) e 17 (7- <i>O</i> -metilapigenina).....	66
Figura A.67. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	67
Figura A.68. Espectro de RMN COSY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	68
Figura A.69. Espectro de RMN de ¹³ C (A) e DEPT 135° (B) [125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆] de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	69
Figura A.70. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	70
Figura A.71. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	71
Figura A.72. Expansão do espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	72
Figura A.73. Espectro de massas de 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol)	73
Figura A.74. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 3 (7,4'-di- <i>O</i> -metilkanferol)	74
Figura A.75. Espectro de RMN de ¹³ C (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de 3 (7,4'-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	75
Figura A.76. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de 4	76
Figura A.77. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl ₃) de 4	77
Figura A.78. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl ₃) de 4	78
Figura A.79. Espectro de massas de 4	79
Figura A.80. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de 5	80

Figura A.81. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 5	81
Figura A.82. Espectro de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de 5	82
Figura A.83. Espectro de massas de 5	83
Figura A.84. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	84
Figura A.85. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT 135° (B) [125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] da mistura 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	85
Figura A.86. Espectro de RMN COSY (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	86
Figura A.87. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	87
Figura A.88. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	88
Figura A.89. Espectro de NOESY (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	89
Figura A.90. Espectro de massas de 18 (3,7,8-tri- <i>O</i> -metilherbacetina) e 2 (3,7-di- <i>O</i> -metilkanferol).....	90
Figura A.91. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 19 (morina).....	91
Figura A.92. Espectro de PENDANT (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 19 (morina).....	92
Figura A.93. Espectro de RMN HMQC (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 19 (morina).....	93
Figura A.94. Espectro de RMN HMBC (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 19 (morina).....	94
Figura A.95. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 20 (morina tetrametilada).....	95
Figura A.96. Espectro de PENDANT (200 MHz, CDCl_3) de 20 (morina tetrametilada).....	96
Figura A.97. Espectro de RMN COSY (200 MHz, CDCl_3) de 20 (morina tetrametilada).....	97
Figura A.98. Espectro de massas de 20 (morina tetrametilada).....	98
Figura A.99. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 21 (morina pentametilada).....	99
Figura A.100. Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) de 21 (morina pentametilada).....	100
Figura A.101. Espectro de RMN COLOC (400 MHz, CDCl_3) de 21 (morina	

	vii
pentametilada).....	101
Figura A.102. Espectro de massas de 21 (morina pentametilada).....	102
Figura A.103. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 1 (7-O-metilkanferol)	103
Figura A.104. Espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de 1 (7-O-metilkanferol).....	104



Figura A.1. Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz (A) e 400 MHz (B) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina)

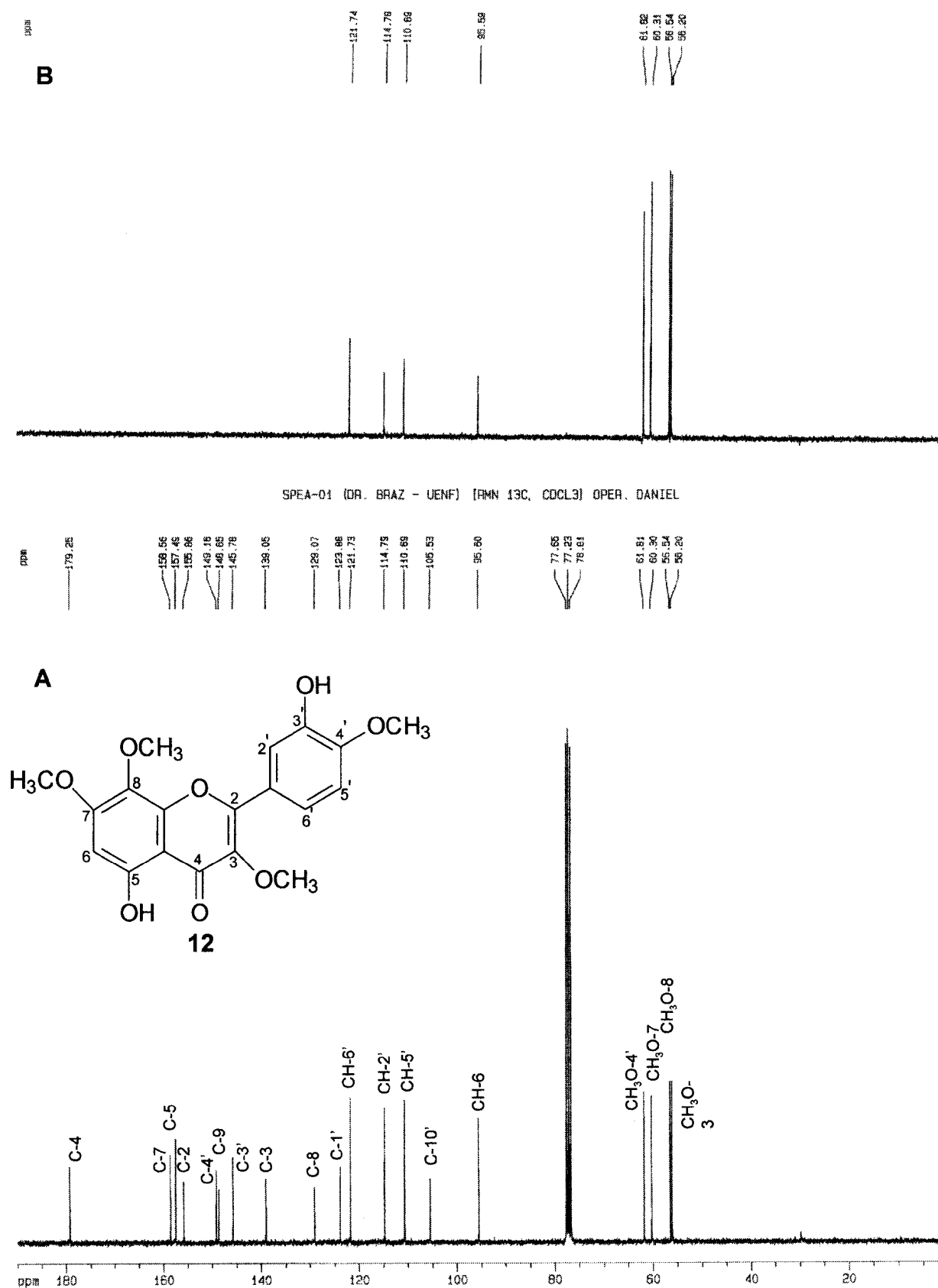


Figura A.2. Espectro de RMN de ^{13}C (A) [125 MHz, CDCl_3] e DEPT (B) de **12** (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina)

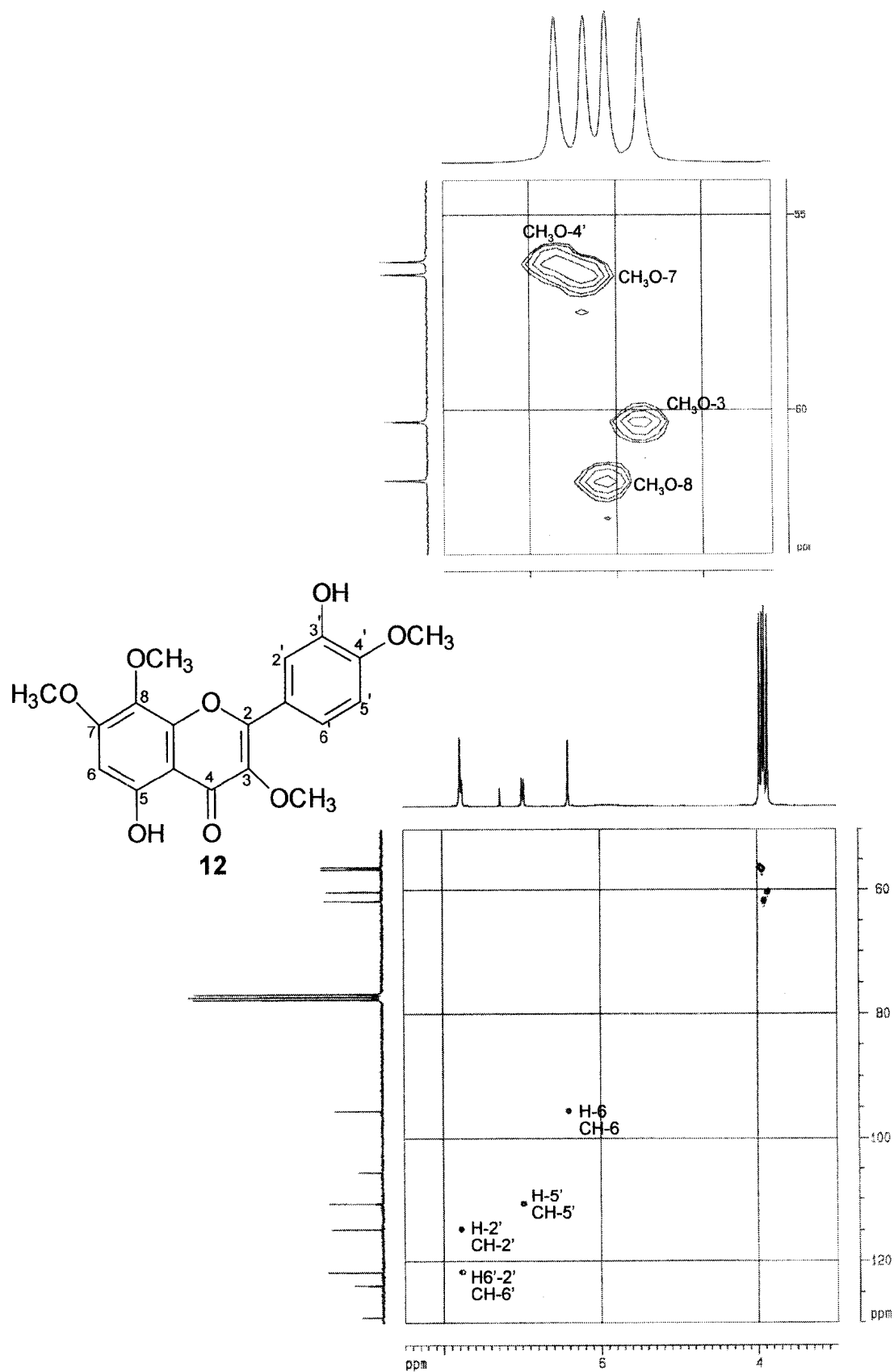


Figura A.3. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl_3) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina)

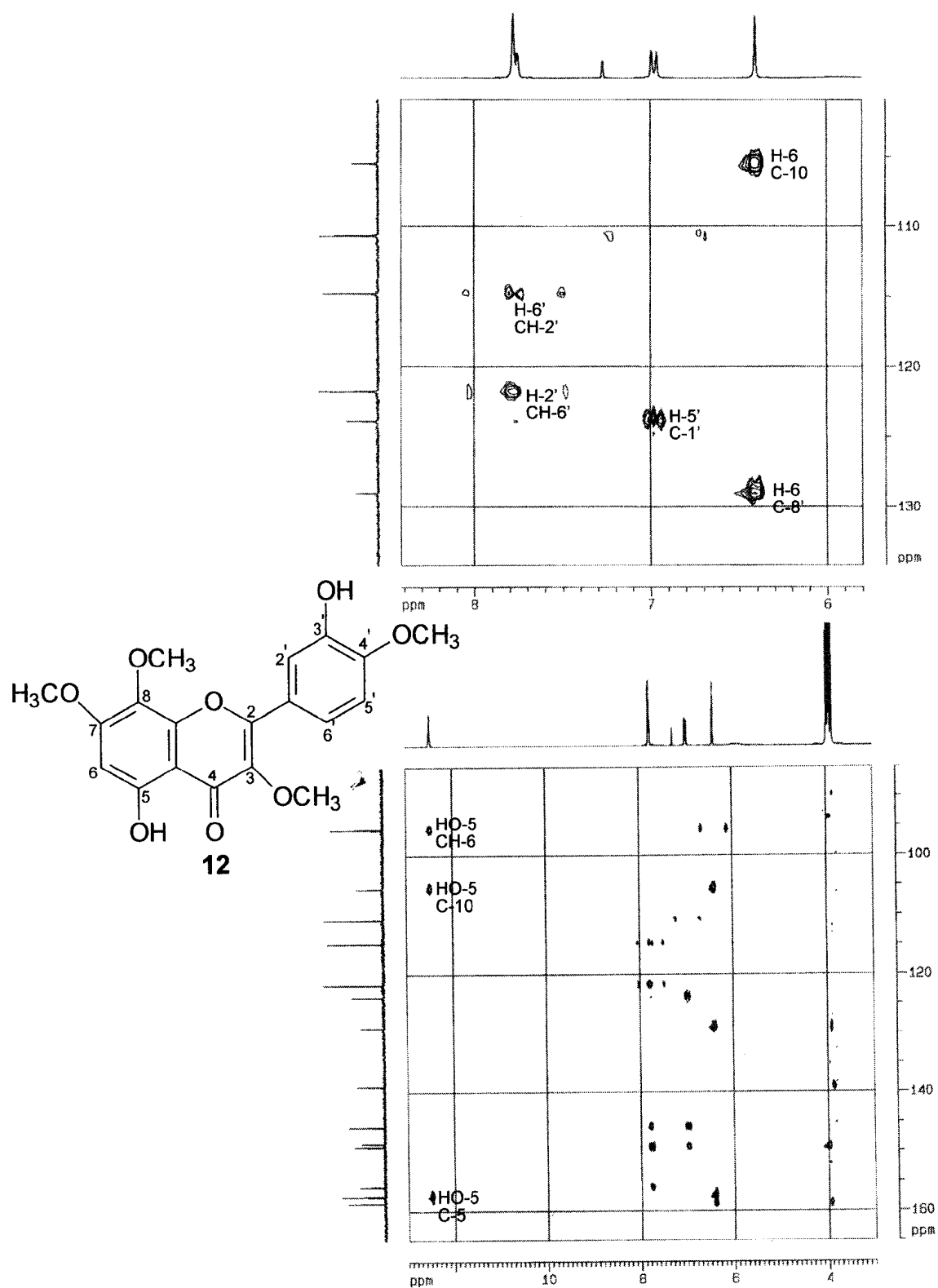


Figura A.4. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina)

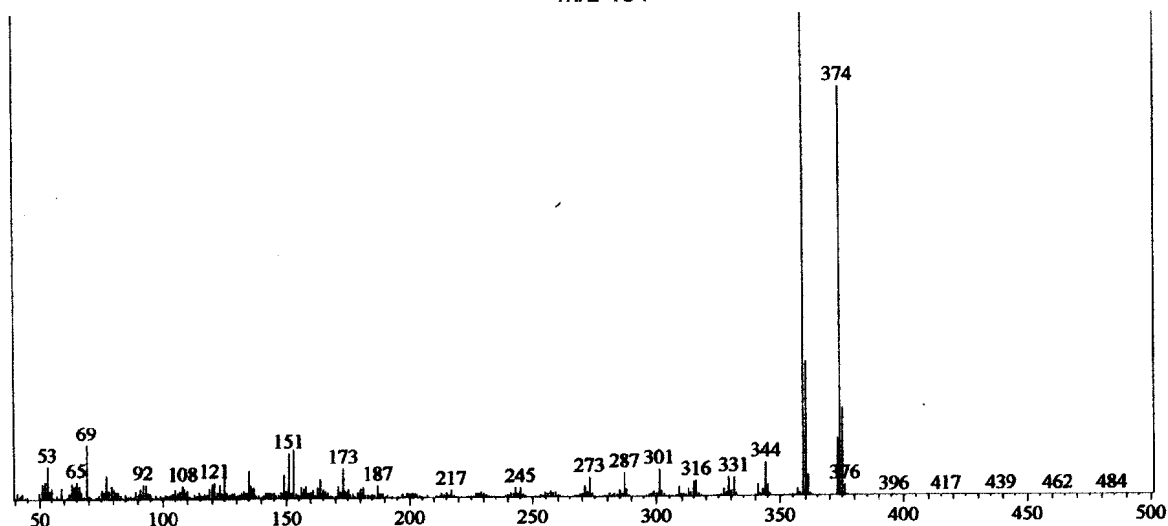
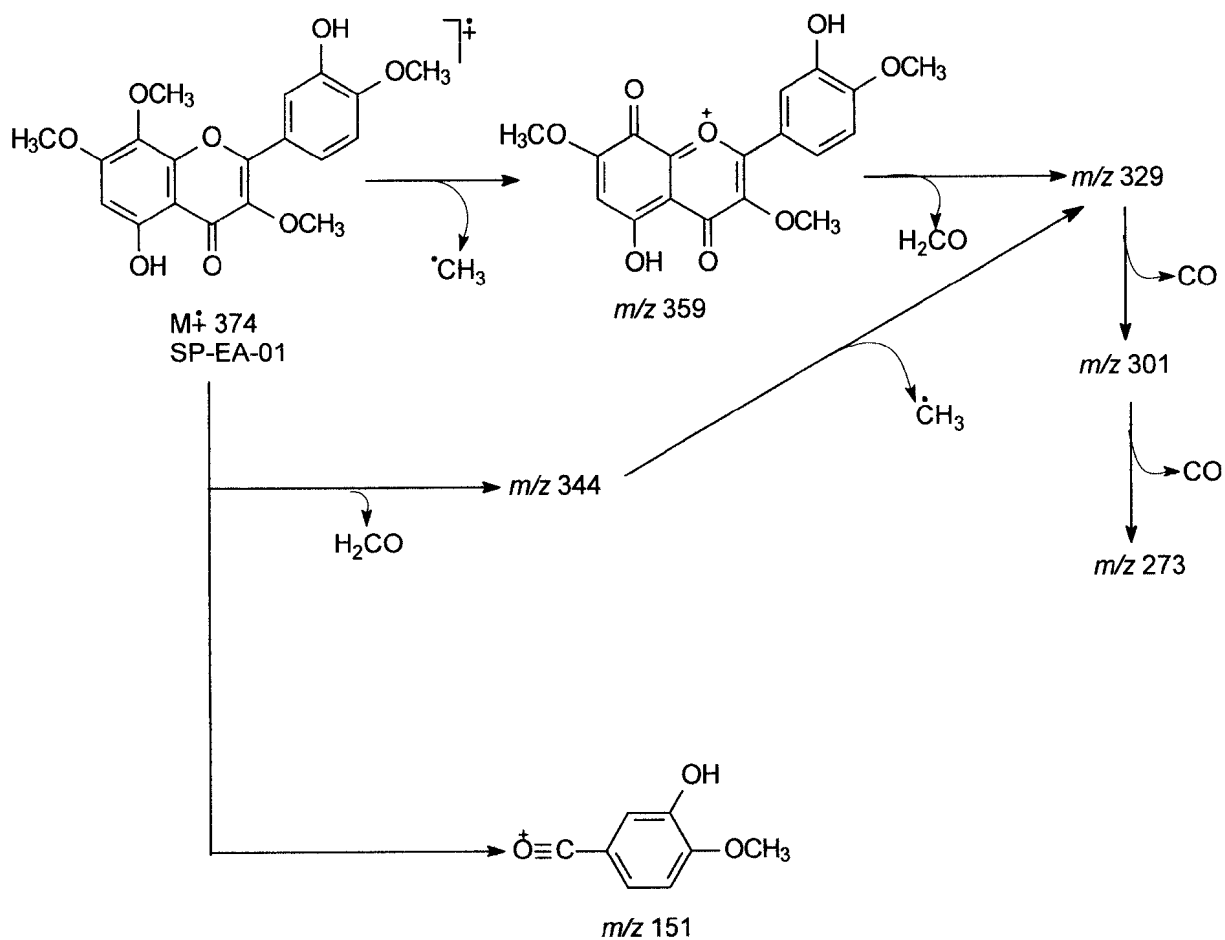


Figura A.6. Espectro de massas de 12 (3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina)

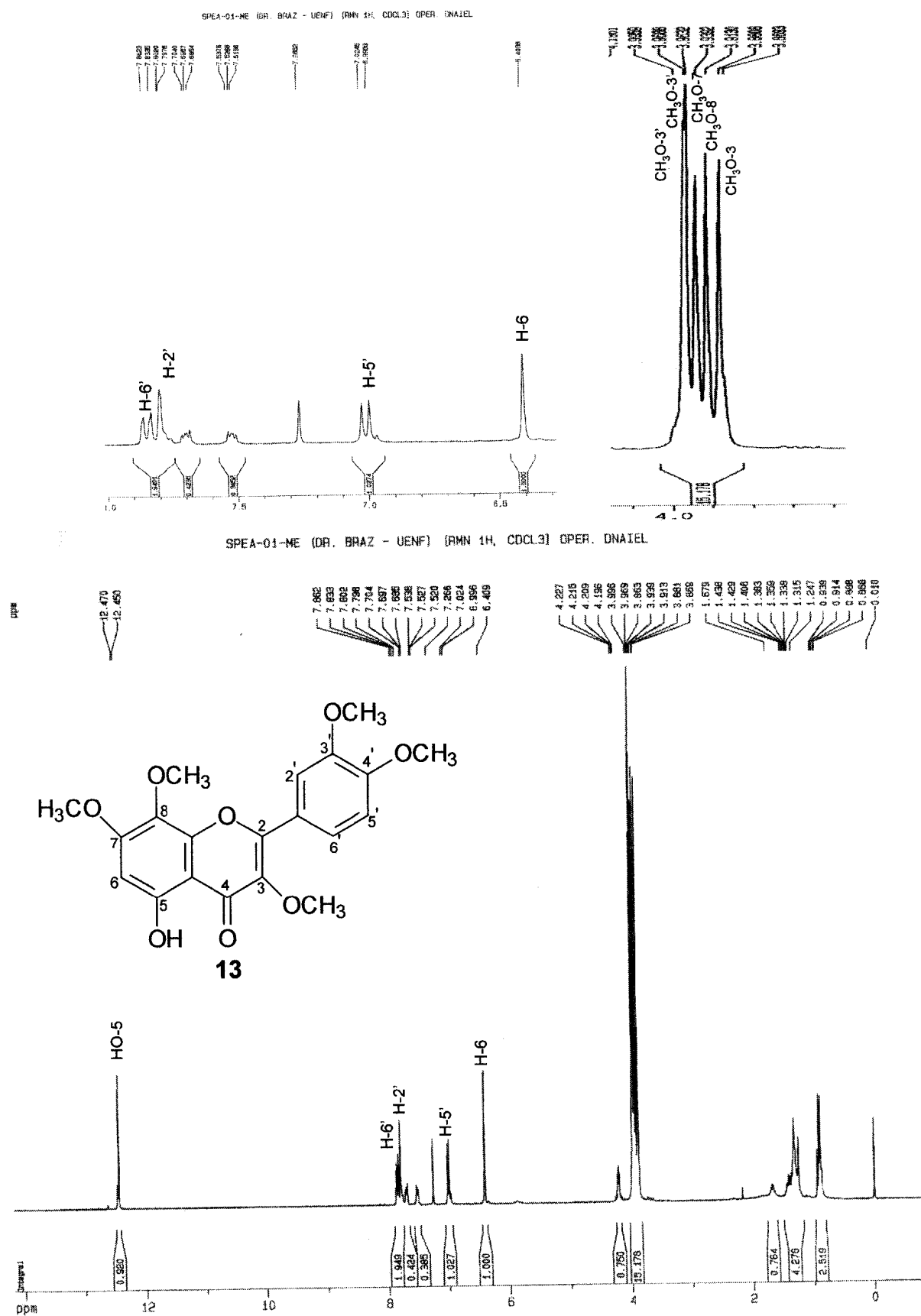


Figura A.7. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

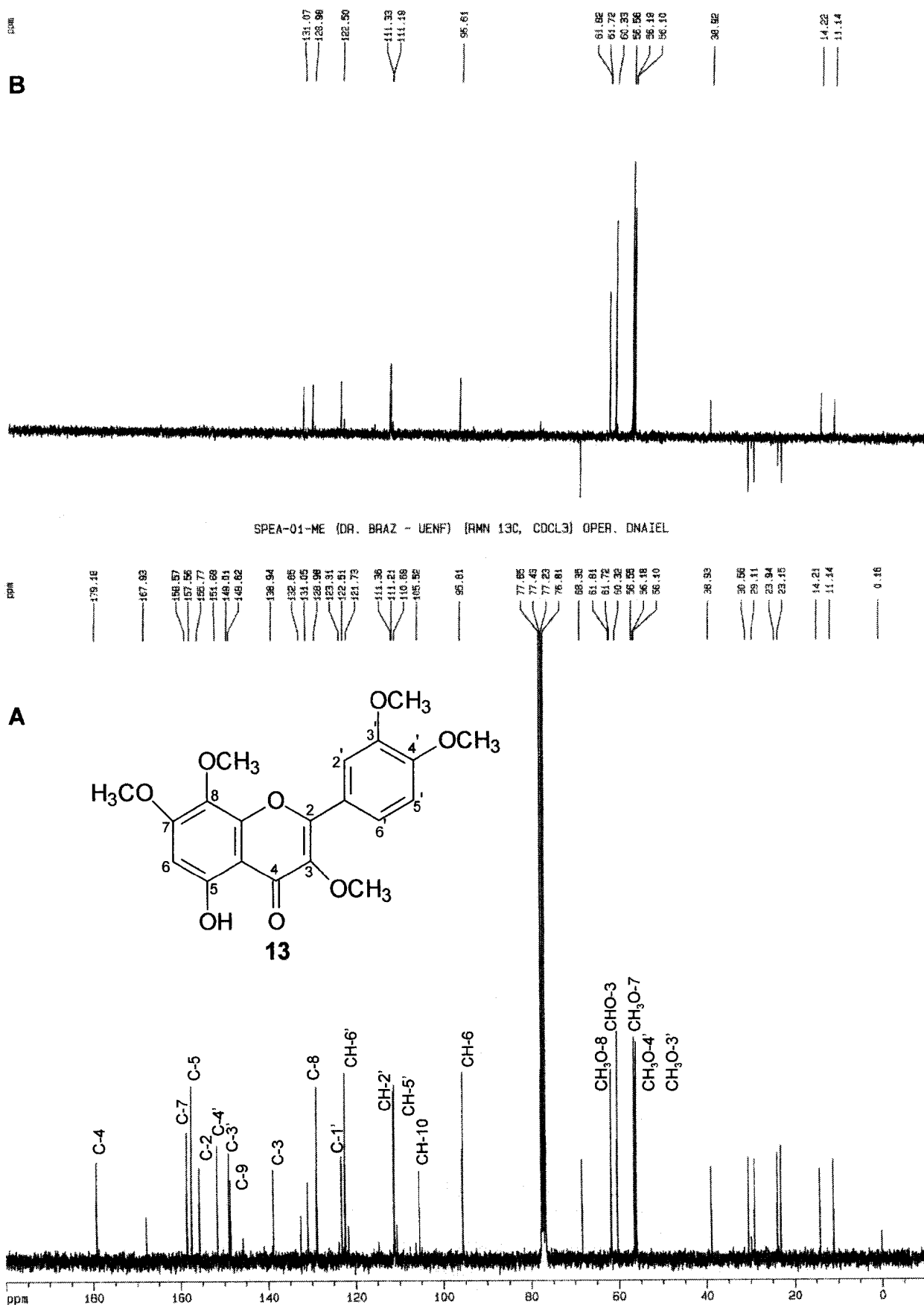


Figura A.8. Espectro de RMN de ^{13}C (A) [125 MHz, CDCl_3] e DEPT (B) de **13** (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

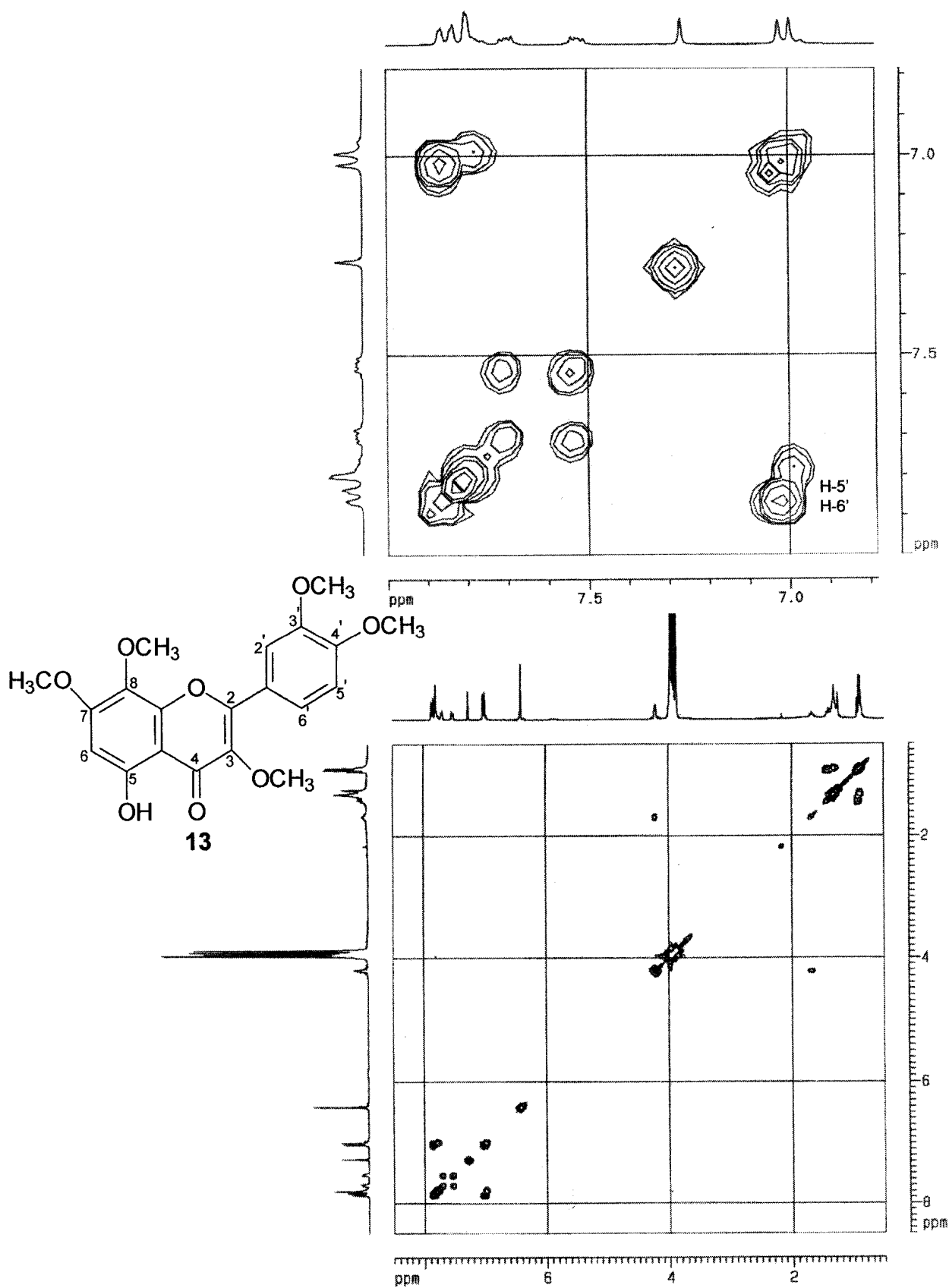


Figura A.9. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl₃) de **13** (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

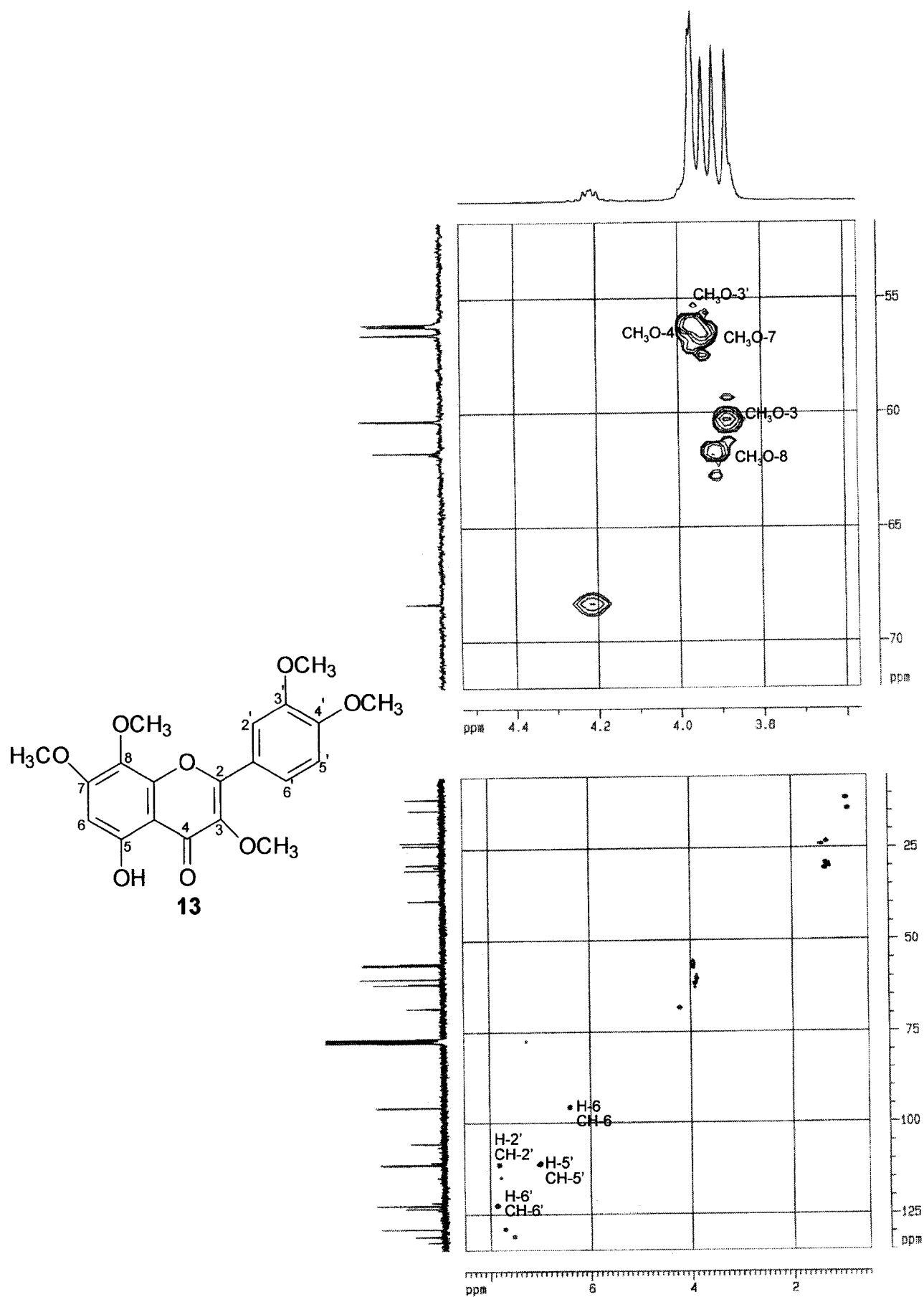


Figura A.10. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl₃) de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

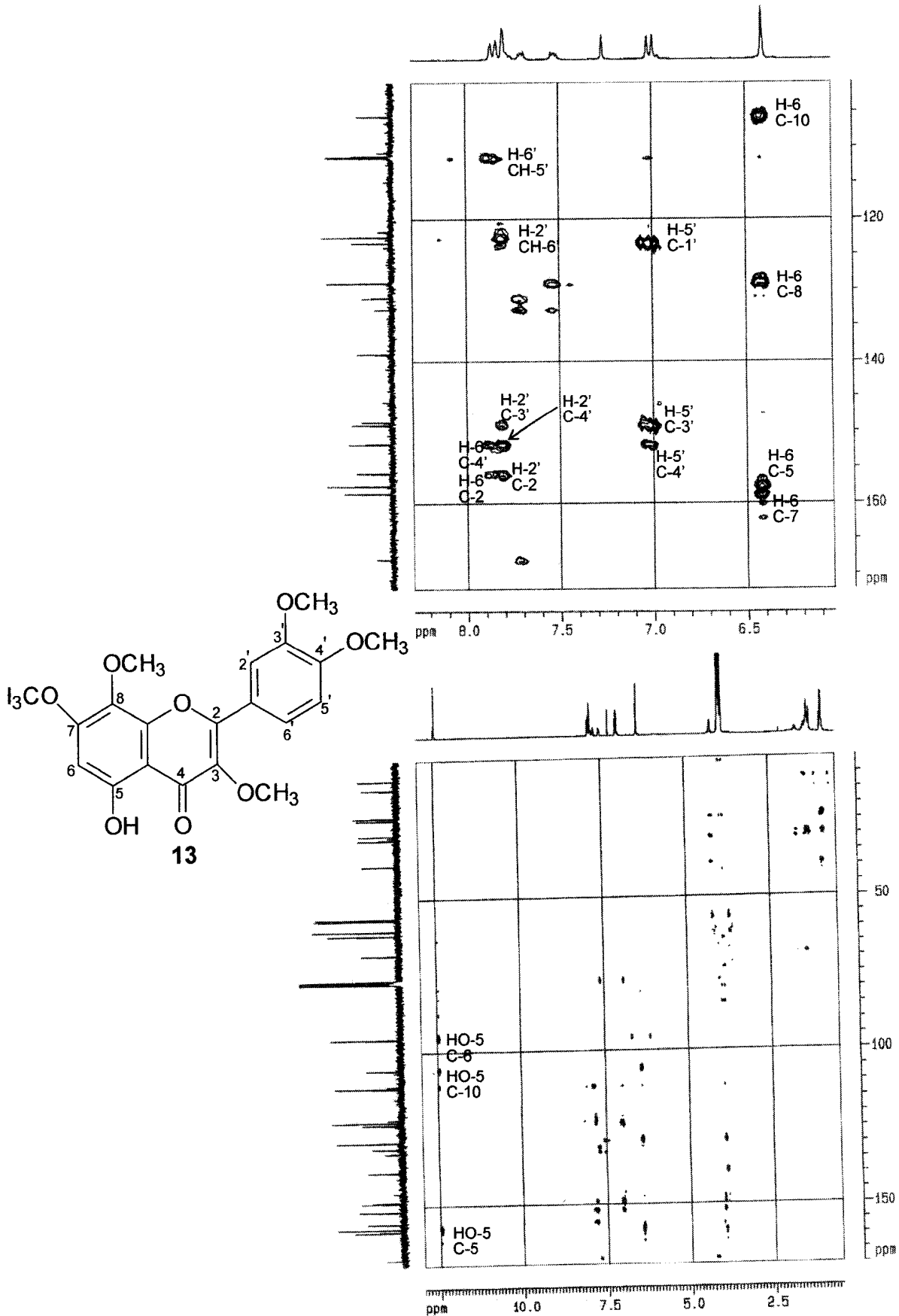


Figura A.11. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) de **13** (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

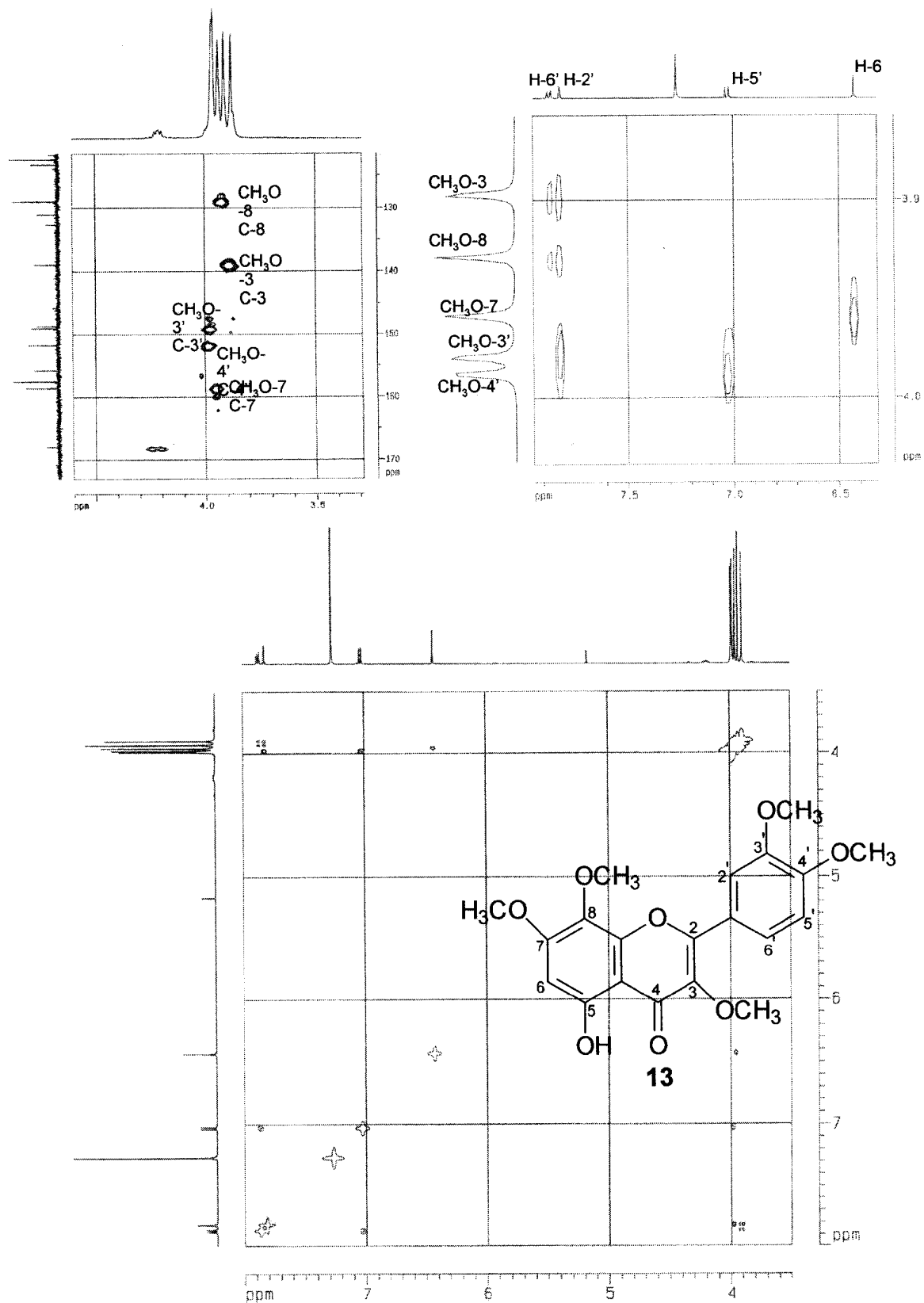


Figura A.12. Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl₃) de **13** (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

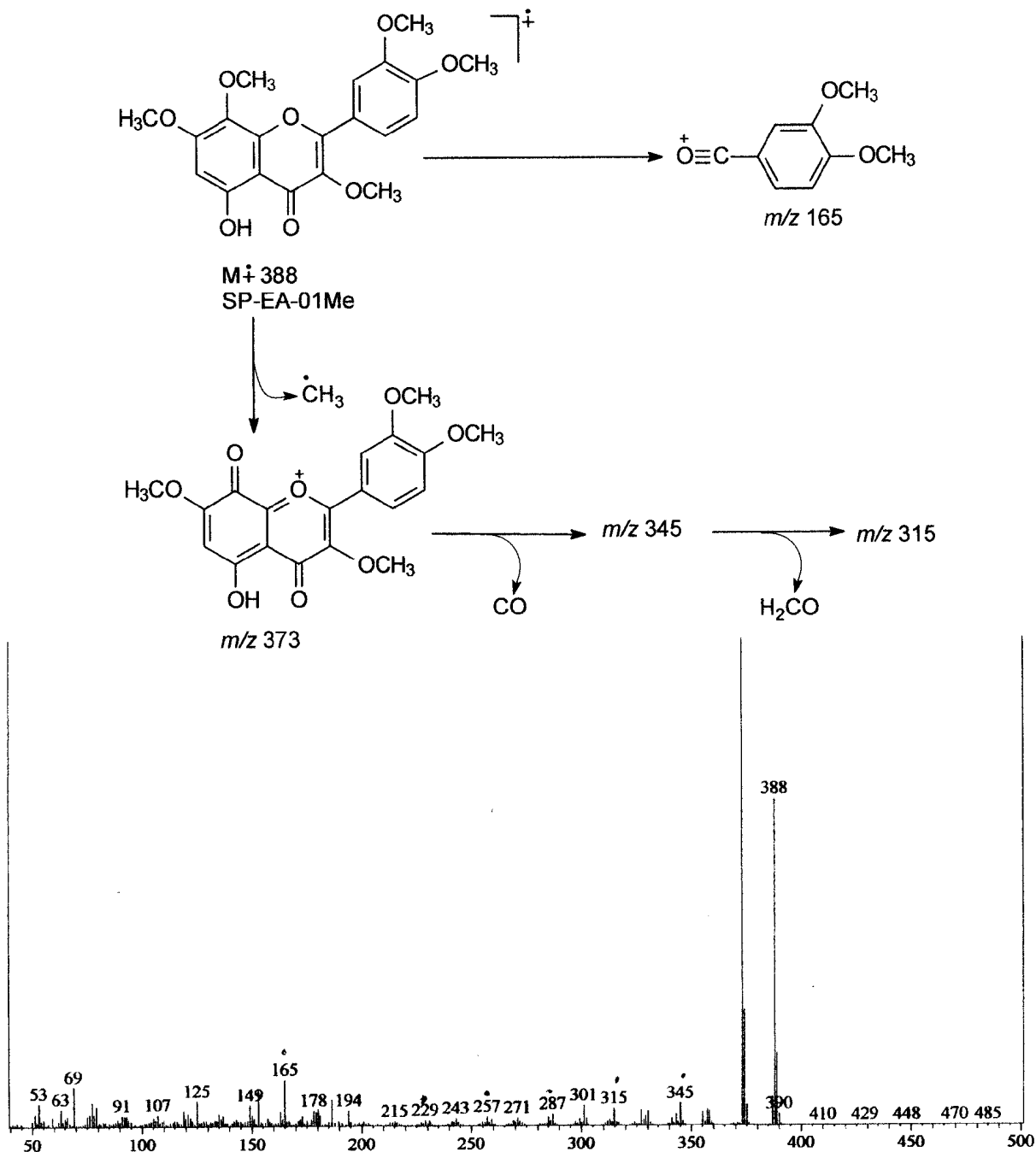


Figura A.13. Espectro de massas de 13 (3,7,8,3',4'-penta-O-metilgossipetina)

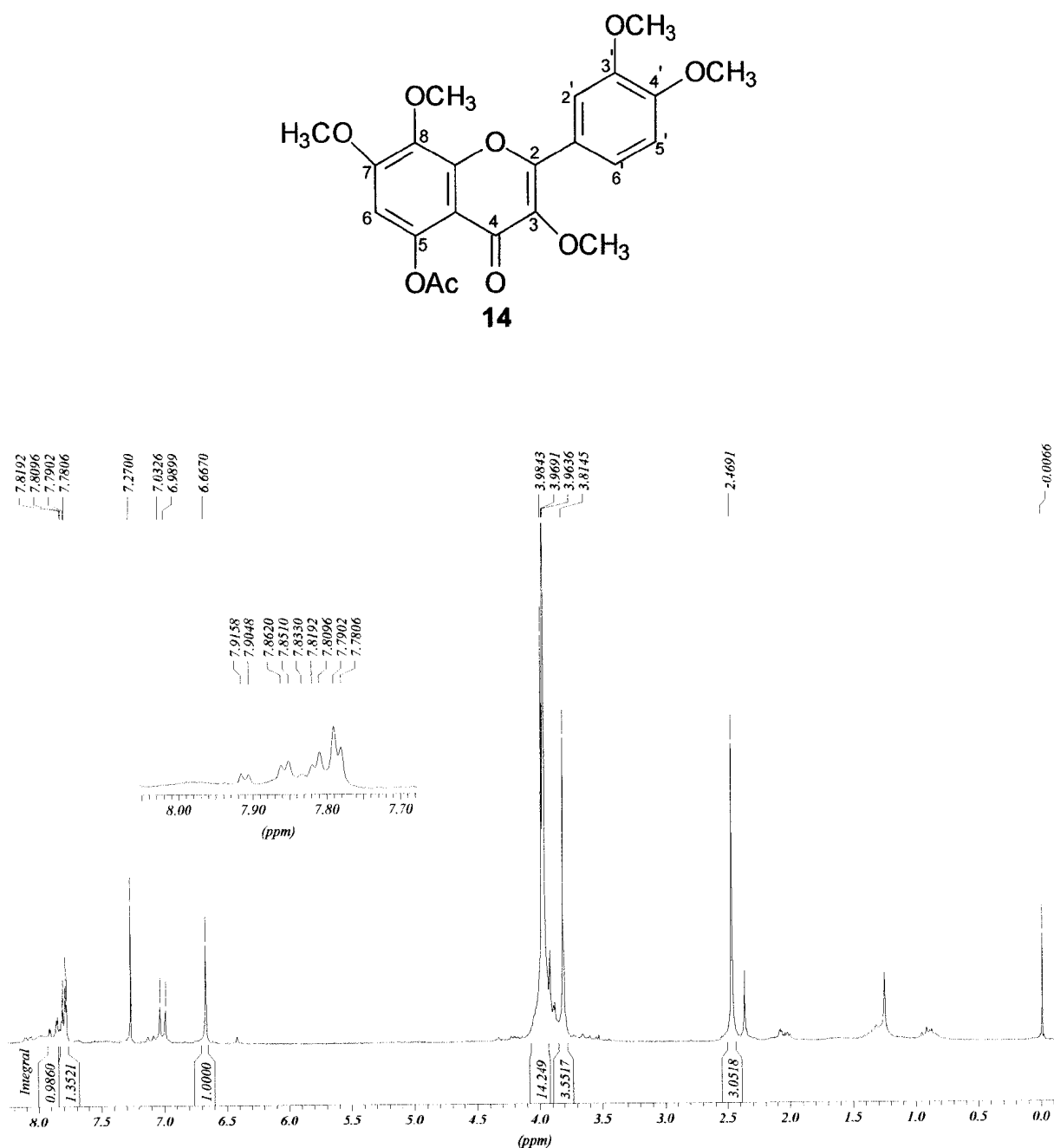


Figura A.14. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) de 14

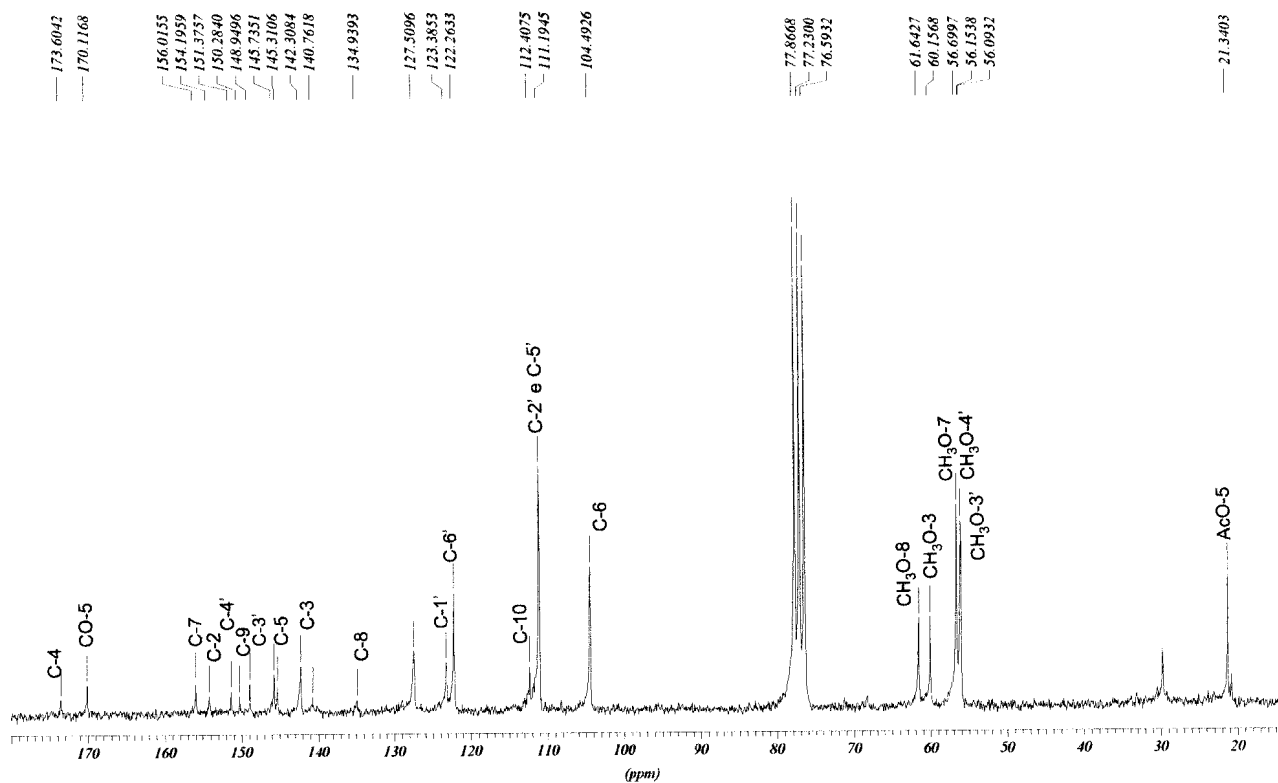
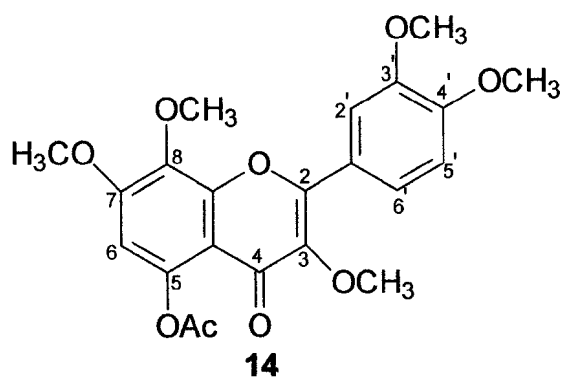


