



INSTITUTO DE QUÍMICA

ESTUDO QUÍMICO DO

Solanum granuloso-leprosum (Dunal)

Maria Candida Silveira Mendes

Tese de Mestrado

Orientadora: Prof.^a Dra. Eva Gonçalves Magalhães

Campinas

1980

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL



COORDENAÇÃO DOS CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO

UNICAMP

AUTORIZAÇÃO PARA QUE A UNICAMP POSSA FORNECER, A PREÇO DE CUSTO, CÓPIAS DA TESE A INTERESSADOS

Nome do Aluno: MARIA CANDIDA SILVEIRA MENDES

Nº de Identificação: 785243

Endereço para Correspondência: Rua 11 de agosto , 459 Porto Alegre-RS

Curso: Mestrado em Química

Nome do Orientador: Profa. Dra. Eva Gonçalves Magalhães

Título da Dissertação ou Tese: "ESTUDO QUÍMICO DO Solanum Granuloso-leprosum (Dunal)"

Data proposta para a Defesa: 20 de agosto de 1980

(O Aluno deverá assinar um dos 3 itens abaixo)

1) Autorizo a Universidade Estadual de Campinas a partir des ta data, a fornecer, a preço de custo, cópias de minha Dissertação ou Tese a interessados.

08 /08 /1980

Data

Maria Candida Silveira Mendes

assinatura do aluno

2) Autorizo a Universidade Estadual de Campinas, a fornecer, a partir de dois anos após esta data, a preço de custo, cópias de minha Dissertação ou Tese a interessados.

1 / 1

Data

assinatura do aluno

3) Solicito que a Universidade Estadual de Campinas me consul te, dois anos após esta data, quanto à minha autorização para o forne cimento de cópias de minha Dissertação ou Tese, a preço de custo, a in teressados.

1 / 1

Data

assinatura do aluno

Eva Gonçalves Magalhães
Profa. Dra. Eva Gonçalves Magalhães
Orientadora

A meus pais

Florêncio e Odett, e meus irmãos

Geraldo, Ana Maria e Maria Alice.

AGRADECIMENTOS

A autora deseja expressar seu reconhecimento:

A direção do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas pelas facilidades que proporcionaram à realização deste trabalho.

A Fundação de Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul (Cientec) pelo estímulo e auxílio concedidos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio prestado.

A profa.Dra. Anita Marsaioli, pela prestimosa colaboração na técnica de cromatografia em fase gasosa e pelos espectros de R.M.N. de C^{13} .

Aos profs.Drs. Concetta Kascheres e Lawrence Nielsen pela boa vontade demonstrada toda vez em que solicitamos a obtenção de um espectro de massas no espectrômetro MAT 311A.

Aos profs.Drs. Aderbal Magalhães, Edmundo Rúveda, Albert Kascheres e James McChesney pelas valiosas discussões e sugestões feitas durante a execução deste trabalho.

Ao prof. James McChesney pelo fornecimento do padrão de lanosterol.

Ao Sr. Eduardo Moreno pela obtenção dos espectros de massas no espectrômetro Finnigan 1015 S/L.

A Sra. Dirce Koga pela obtenção de vários espectros de infravermelho.

Aos dois queridos técnicos do laboratório Lourival Pimpim e Maria Angélica Purchio pelo auxílio e aprendizado da técnica do preparo de placas para CCD.

Aos meus caros colegas de laboratório pelo estímulo e colaboração: Rosa, Lúcia, Maria Helena, Simone, Angela, Carmen, Domingos

(mineiro), Paulo, Gean, Siani, Roberto, Raquel, Luzia, Domingos (catarinense) e Herrera.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos, na pessoa do colega Carlos Grosso pelos padrões de ésteres de ácidos graxos.

A Carolina e Marilza pelo esmero no trabalho datilográfico.

A Dona Nena pelo cuidado com a limpeza e arrumação do laboratório e pelo cafezinho de todas as tardes.

Finalmente desejo ainda agradecer aos meus amigos: Otávio, Luci, Sylvia, Mozart, Mara, Eliana, Mina, Sonia e Cristina pelo incentivo e apoio.

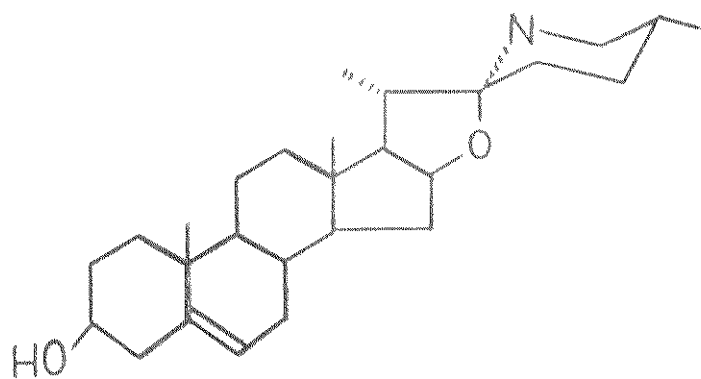
ÍNDICE

	página
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1. - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DO GÊNERO SOLANUM	4
CAPÍTULO 2. - ESTUDO QUÍMICO DO <u>Solanum granuloso-leprosum</u> ...	19
2.1. Descrição da planta.....	19
2.2. Otimização do método de extração e tratamento- químico dos extratos obtidos	19
2.3. Identificação e determinação estrutural dos com postos isolados das folhas.....	20
2.3.1. Extrato éter de petróleo: Material saponificável.....	20
Material não saponificável.....	22
2.3.2. Extrato etanólico: Material alcalóidico.....	47
2.4. Compostos isolados da madeira.....	51
2.4.1. Extrato éter de petróleo: Material saponificável.....	51
Material não saponificável.....	51
2.4.2. Extrato etanólico: Material alcalóidico.....	51
2.5. Compostos isolados dos frutos.....	52
2.5.1. Extrato éter de petróleo: Material saponificável.....	52
Material não saponificável.....	54
CAPÍTULO 3. - PARTE EXPERIMENTAL.....	55
3.1. Materiais e métodos.....	55
3.2. Coleta de material.....	57
3.3. Extração.....	57
3.4. Extrato éter de petróleo	

	página
3.4.1. Material saponificável das folhas.....	62
3.4.2. Material não saponificável das folhas.	63
3.4.2.1. Reações.....	69
3.4.2.2. Dados físicos dos compostos iso-	
lados.....	76
3.4.3. Material saponificável da madeira.....	77
3.4.4. Material não saponificável da madeira.	77
3.4.4.1. Dados físicos dos compostos iso-	
lados.....	79
3.4.5. Material saponificável dos frutos.....	79
3.4.6. Material não saponificável dos frutos.	80
3.5. Extrato etanólico	
3.5.1. Constituintes alcaloidais das folhas..	81
3.5.2. Constituintes alcaloidais da madeira..	87
3.5.3. Constituintes alcaloidais dos frutos..	87
3.5.4. Dados físicos dos compostos isolados..	88
CAPÍTULO 4. - ESPECTROS.....	90
RESUMO.....	160
SUMMARY.....	161
SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	162
BIBLIOGRAFIA.....	163

INTRODUÇÃO

O trabalho químico feito na década de 50 com os esteroides alcaloidais do gênero *Solanum*, particularmente incentivaram os estudos subsequentes desde que estes compostos podem ser transformados

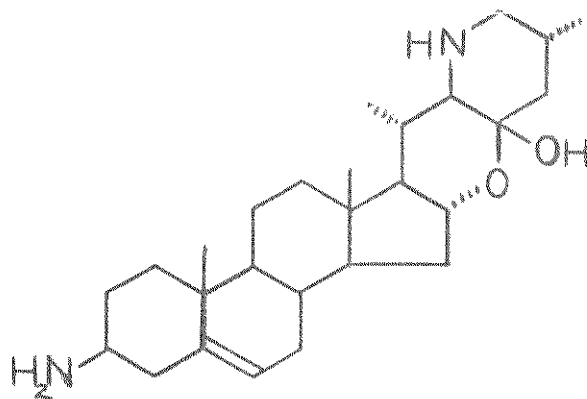


I

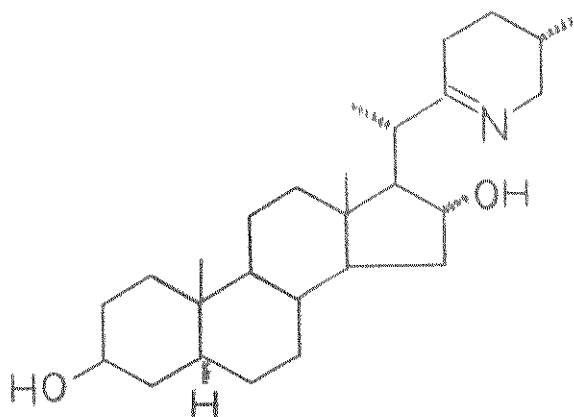
em intermediários pregnanos importantes na produção industrial de hormônios esteroidais [1-5].

Um dos primeiros alcaloides isolados de *Solanum*, a solasodina (I) apresentou

importância significativa como material de partida para o uso farmacêutico. Outro alcaloide, não menos importante, a solanofortina (II) demonstrou na sua forma nativa importante atividade fisiológica antihipertensiva. Entre os tipos de alcaloides esteroidais isolados de *Solanum*, vale salientar outros com esqueletos bem

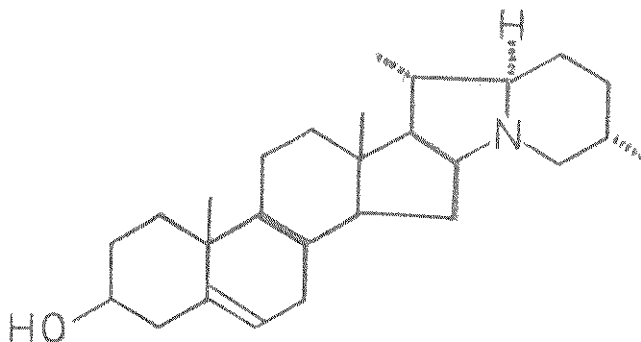


II

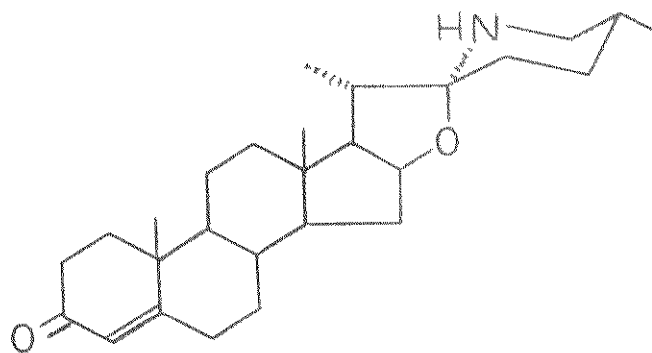


III

diversos tais como 25-iso-solaforidina (III) e solanidina (IV).



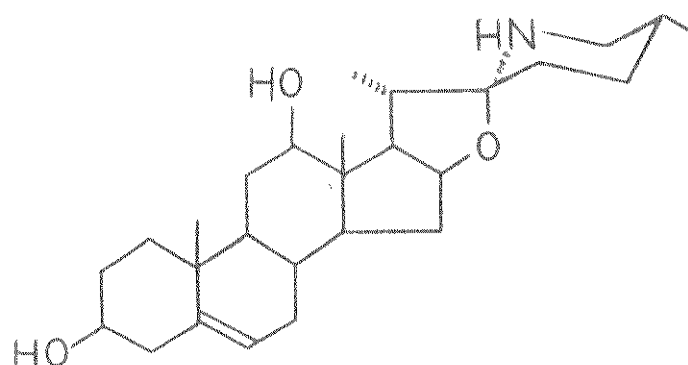
IV



V

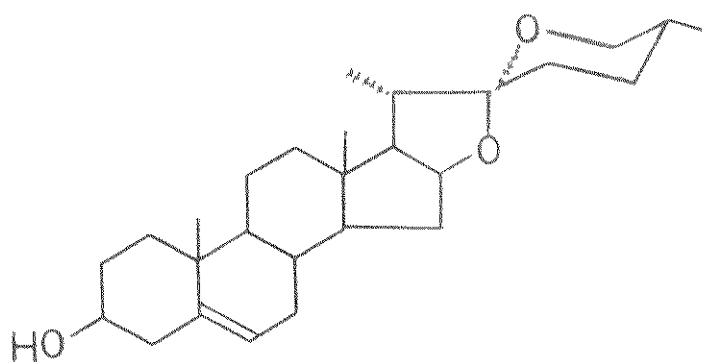
lôidico de plantas do gênero *Solanum*.

Muitos laboratórios ,
prevendo a possível utiliza-
ção destes alcaloides na in-
dústria farmacêutica, estão



VI

atualmente estudando não só a química, mas sua distribuição nas vá-
rias espécies do gênero a fim de descobrirem novas e mais conveni-
entes fontes. Adicionalmente, investigações intensivas estão sendo
conduzidas para se estabelecer métodos mais apropriados de isola-
mento, bem como de purificação, adequados para a identificação dos
seus constituintes químicos.

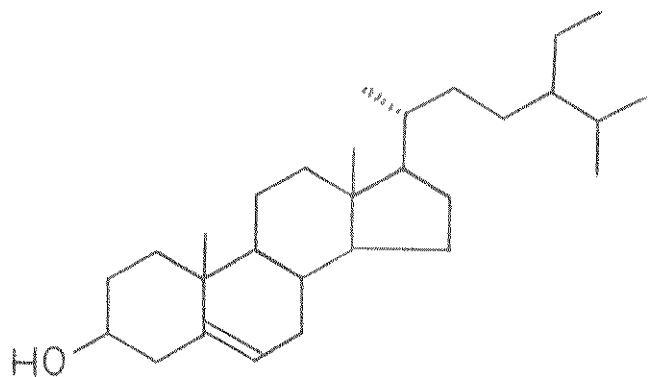


VII

Entre outros compostos en-
contrados em *Solanum* devemos
destacar ainda a presença de
sapogeninas, sendo a diosgeni-
na(VII) particularmente impor-
tante na síntese de hormônios
esteroidais.

Embora o gênero venha sendo muito estudado, e isto se pode
constatar pela revisão bibliográfica atualizada (ver capítulo 1), as
informações sobre a fração neutra são limitadas.

Estudo químico conectado com alguns estudos toxicológicos re



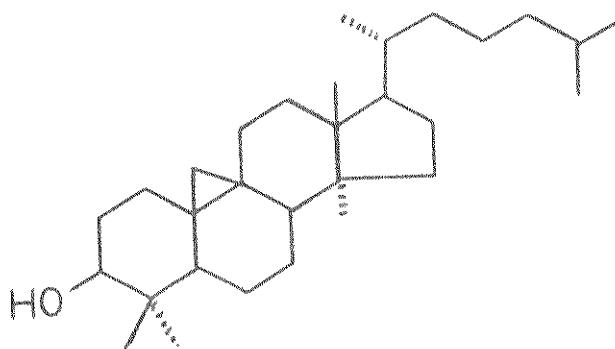
VIII

velaram a presença de uma variedade de esteroides e compostos correlacionados, isolados da fração neutra do Solanum xanthocarpum entre os quais podemos citar sitosterol(VIII), cicloartanol(IX) e colesterol(X).

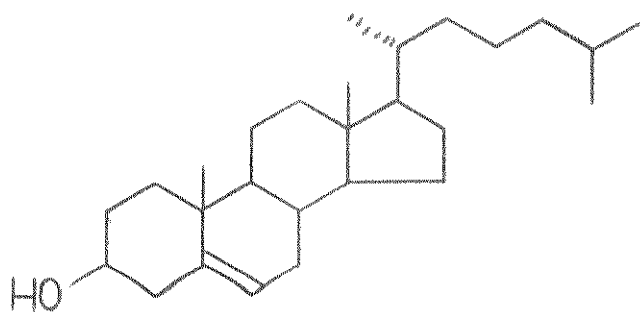
Estudos semelhantes com sementes e folhas do *Solanum platani-folium* revelaram igualmente a presença de alguns destes esteroides.

Estas informações aguça-ram nossa curiosidade no senti-do de centralizarmos o estudo químico na fração neutra de uma espécie de *Solanum*.

No Estado de São Paulo existe várias plantas do gênero ainda desconhecidas quimica-mente. Uma das espécies largamente difundida na região de Campinas é o *Solanum granuloso-leprosum*, espécie então inédita sob o ponto de vista químico e por isso escolhida para estudo.



IX



X

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DO GÊNERO SOLANUM

Devido ao interesse crescente dos investigadores pelas diversas espécies do gênero *Solanum*, achamos interessante, incluir nesta tese um capítulo contendo a bibliografia atualizada do assunto.

MANSKE & SCHEREIBER / 5 / esquematizaram os alcaloides isolados de cerca de 250 espécies de plantas da família Solanaceae e Liliaceae até o ano de 1967.

Na tabela 1 abaixo esquematizamos as espécies de *Solanum* estudadas desde 1968 a 1980, bem como os compostos isolados alcaloidais ou não das mesmas.

Acreditamos que estas informações também sejam muito úteis para aqueles interessados no estudo da sistemática química vegetal.

TABELA 1

COMPOSTOS ISOLADOS DE SOLANUM

Espécie	Compostos Isolados	Referência
ACAULE	tomatina	207
	demissina	207
	α e β solamarina	207
	α e β chaconina	207
	α solanina	207
ACCULEATIS-		
-SIMUM	solasodina	185,186,194,245,254
	solamargina	185,196,245
	solasonina	185,196,245
	β sitosterol	254
	lanosterol	254
	diosgenina	254
AETHIOPICUM	betulina	129
	esterolina	129
	solasodina	129

AJANHUIRI	tomatina	207
	demissina	207
	α e β solamarina	207
	α e β chaconina	207
	α solanina	207
ALATUM	conteúdo de glicoalcaloides	141
AMERICANUM	solasodina	247
	conteúdo de alcaloides	247
ARUNDO	solamargina	113
	solasonina	113
	solanina	113
AURANTIACO-		
BACEATUM	diosgenina	197
AURICULATUM	diosgenina	6
AVICULARE	solasodina	101,158,176,187
	solanaviol	260
BOERHAVII	tomatidina	21
BULBOCASTA-		
NUM	stigmasterol	22
	β sitosterol	22
	colesterol	22
	esteroide não identificado	22
		22
CALLIUM	25-isosolafloridina	193,248,250
	solacalinidina	193,248,250
CAMPYLACANTHUM		
THUM	hexanol	106
	cis-hexeno-2,1-ol	106
	cis-hexeno-3,1-ol	106
CAPSICIFORME	glicoalcaloide (solasodina)	72
CAROLINENSE	solauretina	221
	solamina	221
CHACOENSE	cicloartenol	23,24,195,208,223
	β sitosterol	25,24,195,223
	ácido palmítico	23
	ácido esteárico	23
	n-hentriacontano	23

	mistura de esteroides	24
	24-metilenocicloartenol	195
	2-metilenocicloartenol	223
	álcoois alifáticos	23, 208
	24-etilidenolofenol	223
	24-metillofenol	223
	24-metilenolofenol	223
	lofenol	223
	hidrocarbonetos	195, 208, 223
	campesterol	195, 208, 223
	colesterol	195, 208, 223
	stigmasterol	195, 208, 223
	ésteres de álcoois alifáticos	208
	ésteres terpenoides	208
	demissina	177
	commersonina	177
	dehidrocommersonina	222
CHATTERJEENUM	solasurina	89
	solamargina	89
	solasonina	89
	solasodina	89
CITRULLIFOLIUM	8-hidroxiflavonoides	253
COMMERSONII	demissina	177
	commersonina	177
CONGESTIFLO - RUM	solacongestidina	25
	solafloridina	25
	solacongestina	157
	β solacongestinina	157
	α solacongestinina	157
CORNUUTUM	sapogeninas esteroides - daís	70
CURTILOBUM	tomatina	207
	demissina	207
	α e β solamarina	207

	α e β chaconina	207
	α solanina	207
CYANANTHUM	solasodina	26
	clorogenina	26
	β sitosterol	26
DASYPHYLLUM	soladulcamarina	199
	glicoalcaloides derivados do tomatidenol	161
	α, β e γ solamarina	199
DEMISSUM	tomatina	20
	demissina	20
DIMORPHOSPIL- NUM	tomatidina	248
DULCAMARA	tomadina	27, 29
	tomatidenol	27, 30, 31, 32, 34, 35, 37, 39, 40, 41, 134, 200
	tomatidenol (glicosídeo)	35
	soladulcidina	27, 30, 31, 32, 34, 38, 39, 41, 134, 200
	solasodina	31, 32, 36, 40, 41, 200
	α, β e γ solamarina	28
	2 glicosídeos de tomatideno-5, 3- β ol	28
	α, β soladulcidina	33, 35
	glicosídeos de soladulcidina	35
	solamargina	35, 36, 37
	solasonina	35, 36, 37
	cicloartenol	136
	24-metilenocicloartanol	136
	cicloeucaleanol	136
	obtusifoliol	136
	lofenol	136
	24-metilenolofenol	136
	24-etilídenolofenol	136

	colesterol	136,163,164,178, 225
	β sitosterol	136,125,163,178
	stigmasterol	125,136,163,178
	campesterol	125,136,163,164, 178
	brassicasterol	125,136,163,178
	iso-fucoesterol	136,163,178
	24-metilenocolesterol	136,163,178
	octadecanol	136
	ácidos graxos	125,136,237
	galactosídeos de coles- terol	125
	conteúdo alcalóidico	144
	tigogenina	38
	n-alcanos C ₂₂₋₃₃	107
	hidrocarbonetos parafí- nicos ramificados	107
	glicosídeos não identi- ficados	41
	licoxantina	42
	licofil	42
	3,4-dehidrolicopeno-16-al	88
	conteúdo total de sapoge- ninas esteroidais	70
ECUADORENSE	solafilidina	116,165,233
	deacetilsolafilidina	116,165,233
ELAEAGNIFO- LIUM	solasodieno	6,44,90
	solasodina	6,117,187
	diosgenina	6,43,90
	solamargina	44,89,126
	solasodina-cloridrato	43
	glicoalcaloides não i- dentificados	137
	β sitosterol	43
	solasurina	89
	3-deoxi- Δ^3 - diosgenina	90

ERIANTHUM	solamarina	118
	solasodina	118
	pimpinellidina	118
EUACANTHUM	diosgenina	119,123
	3-deoxi- Δ^3 -diosgenina	119,123
	yamogenina	119,123
	solasodina	119,123
	solasodieno	119,123
EUCANTHUM	solamargina	126
FEROX	solanocarpona	45
	carpesterol	45
GIGANTEUM	β sitosterol	46
	solanogantina	201
	solanogantamina	246
	iso-solanogentamina	246
GLAUCOPHYLLUM	1,25-dehidroxivita-	
	mina D ₃	226
GLOBIFERUM	solasodina	166
	solasodieno	166
	nuatigenina	166
	iso-nuatigenina	166
	tomatidenol	166
	diosgenina	166
	spirostanol	166
GRAYI	8-hidroxiflavonoides	253
HAINANENSE	solasodenona	234,249
HAMULOSUM	nenhuma presença de	
	alcaloides	248
HAVANENSE	tomatidenol	227
	etiolina	227
HETERODOXUM	8-hidroxiflavonoides	253
HISPIDUM	neoclorogenina	235
	paniculogenina	235
	hispigenina	235
	hecogenina	244
	hispidogenina	244
HYPOMALACOPHYL-		
-LUM	solafilidina	48
	solamaladina	120
	andesgenina	167
INCANUM	solasonina	49

	alcaloide não identifica-	
	do	49
	solasodina	102
	β sitosterol	146
	β sitosterol- β -D-glicose	146
	solamargina	168
	diosgenina	228
	yamogenina	228
	antibiótico não identifi-	
	cado	179
INDICUM	β sitosterol	91
	diosgenina	91
	sapogenina não identifica-	
	da	91
	solasodina	91,186
	ácidos graxos	210
INTROSUM	dioscina	50,51
	sapogeninas não identifica	
	das	224
	alcaloides não identificados	224
JAMAICENSE	isocaelagenina	181
JASMINOIDES	solasonina	202
	solamargina	202
	solasodina	229
	sitosterol	252,257
	colesterol	252,257
	diosgenina	252,257
JUVENALE	diosgenina	119,123
	3-deoxi- Δ^3 -diosgenina	119,123
	solasodina	123
JUZEPCZUKII	tomatina	207
	demissina	207
	α,β solamarina	207
	α,β chaconina	207
	α solanina	207
KIESERITZKII	solasonina	55
	solamarginina	55
	tomatina	55
	solasodina	55

	ácidos graxos	237
KHASIANUM	solakhasianina	52
	solasurina	89
	solamargina	89
	solasodina	52, 53, 54, 170 187, 230, 236, 258
	solasonina	89, 170
	3,5-solagodieno	52
	ácidos graxos	147
LACINIATUM	solasodina	8, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 85, 86, 87, 131, 132, 133, 142, 154, 155, 156, 158, 159, 160, 187, 188, 190, 191, 192, 255
	solasodieno	15, 85, 188
	solasabanina	100
	solasonina	105, 190
	solamargina	10, 20, 98, 105 , 114, 190
	solasomina	114
	solaradixina	12, 47
	demissina	98
	glicoalcaloide (solasodina)	72
	tomatina	98
	solashabanina	99
	conteúdo total de glicoal - caloide	115, 130
	diosgenina	131, 132, 187, 188, 198, 255, 259
	clorogenina	131, 132
	hidrocarboneto	189
	β sitosterol	189, 259
	esteroides não identifica- dos	189
	ácidos graxos	189

	colesterol	259
	lanosterol	259
	stigmasterol	259
	squaleno	259
	alcaloide derivado da	
	solasodina	259
LACTINIATUM	conteúdo total de sa-	
	pogeninas	70
LANCINATUM	solasodina	143
LATIFOLIUM	solasonina	98
	solamargina	98
	demissina	98
LORENTZII	solamargina	126
	solasonina	126
LUTEUM	conteúdo de glicoal-	
	caloide	141
	ácido graxos	237
LYCOCARPUM	solamargina	56
	solasonina	56
MACRANTHUM	solamargina	211
	solasonina	211
MACROCARPON	solamargina	57
	solasonina	57
	α, β solamarina	57
	diosgenina	57
	β sitosterol	57
MAMMOSUM	3 glicosídeos não iden-	
	tificados	58
	solasodina	180, 203
	conteúdo de esteroides	
	não identificados	238
MARGINATUM	solasodina	59
	solamargina	169
NIGRUM	solasodieno	61, 62
	solasodina	21, 61, 121, 186,
		187, 204, 213
	tigogenina	63, 214
	ácidos graxos	237, 240

	diosgenina	61, 204, 237, 240
	colesterol	225
	antrocianinas	60
	β solamargina	213, 241
	solamargina	62, 93, 212, 241
	2 glicosídeos não identificados	218
	solasonina	62, 93, 212, 241
	éster insaturado	121
	2 aglicons não identificados	121
	glicoalcaloide não <u>i</u> dentificado	93
	conteúdo de glicoalca <u>l</u> oide	141
NODIFLORUM	conteúdo total de sapogeninas esteroidais	70
OLERACEUM	solasonina	145, 205
	solamargina	145, 205
	glicosídeo não <u>i</u> dentificado	145, 205
PALINACANTHUM	solamargina	56
	solasonina	56
PANICULATUM	jurubina	64, 68
	jurubidina	64
	jurípidina	65
	iso-juribidina	65
	iso-paniculidina	65
	3 alcaloides não <u>i</u> dentificados	66
	2 glicosídeos de pani <u>c</u> ulogenina	67
	solanina	215
	2 glicosídeos não <u>i</u> dentificados	215
PERSICUM	solasonina	135
	solamargina	135
	solapersina	162

PINNATUM	solasonina	108
	solamargina	108
	diosgenina	108
PLATANIFOLIUM	solasodina	138
	solasonina	171
	solatifolina	171
	ácidos graxos	172
	alcanóis C ₂₀₋₃₂	172, 242
	esteroides	172
	diosgenina	216
	alcanos C ₁₅₋₃₆	242
	sitosterol	242
	stigmasterol	242
	campesterol	242
	colesterol	242
PSEUDOCAPSI- CUM	derivados de cumarinas e flavonóides	103
	7 alcalóides	103
	solanocapsina	103
	chelocardina	127
	glicosídeo-flavonóides	139
	glicosídeos de quercitol	139
	glicosídeos de kaempfenol	139
	solacasina	182
PSEUDOQUINA	alcalóides não identifica <u>dos</u>	69
	esteroides	69
	solaquidina	231
PSEUDOMEUM	solamargina	122
	solasonina	122
	clorogenina	122
	β sitosterol	122
	campesterol	122
	stigmasterol	122
PSEUDOPERSI- CUM		
	solasonina	148

	solamargina	148
	β solamargina	148
	α soladulcina	148
	tigogenina	148,214
	diosgenina	148
	ácidos graxos	237
POLYADENIUM	stigmasterol	22
	β sitosterol	22
	colesterol	22
	esteroide não identifi-	
	cado	22
PYRETRIFOLI		
UM	diosgenina	119,123
	3-deoxi- Δ^3 -diosgenina	119,123
	solasodieno	119,123
	solamargina	126
ROSTRATUM	sapogeninas esteroidais	70
	ácidos graxos	237
	diosgenina	255
	solasodina	255
SCHIMPERIA-		
NUM	esculetina	71
	astragalina	71
	isoquercitrina	71
	glicosídeo-kaempfenol	71
	α, β - solamargina	149
	β, γ - solamarina	149
	1 glicosídeo não identifi	
	cado	149
	9 alcaloides não identifi	
	cados	149
SEAFORTHIA-		
NUM	solanoforthina	232
	solaseaforthina	243
	isosolaseaforthina	243
SIMPLICIFO-		
LIUM	conteúdo total de sapogeni-	
	nas	70

SINAICUM	conteúdo total de sapogeni nas	70
SISYMBRIFO LIUM	2 prováveis esteroides ácidos graxos	94 217,237
STENOTONUM	tomatina demissina α,β - solamarina α,β - chaconina α - solanina	207 207 207 207 207
STORKII	conteúdo alcalóidico	73
STURTIANUM	metilhomohygrinato	128
TENUIPES	8-hidroxi flavonóides	253
TOMATILLO	solasodina	239
TOPIRO	ácidos graxos	173
TORVUM	jurubina neoclorogenina paniculogenina sisalagenona sisalagenina torvogenina solasonina clorogenina solasodina solasodieno	75 75,174 75 76 76 76,174 77 77,174 176,186 174
TOVARENSE	yamogenona diosgenona yamogenina	150 150 150
TRANSCAUCASI CUM	solasonina solamargina β -solamargina ácidos graxos	104 104 104 237
TRIFLORUM	conteúdo total de sapoge- ninas	70
TRILOBATUM	tomatideno-5,3 β ol ácidos graxos	78 206

TRIPARTITUM	solapalmitina	79,80
	solapalmitenina	79,80
	solamina	79
UMBELLATUM	solasodina	183
	solafloridina	183
	solasodieno	183
	diosgenina	183
	vespertilina	183
VARIABLE	esteróides não identificados	95
VERBASCIFOLIUM	solasodina	184,186
	solasodieno	184
	solafloridina	184
	tomatidenol	184
	diosgenina	184
	vespertilina	184
	$\Delta^{5,16}$ pregnenolona	184
	ácidos graxos	206
VESPERTILIO	bajamarina	110
	β -sitosterol	81,96
	diosgenina	81,96
	16-deidropregnenolona	81,96
	diosgeninalactona	81,96
	anosmagenina	109,140
	15-deidro-14 β -anosmagenina	109,140
	20-S-hidroxivespertilina	124
VIARUM	solamargina	220
	solasonina	220
	solasodina	220
	2 sapogeninas não identificadas	220
WRIGHTII	solasonina	82
	solamargina	82
	solasodina	82
	clorogenina	82

XANTHOCARPUM

4 α -metil-24 ξ -etil-5 α - -colesta-7-eno-3 β ,22 ξ - -diol	153
3 β -22 ξ -deidroxi-4 α -metil- -24 ξ -etil-5 α -colesta-7-eno- -6-ona	153
3 β -benzoxi-14 β ,22 ξ -deidroxi- -4 α -metil-24 ξ -etil-5 α -coles- ta- 7 - eno-6-ona	153
3 β -benzoxi-14 α ,22 ϵ -deidroxi- -4 α -metil-24 ϵ etil-5 α -colesta- -7-eno-6-ona	153
3 β -(p-hidroxi)-benzoxi-22 ξ - hidroxi-4 α -metil-24 ξ -etil-5 α - -colesta-7-eno-6-ona	153
4 α -metil-24 ξ -metilcolesta-7- -eno-3 β ,22 ξ -diol	175
cicloartenol	112
derivados alcaloidais não i- dentificados	151
traços de heterosídeos de to matidenol	151
quercetina-3-O- β -D-glicopira nosil-O- β -D-manopiranosídio	256

2. ESTUDO QUÍMICO DO SOLANUM GRANULOSO-LEPROSUM

2.1. Descrição da planta /261/

Nome científico - Solanum granuloso-leprosum (Dunal), Solanaceae.

Nome vulgar - fumo bravo ou falso tabaco.

Trata-se de uma planta perene, arbustiva, lenhosa, com 2-3 m de altura. Caule cilíndrico, densamente granuloso-piloso e ramificado. Folhas simples, alternas, verdes claras, de ápice agudo e base alternada, na face superior verde clara, ásperas ao tato pela presença de pelos fasciculados e dendrítricos amarelo-pálido-translúcidos e na face inferior apresentam-se mais claras, mais ásperas, com tomento muito denso formado por pelos estrelados e dendrítricos concentrados ao longo das nervuras proeminentes.

Inflorescência terminal, ramificada e cimoso - congesta. Flores hermafroditas, diclamídeas e actinomorfas; cálice tubuloso, verde-amarelado, externamente granuloso devido a presença de numerosos pelos dendrítricos; corola profundamente branco-azulada, externamente revestida - por densa pilosidade estrelada; estames com anteras amarelas, grossas, de deiscência apical poricida, prolongando-se em fendas longitudinais; ovário súpero globoso, denso-piloso; estilete filiforme, longo, simoso, com os 2/3 basais revestidos por densa pilosidade amarelo-pálido-translúcida. Fruto baga, esférico, amarelo e recoberto por numerosos pelos estrelados e amarelo-pálido-translúcidos.

Reproduz-se exclusivamente por sementes. Ocorre em todas as regiões do Estado de São Paulo, demonstrando preferência por solos semi-arenosos e ácidos.

2.2. Otimização do método de extração e tratamento químico dos extratos obtidos

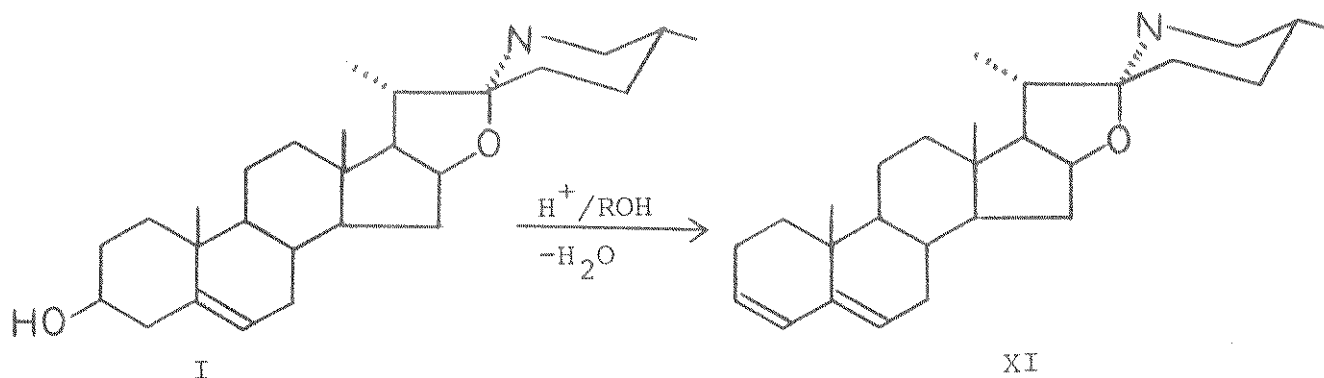
A padronização do método de extração das partes aéreas (frutos, folhas e madeira) do S.g.l. foi de suma importância para o trabalho e baseou-se não só no cálculo do rendimento dos glicosídeos e aglicons obtidos como também na seletividade. Damos muita ênfase ao fato de um determinado método fornecer a fração alcalóidica praticamente livre de outras classes de substâncias que a tornariam muito complexa e consequentemente dificultariam o isolamento dos alcaloides. Verificamos a sele-

tividade através de CCD revelada com reagente de Dragendorff seguida de pulverização com $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{CH}_3\text{OH}$ e aquecimento.

Primeiramente fizemos um levantamento dos métodos usualmente mencionados na literatura e testamos cada um deles no laboratório denominando-os métodos 1,2,3,4 e 5 /232,262,82,102/. O método nº 2 seguiu o primeiro sendo que realizamos uma extração prévia do material com éter de petróleo.

De todos os métodos testados o nº 3 foi o mais satisfatório pois o desengorduramento prévio do material com éter de petróleo seguido da saponificação com KOH em etanol, resultou numa fração neutra mais definida, isto é, apresentando manchas distintas em CCD e numa fração alcalóidica mais limpa, facilitando consequentemente o isolamento dos constituintes neutros e básicos em coluna de sílica.

Um outro aspecto relevante foi a hidrólise dos glicosídeos obtidos. Segundo resultados apresentados na literatura / 263 / o ponto de ebulição dos solventes e a concentração do ácido na solução são variáveis fundamentais quando desejamos evitar a formação de artefatos como é o caso da presença de solaso-3,5-dieno (XI) obtido da desidratação da solasodina (I) liberada na hidrólise dos seus glicosídeos correspondentes, solamargina e solasonina.



2.3. Identificação e determinação estrutural dos compostos isolados das folhas

2.3.1. Extrato éter de petróleo

Material saponificável - O espectro no infravermelho (fig.4.1) do material (MSF) apresenta bandas de absorção em 1570 e 1470 cm^{-1} características de grupo carboxilato além das bandas em 720 e 730 cm^{-1} relativas a deformação de CH_2 em compostos alifáticos de cadeia longa .

Com o objetivo de obter os ácidos carboxílicos correspondentes tratamos o material com solução aquosa de ácido clorídrico sob re - fluxo e de fato obtivemos os ácidos carboxílicos livres (MSF- 1) o que ficou confirmado através da análise do espectro no infraverme - lho (fig. 4.2) da mistura resultante da reação, devido à presença de uma banda larga entre $3300 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ característica da frequên - cia de estiramento do grupo O-H em ácidos carboxílicos , de uma ban - da intensa em 1700 cm^{-1} relativa à frequência de estiramento da car - bonila e finalmente uma banda em 720 cm^{-1} relativa à deformação de CH_2 em compostos alifáticos de cadeia longa.

De acordo com os resultados publicados , o material saponificá - vel dos extratos éter de petróleo de várias espécies vegetais pertencentes ao gênero Solanum é basicamente constituído dos ácidos palmí - tico, esteárico, linoleico, oleico ou linolênico /112 /, o que nos levou a identificar os ácidos presentes no material saponificável , através da análise de cromatografia em fase gasosa, dos ésteres metí - licos correspondentes comparando com os ésteres dos ácidos carboxíli - cos até agora encontrados em Solanum.

O tratamento da mistura de ácidos carboxílicos com solução etê - rea de diazometano nos forneceu a mistura dos ésteres . metílicos - (MSF-2) correspondentes cujo espectro no infravermelho (fig.4.3) confirma a reação de esterificação ocorrida através da presença das bandas em 1720 e 1240 cm^{-1} que são características de ésteres.

A cromatografia em fase gasosa da mistura de ésteres apresentou um cromatograma (fig.2.1) com 2 picos que foram identificados como sendo os ésteres metílicos dos ácidos palmítico (MSF-2P) e esteári - co (MSF-2E) através da técnica da coinjeção da mistura com os padrõ - es .

Cálculo quantitativo do teor de ácido palmítico e esteárico no MSF-2:

Considerando que a área do pico é proporcional a quantidade do constituinte detectado e que no cromatograma do MSF-2 observamos so - mente 2 picos proeminentes (fig.2.1) calculamos a percentagem de ca - da componente pelo método da triangulação através da seguinte fórmu - la:

$$\%A = \frac{\text{área de A}}{\text{soma das áreas (A+B)}} \times 100$$

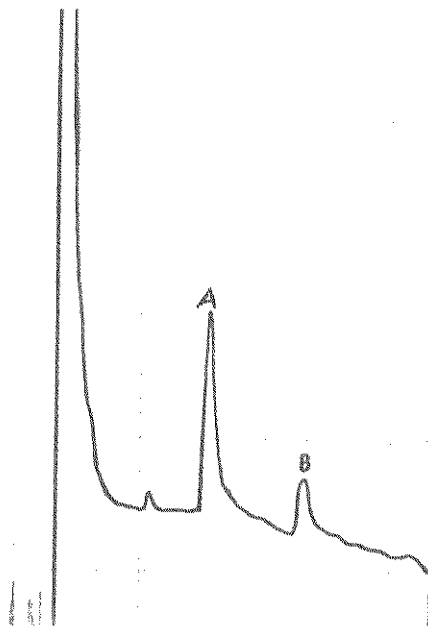


Fig.2.1 - Cromatograma do MSF-2

onde A= MSF-2P

B= MSF-2E

Os cálculos nos mostraram que o material saponificável das folhas é constituído de 30% de ácido esteárico e 70% de ácido palmítico.

Material não saponificável - O material não saponificável das folhas (MNSF) era de consistência sólida marrom claro, totalmente solúvel em hexano . Fizemos uma cromatografia em coluna de sílica acompanhada por CCD o que nos permitiu reunir as frações com o mesmo Rf e mesma coloração com os reveladores usados.

Obtivemos várias frações inicialmente denominadas de MNSF 1,2,3, 4,5 e 6.

MNSF-1

O espectro no infravermelho (fig.4.4) do MNSF-1 apresenta bandas em 2960-2850 cm^{-1} e duas bandas intensas em 720 e 740 cm^{-1} caracte -

rísticas para hidrocarboneto saturado de cadeia longa.

No espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.5) verificamos um único sinal em 1,30 δ (banda simples).

Levando em consideração que a faixa do ponto de fusão 68,2-68,8 °C é relativamente estreita, sugerimos inicialmente a presença de um único hidrocarboneto.

O espectro de massas do MNSF-1 (fig.4.6) apresenta a curva gaussiana característica para a fragmentação de hidrocarboneto de cadeia / longa , além de 3 sinais verificados em m/e 464,450 e 436.

Fizemos cromatografia em fase gasosa do MNSF-1 e obtivemos um cromatograma (fig.2.2) com 2 picos de áreas aproximadas. Isto nos levou a concluir que não se trata de um único hidrocarboneto, mas de uma mistura de pelo menos 2, sendo o tritriacontano ($C_{33}H_{68}$) o de maior massa correspondente ao pico molecular observado $M^+ = 464$ e outro pertencente a mesma série homóloga.

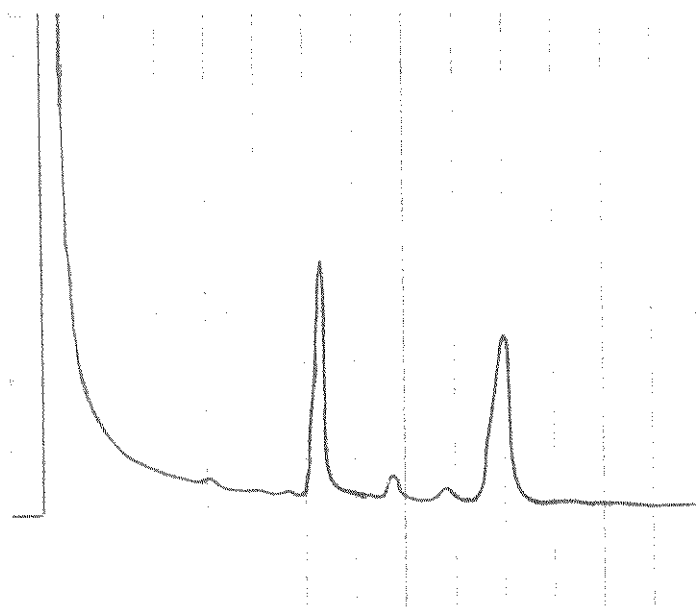


Fig.2.2- Cromatograma do MNSF-1

MNSF-2

Trata-se de uma mistura complexa , cujo espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.7) nos leva a supor que são compostos terpenóides com prótons vinílicos (sinal arredondado em 5,10 δ). A região do espectro entre

1,00 e 2,30 δ apresenta 2 sinais em 1,63 e 1,70 δ que poderiam ser de duas metilas sobre carbono tipo sp^2 e 2 dubletos em 2,03 e 2,33 δ compatíveis para a região de prótons vizinhos a grupo funcional contendo um átomo eletronegativo como por exemplo a carbonila.

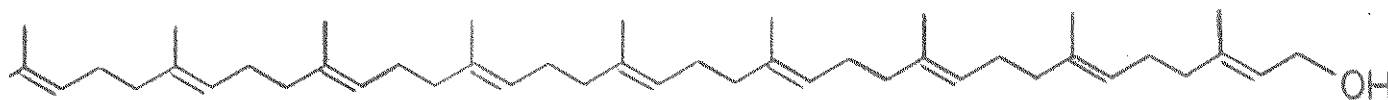
O espectro na região do infravermelho (fig.4.8) mostra absorção / em 1715 cm^{-1} característica para grupo carbonila de cetonas, que poderia estar em anel de 6 membros /264/.

Por outro lado, CCD revelada com o revelador para terpenos e esteroides (3.1) do MNSF-2, continuou a mostrar várias manchas mesmo após diversas tentativas de purificação em coluna de sílica. Em vista da complexidade da mistura não somos capazes de apresentar sugestões quanto as possíveis estruturas.

MNSF-3

O espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.9) do material designado por MNSF-3 apresenta bandas de absorção características para prótons de um poliprenoide. A presença de prótons vinílicos fica evidente pela banda larga e intensa em 5,10 δ . Um dubleto em 4,03 δ com $J = 8 \text{ Hz}$ pode ser devido a banda de absorção de próton carbinólico. Para os sinais em 1,61 δ , 1,70 δ e em 2,06 δ sugerimos a presença de grupos metila em carbono sp^2 e prótons metilênicos alílicos respectivamente.

A integração do espectro de R.M.N. de H^1 de composto idêntico isolado dos Solanuns megalochieton e swatziano (Baptistella, Lúcia e Magalhães, Eva G. - trabalho não publicado), nos leva a sugerir que o MNSF-3 trata-se provavelmente de um poliprenoide do tipo solanesol (XII).



XII

Uma evidência adicional para a confirmação da identidade entre MNSF-3 e o solanesol seria o espectro de massas do primeiro. Contudo, isto não foi possível tão logo o composto isolado. Testes em CCD, comparados com os primeiros demonstrou-nos que o composto está totalmente alterado.

MNSF-5

A evaporação do solvente em evaporador rotativo forneceu um sólido branco (968 mg) que recristalizado em CH_3OH formou cristais incolores com ponto de fusão 133-137,9 °C .

O espectro no infravermelho (fig.4.10) apresenta bandas para estiramento e deformação do grupo hidroxila (3290 e 1030 cm^{-1}) e bandas em $1640, 1460$ e 1380 cm^{-1} . A banda em 1640 cm^{-1} poderia ser referente a estiramento de $> \text{C} = \text{C} <$.

O espectro de massas do MNSF-5, sem purificação prévia apresentou picos com m/e 412, 414, 426, 428 e 440 (fig.4.11).

Diante da ocorrência frequente de constituintes esteroidais como colesterol, sitosterol, stigmasterol em espécies de *Solanum* /112/ achamos que o MNSF-5 poderia tratar-se de uma mistura de esteroides na qual o colesterol não poderia fazer parte pois não observamos , no espectro de massas o sinal com $m/e = 398$.

Uma confirmação adicional importante para nós foi a informação /obtida com os testes em CCD com o revelador para esteroides /265/. Nestes testes comparamos o MNSF-5 com os padrões de colesterol e sitosterol para observarmos, principalmente a cor destes com o revelador. Verificamos que a amostra corava-se de maneira similar aos padrões.

O espectro de massas do MNSF-5 , obtido após várias cristalizações (fig.4.12) , apresentou íon molecular $M^+ = 426$, além de picos com $m/e = 411 (M^+ - \text{CH}_3)$, $393 (M^+ - \text{H}_2\text{O})$ e $69 (m/e = \text{C}_5\text{H}_9^+)$ sendo este último o pico base.

Quanto ao espectro de R.M.N. de H^1 (tab.2, fig.4.13), observamos sinais em $0,66\delta$ (3H,s), $0,80\delta$ (3H,s) e $0,88\delta$ (3H,s), correspondentes a 3 grupos metila. A integração para o singlete em $1,00\delta$ confirmou 9 hidrogênios indicativos para absorção de 3 grupos metila. As bandas /simples em $1,63\delta$ e $1,70\delta$ poderiam ser de metilas em carbono tipo sp^2 . Os sinais em $3,26\delta$ (banda larga, 1H) e $3,53\delta$ (s, 1H, desaparece com adição de D_2O) evidenciou-nos a presença de próton carbinólico e próton alcóico, respectivamente. A existência dos grupos metila sobre dupla /foi reforçada devido ao sinal em $5,20\delta$ (t, J = 6H_2 , 1H), referente a próton vinílico.

O espectro no ultravioleta apresenta absorção ($\lambda_{\text{máx}}$) a 237 e 240,6 nm (fig.4.14).

Baseando-nos na literatura /266/, constatamos que a identificação

TABELA 2

POSICÃO DOS SINAIS DO R.M.N. DE H^1 PARA O MNSF -5 E DERIVADOS
(δ em ppm em solução de $CDCl_3$)

Nº	Composto	H		CH ₃							-OCOCH ₃
		C-3	C-24	C-18	C-19	C-21	C-26 , 27	C-30	C-31	C-32	C-3
XIII	lanosterol	3,53	5,20	0,66	1,00	1,00	1,70 ; 1,63	0,80	1,00	0,88	---
	*	---	---	0,68	0,98	---	---	0,79	0,98	0,88	---
	(s,l) ^d	(t) ^a									
XIV	acetato	4,55	5,15	0,72	1,02	0,90	1,73 ; 1,65	0,90	0,90	0,90	2,08
	*	---	---	0,68	0,97	---	---	0,85	0,85	0,85	---
	(dd) ^c	(t) ^a									
XV	oxidado	---	5,20	0,72	1,13	0,90	1,70 ; 1,63	1,12	1,08	0,90	---
	**	---	---	0,70	1,10	---	---	1,10	1,10	0,88	---
	benzoato	4,83	5,20	0,73	1,12	1,12	1,73 ; 1,66	0,93	1,12	0,98	---
XVI	(t) ^b		(t) ^b								

a) J = 6 Hz b) J = 8 Hz c) $J_{ae} = 4$ Hz $J_{aa} = 12$ Hz d) l = largo

* dado da literatura /271/ em CCl_4 ** dado da literatura /271/ em $CDCl_3$

de esteroides poderia ser feita utilizando a técnica do GC-MS onde os esteroides acetilados, pelo método clássico, com anidrido acético piridina, são analisados por cromatografia a gás (3% OV-17 a 280 °C isotermicamente).

Levando em consideração que o espectro no infravermelho indicou a existência de um grupo hidroxila (3290 e 1030 cm^{-1}) e que a faixa do ponto de fusão do MNSF-5 era relativamente larga, embora em CCD fosse observado uma única mancha após várias cristalizações, achamos útil injetar o MNSF-5 acetilado no cromatógrafo para verificarmos o seu grau de pureza. O cromatograma obtido (fig.2.3), apresentou 3 picos, sendo um evidenciado pela sua área (cerca de 12 vezes maior do que a dos outros dois).

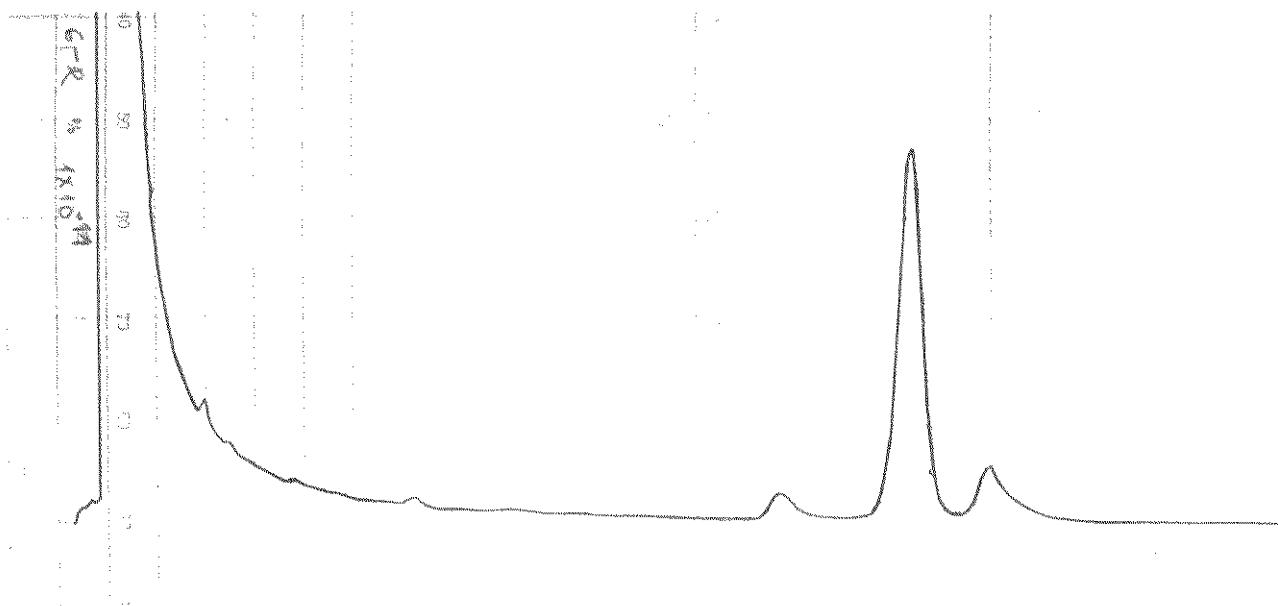


Fig.2.3- Cromatograma do MNSF-5 acetilado

Conforme informações obtidas na literatura /267,268/, sílica gel G impregnada com AgNO_3 é muito usada para a separação de esteroides não saturados, previamente acetilados. Fazendo testes com amostra do MNSF-5 acetilado em CCD com sílica impregnada com AgNO_3 verificamos que tínhamos uma mistura de pelo menos 3 componentes e que talvez pudéssemos isolar os constituintes utilizando uma coluna com sílica gel G impregnada com AgNO_3 .

A cromatografia em coluna de sílica gel G impregnada com /

AgNO_3 do MNSF-5 acetilado, forneceu um único composto que se corava de púrpura em CCD com o revelador para terpenos e esteroides. Através do R.M.N. de H^1 (fig.4.15a) do acetato puro, constatamos que o composto denominado MNSF-5 tem pelo menos 8 metilas e que portanto deve ser um triterpeno tetracíclico.

No levantamento de triterpenos tetracíclicos pelo peso molecular e ponto de fusão, dado por CRABBE et al./269/, mostrou-nos que uma possível estrutura para o MNSF-5 seria o lanosterol. Achamos /necessário para a confirmação definitiva da estrutura o preparo de produtos derivados que por intermédio da análise dos espectros de R.M.N. de H^1 comparados com os dados da literatura referentes às /regiões de absorção das metilas angulares, pudéssemos confirmar ou não, a identidade do MNSF-5 com o lanosterol.

A reação de acetilação do MNSF-5 (quadro 1) foi feita de forma usual com piridina e anidrido acético à temperatura ambiente durante 48 horas. O produto foi purificado em coluna de sílica de placa impregnada com AgNO_3 e cristalização com $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$ e CH_3OH forneceu agulhas incolores com ponto de fusão $128,1-132,2^\circ\text{C}$ e $[\alpha]_D^{25} = +62^\circ$.

O espectro de R.M.N. de H^1 (tab. 2, fig.4.15a) apresenta tres sinais na região relativa a campo mais alto, em $1,02\delta$ (s,3H), $0,88\delta$ (s,12H) e $0,68\delta$ (s,3H) correspondentes a 6 grupos metila. A insaturação na cadeia lateral foi confirmada no espectro pelo sinais dos grupos metila olefínicos em $1,60\delta$ e $1,70\delta$. Uma confirmação adicional para a única hidroxila no MNSF-5 foi a absorção do monoacetato em $2,06\delta$. Na região relativa a campo baixo, observamos o sinal em $5,16\delta$ (t, $J = 6\text{Hz}$, 1H) e $4,55\delta$ (dd, $J_{ae} = 4\text{Hz}$, $J_{ee} = 12\text{Hz}$) característicos para próton vinílico e próton de carbono adjacente ao grupo acetato, respectivamente.

O espectro no infravermelho (fig.4.16) do MNSF-5 acetilado mostra bandas de um monoacetato em 1740 e 1240 cm^{-1} .

O espectro de massas (fig.4.17) apresenta íon molecular $M^+ = 468$.

Em vista dos dados de ponto de fusão, rotação ótica e espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-5 acetilado não concordarem exatamente com aqueles registrados na literatura /270/, achamos conveniente preparar outros derivados.

As várias tentativas de cristalização do produto obtido da reação de oxidação do MNSF-5 (quadro 1) com o reagente de Jones foram todas insatisfatórias, além de observarmos um rendimento baixíssimo

tanto para esta como para a reação de oxidação com DMSO (23,7% e 11%, respectivamente).

O espectro no infravermelho do MNSF-5 oxidado (fig.4.18) apresenta forte absorção em 1710 cm^{-1} indicando-nos a presença da carbonila.

O espectro de R.M.N. de H^1 (tab.2,fig.4.19) mostra sinais em 0,72 δ (s,3H), 0,90 δ (s,6H), 1,08 δ , 1,12 δ e 1,13 δ apropriados para uma metila cada um. Observamos que a hidroxila sendo oxidada para cetona causa um deslocamento paramagnético (0,13 ppm) sobre os prótons metílicos em C-19 o que fica evidenciado no espectro pelo sinal em 1,13 δ , comparado ao sinal em 1,00 δ para os mesmos prótons no composto de partida (tab.2). A dupla da cadeia lateral não foi atacada pois verificamos os sinais referentes as metilas olefínicas em 1,63 δ e 1,70 δ .

A região do espectro entre 2,33 δ e 2,66 δ apresenta-se complicada, sendo atribuída para prótons em carbono adjacente a carbonila. A absorção do próton olefínico está representada por uma banda larga em 5,20 δ . O espectro no ultravioleta (fig.4.20) além do $\lambda_{\text{máx}}$ em 235 nm apresenta ombro em 247,3 e 254,5 nm.

Comparando os espectros de R.M.N. de H^1 do MNSF-5 oxidado com o da literatura para o lanosterol oxidado (tab . 2) observamos perfeita correspondência para as absorções das metilas angulares 18,19 e 32, além das metilas geminais 30 e 31.

Um último derivado citado por CRABBE et al. é o benzoato de lanosterol (XVI) . Devido ao fácil e rápido preparo decidimos também prepará-lo.

O MNSF-5 benzoilado (quadro 1) apresentou $\alpha_D = + 82,6^\circ$ e cristalização em $CHCl_3$ e CH_3OH forneceu cristais aciculares incolores com / ponto de fusão 186,2 -187,4 $^\circ\text{C}$.

O espectro no infravermelho (fig.4.21.) revela-nos a presença de a nel aromático (3035,1600 e 1580 cm^{-1}) e a carbonila de êster em 1710 cm^{-1} que agora, devido a conjugação com o a nel aromático absorveria , realmente em frequência mais baixa.

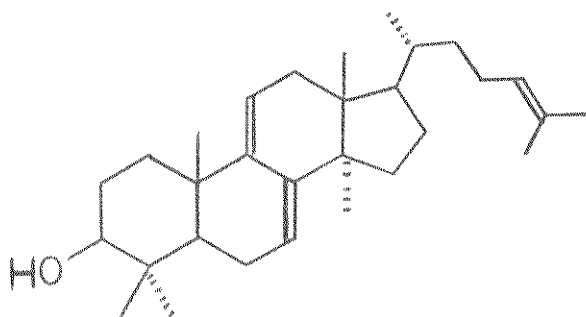
Os sinais observados para o R.M.N. de H^1 (tab.2,fig.4.22) do MNSF-5 benzoilado na região referente a campo alto 0,73 δ (s,3H), 0,93 δ (s, 3H), 0,98 δ (s,3H), 1,12 δ (s,9H) são apropriados para absorção de prótons metílicos. Observamos além dos sinais para os grupos metila sobre dupla (1,66 δ e 1,73 δ), os referentes ao próton olefínico (5,16 δ), o sinal arredondado em 4,80 δ compatível para o próton de carbono adja cente ao grupo benzoato, e o dos prótons aromáticos em 7,56 δ (2H,pró-

tons em meta) e $8,16 \delta$ (3H, prótons em orto e para).

O espectro no ultravioleta (fig.4.23) apresenta absorções em 235 nm e ombros a 273,7 e 280,5 nm.

As informações obtidas pelas análises espectrais do MNSF-5 e derivados, além da comparação entre as constantes físicas obtidas e aquelas da literatura, nos permitiram correlacionar o MNSF-5 com o lanosterol. Contudo, uma dúvida permanecia no que se refere ao sinal em $1,28 \delta$ observado no espectro de R.M.N. de H^1 para o MNSF-5 acetilado (fig.4.15a) não existente na literatura para o acetato de lanosterol.

O fato do ponto de fusão e do dado de rotação ótica do lanosterol isolado não estarem plenamente de acordo com aqueles da literatura /270/, pode ser explicado pela presença de impurezas tais como o 3 β -hidroxi-5 α -lanosta 7,9,24 trieno conhecido como agnosterol (XVII) cuja presença ficou comprovada pela análise do espectro no ultravioleta do lanosterol natural (fig.4.14) e do lanosterol oxidado (fig. 4.20).



XVII

CRABBÉ et al. notificam inclusive o isolamento de agnosterol junto com o lanosterol no material não saponificável extraído da lâ de carneiro.

Quanto ao sinal observado em $1,28 \delta$ no espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.15a) para o MNSF-5 acetilado, está completamente ausente no outro espectro (fig.4.15b) tirado alguns meses após a cristalização . Este dado veio confirmar totalmente a identidade entre MNSF-5 e o lanosterol. Quanto ao sinal observado achamos que poderia ser solvente, por exemplo hexano, que foi utilizado nas diversas purificações feitas do material em coluna de sílica impregnada com $AgNO_3$.

Um dado a mais que serviu para confirmar a presença do lanosterol

TABELA 3

DADOS DE R.M.N. DE C¹³ PARA MNSF-5 E I (100-102)

(deslocamentos em ppm)

Solvente	MNSF-5		I (100-102)	
	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	
Referência		/272/		
átomo de carbono				
1	35,6	35,0	36,1	
2	27,8	27,4	34,5	
3	78,8	78,3	79,5	
4	38,8	38,1	37,8	
5	50,4	49,8	48,9	
6	21,0	20,3	32,0	
7	27,8	27,4	180,9	
8	134,2	133,9	138,8	
9	134,2	133,9	164,2	
10	36,2	36,3	39,6	
11	18,3	17,6	23,7	
12	26,5	25,8	25,0	
13	44,5	43,7	44,9	
14	49,8	49,1	49,8	
15	30,8	30,2	30,1	
16	30,8	30,2	27,4	
17	50,4	49,8	48,9	
18	15,7	15,3	15,9	
19	18,6	18,0	18,5	
20	35,6	35,1	36,4	
21	19,1	18,4	18,8	
22	35,6	35,1	36,3	
23	24,0	24,2	23,9	
24	125,0	124,7	124,9	
25	130,5	130,2	130,7	
26	25,6	24,9	25,4	
27	17,6	16,9	16,4	
28	---	---	21,2	
29	---	---	170,4	
30	24,2	23,5	24,9	
31	27,8	27,4	28,7	
32	15,4	14,8	23,9	

foi a análise do espectro de R.M.N. de C^{13} ; levamos em conta os deslocamentos adotados para os carbonos do lanosterol, segundo a literatura /272/ e por comparação dos espectros obtidos em DFL (fig.4.24) e em FDFP (fig.4.25) . Neste último , observamos o desdobramento do sinal em 125 ppm para um dubleto, evidenciando a existência de um único próton sobre o carbono olefínico. Os sinais não desdobrados em 134,2 e 130,5 ppm indicaram carbonos totalmente substituídos (tab. 3).

I (100 - 102)

O fato da análise do MNSF-5 acetilado em cromatografia de camada delgada de sílica impregnada com $AgNO_3$ ter revelado a existência de pelo menos 3 acetatos, nos levou a verificar cuidadosamente as frações vizinhas àquela que forneceu o lanosterol, na esperança de obtermos as outras substâncias em maior quantidade.

Tomamos então a fração nº 48 por ordem de saída da coluna, acetilamos e recromatografamos em coluna de sílica. Deste fracionamento / obtivemos além do lanosterol duas outras frações que apresentaram R_f s diferentes em CCD e cores diferentes daquela do lanosterol com o revelador para terpenos e esteroides, muito embora não apresentassem uma única mancha em placa. Foram as frações 98-99 e 100-102 por ordem de saída da coluna do MNSF-4 acetilado. Cromatografia preparativa da fração reunida (100-102) em placa de sílica revelada com lâmpada ultravioleta nos forneceu um sólido incolor (62 mg) cuja recristalização em $(CH_3)_2C=O$ e CH_3OH forneceu cristais incolores em forma de agulhas com ponto de fusão $186,1 - 190,2^\circ C$, denominado inicialmente de I (100-102).

O espectro no infravermelho (fig.4.26) mostra bandas de absorção apropriadas para o acetato em 1740 e 1240 cm^{-1} , além das bandas em 1650 e 1580 cm^{-1} próprias de um grupo carbonila α, β não saturado.

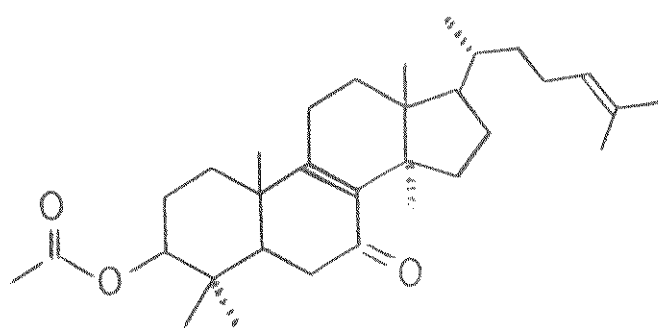
Comparando o espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.27) do I (100-102) com aquele do acetato de lanosterol (fig.4.15) identificamos os sinais referentes a 8 grupos metila: $0,65\delta (s, 3H)$; $0,88\delta$; $0,90\delta$; $0,95\delta (s, s, s, 12H)$; $1,20\delta (s, 3H)$; $1,63\delta$ e $1,70\delta$, sendo os 2 últimos característicos para metilas de um grupo isopropilideno terminal o que nos levou a concluir que trata-se de mais um triterpeno tetracíclico

da série do lanosterol. A região do espectro entre 2,20 δ e 2,80 δ apresenta várias bandas além de um singlete em 2,36 δ que podem ser devidos a prótons vizinhos a grupo carbonila em sistema rígido. Observamos ainda uma banda larga em 4,60 δ (1H) referente ao próton do C-3 e um tripleto mal resolvido em 5,20 δ (1H) referente ao próton olefínico / do grupo isopropilideno.

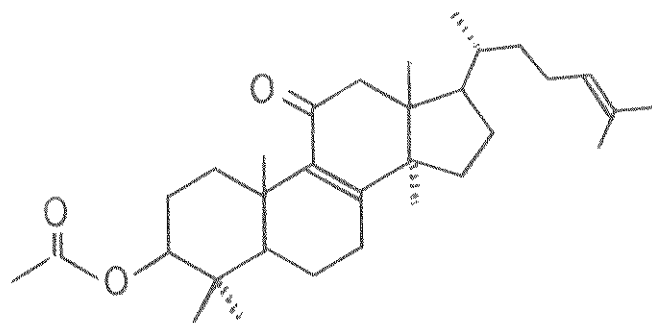
O espectro de massas (fig.4.28) apresenta íon molecular $M^+ = 482$ e a análise elementar do composto forneceu $C_{32}H_{48}O_3$ como fórmula molecular.

Comparando os pesos moleculares do acetato de lanosterol e o deste composto, observamos que a diferença é de 14 unidades, portanto / compatível para um oxigênio a mais, num grupo carbonila.

De posse destas informações admitimos 2 possíveis estruturas XVIII e XIX .



