

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

DISSERTAÇÃO

Estudo químico de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill, Cucurbitaceae.

CARLOS HENRIQUE CORRÊA DOS SANTOS

2014



UFRRJ

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

Estudo químico de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill – Cucurbitaceae.

CARLOS HENRIQUE CORRÊA DOS SANTOS

Sob a orientação do

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Química como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências, com área de concentração em Química Orgânica.

**Seropédica – RJ
Agosto de 2014**

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

CARLOS HENRIQUE CORRÊA DOS SANTOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Química como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências, com área de concentração em Química Orgânica.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/08/2014

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (ICE-DEQUIM-UFRRJ)
Orientador e presidente da banca

Prof. Dr. Fabio de Souza Menezes Boylan (SPPS – TCD – Irlanda)
Membro titular

Prof^a. Dr^a. Suzana Guimarães Leitão (Fac. Farmácia – UFRJ)
Membro titular

Prof^a. Dr^a. Márcia Cristina Campos de Oliveira (ICE – DEQUIM – UFRRJ)
Suplente

*Dedico este trabalho aos meus pais, Jandir e Maria
Helena, por todo o apoio durante todos esses anos.*

Amo muito vocês!!!

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, pelas oportunidades e pelas pessoas maravilhosas que colocou no meu caminho;

Aos meus pais Jandir e Maria Helena por toda educação, apoio, amor e carinho em todos esses anos da minha vida, pelo qual sou eternamente grato.

Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho pelos ensinamentos, orientações, amizade e pelo exemplo de profissionalismo e competência o que contribuiu muito para meu crescimento intelectual e profissional.

Aos professores da Universidade Federal de Mato Grosso, Prof^a. Dr^a. Virgínia Claudia da Silva, Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Junior, Prof^a. Dr^a. Nair Honda Kawashita e Prof^a. Dr^a. Amanda Martins Baviera pelo suporte e auxílio na realização deste trabalho.

Aos amigos do PPGQ, Jonas, Débora, Kamilla, Queli, Romulo, Cosme, Ilna, Lisieux pelo bom convívio, pelas experiências compartilhadas e pelos momentos de descontração.

Aos meus eternos amigos de Mato Grosso, Diego, Artur, Allan, Nayara, Gisele, Karoline, Kheyti, Dayanne e Rodrigo, pelo apoio e amizade sincera e duradoura.

Aos meus bons amigos de Seropédica, Pedro e Leonardo pela amizade e parceria.

Aos Professores do PPGQ por todos os ensinamentos compartilhados.

Aos técnicos do departamento, Maurício, Vitor, Frances e Carlão, pelo suporte nas análises.

Ao PPGQ pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional e pessoal.

A CAPES pelo apoio financeiro concedido.

À minha família por todo apoio e encorajamento durante essa jornada.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Siolmatra brasiliensis é uma planta trepadeira da família Cucurbitaceae, conhecida popularmente como taiuiá ou cipó-tauá e de maior ocorrência na região central do Brasil (Cerrado e Pantanal). É usada popularmente como analgésico para dor de dente, suas raízes são tidas como depurativa e antissifilítica e seu caule é muito utilizado para o tratamento da diabetes. O presente trabalho descreve o isolamento e elucidação estrutural de quatro triterpenóides do extrato hidroetanólico - três cucurbitacinas (cayaponosídeos A1, B4 e D) e uma saponina de esqueleto do tipo damarano 3-O-β-D-gentiobiosil-26-O-β-D-glicopiranosil-20-hidróxidamar-24-eno que está sendo descrita pela primeira vez no reino vegetal. Os compostos foram caracterizados por experimentos de RMN uni e bidimensionais, espectrometria de massas e suas configurações absolutas foram estabelecidas pela primeira vez por experimentos de dicroísmo circular.

Palavras-chave: *Siolmatra brasiliensis*, Cucurbitaceae, triterpenóides, cucurbitacinas, saponinas.

ABSTRACT

Siolmatra brasiliensis, a climbing plant belonging to the Cucurbitaceae family is known popularly as “taiuá” or “cipó-tauá” and occurs generally in the central region of Brazil (Cerrado and Pantanal). Popularly, this plant is used as analgesic for toothache and its roots are considered a purifying agent, being used as anti-syphilis. The stalks are largely used for treatment of diabetes. The present work describes the isolation and structural elucidation of four triterpenoids from the hydroethanol extract – three cucurbitacins (cayaponosides A1, B4 and D) a dammarane saponin 3-O-β-D-gentiobiosyl-26-O-β-D-glucopyranosyl-20-hydroxydammar-24-ene, being described for the first time in the Plant Kingdom. The compounds were characterized by 1D and 2D NMR experiments, mass spectrometry and its absolute configurations were established for the first time by circular dichroism experiments.

Keywords: *Siolmatra brasiliensis*, Cucurbitaceae, triterpenoids, cucurbitacins, saponins.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biomas brasileiros.....	15
Figura 2. Esqueleto 19(10→9β)-abeo-10α-lanost-5-eno (<i>cucurbitano</i>) (HIMENO <i>et al</i> , 2005).....	16
Figura 3. Rota biossintética de formação do esqualeno (DEWICK, 2002).....	18
Figura 4. Formação do cátion protosteril. (DEWICK, 2002).....	19
Figura 5. Formação da cucurbitacina E. (DEWICK, 2002).....	20
Figura 6. Eixo de propagação de raio luminoso.....	37
Figura 7. Luz plano polarizada: campo elétrico (E).....	38
Figura 8. Luz circularmente polarizada à esquerda e à direita.....	38
Figura 9. Equação de Fresnel.....	39
Figura 10. Polarização elíptica da luz devido à refração e à absorção distintas dos componentes vetoriais.....	39
Figura 11. Diferença da luz circularmente polarizada - Dicroísmo Circular (DC).....	40
Figura 12. Exemplo de espectro de Dicroísmo Circular (DC).....	40
Figura 13. a) orientação da ciclohexanona no diagrama do octante; b) regrado octante para a carbonila e sinais e contribuição de cada fase do octante. (BEROVA <i>et al</i> , 2000).....	42
Figura 14. Projeção do quadrante para compostos aromáticos.....	42
Figura 15. Projeção do quadrante para aromáticos da codeína.....	42
Figura 16. Projeção de sistemas rígidos de enonas.....	43
Figura 17. Espécie <i>Siolmatra brasiliensis</i>	44
Figura 18. Substâncias isoladas de SBEBH.....	50
Figura 19. Espectro de RMN de ¹ H de A ₄₁₁ . (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	54
Figura 20. Ampliação na região de 1,00 a 3,5 ppm do espectro de RMN de ¹ H de A ₄₁₁ . (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	55
Figura 21. Experimento de 1D TOCSY com irradiação em H-6 (δ _H 6,36). (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	55
Figura 22. Espectro de DEPTQ de A ₄₁₁ . (100 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	56
Figura 23. Espectro de HSQC de A ₄₁₁ . (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	57
Figura 24. Ampliação do espectro de HSQC de A ₄₁₁ .(400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	58
Figura 25. Espectro de HMBC de A ₄₁₁ . (400MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	59
Figura 26. Espectro de MS/MS com ionização por <i>electrospray</i> em modo negativo de A ₄₁₁	60
Figura 27. Proposta de fragmentação de massas de A ₄₁₁	60
Figura 28. Estrutura proposta para a substância A ₄₁₁	61
Figura 29. Reação de acetilação de A ₄₁₁	61
Figura 30. Espectro de RMN de ¹ H do derivado acetilado de A ₄₁₁ . (400 MHz, CDCl ₃).....	63
Figura 31. Ampliação do espectro de RMN de ¹ H do derivado acetilado de A ₄₁₁ (1,75 - 2,25 ppm). (400 MHz, CDCl ₃).....	63
Figura 32. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A ₄₁₁ . (100 MHz, CDCl ₃)...64	64
Figura 33. Espectro de HMQC do derivado acetilado de A ₄₁₁ . (400 MHz, CDCl ₃)....64	64

Figura 34. Ampliação do espectro de HMQC do derivado acetilado de A ₄₁₁ . (400 MHz, CDCl ₃).....	65
Figura 35. Espectro de HMBC do derivado acetilado de A ₄₁₁ . (400 MHz, CDCl ₃).....	66
Figura 36. Espectro de NOESY 2D do derivado peracetilado de A ₄₁₁ . (400 MHz, CDCl ₃)	67
Figura 37. Ampliação do espectro de NOESY 2D do derivado acetilado de A ₄₁₁ . (400 MHz, CDCl ₃).....	68
Figura 38. Projeção da proposta de configuração para a substância A ₄₁₁	69
Figura 39. Espectro de RMN de ¹ H de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, Piridina-d ₅)	72
Figura 40. Ampliação do espectro de RMN de ¹ H de A ₅₁₇₋₂₆ (1,0 - 3,3 ppm). (400 MHz, Piridina-d ₅)	73
Figura 41. Espectro de DEPTQ de A ₅₁₇₋₂₆ . (100 MHz, Piridina d ₅)	73
Figura 42. Espectro de HSQC de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, Piridina d ₅)	74
Figura 43. Ampliação do espectro de HSQC de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, Piridina d ₅).....	75
Figura 44. Espectro de HMBC de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, Piridina d ₅).....	76
Figura 45. Espectro de COSY de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, Piridina-d ₅).....	77
Figura 46. Espectro de massa por ionização por <i>electrospray</i> de A ₅₁₆₋₂₆ em modo negativo.....	78
Figura 47. Estrutura proposta de A ₅₁₇₋₂₆	78
Figura 48. Reação de acetilação de A ₅₁₇₋₂₆	79
Figura 49. Espectro de RMN de ¹ H do derivado acetilado de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, CDCl ₃)	81
Figura 50. Ampliação do espectro de RMN de ¹ H do derivado acetilado de A ₅₁₇₋₂₆ (2,35 - 1,90 ppm). (400 MHz, Piridina - d ₅).....	81
Figura 51. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A ₅₁₇₋₂₆ . (100 MHz, Piridina-d ₅).....	82
Figura 52. Espectro de HSQC do derivado acetilado de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, CDCl ₃)..	83
Figura 53. Experimento de NOEDIFF do derivado acetilado de A ₅₁₇₋₂₆ . (400 MHz, CDCl ₃)	84
Figura 54. Experimentos de NOEDIFF de A ₅₁₇₋₂₆ Ac com multiplas irradiações. (500 MHz, CDCl ₃).....	85
Figura 55. Projeção da estrutura de A ₅₁₇₋₂₆ Ac.....	86
Figura 56. Espectro de RMN de ¹ H de A ₅₂₄₁ . (400 MHz, Piridina-d ₅)	88
Figura 57. Ampliação do espectro de RMN de ¹ H de A ₅₂₄₁ (1,0 - 3,1 ppm). (400 MHz, Piridina - d ₅).....	89
Figura 58. Espectro de DEPTQ a A ₅₂₄₁ . (100 MHz, Piridina-d ₅)	89
Figura 59. Espectro de HSQC de A ₅₂₄₁ . (400 MHz, Piridina-d ₅)	90
Figura 60. Ampliação do espectro de HSQC de A ₅₂₄₁ . (400 Mhz, Piridina-d ₅)	91
Figura 61. Espectro de HMBC de A ₅₂₄₁ . (400 MHz, Piridina-d ₅).....	92
Figura 62. Espectro de COSY de A ₅₂₄₁ . (400 MHz, Piridina-d ₅).	93
Figura 63. Espectro de massas com ionização por <i>electrospray</i> (modo positivo) de A ₅₂₄₁	93
Figura 64. Estrutura proposta de A ₅₂₄₁	94
Figura 65. Reação de acetilação de A ₅₂₄₁	94

Figura 66. Espectro de RMN de ^1H do derivado acetilado de A_{5241} . (500 MHz, CDCl_3)	96
Figura 67. Expansão do espectro de ^1H do derivado acetilado de A_{5241} (0,9 - 2,3 ppm). (500 MHz, CDCl_3)	97
Figura 68. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A_{5241} . (125 MHz, CDCl_3)	97
Figura 69. Espectro de HSQC do derivado acetilado de A_{5241} . (500 MHz, CDCl_3)	98
Figura 70. Ampliação do espectro de HSQC do derivado acetilado de A_{5241} . (500 MHz, CDCl_3)	99
Figura 71. Espectro de HMBC do derivado acetilado de A_{5241} . (500 MHz, CDCl_3)	100
Figura 72. Espectro de COSY do derivado acetilado de A_{5241} (cayaponosídeo D). (500 MHz, CDCl_3)	101
Figura 73. Espectro de RMN de ^1H de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)	105
Figura 74. Ampliação do espectro de RMN de ^1H de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)	105
Figura 75. Espectros de DEPTQ de A_{731} . (100 MHz, Piridina- d_5)	106
Figura 76. Espectro de DEPT 135 de A_{731} . (100 MHz, Piridina- d_5)	106
Figura 77. Ampliação do espectro de DEPT 135 de A_{731} (60 – 108 ppm). (100 MHz, Piridina- d_5)	107
Figura 78. Espectro de DEPT 90 de A_{731} . (100 MHz, Piridina- d_5)	107
Figura 79. Espectro de HSQC de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)	108
Figura 80. Ampliação do espectro de HSQC de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)	109
Figura 81. Espectro de IMPACT-HMBC de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)	110
Figura 82. Ampliação do espectro de IMPACT-HMBC de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)	111
Figura 83. Espectro de massas por ESI (modo positivo) de A_{731} .	112
Figura 84. Espectro de massas por ESI (modo negativo) de A_{731} .	112
Figura 85. Estrutura proposta de A_{731} .	112
Figura 86. Reação de acetilação de A_{731} .	113
Figura 87. Espectro de RMN ^1H do derivado acetilado de A_{731} . (500 MHz, CDCl_3)	114
Figura 88. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A_{731} . (125 MHz, CDCl_3)	114
Figura 89. Espectro de massas por ionização po <i>electrospray</i> de $A_{731}\text{Ac}$.	115
Figura 90. Espectro de UV de A_{411} (cayaponosídeo A1). (CHCl_3)	116
Figura 91. Espectro de DC de $A_{411}\text{Ac}$ (cayaponosídeo A1 acetilado)	116
Figura 92. Projeção para sistemas rígidos de enonas para o composto A_{411} (cayaponosídeo A1).	117
Figura 93. Espectro de UV de A_{517-26} (cayaponosídeo B4) (MeOH)	118
Figura 94. Espectro de DC de A_{517-26} (cayaponosídeo B4)	118
Figura 95. Projeção no quadrante para compostos aromáticos de A_{517-26} (cayaponosídeo B4).	119
Figura 96. Espectro de UV de A_{5241} (cayaponosídeo D) (CHCl_3)	120
Figura 97. Espectro de DC de $A_{5241}\text{Ac}$ (cayaponosídeo B4 acetilado)	120
Figura 98. Projeção no quadrante para compostos aromáticos de A_{5241} (cayaponosídeo D).	121

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Atribuição de dados de RMN da substância A ₄₁₁ (cayaponosídeo A1) (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅) e comparação com dados da literatura(*).....	53
Tabela 2. Atribuição dos dados de RMN de A ₄₁₁ Ac. (400 MHz, CDCl ₃).....	62
Tabela 3. Atribuição de dados de RMN de A ₅₁₇₋₂₆ (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅) e comparação com dados da literatura(*).	71
Tabela 4. Atribuição dos dados de RMN do derivado acetilado de A ₅₁₇₋₂₆ . (CDCl ₃ , 400 MHz).....	80
Tabela 5. Atribuição de dados de RMN de A ₅₂₄₁ e comparação com dados da literatura (*). (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	87
Tabela 6. Atribuição dos dados de RMN do derivado acetilado de A ₅₂₄₁ (cayaponosídeo D). (500 MHz, CDCl ₃).....	95
Tabela 7. Atribuição de dados de RMN de A ₇₃₁ e comparação com modelos da literatura (*). (400 MHz, Piridina- <i>d</i> ₅).....	104

LISTA DE ABREVIATURAS

δ = deslocamento químico

AcOEt = acetato de etila

CC = coluna clássica

CCD = cromatografia em camada delgada

CCDA = cromatografia em camada delgada analítica

CCDP = cromatografia em camada delgada preparativa

COSY = **C**orrelation **S**pectroscop**Y**

d = duplete

DCM = diclorometano

dd = duplo dublete

DEPTQ = **D**istortionless **E**nhancement by **P**olariton **T**ransfer

dl = duplete largo

dm = duplo multiplete

EM = **E**spectrometria de **M**assas

EMAR = **E**spectrometria de **M**assas de **A**lta **R**esolução

ESI = ***E**lectro **S**pray **I**onization*

Gli = β -D-Glicopiranosídeo

HMBC = **H**eteronuclear **M**ultiple **B**ound **C**orrelation

HMQC = **H**eteronuclear **M**ultiple-**Q**uantum **C**orrelation

HSQC = **H**eteronuclar **S**ingle **Q**uantum **C**oherence

Hz = Hertz

IMPACT-HMBC = **IMP**roved and **Acc**elerated **C**onstant-Time **H**eteronuclear **M**ultiple-**B**ound **C**orrelation

IV = infravermelho

J = constante de acoplamento

m = multipleteo

m/z = relação massa-carga

Me = metila

MeOH = metanol

MHz = Mega Hertz

NOEDIFF = **N**uclear **O**verhause **E**ffect **D**IFFerence spectroscopy

NOESY = **N**uclear **O**verhause **E**ffect **S**pectroscop**Y**

R_f = Fator de retenção

Rham = Ramnosídeo

RMN = ressonância magnética nuclear

s = simpleto

$s/$ = simpleto largo

t = tripleto

TOCSY = **T**Otal **C**orrelation **S**pectroscop**Y**

UV = ultravioleta

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
2. Objetivos.....	15
2.1. Objetivo geral	15
3. Revisão da literatura	16
3.1. Cucurbitaceae	16
3.2. Cucurbitacinas.....	16
3.3. Constituintes químicos e atividades biológicas e farmacológicas da família Cucurbitaceae	20
3.4. Propriedades quirópticas	37
3.4.1. Luz plano-polarizada.....	37
3.4.2. Dicroísmo Circular.	40
3.5. O gênero <i>Siolmatra</i>	44
3.6. <i>Siolmatra brasiliensis</i> (Cong.) Baill.	44
3.6.1. Classificação científica de <i>Siolmatra brasiliensis</i>	45
4. Materiais e métodos.....	46
4.1. Materiais	46
4.2. Equipamentos.....	46
4.3. Material vegetal	46
4.4. Preparação do extrato	47
4.5. Processamento do extrato.....	47
4.5.1. Fracionamento de SBEBH.....	47
4.5.2. Fracionamento de SBSA.....	47
5. Resultados e discussão	50
5.1. Triterpenóides isolados de <i>S. brasiliensis</i>	50
5.2. Elucidação estrutural das substâncias isoladas.	51
5.2.1. Elucidação estrutural da substância A ₄₁₁ (cayaponosídeo A1) (24 mg).....	51
5.2.2. Elucidação estrutural da substância A ₅₁₇₋₂₆ (cayaponosídeo B4) (13 mg).	69
5.2.3. Elucidação estrutural da substância A ₅₂₄₁ (cayaponosídeo D) (12 mg).....	86
5.2.4. Elucidação estrutural da substância A ₇₃₁ (30 mg).....	102
5.3. Determinação da configuração absoluta dos triterpenóides isolados de <i>S. brasiliensis</i>	115
5.4. Dados espectrométricos das substâncias isoladas.	122
6. Conclusões	123
7. Referências bibliográficas	124

1. Introdução

Desde tempos antigos, o homem busca meios para alívio e cura de enfermidades explorando a natureza. A história do desenvolvimento das civilizações é repleta de exemplos da utilização dos produtos naturais na medicina, controle de pestes e mecanismos de defesa, dando destaque à civilização egípcia, greco-romana e chinesa. No Brasil não foi diferente, pois seu descobrimento está diretamente ligado ao comércio de produtos naturais como as especiarias e o pau-brasil (*Cesalpinia echinata*) usado para se obter um corante de cor vermelha usado para tingir roupas e como tinta para escrever (VIEGAS *et al*, 2006).

A interação com os povos primitivos e indígenas, os quais tinham um enorme conhecimento das propriedades das plantas, foi um dos principais fatores para o descobrimento de substâncias tóxicas ou medicamentosas da natureza, como os curares que eram drogas obtidas de diversas espécies de *Strychnos* e *Chondodendron* americanas e africanas, utilizadas para produzir flechas para caça e pesca (VIEGAS *et al*, 2006).

O Brasil possui uma vasta diversidade de fauna e flora e é detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, logo, possui um rico potencial de pesquisa na química de produtos naturais. A química de produtos naturais é uma das mais antigas e que agrega hoje, o maior número de pesquisadores no Brasil (PINTO *et al*, 2002).

Detentor de vários ecossistemas e biomas diferentes (**Figura 1**), o Brasil tem um potencial muito grande na pesquisa de produtos naturais. Explorar de forma consciente e eficaz esses biomas, juntamente com as informações obtidas com os povos nativos diante de seu conhecimento sobre as plantas medicinais de cada região (etnobotânica) são fatores importantes para que a pesquisa com produtos naturais tenha êxito nas suas buscas.

A realização da pesquisa na área da fitoquímica deve ser realizada juntamente com a indústria consumidora de substâncias bioativas que acarretará na geração de informações para a obtenção de maneira ecologicamente correta dos metabólitos secundários de interesse, que posteriormente serão repassados ao setor produtivo. Assim, ocorrerá a promoção de uma valorização da biodiversidade juntamente com a conservação de espécies que são passíveis de extinção,

fomentada pelo desenvolvimento de novos sistemas de produção adequados (PIMENTEL *et al*, 2010).



Figura 1. Biomas brasileiros.

Fonte: <http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/arquivos/biomas.jpg> acessada em 02/12/2013.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

i. Efetuar o estudo fitoquímico de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill. (Cucurbitaceae) visando o isolamento e elucidação estrutural de metabólitos secundários majoritários.

2.2. Objetivos específicos

- i. Efetuar o fracionamento cromatográfico do extrato hidroetanólico do caule de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill (Cucurbitaceae) a fim de se isolar constituintes químicos da espécie;
- ii. Elucidar as estruturas das substâncias isoladas por meio de métodos físicos de análise (RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, EM, UV e DC);
- iii. Preparar derivados para auxiliar na elucidação estrutural;
- iv. Relacionar a presença dos compostos isolados com a propriedade antidiabética apresentada pelo extrato bruto hidroetanólico da espécie.

3. Revisão da literatura

3.1. Cucurbitaceae

Cucurbitaceae compreende uma família de grande importância econômica devido a suas frutas e legumes mundialmente comercializados como o melão (*Cucumis melo* L.), melancia (*Citrullus lanatus*), abóbora (gênero *Cucurbita*), pepino (*Cucumis sativus*), chuchu (*Sechium edule*), entre outros. A família compreende cerca de 118 gêneros e 825 espécies (JEFFREY, 2005) distribuídas nos trópicos úmidos ou áridos do Velho e Novo mundo, especialmente em florestas úmidas da América do Sul e florestas, campos e savanas da África, com espécies bem adaptadas à áreas desérticas deste continente. Nas Américas são citados 53 gêneros nativos com aproximadamente 325 espécies (LIMA, 2010). No Brasil, as cucurbitáceas estão representadas por cerca de 200 espécies distribuídas em 30 gêneros (BARROSO *et al*, 1978).

As cucurbitáceas são caracterizadas por serem trepadeiras herbáceas ou lenhosas, perenes ou anuais, raramente arbustos (*Acanthosicyos*) ou árvores (*Dendrosicyos*), com tubérculos subterrâneos ou superficiais que se formam pelo entumescimento do hipocótilo (LIMA, 2010).

3.2. Cucurbitacinas

Na família das cucurbitáceas, é comum a ocorrência de *cucurbitacinas* que são, por definição, triterpenos altamente oxigenados com esqueleto biogeneticamente incomum, 19(10→9β)-abeo-10α-lanost-5-eno (*cucurbitano*) . (Figura 2) (HIMENO *et al*, 2005).

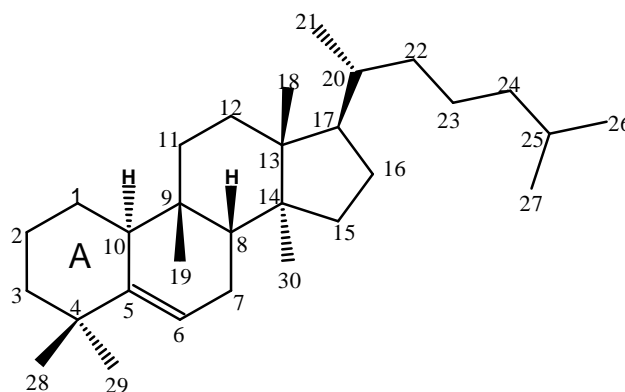


Figura 2. Esqueleto 19(10→9β)-abeo-10α-lanost-5-eno (*cucurbitano*) (HIMENO *et al*, 2005).

As cucurbitacinas são estruturalmente classificadas de acordo com as funções presentes no anel A, modificações da cadeia lateral e considerações em relação à sua estereoquímica. O padrão de oxigenação inclui grupos carbonila ou hidroxila no carbono 3, além das possíveis oxigenações nos carbonos 2, 7, 11, 16, 19, 20, 22 e 25 (VALENTE, 2004).

As cucurbitacinas, como o nome sugere, foram isoladas primariamente da família Cucurbitaceae, mas posteriormente foram encontradas, livres ou glicosiladas, em plantas da família Begoniaceae, Brassicaceae, Chrysobalanaceae, Cruciferaeae, Datisceaeae, Desfontainiaceae, Elaeocarpaceae, Flacourtiaceae, Lauraceae, Liliaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Saxifragaceae, Scrophulariaceae, Sterculiaceae e Thymelaeaceae. Recentemente também foram isoladas cucurbitacinas de espécies de cogumelos (*Russula* e *Hebeloma*) e até em moluscos sem concha (dorid nudibranchs) (CHEN *et al*, 2005) (VALENTE, 2004).

As primeiras agliconas isoladas tiveram o nome dado com a palavra cucurbitacina seguida de uma letra, de acordo com a cronologia do isolamento e elucidação estrutural das mesmas, porém hoje há uma grande variedade de substâncias com diferentes nomes (VALENTE, 2004).

A biossíntese das cucurbitacinas ocorre pela via do mevalonato, tendo como precursor o esqualeno que é formado por um acoplamento cauda-cauda de duas unidades de farnesil pirofostato (C-15). O acoplamento (**Figura 3**) que se dá por uma adição eletrofílica, produz um carbocátion terciário que é estabilizado pela perda de um próton do carbono 1, estabilizando a carga e formando um ciclopropano (pré-esqualeno). A saída do grupo pirofosfato gera um carbocátion primário, muito instável, que é estabilizado pela troca 1,3 de grupamento alquila que gera um carbocátion terciário (mais estável). O rompimento da ligação entre o carbono 1 e 2' produz um alceno e um cátion alílico bem estável. A reação termina com um ataque de um hidreto (proveniente do NADPH) ao carbono 1 formando assim o esqualeno (DEWICK, 2002).

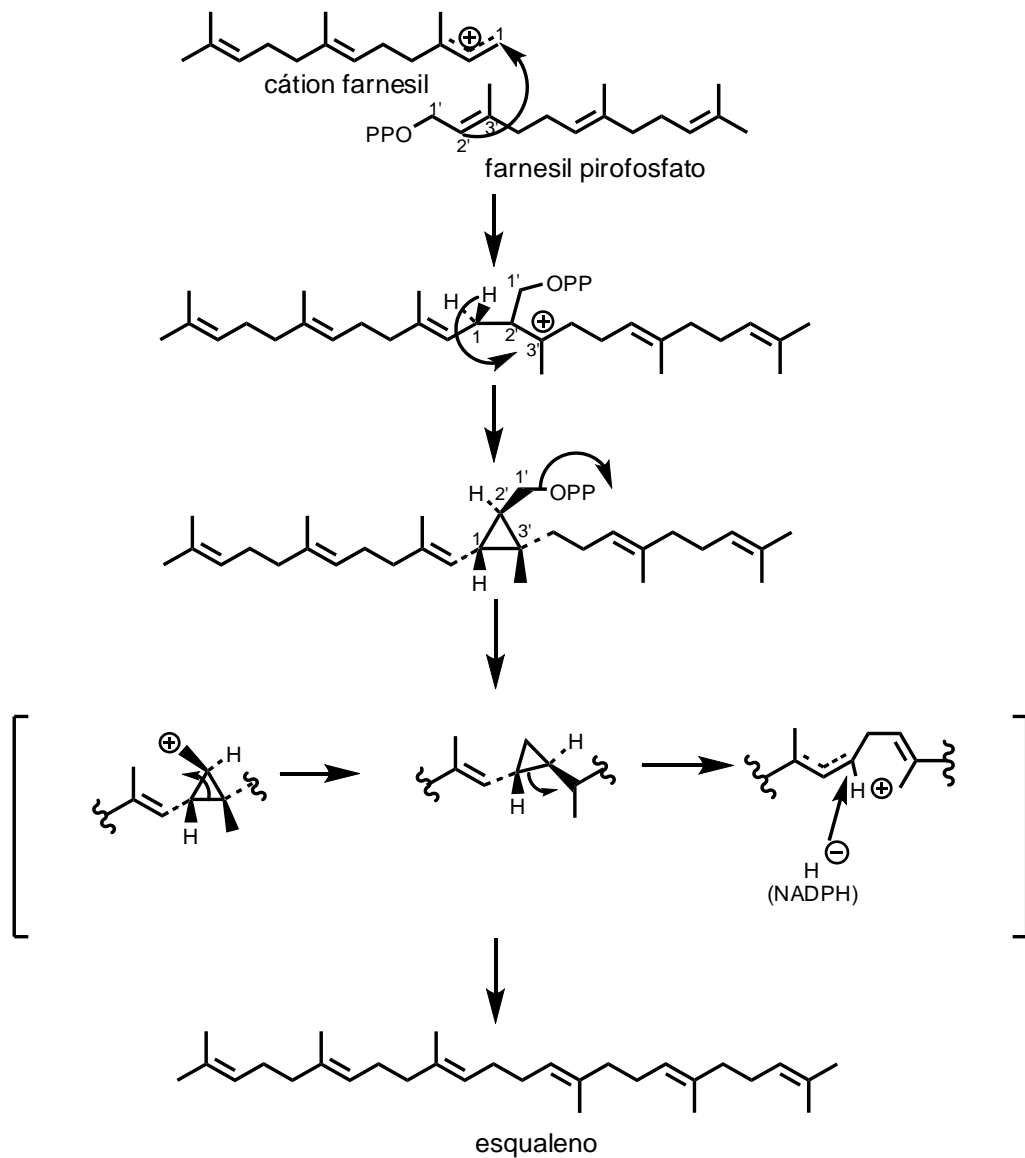


Figura 3. Rota biossintética de formação do esqualeno (DEWICK, 2002).

A oxidação do esqualeno (via $O_2 + NADPH$) gera o óxido esqualeno que sofre diversas ciclizações sucessivas, quando devidamente posicionado na superfície da enzima, formando o cátion protosterílico 1 (DEWICK, 2002) (**Figura 4**).

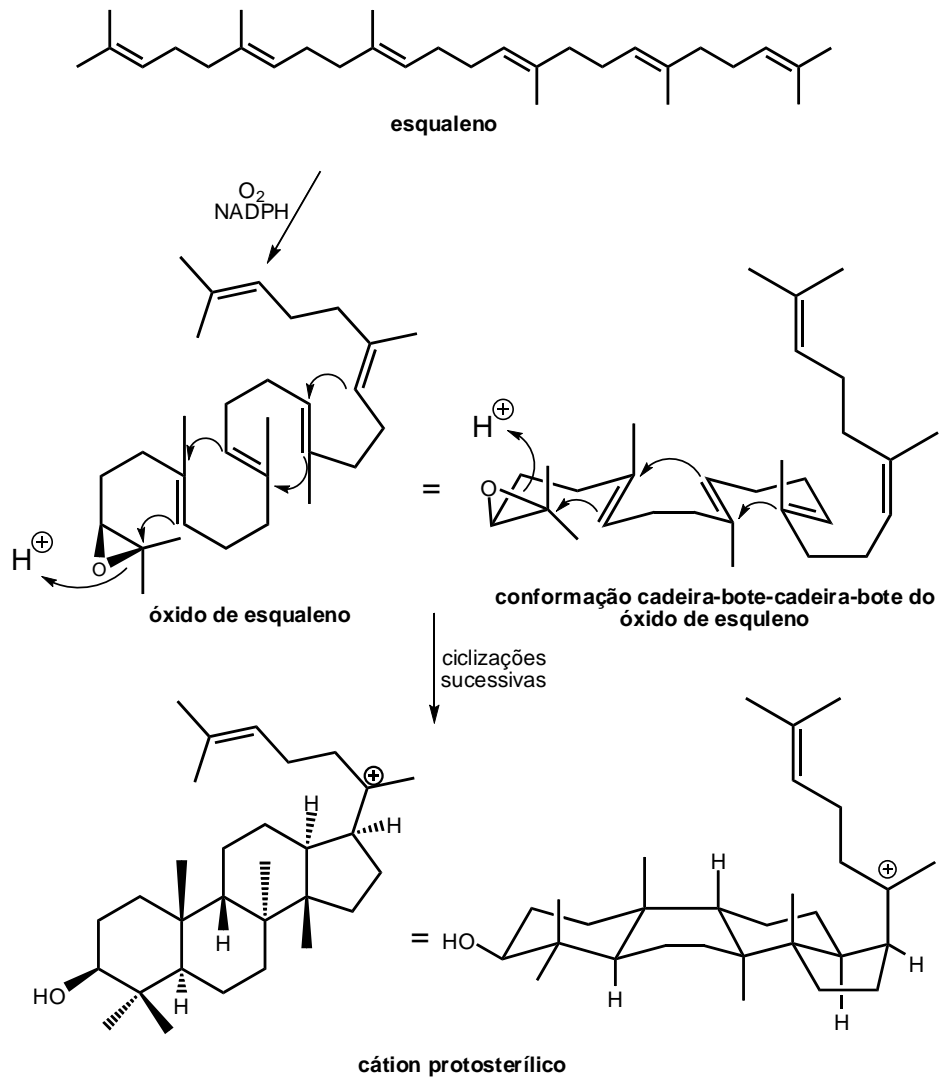


Figura 4. Formação do cátion protosterílico 1. (DEWICK, 2002)

Após a formação do cátion protosterílico 1, uma sequência de trocas [1,2] de metilas e hidretos acontecem finalizando o ciclo com a perda de um próton na posição 6 formando uma dupla ligação na posição 5,6 (**Figura 5**). A partir desse ponto da biossíntese, ocorrem variadas modificações oxidativas (como a inserção de grupamentos: -OH, C=O, -OAc, -COOH, -COOR, etc.) na molécula a fim de se formar as mais variadas cucurbitacinas (DEWICK, 2002).

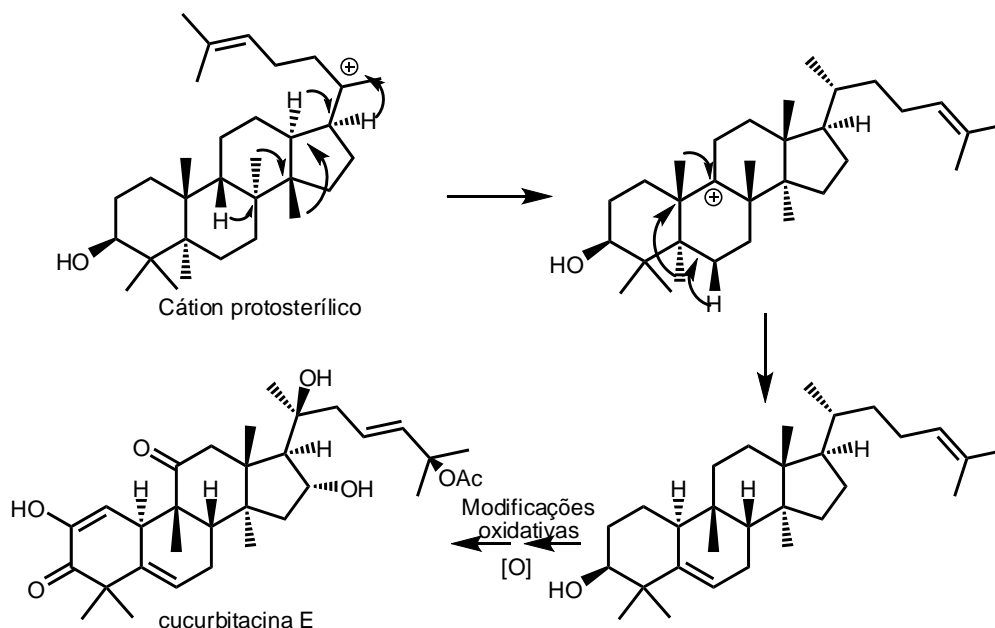


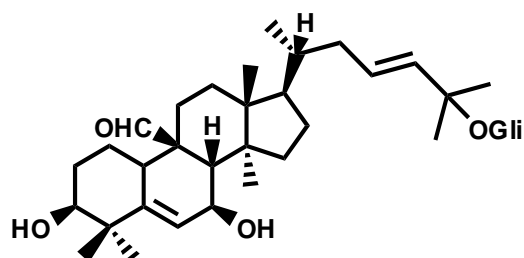
Figura 5. Formação da cucurbitacina E. (DEWICK, 2002)

As cucurbitacinas apresentam elevada citotoxicidade e um grande espectro de atividades biológicas. Tiveram grande destaque na criação de drogas anticâncer na década de 60, mas seu potencial de aplicação foi prejudicado devido a sua citotoxicidade inespecífica. Além da citotoxicidade, apresentam propriedades purgativas, anti-inflamatórias, antifertilizantes, fagorepelente, hepatoprotetora, curativa e antimicrobiana, entre as mais importantes (CHEN *et al*, 2005) (VALENTE, 2004).

3.3. Constituintes químicos e atividades biológicas e farmacológicas da família Cucurbitaceae

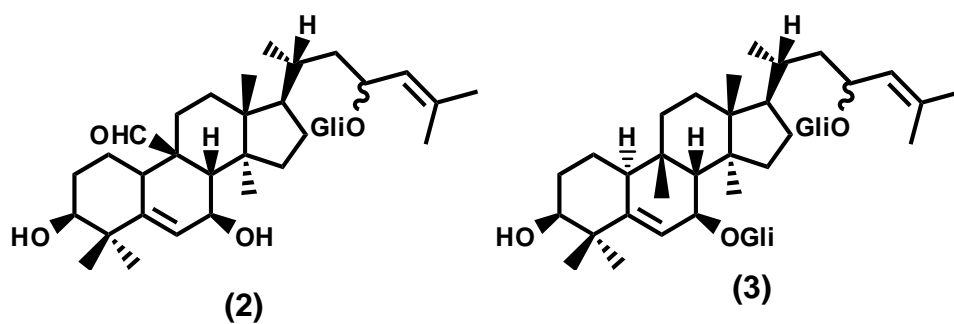
Há vários relatos de isolamento e elucidação estrutural de cucurbitacinas e saponinas em espécies de cucurbitáceas, ambos de esqueleto triterpênico, testados para diversos fins farmacológicos e biológicos. Os estudos químicos e farmacológicos feitos com a espécie *Momordica charantia* L. são os mais numerosos dentro da família Cucurbitaceae. Estudos etnobotânicos confirmam seu uso para os mais variados fins farmacológicos como: antidiabético, abortivo, contraceptivo, antimalárico, dor abdominal, pedra nos rins, laxativo, pneumonia, psoríase, reumatismo, febre entre outras (GROVER & YADAV, 2004). Devido a seu uso ser difundido no mundo inteiro, estudos químicos foram executados por vários pesquisadores e a maioria descreve o isolamento e elucidação estrutural de triterpenoides com esqueleto cucurbitano (cucurbitacinas) e saponinas triterpênicas.

MA *et al* (2010), descrevem o isolamento de cinco cucurbitacinas de *M. charantia*, sendo uma inédita na literatura, o momordicosídeo X (1) que foi testada quanto a sua capacidade de secreção de insulina *in vitro*, apresentando atividade moderada.



(1)

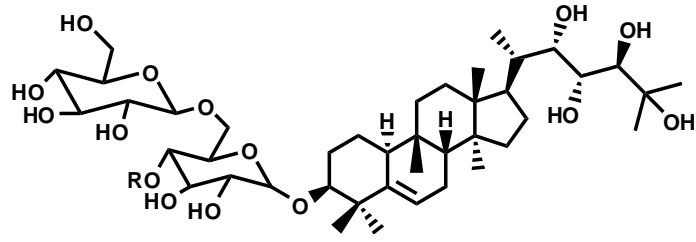
KELLER *et al* (2011), descrevem o isolamento de cinco triterpenoides de *M. charantia* e os testa frente a estimulação de secreção de insulina *in vitro*, verificando que os compostos momordicina II (2) e Kuguaglicosídeo G (3) em doses de 10 e 25 µg/mL estimularam de maneira significativa a secreção de insulina em comparação com o veículo, DMSO em tampão de Krebs Ringer (solução que mantém o pH e balanço osmótico do meio e fornece água e íons inorgânicos para as células).



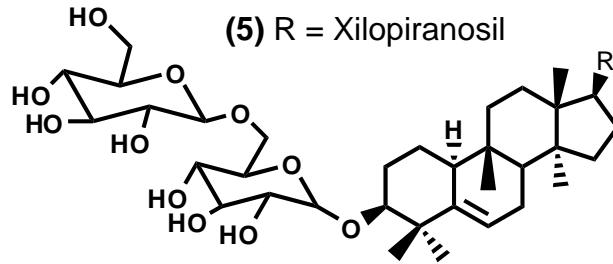
(2)

(3)

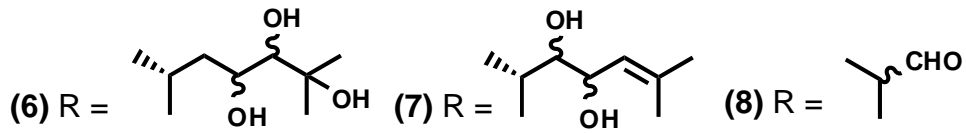
RAMAN & LAU (1996), revisam os aspectos farmacológicos de *M. charantia* e associaram a presença de glicosídeos esteroidais (saponinas) dos frutos, sementes e vinhas da espécie com a sua atividade antidiabética. A fração rica em saponinas [contendo momordicosídeos A (4), B (5), C (6), D (7), E (8), F1 (9), F2 (12), G (11), I (10), K (13), L (14) e momordicinas I (15), II (16) e III (17)] apresentou efeitos insulinomiméticos *in vitro*.



(4) R = H



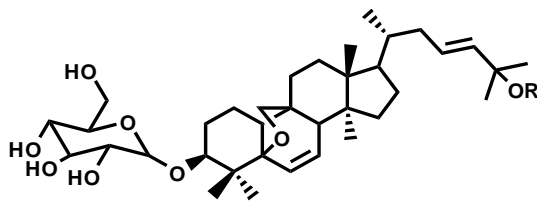
(5) R = Xilopiranosil



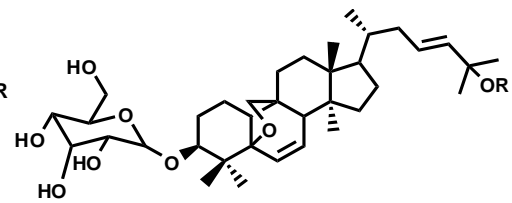
(6) R =

(7) R =

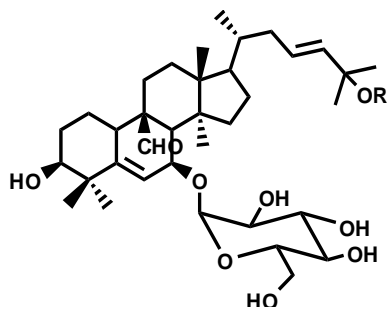
(8) R =

(9) R = CH₃

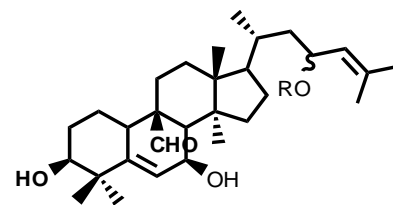
(10) R = H

(11) R = CH₃

(12) R = H

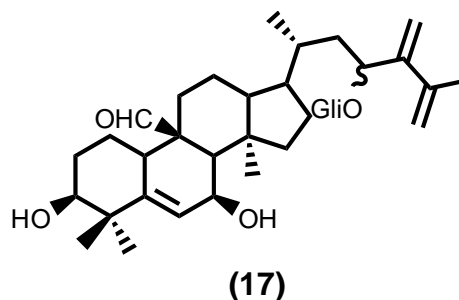
(13) R = CH₃

(14) R = H



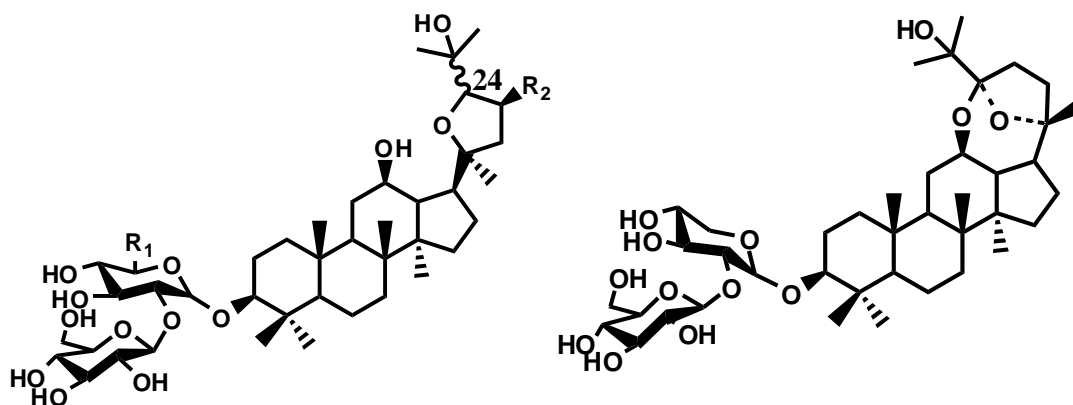
(15) R = H

(16) R = Gli



Outra espécie muito estudada na família Cucurbitaceae é *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino que tem uso na medicina popular para os mais variados fins, como reduzir os níveis de colesterol, regular a pressão sanguínea, fortalecer o sistema imunológico, tratar bronquites, gastrites crônicas e reduzir inflamações (LIU *et al*, 2004).

LIU *et al*, (2004) descrevem o estudo químico das partes aéreas de *G. pentaphyllum* e o isolamento de cinco novas saponinas do tipo ocotilona, juntamente com mais dez saponinas de esqueleto damarano. As cinco novas saponinas foram nomeadas de Gynosídeos A-E (18 – 22).



(18) $R_1 = H$; $R_2 = H$; 24S

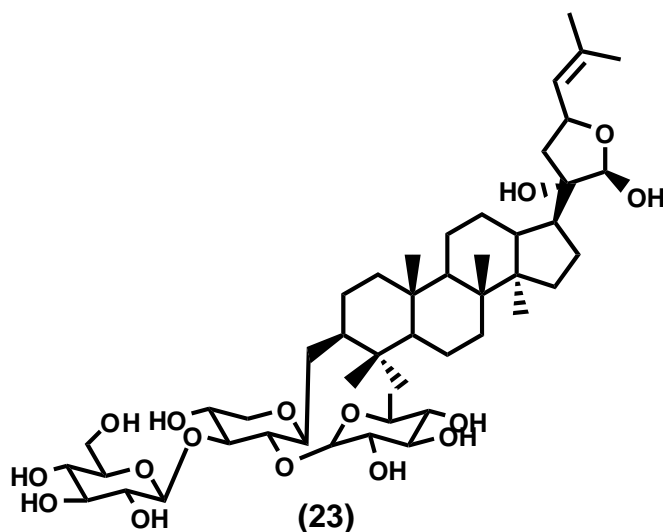
(19) $R_1 = CH_2OH$; $R_2 = H$; 24S

(20) $R_1 = H$; $R_2 = H$; 24R

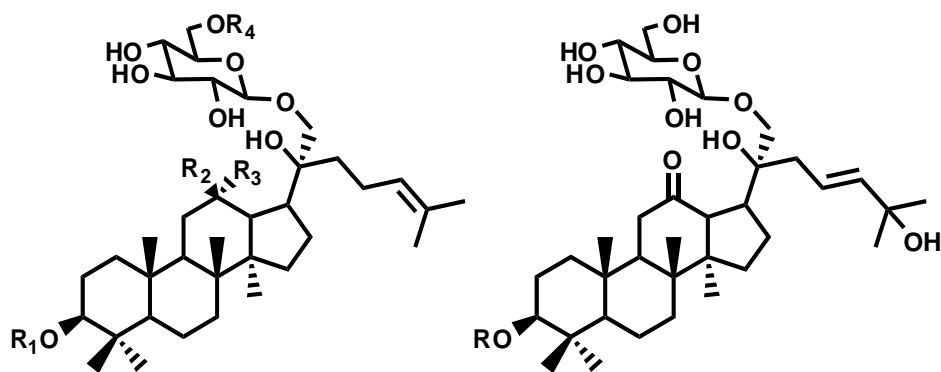
(21) $R_1 = H$; $R_2 = OH$; 24S

(22)

Estudos realizados por NORBERG *et al* (2004), descreveram o isolamento de uma saponina do tipo gypenosídeo da espécie *G. pentaphyllum*, nomeado de Phanosídeo (23), que promove liberação potencial de insulina em testes *in vitro* e *in vivo*.



Em outro estudo com *G. pentaphyllum*, KY *et al* (2010), descrevem o isolamento e elucidação estrutural de sete saponinas de esqueleto damarano, Gypenosídeos VN1 – VN7 (**24** – **30**), e as testa quanto sua citotoxicidez frente a quatro tipos de linhagens tumorais (pulmão, cólon, mama e ovário) onde todos os compostos apresentaram atividade moderada. Já frente à linhagem celular de leucemia promielocítica aguda os compostos (**24**), (**29**) e (**30**) foram fracamente ativos. As demais apresentaram menor atividade.