Figura A.15. Espectro de RMN de ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de 14

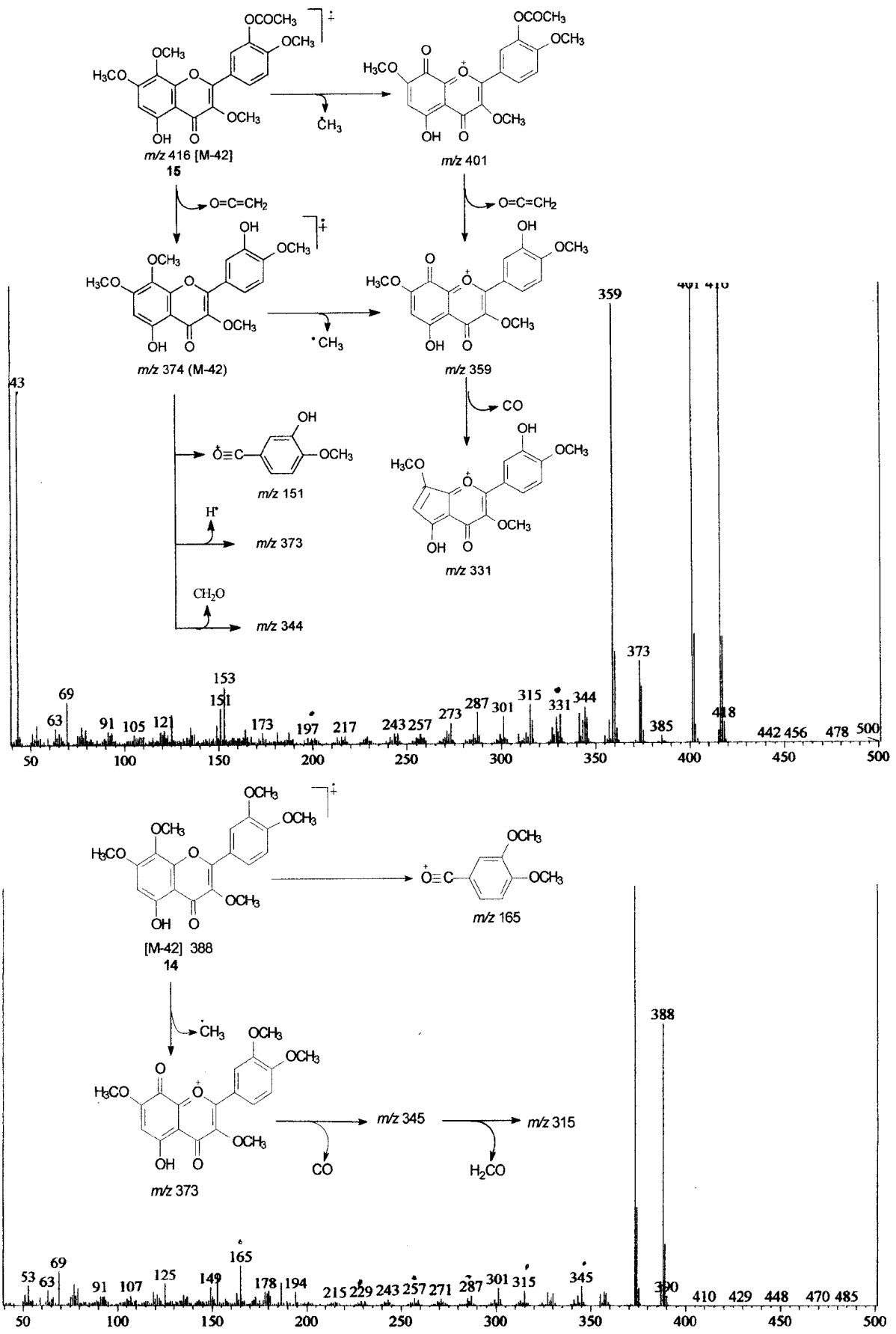


Figura A.16. Espectro de massas de 14 e 15

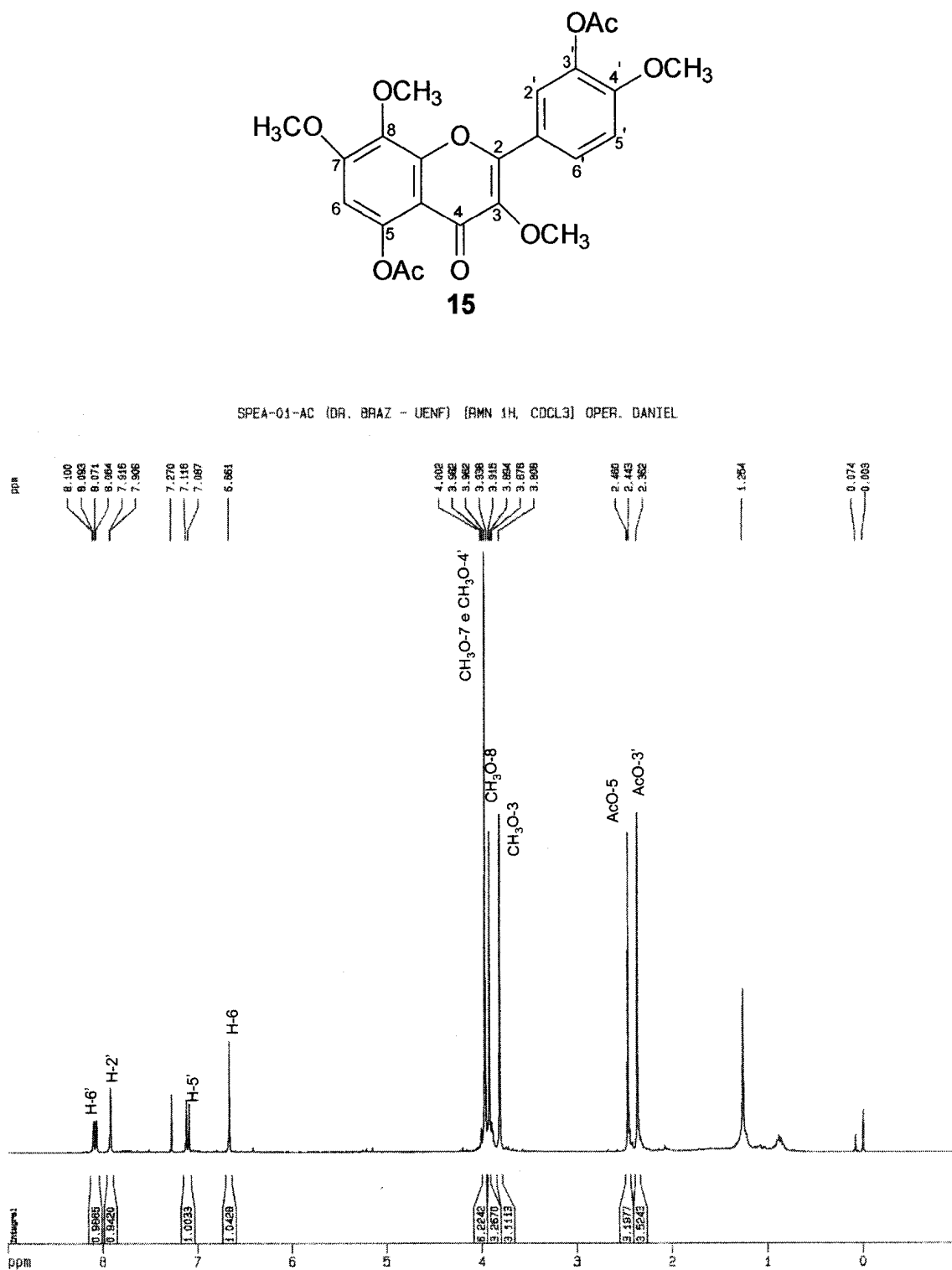


Figura A.17. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de 15

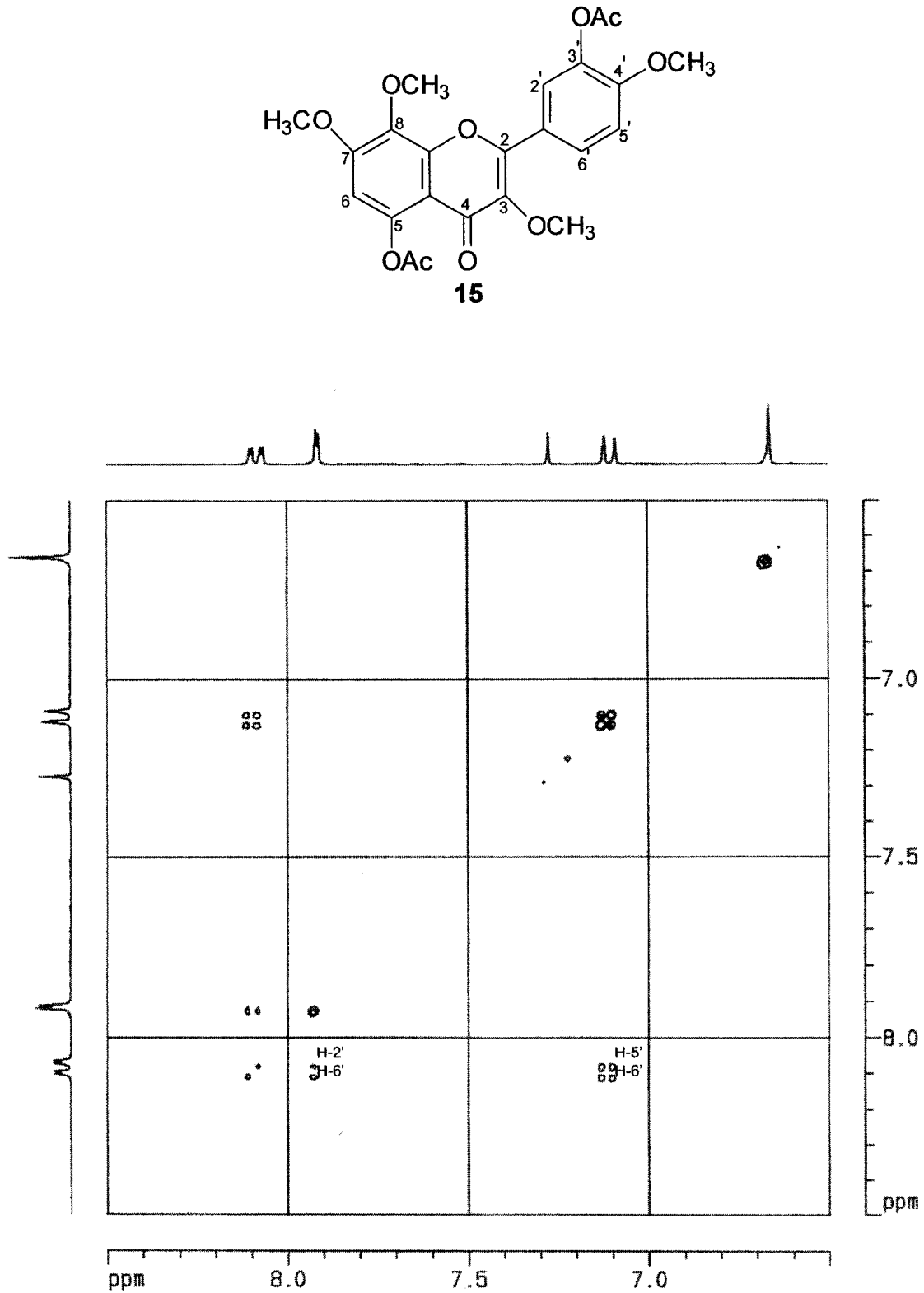


Figura A.18. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl₃) de 15

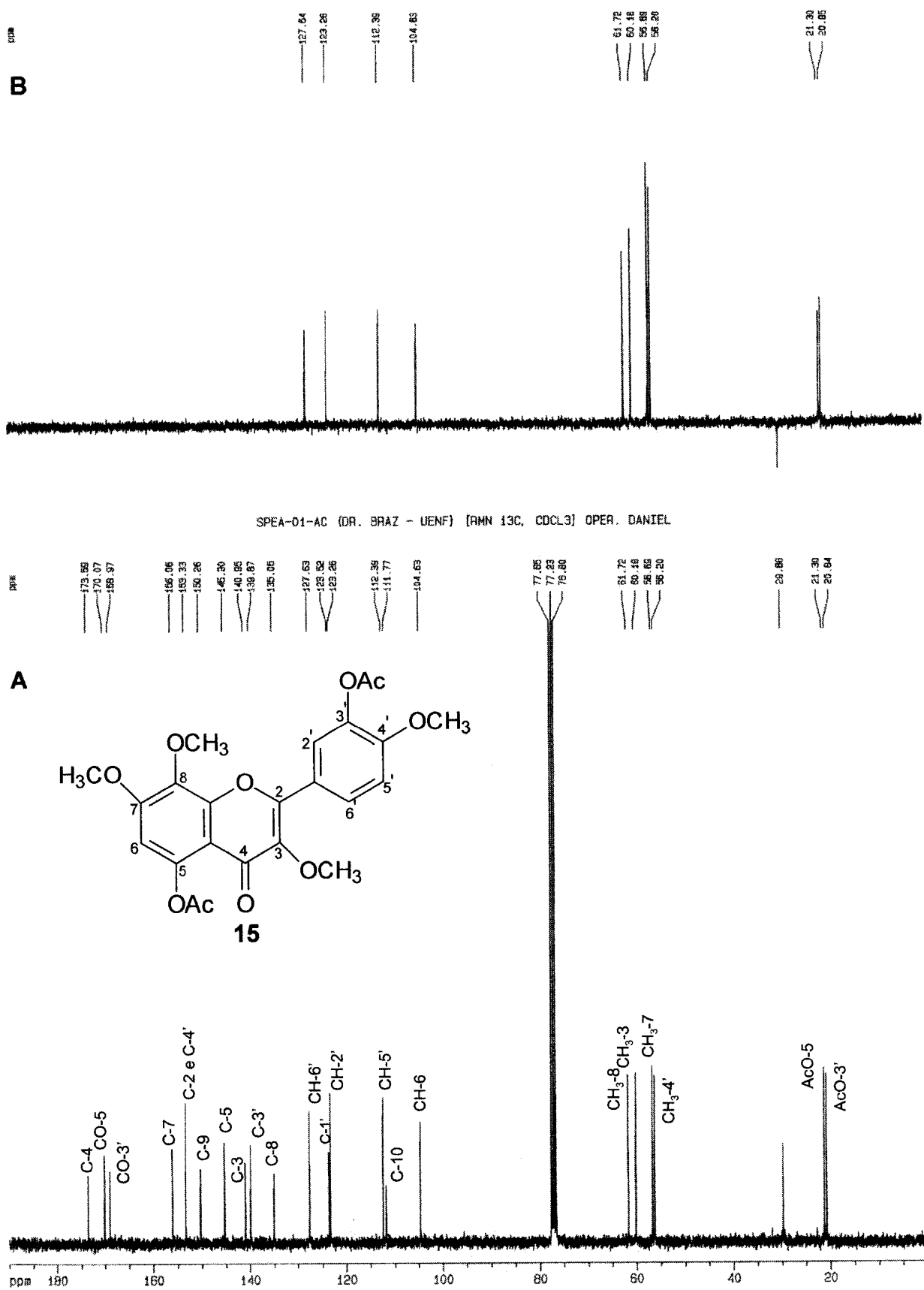


Figura A.19. Espectro de RMN de ¹³C (A) [125 MHz, CDCl₃] e DEPT 135° (B) de 15

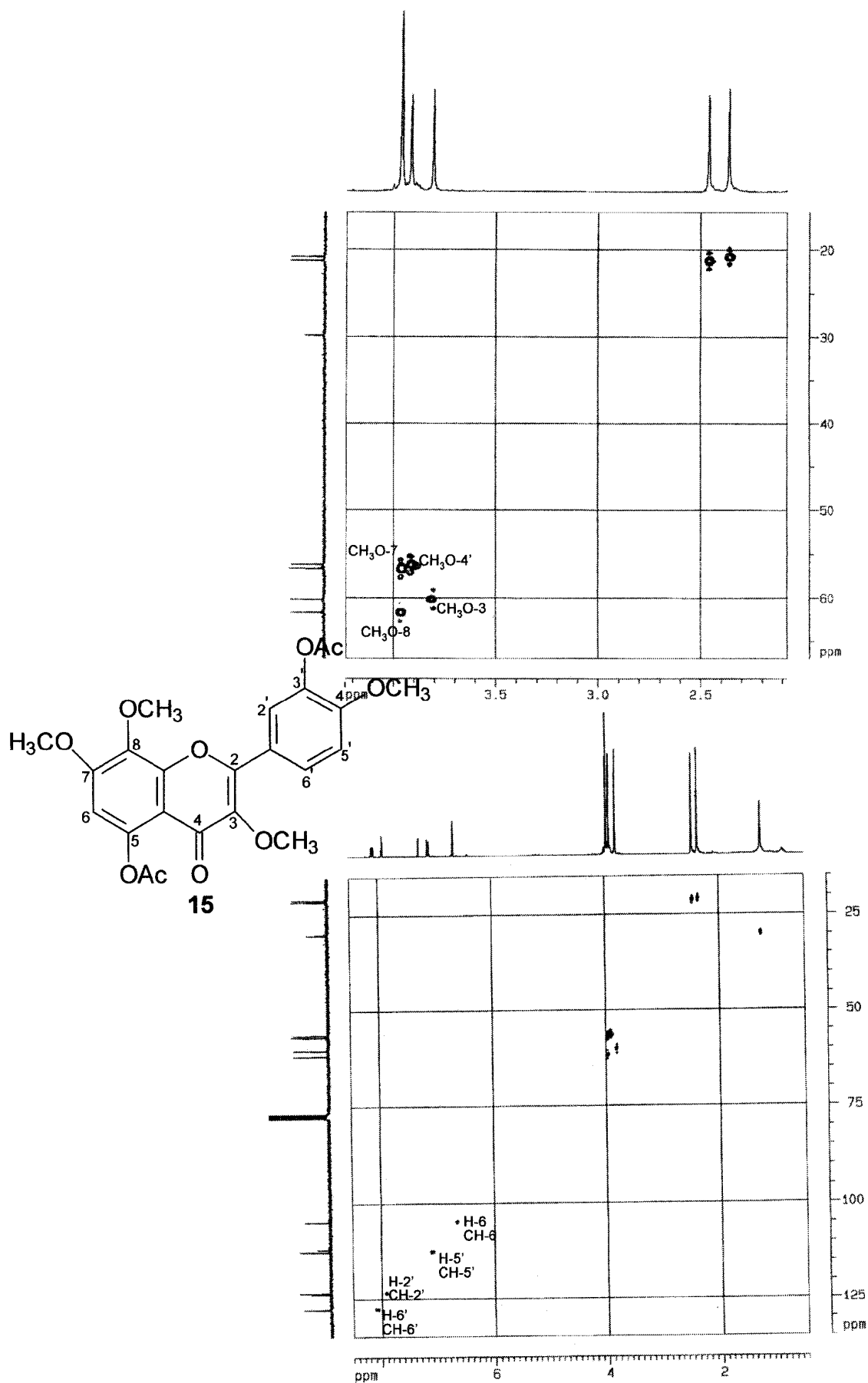


Figura A.20. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl₃) de **15**

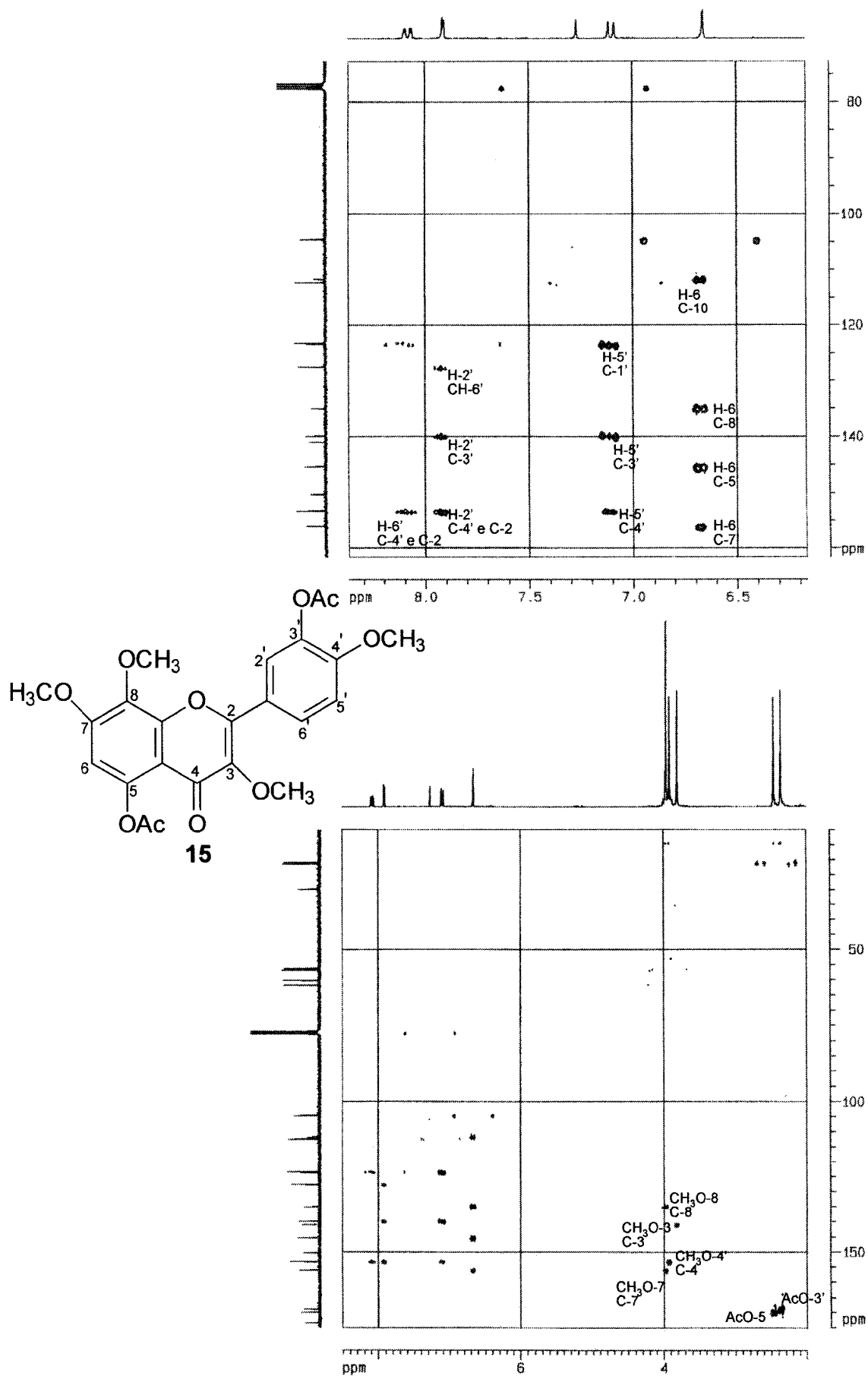


Figura A.21. Espectro de RMN-2D HMBC (500 MHz, CDCl₃) de 15

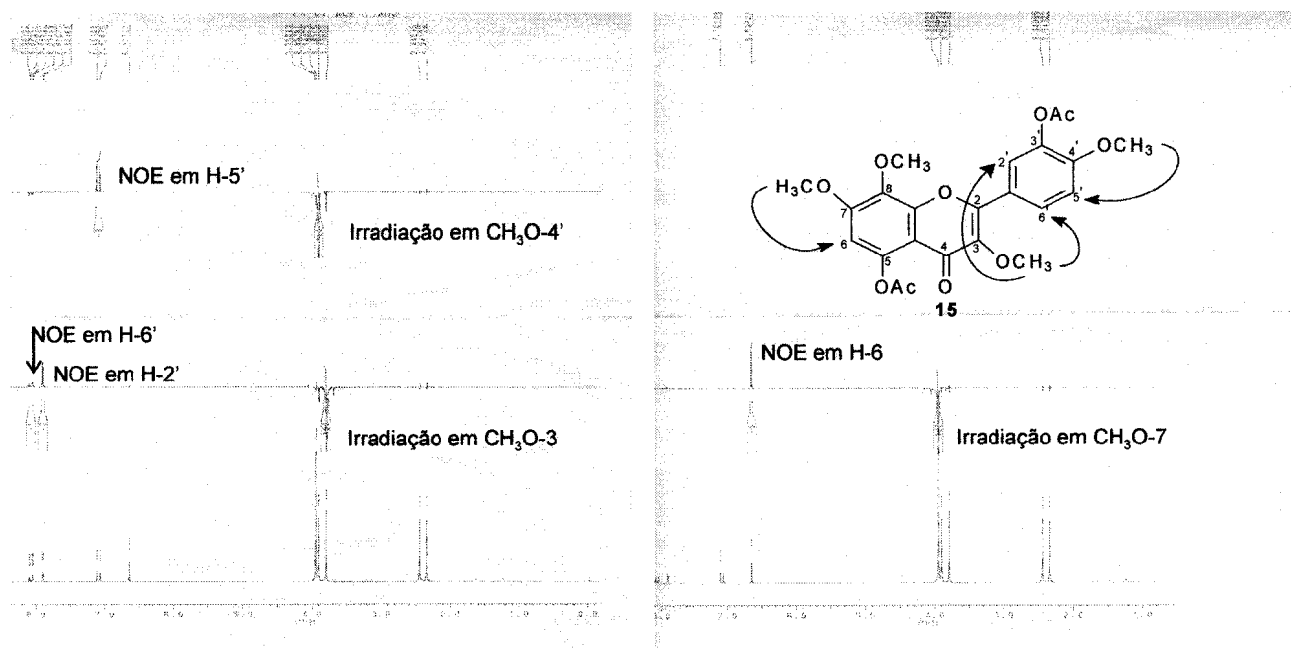


Figura A.22. Espectro de NOE (200 MHz, CDCl₃) de 15

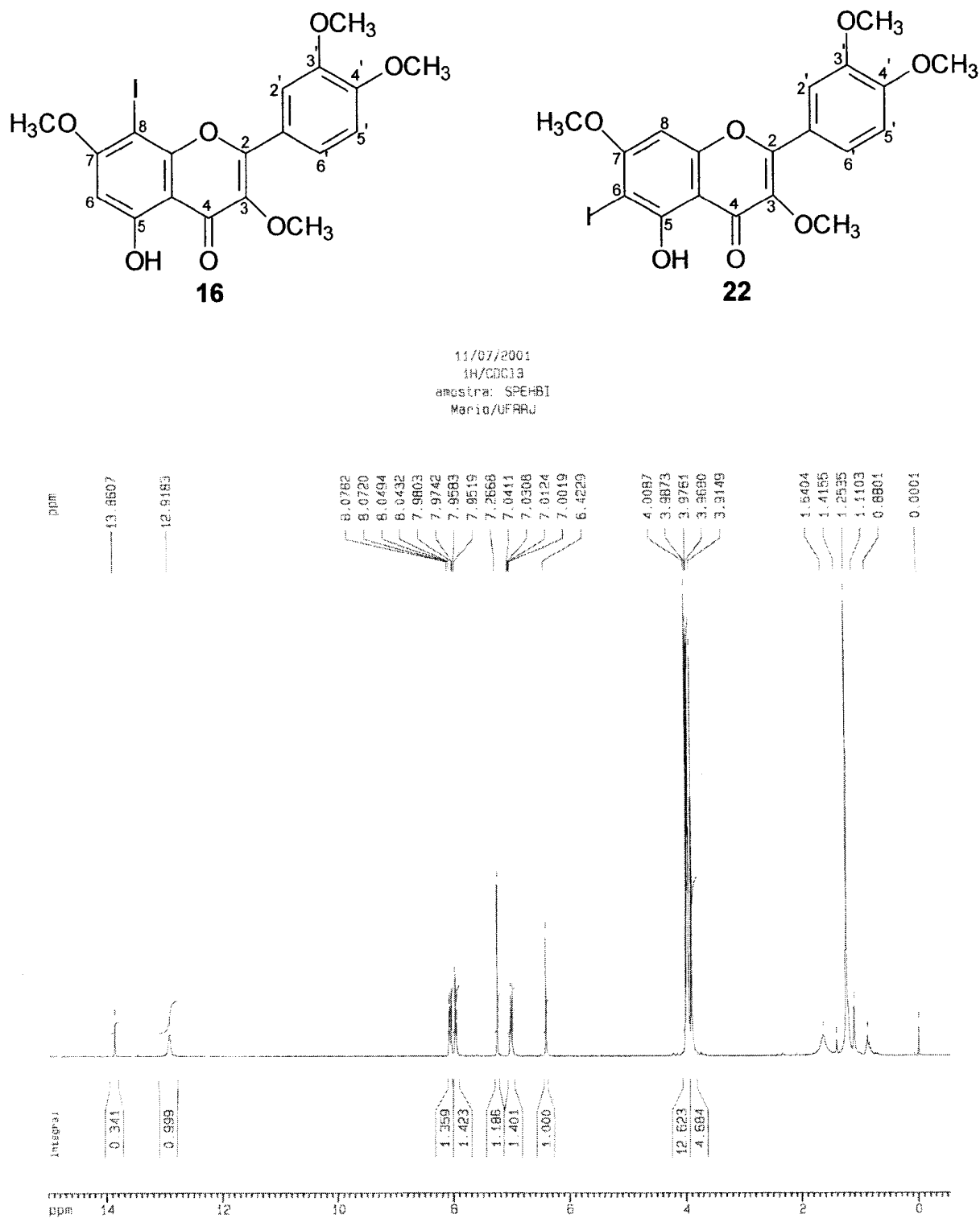


Figura A.23. Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) da mistura 16 e 22

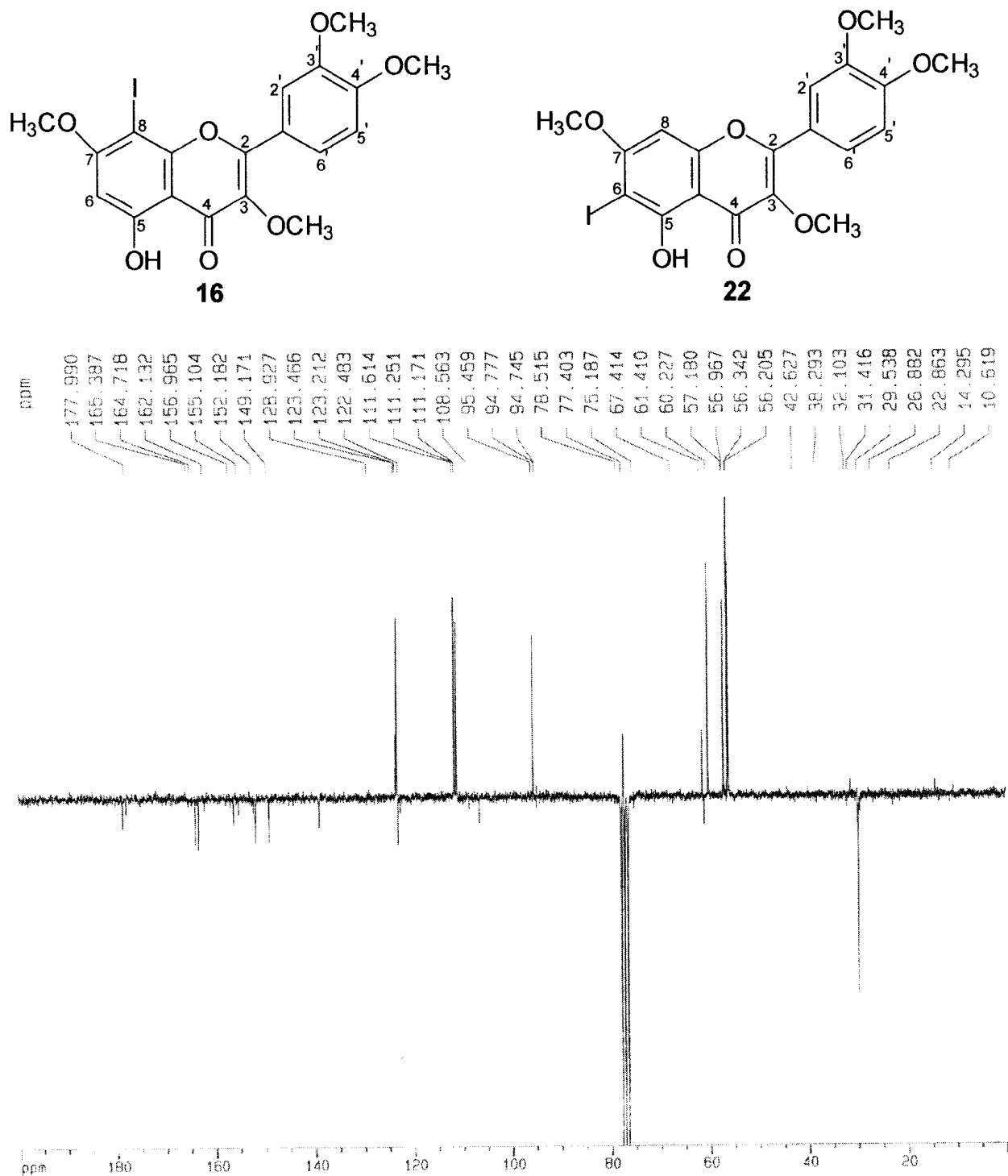


Figura A.24. Espectro de PENDANT (300 MHz, CDCl₃) da mistura 16 e 22

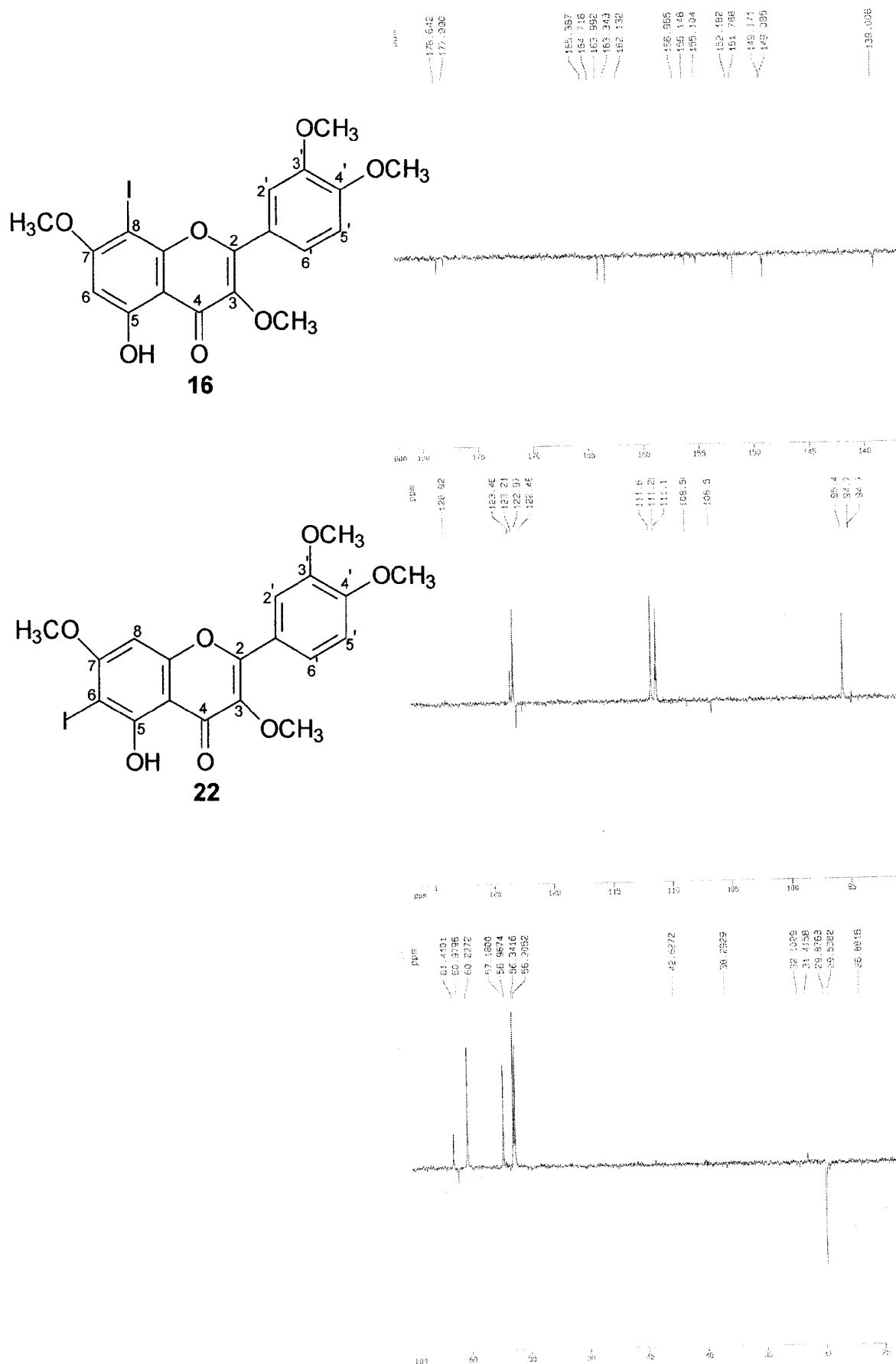


Figura A.25. Expansão do espectro de PENDANT (300 MHz, $CDCl_3$) da mistura 16 e 22

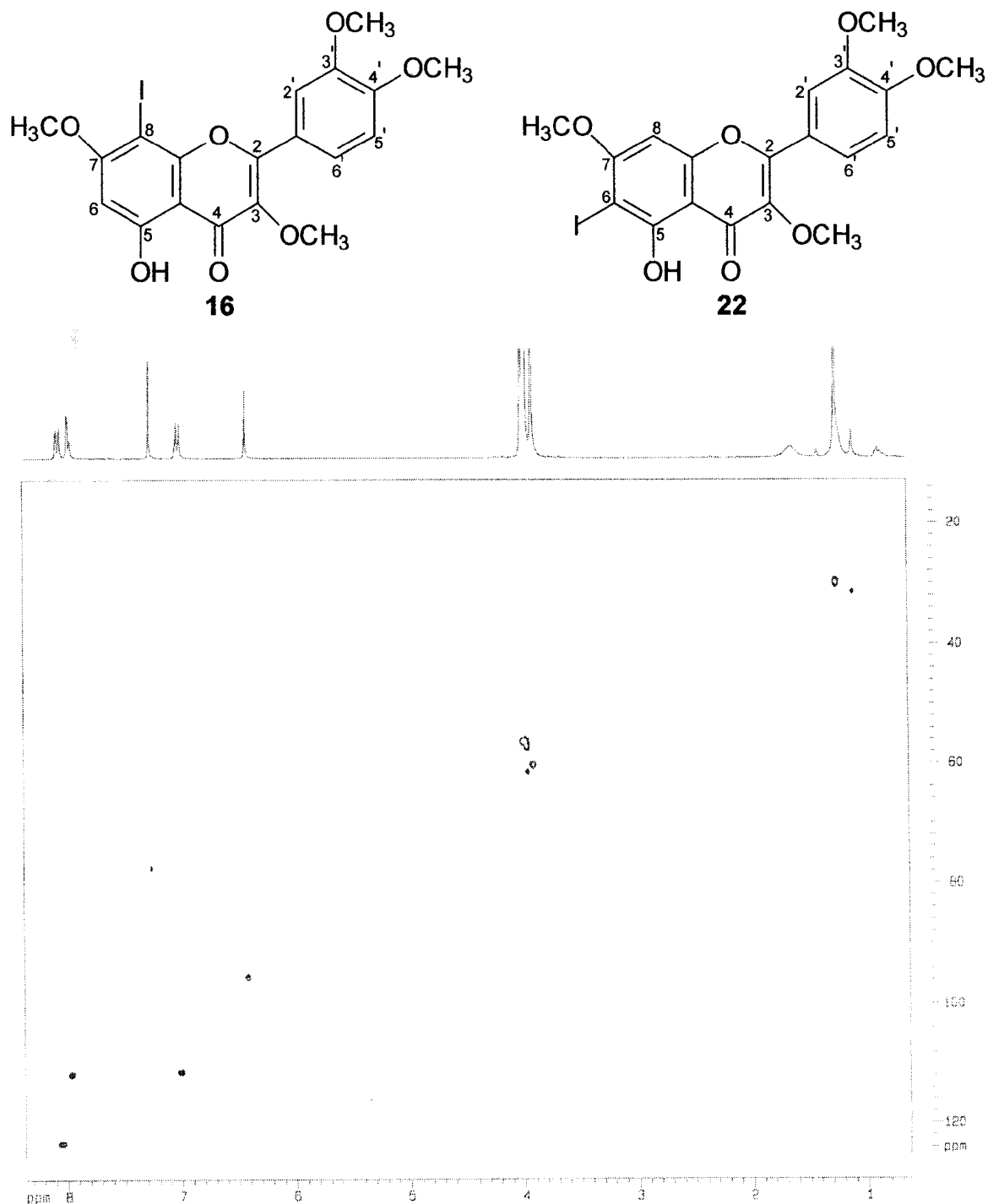


Figura A.26. Espectro de RMN-2D HMQC (300 MHz, CDCl₃) de **16** e **22**

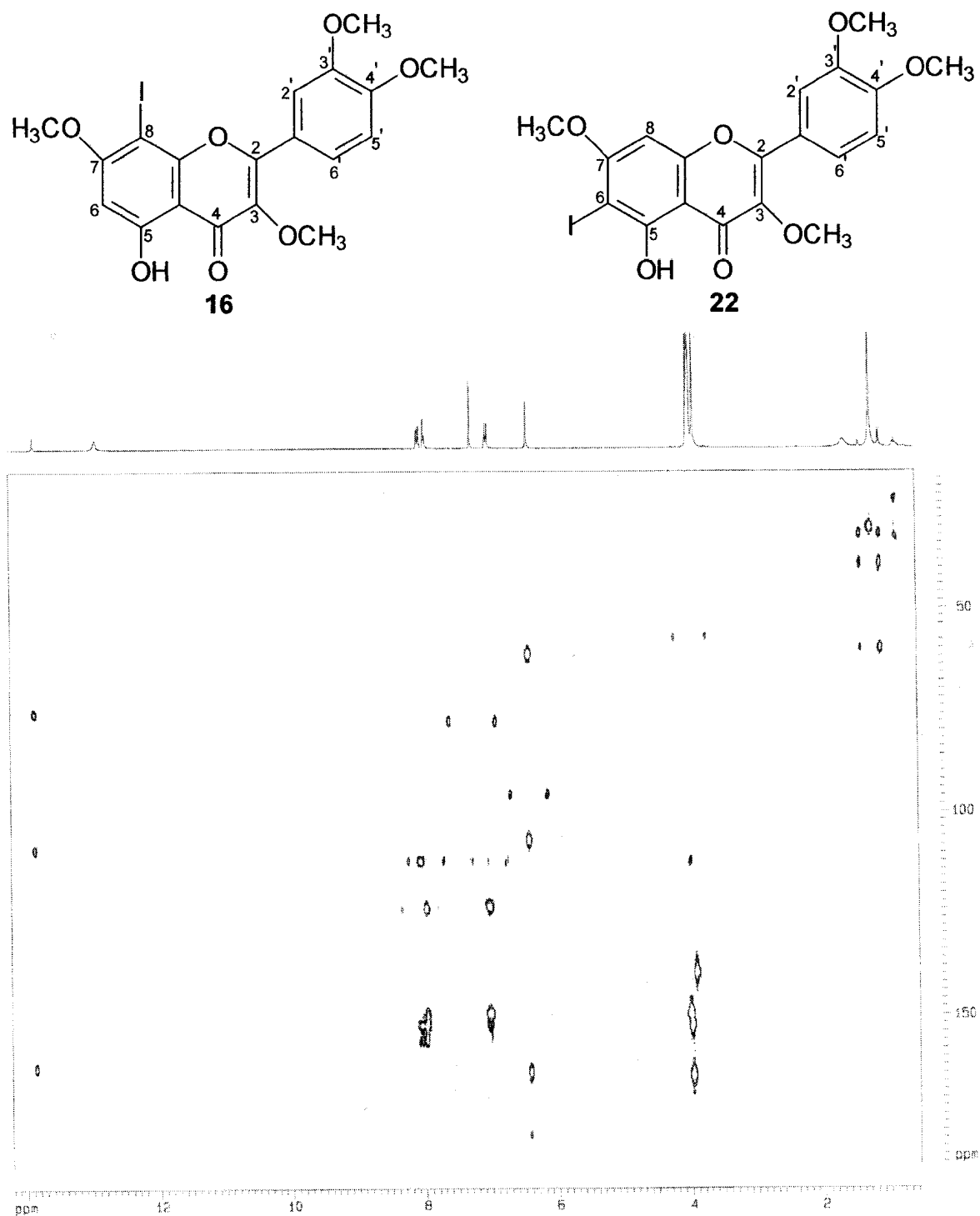


Figura A.27. Espectro de RMN-2D HMBC (300 MHz, CDCl_3) de 16 e 22

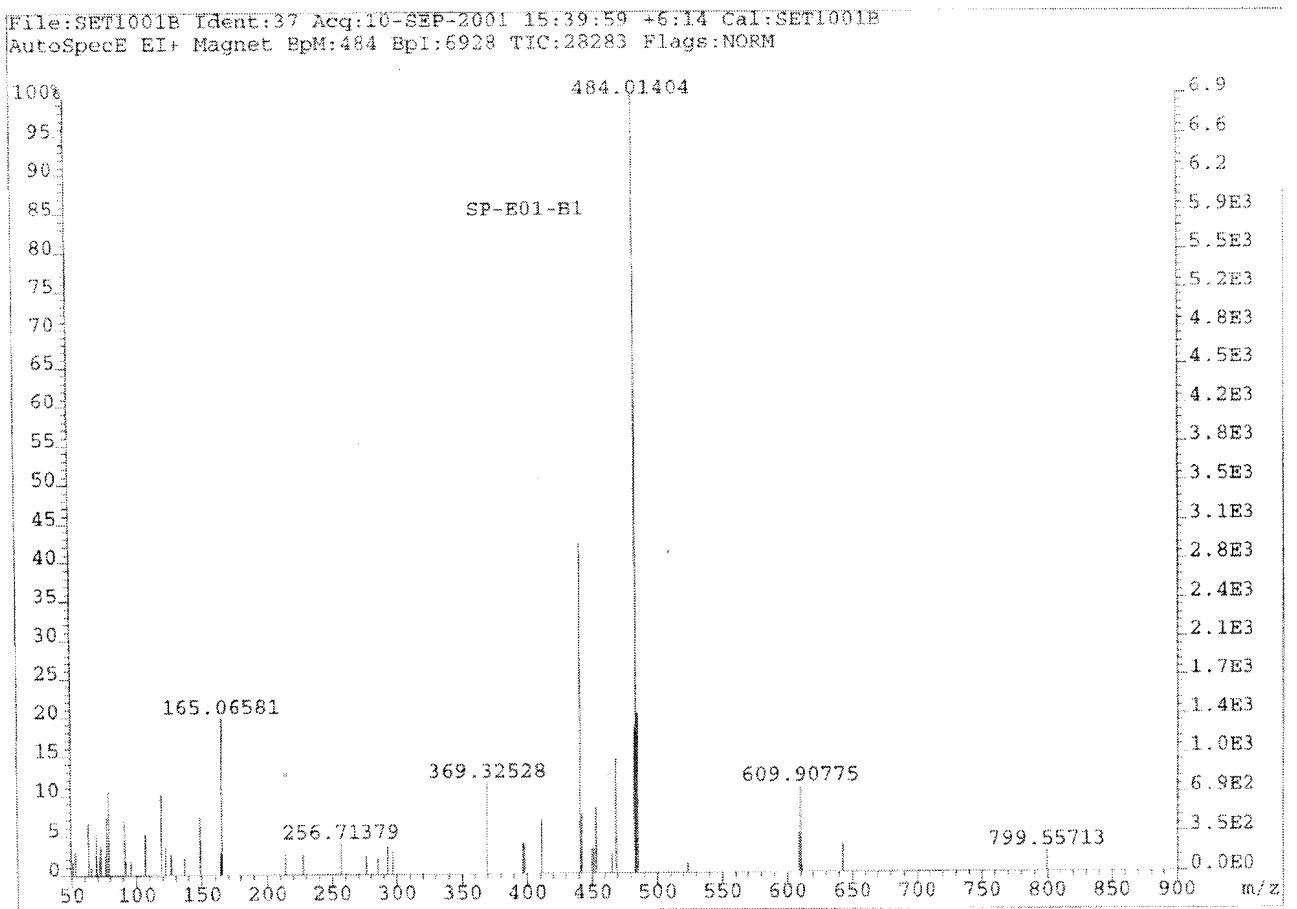
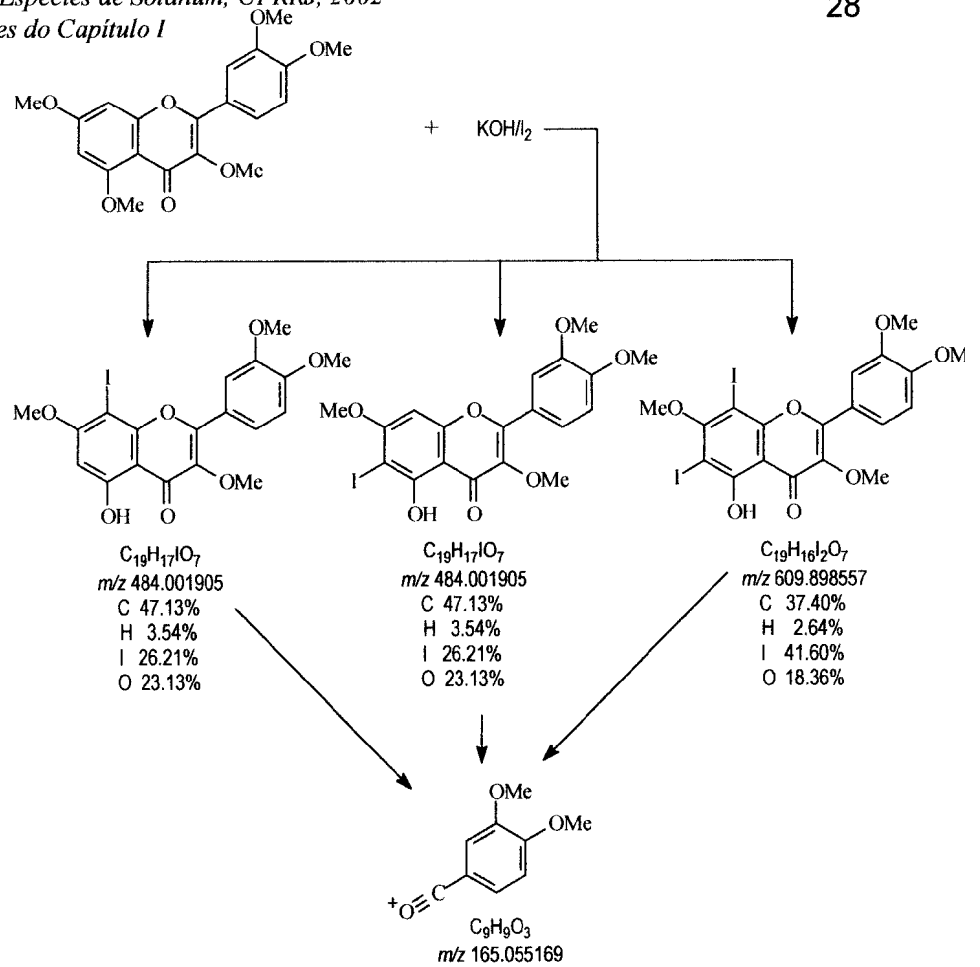


