

I.3.1.2 Determinação estrutural da substância 2

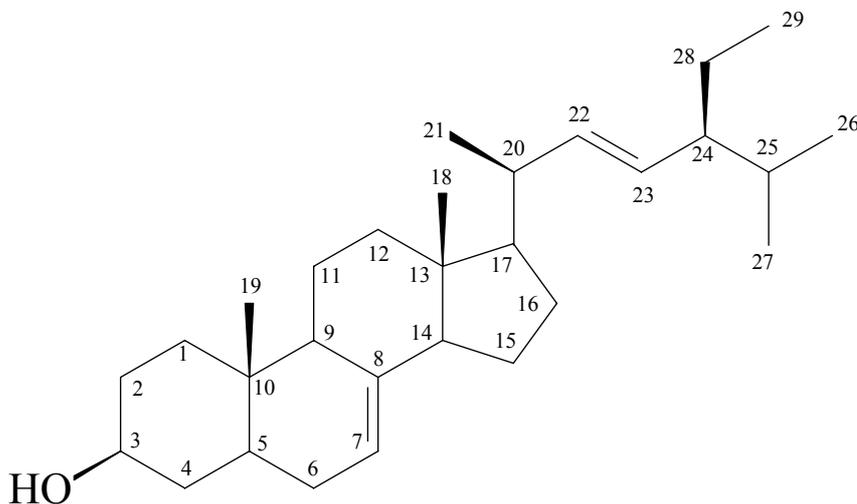
O espectro no IV (Figura I.12, pág. 46) revela uma banda larga de absorção de grupo hidroxila (3.449 cm^{-1} , estiramento OH), bandas de estiramento de CH_2 e CH_3 em 2.940 cm^{-1} e 2.870 cm^{-1} e de deformação em 1.462 cm^{-1} e 1.385 cm^{-1} , de $\nu\text{C}=\text{C}$ (1.647 cm^{-1}) e de $\nu\text{C}-\text{O}$ (1.098 cm^{-1} e 1.042 cm^{-1}).

O espectro de RMN de ^1H (Figura I.13, pág. 46) é bem característico de esteróide, apresentando os sinais de grupos metílicos entre $\delta_{3\text{H}}$ 0,8 e 1,21, um multiplete em δ_{H} 3,57 para o hidrogênio carbinólico H-3, além de multipletos em δ_{H} 5,12 correspondentes a hidrogênios olefínico (Tabela I.5, pág. 45).

O espectro de RMN ^{13}C (Figura I.14, pág. 47) e DEPT (Figura I.15, pág. 48) apresenta sinais de carbono olefínico em δ_{CH} 138,38 e δ_{CH} 129,63 correspondente aos carbonos CH-22 e CH-23 e δ_{C} 139,75 e δ_{CH} 117,65 para uma dupla ligação tri-substituída. A comparação dos deslocamentos químicos desses carbonos olefínicos com valores da literatura registrados (KOJIMA *et al.*, 1990) permitiu localizarmos a duplas em C-8 e CH-7 e CH-22 e CH-23. Os demais sinais em δ_{CH} 71,22, δ_{CH_2} 38,17, δ_{CH} 49,63, δ_{C} 34,41, δ_{C} 43,48, δ_{CH} 55,30, δ_{CH_2} 23,22 e δ_{CH_3} 13,25 foram comparados com os deslocamentos químicos do espinaesterol (KOJIMA *et al.*, 1990) e demonstraram serem semelhantes (Tabela I.5, pág. 45).

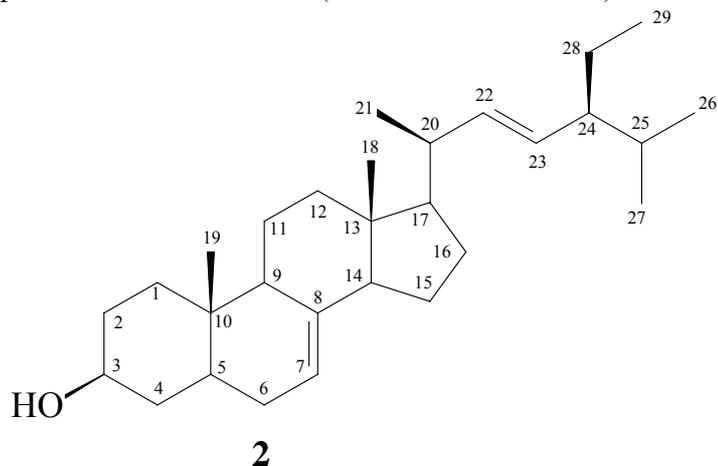
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono (HETCOR, Figuras I.16, pág. 49 e I.17, pág. 50) permitiu a atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos metílicos e seus hidrogênios respectivos (Tabela I.5, pág. 45).

O pico de massa m/z 412 (30%) presente no espectro de massas (Figura I.18, pág. 51, Esquema I.3, pág. 51) serviu para confirmar a estrutura do espinaesterol para substância 2.



2

Tabela I.5. Dados de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em CDCl_3 da substância **2** (Espinasterol) comparados com a literatura (KOJIMA *et al.*, 1990)



| C | HETCOR | | KOJIMA <i>et al.</i> , 1990 | |
|-----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | δ_{C} | δ_{H} |
| 08 | 139,75 | - | 139,5 | - |
| 10 | 34,41 | - | 34,2 | - |
| 13 | 43,48 | - | 43,3 | - |
| CH | | | | |
| 03 | 71,22 | 3,57 (m) | 71,0 | 3,59 (m) |
| 05 | 40,45 | - | 40,2 | - |
| 07 | 117,65 | 5,12 (m) | 117,4 | 5,15 (m) |
| 09 | 49,63 | 1,85 (m) | 49,4 | - |
| 14 | 55,30 | 1,95 (m) | 55,1 | - |
| 17 | 56,09 | - | 55,8 | - |
| 20 | 41,02 | - | 40,8 | - |
| 22 | 138,38 | 5,12 (m) | 138,7 | 5,15 (dd, 15,9) |
| 23 | 129,63 | 5,03 (m) | 129,4 | 5,02 (dd, 15,9) |
| 24 | 51,45 | 1,70 (m) | 51,2 | - |
| 25 | 32,08 | - | 31,9 | - |
| CH₂ | | | | |
| 01 | 37,35 | 1,30(m) | 37,1 | - |
| 02 | 31,65 | - | 31,4 | - |
| 04 | 38,17 | - | 38,0 | - |
| 06 | 29,83 | a)1,9 (m), b)1,4 (m) | 29,6 | - |
| 11 | 21,74 | - | 21,5 | - |
| 12 | 39,66 | - | 39,4 | - |
| 15 | 23,22 | - | 23,0 | - |
| 16 | 28,71 | - | 28,5 | - |
| 28 | 25,59 | - | 25,4 | - |
| CH₃ | | | | |
| 18 | 12,25 | 0,80 (s) | 12,0 | 0,55 (s) |
| 19 | 13,25 | 1,02 (d) | 13,0 | 0,80 (s) |
| 21 | 21,59 | 1,21(s) | 21,4 | 1,02 (d) |
| 26 | 21,28 | 1,07 (d) | 21,1 | 0,85 (d) |
| 27 | 19,19 | 1,02 (d) | 19,0 | 0,80 (d) |
| 29 | 12,46 | 1,03 (d) | 12,3 | 0,80 (t) |

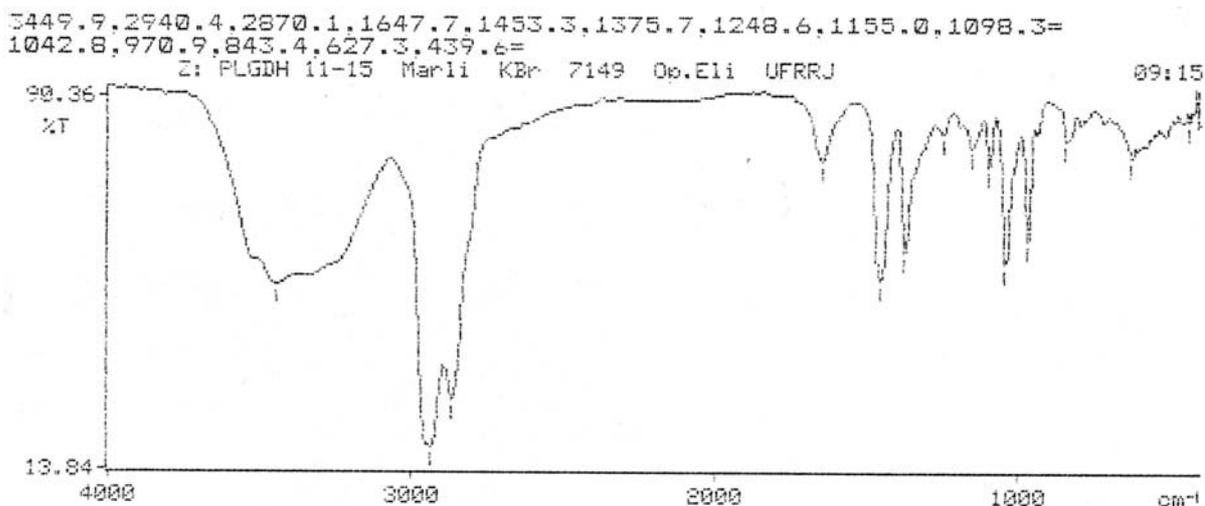


Figura I.12. Espectro de IV da substância 2 (Espinasterol)

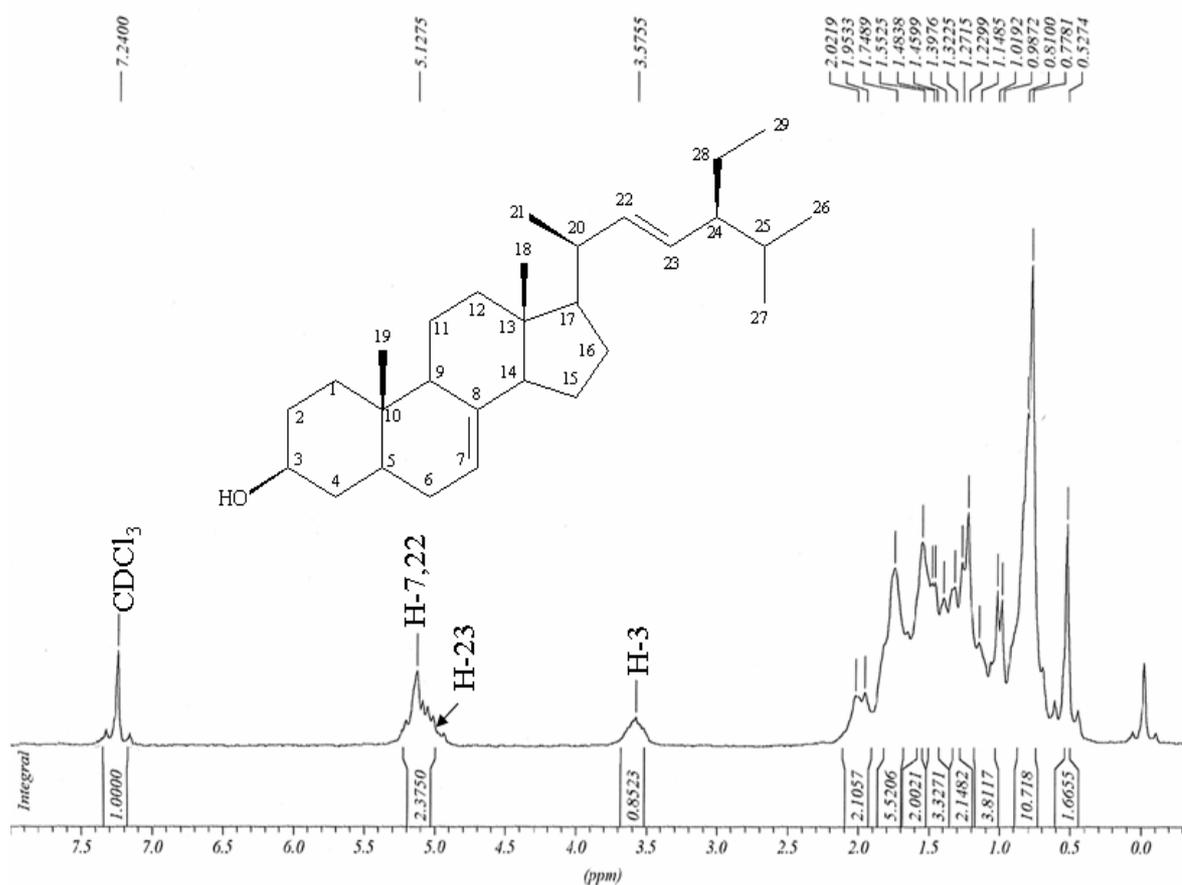


Figura I.13. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) da substância 2 (Espinasterol)

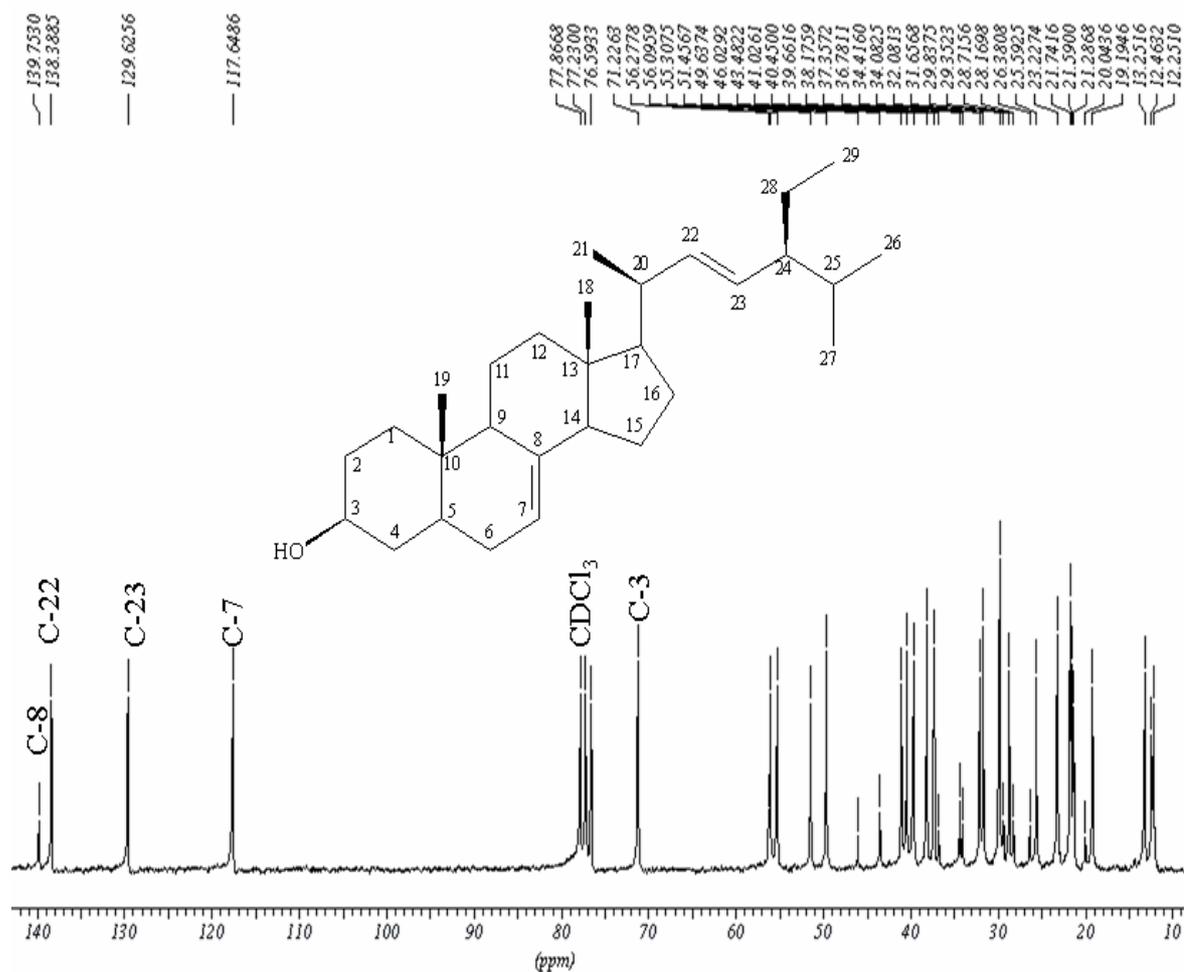


Figura I.14. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da substância **2** (Espinasterol)

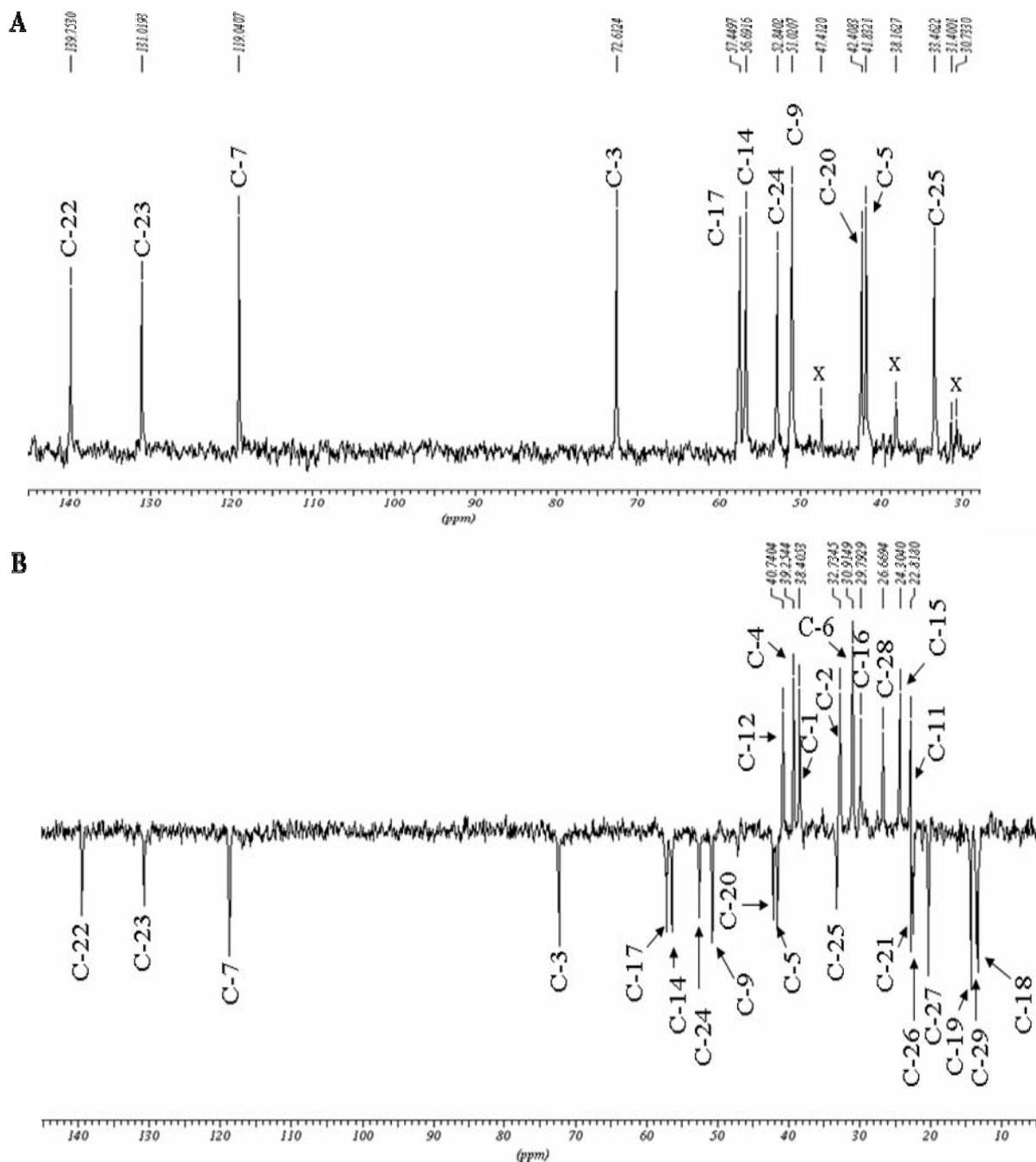
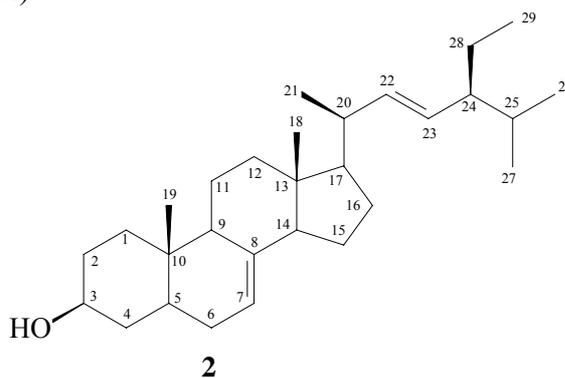


Figura I.15. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (**A:** $\theta=90^\circ$; **B:** $\theta=135^\circ$, 50 MHz, CDCl_3) da substância **2** (Espinasterol)



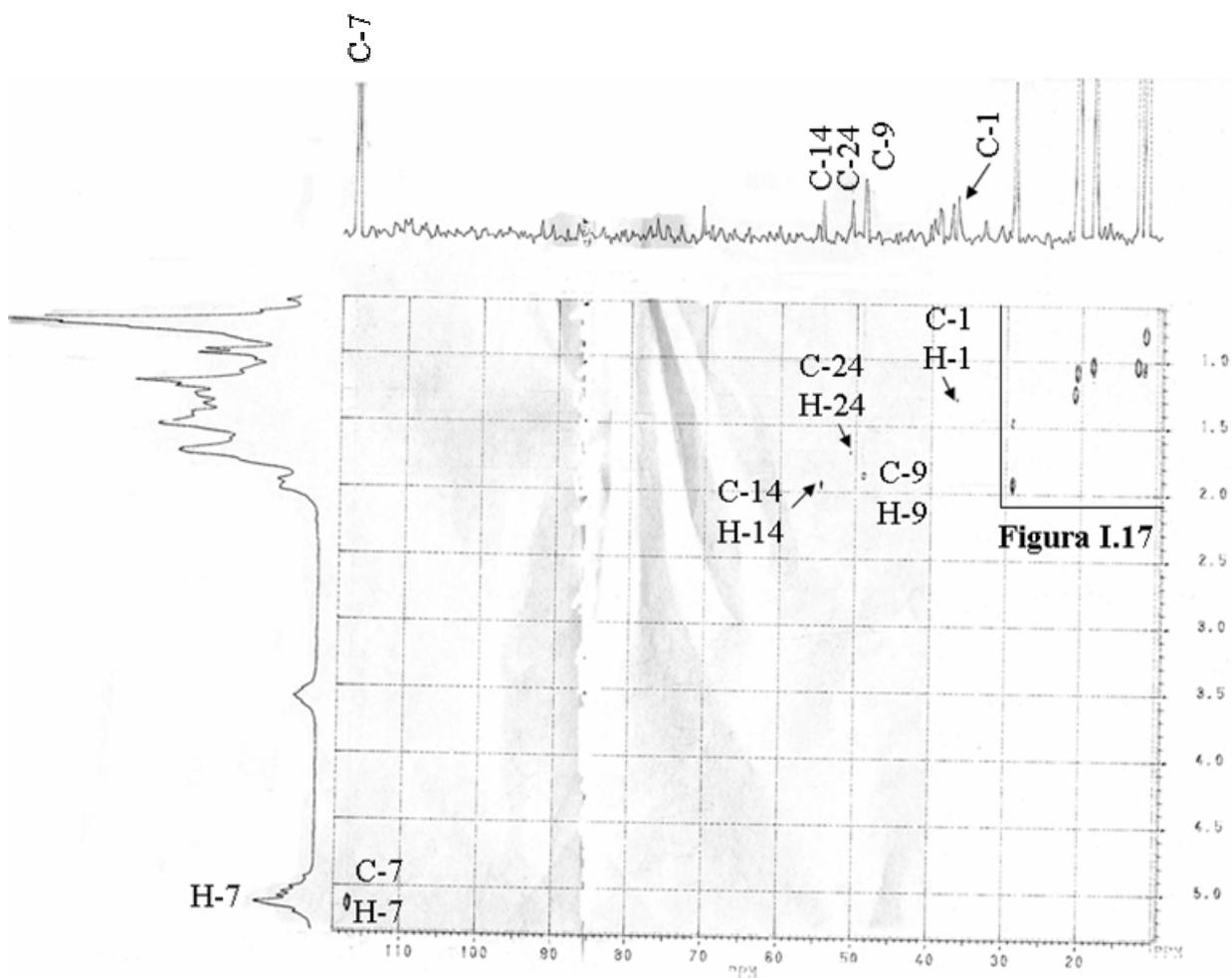
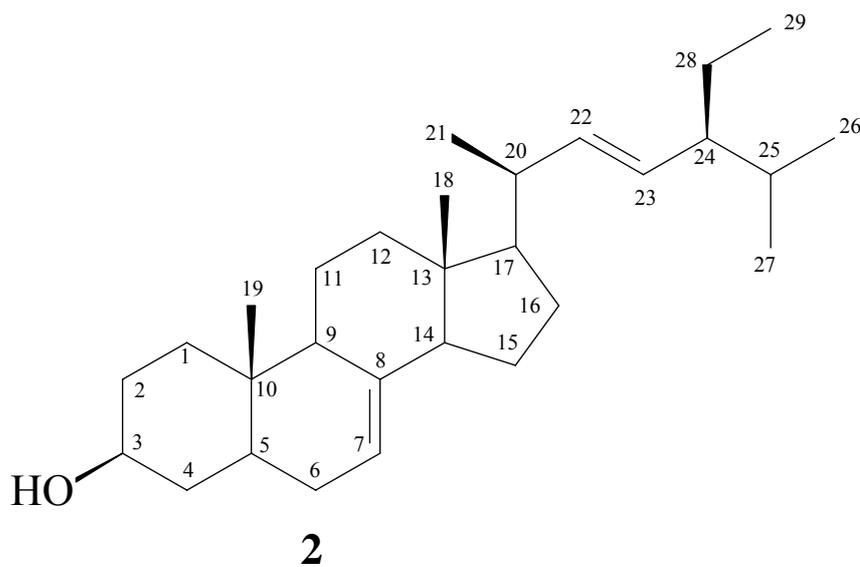


Figura I.16. Espectro de RMN HETCOR (^{13}C - 50 MHz, ^1H - 200 MHz, CDCl_3) da substância **2** (Espinasterol)



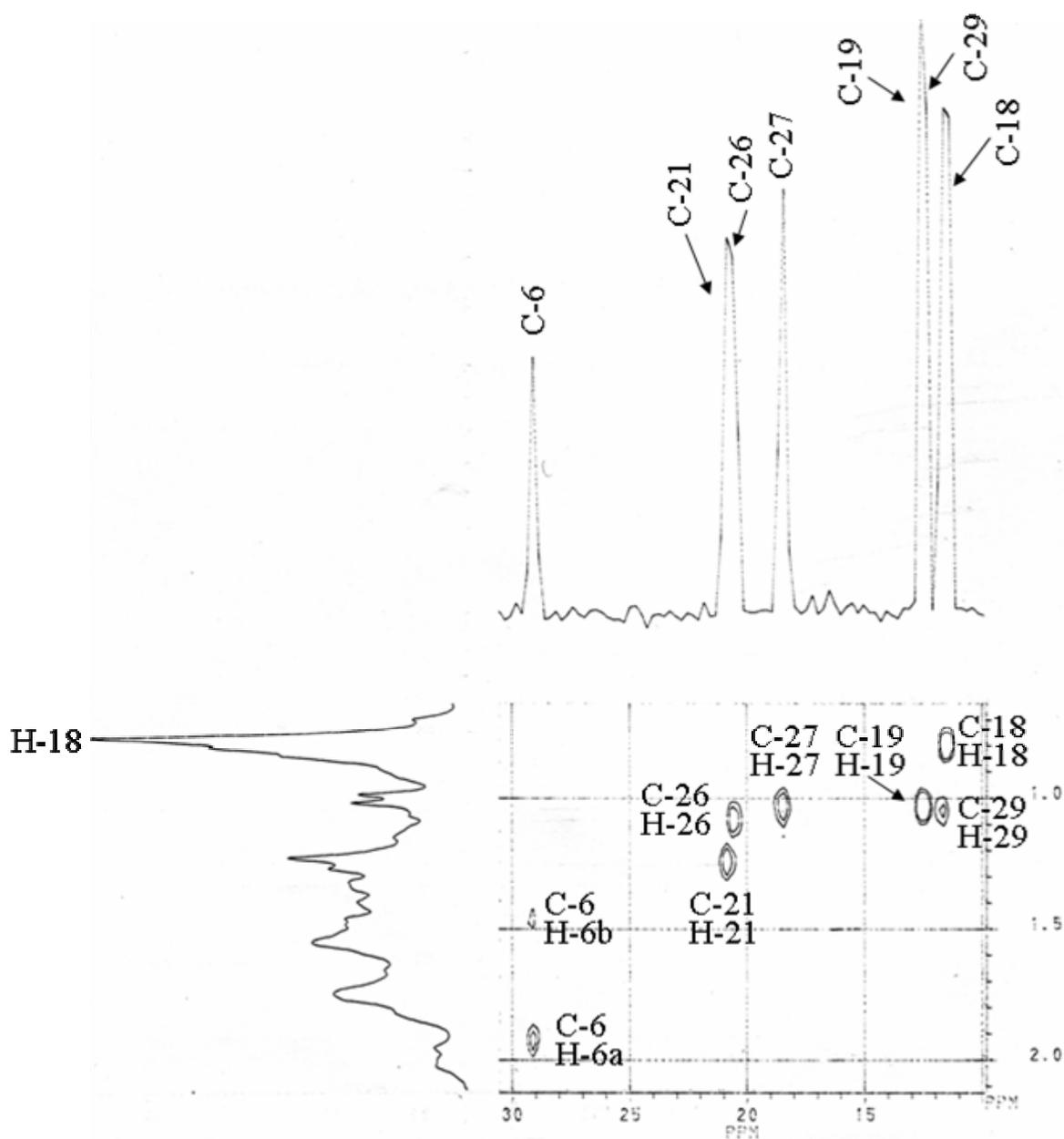
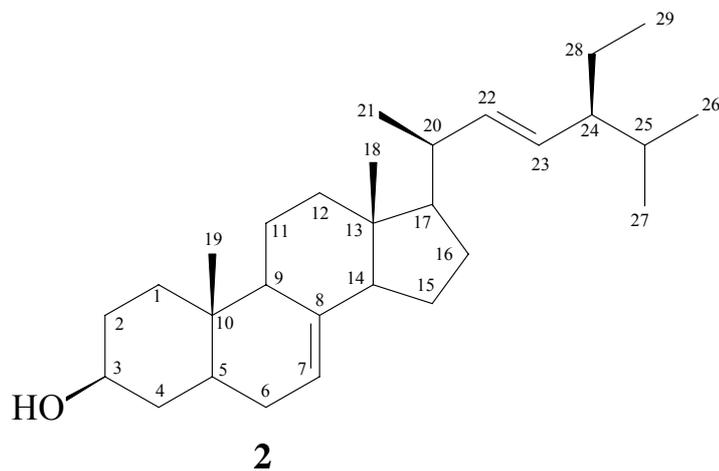


Figura I.17. Espectro de RMN HETCOR (^{13}C - 50 MHz, ^1H - 200 MHz, CDCl_3) ampliação da região δ 10-30x0,5-2,1 ppm da substância **2** (Espinasterol)



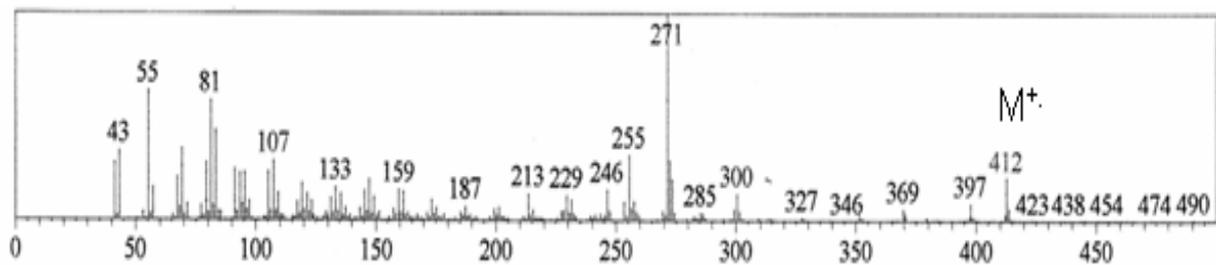
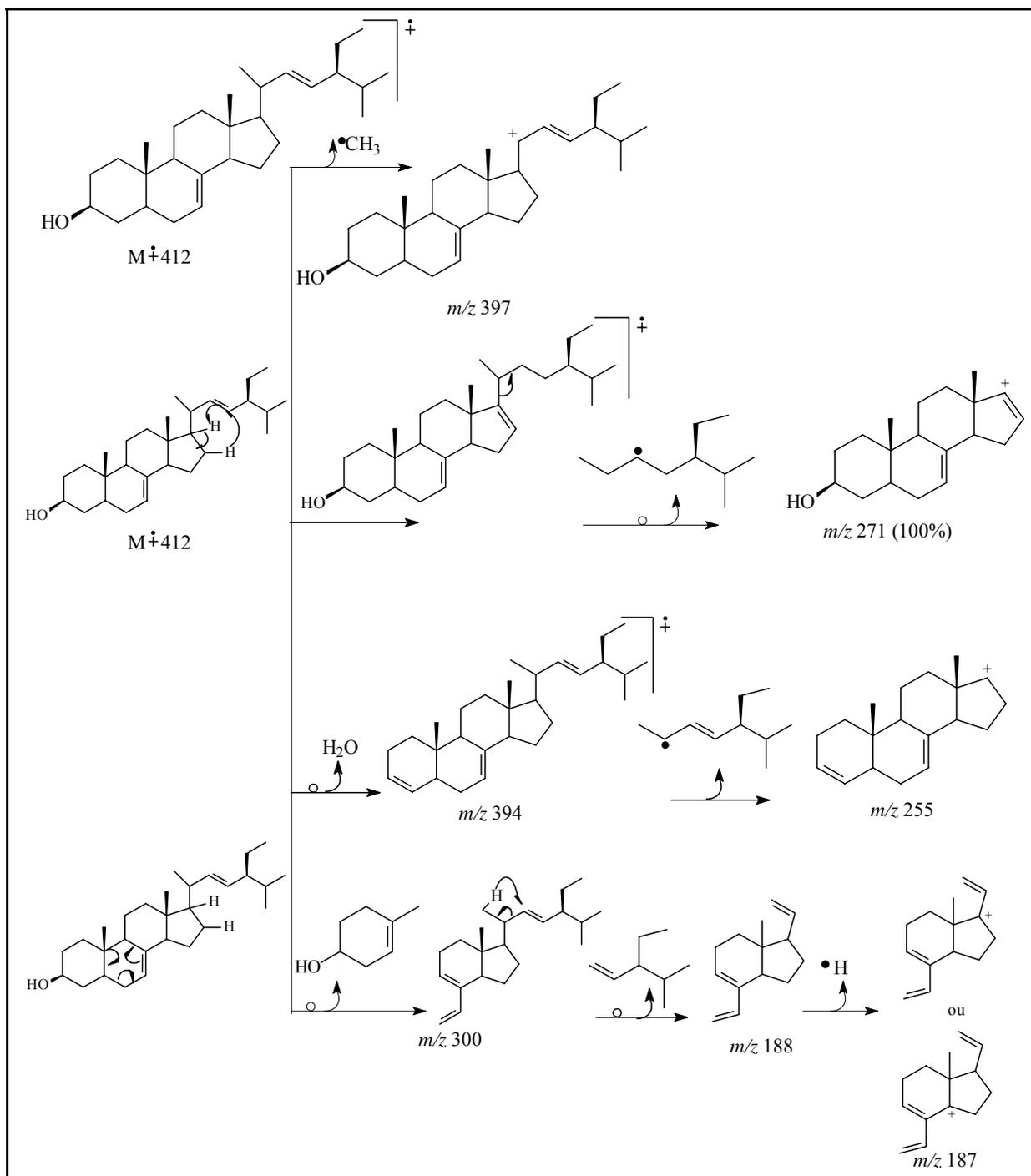


Figura I.18. Espectro de massas da substância 2 (Espinasterol)



Esquema I.3. Principais fragmentos referentes aos picos do espectro de massas da substância 2 (Espinasterol)

I.3.1.3 Determinação estrutural da substância **3** e seus derivados **3a**, **3b**, **3c** e **3d**

O espectro no IV (Figura I.19, pág. 55) revela uma banda larga característica de absorção em 3.430 cm^{-1} correspondente a estiramento de hidroxila de álcool e ácido. Absorção em 2.930 cm^{-1} e 2.860 cm^{-1} correspondente a estiramento de grupos alquila. Absorção intensa em 1.691 cm^{-1} correspondente a C=O de ácido carboxílico e a banda em 1.100 cm^{-1} de estiramento de C-O sugere a presença de álcool secundário na molécula.

O espectro de RMN ^1H (Figura I.20, pág. 55) apresenta cinco sinais de singleto correspondentes a metilas ligadas a carbonos terciários: $\delta_{\text{H}} 0,88$ (3H-25); $\delta_{\text{H}} 1,01$ (3H-24); $\delta_{\text{H}} 1,04$ (3H-26); $\delta_{\text{H}} 1,22$ (3H-27) e $\delta_{\text{H}} 1,24$ (3H-23) e dois dubletos correspondentes a metilas secundárias $\delta_{\text{H}} 0,95$ (3H-30) e $\delta_{\text{H}} 0,98$ (3H-29). O dubleto em $\delta_{\text{H}} 2,62$ ($J=11,3\text{ Hz}$) pode ser atribuído a próton metínico (H-18) desprotegido. Os sinais em $\delta_{\text{H}} 5,49$ (m) e $\delta_{\text{H}} 3,5$ (t) podem ser atribuídos aos hidrogênios olefínicos e carbinólicos respectivamente. O sinal largo em $\delta_{\text{H}} 5,03$ pode ser atribuído ao hidrogênio do álcool (Tabela I.6, pág. 53). Estes últimos sinais confirmam as proposta para os sinais revelados no espectro de IV (Figura I.19, pág. 55).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura I.21, pág. 56) e DEPT (Figura I.22, pág. 57) permitiu identificar o número de C, CH, CH_2 e CH_3 (Tabela I.6, pág. 53) e confirmar a presença de carbonila de ácido em $\delta_{\text{C}} 179,55$, correspondente a C-28 e carbono carbinólico (CH-3) em $\delta_{\text{C}} 77,6$. O sinais em $\delta_{\text{CH}} 125,09$ e $\delta_{\text{C}} 138,7$ correspondem a uma dupla ligação nos carbonos CH-12 e C-13. A comparação dos sinais com dados da literatura permitiu verificar que se trata de um triterpeno da classe ursano, por possuir grupo metila ligado ao CH-19 apresentando efeito γ (proteção) sobre o C-13 e β (desproteção) sobre o CH-18 ($\delta_{\text{CH}} 52,97$). Veja os valores de deslocamentos na Tabela I.6, pág. 53. Esses dados são semelhantes aos do ácido ursólico (ácido 3- β -hidroxi-12-ursen-28-óico), uma substância encontrada com frequência em plantas (KRIWACKI & PITNER, 1989) e, nesse trabalho, foi isolada uma grande quantidade (4,0 g), nos galhos e nas folhas de *Plumeria lancifolia* Müll. Arg..

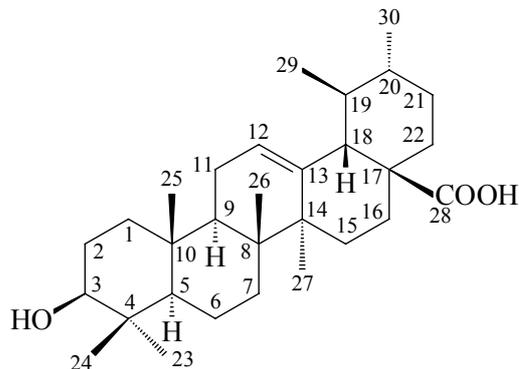
A reação de oxidação do ácido ursólico (**3**) originou o ácido ursônico (**3a**) confirmado pelo espectro no IV (Figura I.23, pág. 58) com as bandas em 1.765 cm^{-1} referente a carbonila de cetona e em 1.697 cm^{-1} correspondente a C=O de ácido carboxílico. O espectro de RMN ^1H (Figura I.24, pág. 58) apresenta sinal de 2H-2 em $\delta_{\text{H}} 2,49$ (m), sinal de H-18 em $\delta_{\text{H}} 2,17$ (d, $J=11,2\text{ Hz}$) e ausência dos sinais em $\delta_{\text{H}} 5,03$ e $\delta_{\text{H}} 3,5$ (t) do H-O e H-3 (Tabela I.7, pág. 54).

O derivado metilado **3b** (ursolato de metila) obtido da reação de metilação do ácido ursólico (**3**), foi confirmado pelo espectro no IV (Figura I.25, pág. 59) pela ausência de banda em 1.691 cm^{-1} e presença de uma banda intensa em 1.726 cm^{-1} correspondente a carbonila de éster. O singleto em $\delta_{\text{H}} 3,58$ (28-OCH₃) no espectro de RMN ^1H (Figura I.26, pág. 59) confirmou a formação do produto (Tabela I.7, pág. 54).

