

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**QUÍMICA DE  
*Acosmium dasycarpum*:  
IDENTIFICAÇÃO DE ALCALÓIDES  
QUINOLIZIDÍNICOS POR CG-EM**

**UIR SANTANA DE FIGUEIREDO\***

Tese apresentada como parte  
dos requisitos para a obtenção do  
título de DOUTOR EM CIÊNCIAS,  
área de concentração: QUÍMICA  
ORGÂNICA

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira

\*Bolsista CAPES

São Carlos – SP

2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

F475qa

Figueiredo, Uir Santana de.

Química de *Acosmium dasycarpum* : identificação de alcalóides quinolizidínicos por CG-EM / Uir Santana de Figueiredo. -- São Carlos : UFSCar, 2009.  
208 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Produtos naturais. 2. Alcalóides. 3. Fabaceae. 4. *Acosmium dasycarpum*. 5. Cromatografia gasosa. I. Título.

CDD: 547.3 (20<sup>a</sup>)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Departamento de Química  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
Curso de Doutorado

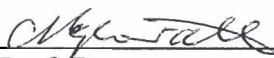
---

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado do candidato Uir Sant'Ana de Figueiredo realizada em 17 de julho de 2009:*



---

Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira



---

Prof. Dr. Mario Geraldo de Carvalho



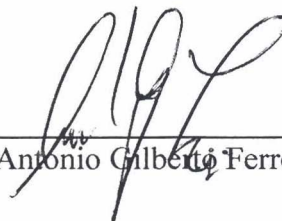
---

Prof. Dr. Luiz Alberto Beraldo de Moraes



---

Profa. Dra. Maria Fatima das G. F. da Silva



---

Prof. Dr. Antonio Gilberto Ferreira

Dedico este trabalho a minha mãe Maria Josefina de Souza Figueiredo (*in memorium*), que na nossa breve convivência me ensinou a encontrar forças para superar as adversidades da vida...a minha filha Marcela como incentivo.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira, pela dedicação na orientação, confiança, estímulo, amizade e por sua valiosa contribuição na realização deste trabalho.

Aos demais Professores do Grupo de Produtos Naturais, Dra. Maria Fátima das G.F. da Silva, Dr. João B. Fernandes e Dr. Edson R. Filho pela preciosa colaboração e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Antonio G. Ferreira do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, por seus ensinamentos, estímulo e, sobretudo pela amizade

Aos meus irmãos pela união nos momentos tristes e alegres, pelos momentos de descontração, pela convivência e apoio.

Aos Colegas, amigos e funcionários do Departamento de Química da UFMT, pela amizade, incentivo e serviços prestados.

Aos amigos do Grupo de Produtos Naturais, que nomeá-los aqui sem cometer falhas seria impossível, agradeço a todos pela amizade, convivência e ensinamentos que contribuíram de diversas formas para a realização deste trabalho.

Ao corpo técnico do DQ/UFSCar, em especial a Luciana Vizotto e Valdir Vaz pela colaboração e amizade e às secretárias do PPGQ pela disposição em ajudar e pela responsabilidade.

A CAPES-UFMT, pela concessão da bolsa e pela liberação para realização deste trabalho, que foi de fundamental importância para o meu crescimento pessoal e profissional.

A todos que, de alguma forma ajudaram na realização deste trabalho.

## Resumo

QUÍMICA DE *Acosmium dasycarpum*: IDENTIFICAÇÃO DE ALCALÓIDES QUINOLIZIDÍNICOS POR CG-EM - O presente trabalho relata a identificação de alcalóides quinolizidínicos (AQ) além de outros metabólitos secundários não alcaloídicos encontrados nessa planta, e tece comentários sobre o provável caminho biossintético de alcalóides quinolizidínicos. O estudo fitoquímico resultou no isolamento de 26 substâncias sendo 9 alcalóides quinolizidínicos: homo-6-epipodopetalina, acosmina, acosminina, dasycarpumina, bowdequina, panascomina; mistura de lupanina e lupanocosmina e 24-metil-homo-6-epipodopetalina, esta última é nova na literatura, duas estiril pironas: 12-O-desmetiliangonina, 12-O- $\beta$ D-glicopiranosil demetiliangonina; dois triterpenos: lupenona e lupeol, este em grande quantidade e a mistura dos esteróides: sistosterol, campesterol e estigmasterol, além do ácido clorogênico: ácido 5-O-cafeoilquínico. Foram isolados também o derivado 2,3-diidrobenzofurano: bowdenol e uma mistura contendo oito ésteres de ácidos graxos de bowdenol: miristato de bowdenila, pentadecanoato de bowdenila, palmitoleato de bowdenila, palmitato de bowdenila, margarato de bowdenila, linoleato de bowdenila, oleato de bowdenila e estearato de bowdenila.

O estudo do extrato metanólico da raiz de *Acosmium dasycarpum* utilizando CG-EM, permitiu identificar 30 alcalóides quinolizidínicos:  $\alpha$ -isoesparteina,  $\beta$ -isoesparteina, esparteina, 5,6 diidroesparteina, amodendrina, 4-hidroxiesparteina, N-metiangustifolina, lupanina, afilina, multiflorina, homo-6-epipodopetalina, 18-epiptantina, piptantina, podopetalina, homo-6-epipodopetalina, homoormosanina, ormosanina, homo-18-epiamazonina, homo-18-epiptantina, homopodoetalina, homopiptantina, lupanocosmina, dasycarpumina, acosmina, panascomina, acosminina, santanina, isodasinina, dasinina e dasicosmina, as quatro últimas são substâncias inéditas. Foi sugerida uma provável biogênese para os alcalóides quinolizidínicos com esqueleto lupínico, diaza-adamantano e acosmínico.

## Abstract

CHEMISTRY OF *Acosmium dasycarpum*: IDENTIFICATION OF QUINOLIZIDINE ALKALOIDS BY GC-MS - This work reports the identification of quinolizidine alkaloids (QA) and other non-alkaloidal secondary metabolites found in plants, and a discussion on the likely biosynthetic pathway of quinolizidine alkaloids. Phytochemical study of *A. dasycarpum* resulted in the isolation of 26 substances, 9 of them quinolizidine alkaloids: homo-6-epipodopetaline, acosmine, acosminine, dasycarpumine, bowdechine, panascomine, a mixture of lupanine and lupanocosmine and 24-methyl-homo-6-epipodopetaline, the later reported for the first time in the literature; two styryl  $\alpha$ -pyrones: 12-O-desmethylyangonine and 12-O- $\beta$ D-glucopyranosyldesmethylyangonine; two triterpenes: lupenone and lupeol, the later in large amounts; a mixture of steroids: sistosterol, campesterol and stigmasterol, and a chlorogenic acid: 5-O-cafeoilquinic acid. It was also isolated 2,3-dihydrobenzofuran derivatives: bowdenol and a mixture containing eight fatty acid esters of bowdenol, bowdenyl myristate, pentadecanoate, palmitoleate, palmitate, margarate, linoleate, oleate and stearate esters. The investigation of the methanol extract from the roots of *Acosmium dasycarpum* using GC-MS, led to detect 30 quinolizidine alkaloids:  $\alpha$ -isosparteine,  $\beta$ -sparteine, 5,6 dehydrosparteine, sparteine, ammodendrine, 4-hydroxysparteine, N-methyl angustifoline, lupanine, aphylline, multiflorine, homo-6-epipodopetaline, 18-epiptanthine, piptanthine, podopetaline, ormosanine, homosweetinine, homoormosanine, homo-18-epiamazonine, homopiptanthine, homo-18-epiptanthine, homopodopetaline, lupanocosmine, dasycarpumine, dasycosmine, acosmine, panascosmine and acosminine, santanine, isodasinine, dasinine and dasycosmine, the last four are compounds are reported here for the first time. It has been suggested a possible biogenesis for the quinolizidine alkaloids with lupine, acosmine and diazo-adamantane skeleta.

## LISTAS DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.

$\delta$	Deslocamento químico em parte por milhão
$\delta_c$	Deslocamento químico RMN <sup>13</sup> C
$\phi$	Diâmetro
$\mu\text{L}$	Microlitro
<i>d</i>	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
dt	Duplo tripleto
h	Altura
s	Singleto
t	Tripleto
Ac.	Acetil
AcOEt	Acetato de etila
AQ	Alcalóides quinolizidínicos
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CEC	Cromatografia de exclusão em coluna
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
COSY	Correlation Spectroscopy
DCM	Diclorometano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetil sulfóxido
DMSO <sub>-d6</sub>	Dimetil sulfóxido deuterado
EM	Espectro de Massas
eV	Elétrons volts
ES	Electrospray ionization
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence



Hz	Hertz
IE	Impacto Eletrônico
J	Constante de acoplamento (em Hz)
<i>m</i>	Multiplete
Me	Metila
MEO	Metoxila
MeOH	Metanol
MHz	Mega-hertz
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotideo
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotideo reduzido
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
pH	Potencial hidrogeniônico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
SAM	S-adenosil metionina
SNC	Sistema Nervoso Central
t <sub>R</sub>	Tempo de retenção

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

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1	Estruturas de AQ biologicamente ativos	5
FIGURA 1.2:	AQ do tipo esparteínico encontrados em <i>Acosmium</i>	7
FIGURA 1.3:	AQ do tipo ormosínico encontrados em <i>Acosmium</i>	8
FIGURA 1.4:	AQ do tipo acosmínico e diazaadamantano encontrados em <i>Acosmium</i>	9
FIGURA 1.5:	Estruturas químicas das substâncias isoladas de <i>Acosmium</i>	10
FIGURA 1.6:	Distribuição de <i>Acosmium dasycarpum</i>	11
FIGURA 17:	Foto <i>Acosmium dasycarpum</i>	12
FIGURA 1.8:	Estruturas químicas das substâncias isoladas de <i>Acosmium dasycarpum</i>	13
FIGURA 3.2.1.1:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>1</b>	26
FIGURA 3.2.1.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> 100 MHz)	26
FIGURA 3.2.1.3:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> 400 MHz)	27
FIGURA 3.2.1.4:	Mapa de contorno de HSQC da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> 400 MHz)	27
FIGURA 3.2.1.5:	Mapa de contorno ampliado de HSQC da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> 400MHz)	28
FIGURA 3.2.1.6:	Três representações da homo-6-epipodopetalina.	29
FIGURA 3.2.2.1:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>2</b>	36
FIGURA 3.2.2.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância <b>2</b> (CDCl <sub>3</sub> 100MHz)	36
FIGURA 3.2.2.3:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>2</b> (CDCl <sub>3</sub> 400 MHz)	37
FIGURA 3.2.2.4:	Espectro DEPT 135 da substância <b>2</b> (CDCl <sub>3</sub> 100MHz)	37
FIGURA 3.2.2.5:	Mapa de contorno de HSQC, da substância <b>2</b> (CDCl <sub>3</sub> 400MHz)	38
FIGURA 3.2.2.6:	Espectro COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H. da substância <b>2</b> (CDCl <sub>3</sub> 400MHz)	39
FIGURA 3.2.2.7:	Mapa de contorno de HMBC da substância <b>2</b> (CDCl <sub>3</sub> 400MHz)	40
FIGURA 3.2.2.8:	Três representações da 24-metilomo-6-epipodopetalina.	34
FIGURA 3.2.3.1:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>3</b>	48
FIGURA 3.2.3.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância <b>3</b> (CDCl <sub>3</sub> 100MHz)	48
FIGURA 3.2.3.3:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>3</b> (400 MHz CDCl <sub>3</sub> )	49
FIGURA 3.2.3.4	Mapa de contorno de HSQC (HSQC 400 CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>3</b>	49

FIGURA 3.2.3.4A:	Expansão mapa de contorno de HSQC (HSQC 400 CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>3</b>	50
FIGURA 3.2.3.5	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>3</b>	
FIGURA 3.2.4.1:	(A) Cromatograma da substância <b>4</b> (B) Espectros de massas (IE = 70 eV) da substância <b>4</b>	60
FIGURA 3.2.4.5:	Espectro de massas (IE = 70 eV) do derivado acetilado da substância <b>4a</b>	60
FIGURA 3.2.4.2:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>4</b>	61
FIGURA 3.2.4.3:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>4</b>	61
FIGURA 3.2.4.4:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>4</b>	62
FIGURA 3.2.4.6:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>4</b> Com variação de temperatura (25, 40 e 50°C).	63
FIGURA 3.2.4.7:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>4</b> a 50°C	64
FIGURA 3.2.4.8:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>4</b> a 40°C	64
FIGURA 3.2.5.1:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>5</b>	70
FIGURA 3.2.5.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>5</b>	70
FIGURA 3.2.5.3:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>5</b>	71
FIGURA 3.2.5.4:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>5</b>	71
FIGURA 3.2.6.1:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>6</b>	77
FIGURA 3.2.6.2:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>6</b>	78
FIGURA 3.2.6.3:	Espectro de COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>6</b>	78
FIGURA 3.2.6.4:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>6</b>	79
FIGURA 3.2.6.5:	Projeção do <sup>13</sup> C do experimento de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>6</b>	79
FIGURA 3.2.6.6:	Mapa de contorno de HMBC (400MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>6</b>	80
FIGURA 3.2.6.7:	Mapa de contorno de NOESY (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>6</b>	81
FIGURA 3.2.7.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>7</b>	87

FIGURA 3.2.7.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>7</b>	87
FIGURA 3.2.7.3:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>7</b>	88
FIGURA 3.2.7.4:	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>7</b>	89
FIGURA 3.2.8.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da mistura <b>8 e 9</b> .	97
FIGURA 3.2.8.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da mistura <b>8 e 9</b> .	97
FIGURA 3.2.8.3:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da mistura <b>8 e 9</b>	98
FIGURA 3.2.8.4:	Ampliação do mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da mistura <b>8 e 9</b>	98
FIGURA 3.2.8.5:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>8</b>	99
FIGURA 3.2.8.6:	Cromatograma da mistura <b>8 e 9</b>	99
FIGURA 3.2.9.1	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>9</b>	99
FIGURA 3.2.10.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz DMSO) da substância <b>10</b>	104
FIGURA 3.2.10.2:	Espectro de COSY <sup>1</sup> H - <sup>1</sup> H (400 MHz DMSO) substância <b>10</b>	104
FIGURA 3.2.10.2A:	Expansão do espectro de COSY <sup>1</sup> H - <sup>1</sup> H (400 MHz DMSO) da substância <b>10</b>	105
FIGURA 3.2.10.3:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz DMSO) da substância <b>10</b>	105
FIGURA 3.2.10.4:	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz DMSO) da substância <b>10</b>	106
FIGURA 3.2.11.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz MeOD) da substância <b>11</b>	109
FIGURA 3.2.11.2:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz MeOD) da substância <b>11</b>	109
FIGURA 3.2.11.3:	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz MeOD) da substância <b>11</b>	110
FIGURA 3.2.11.4:	Espectro de massas (ES+) da substância <b>11</b>	110
FIGURA 3.2.12.1:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>12</b>	113
FIGURA 3.2.12.2:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>12</b>	115
FIGURA 3.2.12.3:	Espectro de COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>12</b>	116
FIGURA 3.2.12.4:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>12</b>	117
FIGURA 3.2.12.5:	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>12</b>	118

FIGURA 3.2.13.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) mistura de substância <b>13-20</b> .	123
FIGURA 3.2.13.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) mistura de substância <b>13-20</b> .	123
FIGURA 3.2.13.3:	Espectro de COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H(400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) mistura de substância <b>13-20</b> .	124
FIGURA 3.2.13.4:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) mistura de substância <b>13-20</b> .	124
FIGURA 3.2.13.5:	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) mistura de substância <b>13-20</b> .	125
FIGURA 3.2.13.6:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>13</b>	125
FIGURA 3.2.13.7:	Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos oriundos da mistura <b>13-20</b> . <b>A)</b> Cromatograma sem alteração; <b>B)</b> Cromatograma expandido	126
FIGURA 3.2.13.8:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>14</b>	126
FIGURA 3.2.13.9:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>15</b>	127
FIGURA 3.2.13.10:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>16</b>	127
FIGURA 3.2.13.11:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>17</b>	127
FIGURA 3.2.13.12:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>18</b>	128
FIGURA 3.2.13.13:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>19</b>	128
FIGURA 3.2.13.14:	Espectro de massas (IE = 70 eV) da substância <b>20</b>	128
FIGURA 3.2.21.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz MeOD) da substância <b>21</b>	134
FIGURA 3.2.21.2:	Espectro de COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (400 MHz MeOD) da substância <b>21</b>	135
FIGURA 3.2.21.3:	Mapa de contorno de HSQC (400 MHz MeOD) da substância <b>21</b>	136
FIGURA 3.2.21.4:	Mapa de contorno de HMBC (400 MHz MeOD) da substância <b>21</b>	137
FIGURA 3.2.22.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>22</b>	140
FIGURA 3.2.22.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>22</b>	140
FIGURA 3.2.22.3:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da substância <b>22</b>	141
FIGURA 3.2.23.1:	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>23</b>	143
FIGURA 3.2.23.2:	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz CDCl <sub>3</sub> ) da substância <b>23</b>	143
FIGURA 3.2.23.3:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da substancia <b>23</b>	145
FIGURA 3.3.1.1:	Espectro de massas dos três estereoisômeros da esparteina	150

FIGURA 3.4.1.1:	Cromatograma da fração DCA	155
FIGURA 3.4.2:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>30</b> B) substância <b>32</b> C) substância <b>8</b> D) substância <b>41</b>	157
FIGURA 3.4.3:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>39</b> B) substância <b>34</b> C) substância <b>36</b> D) substância <b>43</b>	158
FIGURA 3.4.4:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>5</b> B) substância <b>6</b>	159
FIGURA 3.4.5:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>4</b> B) substância <b>48</b>	159
FIGURA 3.4.6:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>47</b> B) substância <b>3</b> C) substância <b>9</b> D) substância <b>4</b>	160
FIGURA 3.4.7:	Cromatograma da fração DCE	161
FIGURA 3.4.8:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>29</b> B) substância <b>28</b> C) substância <b>33</b> D) substância <b>27</b>	163
FIGURA 3.4.9:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>42</b> B) substância <b>38</b>	163
FIGURA 3.4.10:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>1</b> B) substância <b>40</b> C) substância <b>36</b>	164
FIGURA 3.4.11:	Cromatograma da fração MCA	166
FIGURA 3.4.12:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>45</b> B) substância <b>44</b>	166
FIGURA 3.4.13:	Cromatograma da fração MCE	168
FIGURA 3.4.14:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>31</b> . B) substância <b>49</b>	168
FIGURA 3.4.15:	Cromatograma da fração MEA	170
FIGURA 3.4.16:	Espectro de massas (IE – 70 eV) da: A) substância <b>35</b> B) substância <b>37</b>	170
FIGURA 3.4.17:	Cromatograma da fração MEE	172

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1:	Exemplos de alcalóides quinolizidínicos com atividade biológica	5
TABELA 1.2:	Utilização popular de algumas espécies de <i>Acosmium</i>	6
TABELA 3.2.1.1:	Comparação $\delta_C$ de <b>1</b> com as substâncias <b>38</b> , <b>35</b> e <b>1</b> (literatura)	23
TABELA 3.2.1.2:	Correlações a $^1J$ para a substância <b>1</b>	24
TABELA 3.2.2.1	Correlações a $^1J$ para a substância <b>2</b>	31
TABELA 3.2.2.2	Comparação $\delta_C$ de <b>2</b> com a substância <b>1</b>	32
TABELA 3.2.3.1	Comparação $\delta_C$ de <b>3</b> com as substâncias <b>30</b> e <b>9</b> .	42
TABELA 3.2.3.2	Correlações a $^1J$ para a substância <b>3</b>	43
TABELA 3.2.4.1	Correlações a $^1J$ para a substância <b>4</b>	52
TABELA 3.2.4.2	Comparação de $\delta_C$ de <b>4</b> com a substância <b>3</b> ; e substância ( <b>52</b> )	53
TABELA 3.2.4.3	$\delta_C$ Confômeros <b>V</b> e <b>VI</b> do composto ( <b>4</b> )	57
TABELA 3.2.5.1	Comparação $\delta_C$ de <b>5</b> com substância <b>3</b>	66
TABELA 3.2.5.2	Correlações a $^1J$ para a substância <b>5</b>	67
TABELA 3.2.6.1	Dados de RMN $^{13}C$ e RMN $^1H$ da substância <b>6</b> .	76
TABELA 3.2.7.1	Dados de RMN $^1H$ de <b>6</b> , <b>7</b> e bowdequina (literatura)	85
TABELA 3.2.7.2	Dados de RMN $^{13}C$ de <b>6</b> , <b>7</b> e bowdequina (literatura)	86
TABELA 3.2.8.1	Dados de RMN $^{13}C$ da substância <b>8</b>	91
TABELA 3.2.8.2	Dados de RMN $^1H$ da substância <b>8</b> .	92
TABELA 3.2.9.1	Dados de RMN $^1H$ da substância <b>9</b>	95
TABELA 3.2.9.2	Dados de RMN $^{13}C$ da substância <b>9</b>	96
TABELA 3.2.10.1	Dados espectroscópicos de <b>10</b> obtidos e da literatura.	103
TABELA 3.2.11.1	Dados espectroscópicos de <b>11</b>	108
TABELA 3.2.12.1	Dados espectroscópicos de <b>12</b> obtidos e da literatura	114
TABELA 3.2.13.1	Ácidos graxos identificados oriundos da mistura <b>13-20</b>	121
TABELA 3.2.13.2	Dados espectroscópicos de bowdenila e substância <b>12</b>	122
TABELA 3.2.21.1	Dados de RMN de $^1H$ da substância <b>21</b> e comparação com a literatura	132
TABELA 3.2.21.2	Dados de RMN de $^{13}C$ da substância <b>21</b> e comparação com a literatura	133

TABELA 3.2.22.1	Dados espectroscópicos RMN <sup>13</sup> C da substância <b>22</b>	139
TABELA 3.2.23.1	Dados espectroscópicos RMN <sup>13</sup> C da substância <b>23</b>	144
TABELA 3.4.1	Relação de AQ encontrados na fração DCA	156
TABELA 3.4.2	Relação de AQ encontrados na fração DCE	162
TABELA 3.4.3	Relação de AQ encontrados na fração MCA	165
TABELA 3.4.4	Relação de AQ encontrados na fração MCE	167
TABELA 3.4.5.	Relação de AQ encontrados na fração MEA	169
TABELA 3.4.6.	Relação de AQ encontrados na fração MEE	171
TABELA 3.4.7	Dados de EM dos alcalóides quinolizidínicos analisado por CG-EM	173



## LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 3.2.1.1	Proposta de fragmentação de massas para <b>1</b>	25
ESQUEMA 3.2.2.1	Proposta de fragmentação de massas para <b>2</b>	35
ESQUEMA 3.2.3.1	Correlações via HMBC para o composto <b>3</b>	45
ESQUEMA 3.2.3.2	Equilíbrio rotacional em <b>3</b>	46
ESQUEMA 3.2.3.3	Proposta de fragmentação de massas para <b>3</b> .	47
ESQUEMA 3.2.4.3	Efeito $\gamma$ gauche para $13\alpha$ e $13\beta$	54
ESQUEMA 3.2.4.4	Equilíbrio rotacional observado em <b>4</b>	55
ESQUEMA 3.2.4.5	Confômeros da $13\alpha$ - hidroxiosmina	56
ESQUEMA 3.2.4.1	Proposta de fragmentação de massas para <b>4</b>	58
ESQUEMA 3.2.4.2	Proposta de fragmentação de massas para derivado acetilado <b>4a</b>	59
ESQUEMA 3.2.5.1	Proposta de fragmentação de massas para <b>5</b>	69
ESQUEMA 3.2.6.2	Correlações via COSY para a substância <b>6</b>	73
ESQUEMA 3.2.6.3	Correlações via HMBC para a substância <b>6</b>	74
ESQUEMA 3.2.6.4	Correlações via NOESY para a substância <b>6</b>	74
ESQUEMA 3.2.6.5	Correlações via NOESY para a substância <b>6</b>	75
ESQUEMA 3.2.6.1	Proposta de fragmentação de massas para <b>6</b> .	77
ESQUEMA 3.2.7.1	Correlações via HMBC para a substância <b>7</b>	83
ESQUEMA 3.2.7.2	Correlações via HMBC para a substância <b>7</b>	84
ESQUEMA 3.2.8.1	Proposta de fragmentação de massas para <b>8</b>	93
ESQUEMA 3.2.9.1	Equilíbrio rotacional observado em <b>9</b>	95
ESQUEMA 3.2.9.2	Proposta de fragmentação de massas para <b>9</b>	100
ESQUEMA 3.2.10.1	Correlações via HMBC para a substância <b>10</b>	102
ESQUEMA 3.2.10.2	Correlações via HMBC para a substância <b>10</b>	103
ESQUEMA 3.2.12.1	Correlações via COSY para o anel dihidrofurano	112
ESQUEMA 3.2.12.2	Correlações via HMBC para a substância <b>12</b>	113
ESQUEMA 3.2.13.1	Correlações via HMBC para a mistura <b>13-20</b>	119
ESQUEMA 3.2.13.2	Rearranjo do tipo McLafferty para ésteres metílicos de ácidos graxos	120
ESQUEMA 3.2.21.1	Correlações via COSY para a substância <b>21</b>	130
ESQUEMA .3.3.1	Partição dos extratos MeOH e Diclorometano	148

ESQUEMA 3.3.1.1	Modelo de fragmentação de massas para o esqueleto esparteínico	149
ESQUEMA 3.3.2.1	Modelo de fragmentação de massas para o esqueleto homoormosínico	151
ESQUEMA 3.3.2.2	Modelo de fragmentação de massas para o esqueleto ormosínico	152
ESQUEMA 3.3.3.1	Modelo de fragmentação de massas para o esqueleto acosmínico	153
ESQUEMA 3.3.4.1	Modelo de fragmentação de massas para o esqueleto diazaadamantano	154
ESQUEMA 3.5.1	Diferentes tipos de alcalóides quinolizidínicos de Fabaceae	176
ESQUEMA 3.5.2	Possível rota biogenética para a o esqueleto esparteínico	177
ESQUEMA 3.5.3	Possível rota biogenética para a esparteina	178
ESQUEMA 3.5.4	Possível rota biogenética para o esqueleto ormosínico	179
ESQUEMA 3.5.5	Possível rota biogenética para o esqueleto ormosínico hexacíclico	180
ESQUEMA 3.5.6	Possível rota biogenética para a panascomina	181
ESQUEMA 3.5.7	Possível rota biogenética para a Dasicarpumina	182
ESQUEMA 3.5.8	Possível rota biogenética para a acosmina	183
ESQUEMA 4.3.1	Obtenção dos extratos hexânicos, diclorometânicos e metanólicos da raiz da <i>Acosmium dasycarpum</i>	189
ESQUEMA 4.3.2 –	Metodologia utilizada no fracionamento do EH.	189
ESQUEMA 4.3.2	Metodologia utilizada no fracionamento do ED	190
ESQUEMA 4.3.3	Metodologia utilizada no fracionamento do EM	193
ESQUEMA 4.3.4	Particionamento do extrato metanólico	195
ESQUEMA 4.3.5	Metodologia utilizada no fracionamento do FAE	196
ESQUEMA 4.3.6	Metodologia utilizada no fracionamento do FAC	197

## SUMÁRIO

<b>1 – Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 – Família Fabaceae	4
1.1.2 – Gênero <i>Acosmium</i>	6
1.1.3 – <i>Acosmium dasycarpum</i>	11
<b>2 – Objetivos</b>	<b>15</b>
<b>3 – Resultados e Discussões</b>	<b>17</b>
3.1 – Substâncias isoladas e identificadas	17
3.2 – Identificação das substâncias	
3.2.1 – Identificação da substância <b>1</b>	22
3.2.2 – Elucidação da substância <b>2</b>	30
3.2.3 – Identificação da substância <b>3</b>	41
3.2.4 – Identificação da substância <b>4</b>	51
3.2.5 – Identificação da substância <b>5</b>	65
3.2.6 – Identificação da substância <b>6</b>	72
3.2.7 – Identificação da substância <b>7</b>	82
3.2.8 – Identificação das substâncias <b>8 e 9</b>	90
3.2.9 – Identificação da substância <b>10</b>	101
3.2.10 – Identificação da substância <b>11</b>	107
3.2.11 – Identificação da substância <b>12</b>	111
3.2.12 – Identificação das substâncias <b>13 a 20</b>	119
3.2.13 – Identificação da substância <b>21</b>	129
3.2.14 – Identificação da substância <b>22</b>	138
3.2.15 – Identificação da substância <b>23</b>	142
3.2.16 – Identificação das substâncias <b>24 a 26</b>	146

3.3 – Identificação de alcalóides quinolizidínicos por CG-EM	147
3.3.1 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto esparteínico	149
3.3.2 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto ormosínico	150
3.3.3 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto acosmínico	153
3.3.4 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto Diazaadamantano	154
3.4 – Análise das frações alcalóidicas contendo AQ por CG-EM	155
3.4.1 – Análise da fração DCA	155
3.4.2 – Análise da fração DCE	161
3.4.3 – Análise da fração MCA	165
3.4.4 – Análise da fração MCE	167
3.4.5 – Análise da fração MEA	169
3.4.6 – Análise da fração MEE	171
3.4.7 – Resultado	172
3.5 – Biogênese alcalóides quinolizidínicos	175
3.5.1 – Biogênese de AQ com esqueleto esparteínico	176
3.5.2 – Biogênese de AQ com esqueleto ormosínico	178
3.5.3 – Biogênese de AQ com esqueleto diazaadamantano	181
3.5.4 – Biogênese de AQ com esqueleto acosmínico	183
<b>4 – Procedimento Experimental</b>	<b>185</b>
4.1 – Materiais e Métodos	185
4.2 – Equipamentos	186
4.3 – Material botânico	187
4.3.1 – Obtenção de extratos	187
4.3.1.1 – Estudo fitoquímico do extrato de hexânico (EH)	188
4.3.1.2 – Estudo fitoquímico do extrato de diclorometânico (ED)	188
4.3.1.3 – Estudo fitoquímico do extrato metanólico (EM)	192
4.4 – Reações químicas realizadas com algumas substâncias isoladas	198
<b>5 – Conclusões</b>	<b>199</b>
<b>6 – Referências Bibliográficas</b>	<b>203</b>

# **INTRODUÇÃO**

## **1 – Introdução**

A sobrevivência das espécies tornou-se um problema relativamente grave para a humanidade, pois a situação ecológica do mundo que vivemos complica-se cada vez mais. Não é somente o uso dos ambientes naturais que está sendo ameaçado, mas também todos aqueles aos quais o homem pode se adequar.

Dramático revela-se o fato do homem civilizado aparecer como o grande responsável pelo desequilíbrio do meio já que, crescendo em número e ambição, ocupa o meio empobrecido e não consegue criar novas condições de sobrevivência. Atualmente o homem está causando modificações ambientais que poderão trazer graves conseqüências para a humanidade. Como exemplo podemos citar o desmatamento. Trata-se de um dos atos que podem gerar graves prejuízos, pois favorece erosões, enchentes e mudanças locais de clima, influenciando significativamente no desenvolvimento das civilizações.

A prática da queimada, que afeta em demasia o equilíbrio biótico das áreas, atividade para o preparo do solo, parece estar longe de ser controlada. A devastação da flora ocasiona agressão semelhante com a fauna. Já nos anos setenta, focalizando este assunto, Lanzer (1976) declarou que: “À medida que as florestas desaparecem, dando lugar às formações campestres com abundância de gramíneas, as espécies frugívoras, por exemplo, vão desaparecendo, enquanto as gramívoras se multiplicam”.

Não resta dúvida que, a humanidade deve muito a descoberta e aplicação de inseticidas. Eles permitiram controlar perigosos parasitos da agricultura e da pecuária, bem como eliminar ou pelo menos diminuir a incidência de certas doenças, como a malária e dengue. Entretanto o uso abusivo desses produtos ocasiona conseqüências deploráveis, tais como:

- 1 – eliminação de insetos predadores dos parasitos;
- 2 – O extermínio repentino de insetos que contribuem significativamente para o equilíbrio ecológico;
- 3 – Aparecimento de resíduos de inseticidas em massa de água.

A eliminação de insetos predadores favorece aos parasitos, que poderão se multiplicar mais rapidamente e formar muitas vezes verdadeiras “nuvens de insetos destruidores”, capazes de em pouco tempo devastar toda e qualquer cultura.

O extermínio repentino de insetos que servem de alimentos para a grande maioria de aves ameaça a sobrevivência destas e da própria ninhada.

O despejo de resíduos de inseticidas em lagos, rios e mares são altamente prejudiciais, para a vida dos animais e plantas que neles habitam. Os peixes, ao entrarem em contato com certos inseticidas podem morrer imediatamente, as aves que se alimentam destes peixes, ou de qualquer outro pescado contaminado, poderão ser vítimas de perturbações fisiológicas. A perturbação do mecanismo da reprodução poderá conduzir fatalmente à extinção de algumas espécies.

Como se pode perceber, o homem ao combater indiscriminadamente, a qualquer preço, aqueles seres vivos que considera nocivo, perde de vista o sistema biológico como um todo. Então devastando, envenenando e poluindo, prejudica o seu próprio ambiente. Há necessidade urgente de uma conscientização e, principalmente, uma tomada de posição de forma séria e decidida, para respeitar o necessário equilíbrio ecológico e evitar que a irreversibilidade consuma o homem no próprio ambiente que ele alterou para sobreviver.

Felizmente, a ciência moderna, busca solucionar racionalmente os problemas cruciais que afligem as populações do nosso planeta. As investigações científicas orientam-se mais e mais no sentido de desvendar, aprender e, sobretudo compreender os processos naturais, para que possa imitá-los na medida do possível.

O químico de produtos naturais desempenha atividade neste sentido, através do isolamento, da determinação estrutural dos componentes naturais, além do esclarecimento de seqüências biossintéticas. No estudo dos produtos naturais tem sido encontrada grande diversidade de estruturas químicas, assim como de atividades biológicas importantes, que podem servir como fontes para modelos na síntese e desenvolvimento de substâncias bioativas (BARREIRO 2008).

Esta atividade tem, portanto interesse científico, tecnológico e industrial, uma vez que as plantas têm proporcionado os elementos essenciais da vida, incluindo os alimentos, matérias primas para o fabrico de vestuário e abrigos, e agentes médicos para o alívio de doença, contribuindo assim, para melhorar a qualidade de vida da humanidade.

A adequação da natureza às necessidades de sobrevivência e perpetuação das espécies, inclusive a humana, proporciona à pesquisa em produtos naturais vários objetivos tais como:

- Quimiotaxonomia vegetal:** a presença de algumas substâncias orgânicas, em alta ou baixa concentração, indica que as espécies que as sintetizam possuem uma rota biossintética específica, além de um gene ou conjuntos de genes específicos que as controlam. Estas observações são importantes no estudo da evolução, pois neste processo, muitas combinações de fatores internos e externos, tais como mutações, recombinações gênicas e seleção estão presentes. A existência de um padrão comum no metabolismo de moléculas orgânicas pode sustentar evidências mais concretas de parentesco do que a similaridade morfológica, que podem tanto ser devidas a ancestrais comuns quanto à evolução convergente (POSER e MENTZ 2007). De maneira geral, a quimiotaxonomia é de grande interesse para os sistemas de classificação vegetal, mas tem sua maior contribuição na área químico-farmacêutica, uma vez que aliada à etnofarmacologia, tem permitido a descoberta de novas substâncias de origem vegetal (SIMÕES *et al.* 2007).
- **b) Químico-farmacológico:** uma planta utilizada como medicamento é considerada xenobiótico (LAPA *et al.* 2007), introduzido no organismo humano com finalidades terapêuticas. Como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação, são potencialmente tóxicos e assim devem ser considerados até prova em contrário. O uso popular e mesmo o tradicional não são suficientes para validar eticamente as plantas medicinais como recurso terapêutico eficaz e seguro. As finalidades do uso devem ser fundamentadas em evidências experimentais comprobatórias de que os riscos a que se expõem as pessoas que a utilizam sejam muitos inferiores aos benefícios esperados. A biossíntese dos metabólitos secundários é controlada por fatores do ecossistema, o que indica que os efeitos biológicos produzidos por uma mesma espécie vegetal podem ser diferentes. Apenas a identificação botânica é insuficiente para garantir a atividade medicinal esperada de uma determinada planta, sendo a caracterização química e as ações farmacológicas reveladas pelos compostos vegetais de extrema



necessidade, além de servirem como protótipos ou modelos para as drogas sintéticas (BARREIRO *et al.* 2007).

**c) Bioquímica e biotecnologia:** o estudo sobre a bioquímica vegetal permite maior conhecimento a respeito das estruturas das enzimas, seu modo de ação, inibição, entre outras características (PUPO 1997). Com o desenvolvimento da biotecnologia através das técnicas genética as plantas podem tornar resistentes à doenças ou aumentar a produção de metabólitos desejáveis, em culturas de células ou tecidos vegetais. Assim o conhecimento da biossíntese se torna fundamental, possibilitando, sob determinadas condições, o direcionamento de uma porção significativa do fluxo metabólico para a síntese de substância de interesse ou produzindo-as a partir de precursores mais simples, viabilizando maiores rendimentos na produção destes metabólitos (VITALI *et al.* 2001, VERPOORTE 2001).

**d) Ecologia química:** permite melhor entendimento das interações entre os organismos vivos e deste com o ambiente. Os metabólitos secundários são reconhecidamente importantes mediadores de interações ecológicas. Muitas substâncias são conhecidas por suas atividades protetoras, atraentes ou hormonais entre os insetos (VIEIRA *et al.* 2007).

## 1.1 – A Família Fabaceae

Leguminosae compreende 650 gêneros e 18.000 espécies, distribuída em todo mundo. Em importância econômica só perde para as Gramíneae e ocupa o terceiro lugar em tamanho atrás das Orchidaceae e Asteraceae (SAGEN 2002). Embora seja uma família quase cosmopolita, sua diversidade está centrada mais nas regiões tropicais e subtropicais, sendo que no Brasil há 196 gêneros (CORADIN 1995).

A família Leguminosae está dividida em três subfamílias distintas entre si: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, sendo esta última a maior delas, com cerca de 400 gêneros e 12.000 espécies distribuídas em 32 tribos (BALANDRIN 1982), que passou a ser denominada de família Fabaceae. (CRONQUIST 1981).

Os alcalóides quinolizidínicos estão presentes nas 10 tribos mais primitivas da família Fabaceae, tendo grande significado químico-sistemático (KINGHORN *et al.* 1988) e estão ausentes nas plantas das famílias Caesalpinioideae e Mimosoideae (GOMES *et al.* 1981). Além de 120 estruturas destes alcalóides já foram isoladas e

caracterizadas em mais de 35 gêneros (KINGHORN *et al.* 1982). Estes alcalóides têm grande interesse porque muitos são tóxicos para os animais e seres humanos (BALANDRIN 1982; KINGHORN *et al.* 1982), porém alguns deles apresentam atividades farmacológicas potencialmente úteis. (TABELA 1.1, FIGURA 1.1)

TABELA 1.1 – Exemplos de alcalóides quinolizidínicos com atividade biológica

Alcalóide	Atividade	Referencias
Esparteina	Uterotônica, estimulante/depressora respiratória, anti-arritmica, diurética, hipoglicemiante.	SAITO 1994 e BALANDRIN 1982
Lupanina	Anti-arritmica, hipotensiva, hipoglicemiante	BALANDRIN 1982
13- Hidroxilupanina	Anti -arritmica, hipotensiva	BALANDRIN 1982
Multiflorina	Depressora do SNC	BALANDRIN 1982
Anagirina	Teratogênica	BALANDRIN 1982
Citisina	Teratogênica, alucinogênica, estimulante respiratório.	BALANDRIN 1982

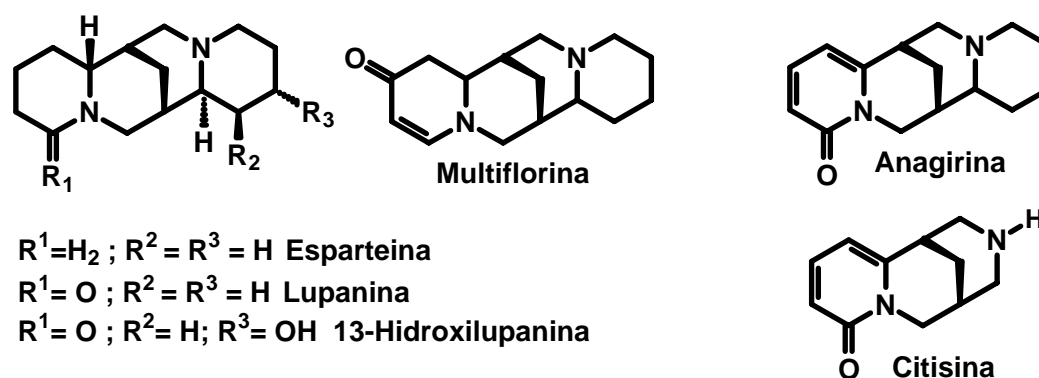


FIGURA 1.1 – Estruturas de alcalóides quinolizidínicos biologicamente ativos.

### 1.1.2 – Gênero *Acosmium*

O gênero *Acosmium* possui 18 espécies, tendo como habitat desde o sudeste do México até o nordeste da Argentina, porém a maioria das espécies encontra-se no Brasil. Ele é o mais primitivo gênero das Fabaceae, conhecida por biossintetizar alcalóides quinolizidínicos. Há evidências de fósseis coletados no Brasil, Bolívia e na Patagônia região da Argentina indicando que *Acosmium* já existia na América do Sul desde o último Pleoceno (10 – 2,5 milhões de anos), e provavelmente desde o Mioceno (27 -10 milhões de anos) (BALANDRIN 1982).

Dentre os gêneros de Fabaceae, *Acosmium*, pertence à tribo Cadieae, uma das mais primitivas. Este gênero ocupa, ainda, posição intermediária e exibe caracteres de transição entre as subfamílias Caesalpinioideae e Papilionoideae (RODRIGUES 1996, BARROSO 1991). Yakolev, em 1969, realizou a revisão taxonômica dos gêneros *Acosmium* e *Sweetia*, estabelecendo seus limites, até então confundidos (RODRIGUES 1996).

Trevisan (2002) relacionou as espécies de *Acosmium* mais usadas popularmente, *A. dasycarpum*, *A. panamense* e *A. sublegans*. (TABELA 1.2). Nota-se o amplo uso como remédio, tendo ação como antitérmico até depressora do sistema nervoso central (SNC), como também, anticancerígena e hipoglicemiante.

TABELA 1.2 – Utilização popular de algumas espécies de *Acosmium*

Espécie	Parte da planta	Indicação popular
<i>A. dasycarpum</i>	Casca da raiz	Tranqüilizante, hipotensor, sedativo, anti-neoplásico, anti-epiléptico, anti-sifílico, anti-reumático e anti-infeccioso cutâneo
	Folhas	Diurético
<i>A. panamense</i>	Flores	Antitérmico, contra enxaqueca, asma, histeria, eclampsia, dismenorréia, desequilíbrios neurovegetativos, espasmos da musculatura lisa
	Casca da raiz e do caule	Anticatarral, antitussígeno, antimalárico, antifrebífugo, anti-sifilítico e hipoglicemiante
<i>A. sublegans</i>	Casca da raiz, do caule e folhas	anti-epiléptico, anti-sifilítico, anti-reumático e anti-infeccioso cutâneo, anti-espasmódico, histeria, asma e desequilíbrios neurovegetativos

Os estudos farmacológicos realizados nesses gêneros foram feitos principalmente nos extratos brutos e frações alcalóidicas (TREVISAN 2002).

Em *Acosmium* há predominância de alcalóides quinolizidínicos (BALANDRIN 1982, NUZZILARD *et al.* 1999, VEITCH *et al.* 1997, OLIVEIRA *et al.* 1994) (FIGURAS 1.2 a 1.4). Isolaram-se o cafeíco e seu ester etílico, triterpêno, estiril pirôna e seus derivados glicosilados (BALANDRIN 1982, SILVA *et al.* 2001, WIEDENFELD 2003), além de pterocarpanos (SILVA *et al.* 2001) (FIGURA 1.5).

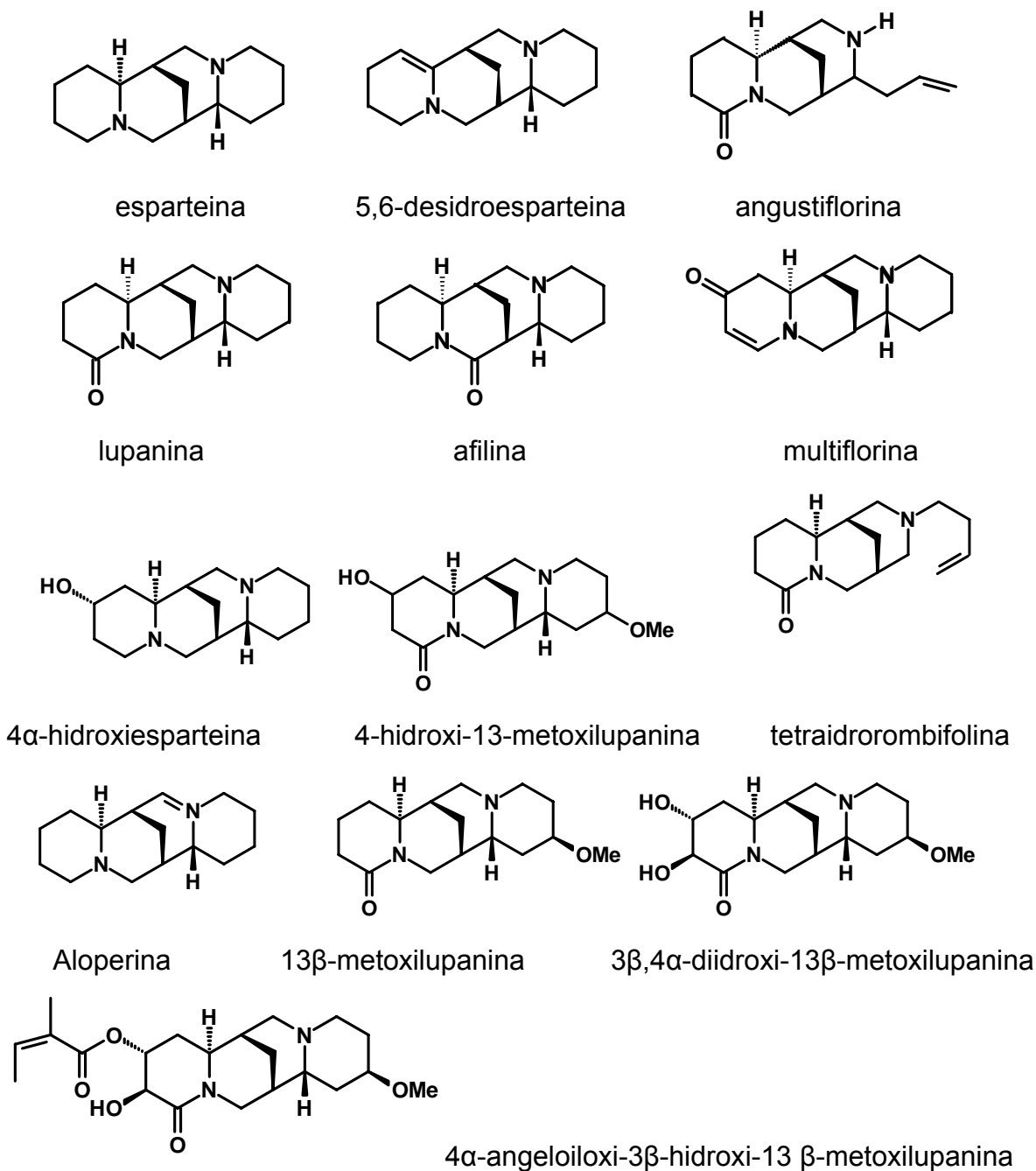


FIGURA 1.2 – Alcalóides quinolizidínicos do tipo esparteínico encontrados em *Acosmium*

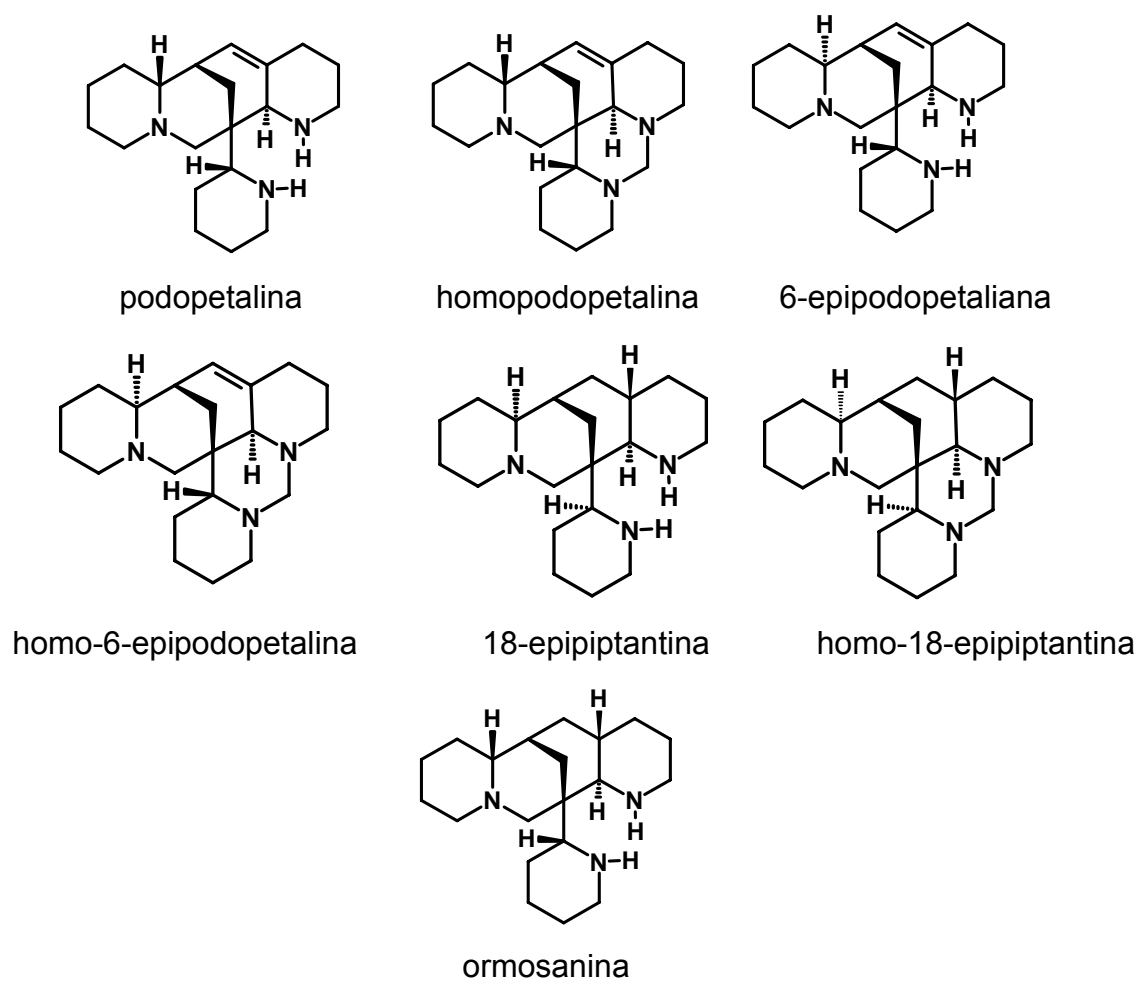


FIGURA 1.3 – Alcalóides quinolizidínicos do tipo ormosínico encontrados em *Acosmium*

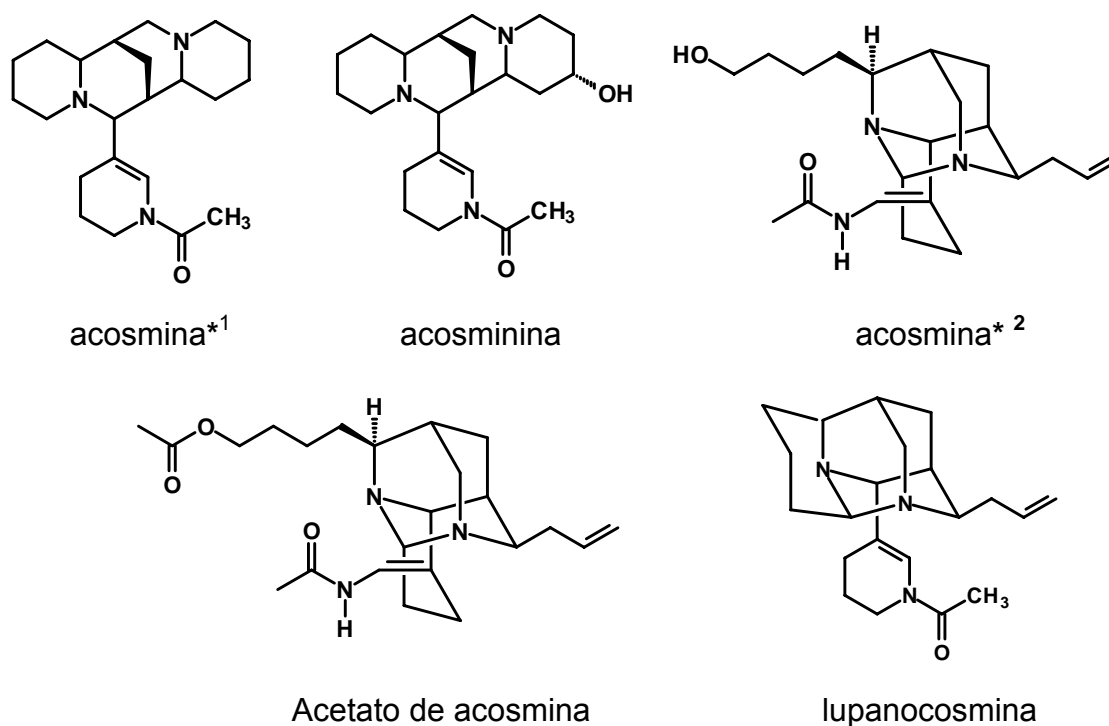


FIGURA 1.4 – Alcalóides quinolizidínicos do tipo acosmínicos e diazaadamantano encontrados em *Acosmium* (\*tem o mesmo nome).

Há relatos na literatura de dois alcalóides quinolizidínicos com o mesmo nome “acosmina”, embora tenham estrutura química diferentes, acosmina\*<sup>2</sup> tem o esqueleto diazaadamantano e foi relatado por Nuzzillard em 1999, enquanto acosmina\*<sup>1</sup> apresenta o esqueleto acosmínico e foi identificado em 1982 por Balandrin. Michael (2001) credita este equívoco ao fato de acosmina\*<sup>1</sup> não ter sido publicado em uma literatura especializada.

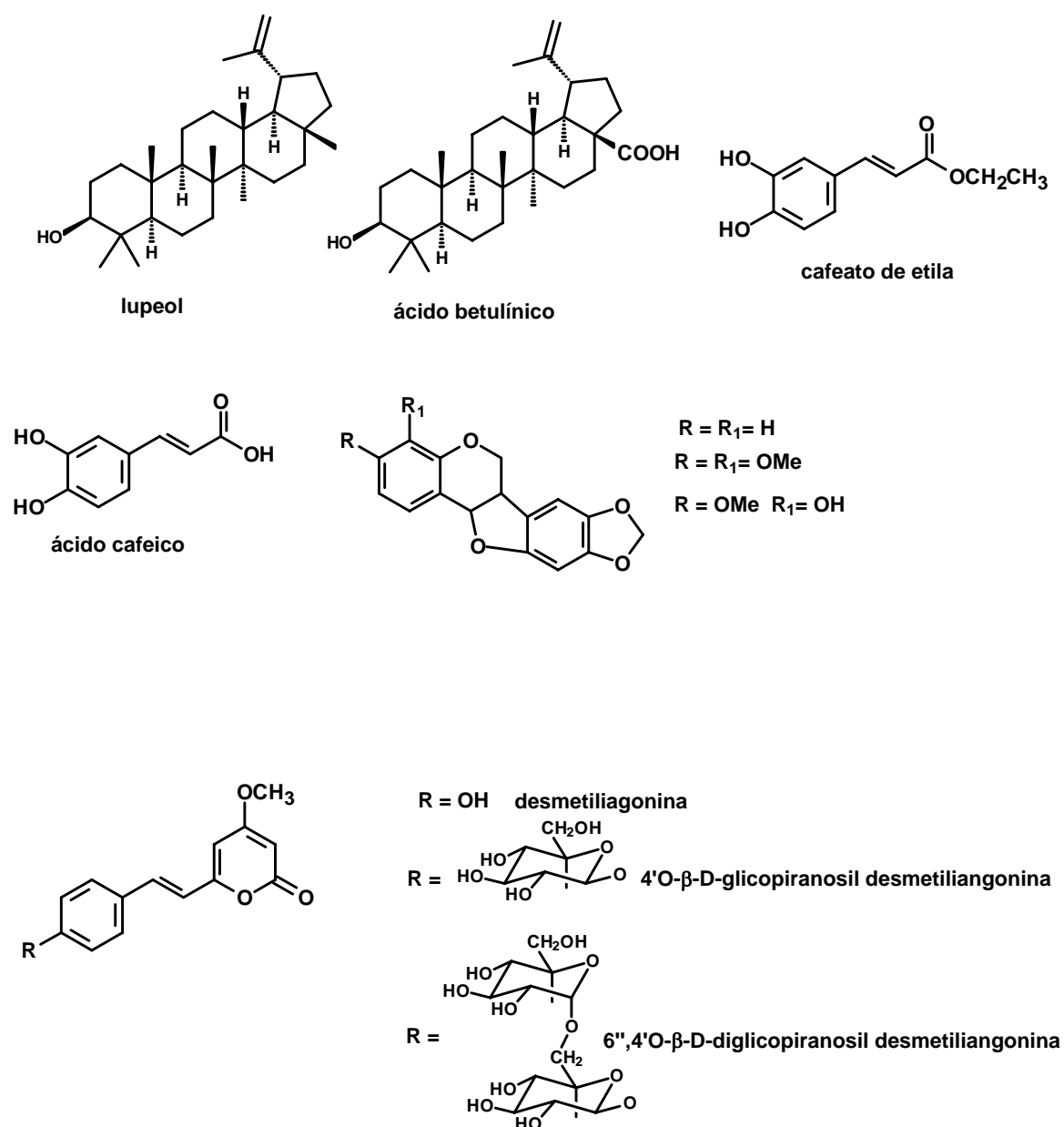


FIGURA 1.5 – Estruturas químicas das substâncias isoladas de *Acosmium*.

### 1.1.3 – *Acosmium dasycarpum*.

Das espécies de *Acosmium*, *A. dasycarpum* é restrita às regiões central e nordeste do Brasil, tendo ocorrência no cerrado brasileiro entre os estados da Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso Goiás e São Paulo (LORENZI 1998, BRIDGEWATER e STIRTON 1997) (FIGURA 1.6)



FIGURA 1.6 – Distribuição de *Acosmium dasycarpum*

*A. dasycarpum* é uma árvore de pequeno porte (FIGURA 1.7), dotada de copa pequena, tronco tortuoso com casca suberosa, flores brancas e frutos legume (vagem achatada), e floresce durante os meses de novembro e dezembro.

É conhecida popularmente como perobinha, chapada, pau-paratudo, genciana (LEWIS 1987, LORENZI 1998, RODRIGUES 1996). De acordo com Barroso (1991) o significado de *acosmium* é “sem adorno”, referindo-se às flores diminutas.

A espécie *A. dasycarpum* foi estudada anteriormente (BRAZ FILHO 1979, AFIATPOUR 1990, PARIZOTTO 2003, TREVISAN *et al.* 2008), permitindo o isolamento de alcalóides quinolizidinicos, triterpeno, estirilpirona e isoflavona (FIGURA 1.8). A análise feita por Afiatpour (1990) para os alcalóides  $Adf_3$  e  $Adf_4$ , não foram conclusivas e foram comprovadas posteriormente que se tratavam dos alcalóides *acosmina* e *lupanocosmina* (TREVISAN 2002).



O presente trabalho relata a identificação de alcalóides quinolizidínicos (AQ) além de outros metabólitos secundários não alcaloídicos encontrados nessa planta, e tece comentários sobre o provável caminho biossintético de alcalóides quinolizidínicos.



FIGURA 1.7 – Foto *Acosmium dasycarpum* . Fonte: autor.

1) Planta adulta. 2) Vagem. 3) Raiz. 4) Casca da raiz.

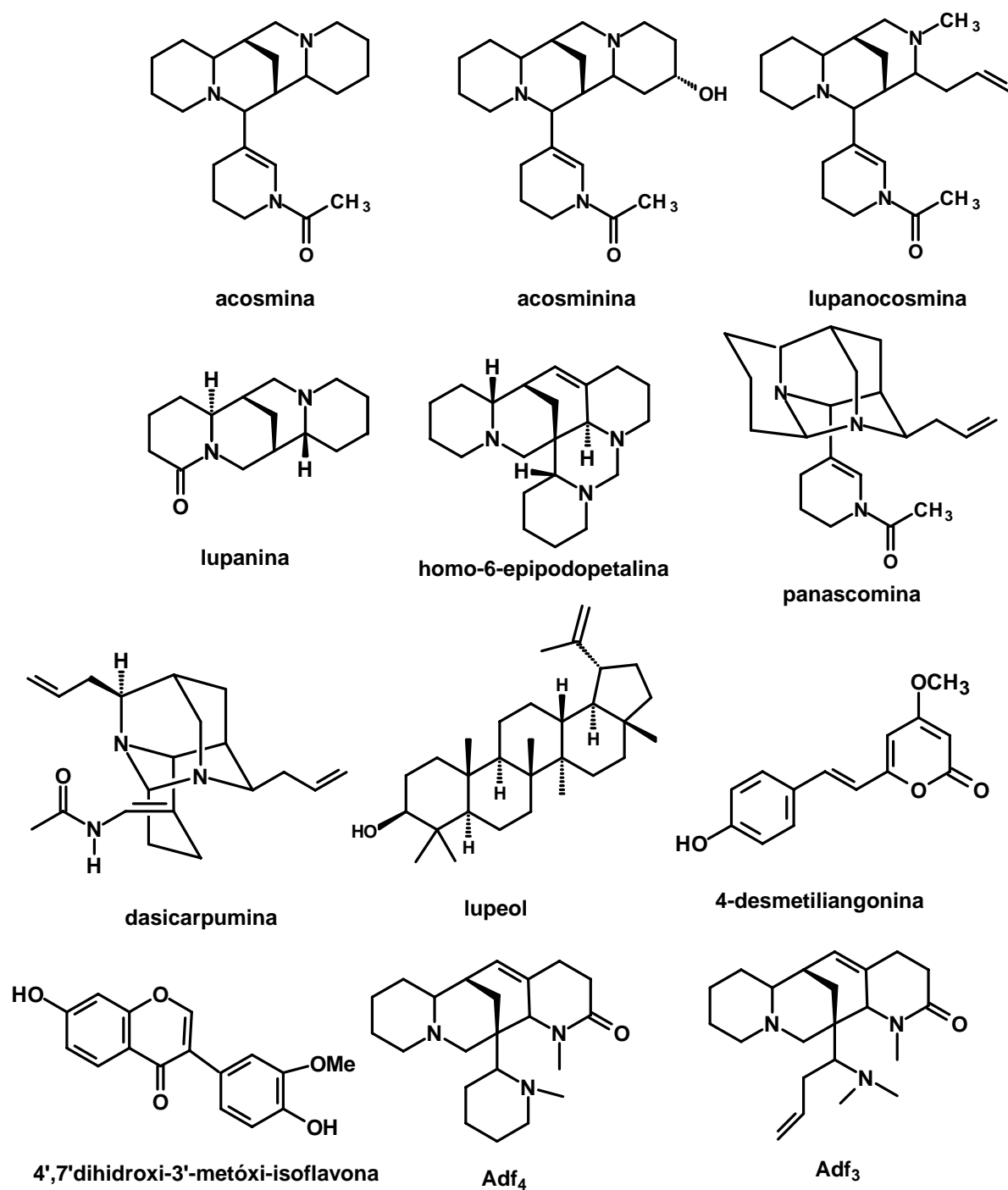


FIGURA 1.8 – Estruturas químicas das substâncias isoladas de *Acosmium dasycarpum*

# **OBJETIVOS**

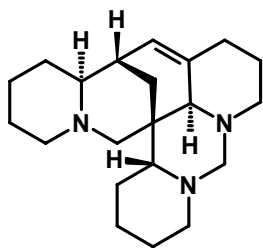
## **2 – Objetivos**

- ❖ Realizar estudo fitoquímico da casca da raiz de *Acosmium dasycarpum*
- ❖ Desenvolvimento de modelos para identificar alcalóides quinolizídínicos por CG/EM
- ❖ Análise do perfil químico, com a finalidade de contribuir para conhecimento químico do gênero *Acosmium*.

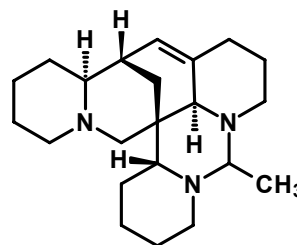
# **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### 3 – Resultados e Discussões

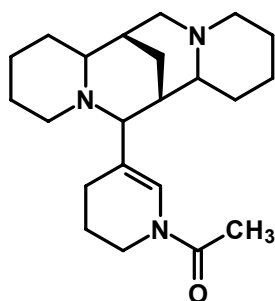
#### 3.1 – Substâncias identificadas.



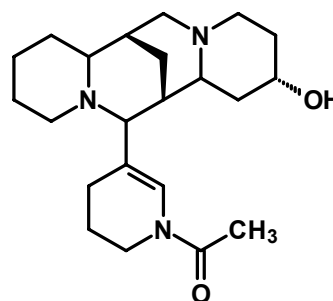
Homo-6-epipodopetalina (1)



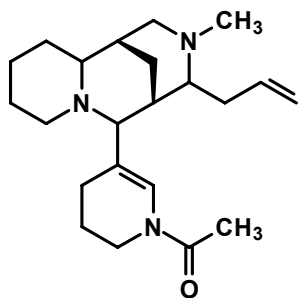
24-Metilomo-6-epipodopetalina (2)



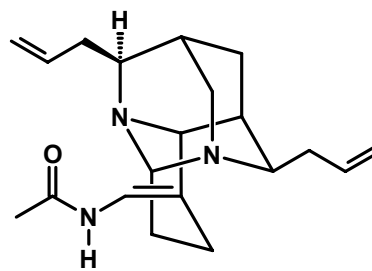
Acosmina (3)



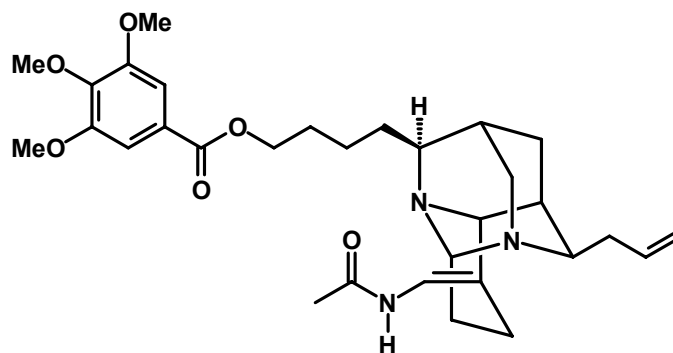
Acosminina (4)



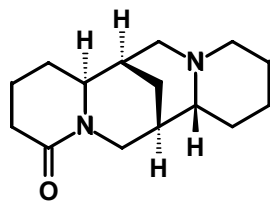
Lupanocosmina (5)



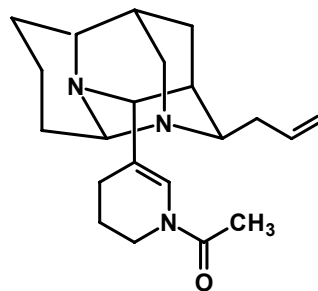
Dasicarpumina (6)



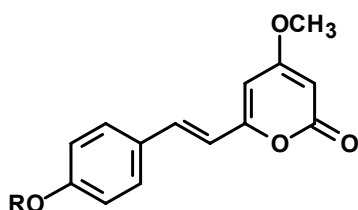
Bowdequina (7)



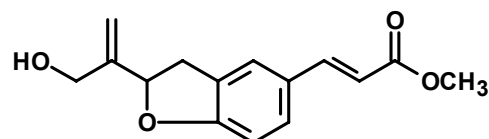
Lupanina (8)



Panascomina (9)

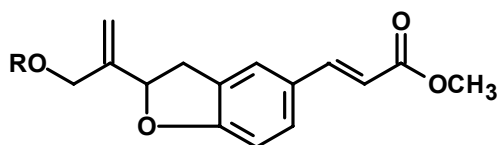


R = H 12-O-Desmetiliangonina (10)



Bowdenol (12)

R =  $\exists$ -D-Glicopiranosil Panamin (11)



R = Tetradecanoil

Miristato de bowdenila (13)

R = Pentadecanoil

Pentadecanoato de bowdenila (14)

R = 9-Hexadecenoil

Palmitoleato de bowdenila (15)

R = Hexadecanoil

Palmitato de bowdenila (16)

R = Heptadecanoil

Margarato de bowdenila (17)

R = 9,12-Octadecadienoil

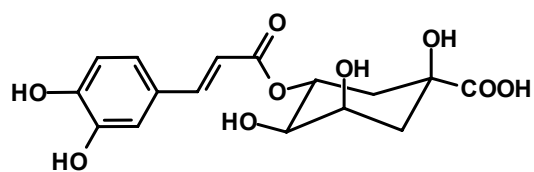
Linoleato de bowdenila (18)

R = 9-Octadecenoil

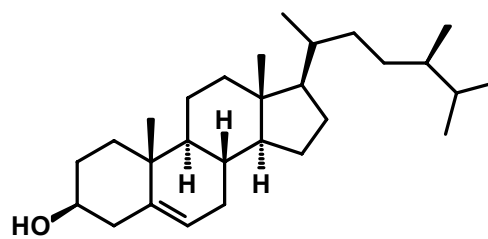
Oleato de bowdenila (19)

R = Octadecanoil

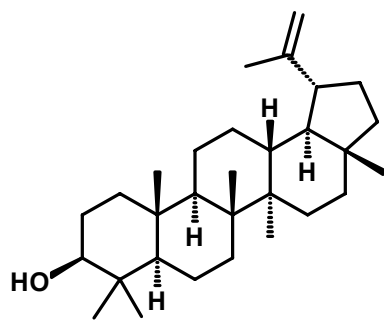
Estearato de bowdenila (20)



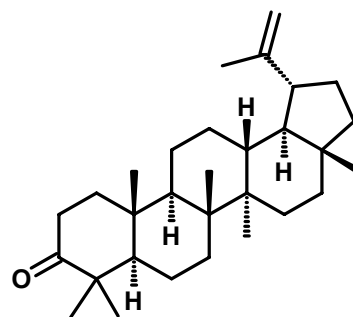
Ácido 5-O-cafeoilquínico (21)



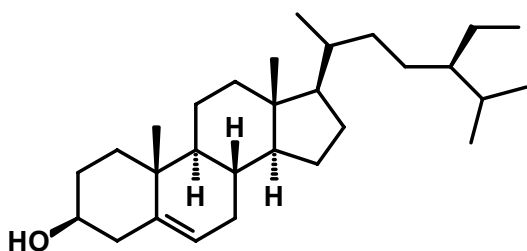
Campesterol (22)



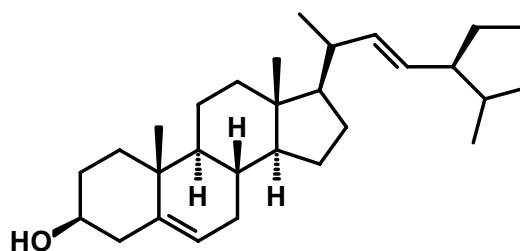
Lupeol (23)



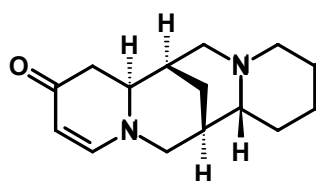
Lupenona (24)



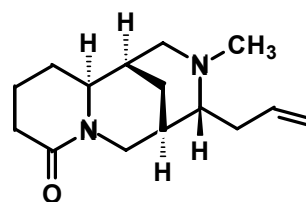
Sistosterol (25)



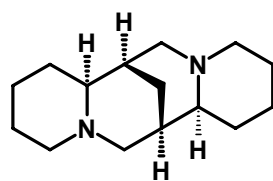
Estigmasterol (26)



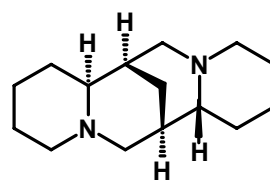
Multiflorina (27)



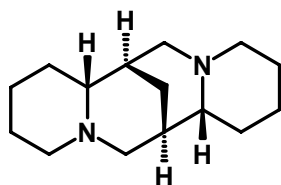
N-Metilangustifolina (28)



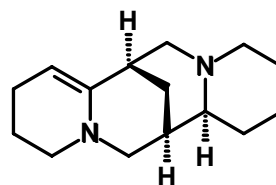
α-Isoesparteína (29)



Esparteína (30)

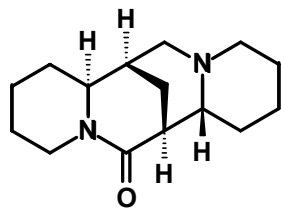


β-Isoesparteína (31)

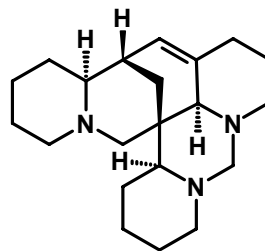


5,6-Desidroesparteína (32)

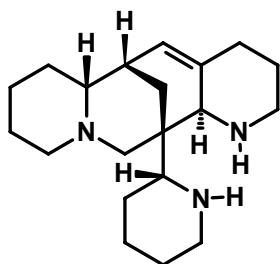




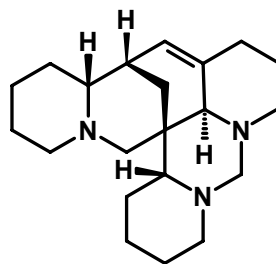
Afilina (33)



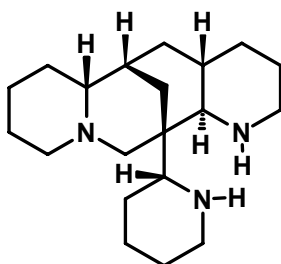
Homo18-epiamazonina (34)



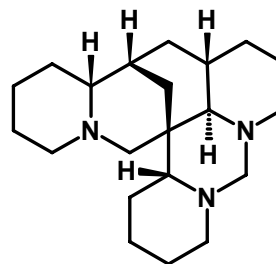
Podopetalina (35)



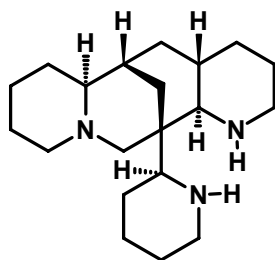
Homopodopetalina (36)



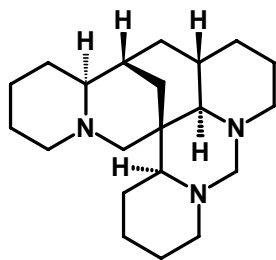
Ormosanina (37)



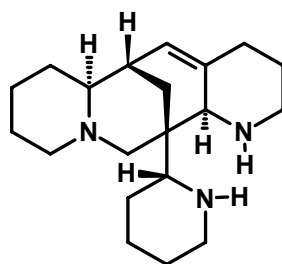
Homoormosanina (38)



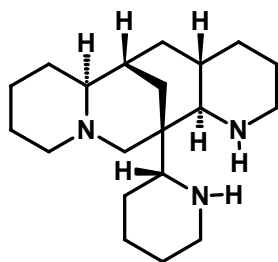
18-Epipiptantina (39)



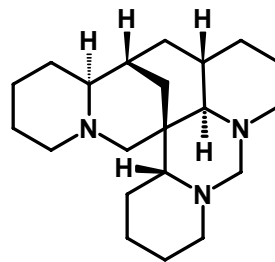
Homo-18-epipiptantina (40)



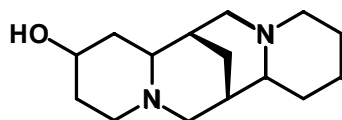
6-Epipodopetalina (41)



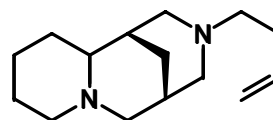
Piptantina (42)



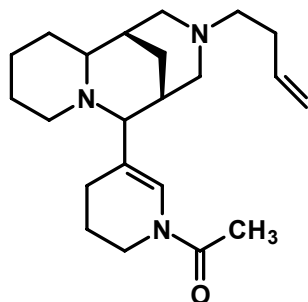
Homopiptantina (43)



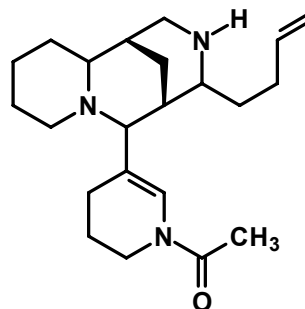
4-Hidroxi-esparteína (44)



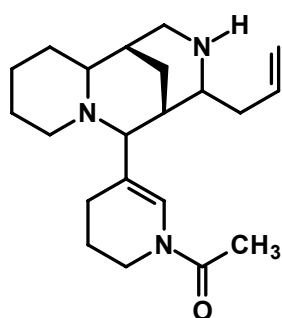
Santanina (45)



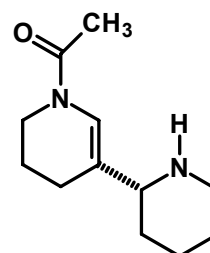
Isodasinina (46)



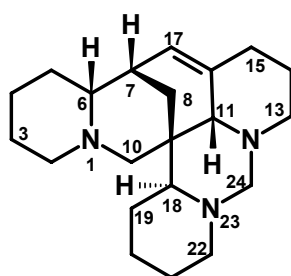
Dasinina (47)



Dasicosmina (48)



Amodrendrina (49)

3.2.1 – Identificação estrutural do homo -6-epipodopetalina (**1**)

(1)

A substância **1** apresentou-se como um sólido branco, que na análise em CCDA mostrou coloração amarelado quando revelado com reagente de Dragendorff, sugerindo tratar-se de um alcalóide, que foi identificado por EM e experimento de RMN em uma e duas dimensões.

O EM (FIGURA 3.2.1.1 ESQUEMA 3.2.1.1) apresentou um pico em  $m/z$  327, que foi atribuído ao íon molecular, indicando a presença de átomos de nitrogênio em número ímpar, esta informação, associada a 21 átomos de carbono apresentado pelo RMN  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 3.2.1.2), permitiu sugerir que a substância **1** tem a fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_3$ .

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (FIGURA 3.2.1.3) apresentou um acúmulo de sinais em sua região mais blindada, especificamente entre 2,50 e 1,0  $\delta$ , porém observou-se a presença de dois dubletos, em um sistema AX de acoplamento de spin, em 3,70  $\delta$  (1H) e 2,37  $\delta$  (1H) com constante de acoplamento 8,4 Hz. Foi observado ainda, um dubleto em 5,31  $\delta$  (1H)  $J = 6,0$  Hz, característico de hidrogênios olefínicos.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  foram observados sinais relativos a dois carbonos  $\text{sp}^2$  (136,79 e 119,64  $\delta$ ) e outros 19 carbonos  $\text{sp}^3$ . Desta forma a análise do EM e dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram sugerir que esta substância pudesse ser um alcalóide quinolizidínico monoinsaturado do tipo ormosínico (**51**). Este tipo de alcalóide, de acordo com BHACCA *et al.* (1983), possui arranjo estrutural incomum, apresentando apenas átomos de carbono, hidrogênio e nitrogênio. A ausência de átomos do oxigênio dificulta a identificação detalhada deste tipo de esqueleto, ficando limitadas as análises por difração de Raio – X e síntese total.

Através da análise dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (TABELA 3.2.1.1) pode-se confirmar a presença da dupla ligação entre os  $\text{C}_{16-17}$  da substância **1**, uma vez que seus deslocamentos químicos e atribuições são diferentes daqueles sem insaturação de Homoormosanina (**38**) e muito semelhantes àqueles da podopetalina (**35**) com

insaturação. Confirma ainda, através do sinal em 82,3  $\delta$  que **1** apresenta um carbono metilênico entre dois átomos de nitrogênio, justificando a presença de um átomo de carbono mais desblindado. A ausência do sinal referente ao H<sub>24</sub>, na estrutura (Podopetalina), corrobora essa possibilidade.

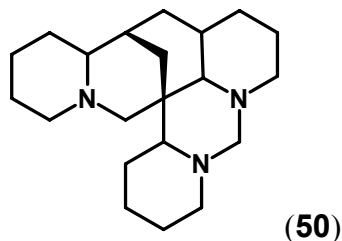


TABELA 3.2.1.1 -  $\delta_C$  de **1**: comparação com homoormosanina (**38**) (MAI LE *et al.* 2005); Podopetalina (**35**) (MARINHO *et al.* 1994) e homo-6-epipodopetalina (**1**) (TREVISAN 2002)

C	$\delta_C$ ( <b>1</b> ) (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ ( <b>38</b> ) (150 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ ( <b>35</b> ) (50 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ ( <b>1</b> ) (50 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	56,3	55,67	55,1	56,33
3	24,8	25,74	27,3	24,96
4	24,6	25,10	25,2	24,69
5	33,4	34,59	33,4	33,57
6	66,6	65,11	59,4	66,10
7	35,9	35,47	36,2	36,03
8	29,7	30,16	28,3	29,90
9	36,4	36,58	40,1	36,34
10	57,8	63,43	53,8	57,87
11	72,5	68,34	64,1	71,29
13	52,1	53,34	46,5	53,74
14	25,2	25,10	26,7	25,96
15	32,3	32,18	28,9	32,25
16	136,7	31,67	137,5	135,89
17	119,6	37,97	125,0	119,89
18	70,9	66,78	62,3	71,52
19	25,4	16,56	26,9	25,62
20	24,2	25,57	22,6	24,25
21	25,0	19,80	25,4	25,23
22	53,9	53,48	47,6	52,64
24	82,3	69,98	-	82,69

O mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.1.4) permitiu que fossem determinadas algumas correlações C-H a  $^1J$  para o alcalóide **1**, como mostra a (TABELA 4.2.1.2.) Entretanto, grande parte das correlações relativas ao esqueleto ormosínico (**51**), não pode ser determinada devido a sobreposição de sinais.

