



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ALCALÓIDES CICLOPEPTÍDICOS: DIVERSAS  
ABORDAGENS NO ESTUDO DA ESTEREOQUÍMICA  
BASEADOS NA FRANGANINA**

LEONARDO HENRIQUE DE OLIVEIRA

Florianópolis  
2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**LEONARDO HENRIQUE DE OLIVEIRA**

**ALCALÓIDES CICLOPEPTÍDICOS: DIVERSAS  
ABORDAGENS NO ESTUDO DA ESTEREOQUÍMICA  
BASEADOS NA FRANGANINA**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Química da Universidade  
Federal de Santa Catarina para a obtenção do  
Grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Soriano  
Balparda Caro.

Florianópolis  
2011

LEONARDO HENRIQUE DE OLIVEIRA

**ALCALÓIDES CICLOPEPTÍDICOS: DIVERSAS  
ABORDAGENS NO ESTUDO DA ESTEREOQUÍMICA  
BASEADOS NA FRANGANINA**

Esta Dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do Título de Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 16 de fevereiro de 2011.

---

**Prof., Dr. Almir Spinelli**  
Coordenador do Curso

BANCA EXAMINADORA:

---

**Prof., Dr. Miguel S. B. Caro**  
Orientador

---

**Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> Maria da Graça  
Nascimento**  
(UFSC-SC)

---

**Prof., Dr. Ricardo José Nunes**  
(UFSC-SC)

---

**Prof., Dr. Ademir Farias  
Morel**  
(UFSM-RS)

"De tudo ficaram três coisas: a certeza de que estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo, fazer da queda um passo de dança, do medo, uma escada, do sonho, uma ponte, da procura, um encontro."

Fernando Pessoa

"Aprendamos a sonhar, senhores, e então, pode ser que encontremos a verdade."

Friedrich August Kekulé

*Aos meus pais Adair e Aurora, aos meus irmãos e à minha namorada Leticia.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por minha vida e saúde.

Aos meus pais Adair e Aurora, por sempre acreditarem em mim e estarem presentes nos momentos mais difíceis.

Aos meus irmãos, pelos conselhos e incentivos.

À minha namorada Letícia, pelas conversas, paciência, atenção e ajuda.

Ao Professor Miguel Caro, pela ajuda, conselhos, ensinamentos e amizade.

Ao Professor Ademir Farias Morel, por fornecer os compostos estudados e atenção dedicada.

Aos colegas da Central de Análises Eliane, Angelo, Marcelene e Renato e Dênio pela atenção e ajuda.

À CAPES pela bolsa e ao CNPq suporte financeiro.

À UFSC e aos professores do curso pelo ensino diferenciado e de qualidade.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	v
SUMÁRIO .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	xii
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Alcalóides ciclopeptídicos.....	2
1.2 Elucidação estrutural .....	4
1.3 franganina.....	12
1.4 Efeito do solvente no deslocamento químico .....	14
1.5 Análises por difração de raios-X e NOESY .....	16
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3 METODOLOGIA .....	19
3.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	19
3.2 Dados sobre a franganina .....	20
3.2.1 Franganina .....	20
3.2.2 Franganina em CD <sub>3</sub> OD.....	21
3.2.3 Franganina em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	21
3.3 Análise cristalográfica do sal da franganina.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
4.1 Franganina em CDCl <sub>3</sub> .....	23
4.2 Franganina em CD <sub>3</sub> OD.....	36
4.3 Franganina em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	40
4.4 Análise por difração de raios-X e NOESY: Sal da franganina .....	50
5 CONCLUSÕES.....	55
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutural geral dos alcalóides ciclopeptídicos <i>sensu strictu</i> .....	3
<b>Figura 2.</b> Estrutura do discareno C .....	6
<b>Figura 3.</b> Correlações $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY para scutianina K .....	6
<b>Figura 4.</b> Exemplos de alcalóides ciclopeptídicos Diastereoisoméricos.....	7
<b>Figura 5.</b> Constantes de acoplamento a duas e três ligações, homo- e hereronucleares.....	8
<b>Figura 6.</b> Estimativa da magnitude do valor de ( $J$ ) como função do ângulo diedro $\square$ .....	8
<b>Figura 7.</b> Configurações relativas <i>treo</i> e <i>eritro</i> .....	9
<b>Figura 8.</b> Análise baseada em ( $J$ ): constantes de acoplamento <i>versus</i> arranjos conformacionais e configuracionais em sistemas 1,2- dimetino .....	10
<b>Figura 9.</b> Estrutura e correlações NOESY selecionadas na condalina A.....	11
<b>Figura 10.</b> Estrutura da franganina .....	12
<b>Figura 11.</b> Estrutura da discarina B .....	15
<b>Figura 12.</b> Estrutura da amaiouina.....	16
<b>Figura 13.</b> Estrutura obtida através da difração de raios-X do scutianeno Y com a estereoquímica relativa.....	17
<b>Figura 14.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da franganina. [ $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz].....	23
<b>Figura 15.</b> Espectro de RMN 2D COSY, da franganina [ $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz].....	25

<b>Figura 16.</b> Sistema de spins da franganina .....	26
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da franganina. $[\text{CDCl}_3$ , 100 MHz] .....	28
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN de 2D heteronuclear $^1\text{J}_{\text{C-H}}$ , HSQC, da franganina. $[\text{CDCl}_3]$ .....	29
<b>Figura 19.</b> Espectro expandido de RMN de 2D heteronuclear $^1\text{J}_{\text{C-H}}$ , HSQC, região $\delta$ 5.2 a 2.7 ppm da franganina. $[\text{CDCl}_3]$ .....	30
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN de 2D, NOESY da franganina $[\text{CDCl}_3]$ .....	32
<b>Figura 21.</b> Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região $\delta$ 8.0 a 4.0 ppm da franganina. $[\text{CDCl}_3]$ .....	33
<b>Figura 22.</b> Correlação vicinal de Karplus.....	34
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da franganina. $[\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz] .....	36
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da franganina. $[\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz] .....	37
<b>Figura 25.</b> Espectro de RMN de 2D heteronuclear $^1\text{J}_{\text{C-H}}$ , HSQC, da franganina. $[\text{CD}_3\text{OD}]$ .....	37
<b>Figura 26.</b> Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear $\text{J}_{\text{H-H}}$ , NOESY região $\delta$ 2.46 a 0.62 ppm da Franganina. $[\text{CD}_3\text{OD}]$ .....	38
<b>Figura 27.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da franganina. $[\text{DMSO}$ a 400 MHz].....	40
<b>Figura 28 a.</b> Espectro expandido de RMN de $^1\text{H}$ da franganina em $\text{CDCl}_3$ , região $\delta$ 5,2 a 3,9 ppm. $[400 \text{ MHz}]$ .....	41

<b>Figura 28 b.</b> Espectro expandido de RMN de $^1\text{H}$ da franganina em $\text{DMSO-}d_6$ região $\delta$ 5,9 a 3,7 ppm. [400 MHz].....	41
<b>Figura 29.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da franganina. [DMSO, 100 MHz].....	42
<b>Figura 30.</b> Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear $J_{\text{H-H}}$ , COSY, região $\delta$ 2.4 a 0.4 ppm da franganina. [DMSO].....	43
<b>Figura 31.</b> Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear, NOESY região $\delta$ 5.0 a 0.0 ppm da franganina. [DMSO] .....	45
<b>Figura 32.</b> Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear $J_{\text{H-H}}$ , NOESY região $\delta$ 8.6 a 0.2 ppm da franganina. [DMSO] .....	46
<b>Figura 33.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da franganina. [DMSO + $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz].....	47
<b>Figura 34.</b> Espectro expandido de RMN de 2D heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{C-H}}$ , HMBC, região das carbonilas da franganina. [DMSO + $\text{CD}_3\text{OD}$ ].....	48
<b>Figura 35.</b> Estrutura obtida através da difração de raios-X do sal da franganina após a reação com $\text{CH}_3\text{I}$ com a estereoquímica absoluta.....	51
<b>Figura 36.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do sal de franganina. [ $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz].....	51
<b>Figura 37.</b> Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região $\delta$ 6.1 a 3.0 ppm do sal da franganina. [ $\text{CD}_3\text{OD}$ ].....	52
<b>Figura 38.</b> Espectro expandido de RMN de 2D HSQC, região $\delta$ 82 a 49 ppm do sal de franganina.[ $\text{CD}_3\text{OD}$ ].....	53
<b>Figura 39.</b> Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear $J_{\text{H-H}}$ , NOESY região $\delta$ 8.6 a 0.2 ppm do sal da franganina. [ $\text{CD}_3\text{OD}$ ] .....	54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para franganina.....	13
<b>Tabela 2.</b> Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ Para discarina B em $\text{CDCl}_3$ e $\text{DMSO-}d_6$ .....	15
<b>Tabela 3.</b> Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para franganina em $\text{CDCl}_3$ , a 400 e 100 MHz.....	31
<b>Tabela 4.</b> Dados espectroscópicos de RMN de $^1\text{H}$ da franganina ....	35
<b>Tabela 5.</b> Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para franganina.....	39
<b>Tabela 6.</b> Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para franganina.....	44
<b>Tabela 7.</b> Dados espectroscópicos de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da franganina.....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>COSY</b>	Correlated spectroscopy
<b>HSQC</b>	Heteronuclear single quantum coherence
<b>HMBC</b>	Heteronuclear multiple bond coherence
<b>NOESY</b>	Nuclear overhauser effect spectroscopy
<b>DEPT</b>	Distortionless enhancement by polarization transfer
<b><i>J</i></b>	Constante de acoplamento
<b>Hz</b>	Hertz
<b>ppm</b>	Parte por milhão
<b><math>\delta</math></b>	Deslocamento químico
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio deuterado
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>mg</b>	Miligramas
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>mL</b>	Mililitro
<b>d</b>	Dubleto
<b>dd</b>	Duplo dubleto
<b>m</b>	Multiplete
<b>ddd</b>	Duplo duplo dubleto

**CD<sub>3</sub>OD**      Metanol deuterado

**Å**              Angstrom

## RESUMO

O alcalóide ciclopeptídico franganina foi isolado da *Discaria americana* pertencente à família Rhamnaceae e teve sua estrutura elucidada através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear 1 D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) e 2 D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY). Além disso, a influência das ligações de hidrogênio na conformação do macrociclo foi verificada através do deslocamento químico e constantes de acoplamento em diferentes solventes ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{metanol-}d_4$ ).

Os dados de RMN como os deslocamentos químicos, constantes de acoplamento (ângulo diedro) e correlações bidimensionais permitiram estabelecer relações com a configuração dos centros quirais (estereoquímica dos carbonos C-3 e C-4) e com a conformação da molécula em solução.

Além disso, foi feita a análise por difração de raios-X de um derivado da mesma, e pôde-se determinar a estereoquímica dos centros quirais (C-3 e C-4) do cristal obtido. Outros dados fornecidos dessa análise foram comparados com os de RMN.

**Palavras-chave:** Alcalóides ciclopeptídicos, franganina, RMN, raios-X.

## ABSTRACT

The cyclopeptide alkaloid Franganine was isolated from *Discaria americana* belonging to the family Rhamnaceae and its structure was elucidated by NMR 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) and 2 D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY) techniques. Moreover, the influence of hydrogen bonds in the macrocycle conformation was observed through chemical shifts and coupling constants in different solvents ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ , and methanol- $d_4$ ).

NMR data, such as chemical shifts, coupling constants (dihedral angle) and two-dimensional correlations allowed to establish relations with the configuration of chiral centers (stereochemistry of the C-3 and C-4 carbons) and the conformation of the molecule in solution.

Furthermore, the analysis done by x-ray diffraction and furnished the stereochemistry of the chiral centers (C-3 and C-4) crystal. Other data provided by the use of this analysis were compared with those obtained by NMR data.

**Keywords:** Cyclopeptide alkaloids, Franganine, NMR, X-rays.

# 1 INTRODUÇÃO

O Brasil, que possui a flora mais rica do mundo, é um importante sítio para pesquisa na área da química de produtos naturais. É importante conhecer e avaliar esses compostos que são produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, pois muitos deles são conhecidos por apresentarem benefícios à saúde humana. Baseado nesse interesse e com a descoberta de novos compostos é que a química tem desenvolvido uma série de métodos práticos e confiáveis de isolamento, identificação, quantificação e transformação química.

As etapas envolvidas na análise fitoquímica são definidas de forma geral como: coleta do material vegetal; preparação (estabilização, secagem e moagem); extração; análise fitoquímica preliminar; fracionamento; isolamento e purificação de substâncias e elucidação estrutural (SIMÕES et al., 2002). No presente trabalho, das etapas citadas, a atenção estará voltada para a elucidação estrutural e análise estereoquímica.

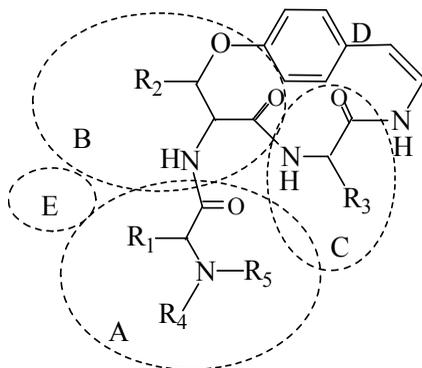
Os primeiros estudos dedicados à elucidação estrutural de substâncias naturais não dispunham das técnicas de análise disponíveis atualmente, que permitem a elucidação mesmo de estruturas complexas, com amostras da ordem de miligramas ou menos (YUNES e CALIXTO, 2001). No campo da elucidação estrutural estão ocorrendo mudanças em relação às estratégias empregadas, como consequência do desenvolvimento de softwares mais avançados e com o uso adequado de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) 1D e 2D (CORDELL, 1995).

A determinação estrutural de uma molécula complexa de um produto natural pode fornecer elementos dessa estrutura, como dados relacionados à estereoquímica, que sejam de importância para a futura utilização desses metabólitos como fármacos ou como protótipos de novos agentes biologicamente ativos. (CECHINEL FILHO e YUNES, 1998).

## 1.1 ALCALÓIDES CICLOPEPTÍDICOS

Alcalóides ciclopeptídicos são bases poliamídicas. Goutarel *et. al* (1964) definiu o termo alcalóide peptídico e Tschesche (1975) propôs o termo alcalóide ciclopeptídico. São definidos como compostos básicos apresentando um anel macrocilo em sua estrutura (sistema *ansa*). Joulie e Nutt (1985) dividiram estes compostos em três grupos: alcalóides ciclopeptídicos genuínos (*strictu sensu*), alcalóides lineares e ciclopeptídeos neutros. Os alcalóides ciclopeptídicos *strictu sensu* e neutros também podem ser classificados de acordo com o número de átomos que fazem parte do macrociclo: treze, catorze e quinze membros. A classe que apresenta catorze membros é a mais representativa.

Os compostos de treze, catorze e quinze membros são posteriormente divididos de acordo com o número de unidades presentes: 4 (apresentando as unidades A, B, C e D) ou 5 (apresentando as unidades A, B, C, D e E).



A = aminoácido terminal básico

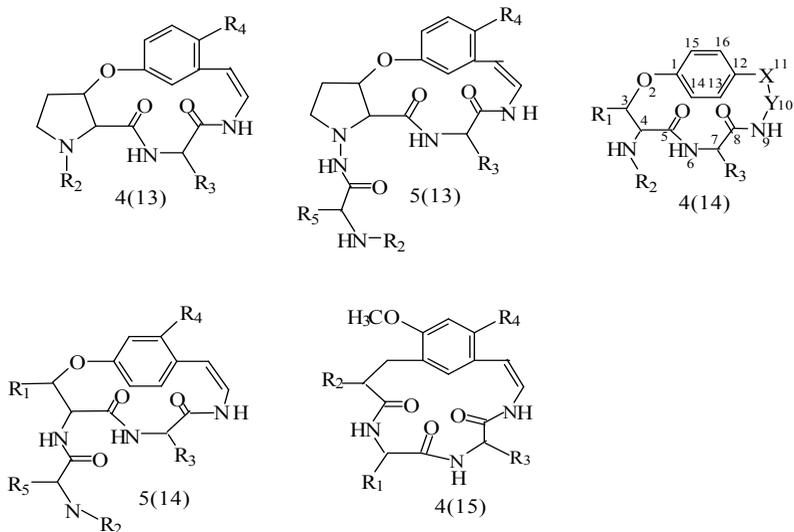
B = β-hidróxi aminoácido

C = aminoácido ligado ao anel

D = unidade hidróxi etirilamina

E = aminoácido adicional

Observando-se a estrutura geral dos alcalóides ciclopeptídicos, verifica-se que são compostos de uma molécula p-(ou m)-hidróxi estililamina derivada da tirosina (unidade D), um aminoácido comum (Phe, Leu, Ile, Trp) como um resíduo aminoácido ligado ao anel (unidade C), uma unidade de um β-hidróxi aminoácido (usualmente 3-hidróxi prolina, 3-hidróxi leucina ou 3-fenilserina) que é conectada ao fragmento de estililamina via uma ponte de éter (unidade B). Ligado ao grupo amino do último componente está a cadeia lateral, usualmente um aminoácido peptidogênico com um *N*-mono metil ou *N,N*-dimetil terminal. Consequentemente, os alcalóides ciclopeptídicos *sensu stricto* podem ser subdivididos da seguinte forma: 4(13), 5(13), 4(14), 5(14) e 4(15) (Figura 1).



