

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA**

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO FITOQUÍMICO EM ESPÉCIES DO
GÊNERO SENEIO (ASTERACEAE)**

JOSEILSON ALVES DE PAIVA

**ORIENTADOR
PROF. Dr. LAURO E. S. BARATA**

**CO-ORIENTADOR
PROF. Dr. JOSÉ ROBERTO TRIGO**



1150054042



IQ

T/UNICAMP P166e

**CAMPINAS
2002**

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL**

UNIDADE	IG
Nº CHAMADA	TI UNICAMP
	P166e
V	EX
TOMBO BC/	59042
PROC.	124103
C ☐	D ☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	21/10/5/03
Nº CPD	

CH00193371-3

Bib. 294026

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

P166e

Paiva, Joseilson Alves de
Estudo fitoquímico em espécies do gênero
senecio (*asteraceae*) / Josenildo Alves de Paiva. --
Campinas, SP: [s.n], 2002.

Orientador: Lauro E.S.Barata.

Tese (doutorado) – Universidade
Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Alcalóides. 2. Pirrolizidínicos. 3. Juerguen-
sina. 4. Alcalóides macrocíclicos. I. Barata, Lauro
E. S. II. Universidade Estadual de Campinas.
III. Título.

Dedico as pessoas mais
importantes na minha vida

José A. de Paiva
Gildete A. de Paiva

Alesandra A. de Paiva
Jonas A. de Paiva
Jadilson A. de Paiva

Oração ao Tempo (Caetano Veloso)

*És um senhor tão bonito
Quanto a cara do meu filho
Tempo Tempo Tempo Tempo
Vou te fazer um pedido
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*Compositor de destinos
Tambor de todos os ritmos
Tempo Tempo Tempo Tempo
Entro num acordo contigo
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*Por seres tão inventivo
E pareceres continuo
Tempo Tempo Tempo Tempo
És um dos deuses mais lindos
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*Que sejas ainda mais vivo
No som do meu estribilho
Tempo Tempo Tempo Tempo
Ouve bem o que te digo
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*Peço-te o prazer legítimo
E o movimento preciso
Tempo Tempo Tempo Tempo
Quando o tempo for propício
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*De modo que o meu espírito
Ganhe um brilho definido
Tempo Tempo Tempo Tempo
E eu espalhe benefícios
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*O que usaremos pra isso
Fica guardado em sigilo
Tempo Tempo Tempo Tempo
Apenas contigo e migo
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*E quando eu tiver saído
Para fora do teu círculo
Tempo Tempo Tempo Tempo
Não serei nem terás sido
Tempo Tempo Tempo Tempo*

*Ainda assim acredito
Ser possível reunirmo-nos
Tempo Tempo Tempo Tempo
Num outro nível de vínculo
Tempo Tempo Tempo Tempo*

Agradecimentos,

☯ Ao Prof. Dr. Lauro E. S. Barata, pela orientação e oportunidade de desenvolver-me como profissional, e por todo o apoio às minhas decisões no decorrer do curso.

☯ Ao Prof. Dr. José R. Trigo pela co-orientação na Parte Experimental.

☯ Aos Profs. Anita J. Marsaioli, Marcos N. Eberlin e Raquel M. Braga, pelas aulas e por todos os esclarecimentos de dúvidas.

☯ Aos Profissionais Silvana A. Rocco e Italo J. C. Rigotti, pela revisão nos capítulos de discussão de resultados.

☯ A Angélica e Juliana (in memoriam) por me presentarem com a Drica.

☯ Ao Instituto de Química da UNICAMP, pelo excelente apoio técnico seja nos laboratórios de pesquisa (Rita), RMN, Biblioteca, CPG, Vidraria, Xerox.

☯ Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) pelo auxílio e bolsa concedido.

☯ Aos amigos que sempre me apoiaram e foram fundamentais na manutenção do meu humor: Hermes, Oyrton, Tereza, Cris, Lela e Celso, Lucília e Sibov, Cáritas, Rita e Eduardo, Silvana, Ítalo, Sérgio e Patrícia, Samísia e Adauto, Netohipólito, Bia, Lucila, Nice, Miú, Breila, Flá. E a todos que não estão aqui também.

☯ A Marcelo Martinelli, Paulo e Tânia Sakanaka, meus instrutores de Tai Chi Chuan, que me introduziram nesta técnica que levarei por toda a minha vida, e a todo o grupo de praticantes.

ESTUDO FITOQUÍMICO EM ESPÉCIES DO GÊNERO *SENECIO* (ASTERACEAE)

RESUMO

Palavras chaves: *alcalóides, pirrolizidínicos, macrocíclicos, jerguensisina.*

O nosso trabalho tem por objetivo o estudo fitoquímico de espécies brasileiras do gênero *Senecio* (Asteraceae), dirigido para o isolamento e identificação dos alcalóides pirrolizidínicos encontrados nestas espécies. O Gênero *Senecio* (Família Asteraceae) é fonte de alcalóides pirrolizidínicos macrocíclico. Estes alcalóides são hepatotóxicos e responsáveis por envenenamento em animais domésticos e humanos. Desempenham também importante papel ecológico como defesa química para alguns insetos. Este gênero se encontra distribuído por todo o mundo com exceção das regiões polares e Amazônica. No Brasil existem 85 espécies registradas.

Para o nosso estudo foram realizadas coletas no estado de São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. As coletas foram em outubro 2000 período característico de inflorescência do gênero.

Iniciamos nosso trabalho com *S. bonariensis* de onde isolamos senecionina e platifilina, das demais espécies estudadas obtivemos de *S. brasiliensis*: intergerrimina e retrorsina; de *S. oleosus*: senecionina e retrorsina,; de *S. conyzaefolius*: retrorsina, otosenina e serquenquina; e de *S. juerguensis*: sarracina e um novo alcalóide (juerguensisina). Os alcalóides pirrolizidínicos macrocíclicos são excelentes estruturas para estudos nas diversas técnicas espectroscópicas devidos aos seus efeitos de configuração e conformação. O presente trabalho vem padronizar técnicas cromatográficas para isolamento de APs e a utilização de técnicas espectroscópicas na elucidação estrutural destes macrocíclicos.

ESTUDO FITOQUÍMICO EM ESPÉCIES DO GÊNERO *SENECIO* (ASTERACEAE)

ABSTRACT

Keywords: *alkaloids, pyrrolizidine, macrocyclic and juerguensisina*

The goal of this work is to phytochemically study Brazilian species of the genus *Senecio* (Asteraceae) towards the isolation and identification of pyrrolizidine alkaloids. The genus *Senecio* (Asteraceae) is the source of macrocyclic pyrrolizidine alkaloids.

Such compounds are hepatotoxic and responsible for poisoning of animals and humans. They also play an important role in ecology as chemical defensive in some insects. This genus is found world-wide except for the polar regions and the Amazon. There are 85 catalogued species in Brazil. Plants collected in October 2000 during the genus flowering in the states of São Paulo, Santa Catarina and Rio Grande do Sul were used during this work. The first studied species was *S. bonariensis* from which senecionine and platifoline were isolated. The following compounds were found in each species. *S. brasiliensis*: intergerrimine and retrorsine; *S. oleosus*: retrorsine and senecionine; *S. conyzaefolius*: retrorsine, otosenine and sequenquine; *S. juerguensis*: sarracine and an unreported alkaloid (juerguensine). The macrocyclic pyrrolizidine alkaloids are excellent structures for spectroscopic studies in different techniques due to their configurations and conformations. The present work standardizes chromatographic techniques for the isolation of pyrrolizidine alkaloids and the use of spectroscopic techniques in their structural elucidation.

CURRICULUM VITAE

DADOS PESSOAIS:

JOSEILSON ALVES DE PAIVA

Solteiro, brasileiro, Data de Nascimento: 30/04/67.

Rua Cecília Rodrigues Siqueira, 200 – Edf. Atlanta IV – apto 403

Jardim Cidade Universitária

João Pessoa – Pb

CEP 58051-830

(019) – 3289-3914

(83) 239-4207

(83) 9332-3586

paivapaiva@hotmail.com

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Doutorado em Química Orgânica

UNICAMP – Campinas – SP

Área: Produtos Naturais

Defesa no dia 11/11/2002

Mestrado em Química

UFPB – João Pessoa – PB

Área: Química Orgânica

1995 – 1998

Graduação – Licenciatura em Química

UFPB – João Pessoa – PB

1989 - 1993 –

CURSOS EXTRACURRICULARES

“CROMATOGRAFIA CONTRA-CORRENTE: TEORIA E APLICAÇÕES NA QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS”

Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Carga horária : 40 h de aulas (Teóricas e práticas)

2001

XXXV CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA.

Estratégias para Melhorar o Ensino de Química no Segundo Grau

Carga horária: 06 horas.

1995

II SEMANA DE QUÍMICA DA PARAÍBA

Ensinar Química como uma Ciência Experimental

Carga horária: 15 horas

1992

II SEMANA DE QUÍMICA DA PARAÍBA

Hibridização e Geometria Molecular

Carga horária: 15 horas

1992

I SEMANA DE QUÍMICA DA PARAÍBA.

O modelo de hibridização

Carga horária: 15 horas.

1990

I SEMANA DE QUÍMICA DA PARAÍBA.

Introdução à Espectroscopia Fotoeletrônica

Carga horária: 15 horas

1990

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL**COLÉGIO SESQUICENTENÁRIO**

Secretaria de Educação e Cultura do Estado da Paraíba

João Pessoa - PB

1994 – 1998

Cargo: Professor

Ensino da disciplina de Química

COLEGIO MARISTA – PIO X -

João Pessoa - PB

1990 – 1995

Cargo: Professor

Ensino em nível de segundo grau da disciplina Química Orgânica.

**ATIVIDADES DISCENTES OU DE TREINAMENTO EM NÍVEL DE GRADUAÇÃO
OU PÓS-GRADUAÇÃO.****DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - CCEN - UFPB**

Monitoria

Disciplinas: Química Orgânica I, II, III.

1993 – 1994

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - CCEN - UFPB

Monitoria

Disciplina Química Geral I

1990 – 1992

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - CCEN - UFPB

Iniciação Científica em Química (bolsista do CNPq)

1990 – 1992

TRABALHOS PUBLICADOS E APRESENTADOS

2002 - "Antiulcerogenic activity of onopordopicrin, a sesquiterpene lactone, obtained from the leaves of *Arctium lappa*". Alberto Di Capua". 10-14/09/02, Pavia-Italia.

2002 – Alcalóides pirrolizidínicos em *Senecio* (Asteraceae) do sul do Brasil (XXV – SBQ).

2002 – Juergensina, um novo alcalóide em *Senecio juerguensis* (XXV –SBQ).

1998 - Estudo químico-Ecológico das ceras foliares de *Croton tristis* Muell Arg. (XXI – SBQ).

1998 - Estudo químico-Ecológico das ceras foliares de *Cassia occidentalis* L. (1998) (XXI – SBQ).

1995 – Ministrante da Oficina "DA ALQUIMIA A QUÍMICA (EXPERIÊNCIA EM EDUCAÇÃO INTERDISCIPLINAR)" 47ª SBPC.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CG/EM	Cromatografia gasosa/ Espectrometria de massas
CG/EM/IE	Cromatografia gasosa/ Espectrometria de massas por impacto de elétrons
CG/EM/IQ	Cromatografia gasosa/ Espectrometria de massas por ionização química
COSY	Espectro bidimensional de correlação homonuclear (HxH)
CYCLENONE	
DEPT	Espectro de RMN ^{13}C utilizando transferência de polarização
<i>d</i>	Dublete
<i>dd</i>	Duplo dublete
<i>ddd</i>	Dublete de duplo dublete
<i>dt</i>	Duplo tripleto
EM	Espectrometria de massas
HSQC	Espectro bidimensional de correlação heteronuclear (CxH)
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m/z</i>	Relação massa carga
M^+	Íon molecular
nOe	Efeito nuclear Overhauser
NOESY	Espectro bidimensional de correlação homonuclear (HxH) dos efeitos nOe
ppm	Partes por milhão
RMN ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono
<i>t</i>	Triplete
δ	Deslocamento químico em partes por milhão

ÍNDICE

	Página
1 – INTRODUÇÃO	01
1.1- Família Compositae (ASTERACEAE)	01
1.2 - O gênero <i>Senecio</i> no Brasil	01
1.3 – Classificação Botânica de <i>Senecio</i>	02
1.4 – Alcalóides	02
1.5 – Alcalóides Pirrolizidínicos	03
1.6 – Classificação de Alcaloides pirrolizidínicos (APs)	05
1.7 – Toxicologia de APS	09
1.8 – Pesquisa em alcalóides pirrolizidínicos no Brasil	10
2 – Justificativas e Objetivos	11
3- DISCUSSÃO DE RESULTADOS	12
3.1- Espectrometria de Massas de Alcalóides Pirrolizidínicos	16
3.1.1 – Revisão bibliográfica	16
3.1.2 - APs macrocíclicos 1,2 insaturados	16
3.1.2.1 - APs 1,2-insaturados isolados	19
3.1.3 - APs macrocíclicos com base necina tipo otonecina	19
3.1.4 – Ionização química de APs	21
3.1.4.1 – Análise CG-EM-IQ da mistura SZ	22
3.1.5 - EM de Aps com base necina saturada	23
3.1.5.1 – APs macrocíclicos 1,2-saturados isolados de <i>S. bonariensis</i> e <i>S. Juerguensis</i> .	24
3.1.6 – Conclusão do Capítulo Espectrometria de massas	27
3.2 – Espectroscopia de RMN de ^1H de alcalóides pirrolizidínicos (APs)	28
3.2.1 – Revisão bibliográfica	28
3.2.2 – Espectroscopia de RMN de ^1H de bases necina	28
3.2.3 – Espectroscopia de RMN de ^1H de ácidos nélicos	31
3.2.4 – Discussão e resultados	32
3.2.4.1 – Espectroscopia de RMN de ^1H dos APs 1,2-insaturados isolados	32
3.2.4.2 – Experimento CYCLENONE para intergerrimina (SB-3) e senecionina (SB-1).	35
3.2.4.3 – Espectroscopia de RMN de ^1H dos APs com base tipo otonecina.	38
3.2.4.4 – Espectroscopia de RMN de ^1H dos APs com base necina saturada	43
3.2.5 – Conclusão	50
3.3 – Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos	51
3.3.1 – Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos 1,2-	51

insaturados	
3.3.2 – Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos com base tipo otonecina.	56
3.3.3 – Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos 1,2-saturados	58
3.4 – Conclusão do Capítulo RMN de ^{13}C	62
4- Considerações finais	63
5- EXPERIMENTAL	65
5.1 – Materiais e Métodos	65
5.2 – Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	65
5.3 – Cromatografia Gasosa Espectrometria de Massas (CG/EM)	66
5.4 – Coletas	67
5.5 – Extrações	67
5.5.1 – Fracionamento ácido-base (fluxograma 1)	68
5.6 – Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	68
5.7 – Cromatografia de Adsorção em Coluna (CC)	69
5.8 – Obtenção de alcalóides de <i>Senecio bonariensis</i>	71
5.9 – Alcalóides Isolados:	73
5.10 – Obtenção de alcalóides de <i>Senecio brasiliensis</i>	74
5.11 – Alcalóides obtidos	75
5.12 – Obtenção de alcalóides de <i>Senecio oleosus</i>	75
5.13 – Alcalóides isolados:	77
5.14 – Obtenção de alcalóides de <i>Senecio conyzaeifolius</i>	78
5.15 – Alcalóides isolados:	80
5.16 – Obtenção de alcalóides de <i>Senecio juerguensis</i>	82
5.17 – Alcalóides isolados:	85
5.18 – Obtenção de alcalóides de <i>Crotalaria palida</i>	86
5.19 – Alcalóide isolado:	87
6 – Bibliografia	88
7 – Anexos	93

1 – INTRODUÇÃO

1.1 - Família Compositae (ASTERACEAE)

A família Compositae é uma das mais vastas em distribuição no planeta. Conhecem-se cerca de 20.000 espécies (Schultz, 1990), tendo aproximadamente 920 gêneros, cerca de 98% das espécies constituídas por plantas de pequeno porte (Joly, 1966). Em geral são ervas, e somente nas zonas tropicais e subtropicais chegam a formar arbustos e até árvores (Schultz, 1990).

São gêneros desta família: *Senecio*, *Ageratum*, *Eupatorium*, *Baccharis*, *Mikania* e *Vernonia*. Nosso trabalho concentra-se em *Senecio*. Neste gênero encontra-se na literatura vários trabalhos em fitoquímica com diversas estruturas isoladas como os triterpenos de *Senecio selloi* (Rücker e col., 1999), furanoeremofilano de *Senecio flavus* (Torres e col., 1999), triterpenos polihidroxilados (Tommas e col., 1998), sesquiterpeno de *Senecio flammeus* (HU e col., 1998), sitosterol de *Senecio bonariensis* (Jares e col., 1990), e alcalóides pirrolizidínicos (Bohlmann e col., 1986/ Pérez-Castorena e col., 2000/ Were e Benn, 1991). Entre as várias classes de compostos existentes neste gênero, os alcalóides são os mais pesquisados devido à sua importância toxicológica.

1.2 - *Senecio* no Brasil

O Gênero *Senecio* está distribuído por todo o mundo com exceção do continente Antártico, certas ilhas do Pacífico e na região Amazônica, sendo que a maior concentração de espécies encontra-se nas regiões montanhosas da América, África e Ásia.

No Brasil, o número de espécies do gênero *Senecio* está limitado à região extra-amazônica, com as maiores concentrações de espécies se encontrando nas regiões montanhosas, como nas serras de Minas Gerais, na Serra da Mantiqueira, na serra do Paranapiacaba, na Serra Geral e na Serra do Mar.

O número de espécies em cada estado é bastante variável e foi registrado no Brasil por Cabrera (1958)(Tabela I1).

Tabela I1 – Número de espécies *Senecio* por estado no Brasil

<i>Estado</i>	Nº	<i>Estado</i>	Nº
Bahia	01	Goiás	02
Minas Gerais	22	Espírito Santo	05
Rio de Janeiro	24	São Paulo	17
Paraná	21	Santa Catarina	11
Rio Grande do Sul	24		

1.3 - Classificação Botânica de *Senecio*

Família : Asteraceae

Subfamília : Asteroideae

Tribo : Senecioneae

Subtribo : Senecioninae

Gênero : *Senecio*

1.4 - Alcalóides

Os alcalóides constituem um vasto grupo de metabólitos secundários com grande diversidade estrutural (Figura I1) (Henriques e col., 1999) representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas (Swan, 1966) e podendo ser encontrados em animais e alguns organismos (bactérias e fungos) (Hess, 1978; Mann, 1987). Os alcalóides são biosintetizados a partir de aminoácidos alifáticos e aromáticos (McKillop, 1970) ou também por origem biogenética mista (Mann, 1987).

Uma definição para esta classe de substâncias apresenta certa dificuldade, devido à ausência de uma separação precisa entre alcalóides propriamente ditos e aminas complexas de ocorrência natural (Henriques e col. 1999; Hess, 1978). Pelletier em 1983, formulou a seguinte definição: "Alcalóide é uma substância orgânica cíclica, contendo um nitrogênio em estado de oxidação negativo, cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos" (Figura I1) (Pelletier, 1983).

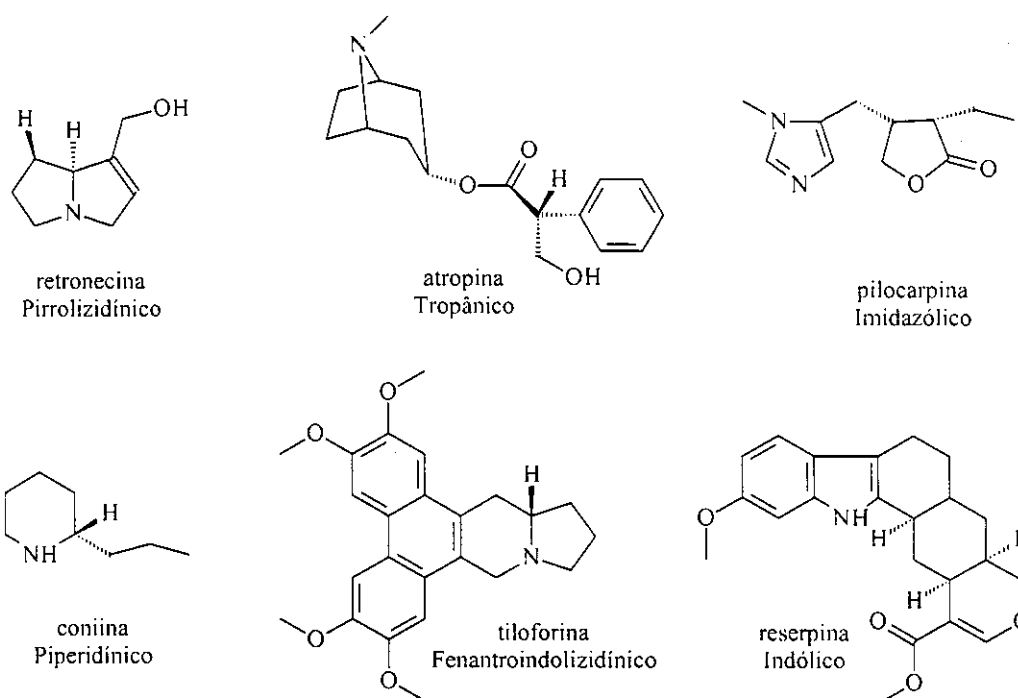


Figura I1 – Alcalóides e suas principais formas estruturais.

1.5 - Alcalóides Pirrolizidínicos

Dentre as classes de alcalóides existentes, uma classe tem se destacado nas últimas décadas: os alcalóides pirrolizidínicos (APs). Estes alcalóides tiveram sua primeira revisão em 1950 com apenas 27 estruturas e este número foi aumentado consideravelmente entre 1966-68 com o registro de mais de 100 estruturas. Hartmann e Witte (1995) relatam a existência de 370 estruturas conhecidas de 560 espécies estudadas.

Alcalóides pirrolizidínicos (APs) são encontrados por todo o mundo em plantas que crescem em diversos ambientes (Mattocks, 1986). Podem ser encontrados na famílias Compositae (Senecio, Eupatorium e em outro gênero das tribos Senecioneae e Eupatorieae), Boraginaceae (Heliotropium, Trichodesma, Symphytum e na maioria de outros gêneros) e Leguminosa (gênero Crotalaria) (WHO, 1988). Estima-se que mais de 6000 espécies contenham alcalóides pirrolizidínicos, o que corresponde a 3% das angiospermas (Robins, 1989).

Os Alcalóides pirrolizidínicos constituem uma ampla classe de produtos naturais baseado em dois anéis de cinco membros com um átomo de nitrogênio na posição 4 (Smet e col., 1992), formando um sistema 1-azabicyclo-[3,3,0]-octano (Figura I2). Rizk (1991) definiu o anel pirrolizidínico como a fusão de dois anéis por um átomo de nitrogênio agindo como cabeça de ponte. A maioria dos APs são derivados de amino álcoois, definido como base necina (1-hidroximetil pirrolizidina), podendo ser encontrado na forma de base livre ou de N-óxido (Mattocks, 1986).

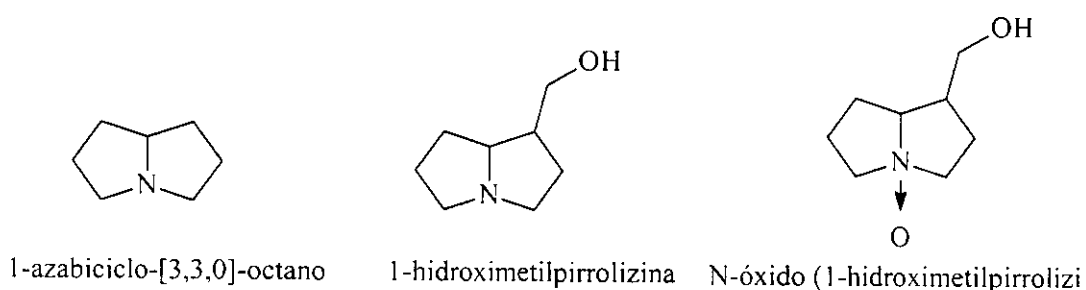


Figura I2 – Estrutura básica (alcalóides pirrolizidínicos).

Comumente, os APs ocorrem como ésteres de uma base necina e de um ácido néxico (Figura I3) (Robins, 1989).

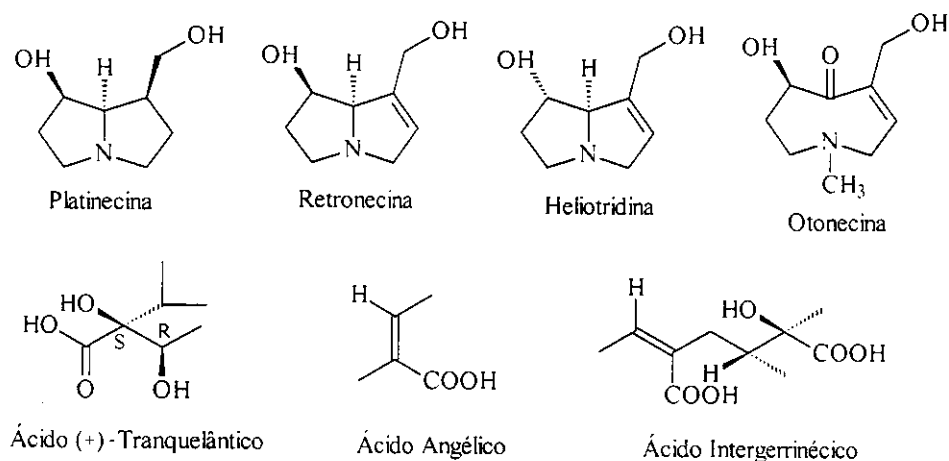


Figura I3 – Estruturas de algumas bases e ácidos néxicos

1.6 - Classificação de Alcalóides Pirrolizidínicos (APs)

Os alcalóides pirrolizidínicos são genericamente alcalóides esterificados, compostos por uma base necina e um ácido néxico. A base necina difere no grau de hidroxilação, estereoquímica, substituintes e no grau de insaturação do anel (geralmente 1,2-insaturado). Alcalóides pirrolizidínicos usualmente ocorrem sob a forma de monoésteres, diésteres ou diésteres cíclicos e geralmente em C-7 e C-9 (Robins 1989). Apresentam-se também como diésteres ou triésteres de cadeia aberta ou sob a forma de macrociclo (Hartmann & Witte 1995). Culvenor (1978) analisou as implicações da taxonomia e filogenia da ocorrência de APs nos seus diversos níveis de gêneros e os classificou em três tipos: a) ésteres alifáticos monocarboxílicos, característicos de Boraginaceae; b) diésteres macrocíclicos, comuns em Senecioneae (Asteraceae) e no gênero *Crotalaria* (Fabaceae); c) ésteres arílicos, que são ácidos típicos de Orchidaceae.

A partir da classificação proposta por Culvenor (1978), Hartmann e Witte (1995) propuseram uma nova classificação incluindo implicações biogenéticas, ficando assim classificados (Figura I4):

Tipo Senecionina (A) – A maioria é representada por diéster macrocíclico de 12 membros, que são derivados de estruturas cíclicas do tipo senecionina.

Grupo senecionina (A_1) – Estas estruturas são consideradas derivadas da senecionina, formada pela modificação química tanto da base necina como do ácido néxico. Existe evidência de que este grupo é produto de biosíntese primária. Os ácidos néxicos são biogeneticamente derivados de isoleucina. Os ésteres otonecínicos são frequentemente separados deste grupo porque mostram ser produtos de transformação de ésteres retronecínicos. Também são incluídos neste grupo os acilpirróis em ácidos néxicos, com o respectivo éster retronecínico.

Grupo senecivernina (A_2) – Pequeno grupo que ocorre em A_1 , do qual é distinguido pela diferença do acoplamento C-C na parte do ácido néxico.

Grupo Nemorensina (A_3) – Macrocíclico de 14 membros com ácido presumivelmente derivado de leucina e isoleucina.

Grupo Rosmarinina (A_4) – São APs com C_1 ou C_2 hidroxilado.

Tipo Triangularina (B) – Monoésteres ou diésteres com ácido em C₅ (a maioria anfaloila, tigloila ou senecioila) e seus derivados hidroxilados.

Grupo Triangularina (B₁) – Monoésteres ou diésteres de C₇ e C₉ com base necina hidroxiladas.

Grupo Macrofilina (B₂) – Monoésteres ou diésteres em C₂ e C₉ com base do tipo necina hidroxiladas e de estruturas derivadas complexas.

Grupo Senampelina (B₃) – Diésteres do tipo B₁, sendo a base necina um acilpirol ou um derivado com um grupamento oxo no carbono C₅. O grupo B₃ é pequeno e pode apresentar esterificação, como o grupamento acetato.

Tipo Licopsamina (C) – Monoésteres ou diésteres contendo o ácido néxico ácido e o ácido 2-isopropilbutírico hidroxilados. Este substituinte no carbono C₇ é unicamente encontrado em APs. As estruturas básicas apresentam-se como quatro estereoisômeros (+) e (-) do ácido traquelântico e (+) e (-) do ácido viridiflórico e seus derivados.

Grupo Licopsamina (C₁) – Monoésteres ou diésteres levando a ácidos esterificados exclusivamente em C₇ e C₉ tendo C₇-OH na base necina. Diésteres apresentam um segundo ácido néxico que pode ser acetato ou um ácido em C₅.

Grupo Isolicopsamina (C₂) – Monoésteres ou diésteres, com ácidos esterificados exclusivamente em C₇ e C₉, tendo um hidroxila no carbono C₉.

Grupo Latifolina (C₃) - Parecido com o grupo C₁, mas a parte ácida em C₇ forma um anel lactona de cinco membros.

Grupo Parsonsina (C₄) – APs macrocíclicos, onde a estrutura macrocíclica é formada a partir de um éster que liga os dois ácidos néxicos em C₇ e C₉. Também apresentam grupamentos hidroxilas nos ésteres de C-7 e C-9.

Tipo Monocrotalina (D) – Macrocíclico de 11 membros com base do tipo retronecina e uma variação de substituição associada à parte do ácido néxico.

Tipo Falaenopsina (E) – Monoéster de (-) isoretronecanol, lindelofina, laburnina ou (-)-traquelantamina, com arila e arilalquila e raramente com alquila no ácido néxico.

Tipo Lolina (L) – As lolinas são derivados de 1-aminopirrolizidinas com ponte éterea ligando C₂ e C₇. Eles são biogeneticamente não relatados para o 1-hidroximetilpirrolizidinas.

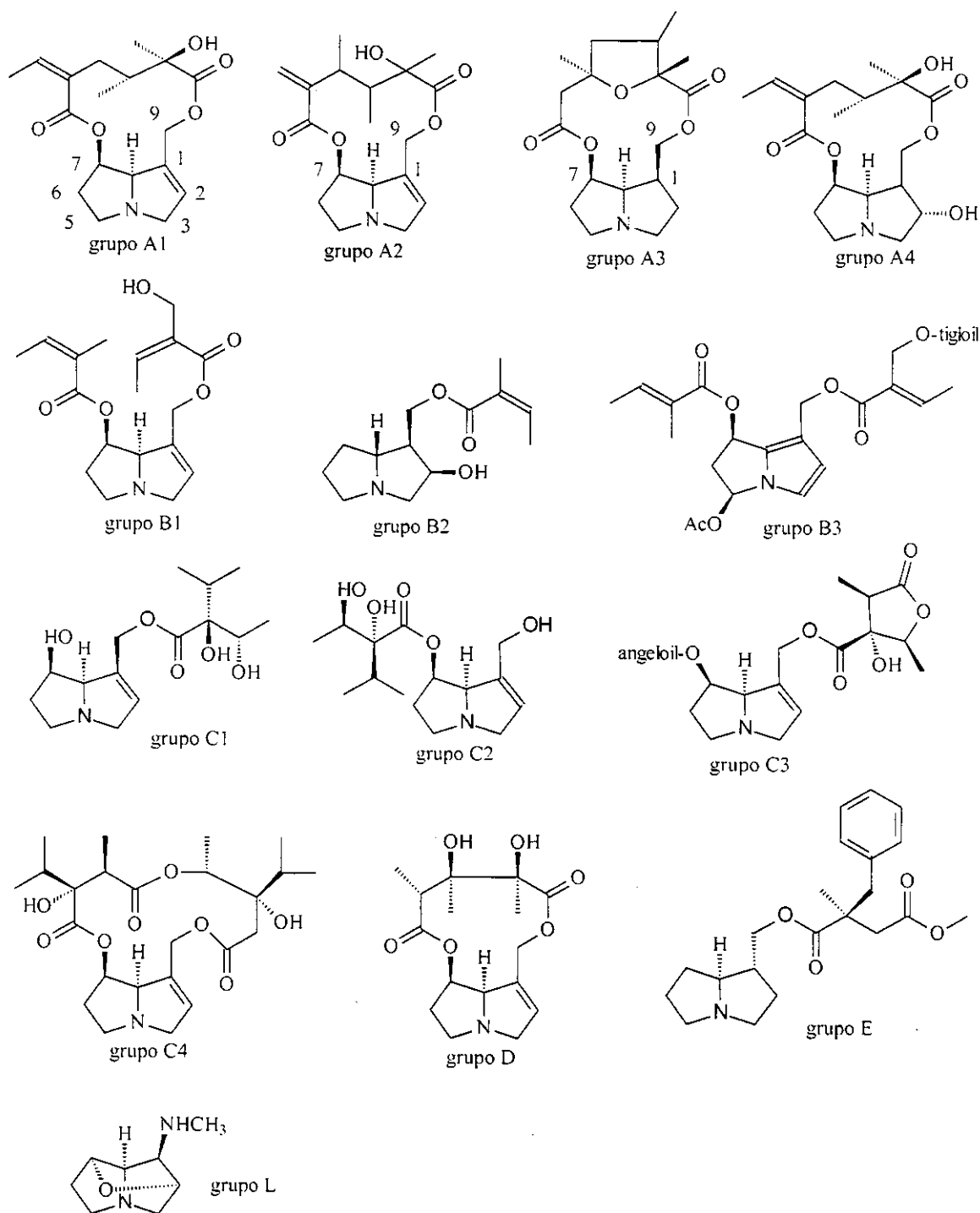


Figura 14 – Classificação dos alcalóides pirrolizidínicos, segundo Hartmann e Witte (1995).

1.7 - Toxicologia de APs

Diversas atividades biológicas descritas para os alcalóides são relacionadas com a sua variedade estrutural (Hesse, 1981). Devido a seu gosto amargo e toxicidade, atuam como repelentes de herbívoros (Henriques e col., 1999). Alguns, como o grupo dos alcalóides pirrolizidínicos, são utilizados por determinados grupos de borboletas como defesa contra predadores, como as aranhas. Além disso, são utilizados para a biosíntese de feromônio necessários ao acasalamento e são provenientes de plantas que servem de alimentos às larvas (Brown e Trigo, 1995).

Muitos APs causam sérias doenças em animais domésticos e humanos (Rizk, 1991). Do ponto de vista toxicológico, dois grupos fundamentais de APs são importantes: os saturados na base necina, que são não tóxicos e utilizados na medicina popular, como os APs da *Arnica montana* e os insaturados na base necina que são hepatotóxicos, genotóxicos e pneumotóxicos (Smet e col., 1992). Estes podem causar a morte rapidamente ou levam posteriormente à morte. Estão também associados a lesões de pele (Mattocks, 1986). Efeitos citotóxicos causados por APs podem resultar em morte no intervalo de um dia a uma semana após a ingestão dos mesmos.

O principal efeito tóxico causado por APs ao homem é no fígado, esta intoxicação é produzida pelos APs de plantas consumidas como alimento ou com fins medicinais. Esta intoxicação é definida como doença venosa oclusiva (WHO, 1988).

1.8 - Pesquisa em Alcalóides Pirrolizidínico no Brasil

Os registros de estudos em APs no Brasil têm-se a partir de pesquisas sobre sua toxicidade em animais domésticos (Habermehl e col., 1988) e do estudo ecológico da presença de APs na superfície corpórea de insetos especialistas (Brown, 1984, 1985), que sequestram APs de plantas para utilizá-los como defesa química contra predadores (Trigo, 1993).

Como APs correspondem a única classe de alcalóides que apresentam uma forte ação na ecologia de insetos e plantas, houve um crescente interesse no estudo ecológico destes alcalóides em várias espécies de insetos brasileiros (Trigo e col., 1996).

Em 1996, dois trabalhos realizados entre grupos de pesquisadores brasileiros e alemães (Trigo e col., 1996; Freitas e col., 1996) apresentam estudos em CG/EM-IE e CG/EM-IQ onde descrevem o perfil de fragmentação de estruturas de APs extraídos de insetos e plantas coletados no Brasil, Venezuela e na Colômbia. Também em 1996, pesquisadores alemães apresentam um estudo fitoquímico de seis espécies brasileiras do gênero *Senecio* (*S. oxiphyllus*, *S. brasiliensis*, *S. cisplatinus*, *S. heterotrichus*, *S. leptolobus*, *S. selloi*), coletadas próximas à cidade de Santa Maria no Rio Grande do Sul. O trabalho apresenta dados de RMN de ^{13}C de apenas uma substância isolada do *S. oxiphyllus*, sendo que as demais espécies foram estudadas por CG/EM (Krebs e col., 1996).

Um trabalho que merece destaque, corresponde a tese de doutorado de Cáritas J. S. Mendonça, desenvolvida entre a Faculdade de Engenharia de Alimentos, Instituto de Química e Instituto de Biologia (UNICAMP). Sob a co-orientação do Prof. Barata do Instituto de Química (UNICAMP), a pesquisadora estudou a hepatotoxicidade causada por APs contidos em várias espécies dos gêneros *Senecio*, *Heliotropium*, *Eupatorium* e *Crotalaria*. O trabalho também apresenta o perfil por CG-EM dos APs contidos nos gêneros estudados (Mendonça, 2000).

2 - Justificativas e Objetivos

No Brasil, o estudo de APs está, em sua maioria, ligado a seu papel ecológico e poucas pesquisas se encontram com relação à fitoquímica desta classe de alcalóides. O estudo fitoquímico realizado nesta tese vem preencher esta lacuna.

O presente trabalho tem como objetivo o estudo fitoquímico das inflorescências de cinco espécies do gênero *Senecio* (*S. brasiliensis*, *S. bonariensis*, *S. oleosus*, *S. Conyzaefolius* e *S. juerguensis*) visando o isolamento e identificação dos APs macrocíclicos característicos deste gênero, apresentando análises espectrométricas (EM-IE e EM-IQ) e espectroscópica detalhadas (RMN de ^1H 1D e 2D e de RMN de ^{13}C 1D e 2D), com o interesse de assim determinar uma sequência de análise para os APs constituintes, fortalecendo o estudo desta classe de alcalóides no nosso grupo e no Brasil.

encontrava-se em concentração majoritária, sendo os demais em muito baixa concentração com relação ao majoritário ou apenas como traço detectado apenas por CG/EM (Tabela D1).

Os extratos alcaloídicos obtidos foram todos cromatografados em CC. Devido a baixa concentração de alcalóides que inviabilizou o uso de CCDP, pois necessitaríamos de várias placas em CCDP para obtenção dos alcalóides que se encontravam em baixa concentração, isto encarecia bastante o experimental. Portanto, a utilização de cromatografia CC foi essencial para o isolamento dos APs e diminuição do custo do experimental. No entanto, o trabalho em CC foi bastante lento, isto fez com que o tempo para realização do experimental fitoquímico para obtenção dos APs de cada extrato fosse longo.

Tabela D1 – Abundância relativa (%) de APs em espécies de *Senecio* estudadas.

	S. <i>brasiliensis</i>	S. <i>bonariensis</i>	S. <i>oleosus</i>	S. <i>conyzaefolius</i>	S. <i>juerguensis</i>	S. <i>stigoflebius</i>
Intergerrimina	76,6	3,8	-	-	-	-
Senecionina	4,7	86,5	13,1	-	-	-
Platifilina	-	7,1	-	-	-	-
Retrosina	16,2	0,45	73,5	81,2	-	-
Otosenina	-	-	-	12,1	-	-
Serquinquina	-	-	-	6,7	-	-
Sarracina	-	-	-	-	65,2	-
Juerguensina	-	-	-	-	44,8	-
	-	-	-	-	-	-



Figura D2 - *Senecio brasiliensis* (SBr)
Coletado na Sarra do Japí - SP.



Figura D3 - *Senecio bonariensis* (SB)
Coletado em Guaíba - RS



Figura D4 – *Senecio oleosus* (SL)
Coletado em São Joaquim - SC



Figura D5 – *Senecio conyzaefolius* (SZ)
Coletado em São Joaquim - SC

3.1- Espectrometria de Massas de Alcalóides Pirrolizidínicos

3.1.1 - Revisão bibliográfica

A espectrometria de massas (EM) é uma excelente técnica na identificação e elucidação estrutural de Alcalóides Pirrolizidínicos (APs), principalmente por que define o modo como os ésteres estão agrupados. A espectrometria de massas por impacto de elétron (EM-IE) em APs, caracteriza principalmente as sequências de fragmentação da base necina. Portanto, nosso estudo de EM de APs está diretamente ligado à sequência de fragmentação dos tipos de base necina isolados.

3.1.2 - APs macrocíclicos 1,2 insaturados

Alcalóides Pirrolizidínicos geralmente apresentam insaturação na base necina principalmente entre os carbonos 1-2. O grupo de APs macrocíclicos como a senecionina que tem base necina tipo retronecina (Figura M1) pode ser identificada pelos três triplos fragmentos que se destacam no espectro de massas m/z 138, 137, e 136; 121, 120 e 119; e 95, 94, e 93 (Atal 1966). Estes picos representam três sequências de fragmentação como resultado da presença da insaturação 1,2 neste grupo de APs.

A fragmentação homolítica relativa ao éster da estrutura dos APs tipo senecionina leva a sequência de massas dos intermediários m/z 137, 120 e 94 (Figura M1- a) (Atal 1966). Além disto, pode ocorrer também rearranjo de McLafferty de anel de oito membros (Figura M2), formando fragmentos de massas a partir da transferência do hidrogênio da base necina para o éster ácido (Figura M1- b), produzindo os fragmentos de menores valores de m/z 136, 119 e 93 (Neuner-Jehle e col., 1965). Uma outra alternativa para a transferência do hidrogênio da base necina para o éster ácido, é a partir de rearranjo de McLafferty por anel de seis membros (Figura M3). Por último, a literatura descreve que rearranjos de McLafferty em anel de oito membros podem ocorrer pela transferencia do hidrogênio do éster ácido para a base necina (Figura M4), obtendo as três fragmentações de maiores valores de m/z 138, 121 e 95 (Figura M1- c).

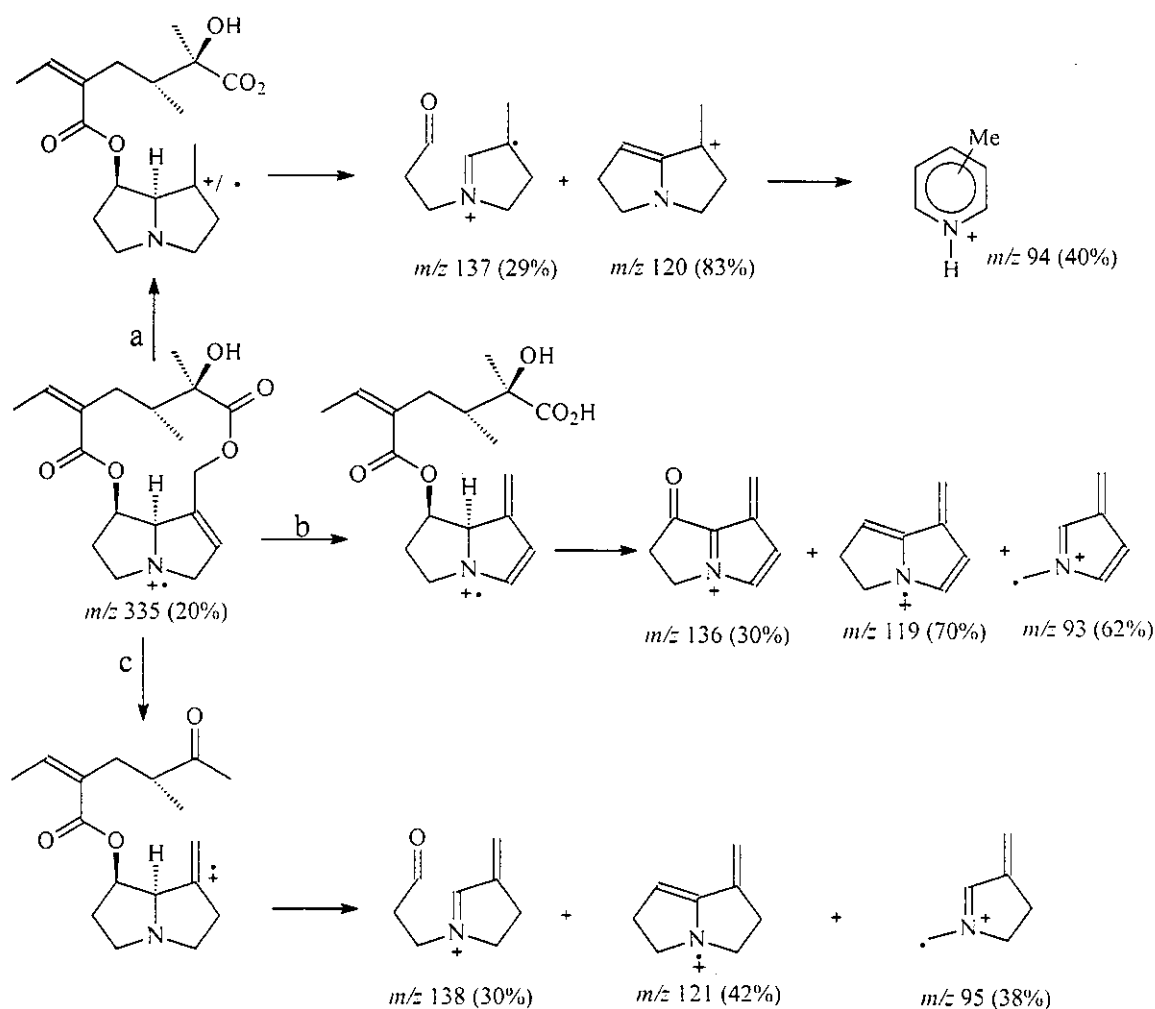


Figura M1- Fragmentação da senecionina (Atal, 1966)

Apesar das sequências de fragmentações características para APs macrocíclicos serem explicadas a partir da perda de elétron π da insaturação da base necina, ou dos átomos de oxigênio do éster ácido, EM-IE no átomo de nitrogênio leva à fragmentações descritas na figura M1 (b) pela quebra a partir do éster α,β -insaturado (Figura M5) (Neuner-Jehle e col., 1965).

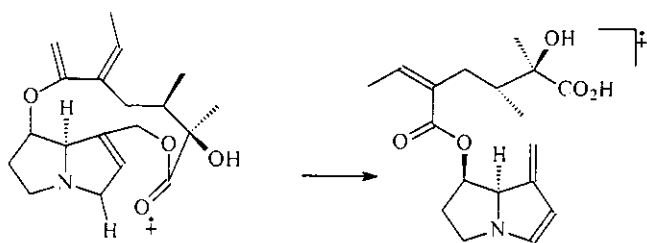


Figura M2- Rearranjo McLafferty em anel de oito membros

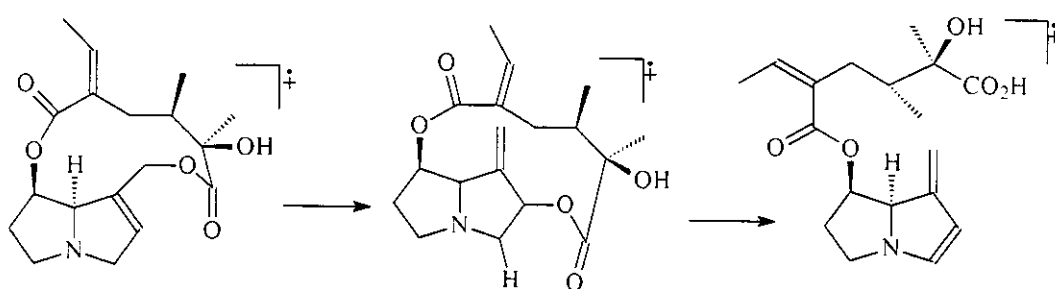


Figura M3- Rearranjo McLafferty em anel de seis membros

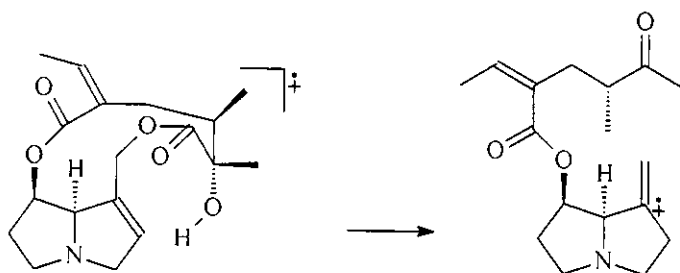


Figura M4- Rearranjo McLafferty em anel de oito membros

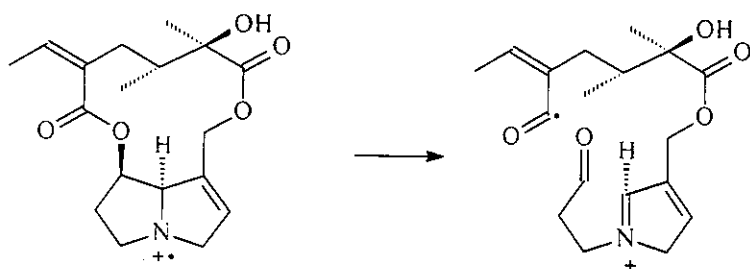


Figura M5- Fragmentação a partir da ionização no N.

3.1.2.1 - Espectrometria de massa dos APs 1,2-insaturados isolados

O espectro de massas do composto SB-1 (Anexo 95 e 97) isolado de *Senecio bonariensis*, apresentou pico base em m/z 136 e fragmentos de m/z 120 e 93, perfil de fragmentação de APs macrocíclicos 1,2 insaturados conforme discutido anteriormente. O íon molecular de m/z 335, nos leva a estruturas tipo senecionina ou seu isômero intergerrimina. O mesmo perfil de fragmentação foi também obtido para os compostos SB-3 e SL-1 (Anexo 105 e 112), isolados do *S. oleosus* e *S. brasiliensis*.

O espectro de massas de SZ-1 (Anexo 110) isolado do *S. conyzaefolius* apresenta também como pico base o íon de m/z 136 e fragmentos de m/z 120 e 93, porém o pico do íon molecular possui fragmento de massas m/z 351, o que corresponderia a um acréscimo de 16 u.m.a. indicando a presença de um átomo de oxigênio, o que leva à estruturas tipo retrorsina ou seu isômero usaramina.

3.1.3 - APs macrocíclicos com base necina tipo otonecina

Grupos de APs macrocíclicos com base tipo otonecina podem ser identificados pela forte presença de fragmentos de m/z 168, 151, 150, 149, 123, 122, 110, 96 e 94, associados a fragmentos da base necina (Cava e Rao, 1968). Os íons de m/z 168, 151 e 110 podem ser considerados diagnósticos de APs macrocíclicos com base necina tipo otonecina, pois nenhuma outra classe de APs apresenta esta sequência de fragmentação (Crout, 1972). A figura M6 apresenta esta fragmentação para a floridamina.

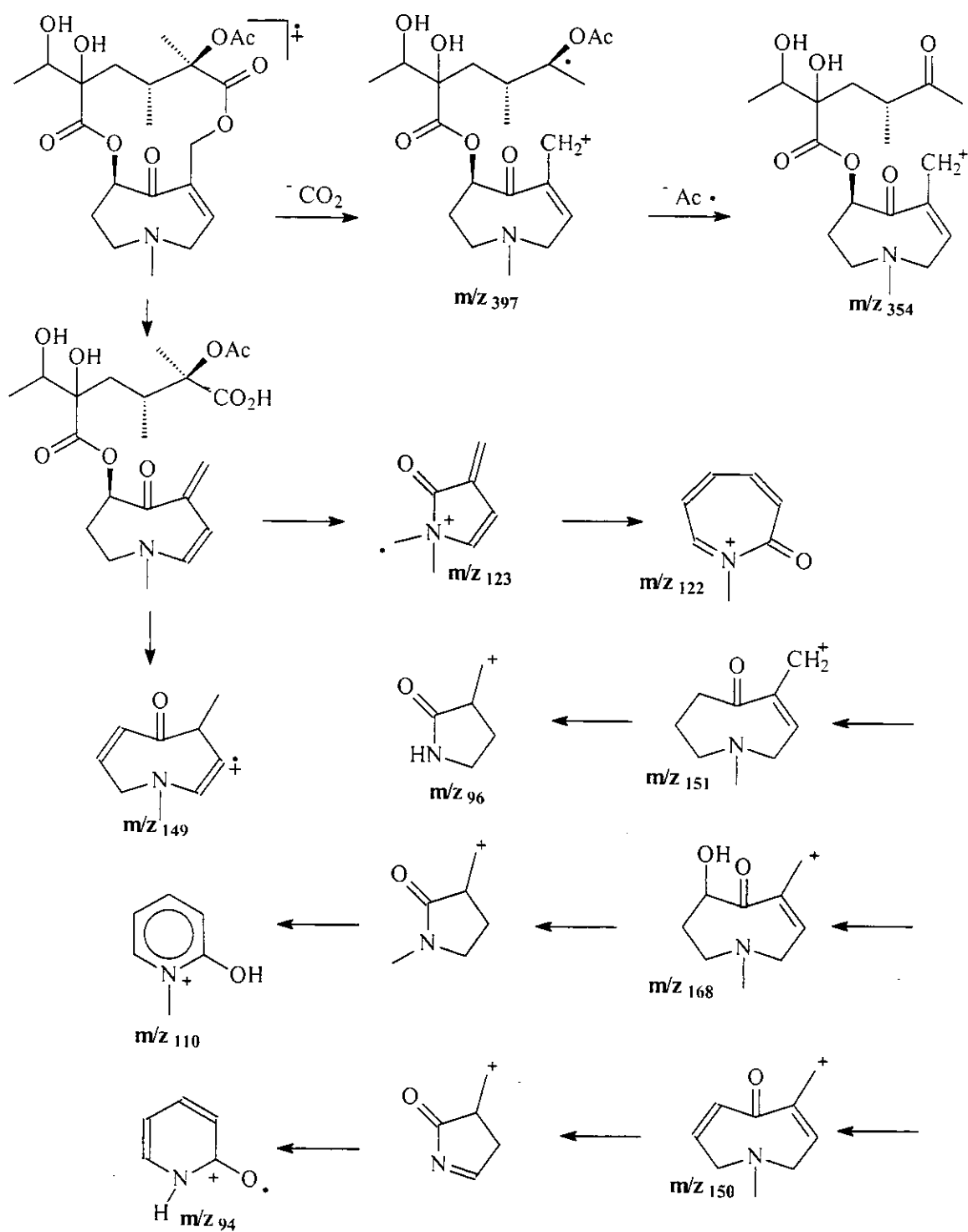


Figura M6 – Fragmentação Floridamina (Cava e Rao, 1968)

Na análise por CCD do composto SZ-2 isolado do *Senecio conyzaefolius*, observamos após a revelação apenas uma mancha, indicando a presença de um alcalóide. Porém a análise por CG-EM mostrou uma mistura de dois compostos (Anexo 118 e 119).

O espectro de massas destas substâncias, que chamamos de SZ-2 α e SZ-2 β , apresentaram como pico base m/z 151, e os fragmentos m/z 168 e m/z 110 perfil característico de fragmentos de APs macrocíclicos 1,2 insaturados com base tipo otonecina. Entretanto, não foi possível a detecção do íon molecular para nenhum dos dois compostos (Figura M6)(Anexo 118 e 119). A análise parece indicar uma mistura de isômeros de APs.

Nas análises por CG-EM realizadas anteriormente para os compostos SB-1, SB-3, SL-1, SL-2 e SZ-1, observou-se a presença de isômeros, como na análise do *Senecio brasiliensis* que obtivemos a mistura de senecionina e intergerrimina. Um estudo adicional para a mistura SZ-2 α e SZ-2 β por CG-IQ-EM, foi realizado na intenção de observar se a mistura tratava-se de isômeros ou de moléculas de massa distintas, pois tínhamos obtido apenas 25 mg e a separação destes compostos foi obtida apenas por CG.

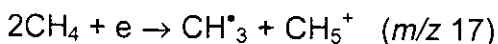
3.1.4 - Ionização química de APs

Espectrometria de massas por ionização de eletrons (70 eV) é frequentemente usada para identificação de APs, porém esta quantidade de energia transferida à molécula de APs causa quebras e reações de rearranjos estruturais, obtendo-se assim espectros complexos com íon molecular frequentemente ausente ou com baixa abundância.

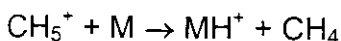
Pouca fragmentação da estrutura e maior abundância do íon molecular M^+ pode ser obtido a partir de EM-IE de baixa energia (13-15 eV). No entanto, isto dificulta a detecção dos fragmentos no aparelho. A detecção por análise CG-EM de baixa energia de nossa amostra foi inviável, pois utilizamos baixa concentração de APs para análise (1 mg/ml). Esta condição amplia o tempo de vida útil da coluna CG e do sistema detector EM (Hendriks, 1990).

A solução para detecção do íon molecular da mistura obtida, veio por utilização do sistema CG-EM-IQ. O estudo da fragmentação de massas por IQ, mostra principalmente a fragmentação do íon molecular sem os fragmentos complexos obtidos a partir de rearranjos reacionais na estrutura oriundos da EM-IE. EM-IQ pode ser obtida a partir de reações com íons positivos ou negativos como, CH_5^+ , $\text{t-C}_4\text{H}_9^+$, NH_4^+ ; OH^- e Cl^- .

Na EM-IE a pressão na fonte de íon é muito baixa, enquanto que para a EM-IQ a pressão é muito maior, pois a ionização é feita a partir de um gás como reagente. O íon é formado a partir de moléculas neutras do gás pela colisão com a fonte de íon. Por exemplo para o gás metano utilizado no nosso experimento temos:



Após o íon formado na reação, o íon CH_5^+ reage com a amostra injetada.



A ionização química (IQ) é aceita como um processo de ionização brando. A energia transferida para a molécula ionizada MH^+ é muito baixa, comparada com a energia interna transferida na EM-IE (Hendriks, 1990).

3.1.4.1 - Análise CG-IQ-EM da mistura SZ

Na análise da mistura SZ-2 por CG-EM-IQ utilizou-se gás metano como reagente. Obtivemos como resposta não a presença de isômeros como esperávamos, e sim, de compostos com massas distintas como os picos do íon da molécula protonada $[\text{M}+1]^+$ m/z 382 para SZ-2 α e m/z 366 para SZ-2 β (Anexos 120 e 121). A diferença de massa entre as substâncias de 16 u.m.a. corresponde à presença de um átomo de oxigênio a mais na molécula SZ-2 α . A análise por CG-IQ-EM da mistura e posteriores análise por RMN de ^1H e de ^{13}C em comparação com dados da literatura (Logie e col., 1994) nos levou à estruturas tipo otosenina e da senquirquina.

3.1.5 - EM de APs com base necina saturada

Espectros de massas de APs saturados podem ser diferenciados dos APs 1,2 insaturados, pela presença de duas unidades m/z a mais (Lüthy e col., 1981). Os picos m/z 140-138, 123-121 e 97-95 representam esta diferença de duas unidades com relação à fragmentação descrita na figura M1 (v. p. 17). O íon de m/z 82 com abundância relativa alta, é também frequente nos APs saturados, tornando-se um pico bastante característico nesta análise (Figura M7), (Roby e Stermitz, 1984; Röder e Wiedenfeld, 1977; Rizk., 1991).

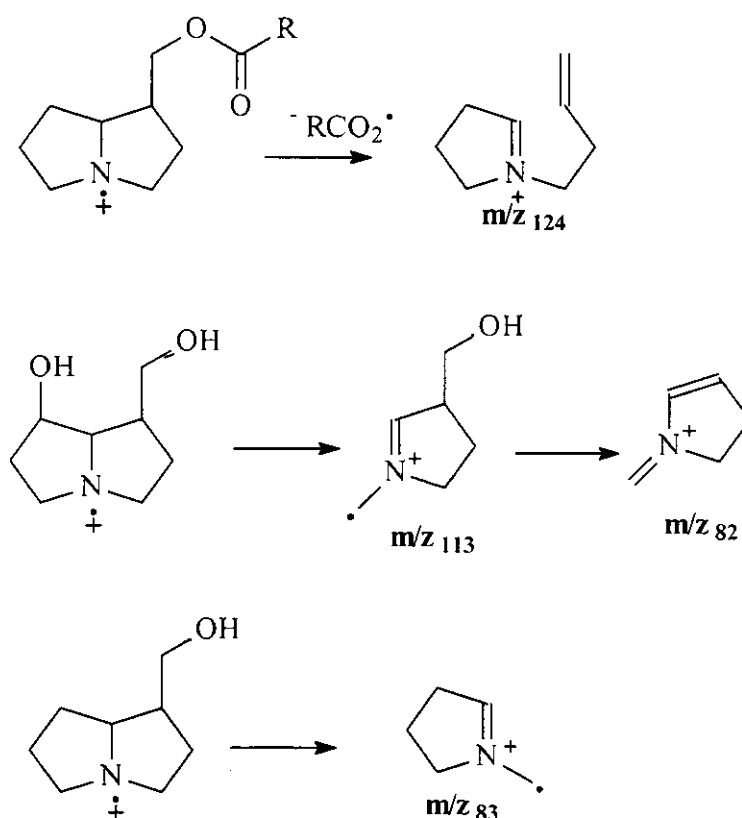


Figura M7 – Fragmentação de APs 1,2 saturados (Rizk., 1991)

Muitos APs saturados são macrocíclicos e podem ser identificados pelos picos característicos m/z 140, 138, 123, 122, 96 e/ou 95, e 82. Sendo, que os picos mais característicos para APs macrocíclicos são m/z 140 ou 82 (Roby e Stermitz, 1984). Embora a literatura já apresente diferenciação entre os APs 1,2 saturados e

insaturados, pouco se encontra sobre a fragmentação de APs saturados macrocíclicos.

