



UFC

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**

Solanum campaniforme: constituintes químicos, estudo de fragmentação e desreplicação por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (IES-EM/EM)

Maria da Conceição de Menezes Torres

Fortaleza-CE
2011

Maria da Conceição de Menezes Torres

Solanum campaniforme: constituintes químicos, estudo de fragmentação e desreplicação por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (IES-EM/EM)

Tese submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Oflia Deusdênia Loliola Pessoa

Fortaleza-CE
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

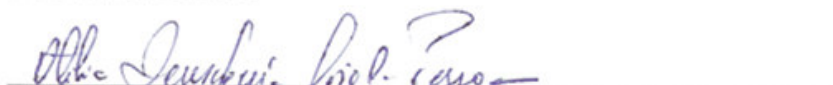
-
- T646s Torres, Maria da Conceição de Menezes.
 Solanum campaniforme : constituintes químicos, estudo de fragmentação e desreplicação por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* / Maria da Conceição de Menezes Torres. – 2011.
 236 f. : il., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2011.
 Área de Concentração: Química Orgânica.
 Orientação: Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa.
1. *Solanum campaniforme*. 2. Alcalóides. 3. Espectrometria de massa. I. Título.

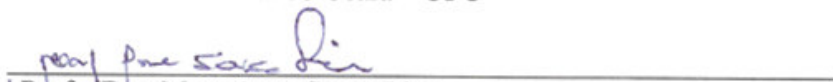
Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

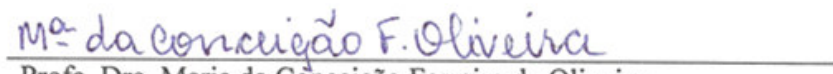

Maria da Conceição de Menezes Torres

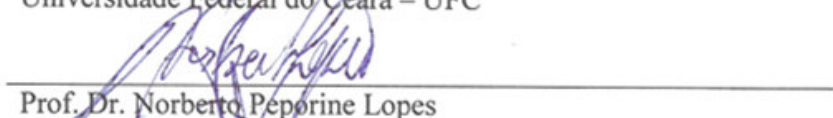
TESE APROVADA EM: 25/11/2011

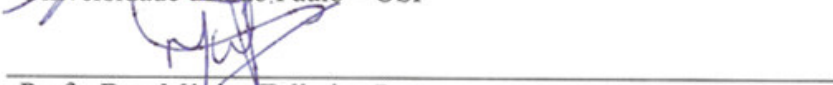
EXAMINADORES:


Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa
Universidade Federal do Ceará – UFC


Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Universidade Federal do Ceará – UFC


Profa. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes
Universidade de São Paulo – USP


Profa. Dra. Mônica Tallarico Pupo
Universidade de São Paulo – USP

*A Deus, pelo dom da vida, pela família e amigos, por sua
proteção e por todas as conquistas e alegrias vividas.
Aos meus pais, Eronilde e Francineide, e as minhas irmãs Edinalva e Júlia,
pelo amor, carinho, paciência e apoiar às minhas decisões, sempre incentivando-me
a seguir, a buscar meus sonhos
e dando-me suporte para que eles se realizassem.*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Otília D. L. Pessoa, pela amizade e orientação. Pela sua dedicação na transmissão de conhecimentos científicos e pelas oportunidades concedidas para meu aperfeiçoamento acadêmico, as quais têm me permitido acessar novos campos de estudo.

Ao prof. Dr. Edilberto R. Silveira, pela sua disposição em cooperar e contribuir para enriquecimento deste. Pela coleta da planta e por conceder a realização dos espectros de RMN dos compostos isolados.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Química (UFC), pela contribuição indispensável a minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho, por sua amizade e pelo auxílio na elucidação estrutural das substâncias isoladas. Mesmo sendo um exemplo de pesquisador e professor, transmite seus conhecimentos com humildade e boa vontade, de uma forma natural e peculiar. Muito obrigada por todas as contribuições dadas para meu aperfeiçoamento acadêmico.

À profa. Dra. Letícia V. C. Lotufo e ao Delano (doutorando), do Departamento de Farmacologia (UFC), pelos ensaios de atividade citotóxica.

À profa. Dra. Maria Helena e aos alunos de mestrado Roberta Jorge e Rafael Ximenes, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (UFC), pela realização dos testes da atividade antiofídica.

À profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz e a Thamires Morais (doutoranda), do Laboratório de Pesquisa Bioquímica Clínica (UFC), pela realização dos testes de atividade com a tiramina.

Ao botânico Prof. Dr. Edson Nunes, do Departamento de Biologia (UFC), pela identificação da planta em estudo.

À Banca examinadora, pelas sugestões e correções sugeridas a este trabalho.

Ao Orlando e Célia, da Secretaria do programa de Pós-Graduação em Química, por se mostrarem sempre solícitos e gentis na resolução de “entraves” burocráticos.

Aos funcionários do Curso de Pós-graduação em Química Orgânica (UFC): Lana, Mundinha e “seu” Paulo, pela valiosa contribuição no suporte técnico e pela amizade.

Aos operadores dos aparelhos de Infravermelho (Elis Regina, Thiciana e Hozana Patrícia) e de Ressonância Magnética Nuclear (Gustavo Lima, Elton Luz e Renata Mendonça) pela obtenção dos espectros.

A todos os colegas de laboratório pela amizade, convívio durante o curso e pelos vários momentos de descontrações.

Ao aluno de iniciação científica, Francisco das Chagas, pela contribuição na realização deste trabalho.

À minha “amiga-irmã” Isabel, pela amizade, carinho, incentivo constante, apoio e compreensão nos momentos mais difíceis, por agüentar meus desabafos e “chatices”.

Às minhas amigas Natália e Hozana Patrícia, por proporcionarem momentos felizes, pela amizade, críticas e sugestões.

À Milena, Simone e Julieta, pela amizade verdadeira, pela certeza de que poderei sempre contar com vocês, mesmo estando a quilômetros de distância.

À Glaucivania, pela amizade, compreensão, apoio e incentivo.

Às instituições CNPq, CAPES, FUNCAP, FINEP, PRONEX pelo suporte financeiro ao curso de pós-graduação. Em particular ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida, proporcionando maior tempo de dedicação à pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram direto ou indiretamente para realização deste trabalho, meu eterno obrigada.

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo fitoquímico de *Solanum campaniforme* (Solanaceae), visando o isolamento e elucidação estrutural de novos constituintes químicos bioativos, bem como o estudo do padrão de fragmentação por espectrometria de massas seqüencial com ionização por *electrospray* (IES-EM/EM) dos alcalóides obtidos. A investigação química realizada com o extrato etanólico das folhas da referida espécie, através de métodos cromatográficos, incluindo CLAE (fase reversa), resultou no isolamento e identificação de dezenove substâncias, sendo quatro derivados fenólicos: éster etílico do ácido caféico (SC-1), ácido caféico (SC-2), canferol-3-O-rutinosídeo (SC-3) e tiramina (SC-4), e quinze alcalóides esteroidais: 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (SC-5), 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (SC-6), 3,9 β -dihidroxi-22 α ,23 α -epoxi-9,10-*seco*-solanida-1,3,5(10)-trieno (SC-7), 12 β -acetiloxi-(25*S*)-22 β *N*-espirosol-4-en-3-ona (SC-8), (25*S*)-22 β *N*-espirosol-1,4-dien-3-ona (SC-9), (25*S*)-22 β *N*-espirosol-4-en-3-ona (SC-10), 22 β ,23 β -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (SC-11), 22 α ,23 α -epoxi-10-epi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (SC-12), 12 β -hidroxi-(25*S*)-22 β *N*-espirosol-4-en-3-ona (SC-13), 22 α ,23 α -epoxi-solanida-4-en-3-ona (SC-14), 22 β ,23 β -epoxi-solanida-4-en-3-ona (SC-15), (*E*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-imina (SC-16), (*E*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-imina (SC-17), (*Z*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-imina (SC-18) e (*Z*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-imina (SC-19). Com exceção dos alcalóides SC-9 e SC-10, os quais estão sendo relatados como produtos naturais pela primeira vez, todos os demais são inéditos. As substâncias isoladas tiveram suas estruturas elucidadas por métodos espectrométricos (IV, IES-EM e RMN de ^1H e ^{13}C 1D e 2D), além de comparação com dados da literatura. O padrão de fragmentação dos alcalóides foi estabelecido com base nos experimentos EM/EM e os dados obtidos foram usados na análise de desreplicação destes compostos no extrato etanólico bruto das folhas da espécie em estudo. O potencial citotóxico dos alcalóides majoritários (SC-5 a SC-7) foi avaliado frente às linhagens de células tumorais humanas: cólon (HCT8), mama (MDA-MB-435), leucemia (HL60) e cérebro (SF295), porém mostraram-se inativos. Estes compostos também foram investigados quanto as suas propriedades antiofídicas frente ao veneno de *Bothrops pauloensis*, mostrando significativos efeitos anti-miotóxico, anti-hemorrágico e anti-necrosante. Além disso, foi avaliado o efeito da tiramina sobre o metabolismo de animais com dislipidemia e obesidade, a qual apresentou efeito terapêutico relacionado à redução dos níveis de colesterol.

Palavras-chave: Solanaceae; *Solanum campaniforme*; alcalóides esteroidais; derivados fenólicos, desreplicação; atividade antiofídica.

ABSTRACT

This work describes the phytochemical investigation of *Solanum campaniforme* (Solanaceae), aiming the isolation and structural elucidation of new bioactive chemical constituents, as well as the study of their fragmentation pattern under electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) of the isolated alkaloids. The chemical investigation performed with the ethanol extract from leaves of this species by chromatographic methods, including HPLC (reverse phase), resulted in the isolation and identification of nineteen compounds, being four of them phenol derivatives: caffeic acid ethyl ester (**SC-1**), caffeic acid (**SC-2**), kaempferol-3-rutinoside (**SC-3**) and tyramine (**SC-4**), and fifteen steroidal alkaloids: 22 α ,23 α -epoxy-solanida-1,4,9-trien-3-one (**SC-5**), 22 α ,23 α -epoxy-solanida-1,4-dien-3-one, (**SC-6**), 3,9 β -dihydroxy-22 α ,23 α -epoxy-9(10)-*seco*-solanida-1,3,5(10)-triene (**SC-7**), 12 β -acetoxyl-(25*S*)-22 β *N*-spirosol-4-en-3-one (**SC-8**), (25*S*)-22 β *N*-spirosol-1,4-dien-3-one (**SC-9**), (25*S*)-22 β *N*-spirosol-4-en-3-one (**SC-10**), 22 β ,23 β -epoxy-solanida-1,4-dien-3-one (**SC-11**), 22 α ,23 α -epoxy-10-epi-solanida-1,4,9-trien-3-one (**SC-12**), 12 β -hydroxy-(25*S*)-22 β *N*-spirosol-4-en-3-one (**SC-13**), 22 α ,23 α -epoxy-solanida-4-en-3-one (**SC-14**) and 22 β ,23 β -epoxy-solanida-4-en-3-one (**SC-15**), (*E*)-*N*-[8'(4-hydroxyphenyl)ethyl]-22 α ,23 α -epoxy-solanida-1,4,9-trien-3-imine (**SC-16**), (*E*)-*N*-[8'(4-hydroxyphenyl)ethyl]-22 α ,23 α -epoxy-solanida-1,4-dien-3-imine (**SC-17**), (*Z*)-*N*-[8'(4-hydroxyphenyl)ethyl]-22 α ,23 α -epoxy-solanida-1,4,9-trien-3-imine (**SC-18**) and (*Z*)-*N*-[8'(4-hydroxyphenyl)ethyl]-22 α ,23 α -epoxy-solanida-1,4-dien-3-imine (**SC-19**). Except the alkaloids **SC-9** and **SC-10**, which are being reported as natural products for the first time, all others are unknowns. The structure of all isolated compounds were elucidated by spectral methods (IR, HR-ESI-MS, ¹H and ¹³C NMR 1D and 2D) and by comparison with literature data. The fragmentation pattern of the alkaloids was established based on MS/MS experiments and the data were used for the dereplication these compounds present in the crude ethanol extract from leaves of *S. campaniforme*. The cytotoxic potencial of the main alkaloids (**SC-5** and **SC-7**) was evaluated against the human tumor cell lines (HCT8, MDA-MB-435, HL6 and SF295), however, no one showed any activity. The antiophidic properties of the same compounds were also investigated against *Bothrops pauloensis* venom, showing anti-myotoxic, anti-hemorrhagic and anti-necrosis effects. In addition, was evaluated the effect of tyramine on the metabolism of animals with dyslipidemia and obesity, which exhibited therapeutic effect associated to reduction of the cholesterol levels.

Keywords: Solanaceae, *Solanum campaniforme*; steroidal alkaloids; phenol derivatives; dereplication; antiophidic activity .

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Proposta de formação de SC-7 a partir da hidratação de SC-5 seguido de rearranjo dienona- fenol.....	90
Esquema 2- Reação de acetilação de SC-7	92
Esquema 3- Proposta do mecanismo de acetilação para justificar a formação de SC-7a	92
Esquema 4- Proposta para formação de SC-16 a partir da condensação de SC-5 com a tiramina	106
Esquema 5- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos de SC-5 e SC-12	197
Esquema 6- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos de SC-6/SC-11 e SC-14/SC-15	199
Esquema 7- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos de SC-16 a SC-1	202
Esquema 8- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos para o complexo $[M + H_2O + H]^+$ de SC-16 a SC-19	202
Esquema 9- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos protonados de SC-7	205
Esquema 10- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos protonados de SC-8 , SC-9 , SC-10 e SC-13	207

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estruturas dos alcalóides esteroidais comumente isolados em plantas do gênero <i>Solanum</i> ..	17
Figura 2- Estrutura da solasodina (1) e tomatidina (4).....	23
Figura 3- Seqüência reacional de incorporação do nitrogênio na biossíntese dos alcalóides esteroidais (CHIESA <i>et al.</i> , 2004) (HOP: Fosfato ou pirofosfato).....	24
Figura 4- Rota simplificada da biossíntese dos alcalóides esteroidais (DEWICK, 2001)	25
Figura 5- Ciclições possíveis para a formação do anel E.	26
Figura 6- Principais grupos estruturais encontrados em alcalóides esteroidais.	27
Figura 7- Sacarídeos normalmente ligados à posição 3-hidróxi de agliconas do gênero <i>Solanum</i>	28
Figura 8- Espectro de absorção na região do IV de SC-6	43
Figura 9- Espectro de massas (IES-EM) de SC-6	43
Figura 10- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-6	44
Figura 11- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-6	44
Figura 12- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-6	45
Figura 13- Espectro de RMN ^1H -expansão (MeOD, 500 MHz) de SC-6	45
Figura 14- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-6	46
Figura 15- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-6	47
Figura 16- Espectro de RMN-HMBC-expansão (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-6	48
Figura 17- Espectro de RMN-COSY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-6	49
Figura 18- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-6	50
Figura 19- Espectro de absorção na região do IV de SC-5	54
Figura 20- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-5	54
Figura 21- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-5	55
Figura 22- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-5	55
Figura 23- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-5	56
Figura 24- Espectro de massas (IES-EM) de SC-5	57
Figura 25. Espectro de RMN-COSY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-5	57
Figura 26- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz,) de SC-5	58
Figura 27-. Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-5	59
Figura 28- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-11	63
Figura 29- Expansão do espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-11	63
Figura 30- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-11	64

Figura 31- Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-11	64
Figura 32- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-11	65
Figura 33- Espectro de massas (IES-EM) de SC-11	65
Figura 34- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-11	66
Figura 35- Espectro de RMN-NOESY (piridina- <i>d</i> ₅ , 500 x 500 MHz) de SC-11	66
Figura 36- Espectro de massas (IES-EM) de SC-12	70
Figura 37- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-12	70
Figura 38- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-12	71
Figura 39- Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-12	71
Figura 40- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-12	72
Figura 41- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-12	73
Figura 42- Espectro de massas (IES-EM) de SC-14	77
Figura 43- Espectro de RMN de ^1H -expansão (MeOD, 500 MHz) de SC-14	77
Figura 44- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-14	78
Figura 45- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-14	78
Figura 46- Espectro de RMN-C-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-14	79
Figura 47- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-14	80
Figura 48- Espectro de massas (IES-EM) de SC-15	84
Figura 49- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-15	84
Figura 50- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-15	85
Figura 51- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-15	85
Figura 52- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-15	86
Figura 53- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500) de SC-15	87
Figura 54- Espectro de absorção na região do IV de SC-7	94
Figura 55- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-7	94
Figura 56- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-7	95
Figura 57- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-7	95
Figura 58- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-7	96
Figura 59- Espectro de massas (IES-EM) de SC-7	96
Figura 60- Espectro de RMN-HMBC (MeOD 125 x 500 MHz) de SC-7	97
Figura 61- Espectro de RMN-HMBC-expansão (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-7	98
Figura 62- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-7	99
Figura 63. Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (CDCl ₃ , 125 MHz) de SC-7a	100
Figura 64- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (CDCl ₃ , 125 MHz) de SC-7a	100
Figura 65- Espectro de RMN de ^1H (CDCl ₃ , 500 MHz) de SC-7a	101
Figura 66- Espectro de massas (IES-EM) de SC-7a	101
Figura 67- Espectro de RMN-HSQC-expansão (CDCl ₃ , 125 x 500 MHz) de SC-7a	102
Figura 68- Espectro de RMN-HMBC (CDCl ₃ , 125 x 500 MHz) de SC-7a	103
Figura 69- Espectro de RMN-NOESY (CDCl ₃ , 500 x 500 MHz) de SC-7a	104
Figura 70- Espectro de absorção na região do IV de SC-16	109
Figura 71- Espectro de massas (IES-EM) de SC-16	109
Figura 72- Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de SC-16	110
Figura 73- Espectro de RMN de ^{13}C -expansão (MeOD, 125 MHz) de SC-16	110
Figura 74- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-16	111
Figura 75- Espectro de RMN ^1H -expansão (MeOD, 500 MHz) de SC-16	111
Figura 76- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-16	112
Figura 77- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-16	113
Figura 78- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-16	114
Figura 79- Espectro de massas (IES-EM) de SC-18	118
Figura 80- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-18	118
Figura 81- Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de SC-18	119
Figura 82- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-18	119
Figura 83- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-18	120
Figura 84- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-18	121
Figura 85- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-18	122

Figura 86- Espectro de massas (IES-EM) de SC-17	125
Figura 87- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-17	125
Figura 88- Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-17	126
Figura 89- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-17	126
Figura 90- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-17	127
Figura 91- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-17	128
Figura 92- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-17	129
Figura 93- Espectro de massas (IES-EM) de SC-19	132
Figura 94- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-19	132
Figura 95- Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de SC-19	133
Figura 96- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-19	133
Figura 97- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-19	134
Figura 98- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-19	135
Figura 99- Espectro de massas (IES-EM) de SC-10	140
Figura 100- Espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-10	140
Figura 101- Espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° -expansão (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-10	141
Figura 102- Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-10	141
Figura 103- Espectro de RMN-HSQC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-10	142
Figura 104- Espectro de RMN-HMBC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-10	143
Figura 105- Espectro de RMN-HMBC-expansões (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-10	144
Figura 106- Espectro de RMN-NOESY (piridina- d_5 , 500 x 500 MHz) de SC-10	145
Figura 107- Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9	149
Figura 108- Espectro de RMN de ^1H - expansão (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9	149
Figura 109- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9	150
Figura 110- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9	150
Figura 111- Espectro de RMN-HSQC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-9	151
Figura 112- Espectro de massas (IES-EM) de SC-9	151
Figura 113- Espectro de RMN-HMBC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-9	152
Figura 114- Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-8	156
Figura 115- Espectro de RMN de ^1H -expansão (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-8	156
Figura 116- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-8	157
Figura 117- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-8	157
Figura 118- Espectro de RMN-HSQC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-8	158
Figura 119- Espectro de massas (EM-IES) de SC-8	158
Figura 120- Espectro de RMN-HMBC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-8	159
Figura 121- Espectro de RMN-NOESY (piridina- d_5 , 500 x 500 MHz) de SC-8	160
Figura 122- Espectro de massas (IES-EM) de SC-13	163
Figura 123- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-13	164
Figura 124- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD-expansão (MeOD, 125 MHz) de SC-13	164
Figura 125- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-13	165
Figura 126- Espectro de massas sequencial (IES-EM/EM) de SC-13	165
Figura 127- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-13	166
Figura 128- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-13	167
Figura 129- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-13	168
Figura 130- Espectro de absorção na região do IV (KBr) de SC-2	170
Figura 131- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-2	171
Figura 132- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-2	171
Figura 133- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-2	172
Figura 134- Espectro de massas (IES-EM) de SC-2	172
Figura 135- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-2	173
Figura 136- Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de SC-1	175
Figura 137- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (CDCl_3 , 125 MHz) de SC-1	176
Figura 138- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (CDCl_3 , 125 MHz) de SC-1	176
Figura 139- Espectro de RMN-HSQC (CDCl_3 , 125 x 500 MHz) de SC-1	177

Figura 140- Espectro de massas (IES-EM) de SC-1	177
Figura 141- Espectro de RMN de ¹ H (piridina- <i>d</i> ₅ , 500 MHz) de SC-3	181
Figura 142- Espectro de RMN de ¹³ C-CPD (piridina- <i>d</i> ₅ , 500 MHz) de SC-3	181
Figura 143- Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT (piridina- <i>d</i> ₅ , 500 MHz) de SC-3	182
Figura 144- Espectro de massas (IES-EM) de SC-3	182
Figura 145- Espectro de RMN-HSQC (piridina- <i>d</i> ₅ , 125 x 500 MHz) de SC-3	183
Figura 146- Espectro de RMN-HMBC (piridina- <i>d</i> ₅ , 125 x 500 MHz,) de SC-3	184
Figura 147- Espectro de absorção na região do IV (KBr) de SC-4	186
Figura 148- Espectro de RMN de ¹ H (MeOD, 500 MHz) de SC-4	187
Figura 149- Espectro de RMN de ¹³ C-CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-4	187
Figura 150- Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-4	188
Figura 151- Espectro de massas (IES-EM) de SC-4	188
Figura 152- Inibição da atividade miotóxica do vBp pelos compostos SC-5 a SC-7 (1-3). Atividade da creatina quinase (CK) plasmática é mostrada em unidades por litro (U/L). Resultados expressos como média ± S.E.M. com nível de significância de p <0,05. *Significância em relação ao grupo controle, # significância em comparação com o grupo VBp (controle positivo). A análise foi realizada por ANOVA, com pós-teste de Dunnett com nível de significância de * p <0,05.	190
Figura 153- Atividade anti-hemorrágica dos compostos SC-5 a SC-7 (1-3) contra o VBp. A: Área Hemorrágica calculado em mm ² , e B: Intensidade da Hemorragia em units/mm ² . Resultados expressos como média ± S.E.M. A análise foi realizada por ANOVA, com pós-teste de Dunnett com nível de significância de * p <0,05.....	190
Figura 154- Atividade antinecrosante dos compostos SC-5 a SC-7 (1-3) contra o vBp. Área da pele necrótica mostrada em mm ² . Resultados expressos como média ± S.E.M. A análise foi realizada por ANOVA, com pós-teste de Dunnett com nível de significância de * p <0,05.....	190
Figura 155- Estrutura dos alcalóides esteroidais isolados de <i>S. campaniforme</i>	191
Figura 156- Espectros EM/EM de SC-5 (íon precursor <i>m/z</i> 406) obtidos por IES (a) e APCI (b).	192
Figura 157- Espectros EM/EM de SC-5 (a) e SC-12 (b) (íon precursor <i>m/z</i> 406); espectros EM ³ dos íons precursores em <i>m/z</i> 265 (c) e 391 (d).....	198
Figura 158- Espectros EM/EM de SC-6 (a) e SC-11 (b) (íon precursor <i>m/z</i> 408).....	200
Figura 159- Espectros EM/EM de SC-14 (a) e SC-15 (b) (íon precursor <i>m/z</i> 410).....	200
Figura 160- Espectros EM/EM de SC-16 (a), SC-18 (b) (íon precursor <i>m/z</i> 525), SC-17 (c) e SC-19 (d) (íon precursor <i>m/z</i> 527).....	203
Figura 161- Espectros EM/EM de SC-16 (a), SC-18 (b) (íon precursor <i>m/z</i> 543), SC-17 (c) e SC-19 (d) (íon precursor <i>m/z</i> 545).....	204
Figura 162- Espectro EM/EM de SC-7 (íon precursor <i>m/z</i> 426).....	205
Figura 163- Espectros EM/EM de SC-8 (a), SC-9 (b), SC-10 (c) e SC-13 (d) (íons precursores <i>m/z</i> 470, 410, 412 e 428, respectivamente).....	208
Figura 164- Espectro IES-EM do extrato etanólico das folhas de <i>S. campaniforme</i>	210
Figura 165- Cromatograma de isolamento das substâncias SC-5 e SC-6	219
Figura 166- Cromatograma de isolamento das substâncias SC-8 , SC-9 e SC-10	222
Figura 167- Cromatograma de isolamento das substâncias SC-11 a SC-15	223
Figura 168- Cromatograma de isolamento das substâncias SC-16 a SC-19	224
Figura 169- Estruturas dos metabólitos secundários isolados de <i>S. campaniforme</i>	229

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1- Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de <i>S. campaniforme</i> (EESC-A)	220
Fluxograma 2- Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração DCM (livre de clorofila) do extrato etanólico das folhas de <i>S. campaniforme</i> (EESC-D)	225

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Estruturas dos alcalóides esteroidais encontrados no gênero <i>Solanum</i>	30
Tabela 2- Dados espectrais de RMN de ^{13}C e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de SC-6 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	42
Tabela 3- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-6 , incluindo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.....	42
Tabela 4- Dados espectrais de RMN de ^{13}C e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de SC-5 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	53
Tabela 5- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-5 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-6	53
Tabela 6- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de SC-11 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	62
Tabela 7- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-11 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-6	62
Tabela 8- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de SC-12 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	69
Tabela 9- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-12 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-5	69
Tabela 10- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CDP e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de SC-14 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	76
Tabela 11- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-14 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-6	76
Tabela 12- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de SC-15 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	83
Tabela 13- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-15 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-6	83
Tabela 14- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de SC-7 (MeOD) e SC-7a (CDCl_3), incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-6	93
Tabela 15- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-16 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-5	108
Tabela 16- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-18 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-16	117
Tabela 17- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-17 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-16	124
Tabela 18- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-19 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-18	131
Tabela 19- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de SC-10 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	139
Tabela 20- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de SC-10 , incluindo as correlações obtidas através de espectro HSQC e comparação com dados de ^{13}C da tomatidina e solasodenona (CDCl_3) (RADEGLIA <i>et al.</i> , 1977).....	139
Tabela 21- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de SC-9 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	148
Tabela 22- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de SC-9 , incluindo as correlações obtidas através de espectros HSQC e comparação com dados de RMN de SC-10 (piridina- d_5).....	148
Tabela 23- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de SC-8 , incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.....	155
Tabela 24- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de SC-8 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com dados de RMN de SC-10 (piridina- d_5).....	155
Tabela 25- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-13 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de SC-8 (piridina- d_5).....	163
Tabela 26- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-2 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparados com valores da literatura (JIANG <i>et al.</i> , 2005) usando MeOD como solvente.....	170

Tabela 27- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (CDCl_3) de SC-1 , incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com dados de RMN de SC-2 (MeOD).....	175
Tabela 28- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de SC-3 comparados com valores da literatura (SLIMESTAD <i>et al.</i> , 2008) usando $\text{DMSO}-d_6$ como solvente	180
Tabela 29- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-4 comparados com valores da literatura (DANELUTLE <i>et al.</i> , 2005) usando MeOD como solvente	186
Tabela 30- Principais íons observados nos espectros EM e EM ⁿ (energia de colisão relativa 100%) para os alcalóides esteroidais SC-5 a SC-19	194
Tabela 31- Dados referentes ao fracionamento de EESC	215
Tabela 32- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-A	215
Tabela 33- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-A2	216
Tabela 34- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-A2.1*	217
Tabela 35- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-A2.2	217
Tabela 36- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-A2.3	218
Tabela 37- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração DCM (livre de clorofila).	221
Tabela 38- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-D5	221
Tabela 39- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-D5/34-38	224

LISTA DE SIGLAS

CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CID	Collision Induced Dissociation
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COSY	Correlation Spectroscopy
CPD	Composite Pulse Decoupling
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EM-IE	Espectrometria de Massas com Ionização Eletrônica
EM-IES	Espectrometria de Massas com Ionização por <i>Electrospray</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
p.f.	Ponto de fusão
ppm	Partes por milhão
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SPE	Solid Phase Extraction
T _R	Tempo de retenção

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 OBJETIVOS	19
1.1.1 <i>Objetivos específicos</i>	20
2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	21
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA SOLANACEAE	21
2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GÊNERO <i>SOLANUM</i>	21
2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>SOLANUM CAMPANIFORME</i>	22
2.3.1 <i>Classificação botânica: (FLORA BRASILIENSIS)</i>	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 BIOSÍNTESE DOS ALCALÓIDES ESTEROIDAIIS	23
3.2 CLASSIFICAÇÃO DOS ALCALÓIDES ESTEROIDAIIS.....	26
3.3 OCORRÊNCIA DE ALCALÓIDES ESTEROIDAIIS NO GÊNERO <i>SOLANUM</i>	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	38
4.1.1 <i>Determinação estrutural dos alcalóides</i>	38
4.1.1.1 <i>Determinação estrutural de SC-6</i>	38
4.1.1.2 <i>Determinação estrutural de SC-5</i>	51
4.1.1.3 <i>Determinação estrutural de SC-11</i>	60
4.1.1.4 <i>Determinação estrutural de SC-12</i>	67
4.1.1.5 <i>Determinação estrutural de SC-14</i>	74
4.1.1.6 <i>Determinação estrutural de SC-15</i>	81
4.1.1.7 <i>Determinação estrutural de SC-7</i>	88
4.1.1.8 <i>Determinação estrutural de SC-16</i>	105
4.1.1.9 <i>Determinação estrutural de SC-18</i>	115
4.1.1.10 <i>Determinação estrutural de SC-17</i>	123
4.1.1.11 <i>Determinação estrutural de SC-19</i>	130
4.1.1.12 <i>Determinação estrutural de SC-10</i>	136
4.1.1.13 <i>Determinação estrutural de SC-9</i>	146
4.1.1.14 <i>Determinação estrutural de SC-8</i>	153
4.1.1.15 <i>Determinação estrutural de SC-13</i>	161
4.1.2 <i>Determinação estrutural dos derivados fenólicos</i>	169
4.1.2.1 <i>Determinação estrutural de SC-2</i>	169
4.1.2.2 <i>Determinação estrutural de SC-1</i>	174
4.1.2.3 <i>Determinação estrutural de SC-3</i>	178
4.1.2.4 <i>Determinação estrutural de SC-4</i>	185
4.2 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS	189
4.3 ESTUDO DE FRAGMENTAÇÃO DOS ALCALÓIDES ESTEROIDAIIS ISOLADOS DE <i>S. CAMPANIFORME</i> POR IES-EM/EM	191
4.4 ESTUDO DE DESREPLICAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>S. CAMPANIFORME</i> POR IES-EM/EM	209
5 PARTE EXPERIMENTAL.....	211
5.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	211
5.1.1 <i>Cromatografia de adsorção</i>	211
5.1.2 <i>Cromatografia de exclusão</i>	211

5.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE \approx HPLC)	211
5.1.4. Extração em fase sólida (SPE)	212
5.2 MÉTODOS FÍSICOS.....	212
5.2.1 Ponto de fusão	212
5.2.2 Rotação óptica	212
5.3. MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS	212
5.3.1 Espectroscopia na região de absorção do infravermelho (IV)	212
5.3.2 Espectrometria de massas (EM)	213
5.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	213
5.4 ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE <i>S. CAMPANIFORME</i>	214
5.4.1 Material vegetal.....	214
5.4.2 Preparação do extrato.....	214
5.4.3 Partição líquido-líquido do extrato etanólico (EESC).....	214
5.4.3.1 Fracionamento da fração EESC-A (Fluxograma 1, p. 220).....	215
5.4.3.1.1 Fracionamento de EESC-A2.1*: isolamento de SC-1 e SC-2	216
5.4.3.1.2 Fracionamento de EESC-A2.2: isolamento de SC-3 e SC-4.....	217
5.4.3.1.3 Fracionamento de EESC-A2.3: isolamento de SC-5 a SC-7.....	218
5.4.3.2 Fracionamento da fração EESC-D (Fluxograma 2, p. 225).....	221
5.4.3.2.1 Fracionamento da fração EESC-D5	221
5.4.3.2.2 Fracionamento da fração EESC-D5/18-20: isolamento de SC-8 a SC-10	222
5.4.3.2.3 Fracionamento da fração EESC-D5/34-38: isolamento de SC-11 a SC-19 ..	222
5.5 OBTENÇÃO DO DERIVADO ACETILADO SC-7A	226
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	227
REFERÊNCIAS.....	230

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Solanum*, um dos maiores e mais complexos da família Solanaceae, compreende várias espécies com propriedades medicinais. Muitas plantas deste gênero são nativas do país e amplamente investigadas, devido à importância econômica e terapêutica, sendo a batata (*S. tuberosum* L) o principal representante. (DISTL & WINK, 2009; FRIEDMAN, 2004).

No Brasil, o gênero é representado por inúmeras espécies, distribuídas do norte ao sul do país, muitas das quais, são popularmente conhecidas como “jurubebas”. Estas “jurubebas” são largamente utilizadas na medicina tradicional, especialmente no tratamento de doenças relacionadas ao fígado e baço (MATOS, 1999; LORENZI & MATOS, 2008). Plantas do gênero *Solanum* também são usadas na medicina tradicional como antiinflamatório, antiespasmódico e calmante, bem como no tratamento de acidentes ofídicos (CHIFUNDERA *et al.*, 1998; DELPORTE *et al.*, 1998; TIOSSI, 2010).

Do ponto de vista químico, as plantas do gênero *Solanum* são reconhecidas por biossintetizarem uma grande variedade de saponinas e alcalóides esteroidais, além de compostos fenólicos, sendo os alcalóides esteroidais uma característica dominante no gênero e de amplo interesse, tanto na área de ecologia como da saúde humana (WINK, 2003). Na natureza eles servem como defesas naturais contra fitopatógenos vegetal, incluindo fungos, vírus, bactérias, insetos e vermes (FRIEDMAN, 2004).

Alcalóides esteroidais, como a solasodina (1), solamargina (2) e solasonina (3) têm sido comumente isolados de espécies de *Solanum* (Figura 1, abaixo) (CHAUHAN *et al.*, 2011; CORNELIUS *et al.*, 2010), destacando-se a solasodina (1), a qual é bastante utilizada como matéria-prima na síntese de esteróides de interesse da indústria farmacêutica (NINO *et al.*, 2009). Os glicosídeos dessa substância, têm se mostrado clinicamente e histologicamente efetivos no tratamento de tumores da pele (USUBILLAGA *et al.*, 1997).

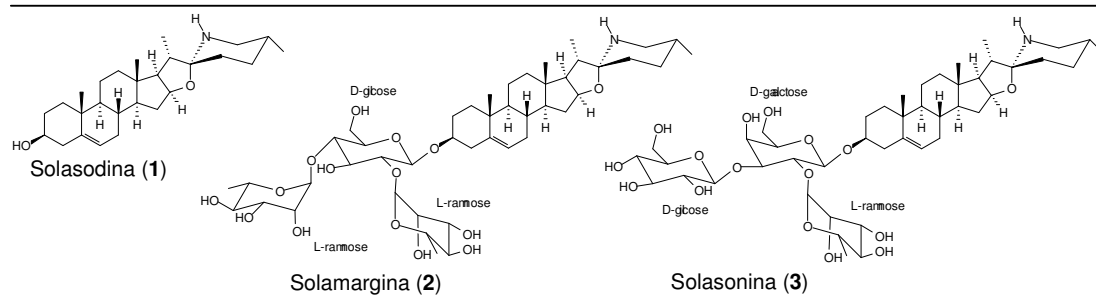


Figura 1- Estruturas dos alcalóides esteroidais comumente isolados em plantas do gênero *Solanum*

Os alcalóides esteroidais e seus glicosídeos, também conhecidos como glicoalcalóides, são reconhecidos por suas propriedades biológicas, particularmente anti-câncer (KODURU *et al.*, 2007a) e citotóxica contra uma variedade de linhagens de células tumorais (SOUZA *et al.*, 2002), bem como antiinflamatória (EMMANUEL *et al.*, 2006), antimicrobiana e antiviral (FENNER *et al.*, 2006), anti-herpes (IKEDA *et al.*, 2003), moluscicida (SILVA *et al.*, 2008), entre outras. Além disso, eles podem atuar como antifúngicos, inibidores da DNA topoisomerase I e II, e leishmanicida (NINO *et al.*, 2009). Isto demonstra a importância do gênero, onde muitas espécies ainda podem ser estudadas, culminando na descoberta de novas substâncias bioativas, especialmente com atividade anti-câncer.

Nos últimos anos, a cromatografia líquida (CL) acoplada a espectrometria de massa com ionização por *electrospray* (IES-EM) tornou-se uma importante técnica para análise de compostos bioativos presentes em materiais das mais variadas fontes de produtos naturais, constituindo uma ferramenta analítica útil e eficiente na análise rápida de constituintes químicos em matrizes complexas, devido a sua alta sensibilidade e rapidez (MORAIS *et al.*, 2007). A elucidação estrutural de substâncias em pequenas quantidades de material vegetal ou amostras biologicamente ativas tem sido possível graças ao desenvolvimento da espectrometria de massas *tandem* ou seqüencial (EM/EM), na qual fragmentos do íon de interesse são gerados por dissociação induzida por colisão (CID, do inglês *collision-induced dissociation*), ou seja, pela colisão de espécies moleculares iônicas com uma molécula de gás (tipicamente argônio) em uma câmara de colisão, fornecendo informações estruturais fundamentais que possibilitam a identificação *on line* ou mapeamento do perfil químico de substâncias conhecidas em extrato bruto (desreplicação) (GILBERT *et al.*, 2005).

Estudos de desreplicação baseados no uso de CL-EM/EM fornecem informações estruturais (massas moleculares de alta resolução, formulas molecular, entre outros) sem a necessidade de isolamento dos compostos em todos os extratos estudados (LANG *et al.*, 2008; BLUNT *et al.*, 2008). Os mecanismos de fragmentação obtidos podem ser utilizados em conjunto com outras técnicas de análise disponíveis para identificação de novos composto e *screening* rápido, que podem auxiliar na busca de novas substâncias bio-ativas.

Esta técnica tem sido substancialmente utilizada na análise de glicoalcalóides esteroidais presentes em batata (*S. tuberosum*) (JENSEN *et al.*, 2008; SHAKYA & NAVARRE, 2008; ZYWICKI *et al.*, 2005; STOBIECKI *et al.*, 2003; CHIVANOV *et al.*, 2001). No entanto, o estudo de desreplicação de alcalóides esteroidais ainda é limitado devido

a falta de dados de fragmentações desses compostos, visto que poucos são os estudos nesta área envolvendo alcalóides esteroidais (CAHILL *et al.*, 2010; DISTL & WINK, 2009).

Deste modo, a fim de contribuir para o conhecimento químico e taxonômico do gênero *Solanum*, foi proposta a realização do estudo químico de *Solanum campaniforme* Roemer & Schultes (Solanaceae), uma vez que não há relato de estudos, visando o isolamento e a caracterização dos seus metabólitos secundários para serem usados como padrões na realização de estudo de fragmentação por IES-EM/EM, assim como avaliar suas atividades farmacológicas.

As folhas de *S. campaniforme*, coletado no município de Guaramiranga- CE foram pulverizadas e submetidas à extração com etanol. Processos cromatográficos através de gel de sílica, Sephadex LH-20, SPE e CLAE, foram adotados para o isolamento e purificação das substâncias, sendo suas estruturas moleculares elucidadas por métodos espectrométricos (espectroscopia na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C e espectrometria de massas), além de comparação com dados da literatura.

A fim de evitar consumo de tempo e gastos com análises convencionais, bem como o isolamento destes compostos em outras espécies de *Solanum*, foi desenvolvido um estudo de fragmentação por IES-EM/EM dos alcalóides isolado, assim como o estudo de desreplicação (ou mapeamento do perfil químico) com o extrato etanólico bruto da espécie em estudo.

Este trabalho, confeccionado segundo o guia de normalização da UFC, está organizado em quatro capítulos: Considerações Botânicas (cap. 1), Revisão Bibliográfica (cap. 2), Resultados e Discussão: Determinação Estrutural, Estudo de Fragmentação dos Alcalóides Esteroidais por IES-EM/EM e Atividades Farmacológicas (cap.3), Parte Experimental (cap. 4) e Considerações Finais. Todas as referências utilizadas estão dispostas no final.

1.1 Objetivos

Motivados pelas propriedades terapêuticas e pela classe de composto peculiar ao gênero, este trabalho teve como objetivo investigar *Solanum campaniforme*, com vista ao isolamento e caracterização dos alcalóides esteroidais, bem como a realização de estudo de fragmentação por IES-EM/EM que possa ser usado para identificar estes compostos em espécies congêneres, através do estudo de desreplicação dos extratos, reduzindo a necessidade de estudos fitoquímicos clássicos.

1.1.1 Objetivos específicos

- Isolar os metabólitos secundários presentes nas folhas de *S. campaniforme*;
- Caracterizar os compostos isolados empregando técnicas espectrométricas: IES-EM, IV, RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D);
- Realizar o estudo de fragmentação por IES-EM/EM dos compostos isolados;
- Através de estudo de desreplicação, usando IES-EM/EM, identificar estes compostos e/ou análogos no extrato bruto das folhas de *S. campaniforme*;
- Disponibilizar os metabólitos secundários isolados para testes farmacológicos

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 Considerações gerais sobre a família Solanaceae

A família Solanaceae, a qual pertence o gênero *Solanum*, é composta por aproximadamente 96 gêneros envolvendo 2500 espécies amplamente distribuídas por toda região tropical e de clima temperado no mundo, sendo mais frequentemente encontrada nas Américas Central e do Sul, bem como na Austrália e na África (WINK, 2003). É uma família cosmopolita que contém muitos dos vegetais e frutas essenciais à alimentação (POMILIO *et al.*, 2008).

Muitas solanáceas são endêmicas no país e amplamente pesquisadas devido a sua importância econômica. Os principais representantes são: a batata (*S. tuberosum*); a berinjela (*S. melongena* L.); o tomate (*S. lycopersicum*); joábravo (*S. aculeatissimum*); erva moura (*S. americanum*); o tomatinho (*S. diflorum*); as pimentas verdes e vermelhas (*Capsicum* spp.); inclusive plantas ornamentais como as petúnias (*Petunia* spp.) e os jasmims (*S. jasminoides*). Também estão incluídos o tabaco (*Nicotiniana* spp.) – uma das plantas mais nocivas, porém economicamente mais importantes do mundo – e muitas outras plantas de valor toxicológico e medicinal como a beladona (*Atropa belladonna* L.) (KNAPP *et al.*, 2004; FRIEDMAN, 2004).

2.2 Considerações gerais sobre o gênero *Solanum*

Solanum L., um dos maiores gêneros da família Solanaceae, é constituído por aproximadamente 1500 espécies, distribuídas preferencialmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (SILVA *et al.*, 2003). As plantas deste gênero são representadas por ervas e arbustos, sendo a América do Sul o maior centro de diversidade e distribuição. No Brasil, são encontradas cerca de 350 espécies, muitas das quais são comumente conhecidas como “jurubebas”, e utilizadas na medicina popular, especialmente como tônico e diurético (SILVA *et al.*, 2008).

Quimicamente, o gênero é caracterizado pela ocorrência de alcalóides esteroidais, dos quais muitos são de interesse econômico e terapêutico, por apresentarem uma ampla gama de atividades biológicas, tais como anti-câncer, citotóxica, antifúngica, antiinflamatória entre outras (SOUZA *et al.*, 2002; NINO *et al.*, 2009; EMMANUEL *et al.*, 2006).

2.3 Considerações sobre *Solanum campaniforme*

Solanum campaniforme, pertencente à família Solanaceae, é um arbusto popularmente conhecido como “jurubeba brava”, o qual é encontrado em todas as regiões brasileiras, sendo no Nordeste, distribuído nos estados do Maranhão, Ceará, Paraíba e Pernambuco (STEHMANN *et al.*, 2010).

2.3.1 Classificação botânica: (FLORA BRASILIENSIS)

Foto: Prof. Edilberto R. Silveira



Reino: Plantae

Ordem: Solanales;

Família: Solanaceae;

Gênero: *Solanum L.*;

Seção: *Pacífica*;

Série: *Megalopora*;

Espécie: *Solanum campaniforme* Roem. & Schult.;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os alcalóides esteroidais livres ou glicosilados representam a classe de substâncias químicas de maior ocorrência no gênero *Solanum*, sendo considerados marcadores quimiotaxonômicos. Sua estrutura química é facilmente reconhecida pela presença de um ou mais átomos de nitrogênio no esqueleto esteroidal do tipo colestano (C-27). Isso normalmente confere basicidade ao alcalóide, facilitando seu isolamento e purificação, uma vez que sais solúveis em água podem ser formados na presença de ácidos minerais. Eles são essencialmente análogos nitrogenados das saponinas esteróides, no entanto, existem na forma de isômeros C-22*R* e C-22*S*, representados pela solasodina (1), amplamente empregada na síntese de hormônios esteroidais e a tomatidina (4), o principal alcalóide do tomate (*L. esculentum* L.) (DEWICK, 2001), Figura 2, abaixo.

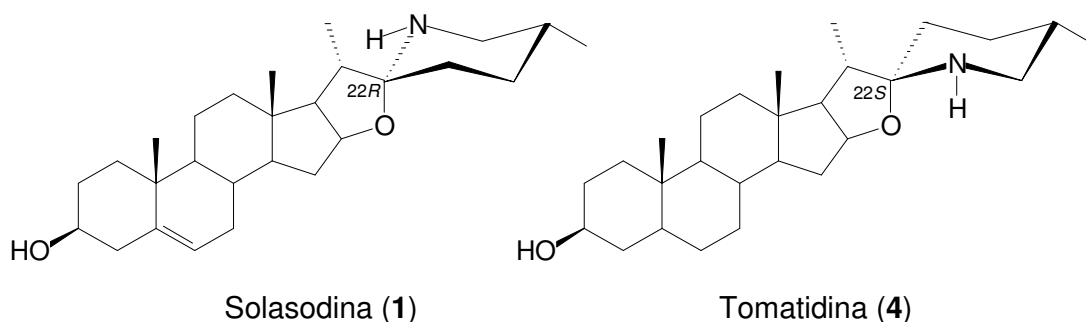


Figura 2- Estrutura da solasodina (1) e tomatidina (4)

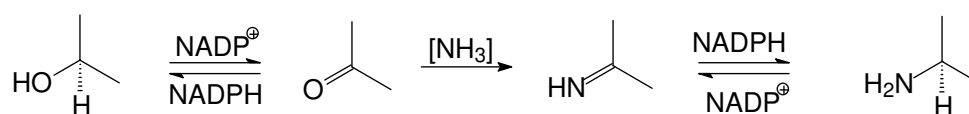
Nas plantas, os alcalóides esteroidais e seus glicosídeos, são considerados aleloquímicos de defesa exibindo efeitos contra grande número de patógenos e predadores (FUKUHARA *et al.*, 2004). De importância econômica destaca-se a solasodina (1), utilizada como matéria-prima na síntese de esteróides empregados na indústria farmacêutica, tais como progestágenos, andrógenos, estrógenos, *nor*-esteróides e espirolactonas (NINO *et al.*, 2009).

3.1 Biossíntese dos alcalóides esteroidais

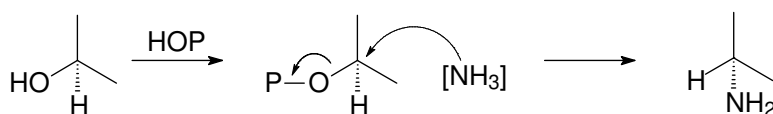
São obtidos pela via biossintética de formação dos esteróides, sendo o colesterol o principal precursor para a biossíntese. Este processo envolve inicialmente a incorporação do nitrogênio, a qual é precedida pela etapa de hidroxilação da cadeia lateral do colesterol, conforme será discutido posteriormente. A incorporação do nitrogênio à molécula pode ocorrer via os mecanismos de oxi-redução (1), substituição (2) ou adição (3) (Figura 3, p. 24).

Quando a incorporação do nitrogênio ocorre pelo mecanismo de oxi-redução, a configuração do carbono pode ou não ser mantida, já no mecanismo de substituição tem sempre como resultado a inversão da configuração absoluta (CHIESA *et al.*, 2004).

1- Oxi-redução



2- Substituição



3- Adição

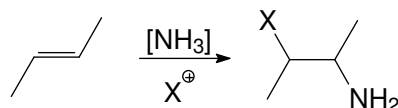


Figura 3- Sequência reacional de incorporação do nitrogênio na biossíntese dos alcalóides esteroidais (CHIESA *et al.*, 2004) (HOP: Fosfato ou pirofosfato).

Conforme mostra a Figura 4 (p. 25), a formação dos alcalóides esteroidais ocorre inicialmente pela hidroxilação da cadeia lateral do colesterol, gerando o 26-hidroxicolesterol. Na segunda etapa ocorre a substituição do grupamento hidroxila do 26-hidroxicolesterol por um grupo amina, empregando o aminoácido *L*-argenina como fonte de nitrogênio, seguida pela oxidação de C-22, gerando o 26-amino-22-hidroxicolesterol. Em uma terceira etapa ocorre uma segunda substituição nucleofílica, a qual permite que o 26-amino-22-hidroxicolesterol ciclize, gerando o anel piperidínico (anel F) (DEWICK, 2001).

Na quarta etapa ocorre a hidroxilação da posição C-16, a qual permite uma nova ciclização, resultando na formação do anel E. No entanto, essa ciclização pode ocorrer via deslocamento nucleofílico da hidroxila pela amina ou pela adição nucleofílica à imina. A deslocamento nucleofílico da hidroxila pela amina gera compostos com dois anéis fundidos através de um átomo de nitrogênio como ponte, caracterizando a formação dos alcalóides esteroidais do tipo solanidano. Enquanto a adição nucleofílica a imina dá origem aos compostos unidos através de um átomo de carbono caracterizando o sistema espiro presente nos alcalóides esteroidais do tipo espirosolano. Nesta etapa a amina secundária é oxidada a

uma imina e o sistema espiro pode ser gerado como resultado de uma adição nucleofílica da hidroxila na posição C-16 na imina (ou íon imínium via protonação) gerando os isômeros C-22*R* ou C-22*S* (Figura 4) (DEWICK, 2001).

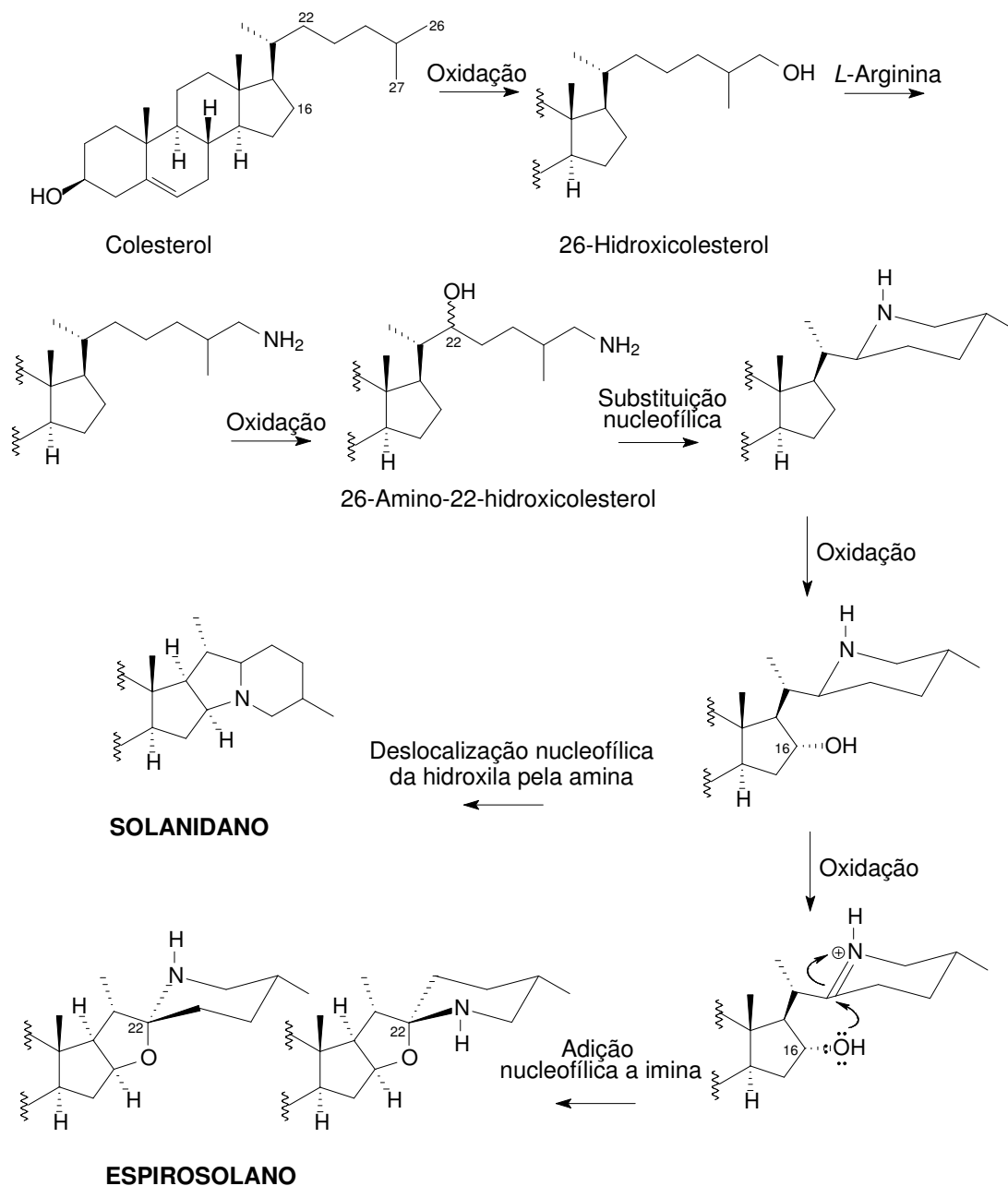


Figura 4- Rota simplificada da biossíntese dos alcalóides esteroidais (DEWICK, 2001)

A formação dos alcalóides esteroidais do tipo solanidano é uma variação do modo de ciclização da cadeia lateral do colesterol, onde um processo de substituição permite a geração de um sistema de anéis condensados. A solanidina (**5**), a qual é encontrada na batata (*S.*

tuberosum) na forma de glicosídeo, parece ser produzida por uma ramificação da rota principal para a síntese da solasodina (1)/tomatidina (4) (Figura 5, abaixo) (DEWICK, 2001).

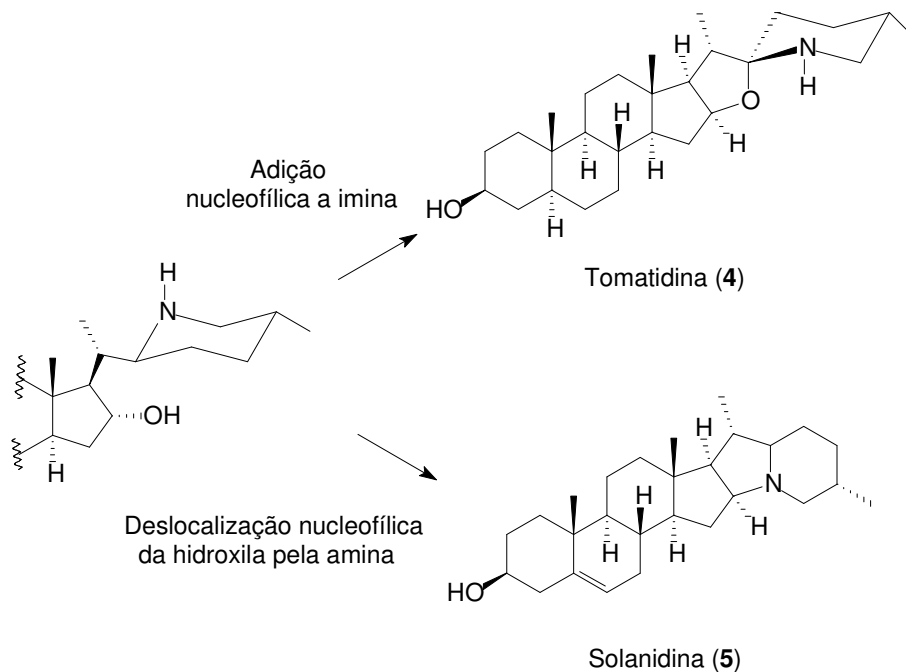


Figura 5- Ciclizações possíveis para a formação do anel E.

2.2 Classificação dos alcalóides esteroidais

Os alcalóides esteroidais são classificados de acordo com a natureza do hidrocarboneto esteroidal que melhor representa a estrutura geral do composto e sua configuração em três grupos principais: os aminopregnanos, 20-piperidilpregnanos e os alcalóides com esqueletos anômalos (CHIESA *et al.*, 2004). A Figura 6 (p. 27) mostra os principais grupos estruturais encontrados para os alcalóides esteroidais.

1) Aminopregnanos: são compostos esteroidais com 21 átomos de carbono produzidos pela degradação da cadeia lateral do colesterol, que contém o esqueleto do pregnano. O nitrogênio pode estar presente formando uma amina alifática nas posições C-3 ou C-20.

2) 20-Piperidilpregnanos: são compostos que conservam a estrutura básica do colesterol e apresentam um anel piperidina. Os alcalóides do tipo piperidilpregnano classificam-se por sua vez em quatro subgrupos:

2.1) espirosolanos: caracterizam-se pela presença de dois anéis heterocíclicos unidos através de um carbono espiro (C-22).

2.2) solanidanos: a cadeia lateral do colesterol é ciclizada formando dois anéis fundidos, com um átomo de nitrogênio como cabeça de ponte.

2.3) solanocapsinas: são derivados do 22,26-epimino-hemiacetal, os quais possuem um anel pirano e um piperidina, fundidos através de uma união hemiacetálica.

2.4) 20-piperidilpregnanos simples: são derivados do piperidilpregnano, onde a cadeia lateral do colesterol dá origem a um único anel piperidina.

3) Alcalóides com esqueletos anômalos: são aqueles onde a estrutura do cicloperidrofenantreno sofreu modificações.

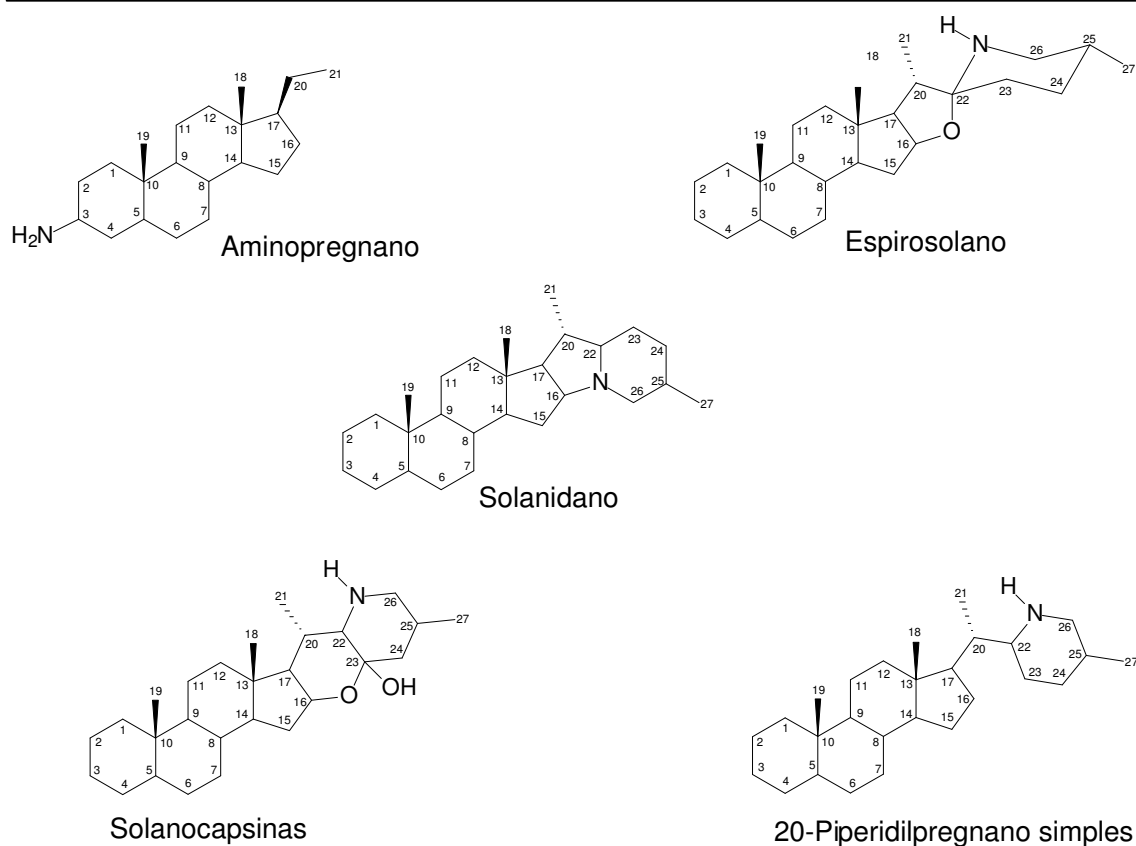


Figura 6- Principais grupos estruturais encontrados em alcalóides esteroidais.

2.3 Ocorrência de alcalóides esteroidais no gênero *Solanum*

Tendo em vista a revisão envolvendo a química e a ocorrência de alcalóides esteroidais em espécies de *Solanum* no período 1981-1998, intitulado “*Solanum* Steroid Alkaloids - an Update” (RIPPERGER, 1998), foi efetuada uma minuciosa revisão bibliográfica de ocorrência de alcalóides esteroidais no gênero *Solanum*, visando uma

atualização desses dados. O *Scifinder*, uma base de dados que reúne informações registradas no *Chemical Abstracts*, foi a ferramenta de pesquisa empregada para catalogar os alcalóides esteroidais isolados a partir de espécies de *Solanum*, descritos na literatura no período de 1998-2011.

Na revisão bibliográfica pode-se observar a presença marcante de alcalóides esteroidais, importantes indicadores quimiotaxonômicos do gênero *Solanum* e responsáveis pela a maioria das atividades biológicas registradas no gênero, em especial pela atividade citotóxica (Lu *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2010).

Como mostrado na Tabela 1 (p. 30), os alcalóides esteroidais presentes em espécies de *Solanum* encontram-se glicosilados e são conhecidos como glicoalcalóides. A maioria das agliconas encontradas pertence à classe dos espirosolanos e solanidanos, e em menor frequência a classe dos solanocapsinas. Elas normalmente apresentam na posição C-3 uma função oxigenada e/ou uma insaturação na posição C-5. Os açúcares ligados à hidroxila do carbono C-3 das agliconas consistem de combinações diferentes de D-glicose, D-galactose, D-xilose e L-ramnose na forma di, tri, ou tetrassacarídicas. Os açúcares mais comuns ligados à posição 3-hidróxi das agliconas podem ser encontrados na Figura 7, abaixo.

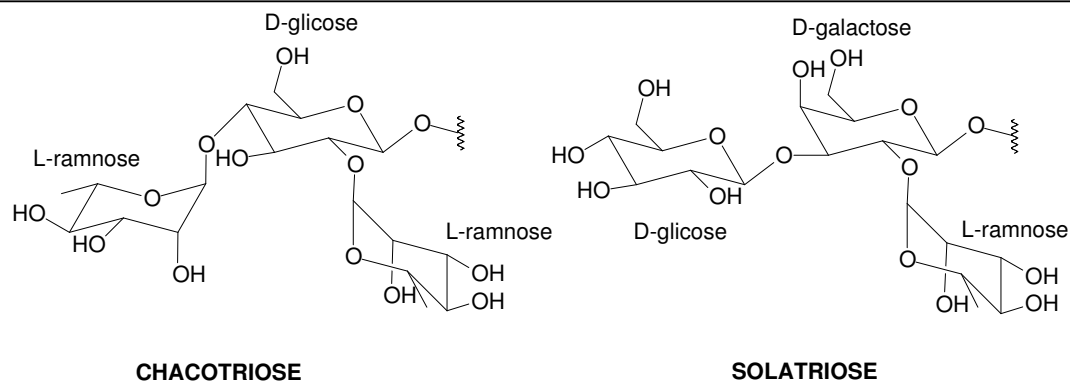


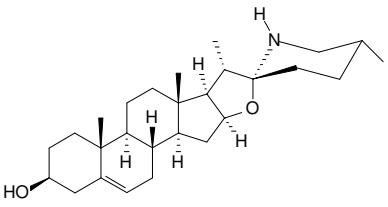
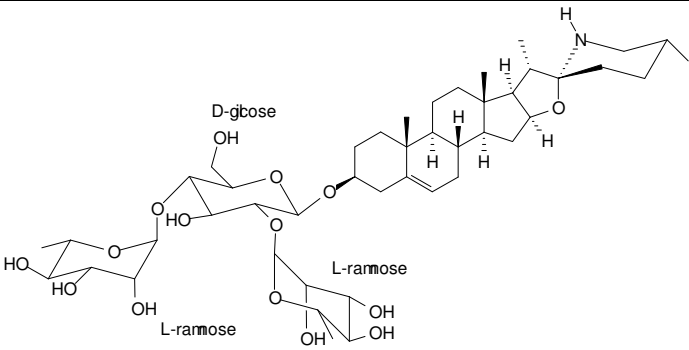
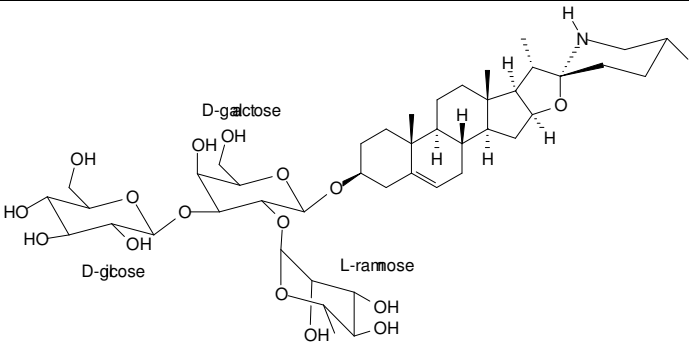
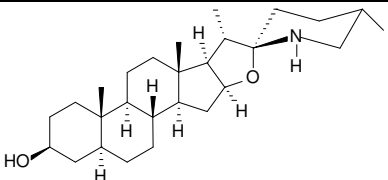
Figura 7- Sacarídeos normalmente ligados à posição 3-hidróxi de agliconas do gênero *Solanum*

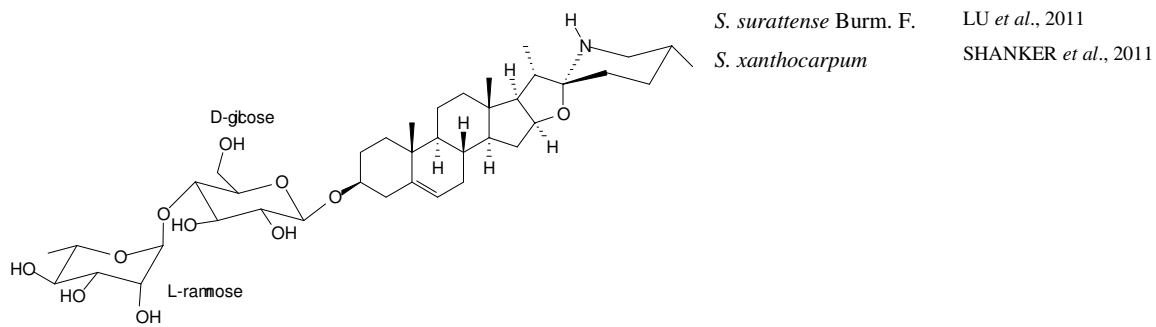
Na classe dos espirosolanos, a solasodina (**1**) e seus glicosídeos, solamargina (**2**) e solasonina (**3**), os quais contem os trissacarídeos chacotriosa e a solatriose, respectivamente, são os alcalóides majoritários em espécies de *Solanum*. Adicionalmente, a solasodina e/ou seus derivada dão origem aos demais glicoalcalóides, exceto a β -solamarina (**14**) e a solaculina A (**15**). Outro tipo de aglicona comumente encontrada é a tomatidina (**4**), a qual apresenta-se na forma $22\beta N$ e serve com base para a formação do glicosídeo β -solamarina (**14**).

Os glicoalcalóides contendo a leptinidina (**17**) como aglicona, são os mais freqüentemente relatados na classe dos solanidanos, seguidos pelos da solanidina (**5**). A leptinidina (**17**) difere da solanidina (**5**) pela presença de um grupamento hidroxila no carbono C-23.

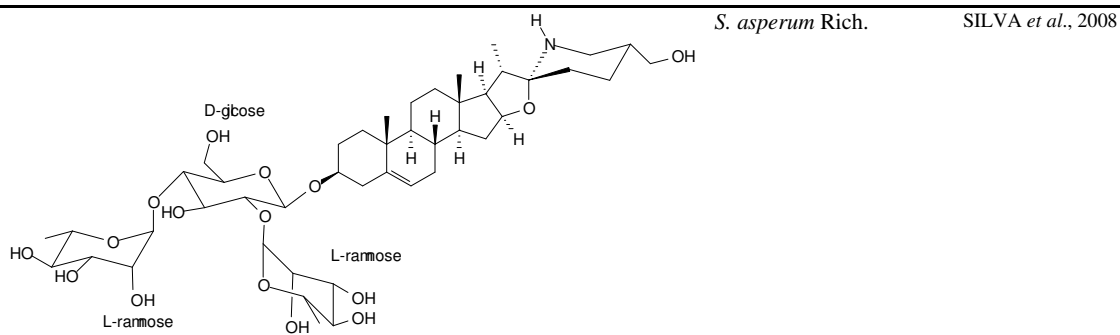
Os estudos fitoquímicos realizados com exemplares de espécies de *Solanum*, no período pesquisado, resultaram no isolamento e caracterização estrutural de 35 compostos, distribuídos em 21 espécies.

Tabela 1- Estruturas dos alcalóides esteroidais encontrados no gênero *Solanum*

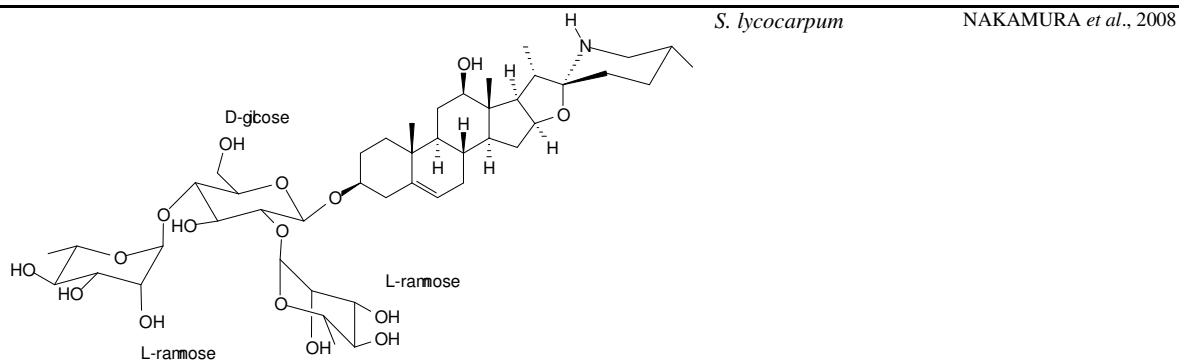
Estrutura	Espécie de <i>Solanum</i>	Referência	
 <p>Solasodina (1)</p>	<i>S. sisymbriifolium</i> L.	CHAUHAN <i>et al.</i> , 2011	
	<i>S. trilobatum</i> Linn.	PANDURANGAN <i>et al.</i> , 2010	
	<i>S. torvum</i>	SMITH <i>et al.</i> , 2008	
	<i>S. xanthocarpum</i>	SUTHAR <i>et al.</i> , 2008	
	<i>S. nigrum</i> Linn.	LUO <i>et al.</i> , 2009	
	<i>S. aculeastrum</i>	KODURU <i>et al.</i> , 2007b	
	<i>S. crinitum</i> Lam.	SOUZA <i>et al.</i> , 2002	
	<i>S. lycopersicum</i> L.	AL-SOFANY <i>et al.</i> , 2001	
	<i>S. americanum</i> Mill	ALDANA <i>et al.</i> , 1999	
	 <p>Solamargina (2)</p>	<i>S. surattense</i> Burm. F	LU <i>et al.</i> , 2011
<i>S. crinitum</i> Lam.		CORNELIUS <i>et al.</i> , 2010	
<i>S. sisymbriifolium</i>		BAGALWA <i>et al.</i> , 2010	
<i>S. xanthocarpum</i>		SHANKER <i>et al.</i> , 2011; MAURYA <i>et al.</i> , 2009	
<i>S. erianthum</i> D. Don.		NGUYEN <i>et al.</i> , 2008	
<i>S. torvum</i>		SMITH <i>et al.</i> , 2008	
<i>S. asperum</i> Rich.		SILVA <i>et al.</i> , 2008	
<i>S. lycocarpum</i>		NAKAMURA <i>et al.</i> , 2008; YOSHIKAWA <i>et al.</i> , 2007	
<i>S. aculeastrum</i>		WANYONYI <i>et al.</i> , 2002	
 <p>Solasonina (3)</p>		<i>S. crinitum</i> Lam.	CORNELIUS <i>et al.</i> , 2010; 2004; SOUZA <i>et al.</i> , 2002
	<i>S. xanthocarpum</i>	MAURYA <i>et al.</i> , 2009	
	<i>S. erianthum</i> D. Don.	NGUYEN <i>et al.</i> , 2008	
	<i>S. torvum</i>	SMITH <i>et al.</i> , 2008	
	<i>S. asperum</i> Rich.	SILVA <i>et al.</i> , 2008	
	<i>S. lycocarpum</i>	NAKAMURA <i>et al.</i> , 2008; YOSHIKAWA <i>et al.</i> , 2007	
	<i>S. americanum</i> Mill	ALDANA <i>et al.</i> , 1999	
	 <p>Tomatidina (4)</p>	<i>S. leucocarpum</i>	NINO <i>et al.</i> , 2009
		<i>S. aculeastrum</i>	KODURU <i>et al.</i> , 2007b



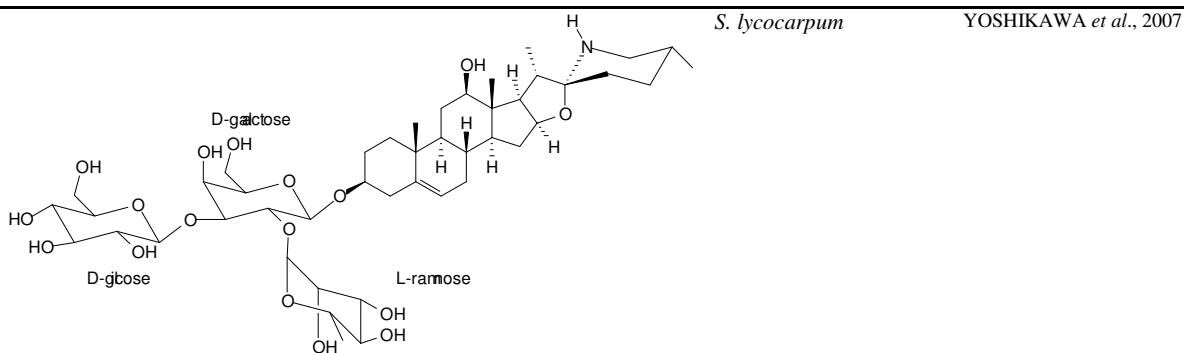
β 2-Solamargina (6)



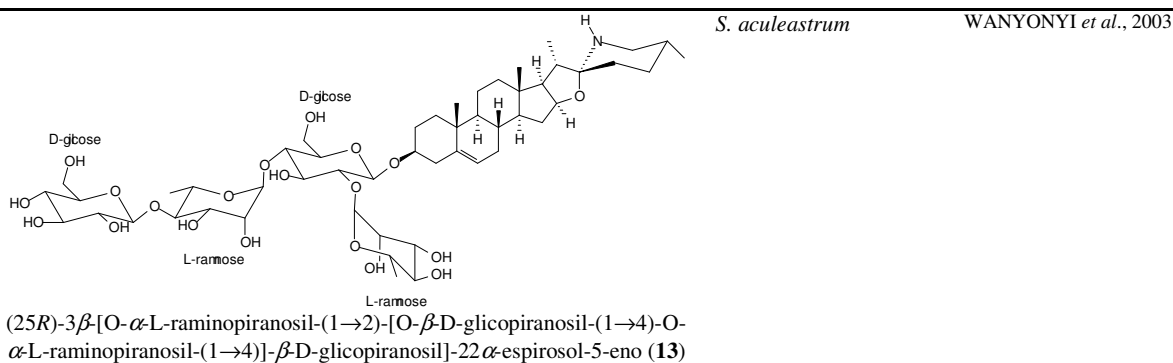
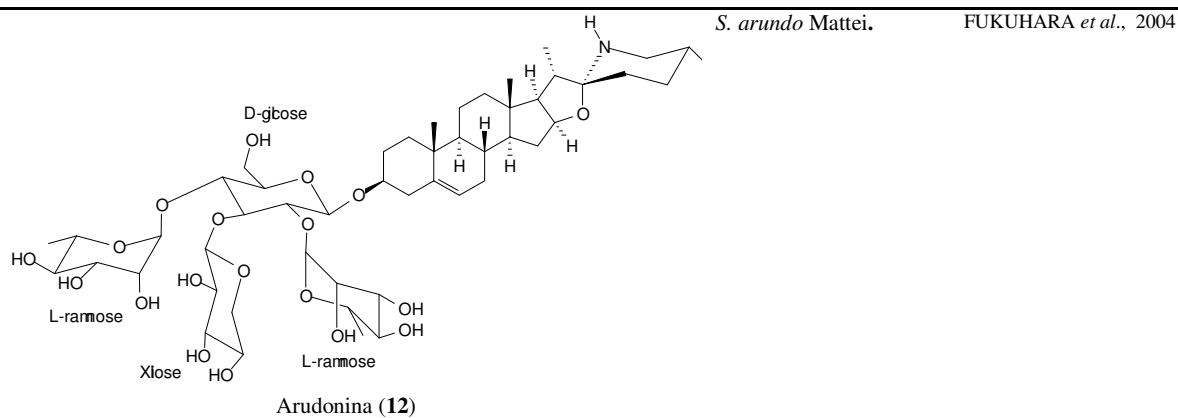
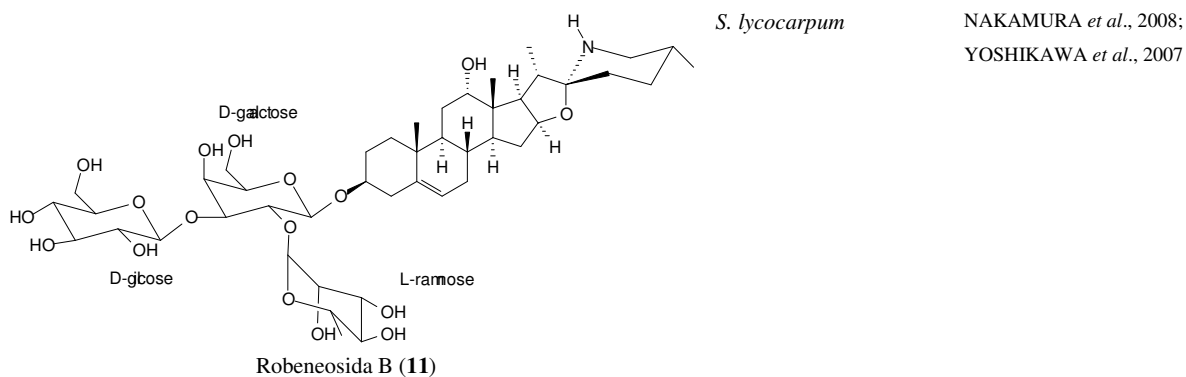
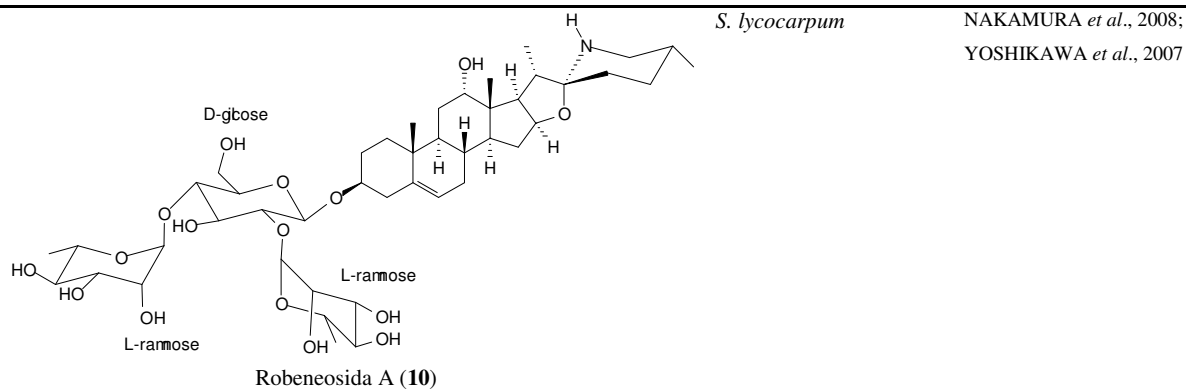
27-Hydroxisolamargina (7)

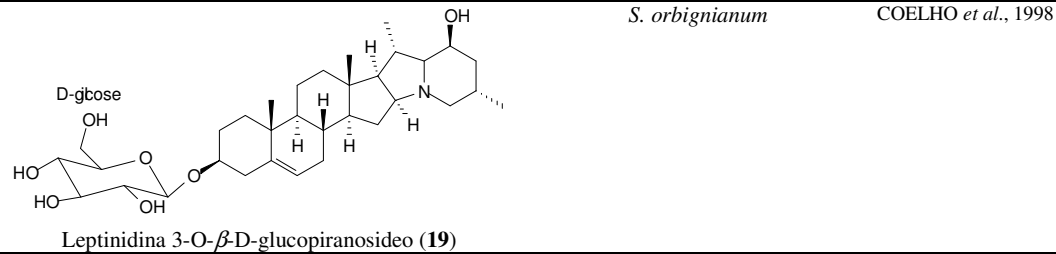
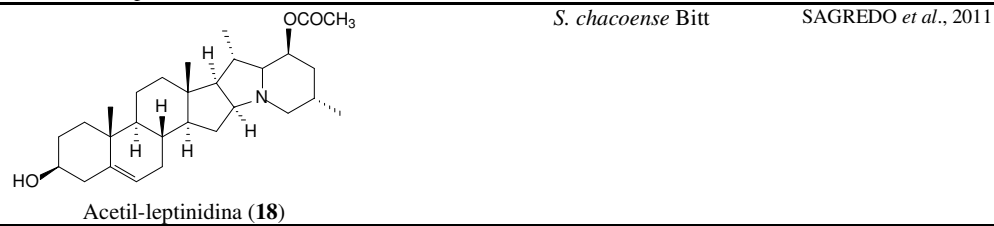
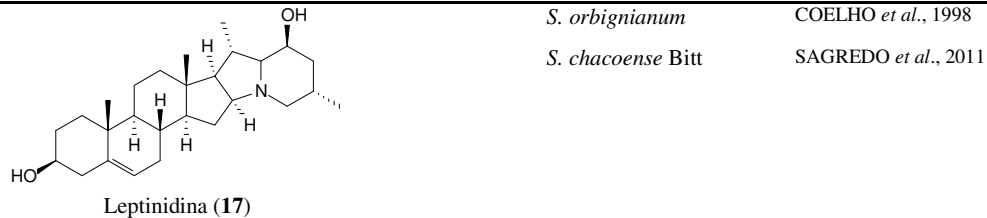
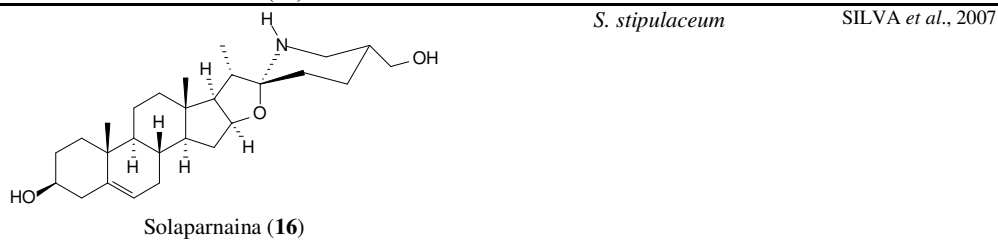
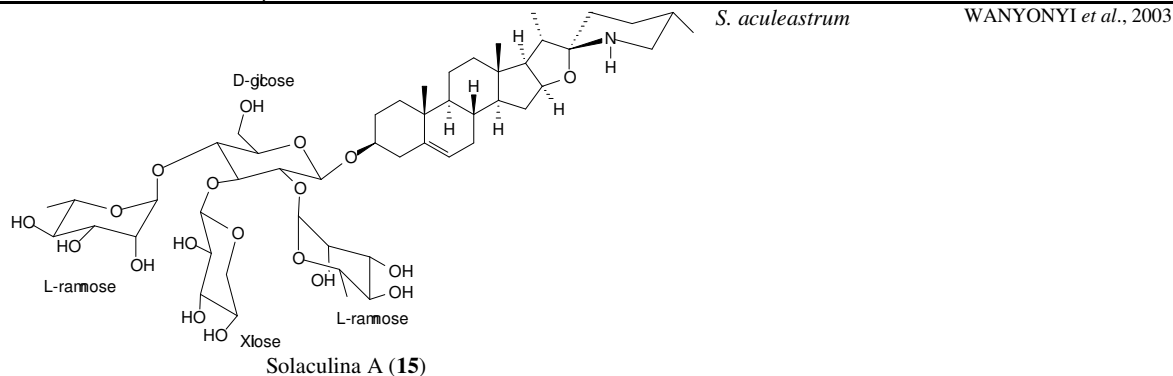
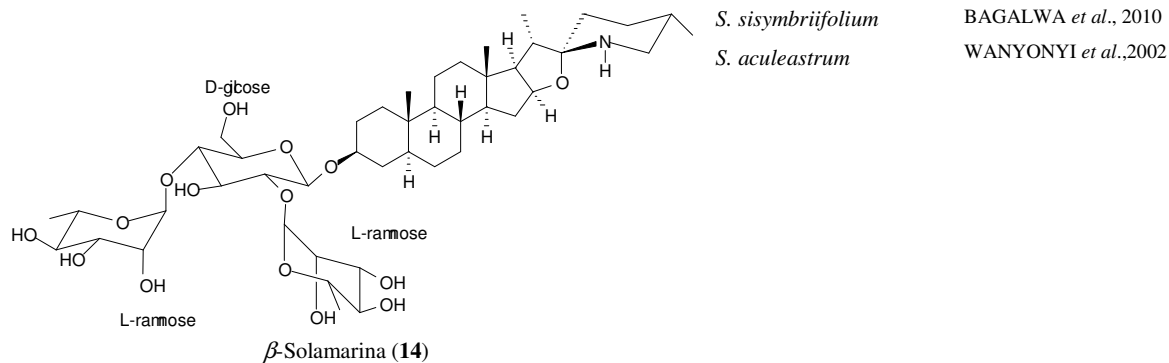


12-Hydroxisolamargina (8)

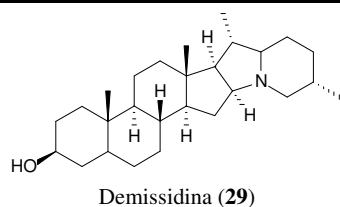
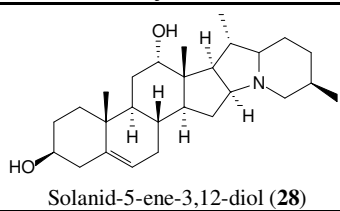
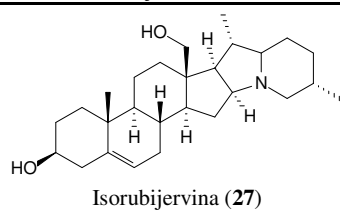
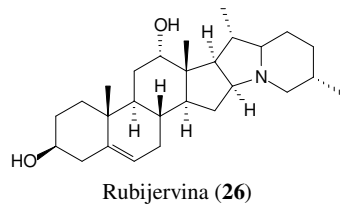
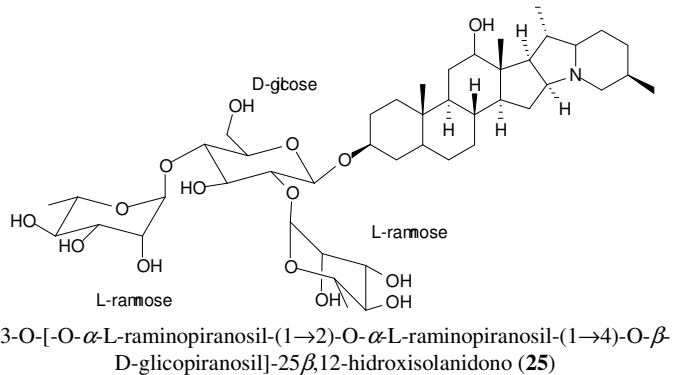
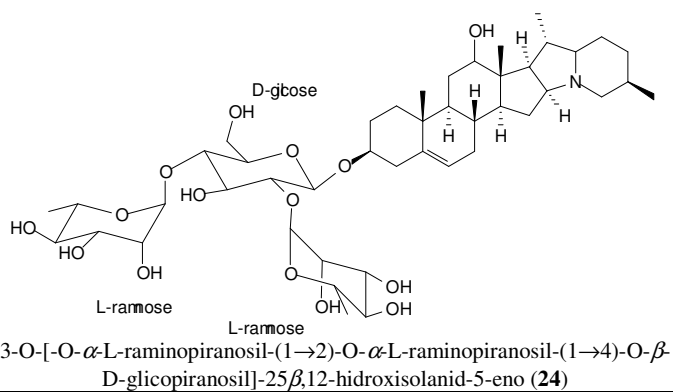


12-Hydroxisolasonina (9)

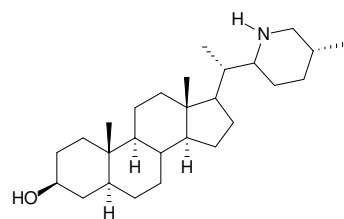




<p>The structure shows a complex pentacyclic alkaloid core. It is substituted with a D-glucose unit at the 3-position and two L-ramnose units at the 14 and 15 positions.</p>	<i>S. orbignianum</i>	COELHO <i>et al.</i> , 1998
Leptinina I (20)		
<p>The structure shows a complex pentacyclic alkaloid core. It is substituted with a D-glucose unit at the 3-position and an L-ramnose unit at the 14-position.</p>	<i>S. orbignianum</i>	COELHO <i>et al.</i> , 1998
Leptinina II (21)		
<p>The structure shows a complex pentacyclic alkaloid core with a hydroxyl group at the 14-position.</p>	<i>S. chacoense</i> Bitt <i>S. torvum</i>	SAGREDO <i>et al.</i> , 2011 SMITH <i>et al.</i> , 2008
Solanidina (5)		
<p>The structure shows a complex pentacyclic alkaloid core. It is substituted with an L-ramnose unit at the 3-position and another L-ramnose unit at the 14-position.</p>	<i>S. distichum</i>	ABOUZID <i>et al.</i> , 2008
α -Chaconina (22)		
<p>The structure shows a complex pentacyclic alkaloid core. It is substituted with an L-ramnose unit at the 3-position and a D-glucose unit at the 14-position.</p>	<i>S. distichum</i>	ABOUZID <i>et al.</i> , 2008
β -Chaconina (23)		



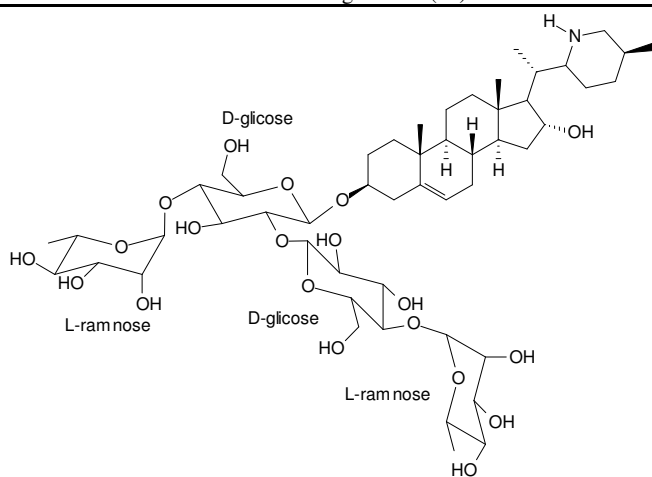
	<p><i>S. hypomalacophyllum</i> COLMENARES <i>et al.</i>, 2010</p>
<p>Desacetoxi-solafilidina-3-O-β-D-glucopiranosideo (30)</p>	
	<p><i>S. hypomalacophyllum</i> COLMENARES <i>et al.</i>, 2010</p>
<p>4-ceto-5,6-dihidro-(20S)-verazina (31)</p>	
	<p><i>S. hypomalacophyllum</i> COLMENARES <i>et al.</i>, 2010</p>
<p>(20R)-verazina (32)</p>	
	<p><i>S. hypomalacophyllum</i> COLMENARES <i>et al.</i>, 2010</p>
<p>(20S)-verazina (33)</p>	
	<p><i>S. schlechtendalium</i> FERRER <i>et al.</i>, 1998</p>
<p>Solacongestidina (34)</p>	
	<p><i>S. schlechtendalium</i> FERRER <i>et al.</i>, 1998</p>
<p>5α,6-Dihidrotomatillidina (35)</p>	
	<p><i>S. schlechtendalium</i> FERRER <i>et al.</i>, 1998</p>
<p>16,28-Seco-solanid-5-ene-3,16-diol (36)</p>	



S. leucocarpum

NINO *et al.*, 2009

Dihidrosolacongestidina (37)



S. pseudocapsicastrum

GAN *et al.*, 1997

Solateinemina (38)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação estrutural

O estudo das folhas de *Solanum campaniforme* resultou no isolamento de dezenove compostos. Pelas análises dos seus dados de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como revelação positiva frente ao reagente de Dragendorff, quinze destes pertencem à classe dos alcalóides esteroidais (SC-5 a SC-19), enquanto os demais são derivados fenólicos (SC-1 a SC-4). A seguir serão apresentadas as determinações estruturais das substâncias SC-1 a SC-19.

4.1.1 Determinação estrutural dos alcalóides

4.1.1.1 Determinação estrutural de SC-6

A fração EESC-A originada da partição líquido-líquido do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme*, após sucessivas cromatografias, incluindo extração em fase sólida (SPE) e purificação por CLAE (C-18), resultou na obtenção de um sólido branco (34,0 mg) (Item 5.4.3.1.3, p. 218, Fluxograma 1, p. 220), o qual foi denominado SC-6 [p.f. 168,9 – 170,7 °C; $[\alpha]_D^{25} = + 50$ (MeOH, *c* 0,04)].

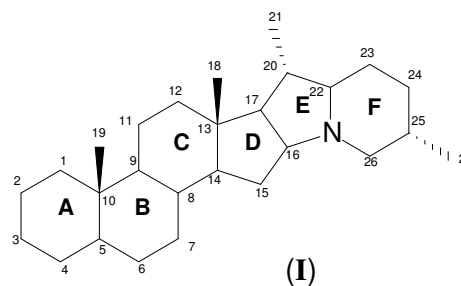
O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 8, p. 43) mostrou uma banda em 2939 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de ligação C-H de carbono sp^3 ; absorção em 1654 cm^{-1} relativa à deformação axial de ligação C=O, evidenciando a existência de uma carbonila conjugada; absorção em 1597 cm^{-1} correspondente a deformação axial de ligação dupla C=C; uma banda em 1452 cm^{-1} característica de deformação angular de ligação C-H de grupos metilênicos; absorção característica de deformação axial assimétrica de C-O-C em 1262 cm^{-1} ; banda em 1177 cm^{-1} referente à deformação axial e angular de C-(C-O)-C e bandas em 1131 e 1043 cm^{-1} referentes às deformações axiais de C-O e C-N, respectivamente (SILVERSTEIN, 2007).

O espectro de massas de alta resolução (IES-EM, Figura 9, p. 43) exibiu o íon correspondente a molécula a protanada $[\text{M} + \text{H}]^+$ em m/z 408,2897 (calculado m/z 408,2897; erro = 0 ppm) referente à fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{NO}_2$.

O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (125 MHz, MeOD, Figura. 10, p. 44) apresentou sinais correspondentes a vinte e sete átomos de carbono, evidenciando a natureza esteroidal do composto, comum em espécies de *Solanum*. Comparação deste espectro com o espectro de

RMN de ^{13}C -DEPT 135° (Figura 11, p. 44) revelou a existência de sete carbonos metilênicos, entre os quais o sinal em δ_{C} 52,2 (C-26), referente a carbono nitrogenado, onze carbonos metínicos, incluindo os sinais de carbono sp^2 em δ_{C} 159,2 (C-1); 127,8 (C-2) e 124,2 (C-4) e quatro carbonos metílicos. Os cinco carbonos não-hidrogenados foram reconhecidos por subtração dos espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (Tabela 2, p. 42).

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD, Figuras 12 e 13, p. 45) mostrou dois dupletos em δ_{H} 7,25 e 6,17, ambos com constantes de acoplamento de 10,0 Hz, compatível com uma ligação dupla com configuração *cis*, bem como um simpleto em δ_{H} 6,02, o qual foi inferido a uma ligação dupla trissubstituída. Adicionalmente exibiu um simpleto em δ_{H} 4,62, o qual apresentou correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 69,9 (C-16) no espectro HSQC (Figura 14, p. 45), sinais característicos de alcalóide esteroidal de esqueleto do tipo solanidano (sub-estrutura **I**), (LAWSON *et al.*, 1997). Outra característica dos esqueletos esteroidais do tipo solanidano, é a presença de quatro metilas, sendo duas ligadas a carbono não-hidrogenado em δ_{H} 0,95 (s) e 1,27 (s), e as outras duas ligadas a carbono metínico em δ_{H} 0,96 (d; $J =$



6,5 Hz) e 1,26 (d; $J = 7,0$ Hz). Neste espectro também verificou-se um sinal em 3,12 (d; $J = 6,5$ Hz; H-23), o qual apresentou correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 60,1 (C-23) no espectro HSQC (Figura 14, p. 46), compatível com presença de hidrogênio oximetínico, além de uma série de sinais característicos de hidrogênios ligados a carbonos sp^3 , corroborando a natureza esteroidal do composto isolado.

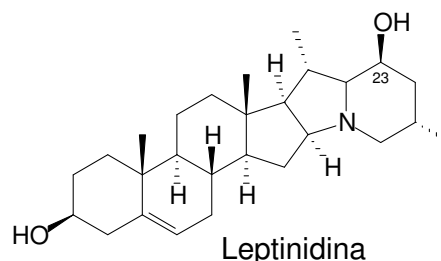
Na Tabela 3 (p. 42) estão apresentados os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C , correlacionados a partir de informações extraídas do espectro HSQC (Figura 14, p. 45), bem como as correlações a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) observadas no espectro HMBC (Figuras 15 e 16, p. 47 e 48).

Com base na teoria de deslocamento químico, os cinco sinais referentes a carbonos sp^2 em δ_{C} 188,8 (C-3); 173,5 (C-5); 159,2 (C-1); 127,8 (C-2) e 124,2 (C-4) foram compatíveis com a existência de um sistema conjugado formado por uma carbonila de cetona entre duas ligações dupla, corroborando com o espectro de IV.

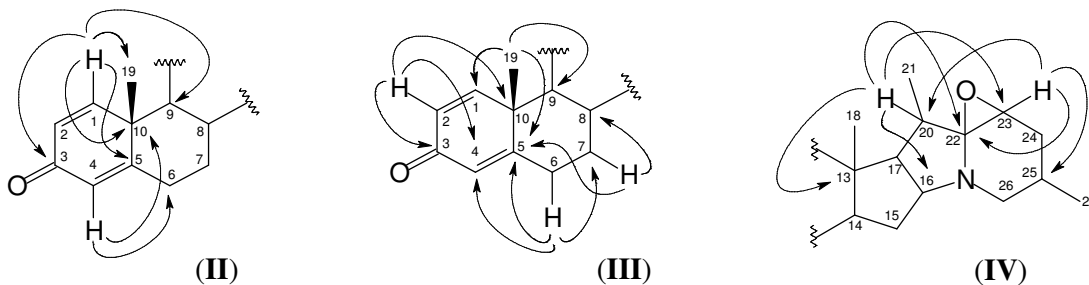
Este sistema foi confirmado com base nas correlações à longa distância observadas no espectro HMBC entre o sinal de hidrogênio em δ_{H} 7,25 (H-1) com os sinais de carbono em δ_{C} 188,8 (C-3); 173,6 (C-5); 54,8 (C-9); 45,6 (C-10) e 19,3 (C-19), do hidrogênio em δ_{H} 6,03

(H-4) com os carbonos em δ_C 34,0 (C-6) e 45,6 (C-10), bem como do hidrogênio em δ_H 6,17 (H-2) com os carbonos em δ_C 188,8 (C-3), 124,2 (C-4) e 45,6 (C-10). Outras correlações importantes, a mais de uma ligação, estão ilustradas nas sub-estruturas **II** e **III**, justificando as atribuições inequívocas dos átomos de carbono e hidrogênio desta sub-estrutura.

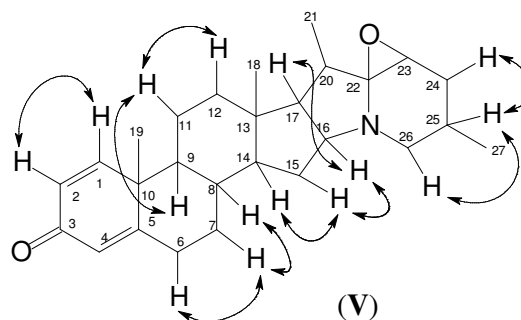
Os sinais em δ_C 93,7 (C-22) e 60,1 (C-23) quando comparados com os valores de deslocamentos químicos atribuídos a estes mesmos carbonos δ_C 78,6 (C-22) e 64,9 (C-23) para a leptinidina, um alcalóide esteroidal solanidano contendo uma hidroxila em C-23, mostraram diferenças significativas nos valores de deslocamento químico (LAWSON *et al.*, 1997). Em **SC-6** o carbono C-22 mostrou-se mais desblindado, na ordem de $\Delta\delta$ 15,1 ppm, enquanto o carbono C-23 mais blindado, na ordem de $\Delta\delta$ 3,8 ppm. Estas diferenças foram compatíveis com a presença de um epóxido entre os carbonos C-22 e C-23, em consonância com o valor de IDH igual a dez, calculado através da fórmula molecular $C_{27}H_{37}NO_2$, deduzida a partir do espectro de massas de alta resolução de **SC-6**.