X-Y = HC=CH, CH<sub>2</sub>(OH)-CH<sub>2</sub>,  
R1 = alquil ou aril  
R2 = resíduo terminal básico ou neutro  
R3 = aminoácido da cadeia lateral  
R4 = H, OH, ou OCH<sub>3</sub>  
R5 = aminoácido intermediário

**Figura 1.** Estrutural geral dos alcalóides ciclopeptídicos *sensu stricto*.

Os alcalóides ciclopeptídicos são encontrados principalmente em plantas da família Rhamnaceae, além disso, sua ocorrência tem sido confirmada em outras famílias como Asteraceae, Celastraceae, Euphorbiaceae, Menispermaceae, Pandaceae, Rubiaceae, Sterculiaceae e Urticaceae (EL-SEEDI et al., 2007).

São encontrados nas folhas, flores, casca da raiz, tronco de árvore e sementes, mas em baixas concentrações (GOURNELIS et al., 1997). Tal fato justifica aumento das pesquisas relacionadas a síntese nos últimos anos (HE et al., 2007). Muitos alcalóides são isolados no Brasil, Uruguai, Argentina, mas a pesquisa nessa área se estende por todo o mundo.

Os alcalóides ciclopeptídicos apresentam atividades biológicas. As atividades antibacterianas e antifúngicas têm sido reconhecidas (GIACOMELLI et al., 2004; SCHMIDT et al., 1985). Outras atividades, como a sedativa e a antibiótica também já se mostraram presentes (HAN et al., 1989; LEE, et al., 2001; TSCHESCHE; AMMERMANN, 1974).

## 1.2 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), nos últimos tempos, tem desenvolvido técnicas 2D que auxiliam na elucidação estrutural dos alcalóides ciclopeptídicos. Na química de produtos naturais os experimentos mais utilizados são COSY, HSQC, HMBC, NOESY (REYNOLDS; ENRÍQUEZ, 2002). Além das técnicas de RMN, a espectrometria de massas (MS), UV, IR, DC e análises por difração de raios-X e degradação química, são importantes ferramentas para fornecer informações estruturais e conformacionais.

A cromatografia gasosa é também uma técnica muito utilizada para elucidação estrutural desde os primeiros estudos dos alcalóides ciclopeptídicos (SERVIS et al., 1969).

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , principalmente nos primeiros estudos em 1967, foram utilizados para confirmação de estrutura dos alcalóides. Alguns estudos, como no da crenatina A, extraído da *Discaria crenata* (Rhamnaceae), encontrada na flora chilena, apresentou o isolamento e identificação da estrutura, com poucas atribuições de sinais no espectro de hidrogênio (SILVA et al., 1974).

A discarina B foi isolada junto com os alcalóides discarina A, lasiodina A, pandamina e pandaminina e a elucidação estrutural foi feita utilizando apenas dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (PAŠ et al., 1979).

Além do espectro de carbono, a literatura apresenta muitos artigos que utilizaram os espectros de DEPT 135° e 90°, e que permitem diferenciar os CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> presentes nas moléculas, como no estudo da integerrina (EL-SEEDI et al., 1999).

No estudo da discarina D, discarina E, discarina I, discarina F discarina G, discarina H e scutianina G, a espectroscopia de ressonância

magnética nuclear e a espectrometria de massas foram utilizadas para a elucidação da estrutura. Os hidrogênios olefínicos e o grupo *N,N*-dimetil foram identificados pelo  $^1\text{H}$  RMN (DIGEL et al., 1983; HENNIG et al., 1986; HERZOG et al. 1984a, 1984b; MOREL et al., 1984, 1985; TSCHESCHE; HILLEBRAND, 1977).

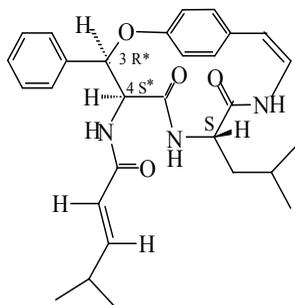
As técnicas avançadas de RMN são ferramentas importantes na determinação de estruturas, como no estudo da scutianina J, presente na *Scutia buxifolia* (Rhamnaceae) e da discarina L presente na *Discaria febrifuga* (Rhamnaceae), onde o espectro de COSY contribuiu na atribuição dos sinais de hidrogênios do macrociclo (MENEZES et al., 1995; MOREL et al., 1995).

Junto com a atribuição dos hidrogênios, carbonos e constantes de acoplamento dos hidrogênios, foram utilizadas as principais conectividades de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  que não estão diretamente ligados, correlação heteronuclear, observada no experimento HMBC. Tal experimento foi utilizado no estudo dos alcalóides ciclopeptídicos isolados da *Zizyphus lotus* (Rhamnaceae) (ABU-ZARGA et al., 1995; GHEDIRA et al., 1993).

No que se refere à elucidação estrutural, uma atribuição de sinais de hidrogênios e carbonos mais completa, possibilita a observação de modificações na estrutura. O composto sanjoinenine, obtido da *Zizyphus vulgaris* var. *spinusus* (Rhamnaceae), apresentou no seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  hidrogênios olefínicos adicionais ao invés do grupo *N,N*-dimetil e no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , carbonos olefínicos protonados, ou seja, mostrou uma alteração na unidade do aminoácido terminal básico, e assim pôde ser classificado como um ciclopeptídeo neutro (HAN et al., 1990).

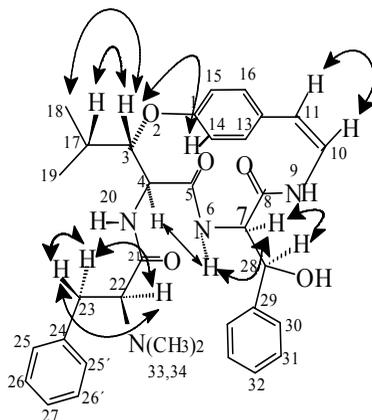
No isolamento de alcalóides ciclopeptídicos da *Scutia buxifolia*, o composto scutianeno C foi isolado, sendo esse um dos primeiros ciclopeptídeos neutros a ser isolado (SIERRA et al., 1974).

Os alcalóides ciclopeptídeos neutros discareno C (Figura 2) e discareno D, foram isolados da *Discaria americana* e a estereoquímica dos aminoácidos foi determinada (GIACOMELLI et al., 2001).



**Figura 2.** Estrutura do discareno C.

No estudo da scutianina K, também isolado da *Scutia buxifolia* (Rhamnaceae) e da waltherina A e B isoladas da *Waltheria douradinha* (Sterculiaceae), as atribuições de sinais dos hidrogênios foram posteriormente confirmadas pelo experimento NOESY (Figura 3), que permitiu observar as interações dipolo-dipolo entre os hidrogênios próximos no espaço. Por exemplo, esse estudo mostrou correlação entre o hidrogênio H-3 com os hidrogênios H-17 e H-18, já com o H-4 esta correlação não foi observada, o que levou a propor que os hidrogênios H-3 e H-4 possuem uma configuração *trans* (Figura 2) (MOREL et al., 1998, 1999).

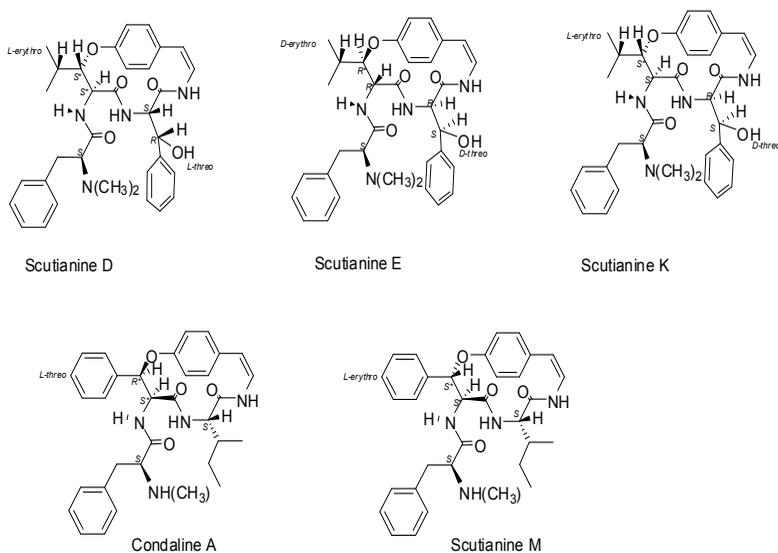


**Figura 3.** Correlações  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY para scutianina K.

Para que a síntese de um metabólito secundário de comprovada atividade biológica seja possível, é necessário conhecimento da

estereoquímica dos centros quirais existentes e da conformação da molécula no espaço.

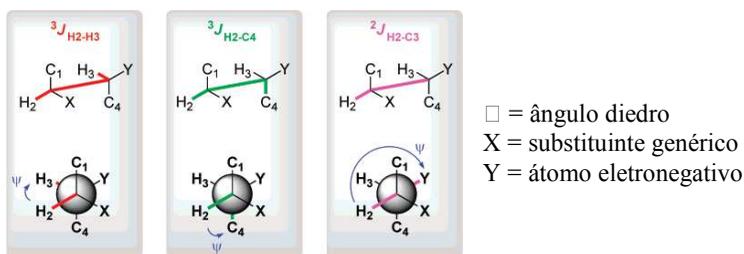
Das informações obtidas dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear, muitas delas são utilizadas para determinar a estereoquímica. Os alcalóides ciclopeptídicos diastereoisoméricos conhecidos como scutianinas D e E, assim nomeados porque foram isolados da *Scutia buxifolia* Reiss (Rhamnaceae), mostraram deslocamentos químicos diferentes para os carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  da  $\beta$ -hidroxileucina, na unidade  $\beta$ -hidróxi aminoácido, tal fato ajudou a sugerir que esses carbonos apresentavam uma estereoquímica diferente e que esses alcalóides eram diastereoisômeros (MOREL et al., 1979). A Figura 4 mostra alguns exemplos de alcalóide ciclopeptídicos diastereoisoméricos.



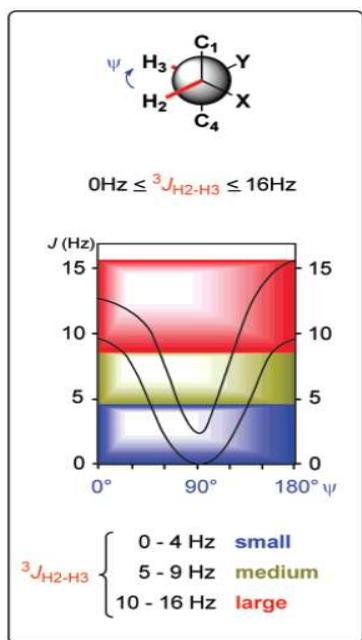
**Figura 4.** Exemplos de alcalóides ciclopeptídicos diastereoisoméricos.

Em estudos mais recentes também se confirmou que os dados espectrais de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  são importantes para estabelecer a configuração relativa e absoluta do  $\beta$ -hidróxi aminoácido.

A constante de acoplamento ( $J$ ), que depende do padrão de substituição do segmento molecular, alcançando de 0 a 16 Hz (Figura 5), fornece no caso de um  ${}^3J_{\text{HH}}$ , informações com relação ao ângulo diedro entre esses hidrogênios que acoplam (KARPLUS, 1959). Esse acoplamento pode ser pequeno, médio ou grande (Figura 6) (BIFULCO et al., 2007).



**Figura 5.** Constantes de acoplamento a duas e três ligações, homo- e hereronucleares.



**Figura 6.** Estimativa da magnitude do valor de ( $J$ ) como função do ângulo diedro  $\psi$ .

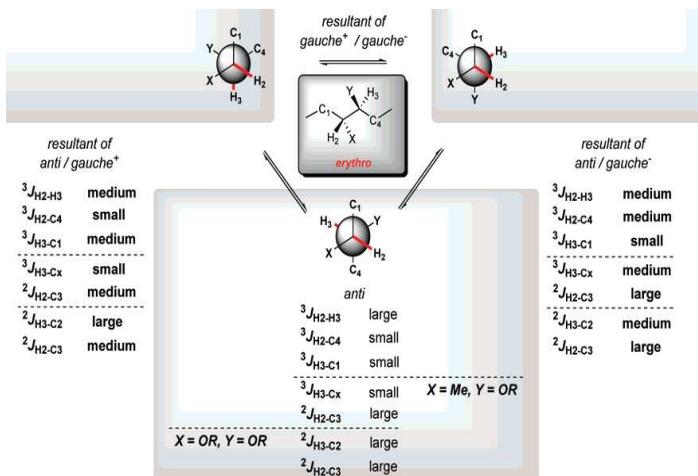
No RMN de  $^1\text{H}$ , a análise configuracional baseada no ( $J$ ), considera duas possíveis configurações relativas (*treo* e *eritro*) (Figura 7).



**Figura 7.** Configurações relativas *treo* e *eritro*.

Desta maneira, os alcalóides que possuem uma constante de acoplamento entre os hidrogênios  $\alpha$  e  $\beta$  (hidrogênios 3 e 4) de 8 Hz, ou seja,  $J_{\alpha\beta} = 8$  Hz, apresentam uma configuração *eritro* na unidade  $\beta$ -hidróxi aminoácido, enquanto os compostos que possuem configuração *treo* possuem um valor de constante de acoplamento de 2 Hz, ou seja,  $J_{\alpha\beta} = 2$  Hz. A espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  também é uma importante ferramenta para elucidação da configuração absoluta do  $\beta$ -hidróxido aminoácido. Para a série *L-eritro* o sinal do carbono alfa é observado em 55.0 ppm enquanto que para a *D-eritro* é observado em 53.8 ppm. Uma diferença maior no deslocamento químico é também verificada no carbono beta, na série *L-eritro* o sinal aparece em 81.5 ppm enquanto para configuração *D-eritro* aparece em campo mais baixo em 87 ppm (MOREL et al., 2009).

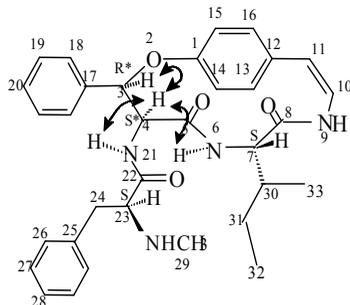
O valor da constante de acoplamento também permite uma análise conformacional, ou seja, para a configuração *eritro*, por exemplo, existe, para compostos flexíveis, dependendo da conformação (*anti*, *gauche+* e *gauche-*), a possibilidade de diferentes valores de ( $J$ ) (pequeno, médio, grande), sendo o valor médio para  $^3J_{\text{H}_2\text{-H}_3}$ , possível quando um equilíbrio resultante de duas conformações *anti/gauche+* ou *anti/gauche-* (Figura 8) (BIFULCO et al., 2007). Para alcalóides ciclopeptídicos o acoplamento  $^3J_{\text{H}_2\text{-H}_3}$  é correspondente ao presente entre os hidrogênios H-3 e H-4, ou seja,  $^3J_{\text{H}_3\text{-H}_4}$ .



**Figura 8.** Análise baseada em ( $J$ ): constantes de acoplamento *versus* arranjos conformacionais e configuracionais em sistemas 1,2- dimetino.

Os espectros de RMN 2D, como citado anteriormente, foram utilizados em muitos estudos para atribuição de sinais, mas também são ferramentas que ajudam a revelar a estereoquímica dos alcalóides ciclopeptídicos. Muitos estudos associam a cromatografia gasosa em fase quiral com o NOESY (MOREL et al., 1999).

A condalina A (Figura 9), isolada da *Condalia buxifolia* Reissek, pertencente a família Rhamnaceae, teve a estereoquímica absoluta do aminoácido ligado ao anel isoleucina (unidade C) e da cadeia lateral *N*-metil fenilalanina (aminoácido terminal) determinada por cromatografia gasosa em fase quiral após hidrólise. Porém, a unidade  $\beta$ -fenilserina (unidade B), não encontrada no alcalóide hidrolisado, teve sua estereoquímica relativa determinada por interações observadas no NOESY e a configuração relativa dos carbonos 3 e 4 foi determinada (3R\*/4S\*) (MOREL et al., 2002).

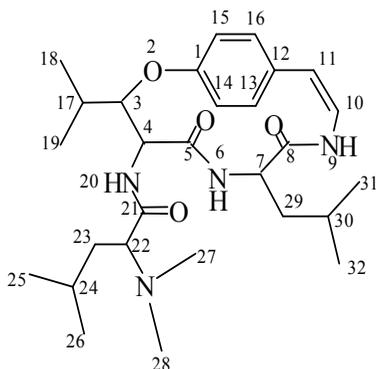


**Figura 9.** Estrutura e correlações NOESY selecionadas na condalina A.

Os dados de rotação ótica também são bastante utilizados para determinação da estereoquímica e posteriormente na verificação da atividade biológica. No estudo da scutianina M, além dos dados de RMN, a informação sobre a rotação ótica contribuiu para a sugestão de que esse composto é um estereoisômero da condalina A, apresentando configuração oposta no C-3. (MOREL et al., 2005).