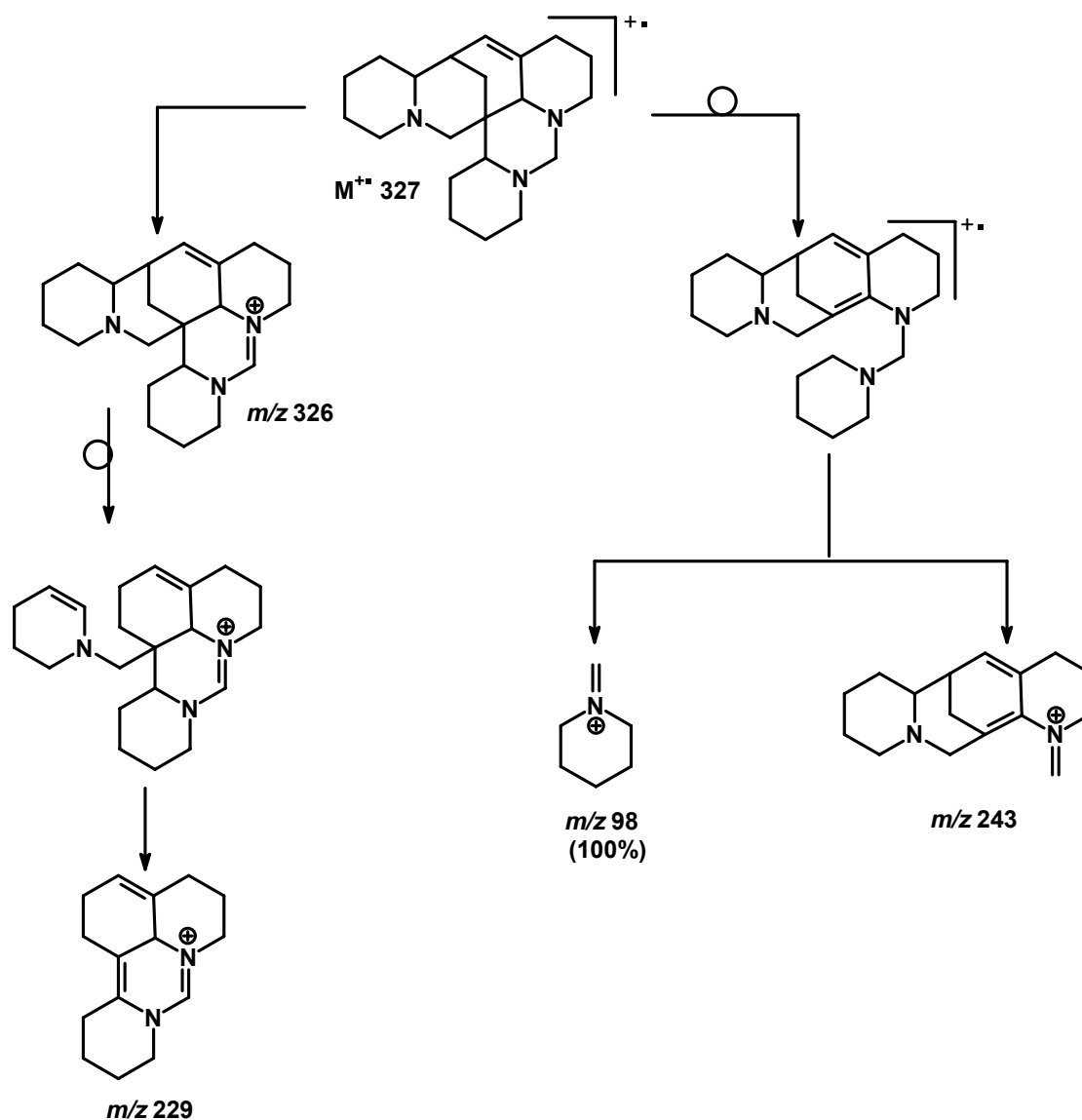
TABELA 3.2.1.2 - Correlações a  $^1J$  para o alcalóide **1**

Posições	$\delta_C$	$\delta_H$
2	56,3	Ha 2,89 (m, 1H) Hb 2,2(m, 1H)
6	66,6	1,7 (m, 1H)
10	57,8	Ha 3,50 (dl, J = 13,22 Hz, 1H) Hb 2,17 ( m, 1H)
11	72,5	2,21 (s, 1H)
13	52,1	Ha 2,89 (m,1H) Hb 1,85 (m, 1H)
17	119,6	5,31 (d, J = 6,0 Hz, 1H)
18	70,9	1,66 (m, 1H)
22	53,9	Ha 2,76 (dl, J = 13,24 Hz, 1H) Hb 1,87 (m, 1H)
24	82,3	Ha 3,70 (d, J = 8,42 Hz, 1H) Hb 2,37 (d, J = 8,42 Hz, 1H)

De acordo com BALANDRIN (1982), a estereoquímica de H-6, H-11 e H-18, pode ser determinada, através do sinal de 3,50 dubleto largo ( $J_{10e,10a} = 13,24$  Hz e com um acoplamento a longa distancia em **W** com H-8) que foi atribuído a H-10eq, ele é fortemente desblindado não só por estar próximo ao N-1, como também por estar no campo de desproteção dos pares de elétrons não ligantes em syn diaxial (efeito orelha de coelho) do N-12 e N-23 (FIGURA 3.2.1.6). Para que esse efeito seja observado é necessário que H-6, H-11 e H-18 ocupe as posições como mostra a FIGURA (3.2.1.6). Esse efeito não é observado na homopodopetalina (**36**) onde os deslocamentos químicos de H-10eq e H-10ax são respectivamente 2,73 e 2.51  $\delta$  (MAI LE 2005).

A estrutura proposta para **1** foi compatível com as fragmentações apresentadas no espectro de massa. (FIGURA 3.2.1.1 e ESQUEMA 3.2.1.1).

De acordo com os dados da literatura e a análise realizada para o composto **1**, este foi determinado como sendo o homo-6-epipodopetalina, e foi identificado por BALANDRIN (1982)



ESQUEMA 3.2.1.1 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para **1**.

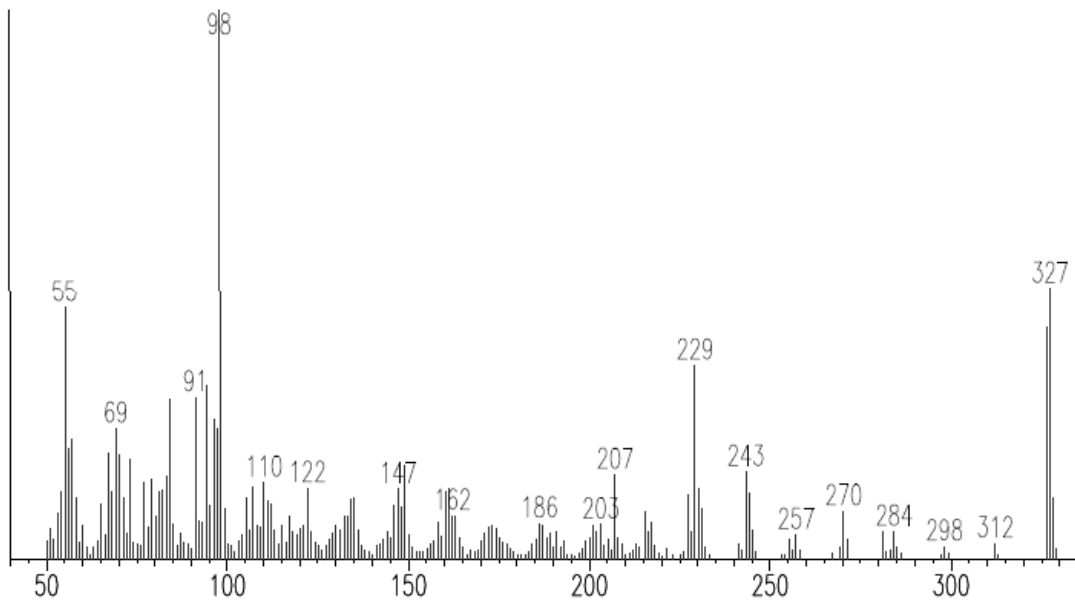


FIGURA 3.2.1.1 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do alcalóide quinolizidínico **1**

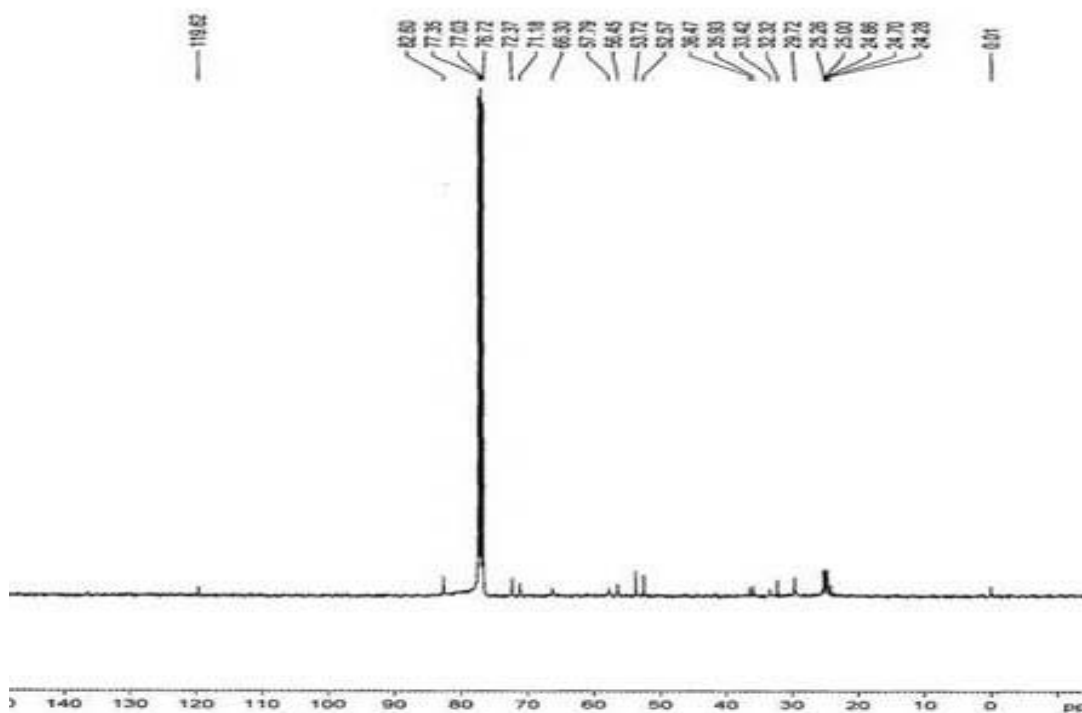


FIGURA 3.2.1.2 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do alcalóide quinolizidínico **1**  
( $\text{CDCl}_3$  100MHz)

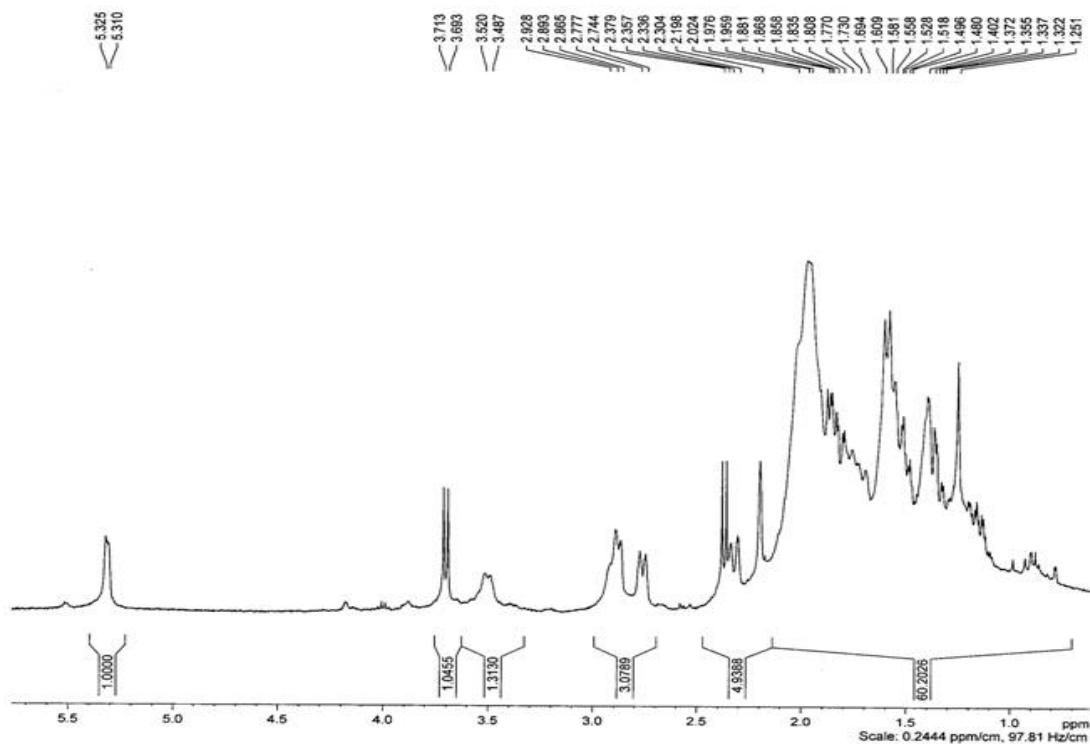


FIGURA 3.2.1.3 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do alcalóide quinolizidínico **1** ( $\text{CDCl}_3$  400MHz)

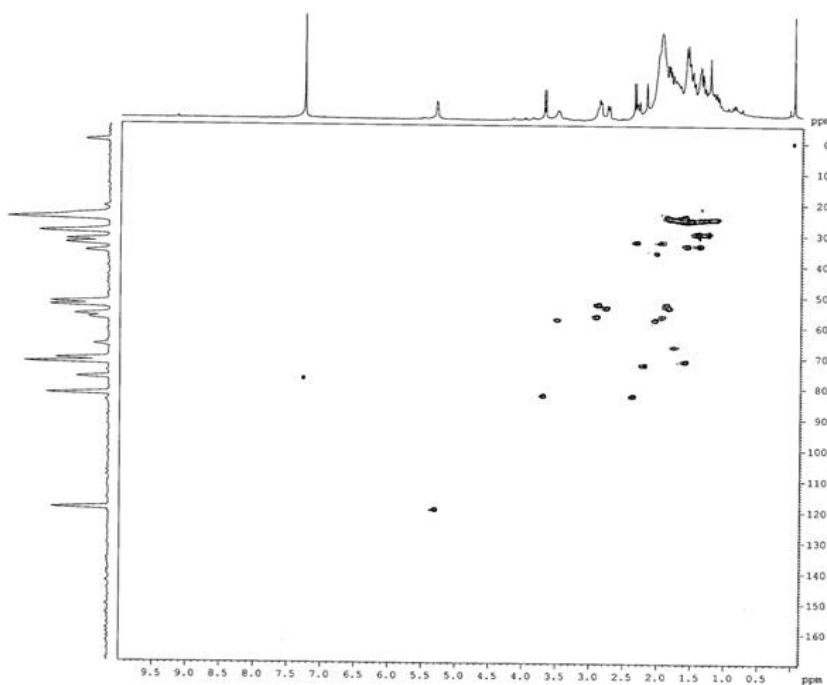


FIGURA 3.2.1.4 – Mapa de contorno de HSQC do alcalóide quinolizidínico **1** ( $\text{CDCl}_3$  400MHz)



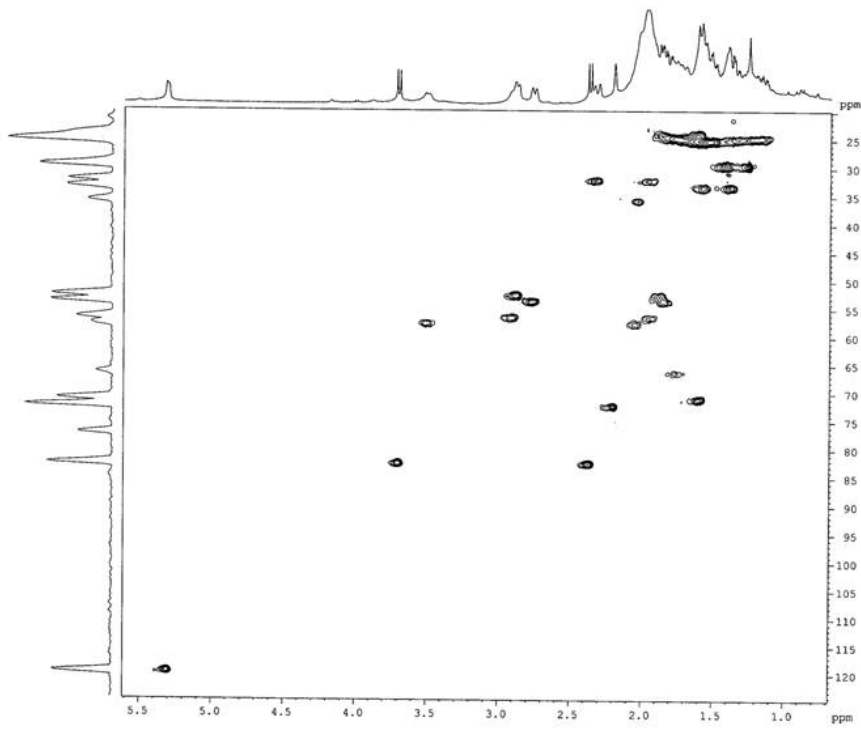


FIGURA 3.2.1.5 – Mapa de contorno ampliado de HSQC do alcalóide quinolizidínico **1** (CDCl<sub>3</sub> 400MHz)

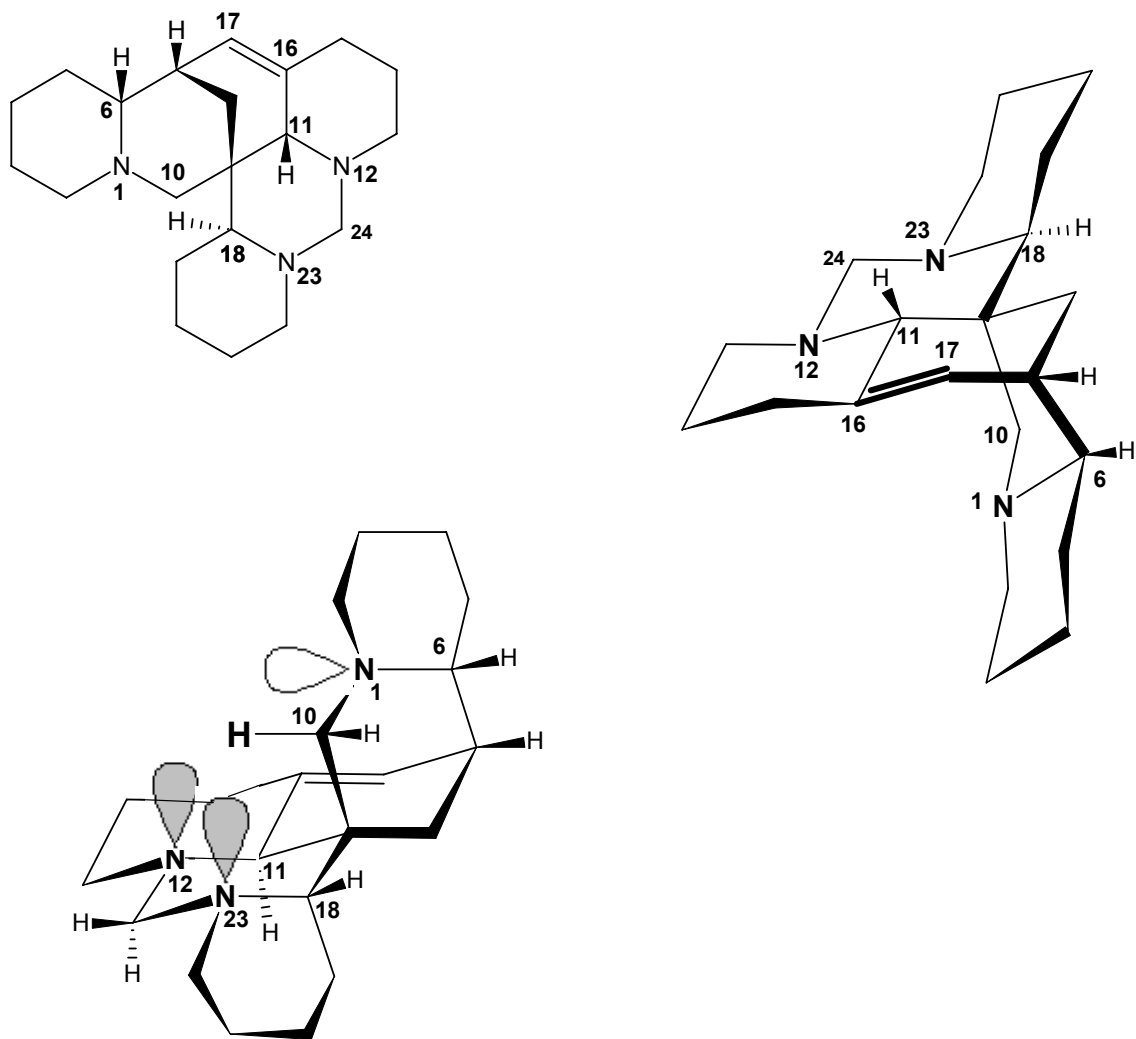
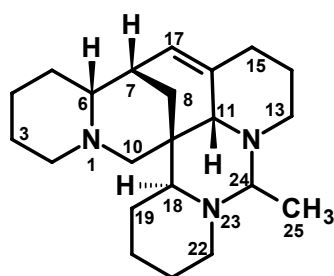


FIGURA 3.2.1.6 - Três representações da homo-6-epipodopetalina

3.2.2 – Elucidação estrutural do 24-metilomo-6-epipodopetalina (**2**)

(2)

A substância **2** apresentou-se como um sólido branco, que na análise em CCDA mostrou coloração amarelada quando revelado com reagente de Dragendorff, sugerindo tratar-se de um alcalóide.

O EM de **2** (FIGURA 3.2.2.1) apresentou um pico em  $m/z$  341, que foi atribuído ao íon molecular, indicando a presença de átomos de nitrogênio em número ímpar, esta informação, associada a 22 átomos de carbono apresentado pelo RMN  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 3.2.2.2), é compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_3$

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (FIGURA 3.2.2.3 e TABELA 3.2.2.1) de **2** mostrou-se bastante similar ao do alcalóide **1**. Foi observado um acúmulo de sinais em sua região mais blindada do espectro, especificamente entre 2,20 e 1,0  $\delta$ , porém observou-se, a presença de um dubleto em 5,33  $\delta$  (1H)  $J = 5,62$  Hz, característico de hidrogênio olefínico.

A análise conjunta dos experimentos de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 FIGURA (3.2.2.4) indicou que existiam 2 carbonos olefínicos em 136,9 e 120,2  $\delta$  onde este último ligado a hidrogênio e o primeiro não hidrogenado; 20 carbonos  $\text{sp}^3$ , sendo 1 quaternário em 25,8; 1 carbono primário em 19,8; 5 carbonos monoidrogenados (83,3, 71,4, 70,7, 66,3 e 35,6  $\delta$ ) e 13 carbonos diidrogenados, num total de 22 carbonos. Esses dados aliados a análise de EM (ESQUEMA 3.2.2.1), leva a sugestão de que **2** é um alcalóide quinolizidínico monoinsaturado do tipo ormosínico.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e do mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.2.5) do alcalóide **2**, permitiu que fossem determinadas algumas correlações C-H a  $^1J$  para o alcalóide **2** como mostra a (TABELA 3.2.2.1 )

TABELA 3.2.2.1 - Correlações a  $^1J$  para o alcalóide **2**

C	$\delta_C$	$\delta_H$
2	56,5	Ha 2,85 (m, 1H) Hb 1,89 (m, 1H)
6	66,3	1,71 (m, 1H))
10	57,7	3,46 (dl, J = 9,6 Hz, 1H) 1,96 (m, 1H)
11	70,7	2,31 (s, 1H)
13	52,1	Ha 3,26 (m, 1H) Hb 1,68 (m 1H)
17	120,2	5,33 (d, J = 5,63 Hz, 1H)
18	71,4	1,72 (sl, 1H)
22	53,5	Ha 3,15 (m, 1H) Hb 1,65 (m, 1H)
24	83,3	2,32 (q, J = 5,26 Hz, 1H)
25	19,8	1,34 (d, J = 5,26 Hz, 3H)

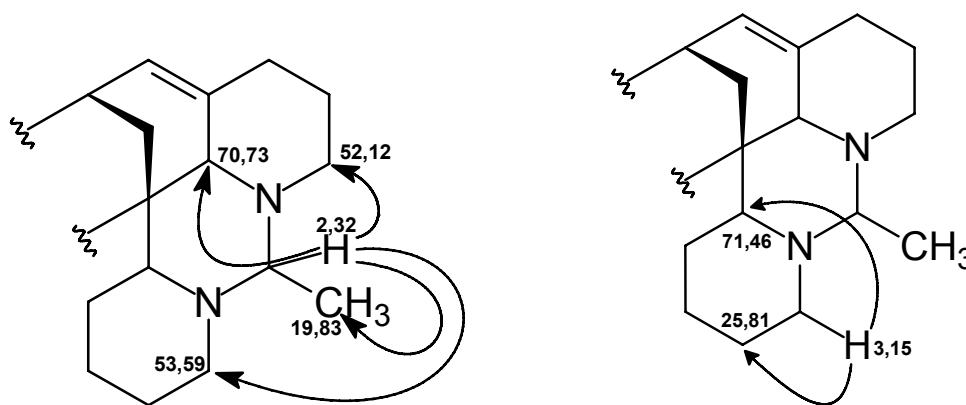
Quando se comparam os deslocamentos químicos de  $^{13}C$  da homo-6-epipodopetalina (**1**) com o composto (**2**) (TABELA 3.2.2.2) é possível deduzir que o alcalóide em questão é semelhante a **1** tendo um grupamento metílico ligado ao C-24.

TABELA 3.2.2.2 -  $\delta_C$  de **2**: comparação com homo-6-epipodopetalina (**1**)

C	<b>2</b> (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	<b>1</b> (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	56,5	56,4
3	24,8	24,8
4	24,8	24,7
5	33,8	33,4
6	66,3	66,3
7	35,6	35,9
8	29,9	29,7
9	35,9	36,4
10	57,7	57,7
11	70,7	72,3
13	52,1	52,5
14	25,9	25,5
15	32,6	32,3
16	136,9	135,8
17	120,2	119,6
18	71,4	71,1
19	25,8	25,2
20	24,6	24,2
21	25,5	25,0
22	53,5	53,7
24	83,3	82,6
25	19,8	-

No espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **2** observou-se um dubleto típico de metila em 1,34  $\delta$  ( $J = 5,26$  Hz) e um quarteto 2,32  $\delta$  ( $J = 5,26$  Hz). Observou-se no espectro de COSY (FIGURA 3.2.2.6) que estes sinais correlacionam-se entre si. No mapa de contorno de HSQC de **2**, estes hidrogênios correlacionaram-se com os carbonos metílico em 19,83  $\delta$  e metínico em 83,36  $\delta$  respectivamente. Estes sinais de carbonos foram confirmados como CH<sub>3</sub> e CH pelo espectro de DEPT 135

(FIGURA 3.2.2.4). No mapa de contorno de HMBC (FIGURA 3.2.2.7) observou-se a correlação do hidrogênio metínico em 2,32  $\delta$  (H-24) com os carbonos em 70,73; 53,59; 52,12; e 19,83  $\delta$ ; e a correlação do H em 3,15  $\delta$  com os carbonos 71,46 e 25,81.



Essas informações permitiram sugerir que o grupamento  $-\text{CH}_3$  está ligado ao C-24, em substituição ao hidrogênio mais desblindado da homo-6-epipodopetalina (**1**), e estabelecer as atribuições para os carbonos C-11, C-13, C-18, C-21 e C-22 em 70,73; 52,22; 71,46; 25,81 e 53,59  $\delta$  respectivamente. Esta proposição encontra suporte no EM através do fragmento em  $m/z$  112

A configuração de H-6, H-11 e H-18, podem ser determinadas, utilizando o mesmo argumento anterior para **1**. Através do sinal em 3,46  $\delta$  dubleto largo ( $J_{10\text{e},10\text{a}} = 9,6$  Hz e com um acoplamento a longa distancia em **W** com H-8) que foi atribuído a H-10eq, ele é fortemente desblindado não só por estar próximo ao N-1, como também por estar no campo de desproteção dos pares de elétrons não ligantes em syn diaxial (efeito orelha de coelho) do N-12 e N-23 (FIGURA 3.2.2.8). Para que esse efeito seja observado é necessário que a estereoquímica de H-6, H-11 e H-18 ocupe as posições como mostra a FIGURA (3.2.2.8)

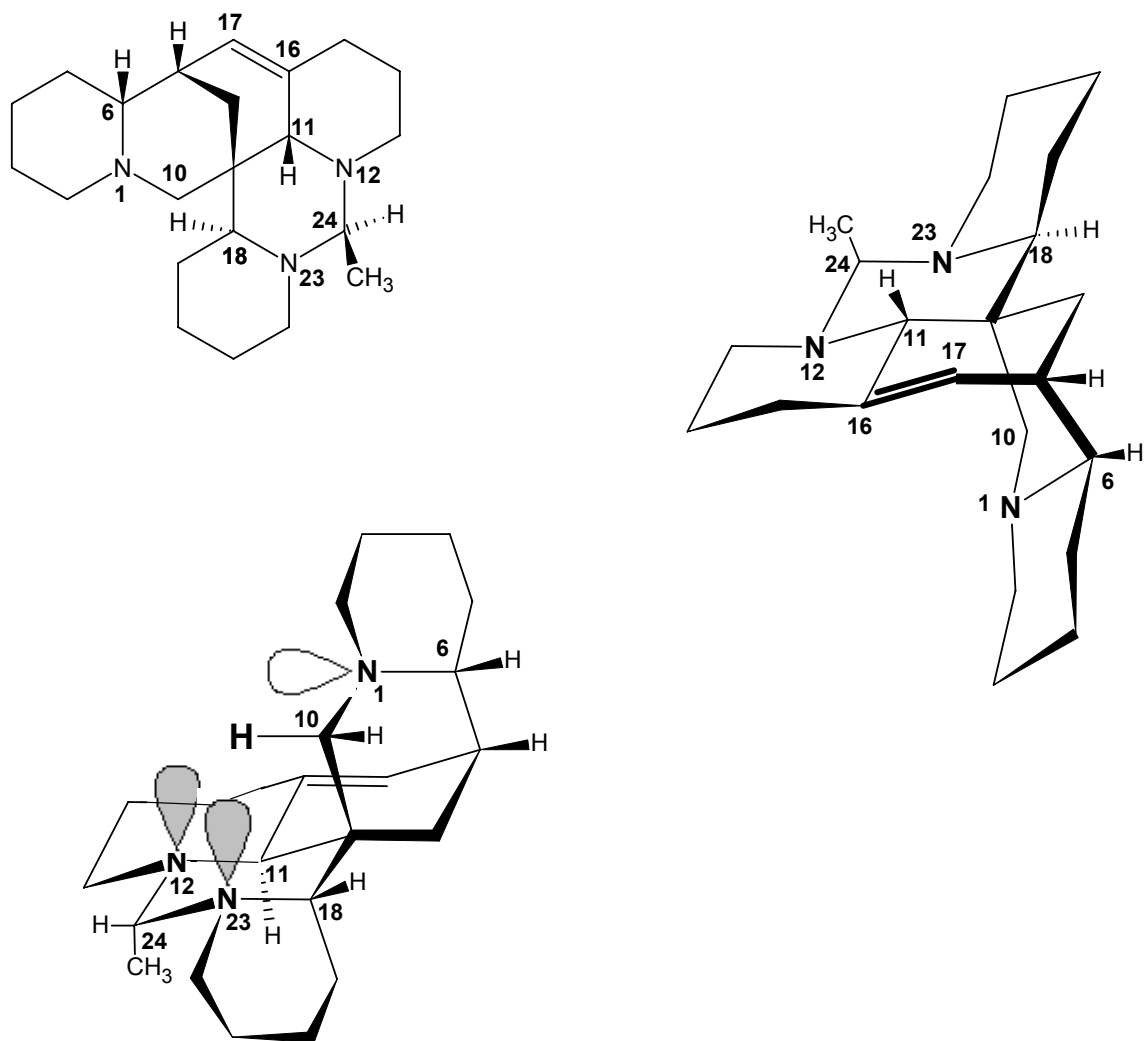
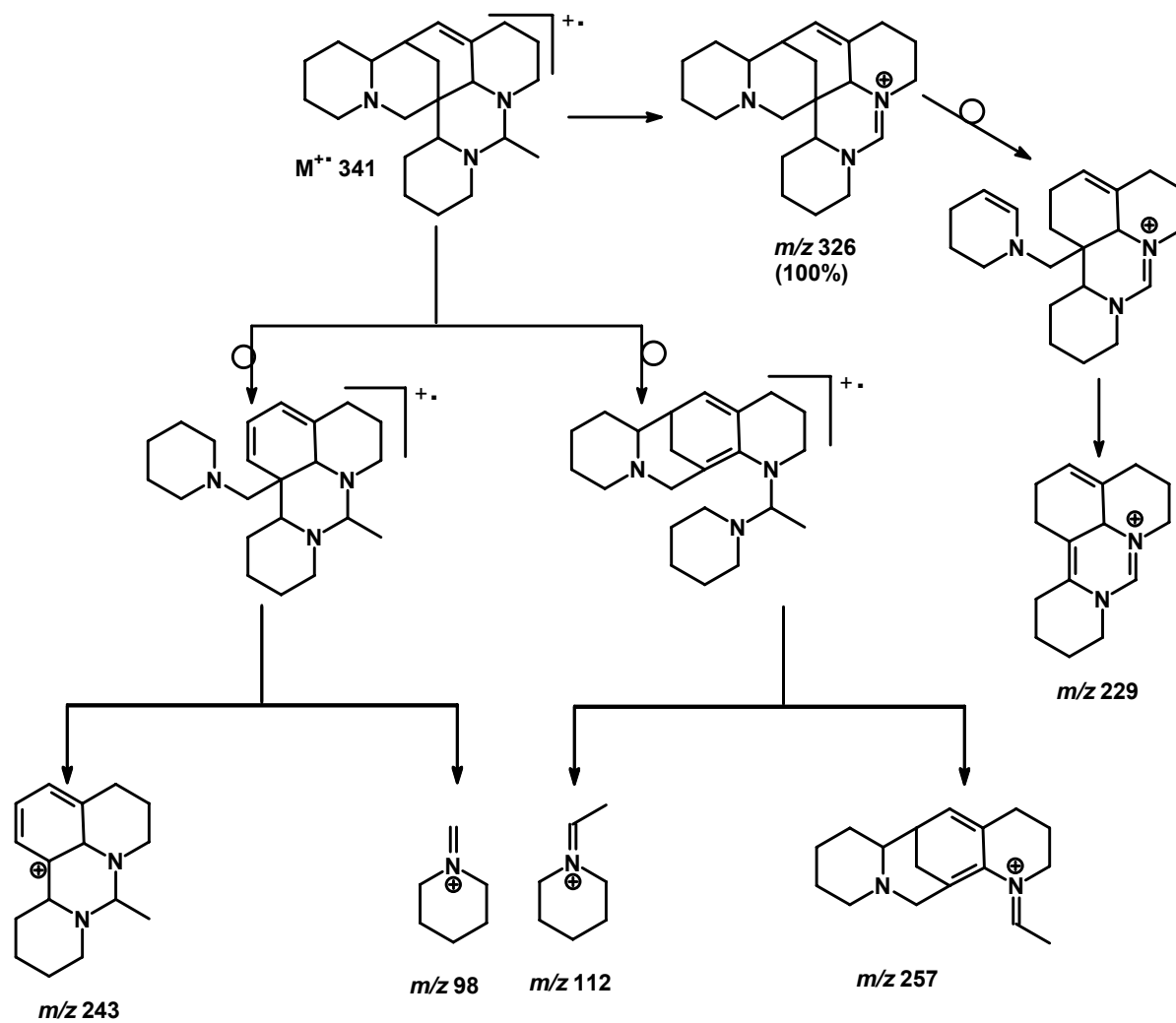


FIGURA 3.2.2.8 - Três representações da 24-metiommo-6-epipodopetalina

A estrutura proposta para **2** foi compatível com as fragmentações apresentadas no espectro de massas (FIGURA 3.2.2.1e ESQUEMA 3.2.2.1).

Portanto, através da análise dos dados espectroscópicos, a substância (**2**) foi identificada como 24-metilomo-6-epipodopetalina, que pela primeira vez é descrita na literatura.



ESQUEMA 3.2.2.1 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para 2.



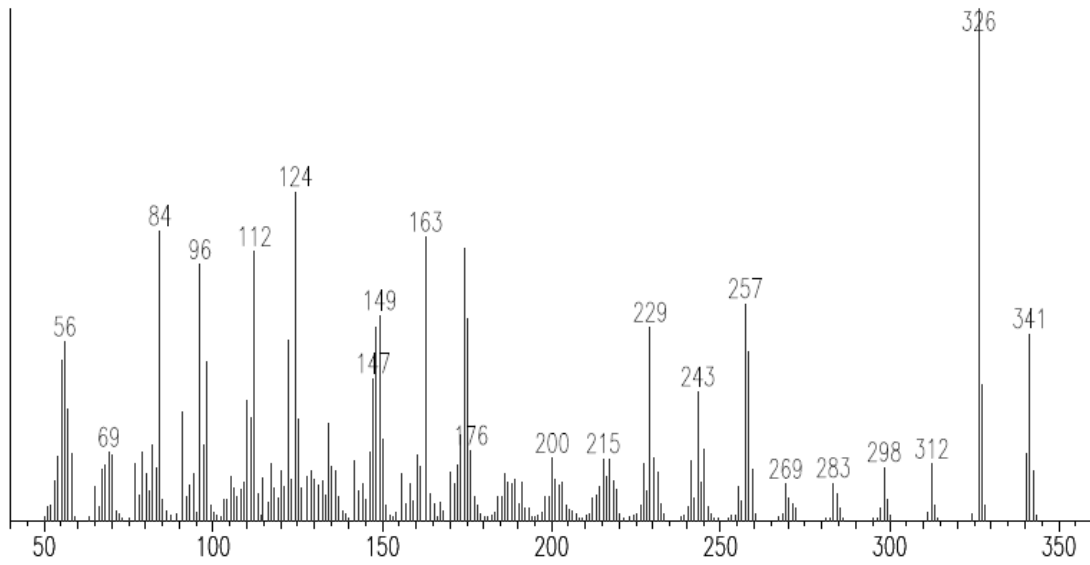


FIGURA 3.2.2.1 – Espectro de massas (IE = 70 eV) do alcalóide quinolizidínico **2**

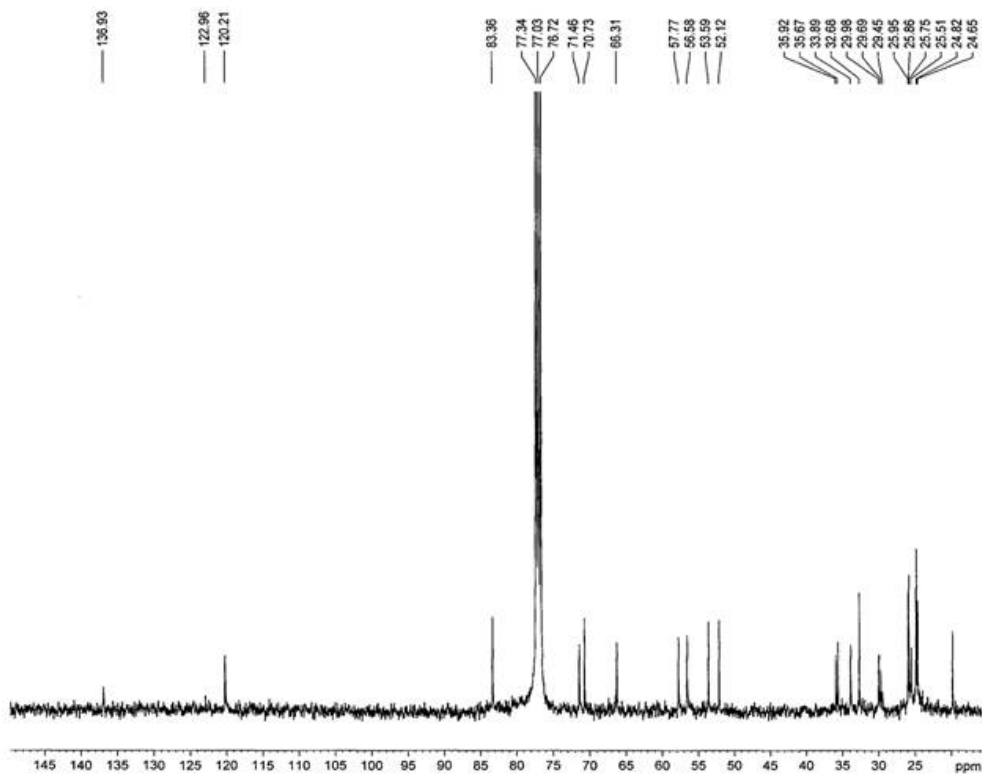


FIGURA 3.2.2.2 – Espectro de RMN <sup>13</sup>C do alcalóide quinolizidínico **2**  
(CDCl<sub>3</sub> 100MHz)

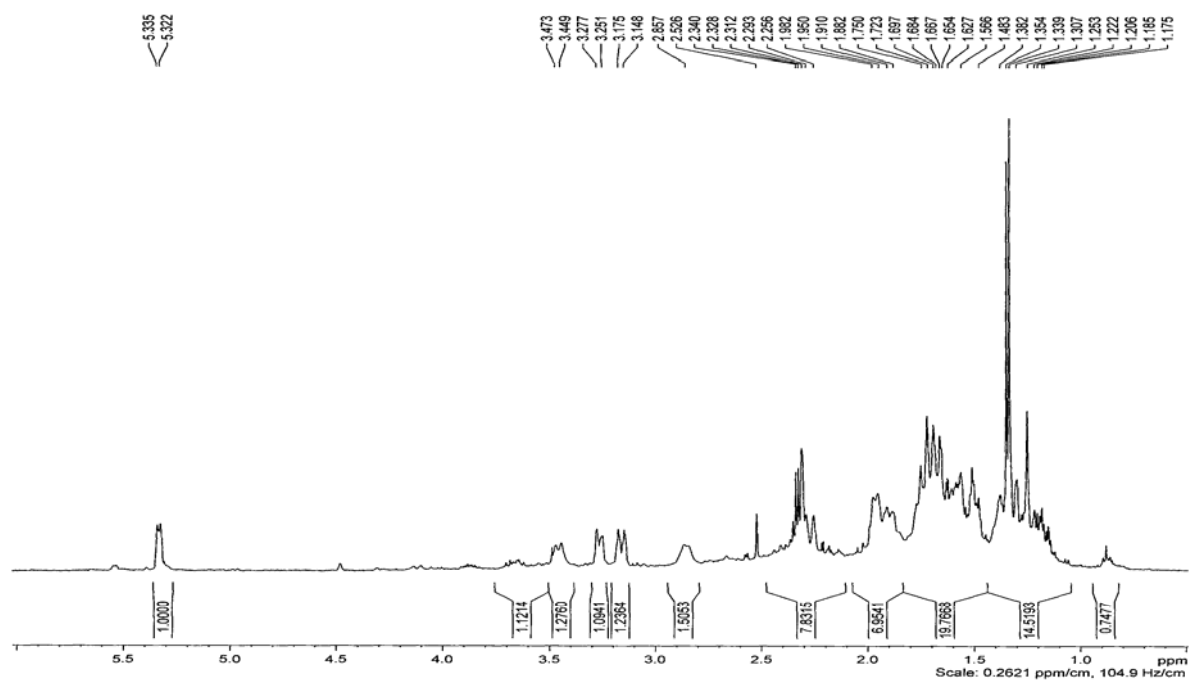


FIGURA 3.2.2.3 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do alcalóide quinolizidínico **2**  
( $\text{CDCl}_3$  400MHz)

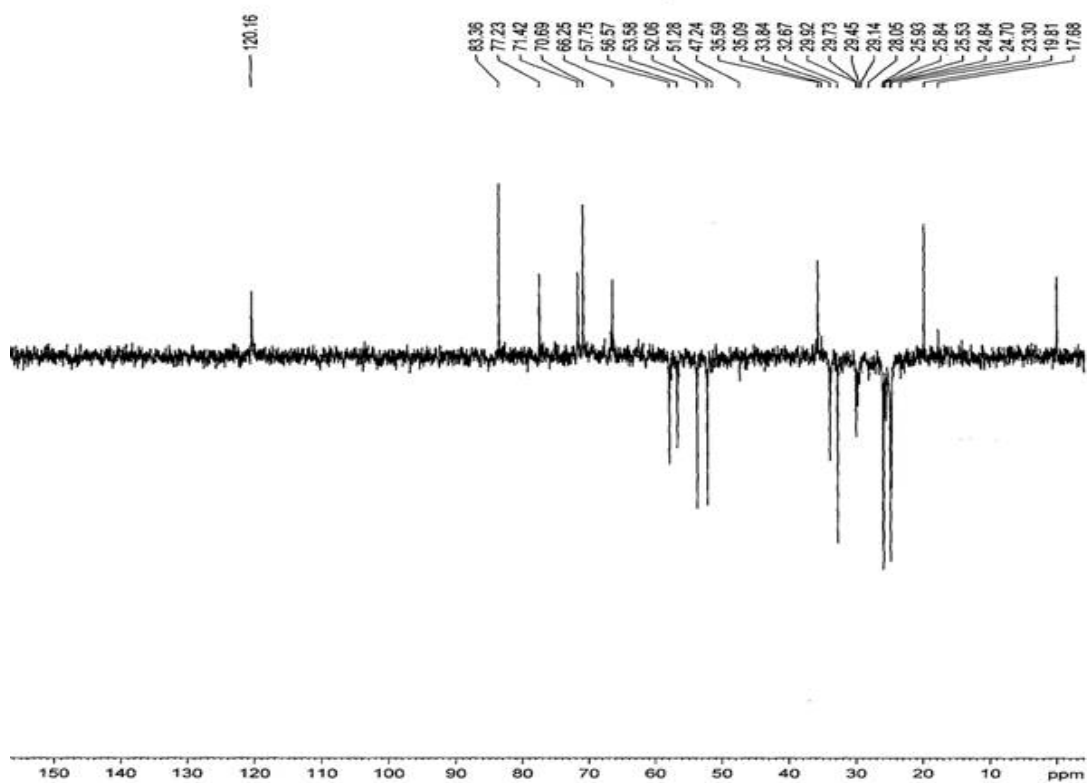


FIGURA 3.2.2.4 – Espectro DEPT 135 do alcalóide quinolizidínico **2**  
( $\text{CDCl}_3$  100MHz)

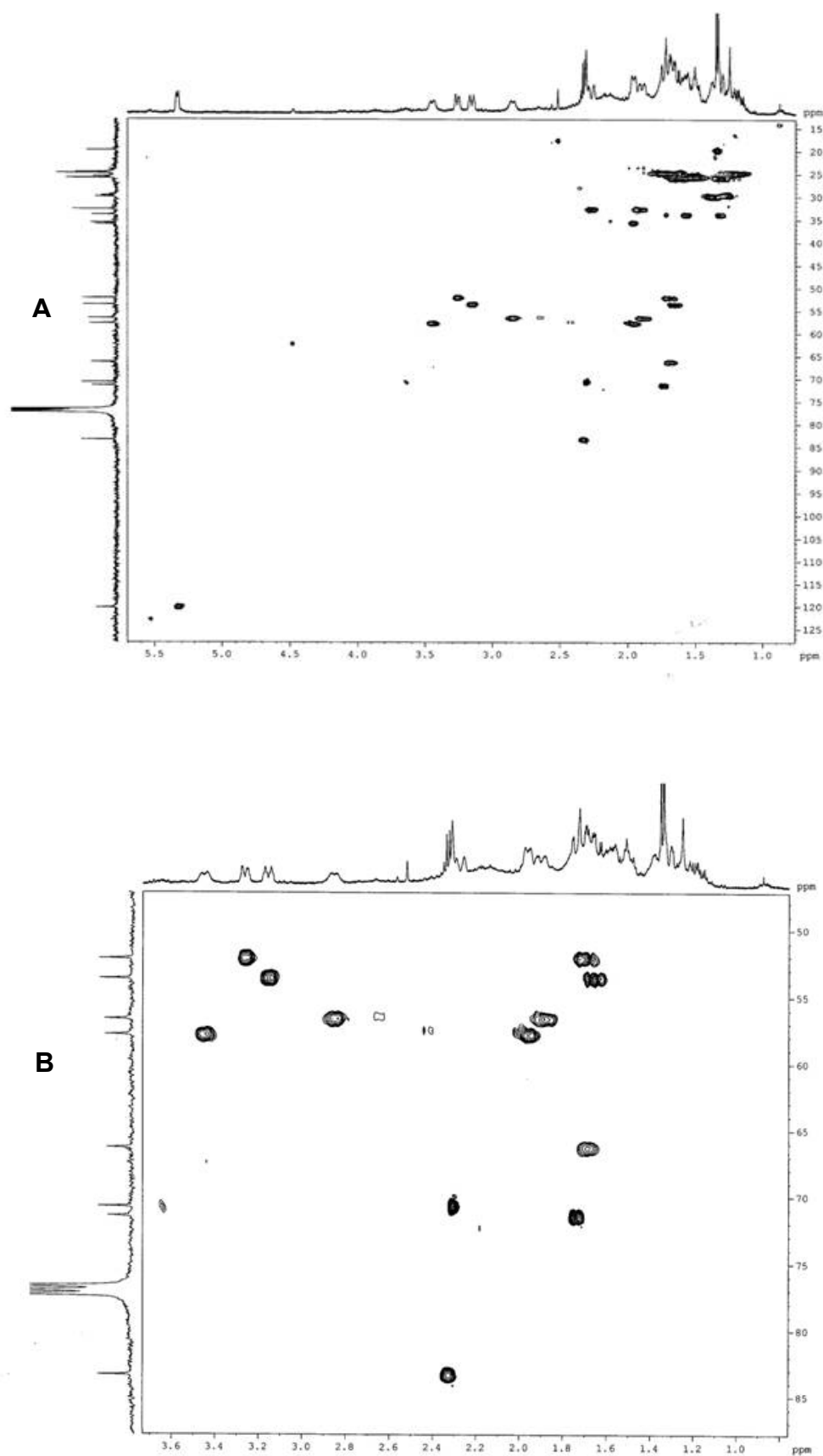


FIGURA 3.2.2.5 – **A)** Mapa de contorno de HSQC, **B)** expandido do alcalóide quinolizidínico **2** ( $\text{CDCl}_3$  400MHz)

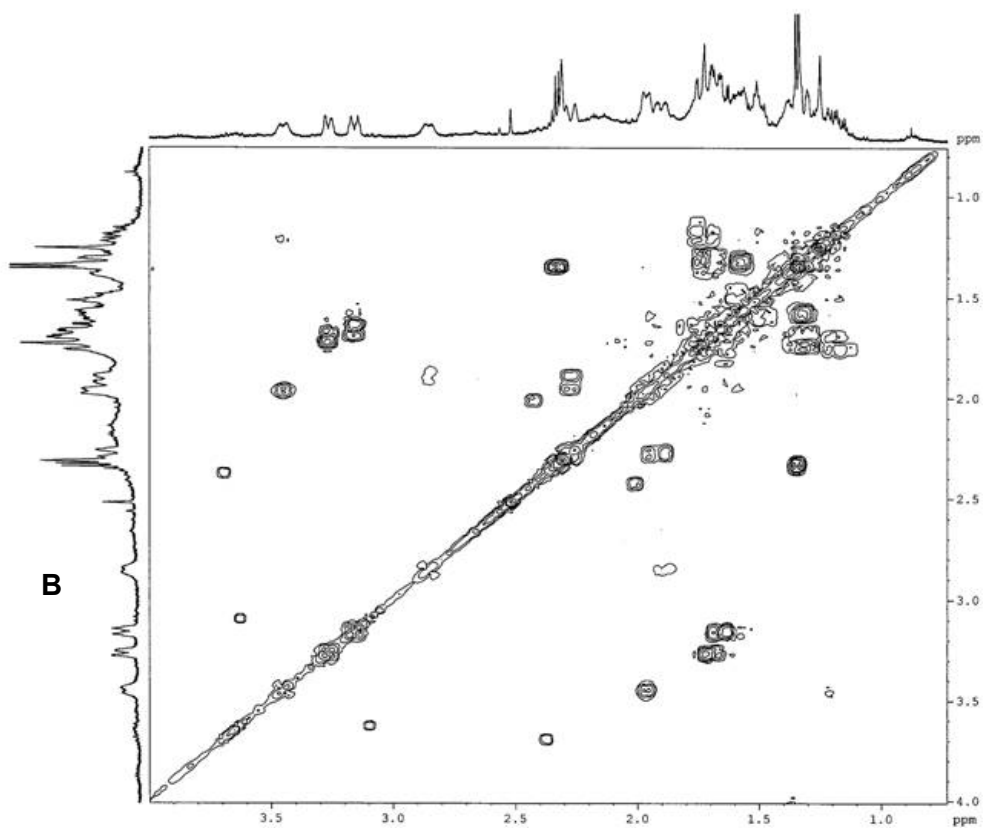
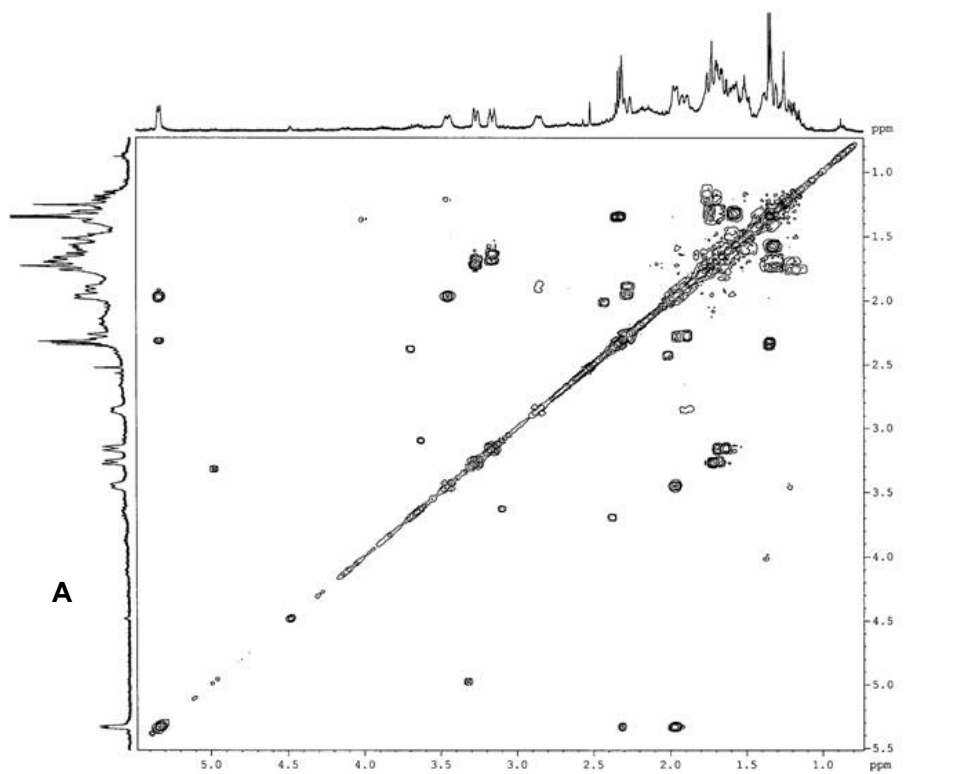


FIGURA 3.2.2.6 – **A**) Espectro COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . **B**) expandido do alcalóide quinolizidínico **2** ( $\text{CDCl}_3$  400MHz)

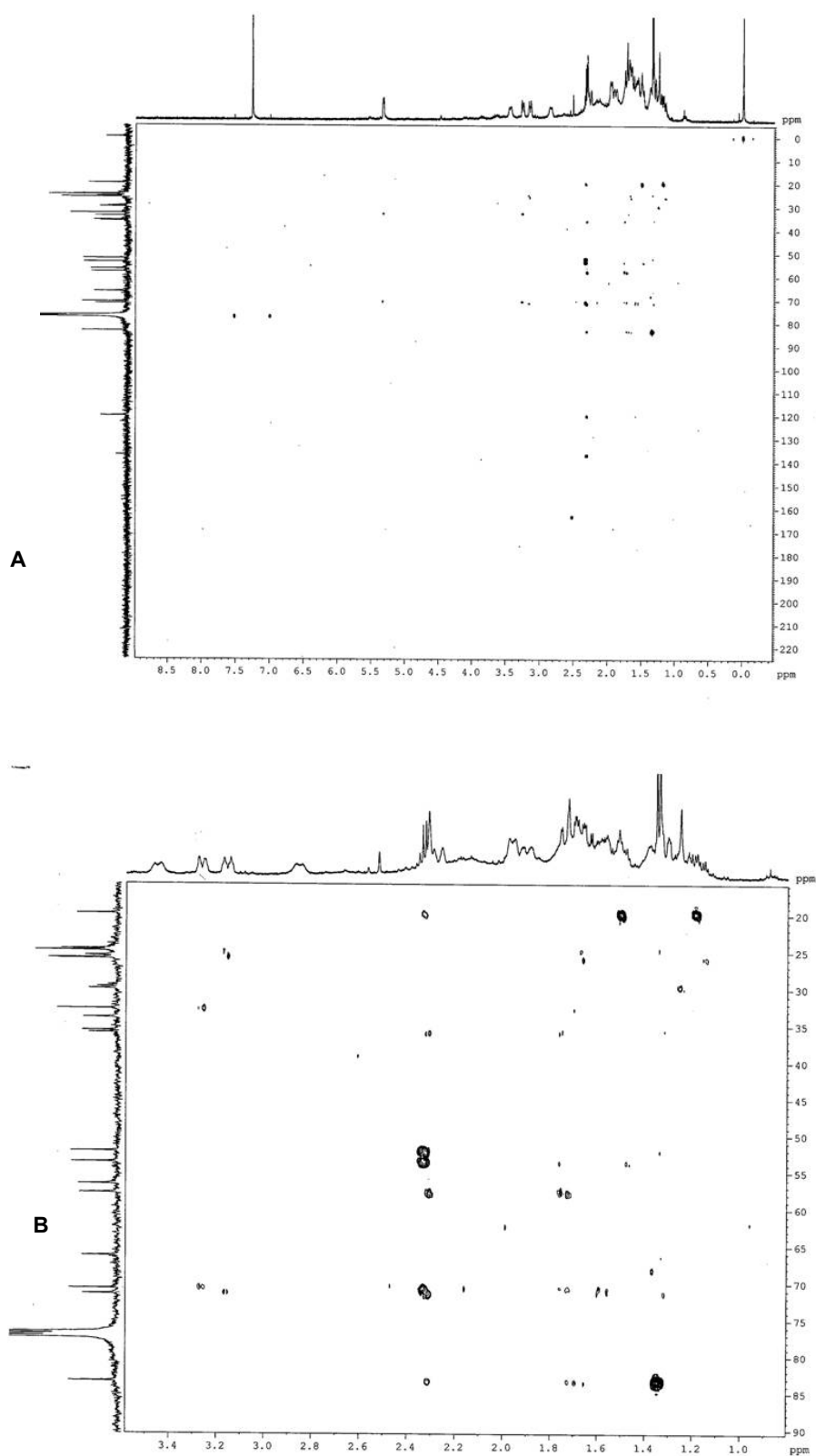
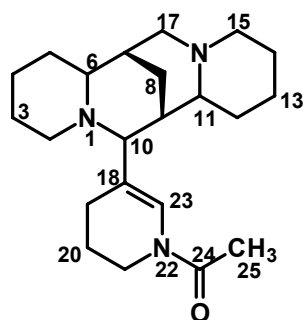


FIGURA 3.2.2.7 – **A)** Mapa de contorno de HMBC, **B)** expandido do alcalóide quinolizidínico **2** (CDCl<sub>3</sub> 400MHz)

3.2.3 – Identificação estrutural da acosmina (**3**)**(3)**

A substância **3** apresentou-se como um material oleoso de coloração amarelado, que na análise em CCDA mostrou coloração amarelada quando revelado com o reagente de Dragendorff, mais uma vez sugerindo tratar-se de um alcalóide.

O EM de **3** (FIGURA 3.2.3.1) apresentou um pico em  $m/z$  357, que foi atribuído ao íon molecular, indicando a presença de átomos de nitrogênio em número ímpar.

A proposição do esqueleto acosmínico para **3**, foi realizado através da comparação dos deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 3.2.3.2) de **3**, com a esparteina e lupanina. Embora apresente um sinal em 167,68  $\delta$  compatível com uma carbonila lactâmica, as atribuições de RMN  $^{13}\text{C}$  são mais coincidentes com as apresentadas pela esparteina (**30**) (BRUKWICKI *et al* 2007) do que com a lupanina (**8**) (TREVISAN *et al* 2008), principalmente no que se refere ao anel **A**. Contudo observa-se significativa diferença na atribuição ao C-2, C-11 e principalmente C-10 (TABELA 4.2.3.1).

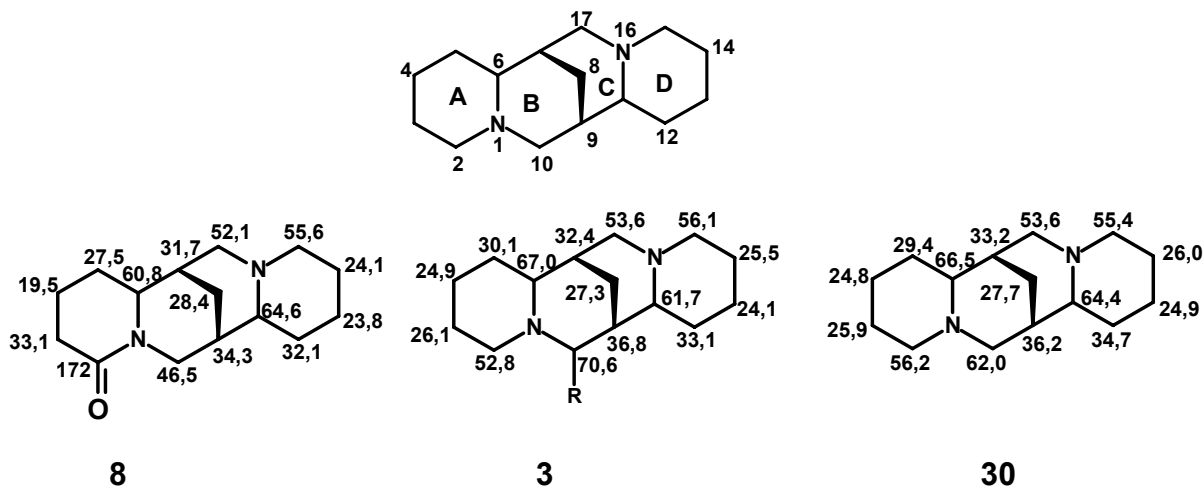


TABELA 3.2.3.1 -  $\delta_C$  de 3: comparação com esparteina (**30**) (BRUKWICKI *et al* 2007); panascomina (**9**) (NUZZILARD *et al* 1999).

C	$\delta_C$ 3 (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ (30) (150 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ (9) (125 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	52,8	56,28	
3	26,0	25,96	
4	24,9	24,80	
5	30,1	29,41	
6	67,0	66,55	
7	32,4	33,20	
8	27,3	27,74	
9	36,8	36,23	
10	<b>70,6</b>	<b>62,01</b>	
11	61,7	64,46	
12	33,1	34,78	
13	24,1	24,95	
14	25,5	26,06	
15	56,1	55,44	
17	53,6	53,45	
18	117,1		117,9
19	24,7		23,3
20	21,5		21,5
21	40,4		40,1
23	123,1/121,3		122,6
24	167,6		168,0
25	21,5/21,6		21,5

Desta forma, foi possível identificar uma parte da molécula com C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub> e massa 233, considerando que o íon molecular é 357, logo pode-se deduzir que outra parte do composto tem 124 u.m.a, que é compatível com C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>NO.

Essa possibilidade encontrou apoio quando se fez as atribuições de RMN <sup>13</sup>C aos anéis **A**, **B**, **C**, e **D**, pois verificou-se a existência de sinais excedentes no espectro, sugerindo que o grupo substituinte possa estar ligado ao carbono 10

(70,67  $\delta$ ) do esqueleto esparteínico de **3**. O sinal deste átomo de carbono apresentou maior discordância quando comparado ao C-10 (62,0  $\delta$ ) da esparteína (TABELA 3.2.3.1).

TABELA 3.2.3.2 - Correlações a  $^1J$  para o alcalóide **3**

Posições	$\delta_C$	$\delta_H$
2	52,8	Ha 3,34 (1H)
		Hb 1,54 (1H)
3	26,1	1,55 (2H)
5	30,1	1,33 (2H)
6	67,0	1,96 (1H)
7	32,4	1,97 (1H)
8	27,3	Ha 2,50 (1H)
		Hb 1,28 (1H)
9	36,8	1,62 (1H)
10	70,6	2,38 (1H)
11	61,7	2,68 (1H)
12	33,1	Ha 1,52 (1H)
		Hb 1,18 (1H)
14	25,5	1,90 (2H)
15	56,1	Ha 3,35 (1H)
		Hb 2,06 (1H)
17	53,6	Ha 2,52 (1H)
		Hb 1,65 (1H)
21	40,46	Ha 3,77 (1H)
		Hb 3,57 (1H)
23	123,1/121,3	6,66 (1H) / 7,26 (1H)
25	21,5/21,6	2,20 (3H) / 2,17 (3H)

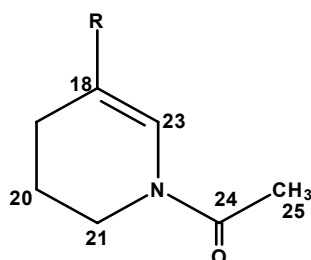
O mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.3.4) permitiu que fossem determinadas algumas correlações C-H a  $^1J$  para o alcalóide **3** (TABELA 3.2.3.2) Entretanto, grande parte das correlações relativas ao esqueleto acosmínico, não



pode ser determinada devido a sobreposição de sinais com deslocamentos químicos muito próximos.

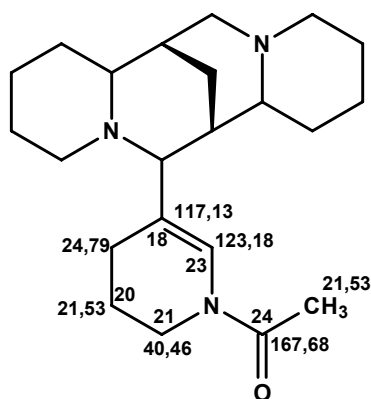
Na análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **3** (FIGURA 3.2.3.3 TABELA 3.2.3.2) observaram-se dois singletos, um em 2,20  $\delta$ , típico de metila de um grupamento acetamida, e outro em 6,66  $\delta$  característico de hidrogênio olefínico que, de acordo com o mapa de contorno de HSQC mostrou correlações com os sinais de carbonos em 21,53 e 123,18  $\delta$  respectivamente, e o segundo singlete apresentou correlações a  $J^2$  e a  $J^3$  no HMBC (FIGURA 3.2.3.5) com os carbonos em 24,79; 40,46; 70,96 e 167,68  $\delta$

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  apresentou ainda o sinal em 117,13  $\delta$  correspondente a um carbono olefínico não hidrogenado. Com essas análises é possível propor a parte remanescente de **3** como sendo uma N-acetildiidropiperidina (**51**)

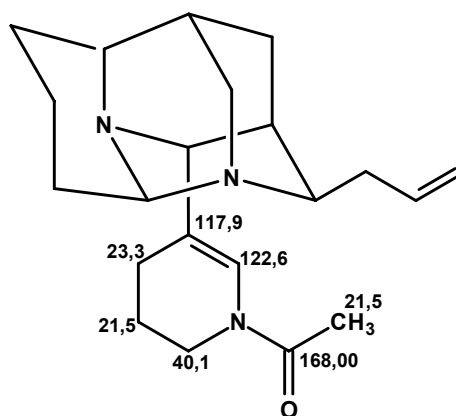


(51)

Esta proposição encontra suporte, quando se comparam as atribuições dos carbonos do grupamento N-acetilpiperidínico da panascomina (**9**) (NUZZILARD *et al* 1999) com os carbonos de **3** (TABELA 3.2.3.1)

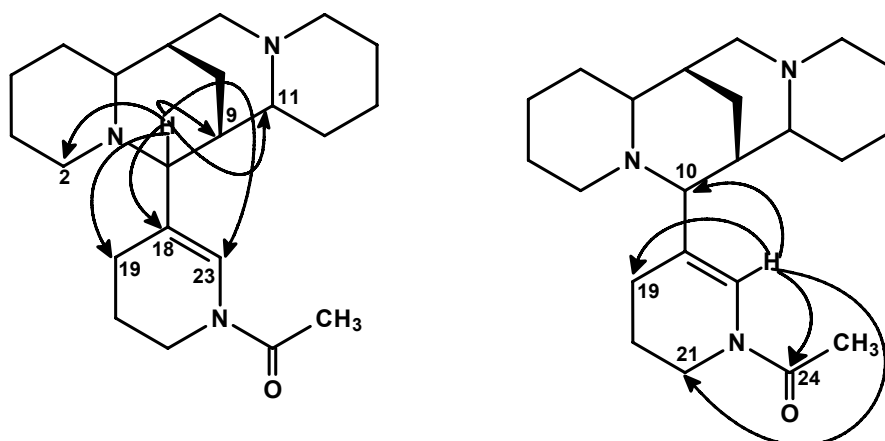


**3**



**9**

A união do grupo piperidínico ao C-10 do esqueleto esparteínico foi confirmada ao analisar as correlações no experimento de HMBC (ESQUEMA 3.2.3.1). O H-10 correlaciona-se com C-2 (52,80  $\delta$ ), C-9 (36,80  $\delta$ ), C-11 (61,74  $\delta$ ), C-18 (117,13  $\delta$ ), C-19 (24,79  $\delta$ ) e C-23 (123,18  $\delta$ ), e no mesmo experimento a correlação de H-23 com os carbonos C-10 (70,96 $\delta$ ), C-19 (24,79  $\delta$ ), C-21 (40,46  $\delta$ ) e C-24 (167,68  $\delta$ ).

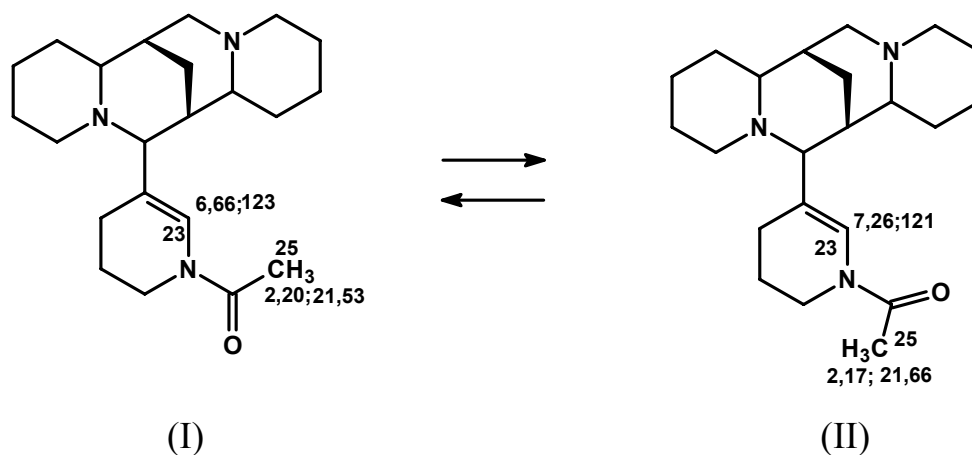


ESQUEMA 3.2.3.1 – Correlações via HMBC para o composto **3**

A ausência do sinal na região de 4,50  $\delta$ , que caracteriza o hidrogênio equatorial ligado ao C-10 (70,67  $\delta$ ), típico nos alcalóides com esqueleto quinolizidínico (VERDOON *et al.* 1990), permite sugerir que a estereoquímica do grupo substituinte em C-10 é equatorial. O sinal que aparece no RMN<sup>1</sup>H como dubleto em 4,29  $\delta$ , pode ser atribuído a uma contaminação de outra substância.

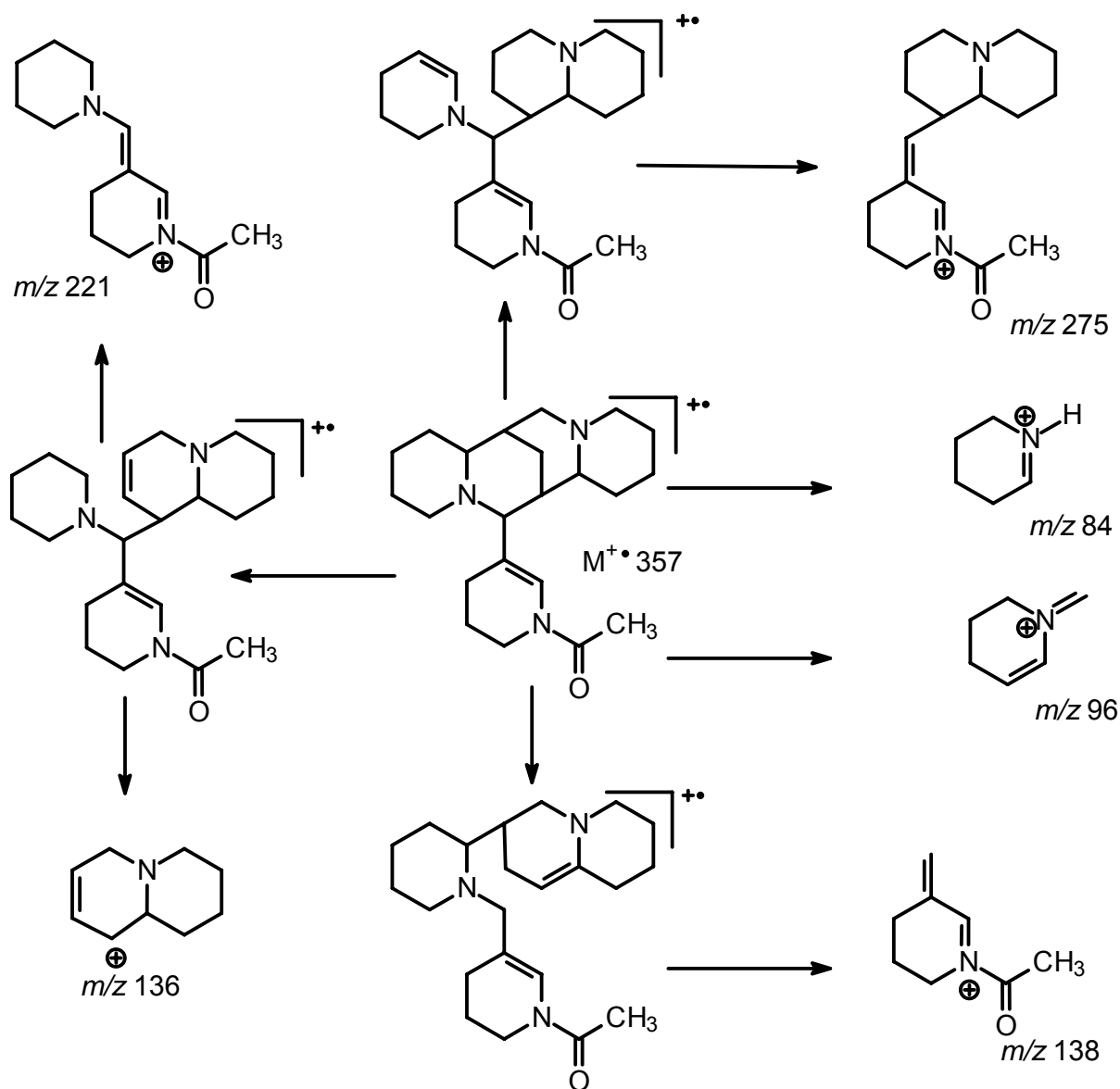
Devido à barreira energética para a rotação em torno da ligação C-N da amida, no grupamento acetilamida de **3**, é possível propor um equilíbrio rotacional nesta molécula, produzindo os rotâmeros (I) e (II) (ESQUEMA 3.2.3.2), este fato é evidenciado no experimento de HSQC onde se verifica outro deslocamento para H-23 (7,26  $\delta$ ) que correlaciona com C-23 (121,37  $\delta$ ), além daqueles já atribuídos em 123,18  $\delta$  para C-13 e 6,66  $\delta$  para H-23. Assim justifica-se os sinais observados nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C.

Esse equilíbrio rotacional também foi observado por NUZILLARD *et al.* (1999), na identificação da lupanocosmina, e esclarece que proton vinílico (H-23) do rotâmero menos estável é mais desblindado, devido ao efeito do grupo carbonila, correspondente ao rotâmero (II) para **3**.

ESQUEMA 3.2.3.2 – Equilíbrio rotacional em **3**

O sinal em 6,56  $\delta$  no espectro de RMN<sup>1</sup>H sugeriu a presença de uma outra substância, possivelmente um conformero para **3**. Este sinal foi atribuído ao H-23, uma vez que pelo experimento HSQC ele se correlaciona com um sinal em 124,87 que foi atribuído ao C-23. Pelo equilíbrio rotacional que também deveria ocorrer, o sinal do H-23 em 6,56  $\delta$  teve a sua duplicidade observada em 7,26  $\delta$  correlacionando com C-23 (123,18  $\delta$ ). Os deslocamentos químicos dos demais átomos de hidrogênios não foram atribuídos por causa do acúmulo de sinais na região mais blindada (2,5 – 1,17  $\delta$ ) e também pela provável coincidência dos deslocamentos químicos de hidrogênios da substância em questão com os de **3**.

A estrutura proposta para **3** foi compatível com as fragmentações apresentadas no espectro de massas (ESQUEMA 3.2.3.3). O fragmento em  $m/z$  138 é típico de um alcalóide quinolizidínico com o esqueleto acosmínico.



ESQUEMA 3.2.3.3 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para **3**

De acordo com os dados da literatura e a análise realizada para o composto **3**, este foi determinada como sendo a acosmina, e foi identificado anteriormente por BALANDRIN (1982) e TREVISAN *et al.* (2008).

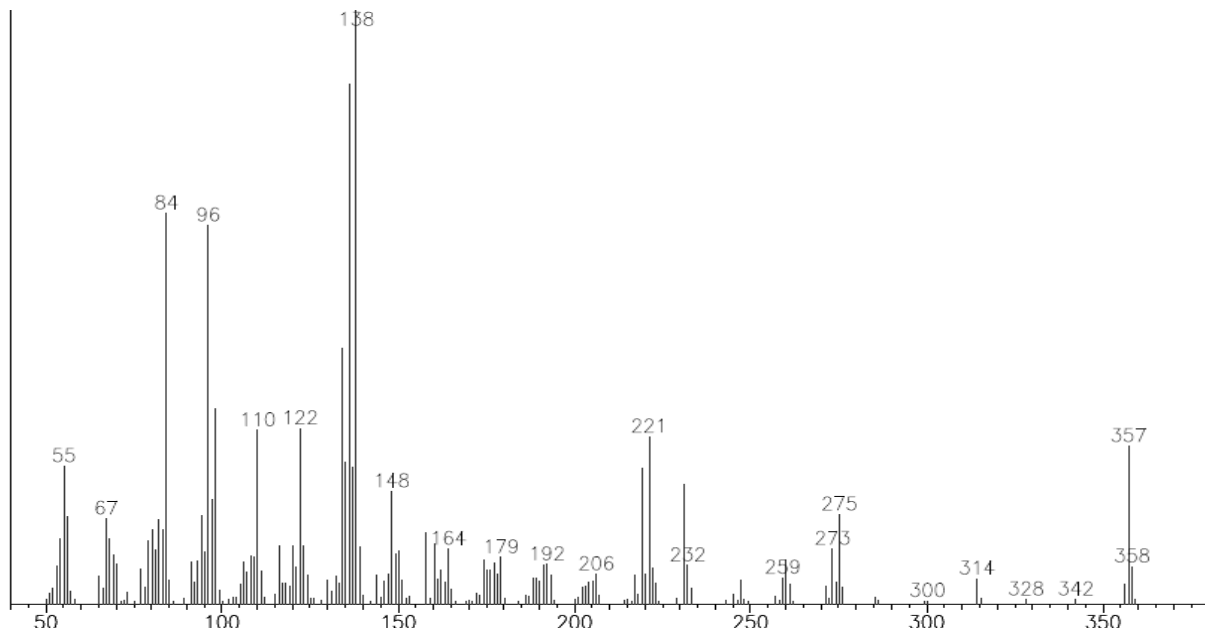


FIGURA 3.2.3.1 – Espectro de massas (IE = 70 eV) da acosmina

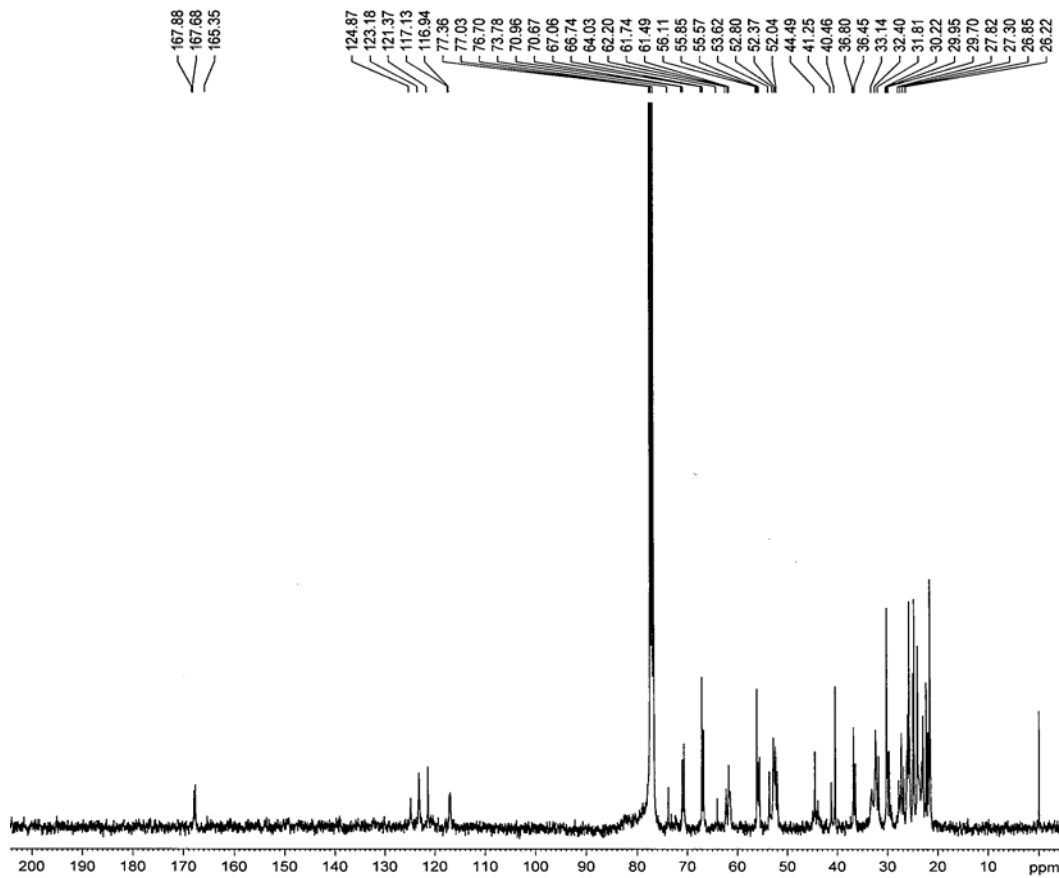


FIGURA 3.2.3.2 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da acosmina ( $\text{CDCl}_3$  100MHz)

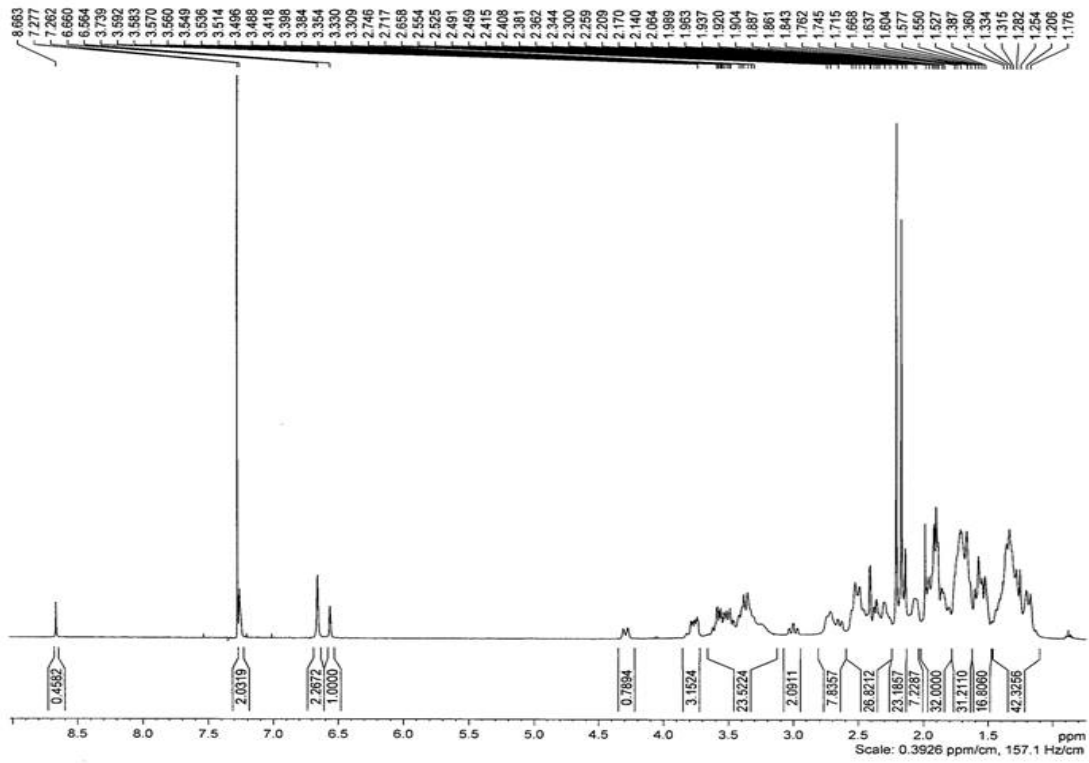


FIGURA 3.2.3.3 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H da acosmina (400 MHz CDCl<sub>3</sub>)

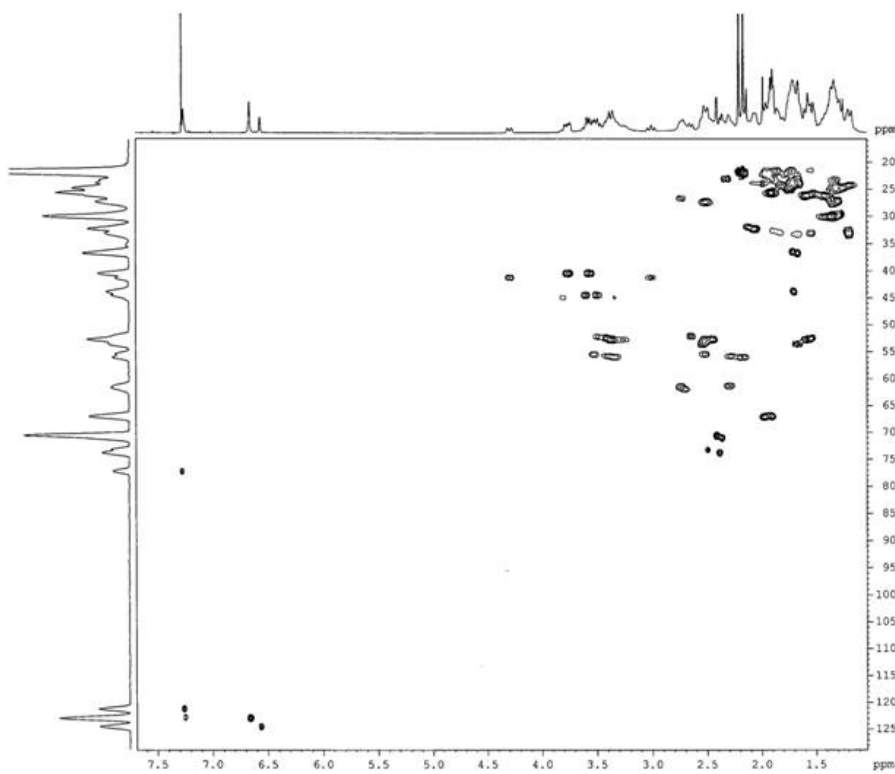


FIGURA 3.2.3.4 – Mapa de contorno de HSQC (HSQC 400 CDCl<sub>3</sub>) da acosmina

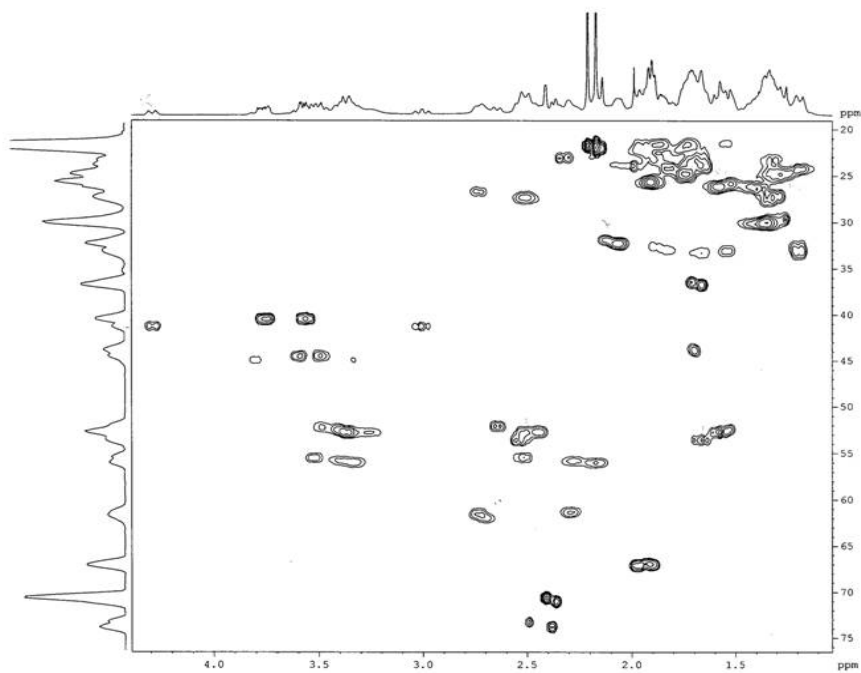


FIGURA 3.2.3.4a – Expansão mapa de contorno de HSQC (HSQC 400 CDCl<sub>3</sub>) da acosmina

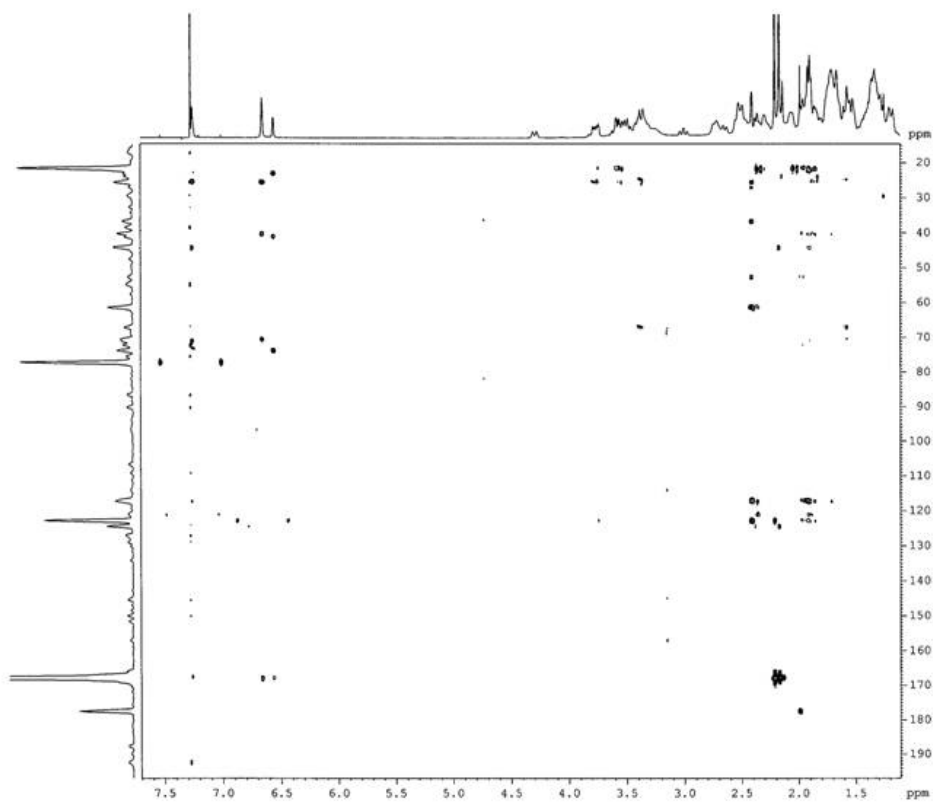
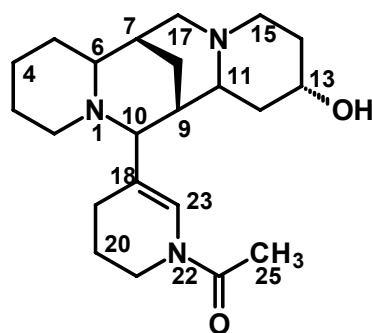


FIGURA 3.2.3.5 – Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da acosmina.