3.1.5.1 - APs macrocíclicos 1,2-saturados isolados de *S. bonariensis* e *S. Juerguensis*.

O espectro de massas do composto SB-2 (Anexo 147) isolado do *S. bonariensis* apresentou pico base m/z 140 e fragmentos de massas m/z 122, 96 e 82, perfil de fragmentação de APs macrocíclicos 1,2 saturados. O pico do íon molecular m/z 337, nos leva à estrutura tipo platifilina.

Para a molécula SJ-1 (Anexo 128 e 130) isolada do *S. juerguensis* o espectro de massas apresentou como pico base m/z 138 e também o fragmento molecular m/z 82, característico de estruturas 1,2 saturadas, porém a ausência do íon molecular nos limitou a definição de uma estrutura provável.

Para a molécula SJ-2 (Anexo 136 e 138) também isolada do *S. juerguensis*, o espectro de massas apresentou como pico base m/z 100 e os fragmentos m/z 124 m/z 82 (Figura M9), que nos levou à estrutura de APs saturados, porém o pico base m/z 100 ainda não havia sido descrito na literatura (Figura M8).

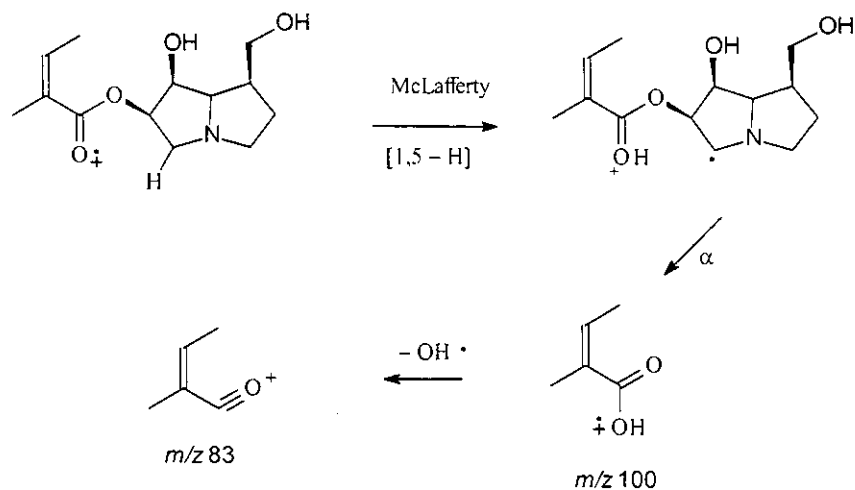


Figura M8 – Proposta de fragmentação para a formação do pico base m/z 100 de SJ-2.

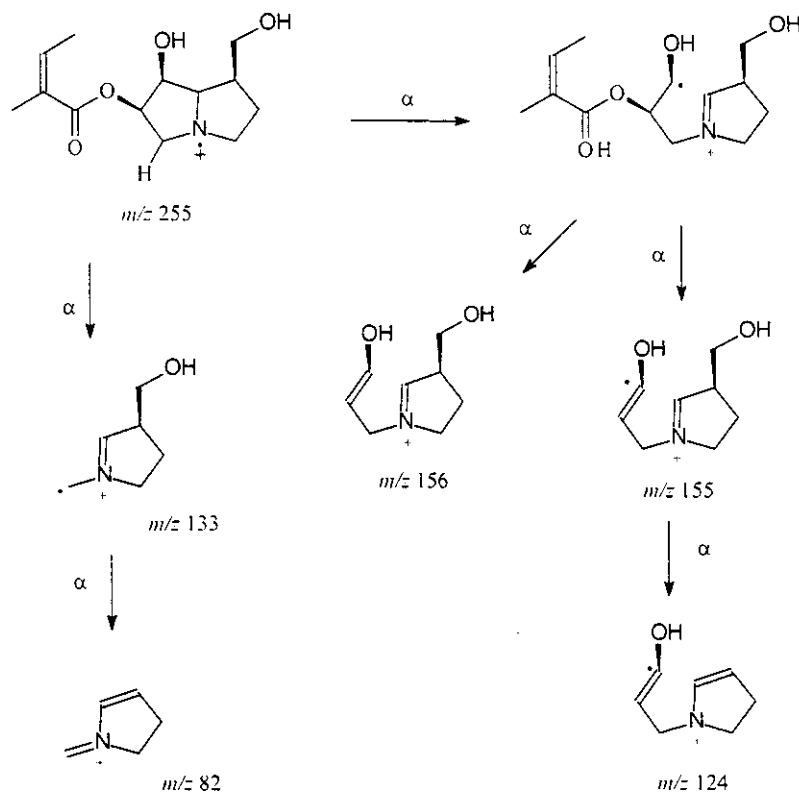


Figura M9 – Proposta de fragmentação da juergensina (SJ-2) isolada de *S. juergensis*.

Como propusemos a formação do pico base a partir da fragmentação do ácido e numa posição ainda não descrita na literatura no C-6, necessitaríamos de uma evidência para fortalecer nossa proposta. A literatura traz a helifolina, molécula com mesmo peso molecular mas com substituinte OH na posição C-2 tendo proposta de fragmentação na Figura M10 (Mohanraj e col., 1981).

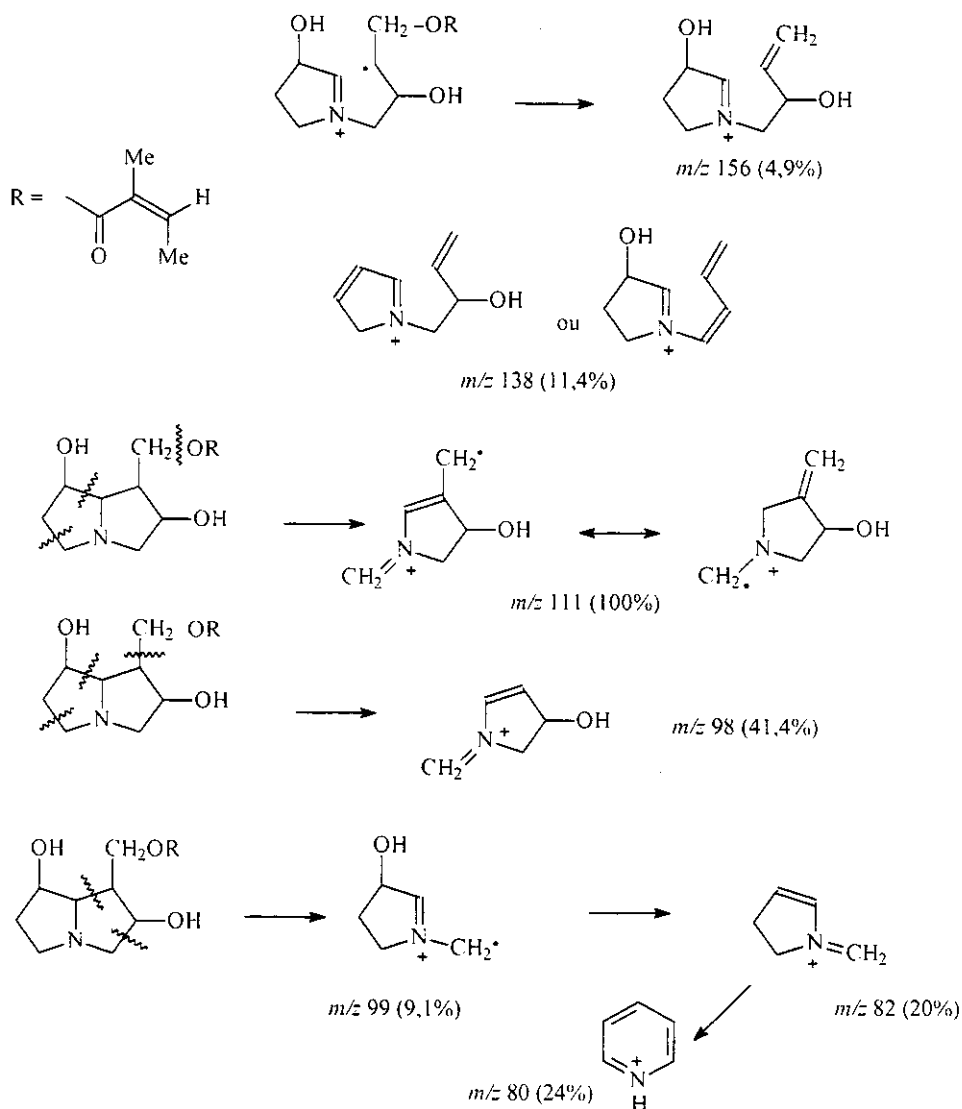


Figura M10 – Fragmentação helifolina (Mohanraj e col., 1981).

3.1.6 – Conclusão do capítulo Espectrometria de massas

A literatura apresenta análises estruturais de Alcalóides pirrolizidínicos principalmente por espectrometria de massas. A utilização desta técnica está bem desenvolvida e é de fundamental importância na elucidação estrutural, devido aos diversos estudos feitos por espectrometria de massas para esta classe de alcalóides. Tem-se hoje descrito na literatura, padrões de diferenciação dos principais aspectos estruturais desses APs:

- presença ou não de insaturação na base necina;
- grau de esterificação;
- E presença ou não de ésteres macrocíclicos.

Na determinação das estruturas obtidas a espectrometria de massas, nos forneceu uma rápida idéia da provável estrutura dos Aps. Para o alcalóide inédito juerguensina a proposta para formação do pico base m/z 100, comparado com proposta de formação do pico base m/z 111 da helifolina distinguiu bem as estruturas com relação as hidroxilas substituintes em C-2 e C-6 e também para o substituinte ácido em C-6.

A utilização de CG/EM na análise de extratos alcaloídicos brutos, é hoje para o pesquisador de APs, a mais eficiente técnica de análise. Pois, traz resultados rápidos sobre a composição dos extratos assim como das estruturas existentes no mesmo, acelerando assim os processos de isolamentos e identificação dos APs de interesse para o pesquisador.

3.2 - Espectroscopia de RMN de ^1H de alcalóides pirrolizidínicos (APs)

3.2.1 - Revisão bibliográfica

Em recente revisão, Roeder apresenta tabelas de RMN de ^{13}C de 130 estruturas de APs. Contudo, as quantidades de APs obtidos são muito baixas quase sempre miligramas por planta estudada. A pequena quantidade de amostra implica num alto tempo de utilização do aparelho para análise de RMN de ^{13}C . A maior sensibilidade do ^1H para a RMN torna a utilização desse núcleo mais prático. Na aquisição de um espectro de RMN de ^1H , pode-se obter resultados satisfatórios com quantidades na ordem de 1 mg de amostra, em tempo bem inferior às análises de RMN de ^{13}C (Roeder e col., 1984, Roeder e Liu, 1991; Röder, 1988; Culvenor e col., 1965).

3.2.2 - Espectroscopia de RMN de ^1H de bases necina

Alcalóides pirrolizidínicos são constituídos de duas porções, a base necina e o ácido néxico. Os agrupamentos de hidrogênios dos anéis da base são bastante distintos e permitem um reconhecimento imediato de aspectos importantes da estrutura, como presença da insaturação e grau de oxigenação na base necina (Culvenor e col., 1965). Em geral oxigenações são esperadas nos carbonos C-7 e C-9 (Figura-H1a), e muito raramente aparecem no C-2 (Figura-H1c) e em C-6 (Figura-H1b). O hidrogênio do C-8 (Figura-H1a) por estar na junção dos anéis e em carbono diretamente ligado ao N, destaca-se pelo seu deslocamento químico no espectro de RMN de ^1H (Culvenor e col., 1965).

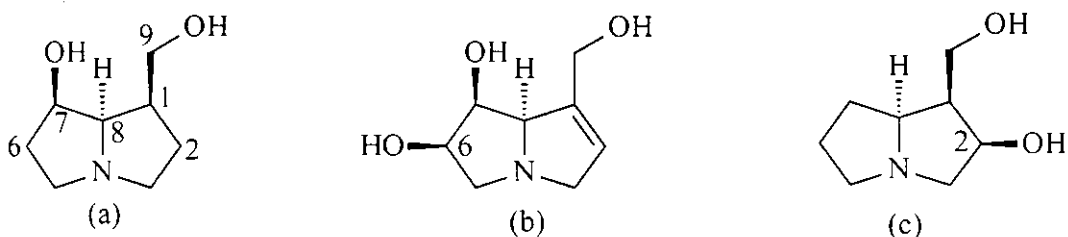


Figura H1- (a) platinecina (b) crotanecina (c) macronecina

Os hidrogênios carbinólicos (H-2, H-6, H-7 e H-9) têm deslocamentos químicos no espectro entre $\sim 3,5$ e $\sim 5,5$ ppm. Para diferentes tamanhos de anéis macrocíclicos tem-se diferentes valores de $\Delta\delta$ para os hidrogênios H-9 α e H-9 β (Figura H2). Por exemplo, para anéis de onze membros os valores de $\Delta\delta$ dos hidrogênios em C-9 são abaixo de 0,9 ppm. No caso de estruturas macrocíclicas de doze membros os hidrogênios do C-9 apresentam valores de $\Delta\delta$ de 1,0-1,5 ppm. Para tamanhos diferentes anéis macro tem-se diferentes valores de $\Delta\delta$, com isto tem-se uma forma de determinação do número de elementos do anel macrocíclico pelo $\Delta\delta$ dos deslocamentos químicos dos hidrogênios de C-9 (Culvenor e col., 1965). Em APs não macrocíclicos, os hidrogênios ligados ao C-9 não apresentam $\Delta\delta$ significativo, os sinais referentes a estes hidrogênios apresentam-se como dubletos sobrepostos (Culvenor e col., 1965).

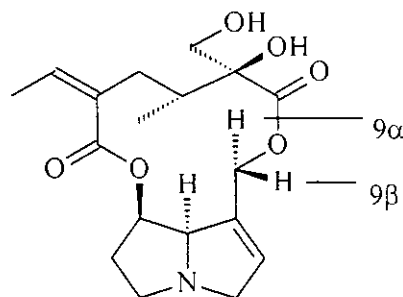


Figura H2 - Retrorsina

Para bases saturadas obtêm-se deslocamentos químicos para H-2 em $\sim 2,0$ - $2,5$ ppm e para bases insaturadas $\sim 5,8$ ppm. O deslocamento químico do H-6 também pode ser utilizado como importante informação preliminar para a estereoquímica da base necina o multiplete referente a H-6 ocorre usualmente abaixo de 2,3 ppm para APs com base tipo retronecina (Figura H3a) e acima deste valor, para APs com base tipo heliotridina (Figura H3b) (Röder, 1988; Roeder e col., 1984; Culvenor e col., 1965; Culvenor e Woods, 1965).

O valor da constante de acoplamento obtida do sinal de H-7, é também considerada um bom indicador da estereoquímica das bases necinas (Culvenor e col., 1965). Vários autores têm descrito sobre a utilização da medida da meia-altura do H-7, para distinguir entre as bases insaturadas Retronecina e Heliotridina (Figura H3a,b), e entre as bases saturadas platinecina, Turneforcidina e Hastanecina (Figura H4a,b,c) (Culvenor e col., 1965; Aasen e col., 1969; Roeder, 1981; Roby e Stermitz, 1984).

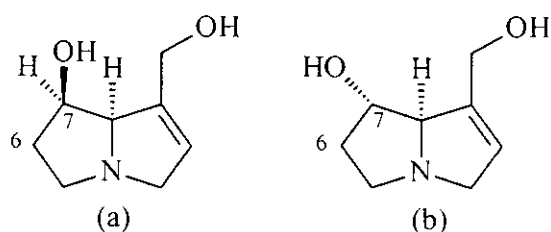


Figura H3- (a) Retronecina (b) Heliotridina

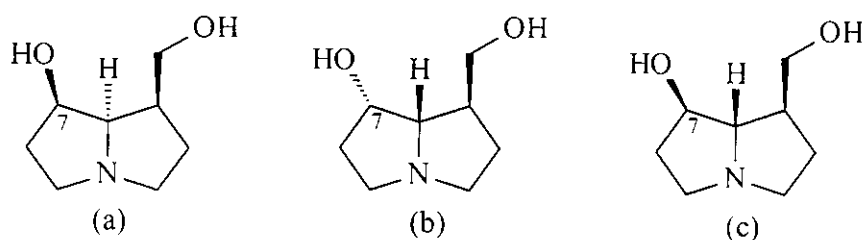


Figura H4 - (a) Platinecina; (b) Turneforcidina e (c) Hastanecina

Para bases não esterificadas obtêm-se como medida para H-7 os valores de 8,8 e 13,9 Hz para Retronecina e Heliotridina respectivamente (Figura H3a,b). Já para as bases esterificadas a discussão deste ponto ainda não está bem esclarecida na literatura, pois as diversas estruturas apresentam δ semelhantes e sobreposição do deslocamento químico do sinal de H-7 quando comparado os espectros obtidos (Culvenor e col., 1965).

A diferença entre os valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios das bases de alguns ésteres, é devido às conformações *endo* para os anéis esterificados quando comparados com *exo* para os anéis não esterificados (Figura H5a,b) (Culvenor e col., 1965).

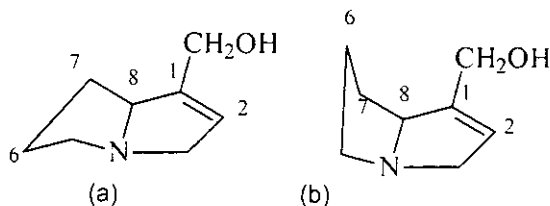


Figura H5 - (a) *exo* (b) *endo*

As análises dos espectros de nOe (efeito nuclear Overhauser), são responsáveis por resultados rápidos, precisos e fáceis de analisar na determinação da conformação preferencial dos anéis de uma base necina.

Hoje, na literatura tem-se uma certa confusão sobre a nomenclatura dos hidrogênios da base necina, bem como sobre a distribuição do mesmo no plano dos anéis. Culvenor em 1965, fez um estudo detalhado sobre as conformações da base necina e definiu os hidrogênios como sendo α e β , neste trabalho seguiremos estas definições (Figura H6)

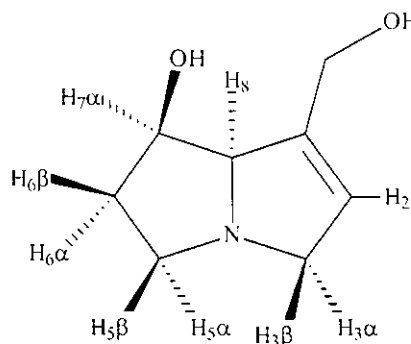


Figura H6 - Definição de H (α e β)

3.2.3 - Espectroscopia de RMN de ^1H de ácidos néricos

Quanto à análise de RMN de ^1H para os ácidos substituintes da base necina, pouca informação pode ser obtida devido à similaridade dos ácidos. No entanto, podemos dividi-los em quatro grupos: ácido angélico, viridiflorico, tranquelântico, e dicarboxílico que é característico de APs macrocíclicos.

A maioria destes ácidos possui como característica um hidrogênio vinílico. Este hidrogênio pode apresentar-se, nas estruturas dos ácidos, com a configuração *E* ou *Z* (Figura H7), distinguidos pelo deslocamento químico de ^1H . O valor do deslocamento químico para o hidrogênio com configuração *Z* nos diversos ácidos, apresenta-se entre $\sim 5,7$ e $\sim 6,2$ ppm (Segall e Dallas, 1983), enquanto que para a configuração *E*, o deslocamento químico deste hidrogênio pode apresentar-se entre $\sim 6,5$ e $\sim 6,7$ ppm (Roitman, 1983; Pieters e Vlietinck, 1988). Como as estruturas de APs esterificados apresentam

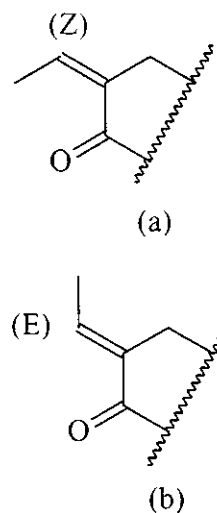


Figura H7- configurações (*Z*,*E*),

insaturação na base necina, isto pode levar uma certo desentendimento na distinção do hidrogênio H-2 da base com o hidrogênio do ácido H-20, porém na grande maioria dos ácidos, a insaturação tem como substituinte um grupo metila H-21, levando o sinal do hidrogênio da insaturação a apresentar-se como um quarteto. Isto o distingue facilmente do sinal referente ao hidrogênio H-2 da insaturação da base necina, que apresenta-se geralmente como singlete (Figura H-8)(Pieters e Vlietinck, 1988).

3.2.4 - Discussão e resultados

3.2.4.1 - Espectroscopia de RMN de ^1H dos APs 1,2-insaturados isolados

A literatura apresenta boa discussão sobre os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos APs, mas há um certo desentendimento sobre as constantes de acoplamentos e isto se deve ao alargamento dos sinais dos hidrogênios. No entanto, nosso estudo defini algumas destas constantes através da análise dos espectros de RMN de ^1H em 1D (CYCLECOE, NOESY) e 2D gCOSY (Anexo 93). Para tanto, discutiremos as constantes de acoplamento das moléculas isoladas seguindo a ordem numérica definida pela literatura (Figura H6).

Iniciaremos nosso estudo em RMN pela molécula da senecionina (SB-1) (Figura H8), isolada do *Senecio bonariensis*. Os resultados dos deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , suas multiplicidades e valores de constantes de acoplamentos além da comparação com dados da literatura, encontram-se descritos na tabela H1.

Para a senecionina (SB-1) (Anexo 98), o dubleto em 6,12 ppm com constante de acoplamento $^3J_{2\text{H}-3\beta} = 1,4$ Hz, foi atribuído ao hidrogênio H-2 devido ao acoplamento com o hidrogênio 3β . O hidrogênio H- 3β em 3,87 ppm apresenta-se como duplo dubleto correspondente ao acoplamento geminal $^2J_{3\beta-3\alpha} = 15,7$ Hz com H- 3α e vicinal $^3J_{3\beta-2\text{H}} = 1,4$ Hz com o H-2. O hidrogênio H- 3α em 3,33 ppm apresenta-se como duplo dubleto referente aos acoplamentos com o hidrogênio geminal H- 3β ($^2J_{3\beta-3\alpha} = 15,74$), no entanto a constante $^4J_{3\beta-8\text{H}} = 6,1$ Hz foi atribuída ao

acoplamento H-3 α com H-8 determinado em função da correlação observada no diagrama de contorno gCOSY (Anexo 101).

Tabela H1 - Análise de RMN de ^1H da Senecionina (SB-1) (Urones e col., 1988).

Senecionina SB-1		
H	δ ^1H (ppm) J = Hz (isolado)	δ ^1H (ppm) J = Hz (literatura)
2	6,12 <i>d</i> (1,4)	6,20
3 α	3,33 <i>dd</i> (6,1/15,7)	3,38 <i>dd</i> (6,0/1,0)
3 β	3,87 <i>dd</i> (15,7/1,4)	3,90 <i>d</i> (16,0)
5 α	2,47 <i>ddd</i> (5,8/8,8/13,1)	2,50 <i>m</i>
5 β	3,19 <i>t</i> (8,8)	3,27 <i>t</i> (9,0)
6 α	2,06 <i>m</i>	2,15 <i>m</i>
6 β	2,31 <i>dd</i> (13,1/5,7)	2,39 <i>dd</i> (6,0/13,0)
7	4,95 <i>t</i> (3,2)	5,02 <i>t</i> (3,0)
8	4,21 <i>sL</i>	4,28 <i>m</i>
9 α	3,98 <i>d</i> (11,6)	4,06 <i>d</i> (12,0)
9 β	5,43 <i>d</i> (11,6)	5,50 <i>d</i> (12,0)
13	1,59 <i>m</i>	1,69 <i>m</i>
14 α	1,68 <i>dd</i> (10,5/13,0)	1,70 <i>m</i>
14 β	2,11 <i>d</i> (13,0)	2,20 <i>d</i> (13,0)
18	1,25 <i>s</i>	1,34
19	0,85 <i>d</i> (6,6)	0,91 <i>d</i> (7,0)
20	5,65 <i>q</i> (7,0)	5,73 <i>q</i> (7,0)
21	1,77 <i>d</i> (7,0)	1,85 <i>d</i> (7,0)

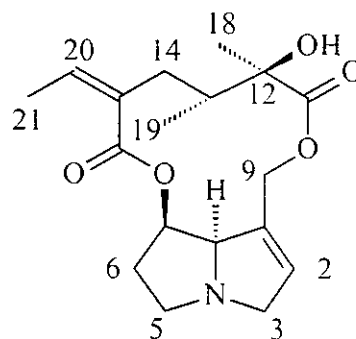


Figura H8 - Senecionina (SB-1)

O hidrogênio H-5 β em 3,19 ppm apresenta-se como um triplete aparente, com constante $^2J = 8,85$ Hz referentes aos acoplamentos geminal com H-5 α e vicinal com H-6 α . O hidrogênio H-5 α em 2,47 ppm apresentou-se como dubleto de duplo dubletos referente aos acoplamento com o hidrogênio geminal H-5 β ($^2J_{5\alpha-5\beta} = 13,1$ Hz), com H-6 β ($^3J_{5\alpha-6\beta} = 8,8$ Hz) e com o H-6 α ($^3J_{5\alpha-6\alpha} = 5,8$ Hz). O hidrogênio H-6 β em 2,31 ppm apresenta-se como um dubleto de dubleto, correspondente às constantes $^2J_{6\beta-6\alpha} = 13,1$ Hz e $^3J_{6\beta-5\alpha} = 5,7$ Hz. No diagrama de contorno gCOSY, observa-se as correlações de H-6 α com H-6 β , H-5 α , H-5 β e H-7 (Anexo 101).

O hidrogênio H-7 em 4,95 ppm apresenta-se como um triplete aparente, correspondente à constante vicinal $^3J = 3,2$ Hz e com os hidrogênios H-8 e H-6 α . O

hidrogênio H-8 em 4,21 ppm apresenta-se como um singlete alargado. Este efeito se deve à relaxação escalar do isótopo do N-14 geminal (Gunter, 1994; Breitmaier e Voltert, 1989).

Para os hidrogênios H-9 β em 5,43 ppm e H-9 α em 3,98 ppm, observa-se apenas as constantes de acoplamento geminais $^2J = 11,6$ Hz.

O hidrogênio H-14 β em 2,11 ppm apresenta-se como um dubleto com constante de acoplamento geminal $^2J_{14\beta-14\alpha} = 13,0$ Hz. Para o hidrogênio H-14 α em 1,68 ppm observa-se um duplo dubleto com constante geminal $^2J_{14\alpha-14\beta} = 13,07$ Hz e a constante vicinal $^3J_{14\alpha-13} = 10,56$ Hz. Os sinais dos hidrogênios H-14 α, β apresentam-se bem definidos devido aos acoplamentos geminal e vicinal com H-13.

O éster α, β insaturado presente nesta molécula tem a configuração Z com a metila substituinte do sistema alílico. Com isto o hidrogênio vinílico H-20 em 5,65 ppm acopla com a metila substituinte CH₃-21, apresentando-se como um quarteto com constante $^3J_{20-CH_3} = 7,0$ Hz. Já metila substituinte CH₃-21 apresenta-se como dubleto com a mesma constante. As demais metilas substituintes apresentam-se, uma como singlete CH₃-18 em 1,25 ppm e a outra como dubleto CH₃-19 em $\delta = 0,85$ ppm com constante $^3J_{CH_3-13} = 6,6$ Hz referente ao acoplamento com H-13 que apresenta-se como multiplete em $\delta = 1,59$ ppm.

A mesma substância foi isolada do *Senecio oleosus* e classificada como SL-1 (Anexo 155).

Do *Senecio brasiliensis* foi isolado a intergerrimina (SB-3) (Figura H9). Os resultados dos deslocamentos químicos dos sinais de RMN de 1H , bem como multiplicidades, e valores de constantes de acoplamentos, em comparação com dados da literatura, encontram-se descritos na tabela H2.

Para a intergerrimina (SB-3) isômero da senecionina (SB-1), as mesmas constantes de acoplamentos foram observadas, destacando-se uma diminuição na blindagem do hidrogênio H-20 em 6,52 ppm de ~ 1 ppm (Anexo 106). Uma outra mudança foi observada nos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-14 α e β , uma inversão nítida na multiplicidade dos sinais, que nos levou a um estudo mais

detalhado neste ponto tanto para a senecionina (SB-1) como para a intergerrimina (SB-3).

Tabela H2 - Análise de RMN de ^1H da Intergerrimina (SB-3) (Roitman, 1983).

Intergerrimina SB-3		
H	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (isolado)	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (literatura)
2 α	6,21 sL	6,22
3 α	3,33 dd (4,6/15,8)	3,39
3 β	3,85 d (15,8)	3,93
5 α	2,48 ddd (5,8/12,7/8,7)	2,53
5 β	3,20 dd (8,7/13,9)	3,23
6 α	2,09 m	2,08
6 β	2,31 dd (6,1/12,7)	2,40
7	4,95 sL	5,01
8	4,21 sL	4,29
9 α	3,98 d (11,8)	4,12
9 β	5,43 d (11,8)	5,42
13	1,61 m	1,75
14 α	1,65 d (13,4)	1,96
14 β	2,12 dd (10,2/13,4)	2,20
18	1,25 s	1,33
19	0,84 d (6,8)	
20	6,52 q (7,0)	
21	1,77 d (7,0)	

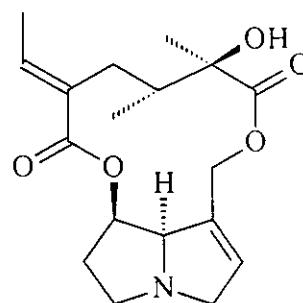
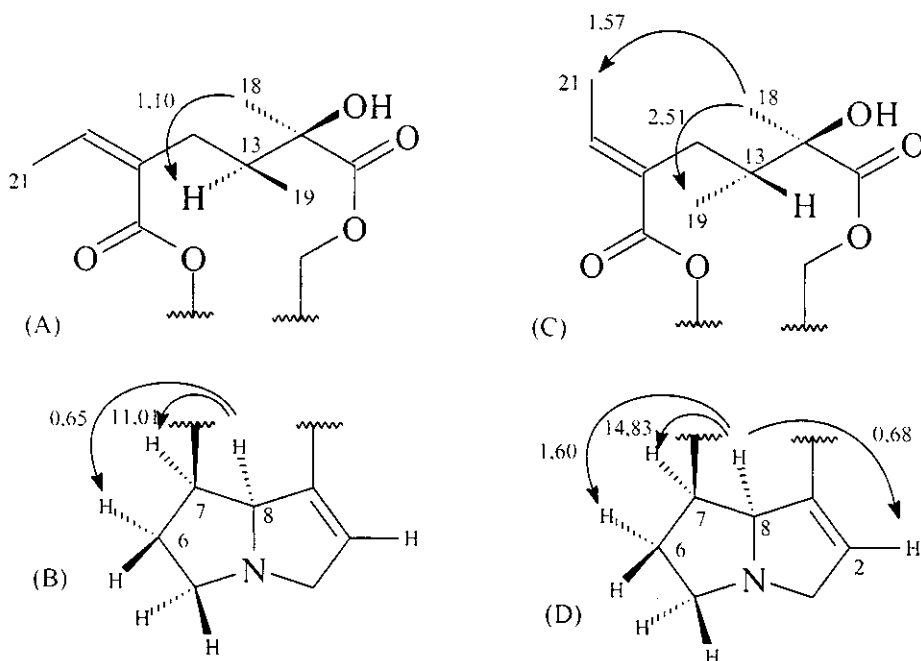


Figura H9 - Intergerrimina (SB-3)

3.2.4.2 - Experimento CYCLENONE para a Intergerrimina (SB-3) e Senecionina (SB-1).

Um comportamento distinto foi observado para os hidrogênios H-14 α e β dos isômeros senecionina e intergerrimina. A inversão na multiplicidade dos sinais foi observado nos espectro de RMN de ^1H (Anexos 106) e poderia ocorrer se houvesse mudança no posicionamento do hidrogênio vizinho a H-13. Partimos então, para uma análise em CYCLENONE de ambas as estruturas intergerrimina (SB-3) e senecionina (SB-1).

Foram realizadas duas irradiações, uma sobre o hidrogênio H-8 da base necina (Figura H10- B e D) para verificarmos se era a mesma base para ambos compostos, e outro sobre os hidrogênios metílicos CH₃-18 (Figura H-10 A e C) para observarmos a real conformação da metila CH₃-19, substituinte do anel macrocíclico vicinal aos hidrogênios H-14 α e β . Esta análise nos mostrou que, tanto na intergerrimina (SB-3) (Anexo 107 e 108), como na senecionina (SB-1) (Anexo 103 e 104), a conformação das bases necina são iguais.



(Figura H10)- Experimento CYCLENONE (A) irradiação sobre a metila CH₁₈ da senecionina (SB-1); (B) irradiação sobre o hidrogênio H-8 da senecionina (SB-1); (C) irradiação sobre a metila CH₁₈ da intergerrimina (SB-3); (D) irradiação sobre o hidrogênio H-8 da intergerrimina (SB-3).

Porém, para as metilas 18 e 19 dos compostos observa-se uma distinção entre elas, pois para a intergerrimina (SB-3) (Anexo 108 e 109) a irradiação CYCLENONE na metila CH₃-18 mostra conformação *cis* com a metila CH₃-19 e com a metila CH₃-20, enquanto que para a senecionina (SB-1) (Anexo 103 e 104) a

irradiação CYCLENONE na metila CH₃-18 mostra conformação *cis* com o hidrogênio H-13. Esta inversão na conformação das metilas 18 e 19 entre as moléculas de senecionina e intergerrimna faz com que os multiplicidade dos hidrogênios H-14 α e β sejam invertidos entre as moléculas.

O forte incremento de nOe (Figura H10) observado no CYCLENONE da intergerrimna, entre a metila 18 com o metila 21, nos levou a acreditar que a mudança na conformação das metilas assim como na mudança da multiplicidade dos sinais de H-14 α e β , pode-se atribuir à mudança na configuração *Z* e *E* da metila H-21, que faz com que todo anel macrocíclico responda a esta inversão de conformação. Foi citado em literatura por Hartmann (1985) que as configurações *Z* e *E* são responsáveis pelo efeito de blindagem no carbono C-14, porém o autor não faz correlação deste efeito da configuração entre os hidrogênios do anel macrocíclico.

Do *Senecio conyzaefolius* foi isolada a molécula retrosina (SZ-1) (Figura H11). Os resultados dos deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ¹H, bem como multiplicidades, e valores de constantes de acoplamentos em comparação com dados da literatura encontram-se descritos na tabela H3 (Anexo 113).

A estrutura obtida diferencia-se da senecionina (SB-1) (Figura H8, v. p. 33), pela presença de grupo hidroxila substituinte no carbono CH₂-18 (Anexo 113). Com isto, na estrutura da figura H10 houve pouca mudança tanto nos deslocamentos químicos de RMN de ¹H quanto nas constantes de acoplamentos. Deve-se ressaltar apenas a presença dos deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios H-18 α em 3,60 ppm e H-18 β em 3,37 ppm e constantes de acoplamento geminal $^2J_{18\alpha-18\beta} = 11,25$ Hz.

Esta mesma estrutura foi isolada do *Senecio oleosus* (SL-2) (Anexo 158) e detectada por CG/EM no *Senecio brasiliensis*.

Tabela H3 - Análise de RMN de ^1H da Retrorsina (SZ-1) (Habermehl e col., 1988).

H	Retrorsina SZ-1	
	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (isolado)	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (literatura)
2 α	6,18 s	6,22 m (1,6)
3 α	3,38 dd (4,78/15,75)	3,39 dd (15,9)
3 β	3,92 d (15,75)	3,95 d (16)
5 α	2,52 ddd (5,9/8,99/13,22)	2,53 m
5 β	3,29 dd (8,99/8,99)	3,36 t
6 α	2,10 m	2,12 d (6)
6 β	2,36 dd (5,91/13,22)	2,39 d (14)
7	4,99 dd (6,75/6,75)	-
8	4,25 sL	-
9 α	4,08 d (11,94)	4,11 d (12)
9 β	5,47 d (11,94)	5,51 d (12)
13	1,66 m	1,75 m
14 α	1,71 dd (12,93/10,69)	1,70 m
14 β	2,18 d (12,93)	2,20 d (13)
18 α	3,60 d (11,25)	3,62 d (11)
18 β	3,37 d (11,25)	3,76 d (11)
19	0,82 d (6,47)	0,87 d (7)
20	5,70 q (6,5)	5,74 q (7)
21	1,80 dd (1,4/6,5)	1,85 d (7)

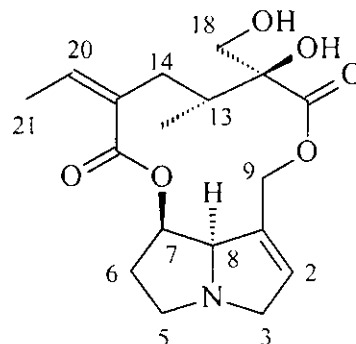


Figura H11 - Retrorsina (SZ-1)

3.2.4.3 - Espectroscopia de RMN de ^1H dos APs com base tipo otonecina

Como já foi discutido no capítulo sobre espectrometria de massas, obtivemos do *S. conyzaefolius* uma mistura de APs macrocíclicos com base necina do tipo otonecina. O estudo realizado em espectrometria de massas por impacto de elétrons e ionização química, nos levou as prováveis estruturas sem que fosse necessário tentar separá-las. Porém, a elucidação estrutural desta mistura foi apenas possível por análises de RMN uni e bidimensional e em comparação com a literatura. O estudo sobre as constantes de acoplamento desta mistura ficou comprometido, apesar de dados de constantes importantes terem sido retirados dos espectros destas mistura.

A substância majoritária da mistura SZ foi classificada como SZ-2 α . Os dados de deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , bem como

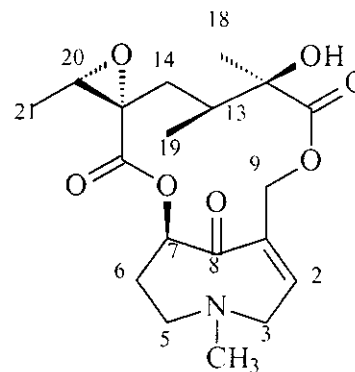
multiplicidades e valores de constantes de acoplamentos e comparação com dados da literatura encontram-se descritos na tabela H3. Pelas análises espectroscópicas (Anexos 123, 124 e 125) e em comparação com dados da literatura (Tabela H4) chegamos à otosenina (Figura H12).

Da otosenina SZ-2 α obtivemos o hidrogênio insaturado H-2 em $\delta = 6,20$ ppm, como singlete alargado (Anexo 123). O sinal referente ao H-3 α em 3,42 ppm corresponde a um dubleto, onde observou-se a constante de acoplamento geminal $^2J_{3\alpha-3\beta} = 18,2$ Hz. O H-3 β em 3,30 ppm apresentou-se também como um dubleto de mesma constante. Como a análise de RMN de ^1H foi realizada a partir da mistura de alcalóides, vale salientar que só consideramos as constantes de acoplamento mais relevantes na elucidação estrutural, para evitar assim erros posteriores derivados da análise da mistura de APs. Os hidrogênios H-5 α em 2,62 ppm e H-5 β em 2,91 ppm apresentaram-se como dubleto com constantes geminais $^2J_{5\alpha-5\beta} = 4,68$ Hz.

Os hidrogênios H-6 α em 2,22 ppm e H-6 β em 2,62 ppm apresentaram-se como multipletos. O hidrogênio H-7 em 5,08 ppm apresenta-se como um tripleto aparente sendo $^3J = 2,5$ Hz referente aos acoplamentos com H-6 α e H-6 β , observados no espectro de RMN de ^1H , determinados pelas correlações observadas no diagrama de contorno gCOSY (Anexo 126). Os hidrogênios H-9 α em 5,46 ppm e H-9 β em 4,33 ppm apresentaram-se como dubletos com constantes geminais de $^2J_{9\alpha-9\beta} = 11,27$ Hz. Os hidrogênios H-14 α e β dos compostos 1,2 insaturados, com base do tipo retronecina, foram utilizados como diagnósticos na determinação da configuração Z/E para o sistema alílico do ácido e aqui apresentaram-se como multipletos.

Tabela H4 – Análise de RMN de ^1H da Otosenina (SZ-2 α) (Liu e Röder, 1991).

H	Otosenina SZ-2 α	
	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (isolado)	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (literatura)
2 α	6,12 sL	6,10 dd (2,5/2)
3 α	3,42 d (18,2)	3,41 dm (18)
3 β	3,30 d (18,2)	3,28 m (18)
5 α	2,62 d (4,6)	2,61 m
5 β	2,91 d (4,6)	2,90 m
6 α	2,22 m	2,58-2,60 m
6 β	2,62 m	-
7	5,08 t (2,5)	5,07 dd (3/2)
9 α	4,33 d (11,2)	5,45 d (11)
9 β	5,46 d (11,2)	4,32 d (11)
13	1,91 m	1,90 m
14 α	2,10 m	2,10 m
14 β	1,91 m	1,13 m
18	1,33 s	1,32 s
19	1,12 d (6,6)	1,12 d (7)
20	2,98 q (5,3)	2,97 q (7)
21	1,23 d (5,3)	1,27 d (7)
N-Me	2,06 s	2,06 s

Figura H12 - Otosenina (SZ-2 α)

O epóxido nos carbonos C-15 e C-20, faz com que o deslocamento químico do hidrogênio H-20 seja mais blindado do que nos sistemas alílicos até agora estudados. Este hidrogênio apresentou-se com deslocamento químico na região de 2,98 ppm, com a multiplicidade de um quarteto com constante de acoplamento na ordem de $^3J_{20-\text{CH}_3} = 5,3 \text{ Hz}$, devido ao acoplamento com os hidrogênios da metila CH_3 -21. Já esta metila apresentou-se como dubleto com constata de mesma ordem. Foi observado um singlete intenso na região de 2,06 ppm que foi atribuído a metila diretamente ligada ao átomo de N.

Para a segunda molécula de senquirquina SZ-2 β (Figura H13), a determinação das constantes de acoplamentos ficaram limitadas aos sinais distintos nos espectros (Anexo 123). Como a maioria dos sinais entre as moléculas estavam sobrepostos e também a concentração de uma das moléculas era bem menor, isto dificultou a determinação de algumas constantes de acoplamentos. Comparando os

valores de J obtidos com os dados de literatura (Tabela H5), e considerando que alguns sinais diagnósticos desta estrutura não apresentaram sobreposição, a determinação desta molécula foi possível (Tabela H6).

Otosenina (SZ-2 α) e senquirina (SZ-2 β) possuem estruturas bastante semelhantes, diferenciando-se apenas por possuir uma dupla ligação em C15-C20, na SZ-2 β . Enquanto que em SZ-2 α , essa ligação se encontra oxidada na forma de uma oxirana (Figura H11, H12). Os deslocamentos químicos dos hidrogênios assim como as constantes de acoplamento da base necina do tipo otonecina não apresentaram diferenças, destacando-se, no entanto, o hidrogênio H-7 que apresentou deslocamento químico com constantes de acoplamentos distintas (duplo dubleto em 4,97 ppm e $^3J = 3,15$ Hz com os hidrogênios H-6 α,β). Também não houve sobreposição nos hidrogênios H9 α em 5,47 ppm e 9 β em 4,34 ppm que apresentaram constantes geminais $^2J_{9\alpha-9\beta} = 10,5$ Hz. Outro sinal decisivo foi o H-20, do sistema alílico do éster substituinte, que apresentou deslocamento químico e constante de acoplamento distintos (5,85 ppm e $^3J = 7,8$ Hz com a metila CH₃-21).

Tabela H5 - Análise de RMN de ^1H da Senquirquina (SZ-2 β) (Habermehl e col., 1988).

Senquirquina SZ-2 β		
H	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (isolado)	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (literatura)
2 α	6,04 sL	6,14 t (2/2)
3 α	3,42 d (18,1)	3,43 dL (19,5/2)
3 β	3,30 m	3,25 dt (19,5/2/2)
5 α	2,91 d (5,3)	2,87 ddd (13,5/4,5/3,0)
5 β	2,62 d (4,0)	2,74 dt (13,5/13,5/4,5)
6 α	2,62 m	2,55 ddt (13,5/13,5/3,05/3,0)
6 β	2,22 m	2,36 ddt (13,5/4,5/3,0/3,0)
7	4,97 d (3,1/3,1)	4,98 t (3,0/3,0)
9 α	4,34 d (10,5)	5,42 d (11,0)
9 β	5,47 d (10,5)	4,35 d (11,0)
13	1,91 m	1,68 ddq (13,5/12,0/6,0)
14 α	2,10 m	2,31 dL (13,5)
14 β	1,91 m	1,81 dd (13,5/12,0)
18	1,33 s	-
19	1,12 d (6,6)	0,91 d (6,0)
20	5,85 q (7,8)	5,86 dq (7,5/1,5)
21	1,23 d (5,3)	1,99 dd (7,5/1,5)
N-Me	2,06 s	2,08 s

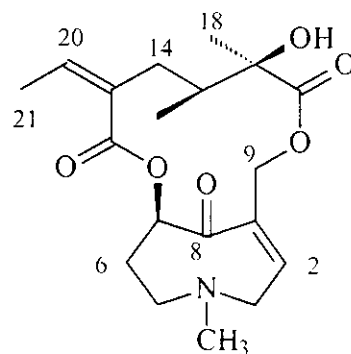


Figura H13 - Senquirquin (SZ-2 β)

Tabela H6 – Dados comparativos (Otosenina, SZ-2 α e Senquirquina, SZ-2 β)

H	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (SZ-2 α)	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (SZ-2 β)
2 α	6,04 sL	6,12 sL
7	4,97 d (3,1/3,1)	5,08 dd (2,52/2,52)
9 α	4,34 d (10,5)	4,33 d (11,2)
9 β	5,47 d (10,5)	5,46 d (11,35)
20	5,85 q (7,8)	2,98 q (5,36)
21	1,23 d (5,3)	1,23 d (5,36)
N-Me	2,06 s	2,06 s

3.2.4.4 - Espectroscopia de RMN de ^1H dos APs com base necina saturada

Iniciaremos nosso estudo de RMN de ^1H para APs com base do tipo necina saturada pelas moléculas isoladas de *S. juerguensis*. São característicos do gênero *Senecio* estruturas macrocíclicas, porém obtivemos desta espécie dois alcalóides (um mono e um diéster) abertos em concentrações baixas. Estudo comparativo das moléculas isoladas com dados da literatura (Tabela H7 e H8) nos levou a duas estruturas, sendo uma do tipo sarracina e um novo alcalóide que chamamos de juerguensina. Para a sarracina (SJ-1) (Figura H14). Os resultados de deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , bem como multiplicidades, e valores de constantes de acoplamentos, em comparação com dados da literatura, encontram-se descritos na tabela H7.

O sinal do hidrogênio H-1 mistura-se com os hidrogênios H-3 α e H-5 α , fazendo com que não seja possível definir as constantes de acoplamento, o mesmo acontece com os hidrogênios H-2 α e β e H-6 α e β , que se encontram na base do sinal das metilas deste composto. Para elucidação desta estrutura foi necessário o uso de várias técnicas de elucidação estrutural (IV, EM, RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional). O espectro de RMN de ^1H (Anexo 131) oferece melhor resolução dos sinais a partir de 3 ppm, onde se observou o H-3 β em 3,30 ppm como um duplo dubleto com constante geminal $^2J_{3\beta-3\alpha} = 17,9$ Hz e vicinal $^3J_{3\beta-2} = 9,3$ Hz com H-2 β . Já o sinal de H-5 β em 3,32 ppm apresentou-se como duplo de duplos dubletos correspondente às constantes de acoplamentos $^2J_{5\beta-5\alpha} = 9,53$ Hz, $^3J_{5\beta-6\beta} = 7,33$ Hz e $^4J_{5\beta-3\alpha} = 2,2$ Hz. O hidrogênio H-7 em $\delta = 5,32$ ppm apresenta-se como tripleto aparente, referente aos acoplamento com os hidrogênios H-8 e H-6 β com constantes $^3J = 3,4$ Hz. O H-8 em 5,32 ppm apresenta-se também como duplo dubleto com constantes $^3J_{8-7} = 3,4$ Hz e $^3J_{8-H1} = 8,0$ Hz determinada pela análise no gCOSY (Anexo 134). Os hidrogênios H-9 α em 4,37 ppm e H-9 β em 4,40 ppm apresentam-se como duplo dubleto referente aos acoplamentos geminais $^2J_{9\alpha-9\beta} = 10,9$ Hz e vicinais $^3J_{9\alpha-H1} = 8,0$ Hz e $^2J_{9\beta-H1} = 7,69$ Hz. As correlações observadas no diagrama de contorno gCOSY foram importantes nas atribuições desses sinais (Anexo 134).

O que se destaca agora sobre a molécula são os ésteres substituintes. O hidrogênio alílico H-13 em 6,37 ppm acopla com a metila substituinte CH₃-14 com constante $^3J = 7,3$ Hz. Porém para os hidrogênios H-15 α,β que estão em um carbono sp³ e com o substituinte OH, apresentam-se como singlete em 4,24 ppm devido à livre rotação da ligação C12-C15. O outro ácido substituinte apresenta o hidrogênio H-19 em 6,11 ppm acoplando com a metila CH₃-20 em 2,25 ppm com constante $^3J_{19-CH_3} = 5,9$ Hz e a metila CH₃-21 como singlete em 1,21 ppm.

Tabela H7 - Análise de RMN de ¹H da Sarracina (SJ-1) (Ruth, 1993).

Sarracina SJ-1		
H	δ ¹ H (ppm) $J =$ Hz (isolado)	δ ¹ H (ppm) $J =$ Hz (literatura)
1	2,69-2,85 <i>m</i>	2,85 <i>m</i>
2 α	1,91-1,93 <i>m</i>	1,89 <i>m</i>
2 β	2,10-2,52 <i>m</i>	2,07 <i>m</i>
3 α	2,69-2,85 <i>m</i>	2,08 <i>m</i>
3 β	3,30 <i>dd</i> (17,9/9,3)	3,25 <i>m</i>
5 α	2,69-2,85 <i>m</i>	2,76 <i>m</i>
5 β	3,32 <i>ddd</i> (2,2/7,3/9,3)	3,40 <i>m</i>
6 α	1,91-1,93 <i>m</i>	1,89-2,07 <i>m</i>
6 β	2,10-2,52 <i>m</i>	-
7	5,32 <i>dd</i> (3,4/3,4)	5,36 <i>sL</i>
8	3,60 <i>dd</i> (3,4/8,0)	3,69
9 α	4,37 <i>dd</i> (8,0/10,9)	4,25
9 β	4,40 <i>dd</i> (7,6/10,9)	4,40
13	6,37 <i>q</i> (7,3)	6,38 <i>q</i> (8,1)
14	2,49 <i>d</i> (7,3)	2,05
15 α,β	4,24 <i>s</i>	4,32
19	6,11 <i>q</i> (5,9)	6,13 <i>dq</i> (7,2/1,4)
20	2,25 <i>d</i> (5,9)	2,01
21	1,91 <i>sL</i>	1,91

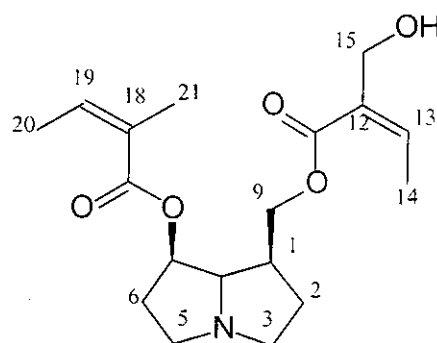


Figura H14 - Sarracina (SJ-1)

A configuração dos substituintes da base necina foi definida a partir de análise NOESY 1D (Figura H15) (Anexo 135), onde, irradiando o hidrogênio H-8, tem-se incrementos nos hidrogênios H-7 e H-1 de 3,89 e 4,47 respectivamente, definindo assim, configuração *cis* entre os átomos H-7, H-8 e H-1, confirmando que a molécula isolada trata-se da sarracina (SJ-2).

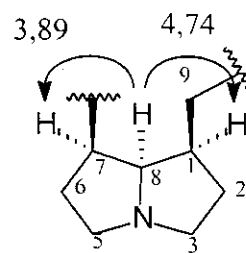


Figura H15 - NOESY 1D em H-8 Sarracina (SJ-1)

Para a molécula da juerguensina (SJ-2) (Figura H16) os resultados de deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , bem como multiplicidades, e valores de constantes de acoplamentos encontram-se descritos na tabela H8.

Tabela H8 – Análise de RMN de ^1H da Juerguensina (SJ-2).

Juerguensina SJ-2	
H	δ ^1H (ppm) J = Hz (literatura)
1	2,58 <i>m</i>
2 α	1,68 <i>m</i>
2 β	2,08 <i>m</i>
3 α	2,75 <i>dt</i> (2,9/9,5)
3 β	3,18 <i>m</i>
5	3,18 <i>m</i>
6 α	5,18 <i>dL</i> (4,5)
7	4,08 <i>sL</i>
8	3,45 <i>dd</i> (2,5/7,6)
9 α	3,92 <i>dd</i> (2,9/11,1)
9 β	3,98 <i>dd</i> (5,1/11,1)
13	6,08 <i>q</i> (7,3)
14	1,98 <i>d</i> (7,3)
15	1,89 <i>s</i>

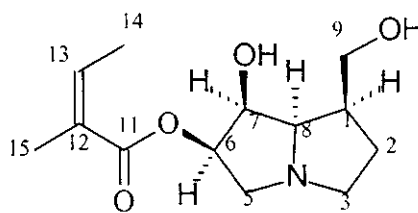


Figura H15 - Juerguensina (SJ-2)

Os hidrogênios da base necina, em sua maioria apresentam-se como multipletos ou singletos largos (Anexo 139), destacando-se a presença do hidrogênio H-6 α em 5,18 ppm como um dublete alargado com 3J = 5,1 Hz e a ausência do

hidrogênios H-6 β característicos. Os hidrogênios H9 α e H9 β apresentam constantes geminais $^3J_{9\alpha-9\beta} = 11,1$ Hz e vicinais $^3J_{9\alpha-1H} = 2,9$ Hz e $^3J_{9\beta-1H} = 5,1$ Hz. No éster substituinte observa-se o acoplamento entre a metila 14 com o hidrogênio vinílico H-13 com constante $^3J_{13-CH_3} = 7,33$ Hz. Embora pelo espectro gCOSY (Anexo 142) observam-se várias correlações entre os hidrogênios da base necina, não foi possível determinar as constantes de acoplamento dos mesmos. A tabela H9 mostra as correlações observadas na molécula conforme o diagrama de contorno gCOSY.

Tabela H9 – Acoplamentos observados no diagrama de contorno gCOSY (Anexo 142).

H	1	2 α	2 β	3 α	3 β	5	6	7	8	9 α	9 β	13	14	15
1		X	X						X	X	X			
2 α	X		X	X	X									
2 β	X	X		X	X									
3 α		X	X		X	X								
3 β		X	X	X		X								
5				X	X		X							
6						X		X						
7							X		X					
8	X							X						
9 α	X										X			
9 β	X									X				
13													X	X
14												X		
15												X		

A configuração dos substituintes sobre a base necina foi definida por análise em NOESY 1D, com irradiação sobre os hidrogênios H-6 (5,18 ppm), H-7 (4,08 ppm) e H-8 (3,45 ppm) (Figura H17) (Anexo 144, 145 e 146).

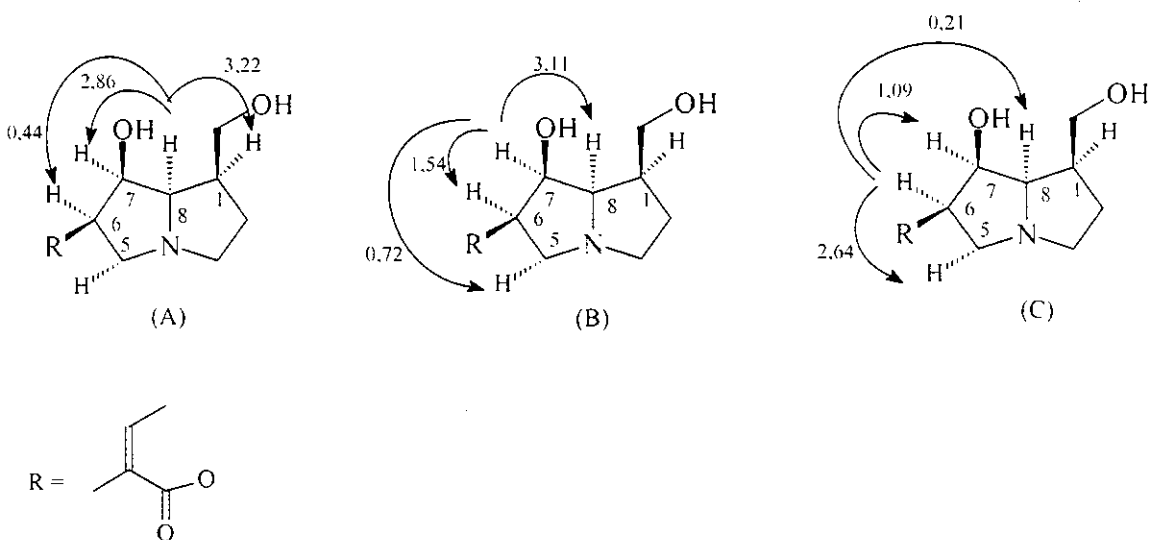


Figura H17 – Análise NOESY 1D: (A) irradiação em H-8; (B) irradiação em H-7; (C) irradiação em H-6.

Com as análises de NOESY 1D (Anexo 144, 145 e 146) nos hidrogênios H-6, H-7 e H-8, definimos a configuração da base necina da molécula como sendo platinecina [Figura H1 (a)], pois, os principais incrementos apresentam intensidade de $\sim 3,0$, com exceção dos incrementos entre os hidrogênios H-6 e H-7, que de H-7 para H-6 foi de 1,54 (Figura H17 B) e de H-6 para H-7 foi de 1,09 (Figura H17 C). Como os incrementos observados são diretamente proporcionais à distância entre os átomos observados, pode-se questionar quanto à configuração do H-6 na molécula. Contudo, observa-se na irradiação sobre o hidrogênio H-8 (Figura H17 A), um incremento de 0,44, isto demonstra que os hidrogênios H-8 e H-6 estão em configuração *cis* na molécula, pois a configuração *trans* entre estes átomos não seria detectada por esta análise. Portanto, a diminuição nos incrementos entre os hidrogênios H-6 e H-7 se deve à conformação assumida pela molécula devido ao éster substituinte.

Obtivemos a platifilina (SB-2) (Figura H18) do *S. bonariensis*. Os dados/resultados de deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , bem como multiplicidades, e valores de constantes de acoplamentos e comparação com dados da literatura encontram-se descritos na Tabela H10.

Tabela H10 - Análise de RMN de ^1H da Platifilina (SB-2) (Logie e col., 1994).

Platifilina SB-2		
H	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (isolado)	δ ^1H (ppm) $J = \text{Hz}$ (literatura)
1	2,52 <i>qui</i> (7,6)	
2 α	1,75 <i>m</i>	
2 β	2,05 <i>m</i>	
3 α	2,74 <i>m</i>	
3 β	2,91 <i>dt</i> (7,5/10,0)	
5 α	2,68 <i>m</i>	
5 β	3,04 <i>m</i>	
6 α	2,08 <i>m</i>	
6 β	2,24 <i>m</i>	
7	5,30 <i>dd</i> (4,7/8,8)	5,34
8	3,46 <i>dd</i> (4,7/6,7)	3,43
9 α	3,92 <i>dd</i> (11,5/1,6)	3,95
9 β	4,58 <i>dd</i> (9,0/11,5)	4,60
13	1,92 <i>dt</i> (6,7/6,8)	
14 α	2,12 <i>d</i> (6,7)	
14 β	2,18 <i>d</i> (6,7)	
18	1,24 <i>s</i>	
19	0,90 <i>d</i> (6,8)	
20	5,81 <i>q</i> (7,0)	
21	1,78 <i>d</i> (7,0)	

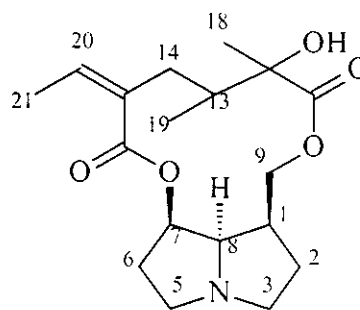


Figura H18 - Platifilina (SB-2)

A platifilina apresenta a maioria dos hidrogênios da base necina como multipletos (Anexo 148) onde pouca informação se obtém sobre as constantes de acoplamentos, destacando-se apenas em 5,30 e 3,46 ppm os hidrogênios H-7 e H-8, como duplos dubetos, onde obtêm-se as constantes vicinais $^3J = 4,7$ Hz. Já para o éster substituintes observa-se em δ 4,58 e 3,92 ppm os hidrogênios H-9 α e β como duplos dubetos com constantes geminais $^2J = 11,5$ Hz. Observa-se também em 5,81ppm o hidrogênio vinílico como quarteto de constante $^3J = 7,0$ Hz referente ao

acoplamento com a metila CH₃-21 em 1,78 ppm. Os dubletos dos hidrogênios H-14 α e β em 2,18 e 2,12 ppm com constante geminas $^2J = 6,7$ Hz e em 1,92 um duplo tripleto referente ao hidrogênio H-13 que acopla com os hidrogênios H-14 α e β com constante vicinal $^3J = 6,7$ Hz e com a metila CH₃-19 com constante vicinal $^2J = 6,8$ Hz.