### 1.3 FRANGANINA

O alcalóide ciclopeptídico franganina (Figura 10), tem sido isolado de *Rhammus frangula*; *Discaria febrifuga*; *Discaria americana*; *Zizyphus jujuba* var. *inermis* e *Zzyphus spinachristi* gêneros pertencentes à família Rhamnaceae, de *Euonymus europaeus* pertencente a família Celastraceae e de *Melochia corchorifolia* pertencente a família Sterculiaceae, apresentando a seguinte estrutura:



**Figura 10.** Estrutura da franganina.

A franganina tem um anel macrocilo com 14 membros na sua estrutura e 4 unidades constituem o composto, ou seja, é classificada como um alcalóide ciclopeptídico 4(14). Foi isolada em 1968 junto com outro alcalóide ciclopeptídico, a frangulanina, e a elucidção estrutural foi feita com base principalmente no espectro de massas e com poucos dados de RMN de hidrogênio (TSCHESCHE; LAST, 1968).

Em 1987, para elucidar a estrutura foram utilizados dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  mais completos, e que estão presentes na Tabela 1 a seguir (VOELTER et al., 1987).

**Tabela 1** – Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para franganina.

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm);	$J$ (Hz)	$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)
1			156,07
3	4,99	$J_{3,4}= 7,2$ ; $J_{3,17}= 1,5$	81,84
4	4,46	$J_{4,3}= 7,2$ ; $J_{4,20}= 9,9$	52,13
5			171,79
6	5,80	$J_{6,7}= 7,5$	
7	4,07	$J_{7,6}= 7,5$ ; $J_{7,29}= 3,6$ ; $J_{7,29'}= 11,1$	52,65
8			167,64
9	6,48	$J_{9,10}= 9,9$	
10	6,66	$J_{10,11}= 7,5$ ; $J_{10,9}=9,9$	125,83
11	6,35	$J_{11,10}= 7,5$	123,18
12			131,97
13	7,11		131,79
14	7,03		115,69
15	7,05		122,88
16	7,19		130,30
17	1,93		29,35
18	1,28	$J_{18,17}= 6,5$	20,41
19	0,97	$J_{19,17}= 6,5$	15,03
20	7,82	$J_{20,4}= 9,9$	
21			173,87
22	2,81	$J_{22,23}= 4,9$ ; $J_{22,23'}= 7,8$	66,28
23	1,34		34,59
23'	1,60	$J_{23',22}= 7,8$ ; $J_{23',24}= 5,7$ ; $J_{23',23}= 13,5$	
24	1,34		24,48
25	0,71	$J_{25,24}= 6,4$	20,77
26	0,81	$J_{26,24}= 6,4$	23,20
27,28	2,22		41,82
29	1,74		39,48
29'	1,34		
30	1,74		26,33
31	0,95	$J_{31,30}= 6,5$	22,97
32	0,89	$J_{32,30}= 6,5$	22,05

em  $\text{CDCl}_3$ , a 300 e 75 MHz.

O alcalóide ciclopeptídico franganina, também teve a estereoquímica do *N,N*-dimetil aminoácido e do  $\alpha$ -aminoácido determinada por cromatografia gasosa em fase quiral (SILVA et al., 1996).

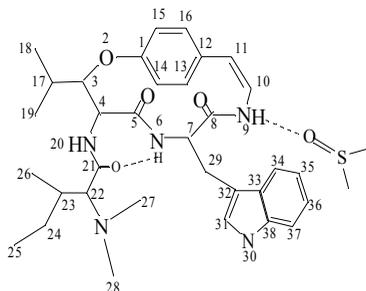
Em 2005, a franganina foi novamente isolada e a atribuição de RMN feita de acordo com VOELTER et al., 1987 (Tabela 3), acrescida de uma correlação bidimensional COSY (GIACOMELLI, 2005).

#### 1.4 EFEITO DO SOLVENTE NO DESLOCAMENTO QUÍMICO

A Ressonância Magnética Nuclear utilizada para elucidação estrutural depende de alguns fatores que se não forem observados com cuidado podem prejudicar a atribuição dos sinais nos espectros de 1D e 2D. O descolamento químico de hidrogênios ligados diretamente a oxigênio, nitrogênio ou enxofre, por exemplo, dependem da concentração, da temperatura e do solvente deuterado utilizado. A formação de ligações de hidrogênio diminui a densidade eletrônica ao redor destes hidrogênios e, desta maneira, provoca a desblindagem dos mesmos. O uso de solventes apolares diminui a formação da ligação hidrogênio (SILVERSTEIN et al., 2007).

O solvente aprótico deuterado DMSO- $d_6$  desfavorece a formação de ligações hidrogênio intramoleculares (KO et al., 2005).

Desta forma, é explicada as diferenças observadas entre os espectros de RMN obtidos em DMSO- $d_6$  daqueles feitos com o solvente clorofórmio deuterado  $CDCl_3$  principalmente nos hidrogênios ligados ao nitrogênio de amida como NH-6 NH-9 e NH-20 (HASLINGER, 1978) . Tal fato é apresentado na Tabela 2 para o alcalóide ciclopeptídico discarina B (Figura 11) (GIACOMELLI, 2005, MACHADO et al., 1993, 1995).



**Figura 11.** Estrutura da discarina B.

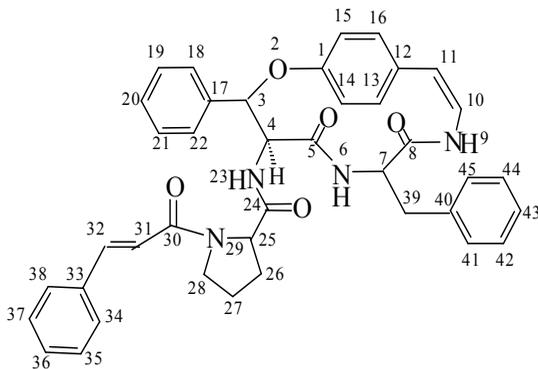
**Tabela 2.** Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para discarina B em  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{DMSO-}d_6$ .

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm)		$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)	
	$\text{CDCl}_3$	$\text{DMSO-}d_6$	$\text{CDCl}_3$	$\text{DMSO-}d_6$
1			156,3	156,0
3	4,91 dd	4,90 dd	81,6	81,4
4	4,44 dd	4,52 dd	55,7	54,2
5			171,3	171,0
<b>6</b>	<b>5,96 d</b>	<b>6,50 d</b>		
7	4,26 m	4,20 m	54,3	53,0
8			167,5	167,6
<b>9</b>	<b>6,13 d</b>	<b>6,85 d</b>		
10	6,48	6,20 dd	125,6	124,7
11	6,29 d	6,40 d	114,0	122,9
17	1,99 m	2,10 m	29,1	27,3
18	1,23 d	1,25 d	20,1	21,3
19	0,98 d	1,05 d	14,9	13,9
<b>20</b>	<b>7,07</b>	<b>7,80 d</b>		
21			172,2	171,3
22	2,44 d	2,63	74,0	71,5

## 1.5 ANÁLISES POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X E NOESY

No estudo dos alcalóides ciclopeptídicos, a cristalografia de raios-X, tem se mostrado importante para confirmação de estruturas e para determinar a configuração relativa e/ou absoluta dos aminoácidos componentes. Porém, nem sempre é fácil preparar derivados adequados para formação de cristais (ARBAIN; TAYLOR, 1993).

No alcalóide ciclopeptídico amaiouina (Figura 12), os cristais adequados para análise de raios-X foram obtidos por recristalização do composto em acetato de etila. Nesse estudo confirmou-se, por exemplo, a configuração *trans* entre H-3 e H-4 (3S\*/4S\*) e a configuração do H-7 (7S\*). No mesmo estudo, a análise por NOESY revelou que existem correlações entre H-3 e H-4, ou seja, espacialmente esses hidrogênios estão próximos, apesar de estarem posicionados de forma oposta (OLIVEIRA et al., 2009).



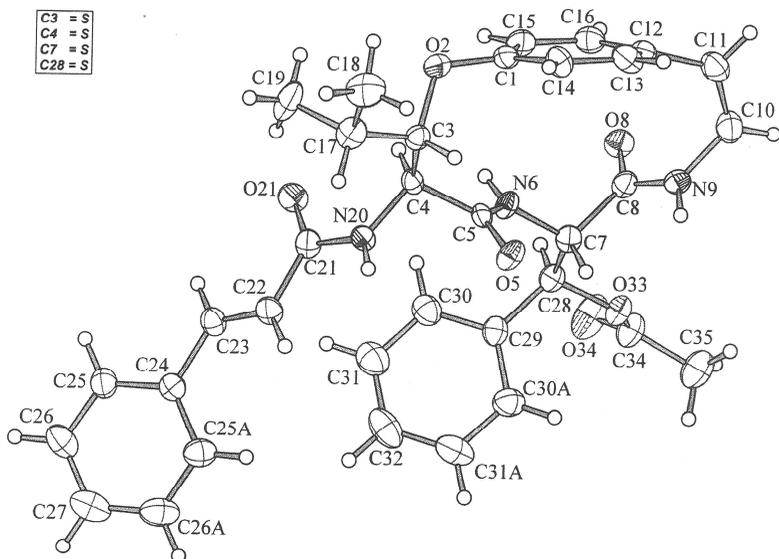
**Figura 12.** Estrutura da amaiouina.

Para a obtenção de cristais adequados para a análise de raios-X o composto scutianeno Y teve sua estrutura modificada, foi acetilado e a estrutura elucidada com o uso de técnicas de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) e 2D (COSY, HMQC e HMBC), foram feitos espectros de RMN 2D NOESY (MALDANER, 2010).

Além da elucidação estrutural com as técnicas de RMN, foi feita a análise por difração de raios-X do composto neutro acetilado.

Os dados de RMN indicaram que para o scutianeno Y, a molécula da  $\beta$ -hidroxileucina apresenta a forma *eritro*. O valor da constante de acoplamento foi de 8.0 Hz. Outra informação importante é que se H-3 e H-4 apresentaram correlação NOESY.

Da estrutura obtida pela análise por difração de raios-X (Figura 13), confirmou-se a configuração *trans* e a determinação da estereoquímica dos carbonos quirais C-3 e C-4 foram possíveis.



**Figura 13.** Estrutura obtida através da difração de raios-X do scutianeno Y com a estereoquímica relativa.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Análise comparativa de diferentes métodos de determinação da estereoquímica absoluta e relativa usando como modelo o Alcalóide Ciclopeptídico franganina.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Fazer uma revisão bibliográfica para reunir os dados de alguns compostos já reportador na literatura.
- 2) Utilizar a espectroscopia de ressonância magnética nuclear para elucidar as estruturas de alcalóides ciclopeptídicos e o efeito dos solventes clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO-}d_6$ ) e metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ).
- 3) Com o uso das técnicas de RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY), obter informações estruturais e conformacionais dos compostos fornecidos.
- 4) Analisar comparativamente dos dados obtidos por análise de difração de raios-X com os obtidos nos espectros de NOESY e constantes de acoplamento  $^3J_{\text{H-H}}$ .

### 3 METODOLOGIA

Os alcalóides ciclopeptídicos foram estudados através da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. Os dados dos compostos já citados na literatura como em artigos, teses e dissertações serviram como auxiliares no processo de elucidação estrutural e foram complementados com dados novos e importantes.

#### 3.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Os alcalóides ciclopeptídicos foram isolados e cedidos pela equipe de pesquisa do Professor Ademir Farias Morel, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Santa Maria.

Os espectros foram realizados no espectrômetro de RMN Varian Mercury Plus AS-400, no Departamento de Química, na Universidade Federal de Santa Catarina. As frequências de observação para os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram de 400,1 MHz e 100,32 MHz respectivamente. As amostras estudadas foram preparadas em solução de clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO}-d_6$ ) e metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Na preparação das amostras, utilizou-se quantidade entre 7-18 mg em 0,7 mL do solvente deuterado em tubos de 5 mm de diâmetro. Os deslocamentos químicos foram registrados em “ppm” (partes por milhão) e as constantes de acoplamentos ( $J$ ) calculadas em Hertz (Hz). Para calibração dos espectros utilizou-se como referência interna o TMS 0,01 % v/v ( $\delta$  0,00) para os espectros de hidrogênio e para calibração dos espectros de  $^{13}\text{C}$   $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  77,00) e  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\delta$  39,50) e  $\text{CD}_3\text{OD}$  ( $\delta$  49,05). Os espectros de 1D e 2D foram processados com o software VNMR 6.1 C.

Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz: Com 32 scans, pulso de observação de 45 graus e tempo entre pulsos de 1s. Os interferogramas foram obtidos com 32 K de memória de transformadas com um fator de largura de linha de 0,1 Hz.

Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz: Com 5000 scans, pulso de observação de 45 graus e tempo entre pulsos de 2 s. Os interferogramas foram obtidos com 65 K de memória de transformadas com um fator de largura de linha de 1 Hz.

Medidas de COSY a 400 MHz: nas condições experimentais de 2 scans, DS = 4, SW = 10 ppm, número de experimentos = 512, LB = 0 Hz em F1 e F2, SI = 2 k.

Medidas de HSQC a 400 MHz: nas condições experimentais de 32 scans, DS = 16, SW 1H = 10 ppm, SW <sup>13</sup>C = 160 ppm, número de experimentos = 512, LB = 0 Hz em F1 e F2, SI = 2 k.

Medidas de HMBC: nas condições experimentais de 32 scans, DS= 16, SW 1H = 10 ppm, SW 13C = 240 ppm, número de experimentos = 512, LB = 0 Hz em F1 e F2, SI 1H = 1k, SI 13C = 2k.

Medidas de NOESY a 400 MHz: nas condições experimentais de 16 scans, DS = 16, SW = 10 ppm, número de experimentos = 256, LB = 0 Hz em F1 e F2, SI = 2 k, tempo de mistura = 0.2 s.

### 3.2 Dados sobre a franganina

3.2.1. franganina: sólido branco; Pf: 248.1-248.9 °C (Lit.248 °C);

[α] = -182° (c 0,057, HCCl<sub>3</sub>); isolada da *Discaria americana*, coletada em Santana do Livramento/RS RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>: δ 5,05 (1H, dd, J = 7,2, 2,0 Hz, H-3), 4,51 (1H, dd, J = 10,0, 7,2 Hz, H-4), 5,91 (1H, d, J = 7,6 Hz, NH-6), 4,12 (1H, ddd, J = 7,6, 7,6, 4,0 Hz, H-7), 6,51 (1H, d, J = 10,8 Hz, NH-9), 6,73 (1H, dd, J = 9,6, 8,4 Hz, H-10), 6,42 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-11), 7,12 (1H, H-13), 7,25 (1H, H-14), 7,18 (1H, H-15), 7,10 (1H, H-16), 1,98 (1H, d, J = 6,4 Hz, H-17), 1,32 (3H, d, J = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>-18), 1,03 (3H, d, J = 6,4 Hz, CH<sub>3</sub>-19), 7,93 (1H, d, J = 10,0 Hz, NH-20), 2,87 (1H, dd, J = 7,6, 5,2 Hz, H-22), 1,66/1,38 (2H, m, CH<sub>2</sub>-23, 23'), 1,82 (1H, m, H-24), 1,01 (3H, d, J = 6,4 Hz, CH<sub>3</sub>-25), 0,94 (3H, d, J = 6,8, CH<sub>3</sub>-26), 2,22 (6 H, s, N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> -27,28), 1,79/1,38 (2H, m, CH<sub>2</sub>-29,29'), 1,30 (1H, m, H-30), 0,87 (3H, d, J = 6,4 Hz, CH<sub>3</sub>-31), 0,76 (3H, d, J = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>-32); RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>: δ 156,21 (C-1), 81,94 (C-3), 55,25 (C-4), 172,01 (C-5), 52,80 (C-7), 167,82 (C-8), 125,90 (C-10), 115,98 (C-11), 132,15 (C-12), 131,99 (C-13), 123,10 (C-14), 123,37 (C-15), 130,50 (C-16), 29,52 (C-17), 20,60 (C-18), 15,19 (C-19), 174,11 (C-21), 66,27 (C-22), 34,54 (C-23), 26,53 (C-24), 23,18 (C-25), 22,22 (C-26), 41,97 (2C-27,28), 39,49 (C-29), 24,62 (C-30), 23,44 (C-31), 20,85 (C-32).