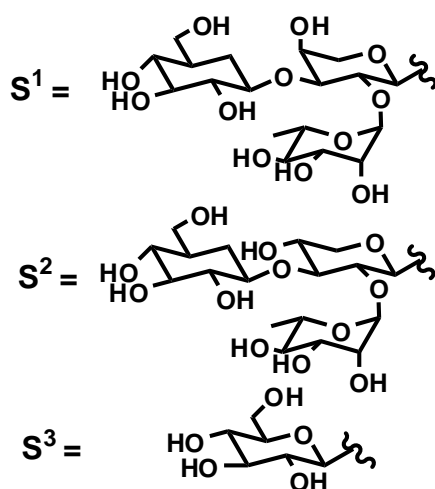
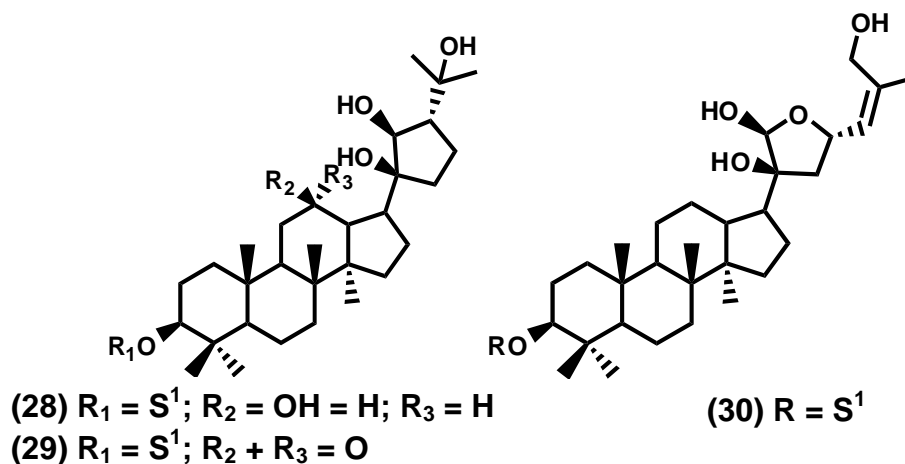


(24) $R_1 = S^1$; $R_2 = R_3 = H$; $R_4 = S^3$

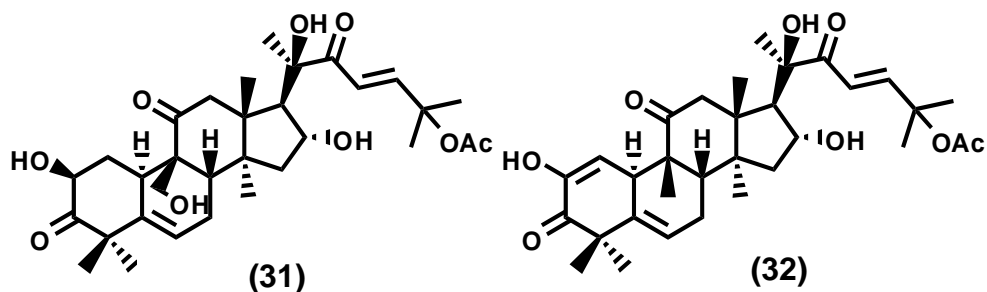
(25) $R_1 = S^1$; $R_2 + R_3 = O$; $R_4 = H$

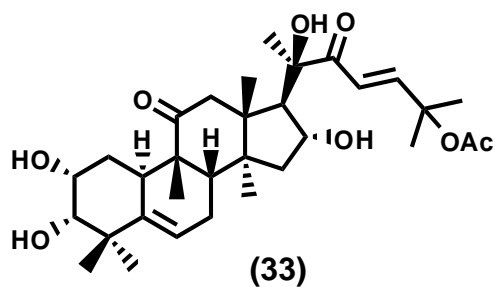
(26) $R_1 = S^2$; $R_2 + R_3 = O$; $R_4 = H$

(27)

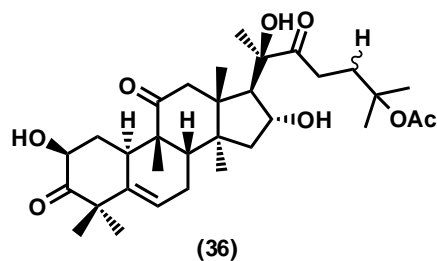
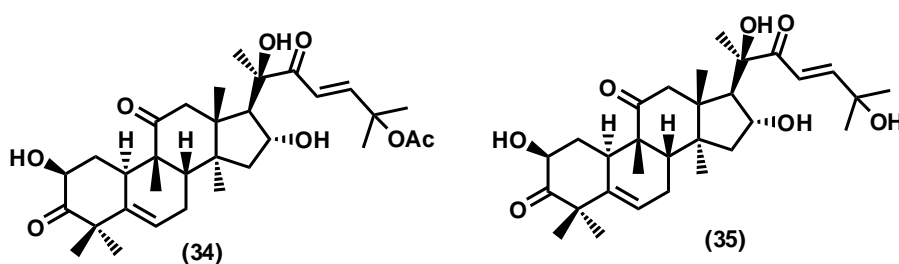


ALGHASHAM (2013) descreve num artigo de revisão uma série de cucurbitacinas e suas propriedades antitumorais promissoras. Dentre as várias citadas, a cucurbitacina A (31), E (32) e Q (33) apresentaram atividades significativas contra linhagem celulares de câncer de pulmão.

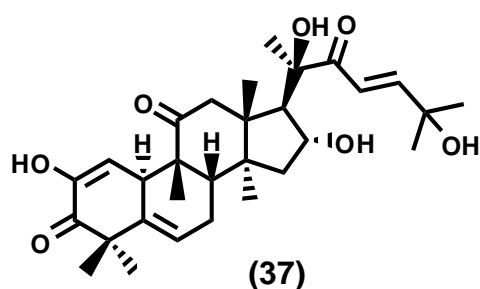




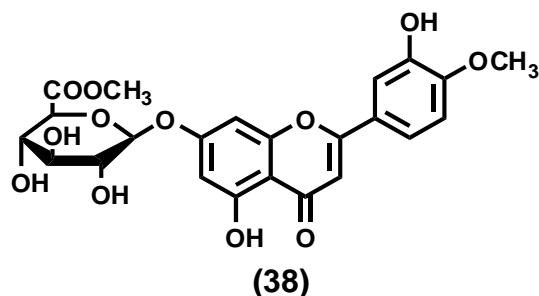
As cucurbitacinas B (34) e D (35) apresentaram efetiva ação contra linhagens celulares de leucemia e linfoma e a diidrocurcubitacina B (36) apenas apresentou ação contra leucemia.



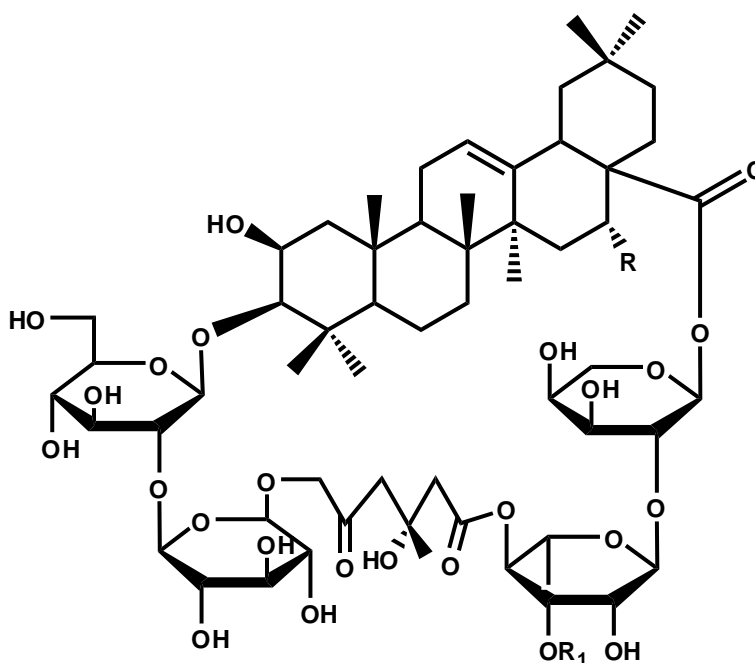
As cucurbitacinas B (34), E (32), D (35), I (37) e a diidrocurcubitacina B (36) apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de câncer de mama.



DU & CUI (2007) descreveram o isolamento de uma nova flavona glicosilada, o éster metílico de diosmetina-7-O-β-D-glucoronídeo (38) dos frutos de *Luffa cylindrica*.



LI *et al* (2012), estudaram a espécie *Actinostemma lobatum* MAXIM e descrevem o isolamento de seis bisdesmosídeos e os testam frente a inibição do crescimento de células de câncer humano (carcinoma, pulmão e câncer gástrico) onde os compostos lobatosídeo L **(39)**, dexilosiltubeimosídeo III **(40)** e tubeimosídeo III **(41)** mostraram atividade significativa.

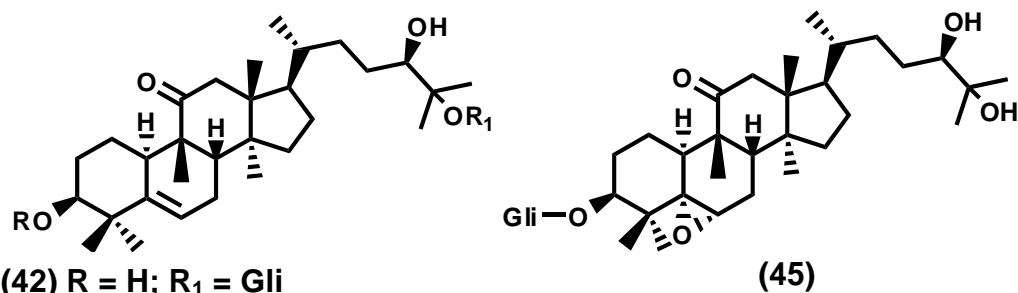


(39) R = OH; R₁ = Gli

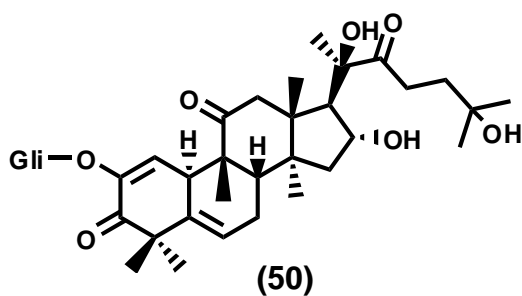
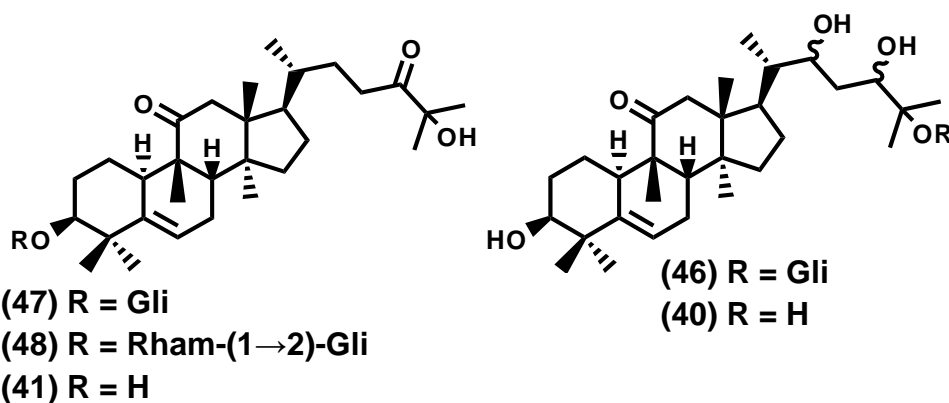
(40) R = OH; R₁ = H

(41) R = OH; R₁ = Xil

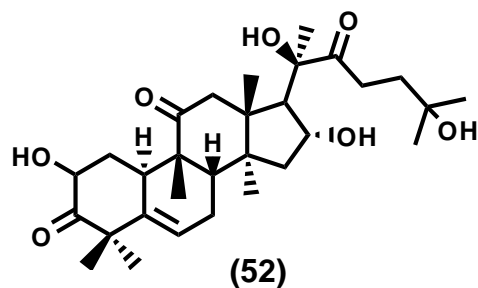
UKIYA *et al* (2002), descreveram o isolamento de nove triterpenóides com esqueleto cucurbitano das raízes de *Bryonia dioica* Jacq., dos quais sete são inéditos na literatura, e os testam quanto a sua atividade anti-inflamatória e efeitos anti tumorais. Todos os compostos apresentados, bryoniosídeos A-G **(42-48)**, cabenosídeo D **(49)** e bryoamarida **(50)** e as agliconas dos bryanosídeo A **(51)**, E **(40)** e F **(41)**, apresentaram atividade anti-inflamatória significativa frente às formas testadas (inflamação induzida por 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol e ativação precoce de antígeno de vírus Epstein-Barr).



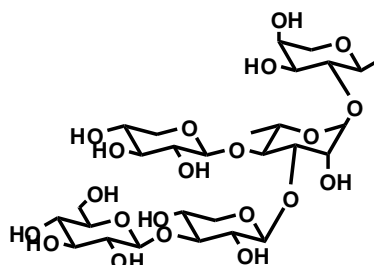
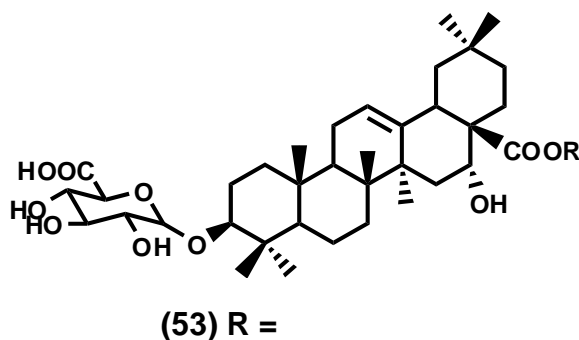
- (43) R = Rham-(1→2)-Gli; R₁ = H
- (44) R = Rham-(4-Ac)-(1→2)-Gli; R₁ = H
- (49) R = Gli; R₁ = H
- (51) R = R₁ = H



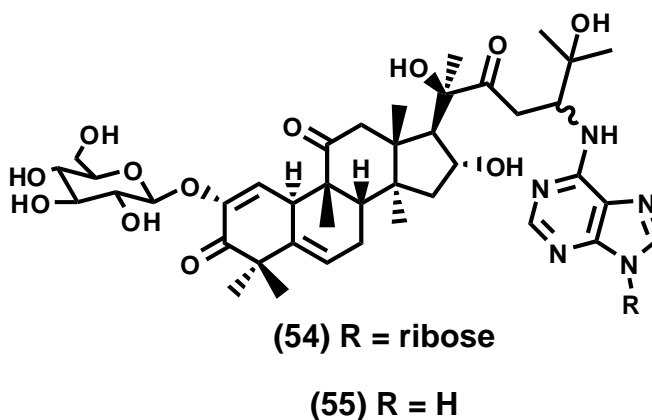
RECIO *et al* (2004), descreveram o isolamento de dois triterpenóides de esqueleto cucurbitano de um extrato com atividade anti-inflamatória das raízes de *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. Os compostos diidrocurbitacina B (**36**) e curbitacina R (**52**) foram testados em variados modelos experimentais de dor e inflamação apresentando resultados satisfatórios.



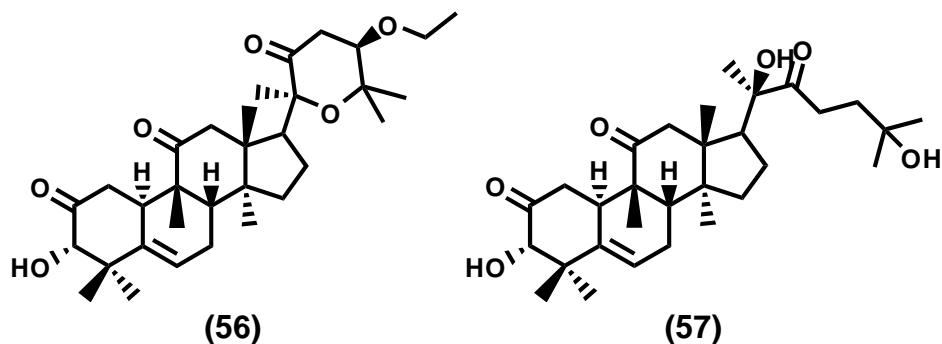
GAIDI *et al* (2000), descreveram o isolamento e elucidação estrutural de uma nova saponina triterpênica majoritária, foetidissimosídeo B **(53)**, das raízes de *Cucurbita foetidissima* H. B. K. e testou-a quanto a sua habilidade de potencializar a citotoxicidade *in vitro* da cisplatina em células humanas de câncer de cólon, não apresentando atividade significativa.



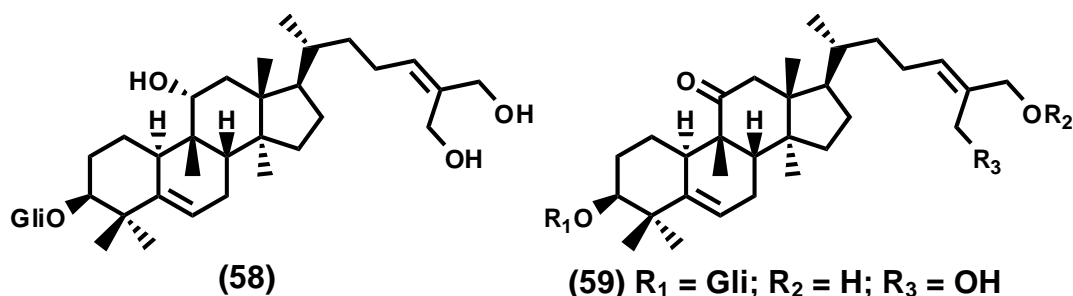
WANG *et al* (2008) descreveram o isolamento de dois triterpenóides de esqueleto cucurbitano, cucurbitaglicosídeo A **(54)** e B **(55)** que apresentaram citotoxicidade contra células de carcinoma epitelial.



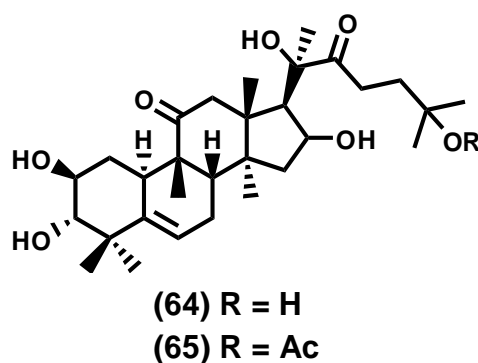
Demonstrando a variedade estrutural dos triterpenóides de Cucurbitaceae, HUSSEIN *et al* (2004) descreveram o estudo de *Dendrosicyos socotrana* Balf.f. e o isolamento de uma isocucurbitacina com cadeia lateral muito incomum, Dendrocyna (56), juntamente com o isolamento da isocucurbitacina R (57).



CHEN *et al*, (2005), descreveram o estudo fitoquímico de *Hemsleya jinfushanensis* L. T. Shen e o isolamento e elucidação estrutural de quatro novos glicosídeos com esqueleto cucurbitano, jinfushanosídeos A – D (58 – 61), juntamente com quatro cucurbitacinas já descritas na literatura científica, carnosiflosídeo I (62), scandenosídeo R8 (63), diidrocurbitacina F (64) e 25-O-acetil-23,24-diidrocurbitacina F (65). Os compostos (58 – 64) foram testados quanto a sua capacidade de inibir agregação plaquetária em coelhos, onde os compostos (58), (62), (63) e (64) apresentaram uma fraca inibição.

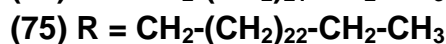
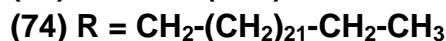
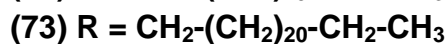
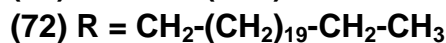
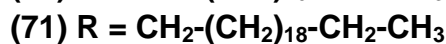
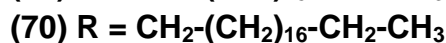
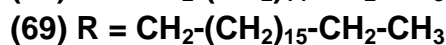
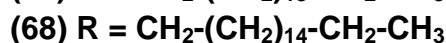
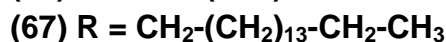
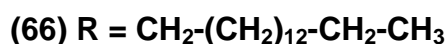
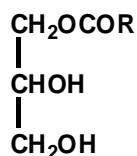


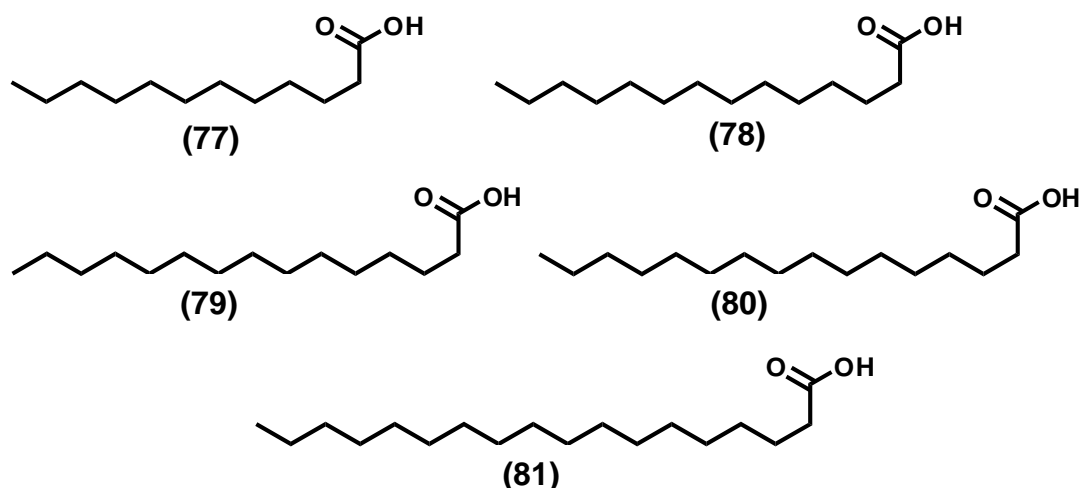
- (59) $R_1 = \text{Gli}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{OH}$
 (60) $R_1 = \text{Gli}$; $R_2 = \text{Gli}$; $R_3 = \text{OH}$
 (61) $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{Gli}$ (6-1) Gli ; $R_3 = \text{OH}$
 (62) $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{Gli}$ (6-1) Gli ; $R_3 = \text{H}$
 (63) $R_1 = \text{Gli}$; $R_2 = \text{Gli}$; $R_3 = \text{H}$



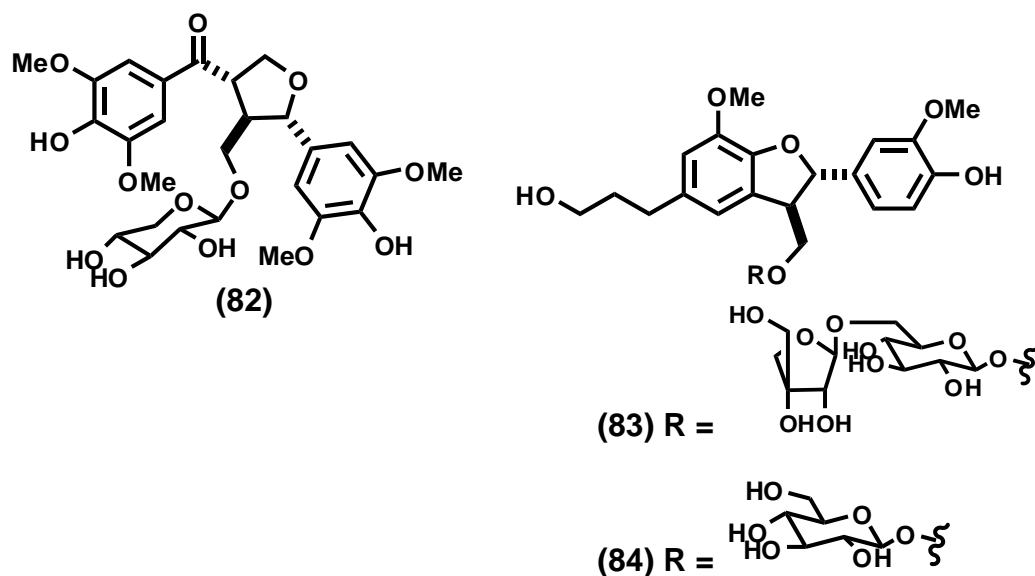
- (64) $R = \text{H}$
 (65) $R = \text{Ac}$

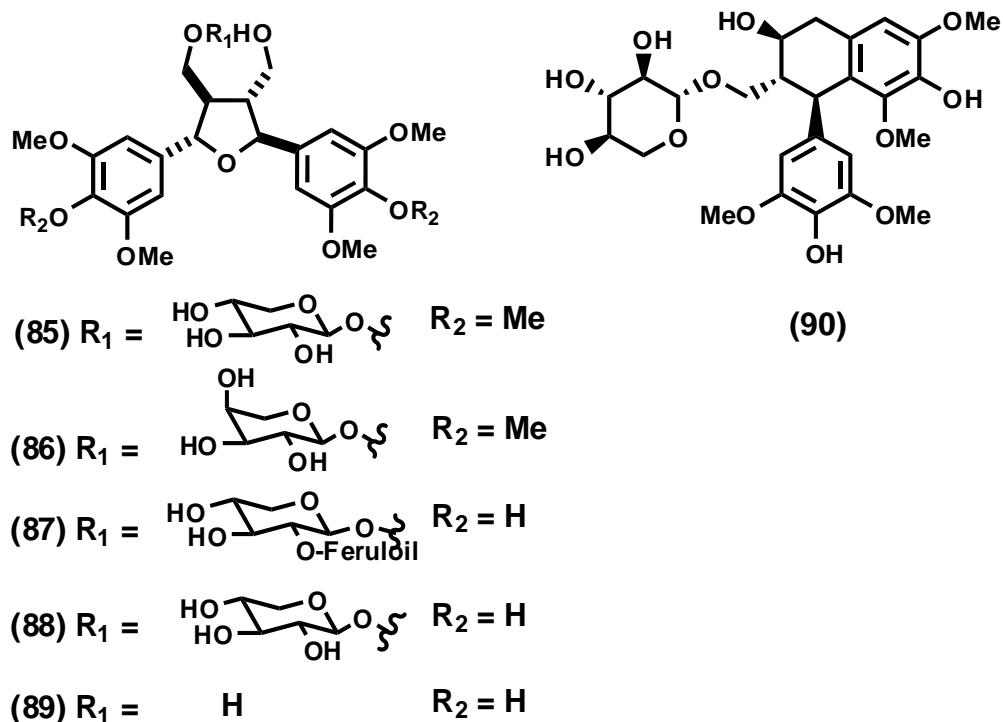
HERNÁNDEZ-GALICIA *et al* (2007), descreveram o estudo fitoquímico do extrato apolar das raízes de *Ibervillea sonorae* Greene, com o isolamento de onze monoglicerídeos [1-monopalmitina **(66)**; 1-monomargarato de glicerila **(67)**; 1-monostearina **(68)**; 1-monononadecilato de glicerila **(69)**; 1-monoaraquidato de glicerila **(70)**; 1-monobehenato de glicerila **(71)**; 1-monotricosanoato de glicerila **(72)**; 1-monotetracosanoato de glicerila **(73)**; 1-monopentacosanoato de glicerila **(74)**; 1-monohexacosanoato de glicerila **(75)**; 1-monooctacosanoato de glicerila **(76)**] e cinco ácidos graxos [ácido láurico **(77)**; ácido mirístico **(78)**; ácido pentadecanóico **(79)**; ácido palmítico **(80)**; ácido esteárico **(81)**] juntamente com a atividade hipoglicemiante dos extrato DCM, das frações provenientes do extrato (F1 – F10 e SF1 – SF5), dos monoglicerídeos e dos ácidos graxos. A fração SF1 apresentou a maior atividade dentre os compostos testados (mais pronunciada que a tolbutamida usada como controle), os monoglicerídeos e ácidos graxos, isoladamente, não apresentaram atividade hipoglicemiante significativa, mas quando combinados em proporções iguais (75 mg: 75mg/Kg) a atividade é comparável com a atividade da fração SF1.



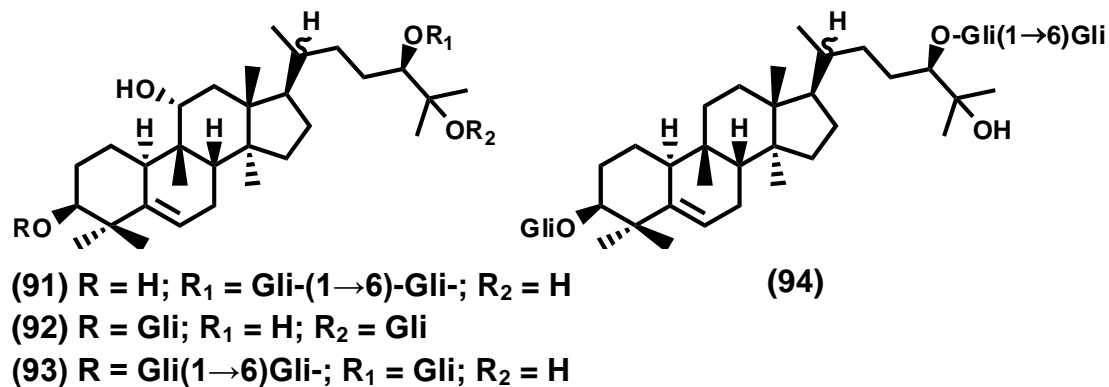


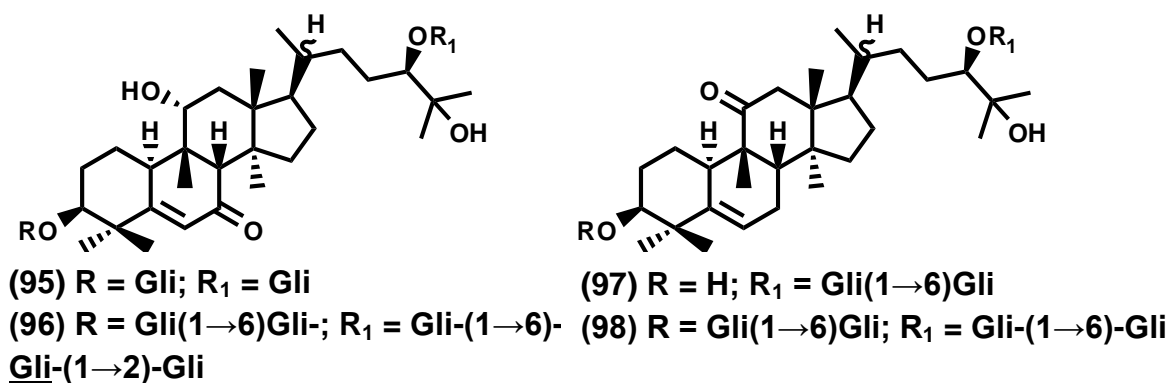
SU *et al* (2008) descreveram o estudo fitoquímico e isolamento de cinco novas lignanas glicosiladas, (8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-3, 5, 3', 5'-tetrametoxi-4, 4'-dihidróxi-7-oxolariciresinol-9'-*O*- β -D-xilopiranosídeo (**82**), álcool (7*S*, 8*R*)-diidrodeidroconiferílico-9-*O*- β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-glicopiranosídeo (**83**), (7*S*, 8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-4,4'-dimetoxihuazhongilexina 9-*O*- β -D-xilopiranosídeo (**85**), (7*S*, 8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-4,4'-dimetoxihuazhongilexina 9-*O*- α -L-arabinopiranosídeo (**86**) e (7*S*, 8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-huazhongilexina 9-*O*-(2-feruloil)- β -D-glicopiranosídeo (**87**), juntamente com quatro compostos conhecidos, álcool (7*R*, 8*S*)-diidrodeidrodiconiferílico 9-*O*- β -D-glicopiranosídeo (**84**), 9-*O*- β -D-xilopiranosídeo do icariol A2 (**88**), huazhongilexina (**89**) e nudiposídeo (**90**), das folhas de *Nealsomitra integrifoliola* (Cogn.) Hutch. Os compostos (**83**), (**84**), (**89**) e (**90**) apresentaram atividade anti-inflamatória fraca.



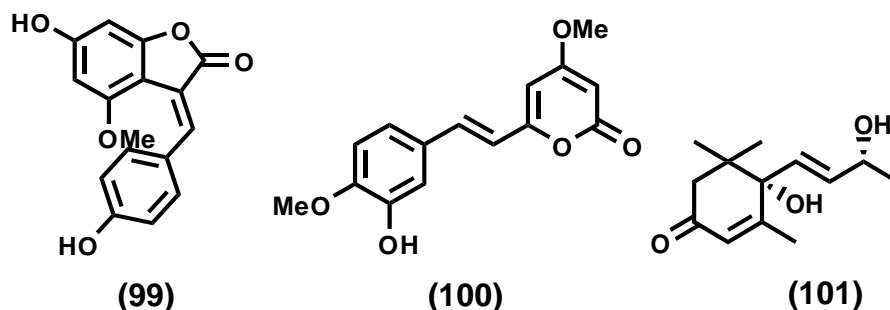


AKIHISA *et al* (2007) descrevem o estudo fitoquímico dos frutos de *Siraitia grosvenorii* (Swingle) Lu & Zhang e o isolamento de seis glicosídeos inéditos na literatura, mogrosídeo II B (91), 11-deoximogrosídeo III (92), 7-oxomogrosídeo II E (93), 7-oxomogrosídeo V (94), 11-oxomogrosídeo II A₁ (95) e 11-oxomogrosídeo IV A (96), e dois já descritos porém descritos de ocorrência natural pela primeira vez, mogrosídeo II A₁ (97) e mogrosídeo III A₂ (98). Os compostos foram testados quanto a sua inibição do antígeno precoce do vírus Epstein-Barr (herpesvírus humano 4) e todos apresentaram resultados satisfatórios, próximos ao controle (β -caroteno).

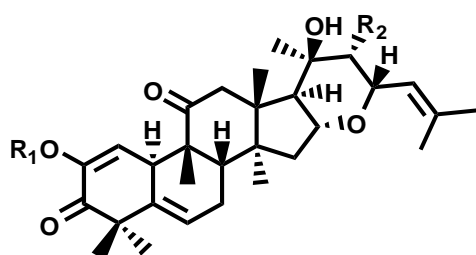
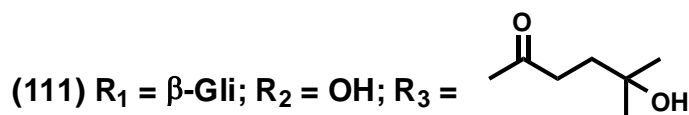
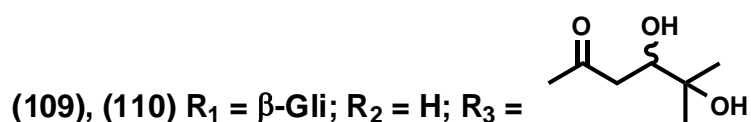
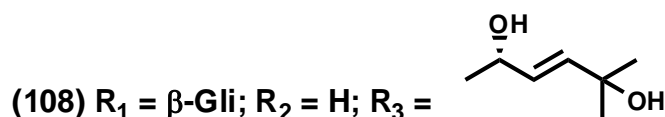
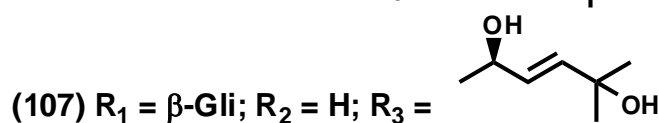
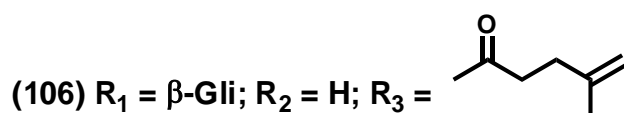
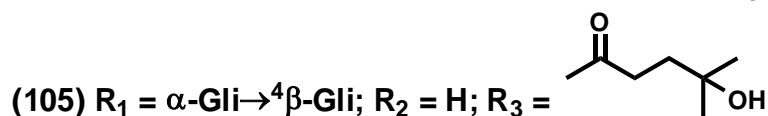
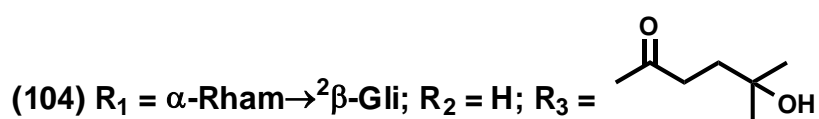
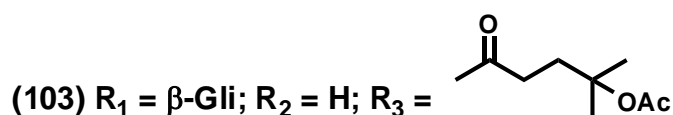
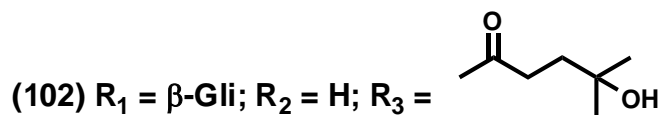
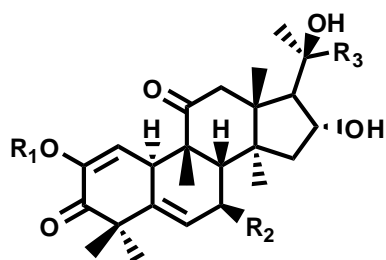




DAT *et al* (2010), promoveram o fracionamento biomonitorado do extrato metanólico das sementes de *Trichosanthes kirilowii* MAXIM. para a inibição do fator hipóxia-induzida – 1 (HIF-1) e fator nuclear κB (NF-κB), levando ao isolamento de uma isoaurona inédita rara, 4',6-dihidróxi-4-metóxiisoaurona (**99**), juntamente com mais três substâncias já descritas na literatura, cucurbitacina B (**34**), 6-(3-hidróxi-4-metóxiestiril)-4-metóxi-2H-piran-2-ona (**100**) e blumenol A (**101**). Os compostos isolados inibiram significativamente HIF-1 e NF-κB, sugerindo que a atividade de inibição de crescimento de células tumorais, presentes em *Trichosanthes kirilowii*, está associado com a inibição dos fatores HIF-1 e NF-κB.

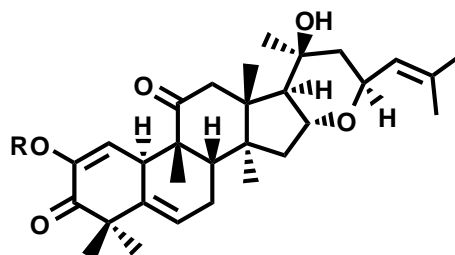


Ainda no gênero *Trichosanthes*, KANCHANAPOOM *et al* (2002), estudaram os frutos de *Trichosanthes tricuspidata* Lour. (Khe-Ka-Daeng em thailandes) e reportam o isolamento e elucidação estrutural de quatorze glicosídeos cucurbitanos (khekadaengosídeos A – E (**104-108**), F – J (**111 – 115**), M – N (**118 – 119**), cucurbitacina J 2-O-β-glicopiranosídeo (**109**) e cucurbitacina K 2-O-β-glicopiranosídeo (**110**)), um glicosídeo hexanorcucurbitano (khekadaengosídeo K (**116**)) e um glicosídeo octanorcucurbitano (khekadaengosídeo L (**117**)), sendo os compostos (**104-119**) inéditos na literatura científica, juntamente com dois glicosídeos cucurbitanos já descritos [cucurbitacina L 2-O-β-glicopiranosídeo (**102**) e cucurbitacina L 25-O-acetil-2-O-β-glicopiranosídeo (**103**)].



(112) $R_1 = \beta\text{-Gli}$; $R_2 = H$

(114) $R_1 = \beta\text{-Gli}$; $R_2 = OH$



(113) $R = \beta\text{-Gli}$

3.4. Propriedades quirópticas

Algumas substâncias possuem certas propriedades quirópticas, que provem da interação não destrutiva com radiação anisotrópica (luz polarizada), sendo que essas propriedades podem diferenciar duas substâncias que são enantiômeros. Este termo foi primeiramente introduzido por Lord Kelvin em 1894, e engloba as manifestações espectroscópicas de quiralidade que são: atividade óptica (que não necessita de centro cromofórico na molécula), dispersão óptica rotatória e dicroísmo circular, cujos efeitos são percebidos com a presença de um cromóforo vizinho a um centro assimétrico. O trabalho apresenta análises de dicroísmo circular das substâncias isoladas (**item 5.3.**, pp 115), o que gera a necessidade de se realizar uma breve introdução teórica sobre o experimento proposto.

3.4.1. Luz plano-polarizada

A luz possui propriedades corpusculares e é constituída por ondas eletromagnéticas que oscilam em todos os planos do espaço. A onda eletromagnética possui dois campos, o campo elétrico e o campo magnético, estes campos flutuam em planos perpendiculares um ao outro e em direção à propagação do feixe de luz (**Figura 6**). No dicroísmo circular leva-se em consideração apenas os efeitos associados com a componente elétrica da radiação (plano vertical) (ELIEK & WILEN, 1994).

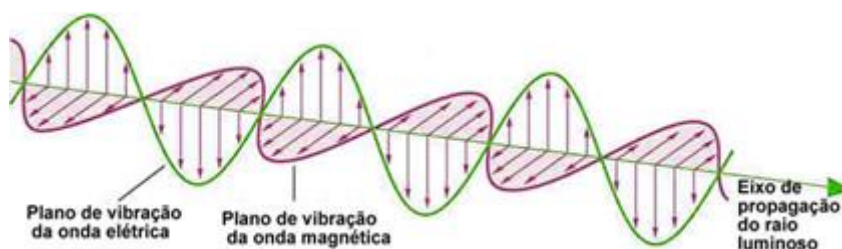


Figura 6. Eixo de propagação de raio luminoso.

Fonte: <http://www.alunosonline.com.br/upload/conteudo/images/onda-eletromagnetica.jpg>, acesso dia 26/06/2014.

A absorção de luz monocromática em um determinado comprimento de onda por uma substância produz transições eletrônicas em grupos na substância que apresentam como resposta uma curva de absorção *versus* comprimento de onda, denominado espectro de absorção no ultravioleta (UV).

Com a utilização de um filtro polarizador é possível selecionar ondas que oscilam em um único plano, conhecidas como luz plano-polarizada (**Figura 7**).



Figura 7. Luz plano polarizada: campo elétrico (E).

A polarização circular da luz resulta da sobreposição de duas ondas com a mesma amplitude, linearmente polarizadas, em planos perpendiculares, com diferença de fase entre si de 90° ou -90° (**Figura 8**).

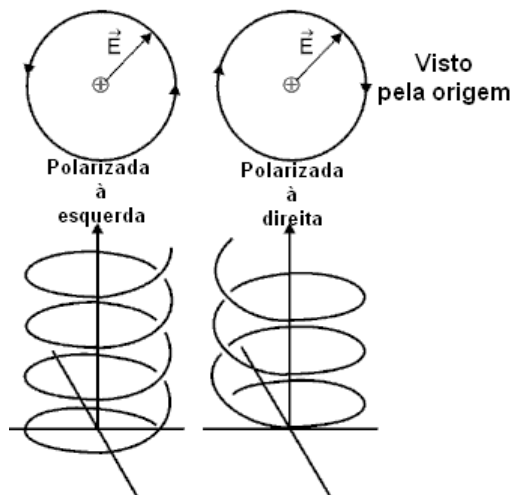


Figura 8. Luz circularmente polarizada à esquerda e à direita.

Enantiômeros possuem a característica de interagir de formas diferentes à luz circularmente polarizada à esquerda e a luz circularmente polarizada à direita. Se um raio de luz plano polarizada incidir sobre uma molécula que possui um centro opticamente ativo (quiral), os átomos ou grupos ligados a este centro, que

apresentam maior polarizabilidade, irão promover uma variação da velocidade com que os componentes vetoriais atravessam o meio, esta propriedade é nomeada de birrefringência circular. O ângulo de rotação é obtido pela equação de Fresnel (**Figura 9**), onde n_d e n_e são os índices de refração do meio em relação aos componentes vetoriais dextrógiro (direita) e levógiro (esquerda) e λ é o comprimento de onda empregado na análise. Se $n_d \neq n_e$ a molécula exibe atividade óptica (ELIEL & WILEN, 1994).

$$\alpha = \frac{\pi}{\lambda} (n_d - n_e)$$

Figura 9. Equação de Fresnel.

Logo, ao incidir um feixe de luz circularmente polarizado sobre um enantiômero e este promover o retardamento da componente vetorial, por exemplo, da esquerda mais que da direita, este enantiômero é tido como dextrógiro.

Se for registrada a curva de absorção com esta luz polarizada e medir o $\Delta n \times \lambda$, no máximo de absorção (λ_{max}) ocorre uma anomalia na curva e esta medida é chamada de curva de dispersão rotatória (DOR).

Se a substância opticamente ativa apresenta na estrutura um grupo cromofórico, esta é capaz de absorver luz circularmente polarizada e, sendo assim, irá produzir uma absorção desigual dos componentes vetoriais. O vetor resultante descreverá uma elipse alargada e se diz que a luz emergente está elípticamente polarizada (**Figura 10**). O valor medido de absorção elípticamente polarizada dextrógiro (A_d) ou levógiro (A_e) é conhecido como Dicroísmo Circular (DC).

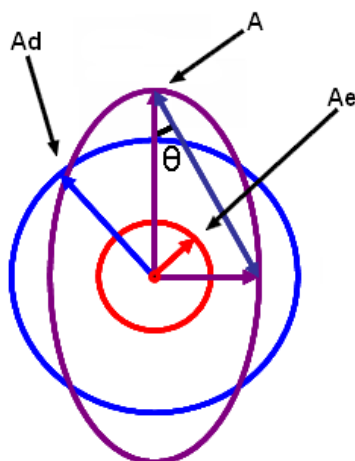


Figura 10. Polarização elíptica da luz devido à refração e à absorção distintas dos componentes vetoriais.

O valor de DC é calculado pela diferença de absorção entra a luz elipticamente polarizada à esquerda (A_e) e a elipticamente polarizada à direita (A_d) em certo comprimento de onda (**Figura 11**) (ZHANG *et al*, 2004).

$$\Delta A = A_e - A_d$$

$$\Delta \varepsilon = \varepsilon_e - \varepsilon_d = \frac{\Delta A}{cl}$$

Figura 11. Diferença da luz circularmente polarizada - Dicroísmo Circular (DC).

Onde A = absorbância; ε = absortividade molar; c = concentração molar da amostra (mol.L^{-1}); l = comprimento do caminho ótico da cela (cm).

3.4.2. Dicroísmo Circular.

A origem da palavra dicroísmo vem do grego *dikhroos*, e refere-se a qualquer dispositivo ótico que possa dividir um feixe de luz em dois feixes com diferentes comprimentos de onda. Esse fenômeno foi inicialmente observado pelo austríaco Wilhelm Carl Ritter Von Haidinger em 1847 em cristais de quartzo ametista. Posteriormente, esse fenômeno foi observado em substâncias opticamente ativas, mais especificamente em soluções de tartarato de cobre e cromo, pelo francês Aimé Cotton (BEROVA *et al*, 2000).

O espectro de DC de uma molécula quiral é representado pela $\Delta\varepsilon$ em função do comprimento de onda (λ) (**Figura 12**).

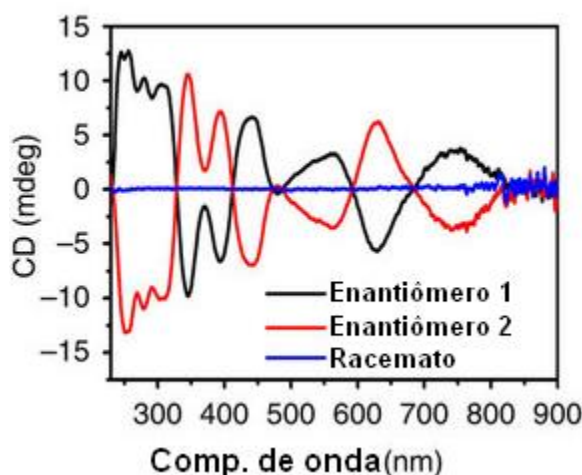


Figura 12. Exemplo de espectro de Dicroísmo Circular (DC).

Uma das mais importantes aplicações do DC ou dispersão óptica rotatória (DOR) é o assinalamento da configuração absoluta de um centro quiral vizinho a um cromóforo ou da conformação de um sistema bicromofórico que gera anomalia na curva ou diferença de absorção das componentes que pode ser observado apenas pela atropoisomeria. Esta anomalia na curva de DOR ou os máximos na curva de DC são chamados de Efeito Cotton (EC). Podem-se fazer essas análises de duas maneiras: utilizar regras empíricas que se baseiam na comparação de sinal do efeito de padrões cromofóricos através de propostas de disposições espacial que normalize a definição de centros quirais vizinhos aos cromóforos. A disposição espacial dos centros estereogênicos vizinhos ao cromóforo pode conduzir à previsão do sinal a ser proposto para substâncias capazes de se locarem na regra. Podem ser usados para determinar a configuração absoluta se a configuração relativa da molécula é conhecida. Exemplos:

- a) **Regra do octante:** baseia-se na disposição do grupo carbonila em um sistema de oito áreas (octante). De acordo com a disposição dos grupos em relação a esta projeção do grupo carbonila, pode haver interferência no valor do efeito Cotton para mais (+) ou para menos (-). Para isso, o espaço ao redor da carbonila se divide em oito partes considerando os eixos X, Y e Z (**Figura 13a**). O plano A intersecciona o átomo de oxigênio da carbonila e os carbonos 1 e 4. O plano B é perpendicular ao plano A e intersecciona o átomo de oxigênio e os carbonos 1, 2 e 6. O plano C é perpendicular a ambos os planos A e B e intersecciona a dupla ligação. Os três planos dividem o espaço circundante do cromóforo carbonila em oito partes (octantes) (**Figura 13b**) divididas nos octantes frontal e traseiro. O octante ocupado pelo grupo que promove a perturbação é que irá determinar o sinal da rotação da luz circular polarizada proveniente da transição $n \rightarrow \pi^*$ (BEROVA *et al*, 2000). Grupos que estão sobre os planos, bem como grupos que se apresentam em lados opostos dos planos de simetria de um octante, não contribuem para o efeito observado no espectro.

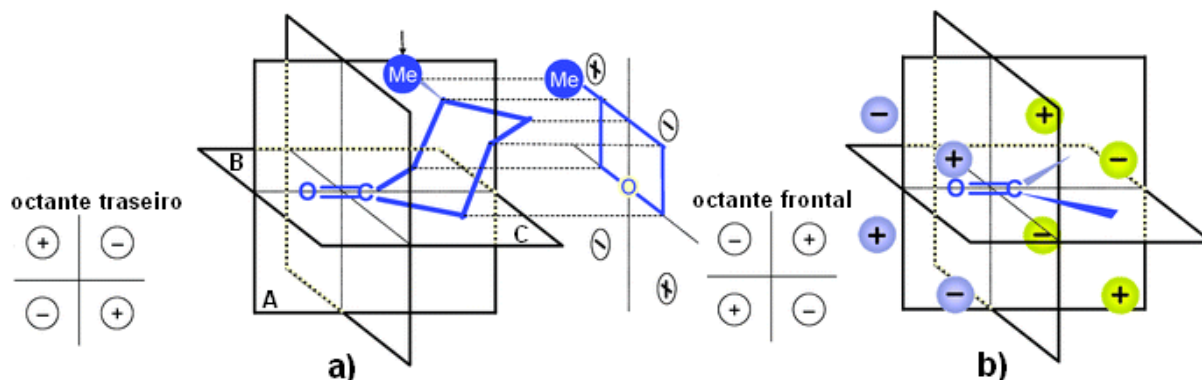


Figura 13. a) orientação da ciclohexanona no diagrama do octante; b) regrado octante para a carbonila e sinais e contribuição de cada fase do octante. (BEROVA *et al*, 2000)

- b) **Regra do quadrante para aromático:** Esta regra tem como base a simetria do sistema rígido e plano sob interferência de um centro quiral (Figura 14).

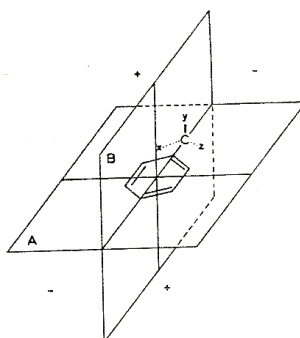


Figura 14. Projeção do quadrante para compostos aromáticos.

Como exemplo da aplicação, DE ANGELIS & WILDMAN (1969), fizeram a medida de alcalóides derivados da morfina. A codeína foi inserida no quadrante para sistema aromático apresentando previsão de Efeito Cotton (EC) positivo (+), o que posteriormente foi observado com a realização do experimento (Figura 15).

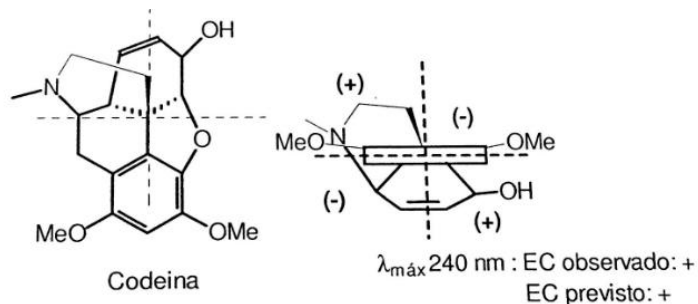


Figura 15. Projeção do quadrante para aromáticos da codeína.

- c) **Sistemas rígidos de enonas:** Neste caso, há interação de dois cromóforos aquirais alqueno e carbonila. Desta interação resulta um cromóforo inerentemente quiral. A regra do octante não serve para este caso, pois ela é aplicada a cromóforos inerentemente aquirais (carbonilas). No sistema enônico pode-se considerar as hélices de cada cromóforo isolado. Fazendo a projeção da carbonila na horizontal, de acordo com a posição da dupla, as hélices podem se encontrar no sentido horário ou anti-horário. Sendo a transição $n \rightarrow \pi^*$ com EC (+) para a hélice no sentido horário e $n \rightarrow \pi^*$ com EC (-) para a hélice no sentido anti-horário (**Figura 16**).