A configuração dos substituintes da base necina foi definida a partir de análise NOESY 1D (Figura H19) (Anexo 154). Onde, em irradiação no hidrogênio H-8 têm-se incrementos nos hidrogênios H-7 e H-1 de 2,66 e 2,15 respectivamente, definindo assim, configuração *cis* entre os átomos H-7, H-8 e H-1. Confirmando que a molécula isolada trata-se da platifilina (SB-2).

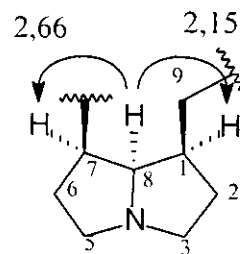


Figura H19 - NOESY 1D em H-8 platifilina (SB-2)

3.2.5 - Conclusões

As análises espectroscópicas de RMN de ^1H dos alcalóides pirrolizidínicos macrocíclicos (APs) obtidos, apresentam vários aspectos para estudo, devido aos diversos grupos constituintes existentes na estrutura destes alcalóides, como insaturações olefinicas, ésteres e hidroxilas, como também sistemas anelares de cinco e doze membros

O estudo de RMN de ^1H , como as análises no diagrama de contorno gCOSY e NOESY 1D, foram fundamentais para a determinação das estruturas dos APs obtidos, pois os efeitos conformacionais existentes, principalmente quando a base necina é saturada, traz para estas estruturas, vários sinais de ^1H como multipletos, que dificultam bastante a distinção dos hidrogênios.

No entanto, a utilização de análises uni (NOESY 1D) e bi-dimensional (gCOSY), nos facilitou, principalmente, a identificação inequívoca dos hidrogênios da estrutura, assim como a configuração dos substituintes e conformação das bases necinas obtidas.

3.3 - Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos

Em uma revisão recente, Roeder 1990, apresenta tabelas de RMN de ^{13}C de 130 estruturas de APs, mas não discute as elucidações das mesmas. Mody em 1979, discute estas estruturas por RMN de ^{13}C utilizando o experimento SFORD (single-frequency proton off-resonance decoupling) e tomando como base estruturas já estudadas por cristalografia de raio-X. Entretanto, Jones em 1982 faz a primeira discussão de RMN de ^{13}C através de experimento de ^{13}C - ^1H acoplados em um equipamento Bruker HFX-270 (67,89 MHz), sem utilizar dados comparativos com cristalografia de raio-X ou síntese orgânica. Em 1996, Hans apresenta um experimento COLOC obtido em equipamento Bruker AM-300 da molécula da retosina, onde discute principalmente a distinção entre os carbonos quaternários C-1 e C-15.

3.3.1 - Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos 1,2-insaturados

A utilização de experimentos bidimensionais, é de fundamental importância na elucidação de estruturas complexas como no caso de APs. Todas as estruturas isoladas no nosso experimento foram estudadas com RMN de ^{13}C (Dept, ^{13}C desacoplado, HSQC, HMQC ou HETCOR).

Seguiremos aqui a mesma sequência de apresentação feita para moléculas no estudo em RMN de ^1H . Portanto, iniciaremos pela substância Senecionina (SB-1) (Figura C1) (Anexo 99 e 100). Tomando como base os dados obtidos na literatura para comparar com os nossos experimento em RMN de ^{13}C , obtivemos para os APs isolados as atribuições constantes na Tabela C1.

O espectro de RMN de ^{13}C e DEPT, do composto SB-1 mostra que possui 18 carbonos dos quais 5 são quaternários (Co), 5 terciários (CH), 5 secundários (CH_2) e 3 primários (CH_3). A análise do experimento HMQC (Anexo 102), mostram correlações correspondentes a $^1J_{\text{C-H}}$ de toda a estrutura. Atribuíram-se aos sinais em 23,9 ppm, 10,0 ppm e 14,0 ppm, às metilas CH_3 – 18, CH_3 – 19 e CH_3 – 21 respectivamente, os sinais 135,1 ppm e 133,4 ppm, aos carbonos vinílicos C-2 e C-20 respectivamente. Os sinais em 73,7, 76,3 e 37,3 foram atribuídos aos carbonos

terciários C-7, C-8 e C-13 a partir do estudo bidimensional por experimento gCOSY e HMQC (Anexo 101 e 102). Para a atribuição dos carbonos quaternários a utilização de dados da literatura foi fundamental indicando os carbonos carbonílicos C-11 em 177,1 ppm e C-16 em 166,5 ppm e os vinílicos C-1 em 130,3 ppm e C-15 em 131,9 ppm.

Tabela C1 - Análise de RMN de ^{13}C da Senecionina (* Jones 1982, ** Roeder, 1990).

C	Senecionina SB-1		
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)	
1 C ₀	130,3	131,54*	132,2**
2 CH	135,1	136,31	136,7
3 CH ₂	61,5	62,75	62,2
5 CH ₂	51,9	53,08	53,0
6 CH ₂	33,7	34,84	37,7
7 CH	73,7	74,89	75,8
8 CH	76,3	77,74	77,0
9 CH ₂	59,4	60,61	61,4
11 C ₀	177,1	178,24	177,7
12 C ₀	75,7	76,78	76,7
13 CH	37,3	38,46	38,2
14 CH ₂	37,2	38,35	38,3
15 C ₀	131,9	133,13	133,2
16 C ₀	166,5	167,51	167,5
18 CH ₃	23,9	25,01	25,0
19 CH ₃	10,0	11,14	11,1
20 CH	133,4	134,27	134,0
21 CH ₃	14,0	15,00	15,1

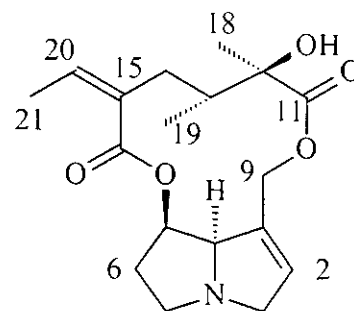


Figura C1 - Senecionina (SB-1)

A mesma estrutura molecular foi isolada do *S. oleosus* e classificada como SL-1 (Anexo 156 e 157).

Do *S. brasiliensis* foi isolado a intergerrimina (SB-3) (Anexo 107). Os resultados dos deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C em comparação com dados da literatura encontram-se descritos na tabela C2.

Tabela C2 - Análise de RMN de ^{13}C da Intergerrimina (Jones 1982).

C	Intergerrimina SB-3	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 C_0	131,68	131,8
2 CH	136,82	136,14
3 CH_2	62,67	62,35
5 CH_2	53,09	53,17
6 CH_2	33,78	33,81
7 CH	75,51	75,28
8 CH	77,14	77,32
9 CH_2	60,93	60,82
11 C_0	178,24	178,34
12 C_0	76,75	-
13 CH	39,46	39,55
14 CH_2	29,53	29,72
15 C_0	133,93	134,50
16 C_0	169,14	168,94
18 CH_3	25,14	25,27
19 CH_3	11,77	11,91
20 CH	135,29	135,65
21 CH_3	14,18	14,20

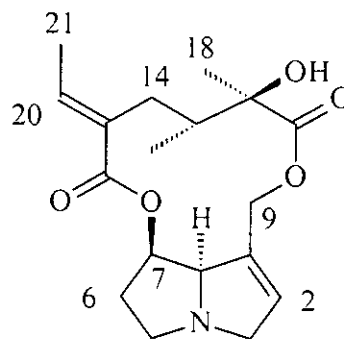


Figura C2 - Intergerrimina (SB-3)

A distinção entre os isômeros senecionina (SB-1) e intergerrimina (SB-3) já foi discutido no capítulo 3.2 (v. p. 28) de RMN de ^1H e está na configuração da insaturação α , β carbonílica do éster substituinte. Na análise de RMN de ^{13}C observamos principalmente a mudança nos deslocamento químicos dos carbonos que fazem parte do sistema alílico e carbonos vizinhos. O maior efeito é observado para o carbono C-14 em 29,53 ppm, que para a intergerrimina (SB-3) sofre uma diminuição de δ de 7,67 ppm com relação à senecionina (SB-1), onde o C-14 é observado em $\delta = 37,20$ ppm. A discussão sobre as distinções entre os carbonos será feita mais a frente.

De *S. conyzaefolius* foi isolada a retorsina (SZ-1) (Figura C3) (Anexo 114). Os resultados dos deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C em comparação com dados da literatura encontram-se descritos na tabela C3. A estrutura obtida diferencia-se da senecionina (Figura C1). Devido à alta similaridade estrutural,

houve pouca mudança com relação aos deslocamentos químicos dos carbonos, destacando-se o sinal em 66,89 ppm referente ao carbono C-18.

Tabela C3 - Análise de RMN de ^{13}C de Retrorsina (Roeder 1990).

C	Retrorsina SZ -1	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 C_0	132,38	132,2
2 CH	136,54	135,2
3 CH_2	62,70	62,2
5 CH_2	52,98	52,8
6 CH_2	34,62	36,9
7 CH	74,96	75,7
8 CH	77,39	76,6
9 CH_2	60,89	63,3
11 C_0	175,57	175,6
12 C_0	81,44	81,3
13 CH	35,62	35,6
14 CH_2	37,86	36,0
15 C_0	131,19	131,1
16 C_0	167,34	167,3
18 CH_2	66,89	66,7
19 CH_3	11,57	11,6
20 CH	134,66	136,2
21 CH_3	14,98	15,0

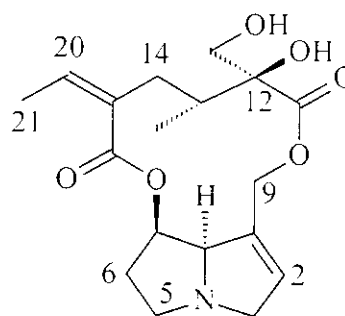
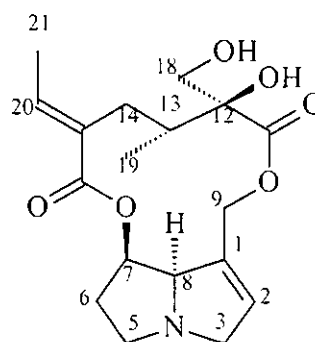


Figura C3 - Retrorsina
(SZ-1)

Foi observado para a retrorsina (SZ-1) o mesmo comportamento da senecionina com relação ao deslocamento químico do C-14, conforme comentado na página 53. Para confirmar nossa hipótese com relação aos deslocamentos químicos de C-14 para a retrorsina (SZ-1), isolamos das vagens frescas de *Crotalaria palida* a usaramina (CP) (Figura C4). Os valores dos deslocamentos de RMN de ^{13}C e suas respectivas atribuições são apresentados na Tabela C4 (Anexo 162 e 163).

Tabela C4 - Análise de RMN de ^{13}C de Usaramina (Roeder 1990).

C	Usaramina CP	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 C_0	131,56	131,7
2 CH	136,80	136,6
3 CH_2	62,51	62,5
5 CH_2	52,99	52,9
6 CH_2	33,65	33,7
7 CH	75,59	75,5
8 CH	76,90	76,9
9 CH_2	61,31	61,2
11 C_0	175,63	175,3
12 C_0	81,23	81,3
13 CH	36,79	36,8
14 CH_2	29,26	29,3
15 C_0	133,36	133,4
16 C_0	168,93	168,9
18 CH_2	67,03	67,1
19 CH_3	12,31	12,3
20 CH	135,76	135,7
21 CH_3	14,16	14,2

Figura C4 - Usaramina
(CP)

Nossa intenção com o isolamento da usaramina foi fazer um estudo comparativo entre os isômeros senecionina/intergerrimina e retrorsina/usaramina. O mesmo efeito de blindagem obtido por nós com a inversão da configuração *Z/E*, foi verificado por Pieters em 1988, que observou os efeitos produzidos pela mudança da configuração sobre os isômeros senecifilina/espartioidina e retrorsina/usaramina.

Na tabela C5 observamos algumas variações, porém a de maior destaque, possivelmente a mais relevante, é em relação ao efeito de blindagem sob o C-14 que na intergerrimina é de 7,67 ppm e para a usaramina é de 8,60 ppm.

Tabela C5 – Dados de RMN de ^{13}C da intergerrimina e usaramina e diferença de deslocamento químico nos isômeros Senecionina e Retrorsina, respectivamente.

	Intergerrimina			Usaramina		
C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)		$\Delta\delta$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)		$\Delta\delta$
1	C ₀	131,68	+1,38	C ₀	131,56	-1,01
2	CH	136,82	+1,72	CH	136,80	+0,21
3	CH ₂	62,67	+1,17	CH ₂	62,51	-0,19
5	CH ₂	53,09	+1,19	CH ₂	52,99	+0,01
6	CH ₂	33,78	+0,08	CH ₂	33,65	-0,97
7	CH	75,51	+1,18	CH	75,59	+0,65
8	CH	77,14	+0,84	CH	76,90	-0,45
9	CH ₂	60,93	+1,53	CH ₂	61,31	+0,45
11	C ₀	178,24	+1,14	C ₀	175,63	+0,09
12	C ₀	76,75	+1,05	C ₀	81,23	-0,19
13	CH	39,46	+2,26	CH	36,79	+1,20
14	CH ₂	29,53	-7,67	CH ₂	29,26	-8,60
15	C ₀	133,93	+2,03	C ₀	133,36	+2,16
16	C ₀	169,14	+2,64	C ₀	168,92	+1,55
18	CH ₃	25,14	+1,24	CH ₂	67,03	+0,13
19	CH ₃	11,77	+1,77	CH ₃	12,31	+0,76
20	CH	135,29	+1,89	CH	133,36	-1,25
21	CH ₃	14,18	+0,18	CH ₃	14,16	-0,80

3.3.2 - Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos com base tipo otonecina.

Para a elucidação das estruturas da mistura de APs obtida do *S. conyzaefolius* constituída de Otosenina, SZ-2 α (Figura C5) e senquirquina SZ-2 β (Figura C6), a análise do diagrama de contorno HSQC (Anexo 127) foi fundamental para atribuição dos sinais.

Os dados experimentais de RMN de ^{13}C obtidos, comparados com a literatura para SZ-2 α (Tabela C6) (Anexo 124) e SZ-2 β (Tabela C7) (Anexo 124), nos mostram principalmente a diferença entre os carbonos do sistema epóxido da otosenina e os carbonos do sistema alílico da senquirquina, que envolve os carbonos C-15, C-20 e C-21, que para a otosenina são observados em $\delta = 63,66$ ppm, $\delta = 55,95$ ppm e $\delta =$

13,49 ppm respectivamente, e para a senquirina em $\delta = 132,0$ ppm, $\delta = 137,0$ ppm e $\delta = 15,2$ ppm respectivamente. A diferença na concentração das substâncias na mistura, foi determinante nos deslocamentos químicos dos carbonos, que não apareciam sobrepostos devido à grande diferença na intensidade dos sinais.

A presença do carbono da metila ligado ao nitrogênio em 39,99 ppm e da carbonila cetônica em $\delta = 190,31$ ppm, bem como os carbonos vinílicos C-1 em 134,21 ppm e C-2 em 136,99 ppm, confirma a base otosenina insaturada das estruturas da mistura.

Tabela C6 – Análise de RMN de ^{13}C da Otosenina (Roeder 1990).

C	Otosenina SZ-2 α	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 C ₀	134,21	134,3
2 CH	136,99	137,1
3 CH ₂	64,07	64,2
5 CH ₂	53,10	53,2
6 CH ₂	35,45	35,5
7 CH	78,37	78,5
8 CH	190,31	190,5
9 CH ₂	59,1	59,1
11 C ₀	177,94	177,7
12 C ₀	76,91	77,9
13 CH	38,42	38,5
14 CH ₂	37,00	37,1
15 C ₀	63,66	63,7
16 C ₀	177,71	177,8
18 CH ₃	23,80	23,9
19 CH ₃	12,41	12,5
20 CH	55,95	56,1
21 CH ₃	13,49	13,6
N-Me	39,99	40,0

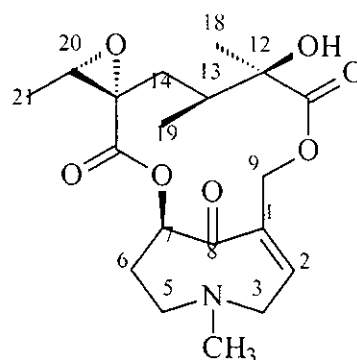
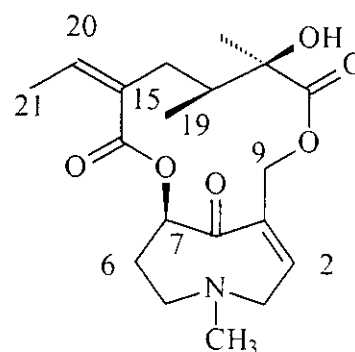


Figura C5 - Otosenina
(SZ-2 α)

Tabela C7 – Análise de RMN de ^{13}C da Senquirquina (Roeder, 1990).

C	Senquirquina (SZ-2 β)	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 C_0	134,21	134,3
2 CH	136,99	137,3
3 CH_2	58,96	58,4
5 CH_2	53,10	53,2
6 CH_2	35,45	37,1
7 CH	78,37	78,1
8 CH	190,31	191,7
9 CH_2	64,3	64,3
11 C_0	178,0	178,0
12 C_0	76,91	76,6
13 CH	38,42	38,6
14 CH_2	37,00	36,9
15 C_0	132,5	131,7
16 C_0	168,0	166,5
18 CH_3	24,3	24,6
19 CH_3	11,5	10,6
20 CH	137,0	137,0
21 CH_3	15,2	15,3
N-Me	39,99	40,4

Figura C6 - Senquirquin (SZ-2 β)

3.3.3 - Espectroscopia de RMN de ^{13}C de alcalóides pirrolizidínicos 1,2-saturados

APs saturados isolados: Para esta classe de alcalóides pirrolizidínicos a utilização de espectros bidimensionais, foi fundamental para a definição dos hidrogênios da base necina. A maioria dos hidrogênios apresentam-se como multipletos nos espectros de RMN de ^1H . A não obtenção das constantes de acoplamento entre os hidrogênios geminais e vicinais das bases saturadas não permite uma definição estrutural. Mesmo para os hidrogênios em carbonos terciários apresentam-se como multipletos. Portanto, a análise conjunta de espectros bidimensionais como gCOSY e HSQC foram de fundamental importância na definição destas estruturas.

Iniciaremos pela sarracina SJ-1 (Figura 7), onde dados obtidos dos espectros (Anexo 132 e 133) comparados com dados da literatura nos leva as seguintes determinações (Tabela C8).

Tabela C8 – Análise de RMN de ^{13}C da Sarracina (Roeder, 1990).

C	Sarracina SJ-1	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 CH	40,30	40,20
2 CH ₂	28,94	28,8
3 CH ₂	55,20	55,2
5 CH ₂	53,62	53,6
6 CH ₂	35,16	35,0
7 CH	68,89	68,8
8 CH	75,18	75,2
9 CH ₂	64,15	64,0
11 C ₀	166,69	167,0
12 C ₀	131,71	132,0
13 CH	140,66	140,7
14 CH ₃	15,82	15,7
15 CH ₂	65,15	64,5
17 C ₀	166,65	166,8
18 C ₀	126,97	127,1
19 CH	139,63	139,5
20 CH ₃	15,87	15,5
21 CH ₃	20,88	20,7

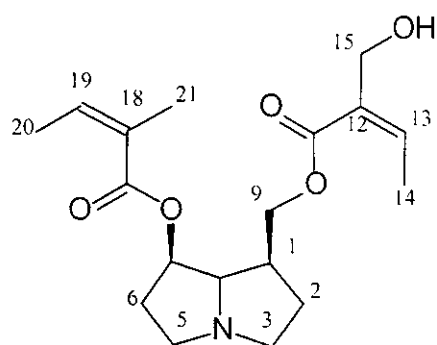


Figura C7 - Sarracina (SJ-1)

Análise das constantes de acoplamento permite diferenciar as metilas C-14, C-20 e C-21 e os carbonos terciários vinílicos C-13 e C-19. Com isso atribuíram-se os sinais em 15,82, 15,87, e 20,88 ppm as metilas, e em 140,66 e 139,63 ppm aos carbonos vinílicos. Tendo-se atribuído corretamente os sinais dos espectros de RMN de ^1H pelo diagrama de contorno HSQC (Anexo 135), que apresenta as correlações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos ($^1J_{13\text{C}-1\text{H}}$), pode-se concluir os sinais dos carbonos metilênicos e metílicos. Observa-se também a presença das carbonila C-11 e 17 em 166,69 e 166,65 ppm.

Para o alcalóide inédito juerguensina SJ-2 (Figura C8) seguimos o mesmo raciocínio utilizado para a determinação da estrutura da sarracina (Figura C7). A

análise do éster conjugado, foi conduzida a partir das constantes de acoplamento obtidas dos espectros de RMN de ^1H das correlações observadas no diagrama de contorno gCOSY (Anexo 134). A análise detalhada do espectro NOESY 1D (Anexo 135) permitiu a atribuição correta dos sinais dos hidrogênios da base necina. Então, pelo HSQC atribuiu-se os sinais dos respectivos carbonos (Tabela C-9).

Tabela C9 - Análise de RMN de ^{13}C da Juerguensina.

Juerguensina SJ-2	
C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)
1 CH	42,09
2 CH_2	27,35
3 CH_2	55,91
5 CH_2	59,28
6 CH_2	81,08
7 CH	75,55
8 CH	70,52
9 CH_2	60,69
11 C_0	167,28
12 C_0	127,45
13 CH	138,97
14 CH_3	15,84
15 CH_3	20,48

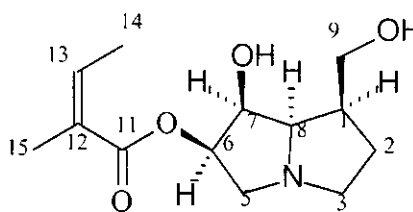


Figura C8 - Juerguensina
(SJ-2)

Do *S. bonariensis* foi isolado a platifilina (SB-2). Os resultados dos deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C em comparação com dados da literatura encontram-se descritos na tabela C2.

Com o espectro de RMN de ^{13}C e Dept, em mãos, observamos que o composto SB-3 possui 18 carbonos dos quais 5 são quaternários (C_0), 4 terciários (CH), 6 são secundários (CH_2) e 3 primários (CH_3). Após a definição do número de carbonos desta estrutura passamos para a análise do experimento HSQC (Anexo 153), onde se observam correlações correspondentes a $^1J_{\text{C-H}}$ de toda a estrutura.

Atribuíram-se os sinais em 26,06 ppm, 13,07 ppm e 15,48 ppm, às metilas CH_3 – 18, CH_3 – 19 e CH_3 – 21 respectivamente, o sinais 136,07 ppm, ao carbono vinílico C-20. Os sinais em 74,26, 69,12 e 37,26 foram atribuídos aos carbonos

terciários C-7, C-8 e C-13 a partir do estudo bidimensional por experimento gCOSY e HSQC (Anexo 152 e 153). Para a atribuição dos carbonos quaternários, a utilização de dados da literatura foi de fundamental importância, onde temos os carbonos carbonílicos C-11 em 178,68 ppm e C-16 em 167,46 ppm e o vinílicos C-15 em 131,68 ppm. Com a ausência da insaturação na base necina, observou-se os sinais em 39,18 e 30,85 ppm, que foram atribuídos aos carbonos C-1 e C-2

Tabela C10 – Análise de RMN de ^{13}C da Platifilina (Roeder, 1990).

C	Platifilina (SB-2)	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (isolado)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) (literatura)
1 C_0	39,18	38,4
2 CH_2	30,85	31,7
3 CH_2	53,94	53,6
5 CH_2	52,05	51,9
6 CH_2	35,25	35,8
7 CH	74,26	74,2
8 CH	69,12	69,5
9 CH_2	65,57	66,6
11 C_0	178,68	178,7
12 C_0	76,09	75,7
13 CH	37,26	37,7
14 CH_2	39,90	39,2
15 C_0	131,68	313,8
16 C_0	167,46	167,7
18 CH_2	26,06	26,6
19 CH_3	13,07	13,5
20 CH	136,07	136,5
21 CH_3	15,48	15,6

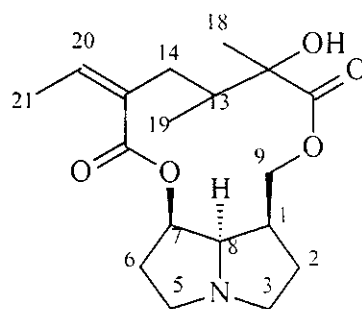


Figura C9 - Platifilina (SB-2)

3.4 - Conclusão

As análises espectroscópicas de RMN de ^{13}C dos alcalóides pirrolizidínicos macrocíclicos (APs) obtidos apresentam várias informações sobre as estruturas, principalmente sobre o número de carbonilas e insaturações nas estruturas.

As análises espectroscópicas bidimensionais de RMN de ^{13}C (HSQC), foram responsáveis pela distinção dos carbonos secundários CH_2 constituintes das bases necinas.

4 - Considerações finais

Da análise de espectrometria de massas dos compostos obtidos, formamos os perfis de fragmentação dos APs insaturados e saturados e também dos alcalóides com base do tipo otonecina. Para os compostos insaturados com base do tipo retronecina, o íon molecular apresentou abundância relativa significativa, que foi responsável por uma definição estrutural rápida e precisa. Destes compostos, realizamos análise de espectrometria de massas de alta resolução para uma determinação inequívoca da composição das moléculas. Já para os saturados o íon molecular não constava na análise. No entanto, a fragmentação dos compostos reproduzia os perfis descritos na literatura. Estes compostos apresentavam na análise por CG-EM uma certa decomposição do material, que foi observada na análise de alta resolução, onde os fragmentos obtidos apresentaram distinção da análise de espectrometria de massas por impacto de elétrons. Para os compostos com base do tipo otonecina, o íon molecular não constava na análise ou se confundia com os fragmentos de muito baixa intensidade, obtidos da análise por CG-EM. Além disso, a amostra analisada era uma mistura de alcalóides que nos impossibilitou o uso da espectrometria de massas de alta resolução. No entanto, um estudo realizado utilizando as técnicas de cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas por ionização química foi responsável pela definição precisa do íon molecular e a determinação dos prováveis constituintes da mistura de APS.

Espectros de RMN: foram obtidos os espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C , 1D (NOESY e CYCLENONE) e em 2D (gCOSY, HSQC). Para os compostos isolados SB-1, SB-3, SL-1, SL-2 e SZ-1, as constantes de acoplamentos dos hidrogênios da base necina do tipo retronecina, foram estabelecidas através das correlações observadas nos diagramas de contorno gCOSY, principalmente, quando os sinais dos hidrogênios apresentavam-se como multipletos. A análise conjunta dos espectros em 2D foi responsável pela determinação correta dos deslocamentos químicos dos carbonos secundários e terciários destas estruturas. Para a mistura de alcalóides obtida do *Senecio conyzaefolius*, definida como $\text{SZ}_{\alpha,\beta}$ e de estruturas bem

semelhantes, os deslocamentos químicos que não apresentavam sobreposição de sinais no espectro de RMN de ^1H , a utilização de análise bidimensional (gCOSY, HSQC) foi determinante para a definição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e seus respectivos carbonos.

Nos alcalóides com base necina 1,2 saturada a definição dos hidrogênios assim como dos carbonos, foi feita a partir de análise bidimensional (gCOSY, HSQC), pois, em sua maioria, os hidrogênios apresentavam-se como multipletos. O estudo conformacional da base necina destes APs só foi possível com a utilização de estudo em NOESY, principalmente para a molécula inédita juerguensina, que apresenta um substituinte éster na posição C-6, até agora não descrito na literatura.

5 - EXPERIMENTAL

5.1 - Materiais e Métodos

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro: BOMEM MB-SERIES FT-IR, em pastilhas de KBr ou filme com CH_2Cl_2 em celas de NaCl.

O valor de rotação ótica $[\alpha]_D$ foi obtida em espectropolarímetro JASCO (Japan Spectroscopic Company) modelo J – 720, com lâmpada de Xenônio de 450W e campo de varredura de 170 a 1100 nm.

Ponto de fusão em aparelho REICHERT (DIEDERICHSEN-THODOR WILLE) Áustria Modelo 326 449.

5.2 - Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C

Na obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos sintetizados foi utilizado um espectrômetro de RMN de 500 MHz (INOVA 500 da VARIAN). As condições experimentais de RMN de ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ estão apresentadas nas Tabelas E1 e E2.

Tabela E1. Condições experimentais de RMN ^1H em um equipamento de 500 MHz

<i>Condições Experimentais na RMN ^1H</i>	
Espectrômetro	INOVA-500
Solvente	DMSO
Concentração	6-60 mg.mL ⁻¹
Referência	0,03% TMS (v/v)
sfrq (Frequência)	499,88 MHz
Tn (Núcleo)	^1H
At (Tempo de Aquisição)	4,000 s
np (Número de Pontos de Dados)	64 K
sw (Largura Espectral)	8000 Hz
d1 (Tempo de espera da reciclagem)	0
nt (Número de Transientes/Incremento)	64
fn (Preenchimento de Zero)	64 K
lb (Largura de Linha)	0,3 – 0,9 Hz
Temperatura	ambiente

Tabela E2. Condições experimentais de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ em um equipamento de 500 MHz

Condições Experimentais na RMN ^{13}C	
Espectrômetro	INOVA-500
Solvente	DMSO
Concentração	6-60 mg.mL ⁻¹
Referência	0,03% TMS (v/v)
sfrq (Frequência)	125,696 MHz
nt (Núcleo)	^{13}C
at (Tempo de Aquisição)	1,024 s
np (Número de Pontos de Dados)	64 K
sw (Largura Espectral)	32000 Hz
d1 (Tempo de espera da reciclagem)	1,5
nt (Número de Transientes/Incremento)	5000-18000
fn (Preenchimento de Zero)	64 K
lb (Largura de Linha)	1 Hz
Temperatura	ambiente

Para uma atribuição mais precisa dos sinais de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, utilizou-se os experimentos bidimensionais gCOSY (^1H - ^1H), HSQC ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$) e gHMBC ($^n\text{J}_{\text{C-H}}$). Na aquisição dos diagramas de contorno gHMBC foi utilizado $^n\text{J}_{\text{C-H}}=8,0$ Hz. O experimento gCOSY ajudou na atribuição dos sinais de hidrogênios, principalmente dos hidrogênios geminais da base necina (H-2, H-3, H-5 e H-6). Já o diagrama de contorno HSQC contribuiu para a atribuição dos sinais dos carbonos metínicos e metilênicos. Os experimentos de Cyclenoe, NOESY-1D e nOe nos conduziram a uma provável estereoquímica dos sinais de hidrogênios H-1, H-7 e H-8.

As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado Aldrich, utilizando como referência interna o tetrametilsilano (TMS) 0,03%.

5.3 – Espetrometria de massas e cromatografia em fase gasosa

Os espectros de massa de alta resolução 10.000 foram obtidos em espectrômetro Auto Spec (70 eV) .

As análises por CG-EM dos extratos brutos, assim como das frações obtidas por CC foram feitas a partir de solução metanólica com concentrações que variavam de 1 a 10 ppm, dependendo da concentração dos constituintes na amostra,

realizadas em aparelho HEWLETT PACKARD-6890 com coluna capilar fundida HP-5MS, de dimensão (30m x 0,25mm x 0,25µm), e recheio de (5%-fenil-95%-dimetilpolisiloxano), acoplado a detector seletivo de massas HEWLETT PACKARD-5973. As amostras foram injetadas nas seguintes condições, injetor 250° C, detector 280° C, programa de temperatura 150-280° C, 4° C/min, gás de arraste He 1 ml/min, volume da amostra injetada 0,2 ou 1 µl.

5.4 - Coletas

Foram coletadas partes aéreas de *Senecio*, tendo sua identificação botânica realizada pelo Prof. Dr. Nelson Ivo Matzenbacher (Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, PUCCRS) e as exsiccatas depositadas no Herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia UNICAMP (Tabela E3). As partes aéreas das espécies coletadas foram mantidas em freezer (-15° C) até a extração dos alcalóides pirrolizidínicos.

Tabela E3– Coleta de material vegetal

Espécie	Material vegetal	Local de coleta	Data
<i>S. bonariensis</i>	Parte aérea	Guaíba (RS)	Outubro 2000
<i>S. brasiliensis</i>	Parte aérea	Serra do Japi (SP)	Setembro 2000
<i>S. conyzaefolius</i>	Parte aérea	São Joaquim (SC)	Outubro 2000
<i>S. oleosus</i>	Parte aérea	São Joaquim (SC)	Outubro 2000
<i>S. juerguensis</i>	Parte aérea	São Joaquim (SC)	Outubro 2000
<i>C. pálida</i>	Vagens	Campinas (SP)	Novembro 2001

5.5 - Extrações

Partes aéreas, geralmente inflorescências das espécies *Senecio bonariensis*, *S. brasiliensis*, *S. oleosus*, *S. conyzaefolius*, *S. juerguensis* e *Crotalaria palida*, foram trituradas em etanol 99^o GL, e submetidos a extrações sucessivas por 48 h. Os extratos etanólicos foram secos em rotaevaporador sob pressão reduzida e temperatura aproximadamente 40° C, sendo submetidos a tratamento ácido-base, metodologia padrão (Mendonça, 2000) para isolamento de alcalóides pirrolizidínicos

(Fluxograma 1). Após o fracionamento ácido-base, separou-se por cromatografia, de coluna clássica (CC) monitorada por CCD (Si-gel Al_2O_3).

5.5.1 - Fracionamento ácido-base (fluxograma 1)

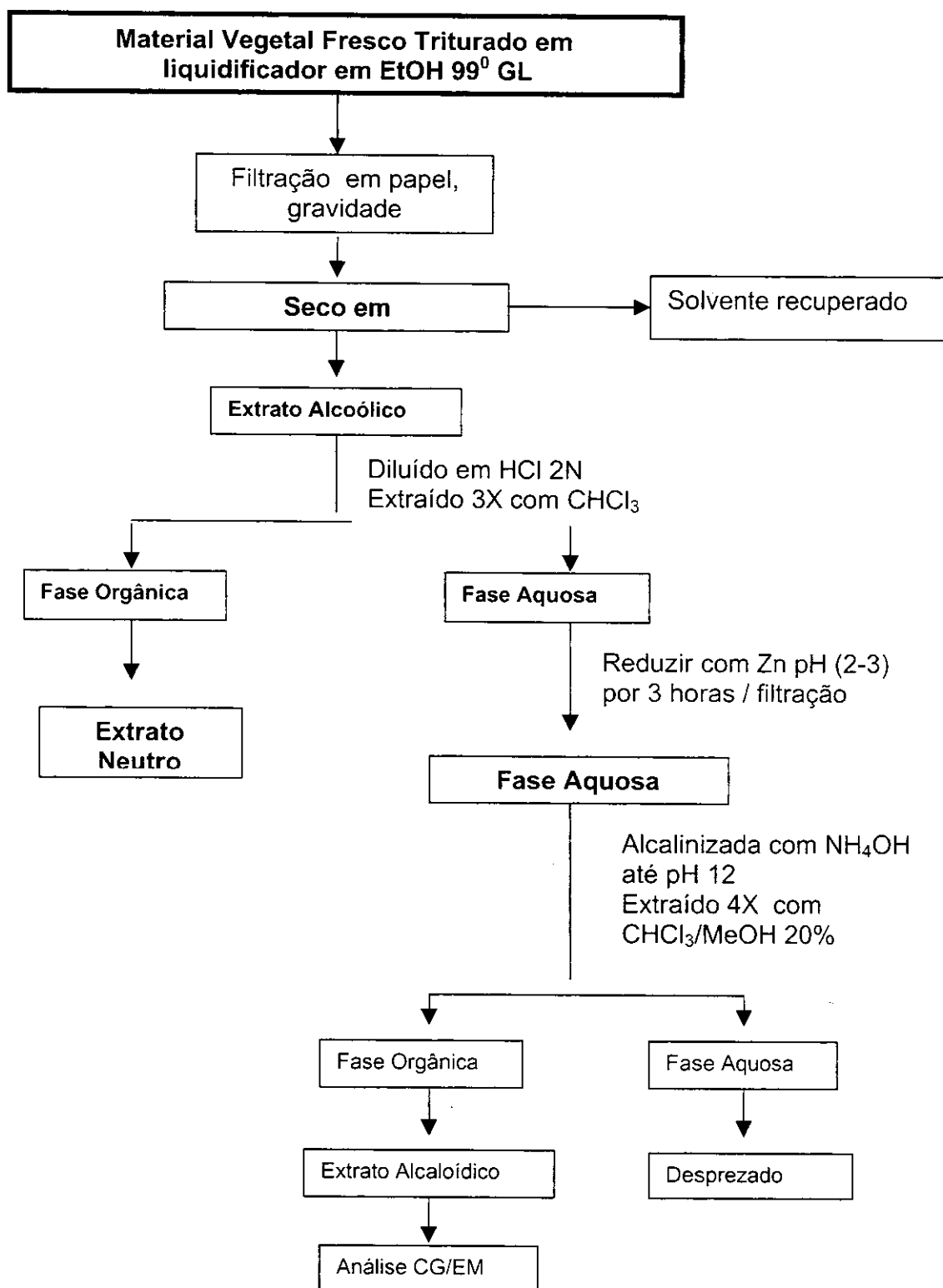
O extrato etanólico seco, foi diluído em solução aquosa de H_2SO_4 2N, e particionado três vezes com igual volume de CHCl_3 ou CH_2Cl_2 para extração dos constituintes neutros, os quais foram desprezados. Em seguida, a solução aquosa ácida foi submetida a reação de redução com excesso de Zn em pó por 3 horas, tendo sido o pH da reação mantido entre 1-2 por adição de gotas de solução H_2SO_4 5N controlado por papel indicador universal. Reduziu-se assim as prováveis formas N-óxido dos APs para base livre. Após a redução, a solução ácida foi filtrada sob gravidade e alcalinizada com hidróxido de amônio até pH 11-12. A solução aquosa básica foi particionada três vezes com igual volume de CHCl_3 :MeOH (4:1). As frações orgânicas obtidas do particionamento foram secas com Na_2SO_4 anidro, para a eliminação de H_2O , filtradas e secas sob pressão reduzida em rotaevaporador com temperatura $\sim 40^\circ \text{C}$. Assim obteve-se o extrato alcaloídico seco para cromatografia.

5.6 - Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para análise dos extratos alcaloídicos obtidos por CCD, utilizou-se como fase estacionária placas de sílica Gel 60 F_{254} , e como fase móvel o eluente CHCl_3 :MeOH: NH_4OH (83:15:2). A detecção dos alcalóides na análise por CCD foi feita sob luz UV a 254nm para os alcalóides com ligações duplas conjugadas, e por pulverização da placa com solução de Dragendorff, que evidencia a presença do nitrogênio dos prováveis alcalóides por manchas laranja características. Após a detecção dos alcalóides nos extratos brutos por CCD, fez-se as separações por CC e análise por CG-EM para se determinar a real composição dos extratos obtidos.

5.7 - Cromatografia de Adsorção em Coluna (CC)

Fez-se cromatografia de adsorção em coluna para os extratos alcaloídicos brutos obtidos, onde a coluna foi empacotada com CHCl_3 ou CH_2Cl_2 , utilizando-se como fase estacionária sílica Gel 60 Merck tamanho de partícula 0,0063-0,200 mm para todas as colunas empacotadas durante todo o experimental. Inicialmente a coluna foi empacotada e eluída com CHCl_3 ou CH_2Cl_2 , e gradativamente alterou-se a polaridade do eluente com proporções de 1%, 2%, 5%, 10%, 15% e 20% de MeOH em CHCl_3 ou CH_2Cl_2 . A coluna foi monitorada por análise em CCD. Os alcalóides obtidos do fracionamento foram analisados por CG-EM para se determinar o grau de pureza e a provável estrutura do alcalóide obtido.



Fluxograma 1 – Procedimento geral para extração de APs

5.8 - Obtenção geral de alcalóides de *Senecio bonariensis*

Do material vegetal congelado desta espécie foi separado uma pequena alíquota que foi triturado em 2 L de etanol 99° GL. Então por filtração simples separou-se todo o líquido do material triturado, secou-se o líquido obtido em rota-evaporador com temperatura mantida a aproximadamente 40° C, e extraiu-se seus alcalóides conforme Fluxograma 01, obtendo-se 25 mg de extrato. Ao material sólido residual depois filtração (marco) adicionou-se mais 2L de etanol 99° GL e deixou-se extrair por 48 h, com eventual agitação manual do material. Repetiu-se o procedimento de extração dos alcalóides obtendo-se agora 10 mg de extrato. Adicionou-se mais 2 L de etanol 99° GL e extraiu-se por mais 48 h com agitação manual em uma terceira extração dos alcalóides do material. Obteve-se então 3 mg de extrato alcaloídico, numa demonstração que o material de partida já não tinha alcalóides suficientes para uma nova extração. Definiu-se assim que este seria o padrão para as demais extrações de alcalóides em todas as espécies vegetais analisadas.

O material sólido restante das sucessivas extrações foi seco e pesado (52 g) fornecendo os seguintes dados (Tabela E4).

Tabela E4 : Rendimento de extrações sucessivas

<i>Senecio bonariensis</i> (52 g peso seco)	mg	% / peso seco
1ª extração	25	0,0480
2ª extração	10	0,0192
3ª extração	03	0,0057
Rendimento total	38	0,0730

Da extração de todo o material vegetal congelado obteve-se 360 mg de extrato alcaloídico de 473 g das partes aéreas em sua maioria inflorescências (peso seco) do *Senecio bonariensis* (SB). Cromatografou-se 60 mg em coluna ($\varnothing = 0,7$ cm) tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (3,0 g). Foram coletadas 20 gotas por fração num total de 80 frações, tendo como eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ (90:10:2). As frações recolhidas foram reagrupadas de acordo com a semelhança visual observada por análise em CCD, utilizando como revelador solução de Dragendorff (Tabela E5).

Tabela E5 : Fracionamento de 60 mg do extrato alcaloídico de SB

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código da substância isolada
$\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ (90:10:2)	01-10	30	SB-1
	11-50	07	SB-2
	51-80	10	
Total	80	47 (78,3% recuperado)	

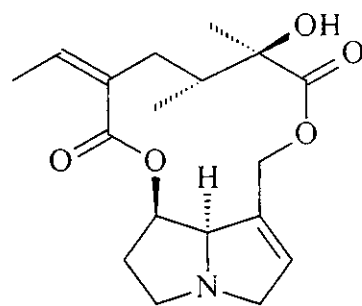
Das frações (01-10) obteve-se o alcalóide SB-1. Na fração 11-50 detectou-se por CCD sob luz ultra-violeta mais de um composto nas frações, porém após revelação com Dragendorff verificou que apenas um dos constituintes era alcalóide. A mistura dos compostos dificultou a determinação estrutural do alcalóide desta fração. Fez-se necessário cromatografar mais 300 mg do extrato alcaloídico obtido de *Senecio bonariensis* em CC ($\varnothing = 1,5$ cm), tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (12 g). Foram coletadas 130 frações de aproximadamente 5 ml, reagrupadas de acordo com as semelhanças observadas por análise em CCD, tendo como eluente soluções $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (5% e 10%) (Tabela E6).

Tabela E6 : Fracionamento de 300 mg do extrato alcaloídico de SB

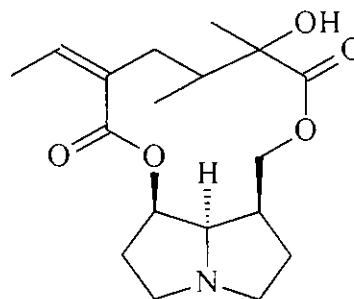
Eluente	Frações	Massa (mg)	Código da substância isolada
CHCl ₃ : MeOH 5%	1-10	21	
	11-17	14	
	18-28	50	SB-1
	29-60	22	SB-1
	61-80	10	
CHCl ₃ : MeOH 10%	81-105	25	SB-2
	106-130	15	
Total	130	153 (52,3 % recuperado)	

5.9 - Alcalóides Isolados:

- **SB-1**, Senecionina, (C₁₈H₂₅NO₅);
- 12-Hidroxisenecionina-11,16-diona.
- MM: 335;
- Recristalização (Etanol-Acetona 9:2);
- p. f. 224-228°C (Lit. 232-245°C, Rizk 1991)
- $[\alpha]^{22}_D -127$ (CHCl₃, c: 4 .10⁻³ mg/ml), (Lit. -56, Rizk 1991)
- Forma física: agulhas incolores
- IV em KBr, ν_{max} cm⁻¹: 1238; 1714; 1739; 3438.
- EM alta resolução, m/z obtido 335,17327. Calculado 335,17335.
- EM 70 eV, m/z (%) : 335 (M⁺⁺, 17), 291 (07), 246 (16), 220 (39), 136 (100), 120 (78), 93 (65).
- Dados de RMN ¹H e de ¹³C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



- SB-2, Platifilina, $C_{18}H_{27}NO_5$,
- (1 α)-1,2-dihidro-12-Hidroxisenecionina-11,16-diona
- MM: 337;
- Forma física: óleo amarelo
- IV em KBr, $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 1259; 1717; 3361;
- EM 70 eV, m/z (%) : 337 (M^{+} , 05), 211 (33), 140 (100), 122 (90), 96 (36), 82 (85).
- Dados de RMN ^1H e de ^{13}C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



5.10 - Obtenção de alcalóides de *Senecio brasiliensis*

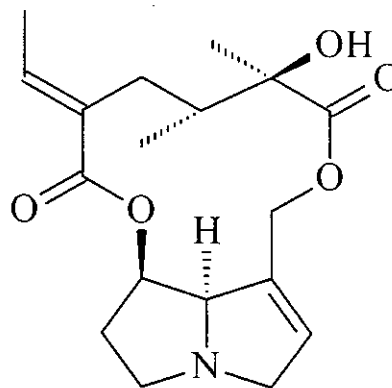
Do extrato alcaloídico (2,21 g) obtido de 620 g (peso seco) das inflorescências de *Senecio brasiliensis* (SBr), foi fracionado 1 g em coluna cromatográfica ($\varnothing = 1,5$ cm) tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (33 g). Foram coletadas 103 frações de aproximadamente 50 ml cada. As frações recolhidas foram reunidas de acordo com as semelhanças observadas por análise em CCD (Tabela E7).

Tabela E7 : Fracionamento de 1 g do extrato alcaloídico de SBr

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
CHCl_3	01-12	5	
CHCl_3 :MeOH 1%	13-20	5	
	21-30	3	
CHCl_3 :MeOH 2%	32-40	400	SB-3
CHCl_3 :MeOH 3%	41-55	5	
CHCl_3 :MeOH 4%	56-65	6	SBr-2
CHCl_3 :MeOH 5%	66-80	32	SBr-2
CHCl_3 :MeOH 10%	81-95	17	
MeOH	96-103	31	
Total	103	504 (50,4% recuperado)	

5.11 - Alcalóides obtidos

- SB-3; Intergerrimina; $C_{18}H_{25}NO_5$;
- [15(20)E]-12-hidroxisenecionina-11,16,diona.
- MM: 335;
- Forma física: amorfo
- IV em KBr, $\nu_{\max}$ cm^{-1} : 1720 ; 1745 ;
- EM 70 eV, m/z (%) : 335 (M^{+} , 03), 220 (20), 136 (100), 120 (97), 93 (80).
- Dados de RMN 1H e de ^{13}C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



5.12 - Obtenção de Alcalóides de *Senecio oleosus*

De 4 g do extrato alcaloídico obtido de 320 g (peso seco) das sucessivas extrações das inflorescências do *Senecio oleosus* (SL), fez-se CC com (500 mg) em coluna cromatográfica ($\varnothing = 1,5$ cm) como fase estacionária sílica gel 60 Merck (20 g). Foram coletadas 183 frações de aproximadamente 10 ml cada. As frações recolhidas foram reunidas de acordo com a as semelhança observadas por análise em CCD (Tabela E8).

Tabela E8 : Fracionamento de 0,5 g do extrato alcaloídico de SL

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
CH ₂ Cl ₂	01-40	12	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 2%	41-60		
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 4%	61-80	4	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 5%	81-92	7	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 10%	93-110	143	SL-1/SL-2
	111-130	95	SL-2
	131-150	69	SL-2
	151-170		
MeOH	171-183	35	
Total	183	365 (73% recuperado)	

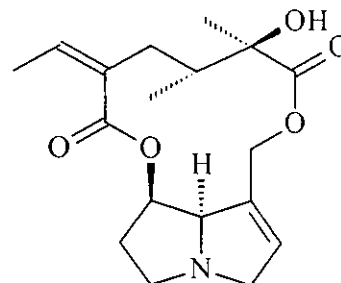
As frações 93-110 apresentavam uma mistura com dois alcalóides SL-1 e SL-2 os quais apresentavam uma boa separação em CCD, porém a concentração do alcalóide SL-1 na amostra era muito baixa com relação ao SL-2. Decidiu-se então cromatografar mais 1 g do extrato original em sílica gel 60 Merck (40 g). Foram coletadas frações utilizando-se o mesmo gradiente de polaridade porém com maior volume de aproximadamente 50 ml, reagrupadas de acordo com sua semelhança determinada por CCD (Tabela E9).

Tabela E9 : Fracionamento de 1,0 g do extrato alcaloídico de SL

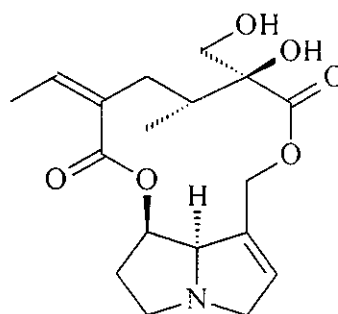
Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
CHCl ₃	01-10	-	
CHCl ₃ :MeOH 2%	11-20	5	
CHCl ₃ :MeOH 3%	21-25	20	SL-1
CHCl ₃ :MeOH 4%	26-50	595	SL-2
	51-60	12	SL-2
CHCl ₃ :MeOH 8%	61-75	13	
Total	75	645 (64,5% recuperado)	

5.13 - Alcalóides isolados:

- SL-1, Senecionina, ($C_{18}H_{25}NO_5$).
- 12-Hidroxisenecionina-11,16-diona
- MM: 335;
- Recristalização (Etanol-Acetona 9:2);
- P. f. 226-233°C; (Lit. p. f. 232-245°C, Rizk 1991)
- $[\alpha]^{22}_D -93$ ($CHCl_3$, c: $5 \cdot 10^{-3}$ mg/ml), (Lit. -56, Rizk 1991)
- Forma física: agulhas incolores
- IV em KBr, ν_{max} cm^{-1} : 1238; 1714; 1739; 3438.
- EM alta resolução, m/z obtido 335,17327. Calculado 335,17335.
- EM 70 eV, m/z (%) : 335 (M^{+} , 17), 291 (07), 246 (16), 220 (39), 136 (100), 120 (78), 93 (65).
- Dados de RMN 1H e de ^{13}C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



- SL-2, Retrorsina, $C_{18}H_{25}NO_6$,
- 12,18-hidroxisenecionan-11,15-dione
- MM 351.
- Recristalização em Acetona
- ponto de fusão 216-218°C.
- Forma física: amorfo
- $[\alpha]^{22}_D -90$ (MeOH, c: $1 \cdot 10^{-2}$ mg/ml), (Lit. -64, Rizk 1991).
- IV em KBr, ν_{max} cm^{-1} : 1191; 1712; 1743; 3402.
- EM alta resolução, m/z obtido 351,16819, calculado 351,16825.335,17327.
- EM 70 eV, m/z (%) : 351 (M^{+} , 10), 246 (10), 220 (22), 136 (100), 120 (75), 93 (65).
- Dados de RMN 1H e de ^{13}C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



5.14 - Obtenção de Alcalóides de *Senecio conyzaefolius*

De 0,4 g do extrato alcaloídico obtido de 120 g (peso seco) das sucessivas extrações das inflorescências do *Senecio conyzaefolius* (SZ), fez-se CC de 400 mg em coluna cromatográfica ($\varnothing = 1,5$ cm) tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (15 g). Foram coletadas 270 frações de aproximadamente 5 ml cada. As frações recolhidas foram reunidas de acordo com a as semelhança observadas por análise em CCD (Tabela E10).

Tabela E10: Fracionamento de 0,4 g do extrato alcaloídico de SZ

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código da substância isolada
CH ₂ Cl ₂	01-20	-	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 2%	21-50	6	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 4%	51-120	12	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 6%	121-170	4	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 10%	171-220	120	SZ-1/SZ
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 10%	221-270	70	SZ-1
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 20%	271-290	20	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH 50%	291-310	35	
MeOH	311-333	3	
Total	333	288 (72,0 % recuperado)	

A fração 171-220 foi analisada por CCD utilizando-se como revelador Dragendorff. Verificou-se a presença vários alcalóides, todos em muito baixa concentração. Já na fração 221-270 apenas um alcalóide majoritário também detectado nas 171-220, mas com grande quantidade de outros compostos detectados por luz UV e não detectado pela solução de Dragendorff.

Fez-se necessário coletar mais material botânico desta espécie, com finalidade de realizar um novo experimental na tentativa de isolar um dos alcalóides minoritários existentes nesta espécie. Obteve-se 2,35 g de extrato bruto a partir de 1.529 g de material (peso seco). Cromatografou-se 1,7 g em coluna cromatográfica ($\varnothing = 2,0$ cm) tendo com fase estacionária sílica gel 60 Merck (55 g). Foram coletadas 122 frações de aproximadamente 75 ml cada (Tabela E11).

Tabela E11 : Fracionamento de 1,7 g do extrato alcaloídico de SZ

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
CHCl_3	01-10	12	
CHCl_3 :MeOH 1%	11-20	21	
CHCl_3 :MeOH 2%	21-30	25	
CHCl_3 :MeOH 4%	31-38	40	Sz- α,β
CHCl_3 :MeOH 4%	39-47	27	
CHCl_3 :MeOH 6%	48-50	335	SZ-2
CHCl_3 :MeOH 6%	51-60	285	SZ-2
CHCl_3 :MeOH 6%	61-70	219	SZ-2
CHCl_3 :MeOH 6%	71-76	108	
CHCl_3 :MeOH 8%	77-90	80	
CHCl_3 :MeOH 15%	91-102	36	
CHCl_3 :MeOH 20%	103-110	50	
MeOH	111-122	68	
Total	122	1306 (76,8% recuperado)	

Da fração 31-38 obteve-se uma mistura de alcalóides só observada por análise CG-EM, embora por CCD observou-se apenas um alcalóide. Decidiu-se então recromatografar esta fração 31-38 (40 mg). Utilizou-se coluna cromatográfica ($\varnothing = 0,7$ cm) como fase estacionária sílica gel 60 Merck (1,5 g). Foram coletadas 85 frações de aproximadamente 5 ml cada (Tabela E12).

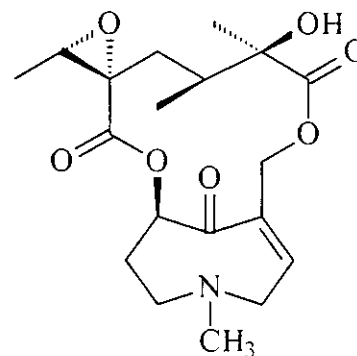
Tabela E12 : Fracionamento de 40 mg das fração 31-38 do extrato alcaloídico de SZ.

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
CHCl ₃	01-10	-	
CHCl ₃ :MeOH 1%	11-20		
CHCl ₃ :MeOH 2%	21-30	2	
CHCl ₃ :MeOH 3%	31-38	22	SZ-2 α , β
CHCl ₃ :MeOH 4%	39-50	07	
CHCl ₃ :MeOH 6%	58-64		
CHCl ₃ :MeOH 8%	65-75		
MeOH	76-85	7	
Total	85	38 (95,0%) recuperado	

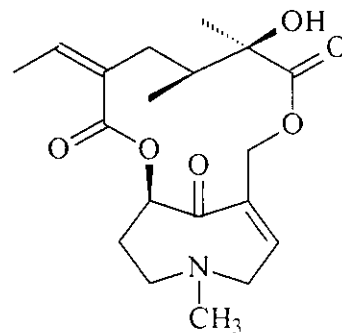
Obteve-se das frações (31-38) 22 mg de uma mistura de alcalóides.

5.15 - Alcalóides isolados:

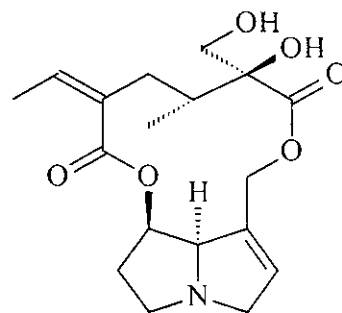
- SZ-2 α , Otosenina, (C₁₈H₂₅NO₇),
- 2,3,5,7 α -tetrahidro-1,7 α -hidroxi-7-(hidroximetil)-4-metil-1H-pirrolizidinium.
- MM 381;
- IQ-EM, [M⁺ 382]
- IV em NaCl $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 1748; 2970; 2923; 3383.
- EM 70 eV, m/z (%) : 381 (M⁺, 00), 266 (40), 250 (30), 168 (90), 151 (100), 140 (40), 123 (90), 110 (80), 96 (60).
- Dados de RMN ¹H e de ¹³C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



- SZ-2 β , Senquirquina, (C₁₈H₂₅NO₆),
- 12-hidroxi-4-metil-4,8-senecionam-8,11,16-triona.
- MM 365;
- IQ-EM, [M⁺ 366] ;
- IV em NaCl $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 1748; 2970; 2923; 3383.
- EM 70 eV, m/z (%) : 365 (M⁺, 00), 266 (40), 250 (30), 168 (90), 151 (100), 140 (40), 123 (90), 110 (80), 96 (60).
- Dados de RMN ¹H e de ¹³C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



- SZ-1, Retrorsina, C₁₈H₂₅NO₆,
- 12,18-hidroxisenecionan-11,15-diona
- MM 351;
- Forma física: amorfo
- [α]_D²² -19 (MeOH, c: 1.10⁻² mg/ml), (Lit. -64, Rizk 1991);
- IV em KBr, $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 1191; 1712; 1743; 3402.
- EM alta resolução, m/z obtido 351,16819, calculado 351,16825.335,17327.
- EM 70 eV, m/z (%) : 351 (M⁺, 10), 246 (10), 220 (22), 136 (100), 120 (75), 93 (65).
- Dados de RMN ¹H e de ¹³C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



5.16 - Alcalóides obtidos de *Senecio juerguensis*

De 1,0 g do extrato alcaloídico obtido das sucessivas extrações das partes aéreas do *Senecio juerguensis* (SJ), em sua maioria inflorescências, fez-se CC (500 mg) em coluna cromatográfica ($\varnothing = 1,5$ cm) e como fase estacionária sílica gel 60 Merck (17 g). Foram coletadas 163 frações de aproximadamente 50 ml cada. As frações recolhidas foram reunidas de acordo com as semelhanças observadas por análise em CCD, como se vê na Tabela E13.

Tabela E13 : Fracionamento de 1,0 g do extrato alcaloídico de SJ

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código da substância isolada
CHCl_3	01-15		
CHCl_3 :MeOH 1%	16-23	10	
	24-36	15	
CHCl_3 :MeOH 2%	37-56	121	
CHCl_3 :MeOH 4%	57-62	30	SJ-1
	63-75	50	
CHCl_3 :MeOH 6%	76-83	80	
	84-93	35	
CHCl_3 :MeOH 10%	94-98	100	SJ-1
	99-104	40	SJ-2
	105-109	43	SJ-2
	110-123	72	SJ-2
CHCl_3 :MeOH 50%	124-153	68	
MeOH	154-163	62	
Total	163	701 (70,1 % recuperado)	

As frações (57-62 e 94-98) continham apenas um alcalóide majoritário detectado por CCD, Fez-se necessário cromatografar estas frações para purificar o material. Cromatografou-se as frações 94-98 (100 mg) em coluna cromatográfica ($\varnothing = 0,7$ cm) tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (3 g). Foram coletadas 95 frações de aproximadamente 5 ml (Tabela E14).