3.2.2 franganina em CD<sub>3</sub>OD (RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 4,88 (1 H, H-3), 4,45 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H-4), 4,08 (1H, dd, *J* = 8,0, 4,0 Hz, H-7), 6,71 (1H, d, *J* = 7,6 Hz, H-10), 6,20 (1H, d, *J* = 7,6 Hz, H-11), 6,97 (1H, H-13), 7,00 (3H, H-14, H-15, H-16), 2,16, (1H, H-17), 1,19 (3H, d, *J* = 6,4 Hz, CH<sub>3</sub>-18), 0,98 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>-19), 3,01 (1H, dd, *J* = 6,0, 8,8 Hz, H-22), 1,54/1,42 (2H, m, CH<sub>2</sub>-23, 23'), 1,49 (1H, m, H-24), 0,87 (3H, d, *J* = 5,6 Hz, CH<sub>3</sub>-25), 0,87 (3H, d, *J* = 5,6, CH<sub>3</sub>-26), 2,30 (6 H, s, N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> -27,28), 1,38/1,25 (2H, m, CH<sub>2</sub>-29,29'), 1,38 (1H, m, H-30), 0,84 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, CH<sub>3</sub>-31), 0,78 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, CH<sub>3</sub>-32); RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz, CD<sub>3</sub>OD: δ 156,44 (C-1), 80,71 (C-3), 55,41 (C-4), 171,18 (C-5), 51,64 (C-7), 170,80 (C-8), 128,19 (C-10), 125,63 (C-11), 128,30 (C-12), 130,23 (C-13), 121,00 (C-14), 117,90 (C-15), 129,42 (C-16), 28,84 (C-17), 19,57 (C-18), 14,21 (C-19), 172,11 (C-21), 66,33 (C-22), 38,25 (C-23), 24,95 (C-24), 21,41 (C-25), 22,56 (C-26), 41,05 (2C-27,28), 40,84 (C-29), 24,30 (C-30), 21,13 (C-31), 22,10 (C-32).

3.2.3 franganina em DMSO-*d*<sub>6</sub> (RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 4,79 (1H, dd, *J* = 6,4, 2,4 Hz, H-3), 4,43 (1H, dd, *J* = 10,0, 8,0 Hz, H-4), 7,56 (1H, d, *J* = 9,2 Hz, NH-6), 3,89 (1H, dd, *J* = 8,4, 8,4 Hz, H-7), 7,02 (1H, NH-9), 6,37 (1H, dd, *J* = 7,6, 7,6 Hz, H-10), 6,48 (1H, d, *J* = 7,6 Hz, H-11), 6,92 (1H, H-13), 7,01 (1H, H-14), 7,02 (1H, H-15), 6,96 (1H, H-16), 2,16 (1H, m, H-17), 1,12 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>-18), 0,90 (3H, d, *J* = 6,4 Hz, CH<sub>3</sub>-19), 8,33 (1H, d, *J* = 9,6 Hz, NH-20), 3,07 (1H, dd, *J* = 7,6, 6,8 Hz, H-22), 1,43/1,08 (2H, CH<sub>2</sub>-23, 23'), 1,52 (1H, m, H-24), 0,81 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, CH<sub>3</sub>-25), 0,78 (3H, d, *J* = 6,4, CH<sub>3</sub>-26), 2,22 (6 H, s, N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> -27,28), 1,22/0,86 (2H, CH<sub>2</sub>-29,29'), 1,26 (1H, H-30), 0,74 (3H, d, *J* = 4,0 Hz, CH<sub>3</sub>-31), 0,65 (3H, d, *J* = 5,6 Hz, CH<sub>3</sub>-32); RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>: δ 156,45 (C-1), 82,62 (C-3), 55,21 (C-4), 171,79 (C-5), 52,11 (C-7), 169,18 (C-8), 126,74 (C-10), 121,16 (C-11), 131,02 (C-12), 131,40 (C-13), 121,51 (C-14), 120,40 (C-15), 130,48 (C-16), 28,56 (C-17), 21,08 (C-18), 15,65 (C-19), 174,08 (C-21), 64,30 (C-22), 37,74 (C-23), 24,41 (C-24), 23,39 (C-25), 22,62 (C-26), 41,36 (2C-27,28), 40,20 (C-29), 24,00 (C-30), 23,54 (C-31), 21,44 (C-32).

### 3.3 Análise cristalográfica do sal da franganina

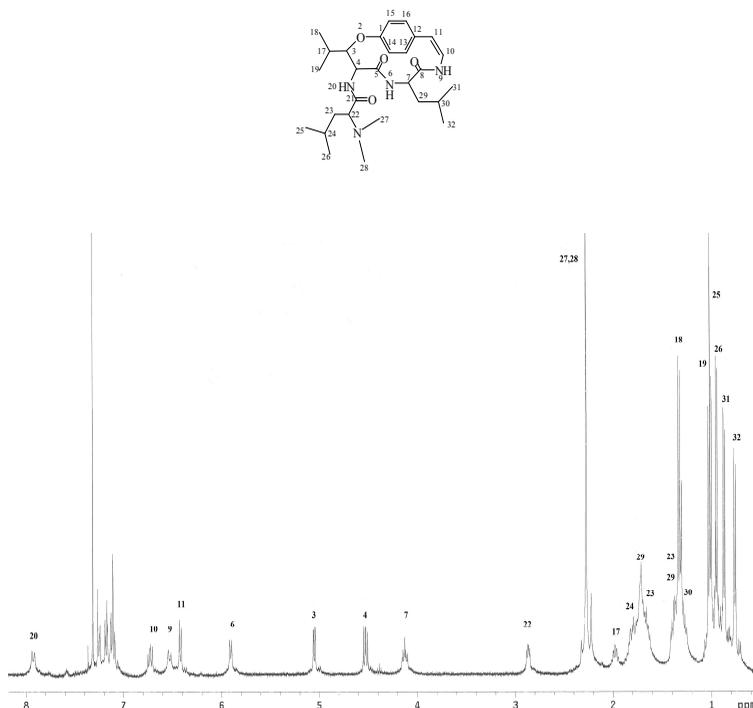
Para 10 mg da substância, foram adicionados 5mL de acetona e 0,5 mL (excesso) de iodeto de metila. A reação foi realizada sob agitação a temperatura ambiente (10°C) durante toda a noite e acompanhado por CCD. Após toda a transformação do alcalóide no sal, o produto foi filtrado para um tubo de ensaio e deixado cristalizar lentamente. A estrutura foi determinada com o Difratorômetro para mono cristais Kappa Apex II, utilizando irradiação de molibdênio  $K_{\alpha}$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. FRANGANINA EM $\text{CDCl}_3$

O alcalóide ciclopeptídico franganina ( $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_4$ ) isolado da *Discaria americana* (Rhamnaceae) e possui na sua estrutura 28 carbonos com deslocamentos químicos entre  $\delta$  174,11 e 15,19 ppm, 44 hidrogênios com deslocamentos químicos entre  $\delta$  7,93 e 0,76 ppm, o que está de acordo com a estrutura e os dados encontrados na literatura para esse metabólito secundário.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  está presente na Figura 14 e as ampliações das regiões do espectro forneceram além dos deslocamentos químicos as constantes de acoplamento.



**Figura 14.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da franganina. [ $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz].

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) da franganina mostrou os hidrogênios metínicos  $\alpha$ -carbonílicos (H-4, H-7, H-22) correspondendo aos sinais localizados entre  $\delta = 2,87$  e  $4,51$  ppm. O sinal referente ao hidrogênio  $\beta$ -carbonílico (H-3) da unidade  $\beta$ -hidroxileucina é observado próximo a essa região em  $\delta = 5,05$  ppm.

Os hidrogênios metilênicos  $\beta$ -carbonílicos H-23, 23' e H-29, 29' foram localizados entre  $\delta = 1,38$  e  $1,79$  ppm. Os hidrogênios metínicos  $\gamma$ -carbonílicos H-17, H-24 e H-30 com os seguintes deslocamentos H-17 ( $\delta 1,98$  ppm), H-24 ( $\delta 1,82$  ppm) e H-30 ( $\delta 1,30$  ppm).

O espectro mostrou seis dubletos, que correspondem a seis grupos metílicos, em  $\delta 1,01$  ( $J_{25,24} = 6,4$  Hz),  $0,94$  ( $J_{26,24} = 6,8$  Hz) unidade *N,N*-dimetil leucina (Me-25 e -26),  $\delta 0,76$  ( $J_{31,30} = 6,8$  Hz),  $0,87$  ( $J_{32,30} = 6,4$  Hz) referentes a unidade leucina (Me-31 e -32),  $\delta 1,33$  ( $J_{18,17} = 6,8$  Hz),  $1,03$  ( $J_{19,17} = 6,4$  Hz) unidade  $\beta$ -hidroxileucina (Me-18 e -19).

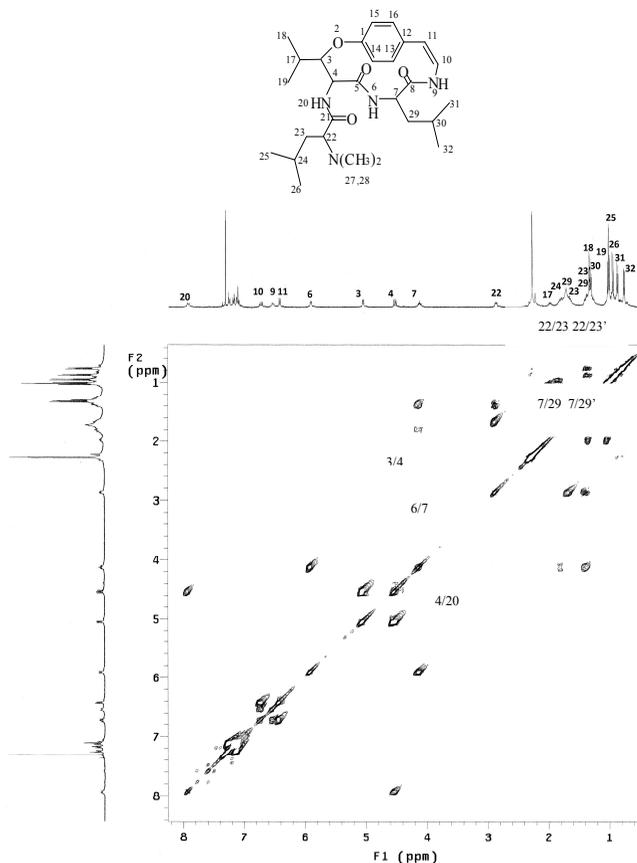
O singlete presente em  $\delta 2,28$  ppm pertence aos hidrogênios metílicos da unidade *N,N*-dimetil do aminoácido básico terminal.

Os dubletos que estão localizados em  $\delta 5,91$  ( $J_{6,7} = 7,6$  Hz) e  $7,93$  ( $J_{20,4} = 10,0$  Hz), correspondem aos hidrogênios amídicos NH-6 e NH-20 e acoplam com os hidrogênios  $\alpha$ -carbonílicos H-7 ( $J_{7,6} = 7,6$  Hz) e H-4 ( $J_{4,20} = 10,0$  Hz) respectivamente. Já o NH-9  $\delta 6,53$  ppm, hidrogênio amídico, apresenta-se também como um dubleto devido ao acoplamento com o H-10.

Os hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 tiveram deslocamentos químicos de  $6,73$  ppm e  $6,42$  ppm, como duplo dubleto e dubleto respectivamente.

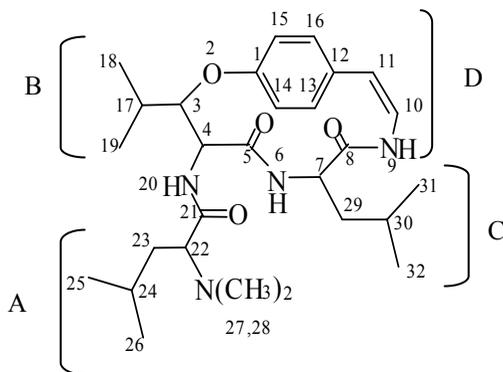
Os deslocamentos químicos entre  $\delta 7,10$ - $7,25$  ppm pertencem aos quatro hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidroxiestirilamina. As atribuições dos hidrogênios, bem como as constantes de acoplamento se encontram na Tabela 3.

As correlações homonucleares  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  foram determinadas através da técnica de RMN bidimensional COSY (Figura 15).



**Figura 15.** Espectro de RMN 2D COSY, da Franginina. [CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz]

As atribuições dos sinais registrados nos espectros de RMN unidimensional foram realizadas com contribuições da espectroscopia bidimensional. Pelo fato de não se ter observado acoplamentos entre os hidrogênios amídicos de uma unidade de aminoácidos, com os hidrogênios  $\alpha$ -carbonílicos da unidade subsequente ( ${}^4J_{\text{H4-H6}}$ ,  ${}^4J_{\text{H7-H9}}$  e  ${}^4J_{\text{H22-H20}}$ ) a estrutura da franginina pode ser considerada como possuindo quatro unidades estruturais envolvendo diferentes sistemas de spins (A-D) ver página 2. Um sistema para cada aminoácido (unidades A, B e C), e um para o grupo estirilamina (unidade D) (Figura 16).



**Figura 16.** Sistema de spins da franganina.

Para a atribuição dos hidrogênios de cada sistema spin foi utilizado um sinal de partida. O NH-20 ( $\delta$  7,93 ppm) mostra correlação com hidrogênio metínico H-4 (4,51 ppm), que por sua vez apresenta correlação com o hidrogênio metínico H-3 em ( $\delta$  5,05 ppm). Porém, apesar da proximidade com H-17 (1,98 ppm) não é visível o acoplamento entre ambos. O H-17 mostra correlações com os hidrogênios das duas metilas Me-18 ( $\delta$  1,33 ppm) e Me-19 ( $\delta$  1,03 ppm), sendo esse o sistema de spins (B) para a unidade da  $\beta$ -hidroxileucina.

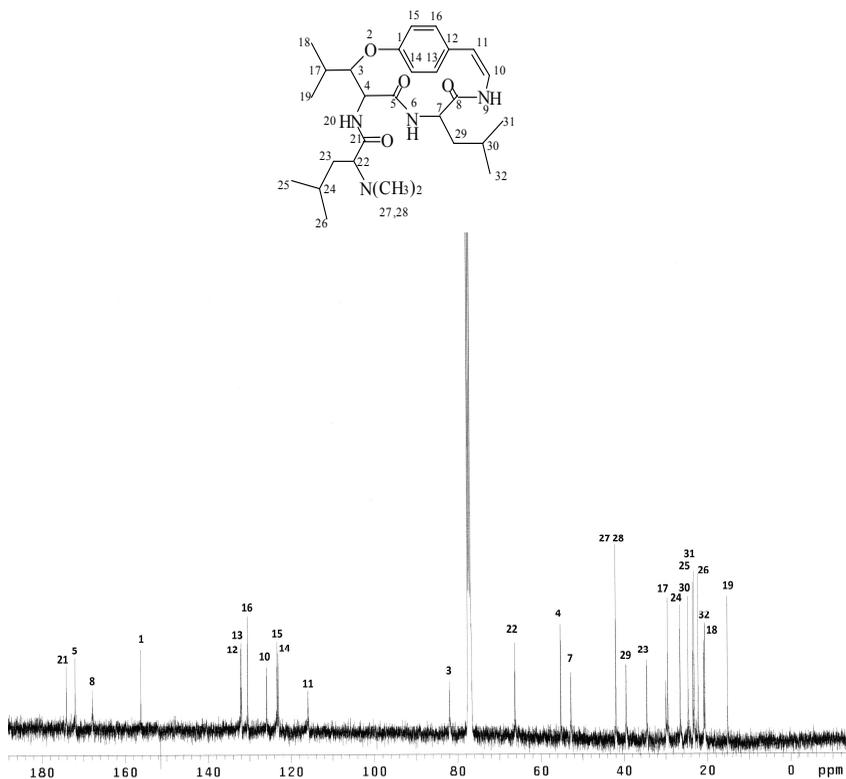
O sinal de partida para o sistema de spins (C), que é formado pelo  $\alpha$ -aminoácido, foi o hidrogênio  $\alpha$ -carbonílico H-7 ( $\delta$  4,12 ppm) que mostra correlação com o hidrogênio amídico NH-6 ( $\delta$  5,91 ppm) e com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-29 ( $\delta$  1,79 ppm) e H-29' ( $\delta$  1,75 ppm). O hidrogênio metínico H-30 ( $\delta$  1,30 ppm) mostra correlação com as metilas Me-31 ( $\delta$  0,87 ppm) e Me-32 ( $\delta$  0,76 ppm), indicando, desta forma, que a leucina é o  $\alpha$ -aminoácido.