Figura A.28. Espectro de massas de alta resolução de 16, 22 e 23

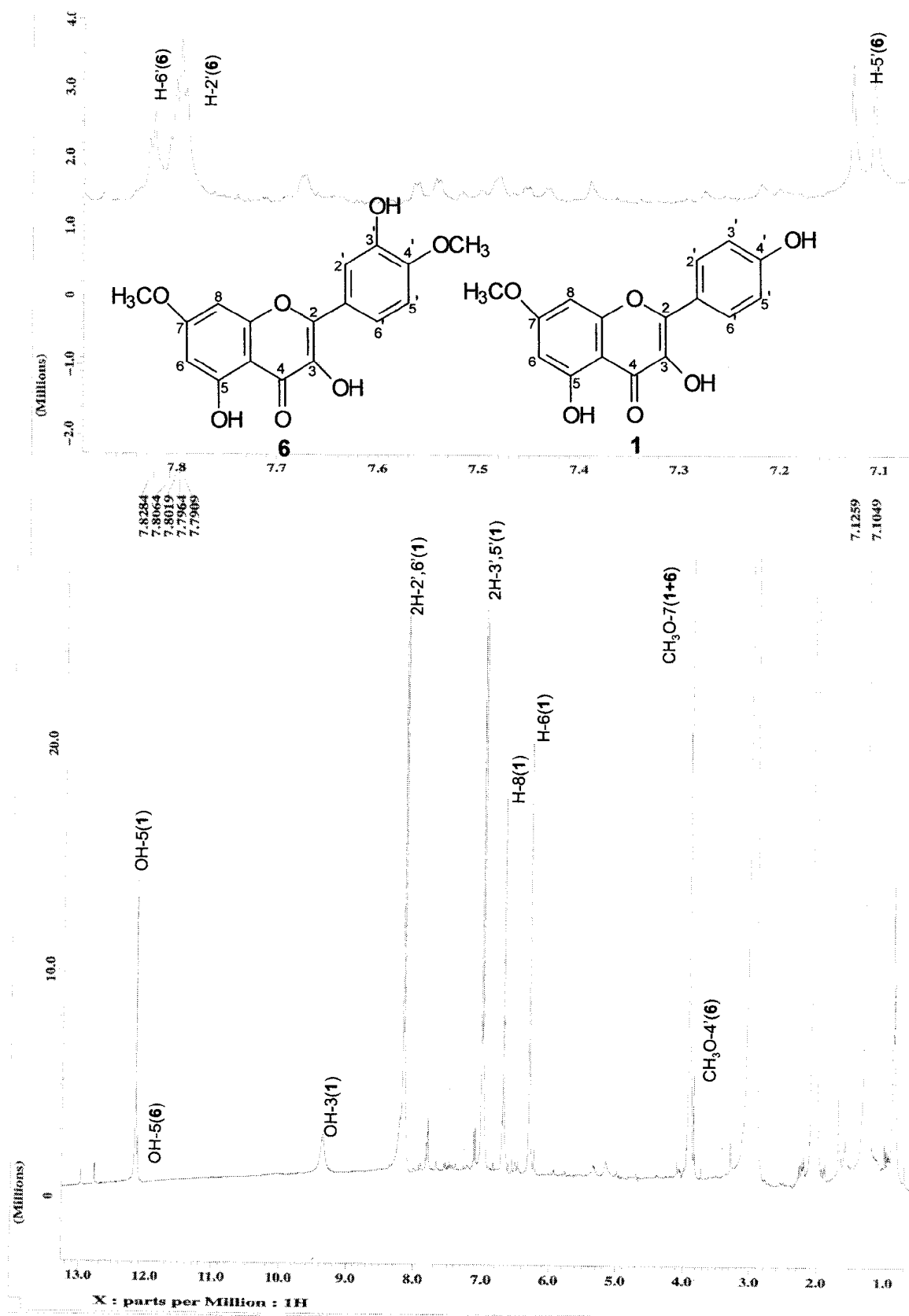


Figura A.29. Espectro de RMN¹H (400 MHz, Acetona-d₆) da mistura 6 (7,4'-O-dimetilquercetina) e 1 (7-O-metilkanferol)

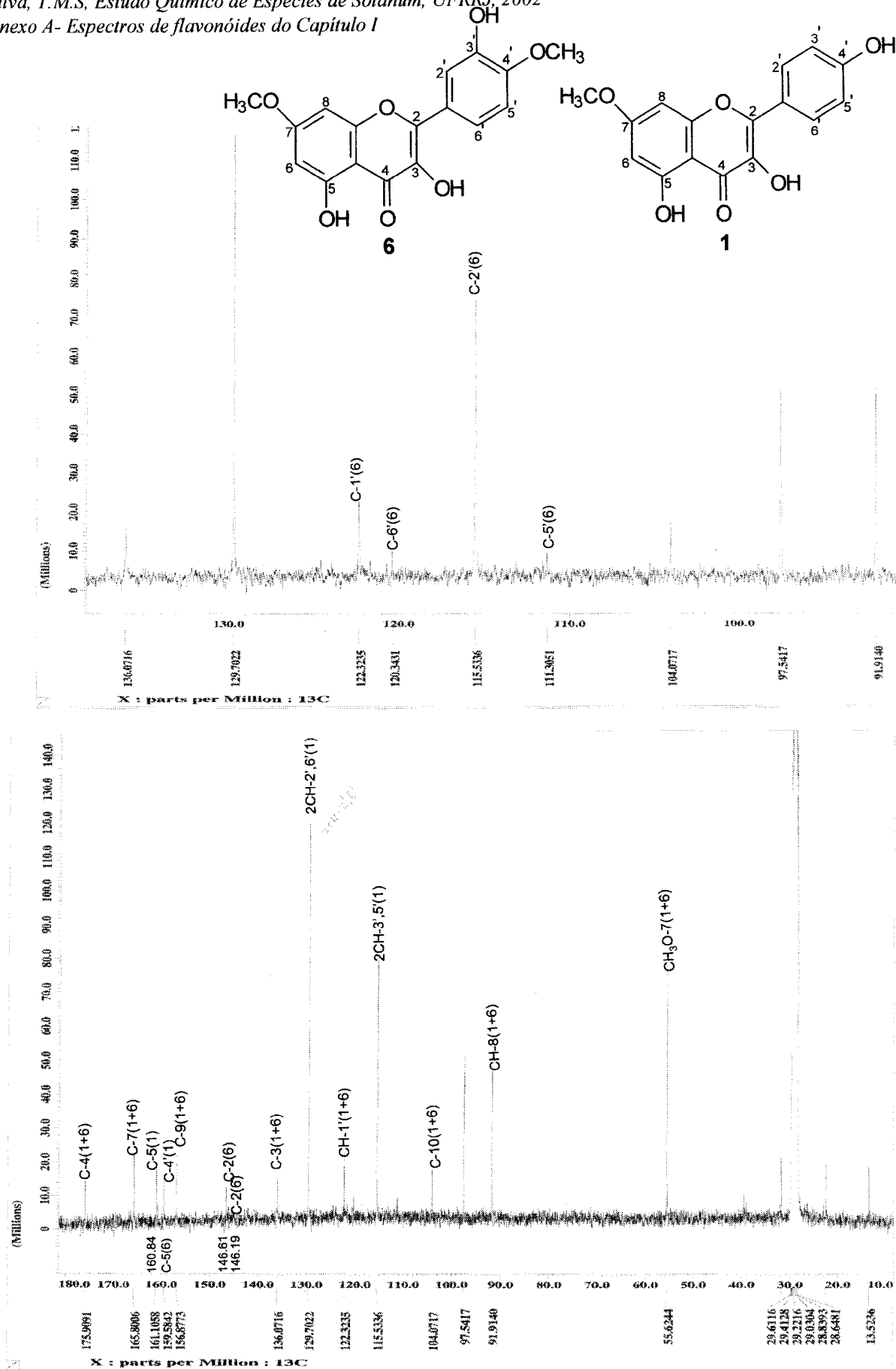


Figura A.30. Espectro de RMN de ¹³C (400 MHz, Acetona-d₆) da mistura 6 (7,4'-O-dimetilquercetina) e 1 (7-O-metilkanferol)

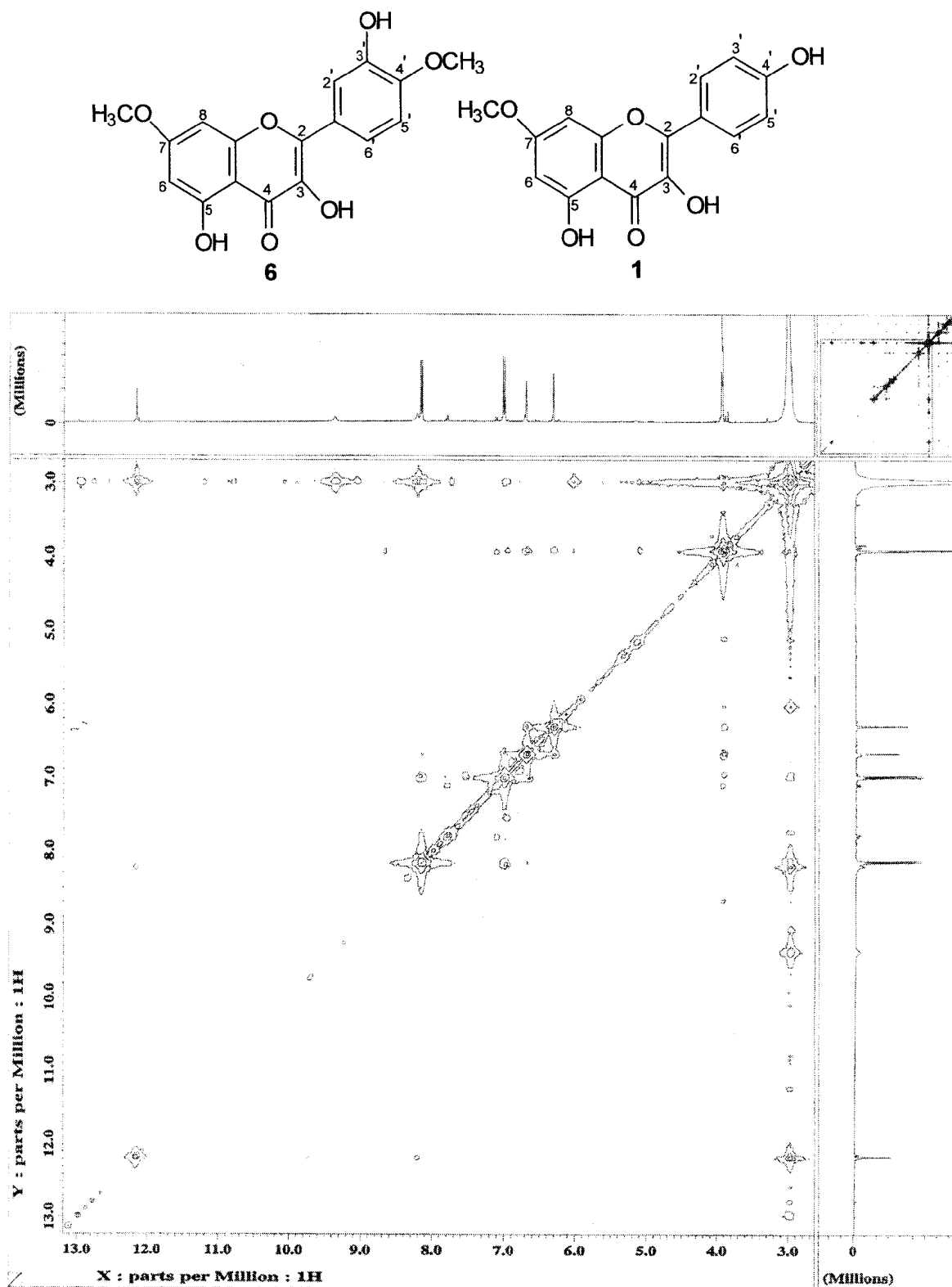


Figura A.31. Espectro de NOESY (400 MHz, Acetona- d_6) da mistura 6 (7,4'-O-dimetilquercetina) e 1 (7-O-metilkanferol)

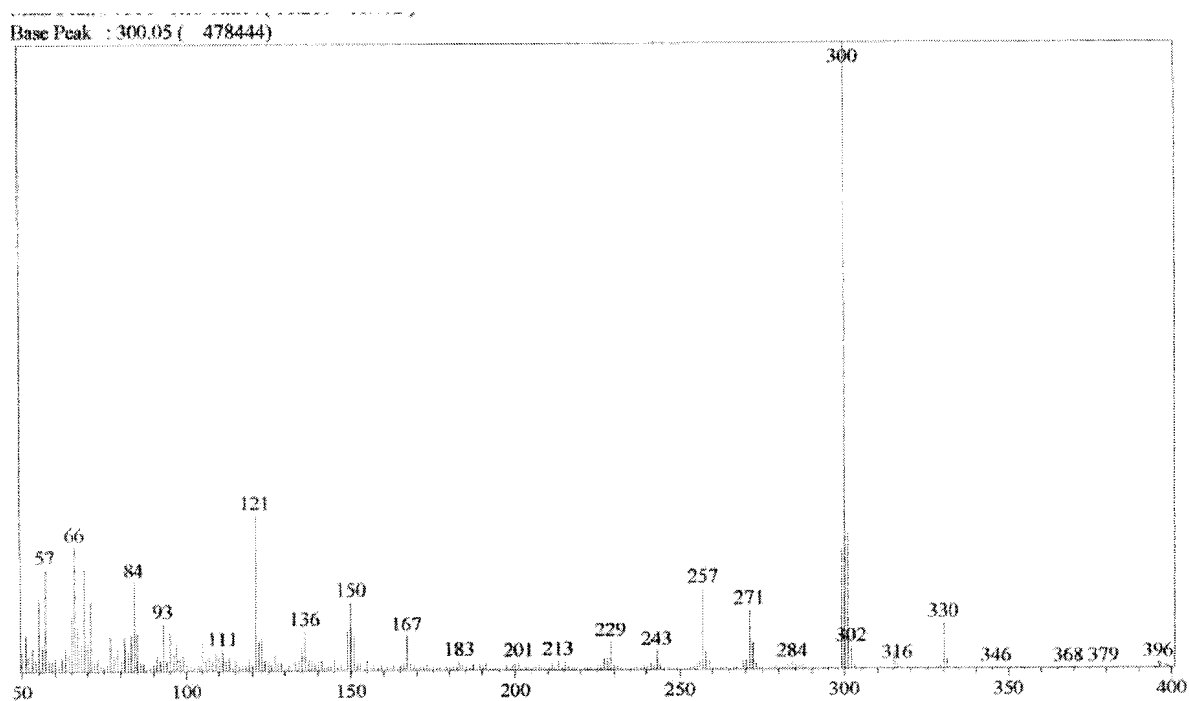
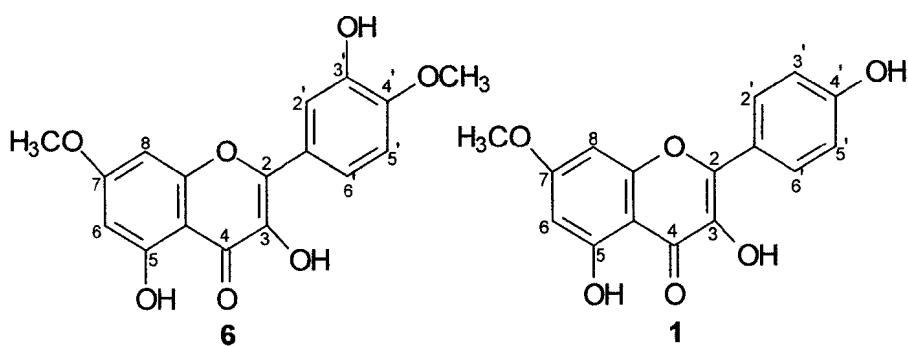


Figura A.32. Espectro de massas da mistura 6 (7,4'-O-dimetilquercetina) e 1 (7-O-metilkanferol)

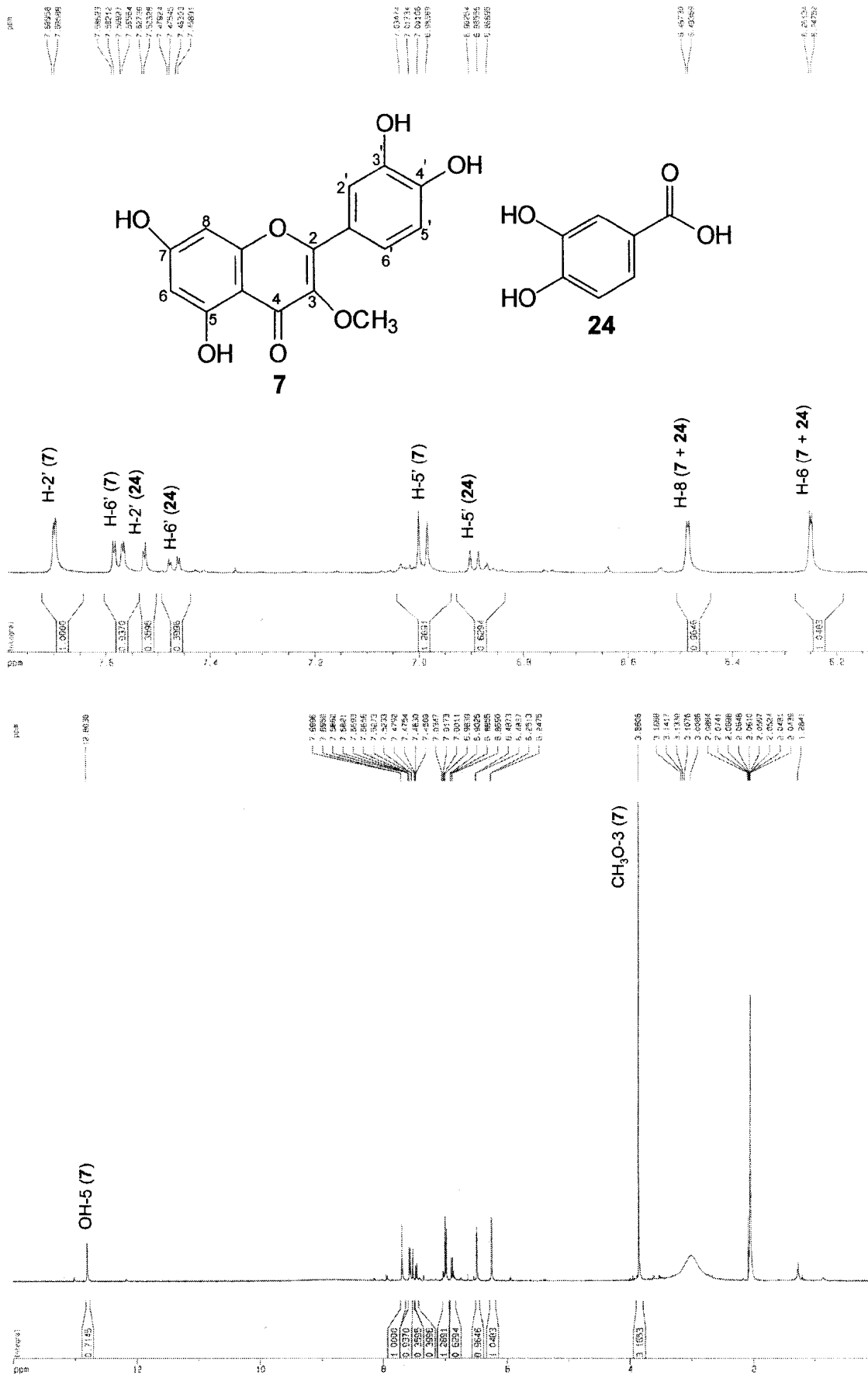


Figura A.33. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, Acetona-d₆) da mistura 7 (3-O-metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico)

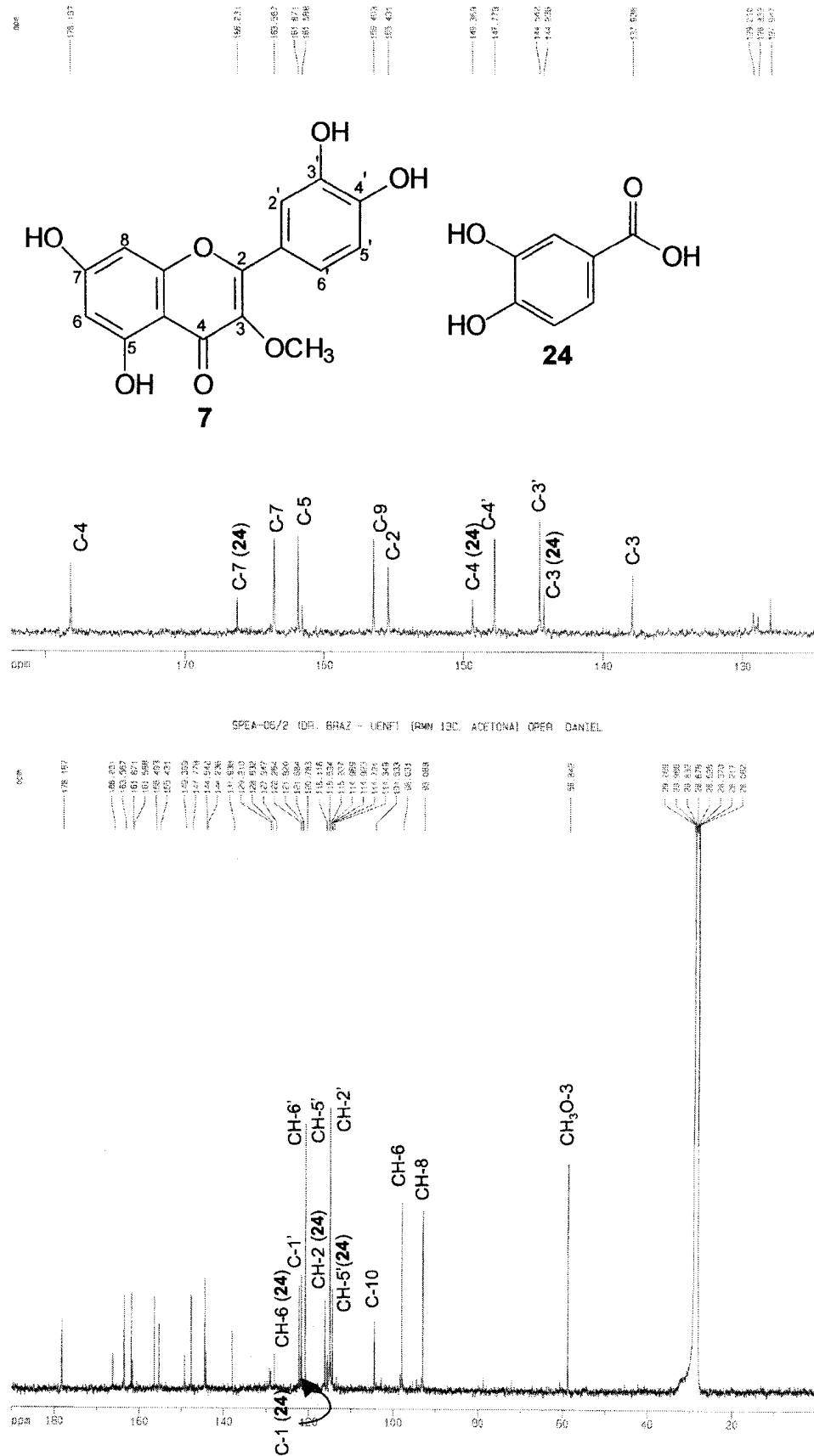


Figura A.34. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, Acetona-d₆) da mistura 7 (3-O-metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico)

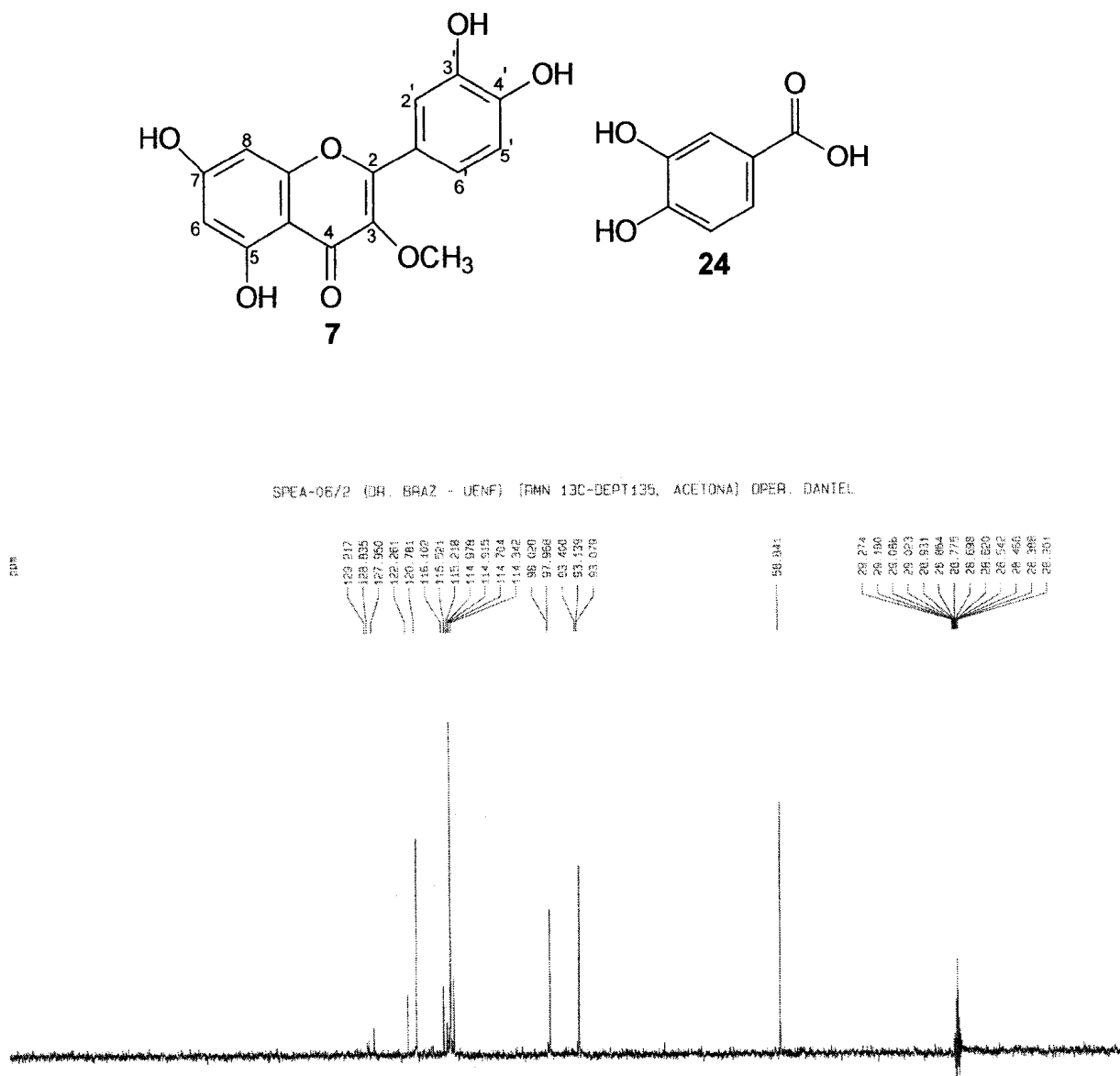


Figura A.35. Espectro de DEPT ($\theta=135^\circ$, 125 MHz, Acetona- d_6) da mistura 7 (3-O-metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico)

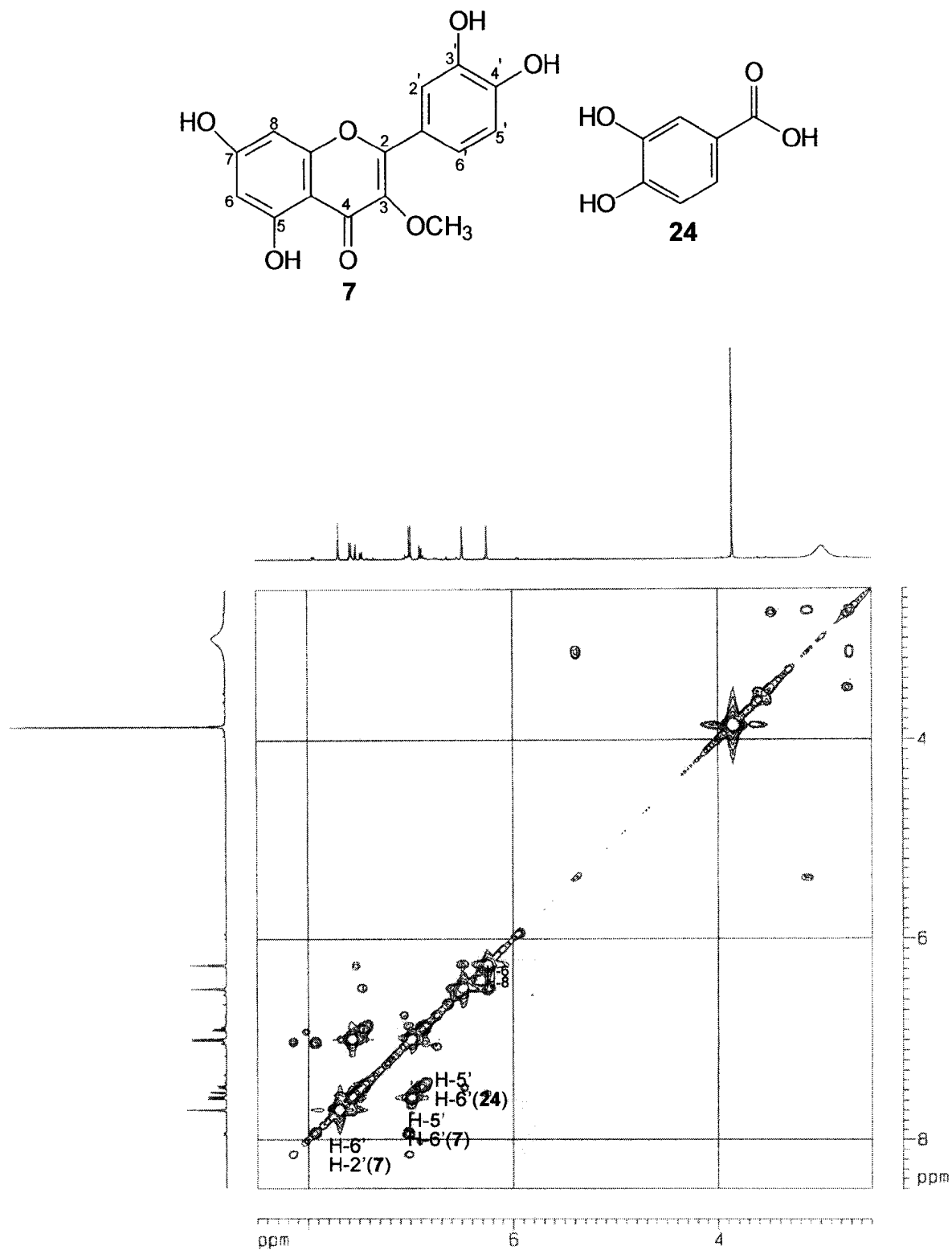


Figura A.36. Espectro de RMN COSY (500 MHz, Acetona-*d*₆) da mistura 7 (3-O-metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico)

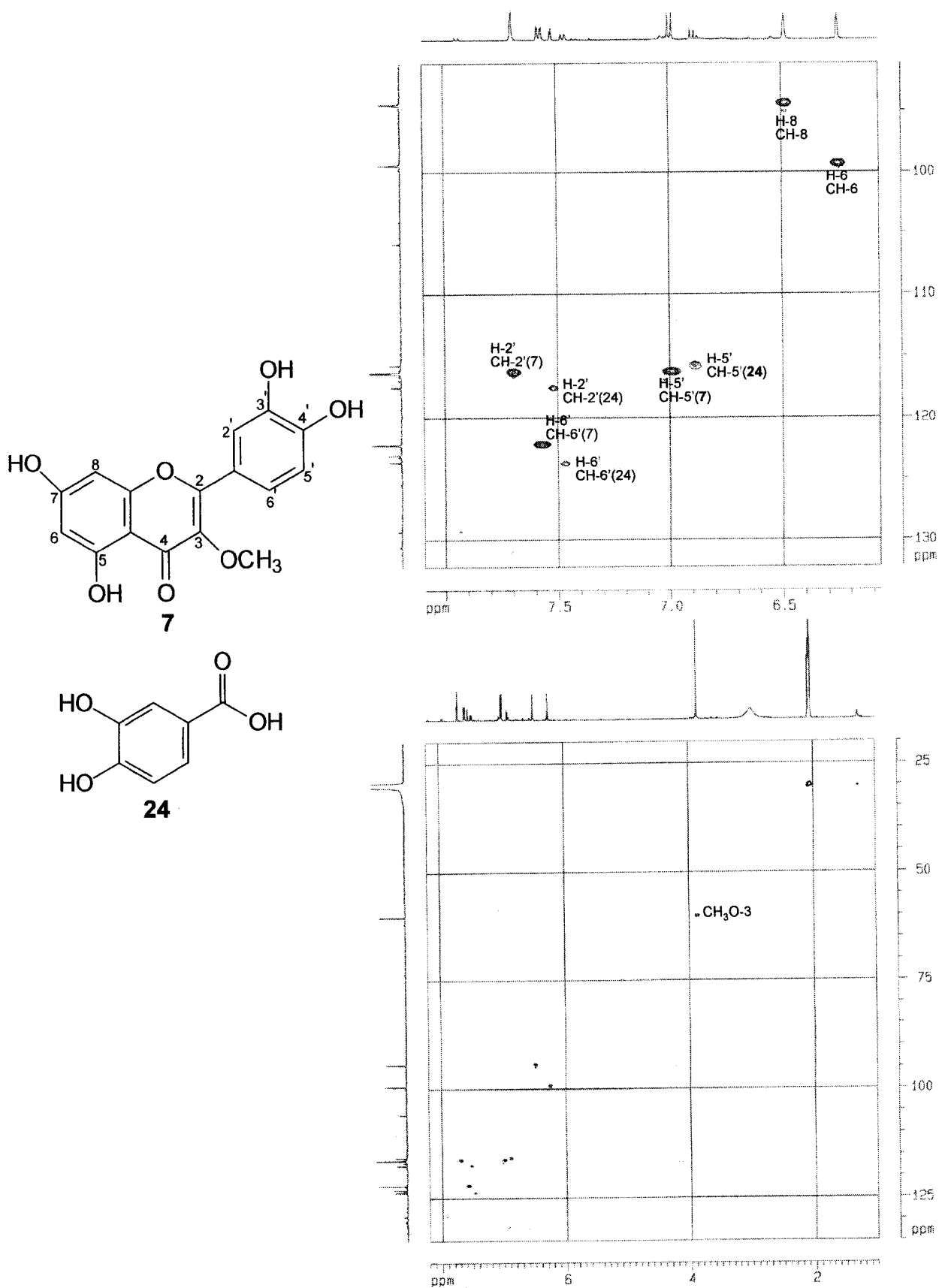


Figura A.37. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, Acetona-*d*₆) da mistura 7 (3-O-metilquercetina) 24 (ácido protocatecuico)

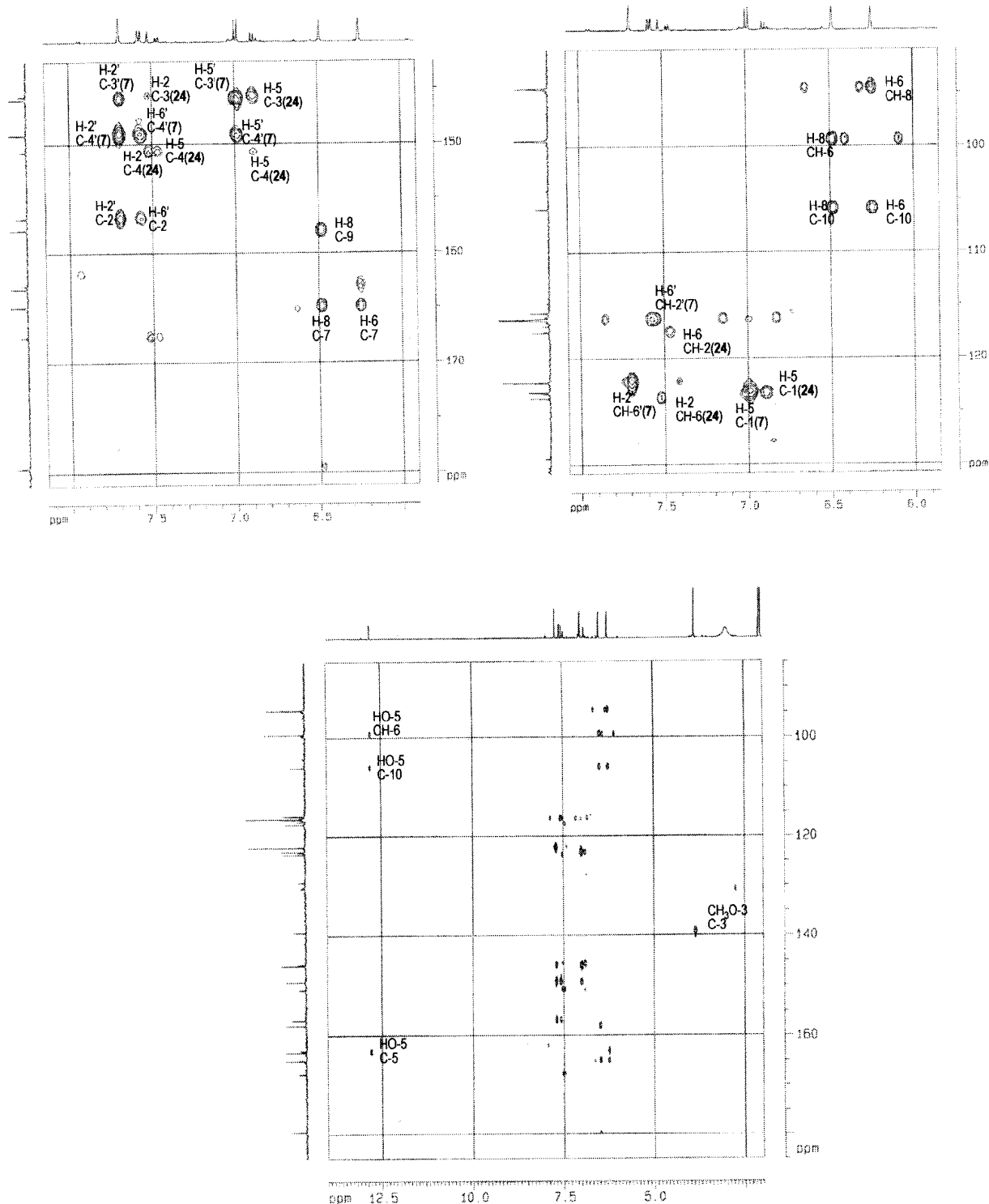
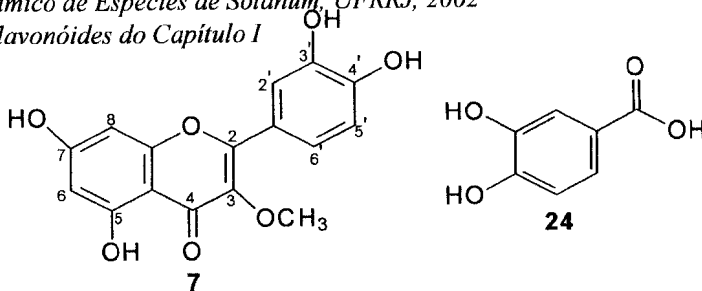


Figura A.38. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, Acetona- d_6) da mistura **7** (3-O-metilquercetina) **24** (ácido protocatecuico)

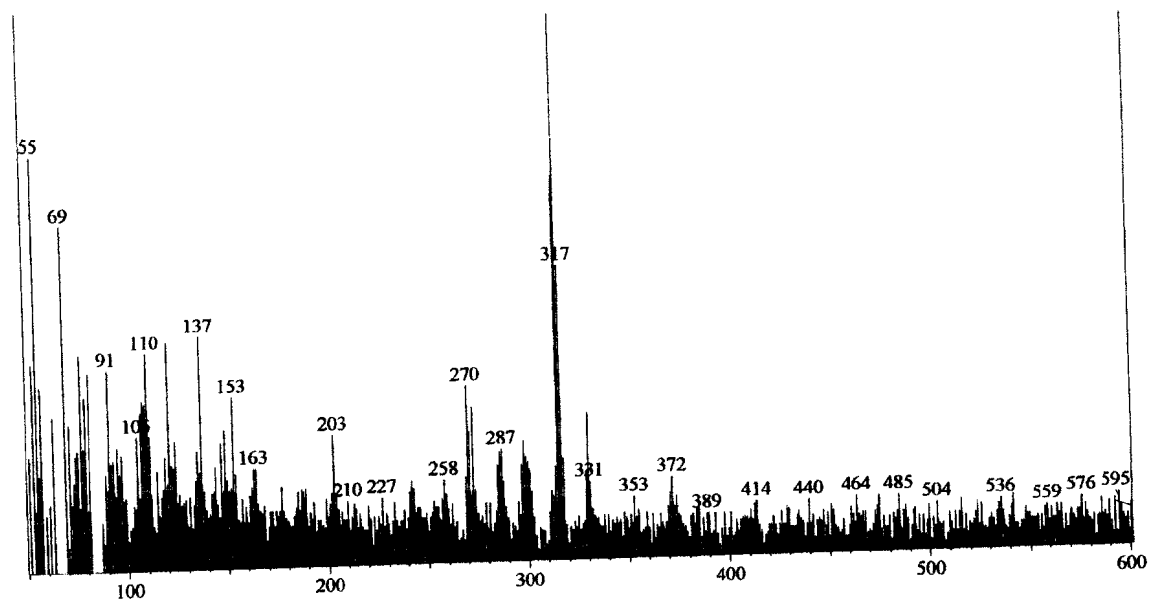
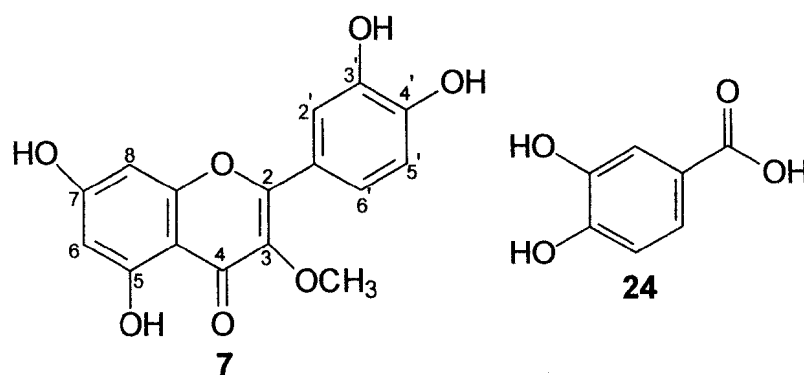
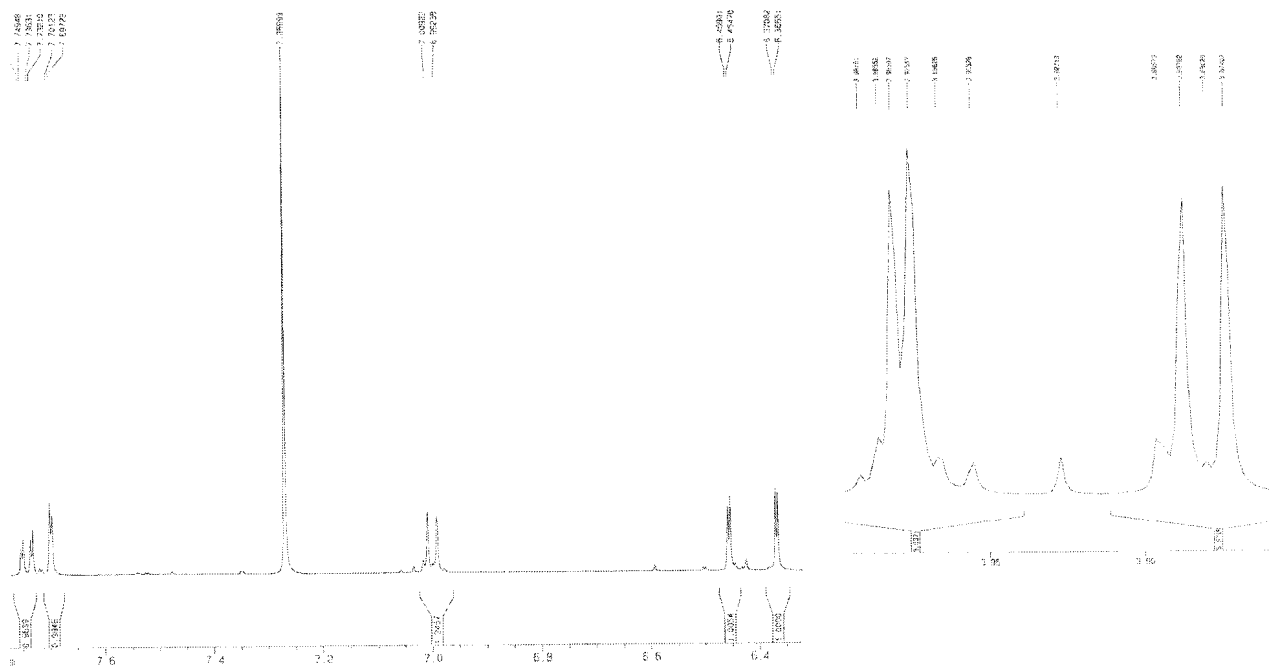


Figura A.39. Espectro de massas da mistura **7** (3-O-metilquercetina) **24** (ácido protocatecuico)