Tabela E14 : Refracionamento da fração 94-98 (100 mg) da amostra SJ-1 do extrato alcaloídico SJ

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código da substância isolada
CHCl_3	01-20	-	
CHCl_3 :MeOH 1%	21-30	3	
CHCl_3 :MeOH 2%	31-45	5	
CHCl_3 :MeOH 3%	46-52	10	SJ-1
CHCl_3 :MeOH 6%	53-58	5	
CHCl_3 :MeOH 6%	59-64	6	
CHCl_3 :MeOH 8%	65-70	10	
MeOH	71-95	20	
Total	95	62 (62,0 % recuperado)	

As frações 99-104, 105-109 e 110-123 (Tabela E13) apresentavam mistura de alcalóides em baixa concentração, detectados por análise em CCD e revelados por solução de Dragendorff. Fez-se necessário cromatografar as frações na tentativa de separar e purificar o material. Cromatografou-se a fração 99-123 (155 mg) em coluna cromatográfica ($\varnothing = 0,7$ cm), tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (5 g). Foram coletadas 192 frações de aproximadamente 5 ml. Esta mistura de alcalóides foi obtida a partir de eluente com polaridade CHCl_3 /MeOH 10% (Tabela E13). Então fez-se necessário utilizar outro padrão de eluente para cromatografar estes prováveis alcalóides. Foi utilizado então eluente com polaridade próxima à utilizada nas análises CCD, pois as mesmas apresentavam um razoável resolução na separação destes compostos (Tabela E15).

Tabela E15 : Fracionamento de 155 mg da amostra originadas do SJ-2 do extrato SJ

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
100 ml (CHCl ₃ :MeOH 3% + 2 gotas de NH ₄ OH)	01-25		
100 ml (CHCl ₃ :MeOH 5% + 2 gotas de NH ₄ OH)	26-50	37	SJ-2
100 ml (CHCl ₃ :MeOH 7% + 2 gotas de NH ₄ OH)	51-75	52	SJ-2
100 ml (CHCl ₃ :MeOH 10% + 4 gotas de NH ₄ OH)	76-100	6	
	101-125		
100 ml (CHCl ₃ :MeOH 3% + 2 gotas de NH ₄ OH)	126-150		
MeOH	151-192	8	
Total	192	103 (66,4% recuperado)	

As 89 mg obtidas das frações 26-50 e 51-75 ainda apresentavam a mesma mistura de alcalóides quando detectada por CCD e reveladas por solução de Dragendorff. A granulação da sílica gel 60 Merck utilizado para CC já não era suficiente para realizar a separação destes compostos, observou-se também que os alcalóides saíam da coluna sob eluente com alta polaridade. Usou-se CCDP tendo como fase fixa sílica Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) tendo como eluente (CHCl₃:MeOH:NH₄OH 85:13:2) (Tabela E16).

Tabela E16 : Fracionamento de 89 mg da amostra SJ-2 do extrato inicial SJ.

Fração	Placa (faixa de R _f s)	Massa (mg)	Código
1	0,22-0,38	17	
2	0,40-0,51	12	SJ-1
3	0,51-0,56	4	
4	0,57-0,63	20	
5	0,64-0,68	2	
5	Total	55 (61,7 % recuperado)	

As 17 mg obtidas da fração 1 referente à faixa de Rfs (0,22-0,38), apresentou por CCD (revelado por solução de Dragendorff) a presença de dois alcalóides. Fez-se necessário reaplicar as 17 mg obtidas em CCDP tendo com eluente ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ 85:13:2) (Tabela E17).

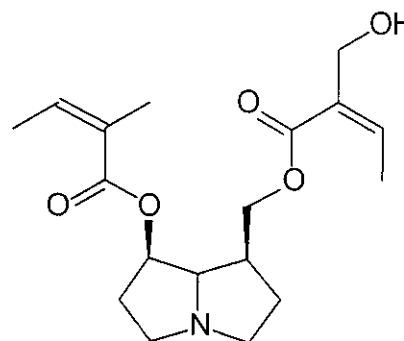
Tabela E17 : Fracionamento de 17 mg da amostra SJ-2 do extrato inicial SJ

Frações	Placa (faixa de Rfs)	Massa (mg)	Código
1	0,25-0,38	6	SJ-2
2	0,38-0,47	3	
3	0,47-0,62	3	
3	total	12 (70,5 % recuperado)	

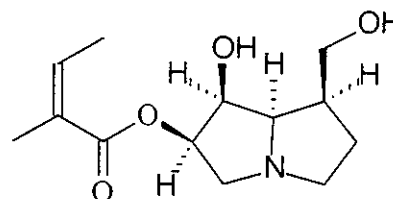
Do experimental em CCDP feito a partir das 17 mg obtidas na primeira tentativa de separação por CCDP obtivemos o alcalóide inédito juerguensina.

5.17 - Alcalóides isolados:

- SJ-1, Sarracina, ($\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_5$), 2-metil-2-butenóico ácido-2-hidroximetil-2-butenóico ácido-platifilina;
- MM 337;
- Forma física: óleo amarelo;
- IV em NaCl ν_{max} cm^{-1} : 1718; 2864; 2924; 3396.
- EM 70 eV, m/z (%): 337 (M^{+} , 0) 237 (20), 222 (25), 138 (100), 122 (50), 95 (30), 82 (45);
- Dados de RMN ^1H e de ^{13}C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



- SJ-2, Juerguensina, (C₁₃H₂₁NO₄).
- MM 255;
- Forma física; óleo amarelo;
- $[\alpha]_D^{25} -23$ (CHCl₃, c: 1.2 .10⁻³ mg/ml),
- IV em NaCl $\nu_{\max}$ cm⁻¹: 1721; 2923; 2955; 3398.
- EM 70 eV, m/z (%) : 255 (M⁺, 0) 156 (90), 155 (80), 124 (80), 100 (100), 82 (70),
- Dados de RMN ¹H e de ¹³C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



5.18 - Alcalóide isolado de *Crotalaria palida*

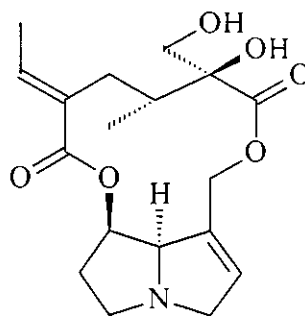
De 0,5 g do extrato alcaloídico obtido de uma única extração de 1.220 kg de sementes frescas de *Crotalaria palida* (CP), fez-se CC usando 100 mg em coluna cromatográfica ($\varnothing = 0,7$ cm) tendo como fase estacionária sílica gel 60 Merck (3 g). Foram coletadas frações de aproximadamente 5 ml cada. As frações recolhidas foram reunidas de acordo com as semelhança observadas por análise em CCD (Tabela E18).

Tabela E18 : Fracionamento de 100 mg do extrato alcaloídico de CP

Eluente	Frações	Massa (mg)	Código
CHCl ₃	01-10		
CHCl ₃ :MeOH 2%	11-30	2	
CHCl ₃ :MeOH 4%	31-42	20	CP
CHCl ₃ :MeOH 4%	43-47	15	CP
CHCl ₃ :MeOH 6%	48-60	2	
CHCl ₃ :MeOH 20%	61-65	4	
Total	65	43 (43,0% recuperado)	

5.19 - Alcalóide isolado:

- CP, Usaramina, ($C_{18}H_{25}NO_6$), (1R)-14-aza-etilideno-7-hidroxi-6,7-dimetil-2,9-dioxatriciclo[9.5.1.0<14,17>]heptadec-11-eno-3,8-diona;
- MM 351
- Forma física; óleo amarelo
- Dados de RMN 1H e de ^{13}C estão nos Capítulos 3.2 e 3.3.



6- BIBLIOGRAFIA

- ATAL, C. K., Semi-synthetic derivatives of pyrrolizidine alkaloids of pharmacodynamic importance: a review, *Lloydia* 41, 315-362, **1978**.
- ATAL, C. K., KAPUR, K. K., CULVENOR, C. C. J., SMITH, L. W., A new pyrrolizidine aminoalcohol in alkaloids from *Crotalaria* species, *Tetrahedron Lett.*, 6, 537-544, **1966**.
- AASEN, A. J., CULVENOR, C. C. J., SMITH, L. W., The Saturated Pyrrolizidinediols. I. Spectral Studies and the Conversion of an Ester of Dihydroxyheliotridane into the (+) Enantiomer of Hastanecine. *J. Org. Chem.*, 34, 4137-4143, **1969**.
- BOHLMANN, F., ZKERO, C., JAKUPOVIC, J., GRENZ, M., CASTRO, B., KING, R. M., ROBINSON, H., VINCENT, L. P. D., Further pyrrolizidine alkaloids and furoeremophilanes from *Senecio inaequidens* D. C. by capillary gas chromatography, *J. Chromat.*, 349, 23-29, **1986**.
- BREITMAIER, E., VOLTER, W., carbon-13 NMR Spectroscopy, *ZCH* 3^a Ed. 295, **1989**.
- BROWN, K. S. Jr., TRIGO, J. R., The Ecological Activity of Alkaloids. In: CORDELL G. A., *The Alkaloids*, v. 47, 227-356. Academic Press, California, **1995**.
- BROWN, K. S., Adult-obtained Pyrrolizidine Alkaloids defend Ithomine Butterflies Against a Spider Predator, *Nature* 309, 707-709, **1984**.
- CAVA, M. P. RAO, K. V., The alkaloids of *Coccolia floridana*, *J. Org. Chem.*, 33, 3570-3573, **1968**.
- CABRERA, A. L., El genero *Senecio* (Compositae) en Brasil Paraguay y Uruguay - *Arquivo do Jardim Botânico*, v. XV, **1959**.
- CULVENOR, C. C. J., HEFFERNAN, M. L. WOODS, W. G. (I) Nuclear magnetic resonance spectra of pyrrolizidine alkaloids, *Aust. J. Chem.*, 18, 1605-1624, **1965**.
- CULVENOR, C. C. J., WOODS, W. G. (II) Nuclear magnetic resonance spectra of pyrrolizidine alkaloids, *Aust. J. Chem.*, 18, 1625-1637, **1965**.
- CULVENOR, C. C. J., Pyrrolizidine alkaloids: Occurrence and systematic importance in Angiosperms. *Bot. Notiser*, 131, 473-486, **1978**.
- CULVENOR, C. C. J., BOM, R. D., SMITH, L. W., The Occurrence of Idolealkylamine Alkaloids in *Phalaris tuberosa* L. and *P. arundinacea* L., *Aust. J. Chem.*, 17, 1301-1304, **1964**.
- CULVENOR, C. C. J., KORETSKAYA, N. I., SMITH, L. W., UTKIN, L. M., The Structures of the Pyrrolizidine Alkaloids Neoplatyphylline and Hastacine, *Aust. J. Chem.*, 21, 1671-1673, **1968**.
- CROUT, D. H. G., Pyrrolizidine and seco-pyrrolizidine alkaloids of *crotalaria-laburnifolia* I subspecies-eldomae, *J. Chem. Soc. Perk. T 1*, 1602, **1972**.
- FREITAS, V. L., TRIGO, J. R., BROWN, K. S. Jr., WITTE, L., HARTMANN, T., BARATA, L. E. S., Tropane and pyrrolizidine alkaloids in the ithomiines *Placidula euryanassa* and *Miraleria cymothoe* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Chemoecology*, 7, 61-67, **1996**.

- GRUE M. R., LIDDELL, J. R., Pyrrolizidine alkaloids from *Senecio chrysocoma*, *Phytochemistry*, 33, 1517-1519, **1993**.
- GUNTHER, H., NMR Spectroscopy – Basic Principles, concepts, and applications in chemistry, John & Sons 2^a Ed., 135, **1994**.
- HABERMEHL, G. G., MARTZ, W., TOKARNIA, C. H., Livestock poisoning in south-america by species of the senecio plant, *Toxicon*, 26, 275-286, **1988**.
- HARTMANN, T., WITTE, L., Chemistry, Biology and Chemoecology of the Pyrrolizidine Alkaloids. In: PELLETIER, S. W., Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives, 9, 155-233. Pergamon Press, Oxford, **1995**.
- HARTMANN, T., ZIMMER, M., Organ-specific distribution and accumulation of pyrrolizidine alkaloids during the life history of two annual *Senecio* species, *J. Plant. Physiol.*, 122, 67-80, **1986**.
- HENRIQUES, A. T., KERBER, V. A., MORENO, P. R. H., Alcalóides: Generalidades e Aspectos Básicos, *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Cap. 29, 641-656, Editora da UFSC, **1999**.
- HENDRIKS, H., HUIZING, H. J., Ammonium positive-ion and hydroxide negative-ion chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry for the identification of pyrrolizidine alkaloids in *Eupatorium rotundifolium*, L. var. *ovatum*, *J. Chromatogr.*, 428, 352-256, **1988**.
- HESSE, M., Alkaloid Chemistry. John Wilwy & Sons Inc, New York, **1981**.
- HU, J., BAI, S., ZHU, Q., JIA, Z., New records of pyrrolizidine alkaloid-feeding insects. hemiptera and coleoptera on *Senecio brasiliensis*. *Biochem. System. Ecol.*, 28, 313-318, **2000**.
- HU, J. F., BAI, S. P., ZHU, Q. X., New sesquiterpene and other constituents from *Senecio flammeus*, *Indian J. Chem. B*, 37, 607-609, **1998**.
- JARES, E. A., TRETTAMANZI, M. C., POMILIO A. B., Sitosterol 3- α - β -D-Glucuronopyranoside from *Senecio bonariensis*, *Phytochemistry*, 29, 1, 340-341, **1990**.
- JONES, A. J., CULVENOR, C. C. SMITH, W., Pyrrolizidine alkaloids- a carbon-13 N. M. R. study, *Aust. J. Chem.*, 35, 1173-1184, **1982**.
- JOLY, A. B., Botânica, Companhia Editora Nacional, São Paulo, **1966**.
- KREBS, H. C., CARL, T., Retrorsine: Correct assignment of quaternary carbons, *Magn. Reson. Chem.*, 34, 12, 1046-1047, **1996**.
- KREBS, H. C., CARL, T., HABERMEHL, G. G., Pyrrolizidine alkaloid composition in six Brazilian *Senecio* species. *Phytochemistry*, 43, 1227-1229 **1996**.
- LOGIE, C. G., GRUE, R. M., LIDDELL, J. R., Proton NMR Spectroscopy of Pyrrolizidine Alkaloids. Review Article n° 93, *Phytochemistry*, 37, 43-109, **1994**.
- LIU, K., RÖDER, E., Pyrrolizidini alkaloids from *Senecio argunensis*, *Phytochemistry*, 30, 1303-1305, **1991**.

- LUTHY, J., ZWEIFEL U., KARLHUBER, B., Pyrrolizidine alkaloids of *senecio-alpinus* l and their detection in feedingstuffs, *J. Agr. Food Chem.*, 29, 302-305, **1981**.
- MACKAY, M. Y., CULVENOR, C. C. J., Struture of Senecionine, a Pyrrolizidine Alkaloid. *Acta. Cryst. B38*, 2754-2758, **1982**.
- MANN, J., *Secondary Metabolism*, 2nd ed. Oxford Chemistry series, 33, Clarendon Press, Oxford, **1987**.
- MATTOCKS, A. T., *Chemistry and Toxicology of Pirrolizidine Alkaloids*. Acamic Press, London, **1986**.
- MACKAY, M. Y., CULVENOR, C. C. J., Struture of Senecionine, a Pyrrolizidine Alkaloid. *Acta. Cryst. B38*, 2754-2758, **1982**.
- MENDONÇA, C. J. S., Alcalóides pirrolizidínicos em plantas brasileiras de interesse alimentar e medicinal: identificação e toxicologia. Tese (Doutorado) UNICAMP – Faculdade de Engenharia de Alimentos, **2000**.
- McKILLOP, A., *An Introduction to the Chemistry of the alkaloids*. Butterworth & Co, London, **1970**.
- MODY, N. V., SAWHNEY, S. R., PELLETIER, W., Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectral assignments for pyrrolizidine alkaloids, *J. Nat. Prod.*, 42,417-420, **1979**.
- MOHANRAJ, S., KULANTHAIVEL, P., SUBRAMANIAN, P. S., HERZ, W., Helifoline, a pyrrolizidine alkaloid from *Heliotropium ovalifolium*, *Phytochemistry*, 20, 1991-1995, **1981**.
- MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S., SUKAMOTO, T., Effect of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experiment gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of tepreone and cimetidine. *Jpn J. Pharmacol.*, 57, 495-505, **1991**.
- MIZUI, T., DOTEUCHI, M., Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. *Jpn J. Pharmacol.*, 33, 939-945, **1983**.
- NEUNER-JEHLE, N., NESVABDA, H., SPITELLER, G., Anwendung der Massenspektrometrie zur strukturaufklärung von alkaloiden, 6. Mitt.: Pyrrolizidinenalkaloide aus dem Goldregen, *Monatsh. Chem.*, 96, 321-338. **1965**.
- NISHIDA, R., KIM. C.; FUKAMI, H.; IRIE, R. Ideamine N-Oxides: Pyrrolizidine Alkaloids Sequestered by the Danaine Butterfly, *Idea leuconoe*. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1787-1792, **1991**.
- PÉREZ-CASTORENA, A. L., ARCINIEGAS, A., MARTINEZ, F., VILLASEÑOR, J. L.; VIVAR, A. R., Pyrrolizidine Alkaloids from Four *Senecio* Species. *Biochem. System. Ecol.*, 28, 279-282, **2000**.
- PIETERS, L. A., VLIETINCK, A., Spartiodine and usaramine, two pyrrolizidine alkaloids from *Senecio vulgaris*l, *Planta Med.* 2: 178-179, **1988**.
- RIZK, A. M., *Naturally Ocorruiing Pyrrolizidine Alkaloids*. CRC Press, Florida, **1991**.

- RIZK, A. M., KAMEL, A., Toxicity, carcinogenicity, pharmacology and other biological activities of pyrrolizidine alkaloids. In: Naturally Occurring Pyrrolizidine Alkaloids. CRC Press, Florida, 211-226, **1991**.
- ROBINS, D. J., Biosynthesis of Pyrrolizidine Alkaloids. Chem. Soc. Rev., 18, 375-408, **1989**.
- ROBY, M. R., STERMITZ, F. R., Pyrrolizidine and pyridine monoterpene alkaloids from two *Castilleja* plant hosts of the plume moth, *Platyptilia pica*, J. Nat. Prod., 47, 5, 846-853, **1984**.
- RÖDER, E., WIEDENFELD, H., Isolierung und Strukturaufklärung des Alkaloids Fuchsisenecioninaus *Senecio fuchsii*. Phytochemistry, 16, 1462-1463, **1977**.
- RODER E., WIEDENFELD H., PFITZER, A., Doriasenine, a Pyrrolizidine alkaloid from *Senecio-doria*, Phytochemistry, 27, 4000-4001, **1988**.
- ROEDER, E., LIU, K., Pyrrolizidini alkaloids from *Senecio integrifolius* VAR. *fauriri*, Phytochemistry, 30, 1734-1737, **1991**.
- ROEDER, E., Carbon-13 NMR Spectroscopy of Pyrrolizidine Alkaloids. Phytochemistry, 29, 11-29, **1990**.
- ROEDER, E., WIEDENFELD, H., BRITZ-KIRSTGEN, R., Pyrrolizidini alkaloids from *Senecio cacaliaster*, Phytochemistry, 23, 1761-1763, **1984**.
- ROITMAN, J. N., The pyrrolizidine alkaloids of *Amsinckia menziesii*, Aust. J. Chem., 36, 769-778, **1983**.
- ROITMAN, J. N., The pyrrolizidine alkaloids of *senecio-triangularis*, Aust. J. Chem., 36, 6, 1203-1213, **1983**.
- ROITMAN, J. N., Ingestion of pyrrolizidine alkaloids - a health-hazard of global proportions ACS Sym. Ser 234, 345-378, **1983**.
- RUCKER, G., MANNS, D., SCHENKEL, E. P., HARTMANN, R., HEIZMANN, B. M., Triperpenes with a new 9-epi-cucurbitan skeleton from *Senecio selloi*, Phytochemistry, 52, 1587-1591, **1999**.
- SCHULTZ, A. R. H., Introdução à Botânica Sistemática, 2, 6ª ed., SAGRA, Porto Alegre, **1990**.
- SCHMELLER, T., EL-SHAZLY, A., WINK, M., J. Chem. Ecol., 23, 339-416, **1997**.
- SEGALL, H.J., DALLAS, J. L., ¹H NMR spectroscopy of pyrrolizidine alkaloids, Phytochemistry, 22, 5, 1271-1273, **1983**.
- SMET, P. A. G. M., KELLER, K., HANSEL, R., CHANDLER, R. F., Adverse Effects of Herbal Drugs 1, Springer-Verlag – Germany, **1992**.
- SWAN, G. A., An Introduction to the alkaloids. John Wiley & Sons Inc, New York, **1966**.
- DE TOMMASI, N., RASTRELLI, L., LAURO, MR., Polyhydroxylated triterpenes from *Senecio pseudotites*, Phytochemistry 49, 1123-1125, **1998**.
- TORRES, P., AYALA, J., GRANSE, C., ANAYA, J., GRANDE, M. Furanoeremohilane derivatives from *Senecio flavus*, Phytochemistry, 52, 1507-1513, **1999**.
- TRIGO, J. R., BROWN, K. S. Jr., WITTE, L., HARTMANN, T., ERNST, L., BARATA, L. E. S., Pyrrolizidine alkaloids: different acquisition and use patterns in Apocynaceae and

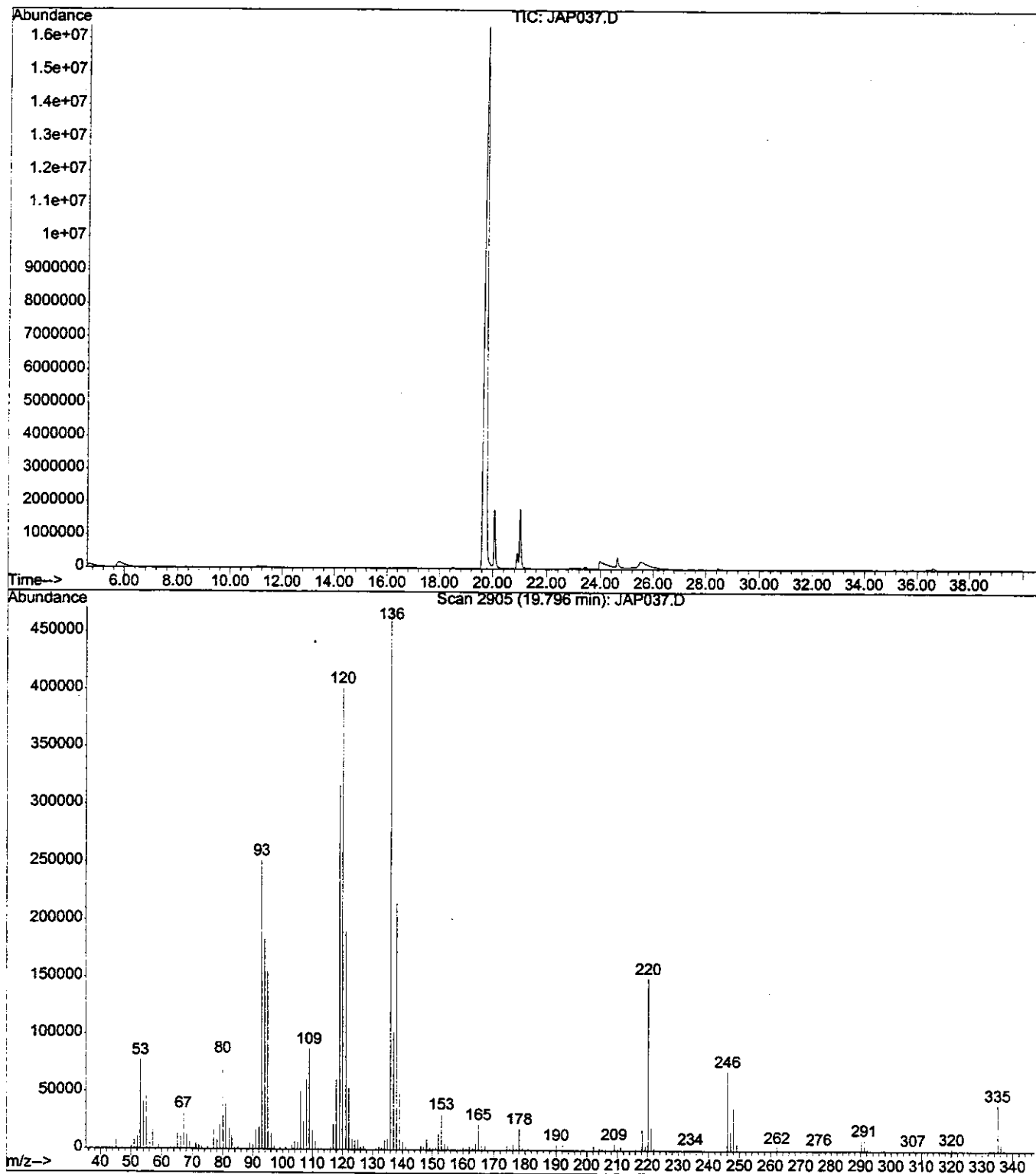
- Solanaceae feeding ithomiine butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae). Biol. J. of the Linnean Soc., 58, 99-123, **1996**.
- TRIGO, J. R., BROWN, K. S. Jr., WITTE, L., HARTMANN, T., BARATA, L. E. S., Pyrrolizidine alkaloids in the arctiid moth *Hyalurga syma*. J. of Chem. Ecol., 19, 669-679, **1993**.
- URONES, J. G., BARCALA, P. B., MARCOS, I. S., pyrrolizidine alkaloids from *senecio-gallicus* and *senecio-adonidifolius*, Phytochemistry, 27, 1507-1510, **1988**
- WERE, O., BENN, M. Pyrrolizidine Alkaloids from *Senecio hadiensis*. J. Nat. Prod., 54, 2, 491-499, **1991**.
- WHO, International Program of Chemical Society (IPCS): Criteria 80 Pyrrolizidine alkaloids, World Health Organization. Geneva, **1988**.
- YAMADA, K., TATEMATSU, H., UNNO, R., HIRATA, Y., Petassinne and Petasinoside, Two Minor Alkaloids Possessing a New Necine Isolated from *Petasites japonicus* Maxim. Tetrahedron Lett. 46, 4543-4546, **1978**.

A N E X O

***Espectros de IV
Espectros de massas
Espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C
Diagrama de contorno gCOSY, HSQC
Espectros NOESY 1D e CYCLEN OE
Cromatogramas por CG/EM***

File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP037.D
Operator : jrt
Acquired : 20 Jul 2000 16:39 using AcqMethod ALK1
Instrument : HP5973A
Sample Name:
Misc Info :
Vial Number: 1

95



E1 - Análise CG/EM da Senecionina (SB-1)

BASELINE

Mode = 2 (Mid-IR)

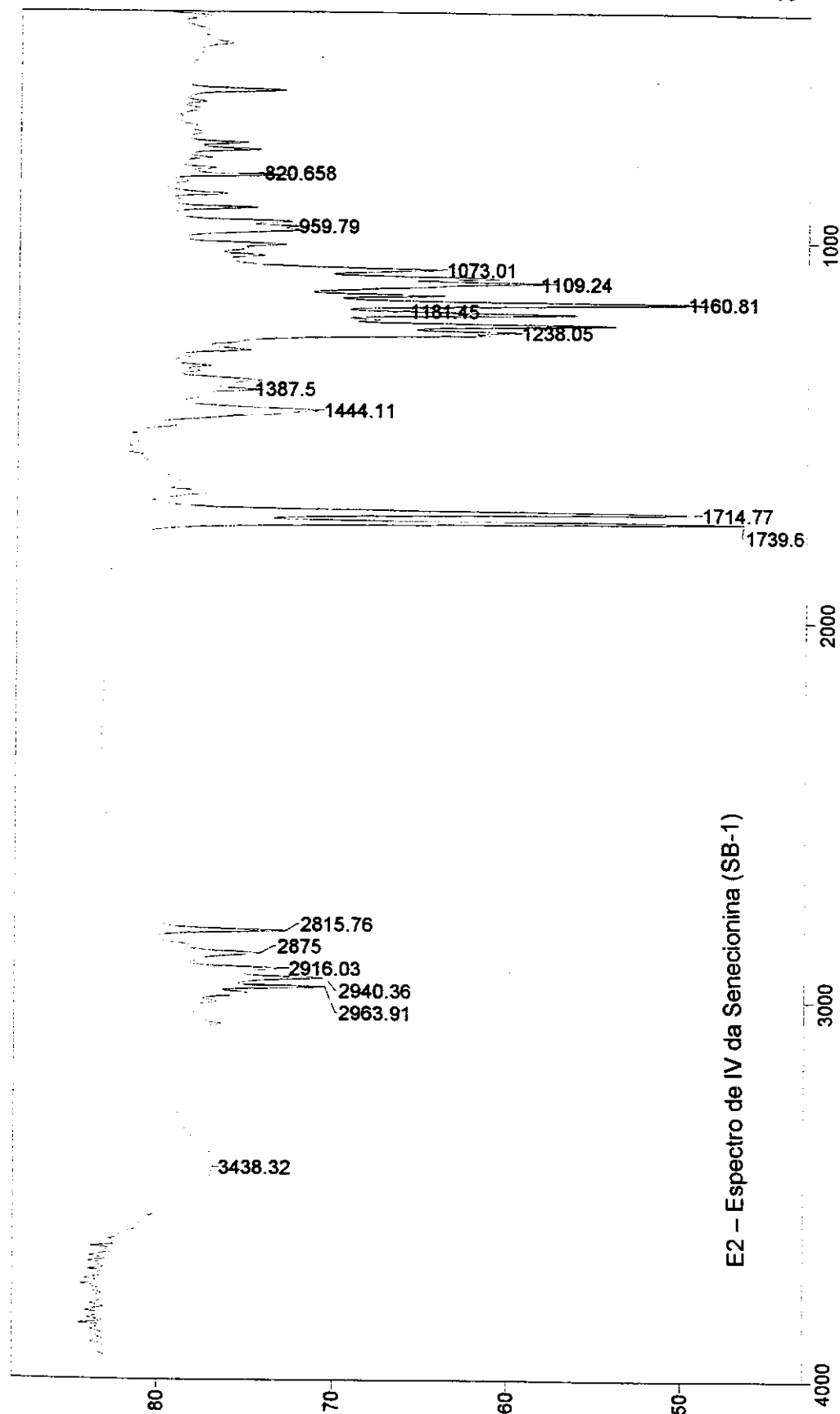
31/05/00 11:39

Sample Description: sb-1

Scans = 5

Res = 4 cm-1 20 scans/min

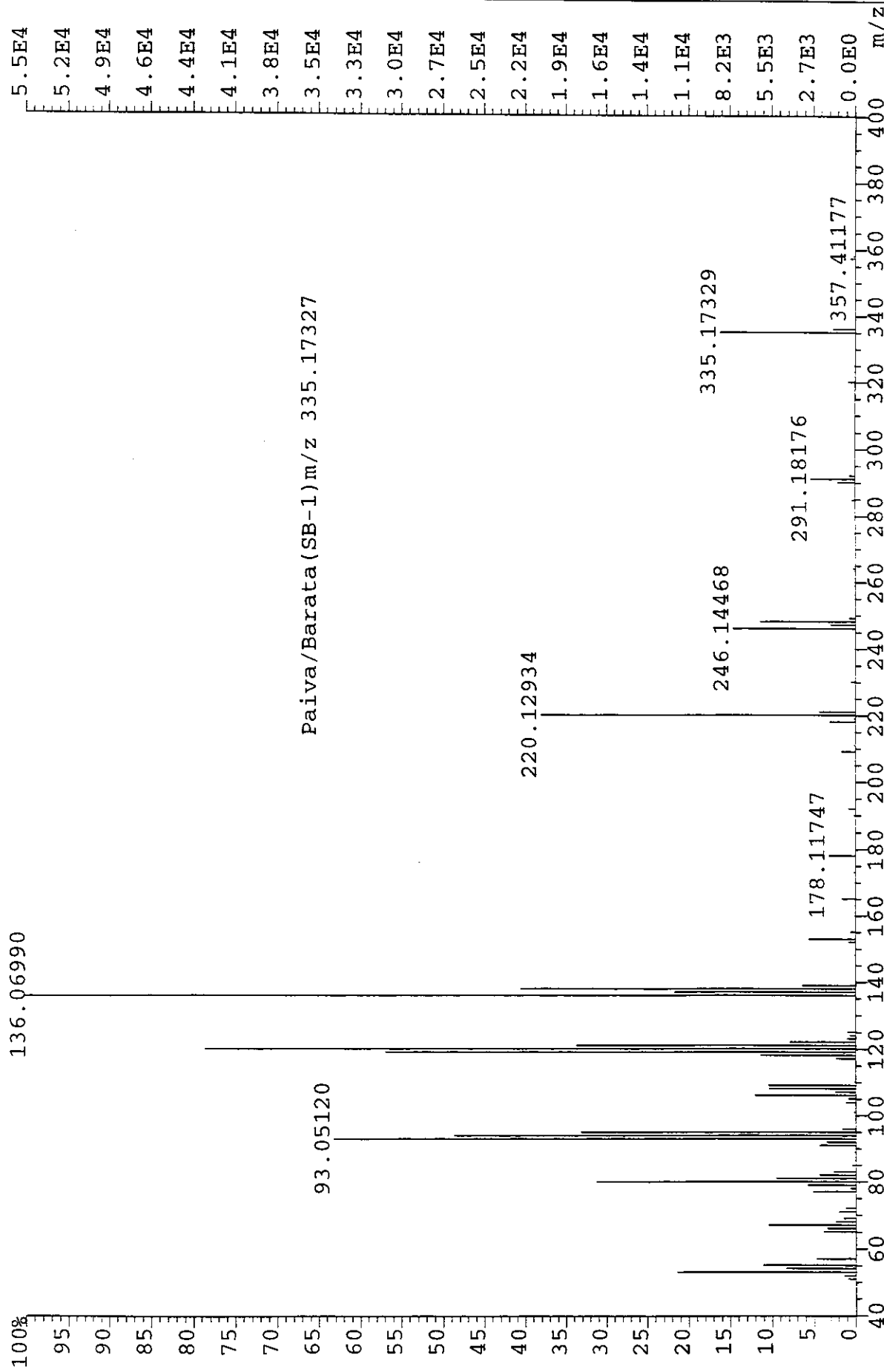
Apod = Cosine



E2 - Espectro de IV da Senecionina (SB-1)

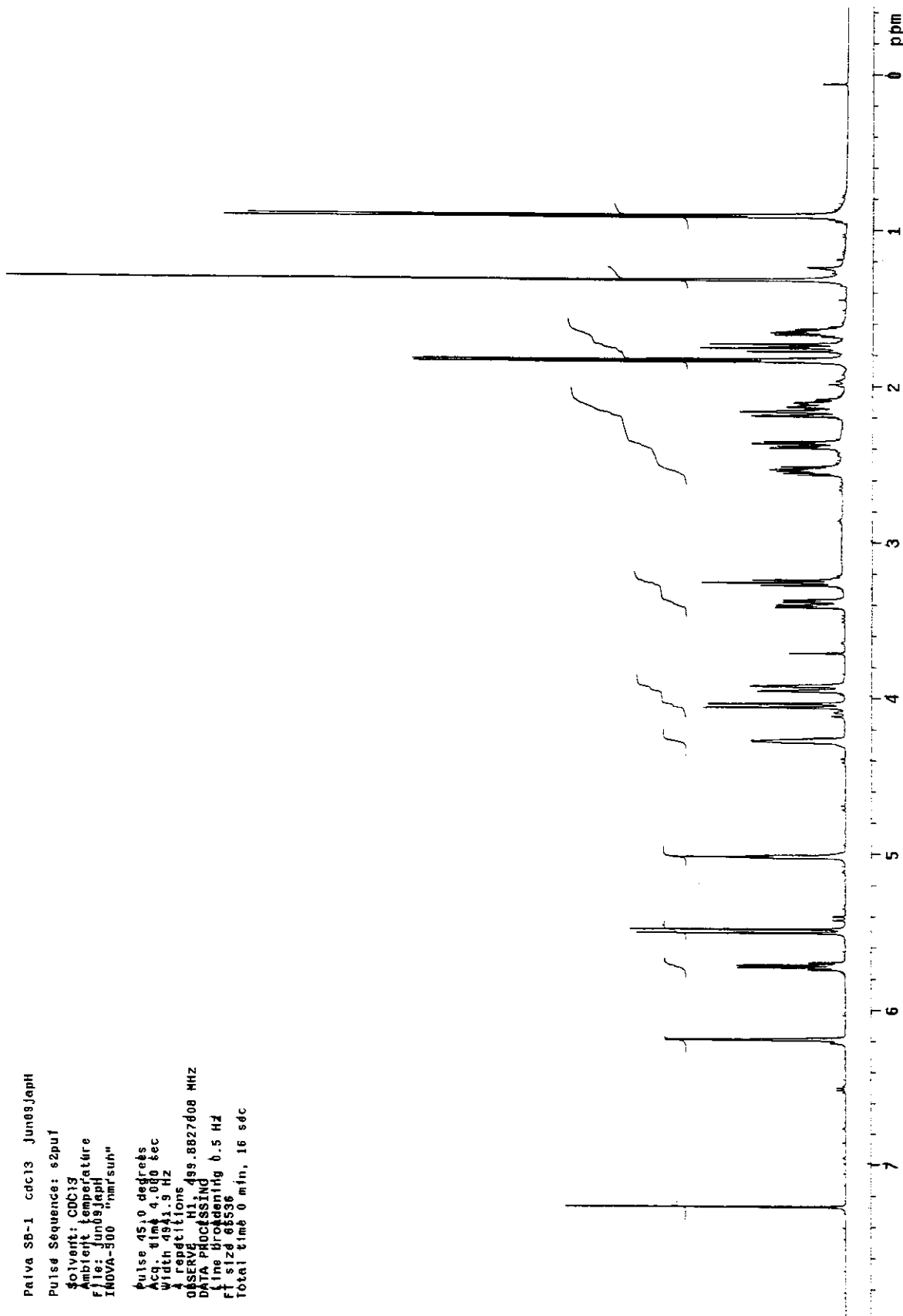
Transmittance / Wavenumber (cm-1)

File: AGO1500 Ident: 321 Acq: 15-AUG-2000 15:04:50 +40:26 Cal: AGO1500
AutoSpec EI+ Magnet BpI: 54581 TIC: 453855 Flags: HALL



E3 - Espectrometria de massas de alta resolução da Senecionina (SB-1)

Palva SB-1 cdcl3 jun09japh
Pulse Sequence: s2puf
Solvent: CDCl3
Ambient Temperature
File: jun09japh
INOVA-500 "nmrsun"
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 4.080 sec
Width 4941.9 Hz
4 repetitions
OBSERVE H1, 499.882708 MHz
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FI size 85536
Total time 0 min, 16 sec



E4 – Espectro de RMN de ^1H da Senecionina (SB-1)

Priva SB-01 mar30JepC1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl3

Ambient temperature

File: mar30JepC1

INOVA-500 "nmrSun"

PULSE SEQUENCE

Relax..delay 2.000 sec

Pulse 45.4 degrees

Acq. time 0.000 sec

Waltz 20000.0 Hz

1322 repetitions

OBSERVE C13, 75.4520702 MHz

DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz

Power 41 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

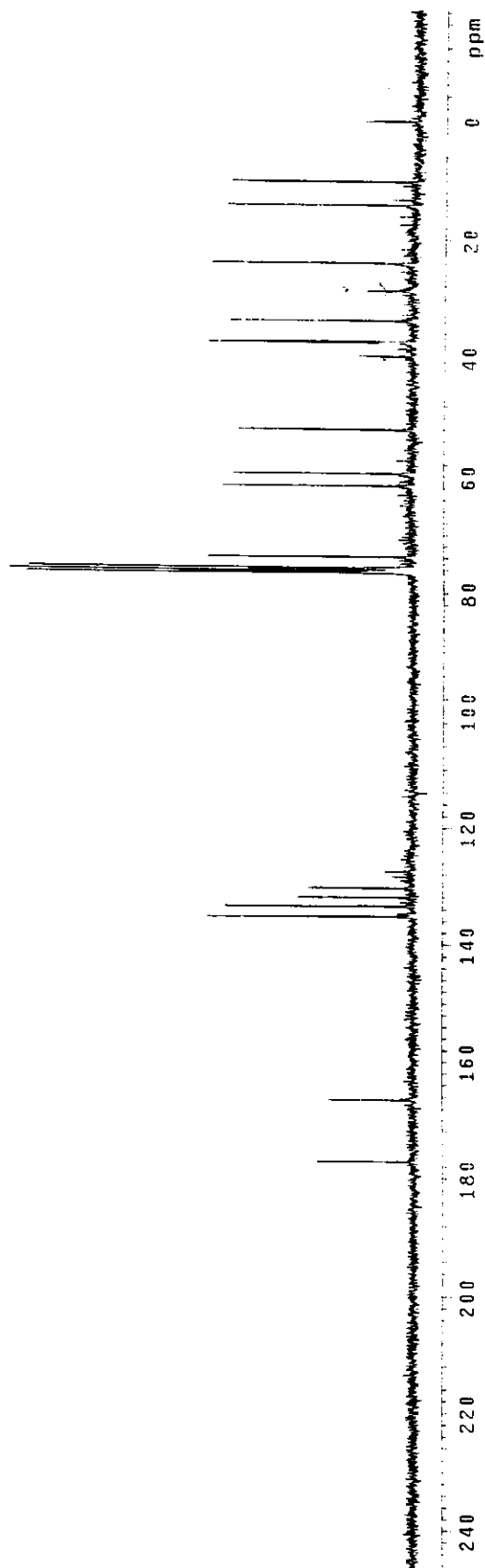
DATA PROCESSING

Line broadening 2.0 Hz

FI size 32768

Total time 3 hr, 54 min, 4 sec

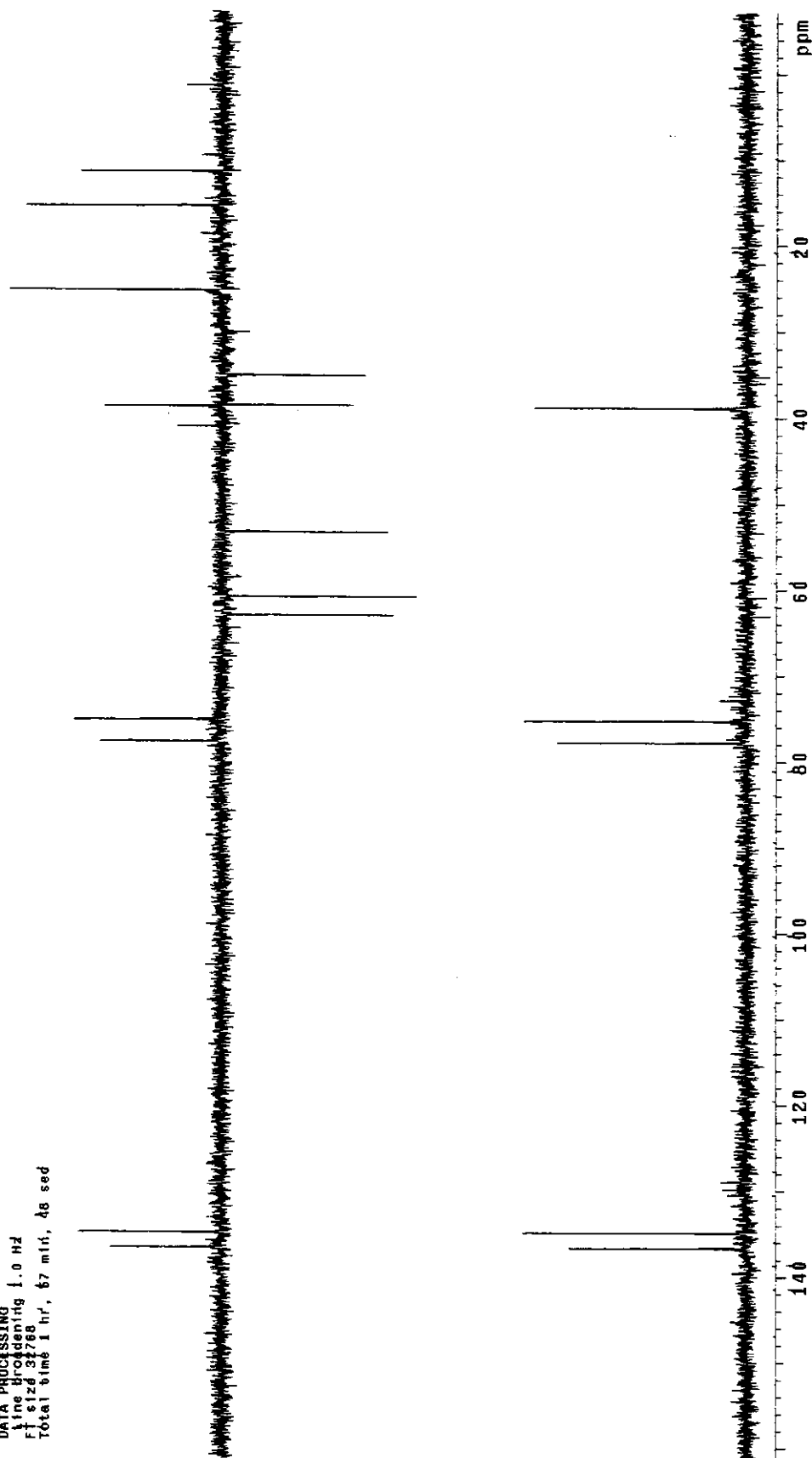
E5- Espectro de RMN de ^{13}C da Senecionina (SB-1)



Palva SB-01 mar30JapD1
Pulse Sequence: dept
Solvent: cdc13
Ambient Temperature
File: mar30JapD1
INOVA-300 "nmfsub"

Relax. delay 2.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 20000.0 Hz
1248 repetitions
OBSERVE C13, 75.451835 MHz
DECUPLE H1, 300.068876 MHz
Power 41 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FI size 32768
Total time 1 hr, 67 min, 48 sec

E6 - Espectro DEPT da Senecionina (SB-1)



Pulse Sequence: gcOSY

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

File: Jun09japgcOSY

INNOVA-500 "nmrSun"

PULSE SEQUENCE: gcOSY

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.207 sec

Width 4941.9 Hz

2D Width 4941.9 Hz

8 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.8827606 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.104 sec

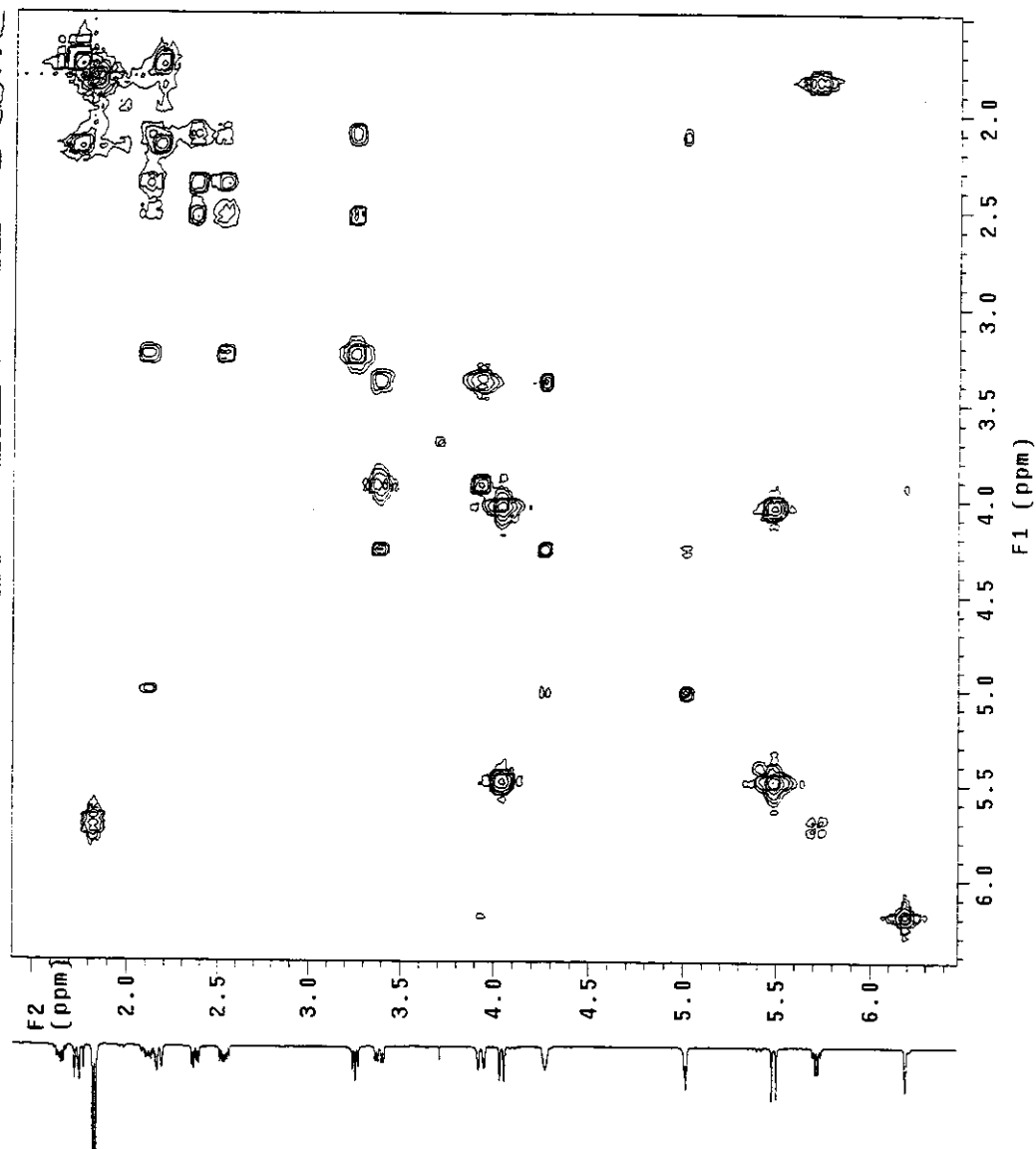
F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.026 sec

FT size 1024 x 1024

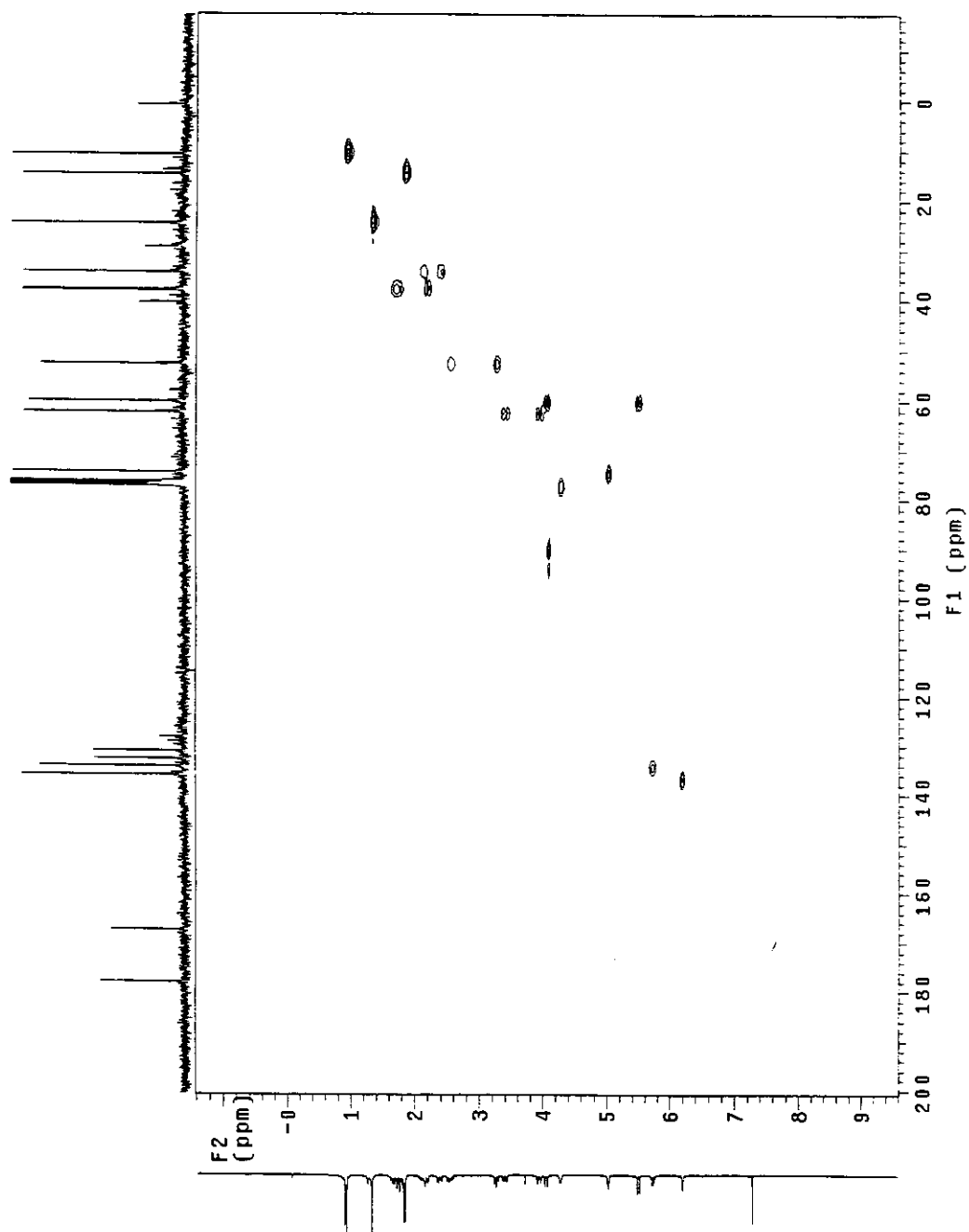
Total time 21 min, 22 sec

E7 ~ Diagrama de contorno gcOSY da Senecionina (SB-1)



E8 – Diagrama de contorno HSQC da Senecionina (SB-1)

Paiva SB-1 cdc13 jun09japhMQC
 Pulse Sequence: hmqc
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 File: jun09japhMQC
 INOVA-500 "nmr.sun"
 PULSE SEQUENCE: hmqc
 Relax. delay 2.000 sec
 Acq. time 0.155 sec
 Width 3304.5 Hz
 2D width 16435.6 Hz
 200 repetitions
 2 x 64 increments
 OBSERVE H1, 500.0673535 MHz
 DECOUPLE C13, 75.4588913 MHz
 Power 44 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Gauss apodization 0.077 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Gauss apodization 0.003 sec
 FT size 1024 x 512
 Total time 21 hr, 18 min, 27 sec



Paiva SB-1 1.20CH3/CDCL3 Jun26JapCYCLEN0E1

Pulse Sequence: cyclenoe

Solvent: CDCL3

Temp. 25.0 C / 298.1 K

File: Jun26JapCYCLEN0E1

INNOVA-500 "Inova500"

PULSE SEQUENCE: cyclenoe

Relax delay 12.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq time 3.000 sec

Width 8000.0 Hz

64 repetitions

OBSERVE H1 499.8827897 MHz

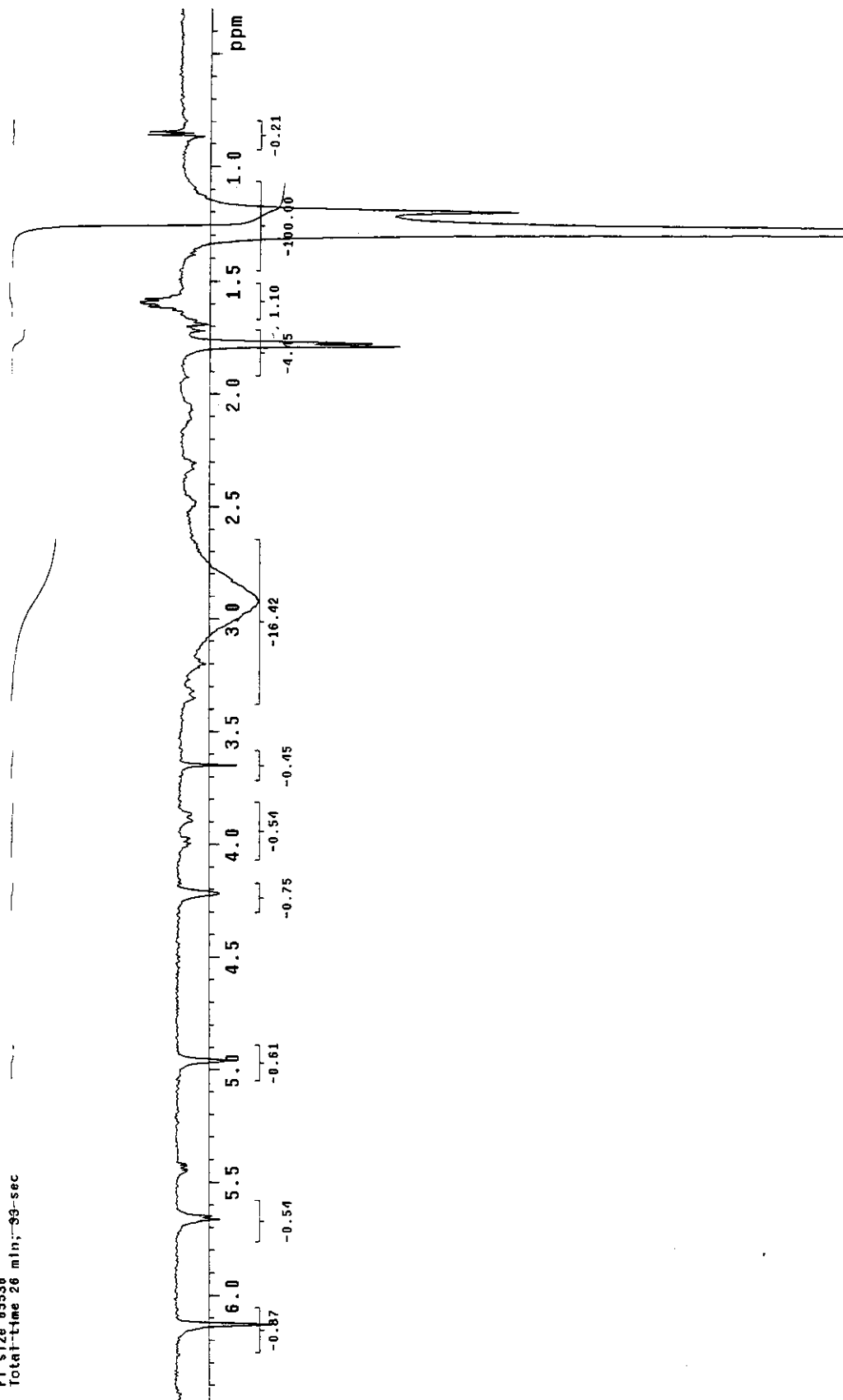
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FI size 65536

Total time 26 min, 33 sec

E9 – Espectro CYCLEN0E da Senecionina (SB-1): irradiação na metila C-18



Paiva SB-1 4.20CH/CDC13 Jun26JapCYCLEN0E2

Pulse Sequence: cyclenoe

Solvent: CDC13

Temp. 25.0 C / 298.1 K

File: Jun26JapCYCLEN0E2

INOVA-500 "Inova500"

PULSE SEQUENCE: cyclenoe

Relax. delay 12.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.000 sec

Width 8000.0 Hz

64 repetitions

06SERVE HI, 499.8827897 MHz

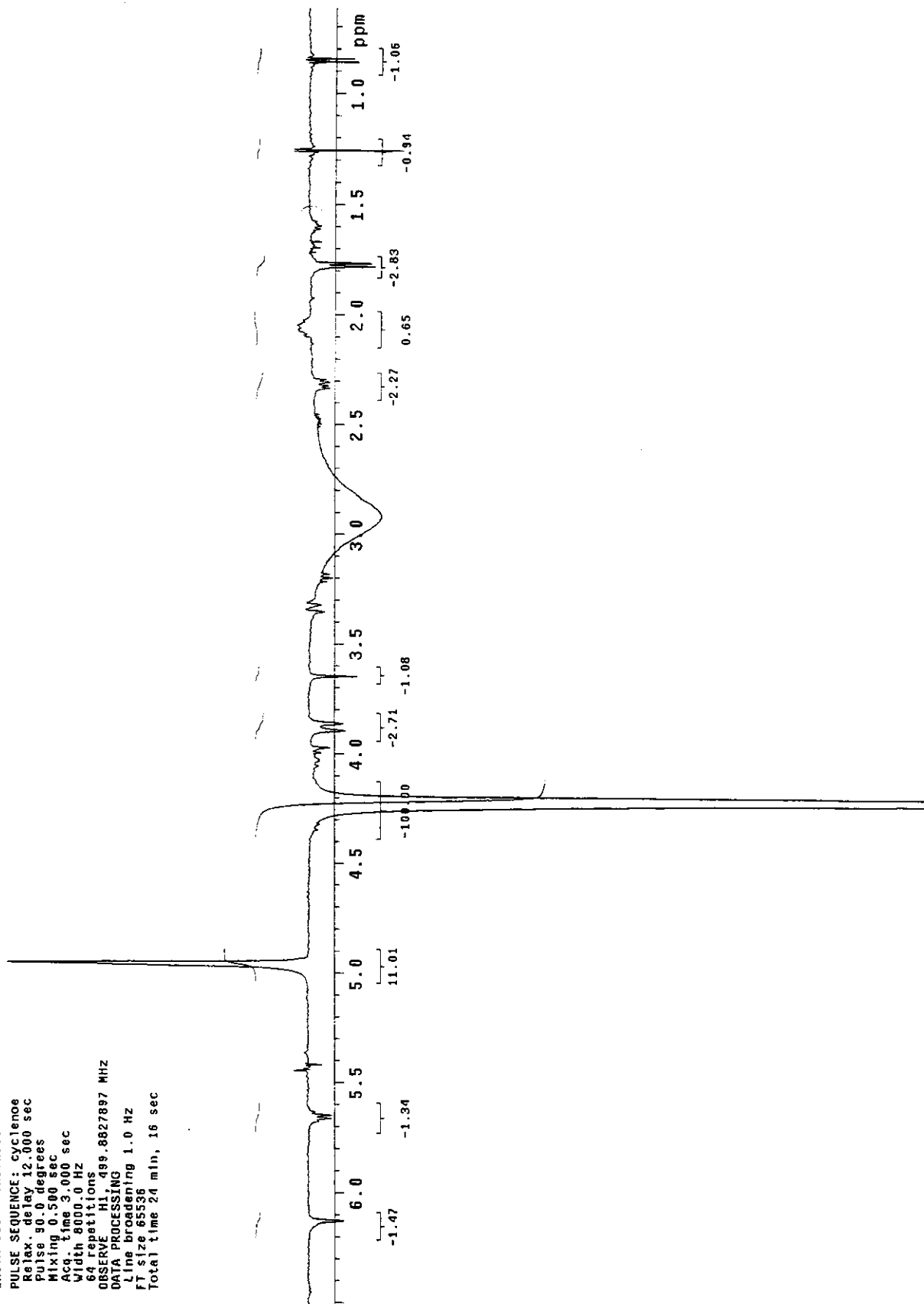
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