XVIII

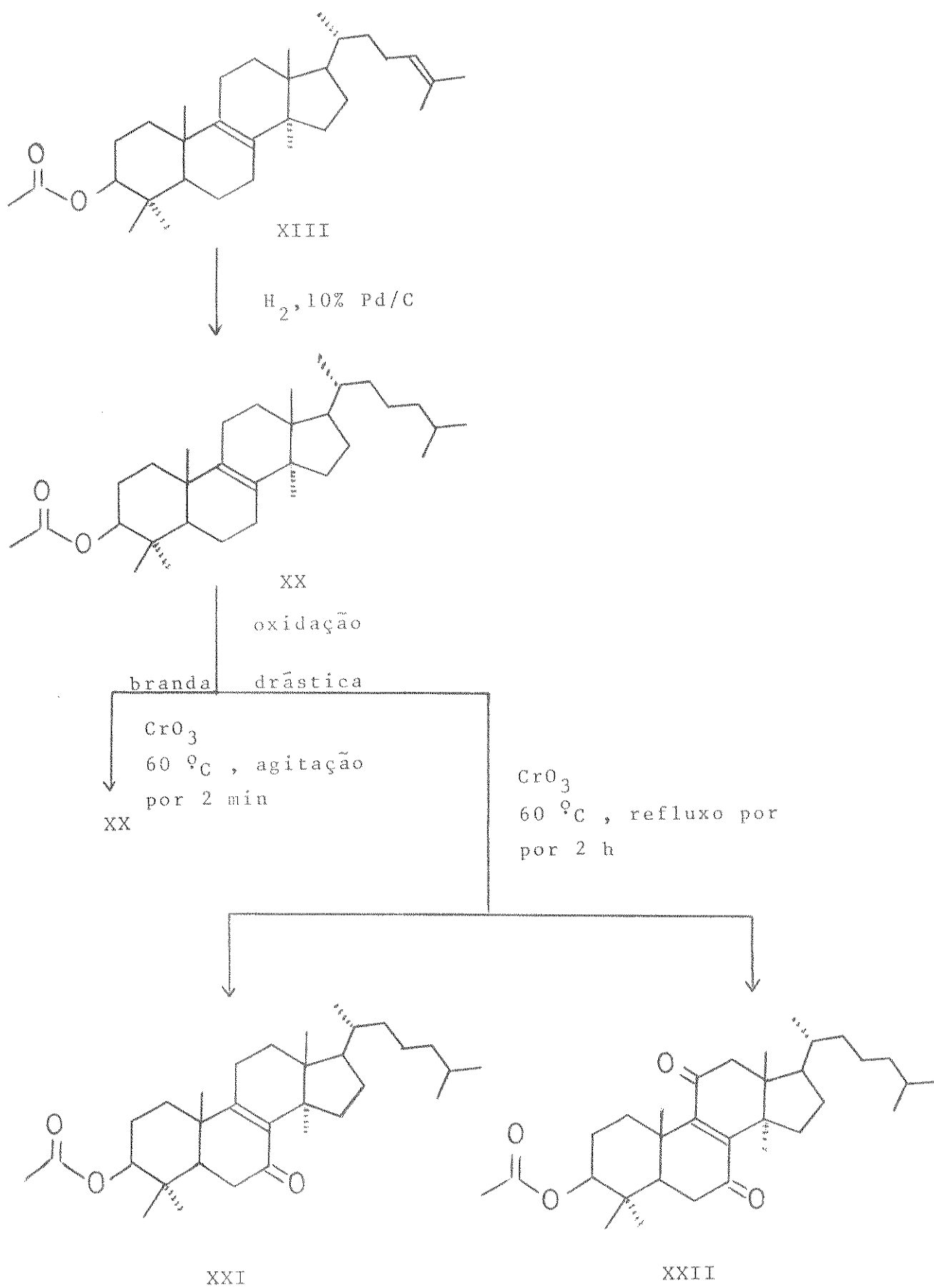


XIX

Com o objetivo de confirmarmos absoluta e incontestavelmente a posição do grupo carbonila achamos conveniente , por reações de oxidação, obtermos a partir do lanosterol, o sistema carbonila α , β não saturado dos compostos XVIII e XIX de modo análogo aquele executado por DJERASSI et al. /273/ a partir do lanosteno-8.

O acetato de lanosterol foi reduzido cataliticamente em atmosfera de hidrogênio na presença de paládio sobre carvão para dar o acetato de diidrolanosterol (XX, quadro 2) confirmado pelo desaparecimento dos sinais das metilas da ligação Δ^{24} no espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.29) , das bandas de absorção no infravermelho (fig.4.30) entre 790 e 840 cm^{-1} /264/ e do pico molecular a $M^+ = 470$ observado no espectro de massas (fig.4.31).

QUADRO 2

REAÇÕES DE OXIDAÇÃO DO LANOSTEROL

A oxidação branda do acetato de diidrolanosterol (quadro 2) dissolvido em hexano e ácido acético glacial, com trióxido de cromo em ácido acético 90% adicionado a primeira solução e sob agitação por 2 min a 60 °C, forneceu como principal produto, o material de partida identificado pelos dados espectrais de R.M.N. de H^1 e infravermelho.

Na reação de oxidação drástica /273/ do acetato de diidrolanosterol com trióxido de cromo e refluxo por 2 horas, obtivemos 2 compostos (quadro 2). Um deles identificado como 3 β - acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona (XXI) cujo espectro de massas (fig.4.32) mostra $M^+ = 484$. Seu espectro no infravermelho (fig.4.33) apresenta estiramento de grupo carbonila conjugada em 1650 e 1580 cm^{-1} , e absorções em 1740 e 1245 cm^{-1} sendo as 2 últimas condizentes para a carbonila de éster. No espectro de ultravioleta (fig.4.34), observamos $\lambda_{m\acute{a}x.}$ em 255,5 nm / ($\log \epsilon = 4,036$) . Em R.M.N. de H^1 (fig.4.35) verificamos os sinais para os prótons metílicos na região do espectro referente a campo alto : 0,65 δ (CH_3-18) ; 0,85 δ ; 0,90 δ ; 0,95 δ ($CH_3-21, 26, 27, 30, 31$ e 32); 1,21 δ (CH_3-19) ; 2,02 δ (CH_3-COOR) e 2,30 δ singlete compatível para CH_2-6 adjacente a carbonila em C-7 /273/.

O outro composto foi identificado como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11- diona (XXII). Seu espectro de massas (fig.4.36) apresenta o pico molecular em $M^+ = 498$. O espectro no ultravioleta (fig.4.37) apresenta $\lambda_{m\acute{a}x.}$ em 272 nm ($\log \epsilon = 3,86$). No espectro de infravermelho (fig.4.38) observamos absorções características de grupos: carbonila de éster (1735 e 1250 cm^{-1}) e carbonila conjugada (1680 cm^{-1}). Em R.M.N. de H^1 (fig.4.39) verificamos os sinais em 0,82 δ (CH_3-18) ; 0,87 δ ; 0,95 δ ; 1,18 δ (CH_3 , 21,30,31,32,26 e 27) ; 1,13 δ (CH_3-19), 2 singletes em 2,38 δ e 2,63 δ , convincentes para grupos metilenos adjacentes a carbonila e uma banda larga em 4,65 δ referente ao próton em C-3.

Fazendo uma análise comparativa entre os espectros de R.M.N. de H^1 dos 2 produtos obtidos com o do produto natural particularmente no que se refere as absorções das metilas angulares, observamos perfeita correspondência entre as absorções para as metilas do composto XXI e aquelas do produto natural. Uma das estruturas propostas (XIX) foi descartada pois segundo DJERASSI et al. /273/ a metila-18 desta absorve em 0,79 δ , portanto em campo mais baixo que a referente ao produto natural.

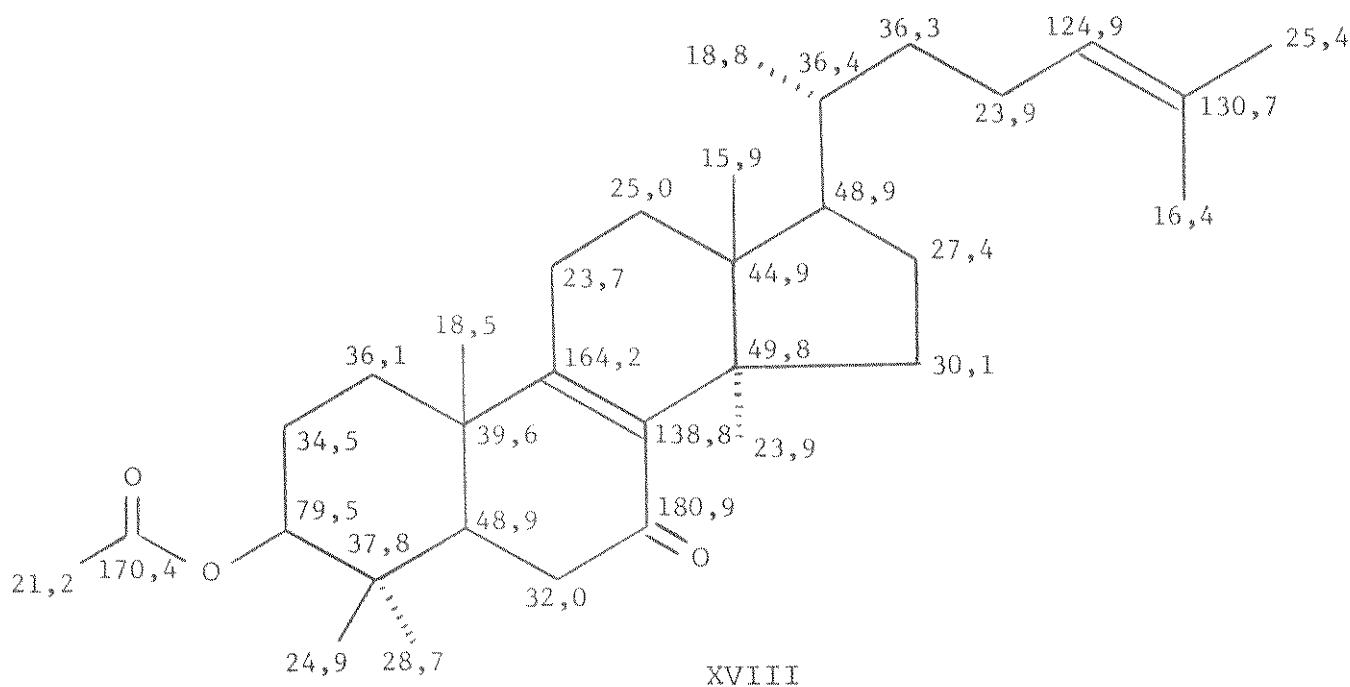
Concluimos assim que o composto inicialmente designado como I(100-102) trata-se do 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24-dieno-7-ona (XVIII).

O fato de não existir dados de R.M.N. de C^{13} (fig.4.40) para este composto motivou o nosso interesse no estudo , pois poderíamos fazer uma contribuição adicional na série dos compostos lanosta-8,24-dieno.

Os valores publicados para os deslocamentos dos carbonos do lanosterol (tab.3) nos foram úteis para uma análise comparativa.

Entre os carbonos ligados a oxigênio distinguimos o C-7 e C-29 em 180,9 e 170,4 ppm , respectivamente. Os sinais em 164,2 e 138,8 ppm atribuímos aos carbonos olefínicos 9 e 8 , que estão coerentes com os valores da literatura para um sistema carbonila conjugado /274/. Finalmente os 2 últimos sinais 124,9 e 130,7 ppm estão compatíveis para absorções dos C-24 e C-25, respectivamente.

O espectro com o desacoplamento parcial de prótons não pode ser /feito devido a pequena quantidade de material disponível do composto . Este seria útil para observarmos os deslocamentos de carbonos mais protegidos que estivessem ligados a hidrogênio.



III (98- 99)

A cromatografia em placa preparativa da fração (98-99) obtida da cromatografia em coluna da fração 48 acetilada forneceu uma substância sólida (73 mg), cristalina, amarelada com ponto de fusão na faixa 89,1 - 94,2 °C e $\alpha_D = + 104,4^\circ$, que apresentou uma única man

cha em cromatografia de camada delgada de sílica, corando-se de roxo com o revelador para terpenos e esteroides.

O espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.41) mostra bandas de absorção / simples em 0,86 δ (3H); 0,93 δ (9H); 1,15 δ (3H) e 1,20 δ (3H) que podem ser atribuídas a existência de seis grupos metila e bandas de absorção de prótons em grupos metila ligados a carbono sp^2 do tipo olefínico

($\begin{array}{c} \diagup \\ C = C \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{c} CH_3 \\ CH_3 \end{array} \right)$, situação esta confirmada pela presença

da banda larga por volta de 5,10 δ (1H) referente ao próton vinílico. A banda simples em 2,13 δ (3H) indica a presença de grupo metila de um acetato (CH_3-COOR) cujo próton carbinólico correspondente / ($AcO-CH<$) apresenta uma banda de absorção larga por volta de 4,55 δ (1H) comprovando que se trata de um derivado acetilado. Estes dados nos mostram que a molécula de III (98-99) possui 8 metilas além da metila do grupo acetato e portanto provavelmente é também um triterpeno tetracíclico da série do lanosterol. As bandas duplas em / 2,60 δ (2H) e quádrupla em 2,36 δ (2H) aparecem no espectro, em regiões características para absorção de prótons metilênicos vizinhos a um grupo carbonila enquanto que suas multiplicidades são próprias para as bandas de absorção de prótons metilênicos em sistema rígido nos levando a propor que a carbonila está no esqueleto lanostânico.

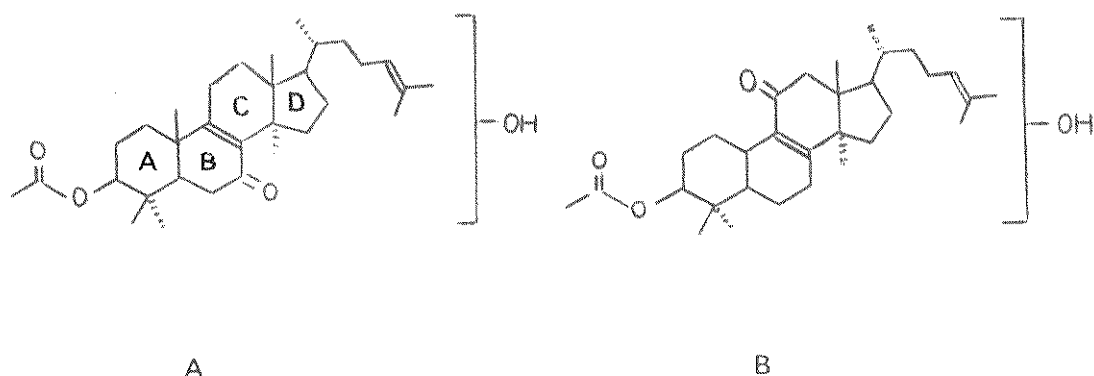
O espectro no infravermelho (fig.4.42), tirado em pastilha de KBr mostra entre outras bandas, duas bandas em 3560 e 3500 cm^{-1} , região do espectro característica para bandas de absorção relativas ao estiramento O-H de hidroxilas; bandas em 1740 e 1250 cm^{-1} características de grupo acetato e bandas em 1650 e 1580 cm^{-1} características de carbonila conjugada com ligação dupla carbono-carbono.

O espectro no ultravioleta (fig.4.43) mostra $\lambda_{m\acute{a}x.}$ por volta / de 269 nm ($\log \epsilon = 3,58$) confirmando a presença da carbonila α, β não saturada.

O espectro de massas (fig.4.44) apresenta pico molecular $M^+ = 498$. Comparando ao espectro de massas do acetato de lanosterol / ($M^+ = 468$) indica que a molécula do III (98-99) possui 30 unidades de massa a mais do que a molécula do acetato de lanosterol, das quais 14 unidades devem ser devido à carbonila α, β não saturada cuja presença ficou evidente pelas análises dos espectros no ultravioleta e no infravermelho discutidos acima.

As 16 unidades de massa restantes podem ser atribuídas à presença de uma hidroxila que pelo fato de não ter sofrido acetilação é terciária ou está numa posição secundária muito impedida espacialmente. O pico base ($m/e = 69$) certamente refere-se ao fragmento isopropilideno () mostrando mais uma vez que o III (98-99) é um triterpeno tetracíclico da série do lanosterol.

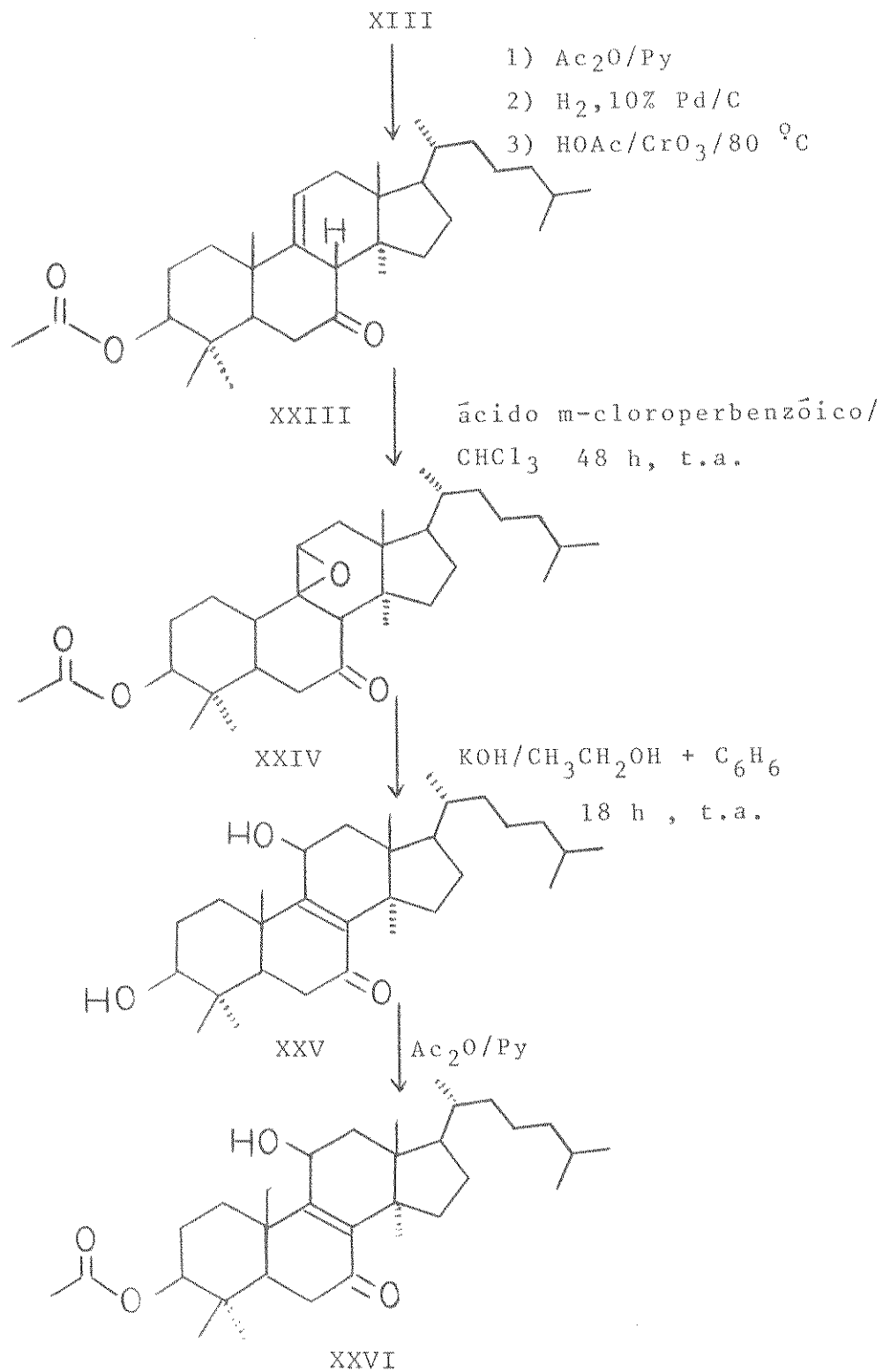
Os dados espectrais obtidos através da análise dos espectros de R.M.N. de H^1 , no infravermelho, no ultravioleta, e de massas são coerentes para nos levar a concluir que a molécula do III (98-99) possui uma das estruturas parciais (A ou B) apresentadas abaixo:



O fato de termos isolado também o 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24-dieno-7-ona (XVIII) nos levou inicialmente a supor que a estrutura / molecular de III (98-99) fosse inteiramente análoga, apenas possuindo uma hidroxila a mais. Comparando os espectros de R.M.N. de H^1 (fig. 4.27) de (XVIII) com o de III (98-99) (fig. 4.41), logo percebemos / que a banda de absorção referente aos prótons metílicos do carbono-18 no III (98-99) está deslocada para campo mais baixo, isto serviu para nos indicar que o grupo -OH está nas imediações do grupo metila do carbono -13 e portanto nos anéis C ou D ocupando posição β em relação ao esqueleto lanostânico, isto é, do mesmo lado que a metila do carbono 13 /275/. Levando em consideração que as substâncias isoladas teriam estruturas moleculares estreitamente relacionadas achamos útil / preparar o 3 β -acetoxi-11 β -hidroxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona (XXVI) - partindo do lanosterol (quadro 3) segundo método descrito na literatura /276/, pois seria de suma importância comparar os espectros de R.M.N. de H^1 do produto XXVI com o do III (98-99) não só em relação às regiões de absorção mas também com relação à feição das bandas.

QUADRO 3

VIA REACIONAL DO PREPARO DO DERIVADO 11 β -ol-7-ona
A PARTIR DO LANOSTEROL



Aquí vale salientar que o estudo de R.M.N. de H^1 de lanosterol e derivados feito por LEVISALLES et al. /271/ foi muito útil para nós principalmente em relação as atribuições feitas para as absorções dos prótons metílicos das metilas angulares .

O acetato de lanosterol reduzido, já comentado na discussão de / I (100-102) foi oxidado sob condições controladas /277/ em presença de solução de trióxido de cromo em ácido acético 90%.

Através de cromatografia comparativa em camada delgada do produto da reação com amostras autênticas do produto de partida, do 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona e do 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona constatamos que a reação de oxidação do acetato de lanosterol segundo condições de MARKER /277/, forneceu 3 produtos sendo que 2 apresentaram cores e valores de R_f idênticos aos padrões mencionados (7-ona e 7,11-diona) e um terceiro produto que foi isolado da mistura em placa de cromatografia preparativa coberta com sílica GF . Obtivemos uma substância sólida (112 mg) , incolor com ponto de fusão 144,2-146,6 °C e $[\alpha]_D = 57,8^\circ$ de acordo com o mencionado na literatura /277/ para o 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9 (11)-eno-7-ona (XXIII).

MCGHIE et al. /277/ verificaram que na análise em c.g.l. , somente 2 produtos são os verdadeiramente formados na reação de oxidação : o derivado 7,11- diona e 9(11)-eno-7-ona. O composto 8-eno-7-ona obtido, seria um artefato resultante do rearranjo da cetona β,γ não saturada. Segundo os investigadores, a formação do artefato é evitada se o produto bruto da reação é separado rapidamente em cromatografia de placa preparativa sobre sílica gel.

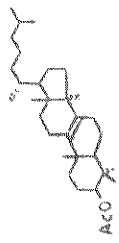
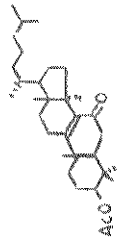
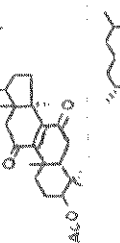
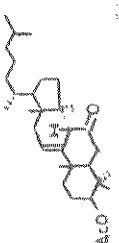
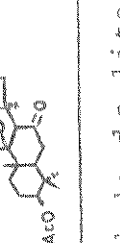
O espectro no infravermelho de XXIII (fig.4.45) mostra bandas em 1735,1700,1645 e 1240 cm^{-1} devido respectivamente a carbonila de éster, a carbonila no anel B , estiramento para a dupla C_9-C_{11} e deformação para o grupo acetato.

O espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.46, tab.4) registra bandas em 5,43 δ (m, 1H, 11-H); 4,50 δ (m, 1H, 3 α -H); 2,80 δ (m, 1H, 8 β -H) e 2,03 δ (s, 3H, acetato) .

O composto XXIII em clorofórmio (quadro 3) foi epoxidado com ácido m-cloroperbenzôico afim de obtermos o epóxido 9 β , 11 β . A confirmação da reação foi dada pelo ponto de fusão do composto 195,5-201,1 °C , pelo espectro no infravermelho (fig.4.47) que apresenta bandas de absorção em 1735,1700,1250 e 1030 cm^{-1} e finalmente pelo espectro de

TABELA 4

DESLOCAMENTOS DOS GRUPOS METILA EM DERIVADOS DO LANOSTEROL
(R.M.N. de H^1 a 60 MHz, deslocamentos aferidos em δ)

Composto	Solvente	CH ₃ 18	CH ₃ -19	CH ₃ -21	CH ₃ -26	CH ₃ -27	CH ₃ -30	CH ₃ -31	CH ₃ -32
	CCl ₄	0,66	1,01	0,86	0,93	0,82	0,86	0,86	0,86
	CCl ₄	0,65	1,21	0,85	0,90	0,90	0,95	0,95	0,95
	CDCl ₃ *	0,68	1,20	-	-	-	0,93	0,93	0,97
	CCl ₄	0,80	1,33	0,85	0,93	0,93	0,93	0,93	1,18
	CDCl ₃	0,78	1,25	0,80	0,93	0,93	0,93	0,93	1,08
	CDCl ₃ **	0,80	1,25	-	-	-	0,92	0,92	1,08
	CCl ₄	0,86	1,40	1,26	0,93	0,93	0,93	0,93	1,00
	CCl ₄	0,68	1,15	0,75	0,90	0,87	0,97	0,97	0,97
	CDCl ₃ ***	0,67	1,12	0,75	0,81	0,81	0,92	0,92	0,92
	CCl ₄	0,80	1,00	0,87	0,87	0,87	0,93	0,93	0,93

* dado da literatura |271|;

** dado da literatura |278|;

*** dado da literatura |277|

R.M.N. de H^1 (fig.4.48 ,tab.4) onde observamos absorções em 4,50 δ (3 α -H); 3,53 δ (s,largo, 11 α -H); 2,73 δ (s,8 β -H); 2,30 δ (s,12 α e 12 β -H) e 2,00 δ (s,OAc) conforme os dados mencionados na literatura /276/.

Em relação ao epóxido 9 β ,11 β formado(XXIV) cabe aqui discutir mos aspectos relacionados a estereoseletividade da reação de epoxidação do 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9(11)-dieno-7-ona(XXIII).

Nas reações de epoxidação de esteroides não saturados, o impedimento espacial causado pelas metilas angulares inibe o ataque do eletrófilo pela face β do esqueleto androstânico. Por exemplo, ligações duplas (Δ^7 ou $\Delta^9(11)$) extremamente impedidas , são atacadas exclusivamente pelo lado α .

Segundo PARYZEK /276/ a estereoquímica da epoxidação pode ser modificada pela introdução de substituintes localizados nas imediações da ligação dupla que através do efeito direcional provocam alta estereoseletividade na reação. Parece regra geral que um grupo carbonila na posição β à ligação dupla tem um pronunciado efeito / direcional na epoxidação com perácidos. Em todos os casos, uma maior proporção do epóxido trans a carbonila é obtida comparada com aquela da olefina sem a carbonila.

Outro fator comentado no trabalho de PARYZEK está relacionado com a polaridade do meio da reação que afeta fortemente a proporção dos epóxidos em α e β . Nos solventes não polares benzeno ou clorofórmio , o epóxido β está em maior quantidade, enquanto que sistemas de solventes polares, por exemplo, acetonitrila-cloreto de metileno (2:1) ou nitrometano-cloreto de metileno a proporção dos epóxidos é 1:1 .

Com estas informações, tendo em mente o objetivo final da síntese, fizemos a reação em clorofórmio.

O epóxido 9 α ,11 α não chegou a ser isolado das águas-mães de / cristalização do epóxido 9 β , 11 β .

Na hidrólise do epóxido (XXIV) em solução etanólica de KOH , obtivemos após aplicação do bruto da reação em CCD preparativa a 3 β -hidroxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona identificada através do seu derivado acetilado (XXII) por teste comparativo em CCD pela cor e Rf com amostra autêntica. Outro dado confirmatório foi o espectro de R.M.N. de H^1 superponível aquele obtido da amostra padrão .

As informações espectrais obtidas para o outro composto isola-

do da reação de hidrólise do composto XXIV concordaram com os dados mencionados na literatura para o 3 β ,11 β -diidrox-5 α -lanosta-8-eno-7-ona(XXV) . O espectro na região do infravermelho(fig.4.49) apresenta absorções em 3550,3325,1650 e 1025 cm^{-1} . Seu espectro de R.M.N.de H^1 (fig.4.50) mostra os sinais em 4,65 δ (d,J= 6Hz,11 α -H); 3,45 δ (t , J=6Hz, 3 α -H); 2,43 δ (s,2H-C₆); 2.02 δ (s,2H-C₁₂) . O espectro de massas com $\text{M}^+ =458$ nos serviu para confirmar a presença do diol.

O composto XXV foi acetilado de maneira usual a fim de facilitar a comparação do seu espectro de R.M.N. de H^1 com aquele do produto natural,que foi isolado na forma de acetato.

O espectro no infravermelho (fig.4.51) do 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona-11 β -ol(XXVI) mostra bandas em 3525,1740,1710,1670 cm^{-1} e 2 bandas em 1275 e 1250 cm^{-1} .

O espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.52,tav.4) apresenta banda larga / em 4,60 δ (3 α -H) e bandas simples em 2,50 δ (11 α -H); 2,36 δ (2H-C₆); 2,04 δ (3H,OAc) e 1,98 δ (2H-C₁₂) .

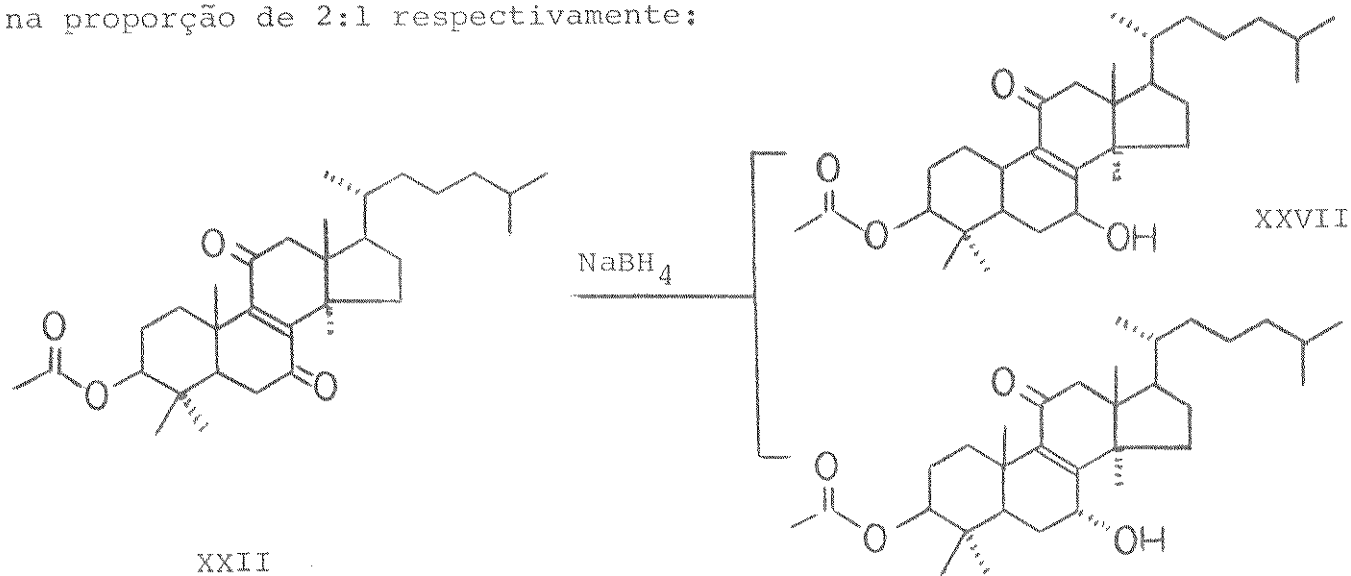
Observamos que os dados espectrais do composto sintético (XXVI) não estavam coerentes com aqueles do produto natural.Na comparação entre os sinais de absorção referentes aos prótons metílicos angulares do composto sintético com os correspondentes do produto natural observamos total discordância. Adicionalmente observamos que as feições das bandas entre 2,00 e 3,00 δ não eram compatíveis.

Concluimos, assim que o composto designado como III (98-99) não apresenta o sistema indicado em XXVI .

A outra substância que achamos útil preparar foi o 3 β -acetoxi- 5 α -lanosta-8-eno-11-ona-7- β -ol.

O 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona(XXII) foi reduzido com NaBH_4 /278/ a fim de obtermos o derivado 7 β -ol-11-ona do lanosterol.

Desde que este reagente ataca o grupo carbonila pela face α que é a menos impedida, obtivemos o 7 β -hidroxi(XXVII) e o 7 α -hidroxi(XXVII) na proporção de 2:1 respectivamente:



Cromatografia em placa preparativa da mistura da reação nos forneceu o 7 β -hidroxi puro cujo espectro no infravermelho (fig.4.53) apresenta bandas em 3480 (OH), 1735 e 1250 (OAc), 1640 e 1580 cm^{-1} (características para a carbonila α , β não saturada).

O espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.54) mostra banda larga em 4,65 δ (1H), ombro em 4,40 δ (1H) e banda dupla em 2,60 δ (2H).

O espectro de massas apresenta $M^+ = 500$.

Embora a região de absorções dos prótons metílicos no espectro de R.M.N. de H^1 do derivado 7 β -hidroxi seja diferente daquela do produto natural III(98-99), observamos que em ambos temos superponível a banda dupla em 2,60 δ ($J = 4\text{Hz}$) que pela literatura /278/ é atribuída / aos prótons metilênicos no C-12 e as bandas arredondadas em 3,17 δ e 2,97 δ .

De posse destas informações chegamos a 2 conclusões: uma que o produto natural não apresenta a hidroxila no C-7 , outra que a carbonila deve estar no C-12.

Se a hidroxila não se encontra no anel B e nem no C , as duas últimas situações prováveis são no anel D(carbonos 15 ou 16), ou na cadeia lateral.

Pelo trabalho de LEVISALLES et al. /271/, fica claro que a tabela feita por JONES et al./279/ referente aos efeitos aditivos de substituintes sobre o deslocamento das metilas angulares 18 e 19 pode ser a plicada para o esqueleto lanostânico (tab.5).

Usando os dados apresentados na tabela de JONES et al., nosso composto base para aferição das bandas de absorção das metilas angulares 18 e 19 deve ser o acetato do lanosterol e não o 5 α , 14 α -androstanol, o que nos leva a considerar que agora os valores básicos para as metilas angulares são respectivamente 0,68 δ e 0,97 δ /271/.

Desta forma podemos calcular os valores esperados para as metilas angulares 18 e 19 no acetato do produto natural usando os desvios sofridos de acordo com as posições relativas propostas para os substituintes existentes conforme indica a tab.5.

Caso o produto natural seja:

1) 15 β -OH	
H -18	H - 19
0,68	0,97
+ 0,25	+ 0,24
0,93 δ	1,21 δ

2) 16 β -OH

H - 18

H - 19

0,68

0,97

+0,22

+ 0,24

0,90 δ 1,21 δ

TABELA 5

DESLOCAMENTOS (Δ) PROVOCADOS PELA ADIÇÃO DE
SUBSTITUINTES NO ESQUELETO ANDROSTÂNICO

	Δ^*	
	H -19	H -18
11-oxo	-0,22	+0,03
15 β -OH	-0,02	-0,28
16 β -OH	-0,02	-0,25
17 α -OH	+0,02	+0,06

* - deslocamento para campo baixo

+ deslocamento para campo alto

Ambos os valores de δ para as metilas 18 e 19 nos compostos com hidroxila em 15 β ou 16 β estão coerentes com os valores observados / para o acetato do produto natural.

Considerando a biogênese dos compostos alcaloidais (anéis espiro solanos) e sapogeninas (anéis espirostanos), existentes no grupo / Solanum, nos quais é observado função oxigenada no carbono -16, achamos que a melhor escolha seria a hidroxila em β e no C-16 formando o 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24-dieno-11-ona-16 β -ol.

A possibilidade da hidroxila ser terciária e na cadeia lateral é somente no C-20. Segundo PIATAK et al. /280/ a absorção dos prótons do C-21 seria por volta de 1,10 δ o que entra em desacordo com o observado no espectro do acetato do produto natural pois neste os sinais em 1,15 δ e 1,20 δ correspondem às metilas 32 e 19 respectivamente.

2.3.2. Extrato Etanólico

Material Alcalóidico

ALC - 1

A fração de glicosídeos (~ 12 g) obtida do extrato etanólico foi hidrolisada com HCl 2M em metanol sob refluxo por 3h . Os clo_ridratos foram tratados a quente com solução metanólica 30% de / NH₄OH a fim de obtermos os aglicons livres.

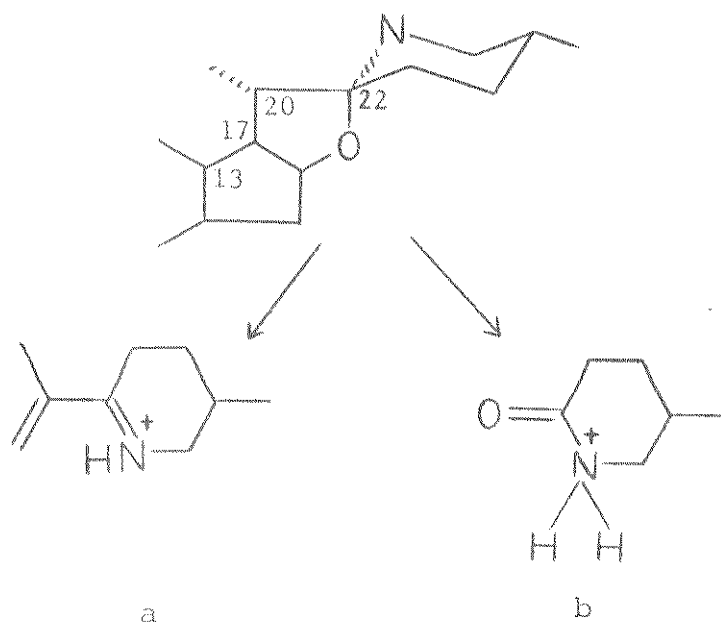
Através da CCD do aglicon bruto desenvolvida em CHCl₃ + CH₃OH 5% saturado com NH₄OH e revelada com o reagente de Dragendorff, verificamos a presença de 4 alcaloides sendo que o de maior R_f(ALC-1) corava-se exatamente como a solasodina .

No fracionamento do aglicon em coluna de sílica, separamos as frações 69-73 , 74-75 e 76-78 que reunidas foram purificadas em coluna curta empacotada com sílica de placa e sob pressão de N₂ , fornecendo o ALC-1 (3 mg) puro.

O espectro de massas (fig.4.55) apresenta pico molecular M⁺ = 395, enquanto que o espectro no infravermelho (fig.4.56) mostra a presença de um sistema espiroaminocetal com bandas em 880, 915, 960 e 975 cm⁻¹ /234/ além da banda de absorção em 3440 cm⁻¹ apropriada para os grupos NH/OH.

Os dados de ultravioleta (fig.4.57) com λ máx. em 241,4 nm (log ε = 4,51) são compatíveis para a presença de um dieno.

Numa análise mais detalhada do espectro de massas poderíamos diagnosticar a presença do sistema espirosolano pela existência / dos fragmentos iônicos com m/e 138 (a) e 114 (b) formados respectivamente pela ruptura da ligação 13}}17 ou da ligação 20}}22/281/.



O espectro de R.M.N. de H^1 a 100 MHz (fig.4.58) apresenta sinais em 0,70 δ (CH_3 -18) ; 0,73 δ (CH_3 -27); 0,81 δ (CH_3 -21); 1,05 δ (CH_3 -19); 2,70 δ (m, CH_2 -26); 4,34 δ (dd, J = 12Hz e J' = 6Hz , CH -16 α) ; e 5,30 - 6,10 δ (m, CH -3,4 e 6), de acordo com o esperado para prótons num sistema análogo a solasodina.

SEGAL et al. /263/ investigando as condições experimentais da hidrólise ácida da solasodina observaram quantidades variáveis de um composto menos polar. Sabendo que a hidrólise ácida de esteroides 3 β -hidroxi- Δ^5 pode levar a obtenção do produto de desidratação, $\Delta^{3,5}$ dieno /282/, concluíram que este alcaloide com ponto de fusão 134,5-138,4 $^{\circ}C$, tratava-se de solaso-3,5-dieno, um artefato da hidrólise ácida solasodina.

Examinando o trabalho de SEGAL et al. , notamos que o rendimento de solaso-3,5-dieno é influenciado pela concentração do ácido e pelo tipo de álcool utilizado. Levando em consideração estas informações / fizemos a hidrólise dos glicosídeos obtidos das folhas, cuidadosamente dentro das condições experimentais ótimas para obtermos um baixo rendimento do dieno. Isto explica a pequena quantidade de solaso-3,5-dieno (II) isolado por nós.

ALC - 2

Este alcaloide também isolado da mistura de aglicons originária do extrato etanólico, corava-se de laranja com o reagente de Dragendorff e marrom claro após aquecimento da placa.

O espectro no infravermelho (fig.4.59) apresenta bandas em 2970 cm^{-1} para estiramento C-H em CH_2 e CH_3 e absorção em 1660 cm^{-1} que / poderia ser devido ao estiramento $C=N$. Na região digital, não se pode concluir a presença ou não de um sistema espiroaminocetal análogo ao solaso - 3,5 - dieno ou solasodina. Seu espectro no ultravioleta (fig.4.60) apresenta $\lambda_{m\acute{a}x.}$ em 238,7 com ombro em 278,7 nm em consonância com o dado fornecido pelo espectro no infravermelho quanto a absorção para $C=N$ /193/.

Através de teste comparativo em CCD com amostra autêntica de solaso - 3,5-dieno, observamos que o alcaloide designado como ALC-2 / não tem o mesmo R_f .

As tentativas de cristalização não foram bem sucedidas e sempre obtemos um material pastoso após a evaporação do solvente.

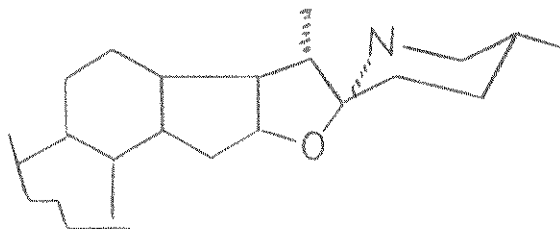
num podem ainda tornar-se competitivos com a diosgenina como fonte de matéria prima na síntese industrial de hormônios esteroidais.

ALC-4

O alcaloide mais polar (ALC-4), observado no aglicon das folhas e presente nas frações reunidas 178-221, obtidas do primeiro fracionamento do material alcalóidico, foi purificado em coluna curta sob pressão de N_2 eluída com $CHCl_3 + CH_3OH$ 15% saturado com 0,2 % NH_4OH .

A presença de açúcar foi indicada por teste em CCD revelada com o reagente específico para açúcares (cap.3-parte experimental 3.1).

O espectro no infravermelho (fig.4.63) apresenta banda proeminente em 3360 cm^{-1} para OH/NH, banda larga em 1635 cm^{-1} apropriada para estiramento $C=C$ e as bandas em 975,963,915 e 880 cm^{-1} típicas para o sistema espiroaminocetal característico da solasodina ou tipo espirosolano.



tipo espirosolano

Um diagnóstico significativo para a presença de um sistema de anel espirosolano no aglicon do composto ALC-4 é o espectro de massas (fig.4.64) que revela fragmentos iônicos com $m/e = 114$ como pico base e com $m/e = 138 / 281$.

BRIGGS et al./283/ notificam que solução aquosa 2-3% de HCl é suficiente para hidrolisar completamente os glicosídeos: solanina, solasonina e solauricina (conhecidos glicoalcaloides, isolados de espécies do gênero *Solanum*). Segundo este trabalho, a solamargina, por outro lado, se hidrolisa parcialmente em solução aquosa 2-3 % de HCl dando o β -glicosídeo-solasodina que trata-se da solasodina associada a uma molécula de glicose.

Numa análise mais detalhada do espectro de massas (fig.4.64) do ALC-4, podemos observar o pico com $m/e = 413$, correspondente a sola

sodina e o pico com $m/e = 575$ que segundo BRIGGS et al./283/ identifica o β -glicosídeo-solasodina (solasodina +glicose) .

De posse destas informações concluímos que o alcaloide, designado ALC-4, é um artefato resultante da hidrólise parcial da solamargina.

2.4. Compostos isolados da madeira

2.4.1. Extrato éter de petróleo

Material saponificável - O tratamento da solução básica, resultante após a devida extração do material não saponificável, com HCl forneceu o material denominado MSM-1 que apresenta como no caso das folhas, espectro no infravermelho (fig.4.65) com banda larga de $3500 - 2700 \text{ cm}^{-1}$ apropriada para estiramento O-H de ácido carboxílico, bandas em 2920 e 2840 cm^{-1} características para estiramento C-H em CH_2 e CH_3 , banda intensa em 1700 cm^{-1} referente a grupo carbonila.

Pelo espectro no infravermelho trata-se de ácidos carboxílicos , mas não foram analisados em detalhe.

Material não saponificável

SIT-B

A substância denominada de SIT-B (625 mg), foi isolada do primeiro fracionamento do material não saponificável da madeira. Cristalização em CH_3OH sob forma de agulhas incolores, apresentou ponto de fusão $134,0-136,3^\circ\text{C}$.

O espectro no infravermelho (fig.4.66) mostra forte absorção em 3920 cm^{-1} (O-H), e o espectro de R.M.N. de H^1 (fig.4.67) está compatível para o sitosterol. O espectro de massas (fig.4.68) apresenta pico molecular $M^+ = 414$.

Com base na observação da existência de dados a respeito de rotação ótica bem distinta para α , β e γ sitosterol, constatamos que a substância SIT-B com $[\alpha]_D = -36,3^\circ$ ($c = 1,5$ em CHCl_3) trata-se do β sitosterol (VIII) .

2.4.2. Extrato etanólico

Material alcalóidico

ALC-1

Seguindo o procedimento descrito para o fracionamento dos aglicons isolados das folhas, constatamos em teste de CCD com os aglicons da madeira a presença de um só componente alcalóidico (21 mg) com Rf superior a amostra autêntica de solasodina usada como padrão.

Na confrontação cromatográfica entre este alcaloide com o solaso 3,5-dieno isolado anteriormente das folhas observamos a coincidência de Rf.

ALC-3

O alcaloide (131 mg), existente nas frações 46-71 da primeira coluna do fracionamento dos aglicons da madeira, revelou pela análise / espectral no infravermelho características de um alcaloide tipo espirosolano, sendo que o espectro foi superponível ao obtido de amostra autêntica de solasodina isolada do material alcalóidico das folhas.

ALC-4

Cromatografando conjuntamente com amostra autêntica de β -glicosídeo-solasodina, as frações obtidas do primeiro fracionamento dos aglicons da madeira correspondentes ao alcaloide mais polar que a solasodina, pudemos constatar a igualdade de Rf da substância com ALC - 4 isolado das folhas.

O espectro no infravermelho mostrou igualmente a presença do sistema espiroaminocetal (883,913,965,978 cm^{-1}).

A fragmentação no espectrômetro de massa indicou também que esta amostra era um alcaloide esteroideal tendo o esqueleto espirosolano / com os mesmos fragmentos iônicos indicativos com $m/e = 138$ ($\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}$, 100%) e $m/e = 114$ ($\text{C}_6\text{H}_2\text{NO}$). O pico molecular $M^+ = 575$ confirmou definitivamente a igualdade entre este alcaloide e o ALC-4, isolado anteriormente das folhas e identificado como β -glicosídeo-solasodina.

2.5. Compostos isolados dos frutos

2.5.1. Extrato éter de petróleo

Material saponificável - O tratamento da solução básica , resul-

tante após a devida extração do material não saponificável com HCl , forneceu o material denominado de MSFR-1 que apresentou igualmente como nas folhas, características espectrais compatíveis para ácido carboxílico de cadeia longa.

O espectro no infravermelho (fig.4.69) mostra bandas em 1700 , 1430 e 720 cm^{-1} .

A análise deste material foi executada de modo idêntico aquele das folhas, isto é, cromatografia a gás do material previamente este rificado com solução etérea de diazometano (MSFR-2) .

O cromatograma obtido (fig.2.4) para o MSFR-2 no cromatógrafo / calibrado nas mesmas condições de análise feita para as folhas, forneceu 2 picos que foram também identificados pela coinjeção e comparação dos tempos de retenção com amostras autênticas dos ê steres metílicos dos ácidos palmítico, esteárico, linoleico e oleico.

Os ácidos graxos existentes no MSFR-2 foram identificados como â cidos palmítico (MSFR-2P) e ácido esteárico (MSFR-2E) .

Na análise quantitativa, seguindo método idêntico aquele utiliza do para o cálculo percentual do ácido palmítico e esteárico nas fo - lhas, obtivemos **38 %** de ácido palmítico e **62 %** de ácido esteári - co para os 2 constituintes do material saponificável dos frutos.

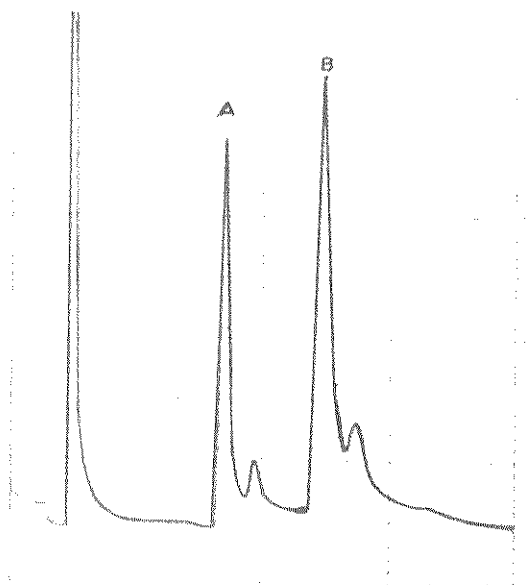


Fig.2.4 - Cromatograma do MSFR-2

onde A= MSFR-2P

B= MSFR-2E

Material não saponificável - Na análise por CCD do material não saponificável dos frutos (MNSFR) observamos 3 manchas que coravam-se de roxo com o revelador para terpenos e esteroides, sendo a segunda menos polar, muito mais intensa.

Achamos conveniente, por questões de ordem econômica, fazer a separação utilizando coluna curta sob pressão de N_2 , de uma pequena parte do material.

O espectro no infravermelho (fig.4.70) do único composto obtido em quantidade razoável (MNSFR-1) mostra bandas em 1740 e 715 cm^{-1} / próprias para éster de cadeia longa.

2.5.2. Extrato etanólico

Material alcalóidico

ALC-5

Através de teste em CCD dos glicosídeos dos frutos, observamos 2 manchas alaranjadas com o reagente de Dragendorff.

Após purificação em coluna curta sob pressão de N_2 , obtivemos somente um alcaloide que cromatografado conjuntamente com o bruto da fração glicosídica, apresentou-se como sendo aquele menos polar. A cristalização em CH_3OH-H_2O foi a mais satisfatória, onde obtivemos / os cristais incolores (10 mg).

Através de teste comparativo em CCD com amostra autêntica de solamargina observamos igualdade de Rfs .

O dado de rotação ótica do ALC-5 $[\alpha]_D = -92^\circ (CH_3OH)$, corroborou para a identidade deste com a solamargina.

O estudo da fração alcalóidica das partes aéreas do S.g.l., nos mostrou que a planta produz basicamente solamargina. Os outros alcaloides isolados após hidrólise ao lado da solasodina são produtos artefatos sendo que o solaso-3,5-dieno vem da desidratação da solasodina e o ALC-4 da hidrólise parcial da solamargina.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e métodos

1) As cromatografias em coluna foram feitas com sílica gel Carlo Erba 0,05-0,20 mm . O diâmetro e o comprimento das colunas de vidro utilizadas variaram de acordo com a quantidade de material analisado, sempre mantendo-se uma proporção de 1 g de material para 40 g de sílica.

Nas purificações dos compostos isolados, utilizou-se coluna curta sob pressão de N_2 /284/ ou placas preparativas. Em ambos os casos os adsorventes foram sílica gel H, G ou sílica gel G impregnada/ com $AgNO_3$ /267/. A coluna ($\varnothing_i = 2,6$ cm e altura total 35,5 cm) reproduziu em todos os trabalhos de purificação a placa analítica. A quantidade de adsorvente era colocada até a altura de 14 cm, que correspondia a frente do solvente em placa analítica . O eluente utilizado era uma mistura de solventes em que se diminuía à metade o mais polar em relação aquele que oferecia uma boa separação em placa analítica. Por exemplo : quando a placa analítica foi desenvolvida com a mistura de solventes $CHCl_3 + CH_3OH$ 5%, a coluna foi eluída com / $CHCl_3 + CH_3OH$ 2,5% .

As cromatografias em camada delgada foram feitas com sílica gel G + GF_{254}^{350} ou HF_{254} . As placas preparativas foram efetuadas com sílica gel GF_{254}^{350} ou PF_{254}^{350} . Os testes em camada delgada com sílica impregnada com $AgNO_3$ foram feitos com sílica gel G com teor de $AgNO_3$ igual a 15%. Estas últimas eram preparadas 24 horas antes do uso e acondicionadas no suporte de placas envolto com papel de alumínio e deixadas na estufa a $105^\circ C$ por um período de 1 h .

2) Os solventes orgânicos usados no primeiro fracionamento dos extratos em coluna de cromatografia eram do tipo comercial, previamente destilados no laboratório. Para as purificações finais em colunas curtas sob pressão de N_2 ou placas preparativas usou-se solventes do tipo p.a. . Tanto os solventes comerciais como os solventes p.a. foram na grande maioria da Carlo Erba.

3) Os reveladores utilizados na visualização das manchas foram os seguintes :

a) Reagente de Dragendorff (cor alaranjada para compostos nitrogenados):

solução 1 - Nitrato de bismuto básico (0,85 g) em ácido acético (10 ml) e água (40 ml) .

solução 2 - Iodato de potássio (8 g) em água (20 ml).

solução de reserva - Volumes iguais das soluções 1 e 2 , guardada em frasco escuro.

solução para pulverizar - Solução de reserva (1 ml) + ácido acético glacial (2 ml) + água destilada (10 ml) .

b) Revelador para terpenos e esteroides (variação de cores, púrpura até roxa) :

Vanilina (1 g) em uma solução aquosa 50% de ácido fosfórico (100 ml) .

c) Solução de H_2SO_4 + CH_3OH (1:1)

d) Lâmpada ultravioleta (254 e 350 nm)

e) Iodo ressublimado

f) Revelador para açúcares

Anisaldeído (0,5 ml) + CH_3CH_2OH (9 ml) + H_2SO_4 97% (0,5 ml) e ácido acético glacial (0,1 ml) .

4) Os pontos de fusão foram determinados no aparelho Mettler FP52 automático, acoplado com microscópio.

5) As rotações óticas foram determinadas em $CHCl_3$ e CH_3OH , utilizando-se um polarímetro fotoelétrico da Carl Zeiss (precisão 0,005) na raia D do sódio.

6) Os espectros de absorção no infravermelho foram feitos / em pastilhas de KBr contendo cerca de 1% de amostra, em solução de $CHCl_3$ ou em filme sobre placas de KBr, utilizando-se um instrumento da Perkin-Elmer de duplo feixe modelo 337.

7) Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (R.M.N. de H^1) foram tirados no instrumento da Varian modelo T -60 e no XL-100 à temperatura ambiente .

8) Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (R.M.N. de C^{13}) foram obtidos no instrumento da Varian modelo XL-100.

9) Os espectros de absorção no ultravioleta foram feitos no instrumento da Carl Zeiss modelo DMR - 21 , utilizando-se $CHCl_3$ como solvente.

10) Os espectros de massas foram obtidos no espectrômetro da Varian MAT 311A e no da Finnigan modelo 1015 S/L.

11) Na cromatografia em fase gasosa foram utilizados os seguintes instrumentos :

Cromatógrafo Varian modelo 1800 e 2100 e cromatógrafo Fin

-nigan modelo 1015 S/L , ambos com detector de ionização de chama.

12) A redução catalítica dos compostos foi obtida no hidrogenador da Parr Instrument Company, Inc. série 3487.

3.2. Coleta de material

As folhas, a madeira e os frutos do Solanun granuloso-leprosum (Dunal) foram coletados na fazenda Campininha do Instituto / Florestal do Estado de São Paulo, situada no município de Mogi Guaçu .

A identificação botânica da planta foi feita na hora da coleta pelo prof. Dr. Hermógenes Leitão, chefe do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP .

3.3. Extração

O material foi extraído inicialmente com éter de petróleo (40 60 °C) , sempre considerando a relação entre tempo de extração e quantidade de material como sendo aproximadamente de 24 h para cada 1 kg (esquema 1) .

O resíduo do material desengordurado foi refluxado com $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. O extrato etanólico foi filtrado e concentrado até um volume fixo (tab.6) . Adicionou-se ao concentrado, solução aquosa de ácido acético 3% deixando-se em repouso por 48 h . O filtrado desta solução foi destilado por arrasté de vapor para remover os últimos traços de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. A solução ácida foi então alcalinizada com NH_4OH e deixada em geladeira por 48 h para precipitar os glicosídeos que foram separados do sobrenadante por centrifugação .

A massa de glicosídeos obtida do material foi hidrolisada /82/ por refluxo com solução aquosa de HCl e CH_3OH (tab.7) .

O aglicon foi liberado pelo tratamento da solução quente dos cloridratos, com solução 30% de NH_4OH em CH_3OH . A solução fria , foi extraída tres vezes com CHCl_3 (esquema 2) .

O extrato éter de petróleo do material foi saponificado em solução etanólica de KOH 0,5 M, sob refluxo durante 3 h e extraída com éter etílico, fornecendo uma fração saponificável e uma fração não saponificável (esquema 3) .

ESQUEMA 1

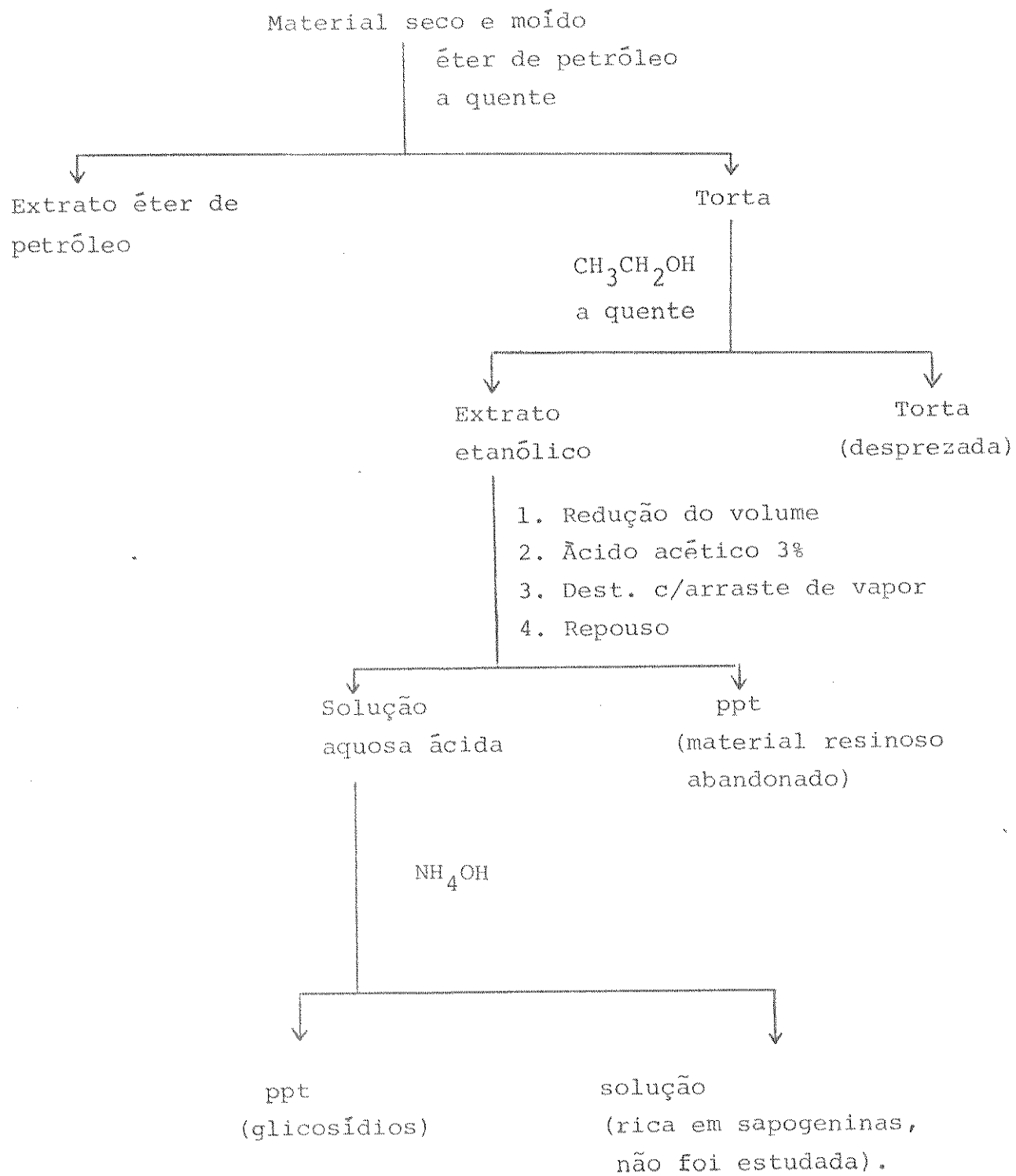
EXTRAÇÃO DO MATERIAL

TABELA 6

CONDIÇÕES ESPECÍFICAS NA EXTRAÇÃO DO MATERIAL

	Folhas	Madeira	Frutos
Material seco e moído (g)	1985	2450	740
Extrato éter de petróleo	[Quantidade de solvente (l)		
	15	13	4
Extrato etanólico	[Duração da extração (h)		
	24	30	12
	[Quantidade de solvente (l)		
	15	13	4
	[Duração da extração (h)		
	4	5	2
Concentrado éter de petróleo (g)	86,400	6,331	44,541
Percentagem em relação ao material seco e moído	4,35	0,26	6,02
Concentrado etanólico (após redução de volume, ml)	400	130	125
Ácido acético 3% (ml)	600	700	225
Massa de glicosídeos (g)	12,00	4,60	34,70
Percentagem em relação ao material seco e moído	0,60	0,18	4,69
Massa do extrato alcalóidico (g)	1,814	3,068	1,010
Percentagem em relação ao material seco e moído	0,09	0,13	0,14

TABELA 7

CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DOS GLICOSÍDIOS

	Folhas	Madeira	Frutos
Solução aquosa de HCl 2M (ml)	120	45	95
CH ₃ OH (ml)	120	45	95
duração do refluxo (h)	3	3	3

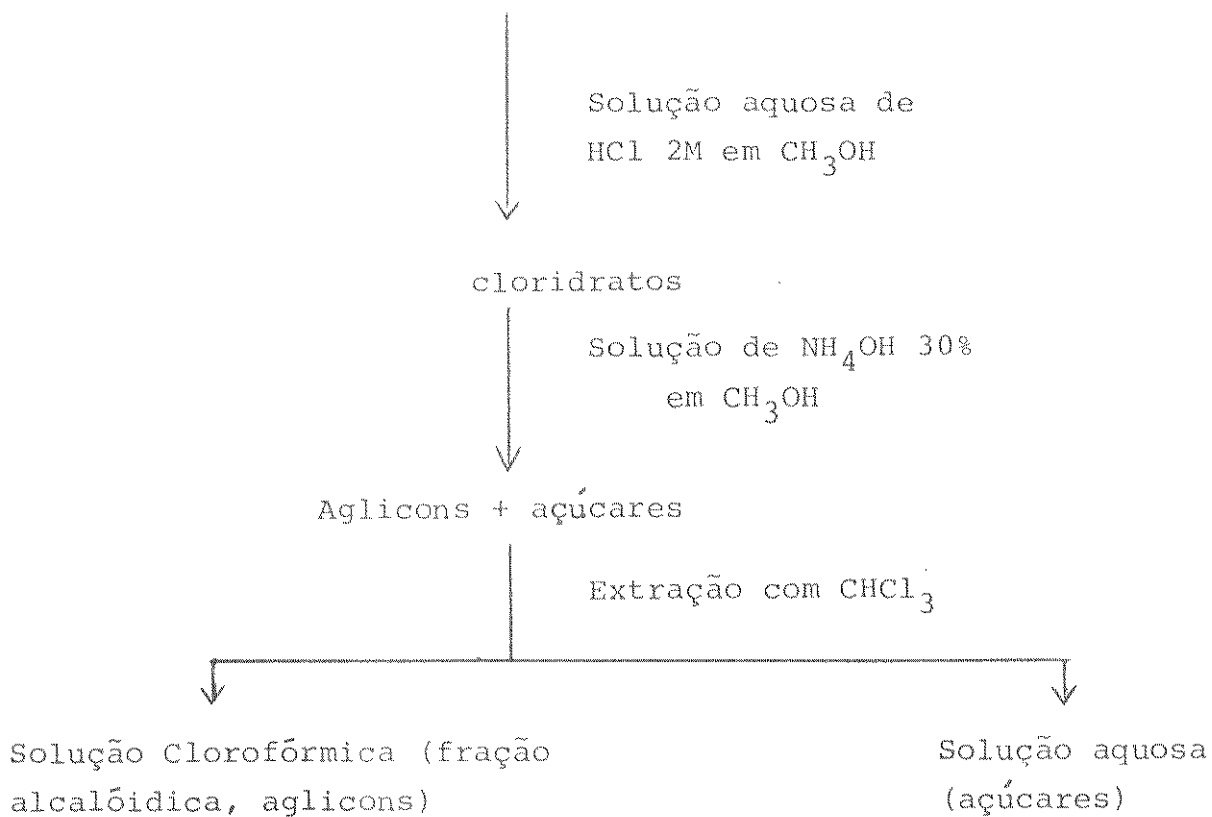
TABELA 8

FRAÇÕES DO EXTRATO ÉTER DE PETRÓLEO APÓS SAPONIFICAÇÃO

	Folhas	Madeira	Frutos
Material saponificável (g)	0,459	0,458	3,823
Material não saponificável (g)	42,200	5,760	34,419

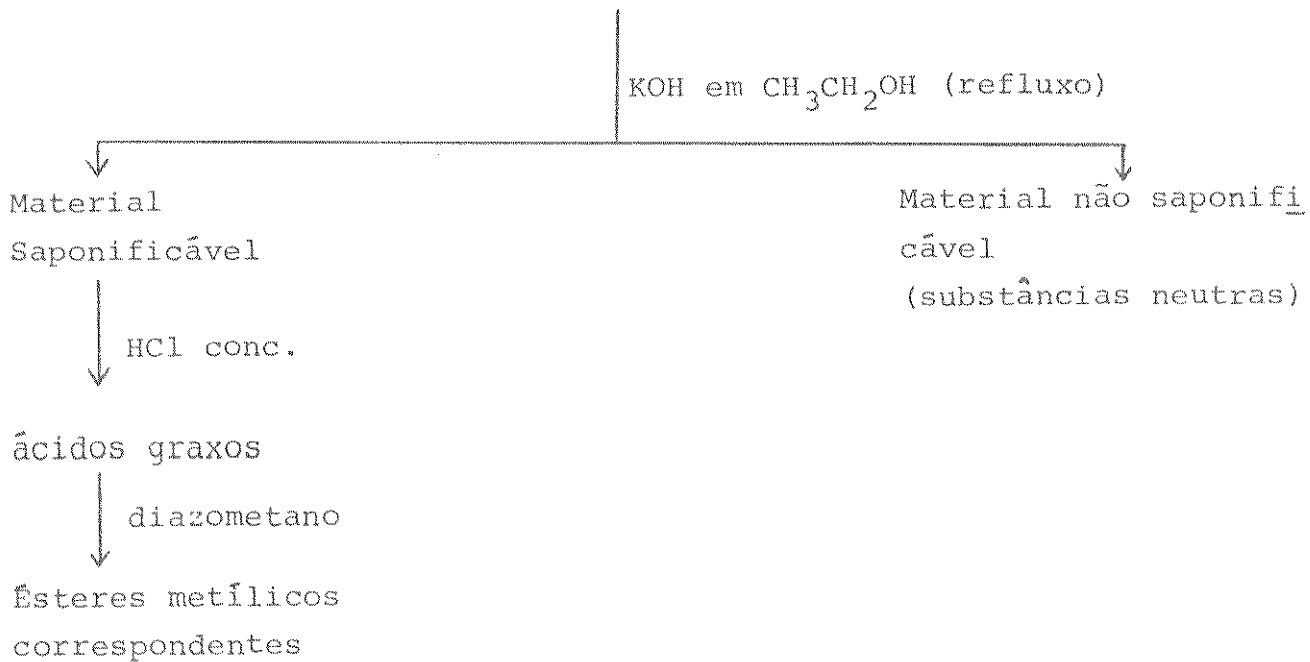
ESQUEMA 2

HIDRÓLISE DOS GLICOSÍDIOS



ESQUEMA 3

EXTRATO ÉTER DE PETRÓLEO



A fração etérea contendo o material não saponificável (tab.8) foi lavada com água destilada e seca sobre sulfato de sódio anidro.

O material saponificável (tab. 8) foi acidificado até PH = 2 com HCl conc. e extraído com éter que foi seco sobre sulfato de magnésio anidro (esquema 3).

3.4.1. Material saponificável das folhas

Os ésteres metílicos (MSF-2) obtidos da metilação dos ácidos carboxílicos liberados (MSF -1) do material saponificável (MSF) das folhas foram analisados através de cromatografia gasosa usando-se como padrões os ésteres metílicos dos ácidos esteárico, palmítico, oleico e linoleico .

Efetuuou-se duas análises, ambas com programação linear de temperatura, variando-se outras condições (tab.9) .

TABELA 9

CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ANÁLISE EM
CROMATOGRAFIA GASOSA DE MSF - 2

	Instrumentos utilizados (Varian)	
	modelo 1800	modelo 2100
Gás de arraste (N ₂)	26 ml/min	21 ml/min
Velocidade de vazão do ar	300 ml/min	300 ml/min
Velocidade de vazão do H ₂	20 ml/min	30 ml/min
Coluna	OV-17 3%	FFAP 10 %
Temperatura do detector	300 °C	250 °C
Temperatura do injetor	250 °C	220 °C
Intervalo de temperatura	180-244 °C	150-240 °C
Gradiente de temperatura	8 °C/min	10 °C/min

As duas análises forneceram o mesmo cromatograma , isto é , 2 picos com intensidades diferentes.

Nos dois casos foi feita uma análise comparativa usando-se os padrões mencionados anteriormente. Através da co-injeção verificou-se que os dois picos apresentados por MSF -2 tem o mesmo tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico e esteárico e por isso denominou-se os componentes de MSF - 2 respectivamente / de MSF-2P e MSF-2E.

3.4.2. Material não saponificável das folhas

O material não saponificável das folhas (42,2 g) sólido de cor amarela escura, foi fracionado em coluna ($\varnothing_1 = 7$ cm) de sílica gel 0,05- 0,20 mm (1688 g). Foram coletadas 120 frações de / 500 ml . As frações foram evaporadas e o concentrado acondicionado em vidros pequenos.