## 3.2.4 – Identificação estrutural da acosminina (4)



(4)

A substância **4** apresentou-se como um material oleoso de coloração amarelado, que na análise em CCDA mostrou coloração amarelada quando revelado com o reagente de Dragendorff.

O EM de **4** (FIGURA 3.2.4.1, Esquema 3.2.4.1) apresentou um pico em  $m/z$  373, que foi atribuído ao íon molecular, indicando a presença de átomos de nitrogênio em número ímpar, mostrou também fragmentação típica para alcalóides quinolizidínicos com esqueleto acosmínico ( $m/z$  138 e 84). Quando comparados com EM (FIGURA 3.2.3.1) de **3**, que tem o íon molecular  $m/z$  357, **4** apresentou uma diferença de 16 unidades, indicando a existência de mais um átomo de oxigênio. Baseados nessas informações é possível estabelecer a fórmula de **4** como  $C_{22}H_{35}N_3O$ .

O espectro de RMN  $^1H$  (FIGURA 3.2.4.2) além de apresentar um acúmulo de sinais em sua região mais blindada, especificamente entre 3,8 e 1,0  $\delta$ , com perfil típico de alcalóides quinolizidínicos, é semelhante ao espectro de **3**. O espectro mostrou dois singletos, um em 2,18  $\delta$ , típico de uma metila de grupamento acetamida, e outro em 6,67  $\delta$  característico de hidrogênio olefínico que, de acordo com o mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.4.4) estão correlacionados com os sinais de carbonos em 21,8 e 123,5  $\delta$  respectivamente.

O mapa de contorno de HSQC permitiu que fossem determinadas algumas correlações C-H a  $^1J$  para o alcalóide **4** (TABELA 3.2.4.1). Entretanto, grande parte das correlações relativas ao esqueleto acosmínico, não pode ser determinada por ocorrer muito próxima no mapa.



TABELA 3.2.4.1 - Correlações a  $^1J$  para o alcalóide **4**

Posições	$\delta_C$	$\delta_H$
2	53,27	Ha 3,33 (1H) Hb 1,53 (1H)
5	30,31	Ha 1,49 (1H) Hb 1,30 (1H)
6	67,65	1,97 (1H)
7	33,55	1,89 (1H)
8	28,05	Ha 2,16 (1H) Hb 1,20 (1H)
9	37,26	1,60(1H)
10	71,11	2,39 (1H)
11	58,03	2,03 (1H)
12	42,88	Ha 1,73 (1H) Hb 1,44 (1H)
13	69,07	3,49 (1H)
14	34,32	Ha 1,87 (1H) Hb 1,57 (1H)
15	52,32	Ha 2,81 (1H) Hb 2,33 (1H)
17	53,47	Ha 2,83 (1H) Hb 2,36 (1H)
21	40,62	Ha 3,74 (1H) Hb 3,55(1H)
23	123,50/122,07	6,67 (1H) / 7,22(1H)
25	21,83/21,53	2,18 (3H) / 2,16 (3H)

Os deslocamentos químicos no espectro de RMN $^{13}C$  (FIGURA 3.2.4.3. TABELA 3.2.4.2) apresentou semelhanças nos anéis **A**, **B** e **C** e no grupamento N-acetilpiperidil, entretanto, alterações significativas foram observadas nas atribuições aos átomos de carbono do anel **D**, quando comparados àqueles apresentados por **3**. Considerando que o composto **4** tem um átomo de oxigênio a mais que a acosmina,

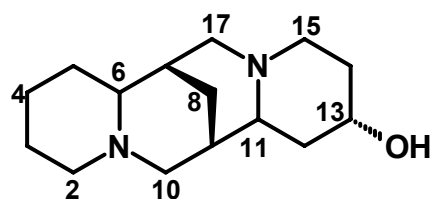
pode-se, então deduzir que este átomo está localizado no anel **D**. Esta proposição encontra suporte no EM através do fragmento em  $m/z$  152. A presença de uma hidroxila secundária no anel **D**, foi confirmada por reação de acetilação. O espectro de massa do derivado acetilado (FIGURA 3.2.4.5 ESQUEMA 3.2.4.2) apresentou o íon molecular  $m/z$  415 e o fragmento em 194 confirmando não só que houve uma monoacetilação, bem como esta ocorreu no anel D.

TABELA 3.2.4.2 -  $\delta_C$  de **4**: comparação com acosmina (**3**) e com 3 $\alpha$ -hidroxiesparteina (**52**) (BRUKWICKI *et al.* 2007)

C	$\delta_C$ <b>4</b> (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ <b>3</b> (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ <b>52</b> (150 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	53,2	52,8	56,12
3	26,3	26,0	25,77
4	25,2	24,9	24,69
5	30,3	30,1	29,28
6	67,6	67,0	66,41
7	33,5	32,4	32,98
8	28,0	27,3	27,43
9	37,2	36,8	35,48
10	71,1	70,6	61,63
<b>*11</b>	<b>58,0</b>	<b>61,7</b>	57,25
12	42,8	33,1	41,54
13	69,0	24,1	65,01
14	34,3	25,5	32,76
15	52,3	56,1	49,13
17	53,4	53,6	53,18
18	117,5	117,1	
19	25,1	24,7	
20	22,5	21,5	
21	40,6	40,4/44,9	
23	123,5/122,0	123,1/121,3	
24	167,9	167,6	
25	21,8/21,5	21,53/21,66	

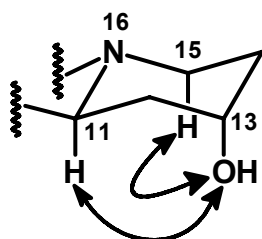
A ausência de um sinal em 24,10  $\delta$  referente ao C-13 da acosmina e o aparecimento de um sinal 69,07  $\delta$  típico de um carbono carbinólico, sugere que a hidroxila está ligada ao C-13, causando uma desblindagem nos carbonos C-12 e C-14 para 42,88  $\delta$  e para 34,32  $\delta$  (TABELA 3.2.4.2).

Esta proposição é confirmada, quando se compara as atribuições dos carbonos do anel **D** da 13 $\alpha$ -hidroxiesparteina (**52**) (BRUKWICKI *et al.* 2007) com os carbonos do anel **D** da acosminina (**4**) (TABELA 3.2.4.2)

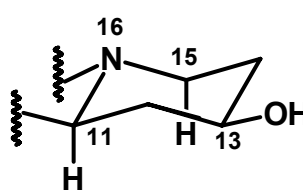


(52)

A estereoquímica da hidroxila em C-13 foi estabelecida através da análise do efeito  $\gamma$ -gauche apresentado nos carbonos C-11 e C-15, quando comparados aos deslocamentos de RMN<sup>13</sup>C de **3**. Como ocorreu blindagem dos carbonos C-11 e C-15 (TABELA 3.2.4.1), isto significa que foi observado o efeito  $\gamma$ -gauche, logo a hidroxila ocupa a posição  $\alpha$  (53). Se a hidroxila estivesse na posição  $\beta$  (54), não ocorreria o efeito de blindagem (ESQUEMA 4.2.4.3)



(53)



(54)

A) Hidroxila em 13 $\alpha$  : observa o efeito  $\gamma$  gauche

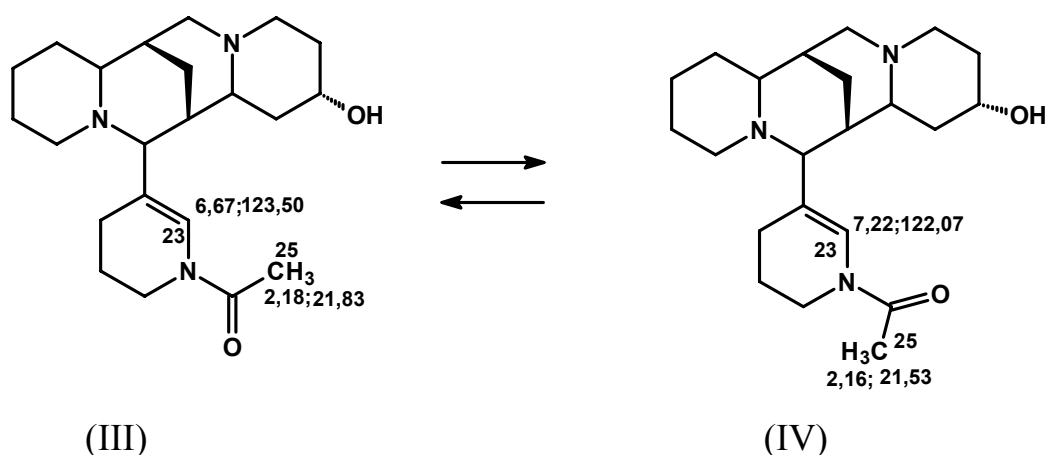
B) Hidroxila em 13 $\beta$  : não se observa o efeito  $\gamma$  gauche

ESQUEMA 3.2.4.3 - Efeito  $\gamma$  gauche para 13 $\alpha$  e 13 $\beta$ - hidroxi.

A estereoquímica do grupo substituinte N-acetilpiperidil que está ligado ao C-10 é estabelecida, pela ausência do sinal na região de 4,50  $\delta$ , que caracteriza o hidrogênio equatorial ligado ao C-10 (71,11  $\delta$ ), típico nos alcalóides com esqueleto quinolizidínico (VERDOON *et al.* 1990), que permite sugerir a estereoquímica em equatorial.

Devido à barreira energética para a rotação em torno da ligação C-N de amida, no grupamento acetilamida de **4**, é possível propor um equilíbrio rotacional nesta molécula, produzindo os rotâmeros (III) e (IV) (ESQUEMA 3.2.4.4). Este fato é evidenciado no experimento de HSQC onde se verifica outro deslocamento para H-23 (7,27  $\delta$ ) que correlaciona com C-23 (122,07  $\delta$ ), além daqueles já atribuídos em 123,50  $\delta$  para C-23 e 6,67  $\delta$  para H-23. Assim justificam-se os sinais observados nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C.

Esse equilíbrio rotacional também foi observado por NUZILLARD *et al.* (1999), na identificação da lupanocosmina, com a proposição de que o próton vinílico (H-23) do rotâmero menos estável é mais desblindado, devido ao efeito do grupo carbonila, correspondente ao rotâmero (IV) para **4**

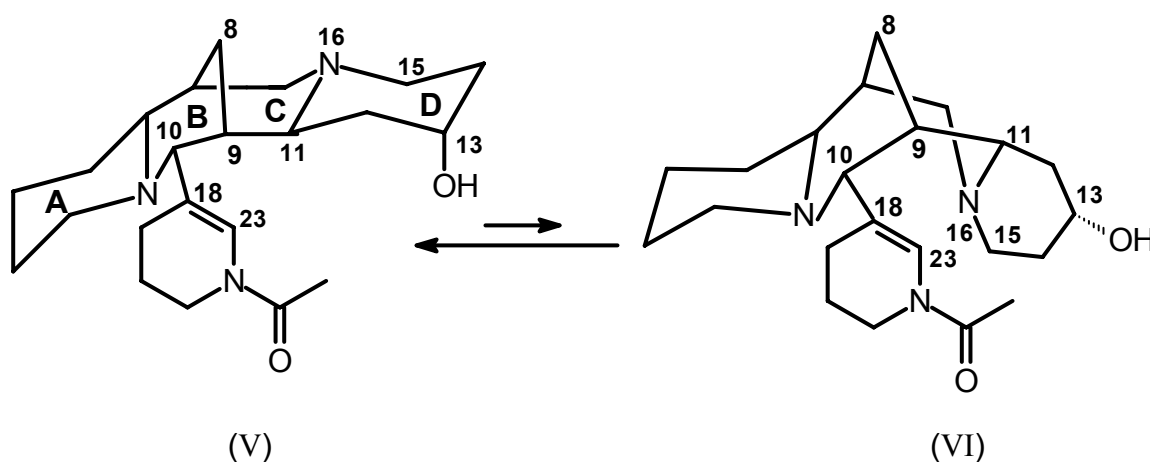


ESQUEMA 3.2.4.4 – Equilíbrio rotacional observado em **4**

Para melhor entender a presença de confôrmeros foram propostos experimentos de RMN<sup>1</sup>H a temperatura variáveis. Quando se fez a análise dos espectros de RMN<sup>1</sup>H registrados 25, 40 e 50° C (FIGURA 3.2.4.6), os sinais em  $\delta_H$  7,22 (s); 6,67 (s); 6,54 (s); 4,21(d) e 3,07 (m) observa-se que o segundo sinal vai diminuindo de intensidade até apresentar a mesma intensidade que o primeiro, e os três últimos vão diminuindo de intensidade até desaparecerem, na medida em que aumenta a temperatura. Esses dados sugerem que há um equilíbrio de confôrmeros (V) e (VI) para **4** (ESQUEMA 3.2.4.5), os mesmos tipos de confôrmeros observados por Brukwicki (BRUKWICKI *et al.* 2007) para 13 $\alpha$ -hidroxiesparteina e 13 $\alpha$ -

hidroxilupanina. O sinal em 6,54  $\delta$  (s) foi atribuído ao H-23, uma vez que pelo experimento HSQC ele se correlaciona com um sinal em 124,13 que foi atribuído ao C-23. Este confôrmero (VI), pelo equilíbrio rotacional que também deveria ocorrer, teve a sua duplicidade observada em 6,67  $\delta$  correlacionando com C-23 (123,50  $\delta$ ).

Estudos com 13 $\alpha$ -hidroxiesparteina e 13 $\alpha$ -hidroxilupanina, concluíram que a conformação mais estável (V) é aquela que tem o anel **C** em forma de barco (BRUKWICKI *et al.* 2007, WYSOCKA *et al.* 1999).



ESQUEMA 3.2.4.5 - Confôrmeros da 13 $\alpha$ -hidroxi acosmina.

Os deslocamentos químicos dos demais átomos de hidrogênios não foram atribuídos devido ao acúmulo de sinais na região mais blindada (2,5 – 1,17  $\delta$ ) e também pela provável coincidência dos deslocamentos químicos de hidrogênios dos confôrmeros.

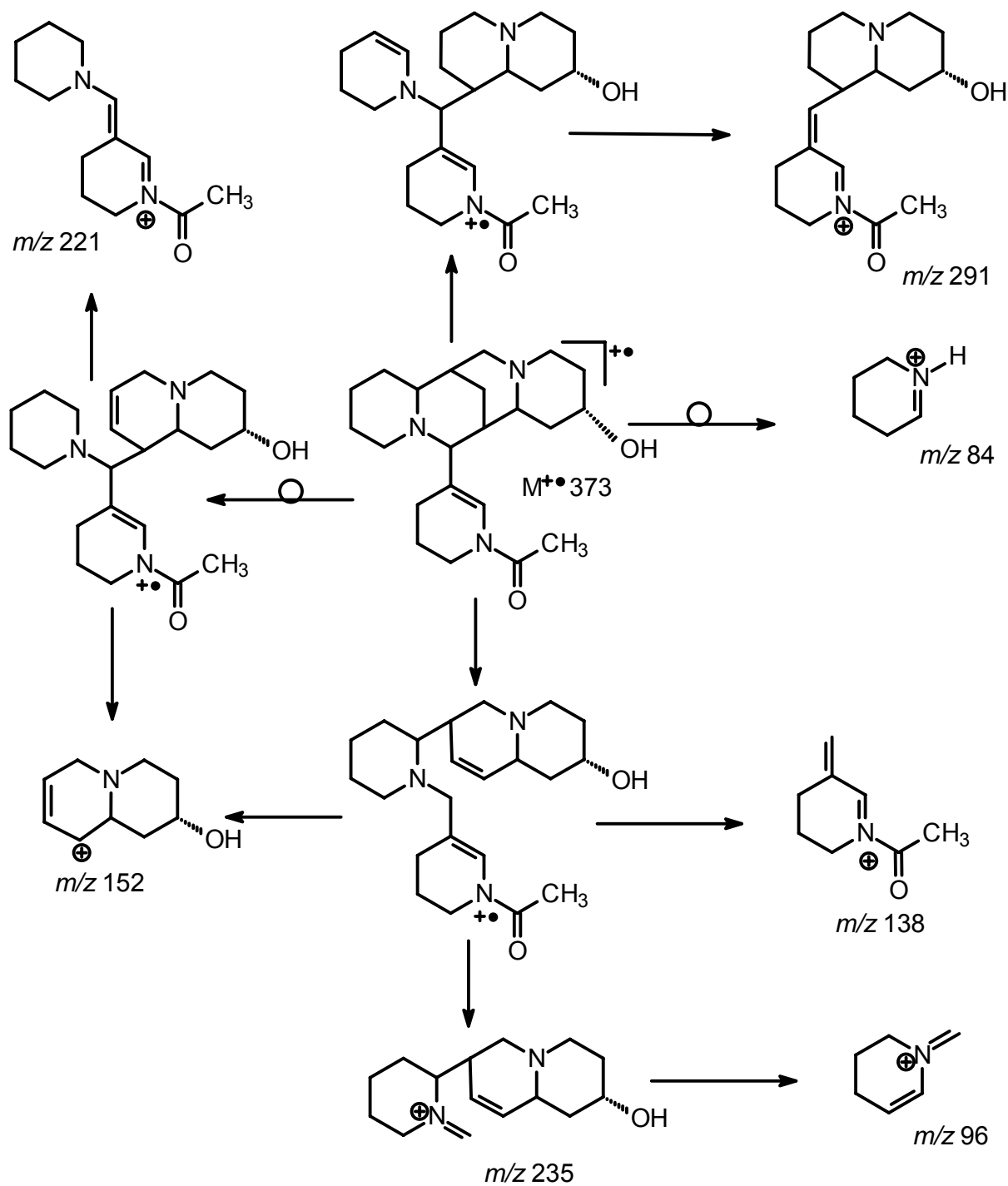
Através da análise conjunta dos espectros de RMN<sup>13</sup>C a 40 e 50° C (FIGURA 3.2.4.7 e 8) e o mapa de contorno de HSQC foi possível estabelecer os deslocamentos químicos de alguns carbonos do confôrmero VI. (TABELA 3.2.4.3).

TABELA 3.2.4.3 -  $\delta_C$  Confômeros V e VI do composto 4

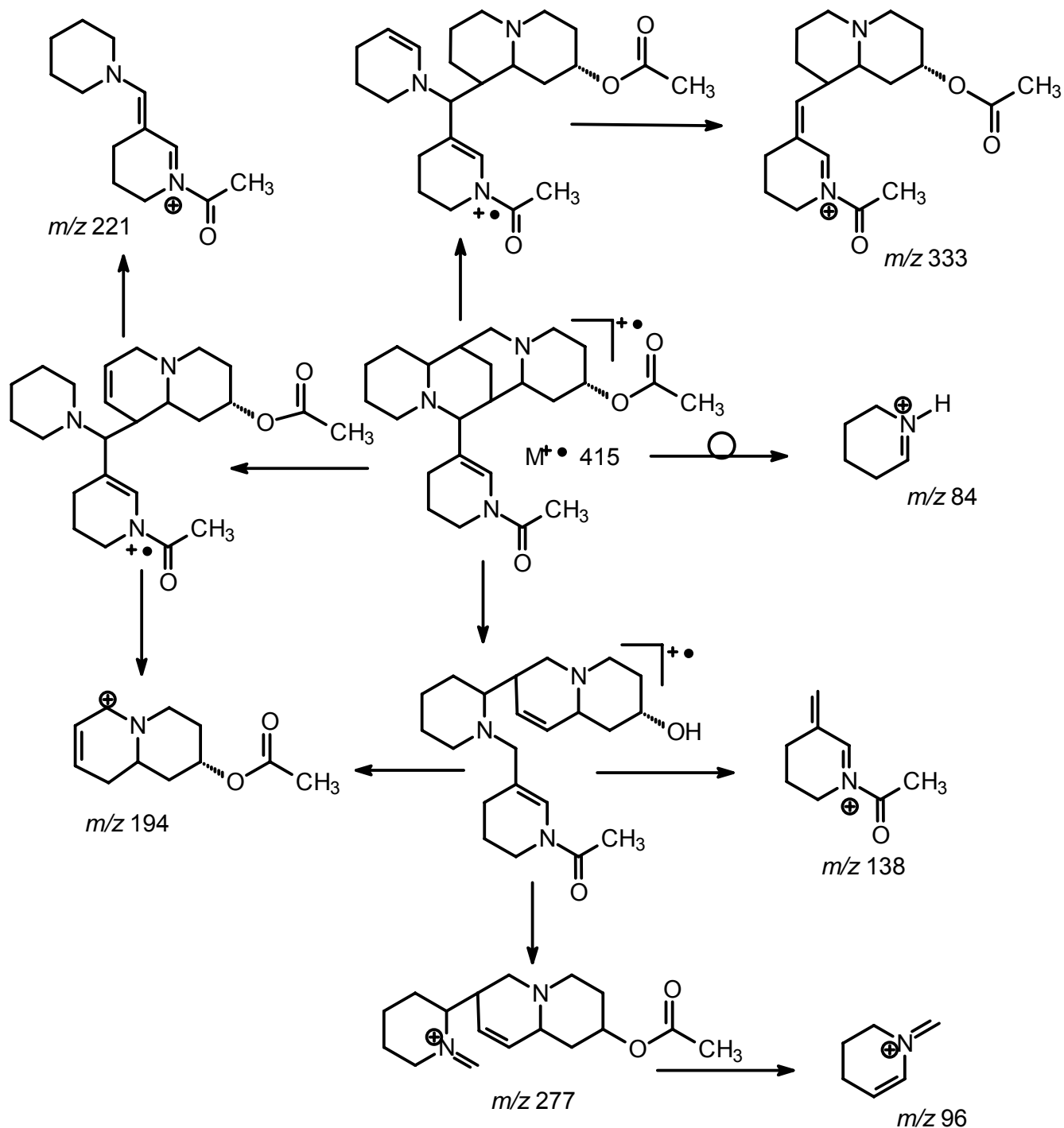
C	$\delta_C$ V (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ VI (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
6	67,65	67,47
9	37,26	36,84
10	71,11	73,97
11	58,03	58,74
12	42,88	42,67
13	69,07	70,95
17	53,47	54,02
21	40,62	41,34
23	123,50/122,07	122,43/124/13
24	167,97	167,90

O CG-EM apresenta apenas um pico no cromatograma, porque a relação entre os pares da acosminina (**4**) é de ordem tão somente conformacional e não configuracional. Embora o CG-EM seja mais sensível que o RMN, porém este é mais seletivo, isto justifica o fato dele apresentar sinais referentes aos confômeros, quando registrados a temperatura ambiente.

A estrutura proposta para **4** e para o seu derivado acetilado foi compatível com as fragmentações apresentadas no espectro de massa (ESQUEMA 3.2.4.1 e 3.2.4.2). O fragmento em  $m/z$  138 é típico de um alcalóide quinolizidínico com o esqueleto acosmínico.



ESQUEMA 3.2.4.1 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para 4.



ESQUEMA 3.2.4.2 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para o derivado acetilado **4a**

De acordo com os dados da literatura e a análise realizada para o composto (**4**), foi determinada como sendo a acosminina, e foi identificado por BALANDRIN (1982) e TREVISAN *et al.* (2008), no entanto não há nenhum relato na literatura sobre estudos conformacionais para **4**.



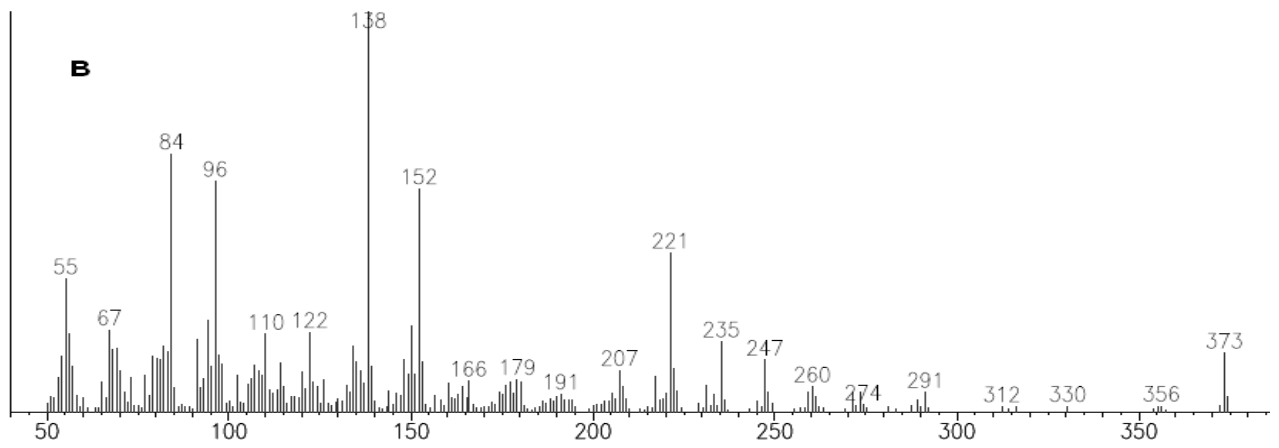
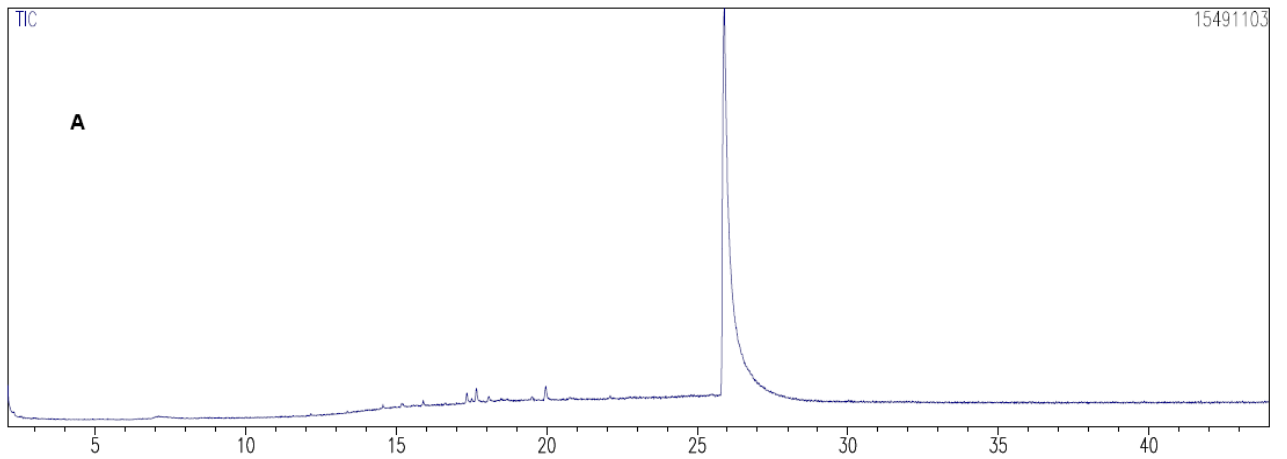


FIGURA 3.2.4.1 – ( A) Cromatograma da acosminina (B) Espectro de massas (IE = 70 eV) da acosminina

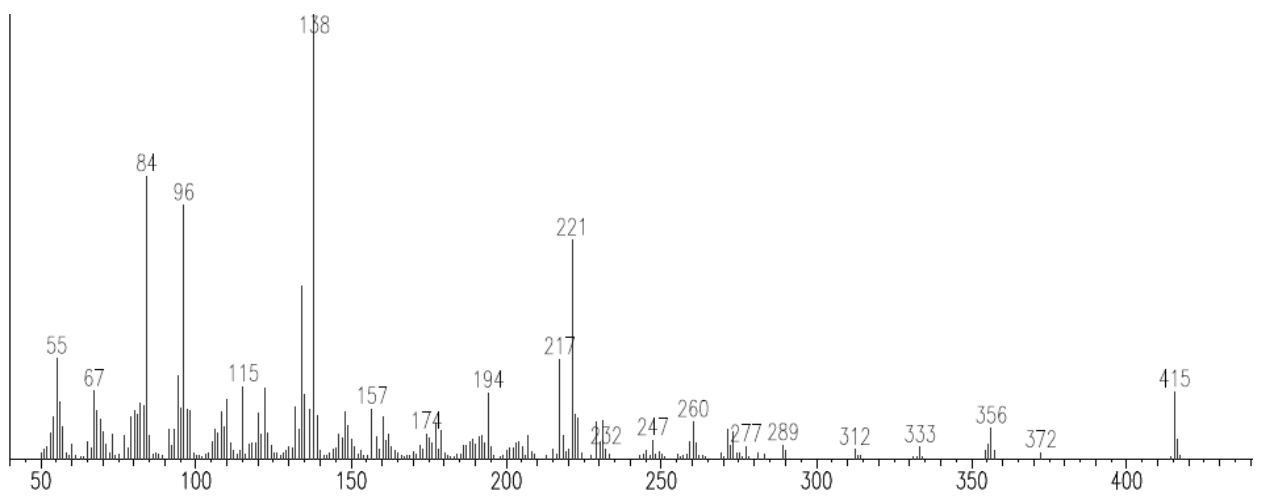


FIGURA 3.2.4.5 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do derivado acetilado **4a**

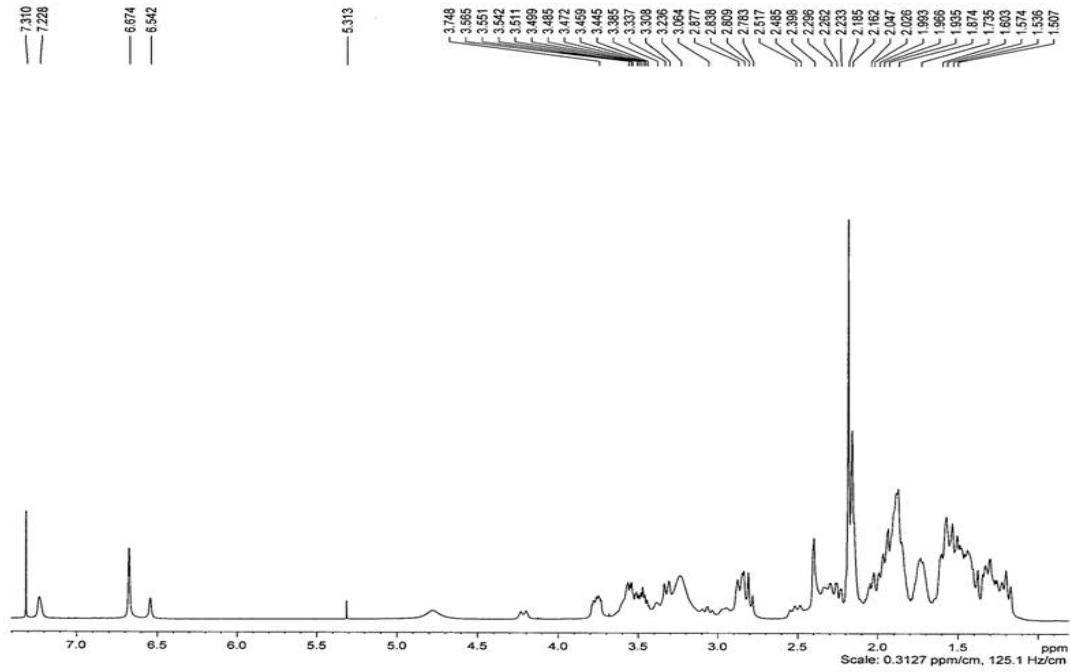


FIGURA 3.2.4.2 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da acosminina

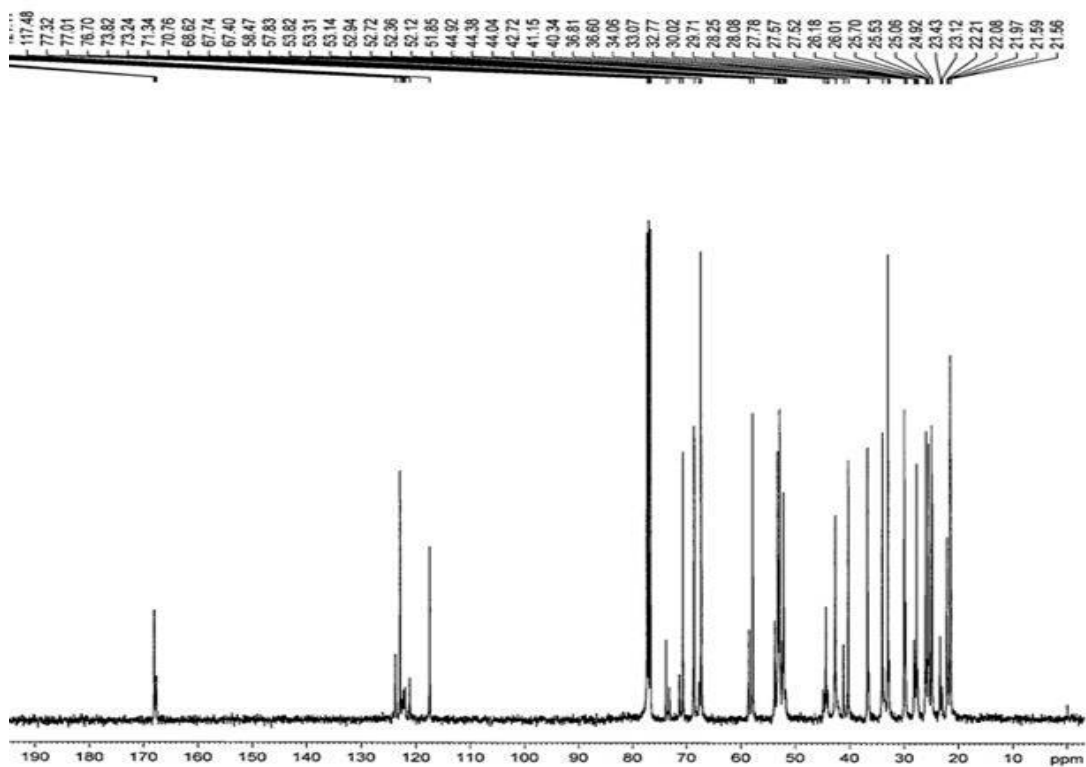


FIGURA 3.2.4.3 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) da acosminina

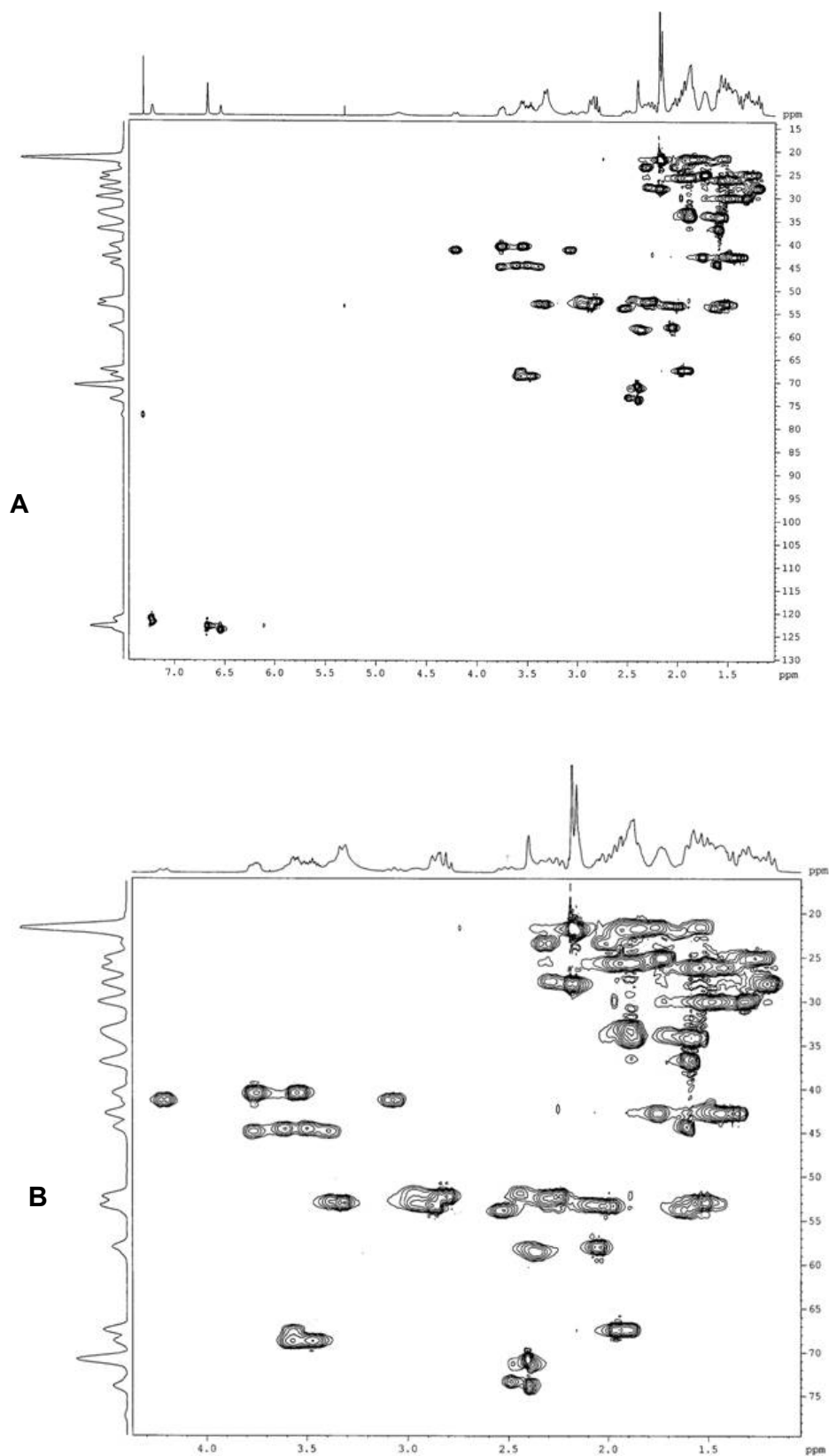


FIGURA 3.2.4.4 – **A)** Mapa de contorno de HSQC ( 400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) **B)** expandido da acosminina

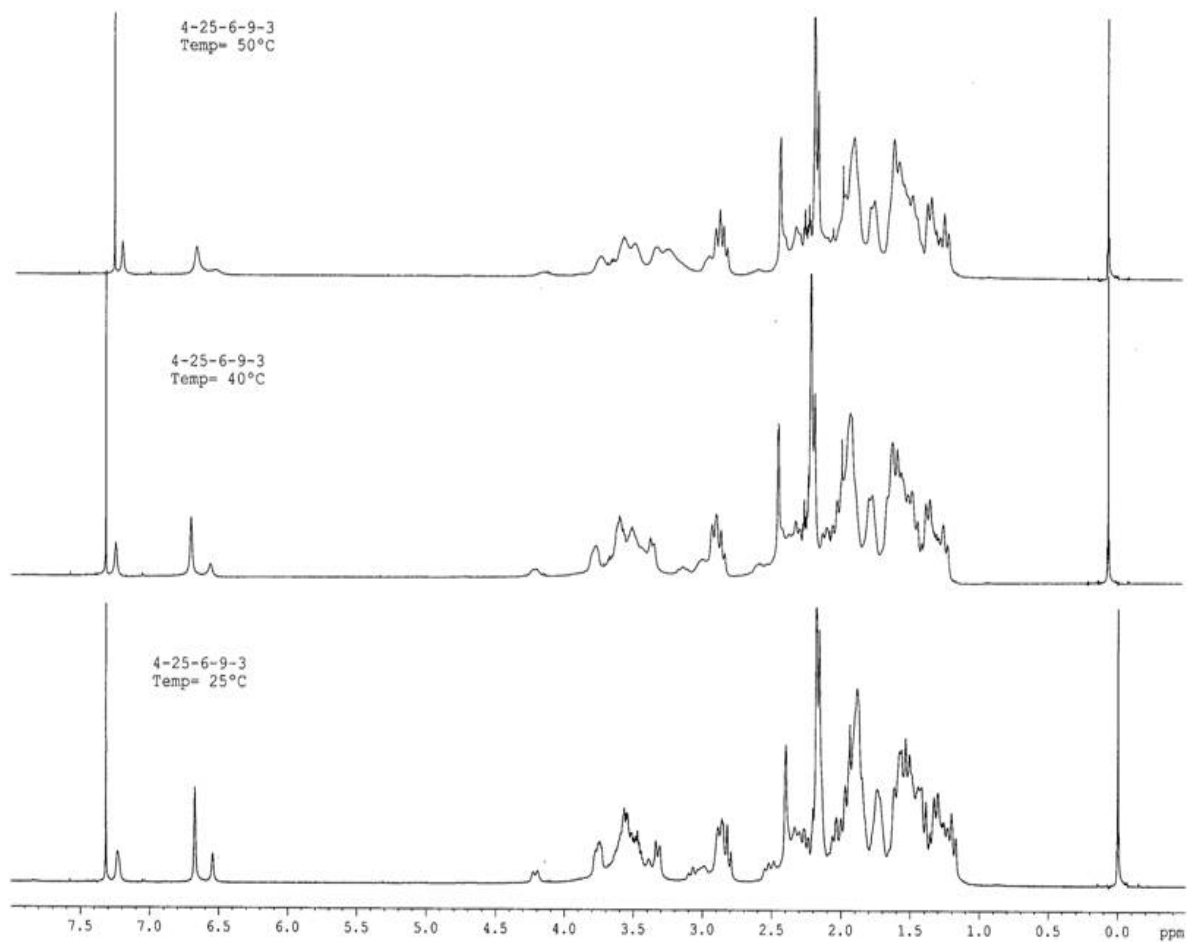


FIGURA 3.2.4.6 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da acosminina  
Com variação de temperatura (25, 40 e 50°C).

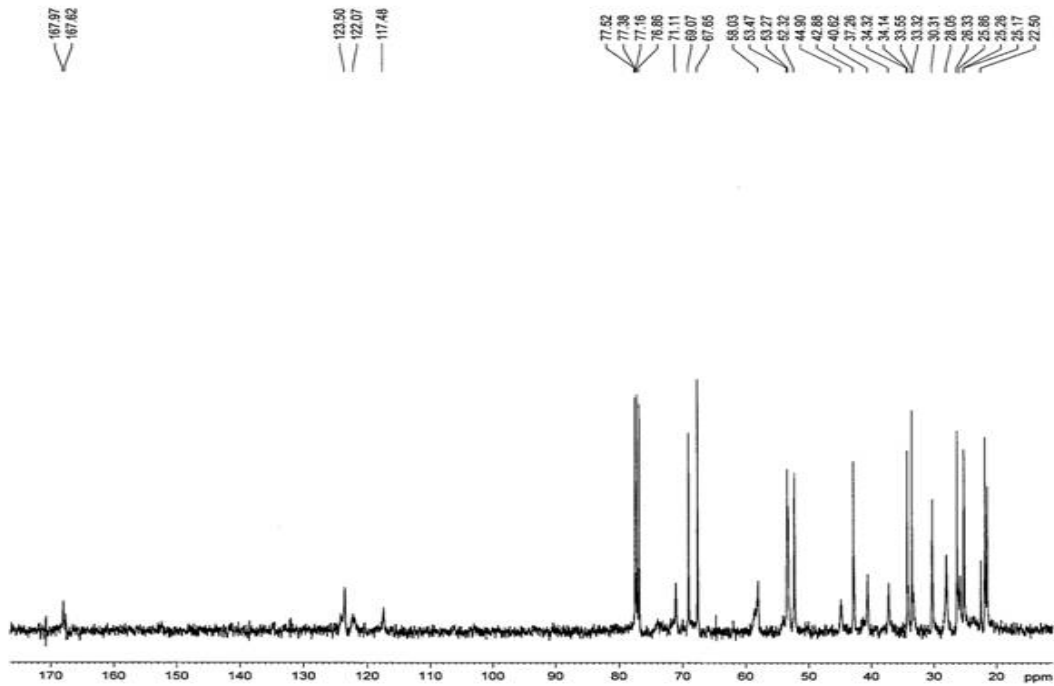


FIGURA 3.2.4.7 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) da acosminina a 50°C

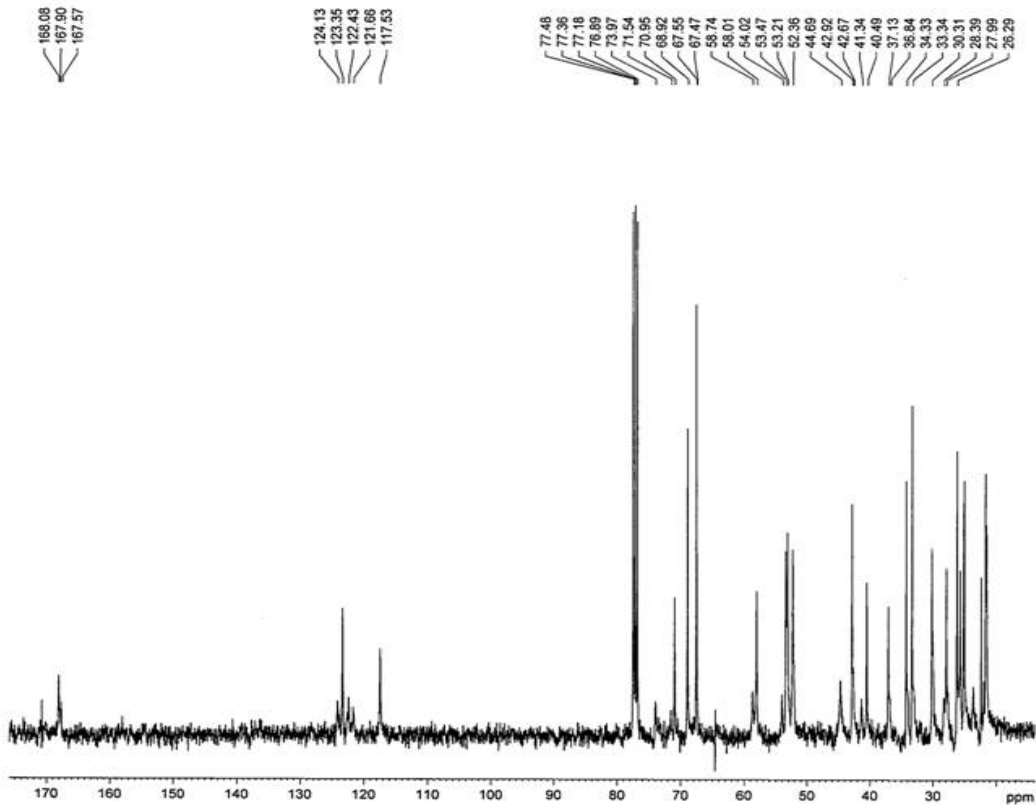


FIGURA 3.2.4.8 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) da acosminina a 40°C



TABELA 3.2.5.1 -  $\delta_C$  de **5**: comparação com acosmina (**3**).

C	$\delta_C$ 5 (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_C$ 3 (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	55,3	52,8
3	26,6	26,0
4	25,2	24,9
5	29,9	30,1
6	69,1	67,0
7	33,3	32,4
8	29,7	27,3
9	34,0	36,8
10	71,1	70,6
11	61,2	61,7
12	30,0	33,1
<b>13</b>	<b>134,1</b>	<b>24,1</b>
<b>14</b>	<b>118,9</b>	<b>25,5</b>
<b>15</b>	<b>42,2</b>	<b>56,1</b>
17	50,5	53,6
18	116,4	117,1
19	24,7	24,7
20	21,4	21,5
21	40,4	40,4/44,9
23	122,5	123,1/121,3
24	168,1	167,6
25	22,0	21,5/21,6

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.5.3) apresenta um acúmulo de sinais em sua região mais blindada, com perfil típico de alcalóides quinolizidínicos. Porém foi observado um singlete em 2,63  $\delta$  (3H), característico de metila ligado diretamente a um átomo eletronegativo, que se correlaciona com um sinal em 42,26  $\delta$  atribuído ao C-15 (TABELA 3.2.5.2). Dois multipletos em 5,59 (1H) e 5,12  $\delta$  (2H) atribuídos aos H-13 e H-14 que se correlacionam com os carbonos em 134,10 e 118,91  $\delta$ , respectivamente. O espectro de RMN<sup>13</sup>C apresentou ainda, um sinal em

30,07  $\delta$  atribuído ao C-12 que pelo mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.5.4) correlaciona com o sinal em 2,30  $\delta$ . Esses sinais de carbonos (134,10; 118,91 e 30,07  $\delta$ ) são característicos de grupamentos alila.

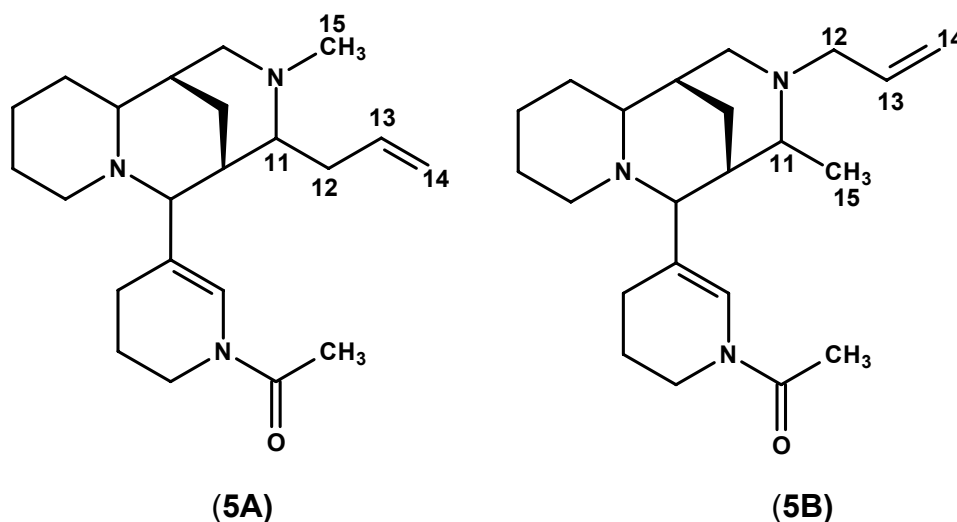
A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e do mapa de contorno de HSQC do alcalóide **5**, permitiu que fossem determinadas algumas correlações C-H a  $^1\text{J}$  (TABELA 3.2.5.2 )

TABELA 3.2.5.2 - Correlações a  $^1\text{J}$  para o alcalóide **5**

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
2	55,3	3,53 (m, 2H)
10	71,1	3,63 (m, 1H)
11	61,2	3,22 (m, 1H)
12	30,0	2,30 (m, 2H)
13	134,1	5,59 (m, 1H)
14	118,9	5,12 (m, 2H)
15	42,2	2,63 (s, 3H)
17	50,5	2,87 (m, 2H)
20	21,4	1,82 (m, 2H)
21	40,4	3,65 (m, 2H)
23	122,5	7,21(s,1H)
25	22,0	2,18 (s, 3H)

Com base nos dados discutidos até aqui, foi possível lançar duas alternativas estruturais para o composto **5** (**5A** e **5B**).

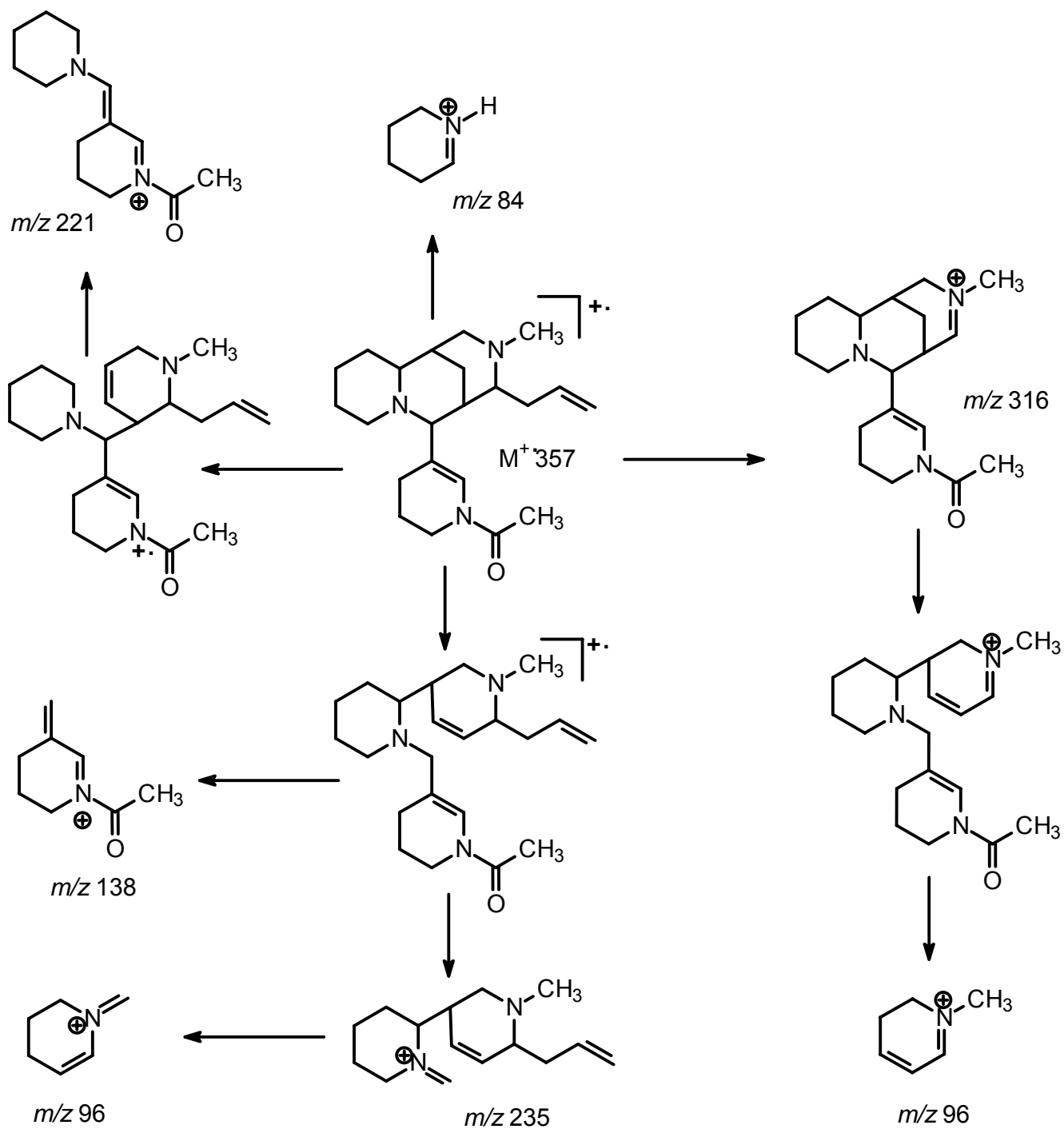




A possibilidade **5B** foi afastada devido ao fato que o deslocamento químico de H-15 seria menor 2,63  $\delta$ , e que não seria observado como singlete, mas sim como um dublete. Além disso, a fragmentação no EM seria diferente, uma vez que seria de se esperar o íon  $[M^+ - 15]$ , eliminação de metila, mais intenso por ser mais estável que o íon  $[M^+ - 41]$  eliminação de alila.

A estrutura **5A** foi sustentada pela análise das fragmentações apresentada no seu EM (FIGURA 3.2.5.1 ESQUEMA 3.2.5.1). O pico em  $m/z$  357, correspondente ao íon molecular, foi consistente com a fórmula molecular  $C_{22}H_{35}N_3O$ . A fragmentação  $m/z$  316 (100%) pico base, foi atribuído à perda do grupamento alílico ( $M^+ - 41$ ).

Assim, a estrutura para este composto foi estabelecido como sendo a lupanocosmina. Esta dedução envolveu além os dados discutidos, comparação com os da literatura (TREVISAN *et al.* 2008).



ESQUEMA 3.2.5.1 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para 5

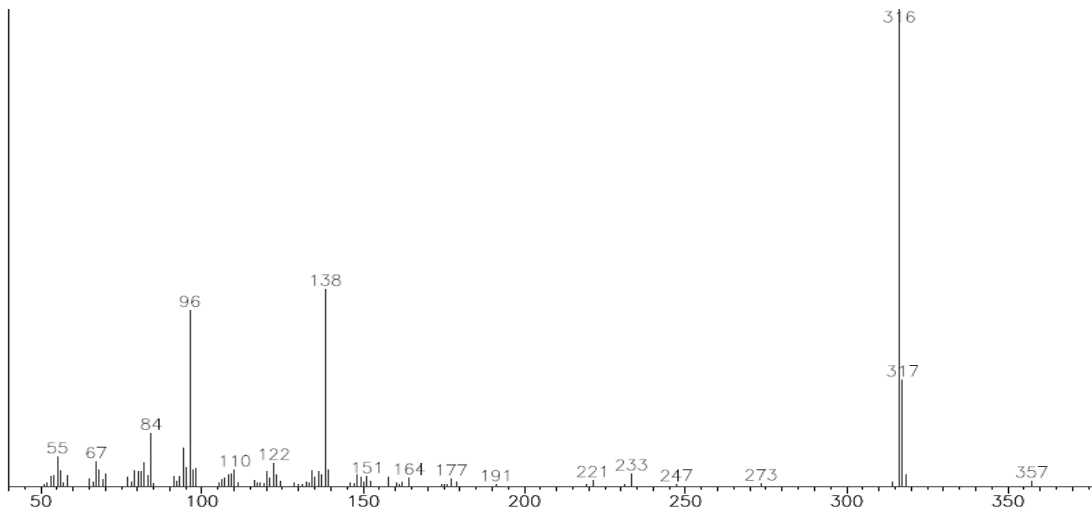


FIGURA 3.2.5.1 – Espectro de massas (IE = 70 eV) da lupanocosmina.

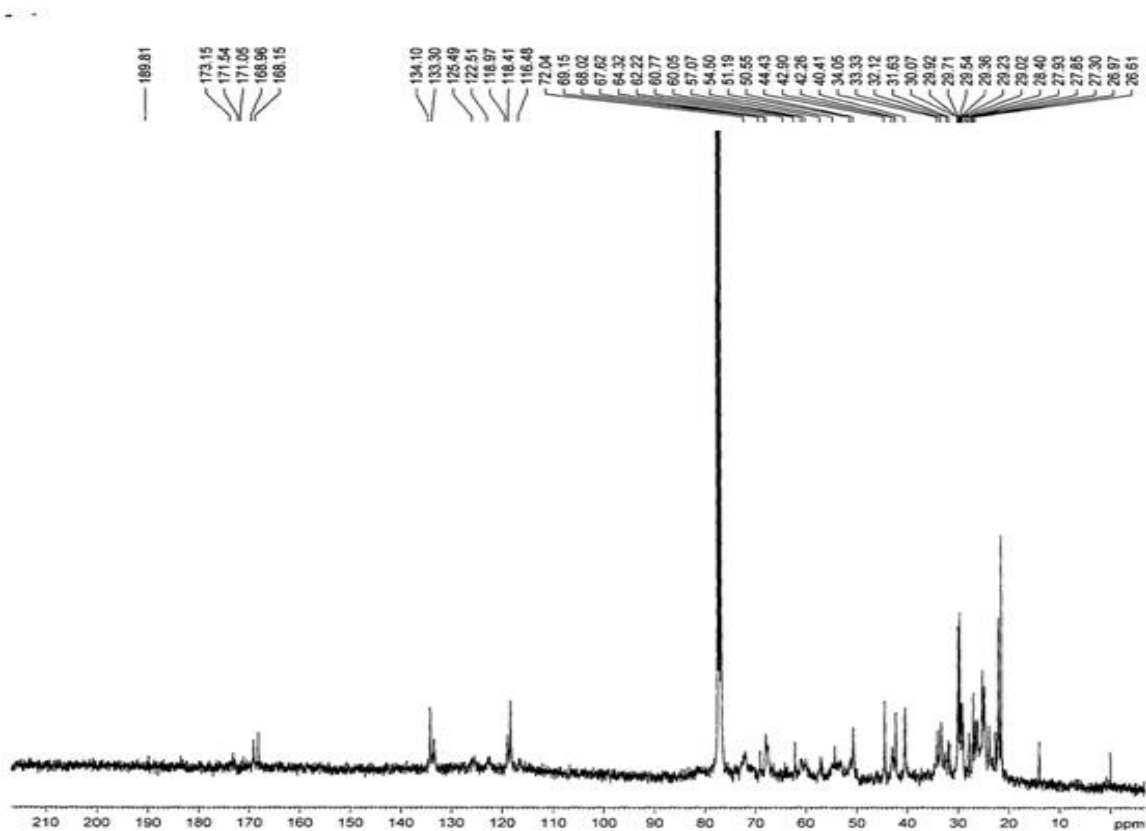


FIGURA 3.2.5.2 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$  (100 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) da lupanocosmina

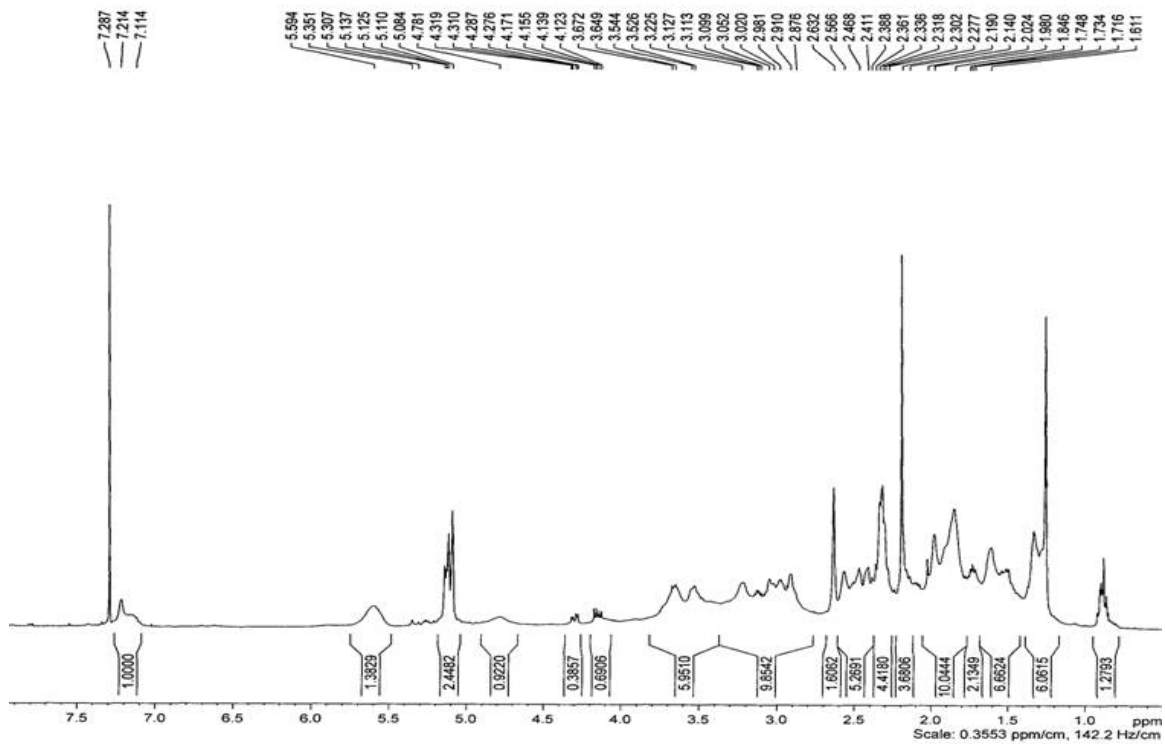


FIGURA 3.2.5.3 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da lupanocosmina

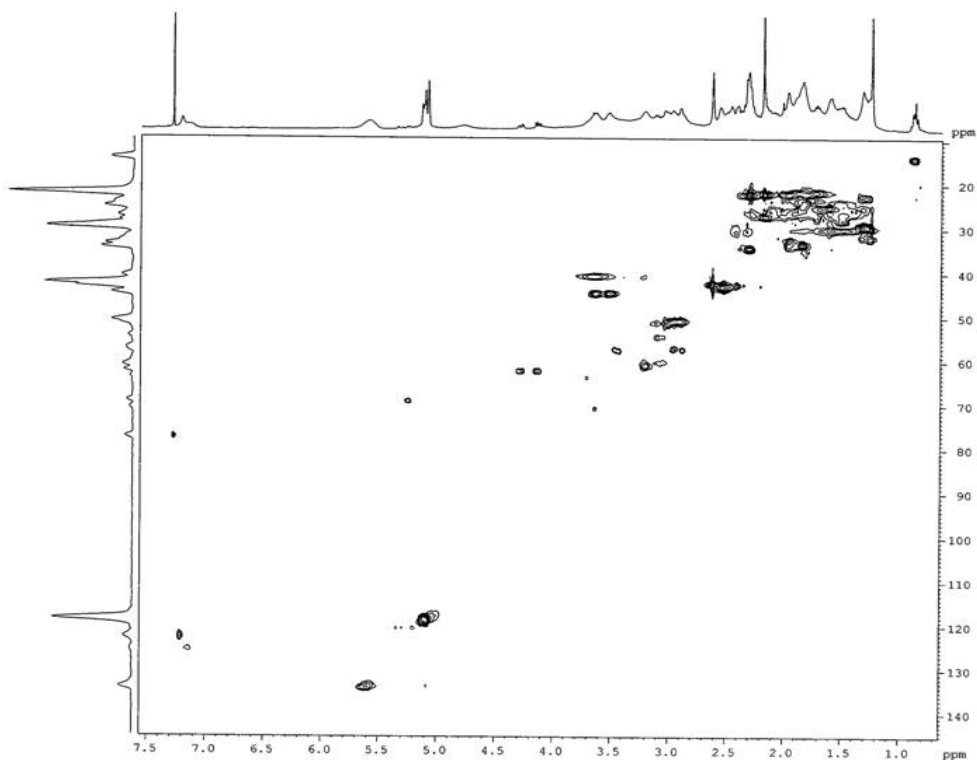
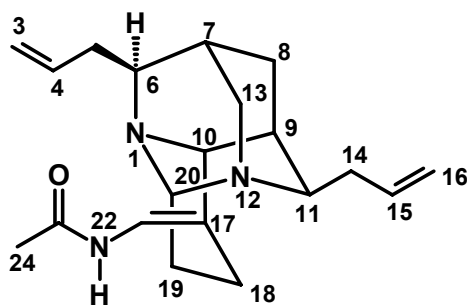


FIGURA 3.2.5.4 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da lupanocosmina.

## 3.2.6 – Identificação estrutural da dasicarpumina (6)

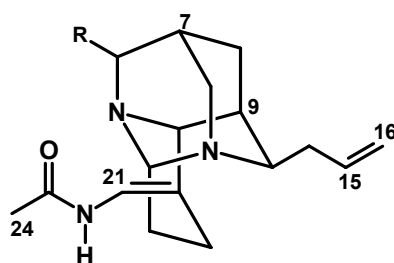


(6)

O composto **6** tem um aspecto oleoso com coloração amarelado, que na análise em CCDA mostrou coloração amarelada quando revelado com Dragendorff,

O EM (FIGURA 3.2.6.1, Esquema 3.2.6.1) apresentou um pico em  $m/z$  327, que foi atribuído ao íon molecular, indicando a presença de átomos de nitrogênio em número ímpar. O pico base em  $m/z$  286 (100%) característico de grupamento alílico ( $M^+ - 41$ ), ligado a  $C\alpha$  a um átomo de nitrogênio. Porém a ausência de um pico em  $m/z$  138, típico de alcalóides quinolizidínicos com esqueleto acosmínico, apontava para outro tipo de esqueleto para este composto.

Esses dados, aliados com a presença de três singletos, sendo dois largos e de baixa intensidade em 1,35 e 1,41  $\delta$  e um com intensidade alta em 2,09  $\delta$ , um dubleto em 6,67  $\delta$  ( $J = 11,2$  Hz) e os multipletos em 5,72 e 5,06  $\delta$  que aparecem no espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 3.2.6.2 TABELA 3.2.6.1), correspondentes aos hidrogênios metínicos H-7 e H-9, metílicos H-24, vinílicos H-21 e alílicos H-15 e H-16, respectivamente, permitiram classificar este composto como alcalóide quinolizidínico com esqueleto diazo-adamantano (**55**)

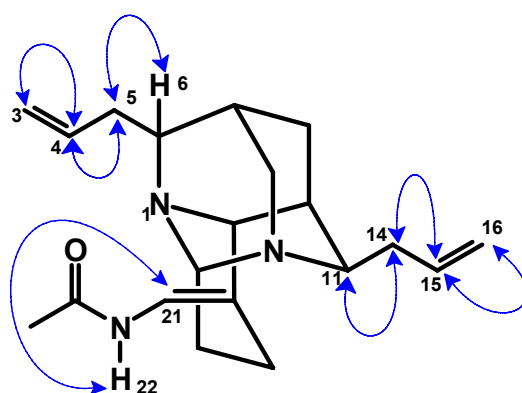


(55)

O experimento de COSY (FIGURA 3.2.6.3) mostra que o hidrogênio vinílico H-21 acopla com H-22 representado por um singletto largo em 7,07  $\delta$  que

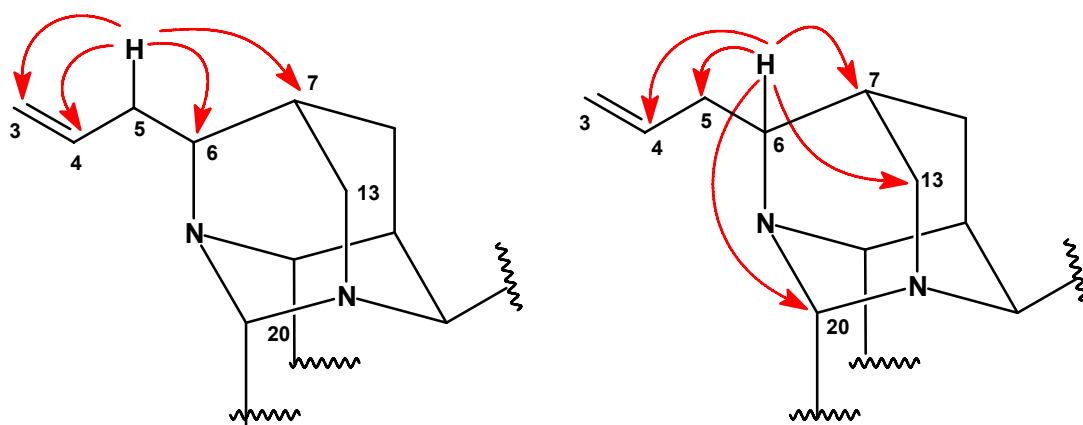
pelo mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.6.4) não se correlaciona com nenhum átomo de carbono, sugerindo que esteja ligado a um átomo eletronegativo, neste caso nitrogênio.

Os hidrogênios alílicos H-15 (5,72  $\delta$ ) e H-16 (5,06  $\delta$ ) mostraram acoplamento entre si pelo experimento de COSY (ESQUEMA 3.2.6.2), e o primeiro mostrou acoplamento com um multipletto em 2,39  $\delta$  (H-14) que por sua vez apresentou acoplamento com tripleto em 3,53  $\delta$  (H-11 J = 8,0 Hz). Pelo mapa de contorno de HSQC correlacionam com os carbonos em 135,62 (C-15), 118,39 (C-16), 35,30 (C-14) e 53,02  $\delta$  (C-11) respectivamente, confirmando assim, o grupamento alila



ESQUEMA 3.2.6.2 – Correlações via COSY para o composto 6

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.6.5) apresentou três sinais 35,62 (C-5), 117,02 (C-3) e 134,52  $\delta$  (C-4), característicos de grupamento alila, que se correlacionam com sinais em 2,40 (H-5), 5,06 (H-3) e 5,69  $\delta$  (H-4). Pelo experimento de COSY (ESQUEMA 3.2.6.2) verificou-se que H-3 acopla com H-4 e este com H-5 que por sua vez acopla com um tripleto em 3,03  $\delta$  (H-6 J = 8 Hz), que pelo experimento de HSQC está correlacionado com um sinal em 64,81  $\delta$  (C-6). Estes dados sugerem a presença de um segundo grupamento alila na molécula e que está ligado ao C-6. Esta evidência é reforçada pela análise do mapa de contorno de HMBC (FIGURA 3.2.6.6 ESQUEMA 3.2.6.3) onde se estabelecem as correlações entre H-5 (2,39  $\delta$ ) com C-6 (64,81  $\delta$ ), C-4(134,52  $\delta$ ), C-3 (117,02) e C-7 (25,14  $\delta$ ) e também as correlações entre H-6 (3,03  $\delta$ ) com C-7 (25,14  $\delta$ ), C-5 (35,62  $\delta$ ), C-13 (42,15  $\delta$ ), C-20 (69,22  $\delta$ ) e C-4 (134,52  $\delta$ ).

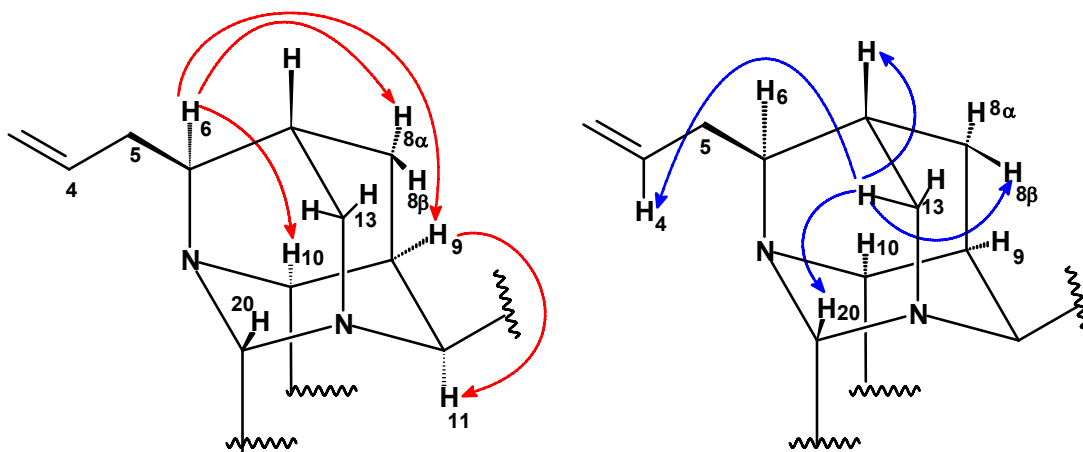


ESQUEMA 3.2.6.3 – Correlações via HMBC para o composto **6**

O espectro de NOESY (FIGURA 3.2.6.7), mostrou interação espacial dos hidrogênios em 3,03  $\delta$  (H-6) com os hidrogênios em 1,41 (H-9), 3,84 (H-10) e 1,85  $\delta$  (H-8 $\alpha$ ); e 3,35 (H-13) com 1,35 (H-7), 2,38 (H-8 $\beta$ ), 4,64 (H-20) e 5,06 (H-4) e 1,41  $\delta$  (H-9) com 3,53  $\delta$  (H-11) (ESQUEMA 3.2.6.4).

Foi proposto como isômero geométrico E, para as ligações duplas C-17/C-21, devido a interação espacial dos sinais em 3,84  $\delta$  com os sinais em 3,03 (H-6), 1,85 (H-8 $\alpha$ ), 1,41 (H-9) e 6,67  $\delta$  (H-21) (ESQUEMA 3.2.6.5).

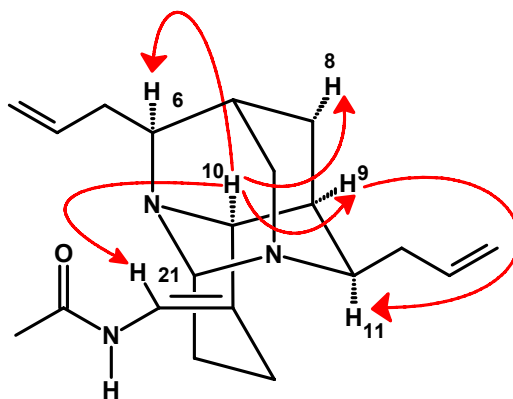
Este resultado permitiu estabelecer a relativa estereoquímica do alcalóide **6**.



ESQUEMA 3.2.6.4 – Correlações via NOESY para o composto **6**

(Face  $\alpha$   $\rightarrow$ )

(Face  $\beta$   $\rightarrow$ )



ESQUEMA 3.2.6.5 – Correlações via NOESY para o composto **6**

A análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , do mapa de contorno de HSQC e do experimento de COSY do alcalóide **6**, permitiu estabelecer as atribuições dos sinais aos hidrogênios e carbonos (TABELA 3.2.6.1)

A estrutura **6** foi compatível com a análise das fragmentações apresentadas no seu EM (FIGURA 3.2.6.1 ESQUEMA 3.2.6.1). O pico em  $m/z$  327, correspondente ao íon molecular, foi consistente com a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}$ . O fragmento de  $m/z$  286 (100%) pico base, foi atribuído a perda do grupamento alílico [ $\text{M}^+ - 41$ ].

Assim, a estrutura para este composto foi estabelecido como sendo a dasicarpumina. Esta dedução envolveu além dos dados discutidos, a comparação com os da literatura (TREVISAN *et al.* 2008). Não foi encontrado na literatura relato sobre a estereoquímica da dasicarpumina (**6**).



TABELA 3.2.6.1 - Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de **6**.