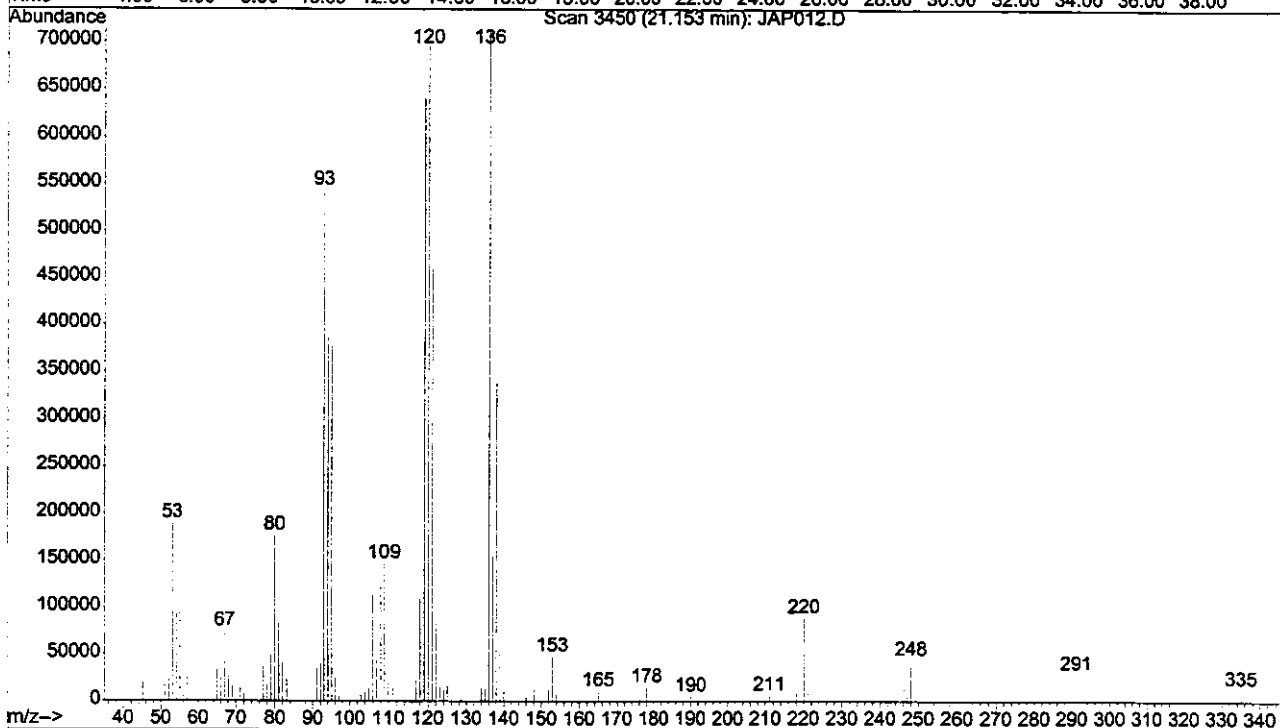
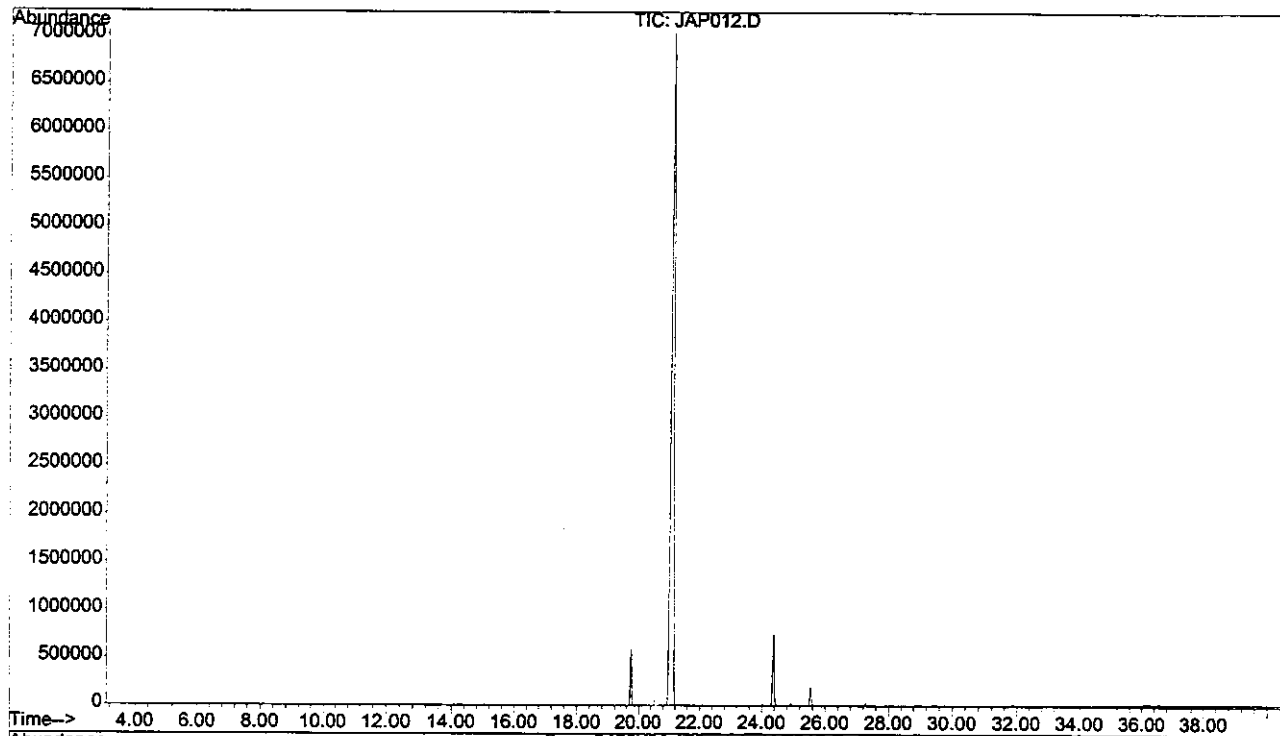
FT size 65536

Total time 24 min, 16 sec

E10 – Espectro CYCLEN0E da Senecionina (SB-1): irradiação no hidrogênio H-8



File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP012.D
Operator : EDUARDO
Acquired : 5 Apr 2000 21:59 using AcqMethod ALK1-2 105
Instrument : HP5973A
Sample Name:
Misc Info :
Vial Number: 2



E11 - Análise CG/EM da Intergerrimina (SB-3)

Peiva SB-3/CDCl3 Jun26japh2

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl3

Temp: 25.0 C / 288.1 K

File: Jun26japh2

INOVA-500 "nmfsh"

Pulse 4510 degrees

Acq. time 4.080 sec

Width 8000.0 Hz

16 repetitions

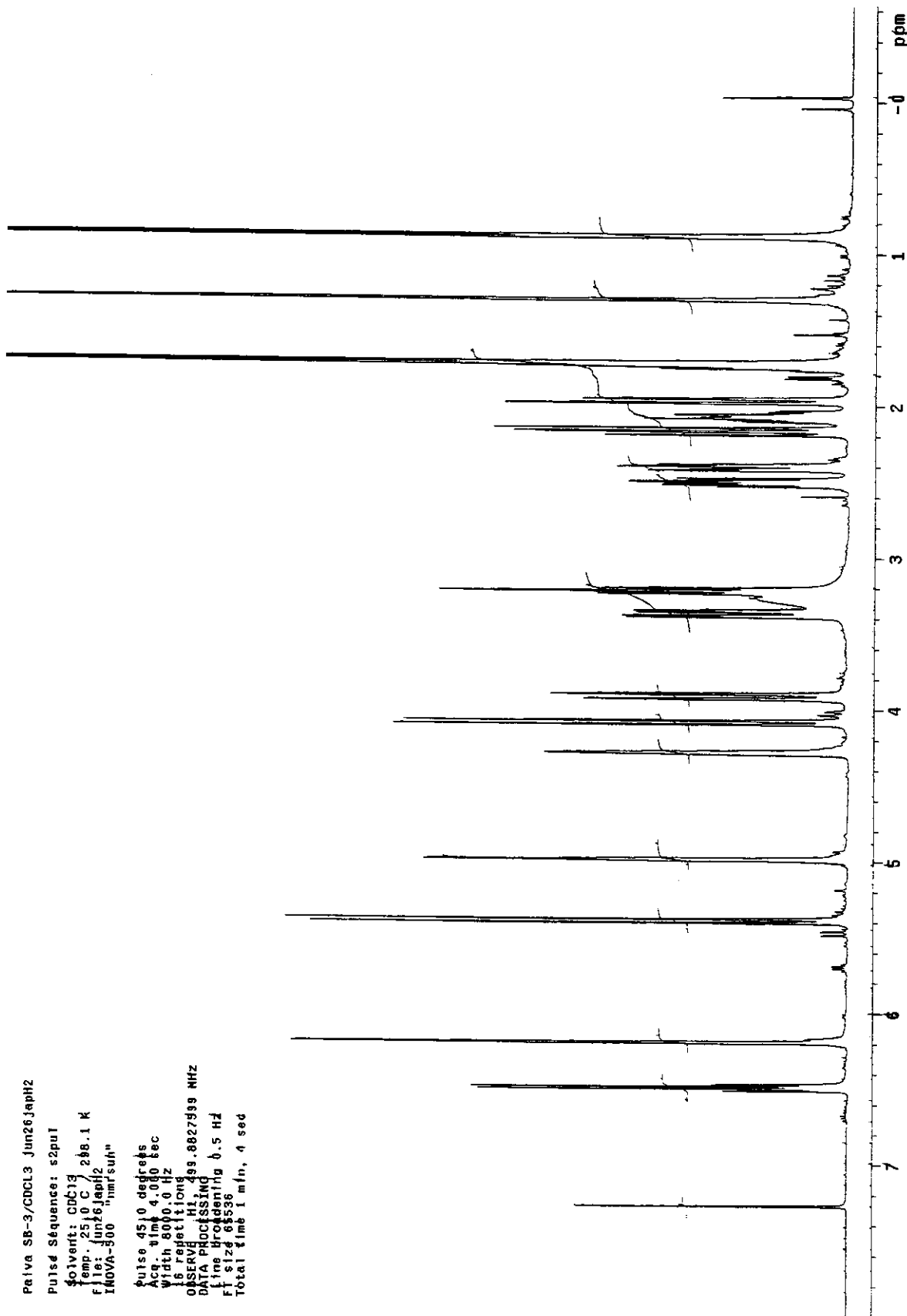
OBSERVE H1, 499.882799 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 85536

Total time 1 min, 4 sec



E12 – Espectro de RMN de ^1H da Intergerrimina (SB-3)

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl3

Temp: 25.0 C / 298.1 K

User: r15jap

File: out15japC

INOVA-300 "nmrsum"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

1664 repetitions

OBSERVE C13, 125.8950307 MHz

DECOUPLE H1, 499.8852559 MHz

Power 34 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

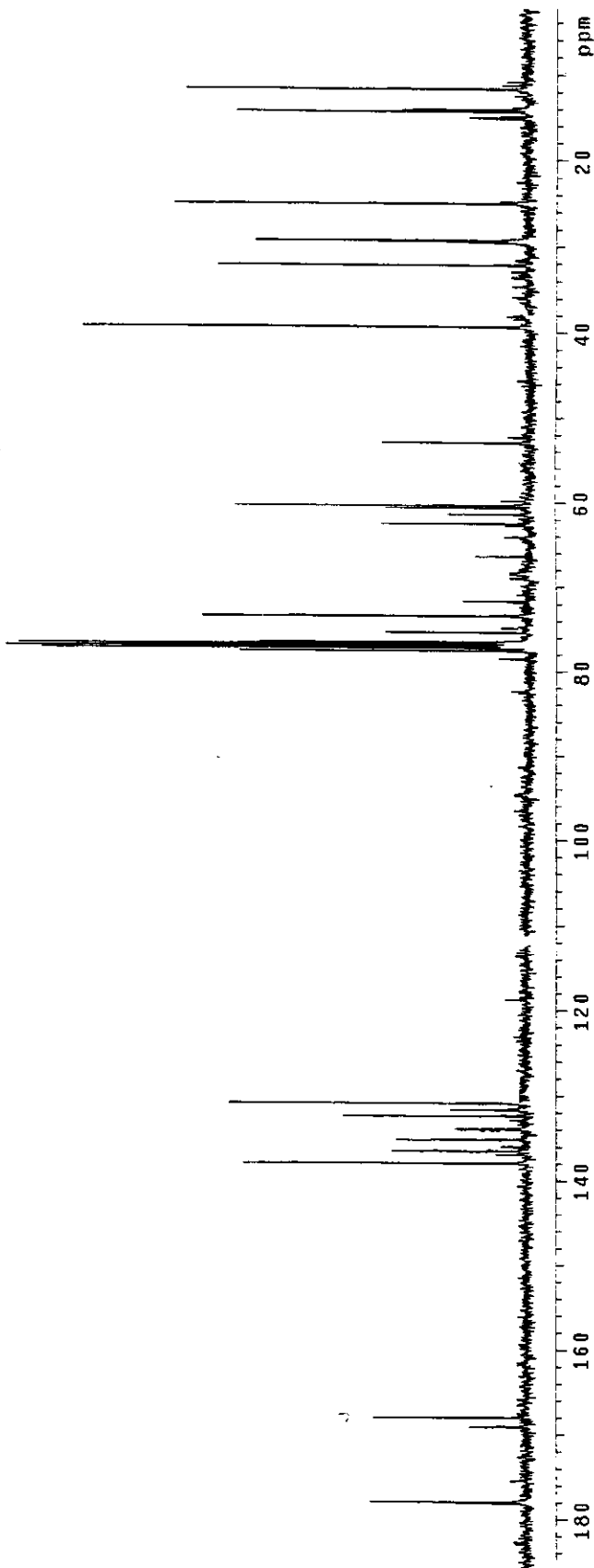
DATA PROCESSING

Line broadening 3.0 Hz

FT size 65536

Total time 3 hr, 31 min, 6 sec

E13- Espectro de RMN de ^{13}C da Intergerrimina (SB-1)



Paiva SB-3 1.3CH3/GDCL3 Jun26japcycloenoe3

Pulse Sequence: cycloenoe

Solvent: CDCl3

Temp: 25.0 C / 298.1 K

INNOVA-500 "Inova500"

PULSE SEQUENCE: cycloenoe

Relax. delay 12.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.000 sec

Width 8000.0 Hz

64 repetitions

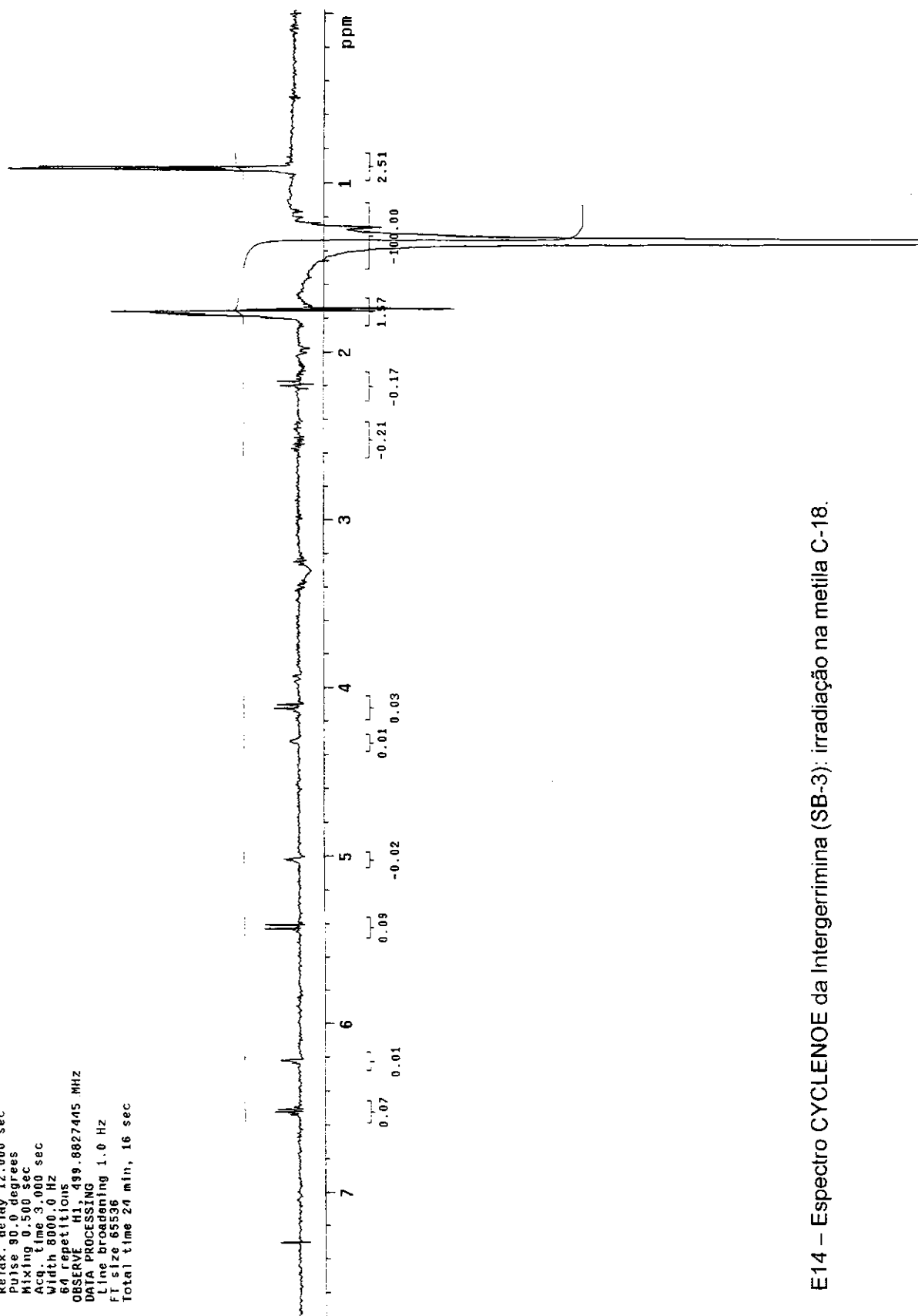
OBSERVE H1 499.8827445 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

F1 size 65536

Total time 24 min, 16 sec



E14 – Espectro CYCLENONE da Intergerrimina (SB-3): irradiação na metila C-18.

E15 – Espectro CYCLENOE da Intergerrimina (SB-3): irradiação no hidrogênio H-8

Paiva SB-3 4.31CH/CDCl3 Jun26Japcycloenoe4

Pulse Sequence: cycloenoe

Solvent: CDCl3

Temp: 25.0 C / 298.1 K

INOVA-500 "Inova500"

PULSE SEQUENCE: cycloenoe

Relax. delay 12.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.000 sec

Width 8000.0 Hz

64 repetitions

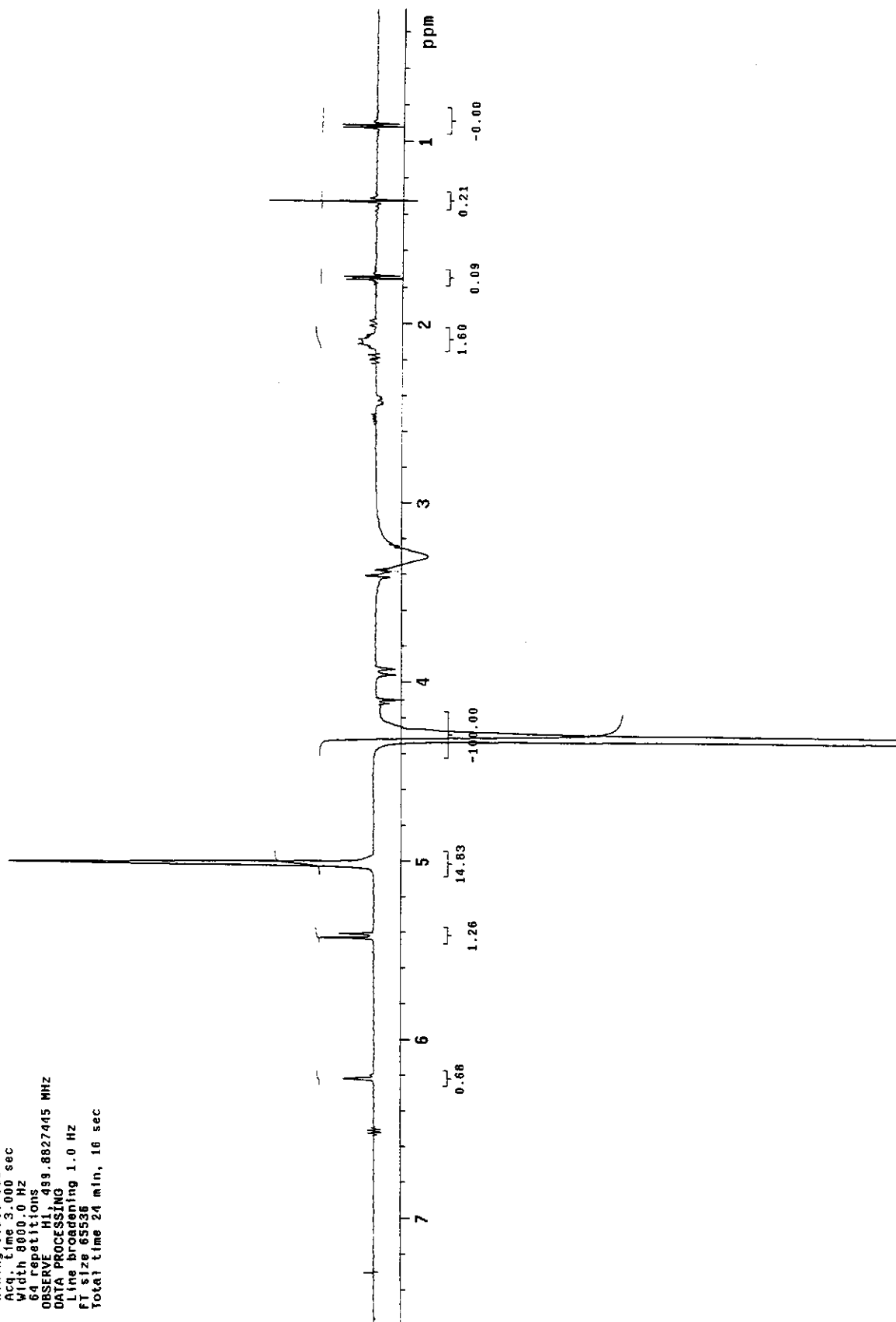
OBSERVE H1, 499.8827445 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

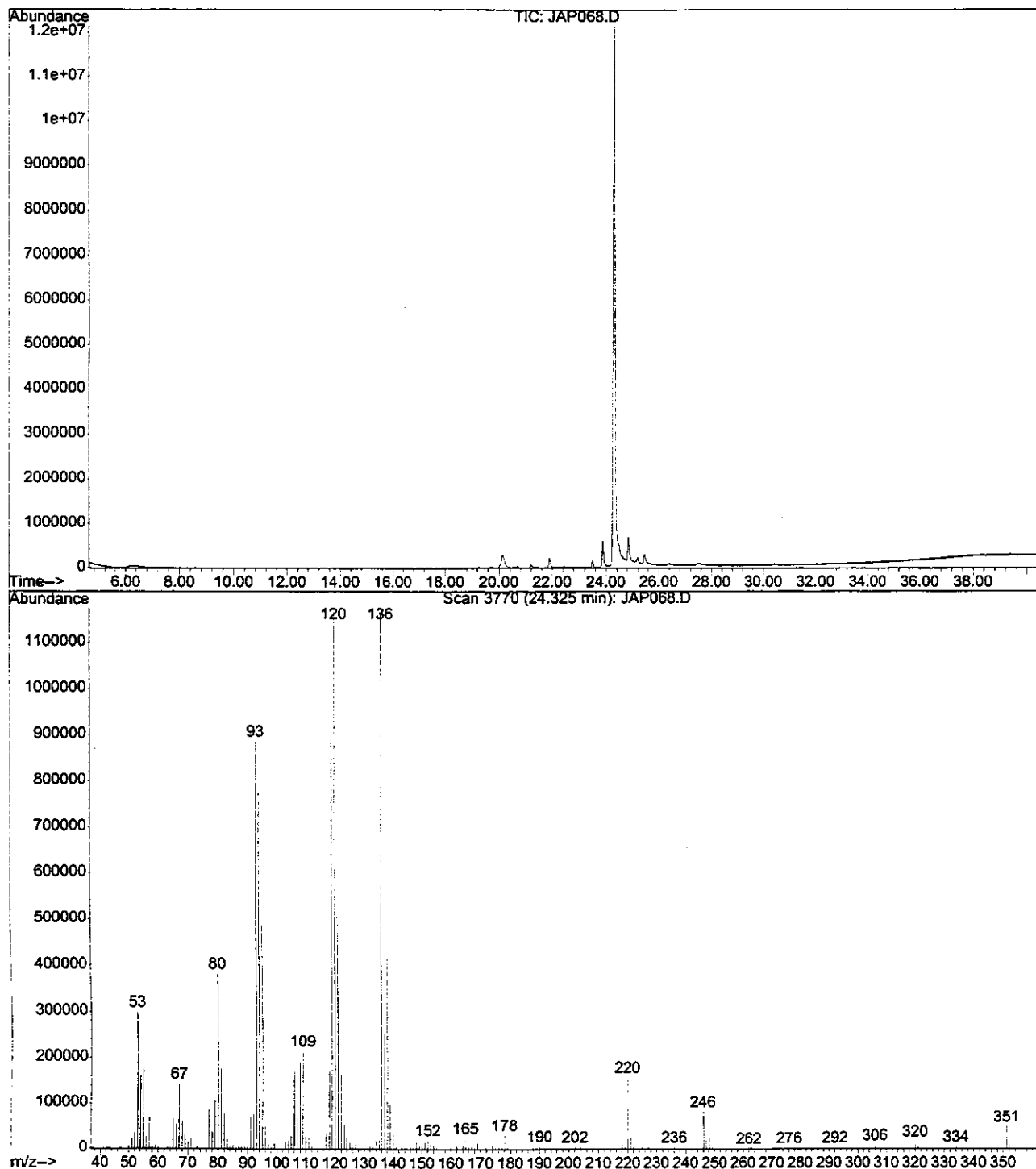
FT size 65536

total time 24 min, 16 sec



File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP068.D
Operator : Trigo
Acquired : 4 Sep 2000 20:00 using AcqMethod ALK1
Instrument : HP5973A
Sample Name:
Misc Info :
Vial Number: 5

110



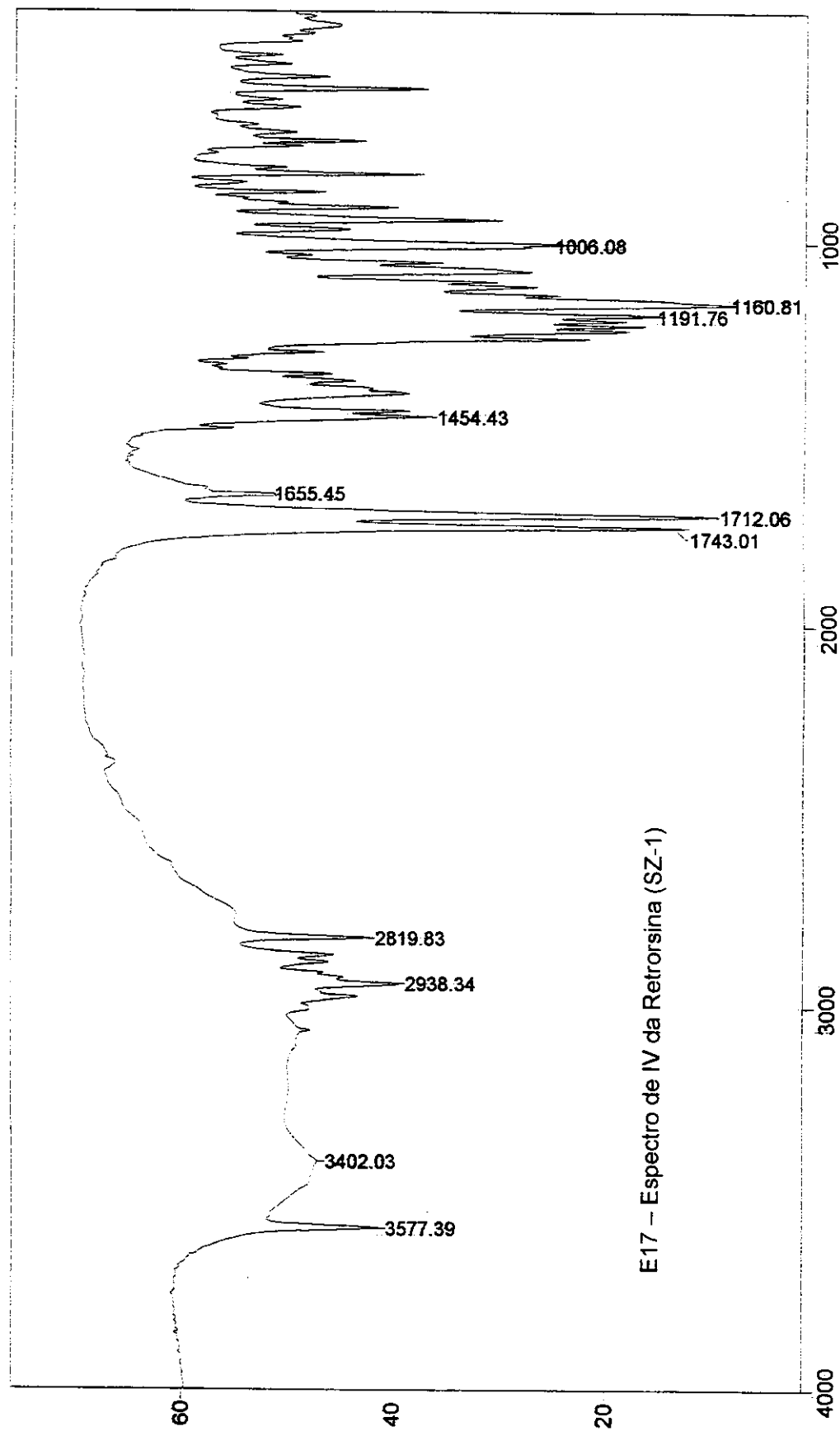
E16 – Análise CG/EM da Retrorsina (SZ-1)

Sample Description: sen cio ole sus

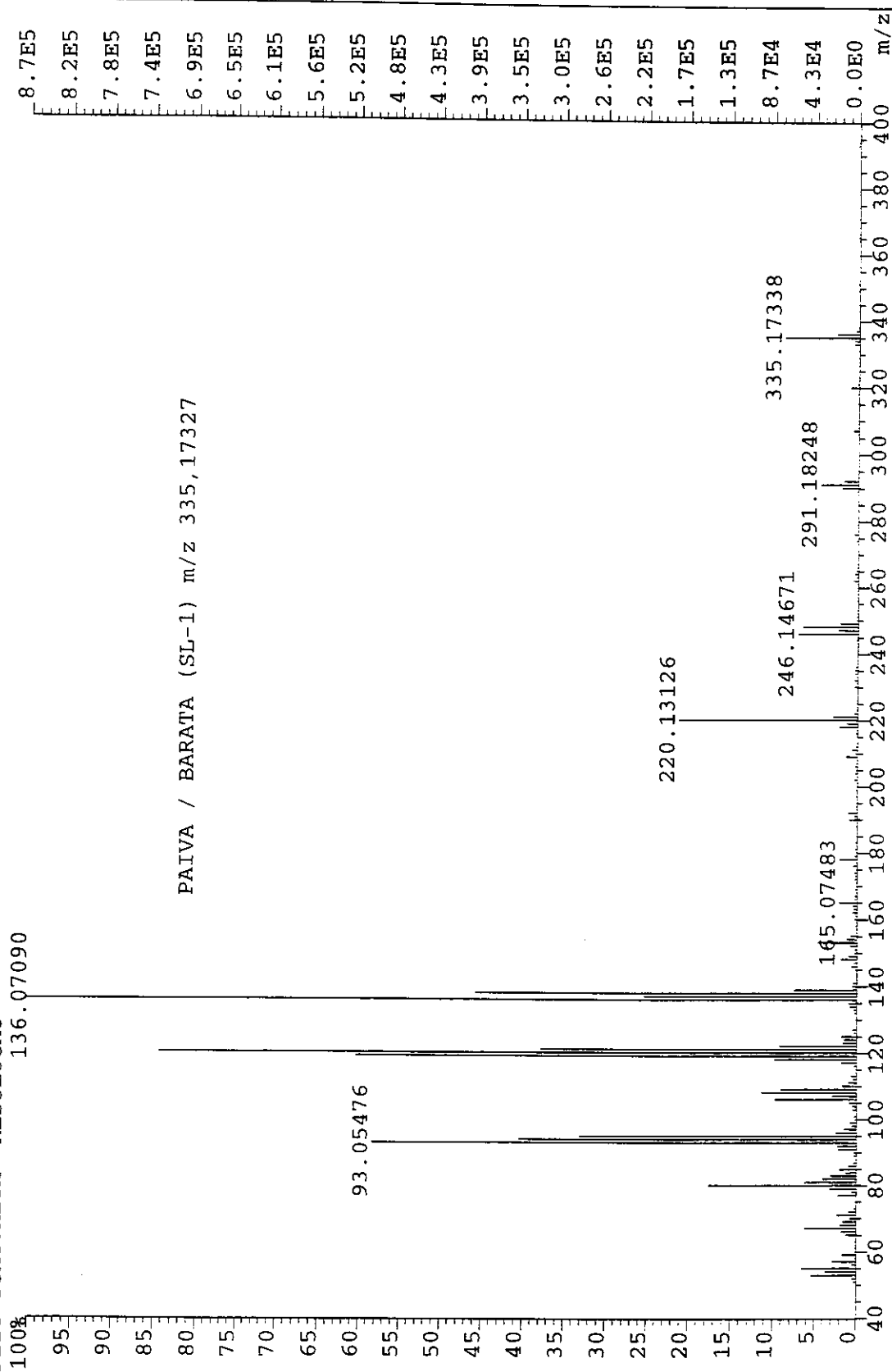
Scans = 6

Res = 4 cm⁻¹ 20 scans/min

Apod = Cosine



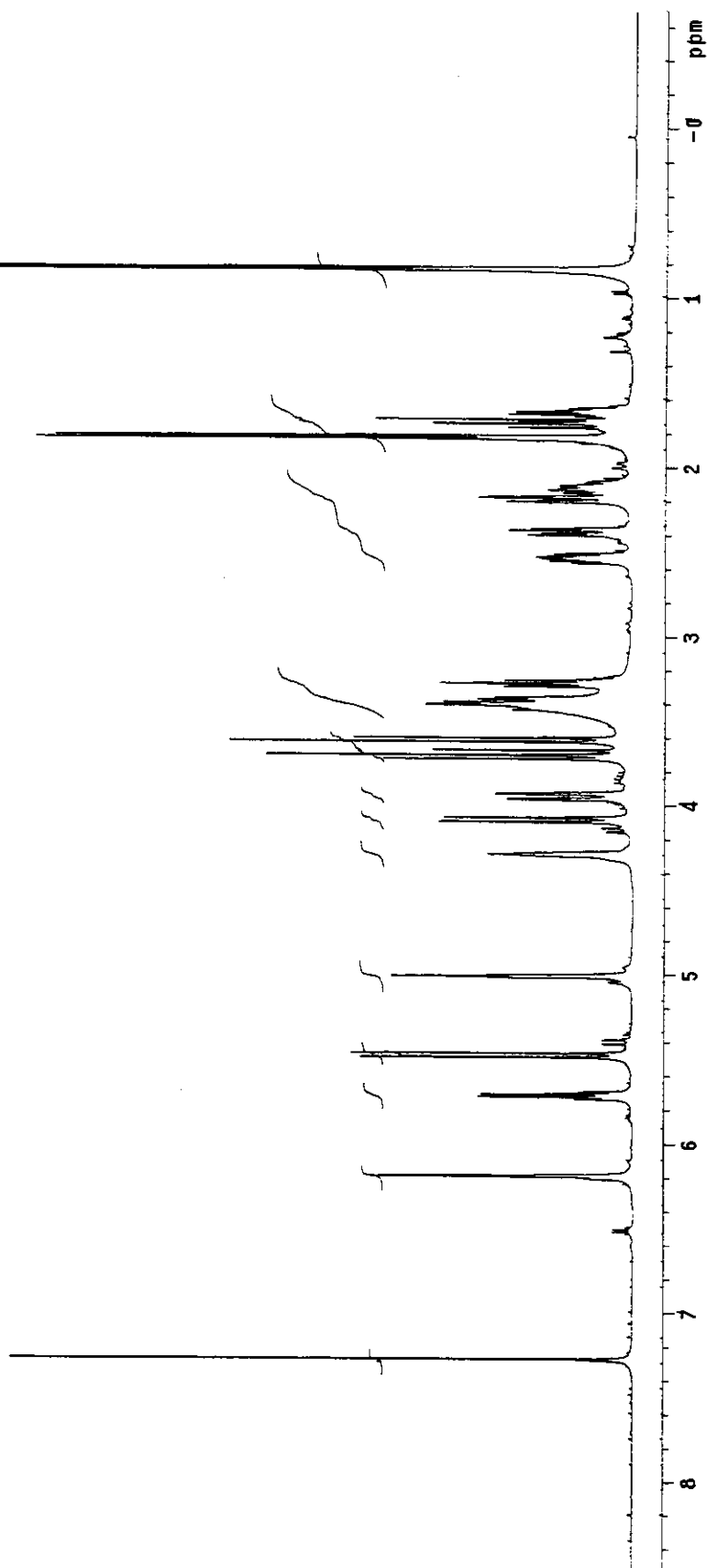
File:FEV0801 Ident:130_134 Win 100PPM Acq: 8-FEB-2001 13:11:33 +20:06 Cal:FEV0801
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:136 BpI:865792 TIC:7853529 Flags:HALL
File Text:ALTA RESOLUCAO



E18 - Espectrometria de massas de alta resolução da

Senecionina (SL-1)

Pelva SZ-1 cdc13 set26japh
 Puls4 Séquende: s2pu1
 Solvent: CDCl3
 Ambient temperature
 File: set26japh
 INOVA-300 "nmrsun"
 pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.27 sec
 Width 487.5 Hz
 16 repetitions
 OBSERVED 39.882708 MHz
 DATA PROCESSING
 100%
 F1 size 32768
 Total time 0 min, 52 sec



Paiva SZ-1 set22JapC

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: CDC13

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: set22JapC

INNOVA-500 "nmr sun"

PULSE SEQUENCE

Relax, delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

656 repetitions

OBSERVE C13, 125.6956258 MHz

DECOUPLE H1, 499.8852557 MHz

Power 37 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

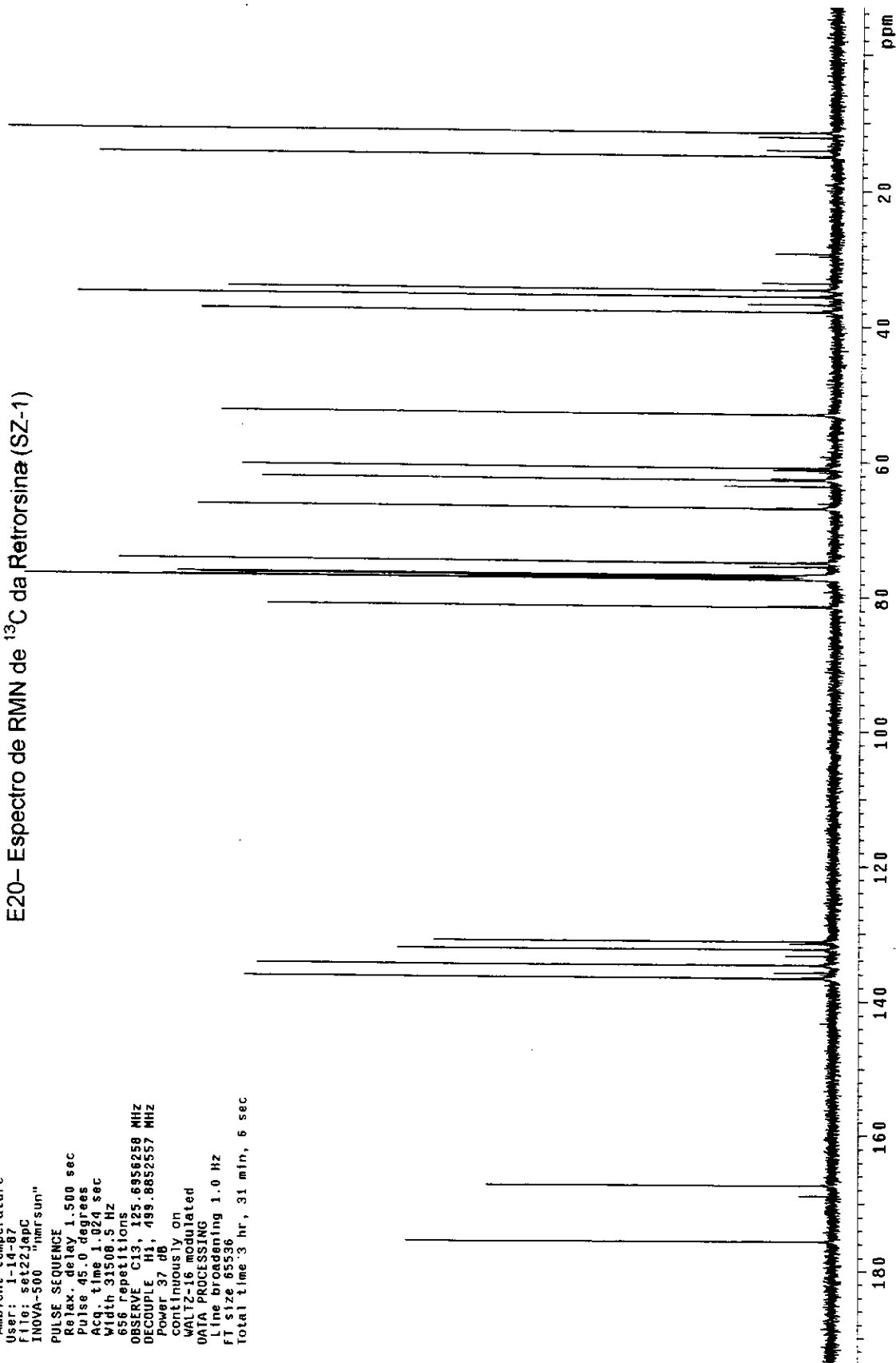
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

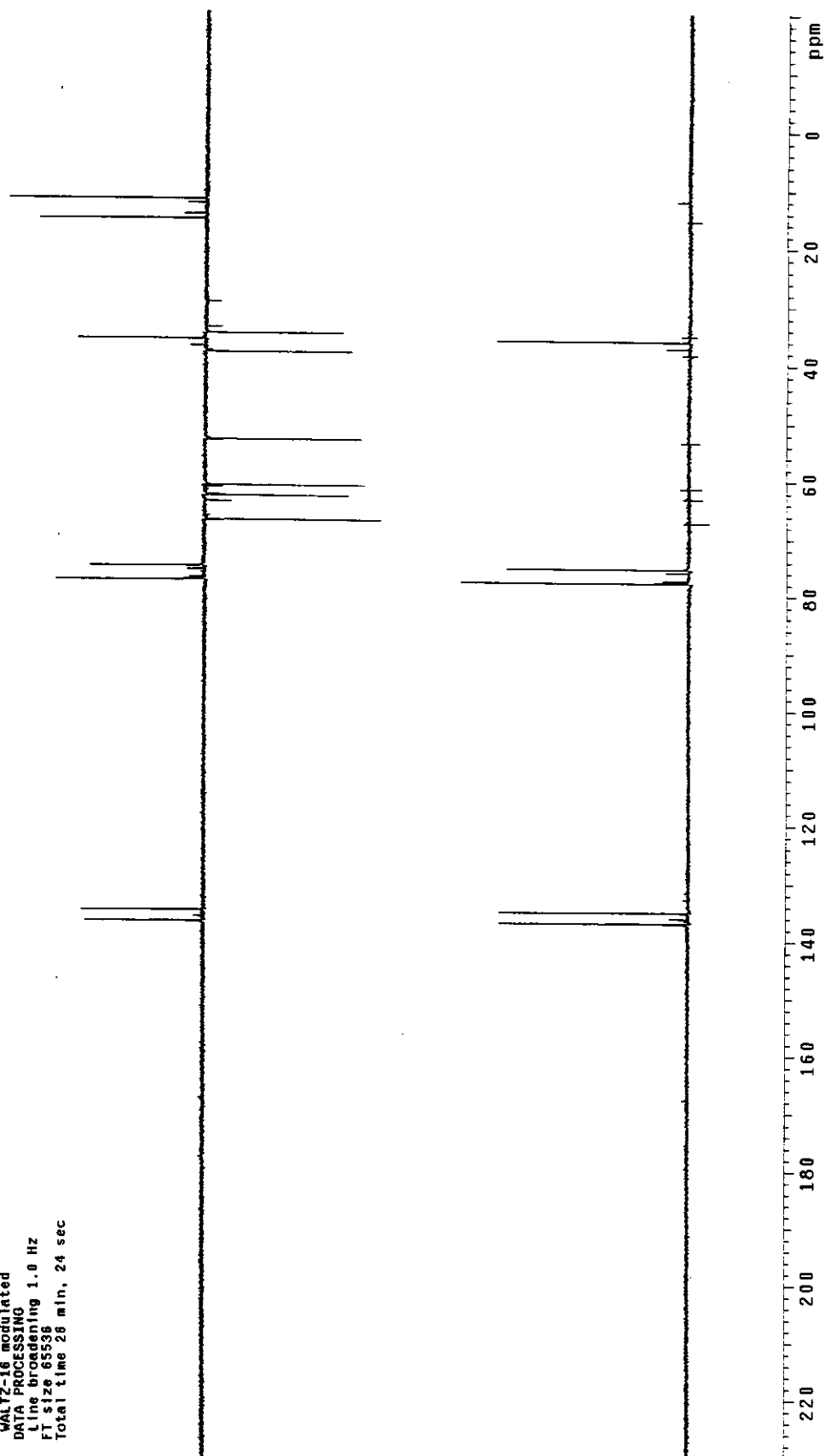
Total time 3 hr, 31 min, 6 sec

E20- Espectro de RMN de ^{13}C da Retrorsina (SZ-1)



E21 - Espectro DEPT da Retrorsina (SZ-1)

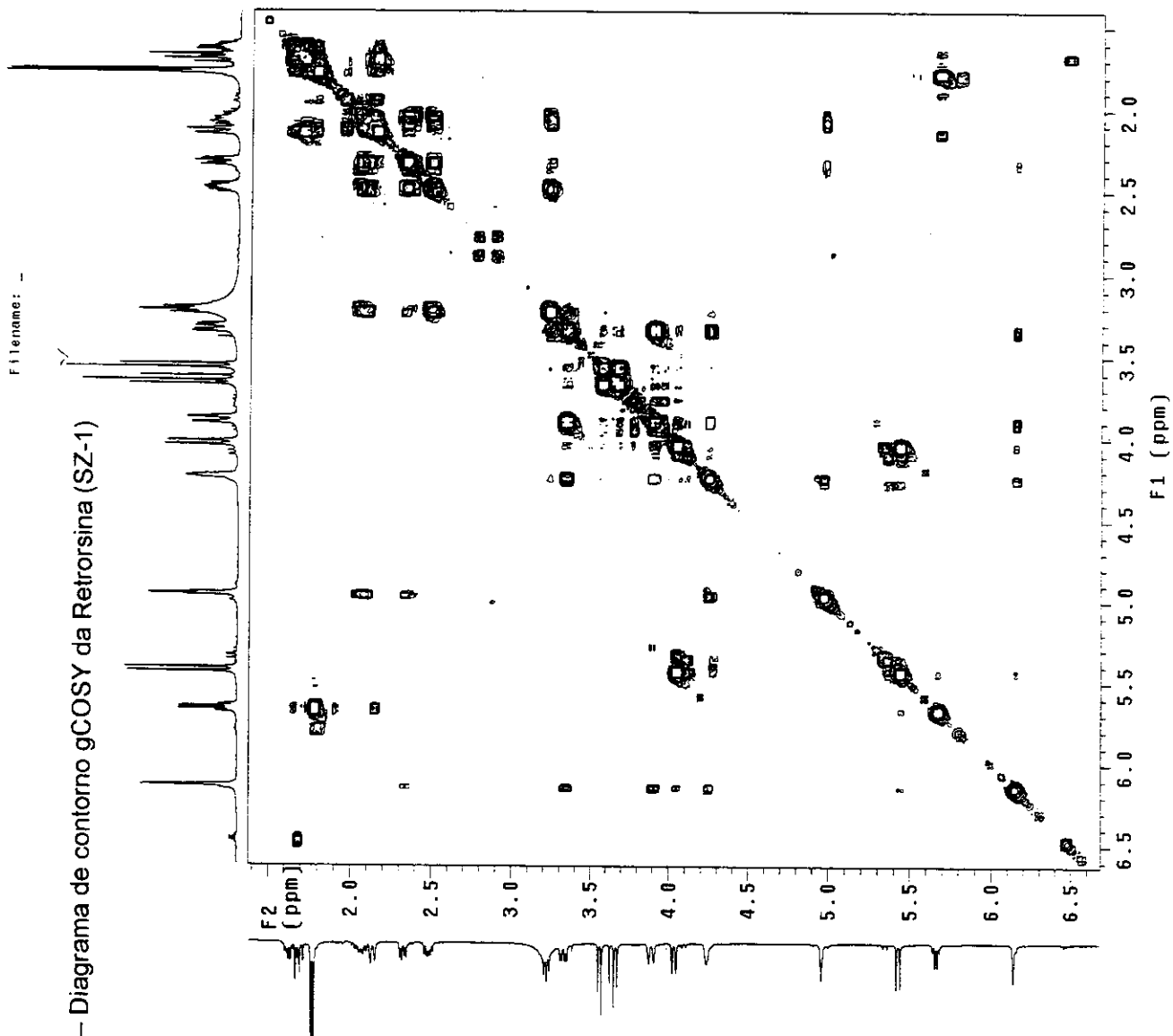
Paiva SZ-1 set22japD
Pulse Sequence: dept
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
File: set22japD
INOVA-500 "nmrsun"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 2.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.024 sec
Width 31508.5 Hz
256 repetitions
OBSERVE C13, 125.6955091 MHz
DECOUPLE H1, 499.8852557 MHz
Power 37 dB,
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 28 min, 24 sec



Filename: -

E22 - Diagrama de contorno gCOSY da Retorsina (SZ-1)

Pulva SZ-1 set22JapCOSY
 Pulse Sequence: gCOSY
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 INOVA-500 "Inova500"
 PULSE SEQUENCE: gCOSY
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.232 sec
 Width 4413.5 Hz
 2D Width 4413.5 Hz
 8 repetitions
 128 increments
 OBSERVE H1, 499.8827802 MHz
 DATA PROCESSING
 Sg. sine bell 0.116 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.029 sec
 FI size 2048 x 2048
 Total time 21 min, 49 sec



Pulse Sequence: HSQC

Solvent: CDC13

Ambient temperature

User: i-14-87

INNOVA-500 "Inova500"

PULSE SEQUENCE: HSQC

Relax: delay 1.800 sec

Acq. time 0.222 sec

Width 4897.3 Hz

2D Width 24760.1 Hz

24 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.8827608 MHz

DECOUPLE C13, 125.7074203 MHz

Power 42 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.103 sec

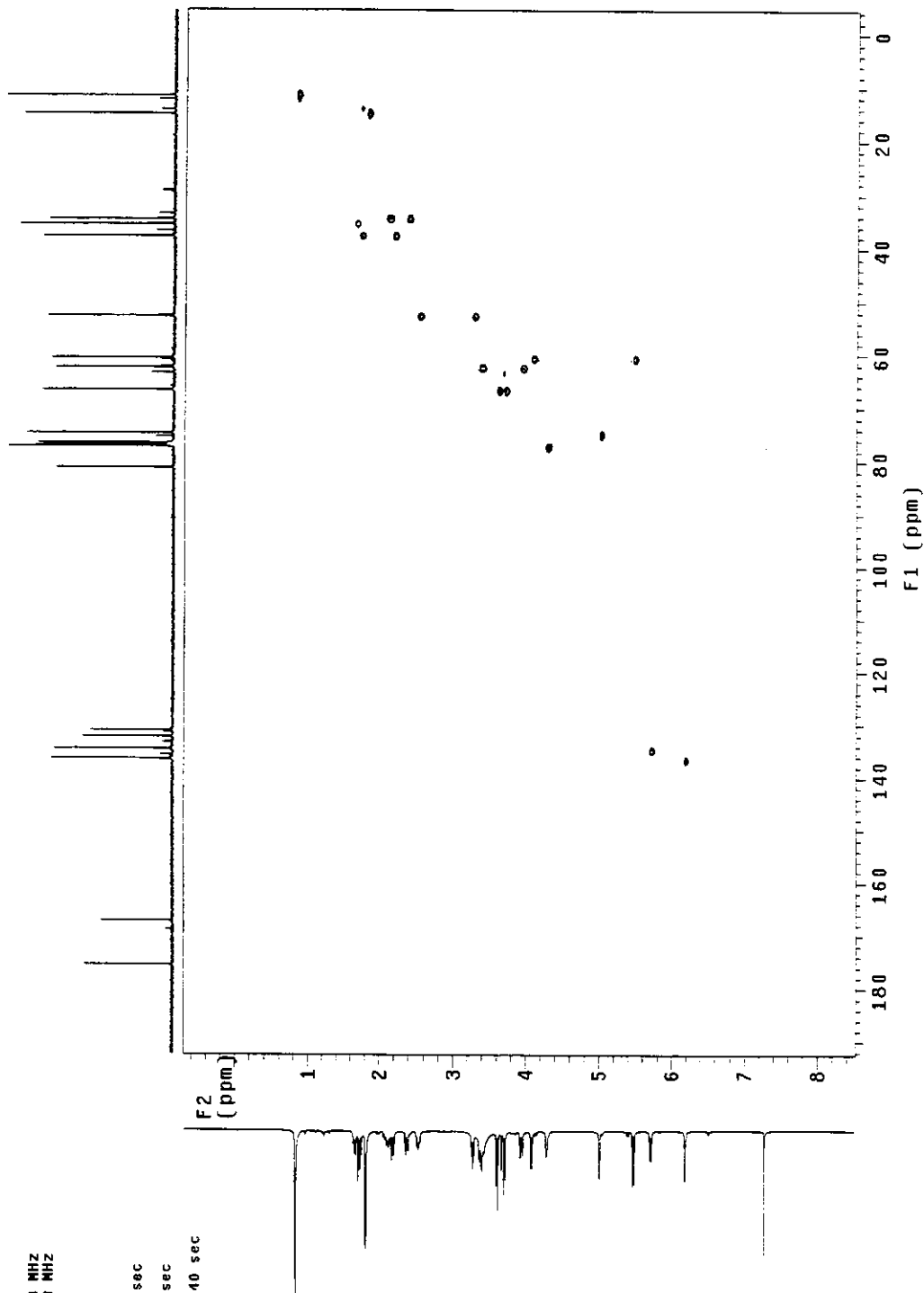
F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.005 sec

FT size 2048 x 1024

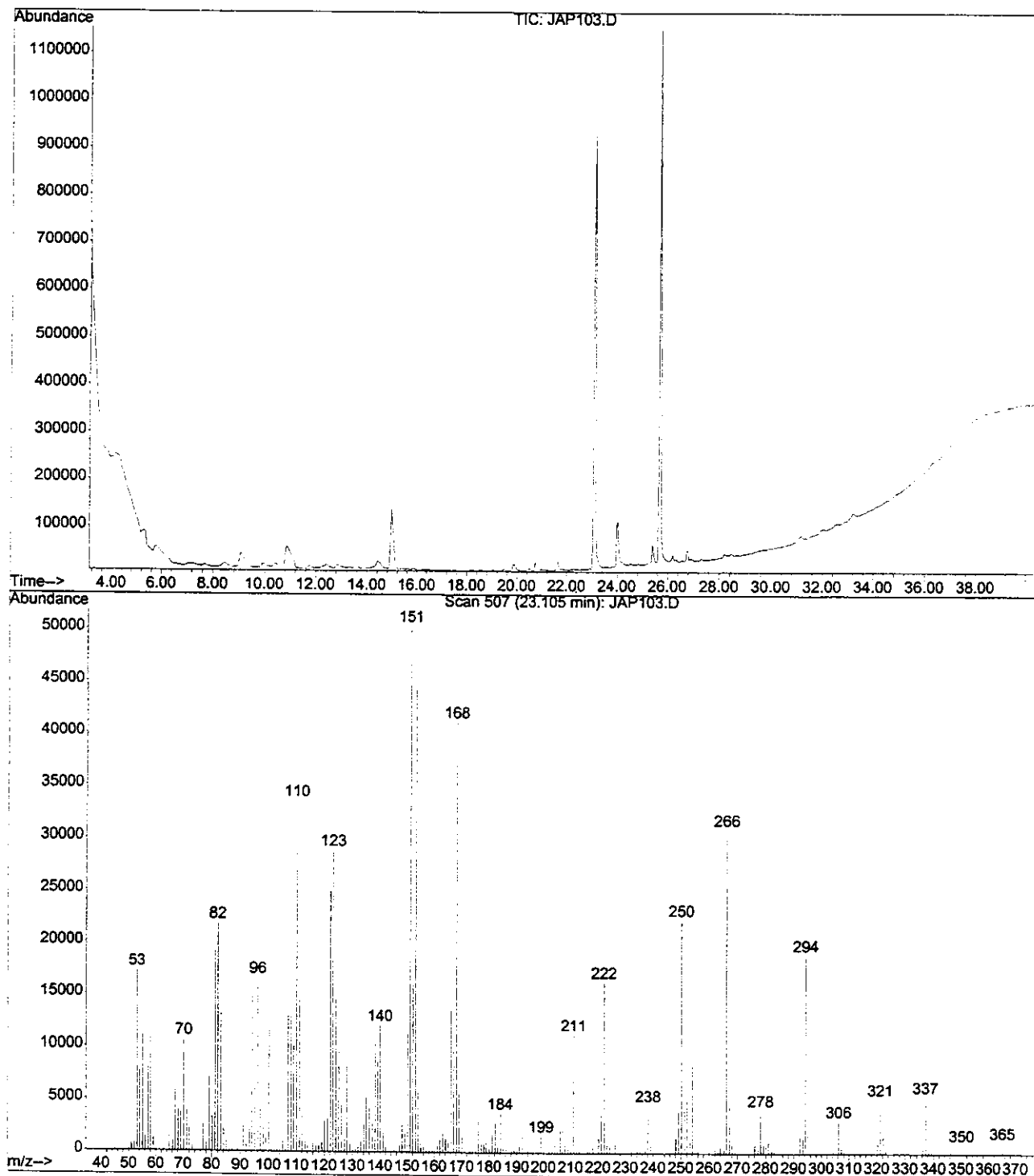
Total time 3 hr, 32 min, 40 sec

E23 – Diagrama de contorno HSQC da Retrorsina (SZ-1)



File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP103.D
Operator : jrt
Acquired : 18 Dec 2000 15:12 using AcqMethod ALK1
Instrument : HP5973A
Sample Name: coluna sz 4% lcomposto
Misc Info :
Vial Number: 1