SP-EA-14 (DR. BRAZ - UENF) [PMN 1H, CDCl₃] OPER. DANIEL

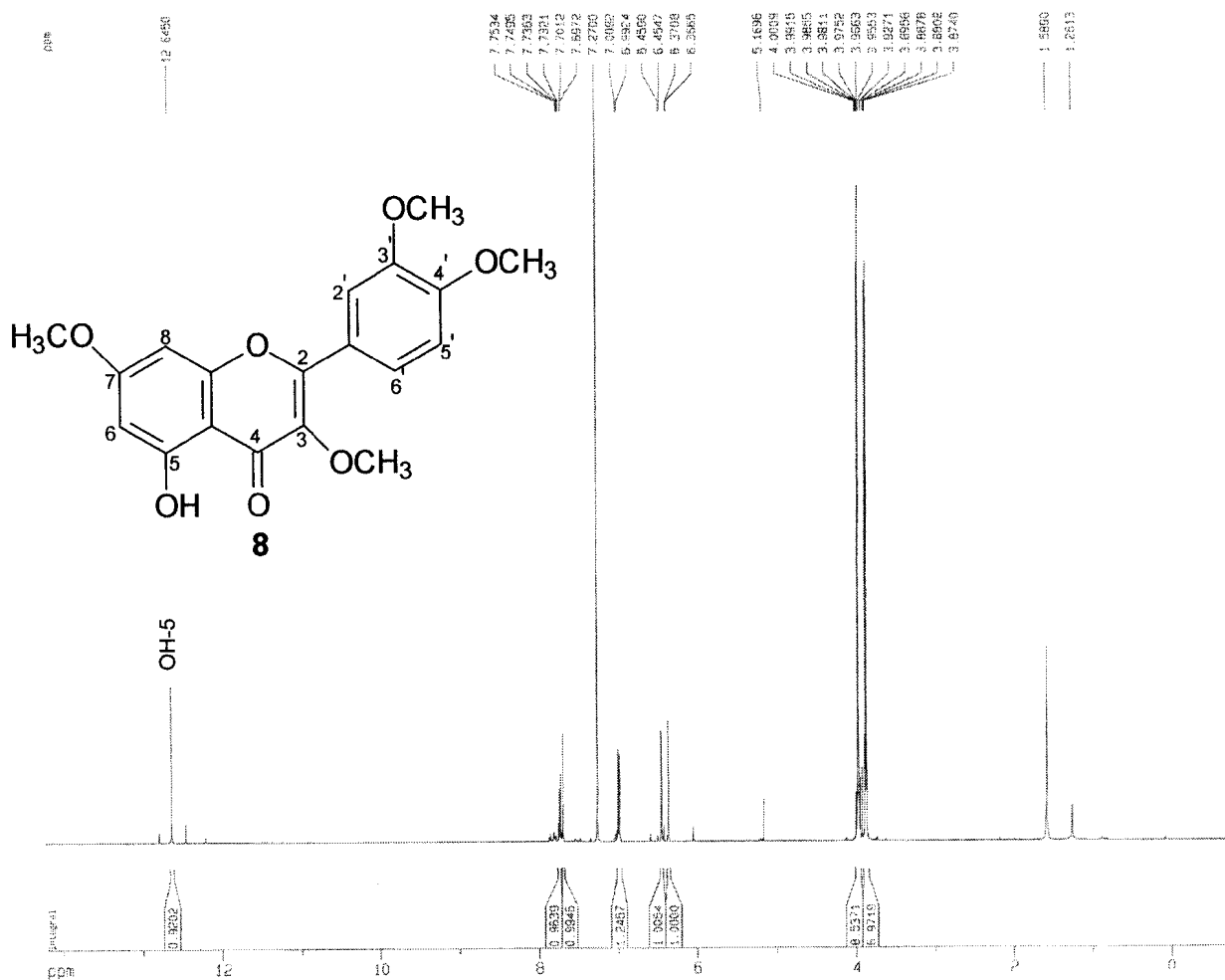


Figura A.40. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de **8** (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina)

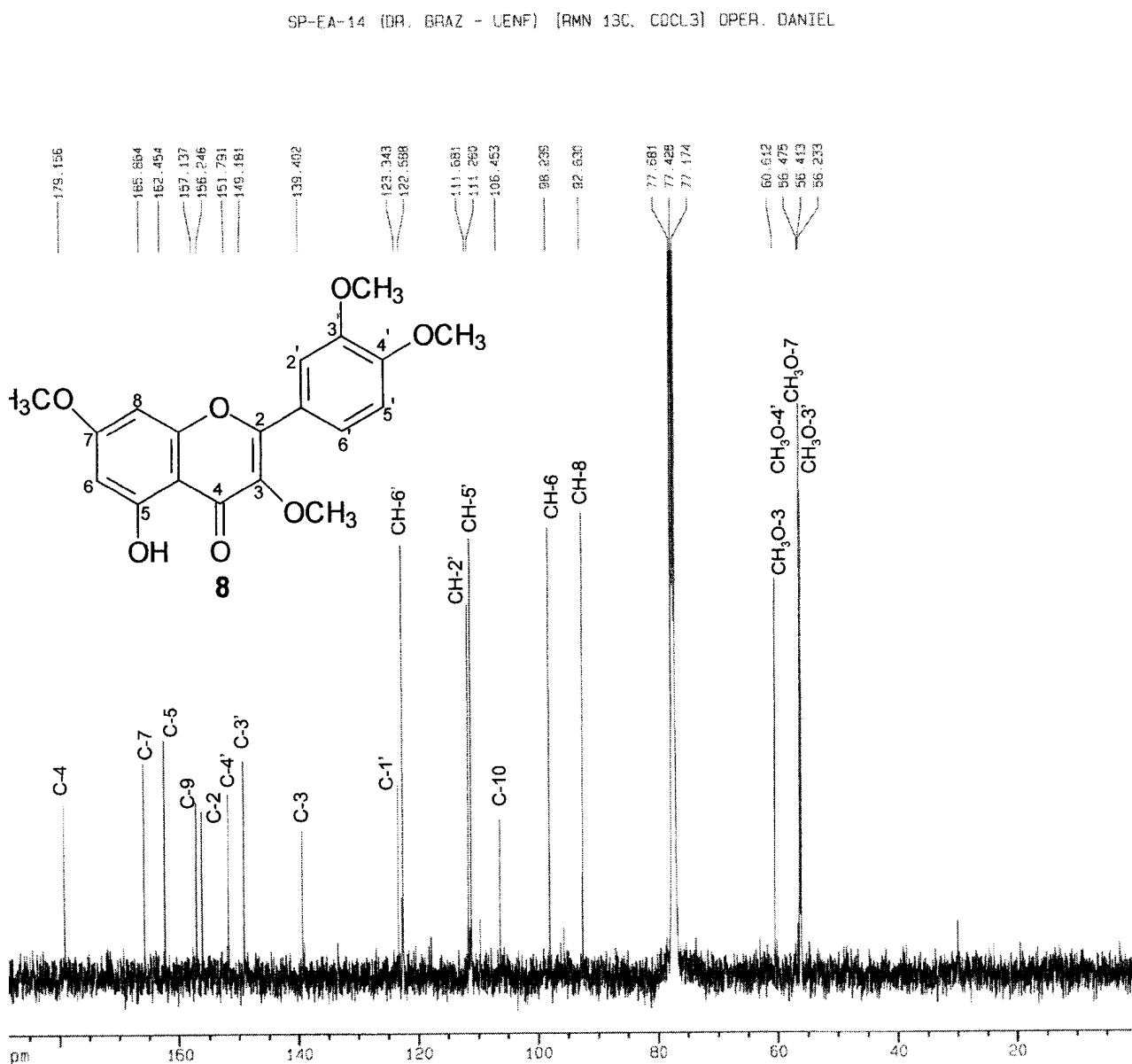


Figura A.41. Espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de **8** (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina)

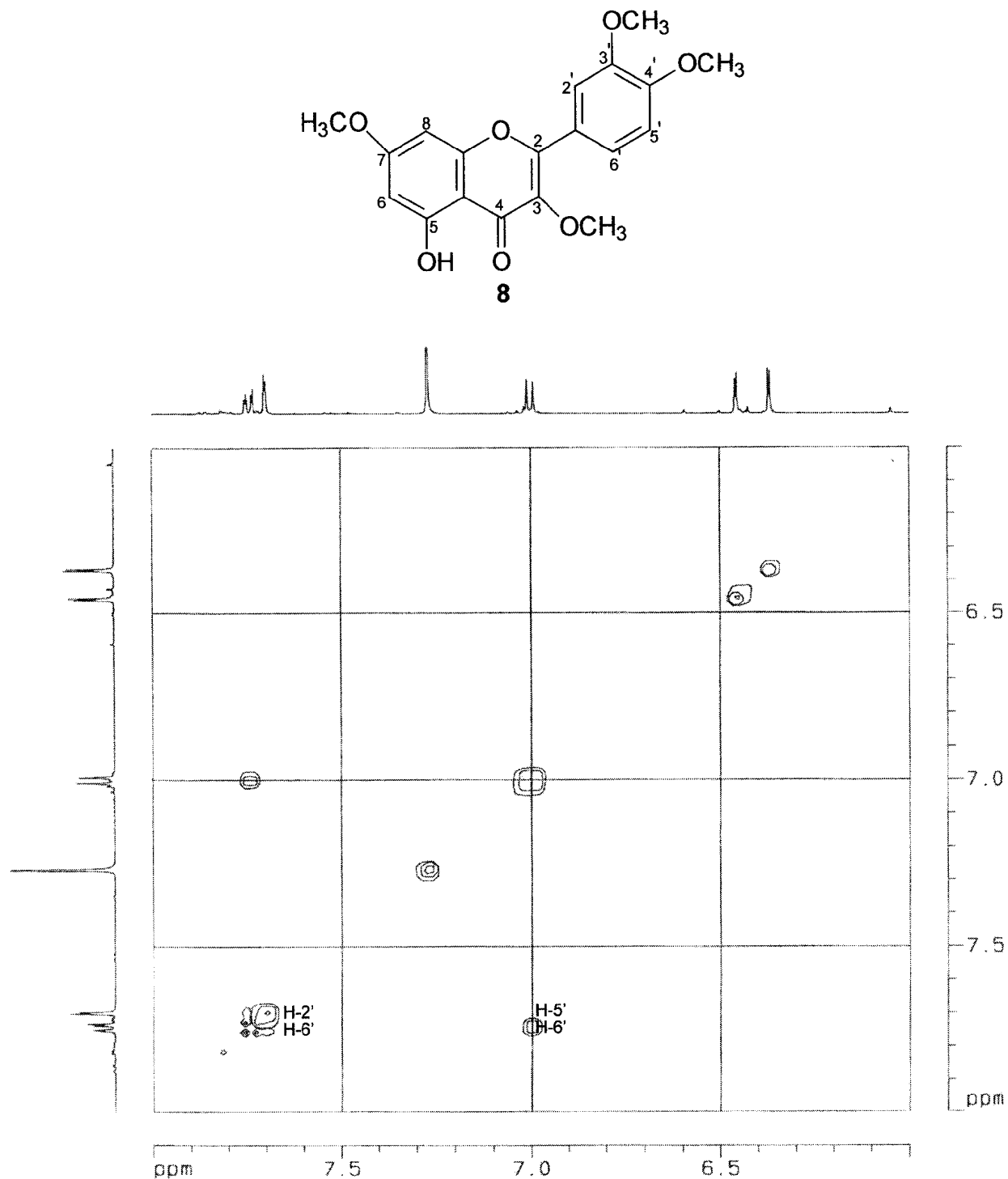


Figura A.42. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl₃) de **8** (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina)

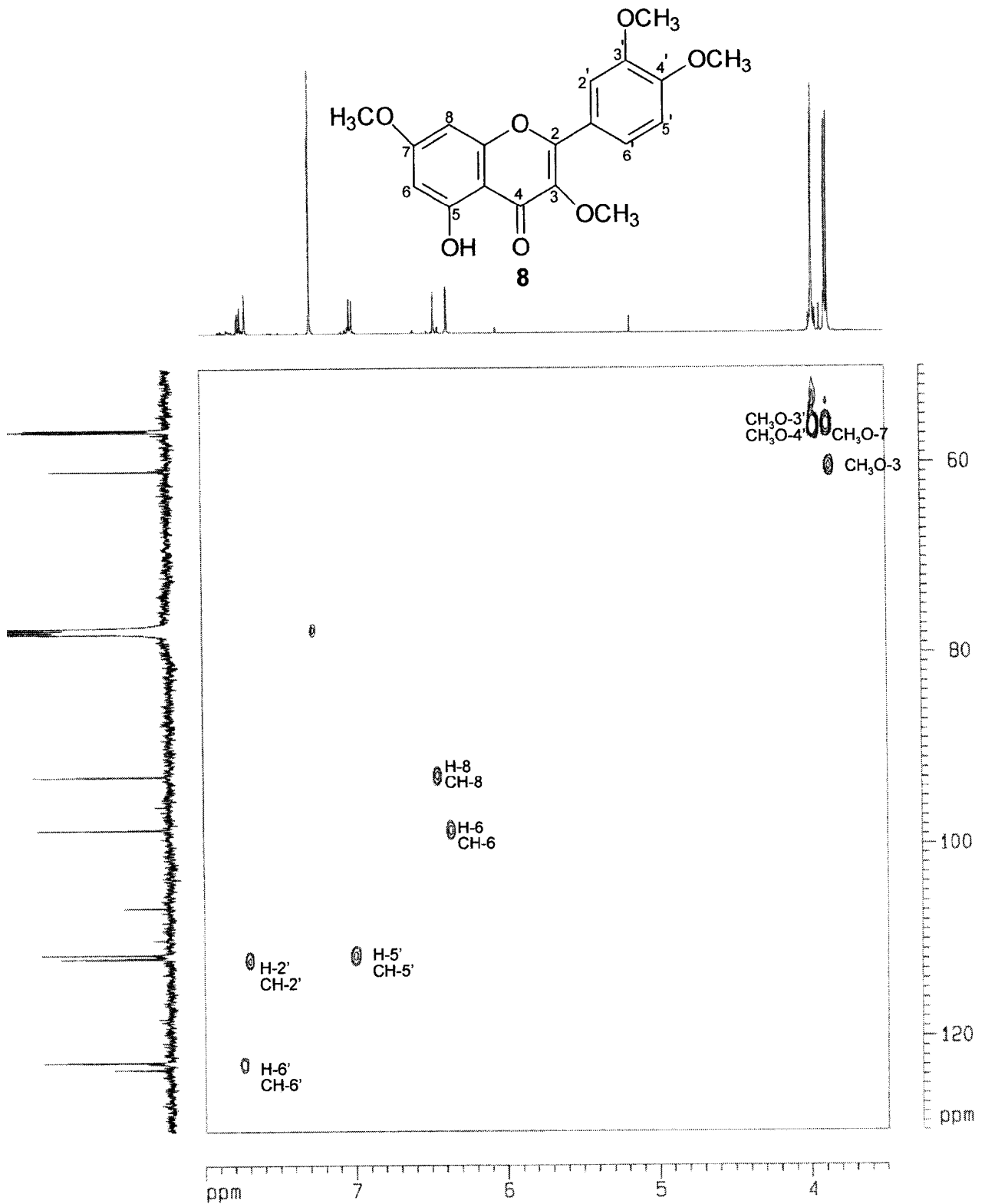


Figura A.43. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl₃) de **8** (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina)

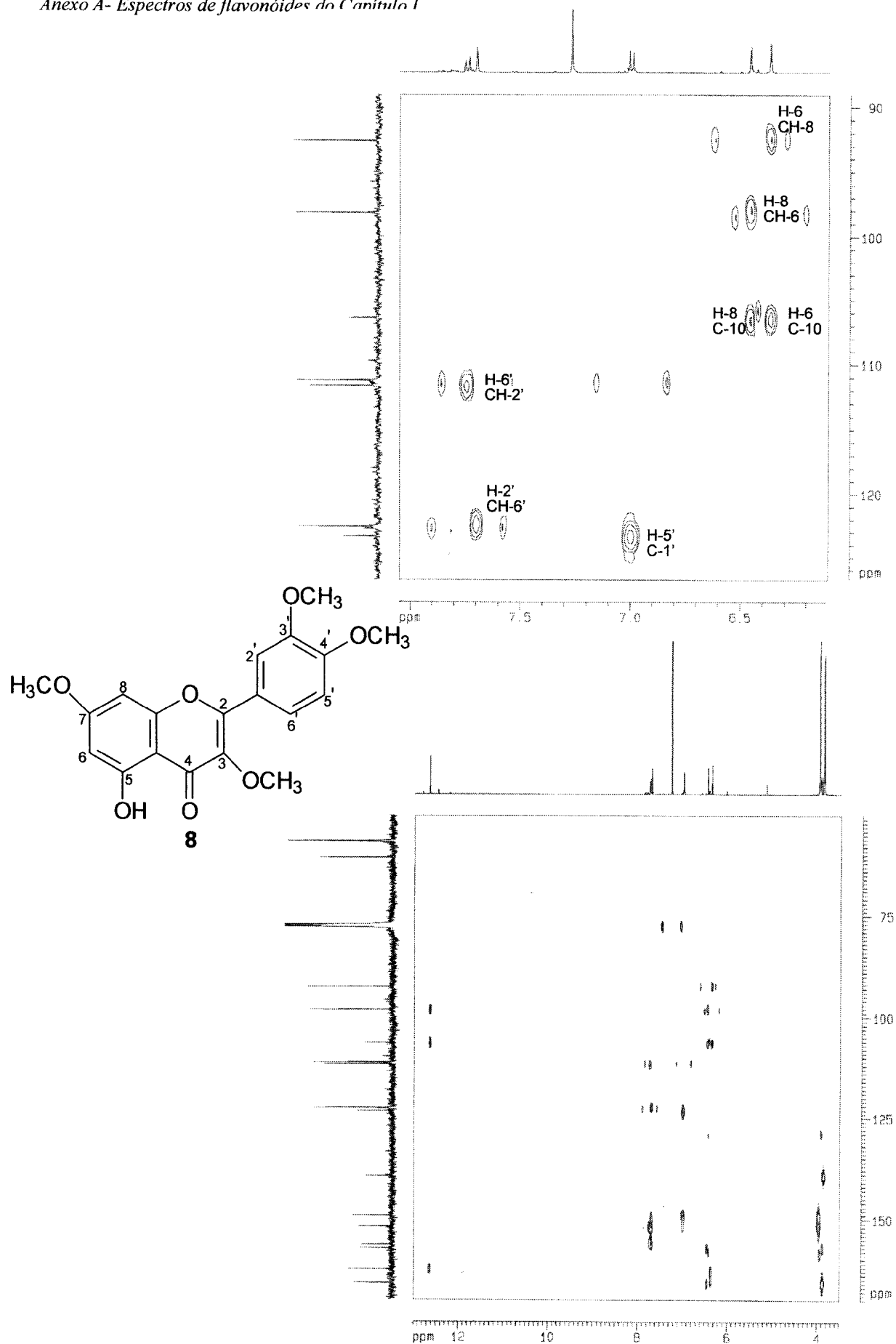


Figura A.44. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl₃) de **8** (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina)

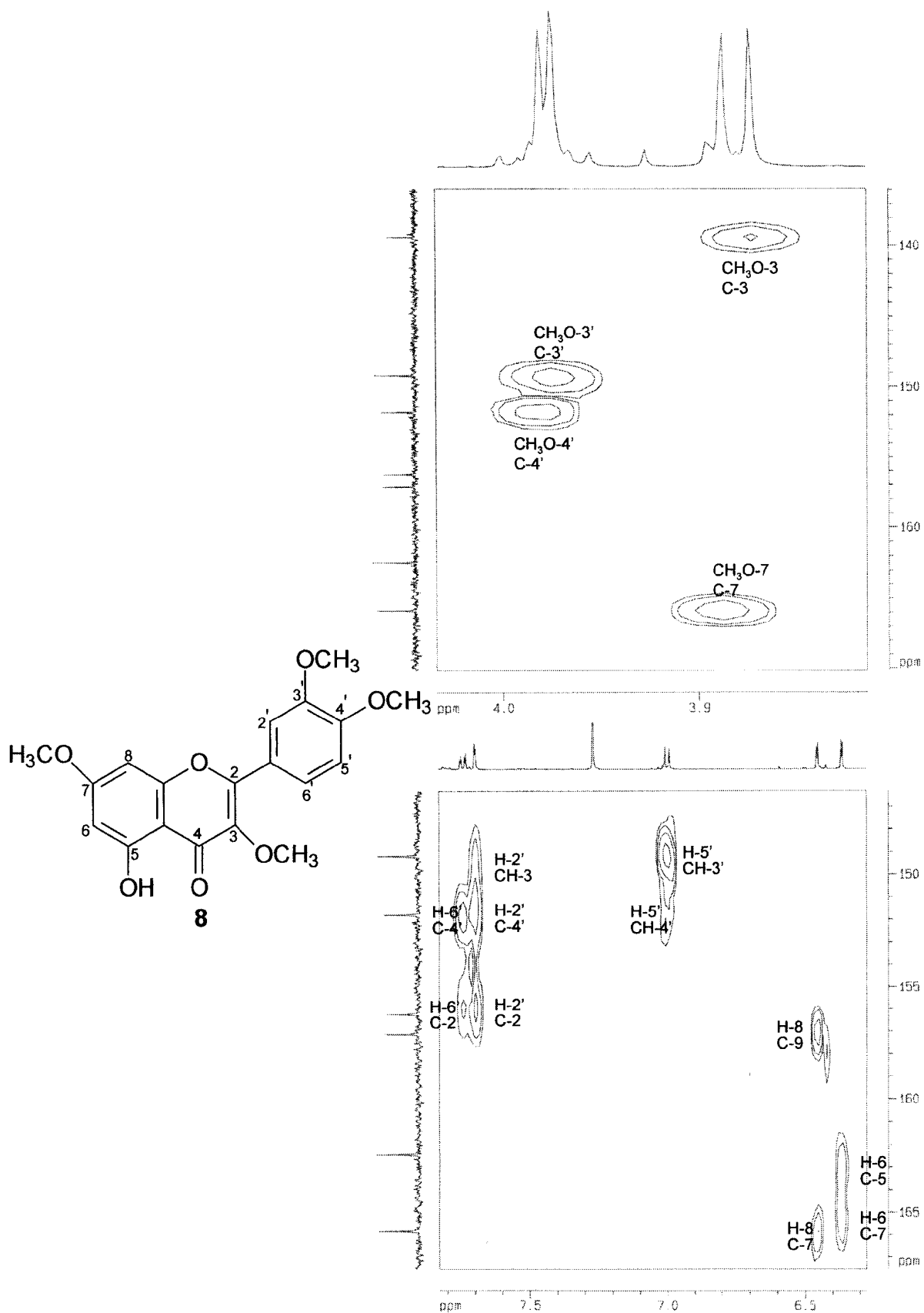


Figura A.45. Expansão do espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl₃) de **8** (3,7,3',4'-O-tetrametilquercetina)

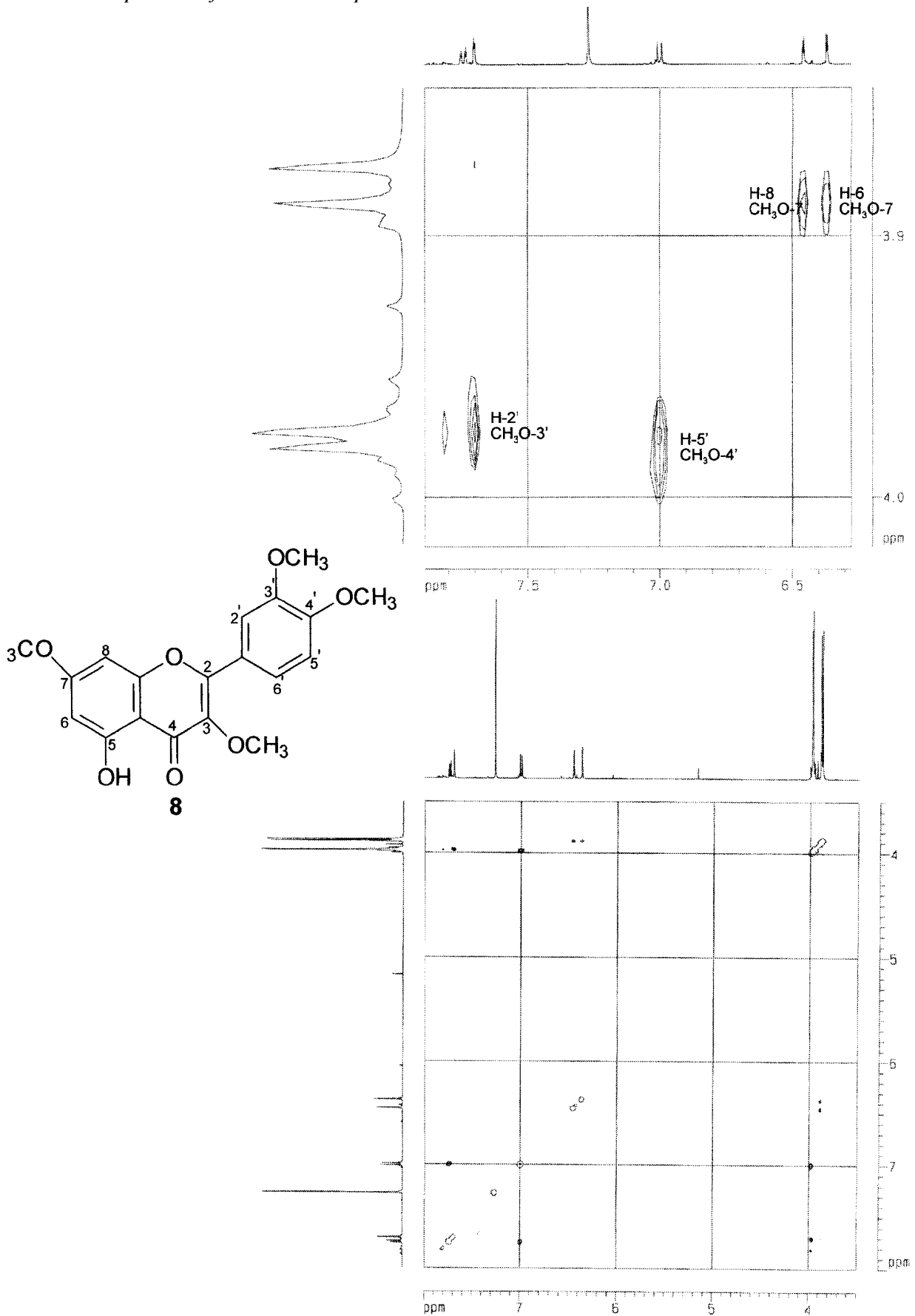


Figura A.46. Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl₃) de **8** (3,7,3',4'-tetrametilquercetina)

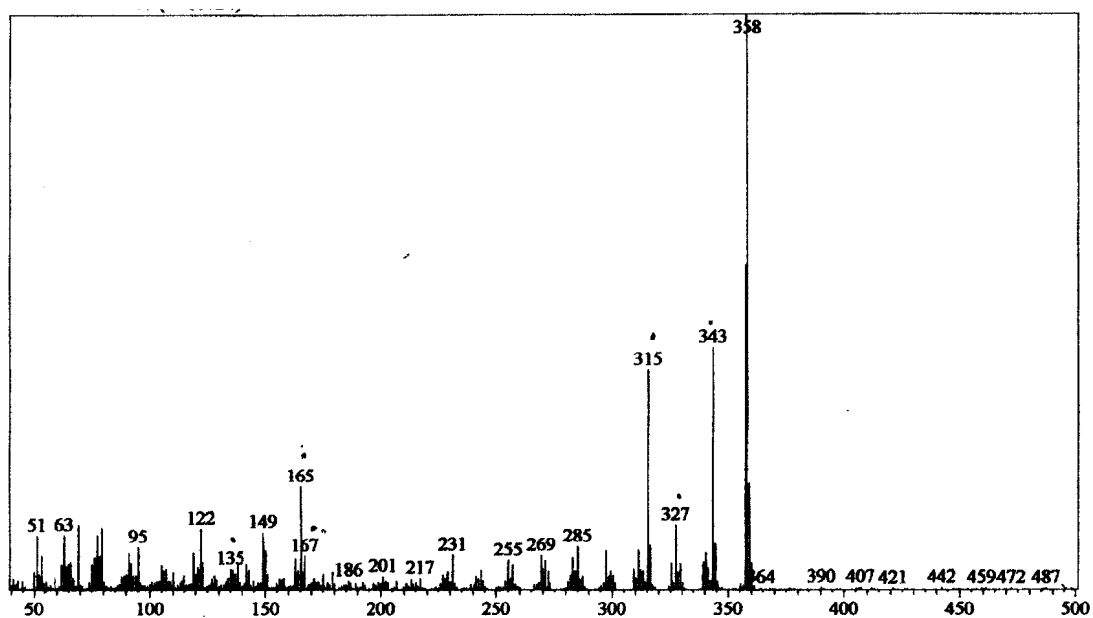
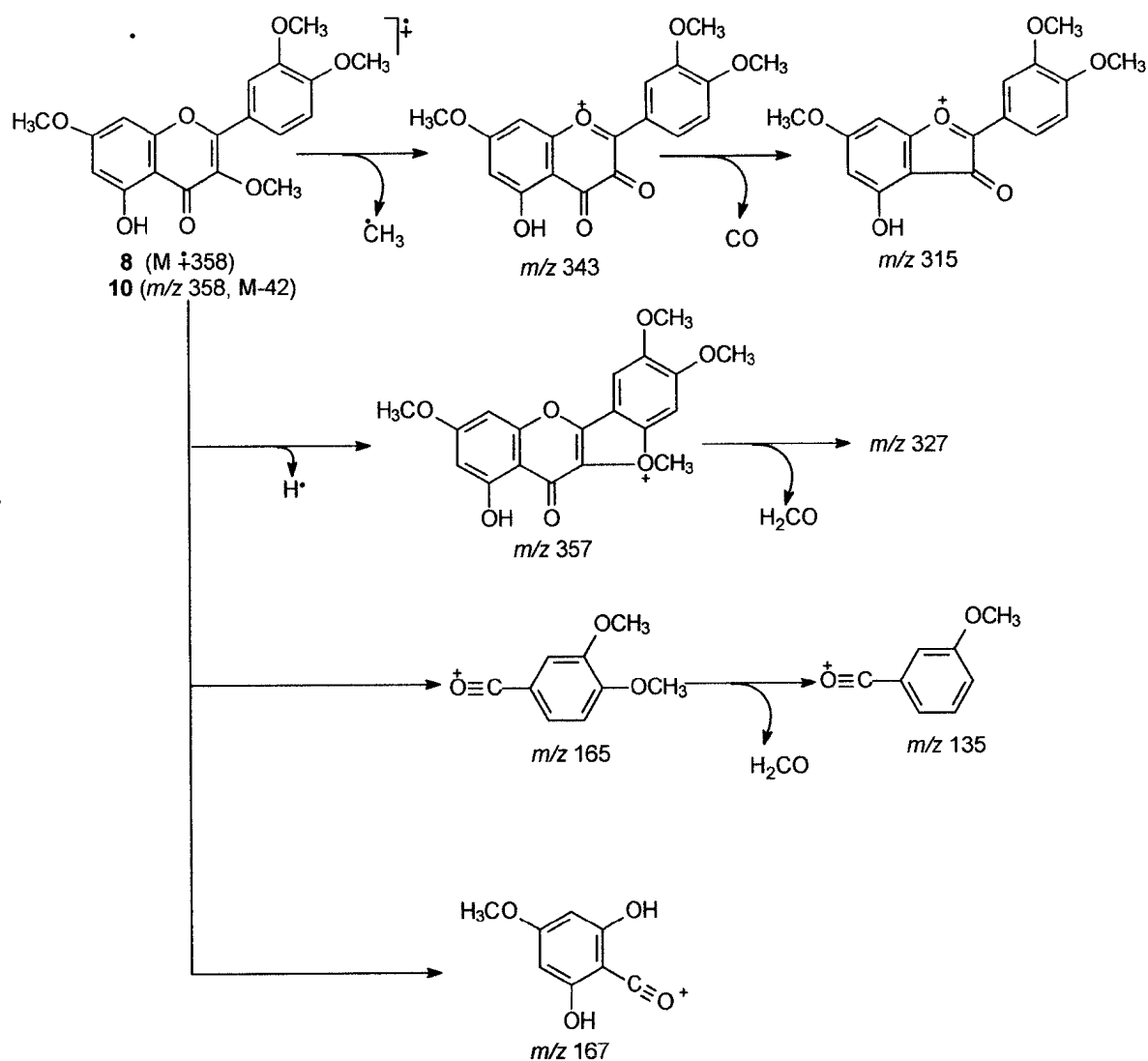


Figura A.47. Espectro de massas de 8 e 10

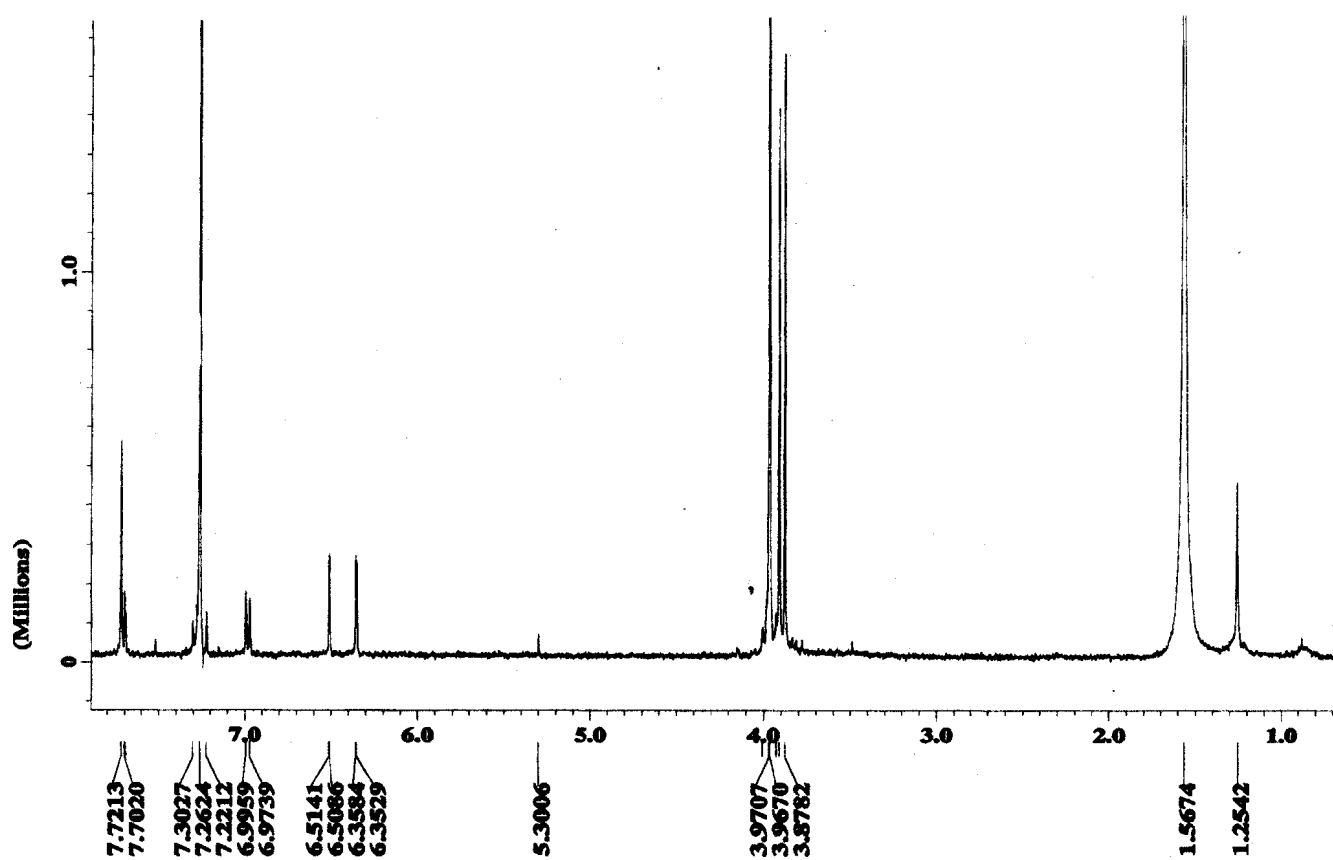
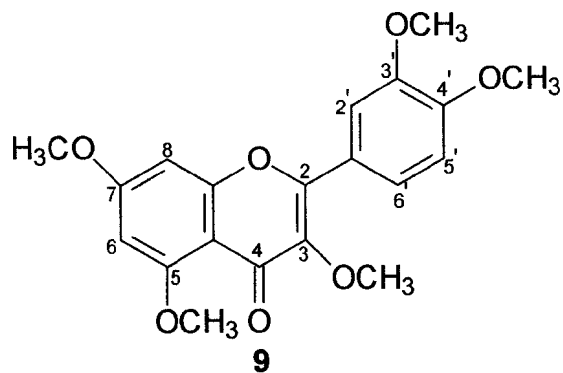


Figura A.48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **9** (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina)

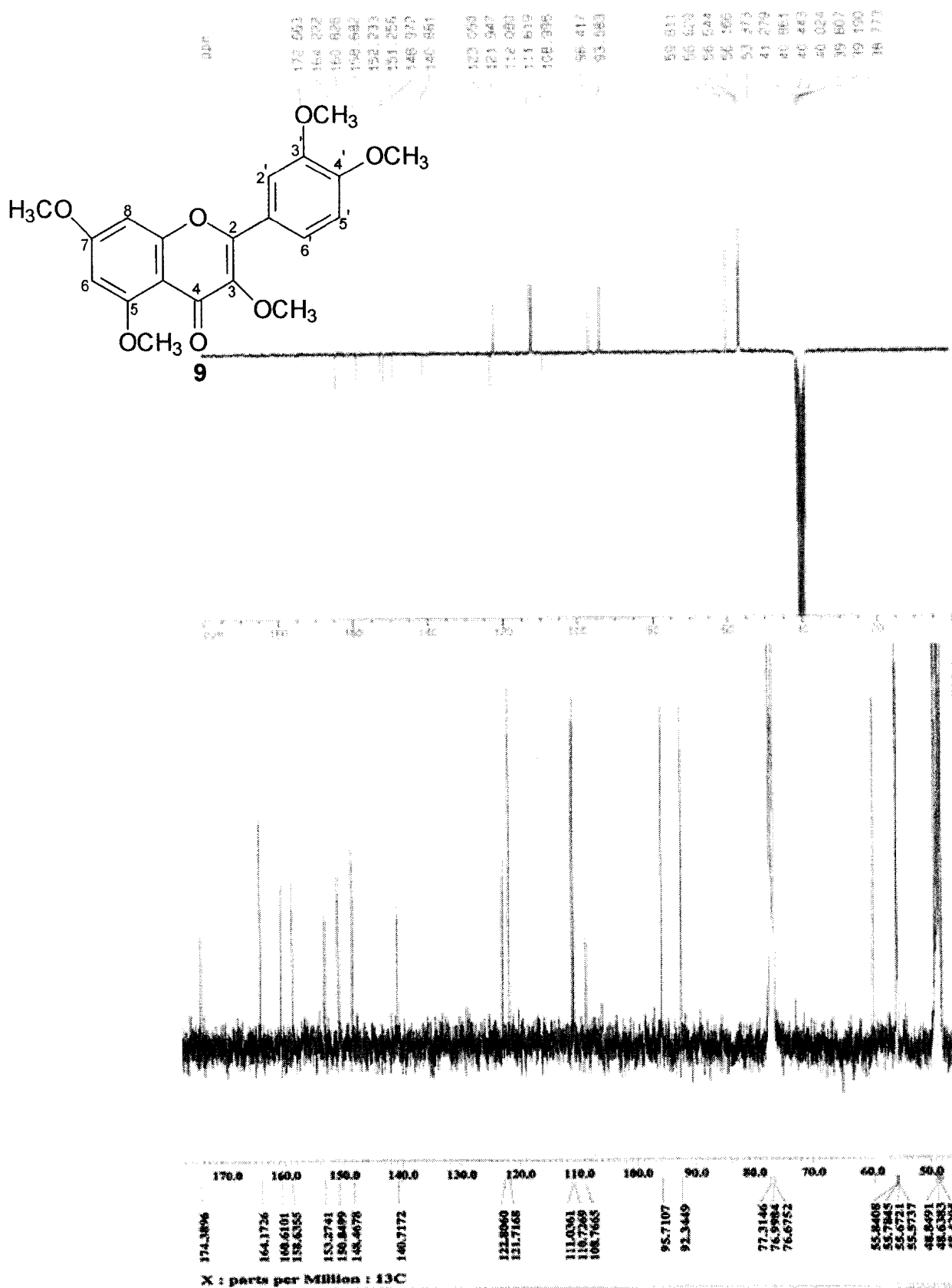


Figura A.49. Espectro de RMN de ¹³C (A) [100 MHz, CDCl₃] e PENDANT (200 MHz, DMSO-d₆) de 9 (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina)

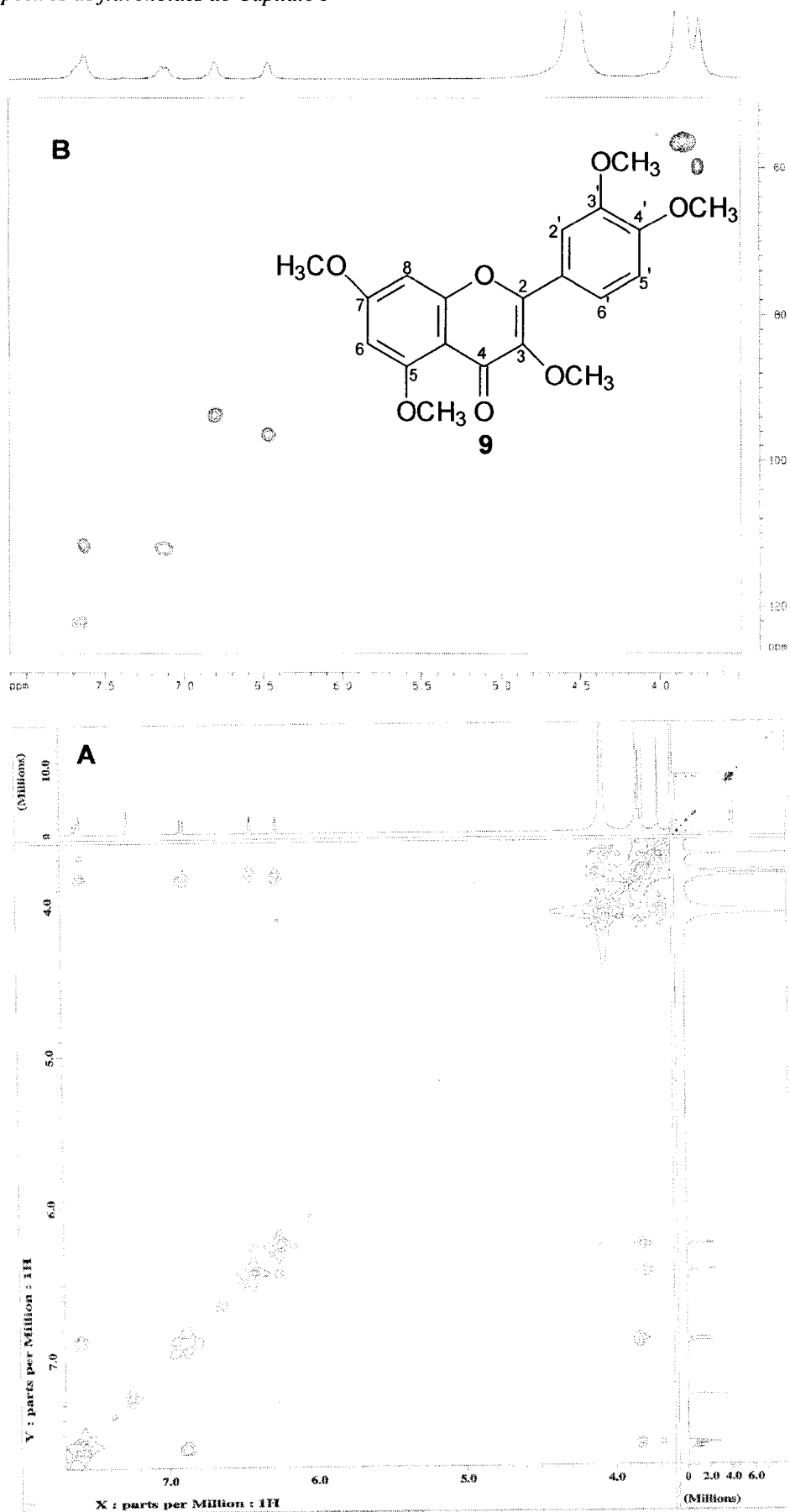


Figura A.50. Espectro de NOESY (A) [400 MHz, CDCl_3] e RMN HMQC (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 9 (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina)

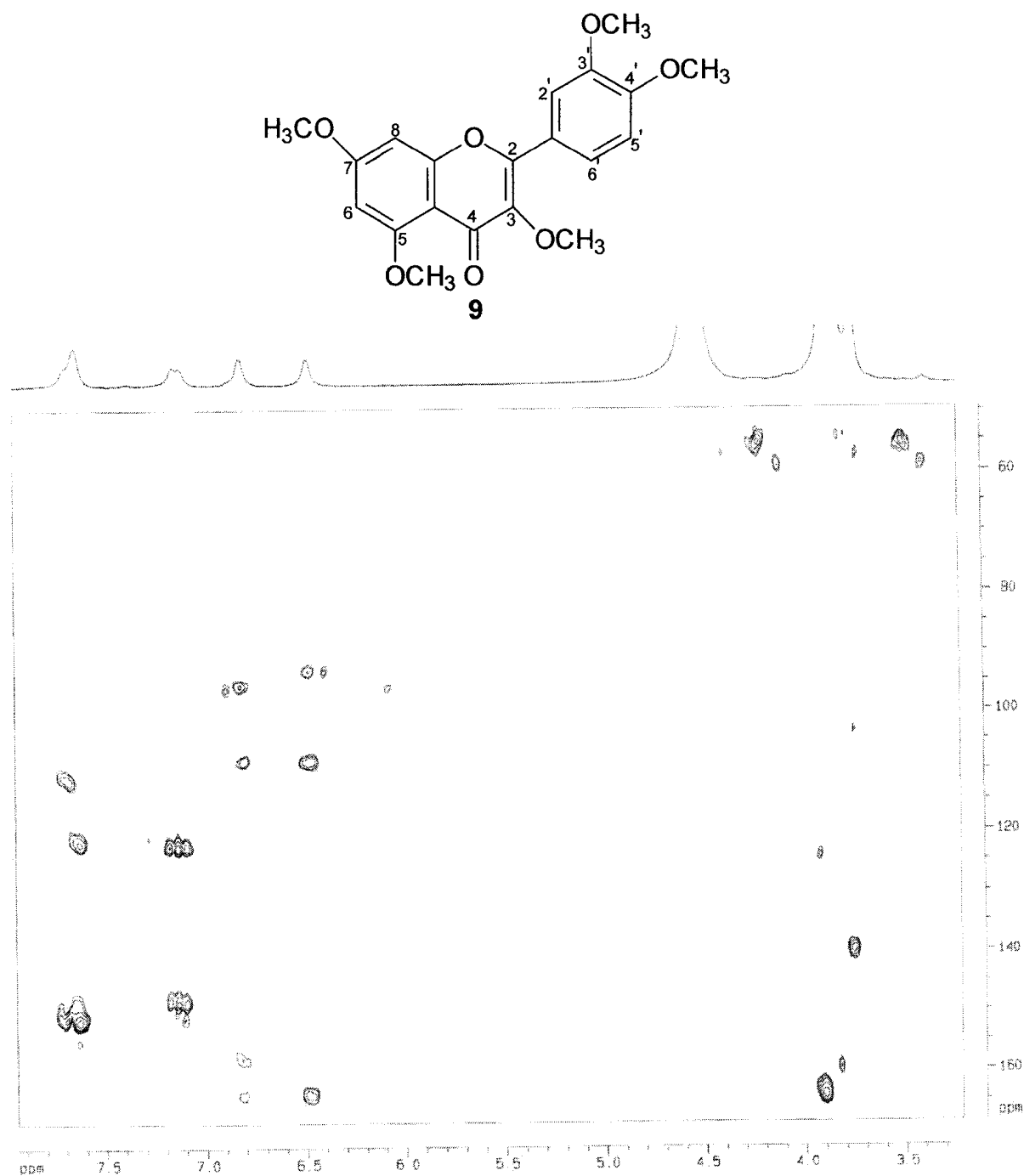


Figura A.51. Espectro de RMN HMBC (200 MHz, DMSO-*d*₆) de **9** (3,5,7,3',4'-O-pentametilquercetina)