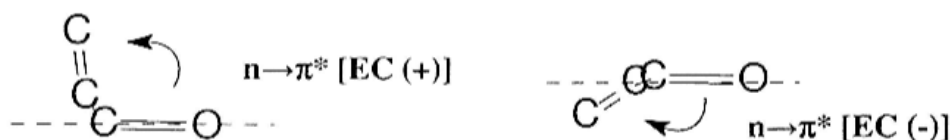


Figura 16. Projeção de sistemas rígidos de enonas.

3.5. O gênero *Siolmatra*.

O gênero *Siolmatra* foi erguido por Baillon (1885) para acomodar de maneira correta a espécie *Siolmatra brasiliensis* que residia no gênero *Alsomitra*, agora restrito ao Velho Mundo, que apresentava alta heterogeneidade. Nota-se que o nome *Siolmatra* é um anagrama de *Alsomitra*, de onde teve origem (ROBINSON & WUNDERLIN, 2005). Ainda não há relatos de estudos sobre a composição química de espécies do gênero *Siolmatra*.

3.6. *Siolmatra brasiliensis* (Cong.) Baill.

A espécie *Siolmatra brasiliensis* (**Figura 17**) é uma planta trepadeira conhecida popularmente como “taiuiá” ou “cipó-tauá” e é usada popularmente como analgésico (para dor de dente), suas raízes são tidas como depurativas e antissifilítica (POTT & POTT, 1994) e o caule possui propriedades antidiabéticas de acordo com a etnobotânica regional (comunicação interpessoal) no município de Jangada – MT.

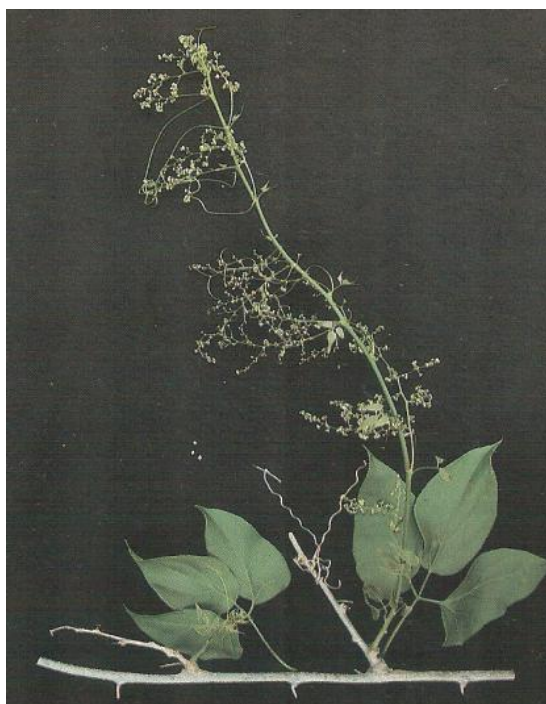


Figura 17. Espécie *Siolmatra brasiliensis*.

Fonte: POTT & POTT, 1994.

LIMA *et al* (2010), avaliaram a toxicidade aguda do extrato etanólico de *S. brasiliensis* em ratos e concluíram que o extrato é seguro quando utilizado em doses de 10 a 100 mg/Kg. Avaliaram também a toxidez do extrato bruto etanólico frente à

células de Sarcoma 180 (S180). Concluíram que o extrato é tóxico na concentração de 5mg/mL em células de Sarcoma 180 e nas concentrações de 2,5 e 5 mg/mL sobre macrófagos (com percentual de 46 e 36%, respectivamente), LIMA *et al* (2006).

Não há relatos na literatura científica sobre estudo fitoquímico de *S. brasiliensis*, logo, se faz necessário o estudo para se verificar a classe de compostos presentes na espécie e se fazer a correlação de sua presença com as atividades biológicas e farmacológicas detectadas com estudo da espécie.

3.6.1. Classificação científica de *Siolmatra brasiliensis*.

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Cucurbitales

Família: Cucurbitaceae

Gênero: *Siolmatra*

Espécie: *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill

4. Materiais e métodos

4.1. Materiais

Os solventes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram de grau analítico (P. A.) da Vetec, Proquímios ou Dinâmica.

Os adsorventes utilizados para os processos cromatográficos foram sílica gel 60 (70 – 230 mesh) da Isofar ou Vetec e (230-400 mesh) da Silicycle.

Os procedimentos de CCDA foram realizados em cromatoplaça da Silicycle com fator de revelação F254.

Nos procedimentos de cromatografia em coluna Sephadex utilizou-se Sephadex LH – 20 da GE Healthcare.

4.2. Equipamentos

Os espectros de RMN uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro Bruker AVANCE II, 9,4 T (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C) e no espectrômetro de RMN com 11,5 T (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C).

O tratamento dos espectros de RMN foi realizado no software ACD/NMR Processor Academic Edition versão 12.01 da Advanced Chemistry Development, Inc.

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro Esquire 3000 plus da Bruker na Central Analítica do Instituto de Química da USP e no LabMass da Central Analítica do IPPN - UFRJ.

Os espectros na região do Ultravioleta (UV) e Dicroísmo Circular (DC) foram obtidos em Espectropolarímetro J-815 Circular Dichroism Jasco.

4.3. Material vegetal

O caule de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill foi coletado no município de Jangada – Mato grosso, nas proximidades do Posto Foz do Iguaçu, no distrito de Nova Jangada (BR-364/BR-163), uma amostra testemunho foi identificada pela Profa. Msc. Vali Joana Pott, do departamento de Biologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. A amostra foi depositada no herbário da mesma instituição sob número CGMS: 31.643.

4.4. Preparação do extrato

O caule de *S. brasiliensis* foi coletado e seco a temperatura ambiente e então triturados e pesados, totalizando 6,7 kg de material botânico seco. Submeteu-se o material botânico à maceração a frio em percolador com mistura hidroalcoólica de etanol:água (7:3) (8 L). Retirou-se o percolato de sete em sete dias e submeteu-se o mesmo à evaporação em evaporador rotativo para a retirada do solvente e estufa de circulação até secagem do extrato. Foram realizados cinco ciclos de extração de onde se obteve 770 g de extrato bruto hidroetanólico da espécie (**SBEBH**).

4.5. Processamento do extrato.

4.5.1. Fracionamento de SBEBH

56 g do **SBEBH** foram submetidos à filtração em sílica gel com eluição isocrática e exaustiva com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade. Usou-se CHCl_3 (2 L), AcOEt (4 L) e MeOH (4 L) obtiveram-se, assim, após evaporação do solvente em evaporador rotativo com pressão reduzida, os subextratos clorofórmico (**SBSC**) (0,91 g, 1,62%), acetato de etila (**SBSA**) (21,24 g, 37,92%) e metanólico (**SBSM**) (19,08 g, 34,07%).

4.5.2. Fracionamento de SBSA.

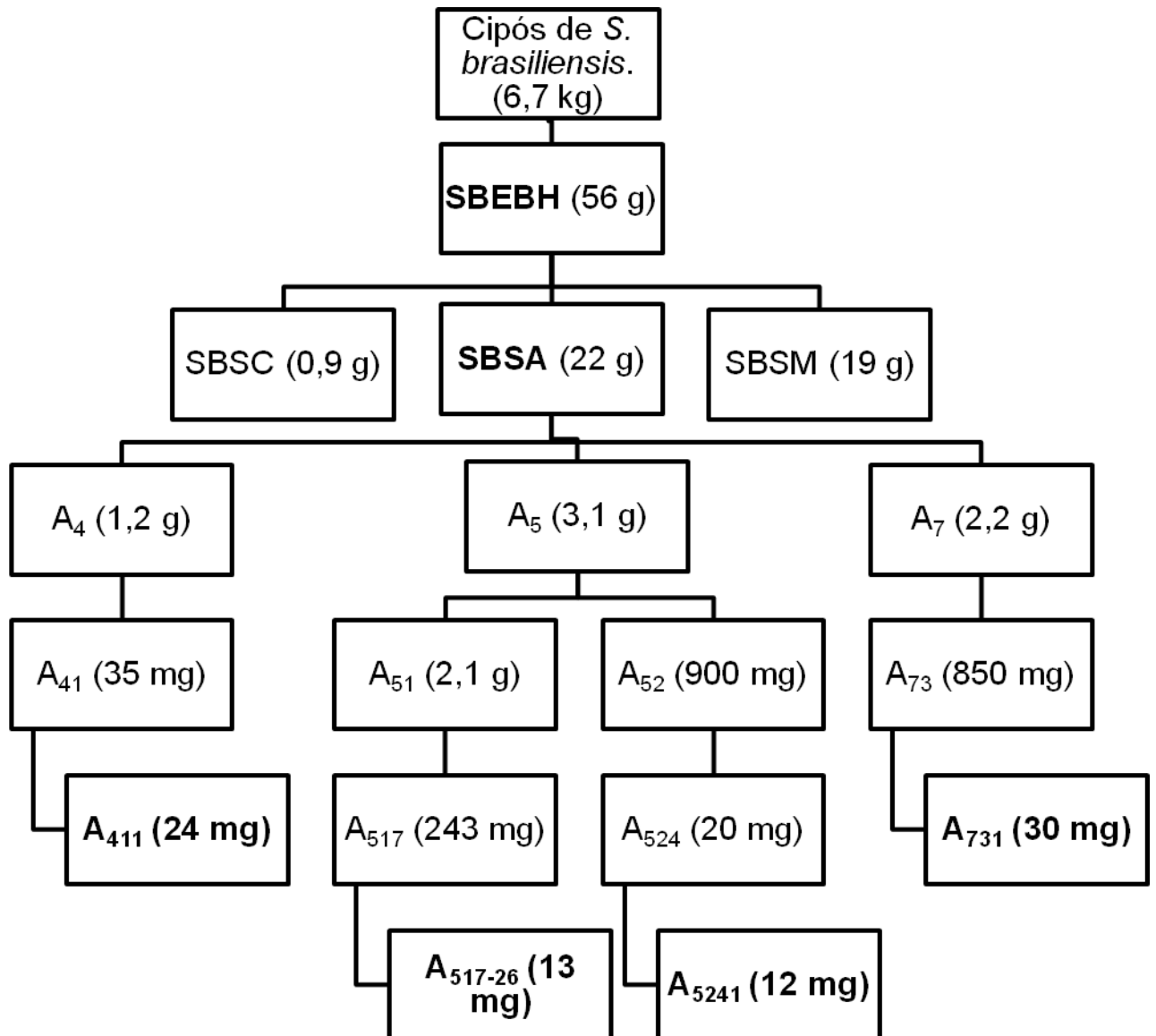
Submeteu-se 16 g de SBSA à cromatografia em coluna clássica com sílica gel 60 (70-230 mesh) com eluição em gradiente de AcOEt:MeOH (10:0) a (0:10), coletaram-se 95 frações de aproximadamente 125 mL. As frações foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas em CCDA. Após análise em CCDA as amostras foram agrupadas por similaridade de R_f formando-se então, 7 grupos (A_1 a A_7).

Submeteu-se o grupo A_4 (1,2 g) à cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 com eluição isocrática em diclorometano:metanol (DCM:MeOH) (7:3), coletou-se 66 frações de aproximadamente 4 mL. Após análise em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), formou-se 3 grupos (A_{41} a A_{43}). Submeteu-se o grupo A_{41} (35 mg) à cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) de onde se retirou uma substância majoritária **A_{411} (24 mg)**.

Submeteu-se o grupo A_5 (3,1 g) à cromatografia em coluna com Sephadex – LH 20 com eluição isocrática em MeOH de onde coletou-se 110 frações de

aproximadamente 6 mL. Após analisadas em CCDA, formou-se 2 grupos (A_{51} e A_{52}). O grupo A_{51} (2,1 g) foi submetido à cromatografia em coluna clássica em sílica gel 60 (70-230 mesh) com eluição em gradiente de DCM:MeOH (10:0) a (0:10). Coletaram-se 57 frações de aproximadamente 10 mL, que após analisadas em CCDA, deram origem a 9 grupos (A_{511} a A_{519}). O grupo A_{517} (243 mg) foi submetido à cromatografia em coluna rápida seca (flash) em sílica gel 60 (230 400 mesh) com eluição em gradiente de CHCl_3 :MeOH (85:15) a (1:1) de onde se coletaram 50 frações de aproximadamente 4 mL. A fração 26 apresentou um composto majoritário **A_{517-26} (13 mg)**. O grupo A_{52} (900 mg) foi submetido à cromatografia em coluna clássica em sílica gel 60 (70-230 mesh) com eluição em gradiente entre DCM:MeOH (9:1) a (0:10) de onde coletaram-se 80 frações de aproximadamente 4 mL. Estas foram analisadas e reunidas por similaridade de R_f formando 4 grupos (A_{521} a A_{524}). O grupo A_{524} (20 mg) foi purificado em CCDP eluída em CHCl_3 :MeOH (9:1) gerando o composto **A_{5241} (12 mg)**.

O grupo A_7 (2,2 g) foi submetido à cromatografia em coluna em sílica gel 60 (70-230 mesh) em gradiente de DCM:MeOH (6:4) a (4:6) obtendo-se 54 frações de aproximadamente 10 mL que foram submetidas a CCDA e agrupadas em 4 grupos (A_{71} a A_{74}). O grupo A_{73} (850 mg) foi submetido à cromatografia em coluna com sílica gel 60 (230-400 mesh) com eluição isocrática em DCM:MeOH (65:35) de onde houve a precipitação de um sólido branco (**A_{731}**) que foi lavado com MeOH para retirada de impurezas totalizando **30 mg** do composto puro (**Organograma 1**).



Organograma 1. Fracionamento cromatográfico de SBEBH.

5. Resultados e discussão

5.1. Triterpenóides isolados de *S. brasiliensis*.

O processamento de SBEBH e análise de frações usando espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C (uni e bidimensionais) e espectrometria de massas conduziram até o momento ao isolamento e identificação de quatro triterpenoides (**Figura 18**) representados neste trabalho como: A₄₁₁: cayaponosídeo A1, A₅₁₇₋₂₆: cayaponosídeo B4, A₅₂₄₁: cayaponosídeo D e A₇₃₁: 3-O- β -D-gentiobiosil-26-O- β -D-glicopiranosil-20-hidróxidamar-24-eno.

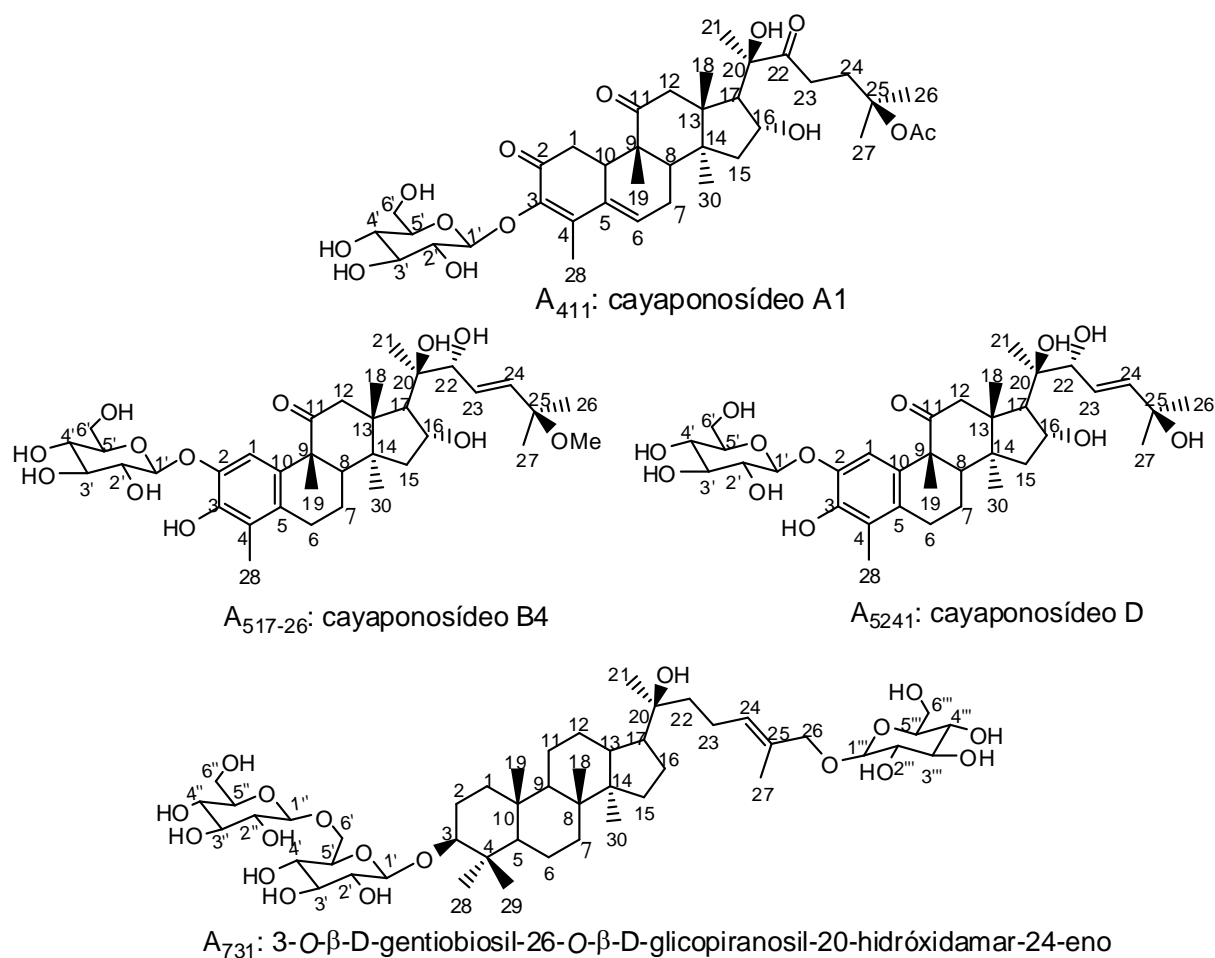


Figura 18. Substâncias isoladas de SBEBH.

5.2. Elucidação estrutural das substâncias isoladas.

5.2.1. Elucidação estrutural da substância A₄₁₁ (cayaponosídeo A1) (24 mg).

A substância A₄₁₁ foi isolada na forma de um sólido amorfo de cor amarronzada. Submeteu-se a amostra à experimentos de RMN uni e bidimensionais e espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray. Após a análise dos dados (**Tabela 1**), foi proposta a estrutura de uma cucurbitacina já descrita por HIMENO *et al* (1994) conhecida como cayaponosídeo A1.

O espectro de RMN ¹H (**Figura 19 e 20**) apresenta sinais que sugerem a estrutura de um triterpenóide glicosilado devido a quantidade de metilas presentes na região de 1,00 a 2,30 ppm, hidrogênios de cadeia alifática entre 1,00 e 3,5 ppm, sinais referentes a porção glicosídica entre 4,00 e 6,00 ppm e sinais de insaturações na região acima de 6,00 ppm. A identificação dos grupos funcionais na estrutura foi feita através da análise dos espectros de RMN ¹³C (DEPTQ) (**figura 22**) e HSQC (**Figura 23 e 24**) além da observação das multiplicidades dos carbonos auxiliando na interpretação do espectro de RMN ¹H.

Pelo espectro de RMN ¹H, nota-se a presença de oito sinais de metilas (de 1,00 a 2,30 ppm; **Figura 19**), das quais seis são metilas de cadeia alifática (δ_H 1,14, **Me-19**; 1,04, **Me-18**; 1,37, **Me-30**; 1,47, **Me-26**; 1,49, **Me-27**; 1,61, **Me-21**), uma metila ligada a sistema insaturado (δ_H 2,22; **Me-28**) e uma acetila (δ_H 1,91, -CO-CH₃). Nessa região também nota-se a presença de sinais característicos de hidrogênios diastereotópicos em δ_H 1,73 (*d*, *J* = 12,7Hz, 1H) e δ_H 1,93 (*m*, 1H) referentes ao **H-15**, confirmado por experimento de HSQC onde os dois sinais revelam acoplamento com um único sinal de carbono (δ_{CH_2} 46,22). A presença de um sinal duplo em δ_H 2,12 (*dd*, *J* = 5,6 e 20 Hz, 1H) e 2,35 (*m*, 1H) foram atribuídos ao **H-7** por apresentar sinais em HSQC de acoplamento a um único carbono δ_{CH_2} 24,9. Sinais de hidrogênios diastereotópicos também foram atribuídos em δ_H 2,54 (*d*, *J* = 15,5Hz, 1H) e 2,64 (*dd*, *J* = 3,6 e 15, 1H) ao **H-1** também com base nos acoplamentos no mapa de contornos HSQC com o carbono com δ_{CH_2} 39,4.

O mapa de contornos HSQC (**Figuras 23 e 24**) foi de extrema utilidade para a atribuição inequívoca das multiplicidades dos carbonos.

A presença do sinal em δ_{H} 5,71 (*d*, $J = 7,28$ Hz, 1H), característico de hidrogênio ligado a carbono anomérico e os sinais presentes entre 3,9 e 4,6 ppm foram atribuídos à porção glicosídica ligada a **C-3** de acordo com o mapa de contornos HBMC (**Figura 25**).

Um sinal em δ_{H} 6,19 (*s*, 1H) foi atribuído ao **H-6** por este ser um hidrogênio olefínico da enona conjugada. O espectro HSQC (**Figura 23 e 24**) revelou sinal de acoplamento com o único carbono metínico sp^2 com δ_{CH} 129,9 e justificando o assinalamento dos valores de δ_{C} de carbonos sp^2 quaternários detectados nos espectros analisados. O sinal da metila 28 justifica a localização no carbono sp^2 conjugado com a carbonila, como revela a literatura descrito por HIMENO *et al* (1994).

Para a confirmação da posição de **H-6** a amostra foi submetida a experimento de TOCSY 1D (**Figura 21**) com irradiação em δ_{H} 6,19 ppm (**H-6**), observando-se sinal de absorção dos hidrogênios vizinhos **H-7a/b** e **H-8** revelando a sequência de acoplamento e apresentando, inclusive, sinal não esperado do **H-28**, certamente devido interação de acoplamento a longa distância do sistema π (π), confirmando assim a estrutura proposta.

No espectro de DEPTQ (**Figura 22**) é possível identificar a presença de 37 sinais de carbonos, sendo oito metílicos, sete metilênicos, dez metínicos e doze quaternários.

Para a confirmação da estrutura, submeteu-se a amostra original (A_{411} ; 2mg) a espectrometria de massas com ionização por electrospray. Obtiveram-se espectros no modo negativo. Observou-se um pico com m/z 705,9 referente ao íon ($M - H$) com fragmentações gerando picos de m/z 645,7 e m/z 525,0 (**Figura 26 e 27**) confirmando assim, a estrutura proposta da cucurbitacina de fórmula molecular $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{O}_{13}$ conhecida como cayaponosídeo A1 (HIMENO *et al*, 1994).

A **Tabela 1** mostra as atribuições dos deslocamentos químicos de carbono e hidrogênio de A_{411} incluindo as interações a $^1J_{\text{H-C}}$ e $^{2,3}J_{\text{H-C}}$.

Tabela 1. Atribuição de dados de RMN da substância A₄₁₁ (cayaponosídeo A1) (400 MHz, Piridina-d₅) e comparação com dados da literatura(*).

C	HSQC		HBMC	COSY	HSQC ^{Lit.} (*) (400 MHz, MeOD)	
	δ_C	δ_H			δ_C	δ_H
1	39,84 (CH ₂)	2,54 (<i>d</i> ; 15,5 Hz); 2,64 (<i>dd</i> ; 3,6 e 14,8 Hz)	^{2,3} J _{C-H} C-2; C-3; C-4; C-10	H-10	40,7	2,22 (<i>dd</i> ; 4 e 15 Hz) 2,38 (<i>dd</i> ; 14 e 15 Hz)
2	195,11 (C=O)	-	-	-	197,1	-
3	145,86 (C)	-	-	-	147,1	-
4	132,57 (C)	-	-	-	134,3	-
5	142,62 (C)	-	-	-	145,8	-
6	130,32 (CH)	6,19 (<i>m</i>)	C-4	H-7 / H-7; H-8; H-28	132,6	6,48 (<i>m</i>)
7	25,31 (CH ₂)	2,12 (<i>dd</i> , 5,6 e 20 Hz); 2,35 (<i>m</i>)	C-9; C-8	H-6; H-8	26,7	2,28 (<i>ddd</i> ; 2; 6 e 20 Hz) 2,6
8	42,59 (CH)	2,01 (<i>d</i> ; 8,4 Hz)	C-6; C-7; C-30	H-7	44,5	2,1 (<i>d</i> ; 8 Hz)
9	48,68 (C)	-	-	-	50,8	-
10	36,53 (CH)	3,07 (<i>m</i>)	-	H-1	37,8	3,02 (<i>brd</i> ; 14 Hz)
11	215,76 (C=O)	-	-	-	215,8	-
12	50,97 (CH ₂)	2,82 (<i>d</i> ; 15 Hz); 3,18 (<i>m</i>)	C-13; C-14; C-18;	-	50,6	2,57 (<i>d</i> ; 15 Hz) 3,27 (<i>d</i> ; 15 Hz)
13	49,43 (C)	-	-	-	52,4	-
14	48,92 (C)	-	-	-	50,3	-
15	46,64 (CH ₂)	1,73 (<i>d</i> ; 12,7 Hz); 1,93 (<i>m</i>)	C-13; C-14; C-16; C-30	H-16	47,6	1,43 1,87 (<i>dd</i> ; 9 e 13 Hz)
16	70,49 (CH)	4,95 (<i>sl</i>)	C-14	H-15; H-17	72,1	4,44 (<i>dd</i> ; 7 e 9 Hz)
17	59,40 (CH)	2,92 (<i>d</i> ; 7,2 Hz)	C-14; C-18;	H-16; H-18	60,4	2,53 (<i>d</i> ; 7 Hz)
18	20,58 (CH ₃)	1,04 (<i>s</i>)	C12; C-13; C-14	H-12; H-17	21,4	0,92 (<i>s</i>)
19	19,66 (CH ₃)	1,14 (<i>s</i>)	C-8; C-9; C-10	-	20,6	1,11 (<i>s</i>)
20	80,37 (C)	-	-	-	81,6	-
21	25,86 (CH ₃)	1,61 (<i>s</i>)	C-17; C-21	-	26,4	1,37 (<i>s</i>)
22	212,97 (C=O)	-	-	-	217,3	-
23	32,62 (CH ₂)	2,97 (<i>m</i>); 3,33 (<i>m</i>)	-	H-24	33,6	2,69 (<i>ddd</i> ; 6, 10 e 18 Hz) 2,84 (<i>ddd</i> ; 6, 10 e 18 Hz)
24	35,57 (CH ₂)	2,33 (<i>m</i>); 2,46 (<i>m</i>)	C-25; C-26	H-23	36,6	2,0 (2H, <i>m</i>)
25	81,93 (C)	-	-	-	83,9	-
26	26,25 (CH ₃)	1,49 (<i>s</i>)	C-24; C-27	-	27,0	1,44 (<i>s</i>)
27	26,25 (CH ₃)	1,47 (<i>s</i>)	C-24; C-26	-	27,1	1,44 (<i>s</i>)
28	13,72 (CH ₃)	2,22 (<i>s</i>)	C-3; C-4; C-5	-	14,4	2,14 (<i>s</i>)
30	18,62 (CH ₃)	1,37 (<i>s</i>)	C-8; C-12; C-13	-	23,1	1,30 (<i>s</i>)
1'	103,75 (CH)	5,71 (<i>d</i> ; 7,2 Hz)	C-3; C-2'; C-3'; C-5'	H-2'	-	-
2'	76,19 (CH)	4,49 (<i>m</i>)	C-1'; C-3'; C-4'	H-1'	-	-

3'	78,68 (CH)	4,36 (<i>m</i>)	C-1'; C-2'; C-4'; C-5'	-	-	-
4'	71,58 (CH)	4,35 (<i>m</i>)	C-2'; C-3'; C-5'; C-6'	H-5'	-	-
5'	79,12 (CH)	3,97 (<i>m</i>)	C-1'; C-3'; C-4'; C-6'	H-4'; H-6'	-	-
6'	62,72 (CH)	4,3 (<i>m</i>); 4,5 (<i>d</i> ; 12,4 Hz)	C-4'; C-5';	H-5'	-	-
H₃C-CO	22,49 (CH ₃)	1,91 (<i>s</i>)	C=O	-	23,1	1,31 (<i>s</i>)
H₃C-CO	170,61 (C=O)	-	-	-	173,2	-

*HIMENO *et al.* Chem. Pharm. Bull. 42 (11) 2301 – 2304. (1994).

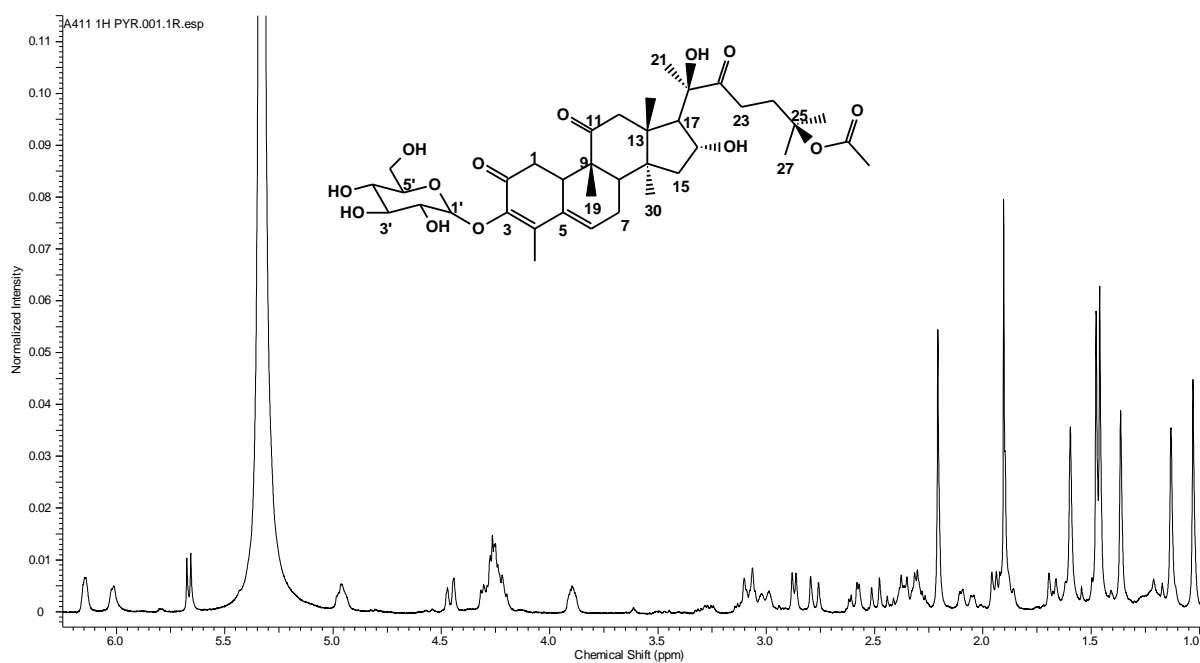


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H de A₄₁₁. (400 MHz, Piridina-*d*₅)

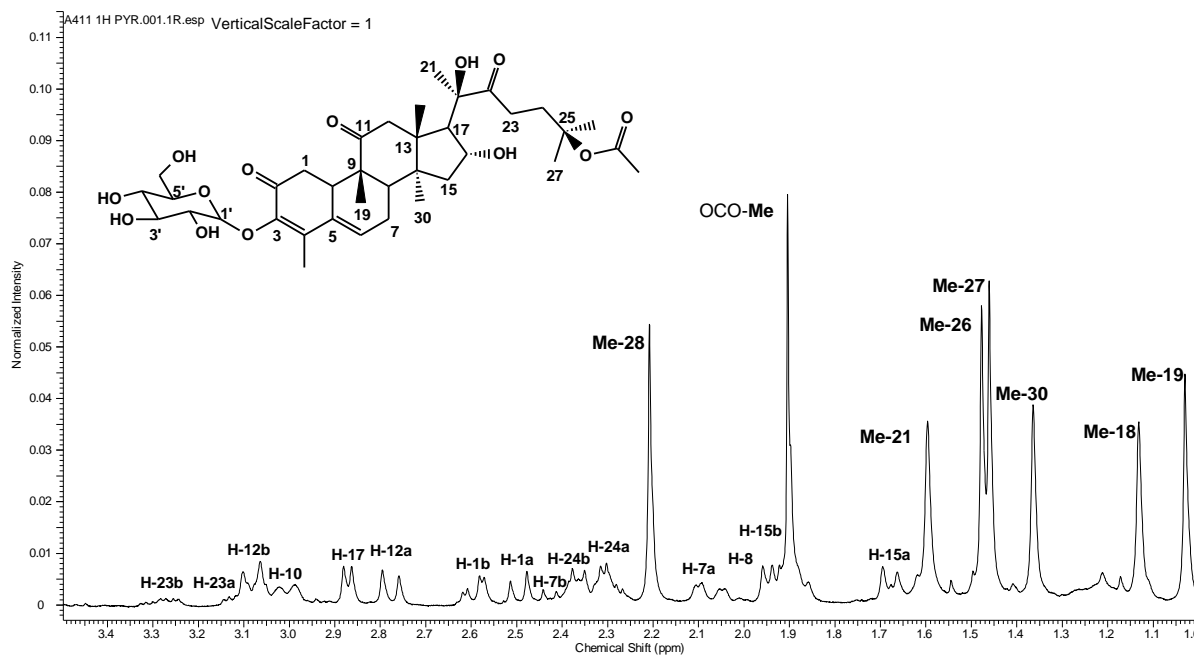


Figura 20. Ampliação na região de 1,00 a 3,5 ppm do espectro de RMN de ^1H de A₄₁₁. (400 MHz, Piridina- d_5)

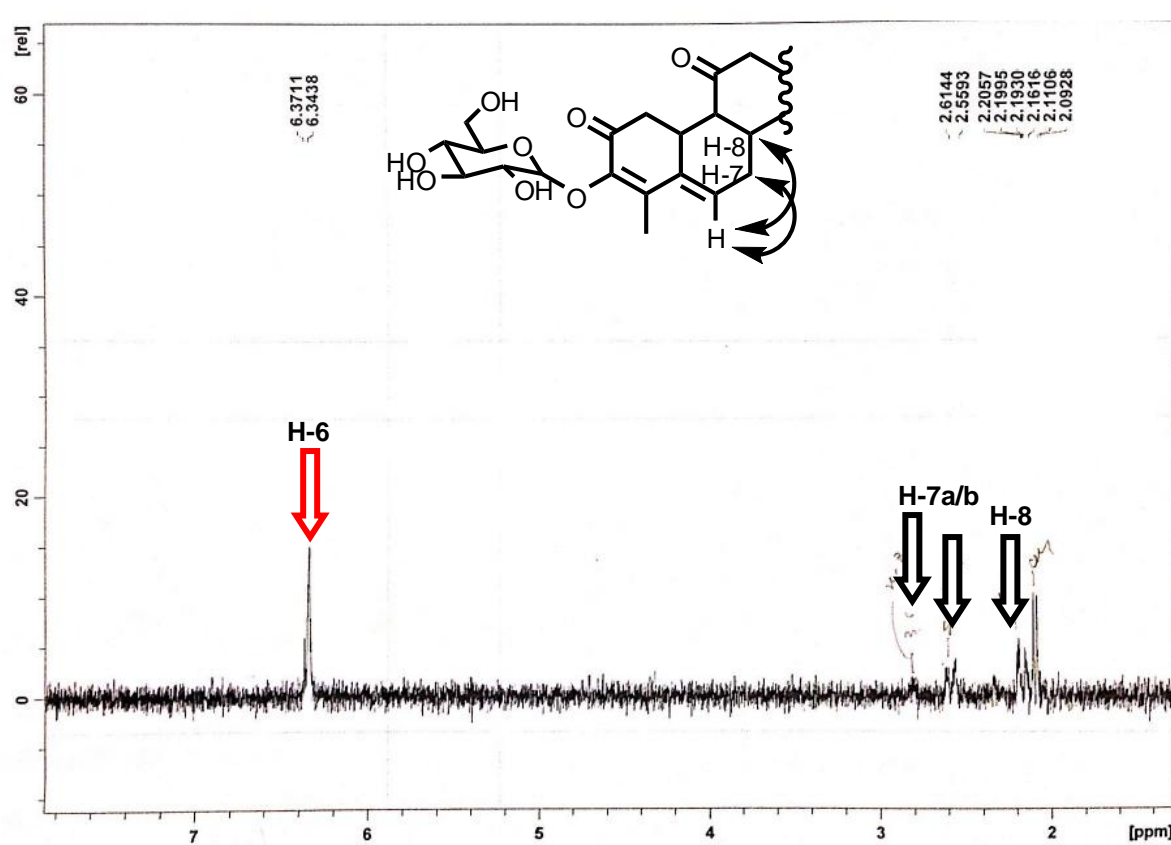


Figura 21. Experimento de 1D TOCSY com irradiação em H-6 (δ_{H} 6,36). (400 MHz, Piridina- d_5)

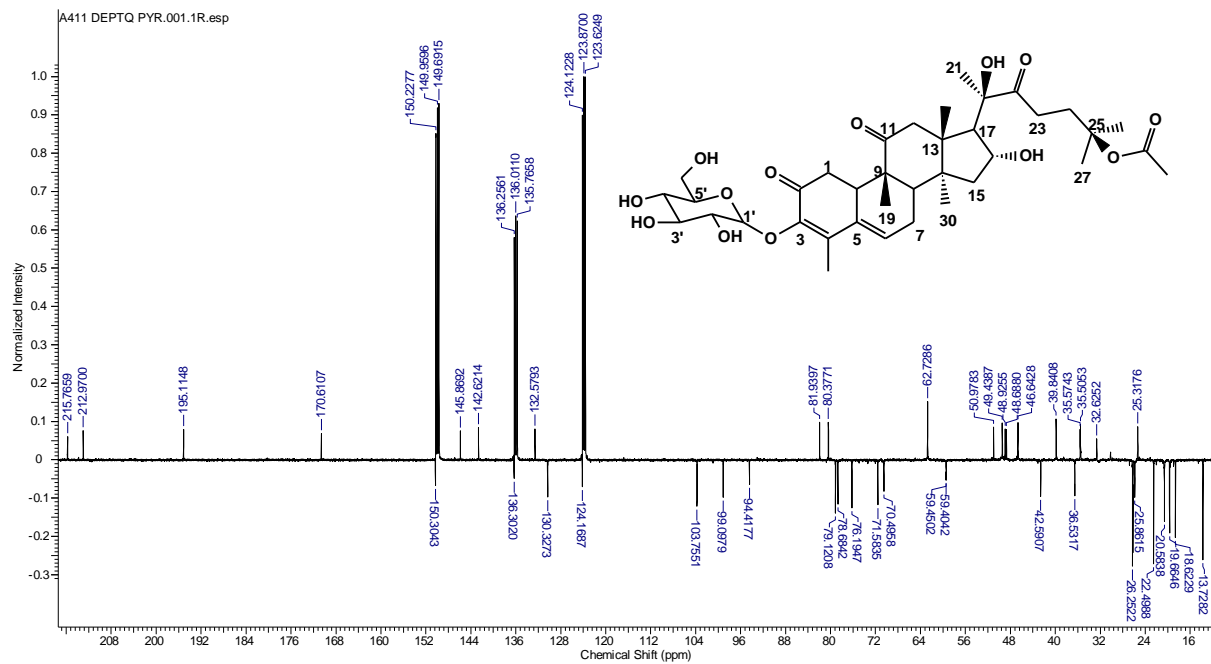


Figura 22. Espectro de DEPTQ de A₄₁₁. (100 MHz, Piridina-*d*₅)

A411 HSQC PYR.001.2RR.esp

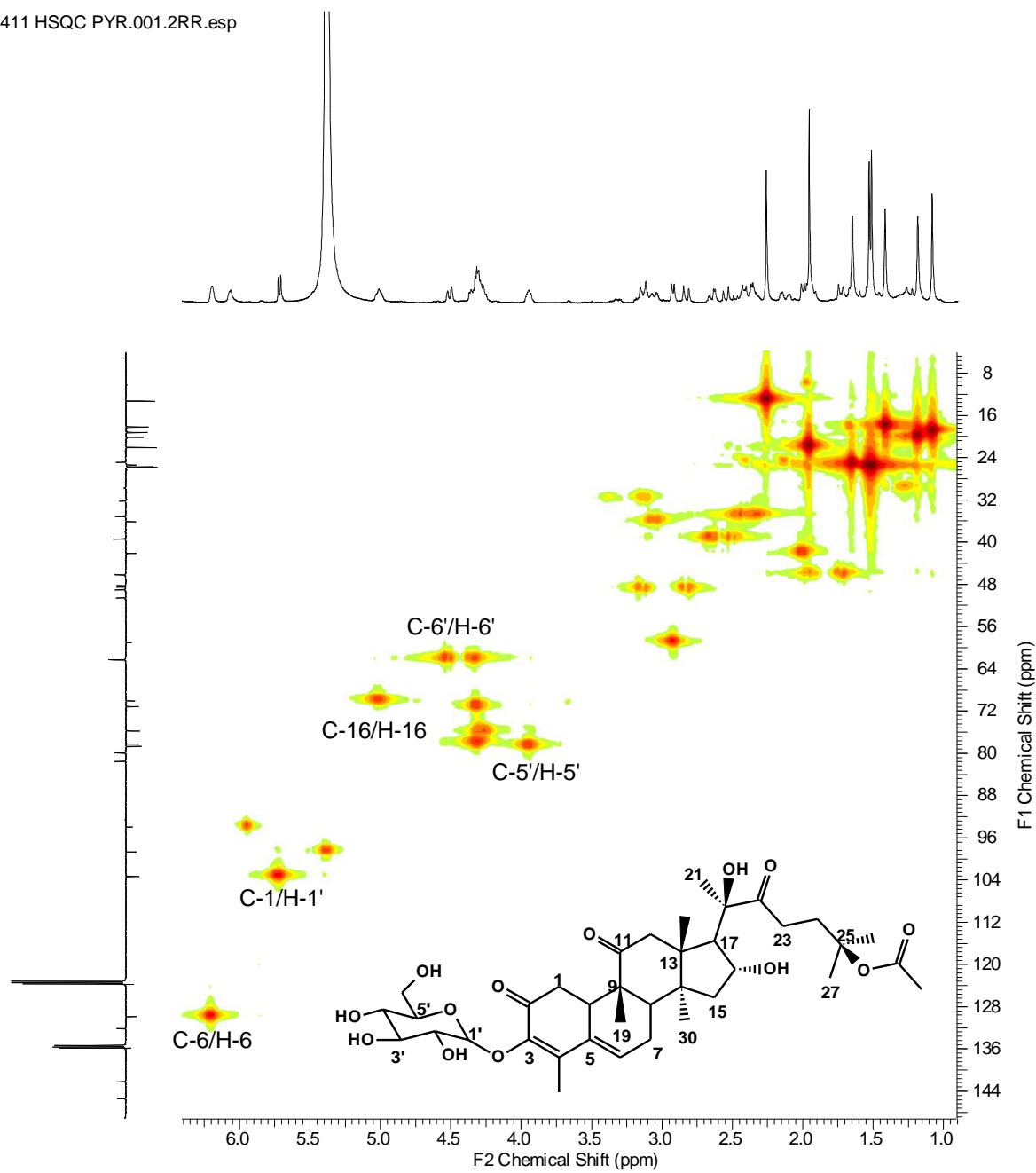


Figura 23. Espectro de HSQC de A₄₁₁. (400 MHz, Piridina-*d*₅)

A411 HSQC PYR.001.2RR.esp

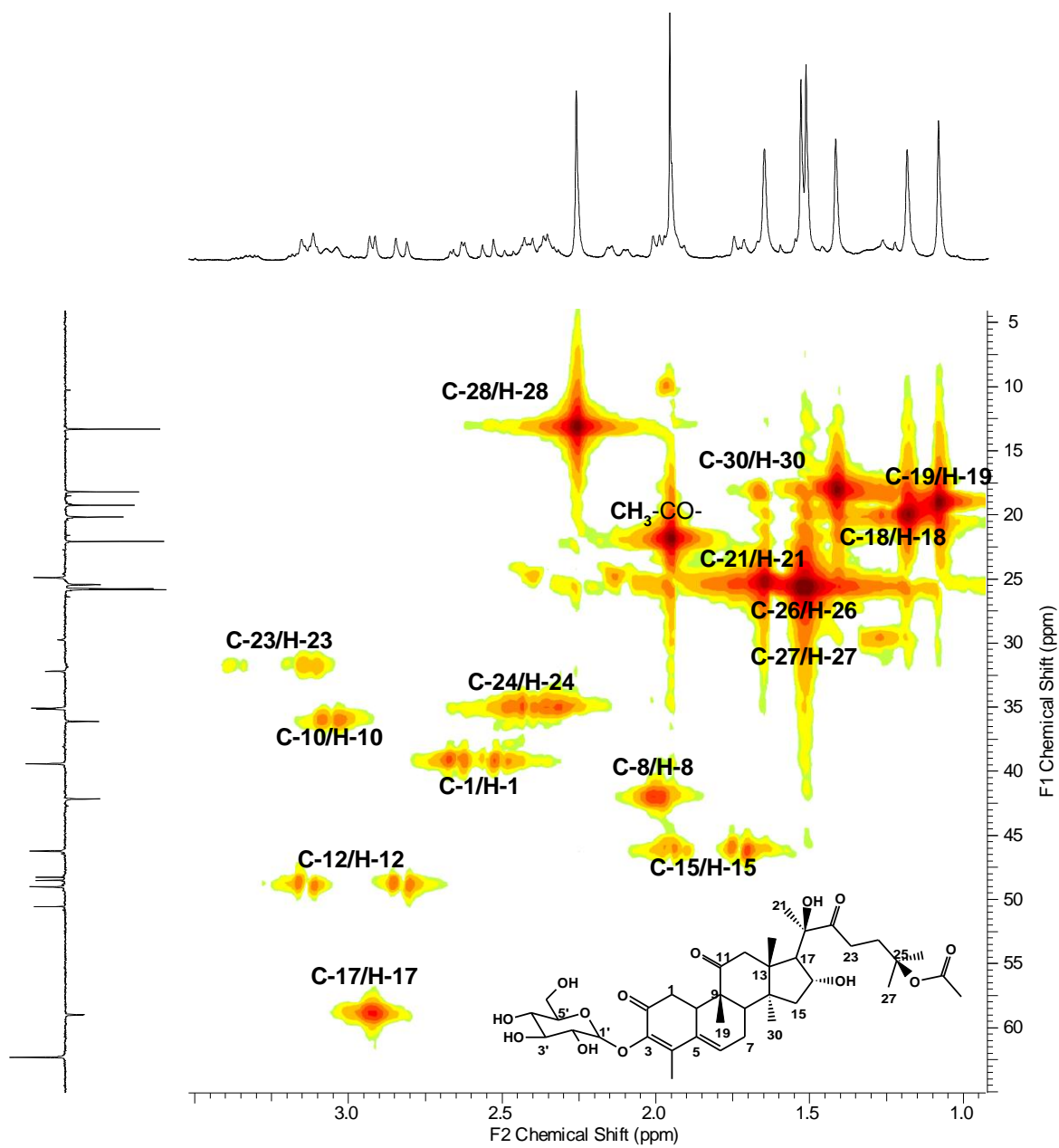
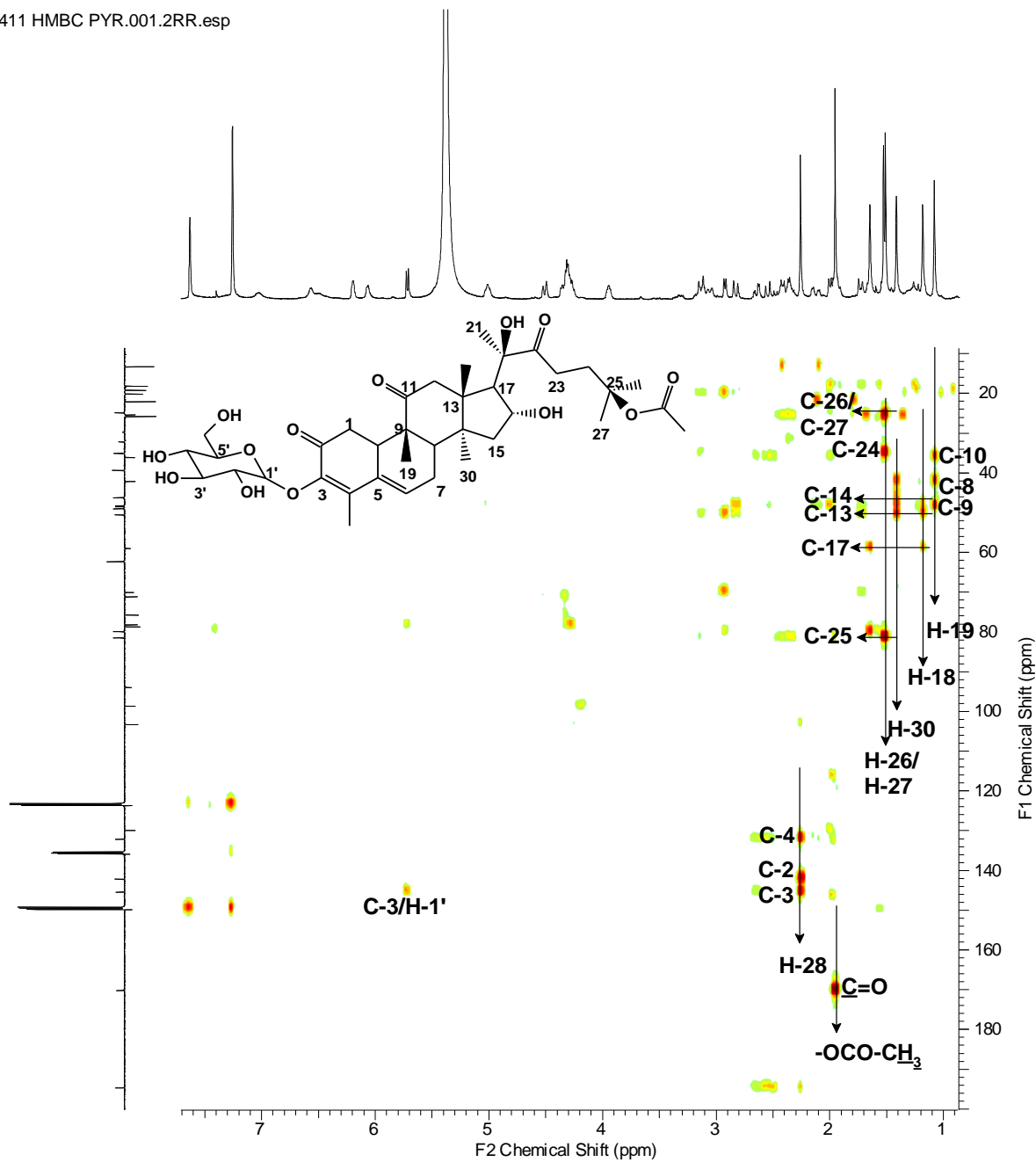


Figura 24. Ampliação do espectro de HSQC de A₄₁₁. (400 MHz, Piridina-d₅)

A411 HMBC PYR.001.2RR.esp

Figura 25. Espectro de HMBC de A₄₁₁. (400MHz, Piridina-d₅)

MSMS

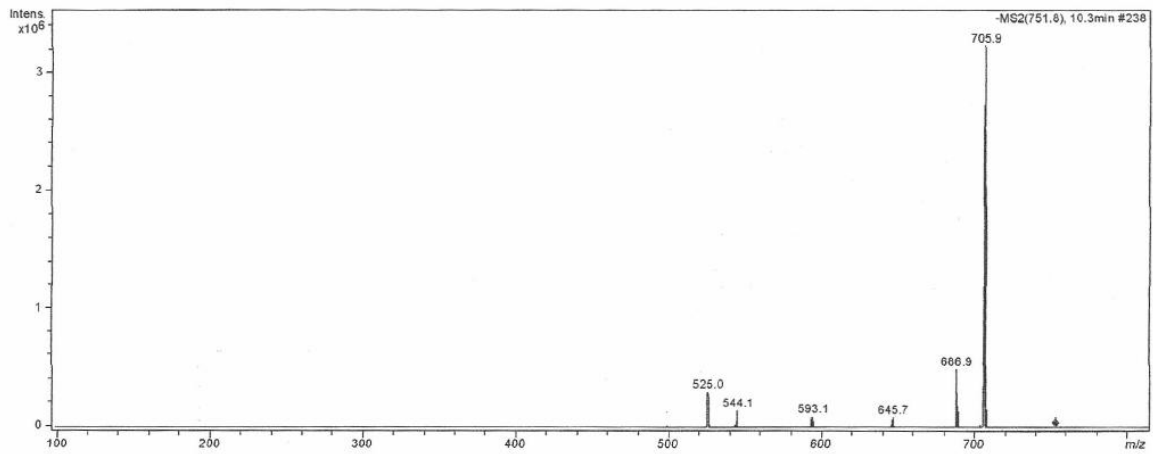


Figura 26. Espectro de MS/MS com ionização por *electrospray* em modo negativo de A₄₁₁.