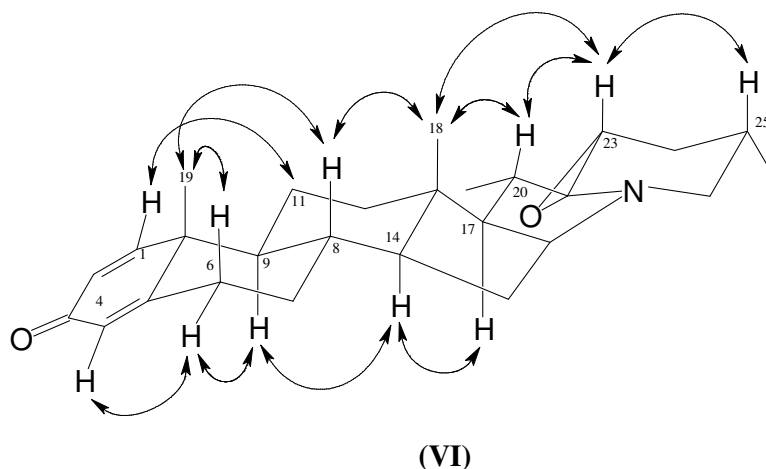
A localização do epóxido em C-22 e C-23 foi corroborada através do espectro HMBC pelas correlações do hidrogênio em δ_H 2,20 (H-20) com os carbonos em δ_C 43,1 (C-13); 69,9 (C-16); 93,7 (C-22) e 60,1 (C-23), bem como do hidrogênio em δ_H 3,12 (H-23) com os carbonos em δ_C 27,6 (C-25) e 93,7 (C-22) (sub-estrutura **IV**).



A estrutura **V** mostra alguns acoplamentos entre hidrogênios vicinais, observados no espectro COSY (Figura 17, p. 49), que foram importantes para atribuições inequívocas dos deslocamentos químicos dos átomos de carbonos e hidrogênios.



A configuração relativa inferida para os centros estereogênicos existentes na molécula foi deduzida através do espectro NOESY (Figura 18, p. 50), o qual revelou interações espaciais entre o hidrogênio em δ_H 1,77 (H-8) e os hidrogênios metílicos em δ_H 1,27 (3H-19) e 0,95 (3H-18), bem como do hidrogênio em δ_H 2,20 (H-20) com os hidrogênios em δ_H 3,12 (H-23) e 0,95 (3H-18). Exibiu ainda interações espaciais do hidrogênio em δ_H 3,12 (H-23) com o hidrogênio em δ_H 2,16 (H-25), bem como do hidrogênio em δ_H 0,90 (H-14) com os hidrogênios em δ_H 1,05 (H-9) e 1,17 (H-17) (estrutura **VI**). A configuração relativa estabelecida com base no espectro NOESY está de acordo com outros alcalóides solanidanos reportados previamente (CHAKRAVARTY *et al.*, 1984).



A reunião dos dados acima discutidos permitiu afirmar que **SC-6** tratava-se do alcalóide esteroideal de esqueleto solanidano $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona. Um minucioso levantamento bibliográfico revelou que este composto está sendo registrado pela primeira vez.

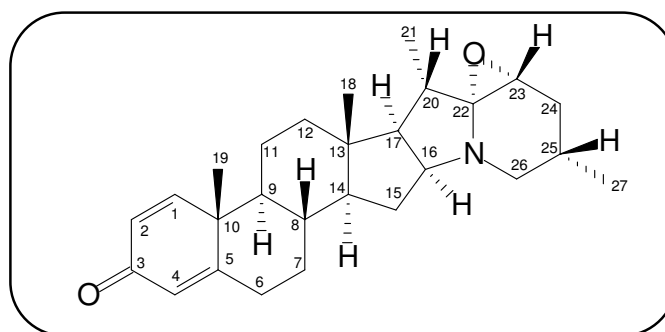


Tabela 2- Dados espectrais de RMN de ^{13}C e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de **SC-6**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM.

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
188,8 (C=O)	159,2 (C=C)	52,2 (C-N)	19,3	
173,6 (C=C)	127,8 (C=C)	45,6	19,0	
93,7 (N-C-O)	124,2 (C=C)	38,1	18,3	
45,6	69,9 (C-N)	35,0	15,5	
43,0	60,1	34,5		
	58,7	33,4		
	54,8	23,5		
	53,6			
	36,6			
	28,1			
	27,6			
5C	11CH	7CH₂	4CH₃	C₂₇H₃₇NO₂

Tabela 3- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-6**, incluindo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.

# C	SC-6	HSQC	$^2J_{\text{CH}}$	HMBC
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)		$^3J_{\text{CH}}$
1	159,2	7,25 (<i>d</i> ; 10,0)		3H-19
2	127,8	6,17 (<i>d</i> ; 10,0)		H-4
3	188,8	-		H-1
4	124,2	6,02 (<i>s</i>)		H-2; H-6
5	173,6	-	H-6	3H-19; H-7
6	33,4	2,56 (<i>dt</i>); 2,37 (<i>d</i> ; 13,0)		H-4
7	35,0	1,98 (<i>dl</i> ; 12,0) 1,04		
8	36,4	1,77	H-7	
9	54,8	1,05		2H-12; 3H-19
10	45,6	-	H-1; 3H-19	H-2; H-4
11	23,5	1,78		
12	38,0	1,80; 1,20		H-17; 3H-18
13	43,0	-	H-17; 3H-18	H-16; H-20
14	51,6	0,90 (<i>m</i>)		3H-18
15	34,6	2,16; 1,38		
16	69,9	4,62 (<i>sl</i>)	H-17	
17	58,7	1,17 (<i>d</i> ; 6,5)		3H-18; 3H-21
18	15,5	0,95		H-17
19	19,3	1,27 (<i>s</i>)		H-1
20	27,6	2,20 (<i>m</i>)	H-17; 3H-21	
21	19,0	1,27 (<i>d</i> ; 7,0)		H-17
22	93,7	-	H-20; H-23	2H-24
23	60,1	3,12 (<i>d</i> ; 6,5)		H-20; H-25
24	45,6	1,83; 1,36		3H-27
25	28,1	2,16	3H-27, H-26	
26	52,2	3,21 (<i>dl</i> ; 12,0); 2,70 (<i>t</i> ; 12,0)		3H-27
27	18,3	0,96 (<i>d</i> ; 6,5)		

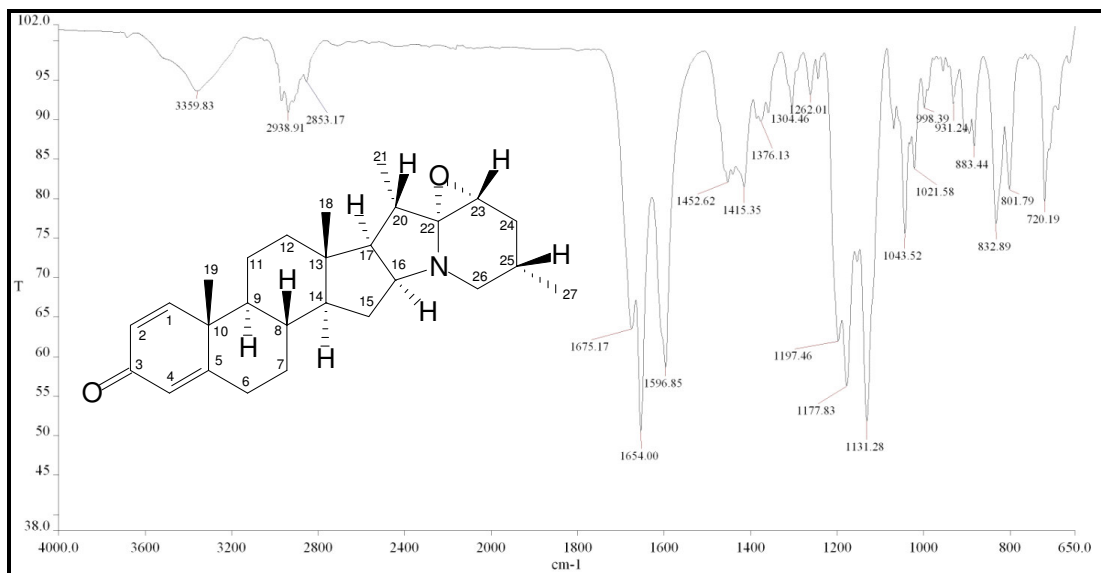


Figura 8- Espectro de absorção na região do IV de SC-6

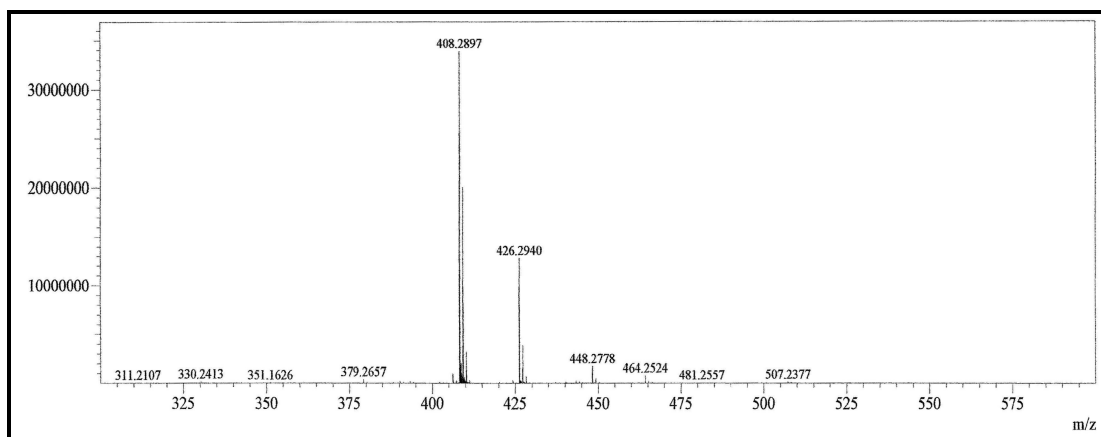


Figura 9- Espectro de massas (IES-EM) de SC-6

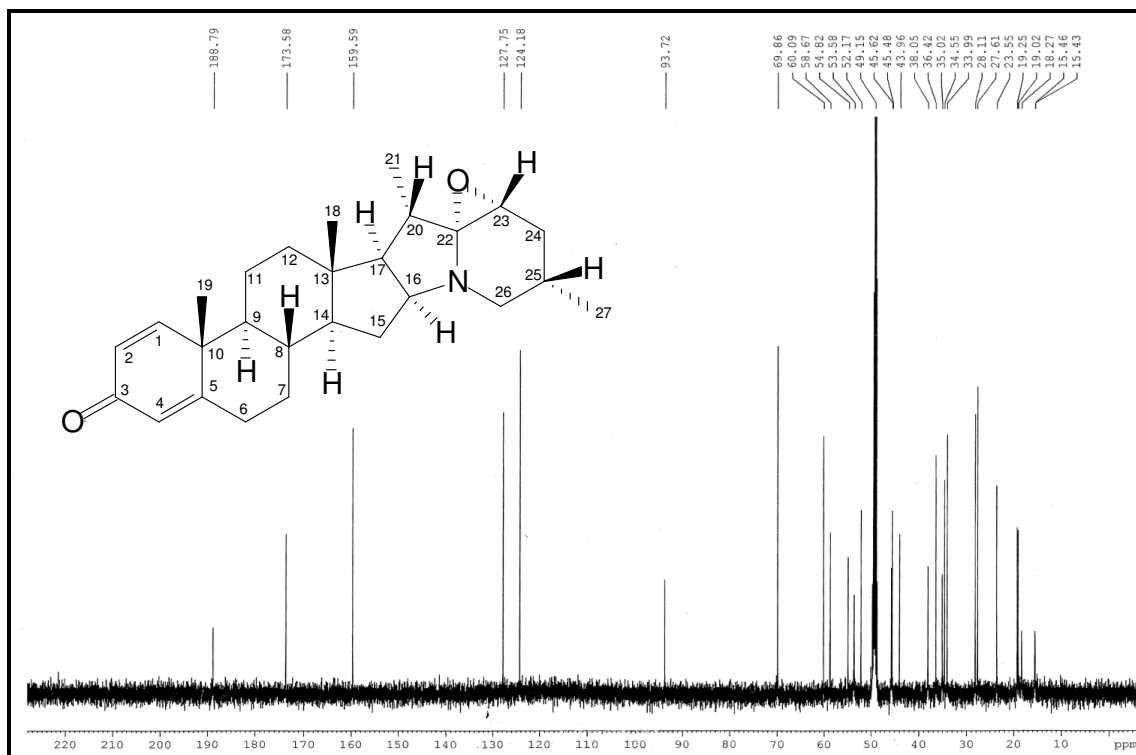


Figura 10- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-6

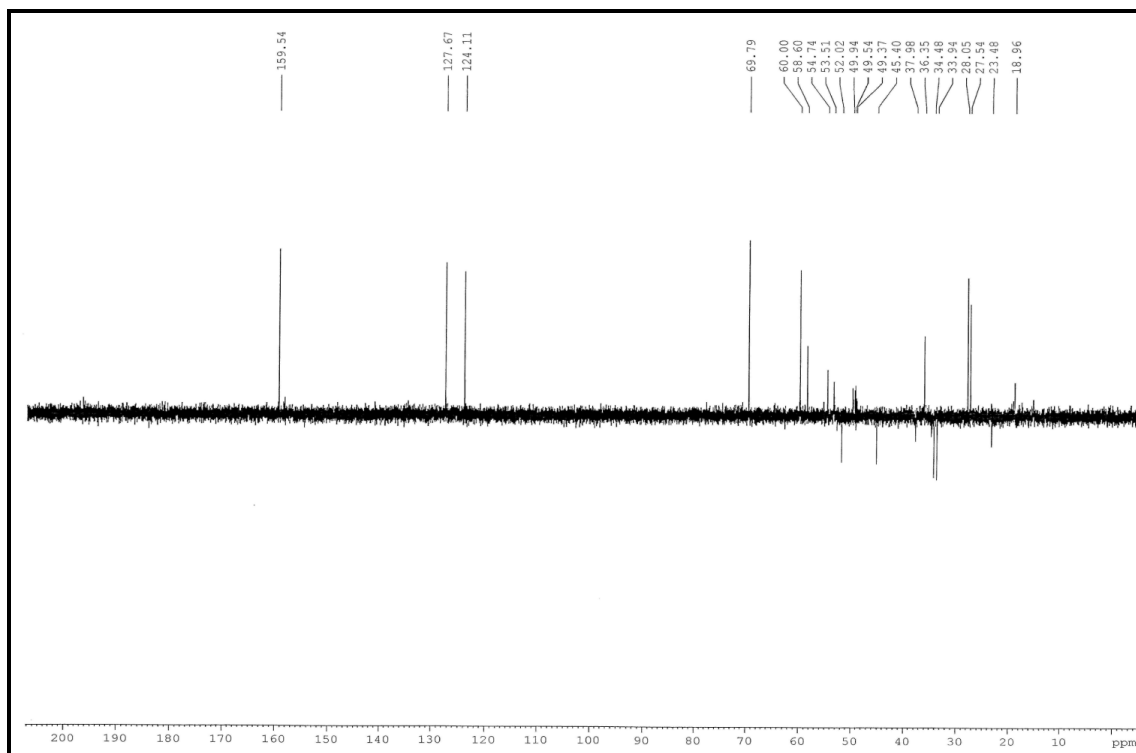


Figura 11- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-6

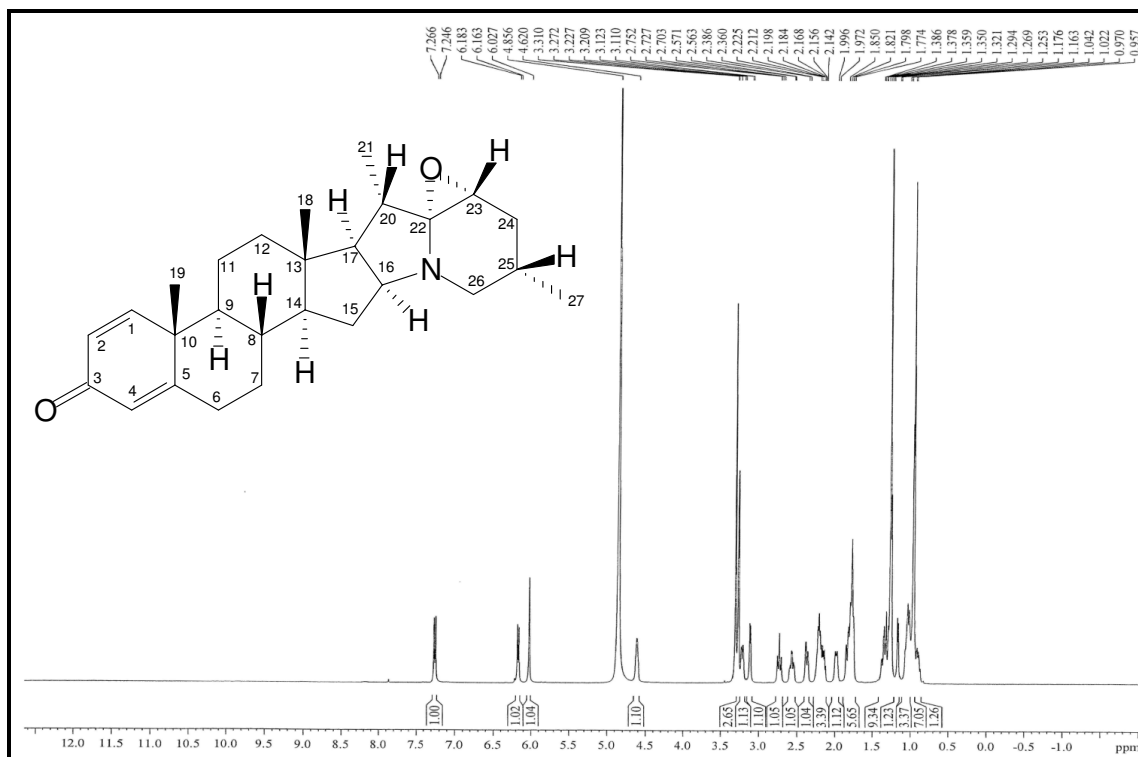


Figura 12- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-6

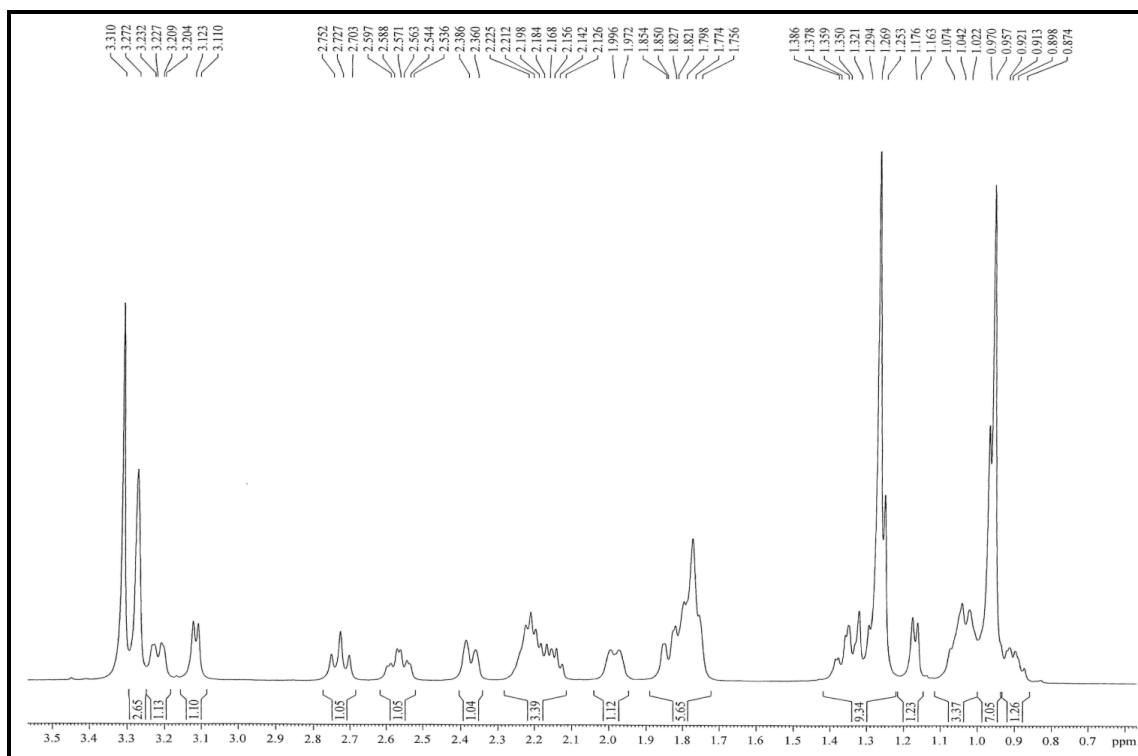


Figura 13- Espectro de RMN ¹H-expansão (MeOD, 500 MHz) de SC-6

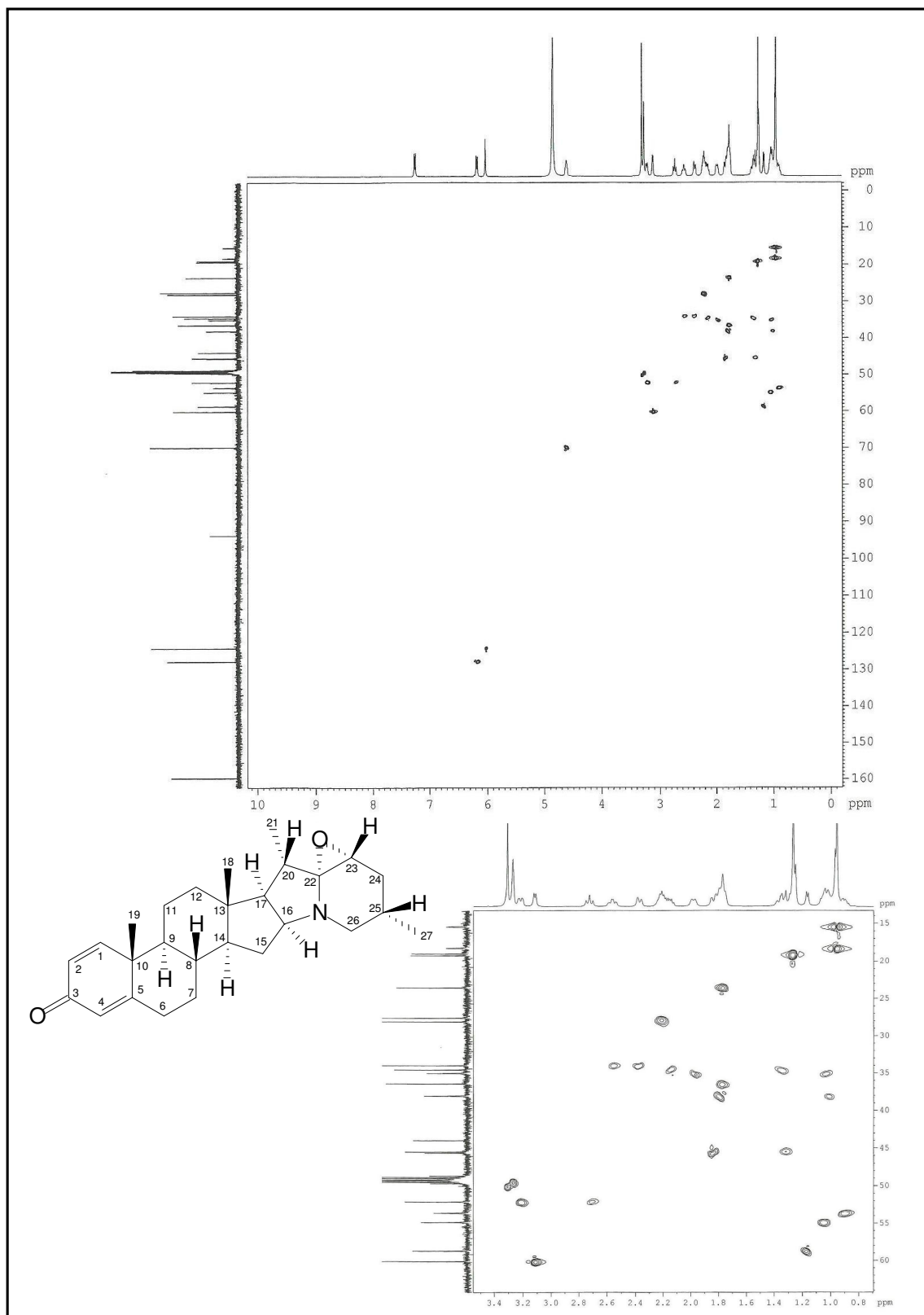


Figura 14- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-6

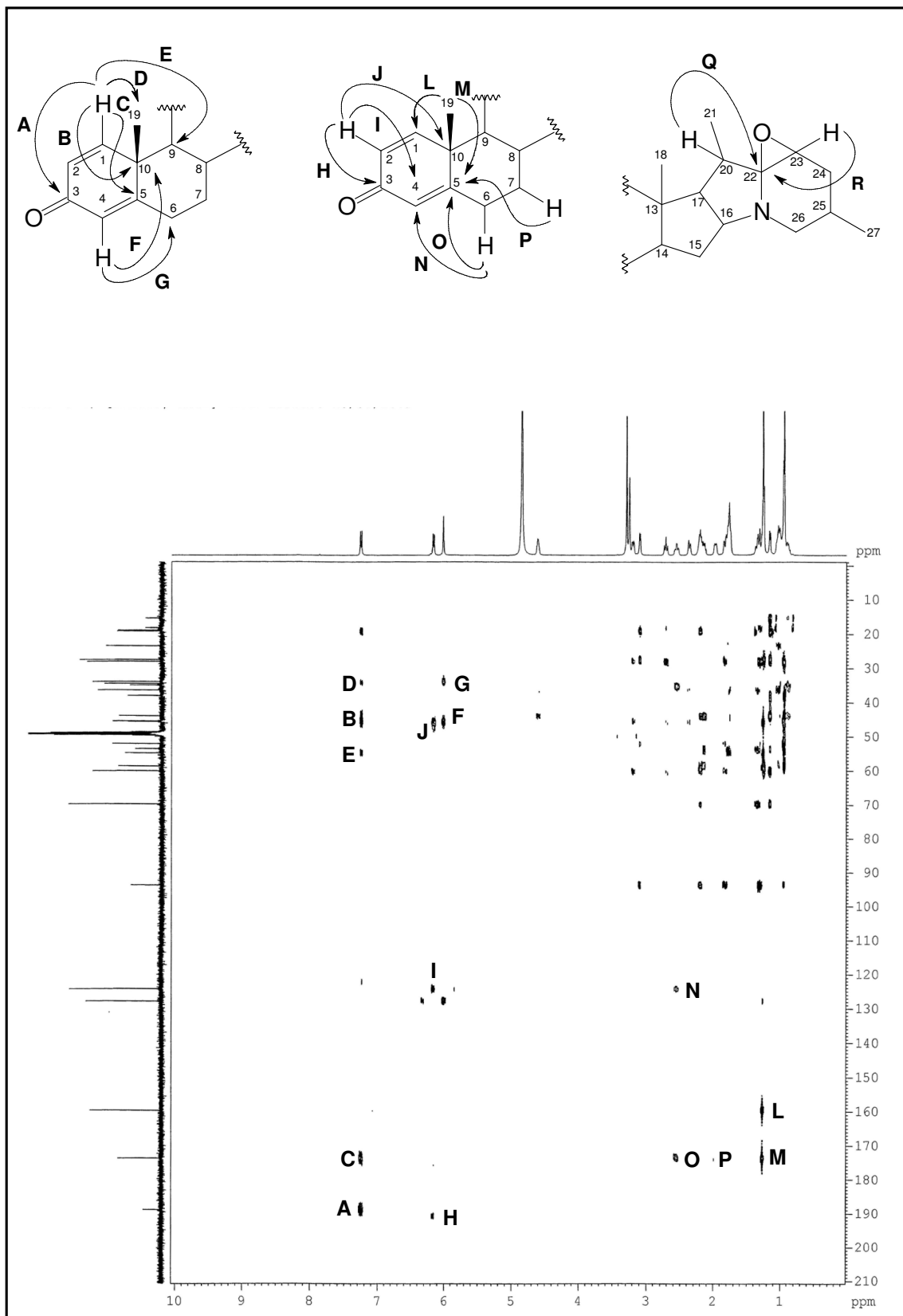


Figura 15- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-6

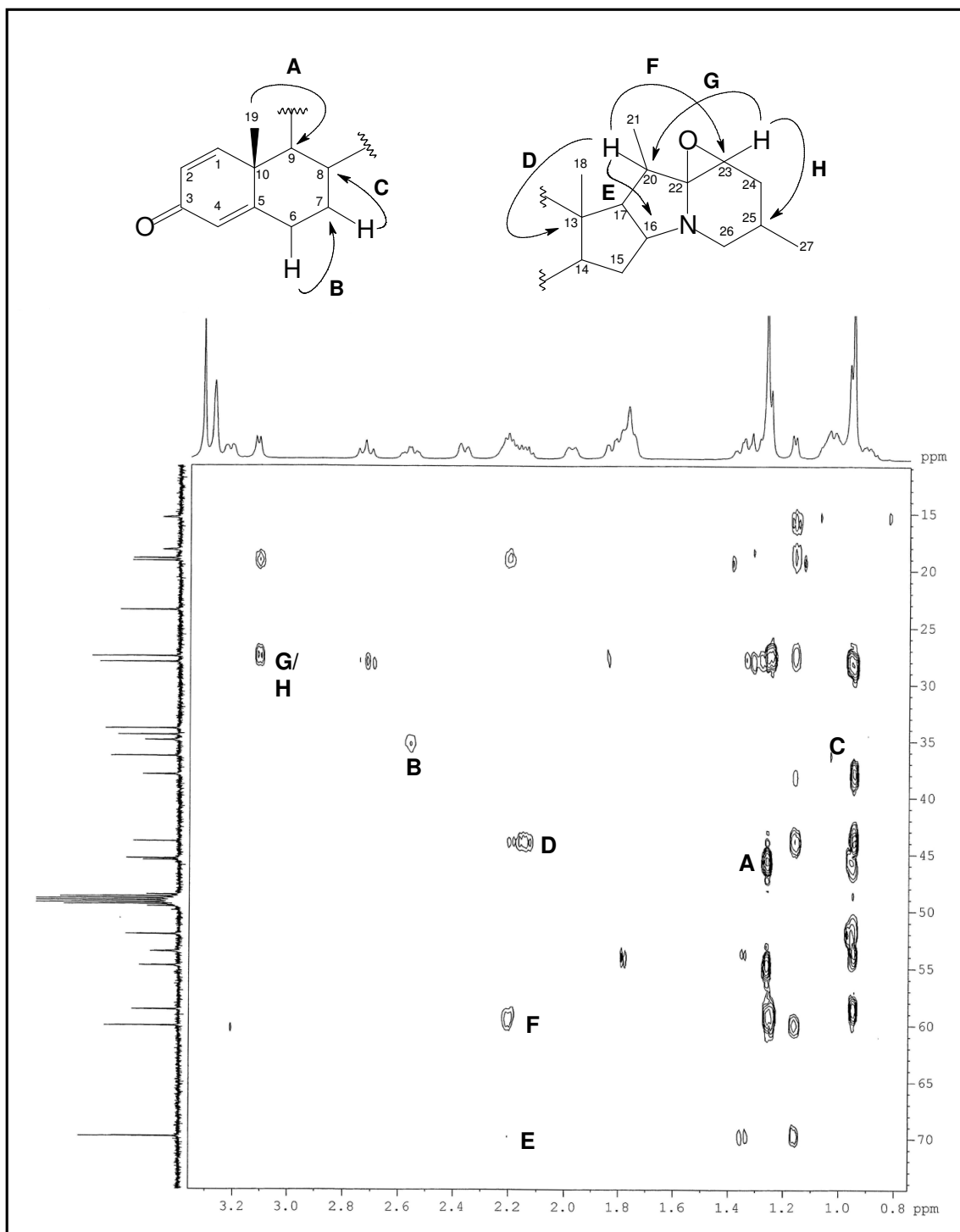


Figura 16- Espectro de RMN-HMBC-expansão (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-6

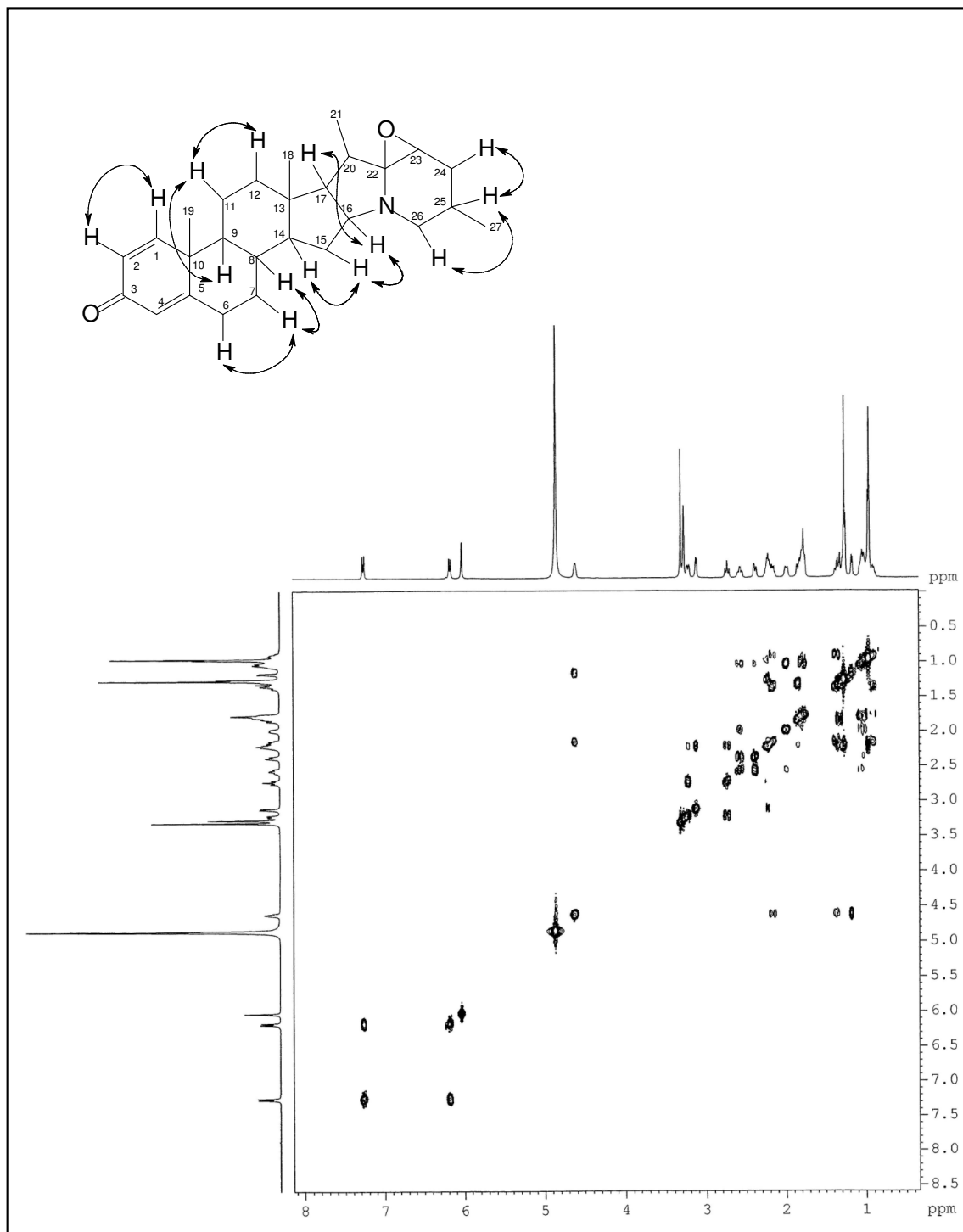


Figura 17- Espectro de RMN-COSY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-6

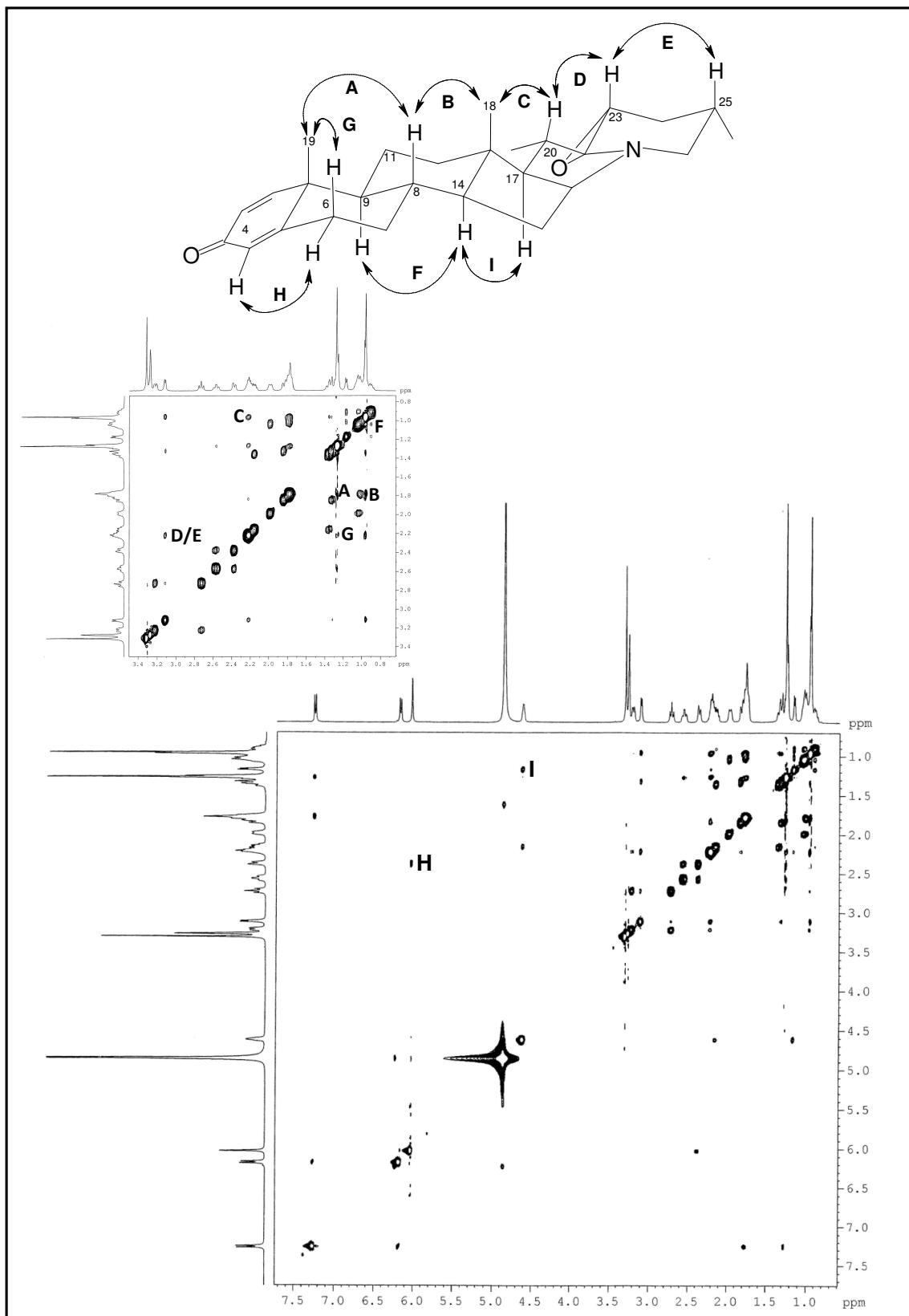


Figura 18- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-6

4.1.1.2 Determinação estrutural de **SC-5**

A fração EESC-A após submetida aos mesmos tratamentos cromatográficos usado no isolamento de **SC-6**, resultou na obtenção de um sólido branco (127,0 mg) (Item 5.4.3.1.3, p. 218, Fluxograma 1, p. 220), denominado **SC-5** [p.f. 165,2 – 166,3 °C; $[\alpha]_D^{25} = + 13$ (MeOH, *c* 0,04)]

Os espectros de IV (Figura 19, p. 54) de **SC-5** e **SC-6** exibiram uma estreita semelhança estrutural entre os dois compostos, confirmada pela identificação dos mesmos grupos funcionais: carbonila conjugada (1658 cm^{-1}), ligação dupla C=C (1603 cm^{-1}) e carbonos oxigenados e nitrogenados (1129 e 1039 cm^{-1}), respectivamente (SILVERSTEIN, 2007).

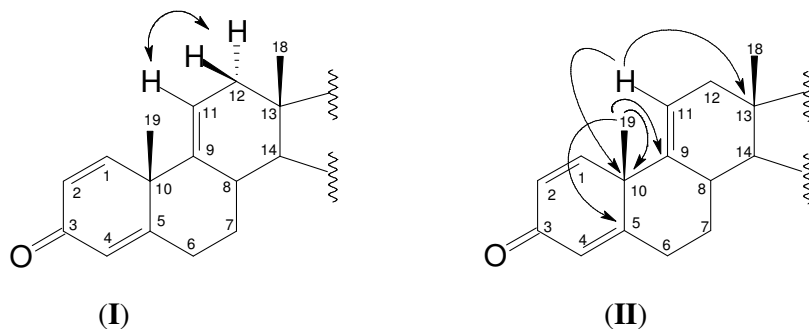
Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras. 20 e 21, p. 54 e 55) também foram compatíveis com um perfil estrutural semelhante ao de **SC-6**. O espectro RMN de ^{13}C -CPD também mostrou vinte e sete linhas espectrais, das quais seis foram correspondentes a carbonos não-hidrogenados, doze a carbonos metínicos, seis a carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos, quando comparado com espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (Figura 22, p. 55), conforme mostra a Tabela 4 (p. 53).

A análise comparativa dos dados espectrais deste composto com aqueles de **SC-6** (Tabela 5, p. 53), revelou que as principais diferenças no espectro de RMN de ^{13}C são quanto aos sinais adicionais de carbono sp^2 em δ_{C} 145,0 (C-9) e 121,8 (C-11). No espectro de RMN de ^1H , no sinal extra em δ_{H} 5,6 (sl), o qual mostrou correlação com o carbono em δ_{C} 121,8 (C-11) no espectro HSQC (Figura 23, p. 56), evidenciando a existência de uma ligação dupla trissubstituída adicional na estrutura de **SC-5**.

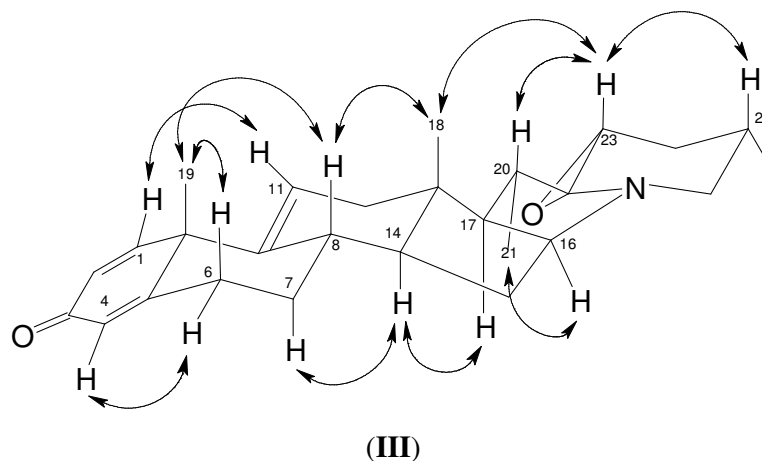
Esta hipótese foi confirmada com o espectro de massas de alta resolução (Figura 24, p. 57) ao exibir o íon correspondente a molécula protonada $[\text{M} + \text{H}]^+$ em m/z 406,2743 (calculado m/z 406,2741; erro = 0,49 ppm), compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{NO}_2$, a qual apresenta IDH igual a onze, portanto, uma insaturação a mais do que a calculada para **SC-6**.

A ligação dupla que difere **SC-5** de **SC-6** foi posicionada entre os carbonos C-9 (δ_{C} 145,0) e C-11 (δ_{C} 121,8), no anel **B** do núcleo solanidano, baseado nos acoplamentos entre o hidrogênio em δ_{H} 5,61 (H-11) e os hidrogênios em δ_{H} 2,07 e 1,80 (2H-12) observados no espectro COSY (Figura 25, p. 57) (sub-estrutura **I**), bem como através das correlações a longa distancia observadas no espectro HMBC (Figura 26, p. 58) do hidrogênio em δ_{H} 5,61 (H-11)

com os carbonos em δ_C 42,6 (C-13) e 47,9 (C-10); do hidrogênio em δ_H 2,07 (1H-12) com os carbonos δ_C 145,0 (C-9) e 121,8 (C-9), assim como dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,47 (H-19) com os carbonos 171,5 (C-5); 145,0 (C-9) e 47,9 (C-10) (sub-estrutura **II**).



A estereoquímica relativa estabelecida para **SC-5** foi determinada através dos acoplamentos dipolares exibidos no espectro NOESY (Figura 27, p. 59), conforme ilustrado na estrutura **III**.



Os dados de RMN, uni- e bidimensionais, discutidos e apresentados na Tabela 4 (p. 66), permitiram elucidar a estrutura de **SC-5** como o alcalóide 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona, relatado pela primeira vez.

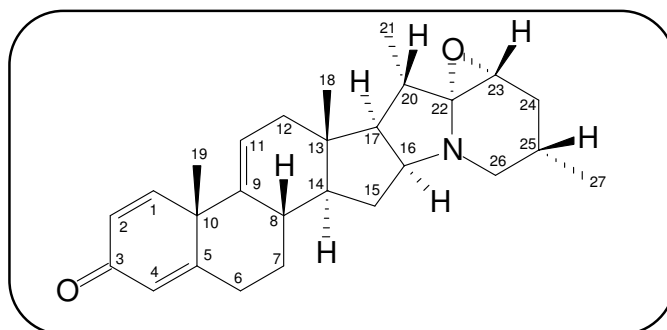


Tabela 4- Dados espectrais de RMN de ^{13}C e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de **SC-5**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
188,8 (C=O)	158,6 (C=C)	52,1 (C-N)	28,0	
171,5 (C=C)	127,4 (C=C)	45,5	18,8	
145,0 (C=C)	124,0 (C=C)	40,6	18,2	
93,8 (N-C-O)	121,8 (C=C)	36,2	15,2	
47,9	69,8 (C-N)	35,5		
42,6	60,1	33,3		
	58,4			
	51,6			
	37,7			
	28,1			
	27,8			
6C	11CH	6CH ₂	4CH ₃	C ₂₇ H ₃₅ NO ₂

Tabela 5- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-5**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-6**

# C	SC-5		SC-6	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	158,6	7,44 (<i>d</i> ; 9,5)	159,2	7,25 (<i>d</i> ; 10,0)
2	127,4	6,24 (<i>d</i> ; 9,5)	127,8	6,17 (<i>d</i> ; 10,0)
3	188,8	-	188,8	-
4	124,0	6,05 (<i>s</i>)	124,2	6,02 (<i>s</i>)
5	171,5	-	173,6	-
6	33,3	2,70; 2,46 (<i>d</i> ; 13,5)	33,4	2,56 (<i>dt</i>); 2,37 (<i>d</i> ; 13,0)
7	36,2	2,28; 1,20	35,0	1,98 (<i>dl</i> ; 12,0) 1,04
8	37,7	2,38	36,4	1,77
9	145,0	-	54,8	1,05
10	47,9	-	45,6	-
11	121,8	5,61 (<i>sl</i>)	23,5	1,78
12	40,6	2,07 (<i>dd</i> ; 17,0); 1,80 (<i>d</i> ; 17,0)	38,0	1,80; 1,20
13	42,6	-	43,0	-
14	51,6	1,16	51,6	0,90 (<i>m</i>)
15	35,5	2,38; 1,50	34,6	2,16; 1,38
16	69,8	4,69 (<i>sl</i>)	69,9	4,62 (<i>sl</i>)
17	58,4	1,30	58,7	1,17 (<i>d</i> ; 6,5)
18	15,2	0,95 (<i>s</i>)	15,5	0,95
19	28,0	1,47 (<i>s</i>)	19,3	1,27 (<i>s</i>)
20	27,8	2,27	27,6	2,20 (<i>m</i>)
21	18,8	1,31 (<i>d</i> ; 7,0)	19,0	1,26 (<i>d</i> ; 7,0)
22	93,8	-	93,7	-
23	60,1	3,18 (<i>d</i> ; 5,5)	60,1	3,12 (<i>d</i> ; 6,5)
24	45,5	1,90; 1,35	45,6	1,83; 1,36
25	28,1	2,26	28,1	2,16
26	52,1	3,26 (<i>dl</i>); 2,77 (<i>m</i>)	52,2	3,21 (<i>dl</i> ; 12,0); 2,70 (<i>t</i> ; 12,0)
27	18,2	1,00 (<i>d</i> ; 6,0)	18,3	0,96 (<i>d</i> ; 6,5)

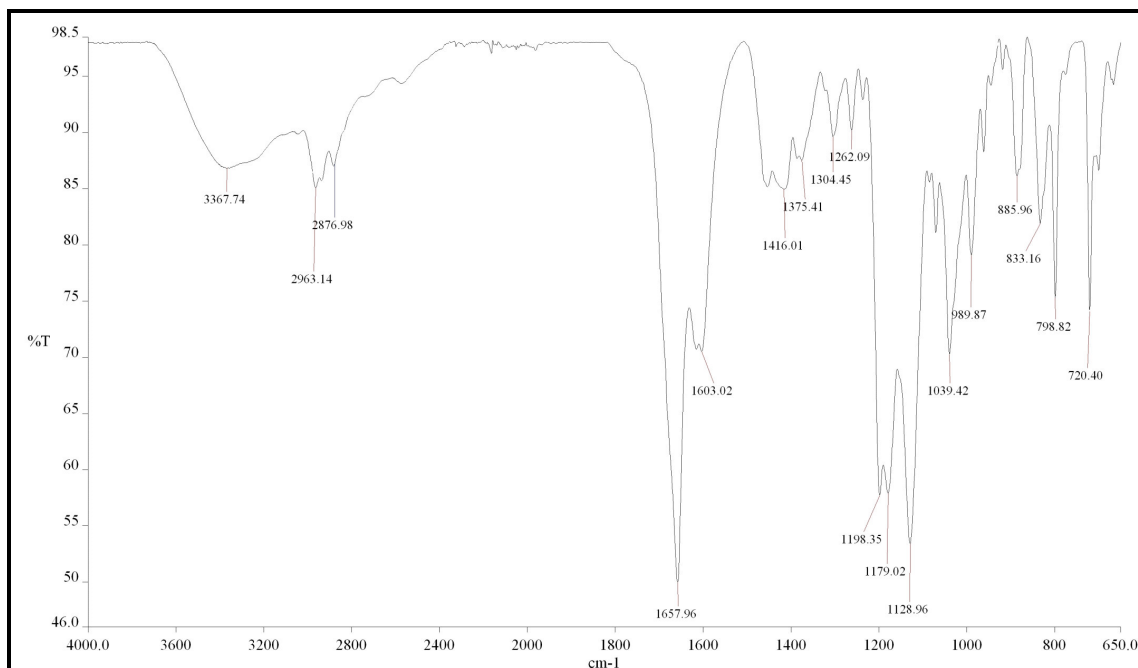


Figura 19- Espectro de absorção na região do IV de SC-5

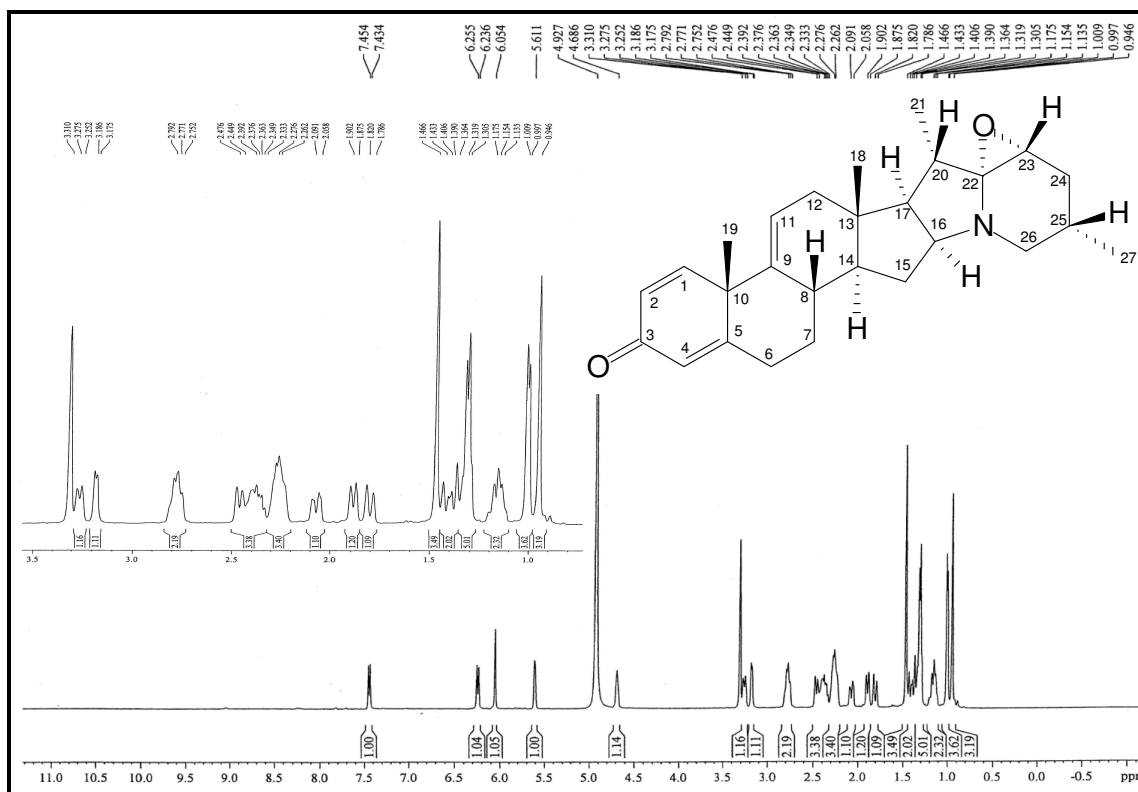


Figura 20- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-5

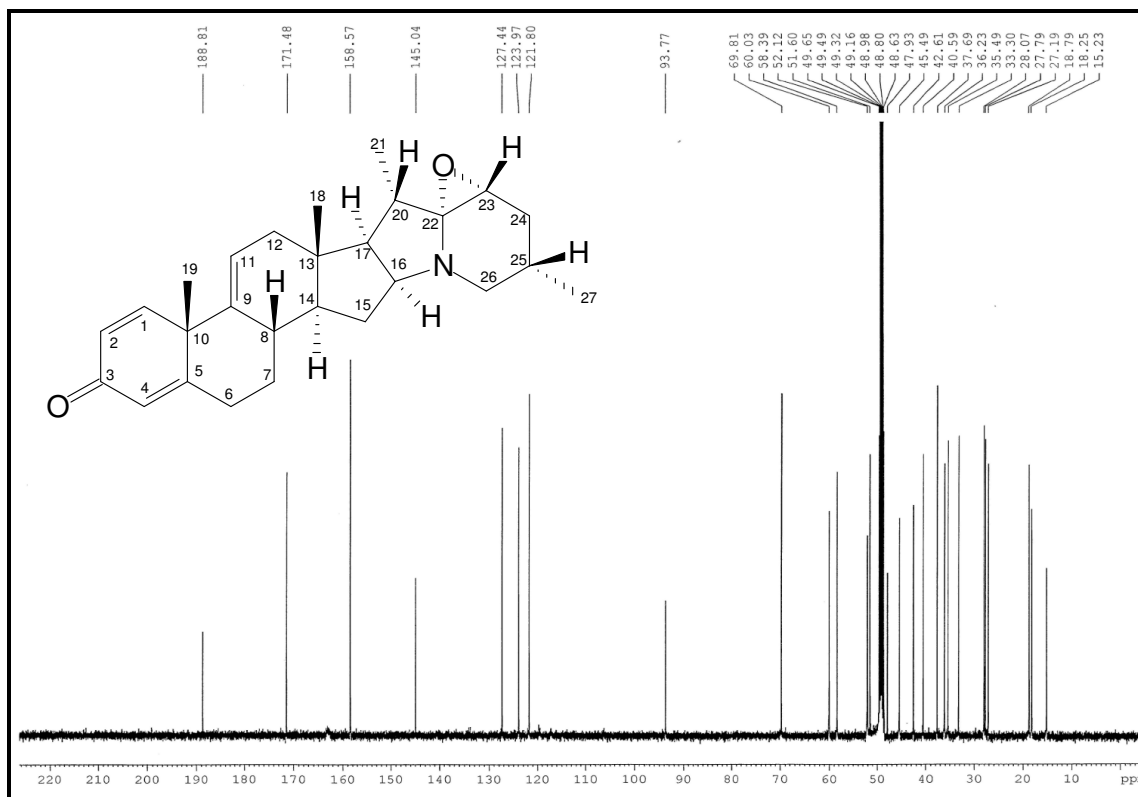


Figura 21- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-5

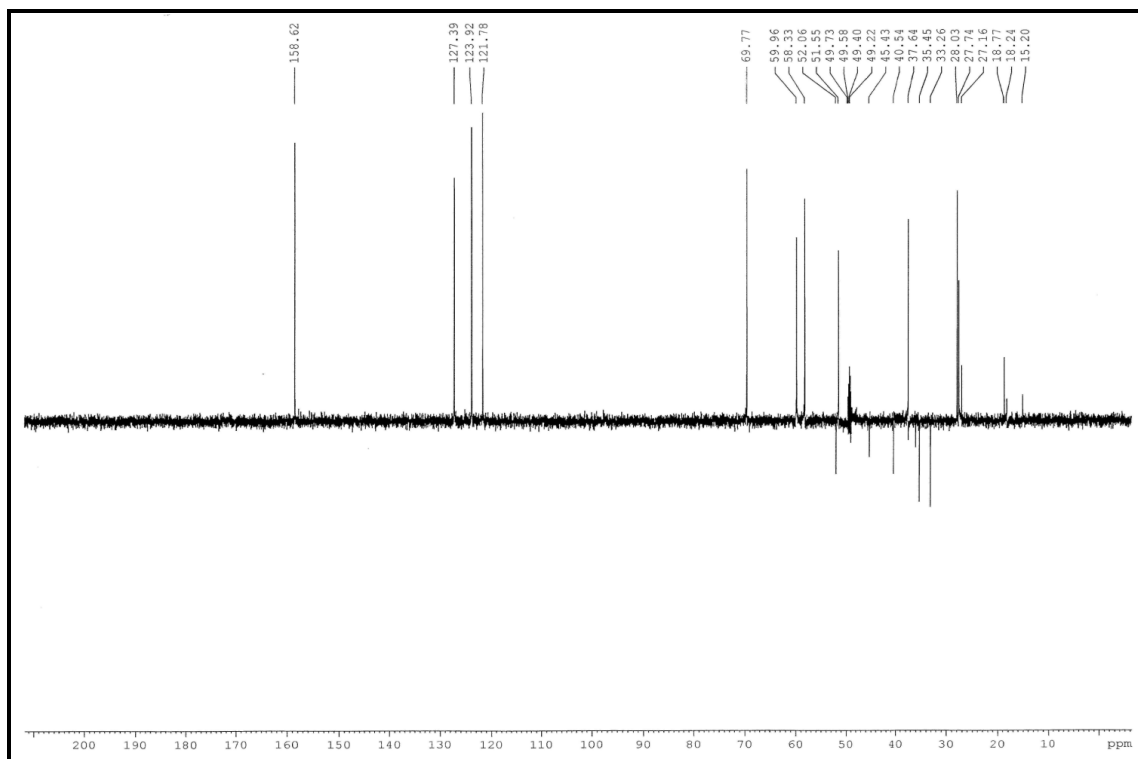


Figura 22- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-5

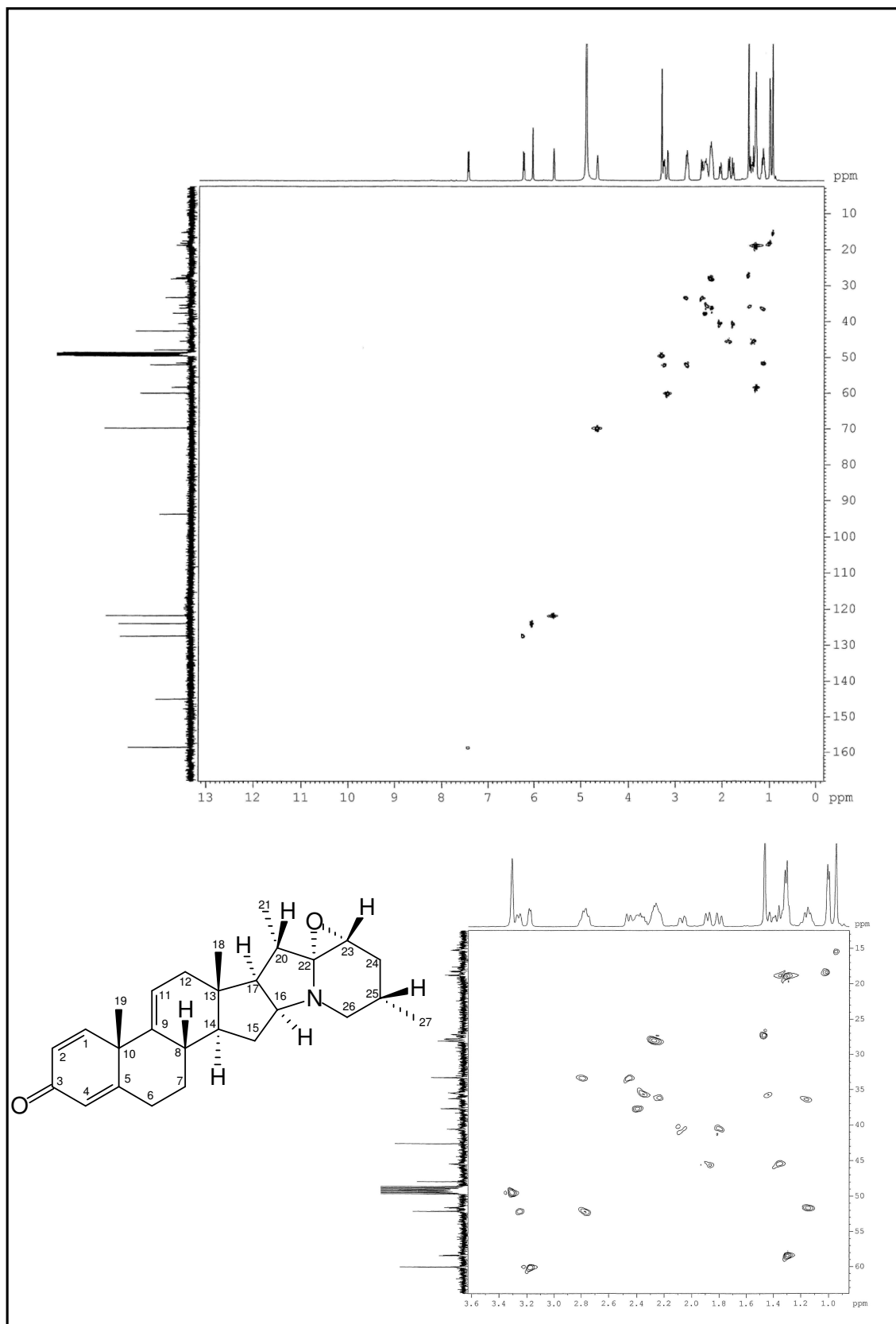


Figura 23- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-5

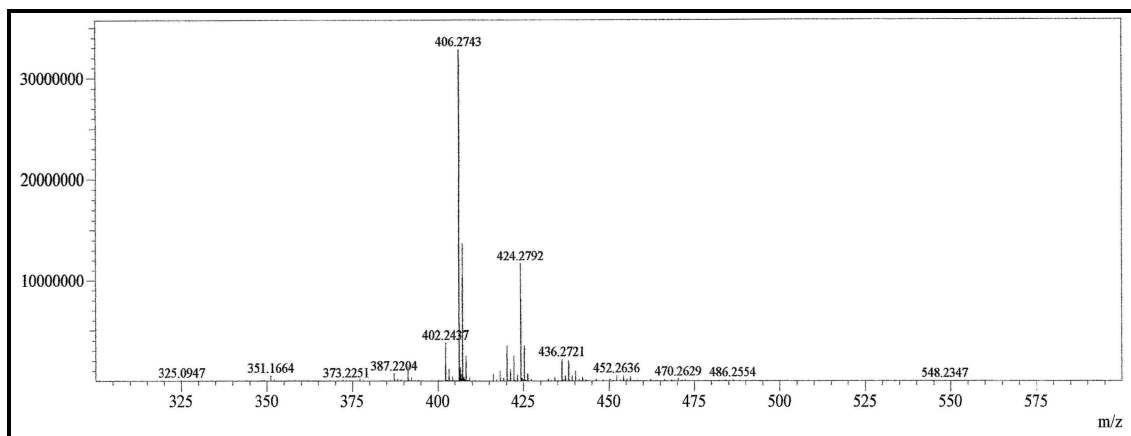


Figura 24- Espectro de massas (IES-EM) de SC-5

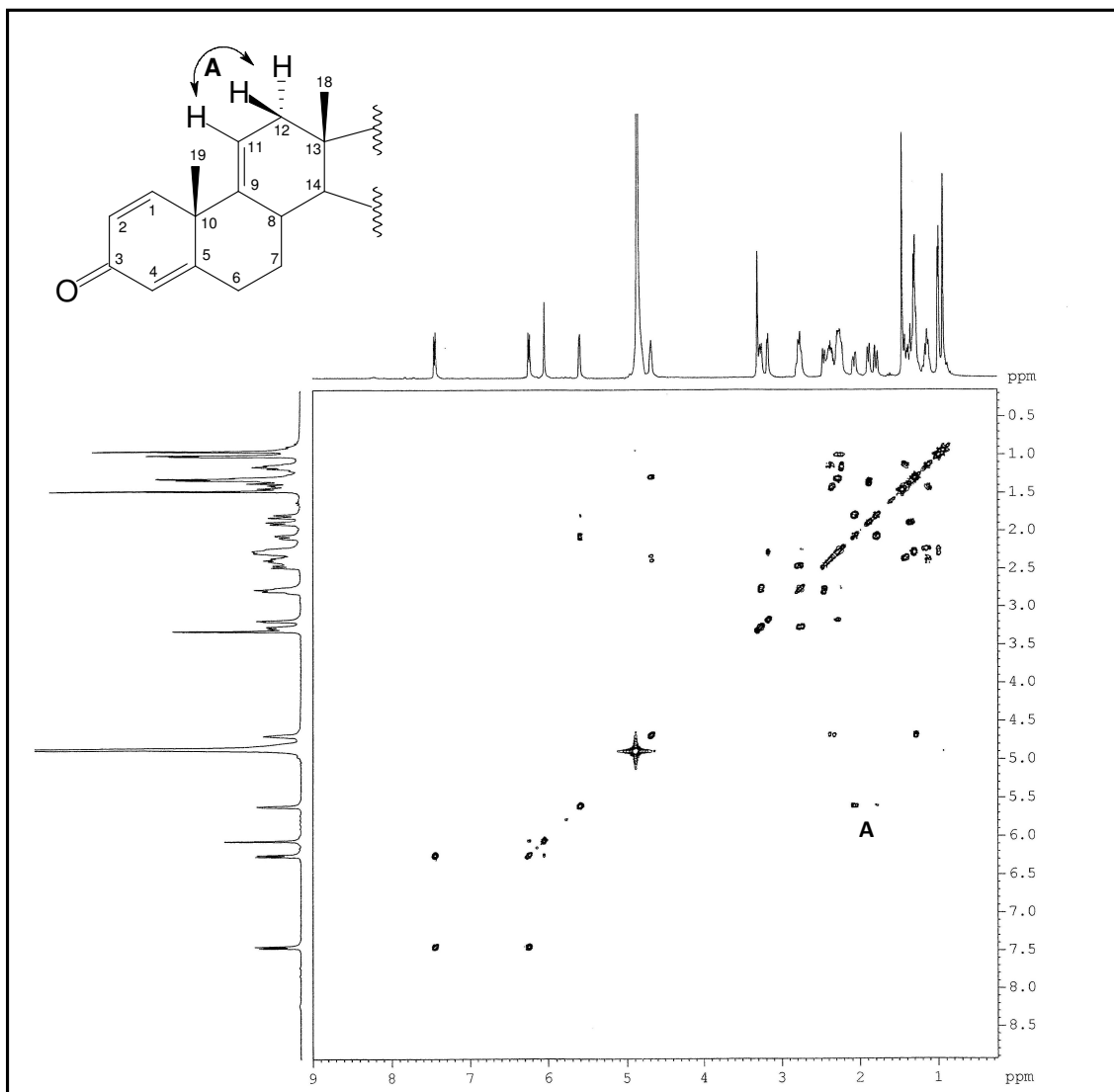


Figura 25. Espectro de RMN-COSY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-5

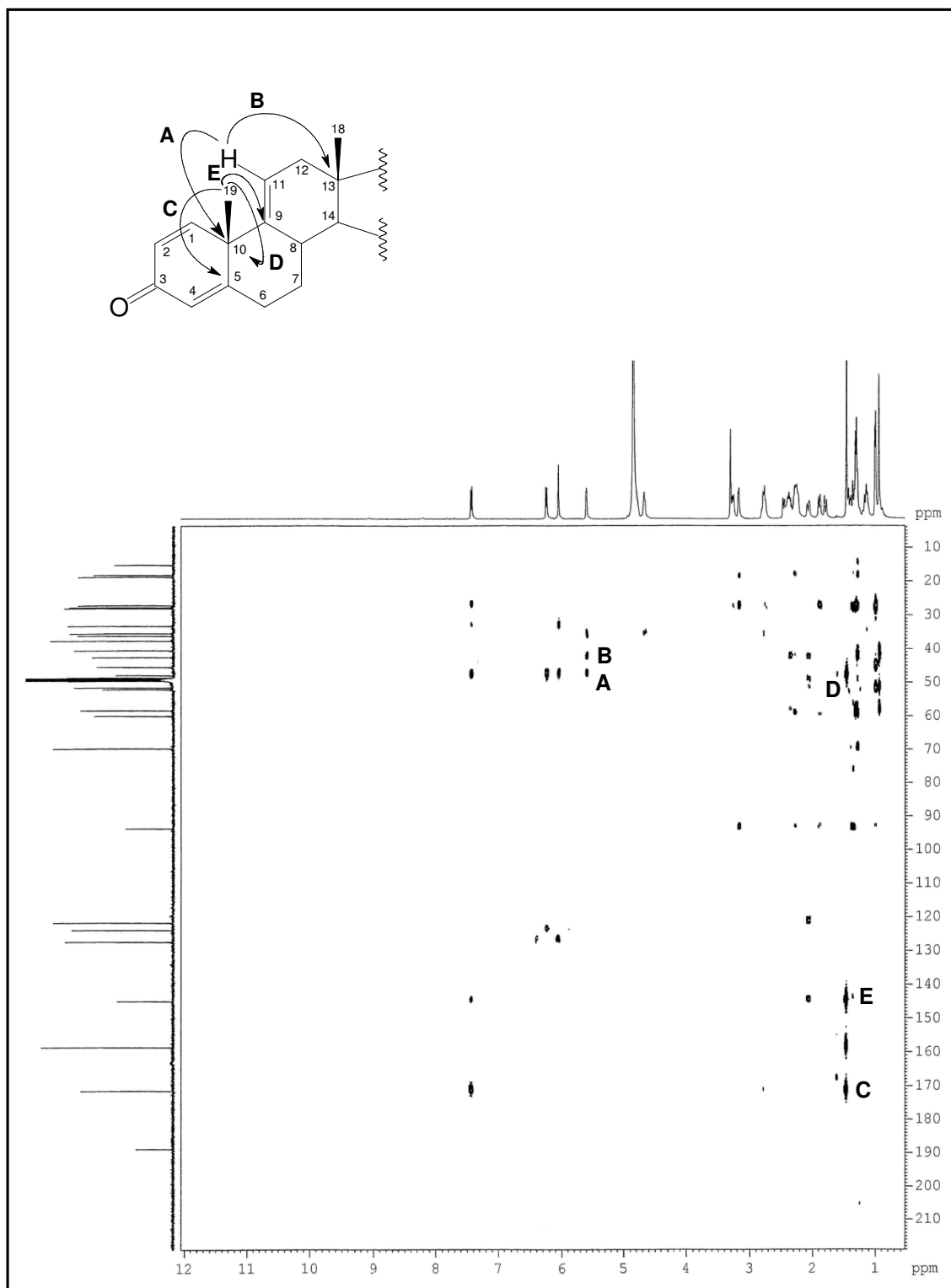


Figura 26- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz,) de SC-5

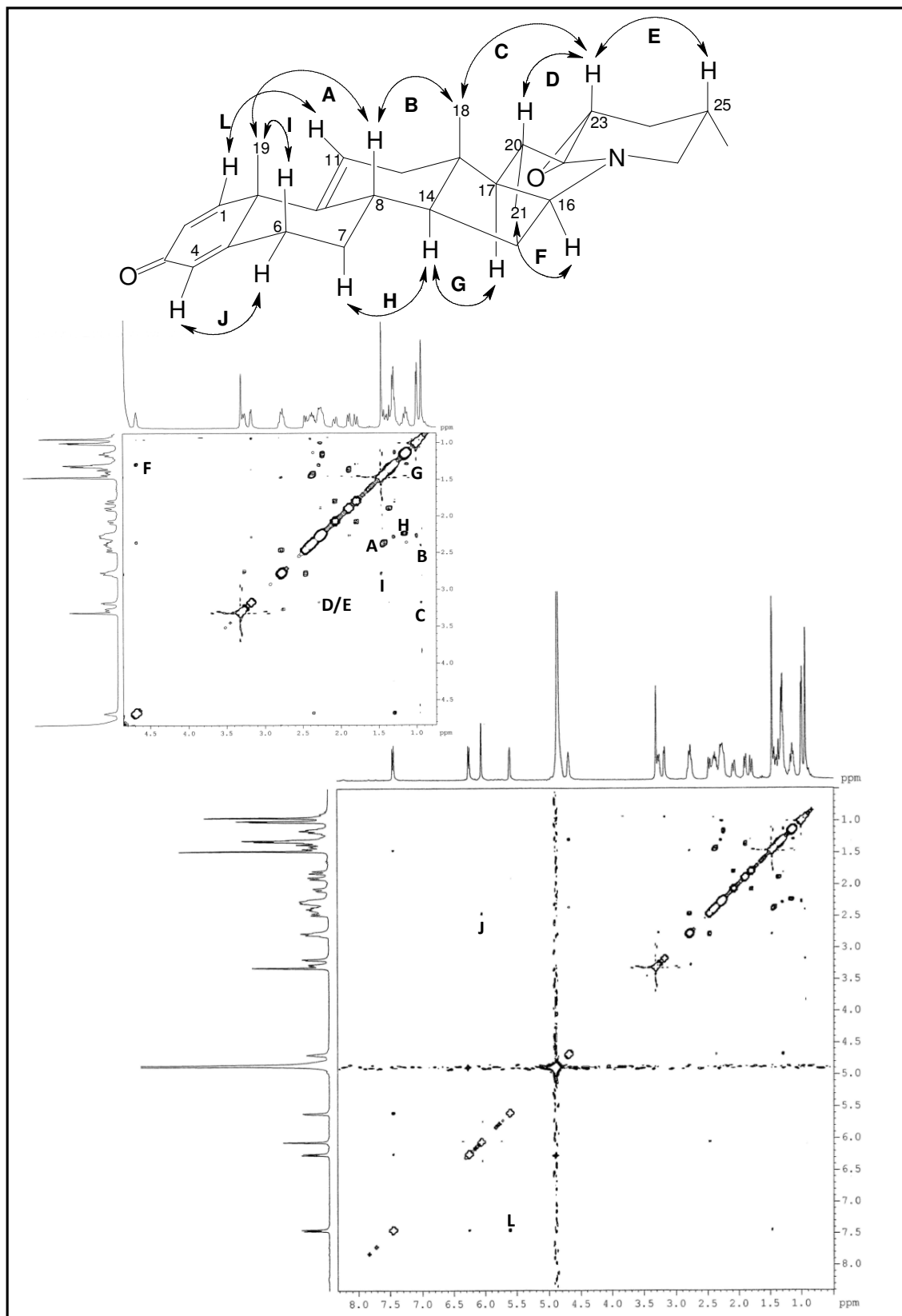


Figura 27-. Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-5

4.1.1.3 Determinação estrutural de **SC-11**

Sucessivas cromatografias, incluindo SPE-C18 e purificação em CLAE (fase reversa) da fração EESC-D forneceu **SC-11** (8,1 mg) (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), que apresentou-se na forma de um resina branco ($[\alpha]_D^{25} = -793 - \text{MeOH}, c 0,002$).

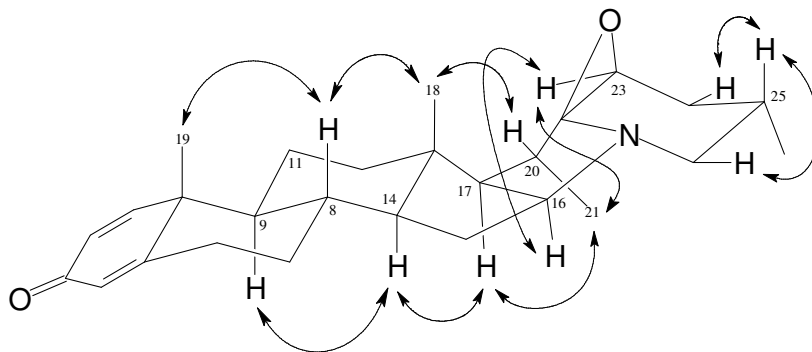
Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras. 28 a 30, p. 63 e 64) mostraram-se semelhantes aos de **SC-6**. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figura 30, p. 64) também exibiu vinte e sete linhas espectrais, das quais cinco foram correspondentes a carbonos não-hidrogenados, onze a carbonos metínicos, sete a carbonos metilênicos e quatro a carbonos metílicos, quando comparado com espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (Figura 31, p. 64), coincidente com o padrão de hidrogenação encontrado para **SC-6** (Tabela 6, p. 62).

A análise comparativa dos deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C , incluindo informações obtidas do espectro HSQC (Figura 32, p. 64) de **SC-11** com aqueles de **SC-6** é mostrada na Tabela 7 (p. 62) e aponta que os dois compostos diferem, principalmente, nos deslocamentos químicos dos átomos de carbonos C-16 (δ_C 72,2); C-17 (δ_C 62,0); C-21 (δ_C 16,3); C-22 (δ_C 95,8); C-23 (δ_C 62,7) C-24 (δ_C 41,2) e C-26 (δ_C 45,9) pertencentes aos anéis **E** e **F** do esqueleto básico solanidano. Estas informações aliadas ao íon correspondente a molécula protonada $[\text{M} + \text{H}]^+$ em m/z 408,2895 (calculado m/z 408,2897; erro = -0,49 ppm), observado no espectro de massas de alta resolução (Figura 33, p. 64), que indicou a fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{NO}_2$, revelou que o composto em questão tratava-se de um isômero de **SC-6**.

Os acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY (Figuras 34, p. 66) entre o hidrogênio em δ_H 3,16 (H-23) e os hidrogênios em δ_H 4,37 (H-16) e 1,10 (3H-21) confirmam a orientação β para o epóxido. No entanto, a falta de interação entre o sinal em δ_H 1,10 (CH₃-21) com outros sinais que pudessem confirmar a orientação α para metila CH₃-21, nos levou a realizar este experimento utilizando desta vez piridina.

Este experimento (Figura 33 p. 65), além de confirmar a orientação β para o epóxido através das interações entre o hidrogênio em δ_H 3,65 (H-23) e os hidrogênios em δ_H 4,62 (H-16) e 1,45 (3H-21), permitiu definir com segurança a orientação α do grupo metila CH₃-21 através das interações espaciais entre o hidrogênio em δ_H 1,23 (H-17) e os hidrogênios em δ_H 0,78 (H-14) e 1,45 (3H-21). É digno de nota mencionar que o epóxido em posição β promove a blindagem da metila CH₃-21 em posição α , devido ao efeito γ exercido pelo oxigênio do grupo epóxido.

Outros acoplamentos dipolares importantes utilizados para a atribuição da estereoquímica relativa dos demais centros estereogênicos de **SC-11** estão sumarizados na estrutura **I**.



(I)

A união dos dados discutidos permitiu estabelecer a estrutura de **SC-11** como o alcalóide esteroidal de esqueleto solanidano $22\beta,23\beta$ -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona, o qual está sendo relatado pela primeira vez.

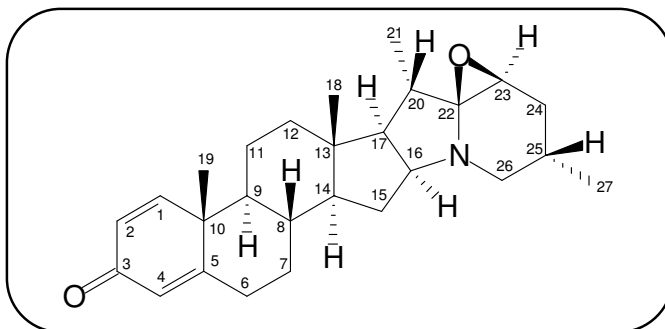


Tabela 6- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de **SC-11**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH₂	CH₃	Fórmula Molecular
189,0 (C=O)	159,5 (C=C)	45,9 (C-N)	19,2	
173,5 (C=C)	127,8 (C=C)	41,5	18,3	
95,8 (N-C-O)	124,2 (C=C)	40,9	16,3	
45,5	72,2 (C-N)	36,2	15,5	
43,2	62,7	35,2		
	62,0	34,3		
	54,2	33,9		
	53,6			
	36,3			
	27,6			
	27,0			
5C	11CH	7CH₂	4CH₃	C₂₇H₃₇NO₂

Tabela 7- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-11**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-6**.

# C	SC-11		SC-6	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	159,5	7,28 (<i>d</i> ; 10,0)	159,2	7,25 (<i>d</i> ; 10,0)
2	127,8	6,21 (<i>d</i> ; 10,0)	127,8	6,17 (<i>d</i> ; 10,0)
3	189,0	-	188,8	-
4	124,2	6,06 (<i>s</i>)	124,2	6,02 (<i>s</i>)
5	173,5	-	173,6	-
6	33,9	2,59; 2,39	33,4	2,56 (<i>dt</i>); 2,37 (<i>d</i> ; 13,0)
7	35,2	2,03; 1,09	35,0	1,98 (<i>dl</i> ; 12,0) 1,04
8	36,3	1,88	36,4	1,77
9	54,2	1,10	54,8	1,05
10	45,5	-	45,6	-
11	23,9	1,79	23,5	1,78
12	40,9	1,97; 1,29	38,0	1,80; 1,20
13	43,2	-	43,0	-
14	53,6	1,01	51,6	0,90 (<i>m</i>)
15	34,3	2,11; 1,29	34,6	2,16; 1,38
16	72,2	4,37 (<i>dd</i>; 7,2)	69,9	4,62 (<i>sl</i>)
17	62,0	1,29	58,7	1,17 (<i>d</i>; 6,5)
18	15,5	1,00 (<i>s</i>)	15,5	0,95
19	19,2	1,26 (<i>s</i>)	19,3	1,27 (<i>s</i>)
20	27,6	2,10	27,6	2,20 (<i>m</i>)
21	16,3	1,10 (<i>d</i>; 6,2)	19,0	1,26 (<i>d</i>; 7,0)
22	95,8	-	93,7	-
23	62,7	3,16 (<i>d</i>; 12,0)	60,1	3,12 (<i>d</i>; 6,5)
24	41,5	1,97; 1,53 (<i>t</i>; 13,4)	45,6	1,83; 1,36
25	27,0	2,10	28,1	2,16
26	45,9	3,04 (<i>dl</i>; 11,0); 2,64	52,2	3,21 (<i>dl</i>; 12,0); 2,70 (<i>t</i>; 12,0)
27	18,3	1,01	18,3	0,96 (<i>d</i> ; 6,5)

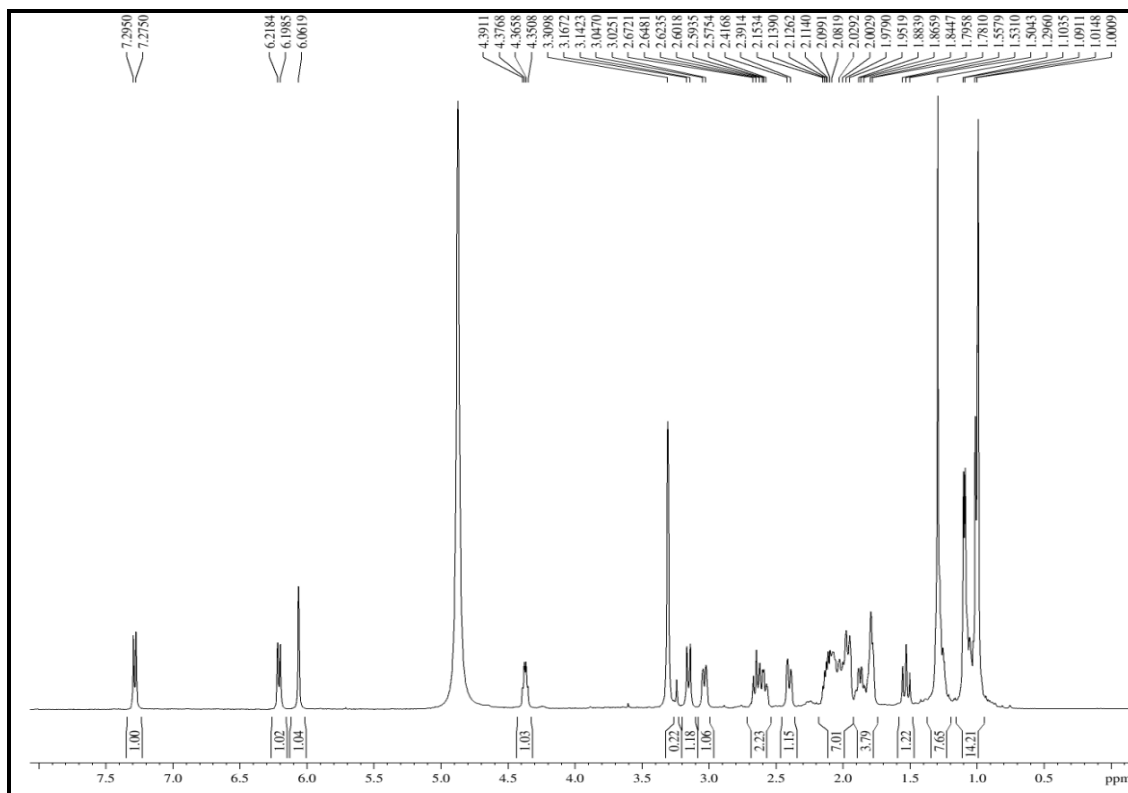


Figura 28- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-11

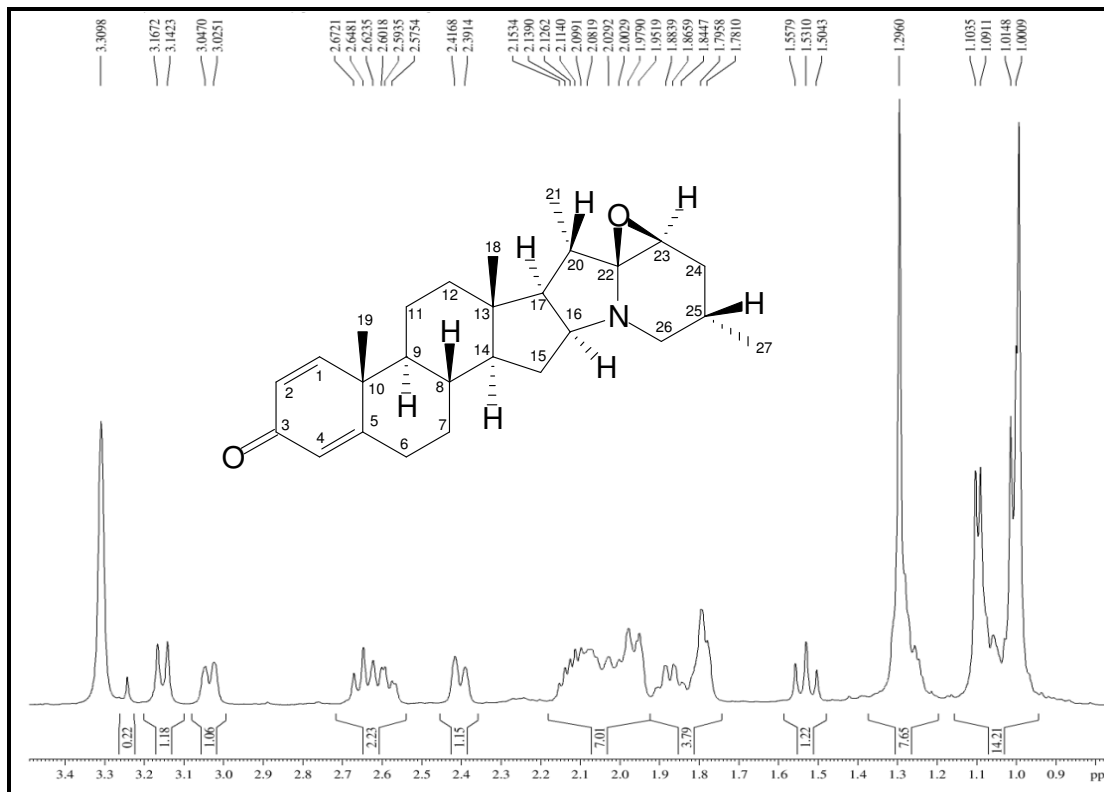


Figura 29- Expansão do espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-11

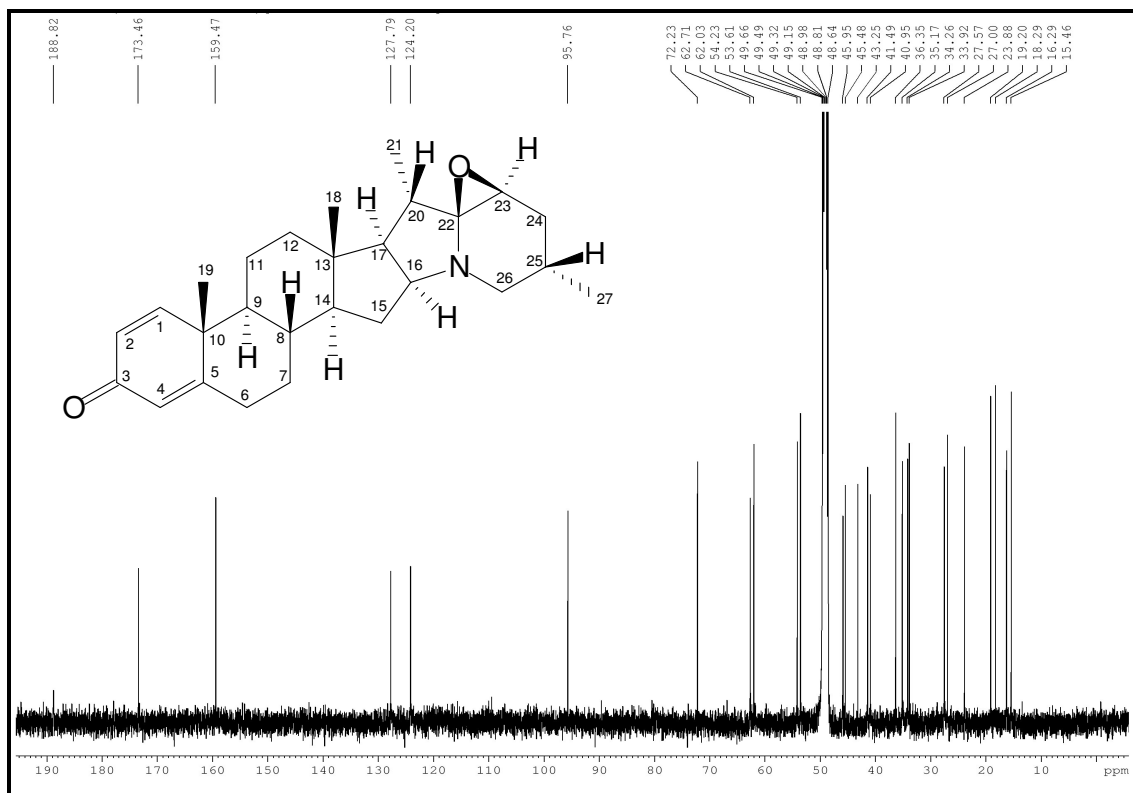


Figura 30- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-11

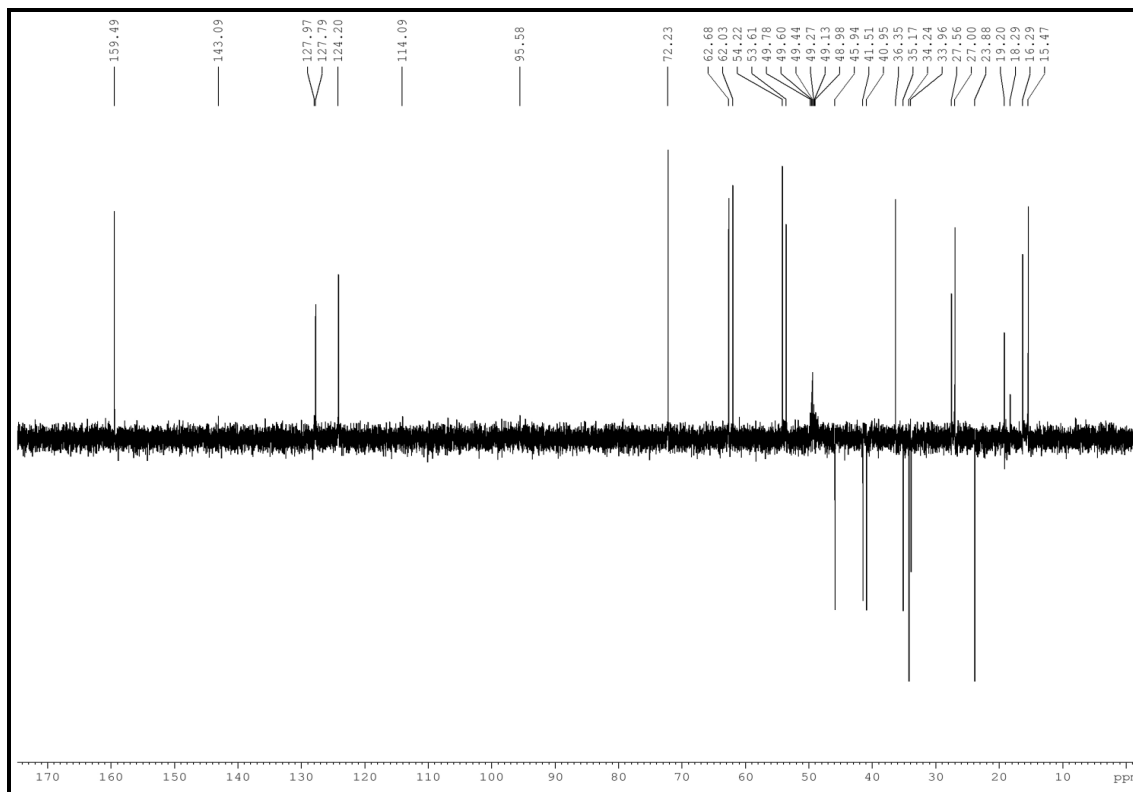


Figura 31- Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-11

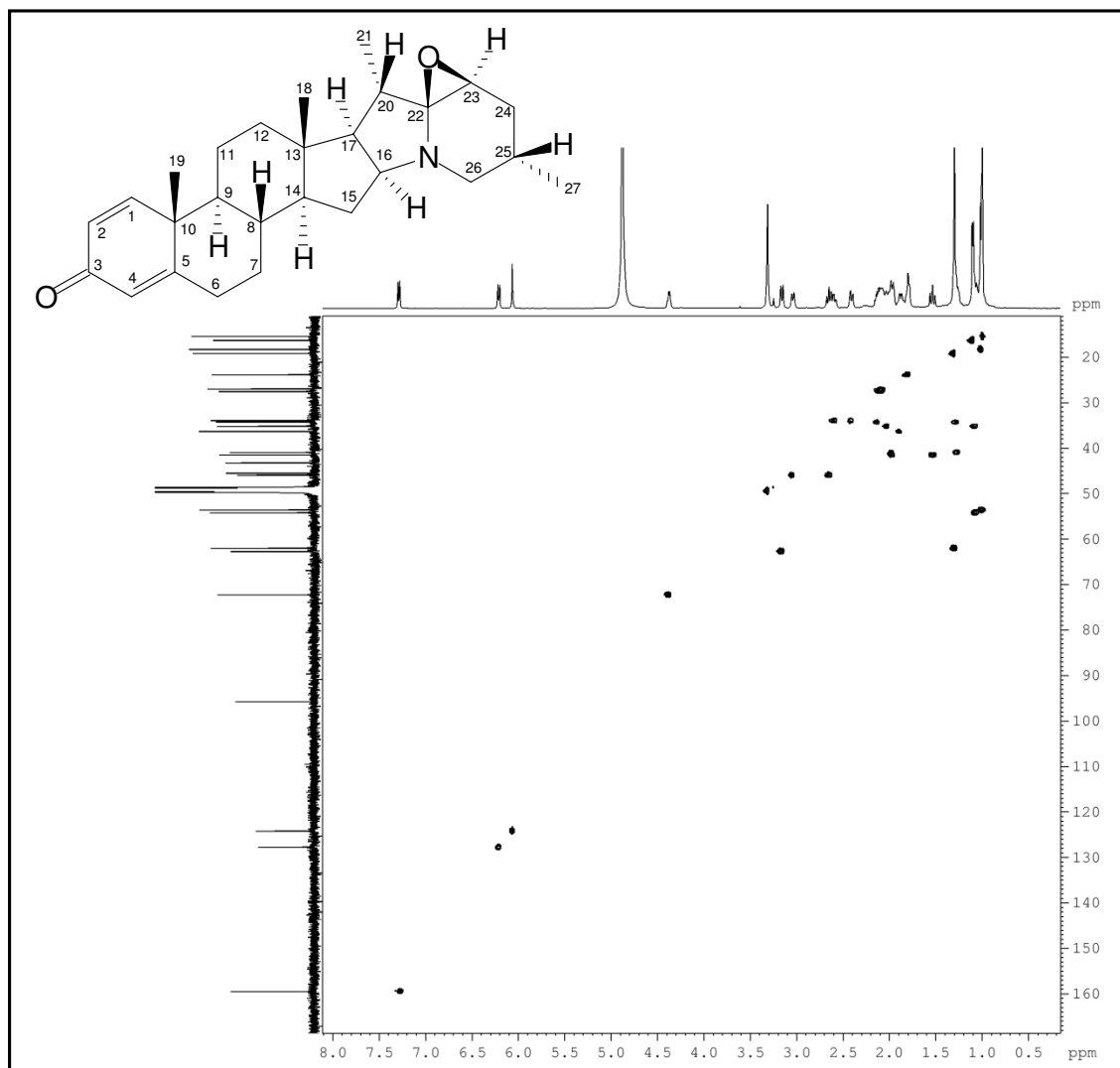


Figura 32- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-11

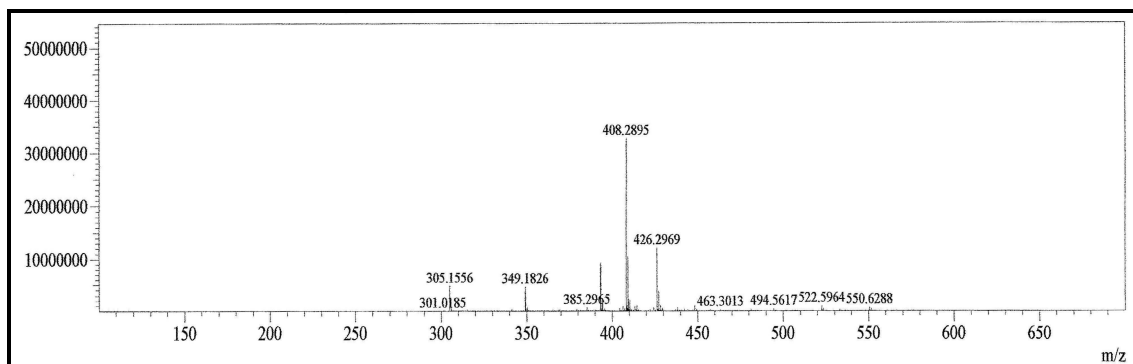


Figura 33- Espectro de massas (IES-EM) de SC-11

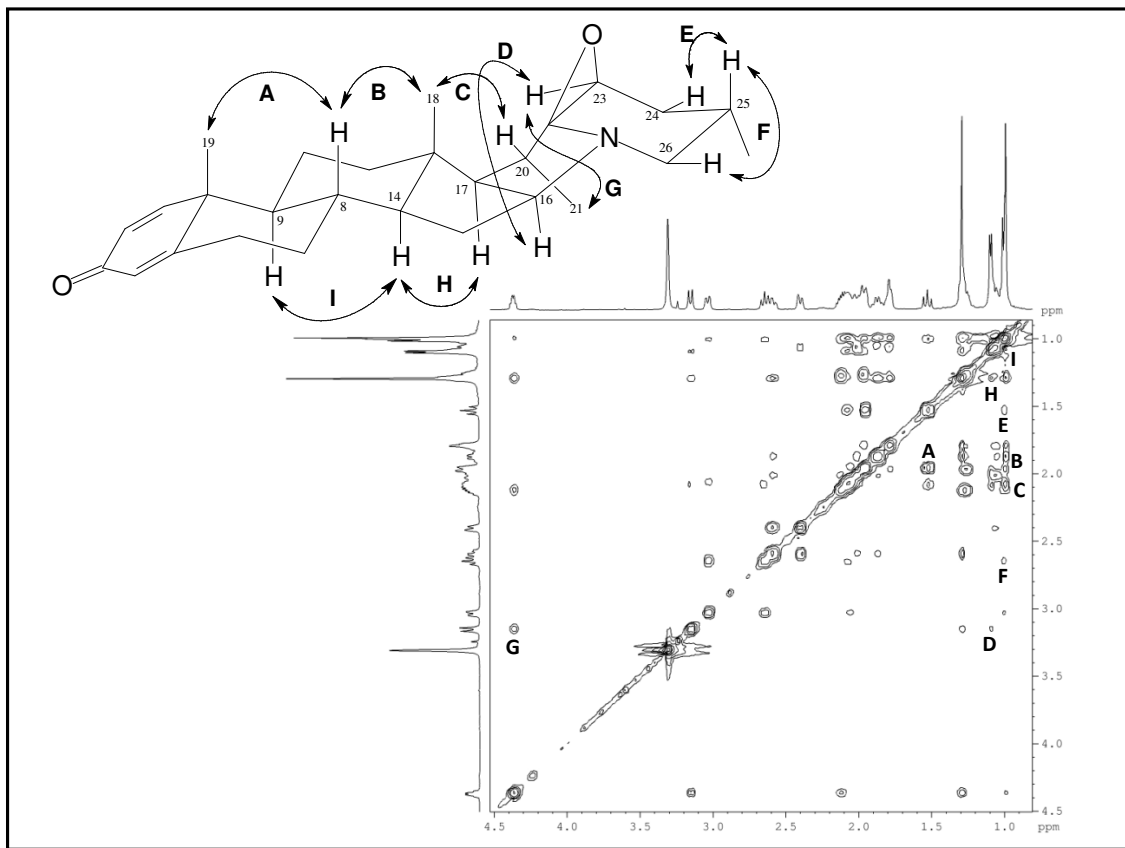


Figura 34- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-11

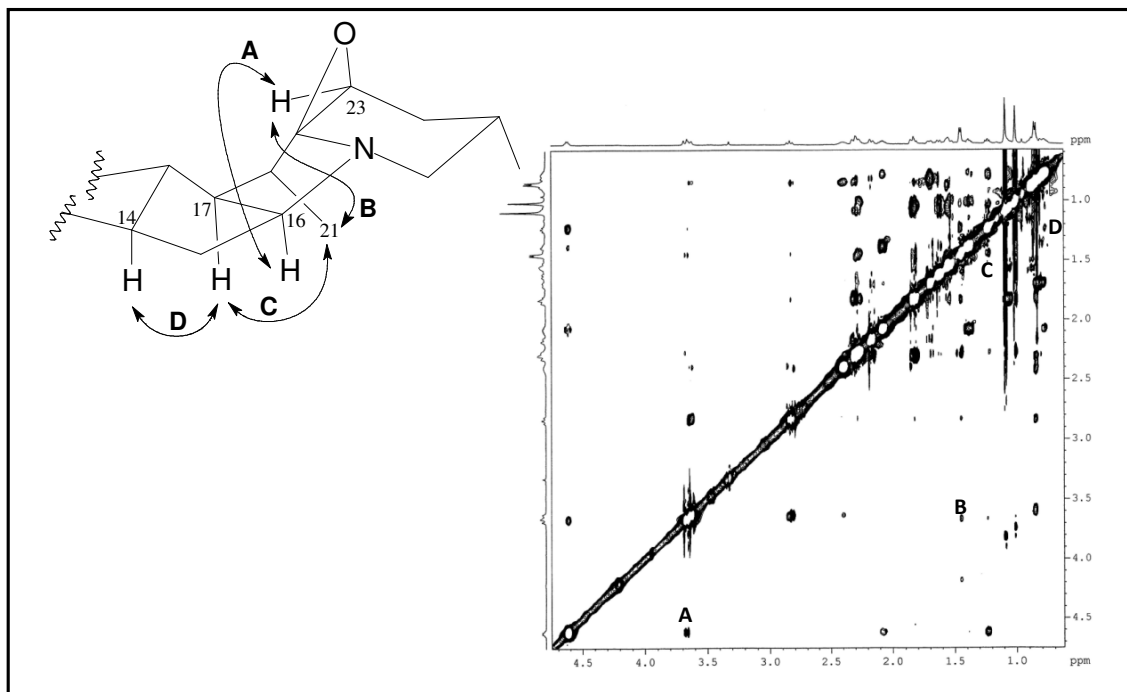


Figura 35- Espectro de RMN-NOESY (piridina-*d*₅, 500 x 500 MHz) de SC-11

4.1.1.4 Determinação estrutural de **SC-12**

O composto denominado **SC-12** (4,0 mg) (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225) apresentou-se como um resina de cor branca ($[\alpha]_D^{25} = -517 - \text{MeOH}, c 0,002$).