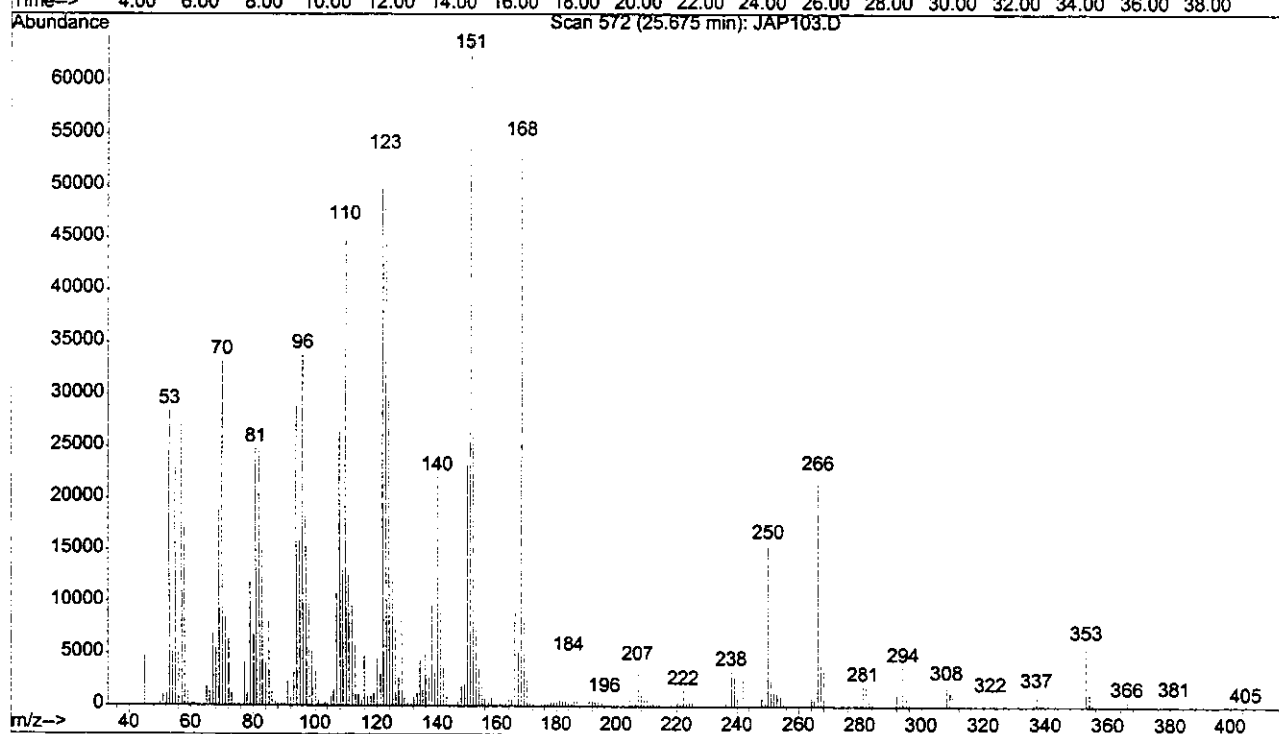
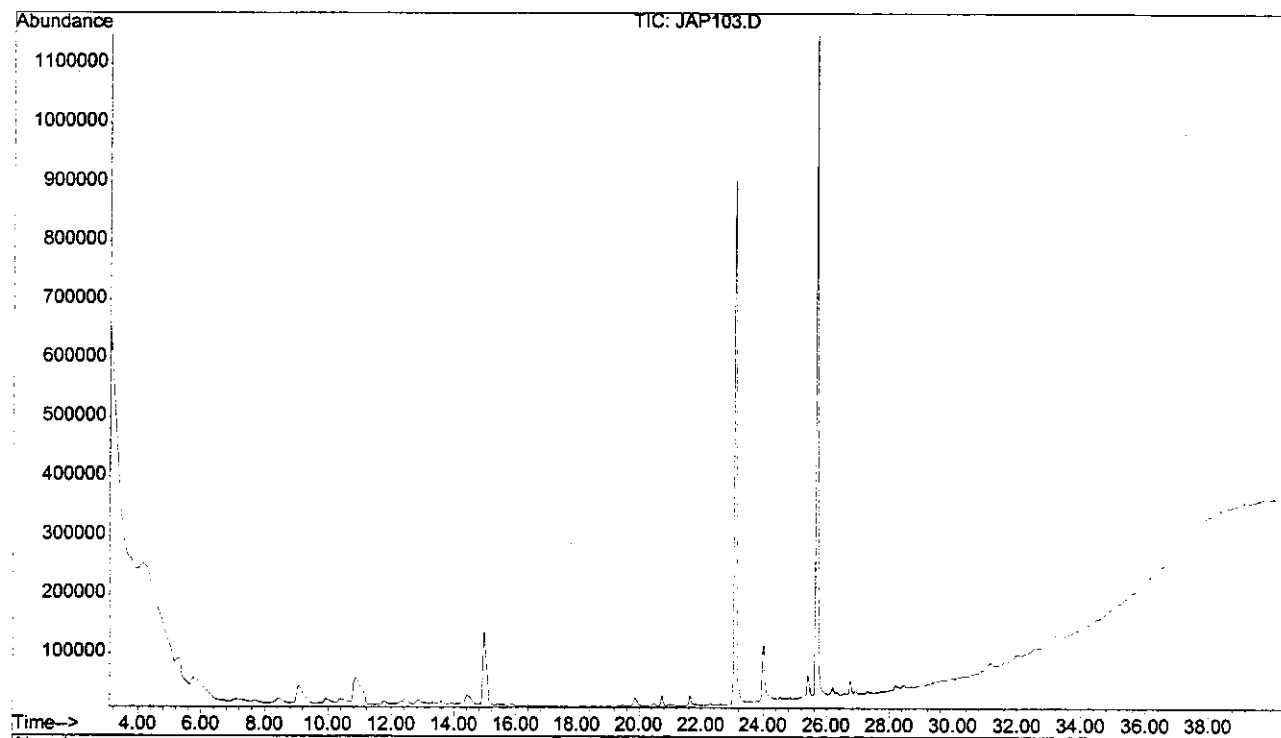
118



E24 - Análise CG/EM da Otosenina (SZ- α)

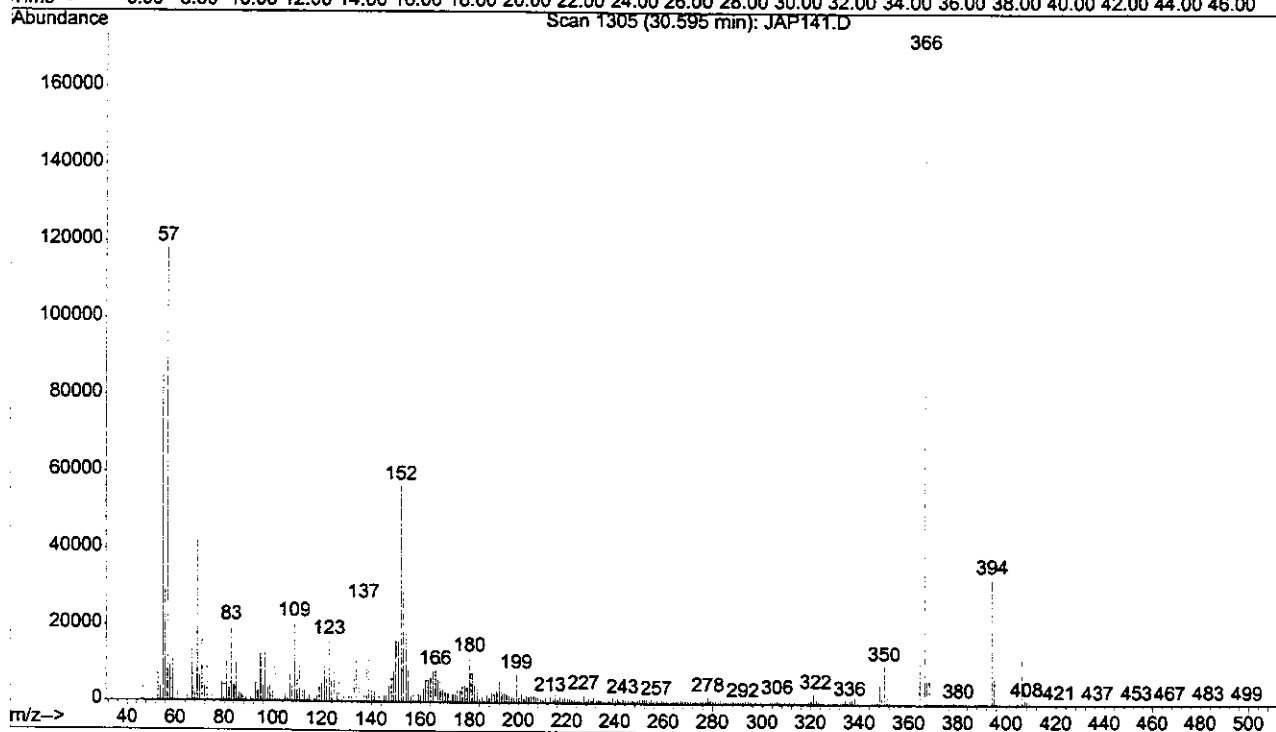
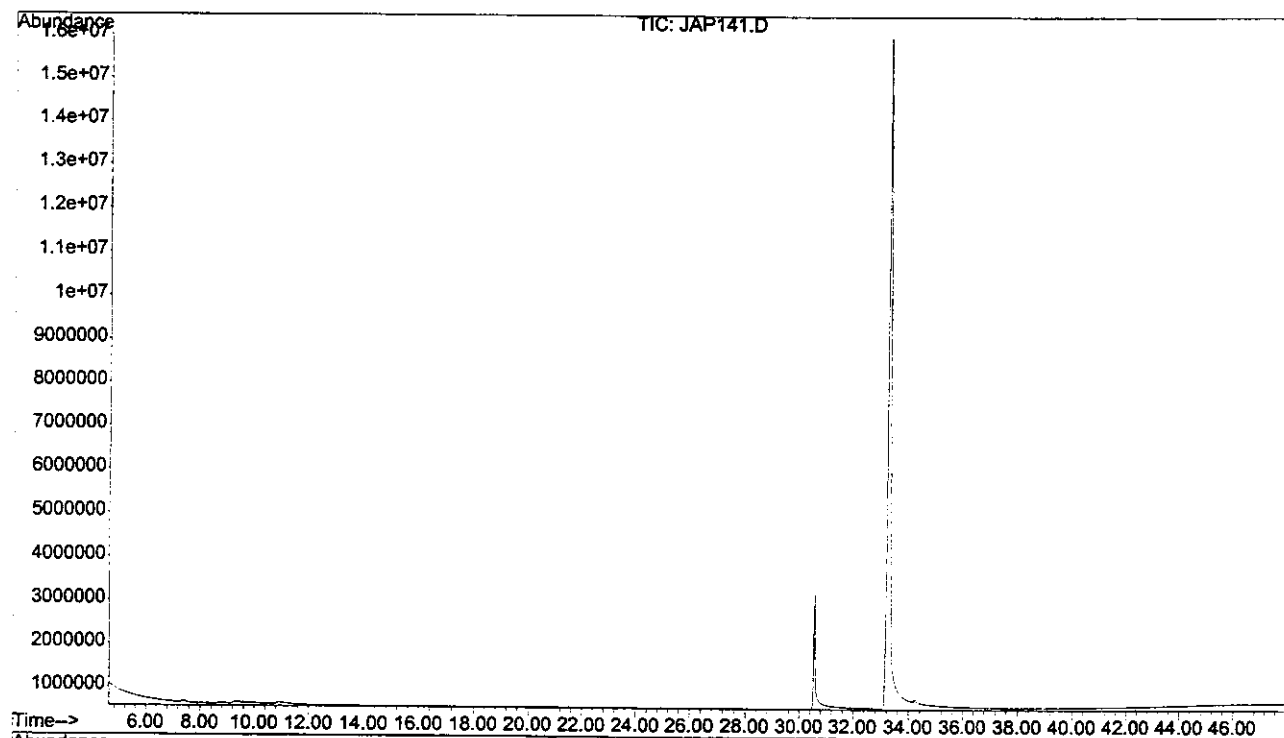
File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP103.D
Operator : jrt
Acquired : 18 Dec 2000 15:12 using AcqMethod ALK1
Instrument : HP5973A
Sample Name: coluna sz 4% lcomposto
Disc Info :
Sample Number: 1

119



E25 - Análise CG/EM da Senquirquina (SZ-β)

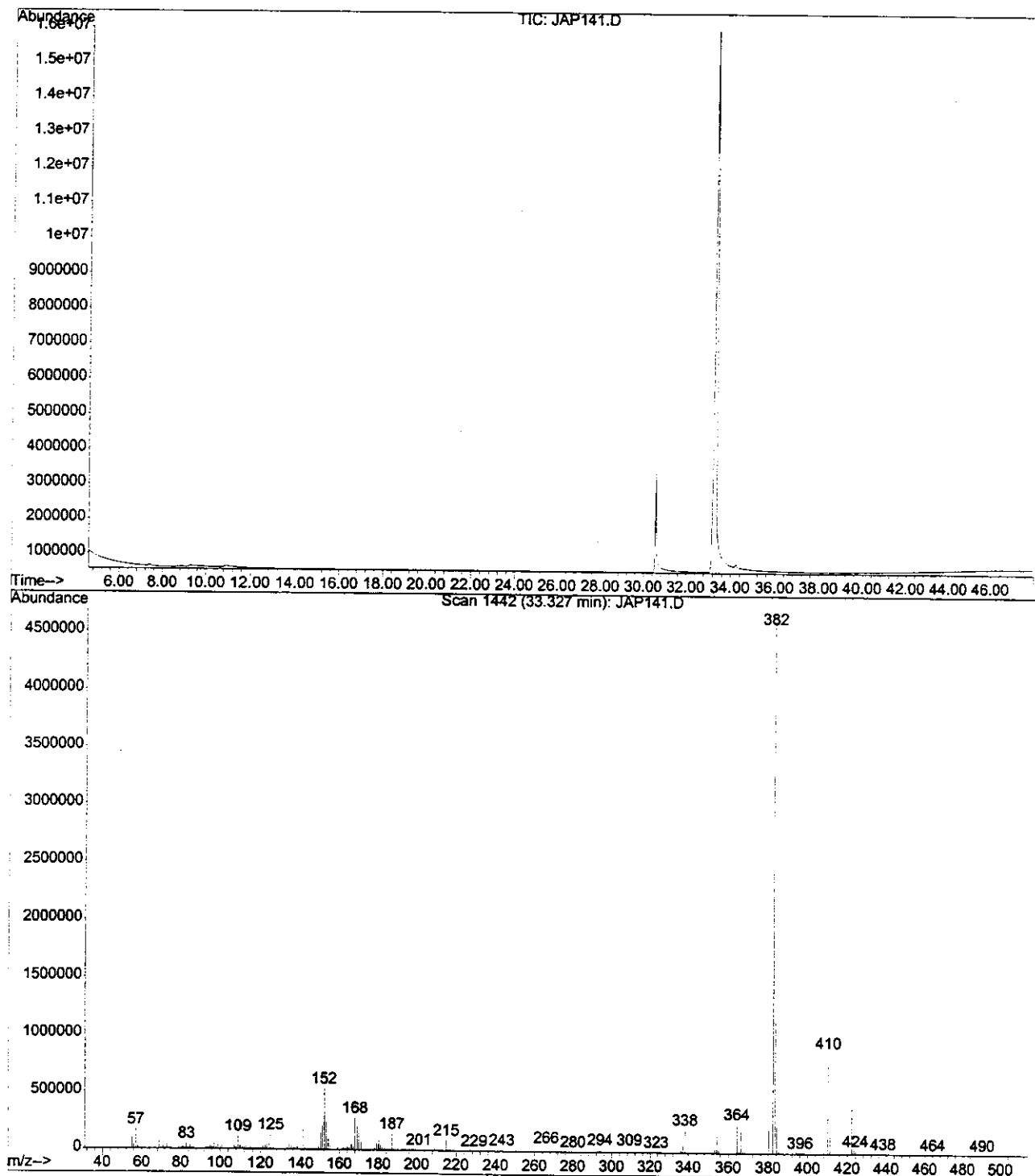
File : C:\GC-FILES\PAIVA\JAP141.D
Operator : jrt
Acquired : 25 Apr 2001 15:07 using AcqMethod ALK1_CI 120
Instrument : HP5973A
Sample Name: Bases otonecinas de SZ
Disc Info :
Vial Number: 3



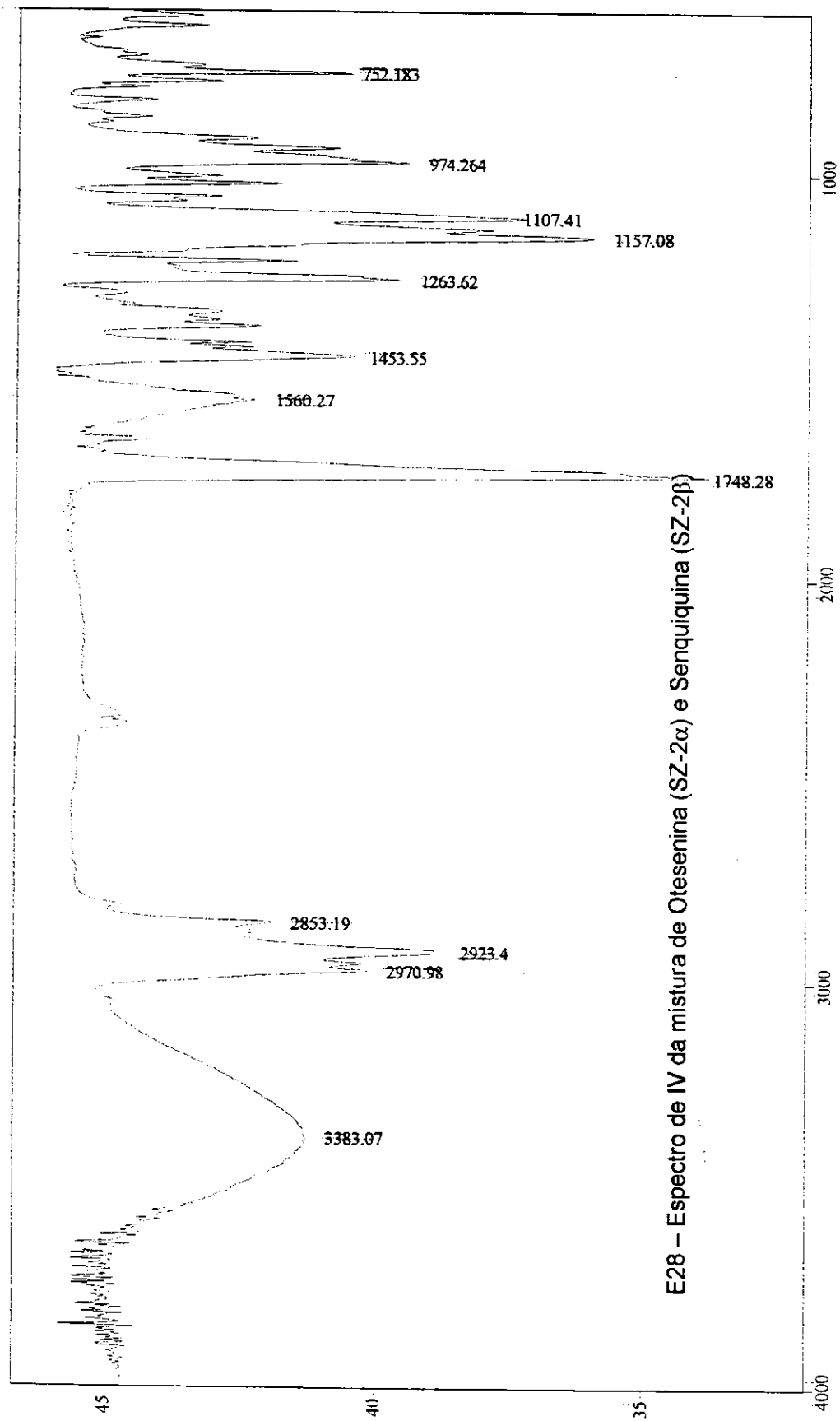
E26 - Análise CG/EM /IQ da Otosenina (SZ- α)

File : C:\GC-FILES\PAIVA\JAP141.D
Operator : jrt
Acquired : 25 Apr 2001 15:07 using AcqMethod ALK1_CI
Instrument : HP5973A
Sample Name: Bases otonecinas de SZ
Misc Info :
Vial Number: 3

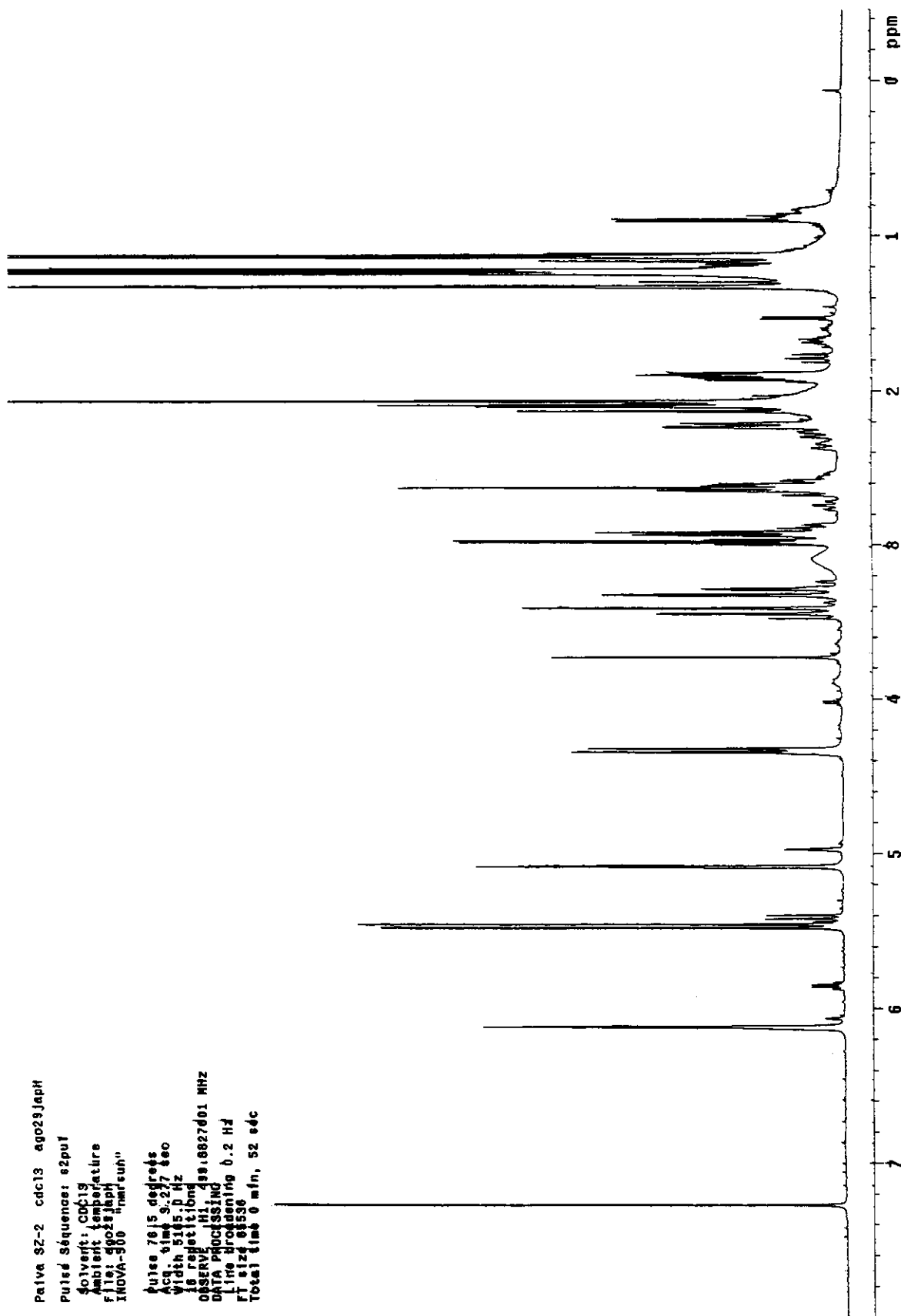
121



E27 - Análise CG/EM /IQ da Senquirquina (SZ-β)



Paiva SZ-2 cdcl3 ago29japh
 Pulsed Sequences: e2pul
 Solvent: CDCl3
 Ambient temperature
 File: gpo29japh
 INOVA-500 "nmreuh"
 Pulse 7615 degrees
 Acq. time 3.27 sec
 Width 516.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE: H1, 499.8827001 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.2 Hz
 FT size 65536
 Total time 0 min, 52 sec

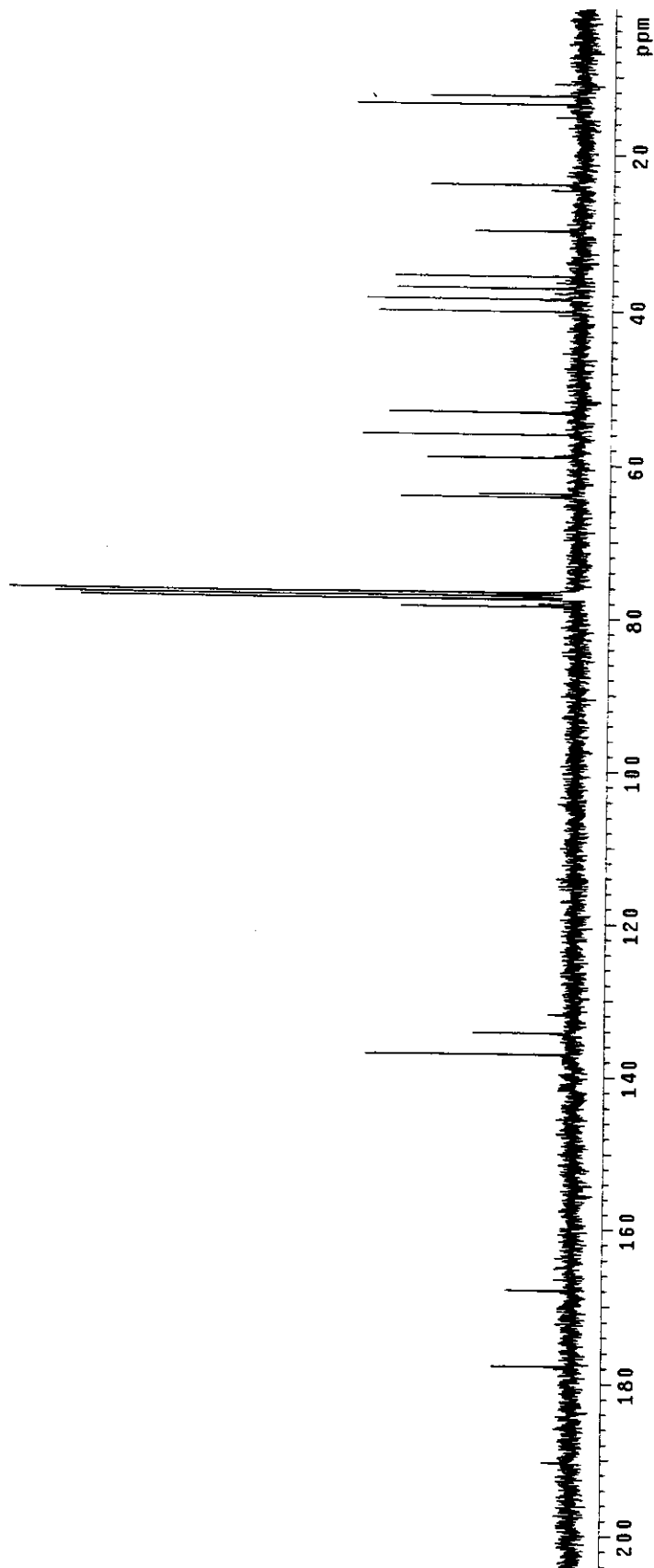


E29 – Espectro de RMN de ^1H da mistura de Otesenina (SZ-2 α) e Senquiquina (SZ-2 β)

Palva SZ-2 fev12.japC
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
File: fev12.japC
INOVA-500 "nmr500"

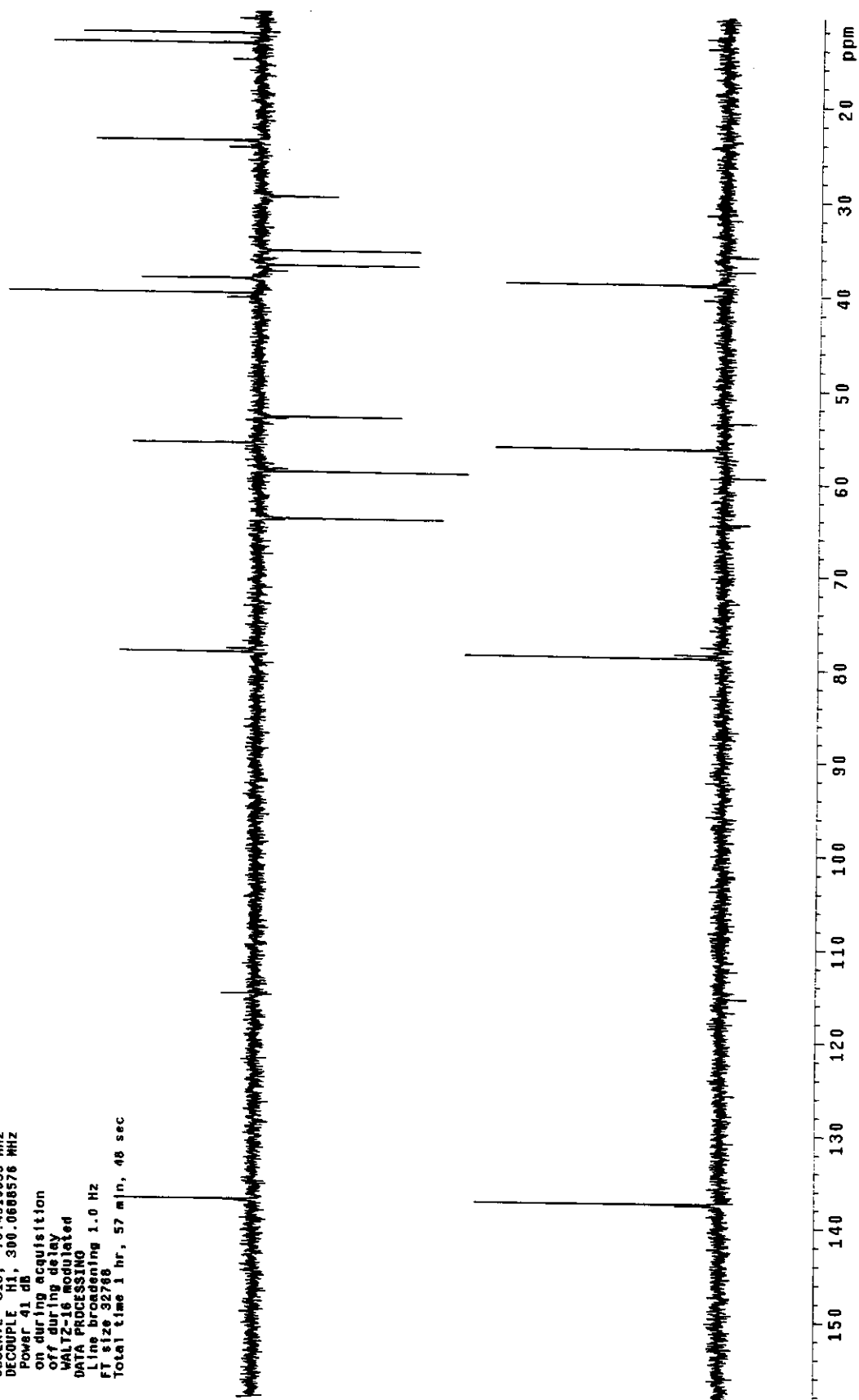
E30- Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de Otesenina (SZ-2 α) e Senquiquina (SZ-2 β)

Relax. delay 2.000 sec
Pulse 45.4 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 20000.0 Hz
704 repetitions
OBSERVE C13, 75.451968 MHz
DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz
Power 41 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 3 hr, 54 min, 4 sec



E31 – Espectro DEPT da mistura de Otesenina (SZ-2 α) e Senquiquina (SZ-2 β)

Palva SZ-2 fev23jap0
Pulse Sequence: dept
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
File: fev23jap0
INOVA-500 "nmr.sun"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 2.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.500 sec
Waltz 28000.0 Hz
1280 repetitions
OBSERVE C13, 75.451935 MHz
DECOUPLE H1, 300.060576 MHz
Power 41 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 1 hr, 57 min, 48 sec



Palva SZ-2 cdc13 ago29.jpggCOSY

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: CDC13

Ambient temperature

file: ago29.jpggCOSY

INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.500 sec

Acq. time 0.198 sec

Width 5165.0 Hz

2D Width 5165.0 Hz

8 repetitions

96 increments

OBSERVE H1, 499.8827892 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.099 sec

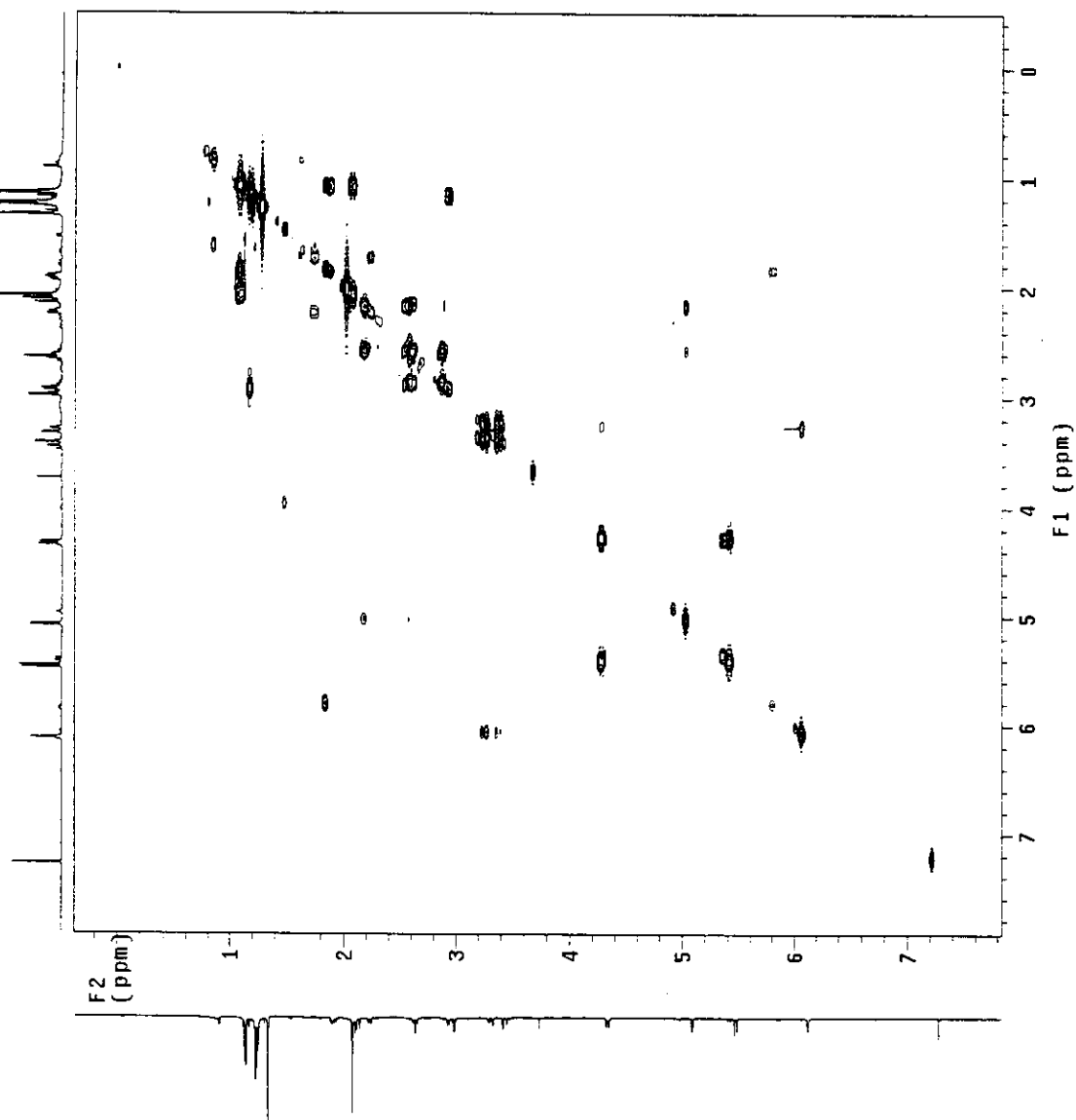
F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.019 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 22 min, 28 sec

E32 – Diagrama de contorno gCOSY da mistura de Otesenina (SZ-2 α) e Senquiquina (SZ-2 β)



Peiva SZ-2 cdc13 ago29japhSQC

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: ago29japhSQC

INOVA-500 "nmr.sun"

Relax. delay 1.500 sec

Acq. time 0.199 sec

Width 5165.0 Hz

2D Width 29112.1 Hz

160 repetitions

2 x 96 increments

OBSERVE H1 499.8827233 MHz

DECOUPLE C13 125.7087464 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

GASP-1 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.092 sec

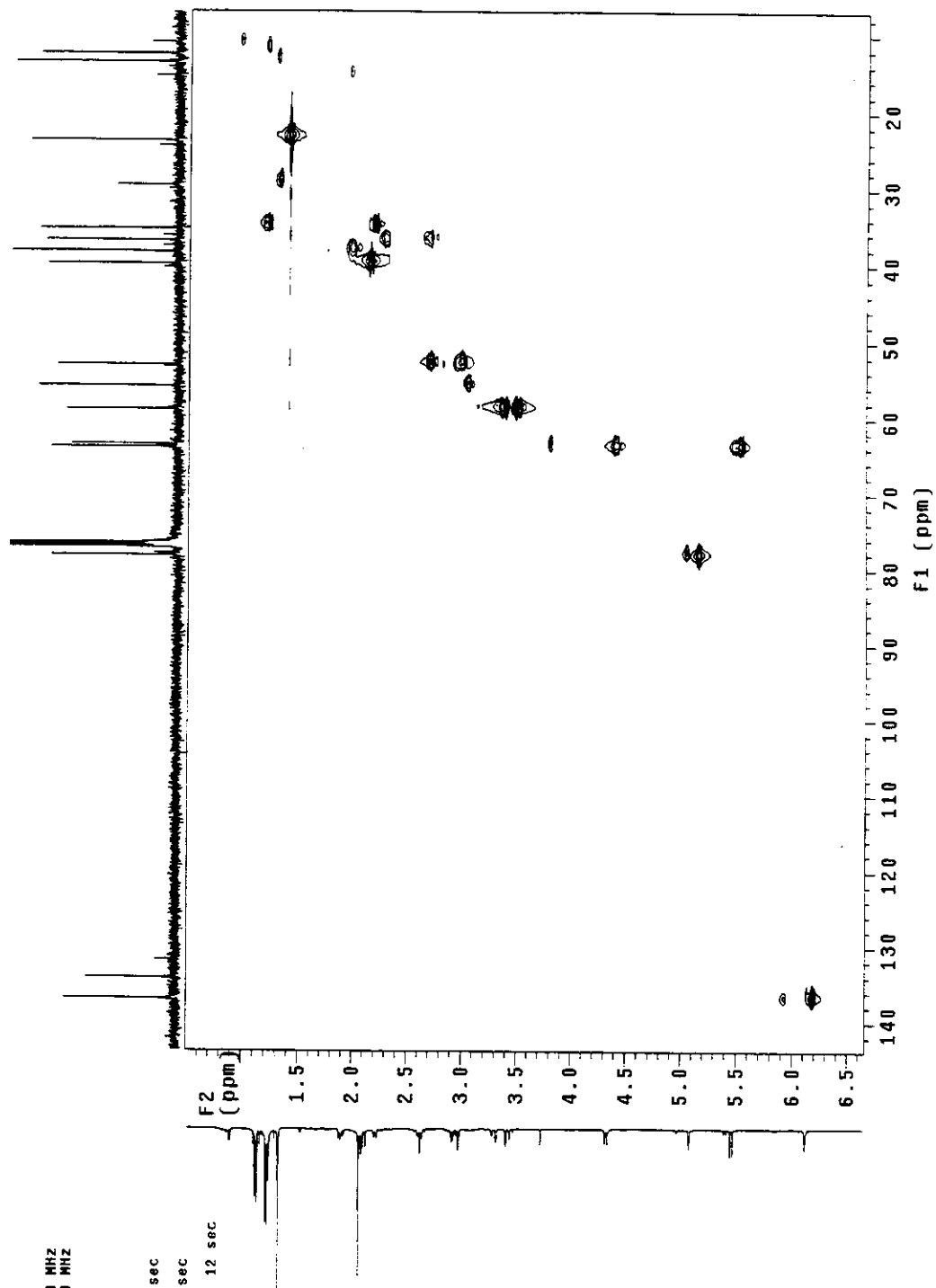
F1 DATA PROCESSING 0.003 sec

Gauss apodization 0.003 sec

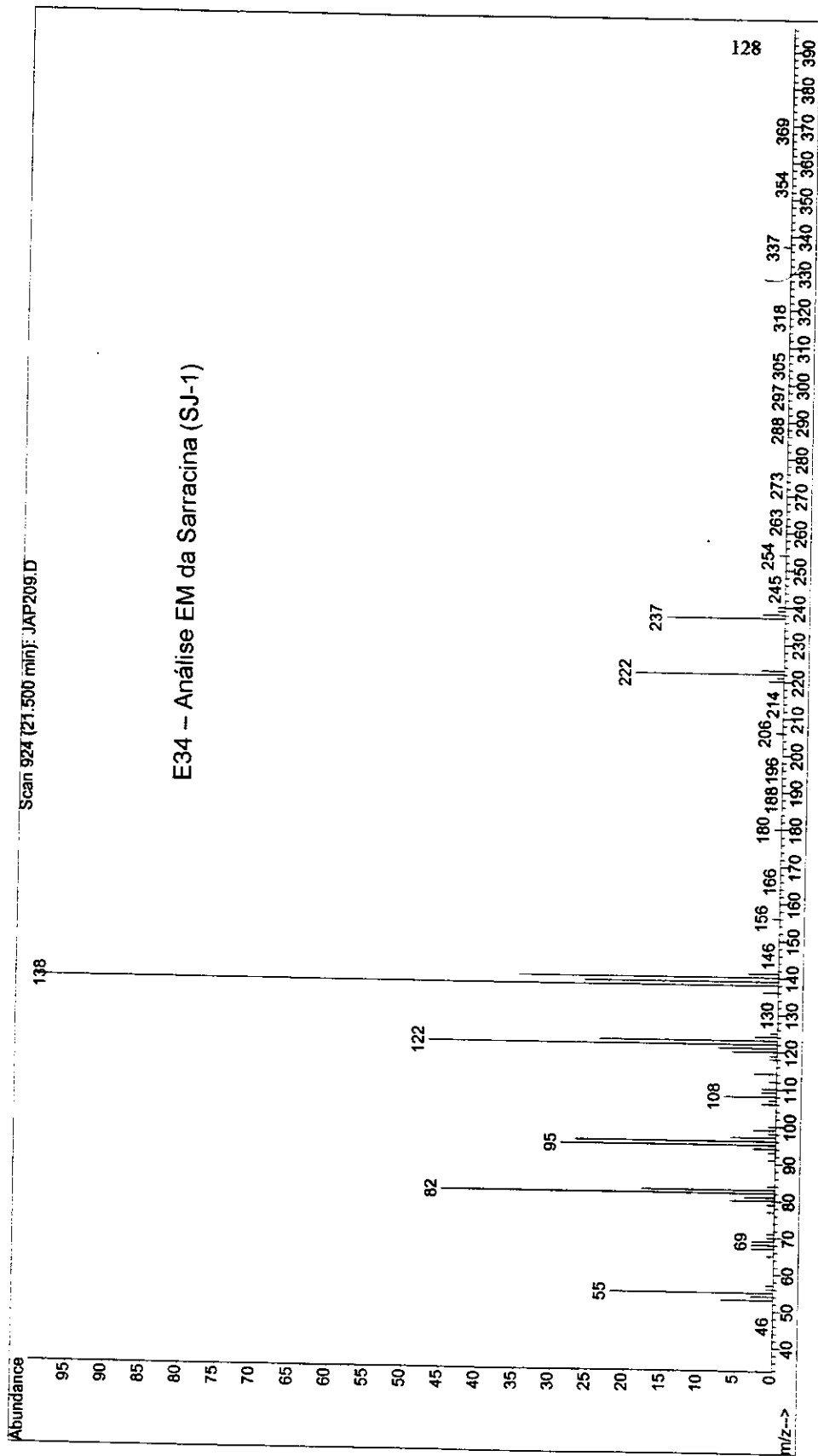
FT size 2048 x 1024

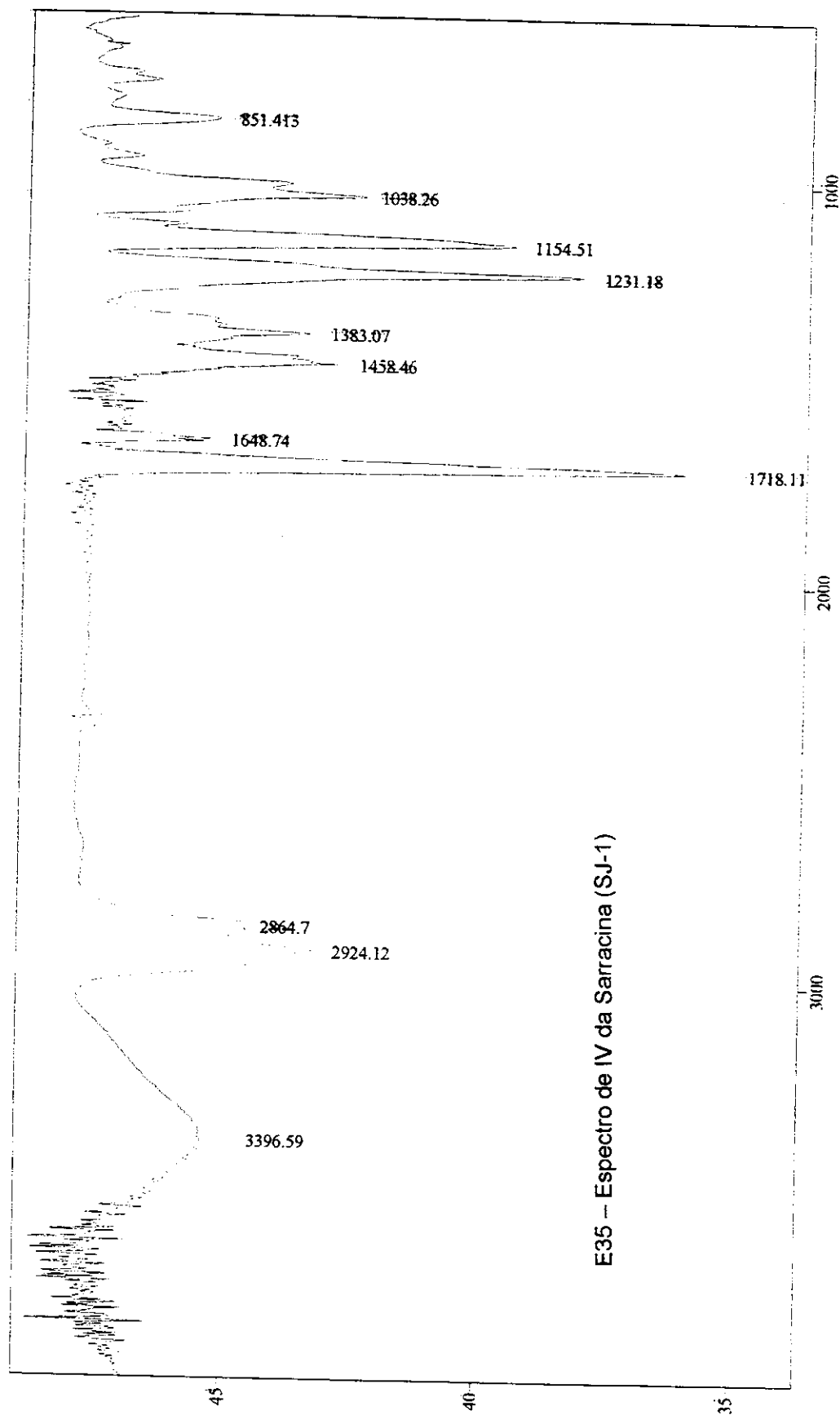
Total time 14 hr, 56 min, 12 sec

E33 - Diagrama de contorno HSQC da mistura de Otesenina (SZ-2 α) e Senquiquina (SZ-2 β)



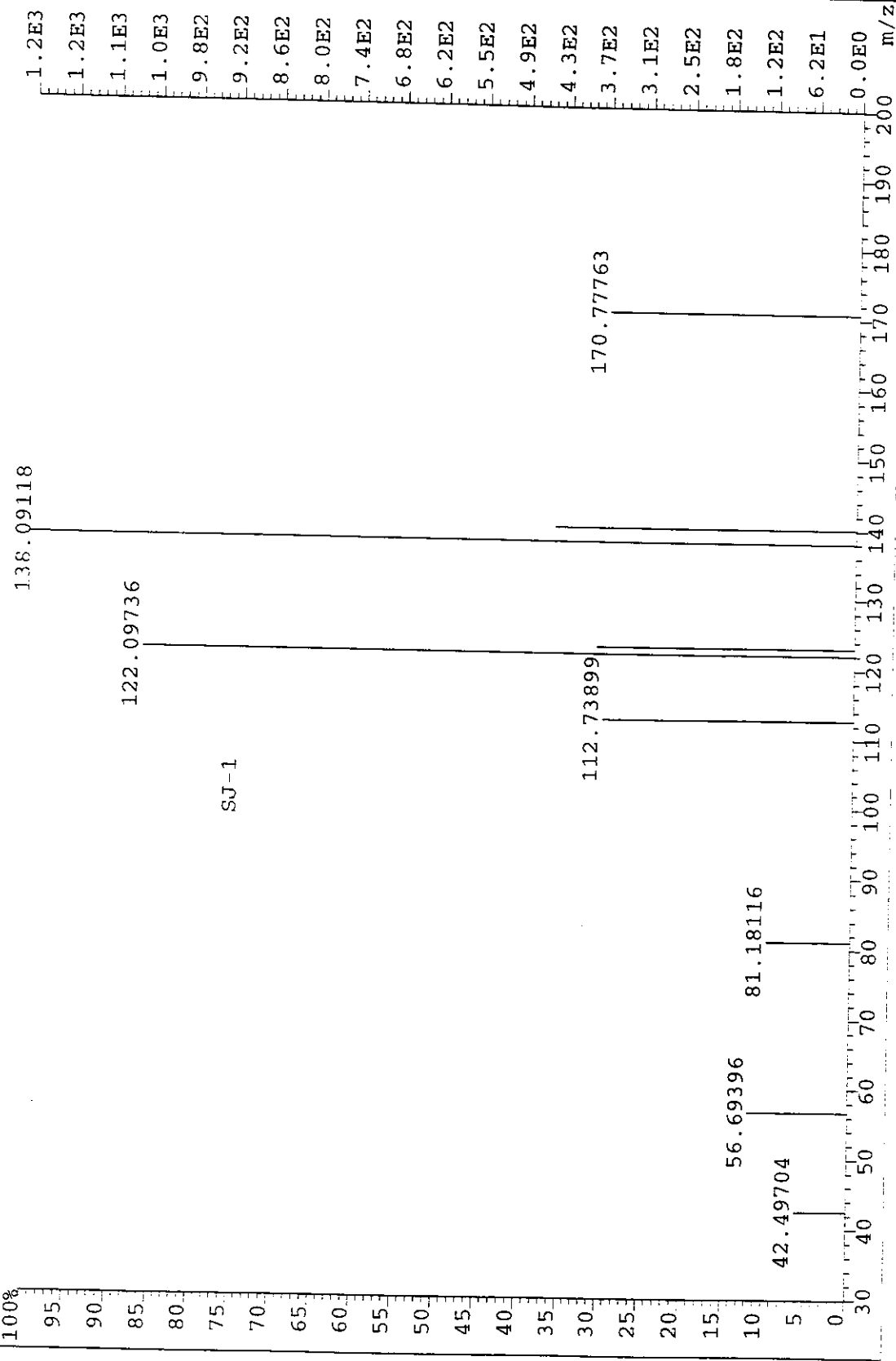
File : C:\HPCHEM\1\DATA\BSB\JAP209.D
Operator : [BSB1]
Acquired : 16 Oct 2001 17:03 using AcqMethod ALK1-2
Instrument : HP5973A
Sample Name: primeiro composto coluna 15 out 01
Misc Info :
Vial Number: 1





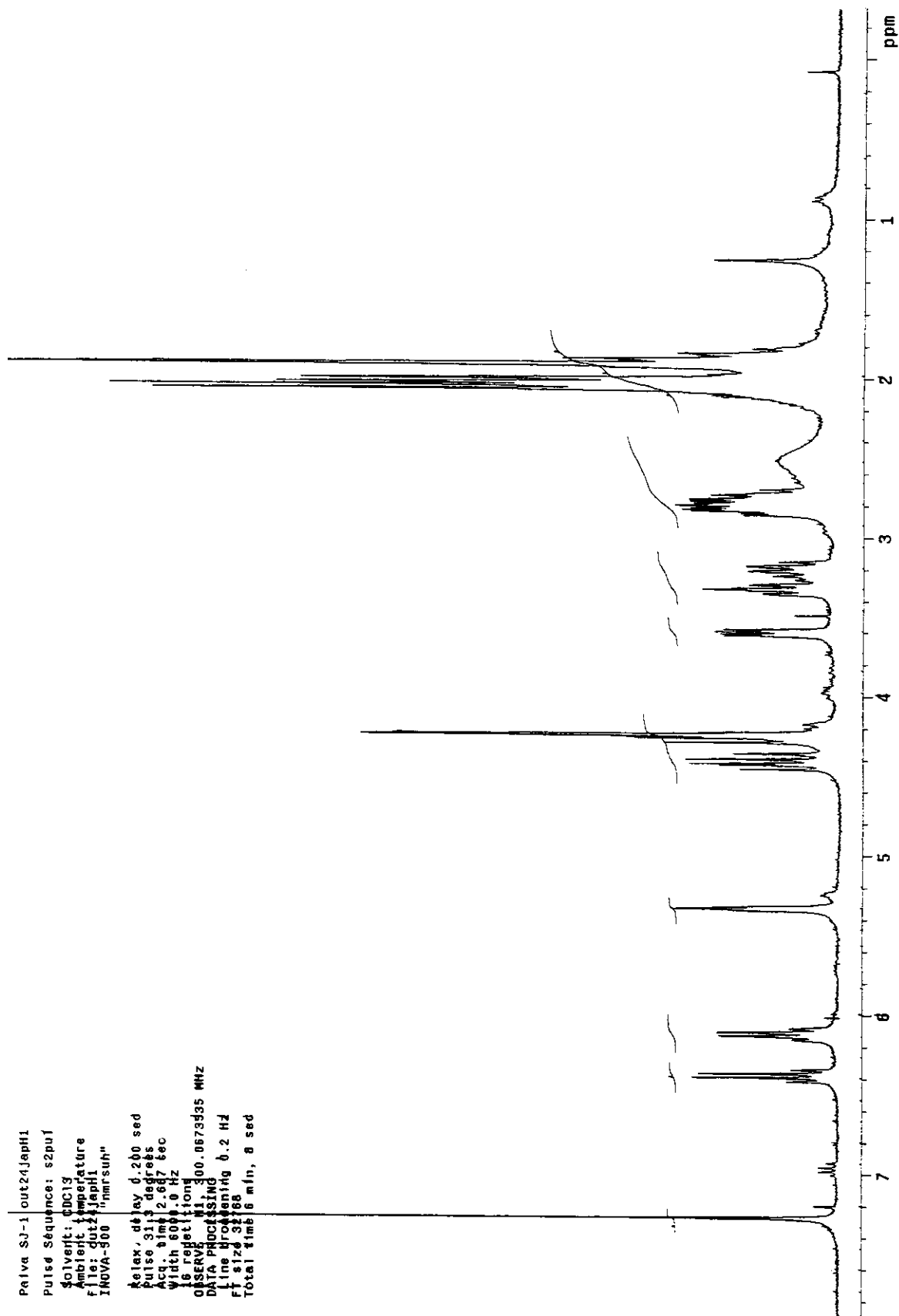
E35 -- Espectro de IV da Sarracina (SJ-1)

File:FEV2702 Ident:23 Acq:27 -FEB-2002 09:25:36 +3:13 Cal:FEVE2702
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:138 BpI:1231 TIC:5000 Flags:NORM
File Text:Aparecido



E36 - Espectrometria de massas de alta resolução da Sarracina (SJ-1)

Palva SJ-1 out24japh1
 Pulsed Sequence: e2pul
 Solvent: CDCl3
 Ambient temperature
 File: out24japh1
 INOVA-500 "nmrsuh"
 Relax delay 0.200 sec
 Pulse 313 degrees
 Acq. time 2.687 sec
 Width 6000.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVED F1 300.0573535 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.2 Hz
 FI size 32768
 Total time 6 min, 8 sec



E37 -- Espectro de RMN de ^1H da Sarracina (SJ-1)

E38-- Espectro de RMN de ^{13}C da Sarracina (SJ-1)

Paiva SJ-1 out31japC

Pulse Sequence: szpul

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

File: out31japC

INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 45.4 degrees

Acq. time 0.800 sec

Width 20000.0 Hz

15000 repetitions

OBSERVE C13, 75.4520017 MHz

DECUPLE H1, 300.0688576 MHz

Power 41 dB

continuously on

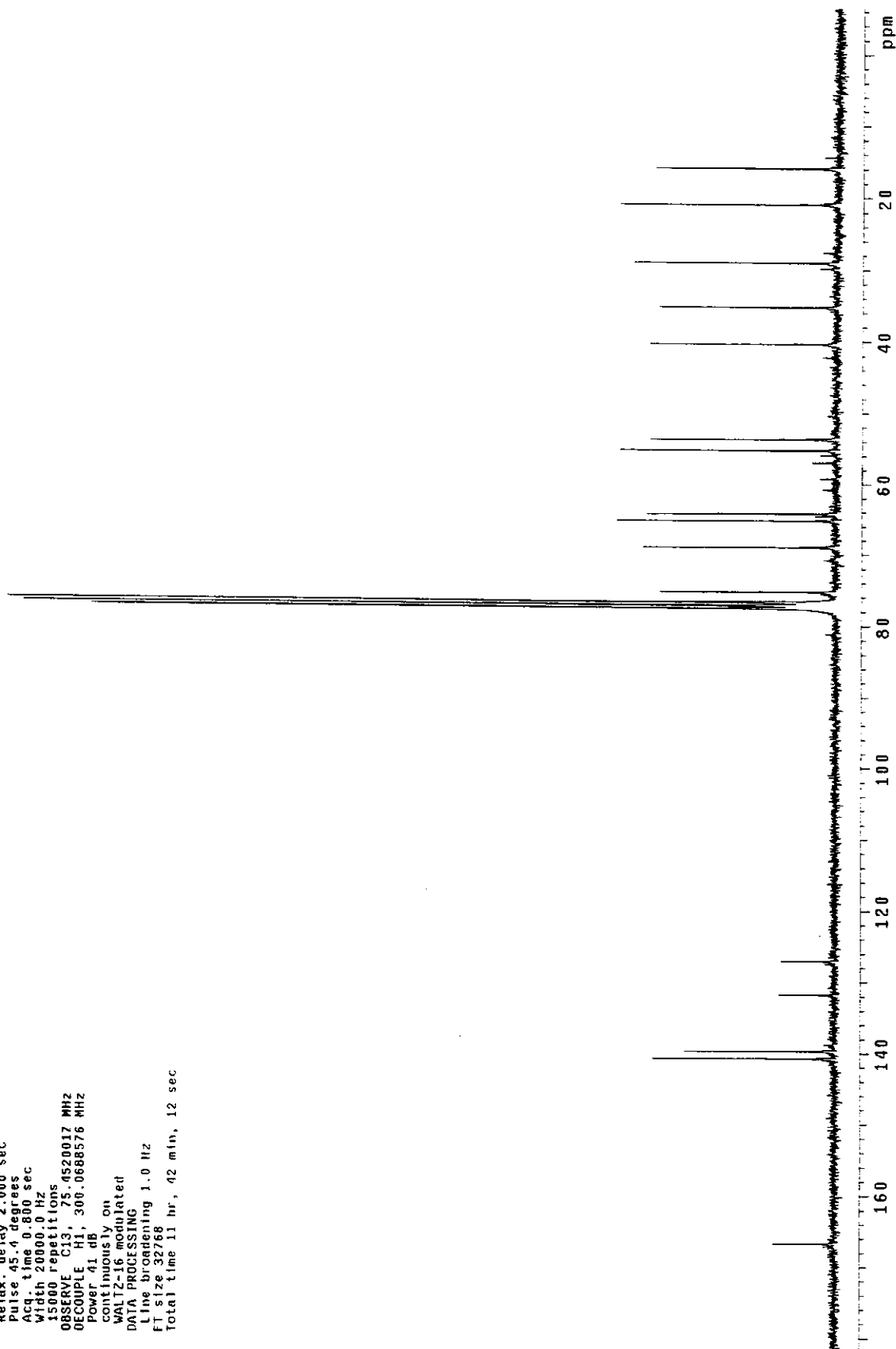
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 32768