As frações foram reunidas conforme análise qualitativa em CCD revelada com revelador para terpenos e esteroides (3.1) . A polaridade do eluente aumentou gradativamente após uma substância ou uma mistura de substâncias com Rfs próximos saírem totalmente da coluna (quadro 4) .

As frações 5-6 reunidas (5,024 g) foram dissolvidas em / $(CH_3)_2C=O$ a quente e deixadas 24 h à temperatura ambiente. Recristalizações sucessivas com $(CH_3)_2C=O$ forneceram um sólido incolor de aspecto brilhante com ponto de fusão 68,2 - 68,8 °C . A amostra foi analisada através de cromatografia gasosa com coluna a temperatura constante (tab.10) .

A análise cromatográfica mostrou 2 picos de áreas aproximadamente iguais.

TABELA 10

CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA GASOSA DA MNSF -1

	Instrumento Finnigan 1015 S/L
Gás de arraste He	40 ml/min
Velocidade de vazão do ar	300 ml/min

Velocidade de vazão de H ₂	20 ml/min
Coluna	OV-17 3%
Temperatura do detector	300 °C
Temperatura do injetor	300 °C
Temperatura da coluna	280 °C

O material denominado MNSF-2 mostrou em placa analítica desenvolvida com benzeno + acetato de etila 5%, tres manchas, sendo uma de - las de cor púrpura bem intensa com o revelador para terpenos e este- roides (3.1) . Várias tentativas de purificação através de cromato- grafia de adsorção em coluna, placa, coluna curta sob pressão de N₂, colunas e placas impregnadas com AgNO₃ , foram infrutíferas e sempre forneceram uma mistura complexa .

As frações combinadas 41-45 , denominadas de MNSF-3 apresentou-se como uma mancha púrpura escura em placa analítica revelada com o reve- lador para esteroides e terpenos (3.1) , acompanhada de outras fra- camente reveladas . Guardou-se em frasco rotulado com papel alumínio a fim de purificar-se somente no instante em que o espectômetro de / massa estivesse consertado. No momento que isto foi possível, testes em cromatografia de camada delgada revelaram inúmeras manchas com cau- das desde o ponto de aplicação.

O lanosterol (fração 49 da coluna do MNSF) foi dissolvido em / CH₃OH a quente e deixado para cristalizar 24 h à temperatura ambien- te . Obteve-se um sólido incolor com ponto de fusão 137,2 -139,7 °C .

Purificação do lanosterol

Lanosterol (299 mg) obtido da primeira cristalização em CH₃OH / foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel G para placas sob pressão de N₂ a fim de se obter uma única mancha em placa. As fra- ções com o composto foram combinadas e cristalizadas em CH₃OH obtendo- -se o lanosterol puro (100 mg) mostrando uma única mancha em placa com o revelador para terpenos e esteroides (3.1).

Cromatografia em fase gasosa do acetato de lanosterol (ver3.4.2.1)

O acetato de lanosterol (MNSF-5Ac) foi comparado com o acetato de

QUADRO 4

CROMATOGRAFIA DO MATERIAL NÃO SAPONIFICÁVEL DAS FOLHAS EM COLUNA DE SÍLICA					
frações	eluentes	frações reunidas	sigla	componentes isolados	peso(g)
1-12	hexano	5-6	MNSF-1	mistura de 2 hidrocarbonetos	5,024
13-28	hexano + acetato de etila 2,5%				
29-38	hexano+acetato de etila 5,0%	30-33	MNSF-2	mistura complexa de terpenos	1,509
39-56	hexano+acetato de etila 7,5%	41-45	MNSF-3	poliprenoide tipo solanesol	5,407
		48	MNSF-4		2,903
		49	MNSF-5	lanosterol	0,968
		50	MNSF-6		1,704
57-66	hexano+acetato de etila 10,0%				
67-77	hexano+acetato de etila 15,0%				
78-91	hexano+acetato de etila 20,0%				
92-105	hexano+acetato de etila 25,0%				
106-120	hexano+acetato de etila 35,0%				

β -sitosterol no cromatôgrafo a gás com detector de ionização de chama (tab.11) /266 / .

TABELA 11

CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ANÁLISE EM
CROMATOGRAFIA GASOSA DA MNSF-5Ac

Instrumento Finnigan 1015 S/L	
Gás de arraste He	37,5 ml/min
Velocidade de vazão do ar	300 ml/min
Velocidade de vazão de H ₂	30 ml/min
Coluna	OV-17 3%
Temperatura do detector	340 °C
Temperatura do injetor	320 °C
Temperatura da Coluna	280 °C

O material denominado MNSF-4 (fração 48 da coluna do MNSF) foi em sua totalidade acetilado com anidrido acético e piridina por 48 h, obtendo-se um sólido denominado de MNSF-4Ac .

Cromatografia de MNSF-4Ac

O material denominado MNSF-4Ac (800 mg) foi submetido a cromatografia em coluna ($\varnothing_i = 2,5$ cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (30 g) . Foram coletadas 120 frações de 20 ml (quadro 5) . A coluna foi eluída inicialmente com hexano e aumentou-se a polaridade do eluente com acetato de etila.

Cromatografia em fase gasosa (tab.12) das frações combinadas 15-89 da coluna do MNSF-4Ac (quadro 5) forneceu cromatograma idêntico / ao cromatograma do acetato de lanosterol.

Isolamento do 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8,24-dieno-11-ona- $x\beta$ -ol

As frações reunidas 98-99 (260 mg) da coluna do material MNSF -

QUADRO 5

<u>CROMATOGRAFIA DO MNSF-4Ac EM COLUNA DE SÍLICA</u>				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-14	hexano	1-14	-	-
15-89	hexano	15-89	acetato de lanosterol*	0,213
90-120	hexano+acet.de etila 5,0%	90-97	-	-
		98-99	III(98-99)*	0,260
		100-102	I (100-102)*	0,117
		103	-	-
		104-115	I (100-102)	0,144
		116-120	-	-

* Isolados em placas preparativas: acetato de lanosterol(MNSF-5Ac); 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24 dieno-11-ona-x β ol(III 98-99) e 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24 dieno-7-ona (I 100-102).

TABELA 12

CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA GASOSA DO
MNSF-5 Ac E FRAÇÕES 15-89 (quadro 5)

Instrumentos Finnigan 1015 S/L	
gás de arraste He	40 ml/min
vel. de vazão do ar	300 ml/min
vel. de vazão de H ₂	20 ml/min
coluna	OV-17 3%
temperatura do detector	300°C
temperatura do injetor	300°C
temperatura de coluna	265°C

-4Ac , foram aplicadas em 3 placas preparativas de sílica PF (20X20 cm) que foram desenvolvidas com benzeno e acetato de etila 5% . A fim de se obter uma maior separação entre as manchas observadas na lâmpada ultravioleta (254 nm) , as placas foram corridas duas vezes no mesmo solvente. Recolheu-se duas faixas denominadas de II 98-99 (14 mg) e III 98-99 (73 mg)

Isolamento do 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8,24-dieno-7-ona

As frações reunidas 100-102 (117 mg) da coluna do material / MNSF-4Ac , foram aplicadas em duas placas preparativas de sílica PF (20X20 cm) que foram desenvolvidas com benzeno e acetato de etila 5% . Como no caso anterior deixou-se a placa correr duas vezes para melhorar a separação entre as manchas visualizadas na lâmpada ultravioleta (254 nm) . Recolheu-se uma faixa denominada I / 100-102 (62 mg) . As demais faixas não levaram ao isolamento de substâncias puras.

Fazendo testes em cromatografia de camada delgada com a II(98-99) e I (100-102), observou-se que ambas apresentam o mesmo R_f em vários sistemas de solventes.

Purificação das frações 104-115: (quadro 5)

As frações 104-115 combinadas (114 mg) , foram aplicadas em duas placas preparativas PF (20X20 cm) que foram desenvolvidas com benzeno e acetato de etila 5%. Recolheu-se uma faixa que após teste em cromatografia de camada delgada mostrou comportamento análogo ao composto I (100-102) no sistema benzeno e acetato de etila 5 %.

Cromatografia do MNSF-6 : (quadro 4)

O material denominado MNSF-6 (1,672 g) , obtido do primeiro / fracionamento do MNSF foi cromatografado em coluna ($\varnothing_1 = 2,5$ cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (20 g) . Foram coletadas 92 frações / de 10 ml . As frações 6-11 forneceram o lanosterol (844 mg) . As frações 20-24 foram reunidas e acetilada com anidrido acético e piridina por 48 h. Após extração do acetilado , aplicou-se o resíduo em placa preparativa PF desenvolvendo-a no sistema benzeno e aceta

to de etila 5% . Recolheu-se uma faixa (9 mg) visível na lâmpada ultravioleta a 254 nm . Testes de cromatografia de camada delgada do material continuou a mostrar duas manchas sendo por isto abandonado.

3.4.2.1. Reações

Acetilação de lanosterol

Lanosterol (50 mg) foi dissolvido em piridina (0,5 ml) e anidrido acético (0,5 ml) . A mistura de reação foi deixada à temperatura ambiente num frasco com tampa. Após 48 h adicionou-se água gelada (50 ml) e extraiu-se tres vezes com CHCl_3 (25 ml de cada vez). As soluções de CHCl_3 foram combinadas, lavadas com uma solução aquosa de HCl (2:1) e finalmente duas vezes com água destilada (25 ml de cada vez). A fase orgânica foi então secada sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo resultando num sólido incolor (54 mg) denominado de MNSF-5Ac.

Cromatografia em camada delgada com sílica gel G impregnada com AgNO_3 /267/ e revelada com o revelador para esteroides e terpenos forneceu tres manchas sendo uma delas bem intensa.

O MNSF-5Ac (245 mg) foi cromatografado em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel G de placa impregnada com AgNO_3 /284/ . Recuperou-se o acetato de lanosterol puro (243 mg) que foi cristalizado em $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$ e CH_3OH com ponto de fusão 128,1 - / 132,2 °C . I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 2950,2875,1740,1460,1380,1240,1030,1010,980,900,850,820,800 cm^{-1} . R.O. : $[\alpha]_D^{25} = + 62^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3) R.M.N. de ^1H : δ (CDCl_3) 0,73 (s,3H); 0,90 (s,9H); 1,03 (s,3H); 1,60 (s); 1,70 (s; 2,06 (s,3H); 4,55(dd, $J_{\text{ae}} = 4\text{Hz}$, $J_{\text{ee}} = 12\text{Hz}$, 1H); 5,16 (t, $J = 6\text{Hz}$, 1 H) E.M. : $M^+ = 468$.

Oxidação de lanosterol segundo JONES

Lanosterol (100 mg), previamente purificado em coluna de sílica e dissolvido em $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$ (tratada com KMnO_4), foi oxidado com o reagente de JONES que foi preparado com trióxido de cromio (670 mg) em água destilada (1,25 ml) . A esta solução adicionou-se H_2SO_4 conc. (0,5 ml , $d = 1,84$) e os sais que precipitaram foram dissolvidos pela

adição de uma quantidade mínima de água destilada . O volume total do reagente não ultrapassou a 2,25 ml .

Adicionou-se gota-a-gota o reagente de JONES sobre a solução do lanosterol sob agitação constante, tomando-se o cuidado para que a temperatura do banho de gelo não ultrapassasse a 20 °C . Às primeiras gotas do reagente, a mistura de reação ficou esverdeada. Adicionou-se um excesso de reagente até o aparecimento da coloração amarelo-escuro. Neste ponto, retirou-se uma alíquota para teste que foi vertida em água destilada e em seguida extraída com éter etílico. A solução etérea foi secada sobre sulfato de sódio anidro e depois de filtrada e concentrada mostrou em placa uma mancha com R_f superior aquele do material de partida. Após este teste positivo , a mistura de reação em sua totalidade foi vertida em água destilada e extraída diversas vezes com éter etílico . As soluções etéreas foram combinadas, resultando uma só solução que foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo.

Cromatografia do material oxidado (99 mg) em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel G de placa e eluída com hexano + acetato de etila 2,5% forneceu o acetato de lanosterol oxidado (3 mg) .

Devido ao baixo rendimento da reação de oxidação do lanosterol , repetiu-se novamente esta, tomando-se o cuidado para abreviar o tempo de extração do composto logo ao aparecimento da coloração amarelo-escuro.

A solução do lanosterol (102 mg) em $(CH_3)_2C=O$ (25 ml) sob agitação constante e banho de gelo, adicionou-se gota-a-gota o reagente de JONES até o aparecimento da coloração amarelo-escuro. Imediatamente a mistura foi vertida em água destilada e em seguida foi extraída diversas vezes com éter etílico. As soluções etéreas foram combinadas e a solução resultante, secada com sulfato de sódio anidro e evaporada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo.

Da cromatografia do material oxidado (122 mg) em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel G de placa e eluída / com hexano + acetato de etila 2,5 % recuperou-se o lanosterol oxidado (24 mg) cujo ponto de fusão não foi determinado. U.V. : $\lambda_{max}^{CHCl_3}$ / 231,4 ombros em 235; 247,3; 254,5 nm; I.V. : v_{max}^{filme} 2940, 2860, 1710, / 1460, 1380, 1110 cm^{-1} ; R.O. : $\alpha/D = + 58^\circ C$ ($c = 1$, $CHCl_3$); R.M.N. de H^1 : $\delta(CDCl_3)$ 0,72 (s, 3H) ; 0,90 (s, 6H) ; 1,08 (s, 3H) ; 1,12 (s, 3H) ; 1,13 (s, 3H) ; 1,63 (s) ; 1,70 (s) ; 5,20 (banda larga, 1H).

Oxidação de lanosterol com DMSO

Lanosterol (213 mg) foi dissolvido em DMSO (1,5 ml) e anidrido acético (1 ml) . Ambos os reagentes foram previamente tratados . O primeiro foi deixado em refluxo com CaH_2 por 2 h , destilado em seguida sob pressão reduzida. O segundo simplesmente destilado e recolhido sobre CaCl_2 .

A mistura de reação foi testada em placa analítica após 18 h de reação . A placa revelada com o revelador para esteroides e terpenos (3.1) mostrou duas manchas de diferentes Rfs , sendo a / mais intensa o material de partida .

Após 24 h, a mistura foi vertida em água destilada e em seguida foi extraída diversas vezes com éter etílico. As soluções etéreas foram combinadas e a solução resultante foi secada com sulfato / de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida num evaporador rotativo .

A purificação do material oxidado (195 mg) foi feita em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel G de placa e eluída com hexano + acetato de etila 4% . Recuperou-se o lanosterol oxidado (24 mg) e o produto de partida (168 mg) .

Benzoilação de lanosterol

Lanosterol (112 mg) em solução de piridina (3 ml), foi tratado com cloreto de benzoila (3 ml) à temperatura ambiente por / 24 h . Em cromatografia de camada delgada observou-se que não houve necessidade das 48 h /285/ para completar a reação . Adicionou-se água destilada à mistura de reação em banho de gelo e esta foi extraída diversas vezes com éter etílico . As soluções etéreas foram combinadas e a solução resultante foi lavada com uma solução aquosa de HCl (2:1) e depois lavada tres vezes com água destilada. A solução etérea foi então secada com sulfato de magnésio anidro , filtrada e evaporada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo , resultando no benzoato de lanosterol puro (51 mg) após cromatografia em coluna curta sob pressão de N_2 eluída com hexano. p.f. = 186,2-187,4 °C ($\text{CHCl}_3 + \text{CH}_3\text{OH}$); U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{CHCl}_3}$ 235 nm com / ombros em 273,7 e 280,5 nm; I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3050,2940,2900,2860,2820, 1700,1450,1370,1290,1110,985,710 cm^{-1} ; R.O. : $[\alpha]_D^{25} = + 82,6$ ° (c = 1 , CHCl_3); R.M.N. de ^1H : δ (CDCl_3) 0,73 (s, 3H); 0,93 (s ,

3H); 0,98 (s, 3H); 1,12 (s, 9H); 1,66 (s); 1,73 (s); 4,80 (banda larga, 1H); 5,16 (t, J = 8Hz, 1H); 7,56 (2H); 8,16 (3H).

Redução catalítica de lanosterol

Acetato de lanosterol (300 mg) foi dissolvido no menor volume de acetato de etila que permitisse agitação adequada no hidrogenador . Em seguida adicionou-se o catalizador (10% Pd/C, 244 mg) e deixou-se a mistura sob agitação constante durante 3 h após se ter equilibrado o hidrogenador (P = 20 psi) . A mistura de reação foi filtrada sobre camada de celite que foi lavada diversas vezes com acetato de etila. Evaporação dos solventes em evaporador rotativo forneceu o acetato de diidrolanosterol (288 mg). Em cromatografia de camada delgada com o produto reduzido, observou-se uma só mancha. I.V. : $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 2920, 2830, 2815, 1730, 1460, 1380, 1260, 1035, 1010, 960 cm^{-1} ; R. M.N. de H^1 : δ (CDCl_3) 0,66 (s, 3H); 0,83 (s, 3H); 0,86 (s, 12H); / 0,93 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 1,98 (s, 3H); 4,45 (banda larga, 1H); E. M. : $M^+ = 470$

Oxidação branda de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno /273/

3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno (134 mg) foi dissolvido em ácido acético glacial (4,3 ml) e hexano (0,9 ml) . A mistura de reação sob agitação constante e mantida em banho de óleo a 60 °C, adicionou-se de uma só vez trióxido de cromo (43 mg) previamente dissolvido em ácido acético 90% (0,43 ml) e agitou-se por precisamente 2 min . A mistura de reação foi vertida em solução aquosa gelada de bissulfito de sódio 10% (100 ml) e em seguida extraída diversas vezes com éter etílico. A remoção do solvente sob pressão reduzi da em um evaporador rotativo, forneceu um sólido incolor (100 mg) .

Em CCD com o produto bruto, observou-se tres manchas , uma bem intensa e duas outras fracamente reveladas, que em ordem decrescente dos Rfs apresentaram as cores púrpura, azul e marrom escuro com o revelador para terpenos e esteroides (3.1) . Depois de sucessivas / cristalizações do bruto da reação com $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$ obteve-se um sólido incolor (80 mg) cujo espectro de R.M.N. de H^1 foi superponível com aquele do 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno.

Oxidação drástica de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno /273/

A solução de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno (288 mg) em hexano (2 ml) e ácido acético glacial (9,5 ml) sob constante agitação foi adicionado gota-a-gota a solução de trióxido de cromo / (288 mg) em ácido acético 90% (2,4 ml).

Após a adição total do reagente, a mistura de reação foi deixada 2 h adicionais em refluxo. A mistura em seguida foi diluída / com água e extraída diversas vezes com éter etílico. Os extratos etéreos foram combinados , seguindo-se lavagem com água e com solução aquosa de Na₂CO₃ 10% até a neutralidade. A solução etérea foi / secada com sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotativo.

Em CCD do bruto da reação, revelada na lâmpada ultravioleta e com o revelador para esteroides e terpenos (3.1) verificou-se 3 manchas que em ordem decrescente de R_fs apresentaram cores púrpura, azul e marrom escuro.

Em cromatografia do resíduo da reação (162 mg) em placa preparativa PF₂₅₄ desenvolvida com benzeno + acetato de etila 2,5% retirou-se 3 faixas. A primeira menos polar, foi identificada como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno (100 mg). I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 2920, 2830, 2815, 1730, 1460, 1380, 1260, 1035, 1010 cm⁻¹; R.M.N. de H¹ : δ (CDCl₃) 0,66 (s, 3H); 0,83 (s, 3H); 0,86 (s, 12H); 0,93 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 1,98 (s, 3H); 4,45 (banda larga, 1H). A segunda, de polaridade intermediária foi identificada como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona (45 mg) U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{CHCl}_3}$ 272 nm (log ϵ = 3,86); I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 1740, 1710, 1680, 1460, 1380, 1250, 1030, 1010 cm⁻¹ ; R.M.N. de H¹ : δ (CDCl₃) 0,82 (s, 3H); 0,87 (s, 3H); 0,95 (s, 3H); 1,18 (s, 3H); 1,13 (s, 3H); 2,38 (s); 2,63 (s); 4,65 (banda larga, 1H); E.M. : M⁺ = 498. A última faixa foi identificada como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona (35 mg). U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{CHCl}_3}$ 255,5 nm (log ϵ = 4,036); I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 1740, 1650, 1580, 1460, 1370, 1245, 1030 cm⁻¹; R.M.N. de H¹ : δ (CDCl₃) 0,65 (s, 3H); 0,85 (s, 3H); 0,90 (s, 3H); 0,95 (s, 3H); 1,21 (s, 3H); 2,02 (s, 3H); 2,30 (s, 2H); E.M. : M⁺ = 484.

Oxidação de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno segundo condições de MARKER /277/

3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno (1,00 g) em ácido acético glaci-

al (30 ml) foi aquecido a 80°C em banho de óleo.

A solução de trióxido de cromo (548 mg) em ácido acético 90% (20 ml) também aquecida a 80°C em banho de óleo foi vertida sobre a primeira solução. Após 10 min a 80°C , a mistura de / reação foi imersa em banho de gelo até esfriar completamente .Após adição de água destilada (250 ml) , a mistura foi extraída diversas vezes com éter etílico. As soluções etéreas combinadas foram lavadas duas vezes com água destilada e secadas com sulfato de sódio anidro.

Cromatografia em placa preparativa GF₂₅₄ desenvolvida com / hexano + éter (80:20) forneceu 3 faixas visíveis na lâmpada ultravioleta . A faixa 1, correspondente ao composto menos polar , mostrou em CCD uma mancha púrpura com o revelador para terpenos e esteroides, Rf idêntico ao de uma amostra autêntica de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno (7 mg) .O composto correspondente a faixa 2 com cor marrom escuro em CCD revelada com o revelador para terpenos e esteroides foi identificado como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta 9,(11)-dieno-7-ona(112 mg) com p.f. = $144,2-146,6^{\circ}\text{C}$ (acetato de etila + CH_3OH); I.V. : $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 1735,1700,1650,1240,1030 cm^{-1} ; R.O. : $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = + 57,8^{\circ}$ ($c = 1,5$, CHCl_3); R.M.N. de ^1H : δ (CDCl_3) 5,43 (m, 1H); 4,50 (m, 1H); 2,80 (m, 1H); 2,03 (s, 3H); 1,20 ; 1,00; 0,90; 0,87; 0,77; 0,70(s, 8 CH_3).

A faixa 3 mostrou em placa analítica, comportamento análogo a mistura de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona com 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona(115 mg) . Ambos foram comparados em CCD através do Rfs de amostras autênticas e pelas cores , marrom escuro e azul verificadas para a 7-ona e 7,11-diona respectivamente, quando a CCD é revelada com o revelador para terpenos e esteroides.

Epoxidação de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9,(11)-dieno-7-ona/276/

3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9,(11)-dieno-7-ona(80 mg) foi dissolvido em CHCl_3 (0,55 ml) . Acrescentou-se ácido m-cloroperbenzóico (57 mg) e a mistura foi deixada à temperatura ambiente por um período de 48 h. Após este período acrescentou-se (40 ml) de benzeno + éter (1:1) e lavou-se sucessivamente a mistura com solução de bissulfito de sódio 10% (50 ml) , solução de NaOH 5%

(50 ml) e finalmente com água destilada (50 ml). A camada orgânica foi secada sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo. O sólido incolor obtido, foi identificado como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9 β ,11 β -epóxido-7-ona (60 mg) . p.f. = 195,5-201,1 °C (CH₃CH₂OH); I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 1735,1700,1250,1030 cm⁻¹; R.M.N. de H¹: δ (CDCl₃) 4,50 (t, 1H); / 3,53 (s, 1H); 2,73 (s, 1H); 2,30 (s, 2H); 2,00 (s, 3H).

Hidrólise de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9 β ,11 β -epóxido-7-ona /276/

3 β -acetoxi-5 α -lanosta-9 β ,11 β -epóxido-7-ona (59 mg) foi dissolvido em CH₃CH₂OH (4,4 ml) e benzeno (1,1 ml) . Adicionou-se KOH (182 ml) dissolvidos previamente em CH₃CH₂OH (2,20 ml) . Após 18 h, a mistura foi extraída diversas vezes com benzeno. Os extratos combinados, foram lavados com solução aquosa de HCl 5% (10 ml), com solução de bicarbonato de sódio 5% (10 ml) e finalmente com água destilada (10 ml) . A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e evaporada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo. Em CCD com o bruto da reação, verificou-se duas manchas visíveis na lâmpada ultravioleta a 254 nm . Cromatografia em placa preparativa PF₂₅₄ desenvolvida com benzeno + acetato de etila (50:50) forneceu duas faixas. A faixa 1, correspondente ao composto mais polar, apresentou cor marrom escuro em teste de CCD com o revelador para terpenos e esteroides (3.1) e foi identificado como 3 β , 11 β -diidrox-5 α -lanosta-8-eno-7-ona (13 mg); p.f. = 206-210 °C ; I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3550,3325,1650,1025 cm⁻¹; R.M.N. de H¹ : δ (CDCl₃) 4,65 (d, 1H); 3,45 (t, 1H); 2,43 (s, 2H); 2,02 (s, 2H); E.M. M⁺ = 458 .

Acetilação do composto acima feita de maneira usual forneceu o 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7-ona-11 β -ol (25 mg); I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3525,1740,1710,1670,1275,1250,1035 cm⁻¹; R.M.N. de H¹: δ (CDCl₃) 4,60 (m, 1H); 2,50 (s, 1H); 2,36 (s, 2H); 2,04 (s, 3H); 1,98 (s).

A faixa 2 acetilada forneceu sólido amarelo que em cromatografia de camada delgada apresentou comportamento idêntico ao de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona (20 mg) .

Redução de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona /278/

A mistura de CH₃OH (0,67 ml) e acetato de etila (0,17 ml) /

foi adicionada a solução de 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-7,11-diona (258 mg) em tetrahydrofurano (0,5 ml) . A mistura sob agitação constante foi mergulhada em um banho de gelo. Adicionou-se lentamente NaBH_4 (17 mg) . Após 1 h sob agitação e fora do banho de gelo, adicionou-se à mistura água gelada e extraiu-se diversas vezes com éter etílico. As soluções etéreas combinadas foram secadas com sulfato de sódio anidro e concentradas sob pressão reduzida em / um evaporador rotativo. O resíduo obtido (273 mg) foi cromatografado em placa preparativa PF_{254}^{350} desenvolvida com hexano + éter (75+25) que forneceu o composto identificado como 3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8-eno-11-ona-7 β -ol (70 mg) . I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3480,1735,1640 , 1580,1250,1030 cm^{-1} ; R.M.N. de H^1 : δ (CDCl_3) 4,65 (banda larga , 1H) ; ombro em 4,40 (1H); 2,60 (d, J = 4Hz, 2H) .

3.4.2.2. Dados físicos dos compostos isolados

MNSF-1 (mistura de hidrocarbonetos)

p.f. : 68,2 - 68,8 $^{\circ}\text{C}$ / (CH_3)₂C=O) ; I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 2920-2850,740,720 cm^{-1} ; R.M.N. de H^1 : δ (CCl_4) 1,30 (s) ; E.M. : pico de maior m/e em 464.

MNSF-3 (poliprenoide tipo solanesol)

R.M.N. de H^1 : δ (CDCl_3) 5,10 (banda larga); 4,03 (d, J = 8Hz); 1,61 (s); 1,70 (s); 2,06 (d).

MNSF-5 (lanosterol)

p.f. : 133-137,9 $^{\circ}\text{C}$ (CH_3OH) ; U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{CHCl}_3}$ 237,240,6 nm ; I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3290,1640,1460,1380,1030 cm^{-1} ; R.O. : $\alpha/\beta_D = + 79^{\circ}$ (c = 1 , CHCl_3) ; R.M.N. de H^1 : δ (CDCl_3) 0,66 (s, 3H); 0,80 (s, 3H); 0,88 (s, 3H) ; 1,00 (s, 9H); 1,63 (s); 1,70 (s); 3,26 (banda larga, 1H); 3,53 (s, 1H) ; R.M.N. de C^{13} δ (CDCl_3 , ppm): 134,2;130,5;125,0;78,8.

III 98-99 (3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24-dieno-11-ona-x β -ol)

p.f. : 89,1 - 94,2 $^{\circ}\text{C}$ (CH_3OH e (CH_3)₂C=O) ; U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 269 (log ϵ =

KBr

= 3,58); I.V. : $\lambda_{\text{máx.}}$ 3560, 3500, 1740, 1250, 1650, 1580 cm^{-1} ; R.O. : $[\alpha]_D = +104,4^\circ$; R.M.N. de ^1H : δ (CDCl_3) 0,86 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 1,15 (s, 3H); 1,20 (s, 3H); 5,10 (banda larga, 1H); 2,13 (s, 3H); 4,55 (banda larga, 1H); E.M. : $M^+ = 498$.

I 100-102 (3 β -acetoxi-5 α -lanosta-8,24-dieno-7-ona)

CHCl_3

p.f. : 186,1-190,2 $^\circ\text{C}$ (CH_3OH e $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$); U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}$ 253, 230 nm;
 I.V. : ν_{KBr} 2960, 2940, 2870, 1740, 1650, 1580, 1450, 1365, 1240, 1030, 1010, 980 cm^{-1} ; R.O. : $[\alpha]_D = +17^\circ$; R.M.N. de ^1H : δ (CDCl_3) 0,65 (s, 3H); 0,95 (s, 3H); 1,20 (s, 3H); 1,63 (s, 3H); 1,70 (s, 3H); 2,32 (s, 2H);
 R.M.N. de ^{13}C δ (CDCl_3 , ppm): 180,9; 170,4; 164,2; 138,8; 130,7; 124,9; E.M. $M^+ = 482$.

3.4.3. Material saponificável da madeira

O material saponificável da madeira (571 mg), acidificado com HCl conc. até pH 2 e extraído com éter etílico, mostrou no infravermelho ν_{filme} 3380 (banda larga), 2920, 2840, 1700, 720 cm^{-1} sendo denominado de MSM.

Este material (80 mg) foi dissolvido em éter etílico e adicionou-se excesso de uma solução etérea de diazometano. Após 24 h a 0 $^\circ\text{C}$ evaporou-se o solvente. Nos testes em CCD não se verificou alteração / no Rf do material de partida.

3.4.4. Material não saponificável da madeira

O material não saponificável (5,760 g), sólido de cor amarela foi fracionado em coluna ($\phi_i = 5 \text{ cm}$) de sílica 0,05 - 0,20 mm (300 g). As 266 frações coletadas de 150 ml cada uma foram evaporadas e os resíduos transferidos para vidros pequenos.

As frações foram reunidas conforme análise qualitativa em CCD / revelada com revelador para terpenos e esteroides (3.1). A polaridade do eluente aumentou gradativamente após uma substância ou uma mistura de substâncias com Rfs próximos saírem totalmente da coluna (quadro 6).

As frações 101-109 foram cristalizadas várias vezes com CH_3OH até a obtenção de uma substância cristalina identificada como β -si -

QUADRO 6

CROMATOGRAFIA DO MATERIAL NÃO SAPONIFICÁVEL DA
MADEIRA EM COLUNA DE SÍLICA

frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-37	hexano	1-7	-	0,124
		8-16	-	0,407
		17-23	-	0,069
		24-32	-	0,012
38-82	hexano+acet. etila 2,5%	48-51	-	0,271
		55-71	-	0,067
83-102	hexano+acet. etila 5,0%	101-119	β-sitosterol	0,526
103-122	hexano+acet. etila 7,5%	110-111	-	0,054
		112-128	-	0,020
123-146	hexano+acet. etila 10,0%	129-156	-	0,259
147-167	hexano+acet. etila 15,0%	157-166	-	0,156
168-180	hexano+acet. etila 20,0%	167-187	-	0,018
181-237	hexano+acet. etila 25,0%	197-199	-	0,020
		202-211	-	0,014
		214-234	-	0,053
238-250	hexano+acet. etila 30,0%	235-240	-	0,007
251-257	hexano+acet. etila 40,0%	-	-	-
258-266	hexano+acet. etila 50,0%	-	-	-

tosterol.

O β -sitosterol (50 mg) foi acetilado com anidrido acético e piridina de modo similar aquele do lanosterol (3.4.2.1.) .

Cromatografia em fase gasosa (tab.13) do acetato de β -sitosterol forneceu 3 picos sendo um deles com área cerca de 10 vezes maior do que a dos outros dois.

TABELA 13

CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ANÁLISE EM
CROMATOGRAFIA GASOSA DO ACETATO DE
 β - SITOSTEROL

Instrumento Finnigan 1015 S/L	
Gás de arraste He	30 ml/min
Velocidade de vazão do ar	300 ml/min
Velocidade de vazão de H ₂	30 ml/min
Coluna	OV-17 3%
Temperatura do detector	340 °C
Temperatura do injetor	320 °C
Temperatura da coluna	280 °C

3.4.4.1. Dados físicos dos compostos isolados

SIT-B (β -sitosterol)

p.f. : 134-136,3 °C (CH₃OH); I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3420, 2960-2850, 1680, 1050 cm⁻¹; R.M.N. de H¹ : δ (CDCl₃) 0,70 (s); 0,90 (s); 1,03 (s); 3,53 (banda larga); 5,40 (banda larga).

3.4.5. Material saponificável dos frutos

Os ésteres metílicos (MSFR-2) obtidos da metilação dos ácidos carboxílicos liberados (MSFR-1) do material saponificável /

(MSFR) dos frutos foram analisados através de cromatografia gasosa usando-se, como no caso das folhas, os padrões de ésteres metílicos dos ácidos esteárico, palmítico, oleico e linoleico.

Efetuuou-se a análise com programação linear de temperatura / (tab.14).

TABELA 14

CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ANÁLISE EM
CROMATOGRAFIA GASOSA DE MSFR-2

Instrumento Finnigan 1015 S/L	
Gás de arraste (N_2)	26 ml/min
Velocidade de vazão do ar	300 ml/min
Velocidade de vazão de H_2	20 ml/min
Coluna	OV-17 3%
Temperatura do detector	300 °C
Temperatura do injetor	250 °C
Intervalo de temperatura	180-244 °C
Gradiente de temperatura	8 °C/min

Através de coinjeção verificou-se que os dois picos observados no cromatograma do MSFR-2 tem o mesmo tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico e esteárico e por isso denominou-se os componentes de MSFR-2 respectivamente de MSFR-2P e MSFR-2E.

3.4.6. Material não saponificável dos frutos

Uma parte do material não saponificável dos frutos (542 mg) foi retirada da massa total (34,419 g) , e cromatografada em coluna curta sob pressão de N_2 com sílica de placa H, eluída com hexano + acetato de etila (97,5 + 2,5) .

As frações 13-15 combinadas forneceram um óleo transparente denominado de MNSFR-1 (50 mg) com bandas de I.V. : $\nu_{\text{filme}}^{\text{máx.}}$ 2910 - 2850, 1720, 1075, 1030, 715 cm^{-1} .

As demais frações coletadas não levaram ao isolamento de substâncias puras

3.5. Extrato etanólico

3.5.1. Constituintes alcaloidais das folhas

O resíduo alcalóidico obtido (1,814 g) não se apresentou totalmente solúvel em CHCl_3 . Após a filtração, o filtrado (1,064 g) foi submetido a cromatografia em coluna ($\varnothing_i = 3,5$ cm) de sílica gel 0,05 - 0,20 mm (180 g), sendo coletadas 262 frações de 60 ml. Os eluentes foram evaporados e os resíduos pesados (quadro 7).

Cromatografia das frações 69-78 (quadro 8)

As frações 69-78 (48 mg) foram purificadas em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel H para placas (23 g) e eluída com $\text{CHCl}_3 + \text{CH}_3\text{OH}$ 2,5% com 0,2% de NH_4OH . Coletou -se 25 frações de 10 ml. A fração 8 apresentou-se como um sólido (2 mg) que revelou-se como uma mancha roxa após queima total da placa pulverizada com o reagente de Dragendorff e com a mistura / de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{CH}_3\text{OH}$ (3.1) . O composto foi denominado de ALC-1 . A fração 9 (14 mg) , recromatografada de modo idêntico forneceu / mais da substância (1 mg) que apresentou o mesmo comportamento em CCD que ALC-1 , sendo identificado como solaso-3,5-dieno.

Cromatografia das frações 83-96 (quadro 9)

As frações 83-96 (37 mg) foram cromatografadas em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel H (23 g) para placas e eluída inicialmente com $\text{CHCl}_3 + \text{CH}_3\text{OH}$ 2,5% com 0,2 % de NH_4OH . Recolheu-se 26 frações de 10 ml. O controle para alteração da polaridade do eluente foi feito por visualização dos testes em CCD das frações recolhidas. Obteve-se na fração 10 um composto puro revelado como uma mancha marrom clara após a queima total da placa pulverizada com o reagente de Dragendorff (7 mg) ,

QUADRO 7

CROMATOGRAFIA DO EXTRATO ALCALÓIDICO DAS FOLHAS EM COLUNA DE SÍLICA				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-25	clorofórmio	1-25	-	0,029
26-59	clorofórmio+metanol 1,0%	26-29	-	0,004
		33-60	-	0,071
60-99	clorofórmio+metanol 2,0%	61-62	-	0,009
		63-68	-	0,016
		69-78	quadro 8	0,048
		79-82	-	0,013
		83-96	quadro 9	0,037
100-118	clorofórmio+metanol 2,5%	-	-	-
119-135	clorofórmio+metanol 3,0%	-	-	-
136-160	clorofórmio+metanol 5,0%	97-141	quadro 10	0,176
		142-158	-	0,036
161-176	clorofórmio+metanol 7,0%	159-172	-	0,035
177-193	clorofórmio+metanol 9,0%	173-177	-	0,017
194-211	clorofórmio+metanol 12,5%	178-221	quadro 11	0,098
212-228	clorofórmio+metanol 15,0%	-	-	-
229-244	clorofórmio+metanol 20,0%			
	com 0,5% NH_4OH	-	-	-
245-262	clorofórmio+metanol 25,0%			
	com 0,5% NH_4OH	222-262	-	0,087

QUADRO 8

CROMATOGRAFIA DA FRAÇÃO 69-78, EXTRATO ALCALÓIDICO DAS FOLHAS				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-25	clorofórmio+metanol 2,5% com 0,2% NH_4OH	1-7	-	-
		8	solaso-3,5 dieno	0,002
		9	solaso-3,5 dieno	0,014
		10	-	0,004
		11-25	-	

QUADRO 9

CROMATOGRAFIA DA FRAÇÃO 83-96, EXTRATO ALCALÓIDICO DAS FOLHAS				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-9	clorofórmio+metanol 2,5% com 0,2% NH_4OH	1-9	-	-
		10	ALC-2	0,007
11-26	clorofórmio+metanol 10% com 0,4% NH_4OH	11-19	-	-
		20-26	-	-

sendo denominado de ALC-2.

Cromatografia das frações 97-141 (quadro 10)

A fração reunida 97-141 (176 mg) foi cromatografada em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel H para / placas e eluída com a mistura $CHCl_3 + CH_3OH$ 2,5% com 0,2% de / NH_4OH . Recolheu-se 20 frações de 10 ml. As frações 11-13 combinadas, forneceram sólido incolor (80 mg) denominado de ALC- 3 e identificado como solasodina .

Cromatografia das frações 178-221 (quadro 11)

A fração combinada (98 mg) foi purificada em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel H para placas e eluída com $CHCl_3 + CH_3OH$ 15% com 0,2% de NH_4OH . Recolheu-se 17 fra - ções de 10 ml . As frações 9 e 10 combinadas forneceram um sólido amarelo escuro, que revelou-se como uma mancha roxa após aqueci - mento da placa pulverizada com o reagente de Dragendorff e a mis - tura de $H_2SO_4 + CH_3OH$ (3.1). Obteve-se o composto denominado / ALC-4 (16 mg) e identificado como β -glicosídeo-solasodina.

O sólido (751 mg) recolhido da filtração do extrato al - calóidico (3.5.1.) foi cromatografado em coluna curta sob pres - são de N_2 , empacotada com sílica gel H para placas e eluída ini - cialmente com $CHCl_3 + CH_3OH$ 2,5% com 0,2% de NH_4OH .

Teste comparativo em CCD com a fração combinada 14-36 desta coluna (130 mg) , e com amostra autêntica de solasodina , reve - ladas com reagente de Dragendorff e pulverização posterior da mis - tura $H_2SO_4 + CH_3OH$ (3.1) mostrou que ambas apresentaram o mesmo comportamento.

A fração combinada 59-60 forneceu após evaporação do eluen - te em um evaporador rotativo um sólido amarelo escuro espumoso / (66 mg) . Através de teste comparativo em CCD com amostra deste e aquela referente ao β -glicosídeo-solasodina (ALC-4), obser - vou-se após aquecimento da placa revelada com reagente de Drogen - dorff e $H_2SO_4 + CH_3OH$ (3.1) que ambas são idênticas.

QUADRO 10

<u>CROMATOGRAFIA DA FRAÇÃO 97-141, EXTRATO ALCALÓIDICO DAS FOLHAS</u>				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-20	clorofórmio+metanol 2,5% com 0,2% NH_4OH	1-9	-	-
		10	-	-
		11-13	solasodina	0,080
		14-16	-	0,007
		17-20	-	0,005

QUADRO 11

<u>CROMATOGRAFIA DA FRAÇÃO 178-221, EXTRATO ALCALÓIDICO DAS FOLHAS</u>				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-17	clorofórmio+metanol 15,0% com 0,2% NH_4OH	1-2	-	-
		8	-	-
		9-10	ALC-4*	0,015
		11-13	-	0,011
		14-17	-	-

* β -glicosídeo-solasodina

QUADRO 12

CROMATOGRAFIA DO EXTRATO ALCALÓIDICO DA MADEIRA EM COLUNA DE SÍLICA				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
25-76	cloroformio+metanol 1,0%	21-42	quadro 13	0,046
		44-45	-	0,017
		46-71	solasodina	0,171
77-91	cloroformio+metanol 5,0%	72-176	-	0,993
92-122	cloroformio+metanol 7,0%	177-182	quadro 14	0,871
123-145	cloroformio+metanol 9,0%	183-205	-	0,226
146-151	cloroformio+metanol 12,5%			
152-205	cloroformio+metanol 15,0%			

QUADRO 13

CROMATOGRAFIA DA FRAÇÃO 21-42 DO EXTRATO ALCALÓIDICO DA MADEIRA				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-28	cloroformio+metanol 2,5% com 0,2% NH_4OH	1-19	-	-
		20-24	solaso-3,5 dieno	0,021
		25-28	-	-

3.5.2. Constituintes alcaloidais da madeira

O extrato alcalóidico obtido da madeira (2,765 g) foi fracionado em coluna ($\varnothing_i = 3,0$ cm) de sílica gel 0,05 - 0,20 mm / (111 g) . Foram coletadas 205 frações de 50 ml (quadro 12).

A fração combinada 21-42 (46 mg) foi purificada em coluna curta sob pressão de N_2 com sílica gel G para placas e eluída com $CHCl_3 + CH_3OH$ 2,5% com 0,2% de NH_4OH (quadro 13). As frações 20-24 desta coluna forneceram um composto (21 mg) que se comportou de modo idêntico em CCD ao solaso-3,5-dieno.

Na fração combinada 46-71 , referente ao primeiro fracionamento do extrato alcalóidico, verificou-se em CCD, comportamento i dêntico a amostra de solasodina anteriormente isolada no extrato / alcalóidico das folhas.

Purificação das frações 177-182 por cromatografia em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica gel G para placas e eluída com a mistu a $CHCl_3 + CH_3OH$ 15% saturado com 0,2% de / NH_4OH forneceu 74 frações de 10 ml (quadro 14). As frações 17 a 28 foram combinadas , o solvente evaporado em um evaporador rotativo , obtendo-se o composto (29 mg), denominado de ALC-4 e identificado como β -glicosídio-solasodina.

QUADRO 14

CROMATOGRAFIA DA FRAÇÃO 177-182 DO EXTRATO ALCALÓIDICO DA MADEIRA				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso(g)
1-74	clorofórmio + metanol 15% com 0,2% NH_4OH	1-16	-	-
		17-28	ALC-4*	0,029

* β -glicosídio-solasodina

3.5.3. Constituintes alcaloidais dos frutos

Uma parte da massa dos glicosídeos (500 mg) foi retirada

da massa total (2,273 g) e fracionada em coluna curta sob pressão de N_2 , empacotada com sílica de placa H e eluída com $CHCl_3 + CH_3OH$ 25% . Recolheu-se 44 frações de 10 ml (quadro 15). As frações 29-32 combinadas forneceram um sólido incolor (20 mg), denominado de ALC-5 e identificado como solamargina.

QUADRO 15

CROMATOGRAFIA DO EXTRATO ALCALÓIDICO DOS FRUTOS				
frações	eluentes	frações reunidas	compostos isolados	peso (g)
1-44	clorofórmio + metanol 25 %	1-28	-	-
		29-32	solamargina	0,020
		33-44	-	-

O aglicon (276 mg) obtido após hidrólise de uma parte dos glicosídeos (500 mg) mostrou em CCD 3 manchas que se coravam / de roxo após aquecimento da placa revelada com o reagente de Dragendorff e a mistura de $H_2SO_4 + CH_3OH$ (3.1) . Testes comparativos em CCD deste aglicon com amostras autênticas de solaso-3,5-dieno, solasodina e 8-glicosídeo-solasodina mostraram que estas substâncias também estão presentes no aglicon dos frutos.

3.5.4. Dados físicos dos compostos isolados

ALC -1 (solaso-3,5-dieno)

p.f. : 134,5-138,4 °C / (CH_3)₂C=O /; U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{CHCl_3}$ 241,4 nm (log ϵ = 4,51); I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{KBr}$ 2920-2860,1780,1620,975,960,915,880 cm^{-1} ; R.M.N. de H^1 : δ ($CDCl_3$) 0,70 (s); 0,73 (s); 0,81 (s); 1,05 (s) ; 2,70 (m); 4,34 (dd, J = 12Hz e J' = 6Hz); 5,30-6,10(m); E.M.: M^+ = 395.

ALC -2

U.V. : $\lambda_{\text{máx.}}^{CHCl_3}$ 238,7 nm; I.V. : $\nu_{\text{máx.}}^{KBr}$ 2970,1660,1085,975,870 cm^{-1}

ALC -3 (solasodina)

KBr

p.f. : 193,7-197 °C / (CH₃)₂C=O /; I.V. : $\nu_{\text{max.}}$ 3340,2940-2830,
 1660,1075,978,965,915,885 cm⁻¹; R.M.N. de H¹ : δ (CDCl₃) 0,83 (s);
 1,05 (s); 2,70 (m); 4,33 (dd, J = 8Hz, J' = 16Hz); 5,47 (banda
 larga); 3,56 (banda larga); E.M.: M⁺ = 413.

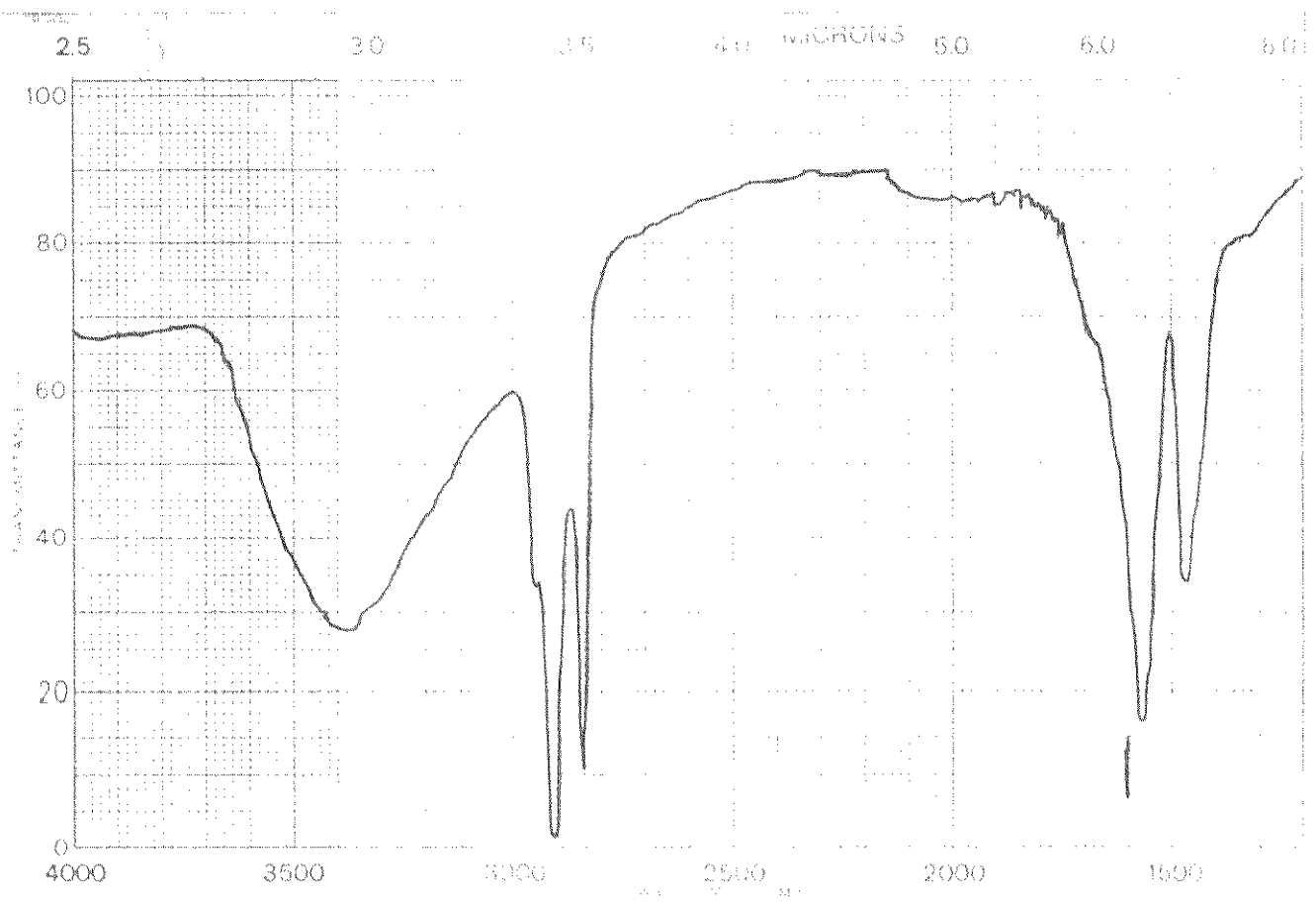
ALC -4 (β -glicosídeo-solasodina)

I.V. : $\nu_{\text{max.}}$ KBr 3360,2925-2840,1635,1075,975,963,915,880 cm⁻¹; E.M. :
 M⁺ = 765.

ALC -5 (solamargina)

R.O. : $[\alpha]_D = -92^\circ$ (CH₃OH).

ESPECTROS



SAMPLE MSF
ORIGIN: Extrato de petróleo

parafina KB

DATE: 10/10/73
TIME: 14:30

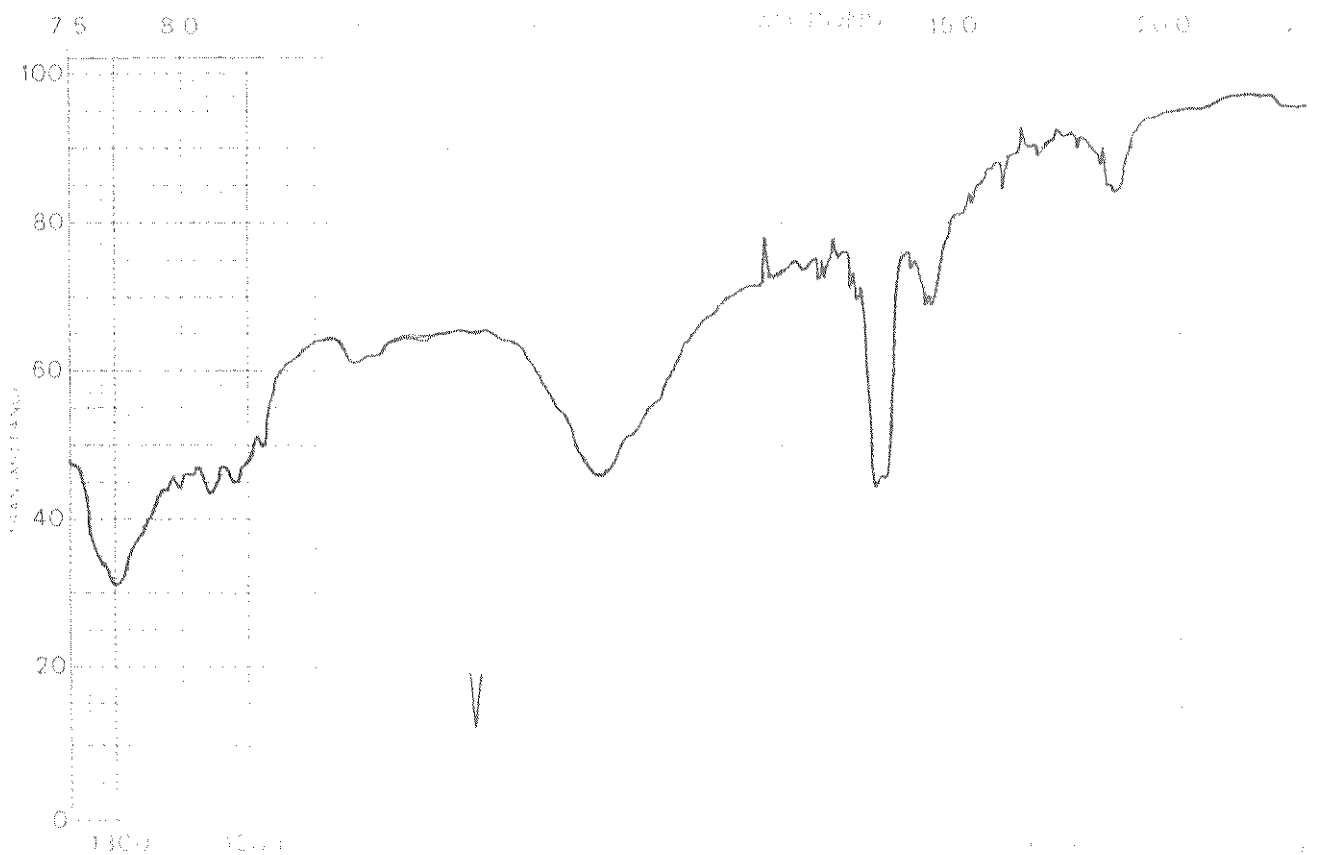
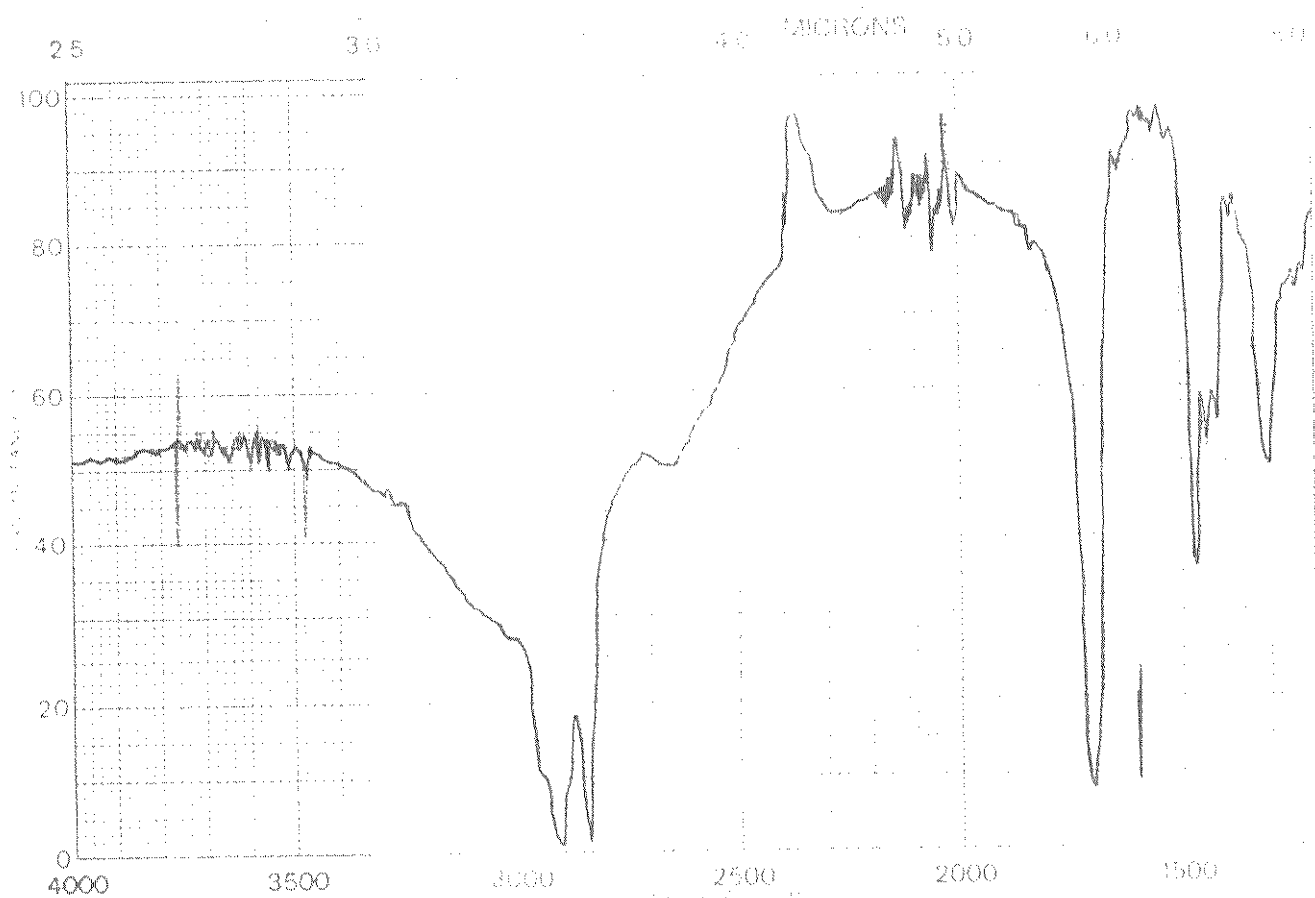


Fig. 4.1 - Espectro no infravermelho do MSF



SAMPLE MSF-1

partícula n.º 1

ORIGIN extrato óleo de peixe

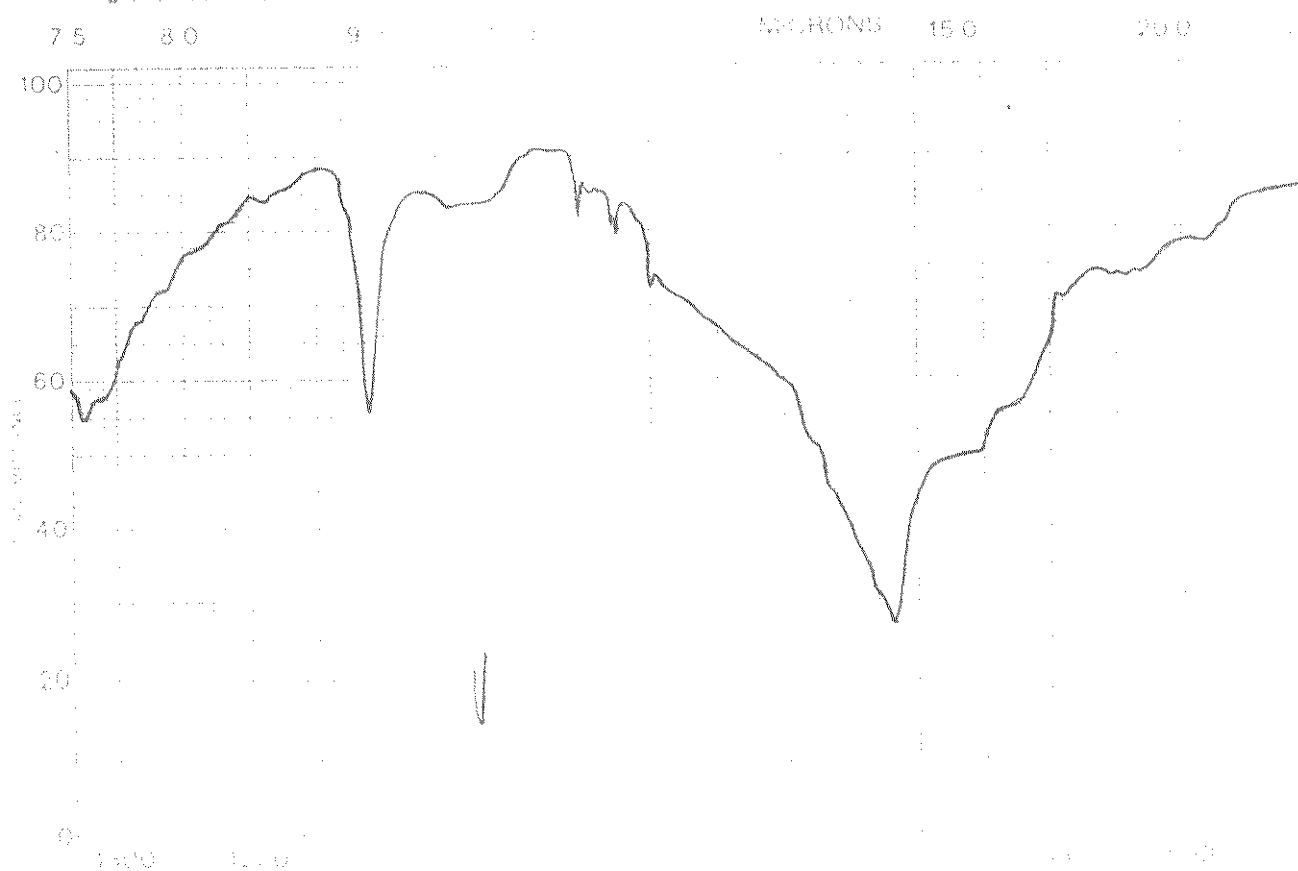
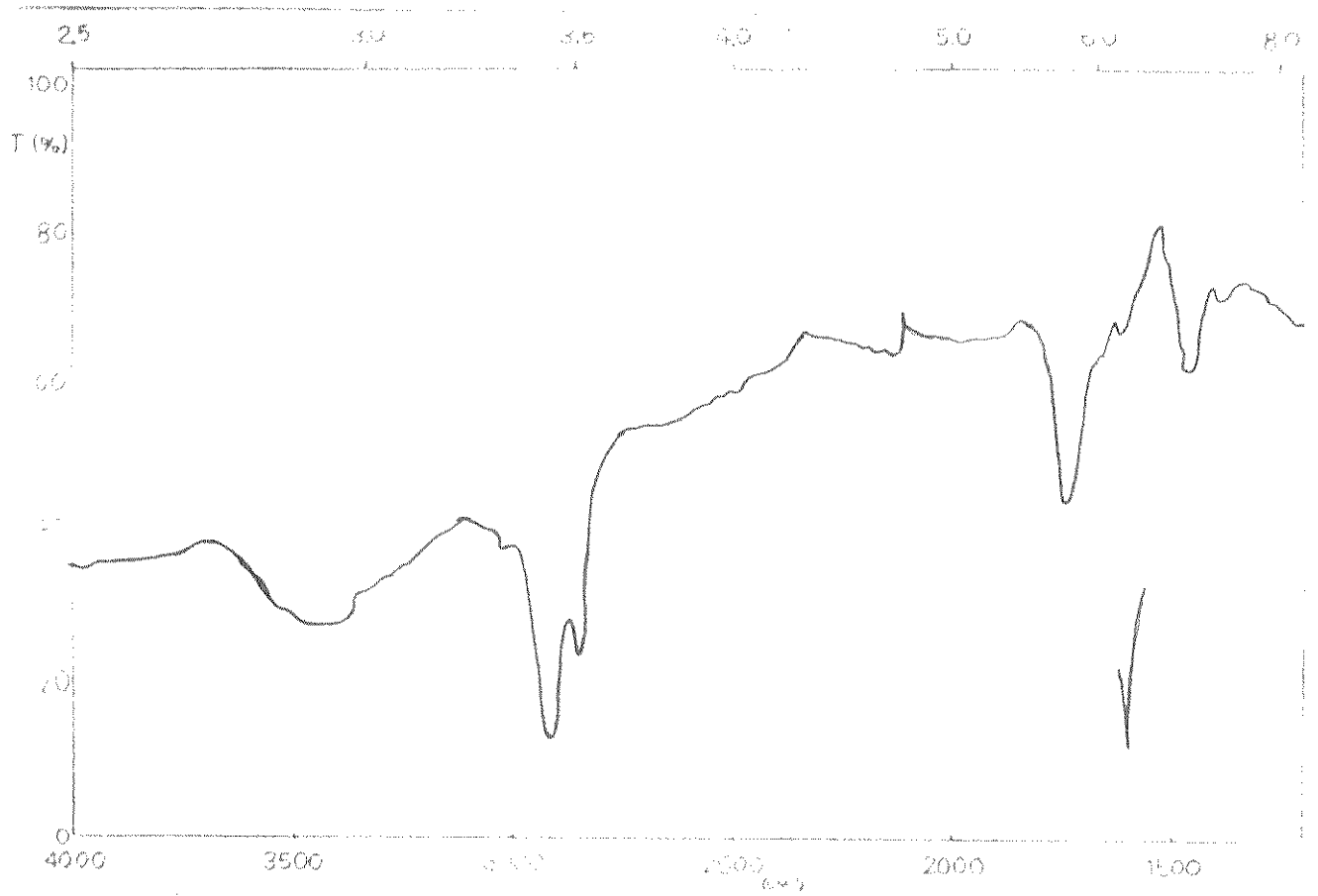


Fig. 4.2 - Espectro no infravermelho do MSF-1



SAMPLE MSF-2

ORIGIN *metilato éter de petróleo*

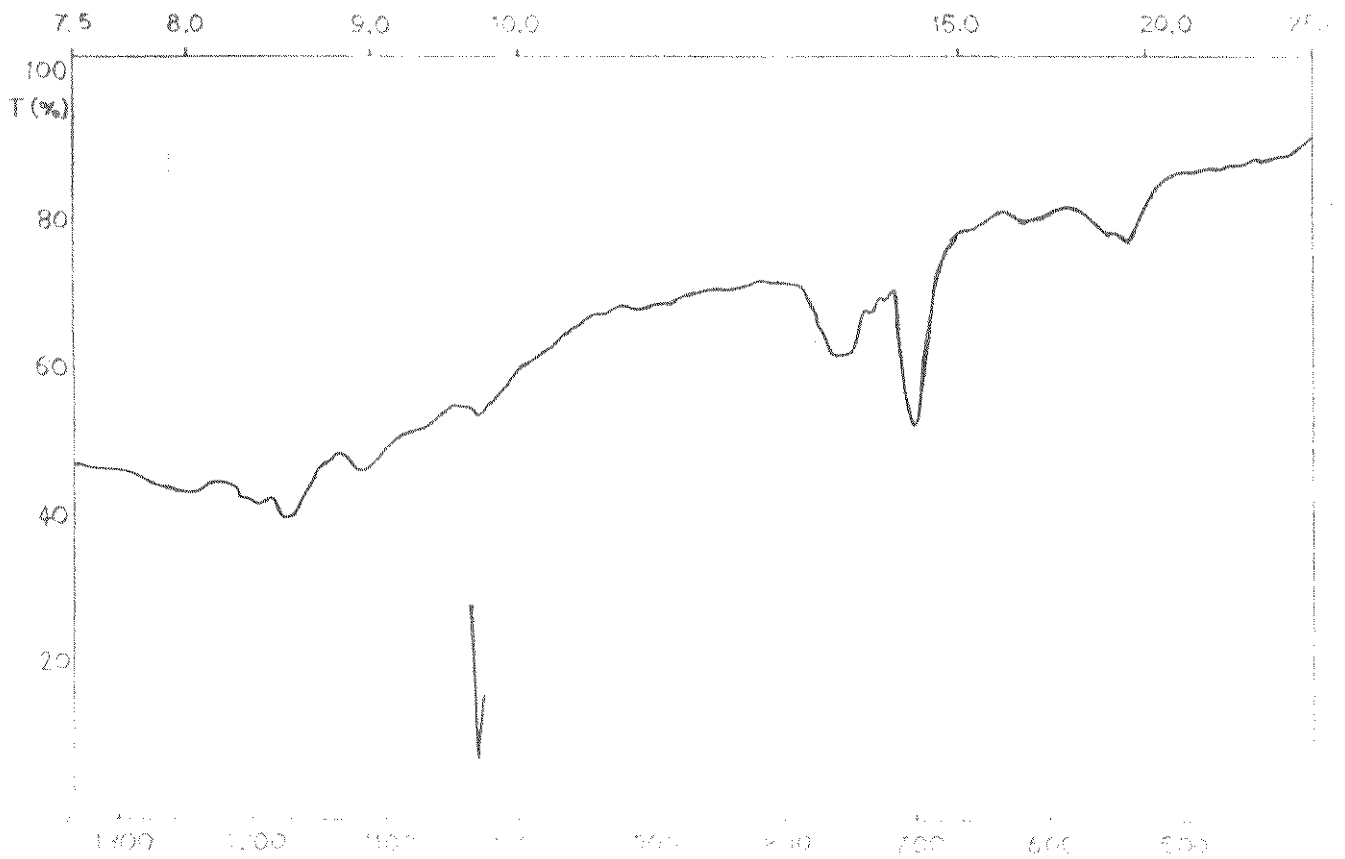
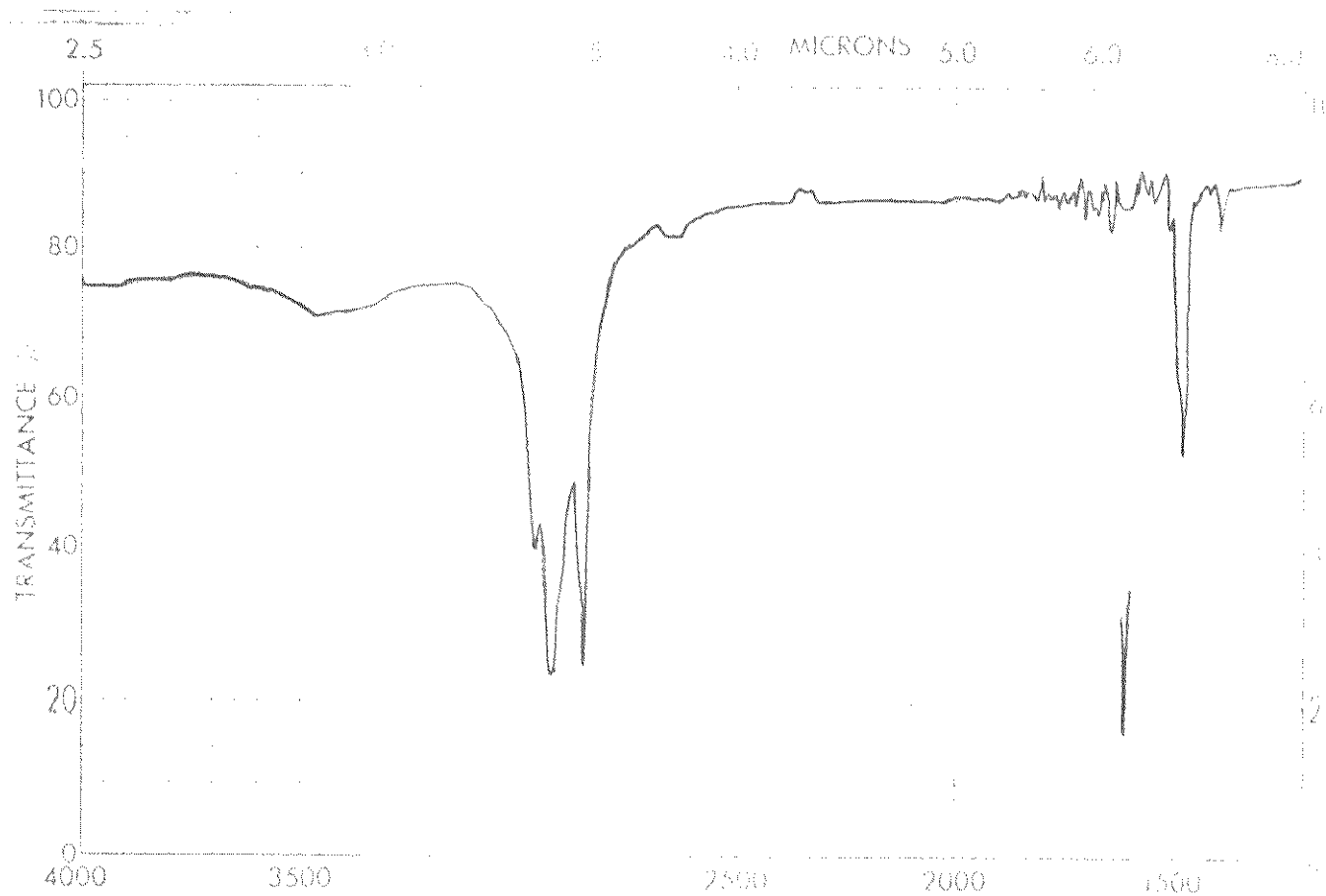