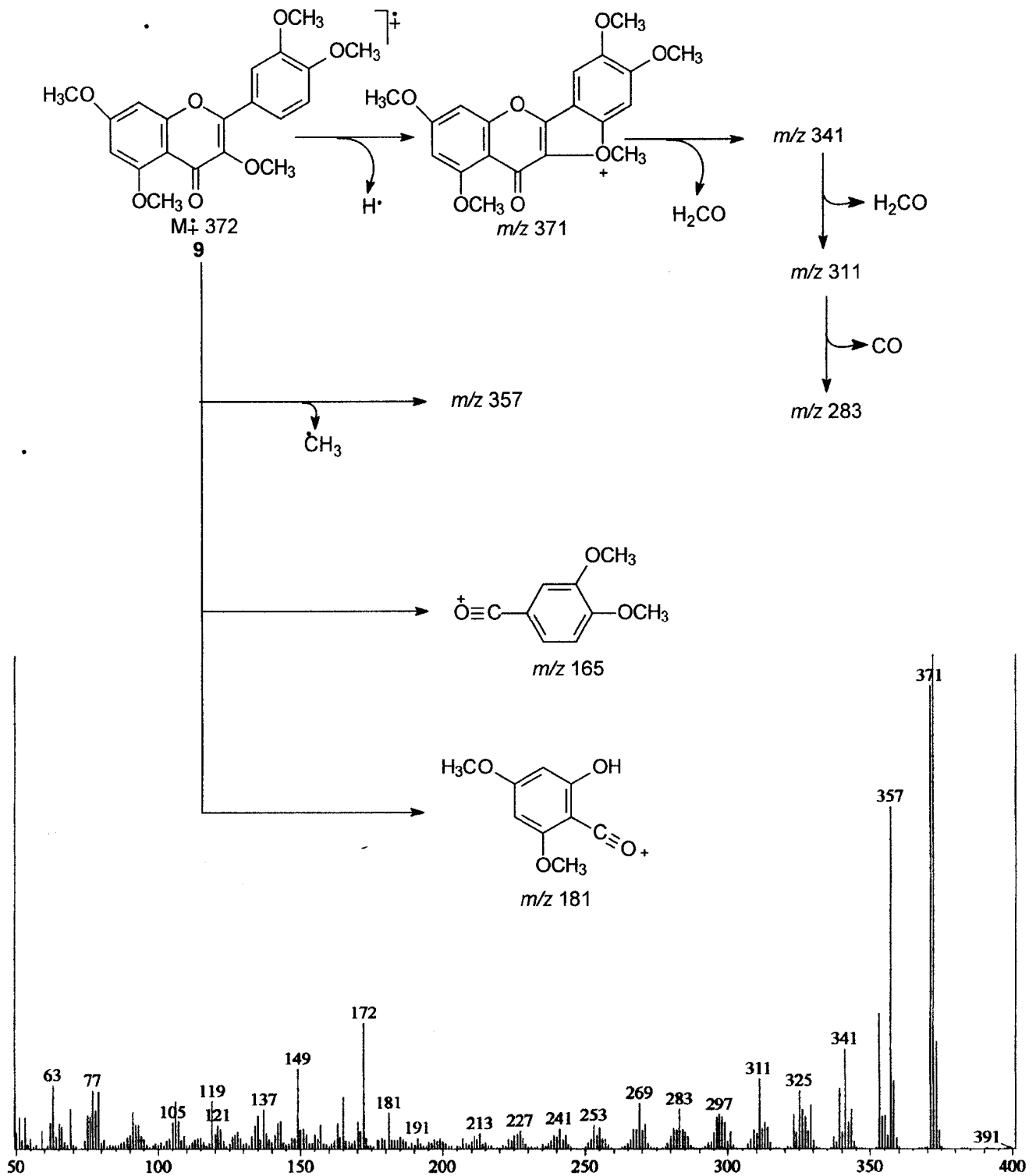


Figura A.52. Espectro de massas de 9

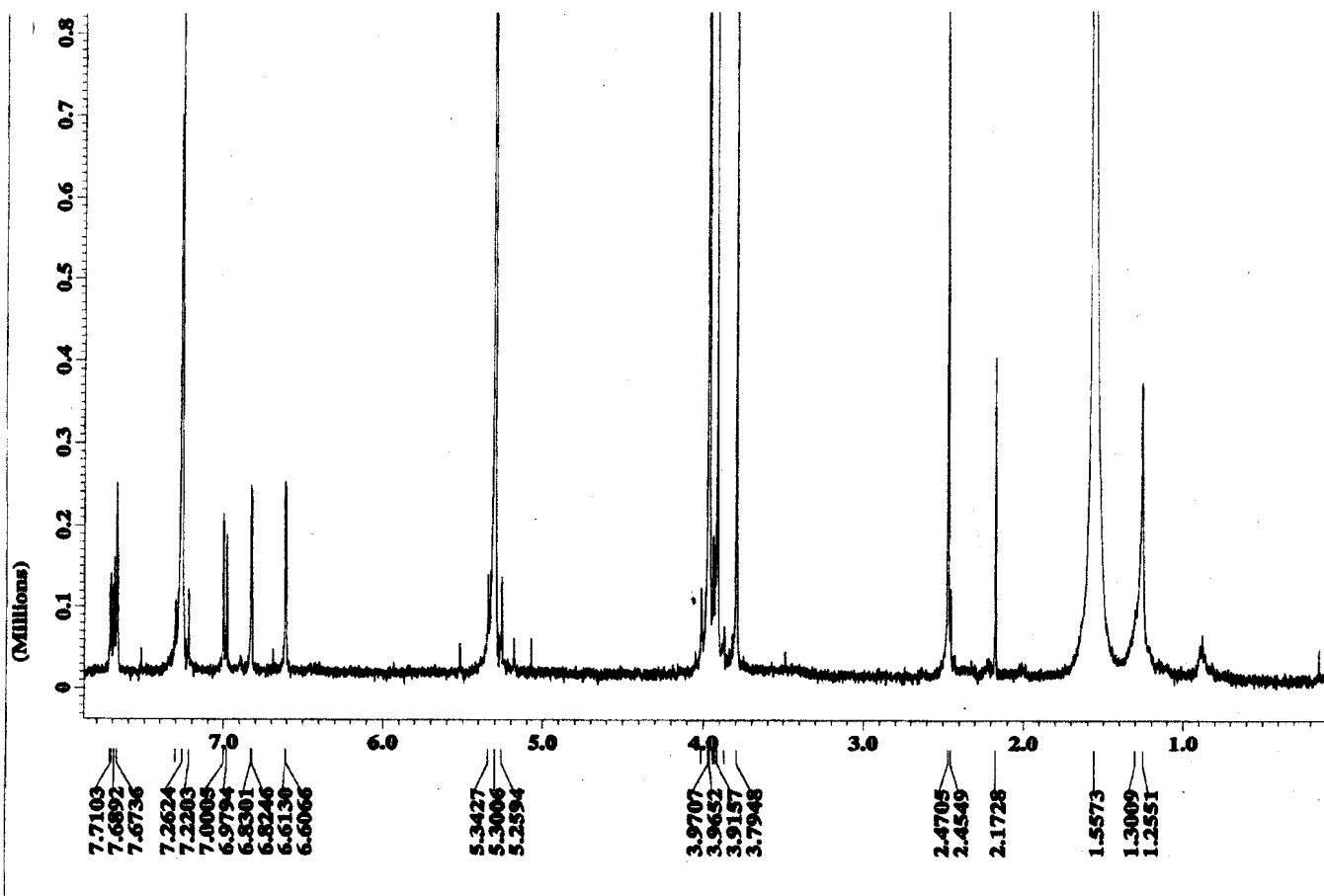
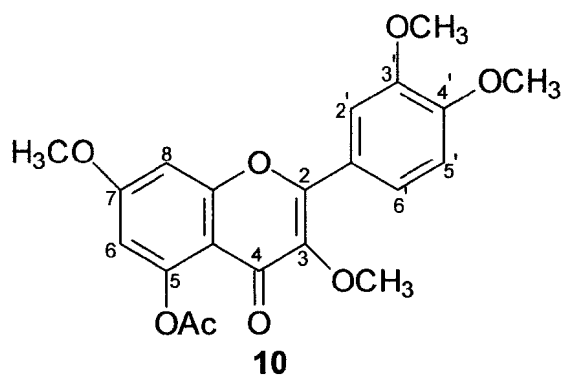


Figura A.53. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 10

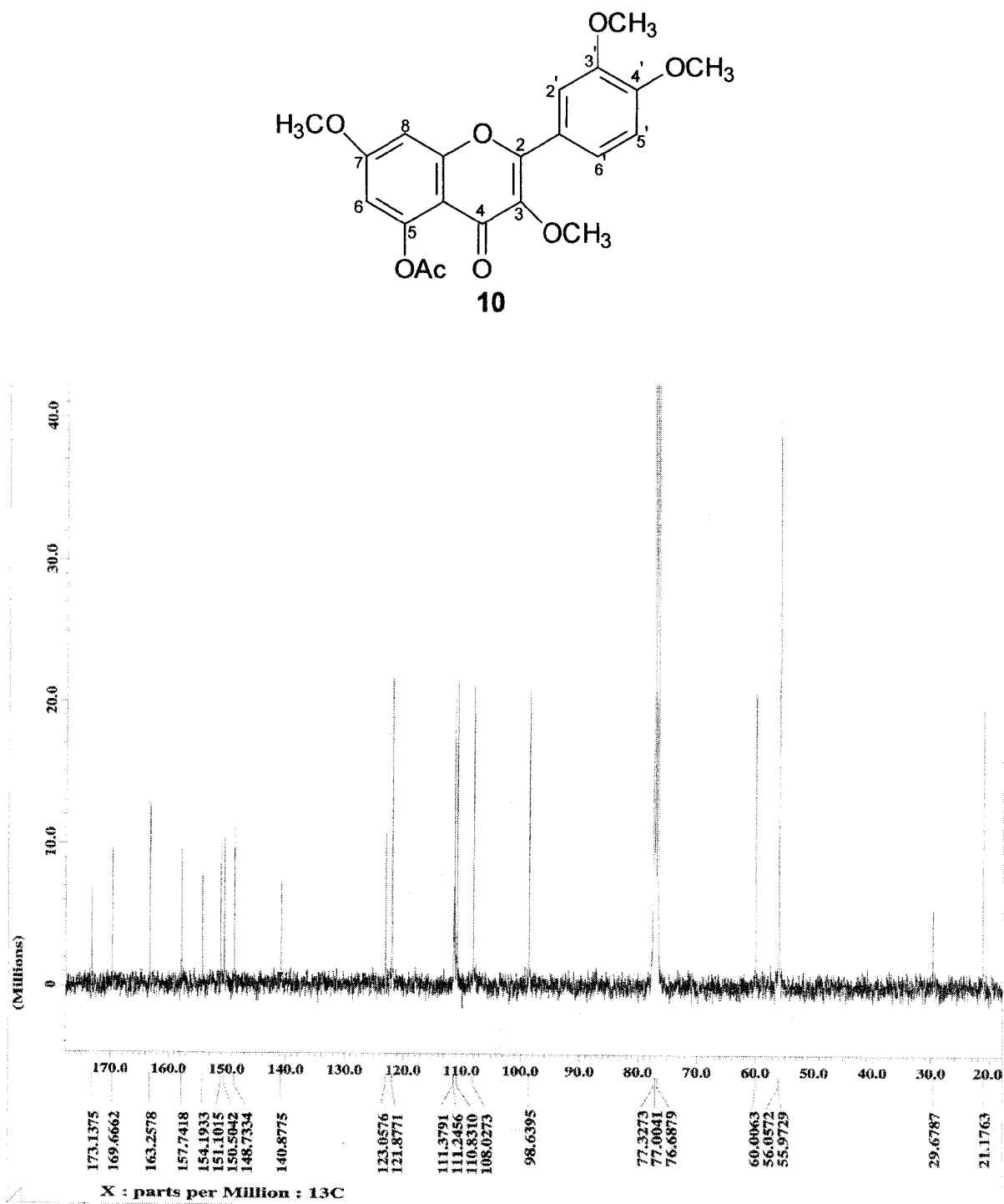


Figura A.54. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 10

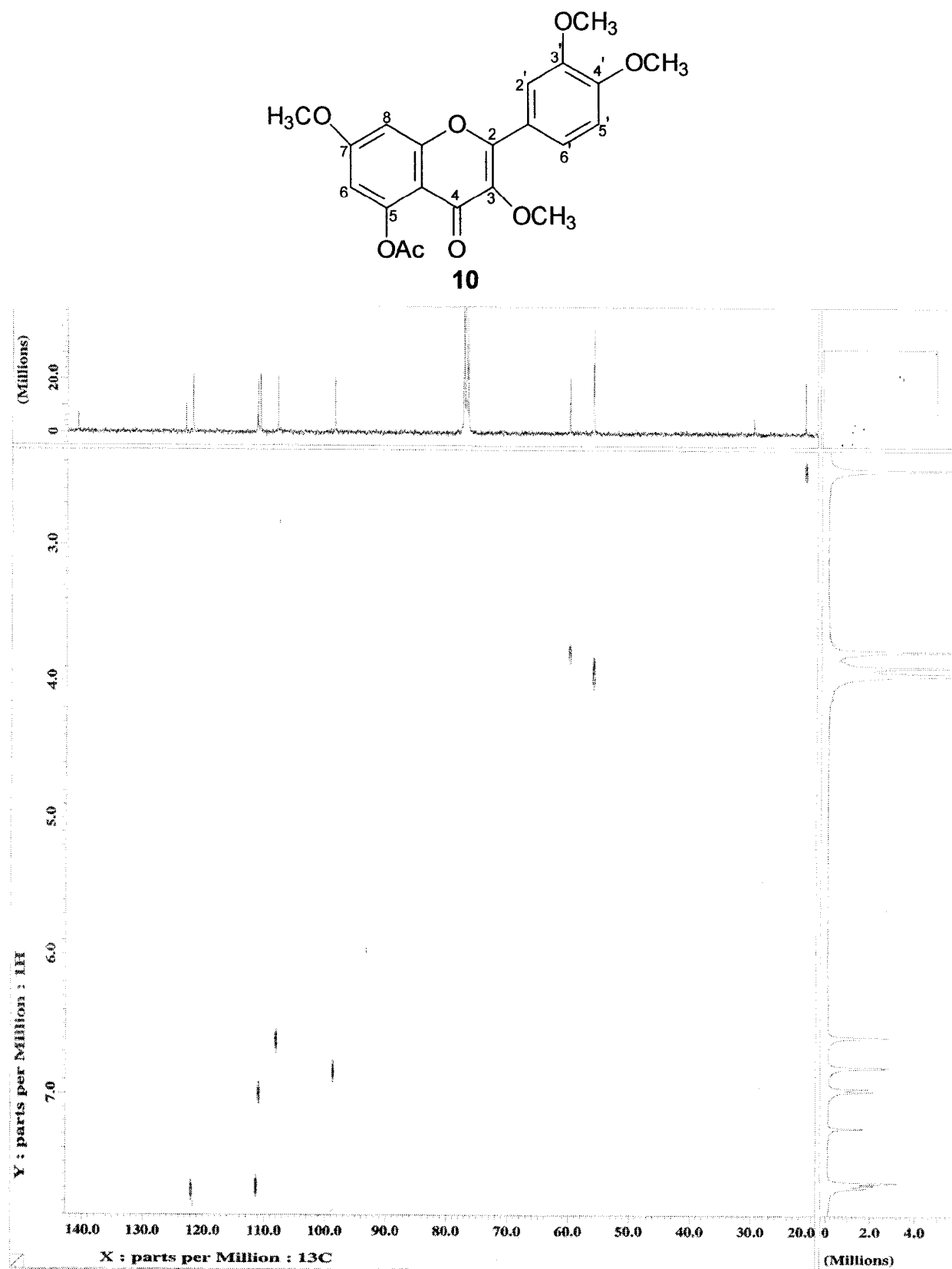


Figura A.55. Espectro de RMN HMQC (400 MHz, CDCl_3) de **10**

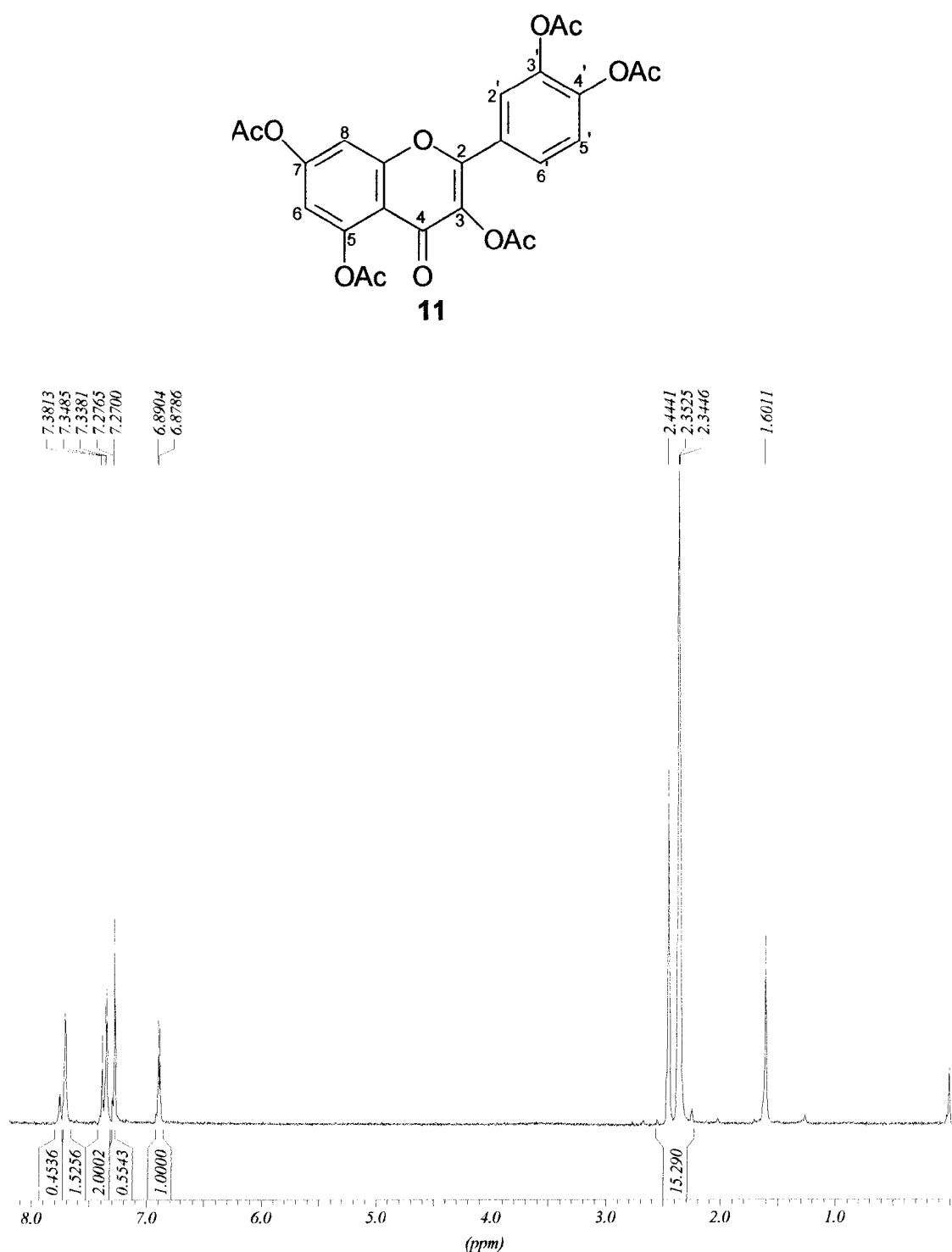


Figura A.56. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **11** (quercetina peracetilada)

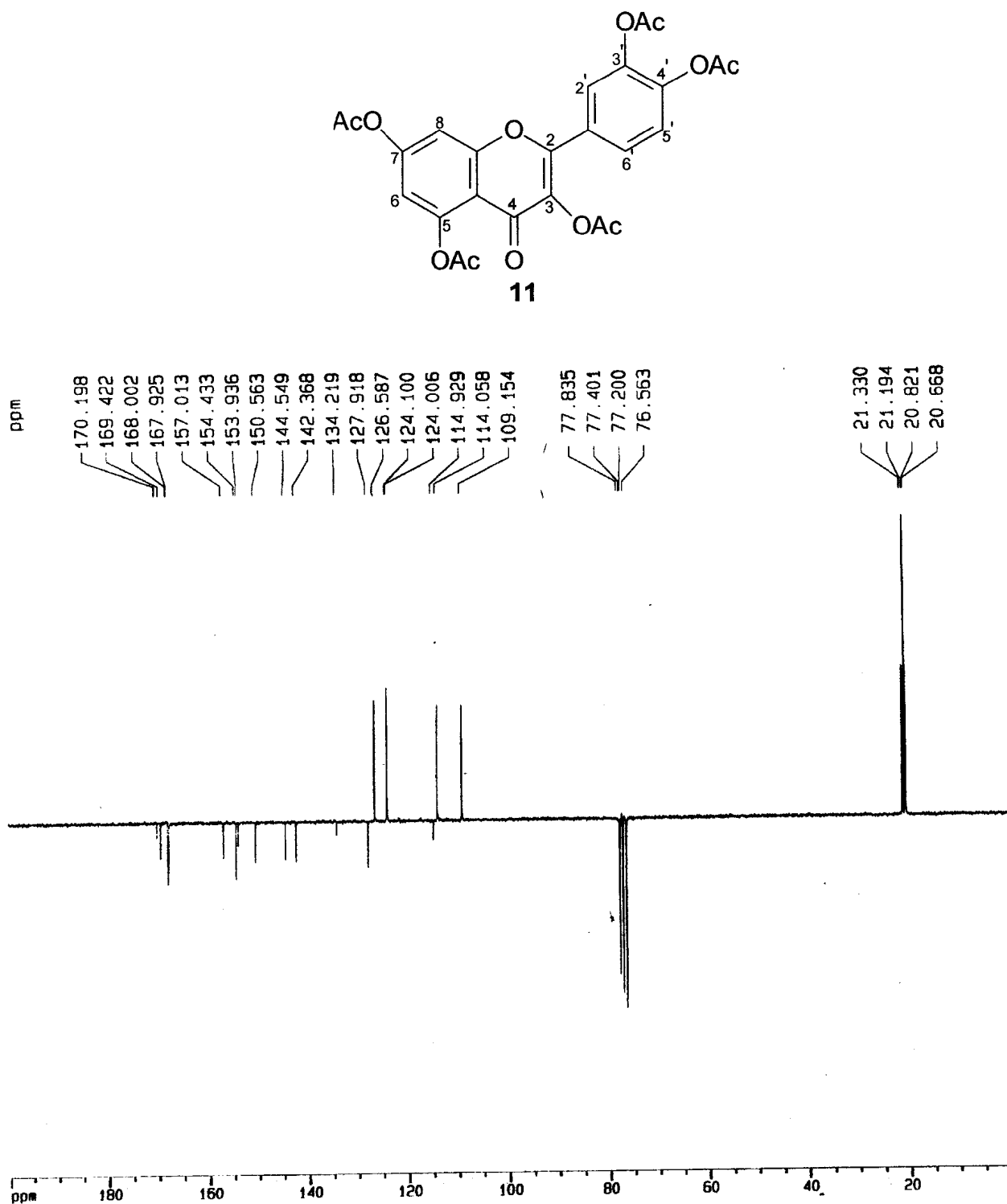


Figura A.57. Espectro de PENDANT (50 MHz, $CDCl_3$) de 11 (quercetina peracetilada)

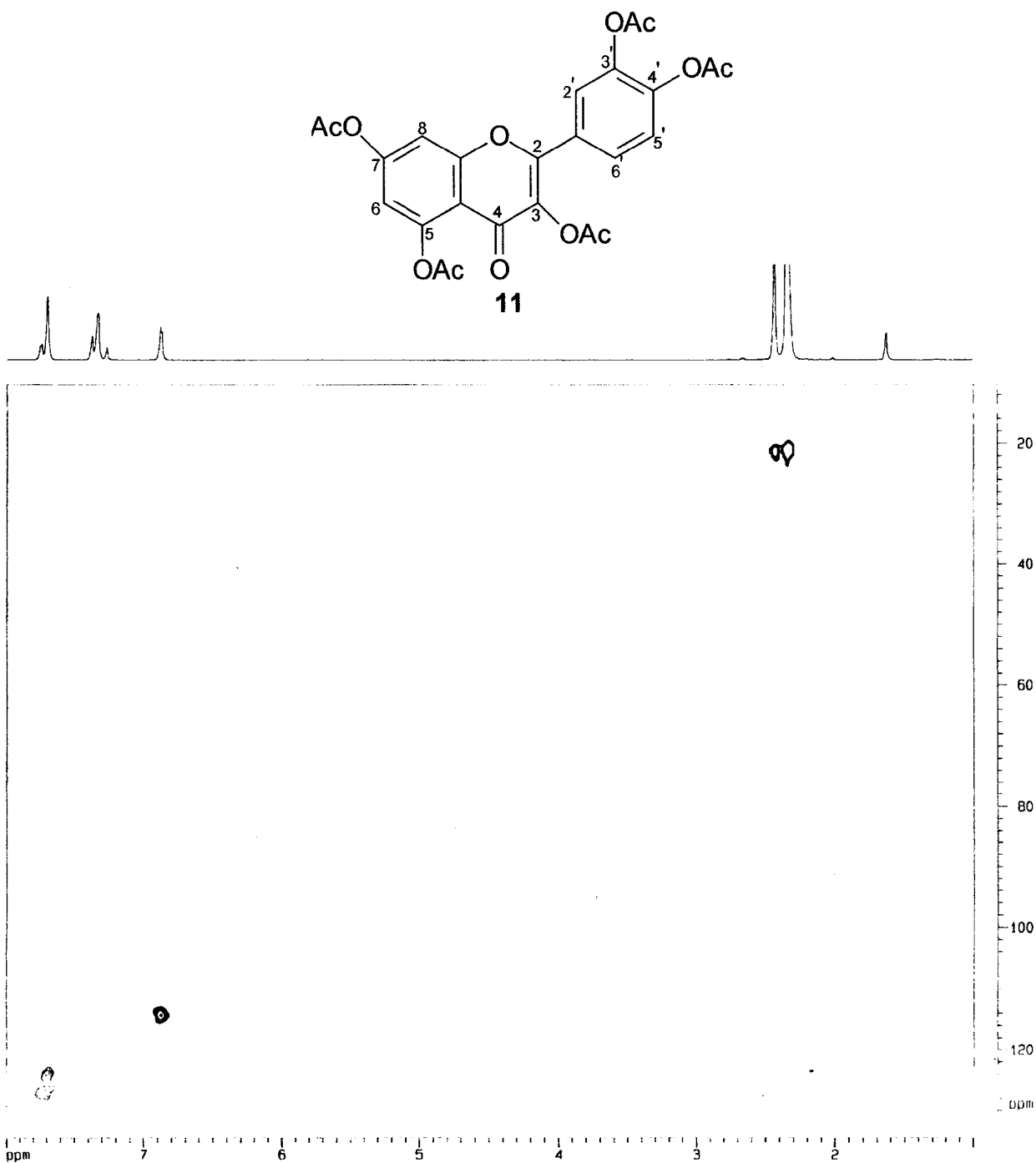


Figura A.58. Espectro de RMN HMQC (400 MHz, CDCl₃) de **11** (quercetina peracetilada)

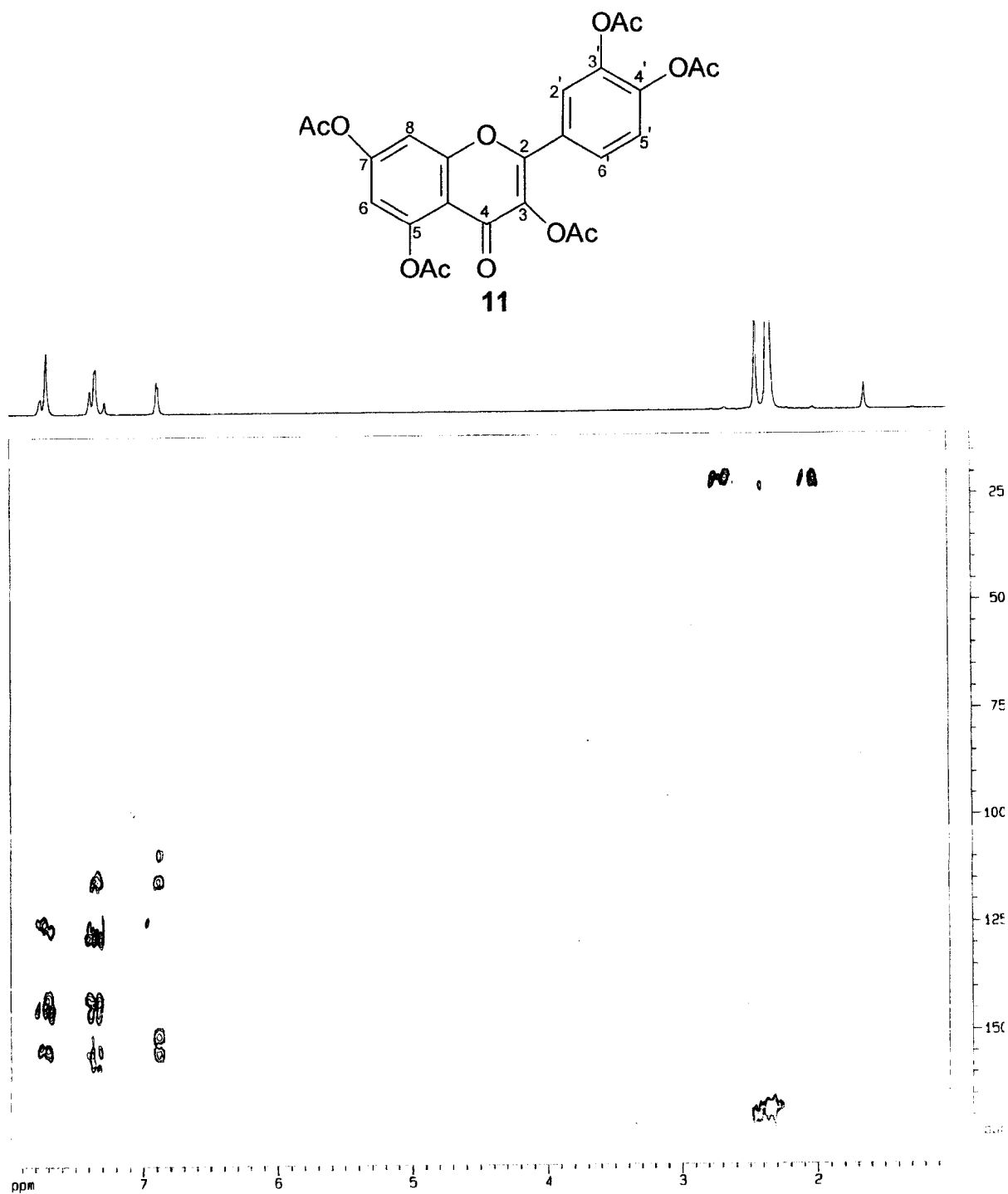


Figura A.59. Espectro de RMN HMBC (400 MHz, CDCl_3) de 11 (quercetina peracetilada)

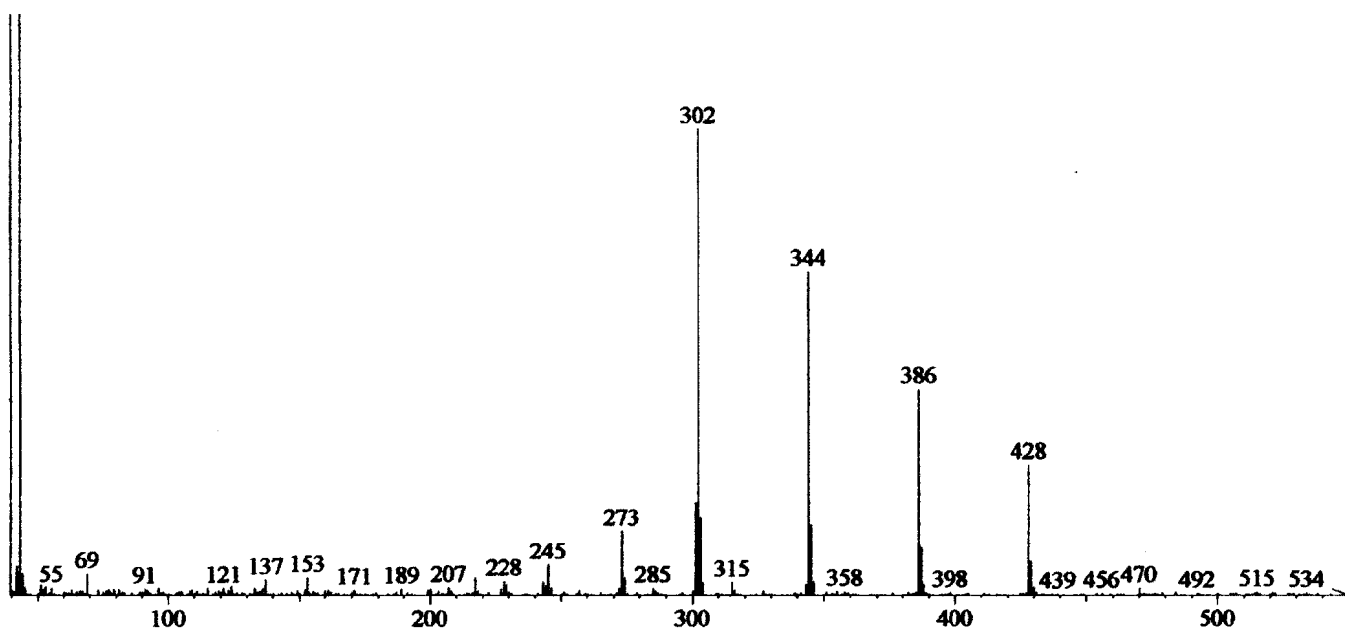
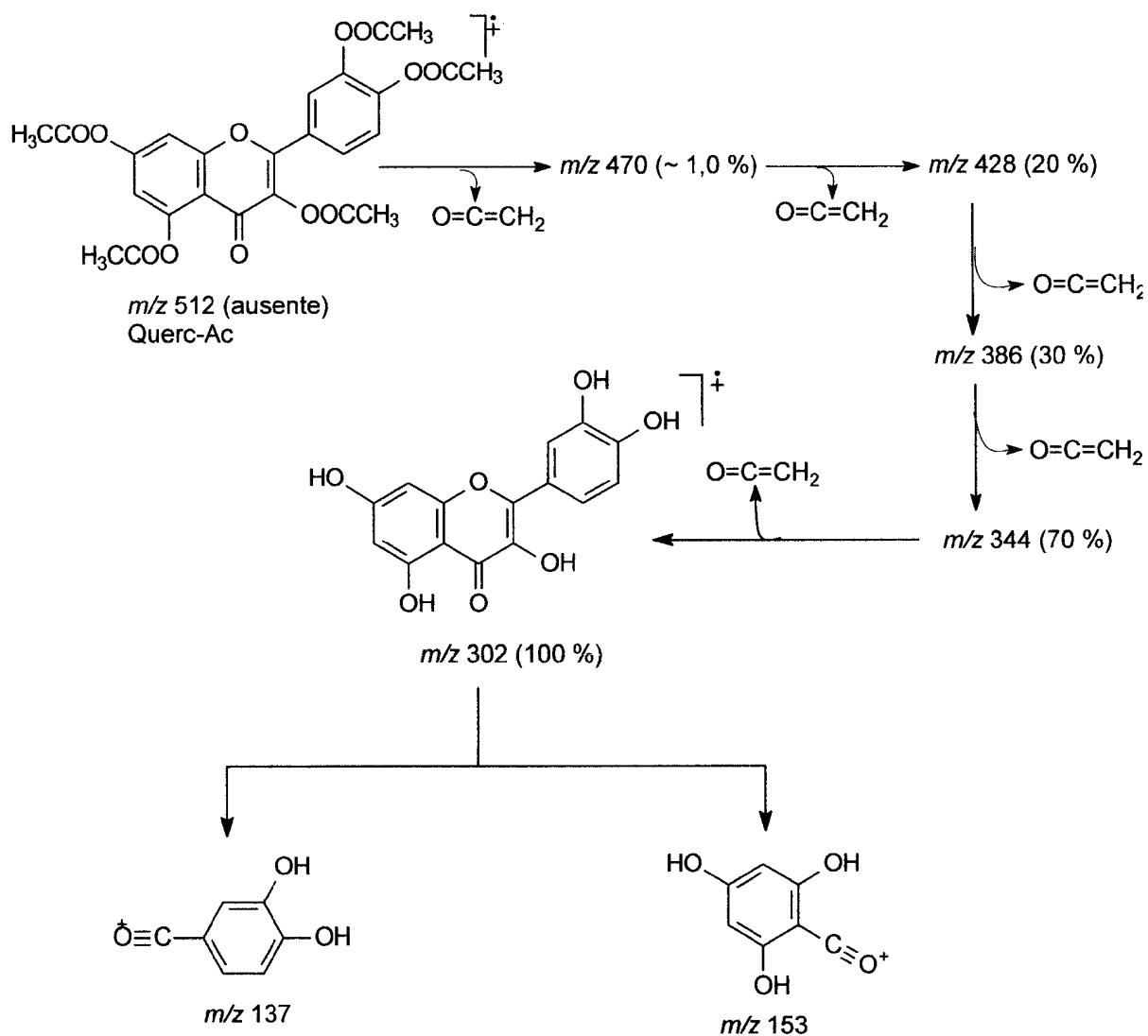


Figura A.60. Espectro de massas de 11 (quercetina peracetilada)

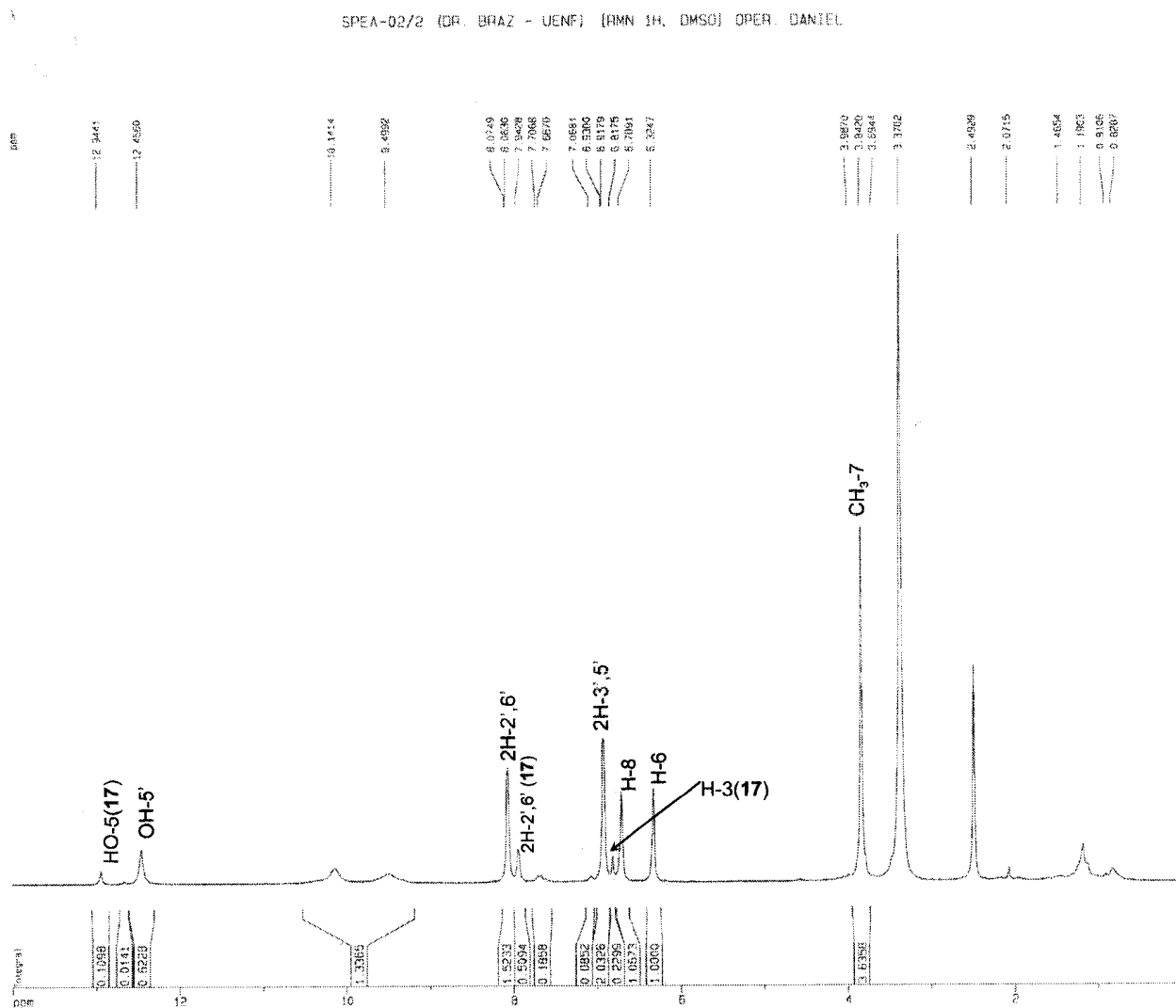
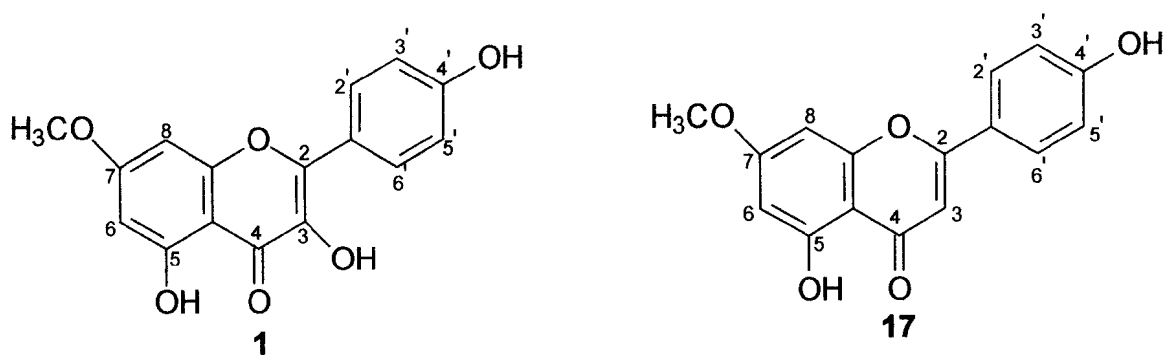


Figura A.61. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) da mistura **1** (7-O-metilkanferol) e **17** (7-O-metilapigenina)

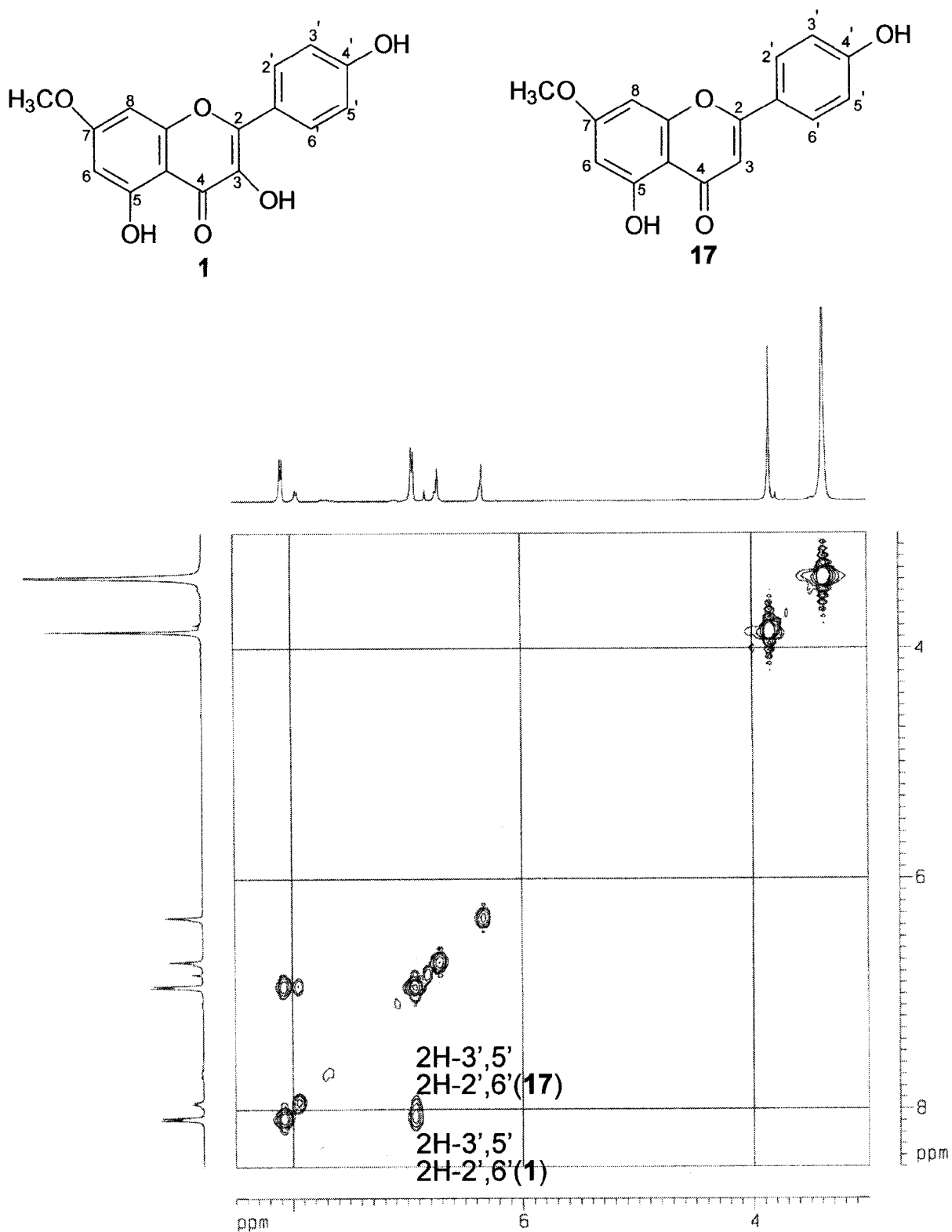


Figura A.62. Espectro de RMN COSY (500 MHz, DMSO-d₆) da mistura **1** (7-O-metilkanferol) e **17** (7-O-metilapigenina)

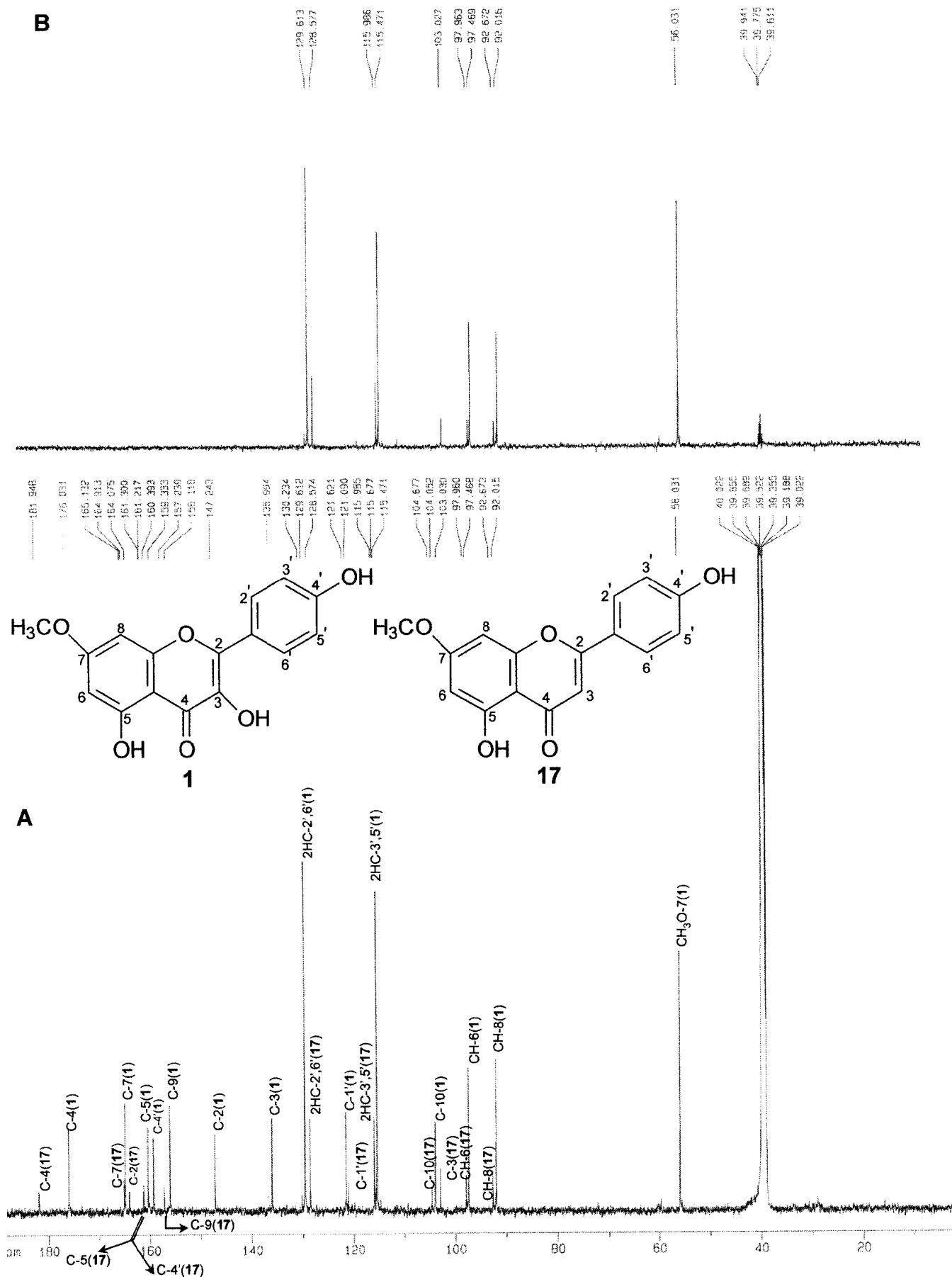


Figura A.63. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT 135° (B) [125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] da mistura **1** (7-O-metilkanferol) e **17** (7-O-metilapigenina)

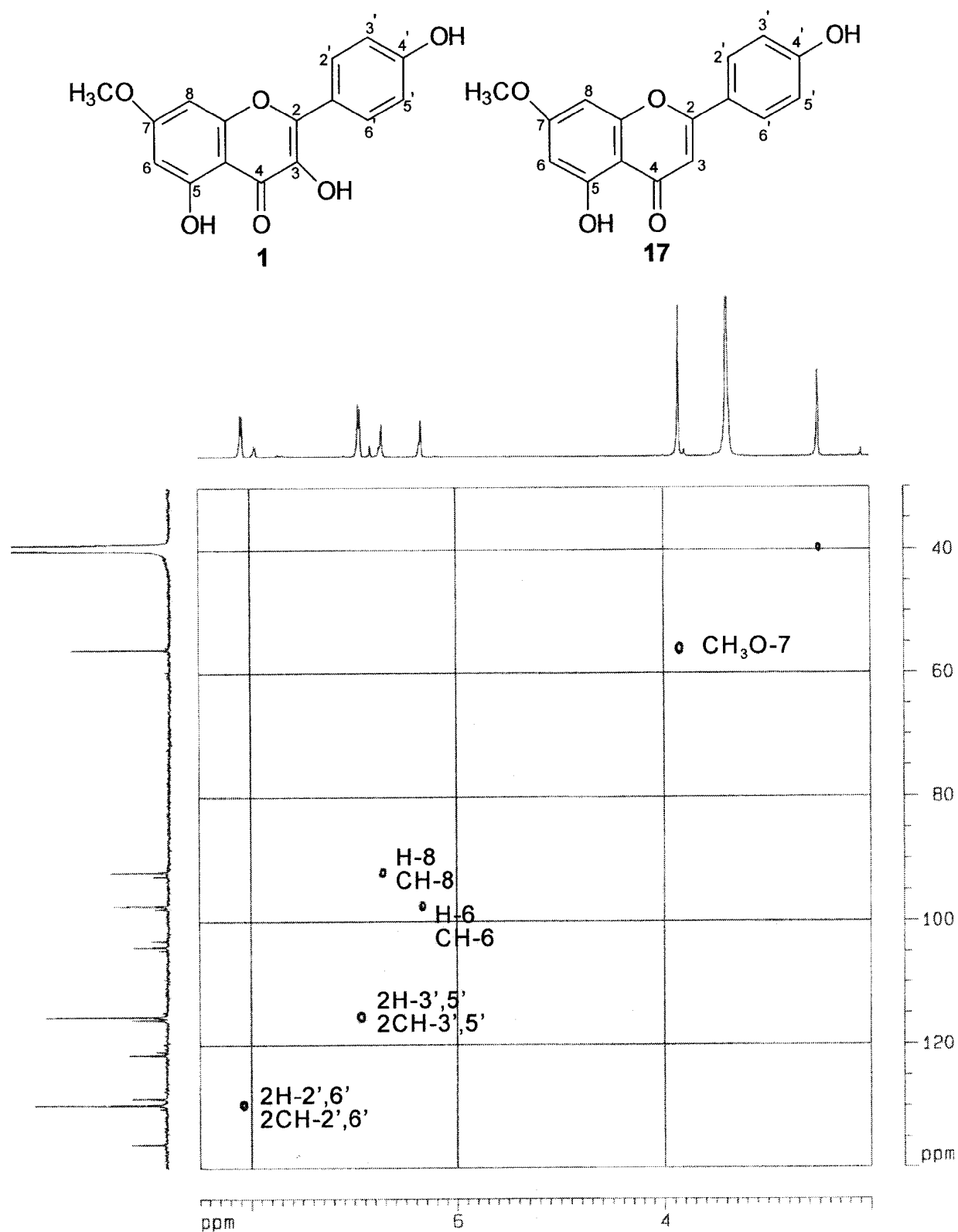


Figura A.64. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, DMSO-*d*₆) da mistura 1 (7-O-metilkanferol) e 17 (7-O-metilapigenina)