A reação de acetilação do derivado **3b** (Ursolato de metila) forneceu o derivado **3c** (3-O-acetil-ursolato de metila). Esse produto foi confirmado pelo espectro no IV (Figura I.27, pág. 60) pela ausência de banda larga na região de 3.430 cm^{-1} e banda intensa em 1.730 cm^{-1} correspondente a carbonila de éster. No espectro de RMN ^1H (Figura I.28, pág. 60) os sinais em $\delta_{\text{H}} 3,57$ (28-OCH₃), $\delta_{\text{H}} 2,01$ (3-OCOCH₃) e em $\delta_{\text{H}} 4,47$ (H-3) confirmaram também a formação do produto **3c** (Tabela I.7, pág. 54).

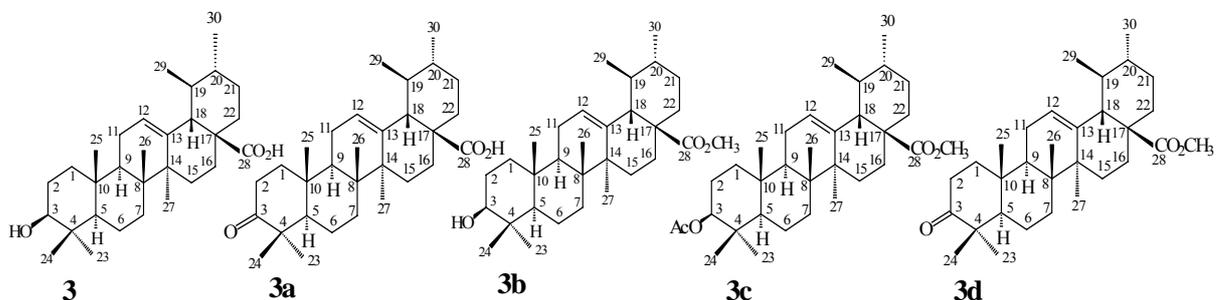
A reação de oxidação do derivado **3b** (ursolato de metila) deu origem ao produto **3d** (3-oxo-ursolato de metila), confirmado por espectro no IV (Figura I.29, pág. 61) pela ausência da banda de O-H e pela presença das bandas intensas em 1.730 cm^{-1} e 1.697 cm^{-1} correspondentes a carbonila de éster e carbonila de cetona cíclica respectivamente. Este produto foi confirmado por espectro de RMN ^1H (Figura I.30, pág. 61) pela ausência do sinal do H-3 e pela presença do sinal de 2H-2 em $\delta_{\text{H}} 2,50$ (m) (Tabela I.7, pág. 54).

Tabela I.6. Dados de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em Piridina- d_5 da substância **3** (Ácido ursólico) comparados com a literatura (KRIWACKI & PITNER, 1989)



| C | Substância 3 | | KRIWACKI & PITNER, 1989 | |
|-----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | δ_{C} | δ_{H} |
| 04 | 38,93 | - | 39,5 | - |
| 08 | 39,39 | - | 40,0 | - |
| 10 | 36,9 | - | 37,3 | - |
| 13 | 138,7 | - | 139,3 | - |
| 14 | 41,9 | - | 42,5 | - |
| 17 | 47,5 | - | 48,1 | - |
| 28 | 179,55 | - | 179,8 | - |
| CH | | | | |
| 03 | 77,6 | 3,5 (t) | 78,1 | 3,46 |
| 05 | 55,25 | - | 55,8 | 0,88 |
| 09 | 47,45 | - | 48,1 | 1,62 |
| 12 | 125,09 | 5,49 (m) | 125,7 | 5,50 |
| 18 | 52,97 | 2,62 (d, 11,3) | 53,6 | 2,62 |
| 19 | 39,4 | - | 39,5 | 1,45 |
| 20 | 38,51 | - | 39,4 | 0,93 |
| CH₂ | | | | |
| 01 | 38,81 | - | 39,1 | a)0,95; b)1,52 |
| 02 | 27,07 | - | 28,1 | 1,82 |
| 06 | 18,22 | - | 18,8 | a)1,56; b)1,33 |
| 07 | 32,99 | - | 33,6 | a)1,55; b)1,35 |
| 11 | 23,07 | - | 23,6 | 1,94 |
| 15 | 29,44 | - | 28,7 | a)1,26; b)2,33 |
| 16 | 24,3 | - | 24,9 | a)2,12; b)1,97 |
| 21 | 30,5 | - | 31,1 | 1,40 |
| 22 | 36,7 | - | 37,5 | 1,95 |
| CH₃ | | | | |
| 23 | 28,26 | 1,24 (s) | 28,8 | 1,23 |
| 24 | 15,1 | 1,01 (s) | 16,5 | 1,01 |
| 25 | 16,04 | 0,88 (s) | 15,7 | 0,87 |
| 26 | 16,89 | 1,04 (s) | 17,5 | 1,04 |
| 27 | 23,35 | 1,22 (s) | 23,9 | 1,21 |
| 29 | 16,98 | 0,98 (s) | 17,5 | 0,98 |
| 30 | 20,98 | 0,95 (s) | 21,4 | 0,93 |
| 3-OH | - | 5,03 | - | - |

Tabela I.7. Dados de RMN ^1H (200 MHz) da substância **3** (Ácido ursólico) em Piridina- d_5 e seus derivados **3a**, **3b**, **3c** e **3d** em CDCl_3 , comparados com valores da literatura (KRIWACKI & PITNER, 1989)



| | 3 | 3a | 3b | 3c | 3d | KRIWACKI & PITNER, 1989 |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------------------|
| C | δ_{H} | δ_{H} | δ_{H} | δ_{H} | δ_{H} | δ_{H} |
| 01 | | | | | | a)0,95; b)1,52 |
| 02 | | 2,49 (m) | | | 2,50 (m) | 1,82 |
| 03 | 3,5 (t) | - | 3,18 (t) | 4,47 (t) | | 3,46 |
| 04 | - | - | - | - | - | - |
| 05 | | | | | | 0,88 |
| 06 | | | | | | a)1,56; b)1,33 |
| 07 | | | | | | a)1,55; b)1,35 |
| 08 | - | - | - | - | - | - |
| 09 | | | | | | 1,62 |
| 10 | - | - | - | - | - | - |
| 11 | | | | | | 1,94 |
| 12 | 5,49 (m) | 5,23 (s) | 5,22 (t) | 5,23 (m) | 5,23 (m) | 5,50 |
| 13 | - | - | - | - | - | - |
| 14 | - | - | - | - | - | - |
| 15 | | | | | | a)1,26; b)2,33 |
| 16 | | | | | | a)2,12; b)1,97 |
| 17 | - | - | - | - | - | - |
| 18 | 2,62 (d, 11,3) | 2,17 (d, 11,2) | 2,20 (d, 11,6) | 2,20 (d, 11,3) | 2,21 (d, 11,2) | 2,62 |
| 19 | | | | | | 1,45 |
| 20 | | | | | | 0,93 |
| 21 | | | | | | 1,40 |
| 22 | | | | | | 1,95 |
| 23 | 1,24 (s) | 1,22 (s) | 1,23 (s) | 1,22 (s) | 1,21 (s) | 1,23 |
| 24 | 1,01 (s) | 1,00 (s) | 0,92(s) | 0,84 (s) | 1,00 (s) | 1,01 |
| 25 | 0,88 (s) | 0,81 (s) | 0,71 (s) | 0,71 (s) | 0,75 (s) | 0,87 |
| 26 | 1,04 (s) | 1,02 (s) | 0,96(s) | 0,91 (s) | 1,04 (s) | 1,04 |
| 27 | 1,22 (s) | 1,06 (s) | 1,04 (s) | 1,0,3 (s) | 1,04 (s) | 1,21 |
| 28 | - | - | - | - | - | - |
| 29 | 0,98 (s) | 0,93 (s) | 0,75 (s) | 0,83 (s) | 0,83 (s) | 0,98 |
| 30 | 0,95 (s) | 0,85 (s) | 0,81 (s) | 0,82 (s) | 0,81 (s) | 0,93 |
| 3-OH | 5,03 | - | | - | - | |
| 3-Ac | - | - | - | 2,01 (s) | - | - |
| 28-OCH ₃ | - | - | 3,58 (s) | 3,57 (s) | 3,57 (s) | - |

3430.7,2930.1,2860.3,1691.5,1459.8,1382.6,1315.6,1279.4,1248.2=
1182.4,1100.5,1037.5,996.0,828.2,804.8,767.1,661.0,566.6=
470.5,438.6=

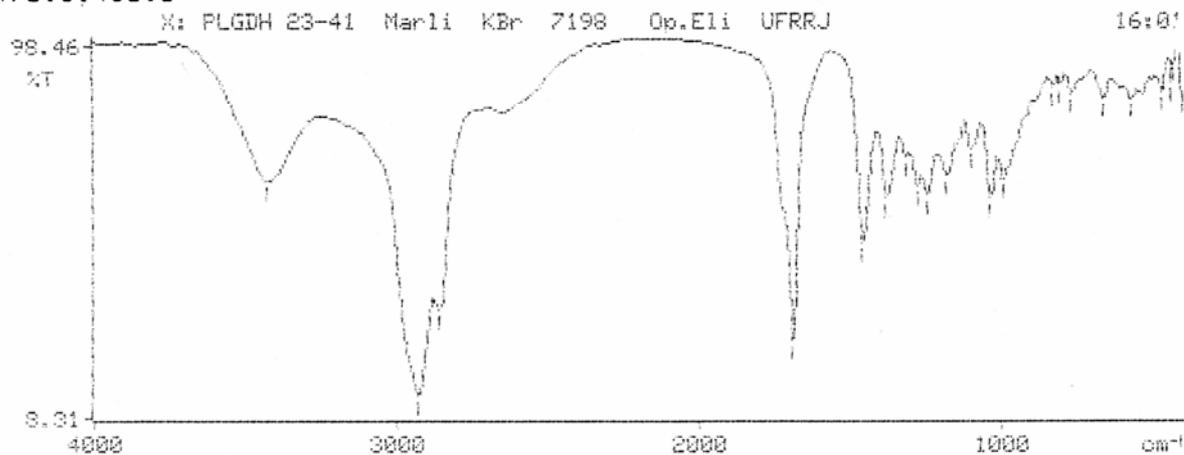


Figura I.19. Espectro de IV da substância 3 (Ácido ursólico)

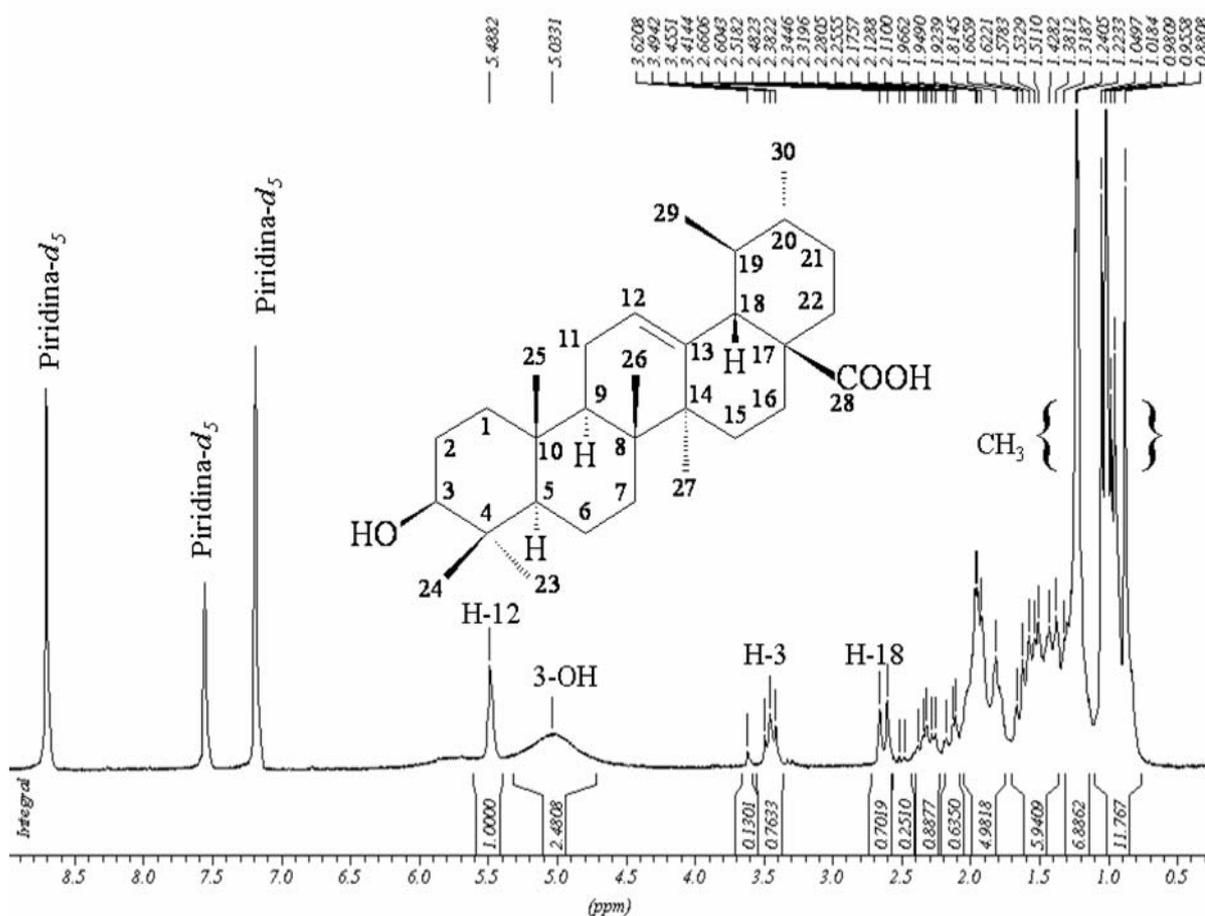


Figura I.20. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, Piridina- d_5) da substância 3 (Ácido ursólico)

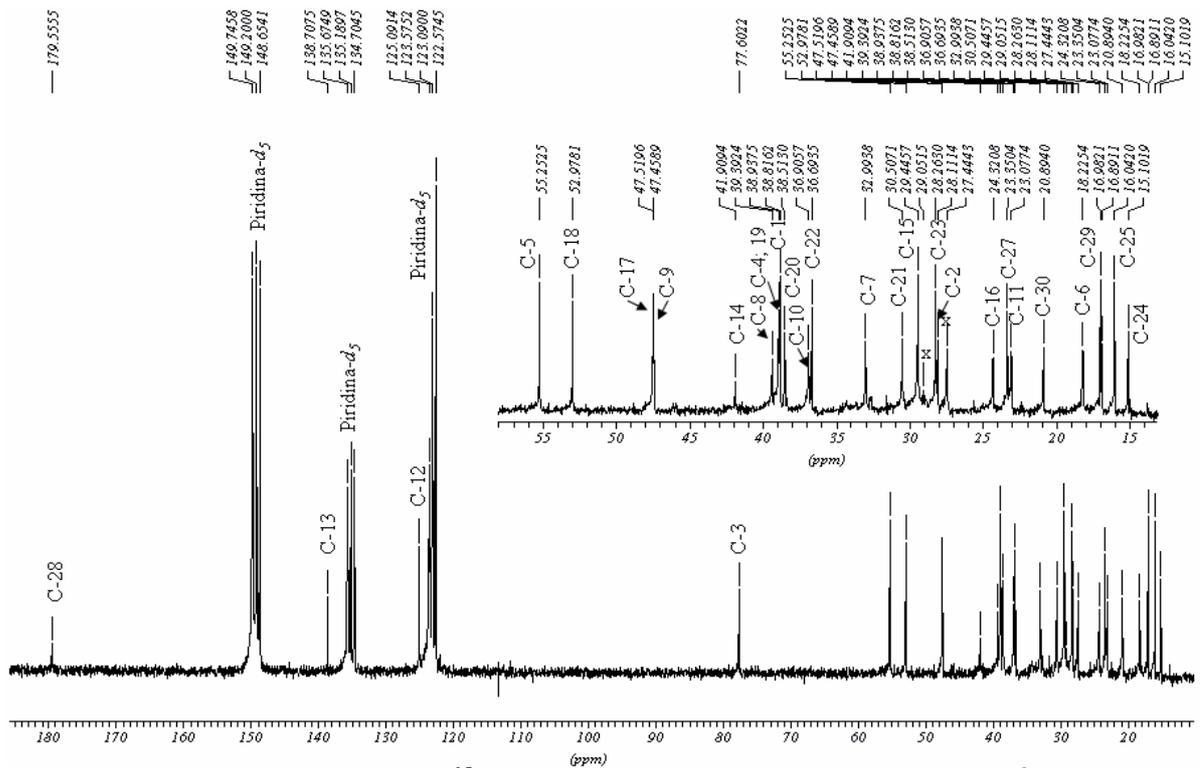
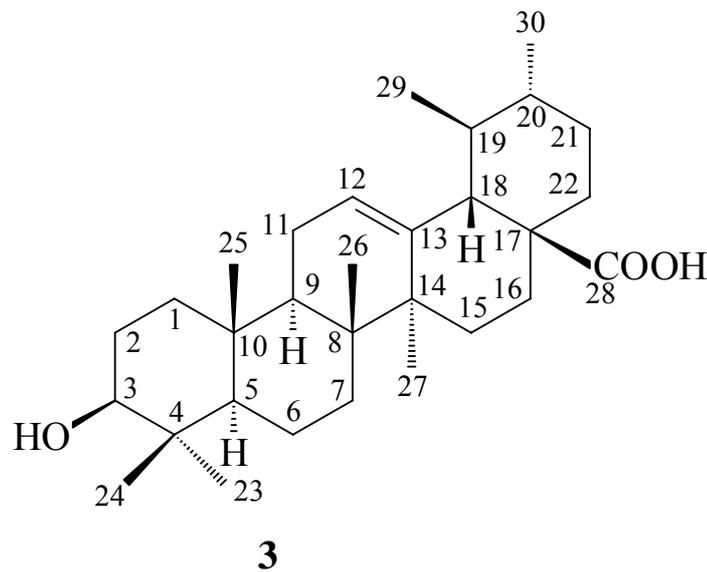


Figura I.21. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, Piridina- d_5) da substância **3** (Ácido ursólico)



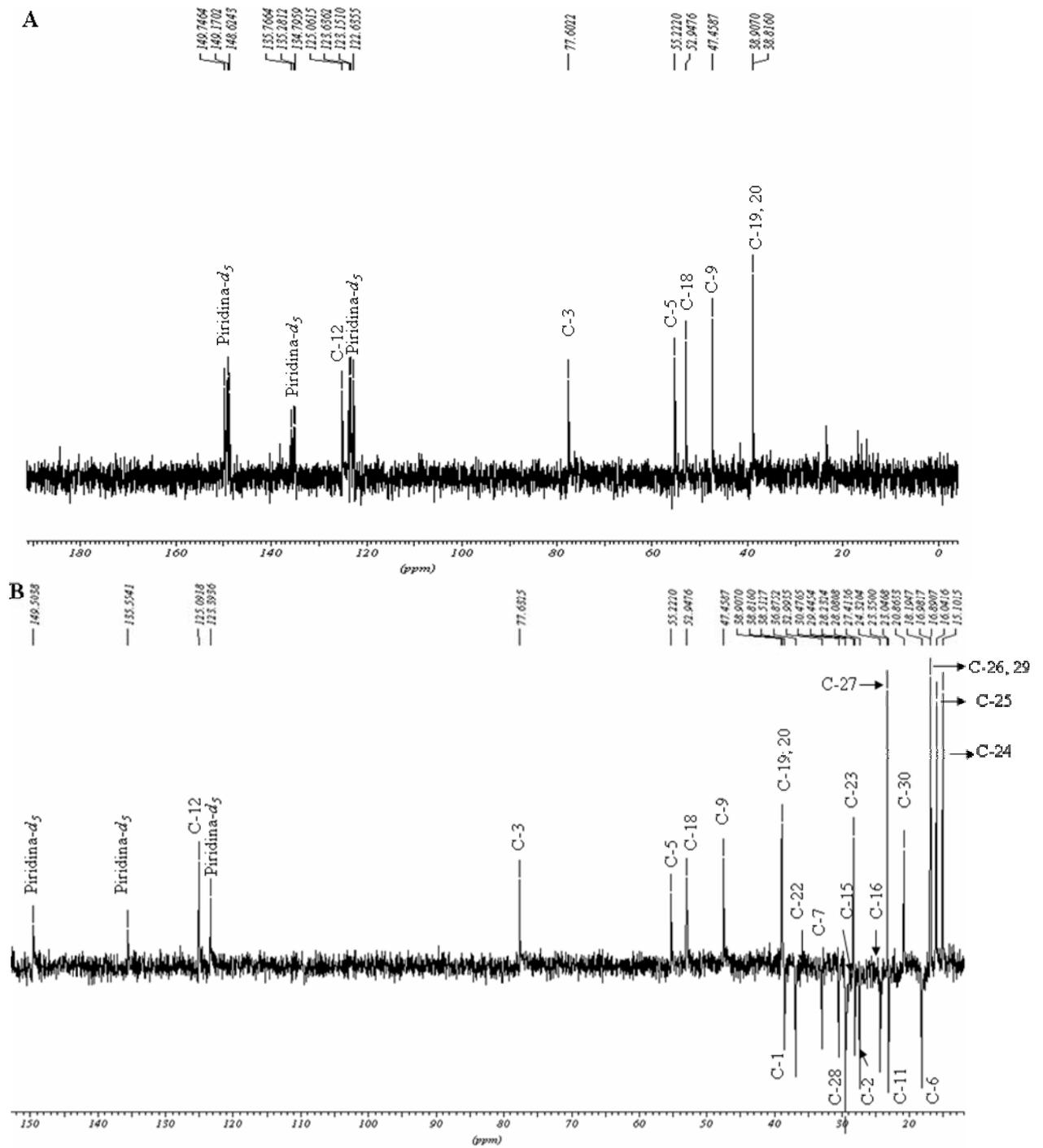
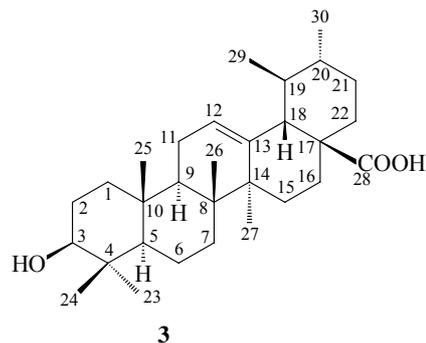


Figura I.22. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (A: $\theta=90^\circ$; B: $\theta=135^\circ$, 50 MHz, Piridina- d_5) da substância **3** (Ácido ursólico)



3438.2.2928.0.2862.7.2650.3.1765.5.1697.0.1458.8.1381.6.1315.9=
 1279.3.1257.7.1167.5.1141.8.1109.3.1026.1.970.1.806.7.722.0.659.1=
 577.3.547.9.516.8.469.6.408.6=

N: AUPCC Marli KBr N:5366 OP:Carlos UFRRJ

16:11

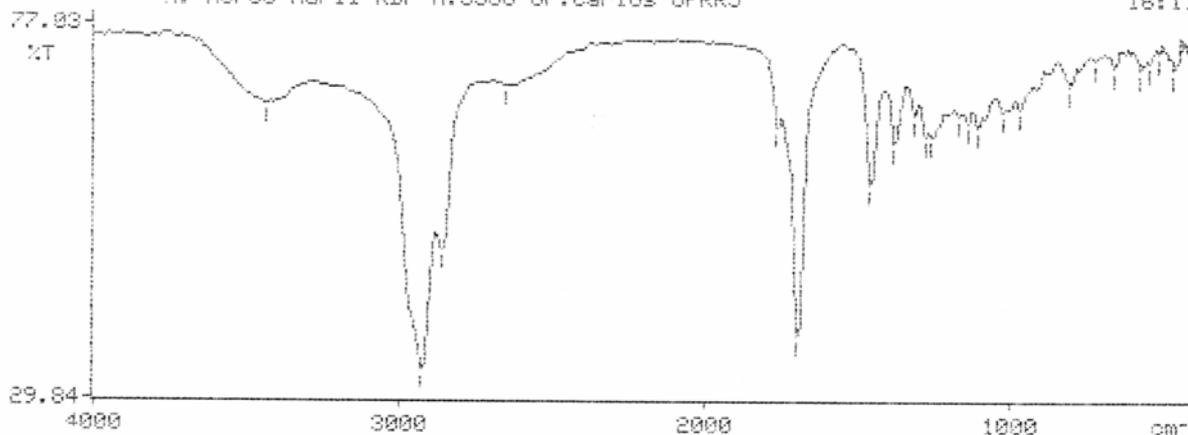


Figura I.23. Espectro de IV do derivado 3a (Ácido ursônico)

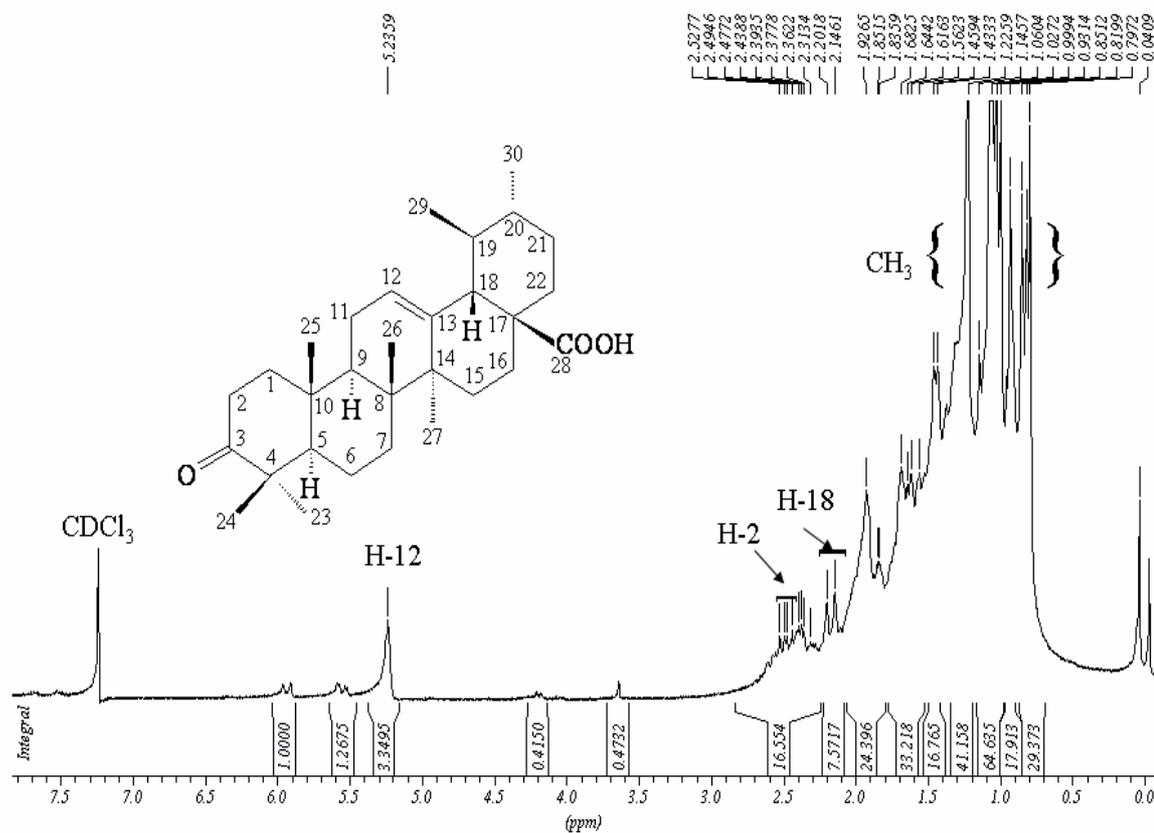


Figura I.24. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do derivado 3a (Ácido ursônico)

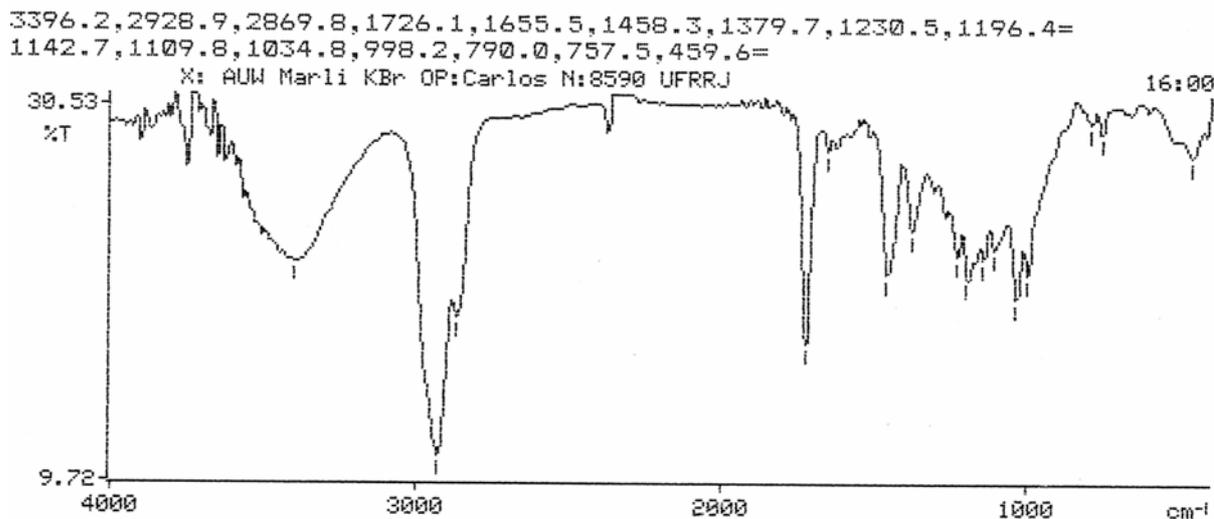


Figura I.25. Espectro de IV do derivado **3b** (Ursolato de metila)

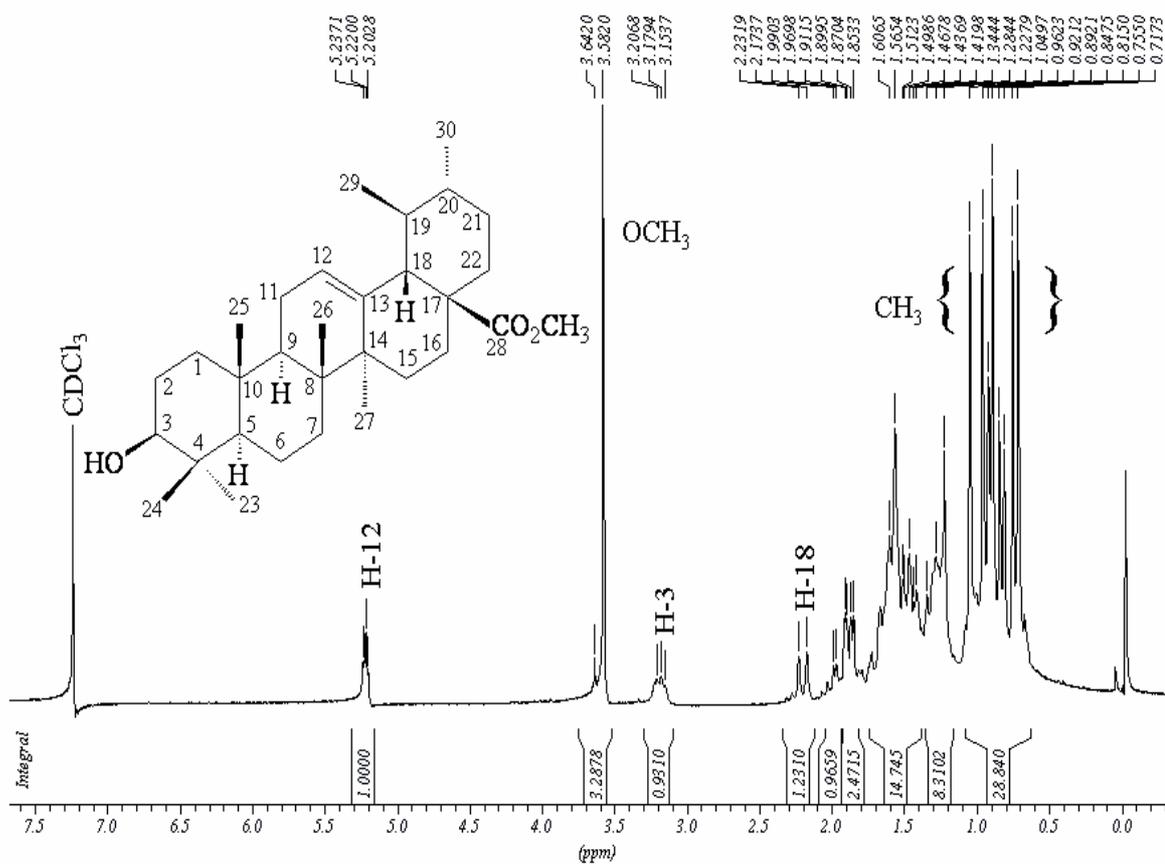


Figura I.26. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) do derivado **3b** (Ursolato de metila)

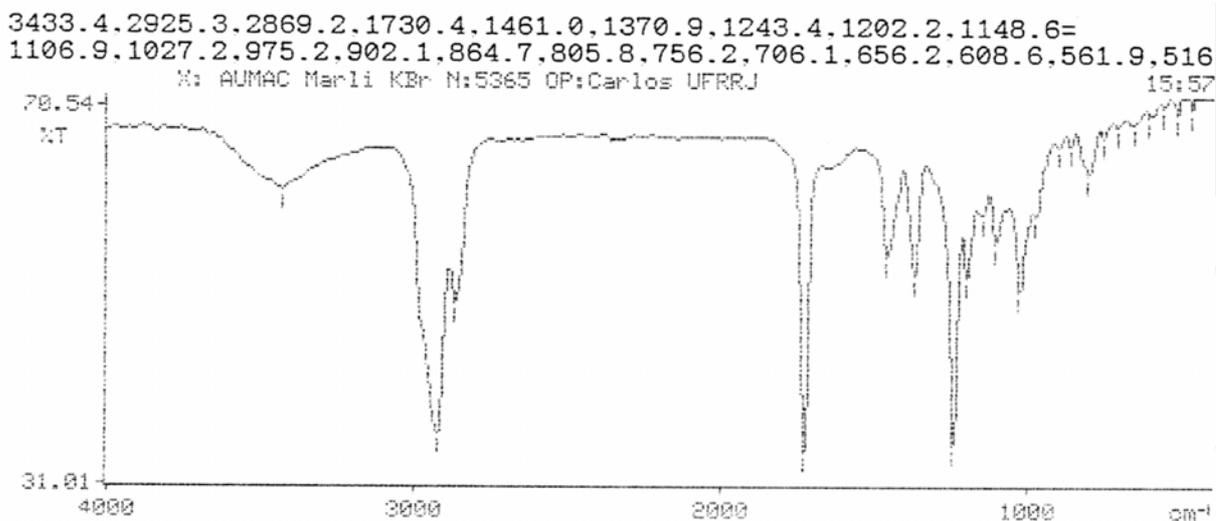


Figura I.27. Espectro de IV do derivado **3c** (3-*O*-acetil-ursolato de metila)

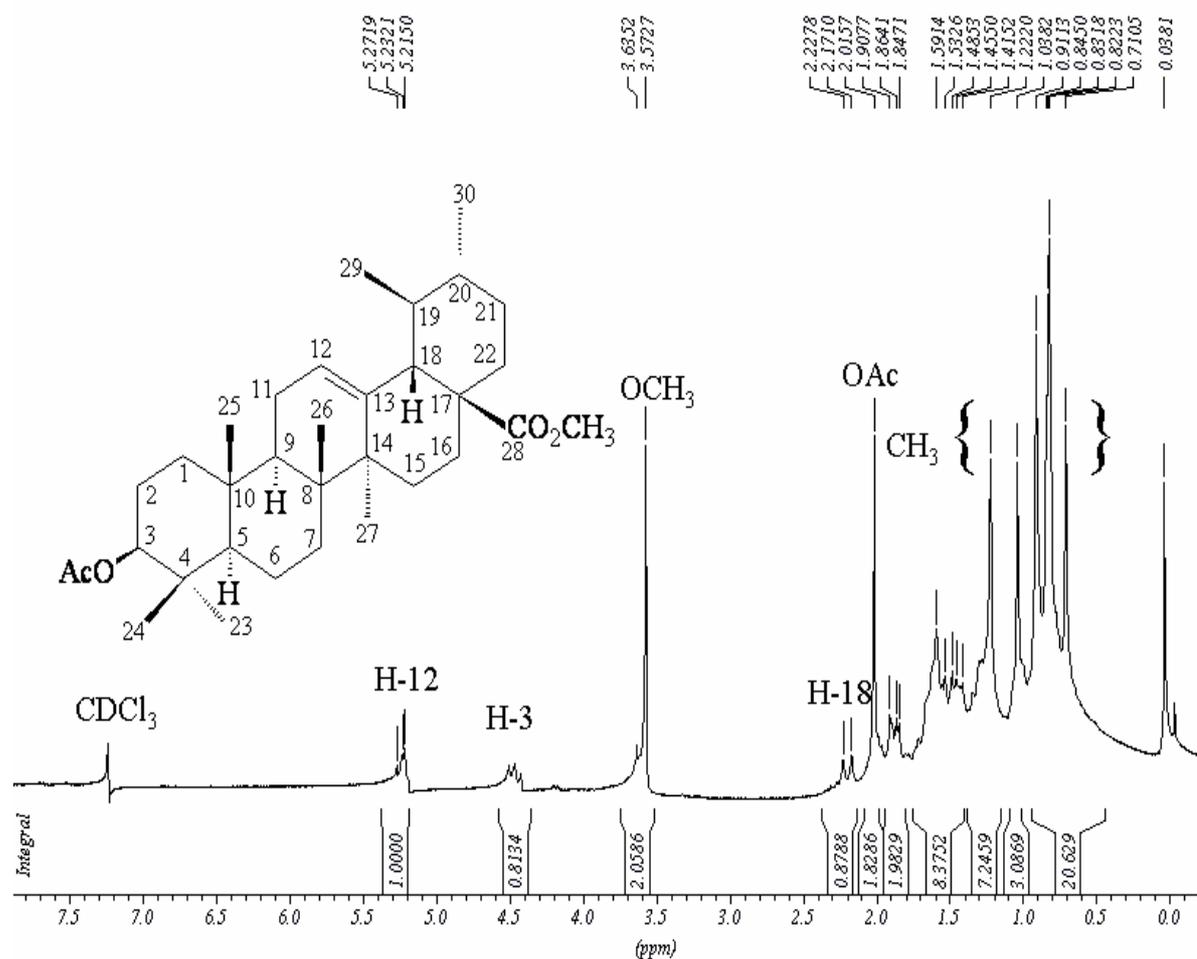


Figura I.28. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) do derivado **3c** (3-*O*-acetil-ursolato de metila)

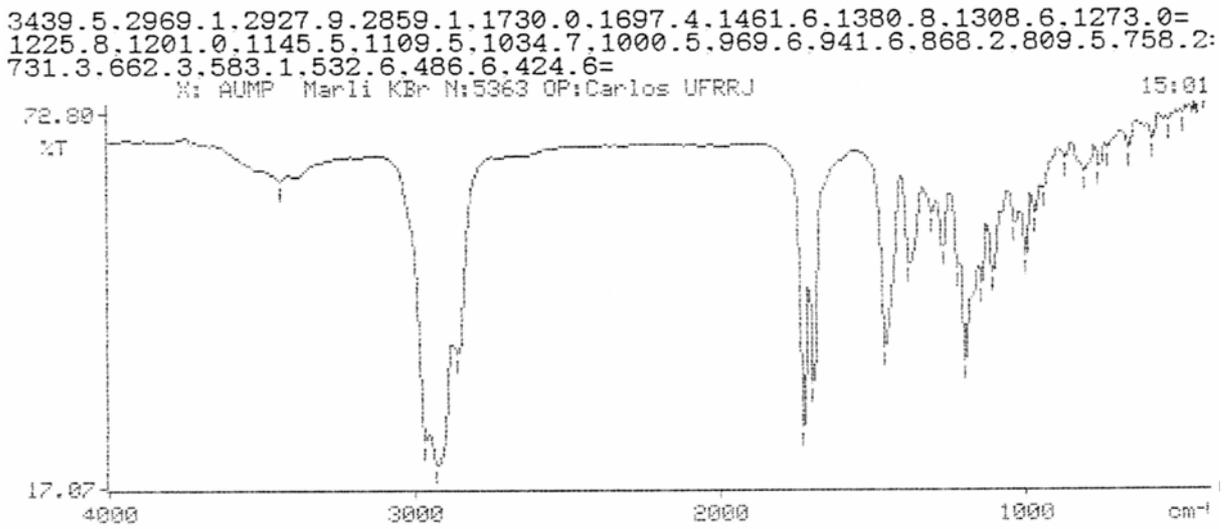


Figura I.29. Espectro de IV do derivado **3d** (3-oxo-ursolato de metila)

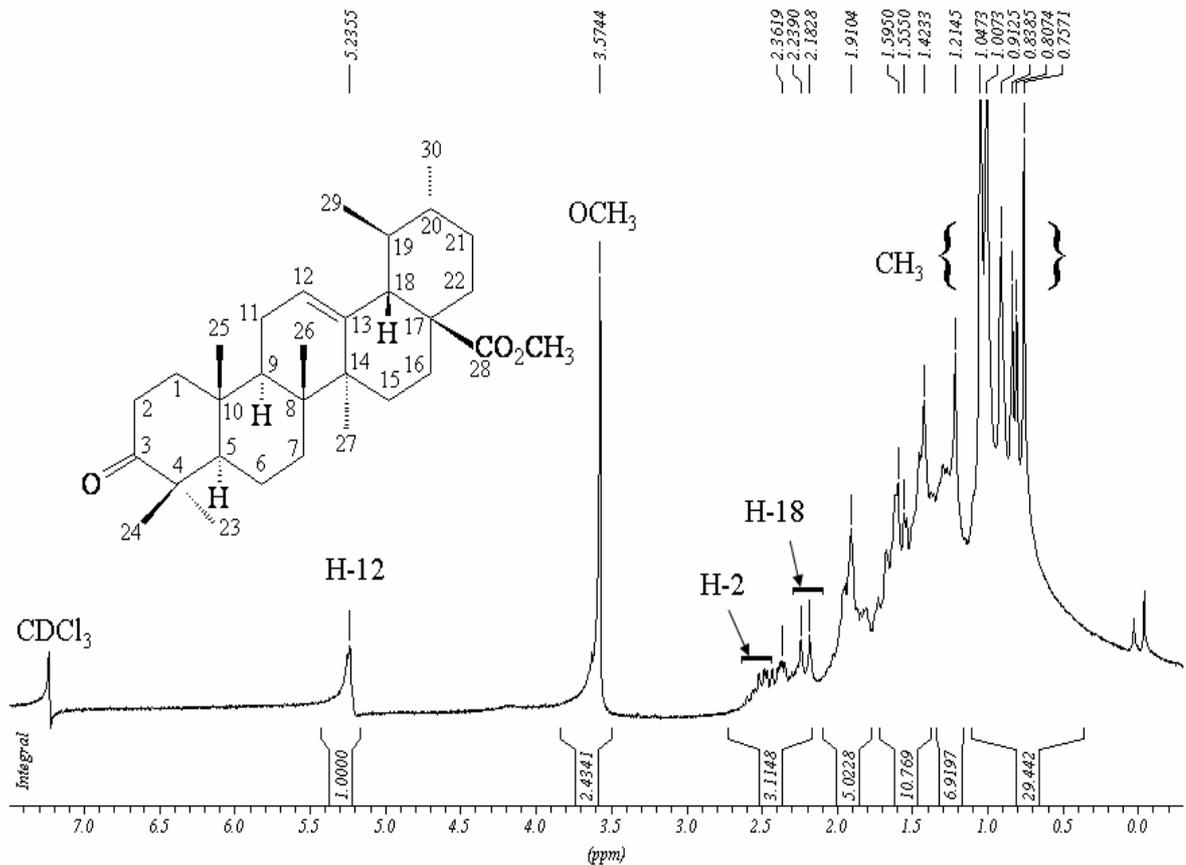


Figura I.30. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do derivado **3d** (3-oxo-ursolato de metila)

I.3.1.4 Determinação estrutural da substância 4

O espectro no IV (Figura I.31, pág. 62) da substância **4** revela bandas de absorção para grupo hidroxila em 3.438 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$), $\nu\text{=C-H}$ de grupo vinilídina em 3.073 cm^{-1} , de grupos alquilas em 2.942 e 2.869 cm^{-1} , $\nu\text{C=C}$ em 1.643 cm^{-1} e confirmação de CH_2 e CH_3 pelas bandas de $\nu\text{C-H}$ em 1.454 cm^{-1} e 1.377 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (Figura I.32, pág. 62) possui sinais entre $\delta_{3\text{H}}$ 0,72, e 0,94 correspondentes às metilas e um sinal em $\delta_{3\text{H}}$ 1,66 (s) correspondente à frequência de metila ligada em carbono sp^2 . Os dois singletos largos em δ_{H} 4,71 e δ_{H} 4,58 são referentes a hidrogênios vinílicos (H-29a e H-29b) e o multipletto em δ_{H} 3,20 representa o hidrogênio do carbono hidrogenado H-3. Estes valores em comparação com a literatura (AHMAD & ATTA-UR-RAHMAN, 1994) e comparação da amostra com um padrão de lupeol por cromatografia em camada fina estão de acordo com a estrutura do lupeol.