O ponto de partida para a atribuição do sistema de spin (A) foi o hidrogênio metínico H-22 ( $\delta$  2,87 ppm), que apresenta correlação com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-23 ( $\delta$  1,66 ppm) e H-23' ( $\delta$  1,38 ppm). Esses, por sua vez, apresentam correlação entre si. Já o H-24 ( $\delta$  1,82 ppm) correlaciona-se com os hidrogênios das metilas Me-25 ( $\delta$  1,01 ppm) e Me-26 ( $\delta$  0,94 ppm), assim completa-se o sistema de spins da unidade leucina do resíduo terminal básico. O grupo *N,N*-dimetil, dessa unidade básica terminal não apresenta nenhuma

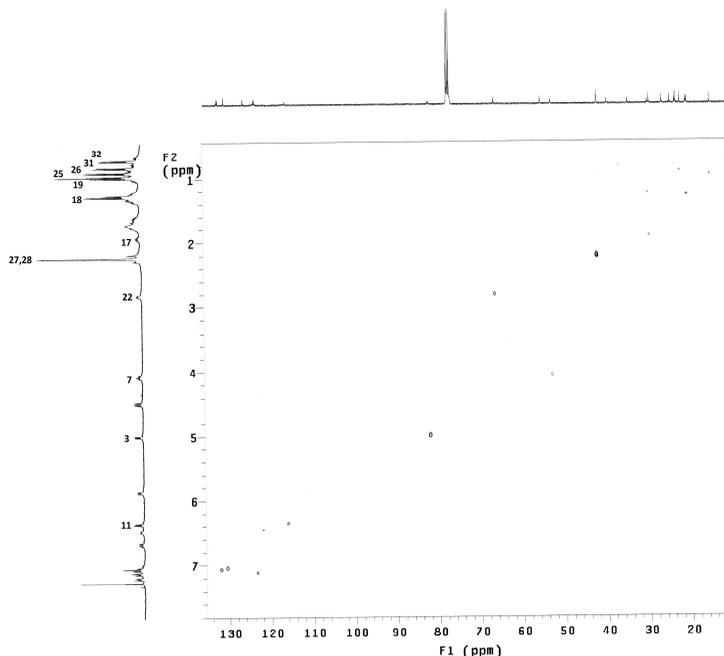
correlação. Mas o sinal em ( $\delta$  2,28 ppm) é atribuído aos hidrogênios das metilas Me-27 e Me-28.

Os sinais dos hidrogênios do grupo enamina da unidade estirilamina (sistema de spin D) foram atribuídos pela correlação do hidrogênio amídico NH-9 ( $\delta$  6,53 ppm) com o hidrogênio olefínico H-10 ( $\delta$  6,73 ppm). Este, por sua vez, correlaciona-se com o sinal do outro hidrogênio olefínico H-11 ( $\delta$  6,42 ppm). No anel aromático da unidade estirilamina (sistema de spin D), embora *p*-substituído, o H-13 não é quimicamente equivalente ao H-16 e o H-14 também não é equivalente ao H-15.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  totalmente desacoplado (Figura 17) apresenta 28 sinais numa janela espectral entre  $\delta = 174,11-15,19$  ppm. A atribuição dos carbonos foi feita com o auxílio do espectro de correlação heteronuclear bidimensional HSQC (Figura 18).



**Figura 17.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da franganina. [ $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz]



**Figura 18.** Espectro de RMN de 2D heteronuclear  $^1J_{C-H}$ , HSQC, da frangina.  $[CDCl_3]$

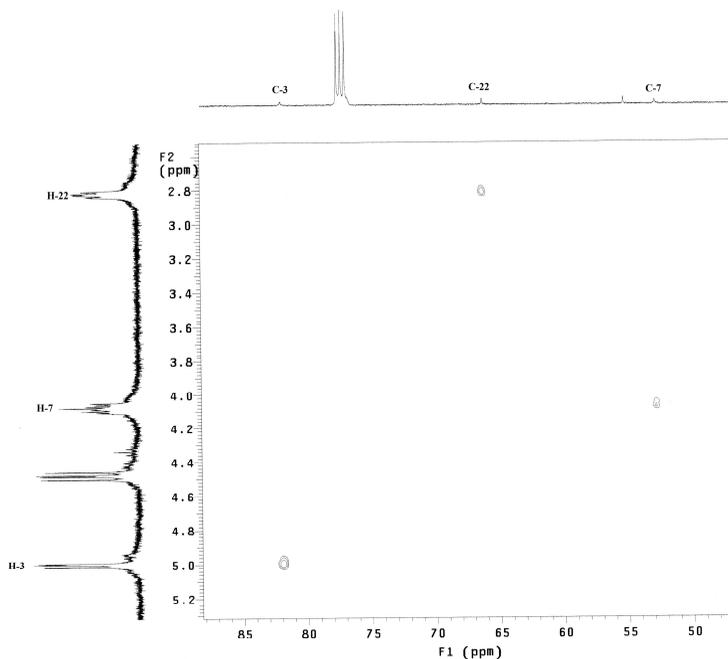
Os quatro carbonos com maiores deslocamentos químicos foram atribuídos as três carbonilas presentes e ao carbono quaternário oxigenado do sistema aromático da unidade estirilamina (C-1)  $\delta = 156,21$  ppm. Os deslocamentos característicos para carbonilas de amidas foram (C-21)  $\delta = 174,11$  ppm, (C-8)  $\delta = 167,82$  ppm e (C-5)  $\delta = 172,01$  ppm em concordância com os dados apresentados na literatura.

O espectro mostra seis sinais de metilas em  $\delta$  20,60, 15,19, 23,18, 22,22, 23,44 e 20,85 que foram atribuídos ao C-18, C-19, C-25, C-26, C-31, C-32 respectivamente. Os carbonos 27,28 do grupo *N,N*-dimetil tiveram deslocamentos químicos equivalentes  $\delta = 41,97$  ppm, evidenciando rotação livre desse grupo. Adicionalmente, sete carbonos metínicos foram observados, os sinais mais blindados em  $\delta$  29,52, 26,53 e 24,62 ppm foram atribuídos ao C-17, C-24, C-30, enquanto que os sinais metínicos desblindados  $\delta$  81,84, 55,25, 52,80 e 66,27 ppm foram atribuídos ao C-3, C-4, C-7 e C-22 respectivamente. Os dois sinais de

carbonos metilênicos C-23 e C-29 foram observados em  $\delta$  34,54 e 39,49 ppm respectivamente.

Os carbonos aromáticos C-12 a C-16 estão presentes entre  $\delta$  132,15-123,10 ppm. Nessa região também se encontra o carbono olefínico C-10  $\delta$  = 125,90 ppm. Já o outro carbono olefínico C-11 teve deslocamento de 115,98 ppm.

Os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da franganina, junto com as constantes de acoplamento dos hidrogênios estão resumidos na Tabela 3 e confirmados com espectro de HSQC como o da Figura 19.



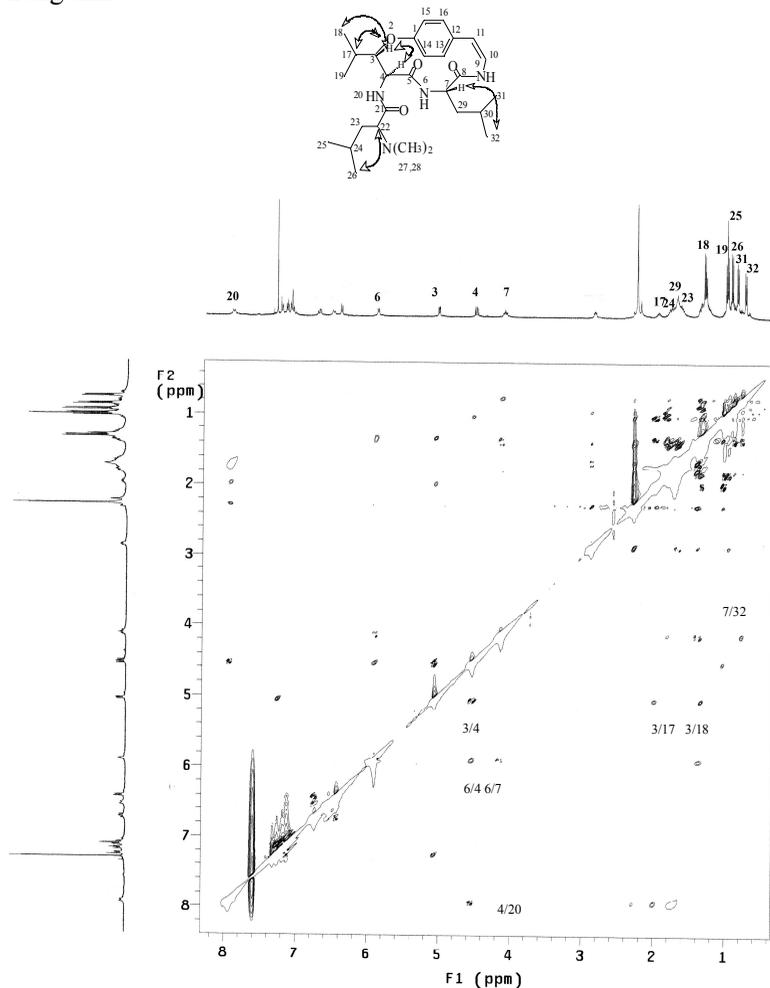
**Figura 19.** Espectro expandido de RMN de 2D heteronuclear  $^1\text{J}_{\text{C-H}}$ , HSQC, região  $\delta$  5,2 a 2,7 ppm da franganina. [ $\text{CDCl}_3$ ]

**Tabela 3.** Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para franganina.

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm);	$J$ (Hz)	$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)
1			156,21
3	5,05 dd	$J_{3,4}= 7,2$ ; $J_{3,17}= 2,0$	81,94
4	4,51 dd	$J_{4,3}= 7,2$ ; $J_{4,20}= 10,0$	55,25
5			172,01
6	5,91 d	$J_{6,7}= 7,6$	
7	4,12 ddd	$J_{7,6}= 7,6$ ; $J_{7,29}= 7,6$ ; $J_{7,29'}= 4,0$	52,80
8			167,82
9	6,53 d	$J_{9,10}= 10,8$	
10	6,73 dd	$J_{10,11}= 8,4$ ; $J_{10,9}= 9,6$	125,90
11	6,42 d	$J_{11,10}= 7,6$	115,98
12			132,15
13	7,12	$J = 7,2$	131,99
14	7,25		123,10
15	7,18	$J = 8,8$ ; $J = 2,8$	123,37
16	7,10	$J = 8,0$	130,50
17	1,98 m	$J_{17,19}= 6,4$	29,52
18	1,33 d	$J_{18,17}= 6,8$	20,60
19	1,03 d	$J_{19,17}= 6,4$	15,19
20	7,93 d	$J_{20,4}= 10,0$	
21			174,11
22	2,87 dd	$J_{22,23}= 5,2$ ; $J_{22,23'}= 7,6$	66,27
23	1,66		34,54
23'	1,38		
24	1,82 m		26,53
25	1,01 d	$J_{25,24}= 6,4$	23,18
26	0,94 d	$J_{26,24}= 6,8$	22,22
27,28	2,28 s		41,97
29	1,79		39,49
29'	1,38		
30	1,30		24,62
31	0,87 d	$J_{31,30}= 6,4$	23,44
32	0,76 d	$J_{32,30}= 6,8$	20,85

em  $\text{CDCl}_3$ , a 400 e 100 MHz.

O espectro homonuclear bidimensional que revela a interação entre os hidrogênios próximos no espaço NOESY (Figura 20), assim dando informações sobre a configuração dos quatro carbonos quirais da franganina.

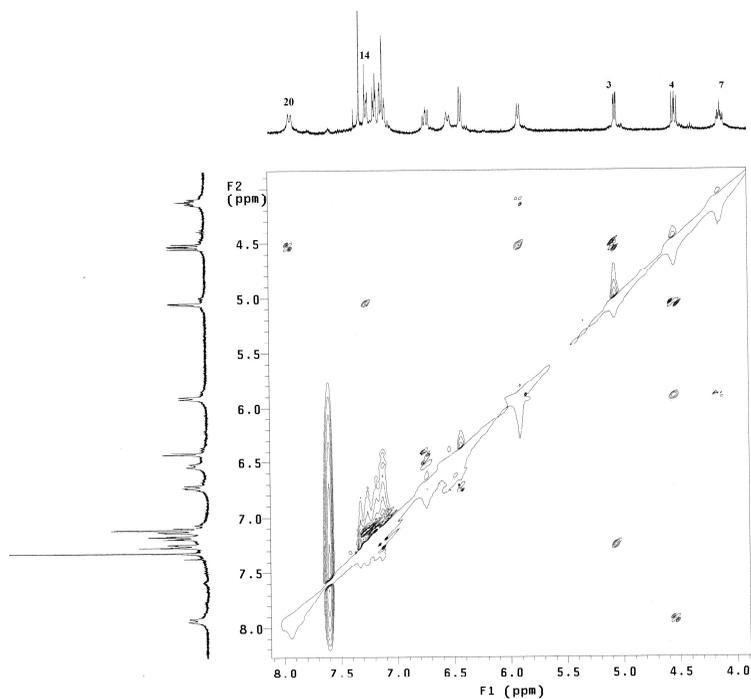


**Figura 20.** Espectro de RMN de 2D, NOESY da franganina. [CDCl<sub>3</sub>].

Os dados obtidos do espectro de NOESY (Figura 21) mostraram que os hidrogênios H-3 e H-4 apresentam correlação, ou seja, estão posicionados espacialmente de uma forma que a distância entre eles não seja superior a 5 Å. Além disso, o H-3 mostrou correlação espacial com

os hidrogênios H-17 e H-18, o que ajuda a confirmar a presença da unidade  $\beta$ -hidroxileucina. O H-4, por sua vez, mostra correlações com os hidrogênios H-6, H-19 e H-20.

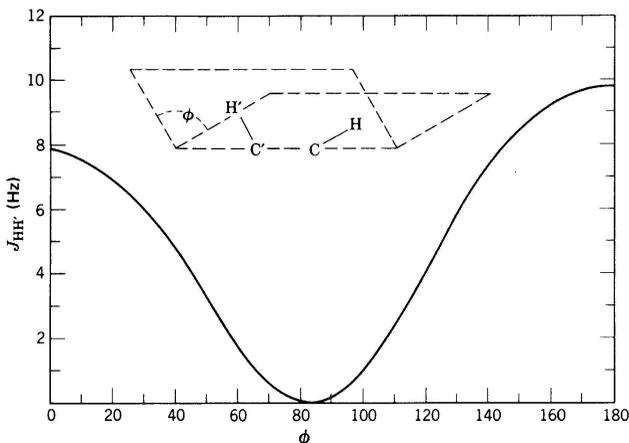
Para o H-7, observa-se correlação com o hidrogênio amídico H-6, com os hidrogênios metilênicos H-29, 29', com o hidrogênio metínico H-30 e com os hidrogênios da metila Me-32. Tal fato possibilita a confirmação de que a leucina é de fato o  $\alpha$ -aminoácido. Além disso, verifica-se que as metilas que possuem menores deslocamentos químicos são as metilas Me-31 e Me-32 o que não está de acordo com os dados da literatura que atribui os menores deslocamentos químicos para os hidrogênios das metilas Me-25 e Me-26. Desta maneira, podemos observar a conexão entre as diferentes unidades do macrocilo e confirmar algumas atribuições que foram duvidosas no espectro de COSY.



**Figura 21.** Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região  $\delta$  8,0 a 4,0 ppm da franganina. [CDCl<sub>3</sub>]

O hidrogênio metínico H-22 tem correlações com os hidrogênios metilênicos H-23,23' e com os hidrogênios da metila Me-26. Com isso, pode-se confirmar a leucina presente na unidade do aminoácido terminal básico. Confirma-se que as metilas presentes nessa unidade não são as que apresentam os menores deslocamentos químicos e que a leucina está presente também na unidade terminal básica. A atribuição feita dos hidrogênios das metilas 27 e 28 pertencentes ao grupo *N,N*-dimetil também pode ser confirmada. As correlações dos espectros de NOESY estão resumidas na Tabela 4.

Com os dados obtidos da franganina em solução, observa-se que a unidade da  $\beta$ -hidroxileucina possui uma configuração *eritro* pela constante de acoplamento entre H-3 e H-4 ( $J = 7,2$  Hz), que pela equação de Karplus (KARPLUS, 1959), temos duas soluções aproximadas para o valor do ângulo diedro:  $20^\circ$  ou  $140^\circ$  (Figura 22).



**Figura 22.** Correlação vicinal de Karplus

O deslocamento químico do C-3 ( $\delta = 81,94$  ppm) e C-4 ( $\delta = 55,25$  ppm) sugerem uma configuração *eritro*, o que estaria de acordo com um ângulo diedro H-3/H-4 próximo de  $140^\circ$ . Por outro lado, a presença de sinal de cruzamento de NOESY entre H-3 e H-4 indica a sua proximidade espacial, o que estaria mais de acordo com um ângulo diedro próximo de  $20^\circ$ . Além disso, a presença de sinal de cruzamento de NOESY entre H-3 e H-4 revela a sua proximidade espacial, o que indica que a conformação existente é um equilíbrio entre as conformações *anti/gauche*.

**Tabela 4.** Dados espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  da franganina.

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm);	NOESY
1		
3	5,05	H-4, H-14, H-17, H-18
4	4,51	H-3, H-6, H-19, H-20
5		
6	5,91	H-4, H-7, H-29'
7	4,12	H-6, H-29, H-29', H-30, H-31
8		
9	6,53	
10	6,73	
11	6,42	
12		
13	7,12	
14	7,25	H-3
15	7,18	
16	7,10	
17	1,98	H-3, H-18, H-19, H-20
18	1,33	H-3, H-17
19	1,03	H-4, H-17
20	7,93	H-4, H-17, H-23, H-27,28
21		
22	2,87	H-23, H-23', H-26, H-27,28
23	1,66	H-20, H-22
23'	1,38	H-22
24	1,82	H-22
25	1,01	
26	0,94	H-22
27,28	2,28	H-20, H-22
29	1,79	H-6, H-7
29'	1,38	H-6
30	1,30	H-7
31	0,87	H-7
32	0,76	

em  $\text{CDCl}_3$ , a 400 e 100 MHz.