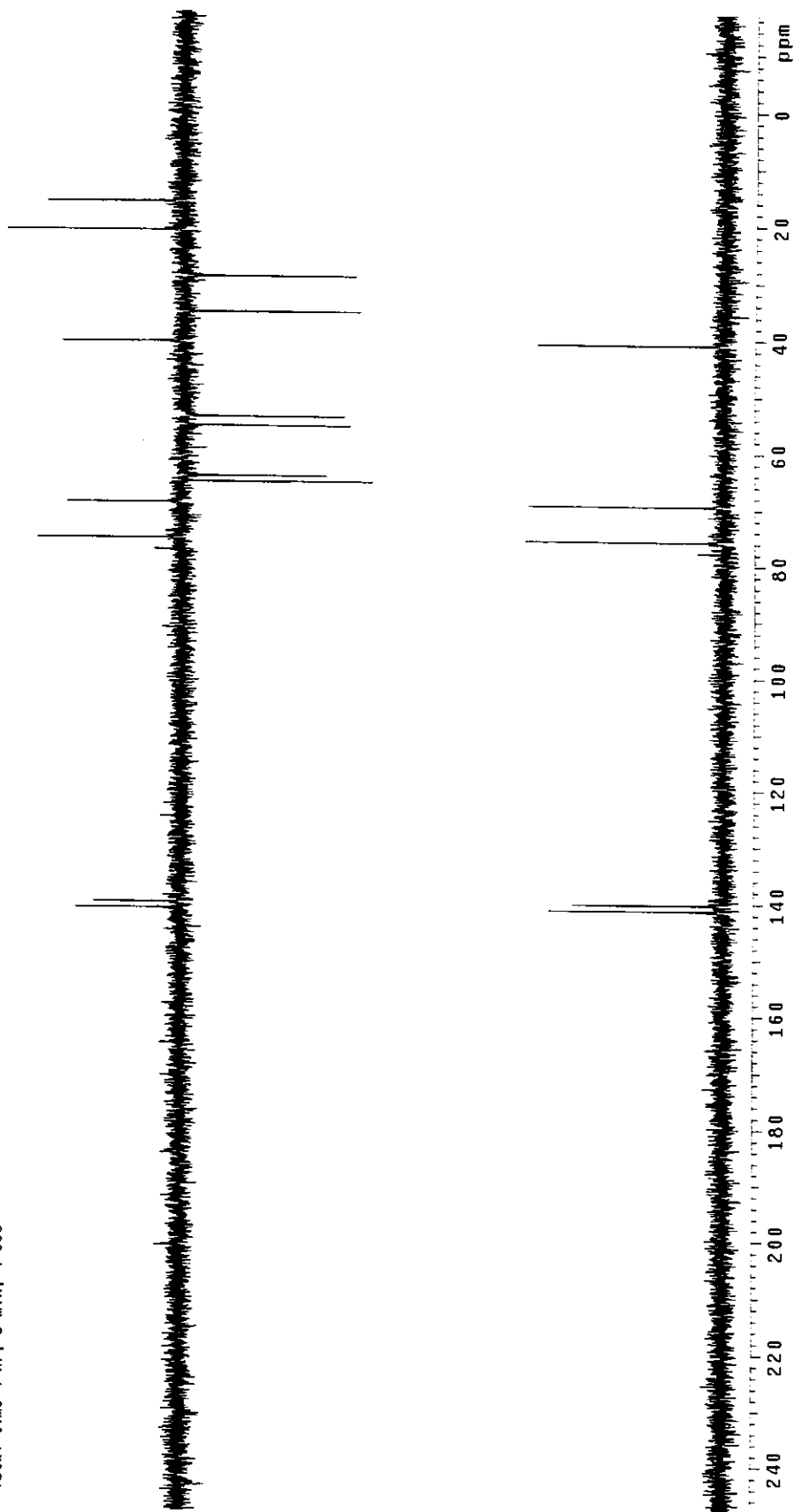
Total time 11 hr, 42 min, 12 sec



E39 – Espectro DEPT da Sarracina (SJ-1)

Palva SJ-1 out31jap0
Pulse Sequence: dept
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
File: out31jap0
INOVA-500 "nmrsun"

Relax. delay 1.500 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 20000.0 Hz
3200 repetitions
OBSERVE C13, 75.4519035 MHz
DECOUPLE H1, 300.0686576 MHz
Power 41 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 4 hr, 8 min, 4 sec



E40 -- Diagrama de contorno gCOSY da Sarracina (SJ-1)

Paiva SJ-1 cdc13 nov13JapCOSY

Pulse Sequence: relayh

Solvent: Cdc13

Ambient temperature

File: nov13JapCOSY

INOVA-500 "hmr'sun"

Relax. delay 1.000 sec

COSY 90-179

Acq. time 0.164 sec

Width 3127.4 Hz

2D Width 3127.4 Hz

16 repetitions

96 increments

OBSERVE H1, 300.0673706 MHz

DATA PROCESSING

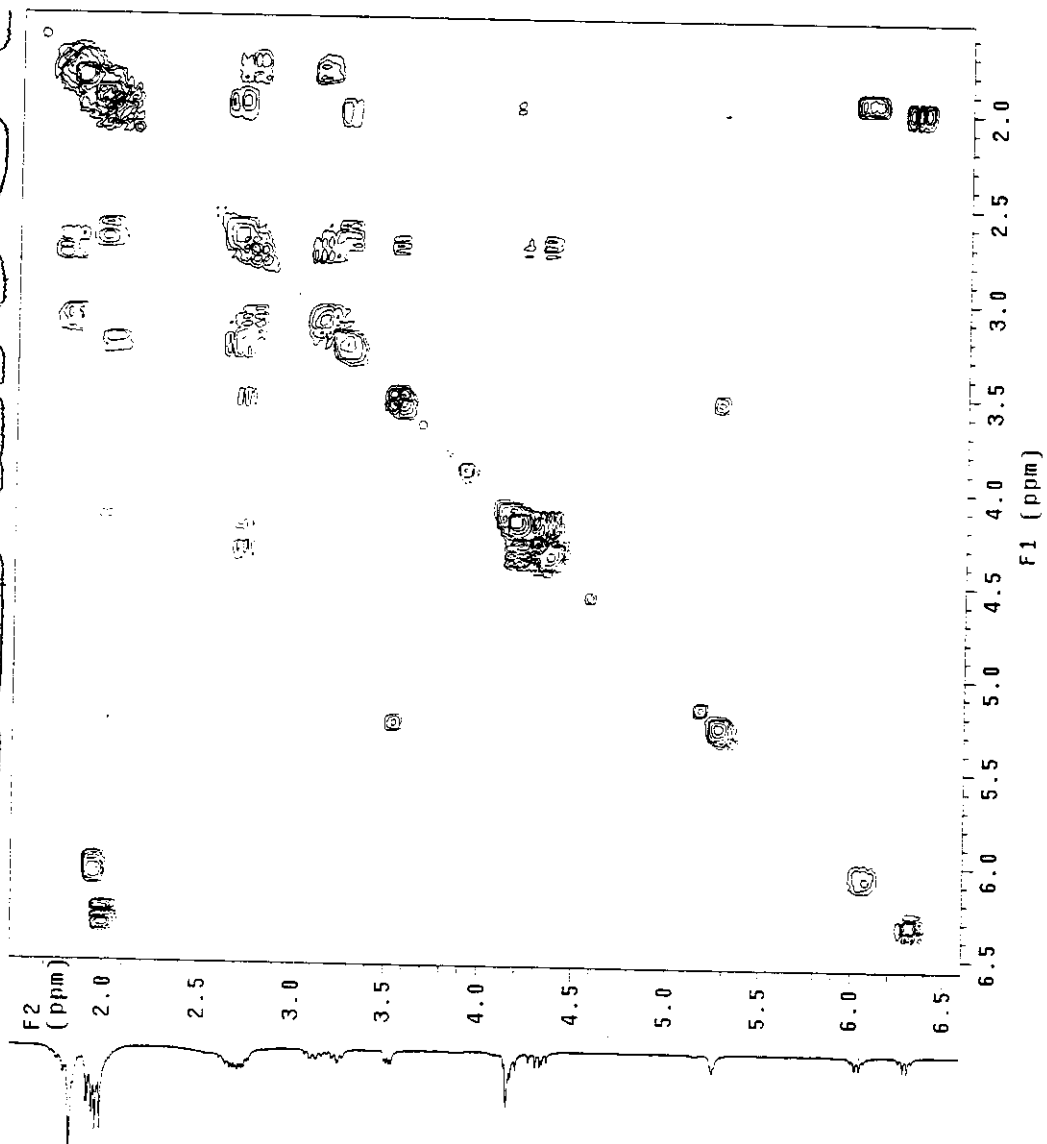
Sq. sine bell 0.082 sec

F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.031 sec

FI size 1024 x 1024

Total time 30 min, 29 sec



Pulse Sequence: hetcor

Solvent: CDCl3

Ambient temperature

File: nov13[apilTCOR

INOVA-500 nmfsun

Relax. delay 1.800 sec

Acq. time 0.068 sec

Width 15063.1 Hz

2D Width 3127.4 Hz

256 repetitions

96 increments

OBSERVE C13, 75.4520081 MHz

DECOUPLE H1, 300.0687477 MHz

Power 41 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Resol. enhancement -0.0 Hz

Gauss apodization 0.030 sec

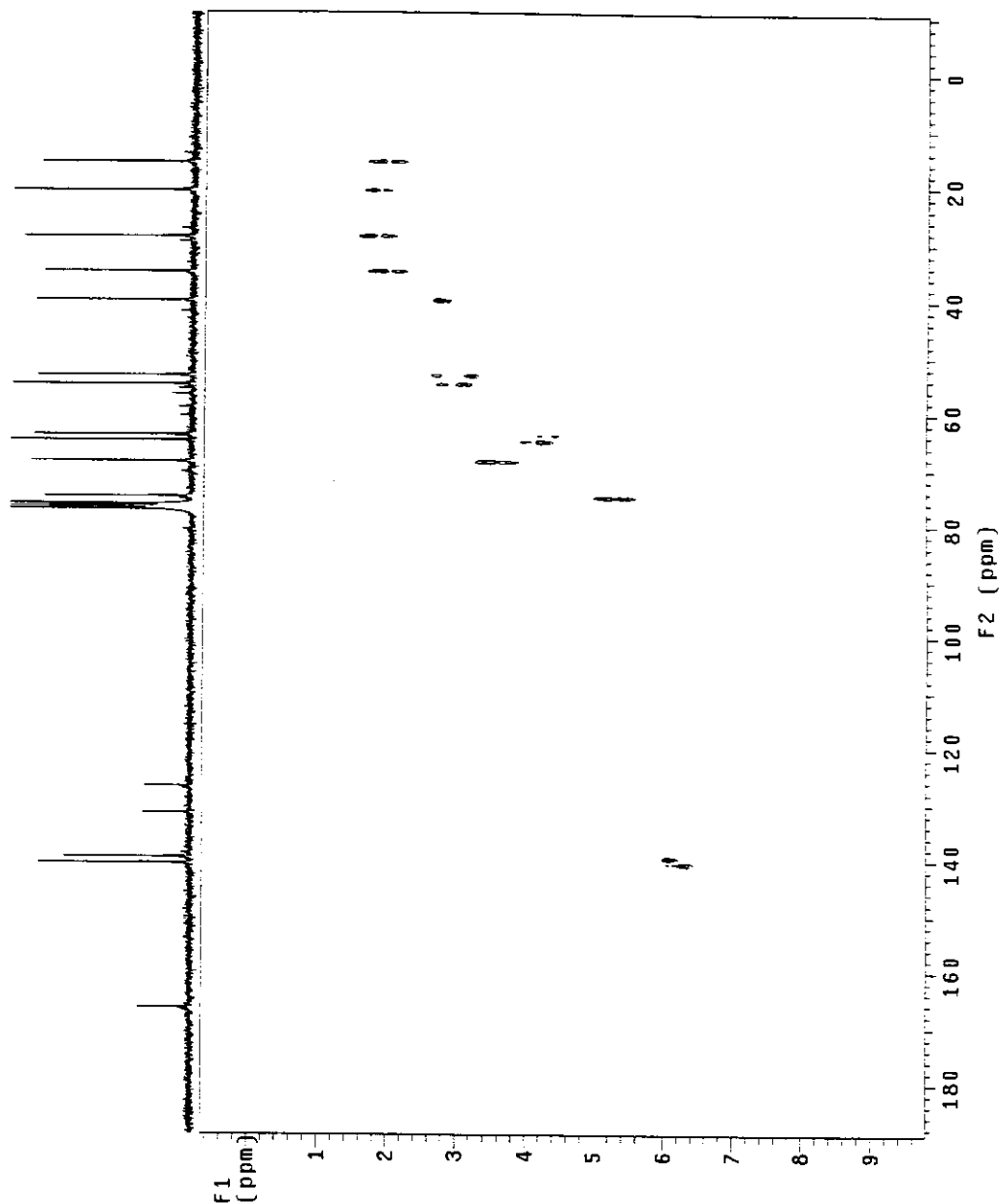
F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.031 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 13 hr, 1 min, 22 sec

E41 - Diagrama de contorno HSQC da Sarracina (SJ-1)



Palva SJ-1 cdc13 nov21JanNOESY101

Pulse Sequence: NOESY10

Solvent: CDC13

Ambient temperature

INOVA-500 "Inova500"

Relax. delay 5.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.277 sec

Width 10000.0 Hz

270 repetitions

OBSERVE H1, 499.8827963 MHz

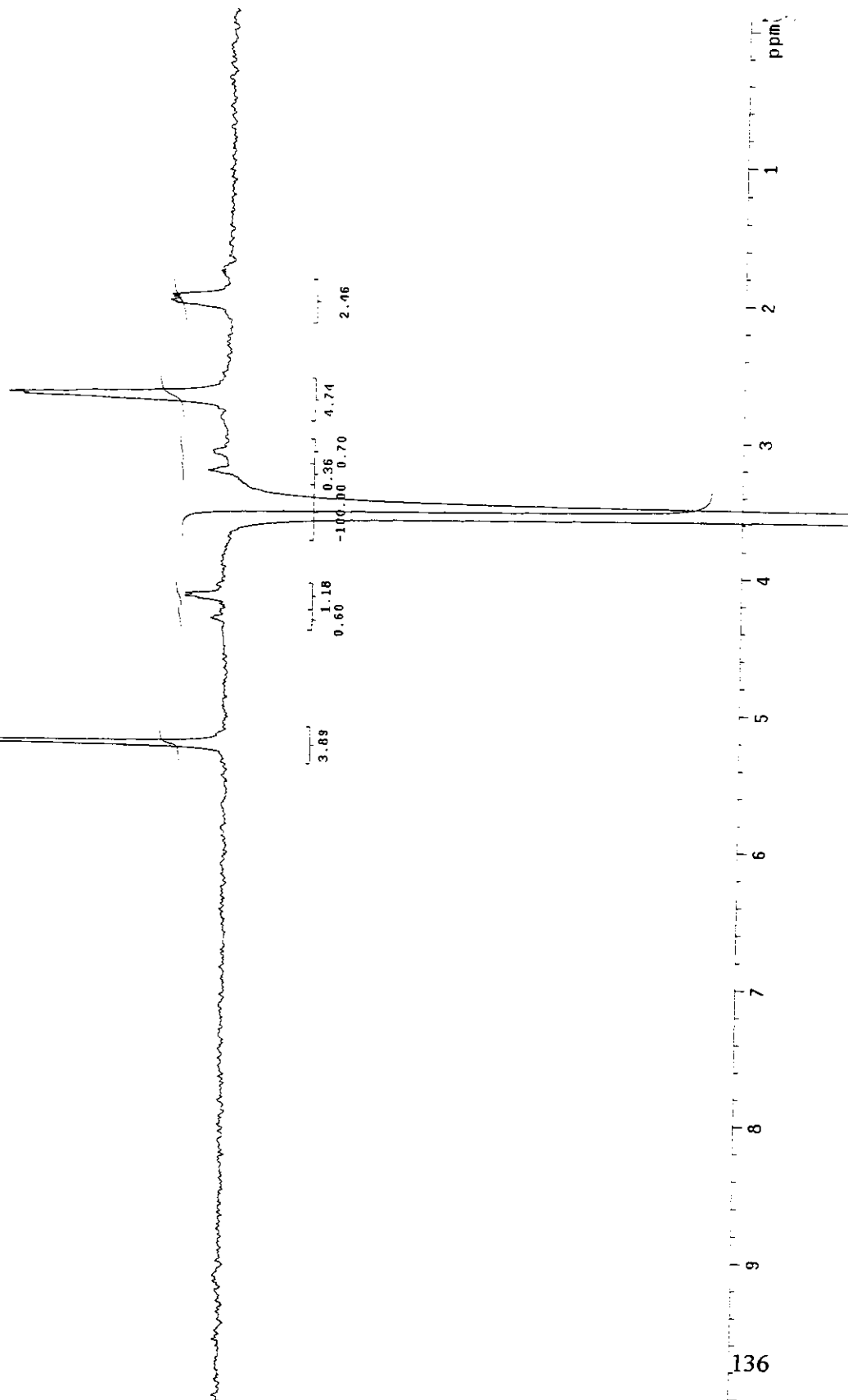
DATA PROCESSING

Line broadening 5.0 Hz

FI size 65536

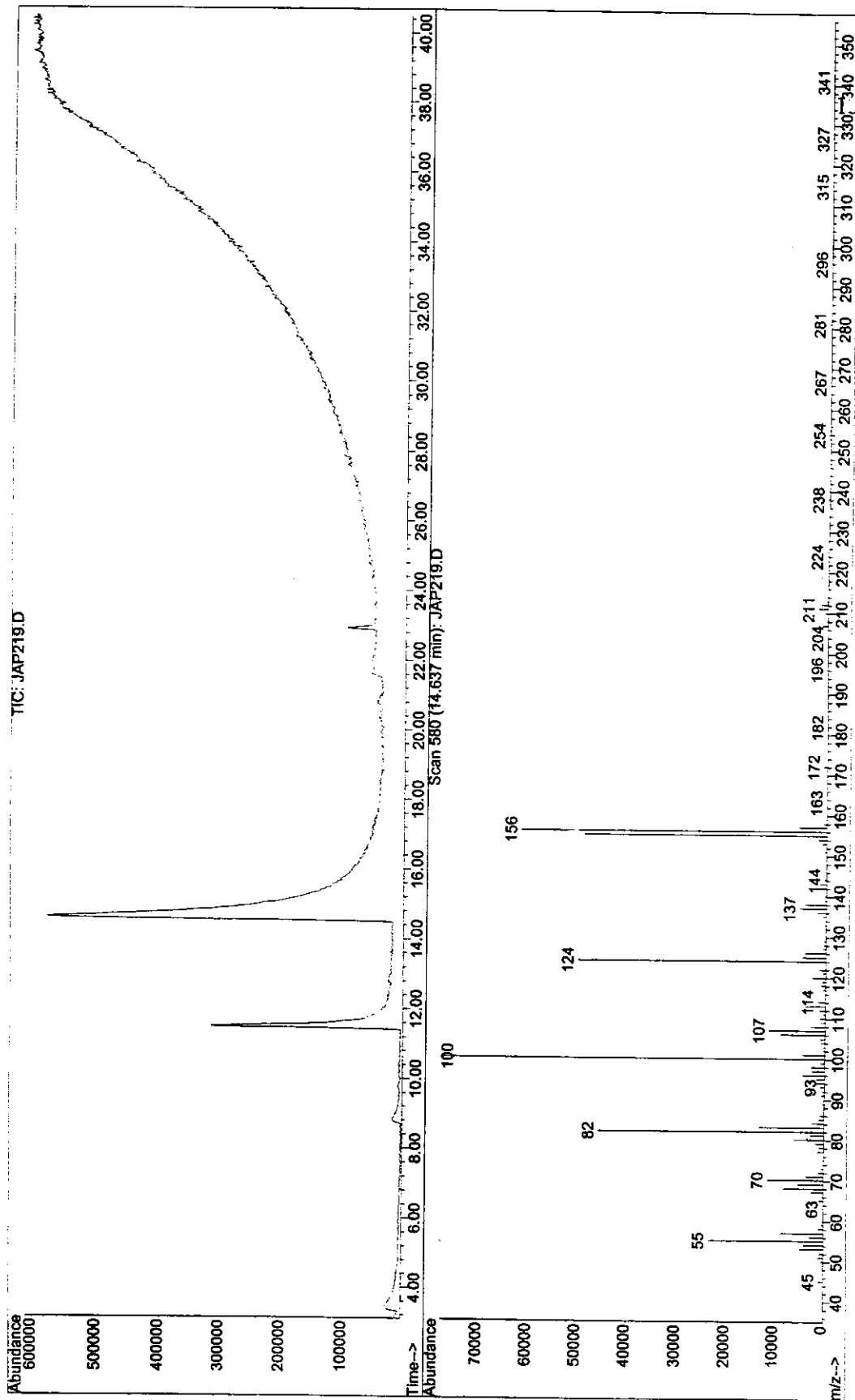
Total time 2 hr, 34 min, 45 sec

E42 - Espectro NOESY da Sarracina (SJ-1): irradiação no hidrogênio H-8.



File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP219.D
Operator :
Acquired : 19 Oct 2001 20:54 using AcqMethod ALK1-2
Instrument : HP5973A
Sample Name: ccp segunda 190ut01
Misc Info :
Vial Number: 2

E43 - Análise CG/EM da Juerguensina (SJ-2)

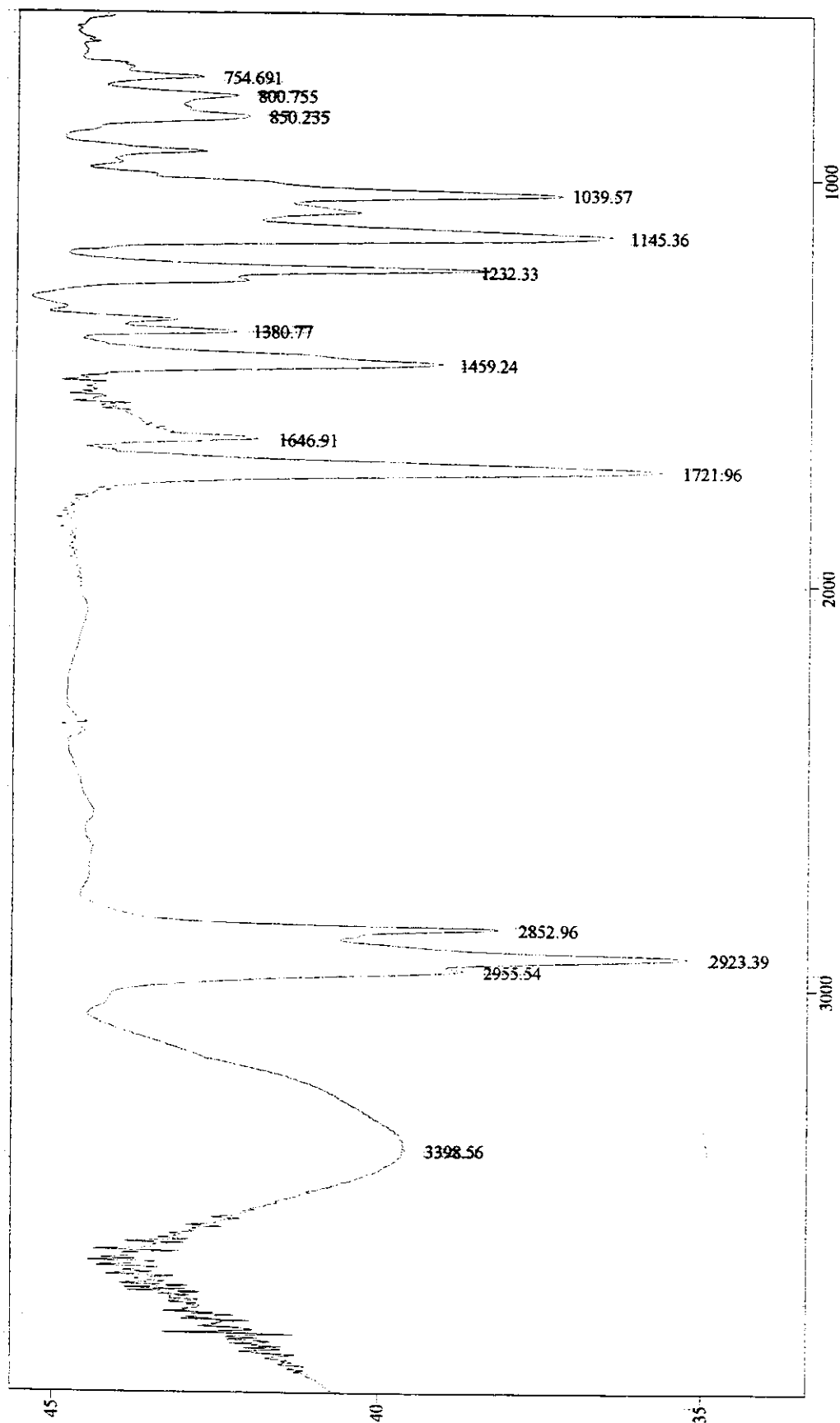


E44 -- Espectro de IV da Juerguensina (SJ-2)

File # 6 : SJ2

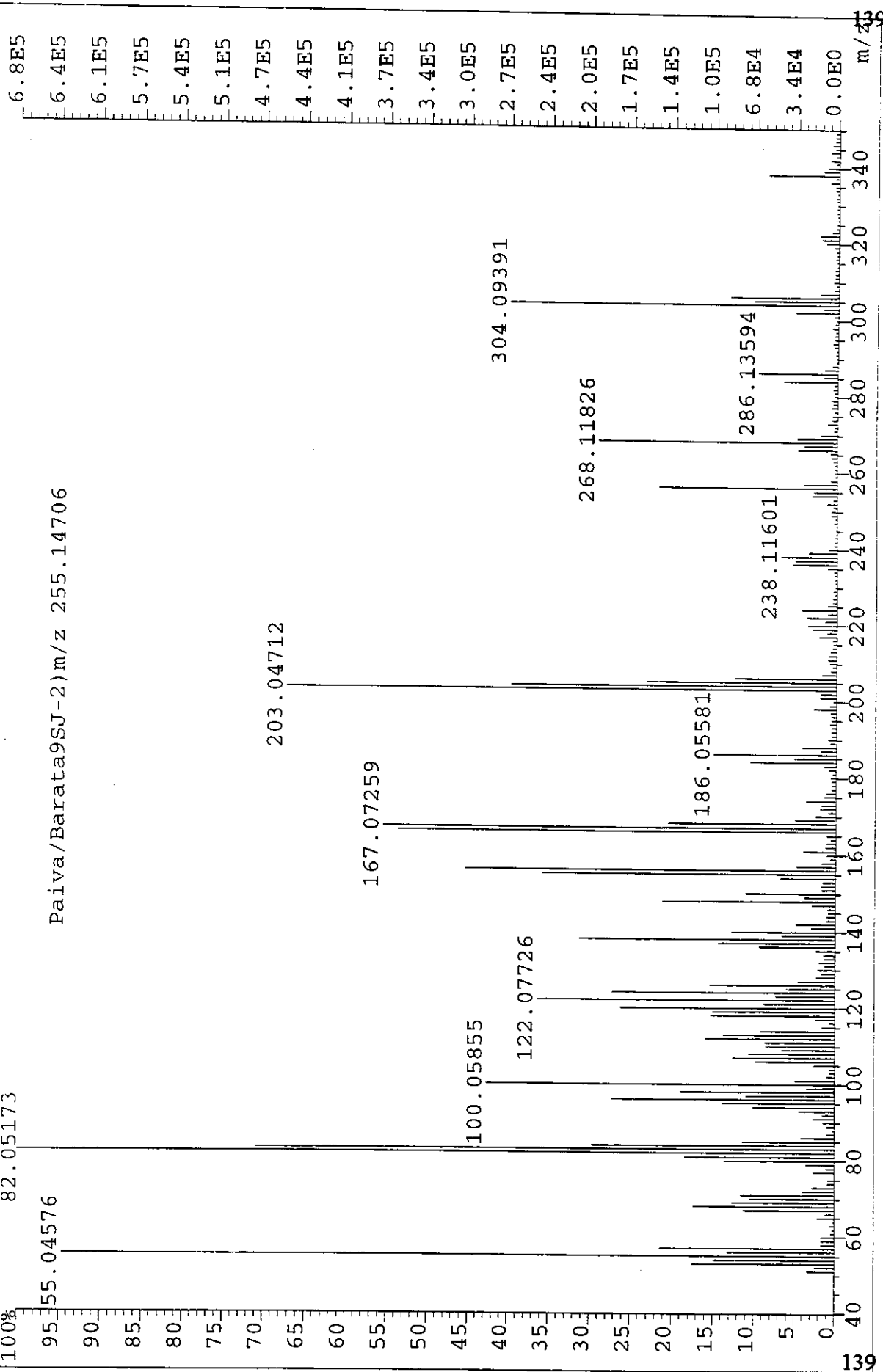
Res=4 cm-1

24/10/02 16:45



Transmittance / Wavenumber (cm-1)

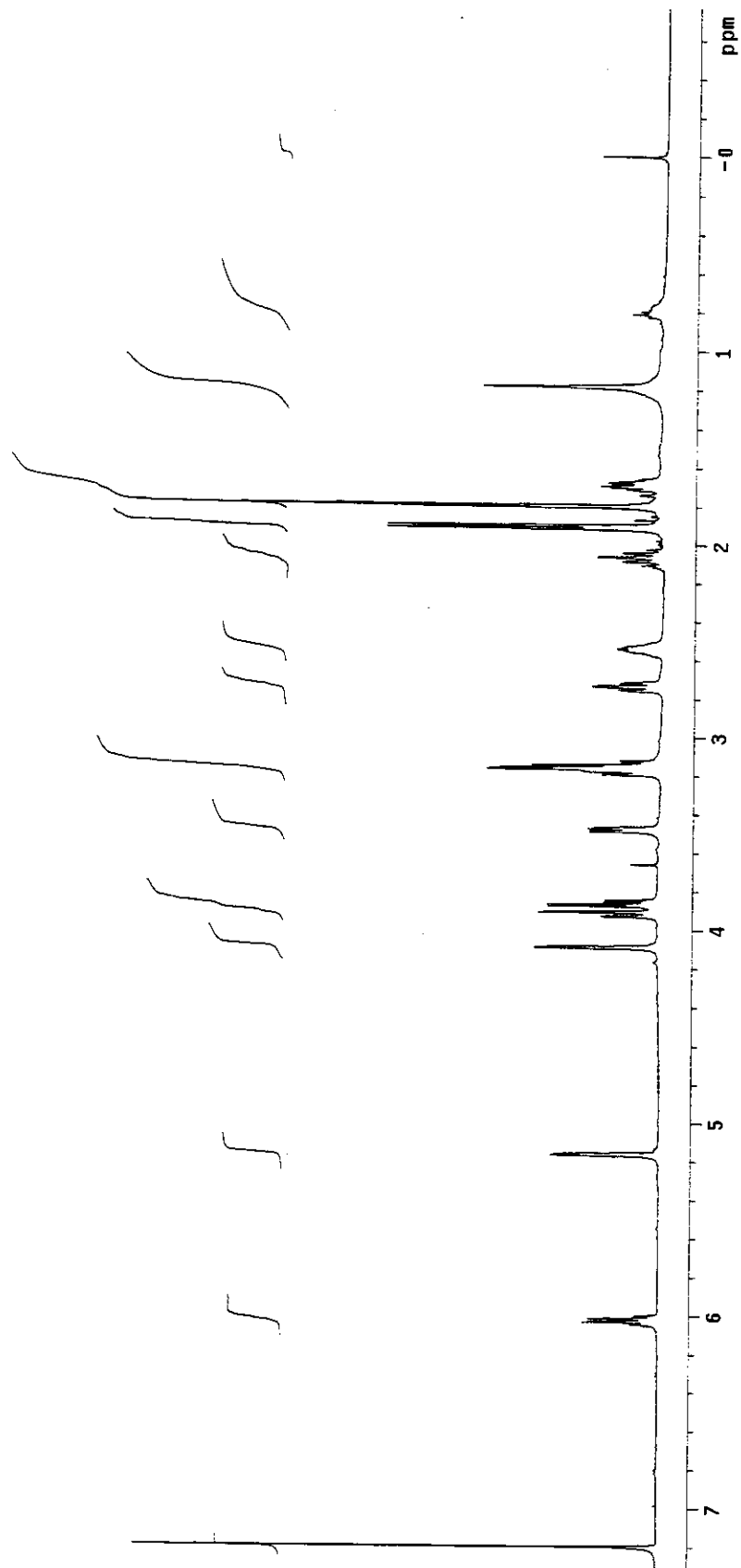
File: ABR0402 Ident: 40_47 Win 1000PPM Acq: 4-APR-2002 23:57:08 +6:53 Cal: ABR0402
AutoSpecE EI+ Magnet BpM: 82 BpI: 675699 TIC: 12990567 Flags: NORM
File Text: Aparecido
100% 82.05173



Peiva SJ-2 nov22japh
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDC13
Ambient temperature
File: nov22japh
INOVA-500 "nmrfsun"

Pulse 29.9 degrees
Acq. time 3.277 sec
Width 10000.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1 499.8027968 MHz
DATA PROCESSING
Line broadening 0.2 Hz
FT size 65536
Total time 0 min, 52 sec

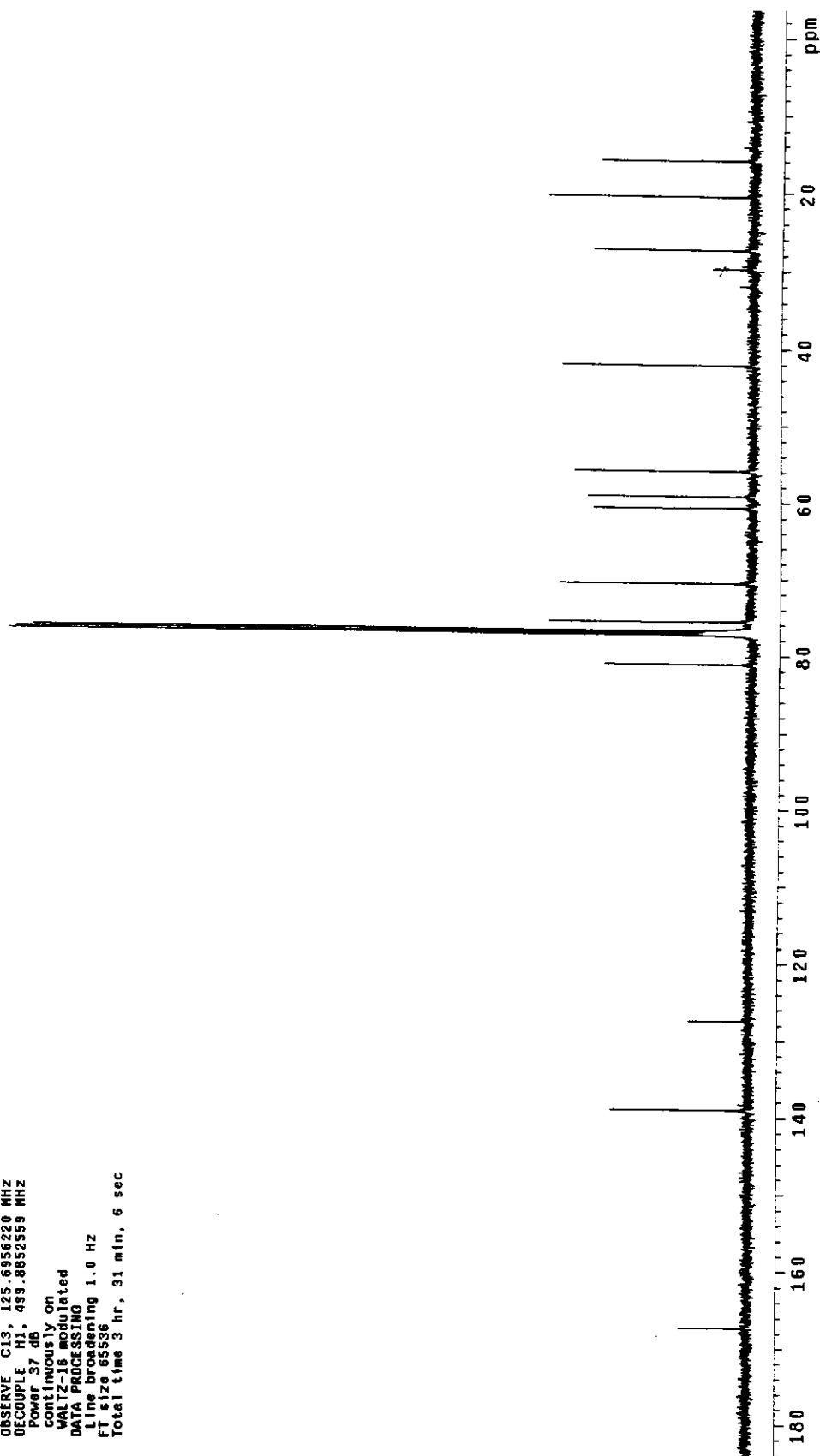
E46 -- Espectro de RMN de ^1H da Juerguensina (SJ-2)



Riva SJ-2 cdc13 out31japC1
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
User: 1-14-87
File: out31japC1
INOVA-500 "hmfSun"

Relax. delay 1.500 sec
Pulse 45.5 degrees
Acq. time 1.024 sec
Width 31508.5 Hz
1600 repetitions
OBSERVE C13, 125.6956220 MHz
DECOUPLE H1, 499.8852559 MHz
Power 37 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 3 hr, 31 min, 6 sec

E47- Espectro de RMN de ^{13}C da Juerguensina (SJ-2)



Paiva SJ-2 dept nov01japD

Pulse Sequence: dept

Solvent: cdcl3

Ambient temperature

File: nov01japD

INNOVA-500 "nmr-sun"

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 0.800 sec

Width 18188.1 Hz

5000 repetitions

OBSERVE C13, 75.4520033 MHz

DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz

Power 41 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

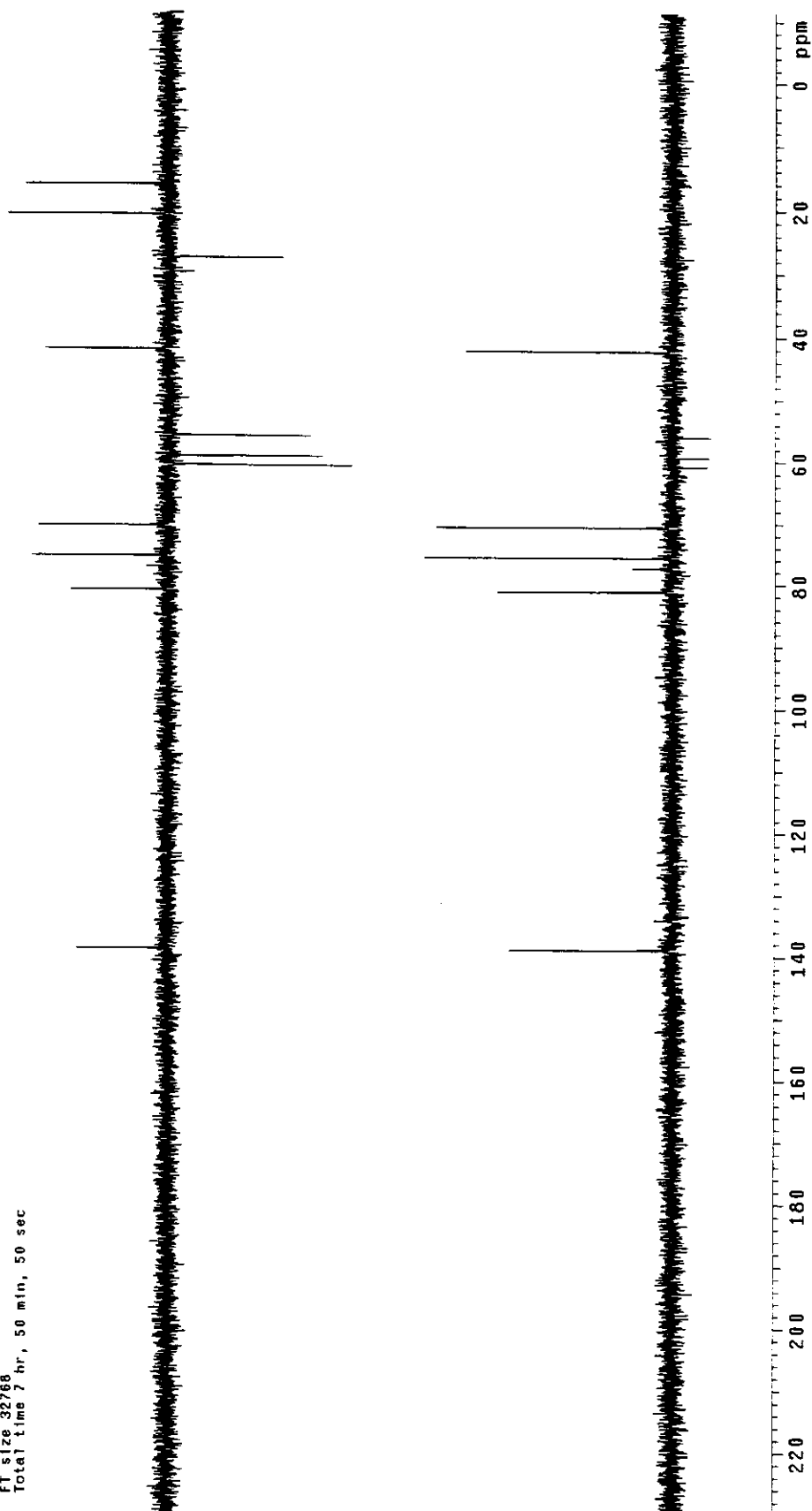
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 32768

Total time 7 hr, 50 min, 50 sec

E48 – Espectro DEPT da Juerguensina (SJ-2)



Palva SJ-2 nov22jagCOSY

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

File: nov22jagCOSY

INOVA-500 "hmfSun"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.209 sec

Width 4888.5 Hz

2D Width 4888.5 Hz

4 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.8827943 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.105 sec

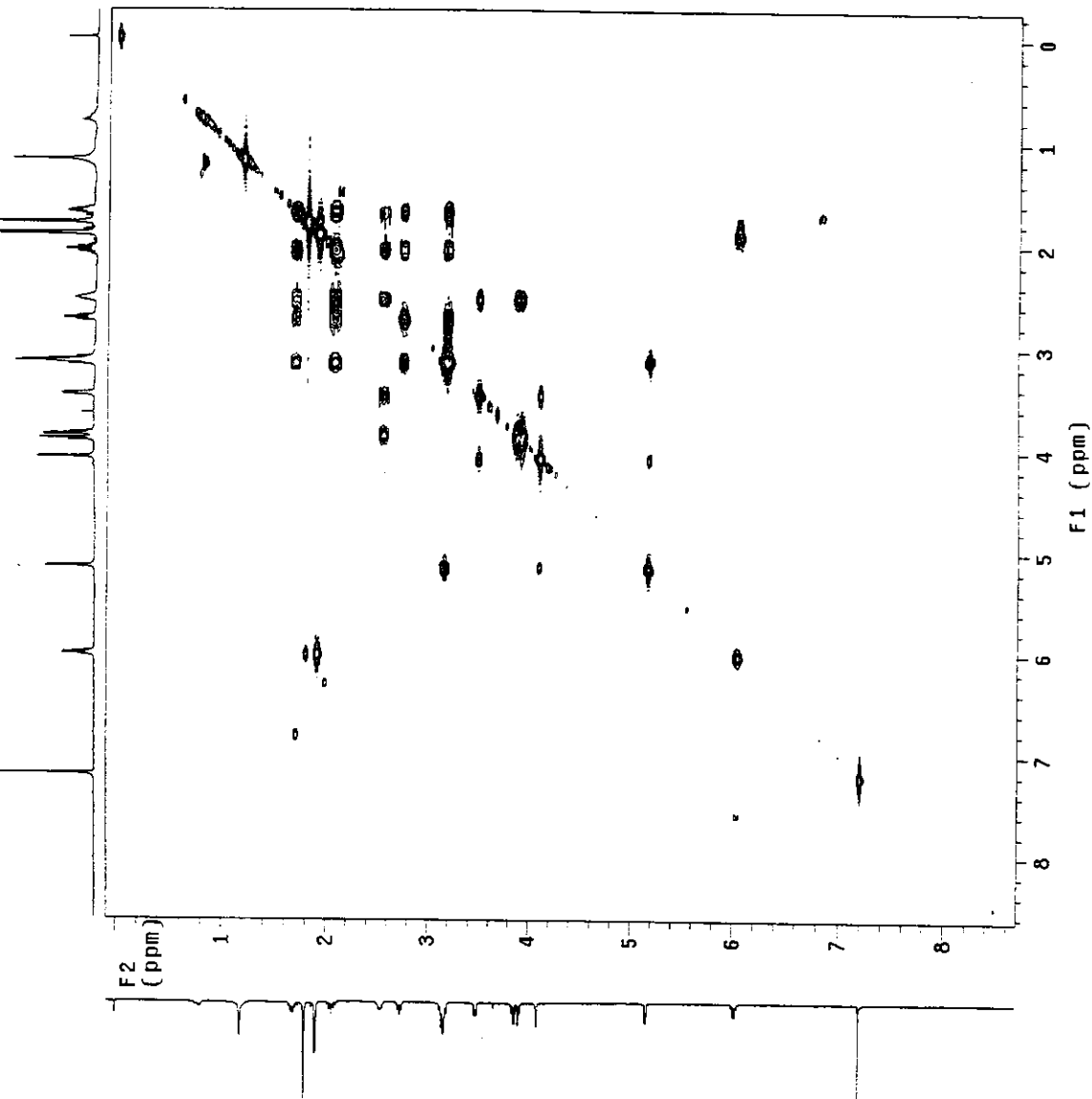
F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.026 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 10 min, 52 sec

E49 – Diagrama de contorno gCOSY da Juerguensina (SJ-2)



Paiva SJ-2 nov22japhSQC

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: nov22japhSQC

INOVN-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.212 sec

Width 4823.1 Hz

2D Width 22837.6 Hz

32 repetitions

2 x 36 increments

OBSERVE H1, 499.8827915 MHz

DECOUPLE C13, 125.7063100 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

GAGP-1 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.098 sec

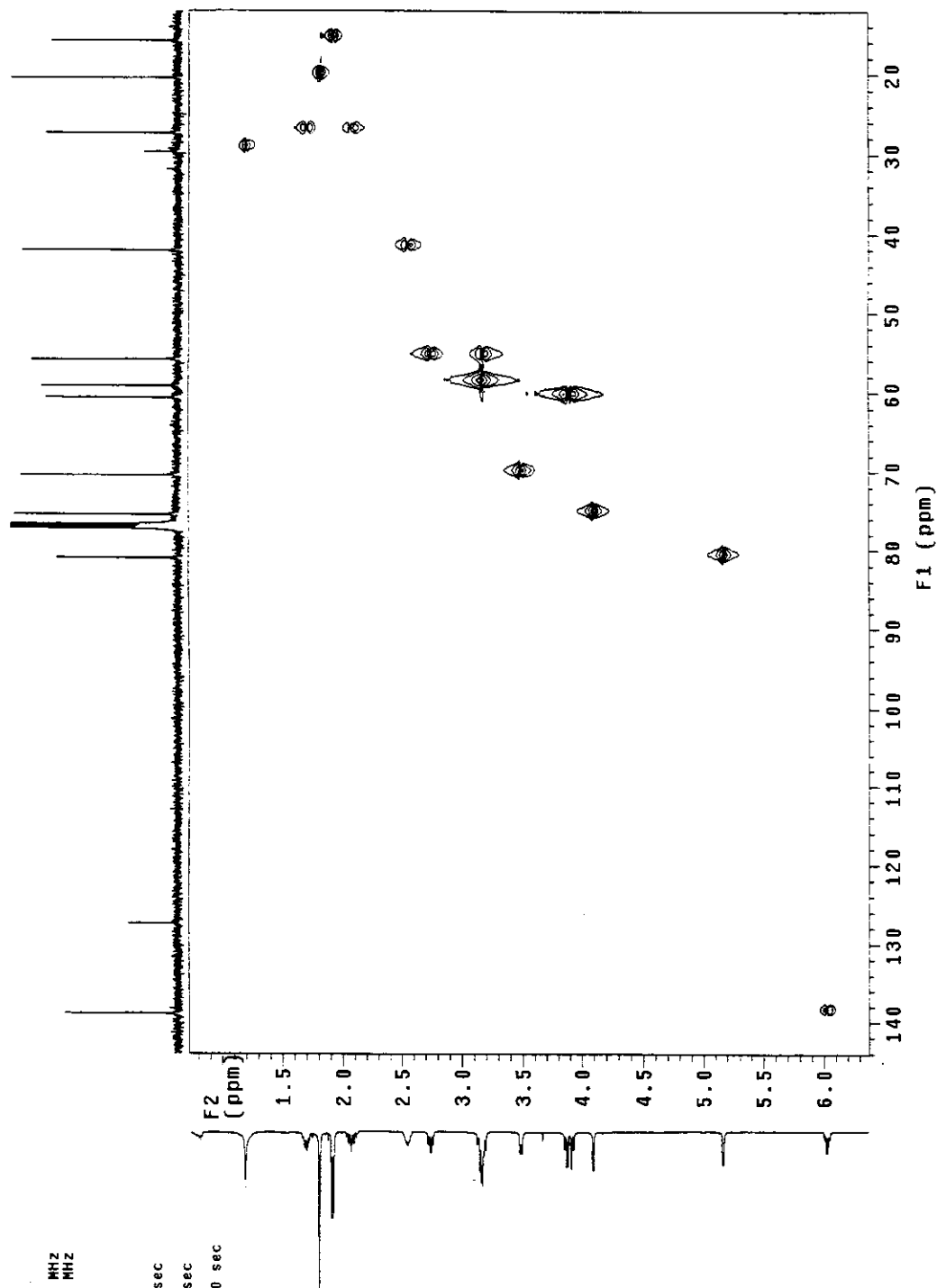
F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.004 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 2 hr, 10 min, 0 sec

E50 – Diagrama de contorno HSQC da Juerguensina (SJ-2)



Paiva SJ2 cdc13 dez15JapNOESY101

Pulse Sequence: NOESY1D

Solvent: CDC13

Incident temperature

INVA-500 "Inova500"

Relax. delay 5.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.277 sec

Width 10000.0 Hz

367 repetitions

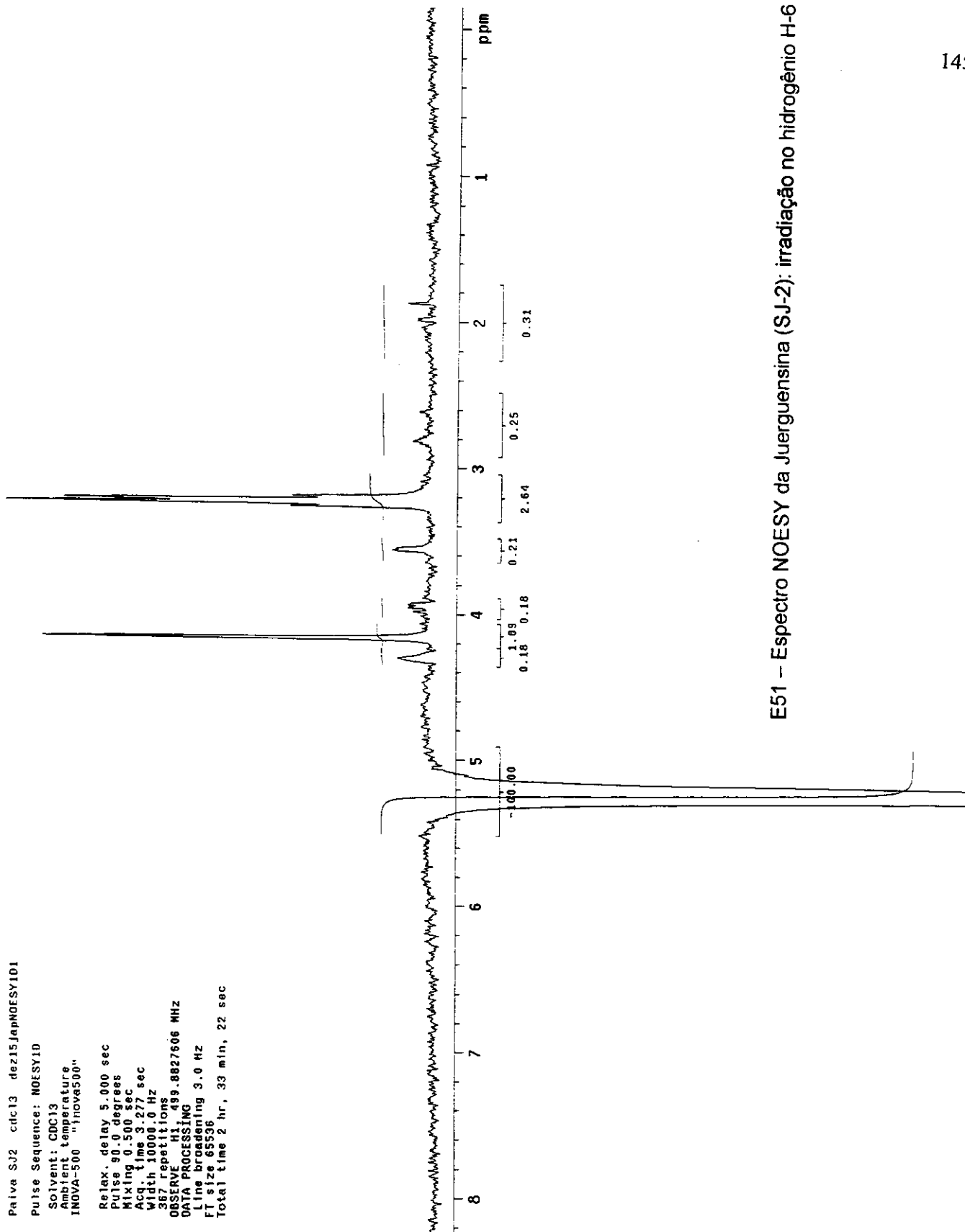
OBSERVE H1, 499.8827606 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 3.0 Hz

FT size 65536

Total time 2 hr, 33 min, 22 sec



E51 – Espectro NOESY da Jurgensina (SJ-2): irradiação no hidrogênio H-6

Palva SJ2 cdc13 dez15JaphNOESY102

Pulse Sequence: NOESY10

Solvent: CDC13

Ambient temperature

INNOVA-500 "Inova500"

Relax. delay 5.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.277 sec

Width 10000.0 Hz

420 repetitions

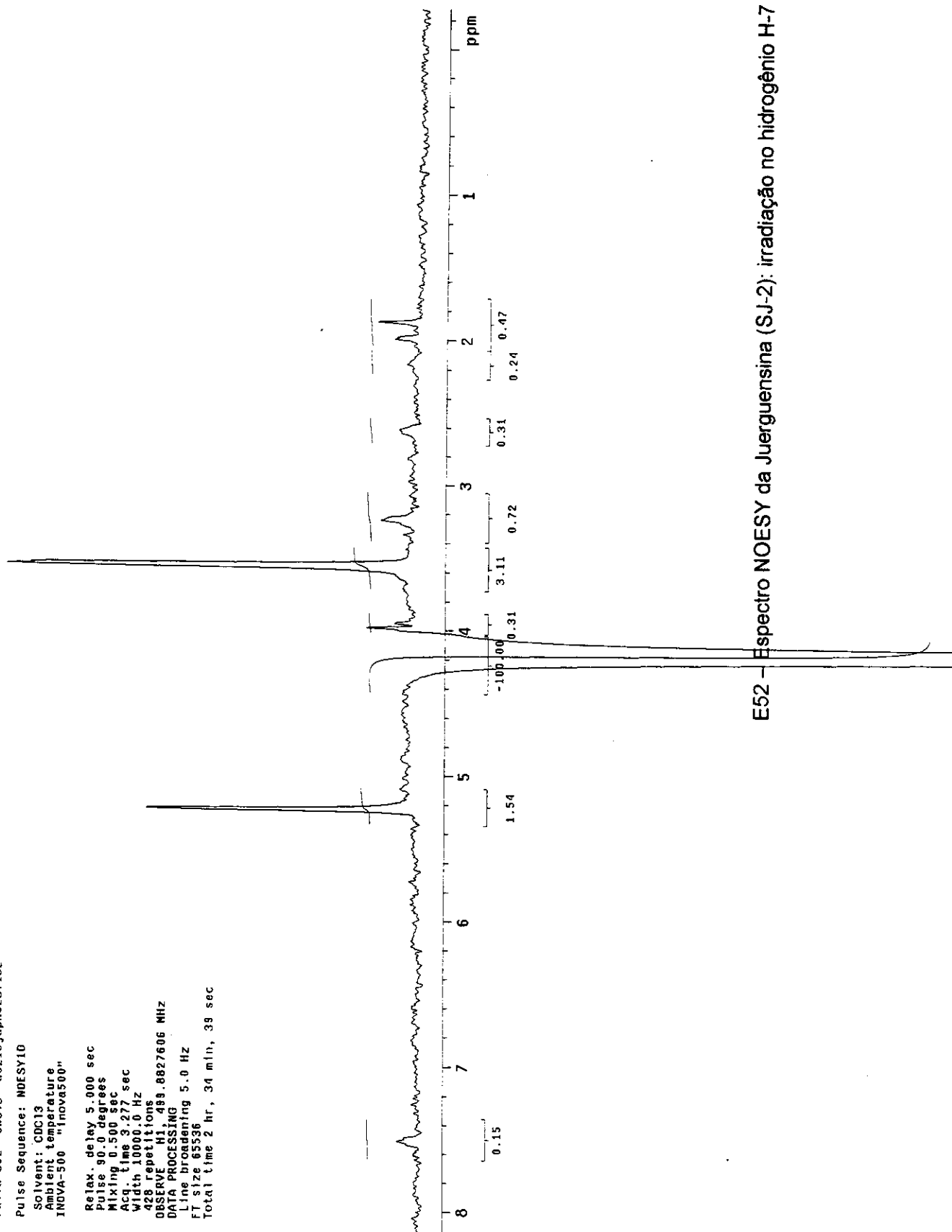
OBSERVE H1, 499.8927606 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 5.0 Hz

FT size 65536

Total time 2 hr, 34 min, 39 sec



E52 - Espectro NOESY da Juerguensina (SJ-2): irradiação no hidrogênio H-7

Paiva SJ-2 cdc13 Jan18japNOESY1D1

Pulse Sequence: NOESY1D

Solvent: CDC13

Ambient temperature

INOVA-500 "Inova500"

Relax. delay 5.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Mixing 0.500 sec