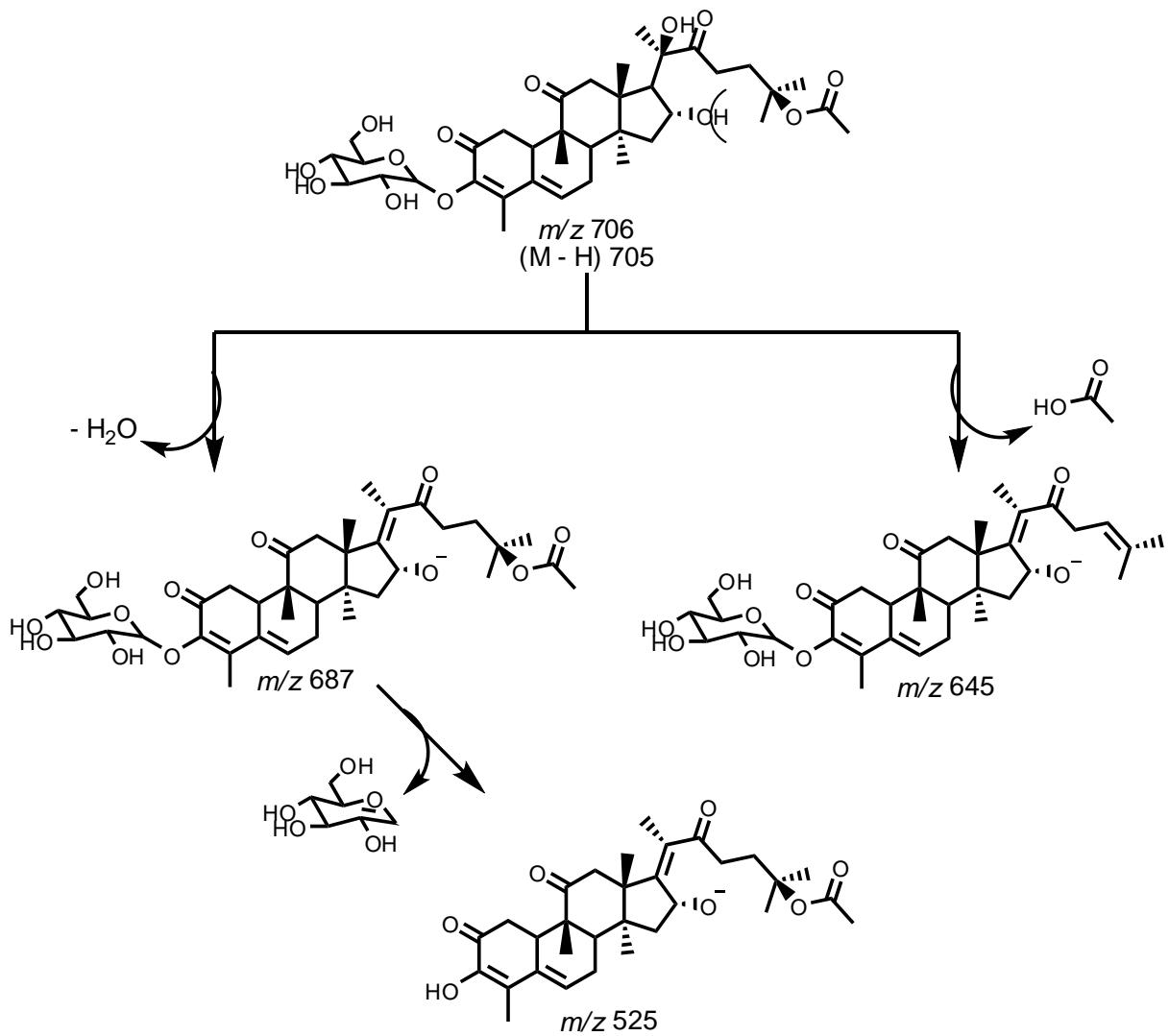


Figura 27. Proposta de fragmentação de massas de A₄₁₁.

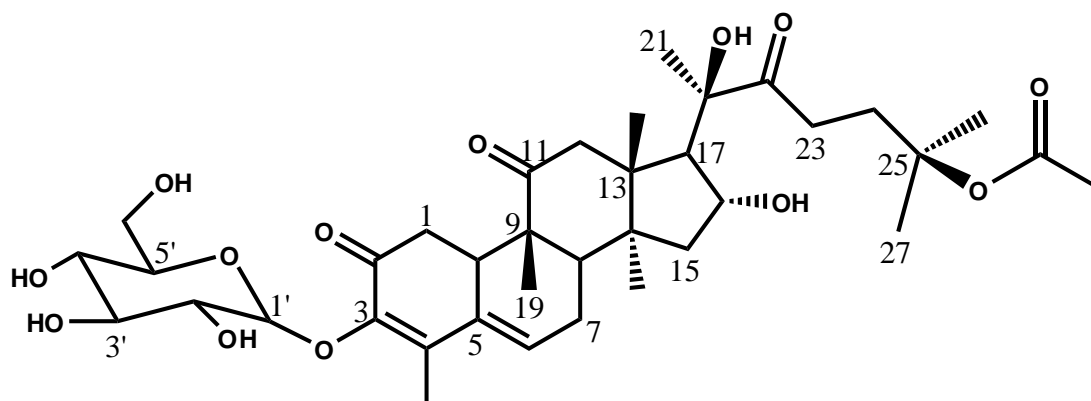


Figura 28. Estrutura proposta para a substância A₄₁₁.

5.2.1.1. Preparação do derivado acetilado do cayaponosídeo A1.

Para confirmar a proposta estrutural de A₄₁₁ foi preparado o derivado acetilado de A₄₁₁ (**Figura 29**). Solubilizou-se 20 mg da amostra em 1 mL de piridina e adicionou-se então 1 mL de anidrido acético deixando a reação ocorrer por 24 horas à temperatura ambiente. Ao final do período, adicionou-se 2-3 mL de água destilada gelada até o turvamento da solução. Extraiu-se o composto com 5 mL de CHCl₃ por três vezes. Lavou-se então a fase orgânica solução de HCl 10% para a retirada do excesso de piridina, então secou-se a fase orgânica a adição de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), após a filtração o solvente foi retirado por destilação sob vácuo, obtendo-se 18 mg do produto acetilado. Submeteu-se a amostra a experimentos de RMN uni e bidimensionais para atribuição dos dados do derivado.

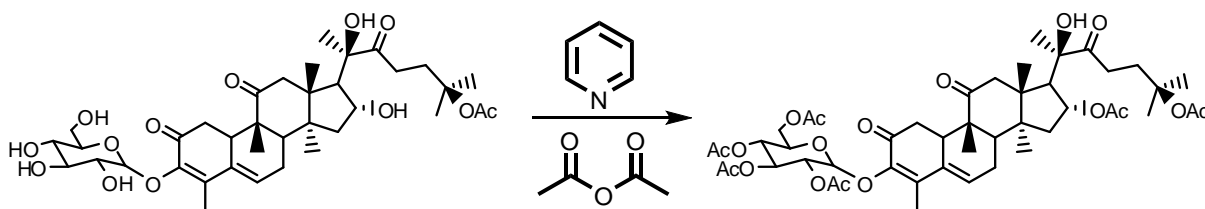


Figura 29. Reação de acetilação de A₄₁₁.

O espectro de RMN ¹H (**Figura 30 e 31**) apresenta sete sinais na região próxima de 2,00 ppm, sendo um sinal da metila 28, como observado anteriormente, e seis sinais de acetoxilas, sendo cinco referentes às acetoxilas geradas na reação

(δ_{H} 1,94; 1,97; 2,00; 2,01. 2,01; 2,05) e uma da molécula original (δ_{H} 2,11) confirmando a formação do produto e a proposta da estrutura para A₄₁₁.

Tabela 2. Atribuição dos dados de RMN de A₄₁₁Ac. (400 MHz, CDCl₃)

C	HMQC		HMBC
	δ_{C}	δ_{H}	$^{2,3}J_{\text{H-C}}$
-			
1	35,00 (CH ₂)	2,33 – 2,30 (<i>m</i>)	C-2; C-5; C-10
2	192,84 (C=O)	-	-
3	143,74 (C)	-	-
4	132,17 (C)	-	-
5	142,86 (C)	-	-
6	129,62 (CH)	6,4 (<i>m</i>)	C-5; C-10
7	24,76 (CH ₂)	2,13 (<i>m</i>); 2,2 (<i>m</i>)	C-6
8	41,66 (CH)	2,09 (<i>m</i>)	C-6; C-9; C-10; C-19
9	49,76 (C)	-	-
10	35,88 (CH)	2,81 (<i>m</i>)	-
11	212,36 (C=O)	-	-
12	48,41 (CH ₂)	3,06 (<i>d</i> ; 15 Hz); 2,69 (<i>d</i> ; 14,8 Hz)	C-11; C-14
13	48,27 (C)	-	-
14	47,70 (C)	-	-
15	43,42 (CH ₂)	2,01 (<i>m</i>); 1,45 (<i>m</i>)	C-13; C-30
16	71,43 (CH)	5,1 (<i>m</i>)	C-14
17	53,95 (CH)	2,65 (<i>m</i>)	C-13; C-16; C-18
18	19,40 (CH ₃)	1,00 (<i>s</i>)	C-14; C-17
19	18,27 (CH ₃)	1,18 (<i>s</i>)	C-8; C-9; C-10
20	78,47 (C)	-	-
21	24,12 (CH ₃)	1,45 (<i>s</i>)	C-17; C-20
22	210,99 (C=O)	-	-
23	29,65 (CH ₂)	2,59 – 2,54 (<i>m</i>)	-
24	38,89 (CH ₂)	2,36 – 2,30 (<i>m</i>)	-
25	80,93 (C)	-	-
26	25,72 (CH ₃)	1,49 (<i>s</i>)	C-24; C-25; C-27
27	26,06 (CH ₃)	1,47 (<i>s</i>)	C-24; C-25; C-26
28	13,24 (CH ₃)	2,00 (<i>s</i>)	C-3; C-4; C-5
30	19,40 (CH ₃)	1,14 (<i>s</i>)	C-8; C-12
1'	98,98 (CH)	5,15 (<i>m</i>)	-
2'	72,41 (CH)	5,2 (<i>m</i>)	-
3'	71,59 (CH)	5,12 (<i>m</i>)	-
4'	68,47 (CH)	5,11 (<i>m</i>)	-

5'	73,89 (CH)	5,12 (<i>m</i>)	-
6'	61,59 (CH ₂)	4,19 (<i>dd</i> ; 4,5 e 12,5 Hz; 4,13 (<i>dd</i> ; 2,5 e 12,3 Hz)	-
CO-	169,52 –	-	-
Me	170,46	-	-
CO-	20,57 – 20,82	1,95 – 2,15 (<i>s</i>)	-
Me			

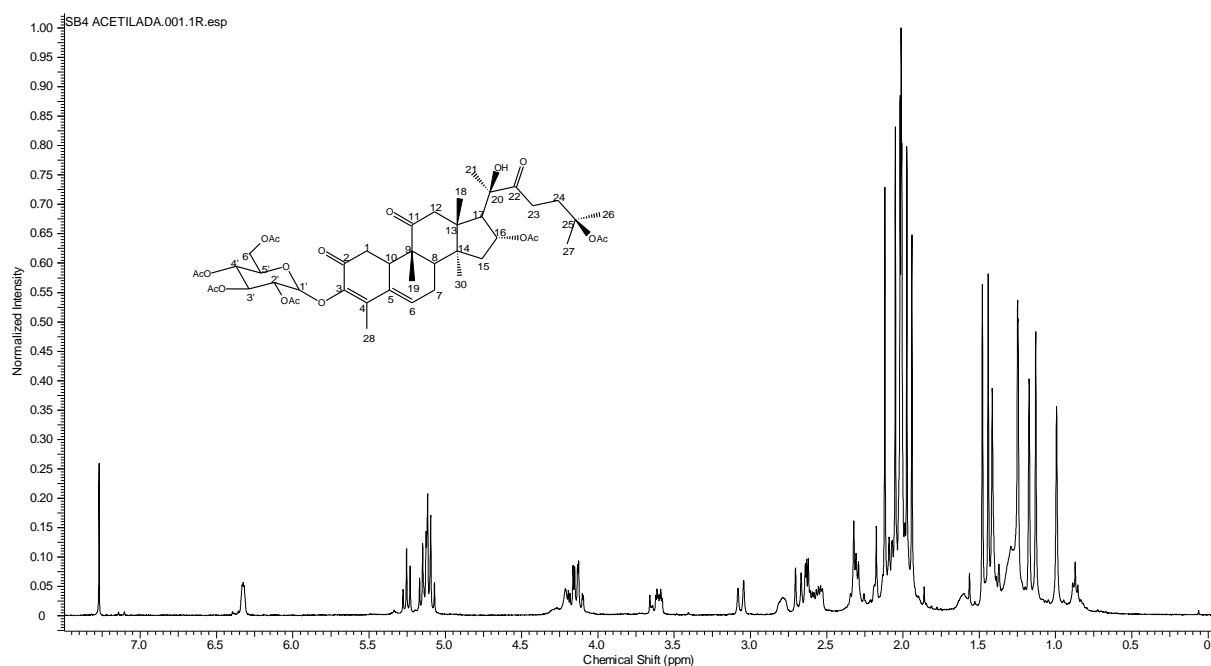


Figura 30. Espectro de RMN de ¹H do derivado acetilado de A₄₁₁. (400 MHz, CDCl₃)

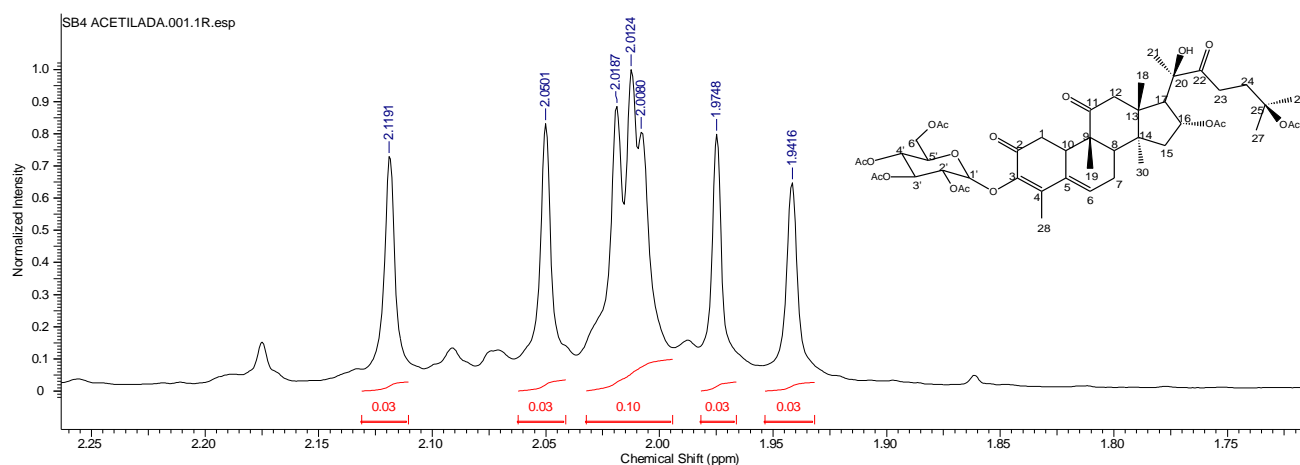


Figura 31. Ampliação do espectro de RMN de ¹H do derivado acetilado de A₄₁₁ (1,75 - 2,25 ppm). (400 MHz, CDCl₃)

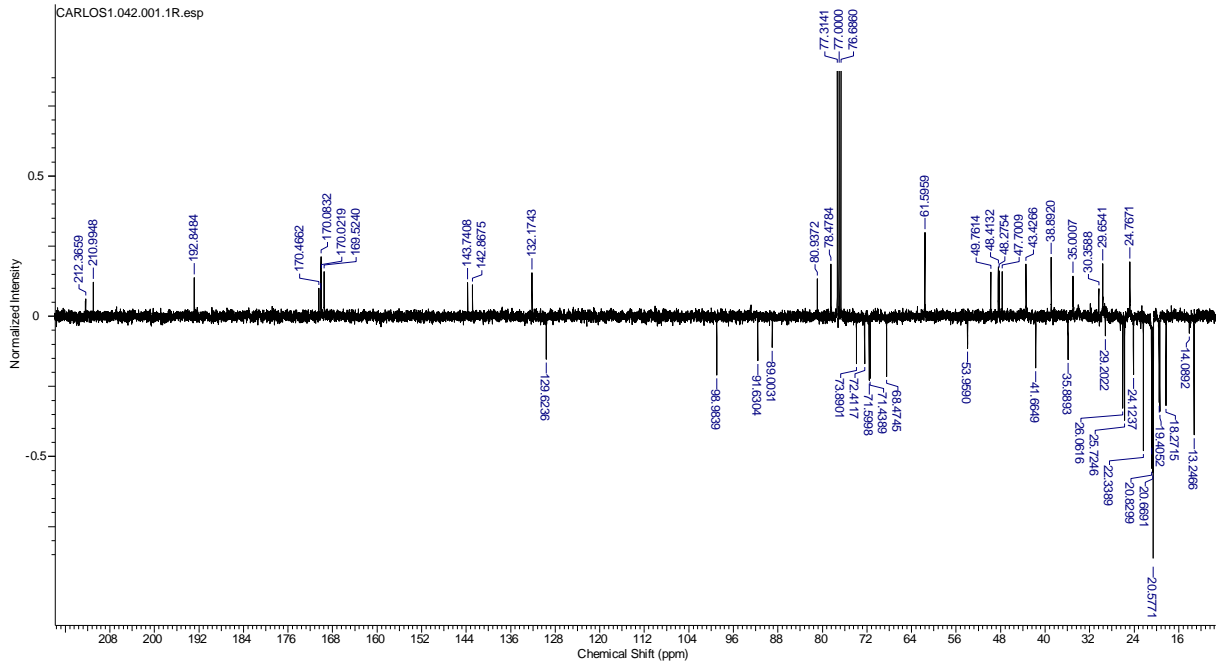


Figura 32. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A₄₁₁. (100 MHz, CDCl₃)

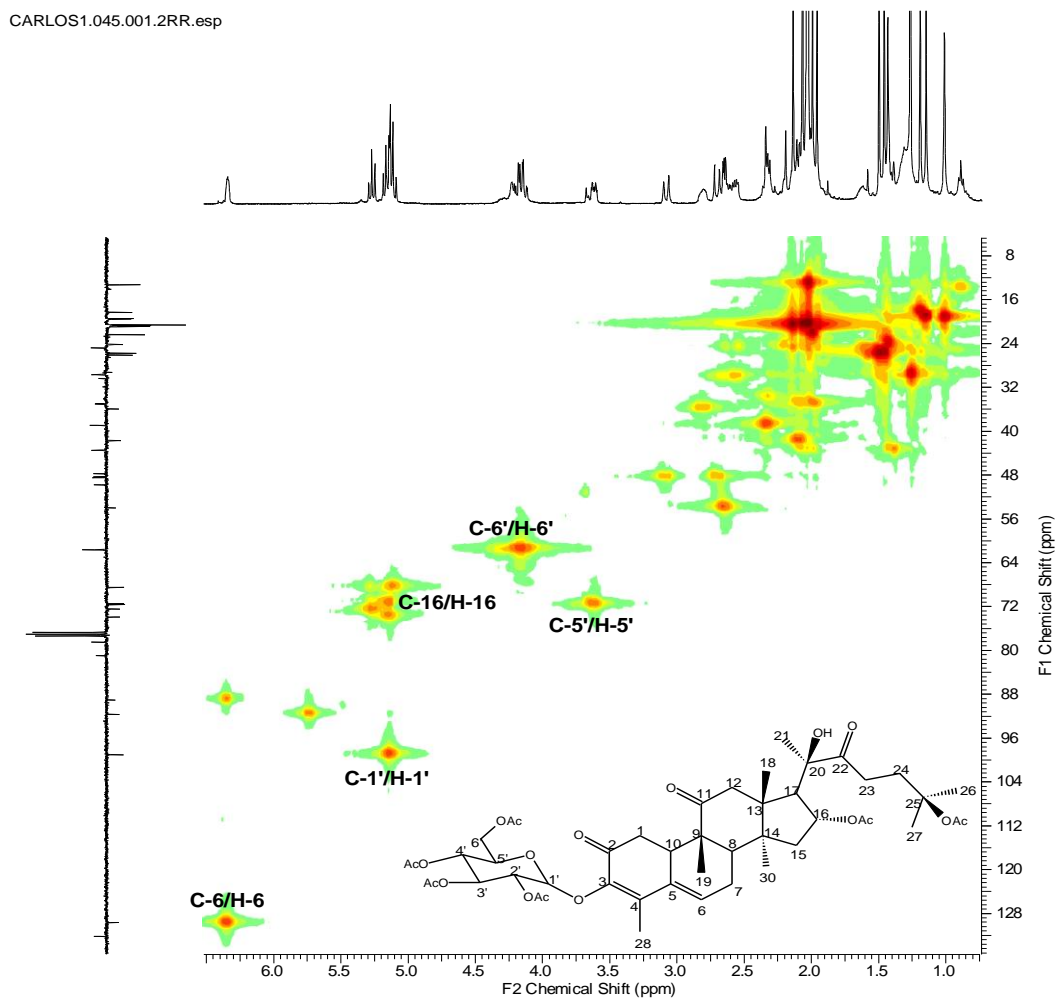


Figura 33. Espectro de HMQC do derivado acetilado de A₄₁₁. (400 MHz, CDCl₃)

CARLOS1.045.001.2RR.esp

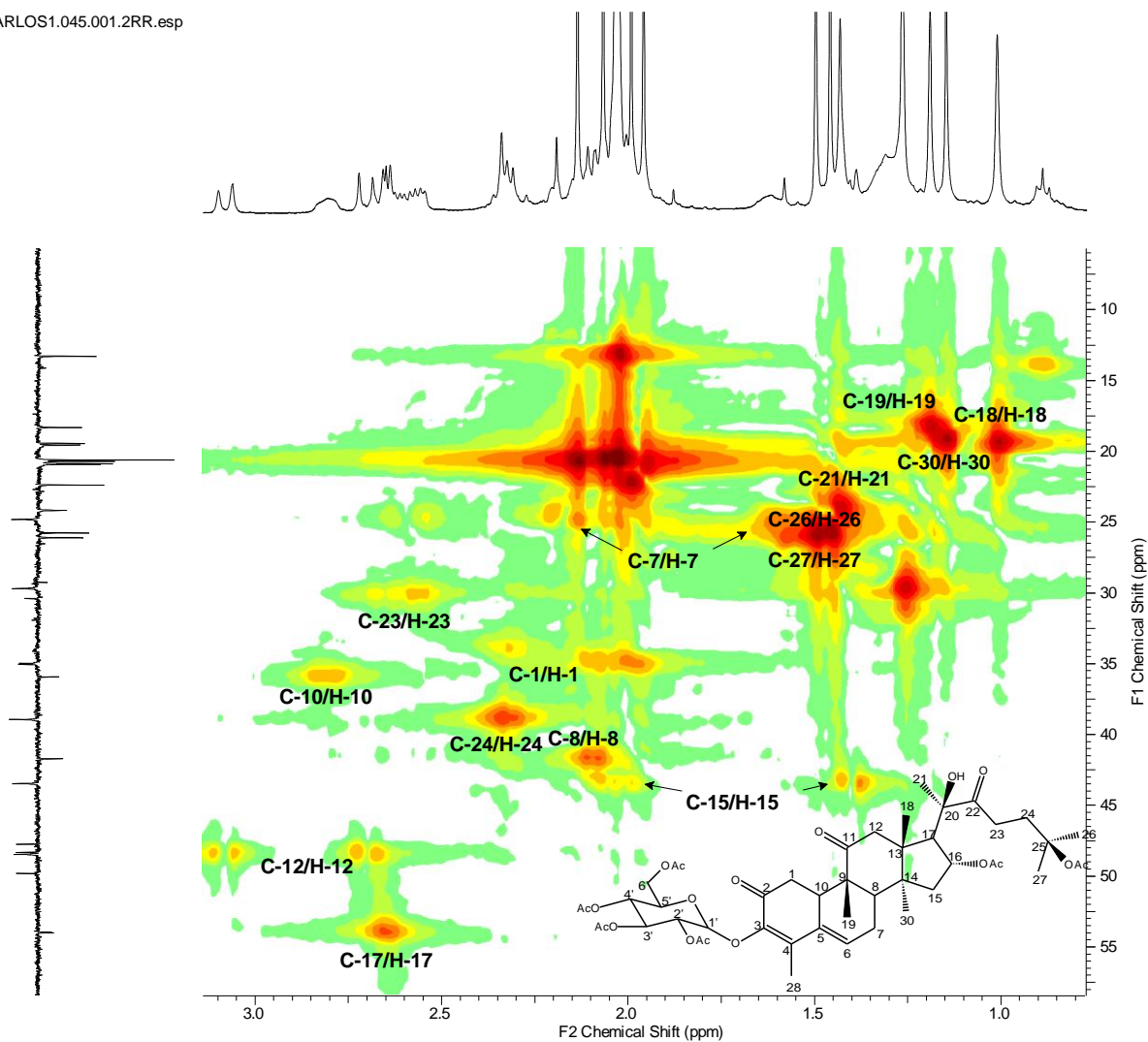


Figura 34. Ampliação do espectro de HMQC do derivado acetilado de A₄₁₁. (400 MHz, CDCl₃)

CARLOS1.044.001.2RR.esp

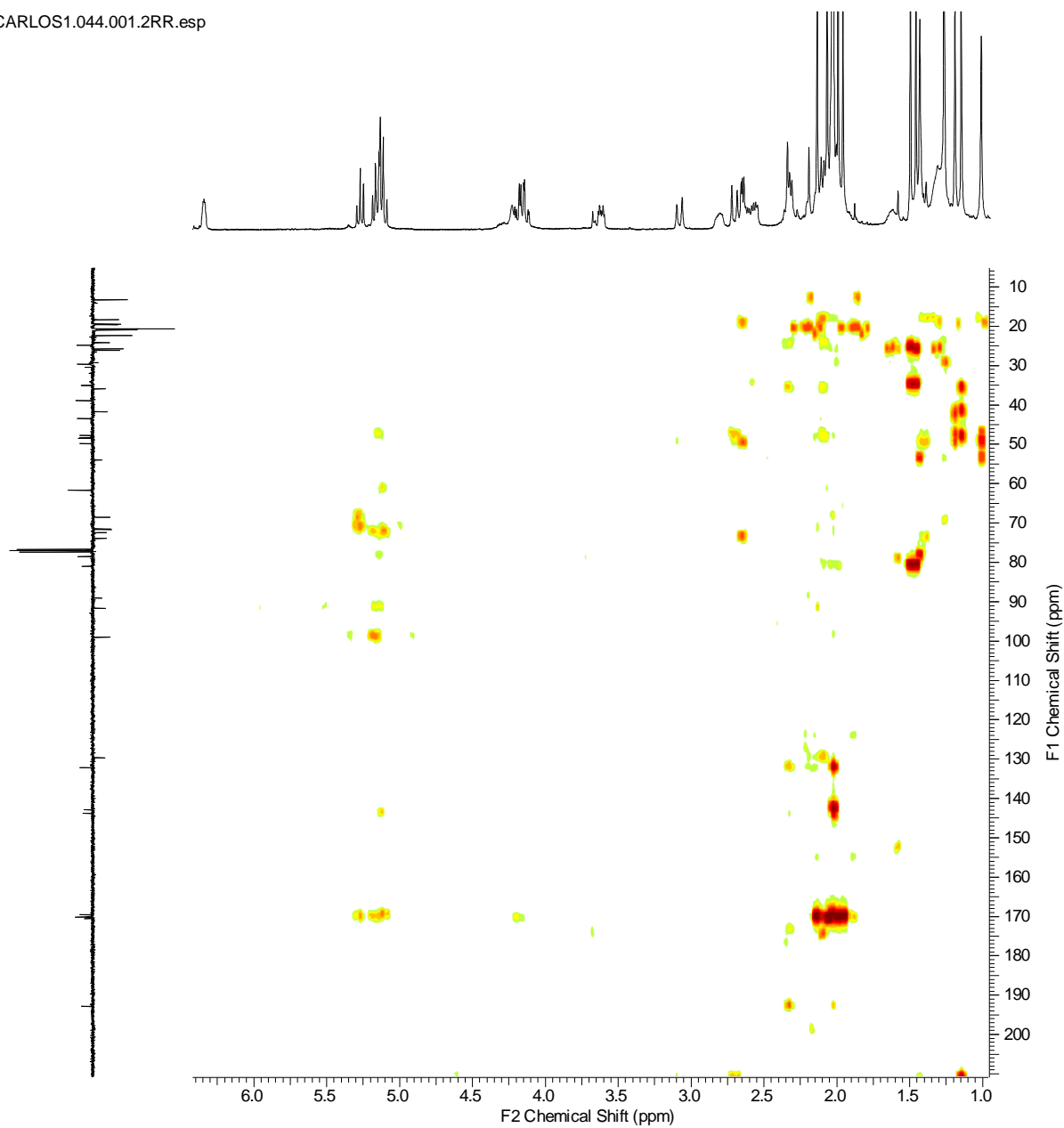


Figura 35. Espectro de HMBC do derivado acetilado de A₄₁₁. (400 MHz, CDCl₃)

5.2.1.2. Determinação da configuração relativa do cayaponosídeo A1.

Submeteu-se o derivado acetilado de A₄₁₁ à experimento de NOESY (2D) para determinação da sua configuração relativa (**Figura 36**).

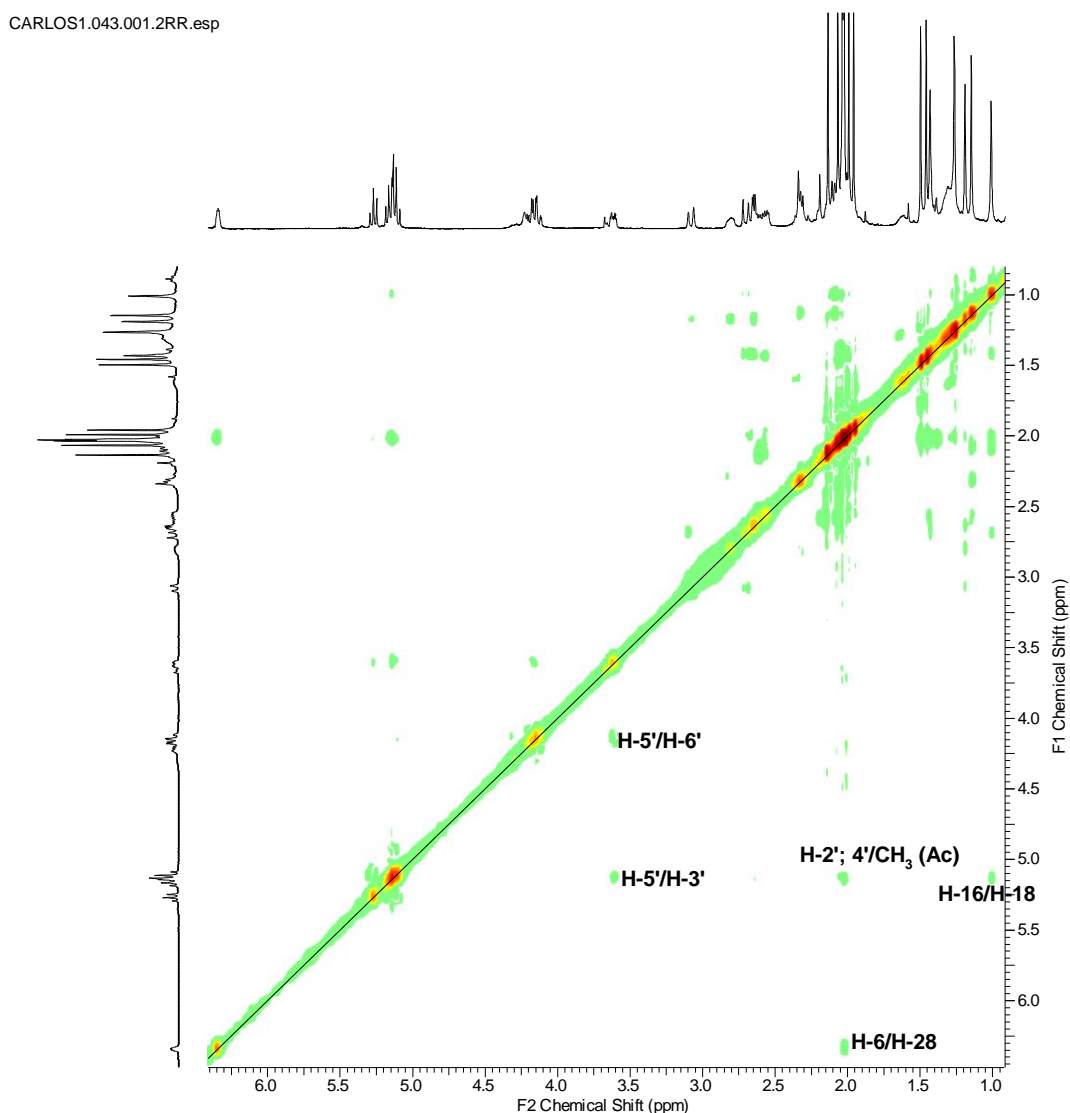


Figura 36. Espectro de NOESY 2D do derivado peracetilado de A₄₁₁. (400 MHz, CDCl₃)

A ampliação do espectro de NOESY 2D (**Figura 37**) do derivado acetilado de A₄₁₁ permitiu observar as interações espaciais entre os prótons da substância e permite também fazer a proposta da configuração relativa da estrutura.

CARLOS1.043.001.2RR.esp

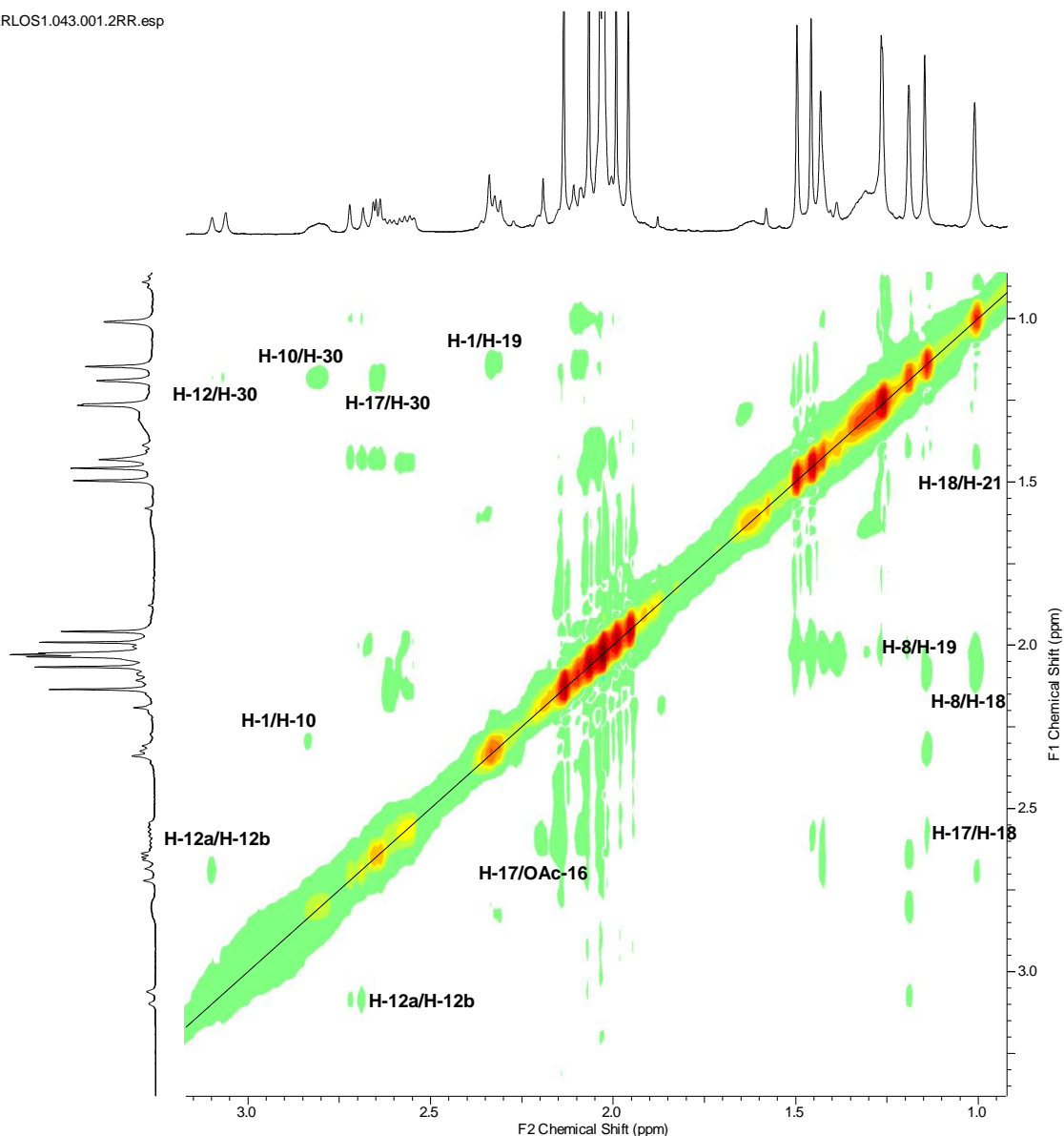


Figura 37. Ampliação do espectro de NOESY 2D do derivado acetilado de A₄₁₁. (400 MHz, CDCl₃)

As interações observadas no espectro de NOESY como as de H-8/H-18, H-18/H-19 e de H-8/H-19 dão indícios de que esses prótons estejam do mesmo lado da molécula, assim como a observação dos sinais entre H-10/H-30 e H-17/H-30. Desta forma foi possível prever a configuração relativa da estrutura (**Figura 38**). A configuração absoluta está discutido no item **5.3.3**.

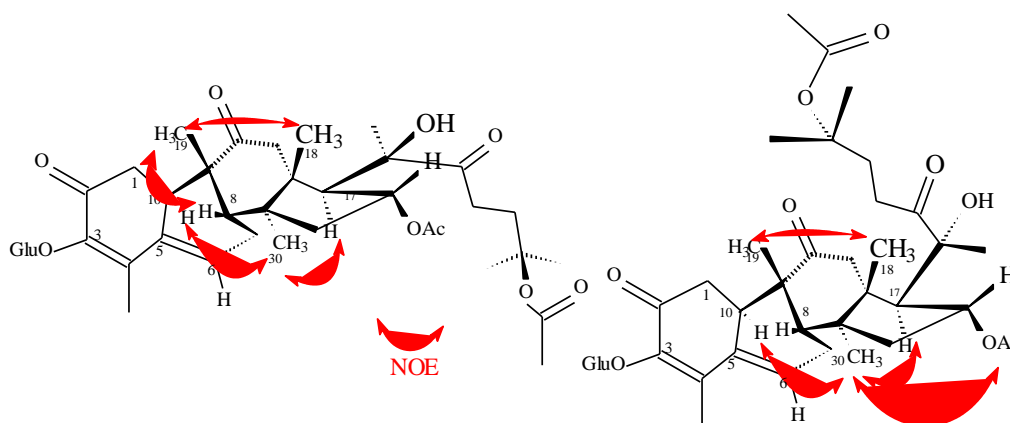


Figura 38. Projeção da proposta de configuração para a substância A₄₁₁.

5.2.2. Elucidação estrutural da substância A₅₁₇₋₂₆ (cayaponosídeo B4) (13 mg).

A substância A₅₁₇₋₂₆ foi isolada na forma de um sólido amorfo de cor amarronzada. Análises de espectros de RMN ¹H e ¹³C (DEPTQ) (Figuras 39, 40 e 41), incluindo observação dos sinais de interação a uma ligação no espectro HSQC (Figuras 42 e 43), permitiram verificar a presença de anel aromático pentassubstituído representado pelos sinais em δ_C 114,98, δ_H 7,38 (s, 1H) (¹J_{CH-1}), carbonos quaternários em δ_C 124,71 (C-4), 131,36 (C-5), 129,75 (C-10) e outros em δ_C 146,14 (C-2) e 144,85 (C-3) de carbonos quaternários oxigenados. Foram observados sete sinais de metilas ligadas a carbono quaternário em δ_C 20,02 e δ_H 1,35 (s, 3H) (Me-18); δ_C 29,88 e δ_H 1,52 (s, 6H) (Me-19); δ_C 24,44 e δ_H 1,52 (s, 6H) (Me-21); δ_C 26,29 e δ_H 1,27 (s, 6H) (Me-26); δ_C 26,80 e δ_H 1,27 (s, 6H) (Me-27); δ_C 12,24 e δ_H 2,32 (s, 3H) (Me-28) e δ_C 20,61 e δ_H 1,37 (s, 3H) (Me-30). Podendo-se destacar o deslocamento químico da metila 28 característica de metila ligada a carbono de sistema aromático, conforme observado na literatura (HIMENO et al, 1994). Observaram-se, também os sinais de uma ligação dupla dissubstituída com δ_C 130,26 e δ_H 6,21 (dd, 1H, $J = 4,85$ e $16,05$ Hz) (¹J_{CH-23}) e δ_C 137,49 e δ_H 6,11 (dd, 1H, $J = 15,9$ Hz) (¹J_{CH-24}), compatíveis com um carbono metínico carbinólico vizinho (OH-CH-22 em δ_C 81,12). A presença de um grupamento carbonila foi proposta pelo sinal em δ_C 214,76 no espectro de RMN ¹³C que foi localizado no C-11 conforme observado em modelos da literatura (HIMENO et al, 1994). A proposta do carboidrato foi feita com base no sinal de hidrogênio ligado a carbono anomérico com δ_C 106,25 e δ_H 5,34 (d, 1H, $J = 7,35$ Hz) (¹J_{CH-1'}). Outros sinais de carbonos

metínicos oxigenados em δ_C 75,23 (**C-2'**), 78,68 (**C-3'**), 71,16 (**C-4'**), 79,20 (**C-5'**) e 62,30 (**C-6'**) e de sinais de hidrogênios oxigenados na região entre δ_H 3,7-4,7, confirmaram a proposta da unidade de açúcar. O sinal em δ_C 50,59 ligado ao grupo metílico com δ_H 3,16 permitiu incorporar uma metoxila na estrutura. Como citado acima os espectros HSQC e $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY (**Figura 45**) foi utilizado para a confirmação das multiplicidades dos carbonos e deduzir os respectivos sinais dos hidrogênios ligados diretamente aos carbonos ($^1J_{\text{HC}}$), (**Figuras 43**), além de observar sinais de hidrogênios que estão acoplado entre si (**Figura 45**).

O espectro obtido com a sequência de pulso de HMBC (**Figura 44**) foi usado na definição das posições dos grupamentos na molécula, assim como o esqueleto principal da estrutura. A posição da metoxila (δ_H 3,16, s, 3H, O-**CH**₃) foi confirmada através do seu sinal a $^3J_{\text{H-C}}$ com o carbono C-25 (δ_C 75,23). A localização do carboidrato na posição 2 foi definida pelo sinal de acoplamento a longa distancia do hidrogênio anomérico (δ_H 5,34, d, J = 7,35 Hz, 1H) e o carbono C-2 da aglicona (δ_C 146,14) a $^3J_{\text{H-C}}$. Não foi verificado sinal de interação de hidrogênios com o grupo carbonila mas entretanto os valores de deslocamentos químicos foram comparados com valores da literatura (HIMENO *et al*, 1994) e confirmaram a proposta.

A comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de A₅₁₇₋₂₆ com valores registrados na literatura para a norcucurbitacina, previamente isolada da espécie *Fevillea trilobata* (VALENTE *et al*, 1993), conhecida como andirobicina A (ou cayaponosídeo B4 da espécie *Cayaponia taiuia* segundo HIMENO *et al*, 1994) ajudaram na confirmação da estrutura proposta (**Tabela 3**). A amostra foi submetida à análise com espectrometria de massas de alta resolução com ionização por *electrospray* em modo negativo, cujo espectro apresenta valor de m/z em 677,3537 (**Figura 46**) ([M – H]), (calculado: 677.35370, $\Delta m = 0$) estando de acordo com a fórmula molecular C₃₆H₅₄O₁₂.

Tabela 3. Atribuição de dados de RMN de A_{517-26} (400 MHz, Piridina- d_5) e comparação com dados da literatura(*).

C	HSQC		HMBC ($^n J_{H-C}$)	COSY	Mod- ^{lit} (*) (400 MHz, MeOD)	
	δ_C	δ_H			δ_C	δ_H
1	114,98 (CH)	7,38 (s)	C-2; C-3; C-5; C-9	-	113,30	6,63 (s)
2	146,14 (C)	-	-	-	144,80	-
3	144,85 (C)	-	-	-	144,80	-
4	124,71 (C)	-	-	-	124,90	-
5	131,36 (C)	-	-	-	131,20	-
6	24,72 (CH ₂)	2,61 (<i>dd</i> , 6,84 e 15,38 Hz) 2,86 (<i>m</i>)	C-5;	H-7	24,83	2,55-2,70 (<i>m</i>) 2,79-2,,92 (<i>m</i>)
7	20,00 (CH ₂)	1,97 (<i>m</i>) 2,16 (<i>m</i>)	C-6; C-9; C-14	H-6; H-8; H-19	20,23	1,90-1,94 (<i>m</i>) 2,17-2,34 (<i>m</i>)
8	43,17 (CH)	2,23 (<i>m</i>)	C-9; C-10; C-14; C-30	H-7	43,96	2,15 (<i>m</i>)
9	51,48 (C)	-	-	-	51,94	-
10	129,75 (C)	-	-	-	129,98	-
11	214,76 (CO)	-	-	-	217,22	-
12	51,92 (CH ₂)	2,83 (<i>m</i>) 2,97 (<i>d</i> , 8,5 Hz)	C-9; C-13; C-14; C-18	H-18	52,11	2,58 (<i>d</i> , 13,9 Hz) 2,75 (<i>d</i>)
13	49,50 (C)	-	-	-	51,91	-
14	51,17 (C)	-	-	-	51,91	-
15	45,82 (CH ₂)	1,99 (<i>m</i>) 2,23 (<i>m</i>)	C-14; C-16; C- 30	H-16	45,51	1,59 (<i>d</i> ; 13,6) 1,90-1,94 (<i>m</i>)
16	71,71 (CH)	5,30 (<i>t</i>)	-	H-15; H- 17	72,20	4,62 (<i>t</i>)
17	56,90 (CH)	2,84 (<i>d</i> , 6,3 Hz)	C-12; C-14; C- 16	H-16	56,78	2,34 (<i>d</i> , 6,7 Hz)
18	20,02 (CH ₃)	1,35 (s)	C-12; C-13; C- 17; C-14;	H-18	19,83	0,97 (s)
19	29,88 (CH ₃)	1,52 (s)	C-8; C-9; C-10	H-7	29,14	1,30 (s)
20	76,64 (C)	-	-	-	76,99	-
21	24,44 (CH ₃)	1,52 (s)	C-17; C-20; C- 22	-	23,74	1,20 (s)
22	81,12 (CH)	4,64 (s)	-	-	81,17	4,01 (<i>d</i> , 4,4 Hz)
23	130,26 (CH)	6,21 (<i>dd</i> , 4,85 e 16,05 Hz)	C-22; C-24; C- 25	H-22; H- 24	130,00	5,75 (<i>dd</i> , 4,7 e 15,6 Hz)
24	137,49 (CH)	6,11 (<i>d</i> , 15,9 Hz)	C-22; C-23; C- 25; C-26	H-23	138,04	5,67 (<i>d</i> , 15,6 Hz)
25	75,23 (C)	-	-	-	76,40	-
26	26,29 (CH ₃)	1,27 (s)	C-24; C-25; C- 27	-	26,11	1,24 (s)
27	26,80 (CH ₃)	1,27 (s)	C-24; C-25; C- 26	-	26,58	1,24 (s)
28	12,24 (CH ₃)	2,32 (s)	C-2; C-4; C-5	-	11,50	2,09 (s)
30	20,61 (CH ₃)	1,37 (s)	C-8; C-9; C-13; C-14; C-15	-	20,20	0,99 (s)
1'	106,25 (CH)	5,34 (<i>d</i> , 7,35 Hz)	C-3	H-3'	105,17	4,53 (<i>d</i> , 7,2 Hz)
2'	75,23 (CH)	4,24 (<i>m</i>)	-	H-4'	74,80	3,40-3,54 (<i>m</i>)
3'	78,68 (CH)	4,24 (<i>m</i>)	C-5'	H-1'	77,71	3,40-3,54 (<i>m</i>)
4'	71,16 (CH)	4,38 (<i>t</i>)	C-3'	H-2'; H-5'	70,80	3,40-3,54 (<i>m</i>)

5'	79,20 (CH)	3,93 (<i>m</i>)	-	H-4'	78,15	3,26-3,36
6'	62,30 (CH ₂)	4,55 (<i>dd</i> , 8,3 e 11,3 Hz)	C-5'	H-5'	62,02	3,78-3,87 (<i>m</i>) 3,90-3,98 (<i>m</i>)
OMe	50,59 (CH ₃)	3,16 (<i>s</i>)	C-25	-	50,81	3,23 (<i>s</i>)

(*)Valente *et al.*, *J. Nat. Prod.* 56 (10), 1772-1778 (1993).