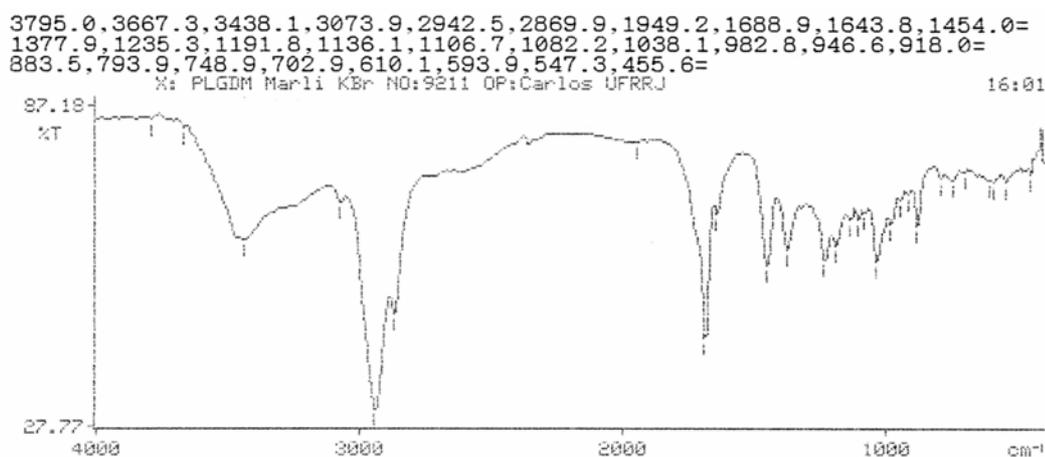


Figura I.31. Espectro de IV da substância **4** (Lupeol)

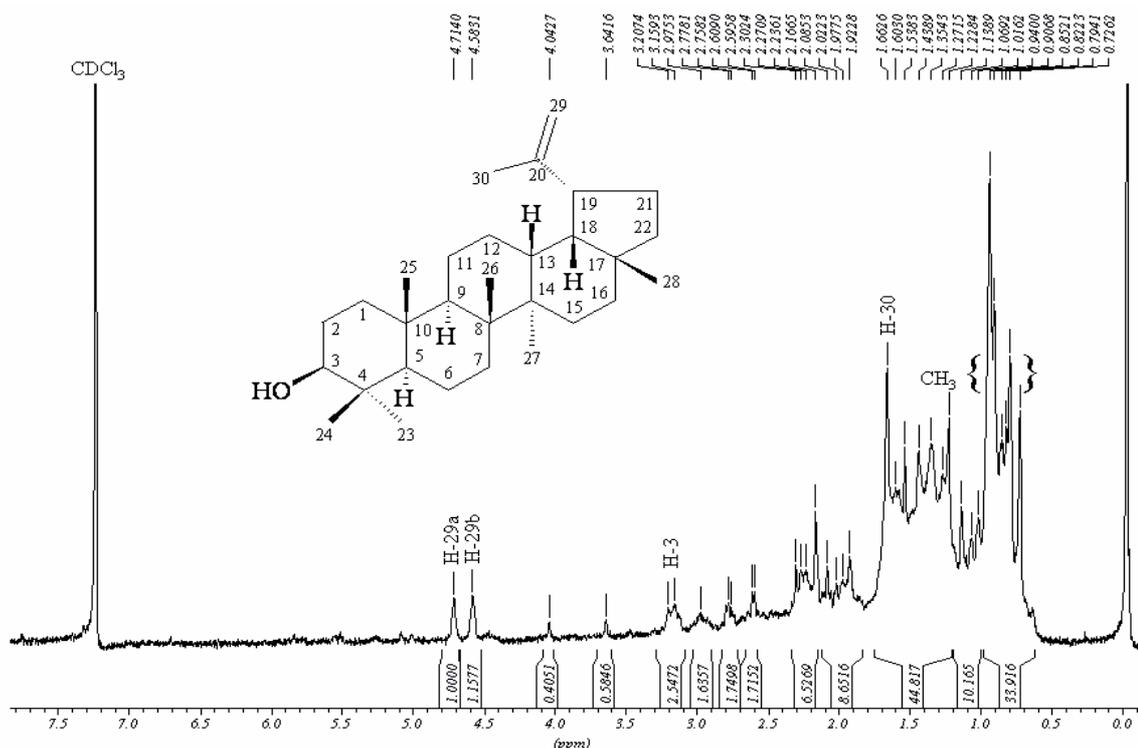


Figura I.32. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância **4** (Lupeol)

I.3.1.5 Determinação estrutural da mistura das substâncias 1 e 5

O espectro registrado na região do IV (Figura I.33, pág. 63) revela bandas de absorção para de grupos alquílias em 2.924 cm^{-1} e 2.855 , sinais de estiramento de carbonila de éster em 1.727 cm^{-1} e de $\nu\text{C}=\text{C}$ em 1.638 cm^{-1} . As bandas em 1.461 cm^{-1} e 1.377 cm^{-1} podem ser atribuídas a deformação angular de CH_2 e CH_3 .

Os sinais presentes no espectro de RMN de ^1H (Figura I.34, pág. 64) são característicos de triterpenos. Os sinais de metilas entre $\delta_{3\text{H}} 0,77$ (s) e $\delta_{3\text{H}} 1,55$ (s). A presença de um tripleto em $\delta_{\text{H}} 5,16$ pode ser atribuído ao hidrogênio da dupla ligação característico de β -amirina. Os sinais em $\delta_{\text{H}} 4,65$ e $\delta_{\text{H}} 4,54$ podem ser atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-29a e H-29b, característico de lupeol. O multipletto em campo baixo entre $\delta_{\text{H}} 4,41$ - $4,48$ é atribuído ao hidrogênios H-3 sugerindo a presença de um grupo éster ligado no mesmo carbono.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura I.35, pág. 64) confirma a presença de grupo éster através dos sinais de carbonila em $\delta_{\text{C}} 173,70$ (C-1') e do carbono metínico em $\delta_{\text{CH}} 80,54$ (C-3). A presença de sinais de carbonos olefínicos $\delta_{\text{C}} 150,4$ (C-20) e $\delta_{\text{CH}_2} 109,5$ (CH_2 -29) são atribuídos ao grupo vinila do lupeol e de $\delta_{\text{C}} 145,2$ (C-13) e $\delta_{\text{CH}} 121,6$ (CH-12) a dupla ligação característico de β -amirina. A comparação desses dados com valores da literatura (AHMAD & ATTA-UR-RAHMAN, 1994) confirmou a presença de mistura das substâncias 3-O-acil- β -amirina (1) e 3-O-acil-lupeol (5).

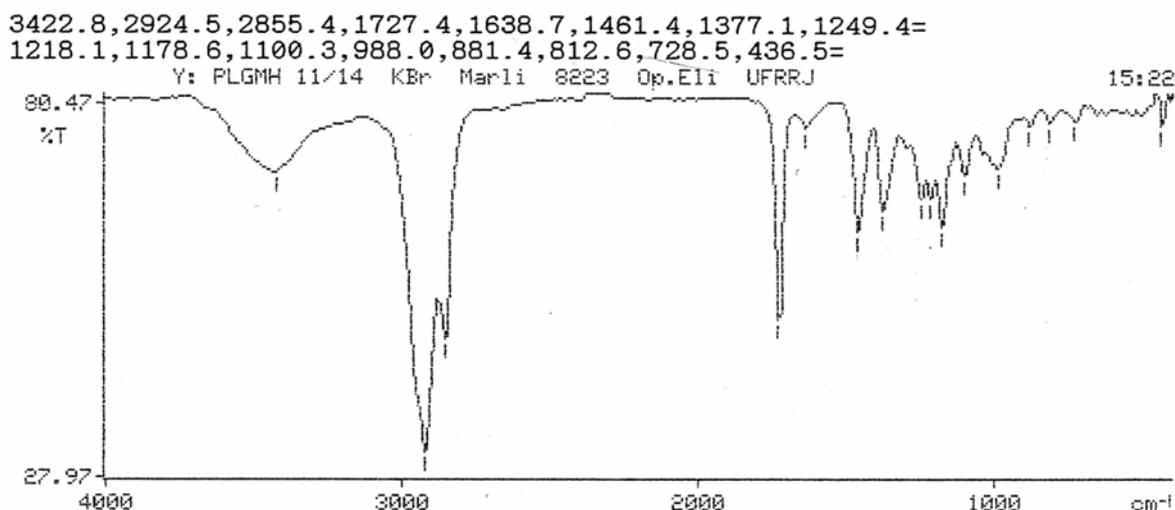
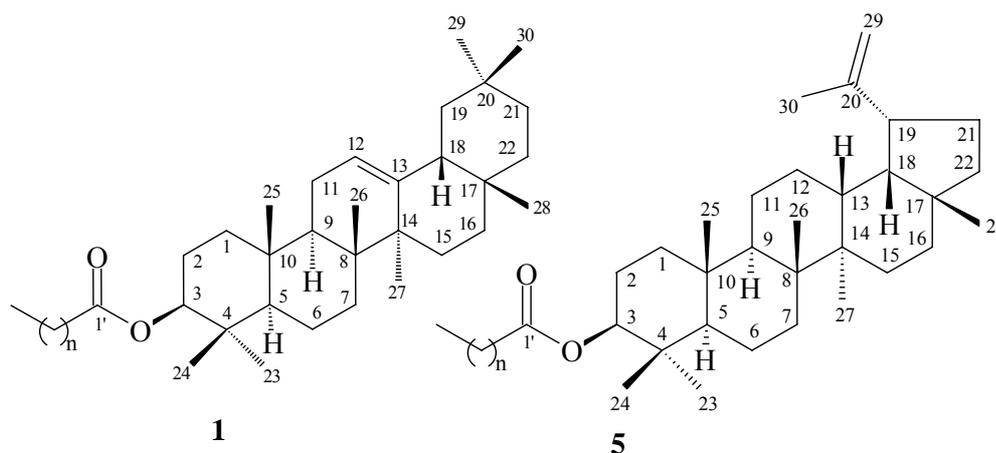


Figura I.33. Espectro de IV de mistura de 3-O-acil- β -amirina (1) e 3-O-acil-lupeol (5)

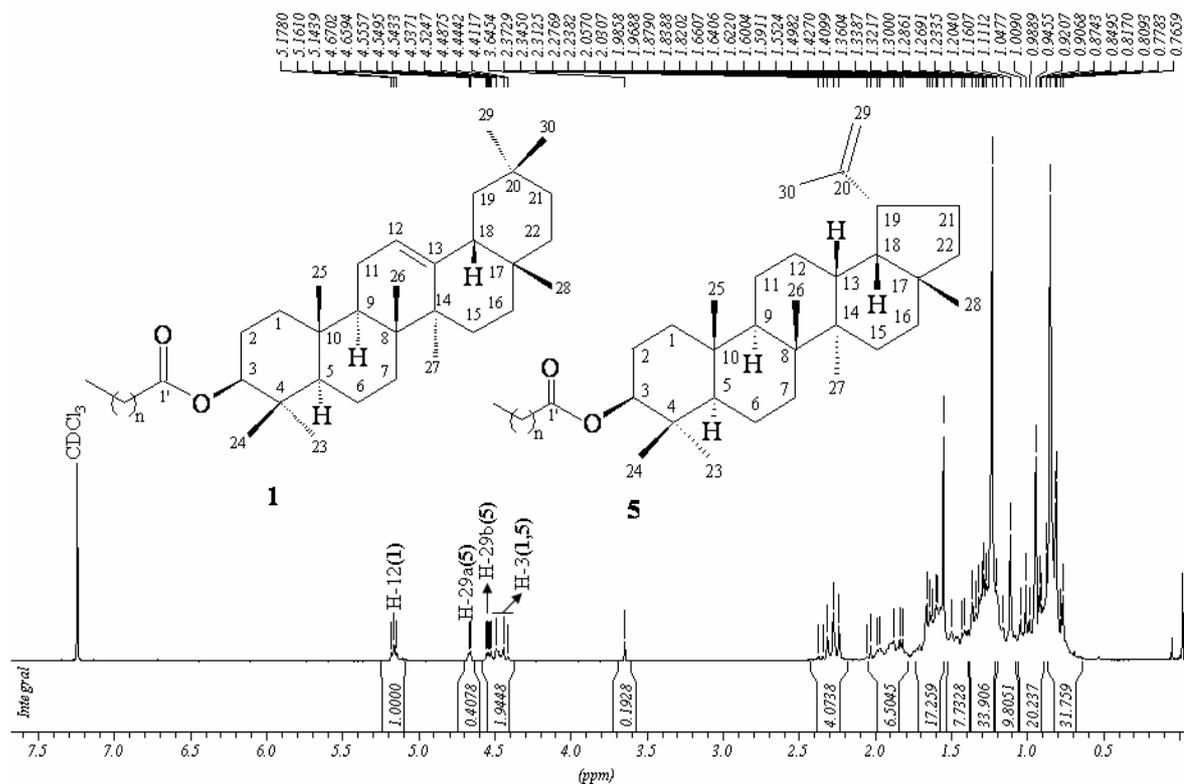


Figura I.34. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de mistura de 3-*O*-acil- β -amirina (**1**) e 3-*O*-acil-lupeol (**5**)

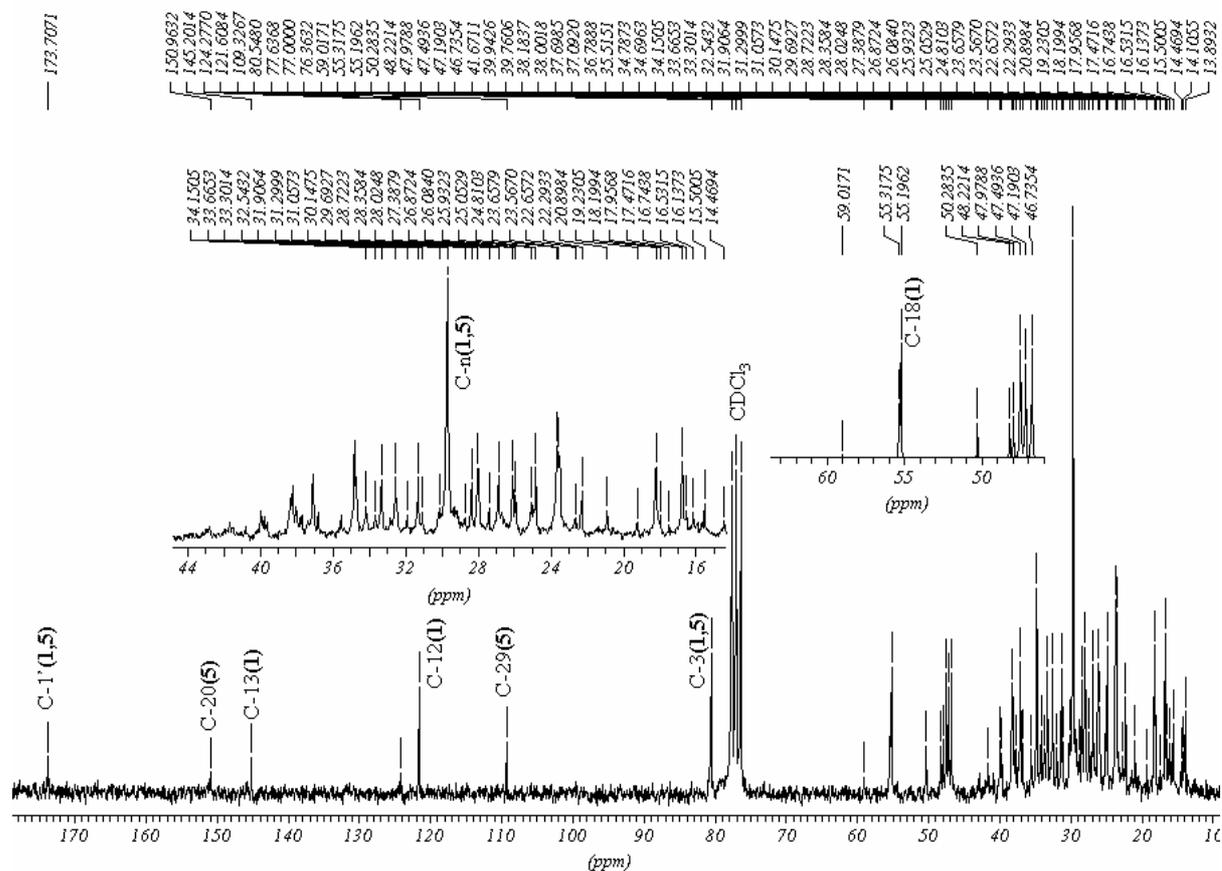


Figura I.35. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de mistura 3-*O*-acil- β -amirina (**1**) e 3-*O*-acil-lupeol (**5**)

I.3.1.6 Determinação estrutural da mistura dos ésteres 6

O espectro no IV (Figura I.36, pág. 65) de **6** apresenta bandas de absorção intensas em 2.919 cm^{-1} e 2.850 cm^{-1} de deformações axiais de C-H e 724 cm^{-1} que são características de cadeia linear hidrocarbônica longa. As bandas em 1.736 cm^{-1} e 1.172 cm^{-1} estão de acordo com a presença de carbonila de ésteres alifáticos. O espectro de RMN ^1H (Figura I.37, pág. 66) apresenta um singlete intenso em $\delta_{\text{H}} 1,23$ atribuído ao grupo $(\text{CH}_2)_n$, um tripleto em $\delta_{\text{H}} 4,03$ correspondente ao CH_2 ligado ao oxigênio do éster e um tripleto em $\delta_{\text{H}} 2,26$ para o CH_2 alfa a carbonila. Os sinais em $\delta_{3\text{H}} 0,85$ (s) e $\delta_{3\text{H}} 1,54$ (s) correspondem aos sinais da metila terminal e grupos metilenos de cadeia carbônica normal.

Através da análise do cromatograma obtido em cromatografo a gás, podemos dizer que **6** trata-se de uma mistura de dois ésteres de cadeia alifática (Figura I.38, pág. 66).

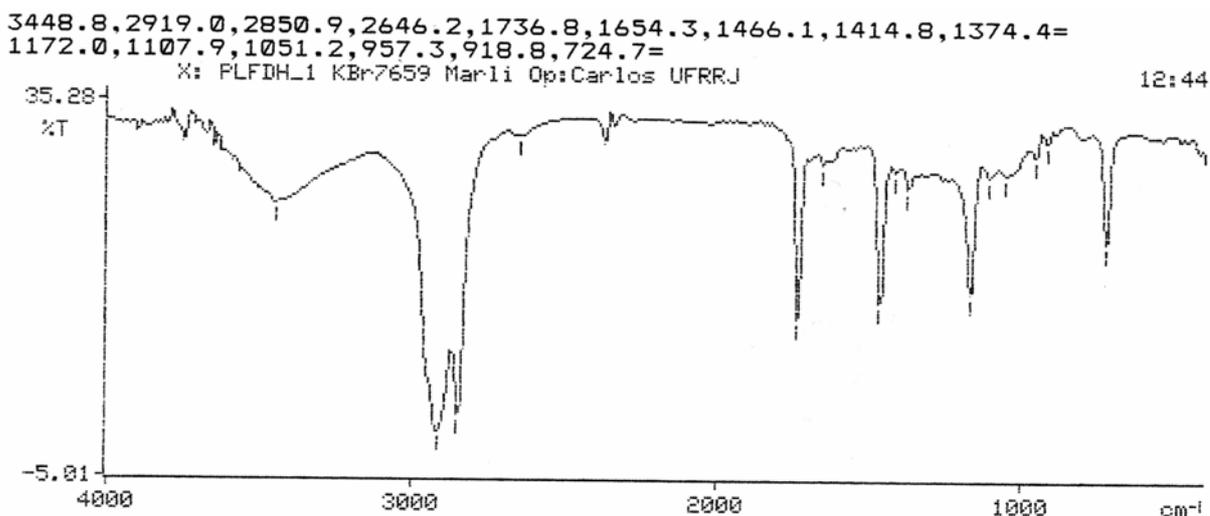
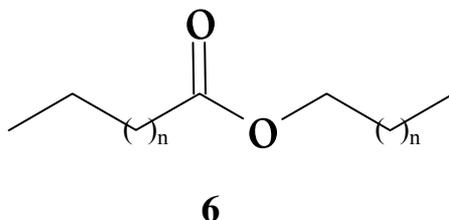


Figura I.36. Espectro de IV de **6** (Mistura de ésteres alifáticos)

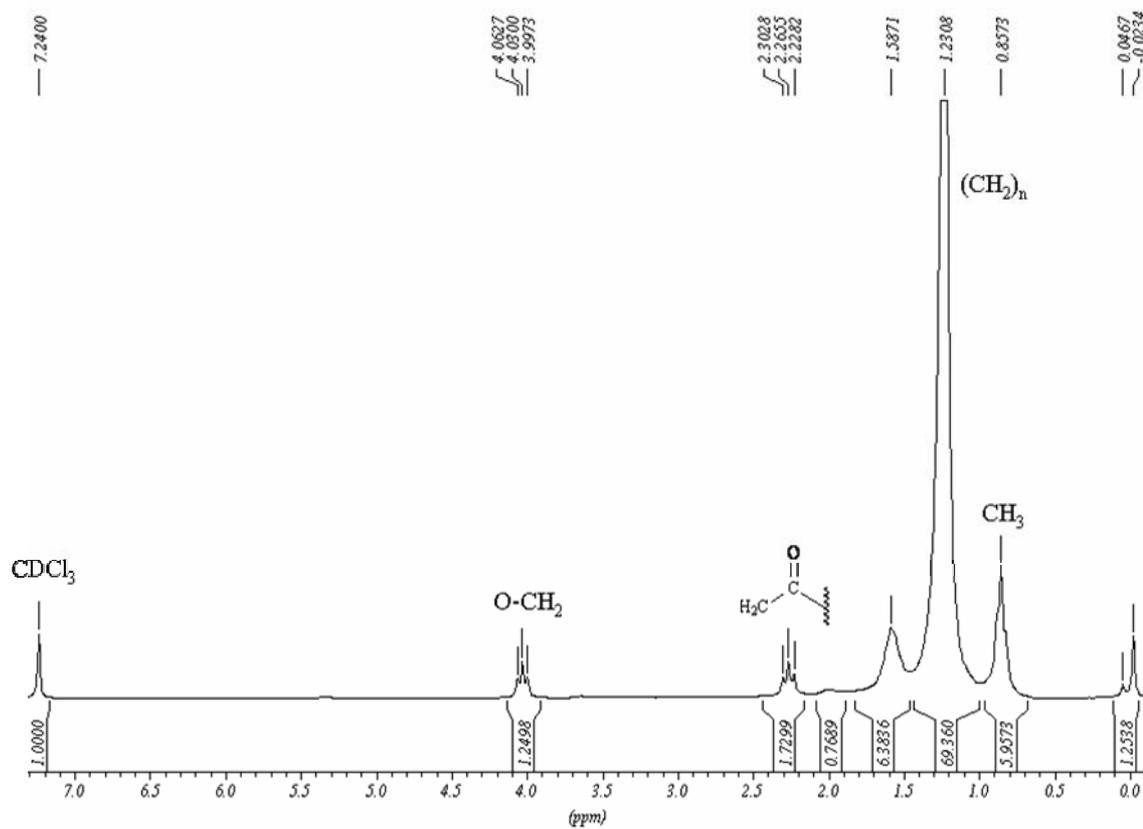


Figura I.37. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **6** (Mistura de ésteres alifáticos)

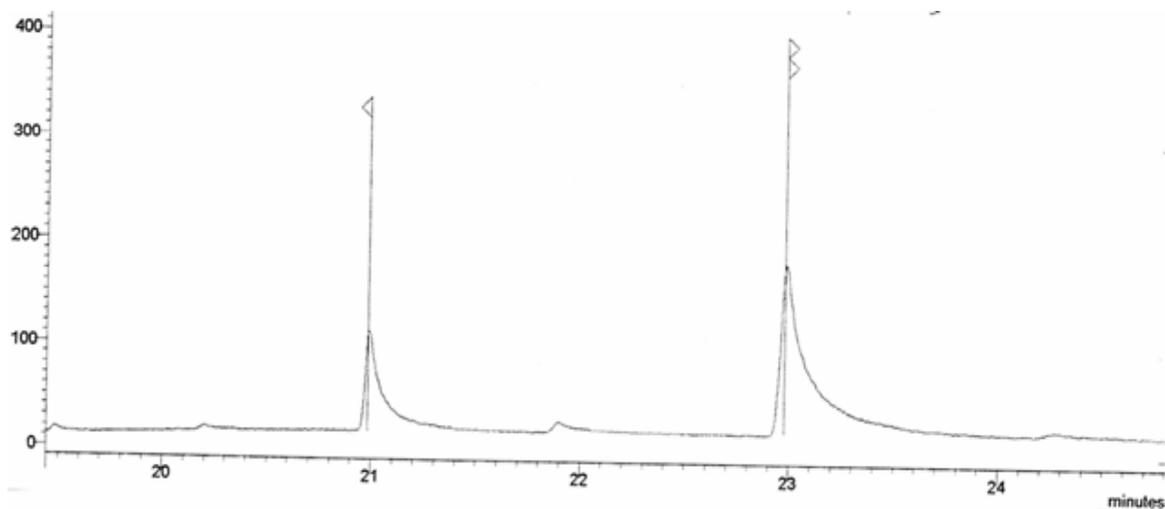
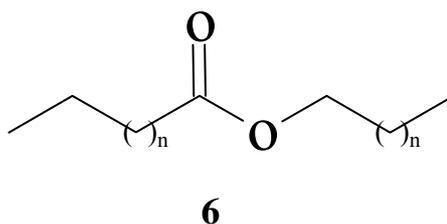


Figura I.38. Cromatograma a gás de **6** (Mistura de ésteres alifáticos)



I.3.1.7 Determinação estrutural da substância 7

O espectro no IV (Figura I.39, pág. 69) da substância **7** apresenta absorções característica de estiramento de carbonila de éster em 1.732 cm^{-1} e carbonila de cetona conjugada em 1.651 cm^{-1} . As absorções intensas em 2.920 cm^{-1} e 2.873 cm^{-1} são relativas a estiramento de C-H de CH_2 e CH_3 carbono sp^3 sendo confirmado pelas bandas de deformação angular em 1.462 cm^{-1} e 1.387 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (Figuras I.40, pág. 69 e I.41, pág. 70) mostra sinais entre δ_{H} 0,80 e 1,17 e em δ_{H} 1,36 característicos de triterpeno com dupla ligação em H-12 (δ_{H} 5,59). A presença de H-3 em campo baixo δ_{H} 4,52 (dd, $J=11,7$ e $4,6$ Hz) sugere a presença de grupo ligado ao carbono carbinólico (CH-3). O sinal de tripleto em δ_{H} 2,30 (7,4 Hz) é correspondente a um hidrogênio metilênico vizinho a carbonila. Os sinais dos hidrogênios H-1a em δ_{H} 2,79 (td, 13,7 e 3,2 Hz) e H-9 em δ_{H} 2,7 (s) aparecem em regiões bem desprotegidas, o que sugere a presença de grupo retirador de elétrons próximo (Tabela I.8, pág. 68).

Os espectros de ^{13}C (Figuras I.42, I.43, págs. 70 e 71) e DEPT 135° (Figuras I.44 e I.45, págs. 71 e 72) comprovam que o triterpeno pertence à classe dos oleananos com dupla ligação nos CH-12 (δ_{CH} 128,30) e C-13 (δ_{C} 170,85). Apresenta sinais de carbonila de éster alifático em δ_{C} 173,91, referente ao C-1' e de carbonila de cetona em δ_{C} 200,39, atribuída ao C-11. O carbono carbinólico (CH-3) encontra-se desprotegido (δ_{CH} 80,52) devido a ligação com C=O do éster. A presença de uma cadeia alifática é confirmada pelos sinais de metilas em δ_{CH_3} 14,28 e 14,13 e CH_2 na região de δ_{CH_2} 29,92-29,15 ppm. Sinal em δ_{C} 130,63 corresponde à presença de unidade acila com ligação dupla (Tabela I.8, pág. 68).

A análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono (HMQC, Figuras I.46, I.47 e I.48, págs. 72 a 74) permitiu a correlação entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios aos seus respectivos carbonos (Tabela I.8, pág. 68).

Os experimentos 2D de ^1H - ^1H -COSY (Figura I.49, pág. 74) e NOESY (Figura I.50, pág. 75) confirmaram os deslocamentos dos hidrogênios H-3 (δ_{H} 4,52; dd, $J=11,7$ e $4,6$ Hz), H-5 (δ_{H} 0,81; dd, $J=10,2$ e $1,7$ Hz), H-9 (δ_{H} 2,37; s), H-18 (δ_{H} 2,13; dd, $J=13,9$ e $3,8$ Hz), H-12 (δ_{H} 5,59; s) e 3H-28 (δ_{H} 0,86 s), veja os valores de deslocamento na Tabela I.8, pág. 68.

A análise do espectro de RMN bidimensional heteronuclear de hidrogênio-carbono (HMBC, Figuras I.51, I.52, I.53 e I.54, págs. 76 a 78) permitiu definir as atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos quartenários (Tabela I.8, pág. 68). Os dados de deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C detectados nos espectros foram comparados com valores da literatura (BARNES *et al.*, 1984) e permitiram identificar a substância **7** como sendo um 3-O-acil de β -amirenonol.

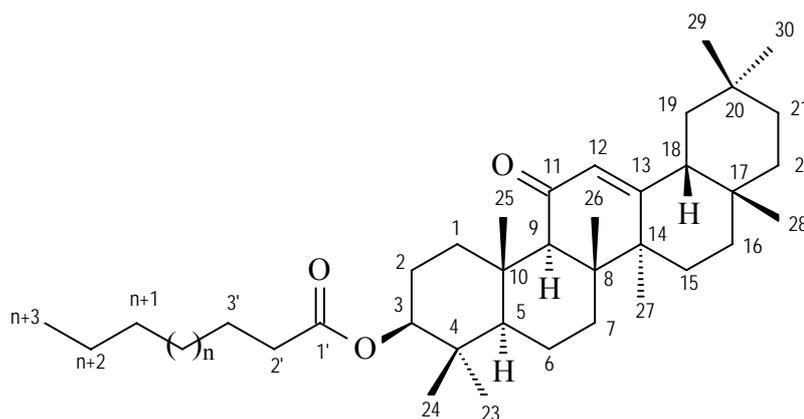
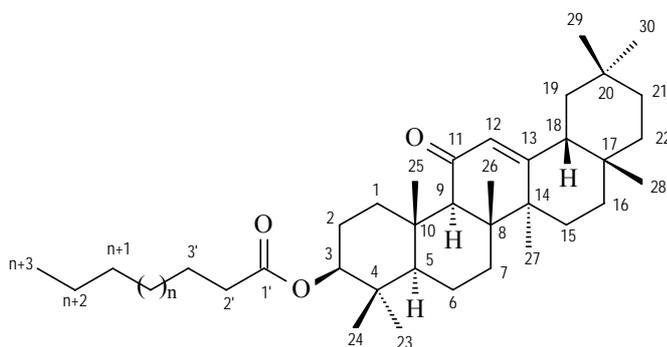


Tabela I.8. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol) comparados com a literatura (BARNES *et al.*, 1984)



| C | HMQC | | HMBC | | NOESY | BARNES <i>et al.</i> , 1984 δ_c |
|-----------------------|-------------|--|-------------------|-----------------------------------|-------------|--|
| | δ_c | δ_H | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | | |
| 4 | 38,32 | - | H-3; 3H-23; 3H-24 | | | 38,0 |
| 8 | 45,67 | - | H-9; 3H-26 | 3H-27 | | 43,3 |
| 10 | 37,20 | - | H-1a; H-9; 3H-25 | | | 36,9 |
| 11 | 200,39 | - | H-9 | | | 201,4 |
| 13 | 170,85 | - | | 3H-27 | | 170,2 |
| 14 | 43,64 | - | 3H-27; | H-9; H-12; 3H-26 | | 45,3 |
| 17 | 32,61 | - | 3H-28 | | | 32,3 |
| 20 | 31,27 | - | 3H-29; 3H-30 | | | 31,0 |
| 1' | 173,91 | - | 2H-2' | H-3 | | 170,6 |
| CH | | | | | | |
| 3 | 80,52 | 4,52 (dd, 11,7; 4,6) | | 3H-23; 3H-24 | H-5 | 80,5 |
| 5 | 55,27 | 0,81 (dd, 10,2; 1,7) | | H-1a; H-9; 3H-23; 3H-24; 3H-25 | H-3; H-9 | 54,9 |
| 9 | 61,91 | 2,37 (s) | | H-12; 3H-25; 3H-26 | H5 | 61,5 |
| 12 | 128,30 | 5,59 (s) | | | H-18 | 127,9 |
| 18 | 47,86 | 2,13 (dd, 13,9; 3,8) | | H-12; 3H-28 | H-12; 3H-28 | 47,5 |
| CH₂ | | | | | | |
| 1 | 39,00 | a)2,79 (td, 13,7; 3,2) b)1,05 | | H-5; H-9; 3H-25 | | 38,7 |
| 2 | 23,84 | 1,71/1,2 | H-1a; H-3 | | | 23,4 |
| 6 | 17,62 | 1,0/1,5 | | | | 18,4 |
| 7 | 32,94 | 1,8/1,2 | | 3H-26 | | 32,6 |
| 15 | 26,68 | a)2,06 (dt, 13,7; 4,2) b)1,82 (dt, 13,7, 4,2) | | 3H-27 | | 26,4 |
| 16 | 26,62 | a)1,18; b)0,95 | | 3H-28 | | 26,4 |
| 19 | 45,39 | a)1,68; b)1,06 | | 3H-29; 3H-30 | | 45,0 |
| 21 | 34,68 | a)1,36; b)1,18 | | 3H-29; 3H-30 | | 34,4 |
| 22 | 36,74 | a)1,46; b)1,30 | | 3H-28 | | 36,4 |
| 2' | 35,07/35,03 | 2,30 (t, 7,4) | 2H-3' | | | - |
| 3' | 25,40/25,05 | 1,62 | 2H-2' | | | - |
| n | 29,92-29,15 | 1,26 | | 2H-2' | | |
| (n+1) | 31,9/31,60 | 1,30-1,22 | | | | - |
| (n+2) | 22,63/22,35 | 1,30-1,22 | | | | - |
| CH₃ | | | | | | |
| 23 | 28,29 | 0,87 (s) | | H-3; 3H-24 | | 28,0 |
| 24 | 16,98 | 0,88 (s) | | H-3; 3H-23 | | 16,6 |
| 25 | 16,63 | 1,17 (s) | | H-1a; H-9 | | 15,7 |
| 26 | 18,95 | 1,14 (s) | | H-9 | | 17,3 |
| 27 | 23,61 | 1,36 (s) | | H-12 | | 23,5 |
| 28 | 28,98 | 0,86 (s) | | | H-18 | 28,7 |
| 29 | 33,28 | 0,90 (s) | | 3H-30 | | 33,0 |
| 30 | 23,72 | 0,89 (s) | | 3H-29 | | 23,5 |
| (n+3) | 14,28/14,13 | 0,90-0,80 | | | | 21,2 |

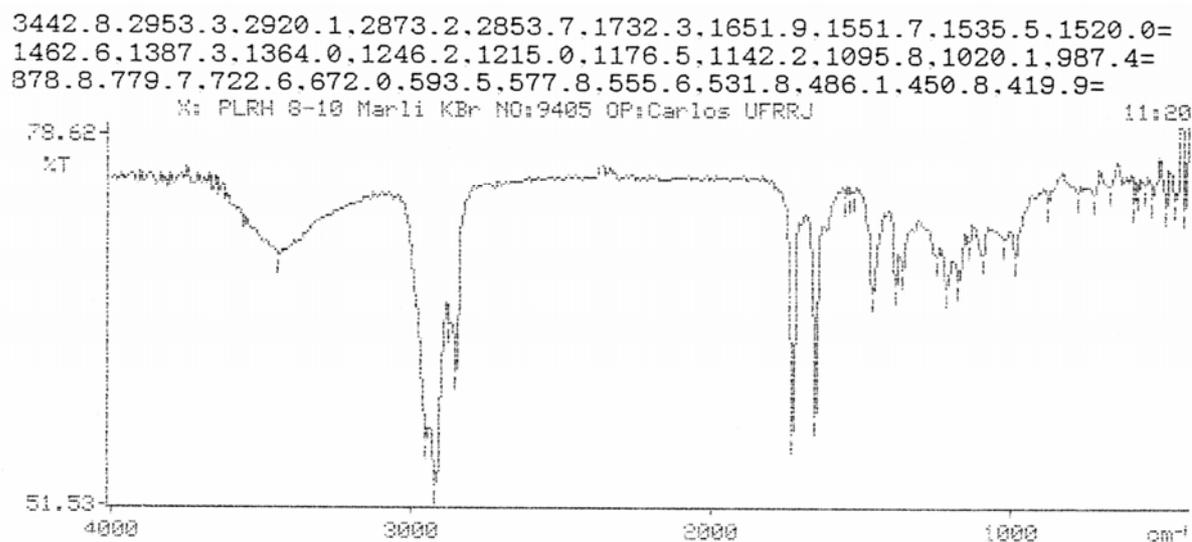


Figura I.39. Espectro de IV da substância 7 (3-O-acyl de β -amirenonol)