Fig. 4.3 - Espectro no infravermelho do MSF-2



SAMPLE *MNSF-1 - hydrocarbonates*
 ORIGIN
 SOLVENT
 PART NO. 3311203

DATE
 TIME
 OPERATOR

PERKIN ELMER

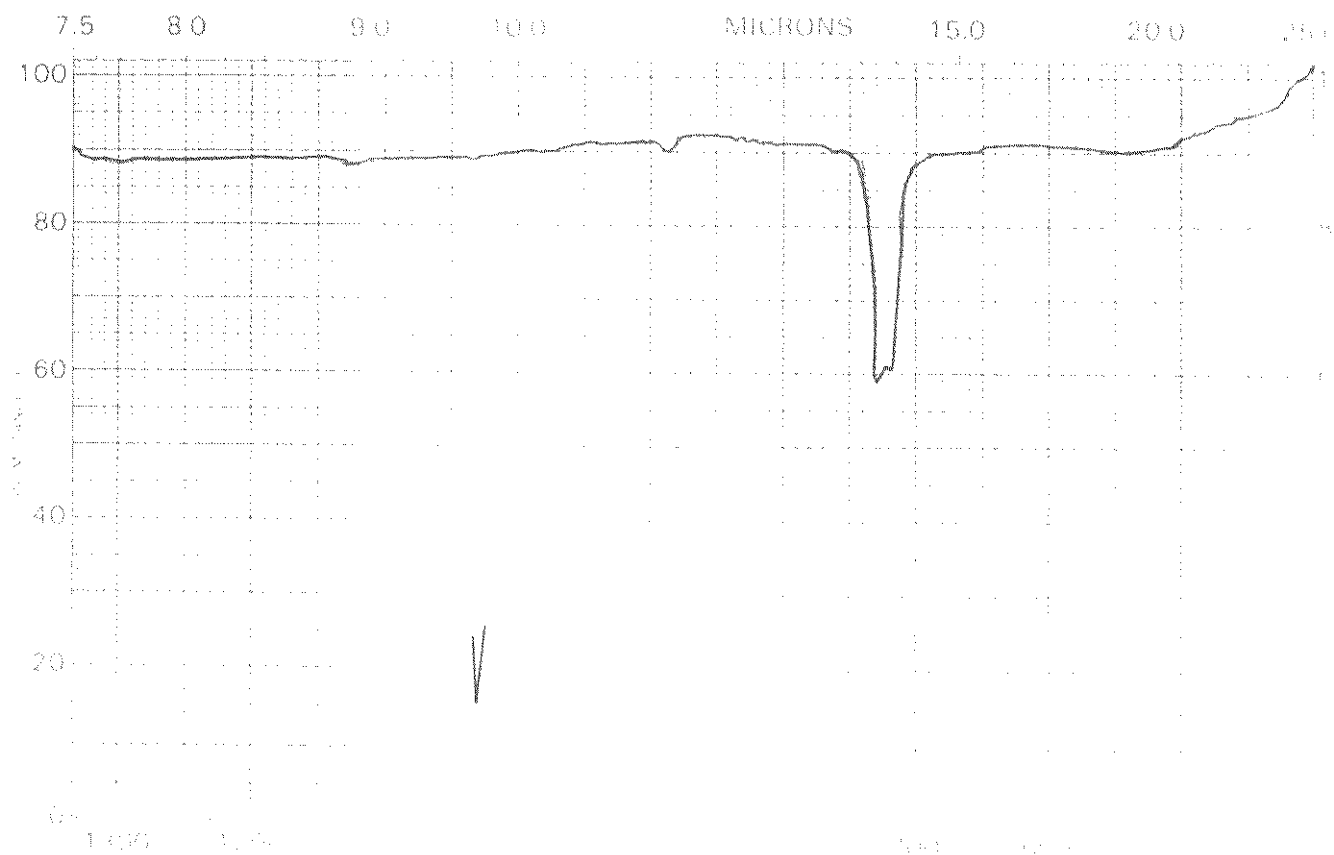


Fig. 4.4 - Espectro no infravermelho do MNSF-1

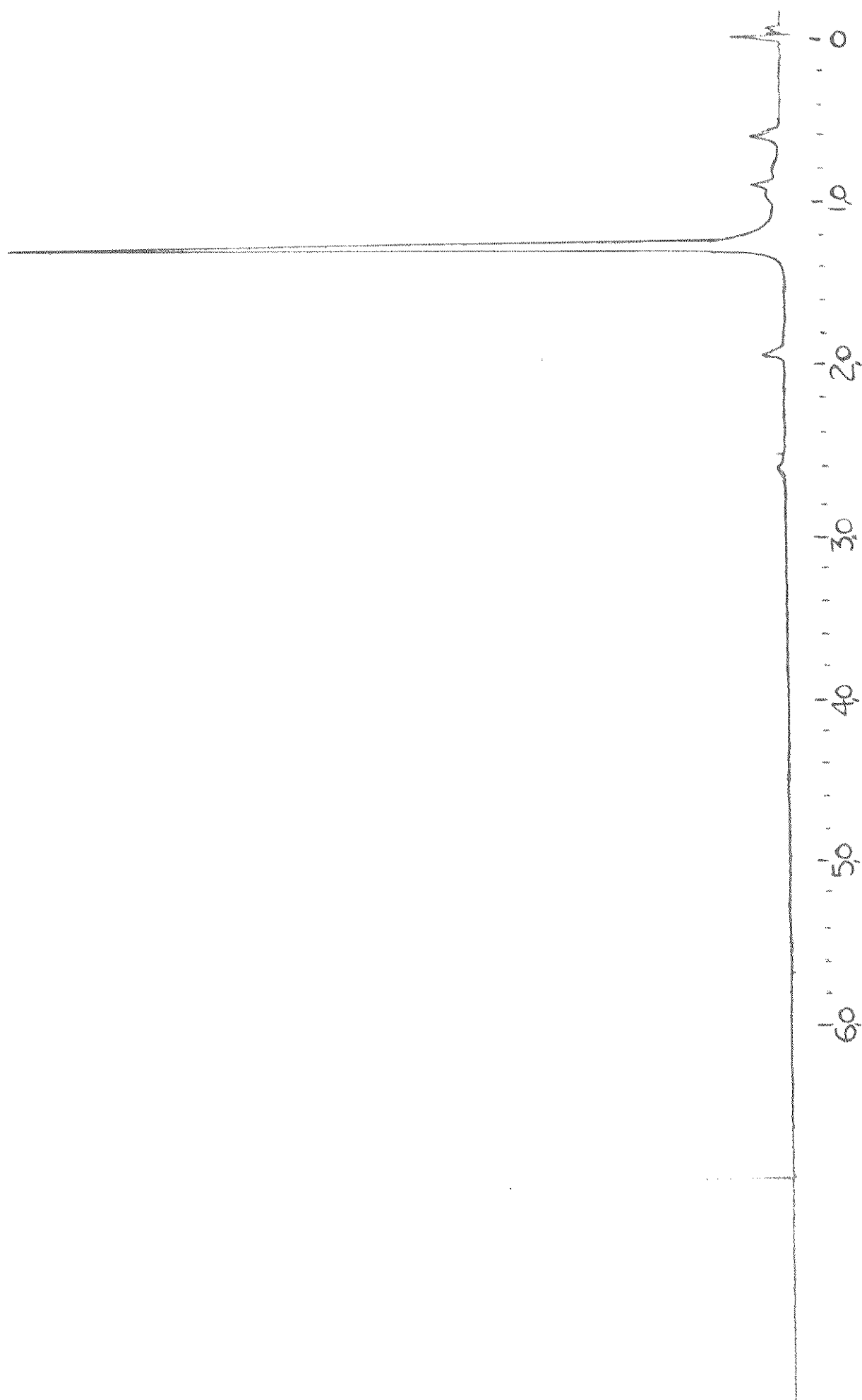


Fig. 4.5 - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-1

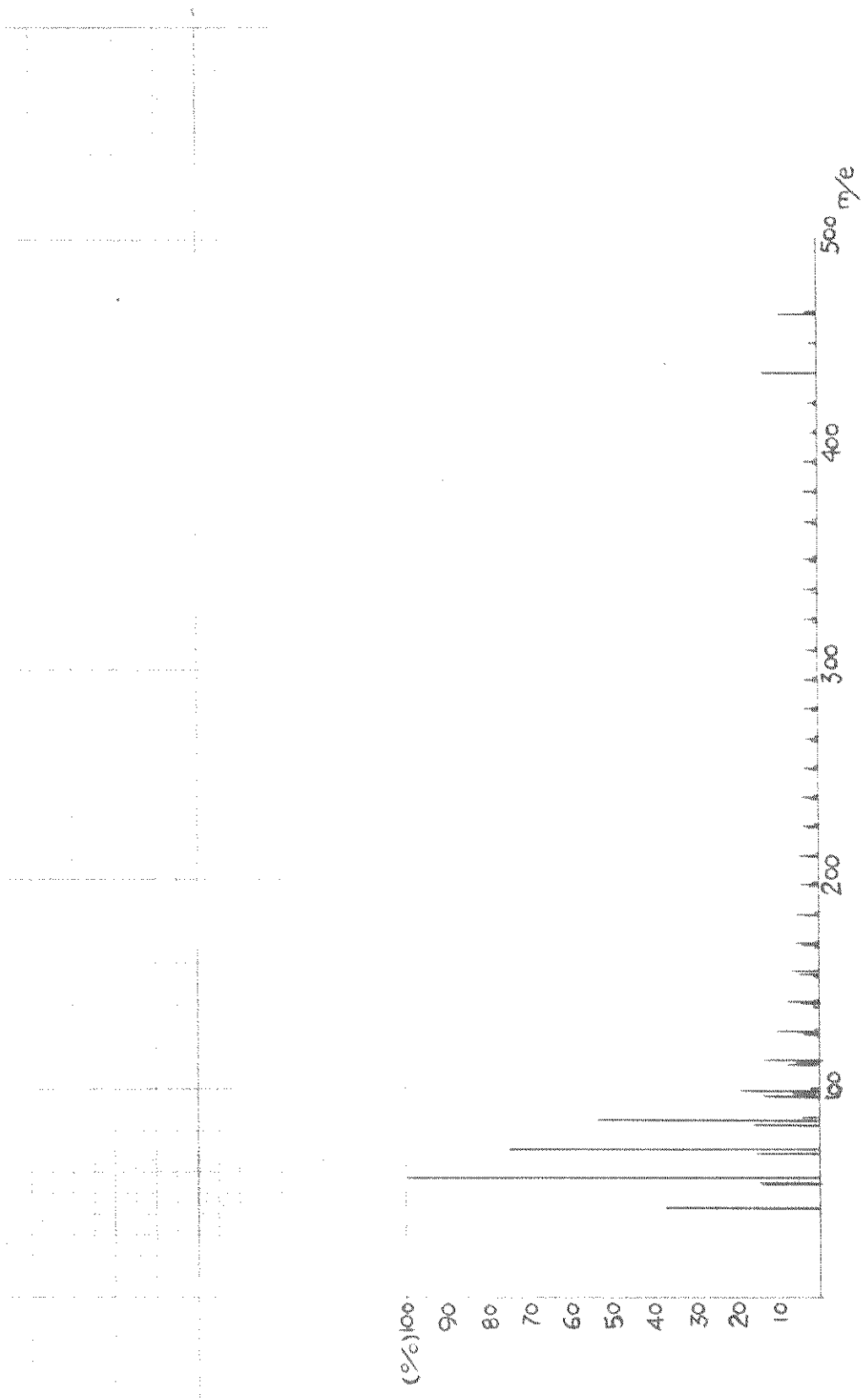


Fig. 4.6 - Espectro de massas do MNSF-1

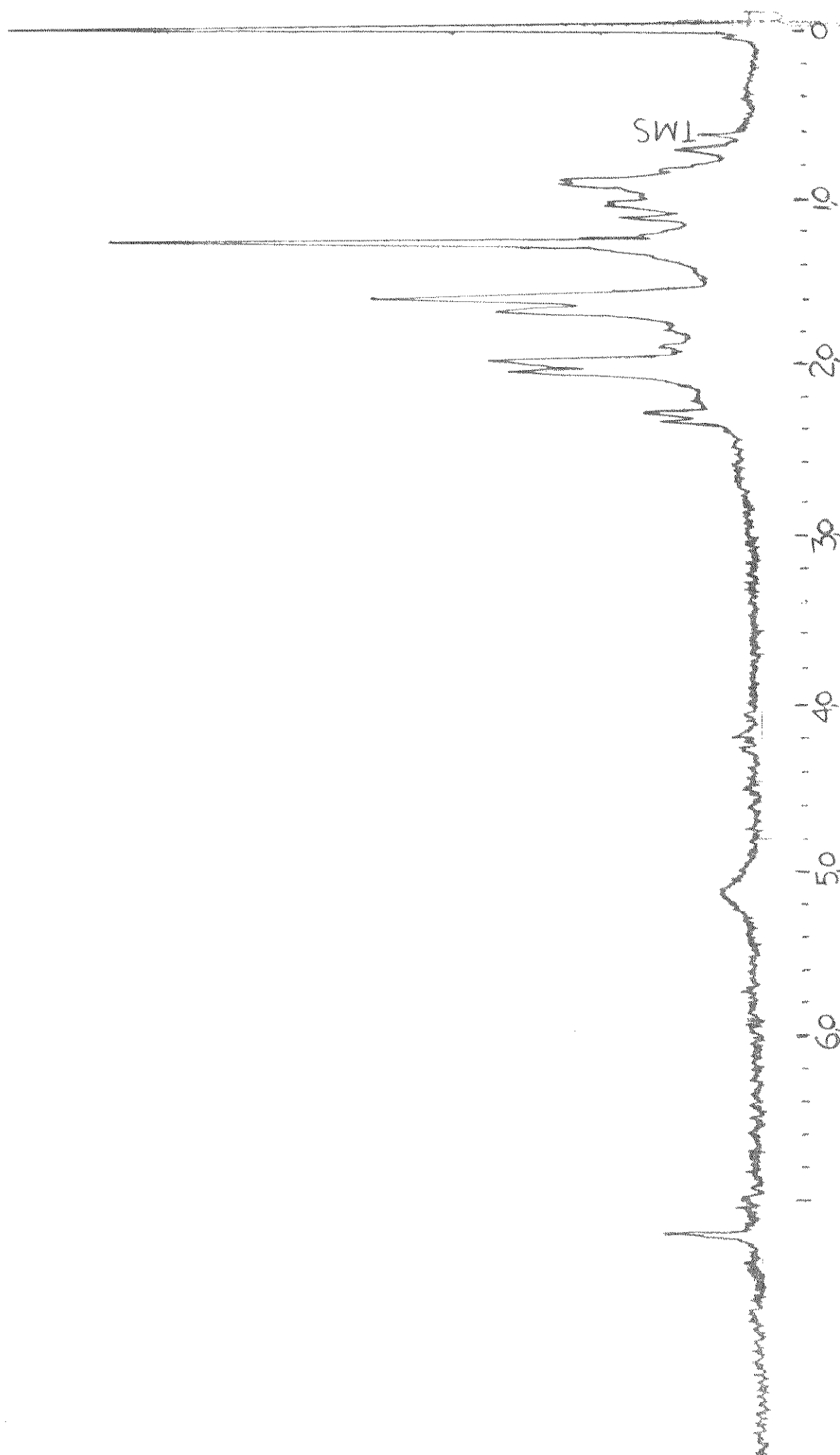
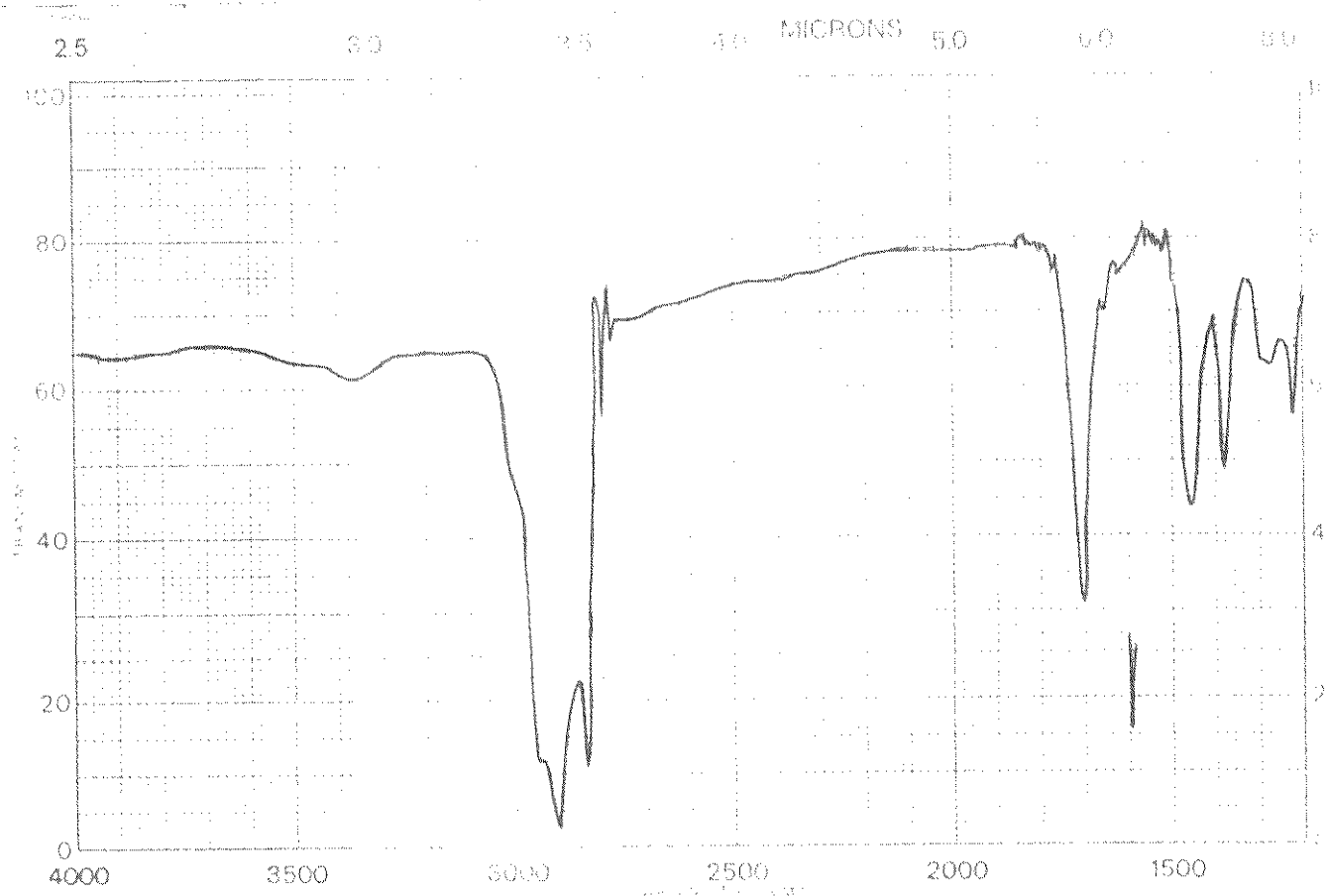


Fig. 4.7 - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-2



SAMPLE MNSF-2
 ORIGIN extrato de petróleo

filme



Fig. 4.8 - Espectro no infravermelho do MNSF-2

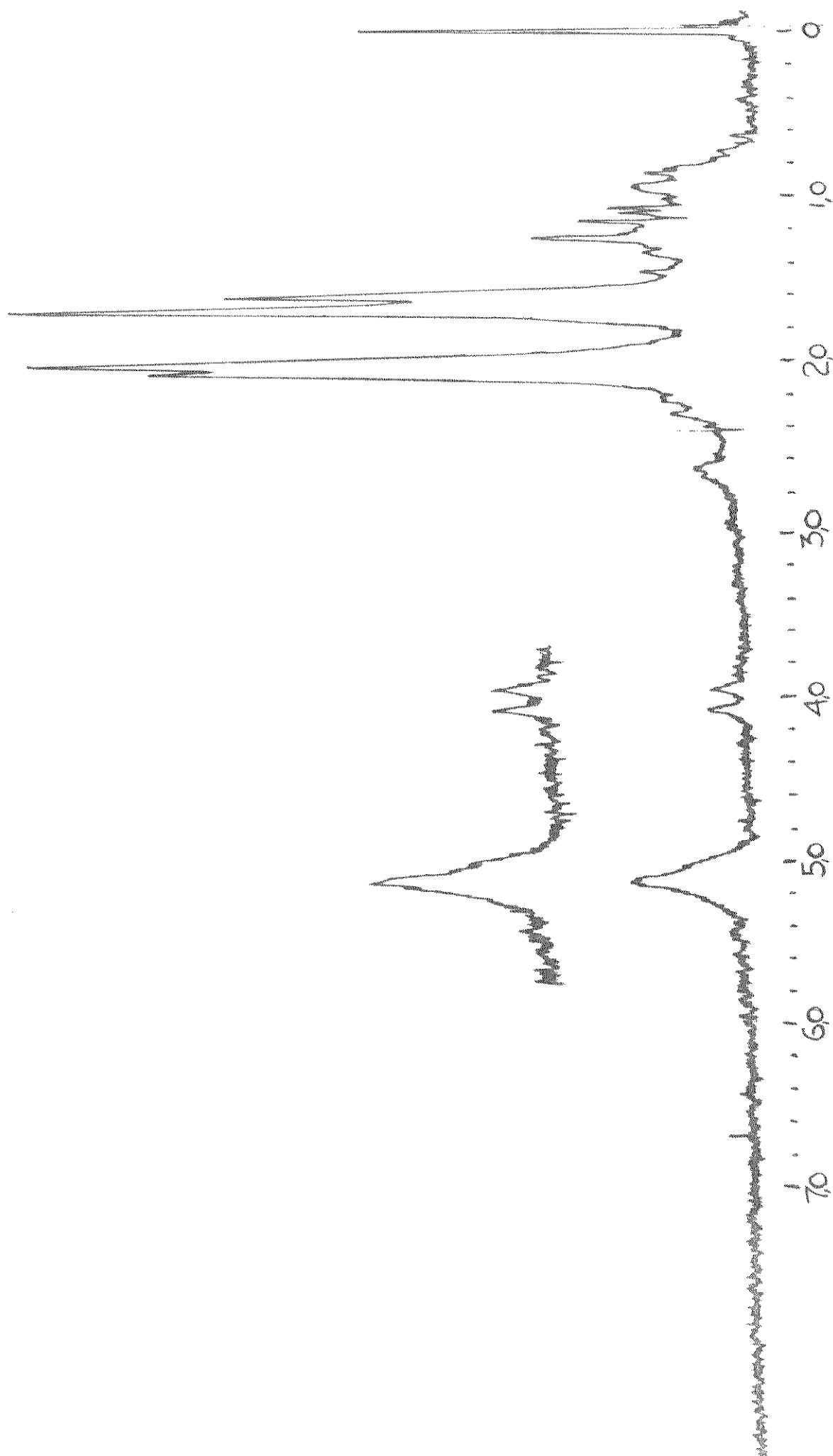


Fig. 4.9 - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-3

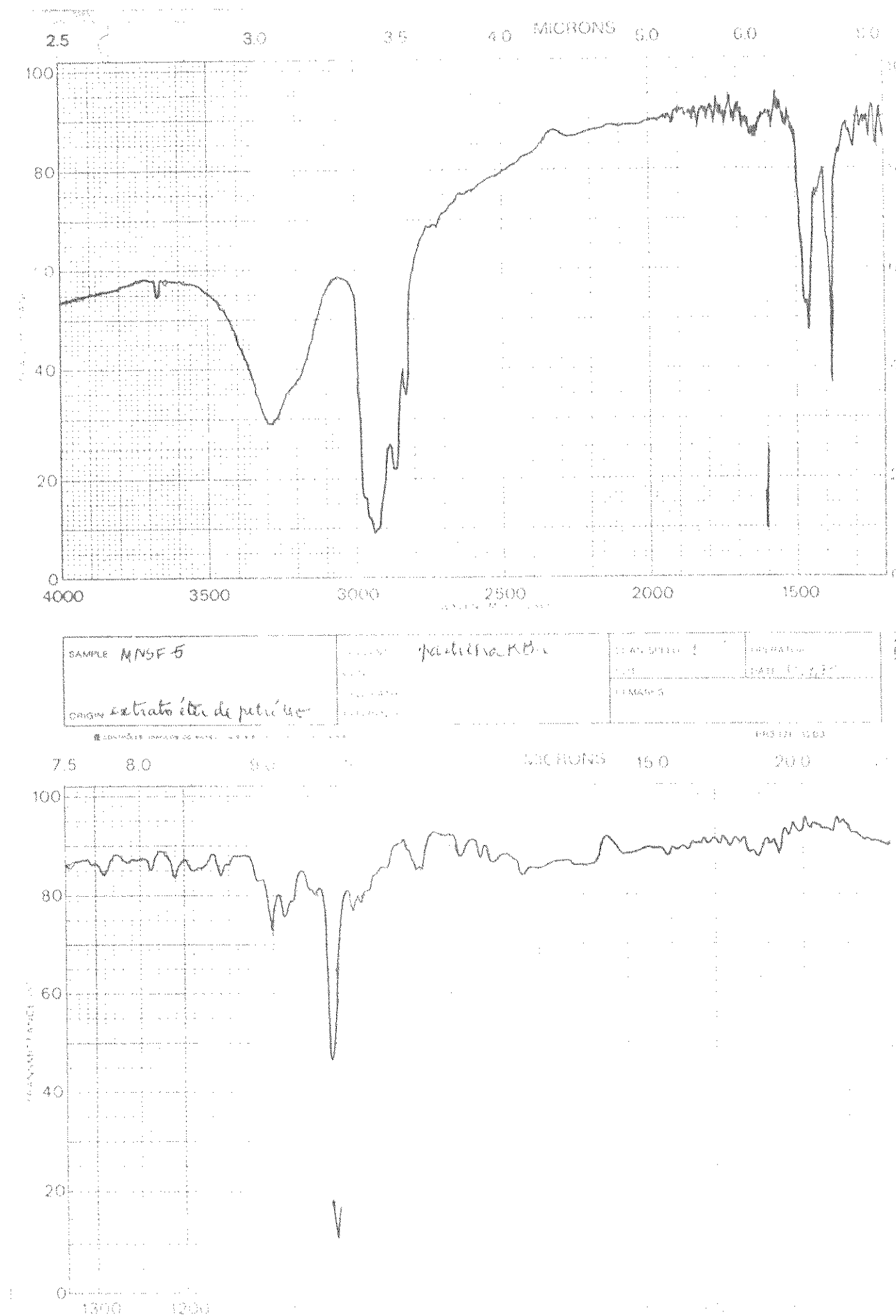


Fig. 4.10 - Espectro no infravermelho do MNSF-5

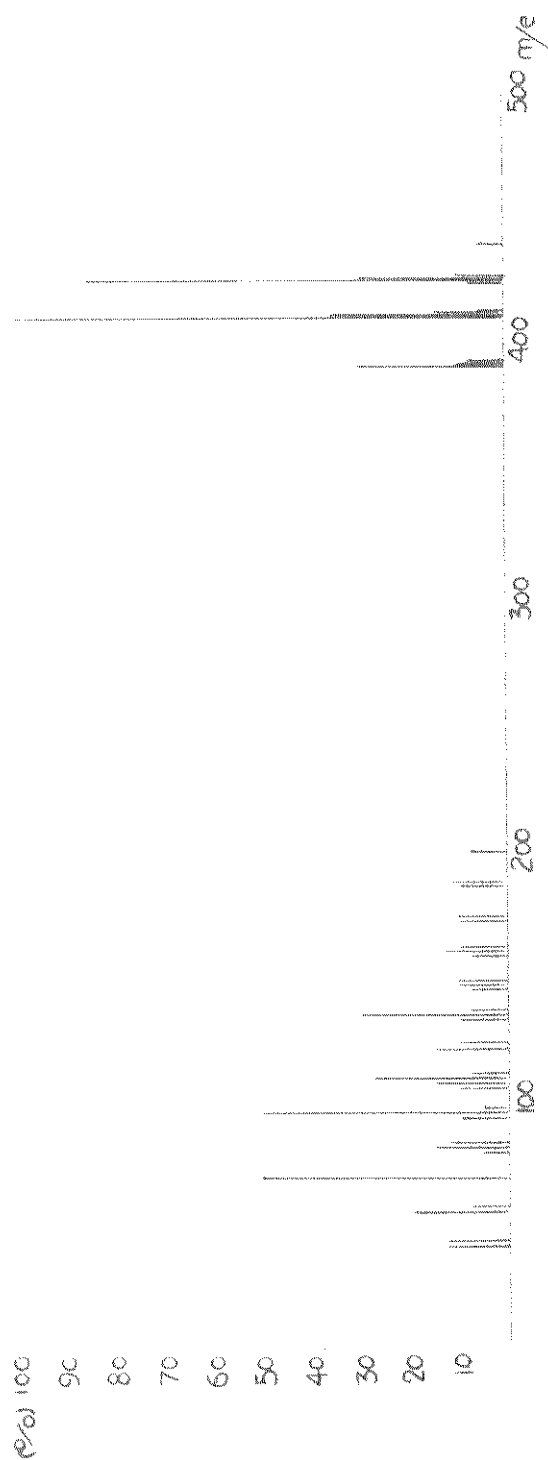


Fig. 4.11 - Espectro de massas do MNSF-5

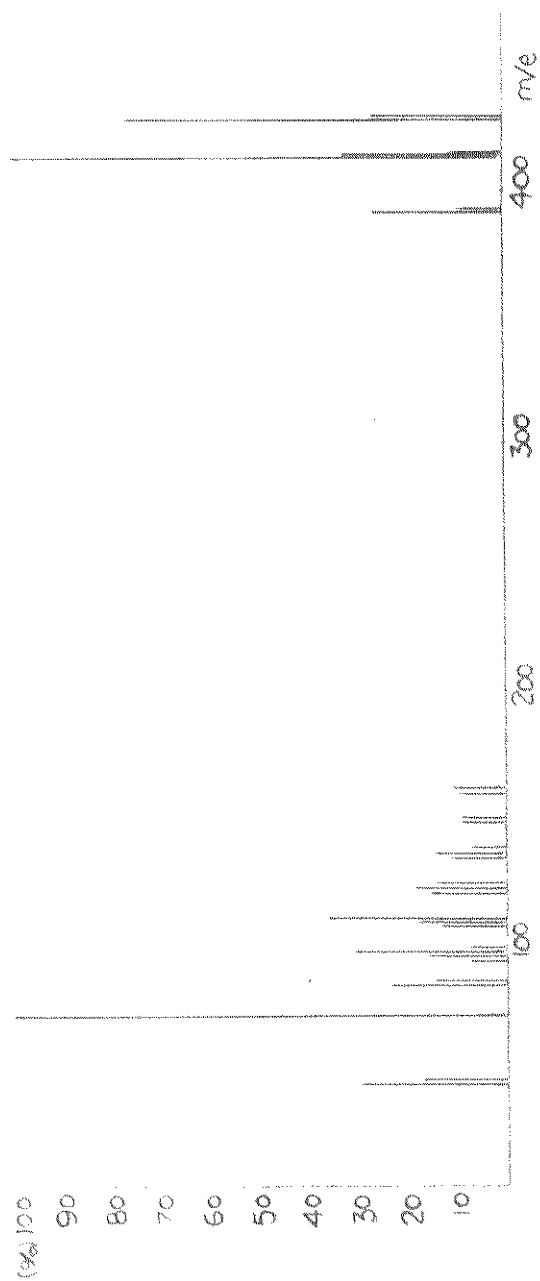


Fig. 4.12 - Espectro de massas do MNSF-5 após várias cristalizações

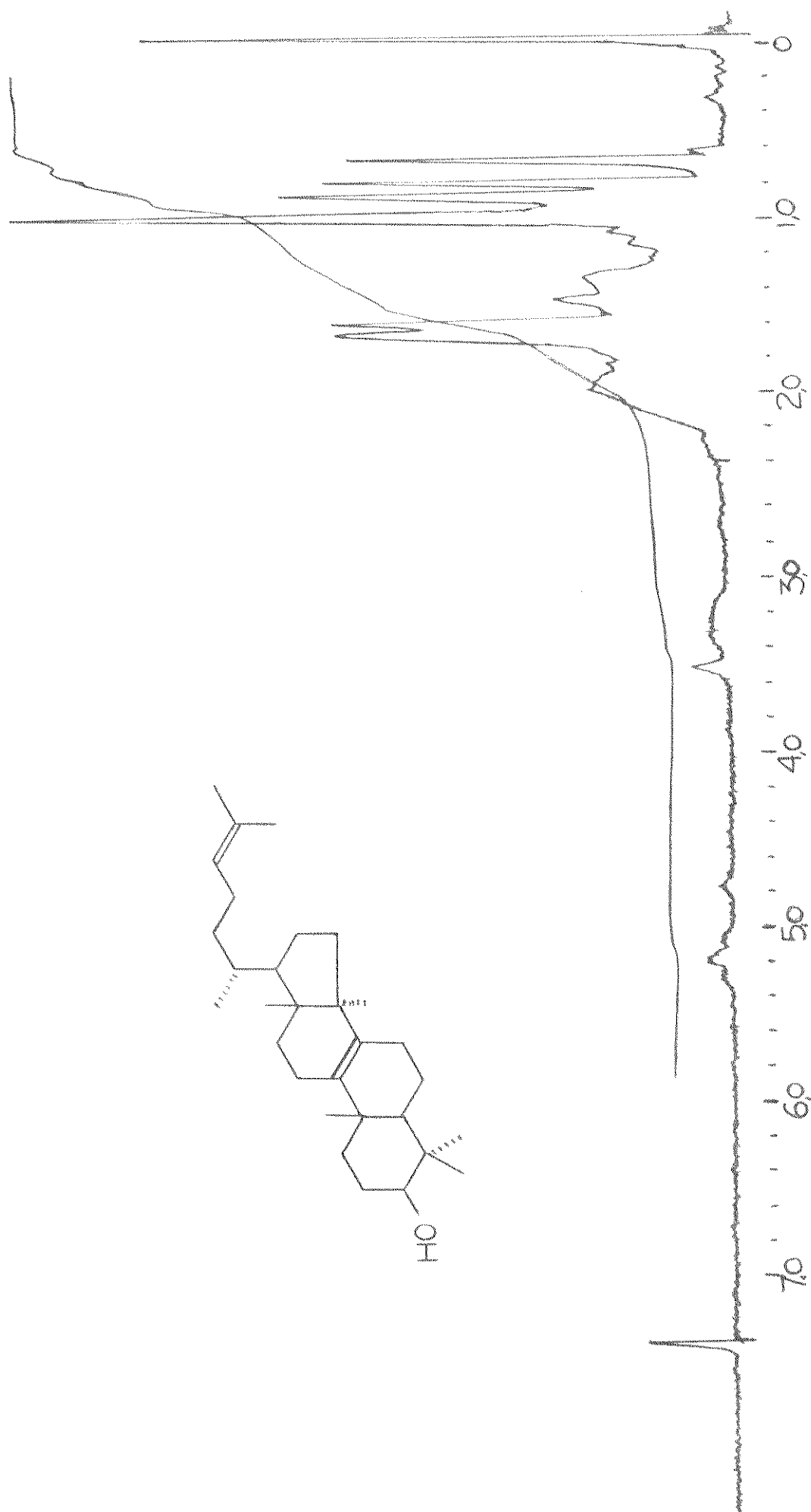


Fig. 4.13 - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-5

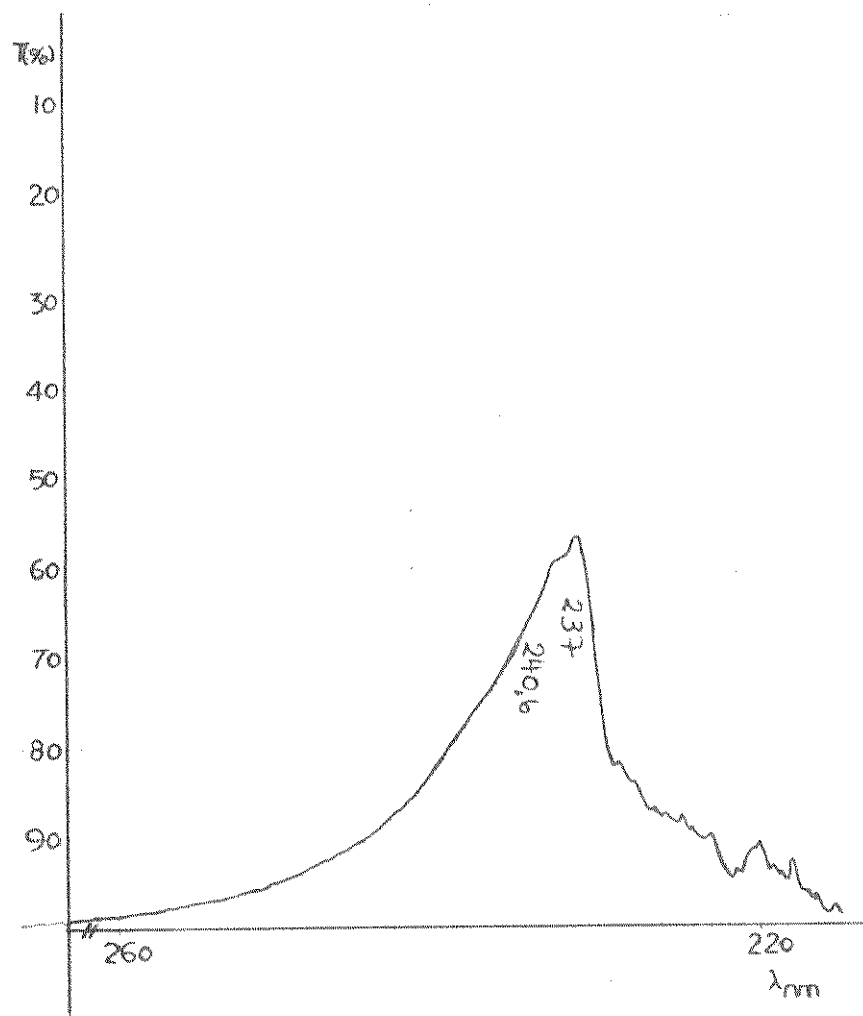
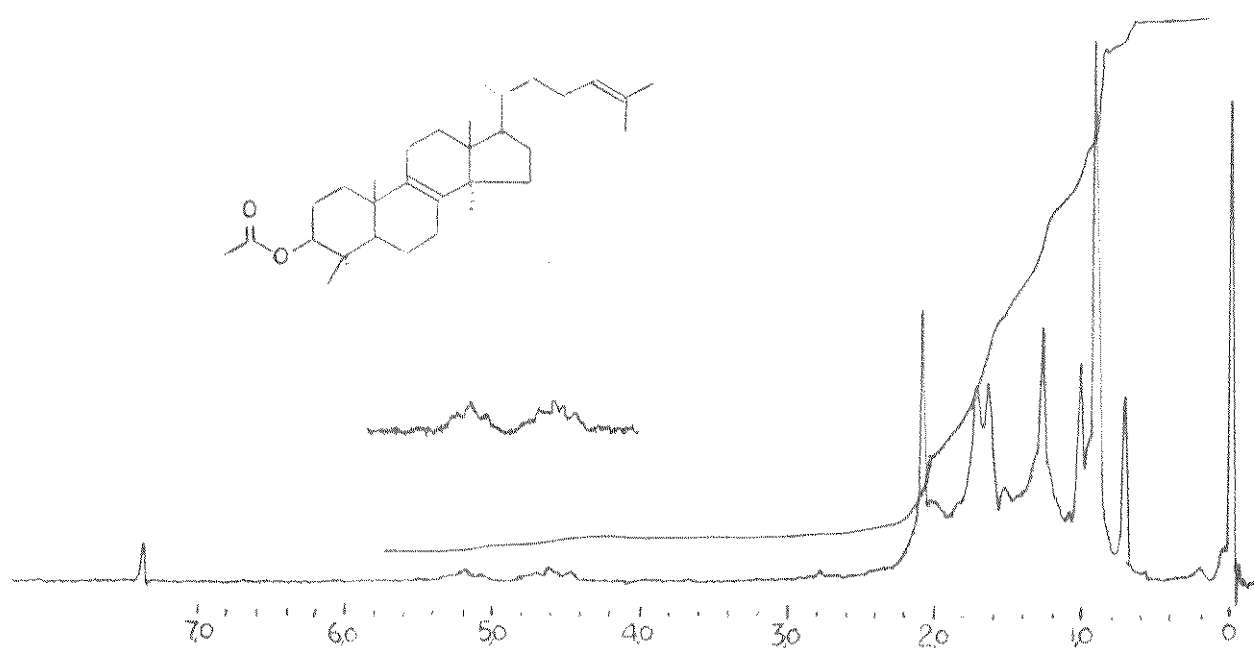
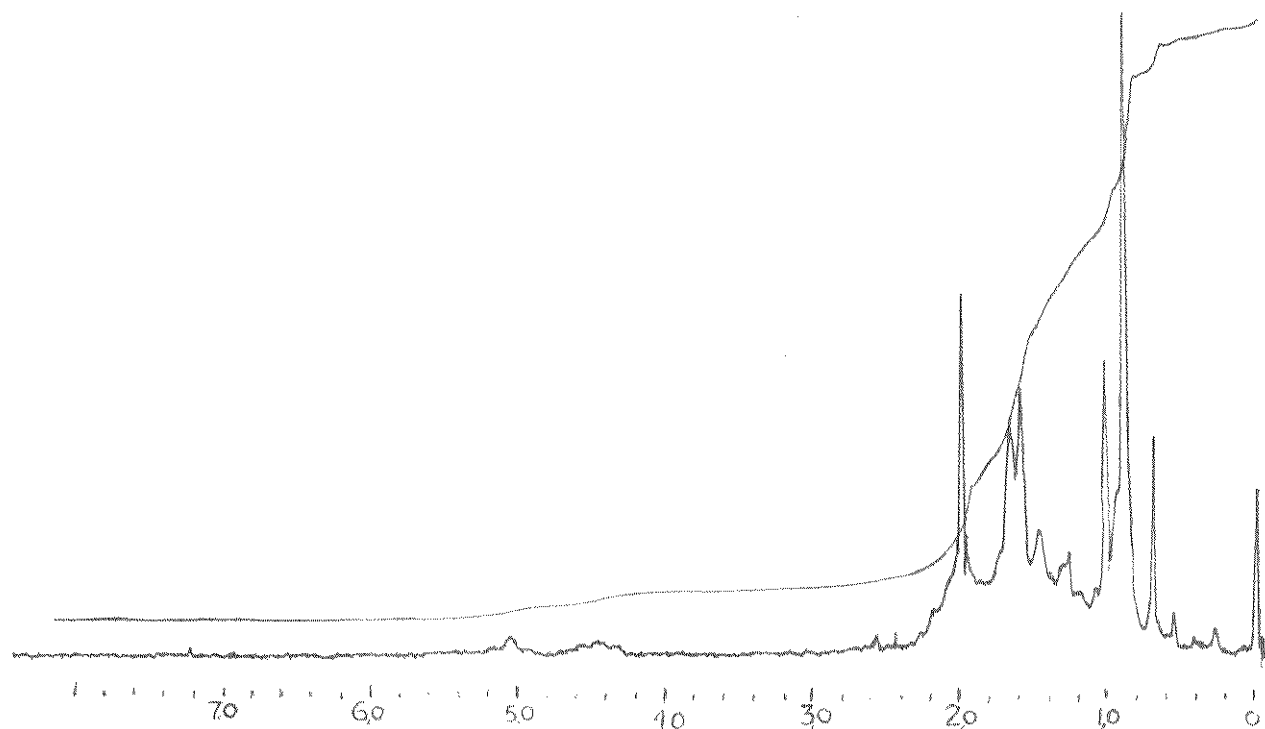


Fig. 4.14 - Espectro no ultravioleta do MNSF-5



4.15 A



4.15 B

Fig. 4.15(a) - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-5

Fig. 4.15(b) - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-5 após vários meses

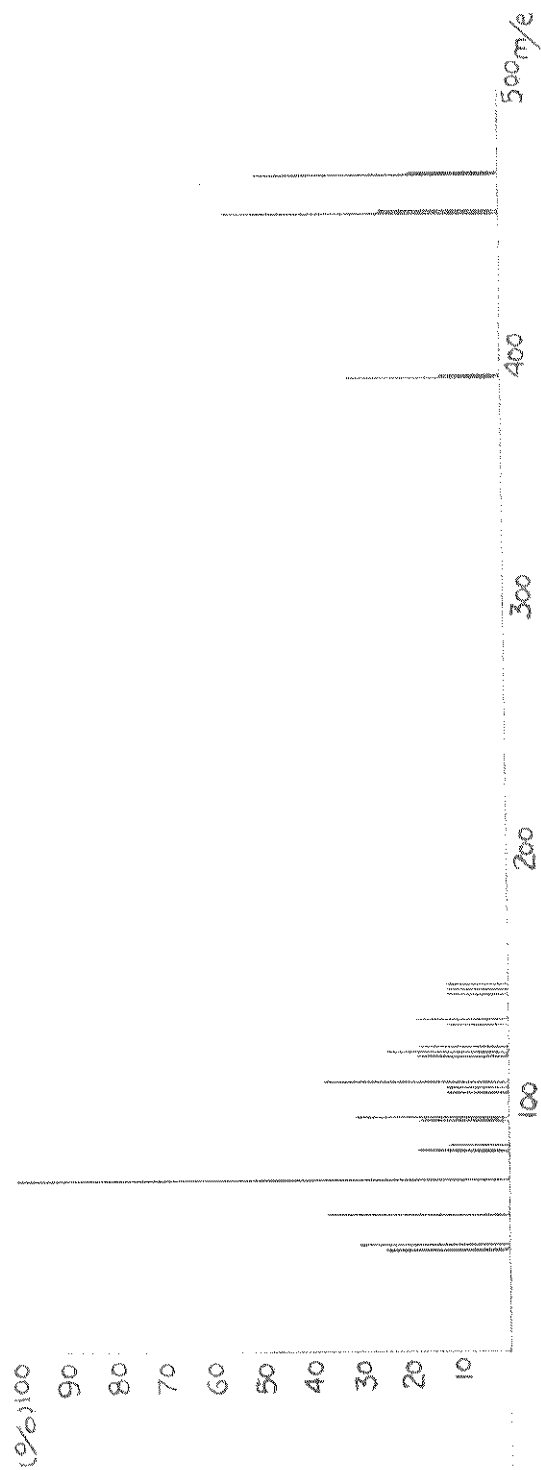
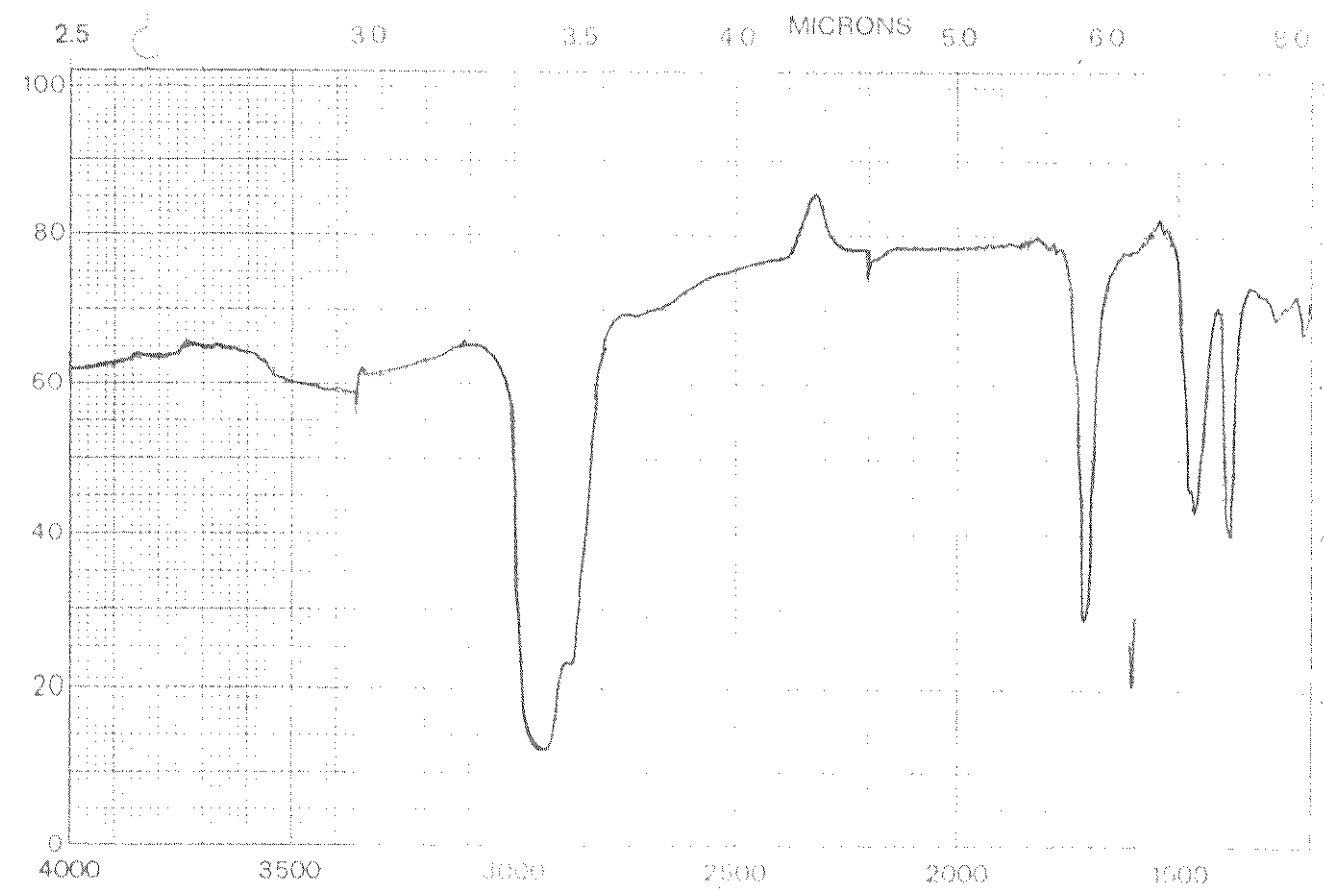


Fig. 4.17 - Espectro de massas do MNSF-5 acetilado



SAMPLE P-49 oxidado (Vigante de Jones)

ORIGIN 1

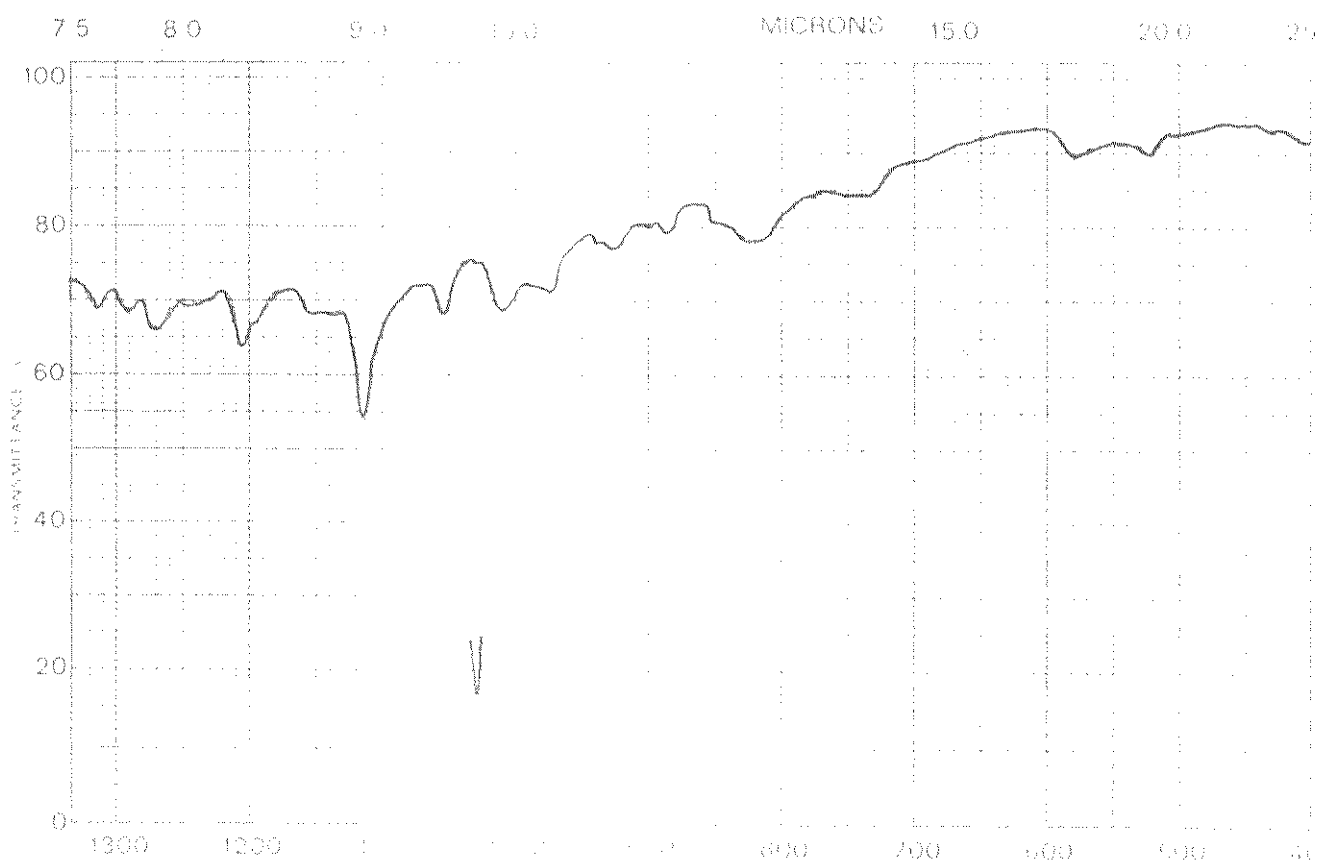


Fig. 4.18 - Espectro no infravermelho do MNSF-5 oxidado

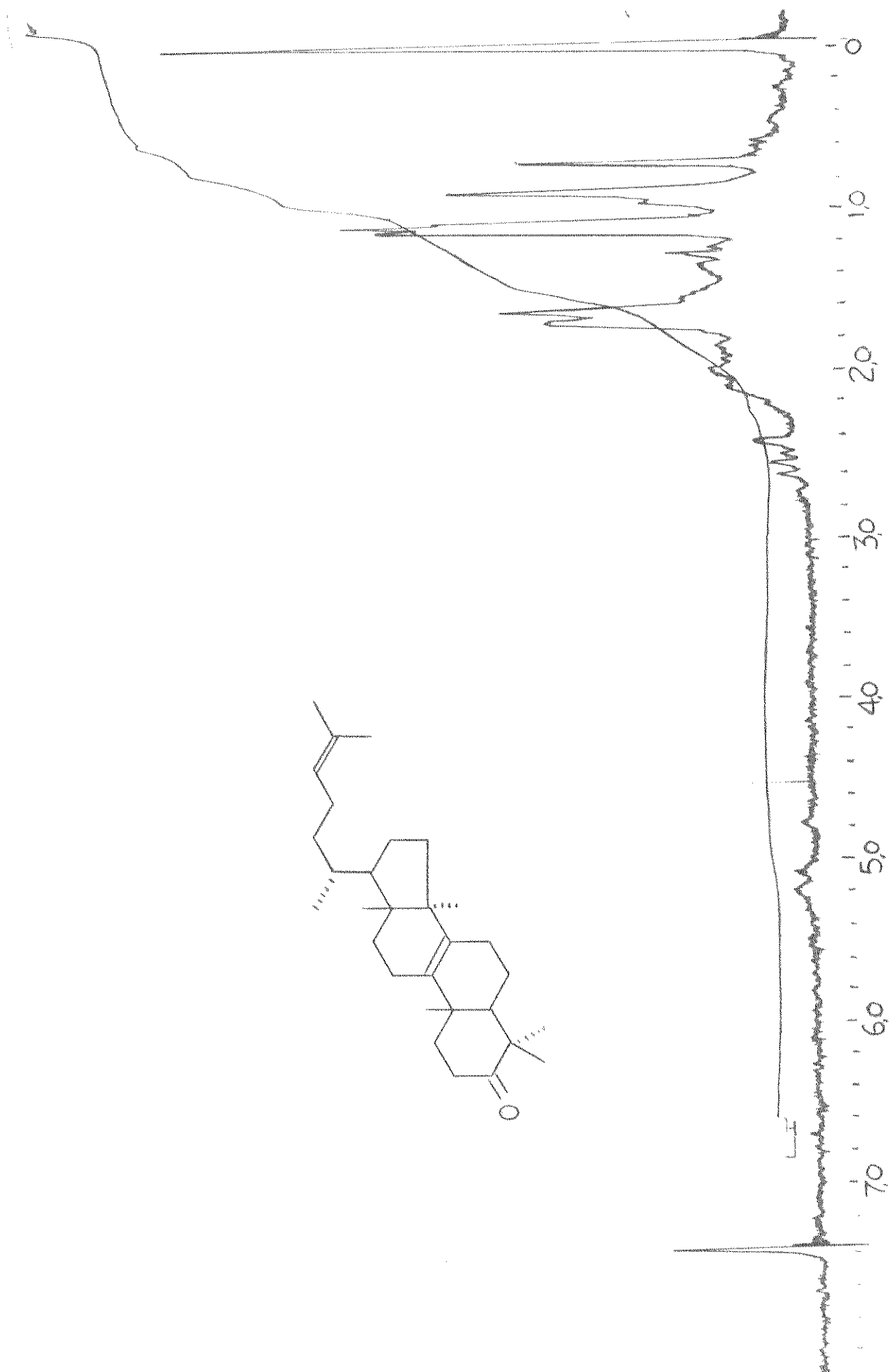


Fig. 4.19 - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-5 oxidado

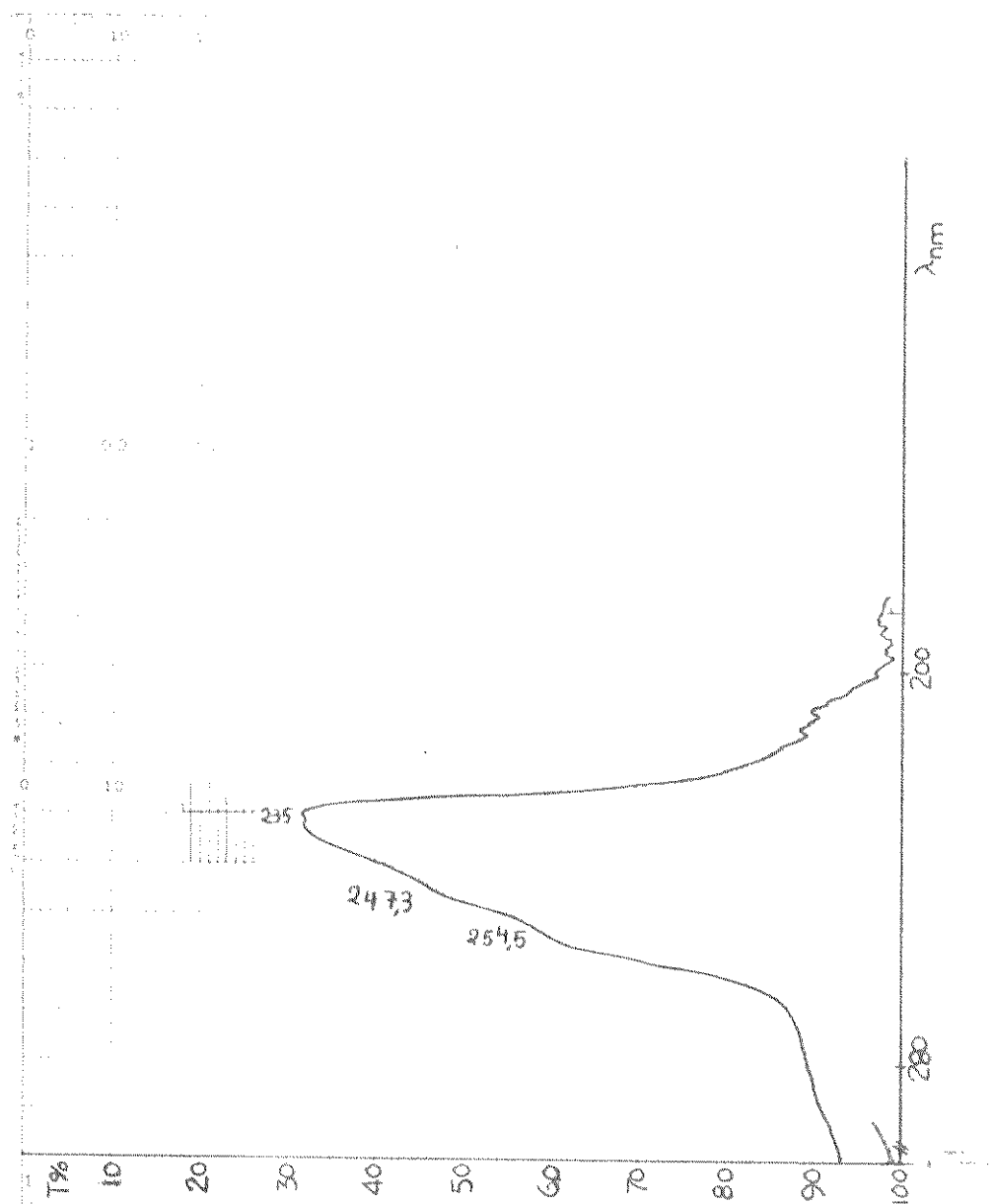


Fig. 4.20 - Espectro no ultravioleta do MNSF-5 oxidado



AMPLITUDE MNSF-5 benzoylado
 ORIGIN MNSF

partido de B.