C	$\delta_C$ (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	$\delta_H$ (400 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
3	117,0	5,06 (m 2H)
4	134,5	5,69 (m 1H)
5	35,6	2,53-2,39 (2H)
6	64,8	3,03 (t, J = 8,0 Hz, 1H)
7	25,1	1,35 (s 1H)
8	31,2	Ha 2,39 (d, J = 14,4 Hz, 1H) Hb 1,85(d, J = 14,4 Hz, 1H)
9	35,0	1,41 (s 1H)
10	64,8	3,84 (s 1H)
11	53,0	3,53 (t, J = 8 Hz 1H)
13	46,1	Há 3,37 (d, J = 13,6 Hz, 1H) Hb 3,32 (d, J = 13,6 Hz, 1H)
14	35,3	2,53-2,39 (2H)
15	135,6	5,72 (m 1H)
16	118,3	5,06 (m 2H)
17	119,3	-
18	19,9	Ha 2,48 (m, 1H) Hb 2,36 (m, 1H)
19	26,15	Ha 2,30 (m, 1H) Hb 1,89 (m, 1H)
20	69,22	4,64 (d, J = 7,2 Hz, 1H)
21	116,83	6,67 (d, J = 11,2 Hz, 1H)
23	167,37	-
24	23,57	2,09 (s, 3H)
N-H	-	7,07 (sl, 1H)

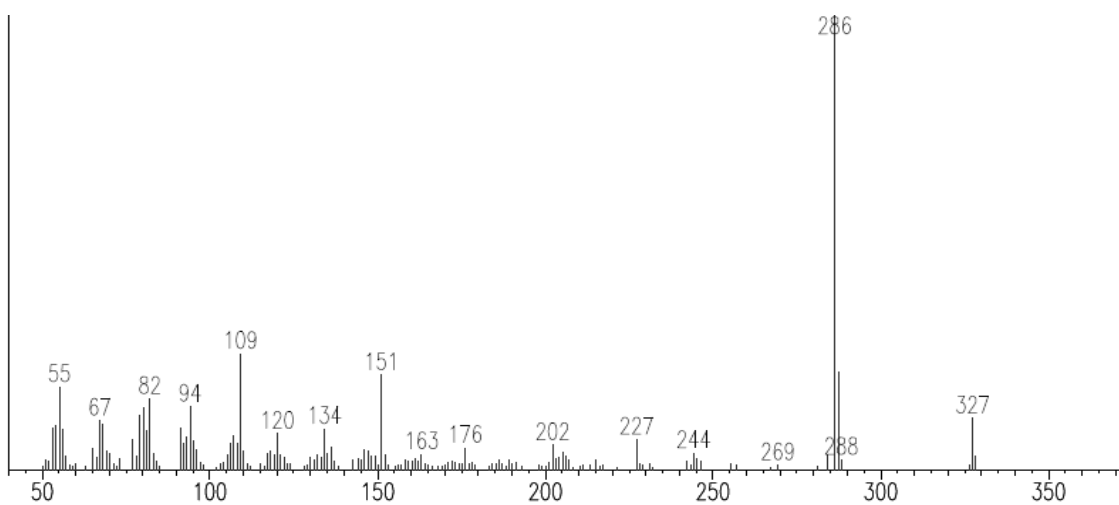
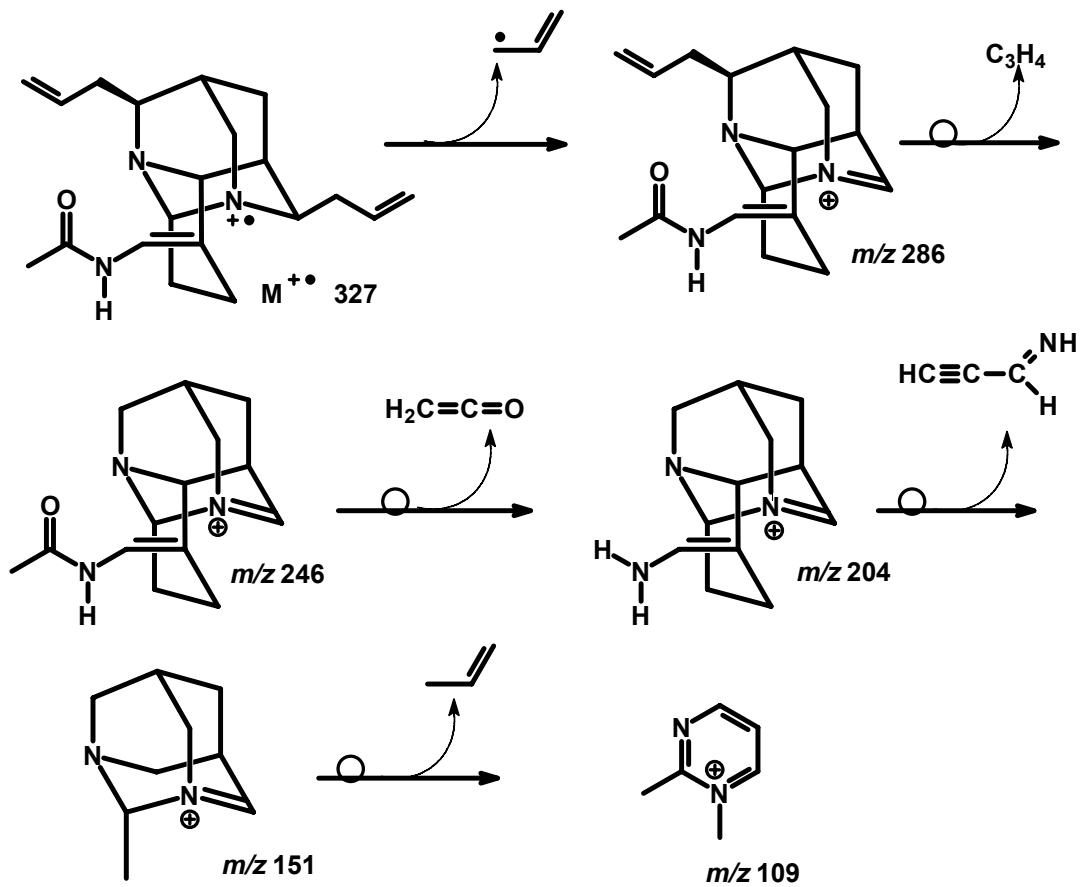


FIGURA 3.2.6.1 – Espectro de massas (IE = 70 eV) da dasicarpumina

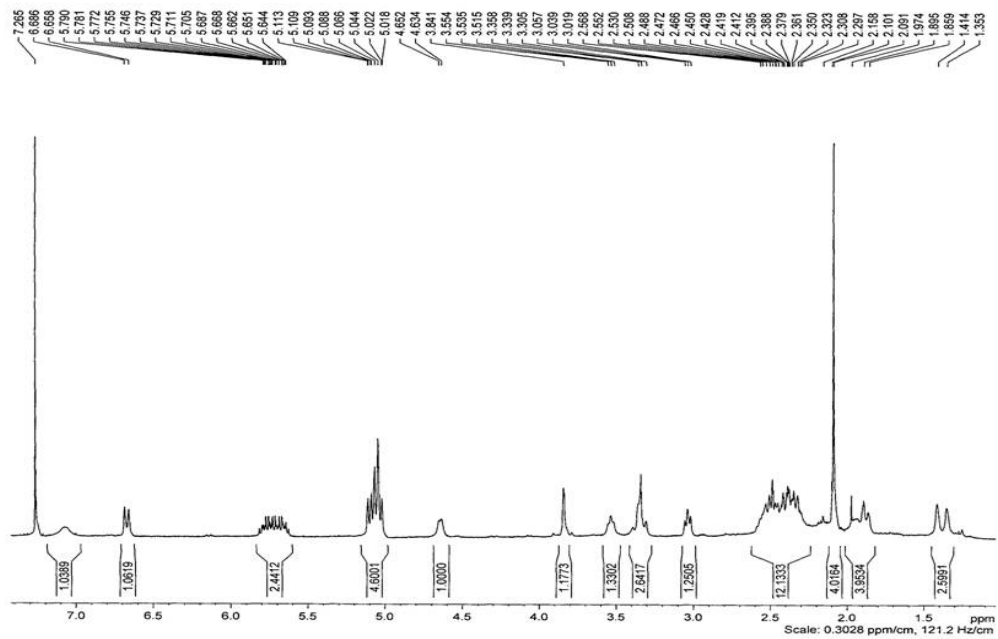


FIGURA 3.2.6.2 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da dasicarpumina

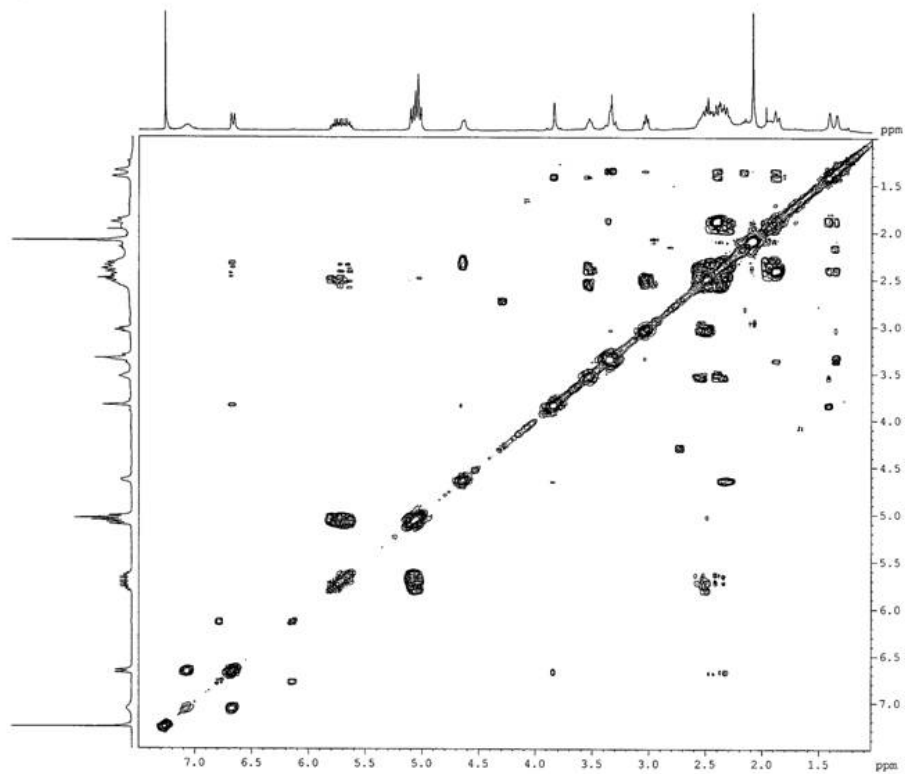


FIGURA 3.2.6.3 – Espectro de COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da dasicarpumina

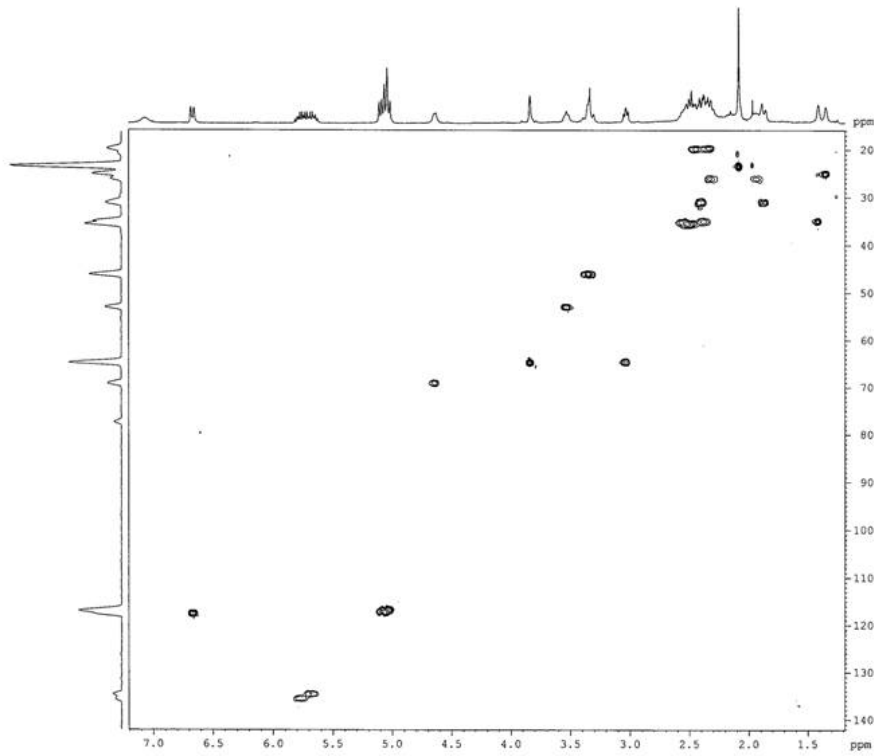


FIGURA 3.2.6.4 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da dasicarpumina

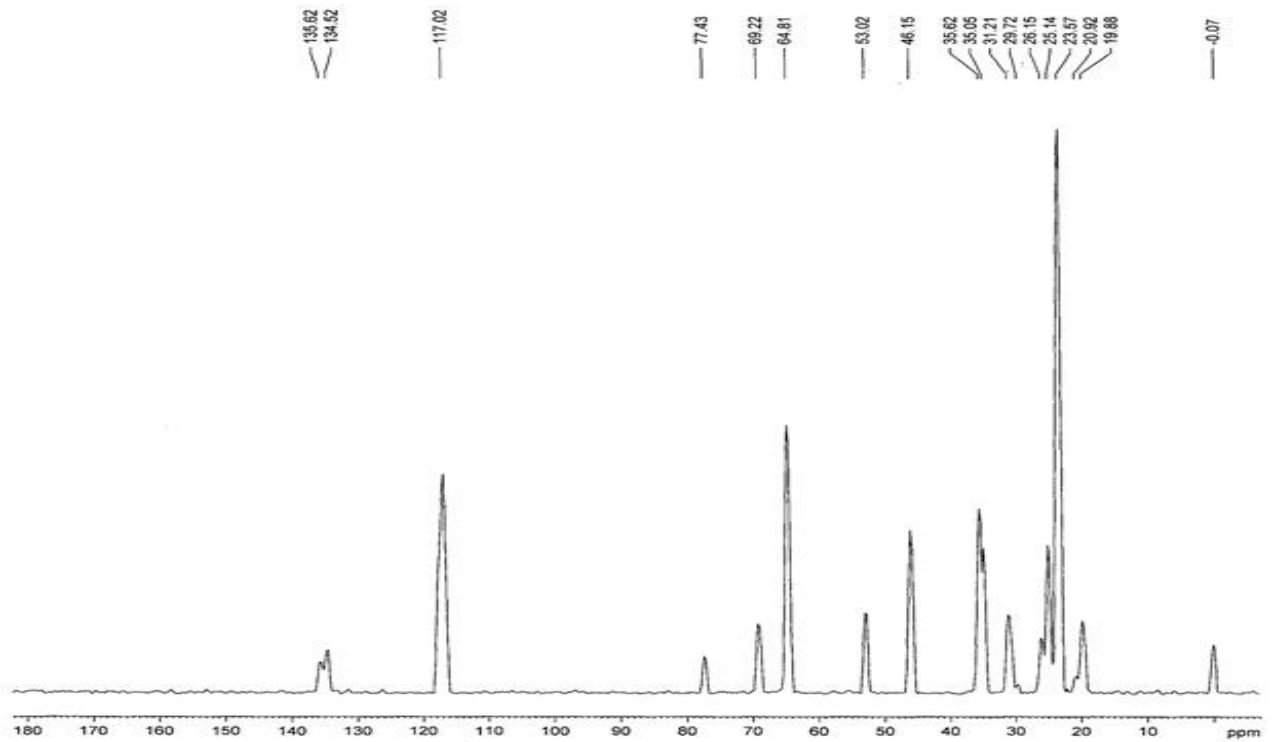


FIGURA 3.2.6.5 – Projeção do <sup>13</sup>C do experimento de HSQC ((400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da dasicarpumina.

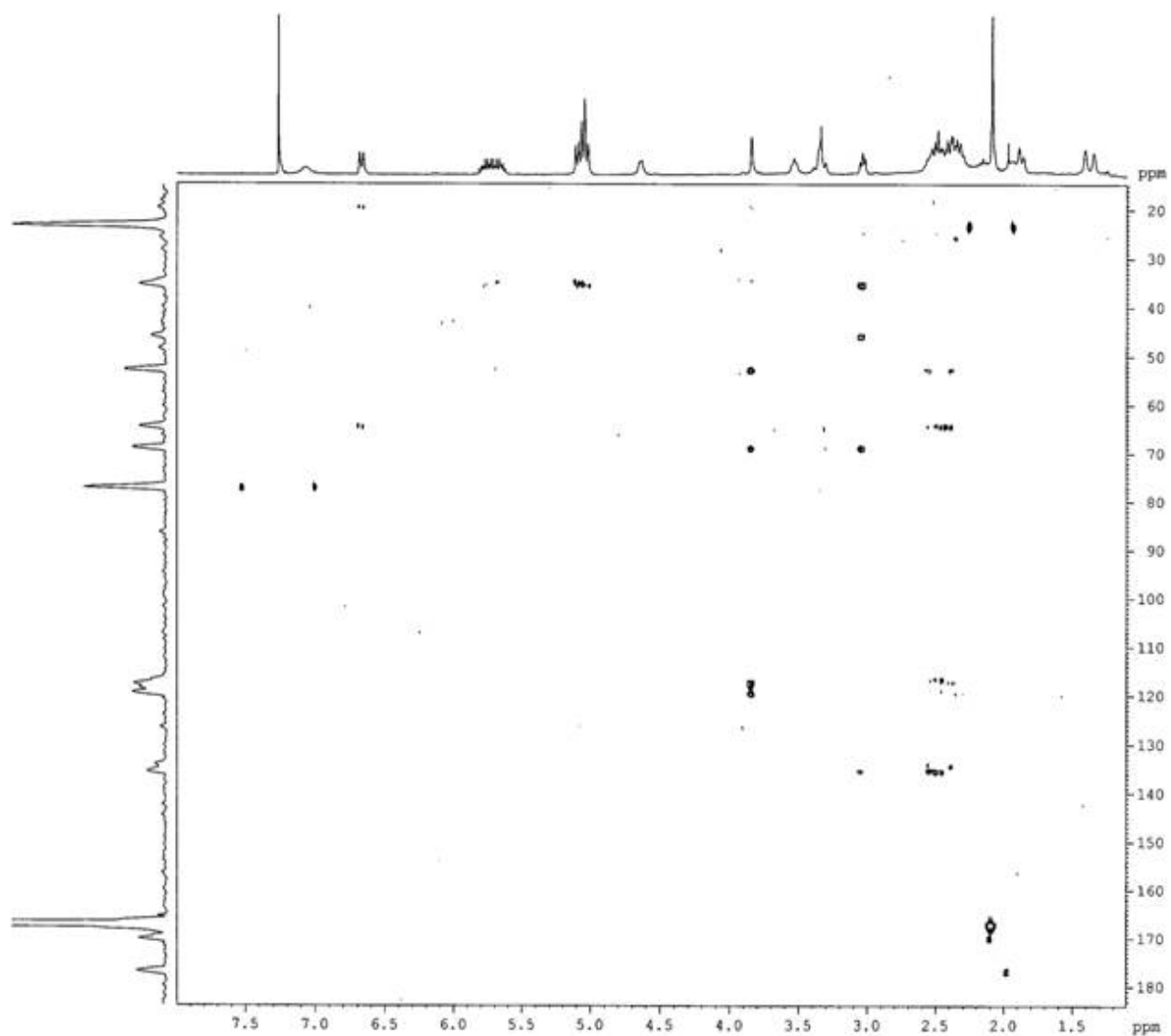


FIGURA 3.2.6.6 – Mapa de contorno de HMBC ( 400MHz  $\text{CDCl}_3$ ) da dasicarpumina

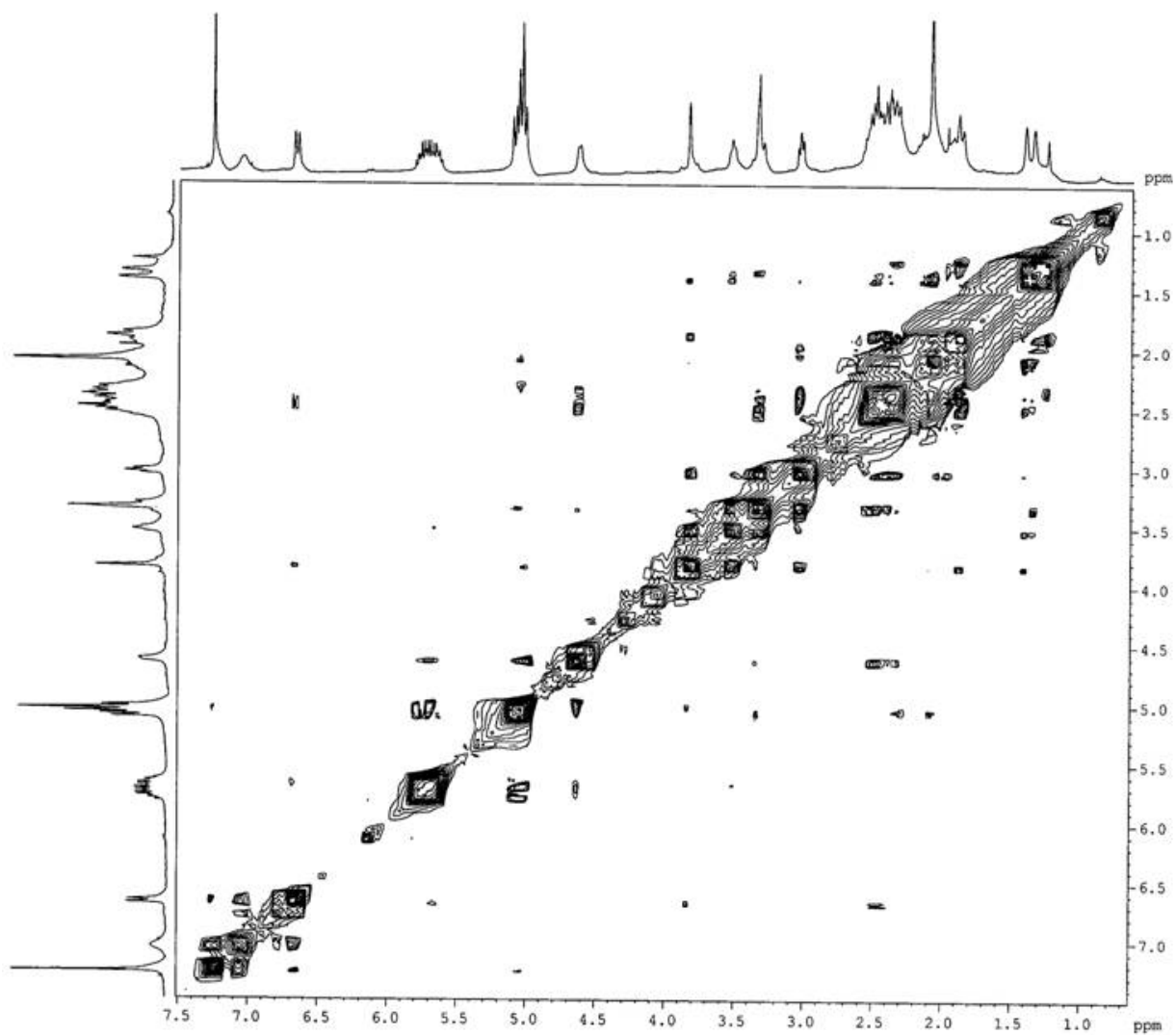
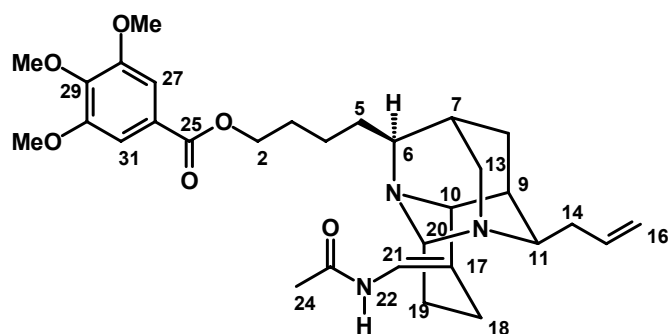


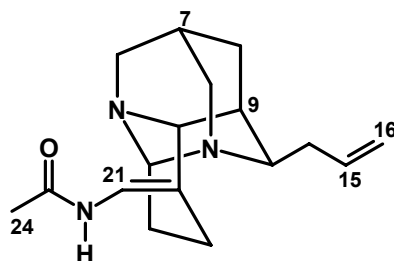
FIGURA 3.2.6.7 – Mapa de contorno de NOESY (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da dasicarpumina.

## 3.2.7 – Identificação estrutural da bowdequina (7)



(7)

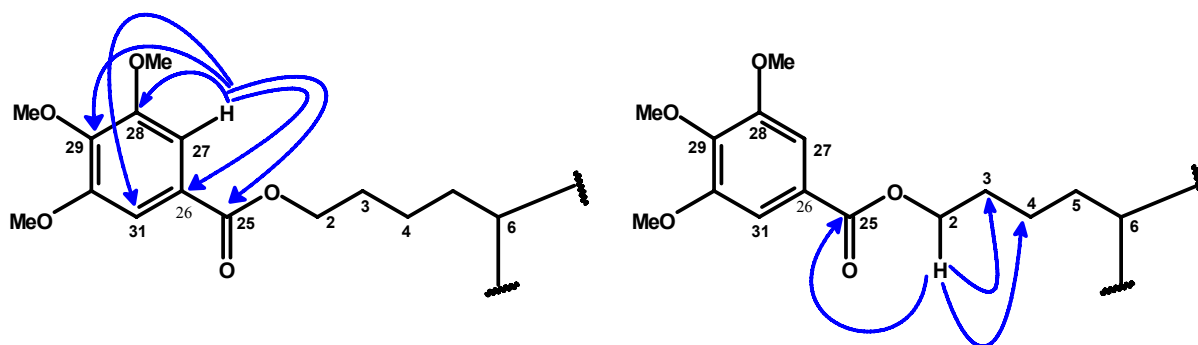
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **7** (FIGURA 3.2.7.1 TABELA 3.2.7.1) mostrou três singletos, sendo dois largos e de baixa intensidade em 1,19 e 1,34  $\delta$  e um com intensidade alta em 2,08  $\delta$ , um dubleto em 6,65  $\delta$  ( $J = 10,8$  Hz) e os multipletos em 5,69 e 5,06  $\delta$ , correspondentes aos hidrogênios metínicos H-7 e H-9, metílicos H-24, vinílicos H-21 e alílicos H-15 e H-16, respectivamente, permitiram classificar este composto como alcalóide quinolizidínico com esqueleto diazo-adamantano (**55**)



(55)

A análise espectral de RMN de **7** foi facilitada pela comparação com os dados espectroscópicos da dasicarpumina (**6**) (TABELAS 3.2.7.1 e 3.2.7.2), contudo os deslocamentos químicos em 5,69 e 5,06  $\delta$  são integrados para um e dois hidrogênios respectivamente, enquanto para a dasicarpumina, a integração se refere a dois e quatro hidrogênios, sugerindo então, que no composto **7** há apenas um grupamento alílico. No entanto a maior diferença entre os alcalóides diazoadamantano **6** e **7** foi o aparecimento de um tripleto em 4,32  $\delta$  ( $J = 6,0$  Hz) típico de hidrogênios metilênicos de ésteres, atribuído ao H-2, e a presença do grupamento 3,4,5-trimetoxibenzoila, através dos sinais de RMN  $^1\text{H}$  em 7,28 ( $s$  H-27 e H-31), e 3,90  $\delta$  ( $s$  MeO-28, MeO-29 e MeO-30), e os deslocamentos químicos observados no RMN  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 3.2.7.2) em 166,2 (C-25), 152,9 (C-28 e C-30),

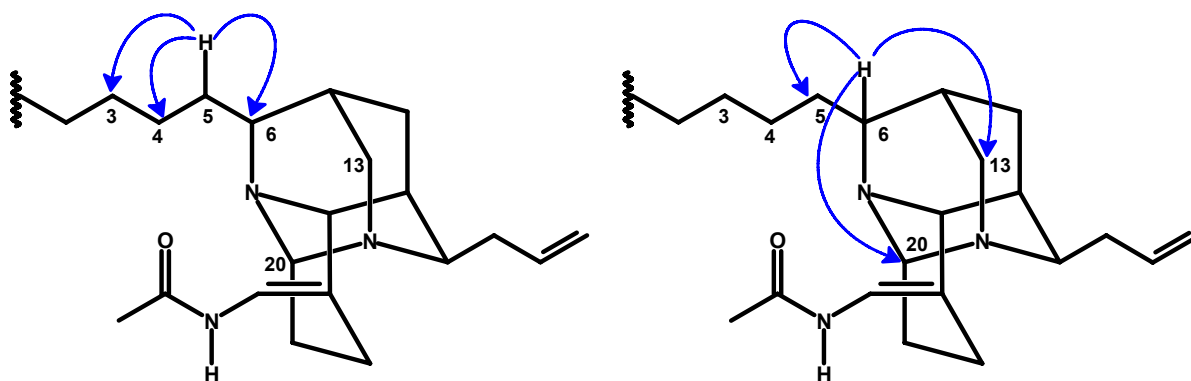
142,3 (C-29), 60,9 (MeO-29 estericamente comprimida), e 56,5  $\delta$  (MeO-28 e MeO-30). Esses deslocamentos químicos foram confirmados ao analisar o mapa de contorno do espectro de HSQC (FIGURA 3.2.7.3) e HMBC (FIGURA 3.2.7.4). A localização do grupamento 3,4,5-trimetoxibenzoiloxi ao C-2, permite justificar o deslocamento químico de H-2 (fortemente desblindado), e foi confirmada ao analisar as correlações no experimento de HMBC (ESQUEMA 3.2.7.1). O H-2 correlaciona com C-25 (166,2  $\delta$ ), C-3 (29,7  $\delta$ ) e C-4 (23,4  $\delta$ ) e no mesmo experimento H-27 correlaciona-se com C-25 (166,2  $\delta$ ), C-26 (125,4  $\delta$ ), C-28 (152,9  $\delta$ ), C-29 (142,33  $\delta$ ) e C-31 (106,9  $\delta$ ).



ESQUEMA 3.2.7.1 – Correlações via HMBC para o composto 7

O espectro de RMN<sup>1</sup>H mostrou sinais em 1,82 (H-3), 1,49 (H-4) e 1,83  $\delta$  (H-5), que pelo mapa de contorno de HSQC correlacionam com os carbonos em 29,7 (C-3), 23,4 (C-4) e 30,5 (C-5) respectivamente. Essas atribuições são confirmadas através do experimento de HMBC (ESQUEMA 3.2.7.2) onde H-5 apresentou correlações com C-3 (29,7  $\delta$ ), C-4 (23,4  $\delta$ ) e C-6 (64,7  $\delta$ ), e no mesmo experimento H-6 correlacionando com C-5 (30,5  $\delta$ ), C-13 (46,4  $\delta$ ) e C-20 (68,2  $\delta$ ).





ESQUEMA 3.2.7.2 – Correlações via HMBC para o composto 7.

De acordo com a análise realizada e a comparação dos dados RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (TABELAS 3.2.7.1 e 3.2.7.2) obtido com dados encontrados na literatura (BARBOSA-FILHO *et al.* 2004), constataram-se coincidência dos valores de deslocamentos químicos obtidos, confirmando assim a identificação composto 7 como sendo bowdequina. Este é o primeiro relato deste composto isolado do gênero *Acosmium*

TABELA 3.2.7.1 - Dados de RMN<sup>1</sup>H de **6**, **7**, bowdequina (BARBOSA-FILHO 2004)

H	<b>6</b> ( $\delta_H$ 400 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	<b>7</b> ( $\delta_H$ 400 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	BARBOSA-FILHO 2004 ( $\delta_H$ 400 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	-	4,32 (t, J = 6,0 Hz 2H)	4,28 (t, J = 6,6Hz)
3	5,06 (m 2H)	1,82 (2H)	1,75
4	5,69 (m 1H)	1,49 (m, 2H)	1,45
5	2,53-2,39 (2H)	1,83 (2H)	1,80/1,68
6	3,03 (t, J = 8,0 Hz 1H)	2,95 (t, J = 7,0 Hz 1H)	2,92 (t, J = 7,0 Hz)
7	1,35 (s 1H)	1,19 (sl 1H)	1,26 (sl)
8	Ha 2,39(d, J = 14,4 Hz 1H)	Ha/Hb 2,38/1,83 2H)	2,38 Hax
	Hb 1,85 (d, J = 14,4 Hz 1H)		1,85 Heq
9	1,41 (s 1H)	1,34 (sl 1H)	1,39 (sl)
10	3,84 (s 1H)	3,81(sl 1H)	3,82 (s)
11	3,53 (t, J = 8 Hz, 1H)	3,43 (t, J = 7,2 Hz, 1H)	3,49 (t, J = 7,3 Hz)
13	Ha 3,37 (d, J = 13,6 Hz 2H)	3,27 (sl 2H)	3,32 (s)
	Hb 3,32 (d, J = 13,6 Hz 2H)		
14	2,53-2,39 (2H)	Ha/Hb 2,48/2,32, 2H)	2,50
15	5,72 (m, 1H)	5,69 (m 1H)	5,63 (m)
16	5,06 (m, 2H)	5,06 (m 2H)	5,05 (d, J = 18,3 Hz)
			5,02 (d, J = 11,1 Hz)
18	Há/Hb 2,48/2,36 (2H)	2,45 (2H)	2,45
19	Ha/Hb 2,30/1,89 (2H)	Ha/Hb 2,29/1,82	2,30/2,25/ 1,85
20	4,64 (d, J = 7,2 Hz, 1H)	4,51 (d, J = 8,0 Hz, 1H)	4,51 (d, J = 7,9 Hz)
21	6,67 (d, J = 11,2 Hz, 1H)	6,65 (d, J = 10,8 Hz, 1H)	6,62 (d, J = 10,2 Hz)
24	2,09 (s, 3H)	2,08 (s 3H)	2,05 (s)
27/31		7,28 (s 2H)	7,24 (s)
N-H	7,07	6,81 (d, J = 10 Hz, 1H)	n.o
MeO		3,90 (s 9H)	3,86 (s 9H)

n.o não observado

TABELA 3.2.7.2 - Dados de RMN<sup>13</sup>C de **6**, **7** e bowdequina (BARBOSA-FILHO 2004)

C	<b>6</b> ( $\delta_C$ 100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	<b>7</b> ( $\delta_C$ 100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	BARBOSA-FILHO 2004 ( $\delta_C$ 125 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	-	64,9	65,21
3	117,0	29,7	29,01
4	134,5	23,4	23,68
5	35,6	30,5	30,76
6	64,8	65,0	65,31
7	25,1	26,3	26,56
8	31,2	31,3	31,77
9	35,0	35,3	35,57
10	64,8	64,7	65,17
11	53,0	52,8	52,88
13	46,1	46,4	46,75
14	35,3	35,6	35,71
15	135,6	135,8	135,59
16	118,3	116,6	116,71
17	119,3	120,2	121,03
18	19,9	19,8	20,11
19	26,1	26,3	26,75
20	69,2	68,7	68,24
21	116,8	117,2	117,19
23	167,3	167,0	167,27
24	23,57	23,4	23,53
25	-	166,2	166,42
26	-	125,4	125,65
27/31	-	106,9	107,11
28/30	-	152,9	153,12
29	-	142,3	141,36
MeO-28	-	56,5	56,46
MeO-29	-	60,9	61,08
MeO-30	-	56,3	56,46

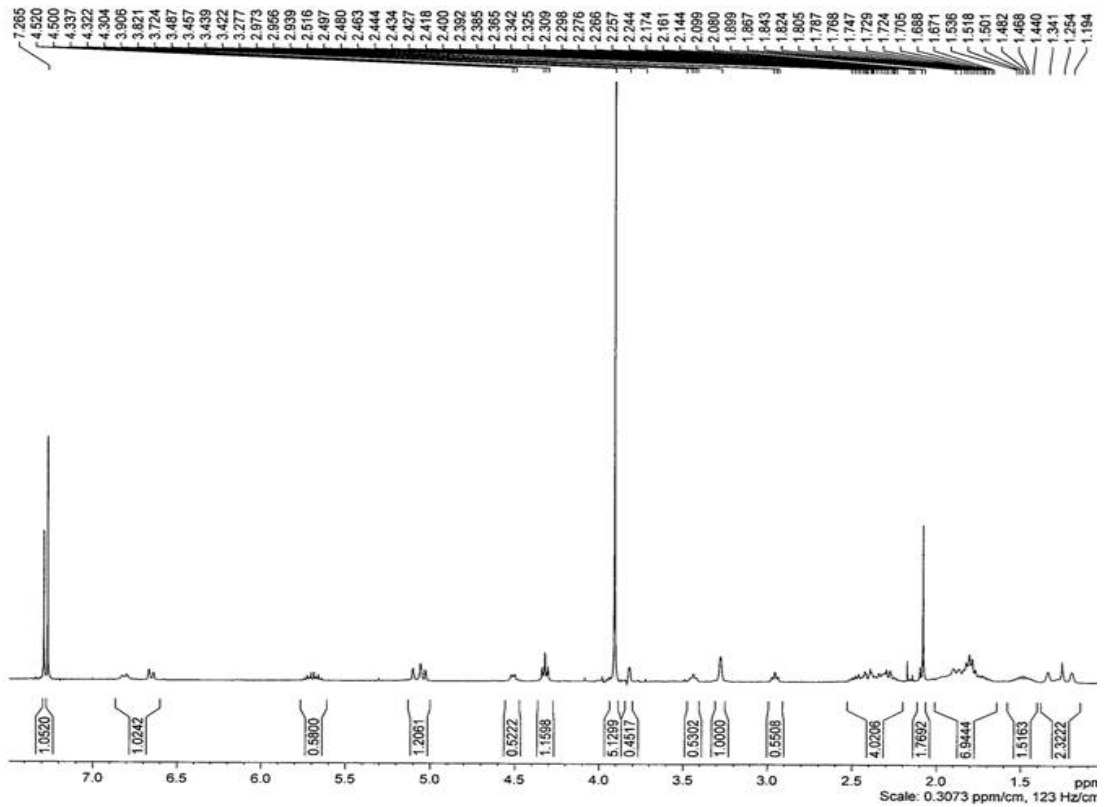


Figura 3.2.7.1 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da bowdequina.

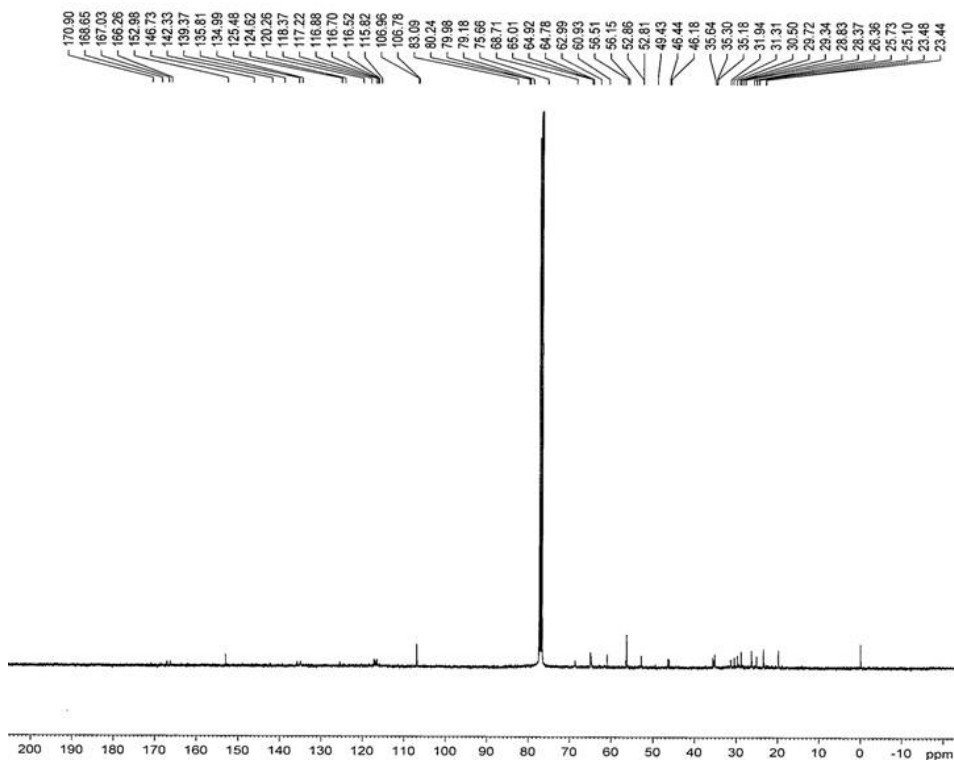


Figura 3.2.7.2 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) da bowdequina.

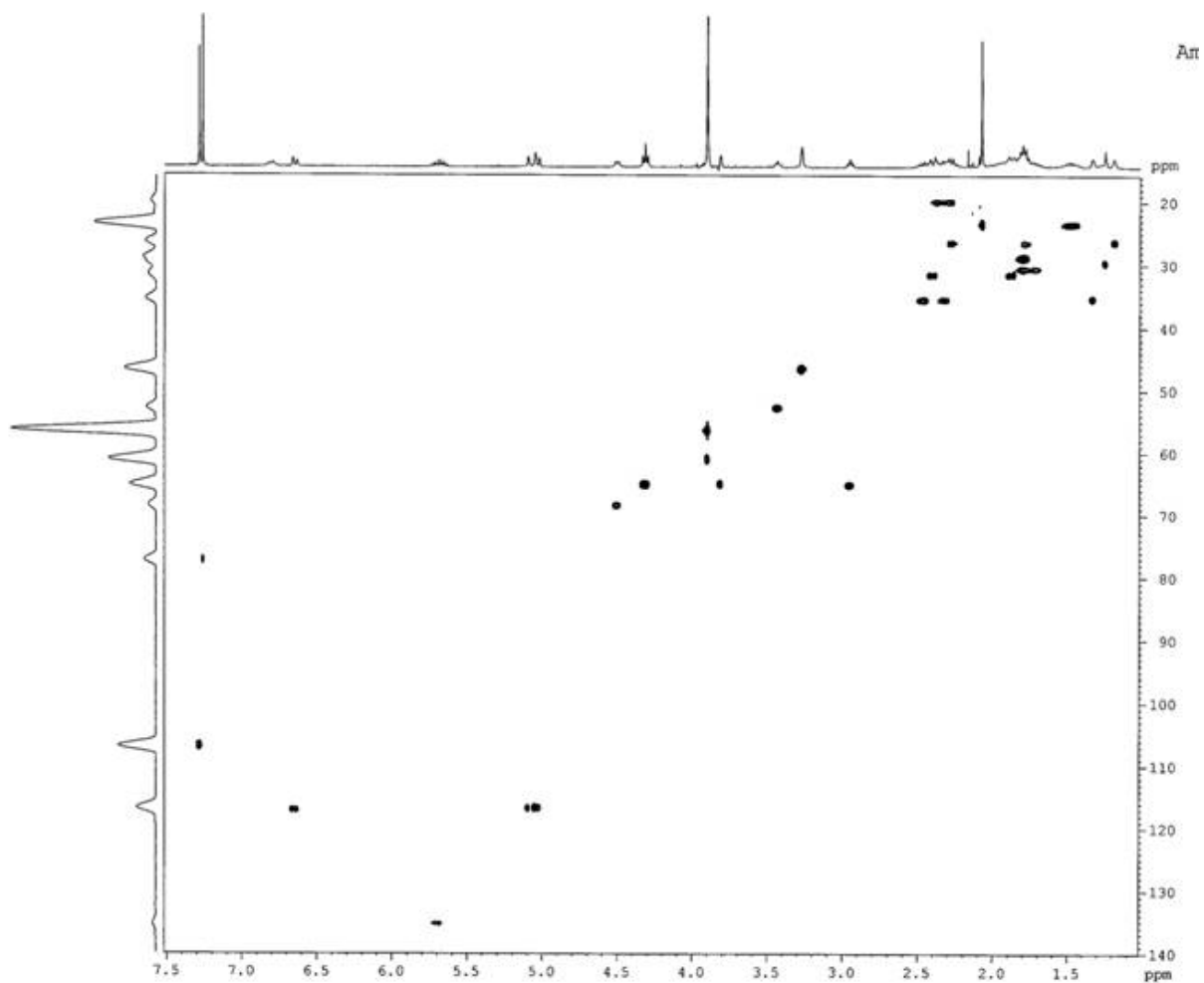


FIGURA 3.2.7.3 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da bowdequina

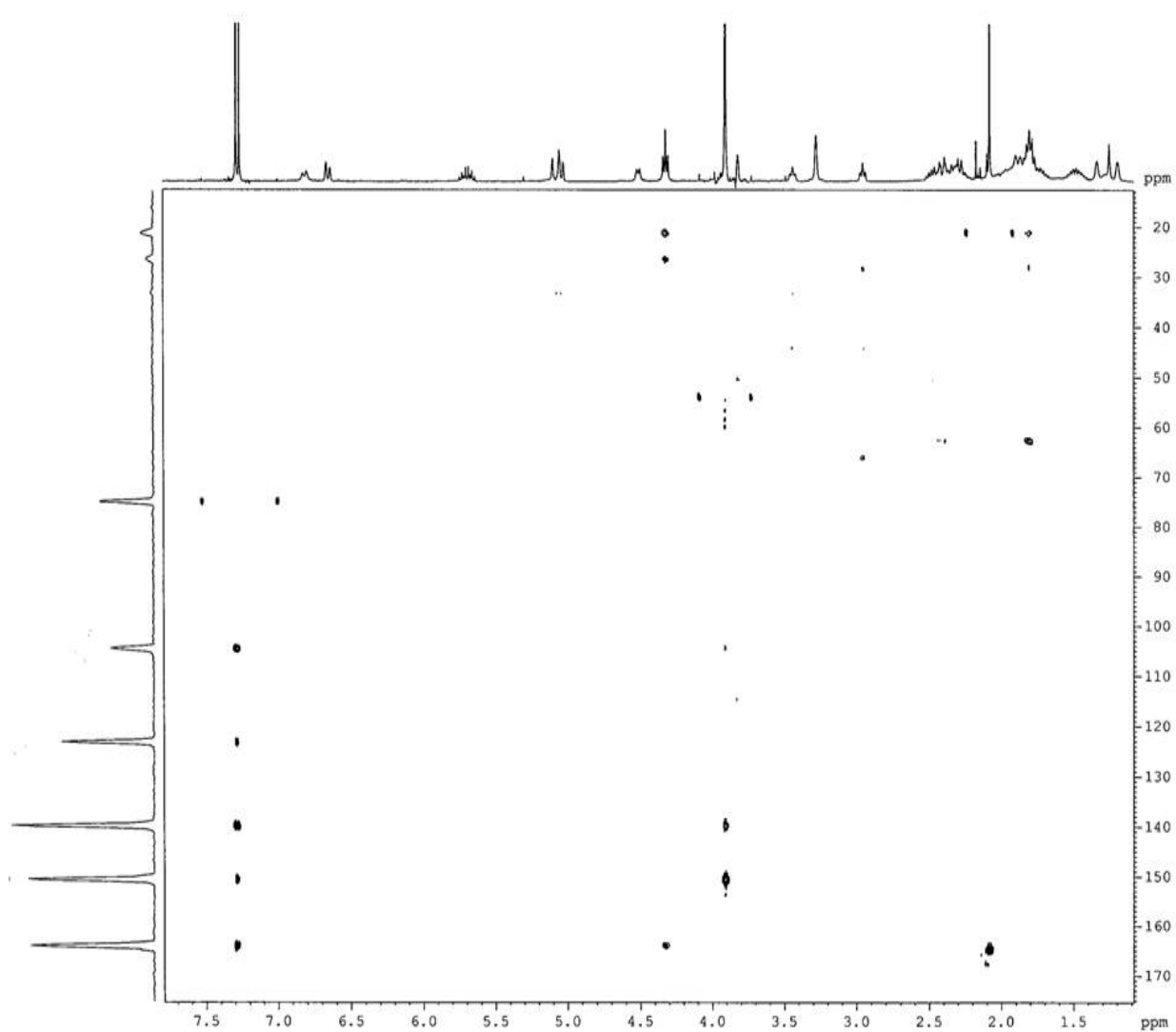
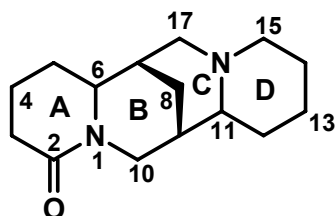
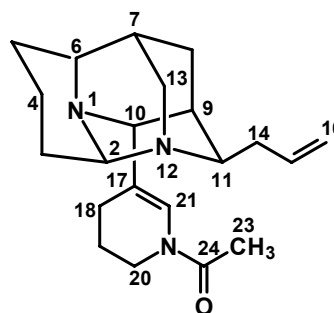


FIGURA 3.2.7.4 – Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da bowdequina

### 3.2.8 – Identificação estrutural da mistura lupanina (8) e panascomina (9)



(8)



(9)

A mistura dos compostos **8** e **9** apresenta um aspecto oleoso com coloração amarelado, que na análise em CCDA mostrou coloração amarelada quando revelado com reagente de Dragendorff. Essa mistura foi confirmada através do cromatograma (FIGURA 3.2.8.6), **8** ( $t_R = 15,9$ ) e **9** ( $t_R = 22,8$ ). Ambas já estão descritas na literatura, onde o composto **8** é largamente difundido no gênero *Acosmium* (VEITCH *et al.*1997). As estruturas foram determinadas com base em espectros de RMN em uma e duas dimensões e por comparação com os dados da literatura (SAGEN, 2002; NUZZILARD *et al.*1999).

No espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.8.1 TABELA 3.2.8.2) observou-se um duplo triplete em 4,51  $\delta$  ( $J = 12,8$  e 2,51 Hz). De acordo com VERDOORN *et al.* (1990), nos alcalóides quinolizidínicos este sinal é característico de hidrogênio em posição equatorial no anel B, vizinho a átomo de nitrogênio, apresentando forte acoplamento geminal com valores de  $J$ , em torno de 13,0 Hz. O deslocamento químico assim observado pode ser atribuído ao hidrogênio equatorial de C-10. Estas observações foram confirmadas quando se analisa o mapa de contorno de HSQC (FIGURAS 3.2.8.3 e 3.2.8.4) pois verifica-se que H-10 correlaciona-se com C-10 sinal em 46,7  $\delta$ . Segundo ainda aqueles autores, H-10<sub>eq</sub> apresenta fraca constante de acoplamento com H-9 em torno de 1,9 Hz. Com H-8<sub>eq</sub>,  $J$  apresenta valor semelhante, e o acoplamento é correspondente a uma interação a longa distancia em W.

No espectro de RMN<sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.8.2, TABELA 3.2.8.1) observaram-se os sinais em 171,5  $\delta$ , característico de uma carbonila lactâmica, e em 64,1, 60,9, 55,4, 52,8 e 46,7  $\delta$  que podem ser atribuídos a átomos de carbonos ligados a

átomos de nitrogênios, e que pelo experimento de HSQC foram correlacionados a H-11, H-6, H-15, H-17 e H-10 respectivamente. Os demais valores de deslocamento químico de carbono foram confirmados por comparação com os dados da literatura.

Os sinais de massa obtida (FIGURA 3.2.8.5 ESQUEMA 3.2.8.1) de **8** ( $m/z$  248) é compatível com a fórmula molecular  $C_{15}H_{24}N_2O$  da substância, assim como as principais fragmentações.

Através de comparações dos dados de RMN<sup>1</sup>H (TABELA 3.2.8.2) e <sup>13</sup>C (TABELA 3.2.8.1), obtido para **8** com os dados encontrados na literatura (SAGEN, 2002), constatou-se coincidência dos valores de deslocamentos químicos, confirmando assim a identificação como sendo a lupanina.

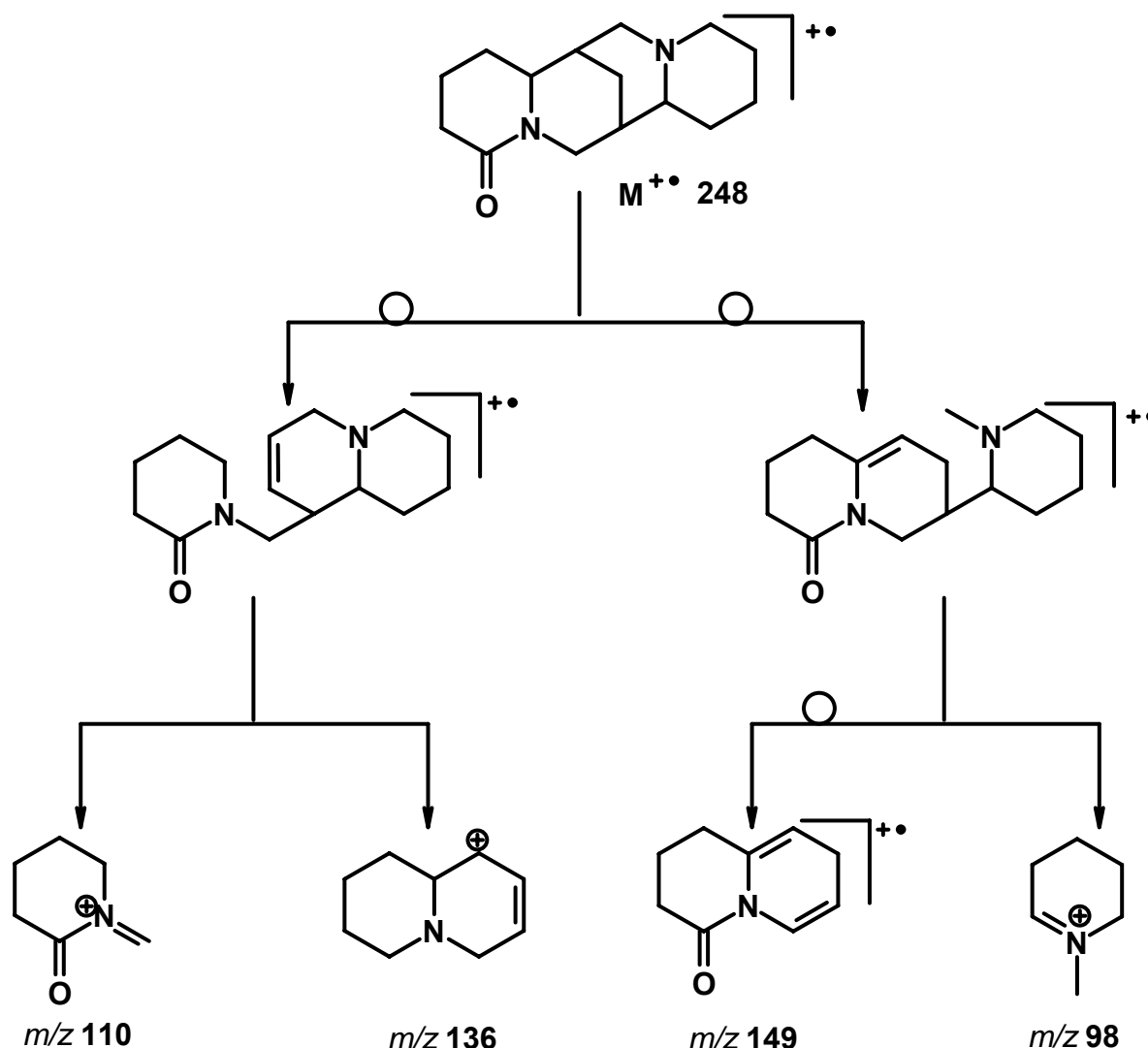
TABELA 3.2.8.1 - Dados de RMN<sup>13</sup>C ( $\delta_C$ ) de **8**.

C	<b>8</b> (100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	SAGEN, 2002 (125 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	171,5	172,0
3	33,5	32,9
4	19,6	19,1
5	27,7	27,4
6	60,9	60,5
7	30,0	30,7
8	26,4	25,9
9	34,3	33,3
10	46,7	46,1
11	64,1	65,4
12	31,5	31,1
13	22,9	22,7
14	22,6	22,5
15	55,4	55,8
17	52,8	51,3



TABELA 3.2.8.2 - Dados de RMN<sup>1</sup>H ( $\delta_H$ ) de **8**.

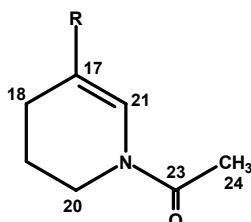
C	<b>8</b> (400 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	SAGEN, 2002 (500 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
3	Ha 2,45(m, 1H) Hb2,33 (m, 1H)	2,36 (m, 2H)
4	Ha 1,84(m, 1H) Hb165 (m, 1H)	Ha 1,84 (m,1H) Hb 1,63 (m, 1H)
5	Ha 1,82 (m, 1H) Hb1,58 (m, 1H)	Ha 1,83 (m, 1H) Hb 1,59 (m, 1H)
6	3,30 (m, 1H)	3,43 (m, 1H)
7	2,07(m, 1H)	2,12 (m, 1H)
8	Ha 2,09(m, 1H) Hb 1,25 (m, 1H)	Ha 2,15 (m, 1H)/ Hb 1,37 (m,1H)
9	1,68 (m, 1H)	1,66 (m, 1H)
10	Ha 4,51(dt J = 12,8 e 2,4 Hz,1H) Hb 2,51 (m, 1H)	Ha 4,43 (dt J = 13,1 e 2,3 Hz,1H) Hb 2,58 (dd J = 13,1 e 2,5Hz,1H)
11	1,66 (m, 1H)	1,63 (m, 1H)
12	Ha 1,55(m, 1H) Hb1,33 (m, 1H)	Ha 1,59 (m, 1H) Hb 1,41(m, 1H)
13	1,82 (m, 2H)	Ha 1,75 (m, 1H) Hb 1,31(m, 1H)
14	1,64 (m, 2H)	1,58 (m, 2H)
15	Ha 2,83 (m, 1H) Hb1,93 (m, 1H)	Ha 2,81 (m, 1H) Hb1,95 (m, 1H)
17	Ha 2,88 (m, 1H) Hb1,95 (m, 1H)	Ha 2,88 (dd J = 10,0 e 11,9 Hz) Hb 1,96 (m, 1H)

ESQUEMA 3.2.8.1 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para **8**

Para a substância **9**, o espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 3.2.8.1 TABELA 3.2.9.1) mostrou singletos largos e de baixa intensidade em 1,49 e 1,58  $\delta$ , e os multipletos em 5,78 e 5,15  $\delta$ , correspondentes aos hidrogênios metínicos H-7 e H-9, e alílicos H-15 e H-16, respectivamente, semelhantes aos encontrados em alcalóide quinolizidínico com esqueleto diazo-adamantano, porém não foi observado o dubleto, próximo de 6,65  $\delta$ , atribuído ao hidrogênio vinílico H-21. Contudo o espectro de RMN <sup>1</sup>H, revelou a presença de dois singletos, um em 2,13  $\delta$ , que pode ser de metila de um grupamento acetamida, e outro em 6,55  $\delta$  característico de hidrogênio olefínico que, de acordo com o mapa de contorno de HSQC (FIGURA

3.2.8.2) mostrou que apresentam correlações com os sinais de carbonos em 21,3 e 123,1  $\delta$  respectivamente,

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.8.2) apresentou ainda o sinal em 117,1  $\delta$  correspondente a um carbono olefínico não hydrogenado. Esses dados são semelhantes ao encontrados para a acosmina (**3**), e caracterizam a presença do grupamento N-acetildihidropiperidina (**51**).



(**51**)

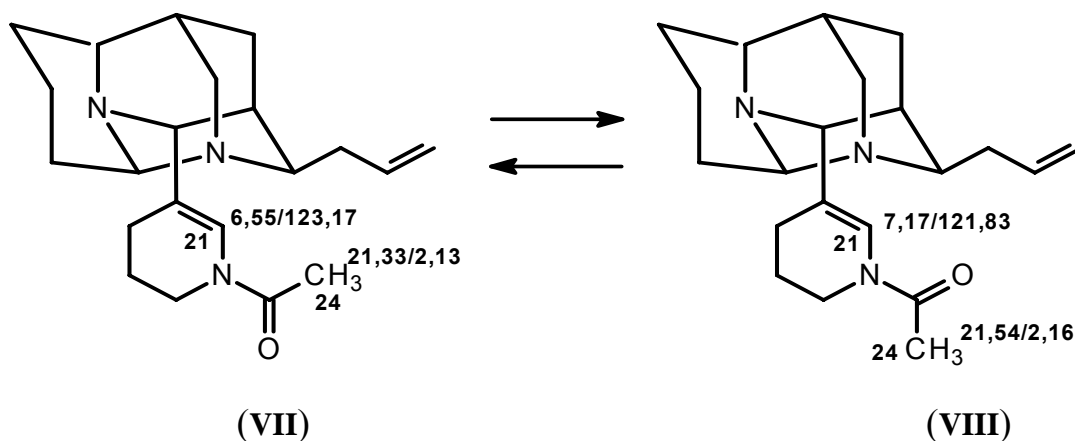
A análise dos espectros de RMN <sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, do mapa de contorno de HSQC do alcalóide **9**, permitiu estabelecer as atribuições dos sinais aos hidrogênios e carbonos.

A massa obtida no EM (FIGURA 3.2.9.1 ESQUEMA 3.2.9.2) de **9** (*m/z* 341) é compatível com a fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O da substância, assim como as principais fragmentações.

Estes dados e os demais deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram comparados aos obtidos por NUZZILARD *et al* (1999) para a estrutura da panascomina (TABELAS 3.2.9.1 e 3.2.9.2), que apresenta como esqueleto estrutural o núcleo diazoadamantano. A semelhança na atribuição aos deslocamentos químicos destes dois compostos, revelou que **9** corresponde ao alcalóide panascomina.

Como foi observado na acosminina (**4**), é possível propor um equilíbrio rotacional para (**9**), produzindo os rotâmeros (**VII**) e (**VIII**) (ESQUEMA 3.2.9.1), este fato é evidenciado no experimento de HSQC onde se verifica outro deslocamento para H-21 (7,17  $\delta$ ) que correlaciona com C-21 (121,8  $\delta$ ), além daqueles já atribuídos em 123,1  $\delta$  para C-21 e 6,55  $\delta$  para H-21. Assim justificam-se os sinais excedentes observados nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C.

Esse equilíbrio rotacional também foi observado por NUZILLARD *et al.* (1999), e esclarece que próton vinílico (H-21) do rotâmero menos estável é mais desblindado, devido ao efeito do grupo carbonila, correspondente ao rotâmero (**VIII**) para **9**



ESQUEMA 3.2.9.1 – Equilíbrio rotacional observado em **9**.

TABELA 3.2.9.1 - Dados de RMN<sup>1</sup>H de **9**

C	<b>9</b> ( $\delta_H$ 400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	NUZZILARD <i>et al.</i> 1999 ( $\delta_H$ 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> )
2	4,32 (dl J = 5,6 Hz, 1H)	4,15 (dl J = 5,8 Hz, 1H)
3	Ha/Hb 2,05/1,78 (m, 2H)	Ha/Hb 2,0/1,85 (m, 2H)
4	Ha/Hb 2,0/1,75 (m, 2H)	Ha/Hb 2,0/1,75 (m, 2H)
5	Ha/Hb 2,15/1,78 (m, 2H)	Ha/Hb 2,20/1,75 (m, 2H)
6	3,17 (m, 2H)	3,15 (m, 2H)
7	1,49 (sl, 1H)	1,30 (sl, 1H)
8	Ha/Hb 2,43/1,89 (m, 2H)	Ha/Hb 2,42/1,85 (m, 2H)
9	1,58 (sl, 1H)	1,65 (sl)
10	3,69 (s, 1H)	3,67(s, 1H)
11	3,37 (m, 1H)	3,15 (m, 1H)
13	Ha/Hb 3,59/3,13 (m, 2H)	Ha/Hb 3,67/3,0
14	Ha/Hb 2,52/2,33 (m, 2H)	Ha/Hb 2,58/2,32
15	5,78 (m, 1H)	5,75 (m)
16	5,15 (m, 2H)	Hb 5,1 (dl J = 15,3Hz, 1H) Hb 5,05 (dl J = 9,8 Hz, 1H)
18	1,99 (m, 2H)	Ha/Hb 2,0/1,85 (m, 2H)
19	1,84 (m, 2H)	Ha/Hb 1,85/1,75 (m, 2H)
20	Ha/Hb 3,77/3,51(m, 2H)	Ha/Hb 3,78/3,48 (m, 2H)
21	6,55 (s, 1H)	6,6 (s, 1H)
24	2,13 (s)	2,12 (s)

TABELA 3.2.9.2 - Dados de RMN<sup>13</sup>C de **9**

C	<b>9</b> ( $\delta_C$ 100 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	NUZZILARD 1999 ( $\delta_C$ 125 MHz; CDCl <sub>3</sub> )
2	70,9	69,8
3	28,0	28,4
4	17,4	17,9
5	27,4	28,4
6	58,0	58,7
7	29,9	30,5
8	32,2	33,0
9	25,1	25,2
10	67,6	68,1
11	59,8	59,9
13	44,0	44,1
14	34,7	36,3
15	134,4	135,5
16	118,2	117,1
17	118,8	117,9
18	23,2	23,3
19	21,5	21,5
20	40,0	40,1
21	123,1	122,6
23	168,0	168,0
24	21,3	21,5

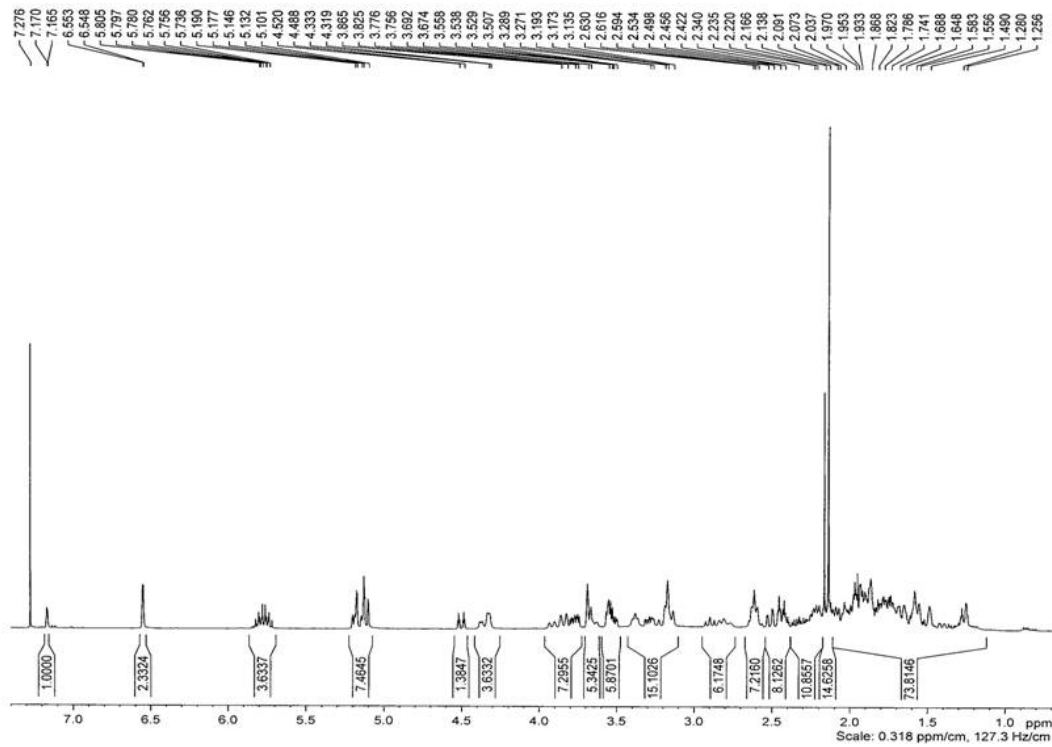


FIGURA 3.2.8.1 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da mistura **8** e **9**.

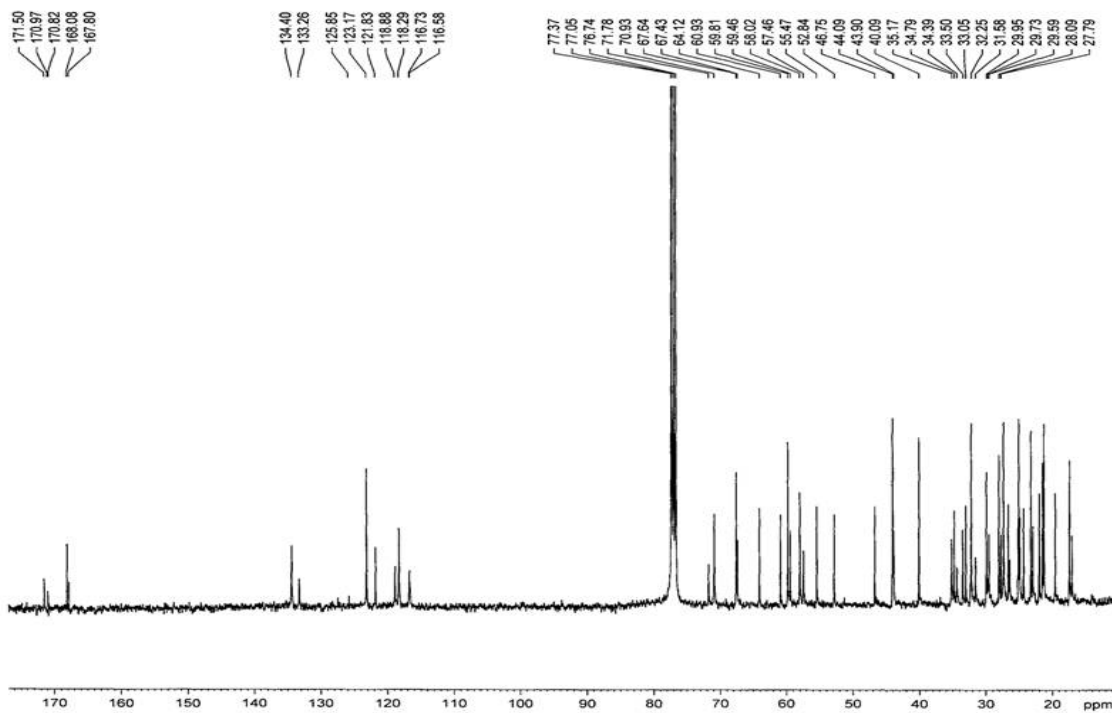


FIGURA 3.2.8.2 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da mistura **8** e **9**.

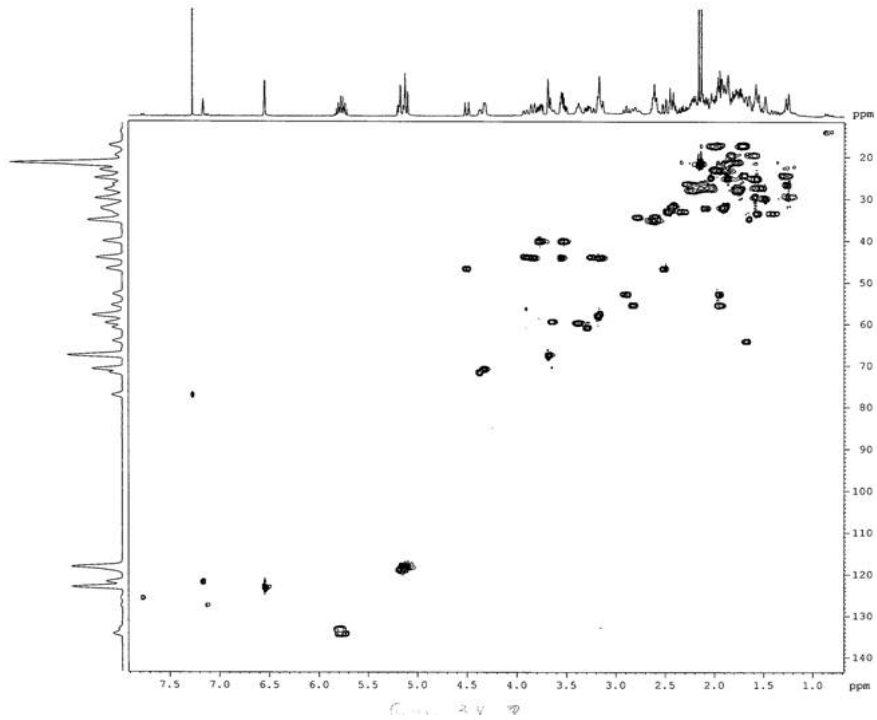


FIGURA 3.2.8.3 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura **8** e **9**

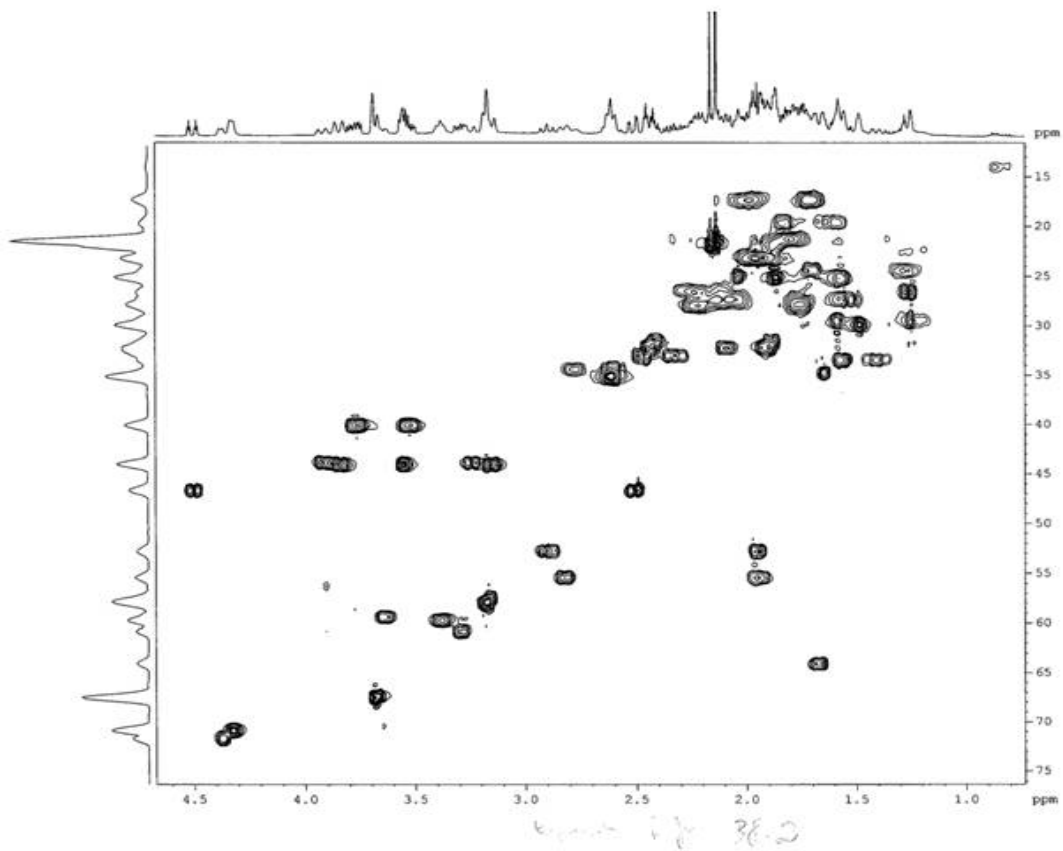


FIGURA 3.2.8.4 – Ampliação do mapa de contorno de HSQC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura **8** e **9**

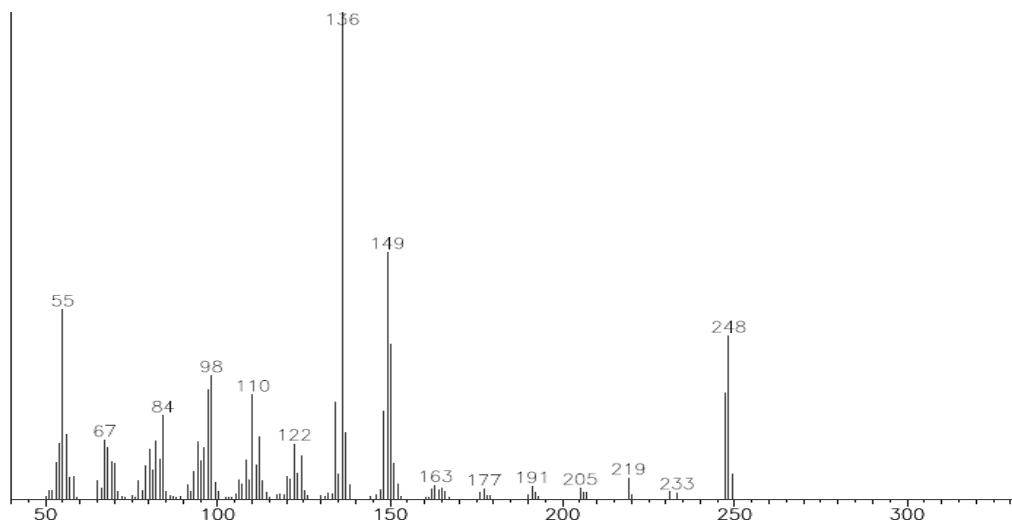


FIGURA 3.2.8.5 – Espectro de massas (IE = 70 eV) da lupanina.

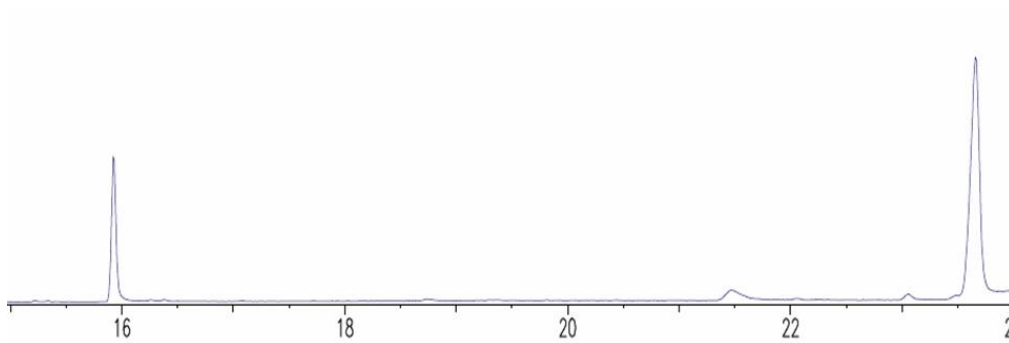


FIGURA 3.2.8.6 – Cromatograma da mistura **8** e **9**

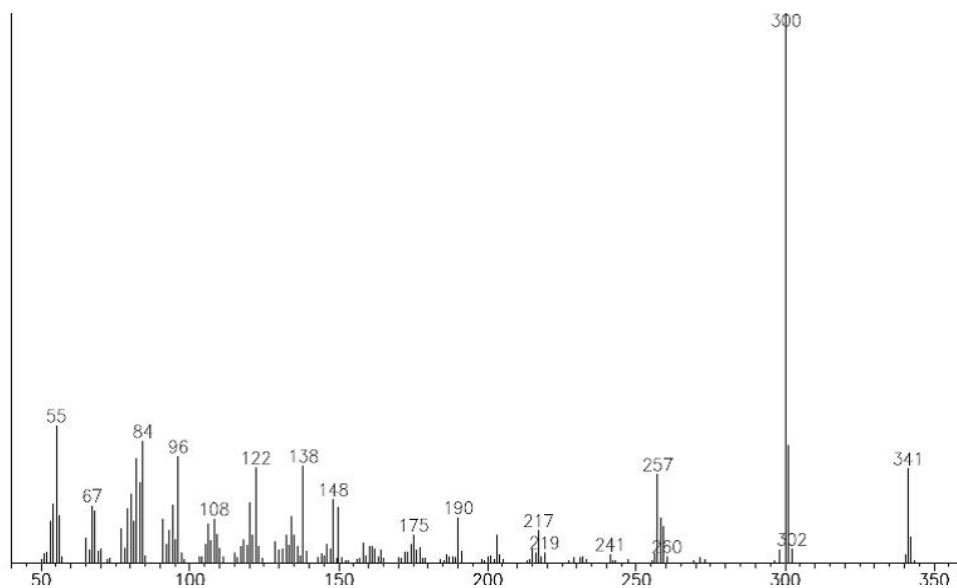
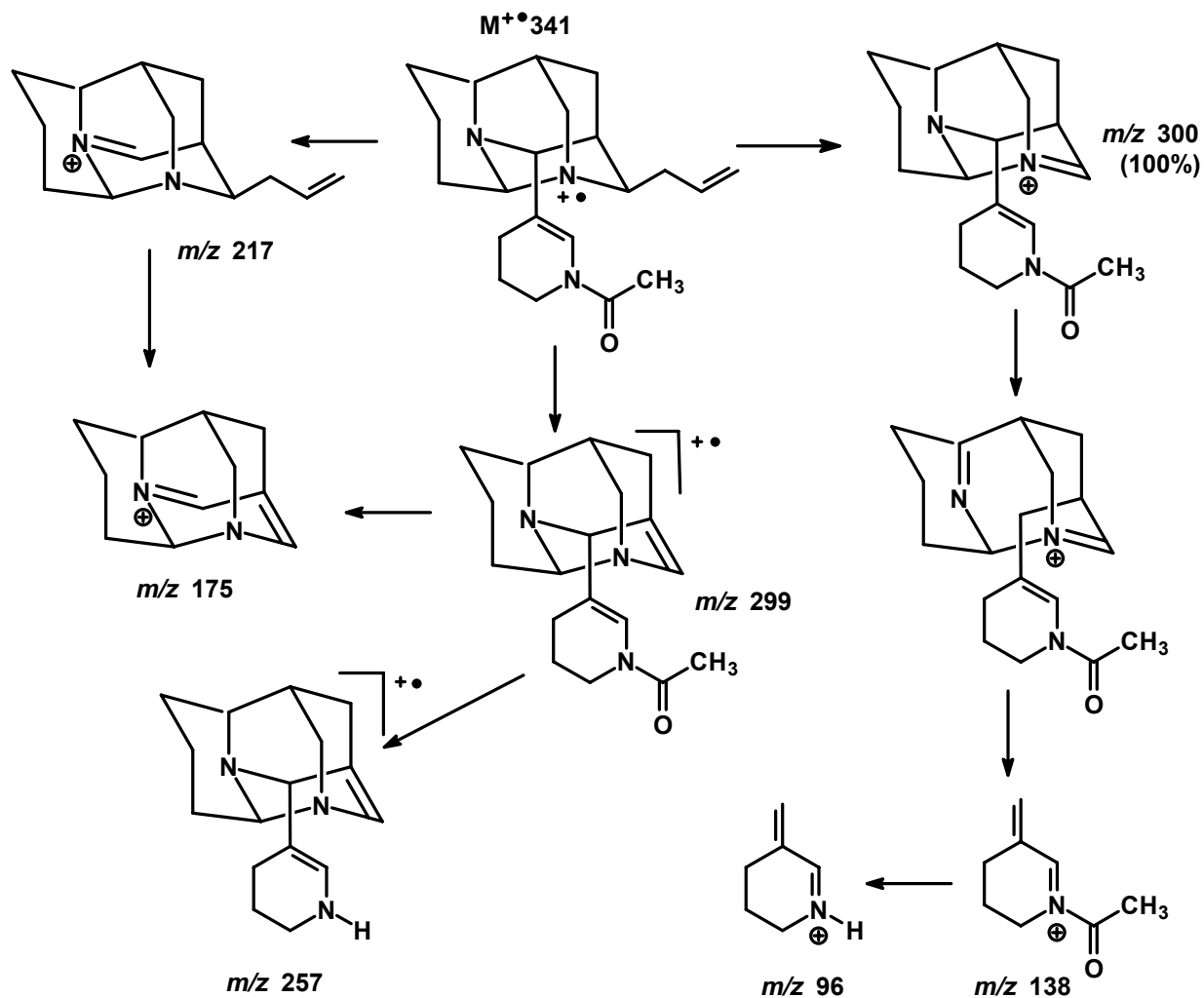
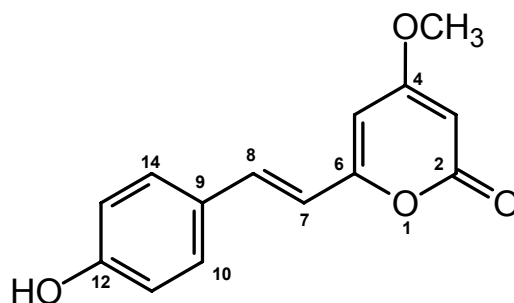


FIGURA 3.2.9.1 - Espectro de massas (IE = 70 eV) da panascomina





ESQUEMA 3.2.9.2 - Proposta de fragmentação de massas (IE = 70 eV) para **9**

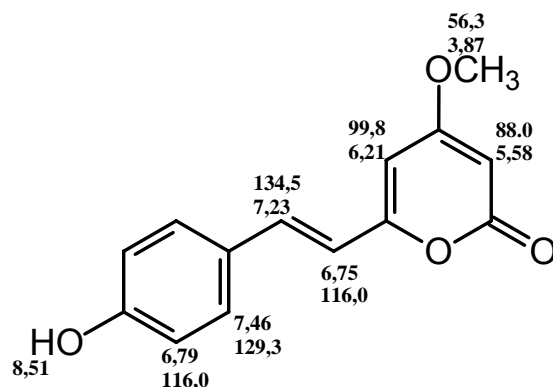
3.2.9 – Identificação estrutural da 12-O-desmetil iangonina (**10**)**(10)**

O composto **10** foi isolado como um sólido amarelo, foi identificado através dos experimentos de RMN em uma e duas dimensões.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.10.1) do composto **10** apresentou dois dubletos ( $J = 8,4$  Hz, 2H) em 7,44 e 6,79  $\delta$ , indicando a presença de um anel aromático *para*-substituído; outro dois dubletos ( $J = 16$  Hz, 1H) em 7,36 e 6,75  $\delta$  sugerindo a presença de um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado, no qual os hidrogênios da dupla estariam em relação *trans*, mais dois dubletos ( $J = 2,4$  Hz, 1H) em 6,16 e 5,58  $\delta$  que pode ser atribuído a um sistema  $\alpha$  pirônico, e dois singletos sendo um em 3,87  $\delta$  (3H) referente a hidrogênios metílicos ligados a heteroátomos, e outro em 8,51 $\delta$  que foi atribuído a uma hidroxila.

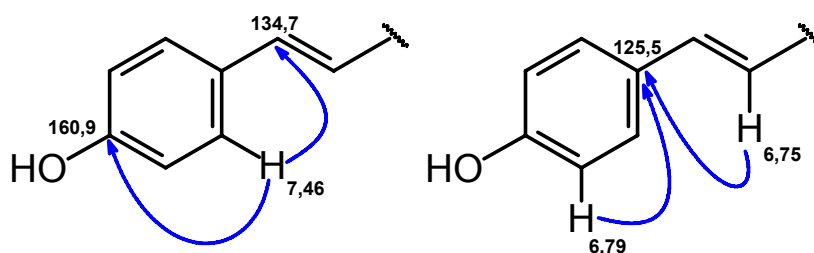
A correlação desses dubletos foi confirmada pelo espectro de COSY (FIGURA 4.2.10.2). Essas informações indicaram, portanto, a natureza de **10** como sistema  $\alpha$  pirônico com um anel aromático, uma dupla ligação  $\alpha$  carbonila com grupamentos hidroxílico e metoxílico. Todas essas suposições foram confirmadas através da análise dos demais espectros de RMN.