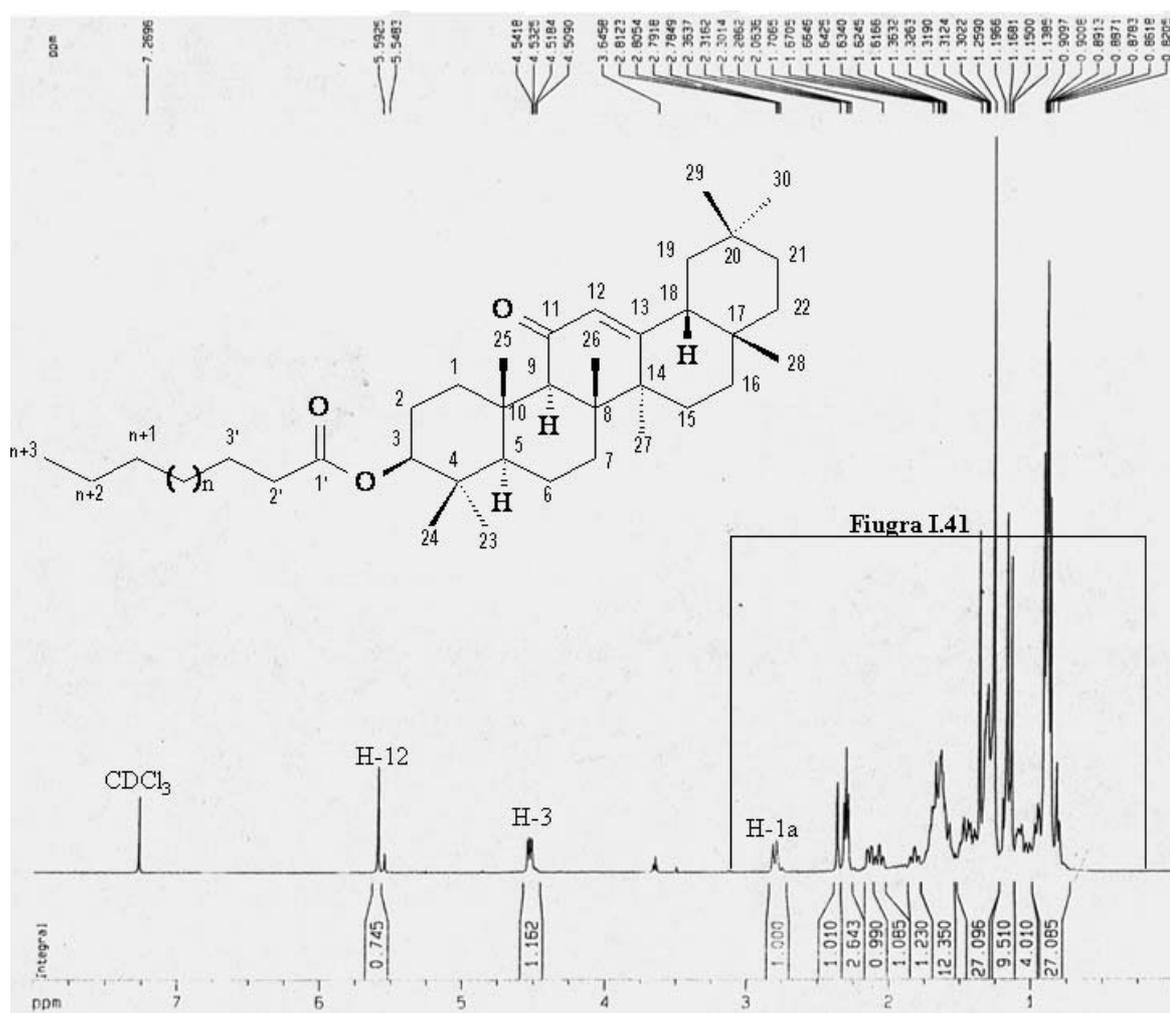


Figura I.40. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 7 (3-O-acyl de β -amirenonol)

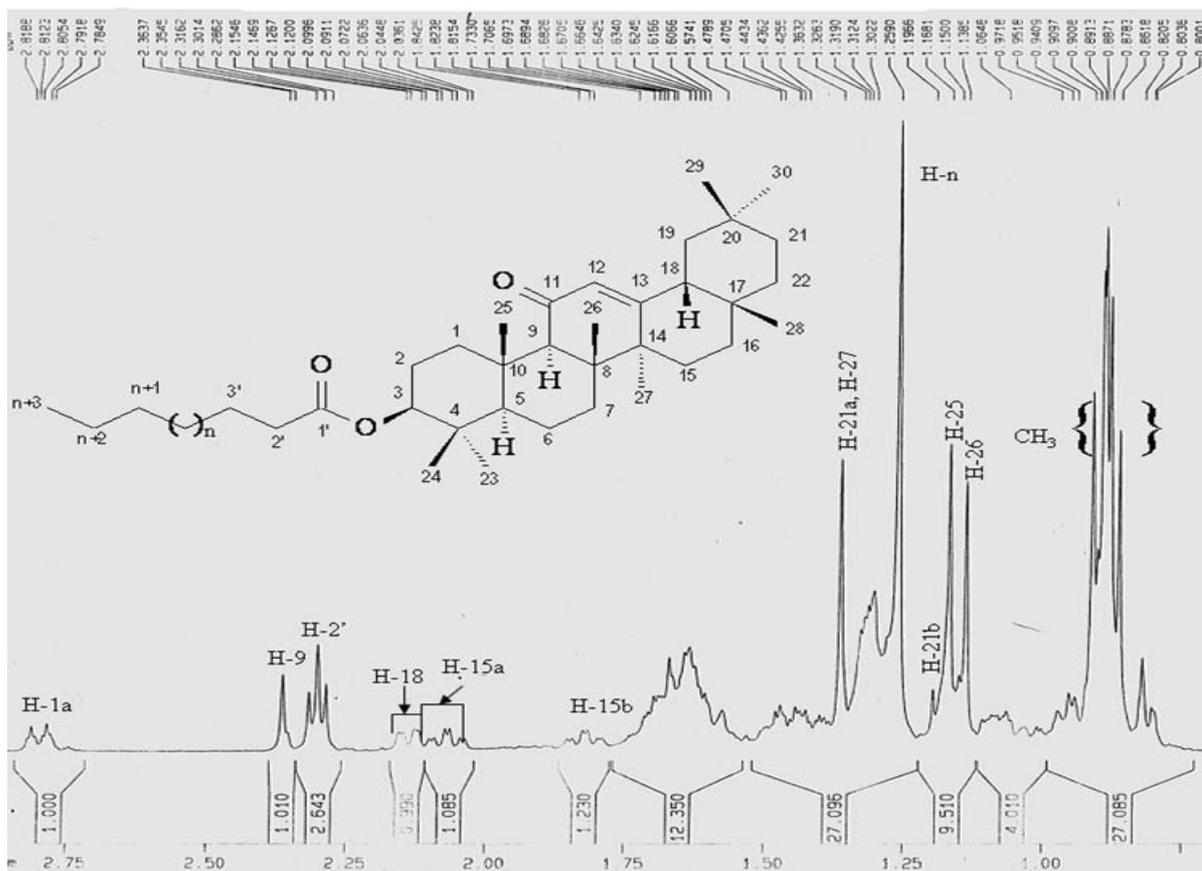


Figura I.41. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) ampliação da região δ_{H} 0,75-3,00 ppm da substância 7 (3-O-acil de β -amirenonol)

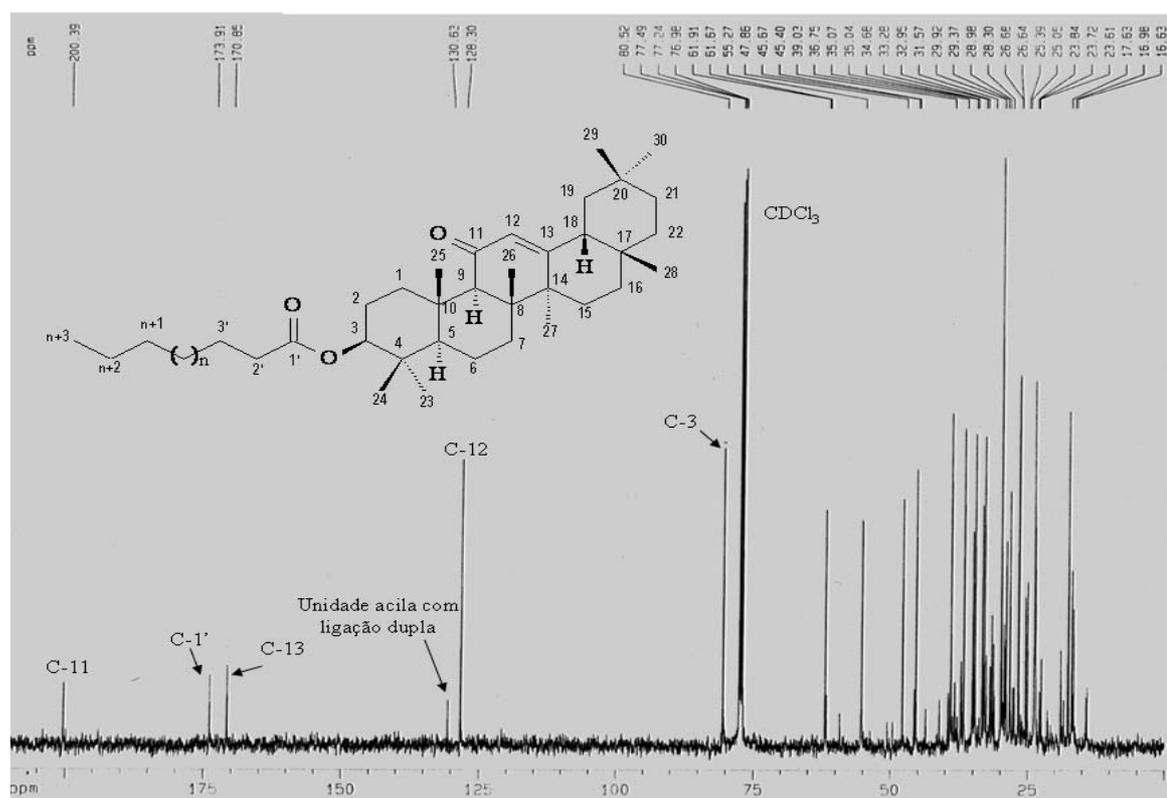


Figura I.42. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 7 (3-O-acil de β -amirenonol)

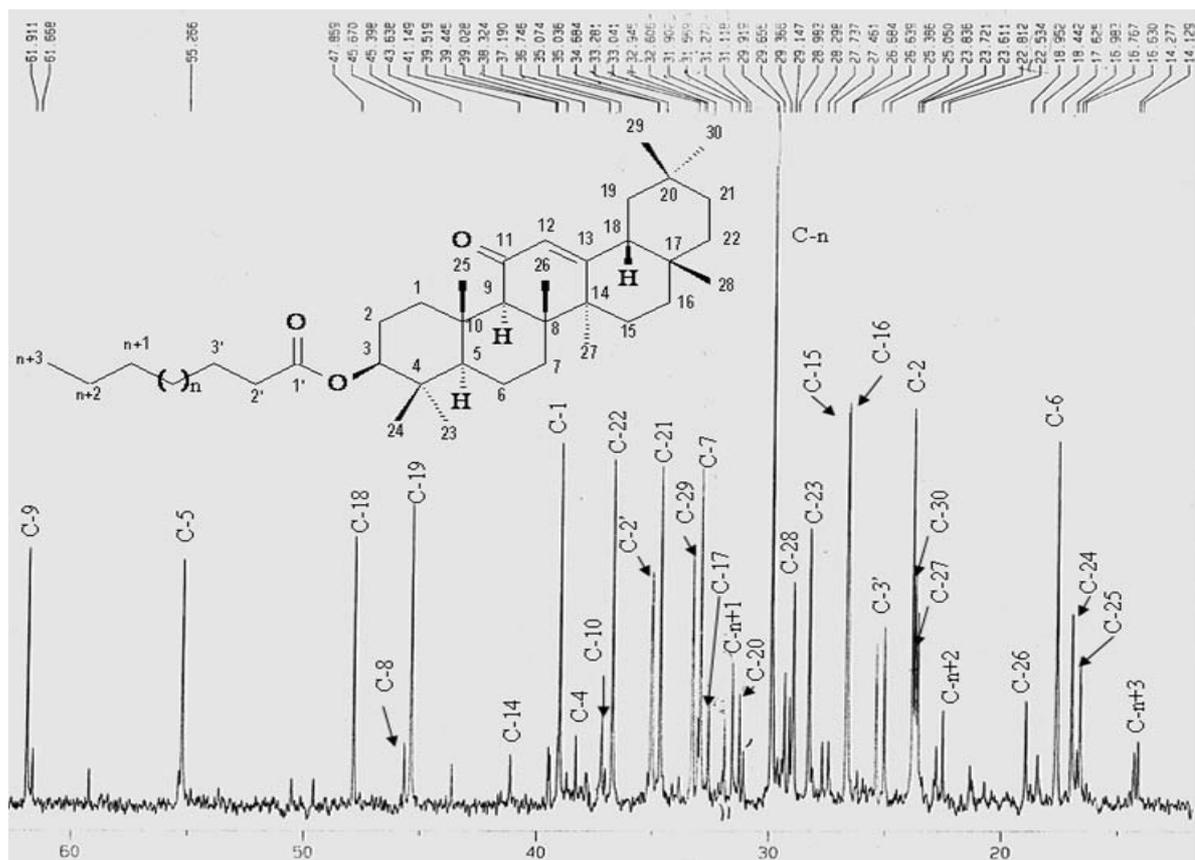


Figura I.43. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) ampliação da região δ_{C} 10-65 ppm da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

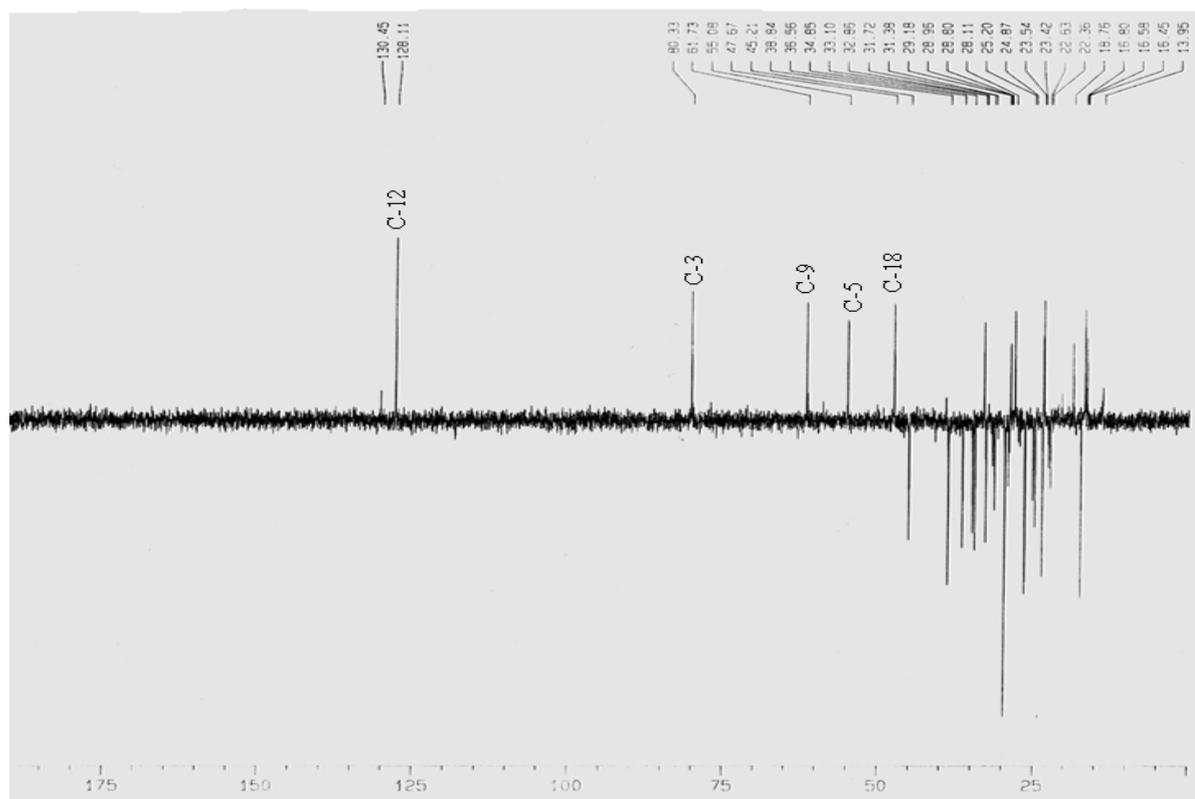


Figura I.44. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT ($\theta=135^\circ$, 125 MHz, CDCl_3) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

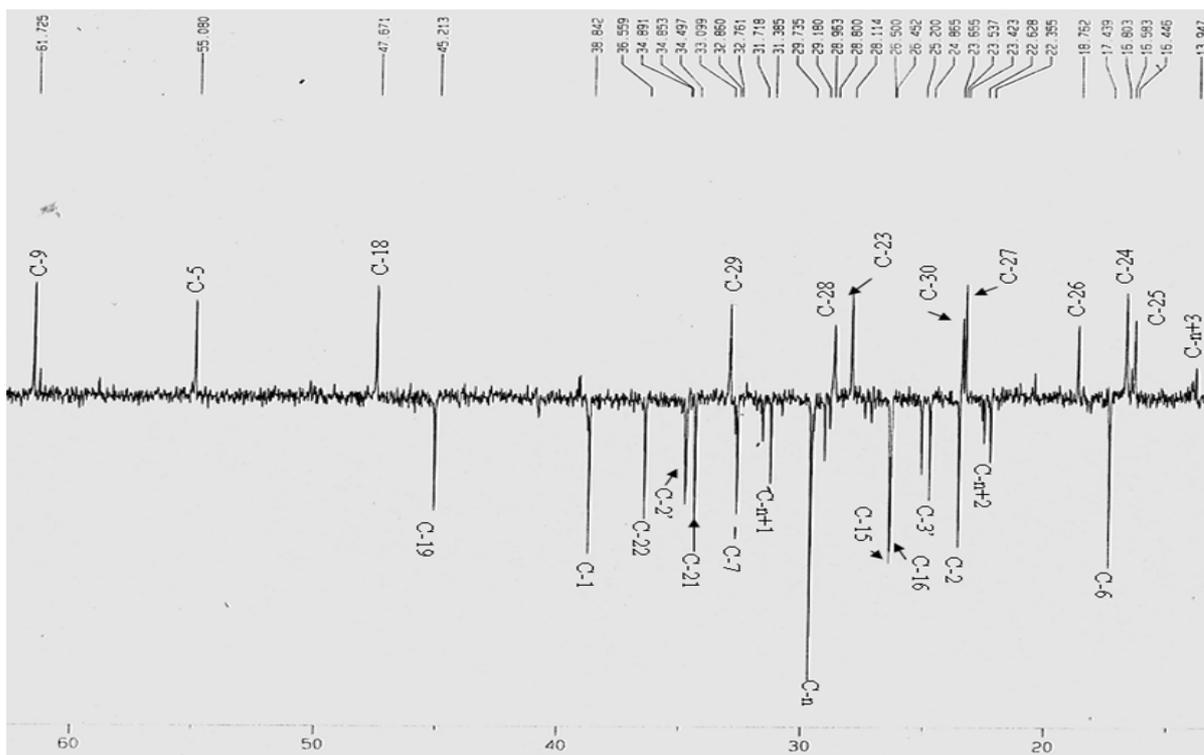


Figura I.45. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT ($\theta=135^\circ$, 125 MHz, CDCl_3) ampliação da região δ_{C} 10-65 ppm da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

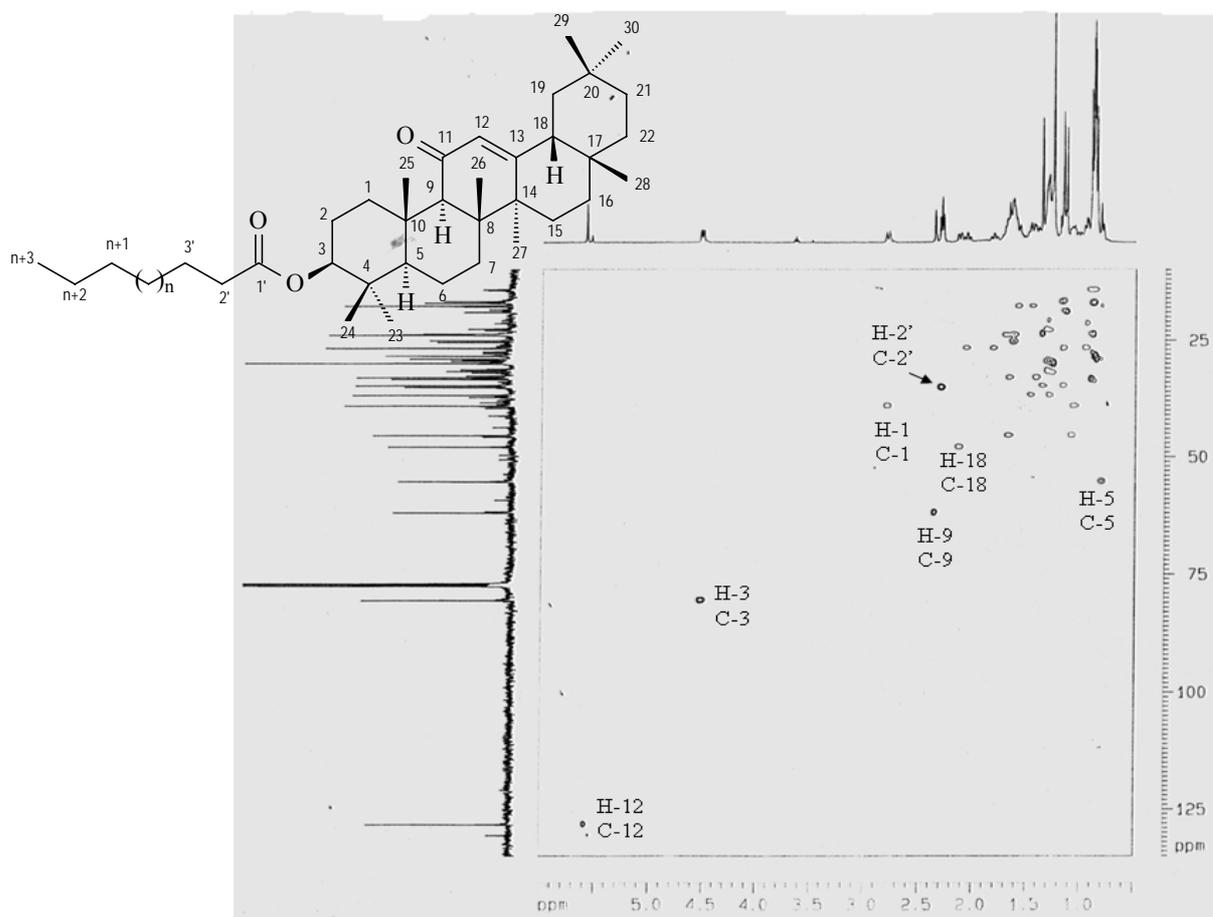


Figura I.46. Espectro de RMN HMQC (^1H - 500 MHz, ^{13}C - 125 MHz, CDCl_3) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

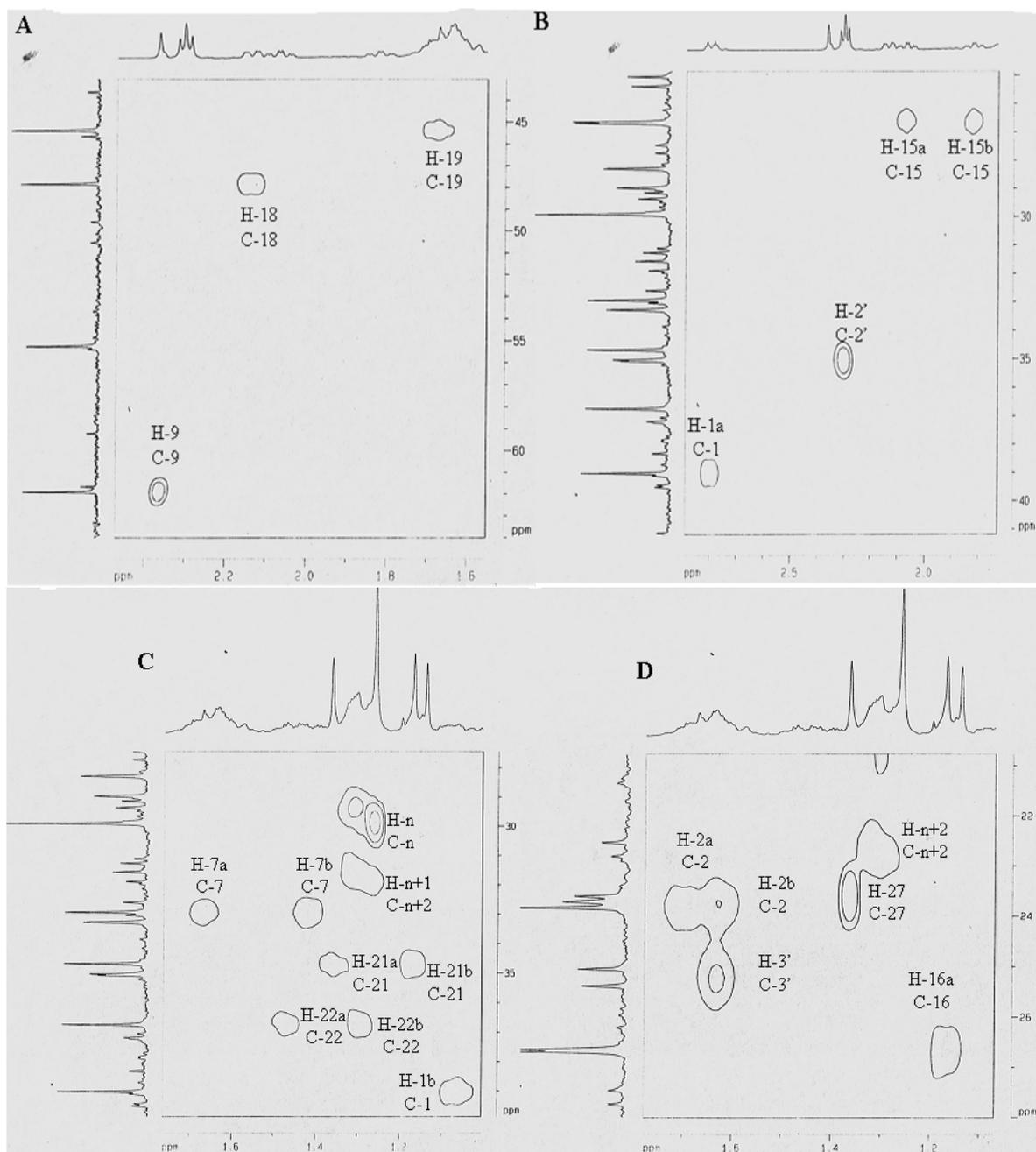
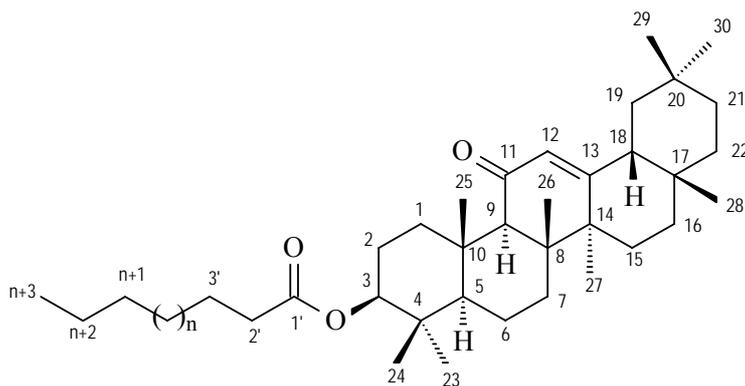


Figura I.47. Espectro de RMN HMQC (^1H - 500 MHz, ^{13}C - 125 MHz, CDCl_3). Regiões ampliadas: **A** (δ 1,6-2,4x44-64 ppm), **B** (δ 1,7-2,9x25-41 ppm), **C** (δ 1,0-1,8x28-40 ppm) e **D** (δ 1,1-1,8x21-27 ppm) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)



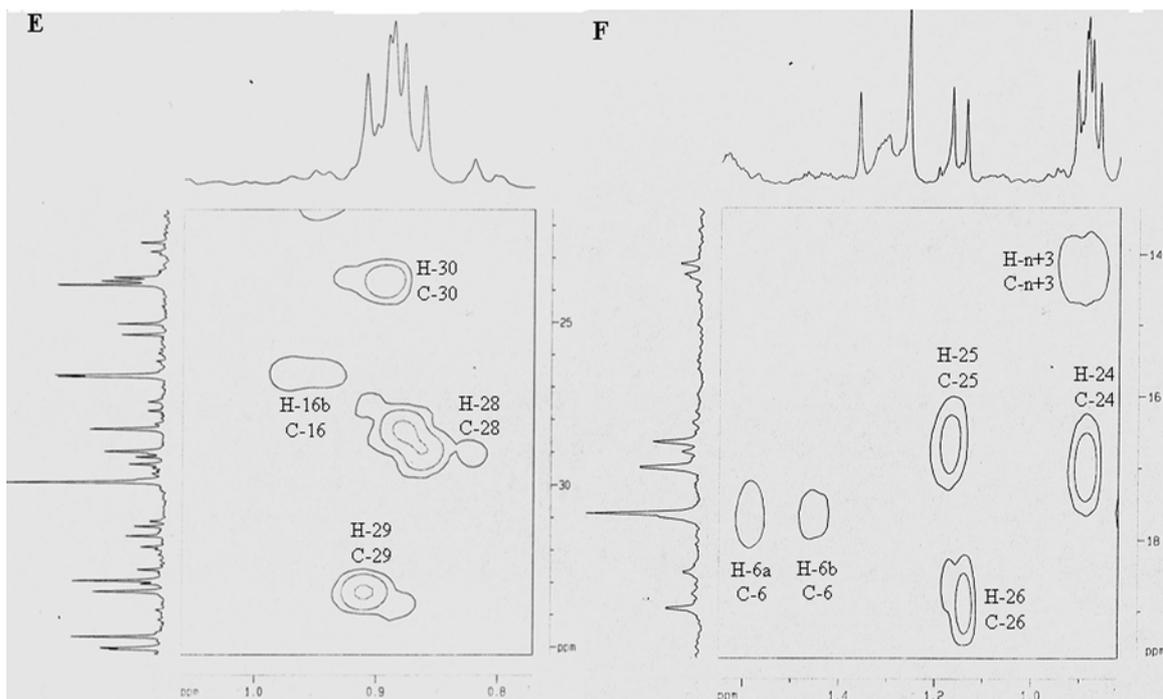


Figura I.48. Espectro de RMN HMQC (^1H - 500 MHz, ^{13}C - 125 MHz, CDCl_3). Regiões ampliadas: E (δ 0,8-1,1x22-35 ppm) e F (δ 0,8-1,65x13-20 ppm) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

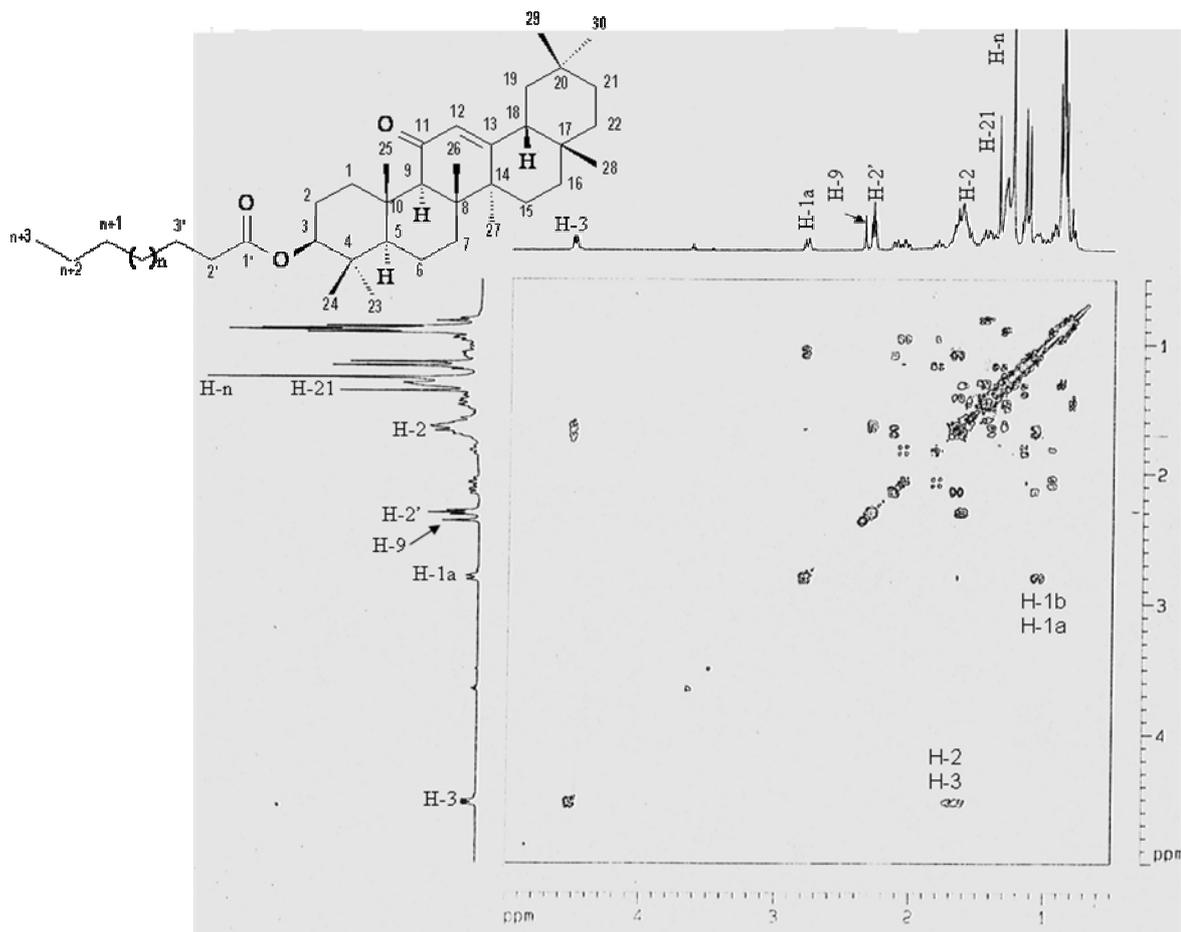


Figura I.49. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

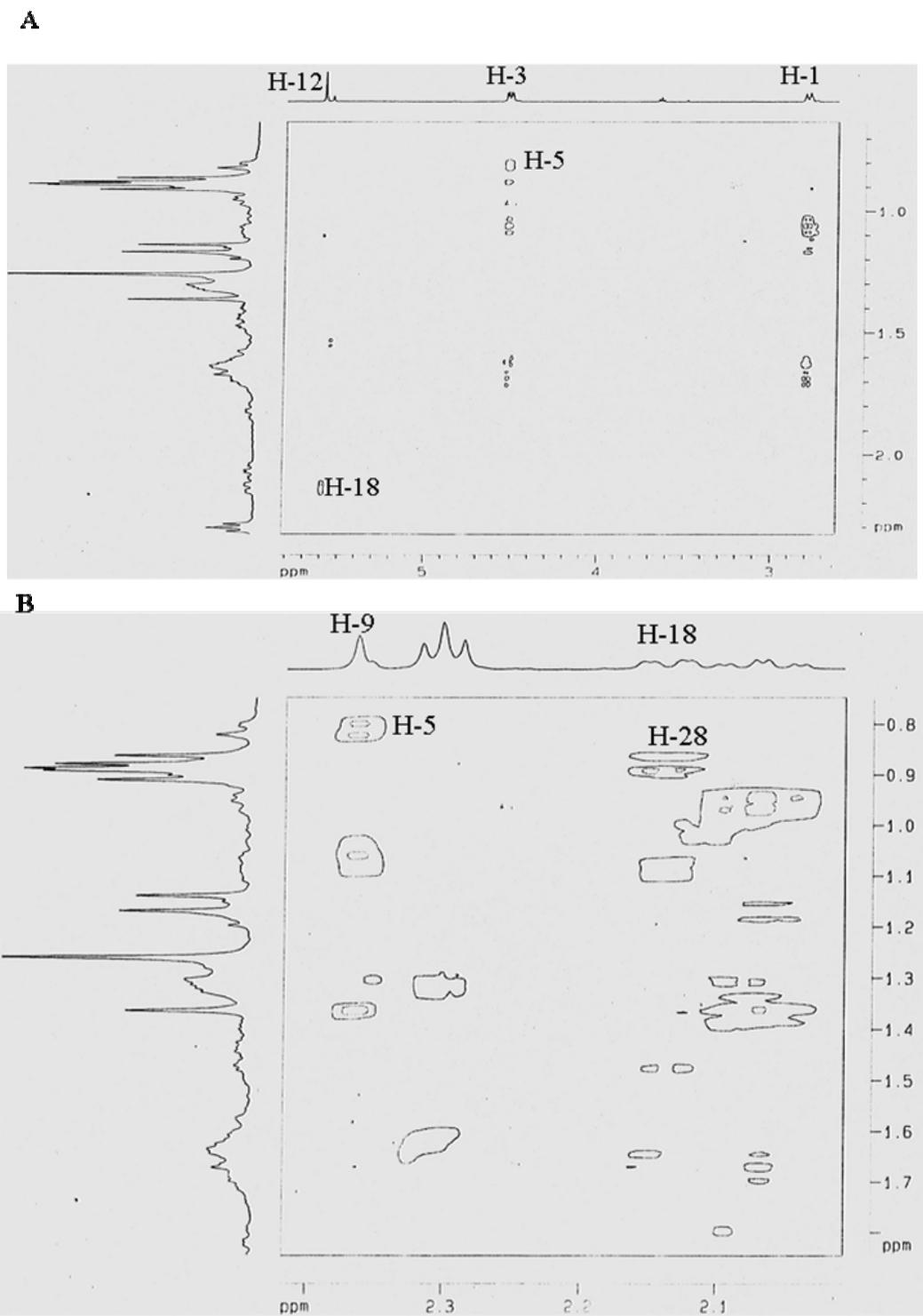
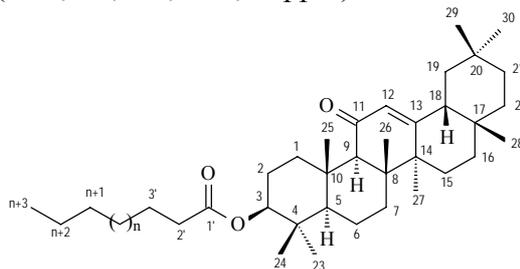


Figura I.50. Espectro de RMN NOESY (500 MHz, CDCl_3). Regiões ampliadas: **A** (δ_{H} 2,7-5,8x0,7-2,3 ppm) e **B** (δ_{H} 2,0-2,4x0,79-1,85 ppm) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)



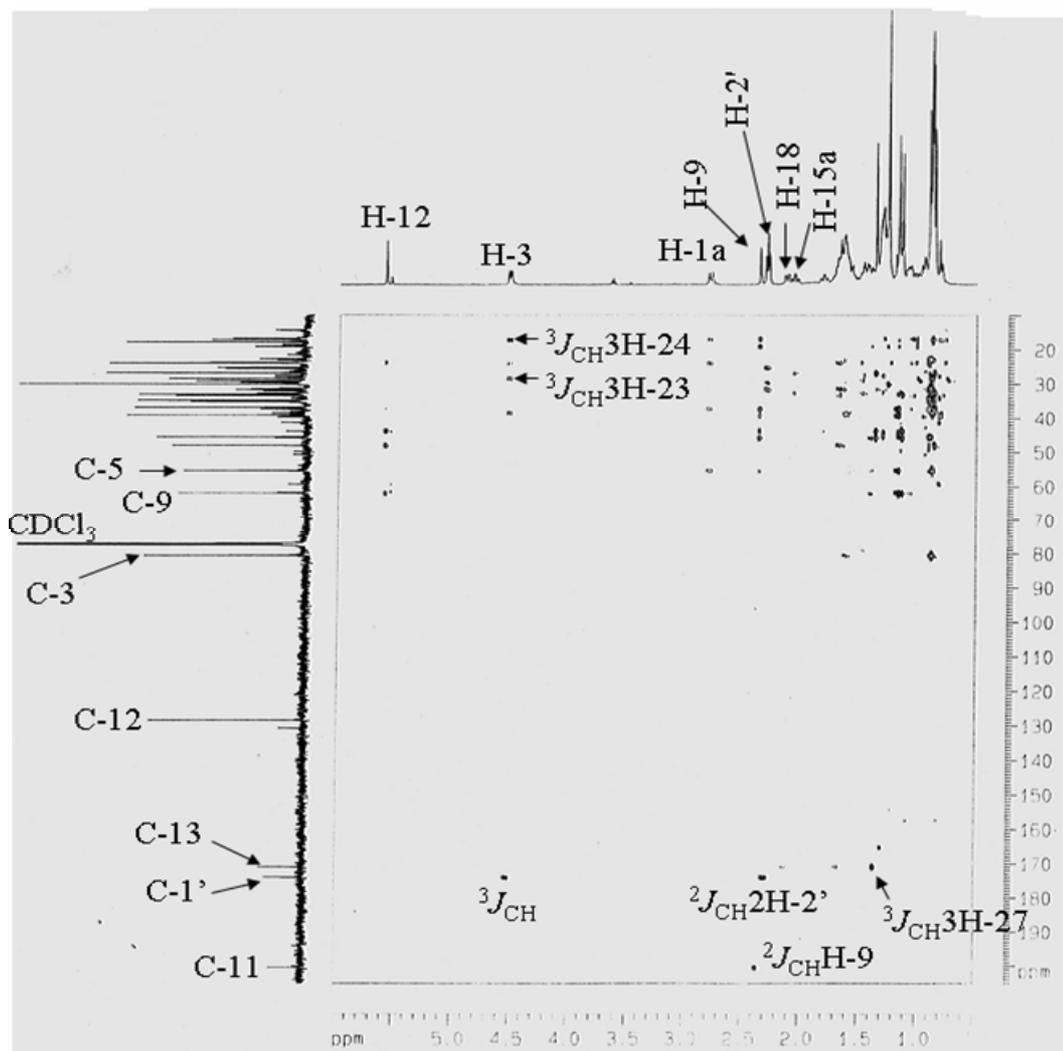


Figura I.51. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl_3) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