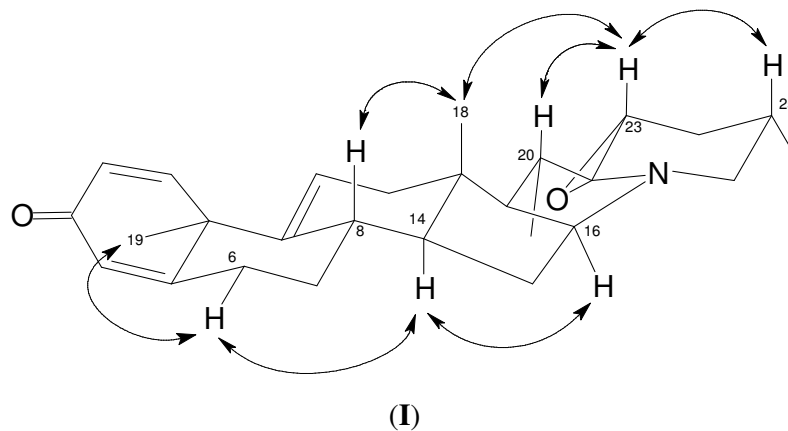
O espectro de massas de alta resolução (Figura 36, p. 70) mostrou o íon *quasi* molecular $[M + H]^+$ com m/z 406,2757 (calculado m/z 406,2741; erro = 3,94 ppm), compatível com a fórmula molecular $C_{27}H_{35}NO_2$, a mesma encontrada para **SC-5**, e portanto um isômero deste.

A análise dos espectros de RMN de 1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras 37 e 38, p. 70 e 71) exibiu claramente a semelhança estrutural do composto em discussão com **SC-5**. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figura 38, p.70) também apresentou vinte e sete linhas espectrais, das quais seis foram correspondentes a carbonos não-hidrogenados, onze a carbonos metínicos, seis a carbonos metilênicos e quatro a carbonos metílicos, quando comparado com o espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (Figura 39, p. 71), evidenciando o mesmo padrão de hidrogenação encontrado para **SC-5** (Tabela 8, p. 69).

Através da análise comparativa dos dados espectrais de RMN de ^{13}C de **SC-12** com aqueles de **SC-5** (Tabela 9, p. 69), foi possível identificar cinco sinais na região de carbono sp^2 , que assim como em **SC-5**, indicaram a presença de três ligações duplas em δ_C 160,1 (C-1); 127,3 (C-2); 123,2 (C-4); 170,7 (C-5) 140,7 (C-10); 127,0 (C-11) e uma carbonila duplamente conjugada em δ_C 189,9 (C-3) na molécula. Isto está de acordo com os sinais observados no espectro de RMN de 1H em δ_H 7,02 (d; $J = 9,8$ Hz; H-1); 6,19 (d; $J = 9,8$ Hz; H-2); 6,07 (s; H-4) e 5,91 (sl; H-11), os quais apresentaram correlações no espectro HSQC (Figura 40, p. 72) com os sinais de carbono em δ_C 160,1 (C-1); 127,3 (C-2); 123,2 (C-4) e 127,0 (C-11), respectivamente. Pôde-se ainda verificar que os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C dos anéis **D**, **E** e **F** são semelhantes aos de **SC-5**, diferindo nos sinais em δ_C 160,1 (C-1); 27,2 (C-6); 41,9 (C-8) 140,7 (C-9); 42,9 (C-10); 127,0 (C-11) e 24,9 (C-19) dos anéis **A**, **B** e **C**.

As interações espaciais observados no espectro NOESY (Figura 41, p. 73) entre o hidrogênio em δ_H 1,59 (H α -6) e os hidrogênios em δ_H 1,18 (3H-19) e 1,40 (H-14) e deste último com o hidrogênio em δ_H 4,72 (H-16), foram de extrema importância para propor uma orientação α para a metila ligada ao carbono C-10. A posição α do grupo metila justifica a proteção no carbono C-6 ($\Delta\delta = 6,1$) resultante da compressão estérica da interação γ gauche e a desproteção do carbono C-8 ($\Delta\delta = 4,2$), quando comparado ao deslocamento químico dos

carbonos C-6 e C-8 em **SC-5** (Tabela 9, p. 69). Outros acoplamentos dipolares importantes estão ilustrados na estrutura **I**, justificando a atribuição da estereoquímica relativa dos demais centros estereogênicos presentes na molécula, igual àquela estabelecida para **SC-5**.



A combinação dos dados espectrométricos discutidos acima permitiram estabelecer que **SC-12** trata-se do alcalóide $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-10-epi-solanida-1,4,9-trien-3-ona, ainda não relatado na literatura.

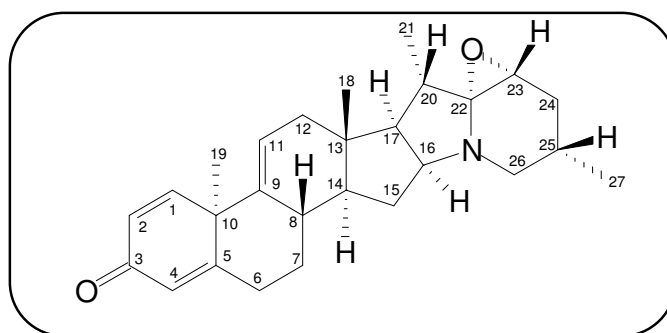


Tabela 8- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de **SC-12**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH₂	CH₃	Fórmula Molecular
198,9 (C=O)	160,1 (C=C)	52,1 (C-N)	24,9	
170,8 (C=C)	127,3 (C=C)	45,4	18,8	
140,7 (C=C)	127,0 (C=C)	40,7	18,2	
93,8 (N-C-O)	123,2 (C=C)	36,1	15,8	
43,0	69,9 (C-N)	35,0		
42,9	60,0	27,2		
	58,2			
	51,3			
	41,9			
	28,2			
	27,9			
6C	11CH	6CH₂	4CH₃	C₂₇H₃₅NO₂

Tabela 9- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-12**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-5**

# C	SC-12		SC-5	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	160,1	7,02 (d; 9,8)	158,6	7,44 (d; 9,5)
2	127,3	6,19 (d; 9,8)	127,4	6,24 (d; 9,5)
3	189,9	-	188,8	-
4	123,2	6,07 (s)	124,0	6,05 (s)
5	170,8	-	171,5	-
6	27,9	1,94; 2,1,59	33,3	2,70; 2,46 (d; 13,5)
7	36,1	1,96; 1,58	36,2	2,28; 1,20
8	41,9	2,02	37,7	2,38
9	140,7	-	145,0	-
10	42,7	-	47,9	-
11	127,3	5,91 (sl)	121,8	5,61 (sl)
12	40,7	2,16; 2,05	40,6	2,07 (dd; 17,0); 1,80 (d; 17,0)
13	43,0	-	42,6	-
14	51,3	1,40	51,6	1,16
15	35,0	2,38; 1,40	35,5	2,38; 1,50
16	69,8	4,72 (sl)	69,8	4,69 (sl)
17	58,2	1,41	58,4	1,30
18	15,4	0,90 (s)	15,2	0,95 (s)
19	24,9	1,18 (s)	28,0	1,47 (s)
20	27,9	2,30	27,8	2,27
21	18,8	1,35 (d; 7,3)	18,8	1,31 (d; 7,0)
22	93,8	-	93,8	-
23	60,0	3,18 (d; 6,5)	60,1	3,18 (d; 5,5)
24	45,4	1,89; 1,38	45,5	1,90; 1,35
25	28,2	2,30	28,1	2,26
26	52,1	3,26 (d; 9,0) 2,77 (t, 11,5)	52,1	3,26 (dl); 2,77 (m)
27	18,2	1,00 (d; 6,4)	18,2	1,00 (d; 6,0)

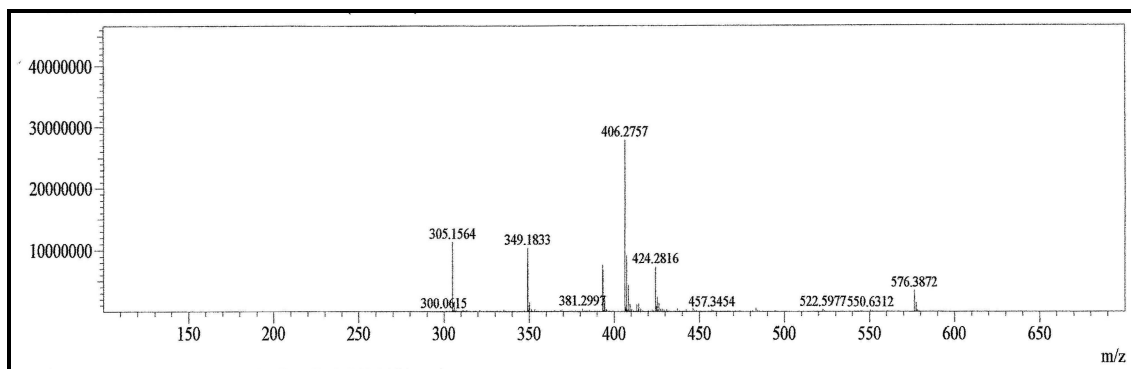


Figura 36- Espectro de massas (IES-EM) de SC-12

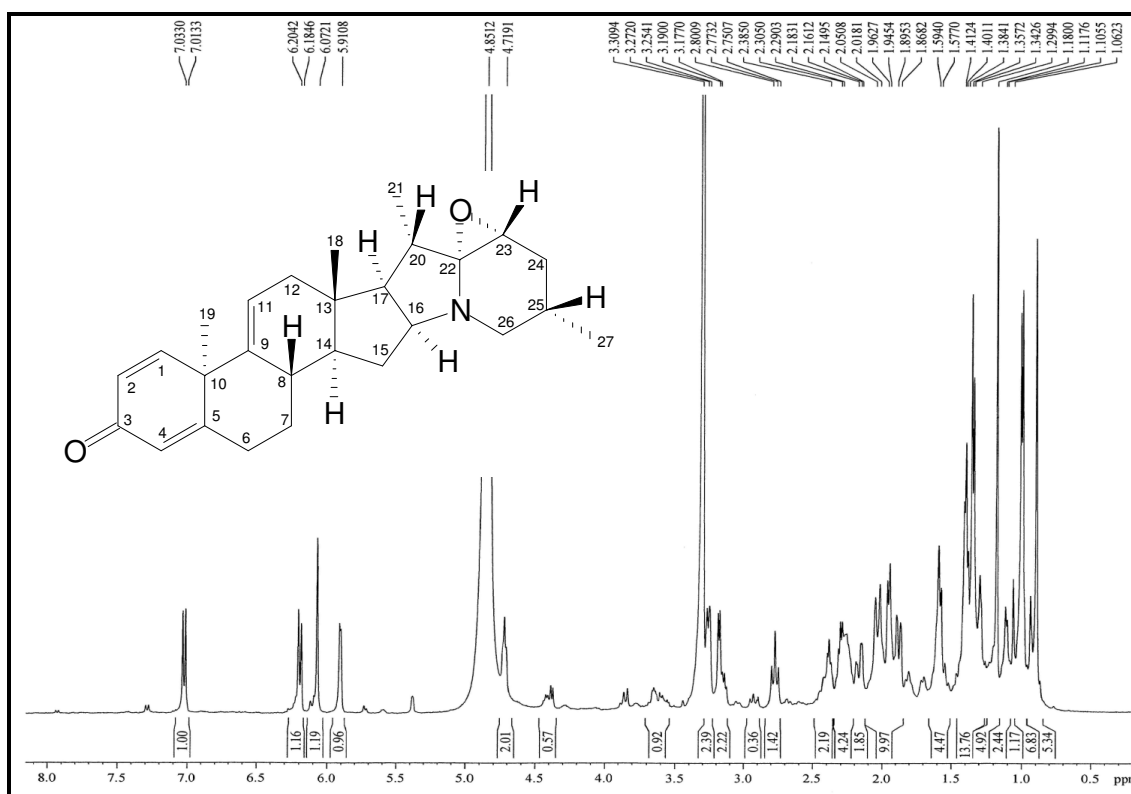


Figura 37- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-12

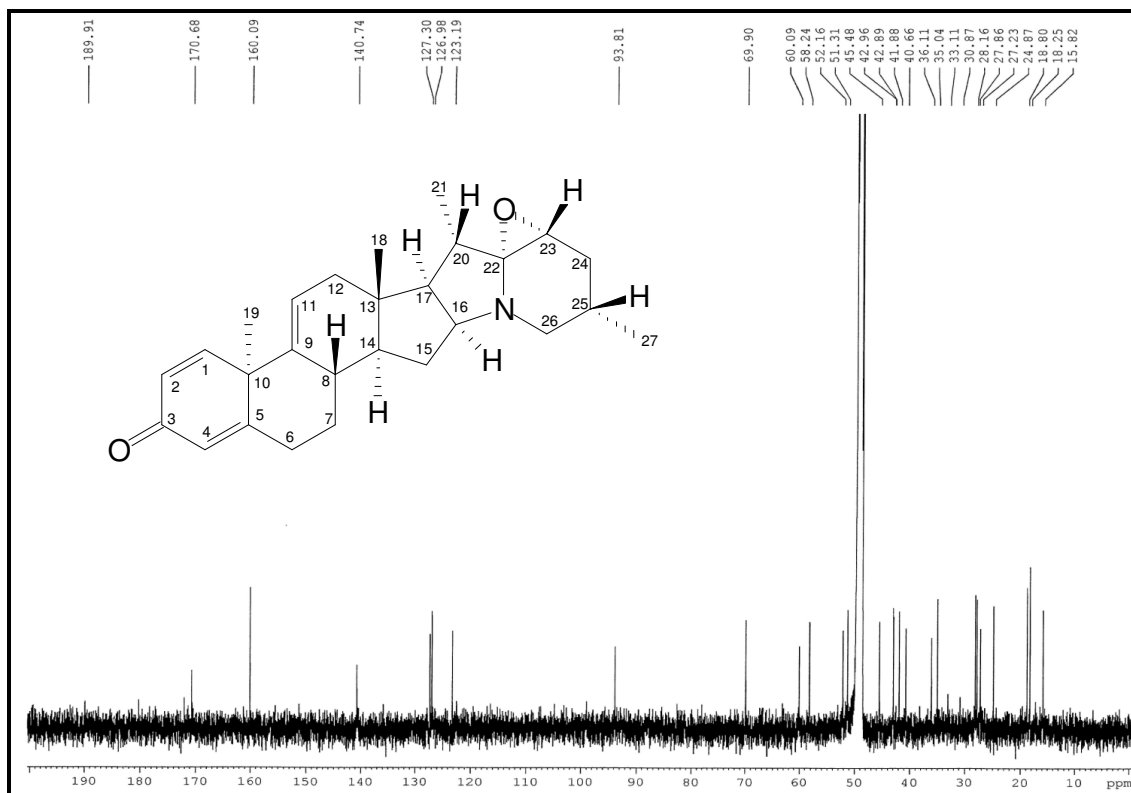


Figura 38- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-12

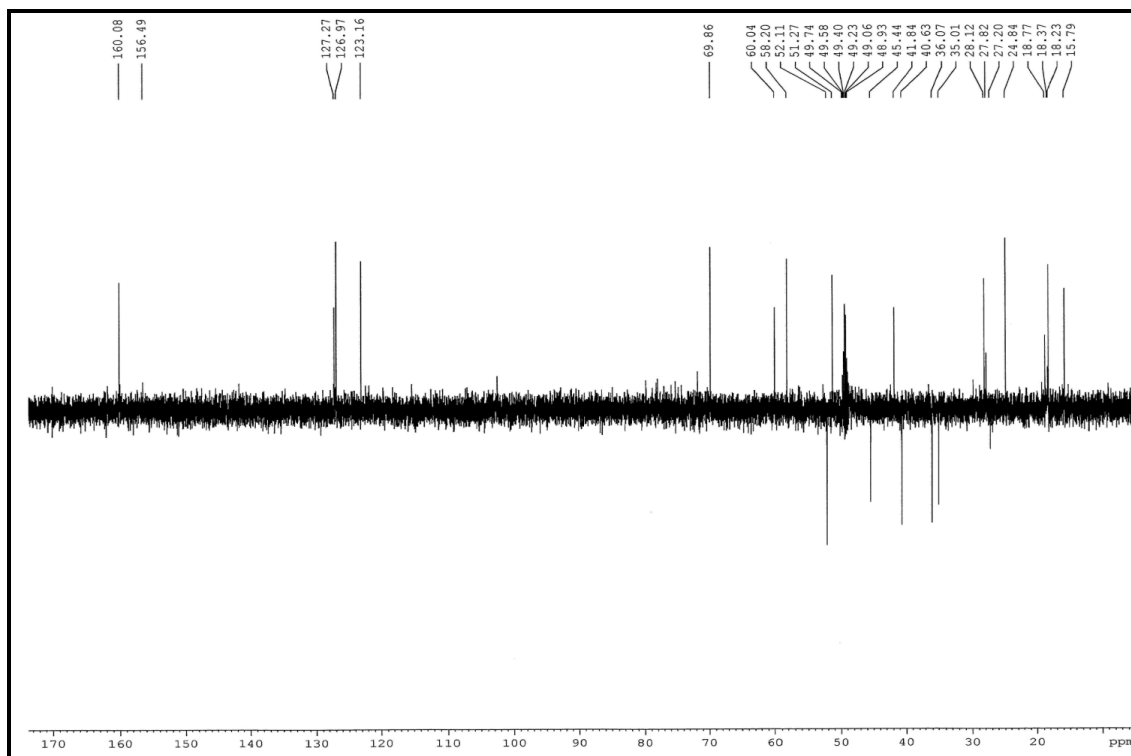


Figura 39- Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-12

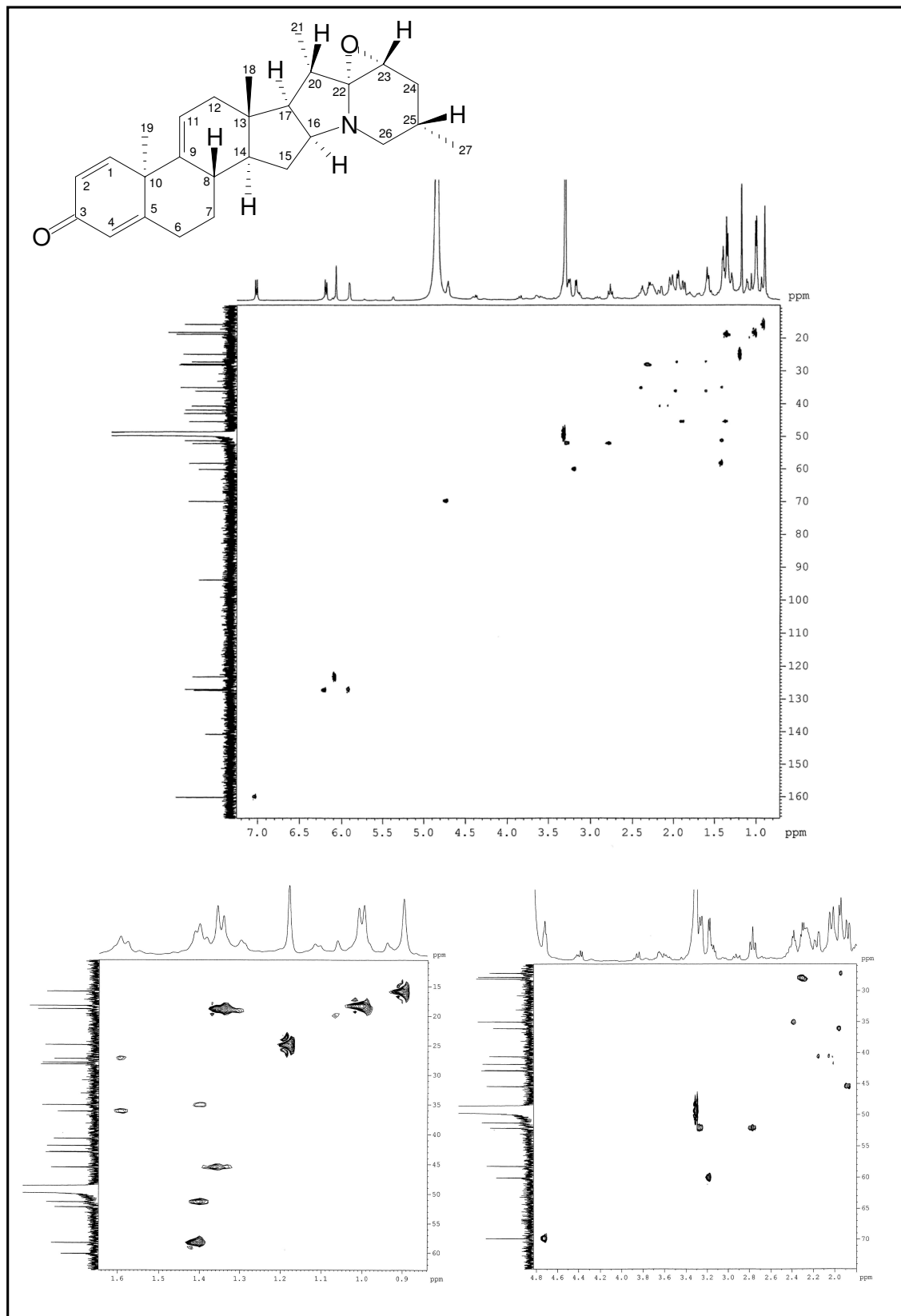


Figura 40- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-12

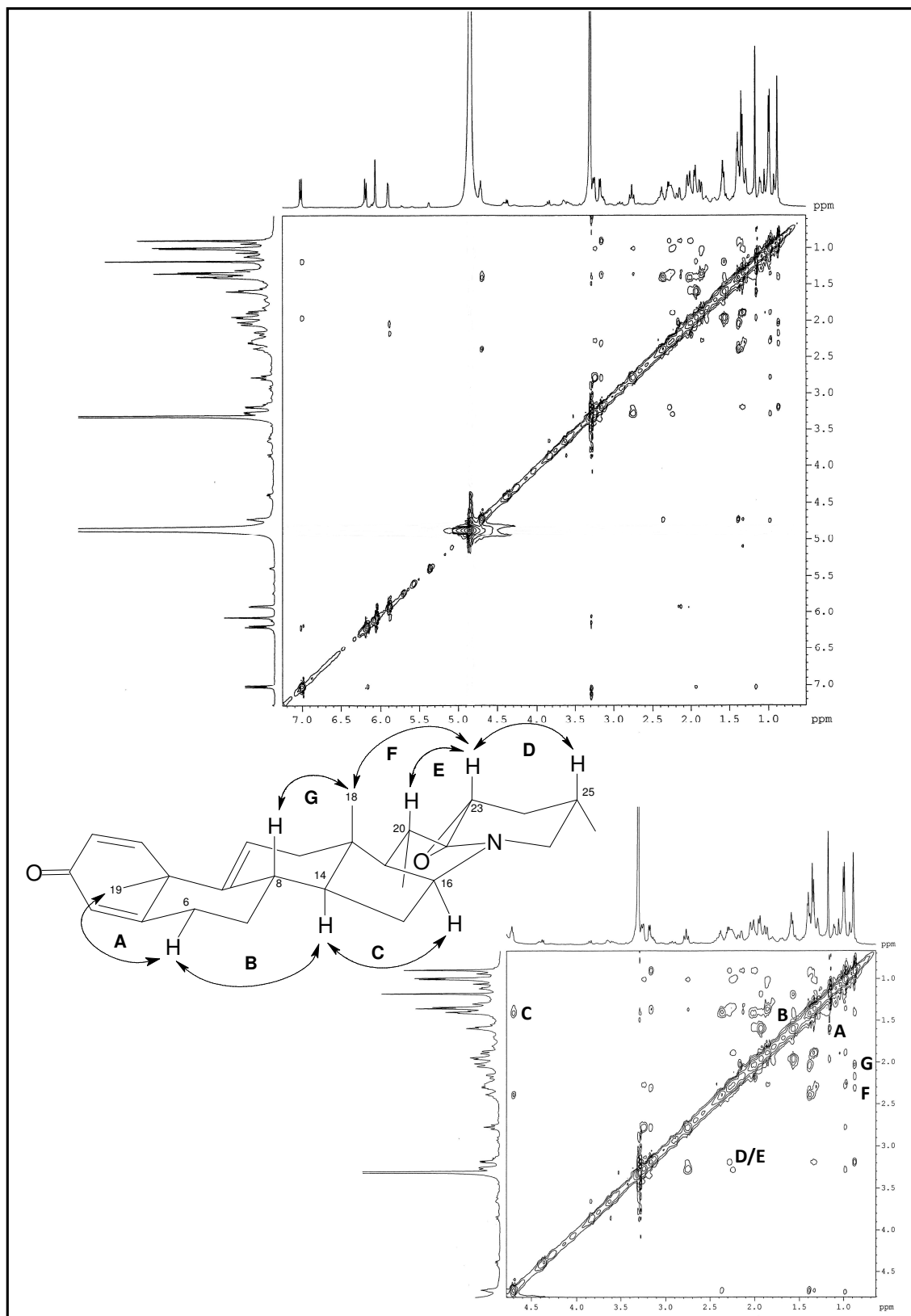


Figura 41- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-12

4.1.1.5 Determinação estrutural de **SC-14**

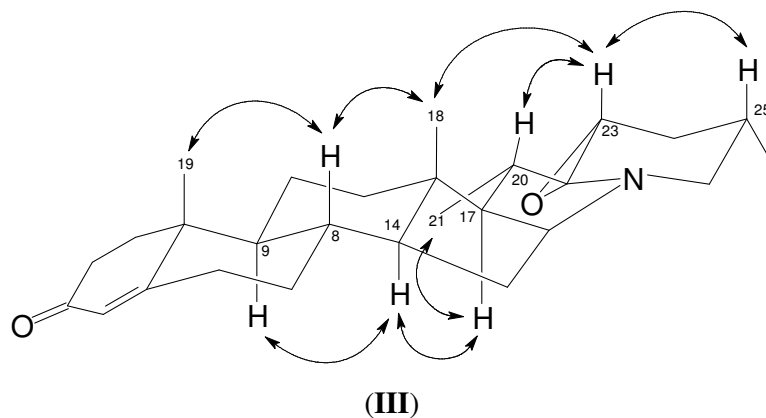
Denominado **SC-14** (18,0 mg), o pico 5 com $t_R = 16,31$ min. (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), apresentou-se na forma de um resina branca ($[\alpha]_D^{25} = +151 - \text{MeOH}$, c 0,002).

O espectro de massas de alta resolução (Figura 42, p. 77), exibiu o íon correspondente a molécula protonada $[M + H]^+$ em m/z 410,3057 (calculado m/z 410,3054, erro = 0,73 ppm), indicando a fórmula molecular $C_{27}H_{39}NO_2$, a qual apresenta IDH igual a nove.

A exemplo dos demais compostos já isolados, os espectros de RMN de 1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras 43 e 44, p. 77 e 78) também mostraram dados espectrais que foram compatíveis com um perfil estrutural semelhante ao de **SC-6**. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figura 44, p. 78) mostrou vinte e sete linhas espectrais, enquanto o espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (Figura 45, p. 78) revelou a presença de cinco carbonos não-hidrogenados, nove carbonos metínicos, nove carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos (Tabela 10, p. 76).

A análise comparativa dos dados espectrais de **SC-14** com aqueles de **SC-6** (Tabela 11, p. 76), revelou que as principais diferenças no espectro de RMN de ^{13}C residem nos sinais de carbono metilênicos em δ_C 36,9 (C-1) e 34,8 (C-2), os quais apresentaram correlações no espectro HSQC (Figura 46, p. 79) com os sinais em δ_H 2,07/1,69 (2H-1) e 2,48/2,30 (2H-2), respectivamente. Outra diferença foi com relação à presença de apenas três sinais na região de carbono sp^2 , dois correspondentes a carbonos olefínicos em δ_C 124,4 (C-4) e 175,0 (C-5) e um em δ_C 202,4 (C-3) compatível com uma carbonila de cetona α,β -insaturada, mais desblindado ($\Delta\delta$ 13,6 ppm) quando comparado com o sinal do carbono C-3 de **SC-6** (Tabela 11, p. 76). O espectro de RMN de 1H (Figura 43, p. 77) ao apresentar apenas um sinal referente a um hidrogênio ligado a carbono sp^2 em δ_H 5,7 (sl), corroborou a existência de uma única ligação dupla na estrutura de **SC-14**. Estes dados foram compatíveis com uma estrutura contendo uma ligação dupla em C-4/C-5.

Através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 47, p. 80), conforme ilustrado na estrutura **III**, foi possível estabelecer para **SC-14** a mesma configuração determinada para **SC-6**.



Com base nos dados de RMN uni- e bidimensionais e comparação com dados de **SC-6** a estrutura de **SC-14** foi estabelecida como 22 α ,23 α -epoxi-solanida-4-en-3-ona, um novo alcalóide solanidano.

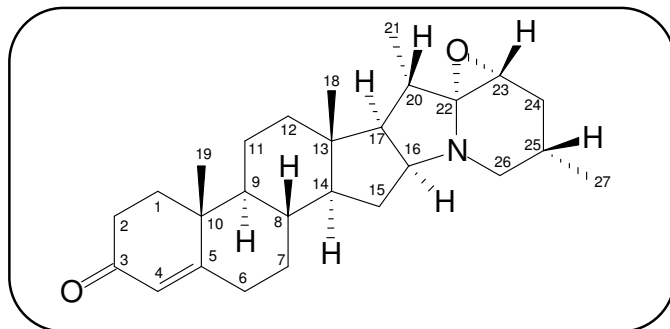


Tabela 10- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CDP e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de **SC-14**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH₂	CH₃	Fórmula Molecular
202,4 (C=O)	124,4 (C=C)	52,1 (C-N)	19,0	
175,0 (C=C)	70,0 (C-N)	45,5	18,2	
93,7 (N-C-O)	60,1	38,1	17,8	
43,7	58,8	36,9	15,4	
40,2	55,5	34,8		
	54,0	34,4		
	36,6	34,0		
	28,1	33,3		
	27,6	21,6		
5C	9CH	9CH₂	4CH₃	C₂₇H₃₉NO₂

Tabela 11- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-14**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-6**

# C	SC-14		SC-6	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	36,9	2,07; 1,69	159,2	7,25 (d; 10,0)
2	34,8	2,48; 2,30	127,8	6,17 (d; 10,0)
3	202,4	-	188,8	-
4	124,4	5,70 (s)	124,2	6,02 (s)
5	175,0	-	173,6	-
6	34,0	2,51; 2,33	33,4	2,56 (dt); 2,37 (d; 13,0)
7	33,3	1,89; 1,05	35,0	1,98 (dl; 12,0) 1,04
8	36,6	1,69	36,4	1,77
9	55,9	1,07	54,8	1,05
10	40,2	-	45,6	-
11	21,9	1,61; 1,54	23,5	1,78
12	38,1	1,82; 1,08	38,0	1,80; 1,20
13	43,7	-	43,0	-
14	54,0	0,96	51,6	0,90 (m)
15	34,4	2,26; 1,38	34,6	2,16; 1,38
16	70,0	4,67 (sl)	69,9	4,62 (sl)
17	58,8	1,21 (d; 6,2)	58,7	1,17 (d; 6,5)
18	15,4	1,00 (s)	15,5	0,95
19	17,8	1,26 (s)	19,3	1,27 (s)
20	27,6	2,30	27,6	2,20 (m)
21	19,0	1,30 (d; 7,0)	19,0	1,27 (d; 7,0)
22	93,7	-	93,7	-
23	60,1	3,14 (d; 9,6)	60,1	3,12 (d; 6,5)
24	45,5	1,89; 1,35	45,6	1,83; 1,36
25	28,1	2,30	28,1	2,16
26	52,1	3,25 (d; 9,6); 2,75 (t; 11,9)	52,2	3,21 (dl; 12,0); 2,70 (t; 12,0)
27	18,2	1,00 (d; 6,4)	18,3	0,96 (d; 6,5)

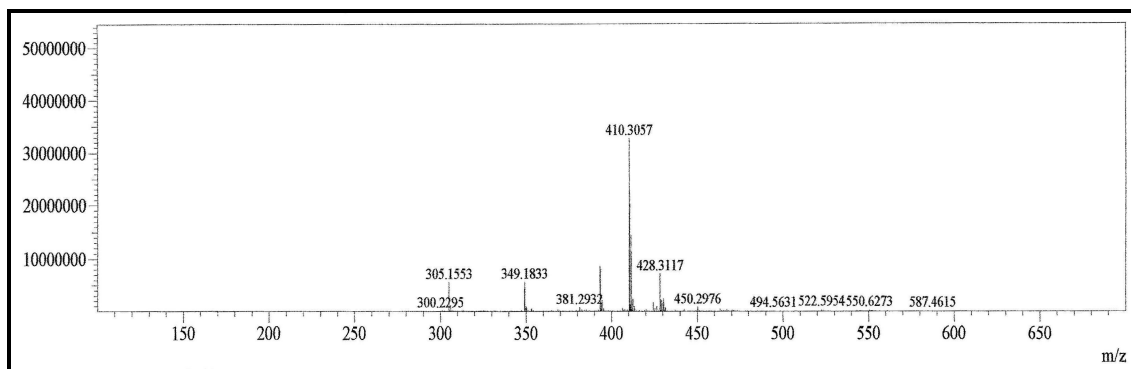


Figura 42- Espectro de massas (IES-EM) de SC-14

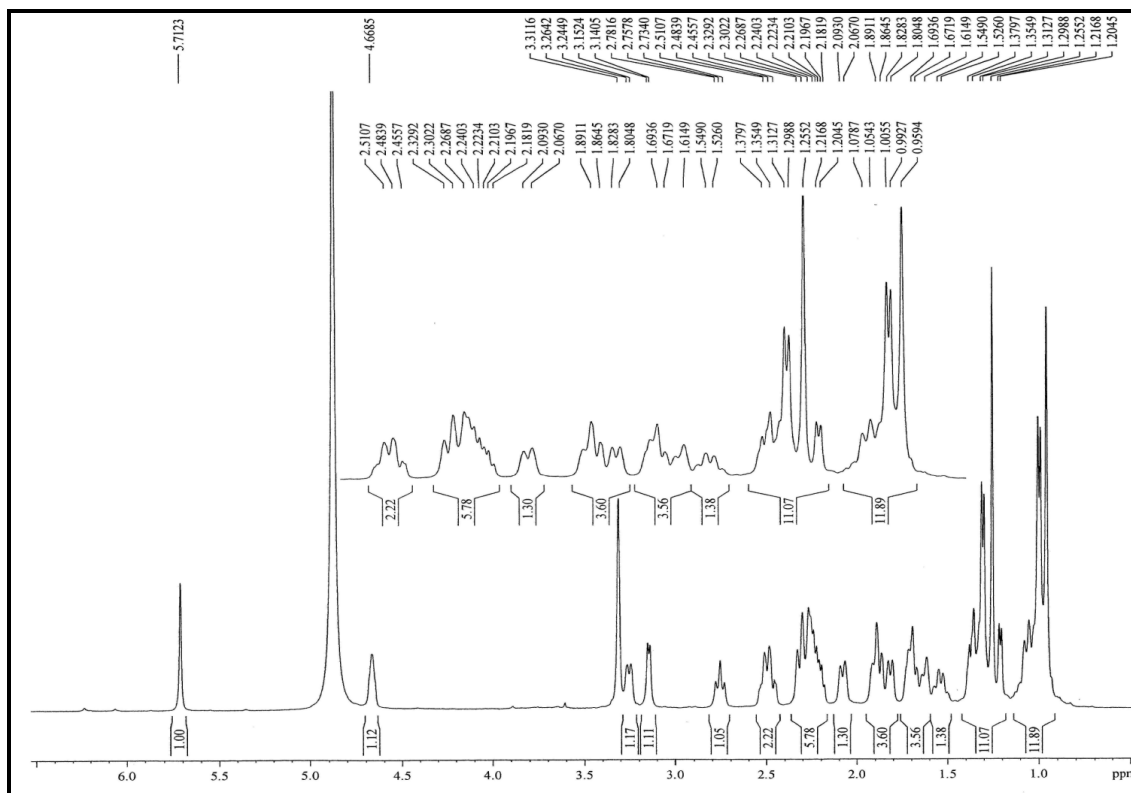


Figura 43- Espectro de RMN de ^1H -expansão (MeOD, 500 MHz) de SC-14

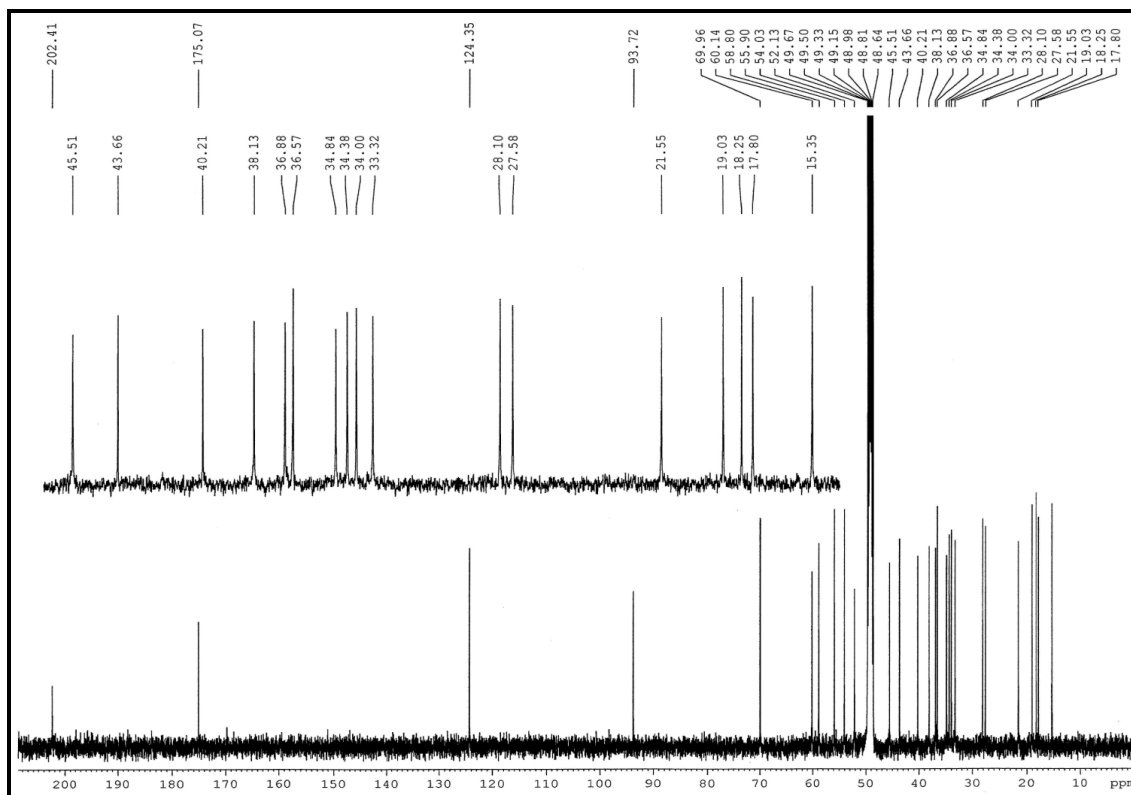


Figura 44- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-14

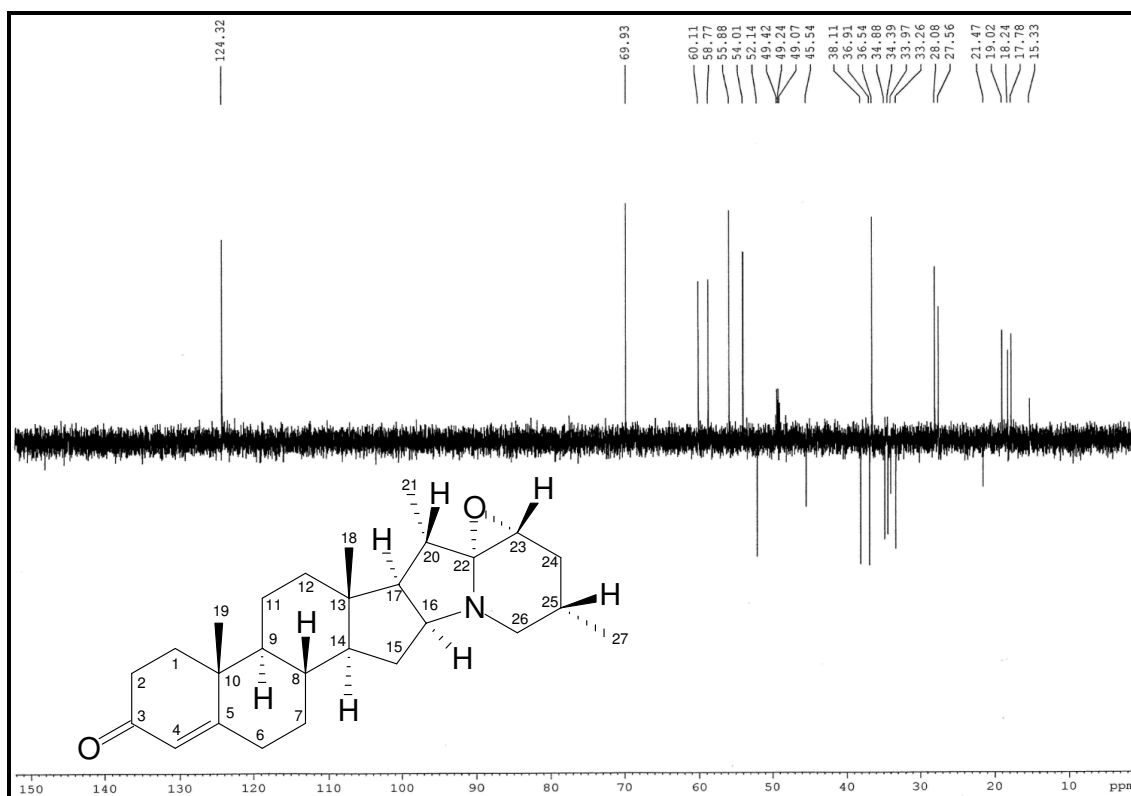


Figura 45- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-14

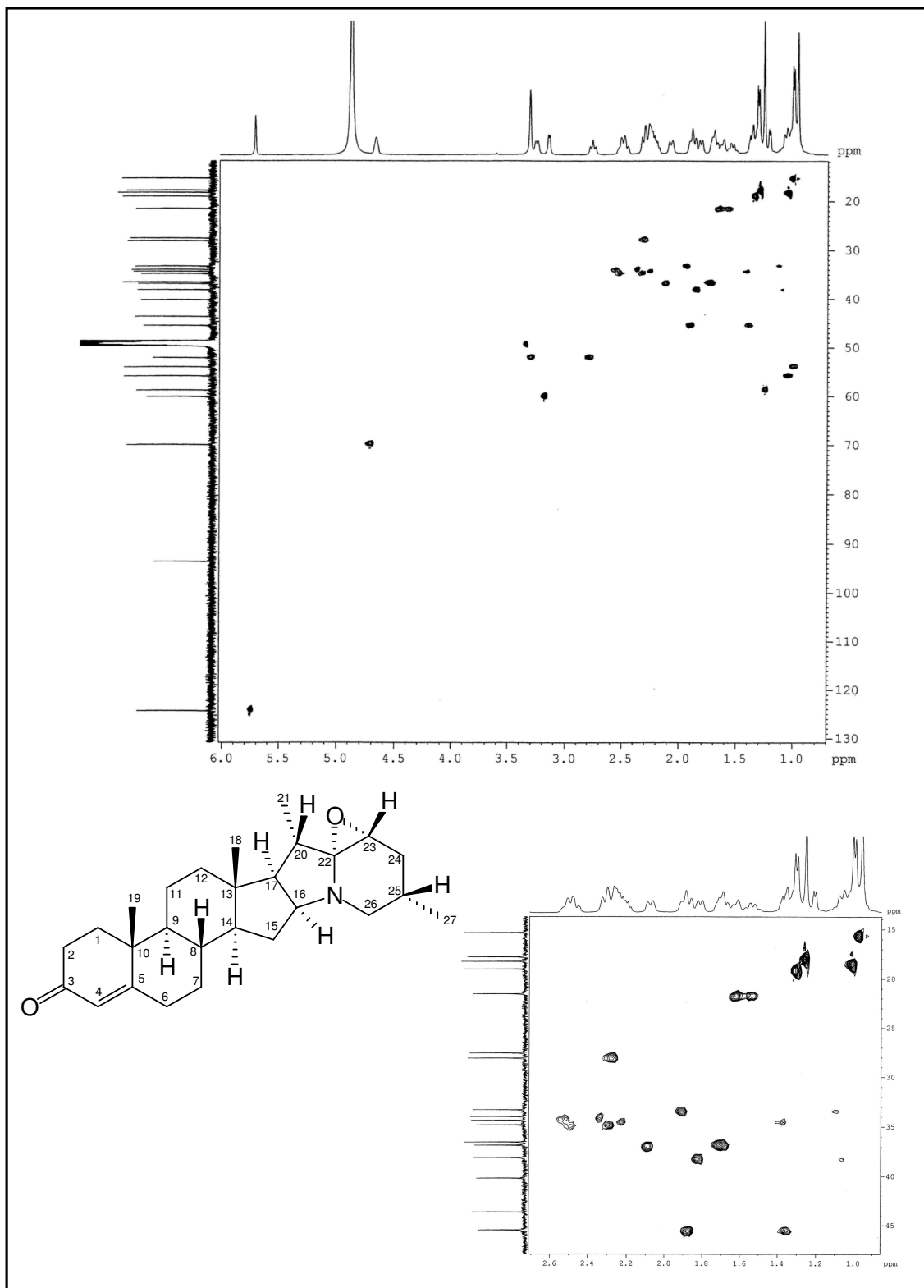


Figura 46- Espectro de RMN-C-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-14

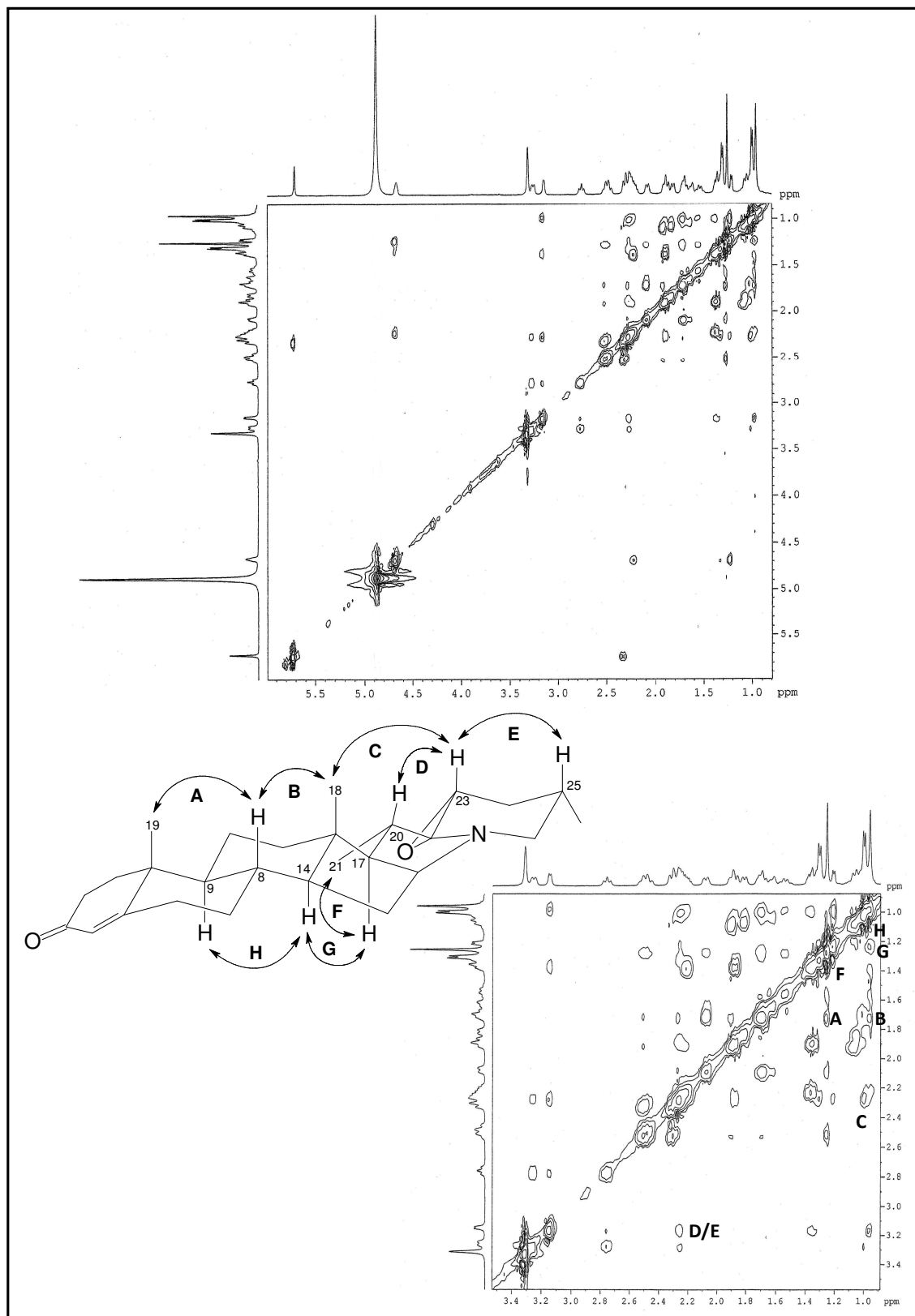


Figura 47- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-14

4.1.1.6 Determinação estrutural de **SC-15**

O pico 6 com $t_R = 18,07$ min. (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225) mostrou-se como uma resina branca (8,7 mg), a qual foi denominado **SC-15** ($[\alpha]_D^{25} = -117 - \text{MeOH}, c$ 0,002).

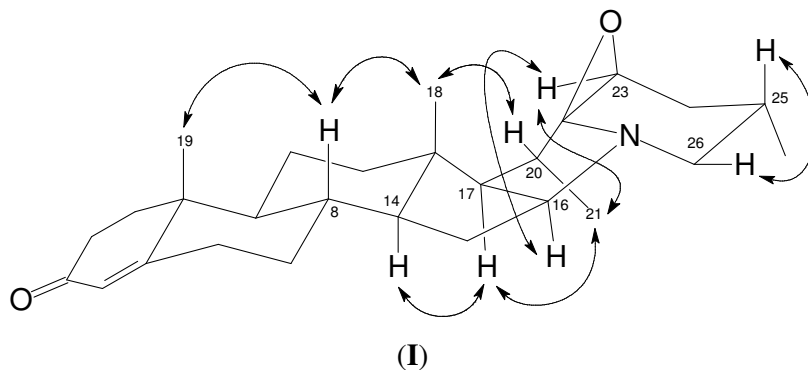
O espectro de massas de alta resolução (Figura 48, p. 84) mostrou o íon correspondente a molécula protonada $[M + H]^+$ em m/z 410,3059 (calculado m/z 410,3054, erro = 1,22 ppm), revelando a fórmula molecular $C_{27}H_{39}NO_2$, a mesma encontrada para **SC-14**.

Os dados espectrais obtidos pelos espectros de RMN de 1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras 49 a 51, p. 84 e 85) sugerem uma notória similaridade com a estrutura de **SC-14**. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figura 50, p. 5) também mostrou vinte e sete linhas espectrais, três das quais na região de carbono sp^2 , sendo uma em δ_C 202,4 (C-3), compatível com uma carbonila α,β -insaturada e as outras duas em δ_C 124,4 (C-4) e 175,0 (C-5) revelando uma dupla ligação conjugada a carbonila.

O espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (Figura 51, p. 85) revelou a presença de cinco carbonos não-hidrogenados, nove carbonos metínicos, nove carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos, destacando o mesmo padrão de hidrogenação encontrado para **SC-14** (Tabela 12, p. 83).

A análise comparativa dos deslocamentos químicos de 1H e ^{13}C , correlacionados a partir de informações do espectro HSQC (Figura 52, p. 86) com os dados de RMN de ^{13}C de **SC-14** e **SC-11** é mostrada na Tabela 13 (p. 83) e evidencia que **SC-15** é um isômero de **SC-14**, no entanto, com a orientação do epóxido invertida, isto é, β -posicionado como em **SC-11**. Como pode ser observado na Tabela 13 (p. 82) os carbonos que sofreram alterações em seus deslocamentos químicos com a mudança de orientação do epóxido foram C-16 (δ_C 72,3); C-17 (δ_C 62,1); C-21 (δ_C 16,4); C-22 (δ_C 95,8); C-23 (δ_C 62,8) C-24 (δ_C 41,5) e C-26 (δ_C 46,0) e estão em acordo com os valores atribuídos para **SC-11**, enquanto, os demais valores de deslocamentos químicos de carbono estão em concordância com aqueles de **SC-14**.

A orientação β para o epóxido, ligado aos carbonos C-22 e C-23, foi deduzida através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 53, p. 87) entre os hidrogênios em δ_H 4,39 (H-16) e 3,16 (H-23). Outras interações importantes estão ilustradas na estrutura **I**, justificando a atribuição da estereoquímica relativa dos demais centros estereogênicos presente em **SC-15**.



A estrutura da substância **SC-15**, nova na literatura, foi estabelecida após análise dos dados espectrométricos, como sendo o alcalóide $22\beta,23\beta$ -epoxi-solanida-4-en-3-ona.

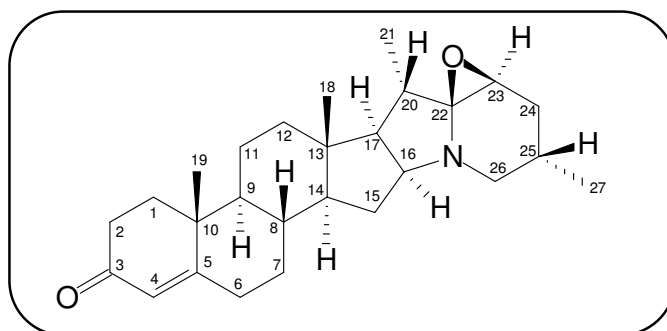


Tabela 12- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, MeOD) de **SC-15**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH₂	CH₃	Fórmula Molecular
202,4 (C=O)	124,4 (C=C)	46,0 (C-N)	18,3	
175,0 (C=C)	72,3 (C-N)	41,5	17,8	
95,8 (N-C-O)	62,8	41,1	16,4	
43,0	62,1	36,9	15,4	
40,1	55,4	34,8		
	54,0	34,1		
	36,5	34,0		
	27,6	33,5		
	27,1	22,0		
5C	9CH	9CH₂	4CH₃	C₂₇H₃₉NO₂

Tabela 13- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-15**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-6**

# C	SC-15		SC-11	SC-14
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{C}
1	36,9	2,07; 1,69	159,5	36,9
2	34,8	2,46; 2,30	127,8	34,8
3	202,4	-	189,0	202,4
4	124,4	5,71 (s)	124,2	124,4
5	175,0	-	173,5	175,0
6	34,0	2,48; 2,30	33,9	34,0
7	33,3	1,91; 1,05	35,2	33,3
8	36,5	1,77	36,3	36,6
9	55,4	1,00	54,2	55,9
10	40,1	-	45,5	40,2
11	22,0	1,60; 1,53	23,9	21,9
12	41,8	1,97; 1,30	40,9	38,1
13	43,0	-	43,2	43,7
14	54,0	1,01	53,6	54,0
15	34,4	2,27; 1,30	34,3	34,4
16	72,3	4,39 (sl)	72,2	70,0
17	62,1	1,30	62,0	58,8
18	15,4	0,96 (s)	15,5	15,4
19	17,8	1,25 (s)	19,2	17,8
20	27,6	2,07	27,0	27,6
21	16,4	1,10 (d; 5,75)	16,3	19,0
22	95,8	-	95,8	93,7
23	62,8	3,16 (d; 12,4)	62,7	60,1
24	41,5	1,97; 1,53	41,5	45,5
25	27,1	2,07	27,6	28,1
26	46,0	3,04 (d; 11,4); 2,65 (t; 12,2)	45,9	52,1
27	18,3	1,01 (d, 6,6)	18,3	18,2

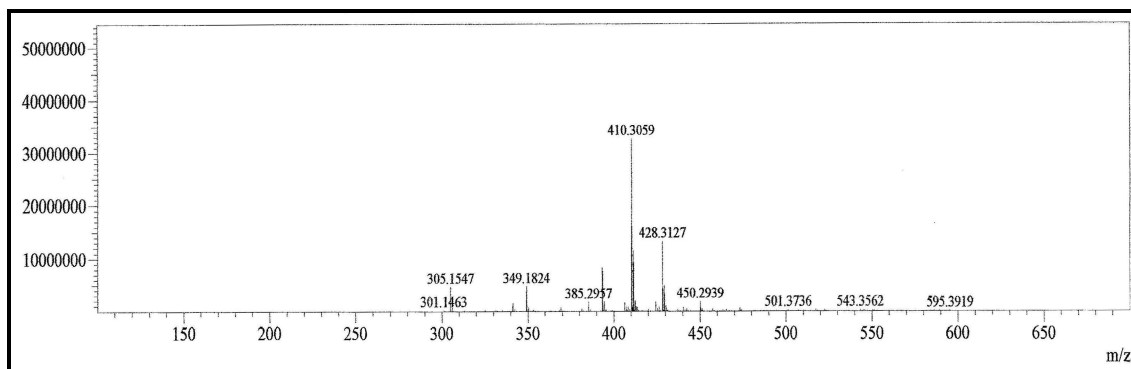


Figura 48- Espectro de massas (IES-EM) de SC-15

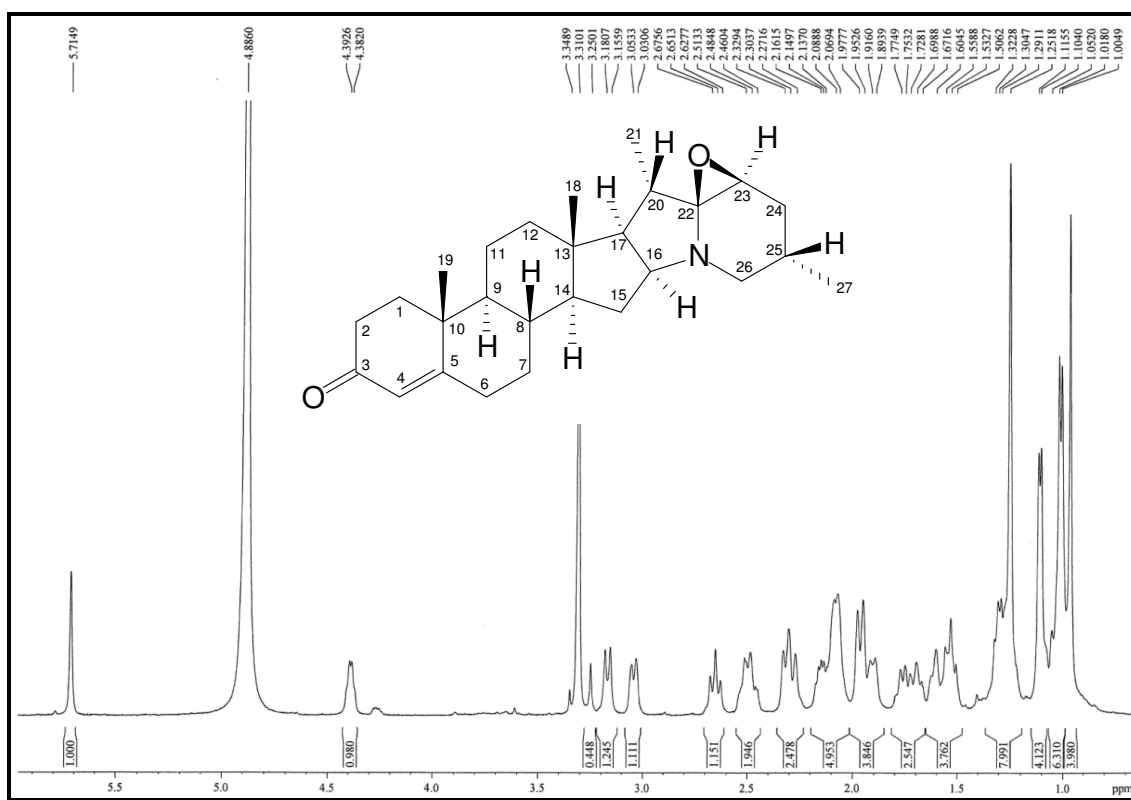


Figura 49- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-15

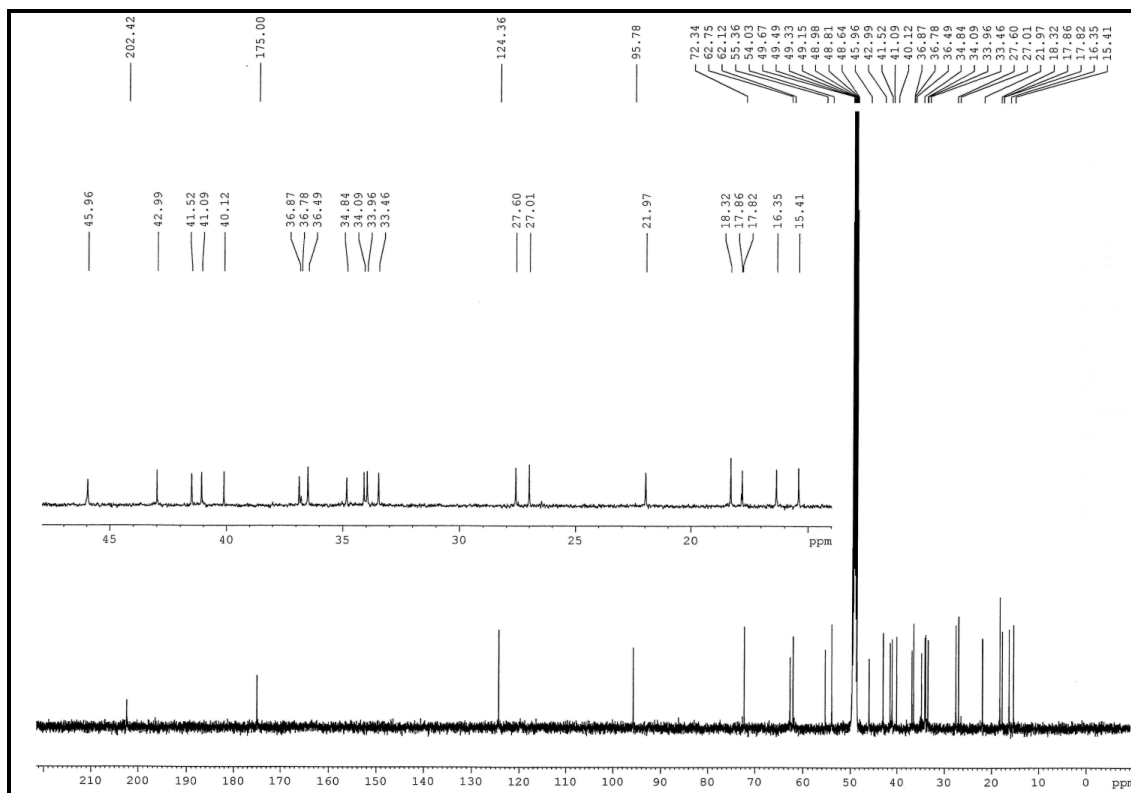


Figura 50- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-15

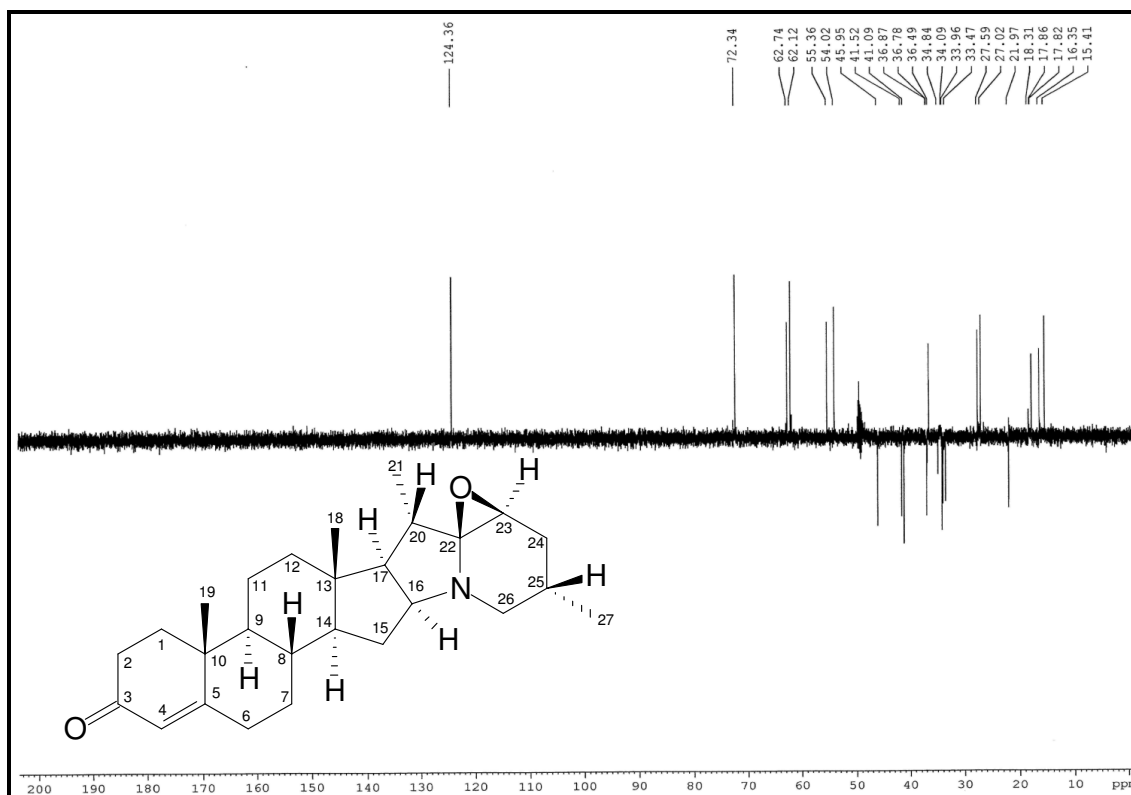


Figura 51- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-15

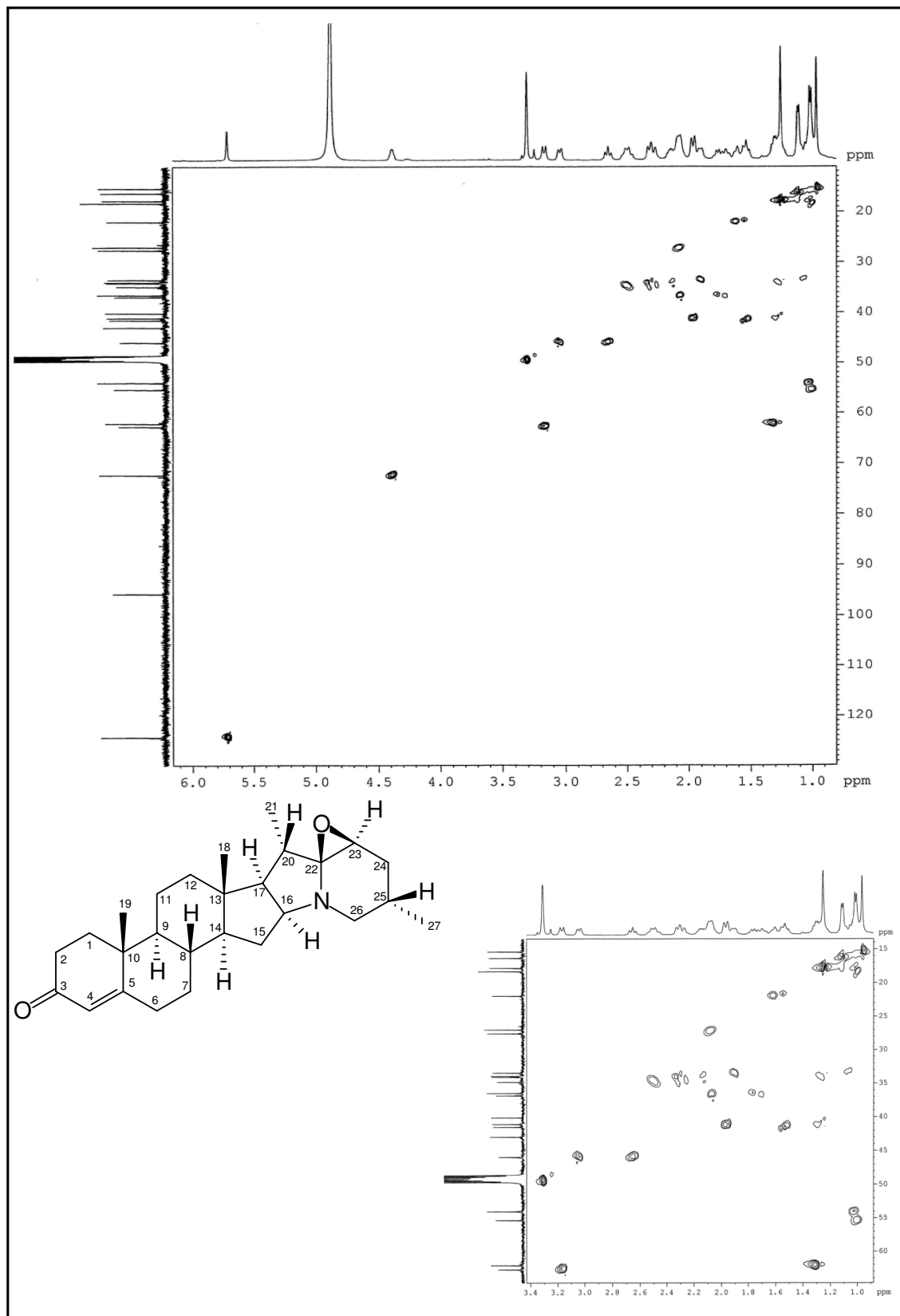


Figura 52- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-15

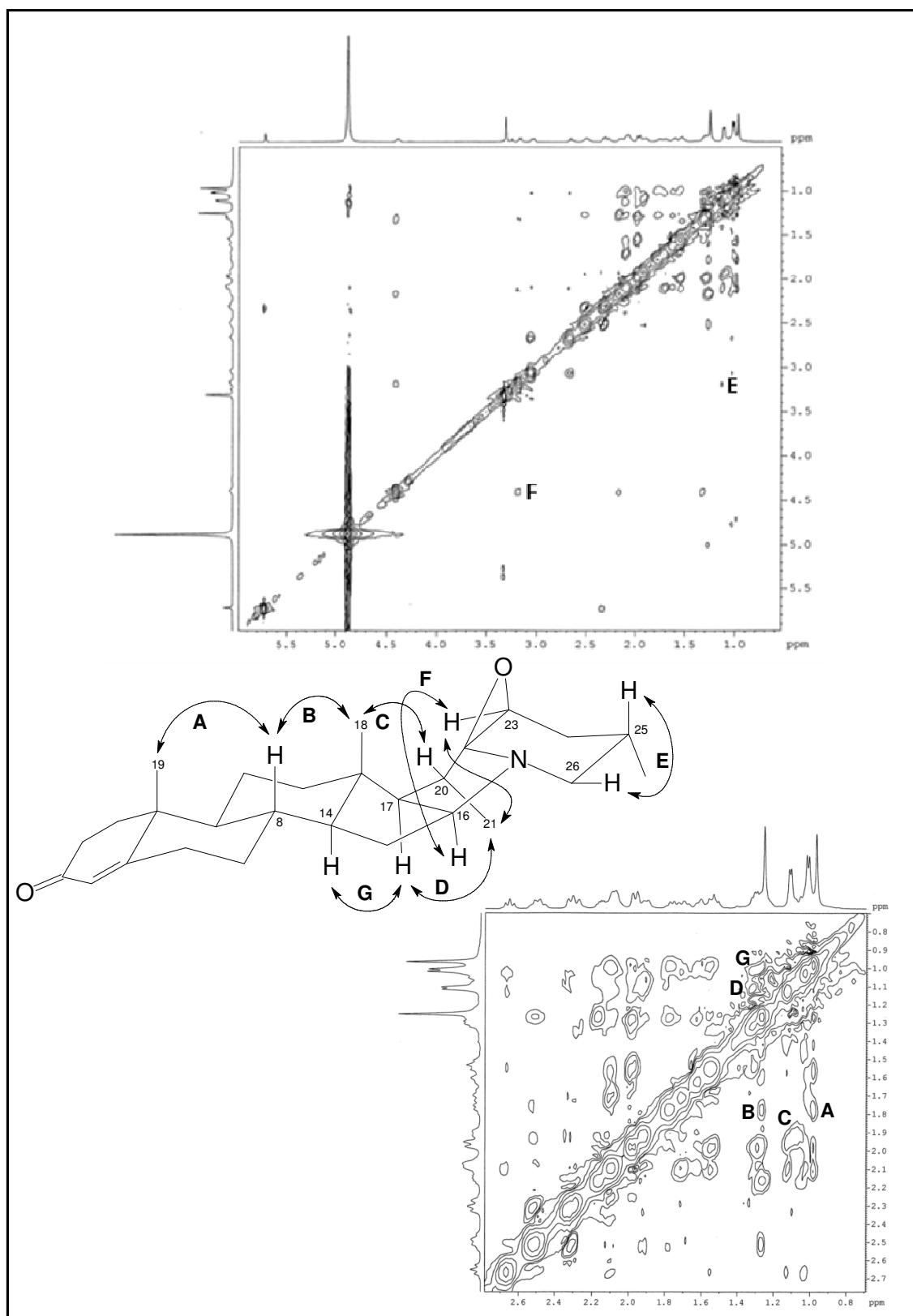


Figura 53- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500) de SC-15

4.1.1.7 Determinação estrutural de **SC-7**

A fração EESC-A após sucessivas cromatografias, incluindo purificação por SPE, forneceu um sólido amarelo (193,7 mg) (Item 5.4.3.1.3, p. 218, Fluxograma 1, p. 220), o qual foi denominado **SC-7** [p.f. 167,8 – 168,3 °C; $[\alpha]_D^{25} = -21$ (MeOH, *c* 0,04)].

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 54, p. 94) mostrou uma banda larga em 3261 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila; absorção em 2932 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação C-H de carbono sp^3 ; bandas em 1609, 1501 e 1457 cm^{-1} de $\text{C}=\text{C}_{\text{arom.}}$, evidenciando a presença de uma porção aromática na molécula; absorção característica de deformação axial assimétrica de C-O-C em 1259 cm^{-1} ; banda em 1156 referente à deformação axial de C-O; absorção em 1040 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de C-N (SILVERSTEIN, 2007).

Uma análise dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras 55 e 56, p. 94 e 95) mostrou que **SC-7** apresenta um perfil semelhante ao de **SC-6**, somente quanto aos anéis **D**, **E** e **F** do núcleo solanidando. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figura 56, p. 95) também mostrou vinte e sete linhas espectrais, e este quando comparado com o espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (Figura 57, p. 95) revelou cinco carbonos não-hidrogenados, onze carbonos metínicos, sete carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos. Entre os onze carbonos metínicos, três eram correspondentes a carbonos sp^2 (δ_{C} 131,9; 116,8; 113,6), um era oxigenado (δ_{C} 75,3) e outro ligado a nitrogênio (δ_{C} 70,3).

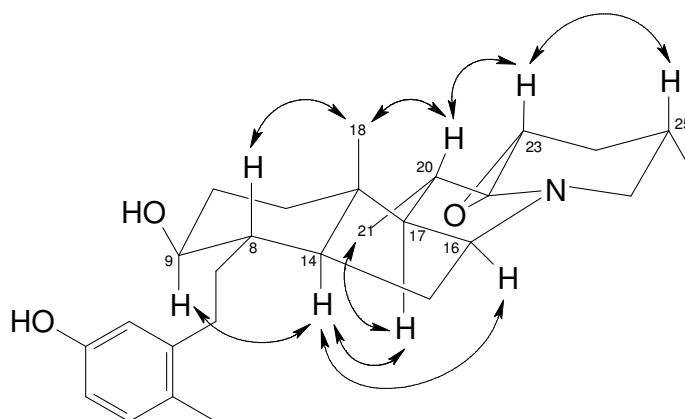
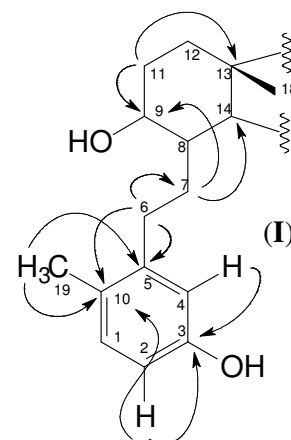
A análise comparativa dos dados espectrais deste composto com aqueles de **SC-6** (Tabela 14, p. 93), revelou que as principais diferenças no espectro de RMN de ^1H , são os sinais em δ_{H} 3,09 (dl; $J = 6,6\text{ Hz}$); 6,84 (d; $J = 8,1\text{ Hz}$); 6,44 (dl; $J = 8,1\text{ Hz}$) e 6,55 (sl), os quais exibiram correlações com os carbonos em δ_{C} 75,3 (C-9); 131,9 (C-1); 113,6 (C-2); 116,8 (C-4), respectivamente no espectro HSQC (Figura 58, p. 96).

Estas informações aliadas ao íon correspondente a molécula protonada $[\text{M} + \text{H}]^+$ com m/z 426,3003 (calculado m/z 426,3003; erro = 0,00 ppm), observado no espectro de massas de alta resolução (Figura 59, p. 96) apontaram a fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_3$.

A fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_3$ foi compatível com um núcleo solanidano, o qual difere de **SC-6** pela presença de duas hidroxilas adicionais, um anel aromático trissubstituído, bem como pela cisão da ligação C-9/C-10 do anel **B**, levando a abertura do mesmo.

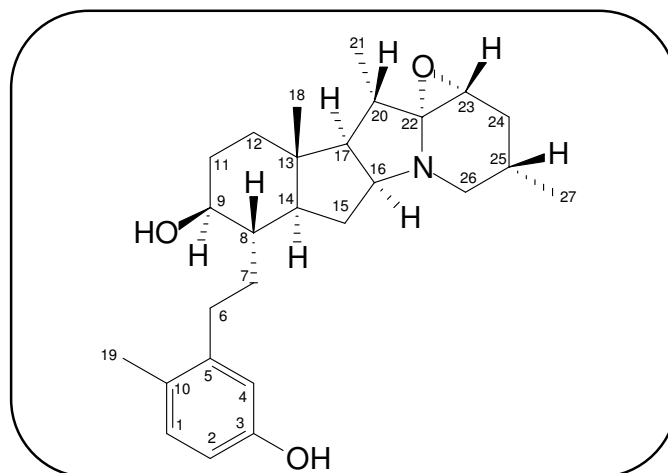
As correlações observadas no espectro HMBC (Figuras 60 e 61, p. 97 e 98) confirmaram essa hipótese estrutural e evidenciaram a cisão da ligação entre os carbonos C-9 e C-10 do anel **B**, bem como justificaram as duas hidroxilas nas posições C-3 e C-9 e a porção aromática no anel **A** (sub-estrutura **I**).

A configuração relativa inferida para a hidroxila em C-9, bem como para os demais centros estereogênicos existentes na molécula foi deduzida através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 62, p. 99), sumarizadas na estrutura (**II**).

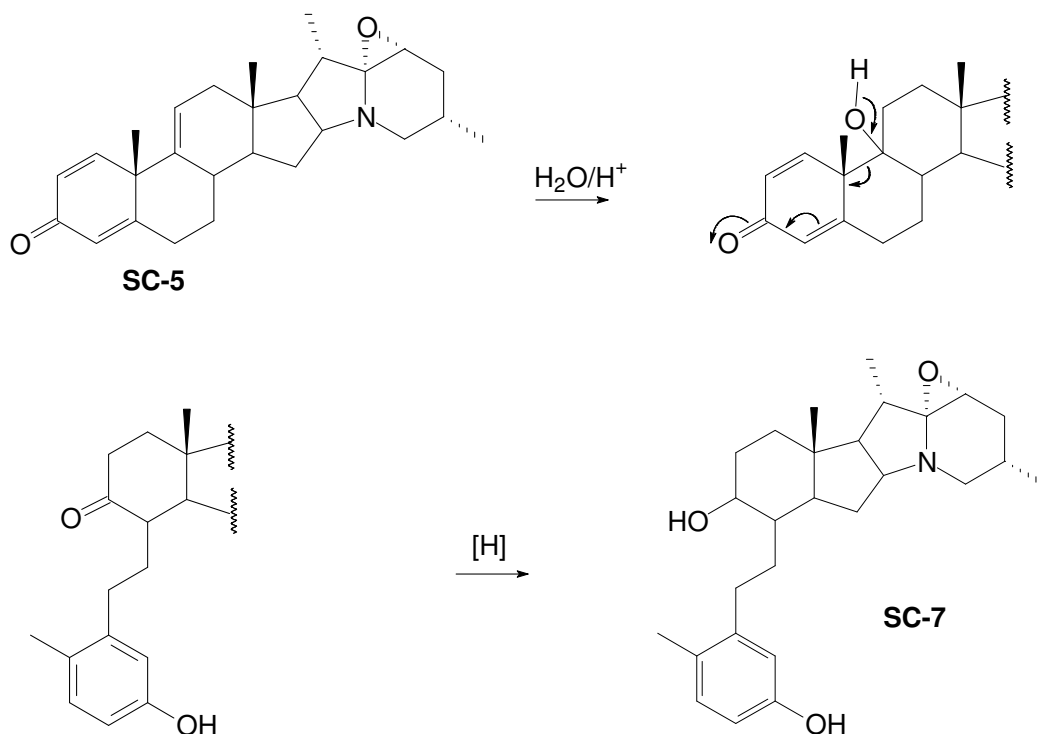


(II)

A estrutura de **SC-7**, foi estabelecida como 3,9 β -dihidroxi-22 β ,23 β -epoxi-9,10-secosolanida-1,3,5(10)-trieno, um novo alcalóide solanidano rearranjado através da cisão da ligação C-9/C-10 e concomitante aromatização do anel A. Este tipo de rearranjo incomum "rearranjo dienona-fenol" já foi observado durante a síntese de furoato de mometasona levando a um subproduto semelhante a **SC-7** (DRAPER *et al.*, 1998).



SC-7 pode ser facilmente produzida a partir da hidratação de **SC-5** (p. 52) seguindo um rearranjo do tipo “dienona-fenona” (DRAPER *et al.*, 1998) mostrando no esquema 1, abaixo.



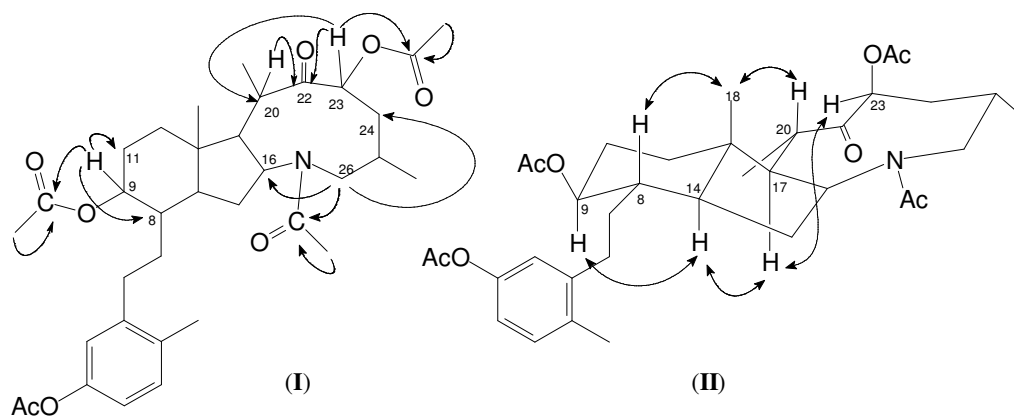
Esquema 1 – Proposta de formação de **SC-7** a partir da hidratação de **SC-5** seguido de rearranjo dienona- fenol

Com o objetivo de confirmar a estrutura sugerida para **SC-7**, este composto foi submetido a uma reação de acetilação com anidrido acético/piridina (Esquemas 2 e 3, p. 92), obtendo-se um derivado tetracetilado **SC-7a** contendo uma carbonila adicional (δ_{C} 206,9), em conformidade com os dados de RMN de ^1H e ^{13}C (Tabela 14, p. 93) (Figuras 63 a 65 p. 100 e 101).

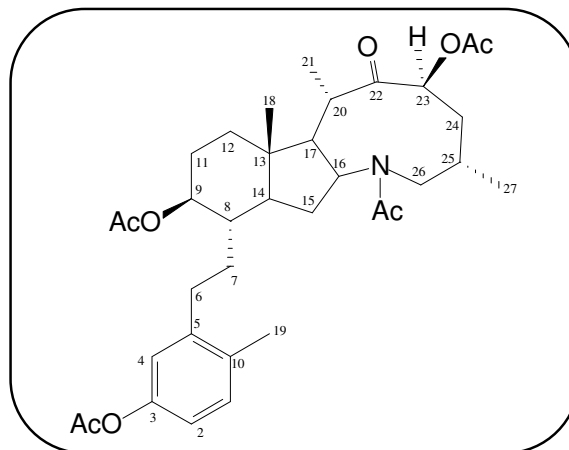
O espectro de massas de alta resolução (Figura 66, p. 101) exibiu o íon correspondente a molécula sodiada $[\text{M} + \text{Na}]^+$ com m/z 634,3370 (calculado m/z 634,3350; erro = 3,15 ppm), o qual indicou a fórmula molecular $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{NO}_8$.

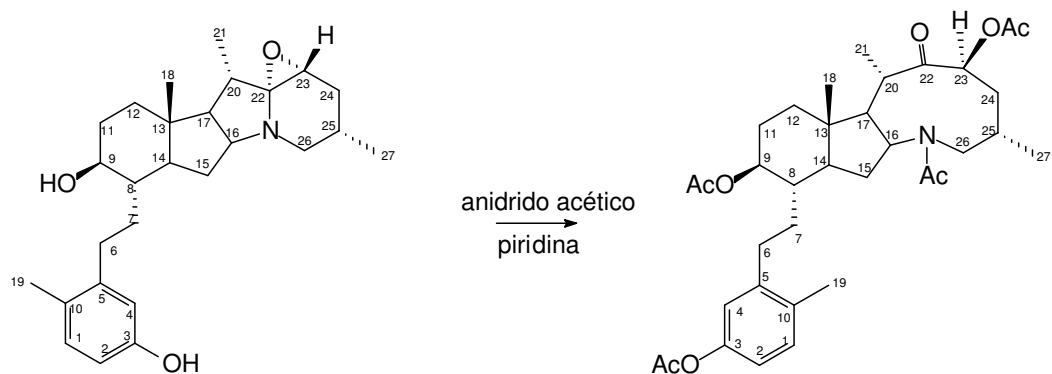
Uma minuciosa análise dos dados de RMN (Tabela 14, p. 93), incluindo as correlações observadas nos espectros HSQC e HMBC (Figuras 67 e 68, p. 102 e 103) permitiu confirmar a acetilação das hidroxilas ligadas aos carbonos C-3 e C-9 e do grupo amino, bem como a presença de uma carbonila no carbono C-22, formada como consequência da cisão da ligação entre o carbono C-22 e o nitrogênio levando a fusão dos anéis **E** e **F** do

núcleo básico do salanidano (estrutura **I**). A configuração relativa de **SC-7a** foi estabelecida com base nas interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 69, p. 104), conforme sumarizada na estrutura (**II**).

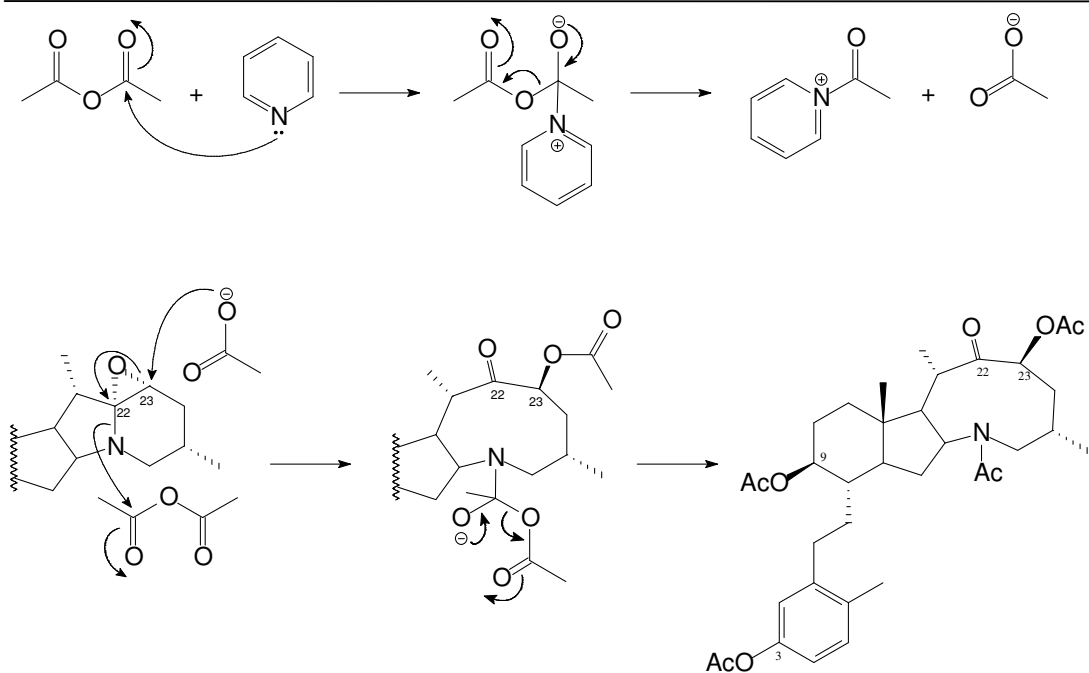


Desta forma, a estrutura do derivado tetracetilado **SC-7a** foi estabelecida, corroborando a estrutura de **SC-7**.





Esquema 2- Reação de acetilação de SC-7



Esquema 3- Proposta do mecanismo de acetilação para justificar a formação de SC-7a

Tabela 14- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **SC-7** (MeOD) e **SC-7a** (CDCl_3), incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-6**.