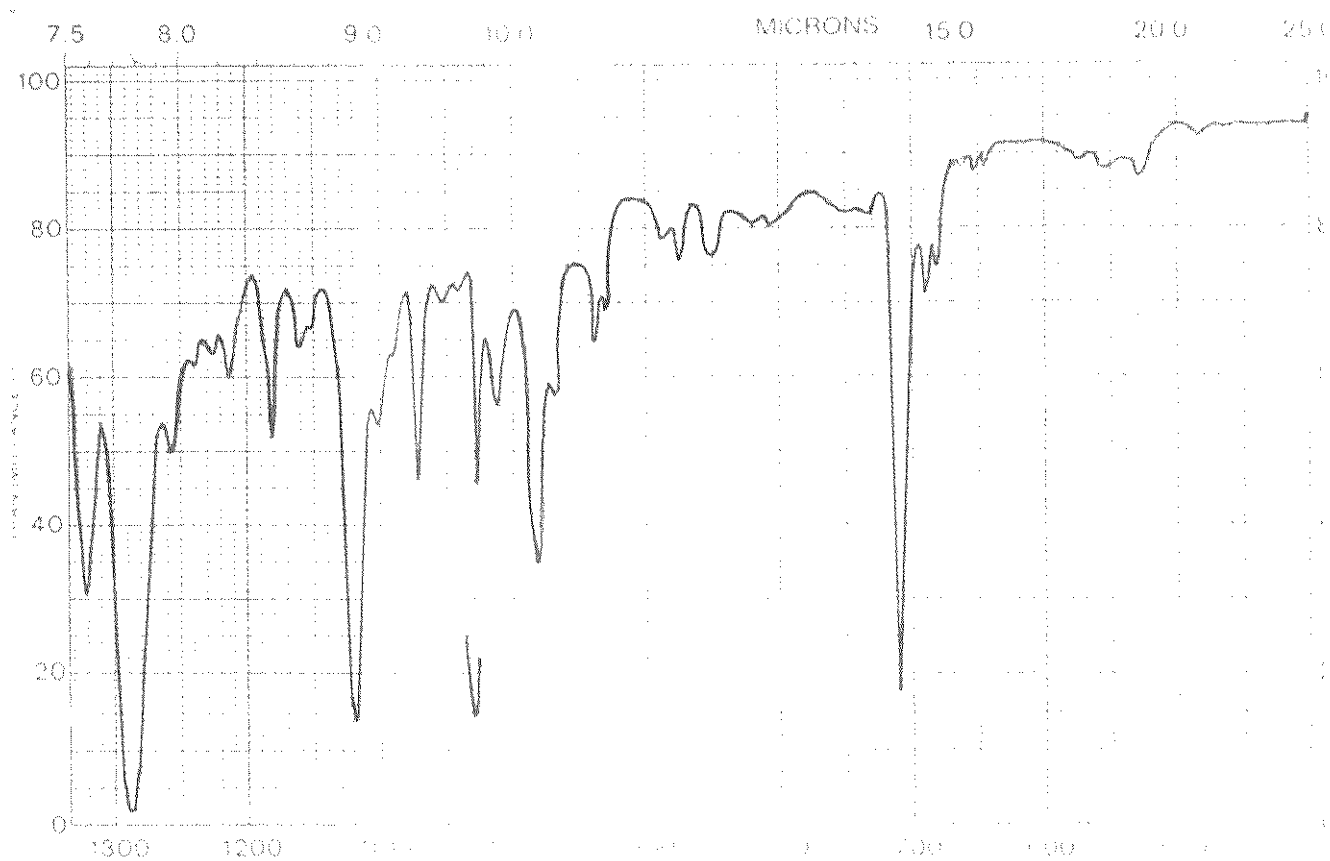


Fig. 4.21 - Espectro no infravermelho do MNSF-5 benzoylado

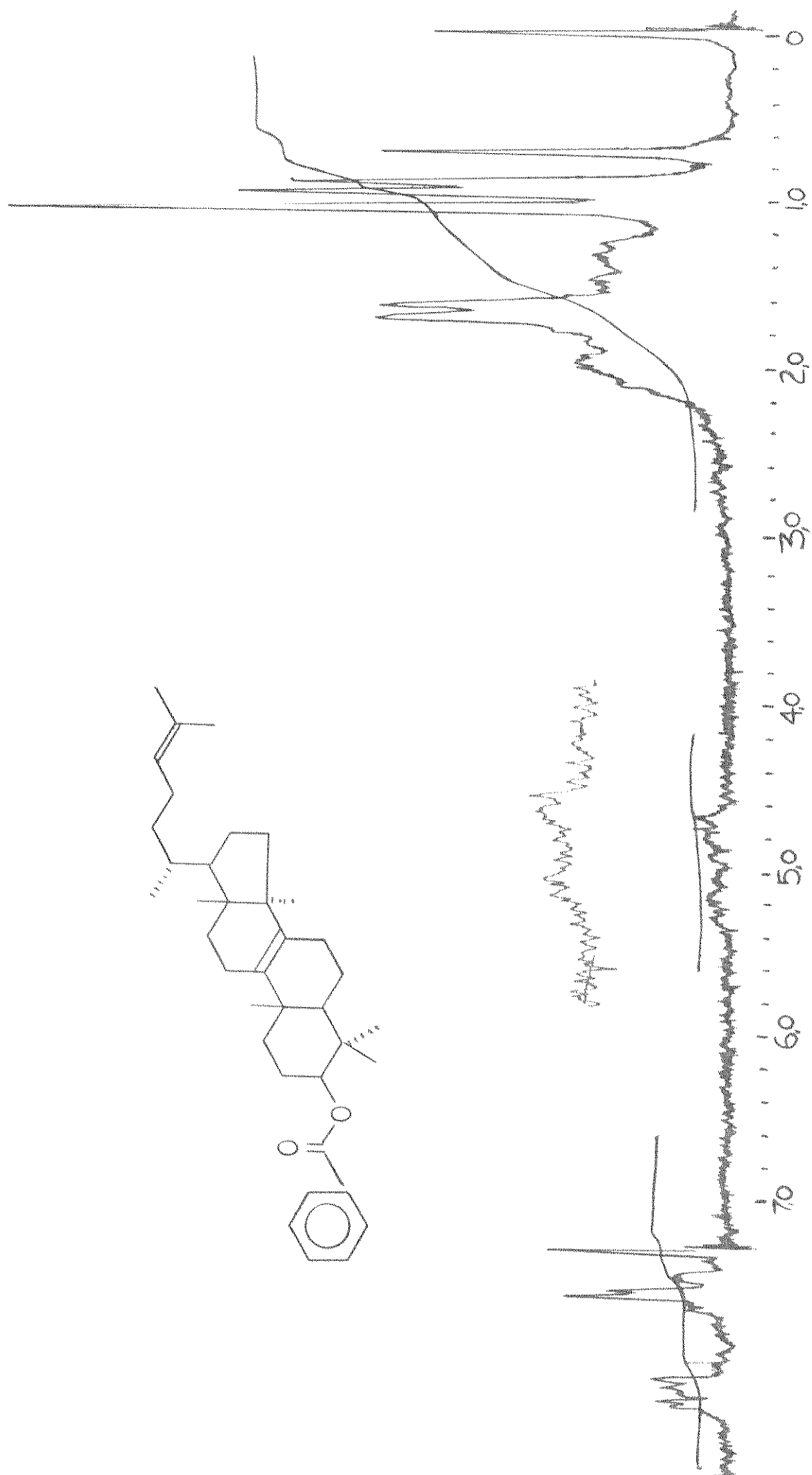


Fig. 4.22 - Espectro de R.M.N. de H^1 do MNSF-5 benzoilado

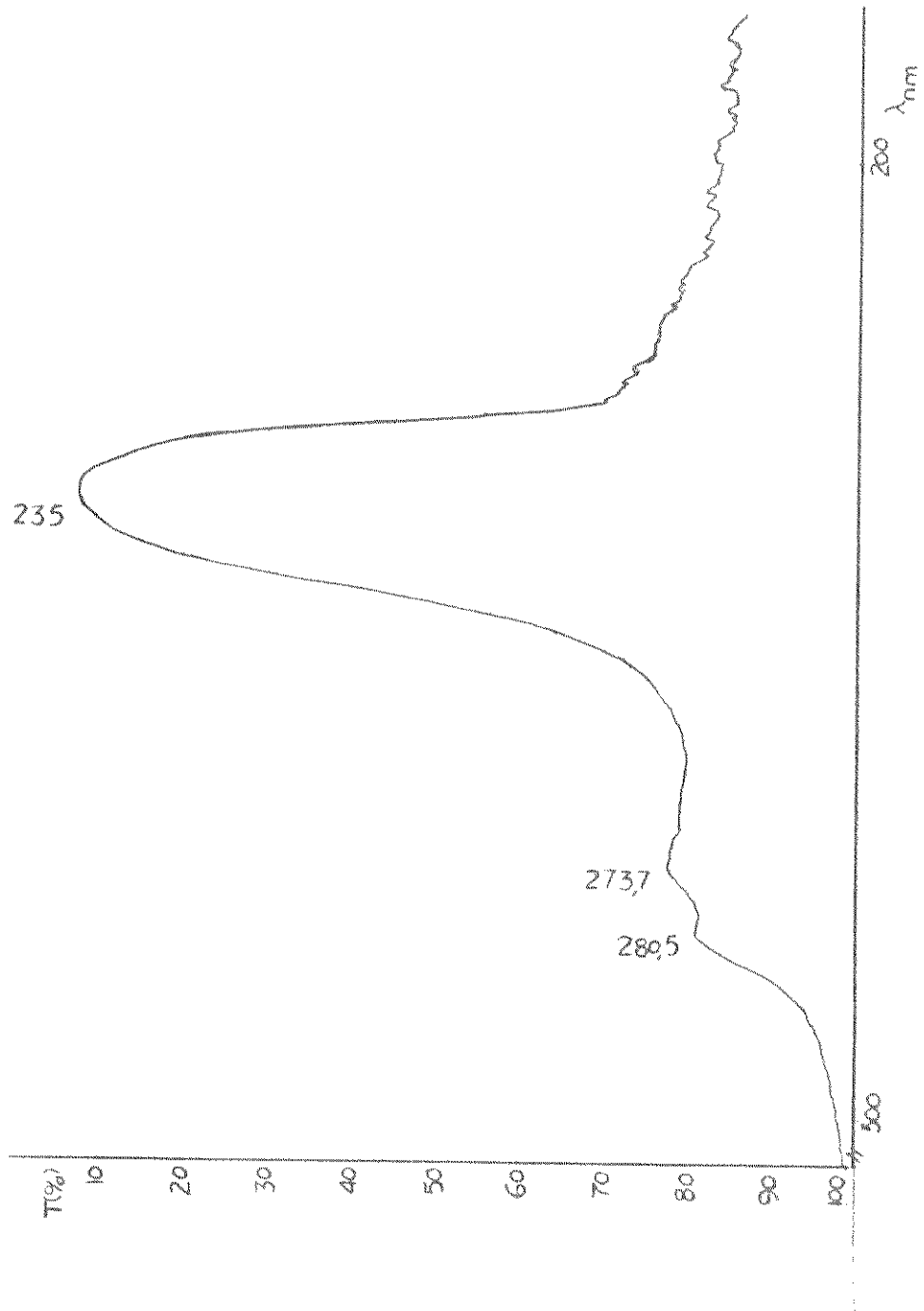


Fig. 4.23 - Espectro no ultravioleta do MNSF-5 benzoilado

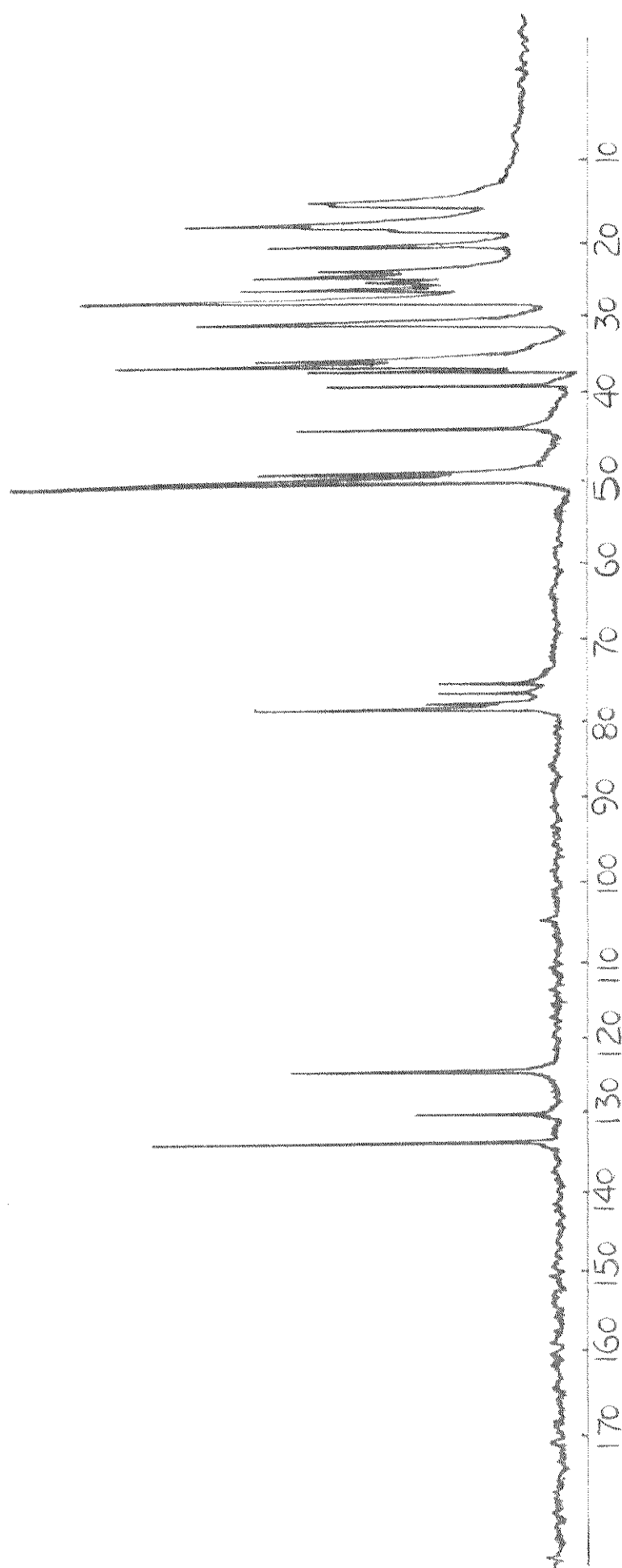


Fig. 4.24 - Espectro de R.M.N. de C^{13} do MNSF-5 em DFL

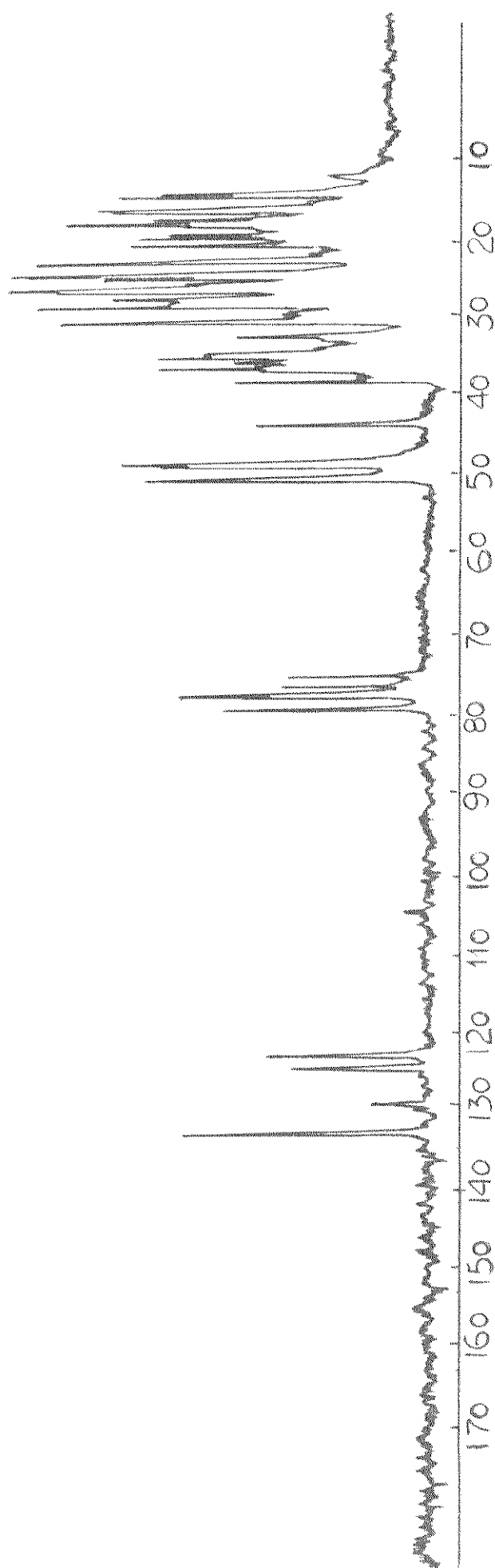
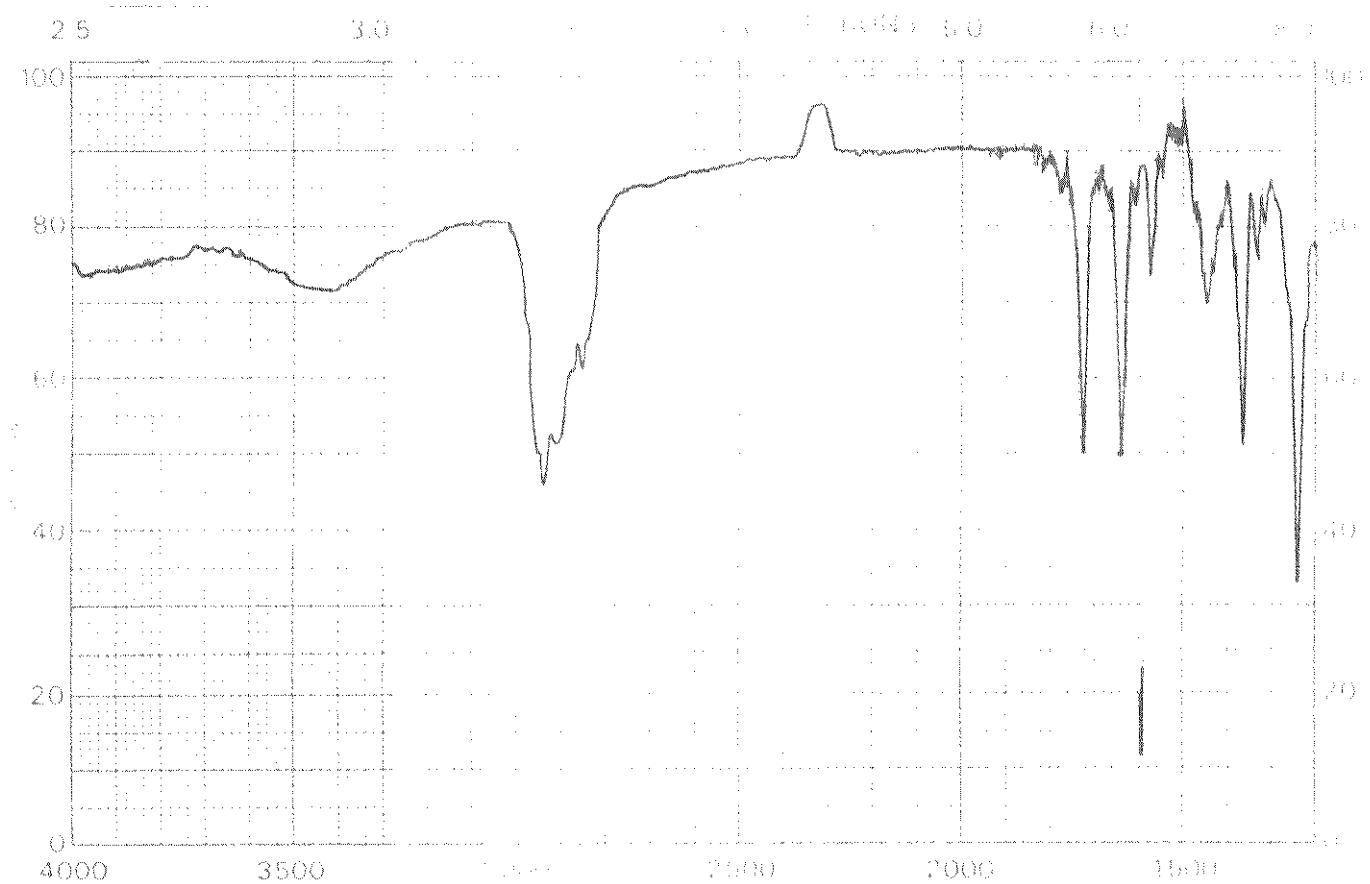


Fig. 4.25 - Espectro de R.M.N. de C^{13} do MNSF-5 em FDFE



sample I (100-102)
MMSF

proteína 8Br

10.1

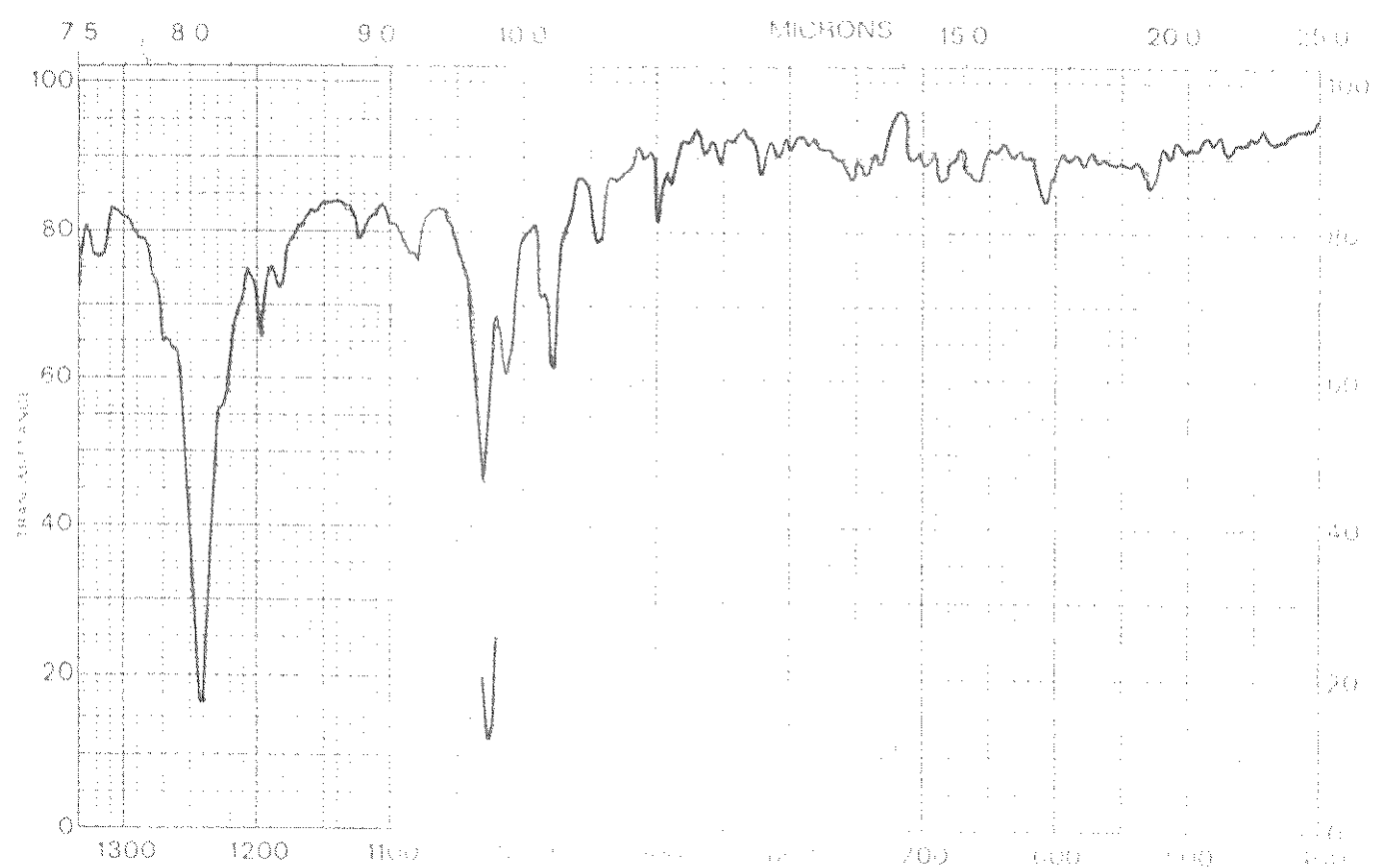


Fig. 4.26 - Espectro no infravermelho do I (100-102)

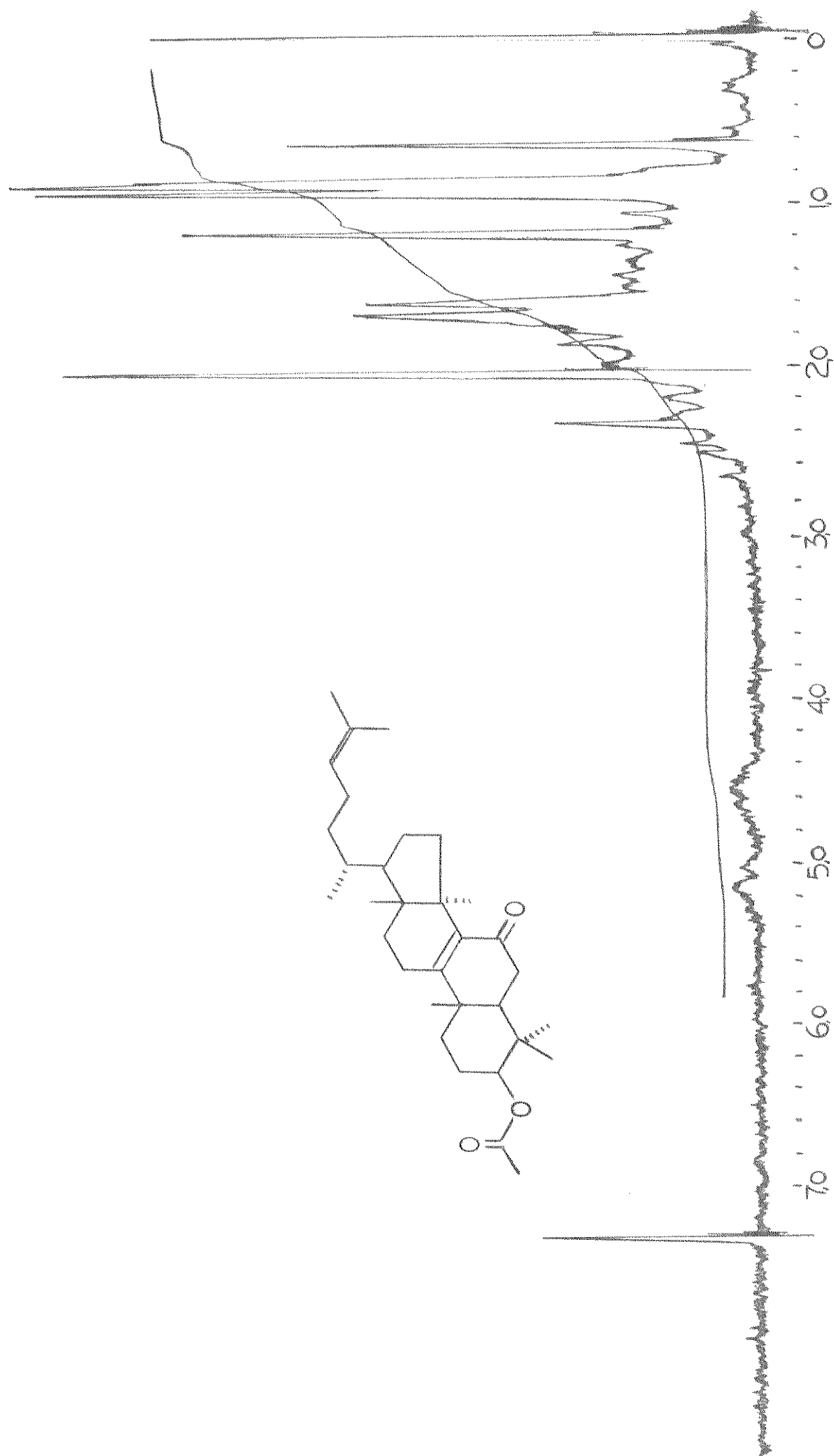


Fig. 4.27 - Espectro de R.M.N. de H^1 do I (100-102)

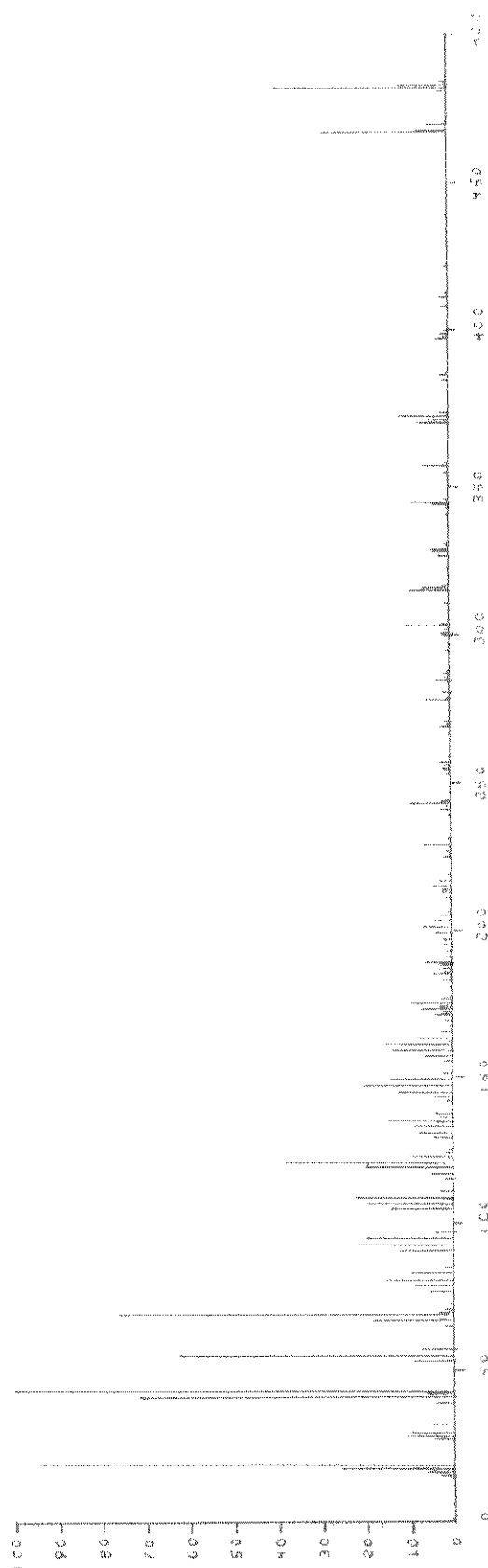


Fig. 4.28 - Espectro de massas do I (100-102)

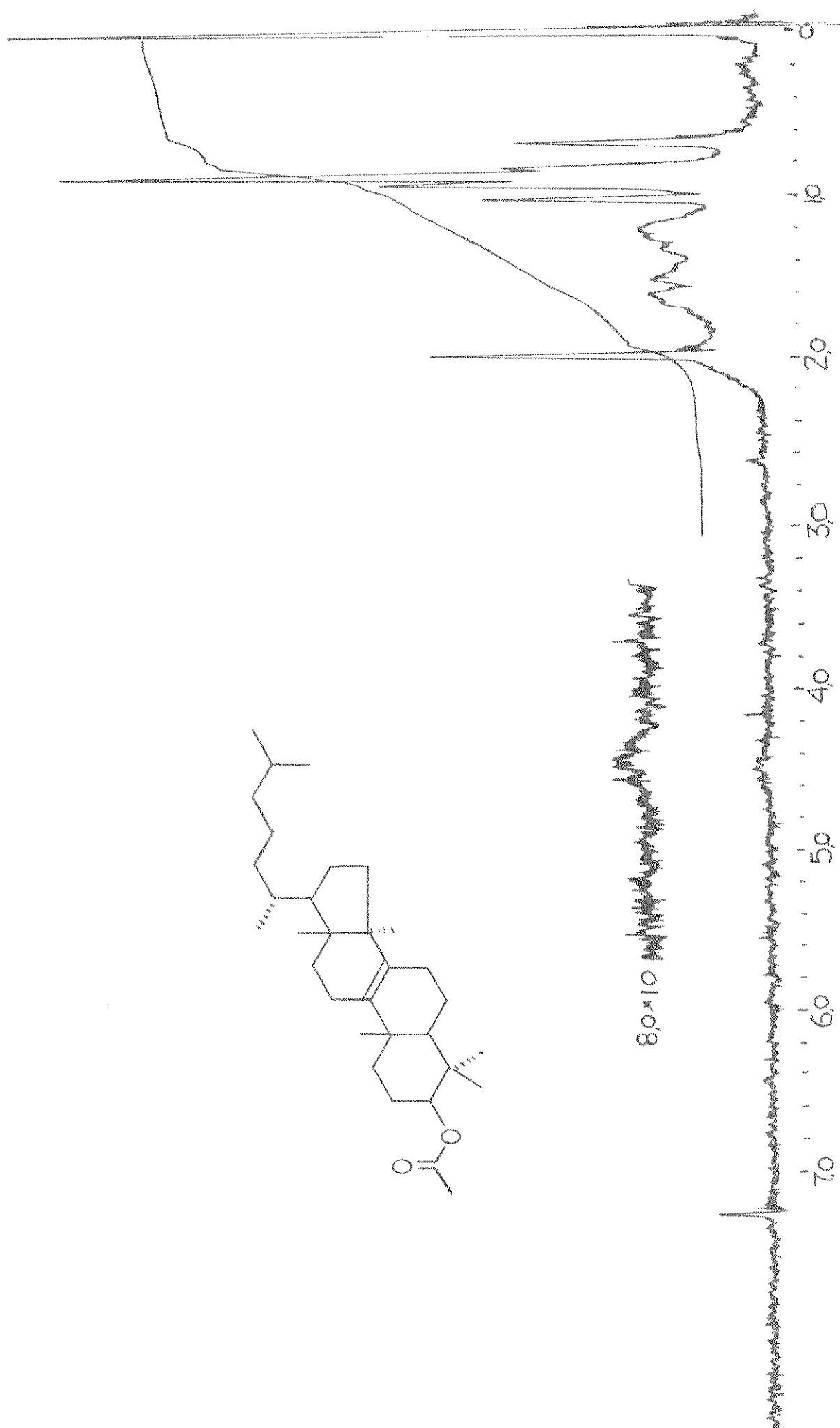


Fig. 4.29 - Espectro de R.M.N. de H^1 do XX

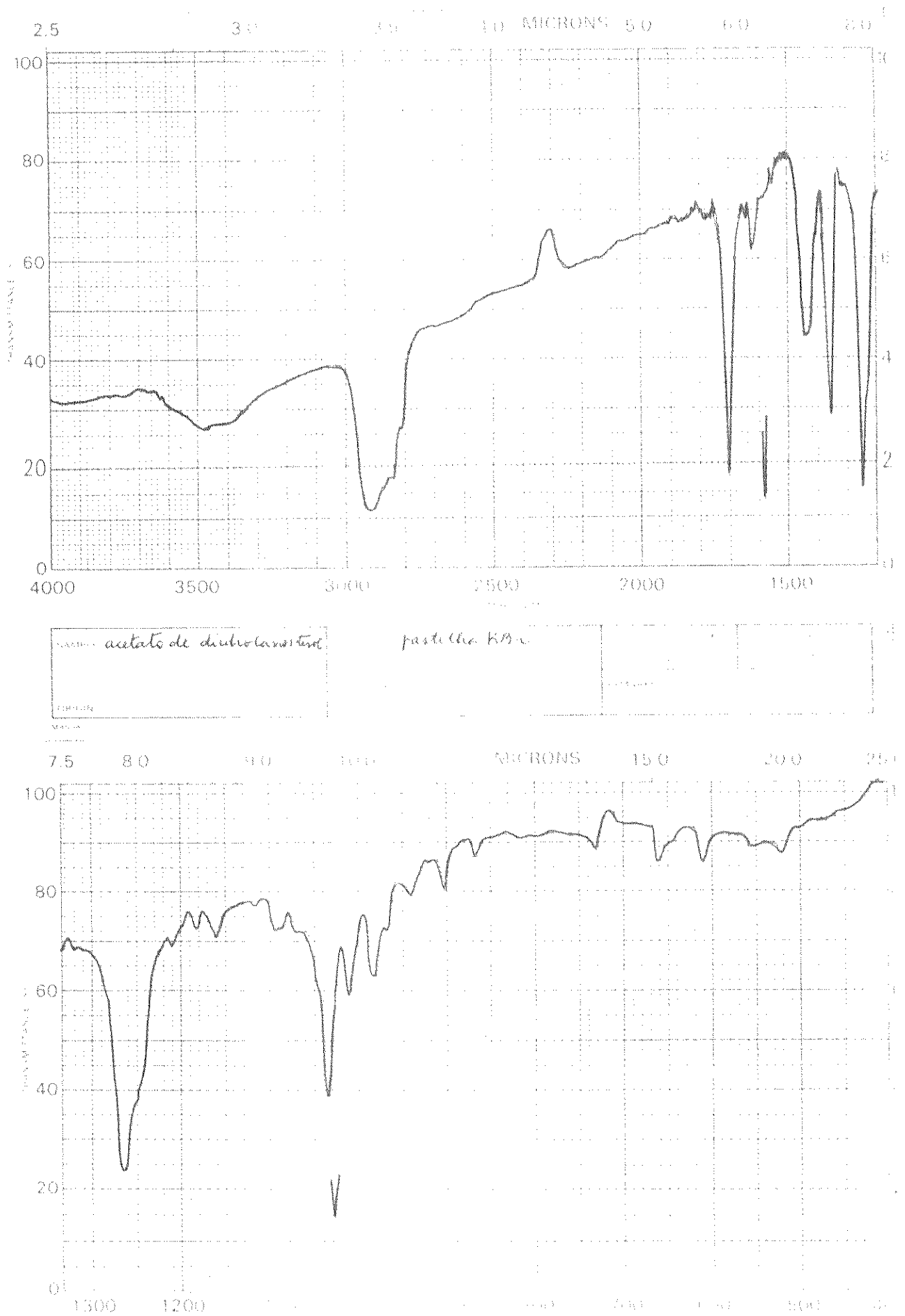


Fig. 4.30 - Espectro no infravermelho do XX

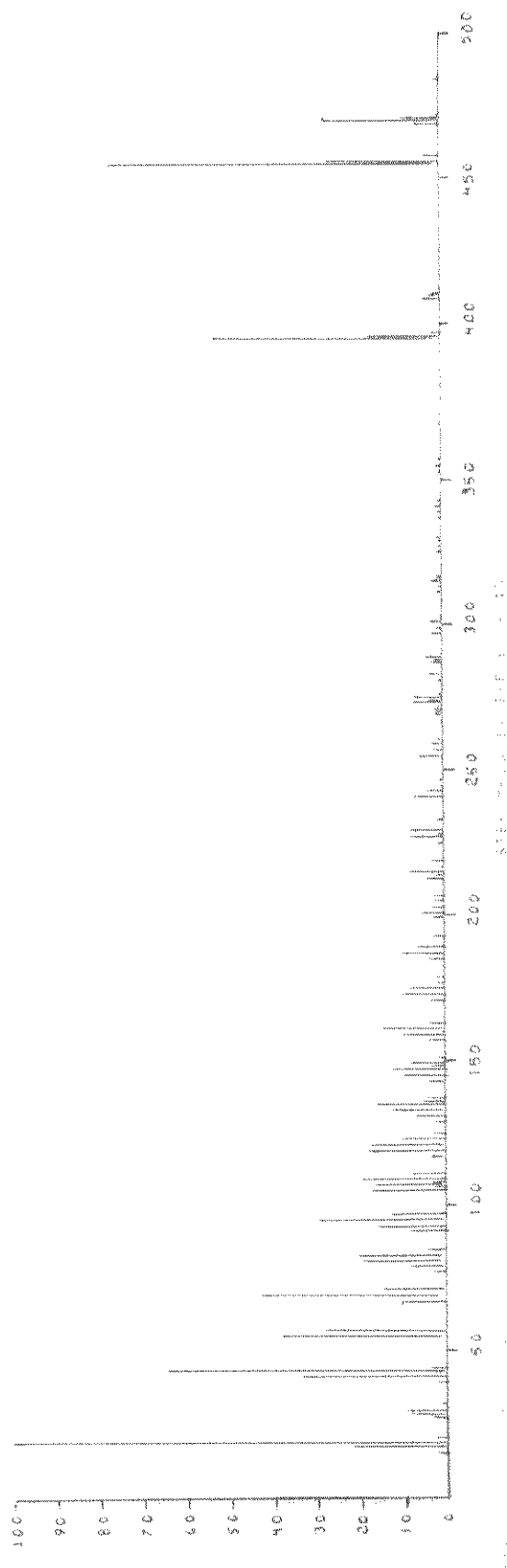
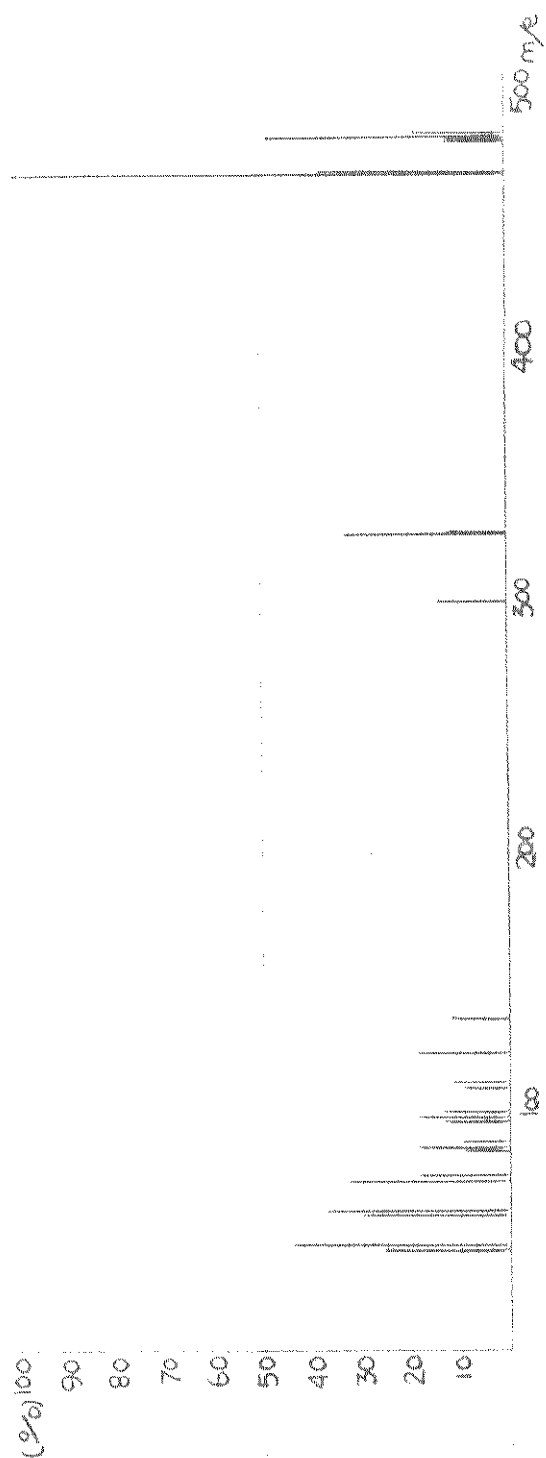
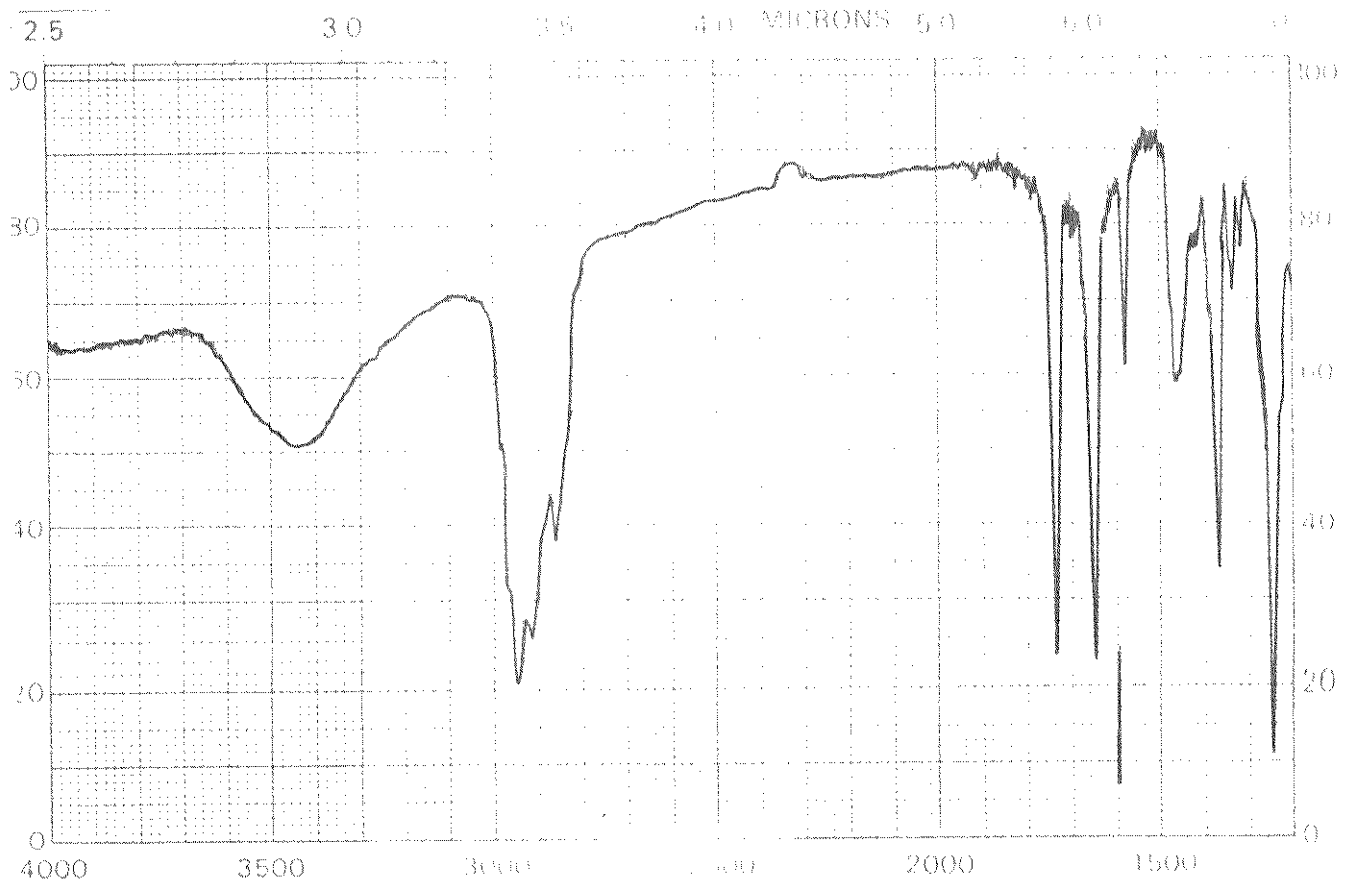


Fig. 4.31 - Espectro de massas do XX





SAMPLE 38-nitro-51-linoleic-8-ene-
7-ma
ORIGIN
VANADOL

partilha KBr

DATE 10/10/71
ANALYST J. J. J.
INSTRUMENT PERKINELMER 521
SCANNING SPEED 2 CM/SEC
RESOLUTION 4 CM⁻¹

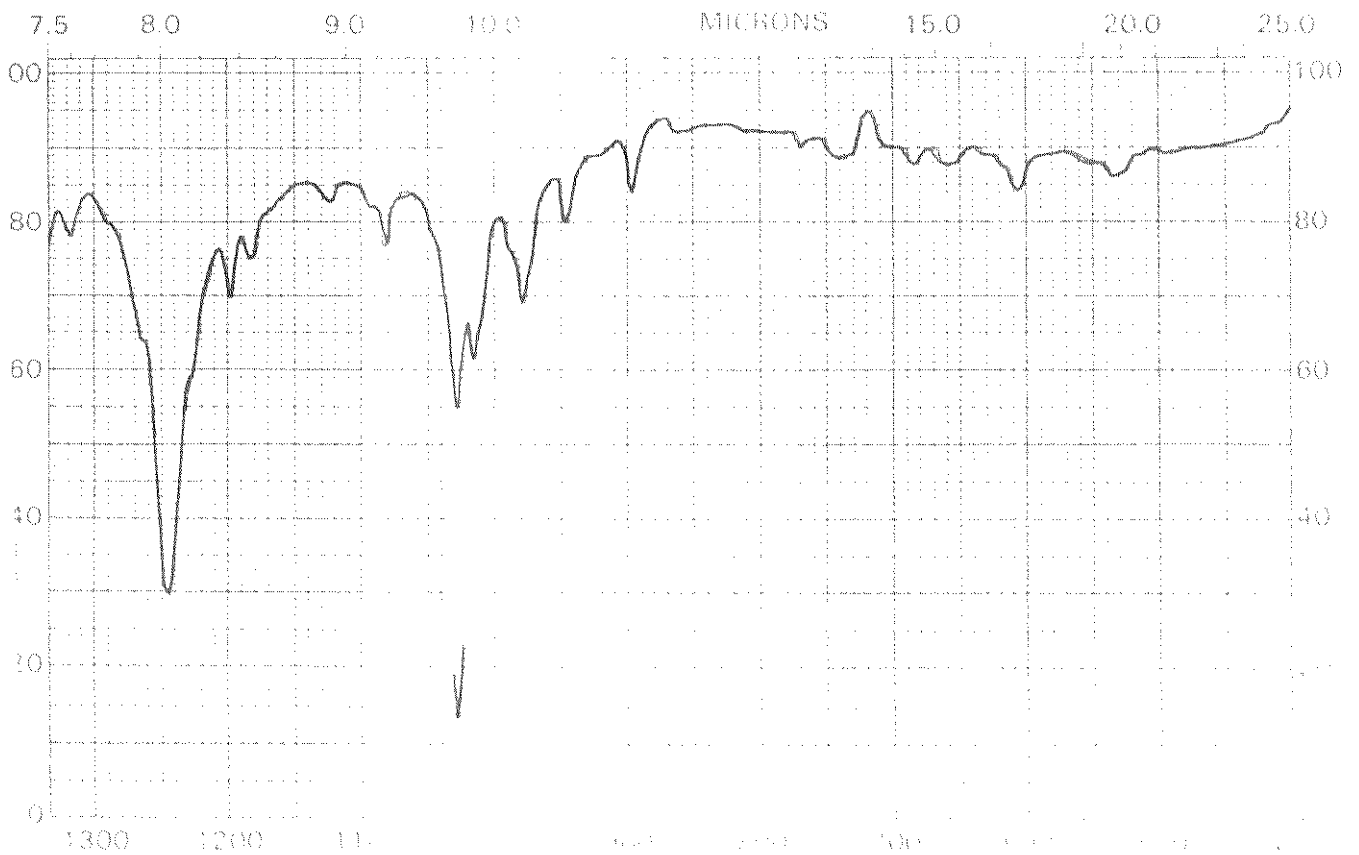


Fig. 4.33 - Espectro no infravermelho XXI

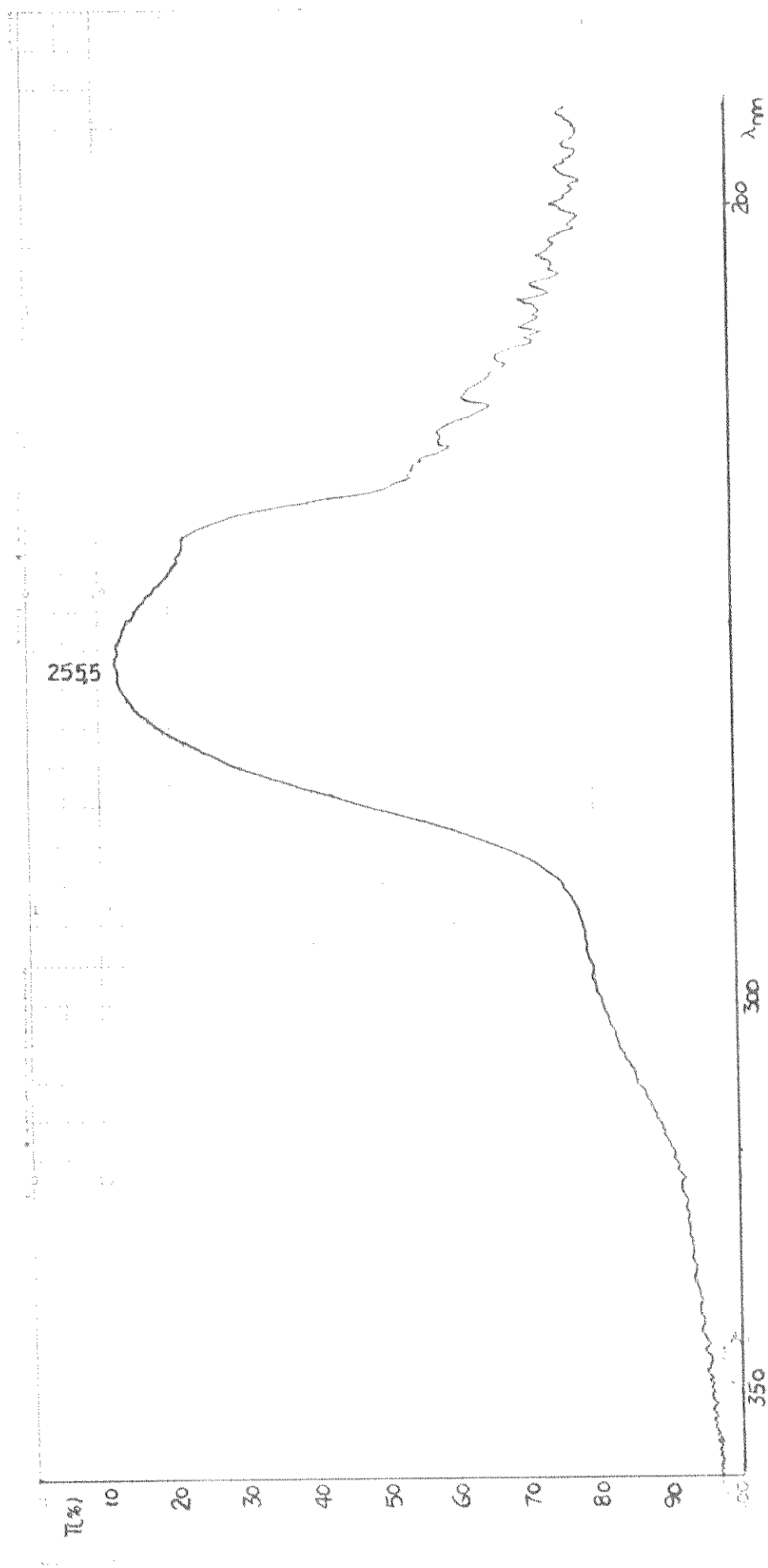


Fig. 4.34 - Espectro no ultravioleta do XXI

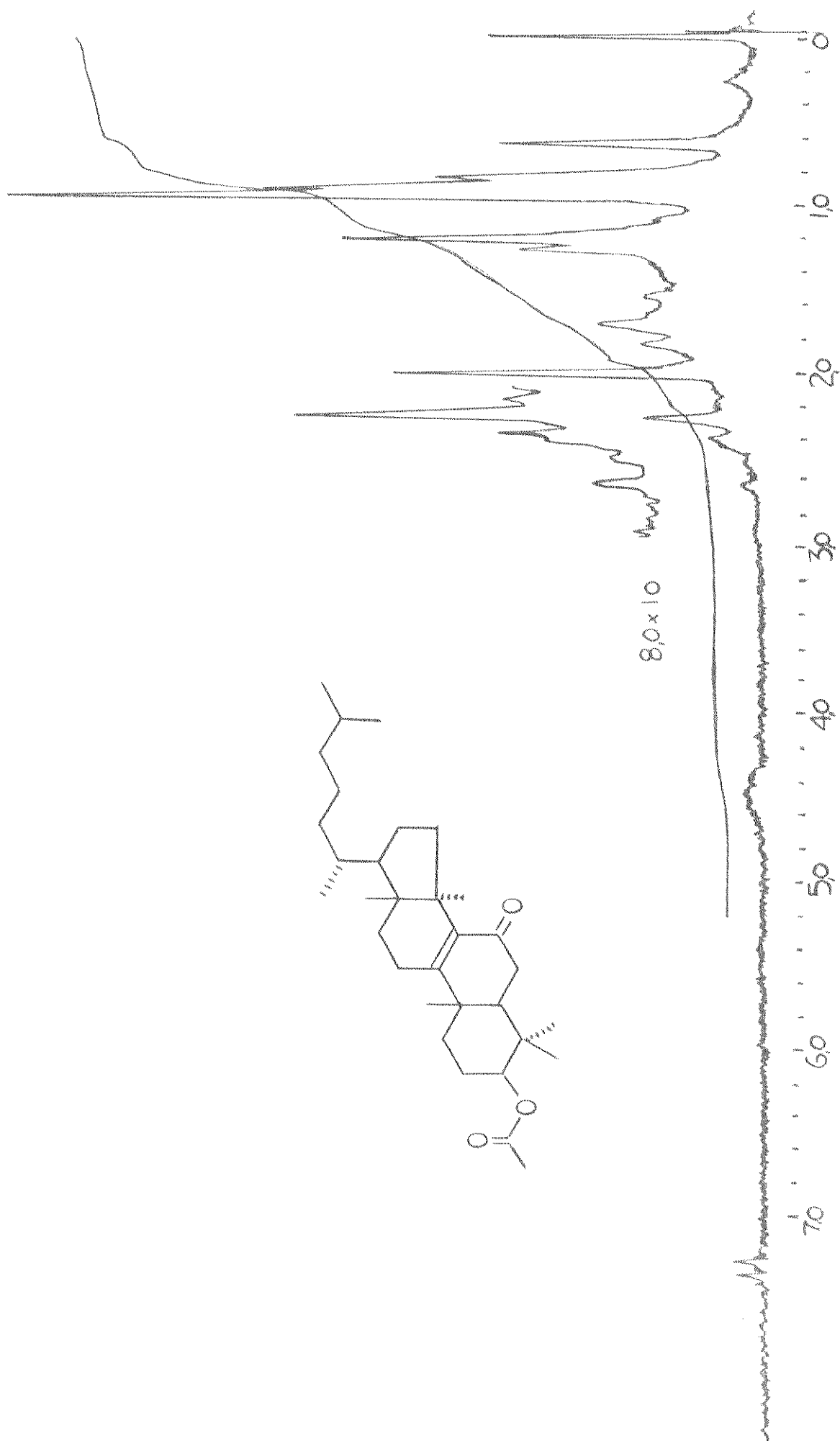


Fig. 4.35 - Espectro de R.M.N. do XXI

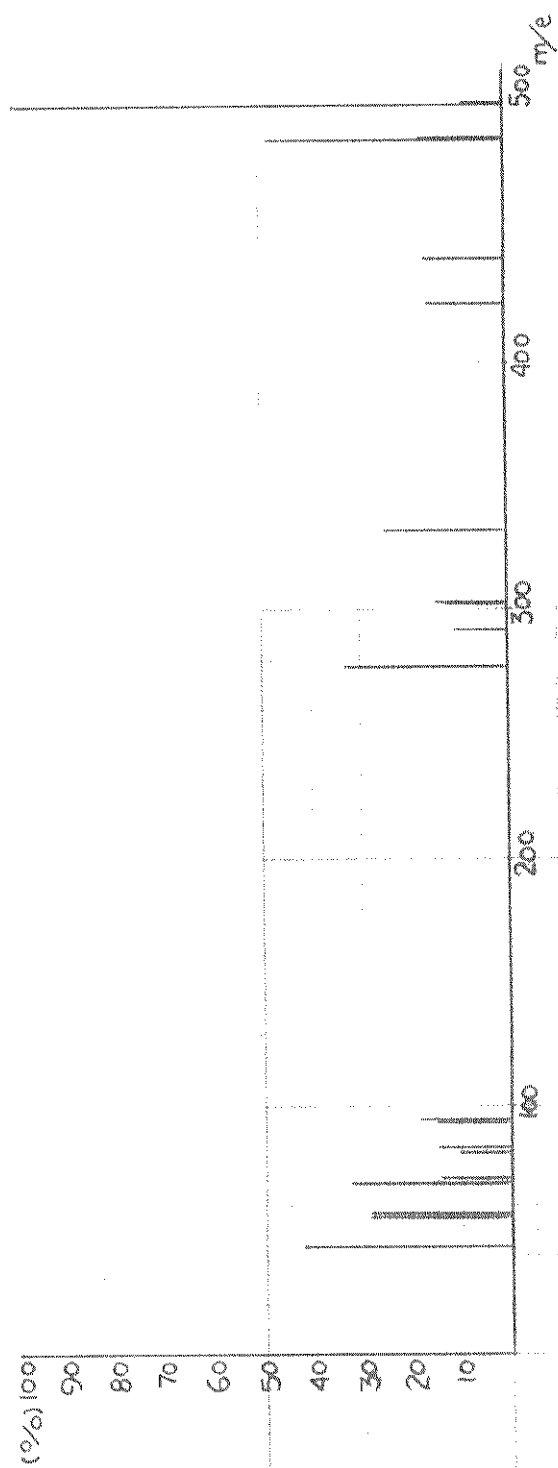


Fig. 4.36 - Espectro de massas do XXII

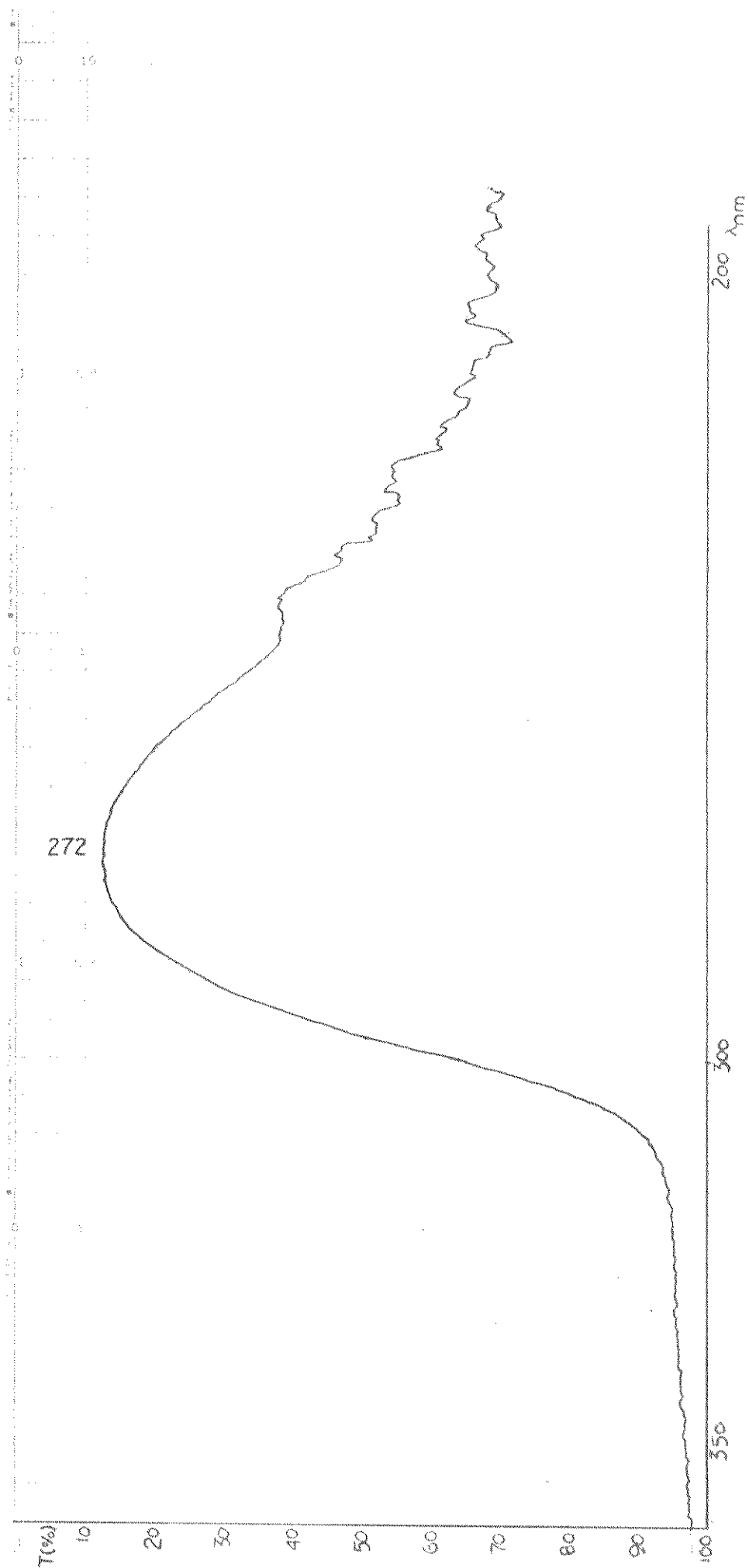


Fig. 4.37 - Espectro no ultravioleta do XXII

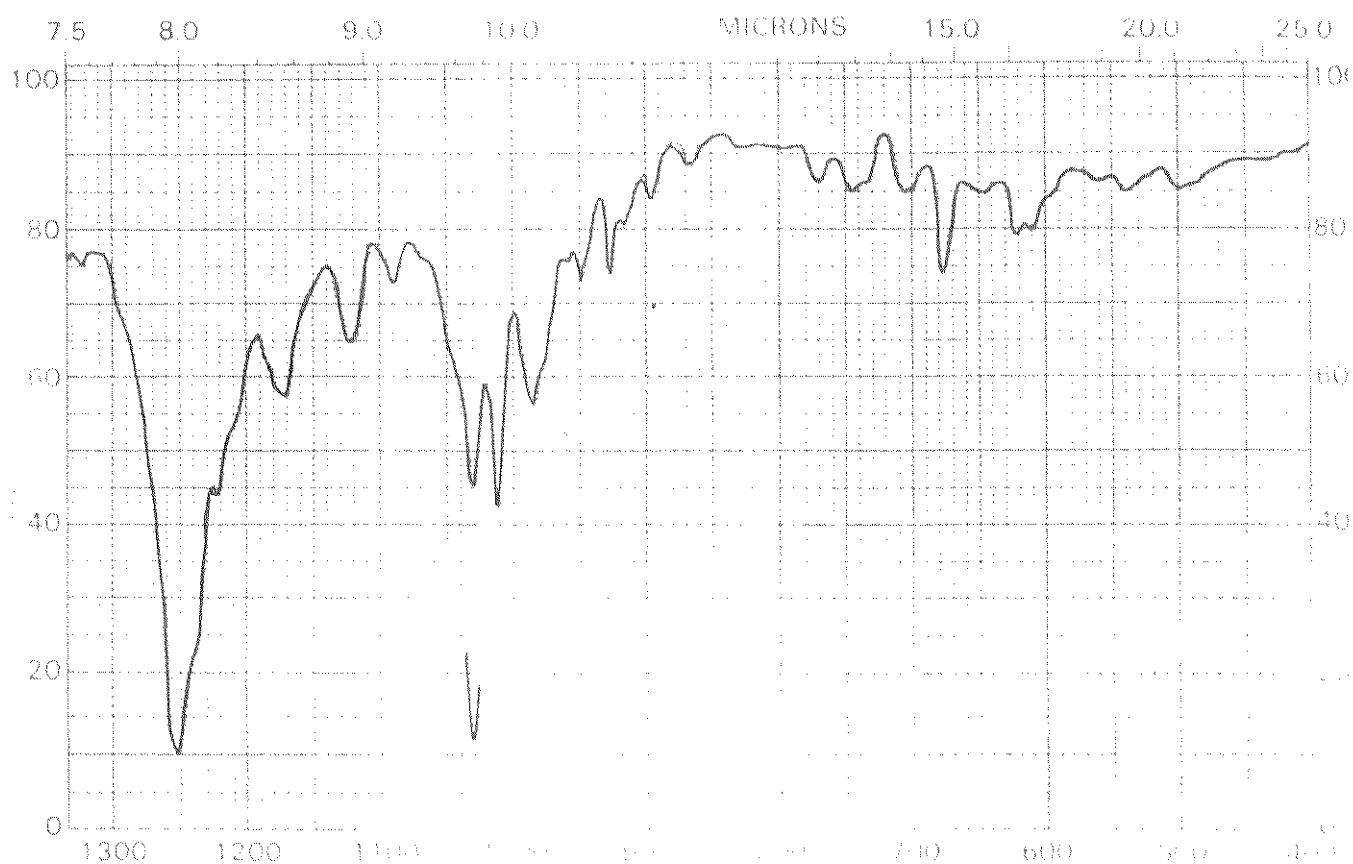
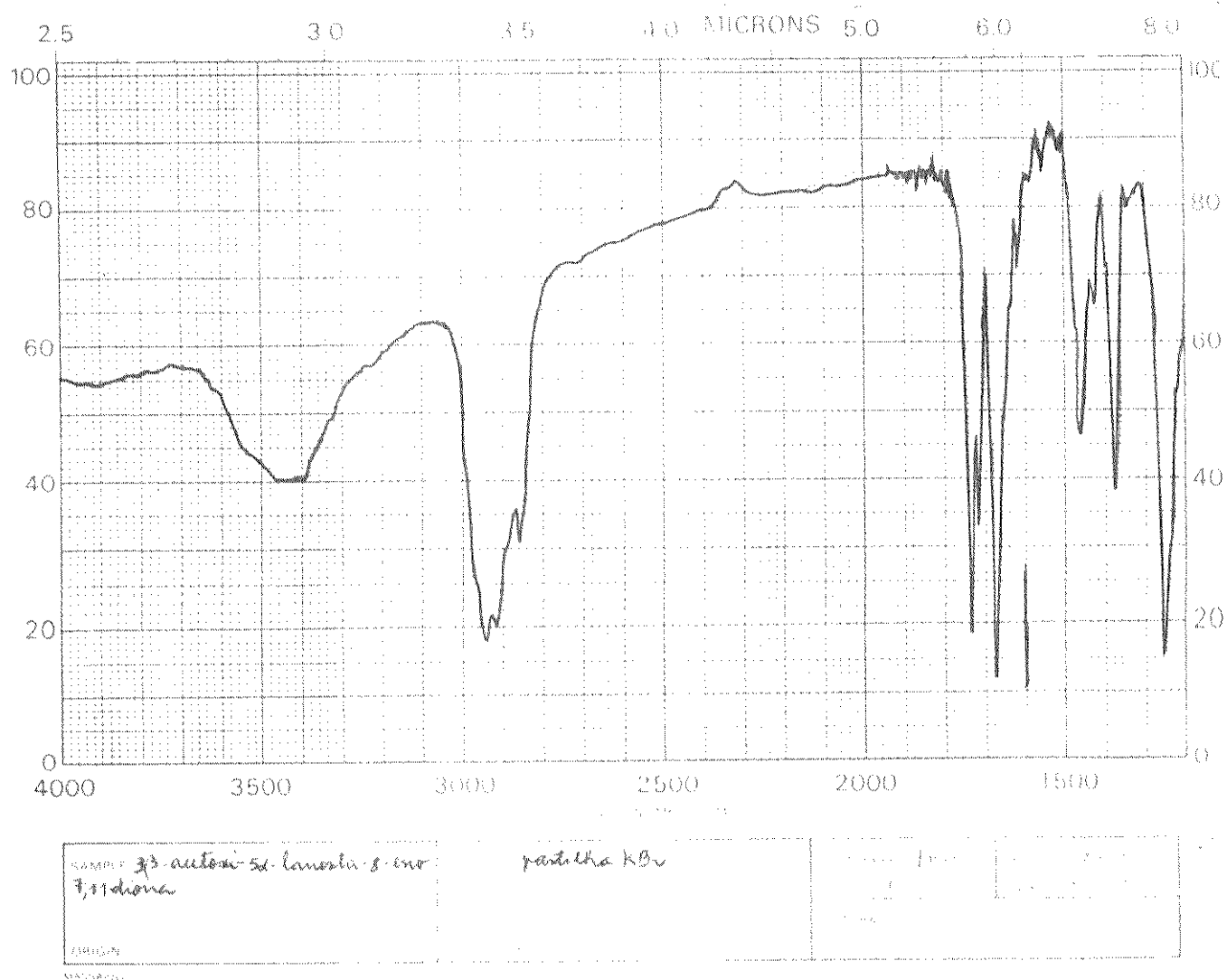