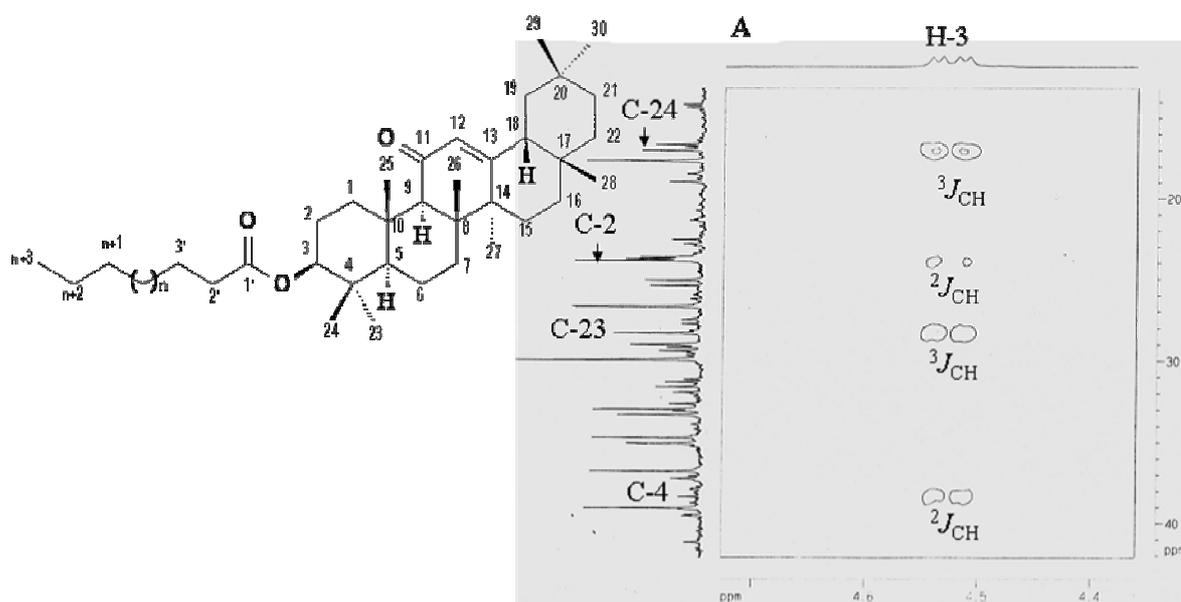


Figura I.52. Espectro de RMN HMBC (^1H - 500 MHz, ^{13}C - 125 MHz, CDCl_3). Região ampliada: A (δ 4,4-4,7x14-42 ppm) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

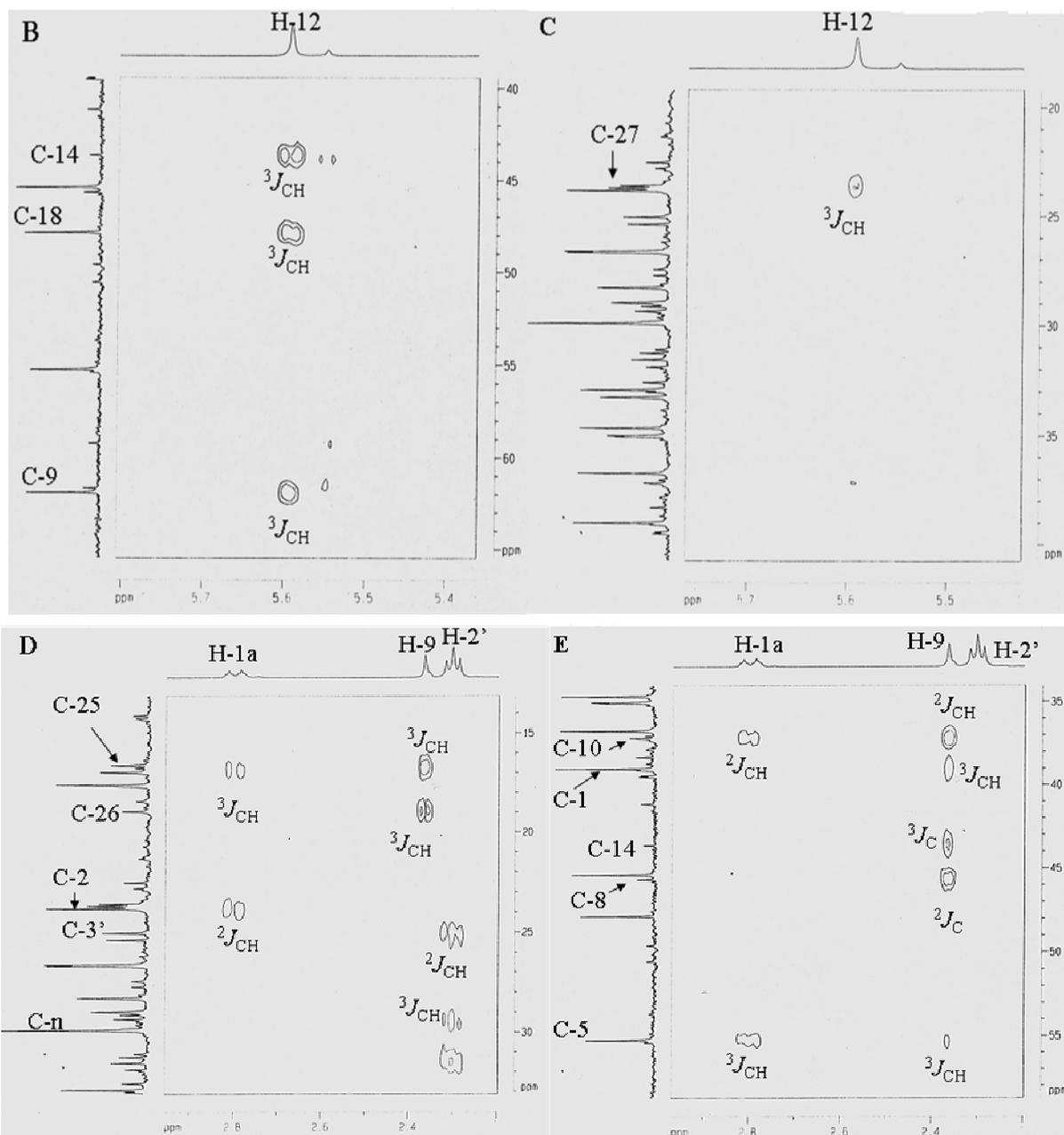
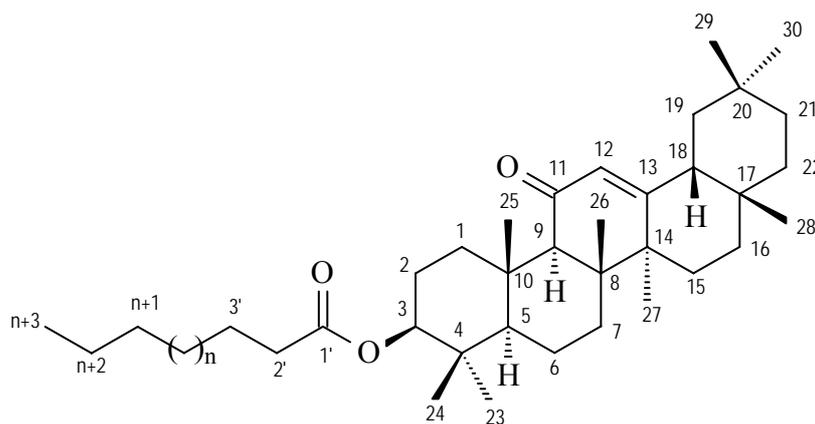


Figura I.53. Espectro de RMN HMBC (^1H - 500 MHz, ^{13}C - 125 MHz, CDCl_3). Regiões ampliadas: **B** (δ 5,4-5,8x40-65 ppm), **C** (δ 5,4-5,7x20-40 ppm), **D** (δ 2,2-2,9x14-33 ppm) e **E** (δ 2,2-2,9x34-58 ppm) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)



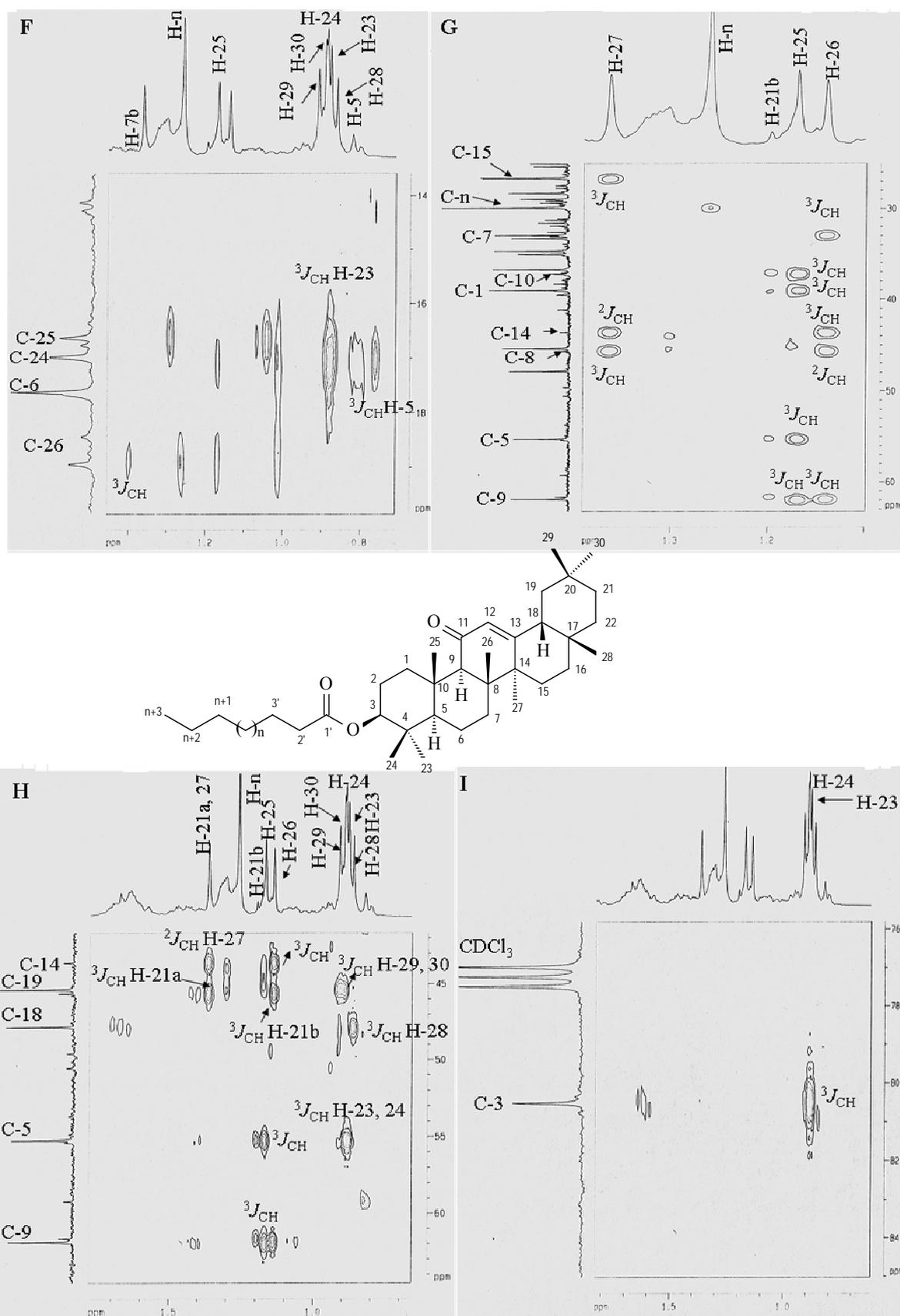
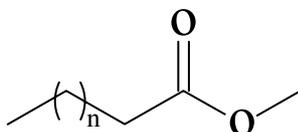


Figura I.54. Espectro de RMN HMBC (^1H - 500 MHz, ^{13}C - 125 MHz, CDCl_3). Regiões ampliadas: **F** (δ 0,7-1,5x13-20 ppm), **G** (δ 1,1-1,4x25-63 ppm), **H** (δ 0,7-1,8x42-64 ppm) e **I** (δ 0,7-1,8x76-85 ppm) da substância **7** (3-*O*-acil de β -amirenonol)

I.3.1.8 Determinação estrutural da mistura das substâncias 8 e 9

O espectro no IV das substâncias **8** e **9** (Figura I.55, pág. 79) apresenta bandas de absorção intensas em 2.921 cm^{-1} e 2.852 cm^{-1} de estiramento de C-H e 724 cm^{-1} que são características de cadeia linear hidrocarbônica longa. As bandas em 1.742 cm^{-1} e 1.171 cm^{-1} estão de acordo com a presença de carbonila de ésteres alifáticos. O espectro de RMN ^1H (Figura I.56, pág. 80) apresenta um singleto intenso em $\delta_{\text{H}} 1,23$ atribuído ao grupo $(\text{CH}_2)_n$, singleto em $\delta_{\text{H}} 3,64$ de grupo metoxila de éster metílico. O tripleto em $\delta_{2\text{H}} 2,28$ representa o CH_2 vizinho a carbonila. Os sinais em $\delta_{3\text{H}} 0,85$ (s) e $1,63$ (s) correspondem aos sinais da metila terminal e grupos metilenos de cadeia carbônica normal. O espectro de RMN ^{13}C (Figura I.57, pág. 80) apresenta sinal em $\delta_{\text{CH}_3} 51,4$ atribuído a metoxila. O sinal em $\delta_{\text{CH}_3} 14,07$ é atribuído a metila terminal da cadeia carbônica. Os demais sinais de deslocamento de carbono-13 estão de acordo com a da cadeia carbônica majoritária.

Os tamanhos das cadeias carbônicas dos componentes da mistura foram determinados através da análise dos picos dos M^+ detectados para cada sinal do cromatograma obtido em espectrômetro de massas, CG-EM (Coluna CP-SIL8CB, $30\text{m} \times 0,25 \times 0,25\text{mm}$ e ionização a 70 eV). Todos os espectros de massas (Figura I.58, pág. 81) apresentam o pico $m/z 74$ (100%) característico de ésteres alifáticos devido ao rearranjo de MacLafetty, com quebra da ligação β em relação ao grupo $\text{C}=\text{O}$ e o pico $m/z 87$ (95%) correspondente ao íon $[\text{H}_3\text{COCO}(\text{CH}_2)_2]^+$. Além dos picos $m/z 143$ $[\text{H}_3\text{COCO}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2]^+$ e $m/z 199$ $[\text{H}_3\text{COCO}(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2]^+$. Consideramos os picos em 298 (M^+ , 30%) e 270 (M^+ , 20%) como sendo M^+ , o que permitiu definir o valor de n . (Esquema I.4, pág. 82). Os ésteres majoritários são o octadecanoato de metila (**8**) e hexadecanoato de metila (**9**).



8: $n=15$, Octadecanoato de metila

9: $n=13$, hexadecanoato de metila

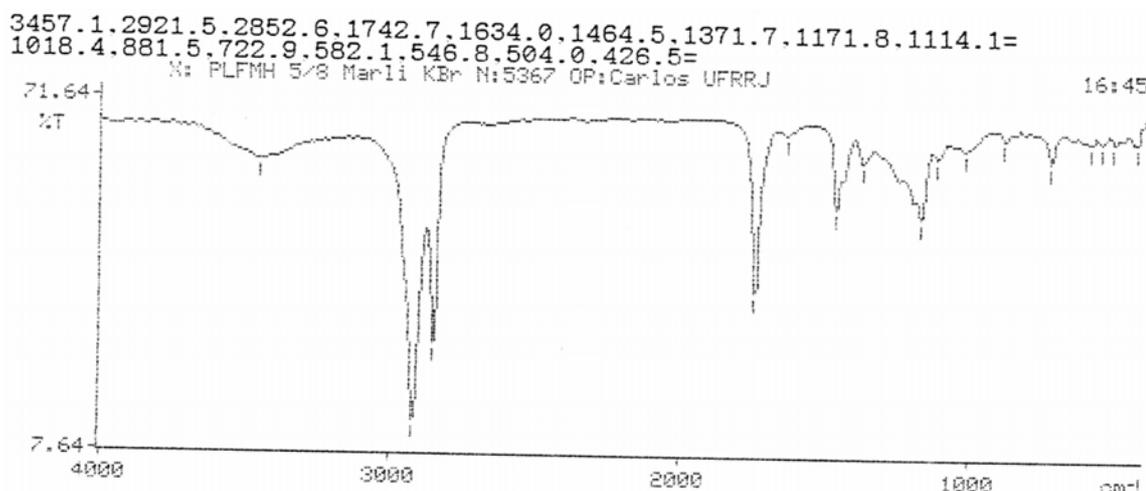


Figura I.55. Espectro de IV da mistura de ésteres alifáticos (**8** e **9**)

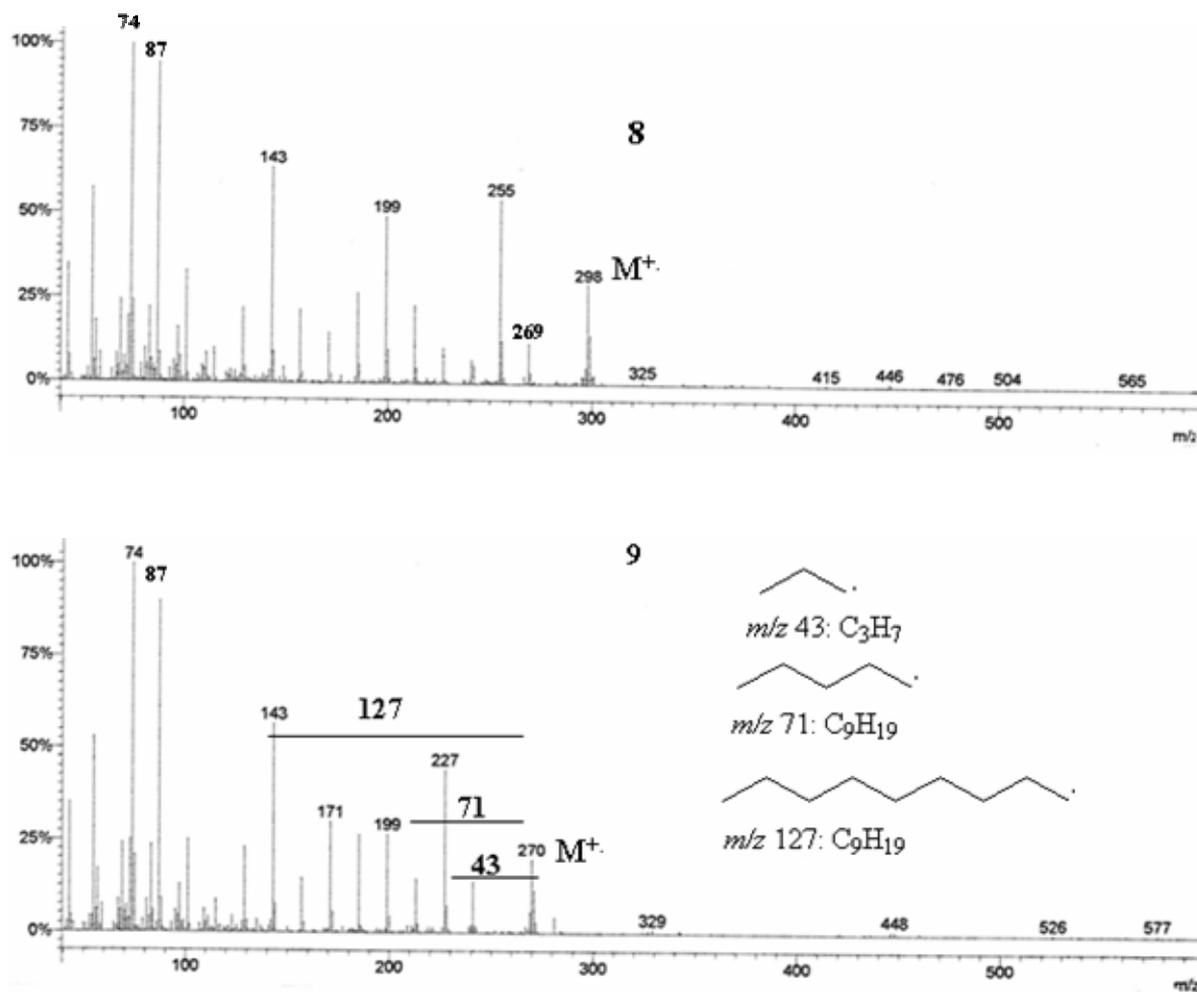
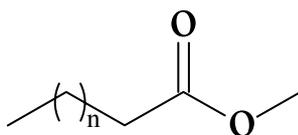
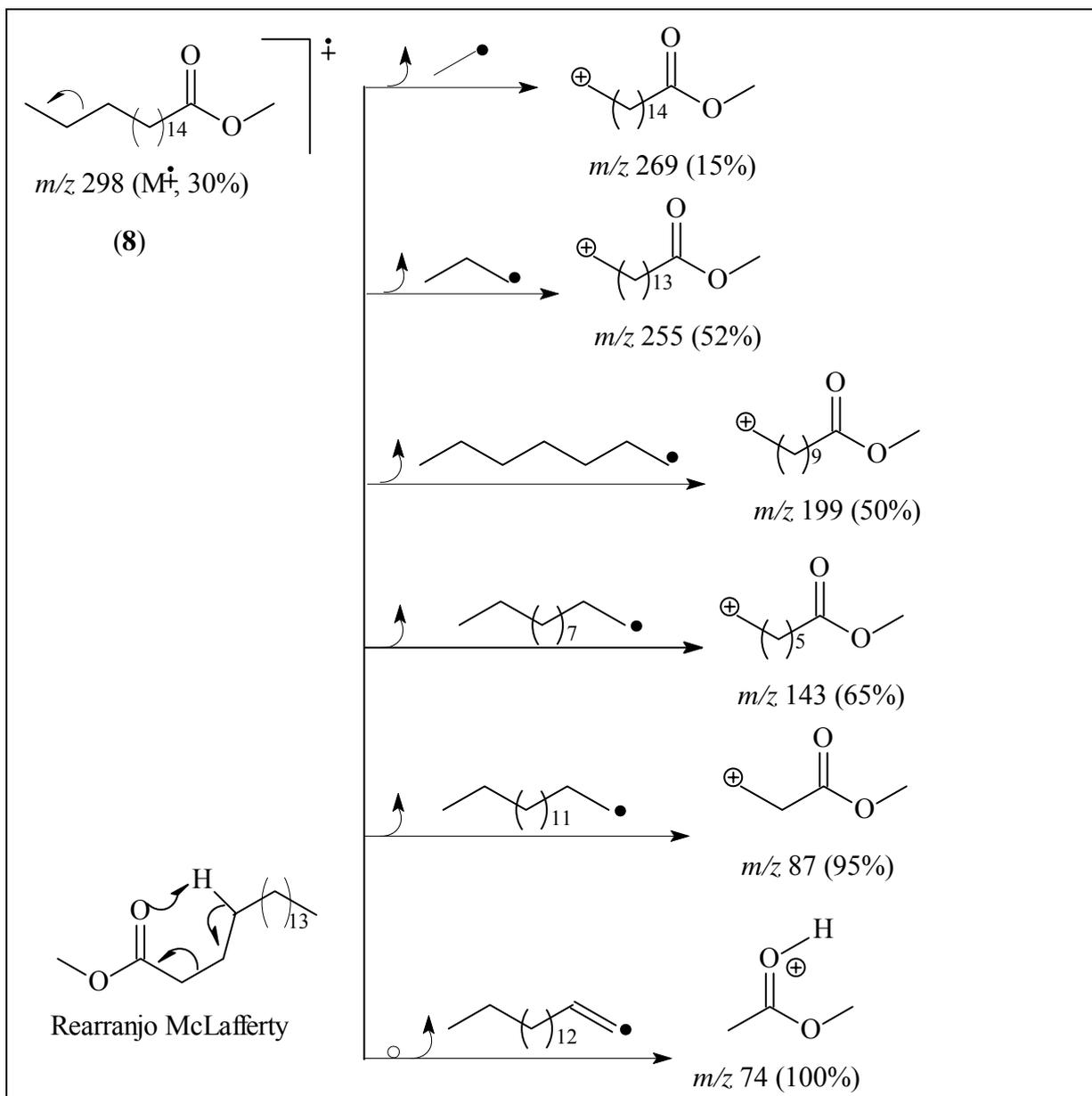


Figura I.58. Espectros de massas da mistura de ésteres alifáticos (**8** e **9**)



8: $n=15$, Octadecanoato de metila

9: $n=13$, hexadecanoato de metila



Esquema I.4. Principais fragmentos referentes aos picos do espectro de massas da substância **8** (Octadecanoato de metila)

I.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F.; CHEN, R. F.; YANAYCHI, T. Minor iridoids from the roots of *Plumeria acutifolia*. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 36, n. 8, p. 2784-2789, 1988.

ADAM, G.; KHOI, N. H.; BERGNER, C.; LIEN, N. T. Plant growth inhibiting properties of plumieride from *Plumeria obtusifolia*. *Phytochemistry*, v. 18, n. 8, p. 1399-1400, 1979.

AGONIADA. Disponível em:< <http://www.lavras.br/cepe/fotos/agoniada.htm>>. Acessado em: 20 de janeiro de 2002.

AGONIADA. Disponível em:< http://www.plantamed.com.br/PG/TEXTOS/NCP/Plumeria_lancifolia.htm>. Acessado em: 23 de fevereiro de 2004.

AHMAD, V. U.; ATTA-UR-RAHMAN. *Handbook of natural products data. Pentacyclic triterpenoids*. V. 2. London: Editora Elsevier, 1994, p. 1102.

AKHTAR, N.; MALIK, A. Oleanene type triterpenes from *Plumeria rubra*. *Phytochemistry*, v. 32, n. 6, p. 1523-1525, 1993.

ALBERS-SCHÖNBERG, G.; PHILIPSBORN, W. v.; JACKMAN, L. M.; SCHMID, H. Die struktur des fulvoplumierins. *Helvetica Chimica Acta*, v. 45, f. 05, n. 162, p. 1406-1408, 1962.

ALVES, C. C. F. *Metabólitos especiais isolados de Luxemburgia octandra (Ochnaceae), Laseguea erecta (Apocynaceae), do látex de Parahancornia amapa (Apocynaceae) e de Solanum crinitum (Solanaceae)*. Seropédica, RJ, 2003, 197 p. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

BARNES, R. A.; PEREIRA, A. L.; CRISTINA, T.; SCOFIELD, V.; BRAZ-FILHO, R.; PINTO, A. C. A new triterpene from *Vellozia compacta*. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 32, n. 9, p. 3674-3677, 1984.

BARRETO, A. S. *Estudo químico de Himatanthus articulata (Vahl) Woodson*. Itaguaí, RJ, 1994. 139 p. Dissertação (Mestrado em Química, Orgânica-Fitoquímica). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

BARRETO, A. S.; CARVALHO, M. G.; NERY, I. A.; GONZAGA, L.; KLAPAN, M. A. C. Chemical constituents from *Himatanthus articulata*. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 9, n. 5, p. 430-434, 1998.

BRUNETON, J. *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants*. London: Editora Lavoisier, 1995, 915 p.

a) CARVALHO, G. J. A.; CARVALHO, M. G.; FERREIRA, D. T.; FARIA, T. J.; BRAZ-FILHO, R. Diterpenos, triterpenos e esteróides das flores de *Wedelia paludosa*. *Química Nova*, v. 24, n. 1, p. 24-26, 2001.

b) CARVALHO, M. G. de; GRANCHI, D. C.; KINGSTON, D. G. I.; WERLE, A. A. Proposed active constituents of *Dipladenia martiana*. *Phytother. Res.*, v. 15, p. 715-717, 2001.

c) CARVALHO, M. G. de; VELLOSO, C. R. X.; BRAZ-FILHO, R.; COSTA, W. F. Acyl-lupeol esters from *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 2, n. 4, p. 555-559, 2001.

COPPEN, J. J. W.; COBB, A. L. The occurrence of iridoids in *Plumeria* and *Allamanda*. *Phytochemistry*, v. 22, p. 125-128, 1983.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Plantas medicinais da Amazônia e na mata atlântica*. 2ª ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002, p. 376-385.

DOBHAL, M. P.; HASAN, A. M.; SHARMA, M. C.; JOSHI, B. C. Ferulic acid esters from *Plumeria bicolor*. *Phytochemistry*, v. 51, p. 319-321, 1999.

ENDRESS, M. E. & BRUYNS, P. V. A revised classification of the Apocynaceae s.l. *The Botanical Review*, v. 66, n. 1, p. 1-56, 2000.

EVANS, W. C. *Trease and Evans: Pharmacognosy*. 15º ed. Edinburgh: Editora W. B. Saunders, 2002, p. 32.

FAMÍLIA APOCYNACEAE. Disponível em: <<http://www.buscaplantas.com/Apocynaceae.htm>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2002.

FRANCA, O. O.; BROWN, R. T.; SANTOS, C. A. M. Uleine and demethoxyaspidospermine from the bark of *Plumeria lancifolia*. *Fitoterapia*, v. 71, n. 2, p. 208-210, 2000.

a) KARDONO, L. B. S.; TSAURI, S.; PADMAWINATA, K.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic constituents of the bark of *Plumeria rubra* collected in Indonesia. *Journal of Natural Products*, v. 53, n. 6, p. 1447-1455, 1990.

b) KARDONO, L. B. S.; TSAURI, S.; PADMAWINATA, K.; KINGHORN, A. D. A flavan-3-ol glycoside from bark of *Plumeria rubra*. *Phytochemistry*, v. 29, n. 9, p. 2995-2997, 1990.

KAZMI, S. N.; AHMED, Z.; AHMED, W.; MALIK, A. Plumerinine-a novel lupine alkaloid from *Plumeria rubra*. *Heterocycles*, v. 29, n. 10, p. 1901-1906, 1989.

KRIWACKI, R. W.; PINTER, T. P. Current aspects of practical two-dimensional (2D) nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy: applications to structure elucidation. *Pharmaceutical Research*, v. 6, n. 7, p. 531-554, 1989.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

HAMBURGER, M. O.; CORDELL, G. A.; RUANGRUNGSI, N. Traditional medicinal plants of Thailand. Biologically active constituents of *Plumeria rubra*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 33, p. 289-292, 1991.

MABBERLEY, D. J. *The plant-book – a portable dictionary of the vascular plants*. 2^a ed. Reino Unido: Editora Cambridge University Press, 1997, p. 771.

MAHATO; S. B.; KUNDU; A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features. *Phytochemistry*, v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MUIR, C. K.; HOE, K. F. Pharmacological action of leaves of *Plumeria acuminata*. *Journal of Medicinal Plant Research*, v. 44, p. 61-63, 1982.

NEUWINGER, H. D. Alkaloids in arrow poisons. In: ROBERTS, M. F. & WINK, M. *Alkaloids: Biochemistry, ecology, and medicinal applications*. New York: Editora Plenum press, 1998, 486 p.

NISHIBE, S.; HISADA, S.; INAGAKI, I. The cyclitols of *Ochrosia nakaiana*, *Plumeria acutifolia* and *Strophanthus gratus*. *Phytochemistry*, v. 10, p. 2543, 1971.

RAGHUVAN, S. S.; CHAUHAN, A. K. S. Evolutionary role of numerical alteration in chromosomes in varietal differentiation in *Plumeria*. *Cytologia*, v. 36, p. 321-331, 1971.

SCHMIDT, J.; LIEN, N. T.; KHOI, N. H.; ADAM, G. Lupeol long chain fatty acid esters and other triterpenoid constituents from *Plumeria obtusifolia*. *Phytochemistry*, v. 22, n. 4, p. 1032-1033, 1983.

SIDDIQUI, B. S.; NAEED, A.; BEGUM, S.; SIDDIQUI, S. Minor iridoids from the leaves of *Plumeria obtuse*. *Phytochemistry*, v. 37, n. 3, p. 769-771, 1994.

SIDDIQUI, B. S.; FIRDOUS, S. B. Two triterpenoides from the leaves of *Plumeria obtuse*. *Phytochemistry*, v. 52, n. 6, p. 1111-1115, 1999.

SIDDIQUI, S.; HAFEEZ, F.; BEGUM, S.; SIDDIQUI, B. S. Oleanderol, a new pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander*. *Journal of Natural Products*, v. 51, n. 2, p. 229-233, 1988.

a)SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B. S.; NAEED, A.; BEGUM, S. Pentacyclic triterpenoids from the leaves of *Plumeria obtusa*. *Phytochemistry*, v. 28, n. 11, p. 3143-3147, 1989.

b)SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B. S.; NAEED, A.; BEGUM, S.; New pentacyclic triterpenoids from *Plumeria obtuse*. *Park. J. Sci. Ind. Res.*, v. 32, n. 12, p. 781-784, 1989.

a)SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B. S.; NAEED, A.; BEGUM, S. Three Pentacyclic triterpenoids from the leave of *Plumeria obtusa*. *Journal of Natural Products*, v. 53, n. 5, p. 1332-1336, 1990.

b)SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B. S.; BEGUM, S.; NAED, A. Pentacyclic triterpenoids from *Plumeria obtusa*. *Phytochemistry*, v. 29, n. 11, p. 3615-3620, 1990.

SIDDIQUI, S.; SIDDIQUI, B. S.; NAEED, A.; BEGUM, S. Pentacyclic triterpenoids from the leaves of *Plumeria obtusa*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 12, p. 4279-4283, 1992.

TAN, G. T.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Evaluation of natural products as inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase. *Journal of Natural Products*, v. 54, n. 1, p. 143-154, 1991.

WOODSON, R. E. *Jr. Ann. of the Missouri Botanical Garden*, v. 25, n. 1, p. 200, 1938 [1937].

CAPÍTULO II
ESTUDO QUÍMICO DE *Solanum crinitum* Lam.



II.1 INTRODUÇÃO

II.1.1 Família Solanaceae

A família descrita por Antoine Laurent de Jussieu compreende 94 gêneros, com 2.950 espécies distribuídas em regiões tropicais e temperadas do mundo, sendo 56 gêneros espontâneos da América do Sul, dos quais 25 são endêmicos. Entre estes, encontram-se árvores, arbustos, lianas e ervas, muitos destes com grande ocorrência no Brasil (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002).

Entre os gêneros que formam a família Solanaceae estão *Nicandra* (1 sp.), *Lycium* (80-90 spp.), *Atropa* (4 spp.), *Hyoscyamus* (20 spp.), *Physalis* (100 spp.), *Capsicum* (aproximadamente 50 spp.), *Solanum* incluindo *Lycopersicon* (1700 spp.), *Mandragora* (6 spp.), *Datura* (10 spp.), *Solandra* (10 spp.), *Cestrum* (150 spp.), *Nicotiana* (66 spp.), *Petunia* (40 spp.), *Salpiglossis* (18 spp.), *Schizanthus* (15 spp.), *Scopolia* (6 spp.), *Withania* (10 spp.), *Duboisia* (2 spp.), *Acnistus* (50 spp.) e *Fabiana* (25 spp.) (EVANS, 2002).

Essa família possui grande importância econômica por ser constituída de várias espécies usadas na alimentação humana. Como exemplo podemos citar a batatinha (*Solanum tuberosum* L.), o tomate (*Solanum lycopersicum*), a berinjela (*Solanum melongena* L.), o 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 belladonna*), nicotina (*Nicotiana tabacum* L.), entre outras (AGRA, 2000).

Suas flores são bissexuais e raramente zigomorfas, embora o carpelo esteja localizado obliquamente. Os ovários são biloculares, mas frequentemente chegam a ser falsos, com três a cinco lóculos. As flores brotam da bifurcação dos ramos que saem em anexo as folhas (EVANS, 2002).

A família é produtora de várias séries de alcalóides de grande interesse taxonômico. Os alcalóides encontrados são do tipo tropânicos, indólicos, isoquinolínicos, purínicos, pirrólicos, piridínicos, pirrolizidínicos, quinazolínicos, alcalóides esteroidais e glicoalcalóides. São encontradas outras substâncias como saponinas esteroidais, withanolídeos, cumarinas, ciclitóis, flavonóides, carotenóides e antraquinonas (EVANS, 2002).

II.1.2 O Gênero *Solanum* (L.)

Solanum (L.) é um gênero de plantas da família Solanaceae, descrito pela primeira vez por Linnaeus em 1753. O nome do gênero deriva de *solamen* "consolo, alívio", referindo-se aos efeitos analgésicos e sedativos de inúmeras de suas espécies.

É o gênero mais representativo da família Solanaceae consistindo de cerca de 1.500 espécies e 5.000 epítetos publicados, sendo distribuído principalmente através de regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo e com maior centro de diversidade e distribuição na América do sul (AGRA, 1999)

O grupo inclui muitas espécies de plantas perenes arbustivas ou trepadeiras. A maioria das espécies de *Solanum* são venenosas, mas o grupo inclui alguns dos vegetais mais essenciais da alimentação humana como a batata (*Solanum tuberosum*), o jiló (*Solanum gilo*), o tomate (*Solanum lycopersicum*) e a berinjela (*Solanum melongena*), (FAMÍLIA SOLANACEAE, 2006)

A maioria das espécies do gênero *Solanum* apresentam alcalóides esteroidais e saponinas esteroidais que são compostos de grande interesse na medicina tradicional, pois são matéria prima para a produção de vários fármacos com diferentes aplicações, tais como:

anabólicos, antiinflamatório, antialérgicos, contraceptivos, diuréticos, imunossupressores e tônicos (MOLA *et al.*, 1997).

As saponinas, do grupo dos alcalóides esteroidais, são características do gênero *Solanum*. Possuem nitrogênio no anel F e são incluídas na classe dos piperidilpregnanos dos alcalóides esteroidais (SIMÕES *et al.*, 2004). Diferentemente de muitas outras classes de alcalóides, as bases esteroidais não são derivadas de aminoácidos, biogeneticamente eles são considerados como derivados de esteróides e triterpenóides, sendo freqüentemente chamados de “aminas esteroidais” ao invés de alcalóides propriamente (ATTA-UR-RAHMAN & CHOUDHARY, 1998).

Piperidilpregnanos são compostos que conservam a estrutura de 27 carbonos do colesterol, apresentando um átomo de nitrogênio fazendo parte de um ciclo de piperidina. São classificados em quatro grupos (SIMÕES *et al.*, 2004):

- Espirosolanos:** O anel de piperidina encontra-se unido por um carbono espirostânico a um anel tetraidrofurano formado por ciclização na cadeia lateral. Compostos com núcleo espirosolano podem existir nas coconfigurações *22R*, *25R* que corresponde a solasodina encontrada na batata-inglesa, ou *22S*, *25S*, a tomatidina e a tomatina encontradas no tomate (Figura II.1, pág. 89)
- Solanidanos:** a cadeia lateral cicliza em dois anéis ligados por um átomo de nitrogênio (o nitrogênio é terciário), o mesmo pertence aos anéis E e F, simultaneamente, sendo conhecidos como indolizidinas. Geralmente possuem configuração *22R*, *25S*, estando a metila do carbono 25 em posição equatorial, como a solanidina, solanina e a chaconina que são os glicoalcalóides mais comuns da batata (*Solanum tuberosum*) (Figura II.2, pág. 90).
- Solanocapsinas:** são derivados de 22, 26 epimino-hemiacetal, por que possuem um anel pirânico e um anel de piperidina unidos por uma ligação hemiacetal. A solanocapsina foi o primeiro alcalóide deste tipo, foi obtido de *Solanum pseudocapsicum* L. A estereoquímica da união dos anéis heterocíclicos podem ser *cis*, como no caso da pimpifolidina ou *trans* como na isopimpifolidina (Figura II.3, pág. 90).
- Piperidinas simples:** são derivadas do piperidilpregnano, a cadeia lateral do colesterol da origem a um único ciclo de piperidina. São encontrados principalmente nos gêneros *Solanum* e *Veratrum*, sendo menos frequentes que os grupos anteriores e podem, em alguns casos, representar precursores intermediários biossintéticos de outros compostos. Como exemplos temos a veralkamina isolada de *Veratrum album* e a oblinginina isolada de *Veratrum oblongum* (Figura II.4, pág. 90).