A análise da projeção dos espectros de <sup>13</sup>C (HSQC e HMBC) e do mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.10.3) do composto **10**, em conjunto com os dados da literatura (WIEDENFELD e ANDRADE 2003), permitiu que fossem atribuídos os deslocamentos químicos de todos os carbonos hidrogenados e fossem definidos cinco carbonos quaternários na molécula em 170,9, 162,5, 159,7, 160,9 e 125,5  $\delta$



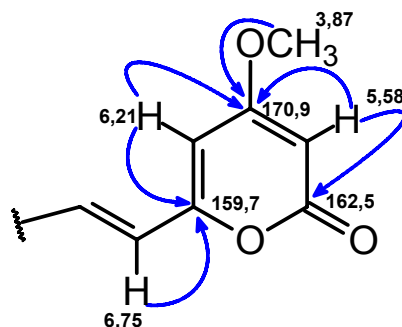
O mapa de contorno de HMBC (FIGURA 3.2.10.4) permitiu que se definissem os carbonos quaternários e o posicionamento da metoxila. As correlações do H-10 e H-14 (7,46  $\delta$ ) (ESQUEMA 3.2.10.1) com os carbonos em 160,9 e 134,5  $\delta$ , definiu o C-12 e confirmou a atribuição do C-8.

A correlação dos hidrogênios 11 e 13 (6,79  $\delta$ ) e, 7 (6,75  $\delta$ ) com um sinal em 125,5, definiu o C-9 (ESQUEMA 3.2.10.1)



ESQUEMA 3.2.10.1 – Correlações via HMBC para o composto **10**.

O carbono mais desblindado, em 170,9  $\delta$ , foi atribuído a C-4 através da sua correlação com H-3 (5,58  $\delta$ ), H-5 (6,16  $\delta$ ) e com os hidrogênios da metoxila, esta correlação também permitiu localizar o grupamento metoxílico na molécula. O C-6 (159,7  $\delta$ ) foi determinado através da correlação com H-5 (6,21  $\delta$ ) e H-7 (6,75  $\delta$ ). Adicionalmente, a correlação de H-3 (5,58  $\delta$ ) com o carbono em 162,5  $\delta$  definiu C-2 (ESQUEMA 3.2.10.2). Estas correlações permitiram a correção dos valores de deslocamentos químicos descrito por WIEDENFELD e ANDRADE (2003) (TABELA 3.2.10.1) descrito para esta substância.

ESQUEMA 3.2.10.2 – Correlações via HMBC para o composto **10**

Portanto, através da análise dos dados espectroscópicos e comparação com os dados obtidos na literatura, o composto **10** foi identificado como 12-O-desmetiliangonina.

TABELA 3.2.10.1 - Dados espectroscópicos de **10** obtidos e da literatura.

H/C	40 ( 400 MHz, DMSO)		WIEDENFELD e ANDRADE 2003**	
	$\delta_H$	$\delta_C^*$	$\delta_H$	$\delta_C$
2		<b>162,5</b>		<b>159,2</b>
3	5,58 (d, J = 2,4 Hz 1H)	88,0	5,59 (d, J = 1,2 Hz 1H)	88,3
4		170,9		171,2
5	6,21 (d, J = 2,4 Hz 1H)	99,8	6,21 (d, J = 1,2 Hz 1H)	100,3
6		<b>159,7</b>		<b>163,0</b>
7	6,75 (d, J = 16,0 Hz 1H)	116,0	6,78 (d, J = 16,1 Hz 1H)	116,3
8	7,23 (d, J = 16,0 Hz 1H)	134,5	7,23 (d, J = 16,1 Hz 1H)	134,8
9		125,5		126,4
10/14	7,46 (d, J = 8,4 Hz 2H)	129,3	7,47 (d, J = 8,2 Hz 2H)	129,5
11/13	6,79 (d, J = 8,4 Hz 2H)	116,0	6,81 (d, J = 8,2 Hz 2H)	116,0
12		160,9		158,2
MeO	3,87 (s, 3H)	56,3	3,81 (s, 3H)	56,5
HO	8,51 (s, 1H)		6,3 (s, 1H)	

\* Projeção de Carbono HSQC e HMBC.

\*\*  $\delta_H$  ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>/ DMSO-D<sub>6</sub>)  $\delta_C$  ( 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>/ DMSO-D<sub>6</sub>)

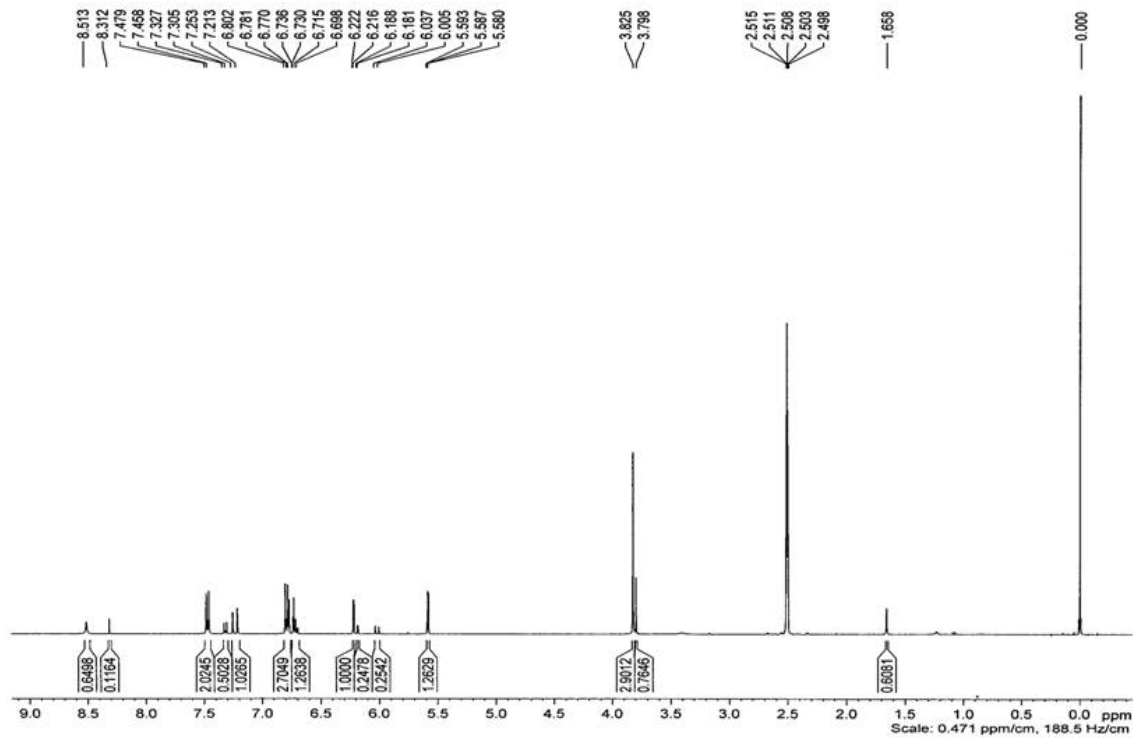


FIGURA 3.2.10.1 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz DMSO) de 12-O-desmetiliangonina.

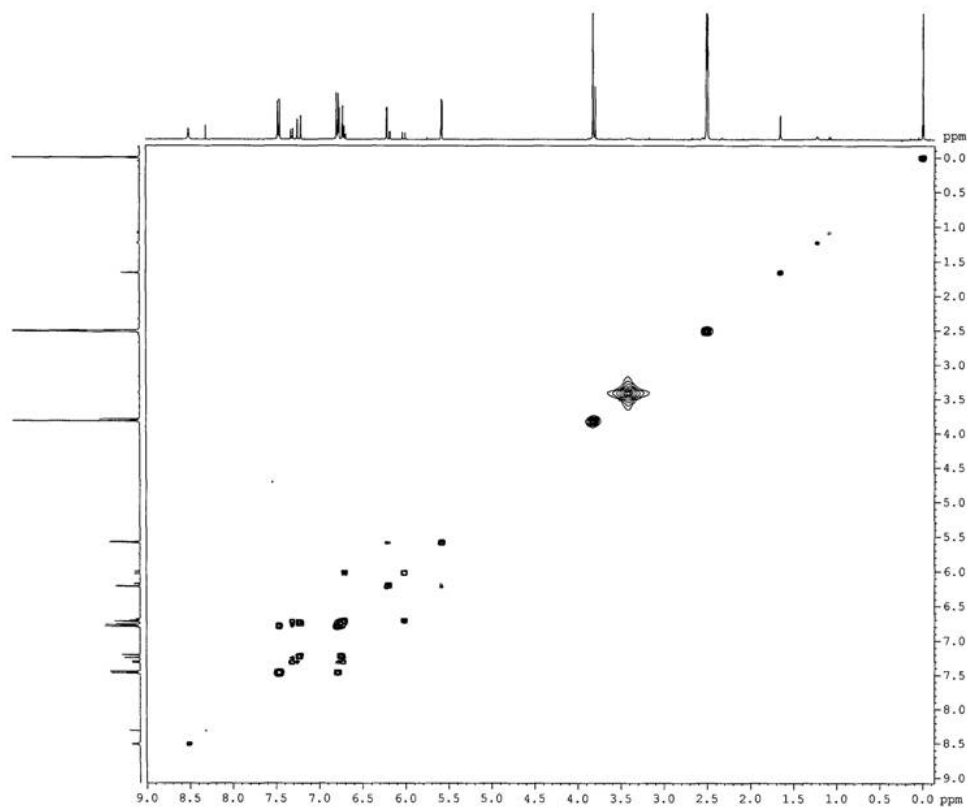


FIGURA 3.2.10.2 – Espectro de COSY <sup>1</sup>H - <sup>1</sup>H (400 MHz DMSO) da 12-O-desmetiliangonina

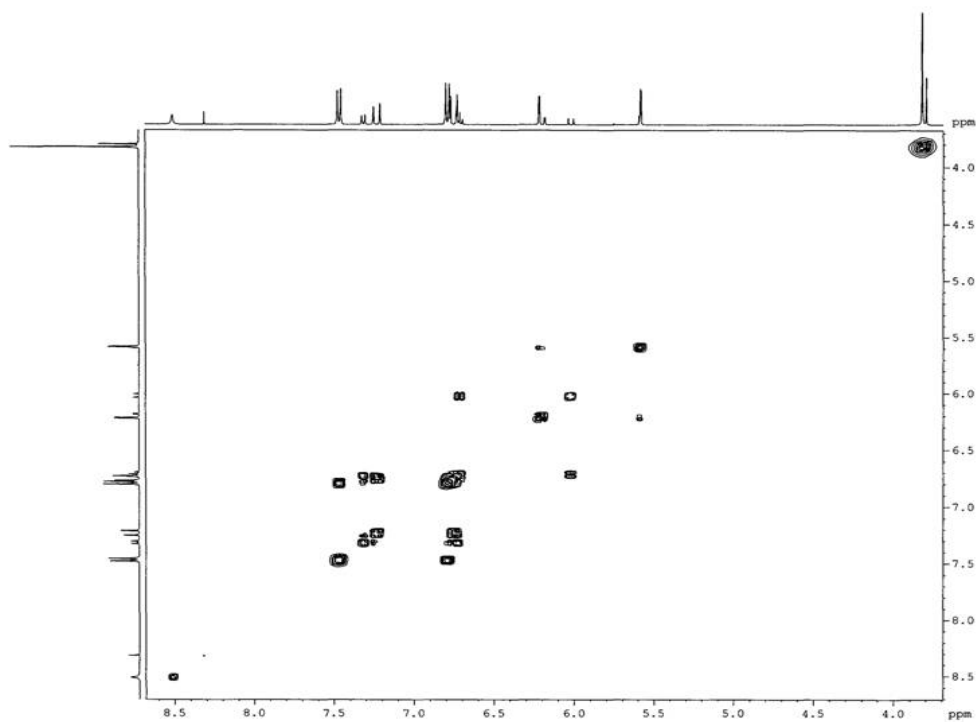


FIGURA 3.2.10.2a – Expansão do espectro de COSY <sup>1</sup>H - <sup>1</sup>H (400 MHz DMSO) da 12-O-desmetiliangonina

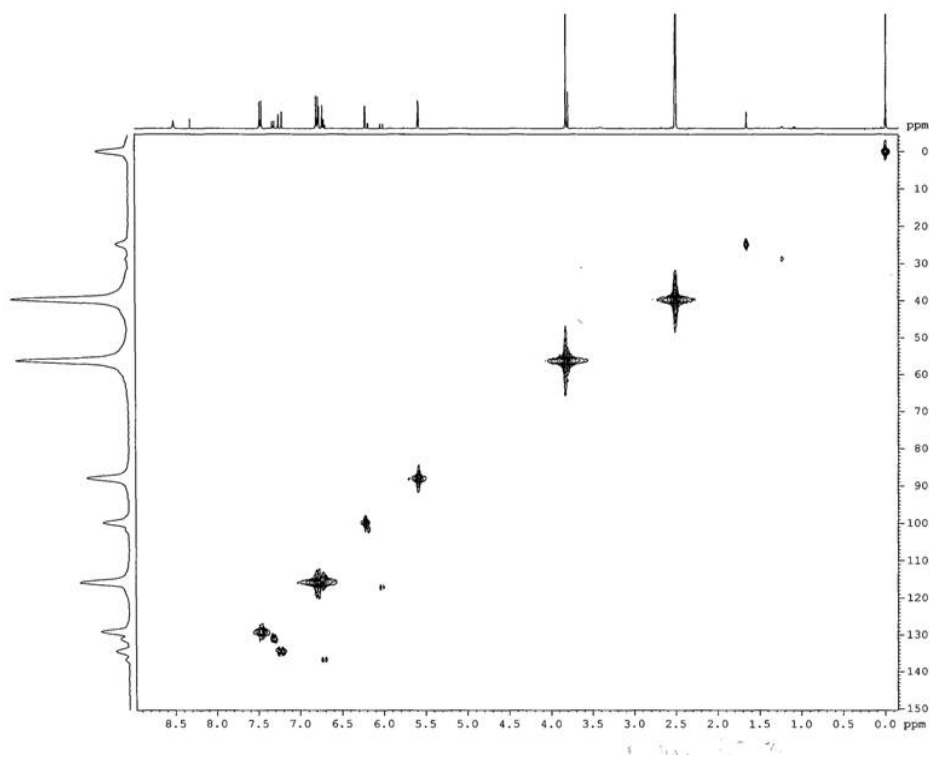


FIGURA 3.2.10.3 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz DMSO) da 12-O-desmetiliangonina

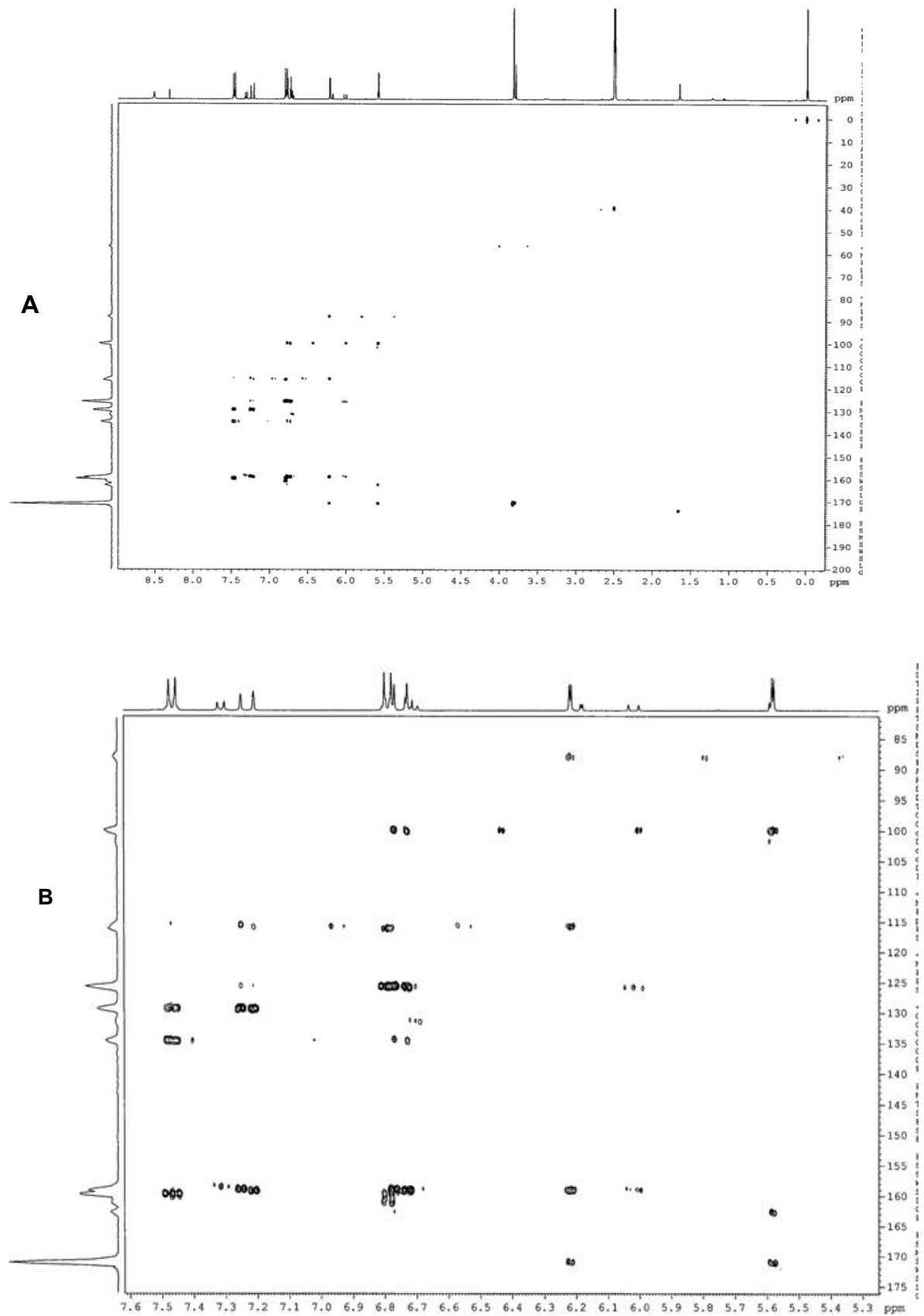
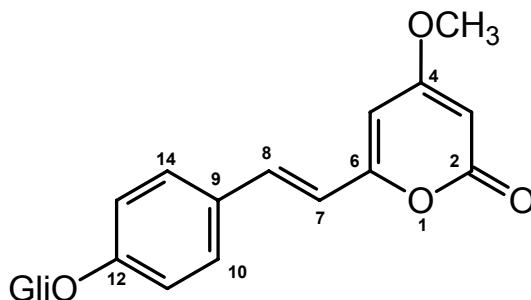


FIGURA 3.2.10.4 – **A)** Mapa de contorno de HMBC (400 MHz DMSO) **B)** Expandido da 12-O-desmetiliangonina

### 3.2.10 – Identificação estrutural da 12-O-β-D-glicopiranosil-desmetil iangonina (**11**)

**11**

O composto **11** foi isolado com um sólido amarelo, a identificação foi realizada através dos experimentos de RMN em uma e duas dimensões.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 4.2.11.1) do composto **11** foi bastante similar as da desmetilangonina (**10**). Foram observados dois dubletos ( $J = 8,4$  Hz, 2H) em 7,54 e 7,11  $\delta$ , indicando a presença de um anel aromático *para*-substituído; outro dois dubletos ( $J = 15,8$  Hz, 1H) em 7,26 e 6,74  $\delta$  sugerindo a presença de um sistema olefinico, onde os hidrogênios da dupla estariam em relação *trans*, mais dois dubletos ( $J = 2,4$  Hz, 1H) em 6,2 e 5,6  $\delta$  que pode ser atribuído a um sistema  $\alpha$  pironico, e um singlete em em 3,87  $\delta$  (3H) referente a hidrogenios metílicos ligados a heteroátomos, Estes sinais confirmam a semelhança com **10**, permite sugerir então, que **11** tem o mesmo esqueleto estilil  $\alpha$ - pironico que **10**.

A análise de RMN<sup>1</sup>H, mostrou ainda um dubleto em 4,95  $\delta$  ( $J = 7,6$  Hz, 1H), típico de um hidrogênio anomérico de  $\beta$ -D-glicopiranosideo, e os multipletos em 3,38, 3,45, 3,49, 3,50, 3,67 e 3,84  $\delta$ , sinais estes que confirmam a natureza glicosídica da molécula **11**.

A análise do mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.11.2) permitiu atribuir os deslocamentos químicos de todos os carbonos da porção glicosídica da molécula.

No experimento de HMBC (FIGURA 3.2.11.3). O sinal mais desblindado, em 173,7  $\delta$ , apresenta correlação com os hidrogênios da metoxila 3,87  $\delta$ , permitindo assim, definir o posicionamento da metoxila. Dessa forma pode se deduzir que a porção glicosídica, está ligada ao C-12.



O EM (FIGURA 3.2.11.4) está em acordo com a estrutura proposta para **11** através dos picos em  $[M+H]^+$  em  $m/z$  407 compatível com a fórmula molecular  $C_{20}H_{22}O_9$ .

Assim, a estrutura para esta substância foi estabelecida como sendo 12-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-desmetiliangonina (**11**). Esta dedução envolveu, além da análise dos dados espectroscópicos (TABELA 3.2.11.1), comparação com os dados obtidos na literatura (WIEDENFELD e ANDRADE 2003).

TABELA 3.2.11.1 - Dados espectroscópicos de **11**.

H/C	<b>11 ( 400 MHz, DMSO)</b>	
	$\delta_H$	$\delta_C^*$
2	-	161,5
3	5,6 (d, J = 2,4 Hz 1H)	89,0
4	-	173,7
5	6,2 (d, J = 2,4 Hz 1H)	102,0
6	-	161,5
7	6,74 (d, J = 16,0 Hz 1H)	117,9
8	7,26 (d, J = 15,2 Hz 1H)	136,1
9	-	131,1
10/14	7,54 (d, J = 9,0 Hz 2H)	130,0
11/13	7,11 (d, J = 8,4 Hz 2H)	117,9
12	-	161,5
1'	4,95 (d, J = 7,6 Hz 1H)	103,1
2'	3,45 (m)	74,4
3'	3,50 (m)	78,1
4'	3,38 (m)	71,2
5'	3,49 (m)	78,1
6'	Ha/Hb 3,84/3,67	62,4
MeO	3,87 (s, 3H)	56,8

\* Projeção de Carbono HSQC e HMBC.

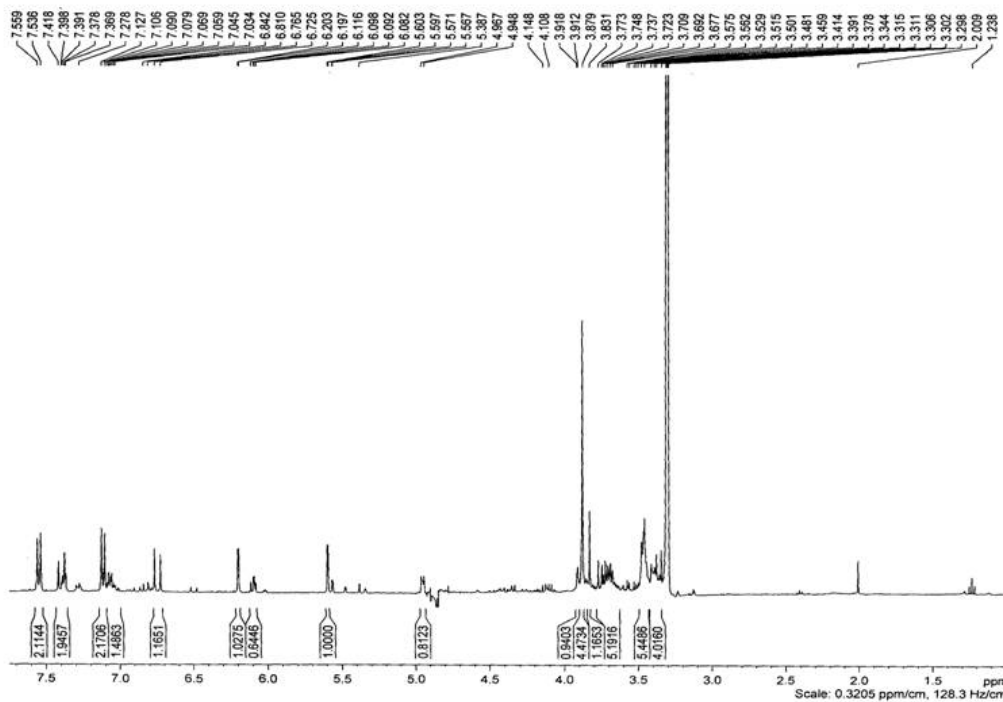


FIGURA 3.2.11.1 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) de 12-O-β-D-glicopiranosil-desmetiliangonina .

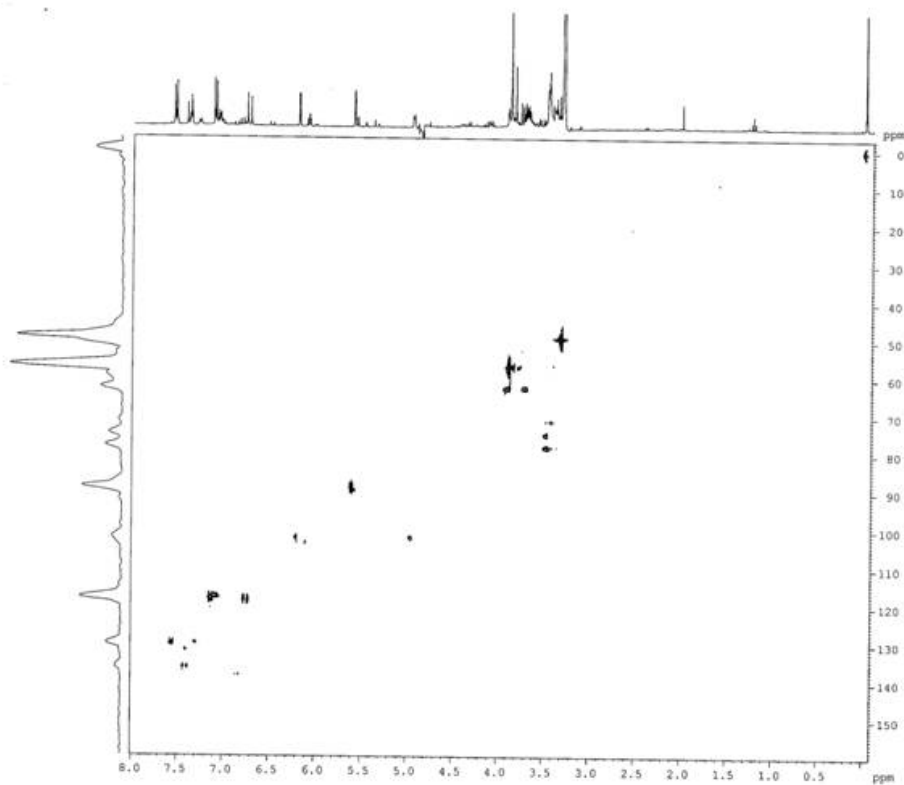


FIGURA 3.2.11.2 - Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) 12-O-β-D-glicopiranosil-desmetiliangonina

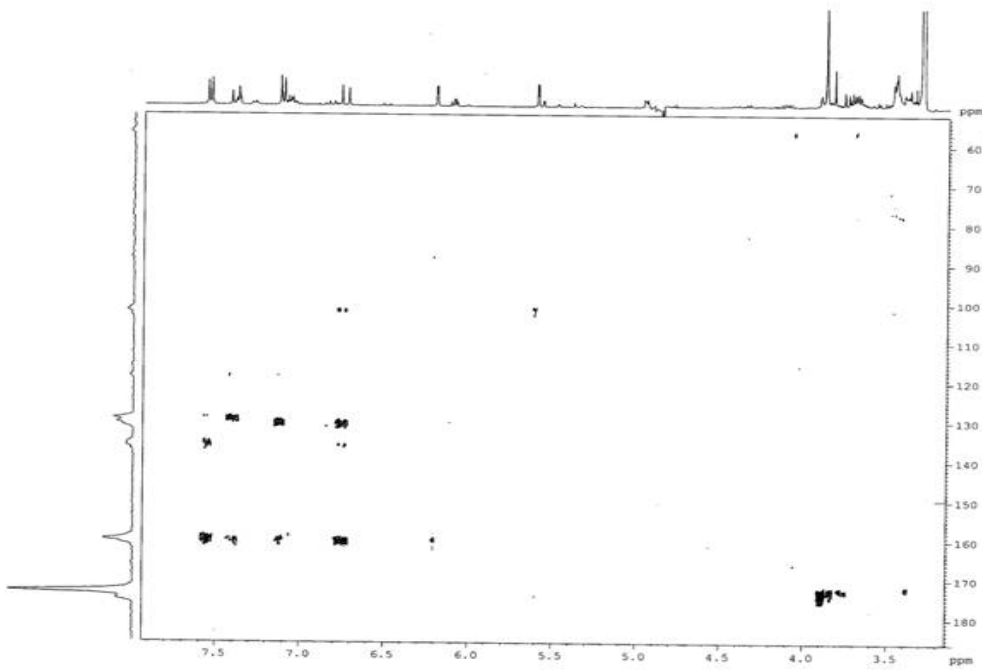


FIGURA 3.2.11.3 - Mapa de contorno de HMBC (400 MHz  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  
12-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-desmetiliangonina

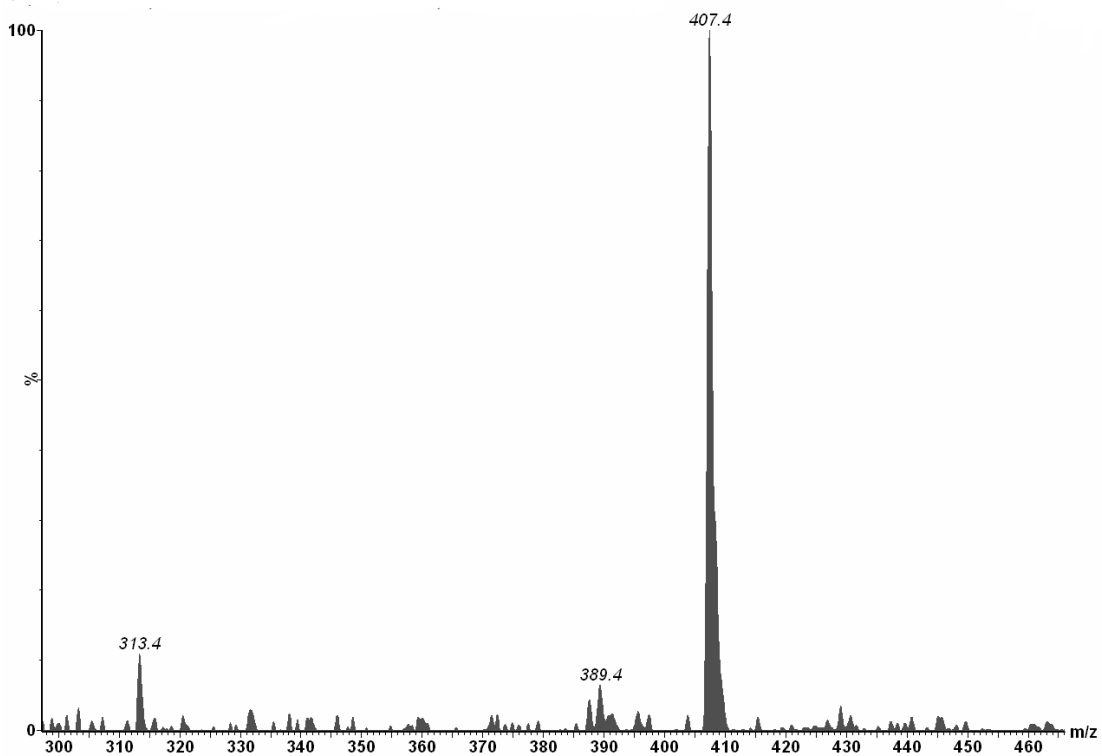
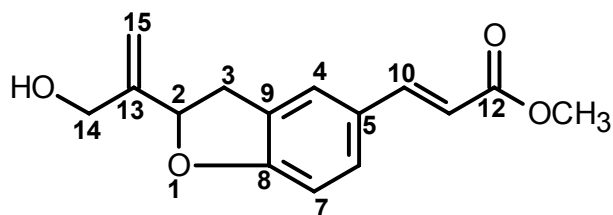


FIGURA 3.2.11.4 - Espectro de massas (ES+) da 12-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-desmetiliangonina

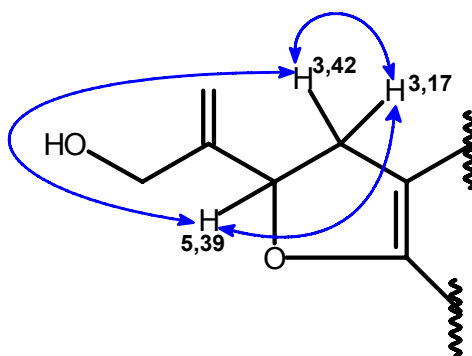
3.2.11 – Identificação estrutural do bowdenol (**12**)**12**

O composto (**12**) é um óleo viscoso de coloração amarelada, e foi identificado através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.12.2) mostrou dois dubletos em 7,63 ( $J = 16,0$  Hz, 1H) e 6,28  $\delta$  ( $J = 16,0$  Hz, 1H) sugerindo a presença de um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado, no qual os hidrogênios da dupla estariam em relação *trans*; três outros sinais de hidrogênios aromáticos em 7,37 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 7,32 (dd,  $J = 8,0$  e  $1,2$  Hz, 1H) e 6,81  $\delta$  (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), sugerindo a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído; e um singlete em 3,79  $\delta$  correspondente a um grupamento metoxílico, que pode ser de um éster.

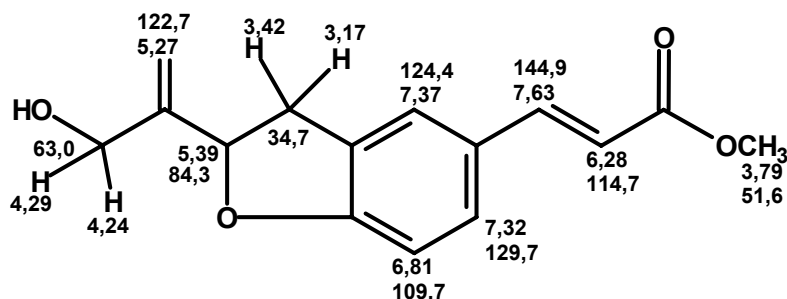
O espectro de COSY (FIGURA 3.2.12.3) confirmou a presença dos hidrogênios olefínicos em relação *trans*, através do acoplamento dos dois hidrogênios em 7,63 e 6,28  $\delta$ . Já, o anel 1,3,4-trissubstituído foi definido através do acoplamento entre os hidrogênios em 7,32 e 6,81 $\delta$  em *orto* ( $J = 8,0$  Hz), e entre o primeiro e o hidrogênio em 7,37  $\delta$ , com uma constante típica de relação *meta* ( $J = 1,2$  Hz).

O espectro de RMN<sup>1</sup>H revelou ainda dois duplos dubletos em 3,42 ( $J = 15,6$  e  $9,6$  Hz), 3,17  $\delta$  ( $J = 15,6$  e  $8,4$  Hz) e um tripleto em 5,39  $\delta$  ( $J = 8,8$  Hz), representando 1H cada um. Os dois primeiros sinais foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos benzílicos e o último a um hidrogênio oximetínico alílico de sistema 2,3-diidrobenzofurânico  $\alpha$ -substituído, cuja correlação foi confirmada pelo experimento de COSY (ESQUEMA 3.2.12.1). Um singlete em 5,27  $\delta$  correspondente a dois hidrogênios olefínicos e dois dubletos em 4,29 ( $J = 13,2$  Hz) e 4,24  $\delta$  ( $J = 13,2$  Hz) representando dois hidrogênios carbinólicos primários, que caracterizaram o substituinte hidroxipropenil ligado ao anel diidrobenzofurano.



ESQUEMA 3.2.12.1 – Correlações via COSY para o anel dihidrofurano

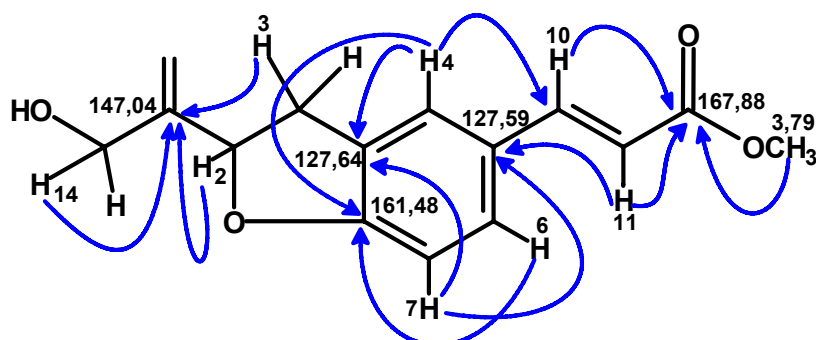
Através da comparação com dados da literatura (MELO *et al.* 2001) e da análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.12.1) e do mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.12.4) foram atribuídos os deslocamentos químicos de todos os carbonos hidrogenados e definidos cinco carbonos quaternários na molécula em 167,9, 161,4, 147,0, 127,6 e 127,5  $\delta$ .



O mapa de contorno de HMBC (FIGURA 3.2.12.5 ESQUEMA 3.2.12.2) além de confirmar os deslocamentos químicos já atribuídos, permitiu que se definissem os carbonos quaternários.

As correlações dos hidrogênios H-2 (5,39  $\delta$ ), H-3 (3,42/3,17  $\delta$ ) e H-14 (4,29/4,24  $\delta$ ) com o carbono olefínico em 147,0  $\delta$  definiu o C-13. O carbono carbonílico C-12 foi definido através das correlações de H-10 (7,63  $\delta$ ), H-11 (6,28  $\delta$ ) e da metoxila (3,79  $\delta$ ) com o sinal em 167,8  $\delta$ . O H-11 também determinou o C-5, uma vez que ele e o H-7 (6,81 $\delta$ ) correlacionaram com um sinal em 127,5  $\delta$ . Porém, o sinal em 127,6 foi

atribuído a C-9 através da correlação com H-4 (7,37  $\delta$ ) e H-7 (6,81  $\delta$ ). Já o C-13 (161,4  $\delta$ ) foi determinado através da correlação com H-4 e H-6.



ESQUEMA 3.2.12.2 – Correlações via HMBC para o composto **12**

Assim substância **12** foi identificada como bowdenol, que não havia sido isolado anteriormente do gênero *Acosmium*. Esta dedução envolveu, além da análise dos dados espectroscópicos, comparação com os dados da literatura (MELO *et al.* 2001) e cujos dados de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C são descritos na TABELA 3.2.12.1

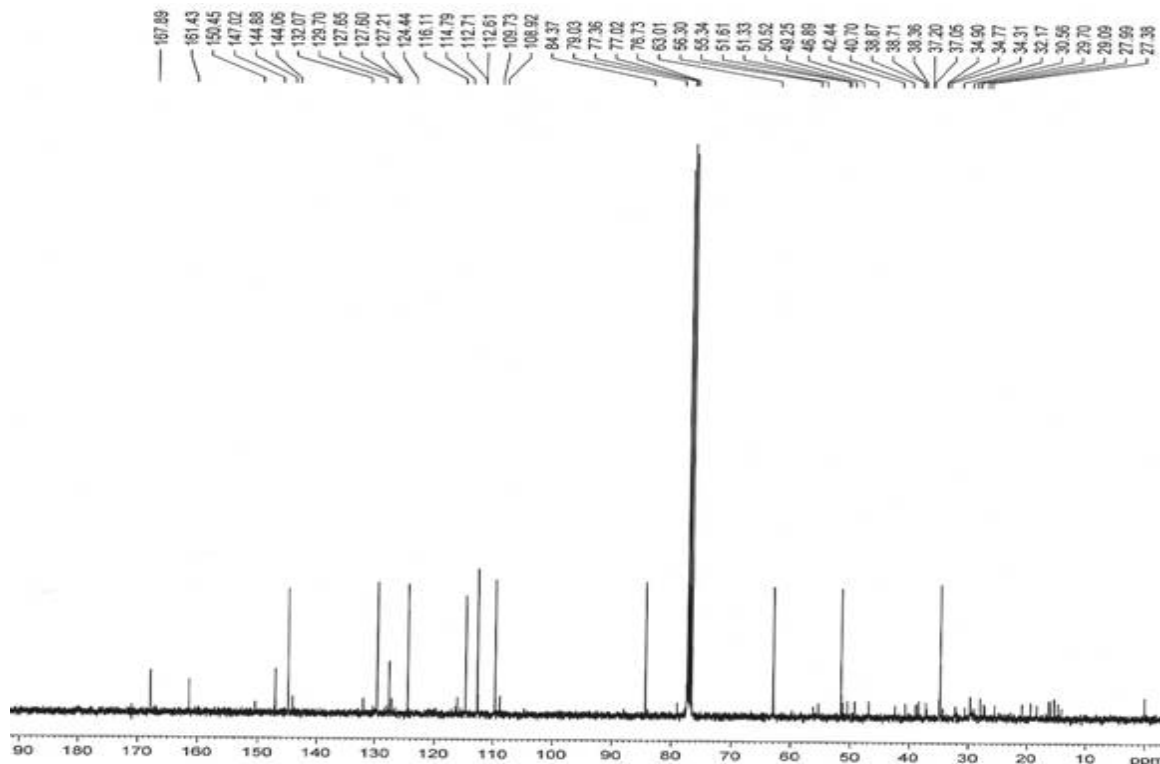


FIGURA 3.2.12.1 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) do bowdenol

TABELA 3.2.12.1 - Dados espectroscópicos de bowdenol comparados com a literatura.

H/C	<b>12</b> ( $\delta_H$ 400 MHz/ $\delta_C$ 100MHz, $CDCl_3$ )		MELO <i>et al.</i> 2001*	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
2	5,39 (t, J = 8,8 Hz 1H)	84,3	5,35 (dd, J =15,6 e 9,6 Hz 1H)	84,50
3	Ha 3,42 (dd, J =15,6 e 9,6 Hz 1H)	34,7	3,37 (dd, J =15,7 e 9,5 Hz 1H)	34,95
	Hb 3,17 (dd, J =15,6 e 8,4 Hz 1H)		3,13 (dd, J =15,7 e 8,3 Hz 1H)	
4	7,37 (d, J = 1,2 Hz 1H)	124,4	7,33 (sl, 1H)	124,61
5		127,6		127,85
6	7,32 (dd, J = 8,0 e 1,2 Hz 1H)	129,7	7,28 (d, J = 8,3 Hz 1H)	129,83
7	6,81 (d, J = 8,0 Hz 1H)	109,7	6,76 (d, J = 8,3 Hz 1H)	109,88
8		161,4		161,64
9		127,5		127,78
10	7,63 (d, J = 16,0 Hz 1H)	144,9	7,63 (d, J = 15,9 Hz 1H)	145,06
11	6,28 (d, J = 16,0 Hz 1H)	114,7	6,24 (d, J = 15,9 Hz 1H)	114,98
12		167,8		168,04
13		147,0		147,32
14	Ha 4,29 (d, J = 13,2 Hz 1H)	63,0	Ha 4,23 (d, J = 13,7 Hz 1H)	62,11
	Hb 4,24 (d, J = 13,2 Hz 1H)		Hb 4,22 (d, J = 13,7 Hz 1H)	
15	5,27 (2H)	112,7	5,23/527	112,68
MeO	3,79 (s, 3H)	51,6	3,75 (s, 3H)	51,72

\*  $\delta_H$  ( 500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_C$  ( 125 MHz,  $CDCl_3$ )

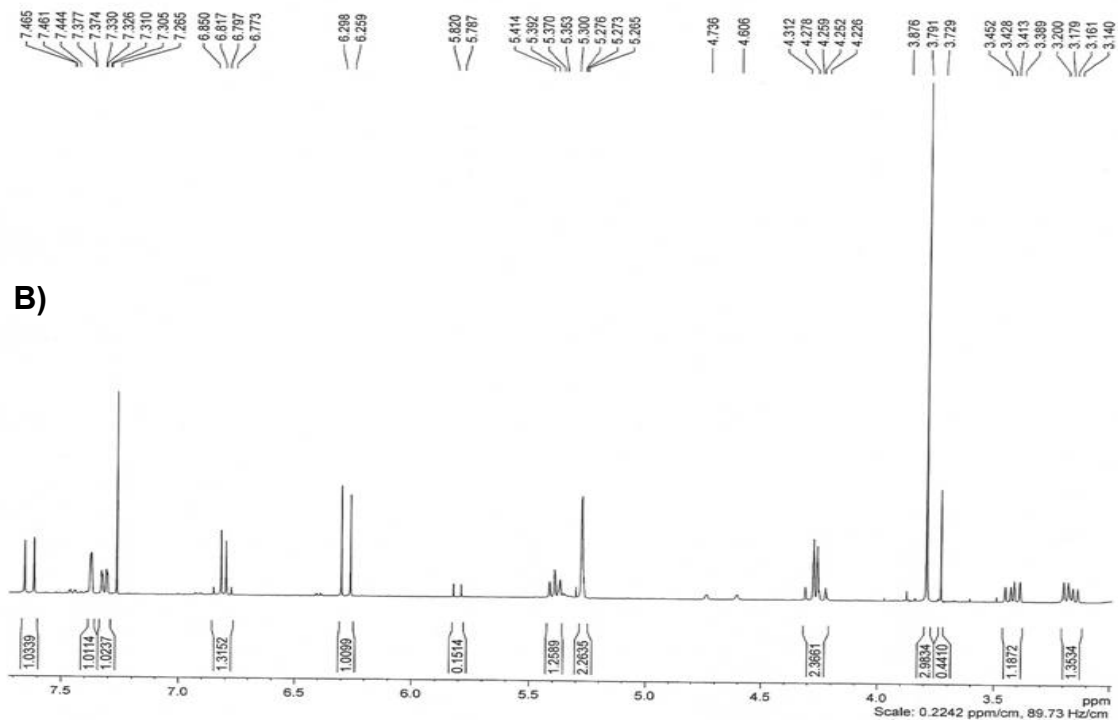
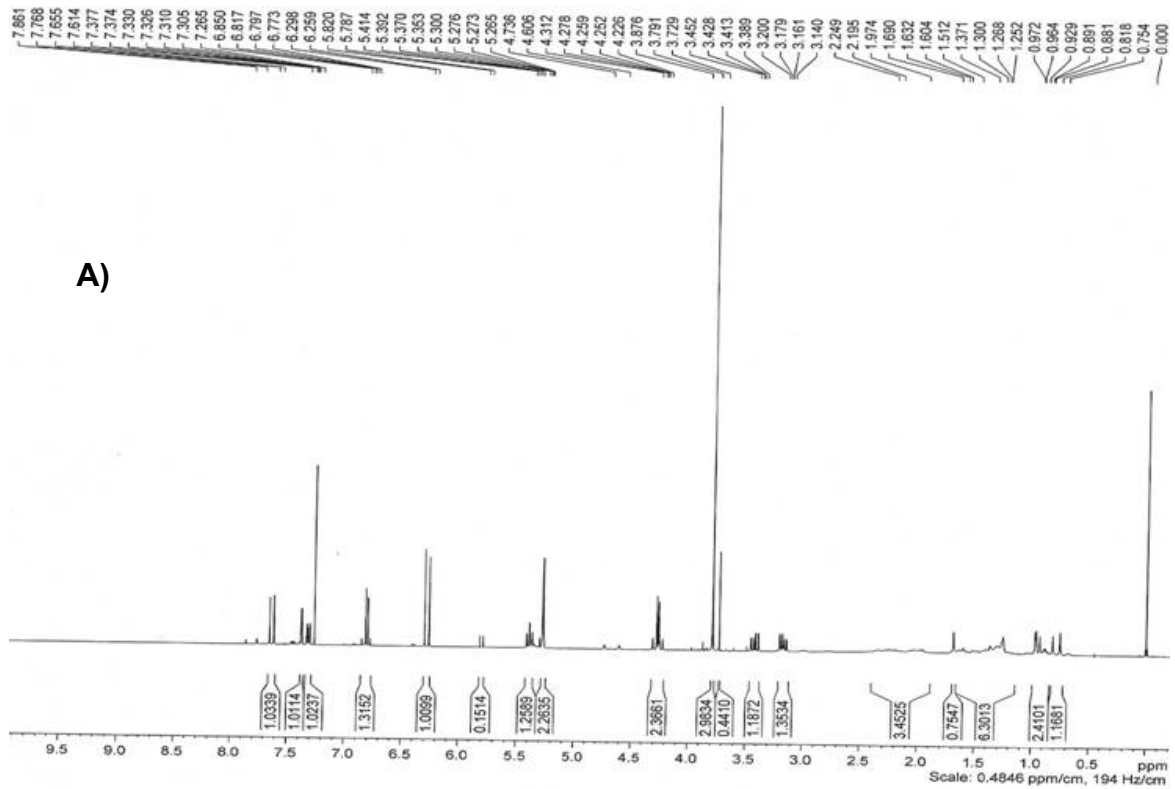


FIGURA 3.2.12.2 - **A)** Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) do bowdenol.

**B)** Expansão do Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) do bowdenol.





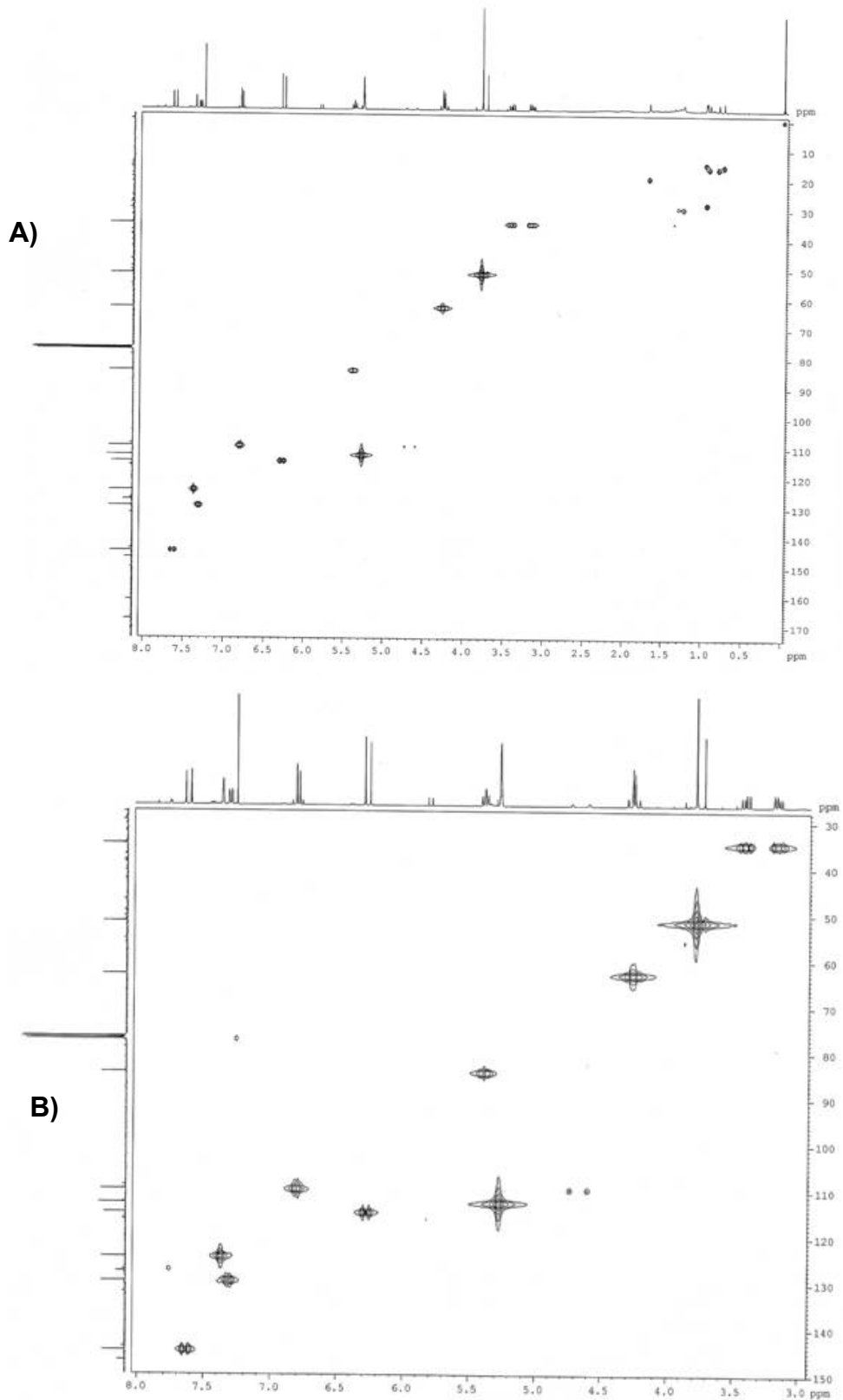


FIGURA 3.2.12. 4 – **A)** Mapa de contorno de HSQC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) do bowdenol  
**B)** Expansão do mapa de contorno de HSQC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) do bowdenol

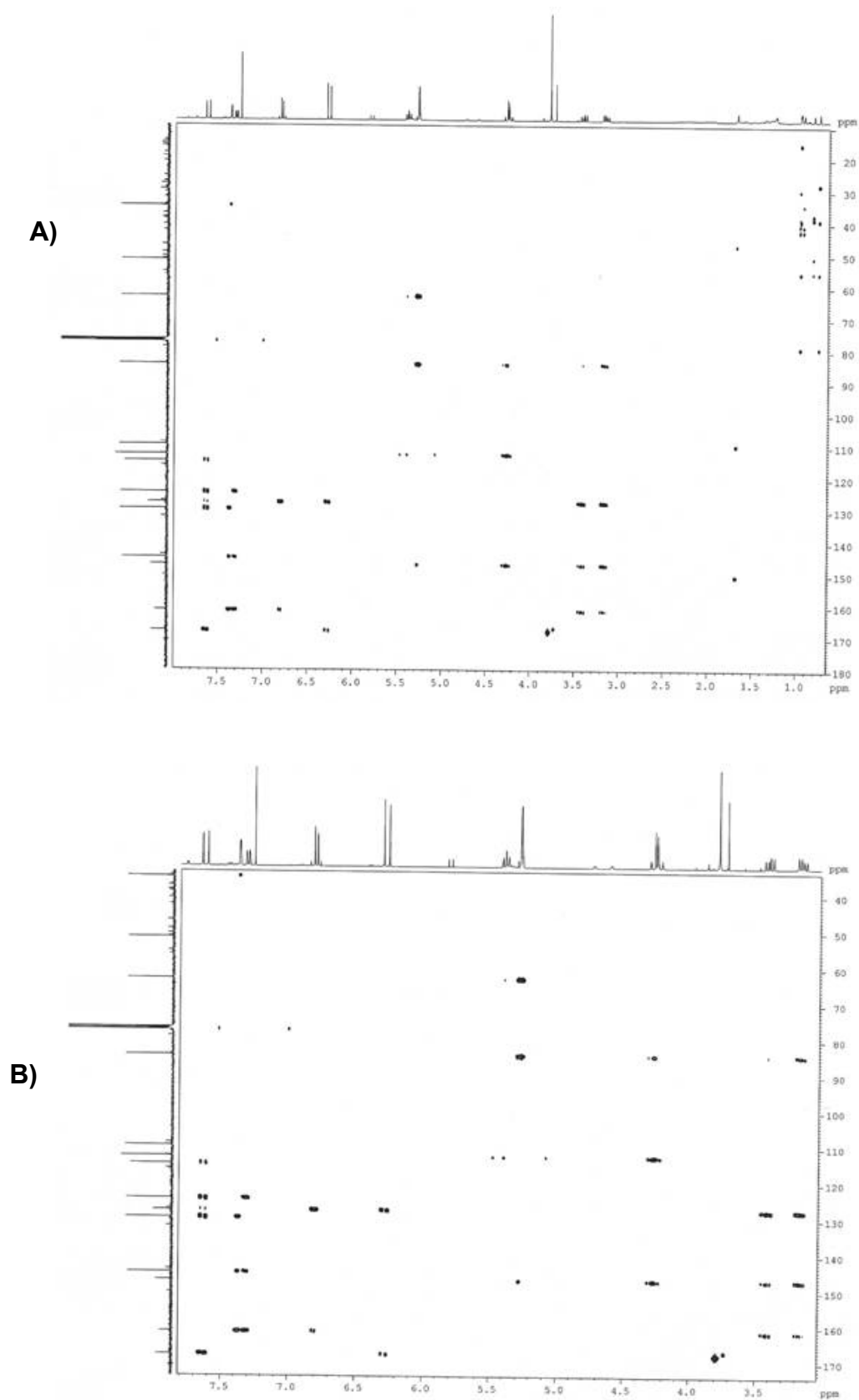
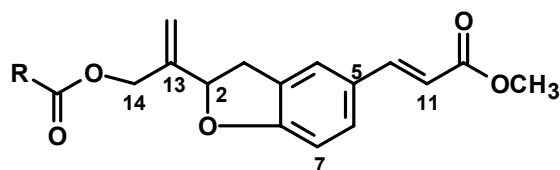


FIGURA 3.2.12. 5 – **A)** Mapa de contorno de HMBC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) do bowdenol  
**B)** Expansão do Mapa de contorno de HMBC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) do bowdenol

3.2.12 – Elucidação estrutural dos ésteres graxos de bowdenila (**13-20**)

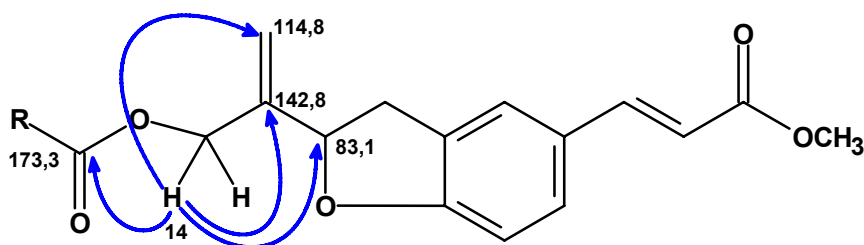
(13)

A mistura de ésteres graxos de bowdenila foi identificada por RMN em uma e duas dimensões, reação de hidrólise e análise por CG/EM.

Todos os sinais observados nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C do bowdenol foram reproduzidos nos espectros de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.13.1) e <sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.13.2) da substância **13** (TABELA 3.2.13.2), cujas atribuições foram confirmadas pelos experimentos de COSY (FIGURA 3.2.13.3), HSQC (FIGURA 3.2.13.4) e HMBC (FIGURA 3.2.13.5), exceto H-14 que sofreu um deslocamento paramagnético, e teve o sinal observado como um duplete AB em 4,72  $\delta$  ( $J = 14,0$  Hz, 1H), e 4,65  $\delta$  ( $J = 13,6$  Hz, 1H) característico de hidrogênios metílicos de ésteres, sugerindo a esterificação da posição 14. Enquanto que no bowdenol, o sinal correspondente ao H-14 é em 4,29 (d,  $J = 13,2$  Hz, 1H) e 4,24  $\delta$  (d,  $J = 13,2$  Hz, 1H), típico de hidrogênios carbinólicos de álcoois primários e alílicos.

O mapa de contorno de HSQC mostrou que os sinais em 4,72 e 4,65  $\delta$  correlacionam com um sinal em 63,4  $\delta$  que foi atribuído ao C-14.

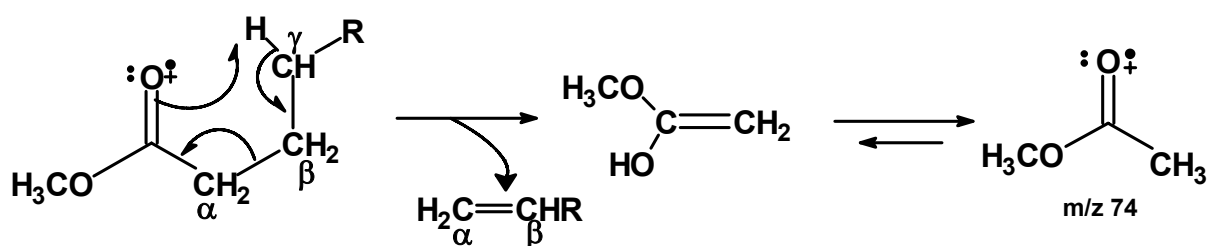
No mapa de contorno que HMBC (ESQUEMA 3.2.13.1) observa-se a correlação de H-14 com os sinais em 83,1 (C-2), 114,8 (C-15), 142,8 (C-13) e 173,3  $\delta$ , sendo este último sinal atribuído a um carbono de éster, confirmando assim, a esterificação na posição 14.

ESQUEMA 3.2.13.1 – Correlações via HMBC para a mistura **13**

O espectro de RMN<sup>1</sup>H da mistura **13** apresentou ainda, sinais de hidrogênios olefínicos em 5,34  $\delta$  e vários sinais na região mais blindada do espectro, destacando-se dois multipletos em 2,76  $\delta$  e um tripleto em 2,27  $\delta$ , este atribuído a hidrogênios ligados a carbono  $\alpha$  a uma função carbonílica, um sinal em 1,29  $\delta$ , um sinal intenso em 1,25  $\delta$  e um de menor intensidade em 0,88  $\delta$ . Os dois últimos são referentes a hidrogênios metilênicos e metílicos, respectivamente, sugerindo assim a presença de ésteres de ácidos graxos.

Os dados até aqui discutidos permitiram propor que **13** é um éster de ácido graxo tendo como parte alcoólica o bowdenol.

Faltava ainda identificar parte ácida (ácidos graxos) do éster, presente na molécula. Para isso foi necessário fazer a hidrólise de **13** para obter a porção ácida que em seguida poderia ser metilada para transformar os ácidos graxos livres em seus ésteres metílicos. O material reacional foi analisado por CG-EM, mostrando a presença de vários picos, como pode ser observado no cromatograma (FIGURA 3.2.13.7). Análises dos respectivos espectros de massas permitiram detectar a presença, principalmente, de ésteres metílicos de ácidos graxos caracterizados pela presença do pico base correspondente ao fragmento  $m/z$  74 originado pelo rearranjo do tipo McLafferty, no qual ocorre a clivagem da ligação C $\alpha$ -C $\beta$  e a transferência de átomo de hidrogênio do carbono  $\gamma$  para o fragmento ionizado (ESQUEMA 3.2.13.2)



ESQUEMA 3.2.13.2 – Rearranjo do tipo McLafferty para ésteres metílicos de ácidos graxos

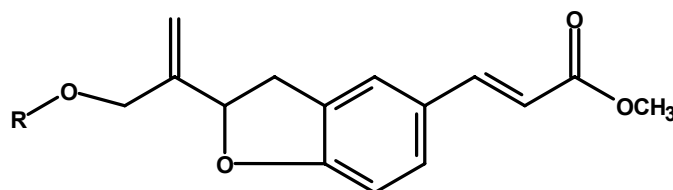
A comparação dos espectros de massa (FIGURA 3.2.13.6, 3.2.13.8 a 14) dos componentes presentes na mistura com espectros do banco de dados do sistema CG-EM e comparação com os dados da literatura (PEREIRA 2008) permitiu identificar os ácidos graxos descritos na TABELA 3.2.13.1

TABELA 3.2.13.1 – Ácidos graxos identificados oriundos da mistura **13-20\***

Componentes*	Nome comum	T.R (min)	M.M	Teor (%)
Ácido tetradecanóico (53)	Mirístico	16,56	242	2.28
Ácido pentadecanóico (54)		18.00	256	2.21
Ácido (Z) 9- hexadecenóico (55)	Palmitoleico	19,05	268	2.65
Ácido hexadecanóico (56)	Palmitico	19,36	270	38.60
Ácido heptadecanóico (57)	Margárico	20,66	284	3.80
Ácido (Z,Z) 9,12 octadienóico (58)	Linoleico	21,53	294	13.56
Ácido (Z) 9-octadecenóico (60)	Oleico	21,60	296	25.47
Ácido octadecanóico (61)	Esteárico	21,91	298	11.39

\* Foram detectados no CG-EM como éster metílico de ácido graxo.

Com a determinação da parte ácida dos ésteres foi possível identificar oito componentes da mistura como sendo:



- |                               |   |
|-------------------------------|---|
| R = Tetradecanoil             | Miristato de bowdenila ( <b>13</b> )      |
| R = Pentadecanoil             | Pentadecanoato de bowdenila ( <b>14</b> ) |
| R = (Z)9-Hexadecenoil         | Palmitoleato de bowdenila ( <b>15</b> )   |
| R = Hexadecanoil              | Palmitato de bowdenila ( <b>16</b> )      |
| R = Heptadecanoil             | Margarato de bowdenila ( <b>17</b> )      |
| R = (Z,Z)9,12-Octadecadienoil | Linoleato de bowdenila ( <b>18</b> )      |
| R = (Z)9-Octadecenoil         | Oleato de bowdenila ( <b>19</b> )         |
| R = Octadecanoil              | Estearato de bowdenila ( <b>20</b> )      |

Os componentes dessa mistura ainda não foram descritos na literatura. Os dados espectroscópicos referentes à parte alcoólica (bowdenol) dos ésteres, são descritos na TABELA 3.2.13.2.

TABELA 3.2.13.2 - Dados espectroscópicos de bowdenila\*\* e bowdenol (12)

H/C	13 ( $\delta_H$ 400 MHz/ $\delta_C$ 100MHz, $CDCl_3$ )		12 ( $\delta_H$ 400 MHz/ $\delta_C$ 100MHz, $CDCl_3$ )	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
2	5,34 t, J = 8,0 Hz, 1H)	84,8	5,39 (t, J = 8,0 Hz, 1H)	84,3
3	Ha 3,43 (dd, J = 15,6 e 9,6 Hz, 1H)	34,9	Ha 3,42 (dd, J = 15,6 e 9,6 Hz, 1H)	34,7
	Hb 3,17 (dd, J = 16,0 e 8,4 Hz, 1H)		Hb 3,17 (dd, J = 15,6 e 8,4 Hz, 1H)	
4	7,37 (d, J = 2,8 Hz, 1H)	124,4	7,37 (d, J = 1,2 Hz, 1H)	124,4
5		127,6		127,6
6	7,31 (dd, J = 8,0 e 2,0 Hz, 1H)	129,6	7,32 (dd, J = 8,0 e 1,6 Hz, 1H)	129,7
7	6,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H)	109,7	6,81 (d, J = 8,0 Hz, 1H)	109,7
8		161,5		161,4
9		127,4		127,5
10	7,63 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	144,8	7,63 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	144,9
11	6,28 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	114,6	6,28 (d, J = 15,6 Hz, 1H)	114,7
12		167,8		167,8
13		142,8		147,0
14*	<b>Ha 4,72 (d, J = 14,0 Hz, 1H)</b>	63,4	<b>Ha 4,29 (d, J = 13,2 Hz, 1H)</b>	63,0
	<b>Hb 4,65 (d, J = 13,6 Hz, 1H)</b>		<b>Hb 4,24 (d, J = 13,2 Hz, 1H)</b>	
15	Ha 5,34 (sl, 1H)	114,8	5,27 (2H)	112,7
	Hb 5,27 (sl, 1H)			
MeO	3,78 (s, 3H)	51,5	3,79 (s, 3H)	51,6

\* em negrito deslocamentos químicos diferenciados. \*\* porção alcoólica do éster.

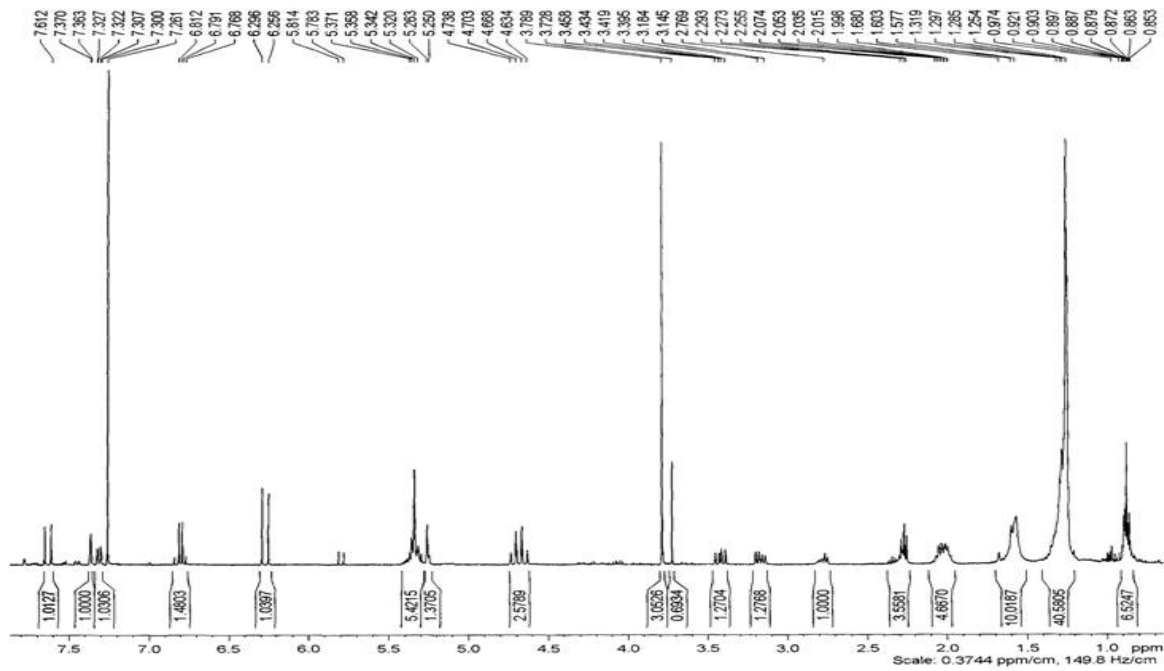


FIGURA 3.2.13.1 Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da mistura de substância 13-20.

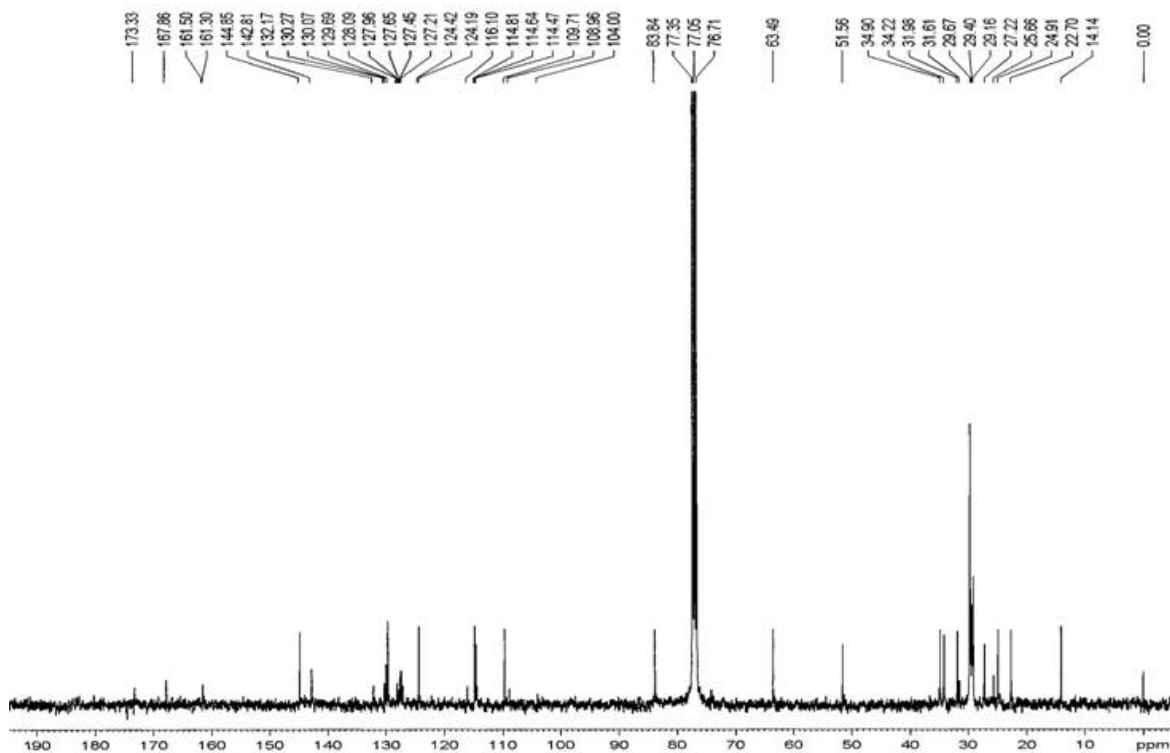


FIGURA 3.2.13.2 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) da mistura de substância 13-20.



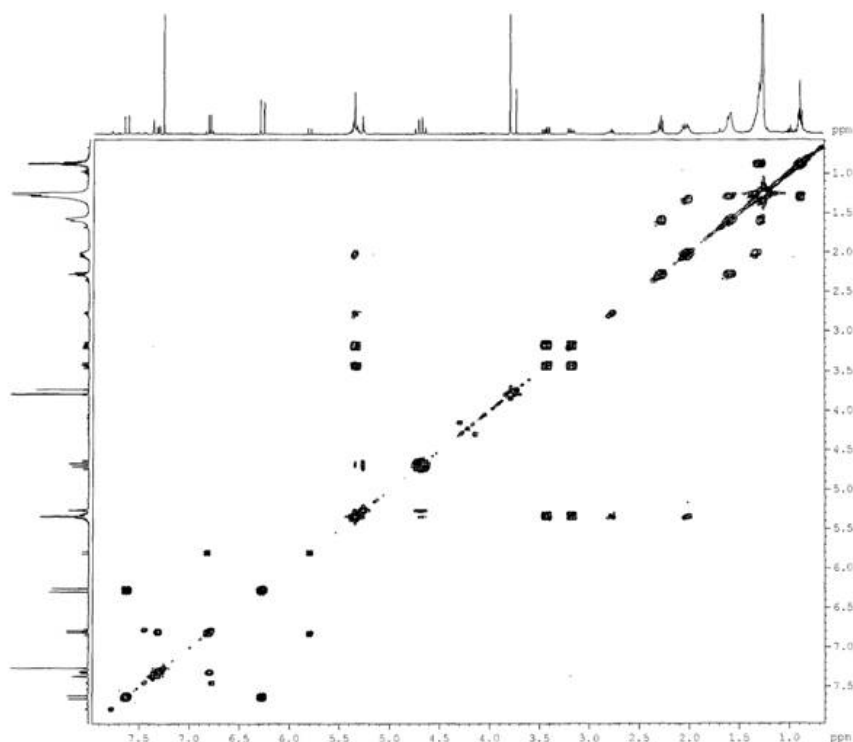


FIGURA 3.2.13.3 Espectro de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de substância **13-20**.

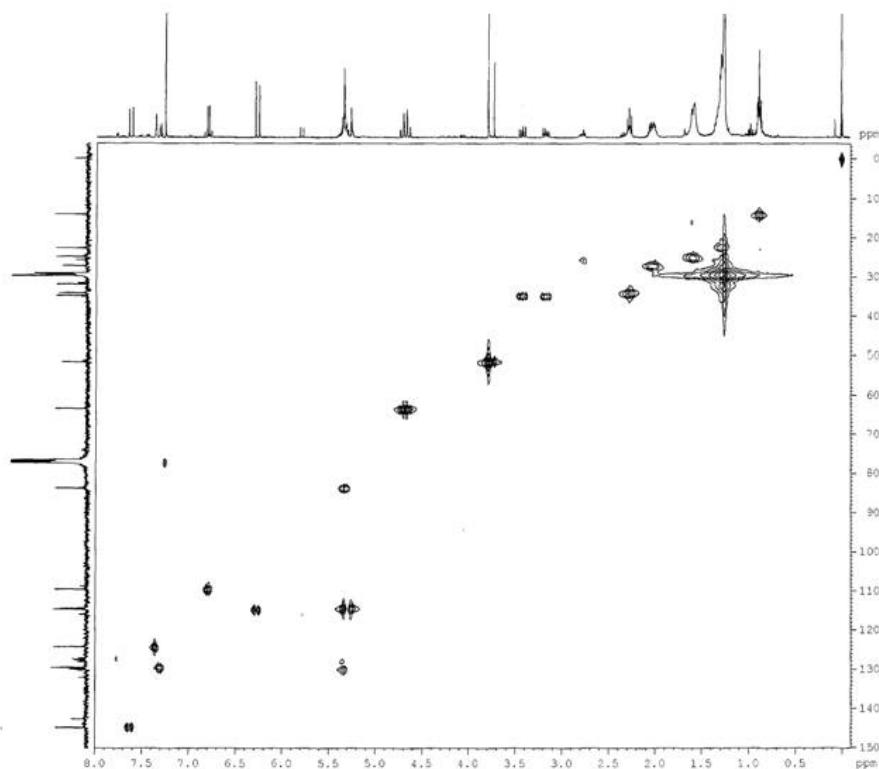


FIGURA 3.2.13.4 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de substância **13-20**.

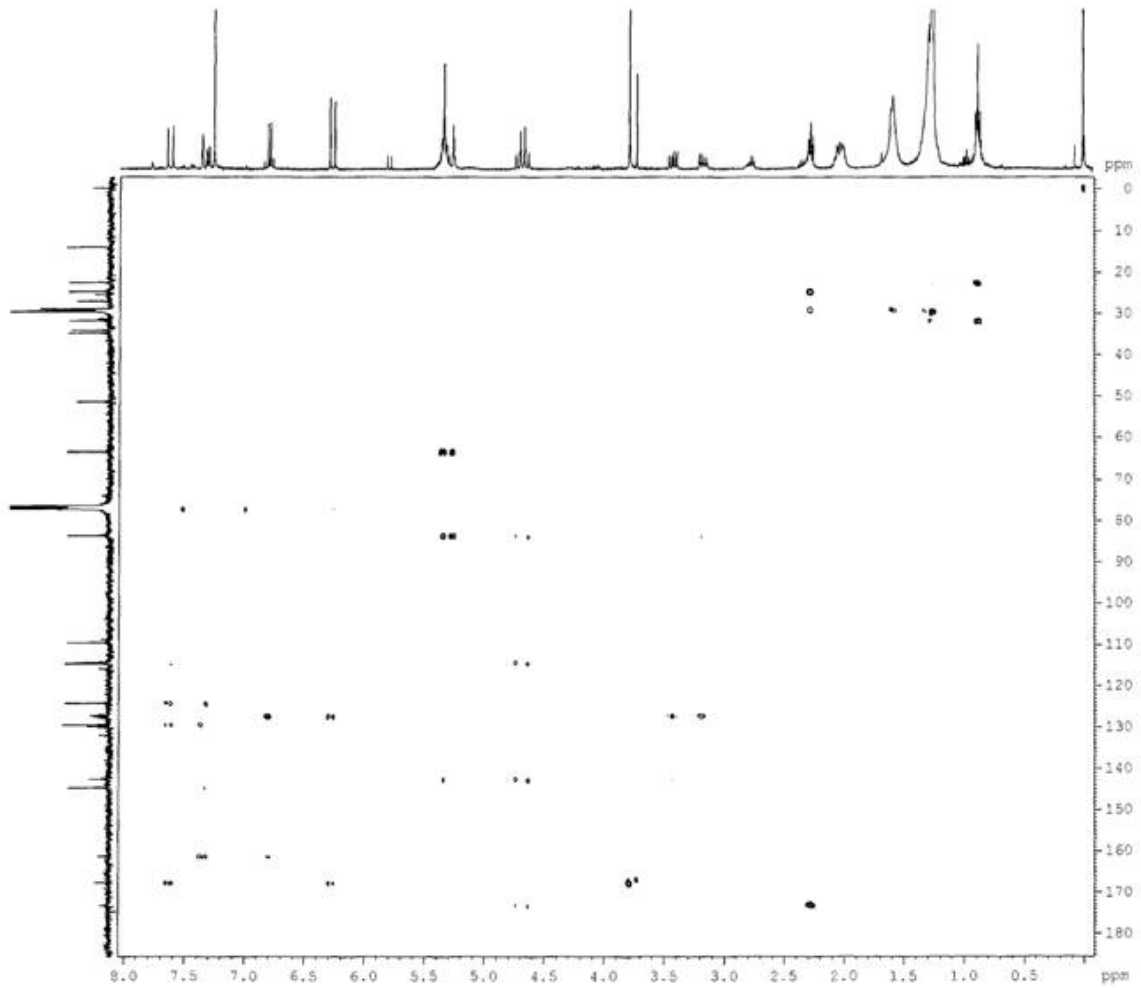


FIGURA 3.2.13.5 – Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da mistura de substância **13-20**.