# C	SC-7		SC-7a		SC-6	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	131,9	6,84 (<i>d</i> ; 8,1)	131,0	7,10 (<i>d</i> ; 8,0)	159,2	7,25(<i>d</i> ; 10,0)
2	113,6	6,44 (<i>d</i> ; 8,1)	118,9	6,80 (<i>dd</i> ; 8,0; 2,0)	127,8	6,17(<i>d</i> ; 10,0)
3	156,5	-	149,0	-	188,8	-
4	116,8	6,55 (<i>sl</i>)	121,7	6,55 (<i>sl</i>)	124,2	6,02 (<i>s</i>)
5	143,9	-	142,7	-	173,6	-
6	31,3	2,53 (<i>m</i>); 2,46 (<i>m</i>)	29,4	2,55	33,4	2,56 (<i>dt</i>); 2,37(<i>d</i> ; 13,0)
7	32,4	1,63	30,0	1,50	35,0	1,98(<i>dt</i> ; 12,0) 1,04
8	44,1	1,49	40,1	1,80	36,4	1,77
9	75,3	3,31 (<i>m</i>)	76,0	4,67 (<i>m</i>)	54,8	1,05
10	127,7	-	133,5	-	45,6	-
11	32,4	1,63	27,6	1,80	23,5	1,78
12	36,9	1,64; 1,05	37,7	1,78; 1,30	38,0	1,80; 1,20
13	44,3	-	42,7	-	43,0	-
14	50,9	1,15	50,2	1,35	51,6	0,90 (<i>m</i>)
15	34,9	2,25; 1,41	35,5	2,38; 1,43 (<i>dt</i> ;13,5; 4,0)	34,6	2,16; 1,38
16	70,3	4,65 (<i>m</i>)	63,6	4,70 (<i>sl</i>)	69,9	4,62 (<i>sl</i>)
17	58,4	1,17 (<i>t</i> ; 7,2)	56,7	1,66 (<i>dd</i> ; 11,5; 6,0)	58,7	1,17 (<i>d</i> ; 6,5)
18	15,4	0,94 (<i>s</i>)	12,8	0,99 (<i>s</i>)	15,5	0,95
19	19,0	2,16 (<i>sl</i>)	18,9	2,25 (<i>s</i>)	19,3	1,27 (<i>s</i>)
20	27,7	2,25	37,3	2,20	27,6	2,20 (<i>m</i>)
21	18,8	1,26 (<i>d</i> ; 7,3)	16,2	1,09 (<i>d</i> ; 7,0)	19,0	1,26 (<i>d</i> ; 7,0)
22	93,6	-	206,9	-	93,7	-
23	60,1	3,09 (<i>dl</i> ; 6,6)	71,9	4,65	60,1	3,12 (<i>d</i> ; 6,5)
24	45,4	1,82; 1,26	47,3	2,50; 2,30	45,6	1,83; 1,36
25	28,1	2,25	28,1	2,45	28,1	2,16
26	52,1	3,22; 2,70 (<i>t</i> ; 12,3)	51,3	3,87 (<i>dd</i> ;13,5; 4,0); 3,64 (<i>dd</i> ; 13,5; 5,0)	52,2	3,21(<i>dl</i> ; 12,0); 2,70 (<i>t</i> ; 12,0)
27	18,3	0,94	18,7	1,06 (<i>d</i> ; 6,5)	18,3	0,96 (<i>d</i> ; 6,5)
Ac-N			22,8	2,21 (<i>s</i>)		
AcO-3			21,3	2,28 (<i>s</i>)		
AcO-9			21,5	2,04 (<i>s</i>)		
AcO-23			21,5	2,04 (<i>s</i>)		
AcN			171,6			
AcO-3			169,9			
AcO-9			171,1			
AcO-23			171,1			

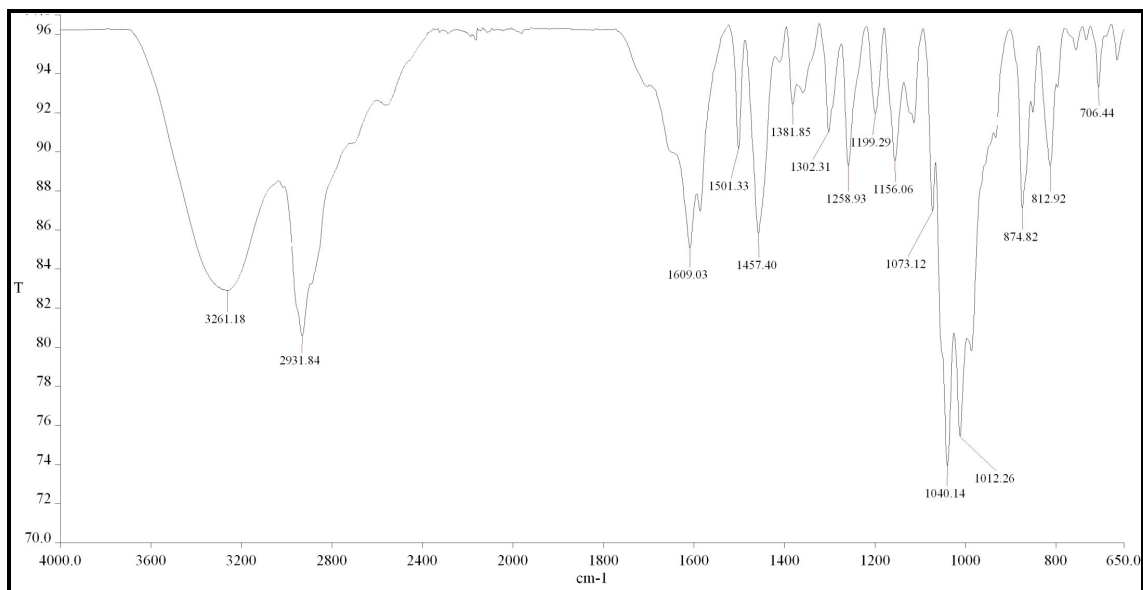


Figura 54- Espectro de absorção na região do IV de SC-7

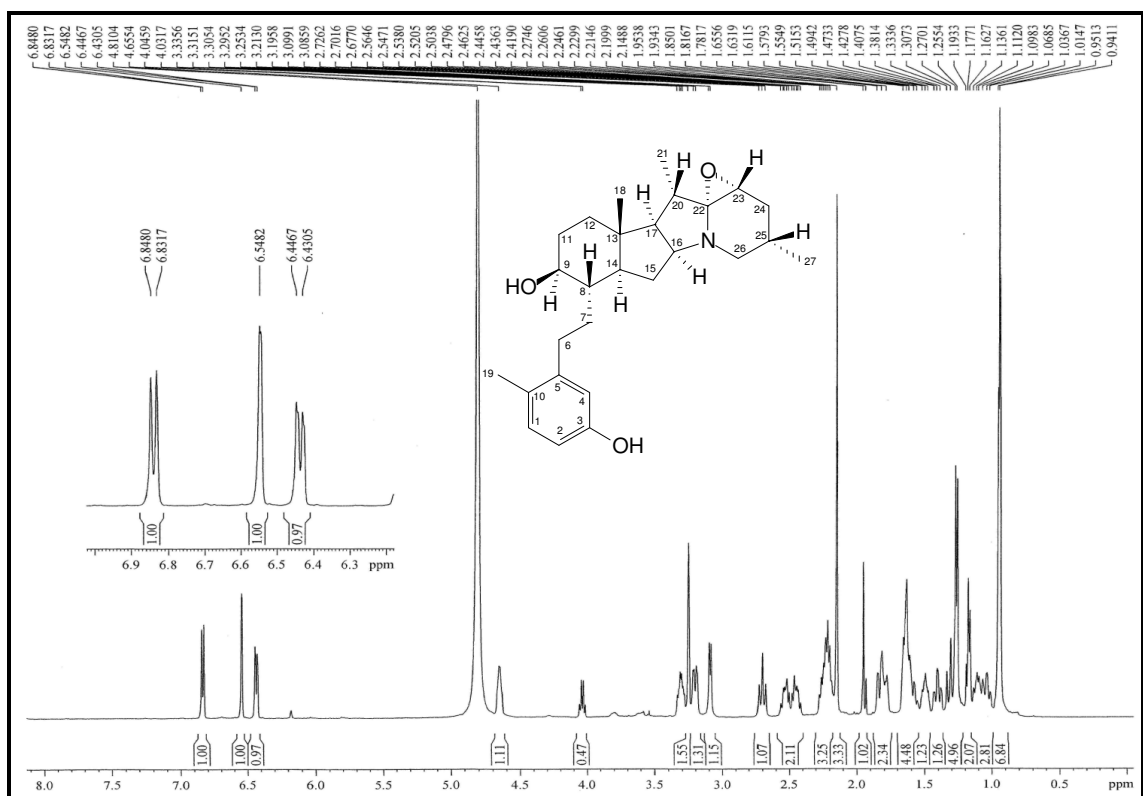


Figura 55- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-7

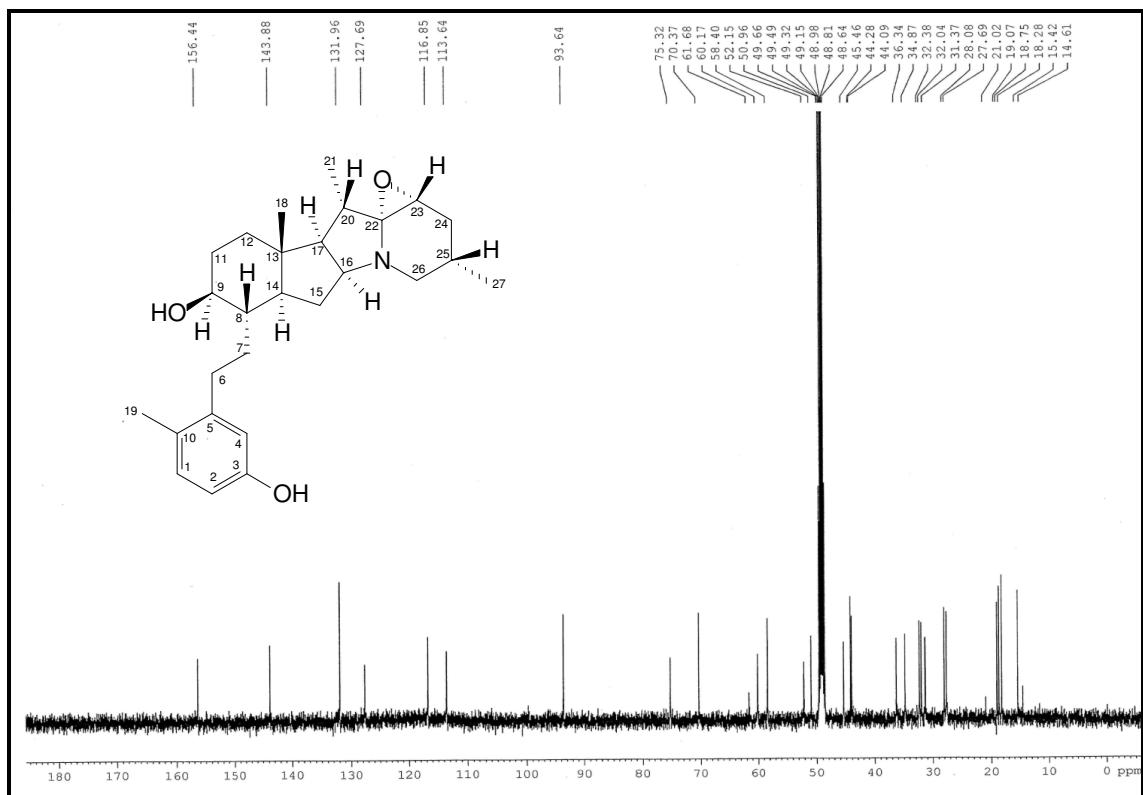


Figura 56- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-7

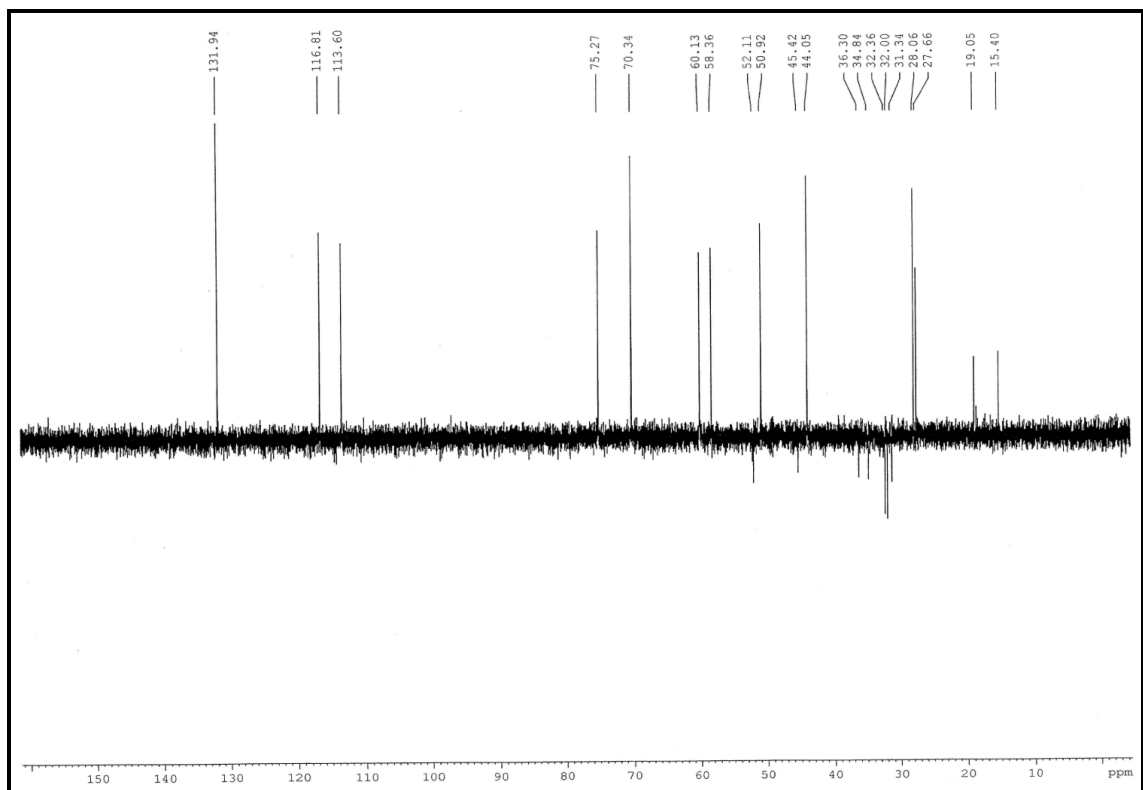


Figura 57- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-7

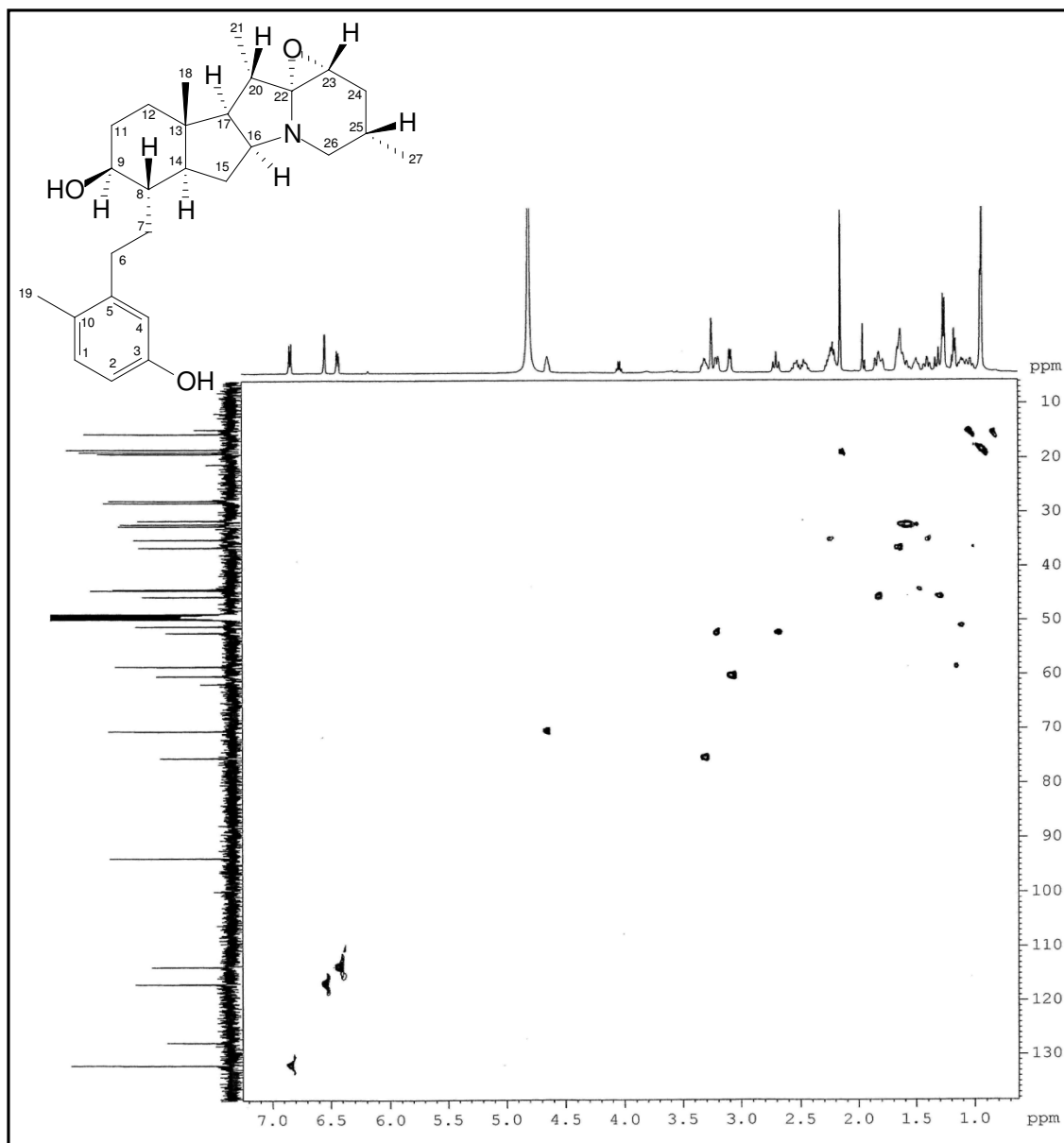


Figura 58- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-7

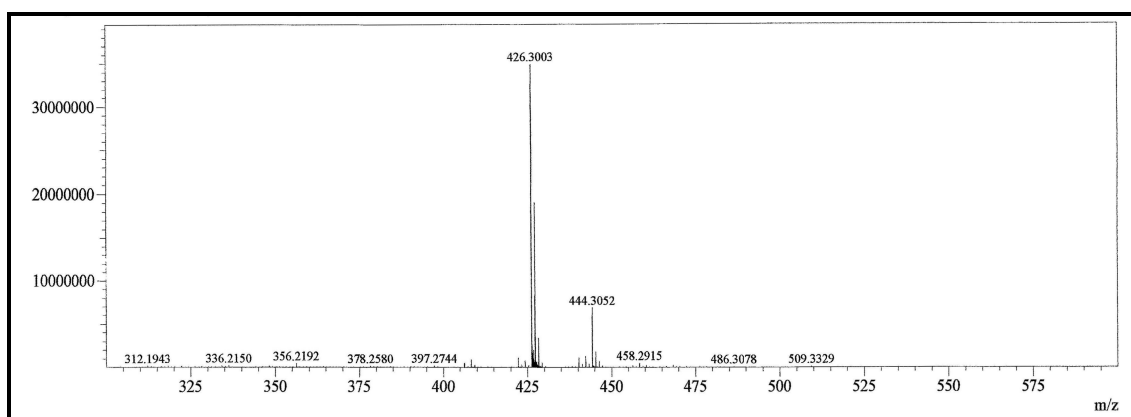


Figura 59- Espectro de massas (IES-EM) de SC-7

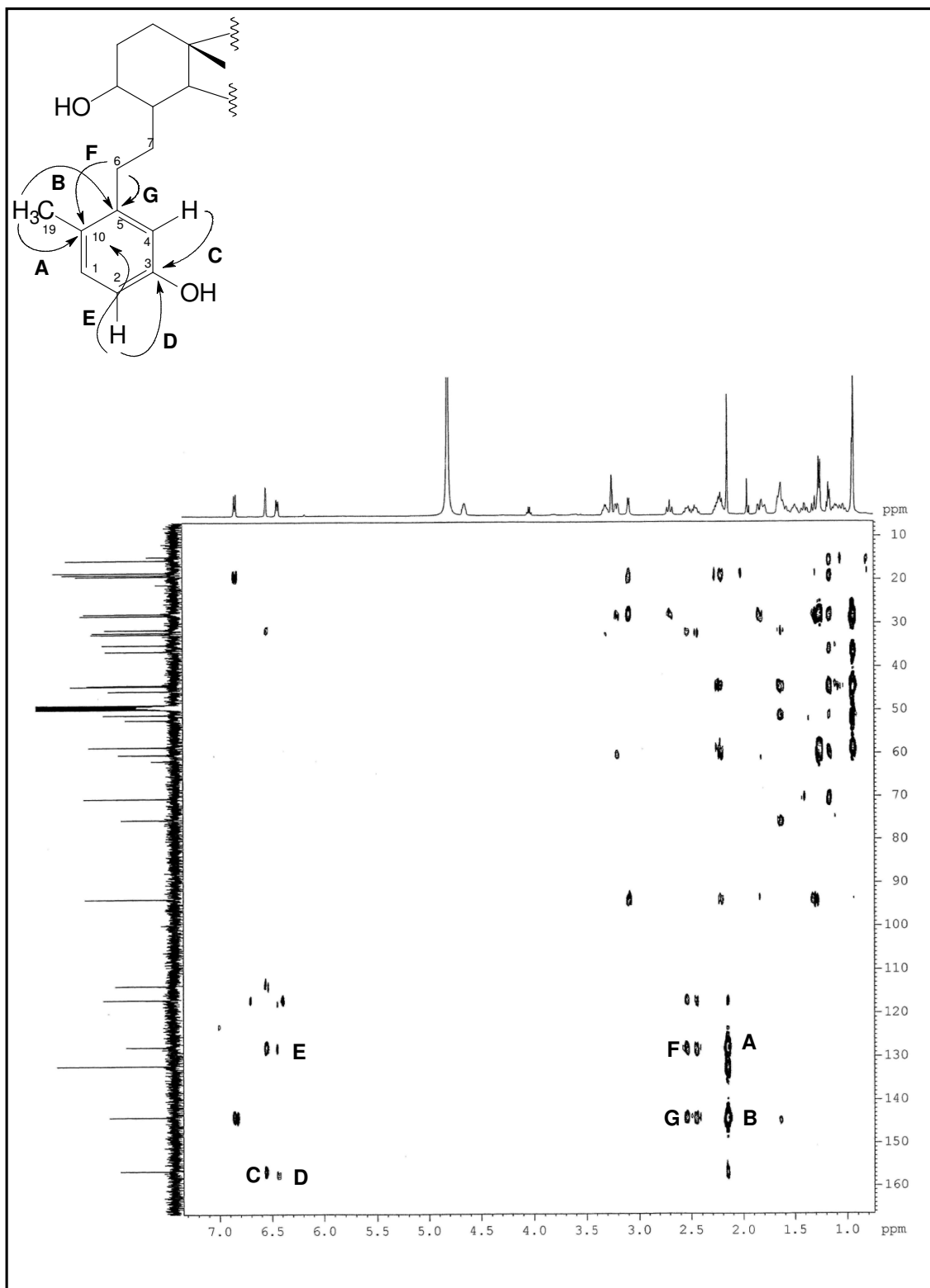


Figura 60- Espectro de RMN-HMBC (MeOD 125 x 500 MHz) de SC-7

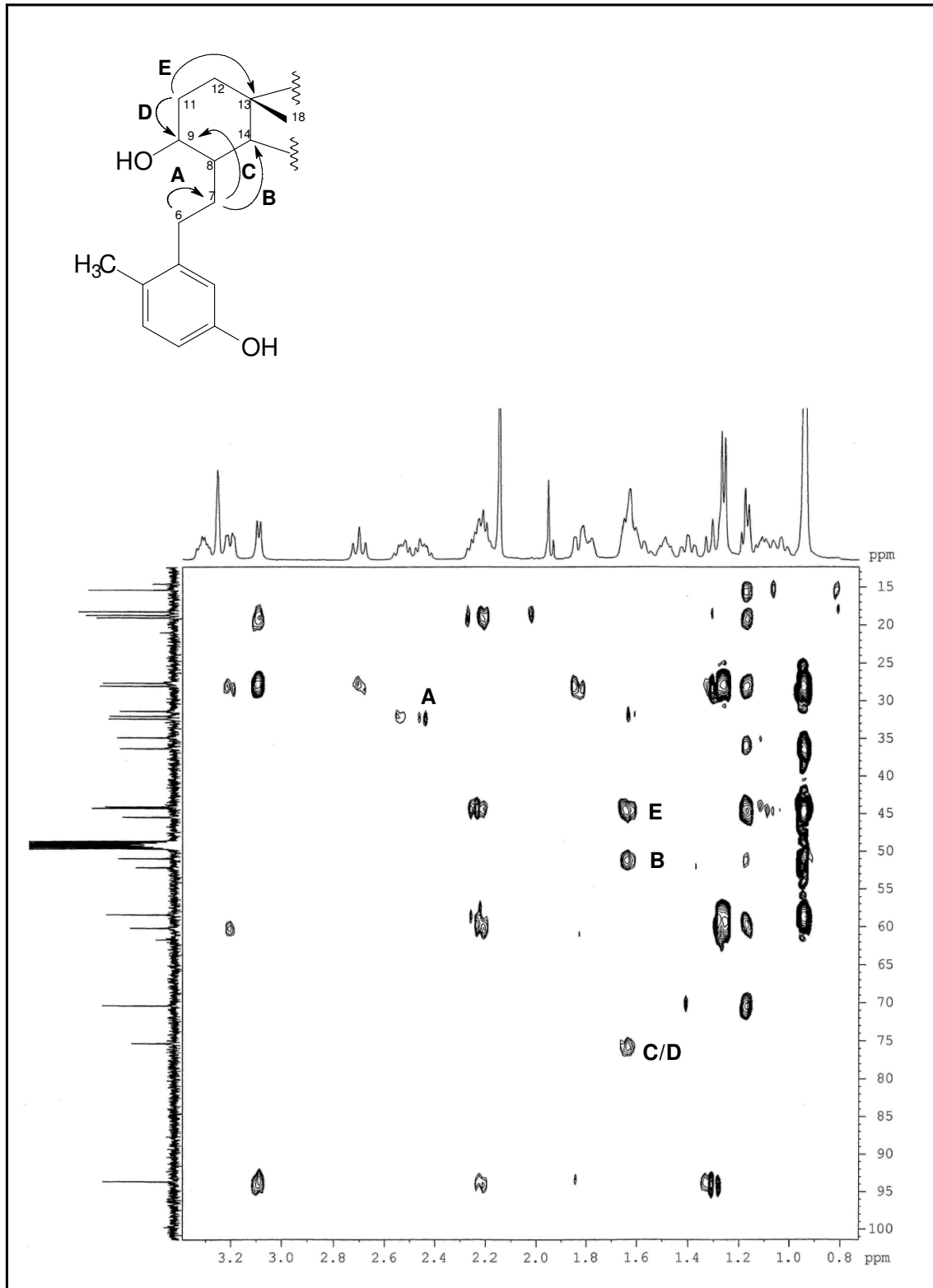


Figura 61- Espectro de RMN-HMBC-expansão (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-7

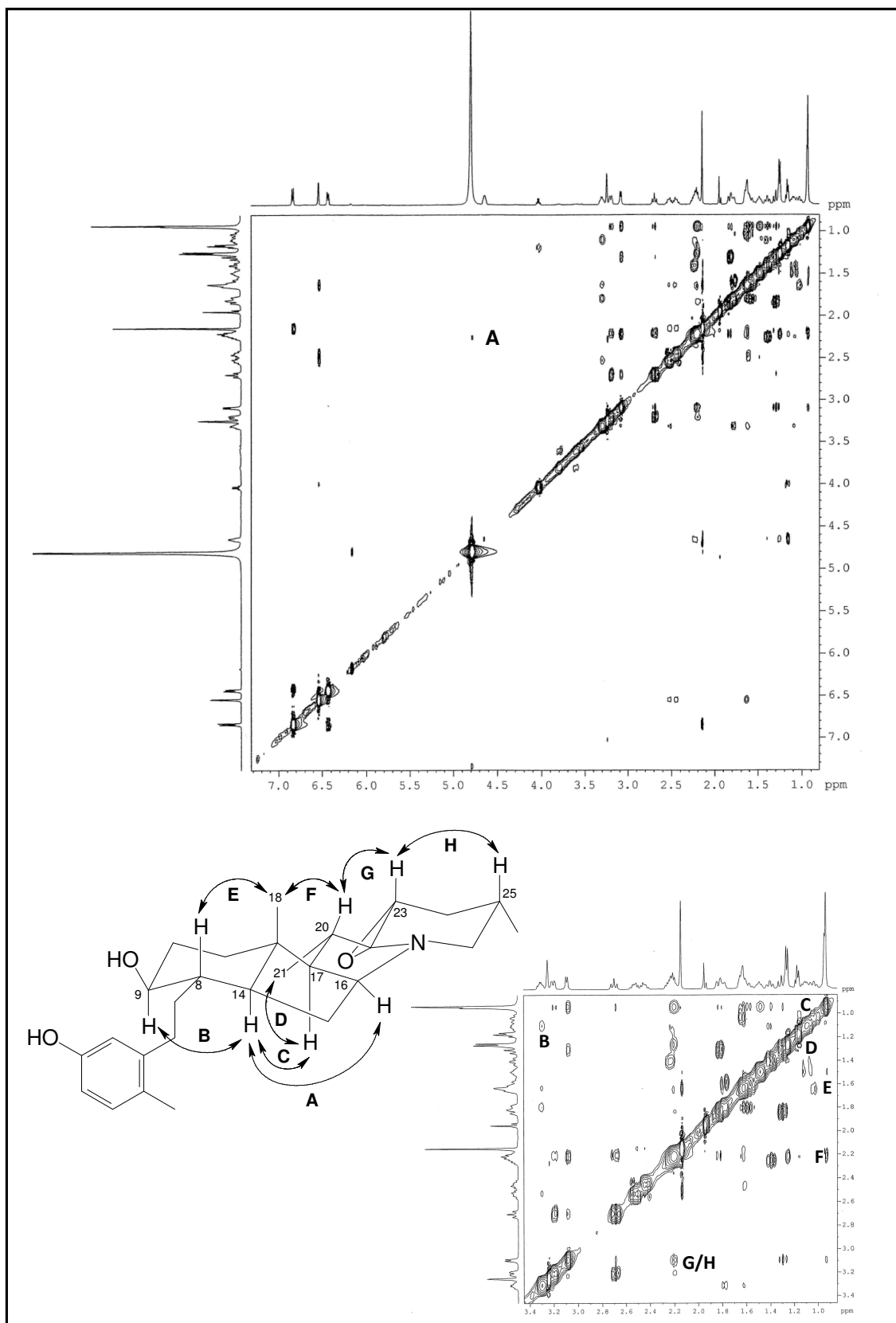


Figura 62- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-7

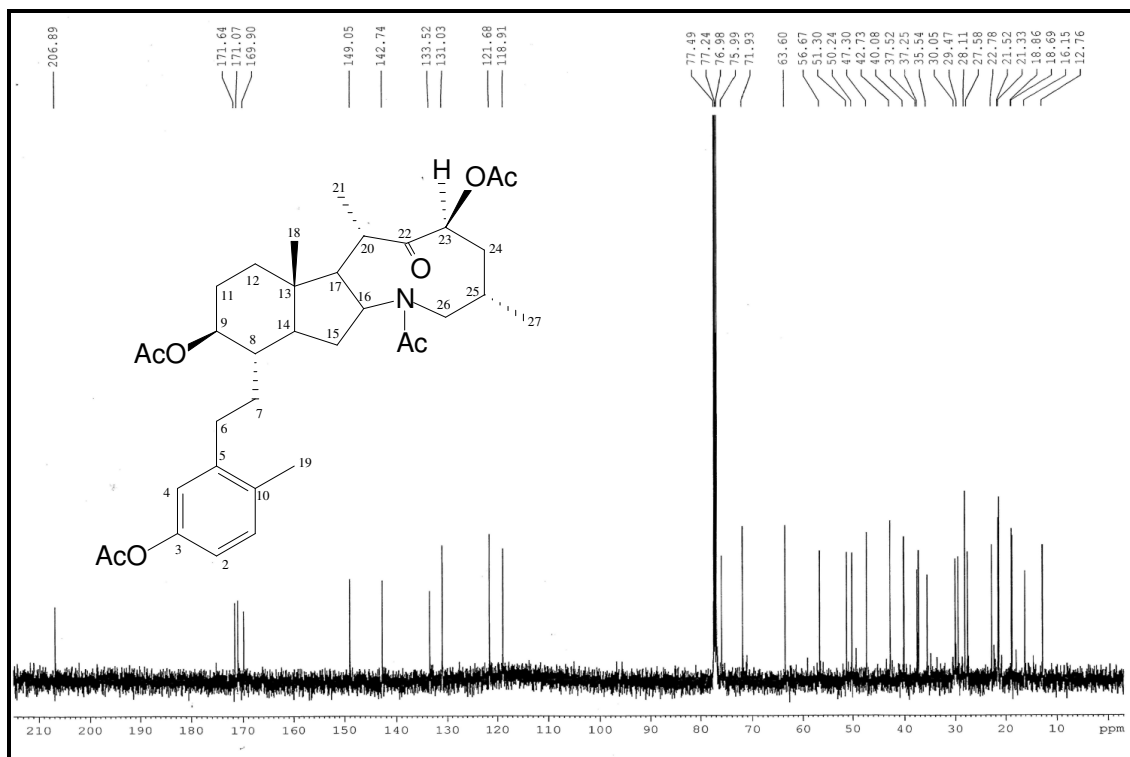


Figura 63- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (CDCl_3 , 125 MHz) de SC-7a

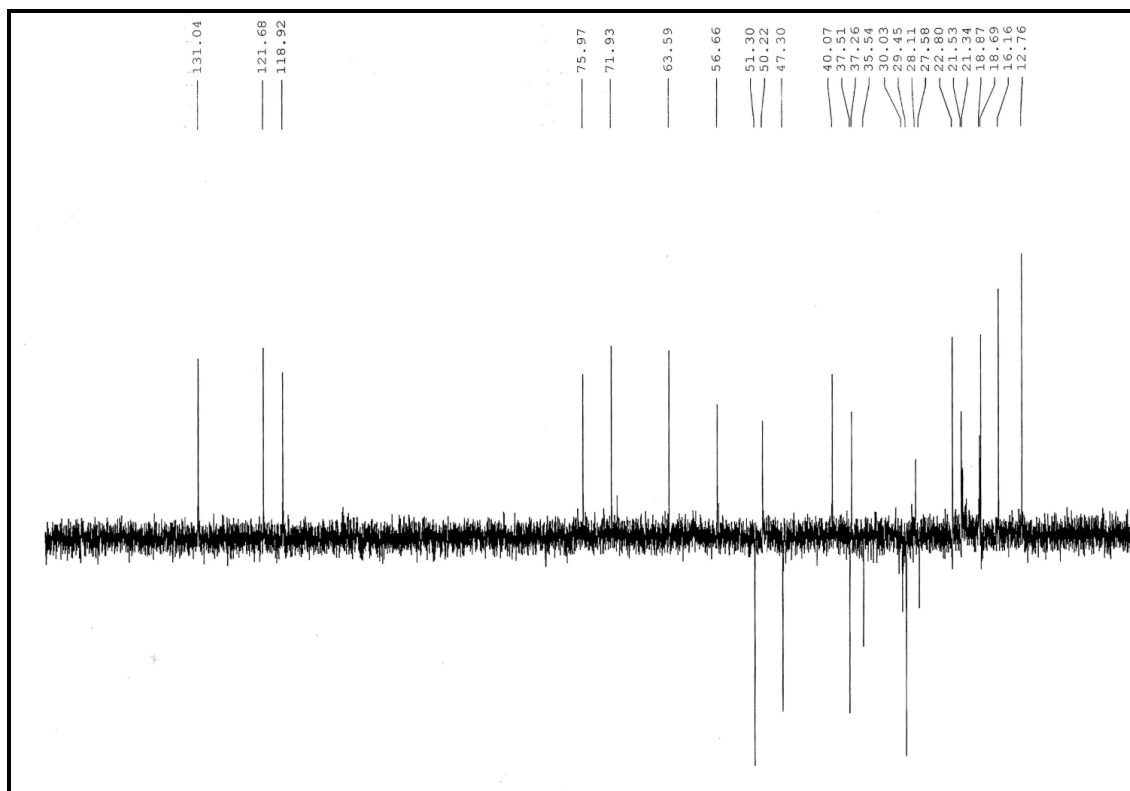


Figura 64- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (CDCl_3 , 125 MHz) de SC-7a

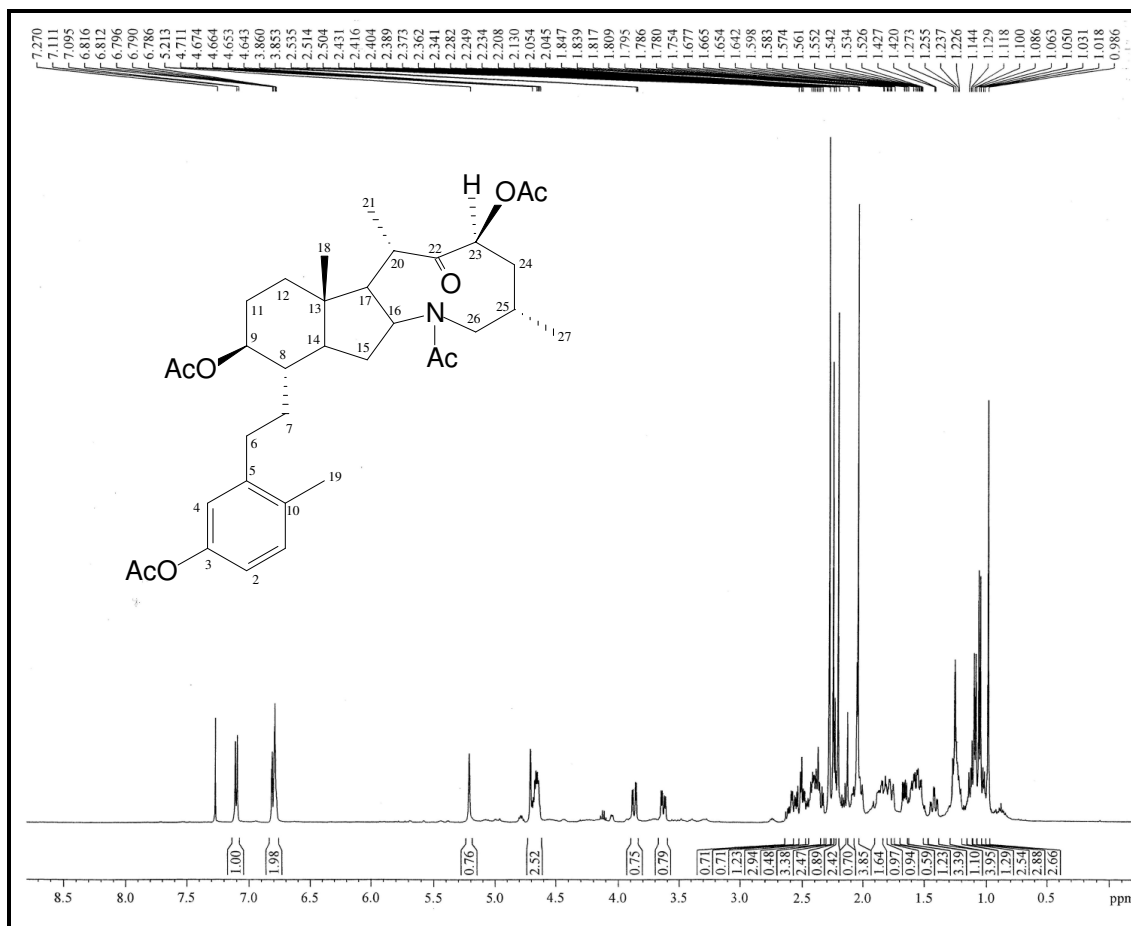


Figura 65- Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de SC-7a

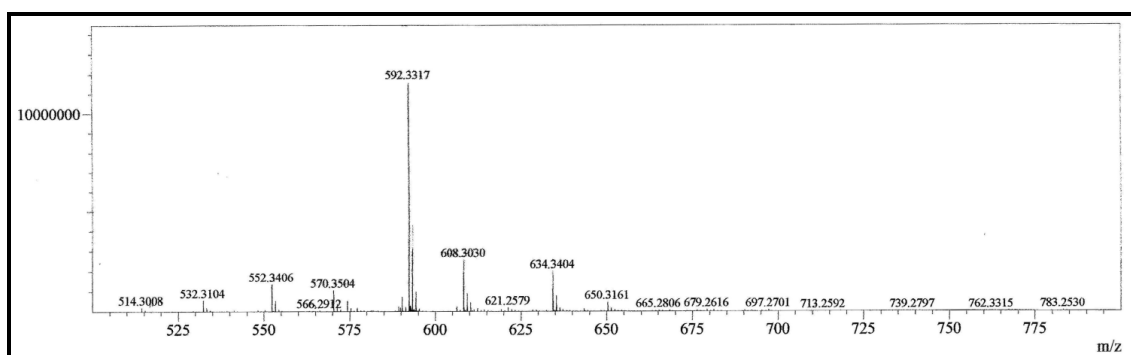


Figura 66- Espectro de massas (IES-EM) de SC-7a

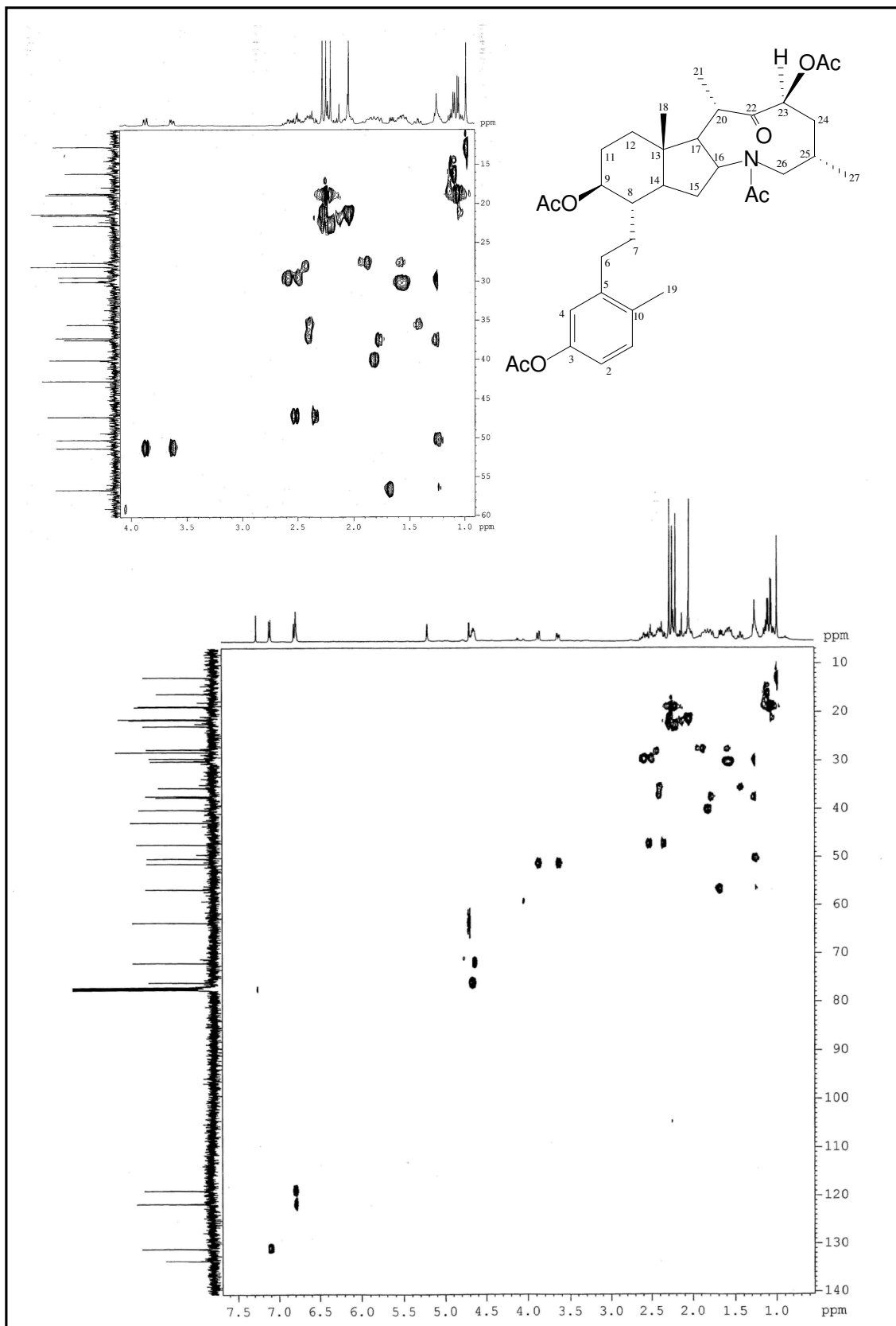


Figura 67- Espectro de RMN-HSQC-expansão (CDCl₃, 125 x 500 MHz) de SC-7a

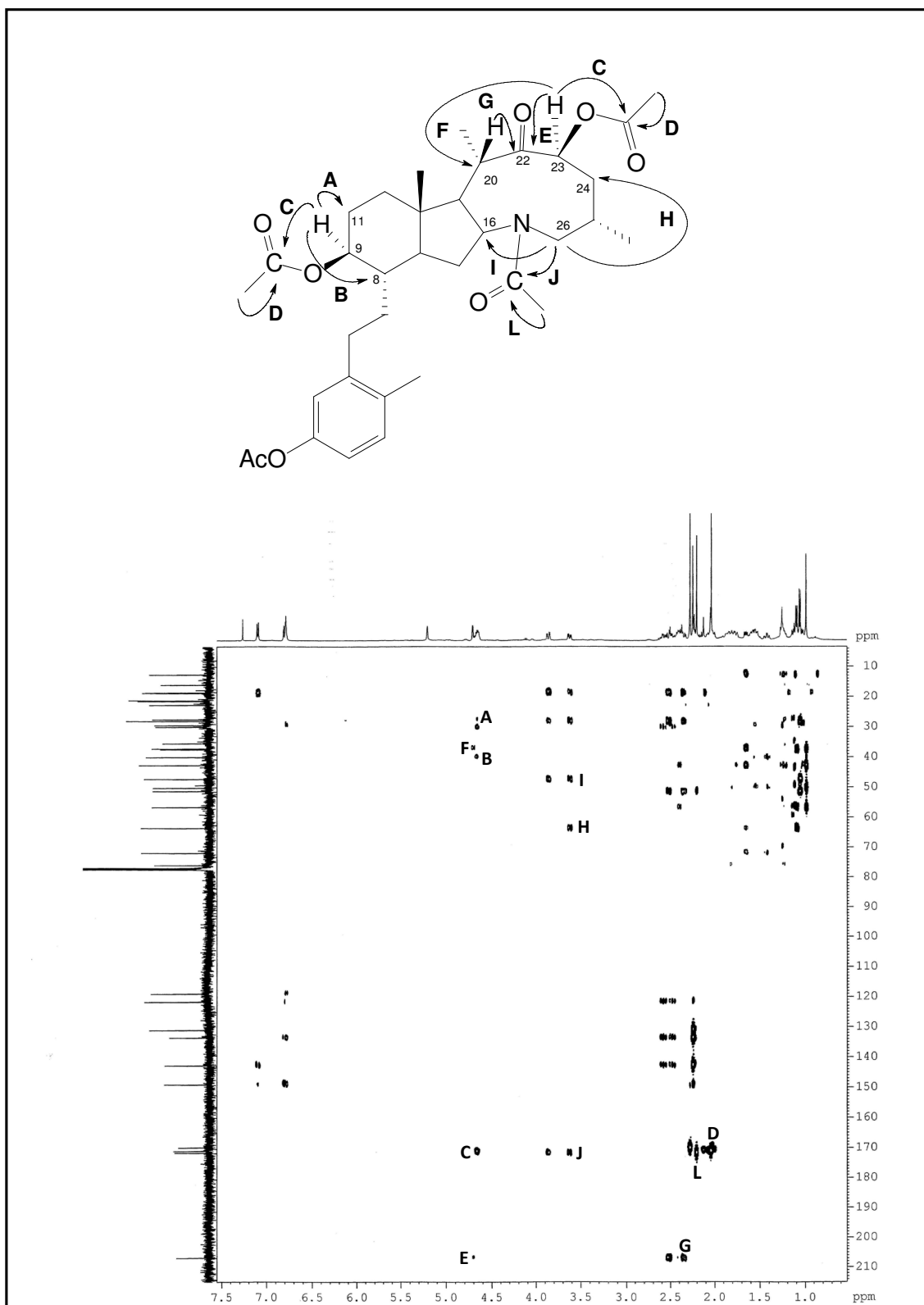


Figura 68- Espectro de RMN-HMBC (CDCl₃, 125 x 500 MHz) de SC-7a

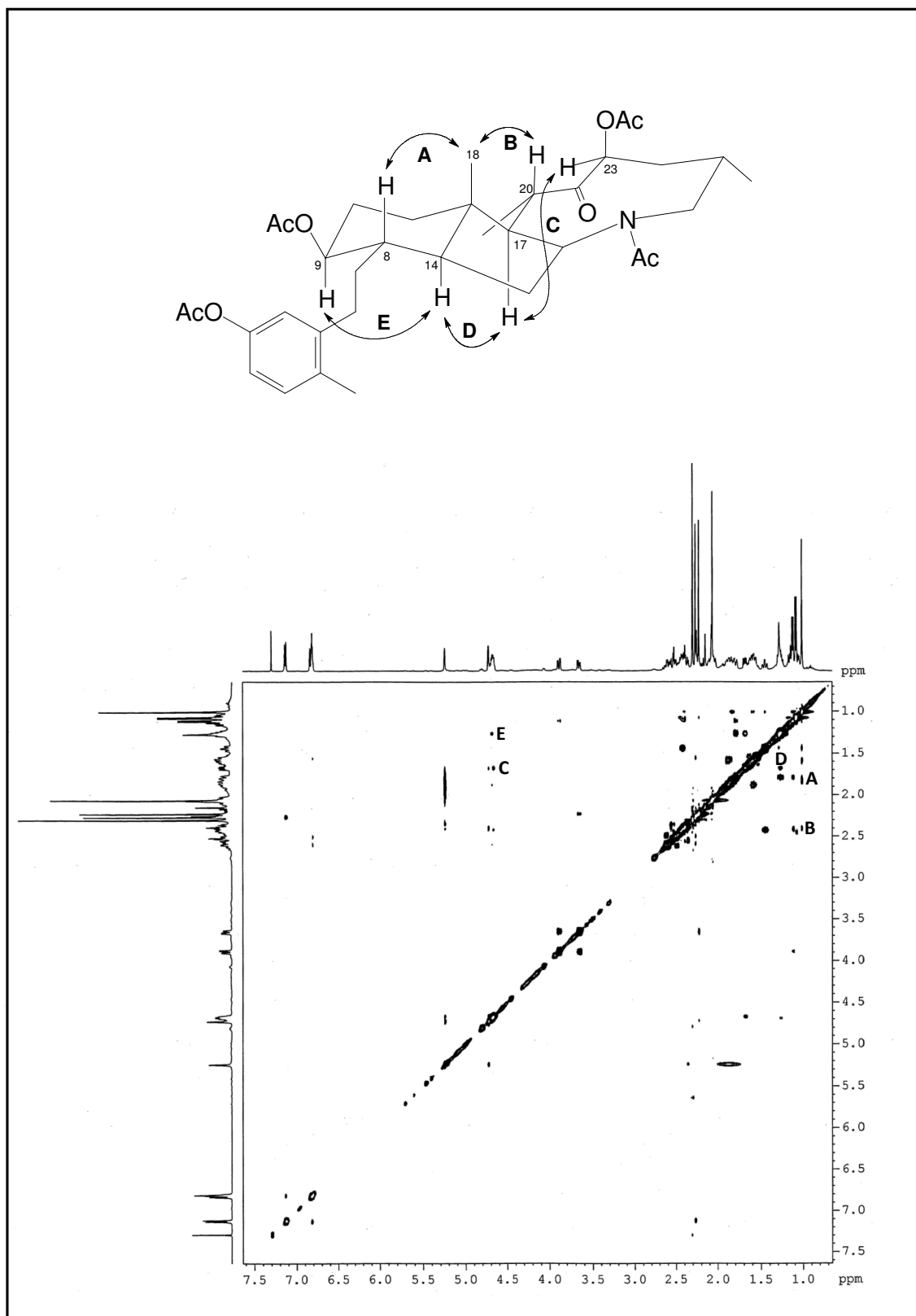


Figura 69- Espectro de RMN-NOESY (CDCl₃, 500 x 500 MHz) de SC-7a

4.1.1.8 Determinação estrutural de **SC-16**

A fração EESC-D após sucessivas cromatografias, incluindo extração em fase sólida (SPE) e purificação por CLAE, resultou na obtenção de um composto puro, com aspecto de uma resina amarela (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), o qual foi denominado **SC-16**.

O espectro de IV (Figura 70, p. 109) mostrou uma banda em 3263 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de ligação O-H; absorção em 2963 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação C-H de carbono sp^3 ; absorção em 1673 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=N; bandas em 1517 e 1440 cm^{-1} de C=C_{arom}; absorção característica de deformação axial assimétrica de C-O-C em 1256 cm^{-1} ; banda em 1156 cm^{-1} referente à deformação axial e angular de C-(C-O)-C; banda em 1039 cm^{-1} referente às deformações axiais C-N, (SILVERSTEIN, 2007).

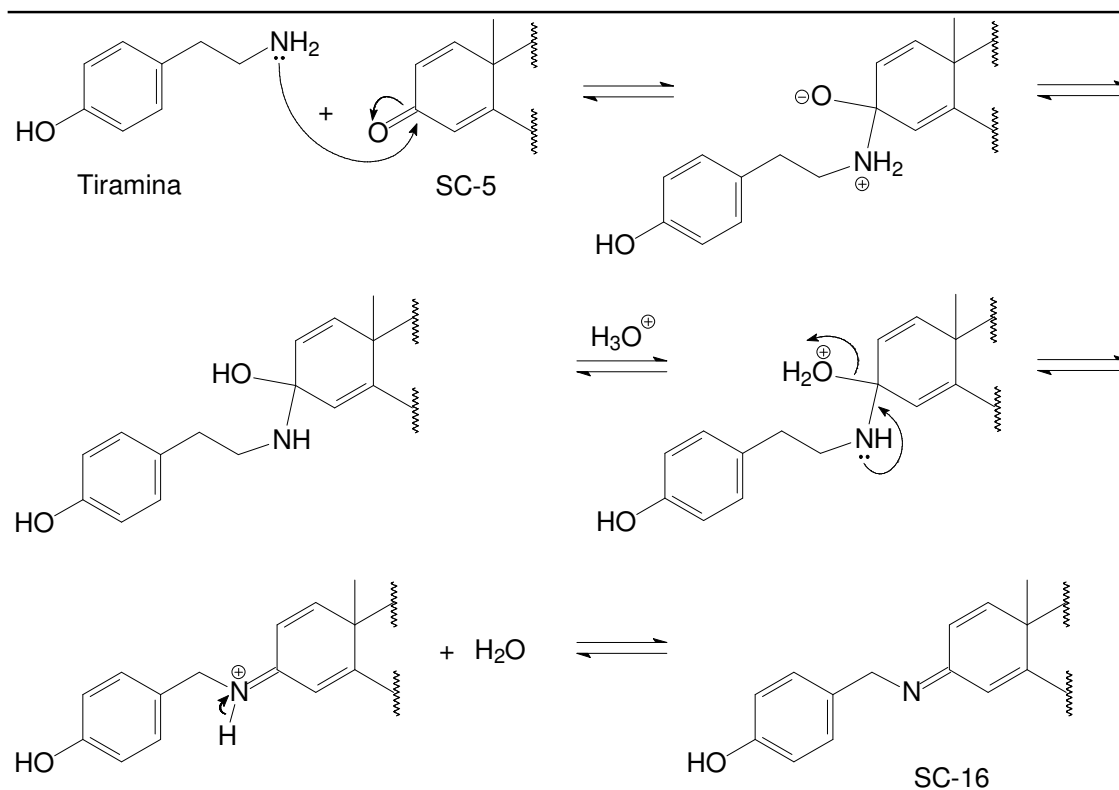
O espectro de massas de alta resolução (Figura 71, p. 109) exibiu o pico $[\text{M} + \text{H}]^+$ com m/z 525,3487 (calculado m/z 525,3476; erro = 2,1 ppm), referente à fórmula molecular $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_2$, bem como o pico $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$ com m/z 543,3610 (calculado m/z 543,3581; erro 5,84 ppm).

No espectro de RMN de ^{13}C -CPD (125 MHz, MeOD, Figuras 72 e 73, p. 110) foram observadas trinta e três sinais espectrais, dois dos quais com intensidade destacadas [δ_{C} 131,6 (C-2'/6') e 116,8 (C-3'/5')], correspondentes cada um a dois carbonos quimicamente equivalentes de um anel benzênico *p*-substituído. Este espectro, quando comparado com o espectro DEPT 135° (Figura 74, p. 111), revelou a presença de oito carbonos não-hidrogenados, quinze carbonos metínicos, oito carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos. Dos trinta e três sinais observados, vinte e sete foram compatíveis com um núcleo solanidano, os quais mostraram uma estreita semelhança estrutural com **SC-5** (22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona) (p. 52).

Conforme análise dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C de **SC-16** com aqueles de **SC-5** (Tabela 15, p. 108), a principal diferença entre os dois compostos foi a presença de oito carbonos adicionais, sendo seis na região de carbono sp^2 [δ_{C} 158,5 (C-4'), 131,6 (C-2'/6'), 128,8 (C-1') e 116,8 (C-3'/5')] e dois na região de carbono sp^3 [δ_{C} 47,6 (C-8') e 35,5 (C-7')]. Adicionalmente, foi verificada a blindagem nos valores de deslocamento químico dos carbonos C-2 (δ_{C} 115,3), C-3 (δ_{C} 176,5), C-4 (δ_{C} 115,9) e C-5 (δ_{C} 165,6) do anel **A** do núcleo esteroidal de **SC-16**.

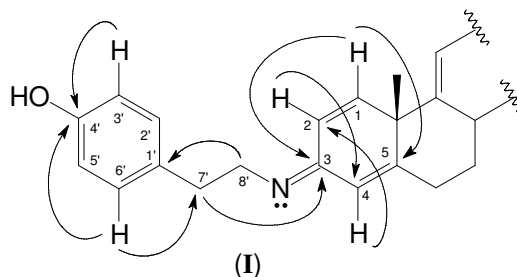
O espectro de RMN de ^1H (Figuras 74 e 75, p. 111) mostrou um par de dupletos em δ_{H} 7,00 ($J = 8,3$ Hz; H-2'/6') e 6,67 ($J = 8,3$ Hz; H-3'/5'), característicos de anel benzênico *p*-dissubstituído, bem como os sinais em δ_{H} 3,92 (t, $J = 6,2$ Hz; 2H-8') e 2,94 (m; 2H-7'), os quais exibiram correlações com os carbonos metilênicos C-8' e C-7', respectivamente, no espectro HSQC (Figura 76, p. 112). Estes dados evidenciaram a existência de um grupo *p*-hidroxifeniletilamina, o qual pode ser derivado da tiramina, substância comum em plantas do gênero *Solanum* e inclusive isolado da planta em estudo, conforme pode ser observado posteriormente (p. 185).

Portanto, **SC-16** trata-se de uma imina provavelmente produzida pela condensação de **SC-5** (22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona) e a tiramina (Esquema 4, abaixo).



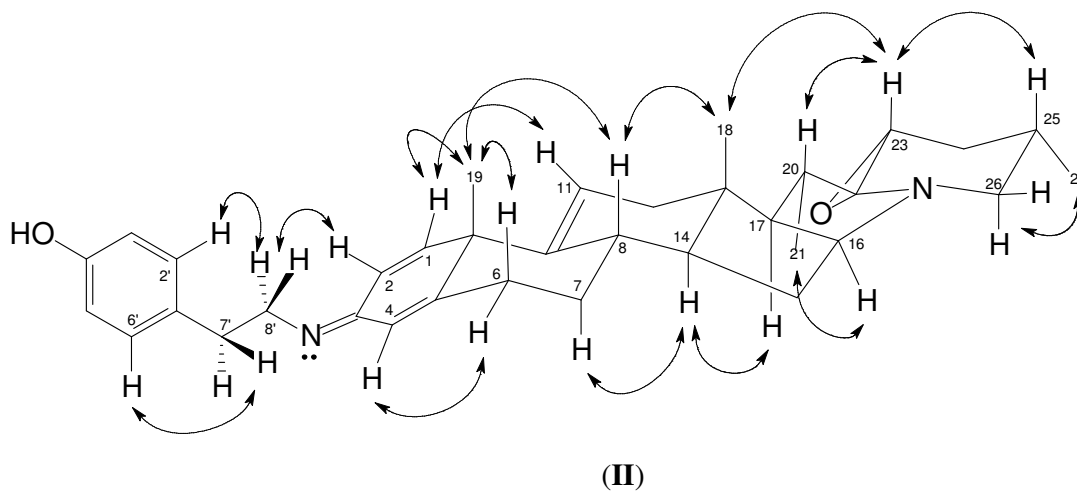
Esquema 4- Proposta para formação de **SC-16** a partir da condensação de **SC-5** com a tiramina

O grupo *p*-hidroxifeniletilamina foi posicionado no carbono C-3, com base nas correlações observadas no espectro HMBC (Figura 77, p. 113) dos hidrogênios em δ_{H} 2,94 (2H-7') e 7,60 (H-1) com o carbono em δ_{C} 176,5 (C-3). Outras correlações importantes estão



sumarizadas na sub-estrutura **(I)**. A formação da imina justifica a blindagem dos valores de deslocamento químico dos carbonos C-2 (δ_C 115,3), C-3 (δ_C 176,5), C-4 (δ_C 115,9) e C-5 (δ_C 165,6), quando comparados aos deslocamentos químicos referentes aos carbonos equivalentes de **SC-5** (Tabela 15, p. 108), em função da menor eletronegatividade do átomo de nitrogênio em relação ao átomo de oxigênio.

Através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 78, p. 114) entre o hidrogênio em δ_H 6,61 (H-2) e os hidrogênios em δ_H 3,92 (2H-8'), foi possível estabelecer a posição *anti* para o grupo *p*-hidroxifeniletilamina e, portanto, determinar a configuração *E* para a ligação dupla C=N. Outras interações espaciais importantes utilizadas para a atribuição da estereoquímica relativa dos centros estereogênicos de **SC-16** estão sumarizadas na estrutura **II**.



Os dados discutidos permitiram elucidar a estrutura de **SC-16** como o alcalóide (*E*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-imina, relatado pela primeira vez.

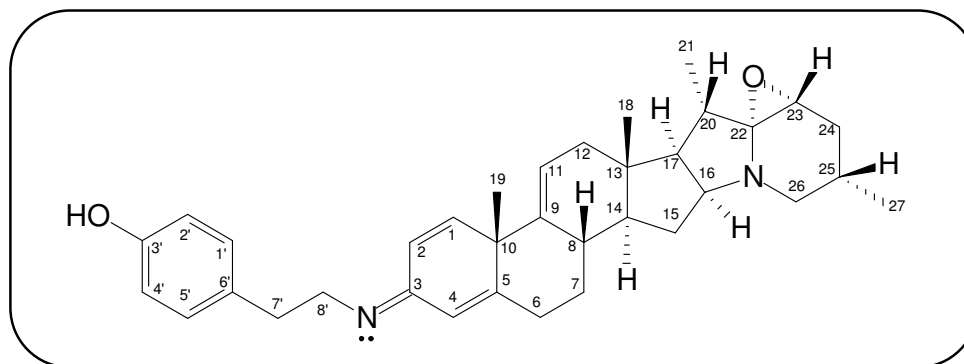


Tabela 15- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-16**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-5**.

# C	SC-16		SC-5	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	165,1	7,60 (<i>d</i> ; 10,2)	158,6	7,44 (<i>d</i> ; 9,5)
2	115,3	6,61 (<i>d</i> ; 10,2)	127,4	6,24 (<i>d</i> ; 9,5)
3	176,5	-	188,8	-
4	115,9	6,46 (<i>s</i>)	124,0	6,05 (<i>s</i>)
5	165,6	-	171,5	-
6	33,4	2,85 (<i>dt</i> , 13,3; 4,4); 2,58 (<i>dl</i> ; 13,3)	33,3	2,70; 2,46 (<i>d</i> ; 13,5)
7	36,6	2,30; 1,12 (<i>m</i>)	36,2	2,28; 1,20
8	37,5	2,45 (<i>m</i>)	37,7	2,38
9	144,3	-	145,0	-
10	50,4	-	47,9	-
11	123,4	5,49 (<i>d</i> , 5,4)	121,8	5,61 (<i>sl</i>)
12	40,7	2,07 (<i>dd</i> ; 17,0; 5,2); 1,83 (<i>dl</i> ; 17,0)	40,6	1,90; 1,35
13	42,7	-	42,6	-
14	51,1	1,20	51,6	1,16
15	35,5	2,40; 1,40	35,5	2,38; 1,50
16	69,8	4,68 (<i>m</i>)	69,8	4,69 (<i>sl</i>)
17	58,4	1,28	58,4	1,30
18	15,3	0,94 (<i>s</i>)	15,2	0,95 (<i>s</i>)
19	26,9	1,45 (<i>s</i>)	28,0	1,47 (<i>s</i>)
20	27,7	2,27	27,8	2,27
21	18,8	1,31 (<i>d</i> ; 7,2)	18,8	1,31 (<i>d</i> ; 7,0)
22	93,8	-	93,8	-
23	60,0	3,18 (<i>d</i> ; 6,6)	60,1	3,18 (<i>d</i> ; 5,5)
24	45,5	1,88 (<i>dl</i> ; 12,9); 1,36 (<i>dl</i> ; 12,9)	45,5	1,88 (<i>dl</i> ; 12,9); 1,36 (<i>dl</i> ; 12,9)
25	28,2	2,28 (<i>m</i>)	28,1	2,26
26	52,1	3,26 (<i>dl</i> ; 12,1; 3,0); 2,77 (<i>t</i> ; 12,1)	52,1	3,26 (<i>dl</i>); 2,77 (<i>m</i>)
27	18,3	1,00 (<i>d</i> ; 6,6)	18,2	1,00 (<i>d</i> ; 6,0)
Unidade <i>p</i> -hidroxifeniletamina				
1'	128,8	-		
2'/6'	131,6	7,00 (<i>d</i> ; 8,3)		
3/5'	116,8	6,67 (<i>d</i> ; 8,3)		
4'	158,1	-		
7'	35,5	2,94 (<i>m</i>)		
8'	47,6	3,92 (<i>t</i> ; 6,2)		

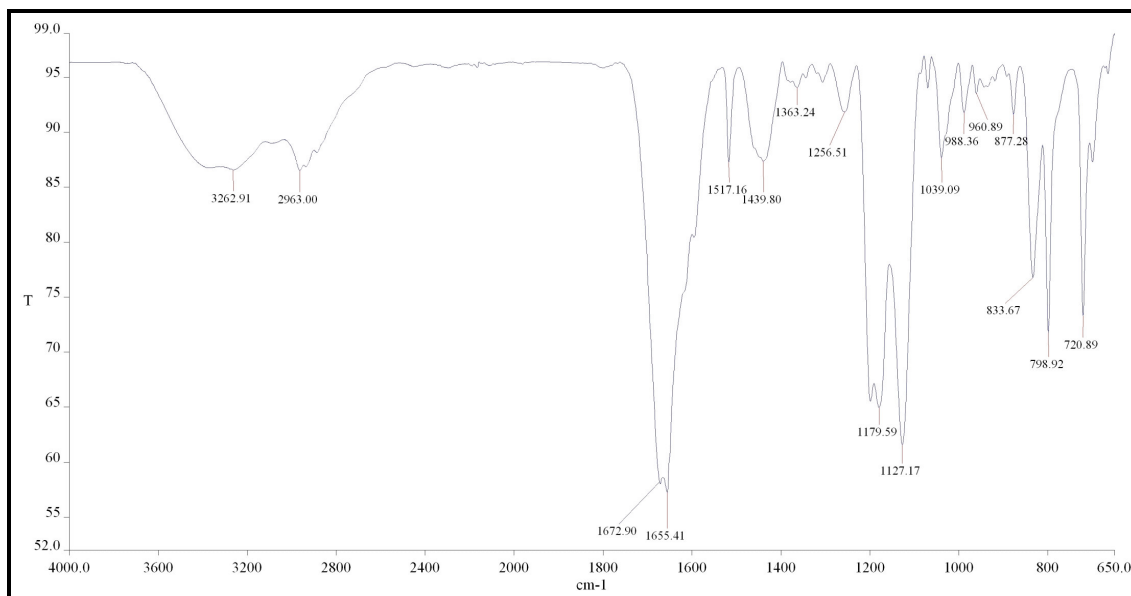


Figura 70- Espectro de absorção na região do IV de SC-16

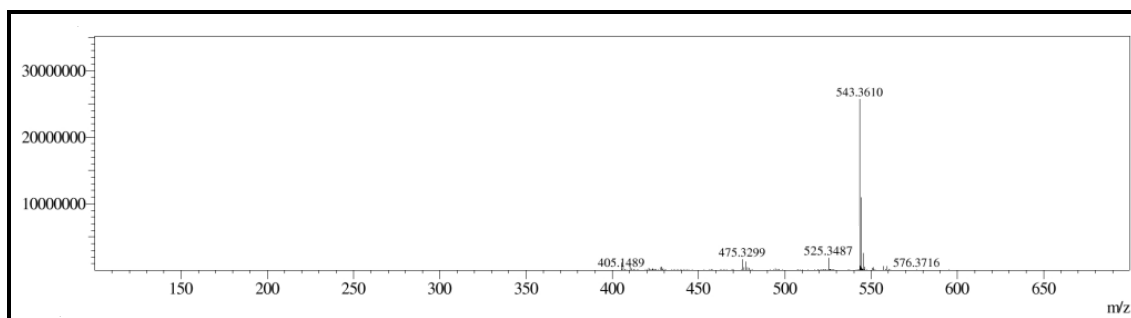


Figura 71- Espectro de massas (IES-EM) de SC-16

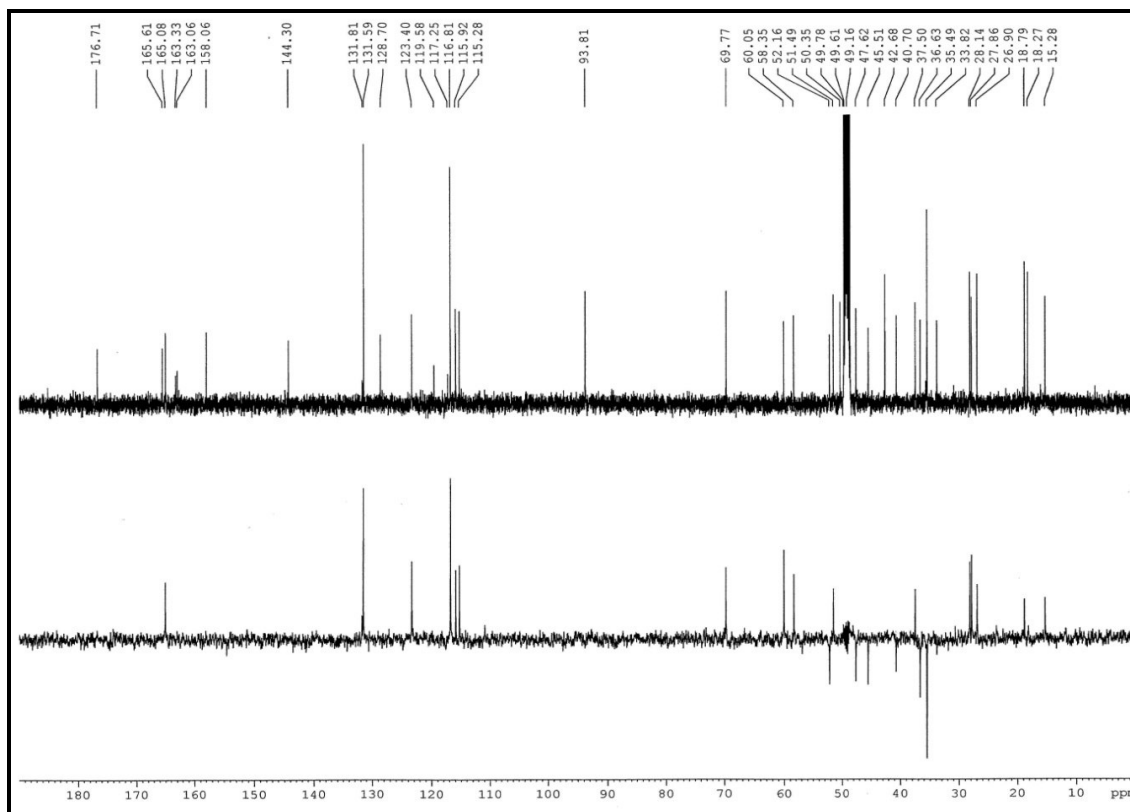


Figura 72- Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de SC-16

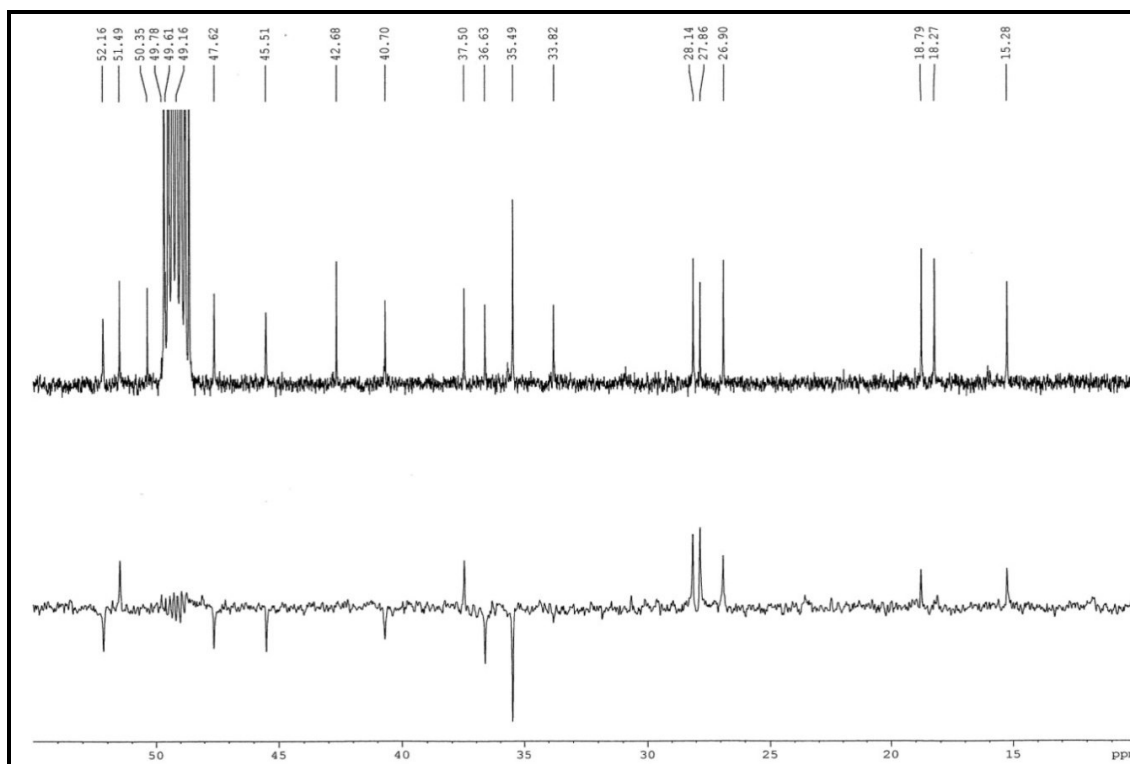


Figura 73- Espectro de RMN de ^{13}C -expansão (MeOD, 125 MHz) de SC-16

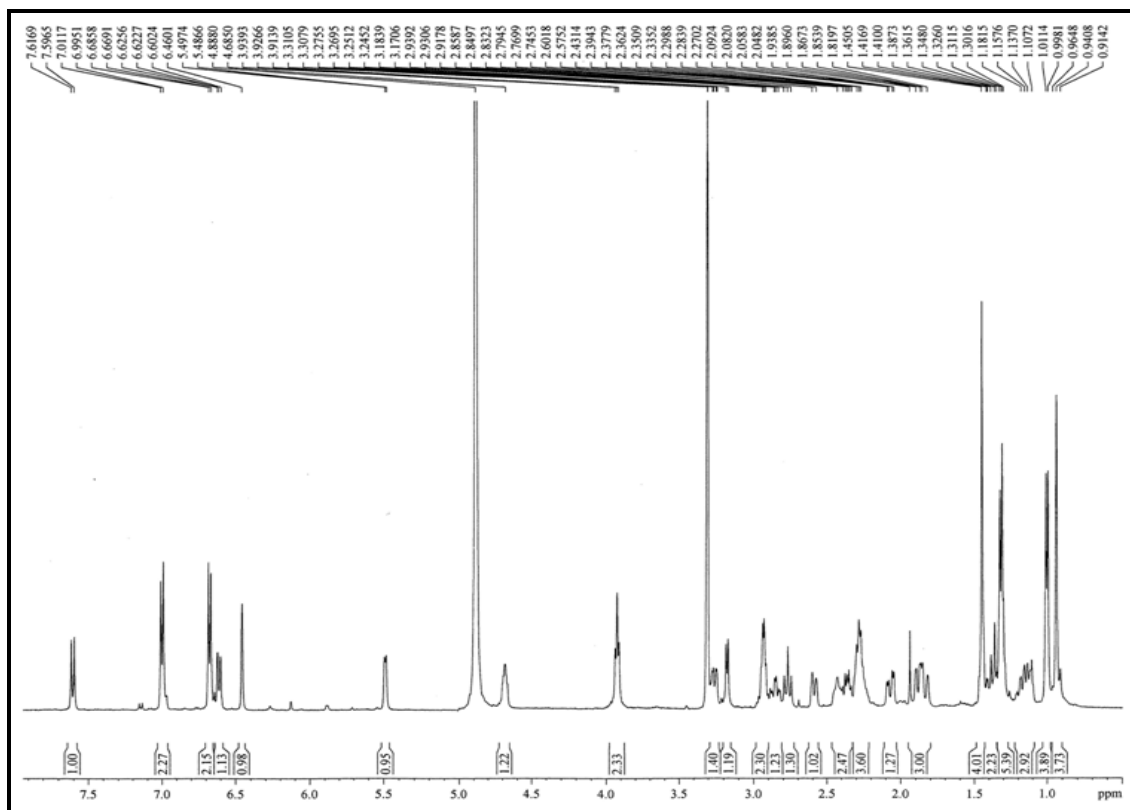


Figura 74- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-16

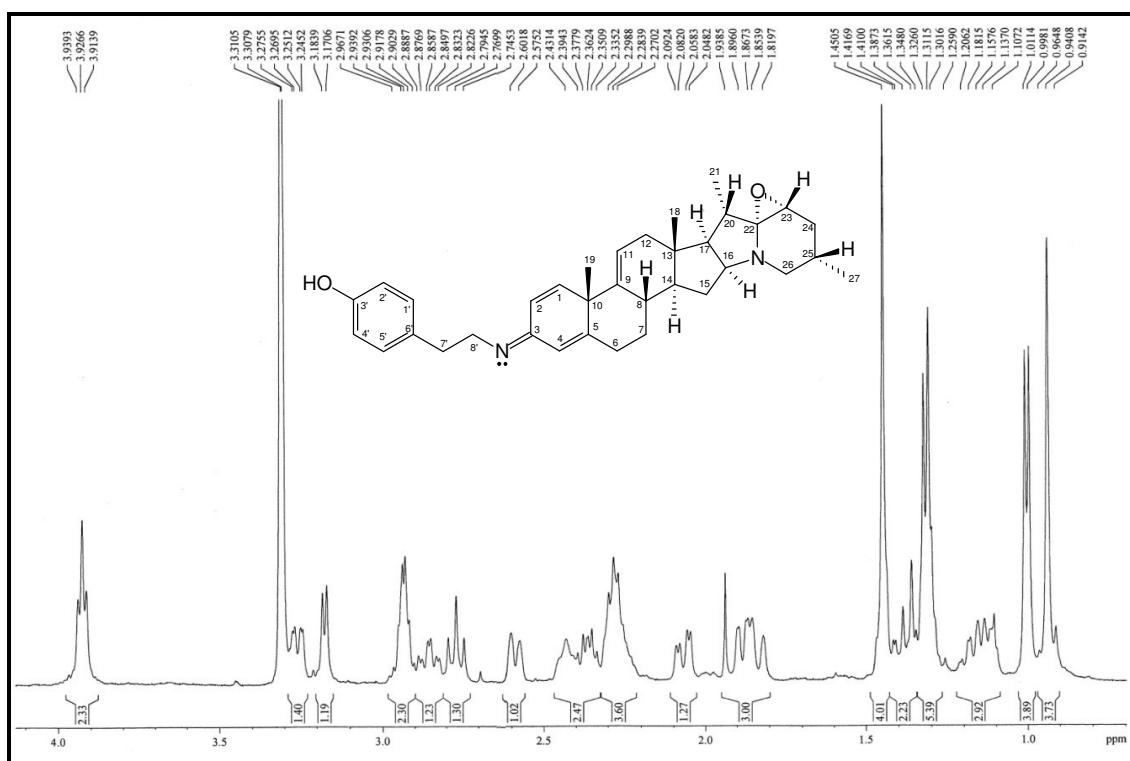


Figura 75- Espectro de RMN ^1H -expansão (MeOD, 500 MHz) de SC-16

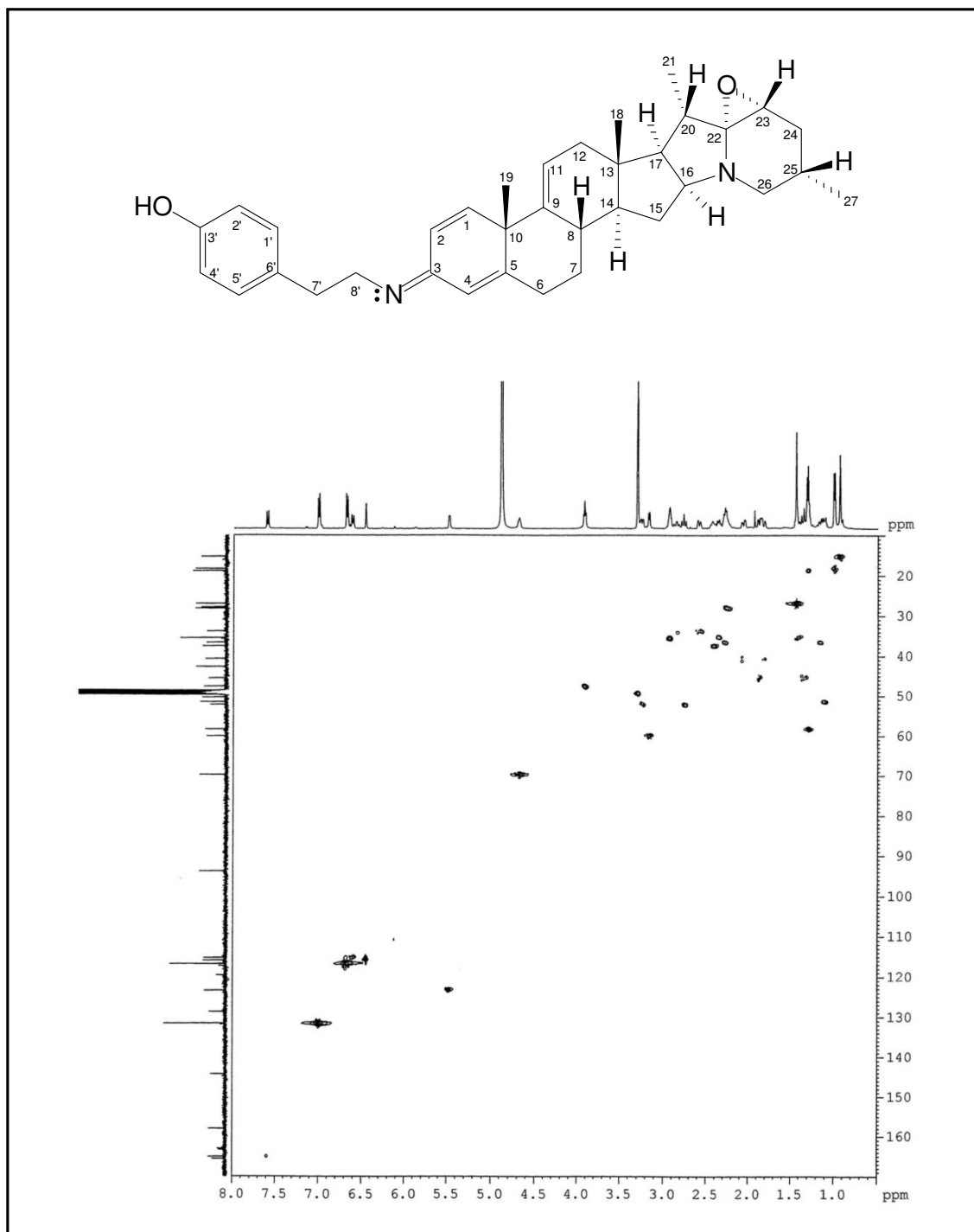


Figura 76- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-16

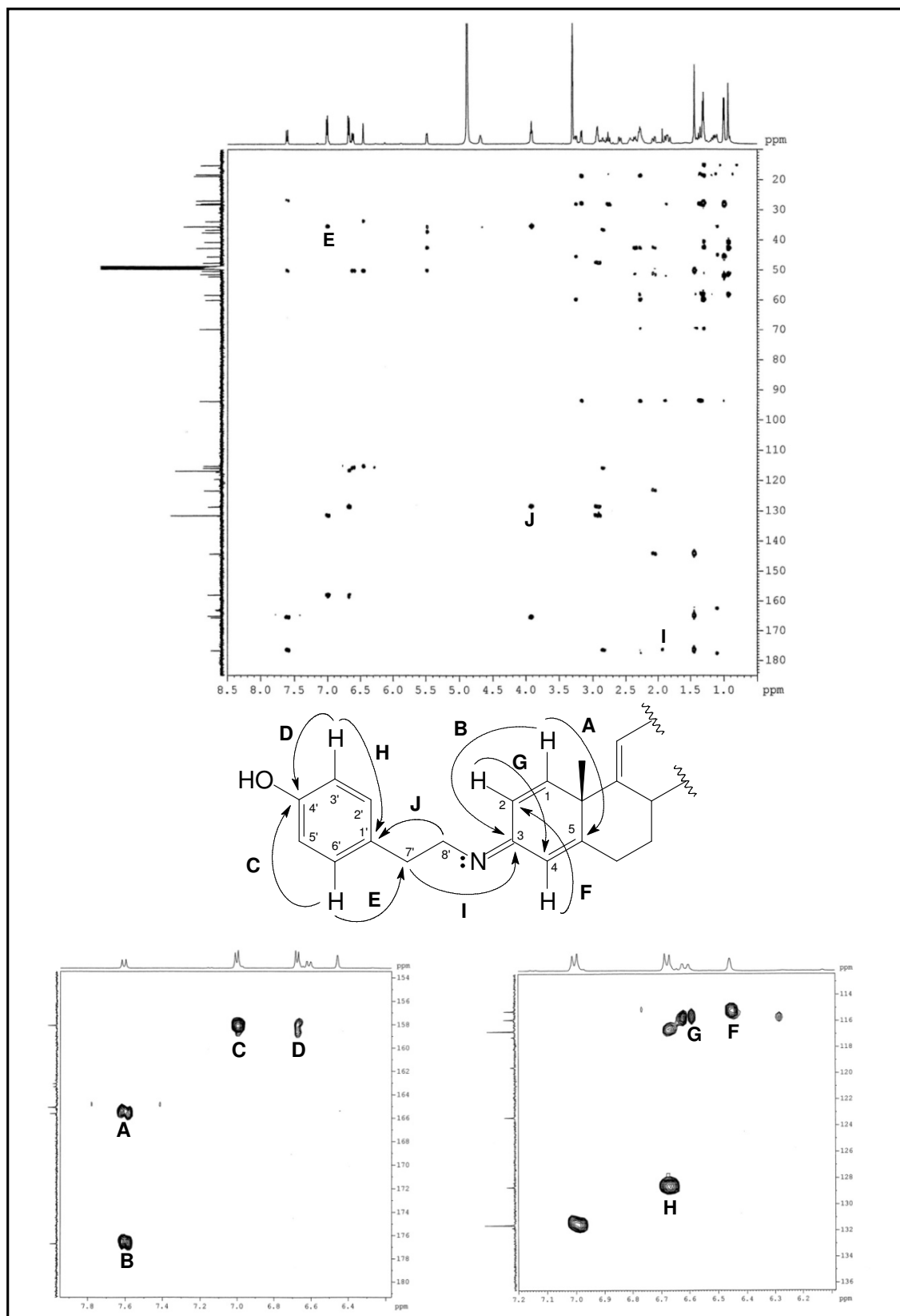


Figura 77- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-16

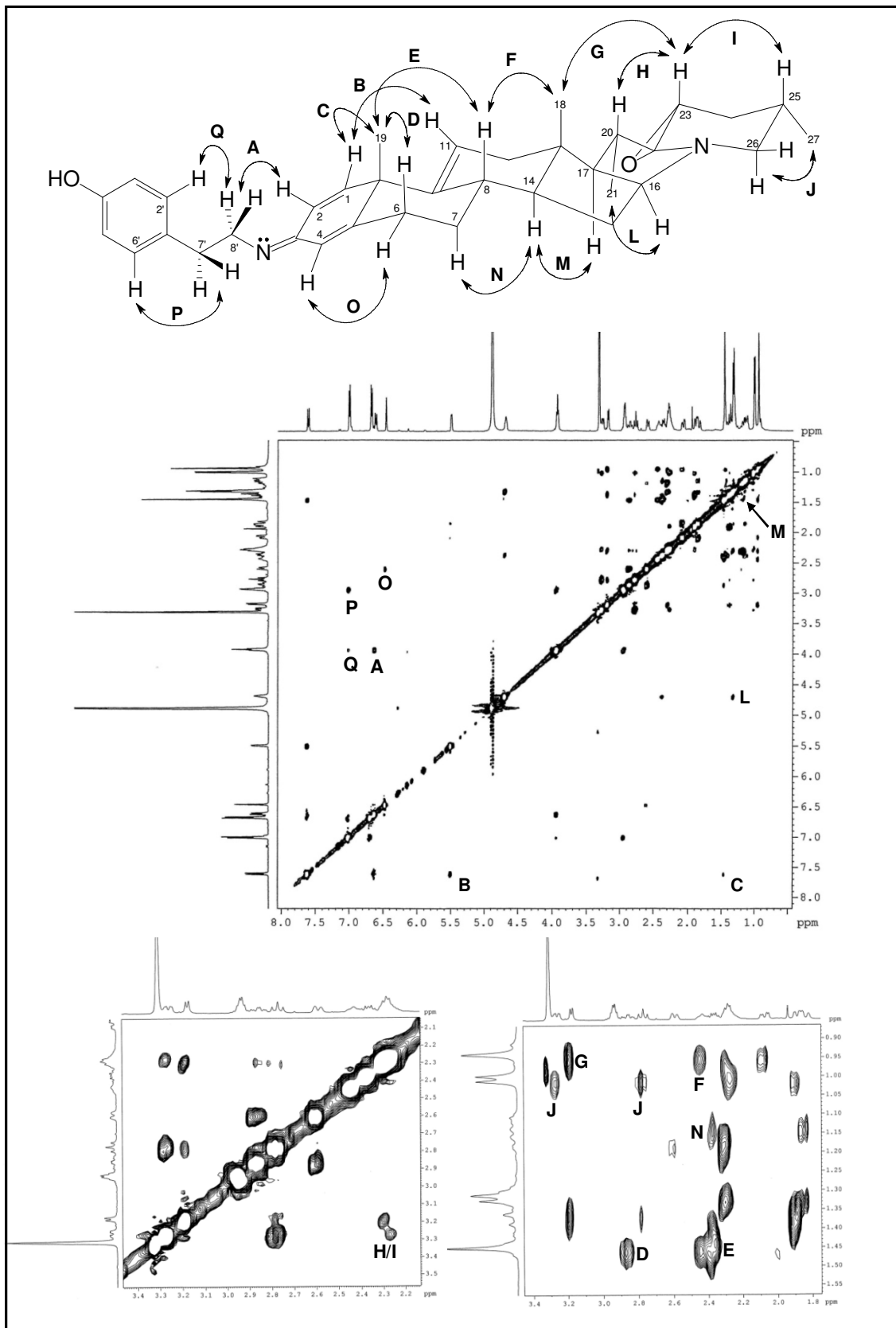


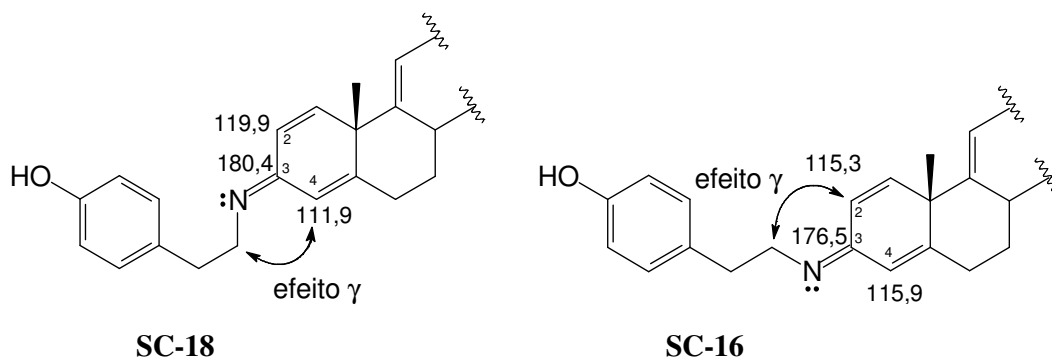
Figura 78- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-16

4.1.1.9 Determinação estrutural de **SC-18**

O pico **3**, resultou no composto denominado **SC-18** (11,7 mg) (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), o qual apresentou-se com uma resina amarela.

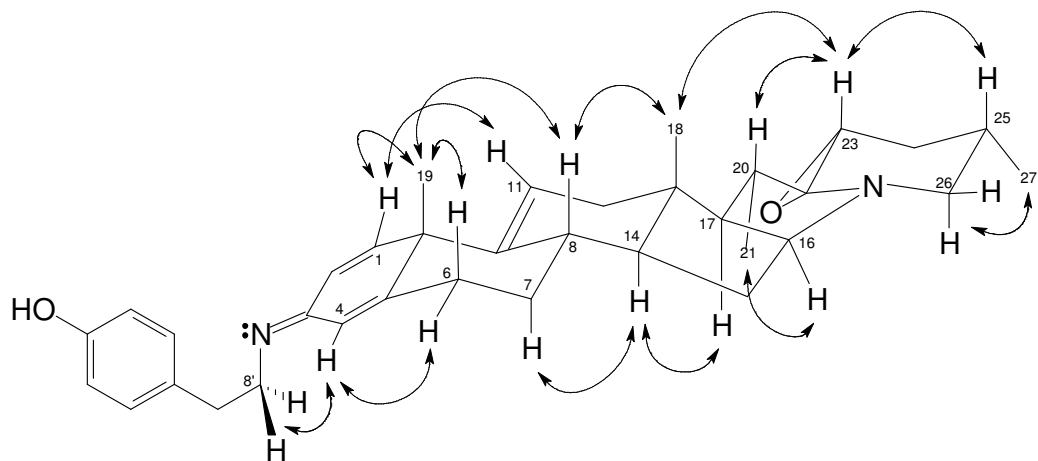
O espectro de massas de alta resolução (Figura 79, p. 118) exibiu o íon correspondente a molécula protonada $[M + H]^+$ com m/z 525,3487 (calculado m/z 525,3476; erro = 2,09 ppm), o qual permitiu a dedução da fórmula molecular $C_{35}H_{44}N_2O_2$, a mesma encontrada para o composto **SC-16**, e portanto, um isômero deste. Assim como em **SC-16** o espectro EM exibiu também o pico $[M + H_2O + H]^+$ com m/z 543,3601 (calculado m/z 543,3581; erro = 3,68 ppm).

A análise comparativa dos dados de RMN de 1H e ^{13}C (Figuras 80 a 82, p. 118 e 119), incluindo informações dos espectros HSQC e HMBC (Figuras 83 e 84, p. 120 e 121) de **SC-18** com aqueles de **SC-16** (Tabela 16, p. 117) revelou que os dois compostos diferem apenas quanto aos deslocamentos químicos dos átomos de carbonos pertencentes ao anel **A** do esqueleto solanidano **SC-18/ SC-16**: C-1 (δ_C 162,1/165,1); C-2 (δ_C 119,9/115,3); C-3 (δ_C 180,4/176,5) e C-4 (δ_C 111,8/115,9). Estes dados indicaram que **SC-18** é um isômero de **SC-16** contendo o grupo *p*-hidroxifeniletilamina na posição *sin*, forma estericamente mais condensada do que o isômero *E*, conformação menos impedida (SILVERSTEIN, 2007). A orientação *sin* do grupo *p*-hidroxifeniletilamina justificou a blindagem do carbono C-4 ($\Delta\delta = 4,0$) resultante da compressão estérica da interação γ gauche e a desblindagem do carbono C-2 ($\Delta\delta = 4,6$), quando comparado aos deslocamentos químicos dos carbonos equivalentes de **SC-16**, conforme ilustrado abaixo.



As interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 85, p. 122) entre o hidrogênio em δ_H 6,27 (H-4) e os hidrogênios em δ_H 3,92 (2H-8'), corroboraram a posição *sin*

para o grupo *p*-hidroxifeniletilamina. A estereoquímica relativa de **SC-18** foi estabelecida com base nas interações espaciais observadas no espectro NOESY, conforme mostra a estrutura **I**.



(I)

A estrutura de **SC-18**, nova na literatura, foi intitulada (*Z*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-imina, um isômero configuracional de **SC-16**.