## 4.2 FRANGANINA EM CD<sub>3</sub>OD

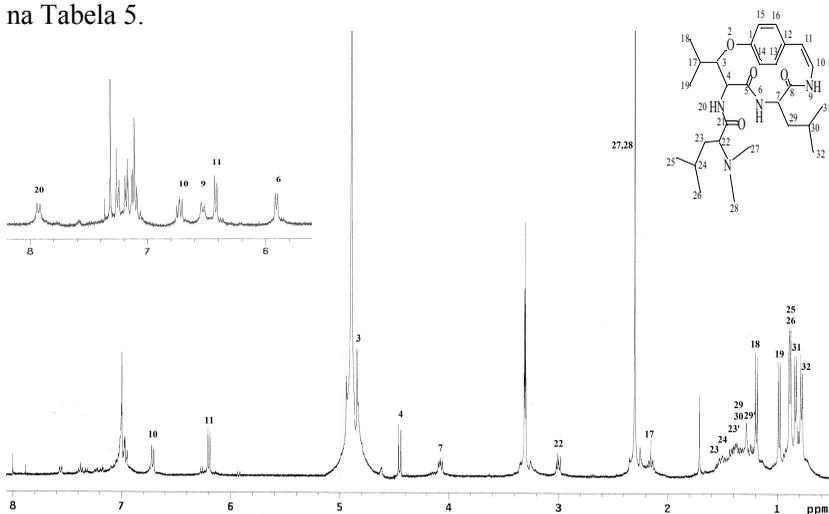
Para investigar a influência do solvente no deslocamento químico, o composto franganina foi analisado em diferentes solventes.

No espectro de RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) da franganina (Figura 23), é possível verificar que os hidrogênios amídicos NH-6, NH-9 e NH-20 não estão presentes (em relação à mesma região do espectro em clorofórmio), ou seja, ocorreu a troca desses hidrogênios por deutério. Os deslocamentos químicos de <sup>1</sup>H variaram, mas não de forma intensa em relação ao espectro da franganina em CDCl<sub>3</sub> ( $\Delta\delta = 0,41$  ppm, H-29). Mesmo assim, observou-se que os hidrogênios aromáticos ficaram mais sobrepostos dificultando suas atribuições.

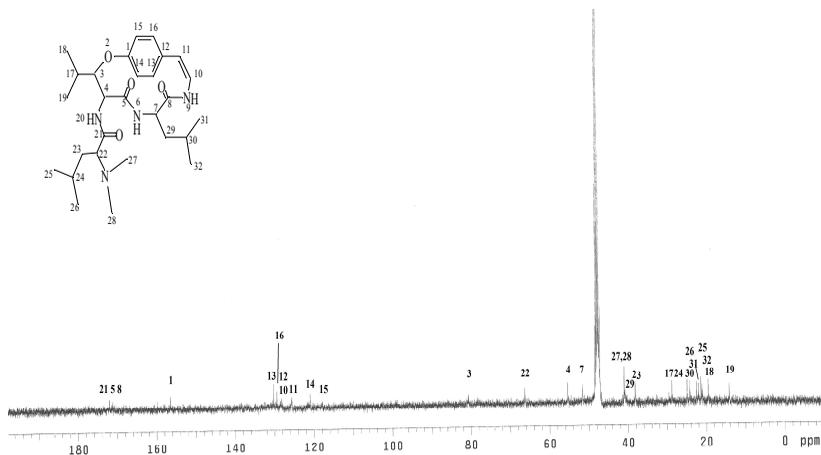
O espectro de <sup>13</sup>C (Figura 24), mostrou que alguns deslocamentos químicos de <sup>13</sup>C, como o do C-11 ( $\Delta\delta = 9,65$  ppm) variaram de forma intensa.

No espectro de COSY também não existiu correlação entre os hidrogênios H-3 e H-17.

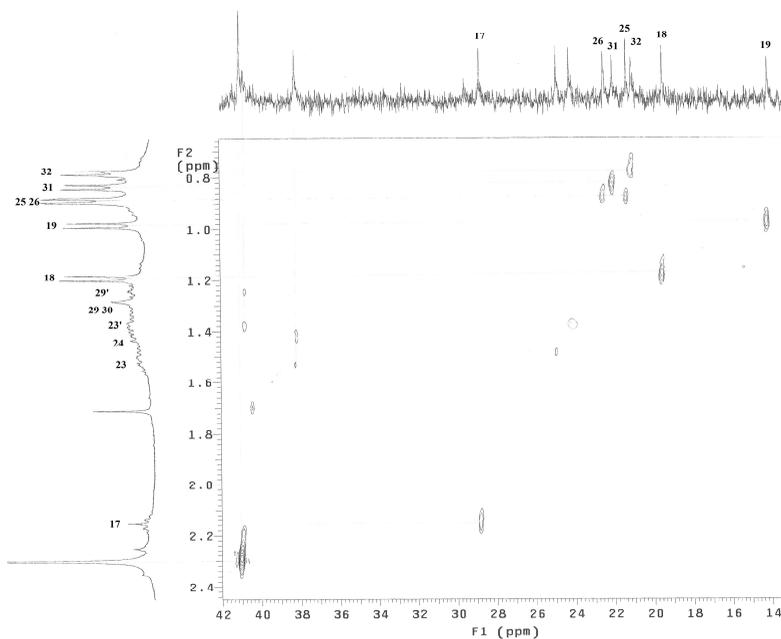
Os hidrogênios das metilas Me-25, Me-26, Me-31 e Me-32, tiveram as suas atribuições confirmadas pelos espectros bidimensionais NOESY e HSQC (Figura 25). Os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos para a franganina em metanol-*d*<sub>4</sub> estão presentes na Tabela 5.



**Figura 23.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da franganina. [CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz]



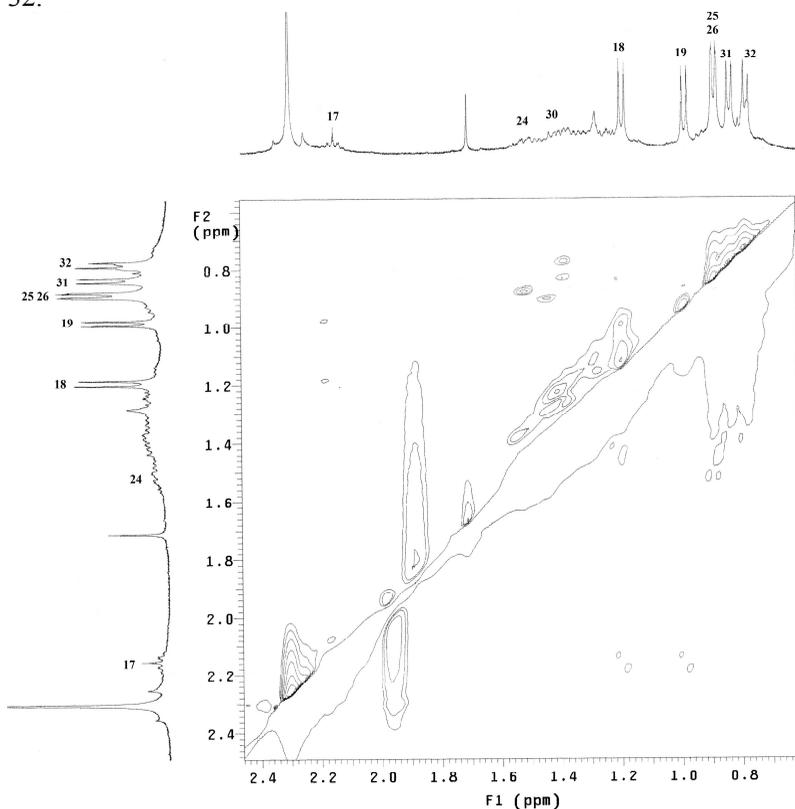
**Figura 24.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da franganina. [ $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz].



**Figura 25.** Espectro de RMN de 2D heteronuclear  $^1\text{J}_{\text{C-H}}$ , HSQC, da franganina. [ $\text{CD}_3\text{OD}$ ]

O espectro de RMN 2D NOESY mostra correlações como a do hidrogênio metínico H-3 com os hidrogênios da metila Me-18 e com o

hidrogênio aromático H-14. O hidrogênio metínico H-7 com o hidrogênio metilênico H-29'. H-10 e H-11 também apresentaram correlação. Da Figura 26, que mostra o espectro de NOESY na região de 2,46 a 0,62 ppm, pode-se observar que o sinal em  $\delta$  2,16 ppm tem correlações com os sinais em  $\delta$  1,19 e 0,98 ppm. Tal correlação se refere ao hidrogênio metínico H-17 com os hidrogênios das metilas Me-18 e Me-19. Já o sinal em 1,49 ppm com os sinais sobrepostos em 0,87 ppm, que representa a correlação do H-24 com as metilas sobrepostas Me-25 e Me-26. O sinal em 1,38 ppm com os sinais em 0,84 e 0,78 ppm, ou seja, a correlação do H-30 com os hidrogênios das metilas Me-31 e Me-32.



**Figura 26.** Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear  $J_{H-H}$ , NOESY região  $\delta$  2,46 a 0,62 ppm da franganina.  $[CD_3OD]$

**Tabela 5.** Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para franganina.

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm);	$J$ (Hz)	$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)
1			156,44
3	4,88		80,71
4	4,45 d	$J_{4,3}= 8,4$	55,41
5			171,18
6			
7	4,08 dd	$J_{7,29}= 8,0$ ; $J_{7,29'}= 4,0$	51,64
8			170,80
9			
10	6,71 d	$J_{10,11}= 7,6$	128,19
11	6,20 d	$J_{11,10}= 7,6$	125,63
12			128,50
13	6,97		130,23
14	7,00		121,00
15	7,00		117,90
16	7,00		129,42
17	2,16 m		28,84
18	1,19 d	$J_{18,17}= 6,4$	19,57
19	0,98 d	$J_{19,17}= 6,8$	14,21
20			
21			
22	3,01 dd	$J_{22,23}= 6,0$ ; $J_{22,23'}= 8,8$	66,33
23	1,54 m		38,25
23'	1,42 m		
24	1,49 m		24,95
25	0,87 d	$J_{25,24}= 5,6$	21,41
26	0,87 d	$J_{26,24}= 5,6$	22,56
27,28	2,30 s		41,05
29	1,38		40,84
29'	1,25		
30	1,38		24,30
31	0,84 d	$J_{31,30}= 6,0$	21,13
32	0,78 d	$J_{32,30}= 6,0$	22,10

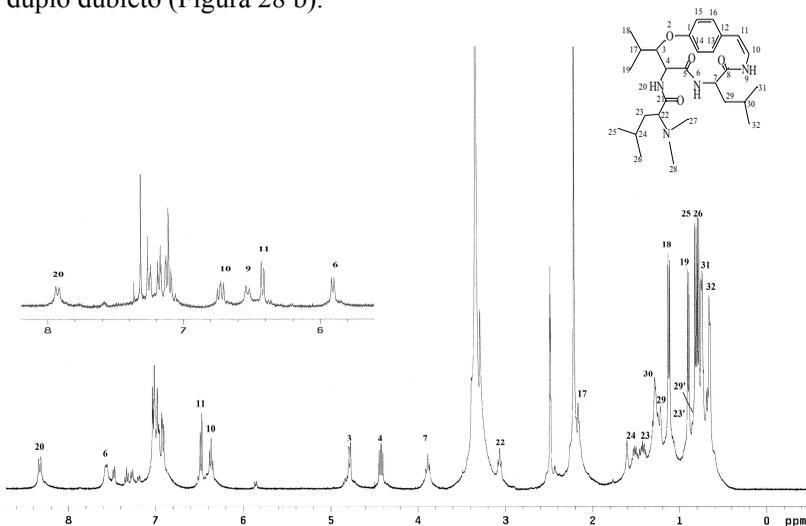
em  $\text{CD}_3\text{OD}$ , a 400 e 100 MHz.

### 4.3 FRANGANINA EM DMSO

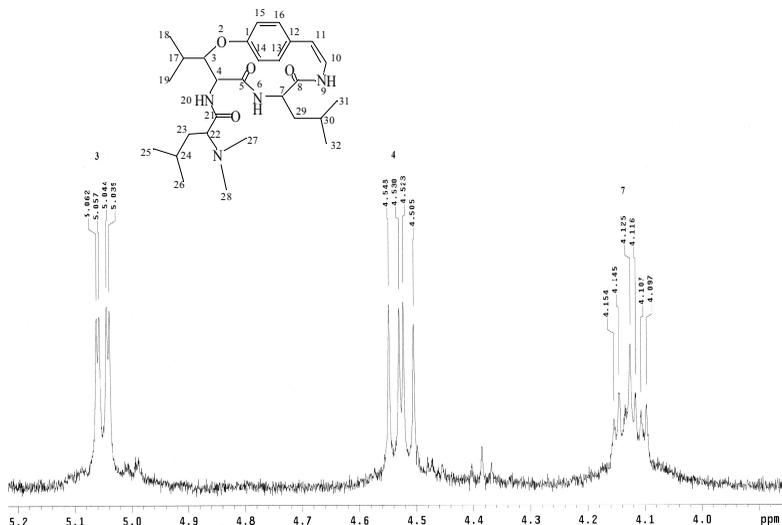
Dando sequência a análise em diferentes solventes, a amostra com a franganina foi preparada com o solvente dimetilsulfóxido (DMSO- $d_6$ ).

Os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da franganina em DMSO- $d_6$ , junto com as constantes de acoplamento dos hidrogênios estão resumidos na Tabela 6.

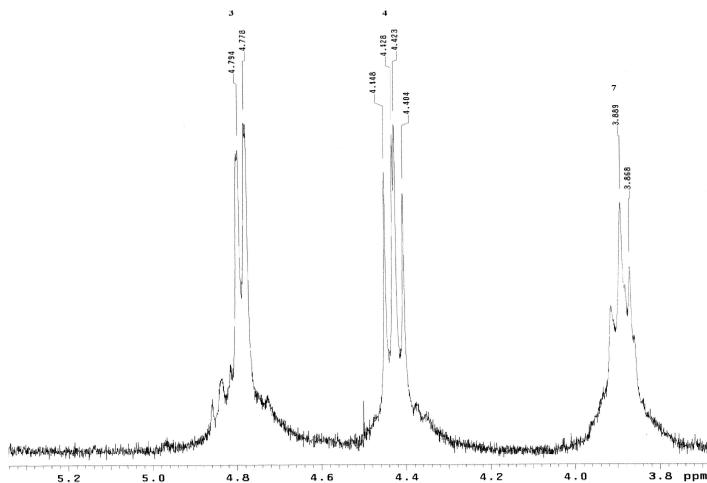
Do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da franganina (Figura 27), pode-se afirmar que todos dos hidrogênios apresentaram variações de deslocamentos químicos, o que já era esperado devido à mudança de solvente, sendo que os mais influenciados foram os hidrogênios amídicos NH-6, NH-9 e NH-20. Esses hidrogênios foram deslocados pela formação de ligações hidrogênio com o solvente. Em solução e com solventes polares como o DMSO, as ligações hidrogênio intramoleculares competem com as intermoleculares e geralmente perdem (JEFFREY, 1997). Observou-se também que o H-7 deixou de ser duplo duplo dubleto (em  $\text{CDCl}_3$ , Figura 28 a) e transformou-se em duplo dubleto (Figura 28 b).