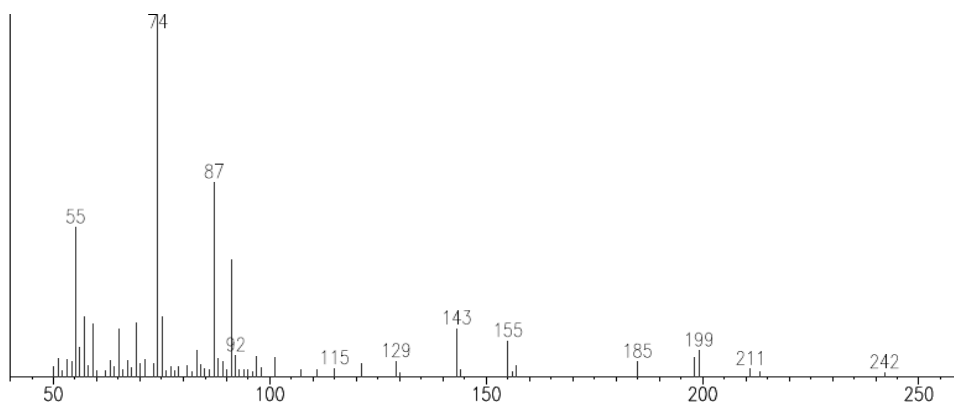


FIGURA 3.2.13.6 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do miristato de metila

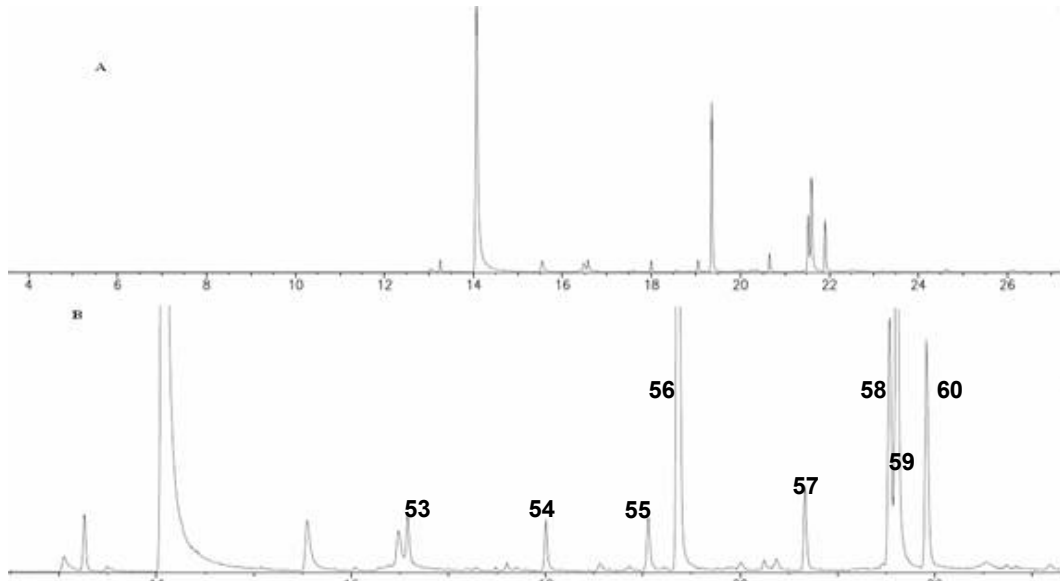


FIGURA 3.2.13.7 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos oriundos da mistura 13-20. **A)** Cromatograma sem alteração; **B)** Cromatograma expandido

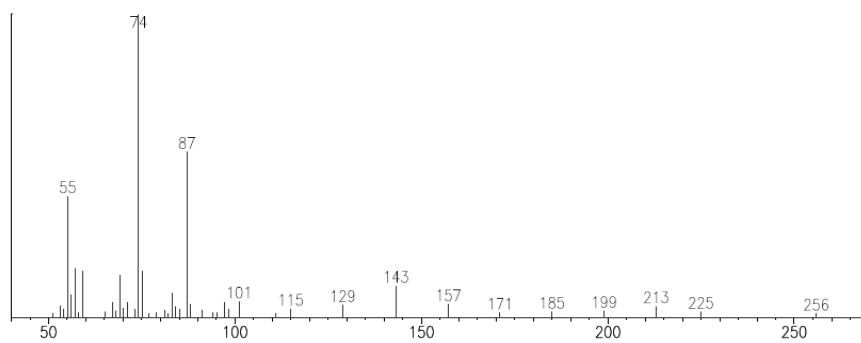


FIGURA 3.2.13.8 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do pentadecanoato de metila

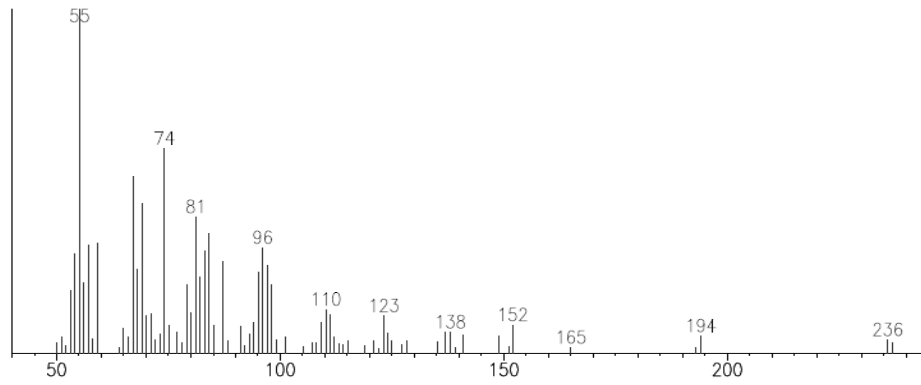


FIGURA 3.2.13.9 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do palmitoleato de metila

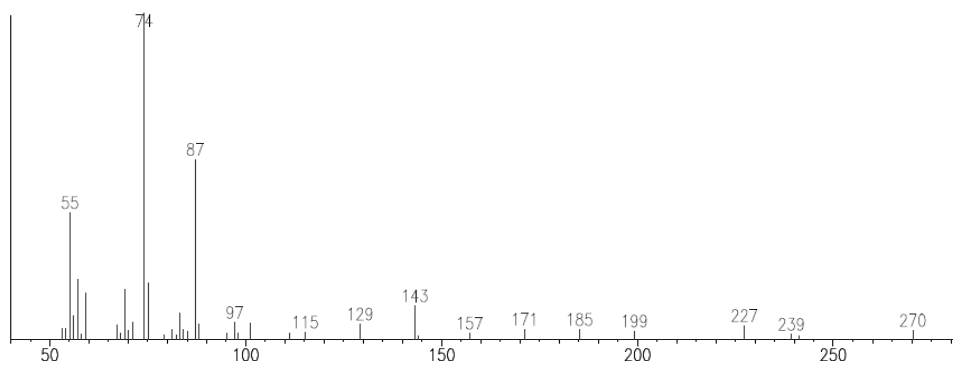


FIGURA 3.2.13.10 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do palmitato de metila

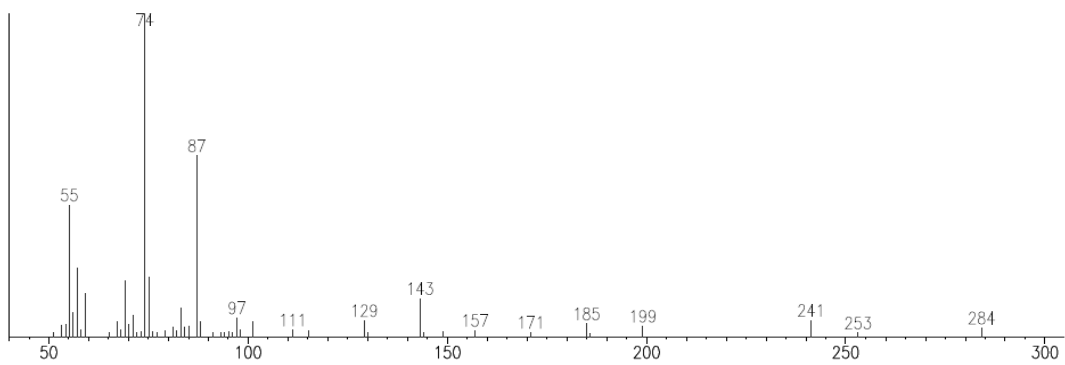


FIGURA 3.2.13.11 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do margarato de metila

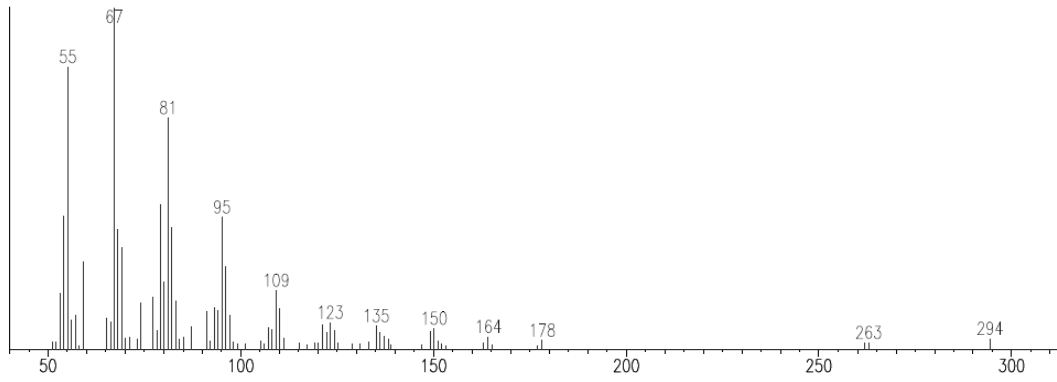


FIGURA 3.2.13.12 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do linoleato de metila

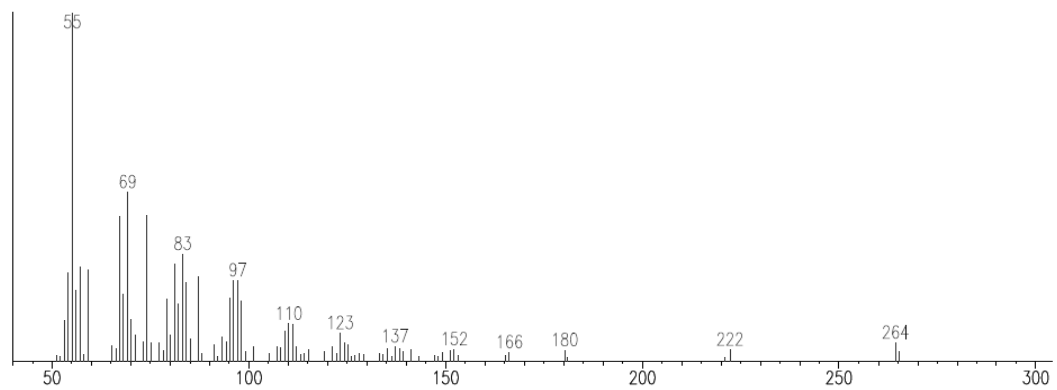


FIGURA 3.2.13.13 - Espectro de massas (IE = 70 eV) do oleato de metila

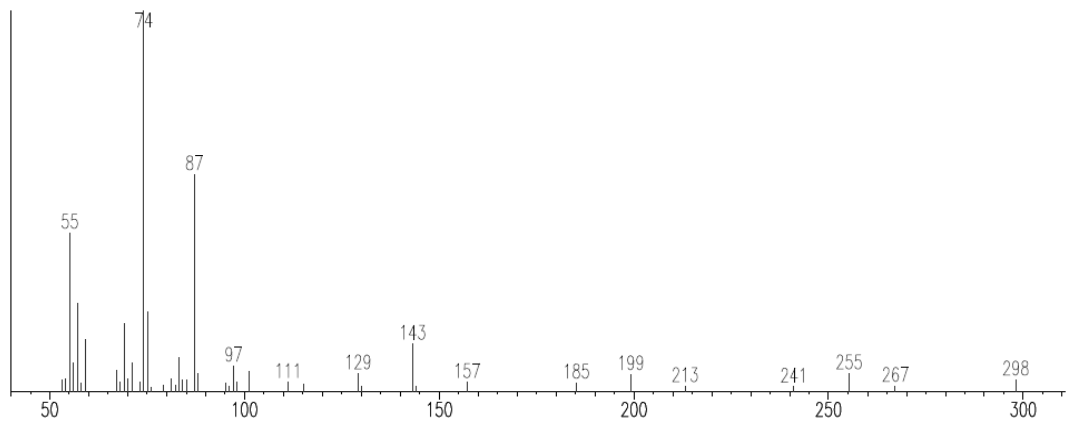
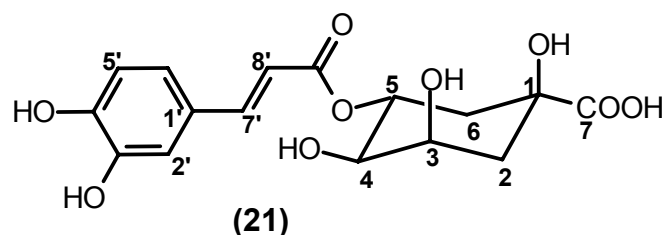


FIGURA 3.2.13.14 – Espectro de massas (IE = 70 eV) do estearato de metila

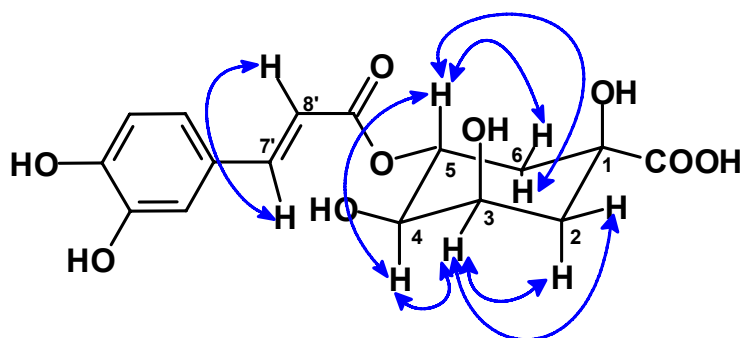
3.2.13 – Identificação estrutural ácido 5-O-cafeoilquínico (**21**)

A substância **21** foi isolada sob a forma de um sólido branco amorfo, e foi identificado através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.21.1) mostrou dois dubletos em 7,59 (J = 16 Hz, 1H) e 6,24 δ (J = 15,6 Hz, 1H) sugerindo a presença de um sistema carbonílico α,β-insaturado, no qual os hidrogênios da dupla estariam em relação *trans*; três outros sinais de hidrogênios aromáticos em 7,04 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 6,95 (dd, J = 8,4 e 2,0 Hz, 1H) e 6,77 δ (d, J = 8,4 Hz, 1H), sugerindo a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído.

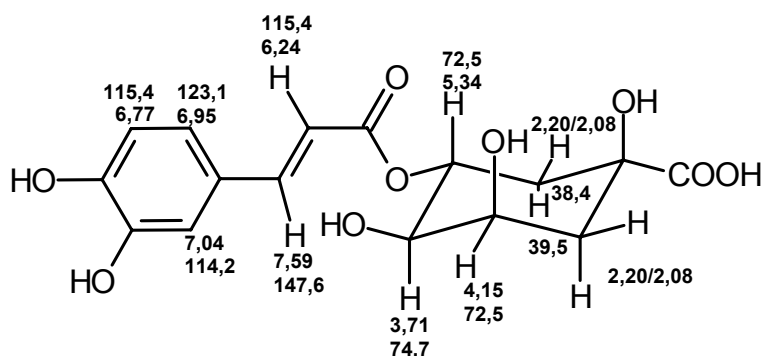
O espectro de COSY (FIGURA 3.2.21.2) confirmou a presença dos hidrogênios olefínicos em relação *trans*, através do acoplamento dos dois hidrogênios em 7,59 e 6,24 δ. Já, o anel 1,3,4-trissubstituído foi definido através do acoplamento entre os hidrogênios em 6,95 e 6,77 δ em *orto* (J = 8,4 Hz), e entre o primeiro e o hidrogênio em 7,04 δ, com uma constante pequena (J = 2,0 Hz) *meta*. Desta forma, foi definido o padrão de substituição do anel da unidade derivada do ácido caféico.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H de **21** também apresentou sinais referentes a hidrogênios carbinólicos em 3,71 δ como duplo dubleto (H-4ax) com J = 9,2 e 3,2 Hz, referente ao acoplamento com H-5ax e H-3eq, respectivamente; em 5,34 δ (H-5ax) um triplo dubleto com J = 9,2 e 4,4 Hz, onde a primeira constante é devido ao acoplamento com H-4ax e H-6ax e a segunda pelo acoplamento com H-6eq; e um singleto largo em 4,15 δ referente ao H-3eq. Mostrou também dois multipletos, um entre 2,27-2,15 δ (H-6a/H-2a) outro entre 2,08-1,93 δ (H-6b/H-2b), típicos de hidrogênios metilênicos. Todas essas correlações foram confirmadas pelo experimento de COSY (ESQUEMA 3.2.21.1), e coincidem com ácido quínico, segundo a literatura (MERFORT 1992).



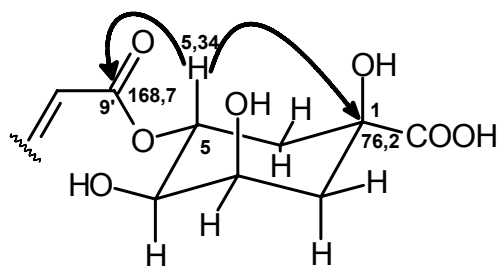
ESQUEMA 3.2.21.1 – Correlações via COSY para a substância **21**

A análise da projeção de  $^{13}\text{C}$  (HSQC e HMBC) e do mapa de contorno de HSQC (FIGURA 3.2.21.3) do composto **21**, em conjunto com os dados da literatura (VALENTE 2003), permitiu que fossem atribuídos os deslocamentos químicos de todos os carbonos hidrogenados e fossem definidos seis carbonos quaternários na molécula em 178,2, 168,7, 149,4, 146,8, 127,8 e 76,2  $\delta$

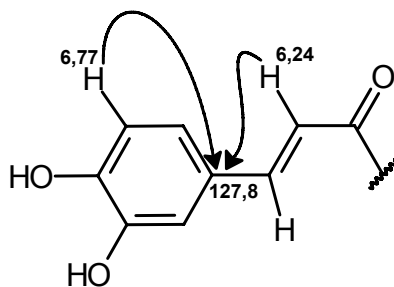


As atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos quaternários foram feitos através da análise do mapa de contorno de HMBC (FIGURA 3.2.21.4)

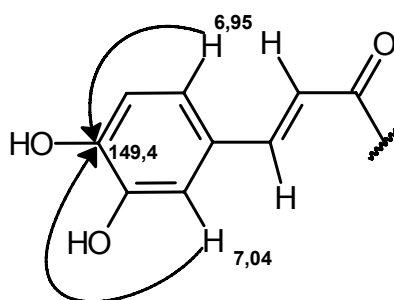
A correlação do H-5ax (5,34  $\delta$ ) com os carbonos em, 168,7 e 76,2  $\delta$ , permitiu que se definisse os deslocamentos químicos de C-9' e C-1, e confirmar a posição do ácido caféico esterificando o ácido quínico, em C-5.



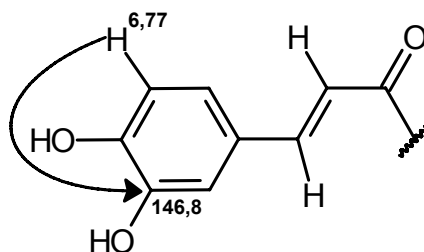
O deslocamento químico de C-1' (127,8  $\delta$ ) foi determinado através da correlação com H-8' (6,24  $\delta$ ) e H-5' (6,77  $\delta$ )



A correlação entre H-2' (7,04  $\delta$ ) e H-6' (6,95  $\delta$ ) com o carbono, em 149,4  $\delta$ , permitiu se definir C-4'.



Através da correlação de H-5' (6,77  $\delta$ ) com um carbono em, 146,8  $\delta$  foi possível definir C- 3'



Assim, a estrutura para esta substância foi estabelecida como sendo ácido 5-O-cafeoilquínico (**21**). Esta dedução envolveu, além da análise dos dados espectroscópicos (TABELAS 3.2.21.1 e 3.2.21.2), comparação com os dados obtidos na literatura (VALENTE 2003).



TABELA 3.2.21.1 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do ácido 5-O-cafeoilquínico (**21**) e comparação com a literatura

H	<b>21</b> (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD)	(VALENTE, 2003) (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD)
2	Ha 2,21 (m, 1H) Hb 2,00 (m, 1H)	Ha 2,18 (dd, $J = 14,9$ e $3,2$ Hz, 1H) Hb 2,04 (ddd, $J = 14,9$ , $5,4$ e $1,9$ Hz, 1H)
3	4,15 (sl, 1H)	4,18 (dtd, $J = 5,4$ e $3,2$ Hz, 1H)
4	3,71 (dd, $J = 9,2$ e $3,2$ Hz, 1H)	3,73 (dd, $J = 9,1$ e $3,2$ Hz, 1H)
5	5,34 (td, $J = 9,2$ e $4,4$ Hz, 1H)	5,33 (td, $J = 9,1$ e $4,0$ Hz)
6	Ha 2,21 (m, 1H) Hb 2,00 (m, 1H)	Ha 2,23 (ddd, $J = 14,9$ , $4,0$ e $1,9$ Hz, 1H) Hb 2,08 (dd, $J = 14,9$ e $9,1$ Hz, 1H)
2'	7,04 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,05 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H)
5'	6,77 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H)	6,78 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H)
6'	6,95 (dd, $J = 8,4$ e $2,0$ Hz, 1H)	6,95 (dd, $J = 8,2$ e $1,9$ Hz, 1H)
7'	7,59 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,56 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H)
8'	6,24 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,27 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H)

TABELA 3.2.21.2 - Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ácido 5-O-cafeoilquínico (**21**) e comparação com a literatura

C	<b>21*</b>	VALENTE, 2003 (100 MHz, CD <sub>3</sub> OD)
1	76,2	76,2
2	38,4	38,3
3	72,5	71,3
4	74,7	73,5
5	72,5	72,0
6	39,5	38,8
7	178,2	177,1
1'	127,8	127,8
2'	114,2	115,3
3'	146,8	146,8
4'	149,4	149,6
5'	115,4	116,5
6'	123,1	123,1
7'	147,6	147,1
8'	115,4	115,3
9'	168,7	168,7

\* Projeção de Carbono HSQC e HMBC

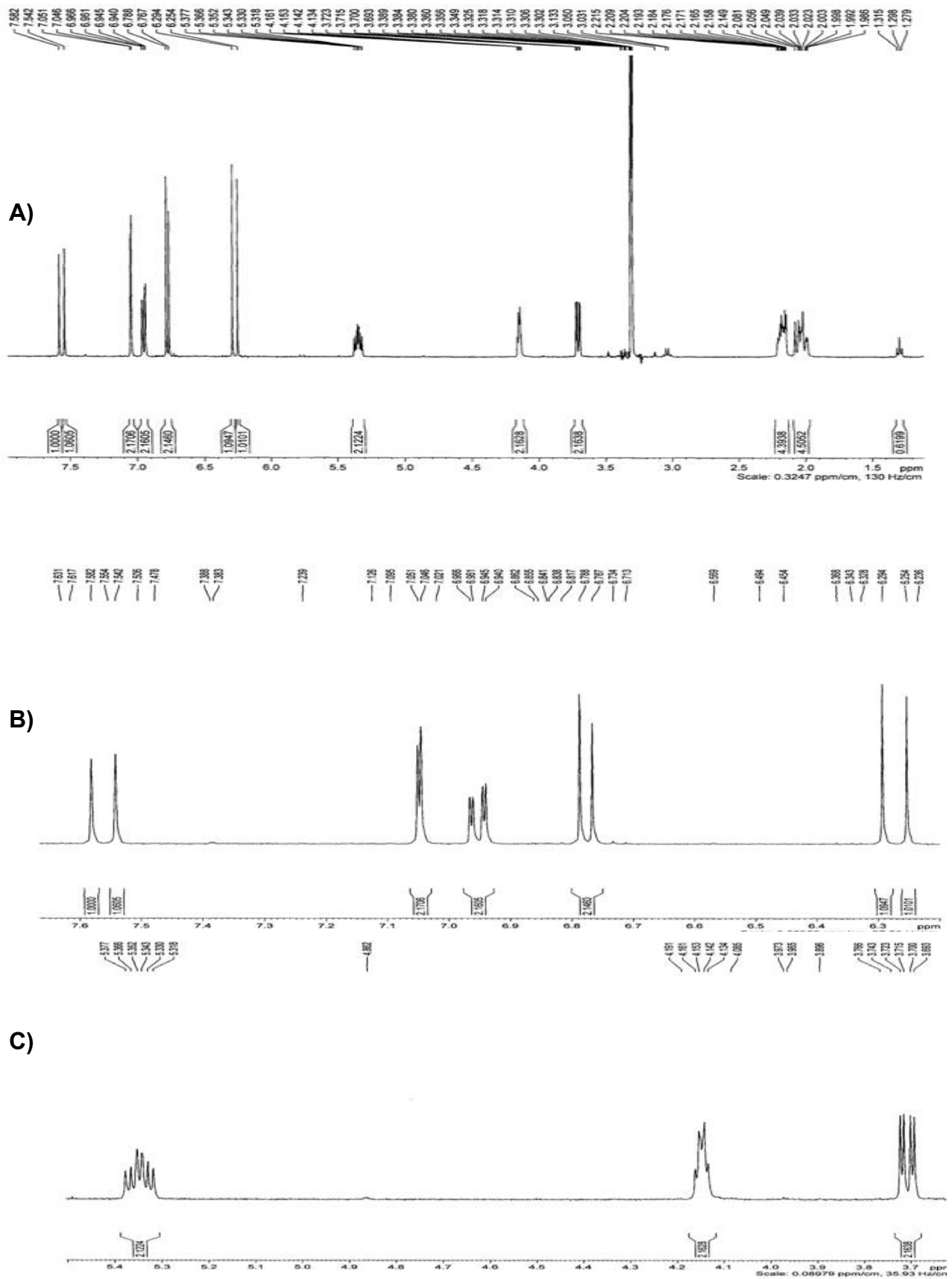


FIGURA 3.2.21.1 – A) Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquínico.

B) Expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquínico.

C) Expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquínico

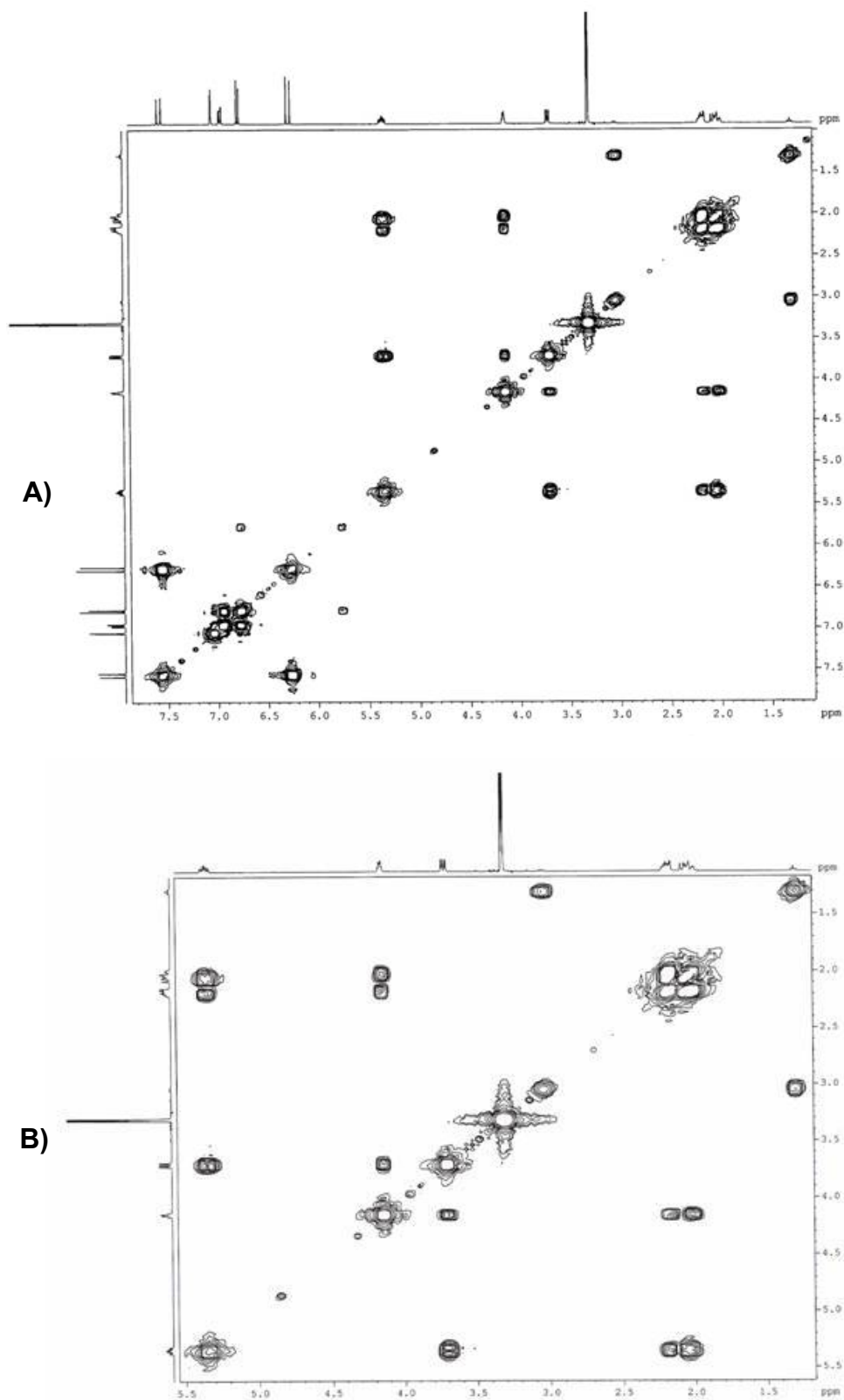


FIGURA 3.2.21.2 – **A)** Espectro de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do ácido 5-O-caffeoilquínico. **B)** Expansão do espectro de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (400 MHz  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do ácido 5-O-caffeoilquínico.

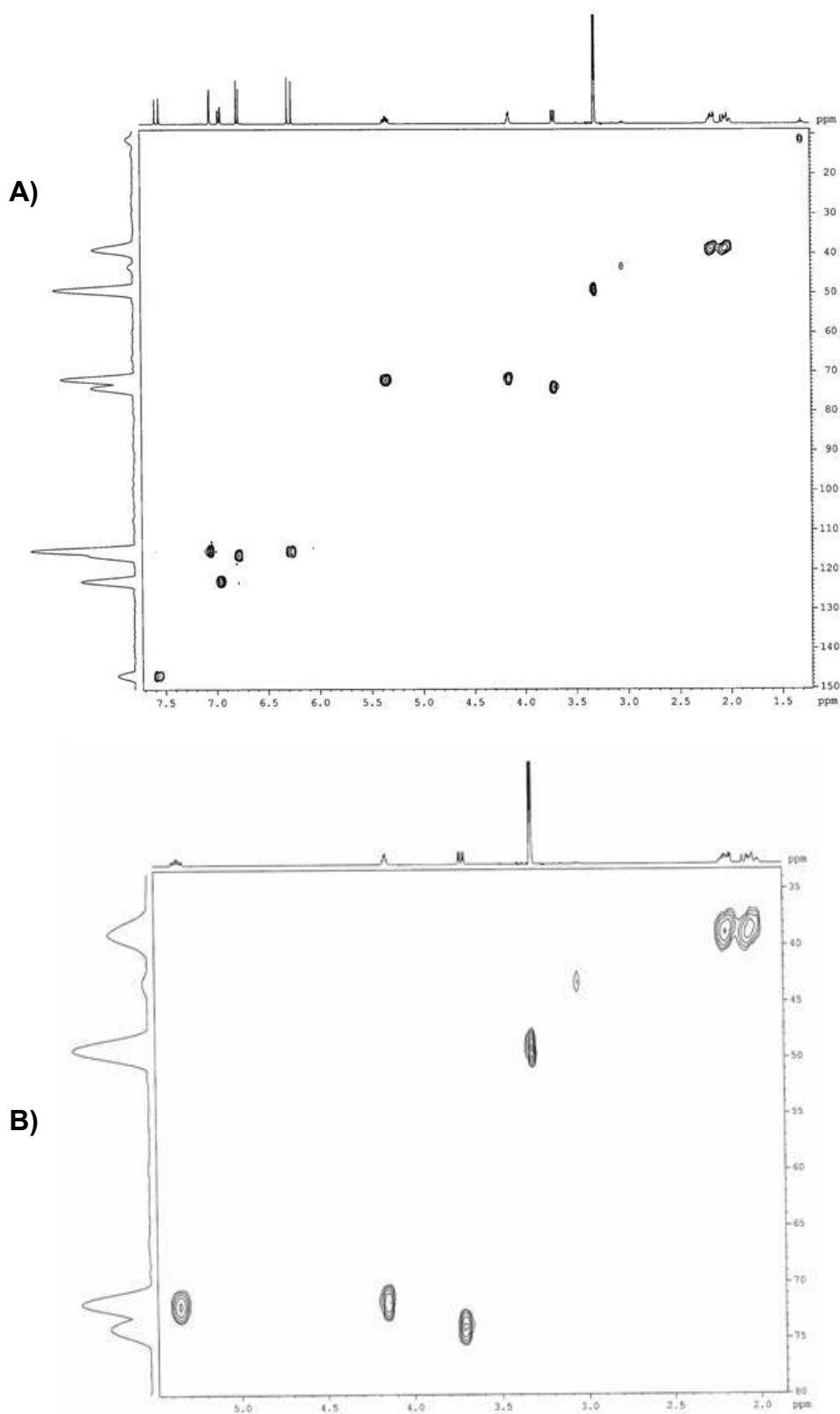


FIGURA 3.2.21.3 – **A** ) Mapa de contorno de HSQC (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquinico. **B** ) Expansão do mapa de contorno de HSQC (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquinico.

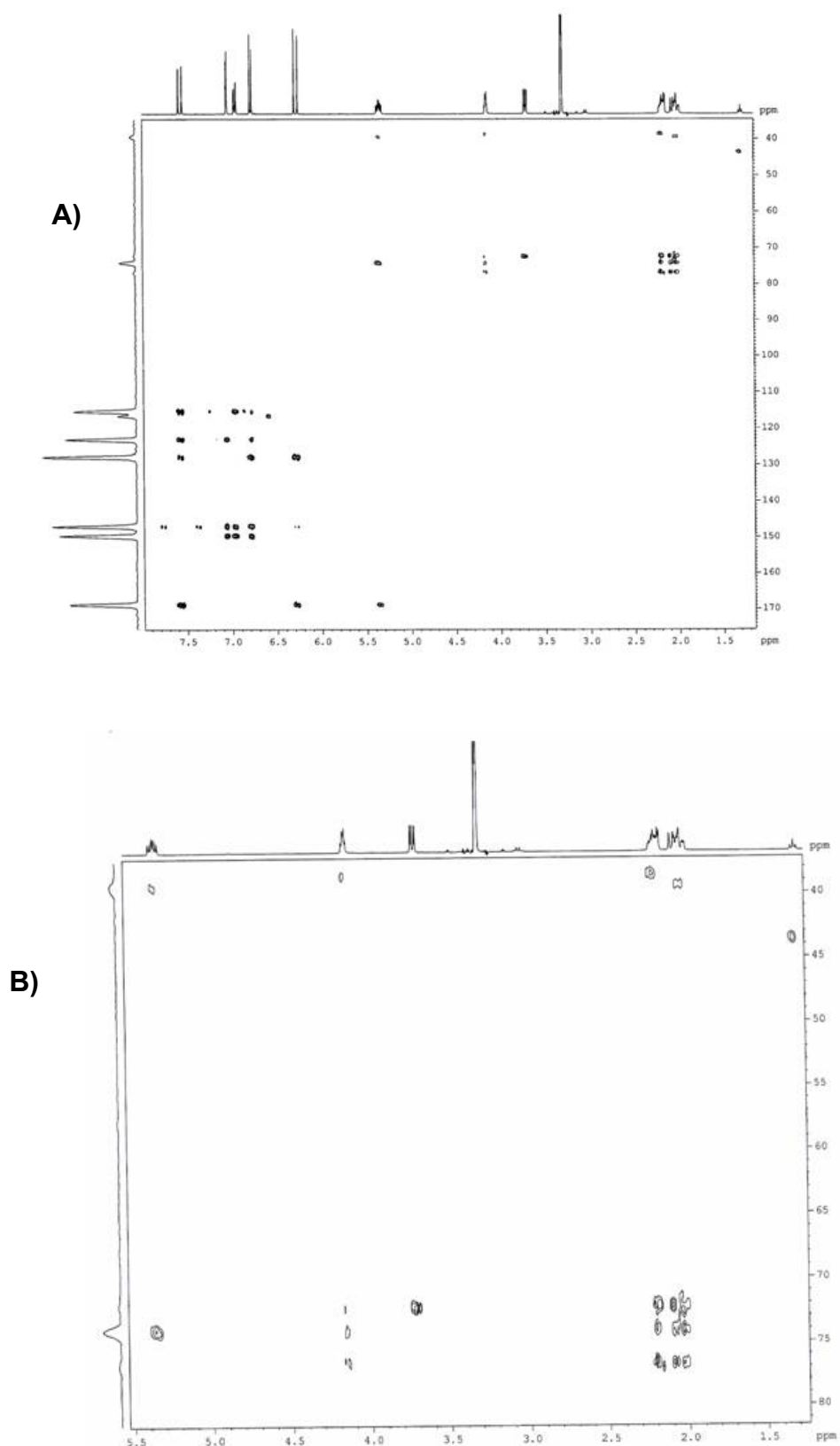
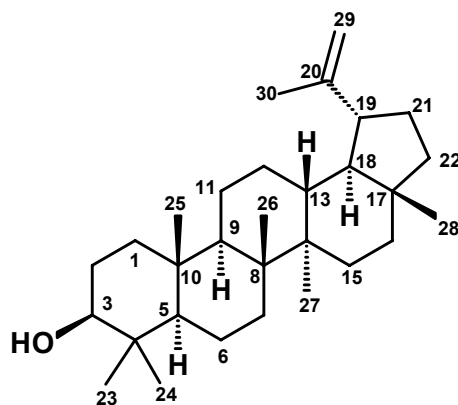


FIGURA 3.2.21.4 – **A)** Mapa de contorno de HMBC (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquínico – **A)** Expansão do mapa de contorno de HMBC (400 MHz CD<sub>3</sub>OD) do ácido 5-O-cafeoilquínico

3.2.14 – Identificação estrutural do lupeol (**22**)**(22)**

A substância **22** foi isolada como um sólido branco, a identificação foi realizada através dos experimentos de RMN<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e espectrometria de massas. No espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.22.1), foram observados seis singletos referentes a hidrogênios metílicos, estes sinais aparecem em: 0,76, 0,79, 0,83, 0,88, 0,97 e 1,03  $\delta$  e ainda um singlete em 1,61 $\delta$  característico de hidrogênios de metila ligada a um carbono insaturado. Neste espectro foram observados ainda, um dubleto em 4,69  $\delta$  ( $J = 2,4$  Hz) e um duplo dubleto em 4,57  $\delta$  ( $J = 2,4$  e 1,4 Hz). A presença desses sinais sugeriram que a substância **22** tratava-se de um triterpeno com esqueleto lupano. A presença de um duplo dubleto em 3,21  $\delta$  ( $J = 10,0$  e 5,4 Hz) permitiu sugerir a presença de um grupo hidroxila no C-3. A constante de acoplamento para este sinal sugeriu a posição  $\beta$  para o grupo hidroxílico.

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.22.2 TABELA 3.2.22.1) indicou a presença de 30 átomos de carbonos, sendo um sinal referente a um carbono carbinólico em 79,3  $\delta$  e dois sinais referentes a carbonos olefínicos em 151,2 e 109,6  $\delta$ .

O espectro de massas (FIGURA 3.2.22.3) obtido para a substância **22** apresentou o pico do íon molecular de  $m/z = 426$ , sendo compatível com a fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O. Após análise destes dados pode-se propor para a substância **22** como a estrutura do lupeol. Os dados encontrados na literatura (SANTOS 2005) confirmaram essa proposta.

TABELA 3.2.22.1 - Dados espectroscópicos RMN<sup>13</sup>C da substância **22** em CDCl<sub>3</sub>.

C	$\delta_C$	$\delta_C$ (Santos 2005) 50MHz.
1	38,4	38,6
2	27,3	27,3
3	79,3	78,9
4	39,2	38,8
5	55,6	55,2
6	18,6	18,3
7	34,6	34,2
8	40,3	40,8
9	50,8	50,4
10	37,5	37,1
11	21,2	20,9
12	25,5	25,1
13	38,1	38,0
14	41,2	42,8
15	27,7	27,4
16	35,9	35,5
17	43,3	42,9
18	48,6	48,2
19	48,3	47,9
20	151,2	150,9
21	30,21	29,8
22	39,8	39,9
23	28,3	27,9
24	15,2	15,3
25	16,2	16,0
26	15,7	15,9
27	14,9	14,5
28	18,3	17,9
29	109,6	109,3
30	19,6	19,2



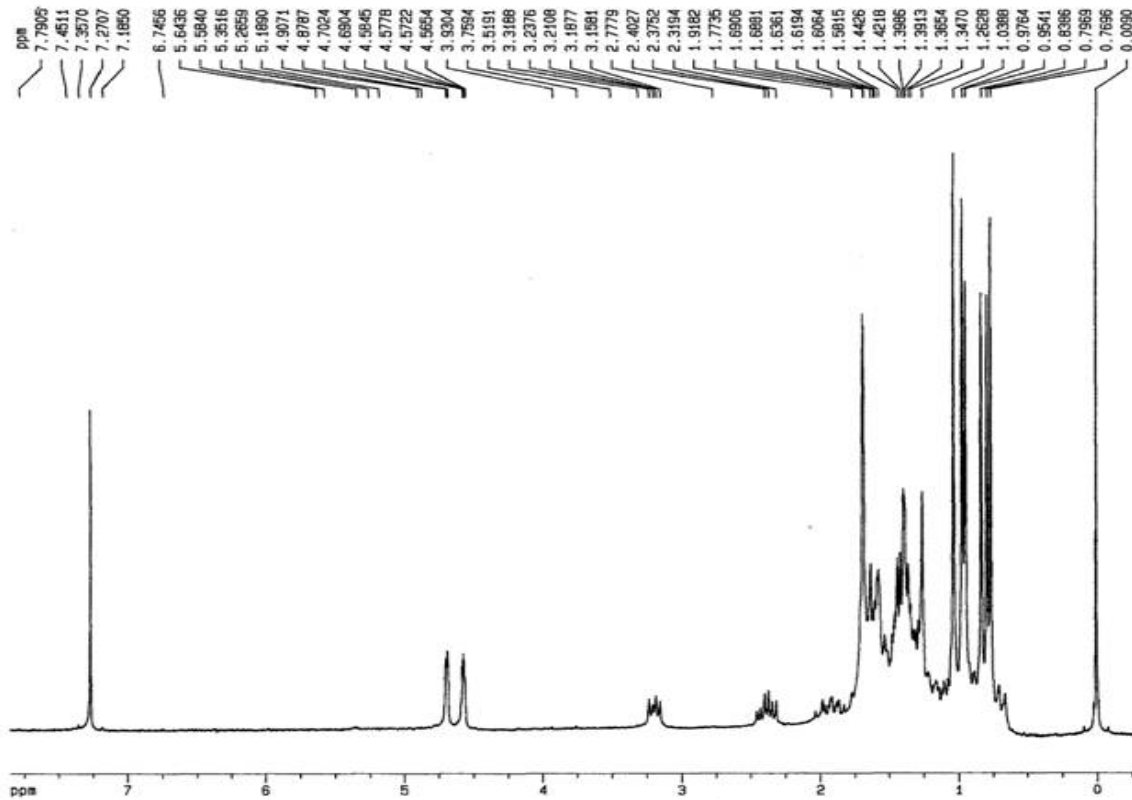


FIGURA 3.2.22.1 – Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (200 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) do lupeol.

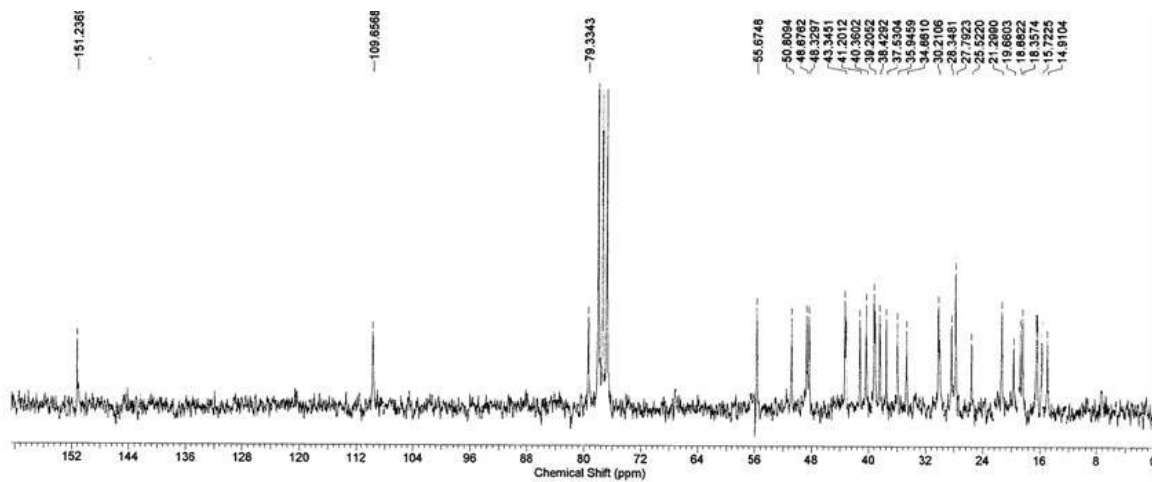


FIGURA 3.2.22.2 – Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (100 MHz  $\text{CDCl}_3$ ) do lupeol.

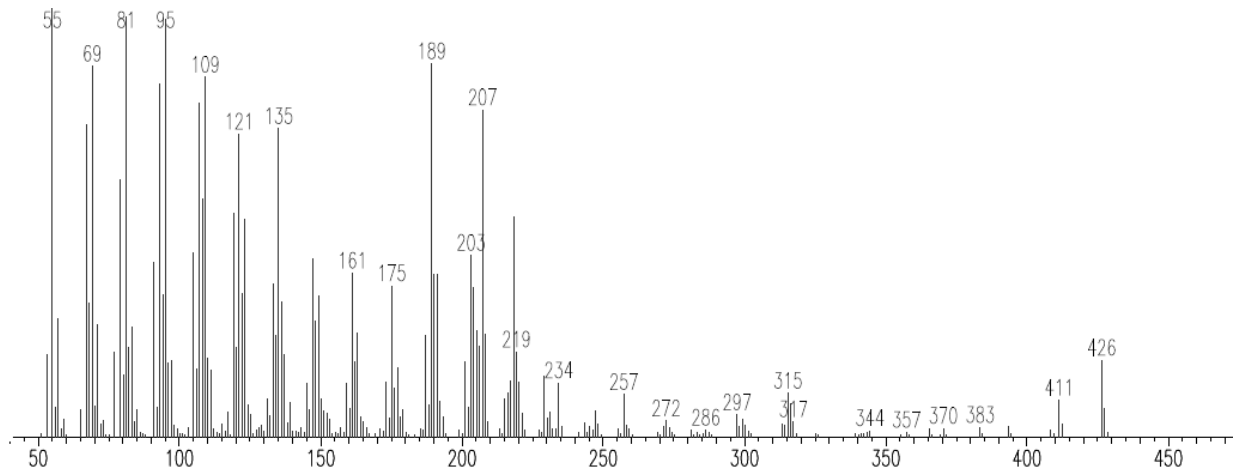
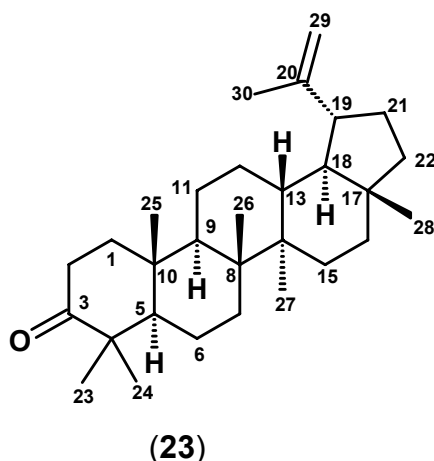


FIGURA 3.2.22.3 – Espectro de massas (IE – 70 eV) do lupeol

3.2.15 – Identificação estrutural da lupenona (**23**)

A substância **23** foi isolada como um sólido branco, foi caracterizada através dos experimentos de RMN<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e EM.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (FIGURA 3.2.23.1) apresentou sinais bastante similares aos do lupeol (**22**): seis metilas terciárias em 0,79, 0,93, 0,95, 1,02, 1,07 e 1,07  $\delta$  e uma metila sobre um carbono sp<sup>2</sup> em 1,68  $\delta$ ; e, os sinais típicos de triterpenos lupânicos em 4,57 (dd, J = 2,4 e 1,0 Hz) e 4,69  $\delta$  (d, J = 2,4 Hz). Entretanto, no espectro de **23** não se observou o sinal relativo ao hidrogênio carbinólico H-3 em 3,21  $\delta$ , sugerindo então, que C-3 era um carbono carbonílico.

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C (FIGURA 3.2.23.2 TABELA 3.2.23.1), confirmou a presença da carbonila cetônica através de um sinal em 218,2  $\delta$ , e mostrou os sinais referentes aos carbonos olefínicos em 150,9 e 109,3  $\delta$ .

O espectro de massas (FIGURA 4.2.23.3) obtido para a substância **23** apresentou o pico do íon molecular de  $m/z = 424$ , sendo compatível com a fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O. Após análise destes dados pode-se propor para a substância **23** como a estrutura da lupenona. A comparação dos dados de **23** com os da literatura (SIMOTE 2006) confirmaram essa proposta.

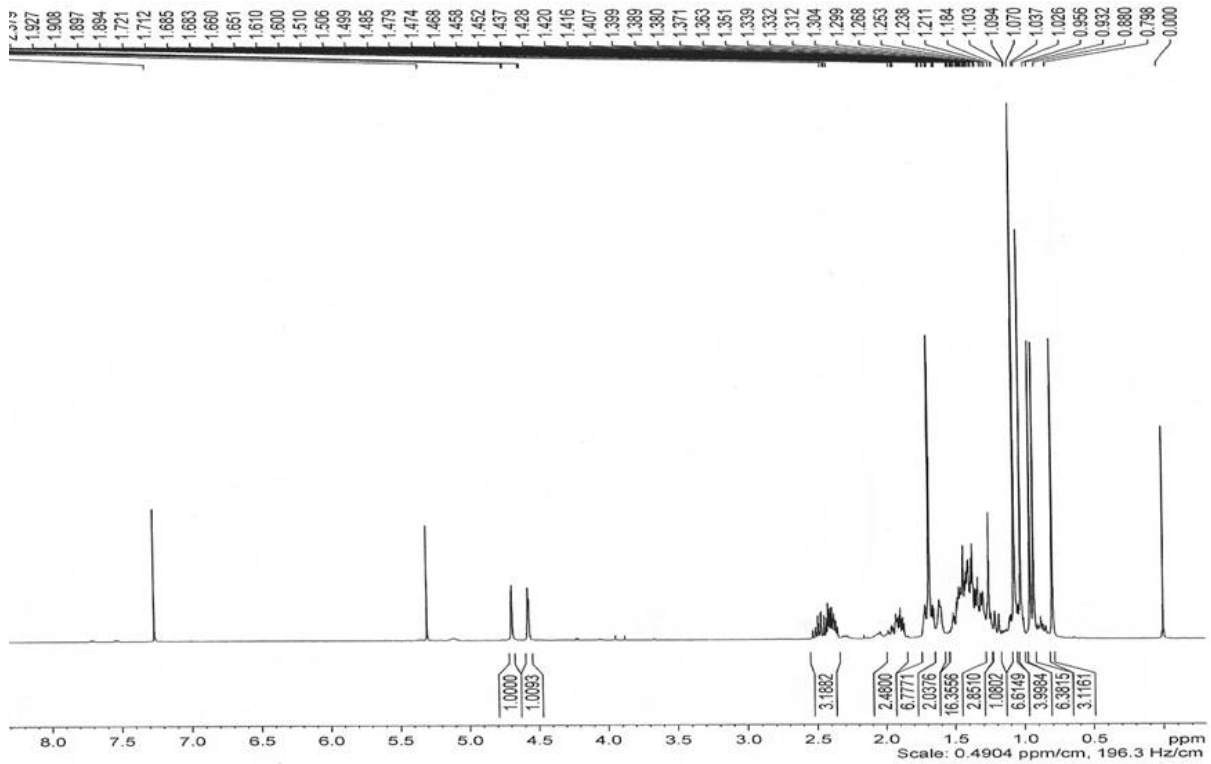


FIGURA 3.2.23.1 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz CDCl<sub>3</sub>) da lupenona

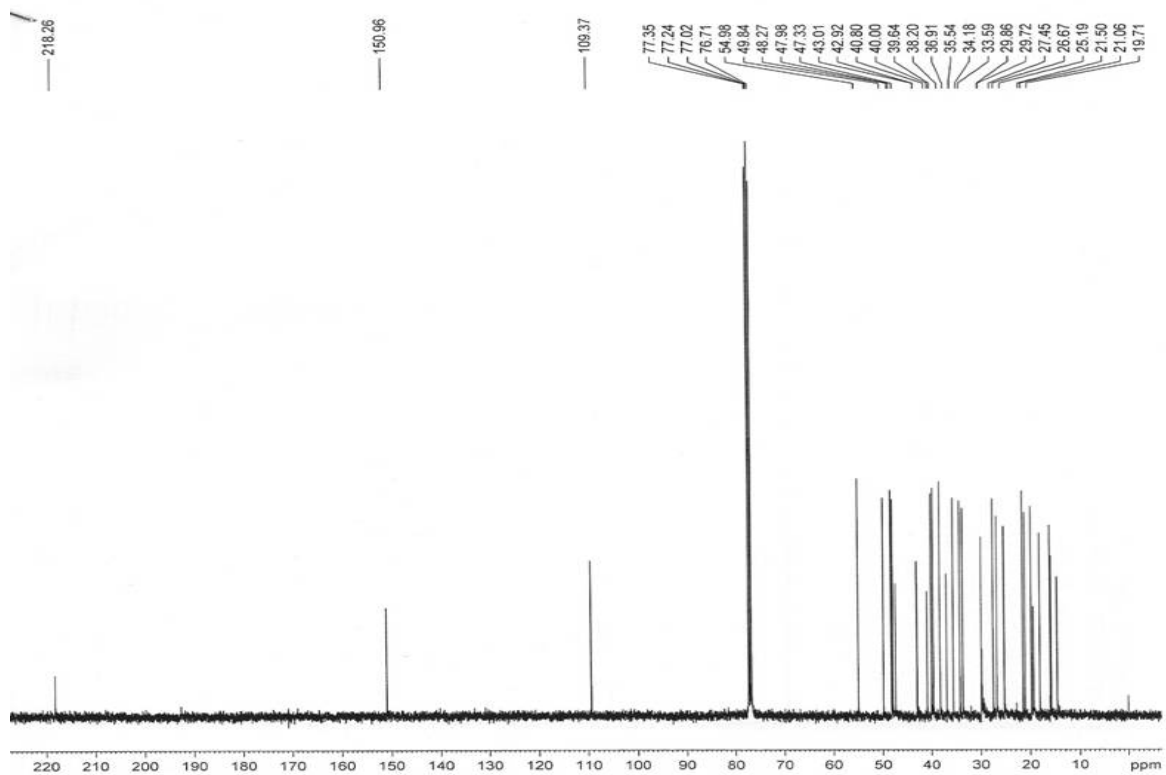


FIGURA 3.2.23.2 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz CDCl<sub>3</sub>) da lupenona

TABELA 3.2.23.1 - Dados espectroscópicos RMN<sup>13</sup>C da substância **23** em CDCl<sub>3</sub>.

C	$\delta_c$	$\delta_c$ (SIMOTE 2006) 50MHz.
1	39,6	39,6
2	33,5	33,6
3	218,2	218,1
4	47,3	47,3
5	54,9	54,8
6	19,7	21,0
7	34,1	33,6
8	40,8	40,8
9	49,8	49,7
10	36,9	36,9
11	21,5	21,5
12	25,1	25,2
13	38,2	38,2
14	43,0	43,0
15	27,4	27,4
16	35,5	35,5
17	42,9	42,9
18	48,2	48,2
19	47,9	47,9
20	150,9	150,8
21	29,8	29,9
22	40,0	40,0
23	26,6	26,7
24	21,0	21,0
25	15,9	15,9
26	15,8	15,7
27	14,5	14,5
28	18,0	17,9
29	109,3	109,4
30	19,3	19,0

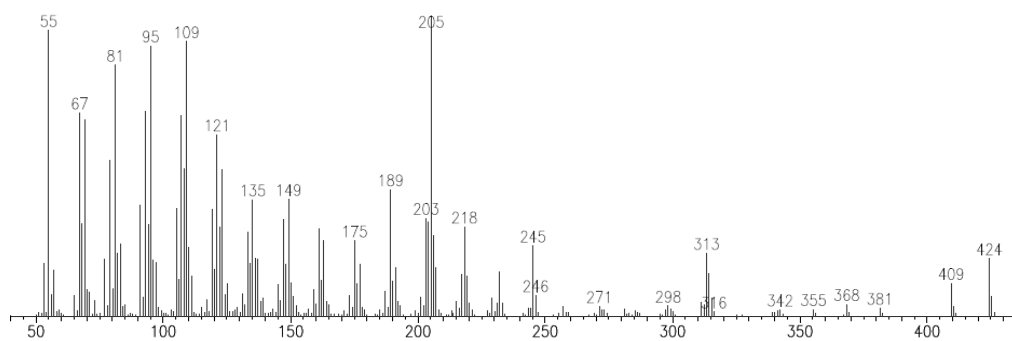
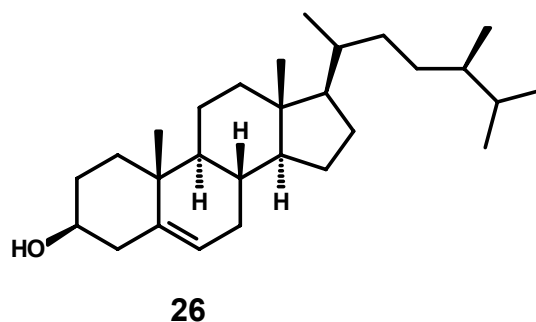
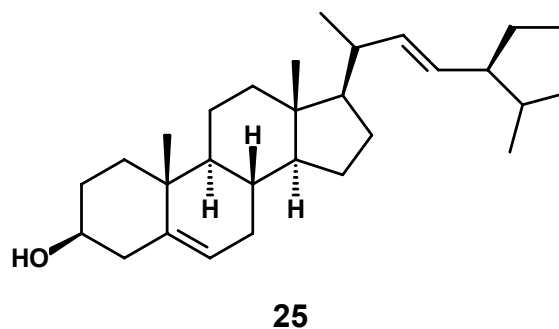
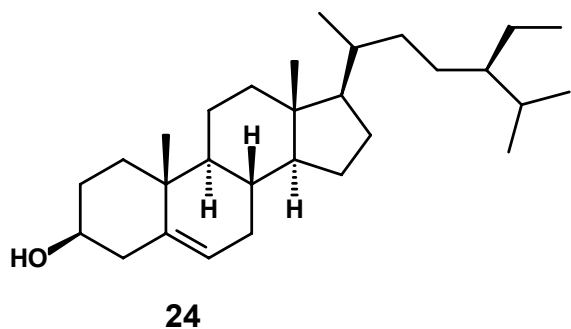


FIGURA 3.2.23.3 – Espectro de massas da substância **23** (IE – 70 eV)

3.2.16 – Identificação da sistosterol (**24**) estigmasterol (**25**) campesterol (**26**)



Os fitoesteróis sistosterol (**24**), estigmasterol (**25**) campesterol (**26**) foram isolados em mistura. Estes fitoesteróis são de ampla ocorrência no reino vegetal e foram identificados através de RMN<sup>1</sup>H e CG-EM, e os dados obtidos foram concordantes com a literatura (Santos 2005, AMBROZIN 2004, GARCIA 2005)

**ANÁLISES DE ALCALÓIDE  
QUINOLIZIDÍNICOS  
POR CG-EM**



### 3.3 – Identificação de alcalóides quinolizidínicos por CG-EM.

É de conhecimento comum que CG-EM, pode ser usada para analisar compostos de média polaridade e baixo peso molecular, é um importante e bem estabelecido método para análise sistemática de produtos naturais (PATITUCCI 1995).

Considerando que os alcalóides quinolizidínicos (AQ) são aminas alifáticas com grandes similaridades estruturais e formam misturas complexas nos extratos de plantas, considerando ainda as várias possibilidades conformacionais, essa classe de substâncias é de difícil isolamento e purificação pelas técnicas convencionais de fitoquímica clássica. Além disso, seus espectros de RMN<sup>1</sup>H são geralmente muito complexos e de difícil análise. Assim, CG-EM torna-se uma poderosa ferramenta para identificar os alcalóides quinolizidínicos. Existem vários relatos na literatura do uso dessa técnica para identificar esta classe de substância (WINK *et al.* 1995, HERRERA e QUINTOS 2000, GUIMARÃES *et al.* 2003).

A identificação dos compostos já conhecidos e presentes no extrato alcaloídico, foi estabelecida através da comparação de seus espectros de massas com amostra autêntica e/ou descrita na literatura, seu tempo de retenção relativa (RRt) tendo a lupanina (**8**) como padrão (RRt = 1,00) e pelo padrão de fragmentação. Para as substâncias não descritas na literatura foram utilizados apenas os dois últimos parâmetros.

Uma alíquota das amostras dos extratos diclorometânico e metanólico, devidamente preparada (ESQUEMA 3.3.1) foi dissolvida em éter etílico, e a outra em acetato de etila, criando com isso um total de 6 amostras, assim denominadas:

MEE = extrato metanólico extraído com éter e solubilizado em éter.

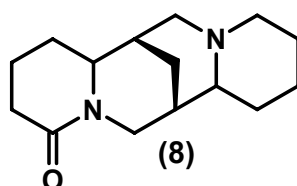
MEA = extrato metanólico extraído com éter e solubilizado em acetato de etila

MCE = extrato metanólico extraído com CHCl<sub>3</sub> e solubilizado em éter

MCA = extrato metanólico extraído com CHCl<sub>3</sub> e solubilizado em acetato de etila.

DCE = extrato diclorometano extraído com CHCl<sub>3</sub> e solubilizado em éter

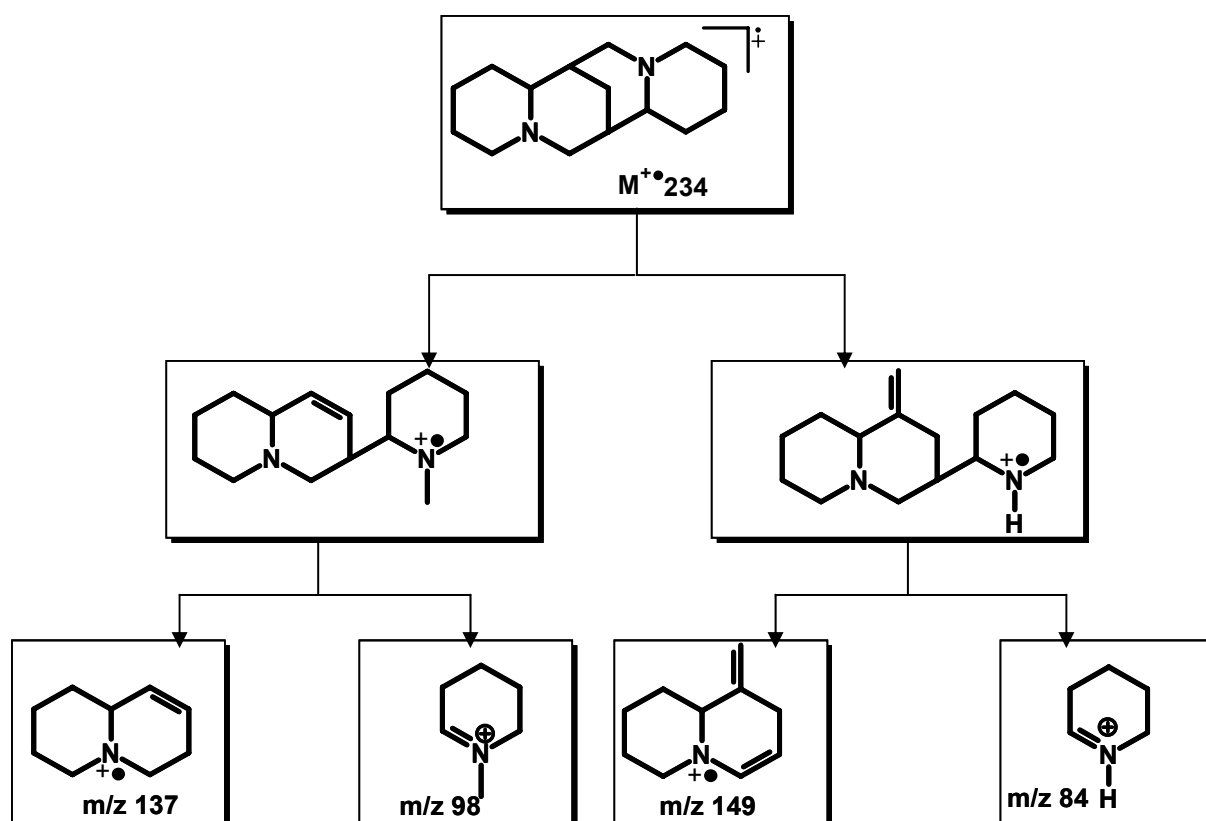
DCA = extrato diclorometano extraído com CHCl<sub>3</sub> e solubilizado em acetato de etila





## 3.3.1 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto esparteínico.

Os AQ com esqueleto esparteínico (WYRZYKIEWICZ *et al.* 2000) apresentam  $m/z$  relacionado ao íon molecular massa par, uma vez que tem número par de nitrogênios e são reconhecidos através dos seus fragmentos em  $m/z$  149, 137, 98 e 84 (ESQUEMA 3.3.1.1). É possível reconhecer os três estereoisômeros da esparteína pelo espectro de massa,  $\alpha$ -isoesparteína (**29**), esparteína (**30**) e a  $\beta$ -isoesparteína (**31**) são distinguidos por causa da significativa diferença na intensidade relativa dos picos referentes aos seus fragmentos, principalmente à  $m/z$  98 e 137 (BALANDRIN 1982). A relação da intensidade desses dois picos para os três compostos nas condições usadas no CG-EM são na proporção de 1,15 (esparteína), 1,75 ( $\alpha$ -isoesparteína) e 0,81 ( $\beta$ -isoesparteína) (FIGURA 3.3.1.1). Os valores de  $RR_t$  para os três estereoisômeros são diferentes, onde a  $\alpha$ -isoesparteína tem o menor valor seguido da esparteína e depois a  $\beta$ -isoesparteína que tem o maior valor (FIGURA 3.3.1.1).



ESQUEMA 3.3.1.1 – Proposta de fragmentação de massas para o esqueleto esparteínico

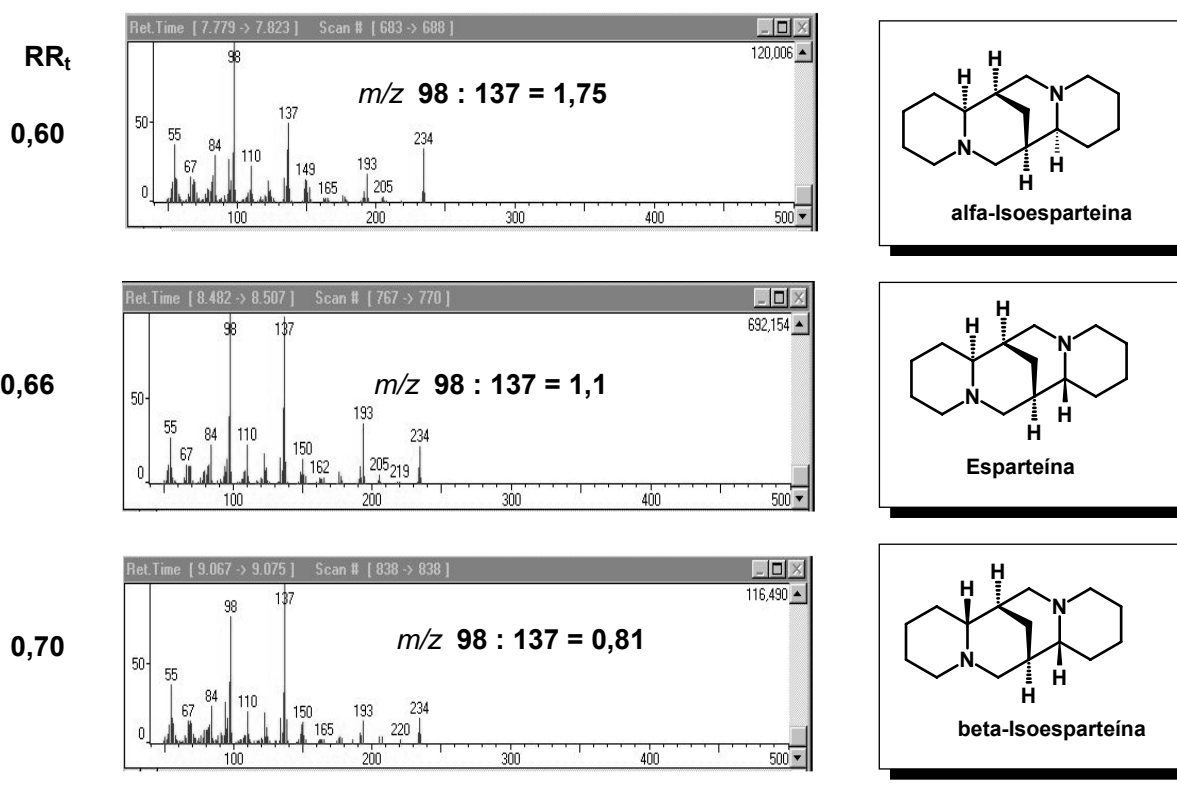
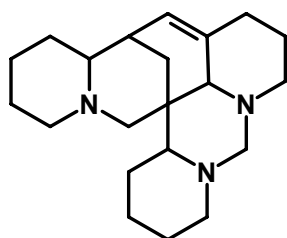


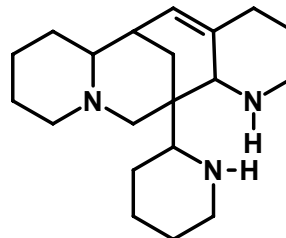
FIGURA 3.3.1.1 - Espectros de massas dos três estereoisômeros da esparteína.

### 3.3.2 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto Ormosínico.

Existem dois tipos de AQ com esqueleto ormosínico: homoormosínico (**56**) e o ormosínico (**57**) que apresentam  $m/z$  relacionado ao íon molecular massa ímpar, uma vez que têm número ímpar de nitrogênios.

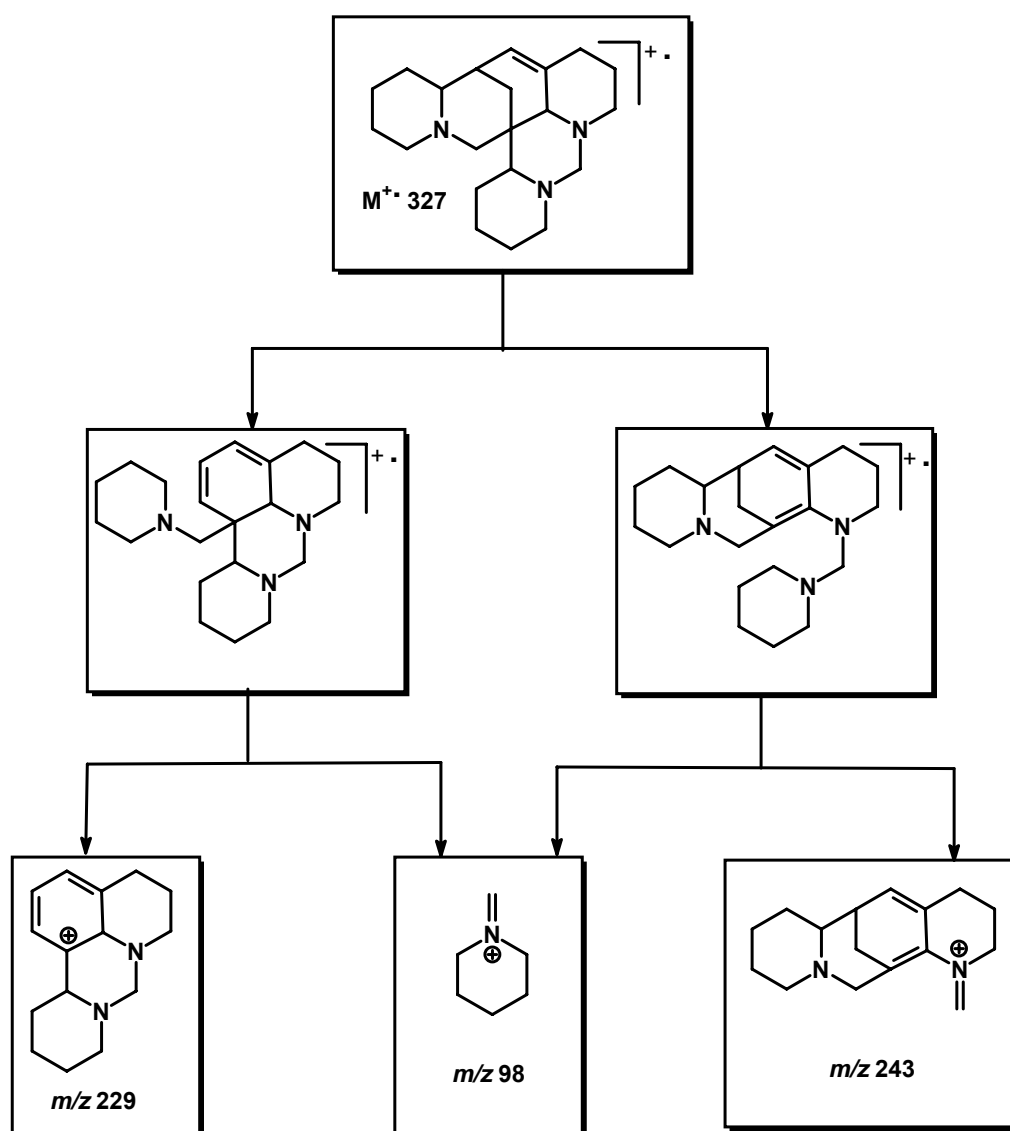


(56)

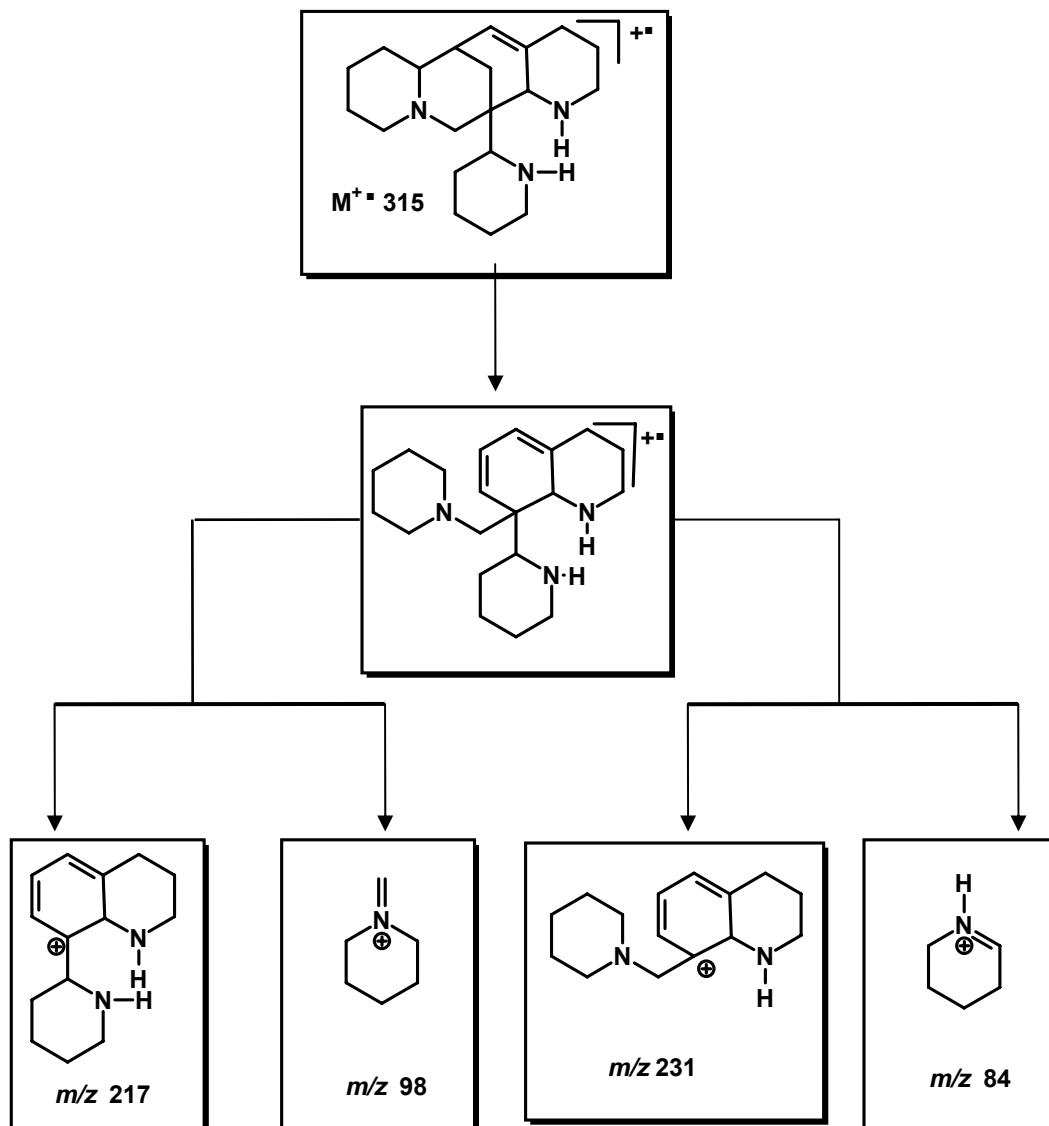


(57)

Os homoormosínicos são reconhecidos através dos seus fragmentos em  $m/z$  243, 229 e 98 (ESQUEMA 3.3.2.1). Enquanto os ormosínicos têm os seus fragmentos em  $m/z$  231, 217, 98 e 84 (ESQUEMA 3.3.2.2). Estes tem via de regra RRt menor que o seu correspondente homoormosínicos.



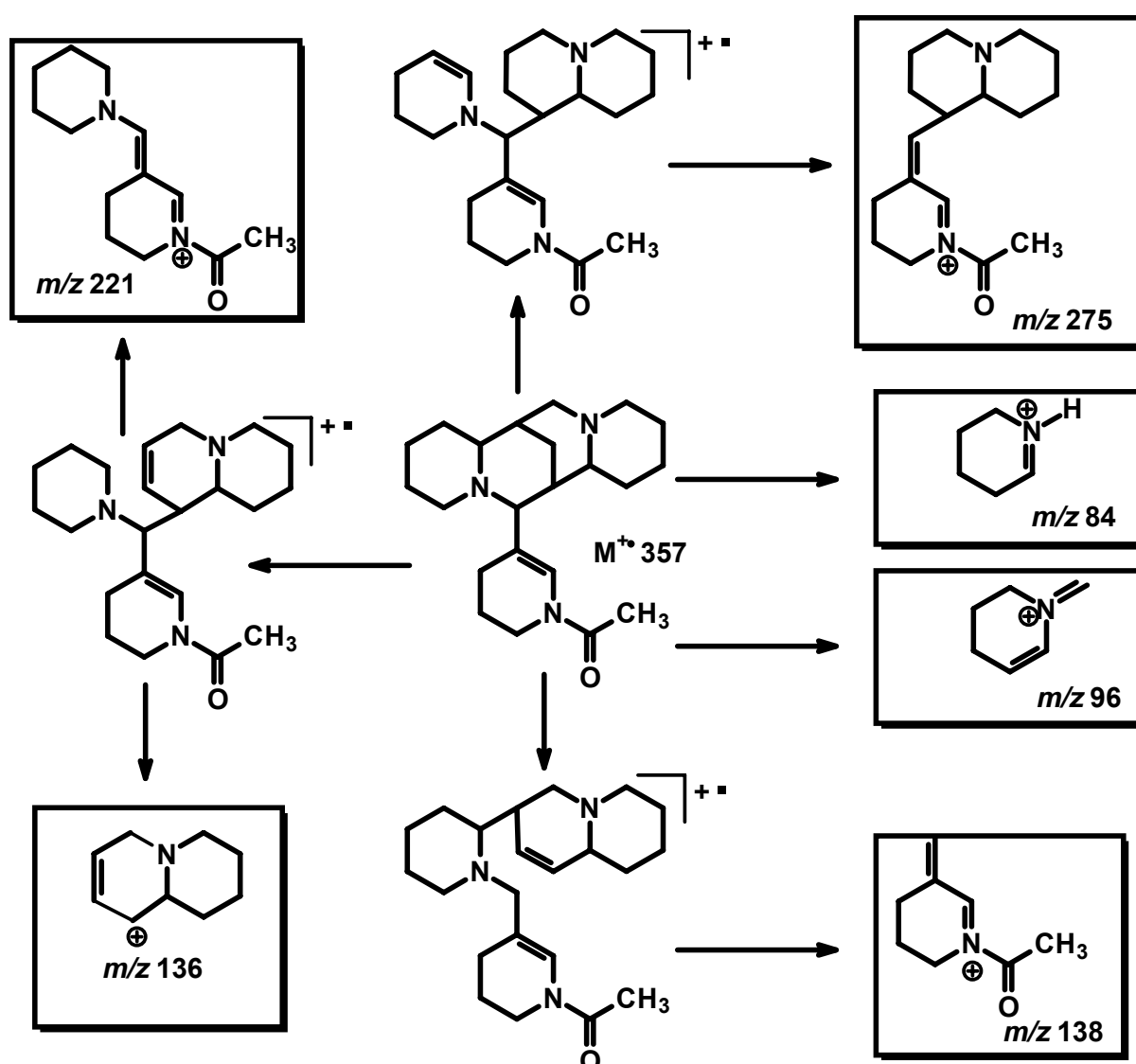
ESQUEMA 3.3.2.1 - Proposta de fragmentação de massas para o esqueleto homoormosínico.



ESQUEMA 3.3.2.2 - Proposta de fragmentação de massas para o esqueleto ormosínico

## 3.3.3 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto acosmínico

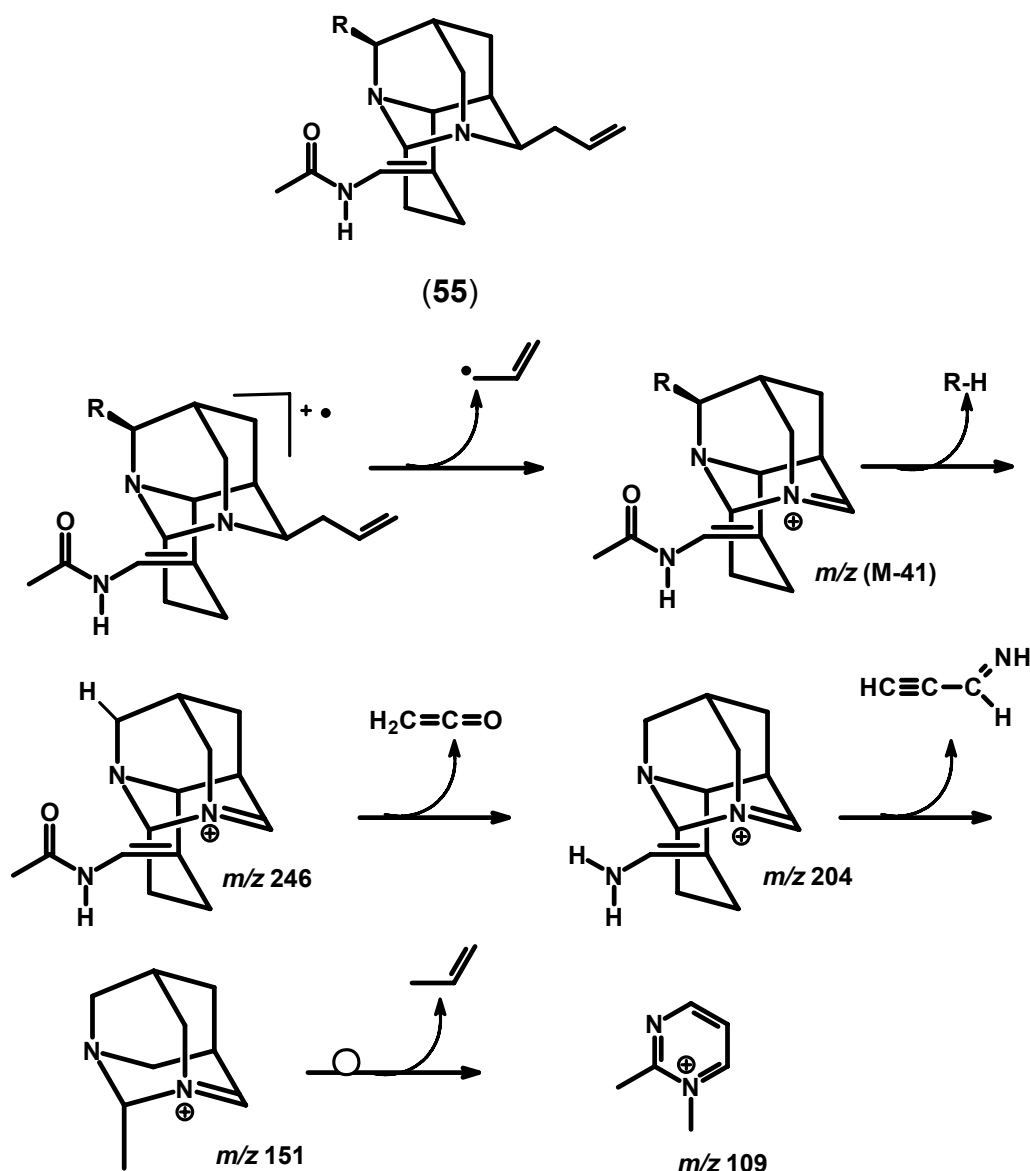
Os AQ com esqueleto acosmínico por terem número ímpar de átomos de nitrogênios apresentam  $m/z$  relacionado ao íon molecular de massa ímpar, e são reconhecidos através dos seus fragmentos em  $m/z$  221, 96, 84 e principalmente o fragmento corresponde a  $m/z$  138 (ESQUEMA 3.3.3.1), que invariavelmente é o pico base, exceto quando há um grupamento alila ligado a um C- $\alpha$  ao átomo de nitrogênio, passando então o íon M-41 a ser o pico base.



ESQUEMA 3.3.3.1 – Proposta de fragmentação de massas para o esqueleto acosmínico.

## 3.3.4 – Proposta de fragmentação AQ esqueleto diazaadamantano

Os alcalóides pertencentes à classe dos diazaadamantanos (**55**) apresentam massa ímpar para íon molecular, uma vez que contém em sua estrutura número ímpar de nitrogênios. São reconhecidos por apresentarem como pico base  $m/z$  M-41 (ESQUEMA 3.3.4.1), porém o fragmento correspondente  $m/z$  138 não é encontrado, estabelecendo assim o diferencial para o esqueleto acosmínico. Todavia são observados íons com  $m/z$  151 e 109, que contribuem para caracterizar esse esqueleto.



ESQUEMA 3.3.4.1 - Proposta de fragmentação de massas para o esqueleto diazaadamantano



### 3.4 – Análise das frações alcaloídicas contendo AQ por CG-EM.

Como descrito anteriormente (ESQUEMA 3.3.1) foi realizado a partição dos extratos diclorometânico e metanólico, obtendo as respectivas frações alcaloídicas. Aproximadamente 1  $\mu$ L de cada fração foi injetada separadamente no CG-EM, nas seguintes condições: temperatura inicial de 150°C; tempo inicial de 1,0 minuto; a temperatura aumentou de 10°C/minuto até 250°C, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos. Espectro de massa impacto eletrônico (I.E) 70 eV.