Acq. time 3.277 sec

Width 10000.0 Hz

721 repetitions

OBSERVE H1 499.8827564 MHz

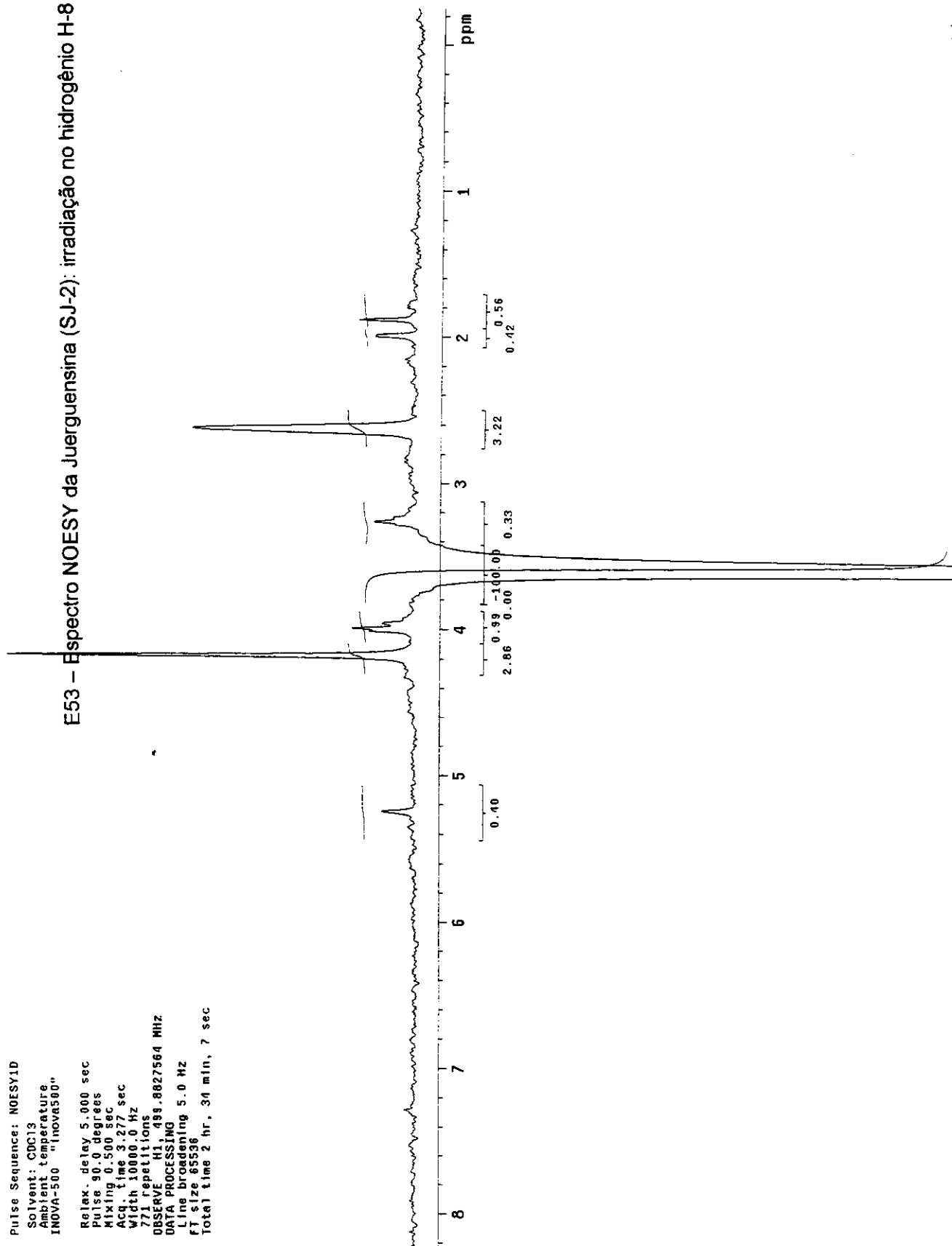
DATA PROCESSING

Line broadening 5.0 Hz

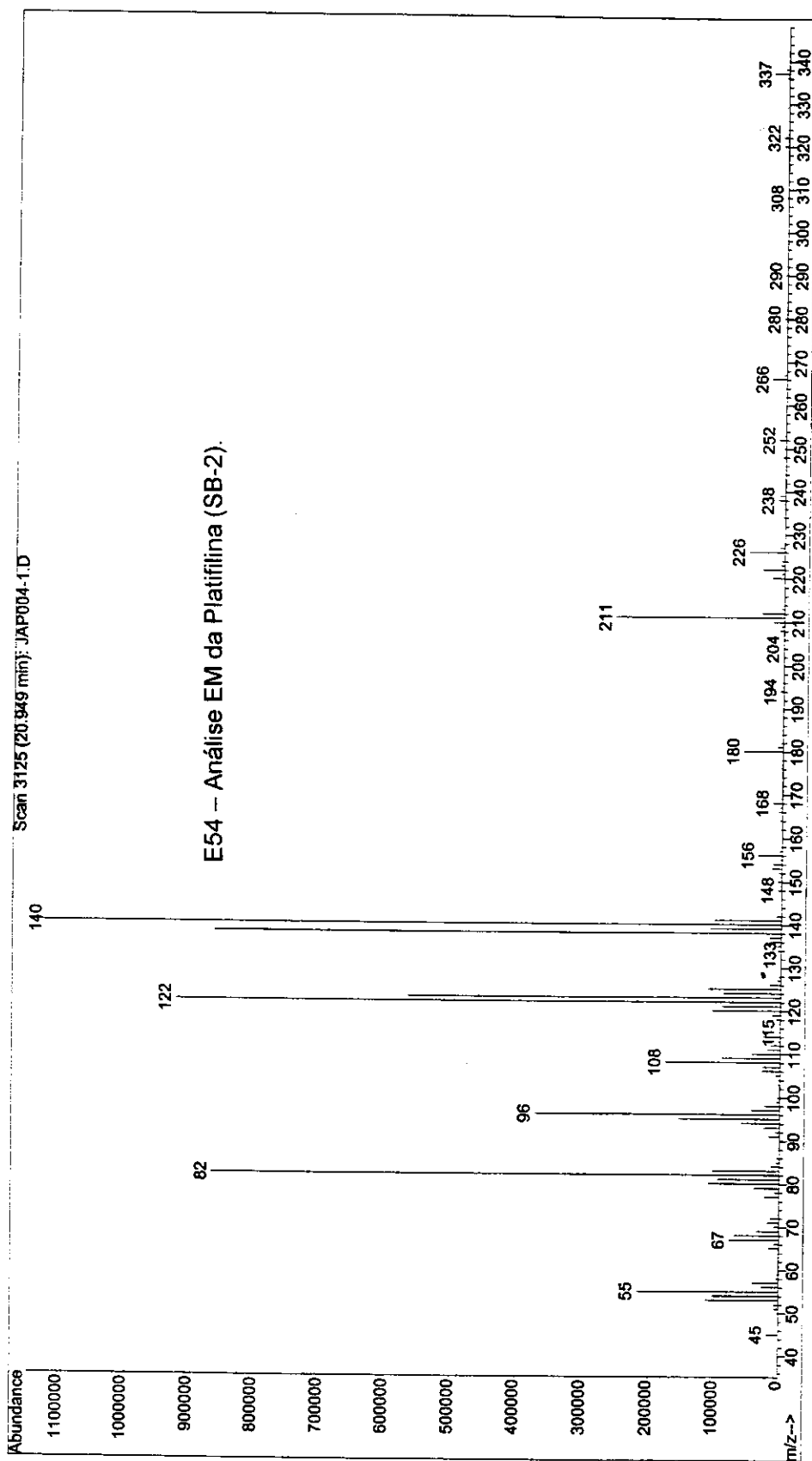
FT size 65556

Total time 2 hr, 34 min, 7 sec

E53 - Espectro NOESY da Juerguensina (SJ-2): irradiação no hidrogênio H-8



File : C:\HPCHEM\1\DATA\JAP004-1.D
Operator : JRTrigo
Acquired : 27 Mar 2000 11:38 using AcqMethod ALK1-2
Instrument : HP5973A
Sample Name:
Misc Info :
Vial Number: 2



Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: CDCl3

Acquired Temperature

File: Jun09Japh2

INOVA-300 "nm1sub"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.00 sec

Width 4921.9 Hz

16 repetitions

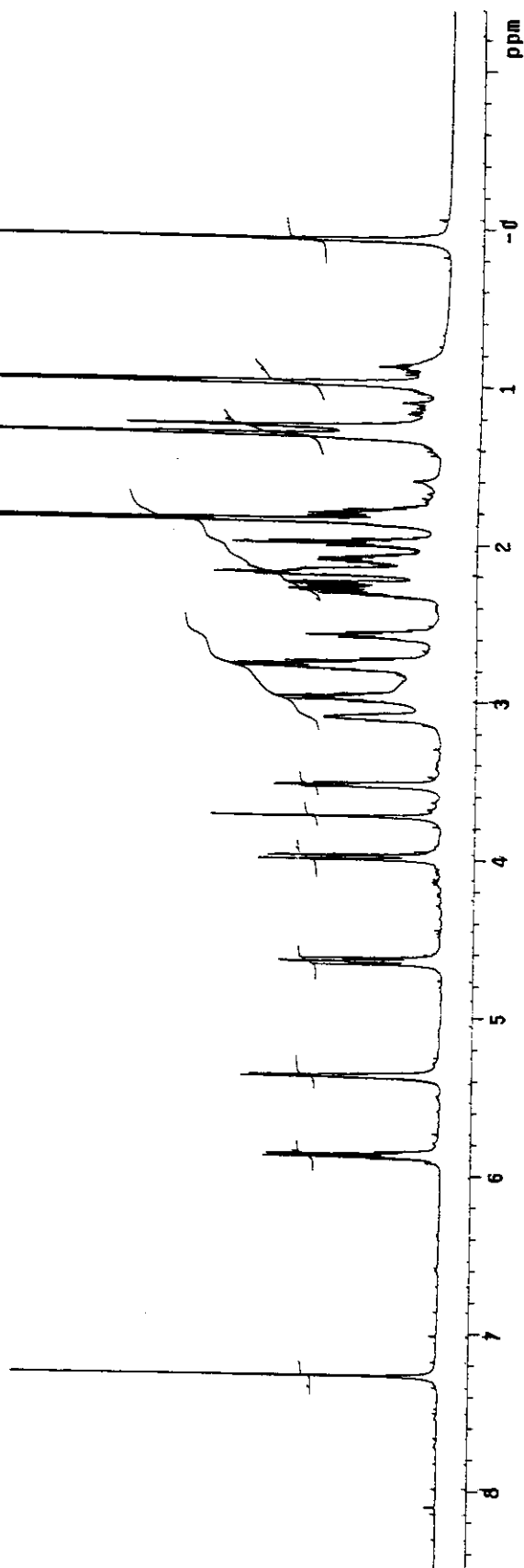
OBSERVE H1 499.8027608 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 6.5 Hz

File size 61536

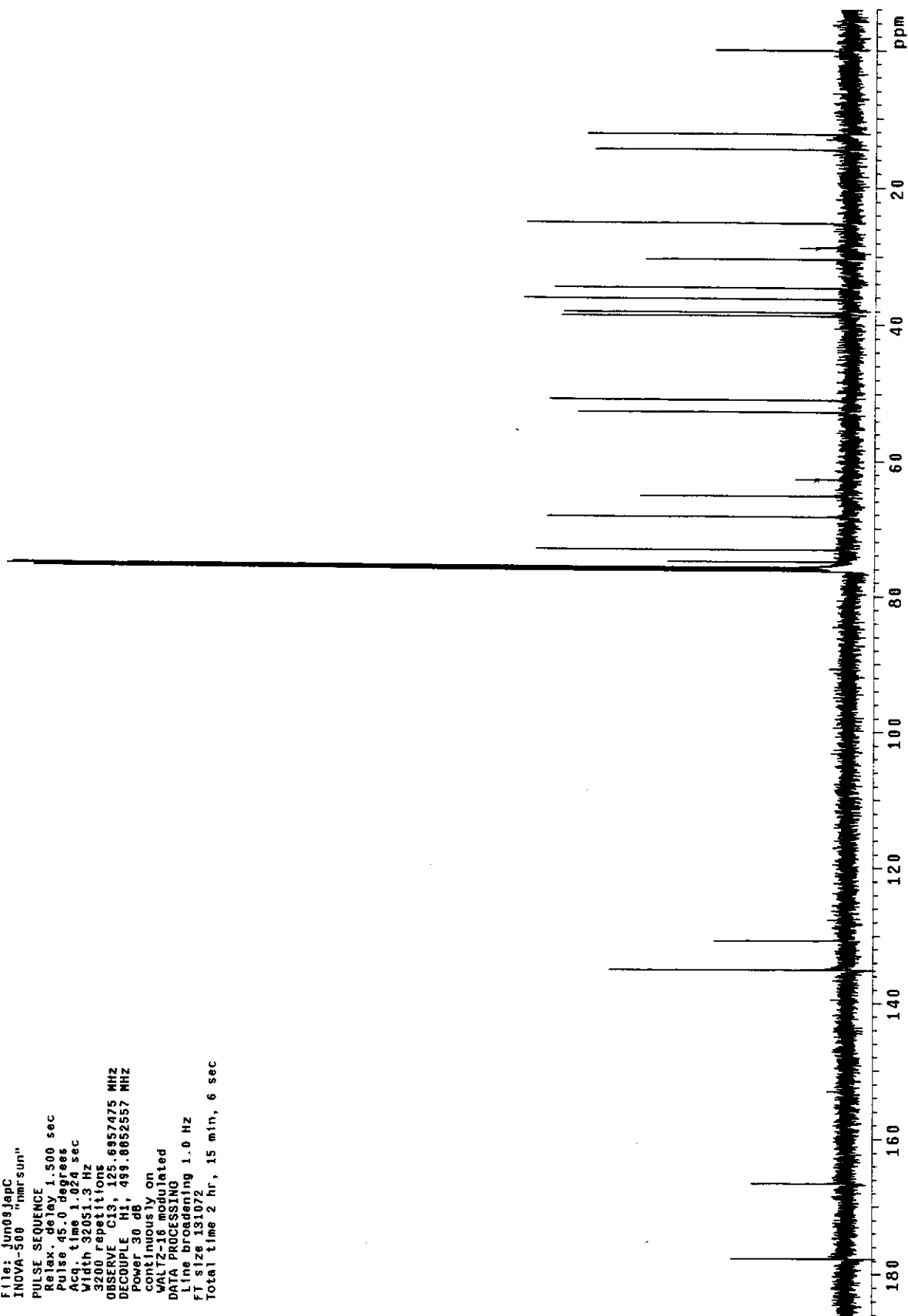
Total time 1 min, 4 sec



E55 -- Espectro de RMN de ^1H da Platilina (SB-2)

E56 - Espectro de RMN de ^{13}C da Platifilina (SB-2)

Paiva SB-2 cdc13 jun09japC
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
User: j-14-87
File: jun09japC
INOVA-500 "nmsun"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.500 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.024 sec
Width 32051.3 Hz
3200 repetitions
OBSERVE C13 125.6957475 MHz
DECOUPLE H1 499.8852557 MHz
Power 30 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FI size 131072
Total time 2 hr, 15 min, 6 sec



Peiva SB-2 cdc13 jun09jap0

Pulse Sequence: dept

Solvent: cdc13

Ambient temperature

File: jun09jap0

INOVA-500 "rnrfsun"

PULSE SEQUENCE: dept

Relax delay 2.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

1024 repetitions

OBSERVE C13 125.6957604 MHz

DECOUPLE H1 499.8852557 MHz

Power 30 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

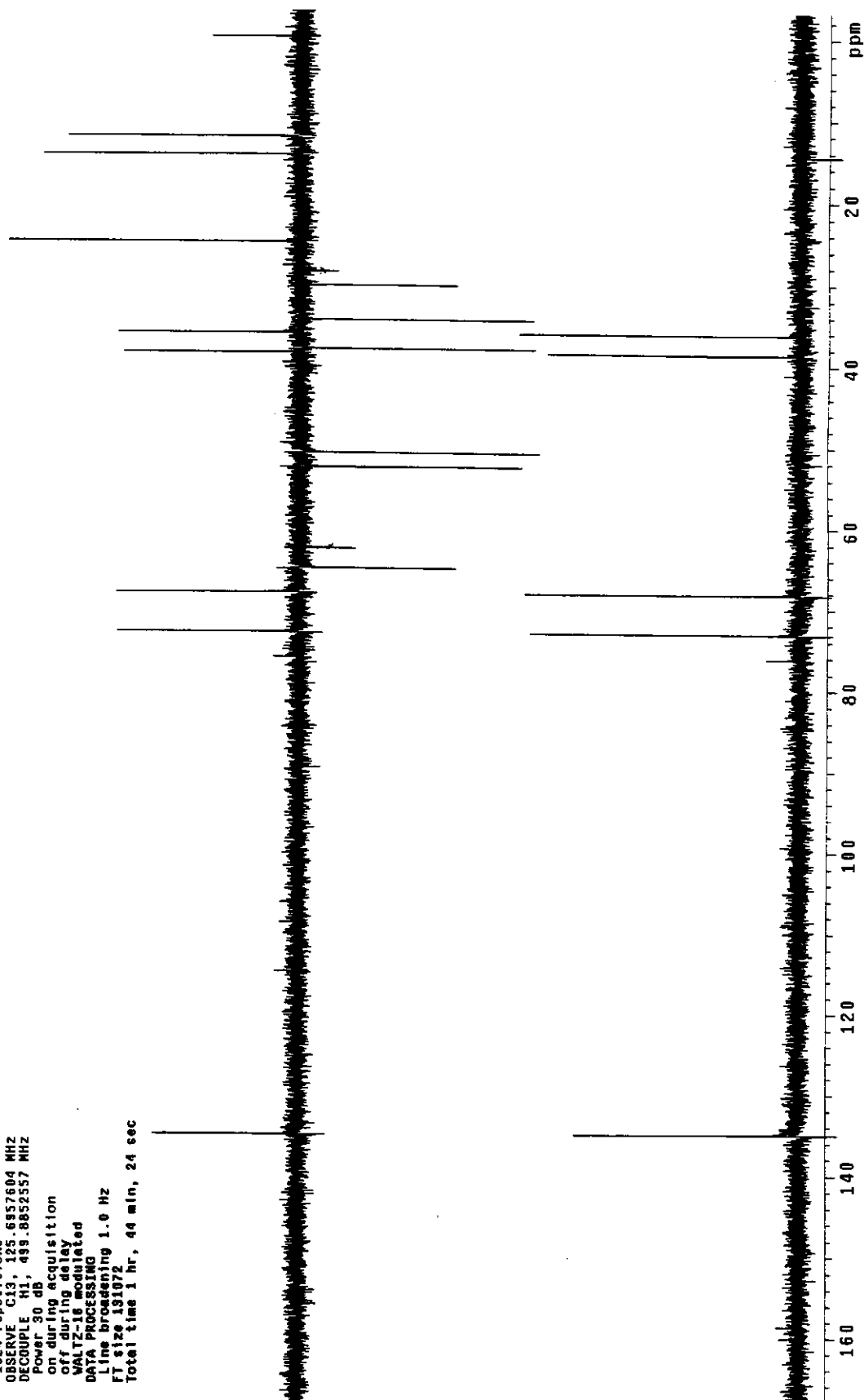
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 131072

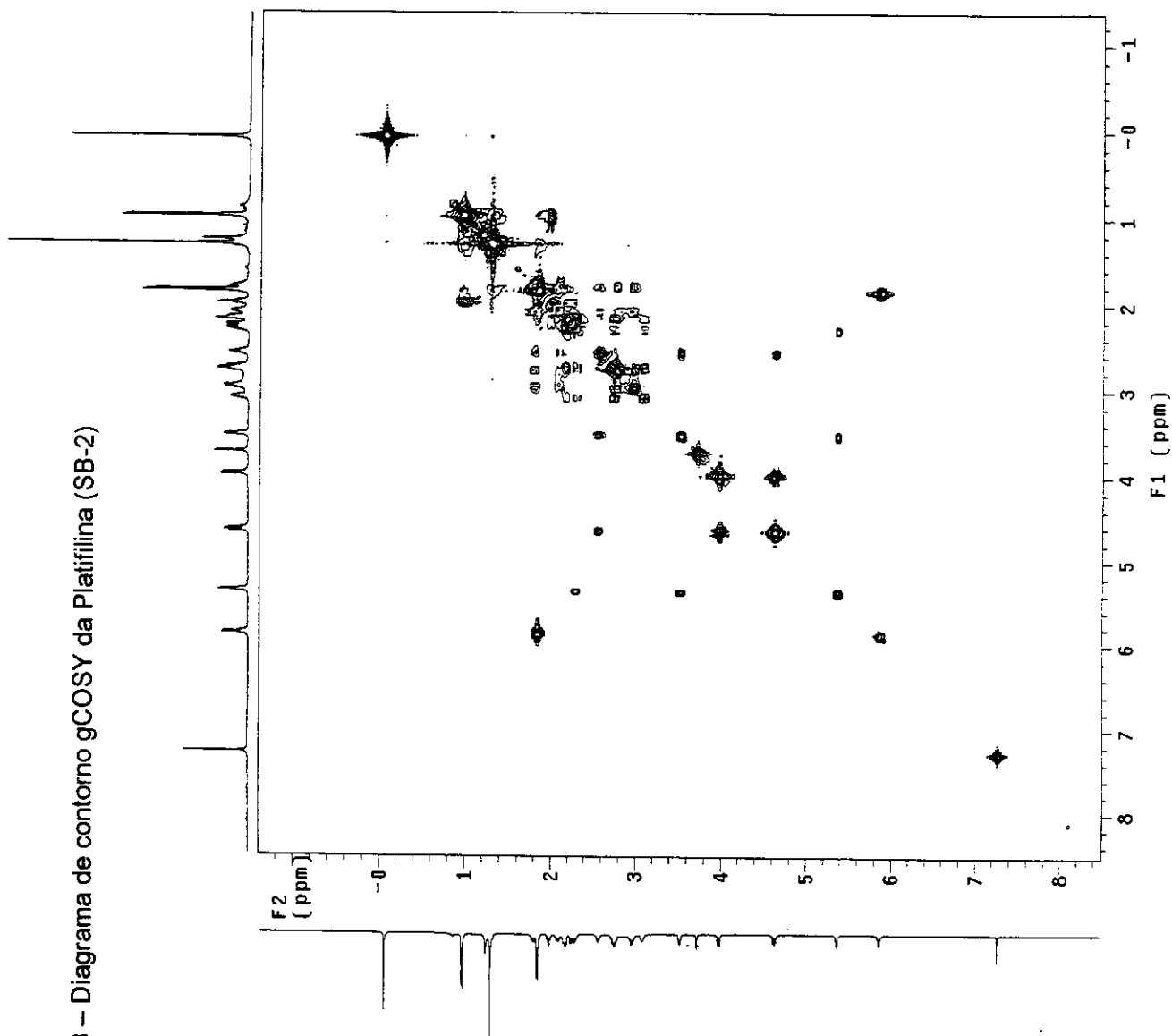
Total time 1 hr, 44 min, 24 sec

E57 – Espectro DEPT da Platifilina (SB-2)



E58 -- Diagrama de contorno gCOSY da Platifilina (SB-2)

Paiva SB-2 cdc13 jun09/jpggCOSY1
 Pulse Sequence: gCOSY
 Solvent: CDCl3
 Ambient temperature
 File: jun09/jpggCOSY1
 INOVA-500 "nmr.sun"
 PULSE_SEQUENCE: gCOSY
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.207 sec
 Width 4941.9 Hz
 2D Width 4941.9 Hz
 8 repetitions
 128 increments
 OBSERVE H1, 499.8827633 MHz
 DATA PROCESSING
 Sg. sine bell 0.104 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.026 sec
 FT size 1024 x 1024
 Total time 21 min, 22 sec



E59 – Diagrama de contorno HSQC da Platifilina (SB-2)

Paiva SB-2 cdcl3 Jun09japHSQC

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: Jun09japHSQC

INOVA-500 "nmrSun"

PULSE SEQUENCE: HSQC

Relax. delay 1.500 sec

Acq. time 0.207 sec

Width 4941.9 Hz

2D width 29851.6 Hz

128 repetitions

2 x 64 increments

OBSERVE H1, 499.882759 MHz

DECOUPLE C13, 125.7092268 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

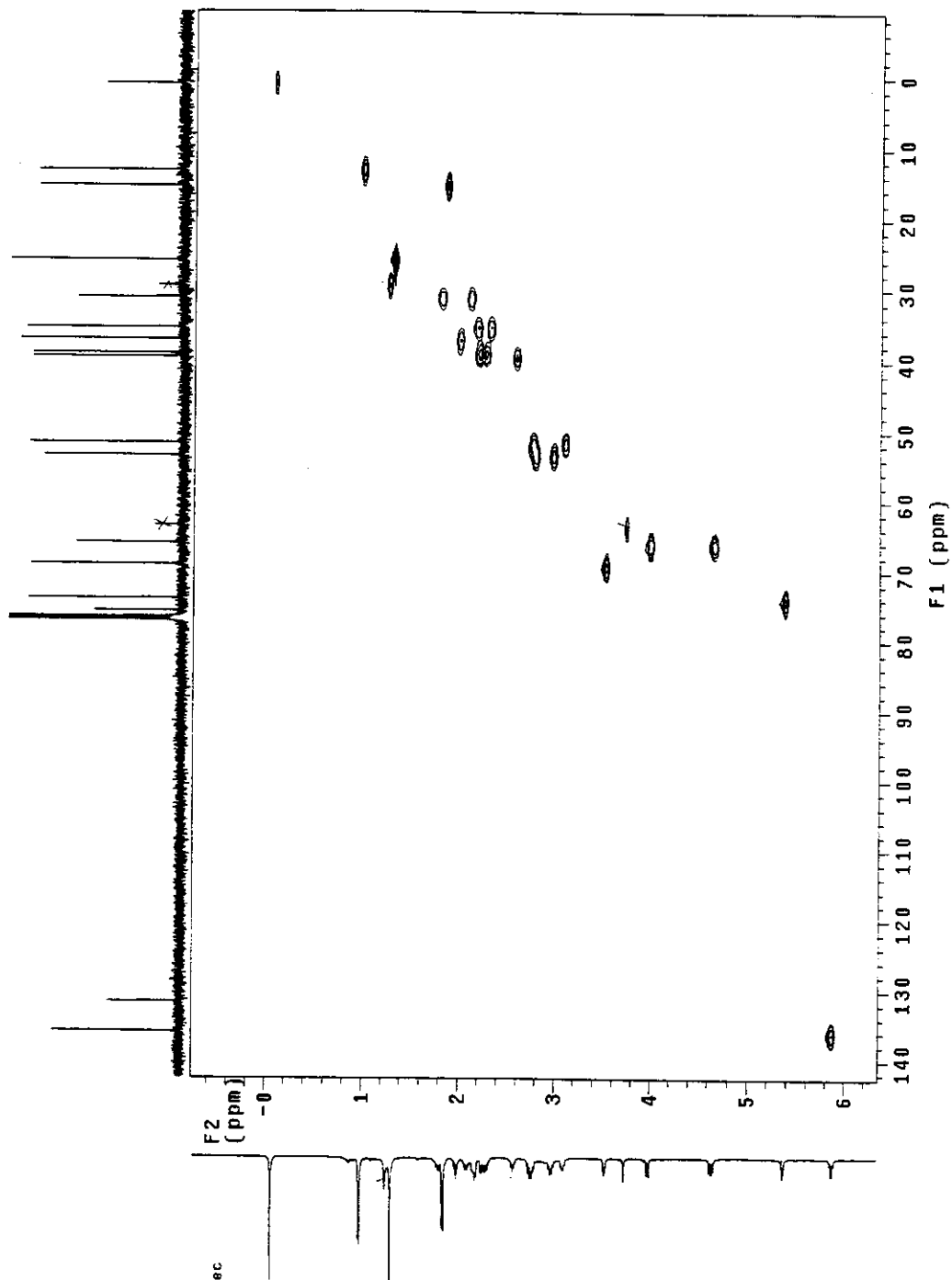
Gauss apodization 0.096 sec

F1 DATA PROCESSING 0.002 sec

Gauss apodization 0.002 sec

FI size 2048 x 512

Total time 7 hr, 58 min, 40 sec



Paiva SB-2 jul24japNOESY1D2

Pulse Sequence: **zgpg30** Espectro NOESY da Platiliina (SB-2): irradiação no hidrogênio H-8.

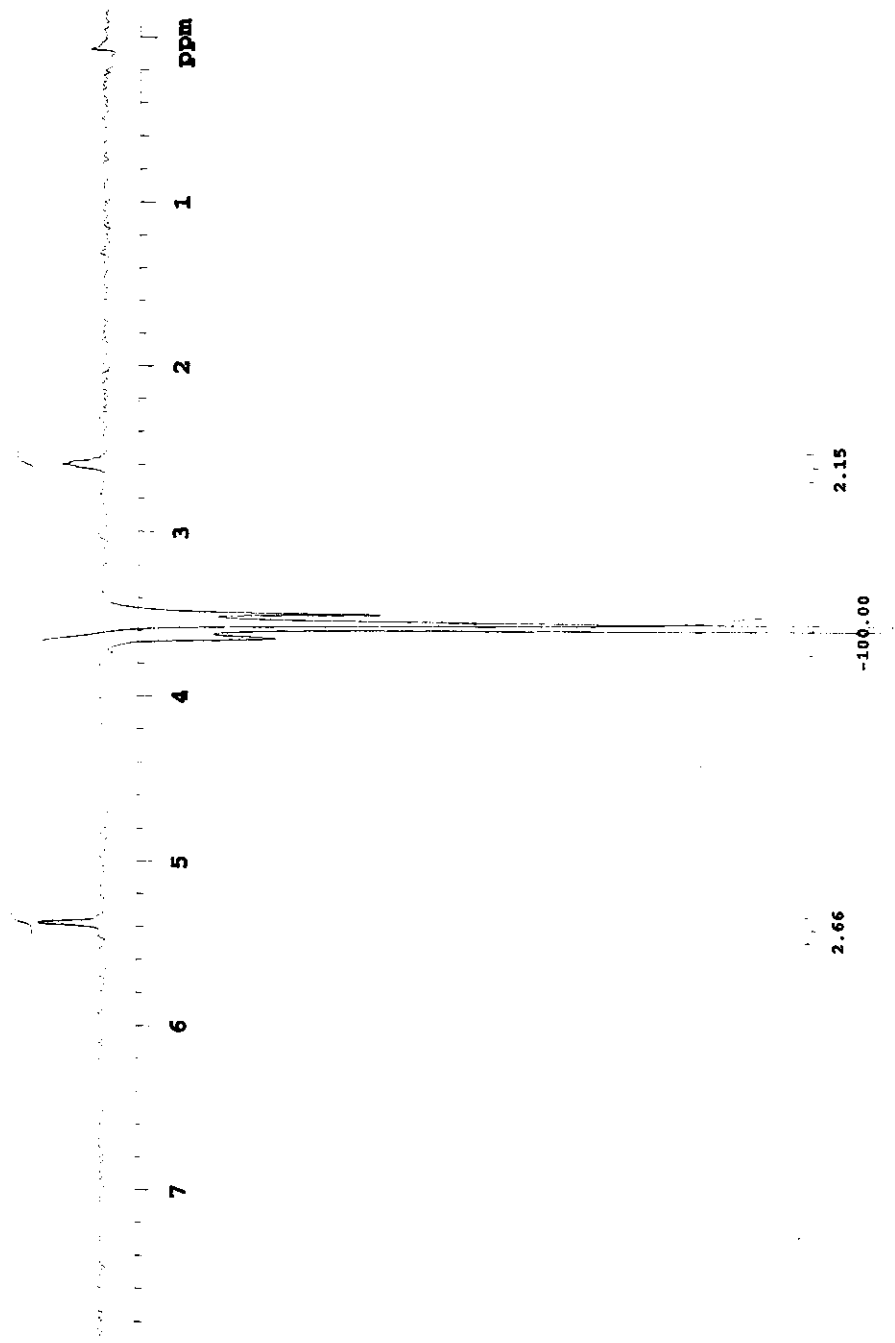
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
File: jul24japNOESY1D2
INOVA-500 "marsun"

PULSE SEQUENCE: NOESY1D
Relax. delay 5.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Mixing 0.500 sec
Acq. time 4.000 sec
Width 8000.0 Hz

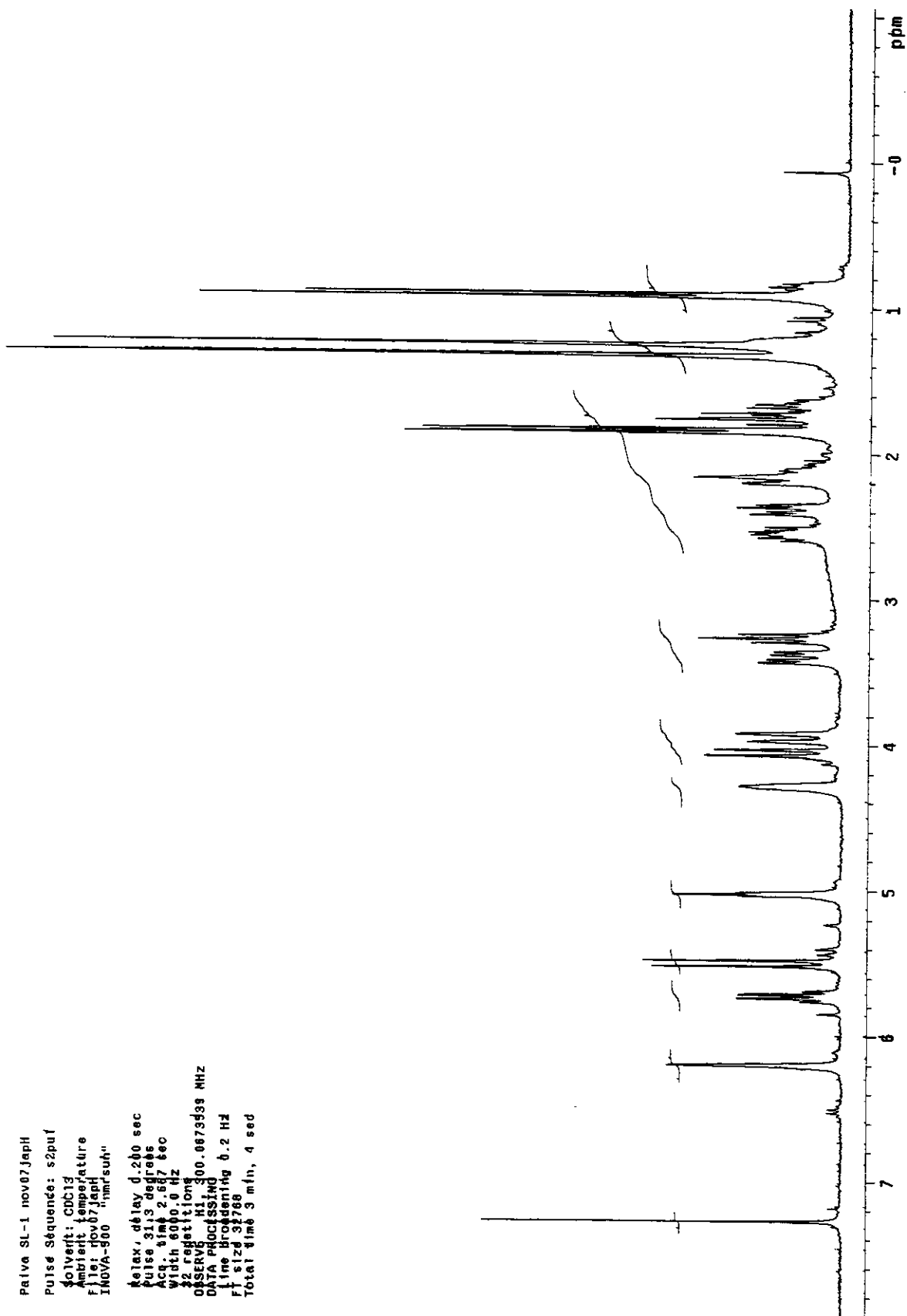
256 repetitions
OBSERVE F1, 499.827564 MHz

DATA PROCESSING

1.0 line broadening 5.0 Hz
size 65536
Total time 1 hr, 22 min, 51 sec



Palva SL-1 nov07.japh
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
File: nov07.japh
INOVA-800 1Hnmr.su4
Relax delay 0.200 sec
Pulse 31.3 degrees
Acq. time 2.697 sec
Width 6000.0 Hz
22 repetitions
OBSERVED H1 300.0873939 MHz
DATA PROCESSED
Line broadening 0.2 Hz
FI size 32768
Total time 3 min, 4 sec



E61 - Espectro de RMN de ¹H da Senecionina (SL-1)

E62 – Espectro de RMN de ^{13}C da Senecionina (SL-1)

Paiva SL-1 nov09JapC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

F1H1: nov09JapC

INOV4-500 "nmrSun"

PULSE SEQUENCE

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 45.4 degrees

Acq. time 0.800 sec

Width 20000.0 Hz

608 repetitions

OBSERVE C13, 75.4519968 MHz

DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz

Power 41 dB

continuously on

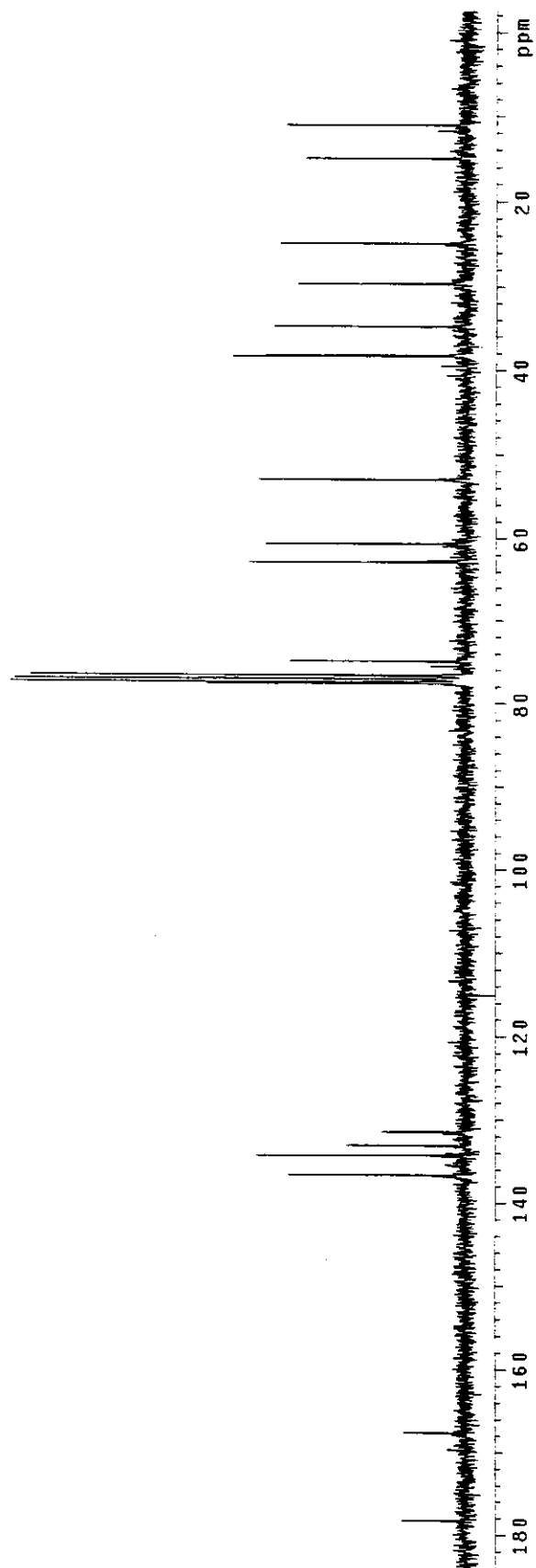
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

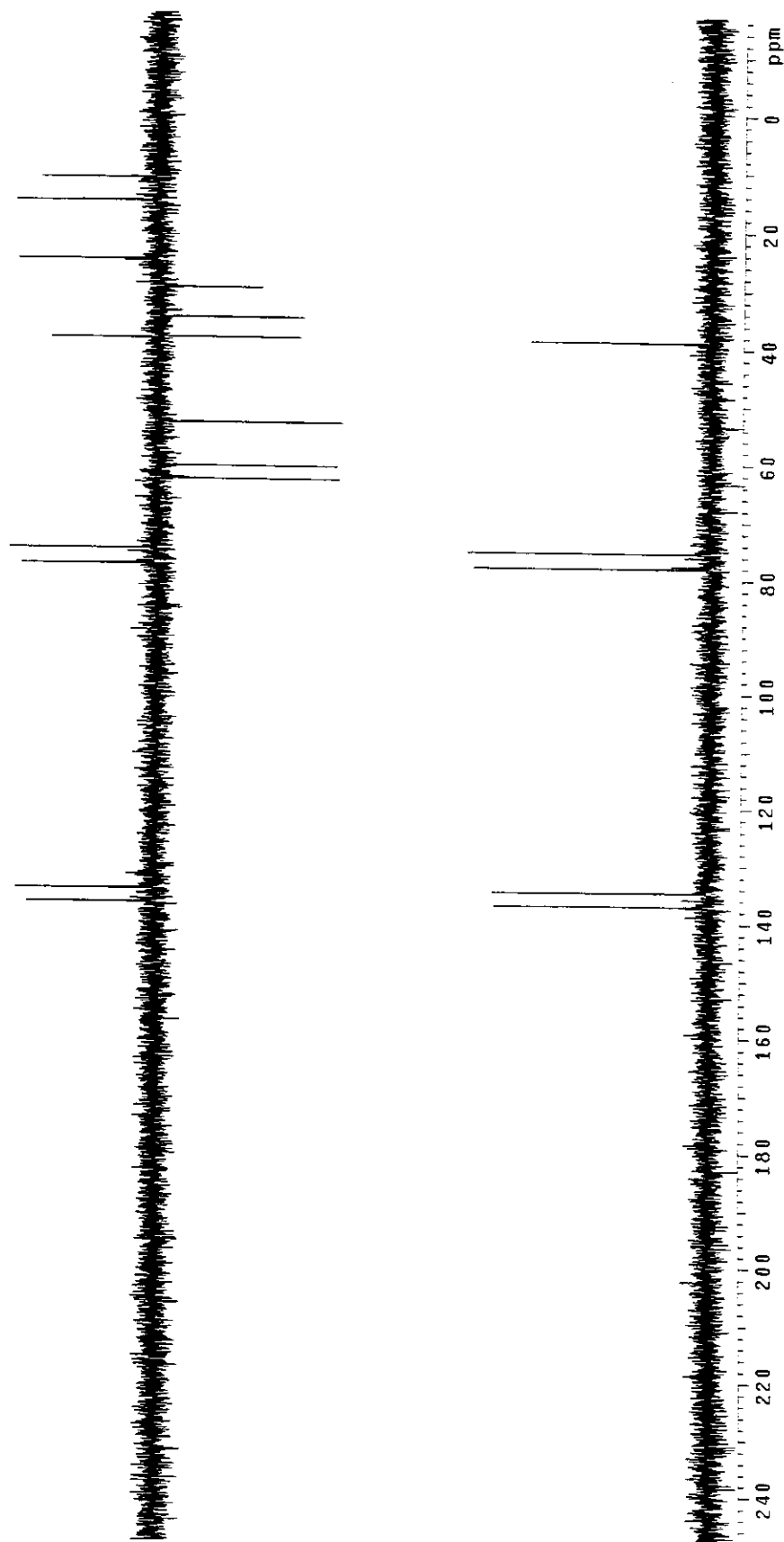
F1 size 32768

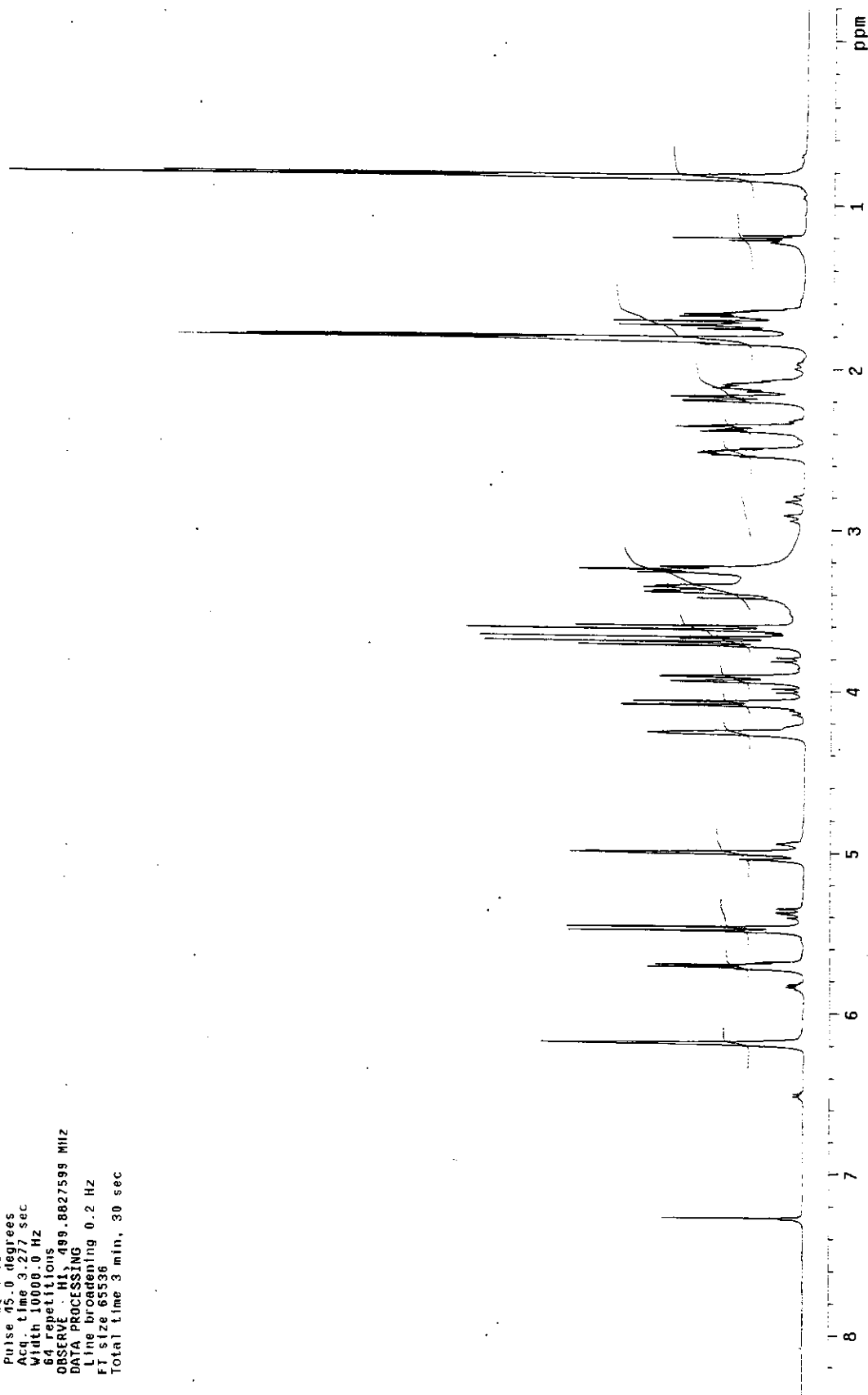
Total time 3 hr, 54 min, 4 sec



E63 -- Espectro DEPT da Senecionina(SL-1)

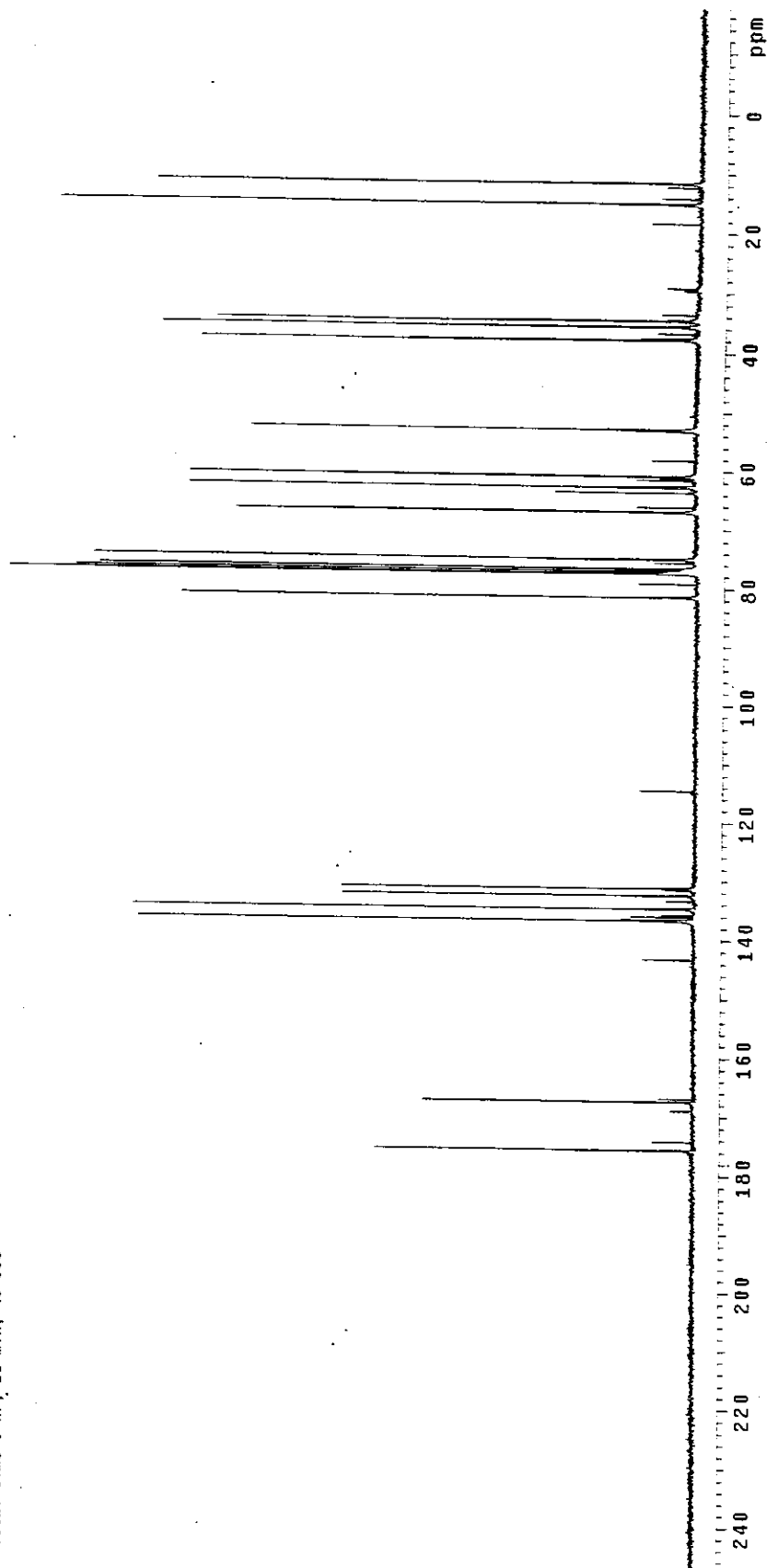
Paiva SL-1 nov09.fapd
Pulse Sequence: dept
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
File: nov09.fapd
INOVA-500 "nmrSun"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 2.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 20000.0 Hz
1248 repetitions
OBSERVE C13, 75.4519635 MHz
DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz
Power 41 dB
on during acquisition
off during delay
WAIT-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 1 hr, 57 min, 48 sec



E64 – Espectro de RMN de ^1H da Retrorsina (SL-2)

E65 – Espectro de RMN de ^{13}C da Retrorsina (SL-2)

Paiva, S1-2, CDC13, set08japC
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDC13
Ambient temperature
File: set08japC
INOVA-500 "nmrSun"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 2.000 sec
Pulse 43.6 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 20000.0 Hz
12000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4520005 MHz
DECOUPLE H1, 300.0668576 MHz
Power 41 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 9 hr, 21 min, 46 sec



Paiva, SI-2, CDC13, set00.jp0

Pulse Sequence: dept

Solvent: cdcl3

Ambient temperature

File: set00.jp0

INNOVA-500 "nmrsum"

PULSE SEQUENCE: dept

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 0.800 sec

Width 20000.0 Hz

4000 repetitions

OBSERVE C13, 75.4520005 MHz

DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz

Power 41 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

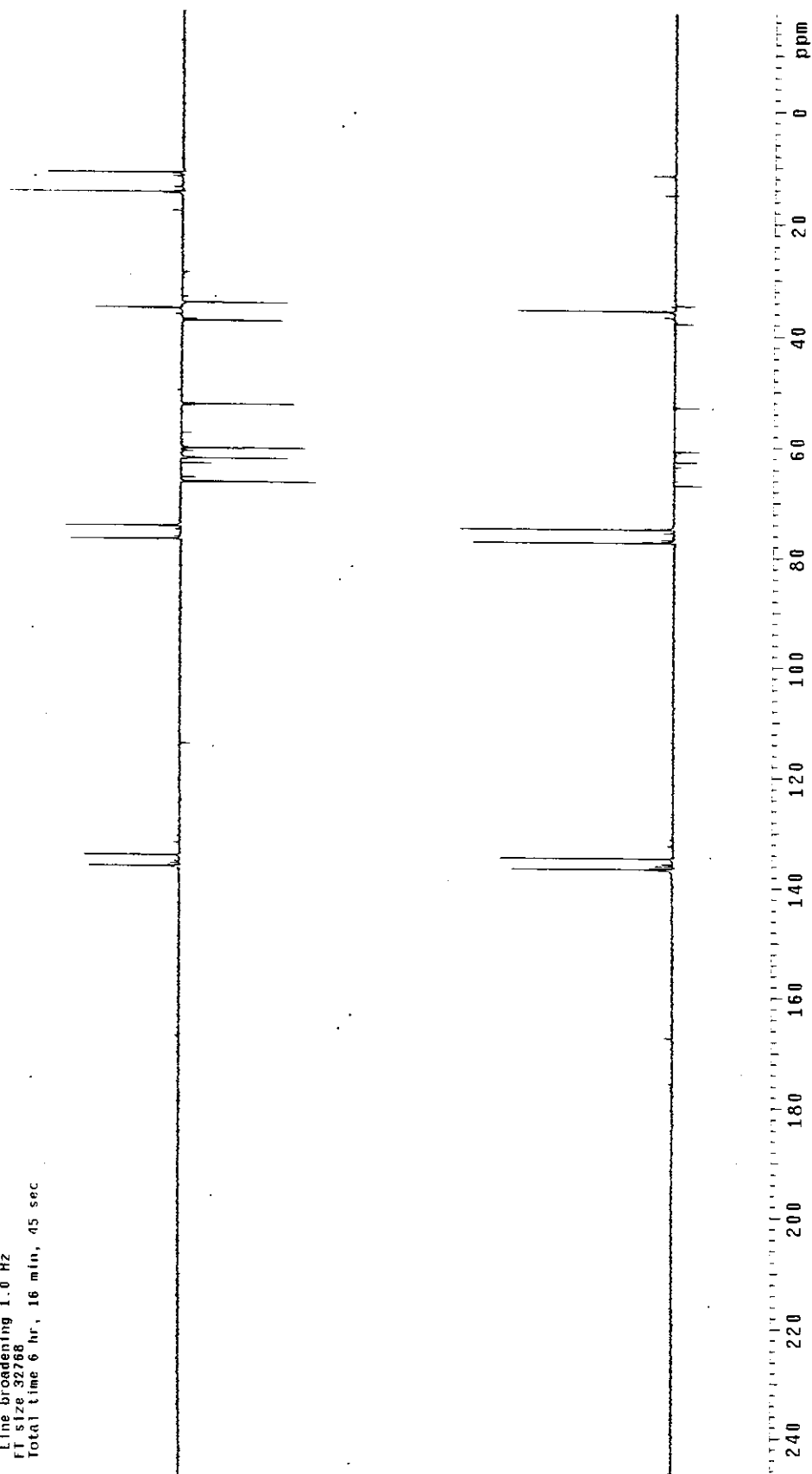
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 32768

Total time 6 hr, 16 min, 45 sec

E66 - Espectro DEPT da Retrorsina (SL-2)



Paiva CP fev20japhl

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl₃

Ambient temperature

File: fev20japhl

INOVA-500 "hmr.sun"

Pulse 29.9 degrees

Acq. time 3.277 sec

Width 10000.0 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8827920 MHz

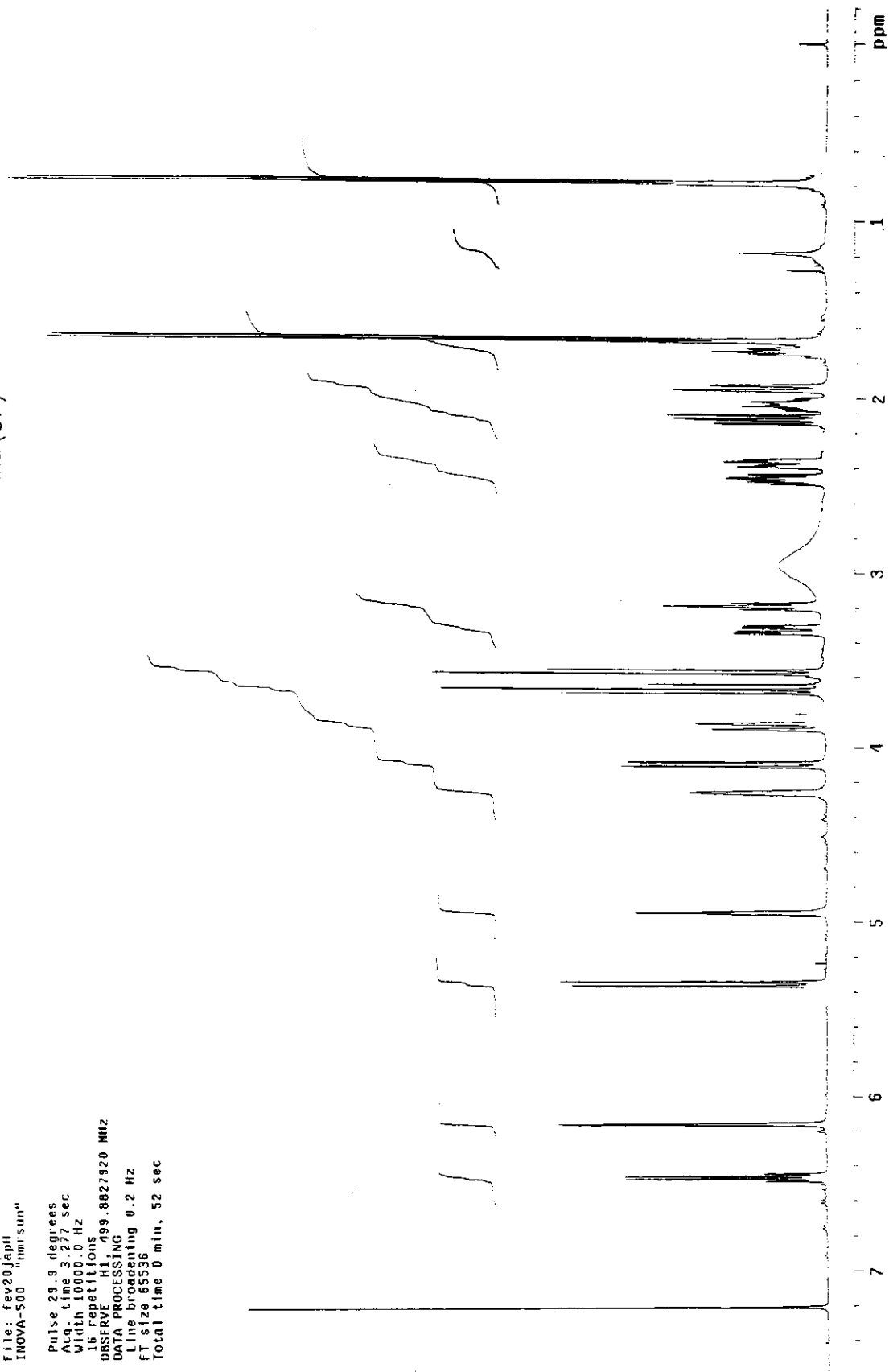
DATA PROCESSING

Line broadening 0.2 Hz

FT size 65536

Total time 0 min, 52 sec

E67 – Espectro de RMN de ¹H da Usaramina (CP)



Palva CP cdc13 fev25japC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDC13

Acq. time 1.024 sec

File: fev25japd

INNOVA-300 "nmrshn"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31308.5 Hz

478 repetitions

OBSERVE C13, 125.6956430 MHz

DECOUPLE H1, 499.8852359 MHz

Power 48 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

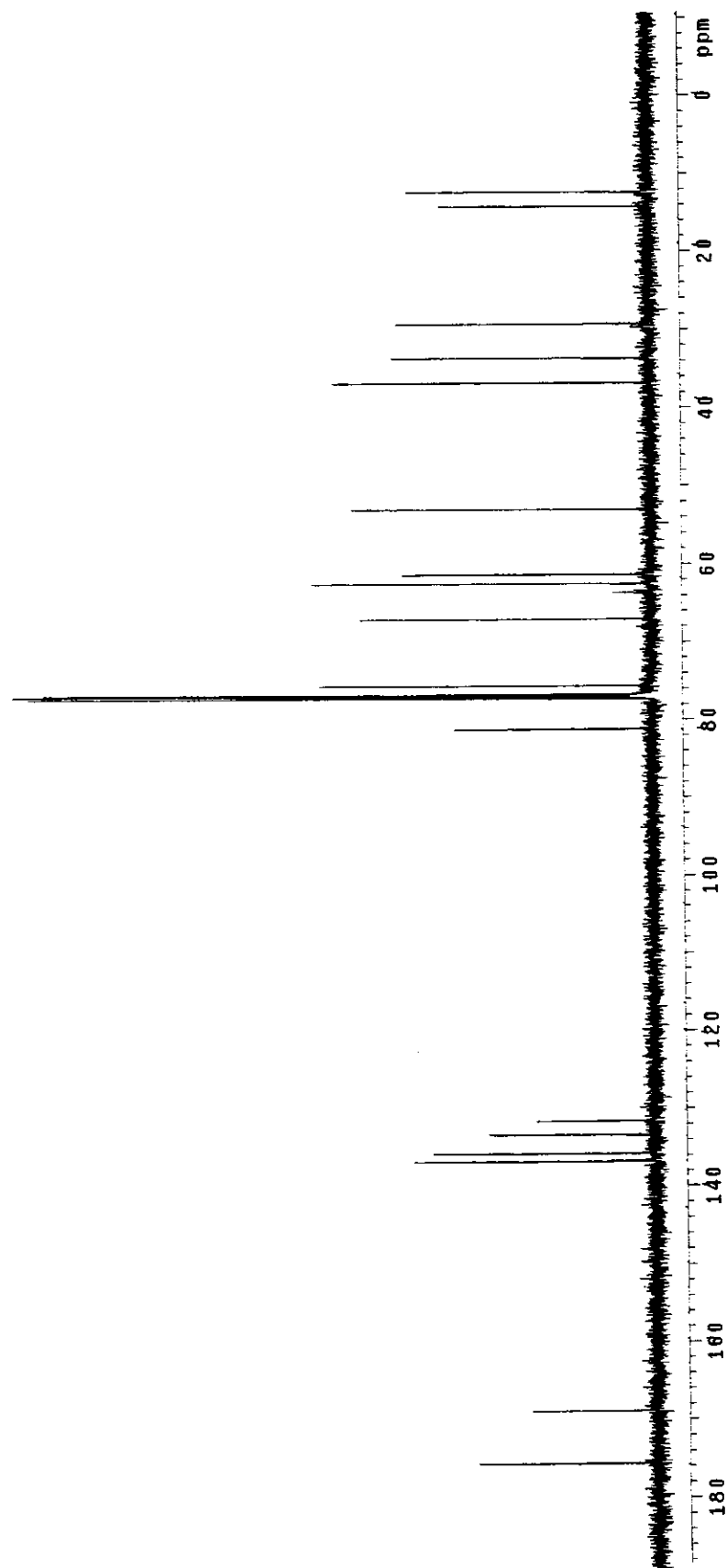
DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 3 hr, 31 min, 6 sec

E68 – Espectro de RMN de ^{13}C da Usaramina (CP)



Patva CP cdc13 fev25japD

Pulse Sequence: dept

Solvent: cdc13

Ambient temperature

File: fev25japD

INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 27781.4 Hz

1248 repetitions

OBSERVE C13, 125.6855881 MHz

DECOUPLE H1, 499.882553 MHz

Power 48 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FI size 85536

Total time 2 hr, 7 min, 10 sec

E69- Espectro DEPT da Usaramina (CP)