Fig. 4.38 - Espectro no infravermelho do XXII

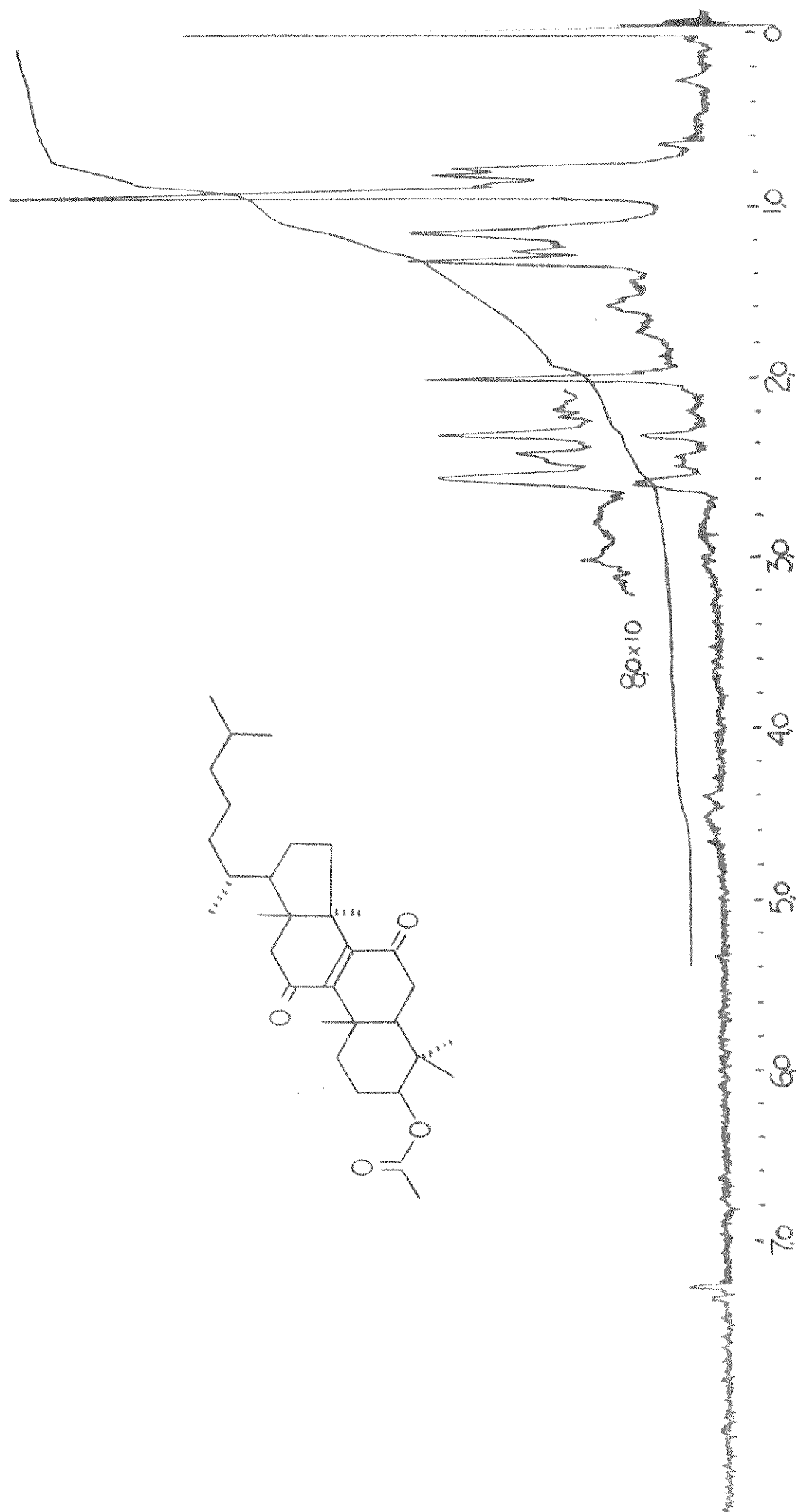


Fig. 4.39 - Espectro de R.M.N. de H^1 do XXII

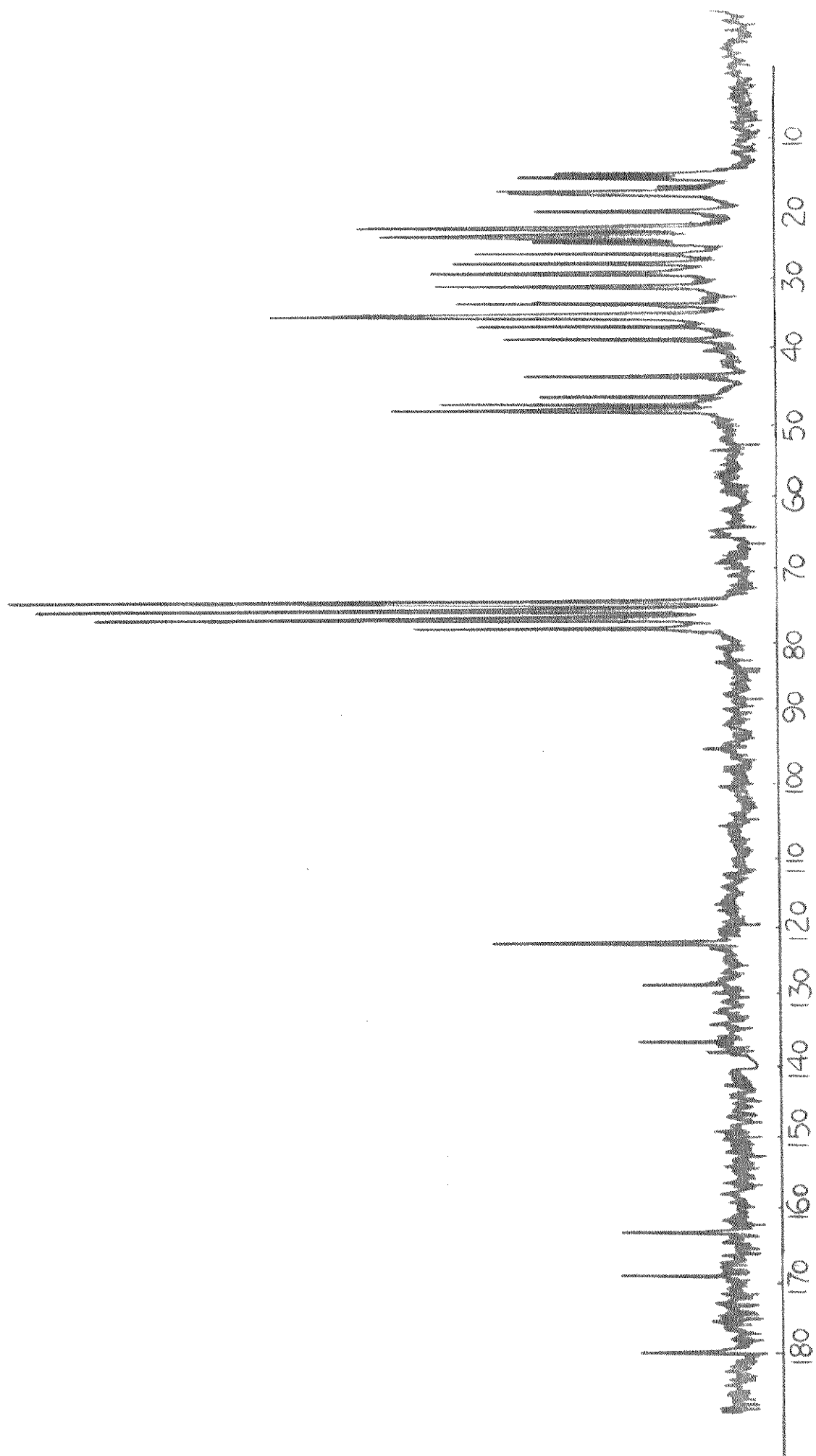


Fig. 4.40 - Espectro de R.M.N. de C^{13} do I (100-102)

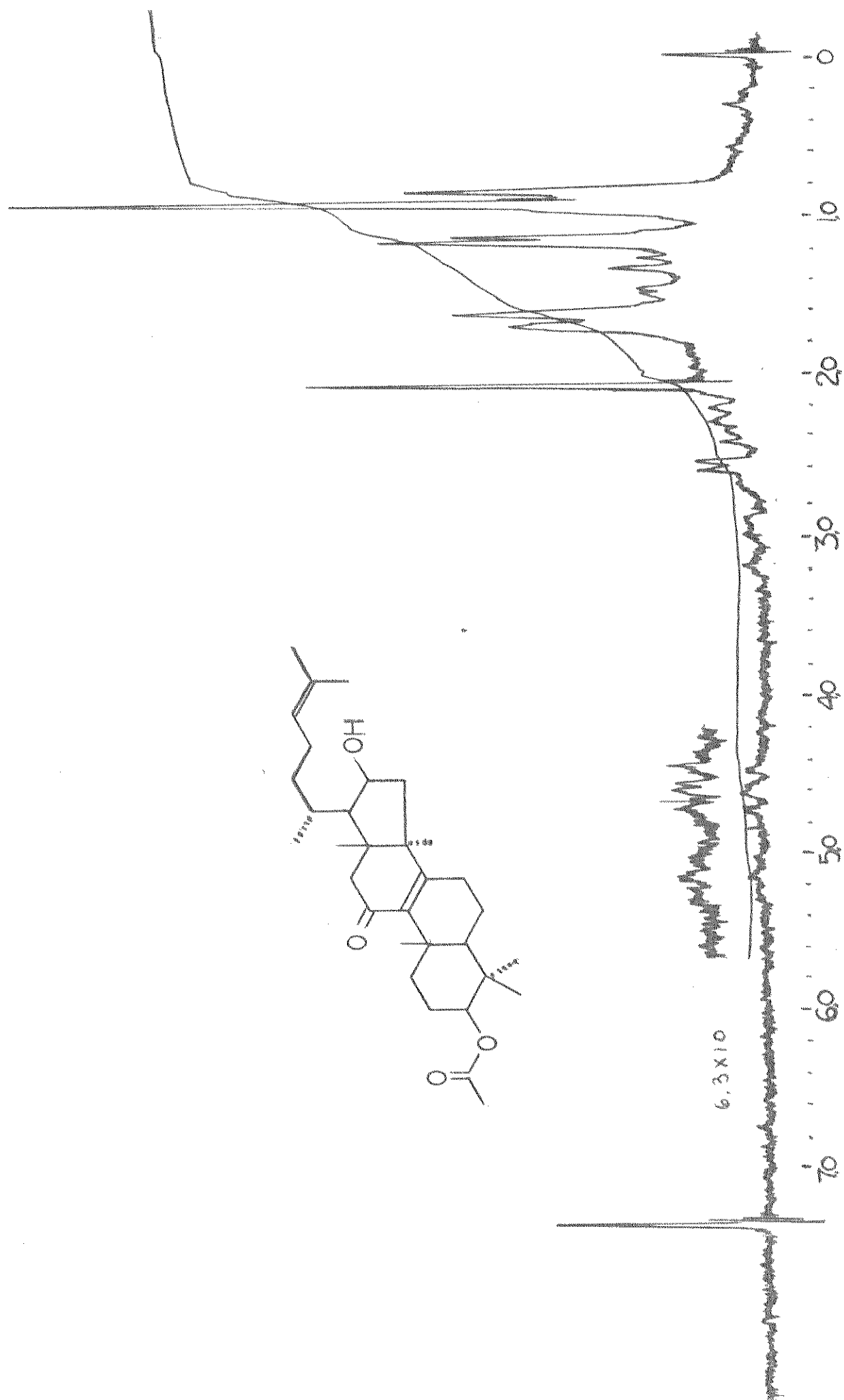


Fig. 4.41 - Espectro de R.M.N. de H^1 do III (98-99)



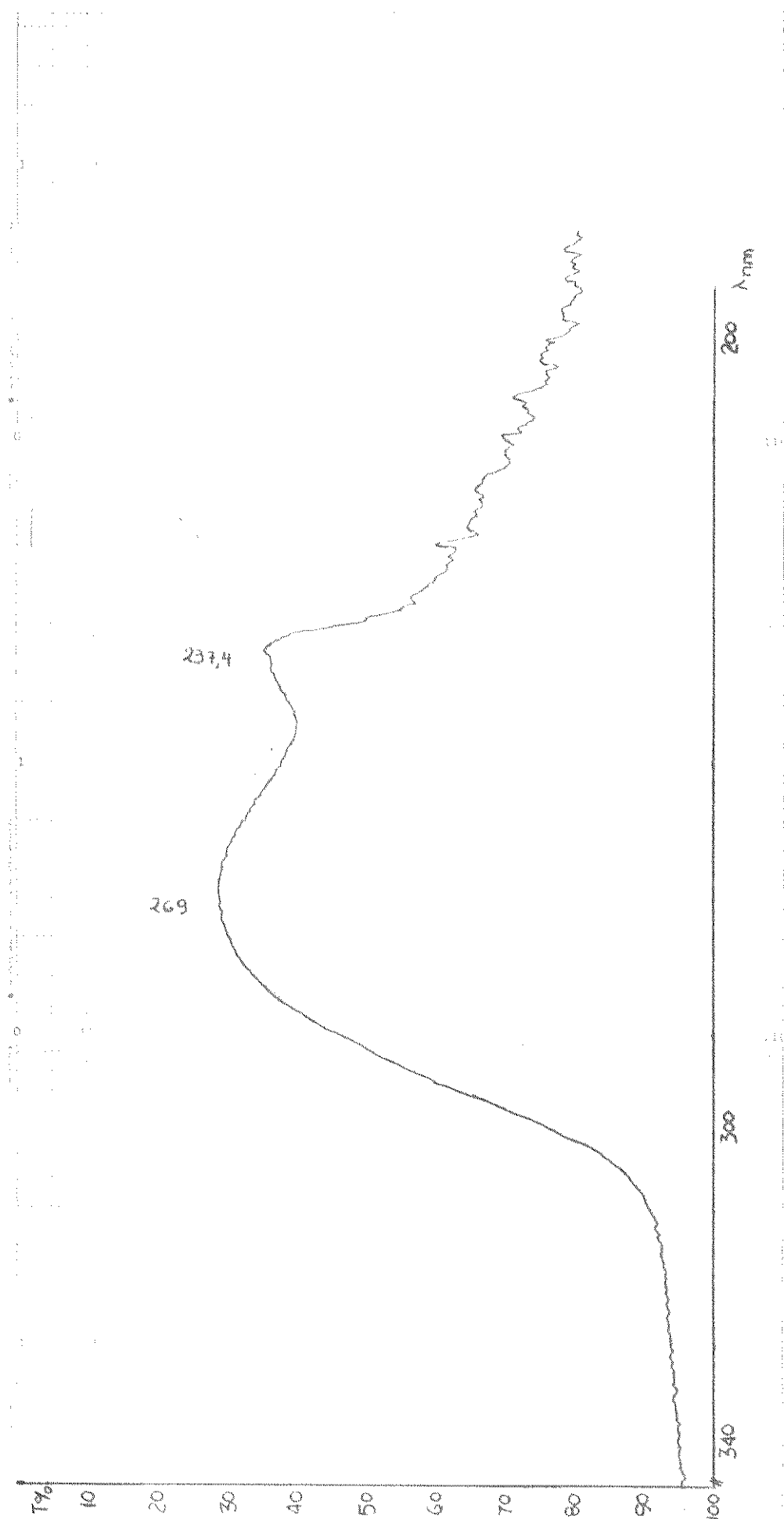


Fig. 4.43 - Espectro no ultravioleta do III (98-99)

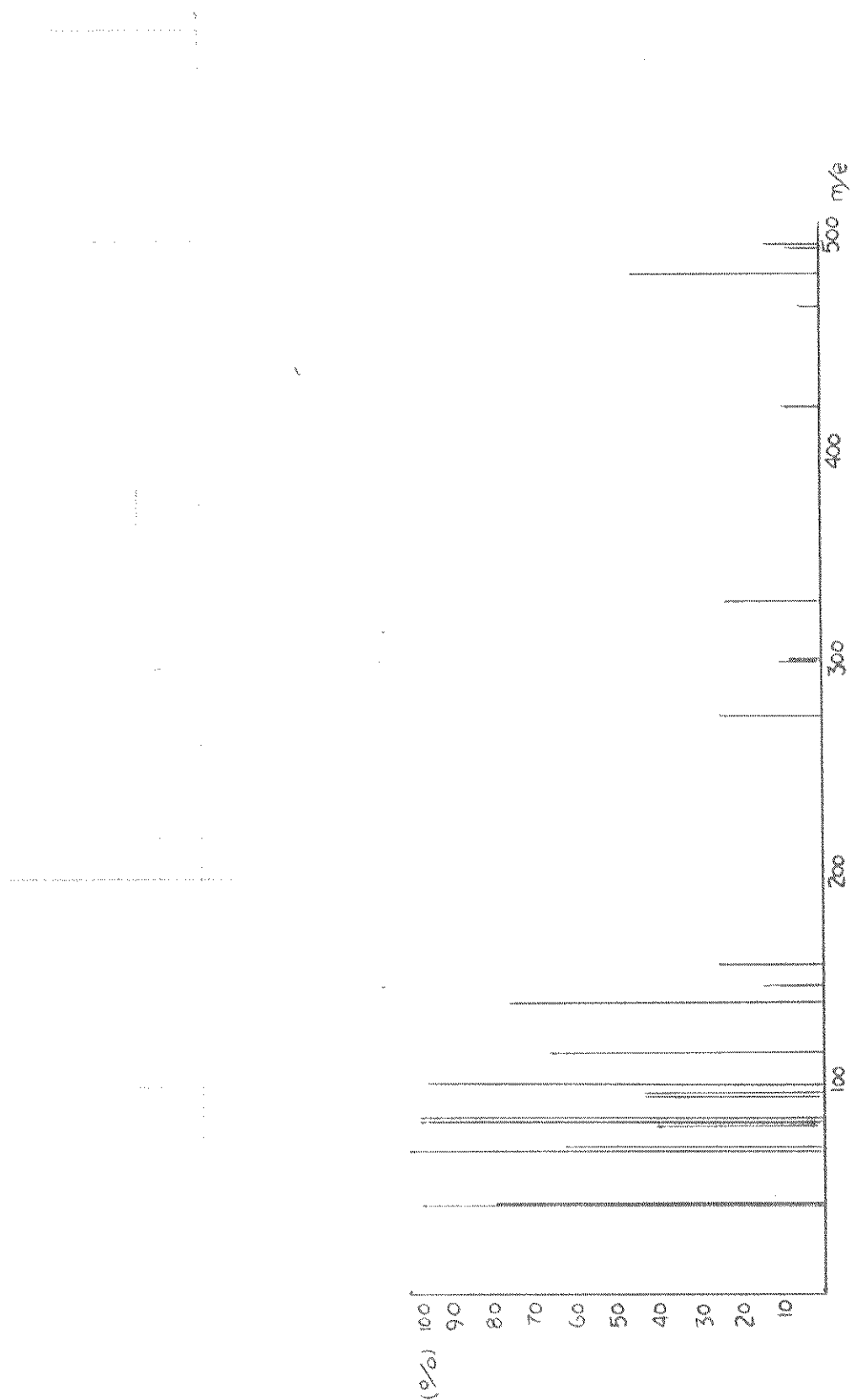
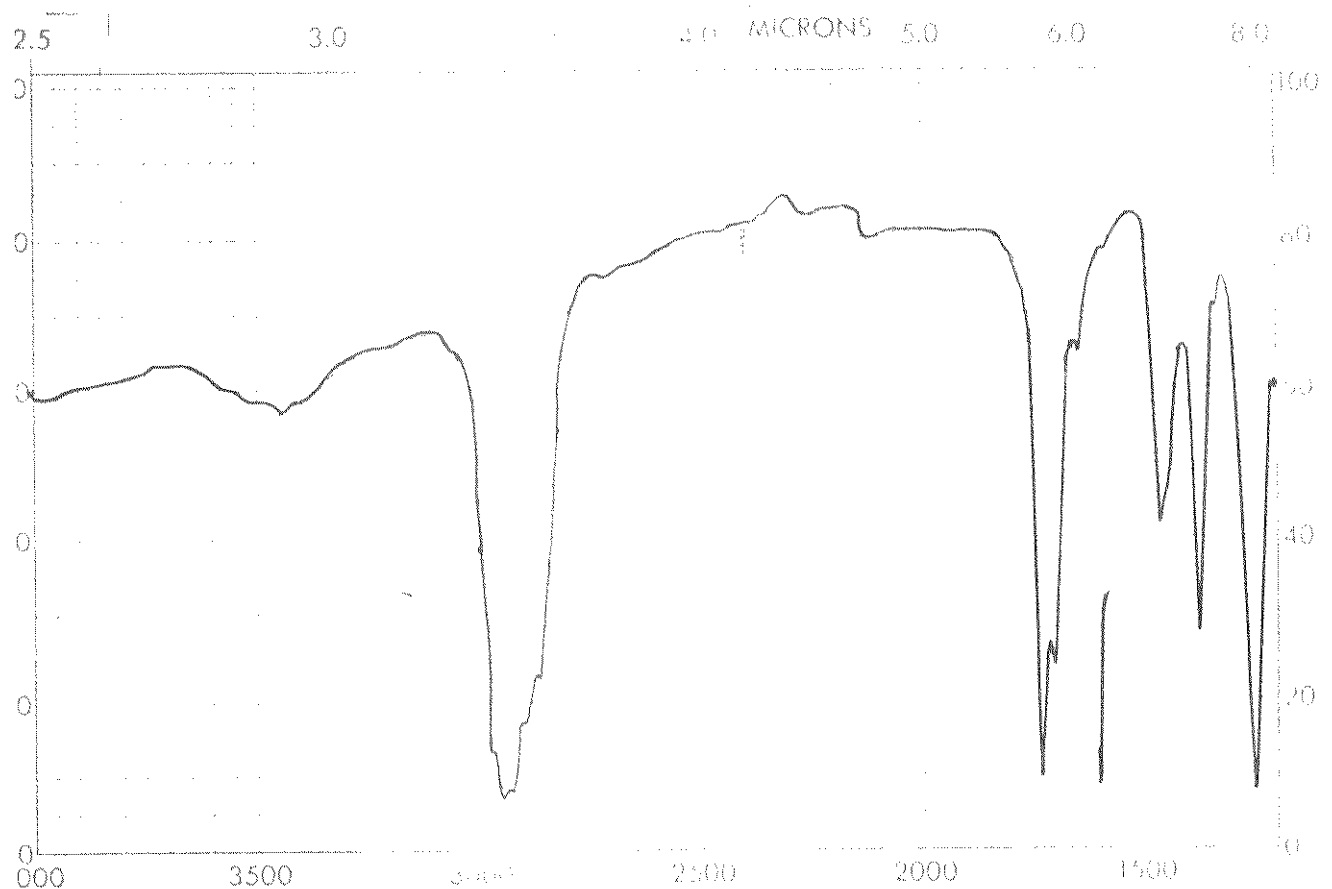


Fig. 4.44 - Espectro de massas do III (98-99)



SAMPLE *3p-acetoni-5a-lansib-9(11)-*
ind-7-ona
 ORIGIN...
 SOLVENT *petiella KO*

PART NO 337 1203

PERKIN ELMER

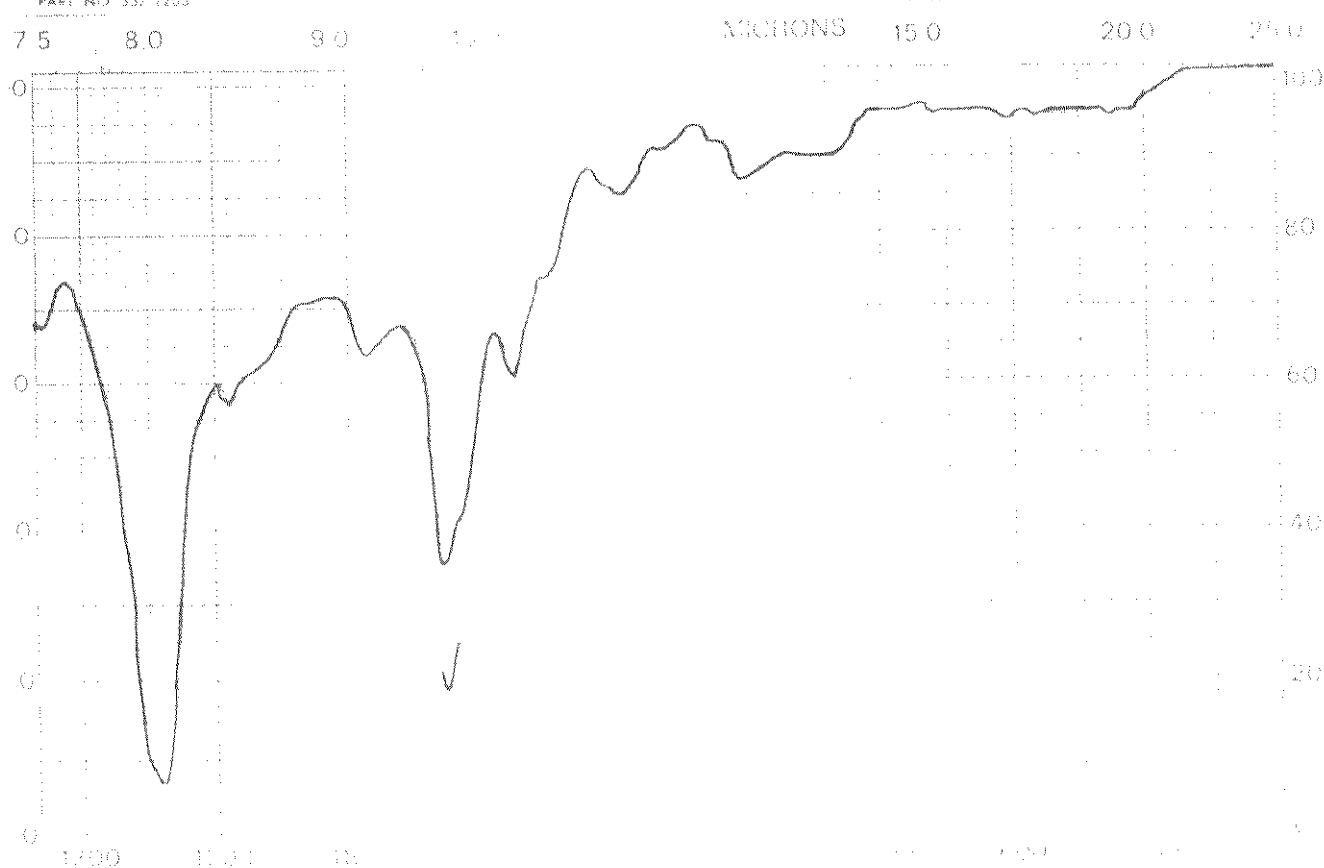
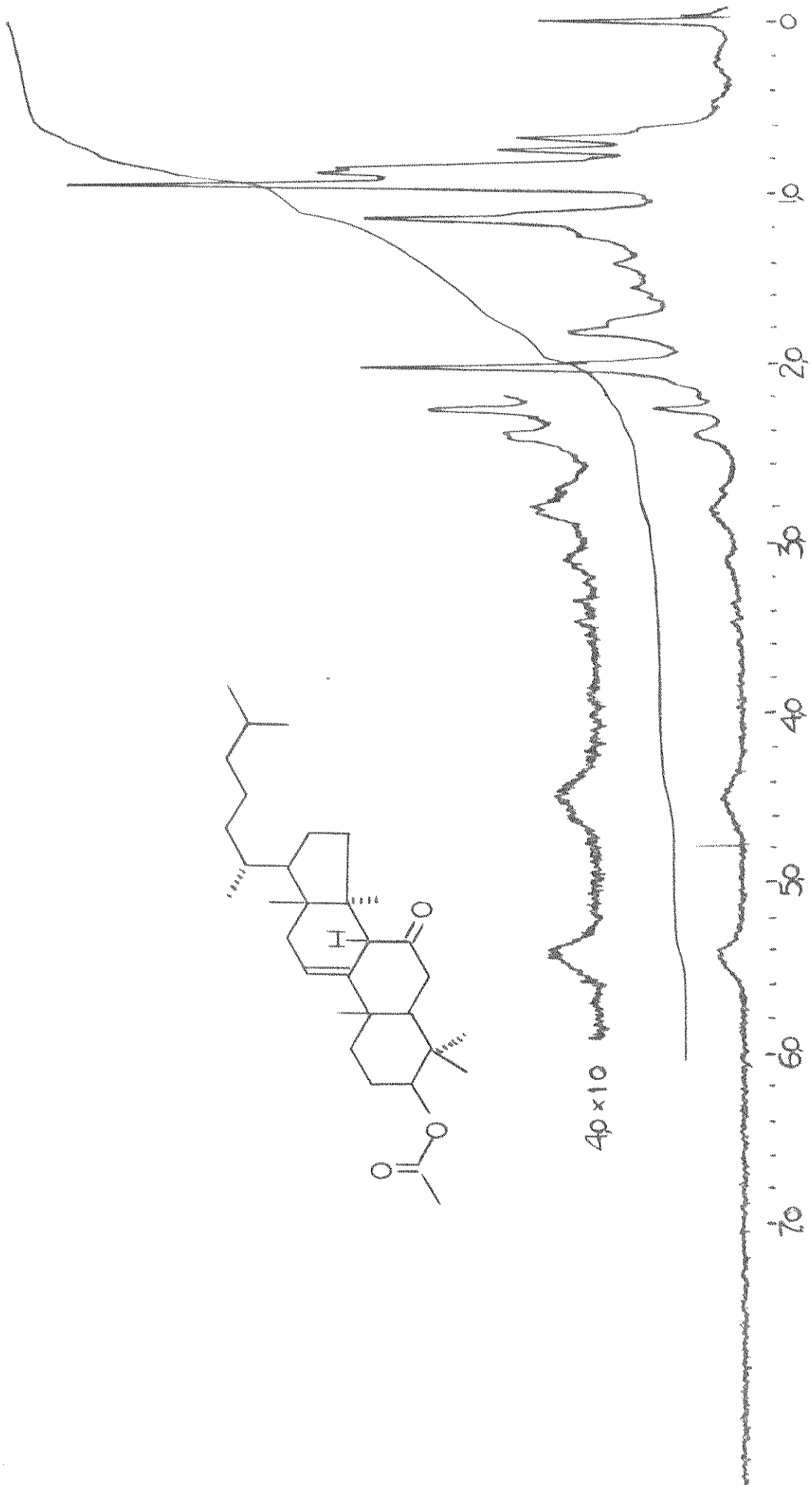


Fig. 4.45 - Espectro no infravermelho do XXIII



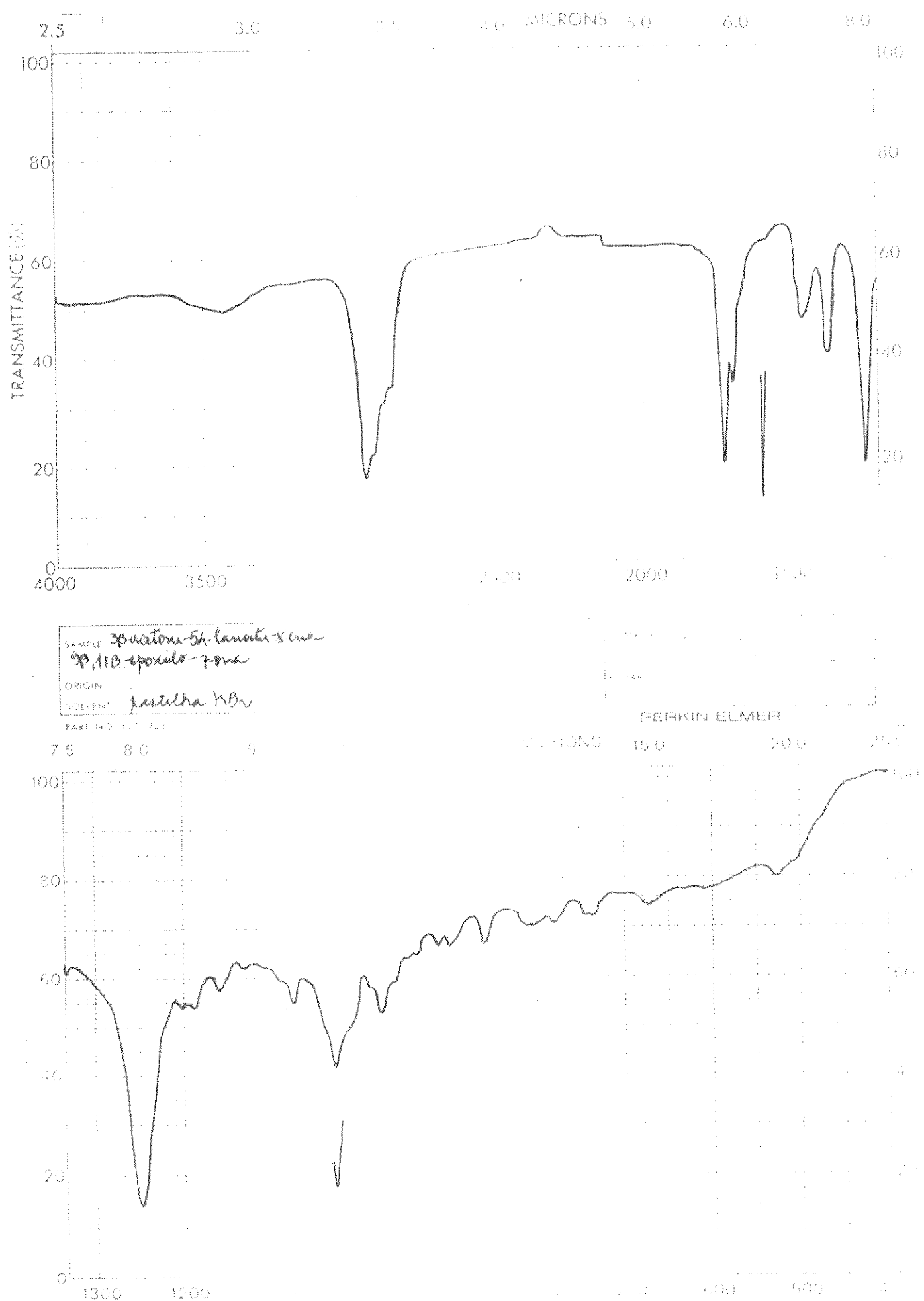


Fig. 4.47 - Espectro no infravermelho do XXIV

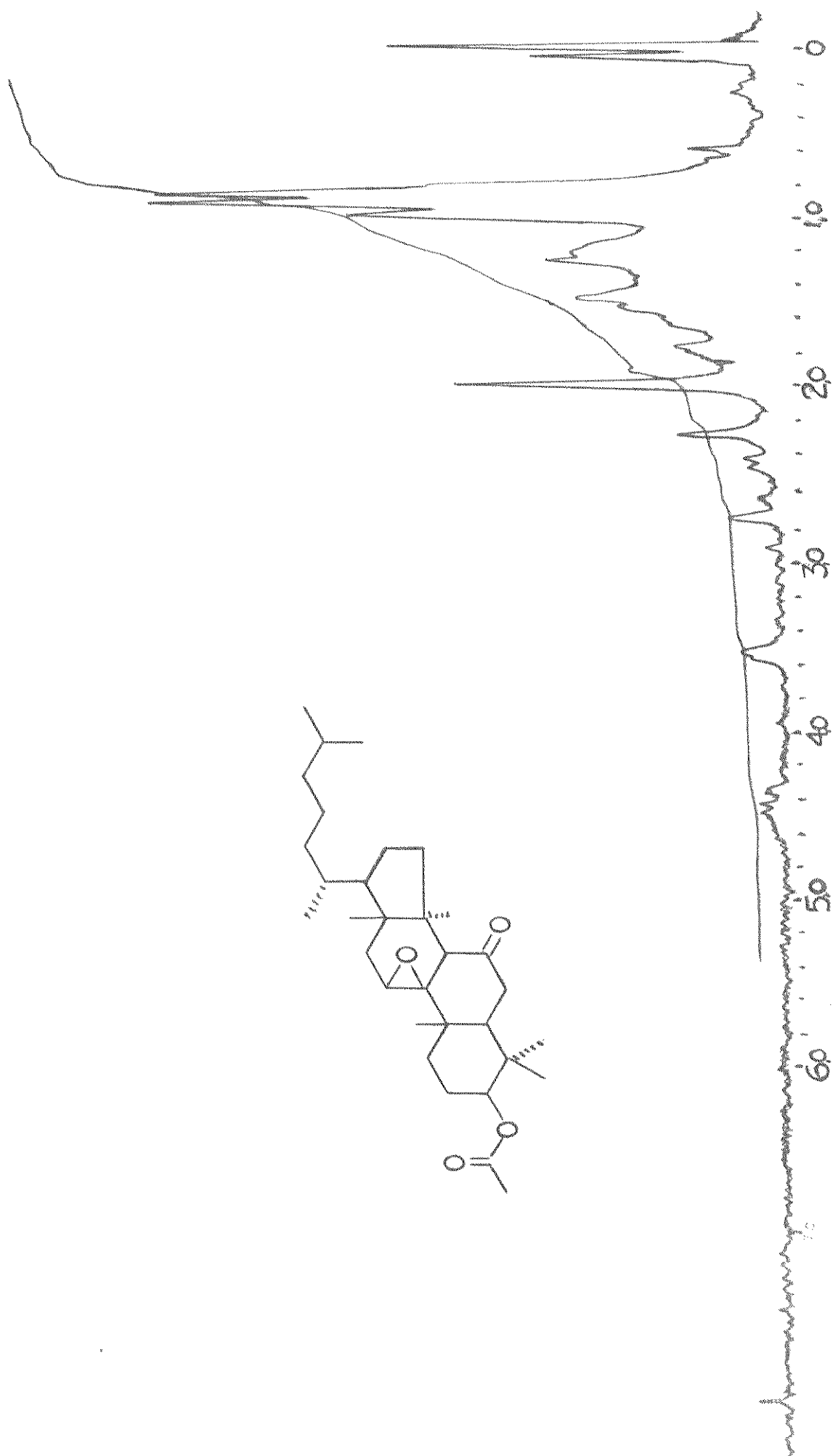
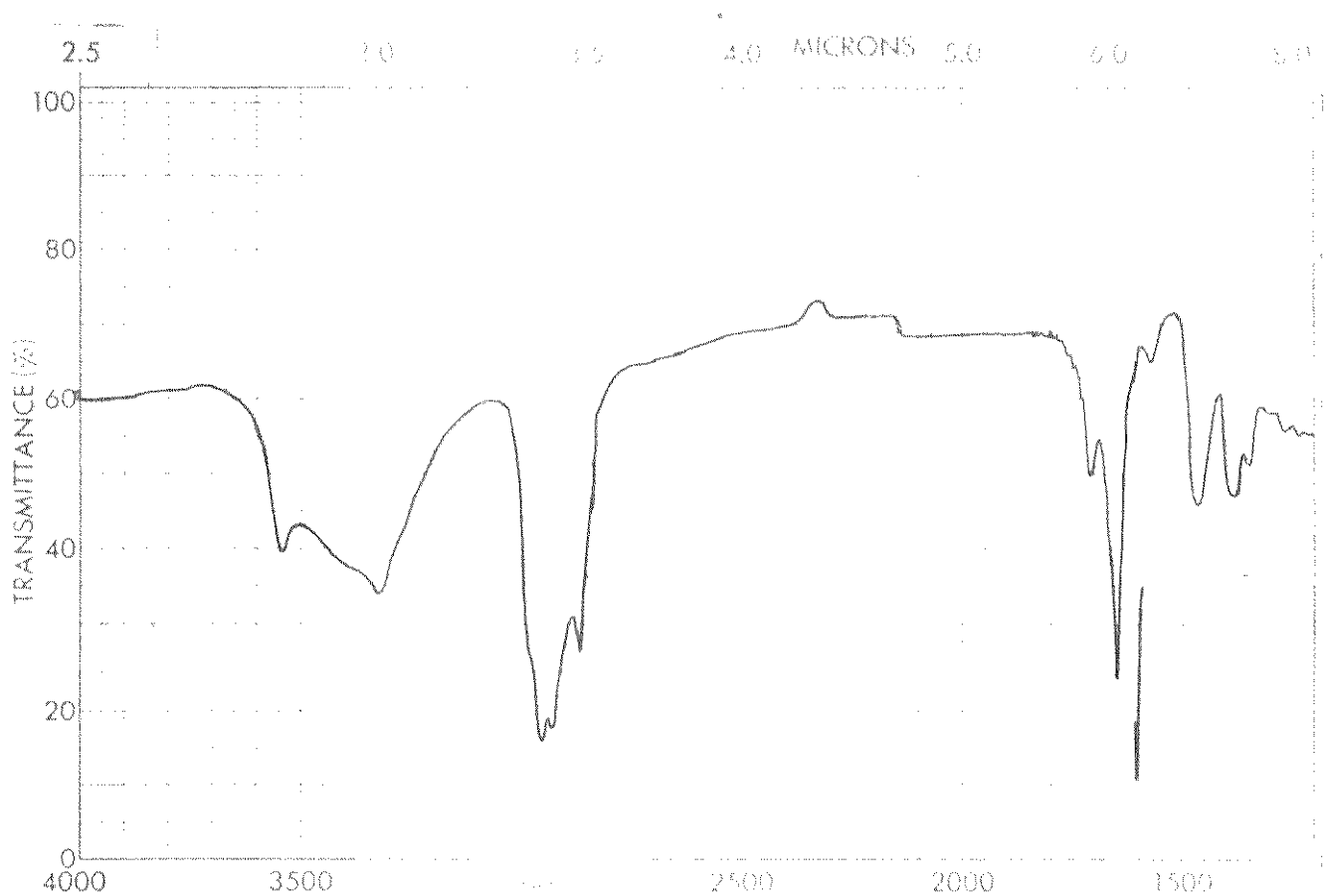


Fig. 4.48 - Espectro de R.M.N. de H^1 do XXIV



SAMPLE *38,113-dichloro-5a-lanosta-8-ene-7-one*
 ORIGIN
 SOLVENT *matilha KBr*
 PART NO. 100-1000

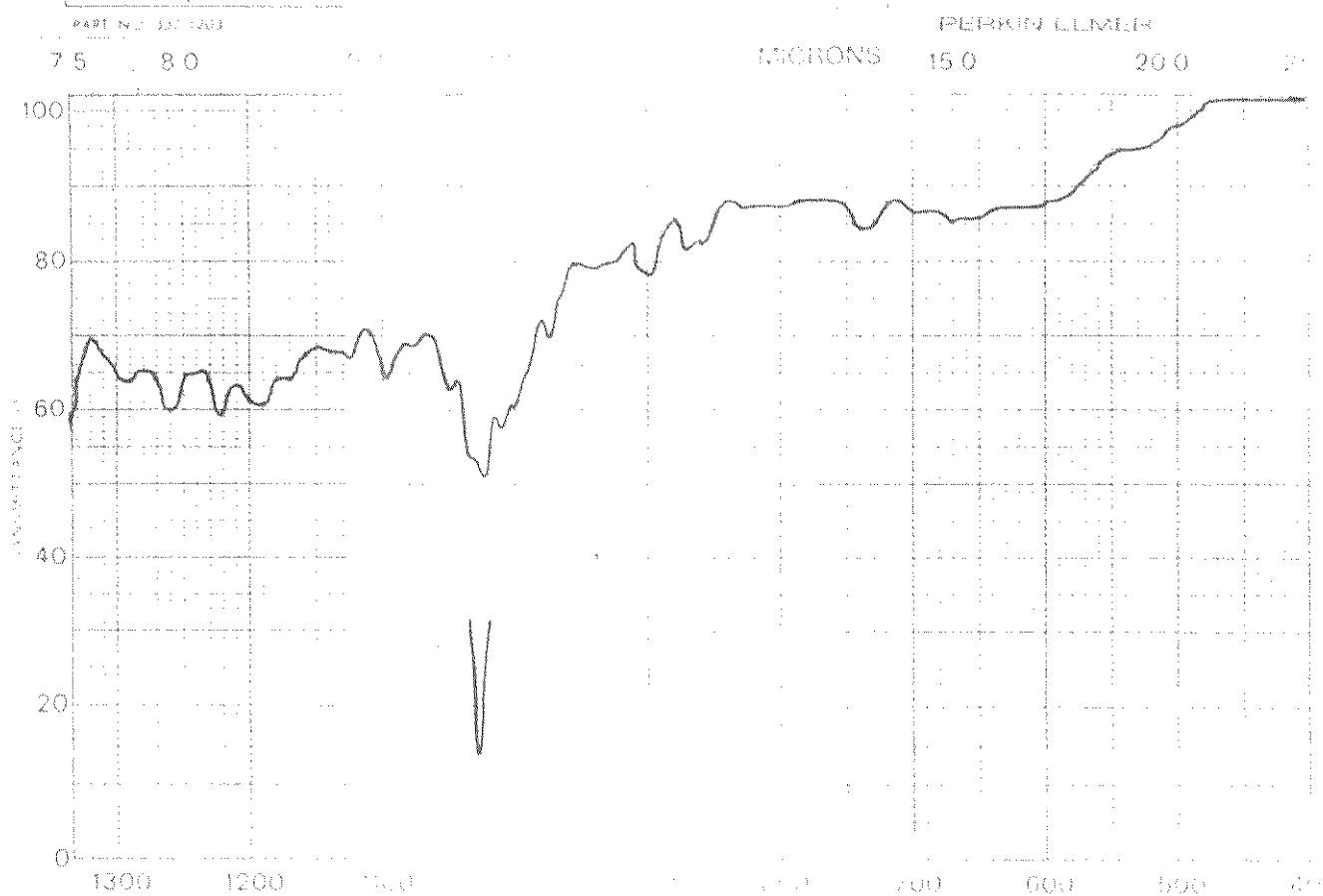


Fig. 4.49 - Espectro no infravermelho do XXV

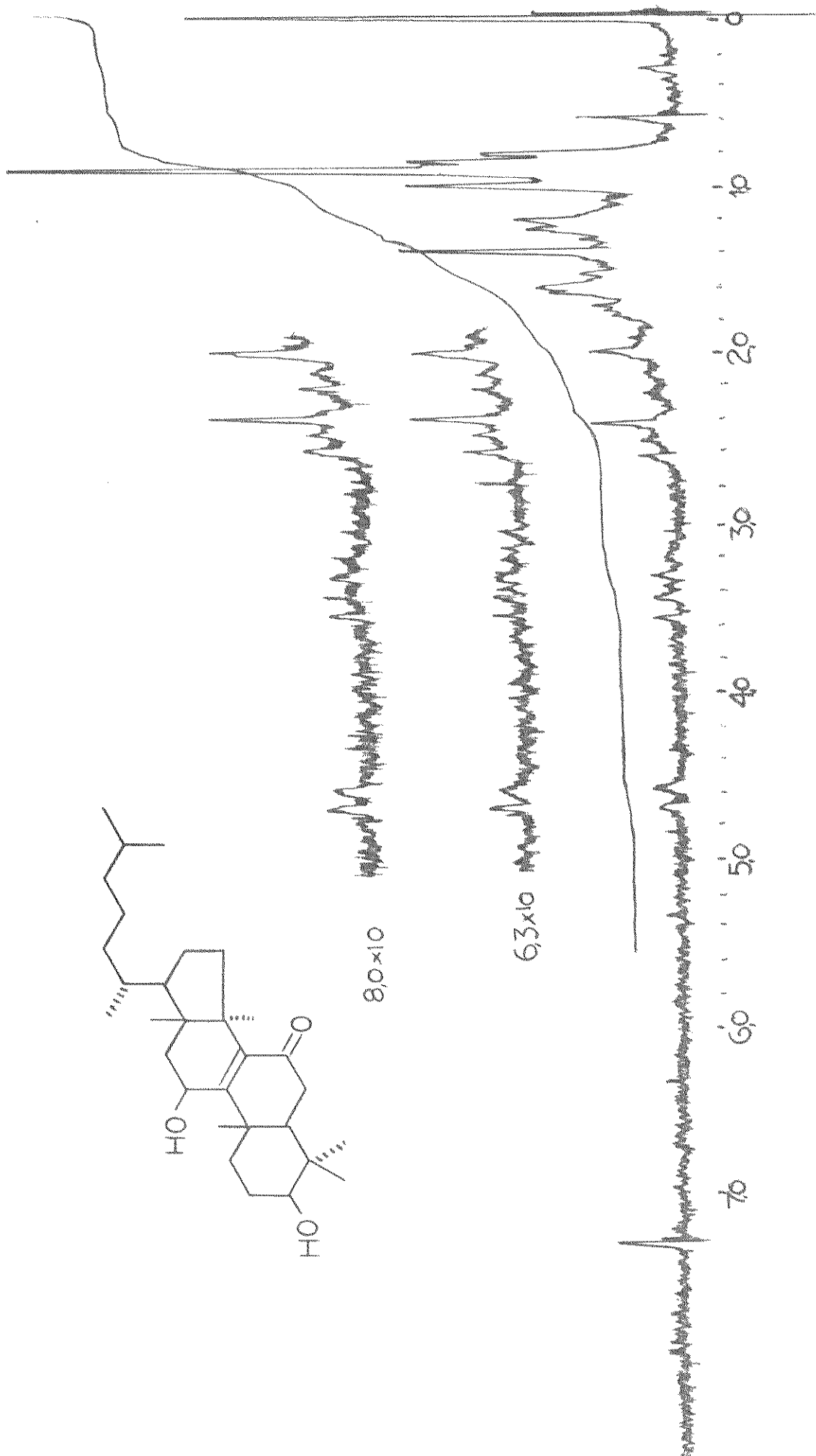
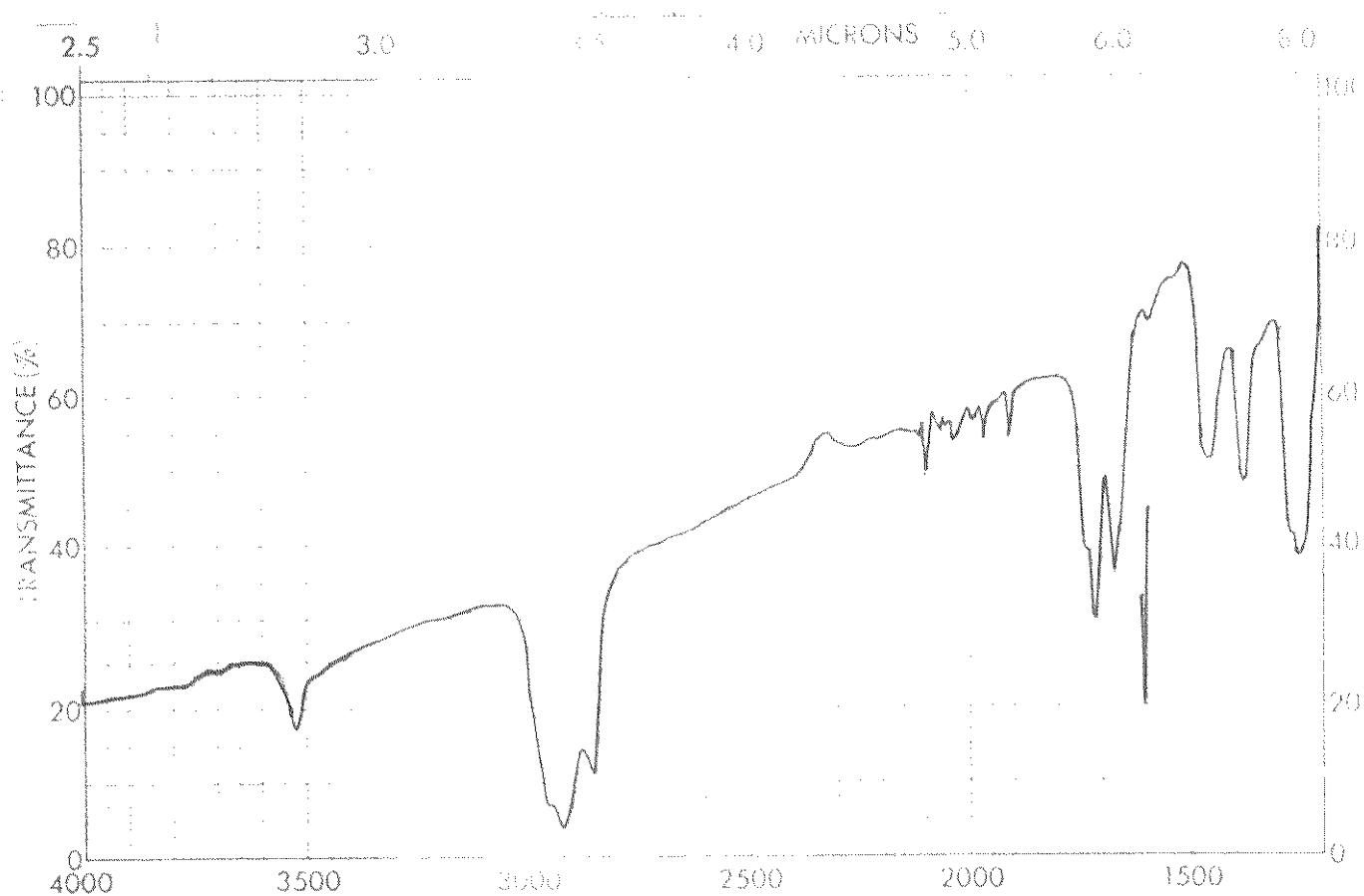


Fig. 4.50 - Espectro de R.M.N. de H^1 do XXV



SAMPLE *p-oxo-5d-lamata-8-ene*
7-ona-11p-ol
 ORIGIN _____
 SOLVENT *metilho KBr*

PART NO 337-1203

DATA SPEED 1	OPERATOR
DATE	DATE
REMARKS	

PERKIN ELMER

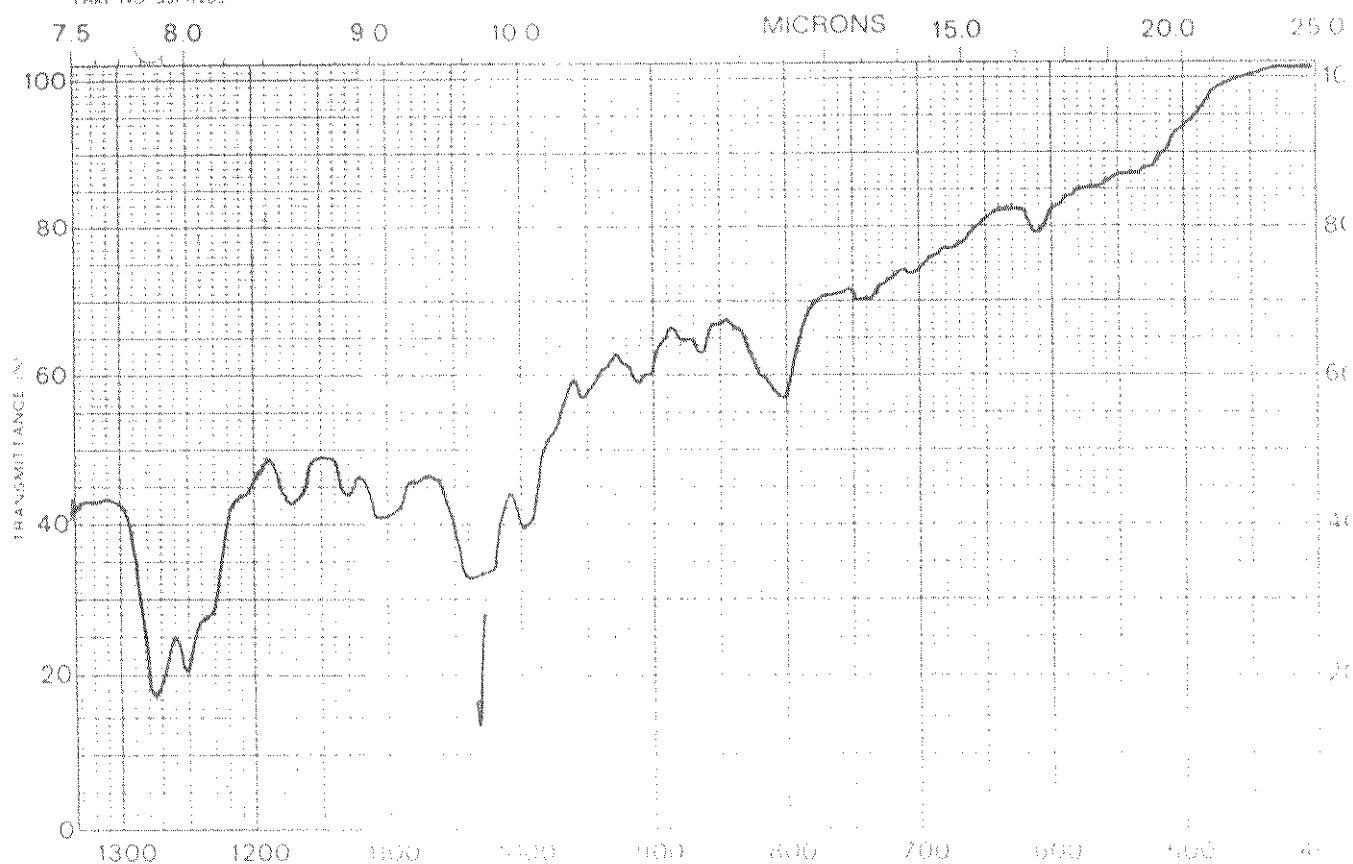
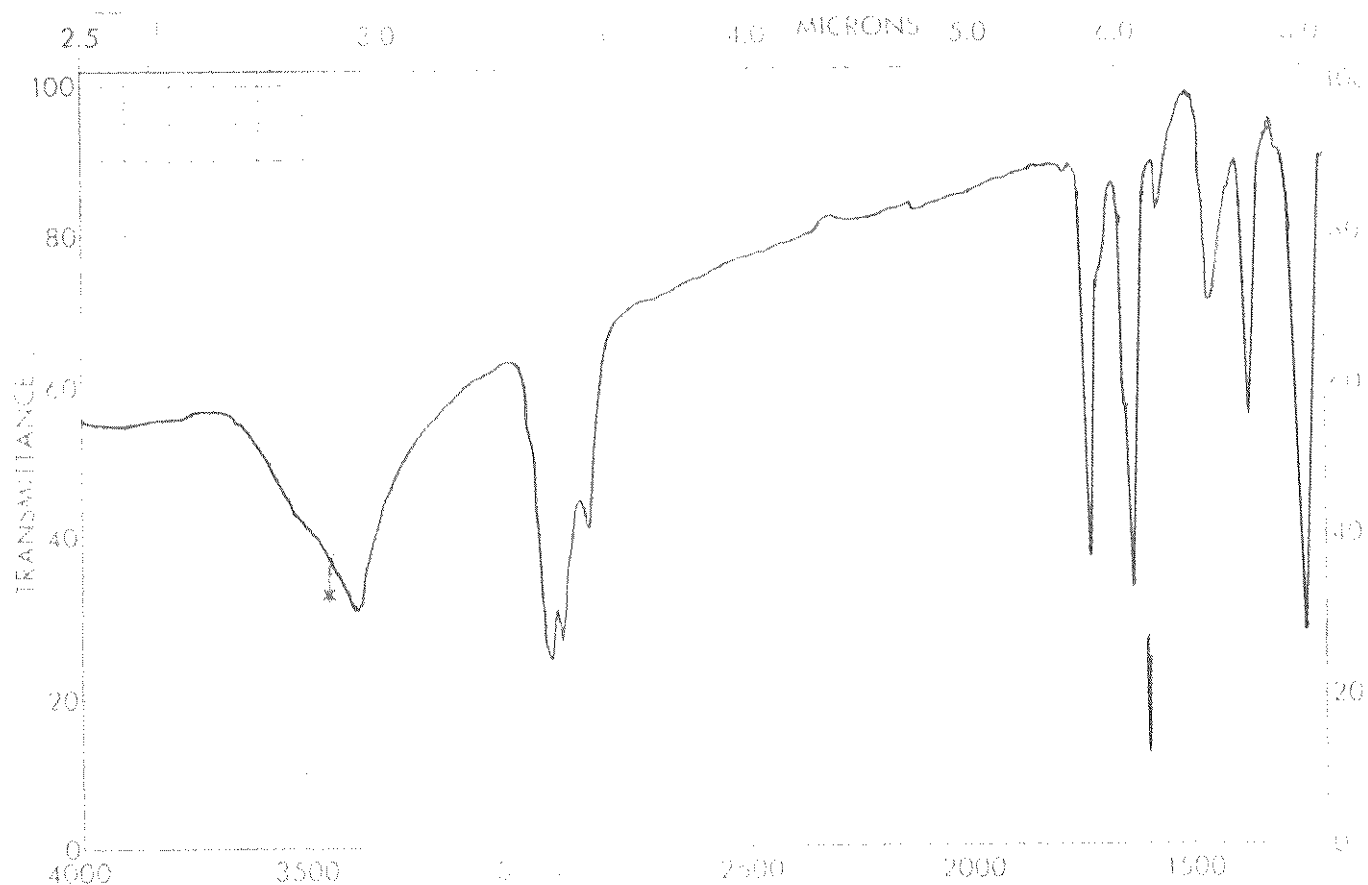


Fig. 4.51 - Espectro no infravermelho do XXVI



SAMPLE: 30-oxo-5 α -andro-8-ene-
11-one-7 β -ol
ORIGIN:
SOLVENT: pastilha KBr
PART NO: 337-1703

PERKIN ELMER

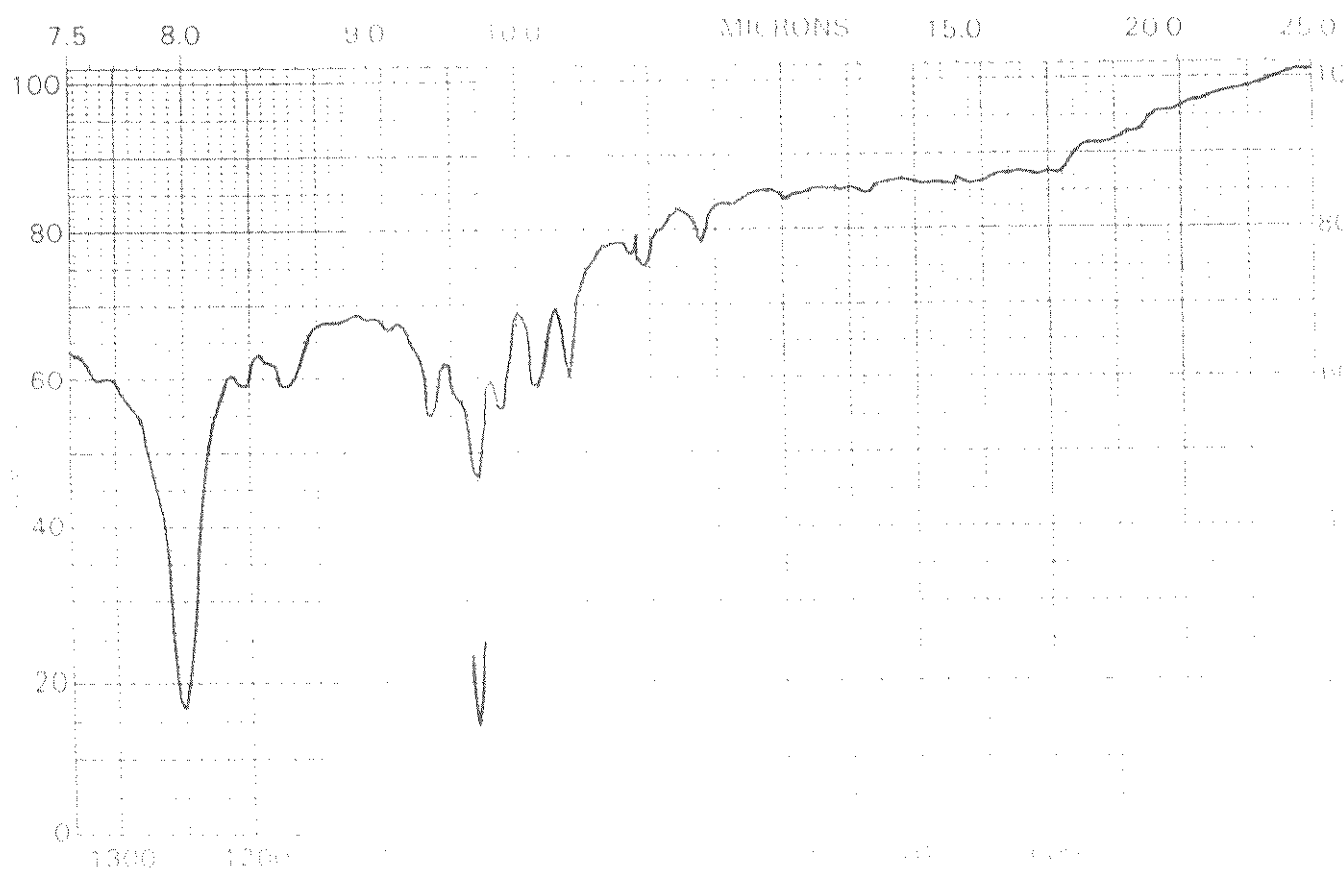


Fig. 4.53 - Espectro no infravermelho do XXVII

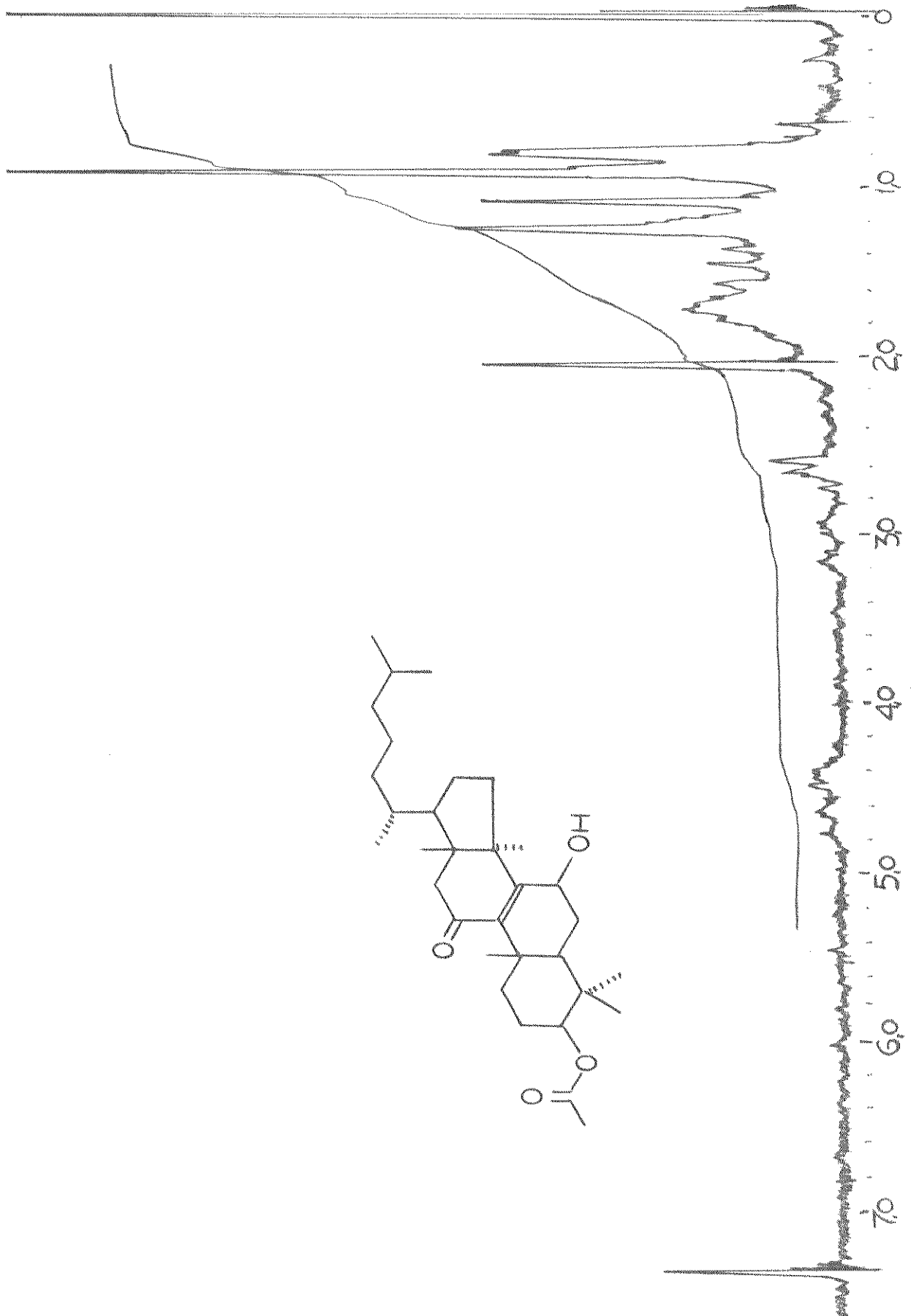


Fig. 4.54 - Espectro de R.M.N. de H^1 do XXVII

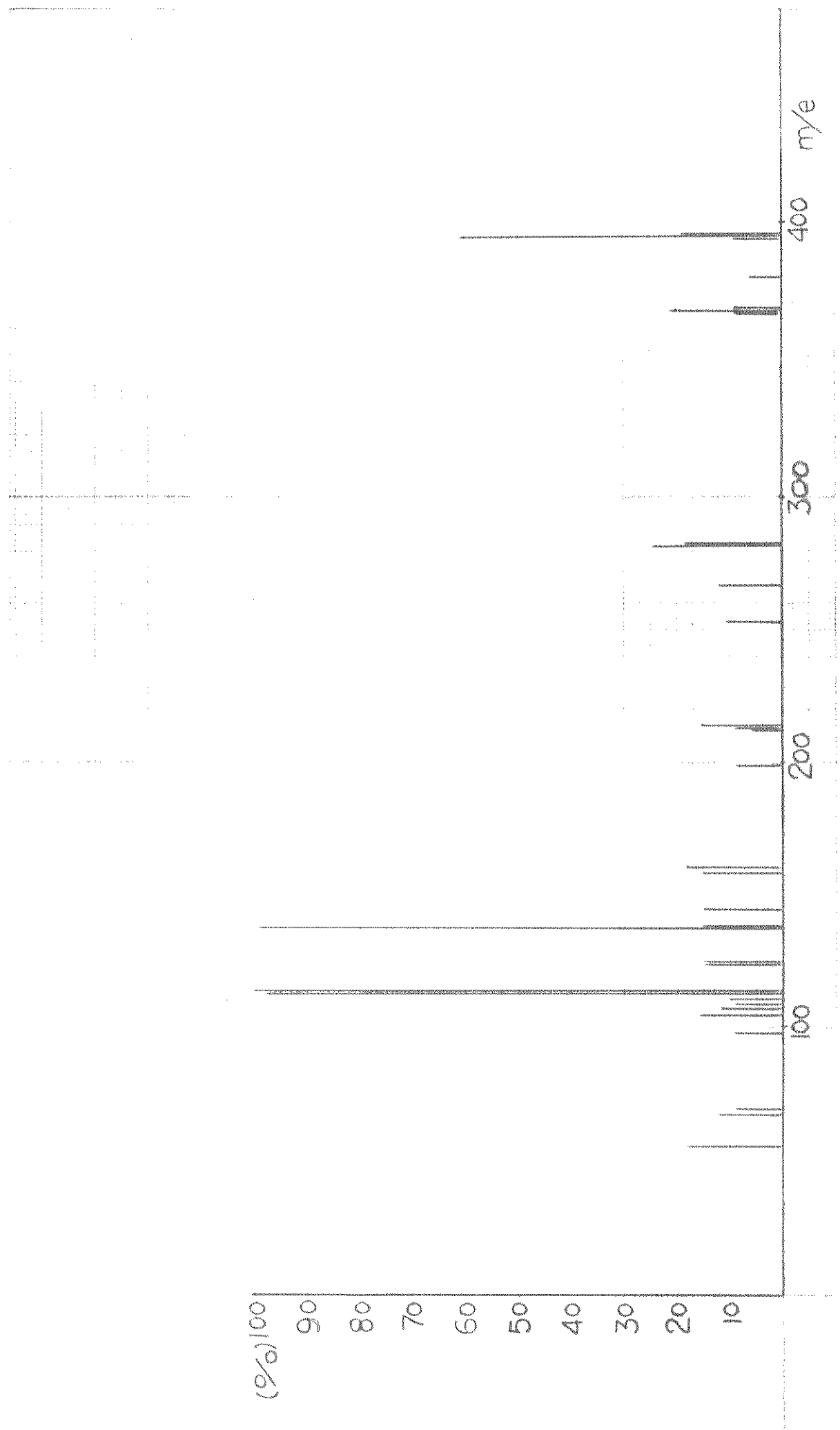


Fig. 4.55 - Espectro de massas de ALC-1

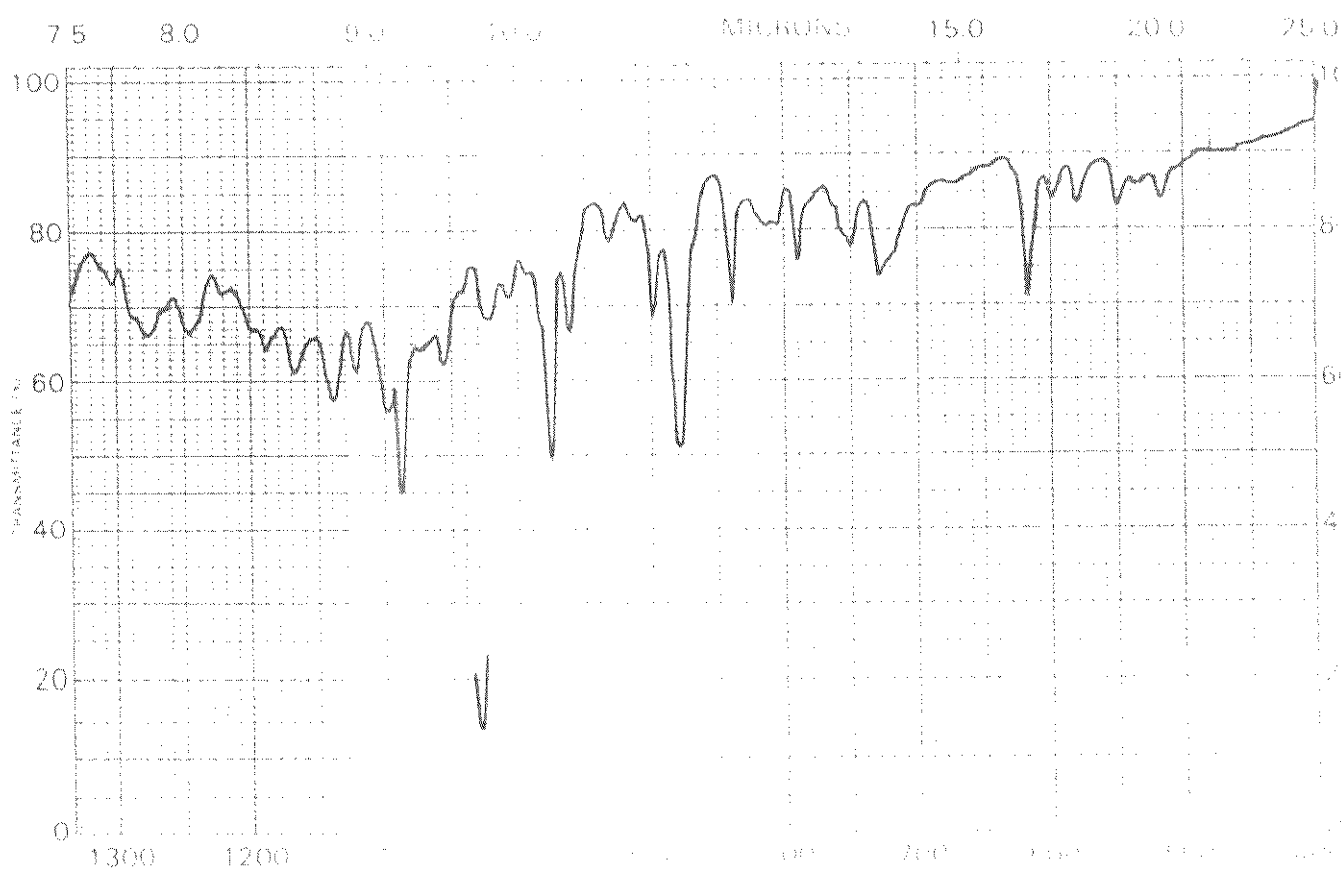
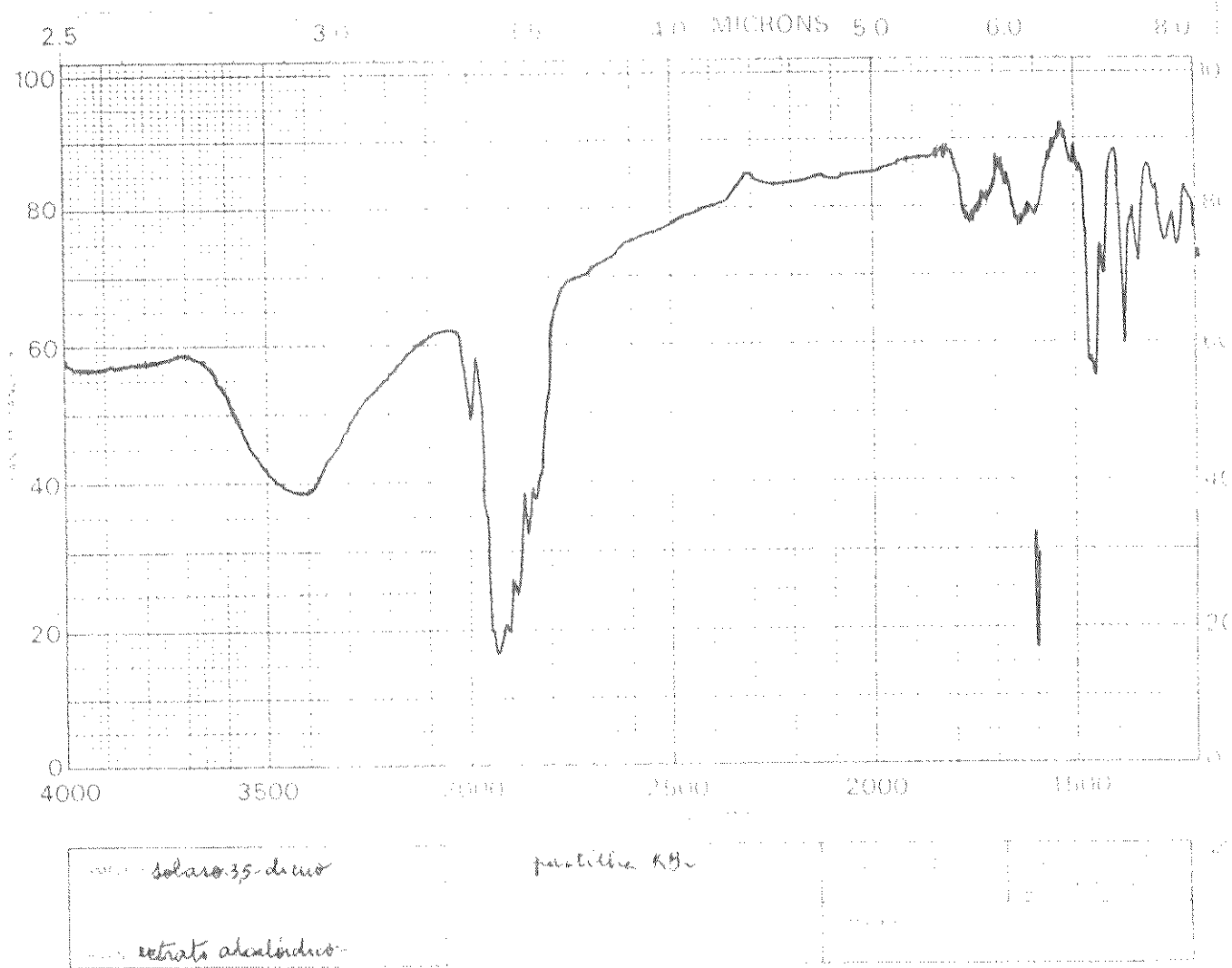