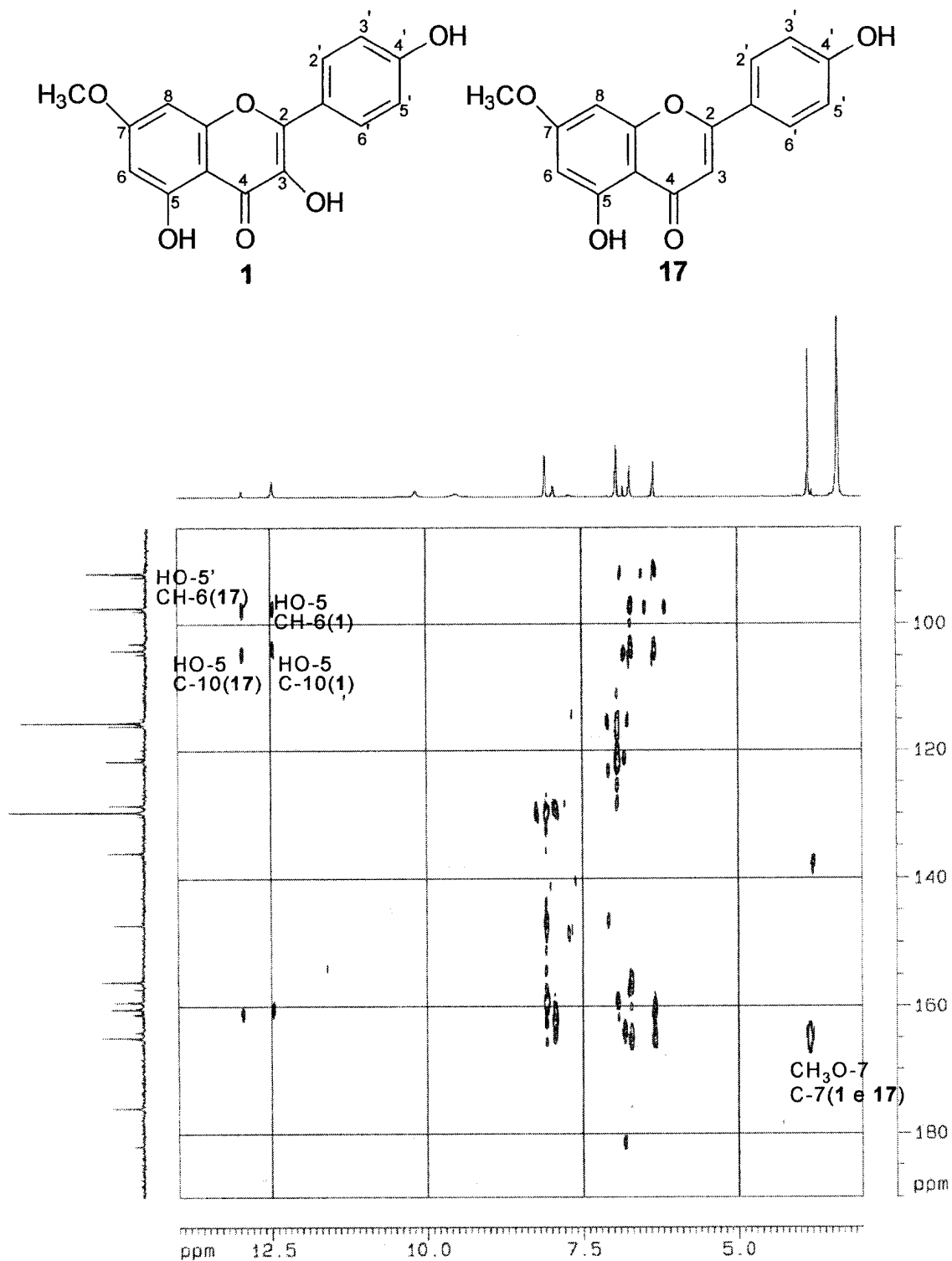


Figura A.65. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) da mistura **1** (7-O-metilkanferol) e **17** (7-O-metilapigenina)

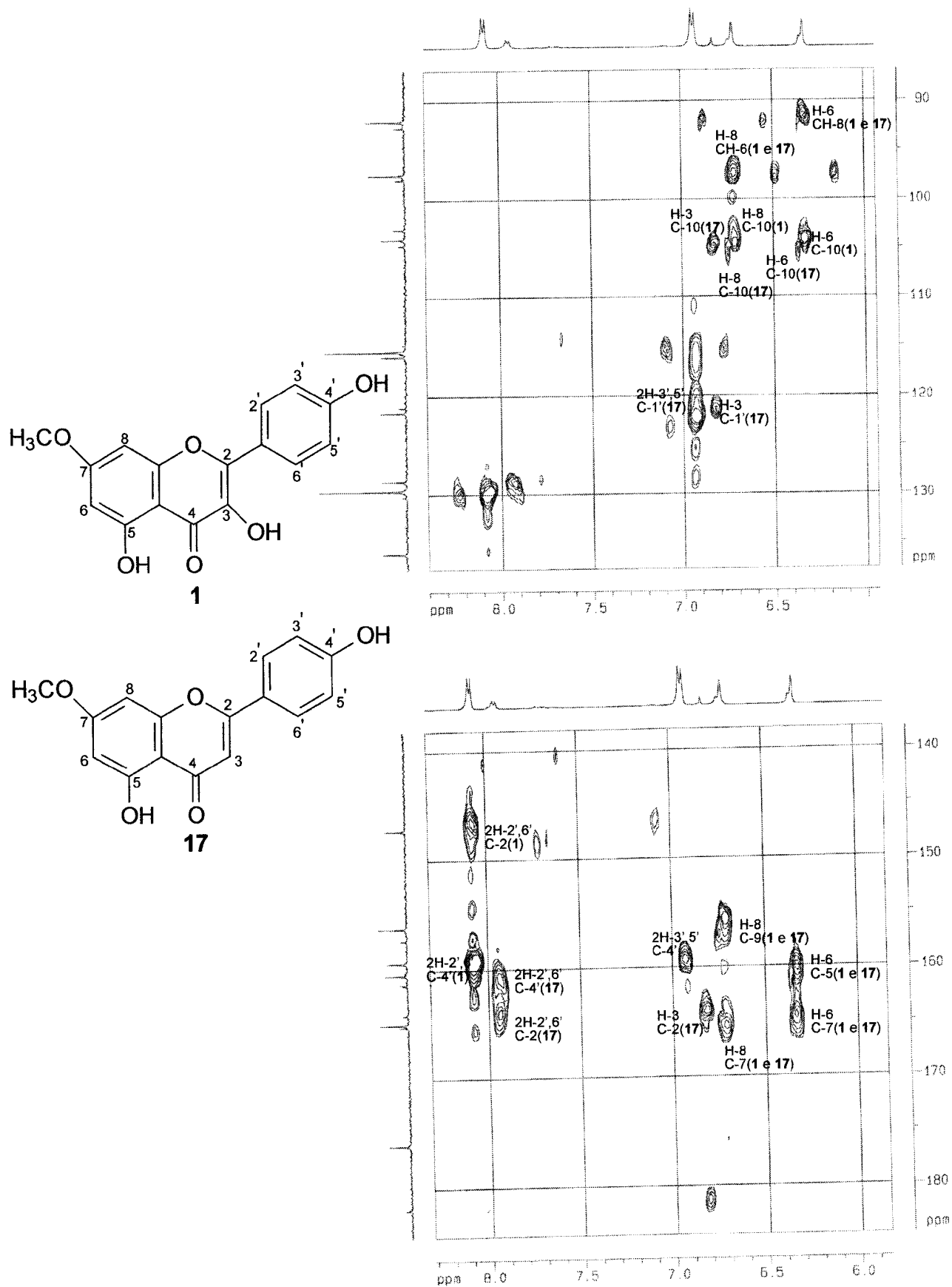


Figura A.66. Expansão do espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) da mistura 1 (7-O-metilkanferol) e 17 (7-O-metilapigenina)

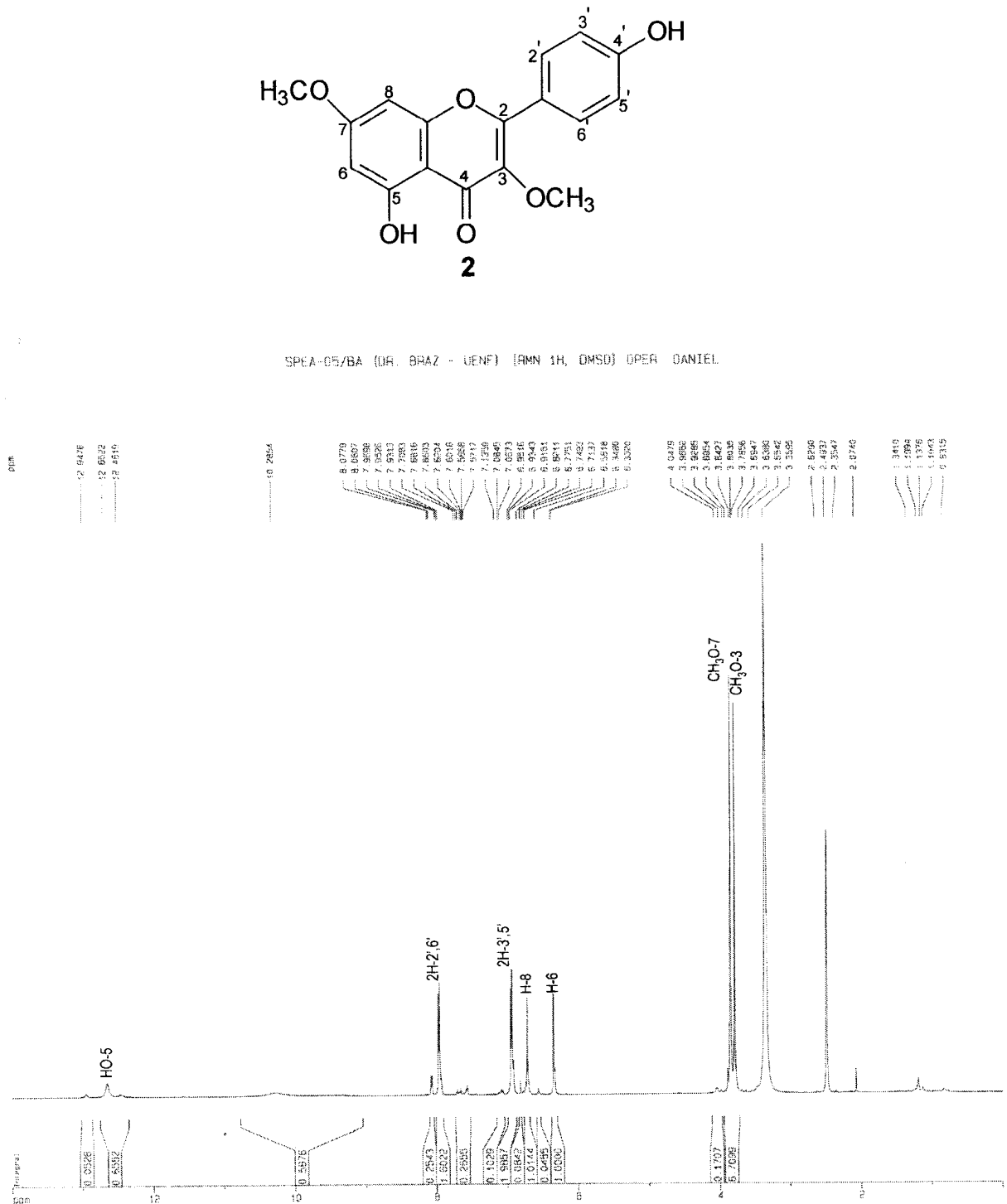


Figura A.67. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) de 2 (3,7-di-O-metilkanferol)

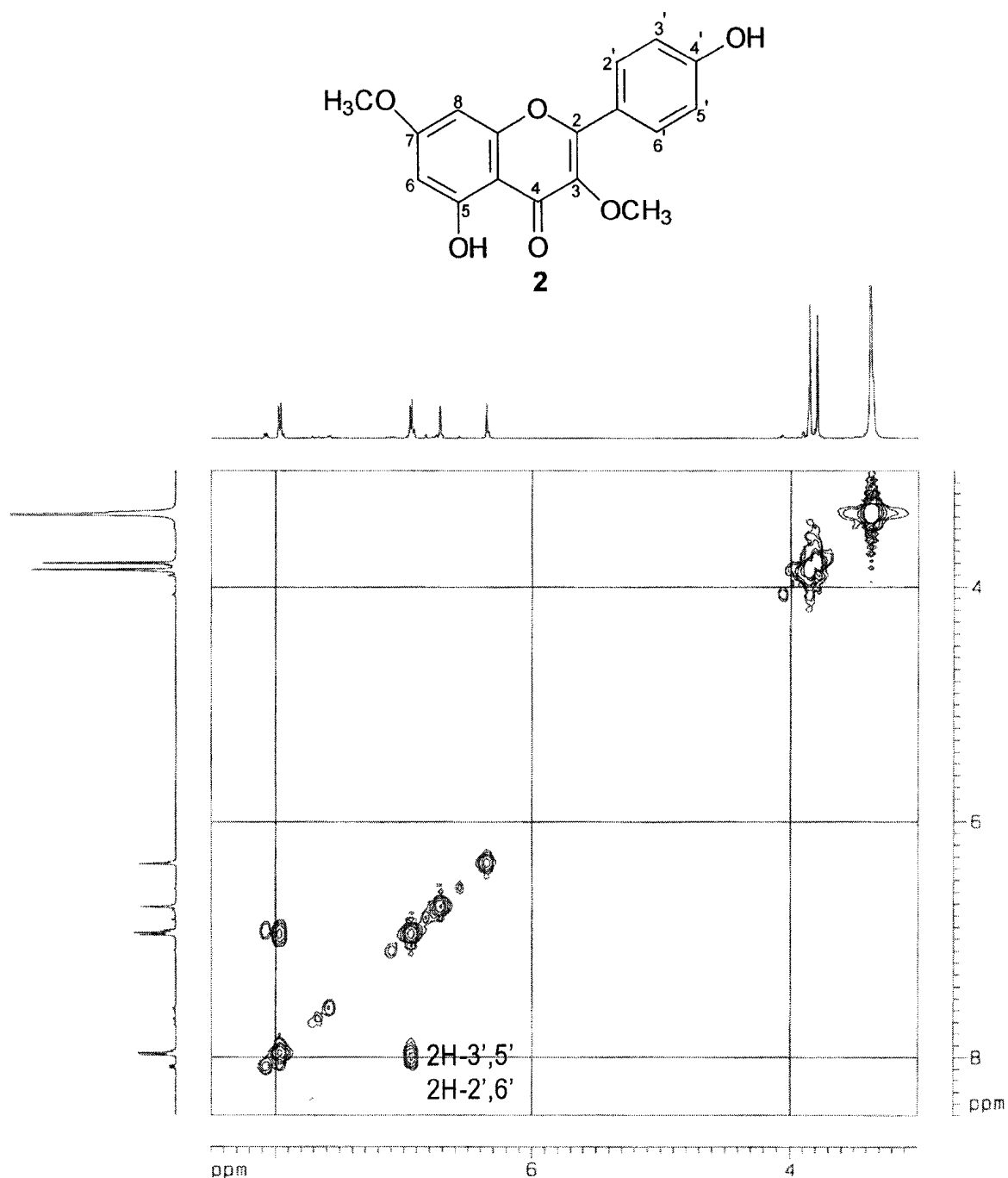


Figura A.68. Espectro de RMN COSY (500 MHz, DMSO-*d*₆) de **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

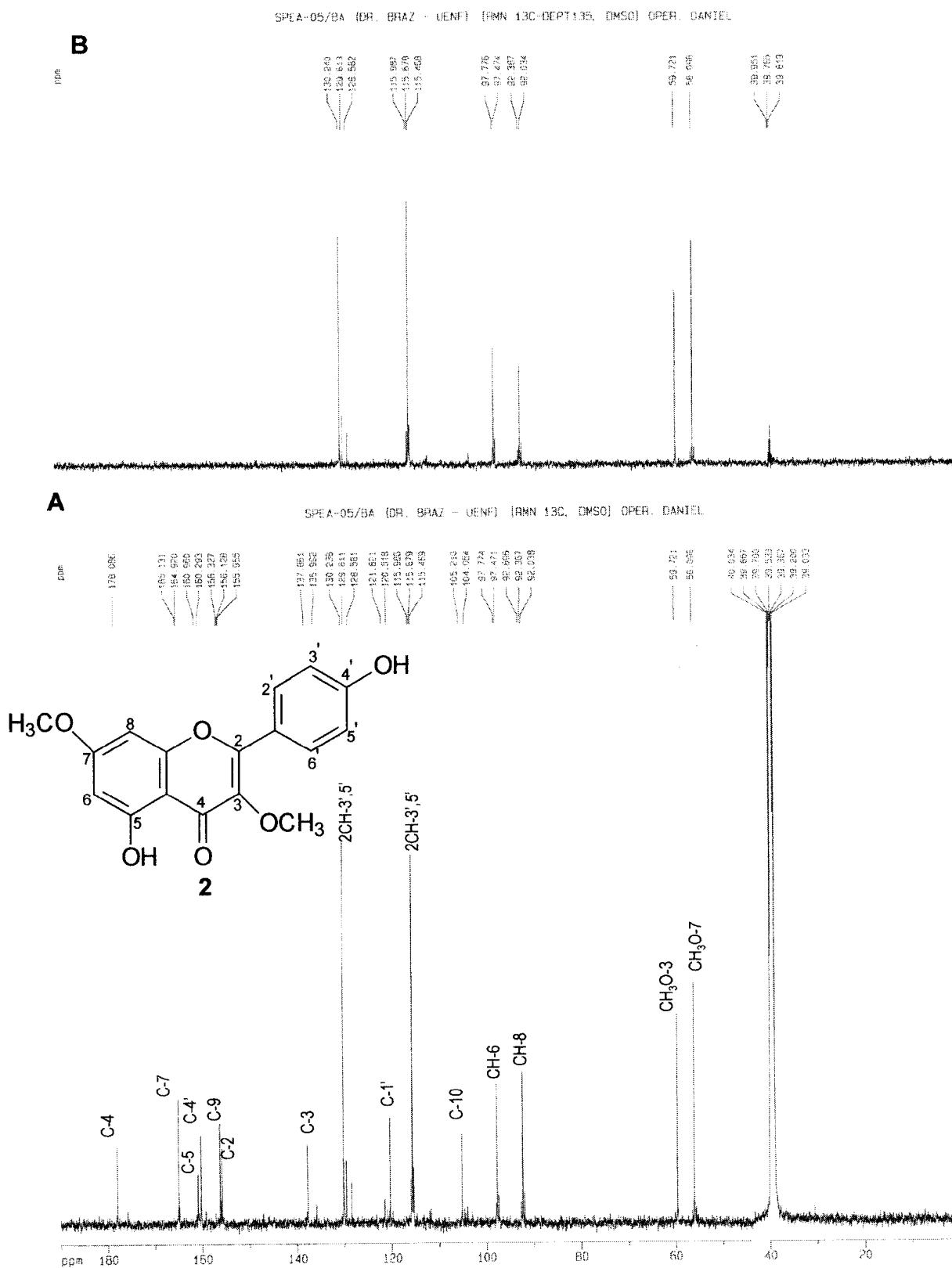


Figura A.69. Espectro de RMN de ¹³C (A) e DEPT 135° (B) [125 MHz, DMSO-d₆] de **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

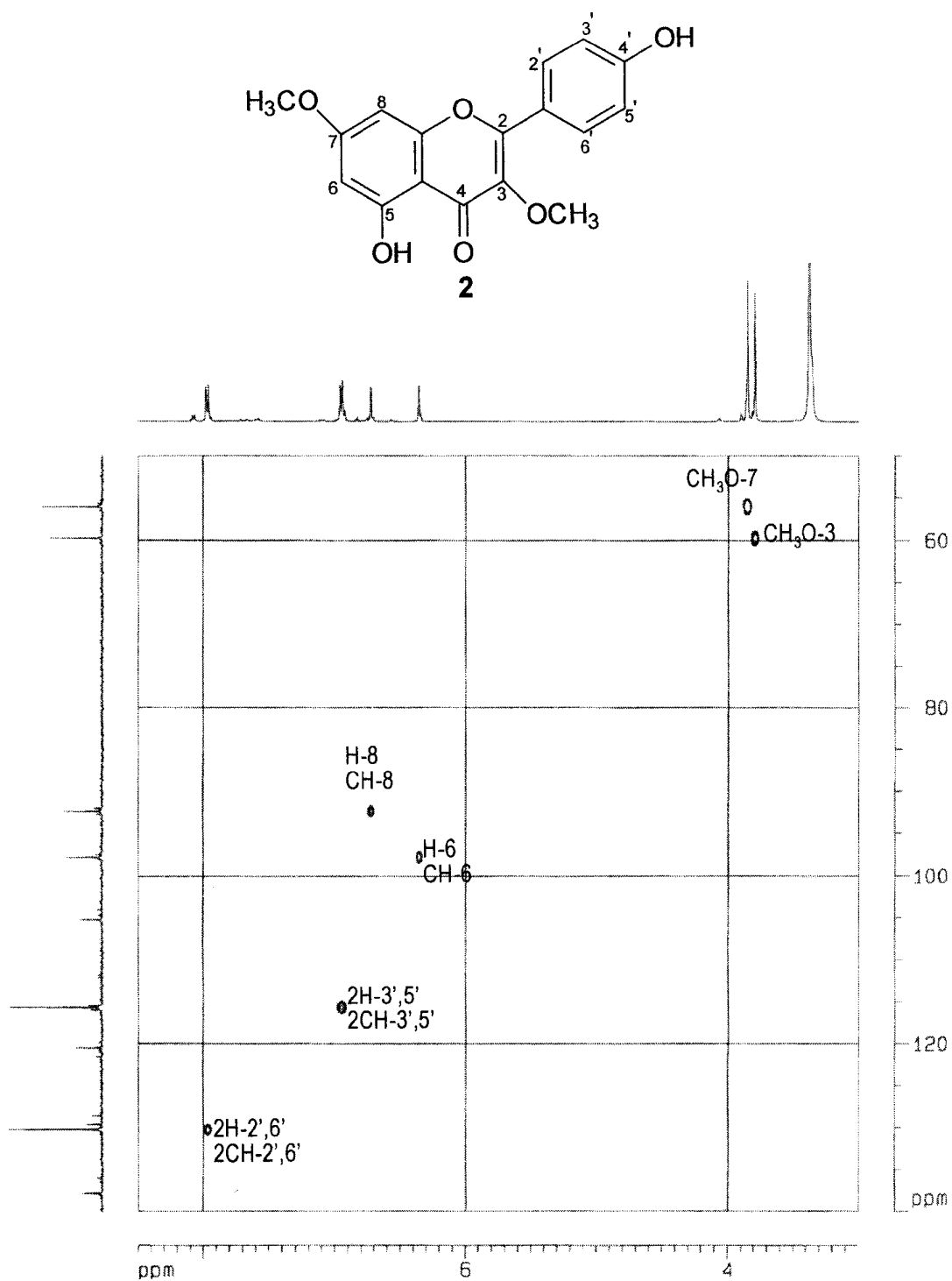


Figura A.70. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, DMSO-*d*₆) de **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

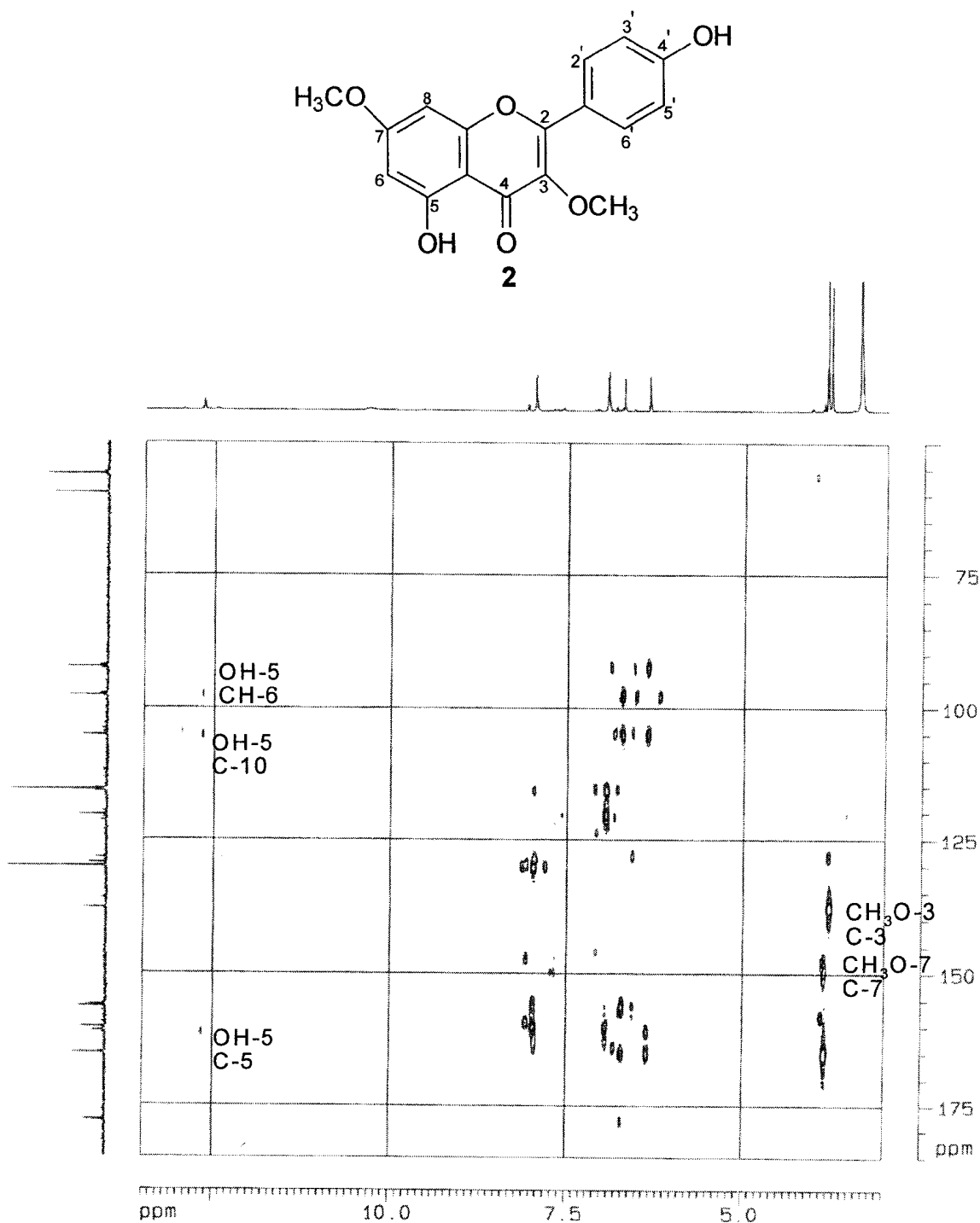


Figura A.71. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO-d₆) de **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

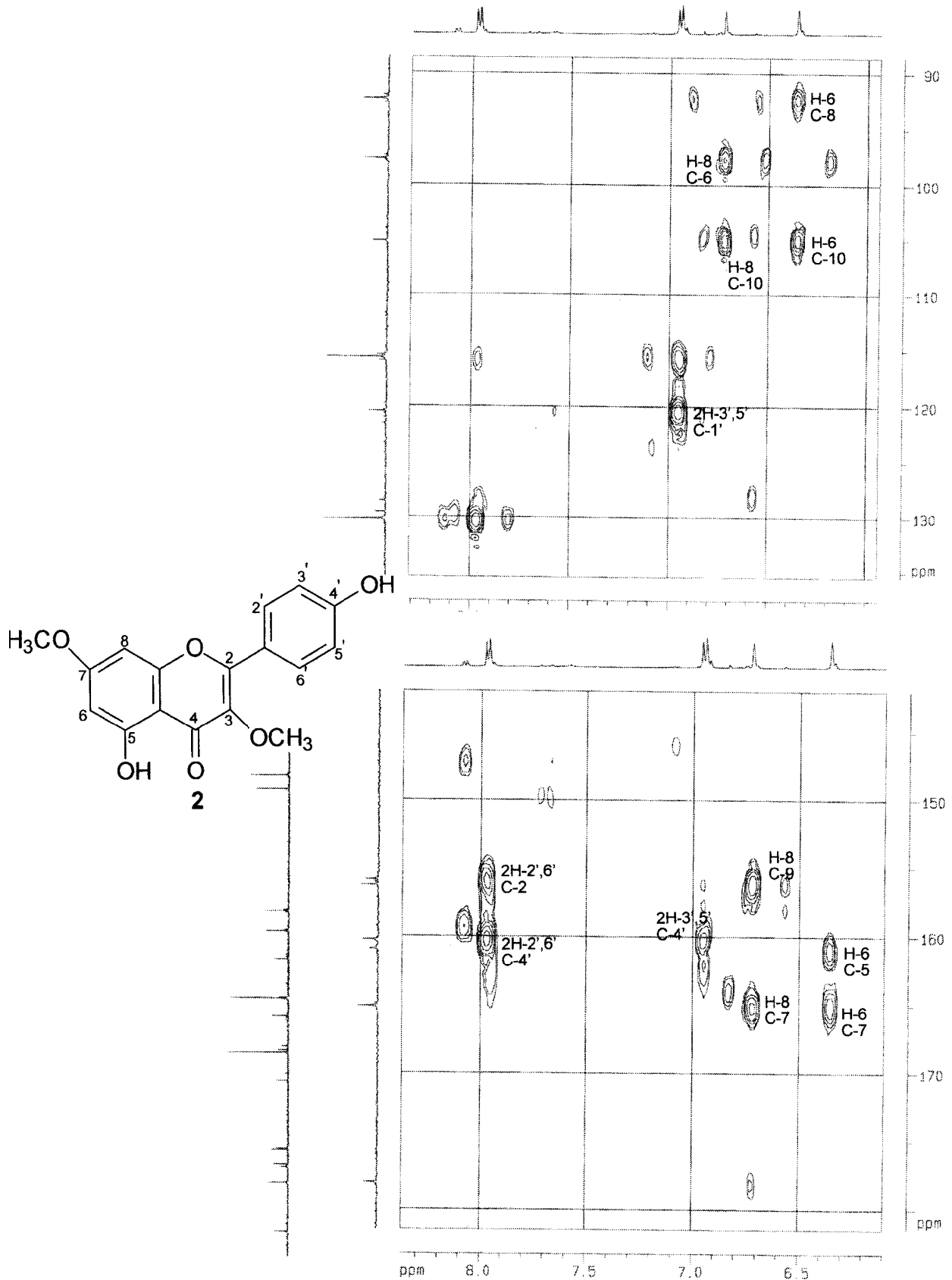


Figura A.72. Expansão do espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) de **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

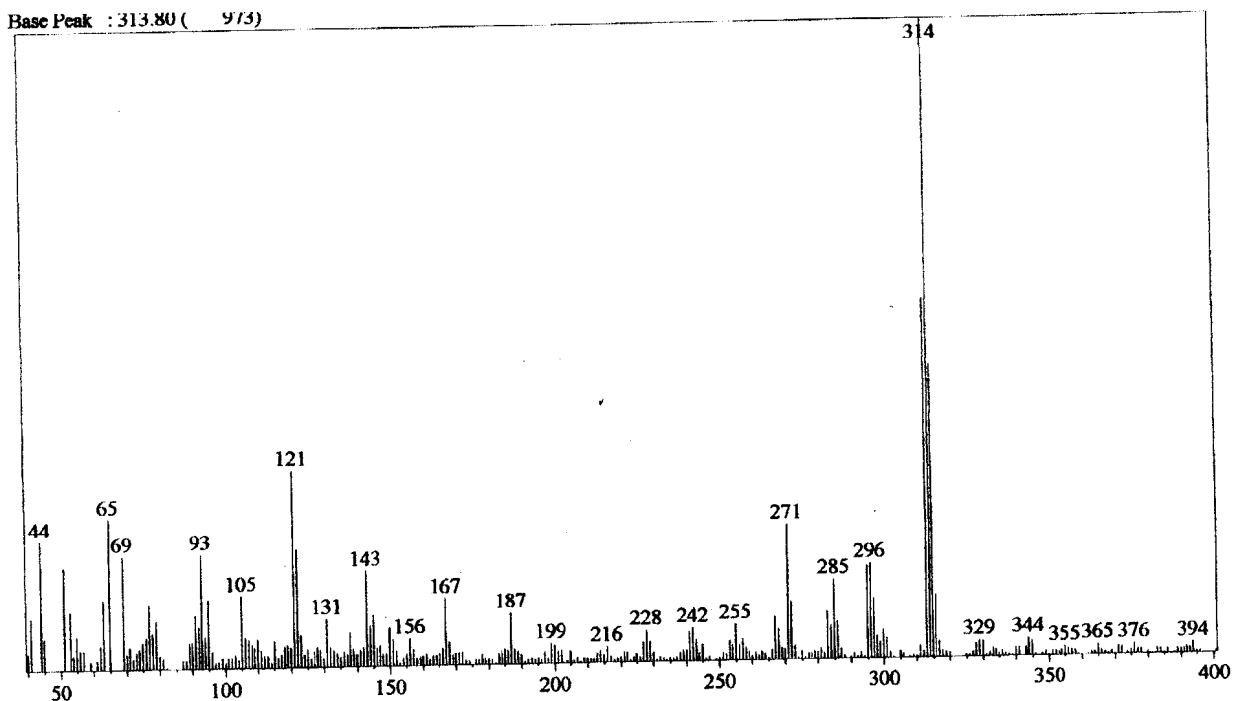
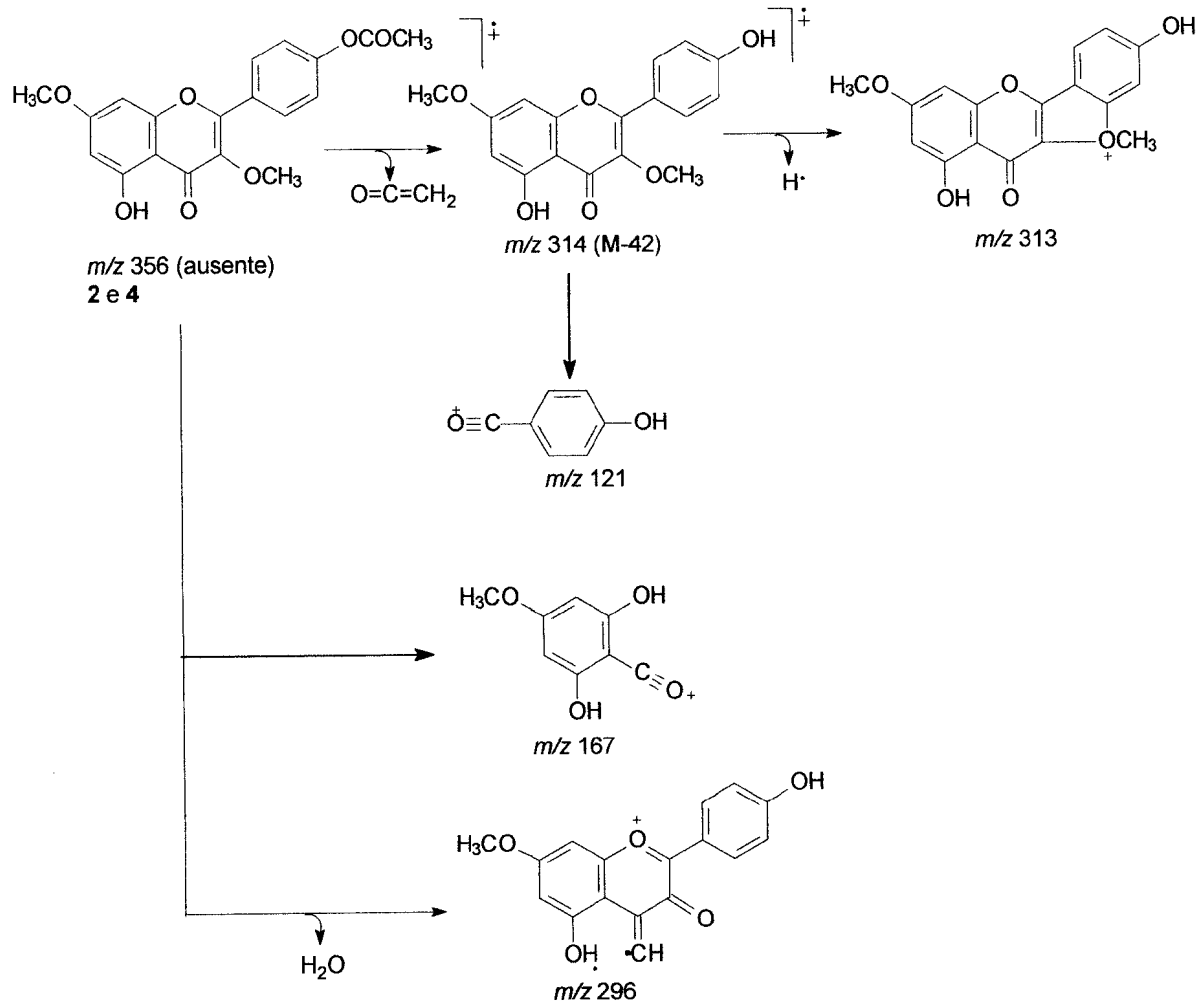


Figura A.73. Espectro de massas de 2 e 4 (3,7-di-O-metilkanferol)

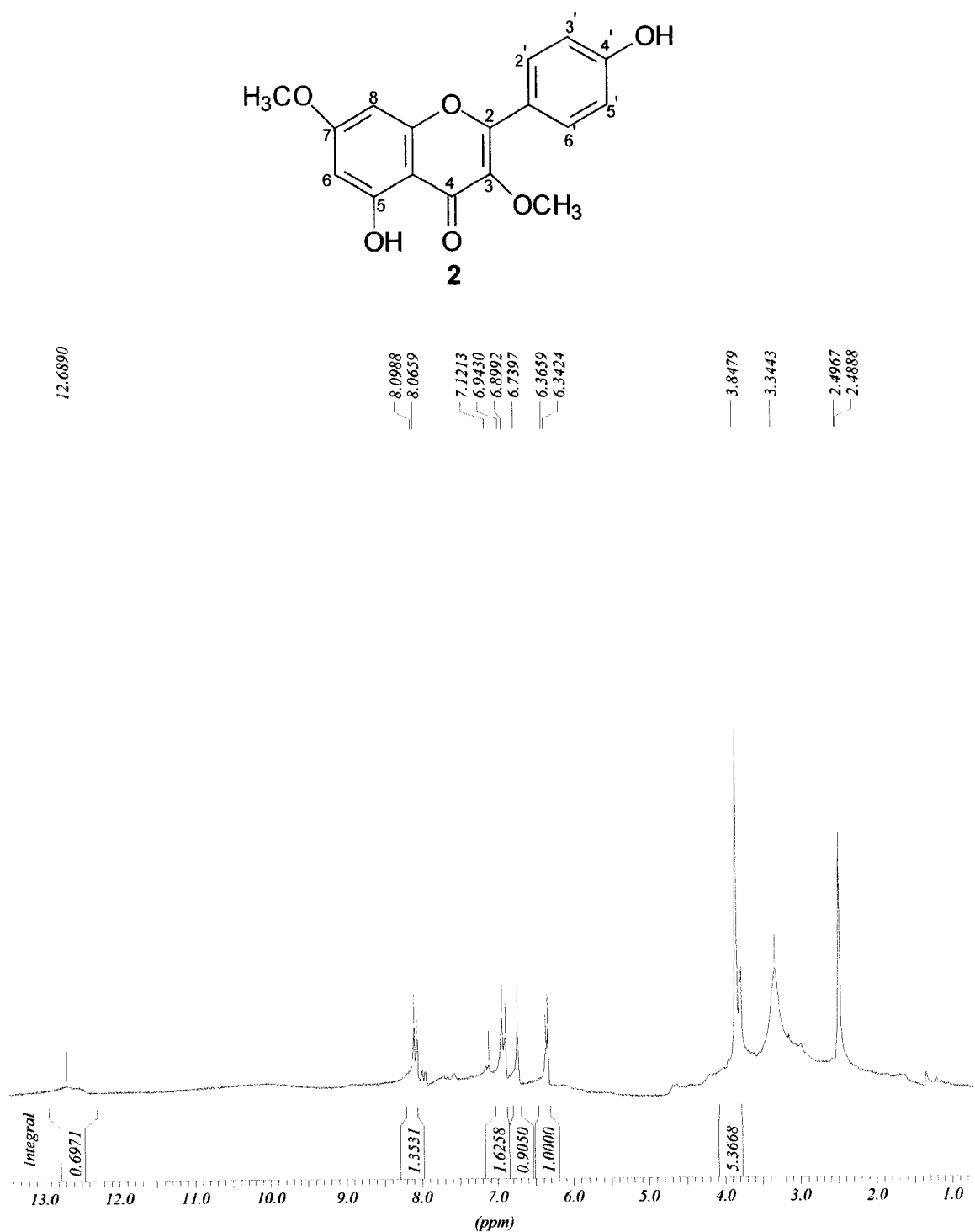


Figura A.74. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, DMSO-d₆) de 3 (7,4'-di-O-metilkanferol)

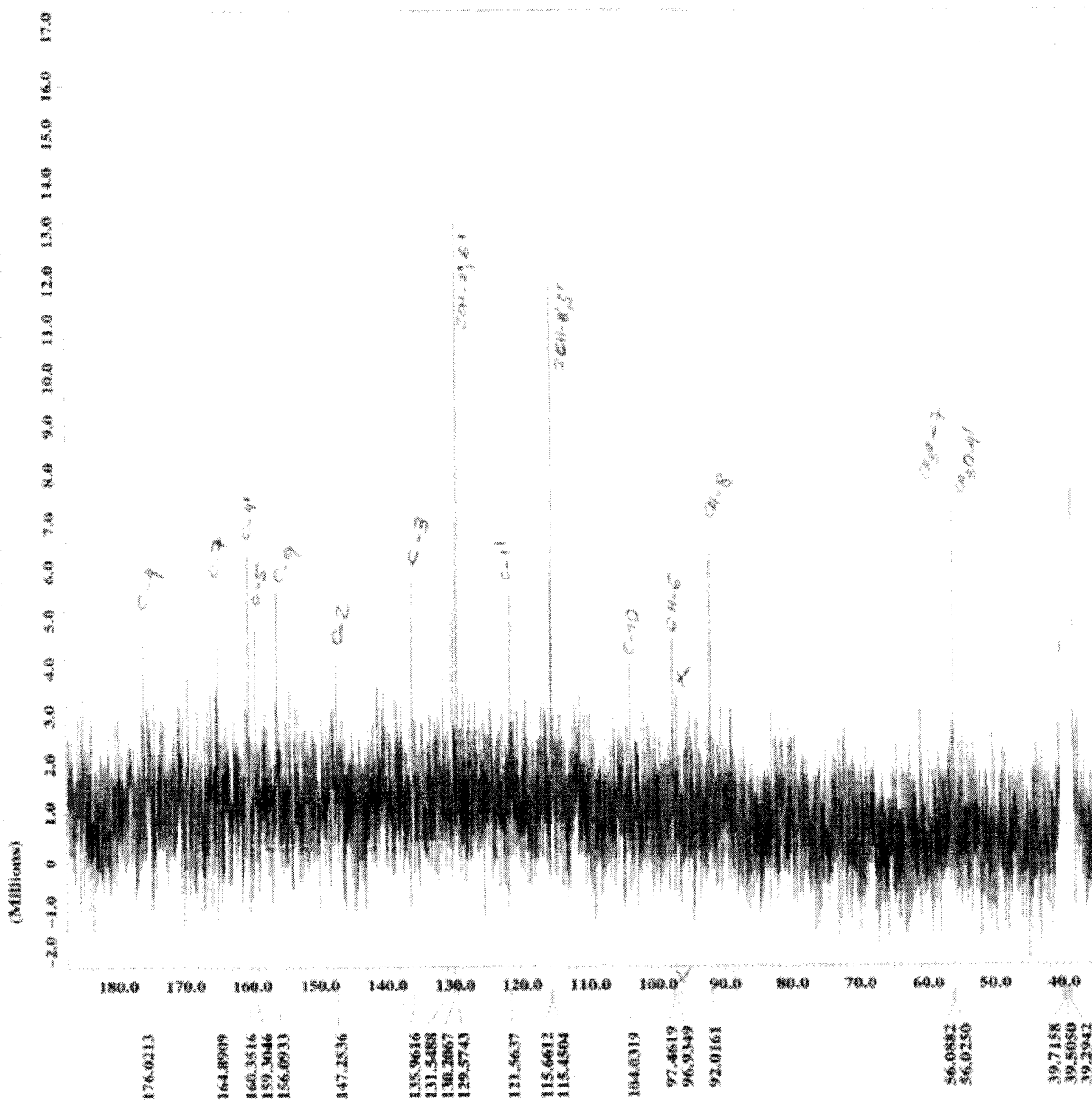
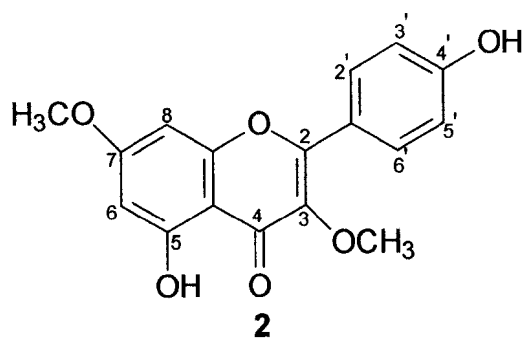


Figura A.75. Espectro de RMN de ¹³C (500 MHz, DMSO-d₆) de 3 (7,4'-di-O-metilkanferol)