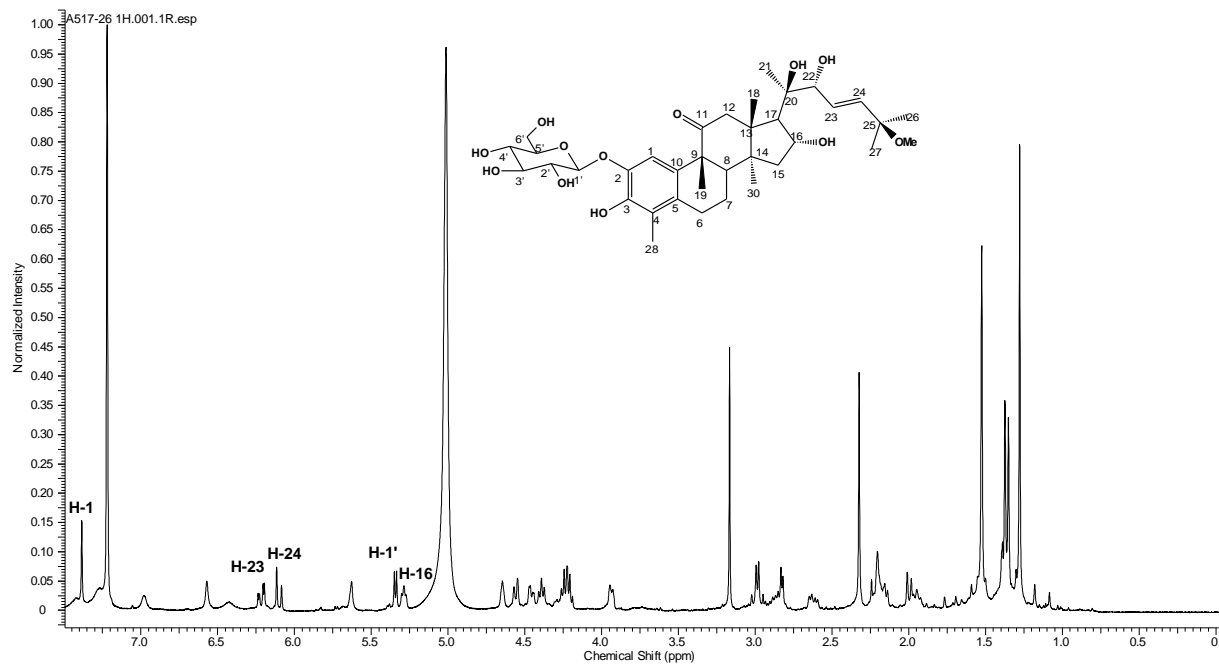


Figura 39. Espectro de RMN de ¹H de A₅₁₇₋₂₆ (400 MHz, Piridina-d₅)

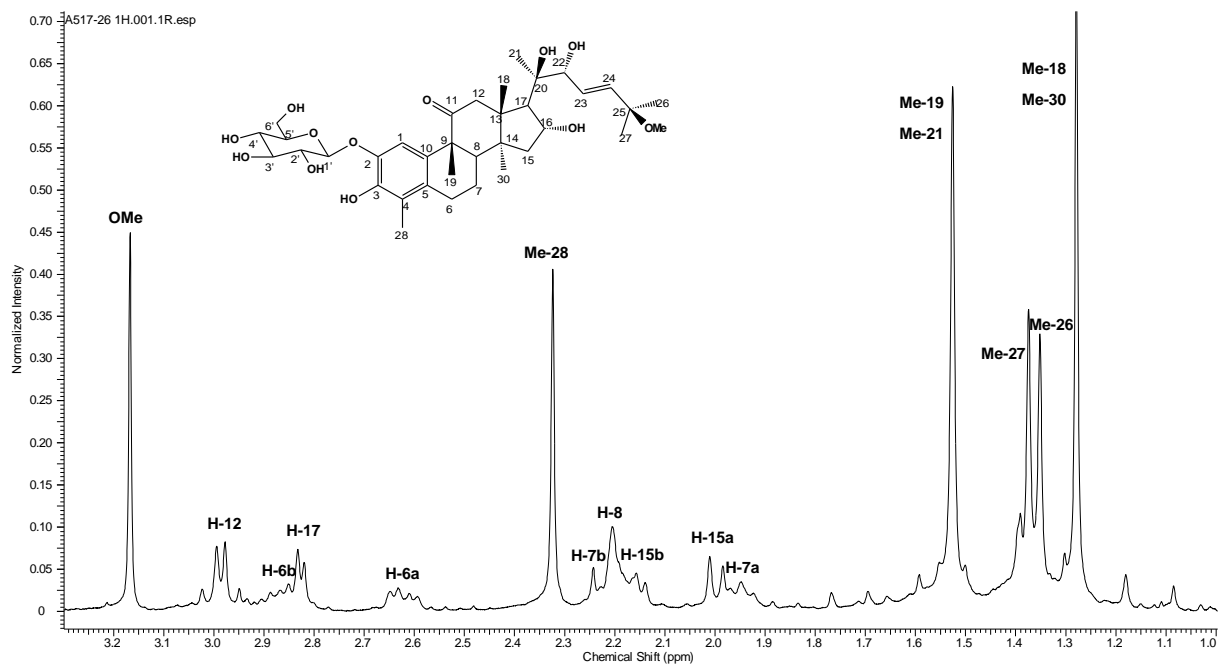


Figura 40. Ampliação do espectro de RMN de ^1H de A₅₁₇₋₂₆ (1,0 - 3,3 ppm). (400 MHz, Piridina- d_5)

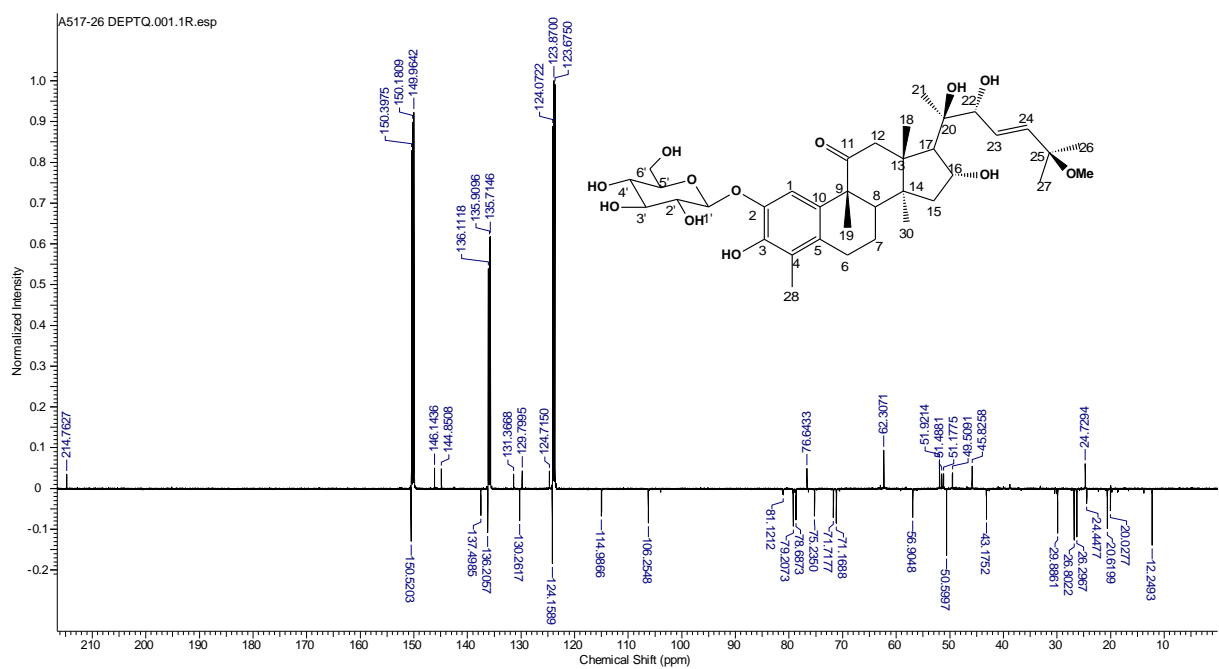


Figura 41. Espectro de DEPTQ de A₅₁₇₋₂₆. (100 MHz, Piridina d_5)

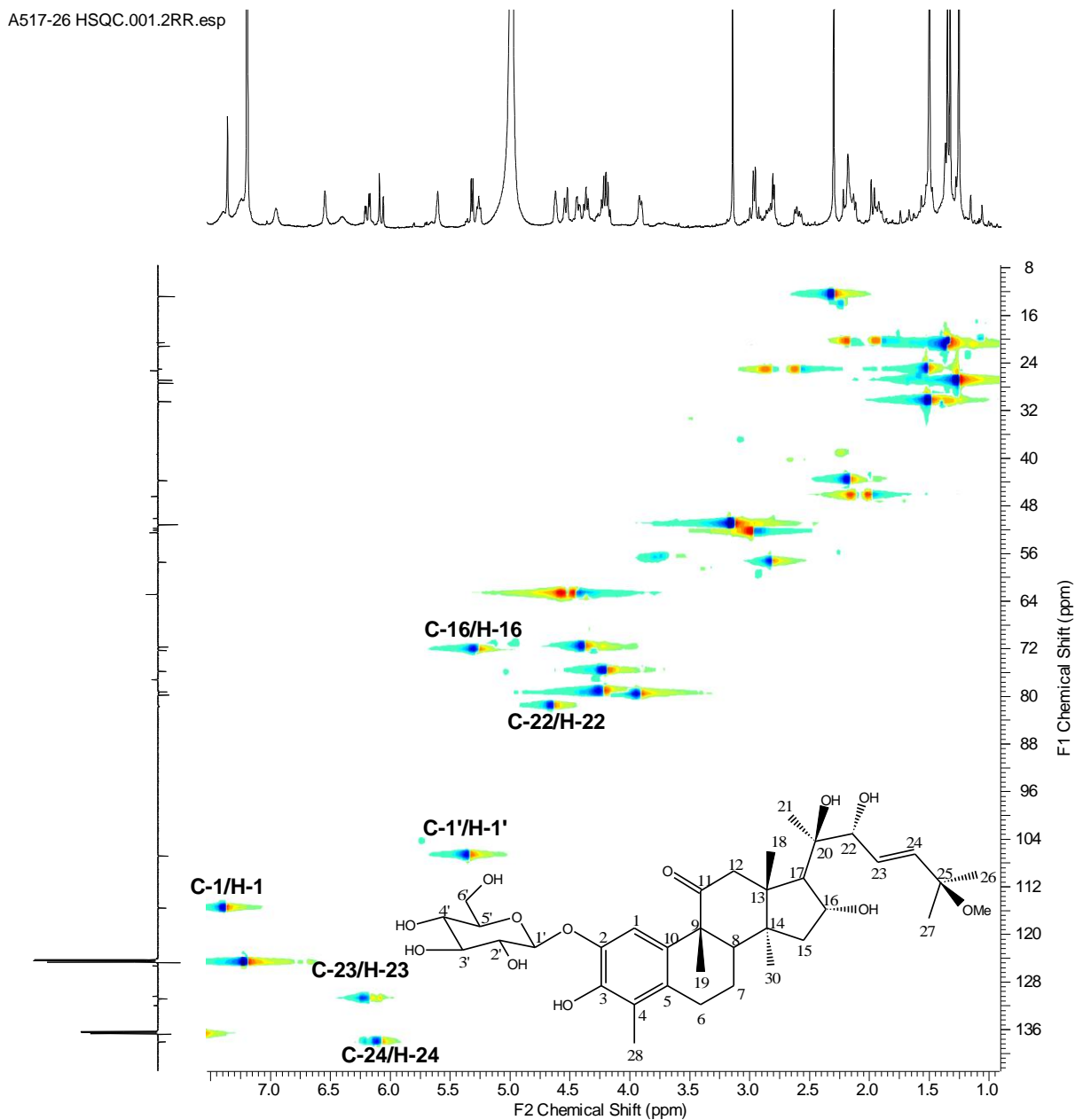


Figura 42. Espectro de HSQC de A₅₁₇₋₂₆. (400 MHz, Piridina *d*₅)

A517-26 HSQC.001.2RR.esp

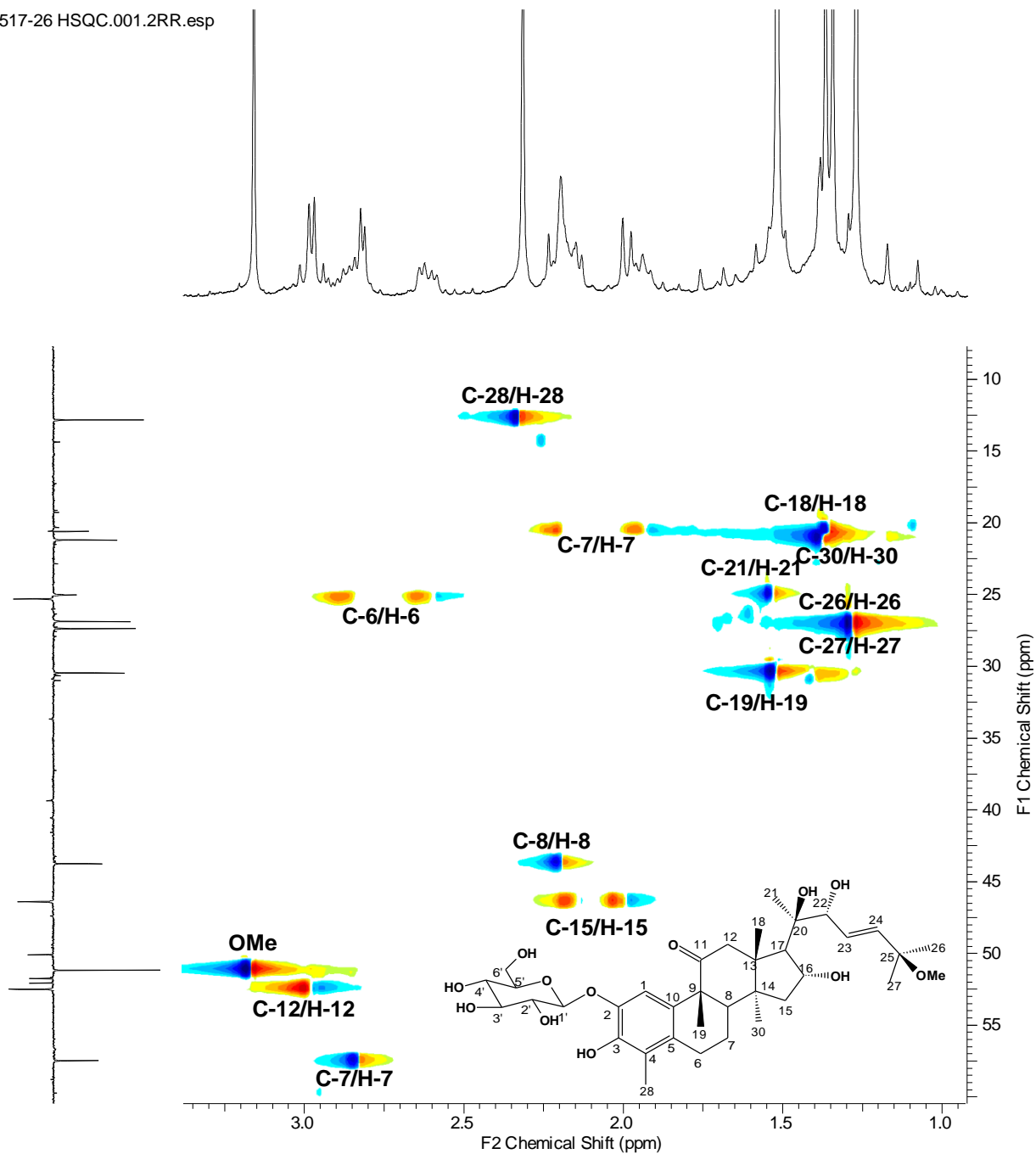


Figura 43. Ampliação do espectro de HSQC de A₅₁₇₋₂₆. (400 MHz, Piridina d₅)

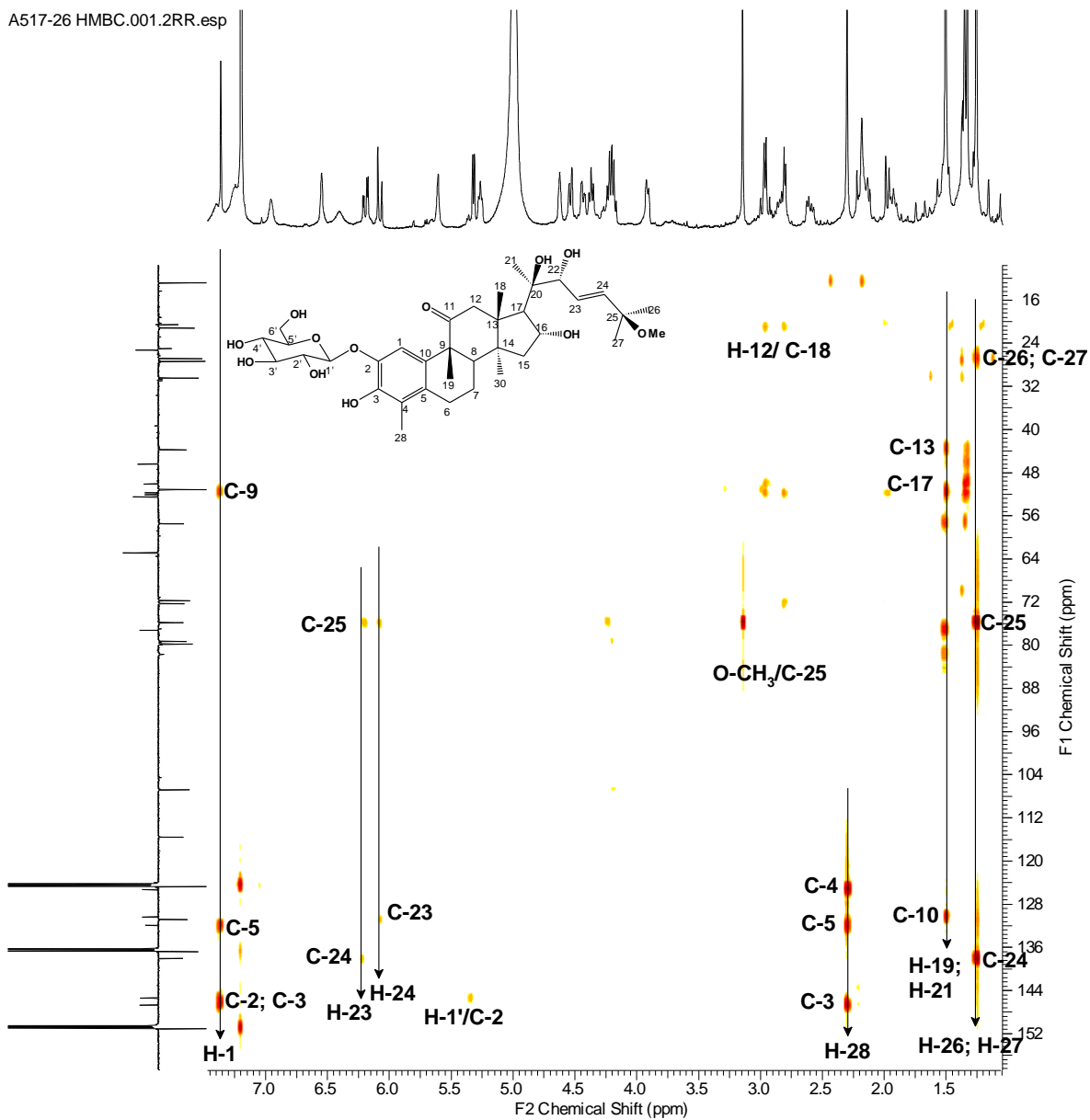


Figura 44. Espectro de HMBC de A₅₁₇₋₂₆. (400 MHz, Piridina *d*₅)

A517-26 COSY.001.2RR.esp

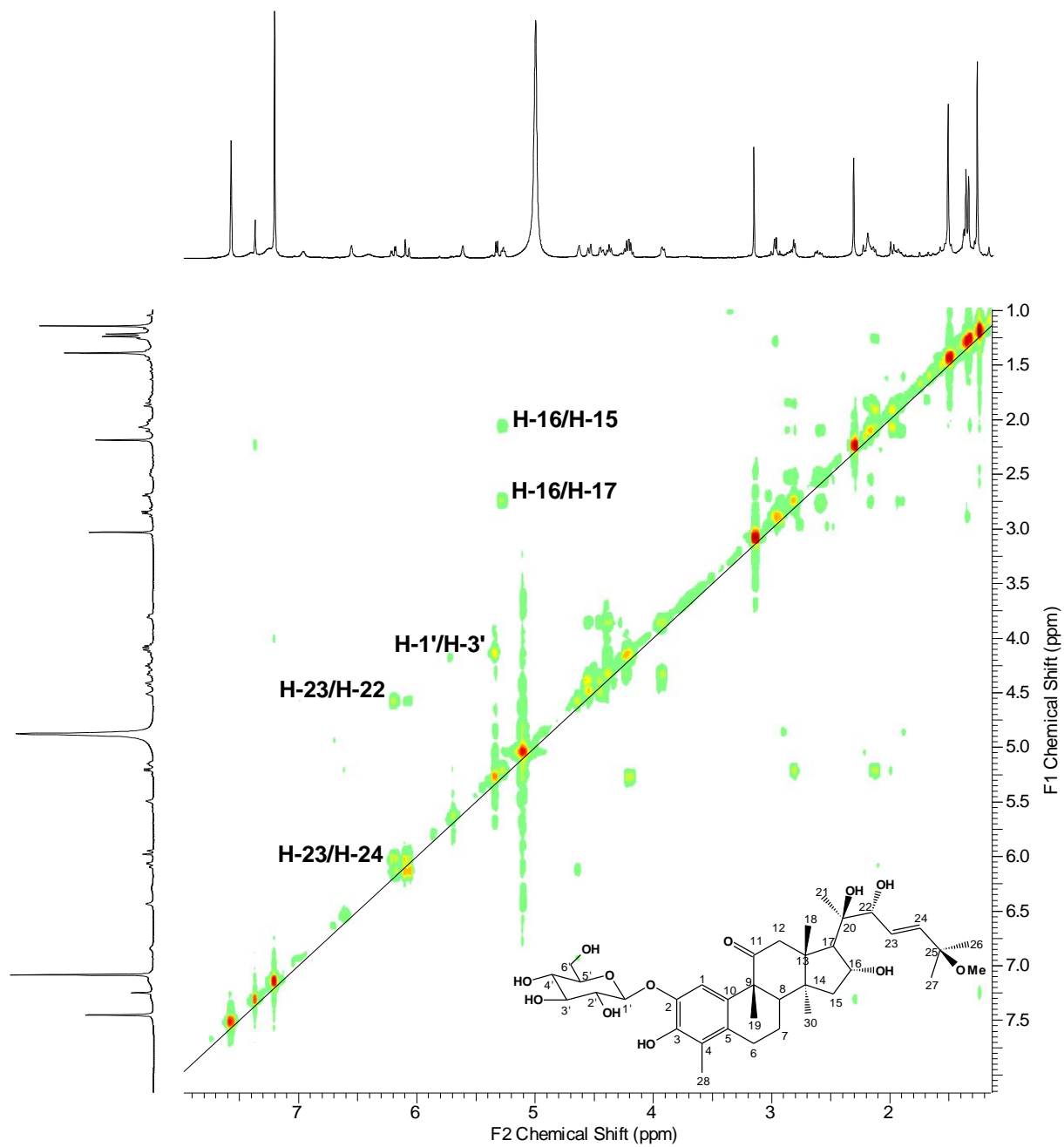


Figura 45. Espectro de COSY de A₅₁₇₋₂₆. (400 MHz, Piridina-*d*₅)

ESI-

MeOH

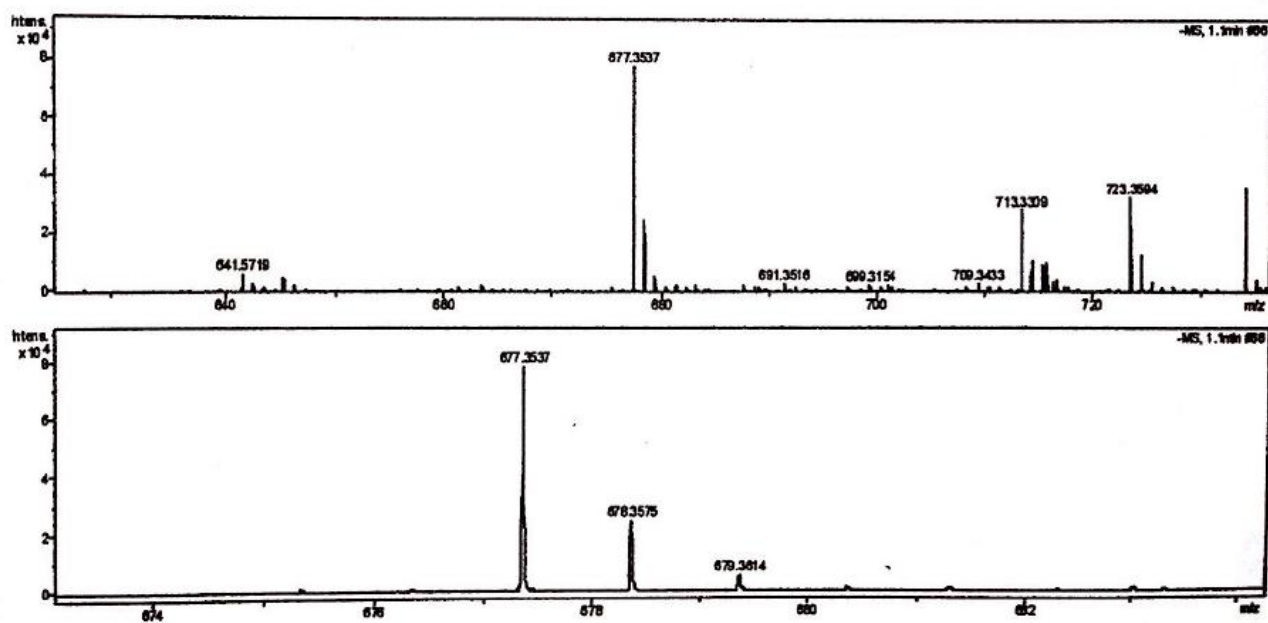


Figura 46. Espectro de massa por ionização por *electrospray* de A₅₁₆₋₂₆ em modo negativo.

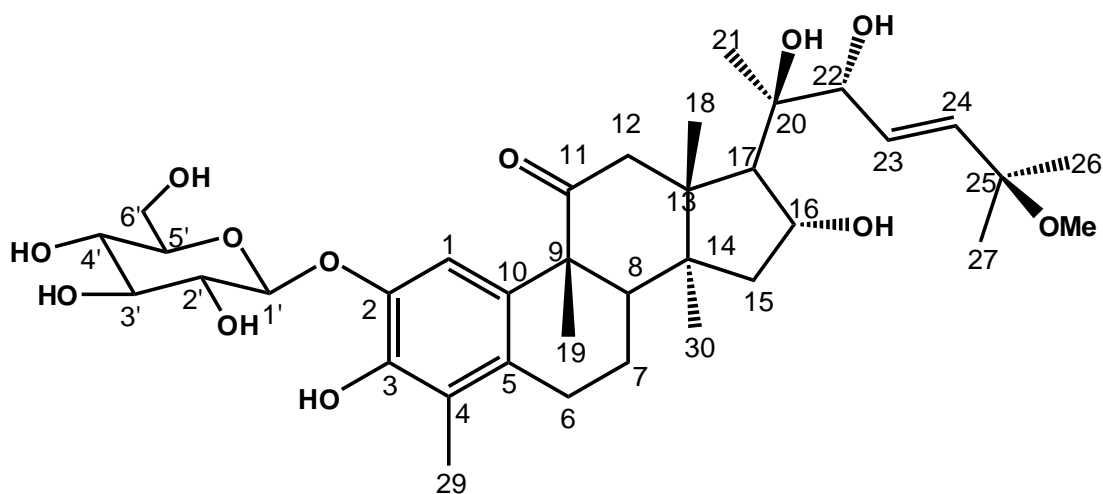


Figura 47. Estrutura proposta de A₅₁₇₋₂₆.

5.2.2.1. Preparação do derivado acetilado do cayaponosídeo B4.

A preparação do derivado acetilado de A_{517-26} (**Figura 48**) foi executada pelo mesmo processo de preparação proposto para A_{411} (pp 60), utilizando-se 10 mg do composto original e obtendo-se ao final do processo 8 mg do derivado acetilado.

Pelo espectro de RMN de ^1H (**Figuras 49 e 50**) do derivado acetilado de A_{517-26} , pode-se confirmar a formação do derivado peracetilado devido ao surgimento de seis simpletos entre δ_{H} 2,20 – 1,95 ppm referentes às metilas das acetoxilas formadas na reação.

Pelo espectro de DEPTQ (**Figura 51**) do derivado, pode-se observar os sinais característicos das acetoxilas formadas entre δ_{C} 172 – 168 ppm, referente às carbonilas, e entre δ_{C} 21 – 19 ppm referente às metilas dos grupamentos.

O espectro de HSQC (**Figura 52**) foi de grande ajuda para a atribuição de dados a $^1J_{\text{H-C}}$, assim como a confirmação da ocorrência da reação de geração do número de acetoxilas esperado.

A posição da porção glicosídica proposta por experimentos de HMBC estar ligada ao carbono C-2, foi definida por experimentos de NOEDIFF (**Figura 53**) com irradiações no hidrogênio anomérico (δ_{H} 5,0 ppm) e no hidrogênio 1 (δ_{H} 6,64 ppm) gerando NOE nos núcleos vizinhos.

A irradiação no próton anomérico (H-1') causou absorção no próton H-1 da aglicona (δ_{H} 6,64 ppm) e o contrário foi observado quando se irradiou o próton H-1.

A atribuição dos dados de RMN do derivado acetilado de A_{517-26} estão apresentados na **Tabela 4** conforme a observação dos espectros abaixo.

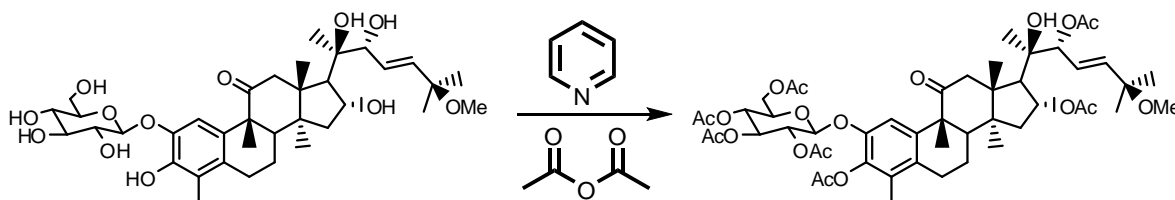


Figura 48. Reação de acetilação de A_{517-26} .

Tabela 4. Atribuição dos dados de RMN do derivado acetilado de A₅₁₇₋₂₆. (CDCl₃, 400 MHz)

C	HSQC		HMBC (ⁿ J _{H-C})	COSY
	δ _C	δ _H		
1	109,37 (CH)	6,64 (s)	C-2; C-3; C-5; C-9	-
2	146,11 (C)	-	-	-
3	136,77 (C)	-	-	-
4	129,06 (C)	-	-	-
5	130,32 (C)	-	-	-
6	24,04 (CH ₂)	2,78 (m) 2,63 (m)	C-5;	H-7
7	19,10 (CH ₂)	2,25 (m) 2,05 (m)	C-6; C-9; C-14	H-6; H-8; H-19
8	41,87 (CH)	2,18 (m)	C-9; C-10; C-14; C-30	H-7
9	53,74 (C)	-	-	-
10	135,26 (C)	-	-	-
11	214,15 (CO)	-	-	-
12	51,38 (CH ₂)	2,74 (m) 2,62 (m)	C-9; C-13; C-14; C-18	H-18
13	48,32 (C)	-	-	-
14	50,56 (C)	-	-	-
15	43,74 (CH ₂)	2,15 (m) 1,57 (m)	C-14; C-16; C- 30	H-16
16	72,15 (CH)	3,95 (t)	-	H-15; H- 17
17	52,54 (CH)	2,63 (m)	C-12; C-14; C- 16	H-16
18	19,64 (CH ₃)	1,04 (s)	C-12; C-13; C- 17; C-14;	H-18
19	29,23 (CH ₃)	1,41 (s)	C-8; C-9; C-10	H-7
20	74,59 (C)	-	-	-
21	29,70 (CH ₃)	1,31 (s)	C-17; C-20; C- 22	-
22	74,61 (CH)	5,47 (m)	-	-
23	122,82 (CH)	5,52 (m)	C-22; C-24; C- 25	H-22; H- 24
24	142,72 (CH)	5,72 (d, 15,0 Hz)	C-22; C-23; C- 25; C-26	H-23
25	74,61 (C)	-	-	-
26	25,64 (CH ₃)	1,28 (s)	C-24; C-25; C- 27	-
27	25,84 (CH ₃)	1,3 (s)	C-24; C-25; C- 26	-
28	12,13 (CH ₃)	2,01 (s)	C-2; C-4; C-5	-
30	19,36 (CH ₃)	1,06 (s)	C-8; C-9; C-13; C-14; C-15	-
1'	98,35 (CH)	5,0 (m)	C-3	H-3'
2'	70,37 (CH)	5,29 (m)	-	H-4'
3'	72,67 (CH)	5,29 (m)	C-5'	H-1'
4'	67,96 (CH)	5,15 (m)	C-3'	H-2'; H-5'
5'	72,15 (CH)	3,90 (m)	-	H-4'
6'	61,71 (CH ₂)	4,35 (m)	C-5'	H-5'
OMe	50,52 (CH ₃)	3,16 (s)	C-25	-
CO-Me	168,74 – 171,06	-	-	-
CO-Me	20,28 – 21,07	2,04 – 2,26	-	-

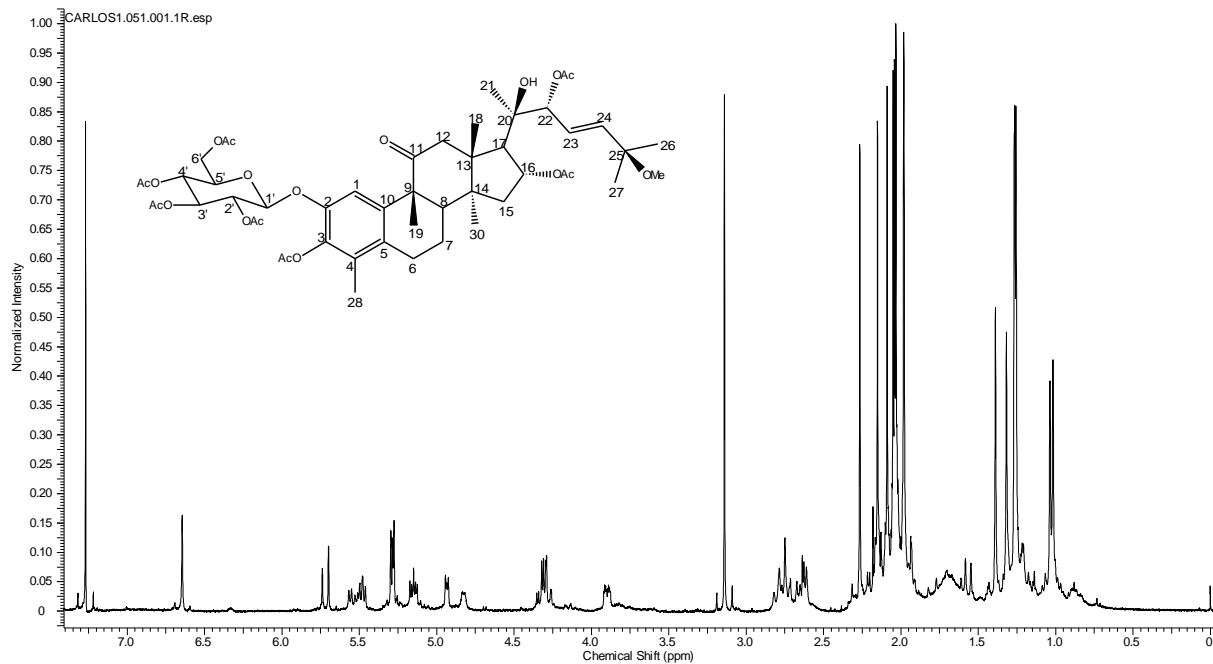


Figura 49. Espectro de RMN de ^1H do derivado acetilado de A_{517-26} . (400 MHz, CDCl_3)

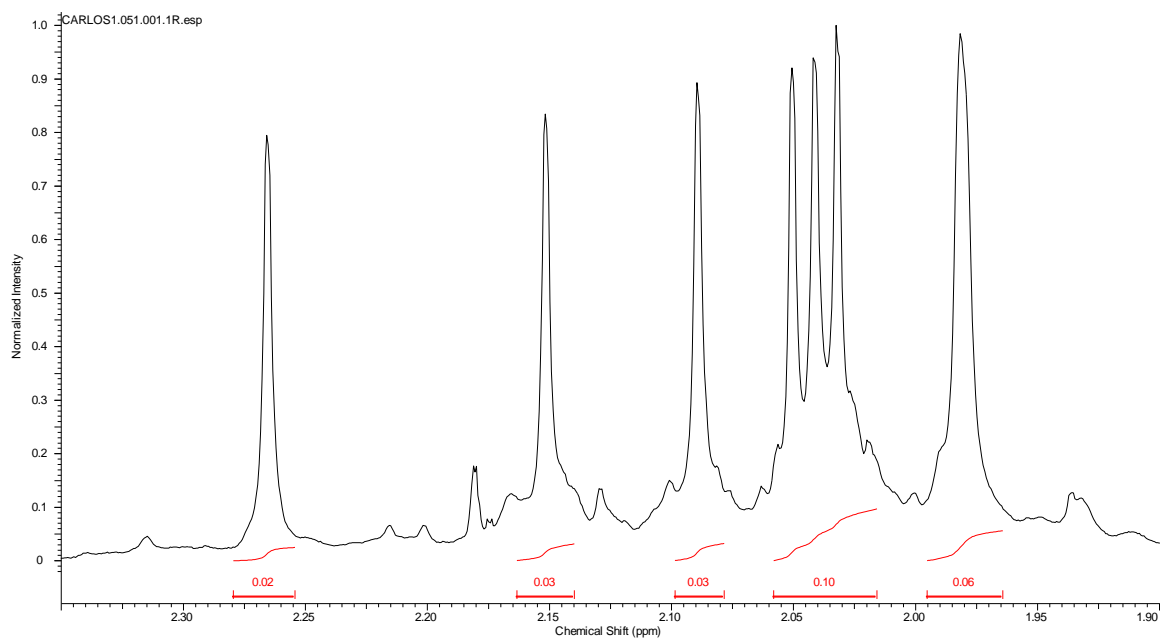


Figura 50. Ampliação do espectro de RMN de ^1H do derivado acetilado de A_{517-26} (2,35 - 1,90 ppm). (400 MHz, Piridina - d_5)

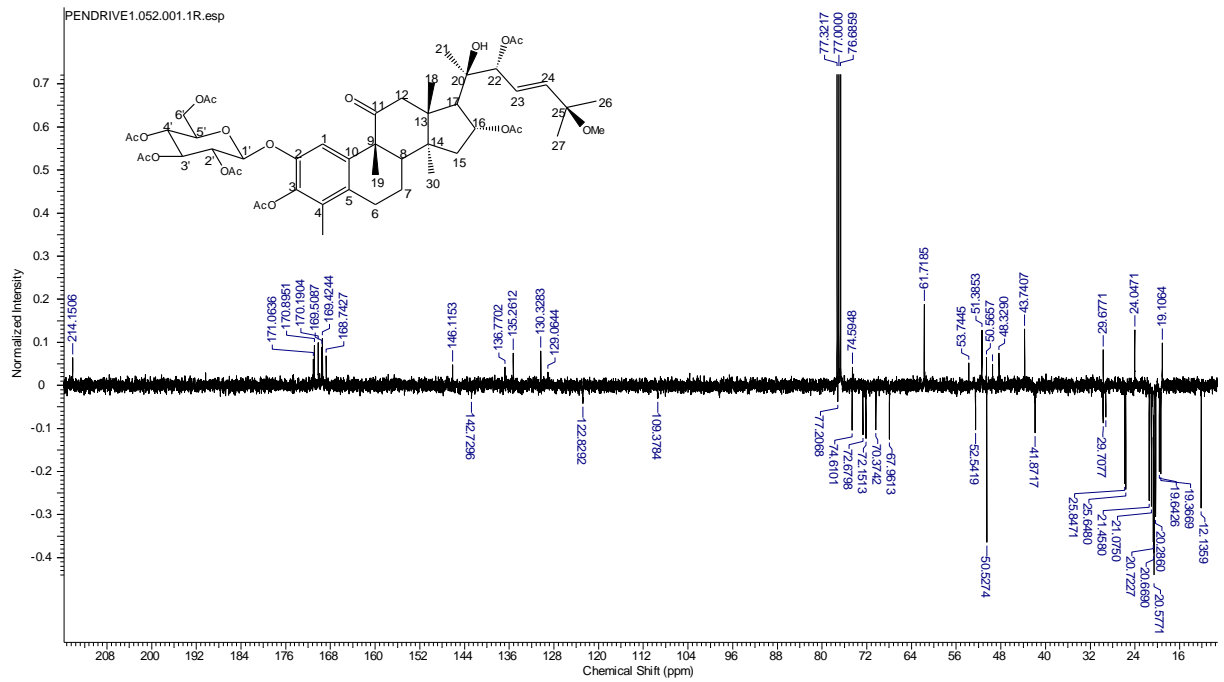
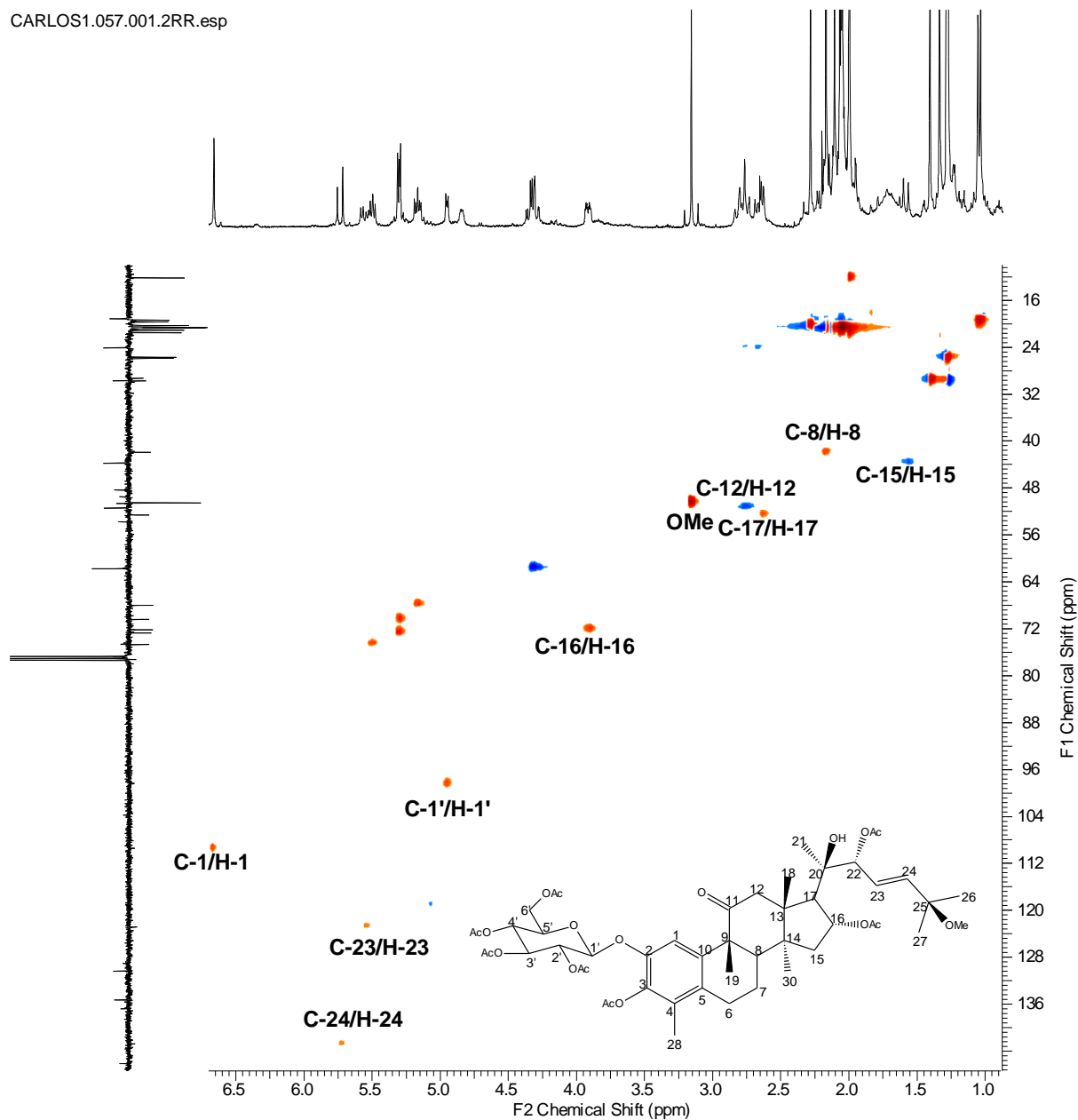


Figura 51. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A₅₁₇₋₂₆. (100 MHz, Piridina-*d*₅)

CARLOS1.057.001.2RR.esp

Figura 52. Espectro de HSQC do derivado acetilado de A₅₁₇₋₂₆ (400 MHz, CDCl₃)

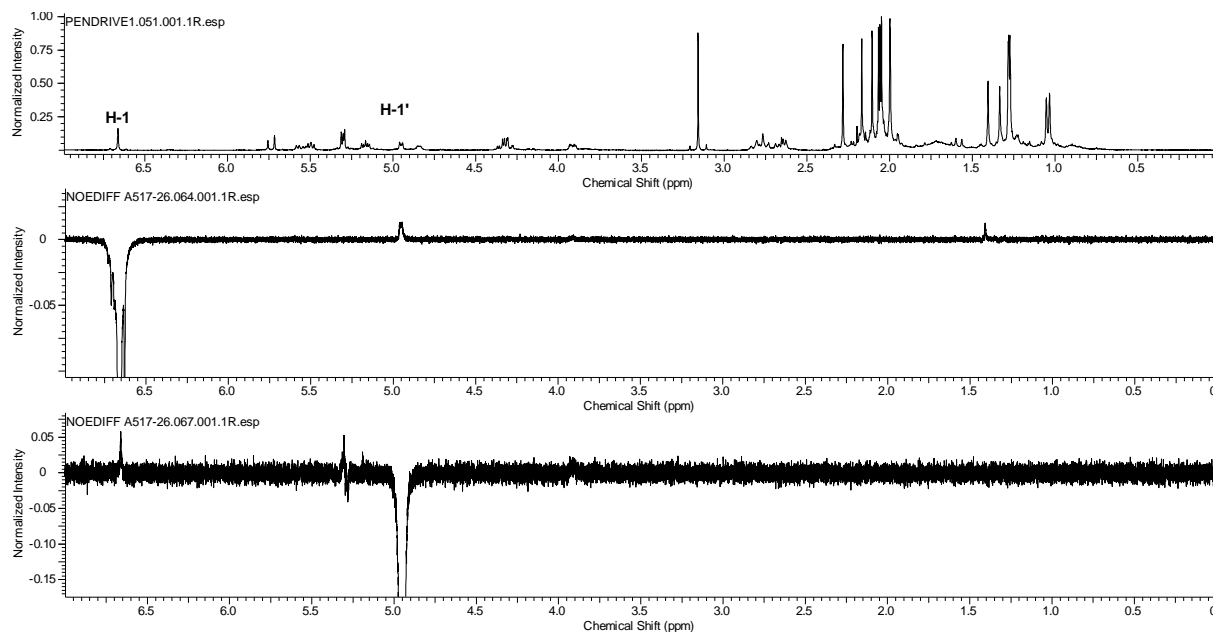
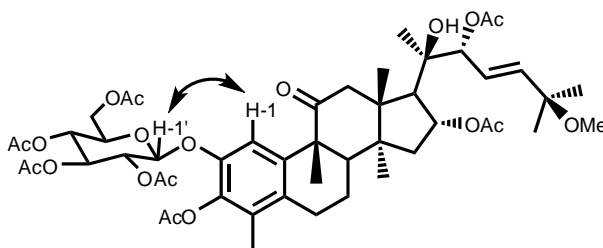


Figura 53. Experimento de NOEDIFF ddo derivado acetilado de A₅₁₇₋₂₆. (400 MHz, CDCl₃)



5.2.2.2. Determinação da configuração relativa do cayaponosídeo B4.

Para determinar a configuração relativa do triterpenóide A₅₁₇₋₂₆Ac, seu derivado acetilado foi submetido à experimento de NOEDIFF (Figura 54) com irradiação em nas metilas (Me-18; Me-19; Me-26; Me-27 e Me-30) para a observação da proximidade entre as mesmas.

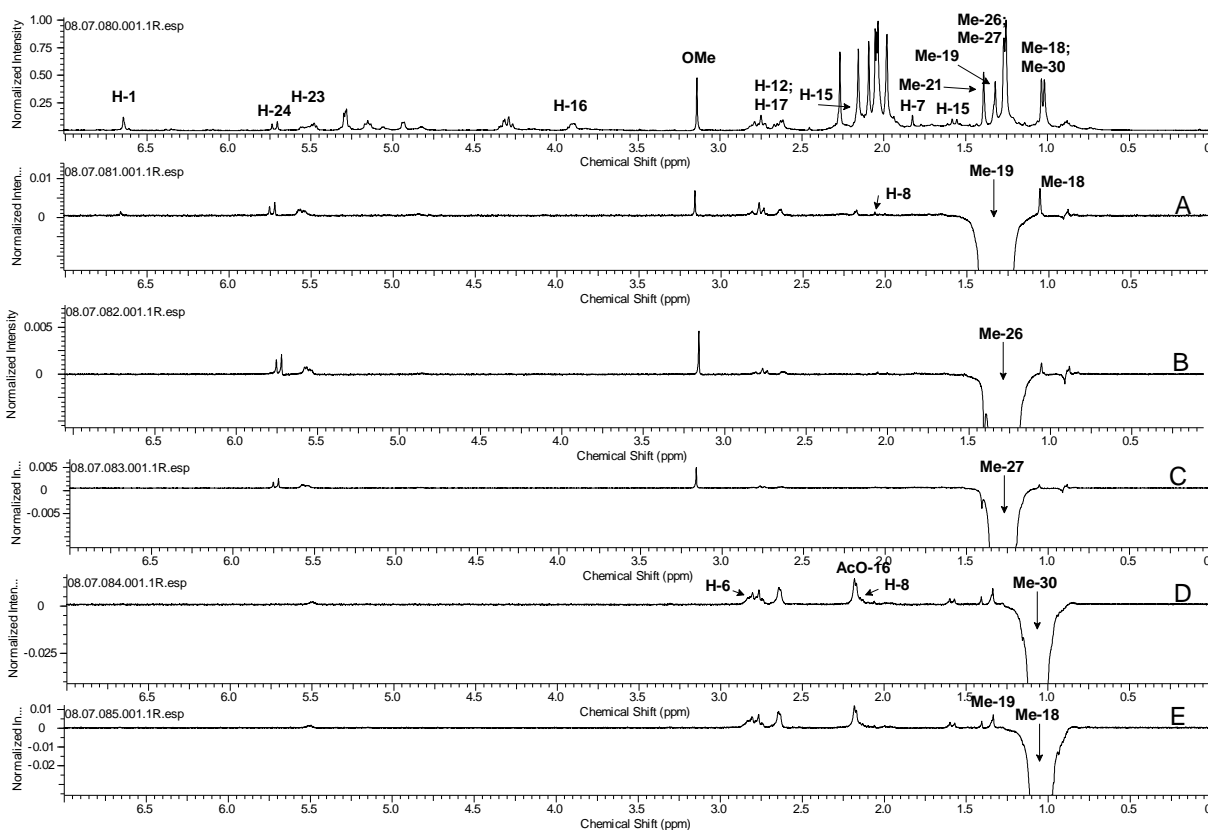


Figura 54. Experimentos de NOEDIFF de $A_{517-26}Ac$ com múltiplas irradiações. (500 MHz, $CDCl_3$).

A observação e análise do experimento de NOEDIFF da amostra permitiu propor a configuração relativa dos prótons H-18 e H-19 em β devido à absorção ocorrida por H-18 quando ocorreu irradiação em H-19 (A) com o inverso também observado em (E), assim como os sinais de NOE do grupo AcO-16 nos experimentos (D) e (E). A proximidade das frequências do H-18 e H-30 nos conduziu a definição das demais interações necessárias. Nos experimentos B e C, a irradiação nos prótons H-26 e H-27 interferiu na frequência do H-19 e por isso, ocorreu NOE no H-18 além dos sinais absorvidos em OCH_3 e δ_H da dupla ligação (C-23/C-24). O NOE no grupo AcO-16 e ausência de NOE no H-16 justifica a proposta do grupamento OH-16 em α . De qualquer forma pode-se propor a configuração relativa como representado na literatura entre H-18 e H-19 em β e H-30 e o grupamento OH-16 em α . A **Figura 55** representa a configuração relativa proposta para o cayaponosídeo B4.

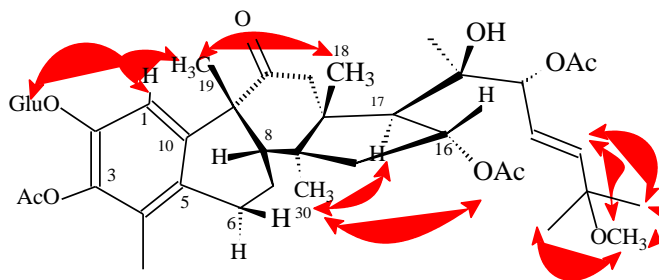


Figura 55. Projeção da estrutura de $A_{517-26}Ac$.

5.2.3. Elucidação estrutural da substância A_{5241} (cayaponosídeo D) (12 mg).

A substância A_{5241} foi isolada na forma de uma pasta amorfa amarronzada. Submeteu-se a amostra a experimento de RMN de 1H (Figura 56 e 57) e DEPTQ (Figura 58). A análise dos espectros permitiu verificar semelhança com espectro da substância A_{517-26} (Figura 38) sendo, entretanto, proposta estrutura semelhante a anterior.