Fig. 4.56 - Espectro no infravermelho do ALC-1

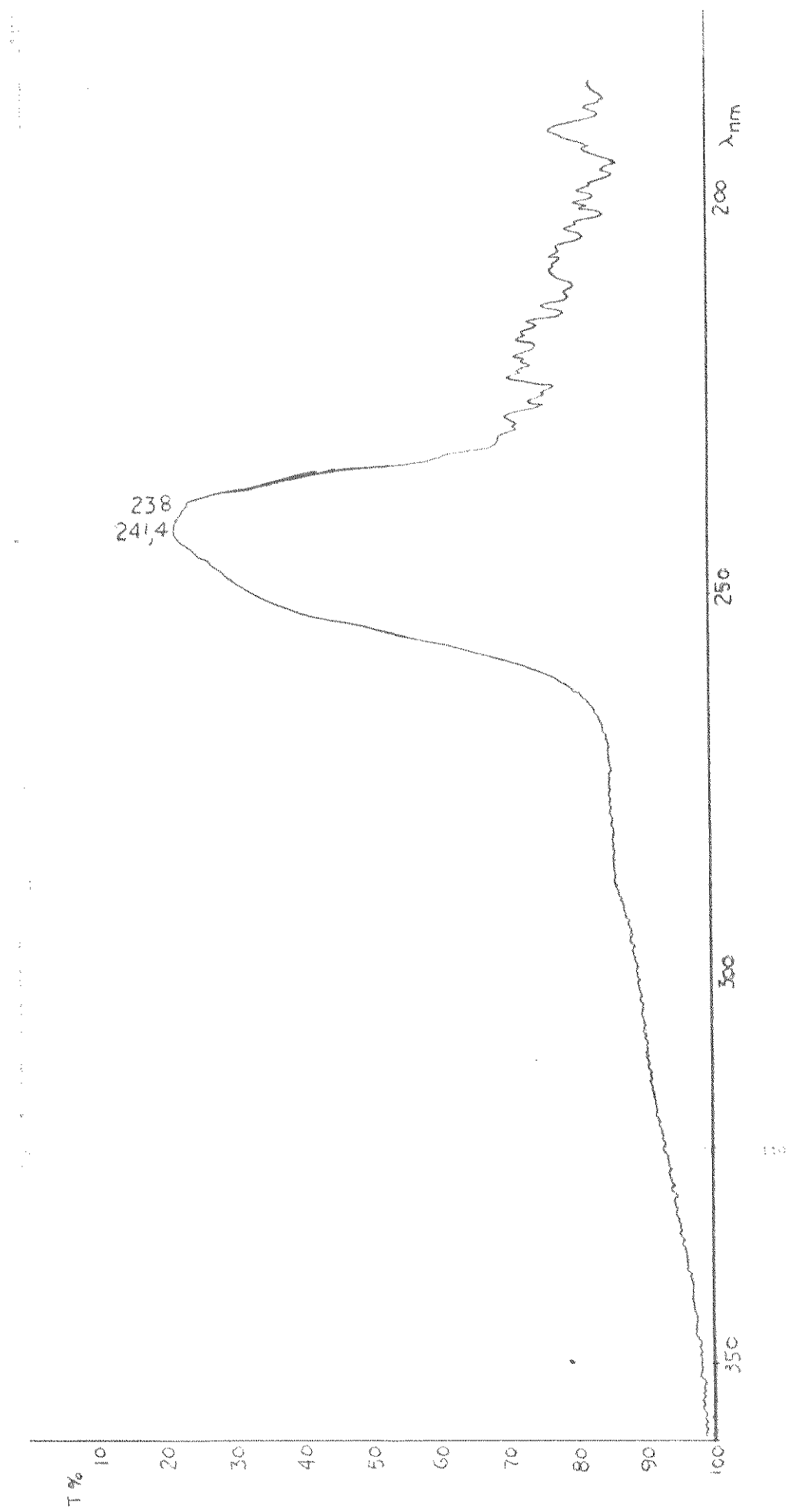


Fig. 4.57 - Espectro no ultravioleta do ALC-1

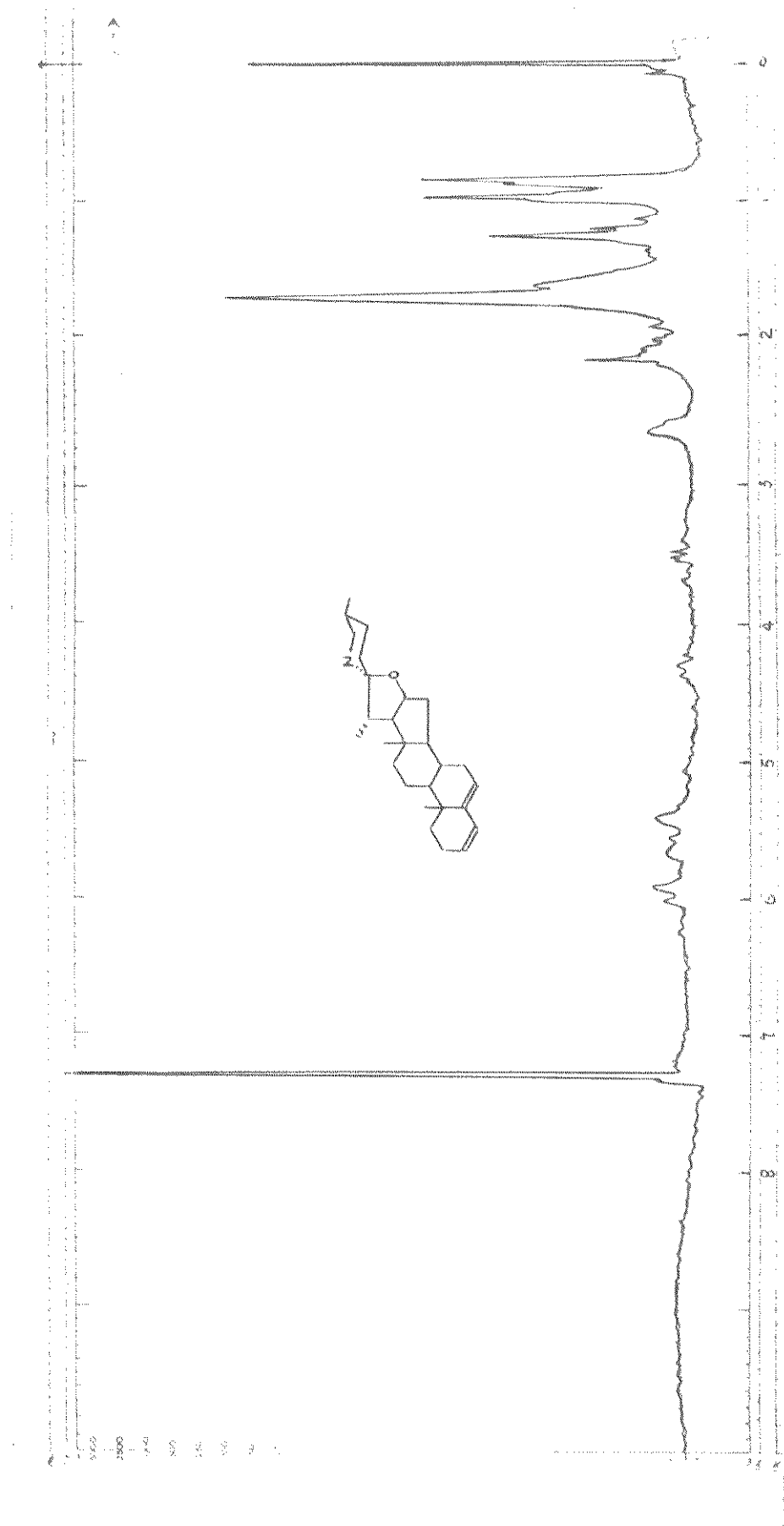


Fig. 4.58 - Espectro de R.M.N. de H^1 do ALC-1

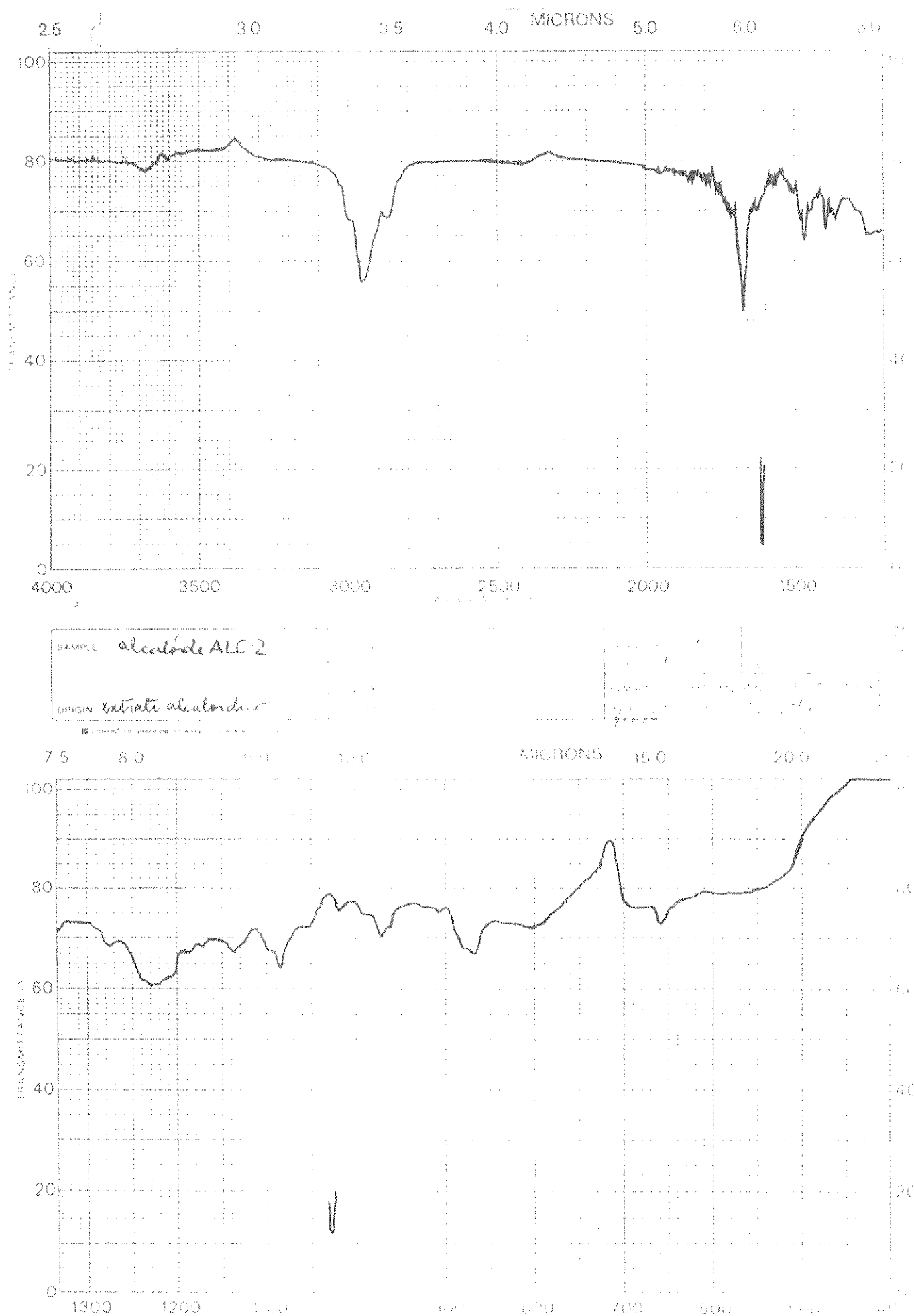


Fig. 4.59 - Espectro no infravermelho do ALC-2

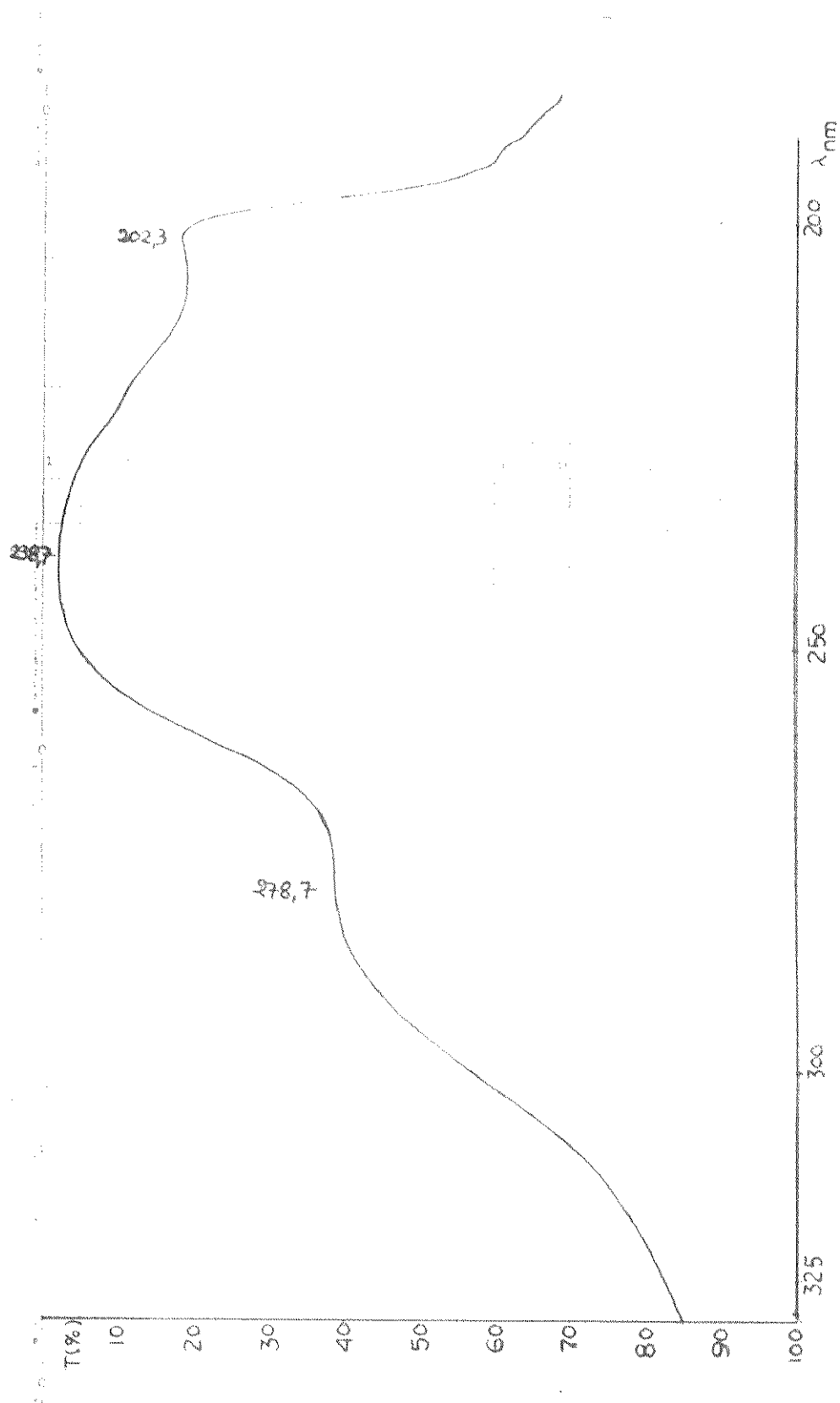


Fig. 4.60 - Espectro no ultravioleta do ALC-2

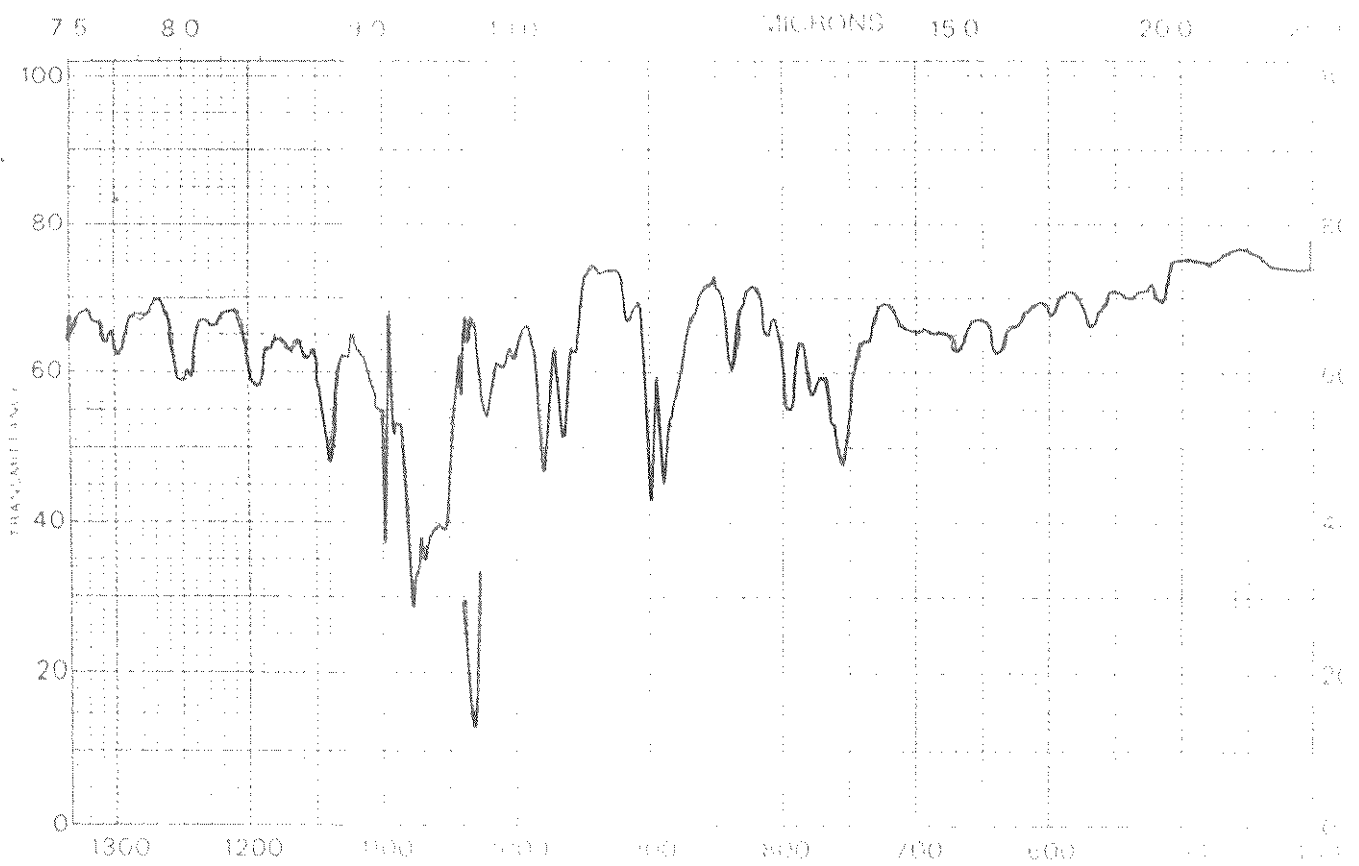
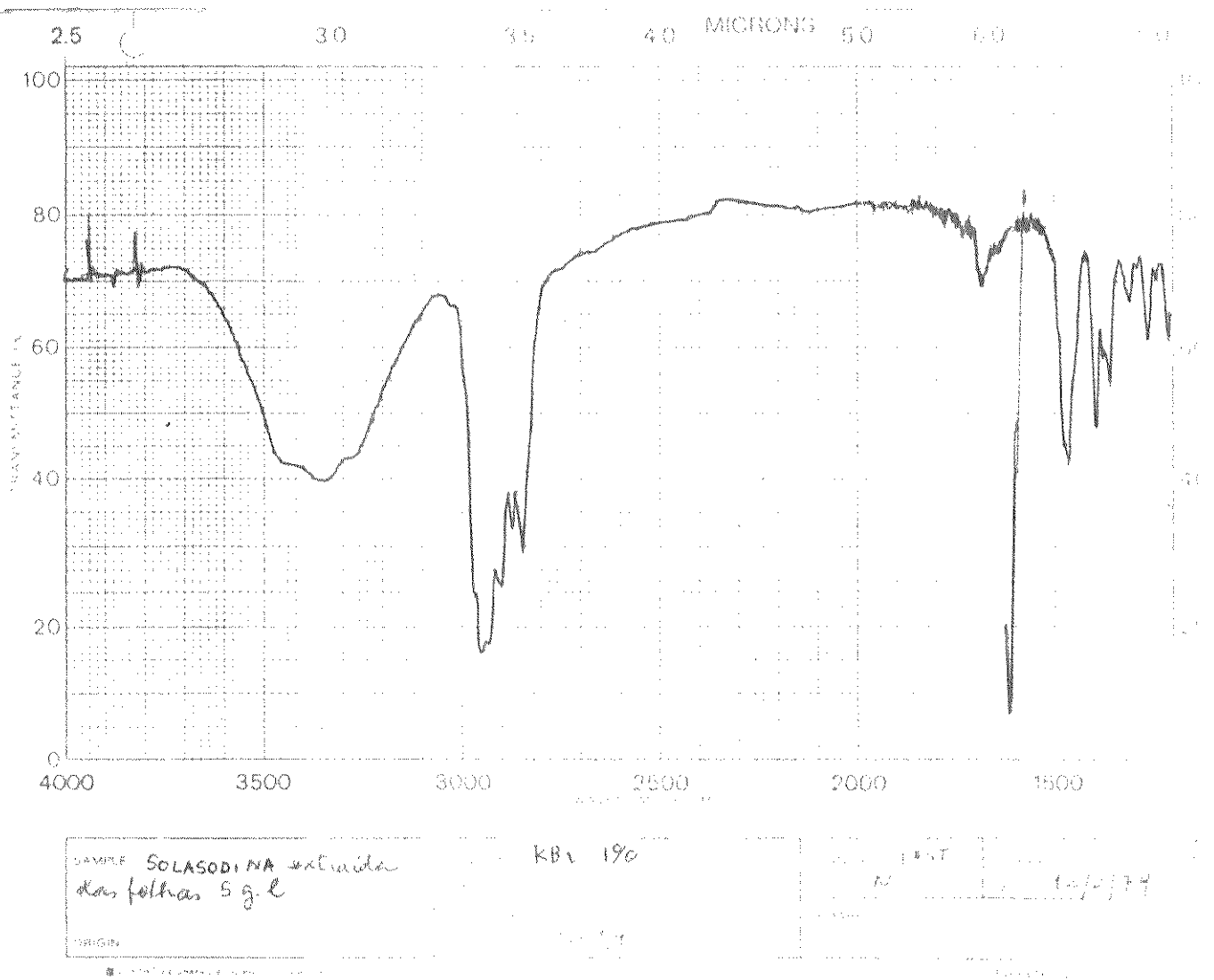


Fig. 4.61 - Espectro no infravermelho do ALC-3

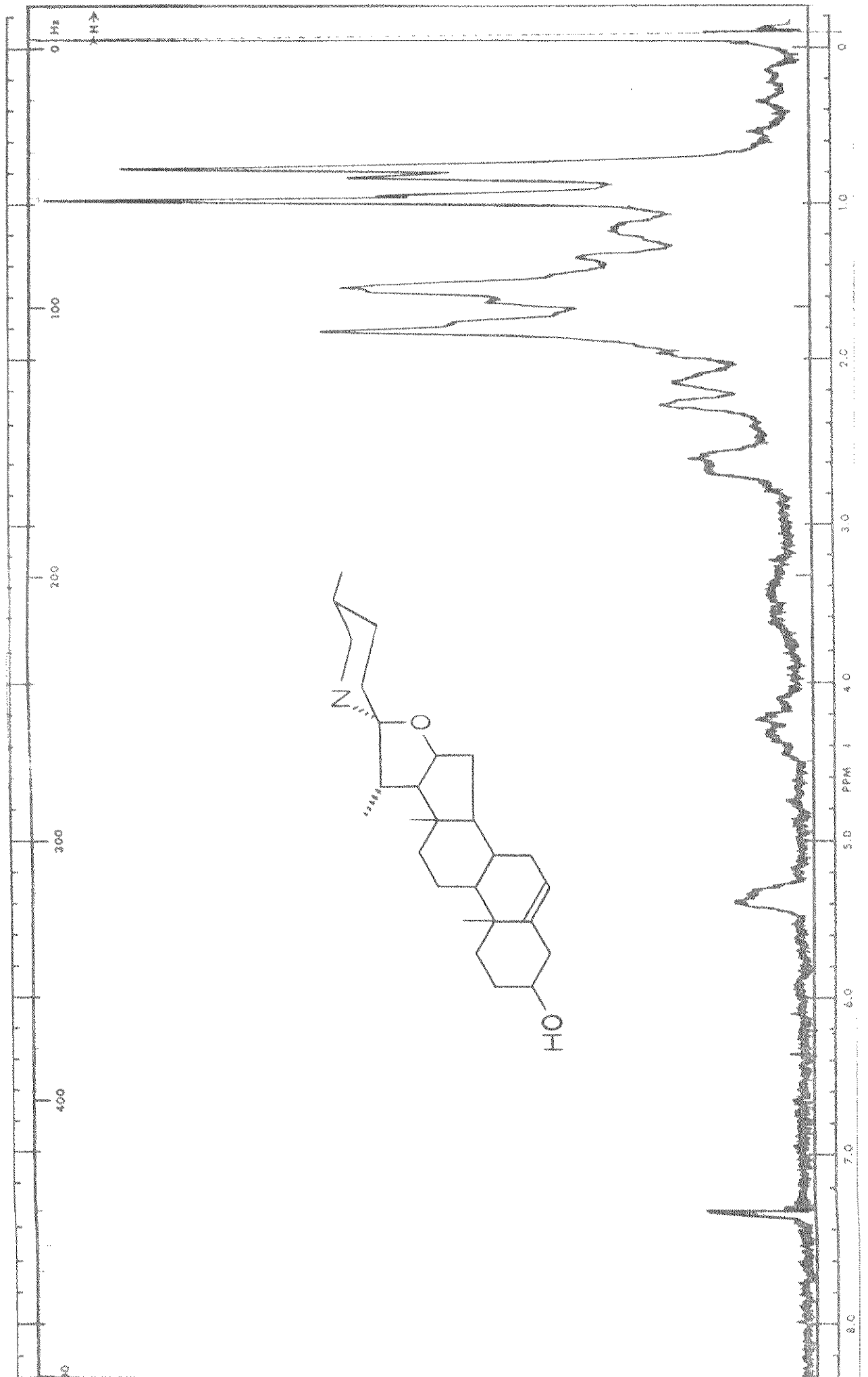


Fig. 4.62 - Espectro de R.M.N. de H^1 do ALC-3

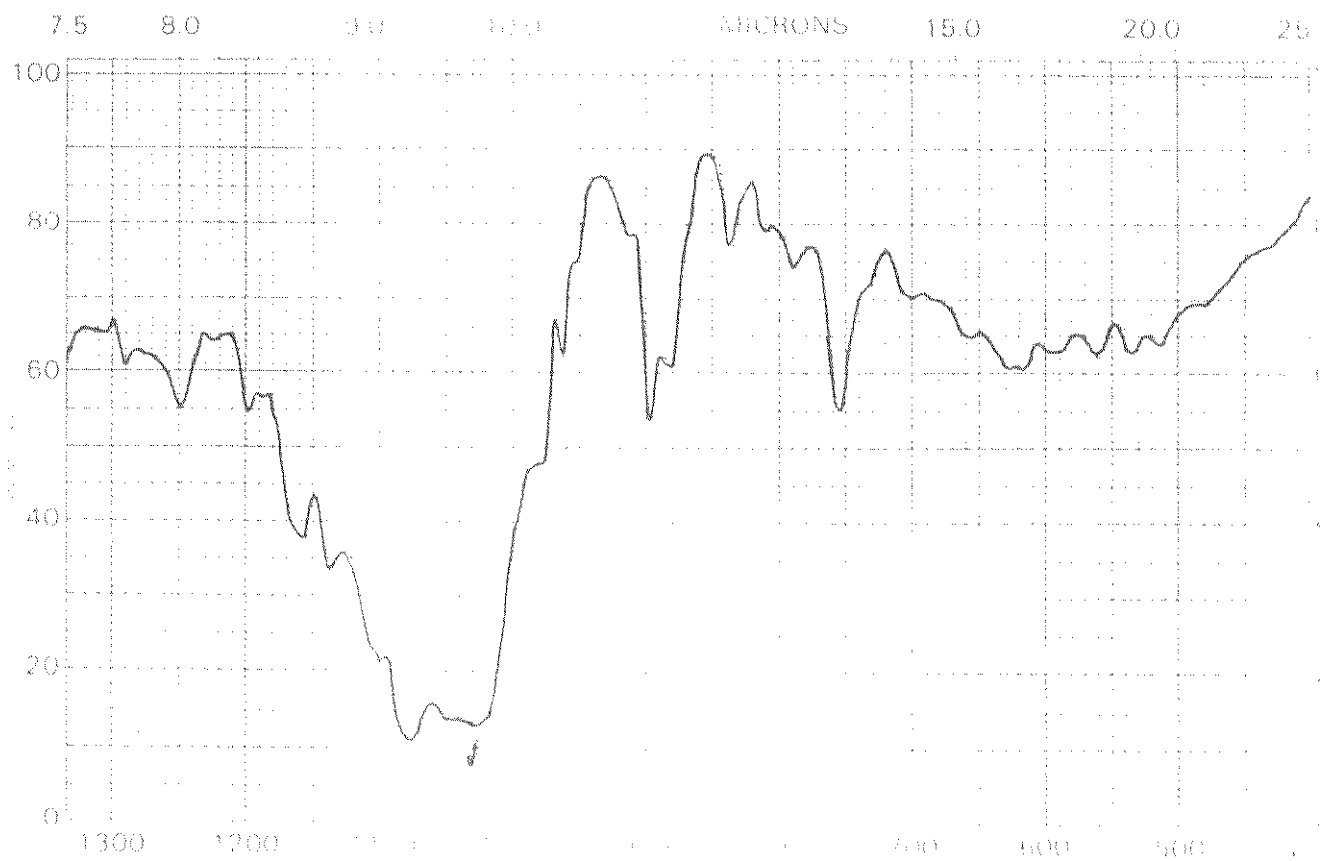
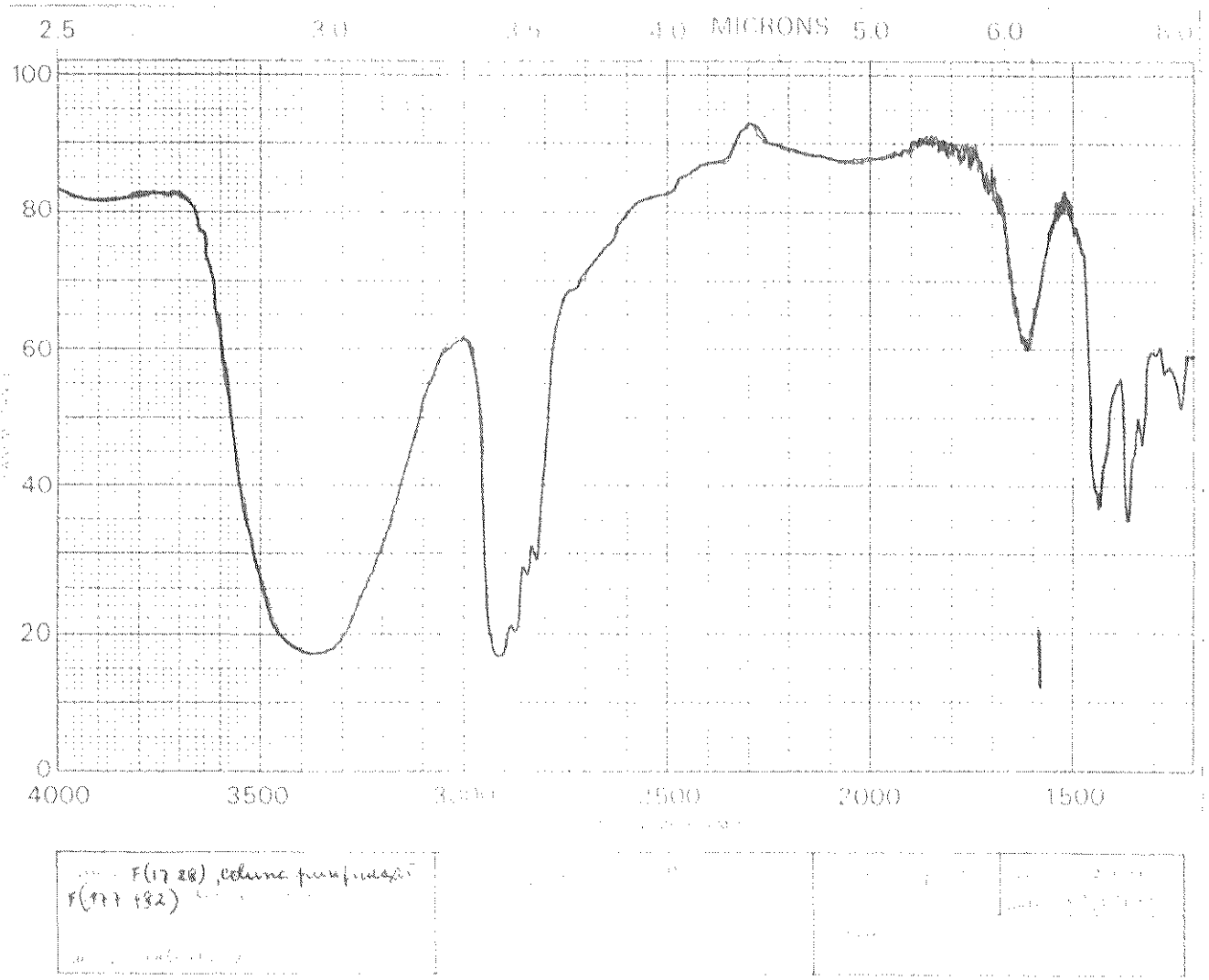


Fig. 4.63 - Espectro no infravermelho do ALC-4

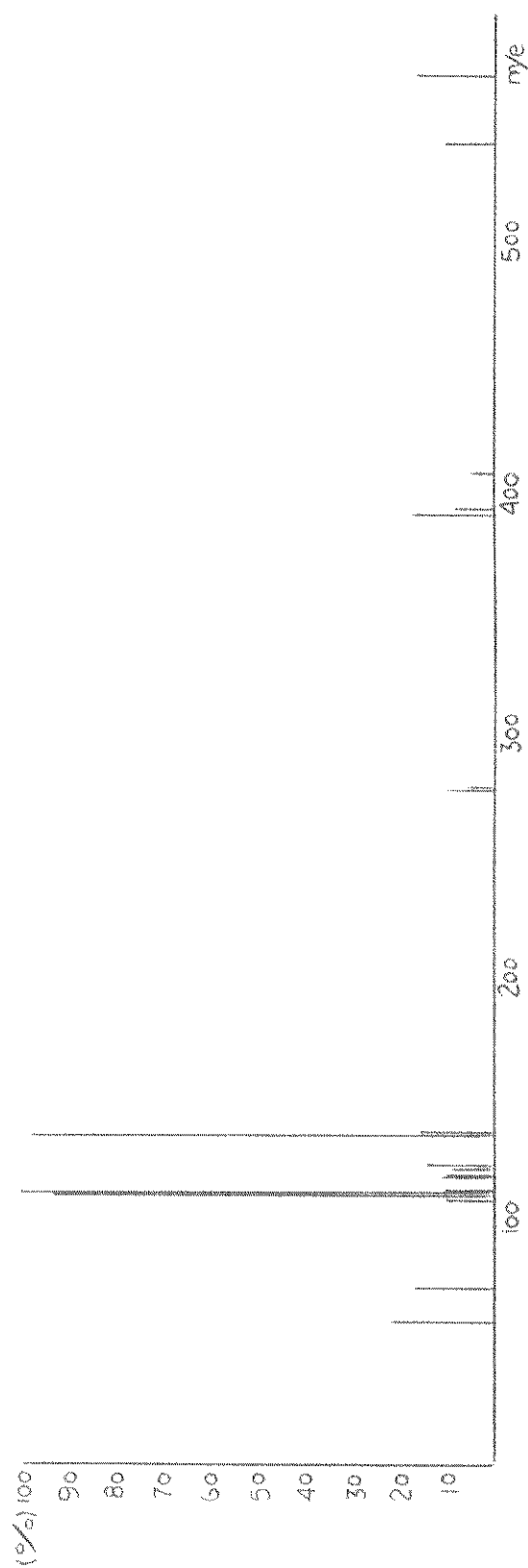


Fig. 4.64 - Espectro de massas do ALC-4

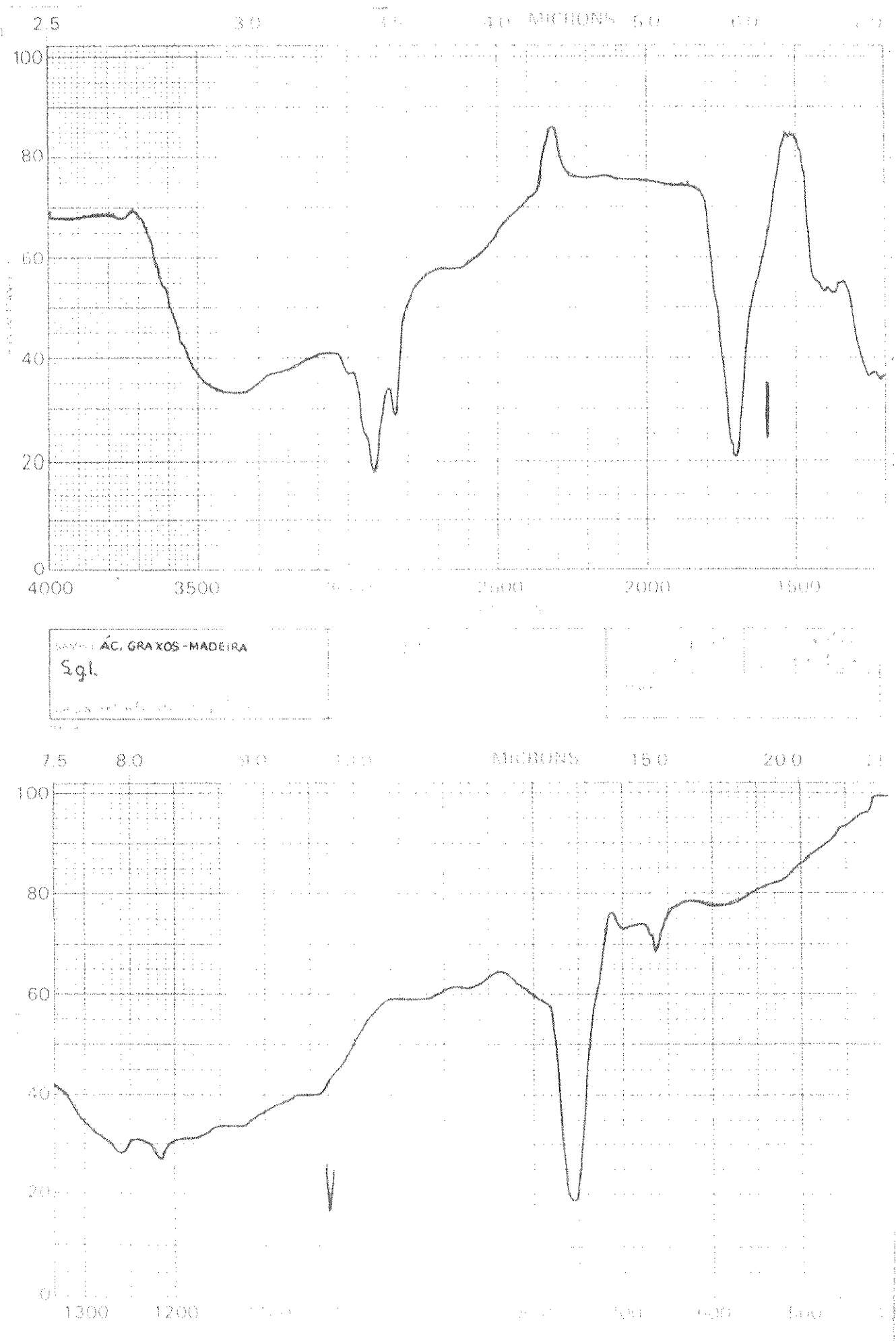


Fig. 4.65 - Espectro no infravermelho do MSM-1

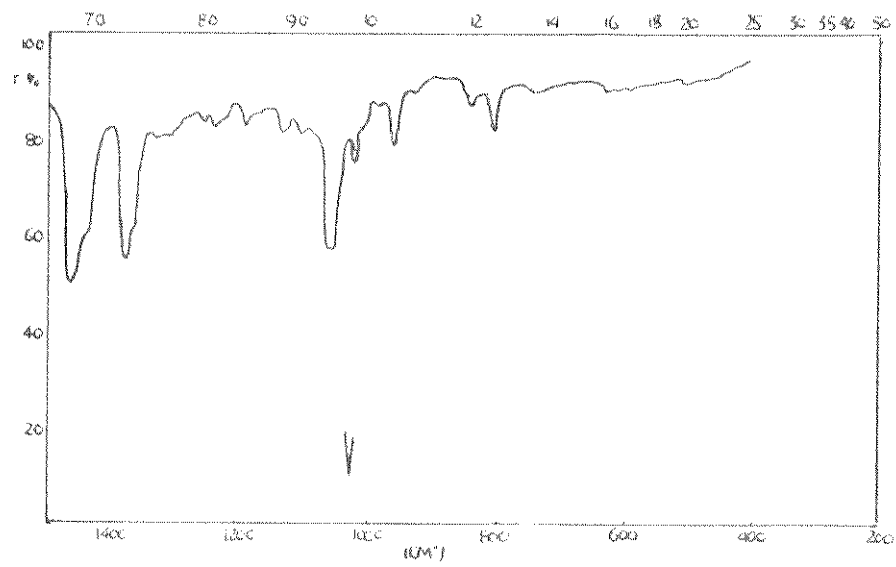
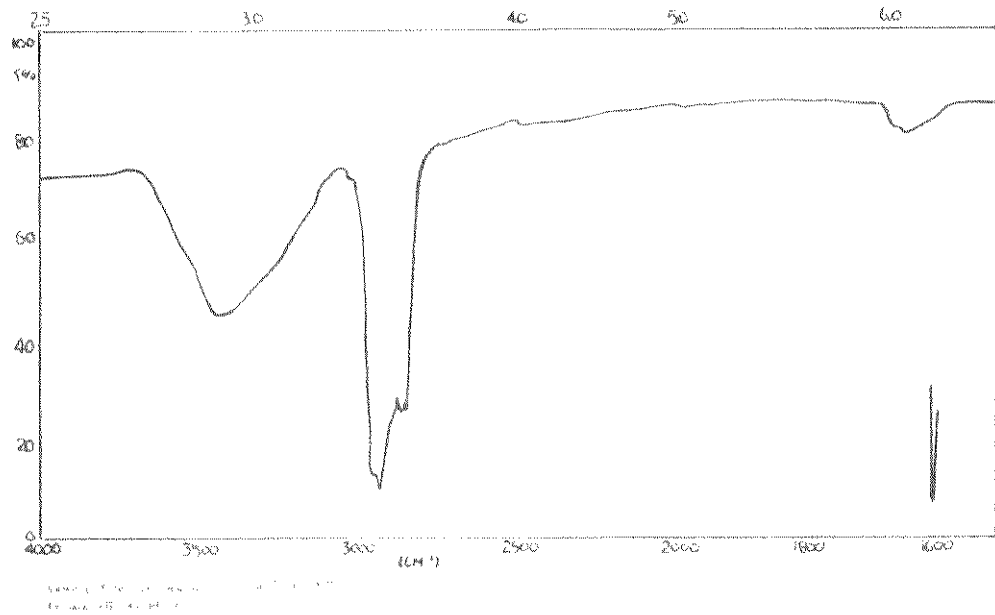


Fig. 4.66 - Espectro no infravermelho do SIT-B

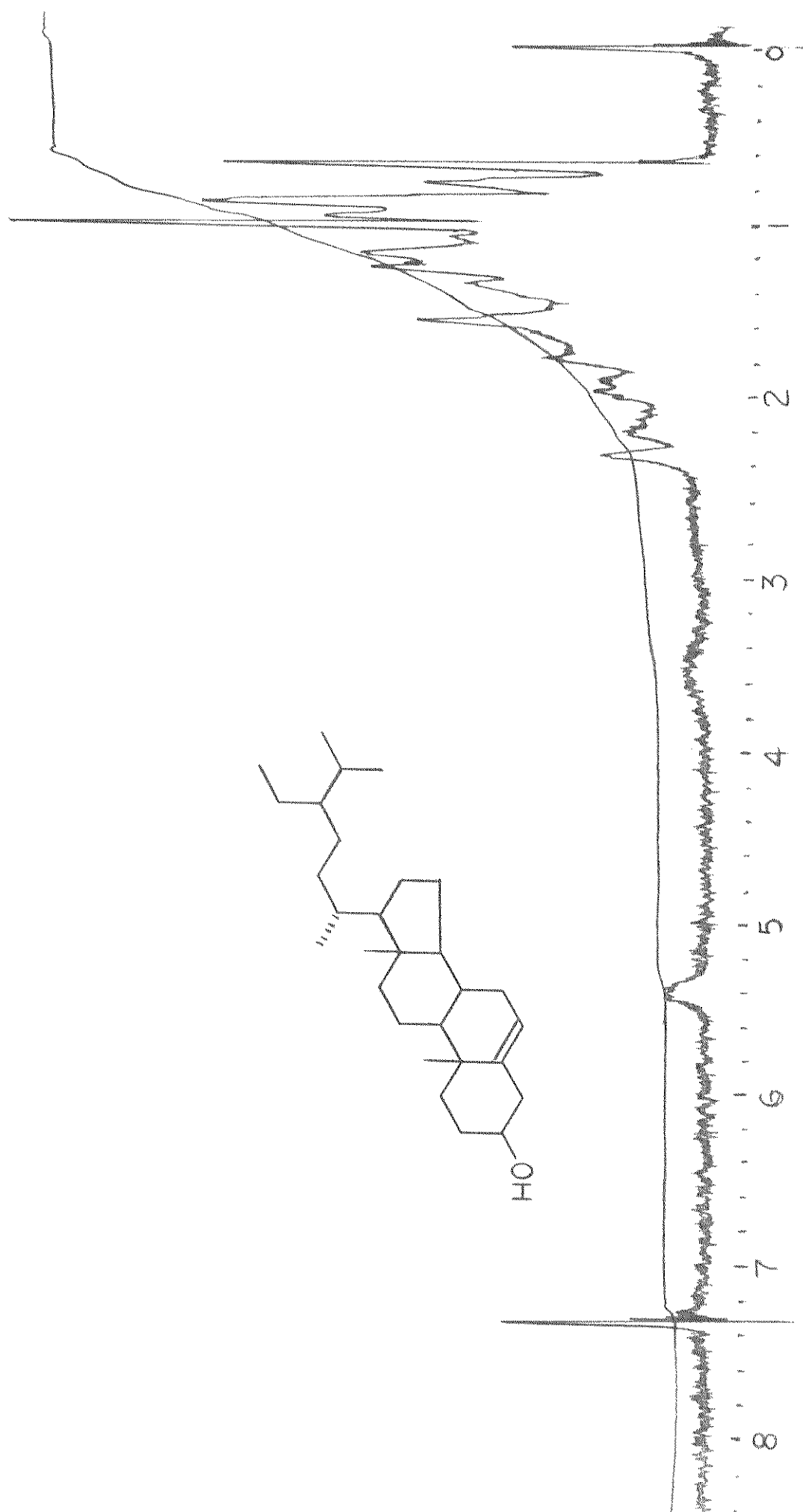


Fig. 4.67 - Espectro de R.M.N. de H^1 do SIT-B

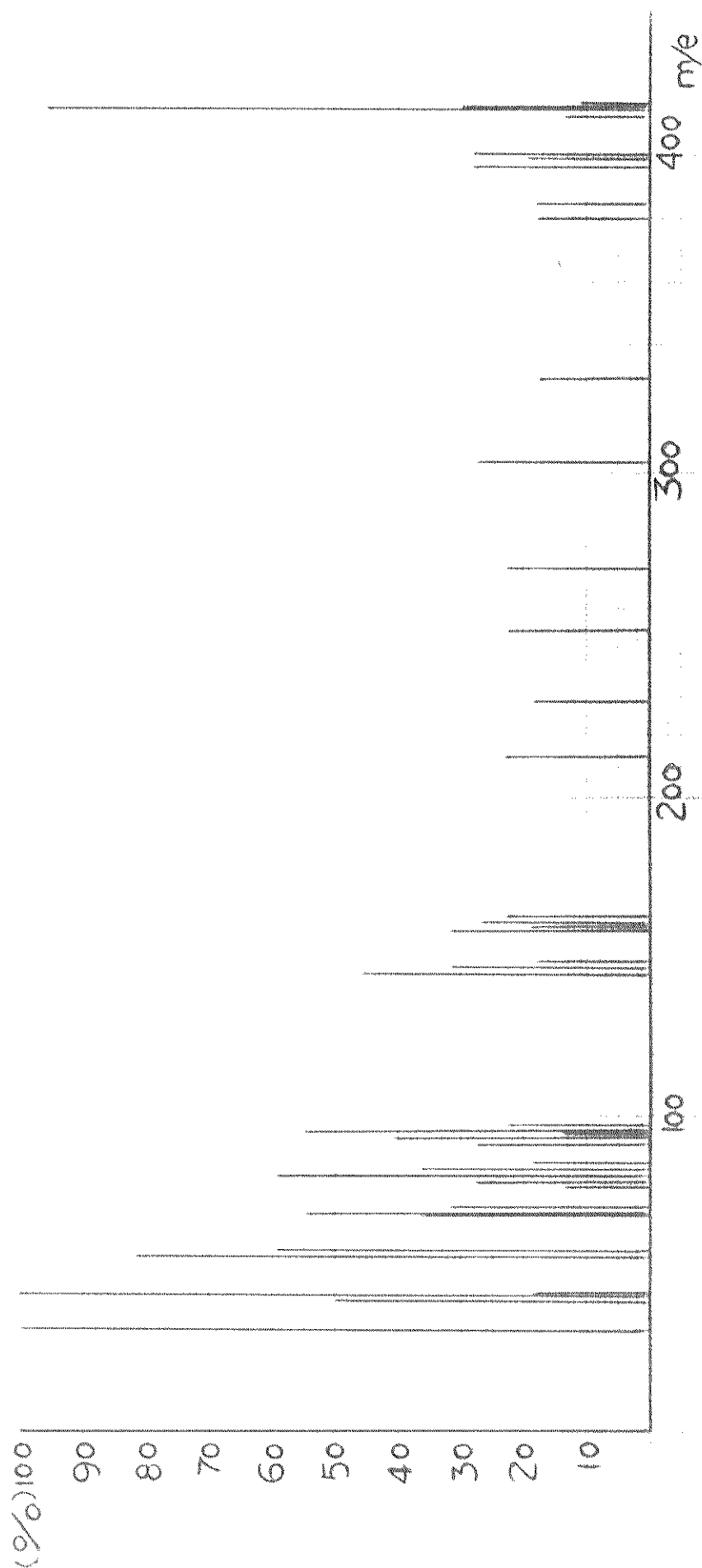
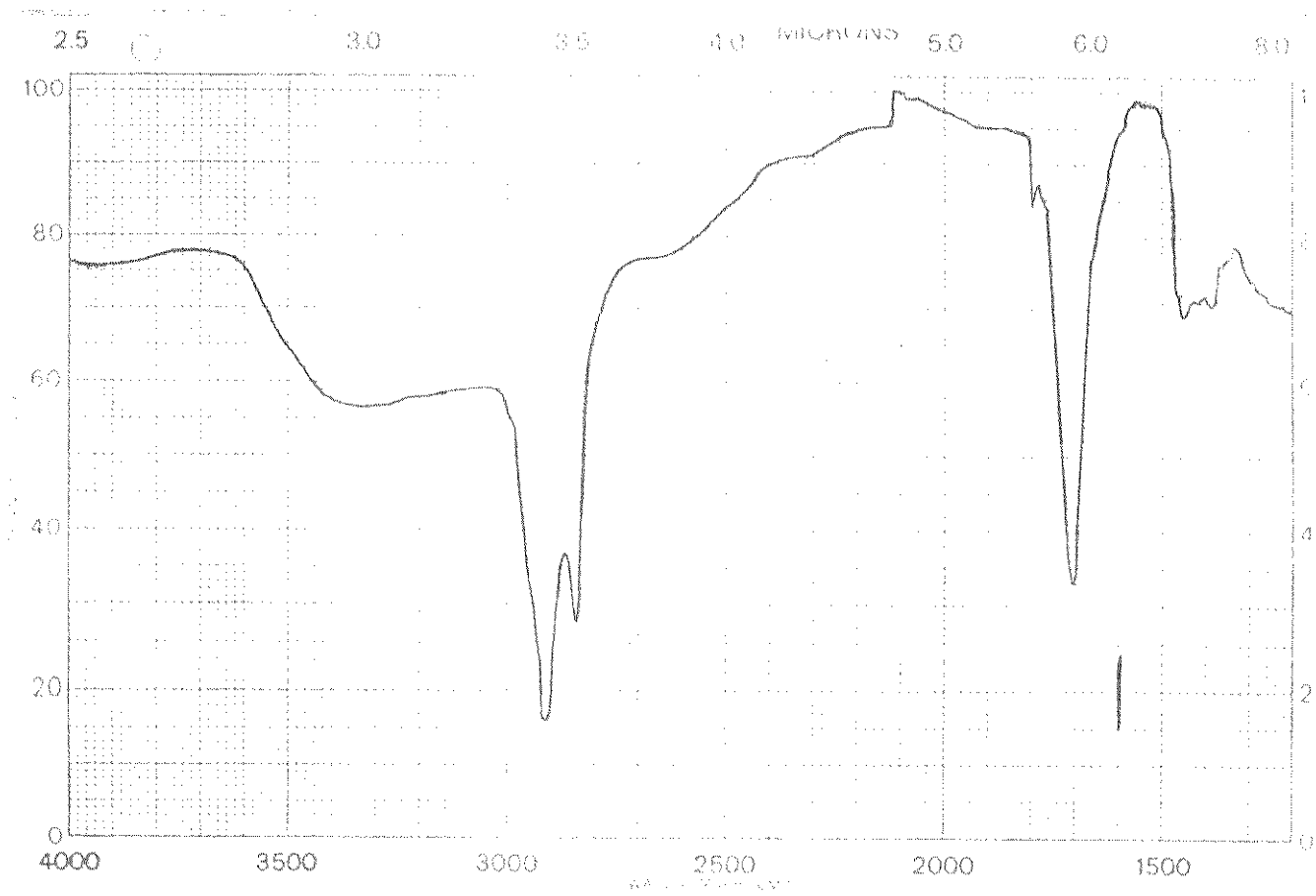


Fig. 4.68 - Espectro de massas do SIT-B



SAMPLE <i>Material saponificável do fruto (de graxa) - 5 g l.</i>	ANALYST	LABORATORY <i>fast</i>	OPERATOR <i>...</i>
ORIGIN	REMARKS		

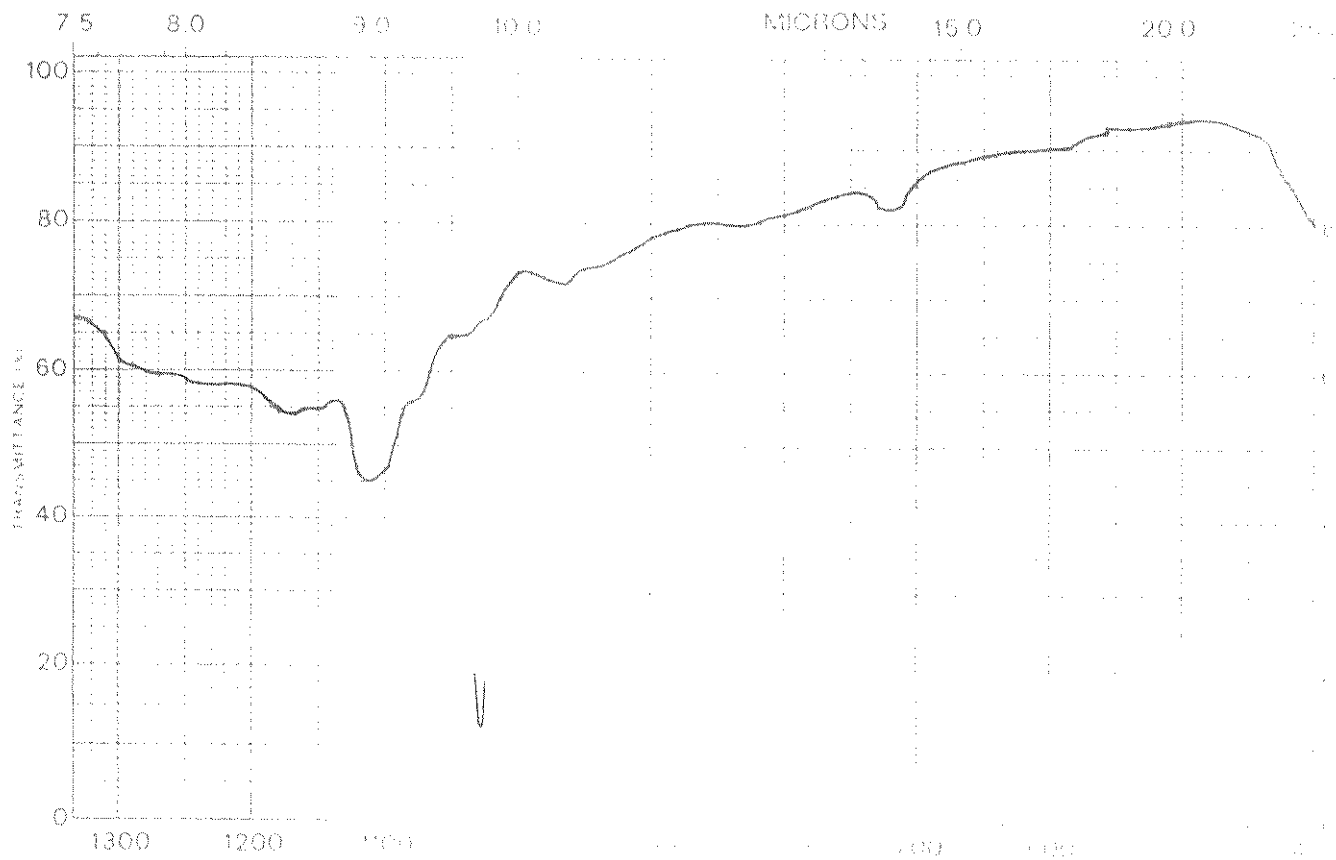
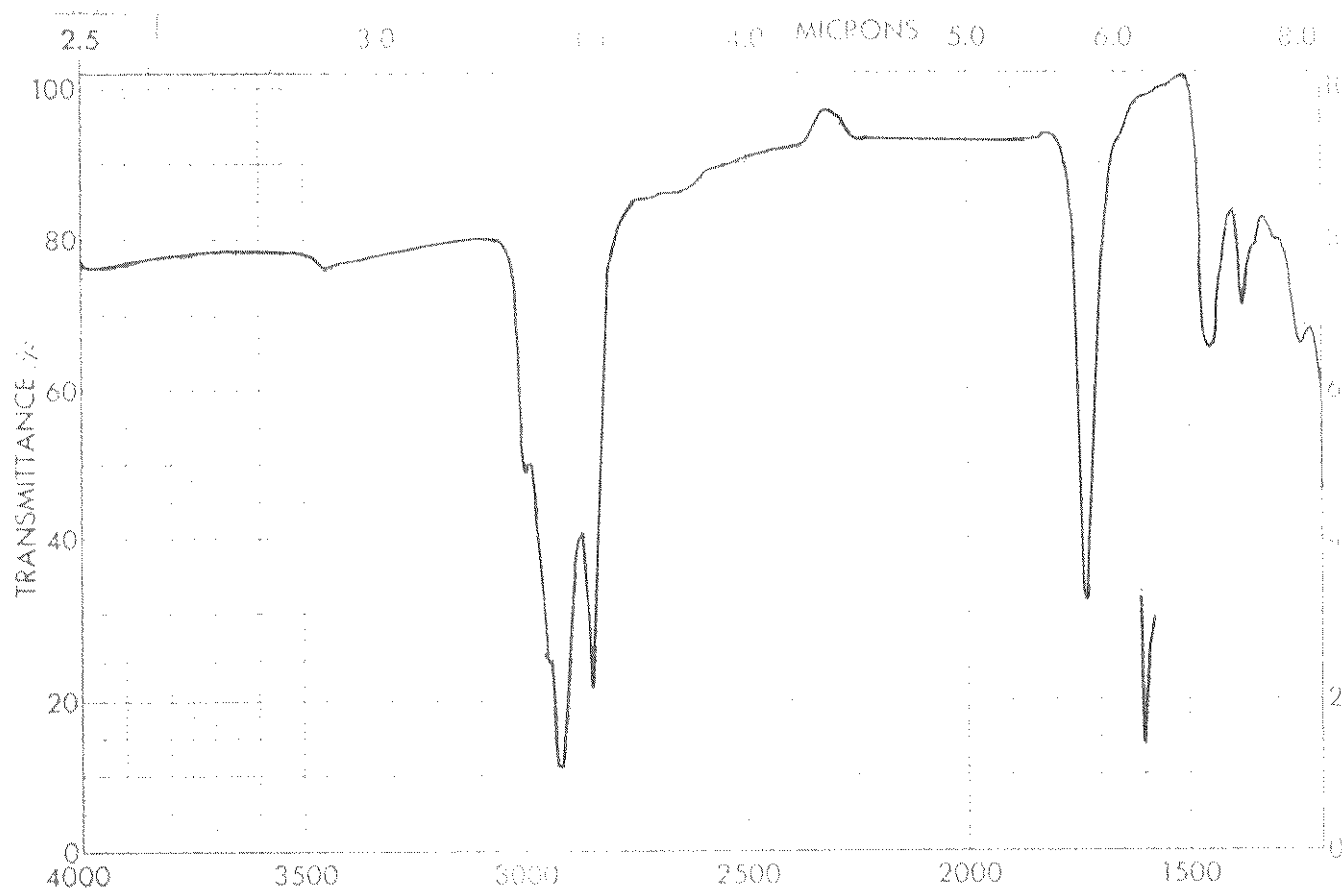


Fig. 4.69 - Espectro e infravermelho do MSFR-1



SAMPLE *F(14) coluna MNSFR (20% a/n)*
5 g.e
 ORIGIN *extrato de laranja*
 SOLVENT *álcool*

PART NO. 117 1203

PLATE NO. *fast* OPERATOR *...*
M DATE *11/1/50*
 REPROD.