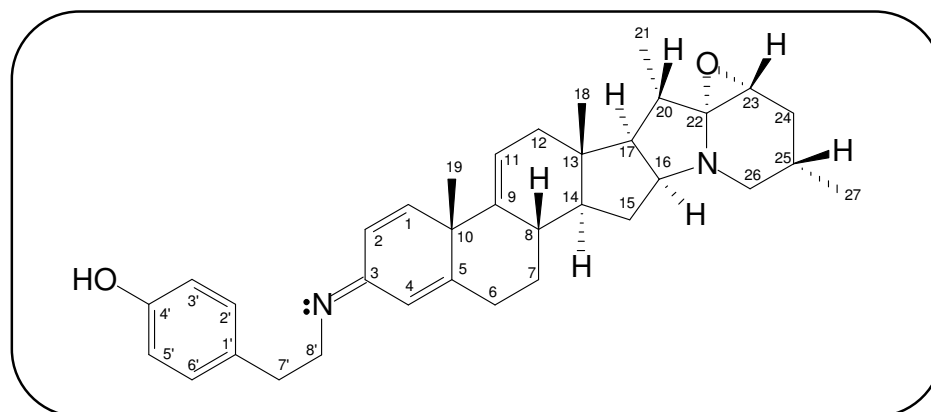


Tabela 16- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-18**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-16**

# C	SC-18		SC-16	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	162,1	7,60 (<i>d</i> ; 10,0)	165,1	7,60 (<i>d</i> ; 10,2)
2	119,9	6,61 (<i>d</i> ; 10,0)	115,3	6,61 (<i>d</i> ; 10,2)
3	180,4	-	176,5	-
4	111,8	6,27 (<i>s</i>)	115,9	6,46 (<i>s</i>)
5	165,4	-	165,6	-
6	34,5	2,77; 2,45	33,4	2,85 (<i>dt</i> , 13,3; 4,4); 2,58 (<i>dl</i> ; 13,3)
7	36,6	2,24; 1,15	36,6	2,30; 1,12 (<i>m</i>)
8	37,5	2,38	37,5	2,45 (<i>m</i>)
9	144,8	-	144,3	-
10	50,4	-	50,4	-
11	123,2	5,55 (<i>sl</i>)	123,4	5,49 (<i>d</i> , 5,4)
12	40,6	2,06; 1,82	40,7	2,07 (<i>dd</i> ; 17,0; 5,2); 1,83 (<i>dl</i> ; 17,0)
13	42,7	-	42,7	-
14	51,1	1,20	51,1	1,20
15	35,5	2,34; 1,44	35,5	2,40; 1,40
16	69,8	4,69 (<i>sl</i>)	69,8	4,68 (<i>m</i>)
17	58,3	1,32	58,4	1,28
18	15,3	0,93 (<i>s</i>)	15,3	0,94 (<i>s</i>)
19	26,9	1,44 (<i>s</i>)	26,9	1,45 (<i>s</i>)
20	27,9	2,27	27,7	2,27
21	18,8	1,32 (<i>d</i> ; 7,2)	18,8	1,31 (<i>d</i> ; 7,2)
22	93,8	-	93,8	-
23	60,1	3,17 (<i>d</i> ; 6,7)	60,0	3,18 (<i>d</i> ; 6,6)
24	45,5	1,87; 1,36	45,5	1,88 (<i>dl</i> ; 12,9); 1,36 (<i>dl</i> ; 12,9)
25	28,2	2,27 (<i>m</i>)	28,2	2,28 (<i>m</i>)
26	52,2	3,27; 2,77	52,1	3,26 (<i>dl</i> ; 12,1; 3,0); 2,77 (<i>t</i> ; 12,1)
27	18,3	1,00 (<i>d</i> ; 6,6)	18,3	1,00 (<i>d</i> ; 6,6)
Unidade <i>p</i> -hidroxifeniletilamina				
1'	128,8	-	128,8	-
2'/6'	131,8	7,00 (<i>d</i> ; 8,3)	131,6	7,00 (<i>d</i> ; 8,3)
3/5'	116,8	6,67 (<i>d</i> ; 8,3)	116,8	6,67 (<i>d</i> ; 8,3)
4'	158,0	-	158,1	-
7'	35,6	2,94 (<i>m</i>)	35,5	2,94 (<i>m</i>)
8'	47,6	3,92 (<i>t</i> ; 6,2)	47,6	3,92 (<i>t</i> ; 6,2)

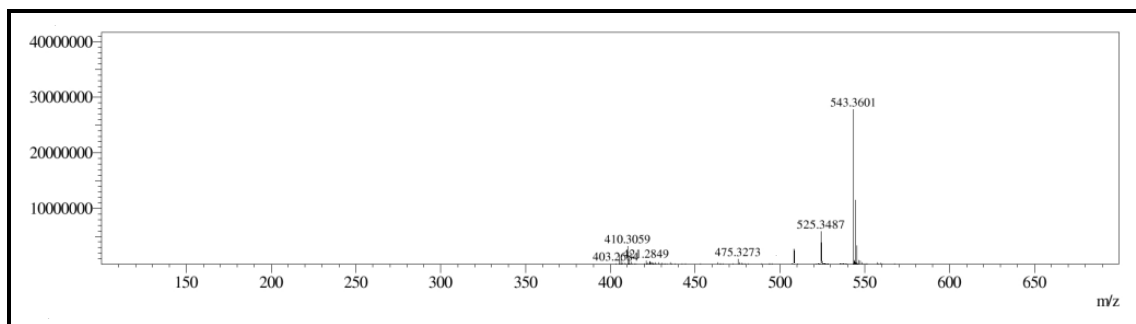


Figura 79- Espectro de massas (IES-EM) de SC-18

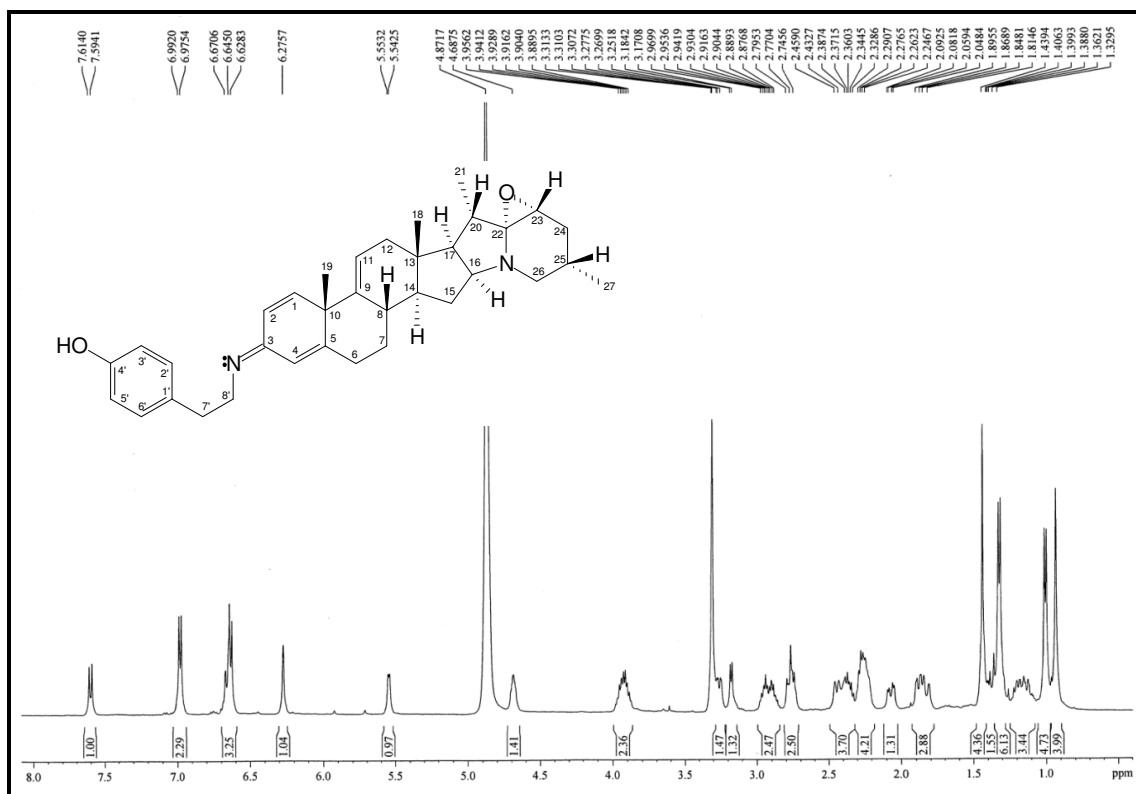


Figura 80- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-18

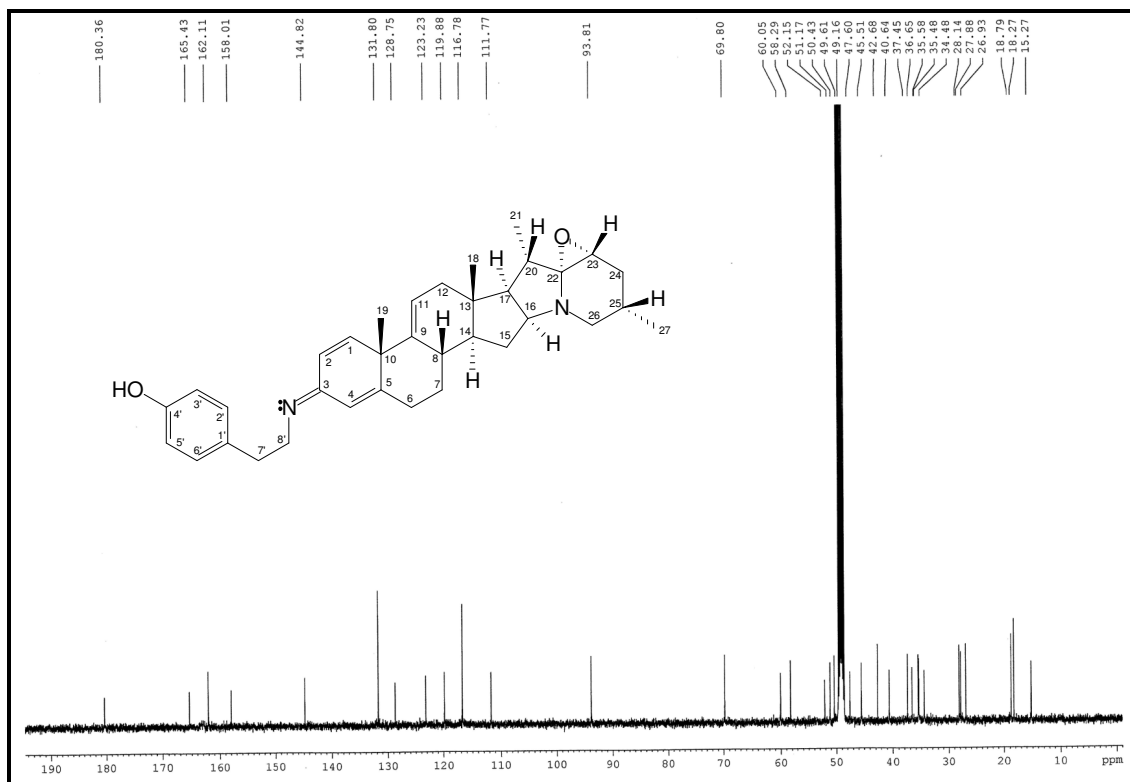


Figura 81- Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de SC-18

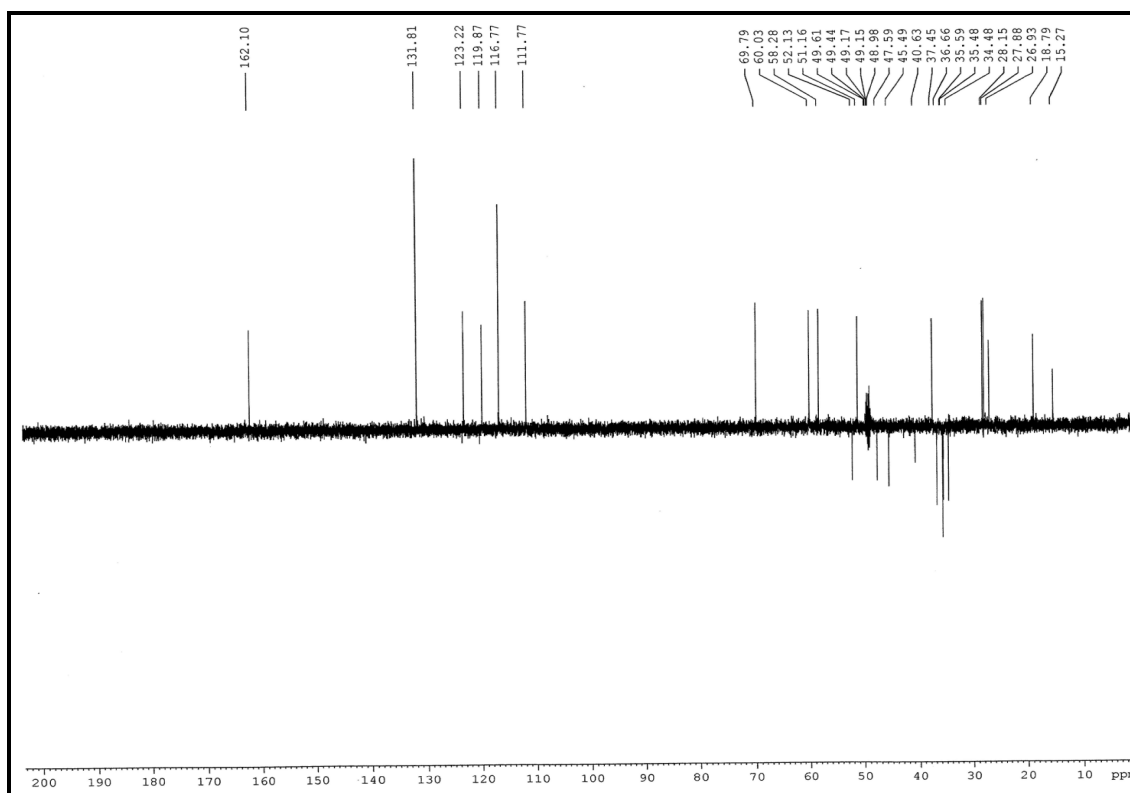


Figura 82- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-18

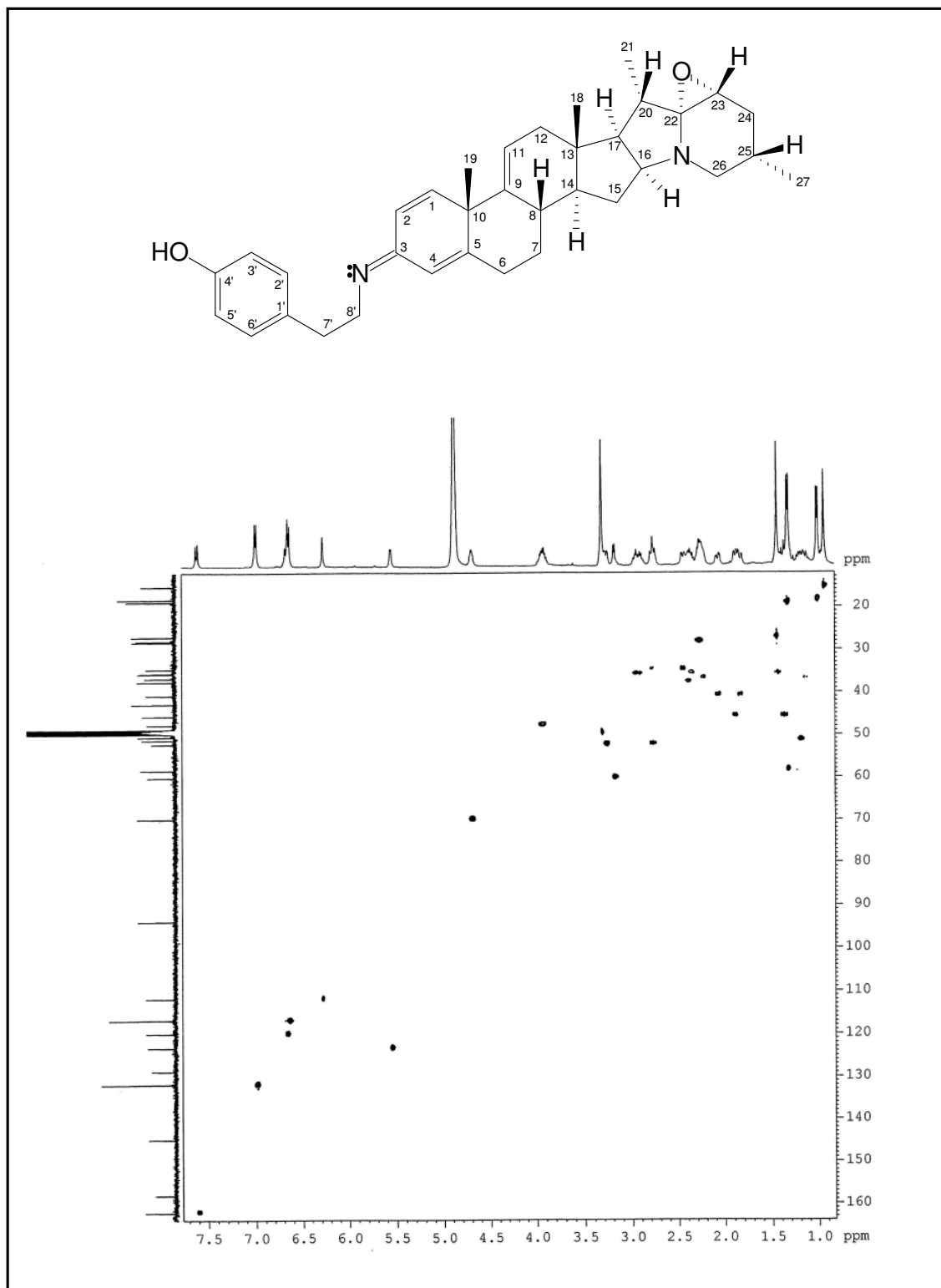


Figura 83- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-18

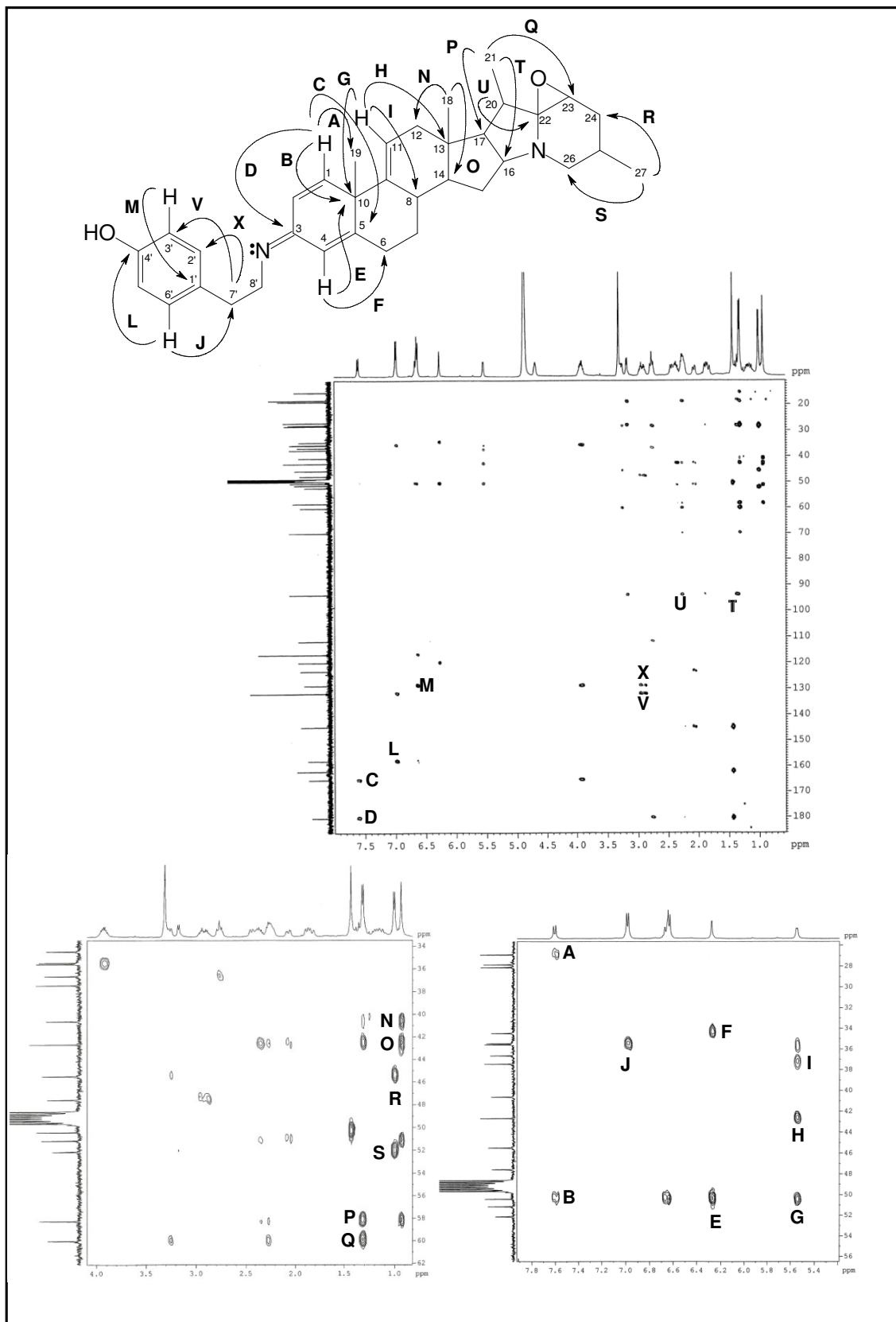


Figura 84- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-18

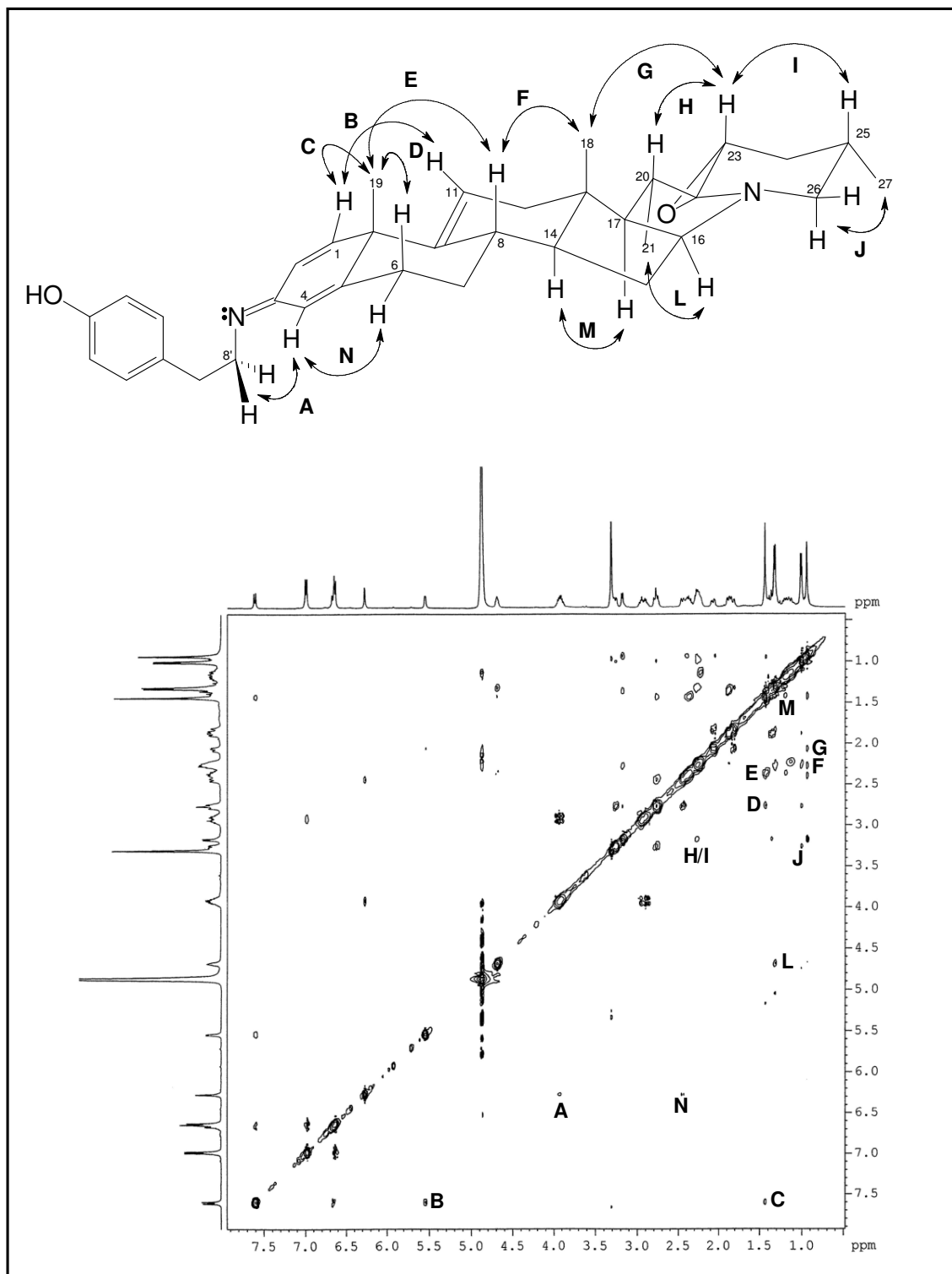


Figura 85- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-18

4.1.1.10 Determinação estrutural de **SC-17**

O pico **2**, denominado **SC-17** (4,1 mg) (Item 5.4.3.2.3, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), apresentou-se com uma resina amarela.

A fórmula molecular $C_{35}H_{46}N_2O_2$, deduzida a partir do íon $[M + H]^+$ com m/z 527,3673 (calculado m/z 527,3632; erro = 7,77 ppm) observado no espectro de massas (Figura 86, p. 125), apresentou índice de deficiência de hidrogênio igual a quatorze e, portanto, uma insaturação a menos do que a calculada para **SC-16**.

O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (125 MHz, MeOD, Figura 87, p. 125) também apresentou sinais correspondentes a trinta e cinco átomos de carbono: sete carbonos não-hidrogenados, quinze carbonos metínicos, nove carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos, deduzidos por comparação com o espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° (Figura 88, p. 126).

Os dados de RMN de 1H e ^{13}C (Figuras 87 a 89, p. 125 e 126) de **SC-17** foram semelhantes àqueles de **SC-16** (Tabela 17, p. 124), evidenciando um composto com o mesmo perfil estrutural e funcionalidades. A comparação dos dados de RMN de ^{13}C dos dois compostos mostrou que a principal diferença entre ambos reside na ausência dos sinais em δ_C 144,3 (C-9) e 123,4 (C-11), correspondentes a ligação dupla localizada entre os carbonos C-9/C-11 em **SC-16**, e o aparecimento de dois sinais referentes a carbono sp^3 em δ_C 55,8 (C-9) e 23,9 (C-11), os quais exibiram correlações com os sinais de hidrogênios em δ_H 1,0 (H-9) e 1,80/1,69 (2H-11), respectivamente, no espectro HSQC (Figura 90, p. 127).

Uma análise detalhada dos espectros HMBC e NOESY (Figuras 91 e 92, p. 128 e 129) permitiu elucidar a estrutura de **SC-17** como (*E*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-imina, nova na literatura.

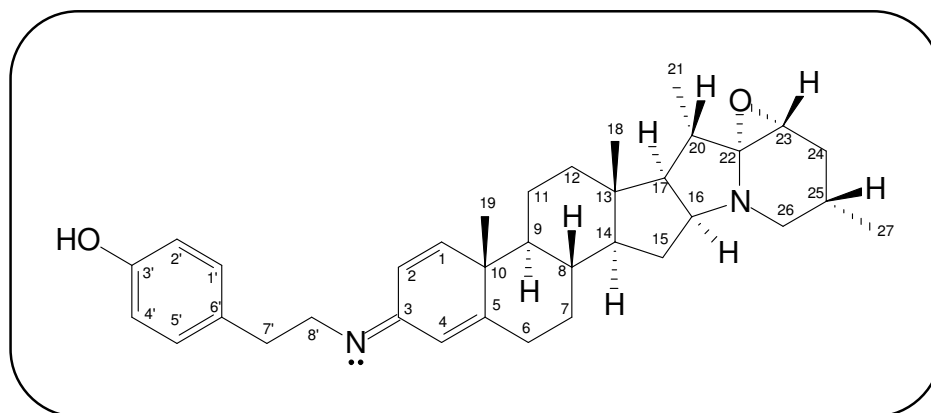


Tabela 17- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-17**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-16**

# C	SC-17		SC-16	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	166,1	7,38 (<i>d</i> ; 10,0)	163,1	7,60 (<i>d</i> ; 10,2)
2	115,3	6,55 (<i>d</i> ; 10,0)	115,3	6,61 (<i>d</i> ; 10,2)
3	178,8	-	176,5	-
4	116,2	6,45 (<i>s</i>)	115,9	6,46 (<i>s</i>)
5	165,4	-	165,6	-
6	34,5	2,67; 2,54	33,4	2,85 (<i>dt</i> , 13,3; 4,4); 2,58 (<i>dl</i> ; 13,3)
7	35,5	2,08; 1,09	36,6	2,30; 1,12 (<i>m</i>)
8	36,2	1,86	37,5	2,45 (<i>m</i>)
9	55,8	1,0	144,3	-
10	48,7	-	50,4	-
11	23,9	1,83; 1,69	123,4	5,49 (<i>d</i> , 5,4)
12	37,8	1,81; 1,12	40,7	2,07 (<i>dd</i> ; 17,0; 5,2); 1,83 (<i>dl</i> ; 17,0)
13	44,0	-	42,7	-
14	53,4	0,94	51,1	1,20
15	34,6	2,25; 1,40	35,5	2,40; 1,40
16	69,8	4,67 (<i>s</i>)	69,8	4,68 (<i>m</i>)
17	58,6	1,23	58,4	1,28
18	15,5	0,94 (<i>s</i>)	15,3	0,94 (<i>s</i>)
19	18,8	1,28 (<i>s</i>)	26,9	1,45 (<i>s</i>)
20	27,9	2,25	27,7	2,27
21	19,0	1,31 (<i>d</i> ; 7,0)	18,8	1,31 (<i>d</i> ; 7,2)
22	93,8	-	93,8	-
23	60,1	3,15 (<i>d</i> ; 6,4)	60,0	3,18 (<i>d</i> ; 6,6)
24	45,5	1,89; 1,31	45,5	1,88 (<i>dl</i> ; 12,9); 1,36 (<i>dl</i> ; 12,9)
25	28,1	2,25 (<i>m</i>)	28,2	2,28 (<i>m</i>)
26	52,2	3,26; 2,77	52,1	3,26 (<i>dl</i> ; 12,1; 3,0); 2,77 (<i>t</i> ; 12,1)
27	18,3	1,00	18,3	1,00 (<i>d</i> ; 6,6)
Unidade <i>p</i> -hidroxifeniletilamina				
1'	128,7	-	128,8	-
2'/6'	131,8	7,00 (<i>d</i> ; 7,6)	131,6	7,00 (<i>d</i> ; 8,3)
3/5'	116,7	6,68 (<i>d</i> ; 7,6)	116,8	6,67 (<i>d</i> ; 8,3)
4'	158,1	-	158,1	-
7'	35,6	2,95; 2,91	35,5	2,94 (<i>m</i>)
8'	47,4	3,91	47,6	3,92 (<i>t</i> ; 6,2)

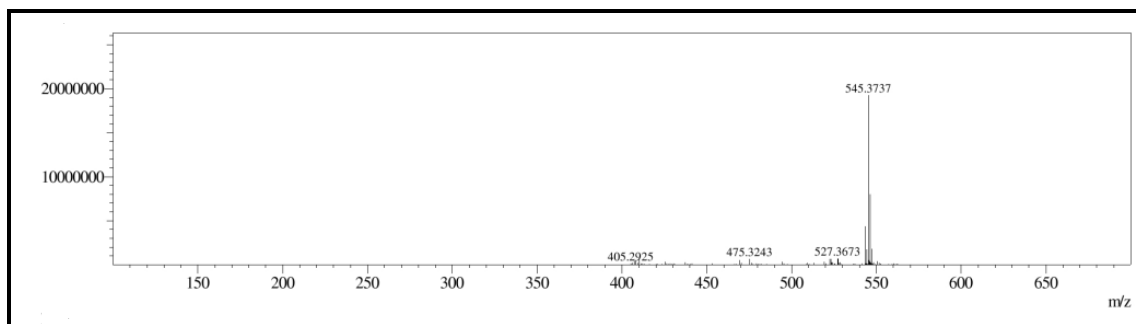


Figura 86- Espectro de massas (IES-EM) de SC-17

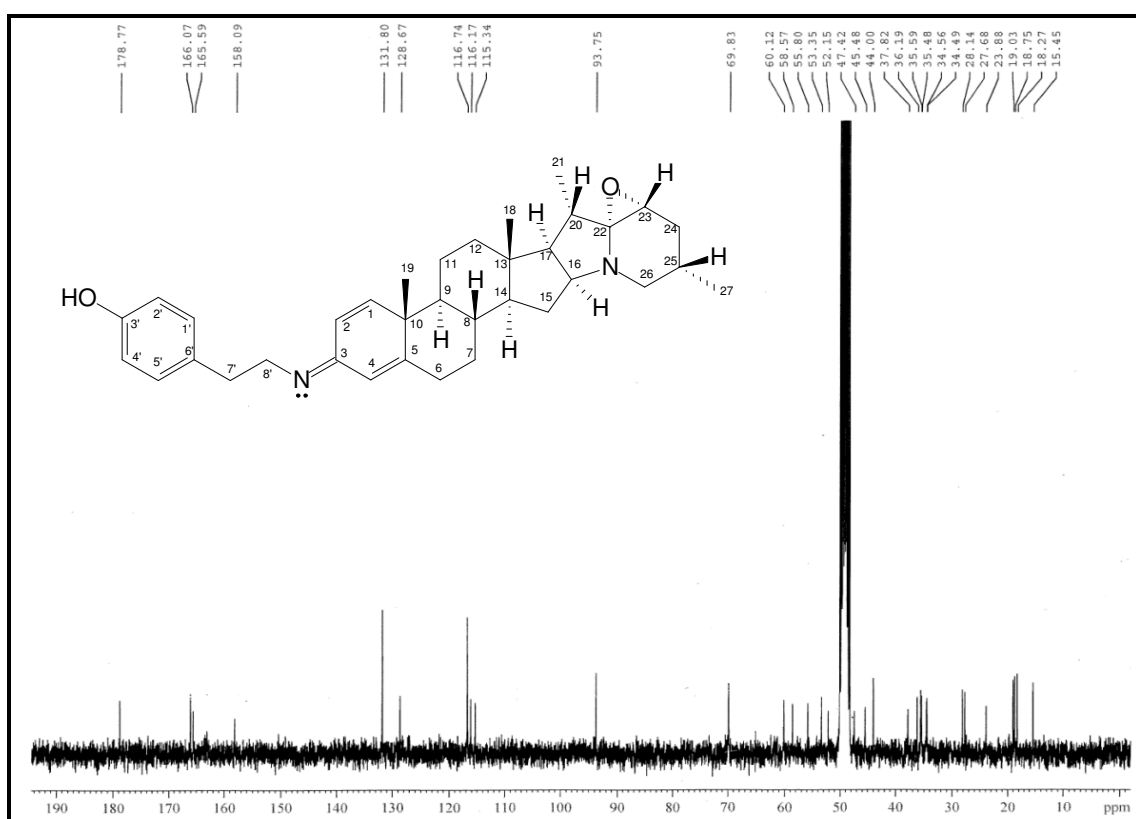


Figura 87- Espectro de RMN de ¹³C-CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-17

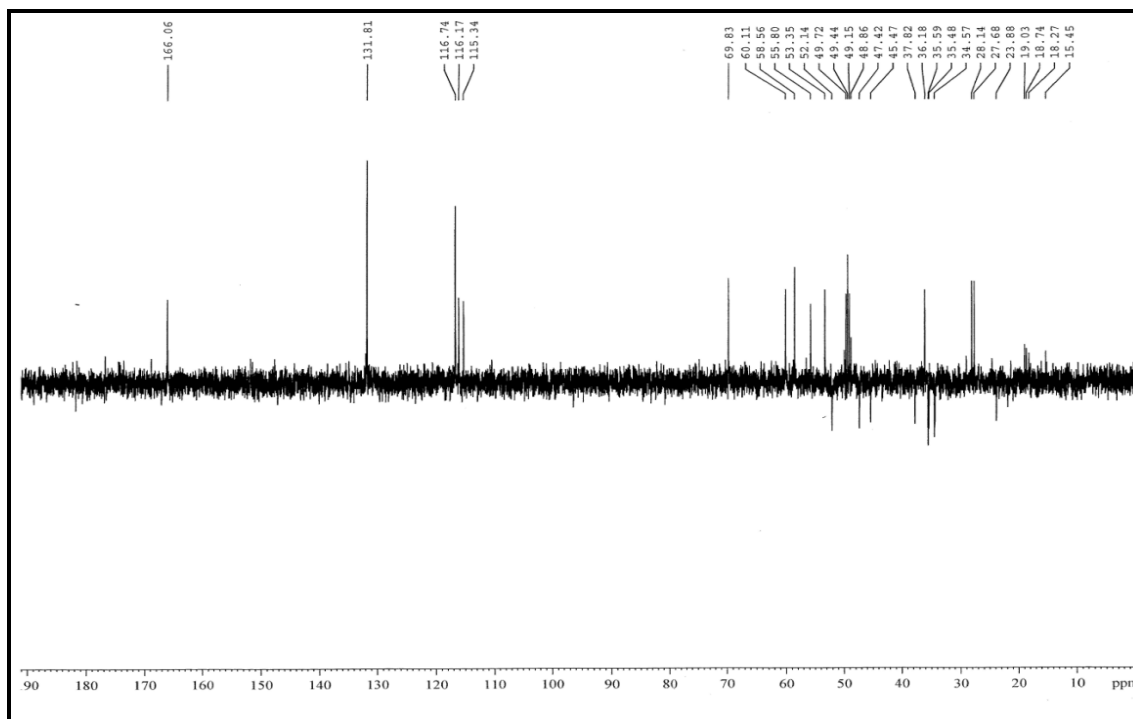


Figura 88- Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-17

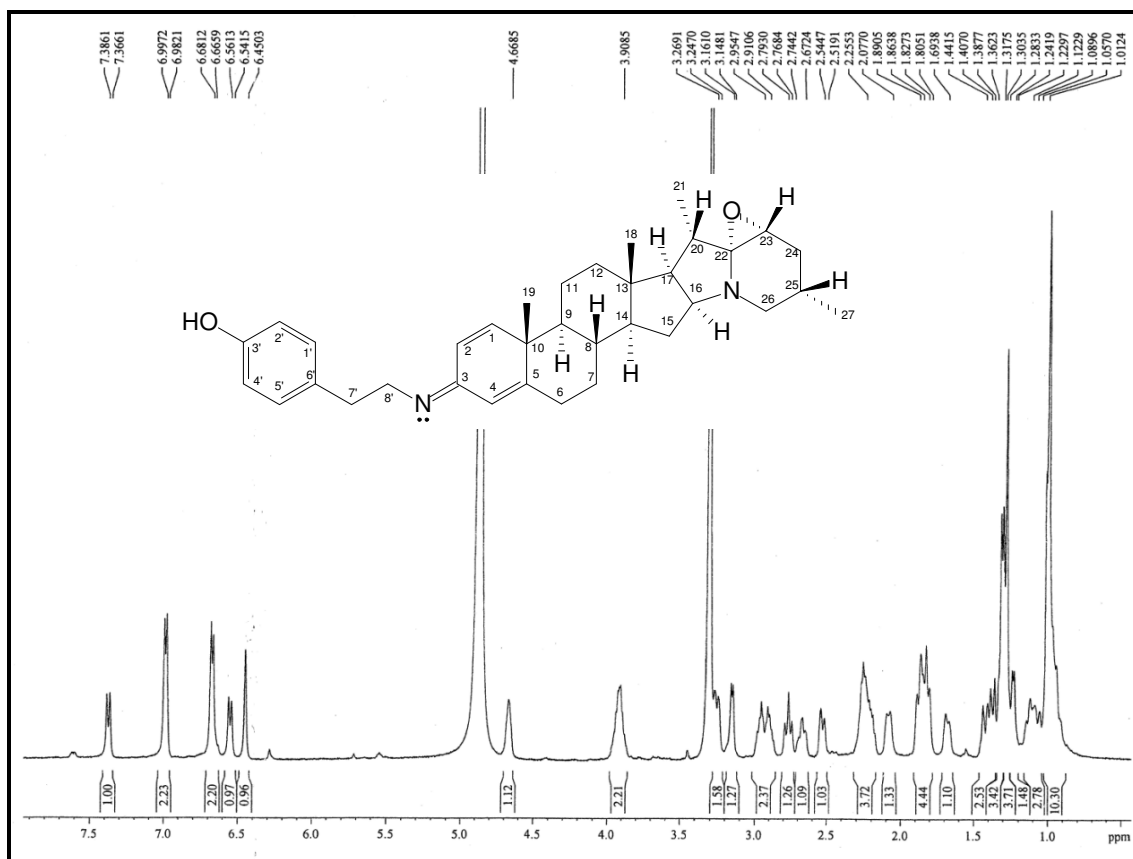


Figura 89- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-17

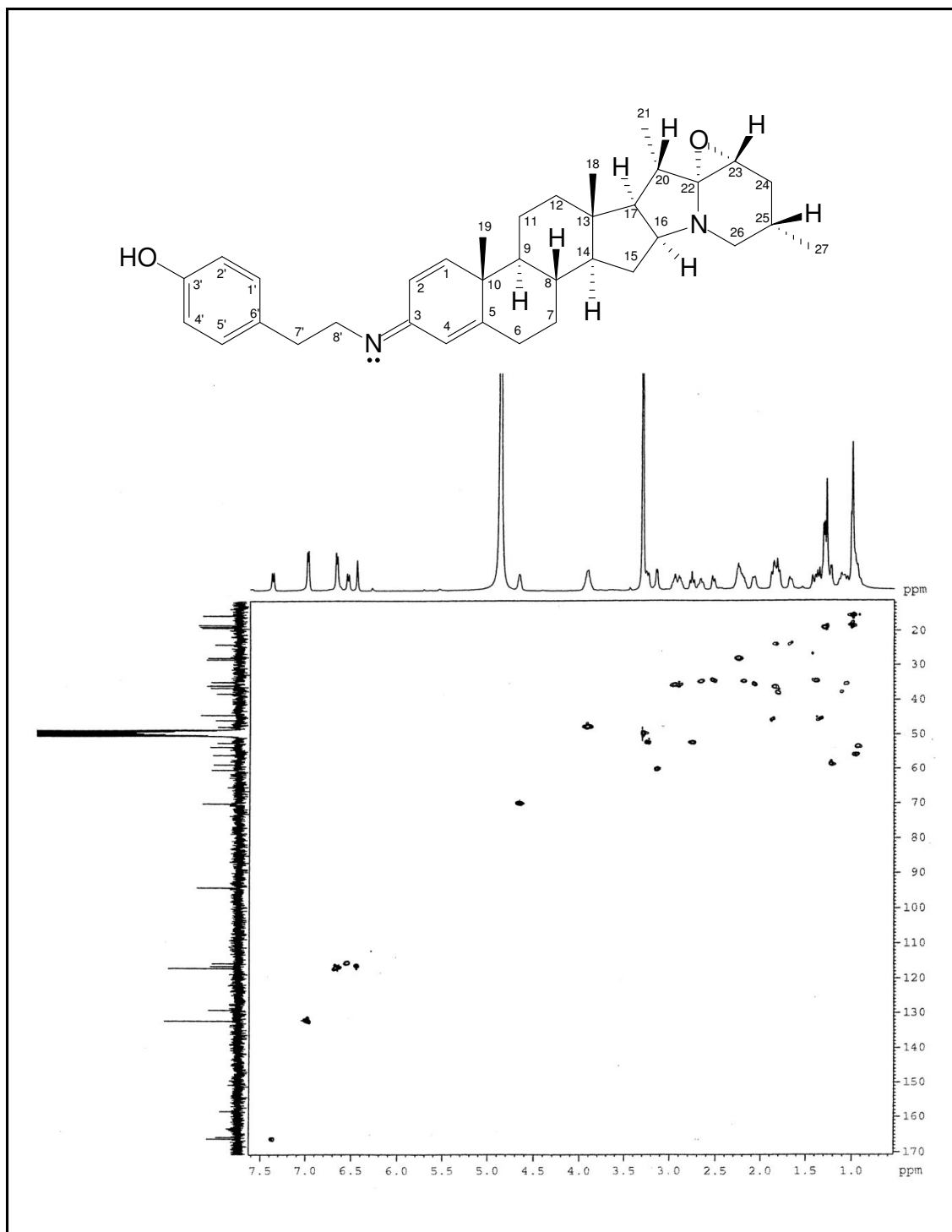


Figura 90- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-17

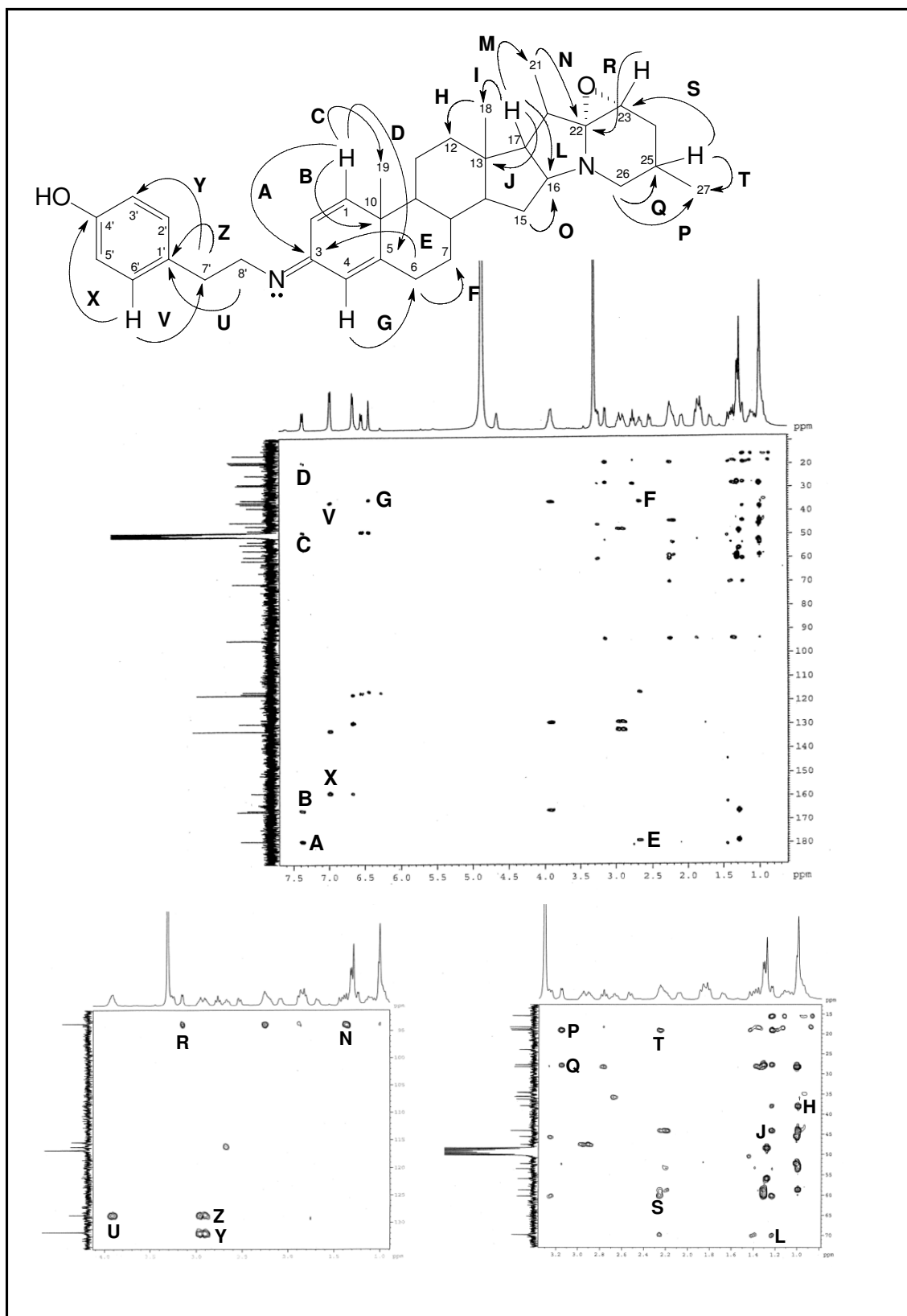


Figura 91- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-17

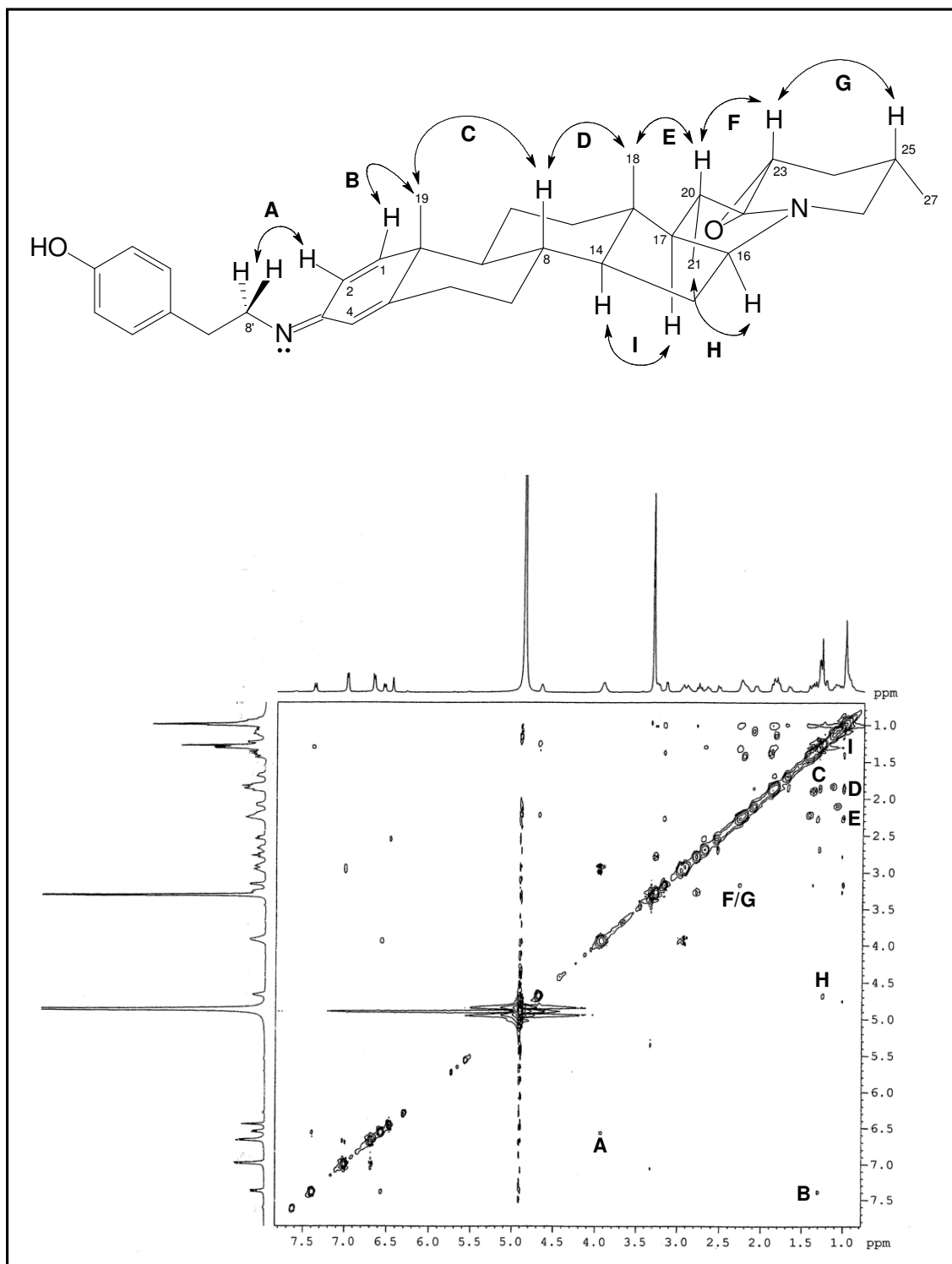


Figura 92- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-17

4.1.1.11 Determinação estrutural de **SC-19**

Denominado **SC-19**, o composto resultante do pico **4** (11,2 mg) (Item 5.4.3.2.3, p. 220, Fluxograma 2, p. 223) mostrou-se na forma de uma resina amarela

O espectro de massas de alta resolução (Figura 93, p. 132) apresentou o pico $[M + H]^+$ com m/z 527,3678 (calculado m/z 527,3632; erro = 8,72 ppm) correspondente à fórmula molecular $C_{35}H_{46}N_2O_2$ (IDH = 14), a qual possui uma insaturação a menos do que a calculada para **SC-18**.

A notória similaridade observada entre os espectros de RMN de 1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, Figuras 94 e 95, p. 132 e 133) de **SC-19** e **SC-18** (Tabela 18, p. 131), sinalizou uma estreita semelhança estrutural entre eles, confirmada pela identificação de trinta e cinco átomos de carbono no espectro de RMN de ^{13}C -CPD (125 MHz, Figura 95, p. 133) e que de acordo com o espectro DEPT 135° (Figura 96, p. 133) compreendiam sete carbonos não-hidrogenados, quinze carbonos metínicos, nove carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos.

Os dados de RMN de 1H e ^{13}C apresentados na Tabela 18 (p. 131), atribuídos segundo as correlações obtidas do espectro HSQC (Figura 97, p. 134), apontaram a diferença estrutural entre os dois compostos, a ausência da ligação dupla entre os carbonos C-9/C-11 presente em **SC-18**, justificada pelos sinais δ_H 0,88 (H-9); 1,80/1,73 (2H-11); δ_C 56,3 (C-9) e 24,0 (C-11) para **SC-19**.

De acordo com os dados espectrais discutidos acima, bem como as interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 98, p. 135) a estrutura de **SC-19** foi estabelecida como (Z)-N-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-imina, um novo alcalóide solanidano.

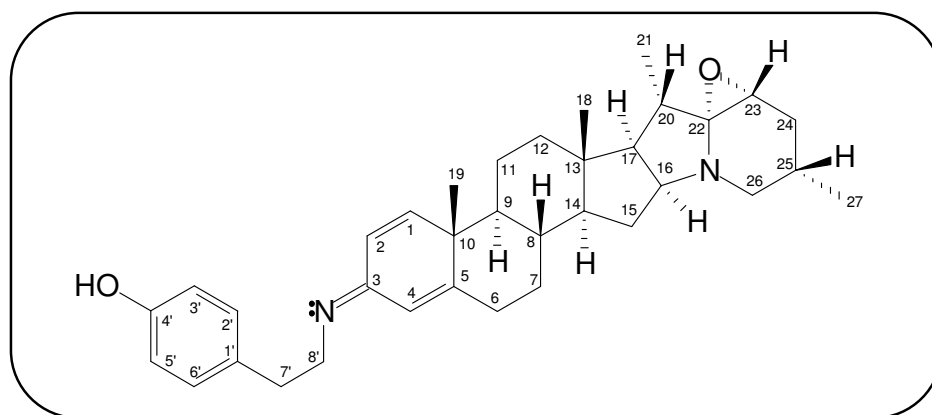


Tabela 18- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-19**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-18**

# C	SC-19		SC-18	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	163,2	7,41 (<i>d</i> ; 9,7)	162,1	7,60 (<i>d</i> ; 10,0)
2	120,1	6,68	119,9	6,61 (<i>d</i> ; 10,0)
3	182,3	-	180,4	-
4	112,0	6,25 (<i>s</i>)	111,8	6,27 (<i>s</i>)
5	165,2	-	165,4	-
6	35,4	2,56	34,5	2,77; 2,45
7	35,2	2,38	36,6	2,24; 1,15
8	36,2	1,82	37,5	2,38
9	56,3	0,88	144,8	-
10	48,3	-	50,4	-
11	24,0	1,80; 1,73	123,2	5,55 (<i>sl</i>)
12	38,0	1,86	40,6	2,06; 1,82
13	44,0	-	42,7	-
14	53,1	0,99	51,1	1,20
15	34,6	2,21; 1,37	35,5	2,34; 1,44
16	69,9	4,66(<i>s</i>)	69,8	4,69 (<i>sl</i>)
17	58,6	1,23	58,3	1,32
18	15,5	0,99 (<i>s</i>)	15,3	0,93 (<i>s</i>)
19	18,8	1,26 (<i>s</i>)	26,9	1,44 (<i>s</i>)
20	27,6	2,30	27,9	2,27
21	19,1	1,32 (<i>d</i> ; 7,2)	18,8	1,32 (<i>d</i> ; 7,2)
22	93,8	-	93,8	-
23	60,1	3,15 (<i>d</i> ; 6,0)	60,1	3,17 (<i>d</i> ; 6,7)
24	45,5	2,01; 1,37	45,5	1,87; 1,36
25	28,1	2,28 (<i>m</i>)	28,2	2,27 (<i>m</i>)
26	52,2	3,27; 2,76	52,2	3,27; 2,77
27	18,3	1,01	18,3	1,00 (<i>d</i> ; 6,6)
Unidade <i>p</i> -hidroxifeniletilamina				
1'	128,9	-	128,8	-
2'/6'	132,0	7,01 (<i>d</i> ; 7,9)	131,8	7,00 (<i>d</i> ; 8,3)
3/5'	116,8	6,66 (<i>d</i> ; 7,9)	116,8	6,67 (<i>d</i> ; 8,3)
4'	158,0	-	158,0	-
7'	35,7	2,98; 2,89	35,6	2,94 (<i>m</i>)
8'	47,4	3,99; 3,91	47,6	3,92 (<i>t</i> ; 6,2)

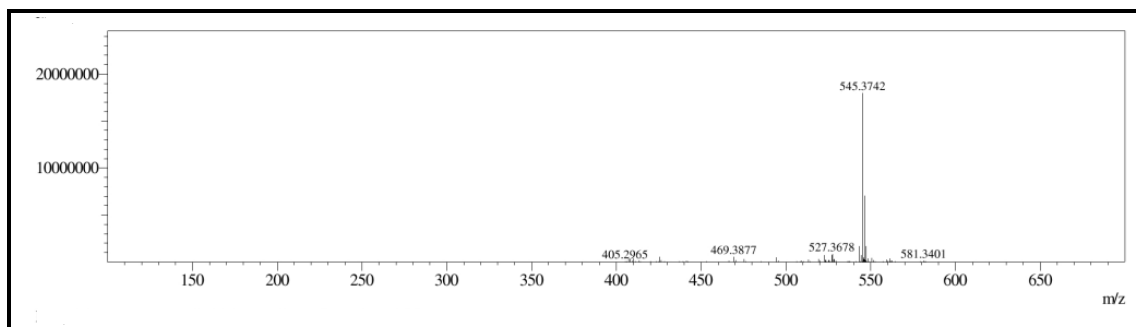


Figura 93- Espectro de massas (IES-EM) de SC-19

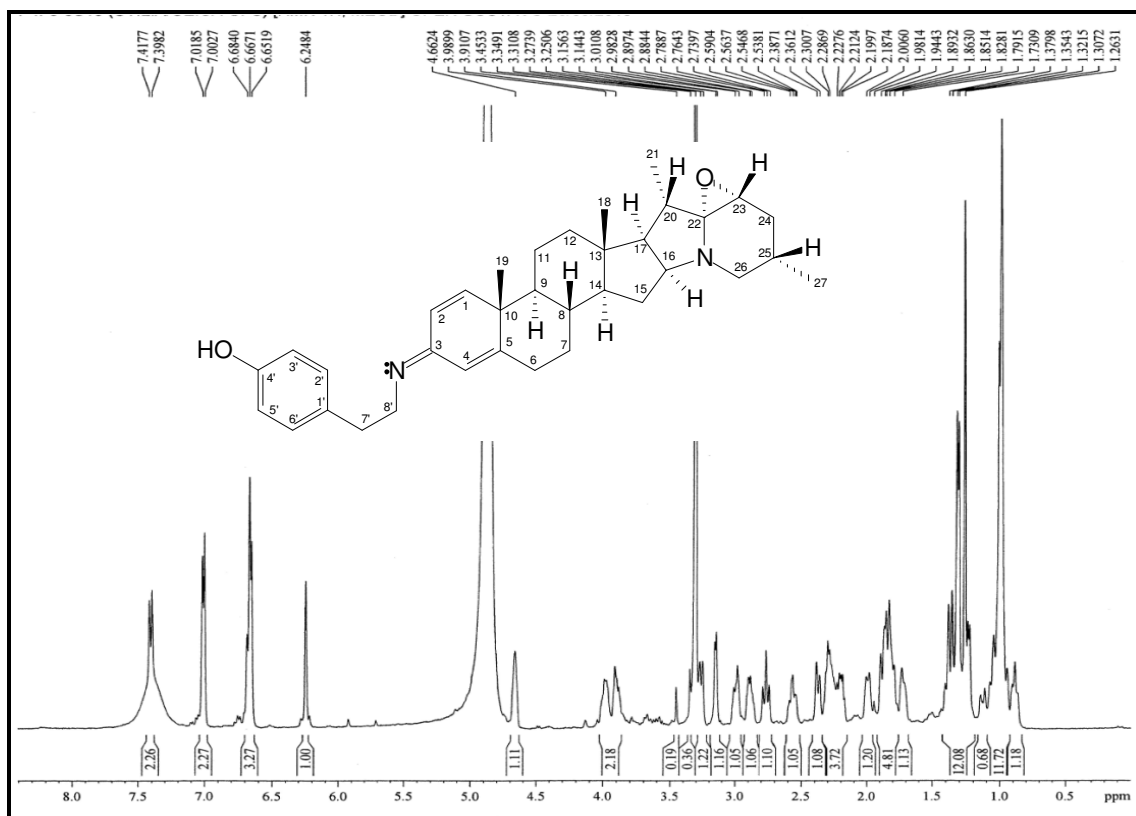


Figura 94- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-19

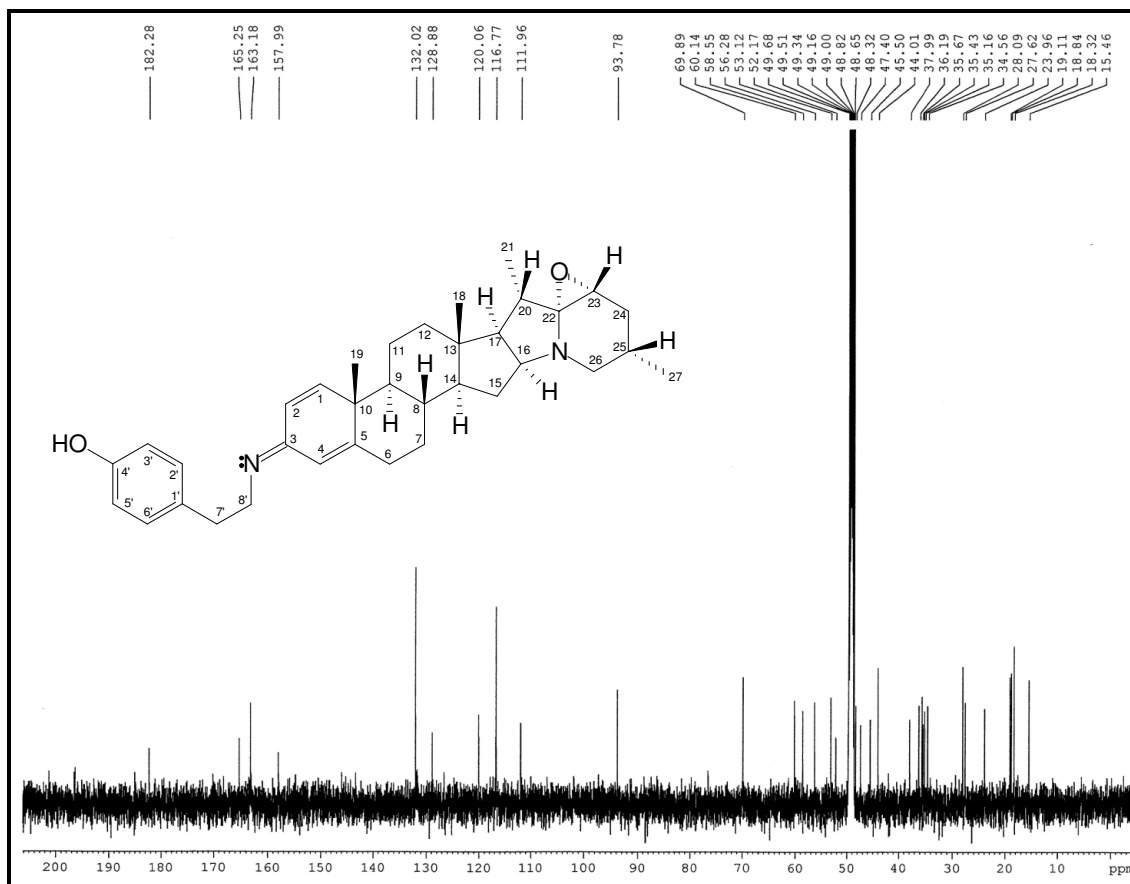


Figura 95- Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de SC-19

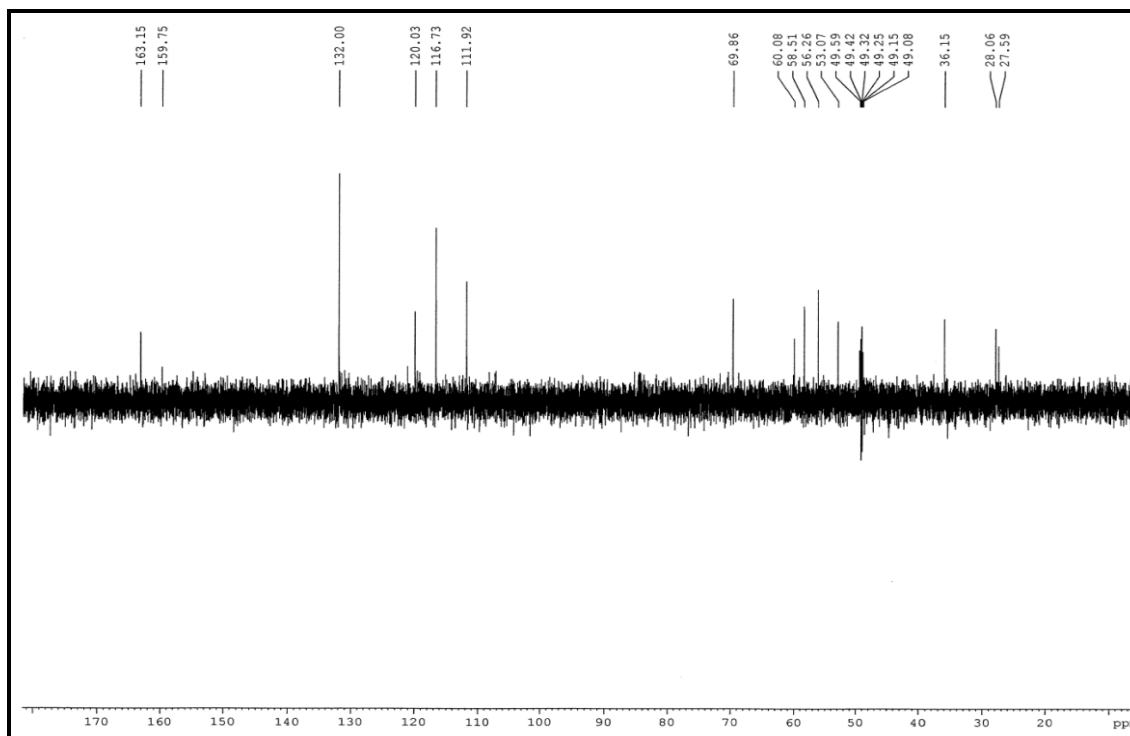


Figura 96- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-19

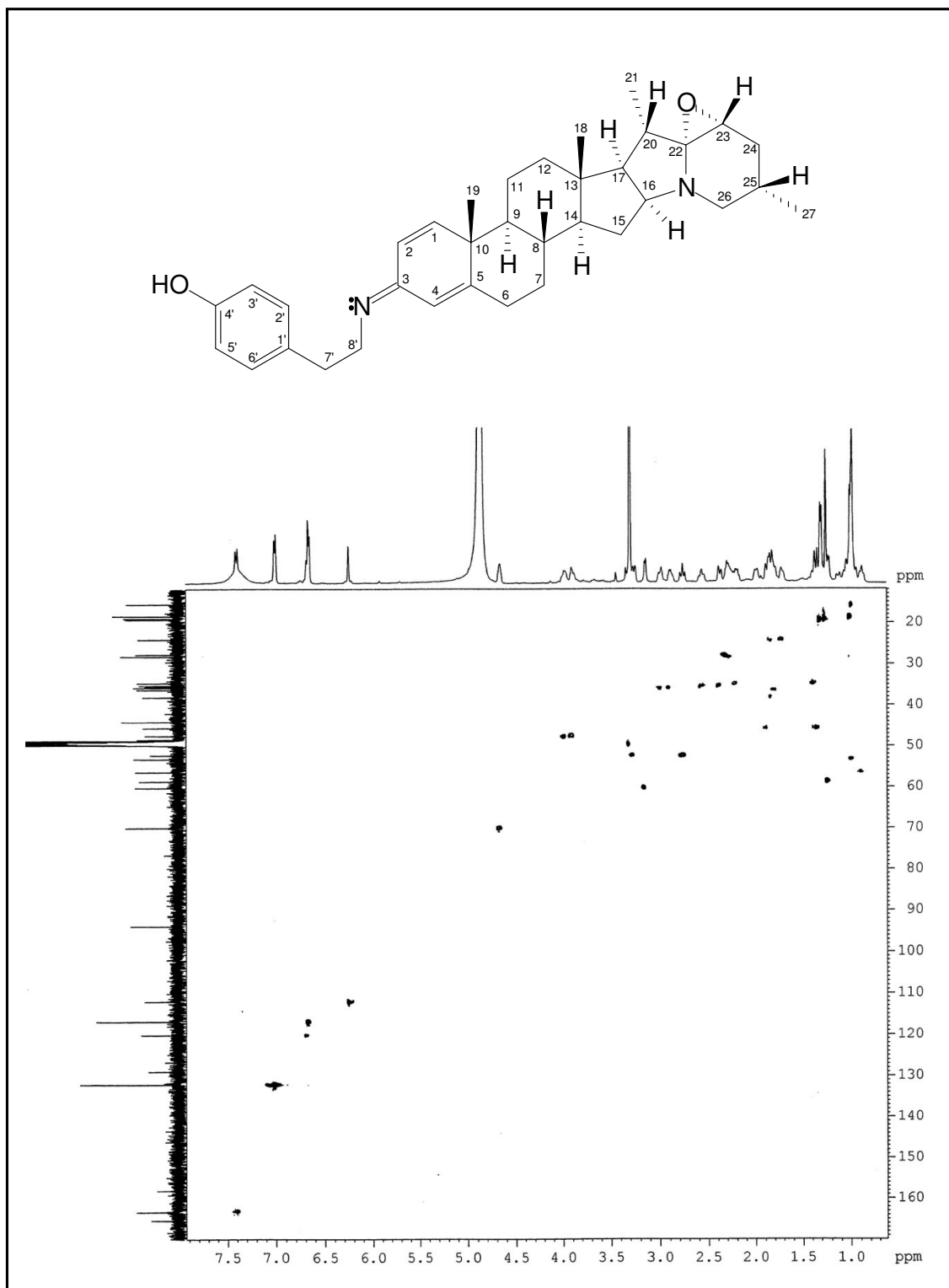


Figura 97- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-19

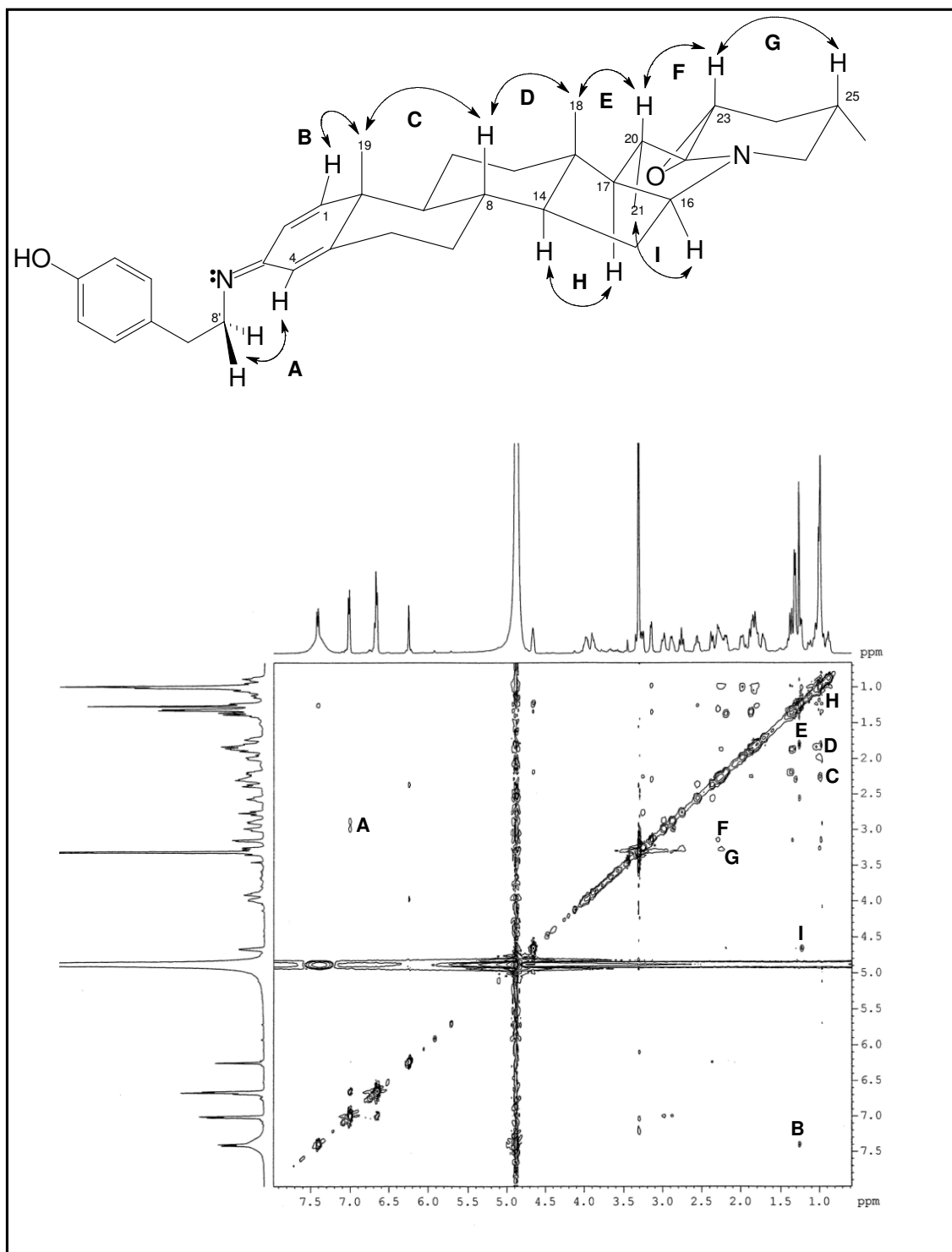


Figura 98- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-19

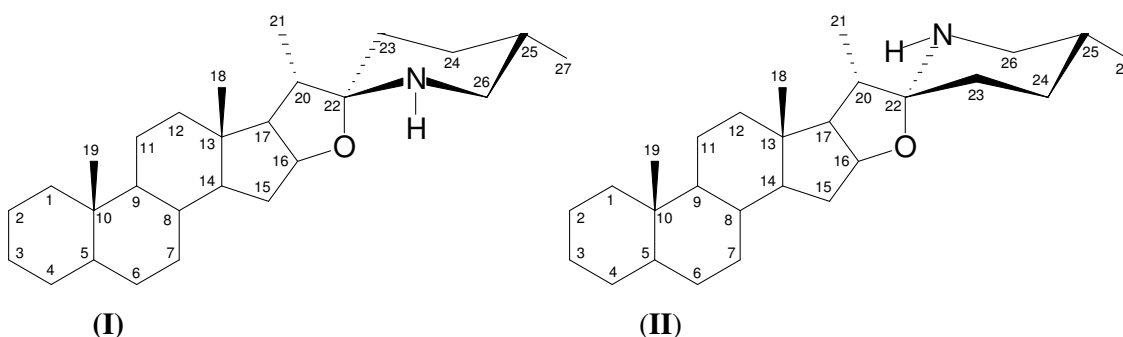
4.1.1.12 Determinação estrutural de **SC-10**

A fração EESC-D após sucessivas cromatografias, incluindo purificação em CLAE (fase reversa) forneceu o pico **3** com $t_R = 9,12$ min. (Item 5.4.3.2.2, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), uma resina escura, a qual foi denominada **SC-10** (11,1 mg).

O espectro de massas de alta resolução (Figura 99, p. 140) exibiu o íon correspondente a molécula $[M + H]^+$ em m/z 412,3216 (calculado m/z 412,3210, erro = 1,46 ppm) compatível com a fórmula molecular $C_{27}H_{41}NO_2$.

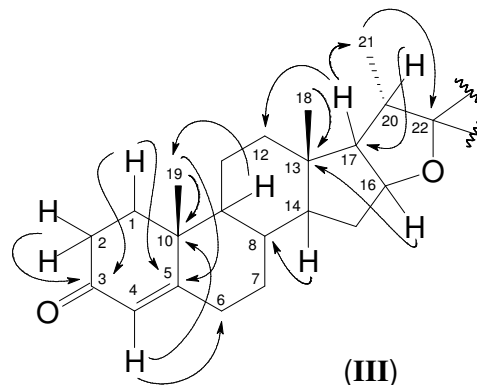
A análise dos espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135 ° (125 MHz, piridina- d_5 , Figuras 100 e 101, p. 140 e 141) permitiu determinar a presença de sinais correspondentes a vinte e sete átomos de carbonos, sendo cinco carbonos não-hidrogenados, oito carbonos metínicos, dez carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos (Tabela 19, p. 139).

Os sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C -CPD em δ_C 198,7 (C-3), 124,5 (C-4) e 170,5 (C-5), são compatíveis com um sistema contendo uma carbonila α,β -insaturada. Isto está de acordo com o simpleto observado no espectro de RMN de 1H (Figura 102, p. 141) em δ_H 5,86 (H-4) correlacionando com o sinal em δ_C 124,5 (C-4) no espectro HSQC (Figura 103, p. 142). O sinal em δ_C 80,8 (C-16), o qual no espectro HSQC exibiu correlação com o hidrogênio em δ_H 4,29 (H-16), bem como o sinal em δ_C 97,5 (C-22) são típicos de esqueleto do tipo espirosolano (sub-estruturas **I** e **II**), sendo o sinal em δ_C 97,5 (C-22) característico do anel aminoespírocetal (RADEGLIA *et al.*, 1977). Este tipo de composto é característico e predominante no gênero *Solanum*.



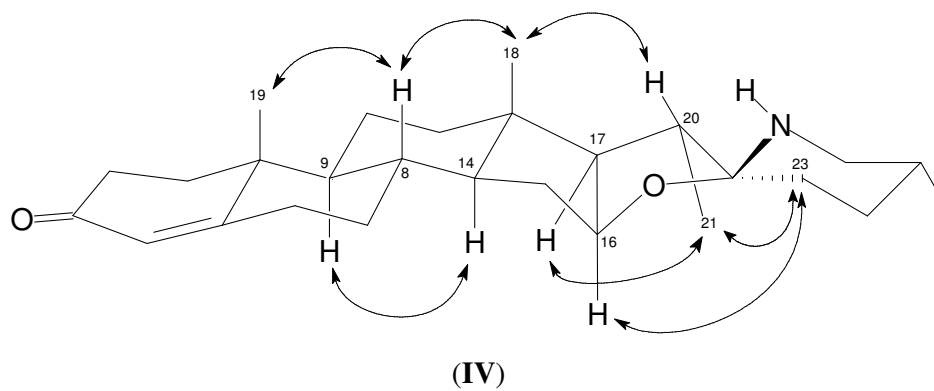
Os valores de deslocamentos químicos de RMN de 1H e ^{13}C foram atribuídos com base na análise do espectro HSQC e por comparação com os dados de RMN de ^{13}C dos alcalóides esteroidais tomatidina e solasodenona (RADEGLIA *et al.*, 1977), usados como modelo, conforme pode ser observado na Tabela 20 (p. 139).

Como pode ser observado na Tabela 20 (p. 139), toda a parte esteroidal compreendendo C-1 a C-22 da molécula tem seus deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C semelhantes aos da solasodenona. A estrutura parcial proposta está de acordo com as correlações observadas no espectro HMBC (Figuras 104 e 105, p. 143 e 144) do hidrogênio em δ_{H} 1,78 (H-1) com o carbono em δ_{C} 198,7 (C-3); dos hidrogênios em δ_{H} 2,48/2,38 (2H-2) com o carbono em δ_{C} 198,7 (C-3); do hidrogênio em δ_{H} 5,58 (H-4) com os carbonos em δ_{C} 34,7 (C-2); 32,9 (C-6) e 39,0 (C-10), bem como outras correlações as quais estão ilustradas na sub-estrutura **III**.



A configuração do carbono C-22 do anel aminoespirocetal, foi estabelecida por comparação com os dados de RMN de ^{13}C da tomatidina e solasodenona, (Tabela 20, p. 139) (RADEGLIA *et al*, 1977). Conforme pode ser observado o deslocamento químico em δ_{C} 26,5 (C-23) é compatível com o observado para a tomatidina, a qual apresenta o nitrogênio ligado ao C-22 na posição β , enquanto, o carbono C-23 da solasodenona é mais desblindado ($\Delta\delta = 7,6$ ppm), sendo esta diferença de deslocamento químico atribuída a forte interação γ gauche com o grupo metila CH_3 -21.

Estas informações foram corroboradas através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 106, p. 145) do hidrogênio em δ_{H} 1,84 (H-23) com os hidrogênios em δ_{H} 4,29 (H-16) e 1,25 (3H-21) (estrutura **IV**). A estrutura **IV** mostra também outras interações espaciais importantes que justificam a estereoquímica relativa estabelecida para os demais centros estereogênicos presentes na molécula.



A estrutura do composto **SC-10** foi elucidada com base nos dados analisados como o alcalóide esteroide do tipo espirosolano, (25*S*)-22 β *N*-espirosol-4-en-3-ona. Levantamento bibliográfico realizado no *SciFinder* revelou que este composto está sendo registrado pela primeira vez como um produto natural, sendo reportado apenas como um dos subprodutos da desidrogenação da tomatidina, (BELIC *et al.*, 1972), no entanto, seus dados espectroscópicos não foram publicados.

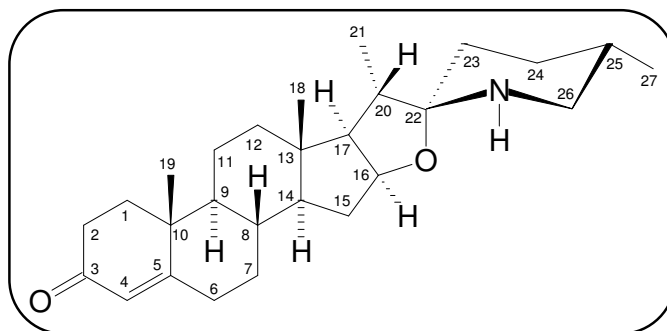


Tabela 19- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de **SC-10**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH₂	CH₃	Fórmula Molecular
198,7 (C=O)	124,5 (C=C)	48,8 (C-N)	19,1	
170,5 (C=C)	80,8 (C-O)	40,0	17,4	
97,5 (N-C-O)	62,5	36,1	16,9	
41,1	55,6	34,7	15,4	
39,0	54,0	32,9		
	41,8	32,7		
	35,2	32,6		
	29,2	27,5		
		26,5		
		21,0		
5C	8CH	10CH₂	4CH₃	C₂₇H₄₁NO₂

Tabela 20- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de **SC-10**, incluindo as correlações obtidas através de espectro HSQC e comparação com dados de ^{13}C da tomatidina e solasodenona (CDCl_3) (RADEGLIA *et al.*, 1977).

# C	δ_{C}	SC-10	Tomatidina	Solasodenona
		δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{C}
1	36,1	1,78; 1,46	37,0	35,7
2	34,7	2,38; 2,41	31,5	33,9
3	198,7	-	71,0	199,2
4	124,5	5,86 (s)	38,2	123,8
5	170,5	-	44,9	170,9
6	32,9	2,08; 2,13	28,6	32,8
7	32,6	1,60; 0,81	32,3	32,1
8	35,2	1,46	35,0	35,2
9	54,0	0,73	54,4	53,8
10	39,0	-	35,5	38,6
11	21,0	1,36; 1,25	21,1	20,8
12	40,0	1,63; 1,07	40,2	39,8
13	41,3	-	40,9	40,6
14	55,6	1,02	55,8	55,6
15	32,7	2,08; 1,46	32,6	32,1
16	80,8	4,62 (d; 7,0)	78,5	78,5
17	62,5	1,71	62,0	62,7
18	16,9	0,77 (s)	16,9	16,5
19	17,4	0,94 (s)	12,3	17,4
20	41,8	2,48	43,0	41,2
21	15,4	1,25 (d; 6,5)	15,8	15,2
22	97,5	-	99,3	98,2
23	26,5	1,84	26,6	34,1
24	27,5	1,57; 1,45	28,6	30,3
25	29,2	2,08	31,0	31,3
26	48,8	3,28 (sl); 2,98 (t; 12,0)	50,2	47,6
27	19,1	0,77	19,3	19,3

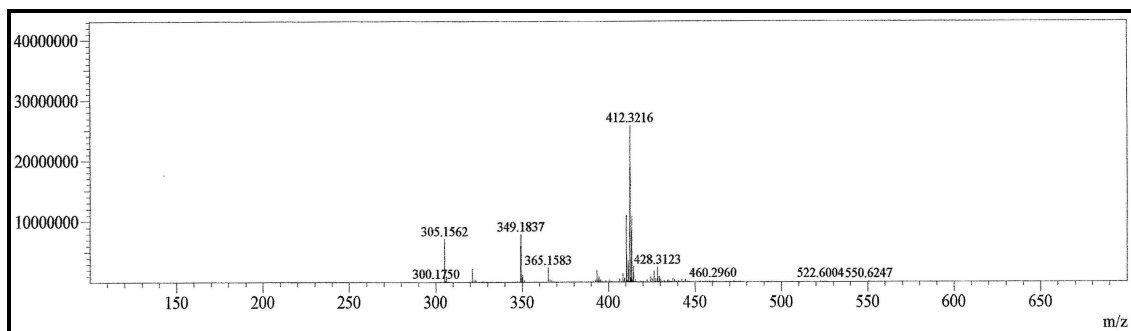


Figura 99- Espectro de massas (IES-EM) de SC-10

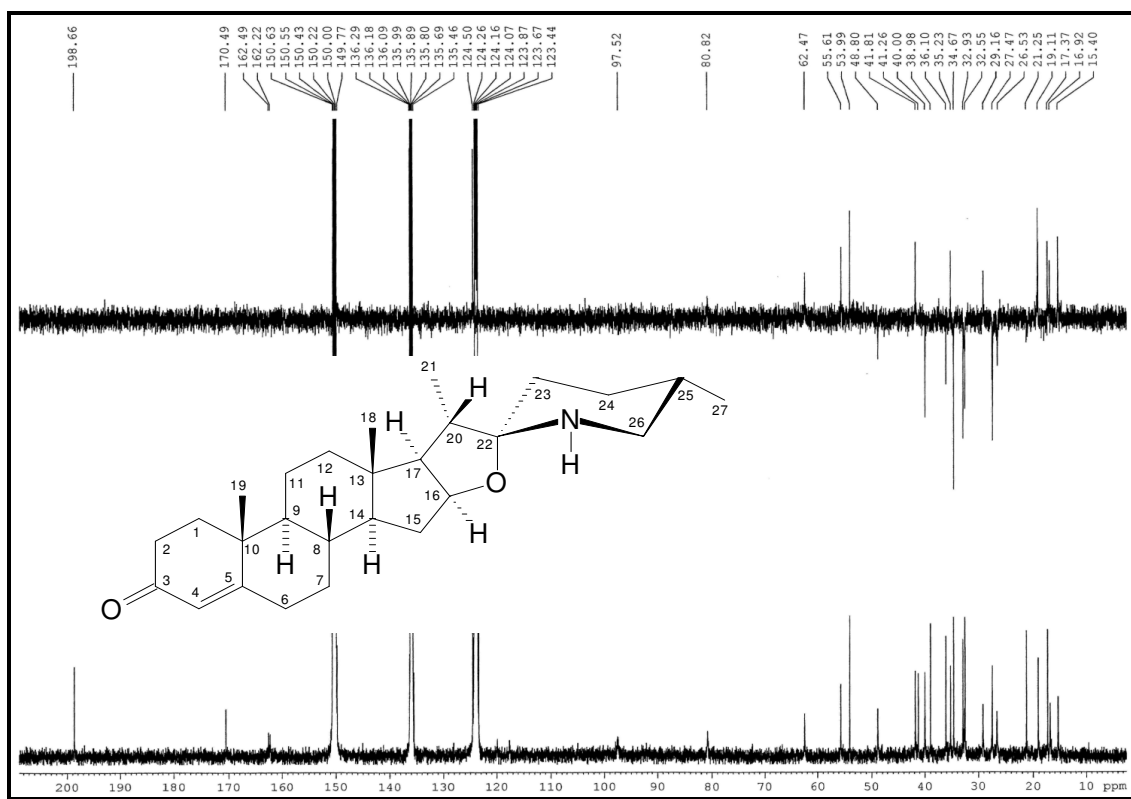


Figura 100- Espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-10

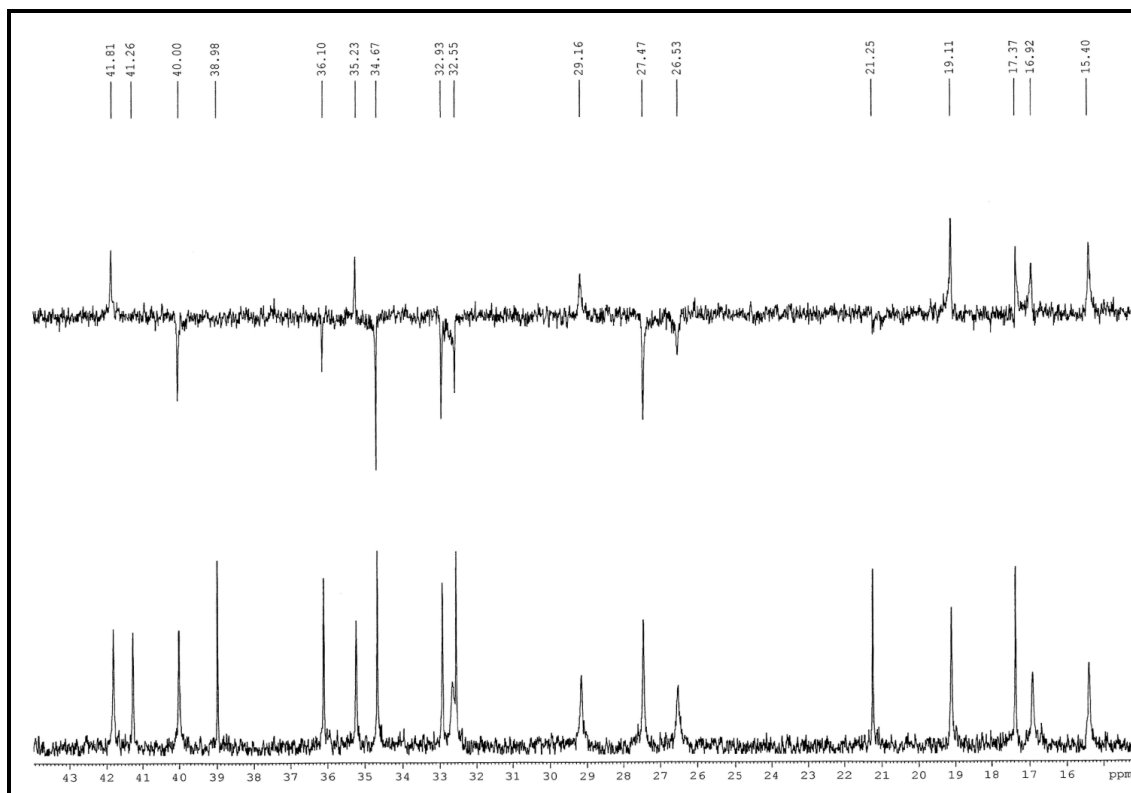


Figura 101- Espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° -expansão (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-10

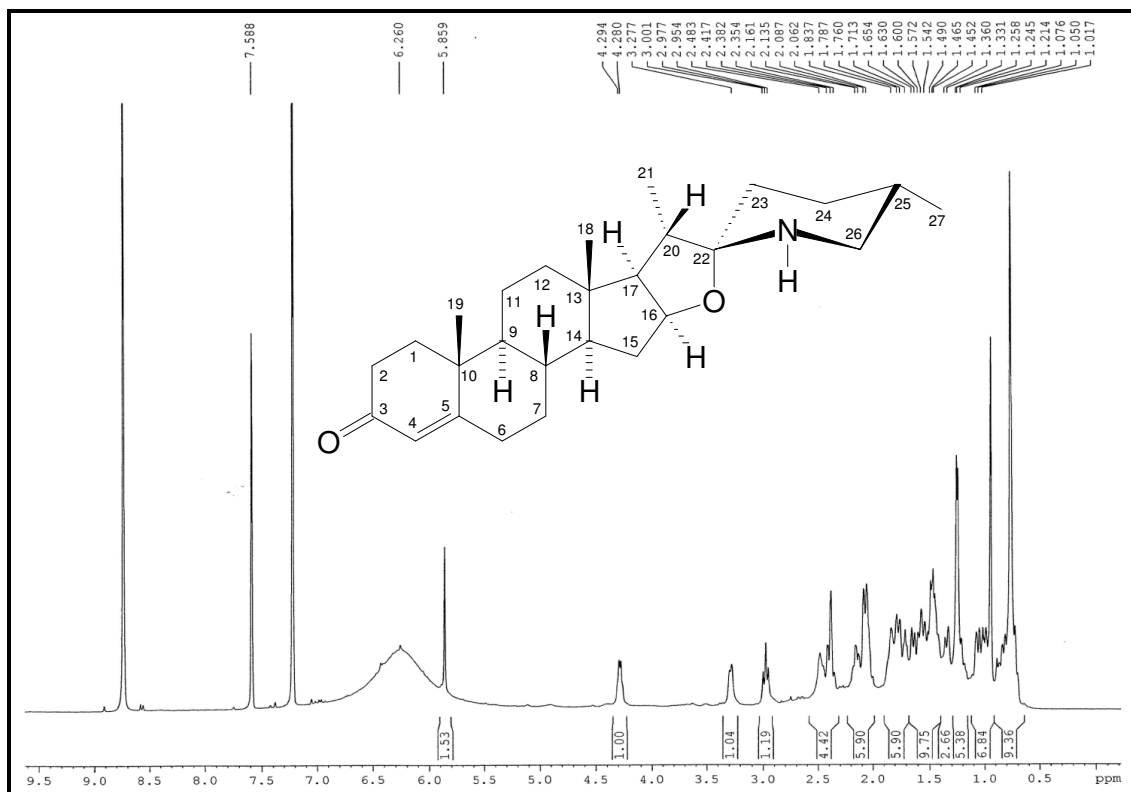


Figura 102- Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-10

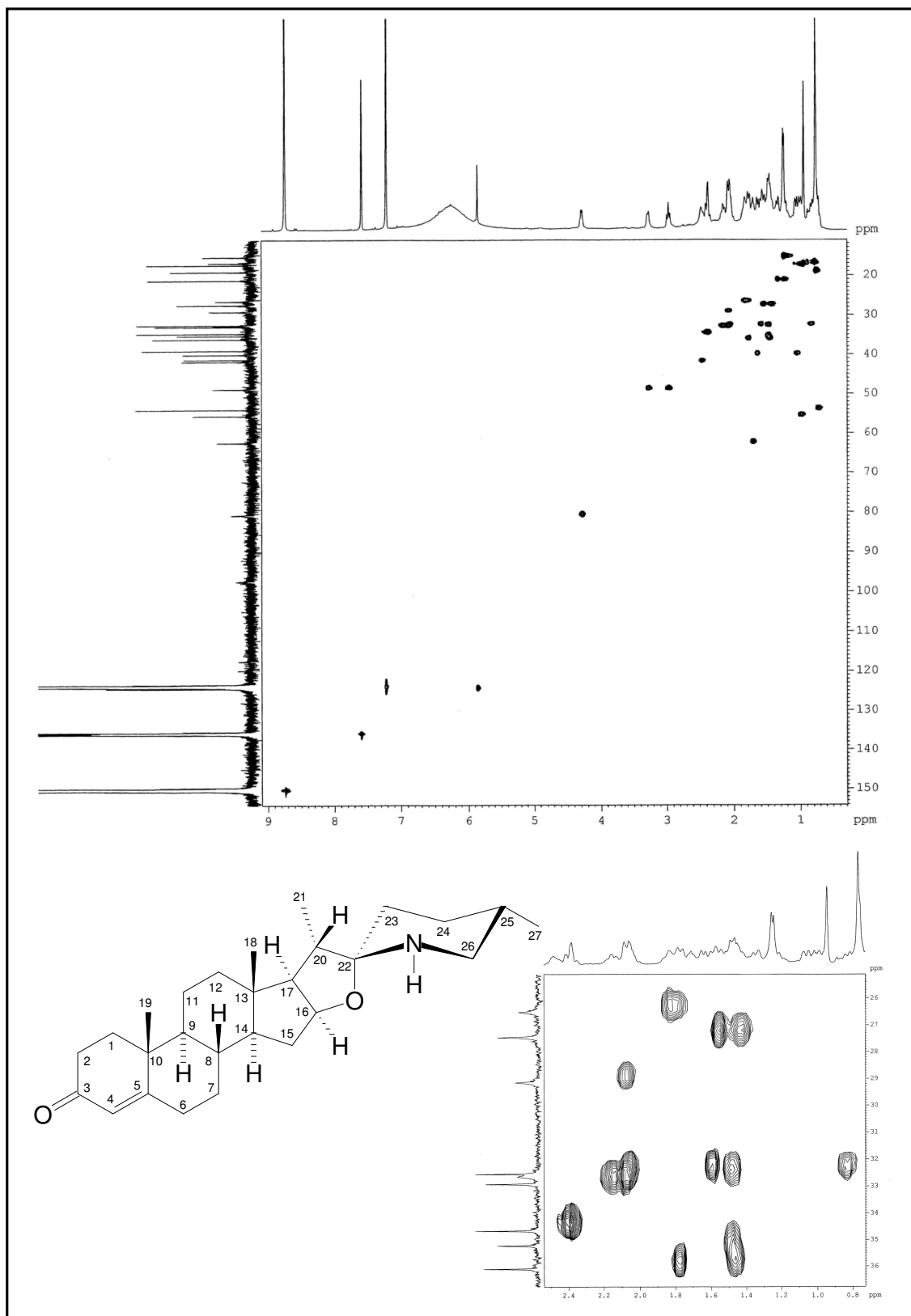


Figura 103- Espectro de RMN-HSQC (piridina-*d*₅, 125 x 500 MHz) de SC-10

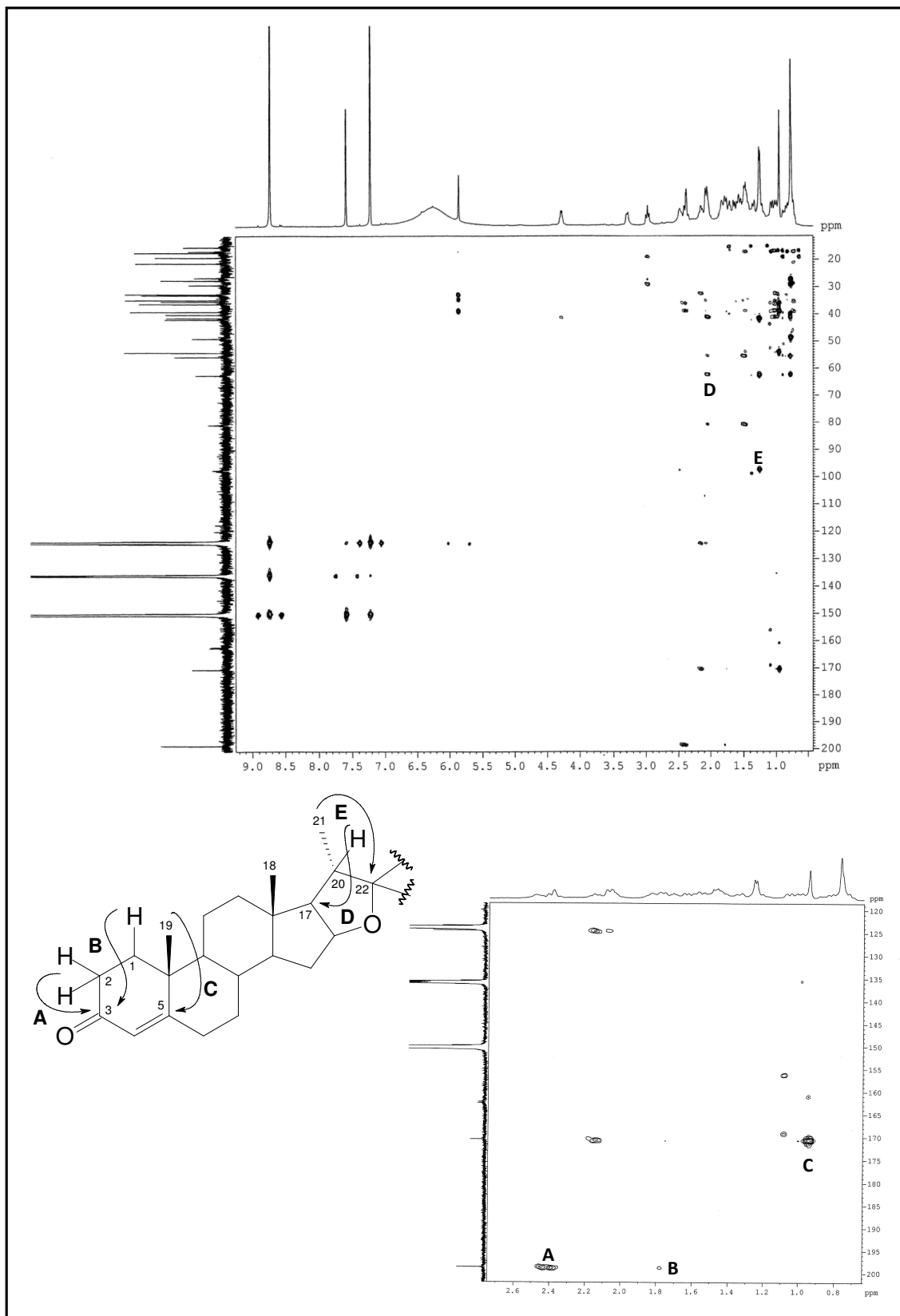


Figura 104- Espectro de RMN-HMBC (piridina-*d*₅, 125 x 500 MHz) de SC-10

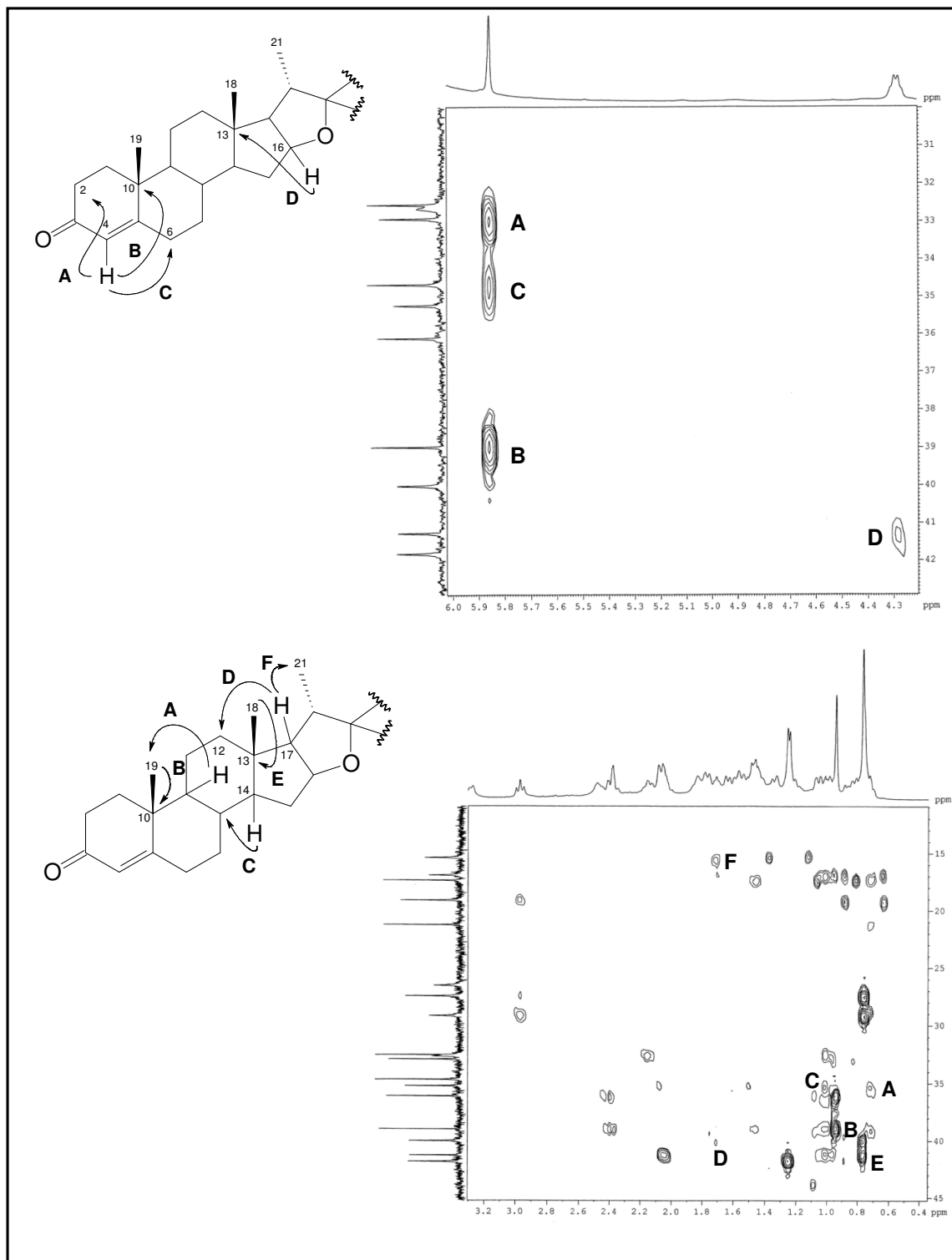


Figura 105- Espectro de RMN-HMBC-expansões (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-10

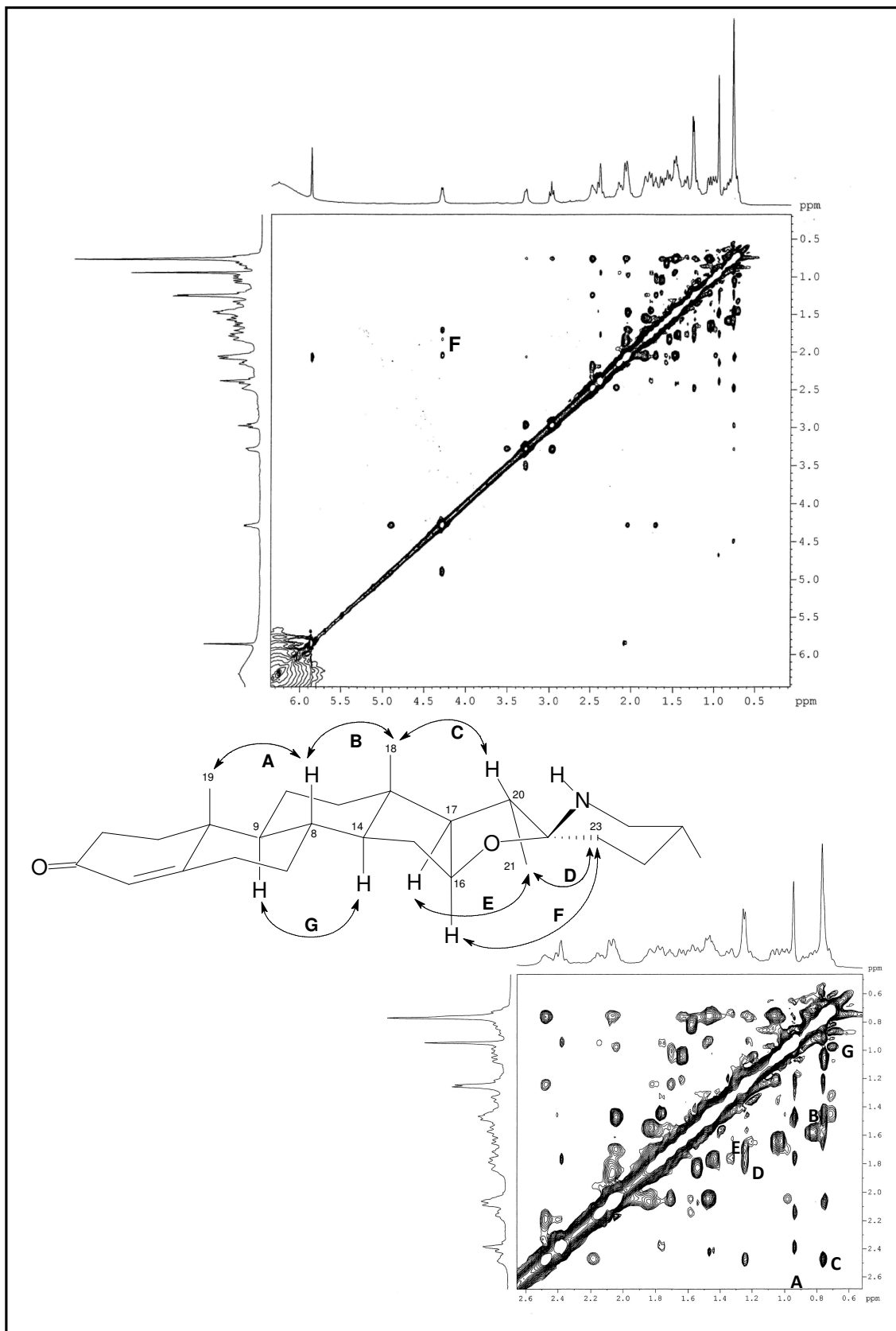


Figura 106- Espectro de RMN-NOESY (piridina- d_5 , 500 x 500 MHz) de SC-10

4.1.1.13 Determinação estrutural de **SC-9**

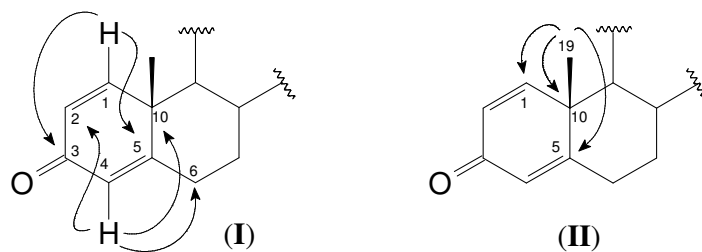
Denominado de **SC-9** (4,5 mg), o pico 2 com $t_R = 6,60$ min. (Item 5.4. 3.2.2, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), mostrou-se com uma resina verde.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, piridina- d_5 , Figuras 107 a 109, p. 149 e 150) exibiram dados espectrais semelhantes aqueles de **SC-10**. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figura 106, p. 146) também mostrou vinte e sete linhas espectrais, cinco das quais correspondentes a carbonos não-hidrogenados, dez a carbonos metínicos, oito a carbonos metilênicos e quatro a carbonos metílicos, quando comparado com espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (Figura 110, p. 150) (Tabela 21, p. 148).

A análise comparativa dos dados espectrais deste composto com aqueles de **SC-10** (Tabela 22, p. 148), revelou que as principais diferenças no espectro de RMN de ^{13}C residem nos sinais adicionais de carbono sp^2 em δ_C 156,2 (C-1) e 128,1 (C-2), os quais exibiram correlações com os sinais de hidrogênio em δ_H 6,98 (d; $J = 10,3$ Hz) e 6,42 (d; $J = 9,1$ Hz), respectivamente, no espectro HSQC (Figura 111, p. 151). Estes dados evidenciaram a existência de uma ligação dupla adicional com configuração *cis*, quando comparados com a estrutura de **SC-10**. O sinal da carbonila em δ_C 186,2 (C-3) mais blindada ($\Delta\delta = 12,5$ ppm) que aquele observado para o carbono C-3 (δ_C 198,7) em **SC-10** é justificado pela conjugação adicional.

Isto está de acordo com a fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_2$, a qual apresenta IDH igual a nove e, portanto, uma insaturação a mais do que a calculada para **SC-10**. Esta fórmula molecular foi deduzida através do íon correspondente a molécula $[\text{M} + \text{H}]^+$ com m/z 410,3099 (calculado m/z 410,3086; erro = 7,8 ppm), exibido no de massas de alta resolução (Figura 112, p. 151).

A posição da ligação dupla entre os carbonos C-1 e C-2 foi corroborada através das correlações a longa distancia observadas no espectro HMBC (Figura 113, p. 152) do hidrogênio em δ_H 6,98 (H-1) com os carbonos em δ_C 186,2 (C-3); 170,0 (C-5); do hidrogênio em δ_H 6,25 (H-4) com os carbonos δ_C 28,1 (C-2), 33,0 (C-6) e 44,0 (C-10), bem como dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,05 (3H-19) com os carbonos δ_C 156,2 (C-1); 170,0 (C-5) e 44,0 (C-10) (sub-estruturas **I** e **II**).