Além dos sinais de hidrogênios ligados a carbonos sp^2 , sendo um singlete e dois sinais com acoplamento semelhante à estrutura anterior, observaram-se sinais de uma unidade de açúcar. Os sinais de prótons olefínicos em δ_H 6,50 (*dd*, $J = 5,85$ e $15,8$ Hz) e δ_H 6,36 (*d*, $J = 15,5$ Hz) são compatíveis hidrogênios **H-23** e **H-24**. O sinal de hidrogênio do carbono anomérico com δ_H 5,40 (*d*, $J = 7,32$ Hz, **H-1'**). Outro sinal que revela semelhança entre ambas foi o da metila ligada a sistema insaturado com δ_H 2,33 (*s*, **Me-28**). O total de grupos metílicos da estrutura foi confirmado pelos singletos presentes no espectro de RMN 1H (Figura 56). O espectro de DEPTQ (Figura 58) permitiu deduzir o número de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e quaternários. Além de confirmar as funções presentes no esqueleto de acordo com os valores dos deslocamentos químicos observados. O espectro 2D $^1Hx^1H$ -COSY (Figura 62) foi utilizado para confirmar as vizinhanças dos hidrogênios que acomplam entre si e os valores de constante de acoplamento dos sinais permitiu propor as configurações relativas entre os mesmos.

A análise dos sinais presentes do espectro HSQC (Figura 59 e 60) permitiu confirmar as multiplicidades dos carbonos da aglicona, da porção glicosídica e atribuir os respectivos deslocamentos dos núcleos ligados entre si (Tabela 5). Os sinais observados no espectro HMBC permitiu confirmar a posição do carboidrato

em C-2 pelo acoplamento do H-1' com C-2 ($^3J_{HC}$) e ausência de acoplamento deste carbono com a metila 28 (**Me-28**).

A amostra foi submetida à espectrometria de massas com ionização por *electrospray* em modo positivo (**Figura 63**). Observa-se no espectro o pico do íon quasimolecular com m/z 687,3351 (observado) referente ao seu aduto formado com Sódio [M + Na], m/z 687,33564 ($\Delta m = 0,00054$) (calculado), compatível com a fórmula molecular $C_{35}H_{52}NaO_{12}$.

Os dados espectroscópicos estão listados na **Tabela 5** juntamente com a comparação com os dados da literatura que coincidem com um glicosídeo de esqueleto cucurbitano, já descrito por HIMENO *et al* (1994), conhecido como cayponosídeo D (**Figura 64**), isolado da espécie *cayponia tayuya*.

Tabela 5. Atribuição de dados de RMN de A_{5241} e comparação com dados da literatura (*). (400 MHz, Piridina- d_5).

C	HSQC		HMBC	COSY	Mod. ^{lit*} (400 MHz, MeOD)	
	δC	δH			δC	δH
1	114,93 (CH)	7,34 (s)	$^{2,3}J_{H-C}$ C-2; C-3; C-9	-	114,3	6,63 (s)
2	144,70 (C)			-	145,4	-
3	146,12 (C)			-	145,7	-
4	124,74 (C)			-	125,7	
5	131,33 (C)			-	132,2	
6	24,74 (CH ₂)	2,58 (dd, 7,5 e 18,0 Hz) 2,88 (m)	-	H-8	25,6	2,65 (m) 2,85 (m)
7	20,01 (CH ₂)	1,98 (m) 2,10 (m)	-	-	21,0	1,96 (m) 2,27 (m)
8	43,17 (CH)	2,79 (d, 6,3 Hz)	C-9	-	44,8	2,15 (d, 7 Hz)
9	51,57 (C)	-	-	-	52,8	-
10	129,77 (C)	-	-	-	130,8	-
11	214,77 (C=O)	-	-	-	218,2	-
12	51,85 (CH ₂)	2,79 (d, 6,3 Hz) 2,82 (d, 7,88)	C-9; C-18	-	52,9	2,59 (d, 14 Hz) 2,78 (d, 14 Hz)
13	49,41 (C)	-	-	-	52,8	-
14	51,12 (C)	-	-	-	50,6	-
15	45,63 (CH ₂)	1,98 (m) 2,14 (m)	-	-	46,2	1,59 (d, 14 Hz) 1,99 (dd, 10 e 14 Hz)
16	71,72 (CH)	5,26 (t)	-	H-17; H-15	73,0	4,57 (t)
17	56,76 (CH)	2,16 (m)	-	H-16	57,4	2,34 (d, 7 Hz)
18	20,58 (CH ₃)	1,34 (s)	-	-	21,0	1,00 (s)
19	24,95 (CH ₃)	1,48 (s)	-	-	29,9	1,30 (s)
20	76,66 (C)	-	-	-	77,9	-

21	24,95 (CH ₃)	1,48 (s)	-	-	24,8	1,21 (s)
22	82,31 (CH)	4,57 (m)	-	H-23	82,6	3,95 (d; 5 Hz)
23	126,22 (CH)	6,50 (dd; 5,3 e 15,8 Hz)	C-25	H-22; H-24	127,0	5,74 (dd, 5 e 16 Hz)
24	142,10 (CH)	6,35 (d; 15,8 Hz)	C-25	H-23	142,3	5,83 (dd, 1, 16 Hz)
25	70,18 (C)	-	-	-	72,0	-
26	31,04 (CH ₃)	1,50 (s)	C-25; C-24	-	30,8	1,25 (s)
27	31,10 (CH ₃)	1,50 (s)	C-25; C-24	-	30,9	1,25 (s)
28	12,24 (CH ₃)	2,33 (s)	C-4; C-5; C-3	-	12,3	2,09 (s)
30	20,05 (CH ₃)	1,26 (s)	C-8; C-13; C-14	-	20,7	0,98 (s)
1'	106,06 (CH)	5,40 (d; 7,3 Hz)	C-2	H-2'	-	-
2'	74,4 (CH)	4,23 (m)	-	H-1'	-	-
3'	79,21 (CH)	4,25 (m)	-	-	-	-
4'	71,26 (CH)	4,39 (m)	-	-	-	-
5'	78,71 (CH)	3,98 (m)	-	H-6'	-	-
6'	62,33 (CH ₂)	4,4 (m) e 4,59 (m)	-	H-5'	-	-

* HIMENO *et al*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v. 42 (11), 2295-2300, 1994.

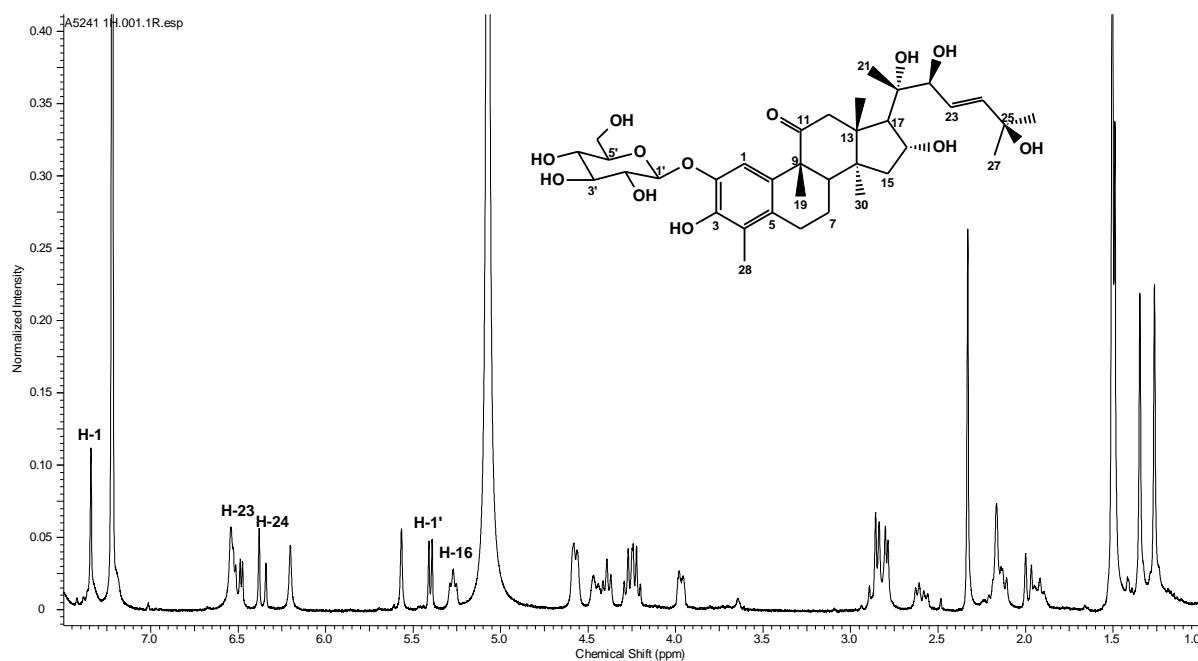


Figura 56. Espectro de RMN de ¹H de A₅₂₄₁. (400 MHz, Piridina-d₅)

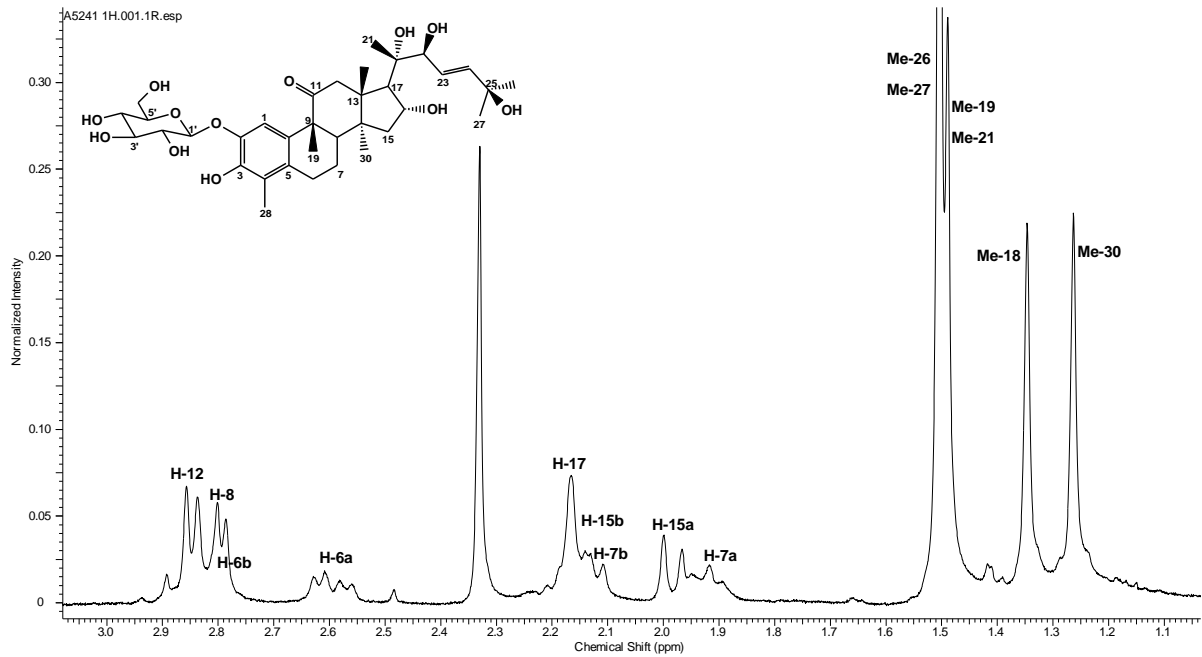


Figura 57. Ampliação do espectro de RMN de ^1H de A_{5241} (1,0 - 3,1 ppm). (400 MHz, Piridina - d_5)

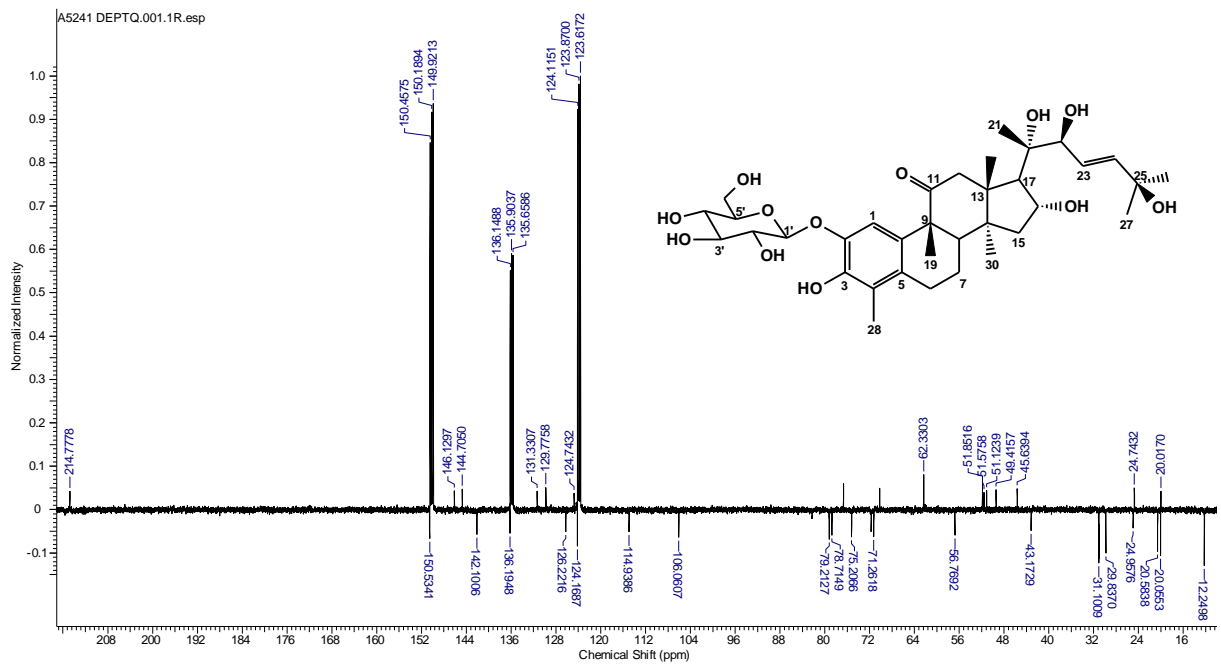


Figura 58. Espectro de DEPTQ a A_{5241} . (100 MHz, Piridina- d_5)

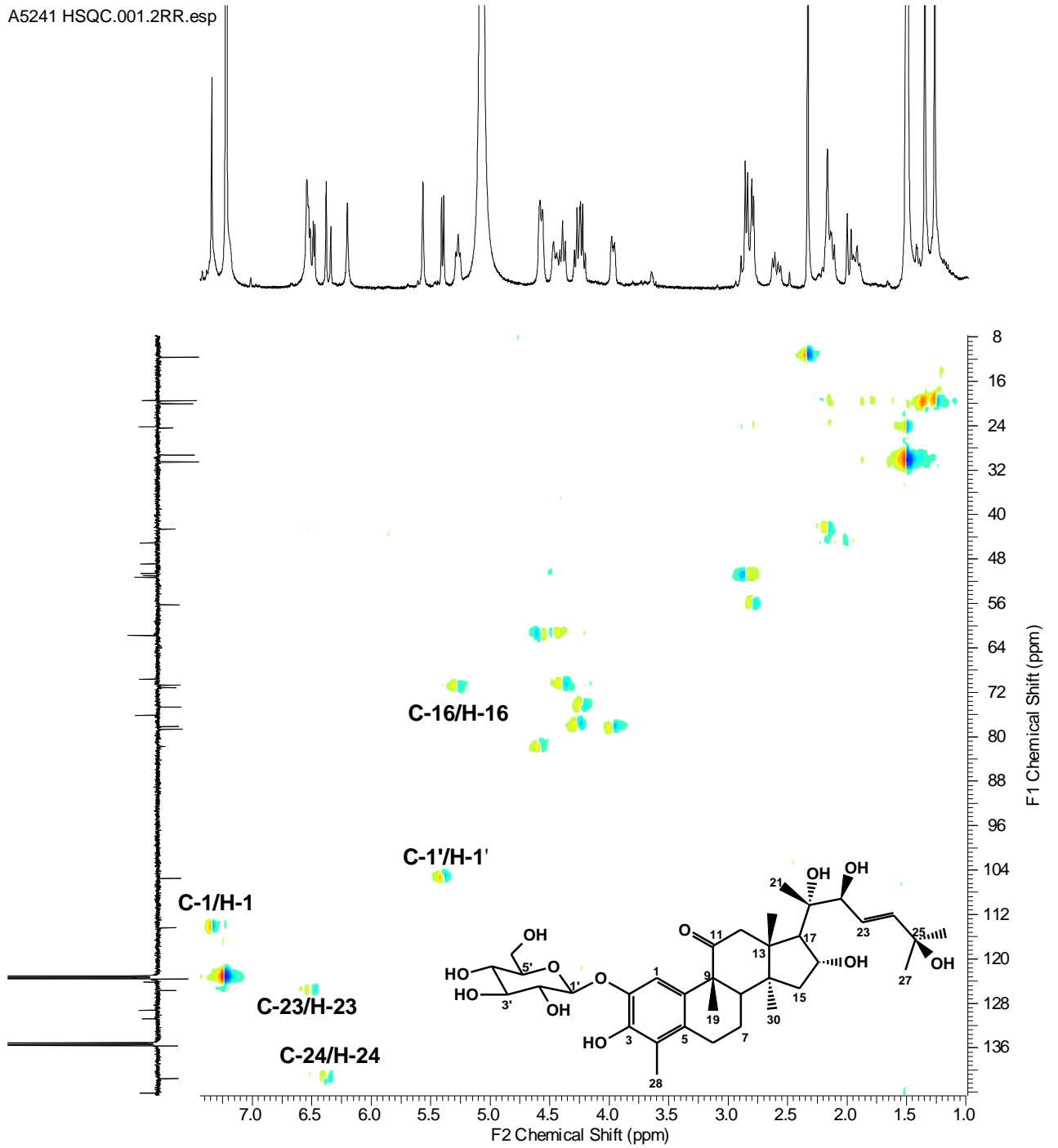


Figura 59. Espectro de HSQC de A₅₂₄₁. (400 MHz, Piridina-d₅)

A5241 HSQC.001.2RR.esp

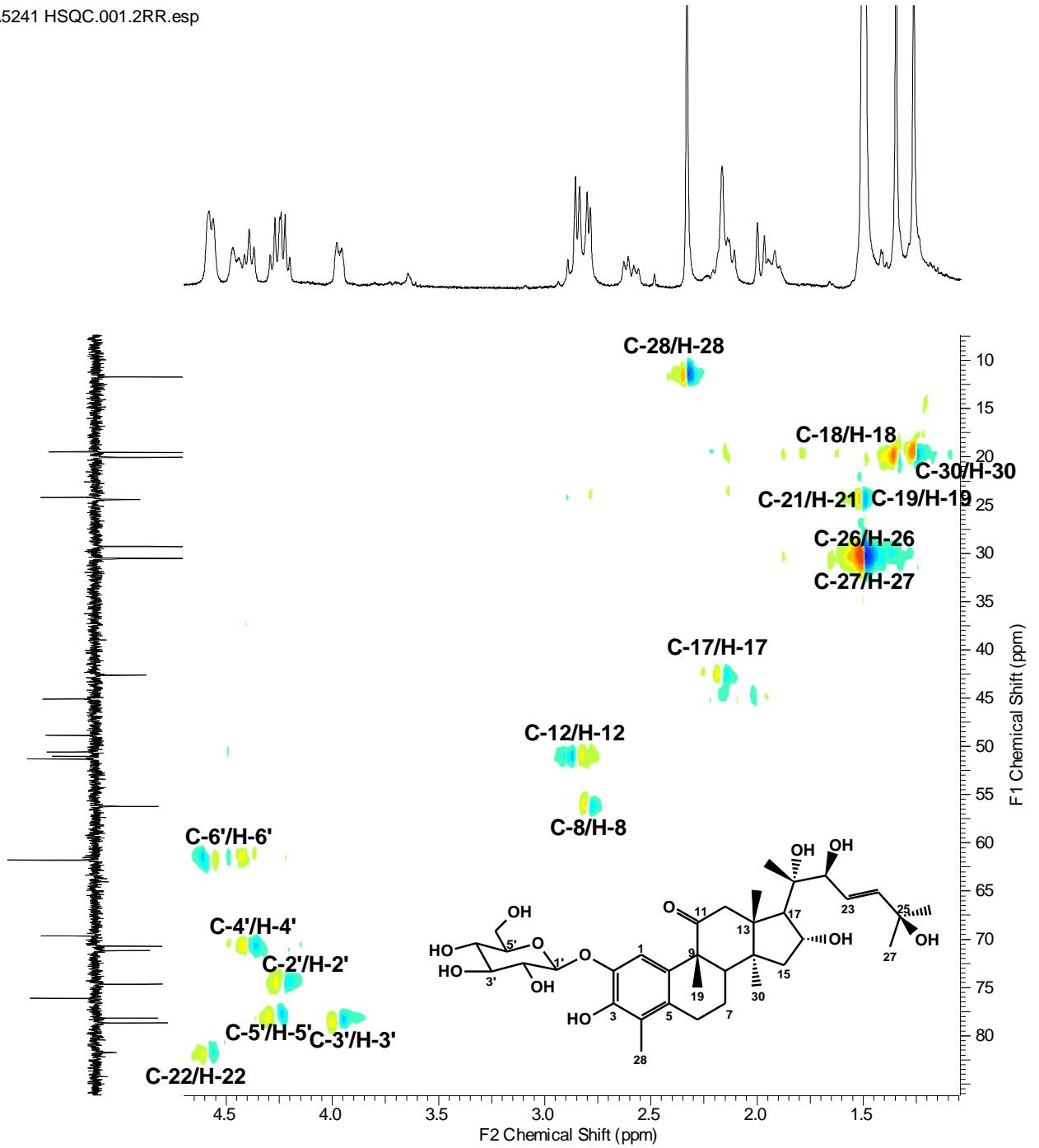


Figura 60. Ampliação do espectro de HSQC de A₅₂₄₁. (400 Mhz, Piridina-*d*₅)

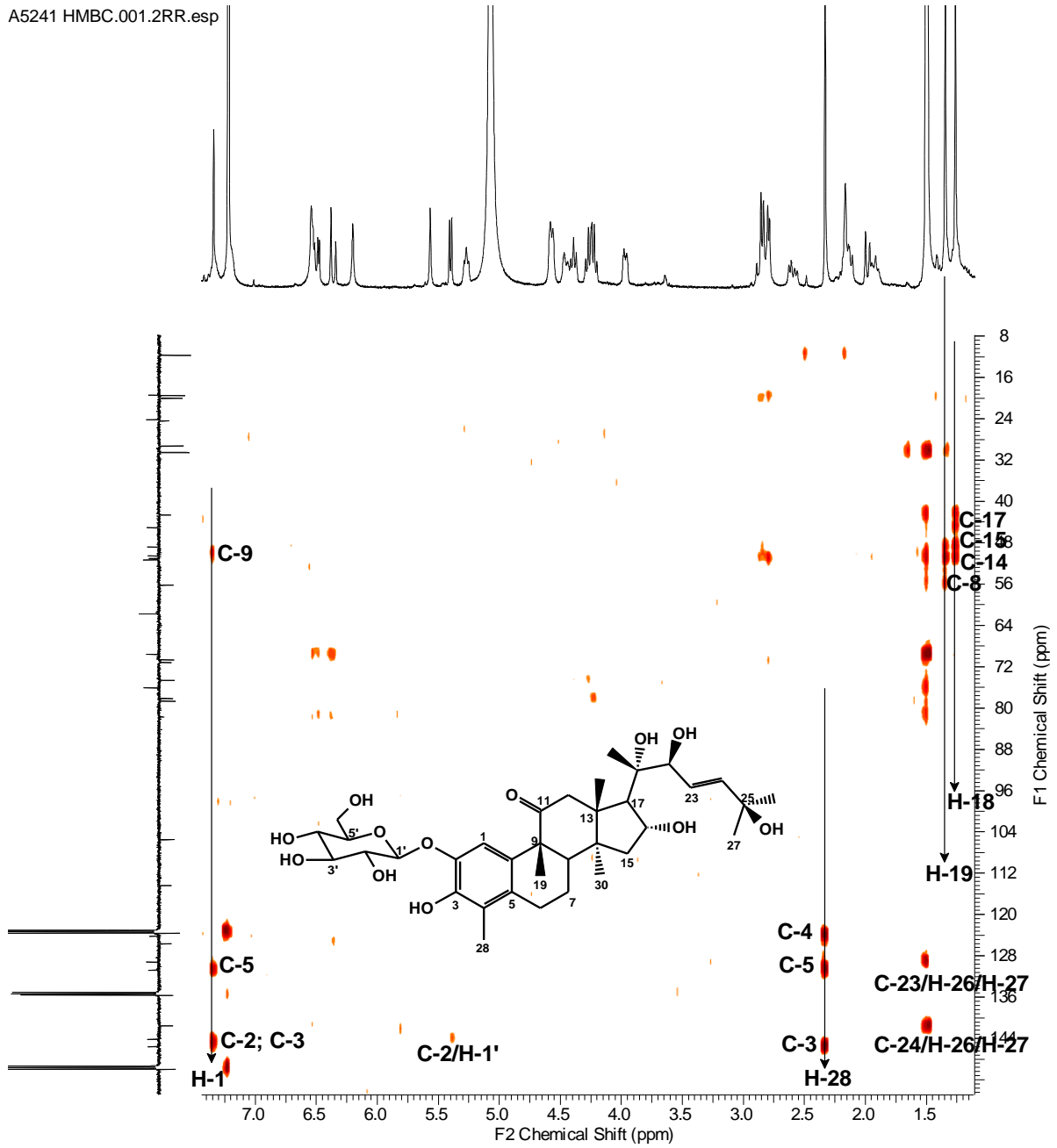


Figura 61. Espectro de HMBC de A₅₂₄₁. (400 MHz, Piridina-d₅)

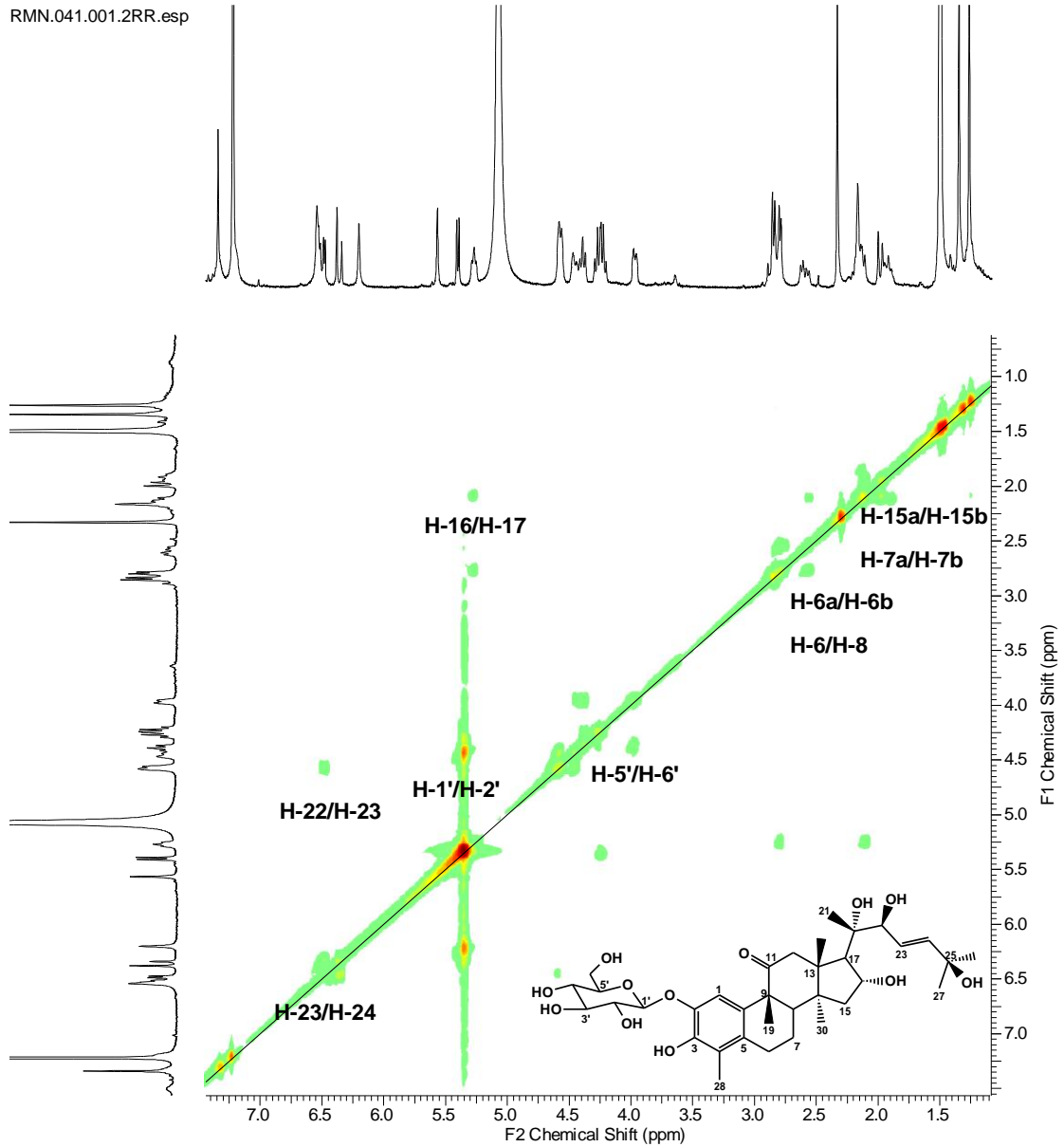


Figura 62. Espectro de COSY de A_{5241} . (400 MHz, Piridina- d_5).

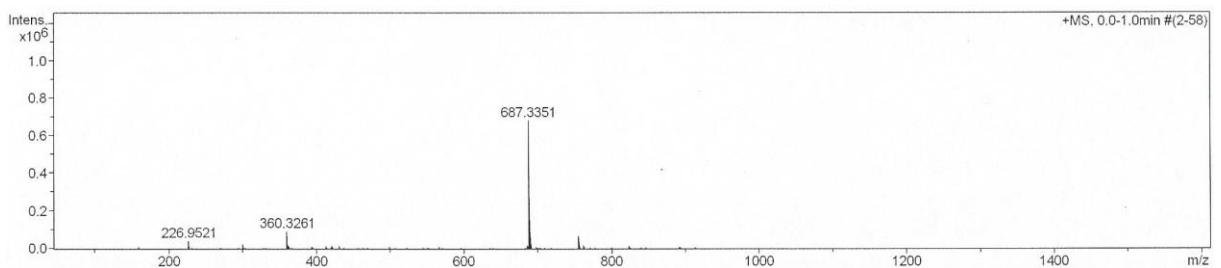


Figura 63. Espectro de massas com ionização por *electrospray* (modo positivo) de A_{5241} .

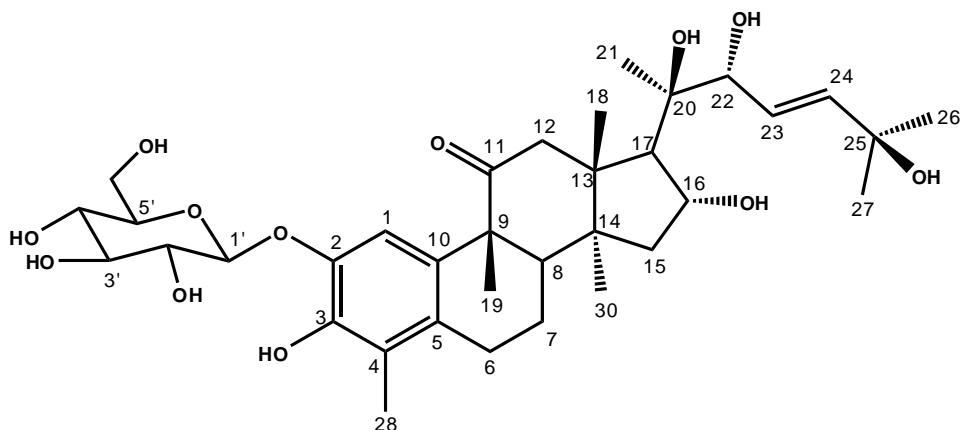


Figura 64. Estrutura proposta de A₅₂₄₁.

5.2.3.1. Preparação do derivado acetilado do cayaponosídeo D.

A preparação do derivado acetilado de A₅₂₄₁ (cayaponosídeo D) (Figura 65) foi executada pelo mesmo processo de preparação do derivado proposto para A₄₁₁ (pp 60). Utilizou-se 11 mg da amostra original para a preparação do derivado, obtendo-se no final do processo 7 mg do derivado acetilado. O derivado, depois de preparado, foi submetido a experimentos de RMN uni e bidimensionais.

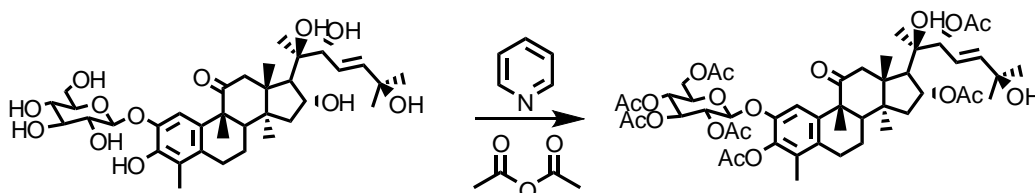


Figura 65. Reação de acetilação de A₅₂₄₁.

A expansão do espectro de RMN ¹H (Figura 66) (0,9 – 2,3 ppm) permite que seja confirmado o número de acetoxilas formadas pela acetilação do composto cayaponosídeo D. A reação de acetilação gerou sete grupamentos acetoxila na molécula, visto que a mesma possui duas hidroxilas ligadas a carbono terciário que não sofrem o processo de acetilação.

O espectro de DEPTQ (Figura 68) auxiliou na atribuição das multiplicidades dos carbonos presentes na molécula, assim como na confirmação das acetoxilas formadas na reação, visto que no espectro de RMN ¹H houve a sobreposição de alguns picos característicos para o grupamento.

Com o auxílio do mapa de contornos HSQC (**Figuras 69 e 70**) foi possível atribuir os carbonos a seus devidos hidrogênios ligados à $^1J_{H-C}$.

O espectro de HMBC (**Figura 71**) foi de grande auxílio na confirmação das vizinhanças dos grupamentos assinalados, assim como o espectro de COSY (**Figura 72**) que auxiliou no assinalamento de prótons vizinhos.

A atribuição dos dados de RMN do derivado peracetilado de A₅₂₄₁ estão dispostos na **Tabela 6** com base nos espectros citados acima.

Tabela 6. Atribuição dos dados de RMN do derivado acetilado de A₅₂₄₁ (cayaponosídeo D). (500 MHz, CDCl₃)

C	HSQC		HMBC
	δC	δH	$^{2,3}J_{H-C}$
1	109,38 (CH)	6,64 (s)	C-2; C-3; C-5; C-9 e C-10
2	146,11 (C)	-	-
3	136,75 (C)	-	-
4	129,12 (C)	-	-
5	130,32 (C)	-	-
6	24,03 (CH ₂)	2,77 (m) 2,60 (m)	-
7	19,09 (CH ₂)	2,19 (m) 1,94 (m)	-
8	41,85 (CH)	2,16 (m)	C-9
9	50,57 (C)	-	-
10	135,28 (C)	-	-
11	214,19 (C=O)	-	-
12	51,37 (CH ₂)	2,77 (m) 2,62 (m)	C-9; C-18
13	49,34 (C)	-	-
14	48,34 (C)	-	-
15	43,71 (CH ₂)	2,15 (m) 1,54 (d; 14,2 Hz)	-
16	72,12 (CH)	3,90 (dd; 2,8 e 10,05 Hz)	-
17	52,52 (CH)	2,60 (d; 6 Hz)	-
18	19,64 (CH ₃)	1,03 (s)	C-14 e C-12
19	29,695 (CH ₃)	1,38 (s)	C-8; C-9 e C-10
20	74,34 (C)	-	-
21	21,51 (CH ₃)	1,32 (s)	C-17 e C-20
22	71,4 (CH)	5,48 (m)	-
23	120,03 (CH)	5,61 (dd; 7,25 e 15,75 Hz)	C-25
24	145,33 (CH)	5,90 (d; 15,75 Hz)	C-25; C-26 e C-27
25	70,70 (C)	-	-
26	29,62 (CH ₃)	1,31 (s)	C-24; C-25 e C-27
27	29,62 (CH ₃)	1,31 (s)	C-24; C-25 e C-26
28	12,15 (CH ₃)	1,98 (s)	C-5; C-2
30	19,35 (CH ₃)	1,01 (s)	C-8; C-15; C-13
1'	98,36 (CH)	4,93 (d; 6,9 Hz)	C-2
2'	70,36 (CH)	5,27 (m)	-
3'	72,66 (CH)	5,28 (m)	-
4'	67,93 (CH)	5,15 (m)	-

5'	70,36 (CH)	3,61 (<i>m</i>)	-
6'	62,3 (CH ₂)	4,32 (dd; 4,75 e 12,27 Hz); 4,27 (<i>d</i> ; 11,32 Hz)	-
CO-	168,74 -	-	-
Me	171,14	-	-
CO-	20,29 - 21,51	2,03 - 2,26	-
Me			

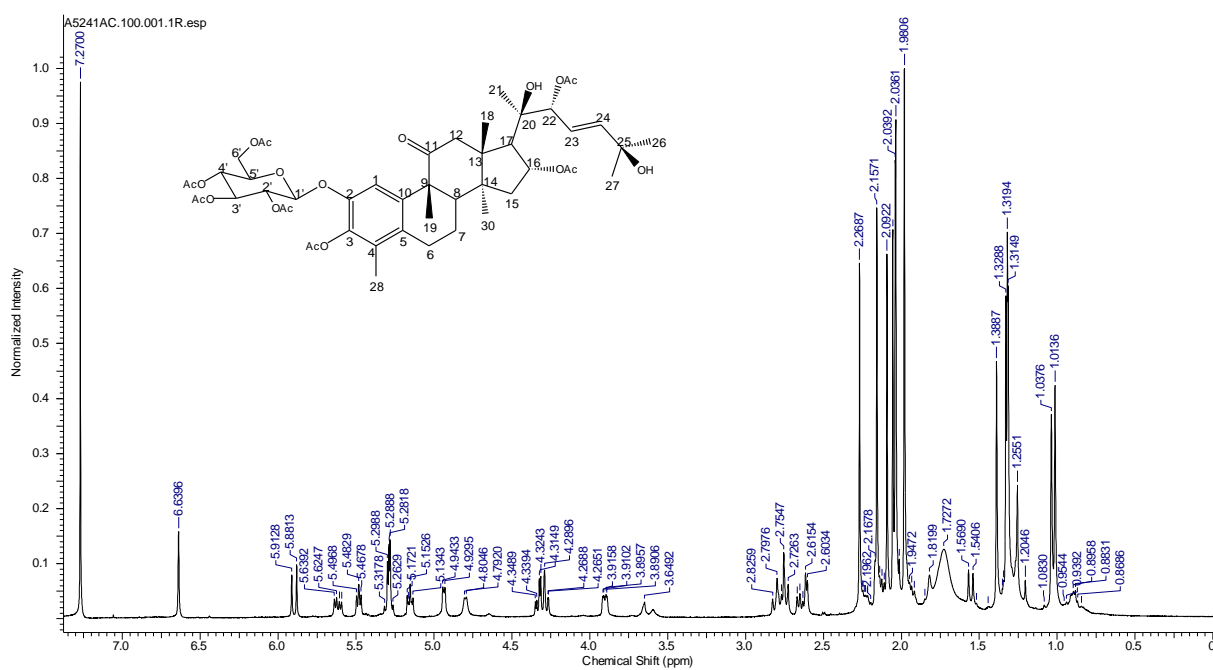


Figura 66. Espectro de RMN de ¹H do derivado acetilado de A₅₂₄₁. (500 MHz, CDCl₃)

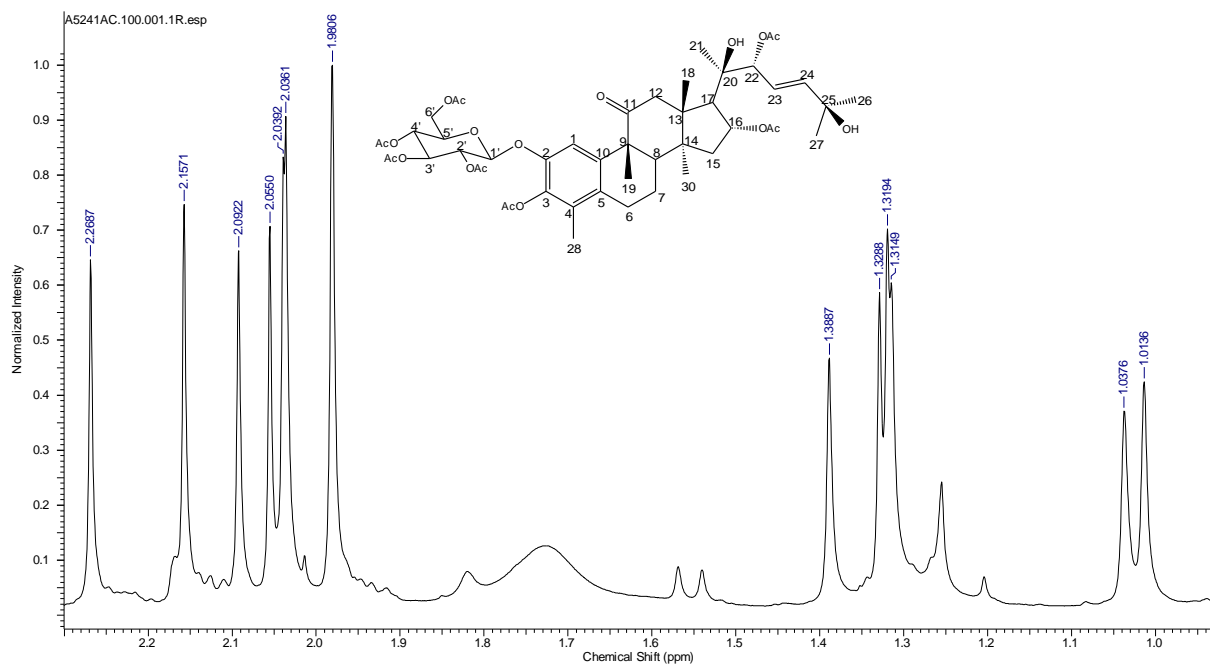


Figura 67. Expansão do espectro de ^1H do derivado acetilado de A_{5241} (0,9 - 2,3 ppm). (500 MHz, CDCl_3)

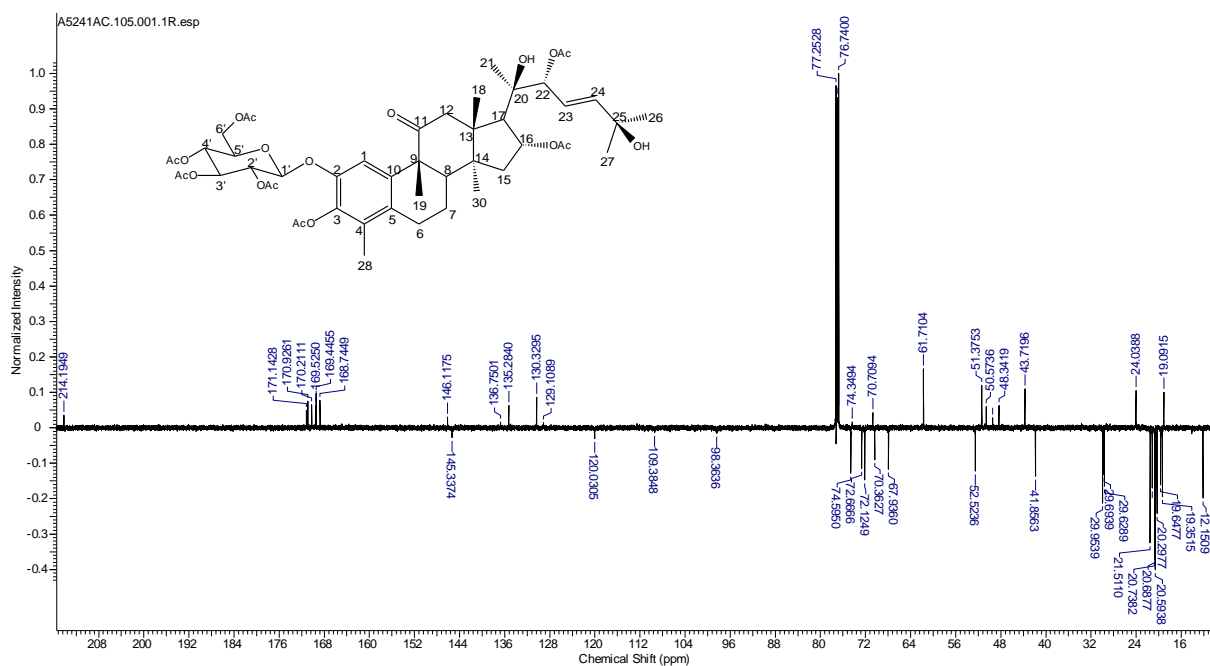


Figura 68. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A_{5241} . (125 MHz, CDCl_3)

A5241AC.103.001.2RR.esp

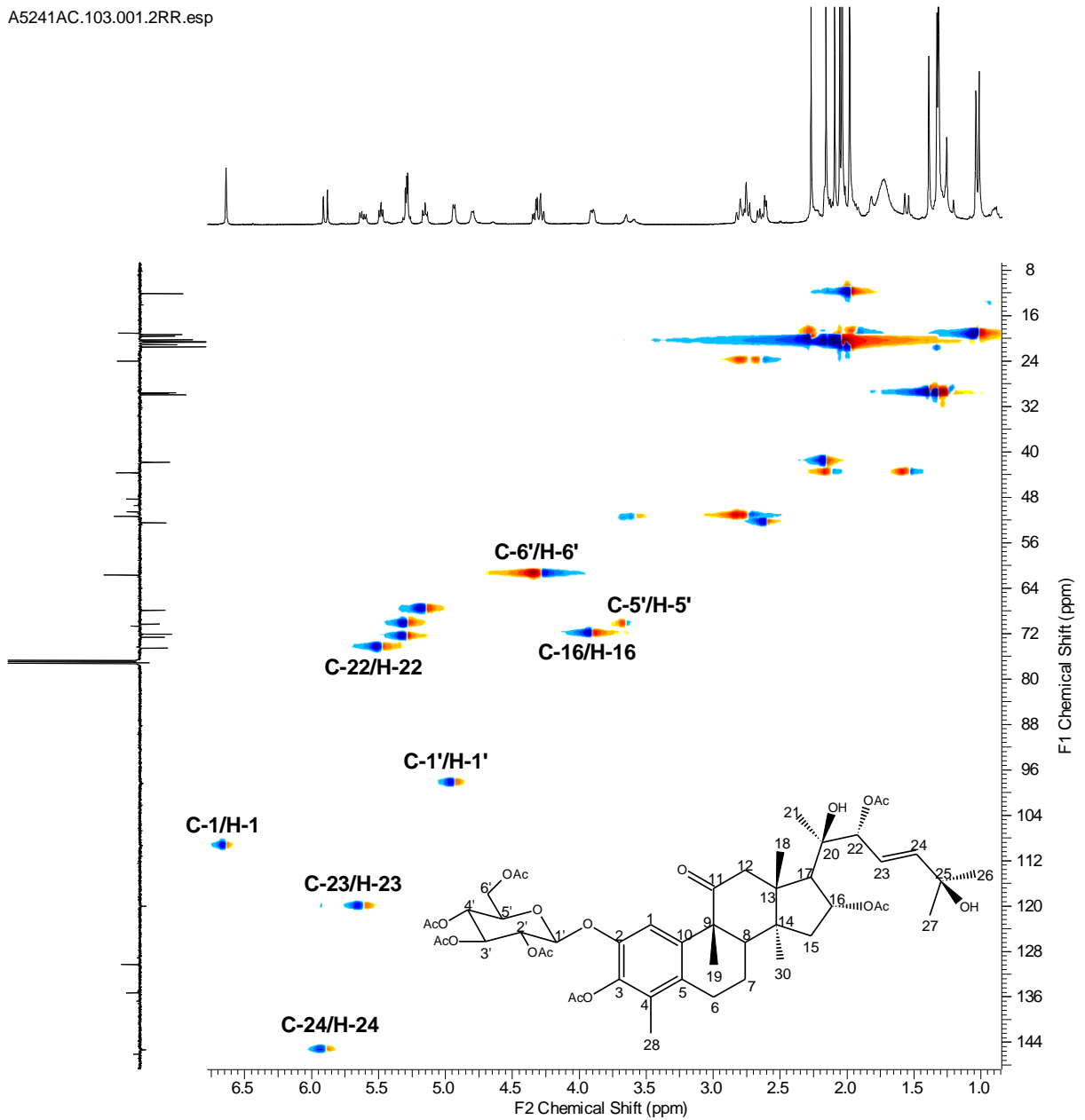


Figura 69. Espectro de HSQC do derivado acetilado de A₅₂₄₁. (500 MHz, CDCl₃)

A5241AC.103.001.2RR.esp

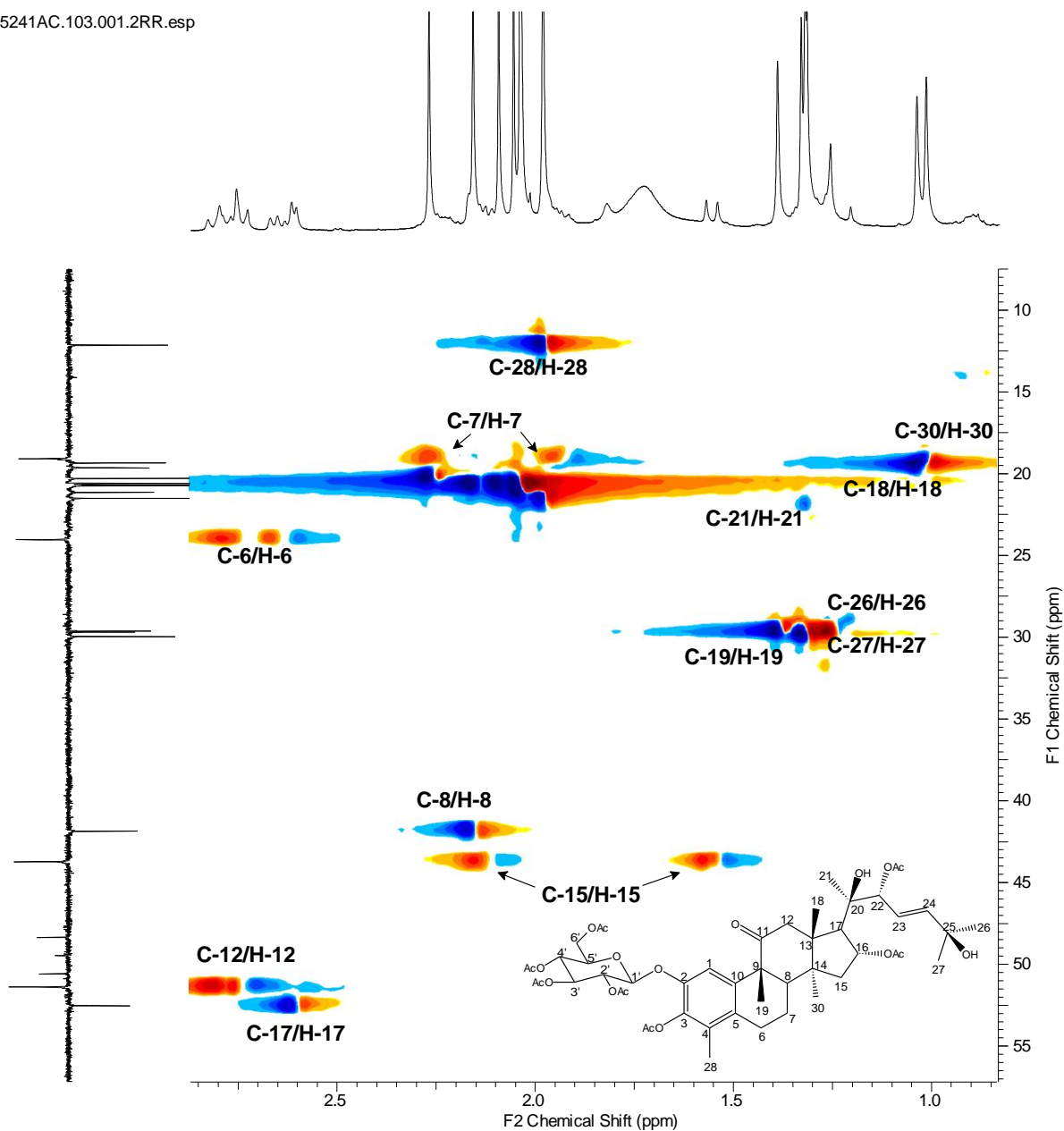


Figura 70. Ampliação do espectro de HSQC do derivado acetilado de A₅₂₄₁. (500 MHz, CDCl₃)