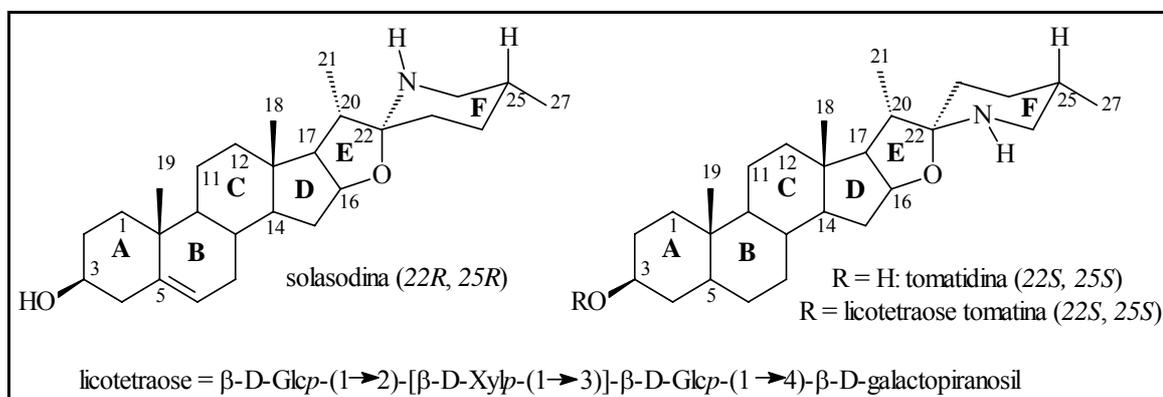


Figura II.1. Estruturas de espirosolanos

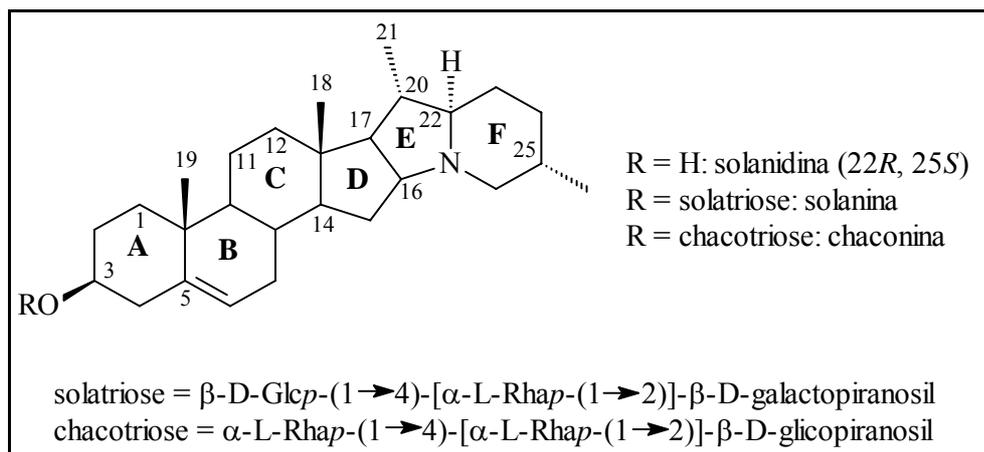


Figura II.2. Estruturas de solanidanos

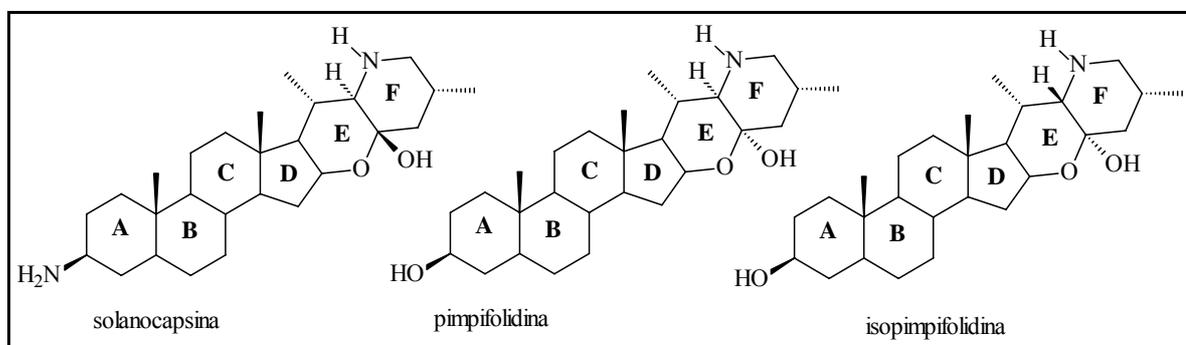


Figura II.3. Estruturas de solanocapsinas

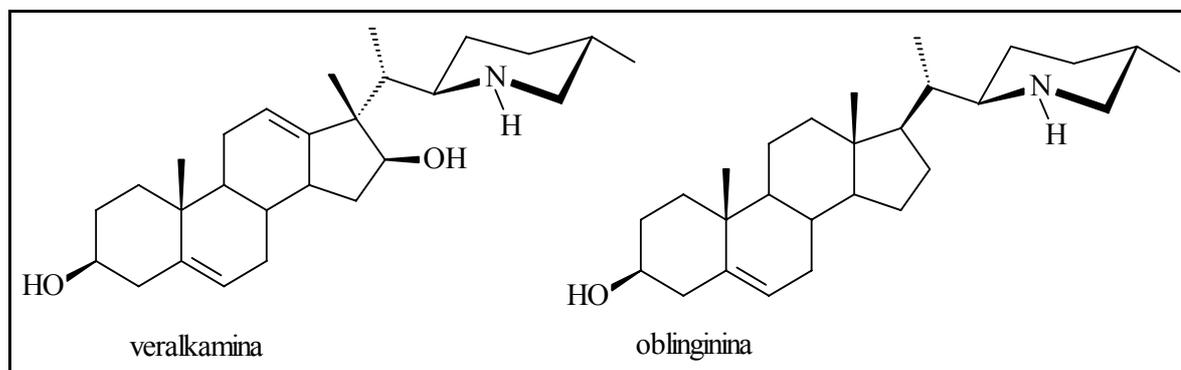


Figura II.4. Estruturas de piperidinas simples

Os alcalóides esteroidais constituem uma importante classe de metabólitos especiais que ocorrem em plantas e também em certos animais superiores e invertebrados marinhos. Em geral são compostos tóxicos e servem provavelmente como defesa para os organismos que os produzem (SIMÕES *et al.*, 2004).

O grau de toxicidade para os mamíferos é variado. Alguns, como os alcalóides glicosilados de *Solanum*, encontram-se presentes em pequenas quantidades na dieta humana normal, mas podem provocar intoxicações alimentares em concentrações maiores. Os sintomas incluem desarranjos gastrointestinais e neurológicos. Em casos extremos podem levar a um estado de coma e à morte. Por está razão foram estabelecidos limites máximos para

a concentração de alcalóides em alimentos, que varia segundo a legislação de cada país, entre 100 a 200 mg/Kg (MAGA, 1994).

A literatura descreve várias atividades biológicas para estes compostos. Em geral possuem atividade antibacteriana leve e uma atividade antifúngica mais pronunciada. Esta atividade esta relacionada com a capacidade dos alcalóides glicosilados de desestabilizarem as membranas biológicas. A tomatina (Figura II.1, pág. 89) possui um amplo espectro antifúngico e antimicrobiano, sendo ativa para vários tipos de fungos como *Aspergillus*, *Candida albicans* e *Thichophyton*, além de fungos saprofiticos, bactérias Gram-positivas e protozoários. Os alcalóides glicosilados da batata também são ativos contra fungos, entre eles a *Trichoderma virile*, *Helminthosporium carbonum*, *Fusarium caeruleum* e *Cladosporium fulvum* (HOSTETTMANN & MARSTON, 1995). A solanina e a chaconina (Figura II.2, pág. 90), são encontradas como mistura nos vegetais e possuem atividade antifúngica leve. A mistura das duas possui um efeito sinérgico, aumentando o poder de desestabilizar as membranas biológicas como a sua atividade antifúngica (RODDICK *et al.*, 1988; FEWELL & RODDICK, 1993).

Também são observadas atividades de inibição alimentar e tóxica em muitos insetos. A tomatina (Figura II.1, pág. 89) e, em menor grau, a solanina e a chaconina (Figura II.1, pág. 90) são ativos contra *Leptinotarsa decemlineata* (escaravelho da batateira), (SANFORD *et al.*, 1996), *Empoasca fabae* (cigarrinha) e *Macrosiphum euphorbiae* (pulgão), (GÜNTNER *et al.*, 1997; VÁZQUEZ, 1997) entre outras pragas.

O gênero *Solanum* também é conhecido por produzir efeito alelopático devido aos alcalóides glicosilados espirosolanos, tais como, solamargina e solasonina (estruturas nas pág. 94 e 97) que suprimem o crescimento das sementes de outras plantas (FUKUHARA & KUBO, 1997; ALVES, *et al.*, 2003a).

A atividade moluscicida encontrada no gênero *Solanum*, também esta associada à presença de glicoalcalóides esteroidais (SILVA, 2002).

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 baixos de classificação da família (STEINHARTER *et al.*, 1986). Entre os artigos relacionados com o perfil químico de *Solanum* com base na frequência de flavonóides (HARBORNE, 1962; WHALE, 1978; HARBORNE & SWAIN, 1979; REZNIK & WIETSCHER, 1979; WHALEN & MABRY, 1979; SCHILLING, 1984; ANDERSON *et al.*, 1987; STEINHARTER, 1986), destacamos o trabalho de nosso grupo (SILVA *et al.*, 2003).

O gênero *Solanum*, destaca-se pela excepcional capacidade de suas espécies produzirem 3-*O*-glicosil-flavonóis e uma quantidade significativa de canferol, quercetina e miricetina (Figura II.5, pág. 92) e seus éteres metílicos como agliconas, muitos dos quais apresentam hidroxilação/glicosilação no carbono 8 (STEINHARTER *et al.*, 1986). A ocorrência de um padrão particular de substituição é frequentemente usada como um indicador de avanço filogenético (HARBONE, 1977; SWAIN, 1980). Steinharter (1986) propôs um “esquema evolutivo” hipotético, para alguns grupos infragenéricos de *Solanum*, apoiado na complexidade biossintética dos flavonóis.

No esquema evolutivo proposto, a presença do flavonol com substituição 3-*O*- e 3,7-*O*-glicosídeo (Figura II.5, pág. 92), foi usado para definir os grupos basais, que são considerados menos evoluídos, encontrados nas espécies de *Solanum* dos subgêneros *Solanum* e *Potatoe*, que se caracterizam morfológicamente pelos tricomas simples, ausência de acúleos e anteras elípticas. Por outro lado, a presença da metoxila em 3,4', e 7 e

hidroxila/metoxila em C-8 (Figura II.5, pág. 92) foi empregada para definir os estados de caracteres avançados, encontrados em espécies de *Solanum* das seções *Anisantherum*, *Androceras* e *Erythrotrichum*, pertencentes ao subgênero *Leptostemonum* (SILVA *et al.*, 2003).

Os flavonóis livres ocorrem em um número menor de espécies. Derivados da gossipetina (3,5,7,8,3',4'-hexaidroxiflavona) e a herbacetina (3,5,7,8,4'-pentaidroxiflavona) (Figura II.5, pág. 92) 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'-triidroxí-3'-metoxiflavona) (Figura II.5, pág. 92) encontram-se descritos na literatura (SILVA *et al.*, 2003). Segundo SCHILING (1984), o acúmulo de flavonóides não glicosilados está relacionado com a existência de estruturas secretoras, como também com a formação de outros tipos de produtos naturais lipofílicos.

A literatura evidencia uma correlação entre o grau de complexidade dos flavonóides e o tipo de tricoma existente na planta. As espécies com tricomas simples só apresentam flavonóides com estruturas mais simples, como por exemplo *S. sarrachoides* e *S. angustifolium*. Nas espécies de tricomas estrelados e estrelados-glandulares (*S. paludosum*, *S. crinitum* e *S. jabrense*), característico do subgênero *Leptostemonum*, considerados mais complexos, também foram encontrados flavonóides com estruturas mais complexas (SILVA *et al.*, 2003)

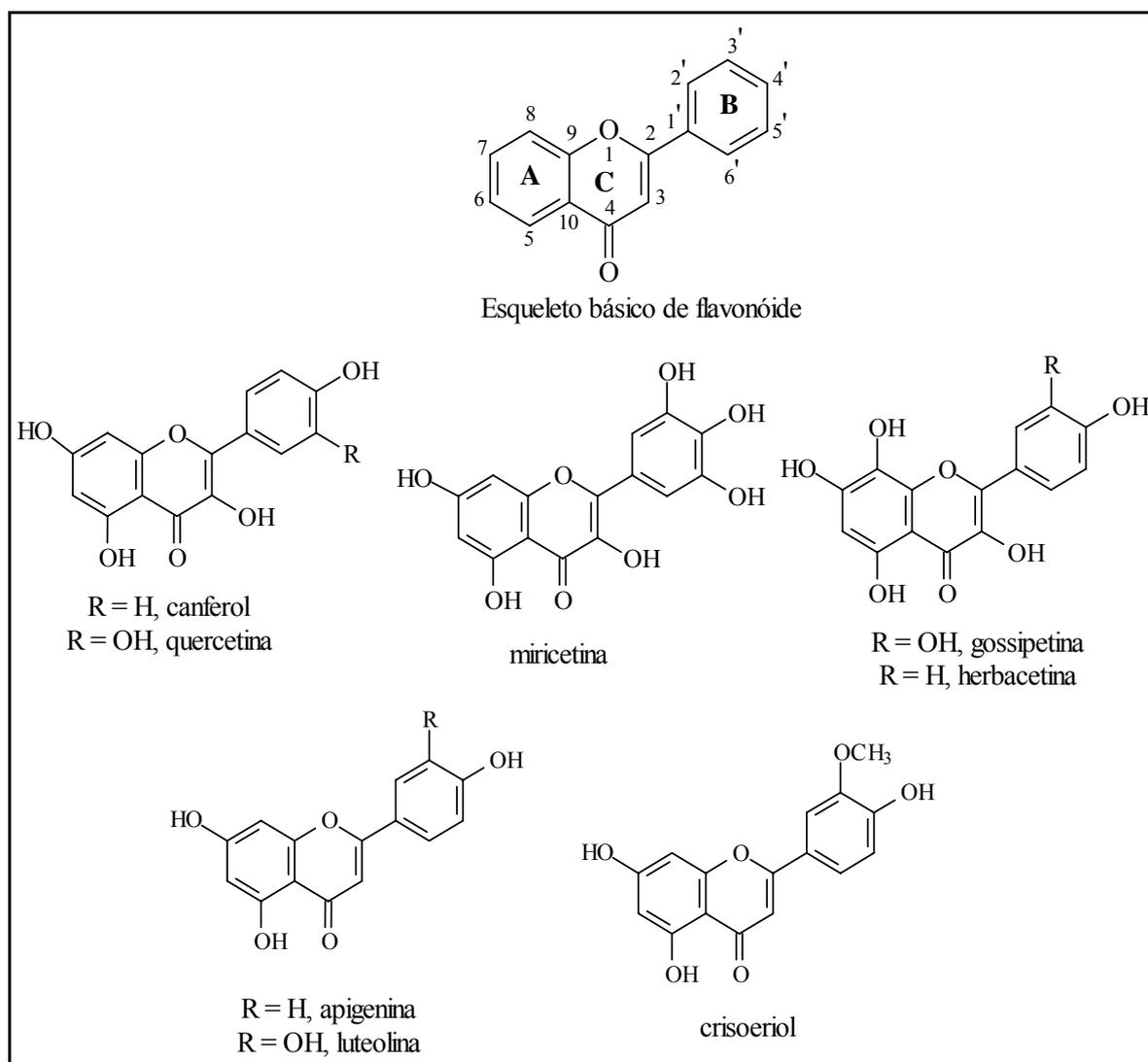


Figura II.5. Estruturas de flavonóides isolados do gênero *Solanum*

II.1.3 A Espécie *Solanum crinitum* Lam.

A espécie *Solanum crinitum* Lam. (Figura II.6, pág. 93) conhecida vulgarmente como jurubeba, se apresenta na forma de arbusto a arvoreta de 2,0-4,0 m de altura com ramos lenhosos, tomentosos. As folhas são solitárias, fortemente armadas; com pecíolo cilíndrico, indumentoso lanoso a cerdoso. Tricomas estrelado-estipitados, estipes pluricelulares, multisseriadas; alguns com os raios decíduos; os acúleos são aciculares, cada um com 1,0 cm de comprimento na venação principal. As inflorescências em cimeiras paucifloras, 5-10 flores; cálice campanulado, cerdoso, aculeado; corola rotáceo-estrelada, plicada, 6,0-10,0 cm de diâmetro, cerúlea lilás a magenta; anteras amarelas, atenuadas para o ápice. Ovário súpero; estilete com 2,0 cm de comprimento, estigma glanduloso. Fruto globoso, tomentoso-velutino, 4,0-5,0 cm de diâmetro; sementes subreniformes, com 5,0 mm de comprimento, testa bege a marron (AGRA, 2000). Sua área de dispersão estende-se desde o Amazonas até a Região Sul do país, sendo encontrada com facilidade em alguns quintais onde é cultivada com fins medicinais, comum como planta invasora de pastagens, em áreas agrícolas abandonadas e clareiras em áreas de floresta na Amazônia brasileira (DIAS-FILHO, 1997).

Segundo Evans (2002), a posição sistemática desta espécie é:

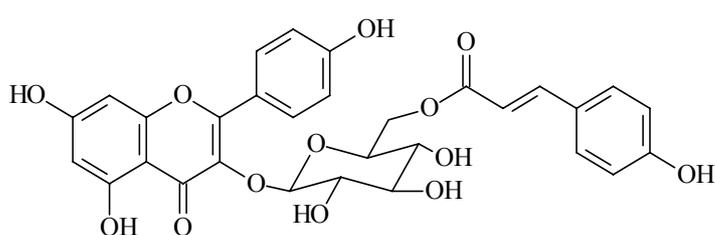
| | |
|------------|------------------------------|
| Reino: | Plantae |
| Divisão: | Angiospermas |
| Classe: | Dicotiledôneas |
| Subclasse: | Simpetalae |
| Ordem: | Tubiflorae |
| Família: | Solanaceae |
| Gênero: | <i>Solanum</i> |
| Espécie: | <i>Solanum crinitum</i> Lam. |



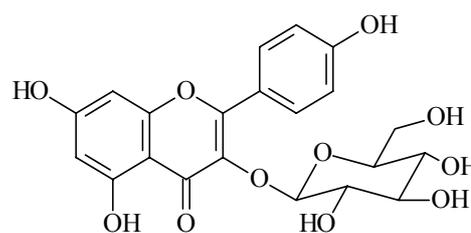
Figura II.6. *Solanum crinitum* Lam.

Estudos realizados anteriormente descrevem o isolamento do flavonóide tilirosídeo (3-*O*-glicopiranosil-6''-*O*-cumaroil-canferol) de tricomas presentes nas partes aéreas (caule jovem e folhas novas) e nos frutos verdes de *Solanum crinitum* Lam., sendo esta substância isolada pela primeira vez no gênero *Solanum* (ALVES, 2003b; SILVA, 2002). Foi isolado também o flavonóide astragalina dos tricomas presente nas partes aéreas (caule jovem e folhas novas) (SILVA, 2002).

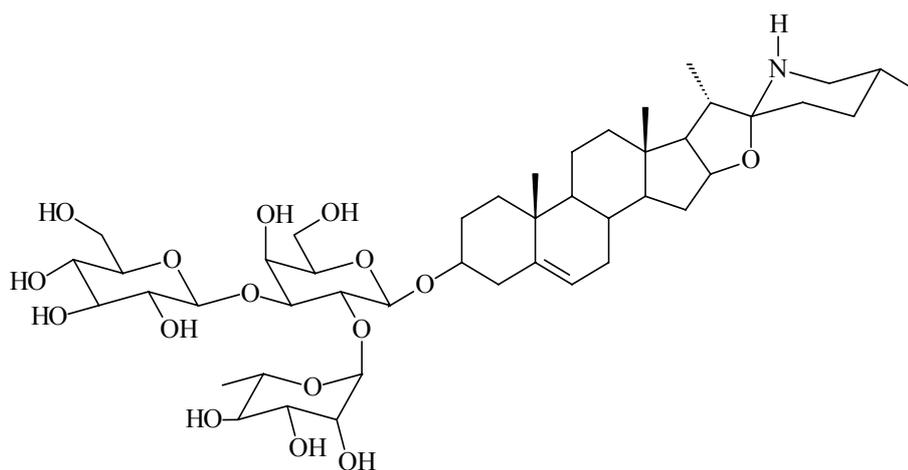
Além dos dois flavonóides citados acima, foi isolado o alcalóide glicosilado, solasonina, dos frutos verdes (ALVES, 2003b), o qual apresentou efeito antiproliferativo sobre as células do carcinoma de Ehrlich e da leucemia humana K562 (SOUZA *et al.*, 2002) e atividade alelopática frente ao crescimento de outras plantas (ALVES, 2003a).



tilirosídeo



astragalina



solasonina

II.2 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

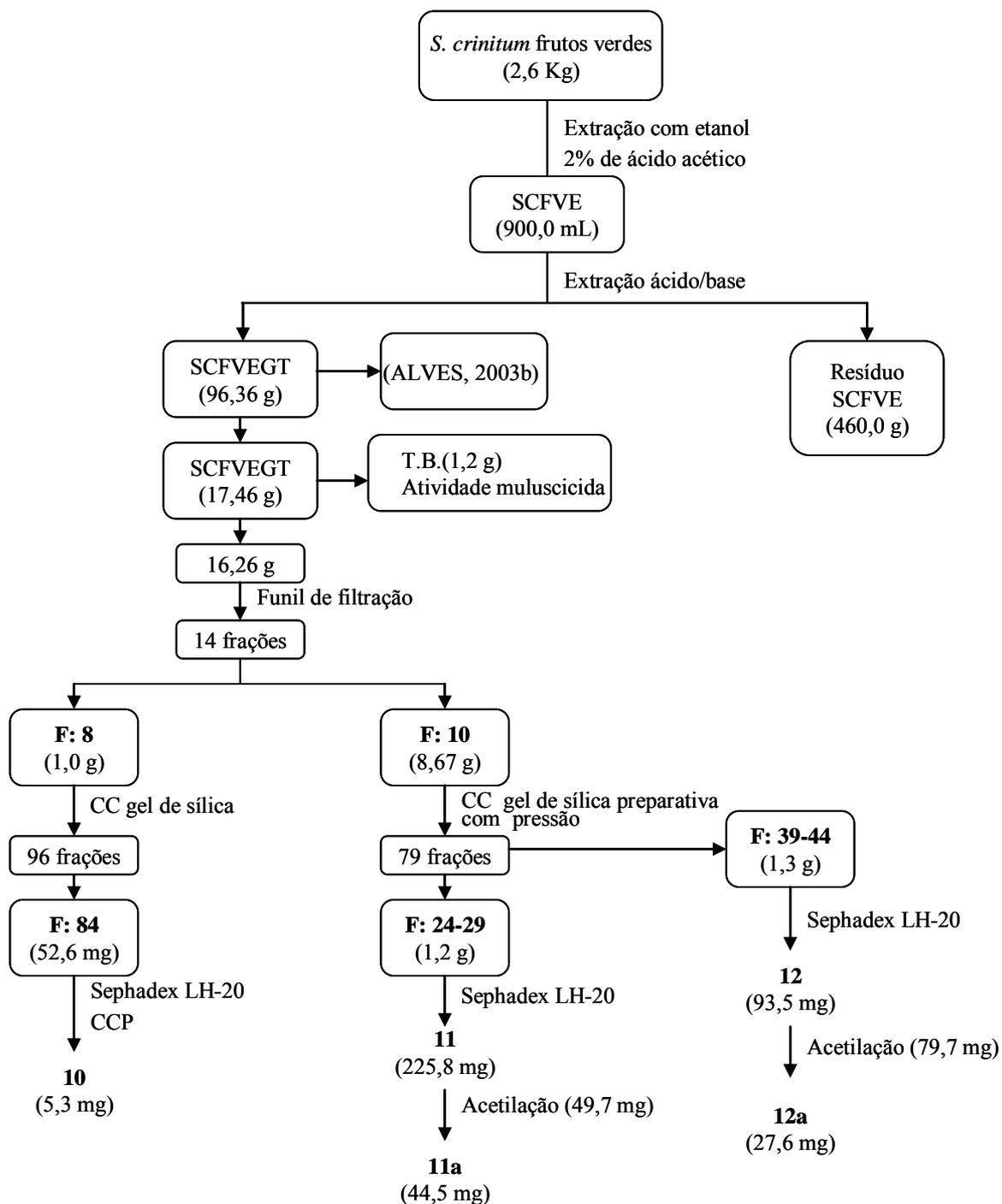
O material vegetal em estudo da espécie *Solanum crinitum* Lam., constituiu-se de frutos verdes e de tricomas presentes nos frutos verdes.

Os frutos verdes foram coletados em setembro de 2001, no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ), BR 465, Km 7, cidade de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. A coleta foi realizada pelo agrônomo M.Sc. José Milton Alves e a Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves. A identificação foi realizada pela professora Dra. Maria de Fátima Agra, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, e a amostra do material vegetal (Sarmento s.n., JP-28000), encontra-se depositado no Herbário Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba.

II.2.1 Frutos Verdes

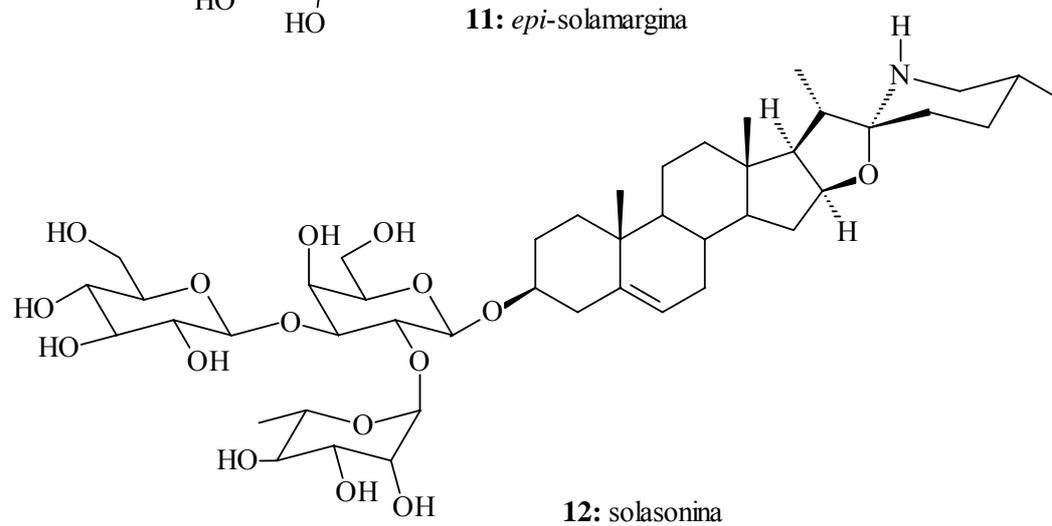
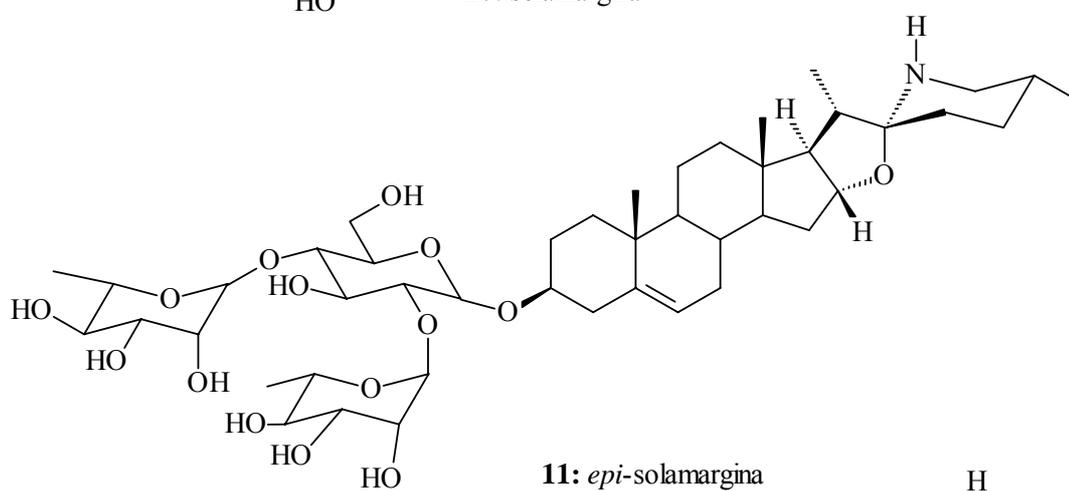
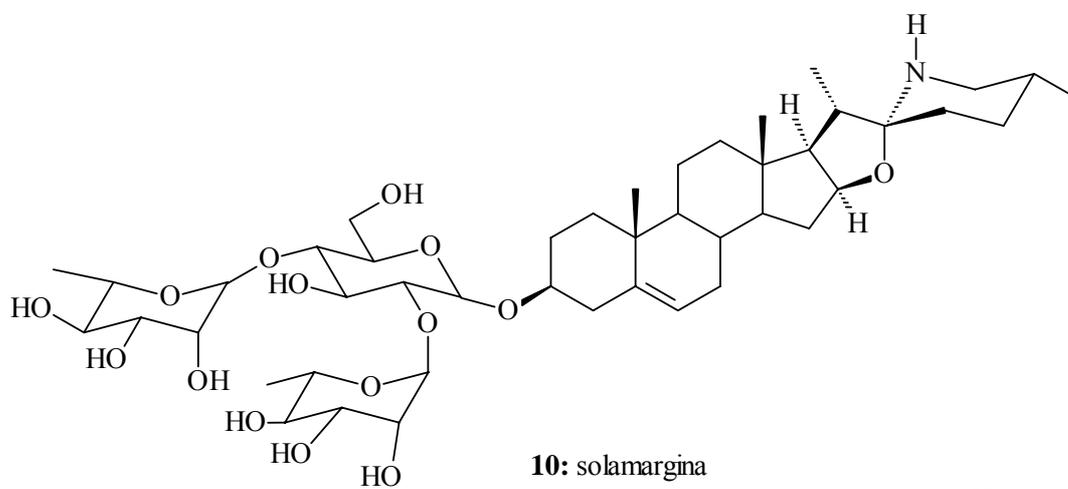
Os frutos verdes (2,6 Kg) de *Solanum crinitum* Lam. foram triturados e tratados com etanol contendo 2% de ácido acético. A solução (900,0 mL) foi submetida a uma extração ácido-base, sendo adicionada a mesma quantidade de uma solução aquosa de AcOH 10% e pernoitado sob resfriamento. Esta solução ácida foi filtrada a vácuo com uma camada de celite sobre o papel de filtro. Ao filtrado foi adicionado NH₄OH (pH 9-10) e pernoitado sob resfriamento, ocorrendo formação de um precipitado. Filtrou-se a solução descartando o filtrado e recolhendo o precipitado (96,36 g) contendo uma fração rica em glicoalcalóides totais (**SCFVGT** – *Solanum Crinitum* Frutos Verdes Glicoalcalóides Totais), ver Esquema II.1 na pág. 96.

Parte deste extrato (78,0 g) foi investigado anteriormente (ALVES, 2003b), de onde foi isolado a solasonina **12**. Da outra parte 17,46 g, foram separados 1,2 g para realização de testes biológicos (T.B.) e os restantes 16,26 g, foram incorporados em gel de sílica formando uma pastilha, a qual foi cromatografada em funil de filtração de gel de sílica, utilizando solventes em ordem crescente de polaridade (hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol). Foram obtidas 14 frações de 500,0 mL cada. A fração 8 (1,0 g), extraída com acetato de etila (**F:8**) foi cromatografada em CC de gel de sílica onde foram obtidas 96 frações. O resíduo da fração 84 desta coluna cromatográfica (**F:84**), tendo 52,6 mg, foi filtrada em Sephadex LH-20 e purificada em placa preparativa onde obteve-se 5,3 mg da substância **10** (estrutura pág. 97) com P.F. 268–270°C. A fração 10 (8,67 g) extraída com metanol (**F:10**) apresentava em placa de CCF várias substâncias com R_f próximos, que reveladas apresentavam coloração laranja para Dragendorff e rosa para Liebermann Burchard, sendo possivelmente os alcalóides esteroidais. A fim de separar estes alcalóides esteroidais esta fração foi incorporada em pastilha de gel de sílica e submetida a coluna cromatográfica sob pressão contendo sílica preparativa, tendo como eluente inicial CH₂Cl₂/MeOH (3:1), foram obtidas 79 frações reunidas em grupos de frações com base nas análises de CCF utilizando como reveladores os reagentes Liebermann Burchard e Dragendorff. A fração 24-29 (**F:24-29**; 1,2 g), filtrada em Sephadex LH-20 forneceu 225,8 mg da substância **11** (estrutura pág. 97), tendo P.F. 238–250°C. Através de uma reação de acetilação da substância **11** (49,7 mg) obteve-se 44,5 mg do produto **11a** (estrutura pág. 98) com P.F. 128-130°C. A fração 39-44 (**F:39-44**; 1,3 g) foi filtrada em Sephadex LH-20 onde obteve-se 93,5 mg da substância **12** (estrutura pág. 97), tendo P.F. 244-246°C. Através de uma reação de acetilação da substância **12** (79,7 mg) obteve-se 27,6 mg do produto **12a** (estrutura pág. 98), com P.F. 148-150 °C (Esquema II.1, pág. 96).

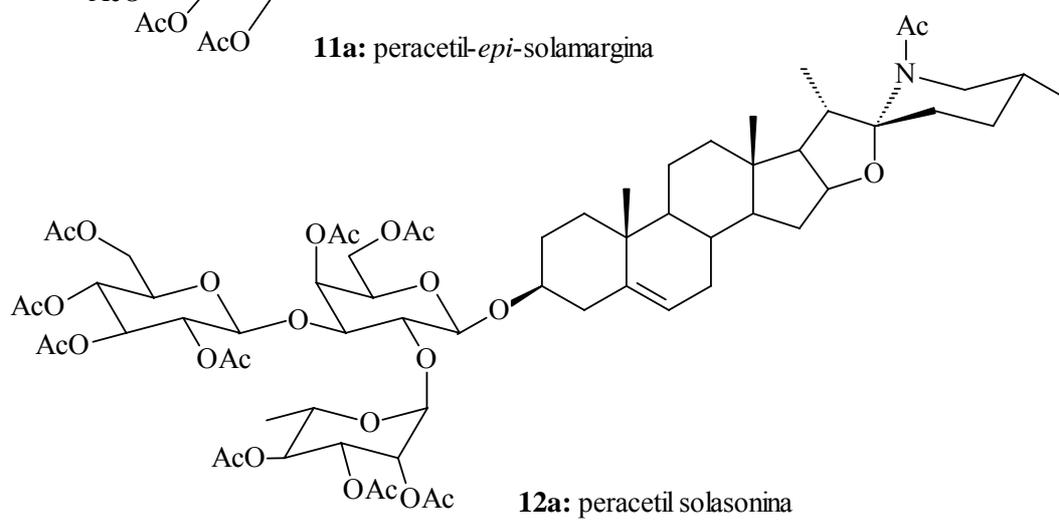
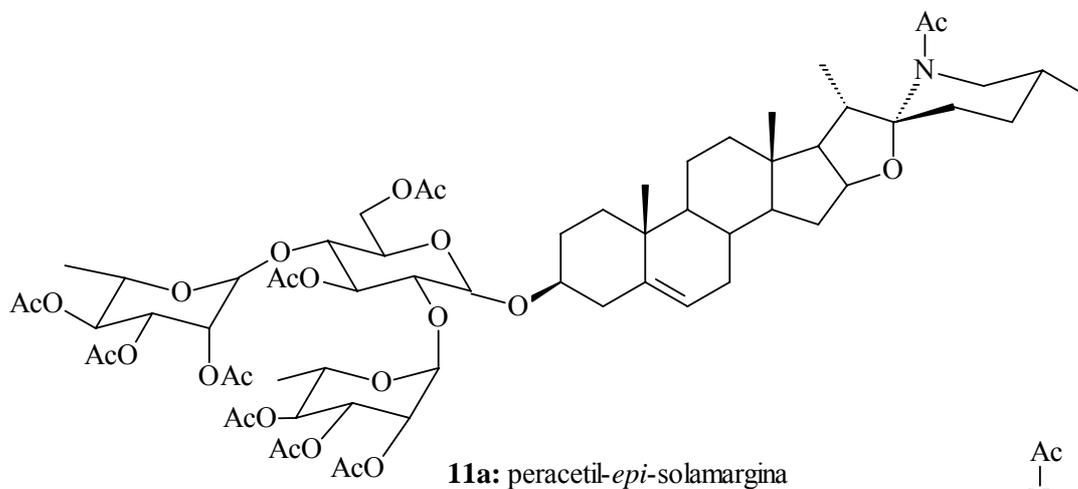


Esquema II.1. Marcha química para o isolamento das substâncias presentes nos frutos verdes de *Solanum crinitum* Lam.

II.2.1.1 Substâncias isoladas dos frutos verdes de *S. crinitum* Lam.



II.2.1.2 Derivados obtidos dos frutos verdes de *S. crinitum* Lam.

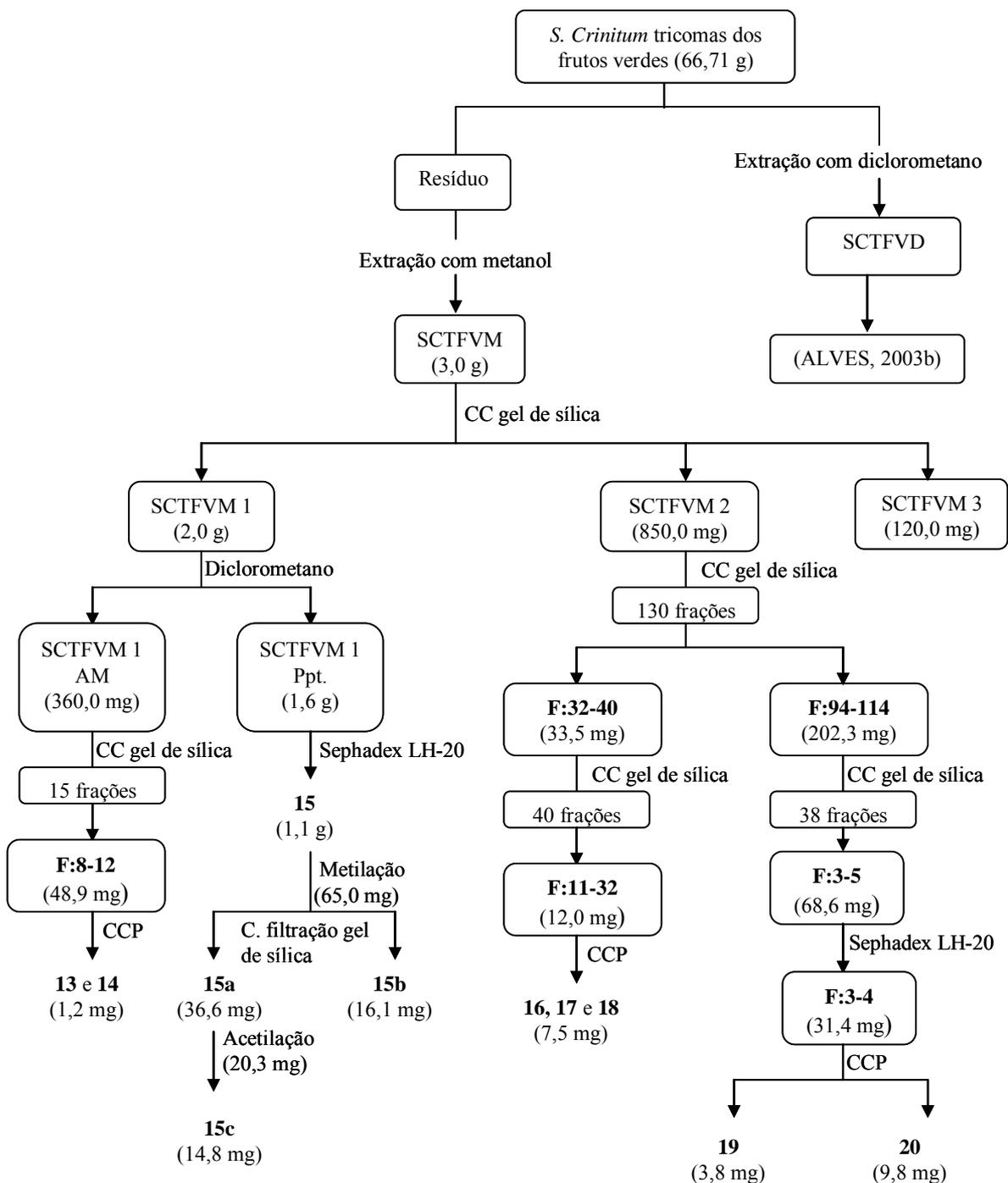


II.2.2 Tricomas dos Frutos Verdes

Os tricomas dos frutos verdes (66,71 g) de *S. crinitum* Lam. foram raspados com uma lâmina de vidro e submetidos a extração com diclorometano e metanol, obtendo-se o extrato diclorometano (**SCTFVD**) e metanólico (**SCTFVM**). O extrato de diclorometano foi trabalhado anteriormente (ALVES, 2003b) onde foi isolado o tilirosídeo (3-*O*-glicopiranosil-6''-*O*-cumaroil-canferol). O extrato metanólico (3,0 g) foi cromatografado em CC de gel de sílica, usando metanol como eluente, obtendo-se três frações **SCTFVM 1**; **SCTFVM 2** e **SCTFVM 3** (120,0 mg). Veja o Esquema II.2, pág. 100.