PERKIN ELMER

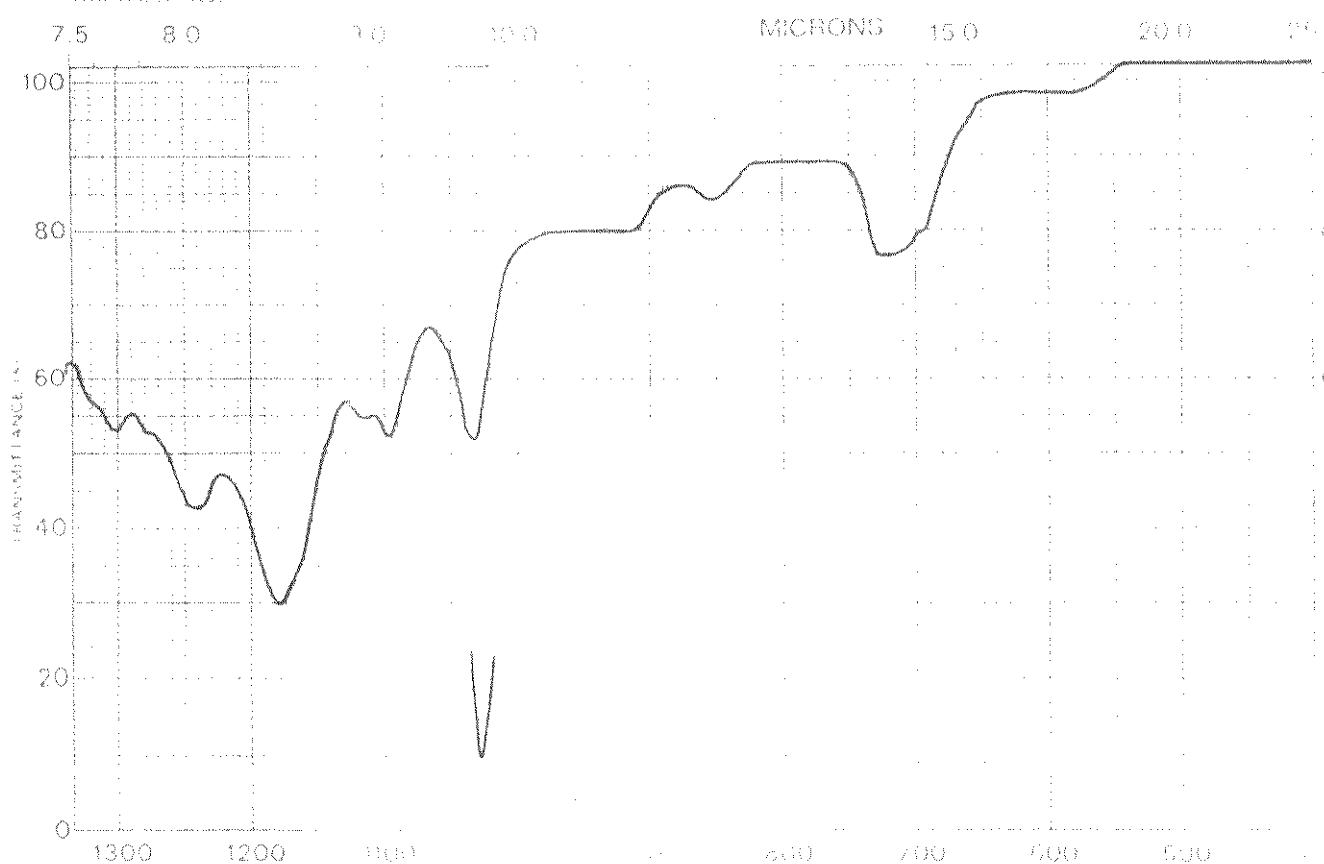


Fig. 4.70 - Espectro de infravermelho do MNSFR-1

RESUMO

A partir do método de extração otimizado aplicado separadamente para folhas, madeira e frutos do Solanum granuloso-leprosum (Dunal), Solanaceae, obtivemos os extratos básicos e os extratos neutros.

Os extratos básicos forneceram a solasodina como principal constituinte alcaloidal ao lado de solaso-3,5-dieno, β -glicosídeo-solasodina e traços de um alcaloide não identificado.

Do material não saponificável do extrato neutro das folhas, isolamos uma mistura de hidrocarbonetos saturados de cadeia longa, solanesol, lanosterol, 3β -hidroxi- 5α -lanosta-8,24-dieno-7-ona e um novo triterpeno tetracíclico para o qual sugerimos a estrutura 3β , 16β -diidroxi- 5α -lanosta-8,24-dieno-11-ona, com base no estudo comparativo do espectro de R.M.N. de H^1 de seu acetato com o daqueles de alguns compostos lanostânicos conhecidos preparados por nós, (acetato de diidrolanosterol; 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8-eno-7-ona; 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8-eno-7,11-diona; 3β -acetoxi- 5α -lanosta-9(11)-eno-7-ona; 3β -acetoxi- 5α -lanosta-9 β ,11 β -epóxido-7-ona; 3β ,11 β -diidroxi- 5α -lanosta-8-eno-7-ona; 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8-eno-7-ona-11 β -ol; 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8-eno-11-ona-7 β -ol).

Provamos definitivamente que um dos triterpenos isolados é o 3β -hidroxi- 5α -lanosta-8,24-dieno-7-ona comparando o espectro de R.M.N. de H^1 do seu acetato com o de 3β -acetoxi- 5α -lanosta-8-eno-7-ona.

Do material não saponificável da madeira e dos frutos isolamos β -sitosterol e éster de cadeia longa respectivamente.

O material saponificável tanto dos frutos como da madeira forneceu ácidos esteárico e palmítico.

SUMMARY

From the optimized extraction method applied separately to the leaves, wood and fruits of *Solanum granuloso-leprosum* (Dunal), Solanaceae, we obtained the basic and the neutral extracts.

The basic extracts afforded solasodine as the main alkaloidal constituent of the plant, in addition to solaso-3,5-diene, β -glycoside-solasodine and traces of an unidentified alkaloid.

From the non-saponified material of the neutral extracts of the leaves we isolated: a mixture of long chain saturated hydrocarbons; solanesol; lanosterol; 3 β -hydroxy-5 α -lanosta-8,24-diene-7-one and a new lanosterol derivative for which we suggest the structure 3 β ,16 β -dihydroxy-5 α -lanosta-8,24-diene-11-one based on the comparative study of its H^1 N.M.R. spectrum with those of some known lanostane compounds prepared by us (dihydrolanosterol acetate; 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-8-ene-7-ona; 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-8-ene-7,11-diene; 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-9(11)-ene-7-ona; 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-9 β ,11 β -epoxide-7-ona; 3 β ,11 β -dihydroxy-5 α -lanosta-8-ene-7-ona; 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-8-ene-7-ona-11 β -ol; 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-8-ene-11-one-7 β -ol).

We proved definitively that one triterpene is 3 β -hydroxy-5 α -lanosta-8,24-diene-7-one comparing its acetate H^1 N.M.R. spectrum with that of 3 β -acetoxy-5 α -lanosta-8-ene-7-one.

From the non-saponified material of the neutral extracts of the wood and the fruits we isolated β -sitosterol and long chain ester respectively.

The saponified material from the neutral extracts of the fruits and the leaves, both afforded palmitic and stearic acids.

SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

S.g.l.	Solanum granuloso-leprosum
CCD	Cromatografia de camada delgada
Rf	Distância percorrida pela mancha/distância percorrida pelo solvente
δ	Deslocamento químico em ppm
m/e	Relação massa/carga
GC-MS	Cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massa
Jae,ee	Constante de acoplamento entre próton axial-equatorial e equatorial-equatorial
t.a.	Temperatura ambiente
DFL	Desacoplamento em faixa larga
FDFf	Frequência de desacoplamento fora de faixa
ppm	Parte por milhão
Ac	Acetato
Py	Piridina
reag.	Reagente
DMSO	Dimetilsulfóxido
s,d,t	Sinal simples, dubleto, tripleto
dd,	Duplo dubleto, multipleteo
$\varnothing_i$	Diâmetro interno
~	Aproximadamente
U.V.	Ultravioleta
I.V.	Infravermelho
E.M.	Espectro de massas
P	Pressão
R.O.	Rotação ótica
Dest.	Destilação
c.g.l.	Cromatografia gás-líquido

BIBLIOGRAFIA

1. SATO, Yoshio; MILLER, H.K.; MOSETTIG, Erich - Degradation of solasodine. J. Am. Chem. Soc. 73, 5009 (1951).
2. SATO, Yoshio, IKEKAWA, Nobuo; MOSETTIG, Erich - The Chemistry of the spiroaminoketal side chain of solasodine and tomatidine, I. J. Org. Chem. 25, 183 (1960).
3. SATO, Yoshio; KATZ, A.; MOSETTIG, E. - Degradation of tomatidine. J. Am. Chem. Soc. 74, 538-39 (1952).
4. KUHN, R.; LOW, I.; TRISCHMANN, H. - Abban von tomatidin zum tigogeninlacton. Ber. 85, 416 (1952).
5. MANSKE, R.; SCHREIBER, K. - The alkaloids (1968), vol. X. Academic Press, New York.
6. MOOKHERJEE, Sipra; MATHEW, Rebecca - Diosgenin from Solanum Species. J. Indian Chem. Soc. 46(8), 749-50 (1969).
7. MAITI, P.C.; MATHEW, Rebecca - Rich sources of solasodine. Curr. Sci. 36(5), 126 (1967).
8. PANINA, V.V.; MADAEVA, O.S. - Quantitative determination of the content of diosgenin in samples of Solanum laciniatum from different zones of growth in the U.S.S.R. Khim.-Farm. Zh 1(5), 37-8 (1967).
9. ISMAILOV, N.M.; ASLANOV, S.M. - Content and formation of glycoalkaloids of Solanum laciniatum in Azerbaidzhan. Dokl. Akad. Nauk Azerb. SSR 23(1), 47-50 (1967).
10. ANDREEVA, L.G.; DEMINA, L.G.; ROMANCHUK, M.A. - Use of ion-exchangers for separating Solanum laciniatum glycoalkaloids. Khim.-Farm. Zh 3(11), 42-6 (1969).
11. BITE, Pal; SHABANA, M.; YOKAY, Laszlo; PONGRACZNE STERK, Lili - Solanum Glycosides, IV. Solaradixine, Magy. Kem. Foly 75(12), 544-8 (1969).
12. BITE, Pal; MAGO-KARACSONY, Erzsehet; RETTEGI, Tividan; USKERT, A. - Solanum glycosides, V. Determination of the solasodine content. Magy. Kem. Foly 76(2), 90-2 (1970).
13. ANDREEVA, L.G.; ROMANCHUK, M.A. - Ion-exchange method for determining solasodine in Solanum laciniatum. Khim. - Farm. Zh 4(1), 43-5 (1970).
14. PASICH, Bozena; KOWALEWSKI, Zdzislau; SKIBICKI, Yan - Spectropho

- tometric method of assay of solasodine in the leaves of *Solanum laciniatum* - Dirs. Pharm. Pharmacol. 22(1), 41-7 (1970).
15. TUKALO, E.A.; TSARIK, G.N. - Accelerated method of the quantitative determination of potato glycoalkaloids. Khim. - Farm. Zh 5(4), 48-9 (1971).
 16. ANANICHEV, A.V.; LOSHKAREV, P.M. - Methods of determining solasodine. Inst. Lek. Aromat. Rast. 15, 487-99 (1969).
 17. VARADI, E. Lsapo; HAMAI, J. - The changes of solasodine content in the "industrial shoots" of *Solanum laciniatum*. Acta. Agron. Acad. Sci. Hung. 15(3-4), 403-8 (1966).
 18. MURAV'EVA, V.I.; KONDRATURKO, P.T.; BRINK, N.P. - Dynamics of solasodine level in *Solanum laciniatum*. Inst. Lek. Aromat. Rast. 15, 477-86 (1969).
 19. BOGUMILA, Wacław-Rozkrutowa. - Content of solasodine during the growth period in *Solanum laciniatum*. Diss. Pharm. Pharmacol. 18(6), 595-9 (1966).
 20. SEARLE, G.D. - Isolation of Solanum Alkaloids from Solanum plants. Searle, G.D. & Co. Brit. 1, 108, 656, april 3 (1968).
 21. LOKEN, Bjarte; SOLLINS, Irving, V. - Solanum alkaloids and sapogenins from plants. Phytogen Products, Inc. U.S. 3, 510, 400 (1970).
 22. JOHNSON, David; SATO, Y. - Steroids from *Solanum polyadenium* and *Solanum bulbocastanum*. Advan. Front. Plant. Sci. 22, 163-70(1969).
 23. UZAREWICZ, Arkadiusz; MIERZWA, Z. - Terpenoids of *Solanum chacoense*. Roczn. Chem. 45(3), 367-72, (1971).
 24. UZAREWICZ, Arkadiusz; MIERZWA, Z. - Terpenoids of *Solanum chacoense*, II. Free alcohols occurring in leaves of *Solanum chacoense*. Roczn. Chem. 45(5), 915-8 (1971).
 25. SATO, Yoshio; SATO, Yoshihiro; KANEKO, Hidehiko; BIANCHI, Ennio; KATAOKA, H. - Alkaloids from *Solanum congestiflorum*. J. Org. Chem. 34(6), 1577-82 (1969).
 26. RIZH, Abdel F.; ABOV-ZIED, E.N. - Steroidal constituents of *Solanum cyananthum*. Planta Med. 18(4), 347-9 (1970).
 27. WILLUHN, Guenter; KUN-ANAKE, A. - Chemical differentiation in *Solanum dulcamara*. Isolation of tomatidine from roots of the

- of the solasodine race. *Planta Med.* 18(4), 354-60 (1970).
28. ROENSCH, H.; SCHREIBER, K. - Solanum alkaloids. γ_1 e δ -solamarines, two new tomatidenol glycosides from *Solanum dulcamara*. *Phytochemistry* 5(6), 1227-33 (1966).
 29. ROENSCH, H.; SCHREIBER, K. - Solanum alkaloids. Isolation of tomatidine from the bittersweet nightshade [*S. dulcamara*]. *Naturwissenschaften* 55(4), 182 (1968).
 30. MATHE, I. - Variability of the alkaloid content in *S. dulcamara*. *J. Herba Pol.* 16 (3), 278-85 (1970).
 31. ROZUMEK, K.E.; SANDER, H. - Chemical differentiation of *S. dulcamara* varieties. *Arch. Pharm.* 300(4), 316-21 (1967).
 32. VALOVIES, N.A.; BARTOK, Mrs. - Determination of solasodine, soladulcidine, and tomatidenol in *S. dulcamara*. *Antal. Herba Hung.* 8(3), 107-11 (1969).
 33. TUKALO, E.A.; IVANCHENKO, B.T. - Glycoside alkaloids from *S. dulcamara*. *Khim. Prir. Soldin.* 7(2), 207-8 (1971).
 34. WILLUHN, G. - Steroidal alkaloid content of *S. dulcamara* fruit at various stages of development. *Geol. Biol.* 3, 97-103 (1966).
 35. WILLUHN, G. - Chemical differentiation of *S. dulcamara*, III. Steroid alkaloid content of the solasodine strain. *Planta Med.* 16(4), 462-6 (1968).
 36. WILLUHN, G. - Chemical differentiation of *S. dulcamara*, I. Genetic control of steroidal alkaloid yield. *Planta Med.* 14(4), 408-20 (1966).
 37. ROZUMEK, K.E. - Steroid base of bittersweet nightshade, *Solanum dulcamara*. *Naturwissenschaften* 56(6), 334-5 (1969).
 38. TUKALO, E.A.; IVANCHENKO, B.T. - Steroid sapogenins of *S. dulcamara*. *Tr. Vitebsk. Gos. Med. Inst.* 13, 53-6 (1969).
 39. WILLUHN, G. - Chemical differentiation of *S. dulcamara*, II. Steroid levels in fruit of tomatidenol and soladulcidine chemotypes at various stages of development. *Planta Med.* 15(1), 58-73 (1967).
 40. WILLUHN, G. - Chemical differentiation in *S. dulcamara*, IV. Transport of steroid alkaloids from the leaves into the fruit. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 82(10-11), 657-63 (1969).

41. MAKLEIT, Sandor; BOGNAR, R.; MATHE, I. - Steroid alkaloids, XII. *S. dulcamara* strains. J. Herba Hung. 6(1), 13-16 (1967).
42. CHOLNOKY, L.; SZABOLCS, J. - The structure of lycoxanthin and lycophyll. Tetrahedron lett. 16, 1931-3 (1968).
43. APPEL, Herbert H.; WILDGRUBER J. - Diosgenin in *S. elaeagnifolium*, a solanaceous shrub. Scientia (Valparaiso) 36(138), 112-4 (1969).
44. APPEL, Herbert H.; BRANES, B.L. - *Solanum elaeagnifolium*, a new source of solasodine, Scientia (Valparaiso, Chile) 34(133), 27-31 (1967).
45. GUPTA, D.R.; GARG, S.K. - Chemical examination of the seeds of *S. ferox*. J. Indian Chem. Soc. 45(8), 739-40 (1968).
46. GOVINDACHARI, Tuticorin R.; JADHAV, S.J.; JOSHI, Balwant S. ; KAMAT, Venkatesh N.; MOHAMED, P.A.; PARTHASARATHY, P.C.; PATANKAR, S.J.; PRAKASH, D.; RANE, D.F.; VISWANATHAN, N. - Investigation of some Indian plants, IV. Indian J. Chem. 7(3), 308-10 (1969).
47. BITE, Pal; SHABANA, M.M.; JOKAY, Laszlo; PONGRACZNE STERK, L. - *Solanum glycosides*, IV. Solaradixine. Magy. Kem. Foly. 75(12), 544-8 (1969).
48. USUBILLAGA, Alfredo; SEELKOPF, Carl; KARLE, Isabella L.; DABY, John W., WITKOP, B. - Structure of solaphyllidine, a novel 4-oxosteroidal alkaloid. J. Amer. Chem. Soc. 92(3), 700-1 (1970).
49. ALI, AMJAD; KHAN, Shahbaz; KAPADIA, Z. - Alkaloids of *S. nicaum*. Pakistan J. Sci. Ind. Res. 10(1), 81-2 (1967).
50. BITE, Pal; SHABANA, M.M. - *Solanum glycosides*, III. Dioscine. Magy. Kem. Foly. 75(8), 343-7 (1969).
51. BITE, Pal; SHABANA, M.M. - Saponins of *S. species*, I. Dioscin. Herba Hung. 8(1-2), 121-5 (1969).
52. MAITI, Pranahes, C.; MOOKHERJEA, Sipra. - Solakhasianin, a new alkaloidal saponin from *S. khasianum*. Indian J. Chem. 6(9), 547-8 (1968).
53. SAINI, A.D. - Alkaloidal content of *S. khasianum*. Curr. Sci. 35(23), 600 (1966).
54. BAKSHI, V.M.; HAMIED, Y.K. - Isolation of solasodine from *S.*

- khasianum grown in Bombay. Indian J. Pharm. 33(3), 54-5 (1971).
55. ASLANOV, S.M. - Glycoalkaloids and saponins of *S. kieseritzkii*. Khim. Prir. Soedin. 6(6), 776-7 (1970).
 56. MOTIDOME, M.; LEEKINING, M.E.; GOTTLIEB, O. - Chemistry of Brazilian Solanaceae, I. Presence of solamargine and solasonine in jua and lobeira. R. An. Acad. Brasil. Cienc. 42 (supl.), 375-6 (1970).
 57. FAYES, M.B.E.; SALEH, A.A. - Constituents of local plants, XII. The steroidal alkaloids of *S. macrocarpon* unripe fruits. Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 55(3), 303-9 (1968).
 58. SEELKOPF, C. - Alkaloid glycosids of *S. mammosum* fruit. Arch. Pharm. 301(2), 111-14 (1968).
 59. CRUZ, Jacome Wilson; PROANO, B.O. - Solasodine from *S. marginatum* fruit. Politecnica 2(1), 155-248 (1970).
 60. SEN, David N.; SHARMA, Keshav D.; CHAWAN, D.D. - Paper chromatographia studies of anthocyanins in some arid zone plants. Curr. Sci. 39(17), 401-2 (1970).
 61. VARSHNEY, Ishwar P.; DUBE, N.K. - Chemical investigation of *S. nigrum* berries. J. Indian Chem. Soc. 47(7), 717-18 (1970).
 62. WADAW-ROZKRUTOWA, B. - Steroidal alkaloids of *S. nigrum*. Diss. Pharm. Pharmacol. 20(3), 311-18 (1968).
 63. PKHEIDZE, T.A.; KERESLIDZE, E.V.; KACHUKHASHVILI, T.N.; KEMERTELIDZE, E.P. - Steroid sapogenins of some georgian plants. Biol. Khim. (1970).
 64. SCHREIBER, K.; RIPPERGER, H. - Solanum alkaloids, LXXVIII. Jurubine, a novel type of steroidal saponin with (25S)-3 β -amino-5 α -furastane-22 α , 26-diol O(26)- β -D-glucopyranoside structure from *S. paniculatum*. Tetrahedron lett. 48, 5997-6002 (1966).
 65. CAMBIAGHI, Stefano; DRADI, Emanuele; LONGO, R. - Structure and absolute configuration of new alkaloids from *S. paniculatum*. Ann. Chim. 61(1), 99-111 (1971).
 66. LEEKINING, Marta E.; ROCCA, Maria A. - Chemical study of the fruits of *S. paniculatum*. Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara 2(2), 299-300 (1968).
 67. RIPPERGER, Helmut; SCHREIBER, K. - Structure of paniculonin A

- and B, two new spirostan glycosides from *Solanum paniculatum*. Chem. Ber. 101(7), 2450-8 (1968).
68. RIPPERGER, Helmut; BUDZIKIEWICZ, Herbert; SCHREIBER, K. - *Solanum* alkaloids, LXXIX. Jurubin, a nitrogen-containing steroid saponin with a new type of structure from *S. paniculatum*. Structure of paniculidine. Chem. Ber. 100(5), 1725-40 (1967).
 69. CEVALLOS, Susana; MARTINOD, Pablo - Azasteroids of *S. pseudoquina*. Politecnica 1(3), 133-49 (1969).
 70. VAGUJFALVI, Dezso; HELD, Gyoergyi; TETENY, P. - Plant steroids, III. Thin-layer chromatography of basic and neutral sapogenins in *Solanum* species. Bot. Kozlem. 53(2), 125-36 (1966).
 71. ANGENOT, L. - Spectrophotometric and chromatographia study of flavone and coumarin derivatives of *Solanum schimperianum*. Plant Med. Phytother. 3(4), 243-54 (1969).
 72. KONDRATENKO, P.T.; KIBAL'CHICH, P.N. - Steroid containing species of *Solanum* and their distribution in Australia. Rast. Resur. 5(1), 11-22 (1969).
 73. SAENZ, Jose A.; NASSAR, M. - Phytochemical screening of Costa Rica plants: alkaloid analysis, III. Rev. Biol. Trop. Univ. Costa Rica 15(1), 195-202 (1967).
 74. SETH, D.K.; CHATTERJEE, R. - Solasodine glycoalkaloids from *S. species*. J. Inst. Chem., Calcutta 41, 194-9 (1968).
 75. SCHREIBER, Klaus; RIPPERGER, H. - *Solanum* alkaloids, LXXXIV. Isolation of jurubine, neochlorogenin, and paniculogenin from *Solanum torvum*. Kulturpflanze 15, 199-204 (1968).
 76. MORALES MENDEZ, Antonio; CAZARES, R., ROMO, J.- Components of *Solanum torvum*. Rev. Latino amer.Quim. 1(1), 1-6 (1970).
 77. FAYEZ, M.B.E.; SALEH, A.A. - Constituents of local plants, XIII. The steroidal constituents of *Solanum torvum*. Planta Med. 15 (4), 430-3 (1967).
 78. PURUSHOTHAMAN, K.K.; SARADAMBAL, S.; NARAYANASWAMI, V. Chemical examination of *Solanum trilobatum*. Aust. J. Chem. 22(7), 1569-70 (1969).
 79. KUPCHAN, S. Morris; DAVIES, Alan P.; BARBOUTIS, S.J.; SCHNOES, H.K.; BURLINGAME, A.L. - The isolation, structural elucidation, and synthesis of solapalmitine and solapalmitenine, two

- novel alkaloid tumor inhibitors from *Solanum tripartitum*. J. Amer. Chem. Soc. 89(22), 5718-19 (1967).
80. KUPCHAN, S. Morris; DAVIES, Alan P.; BARBOUTIS, S.J.; SCHNOES, Heinrich K.; BURLINGAME, A.L. - Tumor inhibitors, XLIII. Solapalmitine and solapalmitenine, two novel alkaloid tumor inhibitors from *Solanum tripartitum*. J. Org. Chem. 34(12), 3888-93 (1969).
 81. GONZALEZ, A.G.; GARCIA, Francisco; FREIRE BARREIRA, R.; SUAREZ LOPEZ, E. - New sources of steroidal sapogenins, IX. *Solanum verperitilio*. An. Quim. 67(4), 433-9 (1971).
 82. FAYES, M.B.E.; SALEH, A.A. - Constituents of local plants, X. The steroidal alkaloids of *Solanum wrightii* Benth. Phytochemistry 6(3), 433-6 (1967).
 83. HEBLE, M.R.; NARAYANASWAMI, S.; CHADHA, M.S. - Diosgenin and β -sitosterol: isolation from *Solanum xanthocarpum* tissue cultures. Science 161(3846), 1145 (1968).
 84. HEBLE, M.R.; NARAYANASWAMI, S.; CHADHA, M.S. - Solasonine in tissue cultures of *Solanum xanthocarpum*. Naturwissenschaften 55(7), 350-1 (1968).
 85. HARDMAN, Roland; WILLIAMS, T.G. - Titrimetric assay of solasodine, a spirosolane of commercial importance from *Solanum laciniatum*. J. Pharm. Pharmacol. 23(suppl), (1971).
 86. KHAFAFY, S.M.; AMIN, S.W.; HASSANIN, R. - Micromethod for the determination of solasodine in *Solanum* species. Planta Med. 21(2), 139-43 (1972).
 87. CIONZA, Emil; VELESCU, Gheorghe; NICHIFORESCU, Ecaterina A.; MASCOV, Valentin; ANDRONESCU, Vera; ROCCA, L. - Solasodine. Rom. 52, 912, Appl. 09 oct (1968).
 88. BARANYAI, M.; SZABOLCS, J. - 3,4-Dehydrolycopen-16-al. Minor carotenoid in the ripe berries of *Solanum dulcamara*. Acta Chim. (Budapest) 71(3), 381-4 (1972).
 89. SETH, D.K. - *Solanum* glycoalkaloids from some *Solanum* species. J. Inst. Chem., Calcutta 43, 116 (1971).
 90. GUERREIRO, Eduardo; GIORDANO, Oscar S.; KAVKA, Juan; D'ARCANGELO, Antonio T. - Isolation of steroid compounds from *Solanum elaeagnifolium*. An. Quim. 67(7-8), 789-94 (1971).

91. VARSHNEY, I.P.; KHAN, Aftab A. - Chemical examination of fruits and stems of *Solanum indicum*. Indian J. Pharm. 33(3), 49-50 (1971).
92. KHANNA, K.R.; MURTY, A.S. - Effect of fruit stage and maturity on the glucoalkaloid content in *Solanum khasianum*. Planta Med. 21(2), 182-7 (1972).
93. ASLANOV, S.M. - Glycoalkaloids of *Solanum nigrum*. Khim. Prir. Soedin. 5, 674 (1971).
94. LEEKNING, Marta E. - Chemical study of the berries of *Solanum sisymbriifolium*. Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara 4(2), 347-8 (1970).
95. LEEKNING, Marta E.; ROCCA, Maria A. - Chemical study of *Solanum variable*. Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara 4(2), 343-4 (1970).
96. GONZALEZ, A.G.; GARCIA, Francisco, C.; FREIRE BARREIRA, R.; SUAREZ LOPEZ, E. - New sources of steroidal sapogenins, IX. *Solanum vespertilio*. Farm. Nueva 37(417), 905-8, 911-14 (1971).
97. BEISLER, J.A.; SATO, Y. - Chemistry of carpesterol, a novel sterol from *Solanum xanthocarpum*. J. Org. Chem. 36(25), 3946-50 (1971).
98. SEARLE, G.D. - Extraction of *Solanum* glycoalkaloids. Searle, G.D. & Co. Brit. 1, 284, 644, 02 Aug (1972), US Appl. 10, 994, 12 feb. (1972).
99. BITE, Pal; SHABANA, Marruan M. - *Solanum* glycosides, VIII. Solashabanine and solaradimine. Acta Chim. (Budapest) 73(3), 361-2 (1972).
100. BITE, Pal; SHABANA, Marruan M. - *Solanum* type glycosides, VIII. Solasabanine and solaradinene. Magy. Kem. Foly. 78(4), 221-2 (1972).
101. PANINA, V.V.; PIMENOVA, T.B. - Determination of solasodine in *Solanum aviculare* herb. Khim. - Farm. Zh. 6(4), 46-7 (1972).
102. ZAITSCHEK, D.V.; SEGAL, R. - Solasodine content of *Solanum incanum*. Lloydia 35(2), 192 (1972).
103. VERBIST, J.F.; MONNET, R.; BIARD, J.F. - *Solanum pseudocapsi-*

- cum. Preliminary study. Plant. Med. Phytother. 6(1), 25-31 (1972).
104. ASLANOV, S.M. - Glycoalkaloids of *Solanum transcaucasicum*. Khim. Prir. Soedin. 8(1), 132-3 (1972).
 105. MOURSI, M.A.; AHMED, S.S. - Seasonal changes in glycoalkaloid and carbohydrate content in fruits of *Solanum laciniatum*. Pharmazie 28(1), 58-61 (1973).
 106. MURRAY, R.D.H.; MARTIN, A.; STRIDE, George O. - Identification of the volatile phagostimulants in *Solanum campylacanthum* for *Epilachna fulvosignata*. J. Insect Physiol. 18(2), 2369 (1972).
 107. KOESTENS, J.; WILLUHN, G. - Alkanes of *S. dulcamara*, Arch. Pharm. 305(12), 944-9 (1972).
 108. URZUA, A.; CASSELS, B.K. - Solasodine glycosides and diosgenin from *Solanum pinnatum*. Phytochemistry 11(12), 3548-9 (1972).
 109. GONZALEZ, A.G.; FREIRE BARREIRA, R.; GARCIA, Francisco C.; SALAZAR ROCIO, J.A.; SUAREZ LOPEZ, E. - New sources of steroidal sapogenins, XXI. Anosmagenin and 15-dehydro-14 β -anosmagenin two new spirostane sapogenins from *Solanum vespertilio*. An. Quim. 69(1), 131-3 (1973)
 110. GONZALEZ, Antonio; FREIRE BARREIRA, R.; GARCIA, F.C.; SALAZAR, R. - New natural source of steroidal sapogenins, XVII. An. Quim. 68(7-8), 1063-4 (1972).
 111. TUPKARI, S.V.; SAOJI, A.N.; DESHMUKH, V.K. - Phytochemical study of *Solanum xanthocarpum*. Planta Med. 22(2), 184-7 (1972).
 112. KUSANO, G.; BEISLER, J.; SATO, Y. - Steroidal constituents of *Solanum xanthocarpum*. Phytochemistry 12(2), 397-401 (1973).
 113. SALEH, M. - Steroidal constituents of *Solanum arundo*. Planta Med. 23(4), 377-8 (1973).
 114. MOURSI, M.A.; AHMED, S.S. - Seasonal changes in glycoalkaloid and carbohydrate contents in leaves of *Solanum laciniatum*. Pharmazie 28(1), 62-4 (1973).
 115. DROST, K.; DROZDZYNSKA, M.; KOWALEWSKI, Z.; OSTROWSKA, G.; ZURAWSKI, P. - Determination of total glycoalkaloids isolated from *Solanum laciniatum*. Herba Pol. 19(1), 5-14 (1973).
 116. USUBILLAGA, A.; PAREDES, A.; MARTINOD, P.; HIDALGO, J. - Alka-

- loids of *Solanum ecuadorensis*. *Planta Med.* 23(3), 286-9 (1973).
117. KAUL, B.L.; ZUTSHI, U. - *Solanum elaeagnifolium*, a potential source of solasodine. *Indian J. Pharm.* 35(3), 94-6 (1973).
 118. MOLA, J.L.; HESS, V.; DOEPKE, W. - Alkaloids from *Solanum* species. *Pharmazie* 28(5), 337 (1973).
 119. GIORDANO, O.S.; KAVKA, J.; GIANELLO, J.C.; D'ARCANGELO, A. T. - Steroidal constituents of *Solanum juvenale*, *S. euacanthum*, and *S. pyretrifolium*. *An. Asoc. Quim. Argent.* 61(2), 47-50 (1973).
 120. USUBILLAGA, A. - Structure of solamaladine, a new alkaloid from *Solanum hypomalacophyllum*. *Rev. Latino amer. Quim.* 4(1) 32-4 (1973).
 121. BOSE, B.; GHOSH, C.; ROY, D. - Chemical investigation of berries of *S. nigrum*. *Inst. Chem., Calcutta* 44, 181-2 (1972).
 122. SALEH, M.; AHMED, S.S. - Steroidal constituents of *Solanum pseudomoeum*. *Qual. Plant. Mater. Veg.* 22(2), 133-6 (1973).
 123. GIORDANO, O.S.; KAVKA, J.; GIANELLO, J.C.; D'ARCANGELO, A. T. - Steroidal constituents of *Solanum juvenale*, *S. euacanthum*, and *S. pyretrifolium*. *An. Asoc. Quim. Argent.* 61(2), 47-50 (1973).
 124. GONZALEZ, A.G.; FREIRE, R.; GARCIA, F.C.; SALAZAR, J.A.; SUAREZ, E. - New sources of steroid sapogenins, XIX. 20S-hidroxyvespertilin, a new steroid lactone from *Solanum vespertilio*. *Tetrahedron* 29(12), 1731-4 (1973).
 125. KOESTENS, J.; WILLUHN, G. - Sterol glycosides and fatty acid esters of sterol glycosides in the leaves of *Solanum dulcamara*. *Planta Med.* 24(3), 278-85 (1973).
 126. KAVKA, J.; GUERREIRO, U.; GIANELLO, J.C.; GIORDANO, O.S.; D'ARCANGELO, A.T. - Steroidal glycoalkaloids in four species of the genus *Solanum* (Solanaceae). *An. Quim.* 69(7-8), 929-32 (1973).
 127. JUVARKAR, J. - Structure of chelocardin. Antimicrobial agents from *Solanum pseudocapsicum*. *Diss. Abstr. Int. B* 34(5), 2120 (1973).
 128. BREMNER, J.B.; CANNON, J.R.; JOSHI, K.R. - Isolation of methylhomohygrinate from *Solanum sturtianum* (Solanaceae). *Aust. J. Chem.* 26(11), 2559-61 (1973).
 129. BANERJEE, S.K.; GEORGE, V.; KAPOOR, R. - Chemical investigation

- of the berries of *Solanum aethiopicum*. *Planta Med.* 25(3), 216-8 (1974).
130. SZABO, Antal; PATTHY, Miklos; MIZSEI, A. - Assay of the alkaloid content of *Solanum laciniatum* and its processing intermediates. *Acta Pharm. Hung.* 44(suppl) 47-53 (1974).
 131. SALEH, A.A. - Steroid alkaloid and sapogenin constituents of *Solanum laciniatum*. *Planta Med.* 26(1), 40-4 (1974).
 132. SALEH, A.A. - Steroid alkaloid and sapogenin constituents of *Solanum laciniatum* grown in Egypt. *Pharmazie* 29(5), 346-7 (1974).
 133. KUZNETSOVA, G.K.; KUZNETSOVA, L.I.; GOLOVKINA, G.I. - Effectiveness of preplanting light - impulse irradiation in increasing the productivity of several medicinal plants. *Dokl. Vses. Nauch-Tekh. Konf. Vozobnovlyaemym Istochnikam Energ.*, 1 st 1972, 3, 159-65 (1972).
 134. MATHE, I. - Data to the European area of the chemical taxa of *Solanum dulcamara*. *Acta Bot.* 19(1-4), 441-51 (1973).
 135. NOVRUZOV, E.N.; ASLANOV, S.M. - Glycoside alkaloids of *Solanum persicum*. *Khim. Priro. Soedin.* 10(1), 109 (1974).
 136. WILLUHN, G.; KOESTENS, J. - *Solanum dulcamara*. Triterpenoids and sterols from the petroleum ether extract of the leaves. *J. Planta Med.* 25(2), 115-37 (1974).
 137. KULKARNI, M.R.; PENDSE, G.S. - Glycoalkaloid contents in leaf, stem and root of *Solanum elaeagnifolium*. *Planta Med.* 25(3), 249-52 (1974).
 138. BHATNAGAR, J.K.; PURI, RAVINDER, K. - *Solanum platanifolium*, a new source of solasodine. *Lloydia* 37(2), 318-19 (1974).
 139. BIARD, J.F.; VERBIST, J.F.; MONNET, R. - *Solanum pseudocapsicum*, II. Flavonoid glycosides. *Plant. Med. Phytother.* 8(1), 63-71 (1974).
 140. GONZALEZ, A.; FREIRE BARREIRA, R.; GARCIA, F.C.; SALAZAR, R.J. A.; SUAREZ LOPES, E. - New natural sources of steroidal sapogenins, XXIV. Determination of the structures of anosmagenin and 15-dehydro-14 β -anosmagenin, two new spirostan sapogenins of *Solanum vespertilio*. *An. Quim.* 70(3), 250-3, (1974).
 141. MATHE, I. Jr.; MATHE, I. - Morella section of *Solanum*. *Acta Pharm. Hung.* 44, suppl., 19-25 (1974).

142. ROZANOV, L.S.; LAKOZA, M.I.; KONCHAT'EV, S.A. - Determination of the number of cascade reactions of carrying out the hydrolysis of glycoalkaloids of *Solanum laciniatum*. Khim. - Farm. Zh. 8(8), 26-9 (1974).
143. PANINA, V.V.; GORODETSKII, L.Sh.; DEM'YANOVA, G.M.; BABANOVA, A.V. - Improvement of solasodine production by direct hydrolysis of glycoalkaloids in the herb *Solanum lancinatum*. Khim. - Farm. Zh. 9(2), 34-5 (1975).
144. MATHE, I. Jr. - Alkaloid content in different organs (leaf, stem, fruit, root) of *Solanum dulcamara*. Bot. Kozl. 61(2), 133-9 (1974).
145. BITE, Pal; SHABANA, M.M. - *Solanum* glycosides, IX. *Solanum oleaceum*. Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 83(1), 91-4 (1974).
146. LIN, Mei-Chao; LIN, Tzong-Dann - Constituent of the rhizome of *Solanum incanum*. J.Chin.Chem.Soc. 22(2), 163-5 (1975).
147. PARIMOV, P.; BARUAH, R.N. - Chemical investigation of *Solanum khasianum* seed fat. J. Am. Oil Chem. Soc. 52(9), 357 (1975).
148. ASLANOV, S.M. - Glycoalkaloids and steroid sapogenins from *Solanum pseudopersicum*. Khim. Prir. Soedin. 11(2), 264-5(1975).
149. COUNE, C.; DENOEL, A. - Chromatographia study of *S. schimperiana* glycoalkaloids. Plat. Med. Phytother 9(1), 14-20 (1975).
150. MORALEZ-MENDEZ, A.; RIERA, C.; MORENO, L. - Components of *Solanum towarensense*. Rev. Fac. Farm., Univ. Los Andes 15, 133-45 (1974).
151. VERBIST, J.F.; MONNET, R. - Steroidal alkaloids of *Solanum xanthocarpum*. Plants grown in the region of Nantes, France. Plant. Med. Phytother. 8(4), 269-80 (1974).
152. VERBIST, J.F.; MONNET, R. - Steroidal alkaloids of *Solanum xanthocarpum*, I. Fruit from Nepal. Plant. Med. Phytother. 8(4), 263-8 (1974).
153. KUSANO, Genjiro; TAKEMOTO, Tsunematsu; BEISLER, John A.; SATO, Y. - Steroidal constituents of *Solanum xanthocarpum*. Phytochemistry 14(2), 529-32 (1975).
154. KARAWAYA, Mohamed S.; GHOURAB, Mohamed G.; EL-RAKHAWY, Faten H. - Estimation of glycoalkaloids as solasodine in *Solanum la-*

- laciniatum. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 58(3), 528-9 (1975).
155. LAKOZA, M.I.; ZELINSKAYA, L.G.; MIKHAILOVA, I.I.; ROZANOV, L. S. - Extration of glycoalkaloids from *Solanum laciniatum*. Khim. - Farm. Zh. 9(4), 24-7 (1975).
 156. LANCASTER, Jane E.; MANN, J.D.N.Z. - Changes in solasodine content during the development of *Solanum laciniatum*. J. Agric. Res. 18(2), 139-44 (1975).
 157. KATZ, Robert; AIMI, Norio; SATO, Y. - New steroidal glycoalkaloids from *Solanum congestiflorum*. Adv. Front. Plant Sci. 30, 63-6 (1975).
 158. HARDMAN, R.; WILLIAMS, T.G. - A titrimetric determination of solasodine for aqueous incubates of *Solanum* fruits. Planta Med. 29(1), 66-71 (1976).
 159. TIMOR, Carlos; PYATIN, B. - Isolation of solasodine from *Solanum laciniatum*, Ait. introduced in Cuba. Rev. Cubana Farm. 9(2), 103-14 (1975).
 160. PANINA, V.V.; BARASHKOV, S.G.; DEM'YANOVA, G.M.; SUKHAREVA, V.A. - Drying of *Solanum laciniatum* sap and preparation of solasodine from a dry extract. Khim. - Farm. Zh. 9(9), 58-60 (1975).
 161. COUNE, C.; DENOEL, A. - Phytochemical study of the Central African Solanaceae, I. Alkaloids of *Solanum dasyphyllum*. Planta Med. 28(2), 168-71 (1975).
 162. NOVRUZOV, E.N.; ASLANOV, S.M.; ISMAILOV, N.M.; IMANOVA, A.A. - Glycoalkaloid from *Solanum persicum*. Khim Prir. Soedin. 11(3), 434 (1975).
 163. WILLUHN, G.; KOESTENS, J. - Quantitative distribution of sterols and sterol derivatives in organs of *Solanum dulcamara*. Phytochemistry 14(9), 2055-8 (1975).
 164. WILLUHN, G.; LIEBAN, A. - Water - soluble complexes of sterols in leaves of *Solanum dulcamara*. Planta Med. 29(1), 63-5 (1976).
 165. USUBILLAGA, Alfredo, PAREDES, C.A.; MARTINOD, Pablo; HIDALGO, J. - Alkaloids of *Solanum ecuadorensis*. Politecnica 3(1), 107-110 (1973).
 166. DOEPKE, W.; HESS, U.; PADRON, G. - On the alkaloid and steroid sapogenin content of *Solanum globiferum*. Pharmazie 31(2), 133-4 (1976).

167. GONZALEZ, Antonio; GARCIA, C.F.; FREIRE, Raimundo; HERNANDEZ, R.; SALAZAR, J.A.; SUAREZ, E.; MORALES, A.; USUBILLAGA, A. - New sources of steroid sapogenins, 29. Andesgenin, a new steroid sapogenin from *Solanum hypomalacophyllum*. *Phytochemistry* 14(11), 2483-5 (1975).
168. HSU, Pan-Ming; TIEN, H. - Studies on the components of Formosan *Solanum* species. Part I. Alkaloids of *Solanum incanum*. T'ai-wan Yao Hsued Tsa Chih, 26(1-2), 28-30 (1974).
169. BRIGGS, Lindsay H.; CAMBIE, Richard C.; HYSLOP, Derek M. - *Solanum* alkaloids, XVII. Sugar unit of solamargine. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 23, 2455-7 (1975).
170. MAHATO, S.B.; SAIKIA, B.K.; SAHU, N.P.; CHAKRAVARTI, R.N. - An array method for estimation of solasodine of *Solanum* species. *J. Inst. Chem., Calcutta* 47, 237 (1975).
171. PURI, Ravinder K.; BHATNAGAR, J.K. - Glycoalkaloids of *Solanum platanifolium*. *Phytochemistry* 14(9), 2096 (1975).
172. PURI, R.K.; BHATNAGAR, J.K. - Study of the seed oil of *Solanum platanifolium* Sims. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 53(4), 168 (1976).
173. CORDOVA, R.A. - Fatty acids in fruits residues and industrial residues. *Bol. Soc. Quim. Peru* 40(4), 227-41 (1974).
174. DOEPKE, N.; NOGUEIRAS, Clara; HESS, U. - Steroid alkaloid and saponin contents of *solanum torvum*. *Pharmazie* 30(11), 755 (1975).
175. KUSANO, Genjiro; TAKEMOTO, Tsunematsu; BEISTER, J.A.; Johnson, D.F. - Norcarpesterol and a related sterol from *Solanum xanthocarpum*. *Phytochemistry* 14(7), 1679-80 (1975).
176. PANINA, V.V.; GLYZINA, G.S.; AVILOVA, O.P.; PRASHCHUROVICH, A. K.; KOGAIN, L.M. - Method for determining the solasodine content in *Solanum aviculare*. *Khim. - Farm. Zh* 10(1), 135-41 (1976).
177. OSMAN, Stanley F.; HERB, Samuel F.; FITZPATRICK, Thomas J.; SINDEN, Stephen L. - Commersonine, a new glycoalkaloid from two *Solanum* species. *Phytochemistry* 15(6), 1065-7 (1976).
178. WILLUHN, G.; KOESTENS, J. - Comparative study of sterines from leaves of three steroid alkaloid clones *Solanum dulcamara*. *J. Herba Hung.* 15(1), 19-22 (1976).
179. BEAMAN-MBAYA, U.; MUHAMMED, S.I. - Antibiotic action of Sola-

num incanum Linnaeus. Antimicrob. Agents Chemother. 9(6), 920-4 (1976).

180. UPADHYAY, D.N.; SHUKLA, A.K.; SINGH, K.K. - Solasodine content of *Solanum mammosum* L. as related to size and stage of development of fruits. Indian J. Pharm. 38(2), 52-3 (1976).
181. DOEPKE, Werner; SEWERIN, Edda; HESS, Ulrich; NOGUEIRAS, C. - Structure and stereochemistry of a new steroid sapogenin of spirostanol type from *Solanum jamaicense*. Communication 123. Z. Chem. 16(3), 104-5 (1976).
182. MITSCHER, L.A.; JUVARKAR, J.V.; BEAL, J.L. - Solacasine, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudocapsicum* possessing antimicrobial activity. Experientia 32(4), 415-16 (1976).
183. DOEPKE, Werner; JIMENEZ, Victor; HESS, U. - Alkaloid and steroid sapogenin content of *Solanum umbellatum*. Part 129. Pharmazie 31(7), 488 (1976).
184. DOEPKE, W.; MOLA, I.L.; HESS, U. - Alkaloid and steroid sapogenin content of *Solanum verbascifolium* L. Pharmazie 31(9), 656 (1976).
185. KADKADE, P.G.; MADRID, T.R. - Glycoalkaloids in tissue culture of *Solanum acculeatissimum*. Naturwissenschaften 64(3), 147 (1977).
186. VERBIST, J.F.; MONNET, R.; DOBREMEZ, J.F. - Steroidal alkaloid of seven Nepalese *Solanum* species: identification, content. Plant. Med. Phytother. 11(1), 40-8 (1977).
187. KHANNA, Phuspha; UDDIN, Amin; SHARMA, G.L.; MANOT, S.K.; RATHORE, A.K. - Isolation and characterization of sapogenin and solasodine from in vitro tissue cultures of some solanaceous plants. Indian J. Exp. Biol. 14(6), 694-6 (1976).
188. IRISMETOV, M.P.; GORYAEV, M.I.; BAZALITSKAYA, V.S.; TSVETKOVA, G. Yu - Isolation of diosgenin from *Solanum laciniatum*. Khim. Prirod. Soedin. 5, 668- (1976).
189. HILAL, S.H.; SHABANA, M.; HAGGAG, M.Y. - Study of the fixed oil content of *Solanum laciniatum* Ait. seeds. Egypt J. Pharm. Sci. 16(2), 143-50 (1975).
190. BORISOV, V.N.; PIKOVA, L.A.; ZACHEPILOVA, G.L.; BAN'KOVSKII, A.I. - Quantitative thin-layer chromatographic method for selective determination of the major glycoalkaloids from *Sola-*

- num L. Khim. - Farm. Zh. 10(12), 116-22 (1976).
191. WESTON, Roderick J. - An investigation of methods for isolation of the steroidal alkaloid solasodine from native New Zealand Solanum species. J. Appl. Chem. Biotechnol. 26(12), 637-66 (1976).
 192. PANINA, V.V.; AVILOVA, O.P.; SKLIZKOV, V.G.; MARTYNOV, Y.F.; KRISTALL, Z.B.; BREVNOVA, T.N.; DUBINSKII, E.L. - Method for the isolation of solasodine from fresh Solanum laciniatum herbs. Khim. Farm. Zh. 11(2), 99-103 (1977).
 193. BIRD, G.J.; COLLINS, D.J.; EASTWOOD, F.W.; GATEHOUSE, M.M.K. C.; JOZSA, A.J.; SWAN, J.M. - New steroidal alkaloids from Solanum callium. Tetrahedron lett. 40, 3653-6(1976).
 194. KADKADE, P.G.; ROLZ, C. - The solasodine content of Solanum acculeatissimum. Lloydia 40(2), 217 (1977).
 195. MIERZWA, Zbigniew; UZAREWICZ, A. - Terpenoids of Solanum chacoense Bitt. Part III. Hydrocarbons and alcohols occurring in leaves of Solanum chacoense Bitt. Roczn. Chem. 51(2), 391-4 (1977).
 196. KADKADE, P.G.; ROLZ, C. - Steroidal alkaloids of Solanum acculeatissimum. Phytochemistry 16(7), 1128 (1977).
 197. CARLE, R.; ALFERMANN, A.W.; REINHARD, E. - Diosgenin from Solanum aurantiacobaccatum de Wild. Planta Med. 32(2), 195-6(1977).
 198. PIKOVA, L.A.; PANINA, V.V.; KORNEVA, E.I.; KURNOSOV, V.V.; MATVEENKO, L.F. - Rapid semiquantitative method for determining the diosgenin content in Solanum laciniatum selection. Rastit. Resur. 13(3), 531-4 (1977).
 199. COUNE, C. - Phytochemical study on Solanaceae of Central Africa, II. The alkaloids of Solanum dasyphyllum. Planta Med. 31(3), 259-61 (1977).
 200. VO HONG, N.; BERNATH, Jeno; TETENYI, Peter; ZAMBO, Istvan - Effects of ecological factors on a population of Solanum dulcamara, II. Quantitative and qualitative variability of the steroidal alkaloids. Herba Hung. 16(1), 55-60 (1977).
 201. PAKRASHI, Sathyesh C.; CHAKRAVARTY, Ajit K.; ALI, Esahak. - Solanogantine, a novel 3-amino-22 β H-solanidane from Solanum Giganteum. Tetrahedron lett. 7, 645-8 (1977).

202. JAIN, S.C.; SHARMA, G.L. - Screening of some solanaceous plants for glycoalkaloids. *Planta Med.* 31(3), 212-13 (1977).
203. TELEK, L.; DELPIN, H.; CABANILLAS, E. - *Solanum mammosum* as a source of solasodine in the low land tropics. *Econ. Bot.* 31(2), 120-8 (1977).
204. KHANNA, Puspha; RATHORE, A.K. - Diosgenin and solasodine from *Solanum nigrum* L. complex. *Indian J. Exp. Biol.* 15(9), 808-9 (1977).
205. BITE, P.; SHABANA, M. - The steroidal glycoalkaloids of *Solanum oleraceum*. *J. Pharm. Sci. (Egypt)*, 16(1), 85-91 (1975).
206. BADAMI, R.C.; PATIL, K.B.; SHIVAMURTHY, S.C. - Minor seed oils, XIII. Examination of seed oils rich in linoleic acid. *J. Food. Sci. Technol.* 14(3), 126-8 (1977).
207. OSMAN, Stanley F.; HERB, Samuel F.; FITZPATRICK, Thomas J.; SCHMIEDICHE, P.J. - Glycoalkaloids composition of wild and cultivated tuber-bearing *Solanum* species of potential value in potato breeding programs. *J. Agric. Food. Chem.* 26(5), 1246-8 (1978).
208. MIERZWA, Zbigniew, UZAREWICZ, A. - Terpenoids of *Solanum chacoense* Bitt, IV. Resistance of *Solanum chacoense* Bitt. to the colorado beetle Ziemniak, 15-27 (1976).
209. BIRD, G.J.; COLLINS, D.J.; EASTWOOD, F.W.; SWAN, J.M. - Soladunalinidine, a new steroidal alkaloid from *Solanum dunalianum*. *Tetrahedron lett.* 2, 159-60 (1978).
210. AHMAD, M. Shamim, AHMAD, Moghis U.; ANSARI, A.A.; OSMAN, S.M.; FETTE, Seifen - Studies on herbaceous seed oils, V. Anstrichm 80(9), 353-4 (1978).
211. HILAL, S.H.; SHABANA, M.M.; HAGGAG, M.Y. - A pharmacognostical study of *Solanum macranthum* Dun. grown in Egypt. *J. Pharm. Sci. (Egypt)*, 16(4), 483-93 (1977).
212. AGNILAR LARA, Ricardo; ALFARO LARA, Carlos E. - Chemotaxonomic relation between *Solanum nigrum* L. and *Solanum* aff. *nigrum* L. *Rev. Cienc. Farm.* 2, 119-77 (1976).
213. IVANCHENKO, B.T.; TUKALO, E.A. - Determination of the solasodine content of the above ground parts of black nightshade, *Fitokhim. Izuch. Flory BSSR Biofarm. Issled. Lek. Prep.* 97-8 (1975).

214. PKHEIDZE, T.A. - Tigogenin from black nightshade and Jerusalem cherry. Biol. Akt. Veshchestva Flory Gruz . 9-11(1976). Ed. Kemertelidze, E.P. "Metsniereba", Tiflis, USSR.
215. DE SIQUEIRA, Norma S.; MACAN, A - The chromatography of alkaloids of *Solanum paniculatum* L. Trib. Farm. 44(1-2), 101-4 (1976).
216. BHATNAGAR, J.K.; JAGGI, R.K. - Detection of diosgenin in the tissue culture of *Solanum plantanifolium* Sinus. Indian J. Pharm. Sci. 40(2), 55-7 (1978).
217. AHMAD, M. Shamini, SINHA, Sarita; AHMAD, Moghis U.; ANSARI, A. A.; OSMAN, S.M.. - Studies on Herbaceous seed oils, VII. J.Oil Technol. Assoc. India 10(1), 6-8 (1978).
218. TRIPATHI, P.S.; AMETA, Suresh Chandra; RANAWAT, M.P.S. - Chromatographie studies on floral pigments in some semi-arid zone plants, II. Vijnana Parishad Anusandhan Patrika 20(4), 369-71 (1977).
219. BURM, Mukherjee M.K.; CHATURVEDI, S.P.; MAHAPATRA, A.K.; GHOSH, D.; CHAKRAVERTY, R.K. - Isolation of solasodine from *Solanum surattense* Burm. f. Sci. Cult. 44(4), 190 (1978).
220. ROCCA, Maria A. - Steroidal components of *Solanum viarum*, Dun. Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara 10(2), 329-42 (1976).
221. EVANS, William C.; SOMANABANDHU, A. -Bases from roots of *Solanum Carolinense*. Phytochemistry 16(11), 1859-60 (1977).
222. ZACHARIUS, R.M.; OSMAN, S.F. - Glycoalkaloids in tissue Culture of *Solanum* species. Dehydrocommersonine from cultured roots of *Solanum chacoense*. Plant. Sci. Lett. 10(3), 283-7 (1977).
223. MIERZWA, Zbigniew; UZAREWICZ, A. - Terpenoids of *Solanum chacoense* Bitt. Part V. Hydrocarbons and esters from the flowers of *Solanum chacoense* Bitt. Docz. Chem. 51(11) 2267-71 (1977).
224. SEGAL, R.; MILO-GOLDZWEIG, I.; ZAITSCHEK, D.V.; NOAM, M. - A facile method for detection of the gemine sapogenin from a saponin extract. Anal. Biochem. 84(1), 78-84 (1978).
225. GASTALDO, Paola, PROFUMO, Paola; TISCORNIA, Enrico; PAGANO, M. A. - The presence of cholesterol in the sterolic fraction in the oil of the seeds of *Solanum nigrum* L. subsp. *nigrum* and *Solanum dulcamara* L.G. Bot. Ital. 111(6), 311-25 (1977).

226. NAPOLI, J.L.; REEVE, L.E.; EISMAN, J.A.; SCHNOES, H.K.; DE LUCA, H. F. - 1,25-dihydroxyvitamin D₃ from *Solanum glaucophyllum*. Proc. Workshop vitam. D, 3rd, 29-31 (1977). Ed. Norman, Anthony W.; Schaefer, K.; Coburn, J.W. (Ger.).
227. RIPPERGER, H. - *Solanum* alkaloids. Part 105. Isolation of tomatidenol and etioline from *Solanum havanense*. Pharmazie 32(8-9), 537-8 (1977).
228. SEGAL, R.; MILO-GOLDZWEIG, I.; ZAITSCHEK, D.V. - Diosgenin and yamogenin from *Solanum incanum*. Lloydia 40(6), 604 (1977).
229. JAIN, S.C.; SHARMA, G.L. - Studies on *Solanum jasminoides* for solasodine. Planta Med. 32(3), 233-4 (1977).
230. KAUL, B.L.; ZUTSHI, U. - Cultivation of *Solanum khasianum* Clarke for steroids: problems and promises. Cultiv. Util. Med. Aromat. Plants 23-31 (1977). Ed. Atal, C.K.; Kapur, B.M. Reg. Res. India.
231. USUBILLAGA, Alfredo; DE CASTELLANO, Gisela; HIDALGO, Judith; GUEVARA, Carmela; MARTINOD, Pablo; PAREDES, A - Solaquidine, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudoquina*, Phytochemistry 16(11), 1861-2 (1977).
232. ALI, Esahak; CHAKRAVARTY, Ajit K.; PAKRASHI, Satyesh, C.; BIE-MANN, Klaus; HIGNITE, Charles, E. - Studies on Indian Medicinal plants, XLIV. Solanoforthine, a new steroidal alkaloid from *Solanum seaforthianum*. A note on the mass spectrum of solanocapsine. Tetrahedron 33(11), 1371-7(1977).
233. MARTINOD, P.; HIDALGO, J.; GUEVARA, C.; HERRERA, M.E. - Alkaloids of the species *Solanum*, affinis *ecuadorensis*. Politecnica 3(3), 46-8 (1977).
234. ADAM, G.; HOUNG, H.; LISCHEWSKI, M.; KHOI, N.H. - *Solanum* alkaloids. Part 106. A new steroidal alkaloid from *Solanum hainanense*. Phytochemistry 17(6), 1070-1 (1978).
235. CHAKRAVARTY, Ajit K.; DHAR, Tarunk; PAKRASHI, Satyesh C. - Studies on Indian medicinal plants, 51. Hispigenin, a novel 22 β O - spirostane from *Solanum hispidum*. Tetrahedron Lett. 40, 3875-8 (1978).
236. SHARMA, N.S.; VARGHESE, S.; DESAI, J.; CHINYOY, J.J. - Biosynthesis of solasodine in developing berries of *Solanum khasianum* Clarke Indian J. Exp. Biol. 17(2), 224-5 (1979).

237. ASLANOV, S.M.; NOVBUZOV, E.N. - Seed oil from some species of Solanaceae. Khim. Prir. Soedin. 6, 796-8 (1978).
238. SORIA, Enrique Leon; ESPINOZA, R.; ZAPATA, A.J. - In vitro tissue cultivation of *Solanum mammosum* L. and determination of its steroid components. Bol. Soc. Quim. Peru 44(1), 30-8 (1978).
239. FERRADA, C.J.; BLASCO, S.R.; DE LA CRUZ, R. C.; MOYANO, G.P. - Study of the process variables in the leaching of the *Solanum tomatillo* solasodine. Contrib. Cient. Tecnol. 25, 35-48 (1977).
240. RATHORE, Aditya K.; KHANNA, P. - Production of diosgenin from *Costus speciosus* (Koen) Sm., and *Solanum nigrum* L., suspension cultures. Curr. Sci. 47 (22), 870-1 (1978).
241. ASLANOV, S.M.; NOVBUZOV, E.N. - Study of glycoalkaloids of the deadly nightshade growing in Azerbaidzhan. Izv. Akad. Nauk, Az. SSR, Sev. Bitl. Nauk 3, 15-18 (1978).
242. PURI, Ravinder K.; BHATNAGAR, J.K.; NORDBY, Harold E.; NAGY, S. - *Solanum platanifolium*: studies on the petroleum ether extracts of roots, stem and leaves. Lloydia 41(6), 634-7 (1978).
243. ALI, Esahak; CHAKRAVARTY, Ajit K.; DHAR, Tarunk.; PAKRASHI, Satyesh C. - Studies on Indian medicinal plants, 50. Solasea forthine and isosolasea forthine, two novel 3-amino-20-pyridyl pregnanes from *Solanum seaforthianum*. Tetrahedron lett. 40, 3871-4 (1978).
244. CHAKRAVARTY, Ajit K.; SAHA, Chitta R.; PAKRASHI, Satyesh C. - Studies on Indian medicinal plants. Part 54. New spirostan saponins and sapogenins from *Solanum hispidum* seeds. Phytochemistry 18(5), 902-3 (1979).
245. KADKADE, P.G.; RELINOS, J.A.; MADRID, T.R. - Studies on the distribution of glycoalkaloids in *Solanum acculeatissimum*. Plant. Med. 37(1), 70-2 (1979).
246. PAKRASHI, Satyesh C.; CHAKRAVARTY, Ajit K.; ALI, Esahak; DHAR, Tarun K.; DAN, S. - Studies on Indian medicinal plants. Part. XLVIII. Novel 3-aminosolanidanes from *Solanum giganteum*. J. Indian Chem. Soc. 55(11), 1109-13 (1978).
247. MATHE, I. Jr.; HOANG, van M.; MATHE, I. - Studies on the Morrellia section of *Solanum* genus. Part IV. Evolution of the alkaloid production of *Solanum americanum* Mill. Symp. Pap.-IUPAC

- Int. Symp. Chem. Nat. Prod., 11th 2, 379-82 (1978).
248. BRADLEY, V.; COLLINS, D.J.; EASTWOOD, F.W.; IRVINE, M.C.; SYMON, D.E.L. - Distribution of steroidal alkaloid in Australian species of *Solanum*. Soc. Symp. Ser. 7, 203-9 (1979).
249. ADAM, G.; HUON G, H.T.; LISCHEWSKI, M.; KHOI, N.H.; - New steroid constituents of the Vietnamese Solanaceae *Solanum hainanense* Hance. Pharmazie 34(5-6), 362 (1979).
250. BIRD, Graham J.; COLLINS, David J.; EASTWOOD, Frank, W.; SWAIN, John M. - Structures of the steroidal alkaloids 25-isosolaflo-ridine and solacallinidine isolated from *Solanum Callium*. Aust. J. Chem. 32(3), 597-609 (1979).
251. BIRD, Graham J.; COLLINS, David J.; EASTWOOD, Frank W.; SWAN, John M. - Soladunalinidine, a new dibasic analogue of tomatidine extracted from *Solanum dunalianum*. Aust. J. Chem. 32(3), 611-17 (1979).
252. JAIN, Madhu ; RATHORE, A.K.; JAIN, S.C. - Steroids from *Solanum jasminoids*. J. Nat. Prod. 42(4), 421-2 (1979).
253. WHALEN, Michael D.; MABY, Tom J. - New 8-hydroxyflavonoids from *Solanum* section *Androceras*. Phytochemistry 18(2), 263-5 (1979).
254. RATHORE, Aditya Kumar; KAMAL, R. - Steroids and steroidal alkaloids of *Solanum acculeatissimum*. Pharmazie 34(4), 250-1(1979).
255. KORNEVA, E.I.; PIKOVA, L.A.; MATVEENKO, L.F. - Prospects for the selection of steroid-containing species of *Solanum* L. for diosgenin content. Khim. - Farm. Zh. 13(5), 77-9 (1979).
256. DUBEY, Pramila; GUPTA, P.C. - A new flavonol glycoside from the flowers of *Solanum xanthocarpum*. Phytochemistry 17(12), 2138 (1978).
257. JAIN, Madhu; RATHORE, A.K.; JAIN, S.C. - Steroids from *Solanum jasminoids* Paxt. J. Nat. Prod. 42(3), 301-2 (1979).
258. CHAUDHURI, S.B.; DEY, N.C.; SHUKLA, A.K.; BORA, R.K.; SAIKIA, B.K. - Determination of solasodine from *Solanum khasianum* Clarke. Indian Drugs 16(7), 153-7 (1979).
259. HOSODA, Noriyo, YATAZAWA, M. - Sterols, steroidal sapogenin steroidal alkaloid in callus culture of *Solanum laciniatum*. Agric. Biol. Chem. 43(4), 821-5 (1979).

260. KANEKO, Ko; NUTSU, Kazuaki, Y.N.; MITSUHASHI, H. - Structure of solanaviol, a new steroidal alkaloid from *Solanum aviculare*. *Phytochemistry* 19, 299-302 (1980).
261. LEITÃO Fº, H.F.; ARANHA, C.; BACHI, O. - Plantas invasoras de culturas no estado de São Paulo. Ed. Hucitec-Agliplan, vol.II, 559-61 (1975).
262. CHAUDHURI, S.B.; RAO, P.R. - Solasonine from *Solanum khasianum* Clarke. *Indian J. Chem.* 2, 424 (1964).
263. SEGAL, R.; BREVER, Aviva; MILO-GOLDZWEIG, Ilana - Solasodine stability undercondition of Saponin hydrolysis. *J. of Pharm. Sciences* 67, 1169-1170 (1978).
264. NAKANISHI, K. - Infrared Absorption Spectroscopy. Holden-Day, Inc., San Francisco (1977).
265. Dyeing Reagents for thin layer and paper chromatography. Merck (1971).
266. NIELSEN, Peter E.; NISHIMIRA, H.; LIANG, Y.; CALVIN, M. - Steroids from *Euphorbia* and other latexbearing plants. *Phytochemistry* 18, 103-4 (1979).
267. GUPTA, A.S.; DEV, S. - Chromatography of organic compounds. I. Thin layer chromatography of olefins. *J. Chromatog.* 12, 189-195 (1963).
268. THOMPSON, M.; DUTKY, S.; LEHNER, Y.; STANDIFIER, L.; HERBERT Jr.; E. - 24-methylenepollinastanol and 24-dehydropollinastanol-two sterols of pollen. *Phytochemistry* 17, 1053-1056 (1978).
269. OURISSON, G.; CRABBÉ, P.; RODIG, O.R. - Tetracyclic triterpenes. Herman and Holden-Day. Paris (1964).
270. ITOH, T.; TAMURA, T.; MATSUMOTO, T. - Triterpene alcohols in the seeds of solanaceae. *Phytochemistry* 16, 1723-1726 (1977).
271. LEVISALLES, J.; HEMMERT, F.; LACOUME, B.; PETIT, G. - Résonance magnétique nucléaire, II. Les groupes méthyles du lanostane, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 976-987 (1966).
272. LUKACS, G.; KHUONG-HUU, F. BENNETT, C.R. - Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of naturally occurring. *Tetrahedron letters* 23, 3515-3518 (1972).
273. DJERASSI, C.; MUCCINO, R. - Mass Spectrometry in Structural

- and Stereochemical Problem, CCXXXIX. Elucidation of the Ring D cleavage in Lanostane. JACS, 96, 556-570 (1974).
274. BREITMAIER, E.; VOELTER-VERLAG, W. - ^{13}C NMR spectroscopy. Chemie Weinheim, New York (1978).
 275. CHIANG, Char-Kur; CHANG, F.C. - Tetracyclic triterpenoids from Melia Azedarach, L.-III. Tetrahedron, 29, 1911-1929 (1973).
 276. PARYSEK, Z. - Epoxidation of lanost- 9(11)-enes. The effect of a β -Carbonyl Group upon the Stereochemistry of Epoxidation. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 4, 329-36 (1978).
 277. MCGHIE, J.F.; BOAR, R.B.; LEWIS, D.A. - The C-8 Epimers of 7-oxo-5 α -lanost-9(11)-en-3 β -yl Acetate. J.C.S. Perkin I, 2590-92 (1972).
 278. DIAS, Jerry D. - Ejection of the 19-Methyl group in Tetracyclic Triterpenes. J. Org. Chem. 39, 1767-1769 (1974).
 279. JONES, Ewart R.H.; BRIDGEMAN, J.E.; CHERRY, P.C.; CLEGG, A. S.; EVANS, J.M.; KASAL, A.; KUMAR, V.; MEAKINS, G.D.; MORISAWA, Y.; RICHARDS, E.E.; WOODGATE, P.D. - Microbiological Hydroxylation of Steroids. Part I. Proton Magnetic Resonance Spectra of Ketones, Alcohols, and Acetates in the Androstane, Pregnane, and Oestrane Series. J. Chem. Soc. (C), 250-57 (1970).
 280. PIATAK, D.M.; REIMANN, K. - Plant investigations IV. Corollatadiol. A new triterpene from Euphorbia Corollata. Tetrahedron Letters, 44, 4525-4528 (1972).
 281. BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D.H. - Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. Holden Day, San Francisco, vol. 2 (1964).
 282. YAMAUCHI, T. - Saponins of Japanese Dioscoreaceae, IX. Hydrolysis of Diosgenin Glycosides. Chem. Pharm. Bull. 7, 343-348 (1959).
 283. BRIGGS, L.H.; BROOKER, E.G.; HARVEY, W.E.; ODELL, A.L. - Solanalkaloids, Part VIII. Solamargine, a new alkaloid from Solanum marginatum. J. Chem. Soc. 3587-3591 (1952).
 284. HUNT, B.J. & RIGBY, W. - Short column chromatography. Chemistry and Industry 4, 1868-1869 (1967).
 285. BARTON - Triterpenoids. Part III. Cycloartenona, a triterpenoid

ketone. J. Chem. Soc. 1444-1451 (1951).

286. LEHMANN, P.A.; BOLIVAR, A.; QUINTERO, P. - Russel E. Marker pioneer of the Mexican steroid industry. J. Chem. Education 50(3), 195-199 (1973).