#### 3.4.1 – Análise da fração DCA.

A fração DCA foi analisada por CG-EM, e revelou a presença de 17 alcalóides quinolizidínicos, sendo que uma substância não foi identificada, e dos 15 identificados, a possível estrutura proposta para três substâncias ainda não foram descrito na literatura. O cromatograma da fração DCA está mostrado na FIGURA 3.4.1.1, a relação das substâncias identificadas na TABELA 4.4.1 e os espectros de massas das substancias identificadas nas FIGURAS 3.4.2 a 3.4.6

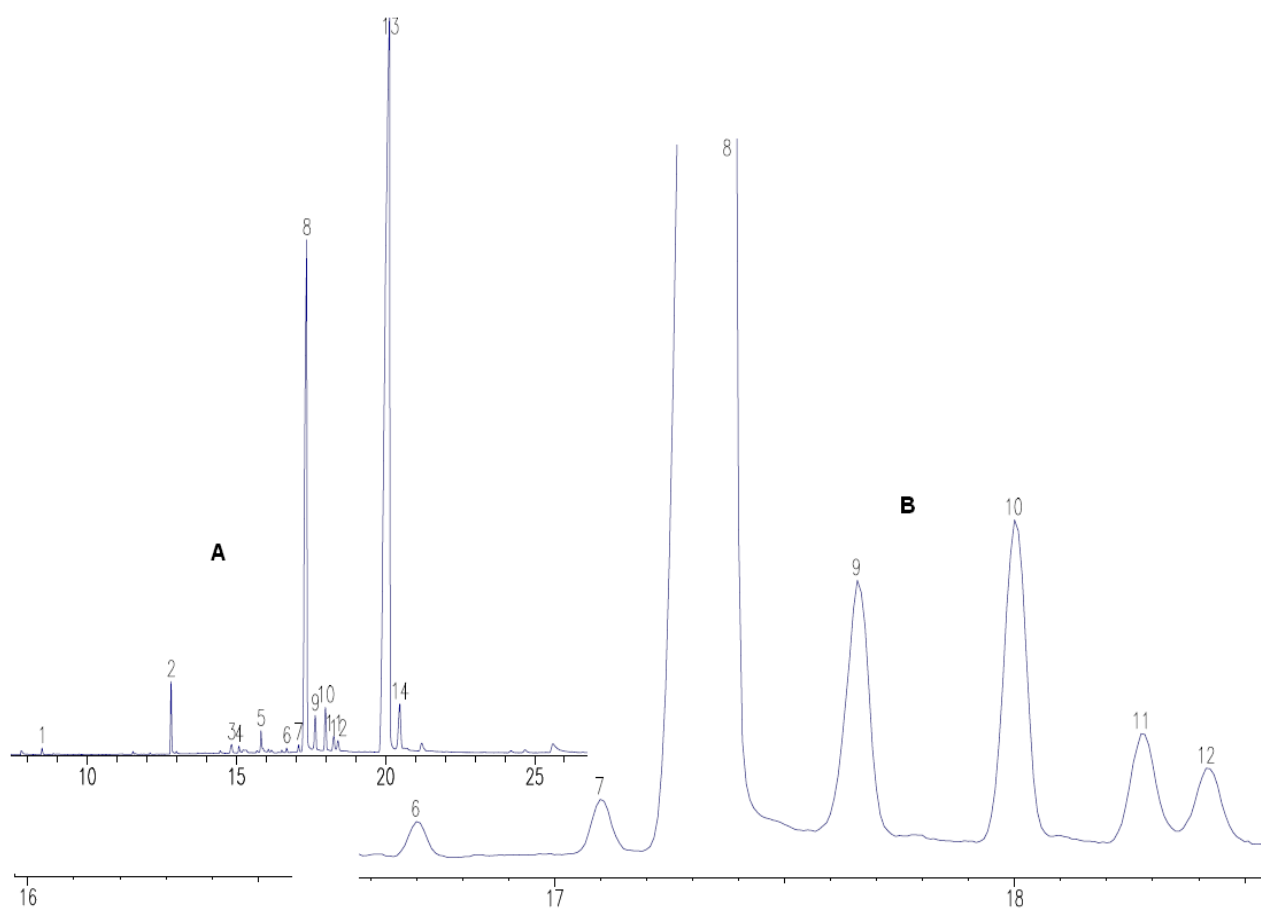


FIGURA 3.4.1.1 – A) Cromatograma da fração DCA. B) Cromatograma ampliado

TABELA 3.4.1 – Relação de AQ encontrados na fração DCA

	<i>Compostos</i>	<i>RR<sub>t</sub></i>	<i>M<sup>+</sup></i>	<i>% Relativo</i>	<i>Fig.</i>	<i>Referencia</i>
1	Esparteína (30)	0,66	234	0,18	3.4.2	Balandrin 1982; Wink 1995
1a	5,6 dehidroesparteína (32)	0,69	232	-.***	3.4.2	Balandrin 1982
2	Lupanina (8)	1,0	248	1,86	3.4.2	Wink 1995 ; Herrera 2004
3	6-epipodopetalina (41)	1,15	315	0.40	3.4.2	Balandrin 1982
4	18-epipeptantina (39)	1,17	317	0.21	3.4.3	Balandrin 1982; Guimarães <i>et al.</i> 2003
5	homo-18-epiamazonina (34).	1,23	327	0.55	3.4.3	Balandrin 1982;
6	Homopodopetalina (36)	1,30	327	0,12	3.4.3	Balandrin 1982; Kinghorn <i>et al.</i> 1988
7	Homopiptantina (43)	1,33	329	0,23	3.4.3	Balandrin 1982 Torrenegra <i>et al.</i> 1989
8	Lupanocosmina (5)	1,35	357	26,53	3.4.4	Trevisan 2002
9	Dasicarpumina (6)	1,37	327	1,38	3.4.4	Trevisan 2002
10	Isodasinina ** (46)	1,40	357	1,74	3.4.5	-
11	Dasicosmina ** (48)	1,42	343	0,69	3.4.5	-
12	Dasinina ** (47)	1,43	357	0,48	3.4.6	-
13	Acosmina (3)	1,57	357	62,76	4.4.6	Balandrin 1982 Trevisan 2002
14	Panascosmina (9)	1,59	341	2,86	3.4.6	Nuzillard <i>et al.</i> 1999 Trevisan 2002
14a	N.I*.	1,65	357	-.***	-	-
14b	Acosminina (4)	1,99	373	-.***	3.4.6	Balandrin 1982 Trevisan 2002

\* Não identificado. \*\* Não descrito na literatura \*\*\* Traços

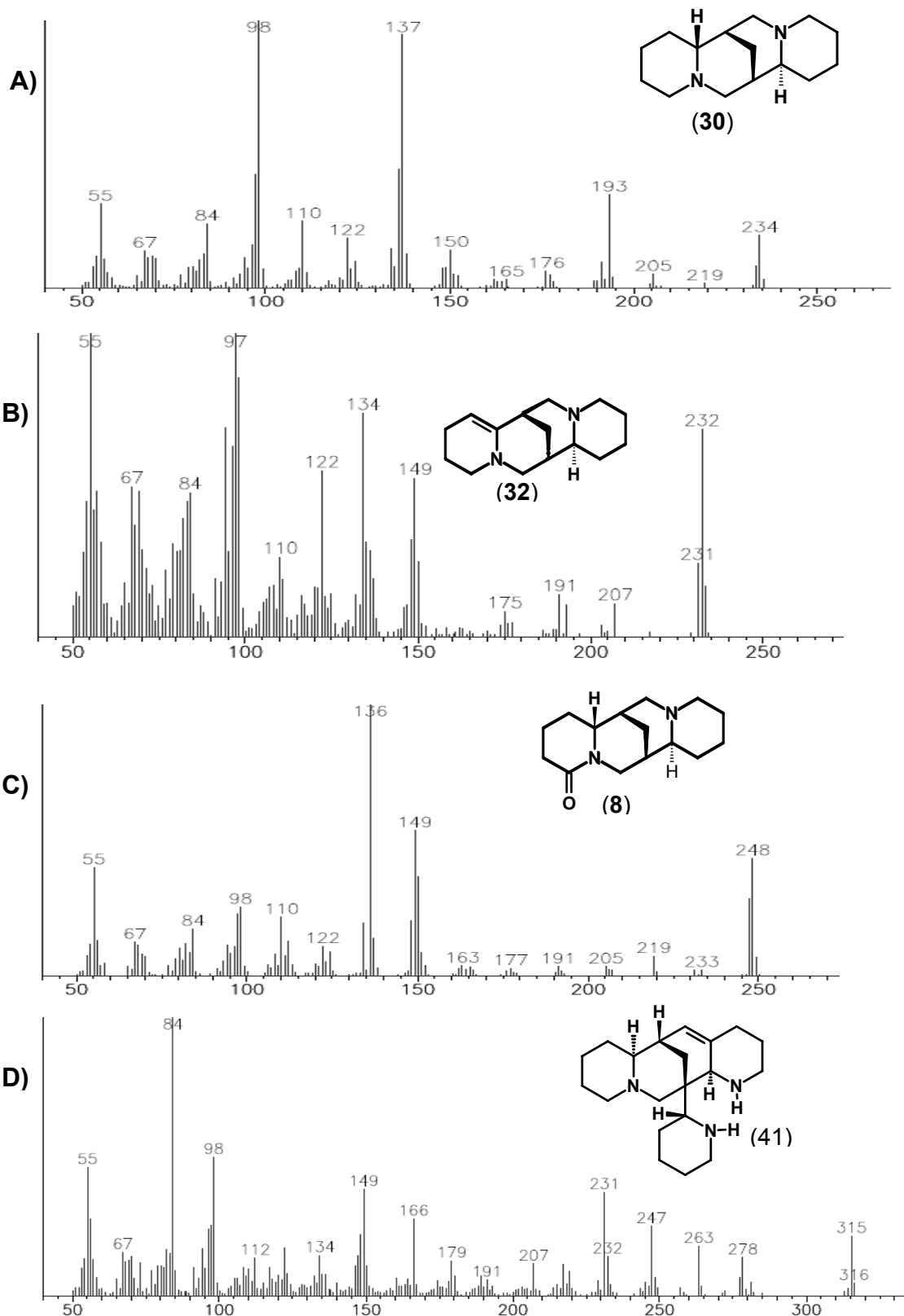


FIGURA 3.4.2 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da esparteina (30). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da 5,6-dehidroesparteina (32). **C)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da lupanina (8). **D)** Espectro de massas da 6-epipodopetalina (IE = 70 ev) (41).

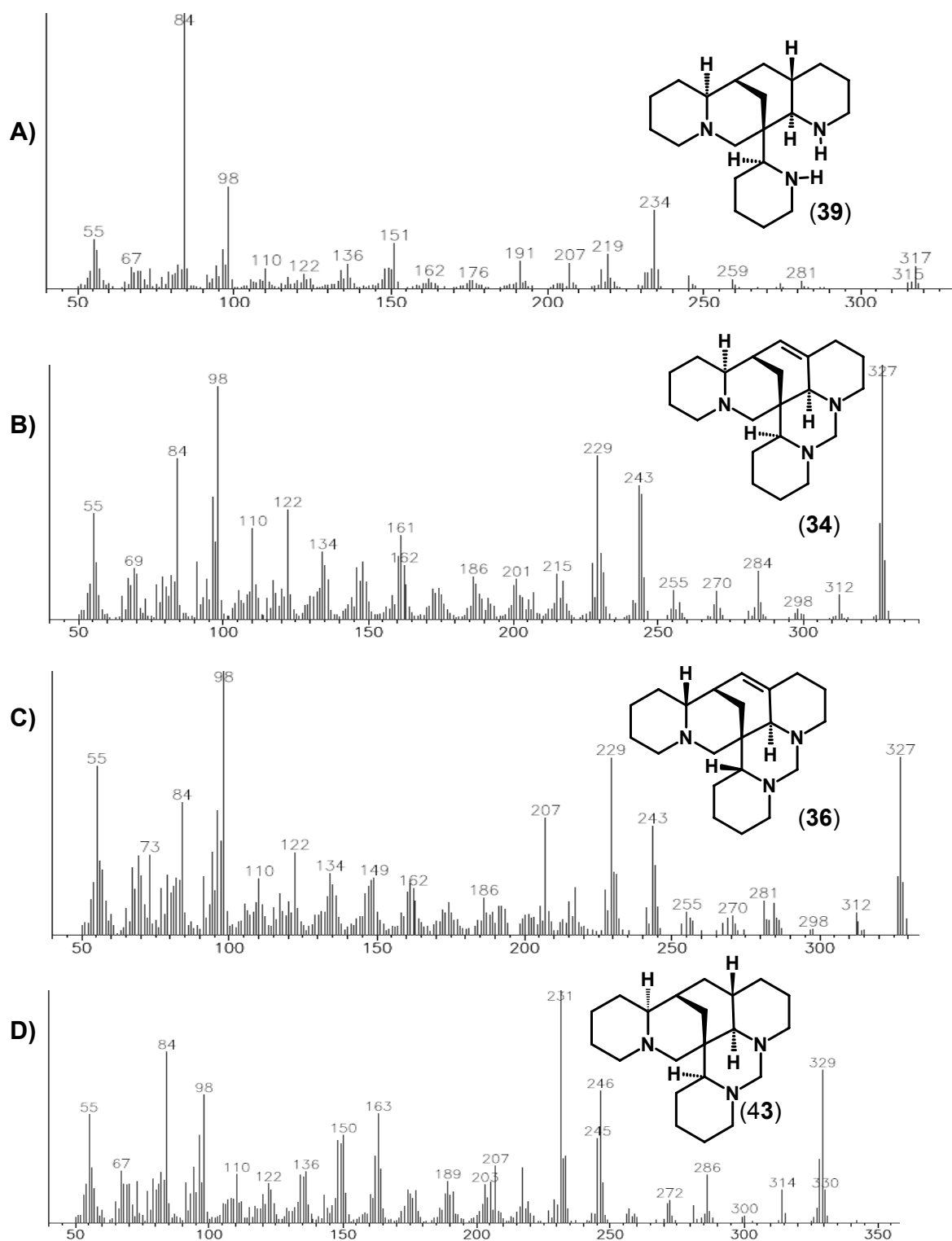


FIGURA 3.4.3 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da 18-epiptantina(**39**). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da homo-18-epiamazonina (**34**). **C)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da homopodopetalina (**36**). **D)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da homopiptantina (**43**).

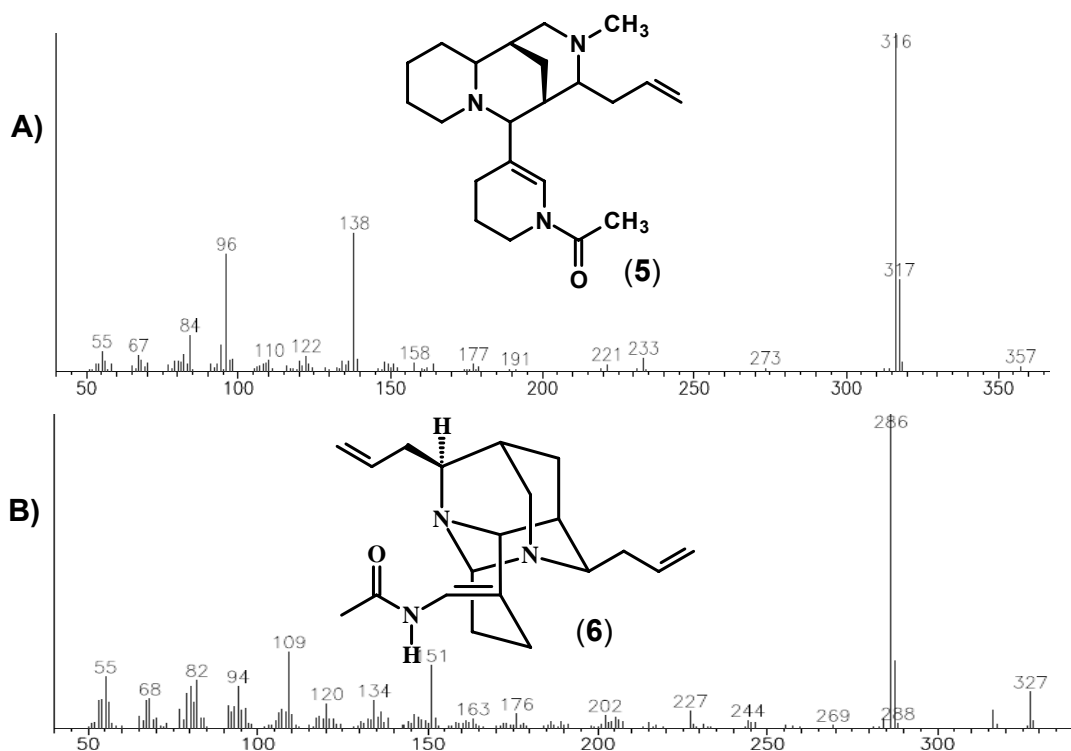


FIGURA 3.4.4 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da lupanocosmina (5). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da dasicarpumina (6).

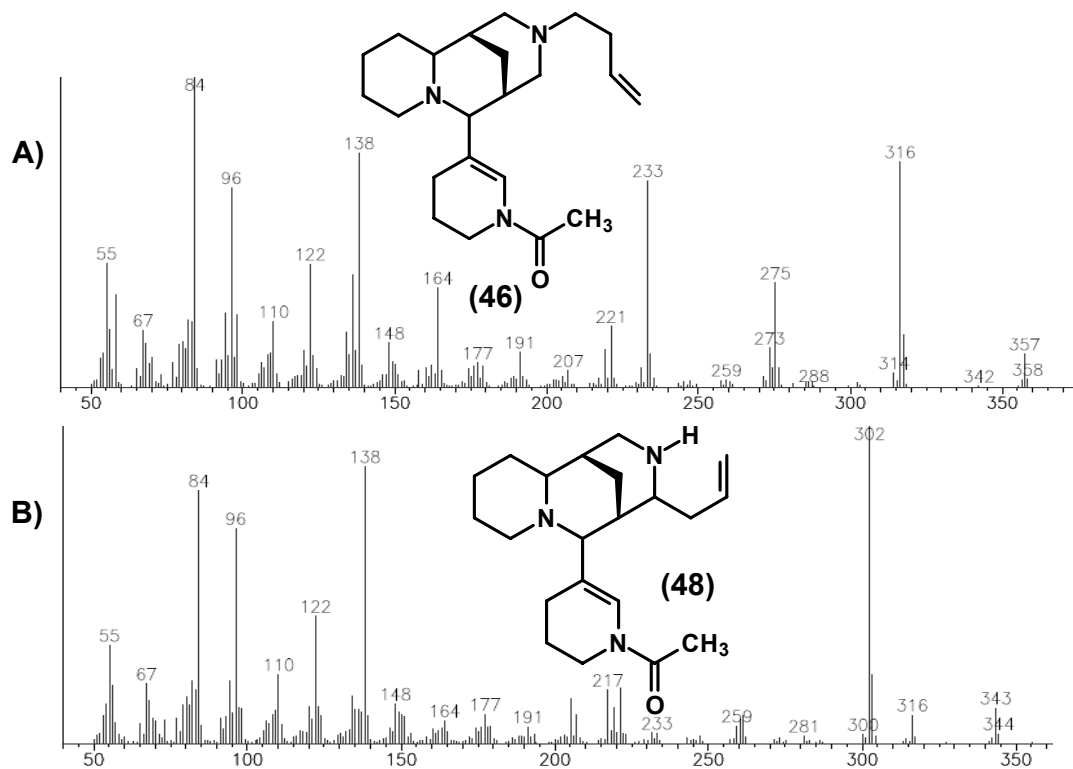


FIGURA 3.4.5 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) isodasinina (46). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da dasicosmina (48).

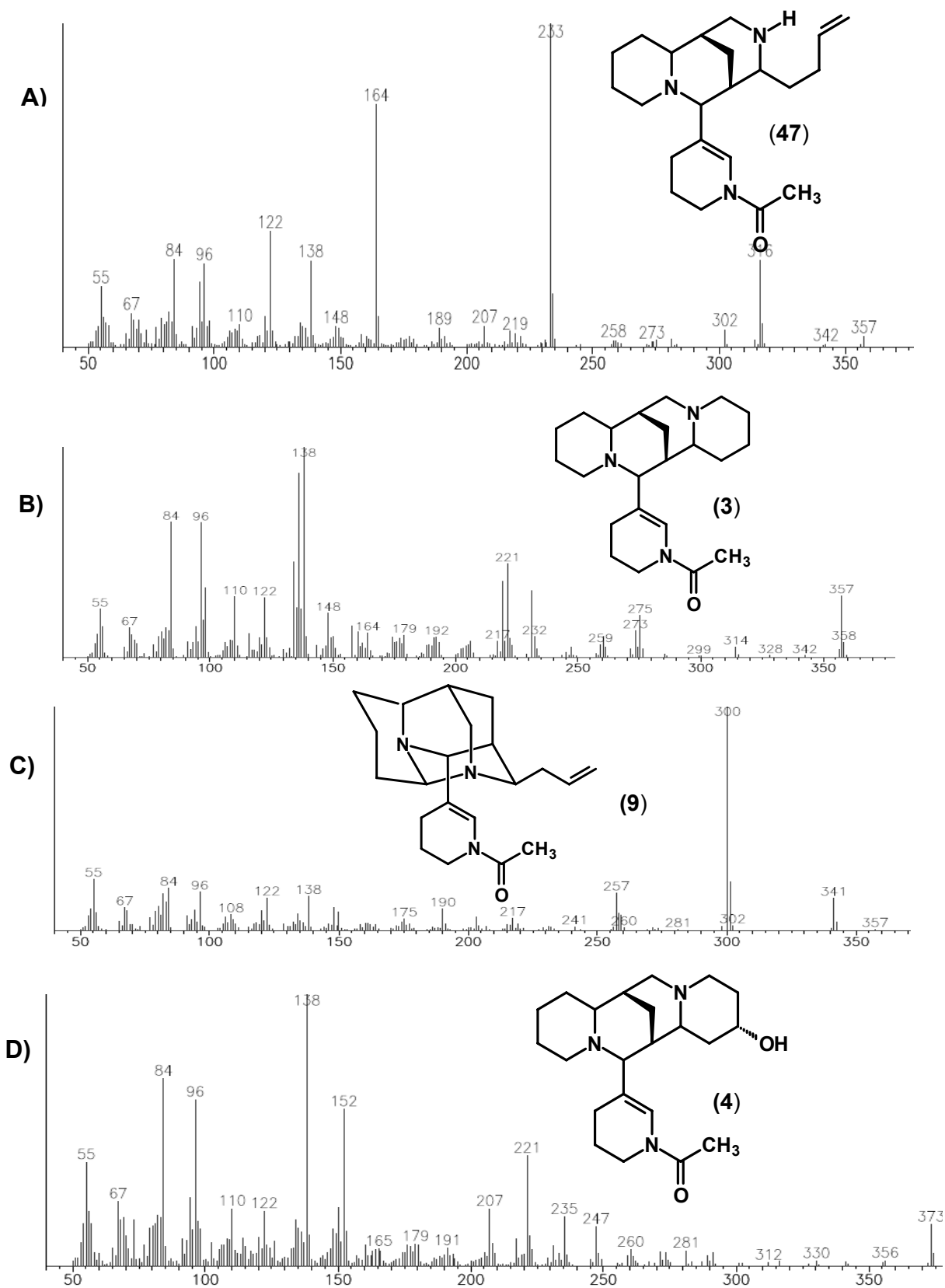


FIGURA 3.4.6 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da dasinina (**47**). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da acosmina (**3**). **C)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da Panascomina (**9**). Espectro de massas (IE = 70 ev) acosminina (**4**)

### 3.4.2 – Análise da fração DCE.

A fração DCE foi analisada por CG-EM, e revelou a presença de 28 componentes, sendo que três substâncias não foram identificadas, e das substâncias identificadas, três com a possível estrutura proposta, não foram encontrados relatos na literatura. O cromatograma de DCE está mostrado na FIGURA 4.4.7, a relação das substâncias identificadas na TABELA 3.4.2 e os espectros de massas das substâncias identificadas nas FIGURAS 3.4.2, a 3.4.6 e 3.4.8 a 3.4.10.

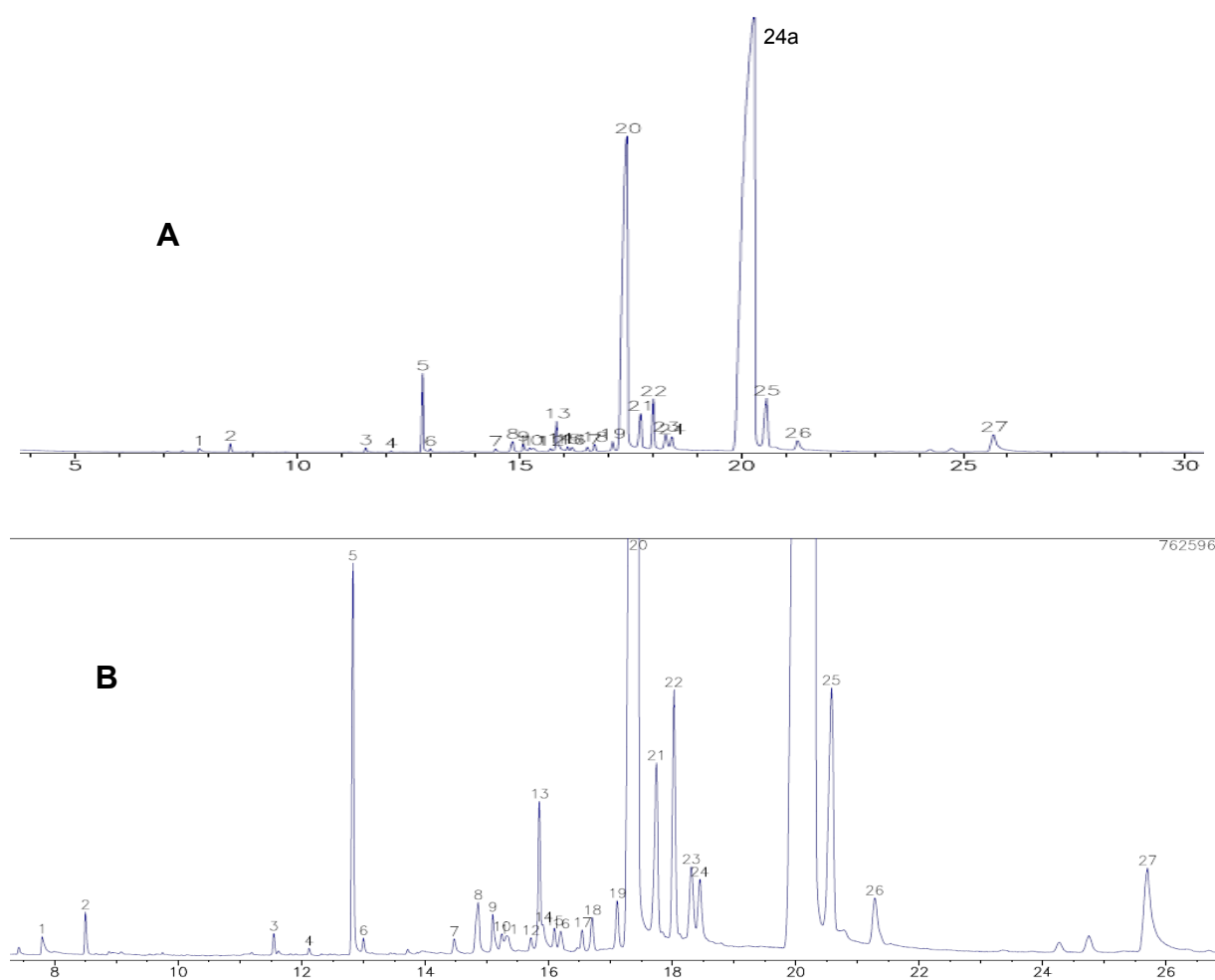


FIGURA 3.4.7 - A) Cromatograma da fração DCE. B) Cromatograma ampliado.

TABELA 3.4.2 – Relação de AQ encontrados na fração DCE

	<i>Compostos</i>	<i>RR<sub>t</sub></i>	<i>M<sup>+</sup></i>	<i>% Relativo</i>	<i>Fig.</i>	<i>Referencia</i>
1	α-Isoesparteína (29)	0,60	234	0,18	4.4.8	Balandrin 1982; Wink 1995
2	Esparteína (30)	0,66	234	0,30	4.4.2	Balandrin 1982; Wink 1995
3	N Metilangustifolina (28)	0,90	N.O**	0,14	4.4.8	Balandrin 1982
4	N.I.*	0,94	286	0,05	-	-
5	Lupanina (8)	1,0	248	3,5	4.4.2	Wink 1995; Herrera 2004
6	Afilina (33)	1,01	248	0,13	4.4.8	Herrera 2004
7	Multiflorina (27)	1,13	246	0,12	4.4.8	Balandrin 1982; Wink 1995
8	6-Epipodopetalina (41)	1,15	315	0,67	4.4.2	Balandrin 1982; Kinghorn <i>et al.</i> 1988
9	18-Epipiptantina (39)	1,17	317	0,38	4.4.3	Balandrin 1982;Guimarães 2003
10	Piptantina (42)	1,18	317	0,20	4.4.9	Torrenegra <i>et al.</i> 1989
11	N.I.*	1,19	315	0,27	-	-
12	N.I.*	1,22	327	0,13	-	-
13	Homo-18-Epiamazonina (34)	1,23	327	1,41	4.4.3	Balandrin 1982
14	Mistura	1,24		0,32	-	-
15	Homoormosanina (38)	1,25	329	0,24	4.4.9	Balandrin 1982; Torrenegra <i>et al.</i> 1989
16	Homosweetinina <sup>1</sup> (1)	1,26	327	0,23	4.4.10	Balandrin 1982
17	Homo-18-epiptantina (40)	1,29	329	0,17	4.4.10	Balandrin 1982
18	Homopodopetalina (36)	1,30	327	0,35	4.4.10	Balandrin 1982; Kinghorn <i>et al.</i> 1988
19	Homopiptantina (43)	1,33	329	0,49	4.4.3	Torrenegra <i>et al.</i> 1989
20	Lupanocosmina (5)	1,35	357	31,91	4.4.4	Trevisan 2002
21	Dasicarpumina (6)	1,37	327	2,37	4.4.4	Trevisan 2002
22	Isodasinina *** (46)	1,40	357	2,78	4.4.5	-
23	Dasicosmina*** (48)	1,42	343	1,12	4.4.5	-
24	Dasinina*** (47)	1,43	357	0,81	4.4.6	-
24a	Acosmina (3)	1,57	357	43,71	4.4.6	Balandrin 1982; Trevisan 2002
25	Panascomina (9)	1,59	341	4,30	4.4.6	Nuzillard <i>et al.</i> 1999; Trevisan 2002
26	N.I*	1,65	357	0,89	-	-
27	Acosminina (4)	1,99	373	2,45	4.4.6	Balandrin 1982; Trevisan 2002

<sup>1</sup> Homosweetinina = Homo 6-epipodopetalina

\* Não identificado \*\*Não Observado \*\*\*Não descrita na literatura



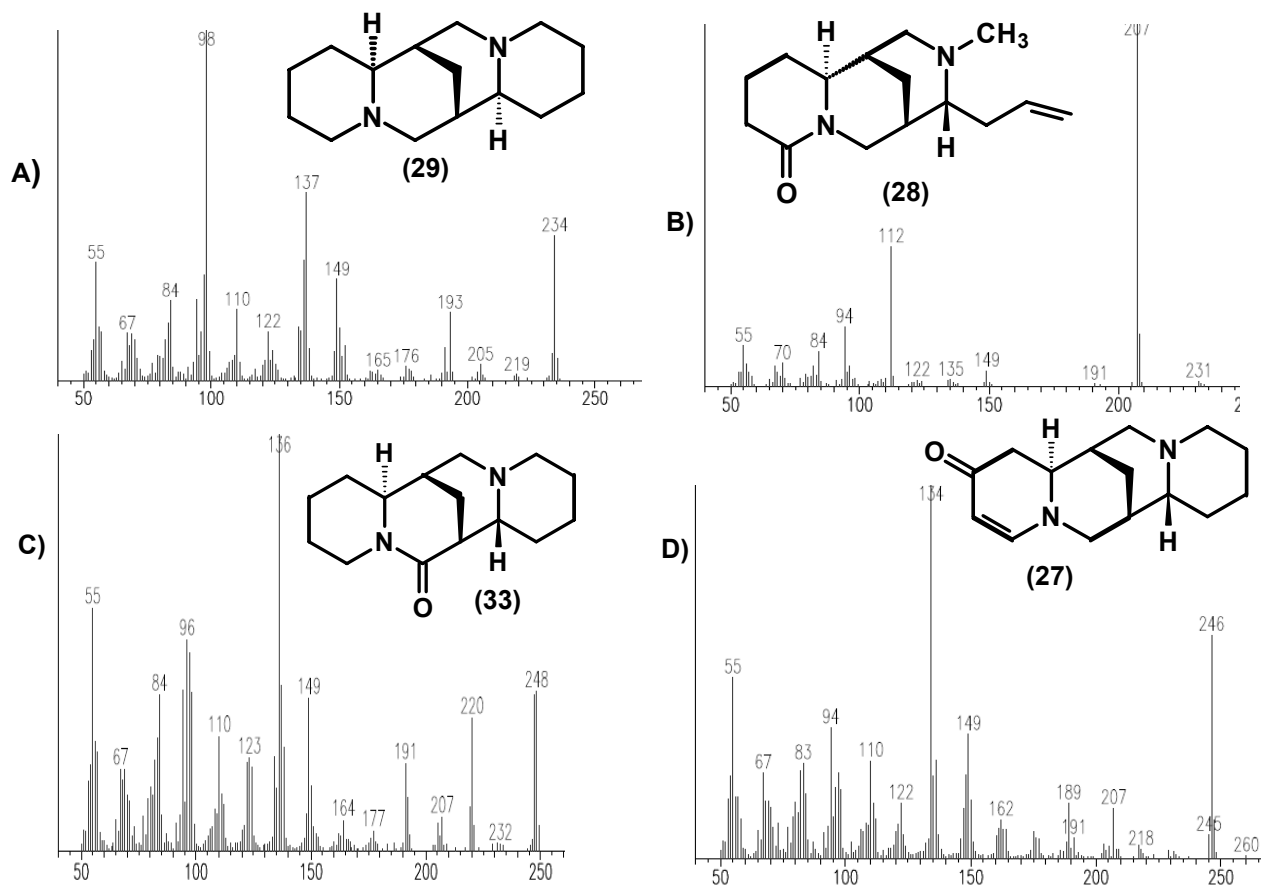


FIGURA 3.4.8 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da  $\alpha$ -isoesparteina (29). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da N-metilangustifolina(28). **C)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da afilina (33). **D)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da multiflorina (27).

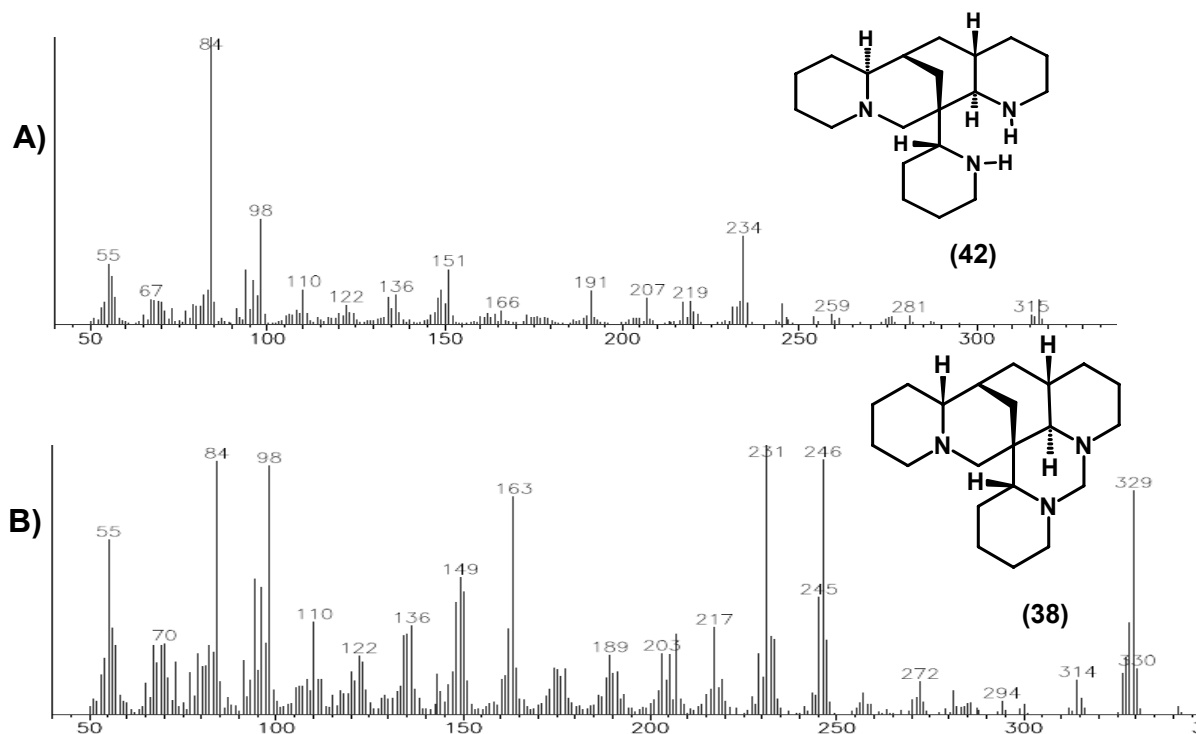


FIGURA 3.4.9 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da piptantina (42). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev ) da homoormosanina (38).

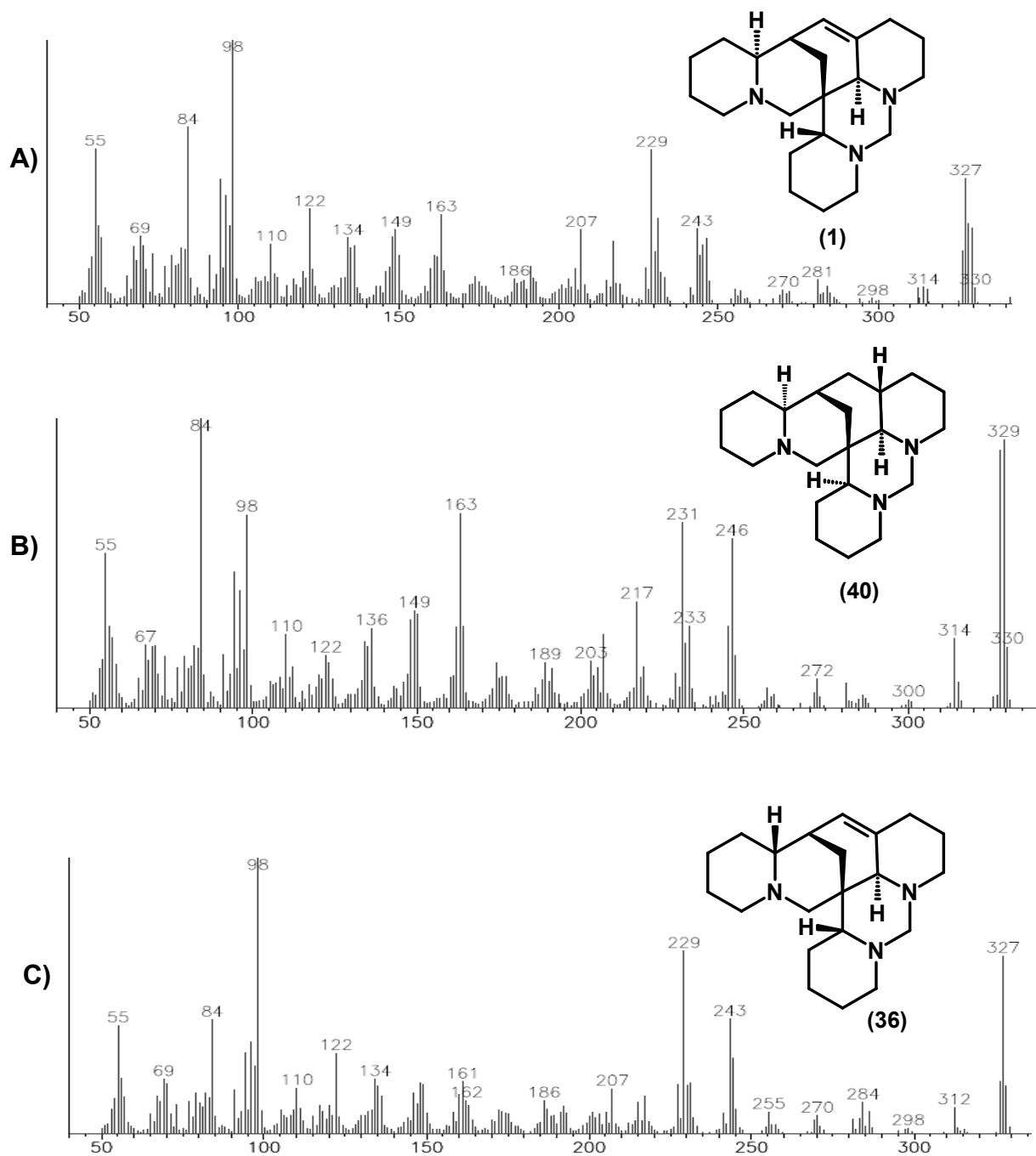


FIGURA 3.4.10 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da homo-6-epipodopetalina (**1**)  
**B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da homo-18-epiptantina (**40**)  
**C)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da homopodopetalina (**36**)

## 3.4.3 – Análise da fração MCA.

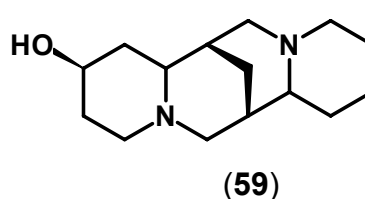
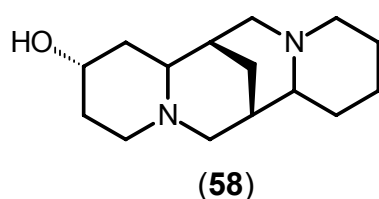
A fração MCA foi analisada por CG-EM, e revelou a presença de 11 componentes, onde uma substância não foi identificada e duas com a possível estrutura proposta, não foram encontrados relatos na literatura. O cromatograma de MCA está mostrado na FIGURA 3.4.11, a relação das substâncias identificadas na TABELA 3.4.3. e os espectros de massas nas FIGURAS 3.4.2, 3.4.4, 3.4.5, 3.4.6, 3.4.8, e 3.4.12.

TABELA 3.4.3 – Relação de AQ encontrados na fração MCA

	<i>Compostos</i>	<i>RR<sub>t</sub></i>	<i>M<sup>r</sup></i>	<i>% Relativo</i>	<i>Figura</i>	<i>Referencia</i>
1a	Santanina *** (45)	055	234	-*	3.4.12	-
1b	α-Isoesparteína (29)	0,60	234	-*	3.4.8	Balandrin 1982; Wink 1995
1	Esparteína (30)	0,66	234	0,45	3.4.2	Balandrin 1982; Wink 1995
2	4- hidroxiesparteína (44)	0,86	250	1,66	3.4.12	Balandrin 1982
3	Lupanina (8)	1,0	248	0,96	3.4.2	Wink 1995; Herrera 2004
4	Lupanocosmina (5)	1,35	357	10,01	3.4.4	Trevisan 2002
5	Dasicarpumina (6)	1,37	327	1,28	3.4.4	Trevisan 2002
6	Isodasinina *** (46)	1,40	357	0,92	3.4.5	-
7	Acosmina (3)	1,57	357	23,42	3.4.6	Balandrin 1982 Trevisan 2002
8	N.I**.	1,65	357	0,66	-	-
9	Acosminina (4)	1,99	373	58,76	3.4.6	Balandrin 1982 Trevisan 2002

\* Traços \*\* Não Identificado \*\*\* Não descrito na literatura

Balandrin (1982), descreve que não é possível distinguir a 4α-hidroxiesparteína (**58**) do seu epímero 4β-hidroxiesparteína (**59**) por CG-EM, por isso esse alcalóide está descrito na tabela acima, como 4-hidroxiesparteína (**44**).



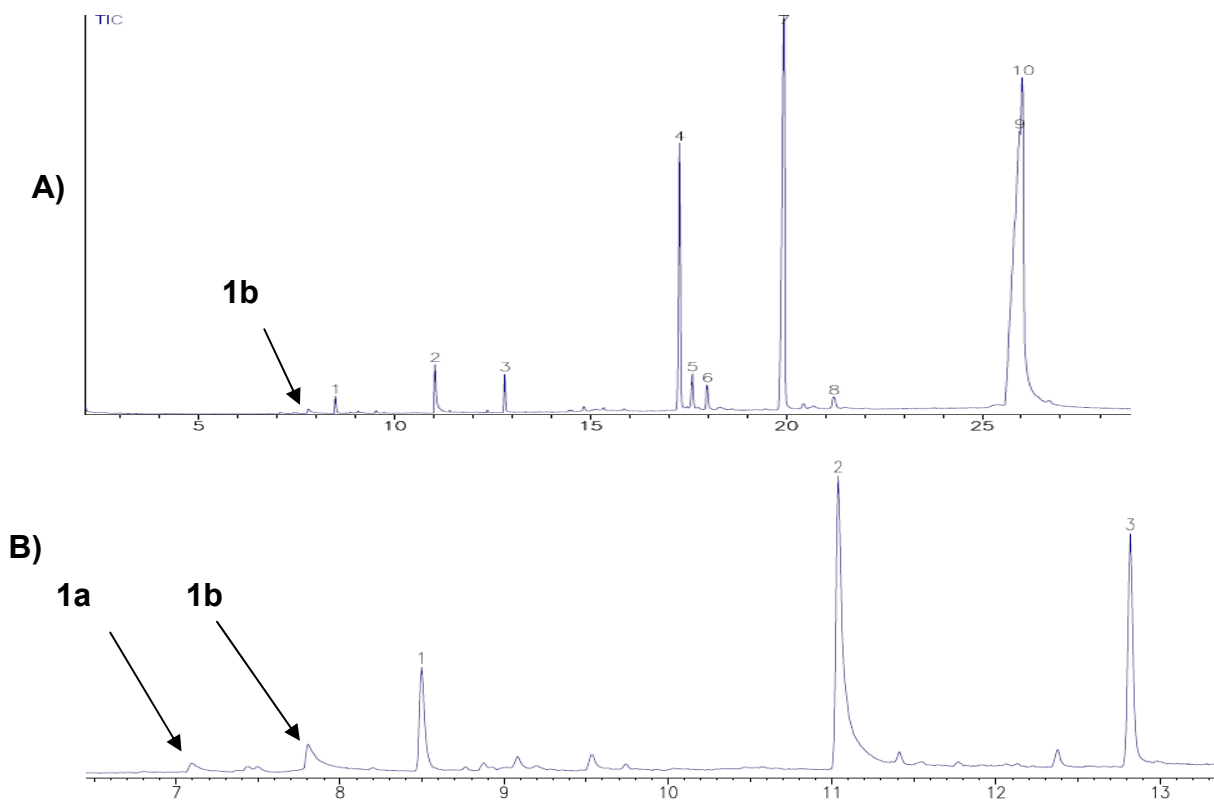


FIGURA 3.4.11 - **A)** Cromatograma da fração MCA. **B)** Cromatograma ampliado.

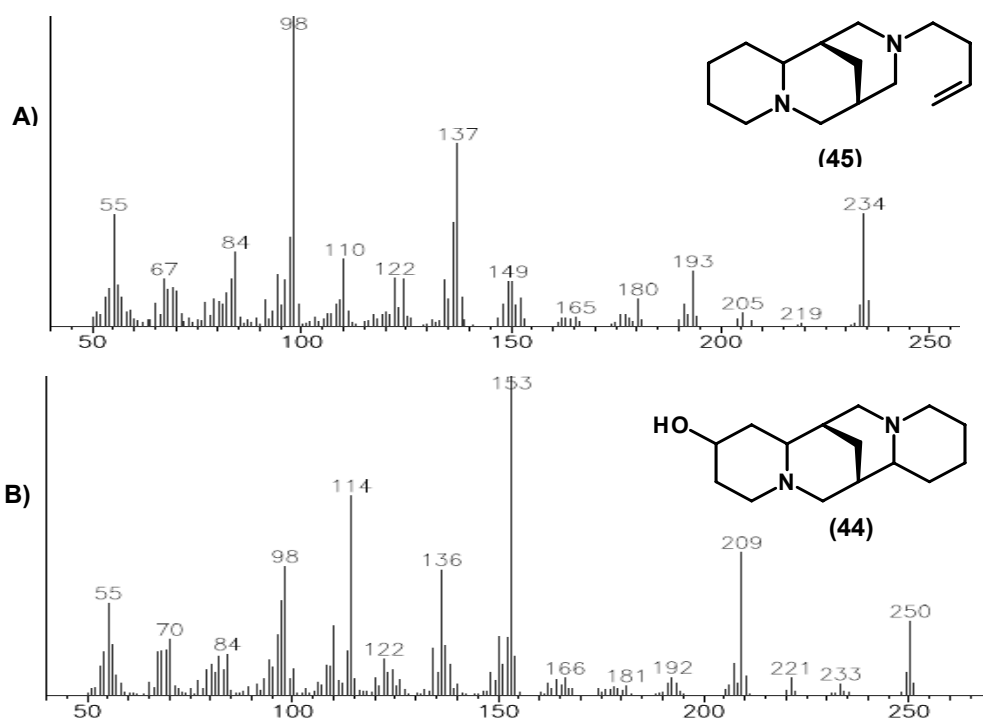


FIGURA 3.4.12 – **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da santanina (**45**).

**B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da 4-hidroxiesparteina (**44**).

## 3.4.4 – Análise da fração MCE.

A análise por CG-EM da fração MCE, e revelou a presença de 15 componentes, onde duas substância não foram identificadas e duas, com a possível estrutura proposta, não foram encontrados relatos na literatura. O cromatograma de MCE está mostrado na FIGURA 3.4.13, a relação das substâncias identificadas na TABELA 3.4.4. e o espectros de massas na FIGURAS 3.4.2, 3.4.4, 3.4.5, 3.4.6, 3.4.8, e 3.4.12 e 3.4.14

TABELA 3.4.4 - Relação de AQ encontrados na fração MCE

	<i>Compostos</i>	<i>RR<sub>t</sub></i>	<i>M<sup>+</sup></i>	<i>% Relativo</i>	<i>Figura</i>	<i>Referencia</i>
1 <sup>a</sup>	Santanina ***(45)	0,55	234	-*	3.4.12	-
1b	α-Isoesparteína (29)	0,60	234	-*	3.4.8	Balandrin 1982; Wink 1995
1	Esparteína (30)	0,66	234	0,51	3.4.2	Balandrin 1982; Wink 1995
1c	β-Isoesparteína (31)	0,70	234	-*	3.4.14	Balandrin 1982; Wink 1995
1d	Ammodendrina (49)	0,74	208	-*	3.4.14	Wink 1995
2	4- hidroxiesparteína (44)	0,86	250	1,61	3.4.12	Balandrin 1982
3	N.I**	0,96	306	0,10	-	-
4	Lupanina (8)	1,0	248	1,09	3.4.2	Wink 1995; Herrera 2004
5	Lupanocosmina (5)	1,35	357	11,65	3.4.4	Trevisan 2002
6	Dasicarpumina (6)	1,37	327	1,15	3.4.4	Trevisan 2002
7	Isodasinina*** (46)	1,40	357	1,10	3.4.5	-
8	Acosmina (3)	1,57	357	26,19	3.4.6	Balandrin 1982; Trevisan 2002
8a	Panascomina (9)	1,60	341	-	3.4.6	Nuzillard <i>et al.</i> 1999; Trevisan 2002
9	N.I**	1,65	357	0.83	-	-
10	Acosminina (4)	1,99	373	55,79	3.4.6	Balandrin 1982 Trevisan 2002

\* Traços \*\* Não Identificado \*\*\* Não descrito na literatura

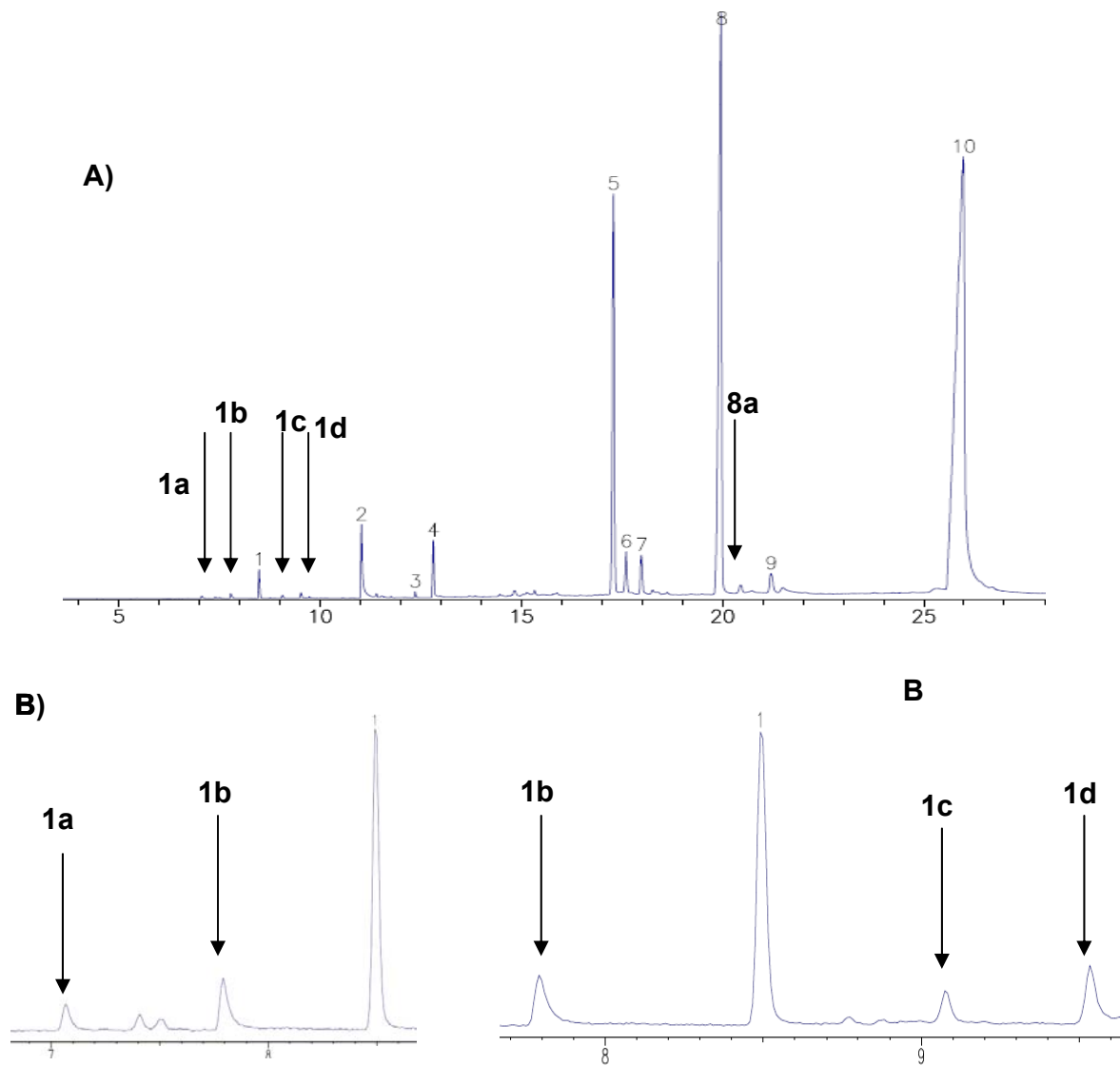


FIGURA 3.4.13 - A) Cromatograma da fração MCE. B) Cromatograma ampliado

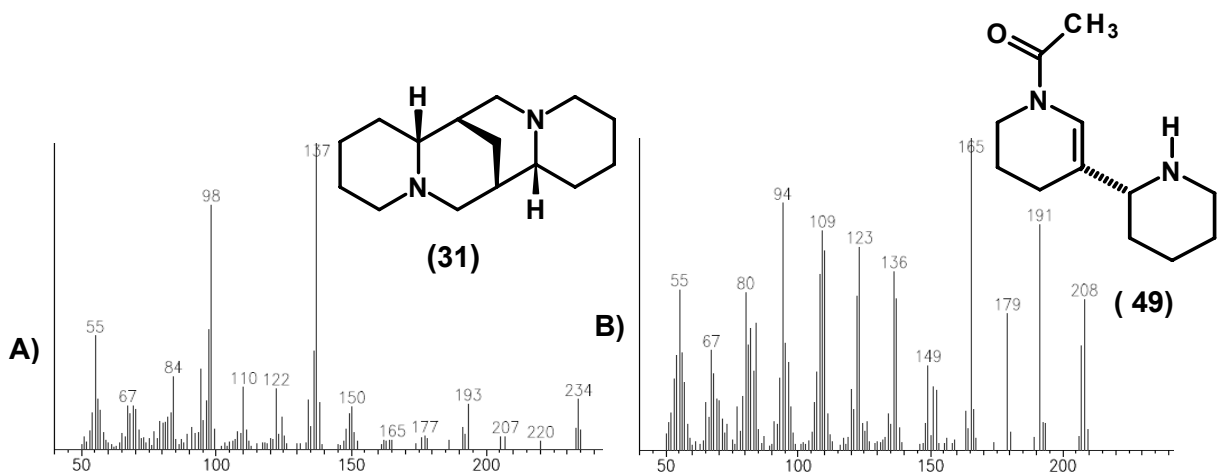


FIGURA 3.4.14 - **A)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da  $\beta$ -Isoesparteina (**31**). **B)** Espectro de massas (IE = 70 ev) da Amodendrina (**49**).

## 3.4.5 – Análise da fração MEA

A análise por CG-EM da fração MEA, revelou a presença de 16 componentes, onde duas substâncias não foram identificadas e duas, com a possível estrutura proposta, não foram encontradas relatos na literatura. O cromatograma de MEA está mostrado na FIGURA 3.4.15, a relação das substâncias identificadas na TABELA 4.4.5. e os espectros de massas na FIGURA 3.4.2, 3.4.3, 3.4.4, 3.4.5, 3.4.6 e 3.4.16.

TABELA 3.4.5. - Relação de AQ encontrados na fração MEA

	<b>Compostos</b>	<b>RR<sub>t</sub></b>	<b>M<sup>+</sup></b>	<b>% Relativo</b>	<b>Figura</b>	<b>Referencia</b>
1	Esparteina (30)	0,66	234	0,29	3.4.2	Balandrin 1982; Wink 1995
2	Lupanina (8)	1,0	248	0,16	3.4.2	Wink 1994; Herrera 2004
3	6-epipodopetalina (41)	1,15	315	7,18	3.4.2	Balandrin 1982
4	N.I.*	1,18	315	0,92	-	-
5	Podopetalina (35)	1,192	315	0,69	3.4.16	Balandrin 1982
6	Ormosanina (37)	1,198	317	0,48	3.4.16	Balandrin 1982; Torrenegra <i>et al.</i> 1989
7	Homo-18-Epiamazonina (34)	1,23	327	1,04	3.4.3	Balandrin 1982;
8	Homopodopetalina (36)	1,30	327	0,15	3.4.3	Balandrin 1982; Kinghorn <i>et al.</i> 1988
9	Homopiptantina (43)	1,33	329	0,18	3.4.3	Balandrin 1982; Torrenegra <i>et al.</i> 1989
10	Lupanocosmina (5)	1,35	357	35,87	3.4.4	Trevisan 2002
11	Mistura <sup>1</sup>	-	-	0,46	-	-
12	Isodasinina** (46)	1,40	357	2,48	3.4.5	-
13	N.I.*	1,425	375	0,33	-	-
14	Dasinina ** (47)	1,43	357	0,43	3.4.6	-
15	Acosmina (3)	1,57	357	48,48	3.4.6	Balandrin 1982; Trevisan 2002
16	Panascomina (9)	1,60	341	0,87	3.4.6	Nuzillard <i>et al.</i> 1999; Trevisan 2002

<sup>1</sup> Mistura Lupanocosmina + dasicarpumina \* Não Identificado \*\* Não descrito na literatura

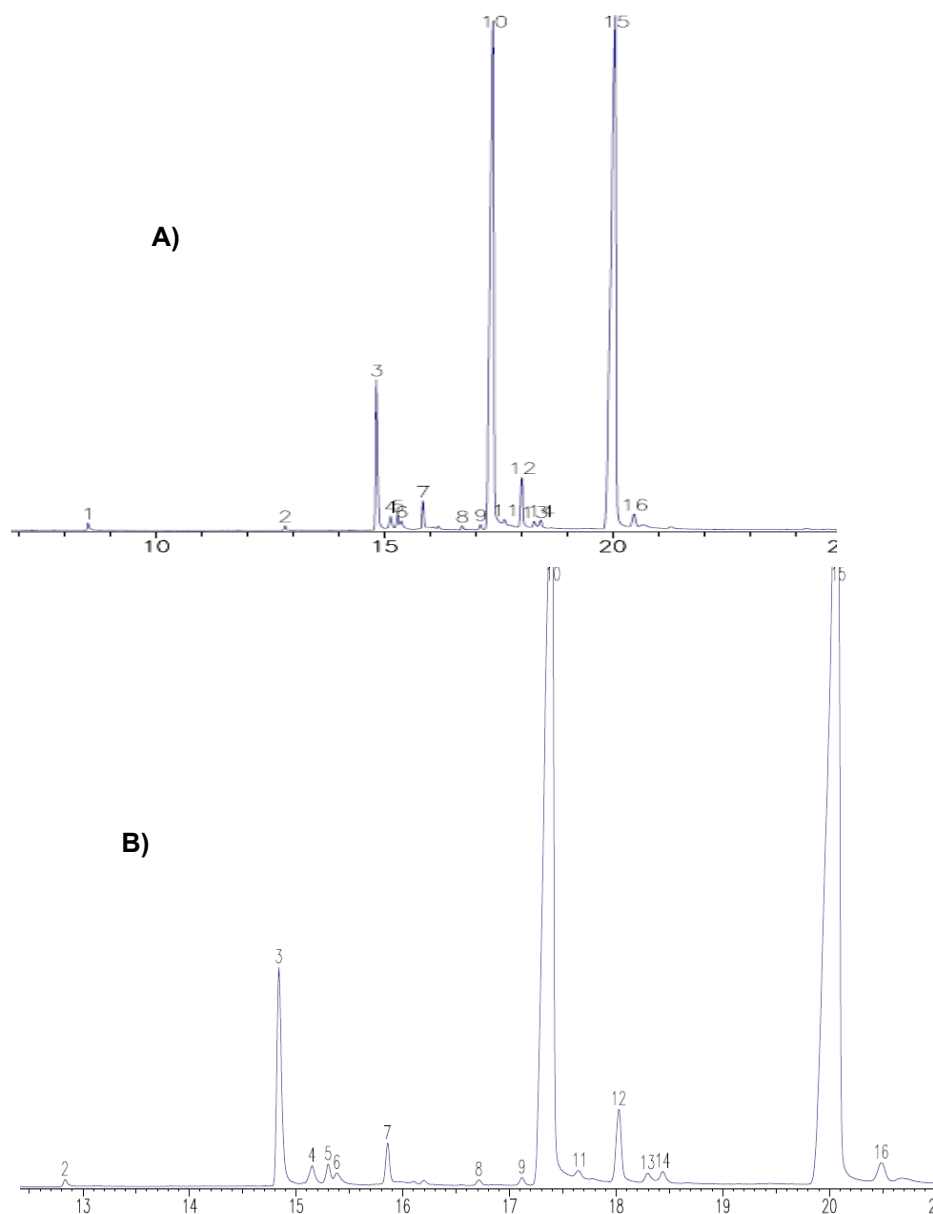


FIGURA 3.4.15 - A) Cromatograma da fração MEA. B) Cromatograma ampliado

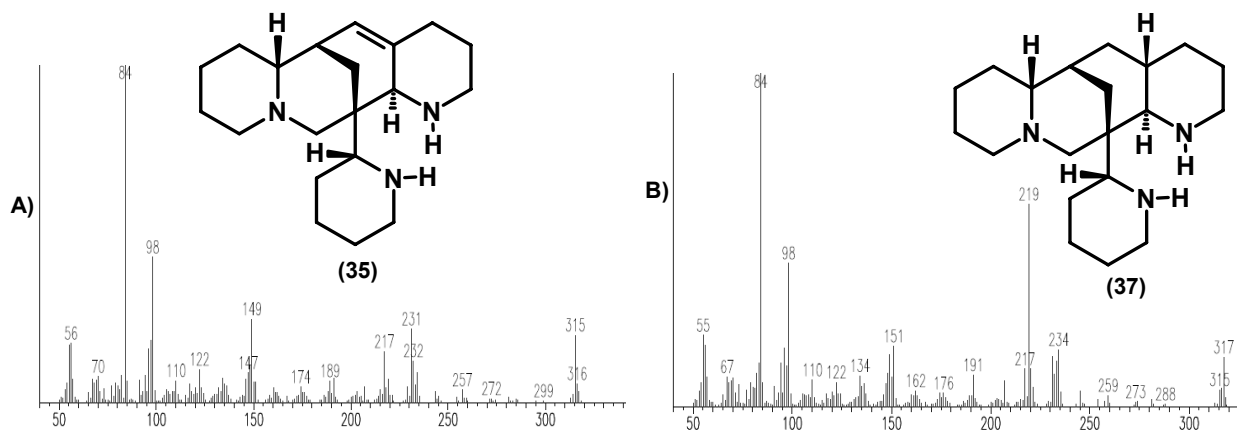


FIGURA 3.4.16 – A) Espectro de massas (IE = 70 eV) da Podopetalina (35).

B) Espectro de massas (IE = 70 eV) da Ormosanina (37).



## 3.4.6 – Análise da fração MEE

A análise por CG-EM da fração MEE, revelou a presença de 19 componentes, onde uma substância não identificada e três, com a possível estrutura proposta, não foram encontrados relatos na literatura. O cromatograma está de MEE está mostrado na FIGURA 3.4.17 e a relação das substâncias identificadas na TABELA 3.4.6.

TABELA 3.4.6. - Relação de AQ encontrados na fração MEE

	<i>Compostos</i>	<i>RR<sub>t</sub></i>	<i>M<sup>n</sup></i>	<i>% Relativo</i>	<i>Figura</i>	<i>Referencia</i>
1	Esparteina (30)	0,66	234	0,56	3.4.2	Balandrin 1982; Wink 1995.
2	Lupanina (8)	1,0	248	0,27	3.4.2	Wink 1995; Herrera 2004.
3	6-epipodopetalina (41)	1,15	315	9,29	3.4.2	Balandrin 1982
4	18-epipiptantina (39)	1,17	317	0,78	3.4.3	Balandrin 1982; Guimarães 2003.
5	Podopetalina (35)	1,192	315	1,09	3.4.16	Balandrin 1982.
6	Ormosanina (37)	1,198	317	0,68	3.4.16	Balandrin 1982; Torrenegra <i>et al.</i> 1989.
7	Homo-18-Epiamazonina (34)	1,23	327	2,78	3.4.3	Balandrin 1982;
8	N.I.*	1,24	326	0,10	-	-
9	Homosweetinina (1)	1,26	327	0,41	3.4.10	Balandrin 1982.
10	Homopodopetalina (36)	1,30	327	0,39	3.4.3	Balandrin 1982; Kinghorn <i>et al.</i> 1988
11	Homopiptantina (43)	1,33	329	0,50	3.4.3	Balandrin 1982; Torrenegra <i>et al.</i> 1989.
12	Lupanocosmina (5)	1,35	357	30,75	3.4.4	Trevisan 2002.
13	Mistura <sup>1</sup>	-	-	0,58	-	-
14	Isodasinina** (46)	1,40	357	3,63	3.4.5	-
15	Dasicosmina** (48)	1,42	343	0,58	3.4.5	-
16	Dasinina** (47)	1,43	357	0,41	3.4.6	-
17	Acosmina (3)	1,55	357	43,58	3.4.6	Balandrin 1982; Trevisan 2002.
18	Panascomina (9)	1,59	341	1,62	3.4.6	Nuzillard <i>et al.</i> 1999; Trevisan 2002.
19	Acosminina (4)	1,99	373	2,0	3.4.6	Balandrin 1982; Trevisan 2002.

<sup>1</sup> Mistura Lupanocosmina + dasicarpumina \* Não Identificado \*\* Não descrito na literatura

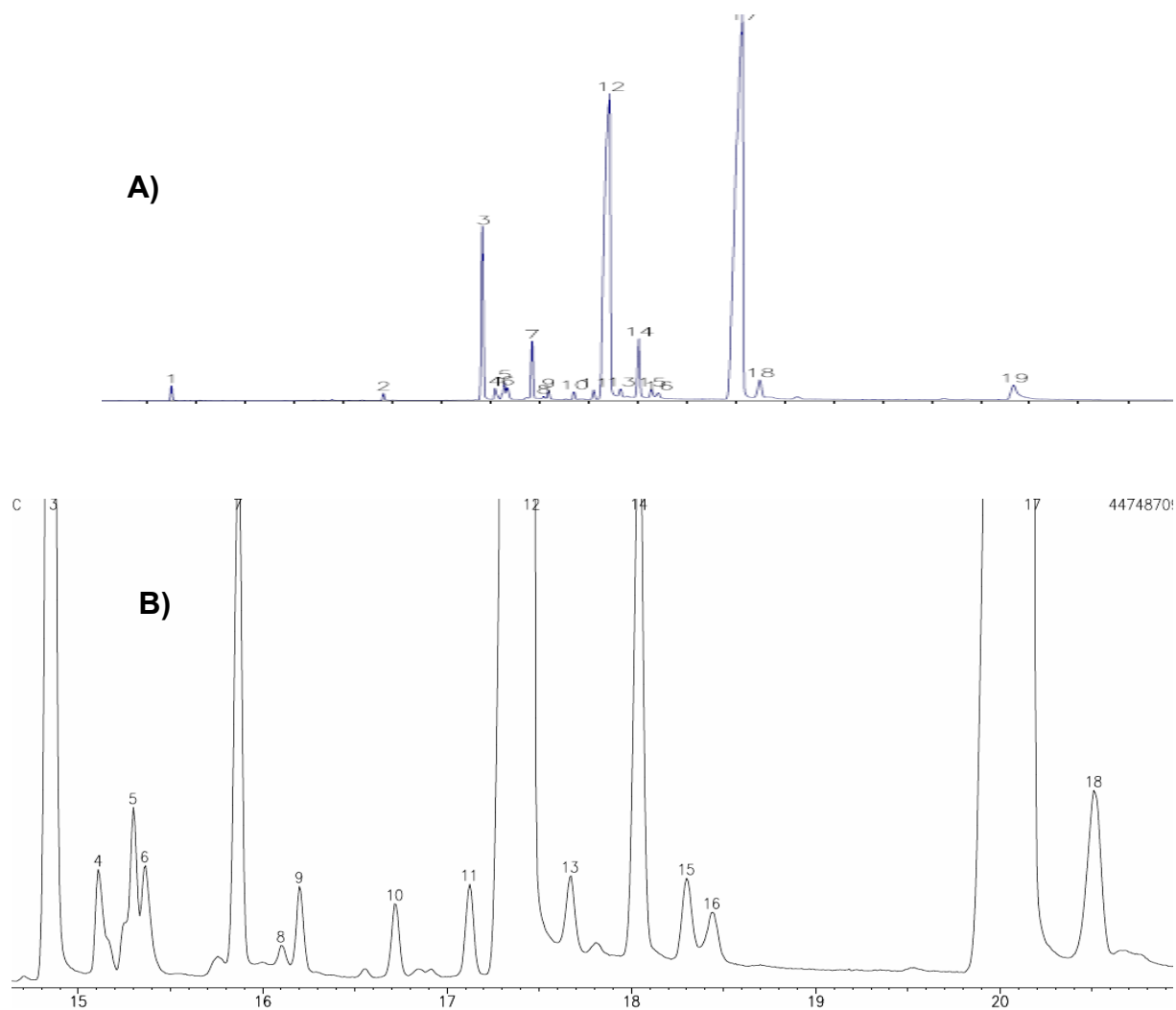


FIGURA 3.4.17 - A) Cromatograma da fração MEE. B) Cromatograma ampliado

### 3.4.7 – Resultados.

Na análise dos extratos diclorometânicos e metanólicos da casca da raiz da *Acosmium dasycarpum* por CG-EM, foram identificados 30 alcalóides quinolizidínicos onde 10 apresentam o esqueleto lupínico (8, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 44 e 45), 11 alcalóides com esqueletos ormosínicos (1, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 e 43), 6 acosmínicos (3, 4, 5, 46, 47 e 48), 2 pertence a classe dos diazaadamantanos (6 e 9) e um bipiperidínico (49).

Esta técnica possibilitou identificar substâncias presentes nos extratos em quantidades muito pequenas (traços).

Os alcalóides santanina (45), isodasinina (46), dasinina (47) e dasicosmina (48), a primeira pertencente a classe dos alcalóides lupínicos e as três últimas com esqueleto acosmínicos, são substâncias inéditas, estão sendo relatadas pela primeira vez. A relação estereoisoméricas das mesmas só poderá ser estabelecida, por cristalografia de raios-X. Os dados de EM estão na TABELA 3.4.7

TABELA 3.4.7 – Dados de EM dos alcalóides quinolizidínicos analisado por CG-EM

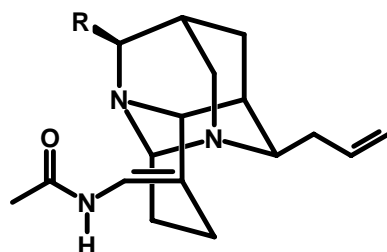
Composto	$M^+$	Íons característicos (abundancia relativa em %)				
Santanina (45)	234	98 (100)	193 (26)	234 (18)	149 (7)	84 (8)
$\alpha$ -isoesparteina (29)	234	98 (100)	137 (58)	234 (41)	149 (23)	193 (17)
Esparteina (30)	234	98 (100)	137 (93)	193 (42)	110 (27)	134 (25)
5,6-dihidroesparteina (32)	232	97 (100)	134 (90)	232 (88)	122 (54)	149 (53)
$\beta$ -isoesparteina (31)	234	137 (100)	98(81)	234 (20)	110 (18)	193 (16)
Amodendrina (49)	208	165 (100)	191 (80)	94 (80)	109 (73)	123 (69)
4-hidroxiesparteina (44)	250	153(100)	114 (68)	209 (53)	136 (41)	250 (32)
N-metilangustifolina (28)	N.O.	207 (100)	112 (46)	94 (12)	84 (8)	-
Lupanina (8)	248	136 (100)	149 (59)	248 (51)	98 (33)	110 (29)
Afilina (33)	248	136 (100)	96 (52)	84 (38)	220 (33)	110 (24)
Multiflorina (27)	246	134 (100)	246 (72)	149 (43)	110 (41)	189 (26)
6-epipodopetalina (41)	315	84 (100)	98 (51)	231 (47)	149 (45)	315 (28)
18-epiptantina (39)	317	84 (100)	98 (30)	234 (28)	151 (15)	317 (7)
Piptantina (42)	317	84 (100)	98 (29)	234 (26)	151 (19)	317 (1)
Podopetalina (35)	315	84 (100)	98 (41)	149 ( 22)	231 (23)	315 (21)
Ormosanina (37)	317	84 (100)	219 (62)	98 (40)	151 (22)	317 (20)
Homo18-epiamazonina (34)	327	327 (100)	98 (96)	229 (72)	84 (68)	243 (53)
Homoormosanina (38)	329	231 (100)	246(97)	84 (97)	98 (93)	329 (89)
Homosweetinina (1)	327	98 (100)	229 (72)	84 (72)	327(57)	122 (43)
Homo18-epiptantina (40)	329	84 (100)	329 (97)	231(68)	98 (67)	246 (64)
Homopodopetalina (36)	327	98 (100)	327 (65)	229 (62)	207 (52)	84(57)
Homopiptantina (43)	329	231(100)	84 (89)	329 (83)	246(63)	98(61)
Lupanocosmina (5)	357	316(100)	138 (47)	96 (42)	84 (9)	357 (2)
Dasicarpumina (6)	327	286(100)	109 (21)	151 (19)	327 (13)	-
Isodasinina (46)	357	84 (100)	138 (87)	316 (84)	233 (73)	96 (70)
Dasicosmina (48)	343	302 (100)	138 (93)	84 (91)	96(85)	122 (48)
Dasinina (47)	357	233 (100)	164 (73)	122 (36)	316 (33)	138 (31)
Acosmina (3)	357	138 (100)	84(74)	96( 73)	221 (51)	357 ( 38)
Panascosmina (9)	341	300 (100)	257 (26)	341 (25)	138 (25)	96 (24)

**BIOGÊNESE DE ALCALÓIDES  
QUINOLIZIDÍNICOS**

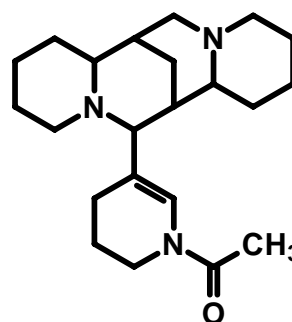
### 3.5 – Introdução.

São conhecidos mais de 200 alcalóides quinolizidínicos de ocorrência natural, eles representam cerca de 2% dos 10000 alcalóides conhecidos na natureza (SAGEN 2002). Os alcalóides da classe quinolizidínico são encontrados em bactéria, fungos, plantas e animais vertebrados e invertebrados (SAITO 1995).

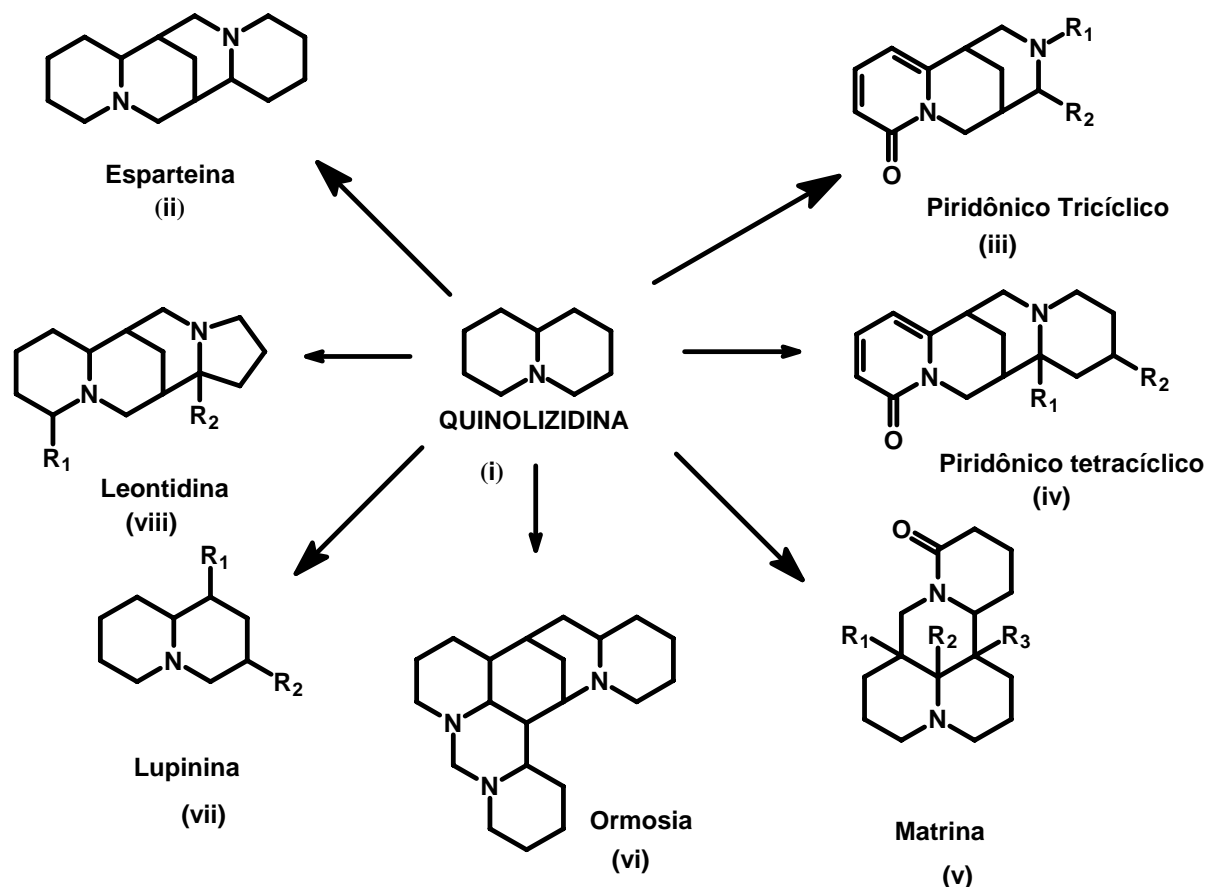
A ocorrência de alcalóides quinolizidínicos em plantas é restrita a família Fabaceae e são encontrados apenas nas 10 tribos mais primitivas (KINGHORN *et al* 1988). Mais de 120 estruturas destes alcalóides já foram isoladas e caracterizadas em mais de 35 gêneros (KINGHORN *et al.* 1982). Estão divididos em dois grupos: alcalóides do tipo lupínico, com estrutura baseada em um esqueleto tetracíclico (*ii*) e alcalóides pentacíclicos do tipo ormosínico (*vi*) (DORÉ *et al.* 1995) (ESQUEMA 3.5.1). Os alcalóides com esqueleto diazaadamantano (*ix*) e acosmínico (*x*) não estão incluídos nessa classificação, provavelmente, porque o primeiro só foi relatado, na literatura (NUZILLARD *et al.* 1999) e o segundo embora tenha sido isolado em 1982 por Balandrin, mas não foi publicado em uma literatura especializada, conforme descreveu Michael (2001).



(ix)



(x)



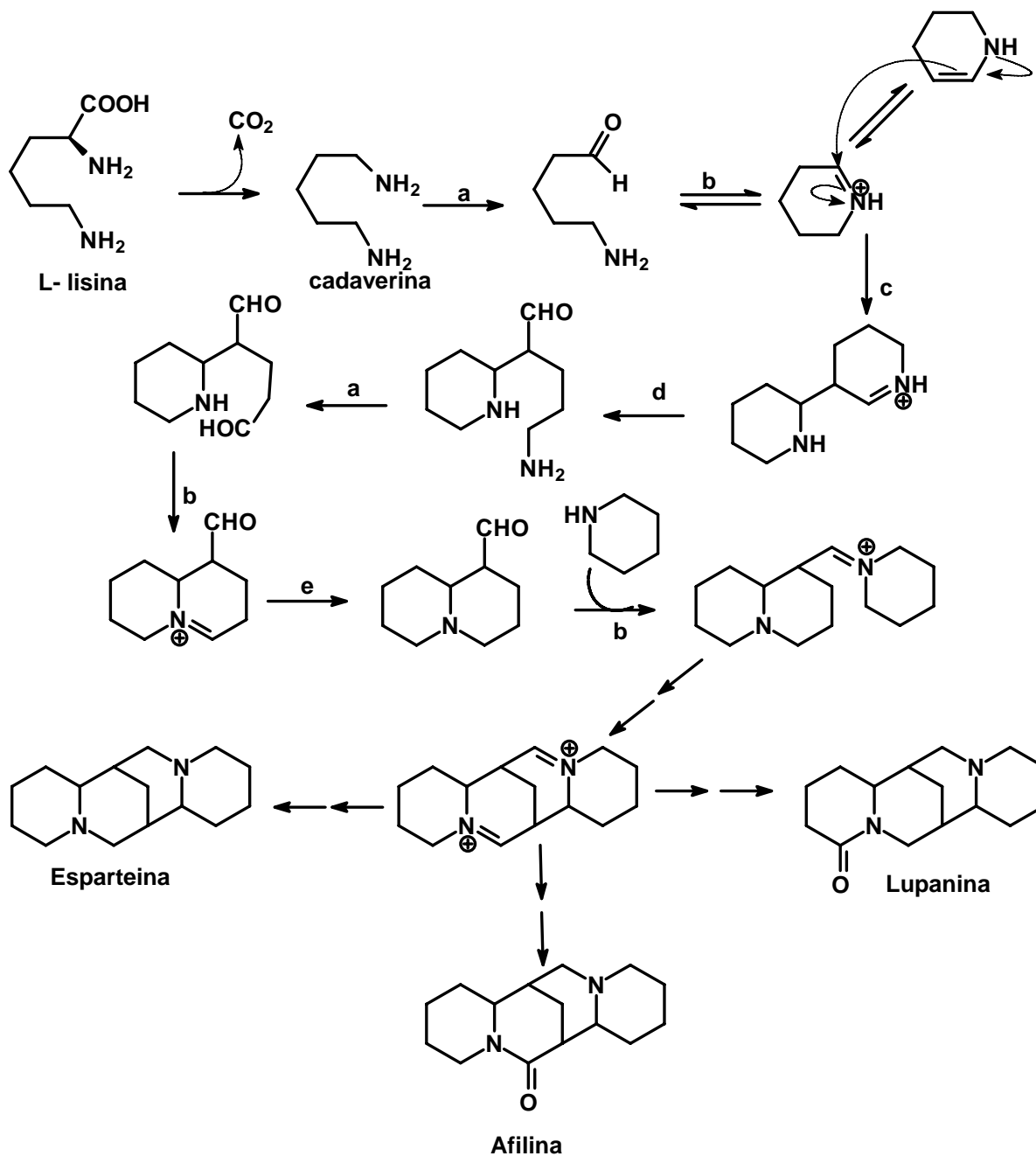
ESQUEMA 3.5.1 Diferentes tipos de alcalóides quinolizidínicos de Fabaceae  
(DORÉ *et al.* 1995)

### 3.5.1 – Biogênese de AQ com esqueleto esparteínico.

A lisina e seu produto de descarboxilação, a cadaverina é o precursor para os alcalóides bi e tetracíclico, que foi confirmado por Spenser (1988) utilizando cadaverina marcada com deutério, carbono-13 e N-15. Porém, detalhes do processo que envolve a construção de alcalóides quinolizidínicos tetracíclicos ainda não são bem esclarecidos (WINK 1987). São necessárias três unidades de cadaverina para produzir alcalóides tetracíclicos do tipo esparteínico (SPENSER 1985). O cátion diiminio é proposto como um intermediário na biossíntese dos alcalóides tetracíclicos (ESQUEMA 3.5.2) (DEWICK. 2004). Porém Geissman (1969) propõe como possível rota biogenética para a esparteína, o cátion iminio como intermediário (ESQUEMA 3.5.3).