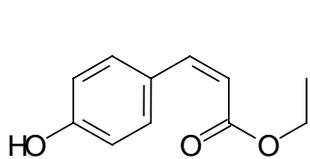
A fração **SCTFVM 1** (2,0 g) foi dissolvida com metanol e acrescentado diclorometano ocorrendo a formação de um precipitado que foi removido através de filtração em funil de Buchner, obtendo-se uma solução denominada água-mãe (**SCTFVM 1 AM**) e um precipitado (**SCTFVM 1 Ppt**). A solução **SCTFVM 1 AM** (360,0 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica contendo gel de sílica onde foram obtidas 15 frações de 250,0 mL. As frações 8 a 12 (**F:8-12**: 48,9 mg) apresentavam coloração esverdeada e foram reunidas com base em análises em CCF e submetidas a CCP onde foram obtidos 1,2 mg da mistura dos isômeros **13** e **14** (estruturas pág. 101). O precipitado **SCTFVM 1 Ppt** (1,6 g) foi cromatografado em Sephadex LH-20, usando metanol como eluente onde foram obtidos 1,1 g da substância **15** com P.F. 282-284 °C. A substância **15** (65,0 mg) foi metilada com diazometano, ocorrendo a formação dos produtos **15a** (36,6 mg) com P.F. 128-130 °C e **15b** (16,1 mg) com P.F. 140-142 °C. O produto **15c** (14,8 mg) com P.F. 166-168 °C foi obtido através da reação de acetilação de 20,3 mg da substância **15a** (Esquema II.2, pág. 100, estruturas pág. 101).

A fração **SCTFVM 2** (850,0 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica contendo gel de sílica onde foram obtidas 130 frações de 50,0 mL reunidas em grupos de frações com base em análises por CCF. A fração 32-40 (**F:32-40**: 33,5 mg) foi submetida a coluna cromatográfica em gel de sílica onde foram obtidas 40 frações de 50,0 mL sendo reunidas em grupos de frações com base em análises em CCF. Desta CC a fração 11-32 (**F:11-32**: 12,0 mg) foi submetida a uma CCP onde foi obtido 7,5 mg da mistura das substâncias **16**, **17** e **18** (estruturas pág. 101). A fração 94-114 (**F:94-114**: 202,3 mg) submetida a coluna cromatográfica em gel de sílica forneceu 38 frações de 125,0 mL reunidas em grupos de frações com base em análises em CCF. A fração 3-5 desta CC (**F:3-5**: 68,6 mg), foi cromatografada em Sephadex LH-20 tendo como eluente metanol. Foram obtidas 15 frações de 3,0 mL reunidas em grupos de frações com base em análises em CCF, sendo que a fração 3-4 (**F:3-4**: 31,4 mg), após cromatografada em CCP forneceu 3,8 mg da substância **19** (estruturas pág. 101) e 9,8 mg da substância **20** (estrutura pág. 101). Veja marcha química de isolamento no Esquema II.2 na pág. 100.

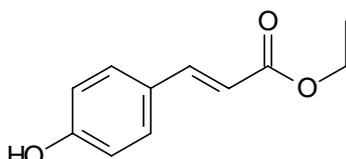


Esquema II.2 Marcha química para o isolamento das substâncias presentes nos tricomas dos frutos verdes de *Solanum crinitum* Lam.

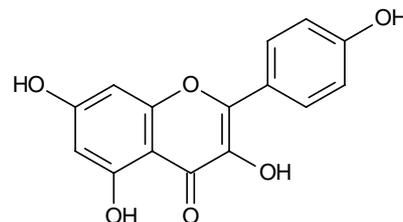
II.2.2.1 Substâncias isoladas nos tricomas dos frutos verdes de *S. crinitum* Lam.



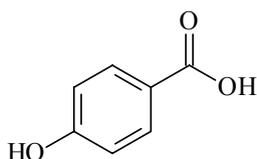
13: *cis*-cumarato de etila



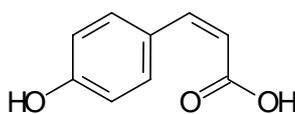
14: *trans*-cumarato de etila



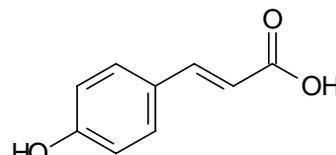
15: canferol



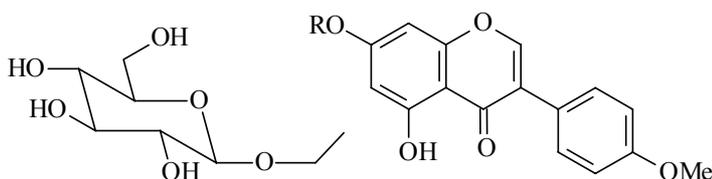
16: ácido benzóico



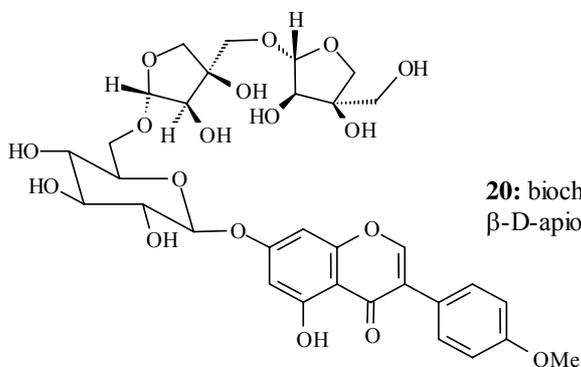
17: *cis-p*-ácido cumárico



18: *trans-p*-ácido cumárico

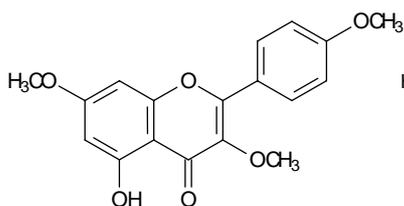


19: biochanina A em mistura com unidades de carboidrato

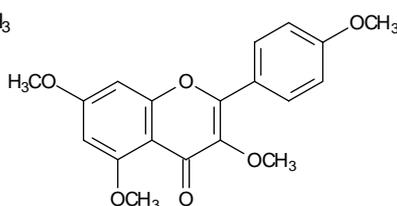


20: biochanina A 7-O- β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 5)- β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosídeo

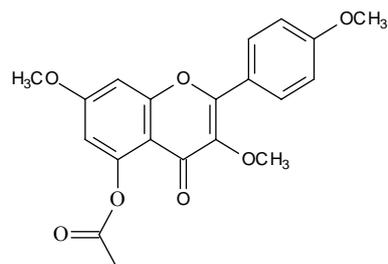
II.2.2.2 Derivados obtidos nos tricomas dos frutos verdes de *S. crinitum* Lam.



15a: 3,7,4'-trimetil-canferol



15b: 3,5,7,4'-tetrametil-canferol



15c: 3,7,4'-trimetoxi-5-acetoxi-flavonol

II.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

II.3.1 Determinação estrutural das substâncias **10** e **11**

Os espectros no IV da substância **10** (Figura II.8, pág. 109) e da substância **11** (Figura II.9, pág. 109) são semelhantes, ambos mostram bandas de absorções intensas em 3.417 cm^{-1} características de álcoois ($\nu_{\text{O-H}}$); $\nu_{\text{C-H}}$ em 2.936 cm^{-1} para **10** e 2.927 cm^{-1} para **11** e bandas de deformações de $\delta_{\text{C-H}}$ em 1.453 cm^{-1} e 1.384 cm^{-1} de CH_3 e de grupo C-O em 1.044 cm^{-1} .

Os espectros de RMN de ^1H das duas substâncias **10** (Figuras II.10, II.11 e II.12, págs. 110 e 111) e **11** (Figuras II.13, II.14 e II.15, págs. 111 e 112) são semelhantes e após análise e correlação com informações da literatura, verificou-se serem típicos de alcalóides esteroidais do tipo espirosolano. Esta dedução foi baseada nas seguintes observações: a) Dois dubletos para duas metilas secundárias (**10**: $\delta_{3\text{H}}$ 0,83 e $\delta_{3\text{H}}$ 1,09; **11**: $\delta_{3\text{H}}$ 0,79 e $\delta_{3\text{H}}$ 1,28); b) Dois singletos para duas metilas terciárias (**10**: $\delta_{3\text{H}}$ 0,88 e $\delta_{3\text{H}}$ 1,07; **11**: $\delta_{3\text{H}}$ 0,85 e $\delta_{3\text{H}}$ 1,06); c) Sinais de dupla ligação (**10**: δ_{H} 5,32; **11**: δ_{H} 5,33), d) Dois dubletos com $J=6,0\text{ Hz}$ (**10** e **11**: $\delta_{3\text{H}}$ 1,64 e $\delta_{3\text{H}}$ 1,78) que foram atribuídos à metila das ramnoses. A opção pelo esqueleto do alcalóide com dois anéis piperidínico e tetrahydrofurano ligados em espiro foi baseada nas observações adicionais: a) A presença de um multipletto com deslocamento químico em campo mais baixo (**10**: δ_{H} 4,42; **11**: δ_{H} 4,82) que é atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono oxigenado do anel tetrahydrofurânico, b) Os hidrogênios metilênicos próximos ao nitrogênio (2H-26) possuem deslocamentos químicos distintos, aparecendo em δ_{H} 2,78 (2H) para **10** e δ_{H} 3,04 (Ha) e 2,89 (Hb) para **11**. Os espectros de RMN de ^{13}C (**10**: Figuras II.25, II.26, II.27 e II.28; , págs. 121 e 122; **11**: Figuras II.32, II.33, II.34 e II.35, págs. 124 a 126) e DEPT (**10**-Figuras II.29, II.30 e II.31, págs. 123 e 124; **11**-Figuras II.36, II.37, II.38 e II.39, págs. 126 a 128) permitiram observar as multiplicidades e valores dos deslocamentos químicos dos carbonos; d) Foi observado a presença do C-22, um carbono quaternário com deslocamento em δ_{C} 98,72 para **10** e 98,54 para **11**, que é característico dos alcalóides tipo espirosolanos (RADEGLIA *et al.*, 1977). Veja os valores de deslocamento para **10** na Tabela II.1, pág. 106 e para **11** na Tabela II.2, pág. 107.

As análises dos espectros de HMQC (**10**: Figuras II.40, II.41, II.42 e II.43, , págs. 129 a 132; **11**: Figuras II.44 e II.45, págs. 133 e 134) e HMBC (**10**: Figuras II.46, II.47, II.48, II.49, II.50 e II.51, págs. 135 a 139; **11**: Figuras II.52, II.53 e II.54, págs. 140 a 142) permitiram verificar os deslocamentos químicos dos hidrogênios ligados aos respectivos carbonos, mesmo nos casos dos hidrogênios cujo sinal de absorção está dentro de um multipletto contendo absorções de outros hidrogênios. O sinal do H-1' (**10**- δ_{H} 4,95; **11**- δ_{H} 4,96) é observado através do sinal $^1J_{\text{CH}}$ com CH-1' (**10**- δ_{CH} 100,64; **11**- δ_{CH} 100,33). A comparação dos valores de deslocamentos químicos da ramnose e da glicose permitiram determinara os valores das frequências dos carbonos com δ_{H} dos respectivos hidrogênios ligados a cada carbono. Associados a essa análise, os espectros $^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$ permitiram descobrir a frequência do H-2' que acopla com H-1' e confirmar o deslocamento químico do CH-2' (δ_{CH} 78,15) para **10** e δ_{CH} 77,85 para **11**. Dessa forma pode-se justificar cada sinal nos mapas de acoplamento entre hidrogênios, confirmando com precisão os respectivos valores dos carbonos dos açúcares do esteróide. Os mapas de contorno contendo sinais de acoplamento a longa distância HMBC permitiram deduzir a forma de ligação entre as unidades de açúcar e confirmar o deslocamentos químicos dos carbonos quaternários. A substância **10** apresentou sinais de interação de acoplamento a longa distância $^{2,3}J_{\text{CH}}$ dos carbonos anoméricos CH-1' (δ 100,64) com os H-2' (δ_{H} 4,24) e H-3 (δ_{H} 3,89) (Figura II.50M, pág. 138), confirmou que a

glicose está ligada ao CH-3. Os sinais de interação $^3J_{CH}$ (Figura II.50M, pág. 138) de CH-1'' com H-4' (que acopla com H-5' e H-3', Figuras II.16, pág. 113 e II.18D, pág. 114) e H-5'' (que acopla com 3H-6'', Figura. II.17B, pág. 113) e do H-2' (δ_H 4,24) com CH-1''' (δ_{CH} 102,37). A Figura II.51 (pág. 139) mostra $^3J_{CH}$ do H-1''' (δ_H 6,41) com CH-2' (δ_{CH} 78,15), CH-3''' (δ_{CH} 73,15) e CH-5''' (δ_{CH} 69,88), confirmando a ligação rham-O-2' e rham-O-4'. Os sinais de NOE observados no espectro 2D (NOESY, **10**: Figuras II.21 e II.22, págs. 117 e 118) serviram, também para confirmar essa dedução. Essas análises permitiram a atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios aos seus respectivos carbonos conforme representados na Tabela II.1 (pág. 106) para **10**.

A substância **11** apresentou sinais de interação de acoplamento a longa distância $^{2,3}J_{CH}$ (Figuras II.52, pág. 140 e II.54F, pág. 142) dos carbonos anoméricos CH-1' (δ 100,33) com os H-2' (δ_H 4,22), H-3' (δ_H 4,35) e H-3 (δ_H 3,89), confirmando que a glicose está ligada ao CH-3. Os sinais de interação $^{2,3}J_{CH}$ (Figura II.54F, pág. 142) de CH-1'' com H-4' (que acopla com H-5' e H-3', Figuras II.19, II.20B e II.20C, págs. 115 e 116), H-2'' (que acopla com H-3'', Figura. II.20C, pág. 116) e H-5'' (que acopla com 3H-6'', Figura. II.19, pág. 115) e do H-2' (δ_H 4,22) com CH-1''' (δ_{CH} 102,06), mais os sinais de interação de $^3J_{CH}$ do H-1''' (δ_H 6,41); com CH-2' (δ_{CH} 77,85), CH-3''' (δ_{CH} 72,87) e CH-5''' (δ_{CH} 69,54) (Figura II.54G, pág. 142) serviram para confirmando a ligação rham-O-2' e rham-O-4'. Os sinais de NOE observados no espectro 2D (NOESY, **11**: Figuras II.23 e II.24, págs. 119 a 120) serviram, também para confirmar essa dedução. Essas análises permitiram a atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios aos seus respectivos carbonos conforme representados na Tabela II.2 (pág. 107) para **11**.

As interpretações dos espectros 1H - 1H -COSY (**10**: Figuras II.16, II.17 e II.18, págs. 113 e 114; **11**: Figuras II.19 e II.20, págs. 115 e 116) e NOESY (**10**: Figuras II.21 e II.22, págs. 117 e 118; **11**: Figuras II.23 e II.24, págs. 119 e 120) e comparação com dados da literatura foram usadas para a atribuição dos δ_H das duas substâncias. A Tabela II.1 (pág. 106) apresenta os valores de δ_H **10** e a Tabela II.2 (pág. 107) os valores de δ_H **11**.

Outra informação relevante que confirmou essas unidades de açúcar presente na molécula são os valores dos picos observados nos espectros de massas de **10** (Figura II.55, pág. 143) e **11** (Figura II.56, pág. 145) que correspondem as respectivas perdas de ramnose e glicose. Esses espectros de alta resolução, ionização *elétron spray* (IES), foram obtidos utilizando detecção de íons positivos (Solução MeOH/ácido fórmico 0,1%, cone 40 eV), onde apresentaram sinais semelhantes. O pico m/z 868 (100%) corresponde ao $M^+ + H$. O pico m/z 722 é $M + H$ com saída de uma ramnose ($M - 146$) com rearranjo de um hidrogênio e 2H ligados no nitrogênio da aglicona. O pico m/z 576 é a aglicona com 2H no nitrogênio mais glicose. O pico m/z 413 corresponde ao esteróide com hidroxila em CH-3 e 1H no nitrogênio. O pico m/z 550 corresponde a um aducto das unidades de açúcares mais duas unidades de ácido fórmico mais 2H. Pico m/z 522 foi observado apenas na substância **10**, sendo proposto como um aducto entre o esteróide com carbonila em CH-3 mais uma unidade de ácido fórmico e duas unidades de metanol. Pico m/z 446 corresponde a um aducto do esteróide tendo OH-3 mais uma unidade de metanol, a saída de um hidrogênio ligado ao nitrogênio justifica a proposta para o pico m/z 445. Para m/z 288 foi proposto um rearranjo do H-8 e H-11 tendo a saída do primeiro anel do esteróide. Dados da literatura confirmam os mesmos valores para o espectro de massas (RIPPERGER, 1995; WEISSENBEG, 2001). Os Esquemas II.4 (pág. 144) e II.5 (pág. 146), respectivamente, apresentam o mecanismo de fragmentação proposto para justificar os picos resultantes da ionização em íons positivos detectados no espectro de massas de alta resolução das substâncias **10** e **11**.

As substâncias **10** e **11** apresentaram Rf. diferentes em placa de CCF de sílica gel. Por isso, fez-se análise mais detalhada dos espectros de RMN de 1H e ^{13}C (Tabelas II.1, II.2 e II.3, págs. 106 a 108) para justificar essa diferença. Apresentaram propriedades espectroscópicas

semelhantes para os carbonos e hidrogênios dos açúcares e para os anéis A, B e C da aglicona. Observaram-se diferenças nos valores dos deslocamentos químicos de carbono e hidrogênio no CH-16 (**10**: δ_{CH} 79,16; **11**: δ_{CH} 81,13) e H-16 (**10**: δ_H 4,42; **11**: δ_H 4,82), outra diferença significativa observada foi no deslocamento de H-21 (**10**: δ_H 1,09; **11**: δ_H 1,28). Inicialmente foi proposto como **10** sendo β -solamarina (22*S*, 25*S*) e **11** o seu isômero solamargina (22*R*, 25*R*). Porém comparado com valores da literatura (Tabela II.3, pág. 108) observou que **10** não poderia ser a β -solamarina, pois apresentava deslocamento para CH₂-23 (δ_{CH_2} 35,04) maior que a literatura (δ_{CH_2} 27,0) e deslocamento para CH₂-26 (δ_{CH_2} 48,24) menor que a literatura (δ_{CH_2} 50,6) e os valores de carbono e hidrogênio de CH-16 (δ_{CH} 79,16; δ_H 4,42), CH₃-21 (δ_{CH_3} 16,05; δ_{3H} 1,09) e CH₂-26 (δ_{CH_2} 48,24; δ_{2H} 2,78) são semelhantes aos valores da literatura da solamargina. Com essas informações propomos que **10** seja a solamargina e que **11** seja um novo epímero da solamargina tendo H-16 na posição β , isso pode justificar o deslocamento de CH-16 (δ_{CH} 81,13; δ_H 4,82) que fica em *trans* com H-17 (δ_{CH} 63,03; δ_H 2,02) e não sente o efeito de proteção 3H-21 (δ_H 1,28).

A Tabela II.3 (pág. 108) faz uma comparação de **10** e **11** com valores da literatura da β -solamarina e solamargina. A Figura II.7 (pág. 107) abaixo mostra em projeção de Newman as estruturas com os valores dos deslocamentos químicos, onde permite perceber a diferença entre **10** e **11**. As atribuições constantes das Tabelas II.1 e II.2 (pág. 106 e 107) foram feitas com análise dos espectros 2D de interação de acoplamento $^1J_{CH}$ e $^{2,3}J_{CH}$ e NOE garantindo as atribuições dos valores de deslocamentos químicos. Além da discussão acima, análise da Tabela II.3 (pág. 108), a comparação com dados da literatura (LOREY *et al.*, 1996; WANYONYI *et al.*, 2002; WEISSENBEG, 2001) permitiram determinar a substância **10** como solamargina e a substância **11** os seu epímero da solamargina.

O Esquema II.3 (pág. 105), adaptado de DEWICK (2002) apresenta uma proposta de biossíntese desses alcalóides da classe espirosolano, eles derivam do colesterol que sofrem modificações durante a formação do anel. A aminação acontece através da substituição de 26-hidroxicolesterol por um nitrogênio sendo a L-arginina a fonte. A oxigenação no carbono 22 permite que o 26-amino-22-hidroxicolesterol ciclize ocorrendo a formação do anel de piperidina. Após hidroxilação do carbono 16, a amina secundária se oxida em imina e sofre adição nucleofílica da hidroxila em 16 formado o anel de tetrahydrofurano que pode ter a configuração 22*R* ou 22*S*. A hidroxilação no carbono 16 geralmente ocorre em β (**10**), mas para justificar os valores de deslocamento químico de **11** propomos que ele ocorra em α também.

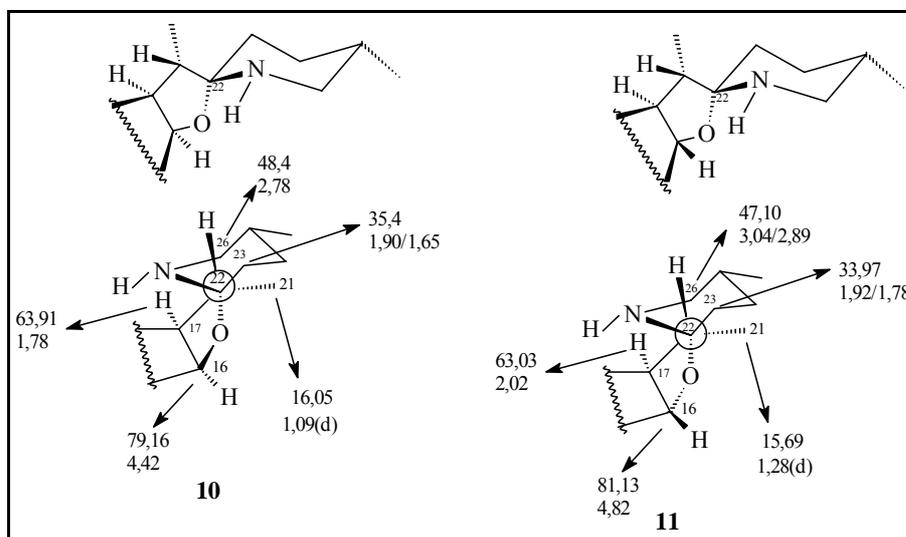
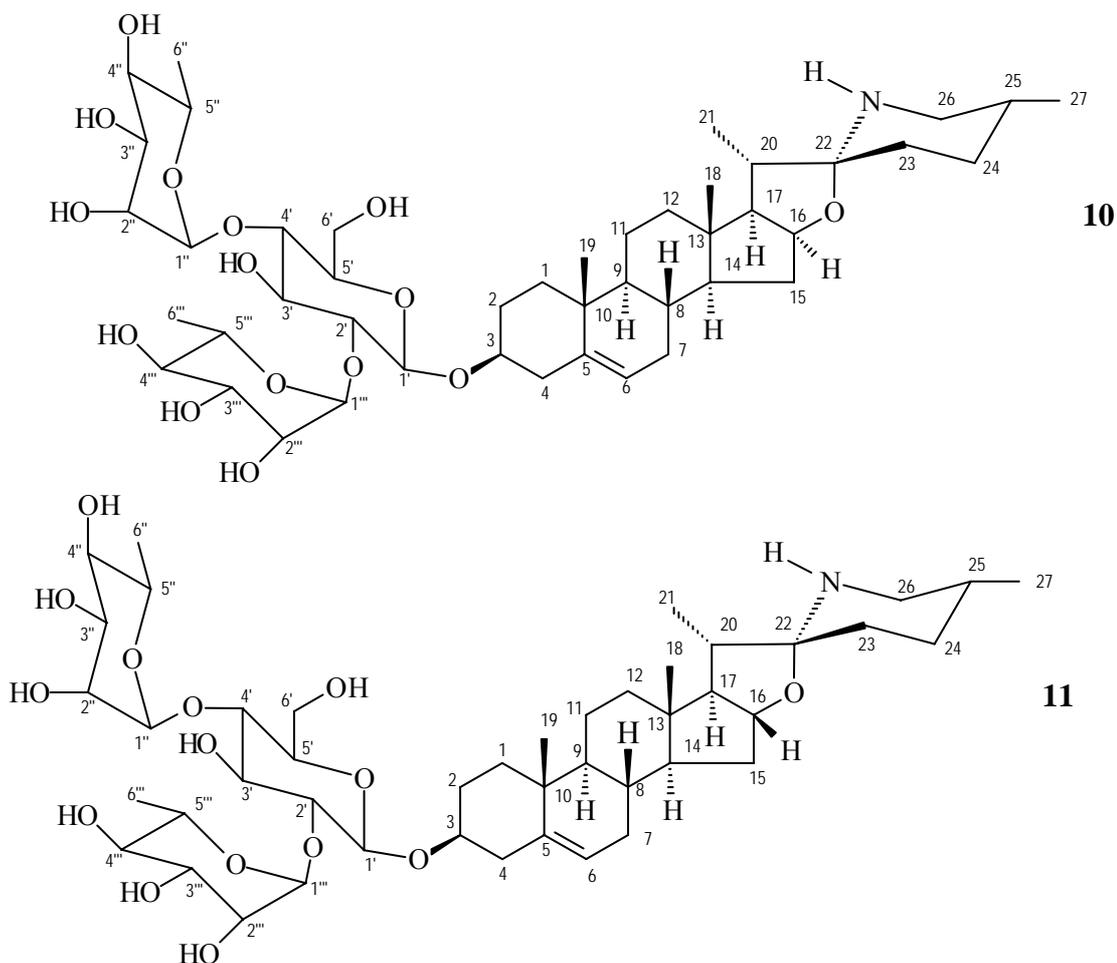
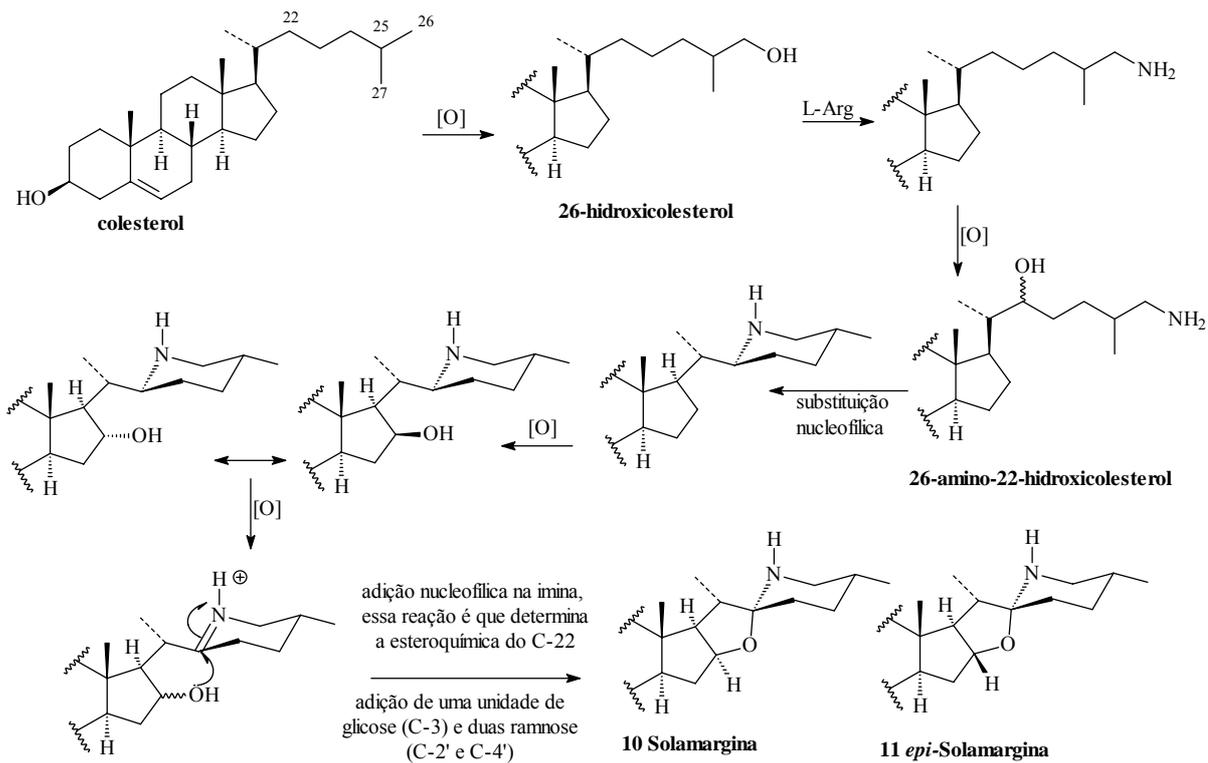


Figura II.7. Projeção de Newman de **10** (Solamargina) e **11** (*epi*-Solamargina)



Esquema II.3. Proposta de biossíntese para formação de **10** (Solamargina) e **11** (*epi*-Solamargina) adaptado de DEWICK, 2002

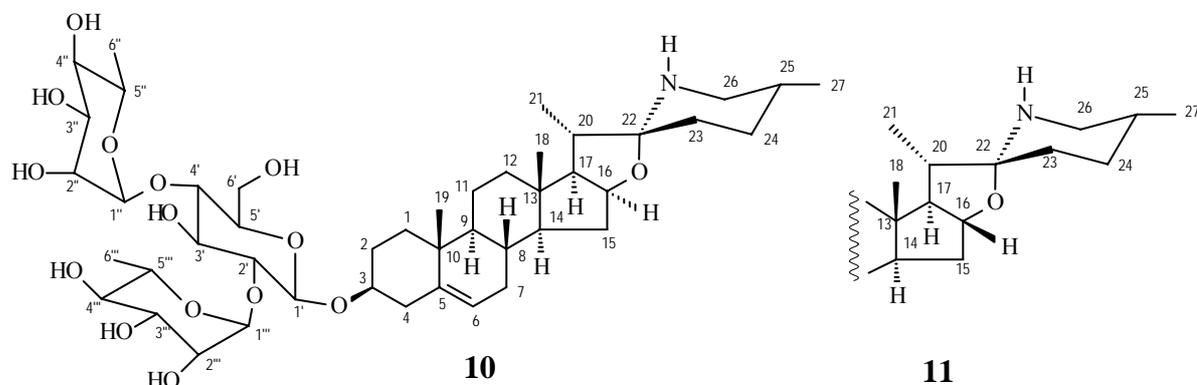
Tabela II.1. Dados de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) em Piridina-*d*₅ da substância **10** (Solamargina) comparados com a literatura (RIPPERGER, 1995)

| | 10 (Solamargina) | | | | RIPPERGER, 1995 | |
|-----------------------|-------------------------|---------------------------|----------------|---------------------|---------------------------|-----------------------|
| | HMQC | | HMBC | | NOESY | HMQC |
| | δ_C | δ_H | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | | δ_C δ_H |
| C | | | | | | |
| 5 | 141,16 | - | 2H-4 | H1a; 3H-19 | | 140,8 |
| 10 | 37,52 | - | H-1b; 3H-19 | H-6 | | 37,2 |
| 13 | 41,00 | - | 3H-18 | H-15a; H-16; H-20 | | 40,7 |
| 22 | 98,72 | - | H-20 | 3H-21; H-26 | | 98,5 |
| CH | | | | | | |
| 3 | 78,46 | 3,89 (m) | | | H-1ax | 78,1 3,87 |
| 6 | 122,19 | 5,32 (sl) | | H-4 | H-7; H-4eq | 121,9 5,31 |
| 8 | 31,99 | 1,48 | 2H-7 | H-6 | | 31,8 1,57 |
| 9 | 50,72 | 0,90 | H-8 | H-12b; 3H-19 | | 50,4 0,90 |
| 14 | 57,04 | 1,10 | H-15a; H-15b | H-12a; 3H-18 | | 56,8 1,08 |
| 16 | 79,16 | 4,42 | H-17; H-15b | | | 78,9 4,43 |
| 17 | 63,91 | 1,78 | H-20 | H-15a; 3H-18; 3H-21 | | 63,6 1,77 |
| 20 | 41,98 | 1,98 | 3H-21 | | | 41,7 1,96 |
| 25 | 32,07 | 1,65 | 3H-27 | H-23 | | 31,7 1,57 |
| CH₂ | | | | | | |
| 1 | 37,88 | a)1,73; b)1,00 | | 3H-19 | | 37,6 a)1,74; b)1,0 |
| 2 | 30,53 | a)2,10; b)1,87 | | | | 30,3 a)2,08; b)1,85 |
| 4 | 39,34 | a)2,82; b)2,75 | | | | 39,0 a)2,79; b)2,72 |
| 7 | 32,15 | 1,90 | | H-14 | | 32,7 a)2,05; b)1,49 |
| 11 | 21,52 | 1,45 | | | | 21,3 a)1,45; b)1,41 |
| 12 | 40,46 | a)1,63; b)1,05 | | | | 40,2 a)1,71; b)1,13 |
| 15 | 32,93 | a)2,08; b)1,45 | | H-8 | | 32,5 a)1,87; b)1,47 |
| 23 | 35,04 | a)1,90; b)1,65 | | H-20 | | 34,8 1,72 |
| 24 | 31,44 | 1,52 | | | | 31,2 1,63 |
| 26 | 48,24 | 2,78 | | 3H-27 | | 48,2 2,77 |
| CH₃ | | | | | | |
| 18 | 16,89 | 0,88 (s) | | H-17 | | 16,7 0,87 |
| 19 | 19,77 | 1,07 (s) | | H-1a; H-9 | | 19,5 1,05 |
| 21 | 16,05 | 1,09 (d, 6,9) | H-20 | | | 15,8 1,09 |
| 27 | 20,13 | 0,83 (d, 4,8) | | H-24; 2H-23 | | 19,9 0,81 |
| açúcar | | | | | | |
| 1' | 100,64 | 4,95 | H-2' | H-3 | H-5'; H-3 | 100,3 4,97 |
| 2' | 78,15 | 4,24 | H-3' | H-1'''; H-4' | | 78,0 4,26 |
| 3' | 78,32 | 4,23 (t) | H-2' | H-1' | H-5' | 77,8 4,25 |
| 4' | 78,97 | 4,42 (t) | H-5' | H-1'' | | 78,6 4,44 |
| 5' | 77,29 | 3,65 (dl, 9,2) | | | | 77,0 3,66 |
| 6' | 61,66 | a)4,22; b)4,10 (dl, 12,0) | | | H-2''; H-5' | 61,3 a)4,24; b)4,11 |
| 1'' | 103,26 | 5,86 (s) | | H-4'; H-5'' | H-4'; H-6'b; H-2''; H-5'' | 102,1 6,44 |
| 2'' | 72,92 | 4,69 (sl) | | H-4'' | | 72,6 4,86 |
| 3'' | 73,09 | 4,55 (dd, 9,1, 2,9) | H-2'' | H-1''; H-5'' | H-5'' | 72,9 4,66 |
| 4'' | 74,30 | 4,38 | H-3''; H-5'' | H-2''; 3H-6'' | H-3'' | 74,6 4,39 |
| 5'' | 70,78 | 4,92 | H-4''; 3H-6'' | H-1'' | | 69,6 4,99 |
| 6'' | 18,86 | 1,64 (d, 5,9) | H-5'' | H-4'' | | 18,8 1,79 |
| 1''' | 102,37 | 6,41 (s) | | H-2'; H-5''' | H-2' | 102,9 5,90 |
| 2''' | 72,90 | 4,84 (sl) | | H-4''' | | 72,6 4,71 |
| 3''' | 73,15 | 4,64 (dd, 9,1, 2,9) | H-2''' | H-1'''; H-5''' | H-5''' | 72,8 4,57 |
| 4''' | 74,50 | 4,34 | H-3'''; H-5''' | H-2'''; 3H-6''' | H-3''' | 74,0 4,36 |
| 5''' | 69,88 | 4,96 | H-4'''; H-6''' | H-1''' | | 70,5 4,99 |
| 6''' | 19,00 | 1,78 (d, 6,0) | H-5''' | H-4''' | | 18,6 1,66 |

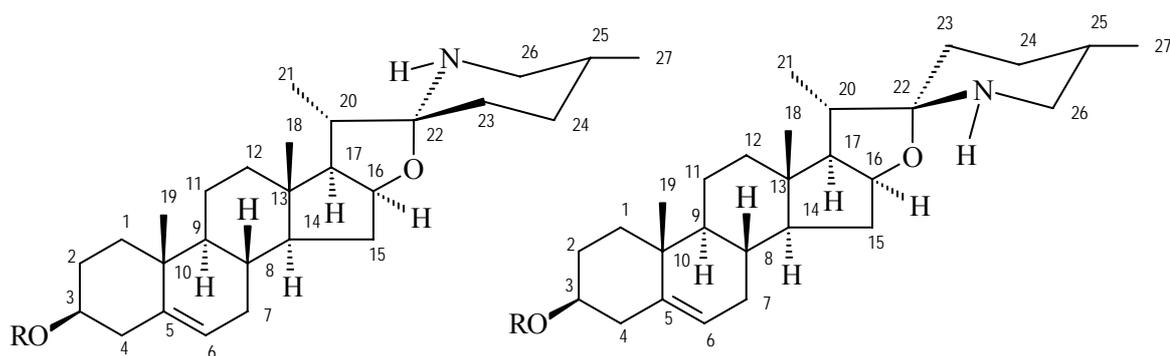
Tabela II.2. Dados de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) em Piridina-*d*₅ da substância **11** (*epi*-Solamargina) comparados com a literatura (RIPPERGER, 1995)

| | 11 (<i>epi</i>-Solamargina) | | | | RIPPERGER, 1995 | |
|-----------------------|------------------------------------|---|--------------------|---------------------|------------------------|----------------|
| | HMQC | | HMBC | | HMQC | |
| | δ_C | δ_H | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ | δ_C | δ_H |
| C | | | | | | |
| 5 | 140,82 | - | H-4a | H-1a; 3H-19 | 140,8 | |
| 10 | 37,16 | - | 2H-1; 3H-19 | H-4a; H-6 | 37,2 | |
| 13 | 40,82 | - | H-12a; H-14; 3H-18 | H-15b | 40,7 | |
| 22 | 98,54 | - | | 3H-21; H-26b | 98,5 | |
| CH | | | | | | |
| 3 | 77,99 | 3,89 (m) | | H-1' | 78,1 | 3,87 |
| 6 | 121,90 | 5,33 (sl) | | H-4a | 121,9 | 5,31 |
| 8 | 31,73 | 1,58 | | H-6 | 31,8 | 1,57 |
| 9 | 50,26 | 0,89 (m) | H-8 | 3H-19 | 50,4 | 0,90 |
| 14 | 56,51 | 1,09 (m) | H-15a; H-8 | 3H-18 | 56,8 | 1,08 |
| 16 | 81,13 | 4,82 | H-15b | | 78,9 | 4,43 |
| 17 | 63,03 | 2,02 | | H-15a; 3H-18; 3H-21 | 63,6 | 1,77 |
| 20 | 41,99 | 2,14 | 3H-21 | | 41,7 | 1,96 |
| 25 | 31,73 | 1,58 | | | 31,7 | 1,57 |
| CH₂ | | | | | | |
| 1 | 37,54 | a)1,75; b)1,02 | | | 37,6 | a)1,74; b)1,0 |
| 2 | 30,19 | a)2,08; b)1,85 | H-1 | | 30,3 | a)2,08; b)1,85 |
| 4 | 39,00 | a)2,81 (dd, 11,6; 3,1), b)2,73 (t, 11,6) | | | 39,0 | a)2,79; b)2,72 |
| 7 | 32,26 | 1,85 | H-8 | | 32,7 | a)2,05; b)1,49 |
| 11 | 21,10 | 1,42 | | | 21,3 | a)1,45; b)1,41 |
| 12 | 39,69 | a)1,68; b)1,09 | | 3H-18 | 40,2 | a)1,71; b)1,13 |
| 15 | 32,59 | a)2,08; b)1,48 | H-14 | | 32,5 | a)1,87; b)1,47 |
| 23 | 33,97 | a)1,92; b)1,78 | | | 34,8 | 1,72 |
| 24 | 30,02 | 1,65 | | H-26b; 3H-27 | 31,2 | 1,63 |
| 26 | 47,10 | a)3,04 (m); b) 2,89 (t, 11,5) | | 3H-27 | 48,2 | 2,77 |
| CH₃ | | | | | | |
| 18 | 16,37 | 0,85 (s) | | | 16,7 | 0,87 |
| 19 | 19,43 | 1,06 (s) | | | 19,5 | 1,05 |
| 21 | 15,69 | 1,28 (d, 6,7) | | | 15,8 | 1,09 |
| 27 | 19,20 | 0,79 (d, 6,5) | | H-26b | 19,9 | 0,81 |
| açúcar | | | | | | |
| 1' | 100,33 | 4,96 | H-2' | H-3; H-3' | 100,3 | 4,97 |
| 2' | 77,85 | 4,22 | | H-4'; H-1''' | 78,0 | 4,26 |
| 3' | 78,12 | 4,23 | | | 77,8 | 4,25 |
| 4' | 78,78 | 4,40 | | H-2'; H-1'' | 78,6 | 4,44 |
| 5' | 76,94 | 3,66 (td, 9,2) | | | 77,0 | 3,66 |
| 6' | 61,34 | a)4,23; b)4,10 (dd, 12,1; 3,2) | | | 61,3 | a)4,24; b)4,11 |
| 1'' | 102,95 | 5,87 (s) | H-2'' | H-4'; H-5'' | 102,1 | 6,44 |
| 2'' | 72,55 | 4,69 (d, 1,4) | H-1'' | H-4'' | 72,6 | 4,86 |
| 3'' | 72,77 | 4,55 (dd, 9,2; 3,2) | H-2'' | | 72,9 | 4,66 |
| 4'' | 73,94 | 4,34 (t, 9,2) | H-3'' | H-2''; 3H-6'' | 74,6 | 4,39 |
| 5'' | 70,46 | 4,93 (m) | H-4''; 3H-6'' | H-1''; H-3'' | 69,6 | 4,99 |
| 6'' | 18,52 | 1,64 (d, 6,1) | H-5'' | H-4'' | 18,8 | 1,79 |
| 1''' | 102,06 | 6,41 (s) | | H-2''; H-5''' | 102,9 | 5,90 |
| 2''' | 72,58 | 4,84 (d, 1,8) | | H-4''' | 72,6 | 4,71 |
| 3''' | 72,87 | 4,64 (dd, 9,2; 3,2) | H-2''' | H-1''' | 72,8 | 4,57 |
| 4''' | 74,17 | 4,32 (t, 9,2) | H-3''' | H-2'''; 3H-6''' | 74,0 | 4,36 |
| 5''' | 69,54 | 4,98 (m) | H-4'''; 3H-6''' | H-1'''; H-3''' | 70,5 | 4,99 |
| 6''' | 18,67 | 1,78 (d, 6,2) | H-5''' | H-4''' | 18,6 | 1,66 |