Com base nos dados discutidos, incluindo análise comparativa com dados descritos para **SC-10**, a estrutura de **SC-9** foi estabelecida como o alcalóide (25*S*)-22 β *N*-espirosol-1,4-dien-3-ona, o qual é relatado apenas como um dos subprodutos da desidrogenação da tomatidina, (BELIC *et al.*, 1972) e assim como **SC-10** está sendo registrado pela primeira vez como um produto natural.

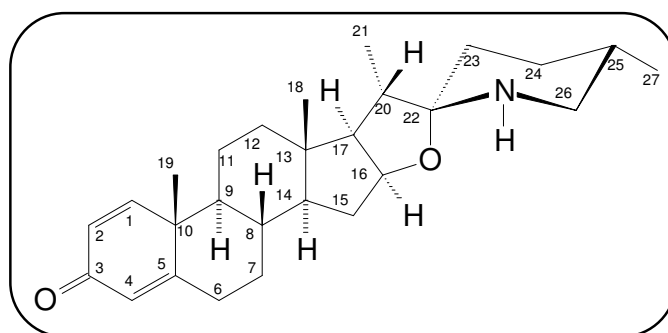


Tabela 21- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de **SC-9**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
186,2 (C=O)	156,2 (C=C)	50,4 (C-N)	19,3	
171,7 (C=C)	128,1 (C=C)	40,1	19,0	
98,4 (N-C-O)	124,5 (C=C)	34,2	17,2	
44,0	79,9 (C-O)	33,0	15,8	
41,5	62,6	33,0		
	55,2	28,4		
	52,8	26,9		
	42,4	23,2		
	36,0			
	30,3			
5C	10CH	8CH₂	4CH₃	C₂₇H₃₉NO₂

Tabela 22- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de **SC-9**, incluindo as correlações obtidas através de espectros HSQC e comparação com dados de RMN de **SC-10** (piridina- d_5)

# C	SC-9		SC-10	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	156,7	6,98 (<i>d</i> ; 10,4)	36,1	1,78; 1,46
2	128,1	6,42 (<i>d</i> ; 9,1)	34,7	2,38; 2,41
3	186,2	-	198,7	-
4	124,5	6,25 (<i>s</i>)	124,5	5,86 (<i>s</i>)
5	171,7	-	170,5	-
6	33,0	2,25; 2,16	32,9	2,08; 2,13
7	34,2	1,68; 0,78	32,6	1,60; 0,81
8	36,0	1,60	35,2	1,46
9	52,8	0,84	54,0	0,73
10	44,0	-	39,0	-
11	23,2	1,68; 1,54	21,0	1,36; 1,25
12	40,1	1,68; 1,05	40,0	1,63; 1,07
13	41,5	-	41,3	-
14	55,2	0,98	55,6	1,02
15	33,0	2,02; 1,48	32,7	2,08; 1,46
16	79,9	4,23 (<i>d</i> ; 7,4)	80,8	4,62 (<i>d</i> ; 7,0)
17	62,6	1,68	62,5	1,71
18	17,2	0,82 (<i>s</i>)	16,9	0,77 (<i>s</i>)
19	19,3	1,05 (<i>s</i>)	17,4	0,94 (<i>s</i>)
20	42,4	2,25	41,8	2,48
21	15,8	1,16 (<i>d</i> ; 6,2)	15,4	1,25 (<i>d</i> ; 6,5)
22	98,4	-	97,5	-
23	26,9	1,79; 1,62	26,5	1,84
24	28,4	1,54; 1,48	27,5	1,57; 1,45
25	30,3	1,90	29,2	2,08
26	50,0	3,10; 2,96 (<i>t</i> ; 11,5)	48,8	3,28 (<i>sl</i>); 2,98 (<i>t</i> ; 12,0)
27	19,0	0,78 (<i>d</i> , 6,0)	19,1	0,77

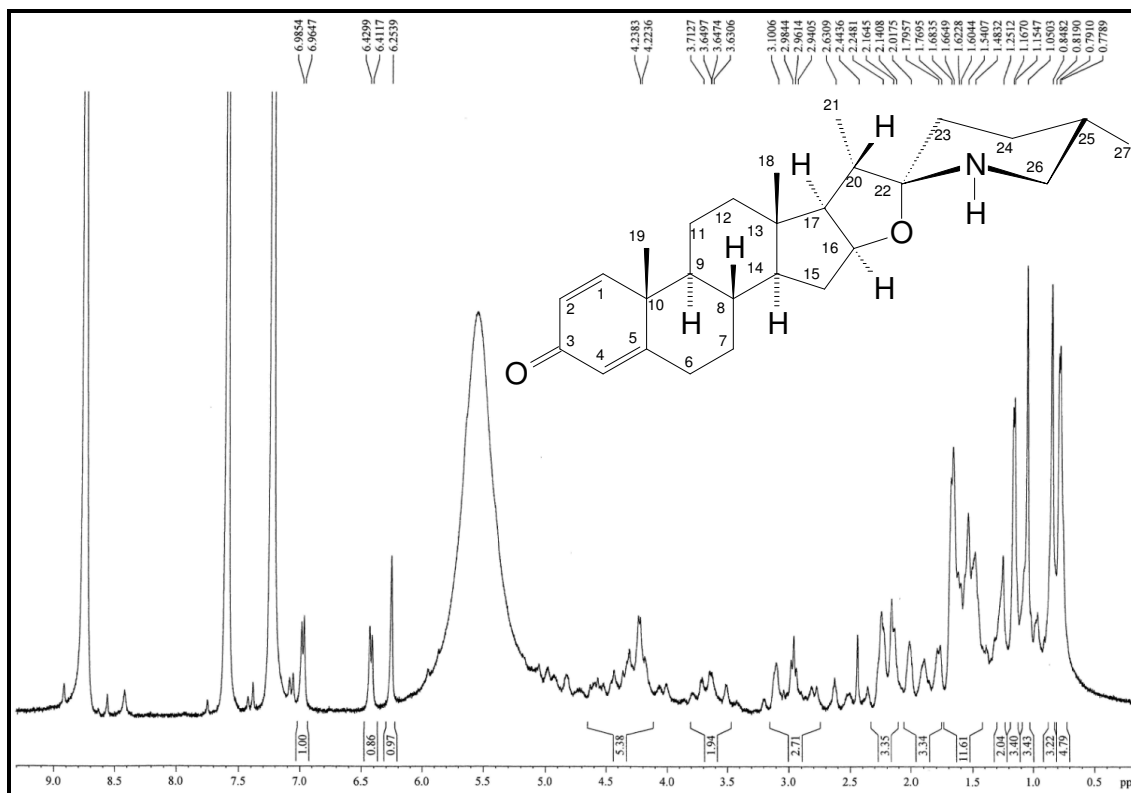


Figura 107- Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9

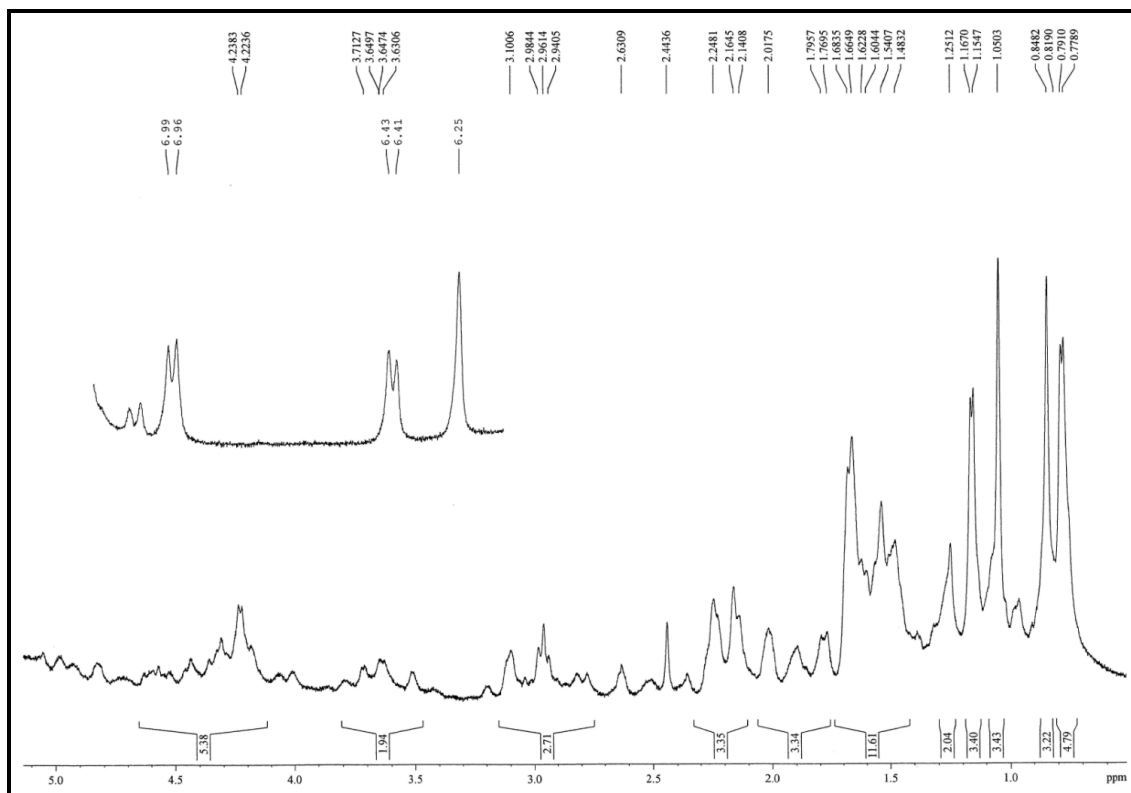


Figura 108- Espectro de RMN de ^1H - expansão (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9

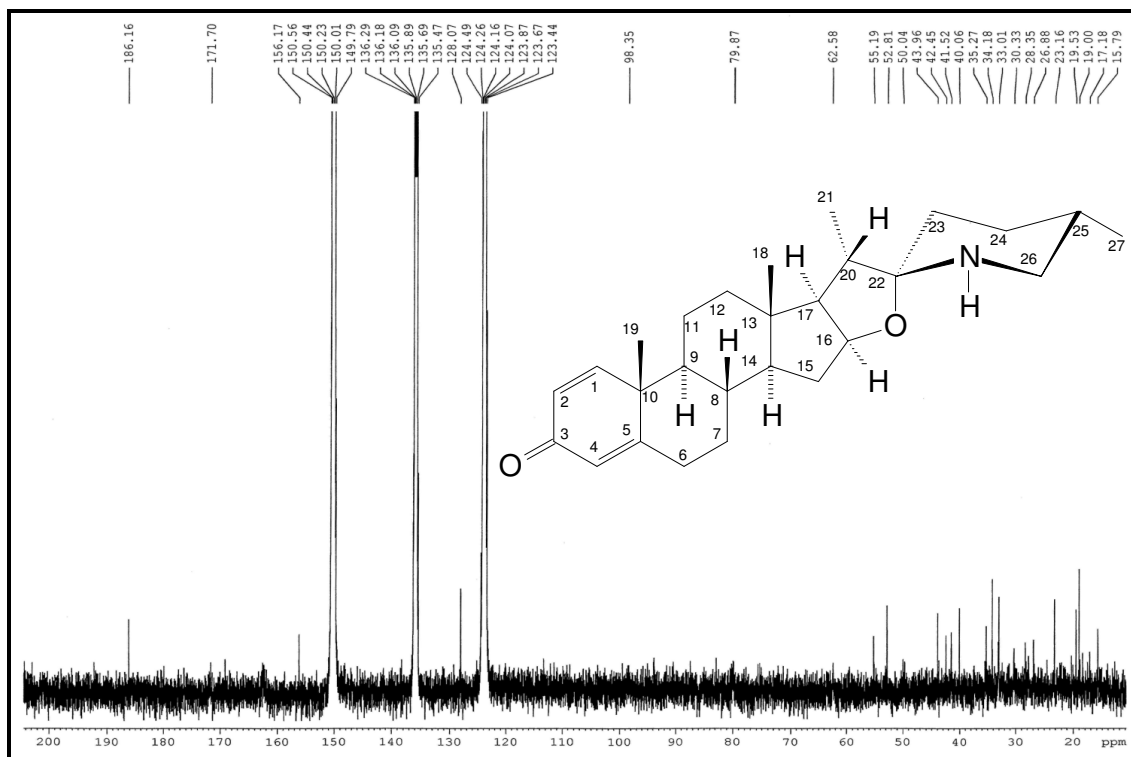


Figura 109- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9

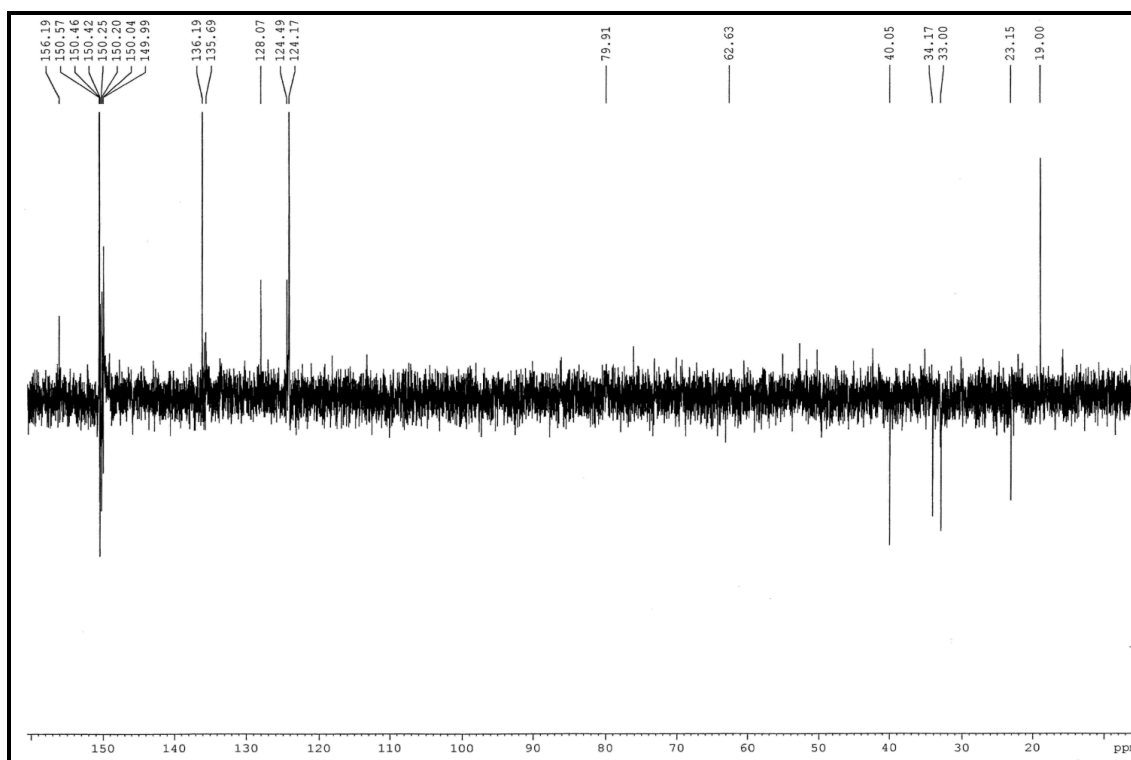


Figura 110- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-9

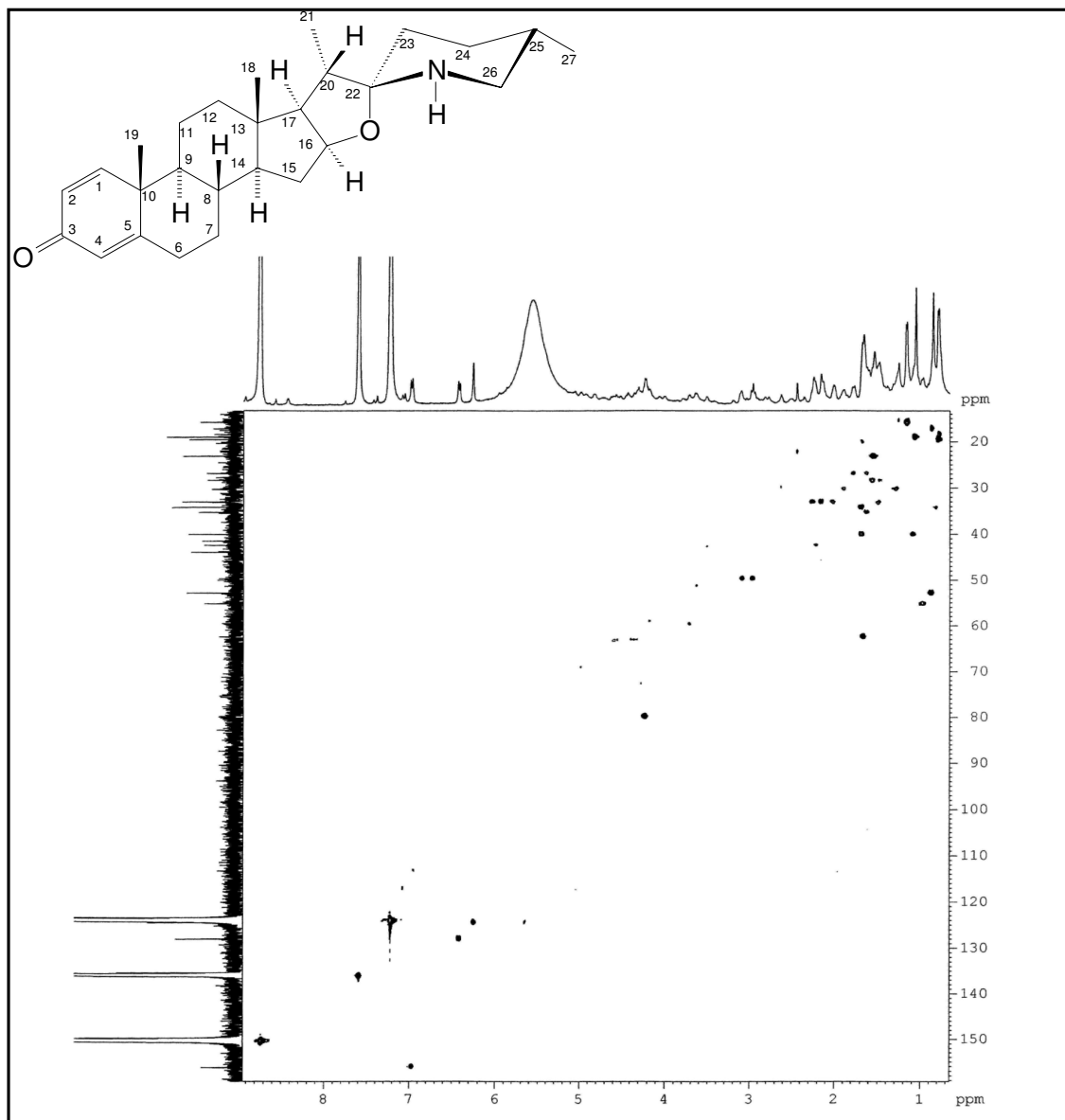


Figura 111- Espectro de RMN-HSQC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-9

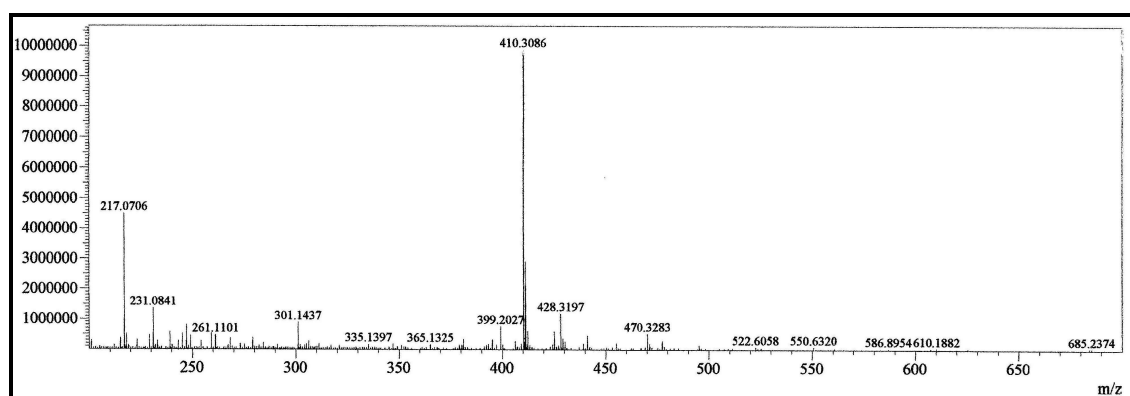


Figura 112- Espectro de massas (IES-EM) de SC-9

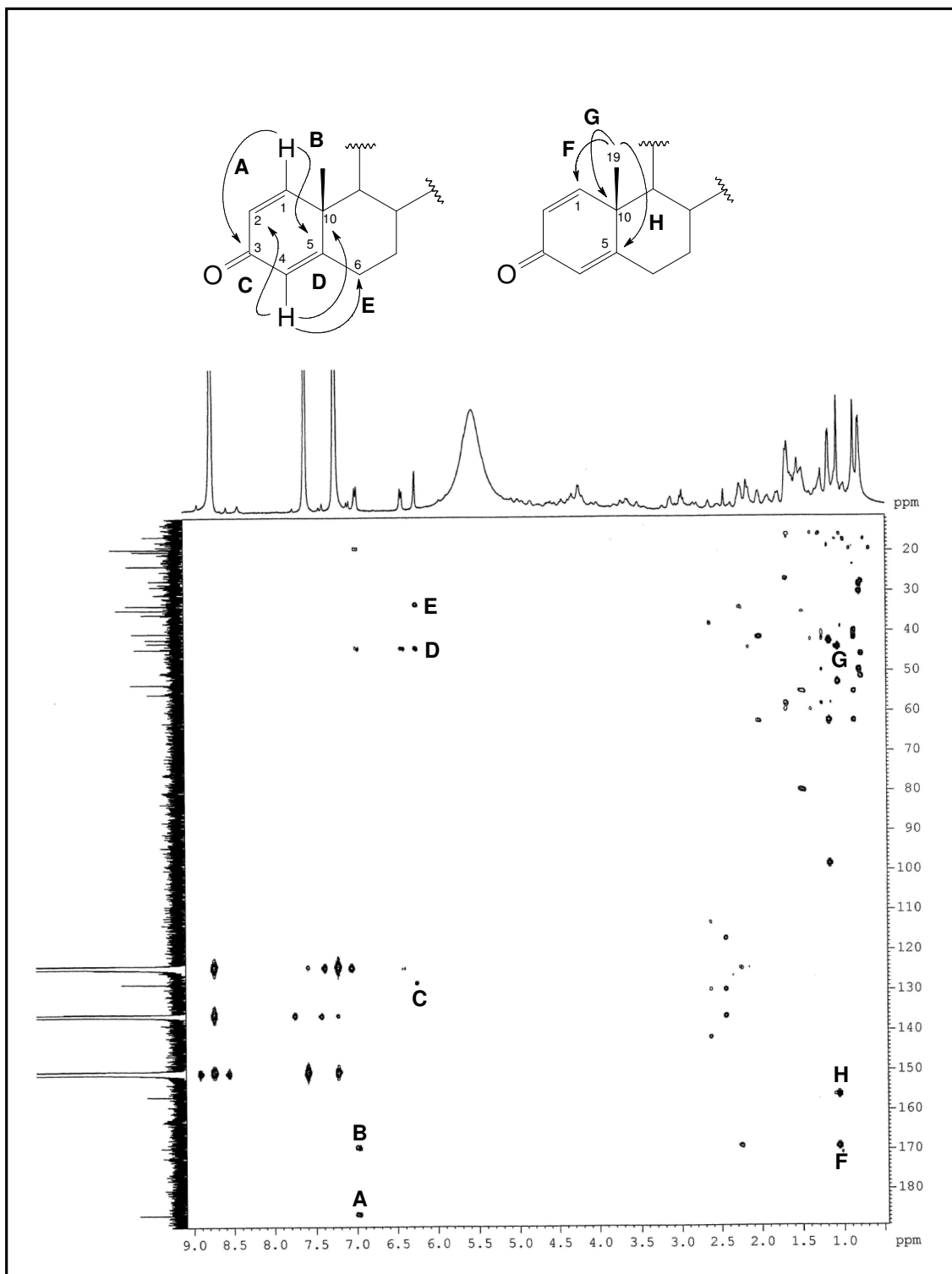


Figura 113- Espectro de RMN-HMBC (piridina-*d*₅, 125 x 500 MHz) de SC-9

4.1.1.14 Determinação estrutural de SC-8

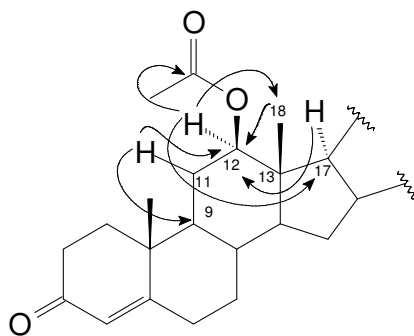
Denominado de **SC-8** (4,1 mg), o pico 2 com $t_R = 5,97$ min. (Item 5.4. 3.2.2, p. 222, Fluxograma 2, p. 225), mostrou-se como uma resina verde.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, piridina- d_5 , Figuras 114 a 116, p. 156 e 157) indicaram uma estreita semelhança estrutural com **SC-10**. O espectro de RMN de ^{13}C -CPD mostrou sinais correspondentes a vinte e nove átomos de carbonos, sendo vinte e sete compatíveis com um núcleo espirosolano do alcalóide esteroidal. A comparação deste com o espectro DEPT 135° (Figura 116, p. 157) revelou a presença de seis carbonos não-hidrogenados, nove carbonos metínicos, nove carbonos metilênicos e cinco carbonos metílicos (Tabela 23, p. 155).

A análise comparativa dos dados espectrais dos dois compostos (Tabela 24, p. 155), revelou que as principais diferenças no espectro de RMN de ^1H residem nos sinais em δ_H 4,76 (dd; $J = 10,8$ e $4,3$ Hz; H-12) e 2,11 (s; CH_3CO -12), os quais mostraram correlações com os sinais de carbonos em δ_C 81,4 (C-12) e 21,7 (CH_3CO -12) respectivamente, no espectro HSQC (Figura 118, p. 158). Enquanto, no espectro de RMN de ^{13}C na presença de um carbono oxigenado em δ_C 81,4 (C-12) e nos sinais adicionais em δ_C 170,7 (CH_3CO -12) e 21,7 (CH_3CO -12), evidenciando a existência de um grupo acetiloxi na molécula.

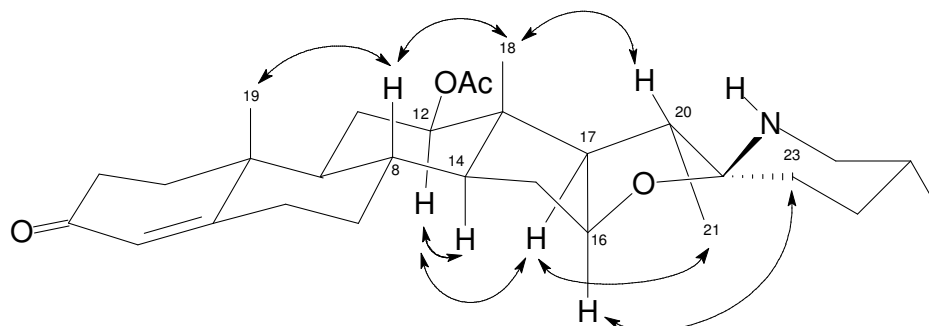
Estas informações estão de acordo com o íon correspondente a molécula $[\text{M} + \text{H}]^+$ com m/z 470,3273 (calculado m/z 470,3265 erro = 1,70 ppm) correspondente a fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{NO}_4$, exibido no de massas de alta resolução (Figura 119, p. 158).

O grupo acetiloxi foi posicionado no carbono C-12 com base nas correlações a longa distancia observadas no espectro HMBC (Figura 120, p. 159) entre o hidrogênio em δ_H 4,76 (H-12) com os carbonos em δ_C 12,5 (C-18) e 61,2 (C-17); do hidrogênio em δ_H 2,28 (H-17) com os carbonos em δ_C 81,4 (C-12); dos hidrogênios em δ_H 1,83/1,38 (2H-11) com os carbonos em δ_C 52,4 (C-9) e 81,4 (C-12), bem como dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,01 (3H-18) com o carbono em δ_C 81,4 (C-12) (sub-estrutura **I**).



(I)

A estereoquímica relativa de C-12, bem como para os demais centros estereogênicos presente na molécula foi deduzida através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 121, p.160), conforme ilustrado na estrutura **II**.



(II)

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas uni- e bidimensionais, permitiram determinar a estrutura de **SC-8** como o alcalóide 12 β -acetiloxi-(25*S*)-22 β *N*-espirosol-4-en-3-ona, o qual está sendo descrito pela primeira.

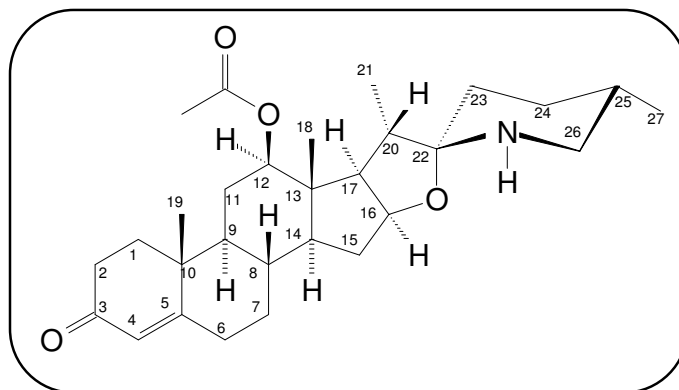


Tabela 23- Dados espectrais de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de **SC-8**, incluindo informações obtidas através do espectro IES-EM

C	CH	CH₂	CH₃	Fórmula Molecular
198,6 (C=O)	124,7 (C=C)	49,6 (C-N)	21,7	
170,7 (C=O)	81,4 (C-O)	35,6	19,5	
169,6 (C=C)	79,8 (C-O)	34,4	17,1	
98,7 (N-C-O)	61,2	32,8	14,8	
45,4	54,0	32,3	12,5	
38,8	52,4	31,9		
	42,8	28,3		
	34,2	27,0		
	30,2	26,7		
6C	9CH	9CH₂	5CH₃	C₂₉H₄₃NO₄

Tabela 24- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de **SC-8**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com dados de RMN de **SC-10** (piridina- d_5)

# C	SC-8		SC-10	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	35,6	1,70; 1,42	36,1	1,78; 1,46
2	34,4	2,38; 2,27	34,7	2,38; 2,41
3	198,6	-	198,7	-
4	124,7	5,85 (s)	124,5	5,86 (s)
5	169,6	-	170,5	-
6	32,8	2,14; 2,07	32,9	2,08; 2,13
7	31,9	1,65; 0,83	32,6	1,60; 0,81
8	34,2	1,60	35,2	1,46
9	52,4	0,91 (m)	54,0	0,73
10	38,8	-	39,0	-
11	27,0	1,83; 1,38	21,0	1,36; 1,25
12	81,4	4,76 (dd; 10,8; 4,3)	40,0	1,63; 1,07
13	45,4	-	41,3	-
14	54,0	1,15 (m)	55,6	1,02
15	32,3	2,10; 1,60	32,7	2,08; 1,46
16	79,8	4,27 (m)	80,8	4,62 (d; 7,0)
17	61,2	1,90	62,5	1,71
18	12,5	1,01 (s)	16,9	0,77 (s)
19	17,1	0,98 (s)	17,4	0,94 (s)
20	42,8	2,28 (m)	41,8	2,48
21	14,8	1,19 (d; 6,7)	15,4	1,25 (d; 6,5)
22	98,7	-	97,5	-
23	26,8	1,80; 1,60	26,5	1,84
24	28,3	1,60; 1,50	27,5	1,57; 1,45
25	30,2	1,86	29,2	2,08
26	49,6	3,11; 2,97 (t; 11,3)	48,8	3,28 (sl); 2,98 (t; 12,0)
27	19,5	0,79 (d, 6,4)	19,1	0,77
CH₃CO -12	170,7	-		
CH₃CO -12	21,7	2,11 (s)		

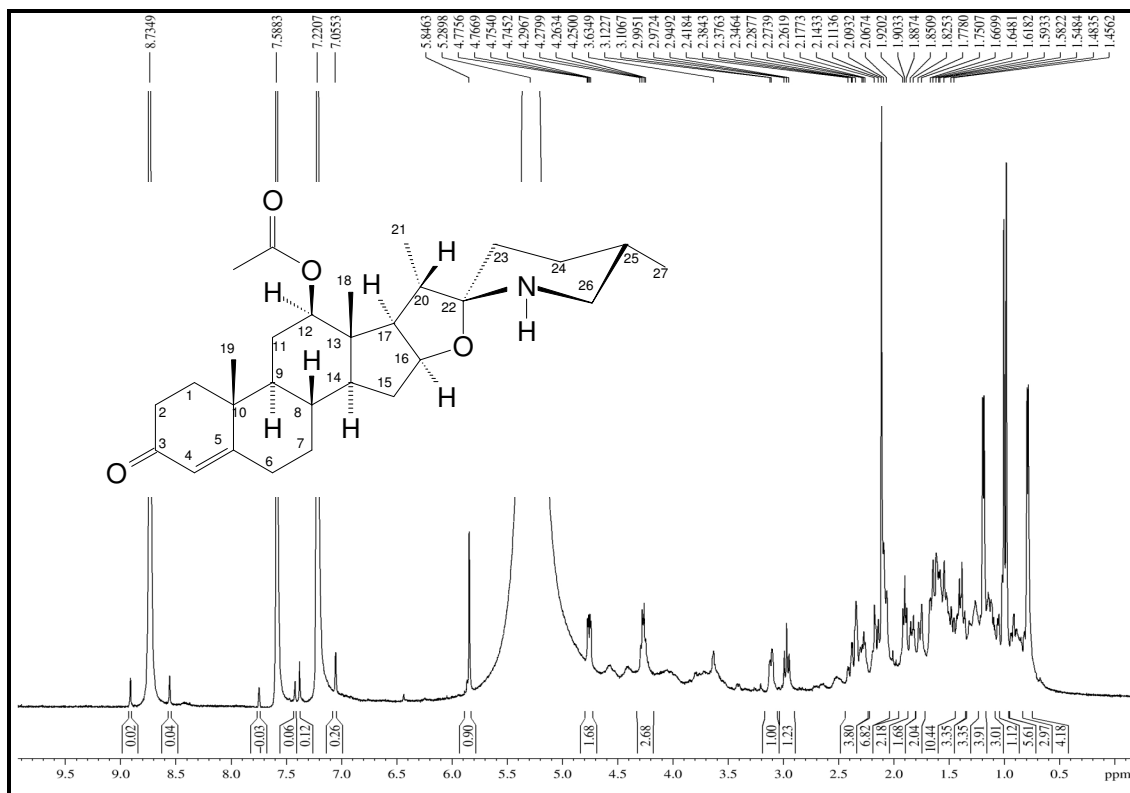


Figura 114- Espectro de RMN de ¹H (piridina-*d*₅, 500 MHz) de SC-8

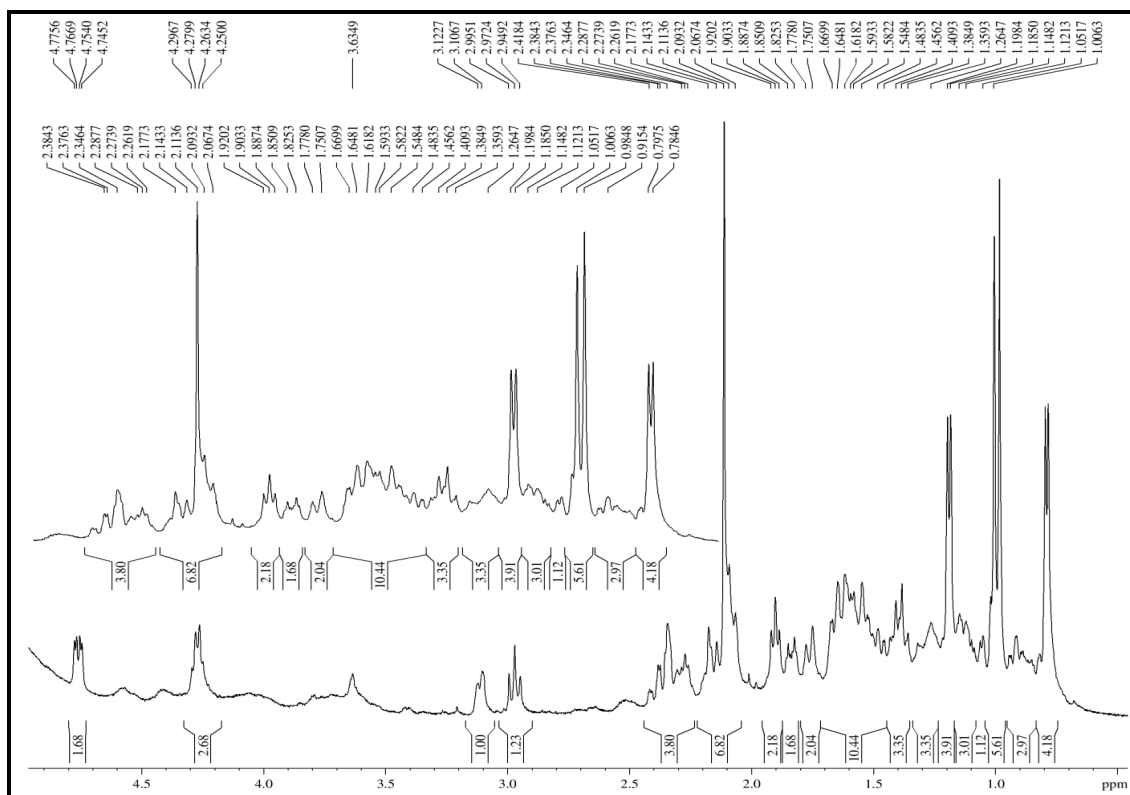


Figura 115- Espectro de RMN de ¹H-expansão (piridina-*d*₅, 500 MHz) de SC-8

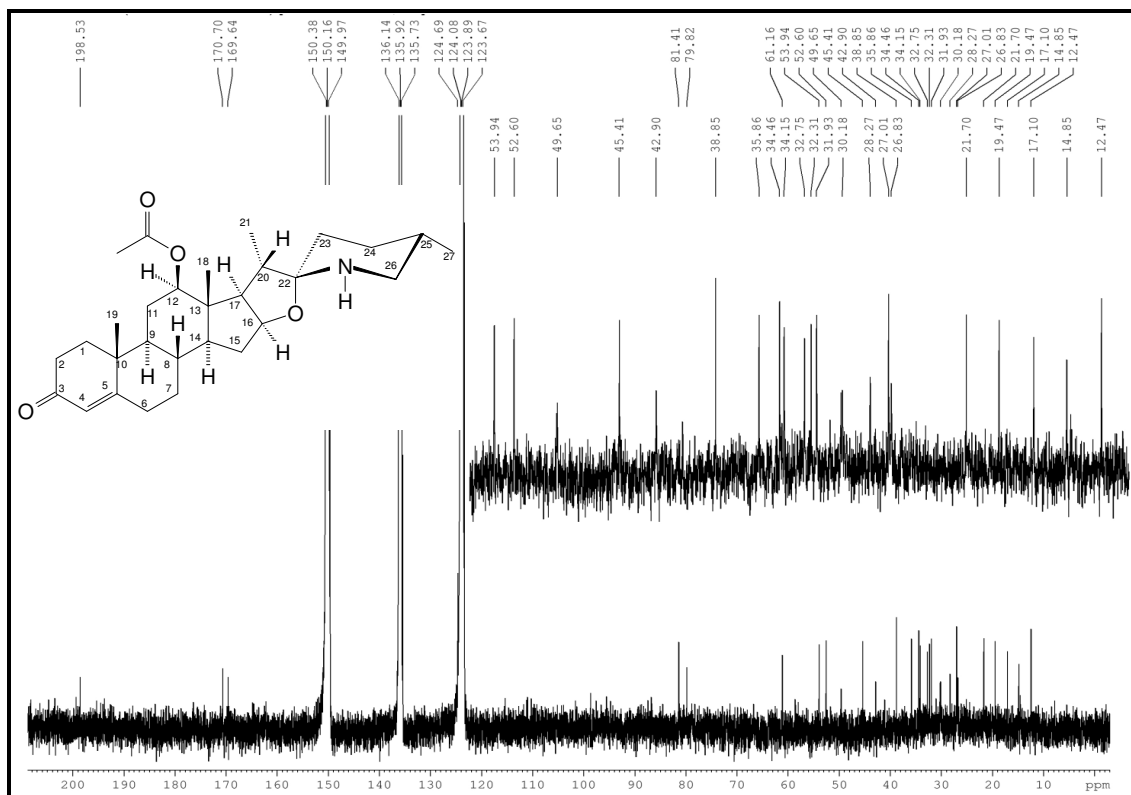


Figura 116- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-8

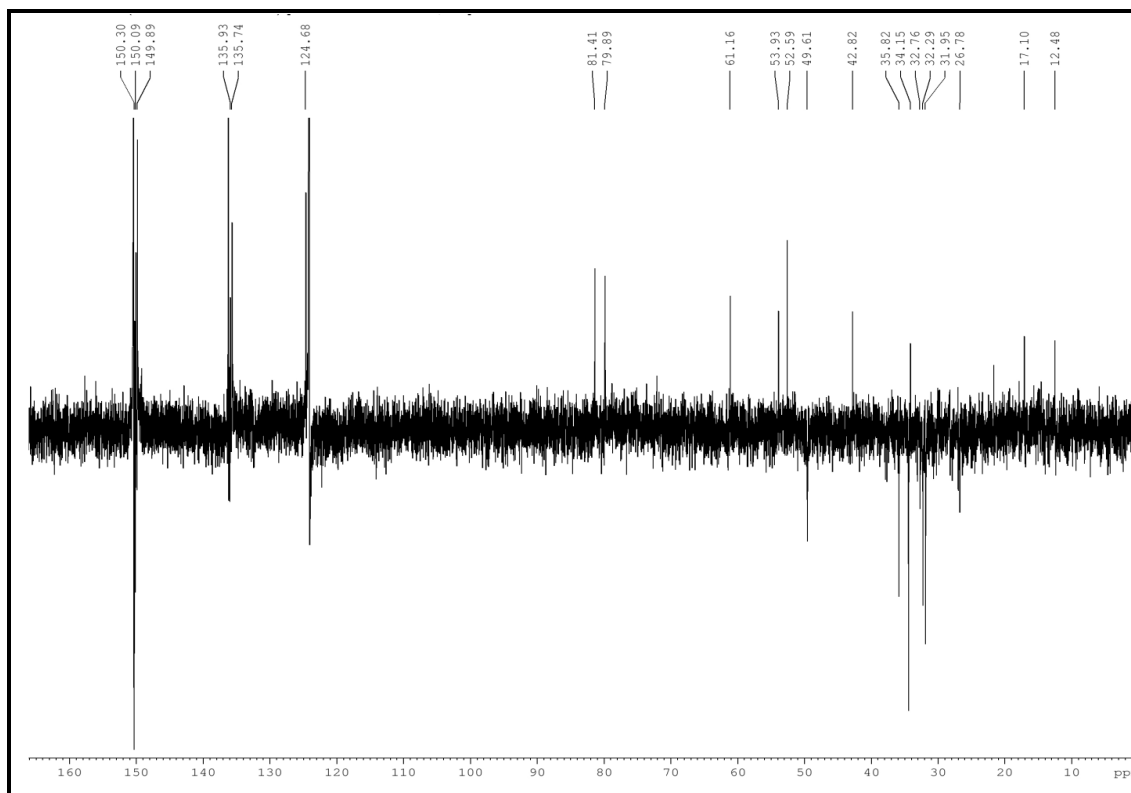


Figura 117- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (piridina- d_5 , 125 MHz) de SC-8

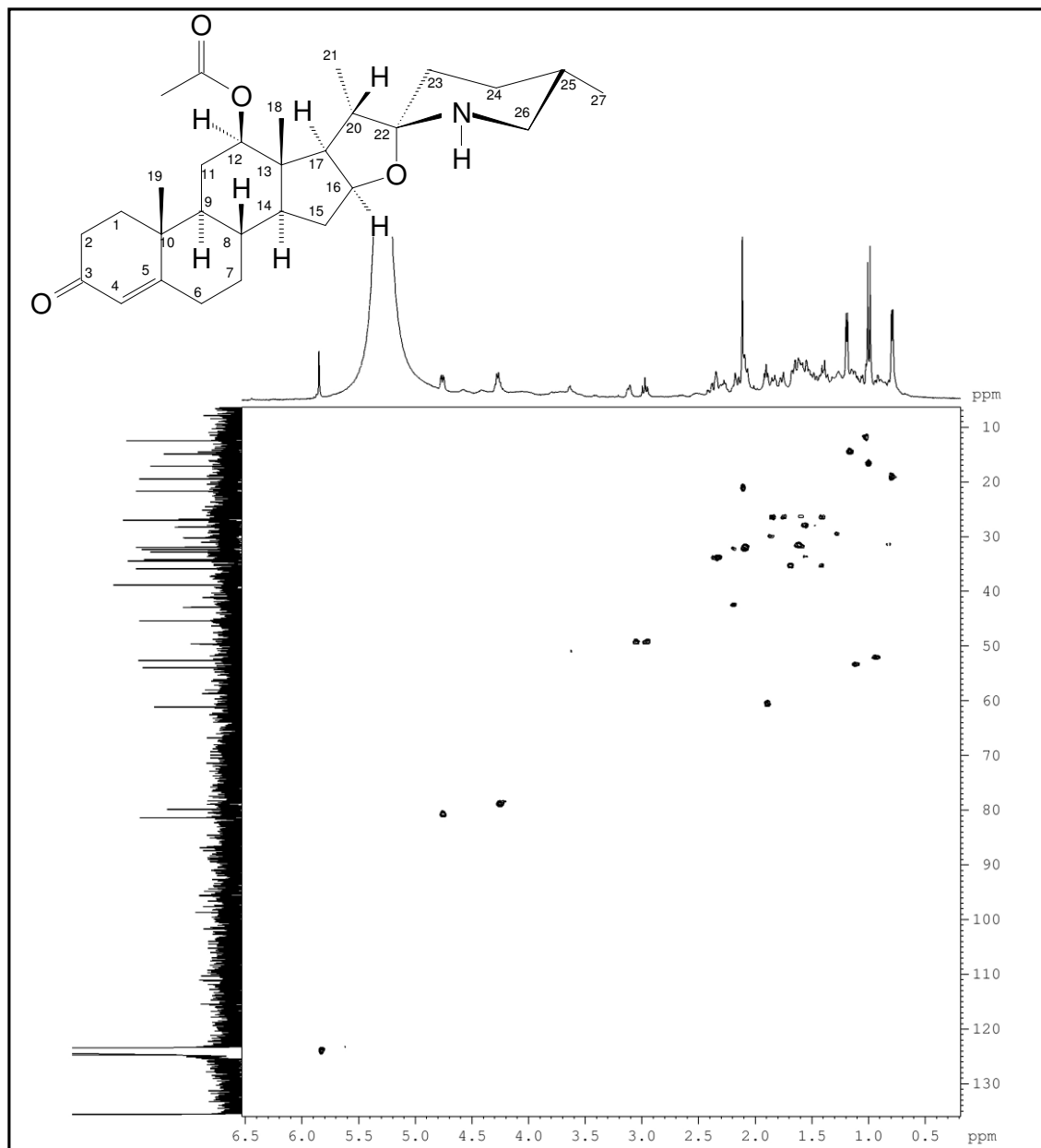


Figura 118- Espectro de RMN-HSQC (piridina- d_5 , 125 x 500 MHz) de SC-8

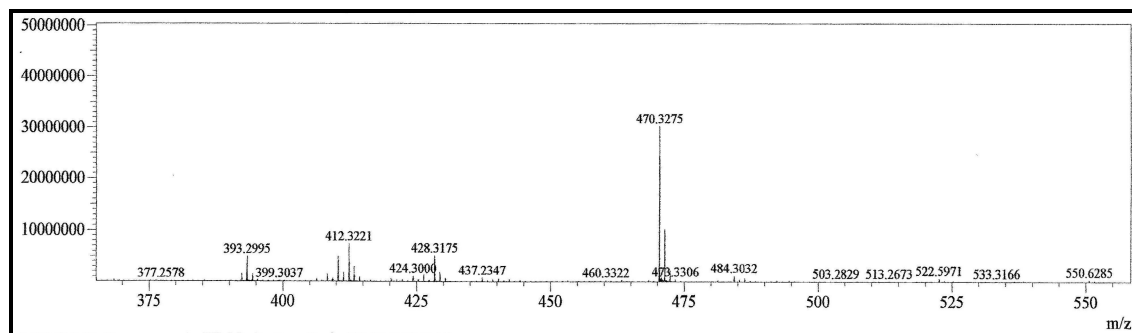


Figura 119- Espectro de massas (EM-IES) de SC-8

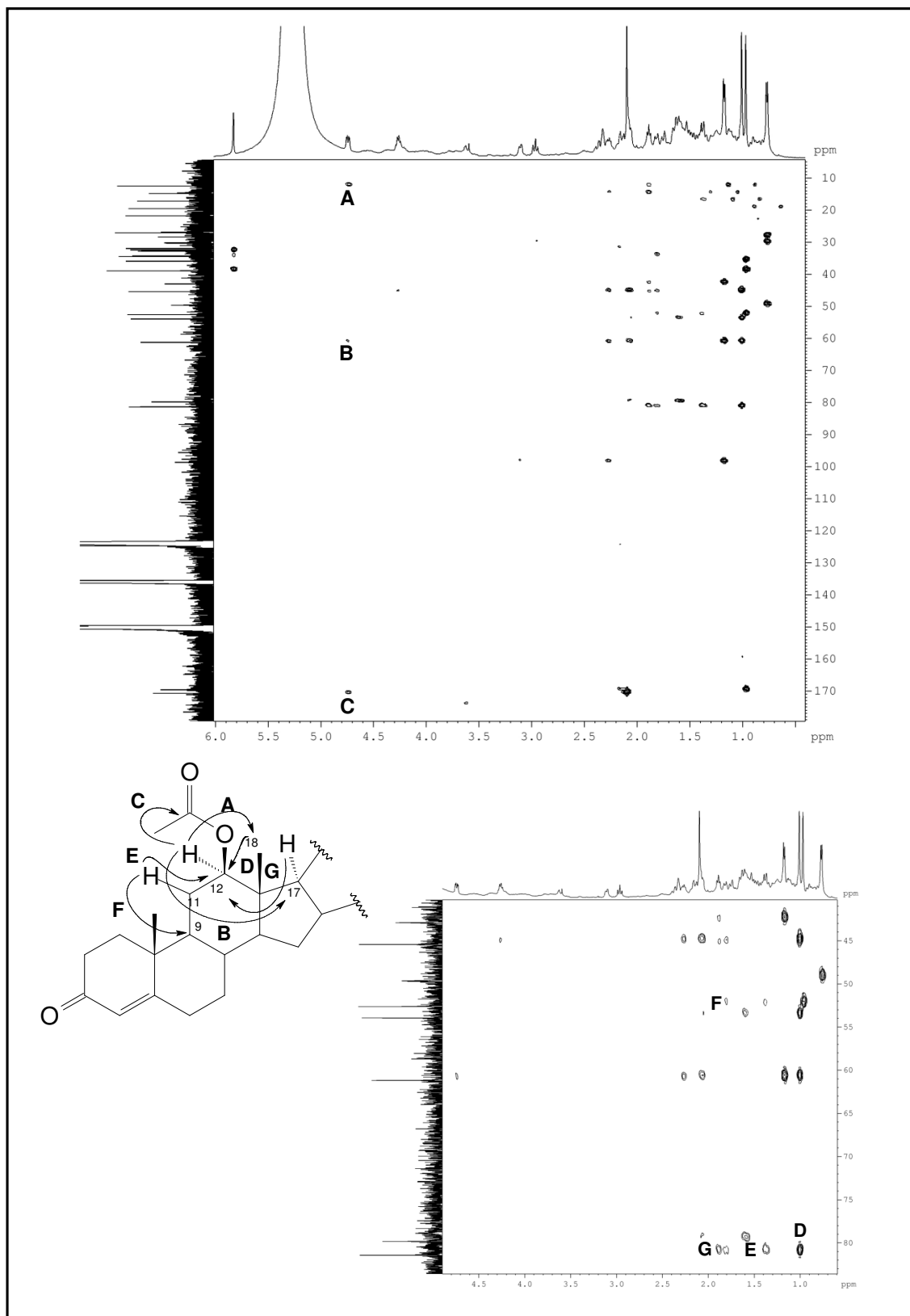


Figura 120- Espectro de RMN-HMBC (piridina-*d*₅, 125 x 500 MHz) de SC-8

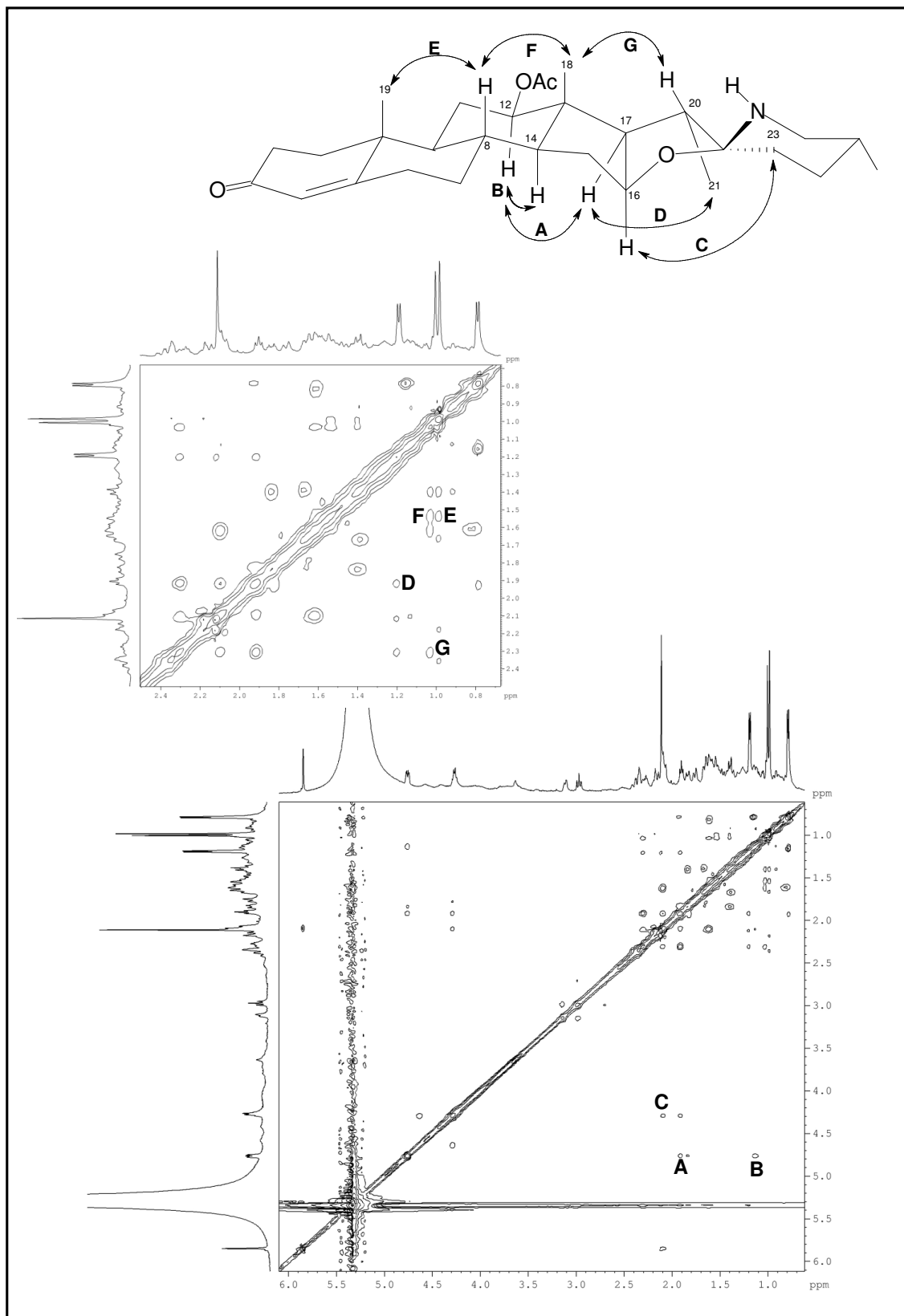


Figura 121- Espectro de RMN-NOESY (piridina-*d*₅, 500 x 500 MHz) de SC-8

4.1.1.15 Determinação estrutural de **SC-13**

O pico **4*** com $t_R = 14,06$ min. (Item 5.4.3.2.3 p. 220, Fluxograma 2, p. 223), gerou o composto denominado de **SC-13** (4,5 mg), o qual mostrou-se como uma resina.

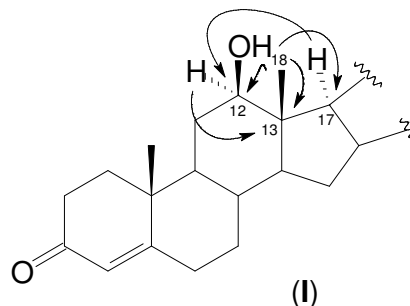
O espectro de massas de alta resolução (Figura 122, p.163) mostrou o íon correspondente a molécula protonada $[M + H]^+$ em m/z 428,3156 (calculado m/z 428,3159; erro = - 0,70 ppm), o qual permitiu a dedução da fórmula molecular $C_{29}H_{41}NO_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a oito.

O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (Figuras 123 e 124, p. 164) exibiu vinte e sete linhas espectrais, evidenciando uma estrutura esteroidal como os demais. Entre estes sinais três foram atribuídos a um sistema contendo uma carbonila de cetona α,β -insaturada em δ_C 198,0 (C-3), 174,2 (C-5) e 124,6 (C-4) e dois característicos [C-22 (δ_C 97,9) e C-16 (δ_C 82,5)] de um sistema oxa-azaspirodecano de alcalóide esteroidal do tipo espirosolano.

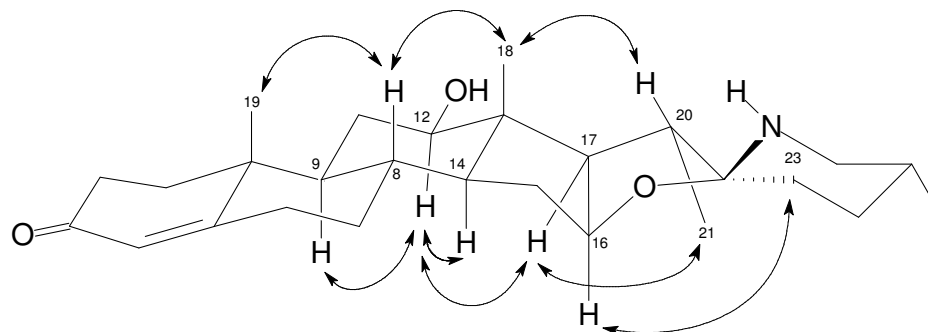
A análise comparativa dos dados de RMN de 1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, MeOD, Figuras 123 a 125, p.164 e 165) de **SC-13** com aqueles de **SC-8** (Tabela 25, p. 163) mostrou similaridade entre os dois compostos, sendo a principal diferença a ausência dos sinais em δ_C 170,7 (CH_3CO -12) e 21,7 (CH_3CO -12), correspondentes a um com grupo acetiloxi localizado no carbono C-12 para **SC-8**, sendo esta posição ocupada por um grupo OH, em consonância com a fórmula molecular $C_{29}H_{41}NO_3$. A presença da hidroxila foi confirmada através do fragmento observado no espectro EM/EM (Figura 126, p. 165) m/z 410,3071 $[(M + H) - 18]^+$, correspondente a perda de uma molécula de água.

O espectro de HSQC (Figura 127, p. 166) revelou as correlações dos hidrogênios ligados diretamente a seus respectivos carbonos.

A posição da hidroxila em C-12 foi confirmada através das correlações observadas no espectro HMBC (Figura 128, p. 167) do hidrogênio H-12 (δ_H 3,31) com o carbono C-13 (δ_C 47,6); dos hidrogênios 3H-18 (δ_H 0,94) com os carbonos C-12 (δ_C 79,7), C-13 (δ_C 47,6) e C-17 (δ_C 62,7), bem como do hidrogênio H-17 (δ_H 2,05) com o carbono C-12 (δ_C 79,7) (sub-estrutura **I**).



A estereoquímica relativa de **SC-13**, bem como a orientação β para hidroxila ligada ao carbono C-12 foi deduzida através das interações espaciais observadas no espectro NOESY (Figura 129, p.168), conforme ilustrado na estrutura **II**.

**II**

A estrutura da substância **SC-13** foi determinada como 12β -hidroxi-($25S$)- $22\beta N$ -spirosol-4-en-3-ona, a qual está sendo relatada pela primeira vez.

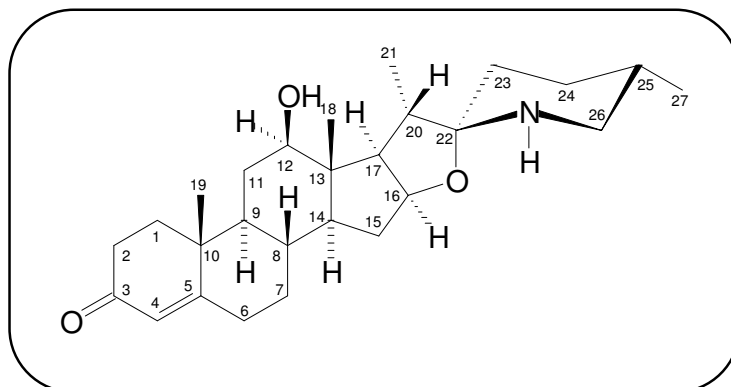
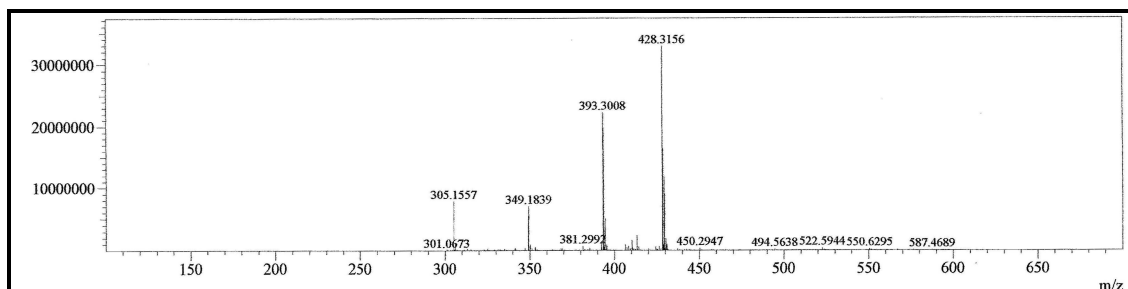


Tabela 25- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-13**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com os dados de RMN de **SC-8** (piridina- d_5)

# C	SC-13		SC-8	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	36,9	2,05; 1,74	35,6	1,70; 1,42
2	33,9	2,50; 2,31	34,4	2,38; 2,27
3	198,0	-	198,6	-
4	124,6	5,73 s	124,7	5,85 (s)
5	174,2	-	169,6	-
6	34,8	2,50; 2,29	32,8	2,14; 2,07
7	33,0	1,91; 1,0	31,9	1,65; 0,83
8	35,4	1,80	34,2	1,60
9	54,3	1,17	52,4	0,91 (m)
10	40,1	-	38,8	-
11	31,4	1,74; 1,50	27,0	1,83; 1,38
12	79,7	3,31	81,4	4,76 (dd; 10,8; 4,3)
13	47,6	-	45,4	-
14	54,8	1,11	54,0	1,15 (m)
15	32,6	2,12; 1,57	32,3	2,10; 1,60
16	82,5	4,42 dd (15,0; 7,0)	79,8	4,27 (m)
17	62,7	2,05	61,2	1,90
18	11,6	0,94 s	12,5	1,01 (s)
19	17,7	1,27 s	17,1	0,98 (s)
20	43,0	2,18	42,8	2,28 (m)
21	13,1	1,18 d (6,8)	14,8	1,19 (d; 6,7)
22	97,9	-	98,7	-
23	27,1	2,05; 1,57	26,8	1,80; 1,60
24	27,4	1,70; 1,50	28,3	1,60; 1,50
25	29,8	1,80	30,2	1,86
26	49,5	3,15 d (11,2); 2,93 (t; 12,6)	49,6	3,11; 2,97 (t; 11,3)
27	18,8	1,0 d (7,7)	19,5	0,79 (d, 6,4)
CH ₃ CO-12	36,9	2,05; 1,74	170,7	-
CH ₃ CO-12	33,9	2,50, 2,31	21,7	2,11 (s)

**Figura 122-** Espectro de massas (IES-EM) de **SC-13**

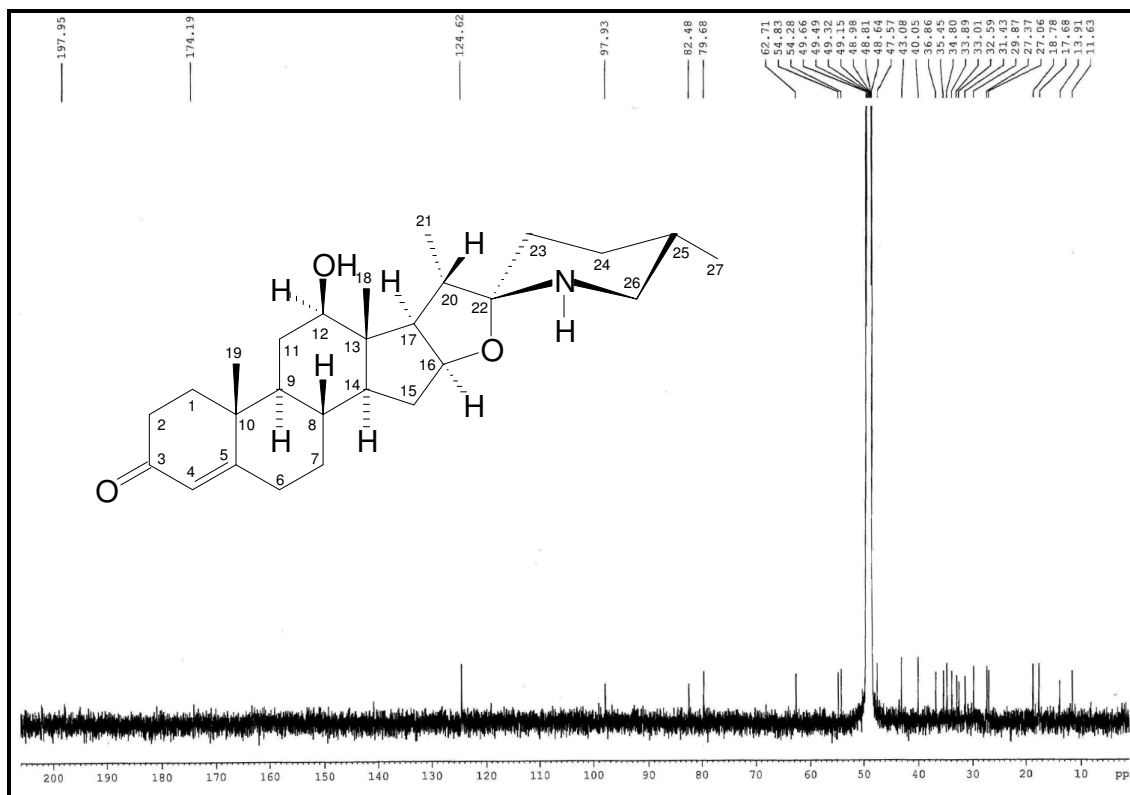


Figura 123- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-13

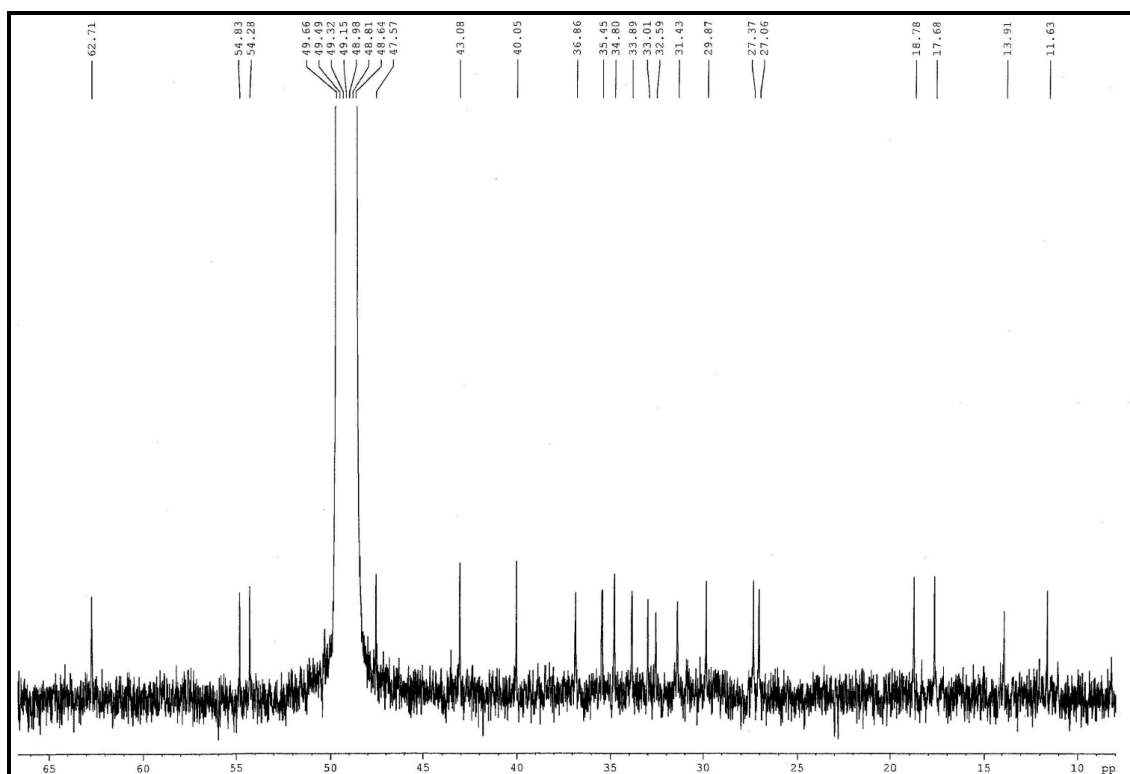


Figura 124- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD-expansão (MeOD, 125 MHz) de SC-13

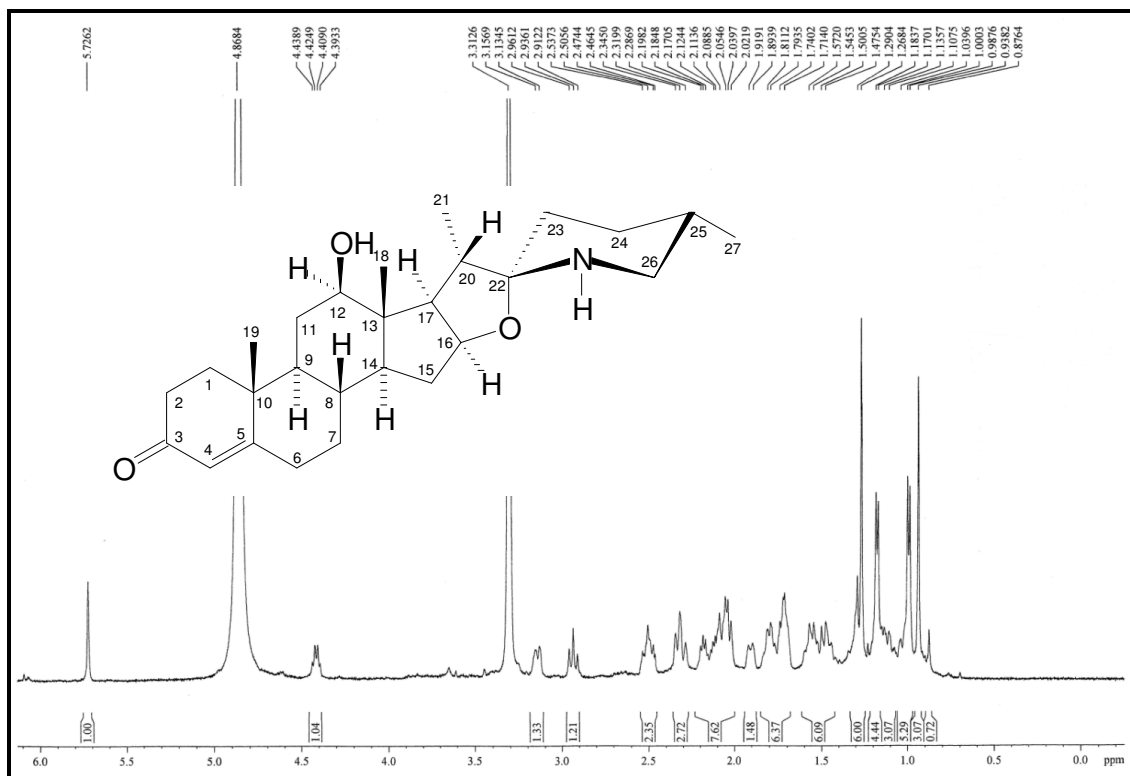


Figura 125- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-13

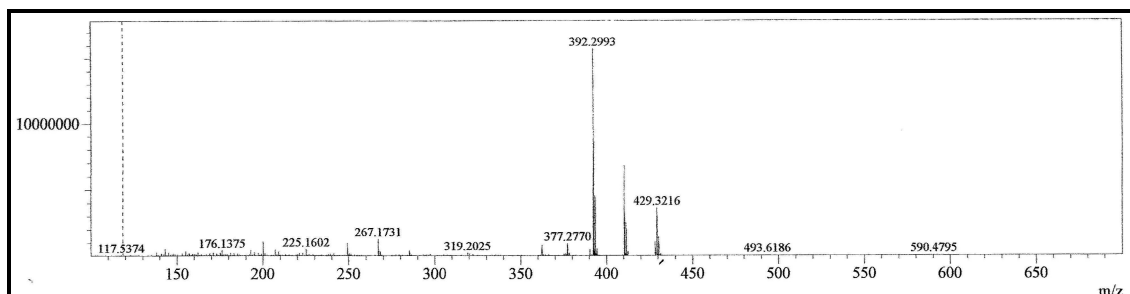


Figura 126- Espectro de massas seqüencial (IES-EM/EM) de SC-13

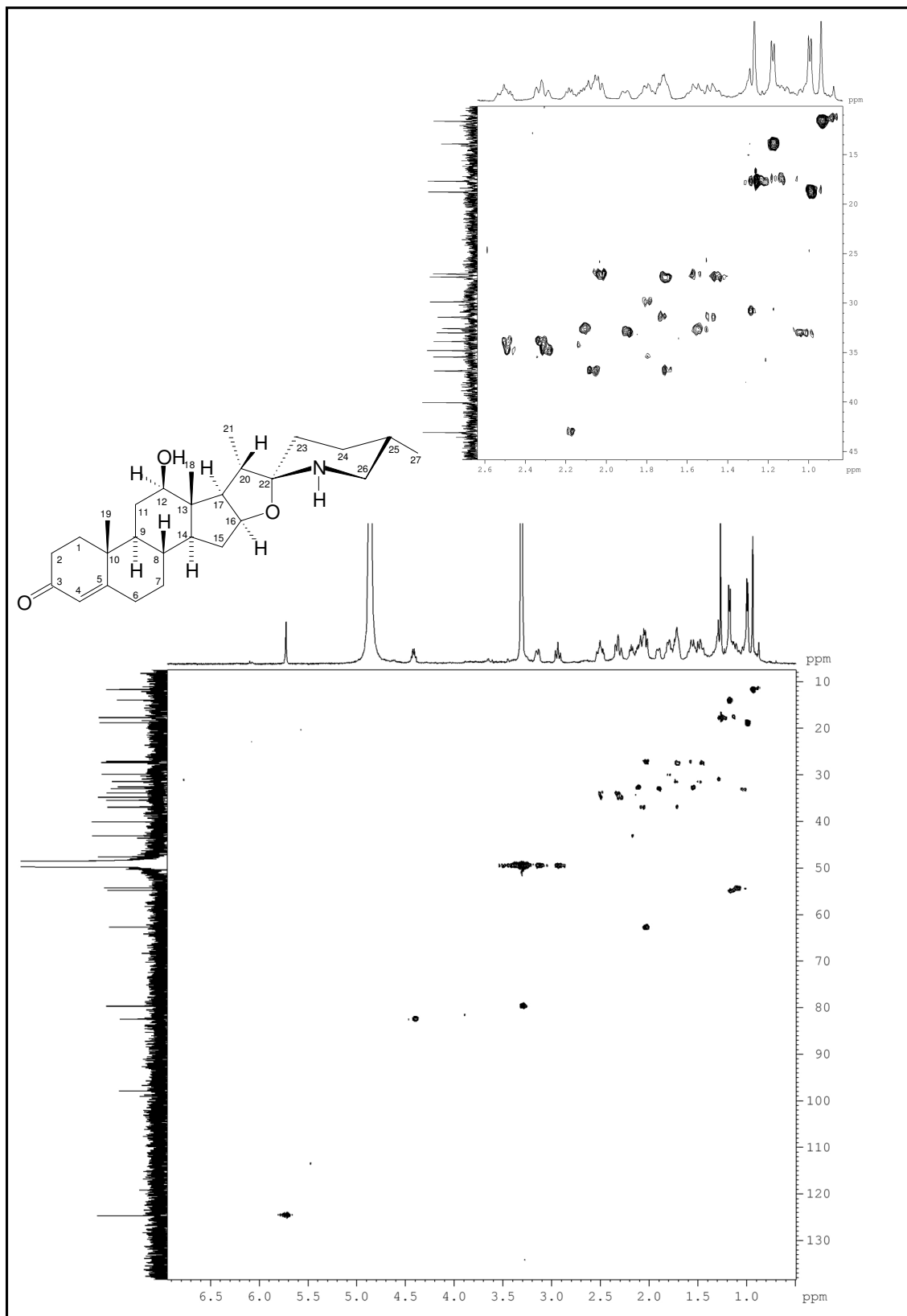


Figura 127- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-13

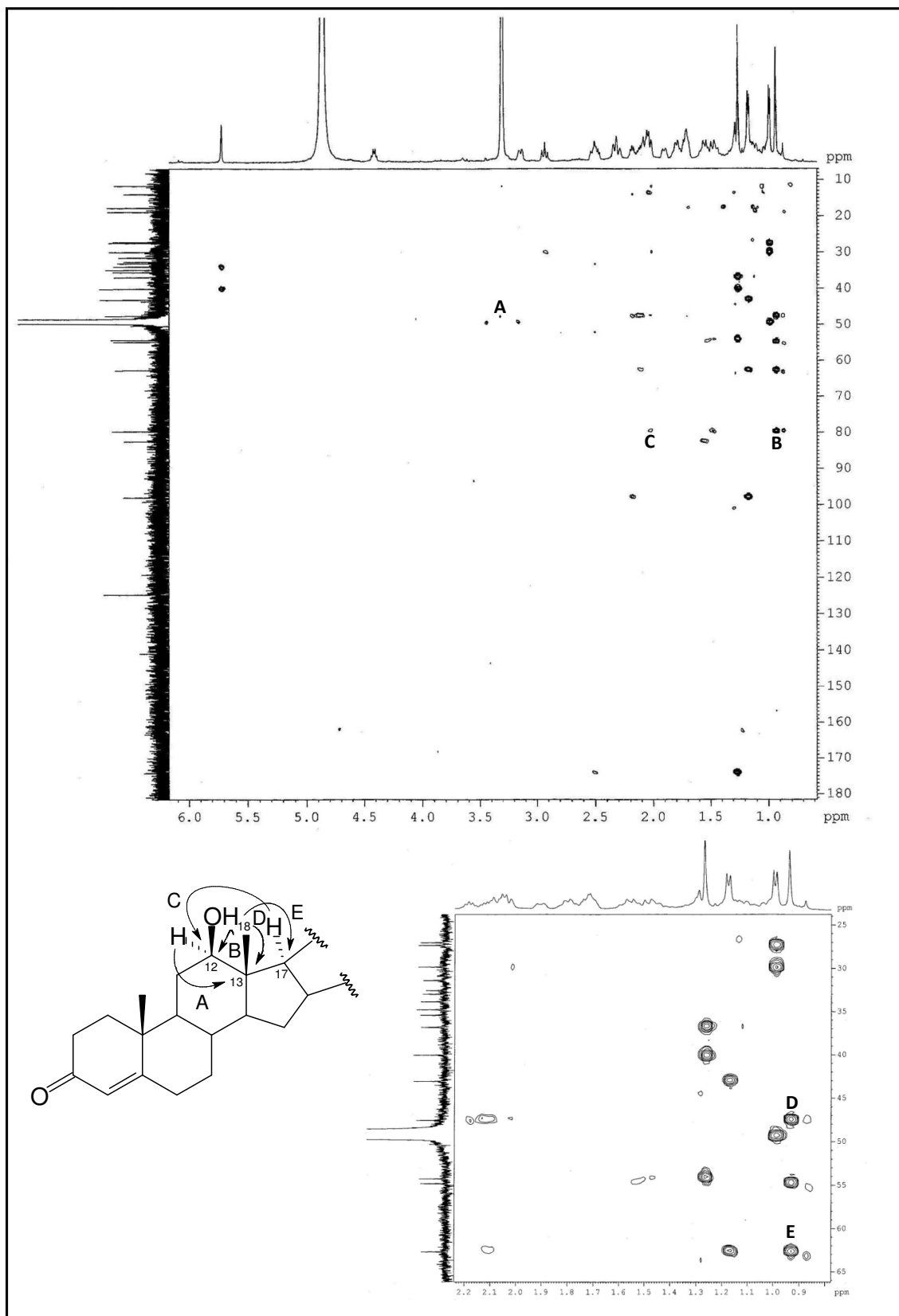


Figura 128- Espectro de RMN-HMBC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-13

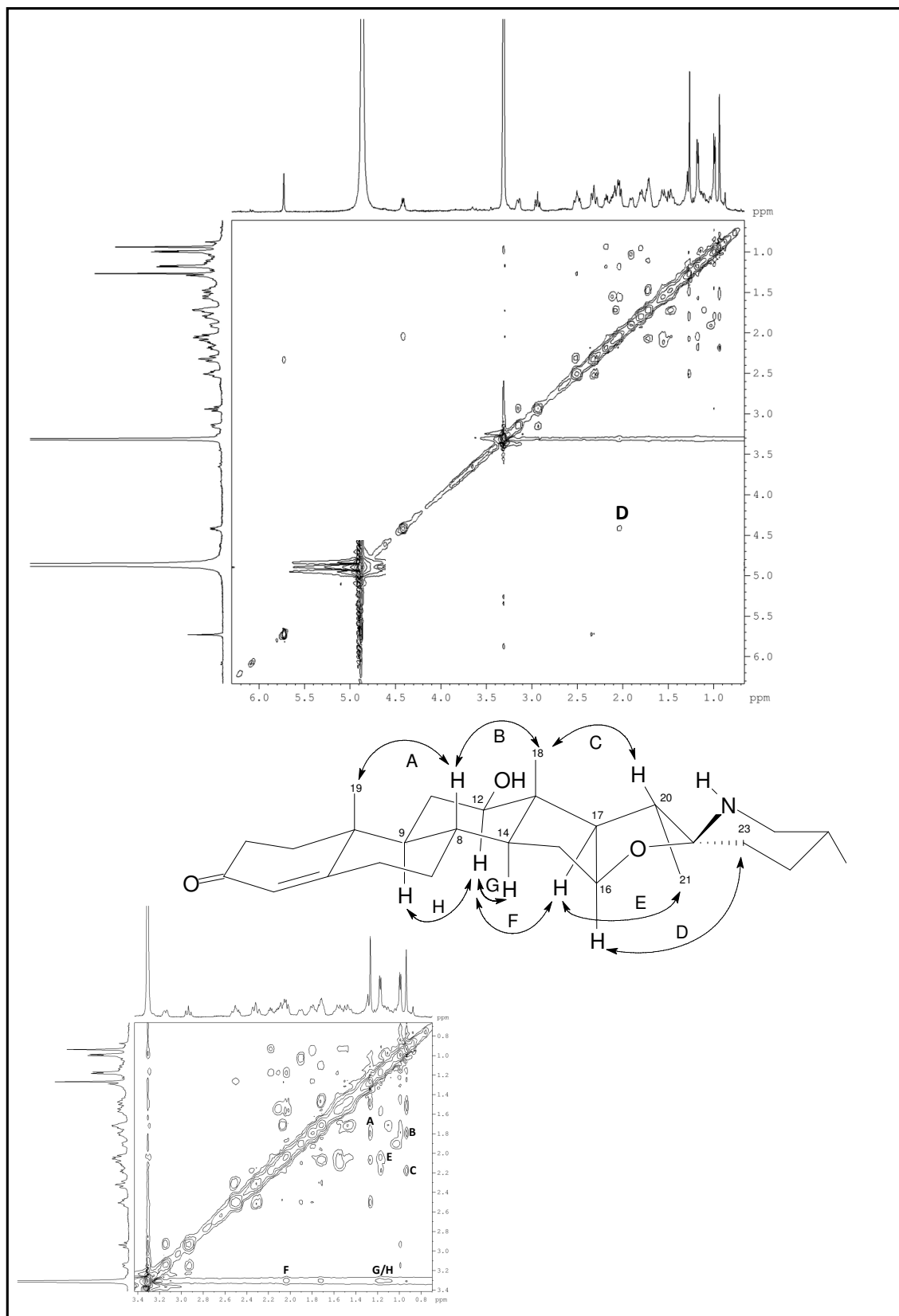


Figura 129- Espectro de RMN-NOESY (MeOD, 500 x 500 MHz) de SC-13

4.1.2 Determinação estrutural dos derivados fenólicos

4.1.2.1 Determinação estrutural de SC-2

A EESC-A2.1*, (Item 5.4.3.1.1, p. 216, Fluxograma 1, p. 220), após sucessivas cromatografias possibilitou o isolamento de um sólido amarelo (1,93 g), com ponto de fusão na faixa de 196,0 – 196,5 °C, o qual foi denominado **SC-2**.

O espectro de IV (Figura 130, p. 170) mostrou uma banda em 3418 cm⁻¹, característica de deformação axial da ligação O-H, uma banda em 1662 cm⁻¹, relacionada à deformação axial da ligação C=O; bandas em 1618 a 1461 cm⁻¹, características de deformação axial da ligação C=C de aromáticos; além da banda em 1286. cm⁻¹, correspondente à deformação axial da ligação C-O.

Os espectros de RMN de ¹³C-CPD e DEPT 135°(125 MHz, MeOD; Figuras 131 e 132, p. 171) apresentaram sinais correspondentes a nove átomos de carbono na região de sp², sendo quatro carbonos não-hidrogenados em δ_C 128,0 (C-1); 146,9 (C-3); 149,5 (C-4); 171,4 (C-9) e cinco carbonos metínicos em δ_C 115,3 (C-2); 116,6 (C-5); 122,0 (C-6); 147,1 (C-7) e 115,8 (C-8). O espectro de RMN de ¹H (500 MHz, MeOD; Figura 133, p. 172) exibiu cinco sinais na região de hidrogênio ligada a carbono sp², dois deles compatíveis com hidrogênio ligado a carbono de ligação dupla com configuração *trans*, em δ_H 7,54 (d; *J* = 15,8 Hz; H-7) e 6,23 (d; *J* = 15,8; H-8) e três característicos de um sistema aromático de spin ABX em δ_H 7,03 (d; *J* = 1,8 Hz; H-2); 6,78 (d; *J* = 8,2 Hz; H-5) e 6,93 (dd; *J* = 8,2 e 1,8 Hz; H-6), este conjunto de sinais é compatível com um derivado do ácido cinâmico. Esta suposição foi corroborada com o espectro de massas de alta resolução (Figura 134, p. 172), o qual forneceu o pico [M + H]⁺ em *m/z* 181,0498, (calculado *m/z* 181,0495; erro = 1,66 ppm), compatível com a fórmula molecular C₉H₈O₄. A Tabela 26 (p. 170) apresenta os deslocamentos químicos de ¹H e ¹³C, correlacionando os hidrogênios aos seus respectivos carbonos, a partir de informações extraídas do espectro HSQC (Figura 135, p.173).

Com base na análise exposta acima e comparação com dados de RMN de ¹H e ¹³C descritos na literatura (JIANG *et al.*, 2005) (Tabela 26, p. 170) **SC-2** foi caracterizado como o ácido 3,4-dihidroxi-cinâmico mais conhecido por ácido caféico.

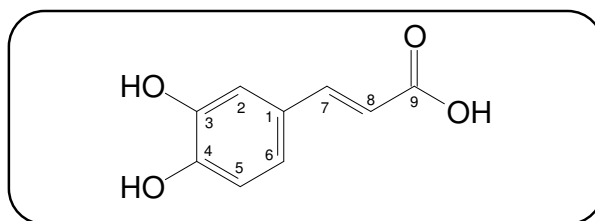


Tabela 26- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de **SC-2**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparados com valores da literatura (JIANG *et al.*, 2005) usando MeOD como solvente

#C	SC-2		HSQC		Literatura	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	128,0	-	127,4	-	-	-
2	115,3	7,04 (<i>d</i> ; 1,8)	115,1	7,04 (<i>d</i> ; 2,0)	-	-
3	146,9	-	147,0	-	-	-
4	149,5	-	150,1	-	-	-
5	116,6	6,78 (<i>d</i> ; 8,2)	116,6	6,76 (<i>d</i> ; 8,0)	-	-
6	122,0	6,93 (<i>dd</i> ; 8,2; 1,8)	123,1	6,94 (<i>dd</i> ; 8,0; 2,0)	-	-
7	147,1	7,54 (<i>d</i> ; 15,8)	147,3	7,56 (<i>d</i> ; 15,6)	-	-
8	115,8	6,23 (<i>d</i> ; 15,8)	114,8	6,27 (<i>d</i> ; 15,6)	-	-
9	171,4	-	168,8	-	-	-

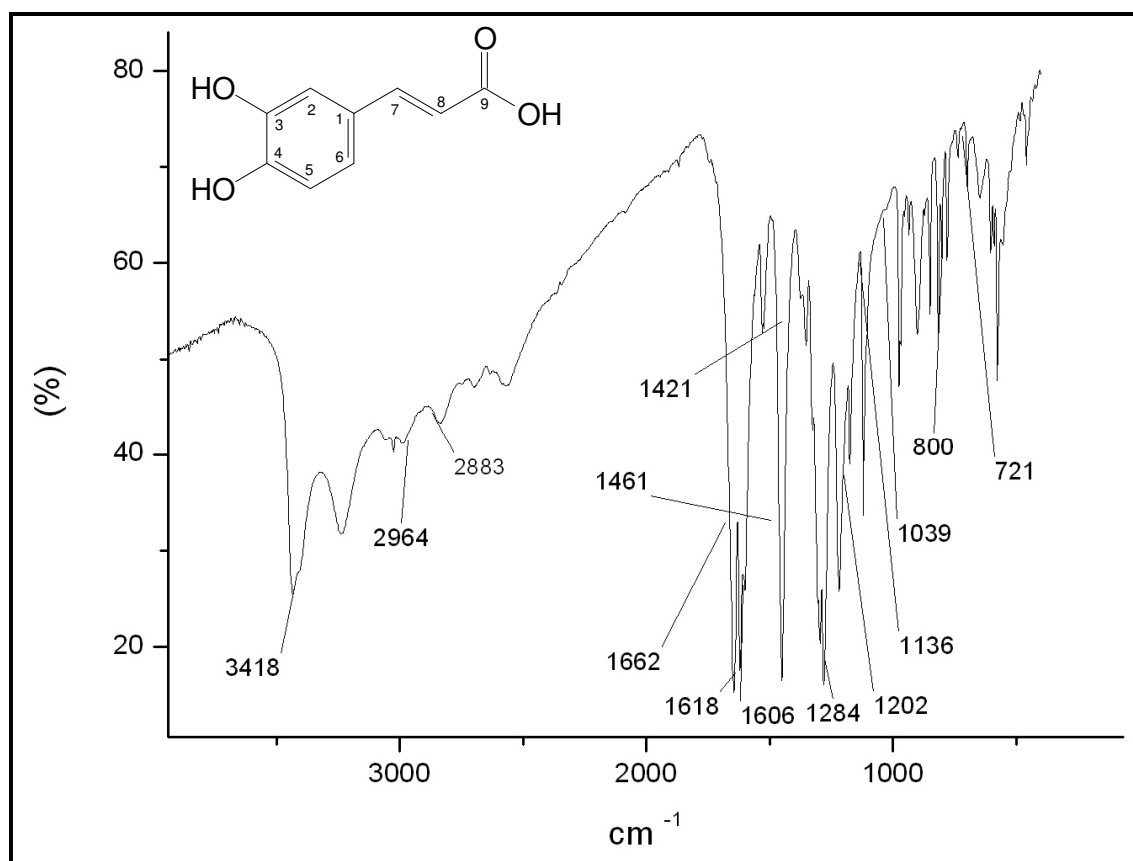


Figura 130- Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **SC-2**

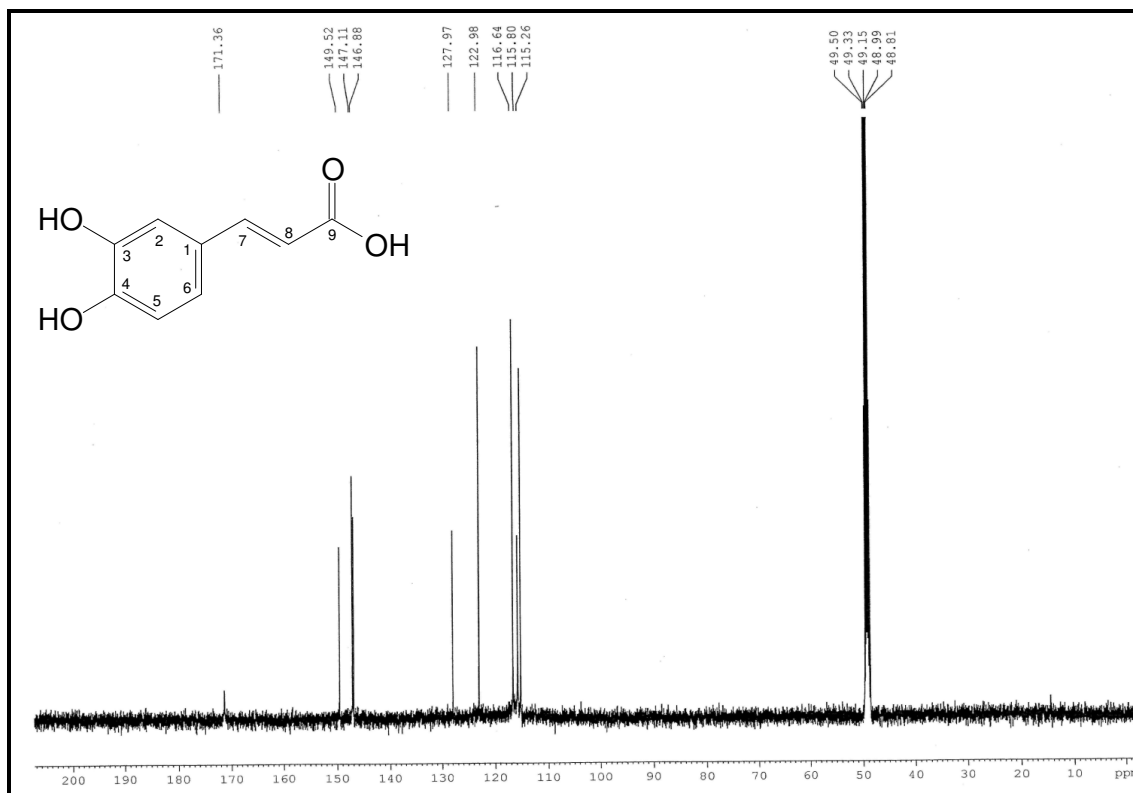


Figura 131- Espectro de RMN de ¹³C-CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-2

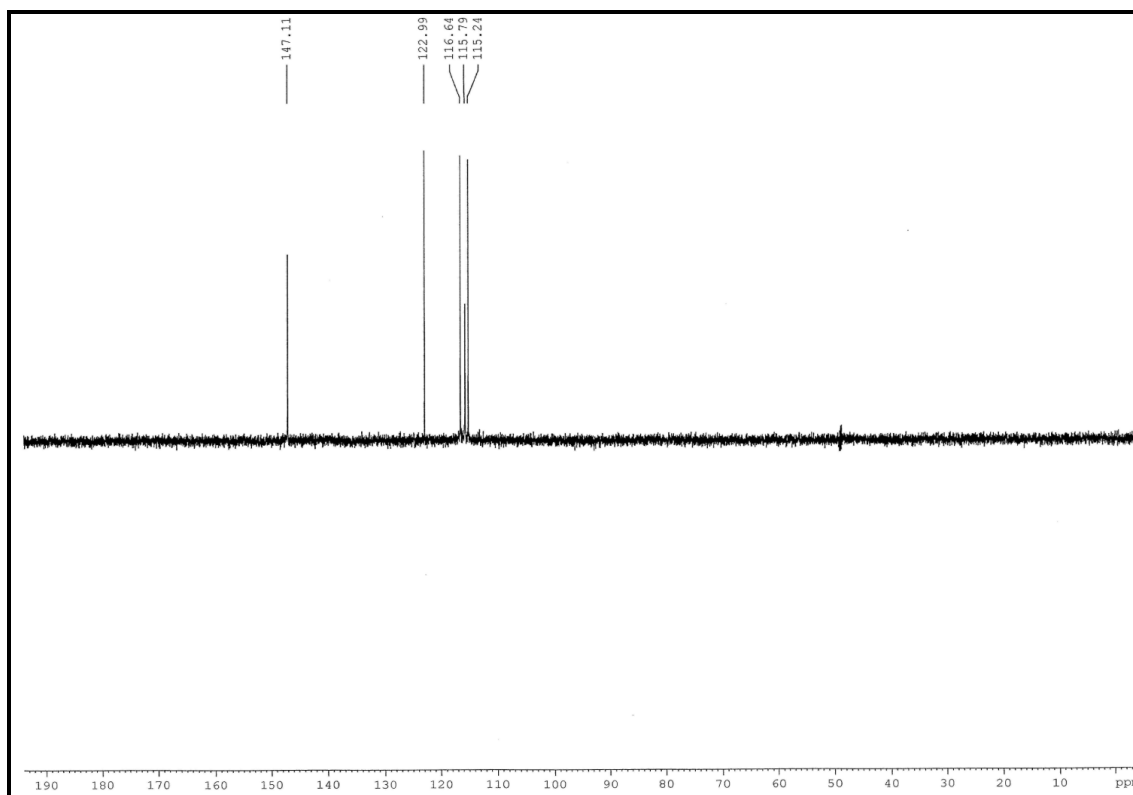


Figura 132- Espectro de RMN de ¹³C-DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-2

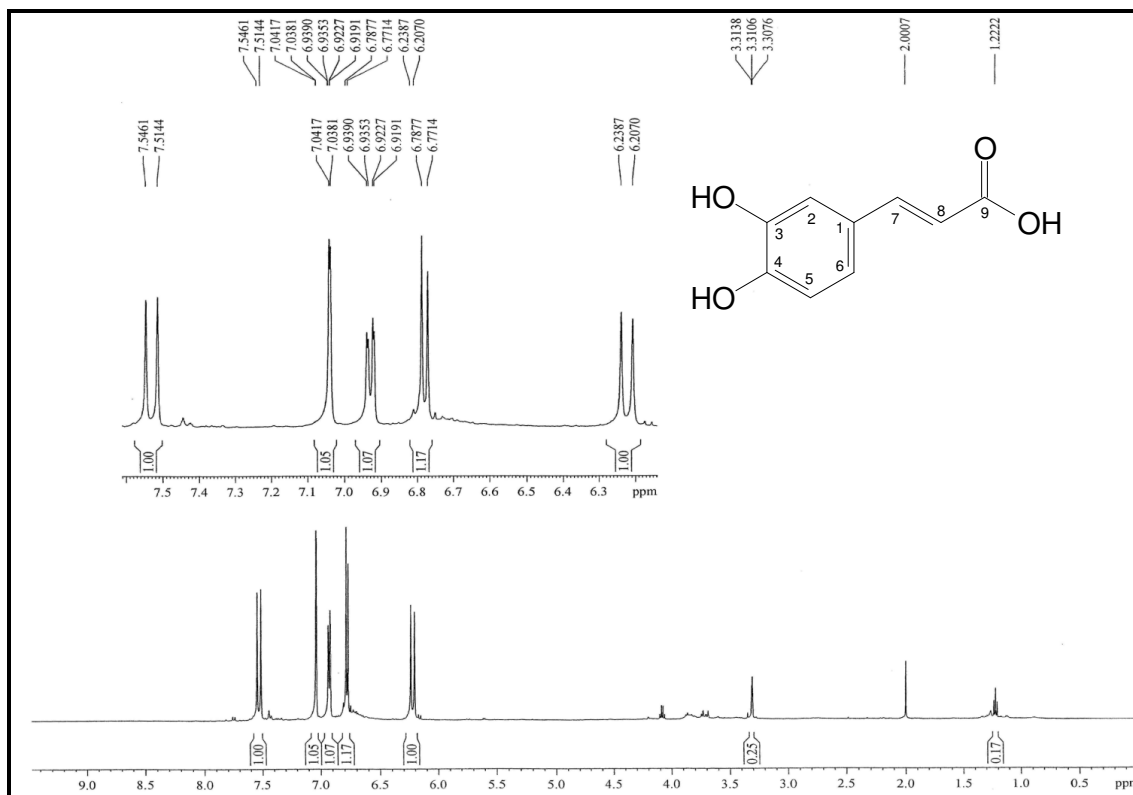


Figura 133- Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) de SC-2

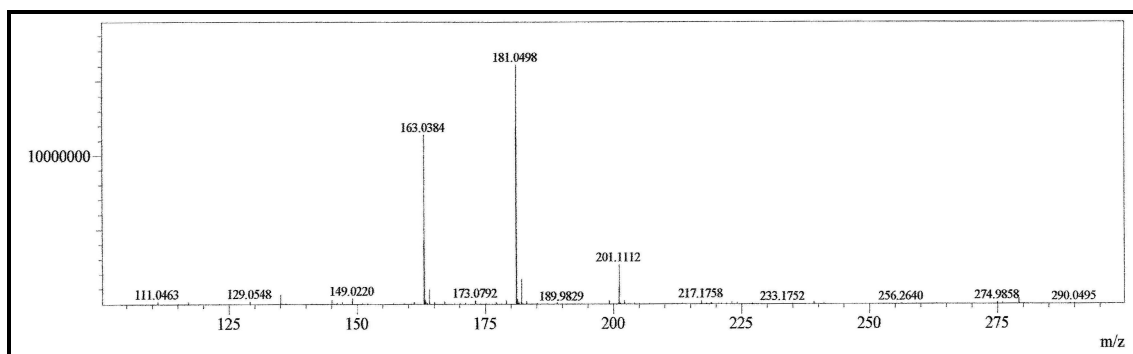


Figura 134- Espectro de massas (IES-EM) de SC-2

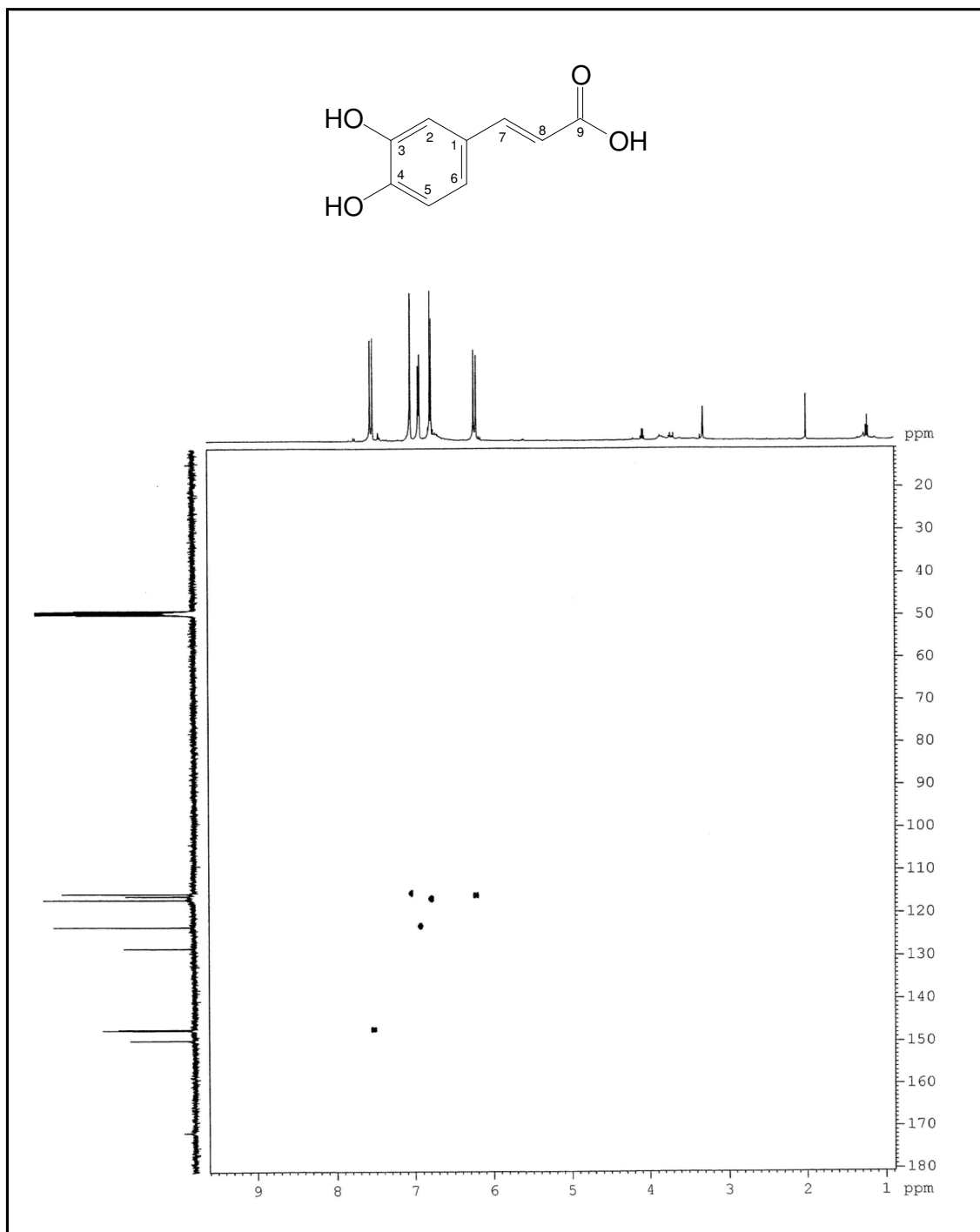


Figura 135- Espectro de RMN-HSQC (MeOD, 125 x 500 MHz) de SC-2

4.1.2.2 Determinação estrutural de **SC-1**

O fracionamento cromatográfico de EESC-A2.1* culminou no isolamento de **SC-1** (21,5 mg) (Item 5.4.3.1.1, p. 216, Fluxograma 1, p. 220), um sólido branco, com ponto de fusão na faixa de 142,3 – 143,1 °C.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3 , Figuras 136 a 138, p. 175 e 176) mostraram dados espectrais que foram compatíveis com um perfil semelhante ao de **SC-2**. O espectro RMN de ^{13}C -CPD mostrou onze linhas espectrais que por comparação com espectro DEPT 135° (Figura 138, p. 176) revelou a presença de quatro carbonos não-hidrogenados em δ_{C} 127,9 (C-1); 147,1 (C-3); 149,7 (C-4); 169,5 (C-9); cinco carbonos metínicos em δ_{C} 115,3 (C-2); 116,6 (C-5); 123,0 (C-6); 147,8 (C-7) e 115,4 (C-8), um carbono metilênico em δ_{C} 61,5 (C-1') e um carbono metílico em δ_{C} 14,8 (C-2').