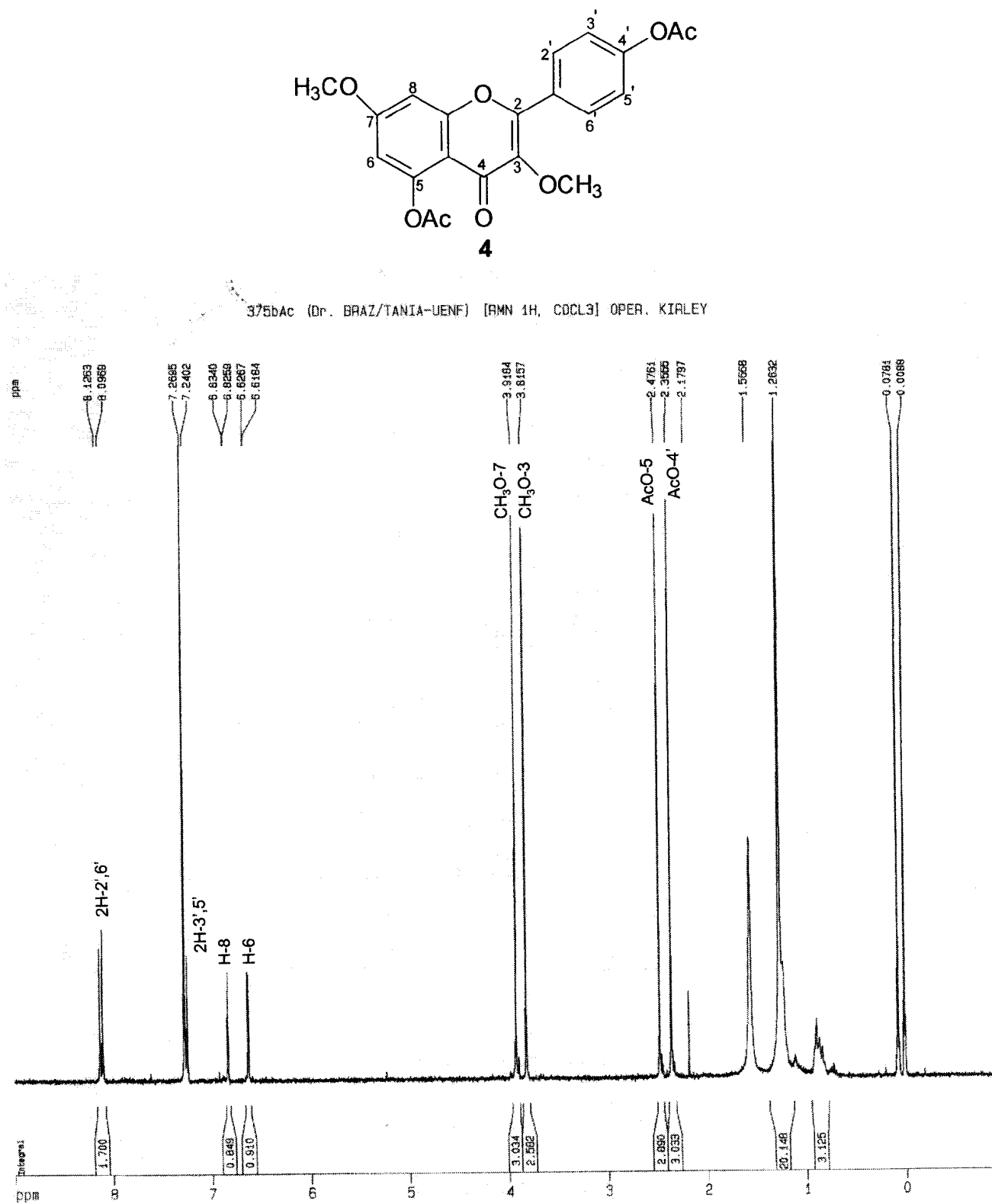


Figura A.76. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de 4

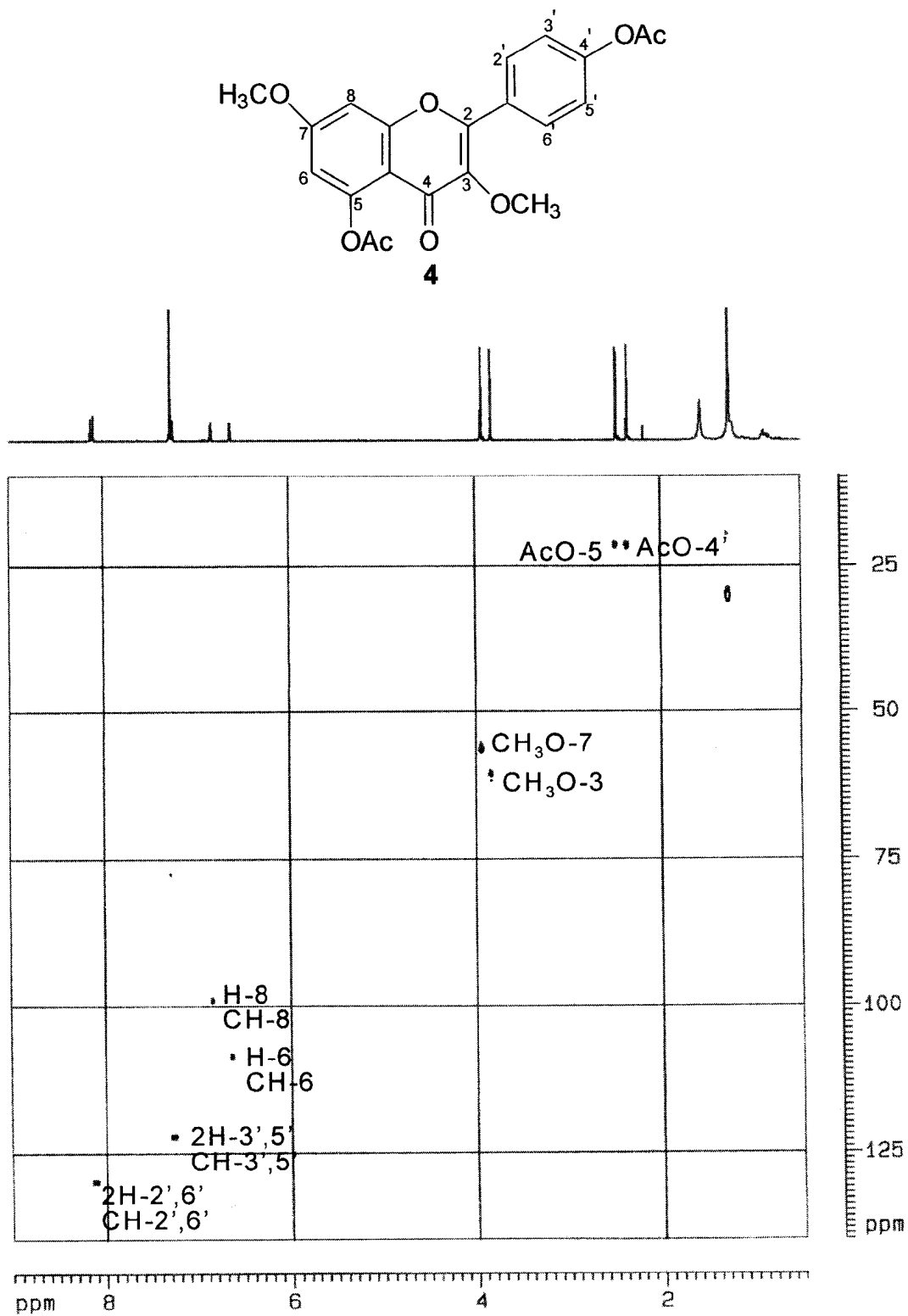


Figura A.77. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, CDCl₃) de 4

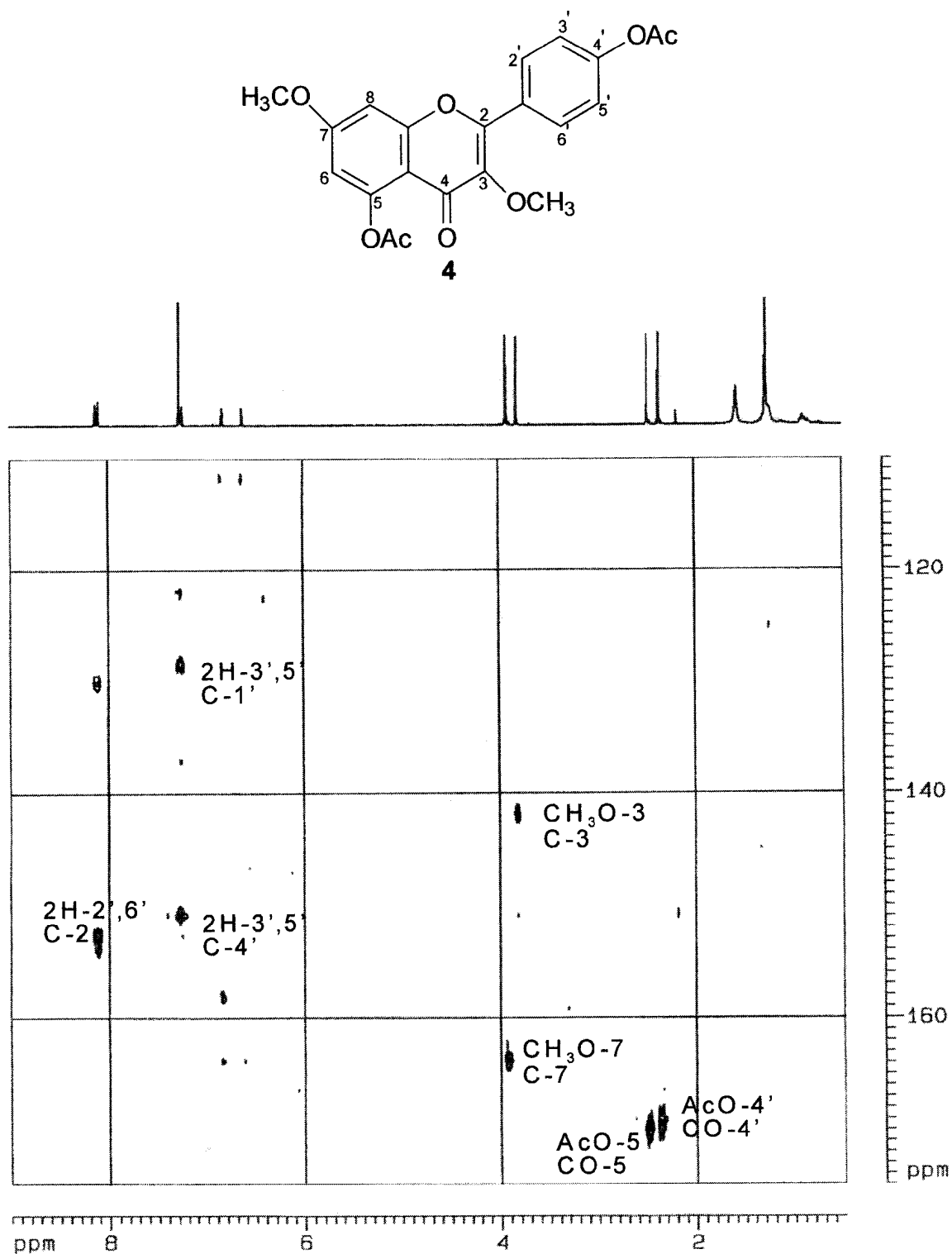


Figura A.78. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl₃) de **4**

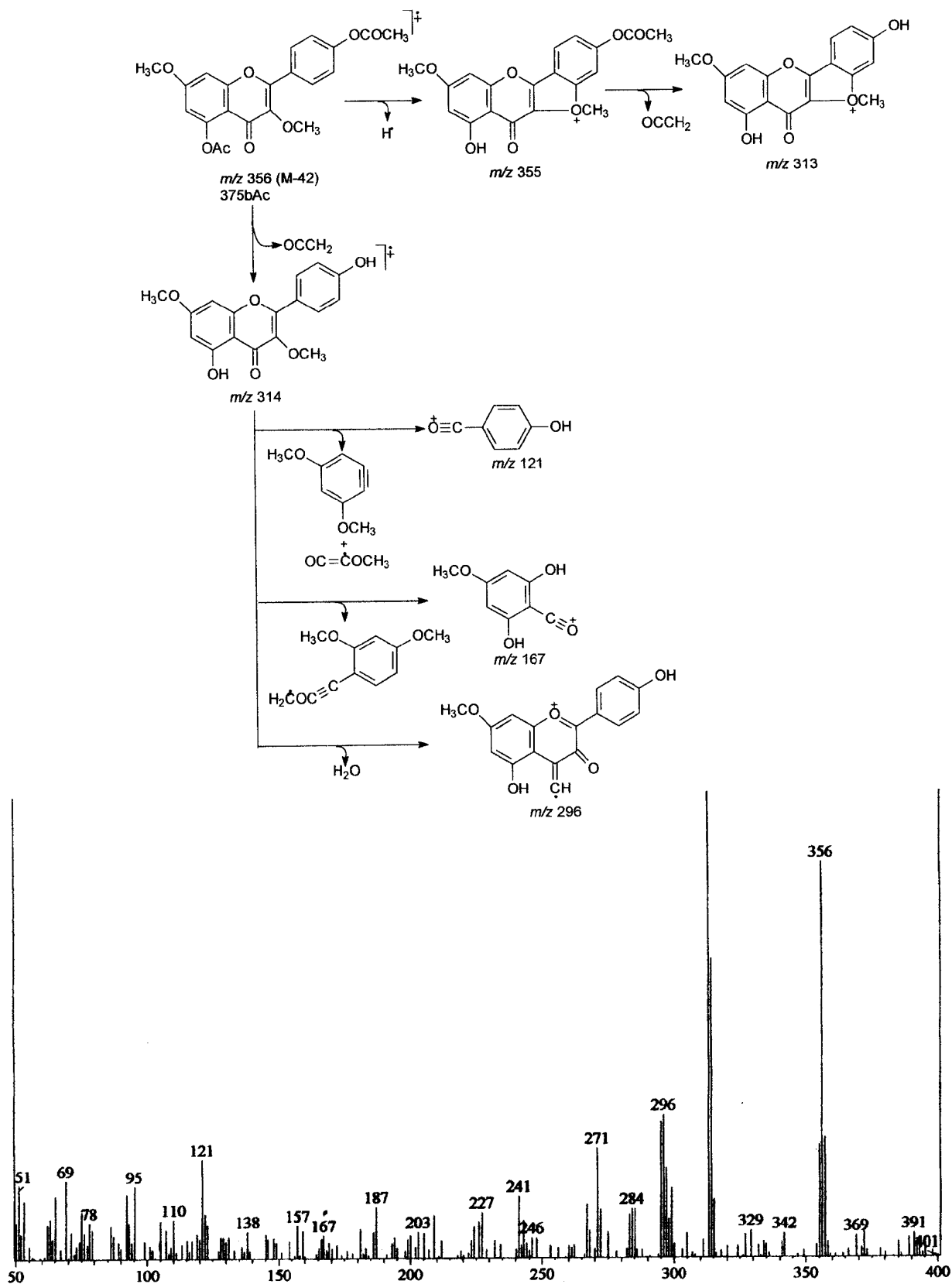


Figura A.79. Espectro de massas de 4

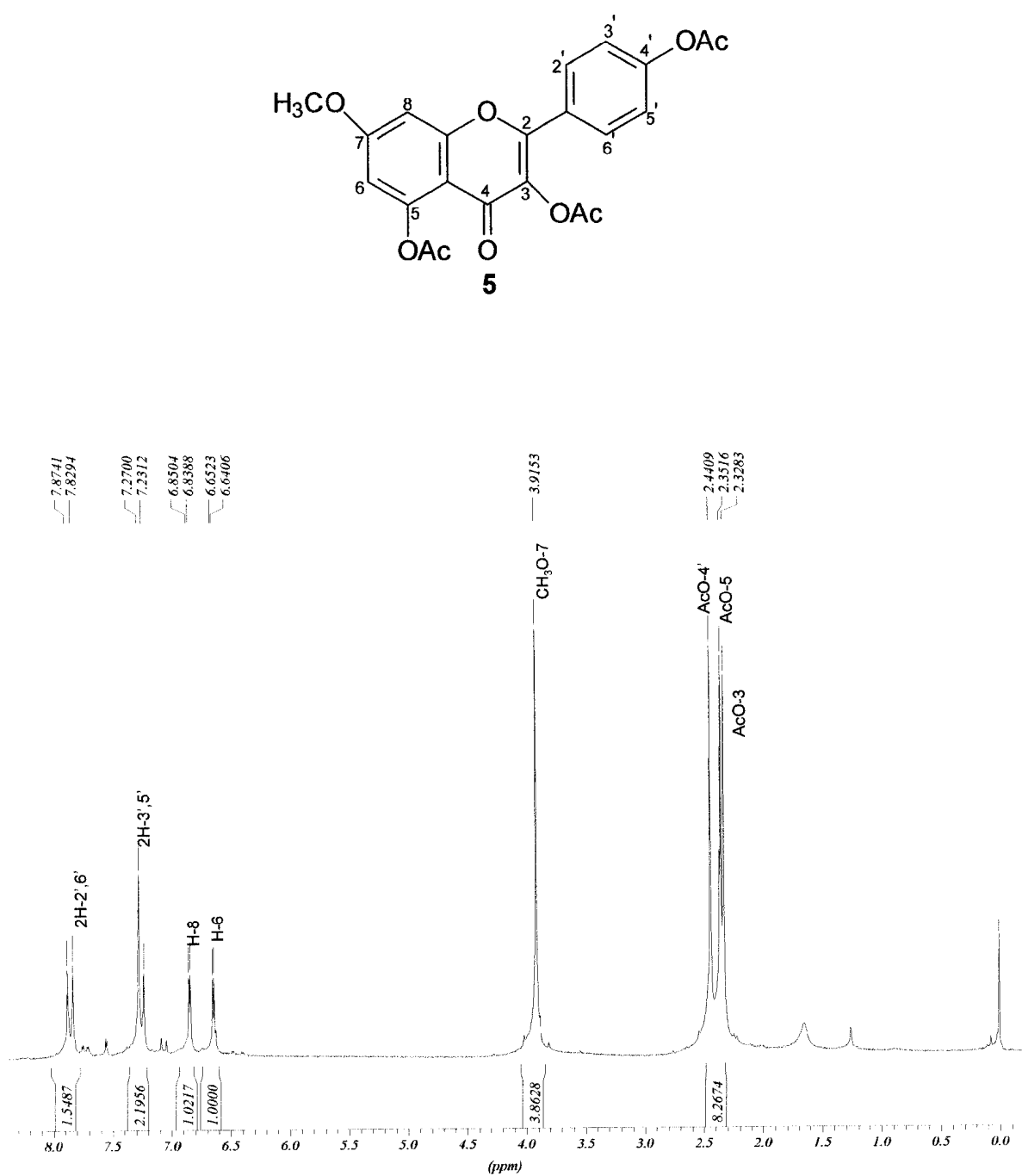


Figura A.80. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 5

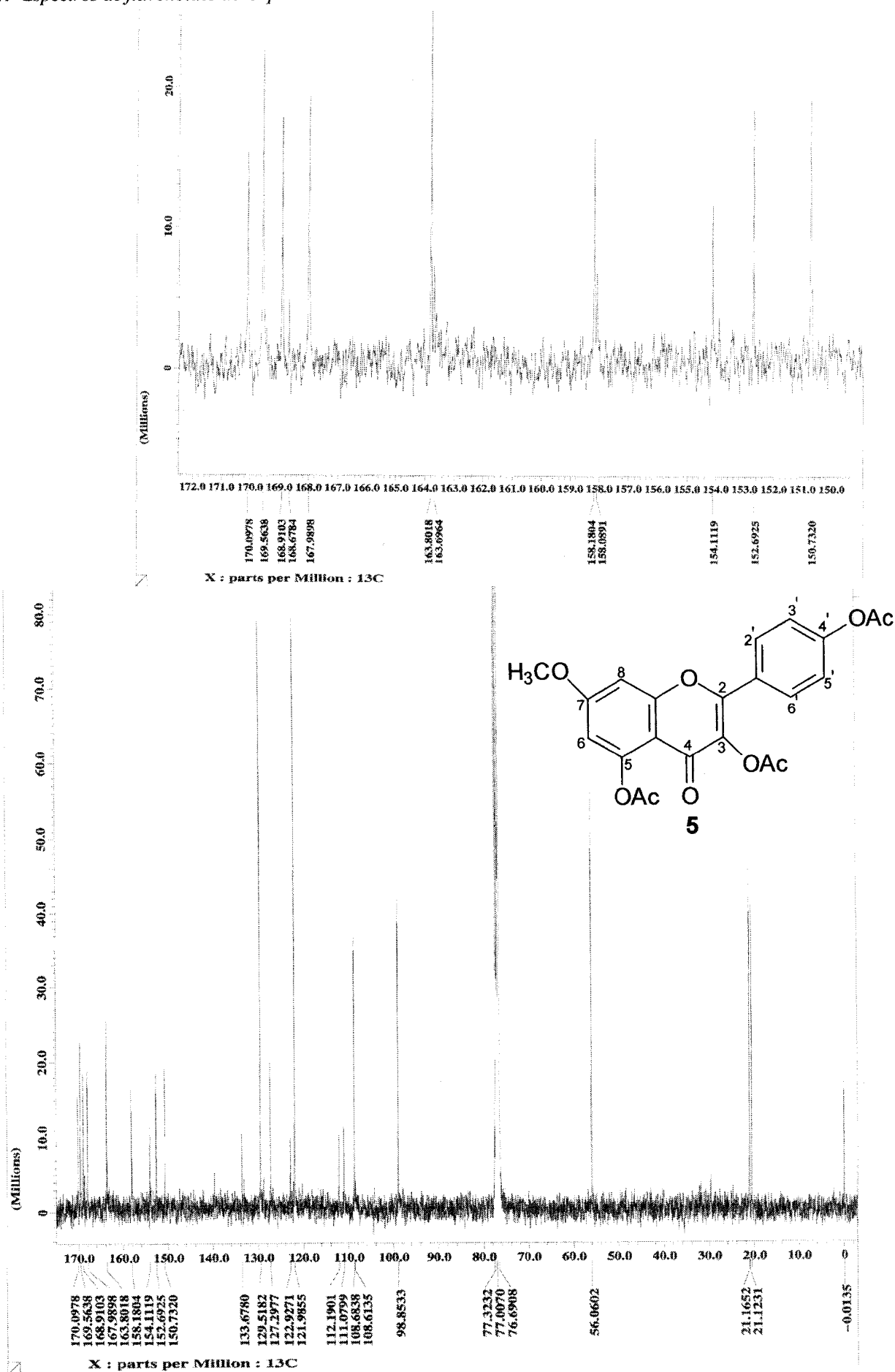


Figura A.81. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 5

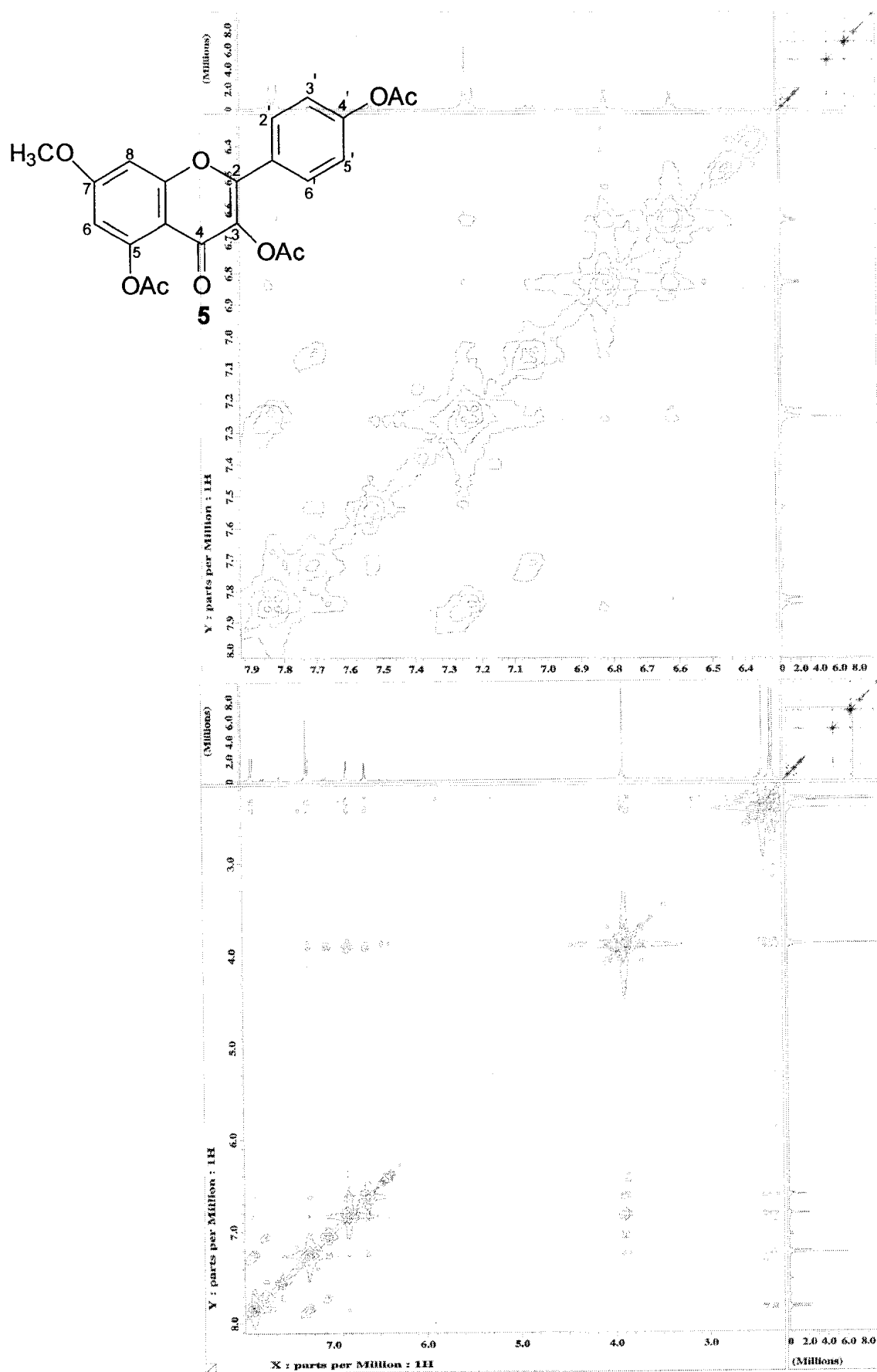


Figura A.82. Espectro de NOESY (400 MHz, CDCl₃) de 5

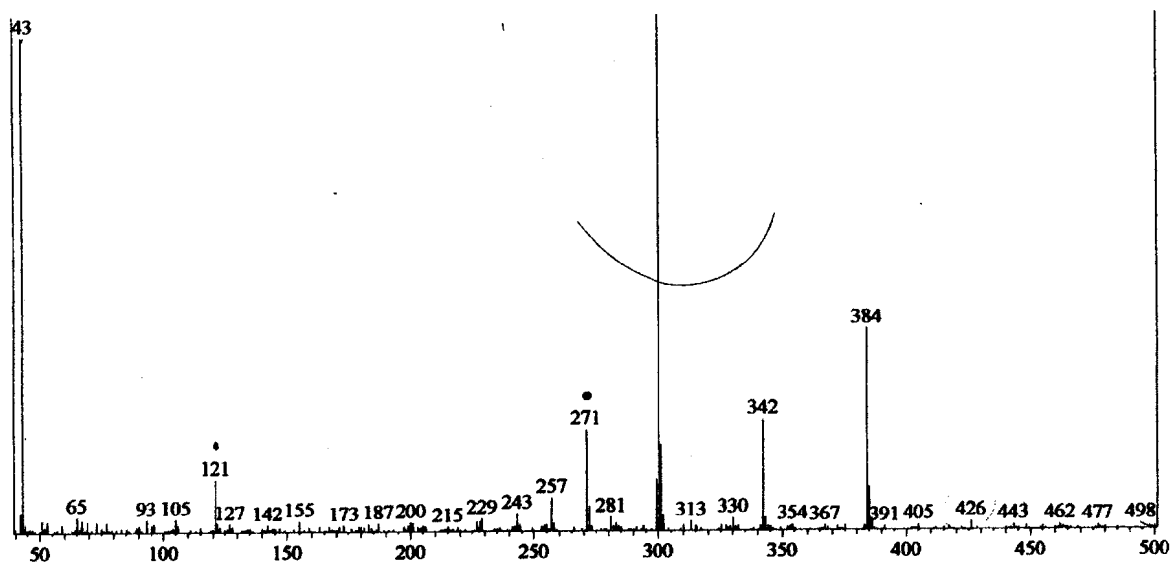
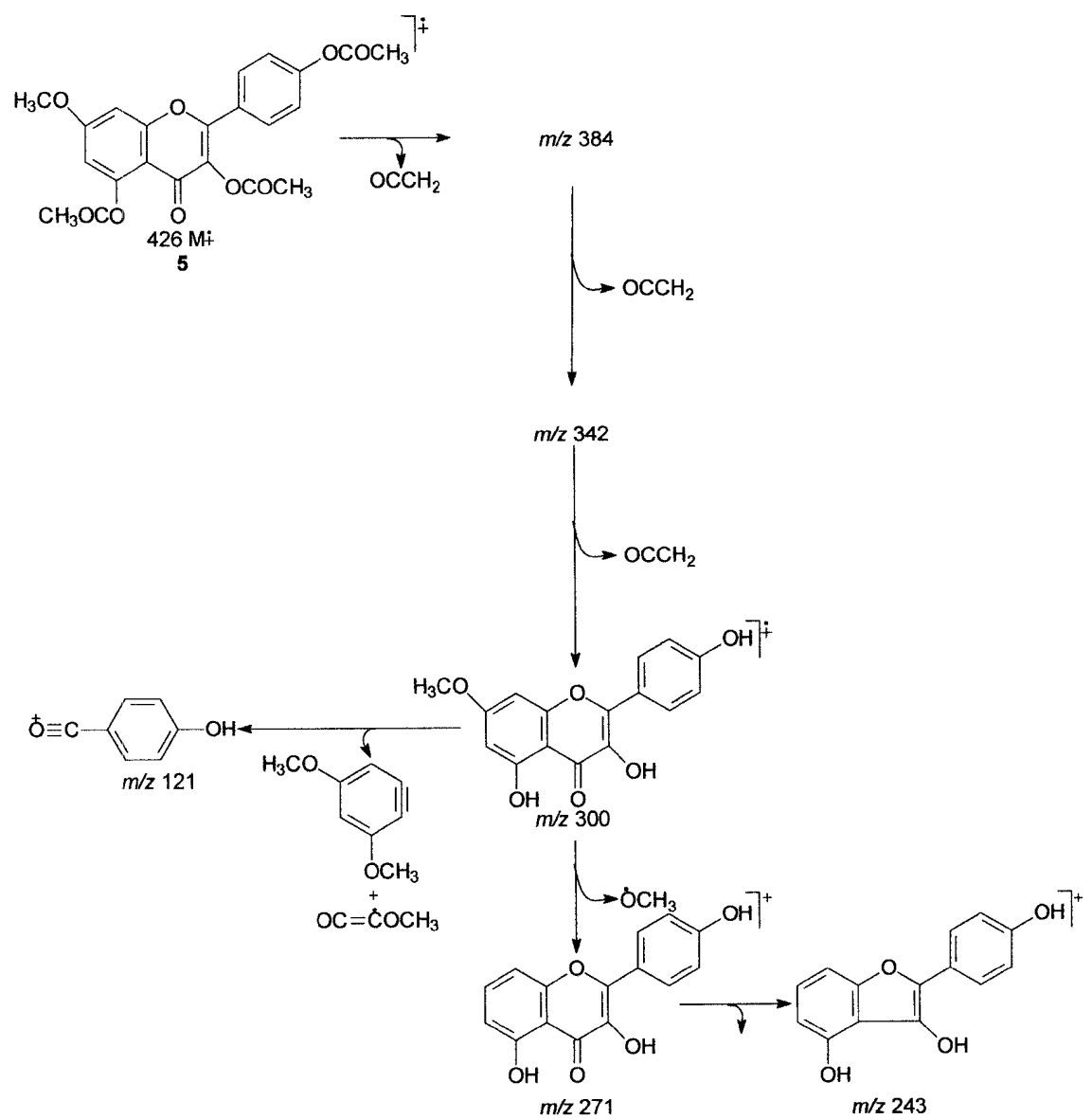


Figura A.83. Espectro de massas de 5

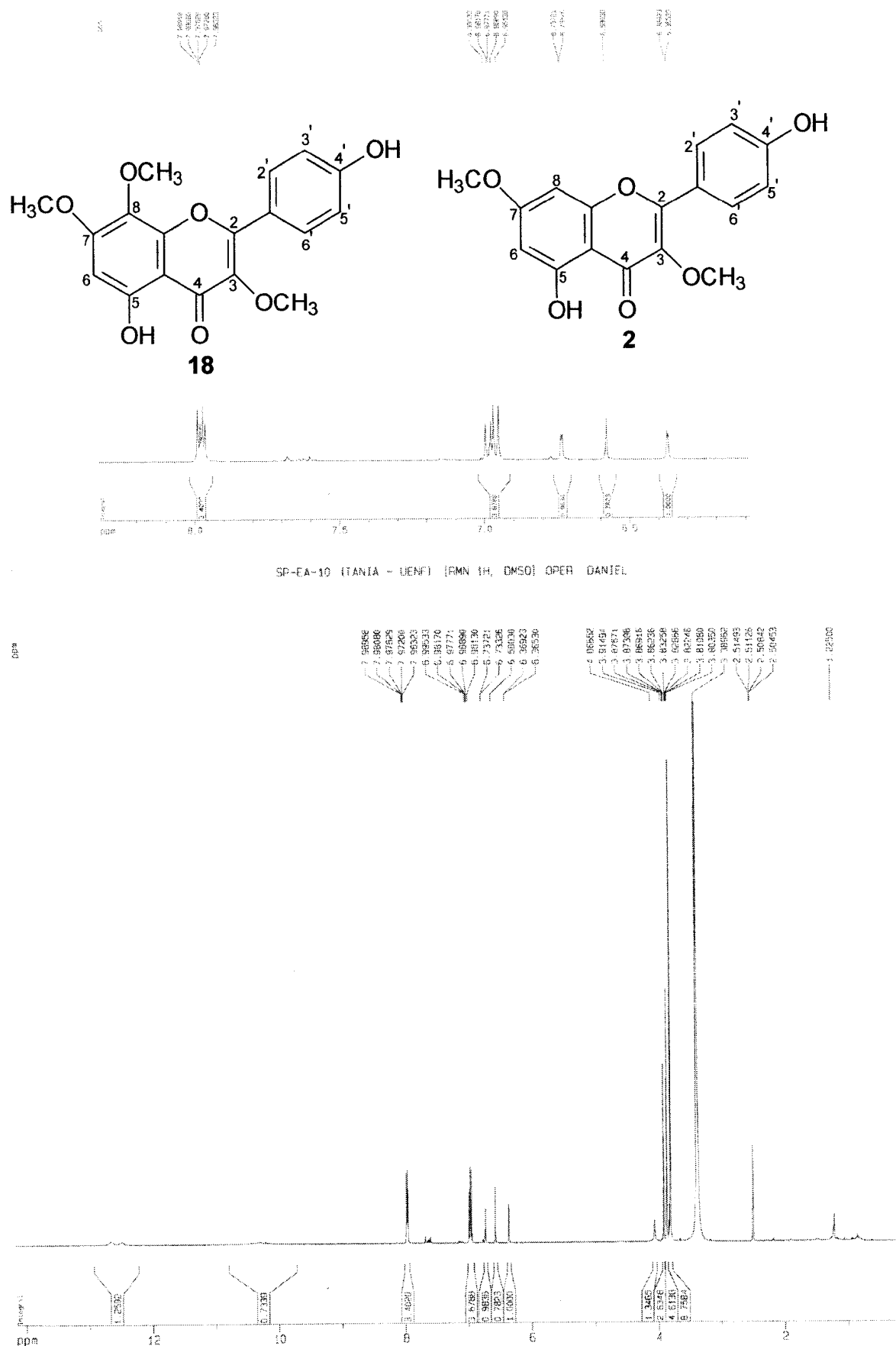


Figura A.84. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da mistura **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

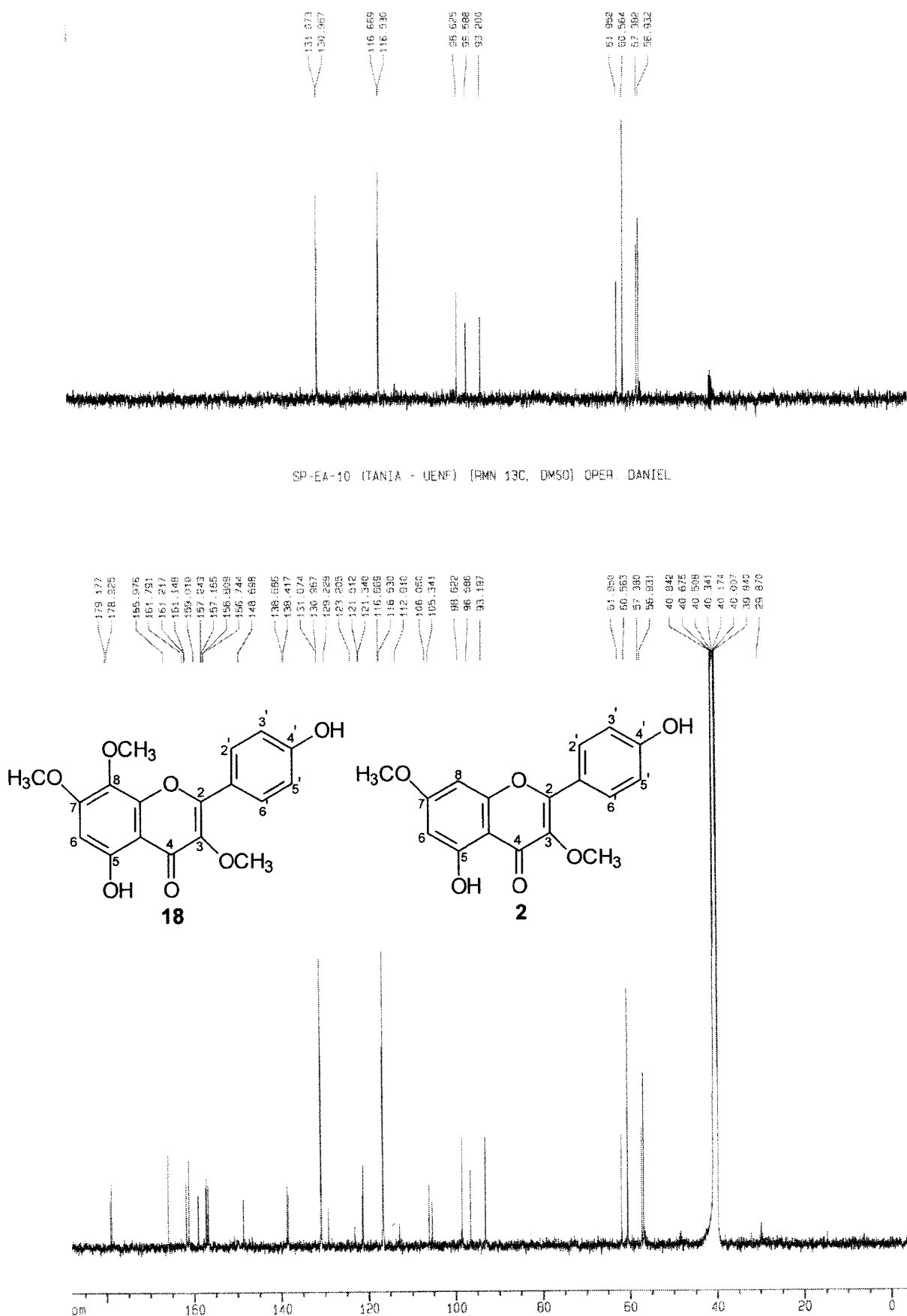


Figura A.85. Espectro de RMN de ^{13}C (A) e DEPT 135° (B) [125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] da mistura **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

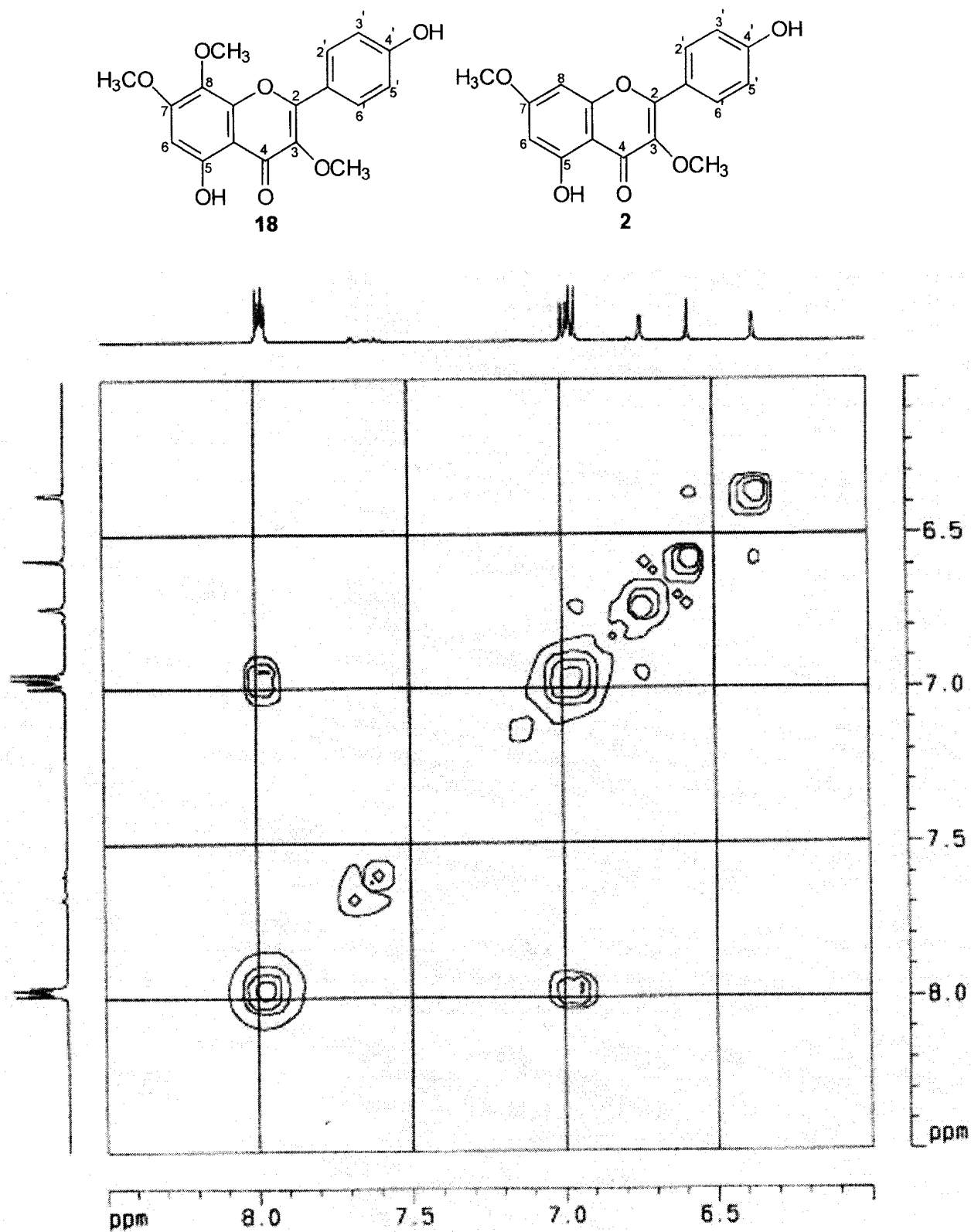


Figura A.86. Espectro de RMN COSY (500 MHz, DMSO- d_6) da mistura **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

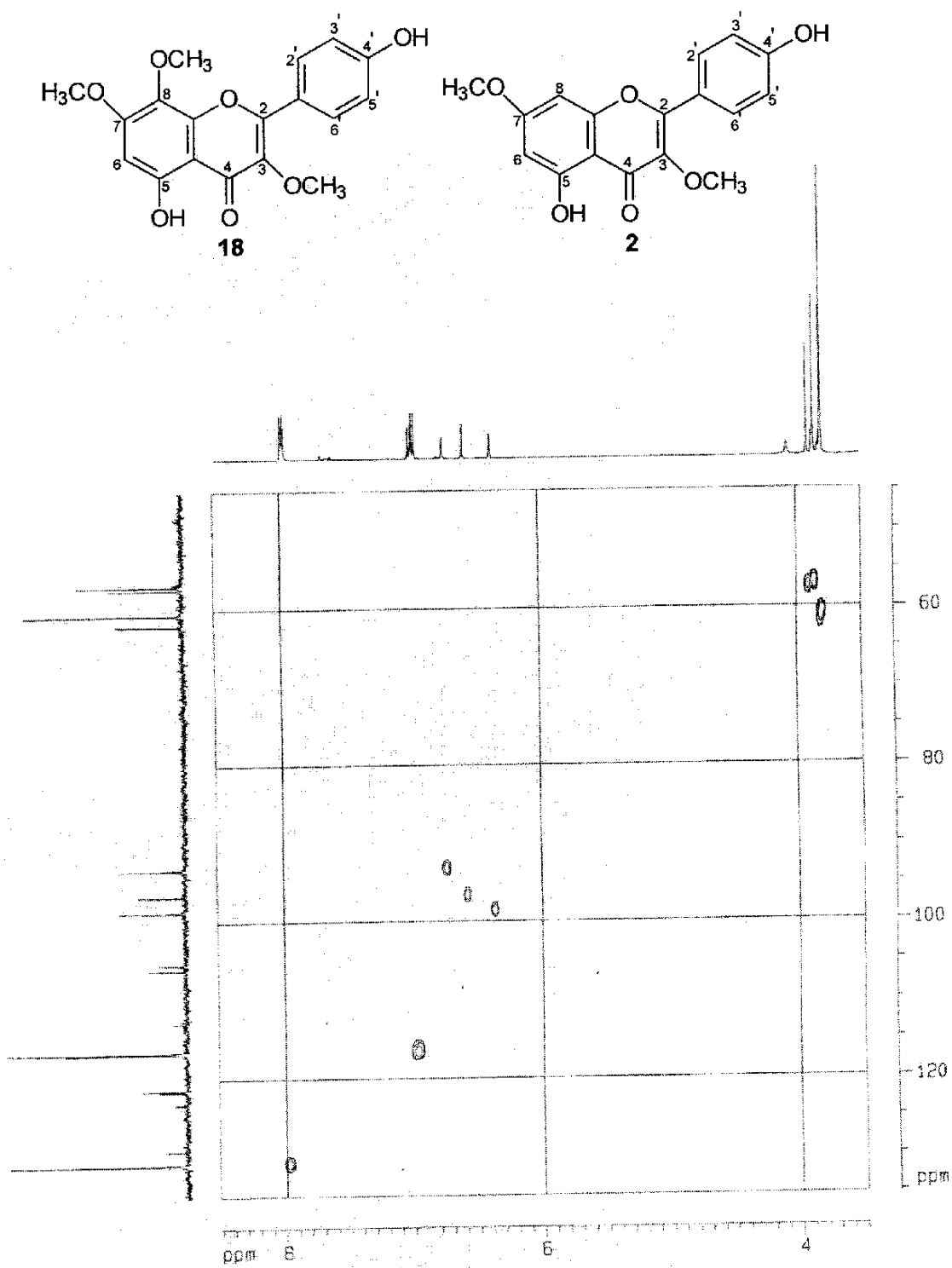


Figura A.87. Espectro de RMN HMQC (500 MHz, DMSO-*d*₆) da mistura **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

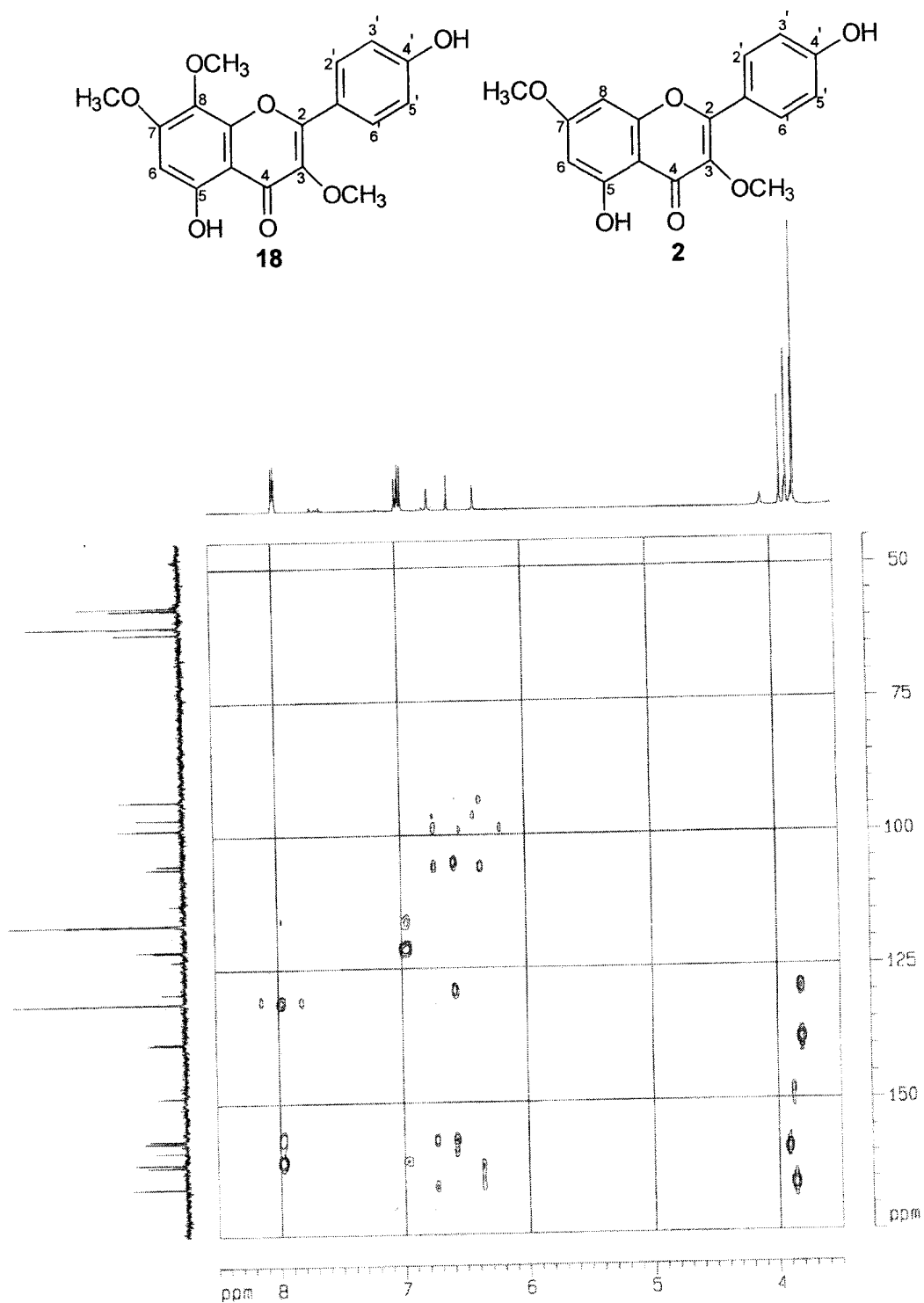


Figura A.88. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) da mistura **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

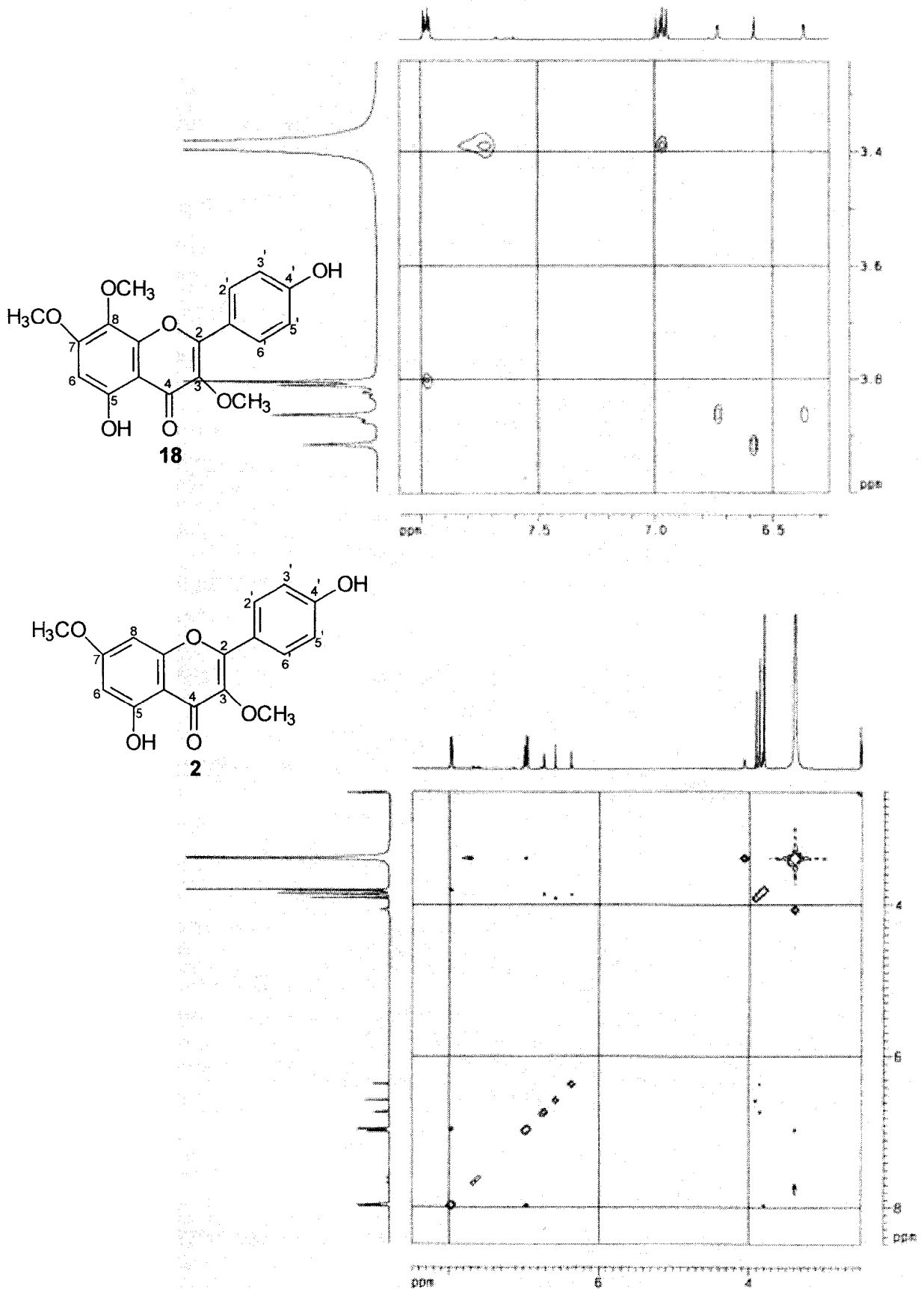
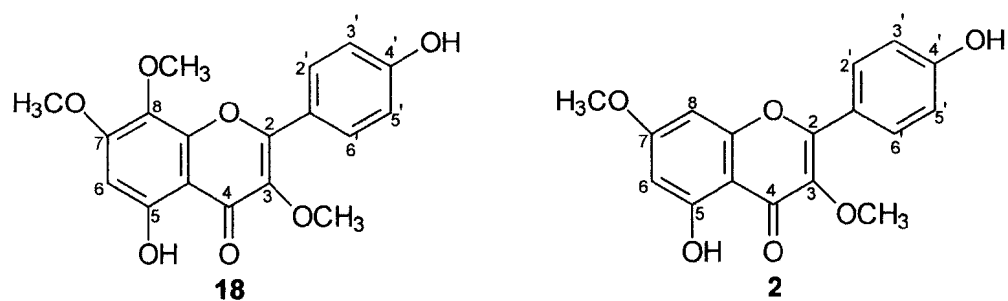


Figura A.89. Espectro de NOESY (500 MHz, DMSO- d_6) da mistura **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)



Scan # : (1618 - 1622) D.C. Scan # : (1599 - 1614)
Mass Peak # : 240 Ret. Time : (16.475 - 16.508)
Base Peak : 328.85 (1925)