**Figura 27.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da franganina. [DMSO a 400 MHz]

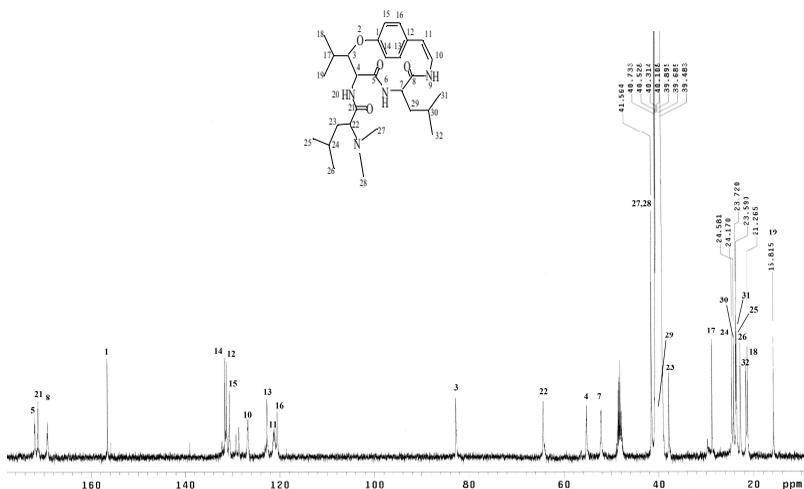


**Figura 28 a.** Espectro expandido de RMN de  $^1\text{H}$  da franganina em  $\text{CDCl}_3$ , região  $\delta$  5,2 a 3,9 ppm. [400 MHz]



**Figura 28 b.** Espectro expandido de RMN de  $^1\text{H}$  da franganina em  $\text{DMSO}-d_6$ , região  $\delta$  5,9 a 3,7 ppm. [400 MHz]

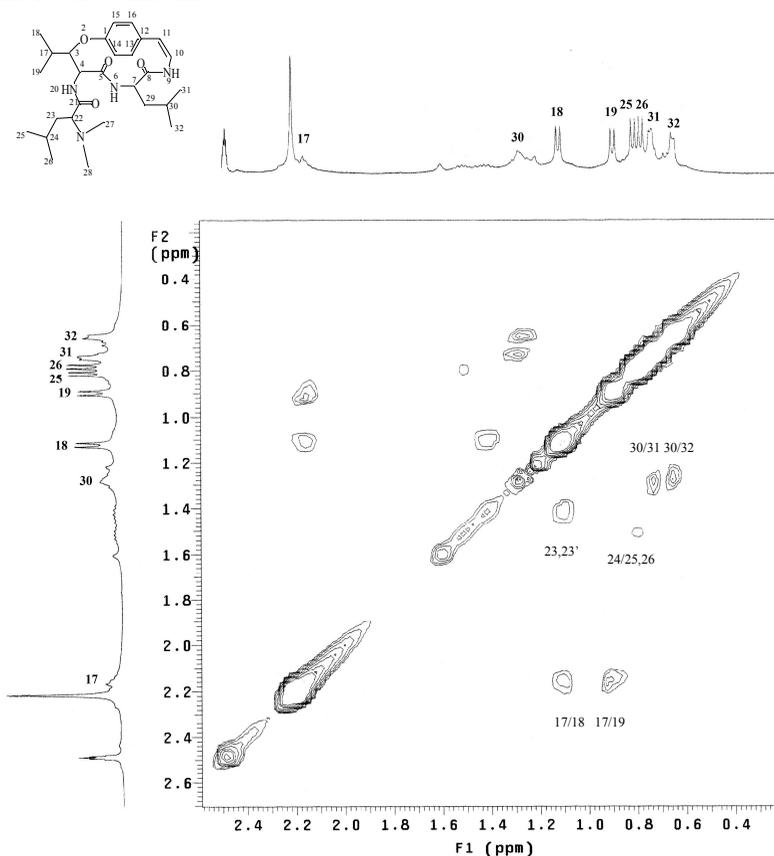
O espectro de  $^{13}\text{C}$  totalmente desacoplado (Figura 29), apresenta 28 sinais numa região espectral entre  $\delta = 171,79\text{-}15,65$  ppm. Uma das principais alterações pôde ser observada no valor de deslocamento químico do carbono da carbonila 21 ( $\Delta\delta = 3,03$  ppm), o que possivelmente está relacionado com a destruição de ligações hidrogênicas intramoleculares (JEFFREY, 1997).



**Figura 29.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da franganina. [DMSO, 400 MHz].

As atribuições dos hidrogênios foram confirmadas no espectro de COSY.

Do espectro expandido de RMN 2D COSY (Figura 30), como principal informação, obtém-se que o hidrogênio H-30 que é observado em  $\delta$  1,26 ppm acopla com os hidrogênios que estão em  $\delta$  0,65 e 0,74 ppm, ou seja, H-32 e H-31. Assim, confirma-se que os hidrogênios das metilas 31 e 32 apresentam menores deslocamentos químicos. Um acoplamento que pôde ser visto foi o do H-3 com o H-17, tal correlação não estava presente quando o espectro do composto foi feito em  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{CD}_3\text{OD}$ , o que sugere que este solvente influenciou na conformação da molécula também.



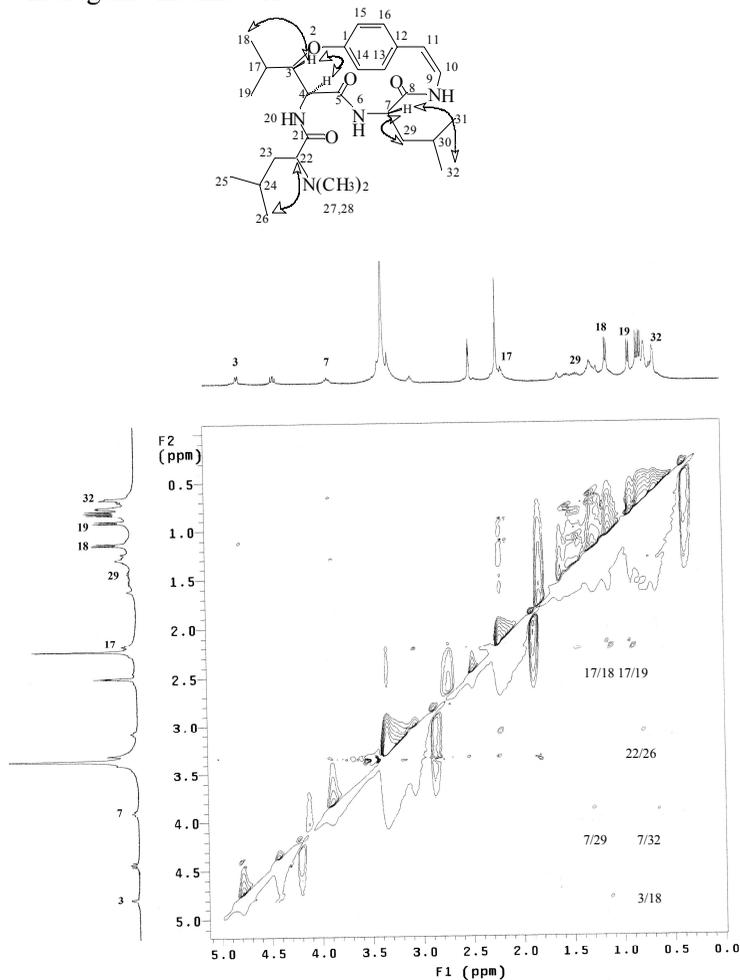
**Figura 30.** Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear  $J_{\text{H-H}}$ , COSY, região  $\delta$  2,4 a 0,4 ppm da franganina. [DMSO].

**Tabela 6.** Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para franganina.

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm);	$J$ (Hz)	$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)
1			156,45
3	4,79 dd	$J_{3,4}= 6,4$ ; $J_{3,17}= 2,4$	82,62
4	4,43 dd	$J_{4,3}= 8,0$ ; $J_{4,20}= 10,0$	55,21
5			171,79
6	7,56 d	$J_{6,7}= 9,2$	
7	3,89 dd	$J_{7,29}= 8,4$ ; $J_{7,29'}= 8,4$	52,11
8			169,18
9	7,02 d		
10	6,37 dd	$J_{10,11}= 7,6$ ; $J_{10,9}= 7,6$	126,74
11	6,48 d	$J_{11,10}= 7,6$	121,16
12			131,02
13	6,92		131,40
14	7,01		122,51
15	7,02		120,40
16	6,96		130,48
17	2,16 m		28,56
18	1,12 d	$J_{18,17}= 6,8$	21,08
19	0,90 d	$J_{19,17}= 6,4$	15,65
20	8,33 d	$J_{20,4}= 9,6$	
21			171,08
22	3,07 dd	$J_{22,23}= 6,8$ ; $J_{22,23}= 7,6$	64,30
23	1,43		37,70
23'	1,08		
24	1,52 m		24,41
25	0,81 d	$J_{25,24}= 6,8$	23,39
26	0,78 d	$J_{26,24}= 6,4$	22,62
27,28	2,22 s		41,36
29	1,22		40,20
29'	0,86		
30	1,26		24,00
31	0,74 d	$J_{31,30}= 4,0$	23,54
32	0,65 d	$J_{32,30}= 5,6$	21,44

em DMSO, a 400 e 100 MHz.

O espectro expandido de RMN 2D NOESY (Figura 32), também ajuda a confirmar que hidrogênios da metila 32 em  $\delta$  0,65 ppm apresentam correlação com o sinal em  $\delta$  3,89 que foi atribuído como sendo o hidrogênio metínico H-7.

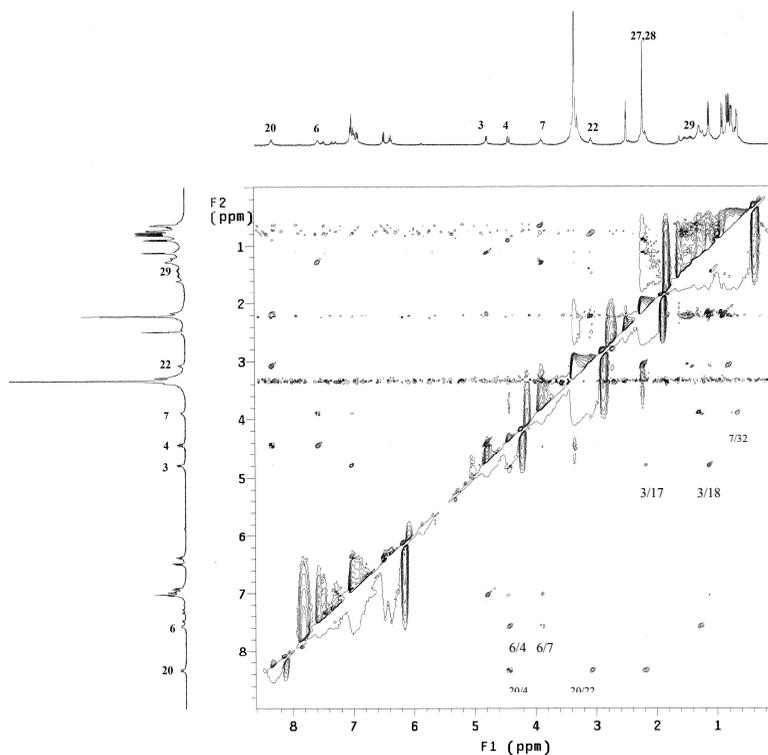


**Figura 31.** Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear, NOESY região  $\delta$  5,0 a 0,0 ppm da franganina. [DMSO].

O H-7, por sua vez, mostrou correlação com um dos hidrogênios metilênicos, o H-29 (Figura 31). O hidrogênio metínico  $\beta$ -carbonílico H-

3 mostrou correlação com o hidrogênio metínico  $\alpha$ -carbonílico H-4, com o hidrogênio H-17 e com os da metila Me-18.

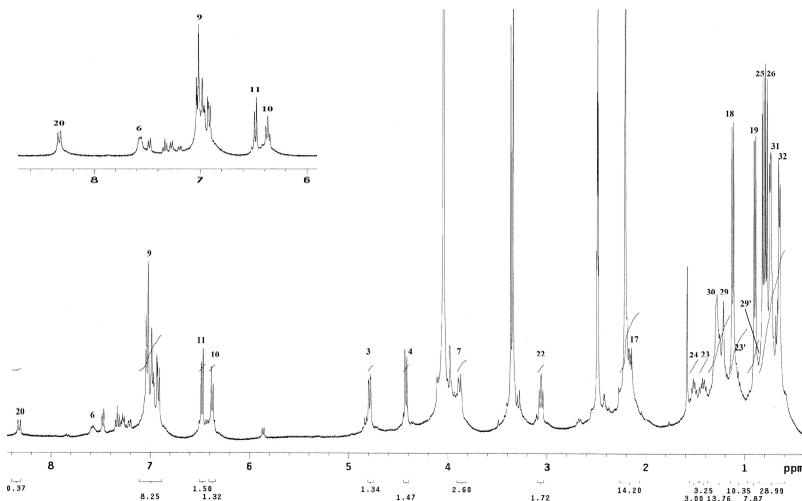
Dos hidrogênios amídicos que tiveram maiores variações de deslocamentos químicos, observou-se no NOESY (Figura 32) as correlações do hidrogênio NH-6 com H-4, H-7 e H-29. Já o NH-20, com os hidrogênios H-4, H-22 e com os hidrogênios das metilas Me-27,28. Já a correlação com o H-17, que estava presente no NOESY em  $\text{CDCl}_3$ , não foi observada em DMSO.



**Figura 32.** Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear  $J_{\text{H-H}}$ , NOESY região  $\delta$  8,6 a 0,2 ppm da franganina. [DMSO].

Dando continuidade aos estudos da franganina em DMSO, foram adicionadas algumas gotas de metanol deuterado. A seguir, foram feitos espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY e HMBC.

O espectro de hidrogênio (Figura 33) mostra alteração apenas nos hidrogênios amídicos NH-6, NH-9 e NH-20. Como se pôde observar, quando comparado com a região ampliada do espectro apenas em DMSO, as alterações estão na intensidade e na forma dos sinais, o que sugere que a troca dos hidrogênios por deutério é lenta e de forma parcial quando comparado com o espectro da franganina em metanol. Isto leva a propor que o fator que influencia na velocidade de troca está na força das ligações hidrogênio intermoleculares da franganina com o DMSO, do que nas possíveis ligações intramoleculares (hidrogênio amídico NH6 com o oxigênio da carbonila 21) .

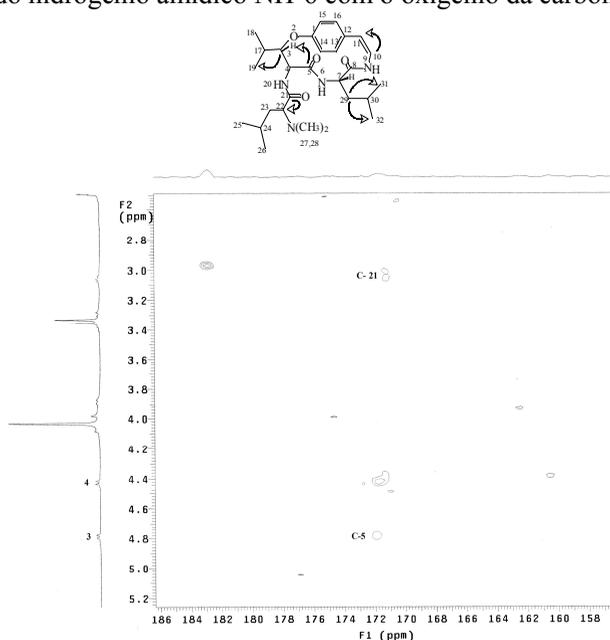


**Figura 33.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da franganina. [DMSO +  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz]

O HMBC que mostra correlações de  $^2\text{-}^3\text{J}_{\text{H-C}}$ , apresenta correlações entre o C-3 e H-19. Os hidrogênios em  $\delta$  0,65 e 0,74 ppm, correlacionam-se com o carbono que está em  $\delta$  40,20 ppm, ou seja, os hidrogênios das metilas H-31 e H-32 com o C-29. O hidrogênio em  $\delta$  6,48 ppm com o carbono em  $\delta$  126,74, sendo que essa correlação se

refere ao H-11 com o C-10. Do HMBC da região das carbonilas (Figura 34), atribuiu-se a de maior deslocamento químico como sendo a do carbono C-5, pois a correlação de H-3 com o carbono carbonílico C-5 é a de maior possibilidade, visto que a correlação entre H-3 e C-5 envolve um  $^3J_{CH}$  e a correlação H-3 e C-21, envolveria um  $^4J_{CH}$ , sendo essa correlação mais dificilmente vista. Os dados obtidos dos espectros de HMBC estão resumidos na Tabela 7 e auxiliaram em algumas atribuições duvidosas como a dos carbonos carbonílicos da Tabela 6.

Desses dados, pode-se concluir que o solvente DMSO- $d_6$  alterou o deslocamento químico da carbonila C-21, quando comparado com o deslocamento do mesmo carbono em  $CDCl_3$ , ou seja, o solvente DMSO- $d_6$ , atuou como destruidor de ligações de hidrogênio intramoleculares, como a do hidrogênio amídico NH-6 com o oxigênio da carbonila C-21.



**Figura 34.** Espectro expandido de RMN de 2D heteronuclear  $^{2-3}J_{C-H}$ , HMBC, região das carbonilas da franganina. [DMSO +  $CD_3OD$ ].

**Tabela 7.** Dados espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da franganina.

H/C	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm);	Correlações HMBC	
		$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1			
3	4,79		C-19, C-5
4	4,42	C-3	C-21
5			
6	7,56		
7	3,88		
8			
9	7,02		
10	6,38	C-11	
11	6,48	C-10	
12			
13			
14			
15			
16			
17	2,16		
18	1,12	C-17	C-19
19	0,90	C-17	C-18
20	8,31		
21			
22	3,06	C-21, C-23	C-27, C-28
23	1,43		
23'	1,08		
24	1,52		
25	0,81	C-24	C-23, C-26
26	0,78	C-24	C-23
27,28	2,22	C-27, C-28	C-22
29	1,22		
29'	0,86		
30	1,26		
31	0,74	C-30	C-29
32	0,65	C-30	C-29

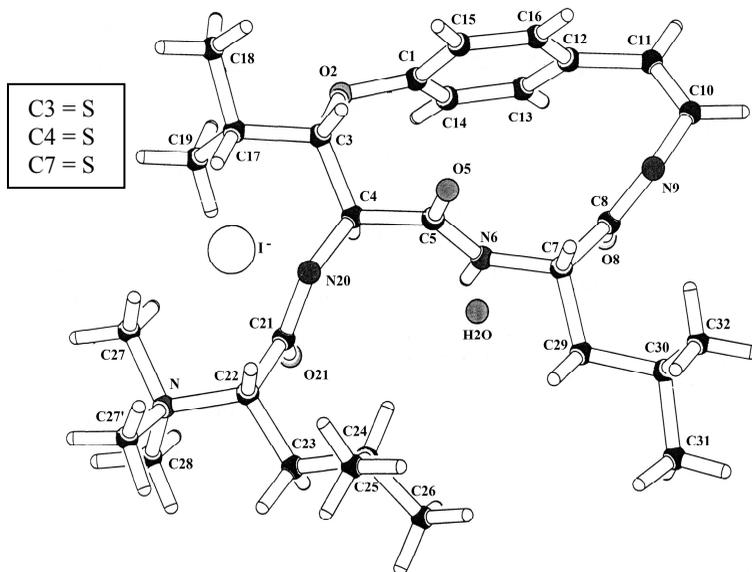
em  $\text{DMSO-}d_6 + \text{CD}_3\text{OD}$ , a 400 e 100 MHz.