A análise comparativa dos dados espectrais de **SC-1** com aqueles de **SC-2** (Tabela 27, p. 175), revelou que as principais diferenças residem nos sinais de carbonos sp^3 adicionais em δ_{C} 61,5 (C-1') e 14,8 (C-2') no espectro de RMN de ^{13}C -CPD, os quais apresentaram correlações no espectro HSQC (Figura 139, p. 177) com os sinais em δ_{H} 4,2 (q; $J = 7,1$ Hz; 2H-1') e 1,30 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H-2'), respectivamente. Estes sinais apontaram para a existência de um grupo etoxila na estrutura de **SC-2** e, portanto, compatíveis com a fórmula molecular $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$ deduzida a partir do íon correspondente a molécula protonada $[\text{M} + \text{H}]^+$ com m/z 207,0705 exibido no espectro de massas de alta resolução (Figura 140, p. 177).

A reunião dos dados analisados permitiu afirmar que **SC-1** tratava-se do éster etílico do ácido caféico.

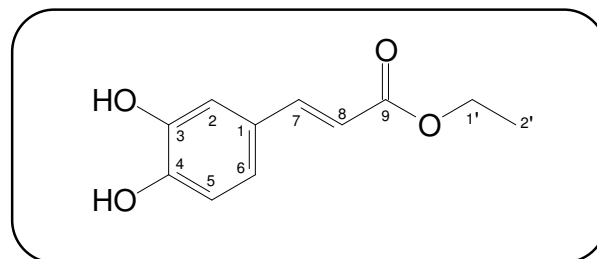


Tabela 27- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (CDCl_3) de **SC-1**, incluindo as correlações obtidas através do espectro HSQC e comparação com dados de RMN de **SC-2** (MeOD)

# C	SC-1		SC-2	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	127,9	-	128,0	-
2	115,3	7,03 (<i>d</i> ; 1,7)	115,3	7,04 (<i>d</i> ; 1,8)
3	147,1	-	146,9	-
4	149,7	-	149,5	-
5	116,6	6,77 (<i>d</i> ; 8,2)	116,6	6,78 (<i>d</i> ; 8,2)
6	123,0	6,93 (<i>dd</i> ; 8,2; 1,7)	122,0	6,93 (<i>dd</i> ; 8,2; 1,8)
7	146,8	7,54 (<i>d</i> ; 16,0)	147,1	7,54 (<i>d</i> ; 15,8)
8	115,4	6,23 (<i>d</i> ; 16,0)	115,8	6,23 (<i>d</i> ; 15,8)
9	171,4	-	171,4	-
CH ₂ -1'	61,5	4,20 (<i>q</i> ; 7,1)		
CH ₃ -2'	14,8	1,30 (<i>t</i> ; 7,1)		

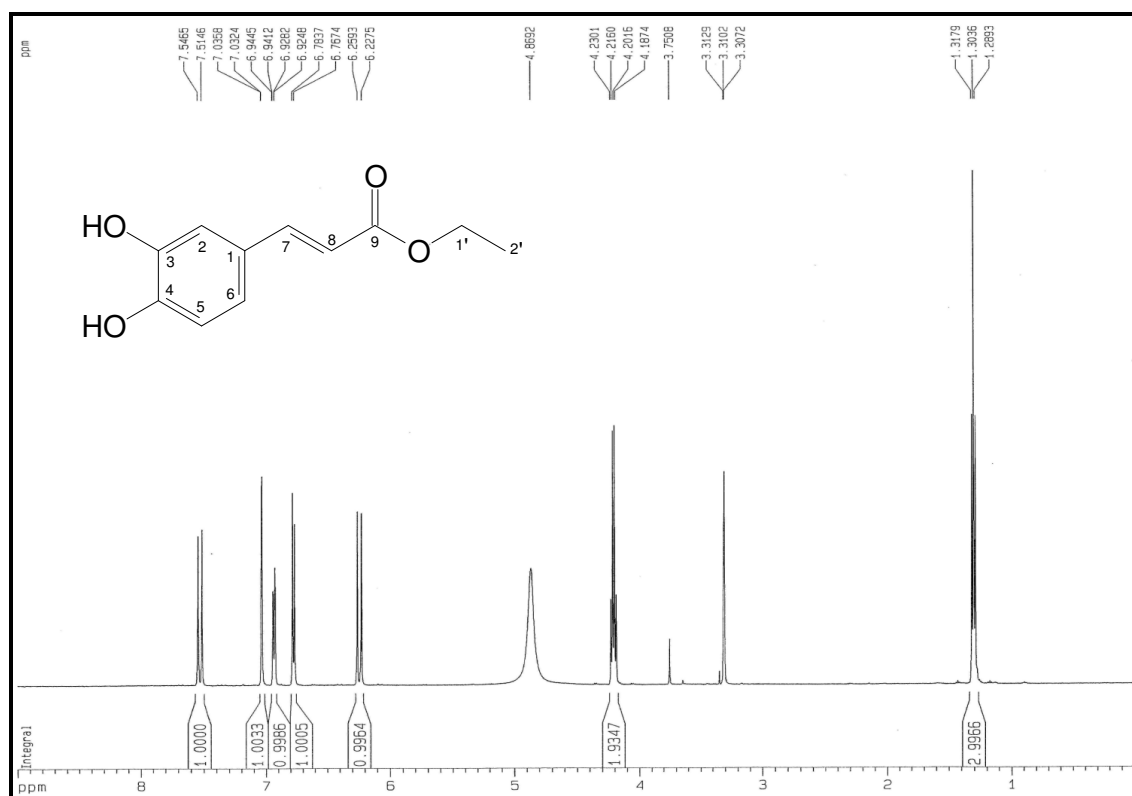
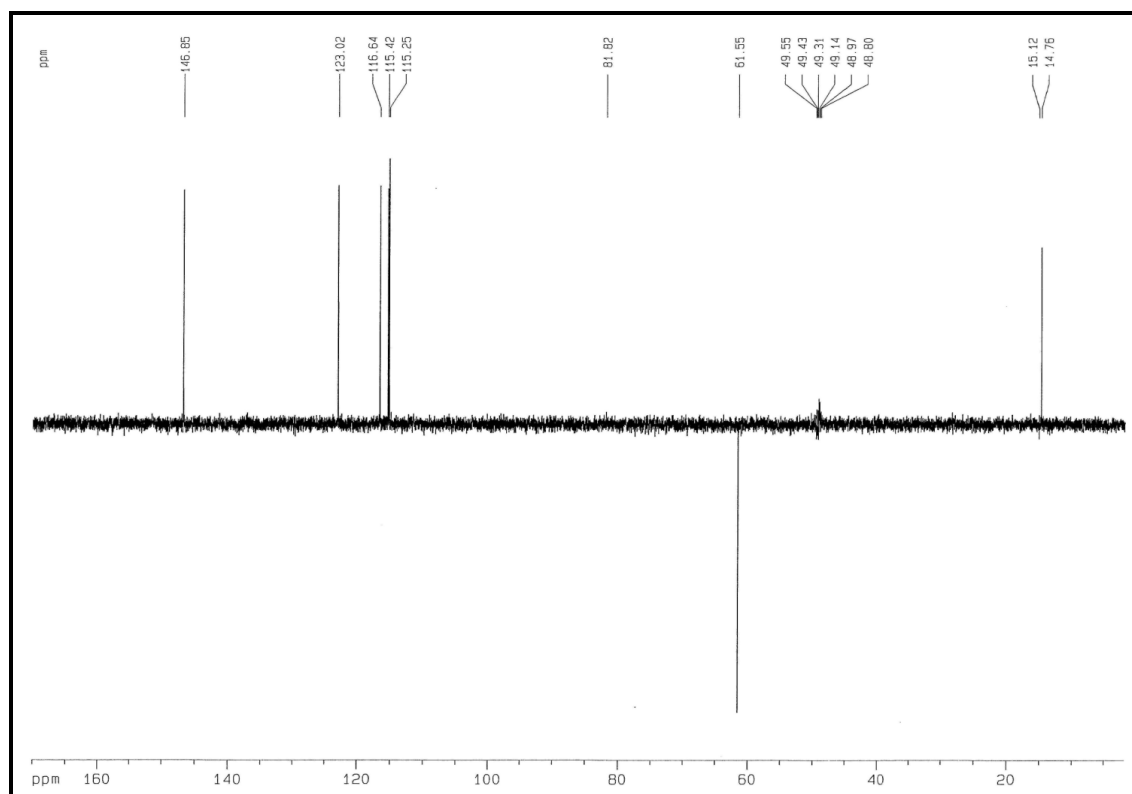


Figura 136- Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de **SC-1**

Figura 137- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (CDCl₃, 125 MHz) de SC-1Figura 138- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (CDCl₃, 125 MHz) de SC-1

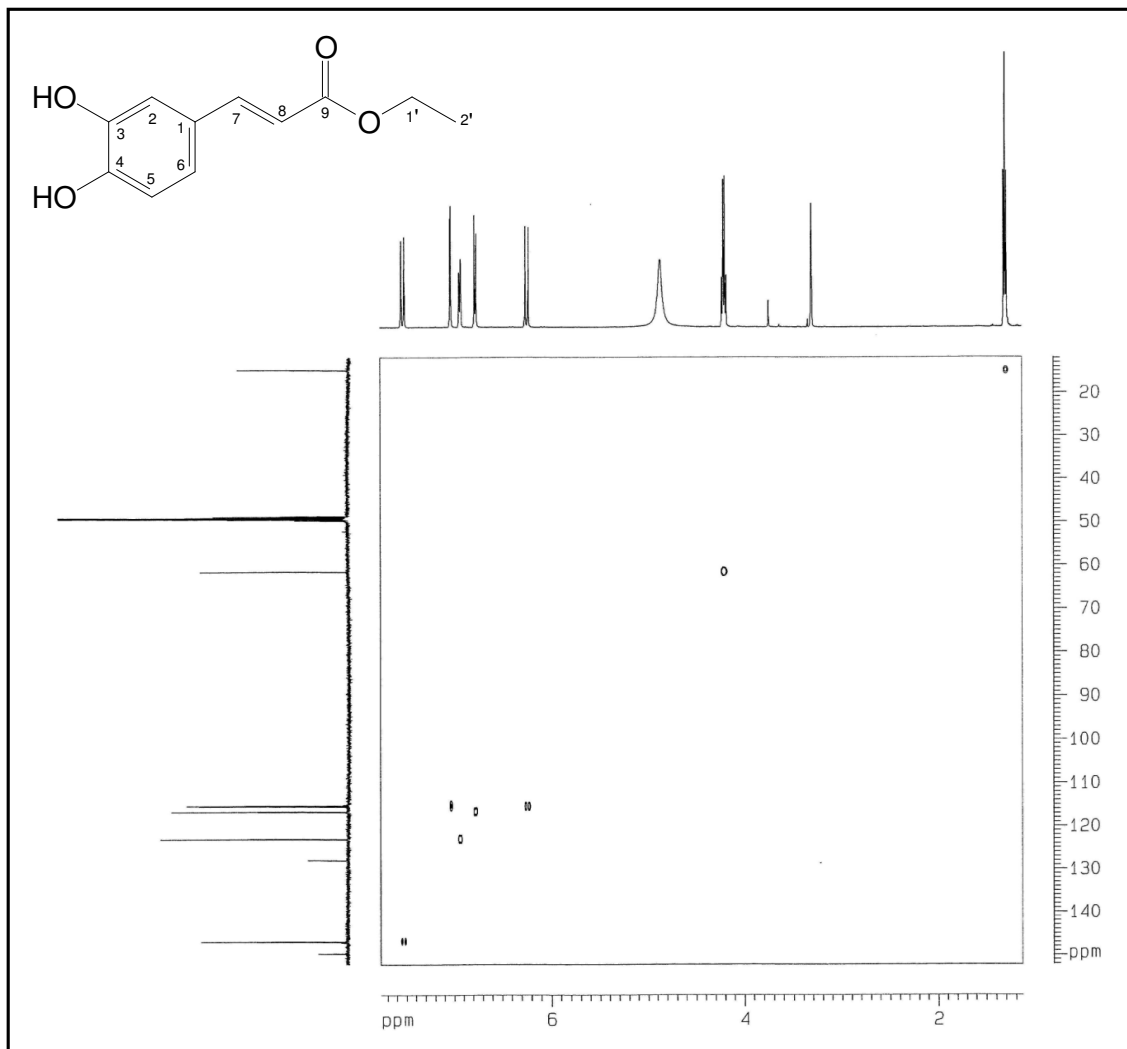


Figura 139- Espectro de RMN-HSQC (CDCl₃, 125 x 500 MHz) de SC-1

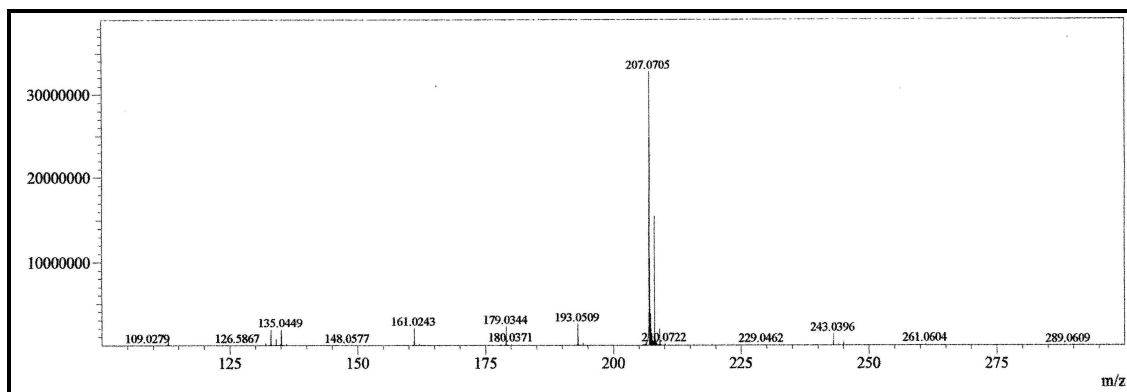


Figura 140- Espectro de massas (IES-EM) de SC-1

4.1.2.3 Determinação estrutural de **SC-3**

A fração EESC-A2.2, após sucessivas cromatografias possibilitou o isolamento de **SC-3** (9,7 mg), (item 5.4.3.1.2, p. 217, Fluxograma 1, p. 220) um sólido amarelo com ponto de fusão na faixa de 183,1 – 184,9 °C.

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, piridina- d_5 , Figura 141, p. 181) de **SC-3** mostrou dupletos em δ_{H} 8,65 ($J = 8,5$ Hz; H-2',6') e 8,43 ($J = 8,5$ Hz; H-3',5') referentes a um anel aromático para-dissubstituído, dois dupletos em δ_{H} 6,74 e 6,76 (d; $J = 2,0$ Hz; H-6 e H- 8), atribuídos aos hidrogênios aromáticos meta-posicionados. Neste espectro foram observados ainda sinais na região de hidrogênios glicosídicos (δ_{H} 5,95-3,95), bem como um sinal em δ_{H} 1,47 com integração para três hidrogênios.

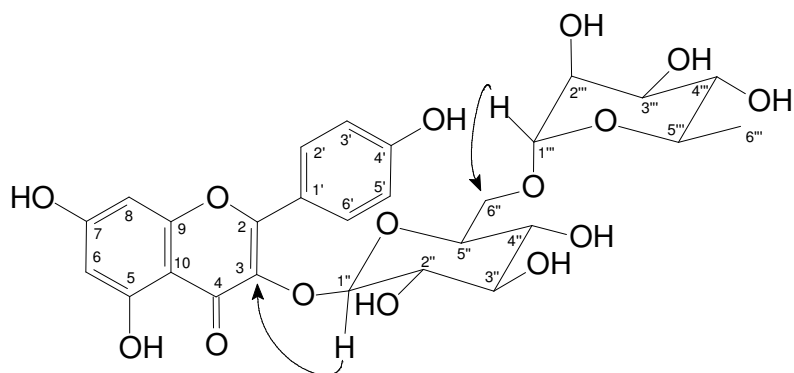
O espectro de RMN de ^{13}C -CPD (125 MHz, piridina- d_5 , Figura 142, p. 181) exibiu vinte e sete linhas espectrais, das quais quinze na região de carbono sp^2 foram compatíveis com um esqueleto flavonoídico, sendo o sinal em δ_{C} 175,3 (C-4) atribuído a carbonila flavonoídica e cinco foram associados a carbonos sp^2 oxigenados: δ_{C} 166,4 (C-7); 163,1 (C-5); 160,1 (C-4'); 159,0 (C-9); 158,2 (C-2) e 135,5 (C-3). No espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (Figura 143, p. 182), foram verificados sinais associados a carbonos sp^2 hidrogenados: δ_{C} 132,3 (C-2',6'); 116,4 (C-3',5'); 100,3 (C-6) e 94,9 (C-8). Da subtração dos espectros de RMN de ^{13}C -CPD e DEPT 135°, resultaram os sinais relativos aos carbonos sp^2 não-hidrogenados: δ_{C} 123,4 (C-1'); 105,3 (C-10). Os demais sinais foram compatíveis a uma unidade de glicose e uma raminose, ligadas ao esqueleto flavonoídico.

O pico referente à molécula desprotonada $[\text{M} - \text{H}]^-$ com m/z 593,1465 exibido no espectro de massas de alta resolução (Figura 144, p. 182) de **SC-3** permitiu propor a fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$, com IDH igual a treze, compatível com um esqueleto flavonoídico tetrassubstituído, incluindo a unidade dissacarídea.

Através do espectro HSQC (Figura 145, p. 183) foi possível associar cada hidrogênio ao seu respectivo carbono e construir a Tabela 28 (p. 180), bem como reforçar a presença de um anel benzênico para-dissubstituído, devido as correlações entre os dupletos em δ_{H} 8,65 (H-2',6')/8,43 (H-3',5') e os carbonos em δ_{C} 132,3 (C-2',6')/116,4 (C-3',5'), justificando a maior intensidade dos seus sinais.

A unidade de glicose foi posicionada no carbono C-3 do esqueleto flavonoídico através da correlação, observado no espectro HMBC (Figura 146, p. 184), entre o hidrogênio em δ_{H} 5,95 (H-1'') e o carbono em δ_{C} 135,5 (C-3), enquanto a posição da raminose foi

corroborada através da correlação do hidrogênio em δ_H 5,21 (H-1''') com o carbono em δ_C 68,4 (C-6'') (estrutua I).



(I)

A reunião dos dados espectrométricos e comparação com dados de RMN de 1H , ^{13}C descritos na literatura (Tabela 28, p. 180) (SLIMESTAD *et al.*, 2008) permitiram identificar **SC-3** como canferol-3-rutinosídeo ou canferol-3(6''- α -raminopiranosil- β -glucopiranosídeo).

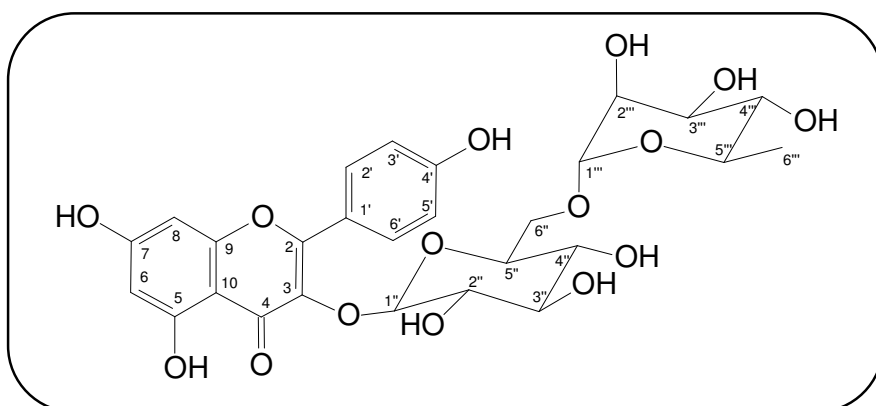


Tabela 28- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (piridina- d_5) de **SC-3** comparados com valores da literatura (SLIMESTAD *et al.*, 2008) usando $\text{DMSO-}d_6$ como solvente

# C	SC-8		HSQC	Literatura	
	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)		δ_{C} (pmm)	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
2	158,2	-		156,9	-
3	135,5	-		133,3	-
4	175,3	-		177,5	-
5	163,1	-		161,3	-
6	100,3	6,74 (<i>d</i> ; 2,0)		98,8	6,19 (<i>d</i> ; 2,1)
7	166,4	-		164,2	-
8	94,9	6,76 (<i>d</i> ; 2,0)		93,8	6,40 (<i>d</i> ; 2,1)
9	159,0	-		156,6	-
10	105,3	-		104,1	-
1'	123,4	-		121,0	-
2'	132,3	8,65 (<i>d</i> , 8,5)		131,0	7,97 (<i>d</i> ; 8,9)
3'	116,4	8,43 (<i>d</i> , 8,5)		115,2	6,87 (<i>d</i> ; 8,9)
4'	160,1	-		160,0	-
5'	116,4	8,43 (<i>d</i> , 8,5)		115,2	6,87 (<i>d</i> ; 8,9)
6'	132,3	8,65 (<i>d</i> , 8,5)		131,0	7,97 (<i>d</i> ; 8,9)
			3-O-glic		
1''	105,1	5,95 (<i>d</i> ; 7,5)		101,4	5,30 (<i>d</i> ; 7,6)
2''	73,4	4,75 (<i>t</i> , 9,0)		74,3	3,20 (<i>m</i>)
3''	75,5	4,21		75,8	3,31 (<i>m</i>)
4''	72,8	4,32		70,0	3,04 (<i>m</i>)
5''	76,0	4,08		76,4	3,21 (<i>m</i>)
6''	62,3	4,42; 3,95		67,0	3,67 (<i>dd</i> ; 1,80; 11,4)
			6''-O-rha		
1'''	102,1	5,21 (<i>s</i>)		101,8	4,36 (<i>d</i> ; 1,8)
2'''	69,9	4,38		70,4	3,37 (<i>m</i>)
3'''	69,9	4,17		70,8	3,33 (<i>m</i>)
4'''	74,1	4,08		71,9	3,07 (<i>t</i> ; 9,4)
5'''	72,4	4,35		68,3	3,25 (<i>m</i>)
6'''	18,8	1,47		17,8	0,97 (<i>d</i> ; 6,3)

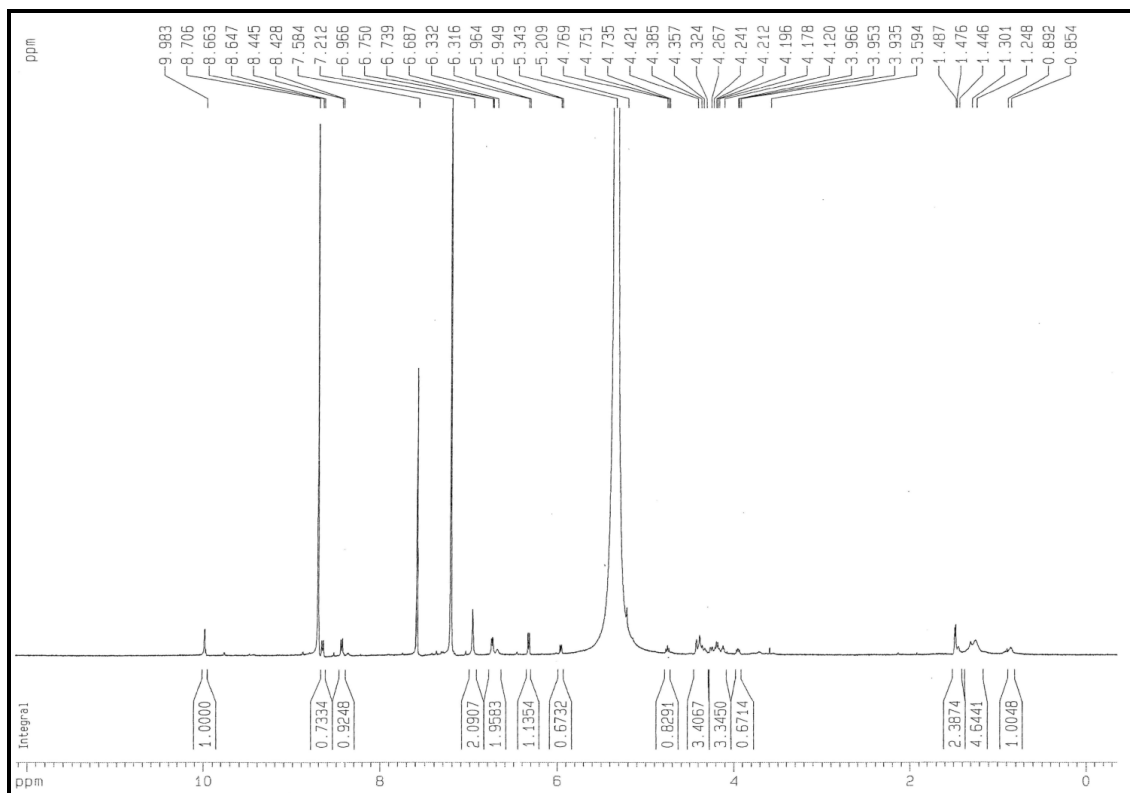


Figura 141- Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-3

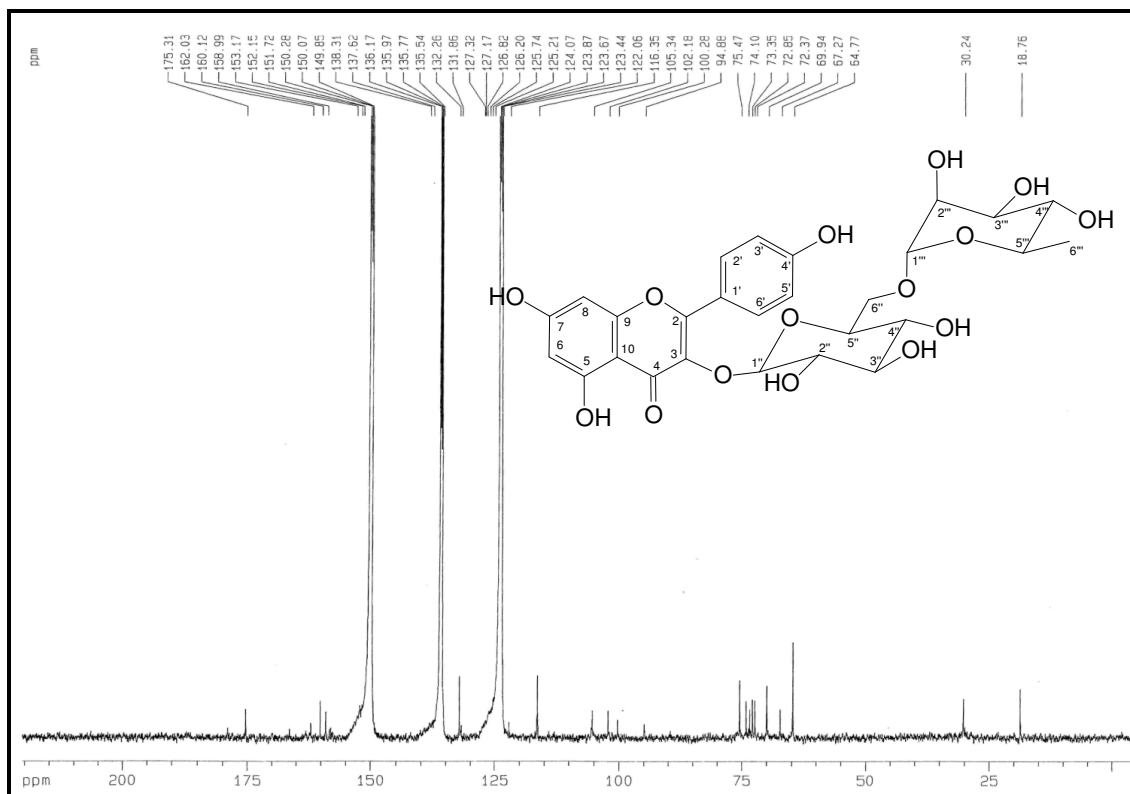


Figura 142- Espectro de RMN de ^{13}C -CPD (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-3

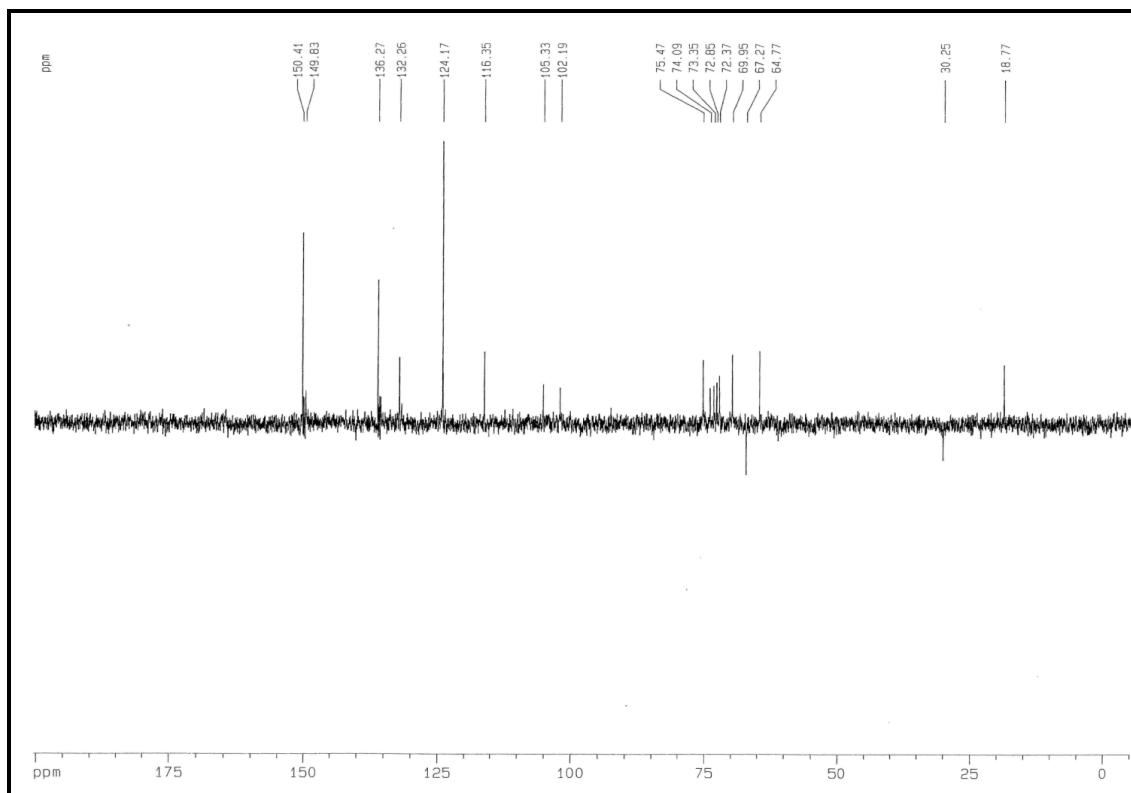


Figura 143- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT (piridina- d_5 , 500 MHz) de SC-3

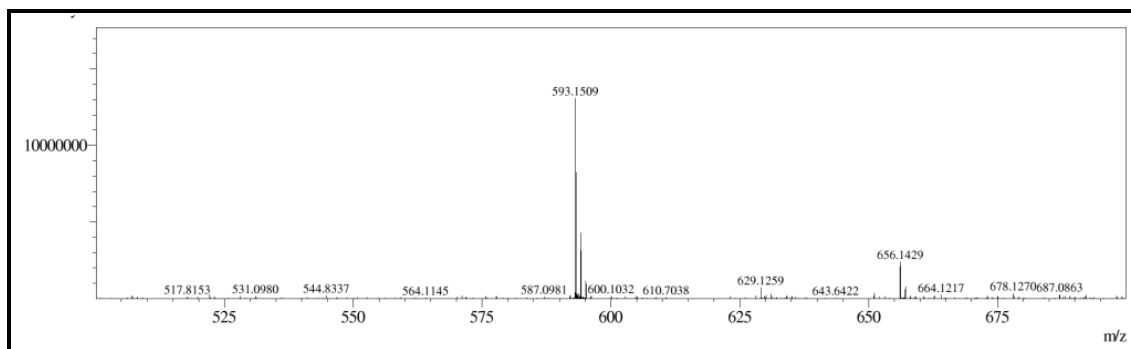


Figura 144- Espectro de massas (IES-EM) de SC-3

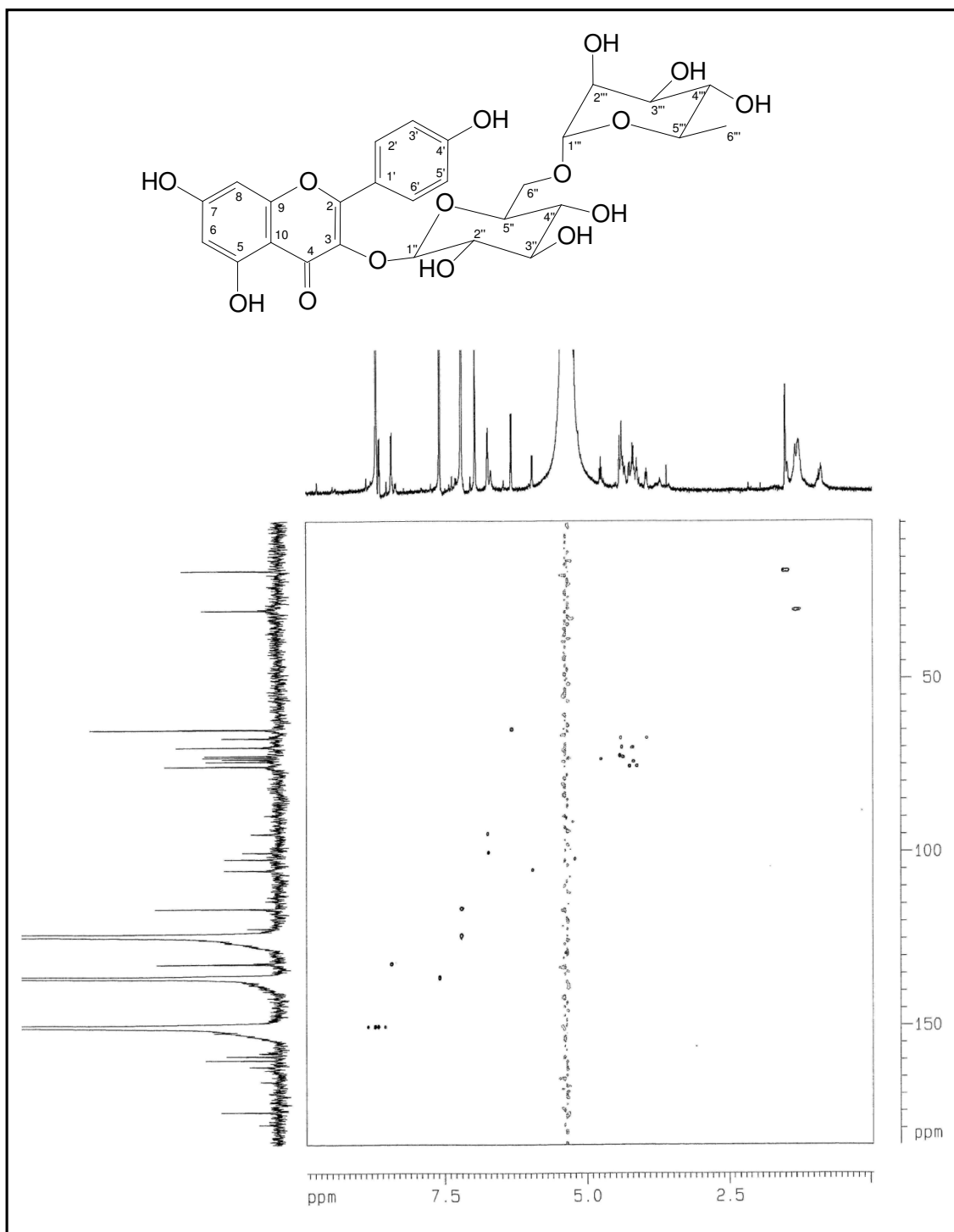


Figura 145- Espectro de RMN-HSQC (piridina-*d*₅, 125 x 500 MHz) de SC-3

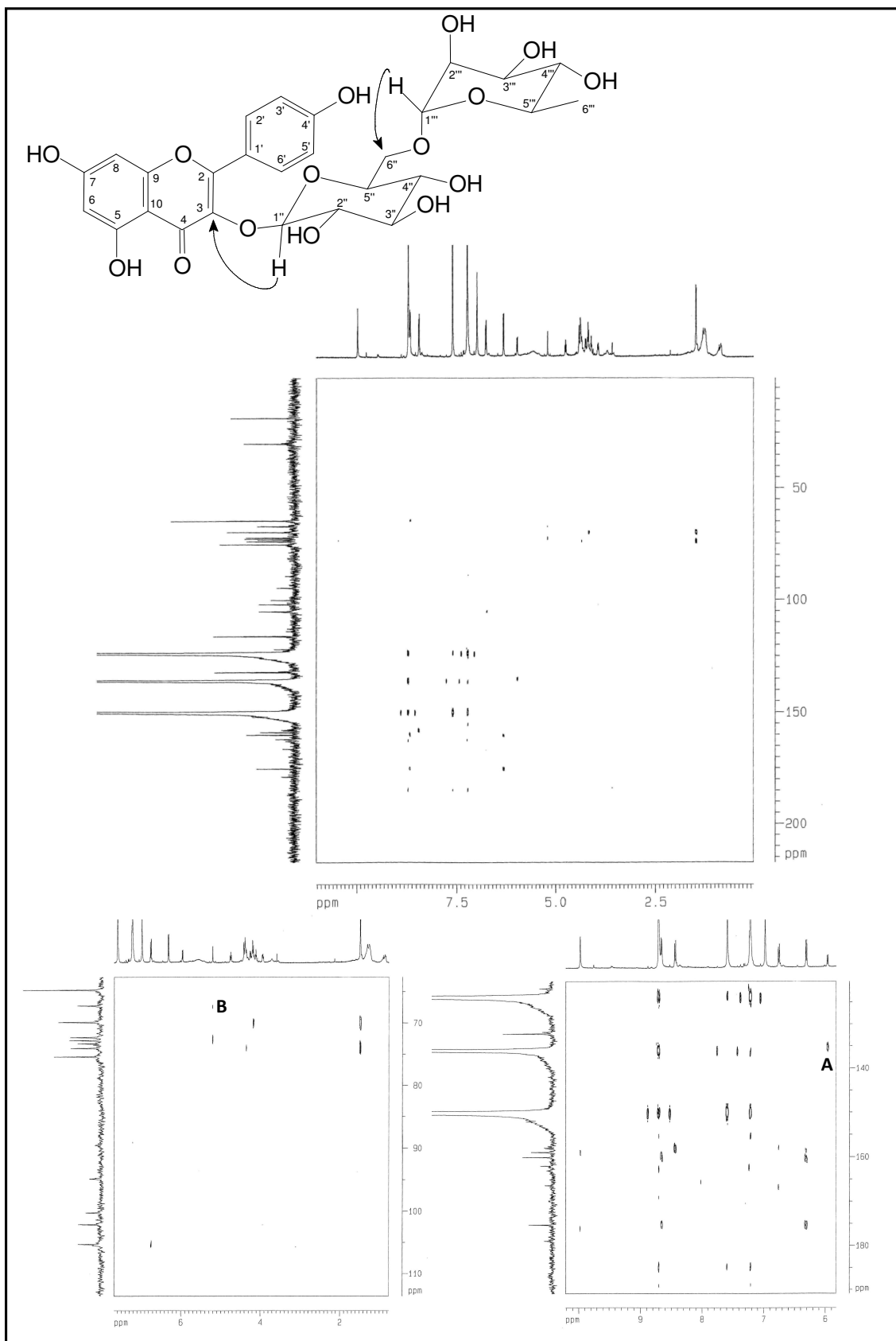


Figura 146- Espectro de RMN-HMBC (piridina-*d*₅, 125 x 500 MHz,) de SC-3

4.1.2.4 Determinação estrutural de **SC-4**

A fração EESC-A2.2, após sucessivas cromatografias, incluindo purificação por Sephadex-LH20 (Item 5.4.3.1.2, p. 217, Fluxograma 1, p. 220) forneceu o composto **SC-4** (200,0 mg), um sólido marrom com ponto de fusão na faixa de 152,1 – 153,1 °C.

O espectro de IV (Figura 147, p. 186) mostrou uma banda em 3422 cm⁻¹, correspondente à deformação axial simétrica da ligação N-H; absorção em 3104 cm⁻¹ de deformação axial da ligação O-H; além das bandas em 1611 a 1496 cm⁻¹, características de deformação axial da ligação C=C de aromáticos (SILVERSTEIN, 2007).

O espectro de RMN de ¹H (500 MHz, MeOD, Figura 148, p. 187) de **SC-4** exibiu dupletos em δ_H 7,09 (*J* = 8,0 Hz; H-2',6') e 6,78 (*J* = 8,0 Hz; H-3',5') compatíveis com um anel aromático para-dissubstituído, além dos sinais em δ_H 3,10 (d; *J* = 7,0 Hz; 2H-7) e 2,87 (t; *J* = 7,0 Hz; 2H-8).

A análise dos espectros de RMN de ¹³C-CPD e DEPT 135 ° (125 MHz, MeOD, Figuras 149 e 150, p. 187 e 188) revelou a presença de seis átomos de carbono, sendo dois não-hidrogenados em δ_C 128,8 (C-1) e 157,7 (C-4), dois carbono metínico em δ_C 131,0 (C-2 e C-6); 116,8 (C-3 e C-5), que pela intensidade dos sinais foram associados a dois átomos de carbono, bem como dois carbonos metilênicos em δ_C 42,4 (C-7); 33,8 (C-8).

Estas informações juntamente com o íon [M + H]⁺ com *m/z* 138,0906 (calculado *m/z* 138,0913; erro = -5,07 ppm), correspondente a fórmula molecular C₈H₁₁NO, exibido no espectro de massas de alta resolução (Figura 151, p. 188) permitiram propor para **SC-4** a estrutura da tiramina.

A concordância entre os deslocamentos químicos de ¹H e ¹³C apresentados por **SC-4** e os descritos na literatura para a tiramina reforçaram a proposta estrutural (DANELUTLE *et al.*, 2005) (Tabela 29, p. 186).

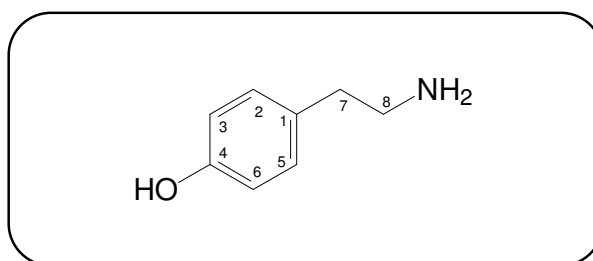


Tabela 29- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (MeOD) de SC-4 comparados com valores da literatura (DANELUTLE *et al.*, 2005) usando MeOD como solvente

SC-4			Literatura	
# C	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)	δ_{C}	δ_{H} (multip, $J_{\text{H,H}}$)
1	128,7	-	128,5	-
2	131,0	7,08 (d; 8,5)	130,8	7,02 (d; 8,5)
3	116,8	6,78 (d; 8,5)	116,7	6,68 (d; 8,5)
4	157,7	-	157,7	-
5	116,8	7,08 (d; 8,5)	116,7	7,02 (d; 8,5)
6	131,0	6,78 (d; 8,5)	130,8	6,68 (d; 8,5)
7	33,8	3,10 (d; 7,0)	33,9	2,90 (t; 6,5)
8	42,4	2,87 (t; 7,0)	42,3	2,70 (t; 6,5)

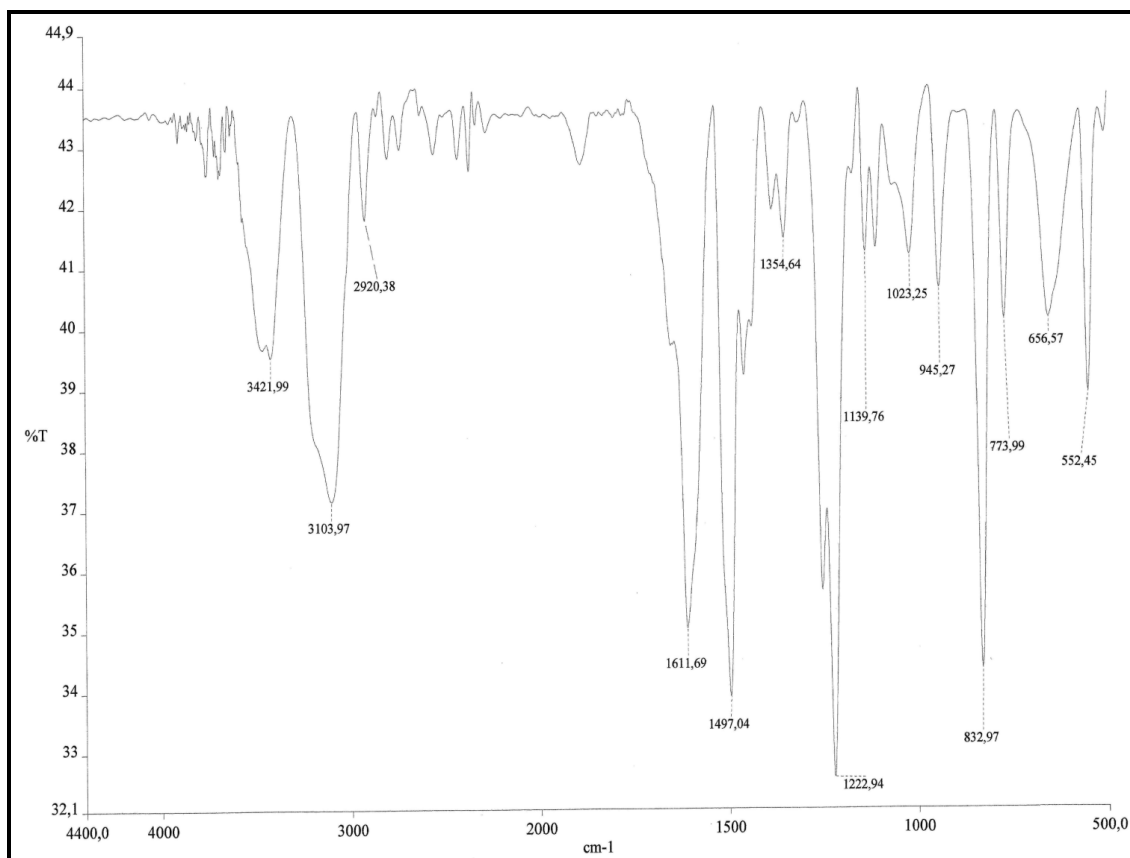
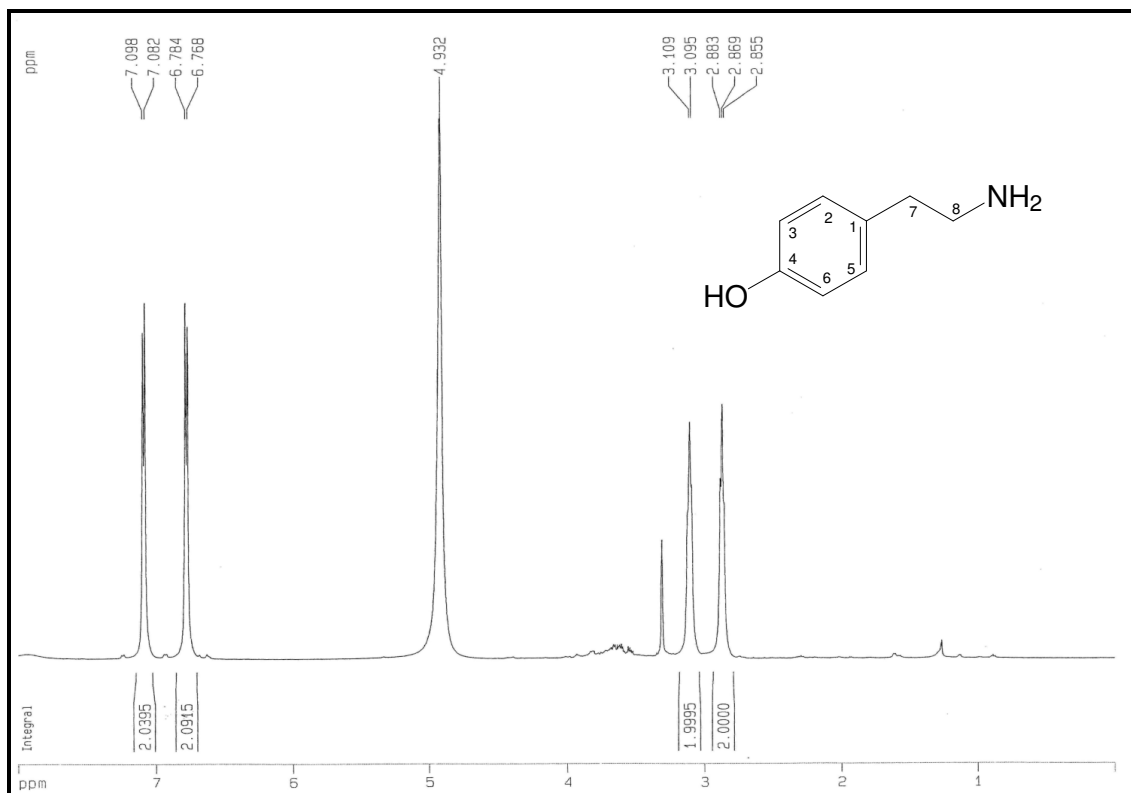
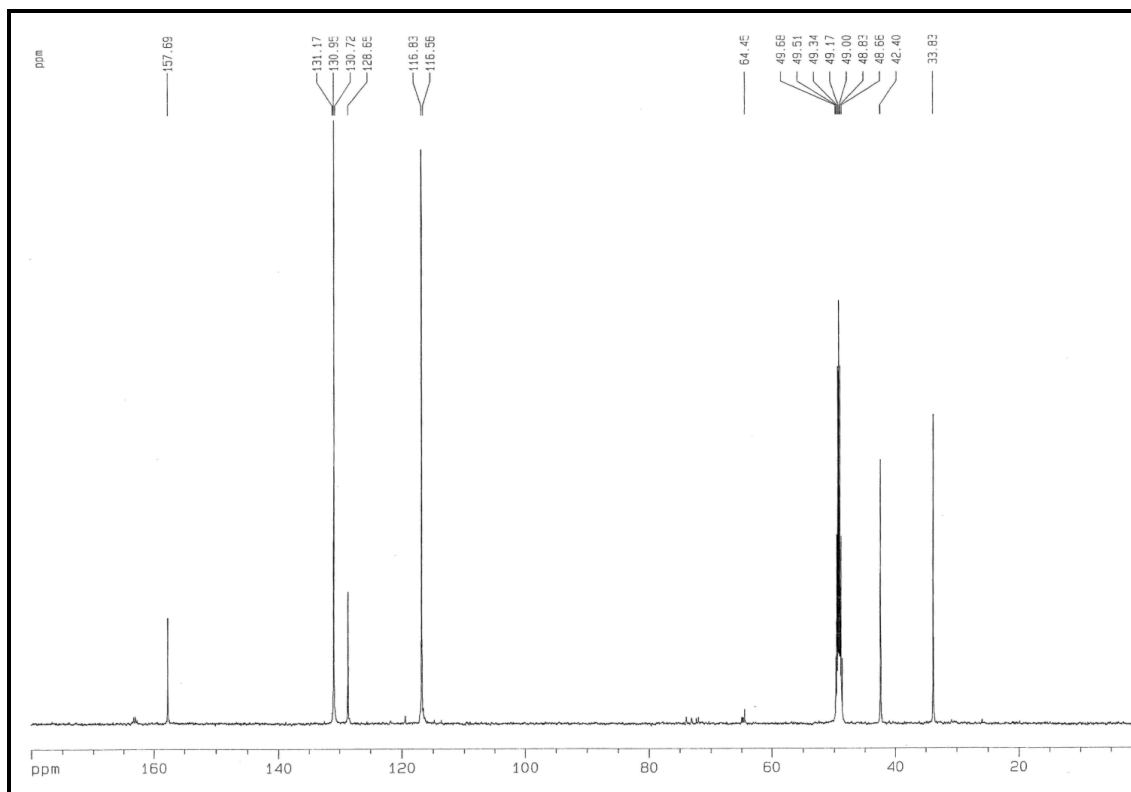


Figura 147- Espectro de absorção na região do IV (KBr) de SC-4

Figura 148- Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 500 MHz) de SC-4Figura 149- Espectro de RMN de ¹³C-CPD (MeOD, 125 MHz) de SC-4

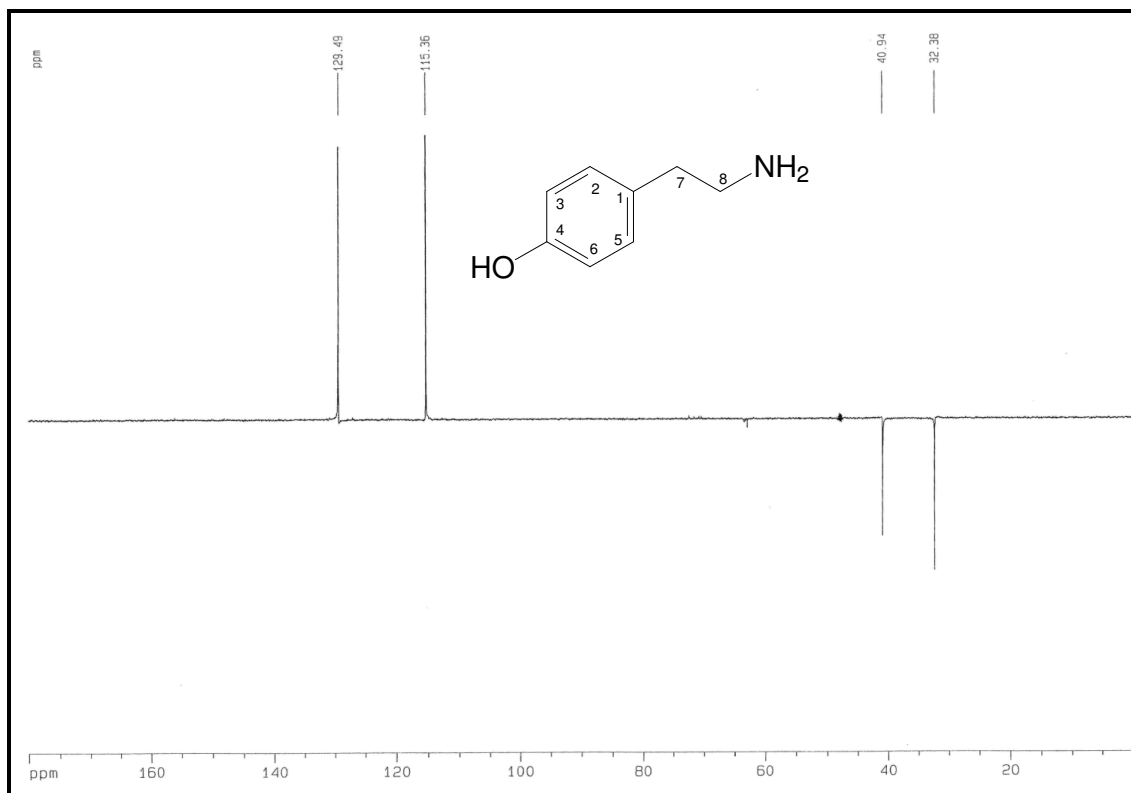


Figura 150- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (MeOD, 125 MHz) de SC-4

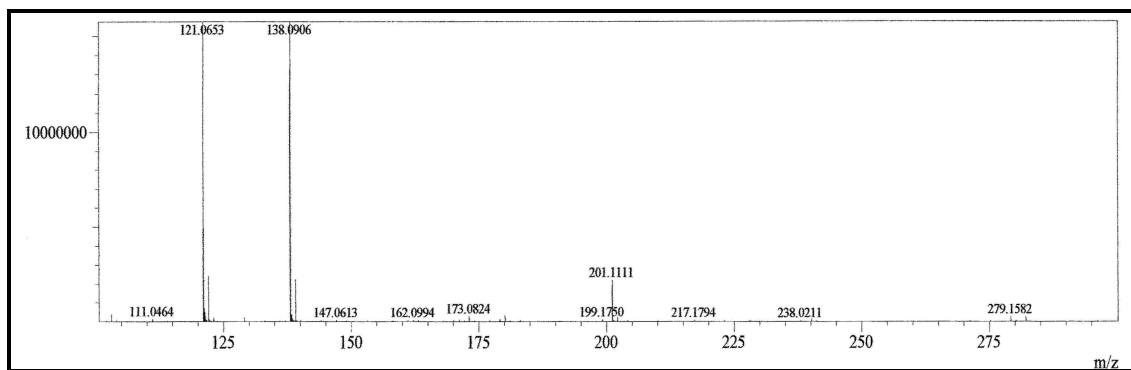


Figura 151- Espectro de massas (IES-EM) de SC-4

4.2 Atividades farmacológicas

Na busca por fontes naturais de moléculas com atividades farmacológicas os alcalóides majoritários isolados das folhas de *S. campaniforme* (**SC-5**) (**SC-6**) e (**SC-7**) foram submetidos a teste de atividade citotóxica no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, sob coordenação da Profa. Dra. Leticia Veras Costa-Lotufo, frente a linhagens de células tumorais humanas: cólon (HCT8), mama (MDA-MB-435), leucemia (HL60) e cérebro (SF295), no entanto, estes compostos mostraram-se inativos.

Estes compostos tiveram também suas atividades antiofídicas investigadas através da inibição das principais alterações locais (miotóxicas, hemorrágicas e necrosantes) induzidas pelo envenenamento com *Bothrops pauloensis* em camundongos, no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, sob orientação da Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro. A atividade anti-miotoxica dos compostos **SC-5** a **SC-7** (representados na Figura como **1-3**), testadas contra o veneno total de *B. pauloensis* induzido em camundongos, é mostrada na Figura 152 (p. 190), e como pode ser observado quando o veneno foi administrado sozinho, a atividade de creatina quinase (**CK**) plasmática aumentou após 2, 4 e 8 horas, retornando aos níveis normais após 24 e 48 horas de administração intramuscular. Quando o veneno foi pré-incubado com cada composto, a atividade plasmática de creatina quinase permaneceu em níveis normais, indincando assim um bloqueio dos efeitos miotóxicos do veneno de *B. pauloensis*.

Os efeitos anti-hemorrágico e anti-necrosante dos compostos **SC-5** a **SC-7** (representados na figura como **1-3**) são mostrados nas Figuras 153 e 154 (p. 190), respectivamente. A extensão da área hemorrágica do veneno (Figura 154a) foi reduzida com os três alcalóides, e a intensidade da hemorragia (Figura 154b) diminuiu quando o veneno foi pré-incubado com **SC-5** (**1**) e **SC-6** (**2**). A lesão cutânea necrótica foi significativamente inibida com a presença de **SC-5** (**1**) e **SC-6** (**2**), conforme mostrada na Figura 154.

Os resultados obtidos mostram que produtos naturais isolados de plantas, podem ser uma boa alternativa na busca de novos fármacos para melhorar o tratamento do envenenamento e minimizar as seqüelas das vítimas.

O efeito da tiramina (**SC-4**) sobre o metabolismo de animais com dislipidemia e obesidade foi avaliado, no Laboratório de Pesquisa Bioquímica Clínica, da Universidade Federal do Ceará, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz e apresentou efeito terapêutico relacionado à redução dos níveis de colesterol.

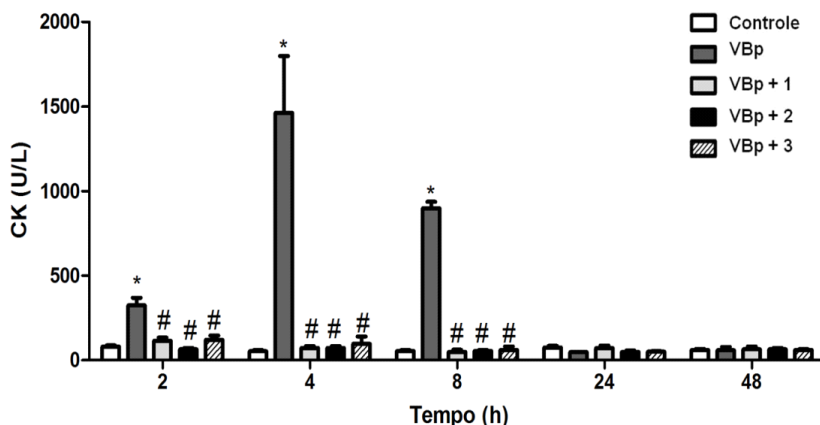


Figura 152- Inibição da atividade miotóxica do vBp pelos compostos SC-5 a SC-7 (1-3). Atividade da creatina quinase (CK) plasmática é mostrada em unidades por litro (U/L). Resultados expressos como média \pm S.E.M. com nível de significância de $p < 0,05$. *Significância em relação ao grupo controle, # significância em comparação com o grupo VBp (controle positivo). A análise foi realizada por ANOVA, com pós-teste de Dunnett com nível de significância de $* p < 0,05$.

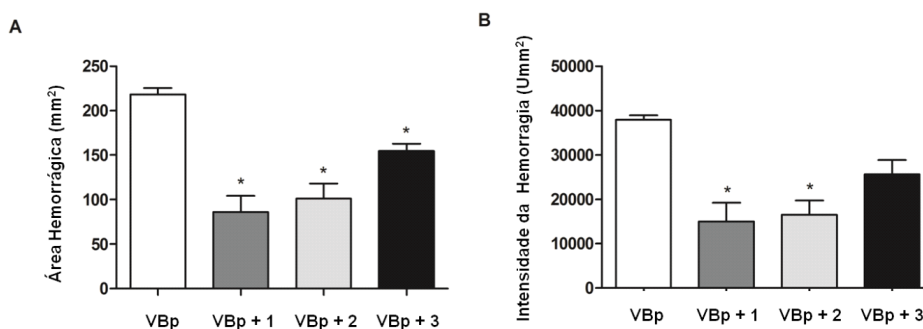


Figura 153- Atividade anti-hemorrágica dos compostos SC-5 a SC-7 (1-3) contra o vBp. **A:** Área Hemorrágica calculado em mm², e **B:** Intensidade da Hemorragia em units/mm². Resultados expressos como média \pm S.E.M. A análise foi realizada por ANOVA, com pós-teste de Dunnett com nível de significância de $* p < 0,05$.

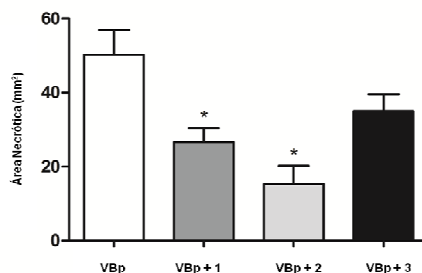


Figura 154- Atividade antinecrosante dos compostos SC-5 a SC-7 (1-3) contra o vBp. Área da pele necrótica mostrada em mm². Resultados expressos como média \pm S.E.M. A análise foi realizada por ANOVA, com pós-teste de Dunnett com nível de significância de $* p < 0,05$.

4.3 Estudo de fragmentação dos alcalóides esteroidais isolados de *S. campaniforme* por IES-EM/EM

Conforme já descrito, neste trabalho foram isolados quinze alcalóides esteroidais, dos quais quatro possuem núcleo do tipo espirosolano (**SC-8** a **SC-10** e **SC-13**), enquanto os demais (**SC-5** a **SC-7**, **SC-11**, **SC-14** a **SC-19**) são de núcleo do tipo solanidano (Figura 155).

A ionização destes alcalóides foi investigada utilizando as fontes de ionização por *electrospray* (IES) e ionização química a pressão atmosférica (APCI), operando no modo positivo e negativo. No modo positivo, ambas as técnicas de ionização geraram praticamente o mesmo espectro, apresentando os picos correspondentes a molécula protonada $[M + H]^+$. Estes resultados estão em acordo com estudos prévios utilizando IES-EM- para a análise de alcalóides esteroidais (CAHILL *et al.*, 2010). Por esta razão, estes íons foram os escolhidos para serem usados nas análises de espectrometria de massas seqüencial (EM^n). A dissociação induzida por colisão (CID) dos íons $[M + H]^+$ foi estudada através da obtenção dos espectros EM^2 e EM^3 .

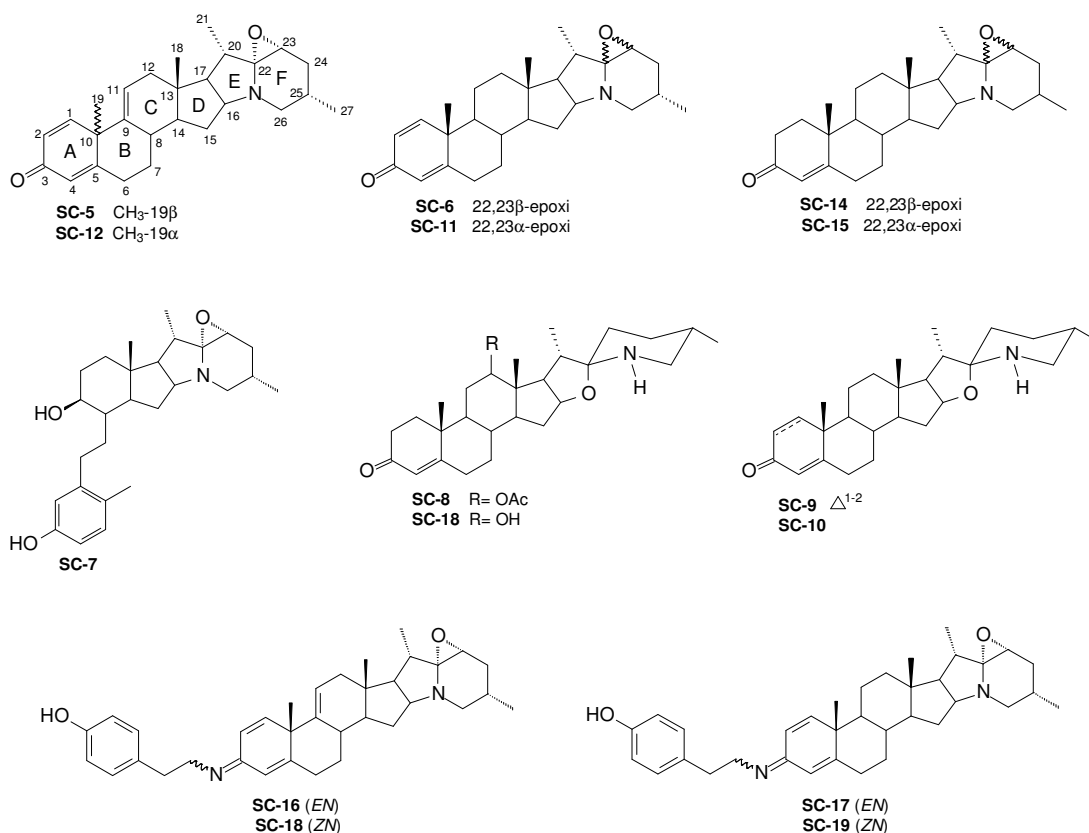


Figura 155- Estruturas dos alcalóides esteroidais isolados de *S. campaniforme*

A título de informação adicional, com relação aos íons moleculares e fragmentação, os espectros IE-EM (70 eV) foram também obtidos para os referidos compostos, embora os mecanismos envolvidos na fragmentação IE-EM desses compostos não sejam o foco deste trabalho. O espectro IES-EM/EM do composto **SC-5** (Figura 156a, p. 192) mostrou, conforme esperado, que os principais íons produtos [m/z 391 ($C_{26}H_{33}NO_2$) e 265 ($C_{19}H_{21}O$)] são observados no correspondente espectro APCI-EM/EM- (Figura 156b, 192), os quais também foram observados no espectro IE-EM. Isto demonstrou que ambas as técnicas (IES e APCI) apresentam-se como uma ferramenta útil para estudos de fragmentações de alcalóides esteroidais, no entanto, o estudo de fragmentação apresentado neste trabalho foi realizado apenas por IES.

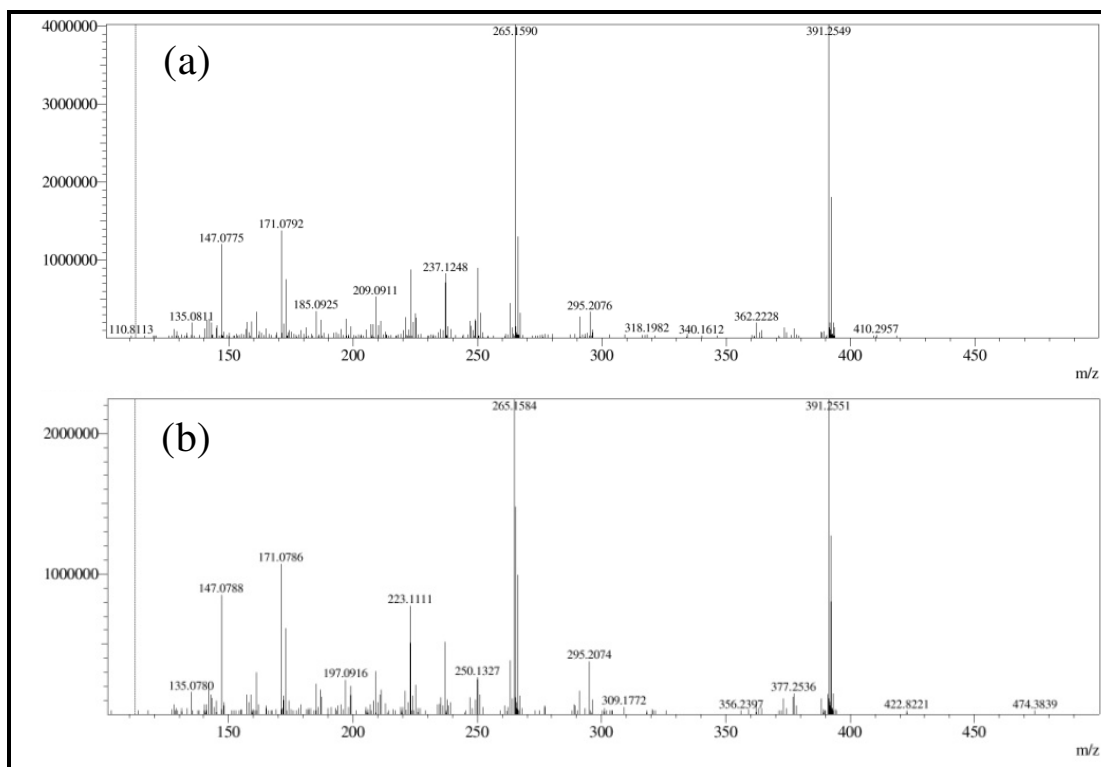


Figura 156- Espectros EM/EM de **SC-5** obtidos por IES (a) e APCI (b). (Ion precursor m/z 406)

O estudo de fragmentação de **SC-5** a **SC-19** foi realizado em um espectrometro de massas de alta resolução onde a energia de colisão relativa pode atingir até 400%. Neste estudo a energia de colisão relativa foi investida de 50 em 50% num intervalo de 50 a 250% em ambos os experimentos, EM² e EM³. Observou-se que quando a energia de colisão foi elevada de 50 para 100% houve um aumento na intensidade dos íons produtos obtidos, no entanto, a partir de 100% o padrão de fragmentação e intensidade dos íons mantiveram-se constantes. Desta forma, a energia de colisão relativa de 100% foi selecionada para a

realização do estudo de fragmentação. A precisão dos dados de massas obtidos dos experimentos EM, EM² e EM³ dos compostos protonados, são mostrados na Tabela 30, (p. 194), e como pode ser observado todos os íons [M + H]⁺ apresentaram erro >10 ppm.

Como pode ser observado na Tabela 30 (p. 194) para todos os alcalóides solanidano observou-se, além do íon correspondente a molécula protonada, o íon correspondente a adição de uma molécula de H₂O formando um complexo [M + H₂O + H]⁺, o qual foi representado através da abertura do anel epóxido. Vale ressaltar que estes íons não foram observados nos alcalóides do tipo espirosolano, provavelmente devido à ausência do anel epóxido.

Tabela 30- Principais íons observados nos espectros EM e EMⁿ (energia de colisão relativa 100%) para os alcalóides esteroidais **SC-5** a **SC-19**

<i>m/z</i> observado	<i>m/z</i> calculado	erro (ppm)	fórmula do íon	íon gerado
SC-5				
406,2741	406,2741	0,00	C ₂₇ H ₃₆ NO ₂	[M + H] ⁺
424,2797	424,2846	-11,55*	C ₂₇ H ₃₈ NO ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
391,2536	391,2506	+ 7,67	C ₂₆ H ₃₃ NO ₂	[M + H - •CH ₃] ⁺
265,1589	265,1587	+ 0,75	C ₁₉ H ₂₁ O	[M + H - C ₈ H ₁₅ NO] ⁺
250,1349	250,1352	- 1,20	C ₁₈ H ₁₈ O	[M + H - C ₉ H ₁₈ NO] ⁺
237,1269	237,1274	- 2,11	C ₁₇ H ₁₇ O	[M + H - C ₁₀ H ₁₉ NO] ⁺
223,1116	223,1117	- 0,45	C ₁₆ H ₁₅ O	[M + H - C ₁₁ H ₂₁ NO] ⁺
185,0960	185,0961	- 0,54	C ₁₃ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₄ H ₂₃ NO] ⁺
171,0790	171,0804	- 8,81	C ₁₂ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₅ NO] ⁺
147,0797	147,0804	- 4,76	C ₁₀ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₇ H ₂₅ NO] ⁺
SC-6				
408,2897	408,2897	0,00	C ₂₇ H ₃₈ NO ₂	[M + H] ⁺
426,2949	426,3003	-12,67*	C ₂₇ H ₄₀ NO ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
267,1742	267,1743	- 0,37	C ₁₉ H ₂₃ O	[M + H - C ₈ H ₁₅ NO] ⁺
239,1419	239,1430	- 4,60	C ₁₇ H ₁₉ O	[M + H - C ₁₀ H ₁₉ NO] ⁺
225,1275	225,1274	+ 0,44	C ₁₆ H ₁₇ O	[M + H - C ₁₁ H ₂₁ NO] ⁺
185,0954	185,0961	- 3,78	C ₁₃ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₄ H ₂₅ NO] ⁺
171,0801	171,0804	- 1,75	C ₁₂ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₇ NO] ⁺
147,0807	147,0804	+ 2,04	C ₁₀ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₇ H ₂₇ NO] ⁺
SC-11				
408,2898	408,2897	+ 0,24	C ₂₇ H ₃₈ NO ₂	[M + H] ⁺
426,2962	426,3003	- 9,62	C ₂₇ H ₄₀ NO ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
267,1747	267,1743	+ 1,50	C ₁₉ H ₂₃ O	[M + H - C ₈ H ₁₅ NO] ⁺
239,1432	239,1430	+ 0,84	C ₁₇ H ₁₉ O	[M + H - C ₁₀ H ₁₉ NO] ⁺
185,0956	185,0961	- 2,70	C ₁₃ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₄ H ₂₅ NO] ⁺
171,0792	171,0804	- 7,01	C ₁₂ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₇ NO] ⁺
147,0784	147,0804	- 2,04	C ₁₀ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₇ H ₂₇ NO] ⁺
SC-12				
406,2757	406,2741	+ 3,94	C ₂₇ H ₃₆ NO ₂	[M + H] ⁺
424,2816	424,2846	- 7,07	C ₂₇ H ₃₈ NO ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
265,1594	265,1587	+ 2,64	C ₁₉ H ₂₁ O	[M + H - C ₈ H ₁₅ NO] ⁺
237,1268	237,1274	- 2,54	C ₁₇ H ₁₇ O	[M + H - C ₁₀ H ₁₉ NO] ⁺
223,1110	223,1117	- 3,14	C ₁₆ H ₁₅ O	[M + H - C ₁₁ H ₂₁ NO] ⁺
185,0955	185,0961	- 3,24	C ₁₃ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₄ H ₂₃ NO] ⁺
171,0791	171,0804	- 7,60	C ₁₂ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₅ NO] ⁺
147,0796	147,0804	- 5,44	C ₁₀ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₇ H ₂₅ NO] ⁺
SC-14				
410,3057	410,3054	+ 0,73	C ₂₇ H ₄₀ NO ₂	[M + H] ⁺
428,3117	428,3159	- 9,81	C ₂₇ H ₄₂ NO ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
269,1907	269,1900	+ 2,60	C ₁₉ H ₂₅ O	[M + H - C ₈ H ₁₅ NO] ⁺
173,0973	173,0961	+ 6,93	C ₁₂ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₇ NO] ⁺
SC-15				
410,3059	410,3054	+ 1,22	C ₂₇ H ₄₀ NO ₂	[M + H] ⁺
428,3127	428,3159	- 7,47	C ₂₇ H ₄₂ NO ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
269,1910	269,1900	+ 3,71	C ₁₉ H ₂₅ O	[M + H - C ₈ H ₁₅ NO] ⁺
173,0965	173,0961	+ 2,31	C ₁₂ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₇ NO] ⁺
SC-16				
525,3487	525,3476	+ 2,09	C ₃₅ H ₄₅ N ₂ O ₂	[M + H] ⁺
543,3610	543,3581	+ 5,84	C ₃₅ H ₄₇ N ₂ O ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺

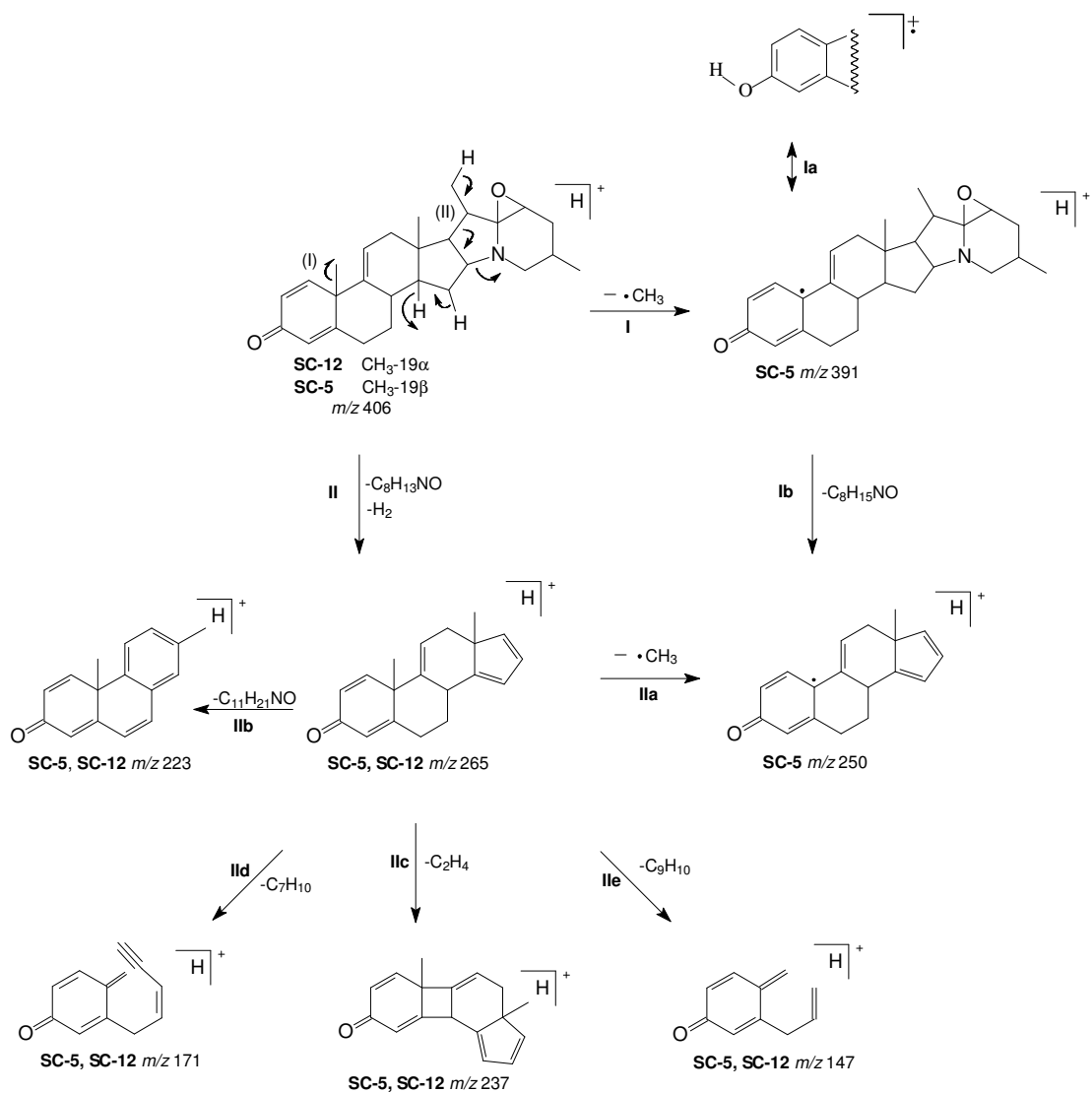
507,3362	507,3370	+ 1,58	C ₃₅ H ₄₃ N ₂ O	[M + H - H ₂ O] ⁺
423,3011	423,3006	+ 1,18	C ₂₇ H ₃₉ N ₂ O ₂	[M + H ₂ O + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
405,2928	405,2900	+ 6,91	C ₂₇ H ₃₇ N ₂ O	[M + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
403,2781	403,2744	+ 9,17	C ₂₇ H ₃₅ N ₂ O	[M + H - C ₈ H ₁₀ O] ⁺
266,1586	266,1539	+ 17,66*	C ₁₈ H ₂₀ NO	[M + H - C ₁₇ H ₂₅ NO] ⁺
SC-17				
527,3673	527,3632	+ 7,77	C ₃₅ H ₄₇ N ₂ O ₂	[M + H] ⁺
545,3737	5435,3738	- 0,18	C ₃₅ H ₄₉ N ₂ O ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
509,3545	509,3526	+ 3,73	C ₃₅ H ₄₅ N ₂ O	[M + H - H ₂ O] ⁺
425,3145	425,3163	- 4,23	C ₂₇ H ₄₁ N ₂ O ₂	[M + H ₂ O + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
407,3052	407,3057	- 1,23	C ₂₇ H ₃₉ N ₂ O	[M + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
240,1392	240,1383	+ 3,37	C ₁₆ H ₁₈ NO	[M + H - C ₁₉ H ₂₉ NO] ⁺
SC-18				
525,3505	525,3476	+ 5,52	C ₃₅ H ₄₅ N ₂ O ₂	[M + H] ⁺
543,3601	543,3581	+ 3,68	C ₃₅ H ₄₇ N ₂ O ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
507,3401	507,3370	+ 6,11	C ₃₅ H ₄₃ N ₂ O	[M + H - H ₂ O] ⁺
423,3003	423,3006	- 0,71	C ₂₇ H ₃₉ N ₂ O ₂	[M + H ₂ O + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
405,2912	405,2900	+ 2,96	C ₂₇ H ₃₇ N ₂ O	[M + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
403,2740	403,2744	- 0,99	C ₂₇ H ₃₅ N ₂ O	[M + H - C ₈ H ₁₀ O] ⁺
266,1586	266,1539	+ 17,66*	C ₁₈ H ₂₀ NO	[M + H - C ₁₇ H ₂₅ NO] ⁺
SC-19				
527,3678	527,3632	+ 8,72	C ₃₅ H ₄₇ N ₂ O ₂	[M + H] ⁺
545,3742	5435,3738	+ 0,73	C ₃₅ H ₄₉ N ₂ O ₃	[M + H ₂ O + H] ⁺
509,3532	509,3526	+ 1,18	C ₃₅ H ₄₅ N ₂ O	[M + H - H ₂ O] ⁺
425,3177	425,3163	+ 3,29	C ₂₇ H ₄₁ N ₂ O ₂	[M + H ₂ O + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
407,3052	407,3057	- 1,23	C ₂₇ H ₃₉ N ₂ O	[M + H - C ₈ H ₈ O] ⁺
240,1395	240,1383	+ 2,08	C ₁₆ H ₁₈ NO	[M + H - C ₁₉ H ₂₉ NO] ⁺
SC-7				
426,3014	426,3003	+ 2,58	C ₂₇ H ₄₀ NO ₃	[M + H] ⁺
444,3062	444,3138	- 10,35*	C ₂₇ H ₄₂ NO ₄	[M + H ₂ O + H] ⁺
267,1739	267,1743	- 1,50	C ₁₉ H ₂₃ O	[M + H - C ₈ H ₁₇ NO] ⁺
157,0633	157,0648	- 9,55	C ₁₁ H ₉ O	[M + H - C ₁₆ H ₃₁ O] ⁺
SC-8				
470,3271	470,3265	+ 1,28	C ₂₉ H ₄₄ NO ₄	[M + H] ⁺
410,3073	410,3054	+ 4,63	C ₂₇ H ₄₀ NO ₂	[M + H - CH ₃ CO ₂ H] ⁺
392,2956	392,2948	+ 2,04	C ₂₇ H ₃₈ NO	[M + H - CH ₃ CO ₂ H - H ₂ O] ⁺
267,1739	267,1743	- 1,50	C ₁₉ H ₂₃ O	[M + H - C ₉ H ₂₁ NO ₃] ⁺
SC-9				
410,3076	410,3054	+ 5,36	C ₂₇ H ₄₀ NO ₂	[M + H] ⁺
392,2966	392,2948	+ 4,59	C ₂₇ H ₃₈ NO	[M + H - H ₂ O] ⁺
267,1758	267,1743	+ 8,61	C ₁₉ H ₂₃ O	[M + H - C ₈ H ₁₇ NO] ⁺
171,0819	171,0804	+ 8,77	C ₁₂ H ₁₁ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₉ NO] ⁺
SC-10				
412,3216	412,3210	+ 1,46	C ₂₇ H ₄₂ NO ₂	[M + H] ⁺
394,3137	394,3104	+ 8,87	C ₂₇ H ₄₀ NO	[M + H - H ₂ O] ⁺
269,1892	269,1900	+ 2,97	C ₁₉ H ₂₅ O	[M + H - C ₈ H ₁₇ NO] ⁺
173,0970	173,0961	- 5,20	C ₁₂ H ₁₃ O	[M + H - C ₁₅ H ₂₉ NO] ⁺
SC-13				
428,3156	428,3159	- 0,70	C ₂₉ H ₄₂ NO ₃	[M + H] ⁺
410,3085	410,3055	+ 7,56	C ₂₇ H ₄₀ NO ₂	[M + H - H ₂ O] ⁺
392,2985	392,2948	+ 9,43	C ₂₇ H ₃₈ NO	[M + H - 2H ₂ O] ⁺
267,1739	267,1743	- 1,50	C ₁₉ H ₂₃ O	[M + H - C ₈ H ₁₉ NO ₂] ⁺

* Erro > 10 ppm para o complexo [M + H₂O + H]⁺

A comparação dos íons produtos gerados no espectro EM/EM de **SC-5** (Figura 157a, p. 198) com aqueles de **SC-12** (Figura 157b, p. 198) revelou que a maioria dos íons são iguais (m/z 265, 237, 223, 171 e 147), exceto pela presença do íon m/z 391, o qual não foi observado para **SC-12**. Tal íon, formado via eliminação do radical metila ($\cdot\text{CH}_3$) através da clivagem homolítica da ligação alílica C-10/C-19 (Esquema 5, (etapa I), p. 197), indicou que a orientação da CH_3 -19 exerce influência no processo de fragmentação desses compostos. Em geral, a maioria dos íons gerados por CID apresentam um número par de elétrons, entretanto, espécies radiculares podem ocorrer, gerando íons com número ímpar de elétrons (HOFFMANN & STROOBANT 2007; CHENG *et al.*, 2011). Neste contexto, foi observado para **SC-5** a perda de $\cdot\text{CH}_3$ gerando um íon com número ímpar de elétrons (**SC-5**: m/z 391, Esquema 5, (etapa I)). A formação deste íon foi favorecida, uma vez que o elétron desemparelhado remanescente é estabilizado por ressonância, produzindo uma espécie estável (etapa Ia).

Como pode ser observado no Esquema 5 (p. 197), a formação do íon produto m/z 265 ocorreu via eliminação de $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}$ e concomitante eliminação de H_2 (etapa II). Este íon quando perdeu um $\cdot\text{CH}_3$ forneceu o íon m/z 250 (etapa IIa) e através da fragmentação do anel **D** e concomitante eliminação de H_2 (etapa IIb) gerou o íon m/z 223. A formação do íon m/z 237 envolveu a migração 1,5 de hidrogênio de C-12 para C-6 com concomitante eliminação de C_2H_4 (etapa IIc), enquanto os íons produtos m/z 171 e 147 foram formados pela perda de C_7H_{10} (etapa IId) e C_9H_{10} (etapa IId), respectivamente.

O espectro EM^3 (Figura 157c, p. 198) do íon precursor m/z 265 forneceu os mesmos íons produtos (m/z 250, 237, 223, 171 e 147) observados no espectro EM^2 do íon precursor m/z 406 (Figura 157a, p. 198), enquanto, o espectro EM^3 do íon precursor m/z 391 (Figura 157d, p. 198) mostrou o íon produto m/z 250, o qual foi atribuído a eliminação de $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}$ (etapa Ib).



Esquema 5- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos de **SC-5** e **SC-12**.

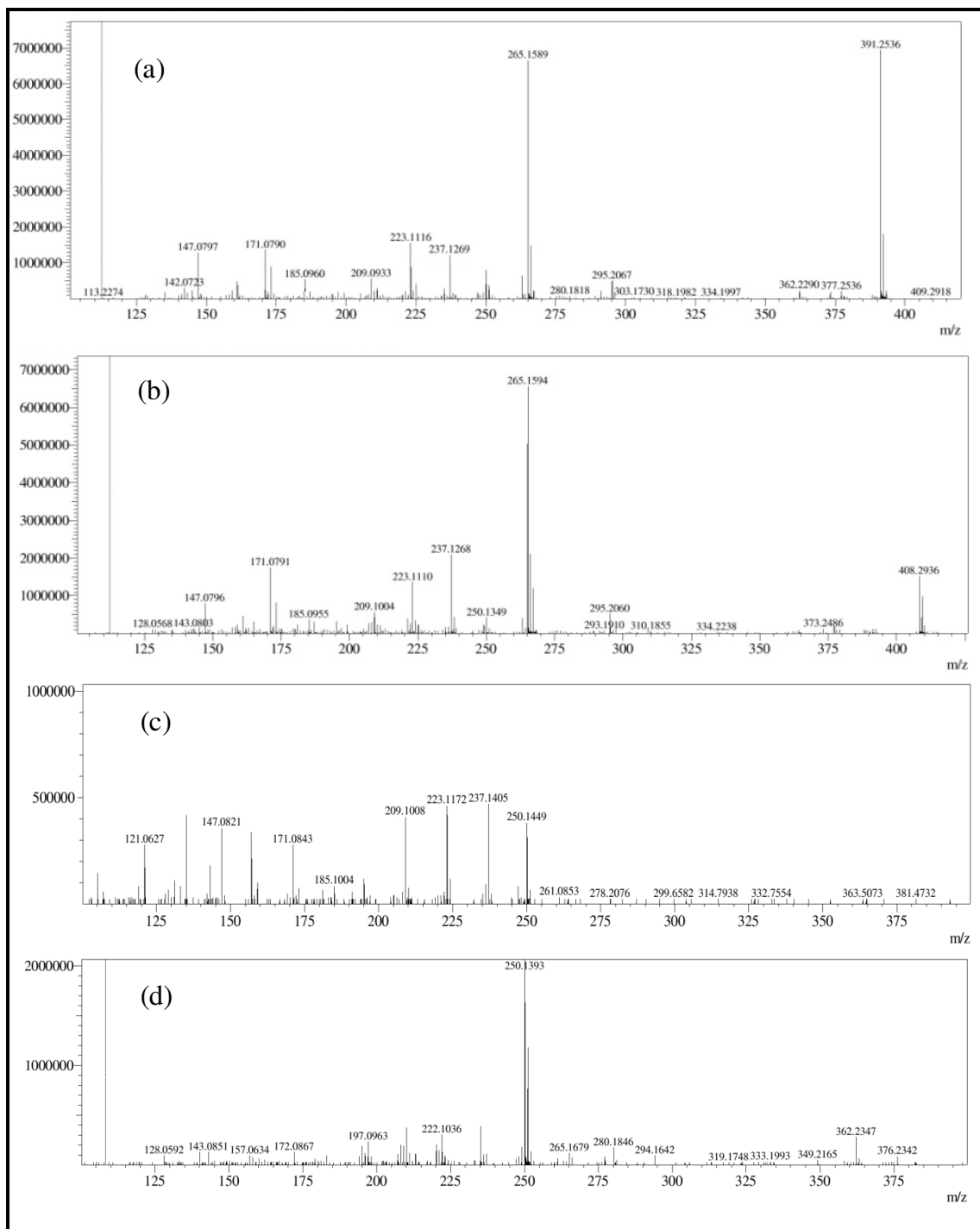
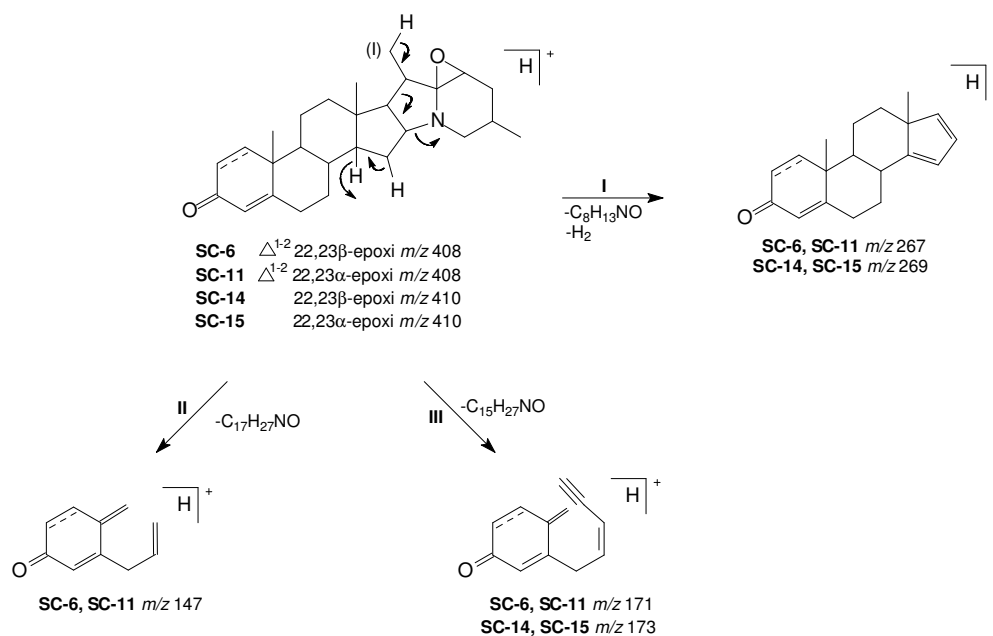


Figura 157- Espectros EM^2 de SC-5 (a) e SC-12 (b) (íon precursor m/z 406); espectros EM^3 dos íons precursores m/z 265 (c) e 391 (d)

Os espectros EM² dos pares de compostos **SC-6** e **SC-11** (Figura 158a-b, p. 200) e, **SC-14** e **SC-15** (Figura 159a-b, p. 200) exibiram, entre si, o mesmo padrão de fragmentação, sugerindo que a orientação dos anéis epóxido não exerce influência na fragmentação desses compostos. Como esperado para **SC-6** e **SC-11** os íons produtos *m/z* 267 possuem 2 unidades de massa atômica a mais que os correspondentes íons de **SC-5** (Tabela 30, 194), enquanto, para **SC-14** e **SC-15** os íons produtos *m/z* 269 possuem 4 unidades de massa atômica a mais que os correspondentes íons de **SC-5**. Esta diferença pode ser justificada pela ausência de uma/duas ligações dupla nos compostos **SC-6** e **SC-11/SC-14** e **SC-15**. Como pode ser observado no Esquema 6 (abaixo), o mecanismo de formação desses íons, bem como daqueles *m/z* 171 e 147, ocorrem de forma semelhante a proposta de mecanismo apresentada para **SC-5** (Esquema 5, p. 197). Contrariando nossas expectativas o íon em *m/z* 393 não foi observado nos espectros EM² de **SC-6** e **SC-11** como observado no espectro EM² de **SC-5**. Isto indicou que a formação deste íon depende da presença da ligação dupla no anel C.



Esquema 6- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos de **SC-6/SC-11** e **SC-14/SC-15**.