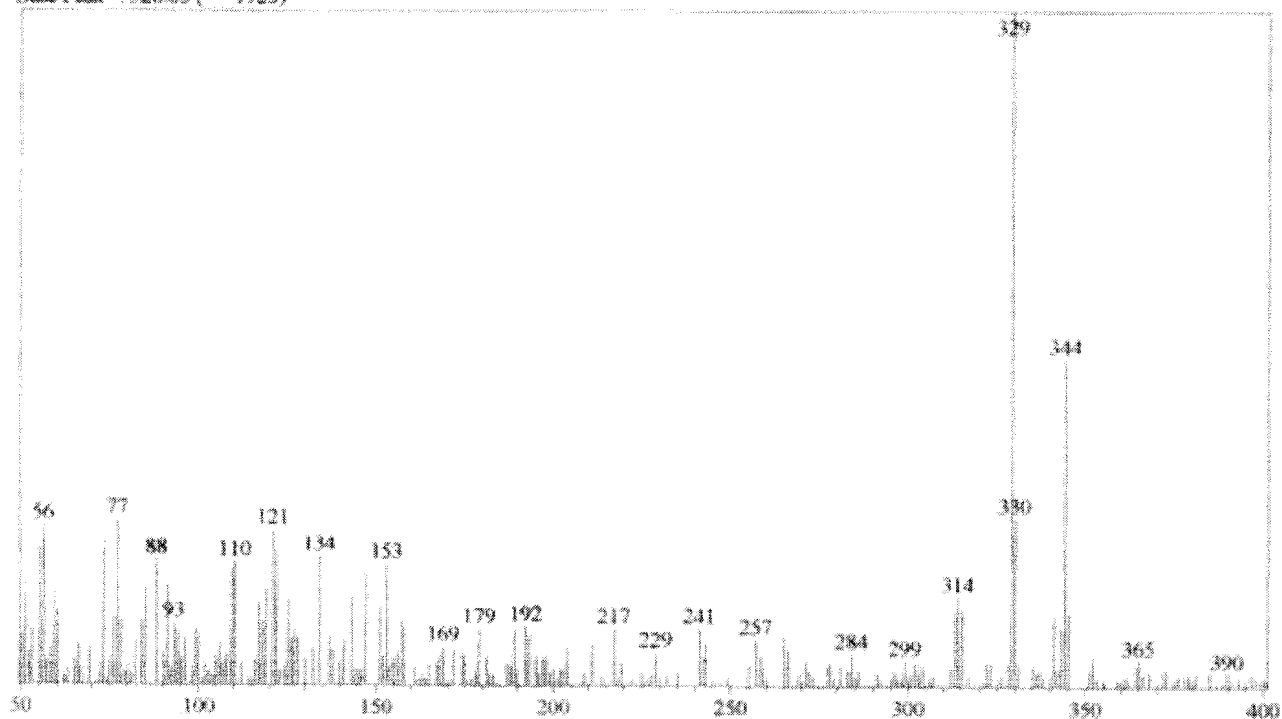


Figura A.90. Espectro de massas de **18** (3,7,8-tri-O-metilherbacetina) e **2** (3,7-di-O-metilkanferol)

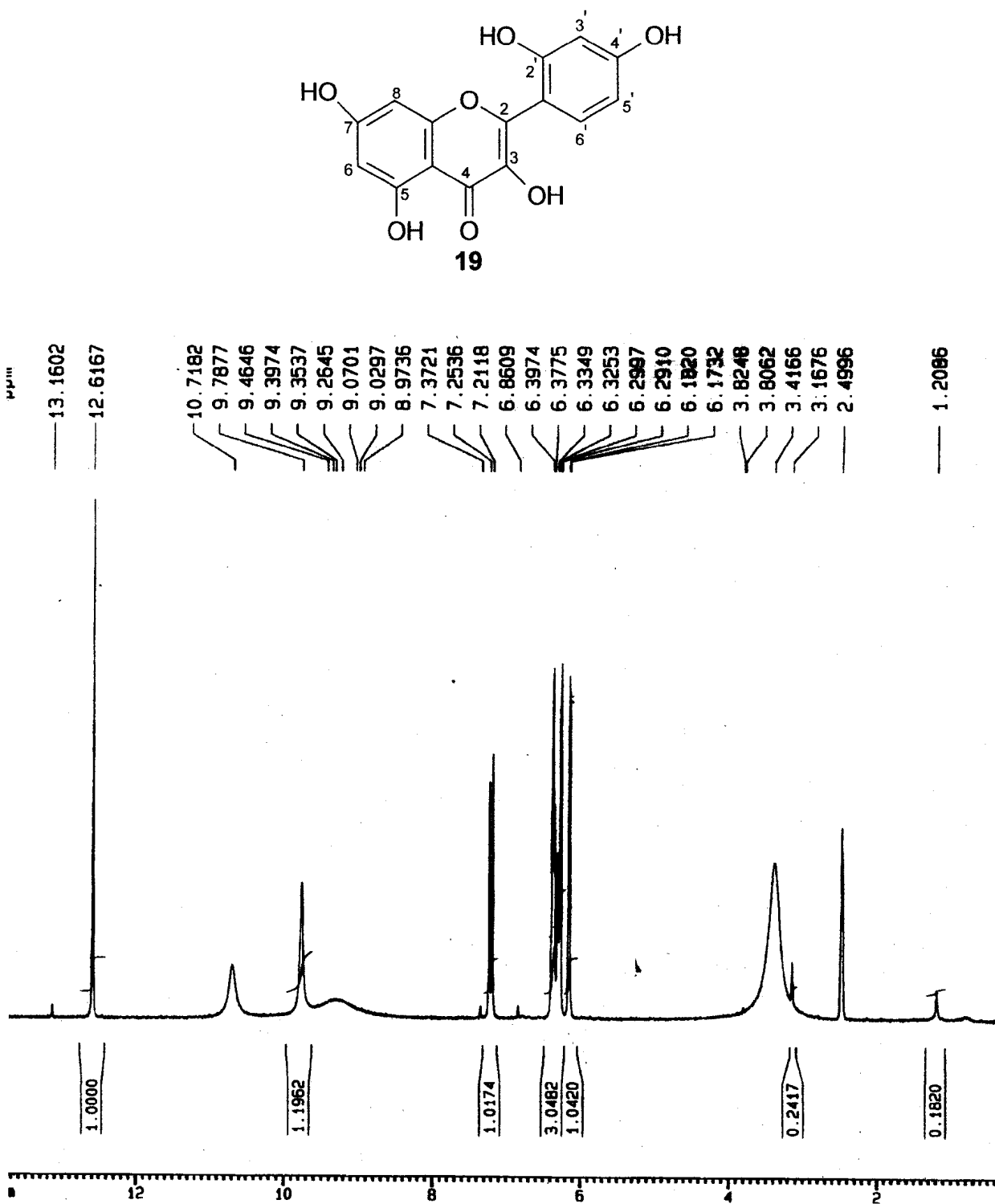


Figura A.91. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 19 (morina)

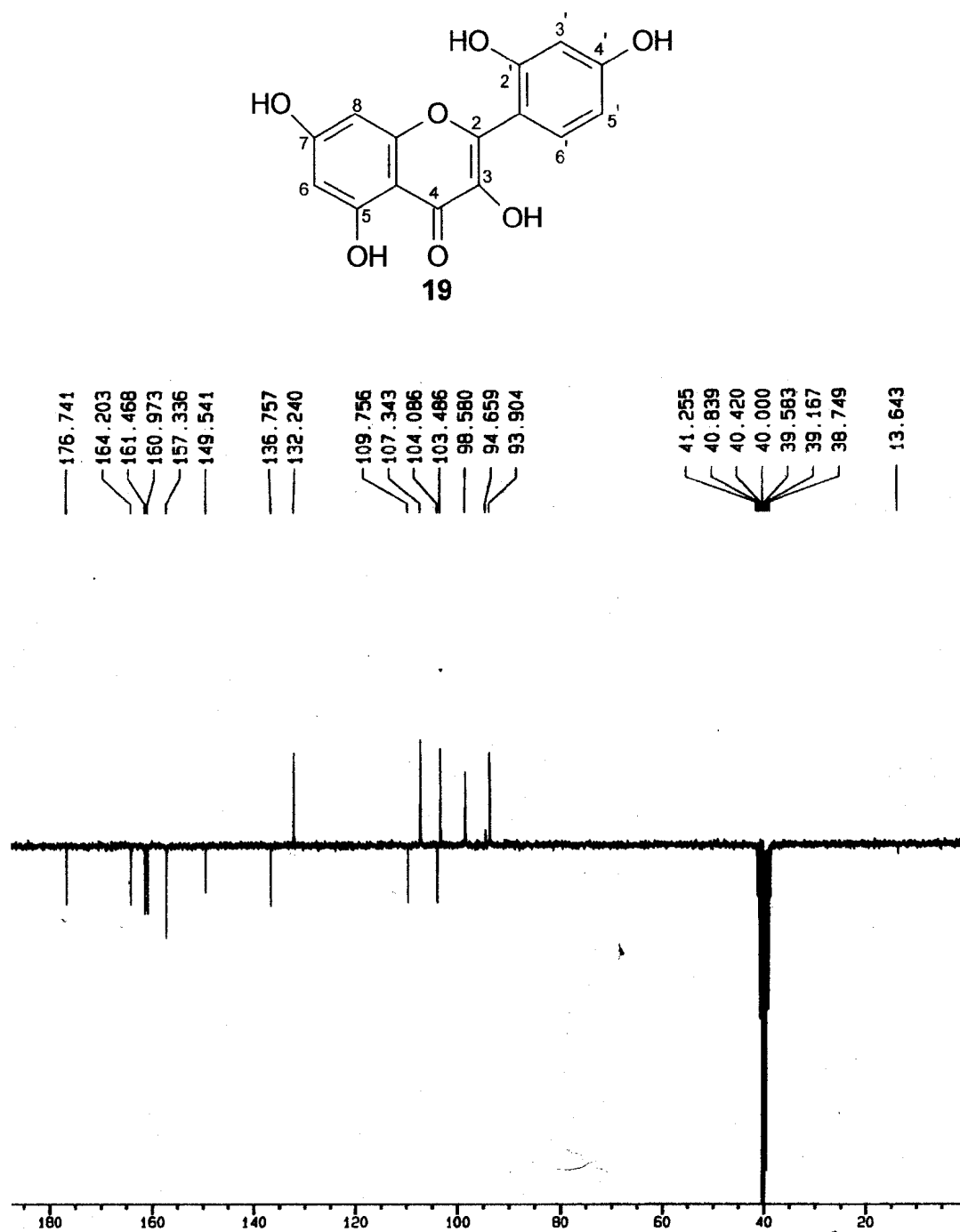


Figura A.92. Espectro de PENDANT (200 MHz, DMSO-*d*₆) de 19 (morina)

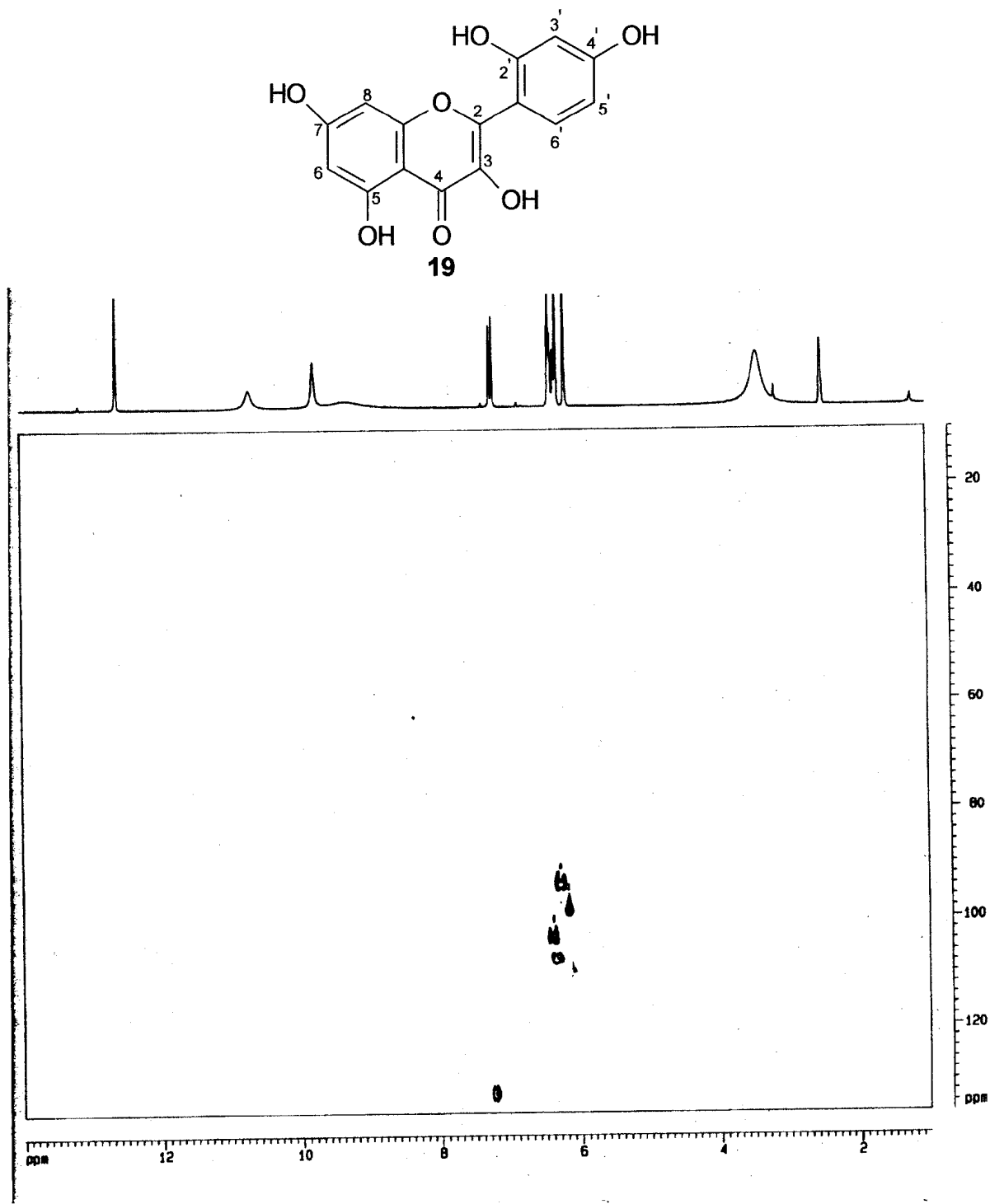


Figura A.93. Espectro de RMN HMQC (200 MHz, DMSO-d₆) de 19 (morina)

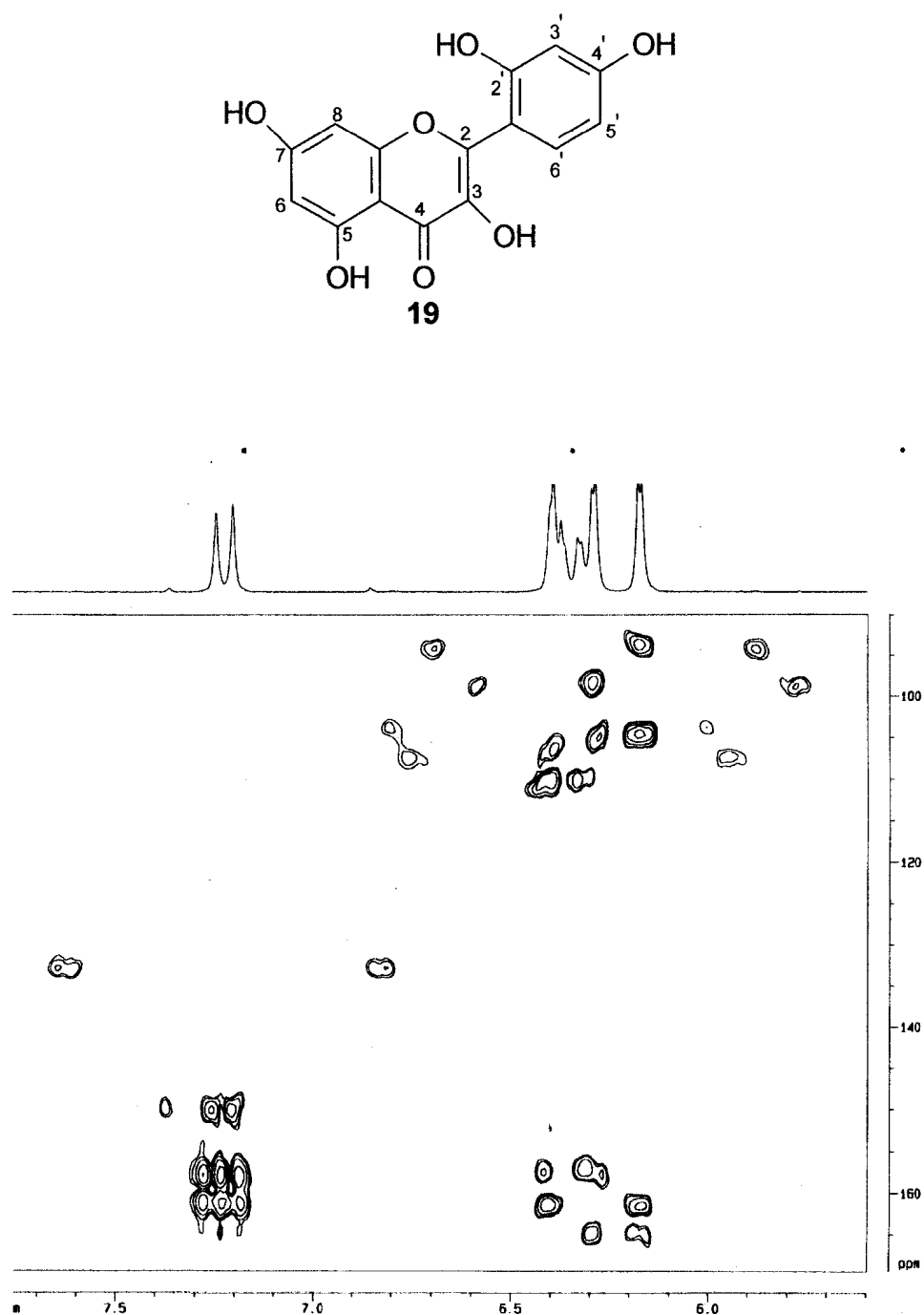


Figura A.94. Espectro de RMN HMBC (200 MHz, DMSO- d_6) de 19 (morina)

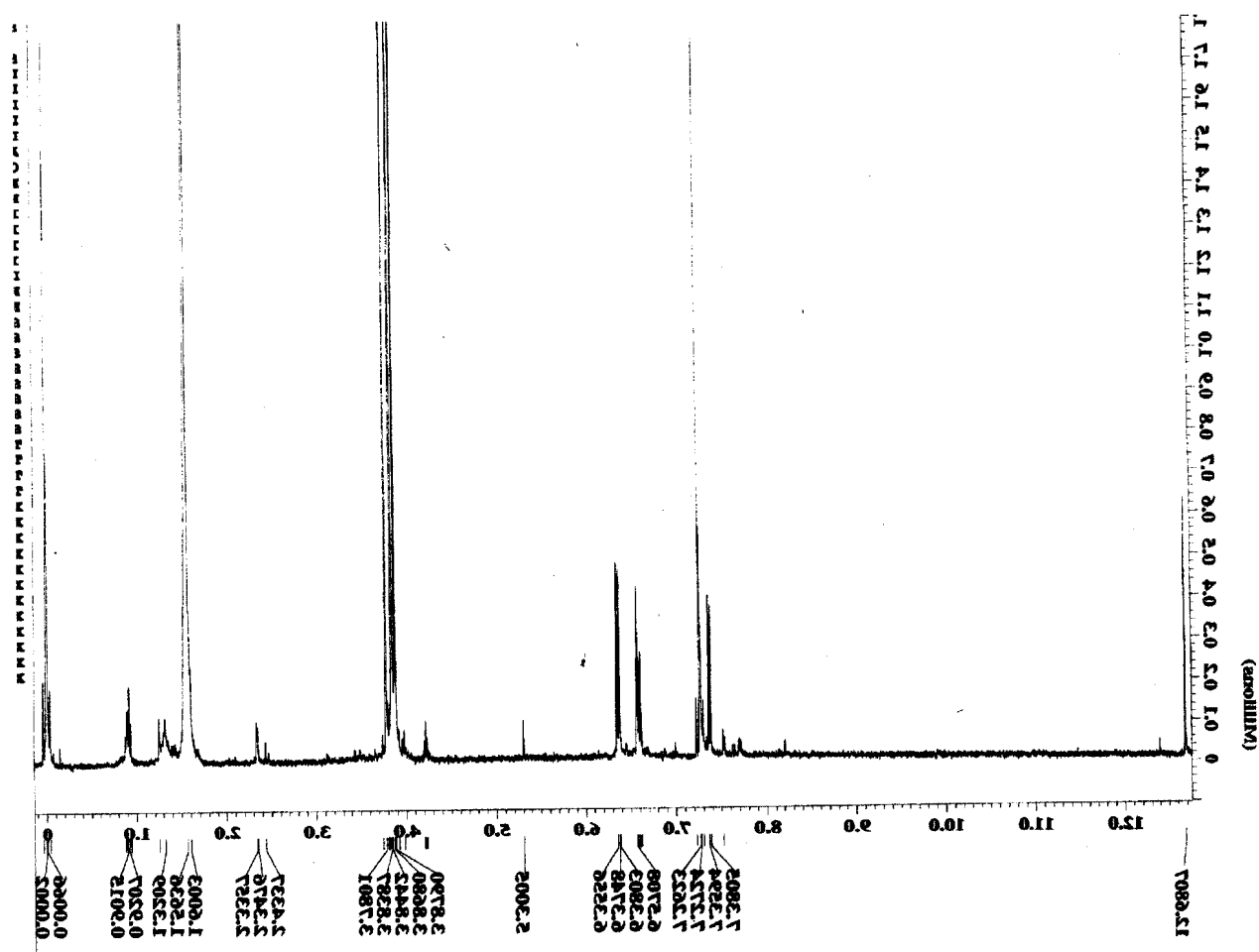
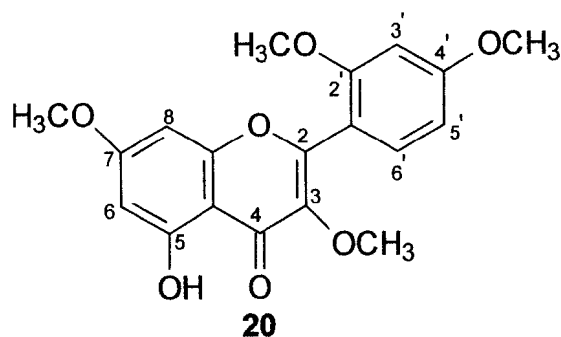


Figura A.95. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 20 (morina tetrametilada)

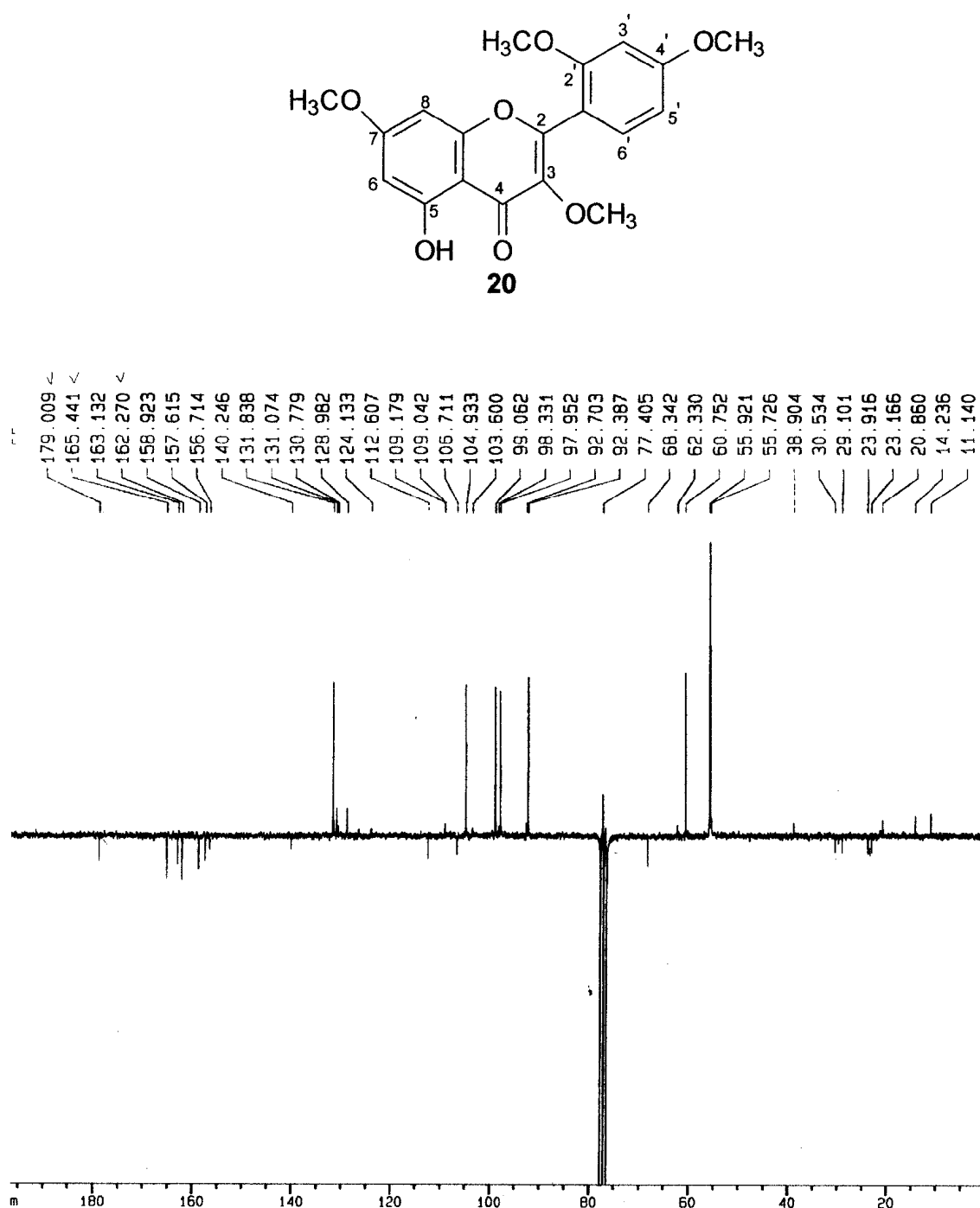


Figura A.96. Espectro de PENDANT (200 MHz, CDCl₃) de 20 (morina tetrametilada)

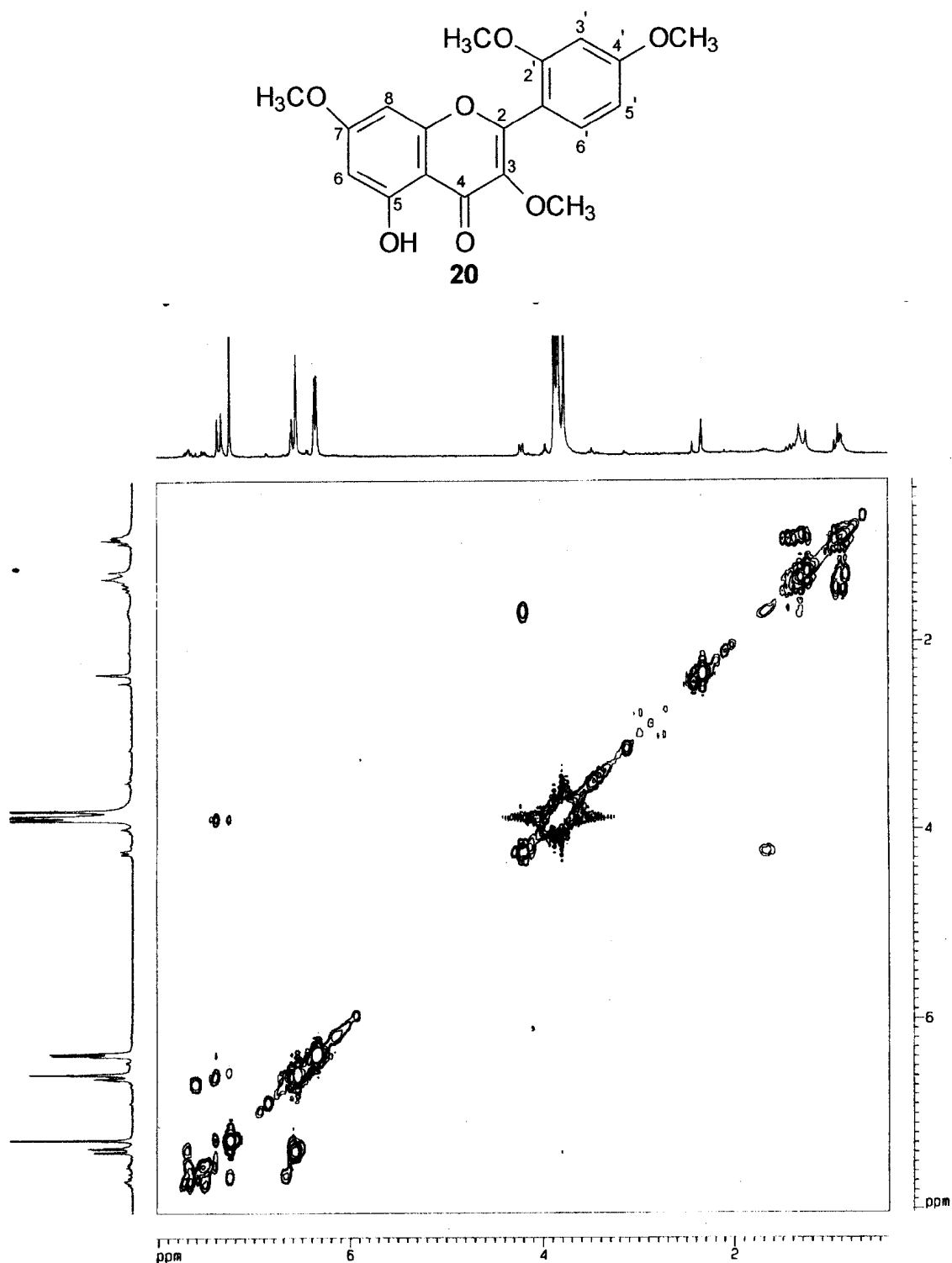
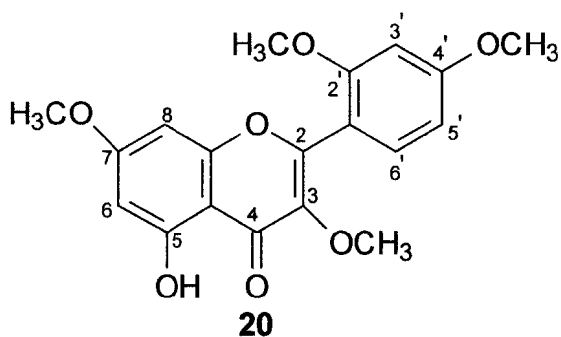


Figura A.97. Espectro de RMN COSY (200 MHz, CDCl₃) de 20 (morina tetrametilada)



Scan # : (1442 - 1450) B.G. Scan # : (1430 - 1436)
Mass Peak # : 300 Ret. Time : (15.008 - 15.075)
Base Peak : 358.20 (12016)

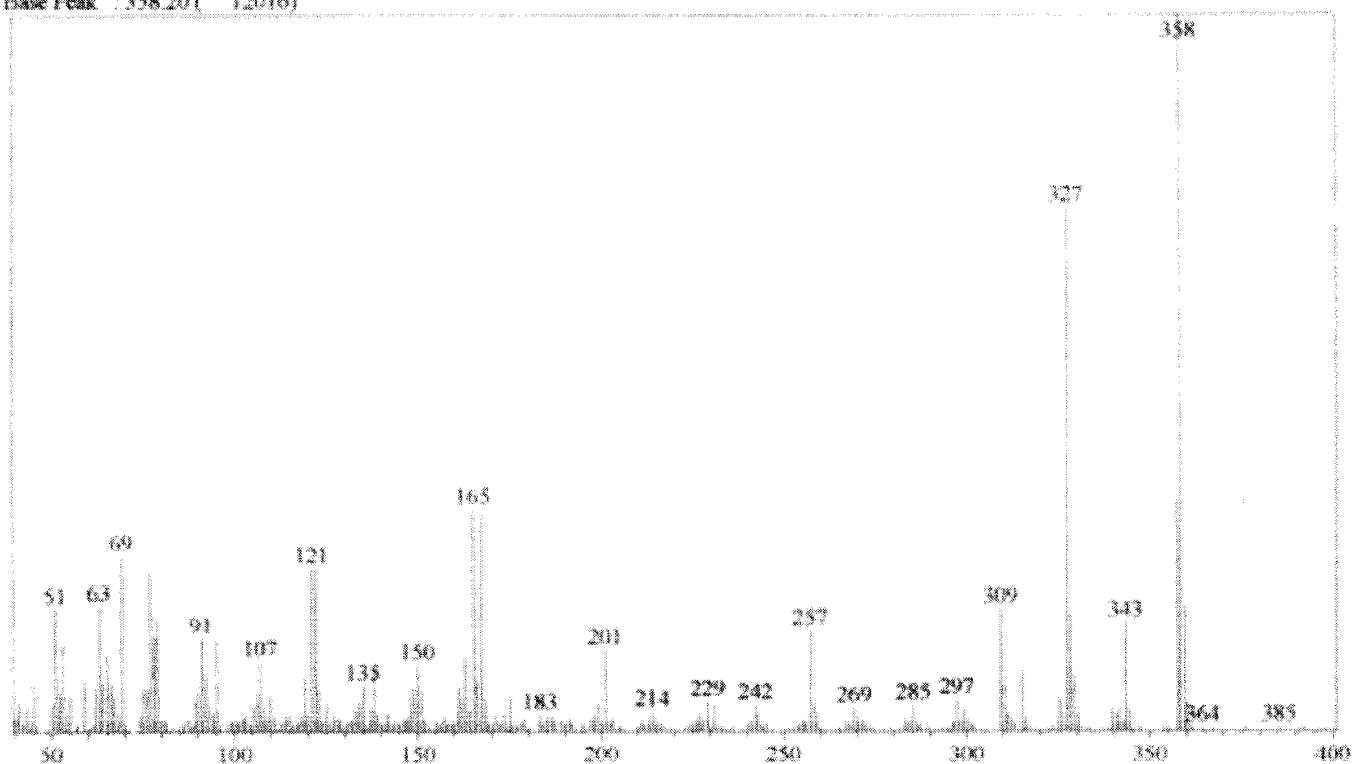


Figura A.98. Espectro de massas de 20 (morina tetrametilada)

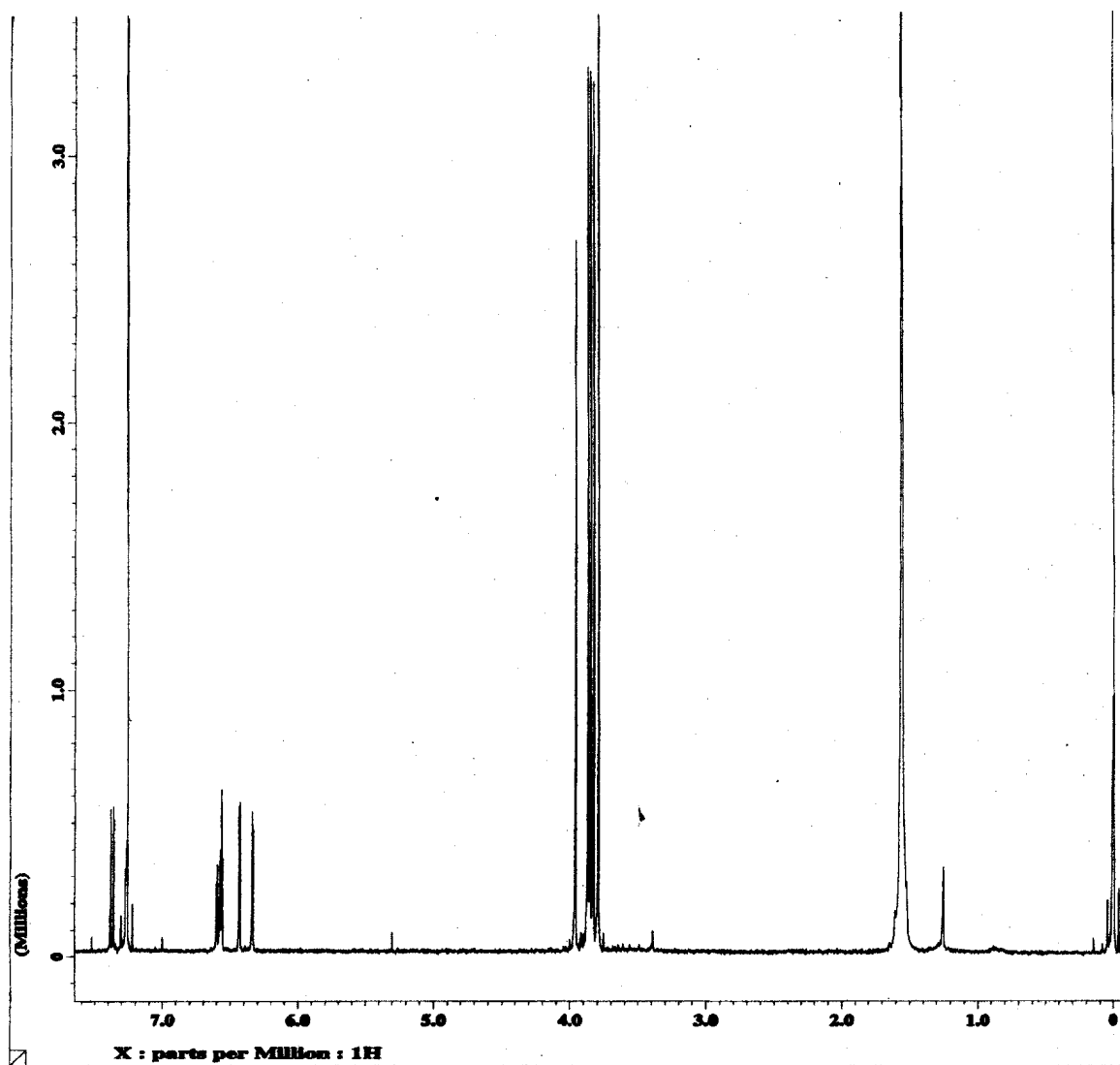
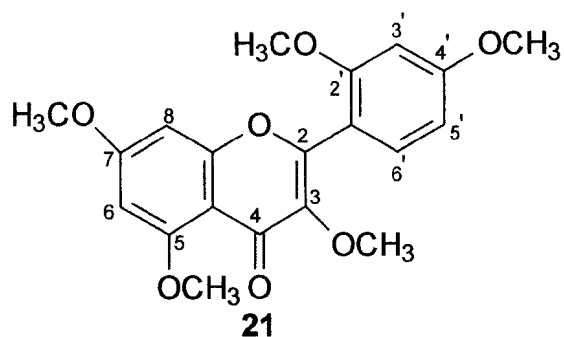


Figura A.99. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 21 (morina pentametilada)

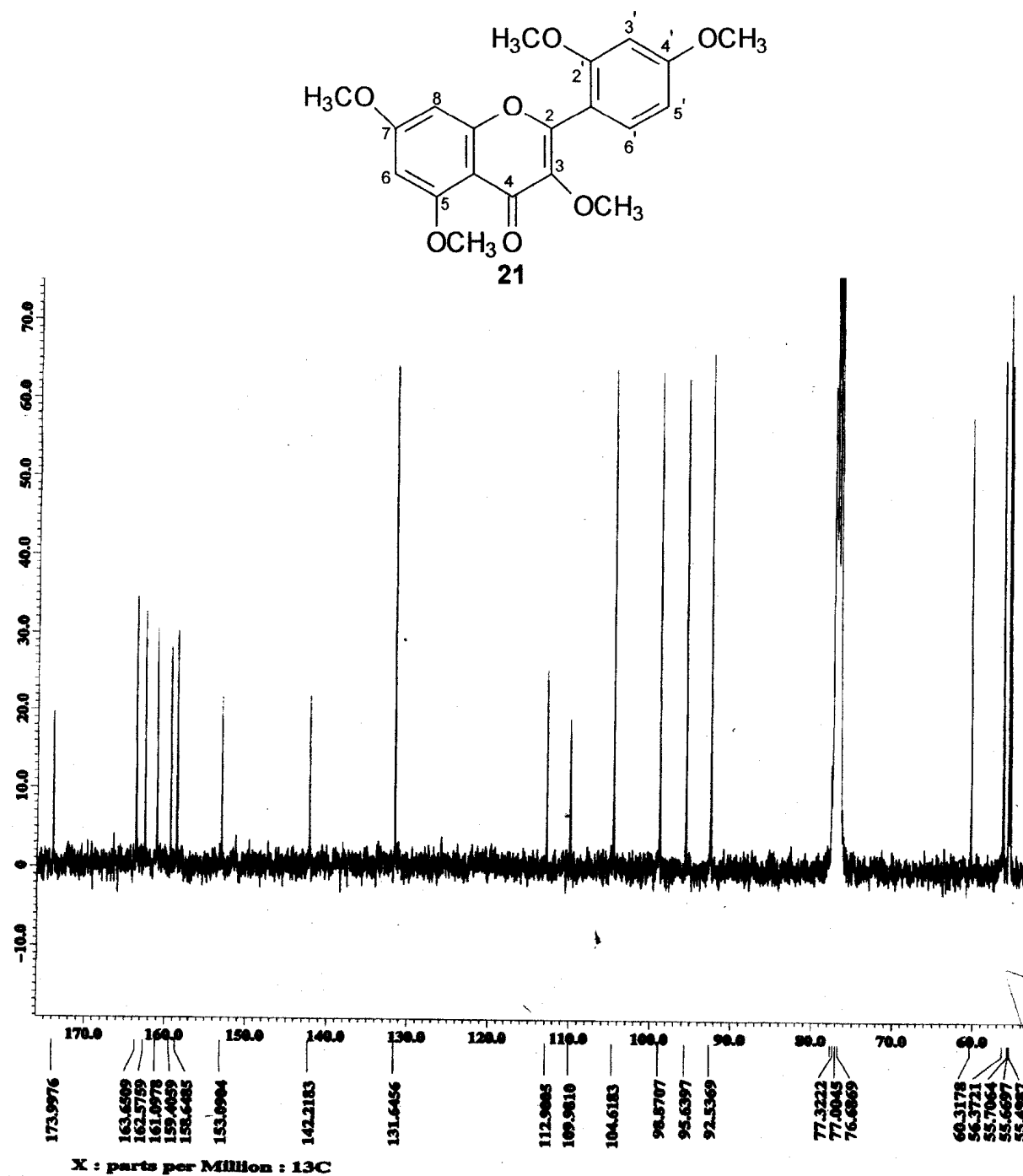


Figura A.100. Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) de 21 (morina pentametilada)



Figura A.101. Espectro de RMN COLOC (400 MHz, CDCl₃) de 21 (morina pentametilada)

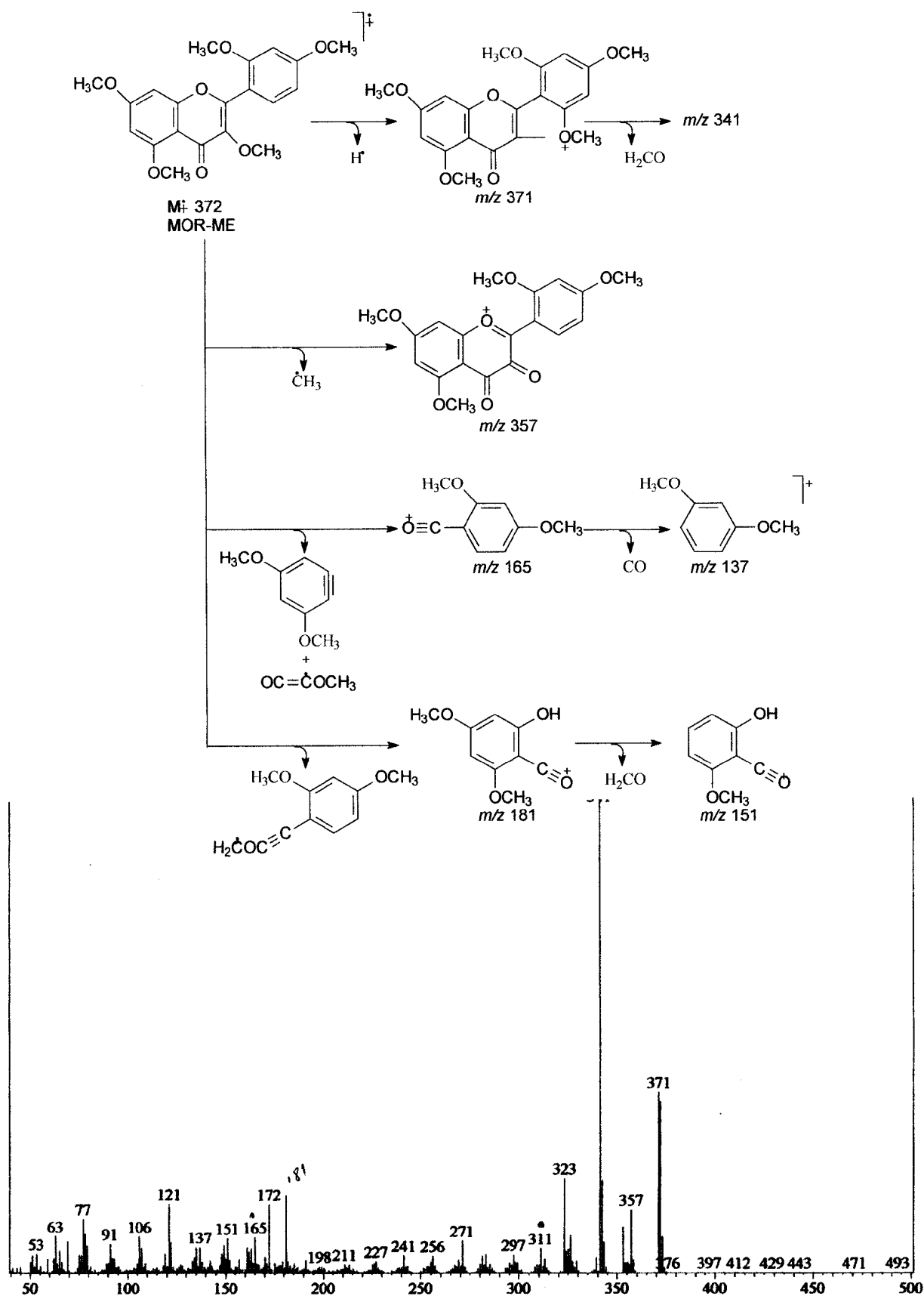


Figura A.102. Espectro de massas de 21 (morina pentametilada)

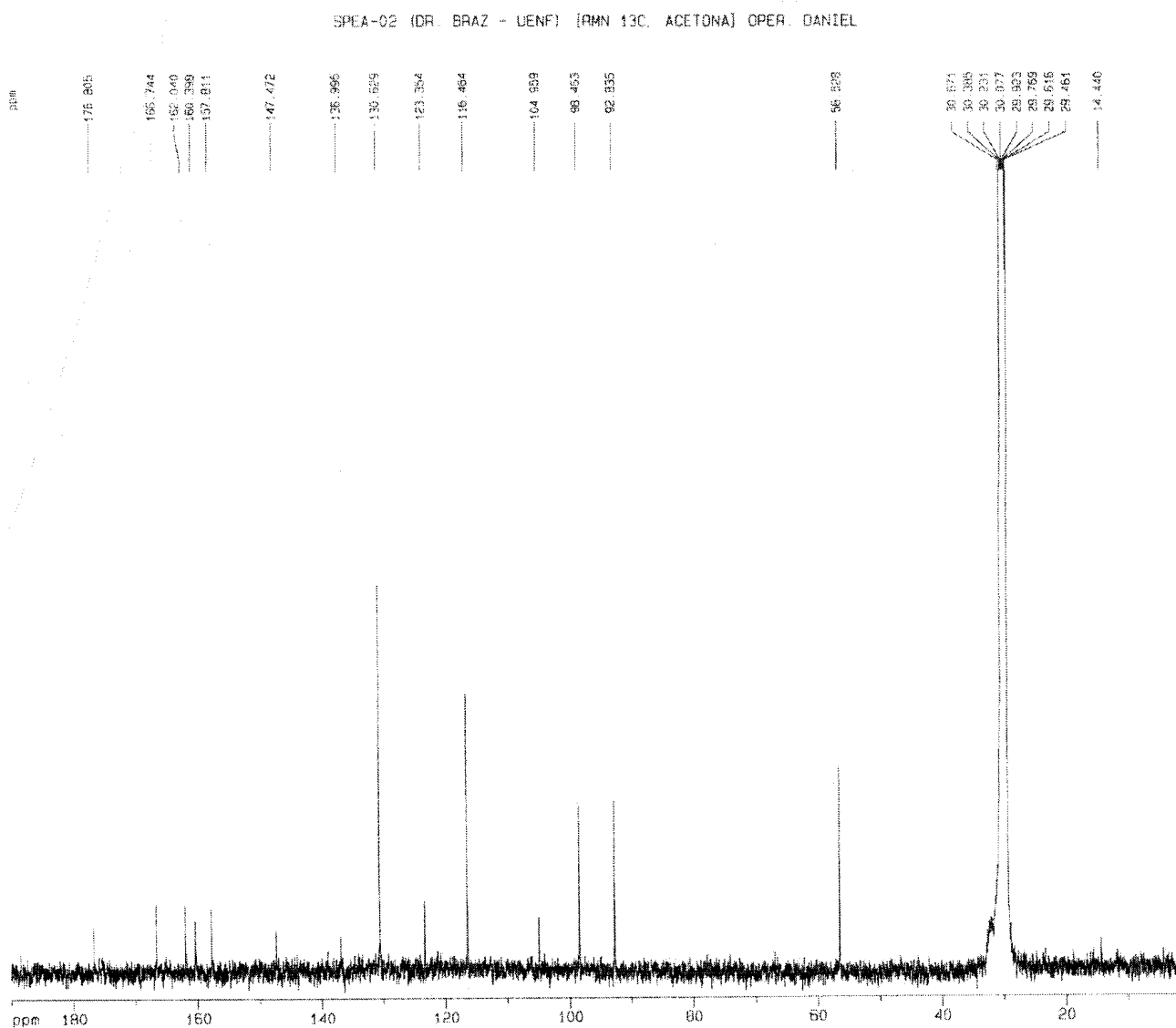
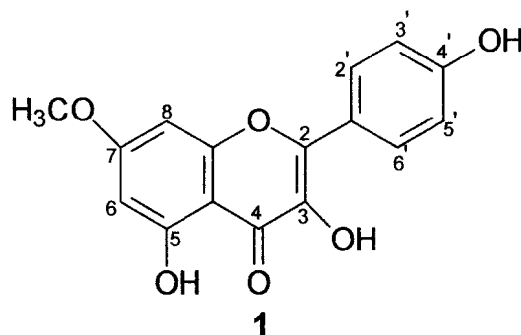


Figura A.104. Espectro de RMN de ¹³C (500 MHz, CDCl₃) de 1 (7-O-metilkanferol)