A5241AC.104.001.2RR.esp

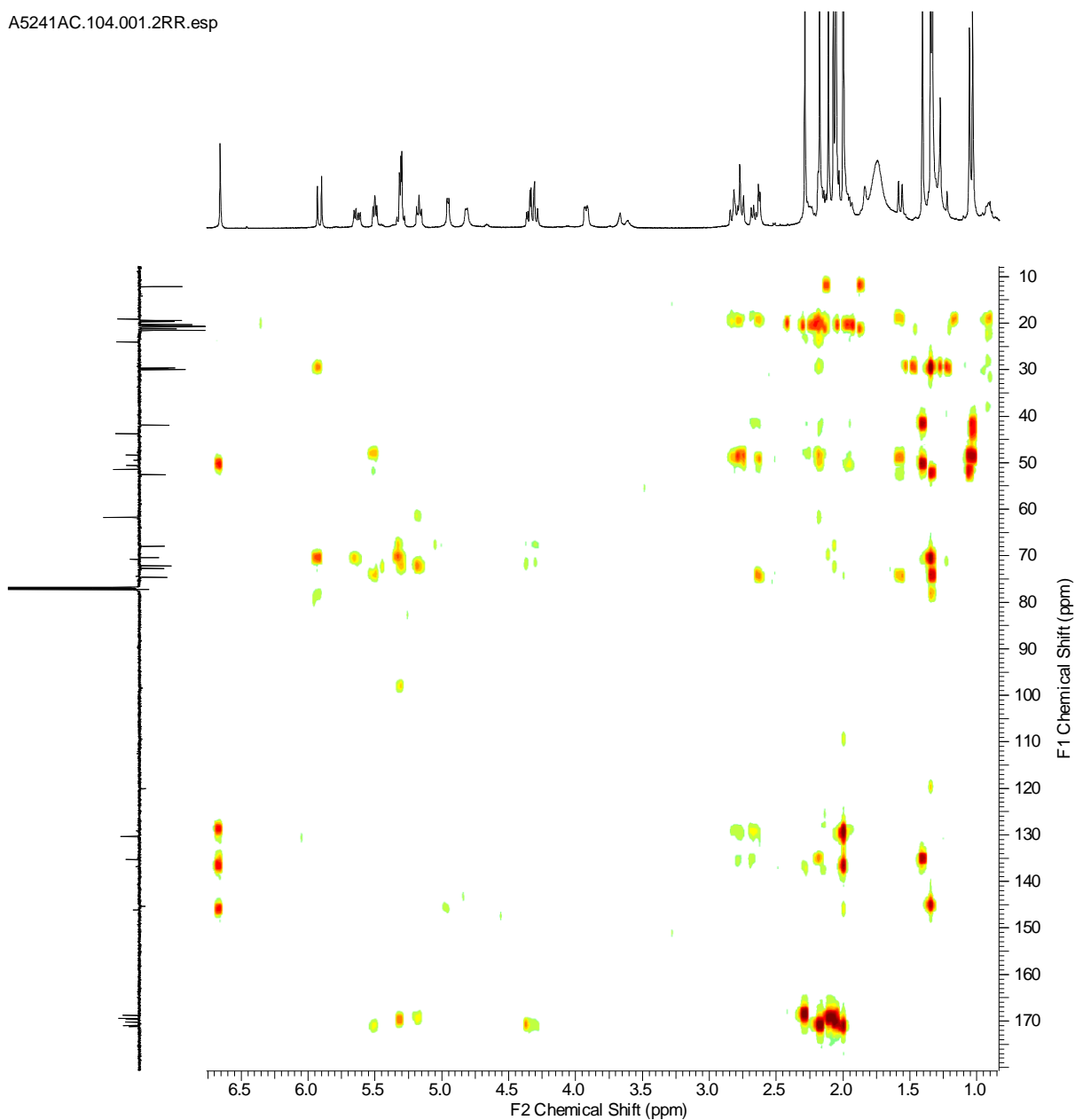
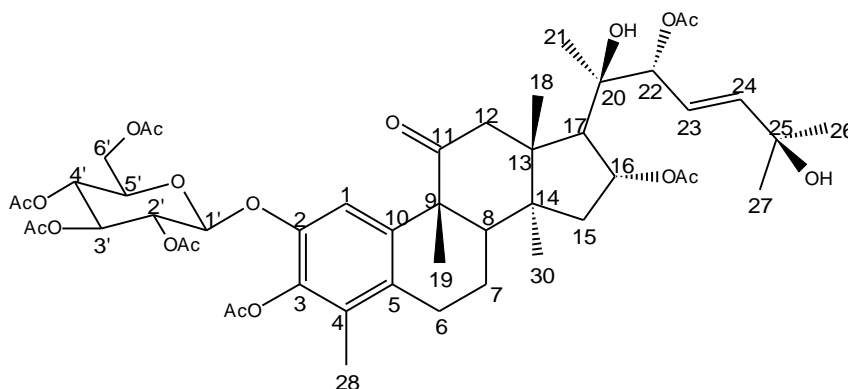


Figura 71. Espectro de HMBC do derivado acetilado de A₅₂₄₁. (500 MHz, CDCl₃)



A5241AC.102.001.2RR.esp

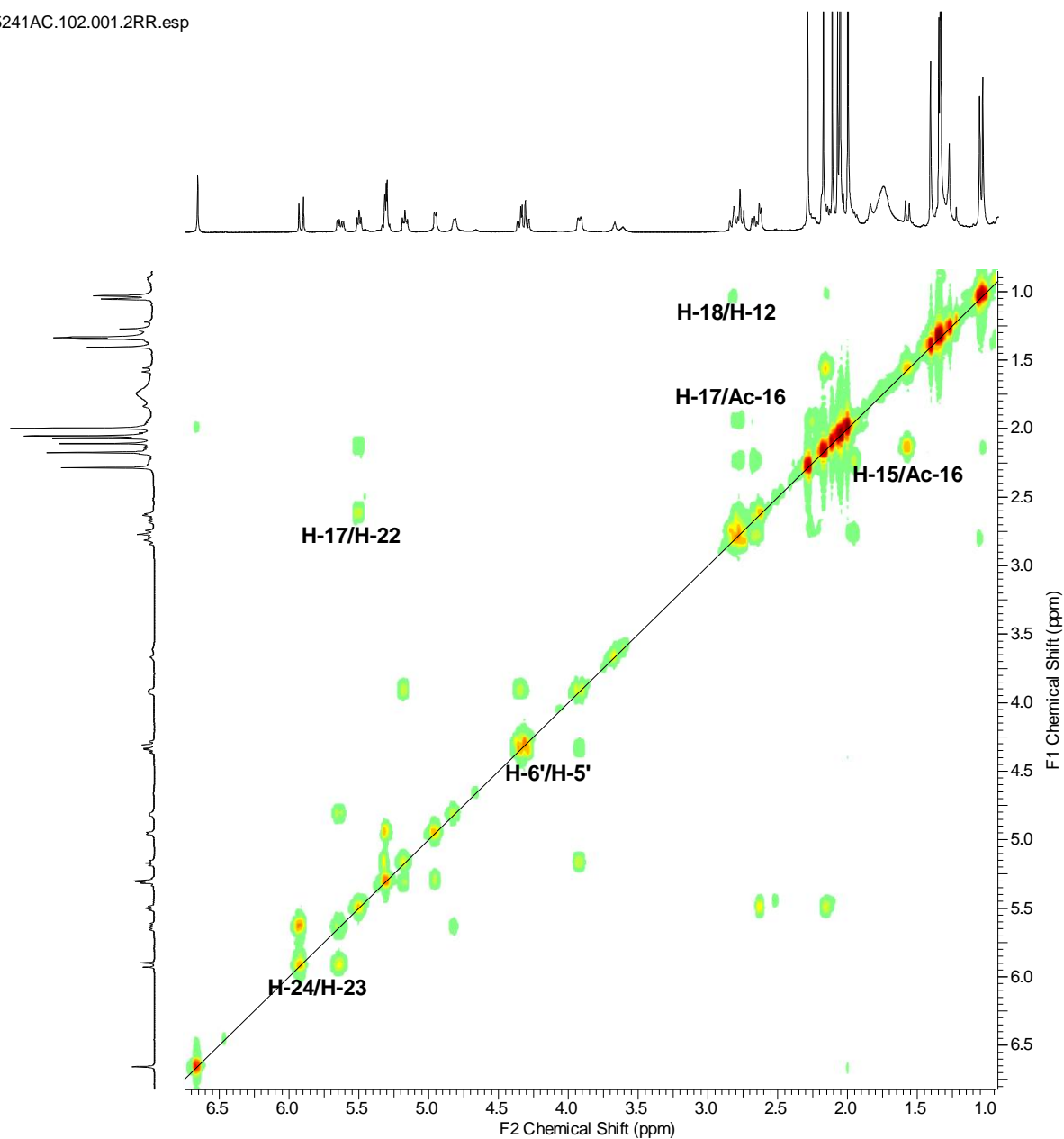
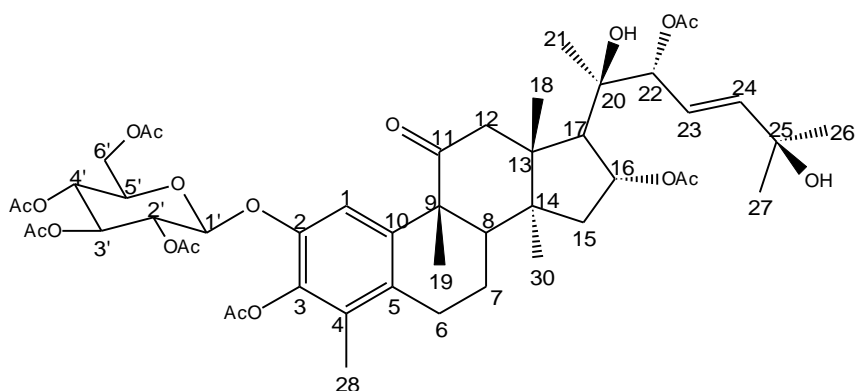


Figura 72. Espectro de COSY do derivado acetilado de A₅₂₄₁ (cayaponosídeo D). (500 MHz, CDCl₃)



5.2.4. Elucidação estrutural da substância A₇₃₁ (30 mg).

A substância A₇₃₁ foi isolada na forma de um sólido amorfo branco. Submeteu-se a substância à experimentos de RMN de ¹H (**Figuras 73 e 74**) e ¹³C (DEPTQ, DEPT 135 e DEPT 90) (**Figuras 75, 76, 77 e 78**) e espectrometria de massas com ionização por electrospray (**Figura 83 e 84**). Após análises dos espectros, foi proposta a estrutura da saponina de esqueleto do tipo damarano inédita na literatura.

O esqueleto damarano foi definido com base nos deslocamentos das metilas CH₃-18, -19, -21, -27, -28, -29 e -30, com δ_C 16,6; 16,1; 25,8; 14,1; 25,8; 16,6 e 15,5 ppm respectivamente além de correlações a ^{2,3}J_{H-C} detectadas no espectro HMBC (**Figura 81 e 82**).

Os espectros de DEPTQ, DEPT 90 e DEPT 135 foram extremamente úteis para a atribuição inequívoca das multiplicidades dos carbonos, principalmente das unidades glicosídicas. É possível notar a presença de sinais correspondentes a 48 carbonos sendo sete metílicos, quatorze metilênicos, vinte e um metínicos e seis carbonos quaternários. Sendo destacados os sinais de dupla ligação tri-substituída vizinha a carbono metilênico oxigenado e das unidades de açúcar identificadas principalmente pela presença dos carbonos metínicos anoméricos.

Os dados espectrométricos foram comparados com dois modelos diferentes da literatura, a aglicona proposta foi comparada com os dados do 20S-protopanaxadiol descrito por YANG *et al* (1983) e a porção gentiobiosil comparada à proposta de ORIHARA & FURUYA (1993).

No espectro de ¹H (**Figura 73 e 74**) observa-se a presença de sinais na região entre δ_H 3,8 e 5,3 característicos de porções glicosídicas. A presença de três glicoses foram deduzidas pelos dubletos no espectro de RMN ¹H com interação de acoplamento a uma ligação com os carbonos anoméricos detectadas no espectro HSQC (**Figuras 79 e 80**). O espectro HSQC forneceu sinais que permitiram confirmar as multiplicidades de carbonos e identificar os deslocamentos químicos dos respectivos hidrogênios. A análise do espectro HMBC (**Figuras 81 e 82**) permitiu definir que duas glicoses estão interligadas através dos carbonos C-1"-C-6' formando a porção chamada gentiobiosil, ORIHARA & FURUYA (1993). O sinal de interação entre δ_H 4,9, (*d*, J = 9 Hz, **H-1'**) e o sinal do carbono 3 (δ_C 88,7, **C-3**) permitiu localizar esta unidade diglicosídica em 3. Os sinais adicionais de carbonos metínicos e metilênicos compatíveis com outra glicose foram correlacionados com o

terceiro carboidrato contendo o δ_{H} 4,87, (*d*, $J = 9$ Hz, **H-1''**) ligada ao carbono 26 (δ_{C} 75,06, **C-26**), uma vez que o alto valor de δ_{CH_2-26} justifica seu ambiente químico, sendo que além de ser alílico sustenta uma unidade de açúcar aumentando seu valor de δ_{C} . Esta proposta foi feita com base nos sinais de interação da metila-27 em δ_{H} 1,85 (s) ligada a carbono sp^2 δ_{C} 14,1 e dos hidrogênios H-26 em δ_{H} 4,6 e 4,3 (*dl*) com os carbonos C-24 (δ_{CH} 129,2) e C-25 (δ_{C} 131,9) com os carbonos 26 (δ_{CH_2} 75,06) (**Figura 75**). Após estas propostas procurou-se estruturas semelhantes na literatura para comparação de dados de RMN (TSUNG-REN *et al*, 1983; ORIHARA & FURUIA, 1993) conforme apresentado na **Tabela 7**.

O espectro de massas com ionização por electrospray em modo positivo apresentou m/z 969,5384 referente a $[\text{M} + \text{Na}^+]$, calculado m/z 969,5399 ($\Delta m = 0,0015$) (**Figura 83**), compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{NaO}_{18}$ e em modo negativo apresentou m/z 945,5463 (**Figura 84**) referente a $(\text{M} - \text{H})$ calc. 945,5423 ($\Delta m = 0,004$) $\text{C}_{48}\text{H}_{81}\text{O}_{18}$ confirmando a estrutura de fórmula molecular $\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18}$ para a saponina.

Estes dados permitiram definir a estrutura de A_{731} como 3-O- β -D-gentiobiosil-26-O- β -D-glicopiranosil-20-hidroxidamar-24-eno, uma saponina que está sendo descrita pela primeira vez na literatura.

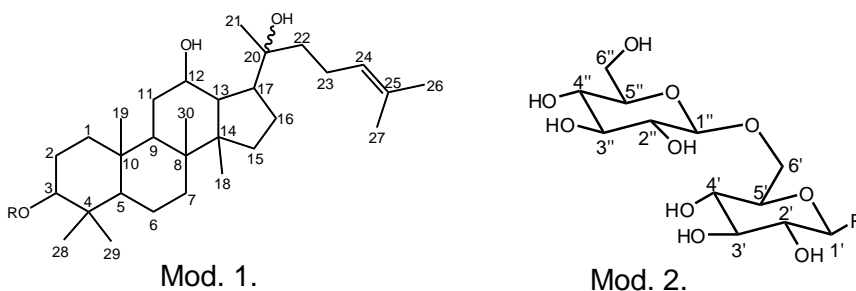


Tabela 7. Atribuição de dados de RMN de A₇₃₁ e comparação com modelos da literatura (*). (400 MHz, Piridina-d₅)

C	HSQC		HMBC	COSY	Mod δ _c	
	δ _c	δ _H	ⁿ J _{H-c}		δ _c	Ref.1
	Aglicona ^a				-	Ref.1
1	39,61 (CH ₂)	1,55(<i>m</i>)/0,85(<i>m</i>)		H-2,H-1a/H-1b	-	39.2
2	27,15 (CH ₂)	2.27(<i>dm</i>)/1.85(<i>m</i>)			-	26.7
3	89,23 (CH)	3.43(<i>dd</i> , 12.8, 5,6 Hz)	C-1'; 29; 28; 1		-	88.8
4	40,07 (C)	----			-	39.6
5	56,75 (CH)	0.80(<i>m</i>)			-	56.4
6	18,79 (CH ₂)	1.37/1.5(<i>m</i>)			-	18.5
7	32,01 (CH ₂)	1,22/1,52(<i>m</i>)			-	35.2
8	40,98 (C)	----			-	40.0
9	50,58 (CH)	1,95(<i>m</i>)			-	50.5
10	37,32 (C)	----			-	37.0
11	22,21 (CH ₂)	1,45/1,2(<i>m</i>)			-	31.1
12	25,69 (CH ₂)	1,95-1,80(<i>m</i>)			-	70.8
13	42,87 (CH)	1,87(<i>m</i>)		H-17	-	48.8
14	51,01 (C)	----			-	51.7
15	35,98 (CH ₂)	1,25/1,53(<i>m</i>)			-	31.4
16	23,32 (CH ₂)	2,50-2,35(<i>m</i>)			-	26.7
17	51,33 (CH)	1,35(<i>m</i>)		H-13	-	50.8
18	17,15(CH ₃)	1,00(<i>s</i>)	C-8;C-14; C-15		-	16.5
19	16,81(CH ₃)	0,79(<i>s</i>)	C-5;C-9;C-1;C-10		-	15.8
20	74,37 (C)	----			-	73.2
21	26,36 (CH ₃)	1,41(<i>s</i>)	C-22;C-17;C-20		-	26.7
22	42,02 (CH ₂)	1,90-1,75(<i>m</i>)		H-23	-	44.1
23	28,48 (CH ₂)	2,1(<i>m</i>)/1,35(<i>m</i>)	C-24	H-22	-	22.8
24	129,69 (CH)	5,81 (<i>tl</i> , 8,0 Hz)	C-26;C-27;C-23		-	126.0
25	132,43 (C)	----			-	130.5
26	75,58 (CH ₂)	4.6(<i>dl</i>)/4,3(<i>dl</i>)	C-24;C-25;C-1'';C-27	H-26a/H-26b	-	25.8
27	14,64 (CH ₃)	1,85(<i>s</i>)	C-24;C-26		-	17.6
28	26,36 (CH ₃)	1,34(<i>s</i>)	C-5;C-3;C-4;C-29		-	28.1
29	17,15 (CH ₃)	1.02(<i>s</i>)	C-5;C-28;C-4;C-3		-	16.8
30	16,01 (CH ₃)	0,94(<i>s</i>)	C-8/C13;C-14;C-15		-	17.2
	Carboidratos ^b				Ref. 2	-
1'	107,35	4,90(<i>d</i> ; 9Hz)	C-3; C-3'	H-2'	103,4	-
2'	75,38	4,0-4,2 (<i>m</i>)		H-1'	75,3	-
3'	78,87	4,25-4,39(<i>m</i>)			78,8	-
4'	71,93	4,2-4,3(<i>m</i>)		H-5'	71,9	-
5'	77,63	4,15-4,25(<i>m</i>)		H-6'	77,8	-
6'	70,35	4,8(<i>dl</i> , 10 Hz);4,35(<i>m</i>)	C-1''	H-5', 6'a/6'b	70,1	-
1''	105,86	5,10(<i>d</i> , 8,8 Hz)	C-6';C-3''	H-2''	105,5	-
2''	75,39	4,0-4,2(<i>m</i>)			75,5	-
3''	78,81	4,0-4,2(<i>m</i>)			78,7	-
4''	71,93	4,2-4,3(<i>m</i>)			71,9	-
5''	78,76	3,95-4,10(<i>m</i>)			78,6	-
6''	62,43 ^a	4,45//4,65(<i>m</i>)		H-6''a/H-6''b	62,9	-
1'''	103,87	4,87(<i>d</i> , 9,0)	C-26;C-3'';C-36	H-2'''	106,6	-
2'''	74,8	4,0-4,2(<i>m</i>)			77,5	-
3'''	78,76	4,25-4,35(<i>m</i>)			78,0	-
4'''	72,21	4,2-4,3(<i>m</i>)			71,7	-

5'''	79,13	3,95-4,2 (m)		78,8	-
6'''	62,05 ^a	4,40/4,55(m)	H-6'''a/H-6'''b	62,3	-

^a podem estar trocados; *Ref. 1. TSUNGE-REN *et al. Phytochemistry*, v. 22(6), pp.1473-1478, 1983;
Ref. 2: ORIHARA & FURUYA. *Phytochemistry*, v. 34 (4), pp.1045-1048, 1993.

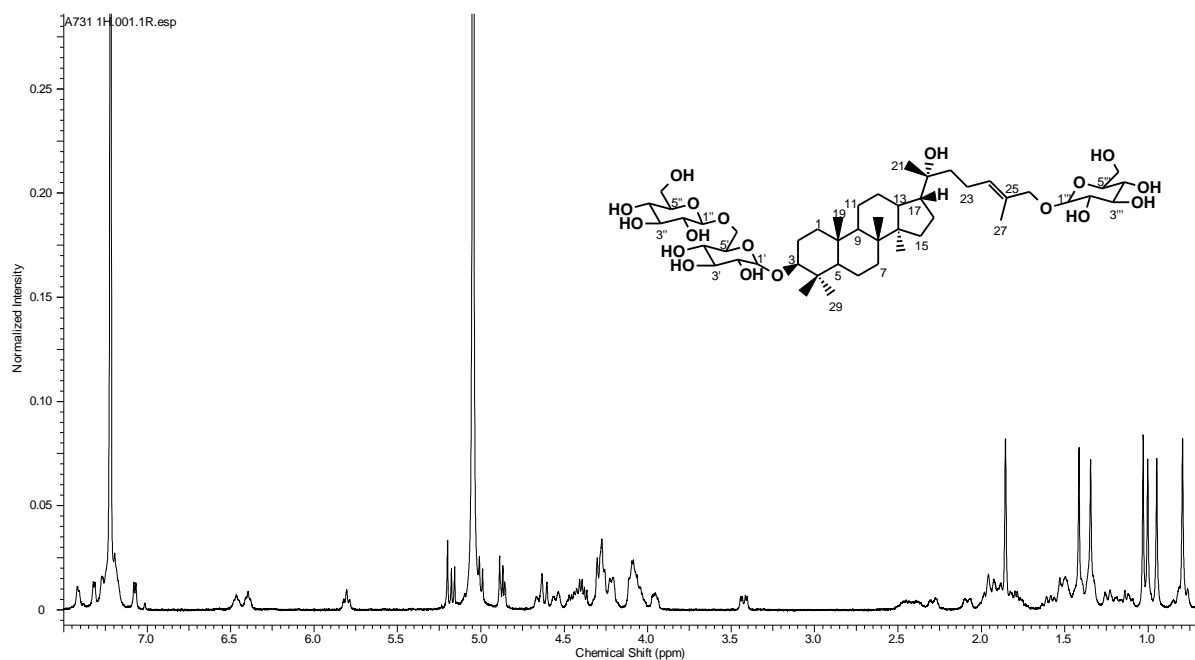


Figura 73. Espectro de RMN de ^1H de A_{731-} (400 MHz, Piridina- d_5)

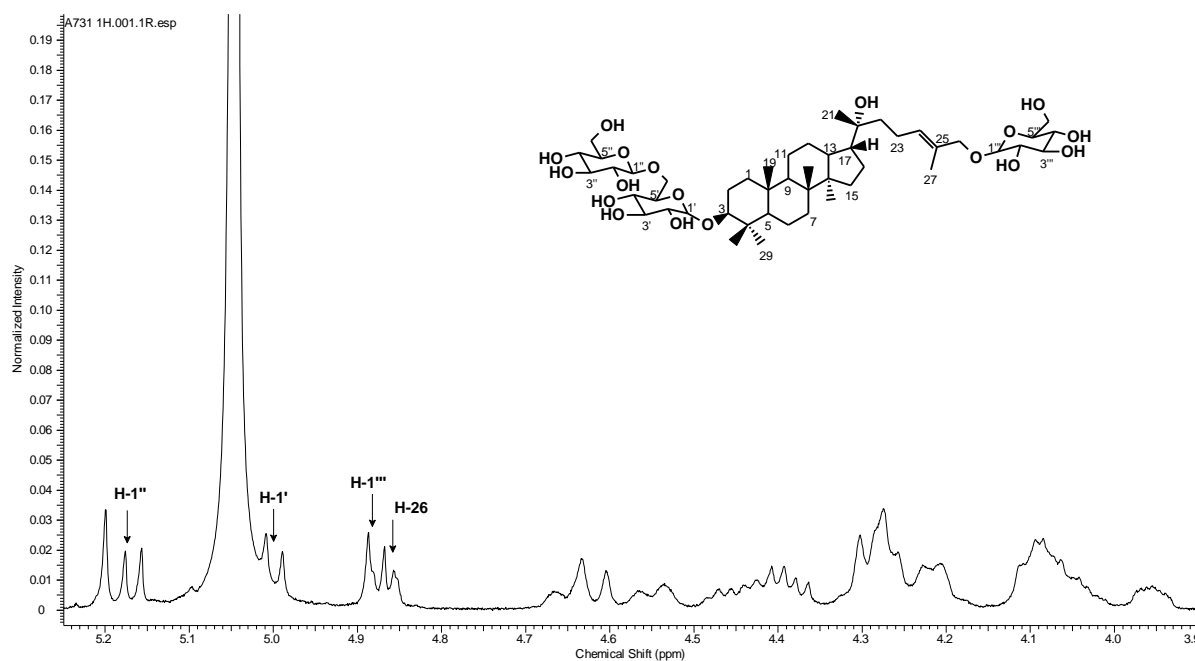


Figura 74. Ampliação do espectro de RMN de ^1H de A_{731-} (400 MHz, Piridina- d_5)

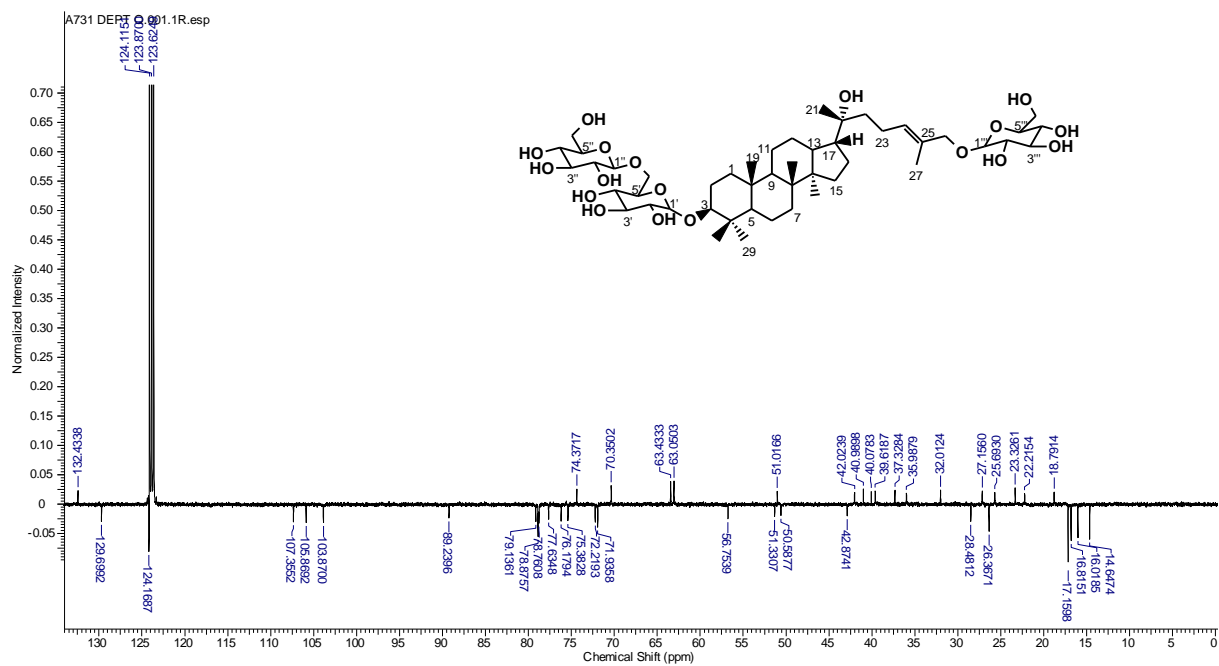


Figura 75. Espectros de DEPTQ de A₇₃₁. (100 MHz, Piridina-d₅)

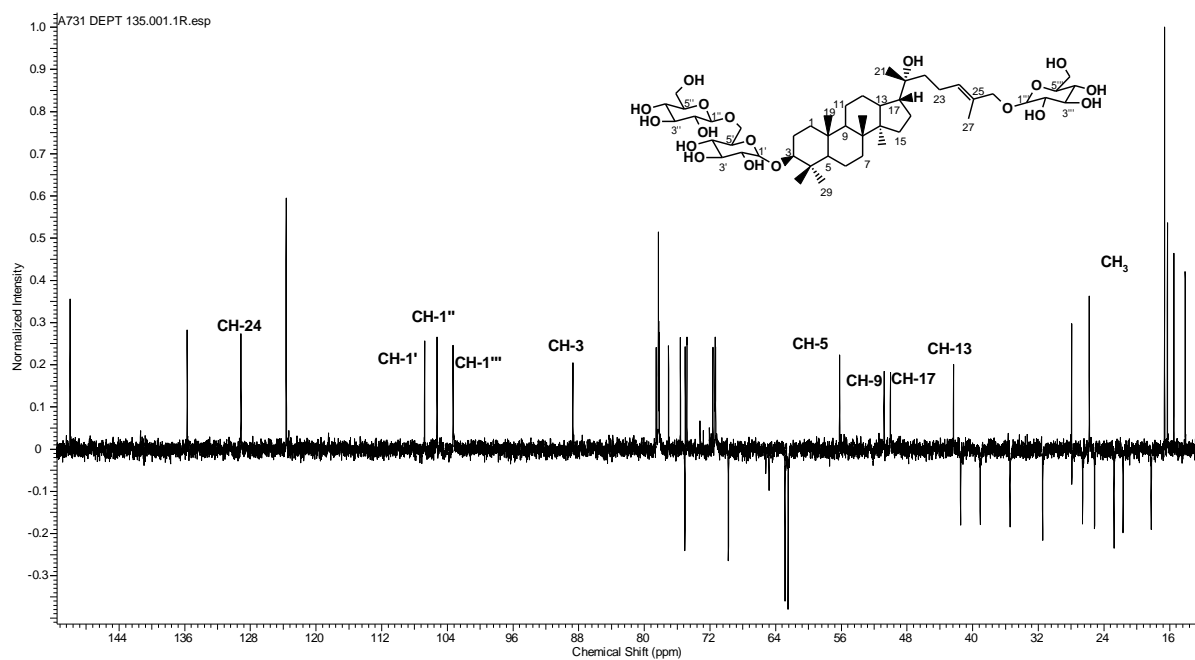


Figura 76. Espectro de DEPT 135 de A₇₃₁. (100 MHz, Piridina-d₅)

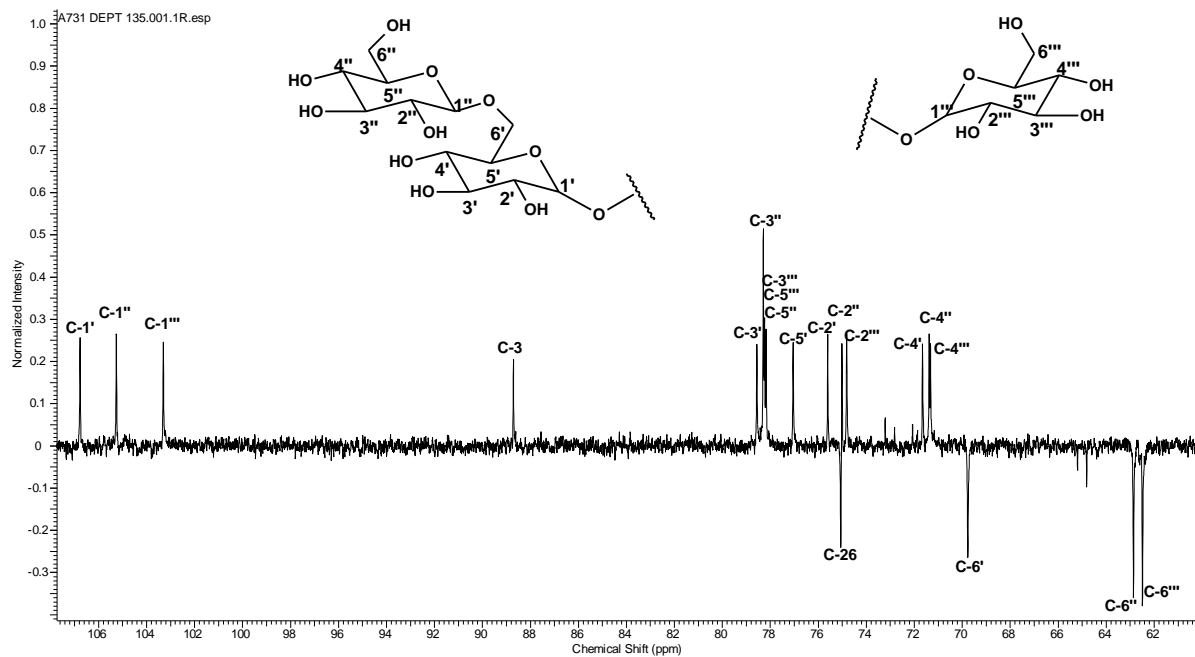


Figura 77. Ampliação do espectro de DEPT 135 de A₇₃₁ (60 – 108 ppm). (100 MHz, Piridina-*d*₅)

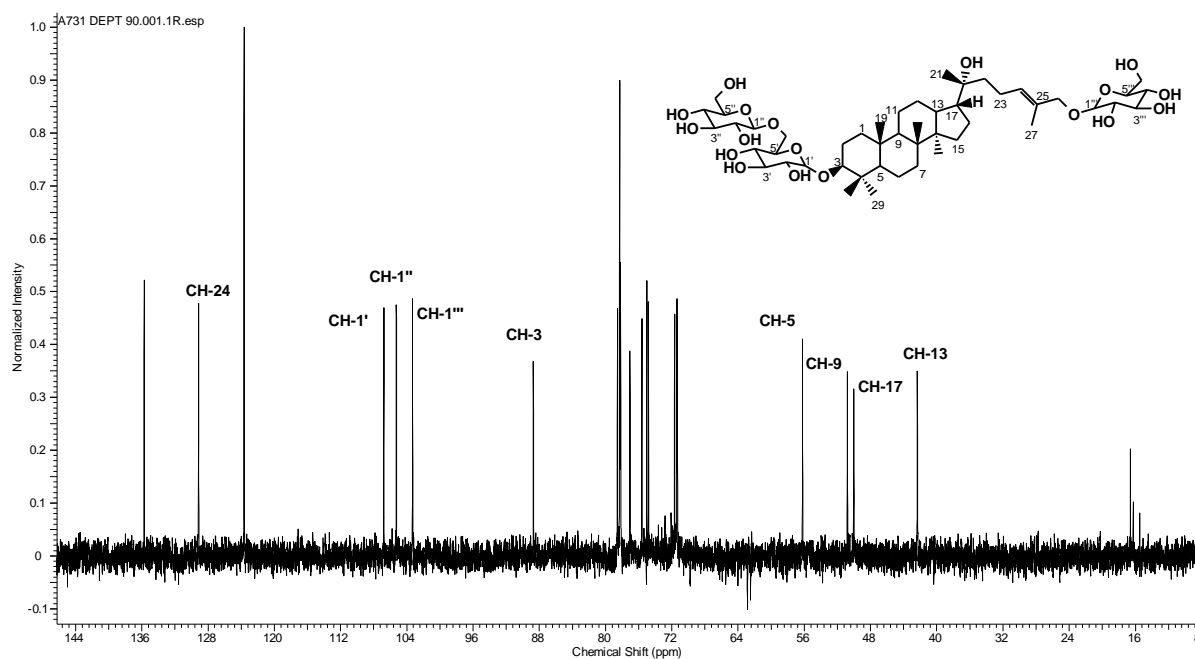
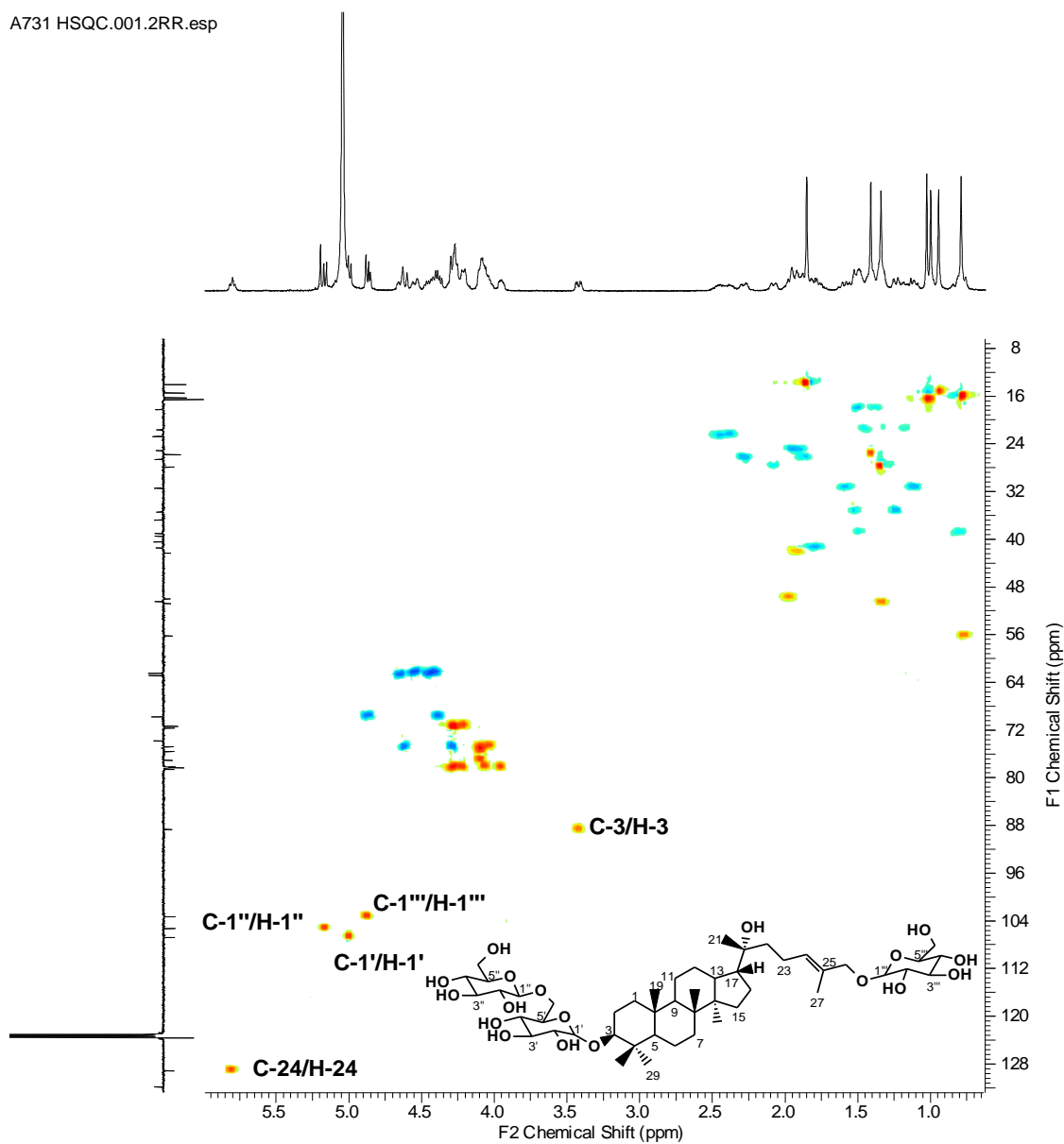


Figura 78. Espectro de DEPT 90 de A₇₃₁. (100 MHz, Piridina-*d*₅)

A731 HSQC.001.2RR.esp

Figura 79. Espectro de HSQC de A₇₃₁. (400 MHz, Piridina-*d*₅)

A731 HSQC.001.2RR.esp

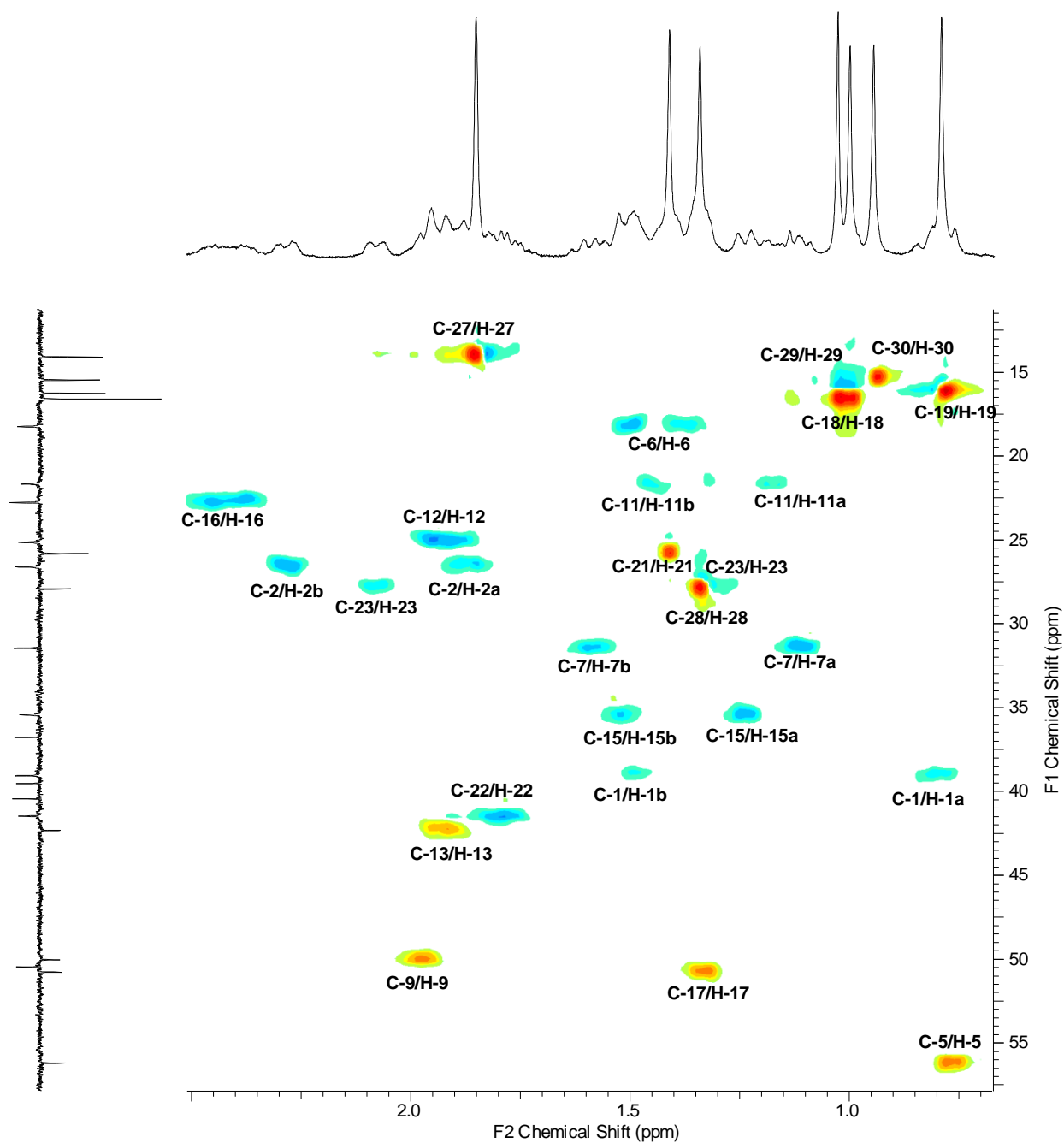
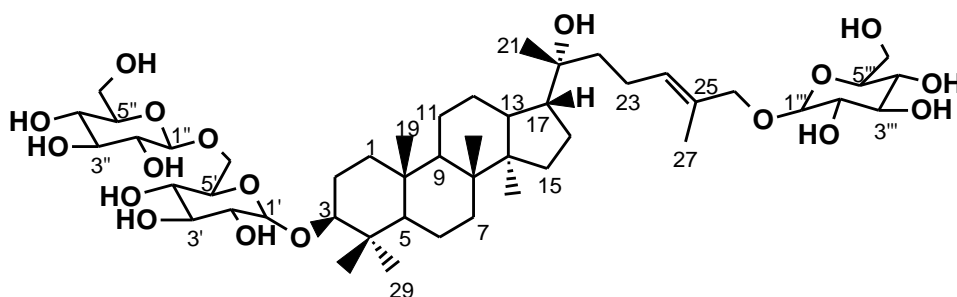


Figura 80. Ampliação do espectro de HSQC de A_{731} . (400 MHz, Piridina- d_5)



A731 IMPACT-HMBC.001.2RR.esp

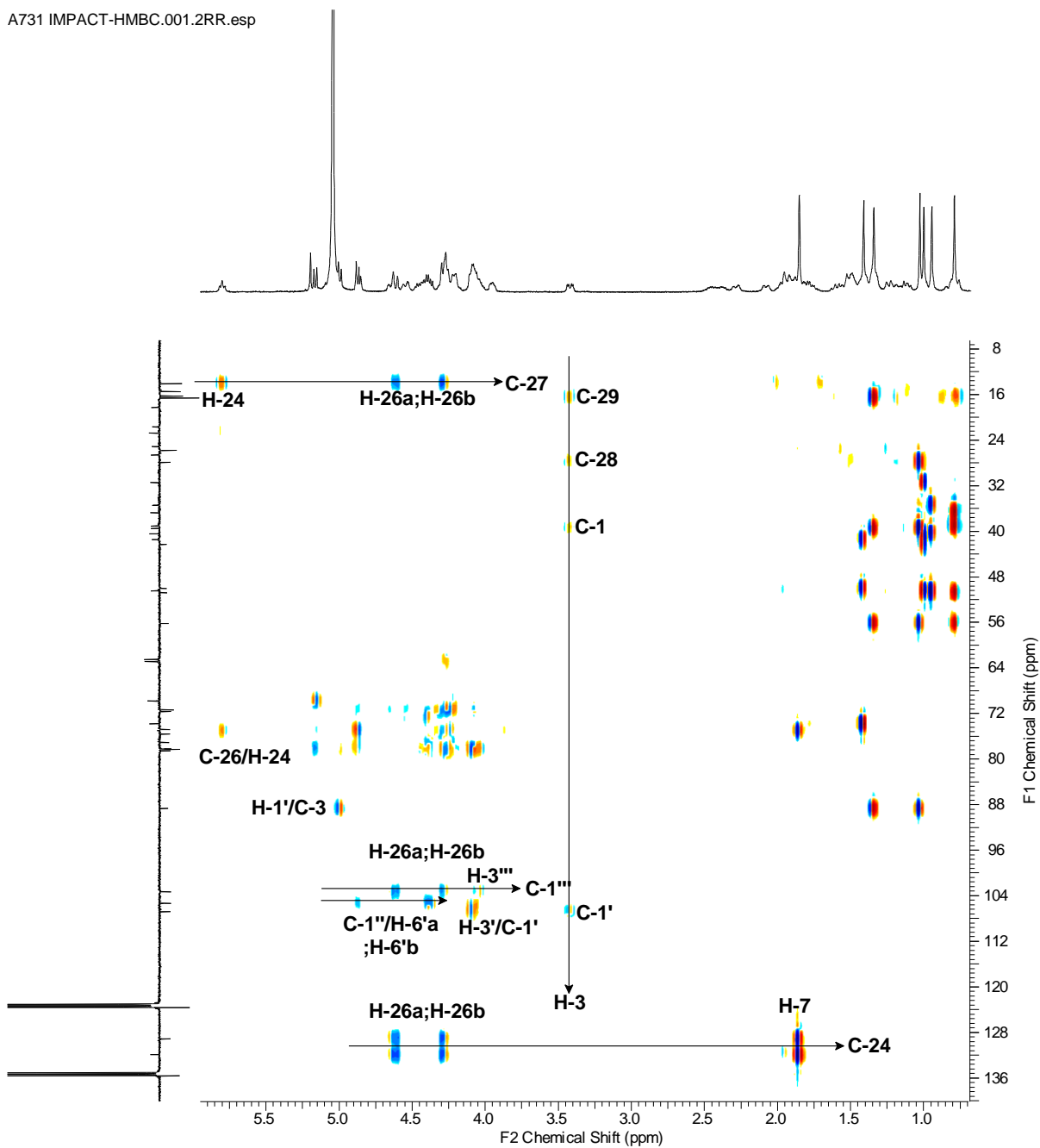
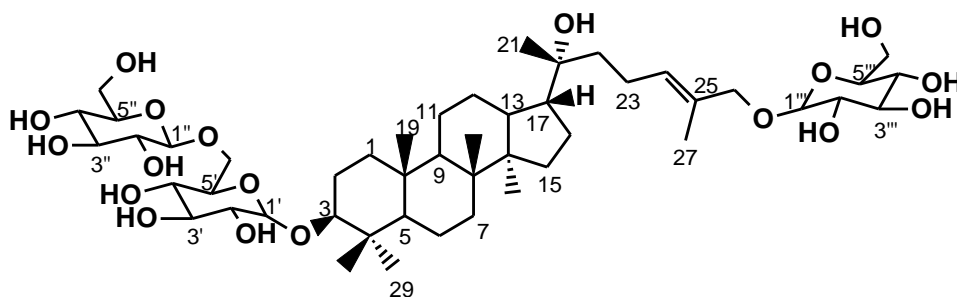


Figura 81. Espectro de IMPACT-HMBC de A₇₃₁. (400 MHz, Piridina-d₅)