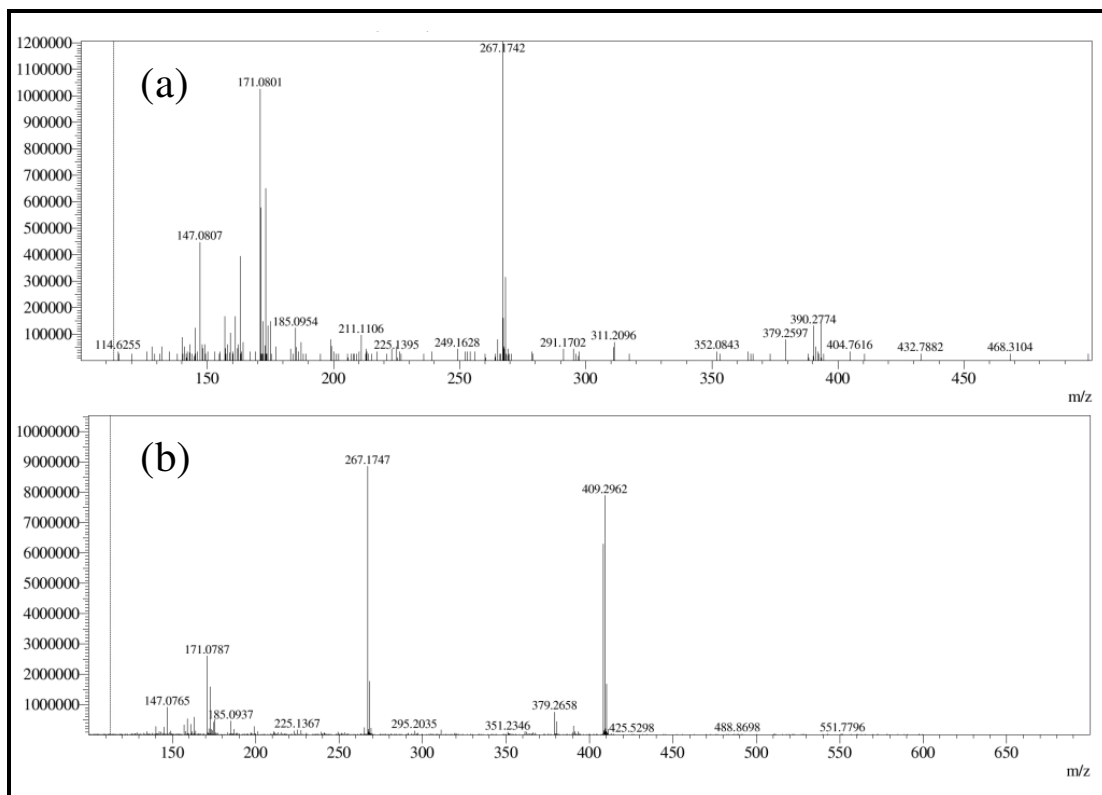


Figura 158- Espectros EM² de SC-6 (a) e SC-11 (b) (íon precursor m/z 408)

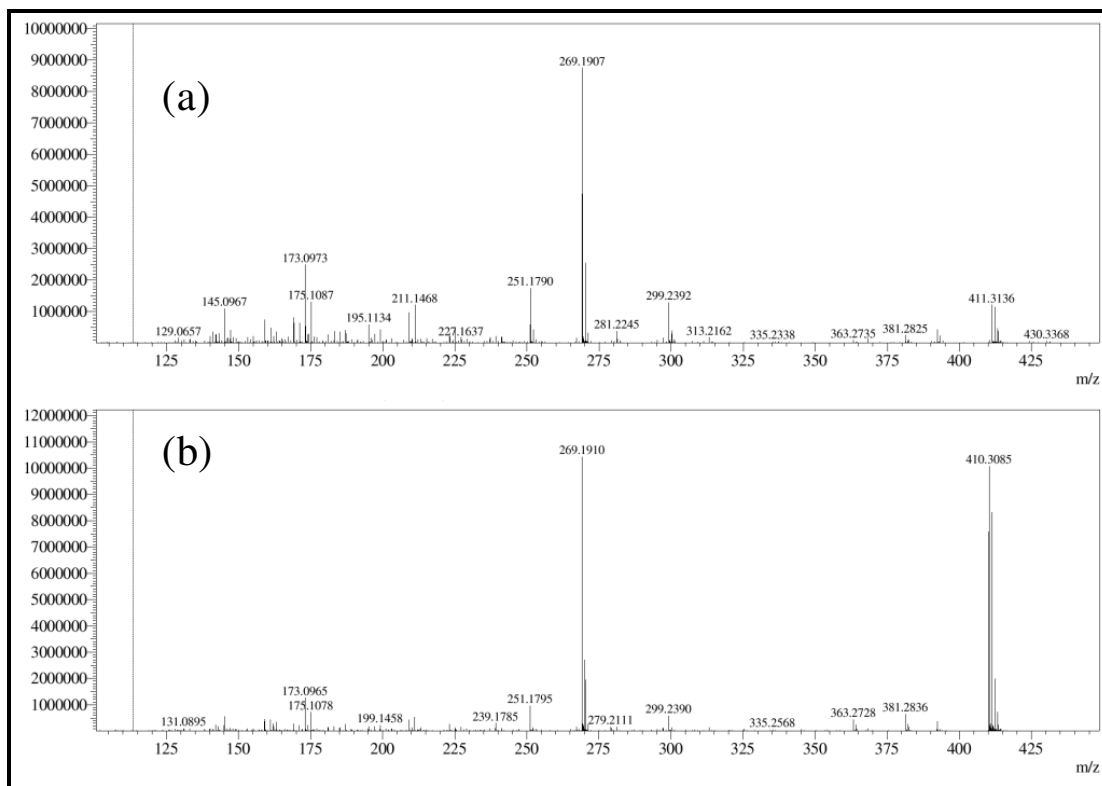


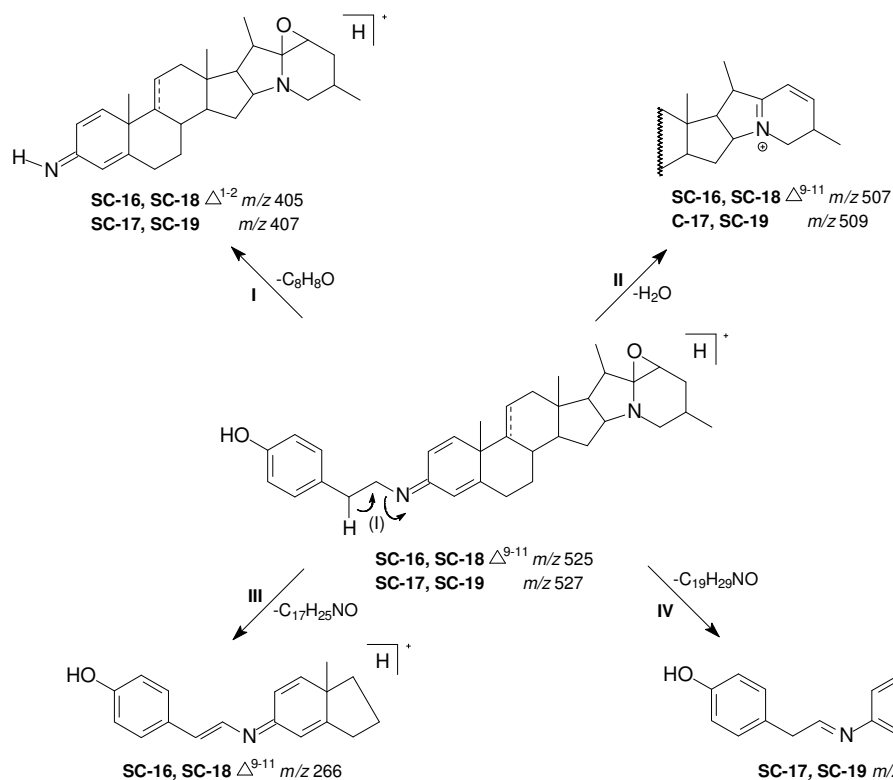
Figura 159- Espectros EM² de SC-14 (a) e SC-15 (b) (íon precursor m/z 410)

Os compostos de **SC-16** e **SC-18**, os quais diferem apenas quanto à orientação do grupo *p*-hidroxifeniletilamina [**SC-16** (*anti*) e **SC-18** (*sin*)] mostraram o mesmo padrão de fragmentação, sugerindo que a orientação do grupo *p*-hidroxifeniletilamina não exerce influência no processo de fragmentação. O mesmo comportamento foi observado entre os isômeros **SC-17** e **SC-19**, os quais diferem de **SC-16** e **SC-18** por apresentarem apenas duas ligações dupla na porção esteroidal.

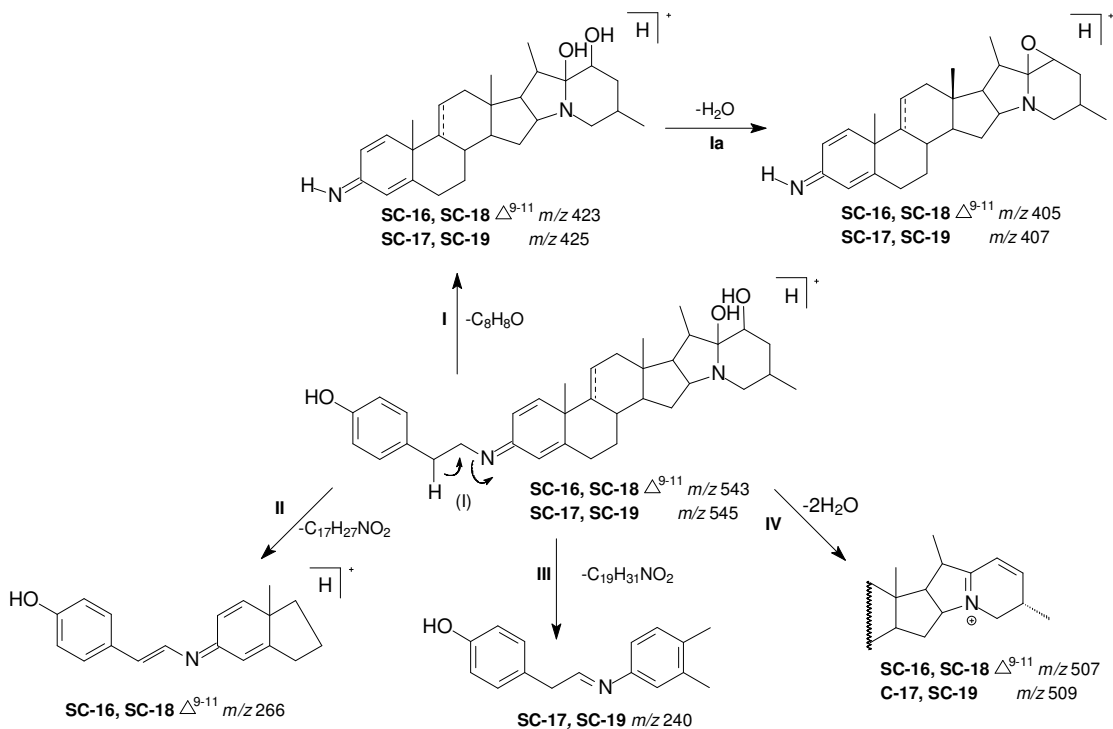
Os espectros EM² de **SC-16** e **SC-18** (Figura 160a-b, p. 203) exibiram os íons produtos *m/z* 405 e 507, os quais foram formados via eliminação de C₈H₉O e H₂O (Esquema 7, etapas I e II, p. 202), respectivamente. O fragmento *m/z* 266, pode ser justificado pela perda de C₁₇H₂₅NO a partir do íon precursor *m/z* 525 (etapa III). Para **SC-17** e **SC-19**, os fragmentos observados nos espectros EM² (Figura 160c-d, p. 203) correspondem ao mesmo padrão de fragmentação de **SC-16** e **SC-18**, no entanto, com duas unidades de massa atômica adicionais, conforme esperado.

Considerando os pares **SC-16/SC-18** e **SC-17/SC-19**, observou-se que a principal diferença no padrão de fragmentação foi o aparecimento do fragmento em *m/z* 266 para o primeiro par e o fragmento em *m/z* 240 para o segundo par, entretanto, ambas as propostas são justificadas pela fragmentação do anel **B** (Esquema 7, p. 202).

É importante ressaltar que o padrão de fragmentação do íon correspondente ao complexo [M + H₂O + H]⁺, para cada composto, também foi realizado e como pode ser observado no Esquema 8 (p. 202), os padrões de fragmentações exibidos nos espectros EM² (Figuras 161a-d, p. 204), foram semelhantes àqueles correspondentes aos compostos protonados, acima discutidos.



Esquema 7- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos de **SC-16** a **SC-19**.



Esquema 8- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos para o complexo $[M + H_2O + H]^+$ de **SC-16** a **SC-19**.

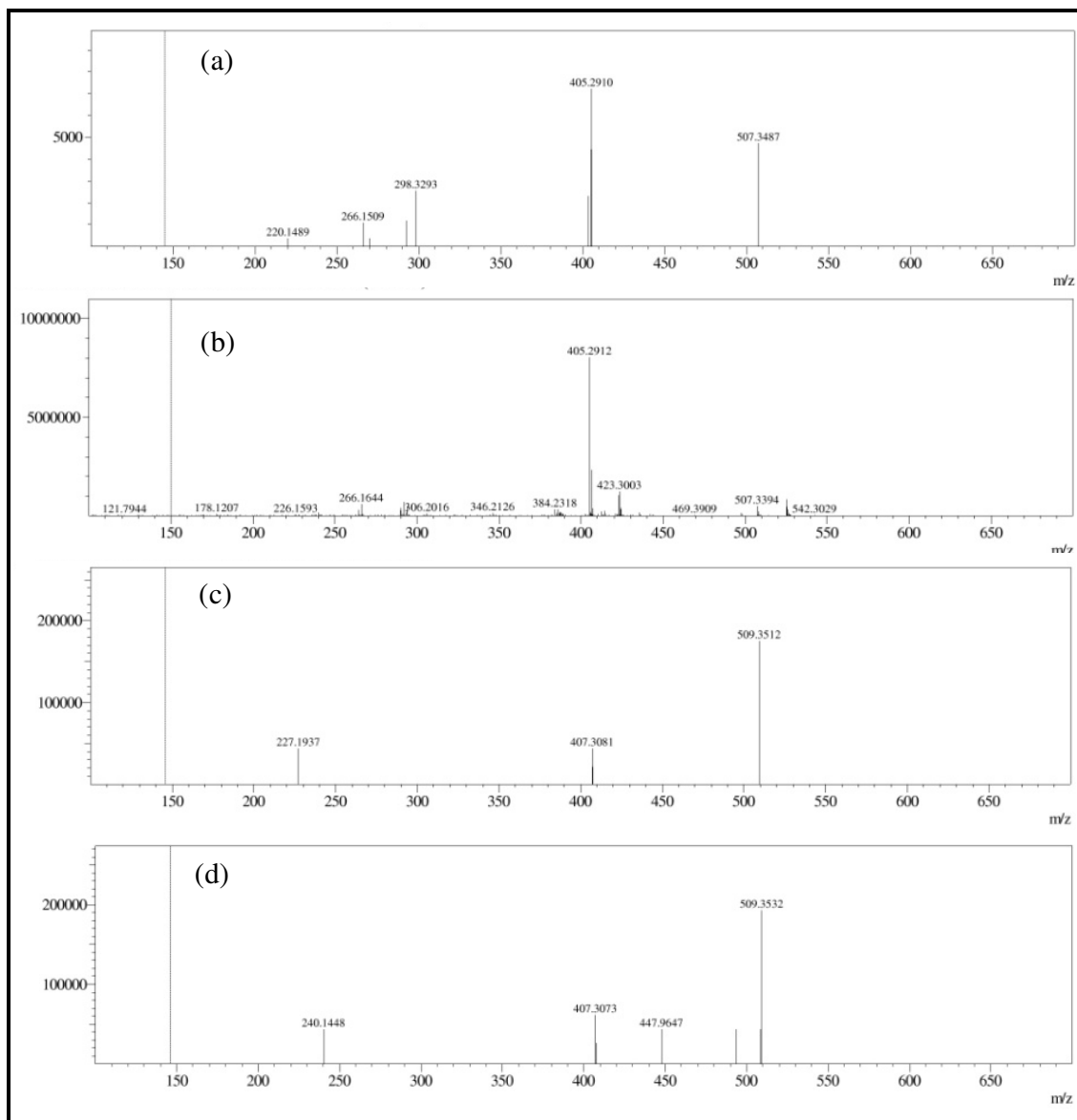


Figura 160- Espectros EM^2 de SC-16 (a), SC-18 (b) (íon precursor m/z 525), SC-17 (c) e SC-19 (d) (íon precursor m/z 527).

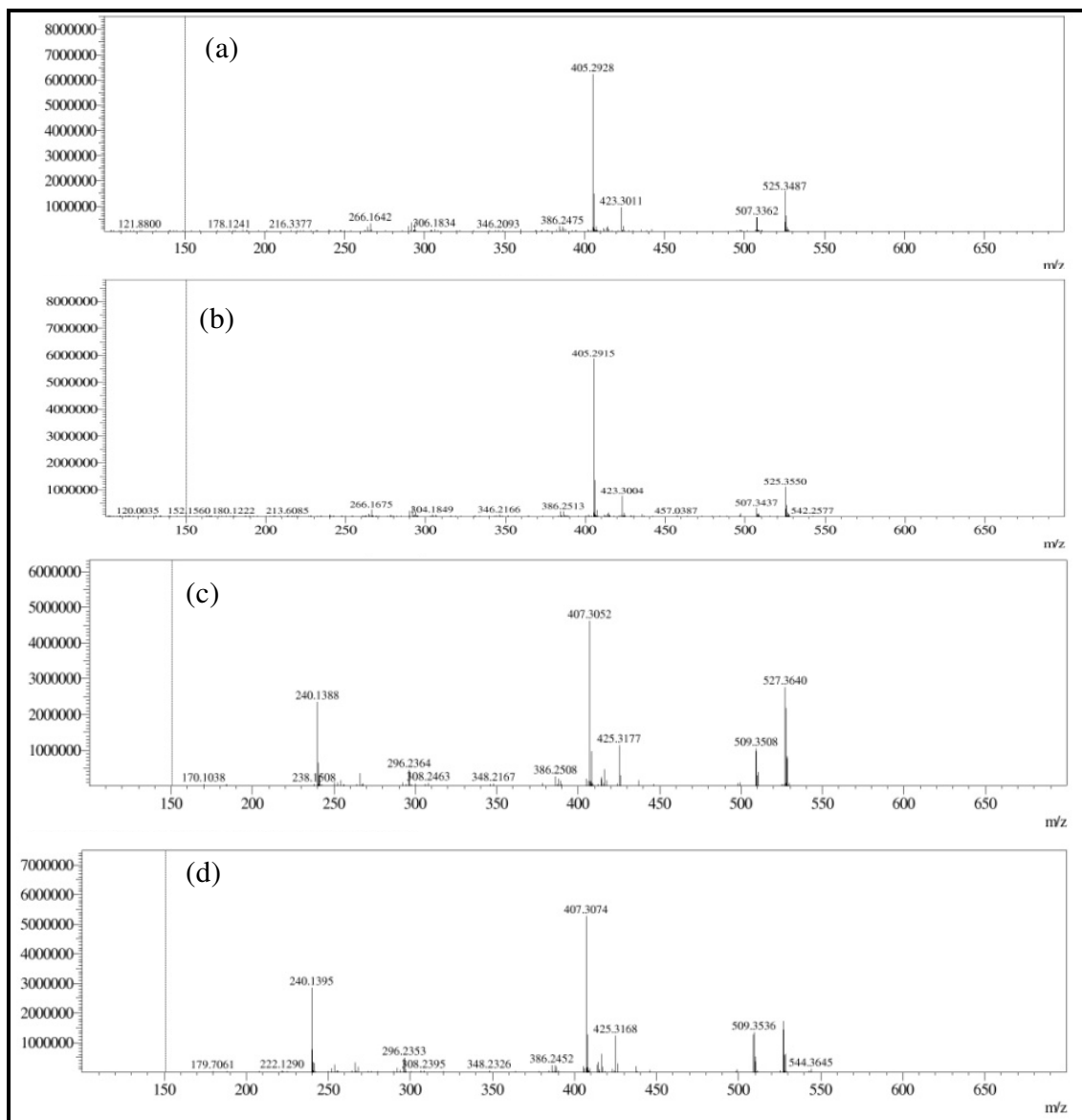
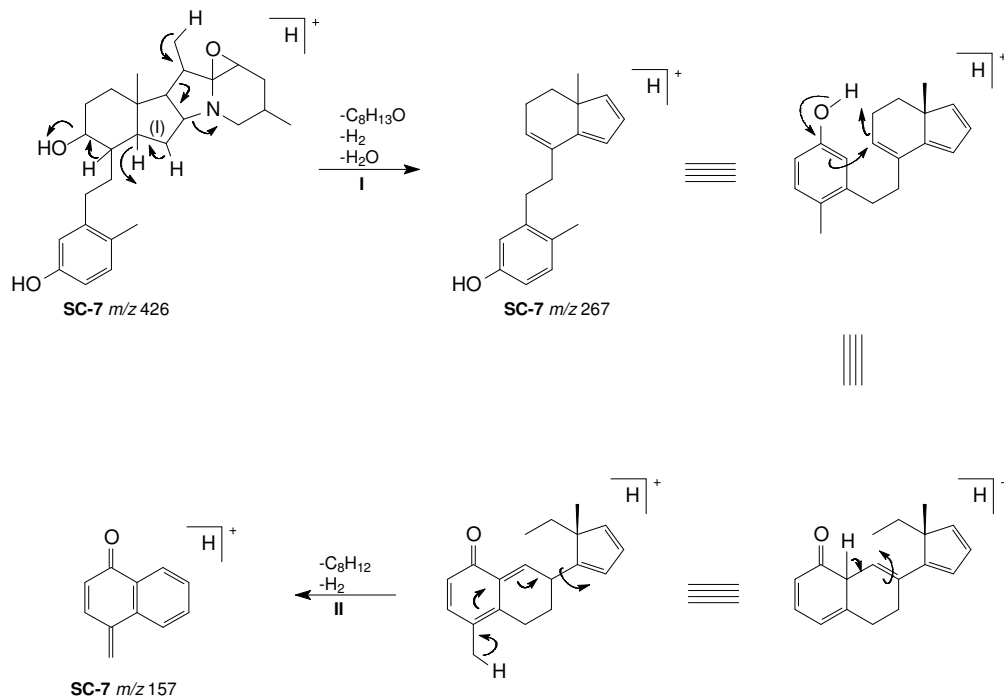


Figura 161- Espectros EM^2 de **SC-16** (a), **SC-18** (b) (íon precursor m/z 543), **SC-17** (c) e **SC-19** (d) (íon precursor m/z 545).

O composto **SC-7**, assim como os demais compostos já discutidos nesse estudo, também exibiu no espectro EM² (Figura 162) o íon produto referente à fragmentação do anel **E** (m/z 267). Como pode ser observado no Esquema 9, a proposta de formação deste íon ocorreu via eliminação de C₈H₁₃O e concomitante perda de H₂ e H₂O (etapa I), enquanto, o íon em m/z 157 foi formado via eliminação de C₈H₁₂, seguido pela eliminação de H₂ (etapa II).



Esquema 9- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos protonados de **SC-7**

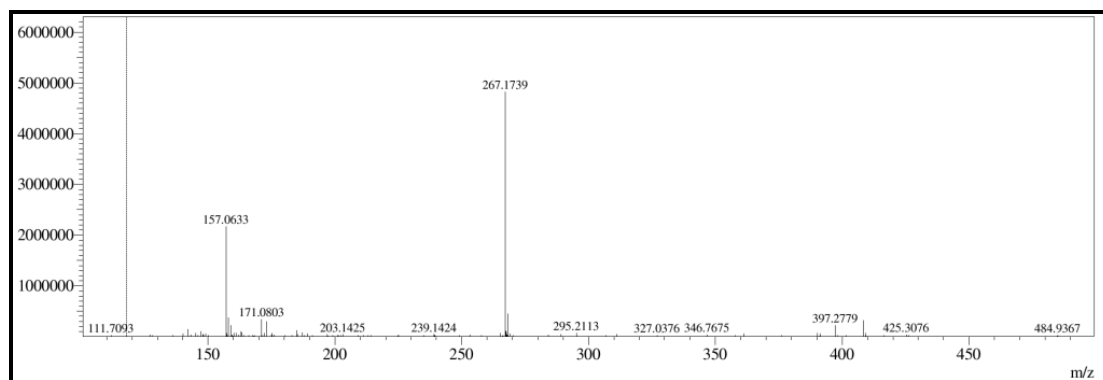
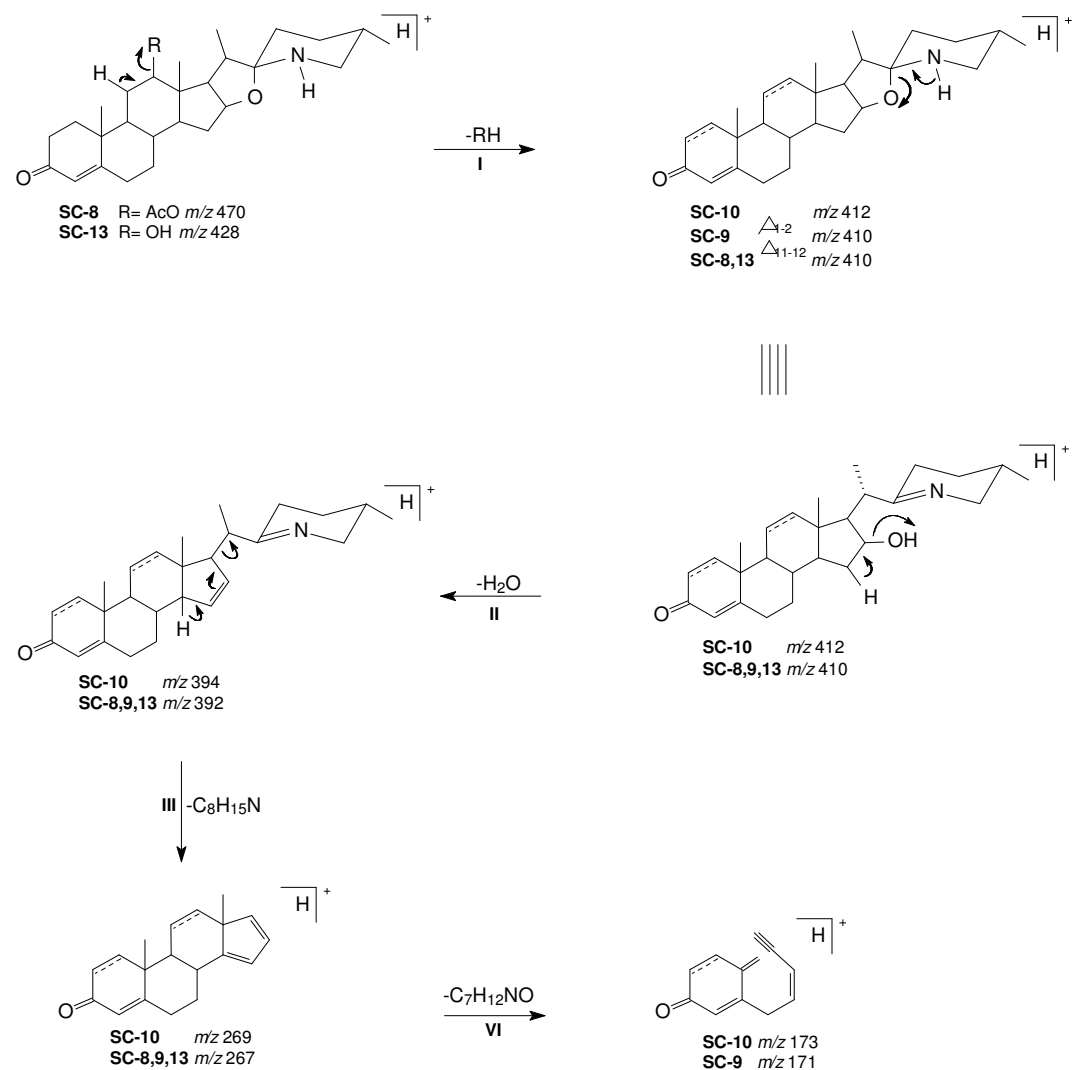


Figura 162- Espectro EM² de **SC-7** (íon precursor m/z 426)

Os alcalóides **SC-8**, **SC-9**, **SC-10** e **SC-13**, estruturalmente diferentes dos compostos já examinados nesse estudo pela presença de um sistema espiro nos anéis **E-F** (espirosolanos) ao invés de anéis fundidos (solanidanos), foram caracterizados pela presença dos íons produtos m/z 392 e 394 nos espectros EM^2 (Figura 163a-d, 208).

Para os compostos **SC-8** e **SC-13** a fragmentação foi iniciada com a eliminação de CH_3CO_2H e H_2O , respectivamente, gerando o íon produto m/z 410 (Esquema 10 (etapa I), p. 206). Este íon, bem como aquele em m/z 412, geraram os fragmentos com m/z 392 (**SC-8**, **SC-9** e **SC-13**) e 394 (**SC-10**) através de eliminação de H_2O (etapa II). Os íons em m/z 267 (**SC-8**, **SC-9** e **SC-13**) e 269 (**SC-10**), foram formados via rearranjo de hidrogênio 1,5 (C-14 para C-20) e concomitante eliminação de $C_8H_{15}N$ (etapa III) a partir dos íons precursores m/z 392 e 394. Como pode ser observado no Esquema 10 (p. 206), os íons em m/z 267 e 269, após perderem $C_7H_{12}NO$, geram os fragmentos com m/z 171 e 173 nos espectros EM^2 de **SC-9** e **SC-10**, respectivamente (etapa VI).

Para os espirosolanos os íons em m/z 392 e 394, formados pela eliminação de H_2O a partir do oxigênio função éter, serviram como diagnósticos em relação aos alcalóides do tipo solanidano, cujos íons chaves foram formados com a fragmentação do anel **E** (m/z 265, 267 e 269).



Esquema 10- Proposta de mecanismo de fragmentação para os principais íons produtos protonados de **SC-8**, **SC-9**, **SC-10** e **SC-13**

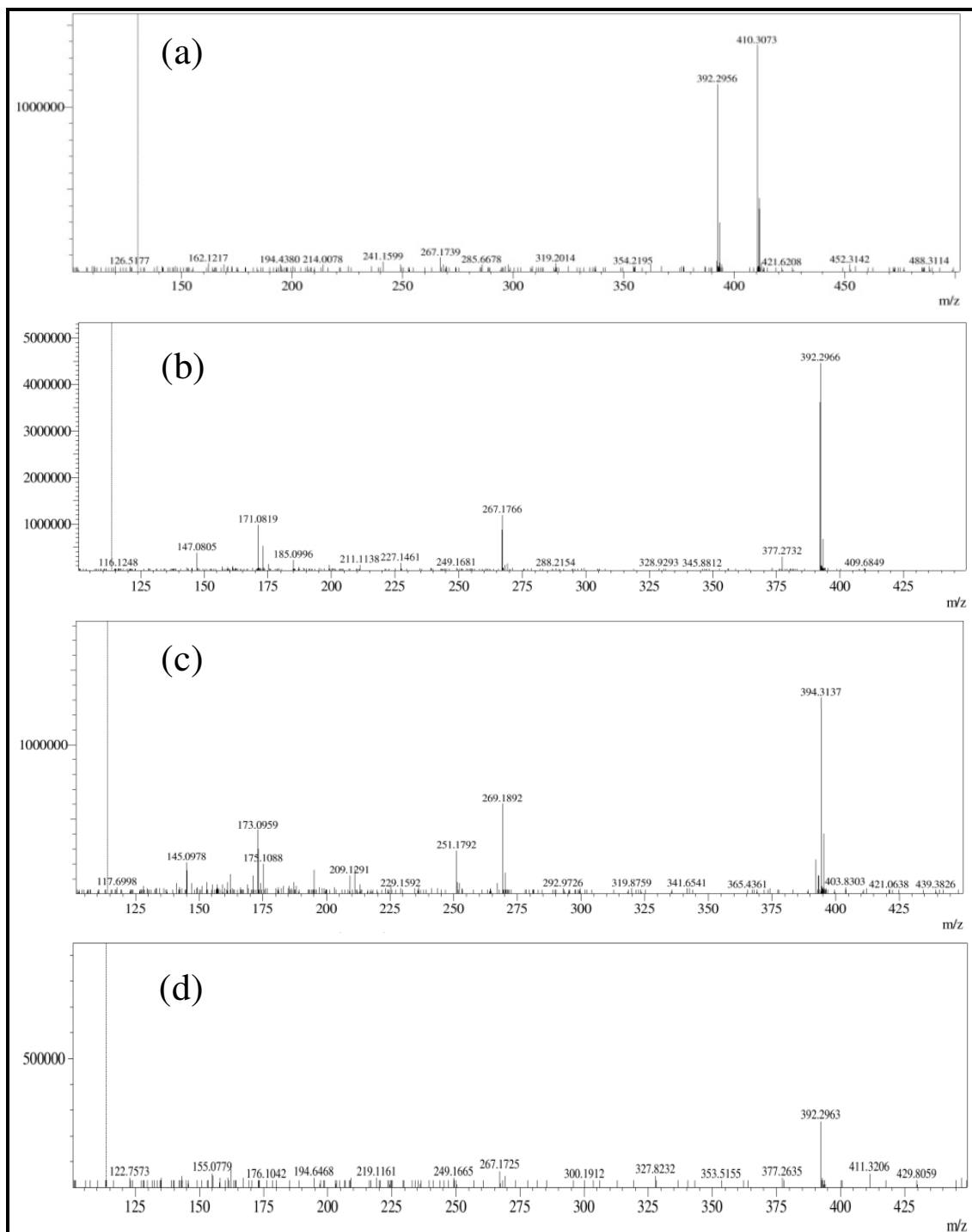


Figura 163- Espectros EM² de SC-8 (a), SC-9 (b), SC-10 (c) e SC-13 (d) (íons precursoros m/z 470, 410, 412 e 428, respetivamente).

4.4 Estudo de desreplificação do extrato etanólico de *S. campaniforme* por IES-EM/EM

O espectro EM-IES do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme* (Figura 164, p. 210), obtido no modo positivo, apresentou uma série de sinais entre m/z 400-550. Comparação das medidas de massas exatas com os dados relatados neste trabalho (Tabela 30, p. 194) indicou a presença dos alcalóides esteroidais: **SC-5/11** (m/z 406,2755; +3,45 ppm), **SC-6/12** (m/z 408,2913; +3,92 ppm), **SC-7** (m/z 426,3010; +1,64 ppm), **SC-9** (m/z 410,3062; +1,71 ppm), **SC-10** (m/z 412,3218; +1,94 ppm), **SC-13** (m/z 428,3136; -5,37 ppm), **SC-14/15** (m/z 410,3062; +1,71; ppm), **SC-16/18** (m/z 545,3753; +2,75 ppm), **SC-17/19** (m/z 543,3592; +2,02 ppm). Uma vez que a medida de massas exatas fornece apenas a fórmula molecular do composto e não dispõe de informações estruturais, a confirmação desses compostos só foi possível através de experimentos EM².

Os espectros EM² foram adquiridos usando como íons precursores os íons destacados no espectro EM do extrato bruto (Figura 164, p. 210). Com base nos espectros EM², foi possível confirmar a presença dos alcalóides **SC-5** a **SC-19**, previamente isolados neste trabalho, bem como sugerir a presença de dois novos compostos (m/z 414,3371; +0,97 ppm e 547,3935; +7,49 ppm). O espectro EM² do íon m/z 414 apresentou o íon m/z 396,3229 (-8,07 ppm) atribuído à perda de H₂O, processo freqüente na fragmentação de compostos hidroxilados, mas considerado como diagnóstico no processo de fragmentação dos alcalóides do tipo espirosolano. Os dados observados no espectro EM² do íon m/z 414 são semelhantes àqueles de **SC-10**, com massa mais elevada em duas unidades, considerando os correspondentes íons de **SC-10**. Esta diferença foi atribuída a ausência de uma ligação dupla na estrutura do composto em questão, o qual foi denominado de **SC-20** e identificado com sendo 22*N*-espirosolan-3-ona. O espectro EM² do íon m/z 547 mostrou o íon diagnóstico em m/z 409, correspondente a eliminação de C₈H₉O e concomitante perda de H₂O, similar aos compostos **SC-16** a **SC-19**. Tal íon possui massa com duas unidades adicionais, em comparação ao íon correspondente em **SC-17/19** (m/z 407), indicando que o composto em discussão difere de **SC-17** e **SC-19** apenas pela ausência de uma ligação dupla. Este composto foi denominado **SC-21** e identificado como sendo *N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]-22,23-epoxi-solanida-4-en-3-imina. Embora a estrutura tenha sido proposta, a orientação do grupo *p*-hidroxifeniletilamina não pôde ser definida, uma vez que sua influência sobre os processos de fragmentações não foi evidenciada neste estudo.

Outros compostos, cujos padrões de fragmentações diferem daqueles já investigados foram também detectados, no entanto, os dados obtidos não foram suficientes para chegar às suas estruturas.

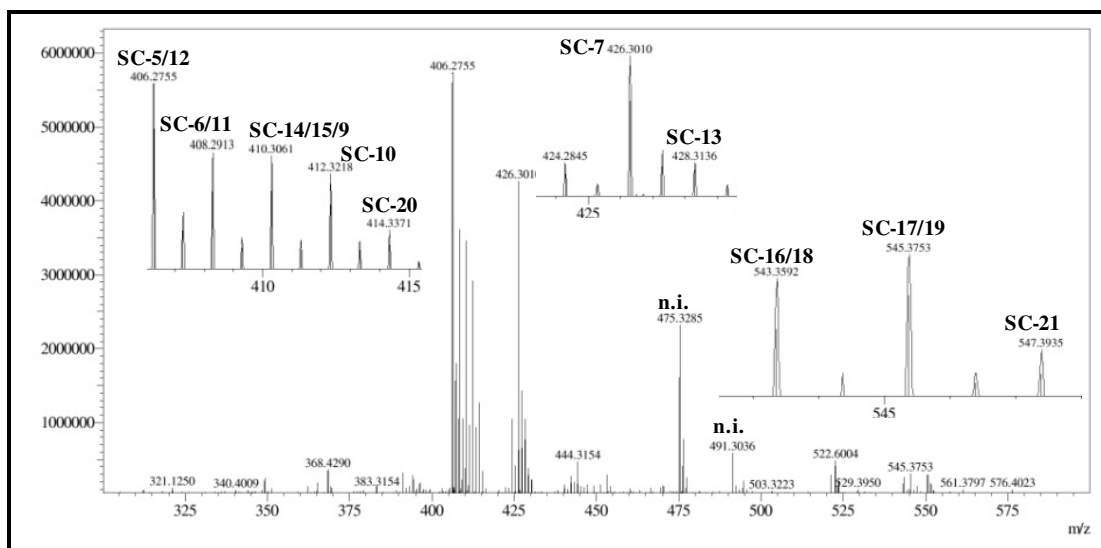


Figura 164- Espectro IES-EM do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme*

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Métodos cromatográficos

5.1.1 Cromatografia de adsorção

Nas cromatografias de adsorção foi empregada gel de sílica 60 da Merck ou da Vetec [\emptyset μm 70-230 (cromatografia gravitacional) e \emptyset μm 230-400 (cromatografia *flash*)]. As colunas sob média pressão (cromatografia *flash*) foram realizadas empregando-se uma bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact N° 682403 de Ind. de aparelhos médicos Ltda. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e as quantidades de gel de sílica utilizadas. Para cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizou-se cromatoplasas de gel de sílica 60 (\emptyset 5-40 μm) sobre alumínio da Merck. Os eluentes utilizados foram: hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol puros, ou combinados em proporções crescentes de polaridade.

A revelação das substâncias nas cromatoplasas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (312 e 365 ηm) emitidos por lâmpada modelo CN-15LM da Vilber Lourmat, bem como pela pulverização com reagente de Dragendorff ou por aspersão com solução de vanilina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) e ácido perclórico (HClO_4) em etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), seguido de aquecimento (100 °C) por aproximadamente 5 minutos.

5.1.2. Cromatografia de exclusão

Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram efetuados em gel de dextrana Sephadex LH-20, utilizando-se metanol como fase móvel.

5.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE \approx HPLC)

As análises por CLAE foram realizadas em aparelho da marca SHIMADZU, modelo UFLC, equipado com detector UV-Vis com arranjo de diôdo (SPD-M20A) e um sistema de bomba ternário. As separações foram efetuadas em coluna semi-preparativa Phenomenex® (4,6 x 250 mm, 5 μm), mantidas num forno termostático a 40°C. As amostras foram eluídas com água (levemente acidificada com ácido trifluoracético -TFA) e metanol ou acetonitrila.

Os solventes empregados apresentaram grau HPLC (MeOH ou ACN-Tedia e H₂O-Milli-Q) e foram adequadamente filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45 µm (Millipore). As amostras foram dissolvidas nas fases móveis empregadas em cada análise e filtradas através de membranas de nylon com poros de 0,45 µm (Whatman).

5.1.4. Extração em fase sólida (SPE)

As extrações em fase sólida das frações de *S. campaniforme*, com fins de isolamento, bem como na etapa de preparo das amostras submetidas a análise por CLAE (*clean-up*), foram realizadas em cartuchos de fase reversa (Strata C18-E, 20 g/60 mL, 55 µm, 70 Å) da Phenomenex. O uso dos cartuchos foi precedido por ativação do adsorvente com metanol, seguida de acondicionamento com água Milli-Q, utilizando alíquotas equivalentes a três vezes o volume do cartucho.

5.2 Métodos físicos

5.2.1 Ponto de fusão

Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram obtidos em aparelho digital MQ APF-301, pertencente à central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI/UFC). As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 3 °C/min e não foram corrigidos.

5.2.2 Rotação óptica

As rotações ópticas foram obtidas em Polarímetro digital da Perkin- Elmer 341, pertencente à central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI/UFC), à temperatura de 25 °C.

5.3. Métodos espectrométricos

3.3.1 Espectroscopia na região de absorção do infravermelho (IV)

Os espectros na região de absorção do infravermelho, obtidos numa faixa de 4000 a 400 cm⁻¹ foram realizados em espectrômetro ABB-BOMEM, modelo FT-LA 2000-102,

utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) ou em espectrômetro um Perkin-Elmer, modelo SPECTRUM 100 FT-IR usando o aparato UATR (universal attenuated total reflectance), ambos pertencentes a central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI/UFC).

5.3.2 Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em espectrômetro SHIMADZU, modelo LCMS-IT-TOF, equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (IES) ou ionização química a pressão atmosférica (APCI) pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LEMANOR-UFC), sendo os *scans* adquiridos no modo positivo ou negativo. Condições gerais das análises: voltagens do capilar 3500V; temperatura e fluxo do gás secante: 150°C e 150µL/h. Nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização e solução de NaTFA foi usada como padrão para calibração do IT-TOF. As moléculas protonadas ($[M + H]^+$) foram selecionadas e submetidas a fragmentação por CID (collision induced dissociation) usando argônio como gás de colisão. Os espectros EM/EM foram obtidos variando de 50 até 250% a energia de colisão relativa. As amostras (5 µL) dissolvidas em solvente grau HPLC [acetonitrila (ACN) ou metanol (MeOH)] numa concentração de 1µg/mL foram introduzidas por injeção direta na fonte de ionização. Os valores de massas observados, bem como os cálculos de erros foram obtidos através do software *Formula Predictor*.

5.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e carbono 13 (RMN de ^{13}C), uni- e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelo DRX-500, operando na frequência de 500 MHz para hidrogênio e 125 MHz para carbono-13, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CERAUREMN-UFC).

Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras e obtenção dos espectros foram: clorofórmio (CDCl_3), metanol (CD_3OD) ou piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de RMN de ^1H pelo pico de hidrogênio pertencente à fração não deuterada dos solventes: clorofórmio (δ_{H} , 7,27), metanol (δ_{H} , 3,31) e piridina (δ_{H} , 8,74; 7,58;

7,22) e para os espectros de RMN de ^{13}C pelos picos de carbono-13 dos solventes: clorofórmio δ (77,23), metanol δ (49,15) e piridina δ (123,87; 135,91 e 150,35).

As multiplicidades das absorções foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), dl (duplete largo), dt (duplo tripleto), t (tripleto), q (quarteto) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica DEPT 135° e expressado segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico).

5.4 Estudo fitoquímico das folhas de *S. campaniforme*

5.4.1 Material vegetal

As folhas de *S. campaniforme* foram coletadas durante o estágio de floração no município de Guaramiranga-CE em outubro de 2007, pelo professor Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

A identificação da planta foi realizada pelo professor Edson Paula Nunes do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A exsicata da planta (# 41038) encontra-se depositado no Herbário Prisco Bezerra (EAC) daquele Departamento.

5.4.2 Preparação do extrato

As folhas (3,14 kg), obtidas após secagem a temperatura ambiente e trituração, foram extraídas através de maceração com etanol e após concentração do solvente, a pressão reduzida, forneceu o extrato etanólico das folhas (357,83 g), o qual foi codificado por EESC.

5.4.3 Partição líquido-líquido do extrato etanólico (EESC)

O extrato etanólico (357,83 g) obtido das folhas de *S. campaniforme* foi dividido em duas porções de aproximadamente 170,00 g e cada porção foi dissolvida em 150 mL de uma mistura de MeOH/ H_2O 30%. Após este procedimento foram individualmente submetidas à partição líquido-líquido, utilizando-se os solventes hexano (5 x 100 mL), DCM (5 x 100 mL), AcOEt (5 x 100mL) e n-BuOH (5 x 50) cujas massas resultantes estão descritas na Tabela 31 (p. 215).

Tabela 31- Dados referentes ao fracionamento de EESC

Solvente	Fração	Massa (g)	Rendimento (%)
Hexano	EESC-H	72,65	
DCM	EESC-D	109,90	
AcOEt	EESC-A	59,51	
n-BuOH	EESC-B	88,97	
TOTAL		331,03	92,51

5.4.3.1 Fracionamento da fração EESC-A (Fluxograma 1, p. 220)

Das frações obtidas da partição líquido-líquido de EESC, a fração AcOEt, após análise por CCDA, apresentou teste positivo frente ao reagente de Dragendorff, sugerindo a presença de alcalóides e justificando assim seu estudo. Logo, a fração AcOEt (**EESC-A**; 58,51 g) foi misturada a 98,1 g de gel de sílica (desativada em metanol), pulverizada em gral de porcelana e cromatografada sobre 50,45 g de gel de sílica (desativada em etanol) em funil de Buchner. A eluição foi realizada a vácuo utilizando AcOEt, MeOH e H₂O puros ou em mistura binárias em escala crescente de polaridade. Foram obtidas 6 frações com 500 mL cada, as quais foram concentradas sob pressão reduzida para obtenção das suas respectivas massas, conforme sumarizada na Tabela 32, abaixo.

Tabela 32- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração EESC-A

Eluente	Volume (mL)	Fração	Massa (g)	Rendimento (%)
AcOEt/100%	500	EESC-A1	2,10	
AcOEt/ MeOH 20%	500	EESC-A2	19,78	
AcOEt/ MeOH 50%	500	EESC-A3	27,63	
AcOEt/ MeOH 70%	500	EESC-A4	4,41	
MeOH 100%	500	EESC-A5	2,79	
MeOH/H ₂ O 20%	500	EESC-A6	0,82	
TOTAL			57,53	79,19

A análise comparativa por CCDA revelada sob lâmpada de UV (365 nm) seguida por borrifamento com vanilina e aquecimento ou por detecção com reagente de Dragendorff das frações obtidas do fracionamento cromatográfico da fração **EESC-A**, revelou que a fração **EESC-A2** além de apresentar teste positivo frente ao reagente de Dragendorff, mostrou semelhança com a fração **EESC-A1** (sólido amarelo), quando revelado com vanilina, sendo esta a fração inicialmente selecionada para prospecção fitoquímica. Os 19,78 g da fração **EESC-A2** foram adsorvidos a 46,66 g de gel de sílica e disposto sobre 56,68 g de gel de sílica

em funil de Buchner. A eluição foi realizada a vácuo com os solventes AcOEt e MeOH puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade, conforme sumarizada na Tabela 33, abaixo.

Tabela 33- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **EESC-A2**

Eluente	Volume (mL)	Fração	Massa (g)	Rendimento (%)
AcOEt/100%	300	EESC-A2.1	4,07	
AcOEt/ MeOH 20%	300	EESC-A2.2	4,49	
AcOEt/ MeOH 50%	300	EESC-A2.3	7,96	
MeOH 100%	300	EESC-A2.4	1,09	
TOTAL			17,61	89,10

5.4.3.1.1 Fracionamento de **EESC-A2.1***: isolamento de **SC-1** e **SC-2**

Após análise por CCDA, a fração **EESC-A2.1** (4,07 g) foi reunida com a fração **EESC-A1** (2,10 g) fornecendo 6,17 g de material, o qual foi codificado por **EESC-A2.1***. Este material foi misturado a 18,42 g de gel de sílica e recromatografado sob 84,79 g de gel de sílica em coluna de 500 mL e 6,00 cm de diâmetro, utilizando como eluente os solventes DCM, acetona e MeOH puros ou em misturas binárias em escala crescente de polaridade. Foram coletadas 39 frações de aproximadamente 50 mL cada, as quais após análise em CCDA foram agrupadas conforme descrito na Tabela 34 (p. 217).

A fração **4** (0,13 g), foi submetida a uma coluna do tipo *flash*. Os 0,13 g foram misturados a 0,14 g de gel de sílica e cromatografados em coluna de 125 mL e 1,5 cm de diâmetro interno, usando como eluente uma mistura isocrática de DCM/MeOH 2%. As frações obtidas (93 com aproximadamente 5 mL cada) foram agrupadas com base na semelhança de perfis, após análise por CCDA. A subfração 8-17 (39,6 mg), na qual observou-se a presença de um material sólido, foi submetida a adição de hex/AcOEt 50%, sob sonicação e após filtração forneceu 21,5 mg de um material sólido de cor branca, com ponto de fusão na faixa de 142,3 – 143,1 °C, codificado por **SC-1**.

Enquanto a fração **13-33**, a qual se apresentou na forma de um material sólido amarelo, foi purificada por adição de AcOEt, que após centrifugação e filtração forneceu 1,93 g de um sólido amarelo, com ponto de fusão na faixa de 196,0 – 196,5 °C. Este material foi codificado por **SC-2**.

Tabela 34- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **EESC-A2.1***

Eluente	Fração	Massa (g)	Rendimento (%)
DCM/acetona 10%	1-3	0,16	
DCM/acetona 10%	4	0,13	
DCM/acetona 10%	5-6	0,14	
DCM/acetona 10%	7-12	0,29	
DCM/acetona 20, 30 e 50%	13-33	4,30	
DCM/acetona 70%	34-35	0,09	
Acetona 100%	36-37	0,66	
MeOH 100%	38-39	0,29	
TOTAL		6,06	98,22

5.4.3.1.2 Fracionamento de **EESC-A2.2**: isolamento de **SC-3** e **SC-4**

A fração **EESC-A2.2** (4,49 g) , obtida do fracionamento cromatográfico da fração **EESC-A2** (p. 39), foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica (72,34 g) (500 mL e 6,0 cm diâmetro interno) utilizando um gradiente de eluição com os solventes em ordem crescente de polaridade: AcOEt, AcOEt/ MeOH e MeOH, fornecendo as frações descritos na Tabela 35, abaixo.

Tabela 35- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **EESC-A2.2**

Eluente	Volume (mL)	Fração	Massa (g)	Rendimento (%)
AcOEt/100%	200	1	0,78	
AcOEt/ MeOH 20%	200	2	1,98	
AcOEt/ MeOH 40%	200	3	0,97	
AcOEt/ MeOH 60%	200	4	0,12	
MeOH 100%	100	5	0,08	
TOTAL			3,91	87,08

A fração **2** (1,98 g), resultante da eluição com AcOEt/MeOH 20%, foi misturada a 6,73 g de gel de sílica e recromatografada sob 29,2 g de gel de sílica em coluna de 250 mL e 5,0 cm de diâmetro interno, usando como eluente um gradiente de AcOEt, AcOEt/MeOH 5, 10, 20 e 50 %, seguida por lavagem com MeOH. Após análise por CCDA das frações obtidas (6 frações com aproximadamente 200 mL cada), a fração AcOEt/MeOH 10 % (1,03 g), contendo um material mais polar que **SC-2**, foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas do tipo *flash* usando como eluentes misturas binárias dos solventes

DCM/AcOEt, resultando no isolamento de **SC-3** (9,7 mg), um sólido amarelo com ponto de fusão na faixa de 183,1 – 184,9 °C.

A fração AcOEt/MeOH 40%, (**3**; 0,97 g), contendo um material sólido de coloração marrom, após duas colunas cromatográficas por exclusão molecular (Sephadex-LH20) usando como eluente MeOH forneceu o composto **SC-4** (200,0 mg), um sólido marrom com ponto de fusão na faixa de 152,1 – 153,1 °C.

5.4.3.1.3 Fracionamento de **EESC-A2.3**: isolamento de **SC-5** a **SC-7**

A fração **EESC-A2.3** (7,96 g), a qual apresentou teste positivo frente ao reagente de Dragendorff, foi misturada a 13,4 g de gel de sílica e recromatografada sob 50,23 g de gel de sílica em coluna de 500 mL e 6,0 cm de diâmetro interno. Os solventes utilizados na eluição foram hexano, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binária, aumentando gradativamente a polaridade. As frações resultantes (58 frações com aproximadamente 30 mL) foram agrupadas em sete subfrações após análises por CCDA, usando como reveladores: reagente de Dragendorff para detecção de alcalóides e vanilina capaz de detectar um maior número de compostos, (Tabela 36, abaixo). A escolha da subfração **f19-40** para purificação foi feita frente à detecção positiva desta frente ao reagente de Dragendorff, indicando possível presença de alcalóides.

Tabela 36- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **EESC-A2.3**

Eluente	Volume (mL)	Frações coletadas	Frações Reunidas	Massa (g)	Rend. (%)
Hexano/AcOEt 90%	200	1-6	1-6	0,27	
AcOEt/100%	200	7-14	7-16	0,26	
AcOEt/ MeOH 10%	500	15-32	17-18	0,59	
AcOEt/ MeOH 20%	500	33-47	19-40	4,57	
AcOEt/ MeOH 40%	200	48-53	41-44	0,22	
AcOEt/ MeOH 60%	100	54-57	45-53	0,34	
MeOH 100%	50	58	54-58	0,06	
TOTAL				6,31	79,27

A subfração **19-40** (4,57 g) foi dissolvida em 5 mL de MeOH e submetida à cromatografia em Sephadex LH-20 (60 g em coluna de 4,0 cm de diâmetro), resultando em 43 frações com aproximadamente 10 mL. As frações obtidas foram monitoradas por CCDA, com revelação com reagente de Dragendorff, possibilitando a reunião das frações f1-7; **f8-9**;

f10-11; f12-13; f14-15; f16-30 e f31-43. Apenas as frações **f8-9**, **f10-11**, ambas constituídas de uma mistura de alcalóides, foram selecionadas para investigação.

A fração **f8-9** (1,15 g) foi dissolvida em 3 mL de MeOH/H₂O (1:9) e adicionada a um cartucho SPE-C18 (20 g/60 mL), já ativado e condicionado com MeOH/H₂O (1:9). O cartucho foi eluído com MeOH/H₂O (1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4 e 10:0), resultando em 8 frações com aproximadamente 50 mL. A fração MeOH/H₂O 3:7 (250,0 mg) foi purificada por CLAE, injetando-se alíquotas de 200 µL da amostra dissolvida em MeOH/H₂O 1:1 numa concentração de aproximadamente 10 mg/1 mL. A separação, utilizando uma coluna semi-preparativa de fase reversa, foi efetuada em condições isocráticas: MeOH/H₂O (57:43) 0,3% de TFA, com fluxo de 4,72 mL/min durante 12 minutos e monitorada em 242 nm. Foram coletados 2 picos (Figura 165, abaixo) registrados com tempos de retenção de 7,76 min (pico 1) e 9,05 min (pico 2), que após liofilizados forneceram 127,0 mg (pico 1; **SC-5**) e 34,0 mg (pico 2: **SC-6**) ambos na forma de um sólido branco.

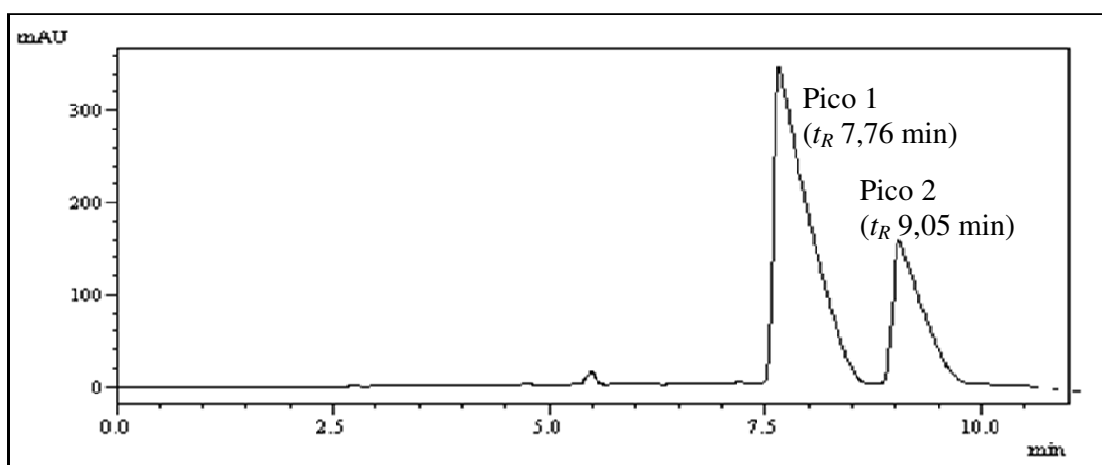
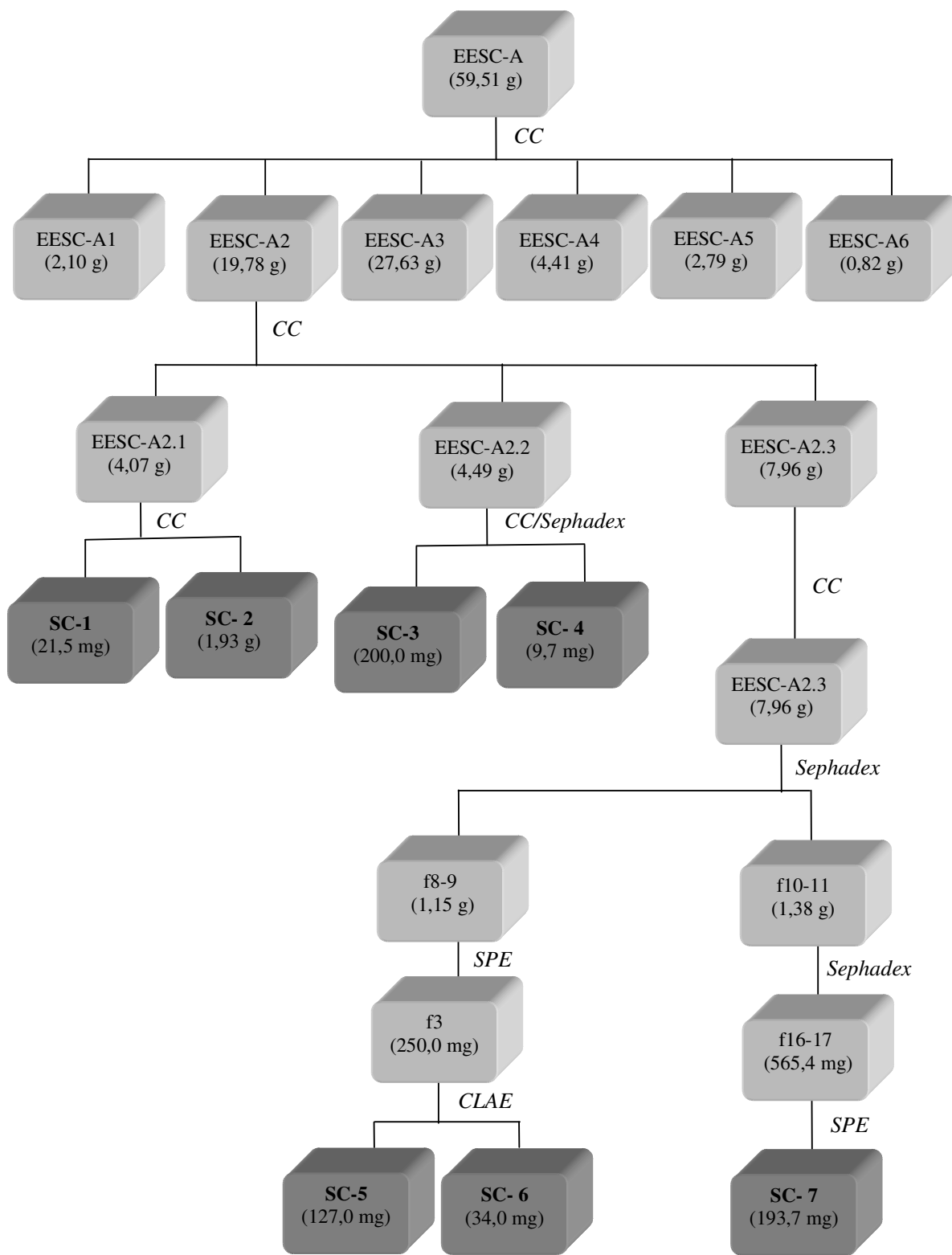


Figura 165- Cromatograma de isolamento das substâncias **SC-5** e **SC-6**

A fração **f10-11** (1,38 g), previamente solubilizada em 3 mL de MeOH, foi reaplicada numa coluna Sephadex LH-20 (60 g em coluna de 4,0 cm de diâmetro) e eluída com MeOH, resultando na obtenção de 36 frações de 8 mL, as quais foram agrupada em sete subfrações (f1-10; f15; **f16-17**; f19-22; f23-29 e f30-36) após análise por CCDA. A subfração **f16-17** (565,4 mg) foi purificada em cartucho SPE-C18, utilizando como fase móvel MeOH/H₂O 1:9 (f1-2), 2:8 (f3-5), 4:6(f6-11), 5:5 (f12-17), 6:4 (f22) e 10:0(f23). Coletadas em alíquotas de 8 mL, as frações da coluna foram monitoradas por CCDA, através do qual verificou-se que a fração **f6/7** (193,7 mg), um sólido amarelo, apresentava-se pura. Esta fração foi denominada de **SC-7**.

Fluxograma 1- Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme* (EESC-A)



5.4.3.2 Fracionamento da fração **EESC-D** (Fluxograma 2, p. 225)

Uma alíquota (50 g) da fração DCM (**EESC-D**) foi inicialmente tratada com uma mistura de MeOH/H₂O (1:5) e mantida num refrigerador durante 6 horas para eliminar principalmente a clorofila. O material praticamente livre de clorofila (29,40 g) foi misturado a 40,5 de gel de sílica e cromatografado em coluna de gel de sílica (73,8 g) usando como eluente os solventes DCM, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias de escala de polaridade crescente, obtendo-se as frações sumarizadas na Tabela 37, abaixo.

Tabela 37- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **DCM** (livre de clorofila)

Eluente	Volume (mL)	Fração	Massa (g)	Rendimento (%)
DCM/AcOEt 10%	100	EESC-D1	0,01	
DCM/ AcOEt 20%	200	EESC-D2	0,43	
DCM/ AcOEt 50%	200	EESC-D3	0,64	
AcOEt 100%	200	EESC-D4	1,00	
AcOEt/MeOH 50%	400	EESC-D5	20,68	
MeOH 100%	200	EESC-D6	3,04	
TOTAL			25,80	87,76

5.4.3.2.1 Fracionamento da fração **EESC-D5**

Após análise por CCDA das frações descritas na Tabela 37, à fração **EESC-D5** apresentou-se positiva frente à detecção com reagente de Dragendorff e, portanto, submetida à coluna cromatográfica em gel de sílica. Numa coluna de 500 mL (5,0 cm de diâmetro interno) contendo 68,20 g de gel de sílica, acondicionou-se a fração **EESC-D5** (20,68 g) previamente adsorvida com 30,90 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes DCM, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias de polaridade crescente, coletando-se 38 alíquotas de 50 mL, as quais foram agrupadas após análise por CCDA (Tabela 38, abaixo).

Tabela 38- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **EESC-D5**

Eluente	Volume (mL)	Frações col.	Frações reu.	Massa (g)	Rend. (%)
DCM/AcOEt 50%	100	1-4	1-2	0,02	
DCM/ AcOEt 70%	200	5-8	3-12	0,54	
AcOEt 100%	200	9-12	13-17	0,53	
AcOEt/MeOH 10%	100	13-14	18-20	2,98	
AcOEt/MeOH 20%	200	15-29	21-25	5,99	

AcOEt/MeOH 40%	200	30-34	26-33	2,60
AcOEt/MeOH 40%	200	35-38	34-38	6,41
TOTAL				19,07
				92,21

5.4.3.2.2 Fracionamento da fração *EESC-D5/18-20*: isolamento de *SC-8* a *SC-10*

Dentre as frações obtidas do fracionamento cromatográfico de **EESC-D5**, somente as subfrações **18-20** e **34-38**, ambas constituídas de uma mistura de alcalóides, foram selecionadas para investigação fitoquímica. A subfração **18-20** (2,98 g), após sucessivos tratamentos cromatográficos em coluna do tipo *flash*, usando como eluente mistura binária AcOEt/MeOH forneceu uma fração rica em alcalóide (**fA23-30**; 134,4 mg).

A fração **fA23-30** foi purificada por CLAE, utilizando-se uma coluna de fase reversa semi-preparativa e uma fase móvel composta por MeOH/H₂O (62:38) num fluxo de 4,72 mL/min., durante 12 minutos. O cromatograma (Figura 166, abaixo) exibiu três picos detectados a 242 nm, sendo o pico 1 (t_R 5,97 min; 4,1 mg) denominado **SC-8**, pico 2 (t_R 6,60 min; 4,5 mg;) denominado **SC-9** e pico 3 (t_R 9,12 min; 11,1 mg) denominado **SC-10**.

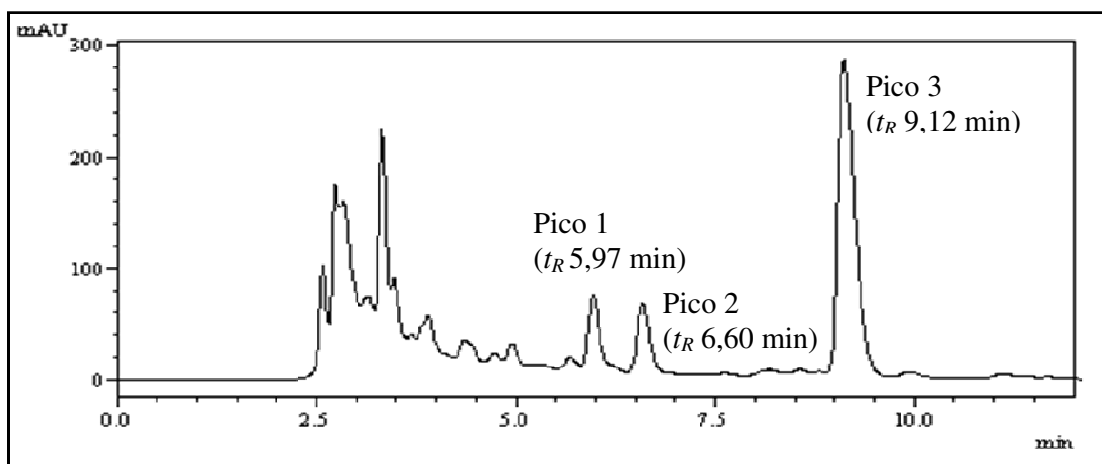


Figura 166- Cromatograma de isolamento das substâncias **SC-8**, **SC-9** e **SC-10**

5.4.3.2.3 Fracionamento da fração *EESC-D5/34-38*: isolamento de *SC-11* a *SC-19*

A fração **EESC-D5/34-38** (6,41 g) mostrou-se semelhante à fração **EESC-D6** (3,04 g), estas frações foram reunidas totalizando 9,45 g de material, no qual foi adsorvida com 10,32 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 63,76 g de gel de sílica numa coluna de 500 mL e 5,0 cm de diâmetro interno. A eluição realizada com

misturas binárias de polaridade crescente dos solventes DCM e MeOH, forneceu 41 frações coletadas com aproximadamente 50 mL, das quais foram reunidas após análise com CCDA e escolhidas para estudo com base na detecção frente ao reagente de Dragendorff (Tabela 39, p. 224).

A fração **11-20** (632,8 mg), dissolvida em 2 mL de MeOH/H₂O (5:5), foi submetida a pré-purificação utilizando-se cartucho de SPE-C18. O cartucho foi eluído com MeOH/H₂O 5:5 (f1-16), 6:4 (f17-24) e 8:2 (f25), resultando em 25 frações com aproximadamente 5 mL, das quais foram agrupadas: f1, f2-3, f4-5, **f6-13**, f14-17 e f18-25, após análise por CCDA com detecção frente ao reagente de Dragendorff.

A fração **f6-13** (221,1 mg), obtida pela MeOH/H₂O 5:5 do cartucho foi purificada por CLAE. A separação, utilizando uma coluna semi-preparativa de fase reversa, foi efetuada isocroticamente com MeOH/H₂O (52:48) 0,3% de TFA, com fluxo de 4,72 mL/min durante 20 minutos e injetando-se alíquotas de 200 µL da amostra dissolvida com a fase móvel usado no processo de separação, numa concentração de 10 mg/1 mL. Foram obtidos 7 picos (Figura 167, abaixo) detectados na faixa de 210-350 nm e registrados com tempos de retenção de 9,65 min (pico 1; 26,5 mg), 11,10 min (pico 2; 13,4 mg), 12,30 min (pico 3; 8,1 mg), 13,12 min (pico 4; 4,0 mg), 14,06 min (pico 4*; 4,5 mg), 16,31 min (pico 5; 18,0 mg) e 18,07 min (pico 6; 8,7 mg). Os picos foram denominados de **SC-5** e **SC-6**, previamente isolado da fração acetato de etila, **SC-11**, **SC-12**, **SC-13**, **SC-14** e **SC-15**, respectivamente.

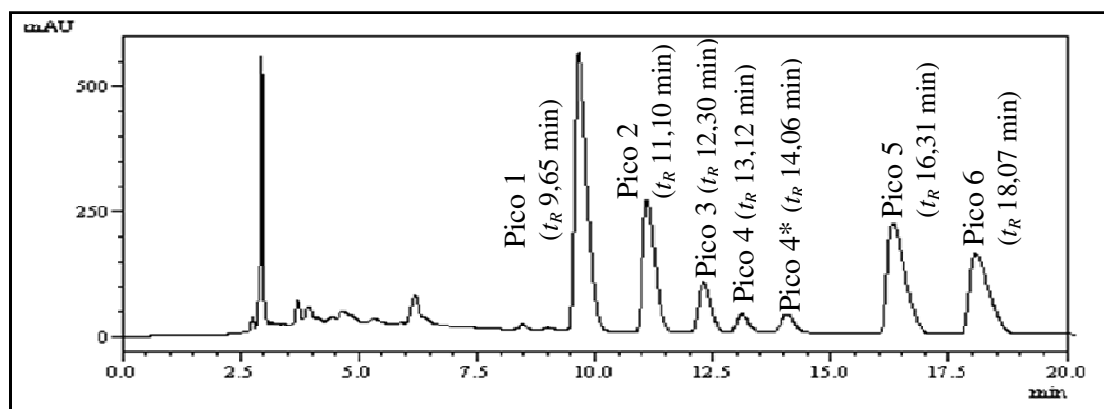


Figura 167- Cromatograma de isolamento das substâncias **SC-11** a **SC-15**

A fração **21-34** (3,30 g), após sucessivos tratamentos cromatográficos em coluna *flash*, usando como eluente mistura binárias DCM/MeOH forneceu uma fração rica em alcalóide (**fA16-21**; 406,7 mg). Esta fração foi dissolvida em 3 mL de MeOH/H₂O (2:8) e cromatografada em cartucho de SPE-C18, utilizando-se como fase móvel um gradiente de

MeOH/H₂O nas proporções 2:8 (f1-11), 4:6 (f12-17) 6:4 (f23-36) 8:2 (f37-38). Coletadas em alíquotas de 5 mL, as frações da coluna foram monitoradas por CCDA, reveladas com reagente de Dragendorff e reunidas da seguinte forma: f1, f2, **f3-6**, f7-9, f10-15, f16-25, f26-36 e f37-38. A subfração (**f3-6**; 91,8 mg) eluída com MeOH /H₂O 2:8 foi selecionada para ser purificada por CLAE.

A subfração (**f3-6**; 91,8 mg) foi submetida a análise por CLAE utilizando coluna semi-preparativa de fase reversa. A separação foi efetuada empregando-se como fase móvel ACN/H₂O (25:75) 0,2% de TFA, com fluxo de 4,72 mL/min e tempo de corrida de 15 minutos. O cromatograma (Figura 168, abaixo), visualizado na faixa de 210-350 nm, mostrou a separação de 4 picos, cujos tempos de retenção foram de 9,51 min (pico 1; 12,9 mg), 10,07 min (pico 2; 4,1 mg), 10,62 min (pico 3; 11,7 mg) e 11,63 min (pico 4; 11,2 mg). Os picos separados foram denominados de **SC-16**, **SC-17** e **SC-18** e **SC-19**, respectivamente.

Tabela 39- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração **EESC-D5/34-38**

Eluente	Volume (mL)	Fração (coletadas)	Frações (reunidas)	Massa (g)	Rend. (%)
DCM/MeOH 10%	700	1-14	1-6	0,15	
DCM/MeOH 15%	300	15-20	7-10	0,25	
DCM/MeOH 20%	400	21-28	11-20	0,63	
DCM/MeOH 30%	400	29-36	21-34	3,30	
DCM/MeOH 50%	300	37-41	35-42	2,84	
MeOH 50%	100	42-43	43	0,99	
TOTAL				8,16	

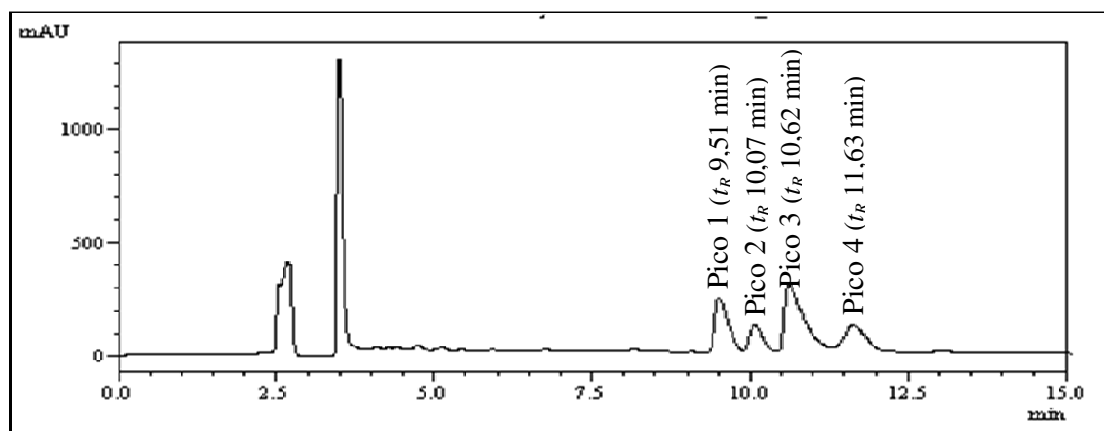
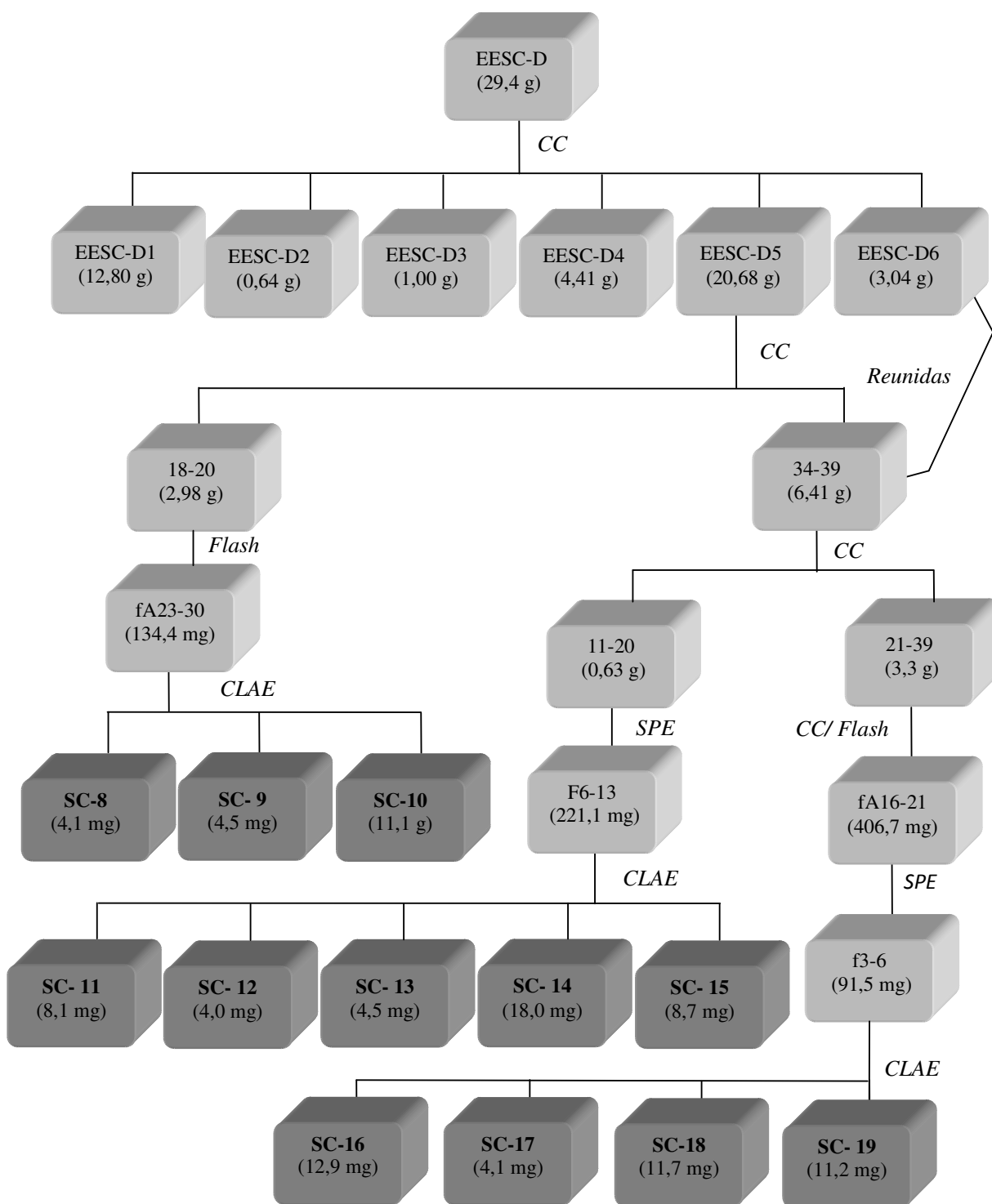


Figura 168- Cromatograma de isolamento das substâncias **SC-16** a **SC-19**

Fluxograma 2- Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração DCM (livre de clorofila) do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme* (**EESC-D**)



5.5 Obtenção do derivado acetilado SC-7a

Uma alíquota do composto SC-7 (20,0 mg) foi dissolvida em piridina (0,5 mL) e misturada a 1 mL de anidrido acético. A mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente por 24 hs sob agitação magnética e depois desse procedimento forneceu o composto SC-7a (28,9 mg).

5.6 Avaliação das atividades farmacológicas

Os compostos majoritários isolados das folhas de *S. campaniforme* (SC-5) (SC-6) e (SC-7) foram submetidos a testes preliminares para avaliação da atividade citotóxica, frente a linhagens de células tumorais humanas: cólon (HCT8), mama (MDA-MB-435), leucemia (HL60) e cérebro (SF295), no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, sob coordenação da Profa. Dra. Letícia Veras Costa-Lotufo (MOSMANN, 1983), e da atividade antiofídica através da inibição das principais alterações locais (miotóxicas, hemorrágicas e necrosantes) induzidas pelo envenenamento com *Bothrops pauloensis* em camundongos, no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, sob orientação da Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro.

A tiramina foi submetida à avaliação do seu potencial sobre o metabolismo de animais com dislipidemia e obesidade, no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal do Ceará, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Gorete Rodrigues de Queiroz.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prospecção química do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme* resultou no isolamento e caracterização estrutural de dezenove compostos, dos quais quatro são derivados fenólicos, enquanto os demais são alcalóides esteroidais, classe de compostos comuns no gênero *Solanum* (Figura 167, p. 227).

Os constituintes químicos obtidos da fração acetato de etila, originada da partição líquido-líquido do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme*, foram identificados como: éster etílico do ácido caféico (**SC-1**), ácido caféico (**SC-2**), canferol-3-rutinosídeo (**SC-3**) e tiramina (**SC-4**), e três novos alcalóides esteroidais de esqueleto solanidano, $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (**SC-5**), $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (**SC-6**) e $3,9\beta$ -dihidroxi- $22\beta,23\beta$ -epoxi-9,10-*seco*-solanida-1,3,5(10)-trieno (**SC-7**).

Da fração diclorometano do extrato etanólico das folhas de *S. campaniforme* foram identificados doze alcalóides esteroidais, sendo quatro de esqueleto espirosolano: 12-acetiloxi-($25S$)- $22\beta N$ -espirosol-4-en-3-ona (**SC-8**), ($25S$)- $22\beta N$ -espirosol-1,4-dien-3-ona (**SC-9**), ($25S$)- $22\beta N$ -espirosol-4-en-3-ona (**SC-10**), 12β -hidroxi-($25S$)- $22\beta N$ -espirosol-4-en-3-ona (**SC-13**) e oito de esqueleto solanidano: $22\beta,23\beta$ -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (**SC-11**), $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-10-epi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (**SC-12**), $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-4-en-3-ona (**SC-14**), $22\beta,23\beta$ -epoxi-solanida-4-en-3-ona (**SC-15**), (*E*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]- $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-imina (**SC-16**), (*E*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]- $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4-dien-3-imina (**SC-17**), (*Z*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]- $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-imina (**SC-18**) e (*Z*)-*N*-[8'(4-hidroxifenil)etil]- $22\alpha,23\alpha$ -epoxi-solanida-1,4-dien-3-imina (**SC-19**).

Todos os alcalóides isolados, exceto **SC-8** e **SC-9**, os quais são relatados como subprodutos da desidrogenação da tomatidina, estão sendo descritos pela primeira vez.

Conhecendo o potencial citotóxico dos alcalóides isolados de *Solanum*, as substâncias **SC-5** a **SC-7** foram submetidas a teste de atividade citotóxica frente às linhagens de células tumorais humanas de cólon (HCT8), mama (MDA-MB-435), leucemia (HL60) e cérebro (SF295), no entanto, nenhum destes compostos mostrou-se ativo. Estes compostos também foram avaliados quanto às suas atividades antiofídicas e apresentaram efeitos interessantes, uma vez que reduziram os efeitos miotóxicos, hemorrágicos e necrosantes induzidos pelo veneno total de *B. pauloensis* em camundongos. Também foi avaliado o potencial da tiramina

sobre o metabolismo de animais com dislipidemia e obesidade apresentando potencial terapêutico relacionado à redução dos níveis de colesterol.

O estudo de fragmentação realizado com os alcalóides esteroidais isolados usando espectrometria de massas seqüencial com ionização por *electrospray* (IES-EM/EM), mostrou que o processo de fragmentação desses compostos envolve, principalmente a abertura dos anéis **B** e/ou **E** como resultado de rearranjos de hidrogênios. A eliminação de radical metila foi observada para **SC-5**, processo impulsionado pela estabilização do elétron desemparelhado por ressonância, gerando um íon diagnóstico que pode ser usado para atribuir a estereoquímica relativa do carbono C-10. No entanto, não foram encontrados íons diagnósticos que possam ser usados para definir a orientação dos grupos epóxido e *p*-hidroxifeniletilamina. Para os espirosolanos foi observado um íon diagnóstico formado pela eliminação de uma molécula de água.

Este estudo também mostrou que as medidas de massas exatas, aliadas as informações do padrão de fragmentação foram úteis para a desreplicação do extrato etanólico bruto das folhas de *S. campaniforme*, permitindo identificar os alcalóides previamente isolados, bem como sugerir a estrutura de dois novos, **SC-20** e **SC-21**.

O padrão de fragmentação proposto neste trabalho para os alcalóides esteroidais poderá ser adotado, em estudos futuros, para análises destes compostos e/ou a identificação de análogos em extratos brutos de outras espécies de *Solanum*. Este tipo de análise pode ser vantajosa na redução de tempo e materiais gastos nas análises convencionais de isolamento e caracterização de compostos conhecidos.

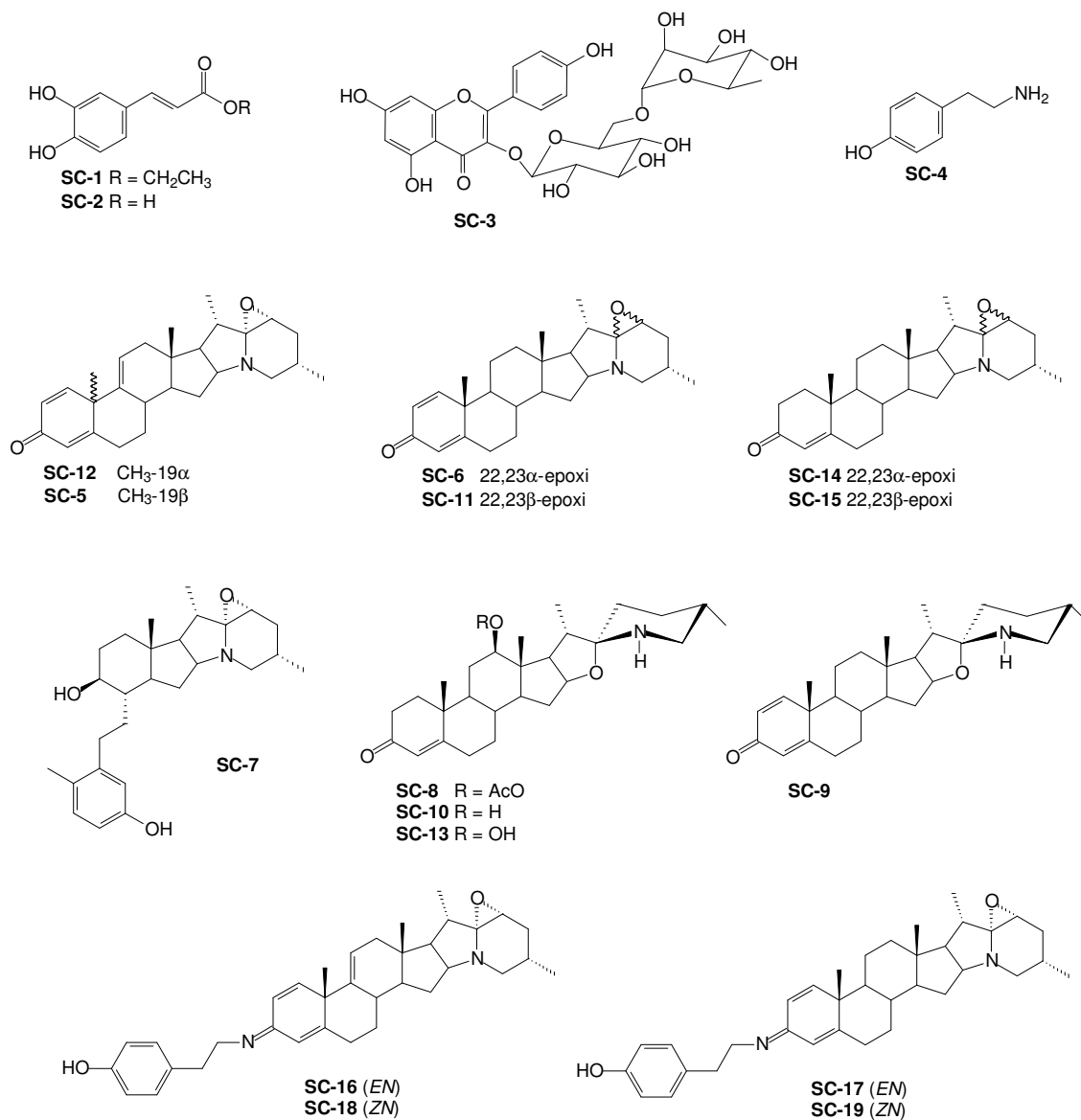


Figura 169- Estruturas dos metabólitos secundários isolados de *S. campaniforme*

REFERÊNCIAS

- ABOUZID, S. *et al.* Steroidal glycoalkaloids from the berries of *Solanum distichum*. **Nat. Prod. Res.**, v. 22, n. 2, p. 147-153, 2008.
- ALDANA, M. V.; LIMA, C. N. Isolation and characterization of a glycoside from fluid extracts of *Solanum americanum* mill. **Afinidad**, v. 56, n. 484, p. 393-396, 1999.
- AL-SOFANY, R. H.; RASHWAN, O. A. A study of coumarins and other constituents of *Solanum lycopersicum* L. growing in Egypt. **Bull. Facul. Pharm.**, v. 39, n. 2, p. 99-101, 2001.
- BAGALWA, J. J. M. *et al.* Evaluation of the biological activity of the molluscicidal fraction of *Solanum sisymbriifolium* against non target organisms. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 767-771, 2010.
- BELIC, I.; SOCIC, H. Microbial dehydrogenation of tomatidine. **J. Steroid. Biochem.**, v. 31, n. 5, p. 843-846, 1972.
- BLUNT, J. W. *et al.* Evolving trends in the dereplication of natural products extracts: New methodology for rapid, small-scale investigation of natural products. **J. Nat. Prod.**, v. 71 p. 159-1599, 2008.
- CAHILL, M. G. *et al.* Elucidation of the mass fragmentation pathways of potato glycoalkaloids and aglycons using Orbitrap mass spectrometry. **J. Mass Spectrom.**, v. 45, p. 1019-1025, 2010.
- CHAKRAVARTY, A. K. *et al.* Studies on Indian medicinal plants. 77. Structure and stereochemistry of some new steroidal alkaloids from *Solanum pseudocapsicum* and *Solanum giganteum* by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **J. Chem. Soc.**, v. 3, p. 467-474, 1984.
- CHAUHAN, K. *et al.* Anticonvulsant activity of solasodine isolated from *Solanum sisymbriifolium* fruits in rodents. **Pharm. Biol.**, v. 49, n. 2, p. 194-199, 2011.
- CHENG, C. R. *et al.* Fragmentation pathways of oxygenated tetracyclic triterpenoids and their application in the qualitative analysis of *Ganoderma lucidum* by multistage tandem mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, v. 25, p. 1323-1335, 2011.
- CHIESA, F. A. F.; MOYNA, P. Alcaloides esteroidales. In SIMÕES, C. M. (Org.). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5^a ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p. 869-883, 2004.
- CHIFUNDERA, K. Livestock disease and traditional medicine in the bush area, Kivu Province, Democratic Republic of Congo. **African Study Monographs**, v.19, n. 1, p. 13-33, 1998.
- CHIVANOV, V. *et al.* The use of ESI-MS, MALDI-MS and PDMS soft-ionization mass spectrometry to study the glycoalkaloids in potato breeding. **Adv. Mass Spectrom.**, v. 15, p. 639-640, 2001.

- COELHO, R. M.; SOUZA, M. C.; SARRAGIOTTO, M. H. Steroidal alkaloid glycosides from *Solanum orbignianum*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 3, p. 893-897, 1998.
- COLMENARES, A. P. *et al.* New steroidal alkaloids from *Solanum hypomalacophyllum*. **Nat. Prod. Commun.**, v. 5, n. 11, p. 1743-1746, 2010.
- CORNELIUS, M. T. F. *et al.* Solasonin and flavonoids isolated from *Solanum crinitum* Lam. **Rev. Bras. Farm.**, v. 85, n. 2, p. 57-59, 2004.
- CORNELIUS, M. T. F. *et al.* Other chemical constituents isolated from *Solanum crinitum* Lam. (Solanaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 12, p. 2211-2219, 2010.
- DANELUTTEA, A. P. *et al.* Divergence of secondary metabolism in cell suspension cultures and differentiated plants of *Piper cernuum* and *P. crassinervium*, **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n. 6B, p. 1425-1430, 2005.
- DELPORTE, C. *et al.* Antipyretic, hypothermic and antiinflammatory activities and metabolites from *Solanum ligustrinum* Lood. **Phytother. Res.**, v. 12, n. 2, p. 118-122, 1998.
- DEWICK, PAUL M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3rd ed. United Kingdom: Wiley, 2009.
- DISTL, M.; WINK, M. Identification and quantification of steroidal alkaloids from wild tuber-bearing *Solanum* species by HPLC and LC-ESI-MS. **Potato Res.**, v. 52, p. 79-104, 2009.
- DRAPER, R. W. *et al.* An unusual dienone-phenol rearrangement product formed during the synthesis of mometasone furoate (Sch 32088.). **Steroids**, v. 63, p. 135-140, 1998.
- EMMANUEL, S. *et al.* Antiinflammatory activity of *Solanum trilobatum*. **Fitoterapia**, v. 77, p. 611-612, 2006.
- FENNER, R. *et al.* Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 42, p. 369-394, 2006.
- FERRER, A. *et al.* Schlechtendamine, a new steroid alkaloid from *Solanum schlechtendalianum* Walp. **Rev. Cub. Quim.**, v. 10, n. 1-2, p. 3-9, 1998.
- FRIEDMAN, M. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. **J. Chromatogr., A**, v. 1054, p. 143-155, 2004.
- FUKUHARA, K.; SHIMIZU, K.; KUBO, I. Arudonine, an allelopathic steroidal glycoalkaloid from the root bark of *Solanum arundo* Mattei. **Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1283-1286, 2004.
- GAN, K. H.; LIN, C. N. A steroidal alkaloid glycoside from *Solanum pseudocapsicastrum*. **Chin. Pharmaceut. J.**, v. 49, n. 5-6, p. 315-320, 1997.

- GILBERT, J. R. *et al.* The central role of mass spectrometry in natural products discovery. Em LEE, M. S. **Integrated strategies for drug discovery using mass spectrometry**, New Jersey: editora JOHN WILEY & SONS, p. 149-188, 2005.
- HOFFMANN, E. STROOBANT, V. **Mass Spectrometry: Principles and Applications**. 3rd ed. England: Wiley, 2007. 286 p.
- IKEDA, T. *et al.* Cytotoxic activity of steroidal glycosides from *Solanum* plants. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 26, n. 8, p. 1198-1201, 2003.
- JENSEN, P. H. *et al.* Potato glycoalkaloids in soil optimizing liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry for quantitative studies **J. Chromatogr., A**, v. 1182, n. 1, p. 65-71, 2008.
- KNAPP, S. *et al.* Solanaceae – a model for linking genomics with biodiversity. **Comp. Funct. Genomics**, v. 5, p. 285-291, 2004.
- KODURU, S. *et al.* Anticancer activity of steroid alkaloids isolated from *Solanum aculeastrum*. **Pharm. Biol.**, v. 45, n. 8, p. 613-618, 2007.
- KODURU, S. *et al.* Antioxidant activity of two steroid alkaloids extracted from *Solanum aculeastrum*. **J. Pharmacol.Toxicol.**, v 2, n. 2, p. 160-167, 2007b.
- LANG, G. *et al.* Evolving trends in the dereplication of natural products extracts: New methodology for rapid, small scale investigation of natural products. **J. Nat.Prod.**,v. 71, p. 1595-1599, 2008.
- LAWSON, D. R. Spectroscopy and MS of solanidine, leptinidine, and acetylleptinidine. Steroidal alkaloids from *Solanum chacoense* Bitter. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, p. 4122-4126, 1997.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 544 p.
- LU, Y.; LUO, J.; KONG, L. Steroidal alkaloid saponins and steroidal saponins from *Solanum surattense*. **Phytochemistry**, v. 72, n. 7, p. 668-673, 2011.
- LUO, X. *et al.* Determination of solasodine in *Solanum nigrum* L. by high-performance liquid chromatography. **Shizhen Guoyi Guoyao**, v. 20, n. 2, p. 273-274, 2009.
- MATOS, F. J. A. **Plantas da Medicina Popular do Nordeste: Propriedades Atribuídas e Confirmadas**. Fortaleza: UFC, 1999. 78p.
- MAURYA, A. *et al.* pH-Zone-refining centrifugal partition chromatography for preparative isolation and purification of steroidal glycoalkaloids from *Solanum xanthocarpum*. **J. Sep. Sci.**, v. 32, n. 18, p. 3126-3132, 2009.

- MORAIS, S. L.; TOMAZ, J. C.; LOPES, N. P. Líquid Chromatography-Tandem mass spectrometric method for determination of the anti-inflammatory compound Vicenin-2 in the leaves of *L. crilloides* Mart. **Biomed. Chromatogr.**, v. 21, p. 925-930, 2007.
- MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.
- NAKAMURA, S. *et al.* Bioactive saponins and glycosides. Part XXX. Steroidal saponins and pseudoalkaloid oligoglycoside from Brazilian natural medicine, "fruta do lobo" (fruit of *Solanum lycocarpum*). **Phytochemistry**, v. 69, n. 7, p. 1565-1572, 2008.
- NGUYEN, H. T. Two steroidal alkaloids, solansonine and solamargine, from *Solanum erianthum* D. Don. **Tap Chi Duoc Hoz**, v. 48, n. 10, p. 31-36, 2008.
- NINO, J.; CORREA, Y. M.; MOSQUERA, O. M. Biological activities of steroidal alkaloids isolated from *Solanum leucocarpum*. **Pharm. Biol.**, v. 47, n. 3, p. 255-259, 2009.
- PANDURANGAN, A.; KHOSA, R. L.; HEMALATHA, S. Antinociceptive activity of steroid alkaloids isolated from *Solanum trilobatum* Linn. **J. Asian Nat. Prod. Res.**, v. 12, n. 8, p. 691-695, 2010.
- POMILIO, A. B.; FALZONI, E. M.; VITALE, A. A. Toxic chemical compounds of the Solanaceae. **Nat. Prod. Commun.**, v. 3, n. 4, p. 593-628, 2008.
- RADEGLIA, R.; ADAM, G.; RIPPERGER, H. ¹³C NMR Spectroscopy of *Solanum* steroid alkaloids. **Tetrahedron Lett.**, v. 18, n. 11, 903-906, 1977.
- RIPPERGER, H. *Solanum* steroid alkaloids - an update. **Alkaloids: Chem. Biol. Persp.**, v. 12, p. 103-185, 1998.
- SAGREDO, B. *et al.* Linkage analysis of a rare alkaloid present in a tetraploid potato with *Solanum chacoense* background. **Theor. Appl. Genet.**, v. 122, n. 3, p. 471-478, 2011.
- SHAKYA, R.; NAVARRE D. A. LC-MS analysis of solanidane glycoalkaloid diversity among tubers of four wild potato species and three cultivars (*Solanum tuberosum*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 6949-58, 2008.
- SHANKER, K. Simultaneous determination of three steroidal glycoalkaloids in *Solanum xanthocarpum* by high performance thin layer chromatography. **J. Pharm. Biom. Anal.**, v. 54, n. 3, p. 497-502, 2011.
- SILVA, T. M. S.; AGRA, M. F.; BHATTACHARYYA, J. Chemotaxonomic investigation of two species of *Solanum* Sect. Brevantherum Seithe (Solanaceae). **Acta Horticult.**, v. 745, p. 295-300, 2007.
- SILVA, T. M. S. Steroidal glycoalkaloids and molluscicidal activity of *Solanum asperum* rich. Fruits. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 19, n. 5, p. 1048-1052, 2008.

- SILVA, T. M. S. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (SOLANACEAE). **Quím. Nova**, v. 26, n. 4, p. 517-522, 2003.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7^o. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.
- STEHMANN, J. R. *et al.* *Solanaceae in Flora Brasiliensis*. Disponível em: <<http://florabrasiliensis.cria.org.br>>. Acesso em: 27 out. 2010.
- SLIMESTAD, R.; FOSSEN, T.; VERHEUL, M. J. The flavonoids of tomatoes. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 2436-2441, 2008.
- SMITH, S. W. *et al.* Solanaceous steroidal glycoalkaloids and poisoning by *Solanum torvum*, the normally edible susumber berry. **Toxicon**, v. 52, n. 6, p. 667-676, 2008.
- SOUZA, A. E. *et al.* Cytotoxic activities against Ehrlich carcinoma and human K562 leukemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 13, n. 6, p. 838-842, 2002.
- STOBIECKI, M. *et al.* Monitoring changes in anthocyanin and steroid alkaloid glycoside content in lines of transgenic potato plants using liquid chromatography/mass spectrometry. **Phytochemistry**, v. 62, p. 959-969, 2003.
- SUN, L. *et al.* A lysosomal-mitochondrial death pathway is induced by solamargine in human K562 leukemia cells. **Toxicol. in Vitro**, v. 24, n. 6, p. 1504-1511, 2010.
- SUTHAR, A. C.; MULANI, R. M.; GULATI, V. A HPTLC method for estimation of solasodine and diosgenin in *Solanum xanthocarpum* Schrad. and Wendl. **Nat. Prod. Indian J.**, v. 4, n. 1, p. 108-112, 2008.
- TIOSSI, R. F. J. **Obtenção de extrato padronizado de *Solanum lycicarpum* A. St.-Hil. contendo glicoalcalóides, desenvolvimento de método analítico por CLAE e de forma farmacêutica de uso tópico**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade São Paulo-USP. São Paulo, 2010.
- USUBILLAGA, A. *et al.* Steroidal alkaloids from *Solanum sycophanta*. **Phytochemistry**, v. 44, p. 537-543, 1997.
- WANYONYI, A. W. *et al.* Bioactive steroidal alkaloid glycosides from *Solanum aculeastrum*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 1, p. 79-84, 2002.
- WANYONYI, A. W.; TARUS, P. K.; CHHABRA, S. C. A novel glycosidic steroidal alkaloid from *Solanum aculeastrum*. **Bull. Chem. Soc. Ethiop.**, v 17, n 1, p. 61-66, 2003.
- WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**. v. 64, p. 3-19, 2003.

YOSHIKAWA, M. *et al.* Structures of steroidal alkaloid oligoglycosides, robeneosides A and B, and antidiabetogenic constituents from the brazilian medicinal plant *Solanum lycocarpum*. **J. Nat. Prod.**, v. 70, n. 2, p. 210-214, 2007.

JIANG, Z. H. *et al.* L Hemiterpene Glucosides with anti-platelet aggregation activities from *Ilex pubescens* **J. Nat. Prod.** v. 68, p. 397-399, 2005.

ZYWICKI, B. *et al.* Comparison of rapid liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry methods for determination of glycoalkaloids in transgenic field-grown potatoes. **Anal. Biochem.**, v. 336, p. 178-186, 2005.