Tabela II.3. Valores de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em Piridina- d_5 das substâncias **10** (Solamargina) e **11** (*epi*-Solamargina) comparados com dados da literatura da β -solamarina e solamargina



| | Mod-1 CD ₅ N | Mod-3 CD ₅ N | Mod-2 CD ₅ N | Mod-4 CD ₅ N | | 10 | 11 | |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---|--------------------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------------|
| | δ_{C} | δ_{C} | δ_{C} | δ_{C} | $\Delta\delta_{\text{C}}(2-1)$ | δ_{C} | δ_{C} | $\Delta\delta_{\text{C}}(10-11)$ |
| CH-16 | 78,8 | 78,9 | 78,6 | 78,3 | -0,2 | 79,16 | 81,13 | -1,97 |
| CH-17 | 63,5 | 63,6 | 62,2 | 62,22 | -1,3 | 63,91 | 63,03 | 0,88 |
| CH-20 | 41,6 | 41,7 | 43,0 | 43,01 | 1,4 | 41,98 | 41,99 | -0,01 |
| CH ₃ -21 | 15,7 | 15,8 | 16,2 | 16,91 | 0,5 | 16,05 | 15,69 | 0,46 |
| C-22 | 98,4 | 98,5 | 99,4 | 99,44 | 1,0 | 98,72 | 98,54 | 0,20 |
| CH ₂ -23 | 34,7 | 34,8 | 27,0 | 27,07 | -7,7 | 35,04 | 33,94 | 1,10 |
| CH ₂ -24 | 31,1 | 31,2 | 29,3 | 29,26 | -1,8 | 31,44 | 30,02 | 1,42 |
| CH-25 | 31,6 | 31,7 | 31,4 | 31,42 | -0,2 | 32,07 | 31,73 | 0,34 |
| CH ₂ -26 | 48,0 | 48,2 | 50,6 | 50,58 | -2,6 | 48,24 | 47,10 | 1,14 |
| CH ₃ -27 | 19,8 | 19,9 | 19,8 | 19,80 | 0,0 | 20,13 | 19,20 | 0,93 |
| | δ_{H} | | | δ_{H} | $\Delta\delta_{\text{H}}(4-3)$ | δ_{H} | δ_{H} | $\Delta\delta_{\text{H}}(10-11)$ |
| H-16 | 4,44 | 4,43 | - | 4,11 (H-16α) | -0,32 | 4,42 | 4,82 | -0,40 |
| H-17 | - | 1,77 | - | - | | 1,78 | 2,02 | -0,24 |
| 3H-21 | 1,09 | 1,09 | - | 1,08 | -0,01 | 1,09 (d, 6,9) | 1,28 (d, 6,7) | -0,19 |
| 2H-26 | - | 2,77 | - | 2,95 | 0,18 | 2,78 | 3,04 (m) 2,89 (t, 11,0) | -0,26 -0,11 |



Solamargina

Mod-1 (22*R*) (25*R*) (22 α N)
(LOREY *et al.*, 1996)

Mod-3 (22*R*) (25*R*) (22 α N)
(REPPERGER, 1995)

β -solamarina

Mod-2 (22*S*) (25*S*) (22 β N)
(LOREY *et al.*, 1996)

Mod-4 (22*S*) (25*S*) (22 β N)
(WEISSENBERG, 2001)

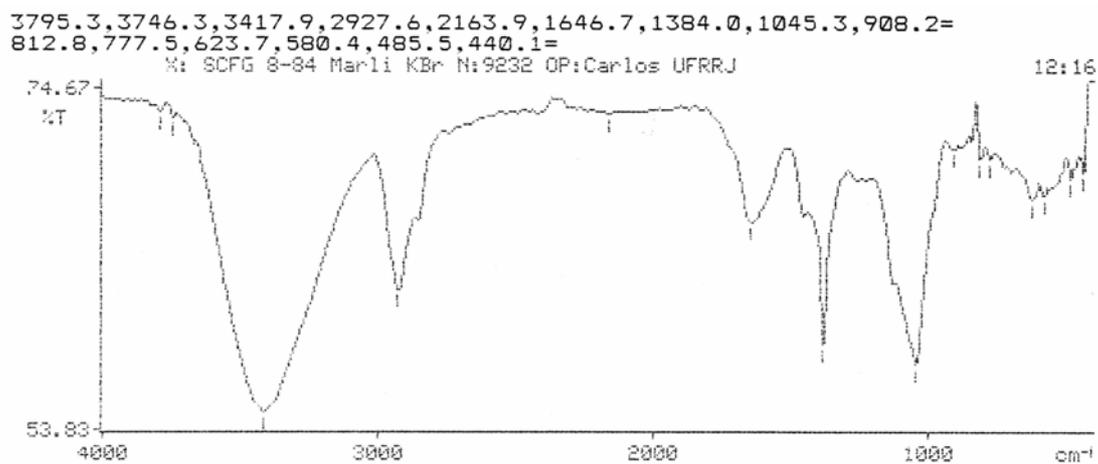


Figura II.8. Espectro de IV da substância **10** (Solamargina)

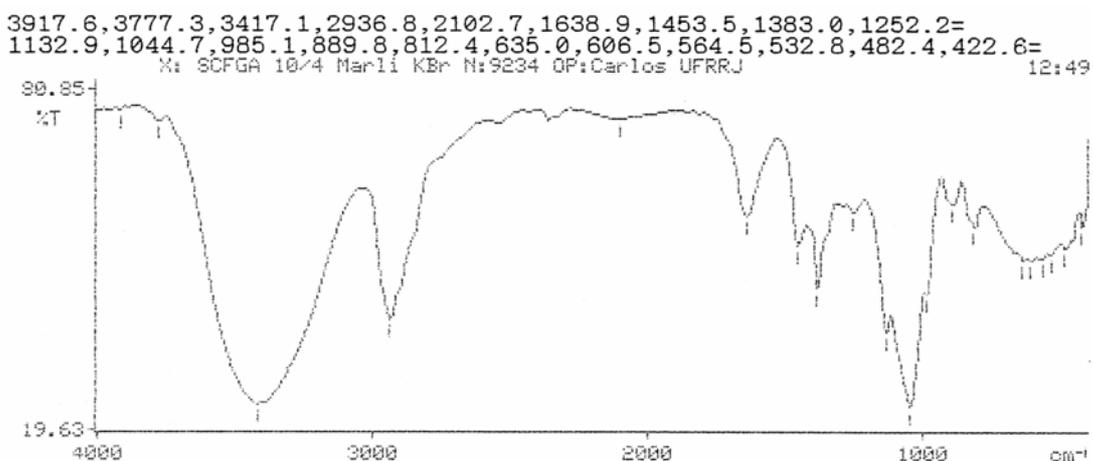
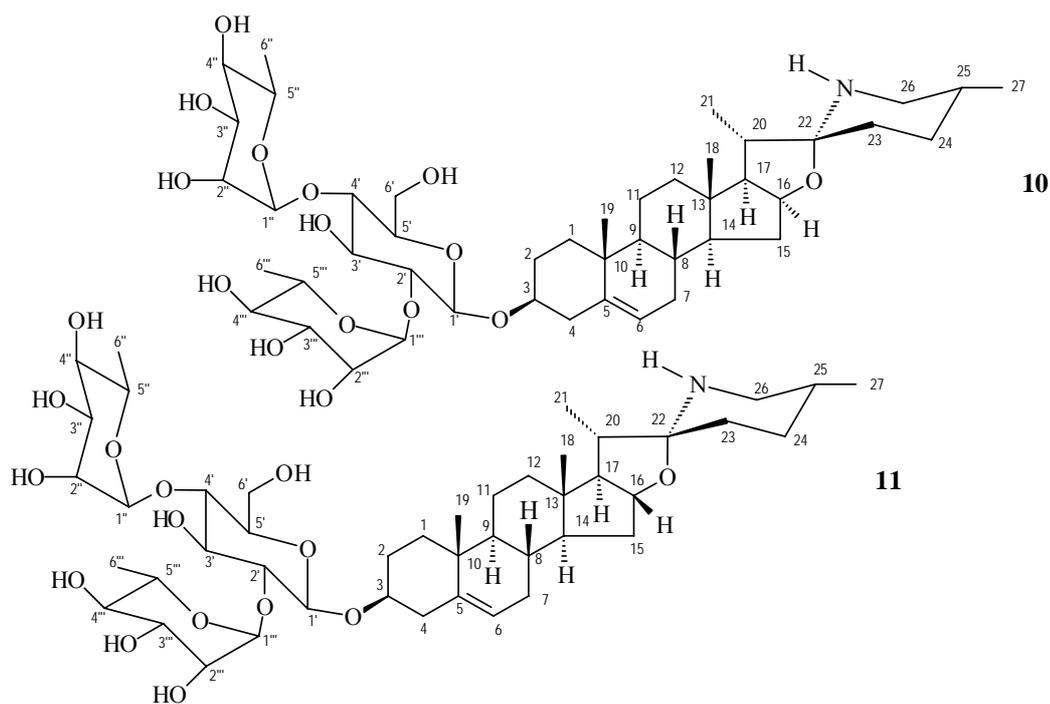


Figura II.9. Espectro de IV da substância **11** (*epi*-Solamargina)



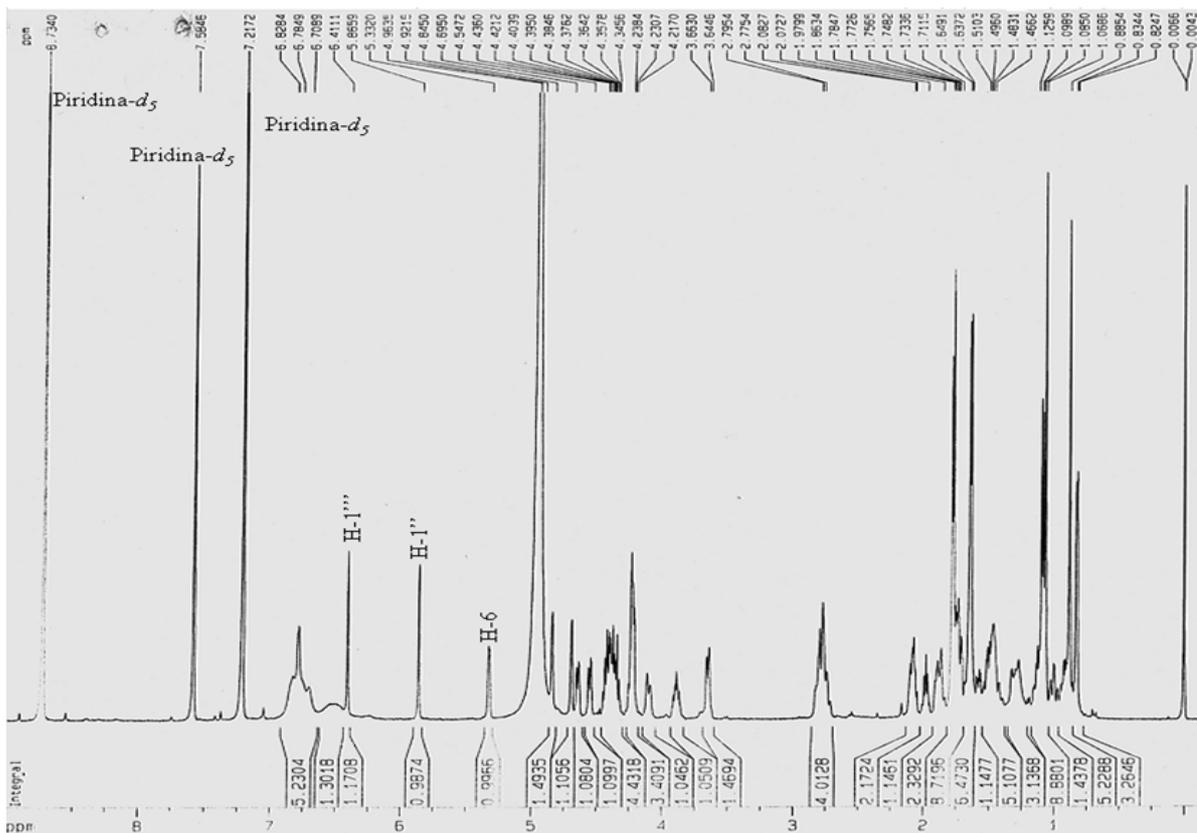


Figura II.10. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) da substância **10** (Solamargina)

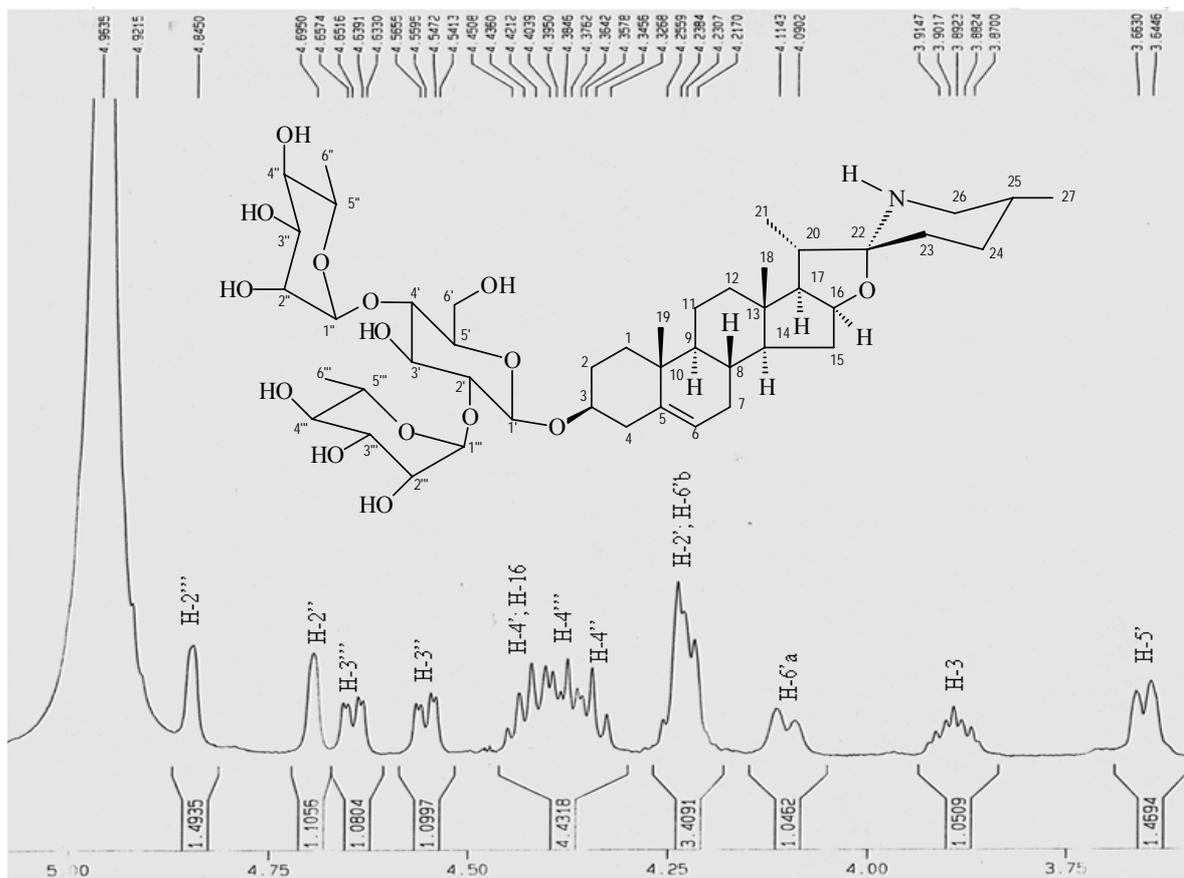


Figura II.11. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) ampliação da região δ_{H} 3,5-5,3 ppm da substância **10** (Solamargina)

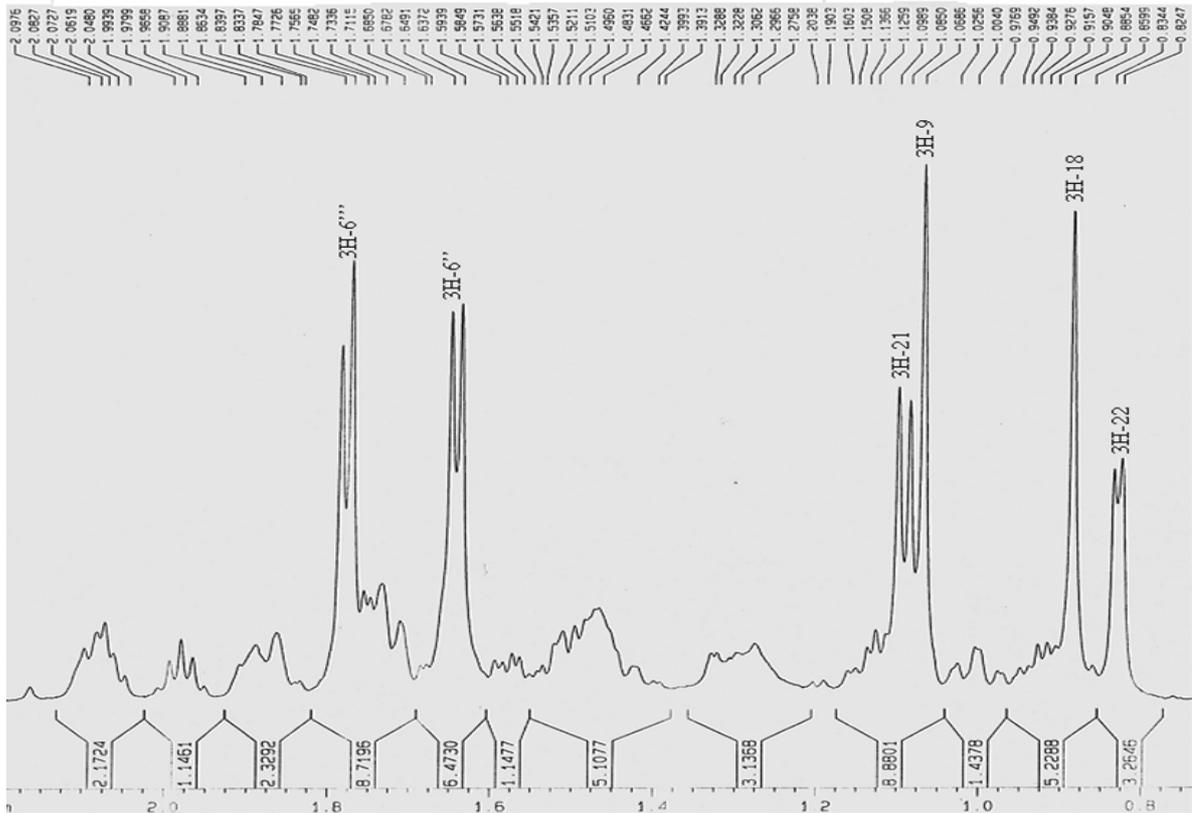


Figura II.12. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) ampliação da região δ_{H} 0,8-2,1 ppm da substância **10** (Solamargina)

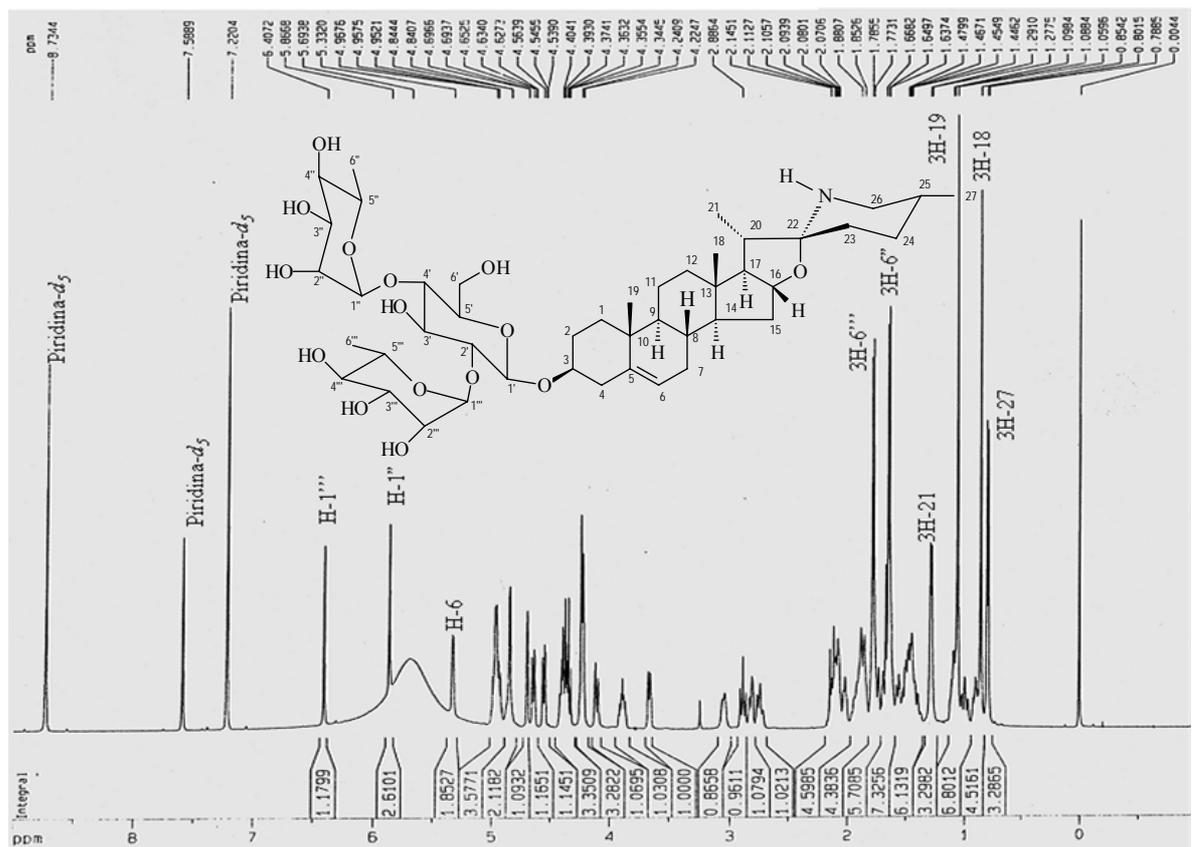


Figura II.13. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) da substância **11** (*epi*-Solamargina)

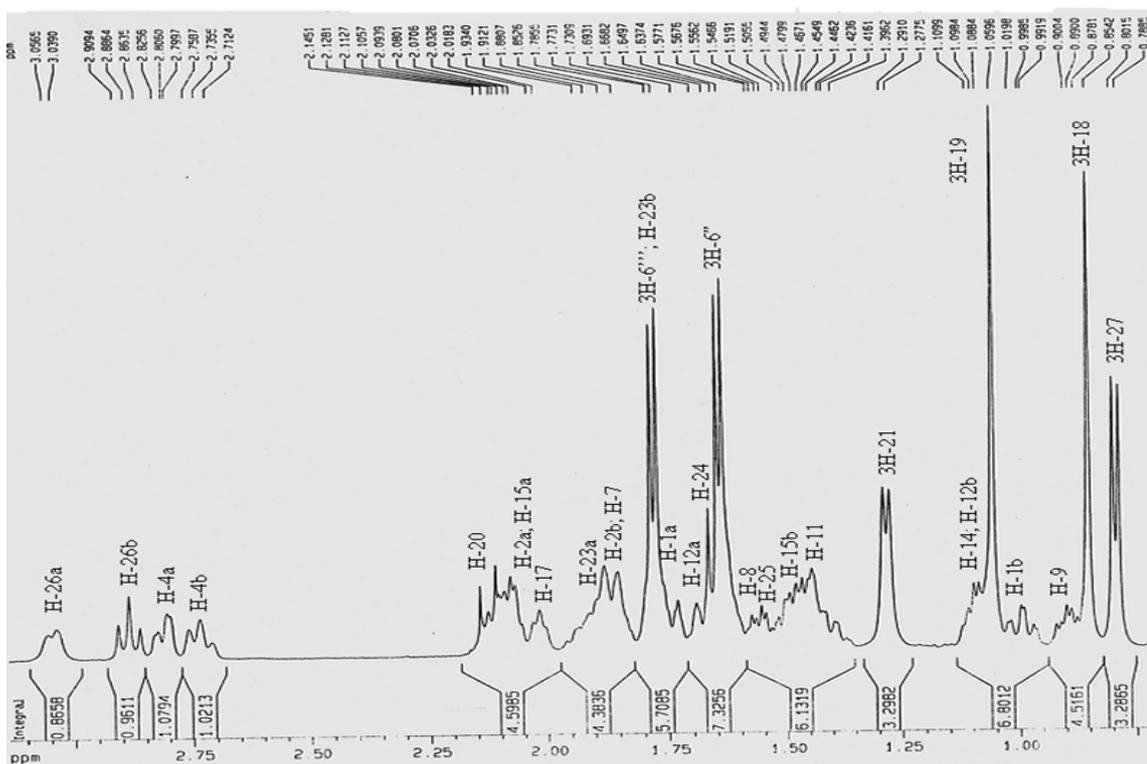


Figura II.14. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) ampliação da região δ_{H} 0,7-3,2 ppm da substância **11** (*epi*-Solamargina)

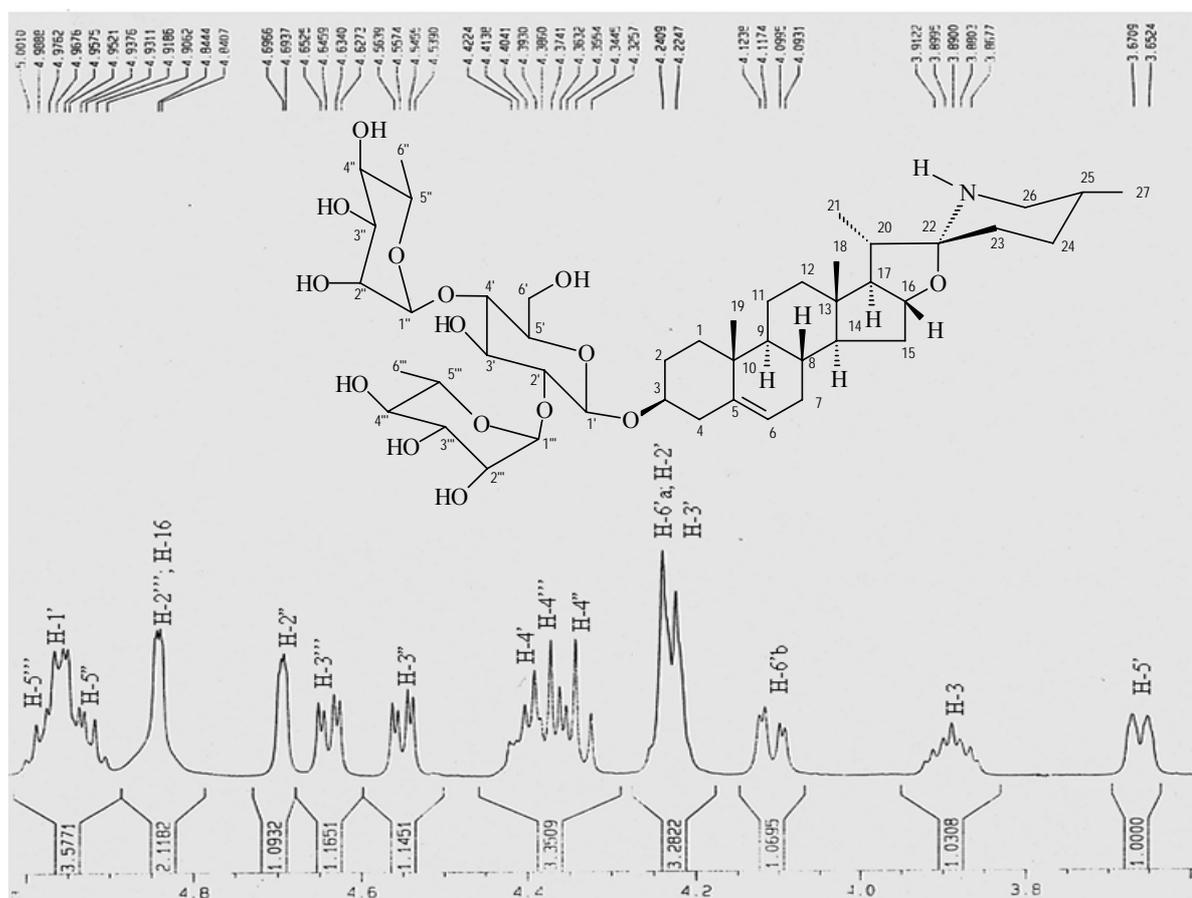


Figura II.15. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) ampliação da região δ_{H} 3,6-5,0 ppm da substância **11** (*epi*-Solamargina)

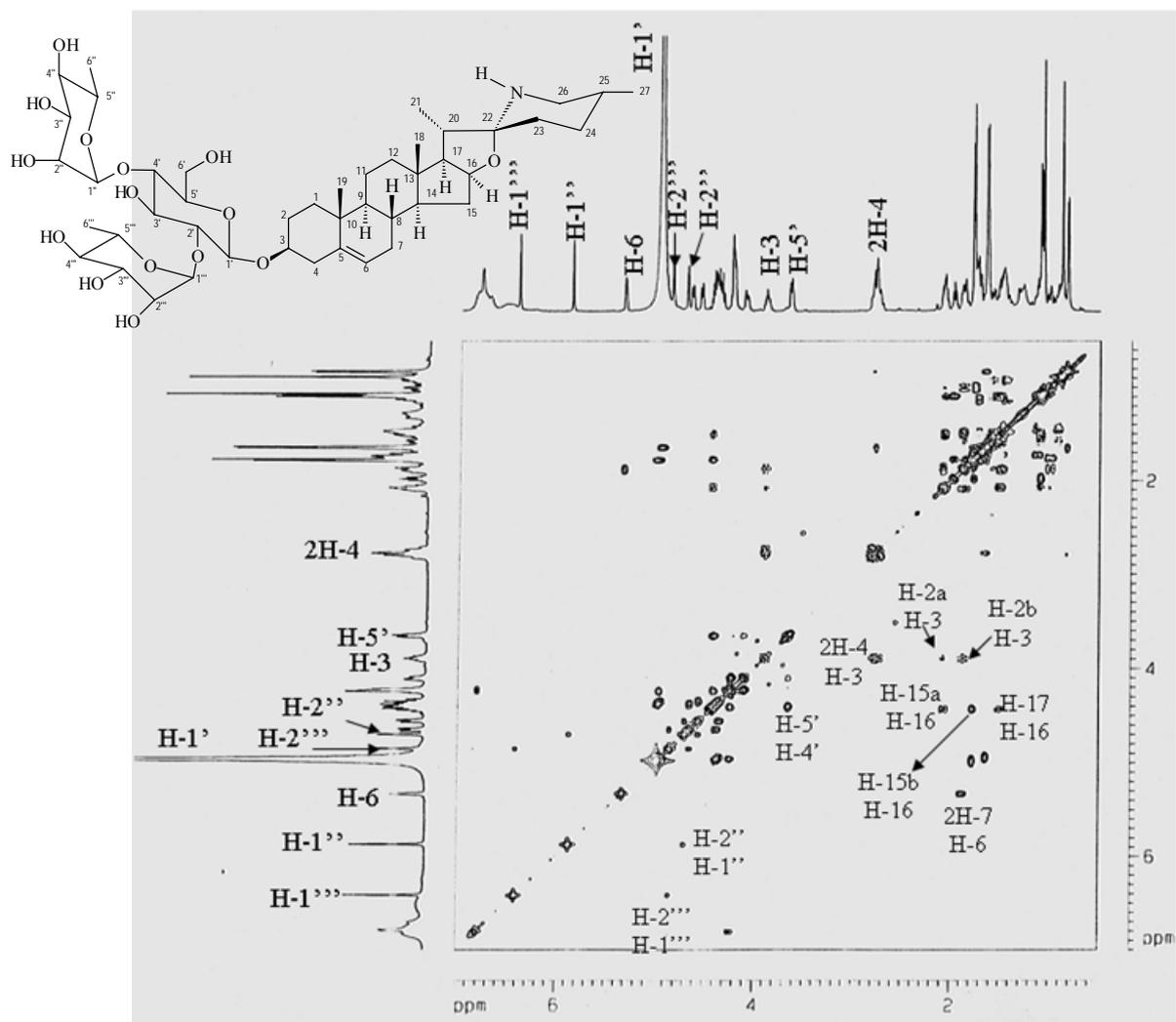


Figura II.16. Espectro de RMN COSY (500 MHz, Piridina- d_5) da substância **10** (Solamargina)

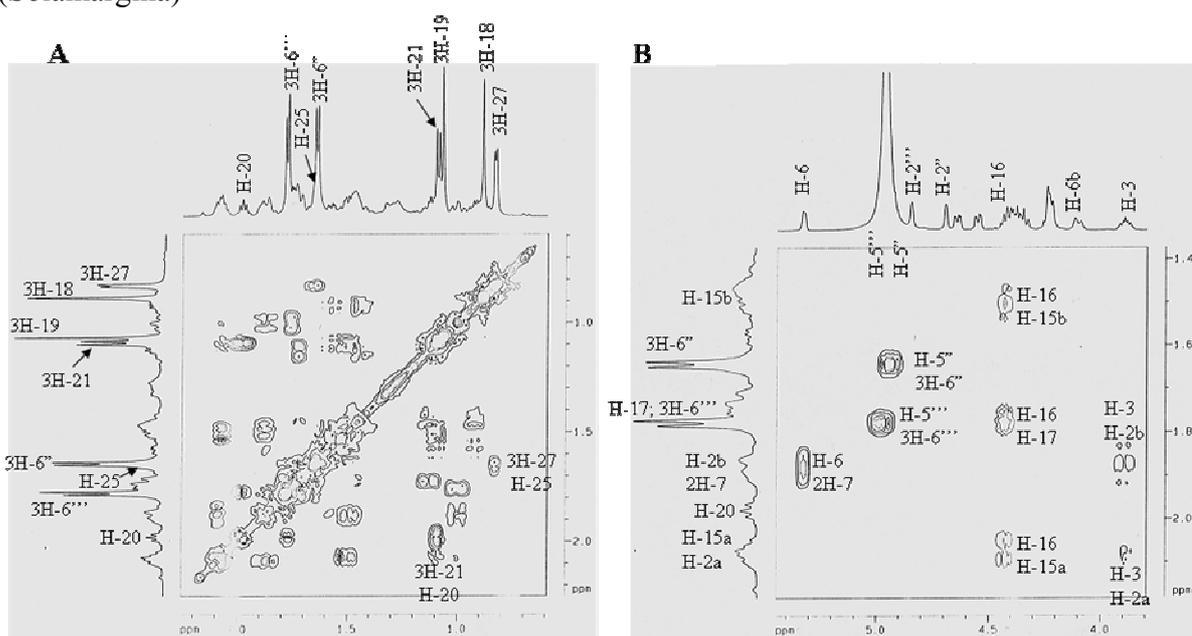


Figura II.17. Espectro de RMN COSY (500 MHz, Piridina- d_5) da substância **10** (Solamargina). Regiões ampliadas: **A** (δ_H 0,5-2,2x0,5-2,2 ppm) e **B** (δ_H 3,8-5,5x1,4-2,2 ppm)

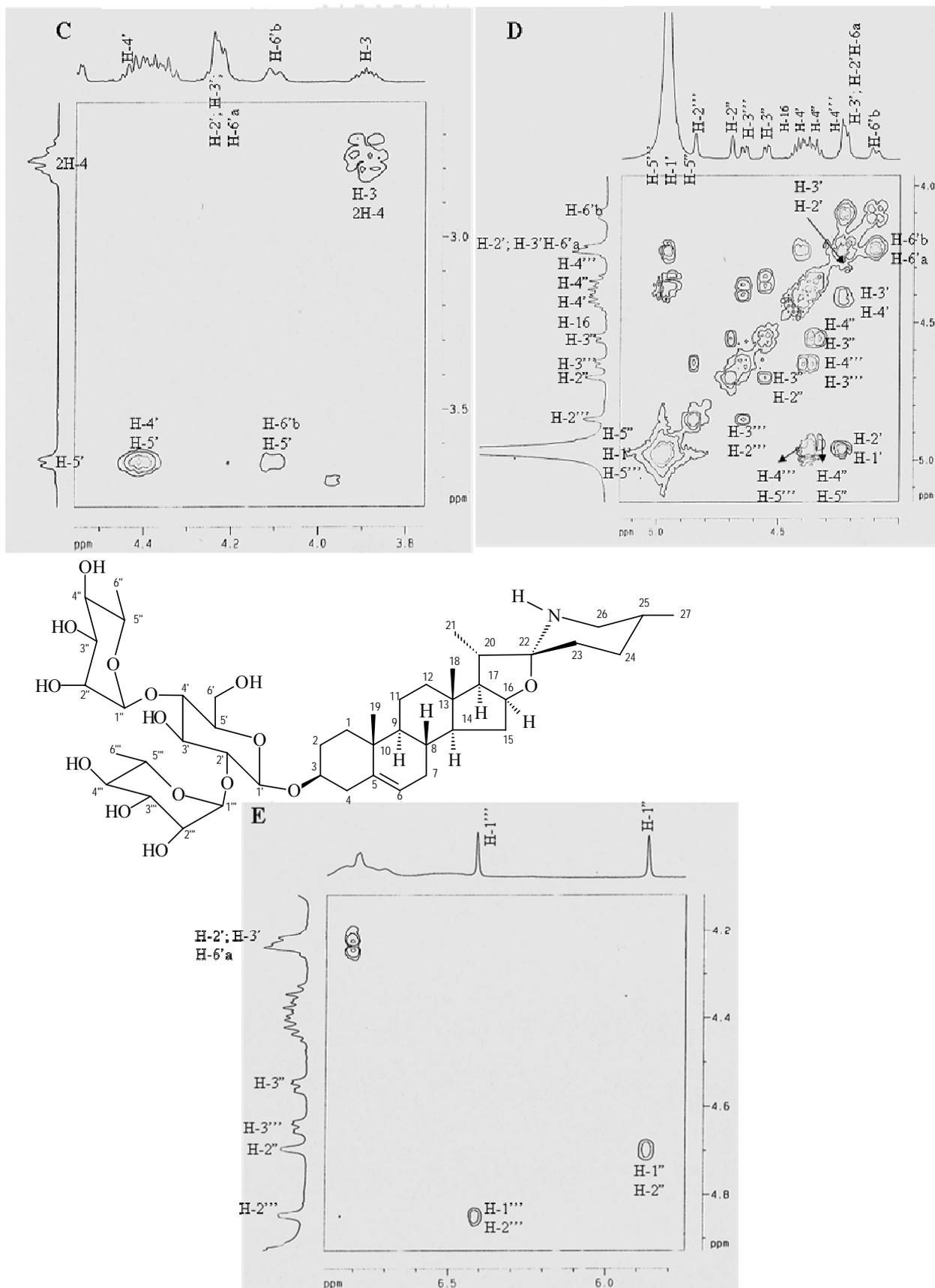


Figura II.18. Espectro de RMN COSY (500 MHz, Piridina- d_5) da substância **10** (Solamargina). Regiões ampliadas: **C** (δ_{H} 3,8-4,5x2,6-3,8 ppm), **D** (δ_{H} 4,0-5,1x4,0-5,1 ppm) e **E** (δ_{H} 5,8-6,8x4,1-4,9 ppm)