A731 IMPACT-HMBC.001.2RR.esp

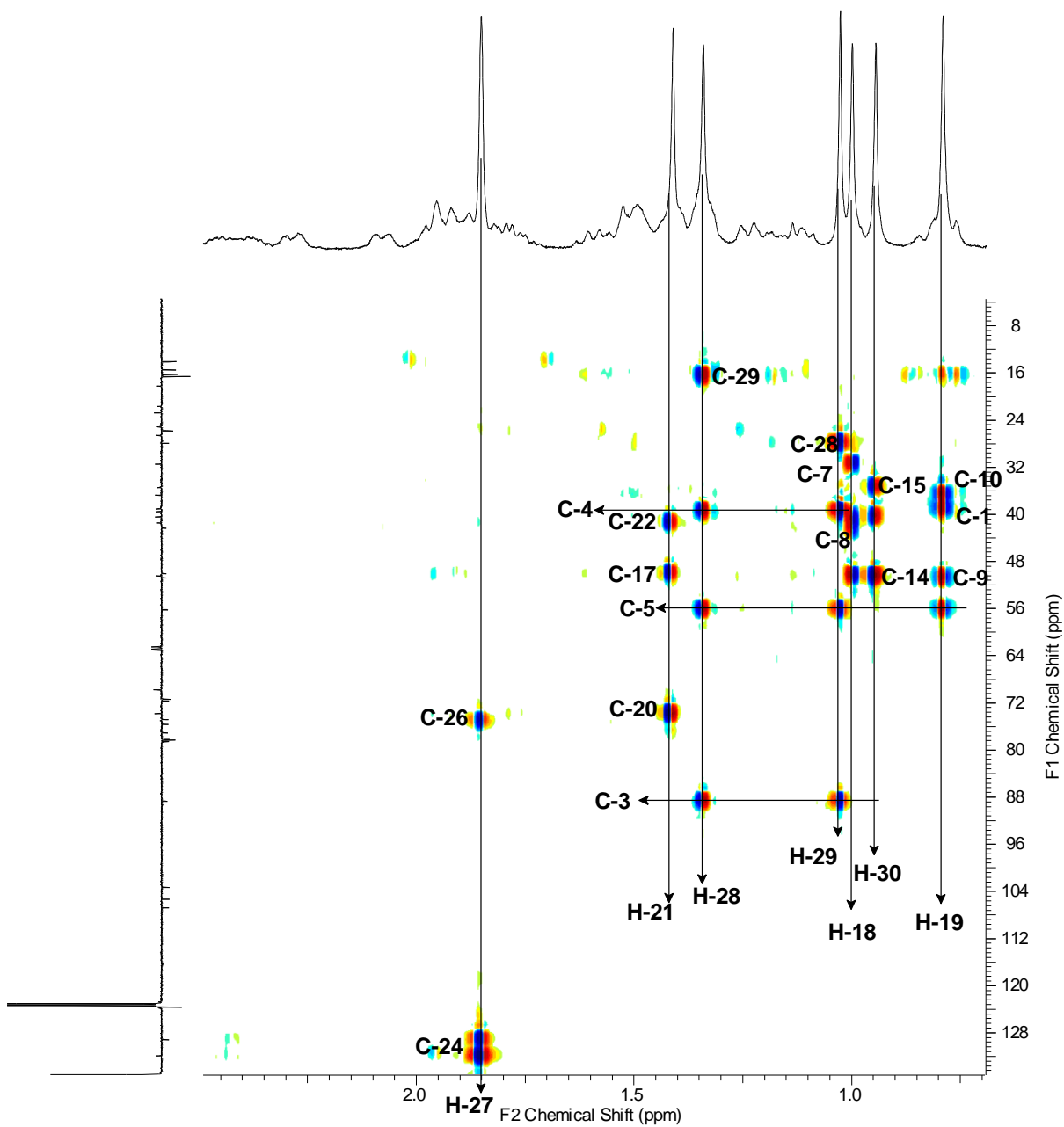
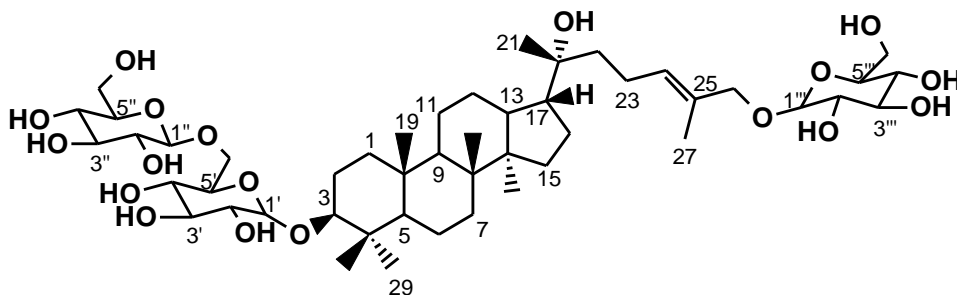
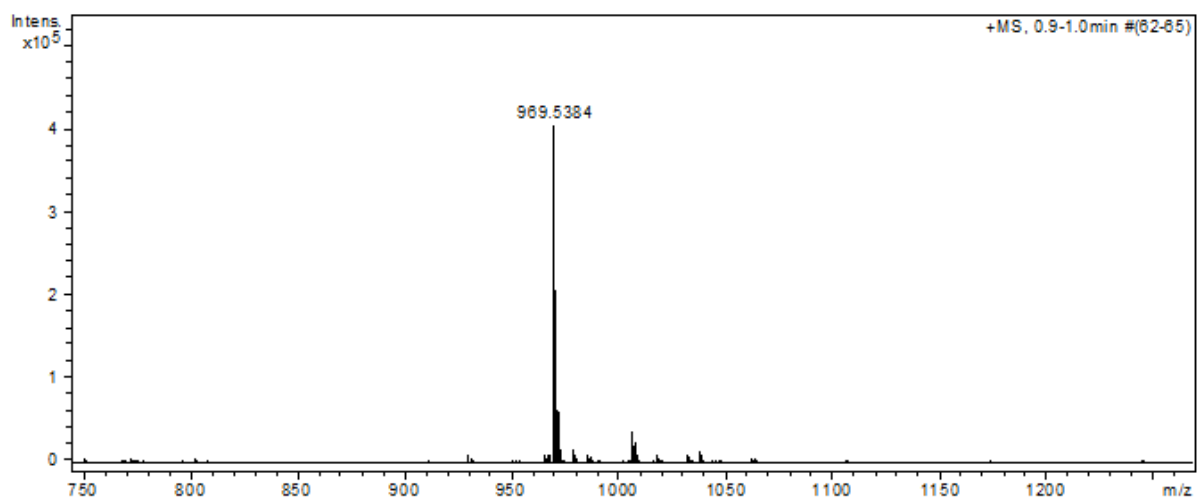


Figura 82. Ampliação do espectro de IMPACT-HMBC de A₇₃₁. (400 MHz, Piridina-d₅)



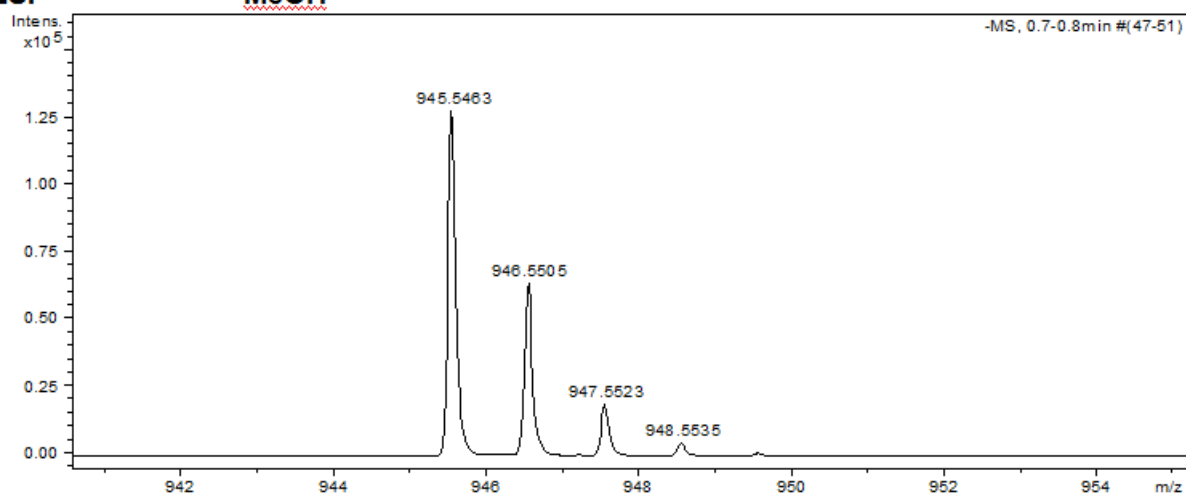
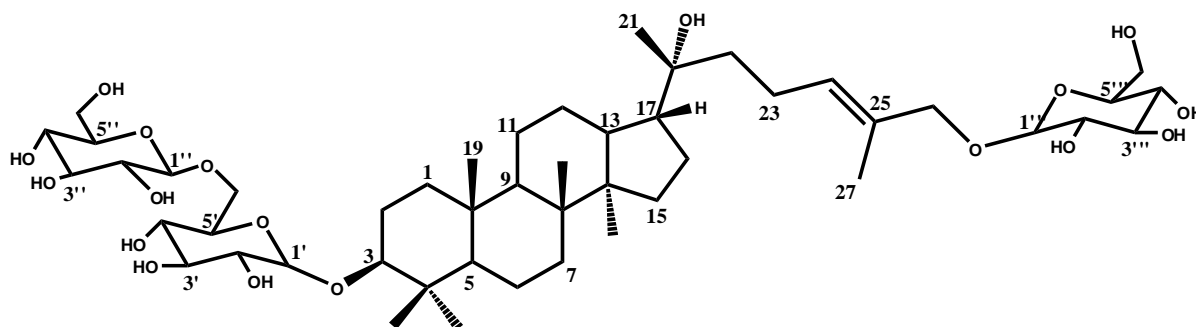
ESI+

MeOH

Figura 83. Espectro de massas por ESI (modo positivo) de A₇₃₁.

ESI-

MeOH

Figura 84. Espectro de massas por ESI (modo negativo) de A₇₃₁.Figura 85. Estrutura proposta de A₇₃₁.

5.2.4.1. Preparação do derivado acetilado de A₇₃₁.

A preparação do derivado acetilado de A₇₃₁ (**Figura 86**) foi executada pelo mesmo processo de preparação do derivado proposto para A₄₁₁ (pp 60). Utilizou-se 15 mg da amostra original para a preparação do derivado, obtendo-se no final do processo 12 mg do derivado acetilado. O derivado, depois de preparado, foi submetido a experimentos de RMN ¹H e ¹³C.

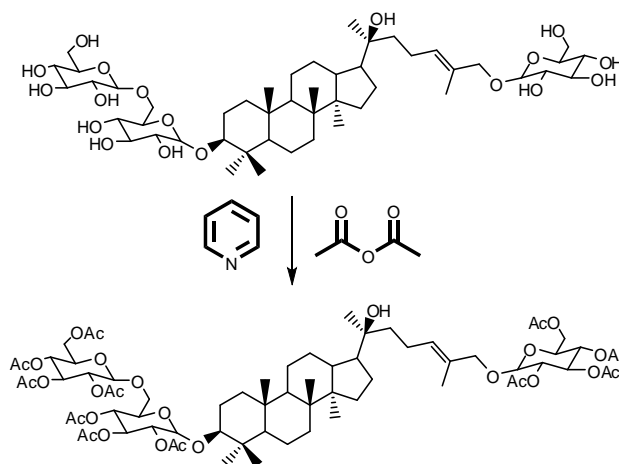


Figura 86. Reação de acetilação de A₇₃₁.

Nos espectros de RMN ¹H e ¹³C (**Figuras 87 e 88**) é possível observar a formação das acetoxilas provenientes da reação, mas sem uma diferenciação significativa nos deslocamentos químicos devido ao ambiente químico similar das mesmas, então, submeteu-se a amostra a EMAR – ESI para confirmar a fórmula molecular do derivado formado. O espectro de massas (modo positivo) (**Figura 89**) apresentou pico íon molecular de m/z 1431,3537 (observado) referente ao aduto com sódio [M + Na], m/z 1431,65609 (calculado) ($\Delta m = 0,000239$), estando de acordo com a fórmula molecular proposta para o derivado acetilado da amostra A₇₃₁ C₇₀H₁₀₄NaO₂₉.

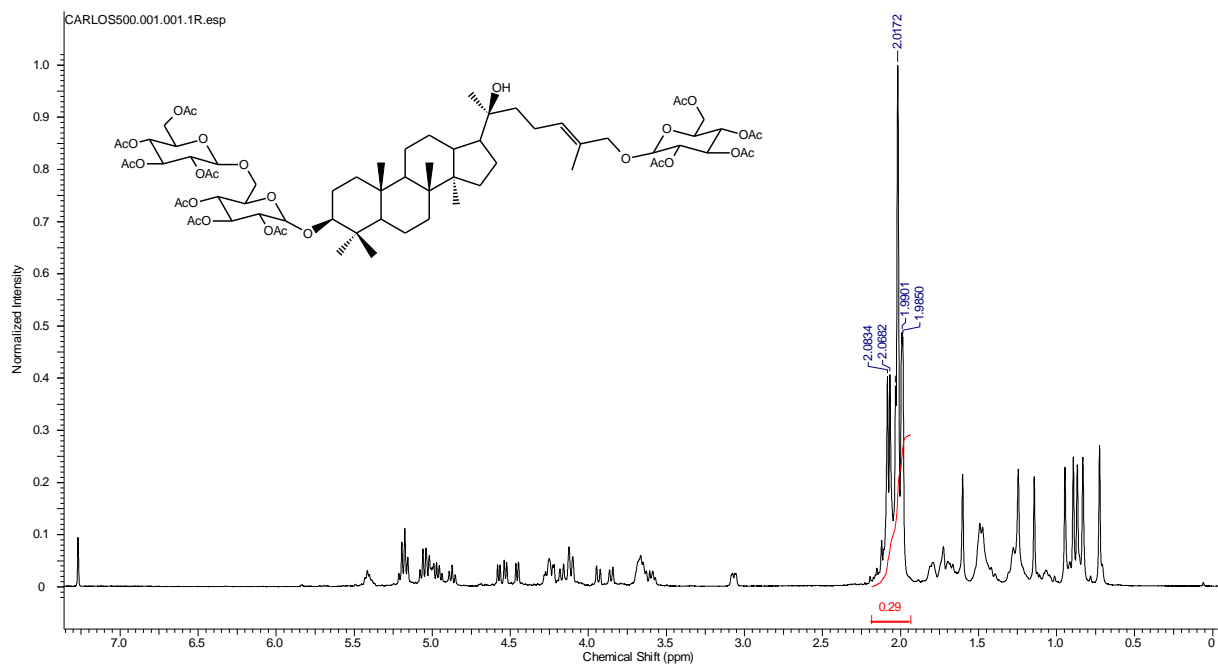


Figura 87. Espectro de RMN ^1H do derivado acetilado de A_{731} . (500 MHz, CDCl_3)

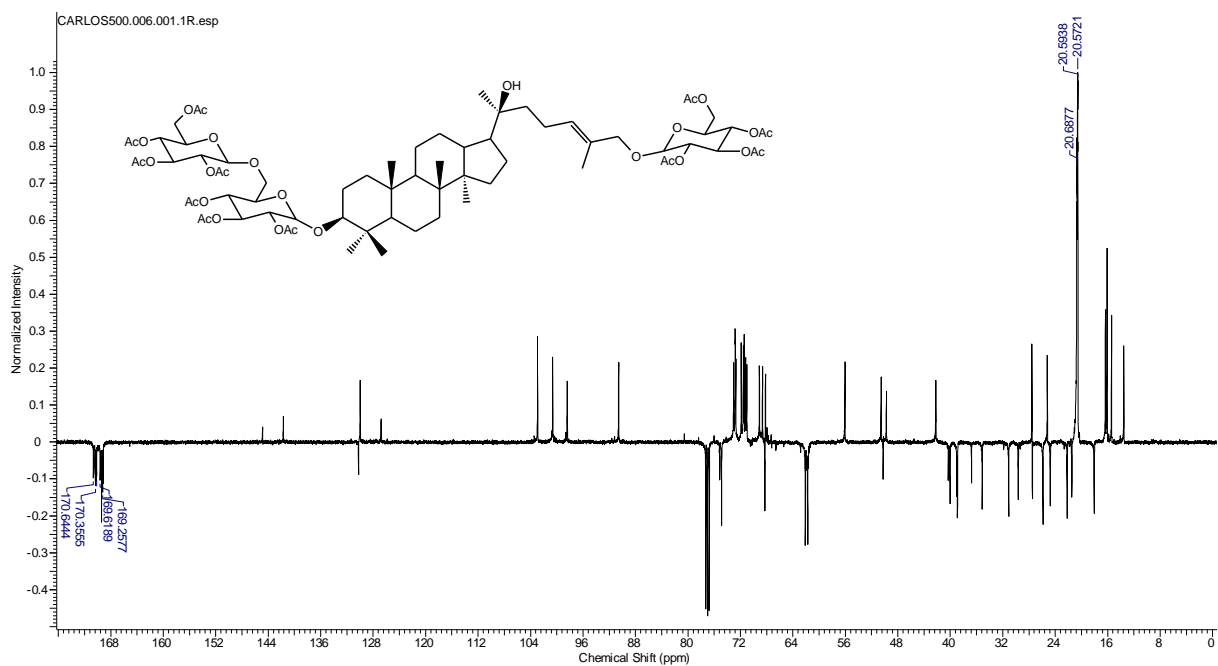


Figura 88. Espectro de DEPTQ do derivado acetilado de A_{731} . (125 MHz, CDCl_3)

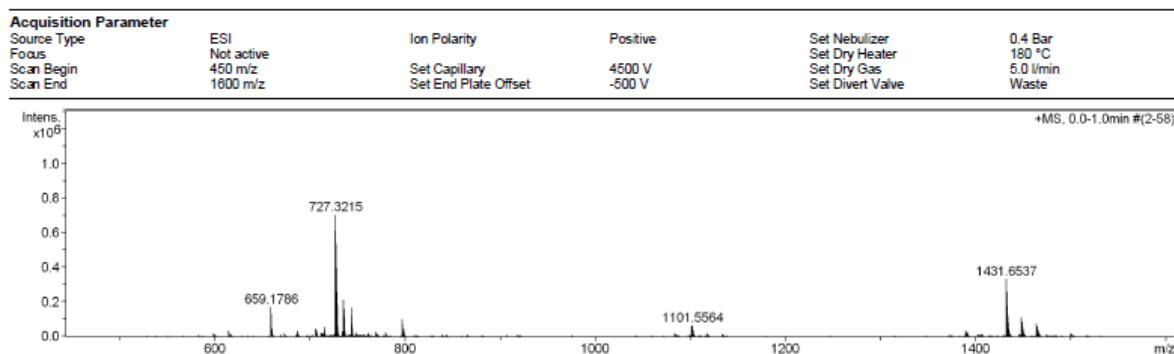


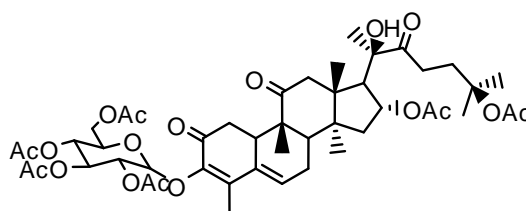
Figura 89. Espectro de massas por ionização por *electrospray* de $A_{731}Ac$.

5.3. Determinação da configuração absoluta dos triterpenóides isolados de *S. brasiliensis*.

O espectro na região do ultravioleta dos compostos isolados e derivados apresentaram máximos de absorção referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, que foram atribuídas aos grupamentos dienona, anel aromático e carbonila.

5.3.1. Configuração absoluta de $A_{411}Ac$.

O espectro de UV do derivado acetilado de A_{411} (cayaponosídeo A1) (**Figura 90**) apresentou máximo em ≈ 300 nm, coerente com o cálculo teórico para o sistema enona, com extensão de conjugação e incrementos adicionais.



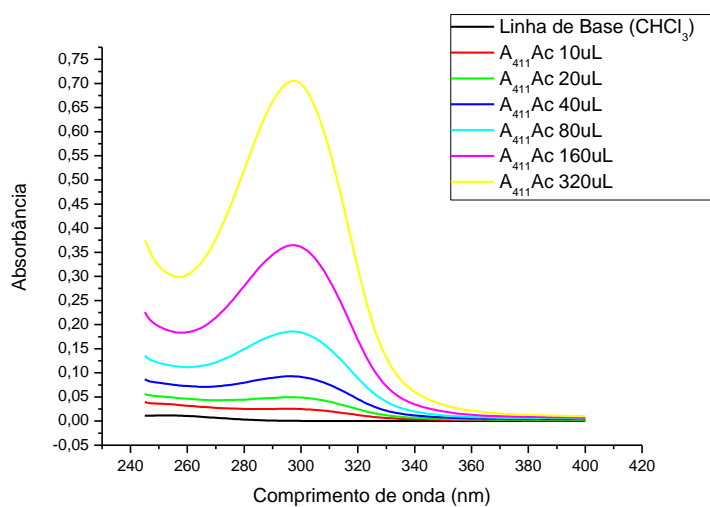


Figura 90. Espectro de UV de A_{411} (cayaponosídeo A1). (CHCl_3)

O espectro de DC da substância $A_{411}\text{Ac}$ (**Figura 91**) apresenta dois máximos, um negativo (≈ 340 nm) e um positivo (≈ 300 nm)

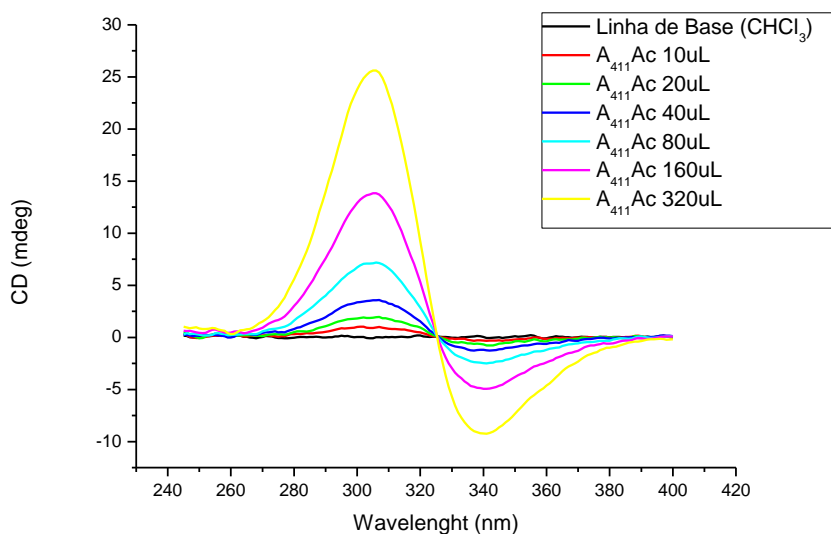


Figura 91. Espectro de DC de $A_{411}\text{Ac}$ (cayaponosídeo A1 acetilado).

Colocando a molécula na projeção para sistemas rígidos de enonas, notamos o efeito Cotton positivo. Colocando-se o grupamento cetona da dienona (C-2) no plano horizontal frontal de acordo com exemplo da **Figura 16** (pp 43), a conformação do sistema rígido causa a projeção da dupla conjugada da enona para cima (**Figura 92**), gerando assim, o efeito Cotton positivo observado em (≈ 300 nm).

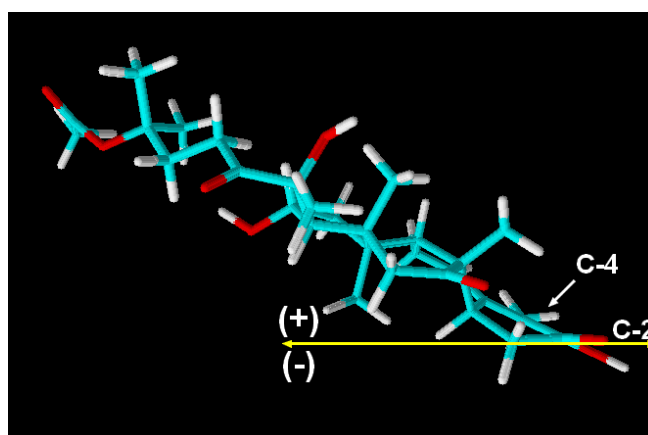
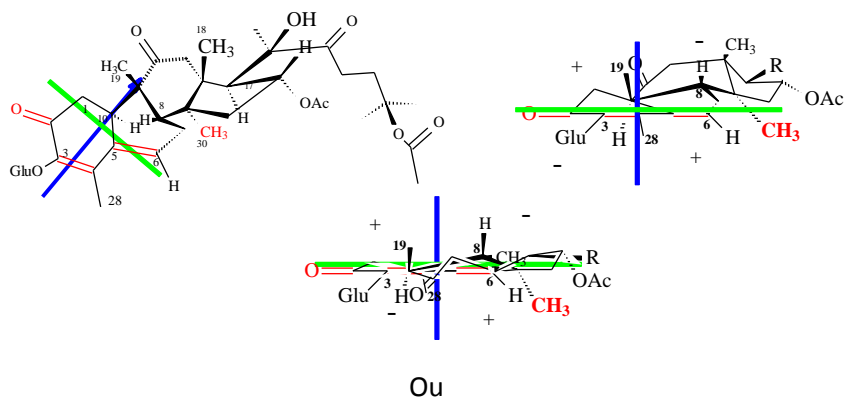


Figura 92. Projeção para sistemas rígidos de enonas para o composto A_{411} (cayaponosídeo A1).

Desta forma define-se a configuração absoluta do composto A_{411} conhecido por cayaponosídeo A1 como: 3-O- β -D-glicopiranosíl-(8*S*, 9*R*, 10*R*, 13*R*, 14*S*, 16*R*, 17*R*, 20*R*)-2, 11, 22 – trioxo-16, 20-dihidróxi-25-acetil-29-nor-cucurbita-3,5-dieno.

5.3.2. Configuração absoluta de A_{517-26} (cayaponosídeo B4).

O espectro de UV da substância apresentou máximo em ≈ 280 , coerente com máximo para anel aromático substituído (**Figura 93**).

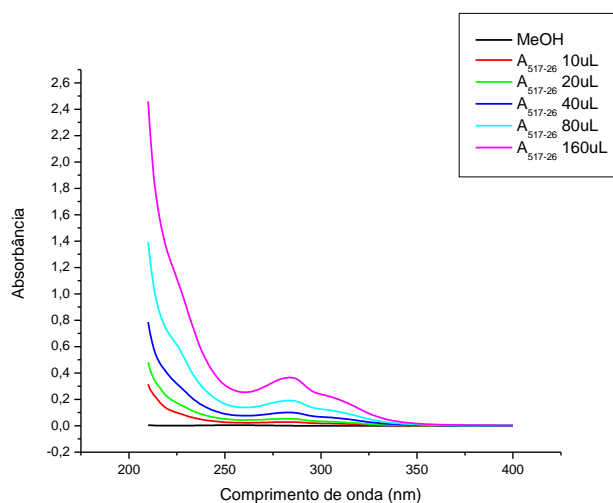


Figura 93. Espectro de UV de A₅₁₇₋₂₆ (cayaponosídeo B4) (MeOH)

A presença de centro assimétrico ao lado do cromóforo motivou a realização do experimento de DC para a determinação da configuração absoluta, uma vez que a configuração relativa foi determinada por experimentos de RMN. O espectro de DC de A₅₁₇₋₂₆ (**Figura 94**) apresenta dois máximos de absorção, referente aos cromóforos presentes na molécula.

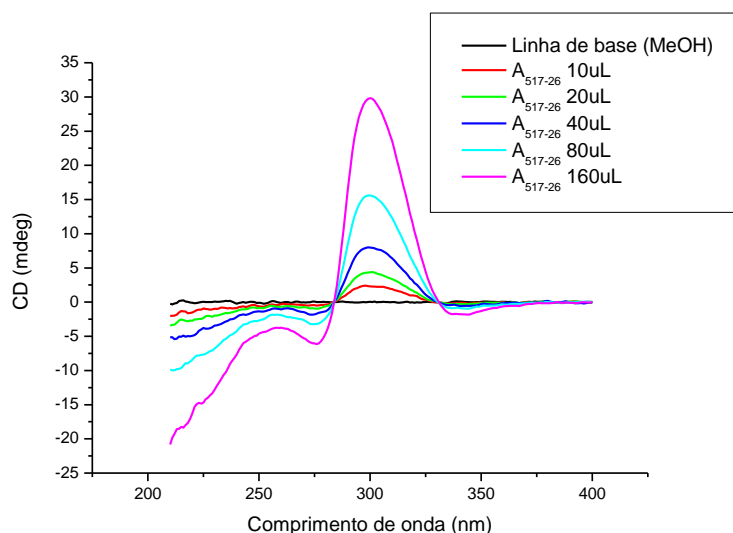


Figura 94. Espectro de DC de A₅₁₇₋₂₆ (cayaponosídeo B4).

Colocando a estrutura proposta na projeção para a regra do quadrante para composto aromático observa-se a contribuição de vários grupos da estrutura e, inclusive da metila 30 (Me-30) para o efeito Cótton positivo (≈ 300 nm) (**Figura 95**)

observado no espectro de DC. Desta forma fica definida a configuração absoluta da cucurbitacina conhecida como cayaponosídeo B4 (HIMENO *et al*, 1994).

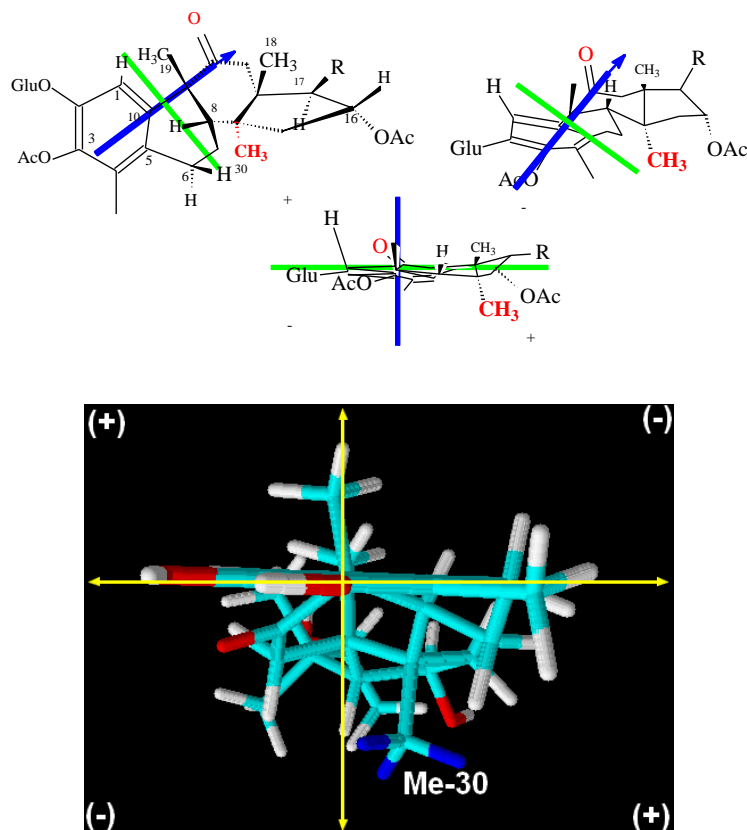


Figura 95. Projeção no quadrante para compostos aromáticos de A_{517-26} (cayaponosídeo B4).

Desta maneira, podemos confirmar a configuração absoluta do composto conhecido como cayaponosídeo B4 (HIMENO *et al*, 1994), como sendo: 2-O- β -D-glicopiranosíl-(8*S*, 9*R*, 13*R*, 14*S*, 16*R*, 17*R*, 20*R*, 22*R*)-3, 16, 20, 22-tetrahidróxi-25-metoxi-11-oxo-29-nor-1, 2, 3, 4, 5, 10-hexadiidrocucurbit-23-eno.

5.3.3. Configuração absoluta de A_{5241} (cayaponosídeo D).

O espectro de UV do derivado acetilado de A_{5241} (cayaponosídeo D) (Figura 96) também apresentou máximo em ≈ 280 nm, que condiz com anel aromático substituído.

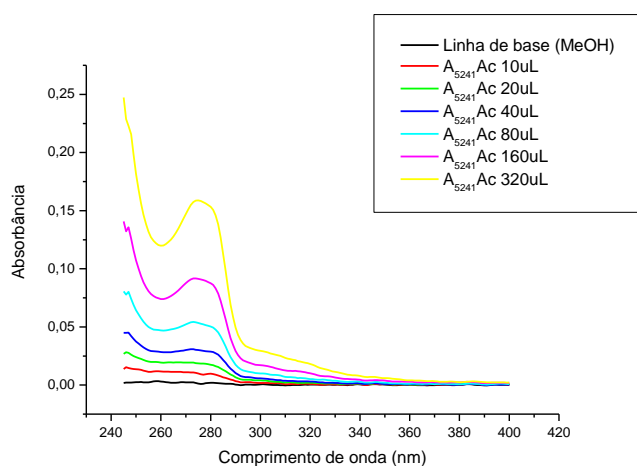


Figura 96. Espectro de UV de A_{5241} (cayaponosídeo D) (CHCl_3)

O derivado acetilado do triterpenóide A_{5241} (cayaponosídeo D) tem um centro assimétrico igual ao triterpenóide anterior (cayaponosídeo B4), logo, o espectro de DC (**Figura 97**) para a substância apresentou máximo similar, com efeito Cotton positivo em ≈ 300 nm.

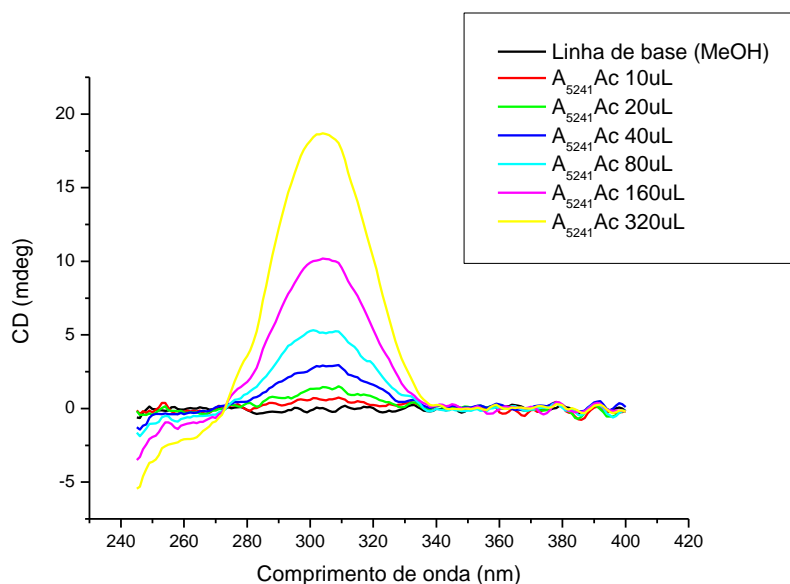


Figura 97. Espectro de DC de A_{5241} Ac (cayaponosídeo B4 acetilado).

Colocando-se a estrutura proposta do triterpenóide na projeção para a regra do quadrante de compostos aromáticos (**Figura 98**), observamos novamente o auxílio da metila 30 (Me-30) para o efeito Cotton positivo observado no espectro de

DC, visto que a diferença estrutural e relação ao composto discutido anteriormente (cayaponosídeo B4), está somente na metoxila em C-25.

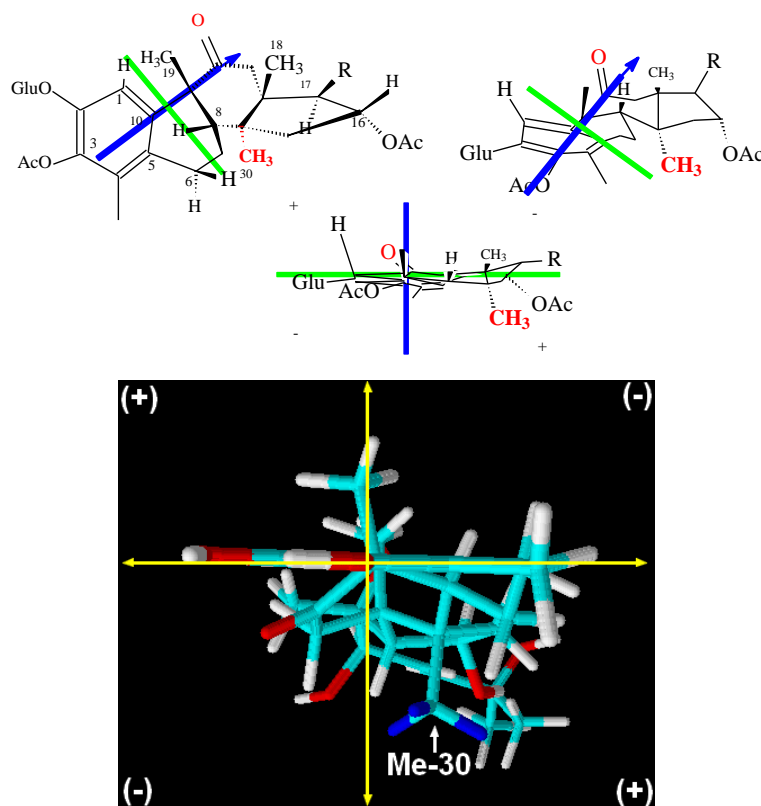


Figura 98. Projeção no quadrante para compostos aromáticos de A_{5241} (cayaponosídeo D).

Desta maneira, podemos confirmar a configuração absoluta do composto conhecido como cayaponosídeo D (HIMENO *et al*, 1994), como sendo: 2-O- β -D-glicopiranosíl-(8*S*, 9*R*, 13*R*, 14*S*, 16*R*, 17*R*, 20*R*, 22*R*)-3, 16, 20, 22, 25-pentahidróxi-11-oxo-29-nor-1, 2, 3, 4, 5, 10-hexadiidrocucurbit-23-eno.

5.4. Dados espectrométricos das substâncias isoladas.

Cayaponosídeo A1 (A₄₁₁)

3-O-β-D-glicopiranosíl-(8*S*, 9*R*, 10*R*, 13*R*, 14*S*, 16*R*, 17*R*, 20*R*)-2, 11, 22 – trioxo-16, 20-dihidróxi-25-acetil-29-nor-cucurbita-3, 5-dieno; Pasta amorfa. UV(A₄₁₁Ac): λ_{max} (CHCl₃) (Log ε) 300 nm (3,67); DC (c 14,1 mg 100mL⁻¹, CHCl₃) [θ]₃₉₀ 0, [θ]₃₄₀ -3060, [θ]₃₂₅ 0, [θ]₃₀₇ 85,8 x 10³, [θ]₂₆₂ 0. RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) **Tabela 1**. EM – ESI (modo negativo) 705,9 (100; [M – H]); 686,9 (20; [M – H – H₂O]); 645,7 (5; [M – H – C₂H₄O₂]); 525,0 (10; [M – H – H₂O – C₆H₈O₅]).

Cayaponosídeo B4 (A₅₁₇₋₂₆)

2-O-β-D-glicopiranosíl-(8*S*, 9*R*, 13*R*, 14*S*, 16*R*, 17*R*, 20*R*, 22*R*)-3, 16, 20, 22-tetrahidróxi-25-metoxi-11-oxo-29-nor-1, 2, 3, 4, 5, 10-hexadehidrocucurbit-23-eno. Pasta amorfa. UV: λ_{max} (MeOH) (Log ε) 282 nm (3,59); DC (c 7 mg 100mL⁻¹, CHCl₃) [θ]₃₈₀ 0, [θ]₃₄₀ -9,9 x 10³, [θ]₃₃₀ 0, [θ]₃₀₀ 95,7 x 10³, [θ]₂₈₅ 0, [θ]₂₇₅ -24,75. RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) **Tabela 3**. EMAR-ESI (modo negativo) 677,3537 [M – H] (calc. 677,35370; Δm 0).

Cayaponosídeo D (A₅₂₄₁)

2-O-β-D-glicopiranosíl-(8*S*, 9*R*, 13*R*, 14*S*, 16*R*, 17*R*, 20*R*, 22*R*)-3, 16, 20, 22-tetrahidróxi-25-metoxi-11-oxo-29-nor-1, 2, 3, 4, 5, 10-hexadehidrocucurbit-23-eno. Pasta amorfa. UV (A₅₂₄₁Ac): λ_{max} (CHCl₃) (Log ε) 282 nm (3,12); DC (c 12,3 mg 100mL⁻¹, CHCl₃) [θ]₃₃₈ 0, [θ]₃₀₀ 59,4 x 10³, [θ]₂₇₅ 0. RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) **Tabela 5**. EMAR-ESI (modo positivo) 687,3351 [M + Na] (calc. 687,33564; Δm 0,00054).

3-O-β-D-gentiobiosil-26-O-β-D-glicopiranosíl-20-hidróxidamar-24-eno (A₇₃₁)

3-O-β-D-gentiobiosil-26-O-β-D-glicopiranosíl-20-hidróxidamar-24-eno. Sólido branco amorfo P.F. 223 – 228°C. RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) **Tabela 7**. EMAR-ESI (modo positivo) 969,5384 [M + Na] (calc. 969,53988; Δm 0,0015); (modo negativo) 945,5463 [M + Na] (calc. 945,54229; Δm 0,004).

6. Conclusões

Este é o primeiro trabalho descrevendo o estudo químico da espécie *Siolmatra brasiliensis* detalhando o isolamento e elucidação estrutural de quatro triterpenóides até o momento, sendo três cucurbitacinas já descritas na literatura (cayaponosídeos A1, B4 e D) e uma saponina de esqueleto tipo damarano inédita na literatura, 3-O- β -D-gentiobiosil-26-O- β -D-glicopiranosíl-20-hidróxidamar-24-eno.

As estruturas foram confirmadas pela preparação de derivados acetilados que confirmaram a presença das hidroxilas glicosídicas e da aglicona, estando de acordo com a estrutura proposta.

Relata-se neste trabalho, pela primeira vez, o uso de experimentos de dicroísmo circular para a determinação da configuração absoluta dos centros assimétricos das cucurbitacinas isoladas.

A avaliação da atividade antidiabética do extrato bruto hidroetanólico de *Siolmatra brasiliensis* [realizada pelo Laboratório de Bioquímica (Pesquisa) da Universidade Federal de Mato Grosso, sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Amanda Martins Baviera] demonstrou que a administração do extrato em ratos com diabetes induzida por Estreptozotocina, causou a diminuição da glicose e ureia urinária e aumento de peso corporal e tecido adiposo quando comparados aos ratos não tratados. Com base na revisão da literatura científica podemos sugerir que a atividade antidiabética do extrato hidroetanólico de *Siolmatra brasiliensis* se dá devido à presença dos triterpenóides presentes no extrato bruto, como os identificados através deste trabalho.

7. Referências bibliográficas

AKIHISA, T.; HAYAKAWA, Y.; TOKUDA, H.; BANNO, N.; SHIMIZU, N.; SUZUKI, T.; KIMURA, Y. Cucurbitane Glycosides from the Fruits of *Siraitia grosvenorii* and their Inhibitory Effects on Epstein – Barr Virus Activation. *Journal of Natural Products*. v. 70, pp. 783-788, 2007.

ALGHASHAM, A. A. Cucurbitacins: A promising target for câncer therapy. *International Journal of Health Sciences*. v. 7, n. 1, pp. 67-69, 2013.

BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1978. v. 1.

BEROVA, N.; NAKANISHI, K.; WOODY, R. W. Circular dichroism: principles and applications. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 877 p. 2000.

CARVALHO, M. G.; ROCHA Jr, J. G.; CAVATTI, L. C.; SUZART, L. R.; CORNELIUS, M. T. F.; SILVA, V. C.; CARDOSO, M. A. R. Determinação estrutural de flavonoides com análise de espectros de RMN de ¹H 1D e reação com diazometano. *Revista Universidade Rural, Ciências Exatas e da Terra*. v. 25, pp. 46 – 59. 2006.

CHEN, J. C.; CHIU, M. H.; NIE, R. L.; CORDELL, G. A.; QIU, S. X.; Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structure and biological activities. *Natural Products Reports*. v. 22, pp. 386-399, 2005

CHEN, J. C.; NIU, X. M.; LI, Z. R.; QIU, M. H. Four New Cucurbitane Glycosides from *Hemsleya jinfushanensis*. *Planta Medica*. v. 71, pp. 983-986, 2005.

DAT, N. T.; JIN, X.; HONG, Y. S.; LEE, J. J. An Isoaurone and Other Constituents from *Trichosanthes kirilowii* Seeds Inhibit Hypoxia-Inductible Factor – 1 and Nuclear Factor – κ B. *Journal of Natural Products*. v. 73, pp. 1167-1169, 2010.

DeANGELIS, G. G.; WILDMAN, W. C. Circular Dichroism Studies – I – A Quadrant Rule For the Optically Active Aromatic Chromophore in Rigid Polycyclic Systems. *Tetradron*. v. 25, pp. 5099 – 5112. 1969.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A biosynthetic Approach. Second edition. University of Nottingham, United Kingdom. 2002. Wiley. 507 p.

DU, Q. & CUI, H. A new flavone glycoside from the fruits of *Luffa cylindrical*. *Phytoterapia (Phytochemical communication)*. v. 78, pp. 609 – 610, 2007.

ELIEL, E. L. & WILEN, S. H. *Stereochemistry of organic compounds*. 2nd ed. New York; John Wiley & Sons. 1994.

GAIDI, G.; MAROUF, A.; HANQUET, B.; BAUER, R.; CORREIA, M.; CHAUFFERT, B.; LACAILLE-DUBOIS, M. A. A New Major Triterpene Saponin From the Roots of *Cucurbita foetidissima*. *Journal of Natural Products*. v. 63, pp. 122-124, 2000.

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 93, pp. 123-132, 2004.

HERNÁNDEZ-GALICIA, E.; CALZADA, F.; ROMAN-RAMOS, R.; ALARCÓN-AGUILAR, F. Monoglycerides and Fatty acids from *Ibervillea sonorea* Root: Isolation and Hypoglycemic Activity. *Planta medica*. v. 73, pp. 236-240, 2007.

HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Studies on the Constituents of the Root of *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. I. Structures of Cayaponosides, New 29-Nor-1,2,3,4,5,10-hexa-dehydrocucurbitacin Glucosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 42 (11), pp. 2295-2300. 1994.

HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Studies on the Constituents of the Root of *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. II.¹⁾ Structures of Cayaponosides, New 29-Nor-2,11-dioxocucurbita-3,5-diene Glucosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 42 (11), pp. 2301 – 2304. 1994.

JEFFREY, C. A new system of Cucurbitaceae. *Botanicheskii Zhurnal*. v. 90, p. 332-335. 2005.

KANCHANAPOOM, T.; KASAI, R.; YAMASAKI, K. Cucurbitane, hexanorcucurbitane and octanorcucurbitane glycosides from fruits of *Trichosanthes tricuspidata*. *Phytochemistry*. v. 59, pp. 215-228, 2002.

KELLER, A. C.; MA, J.; KAVALIER, A.; HE, K.; BRILLANTES, A. M. B.; KENNELLY, E. J. Saponins from the traditional medicinal plant *Momordica charantia* stimulate insulin secretion *in vitro*. *Phytomedicine*. v.19, pp. 32-37, 2011.

KY, P. T.; HUONG, P. T.; MY, T. K.; ANH, P. T.; KIEM, P. V.; MINH, C. V.; CUONG, N. X.; THAO, N. P.; NHIEM, N. X.; HYUN, J. H.; KANG, H. K.; KIM, Y. H. Dammarane-Type Saponins from *Gynostemma pentaphyllum*. *Phytochemistry*. v. 71, pp. 994-1001, 2010.

LI, W.; CAO, J.; TANG, Y.; ZHANG, L.; XIE, Q.; SHEN, H.; ZHAO, Y. Cyclic bisdesmosides from *Actinostemma lobatum* MAXIM (Cucurbitaceae) and their *in vitro* cytotoxicity. *Fitoterapia*. v. 83, pp. 147-152, 2012.

LIMA, A. P.; BARBOSA, C. E. S.; PEREIRA, F.C.; VILANOVA-COSTA, C. A. S. T.; RIBEIRO, A. S. B. B.; SILVA, H. D.; AZEVEDO, N. R.; GOMES-KLEIN, V. L.; SILVEIRA-LACERDA, E. P. *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill., Cucurbitaceae, acute toxicity in mice. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 20 (6), 917-921, 2010.

LIMA, A. P.; PEREIRA, F. C.; VILANOVA-COSTA, C. A. S. T.; RIBEIRO, A. S. B. B. SILVEIRA-LACERDA, E. P. Avaliação da atividade antitumoral e citotóxica da planta *Siolmatra brasiliensis*. *Revista eletrônica de Farmácia*. v. 3, pp. 44-46, 2006.

LIMA, L. F. P. Estudos taxonômicos e morfológicos em Cucurbitaceae brasileira. 2010. 230p. Tese de doutorado (doutorado em botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LIU, W. Y; ZHANG, W. D.; CHEN, H. S.; GU, Z. B.; LI, T. Z.; CHEN, W. S. New triterpenoid saponins from bulbs of *Bolbostemma paniculatum*. *Planta medica*. v. 70, pp 458-464, 2004.

LIU, X.; YE, W.; MO, Z.; YU, B.; ZHAO, S.; WU, H.; CHE, C.; JIANG, R.; MAK, T. C. W.; HSIAO, W. L. W. Five New Ocotillone-Type Saponins from *Gynostemma pentaphyllum*. *Journal of Natural Products*. v. 67, pp. 1147-1151, 2004.

MA, J.; WHITTAKER, P.; KELLER, A. C.; MAZZOLA, E. P.; PAWAR, R. S.; WHITE, K. D.; CALLAHAN, J. H.; KENNELLY, E. J.; KRYNITSKY, A. J.; RADER, J. I. Cucurbitane-type Triterpenoids from *Momordica charantia*. *Planta medica*. v. 76, pp. 1758-1761, 2010.

NORBERG, A.; HOA, N. K.; LIEPINSH, E.; PHAN, D. V.; THUAN, N. D.; JÖRNVALL, H.; SILLARD, R.; ÖSTENSON, C. G. A novel insulin-releasing substance, Phanoside, from the plant *Gynostemma pentaphyllum*. *The Journal of biological Chemistry*. v. 279 (40), pp. 41361-41367, 2004.

ORIHARA, Y. & FURUYA, T. Biotransformation of (-)-borneol by cultured cells of *Eucalyptus perriniana*. *Phytochemistry*. v. 34 (4), pp. 1045-1048, 1993.

PIMENTEL, F. A.; ALMEIDA, M. F. L. Fitoquímica. In: CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. *Química verde no Brasil: 2010 – 2030*. Edição revisada e atualizada. Brasília – DF. Editora CGEE. 2010. pp. 265.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A.; Produtos naturais: Atualidades, desafios e perspectivas. *Química Nova*. v. 25 (1), pp. 45-61, 2002.

POTT, A & POTT V. J. Plantas do Pantanal. Brasília, Embrapa, 1994. 320p.

RAMAN, A.; LAU, C. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Phytomedicine*. v. 2 (4), pp. 349-362, 1996.

RECIO, M. C.; PRIETO, M.; BONUCCELI, M.; ORSI, C.; MÁÑES, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Anti-Inflammatory Activity of two Cucurbitacin Isolated from *Cayaponia tayuya* Roots. *Planta Medica*. v. 70, pp. 414-420, 2004.

ROBINSON, G. L.; WUNDERLIN, R. P. Revision of *SIOLMATRA* (CUCURBITACEAE: ZANONIEAE). *SIDA, Contributions to Botany*. v. 21 (4), pp. 1961 – 1969. 2005.

SU, D.; TANG, W.; HU, Y.; LIU, Y.; YU, S.; MA, S.; QU, J.; YU, D. Lignan Glycosides from *Neosomitra integrifoliola*. *Journal of Natural Products*. v. 71, pp. 784-788, 2008.

TAN, M. J.; Ye, J. M.; TURNER, N.; HOHNEN-BEHRENS, C.; KE, C. Q.; TANG, C. P.; CHEN, T.; WEISS, H. C.; GESING, E. R.; ROWLAND, A.; JAMES, D. E.; YE. Y. Antidiabetic Activities of Triterpenoids Isolated from Bitter Melon Associates with Activation of AMPK Pathway. *Chemistry & Biology*. v. 15, pp. 263 – 273. 2008.

TSUNG-REN, Y.; KASAI, R.; ZHOU, J.; TANAKA, O. Dammarane saponins of leaves and seeds of *Panax notoginseng*. *Phytochemistry*. v. 22 (6), pp. 1473-1478. 1983.

UKIYA, M.; AKIHISA, T.; YASUKAWA, K.; TOKUDA, H.; TORIUMI, M.; KOIKE, K.; KIMURA, Y.; NIKAIDO, T.; AOI, W.; NISHINO, H.; TAKIDO, M.; Anti-Inflammatory and Anti-Tumor-Promoting Effects of Cucurbitane Glycosides from the Roots of *Bryonia dioica*. *Journal of Natural Products*. v. 65, pp. 179-183, 2002.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, n. 6, 2004.

VALENTE, L. M. M.; GUNATILAKA, A. A. L.; GLASS, T. E.; KINGSTON, D. G. I. New norcucurbitacin and heptanorcucurbitacin glucosides from *Fevillea trilobata*. *Journal of Natural Products*. v. 56 (10), pp. 1772-1778, 1993.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*. v. 29 (2), pp. 326-337, 2006.

WANG, D. C.; XIANG, H.; LI, D.; GAO, H. Y.; CAI, H.; WU, L. J.; DENG, X. M. Purine-containing cucurbitane triterpenoids from *Cucurbita pepo* cv *dayangua*. *Phytochemistry*. v. 69, pp. 1434-1438, 2008.

YANG, T. R.; KASAI, R.; ZHOU, J.; TANAKA, O. Dammarane saponins of leaves of *Panax notoginseng*. *Phytochemistry*. v. 22 (6), pp. 1473-1478, 1983.

ZHANG, Y.; WATTS, W.; NOGLE, L.; McCONNEL, O. Rapid method development for chiral separation in drug discovery using multi-column parallel screening and circular dichroism signal pooling. *Journal of Chromatography A*. v. 1049 (1-2), pp. 75-84, 2004.