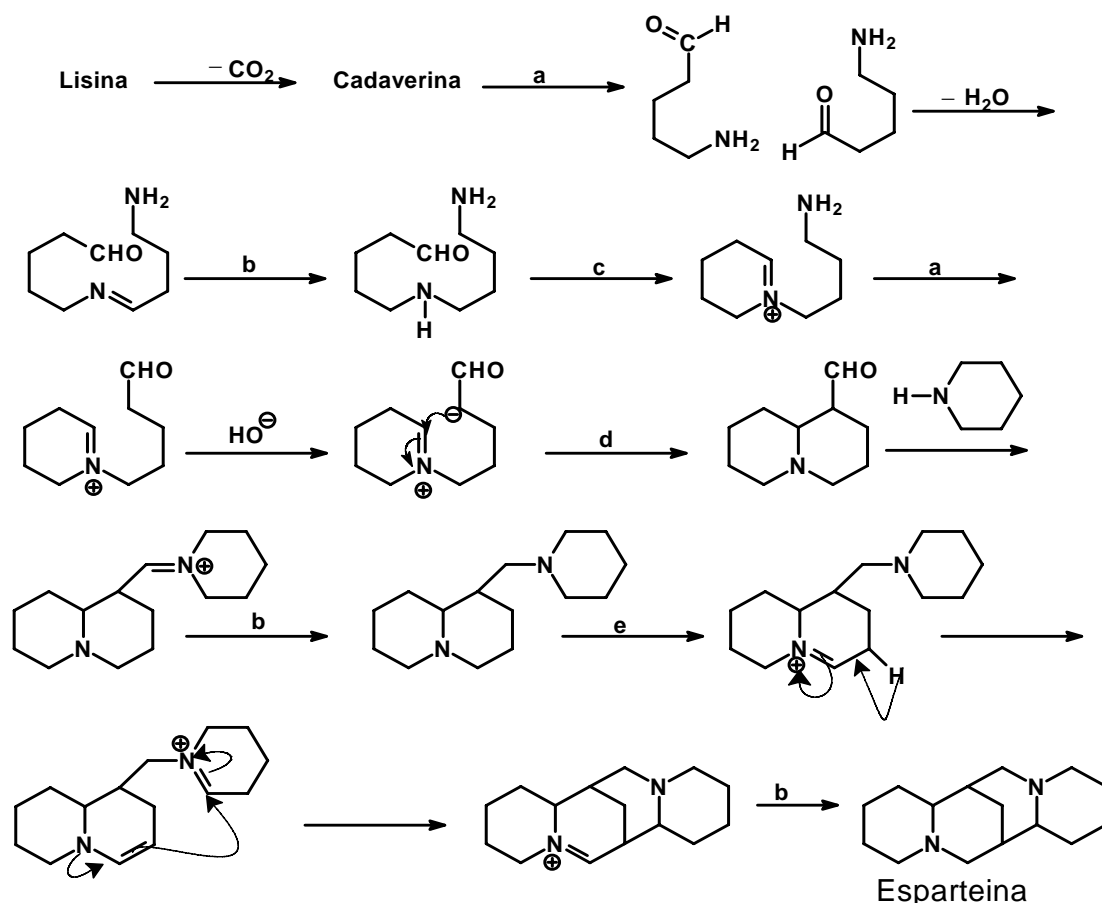
Não há ainda uma definição, se a esparteína ou lupanina é o primeiro alcalóide tetracíclico a ser formado. Esparteína é quimicamente o alcalóide tetracíclico mais primitivo e é considerado por muitos autores (SAGEN 2002) como

precursor para a lupanina e outros alcalóides quinolizidínicos. Entretanto a lupanina é o mais amplamente distribuído no reino vegetal, e há varias espécies onde a lupanina é encontrada e a esparteina não se faz presente (WINK 1987).



ESQUEMA 3.5.2 - Possível rota biogênica para o esqueleto esparteínico

a) diamina oxidase b) formação de base de Schiff c) reação de condensação entre uma enamima e um imínio d) retro Mannich e) redução

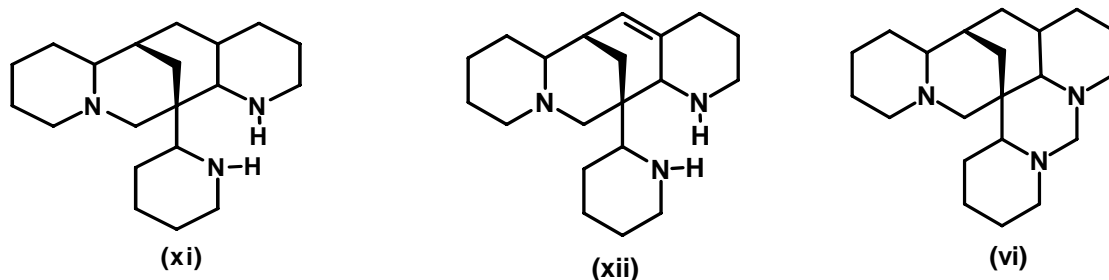


ESQUEMA 3.5.3 - Possível rota biogénica para a esparteina.

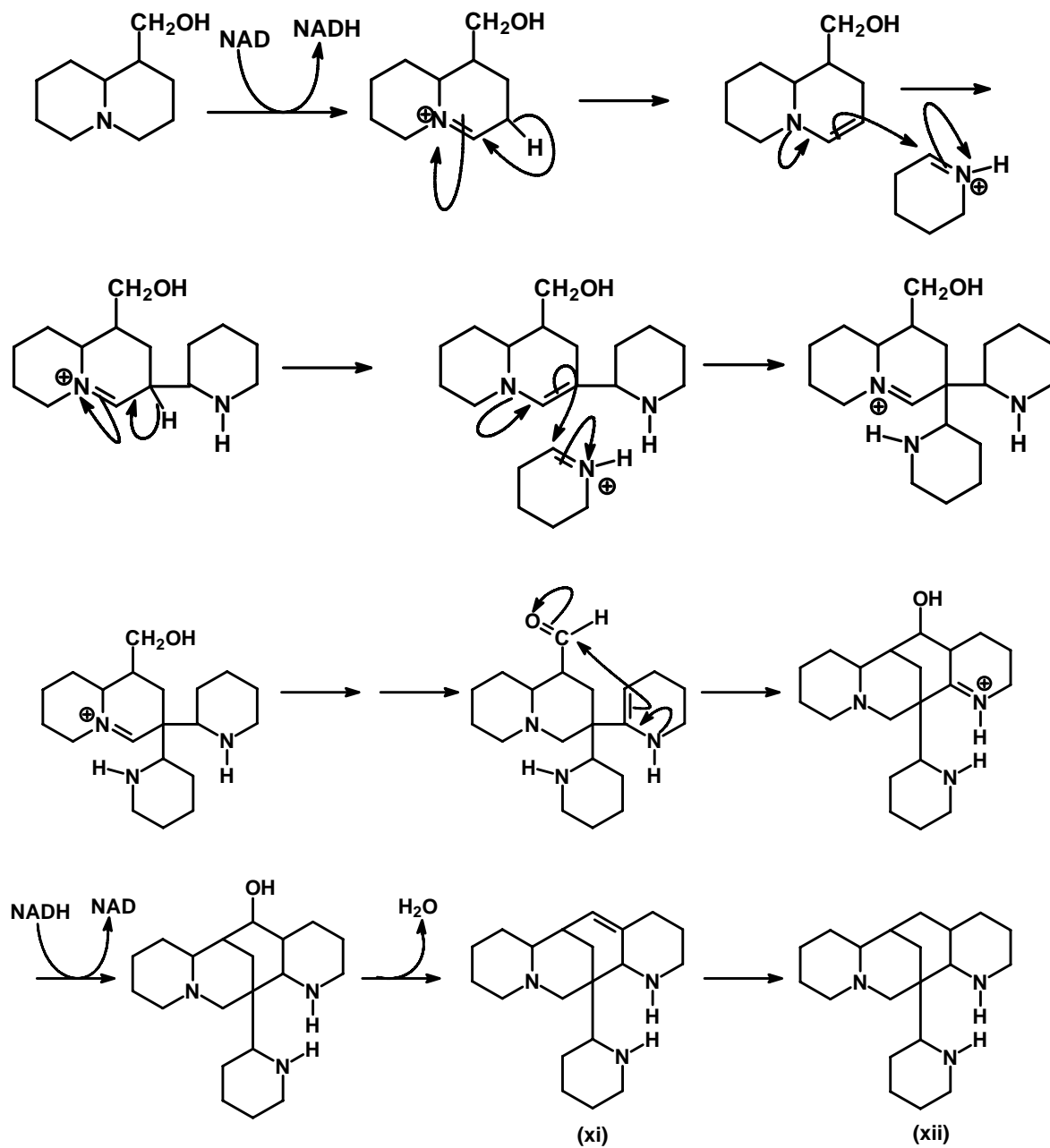
a) diamina oxidase b) redução c) formação de base de Schiff d) reação de condensação de Mannich e) oxidação

### 3.5.2 – Biogênese de AQ com esqueleto ormosínico.

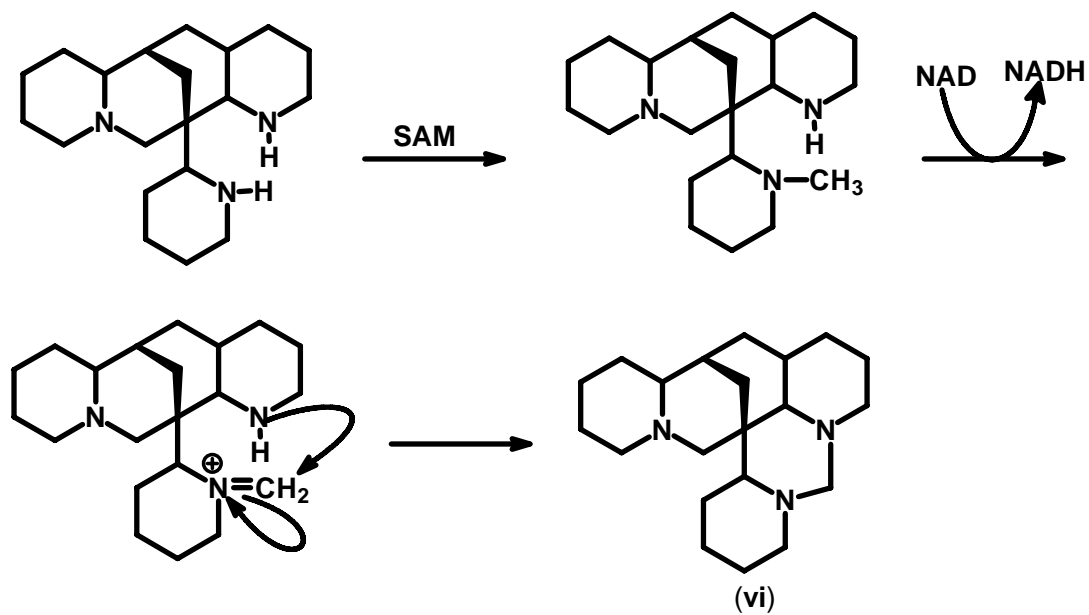
Os alcalóides quinolizidínicos com esqueleto ormosínico são alcalóides pentacíclico (xi e xii) e hexacíclicos (xiii) e são necessários 4 unidades de cadaverina para a sua formação. O provável caminho biossintético para (xi) foi proposto por Geissman (1969) (ESQUEMA 3.5.4). O alcalóide (xi) é precursor de (vi) através da formação de ponte berberínica (ESQUEMA 3.5.5).







ESQUEMA 3.5.4 – Possível rota biogénica para o esqueleto ormosínico.

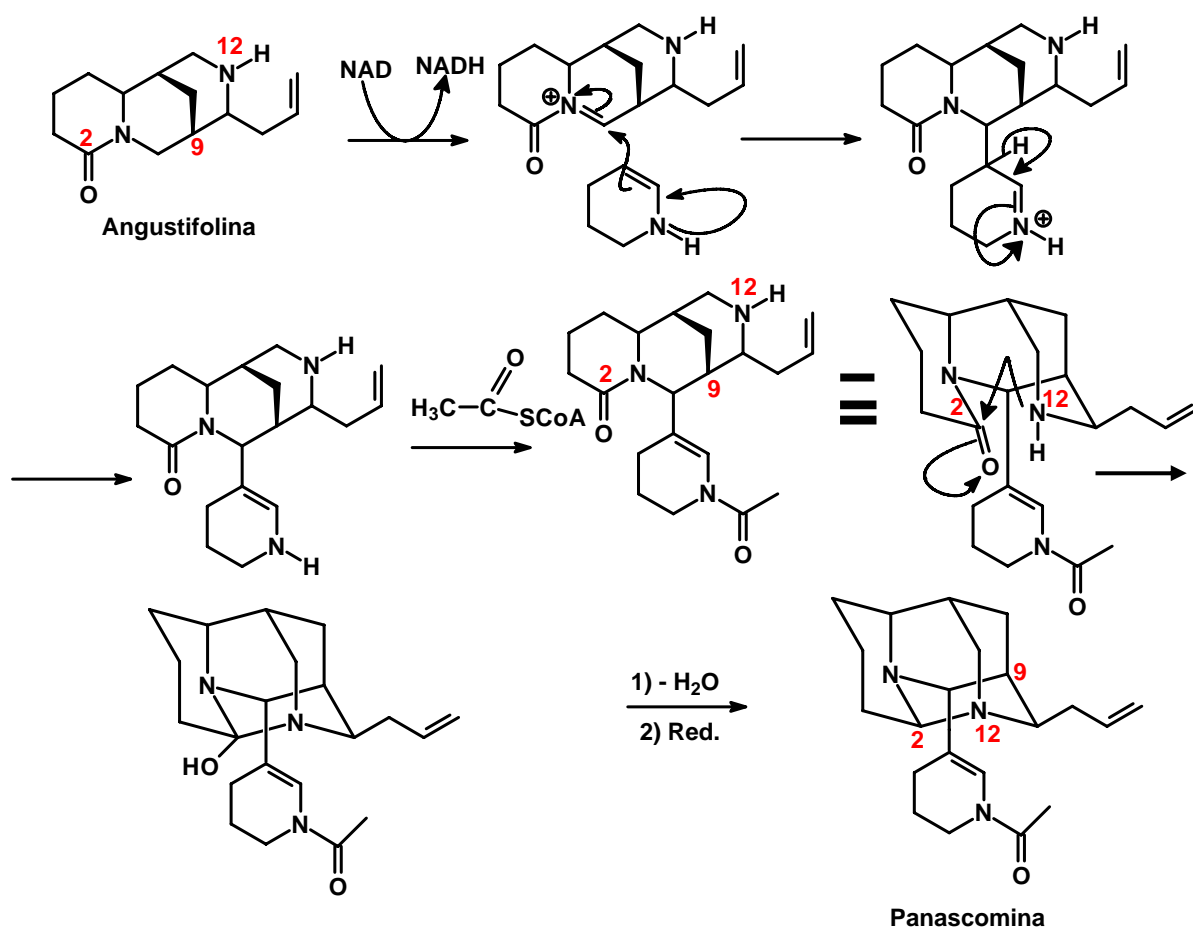


ESQUEMA 3.5.5 – Possível rota biogenética para o esqueleto ormosínico hexacíclico

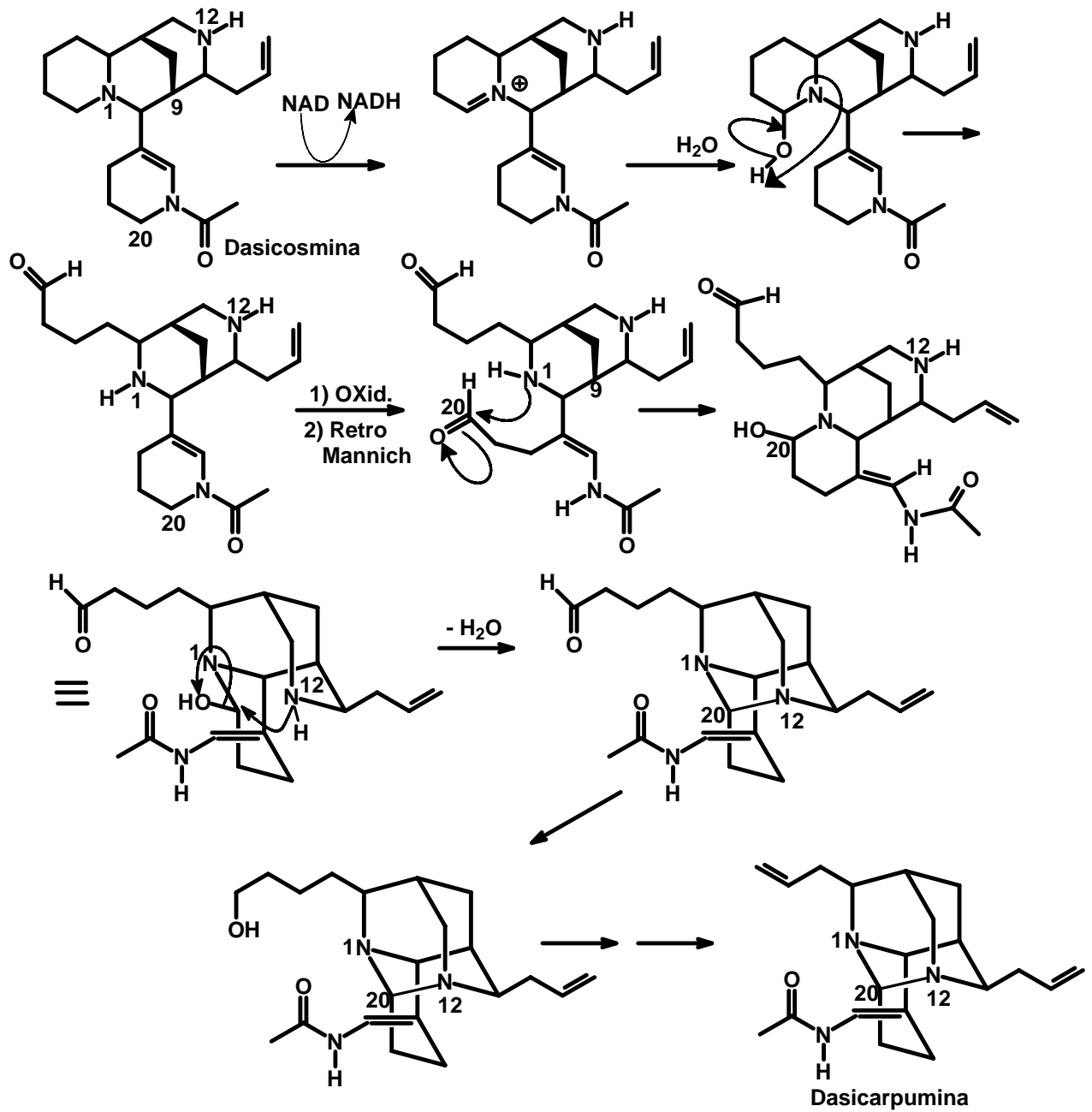
### 3.5.3 – Biogênese de AQ com esqueleto diazaadamantano

Panascomina é um alcalóide quinolizidínico com esqueleto diazaadamantano, que tem como origem biossintética a angustifolina (MICHAEL 2001), com a incorporação de uma unidade de cadaverina, seguida de acetilação. O núcleo diazaadamantano é formado quando se faz a união C-2/N-12 (ESQUEMA 3.5.6).

É possível que o alcalóide quinolizidínico, dasicarpumina, tenha como origem biossintética a dasicosmina, onde ocorre a união entre N-1/C-20 e C-20/N-12, para formar o núcleo diazaadamantano (ESQUEMA 3.5.7)



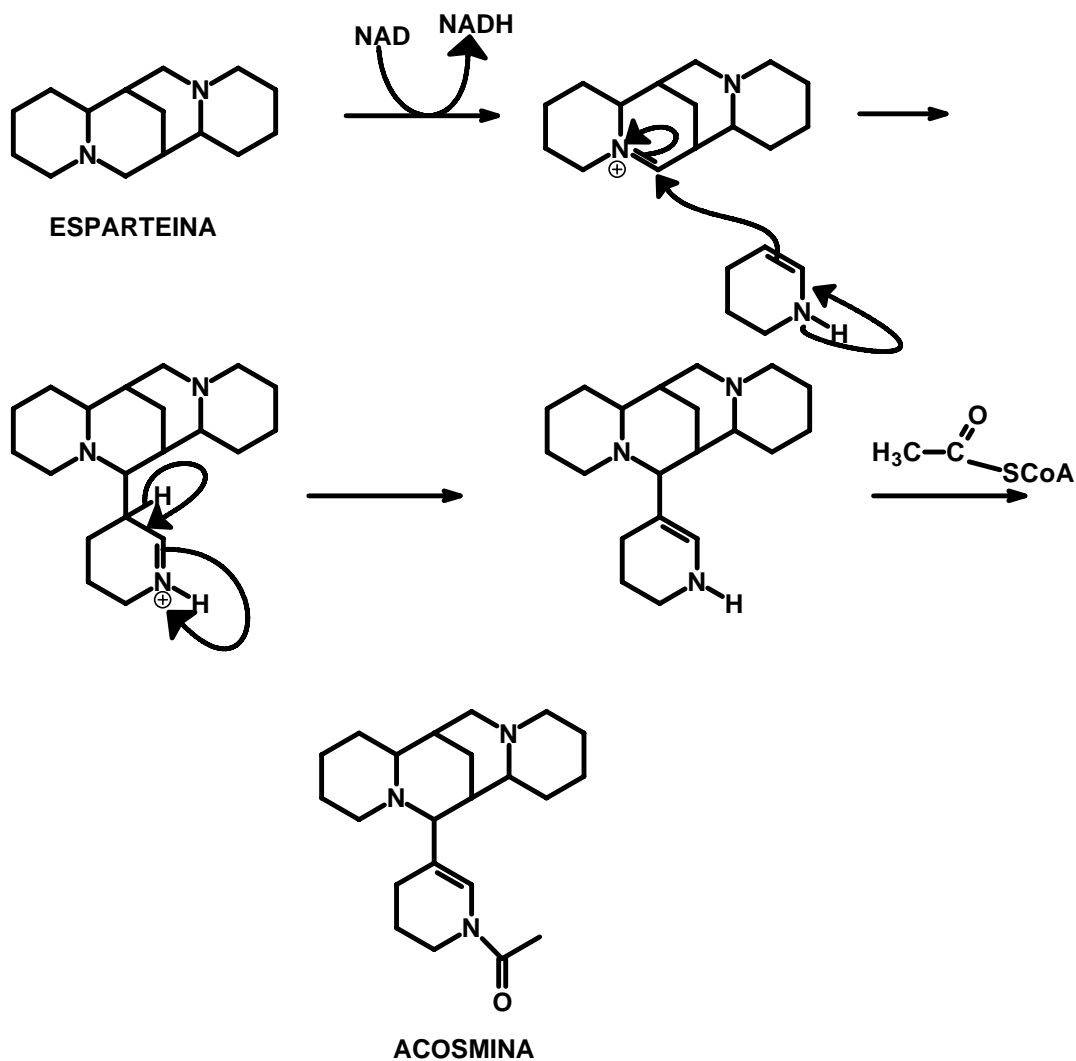
ESQUEMA 3.5.6 – Possível rota biogenética para a panascomina.



ESQUEMA 3.5.7 - Possível rota biogenética para a dasicarpumina.

## 3.5.4 – Biogênese de AQ com esqueleto acosmínico

Os alcalóides quinolizidínicos do tipo acosmínico pode ter como precursor a esparteína, com a incorporação de uma unidade de cadaverina (ESQUEMA 3.5.8).



ESQUEMA 3.5.8 - Possível rota biogenética para a acosmina.

# **PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

## 4 – Procedimento Experimental

### 4.1 – Materiais e Métodos

#### Métodos Cromatográficos

Para o fracionamento das partições e frações foram utilizadas varias técnicas cromatográficas:

- Cromatografia de adsorção em coluna aberta (CC) utilizando como suporte gel de sílica 60 comum (70-230 mesh) e “flash” (230-400 mesh).
- Cromatografia de em camada delgada preparativa (CCDP), utilizando placa de vidro de 20x20 cm com espessura de camada de 1,5 mm, preparadas no próprio laboratório, utilizando como fase estacionaria sílica gel 60 F<sub>254</sub> – Merck, com revelador
- Cromatografia de exclusão em coluna (CEC) utilizando como suporte sephadex LH 20 da Amershan Pharmacia Biotech AB.
- Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizando sílica gel 60 F<sub>254</sub>, em folhas de alumínio.
- Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) coluna capilar DB5 (J&W), (30m x 0,25 mm, i.d.0,25), ionização por impacto eletrônico a 70 eV.

#### Reveladores

Como reveladores para CCDA foram utilizadas solução de vanilina em ácido sulfúrico, reagente de Dragendorff e câmara de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda 254 e 360 nm.

#### Solventes

Foram utilizados solventes comerciais destilados na sala de destilação do DQ-UFSCar e solventes deuterados para obtenção de espectros de RMN da Merck e Aldrich

Reagentes

- N-metil-N-nitroso-4-toluosulfonamida (Diazald®)
- KOH
- Éter etílico.
- Piridina PA
- Anidrido acético PA
- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> PA
- HCl
- NaOH

## 4.2 – Equipamentos

Espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear

- Bruker DRX 200 MHz
- Bruker ARX 400 MHz

Equipamento CG-EM

Os espectros de EM foram obtidos em aparelho CG-EM SHIMADZU modelo QP 5000.

Condições utilizadas para análise de alcalóide quinolizidínico.

- Rampa de temperatura: 150 °C (1min)/ 10 °C/min/ 250 °C (10 min)
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 280 °C

Condições utilizadas para análise da mistura de esteróides e dos triterpenos

- Rampa de temperatura: 150 °C (1min)/ 6 °C/min/ 280 °C (15 min)
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 280 °C



Condições utilizadas para análise de ésteres metílicos de ácidos graxos.

- Rampa de temperatura: 80 °C (1min)/ 8°C/min/ 250 °C (5 min)
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 280 °C

#### Evaporadores rotativos

Os extratos e frações foram concentrados em evaporadores rotativos Buchi modelo Rotavapor R-114, equipados com banhos BÜCHI B-480 e recirculador refrigerado NESLAB, modelo CFT-25 mantido a 5 °C e Rotavapor R-200 equipado com banho BÜCHI 461 e recirculador refrigerado NESLAB, modelo CFT-25 mantido a 5°C

### **4.3 – Material Botânico**

A planta foi coletada no município de Chapada dos Guimarães – MT, no km 1 da Rodovia Senador Vicente Bezerra Neto (Usina do Manso) em 02/2005. A ratificação taxonômica foi realizada pelo Instituto de Ciências Biológicas da UFMT, pela Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Miramy Macedo.

#### **4.3.1 – Obtenção dos extratos**

A casca da raiz de *A. dasycarpum*, foram separadas do cerne das raízes após a coleta, e foram secas em estufa com circulação de ar 45 °C, trituradas em moinho elétrico.

Os extratos foram obtidos por processos de maceração da casca da raiz em diferentes solventes, adicionados em ordem crescente de polaridade (hexano, diclorometano e metanol) por três dias, repetindo-se o processo por três vezes (ESQUEMA 4.3.1).

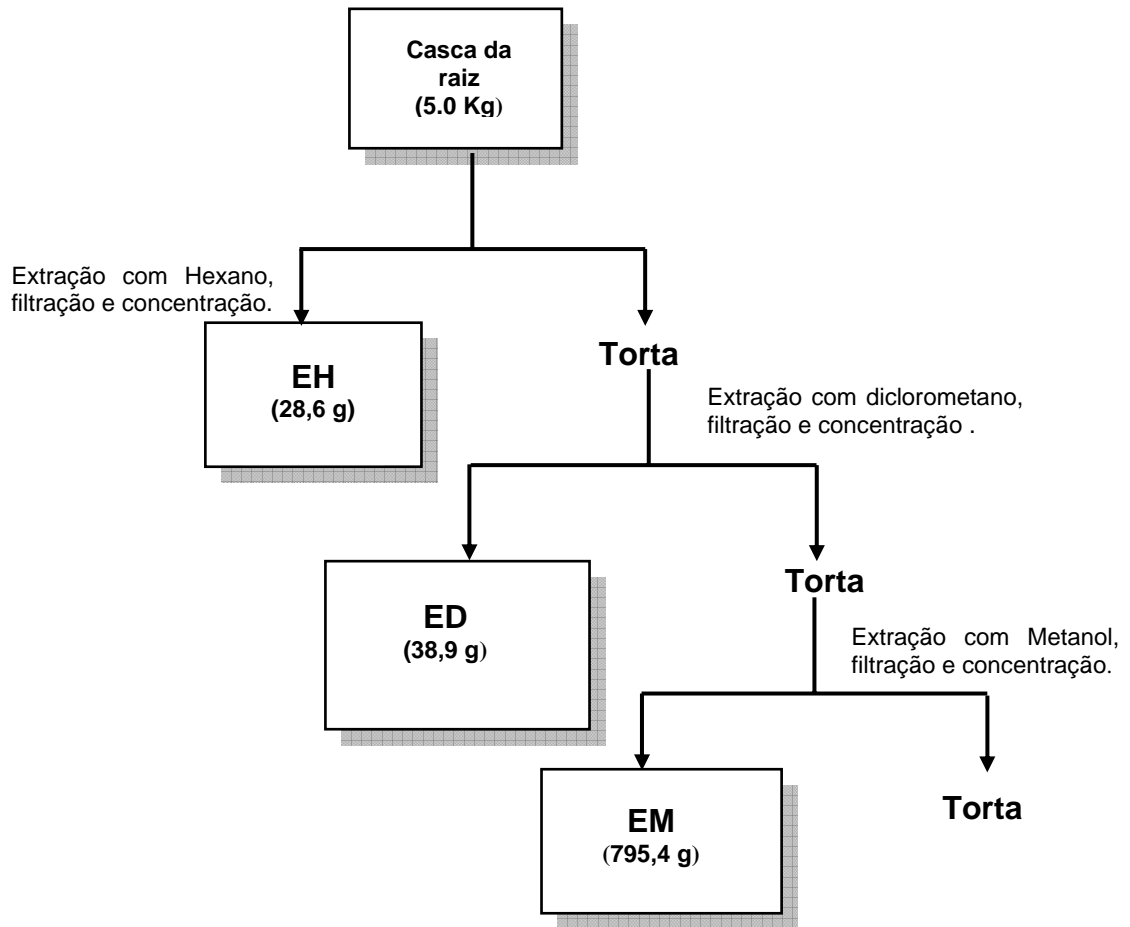
Desta forma foram obtidos 28,6 g de extratos hexânicos (EH), 38,9 g de extratos diclorometano (ED) e 795,4 g de extratos metanólicos (EM).

#### 4.3.1.1 – Estudo fitoquímico do extrato hexânico (EH).

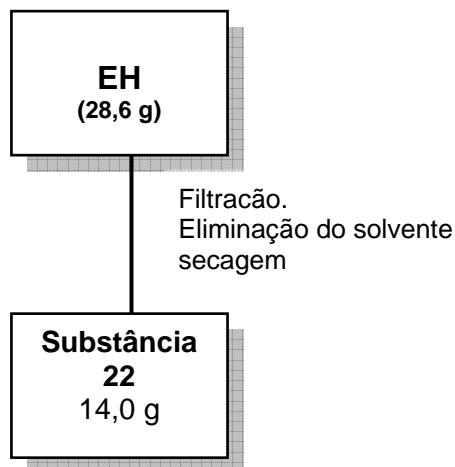
Durante o procedimento de eliminação do solvente da solução extrativa hexânica sob pressão reduzida, foi observado a precipitação de um sólido branco, sendo separado do restante do material, foi seco a temperatura ambiente e identificado como lupeol (**22**) (ESQUEMA 4.3.2).

#### 4.3.1.2 – Estudo fitoquímico do extrato diclorometânico (ED)

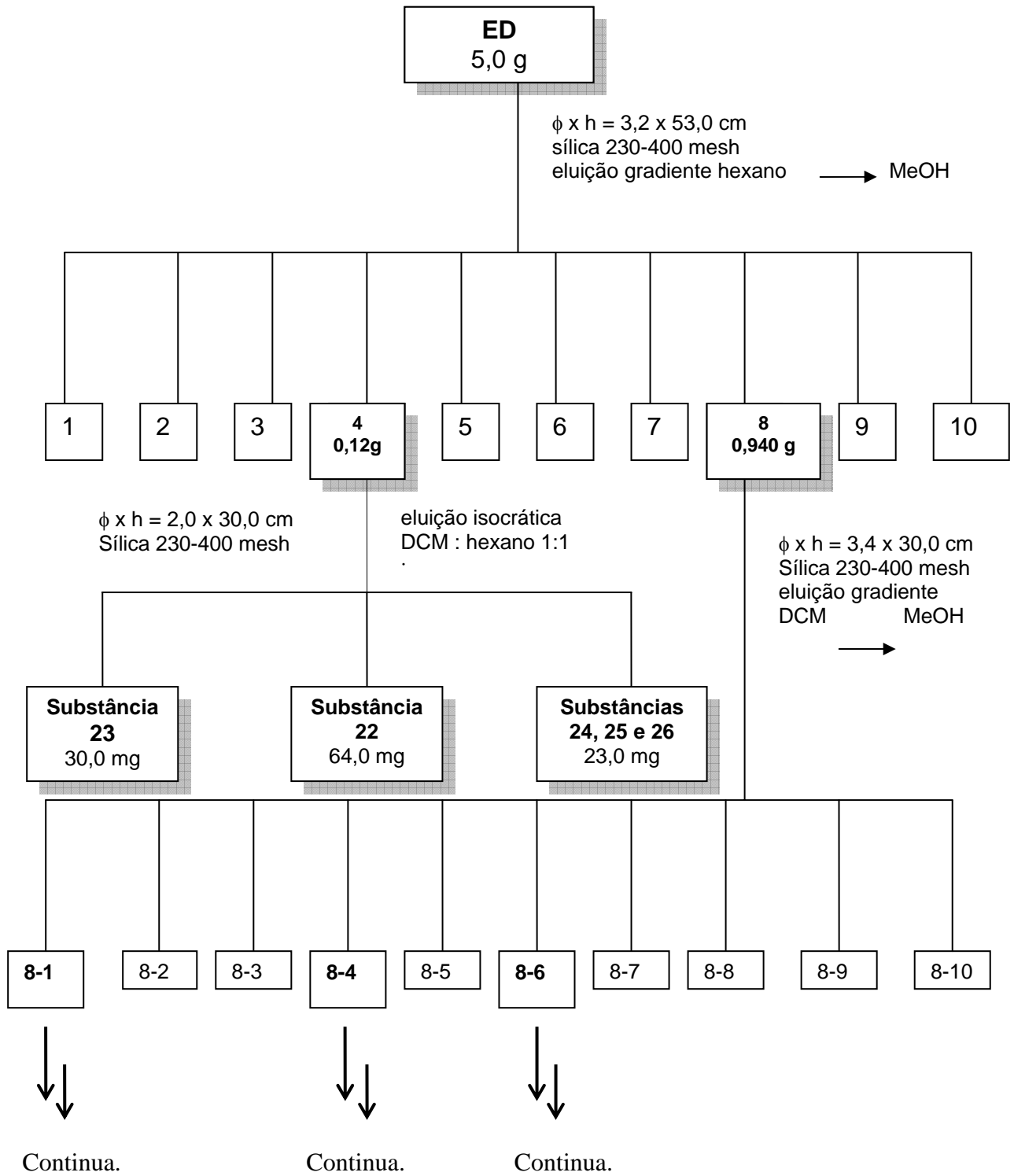
O extrato diclorometano (ED) foi estudado fitoquimicamente utilizando cromatografia por adsorção em coluna (CC) utilizando como suporte sílica gel 230-400 mesh, e por cromatografia de exclusão em coluna (CEC) utilizando como suporte sephadex LH 20. Deste estudo foi possível isolar o bowdenol (**12**), uma mistura de ésteres graxo de bowdenol (**13** a **20**), o alcalóide quinolizidínico bowdequina (**7**), os triterpenos lupeol (**22**) e lupenona (**23**), a estirilpirona denominada de 4-desmetiliangonina (**10**) e uma mistura de esteróide: sitosterol (**24**), estigmasterol (**25**) e campesterol (**26**). O esquema 4.3.3 mostra de forma resumida como estudo foi realizado.



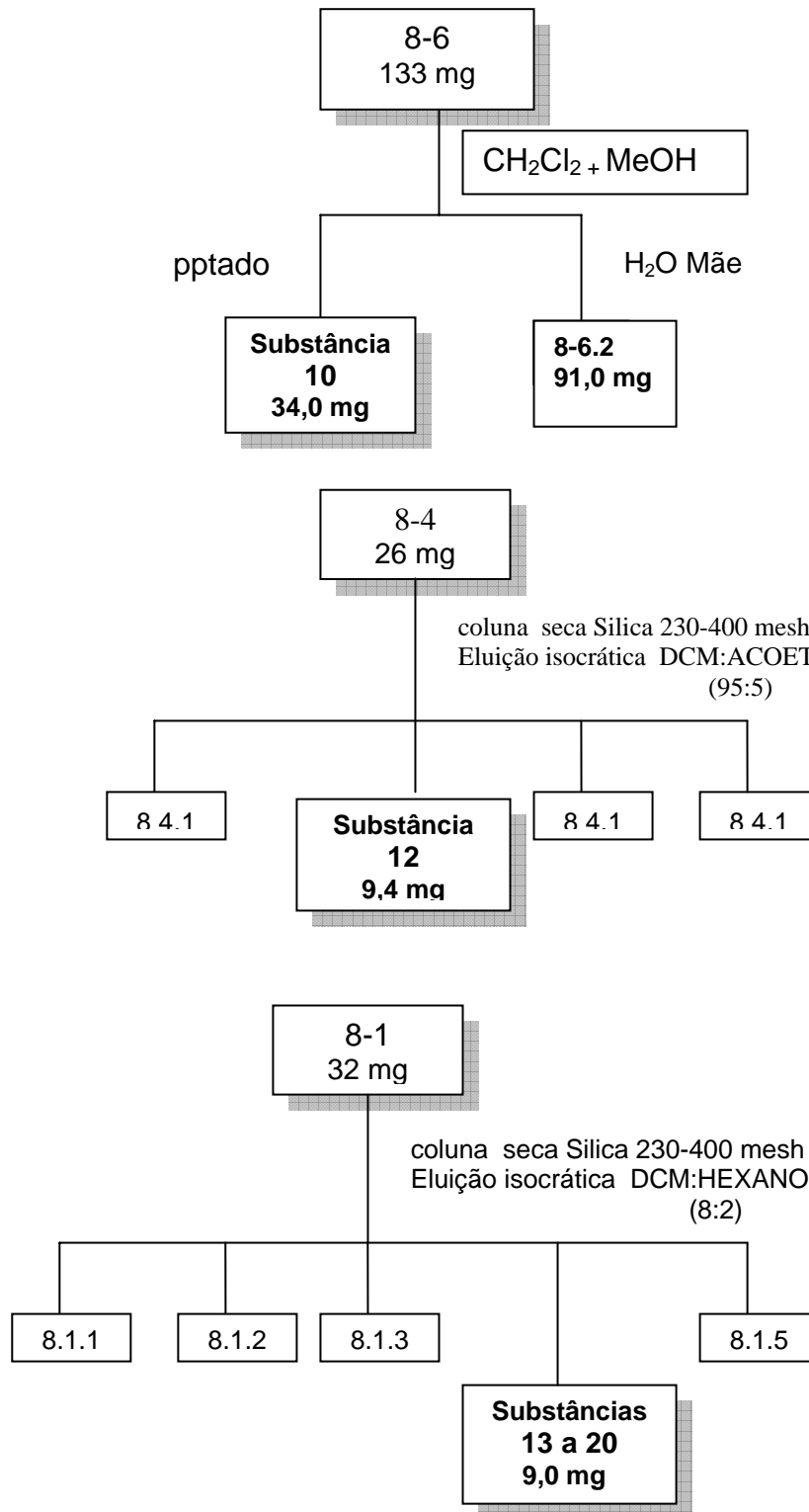
ESQUEMA 4.3.1 – Obtenção dos extratos hexânicos, diclorometânicos e metanólicos da raiz da *Acosmium dasycarpum*.



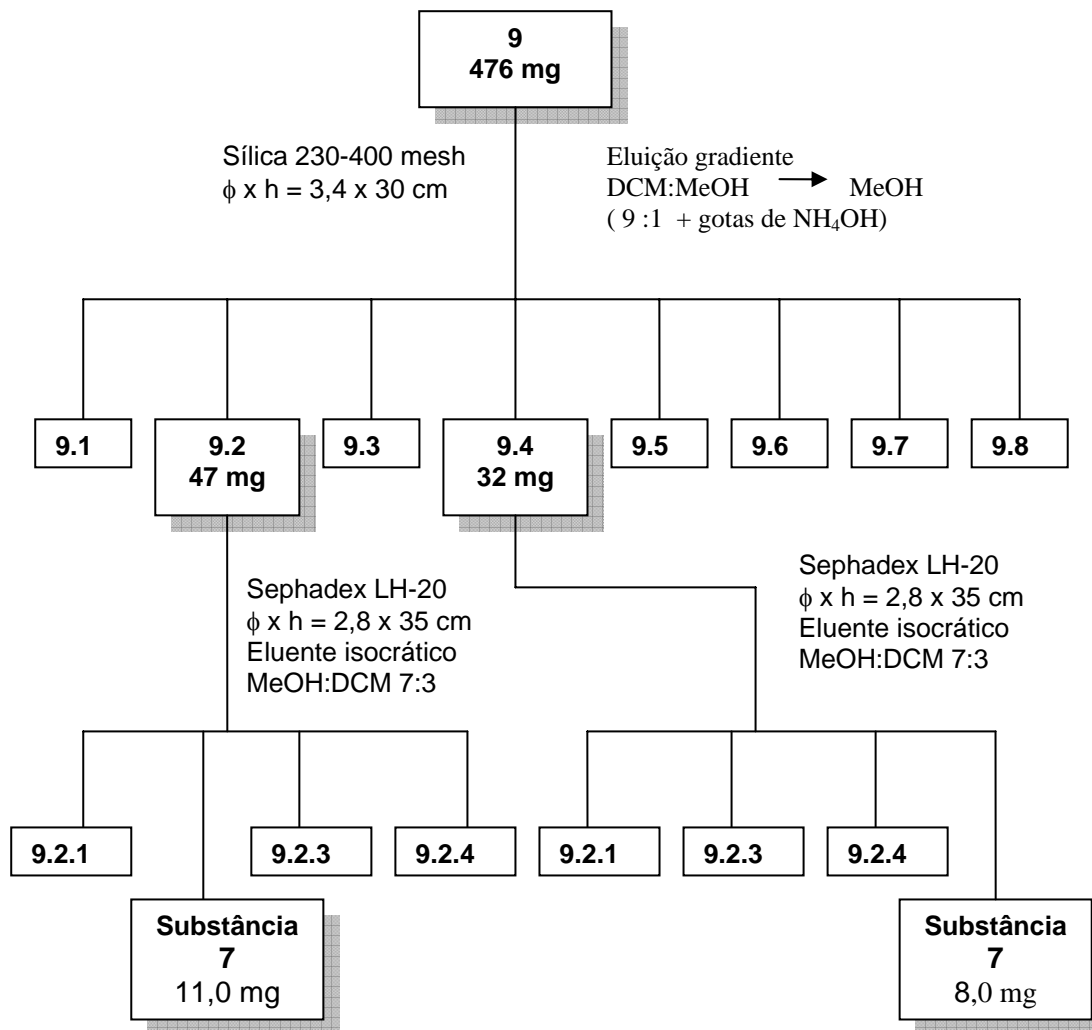
ESQUEMA 4.3.2 – Metodologia utilizada no fracionamento do EH.



ESQUEMA 4.3.3 – Metodologia utilizada no fracionamento do ED.



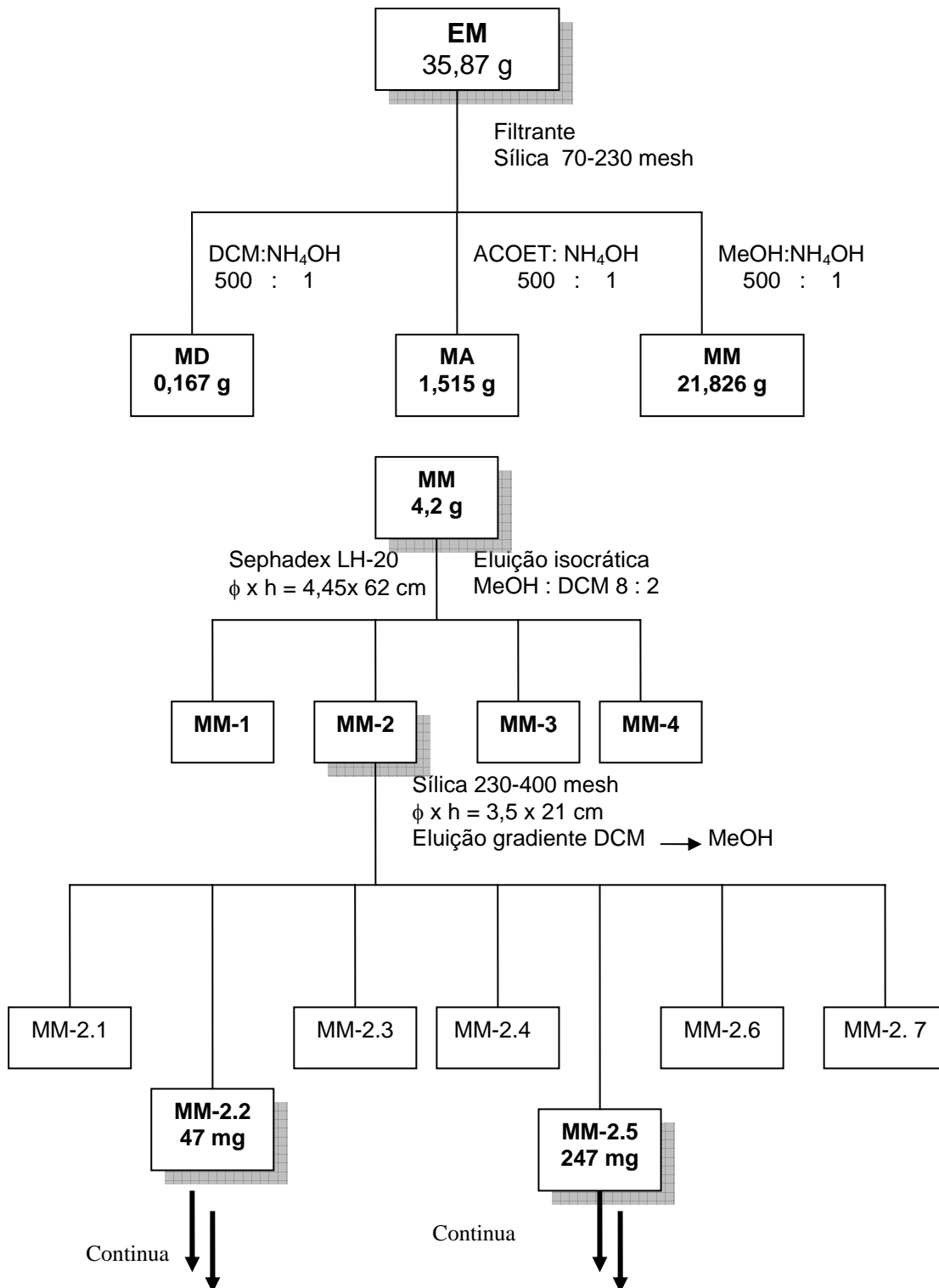
ESQUEMA 4.3.3 – Continuação...



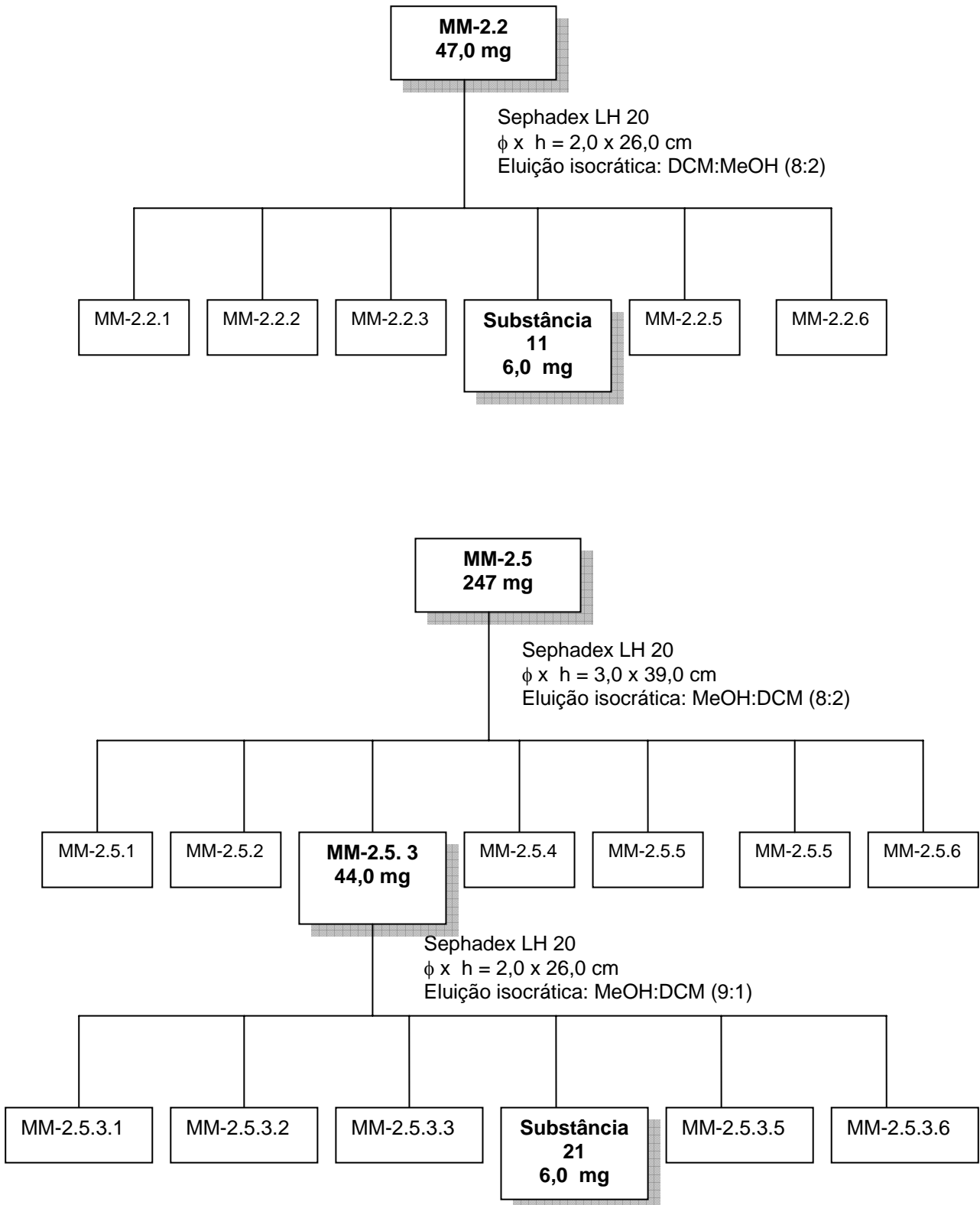
ESQUEMA 4.3.3 – Continuação...

#### 4.3.1.3 – Estudo fitoquímico do extrato metanólico (EM)

O extrato metanólico (EM) foi estudado fitoquimicamente utilizando diversas técnicas cromatográficas. Deste estudo foi possível isolar as substâncias **1 a 6, 8, 9, 11 e 21**. Os esquemas 4.3.4 a 4.3.7 mostram de forma resumida como este estudo foi realizado

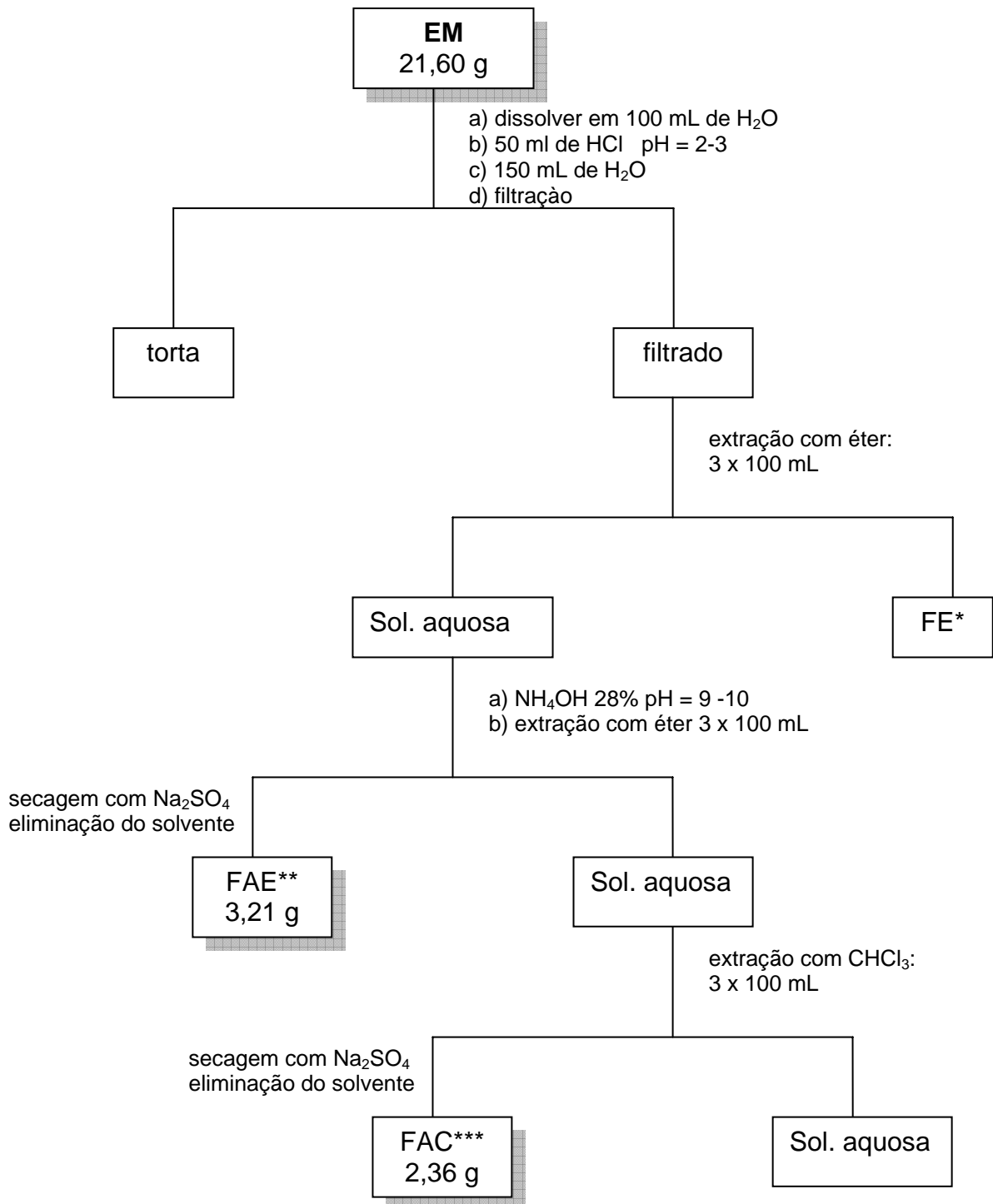


ESQUEMA 4.3.4 - Metodologia utilizada no fracionamento do EM.



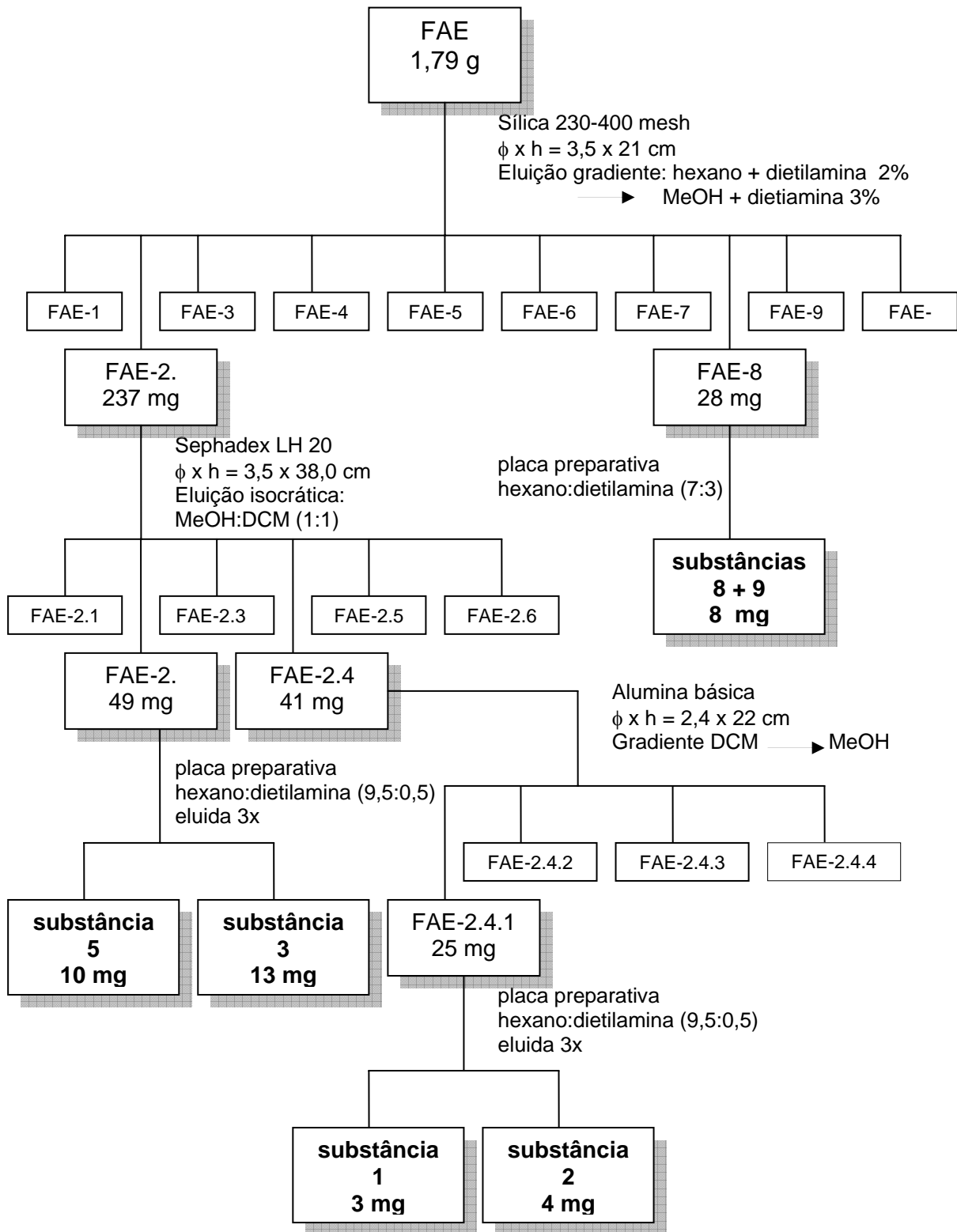
ESQUEMA 4.3.4 – Continuação...



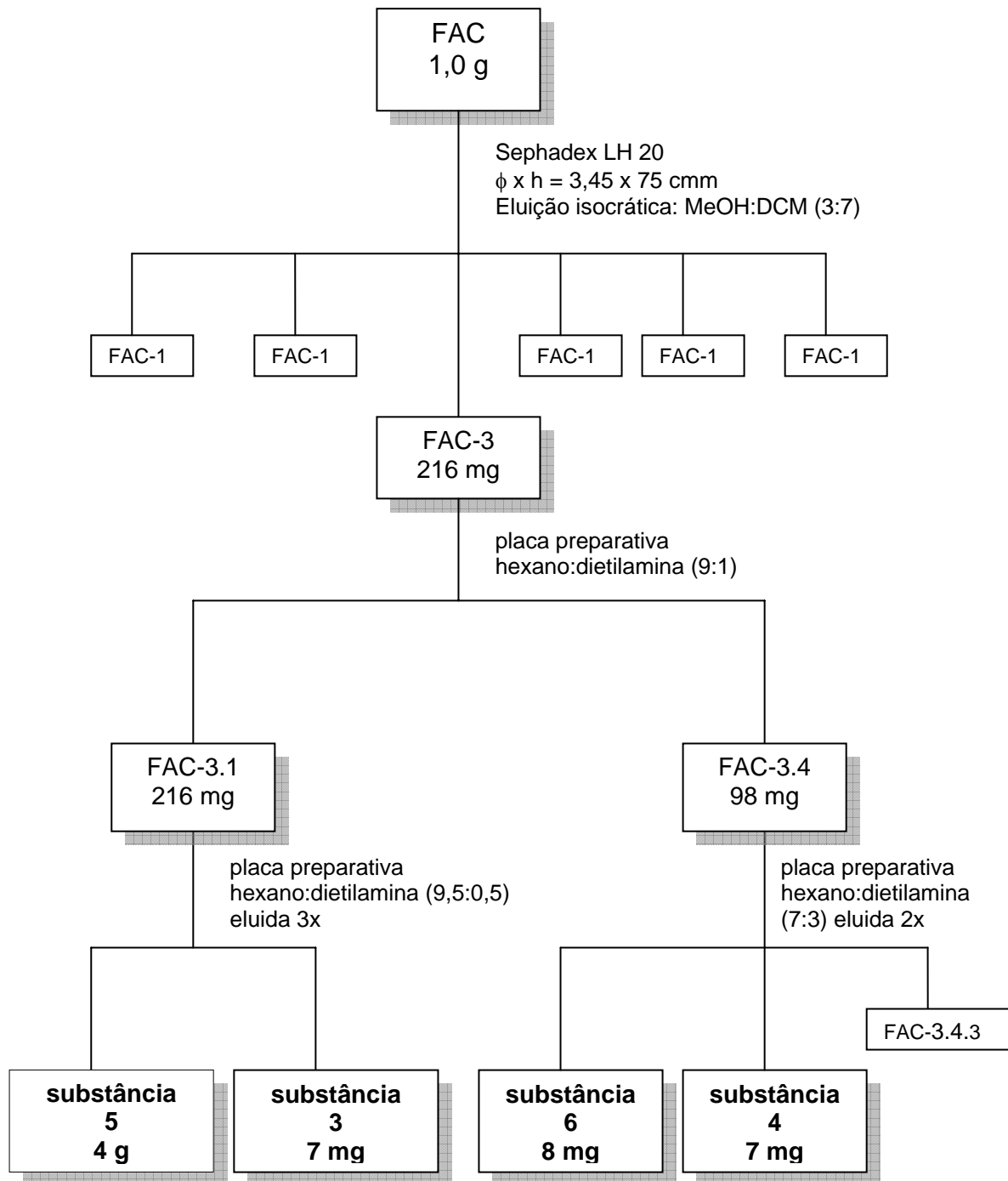


FE\* = Fração éter etílico. FAE\*\* = Fração alcaloídica éter etílico.  
FAC\*\*\* = Fração alcaloídica clorofórmica.

ESQUEMA 4.3.5 – Particionamento do extrato metanólico.



ESQUEMA 4.3.6 – Metodologia utilizada no fracionamento da FAE.



ESQUEMA 4.3.7 – Metodologia utilizada no fracionamento da FAC

#### **4.4 – Reações químicas realizadas com algumas substâncias.**

##### Metilação com diazometano

A solução de diazometano foi preparada dissolvendo-se 1,0 g de p-toluilsulfonilmetilnitrosoamida (diazald) em 15 mL de éter etílico. A solução foi resfriada em banho de gelo e transferida para um balão de destilação, onde foram adicionados 1,0 g de KOH em 10 mL de etanol a 96%. O sistema foi deixado em repouso por 5 minutos em banho de gelo e destilado em banho de óleo ou manta térmica a 65 °C. O destilado foi coletado sobre éter etílico em banho de gelo (LEONARD 1995). A metilação foi realizada adicionando-se a solução de diazometano ao material a uma mistura de ácidos graxos (1,0 mg) até não haver mais desprendimento de gás (N<sub>2</sub>).

##### Reação de acetilação.

A reação de acetilação foi feita com a acosminina (4,0 mg) adicionando-se anidrido acético e piridina, 1,0 e 1,5 mL respectivamente. A mistura reacional foi deixada sobre agitação por aproximadamente 16 horas a temperatura ambiente. Fez-se a extração com o solvente acetato de etila, após a adição de água destilada. A fase orgânica foi lavada com solução de ácido clorídrico 10% para eliminação do excesso de piridina. O solvente foi evaporado após a secagem com sulfato de sódio anidro (SHRINER 1979).

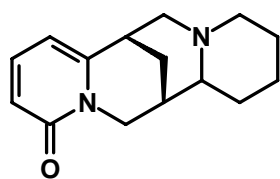
# **CONCLUSÕES**

## 5 – Conclusões

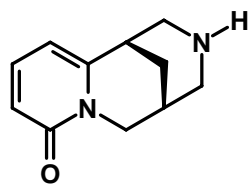
O estudo fitoquímico realizado com a casca da raiz de *Acosmium dasycarpum* resultou na identificação de alcalóides quinolizidínicos com esqueletos acosmínicos, esparteínicos (lupínicos), diazaadamantanos e ormosínicos; estiril  $\alpha$ -pironas, derivados do 2,3-dihidrobenzofuranos, ácido chlorogênico, fitoesteróis e triterpenos. Todas estas classes de metabólitos, principalmente os alcalóides quinolizidínicos são de ocorrência bastante disseminada na família Fabaceae, especialmente na tribo Sophoreae grupo dos Genitoides (WYK VAN 2003, PENNINGTON *et al.* 2001). Não foi encontrado nenhum relato na literatura sobre os alcalóides quinolizidínicos santanina (45), isodasinina (46), dasinina (47), dasicosmina (48) e os ésteres de ácidos graxos do bowdenila. Vale registrar a surpreendente quantidade do triterpeno lupeol, que foi encontrado (14,0 g) na casca da raiz.

Foi demonstrado neste trabalho com a identificação de 32 alcalóides quinolizidínicos, que a casca da raiz da *Acosmium dasycarpum* é uma rica fonte de diversos tipos de alcalóides como dipepidil e alcalóides quinolizidínicos, incluindo os esparteínicos (lupínicos), ormosínicos, bem como os diazaadamantanos que até o momento só foi descrita a sua presença no gênero *Acosmium* e em uma única espécie do gênero *Bowdichia* (BARBOSA *et al.* 2003), e os acosmínicos, que parecem ser exclusivos do gênero *Acosmium*. Assim, como já é de conhecimento, *Acosmium* é o gênero mais primitivo das Leguminosae que biosintetiza alcalóides quinolizidínicos do tipo esparteínico e ormosínico (BALANDRIN 1982).

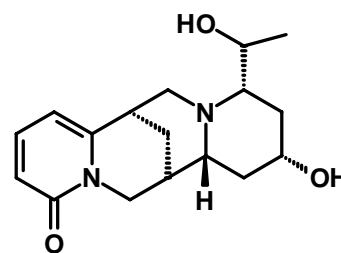
Análise do perfil dos alcalóides obtidos neste trabalho revela a completa ausência de alcalóides quinolizidínicos do tipo piridônico, tais como anagirina (60), citisina (61) e clathrotropina (62). Esta observação também foi feita em estudo de perfis de alcalóides quinolizidínicos de varias espécies de *Ormosia* (KINGHORN *et al.* 1982).



(60)



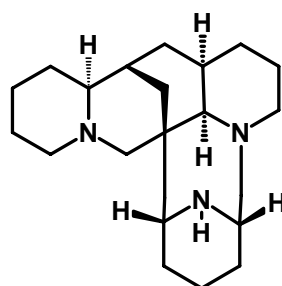
(61)



(62)

Dos alcalóides com esqueletos esparteínicos as bases piridônicas são geralmente considerados os mais avançados biogeneticamente membros dessa classe, e a sua ausência nos gêneros *Acosmium* e *Ormosia* sugere que a mutação ou mutações que deram origem a biogênese dessa classe de compostos só apareceram muito mais tarde. Bases piridônicas, como citisina (**60**) (teratogênica, alucinogênica) (KEELER 1975) e clathrotropina (**62**) componente ativo do curare (SAGEN 2002), são considerados os mais tóxicos dos alcalóides quinolizidínicos (IZADDOOST *et al.* 1976) e sua ausência nesta planta pode explicar em parte não toxicidade desta planta.

Também não foi observada a presença de alcalóide hexacíclico com o esqueleto panaminico como a ormosajina (**63**). Balandrin (1982) considera que esse tipo de bases como o mais avançado biogeneticamente em relação aos alcalóides quinolizidínicos do tipo ormosínico e sua ausência no gênero *Acosmium* sugere que o desenvolvimento das vias que levam ao processo oxidativo destes compostos ocorreu posteriormente à evolução do gênero.



(63)

Estudos filogenéticos em Leguminosae utilizando marcadores de DNA tinha demonstrado que a tribo Sophoreae não é monofilético e que o gênero *Acosmium* está relacionado com *Bowdichia*, outro gênero sulamericano e que estão colocados dentro de um mesmo grupo Genisteae (PENNINGTON *et al.* 2001). Esta proposição foi fortemente apoiada pelo estudo feito por WYK VAN (2003) com alcalóides quinolizidínicos. Além da podopetalina (**35**) e ormosanina (**37**) presentes nos dois gêneros, a identificação pela primeira vez do derivado 2,3 diidrobenzofurano bowdenol (**12**) e do alcalóide bowdequina (**7**), encontrado nos gêneros *Acosmium* e *Bowdichia*, é um dado a mais para estabelecer a proximidade entre esses dois gêneros.

Por fim, este estudo levou a identificação de 49 substâncias, das quais cinco alcalóides (**2, 45, 46, 47, 48**), oito ésteres de ácidos graxos de bowdenila (**13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20**) são inéditas, e três substâncias (**7, 12, 49**) estão sendo relatadas pela primeira em *Acosmium*. A identificação de tais metabólitos contribuiu ao conhecimento do perfil químico da família Fabaceae.



# **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 6 – Referências Bibliográficas

- AFIATPOUR, P.** “Alcalóides quinolizidínicos isolados do *Acosmium dasycarpum* (Vog) Yakolev: estruturas químicas e atividades farmacológicas”. São Paulo, Escola Paulista de Medicina 1990 Tese de Doutorado.
- AMBROZIN, A. R. P.** “Estudo fitoquímico de plantas das famílias Rutaceae e Meliaceae visando o isolamento de substâncias protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos e antileishmanioses”. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2004, Tese de Doutorado.
- BALANDRIN, M. F.** “Structure elucidation of some biologically active constituents of genus *Acosmium* (Leguminosae)”. Chicago-USA, College of Pharmacy, University of Illinois at the Medical Center, 1982, Thesis Doctor of Philosophy.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, J. R. G.; COSTAV. C. O.; CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S. e BRAZ-FILHO, R.** “Bowdechine, a new diaza-adamantane alkaloid from *Bowdichia virgiloides*”. *Journal of Asian Natural Products Research*. **6**, (1) 11-17, 2004.
- BARROSO, G. M.** “Sistemática de Angiosperma do Brasil”. **2** Viçosa: imprensa Universitária , 1991.
- BARREIRO, E. J.** “Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos”. Porto Alegre, 2ª ed. 2008.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. e ARAUJO, J. X.** “O uso de matérias primas vegetais para síntese e fármacos”. In: Farmacognosia. da planta ao medicamento. Porto Alegre 2007.
- BHACCA, N. S.; BALANDRIN, M. F.; KINGHORN, A. D.; FRENKIEL, T. A.; FREEMAN, R. e MORRIS, G. A.** “Carbon-13 and proton two-dimension NMR study of the Ormosia alkaloids panamine, ormosanine and ormosinine”. *Journal of the American Chemical Society* . 105, 2538-2544, 1983.
- BRAZ-FILHO, R.** “Relatório final sobre plantas medicinais Brasileiras”, Projeto SPDM-CEME, março de 1979
- BRIDGEWATER, S. G. M. e STIRTON, C. H.** “A morphological and biogeographic study of the *Acosmium dasycarpum* complex (Leguminosae: Papilionoideae, Sophoreae)”. *Kew Bulletin* **52** (2) 471-475, 1997.

- BRUKWICKI, T.; WLODARCZAK, J. e WYSOCKA, W.** "On the structure and spectroscopic properties of two 13-hydroxyspatene epimers". *Journal of Molecular Structure* 832, 90-95, 2007.
- CORADIN, L.** "Grupo de estudiosos das leguminosas brasileiras". In Congresso Nacional de Botânica, **46**, 1995, Ribeirão Preto. resumos p. 401-403.
- CRONQUIST, A.** "An integrated system of classifications of flowering plants" New York: Columbia University Press, 1262, 1981.
- DEWICK, P. M.** "Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach", England, John Wiley & Sons, 2<sup>a</sup> ed., 2004
- DORÉ, J.C.; POTHIER, J.; GALAND, N. e VIEL, C.** "Essaid d'optimisation des conditions expérimentales em chromatographie plnaire par analyse multivariable.II. Optimisation de la separation des alcaloïdes quinolizidiniques par recherche des critères d'association entre adsorbants et éluants. *Analisis* **23**, 342-351, 1995.
- GARCIA, C. F.;** "Estudo comparativo de pés-francos e enxertos do gênero *Citrus*: correlação entre seus metabólitos e o processo de enxertia." São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2005, Tese de Doutorado.
- GEISSMAN, T. A.** "Organic chemistry of secondary plant metabolism." Freeman, Cooper & Company- San Francisco, California –USA 1969
- GOMES, C. M. R.; GOTTLIEB, O. R. e SALATINO, A.** "Phytochemistry in perspective: Chemosystematics of the Papilionoideae". In *Advances in Legume Systematics*, eds R. M. Polhill and P. H. Raven, pp 465-488, 1981.
- GUIMARÃES, P. R.; GALETTI, M. e TRIGO, J. R.** "Quinolizidine alkaloids in *Ormosia arborea* seeds inhibit predation but not hoarding by agoutis (*Dasyprocta leporine*)" *Journal of Chemical Ecology* **29** (5), 1065-1072, 2003.
- HERRERA, J. M. e QUINTOS, N. R.** "Alkaloid composition of *Lupinus campestris* from Mexico." *Journal of Food Biochemistry* **25** 117-125. 2001
- IZADDOOST, M.; HARRIS, B. G. e GRACY, R. W.** "Structure and toxicity of alkaloids and aminoacid of *Sophora secundiflora*". *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **65** 352-354, 1976.
- KEELER, R. F.** "Toxins and teratogens of higher plants." *Lloydia* **38**, 56-86, 1975.
- KINGHORN, A. D.; SELIM, M. A. e SMOLENSKI, S. J.** "Alkaloid distribution in some new world *Lupinus* species". *Phytochemistry*. **19**, 1705-1710, 1980.

- KINGHORN, A. D.; BALANDRIN, M.F. e LIN, L. J.** “Alkaloid distribution in some species of the Papilionaceous tribes Sophoreae, Dalbergieae, Loteae, Brongniartieae and Bossiaeeae”. *Phytochemistry*, **21** (9), 2269-2275, 1982.
- KINGHORN, A. D.; RAOUF, A. H. e BALANDRIN, M. F.** “Alkaloid distribution in seeds of *Ormosia*, *Pericopsis* and *Haplormosia*”. *Phytochemistry*, **27** (2), 439-444, 1988,
- KOLANOS, R.; WYSOCKA, W. e BRUKWICKI, T.** “A comparative study of NMR chemical shifts of sparteine thiolactams and lactams”. *Tetrahedron*, **59**, 5531-5537, 2003.
- LANZER, M. E. S.** “Natureza em revista” **1**, 52, 1976.
- LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LADMAN, M. T. R. e GODINHO, R. O.** “Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: Famacognosia. da planta ao medicamento. Porto Alegre 2007.
- LEONARD, J.; LYGO, B. e PROCTER, G.** “Advanced practical organic chemistry.” 2<sup>a</sup> ed. London, Blackie Academic & Professional, 1995 p103.
- LEWIS, G. P.** “Legumes of Bahia. Royal Botanic Garden Kew,” 1987.
- LORENZI, H.** “Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. São Paulo. ed. Nova Odessa : Plantarum. **21** p 88, 1998.
- MELO, F. N.; NAVARRO, V. R.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; BARBOSA-FILHO, J. M. e BRAZ-FILHO, R.** “Bowdenol, a new 2,3-dihidrobenzofuran constituent from *Bowdichia virgilioides*. *Natural Product Letters*. **15** (4), 261-266, 2001
- MAI LE, P.; MARTIN, M. T.; HUNG, N. V.; GUENARD, D.; SÉVENET, T. e PLATZER, N.** “NMR study of quinolizidine alkaloids: relative configurations, conformations”. *Magnetic Resonance in Chemistry* **43**: 283-293. 2005
- MARINHO, L. C.; CARNEIRO, M. T. C.; THOMAS, G. e BARBOSA-FILHO, J. M.** “Constituent of *Bowdichia virgilioides*”. *Fitoterapia*, **5** (15), 475, 1994.
- MERFORT, I.;** “Caffeoylquinic acids from flowers of *Arnica montana* and *Arnica chamissonis* “. *Phytochemistry*, **31** (6), 211-213, 1992.
- MICHAEL, J. P.;** “Indolizidine and quinolizidine alkaloids” *Natural Product Report* **18**, 520-542, 2001.
- NUZILLARD, J. M.; CONNLLY, J. D.; HANROT, M. Z. e OLIVIER L. M.** “Computer-assisted structural elucidation. Alkaloids with a novel diaza-adamantane skeleton

- from the seeds of *Acosmium panamense* (Fabaceae)” *Tetrahedron* **55**, 11511-11518, 1999.
- OLIVEIRA, F.; SAITO, M. L. e FURUKUWA, C. M.** “Caracterização farmacognostica da droga e do extrato fluido da perobinha do campo – *Acosmium sublegans*. In : Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. XIII. Fortaleza – CE 1994.
- PARIZOTTO, C. A.** “Contribuição ao estudo químico do cerne das raízes de *Acosmium dasycarpum* (Vog) Yakolev. Cuiabá, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. UFMT 2003. Dissertação de Mestrado.
- PATITUCCI, M. L.; PINTO, A. C. e CARDOSO, J. N.** “Analysis of crude extracts and fractions of Brazilian Polypodiaceae by high-resolution gas chromatography-mass spectrometry. I. Triterpenes”. *Phytochemical Analysis* **6** (1), 38-44, 1995.
- PENNINGTON, R. T.; LAVIN, V.; IRELAND, H.; KLITGAARD, B. e PRESTON, J.** “Phylogenteic relationships of basal Papilionoid legumes based upon sequence of the chloroplast.” *Systematic Botany* **26** (3) 537-556, 2001
- PEREIRA, N. P.** “Estudo fitoquímico do óleo da semente de [*Camomilla recutita* (L) Rauschert.] camomila, com avaliação de propriedades físico-químicas, biológicas e funcionais em emulsões”. Curitiba – Programa em pós-graduação em ciências farmacêuticas - UFPR, 2008, Tese de Doutorado.
- POSER, G.L. e MENTZ, L. A.** “Diversidade biológica e sistema de classificação”. In:Famacognosia. da planta ao medicamento. Porto Alegre 2007”.
- PUPO, M. T.** “Constituintes químicos de *Trichilia clausenii* (Meliaceae)”. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 1997, Tese de Doutorado
- RODRIGUES, A. A. G.** “Ecologia da reprodução de duas espécies de *Acosmium* (Schott). Benth. ( Leguminoseae-Papilionoideae) no cerrado de Moji Guaçu, São Paulo.. Instituto de Biociências da Unesp- Rio Claro 1996. Tese de Doutorado.
- SAGEN, A.;** “Phytochemical and biological investigation on *Clathrotropis glaucopylla* (Fabaceae), an ingredient of yanomami curare, emphasizing on quinoloizidine alkaloids”. A dissertation submitted to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich for the degree of Doctor of Natural Sciences 2002- Zurich.
- SAITO, K.; SUZUKI, H.; YAMASHITA, Y. e MURAKOSHI, I.** “Isolation an enzymatic synthesis of an ester alkaloid, (-)-3β-hidroxy-13-α-tigloyloxylylupanine from *Cytisus scoparius*”. *Phytochemistry*, **36** (2), 309-311,1994.

- SAITO, K. e MURAKOSHI, I.;** “Chemistry, biochemistry and chemataxonomy of lupine alkaloids in the leguminosae”. In: Studies in natural products chemistry, Vol. 15, Elsevier Science B.V., 519-549, 1995.
- SANTOS, D. A. P.** “Busca de metabólitos bioativos em plantas, da família Bignoniaceae contra parasitas causadores de doenças tropicais.” São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2005, Tese de Doutorado.
- SHRINER, R. L.** “The systematic identification of organic compounds”. 6<sup>th</sup> ed., John Wiley & Sons: Singapore, 1979.
- SILVA, V. N. T.; OLIVEIRA, F. M. e CONSERVA, L.M.** “Phenolic derivatives and triterpenes from *Acosmium bijugum*”. *Biochemical Systematics and Ecology* **29** (11) 1189-1192, 2001.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. e PETROVICK, P. R.** “Famacognosia da planta ao medicamento” Porto Alegre 2007.
- SIMOTE, S.Y.** “Estudo fitoquímico de *Helietta puberula* (Rutaceae), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae), e busca de um processo de microencapsulação de compostos ativos, visando o controle de formigas cortadeiras”. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2006, Tese de Doutorado.
- SPENSER, I. D.** “Stereochemical aspects of the biosynthetic routes leading to the pyrrolizidine and the quinolizidine alkaloids” *Pure and Applied Chemistry*. **57** (3) 453-470, 1985.
- SPENSER, I. D. e GOLEBIEWSKI, W. M.** “Biosyntheses of the lupanine alkaloids. II. Sparteine and lupanine”. *Canadian Journal of Chemistry*. **66**, 1734-1748, 1988
- TORRENEGRA, R.; BAUREREIB, P. e ACHENBACH, H.** “Homoormosanine-type alkaloids from *Bowdichia virgiloides*” *Phytochemistry*, **28** (8), 2219-2221, 1989.
- TREVISAN, T. C.** “Estudo químico-farmacológico das cascas das raízes de *Acoamium dasycarpum* (Vog) Yakovlev”. Cuiabá, Instituto de Saúde Coletiva – UFMT, 2002, Dissertação de Mestrado
- TREVISAN, T. C.; SILVA, E. A.; DALL’OGRIO, E. L.; SILVA, L. E.; VELOZO, E. S.; VIEIRA, P. C. e SOUZA, P.T.** “New quinolizidine and diaza-adamantane alkaloids from *Acosmium dasycarpum* (Vog) Yakolev-Fabaceae. *Tetrahedron Letters* **49** 6289-6292, 2008.
- VALENTE, A. M. M. P.;** “Análises de componentes fixos em frutos de *Coffea Arabica* L. e dos seus produtos de fermentação”. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2003, Dissertação de Mestrado.

- VARPOORTE, R. e RASCHIN, M.** “Engenharia do metabolismo de plantas Medicinais”. In: plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Florianópolis. 2001
- VEITCH, N. C.; GOODWIN, B. L.; KITE, G. C. e SIMMONDS, S. J.** “Methoxylated quinolizidine alkaloids from *Acosmium panamense*”. *Phytochemistry*, **45** (4), 847-850, 1997
- VERDOORN, G. H. e VAN WIK, B. E.** “Ester of quinolizidine alkaloids from the genus *Pearsonia*”. *Phytochemistry*, **29** (4), 1297-1302, 1990.
- VIEIRA P.C.; FERANDES, J.B. e ANDREI, C.C.** “Plantas inseticidas”. In: Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre 2007.
- VITALI, A.; SILVESTRINI, A.; BOTTA, B. e DELLE MONACHE, G.** “Cultura de células vegetais: doze anos de experiência”. In plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Florianópolis: Argos 2001 cap. 11, 353-380.
- WIENDENFELD, H. e ANDRADE, A. C.** “Pyrones glycosides from *Acosmium panamense* (Benth.)Yacovlev.” *Z. Naturforsch.* **58c** 637-639, 2003.
- WINK, M.** “Quinolizidine alkaloids: Biochemistry, metabolism and function in plants and cell suspension cultures. *Planta Medica.* **53**, 509-514, 1987
- WINK, M.; MEIBNER, C. e WITTE, L.** “Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*” *Phytochemistry*, **38** (1), 139-153, 1995.
- WYK VAN, B. E.** “The value of chemosystematics in clarifying relationships in the genistoid tribes of papilionoid legumes” *Biochemical Systematics and Ecology* **31** 875-884, 2003
- WYRZYKIEWICZ, E.; BOCZON, W. e KOZIOL, B.** “Mass spectrometry of bis-quinolizidine alkaloids: 2- and 17 alkyl-substituted derivatives of sparteine and lupanine.” *Journal of Mass Spectrometry.* **35** 1271-1277, 2000.
- WYSOCKA, W. e BRUKWICKI, T.** “Conformational equilibria in quinolizidine alkaloids. *Journal of Molecular Structure* 385, 23-33, 1996.