#### 4.4 ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X E NOESY: SAL DA FRANGANINA

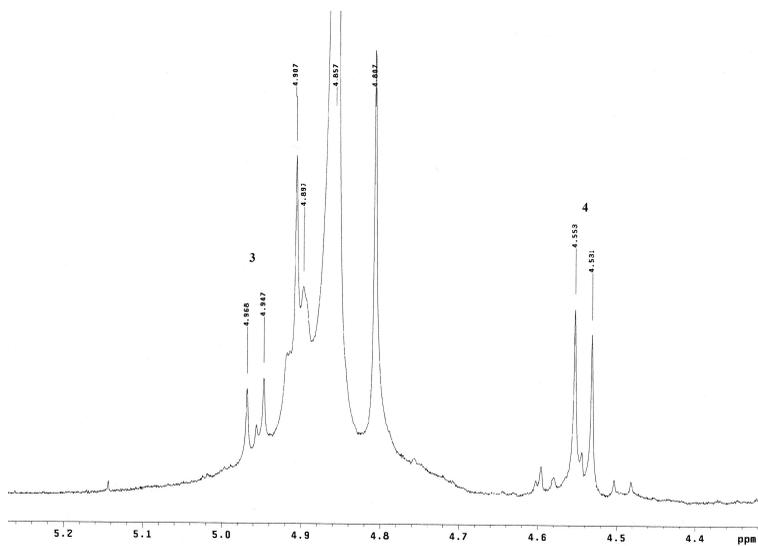
O alcalóide ciclopeptídico franganina teve sua estrutura confirmada através da análise por difração de raios-x (Figura 35), além disso, a estereoquímica absoluta pôde ser determinada. O composto foi cristalizado após a reação com iodeto de metila. A franganina apresenta a unidade *N*, *N*-dimetil terminal e a reação com o iodeto de metila tem como produto um sal de amônio quaternário.

O sal da franganina solubilizado em metanol deuterado e foram feitos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . A Figura 36 mostra o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do sal da franganina. Como o interesse pela determinação da estereoquímica é principalmente para os carbonos C-3 e C-4, foram feitas as atribuições desses carbonos, bem como seus respectivos hidrogênios, baseando-se nos valores de deslocamentos químicos encontrados em  $\text{CD}_3\text{OD}$  e nos outros solventes.

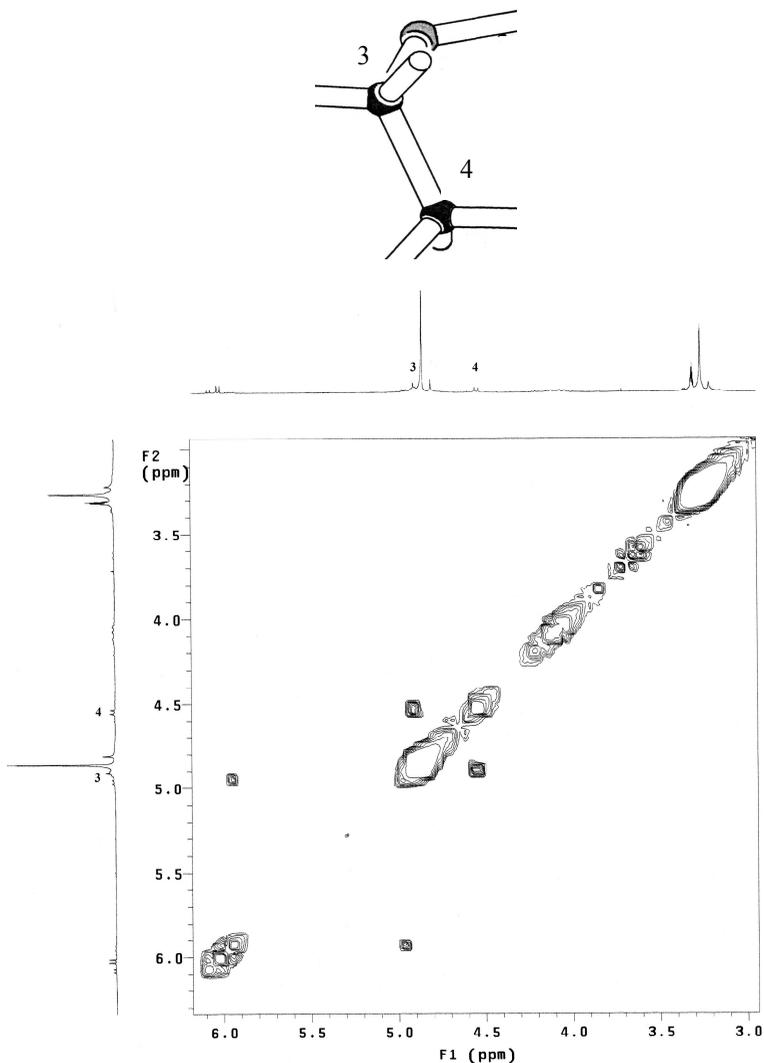
Do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do sal da franganina em  $\text{CD}_3\text{OD}$ , atribuiu-se o hidrogênio metínico H-3 em ( $\delta$  4,92 ppm) com  $J_{3,4} = 8,8$  Hz e o hidrogênio metínico H-4 em ( $\delta$  4,54 ppm), com um  $J_{4,3} = 8,8$  Hz (Figura 34). Esses hidrogênios foram posteriormente confirmados por apresentarem correlação no espectro de RMN 2D COSY (Figura 37) e deslocamentos químicos que variaram pouco em relação a franganina em  $\text{CD}_3\text{OD}$  não reagida com iodeto de metila ( $\Delta\delta = 0,04$  ppm, H-3) e ( $\Delta\delta = 0,09$  ppm, H-4).



**Figura 35.** Estrutura obtida através da difração de raios-x do sal da frangina após a reação com  $\text{CH}_3\text{I}$  com a estereoquímica absoluta.

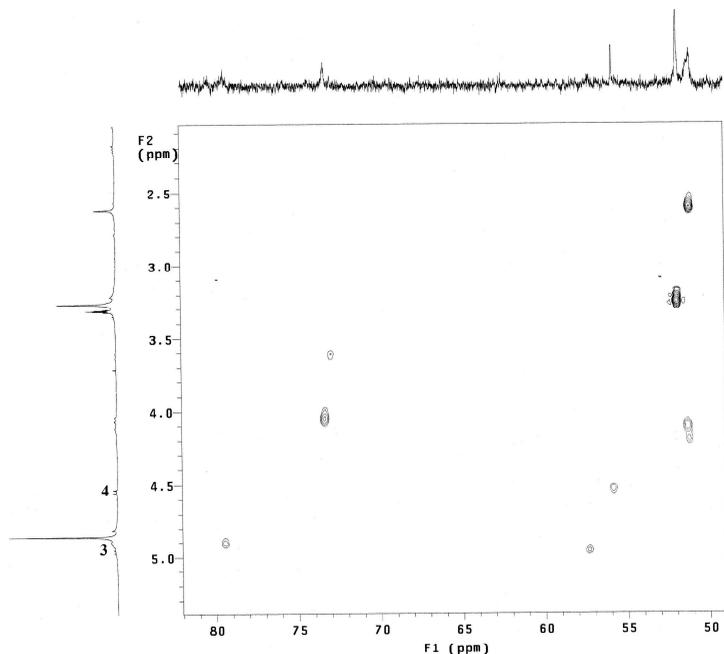


**Figura 36.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do sal de frangina. [ $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz]



**Figura 37.** Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região 6,1 a 3,0 ppm do sal da franganina. [CD<sub>3</sub>OD]

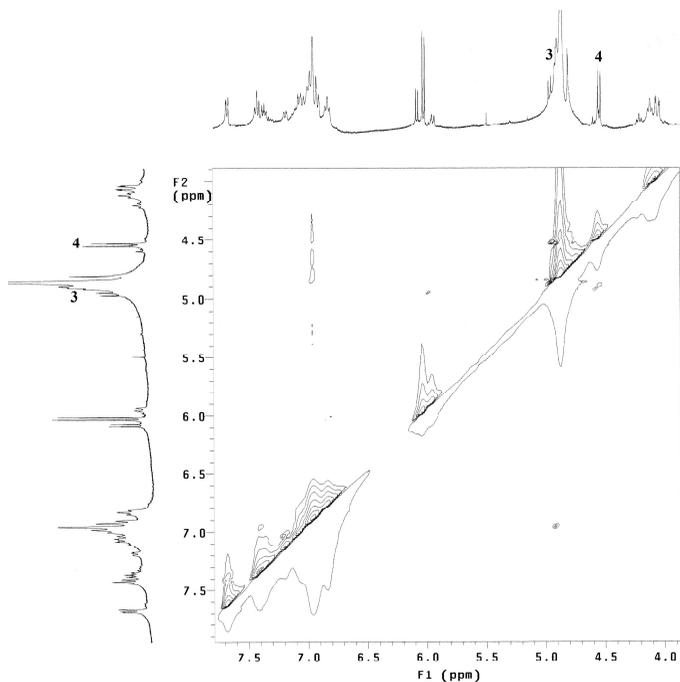
O espectro de RMN de <sup>13</sup>C mostrou o (C-3)  $\delta = 79,46$  ppm e (C-4)  $\delta = 55,85$  ppm, que foram posteriormente confirmados pelas correlações heteronucleares no espectro de RMN 2D HSQC (Figura 38).  
52



**Figura 38.** Espectro expandido de RMN de 2D HSQC, região do carbono 82 a 49 ppm do sal de franganina. [CD<sub>3</sub>OD]

A porção β-hidroxi-leucina, neste caso, apresenta a forma *eritro* pela constante de acoplamento ( $J = 8,8$  Hz) entre H-3 e H-4 e a ressonância do (C-3)  $\delta = 79,43$  ppm. Do gráfico da equação de Karplus, conclui-se que pela constante de H-3 e H-4 de 8,8 Hz, o ângulo diedro entre eles deve ser próximo de 160°.

O espectro de RMN 2D NOESY (Figura 39), mostra que H-3 e H-4 se correlacionam, ou seja, a distância espacial não é superior a 5 Å. Desta forma, pode-se dizer que H-3 e H-4 apresentam correlação no espectro de NOESY e estão na forma *eritro* e com uma conformação resultante do equilíbrio *anti/gauche*.



**Figura 39.** Espectro expandido de RMN de 2D homonuclear  $J_{H-H}$ , NOESY região  $\delta$  7,5 a 4,0 ppm do sal da franganina. [ $CD_3OD$ ]

Dos dados obtidos por difração de raios-X, confirma-se a expectativa, o ângulo diedro encontrado entre H-3 e H-4 foi de  $157^\circ$  e a distância entre eles é de 2,836 Å, assim, pode-se confirmar como foi previsto pelos dados de RMN que a configuração entre H-3 e H-4 é *eritro* e lembrando que, Karplus ao determinar a correlação de acoplamento vicinal, em seus cálculos, não levou em conta fatores como substituintes eletronegativos, ângulos de ligação e comprimentos de ligação, ou seja, mesmo sendo um cálculo aproximado, teve concordância com os dados obtidos.

## 5 CONCLUSÕES

- Os deslocamentos químicos dos sinais do composto franganina apresentaram variações de acordo com os diferentes solventes deuterados que foram utilizados.
- As ligações hidrogênio intra e intermoleculares foram investigadas através das diferenças observadas nos espectros da franganina em  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{DMSO}-d_6$ . As principais mudanças foram verificadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios próximos e dos carbonos carbonílicos presentes nas mesmas.
- Foi obtida a atribuição completa do alcalóide ciclopeptídico franganina após vários anos de seu primeiro isolamento, em função das técnicas que foram usadas, e desta forma, poderão servir como uma base para uma revisão da atribuição de compostos similares.
- Os dados de RMN como os deslocamentos químicos dos carbonos quirais e seus respectivos hidrogênios, as constantes de acoplamento e as correlações com o ângulo diedro são ferramentas importantes na determinação da estereoquímica apenas por RMN.
- Existem vários métodos de obtenção de cristais, como acetilação e o composto cristalizando por si próprio, todos estes levando a uma atribuição da configuração relativa. O método que foi empregado neste trabalho foi a formação de um sal de amônio quaternário, com presença do iodo (átomo pesado) que permite a obtenção da determinação da estereoquímica absoluta por raios-X.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-ZARGA, M.; SABRI, S.; AL-ABOUDI, A.; AJAZ, M. S.; SULTANA, N.; ATTA-UR-RAHMAN. New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. **Journal of Natural Product**, v.58, p.504-511, 1995.

ARBAIN, D.; TAYLOR, W. C. Cyclopeptide alkaloids from *Antidesma montana*. **Phytochemistry**, v.33, p.1263-1266, 1993.

BIFULCO, G.; DAMBRUOSO, P.; GOMEZ-PALOMA, L.; RICCIO, R. Determination of relative configuration in organic compounds by NMR spectroscopy and computational methods. **Chemical Reviews**, v. 107, p. 3744-3779, 2007.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre a modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.21, p. 99-105, 1998.

CORDELL, G. A. Changing Strategies in Natural Products Chemistry. **Phytochemistry**, v.40, p.1585-1612, 1995.

DIGEL, M.; MOREL, A. F.; LAYER, H.; BIERMANN, J.; VOELTER, W. Peptidalkaloide aus *Discaria febrifuga* Mart. **Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie**, v.364, p.1641, 1983.

EL-SEEDI, H. R.; GOHIL, S.; PERERA, P.; TORSELL, K. B. G.; BOHLIN, L. Cyclopeptide alkaloids from *Heisteria nitida*. **Phytochemistry**, v.52, p.1739-1744, 1999.

EL-SEEDI, H. R.; ZAHARA, M. H.; GORANSSON, U.; VERPOORTE, R. Cyclopeptide alkaloids. **Phytochemistry Review**, v.6, p.143-165, 2007.

GHEDIRA, K.; CHEMLI, R.; RICHARD, B.; NUZILLARD, J-M.; ZECHES, M.; MEN-OLIVIER, L. L. Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. **Phytochemistry**, v.32, p.1591-1594, 1993.

GIACOMELLI, S. R. Estudo fitoquímico de três espécies pertencentes à família Rhamnaceae: *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia*. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, **Tese de doutorado em Química**, 293 p, 2005.

GIACOMELLI, S. R.; MALDANER, G.; GONZAGA, W. A.; GARCIA, C. M.; SILVA, V. F.; DALCOL, I. I.; MOREL, A. F. Cyclic peptide alkaloids from the bark of *Discaria Americana*. **Phytochemistry**, v.65, p.933-937, 2004.

GIACOMELLI, S. R.; MISSAU, F. C.; MOSTARDEIRO, M. A.; SILVA, U. F.; DALCOL, I. I.; ZANATTA, N.; MOREL, A. F. Cyclopeptides from the bark of *Discaria Americana*. **Journal of Natural Products**, v.64, p.997-999, 2001.

GOURNELIS, D. C.; LASKARIS, G. G.; VERPOORTE, R. Cyclopeptide alkaloids. **Natural Product Reports**, v.14, p. 75-82, 1997.

HAN, B. H.; PARK, M. H.; HAN, Y. N. Cyclic peptide and peptide alkaloids from seeds of *Zizyphus vulgaris*. **Phytochemistry**, v.29, p.3315-3319, 1990.

HAN, H. B.; PARK, H. M.; PARK, J. H. Chemical and pharmacological studies on sedative cyclopeptide alkaloids in some Rhamnaceae plants. **Pure and Applied Chemistry**, v. 61, p.443, 1989.

HASLINGER, E. Zur konformation von Frangulanin. **Tetrahedron**, v. 34, p. 685-688, 1978.

HE, G.; WANG, J.; MA, D. Highly convergent route to cyclopeptide alkaloids. Total synthesis of ziziphine N. **Organic Letters**. v.9, p.1367, 2007.

HENNIG, P.; MOREL, A. F.; VOELTER, W. Discarin-I, ein neues peptidealkaloid aus *Discaria febrifuga* Mart. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.41b, p.1180, 1986.

HERZOG, R.; MOREL, A. F.; BIERMANN, J.; VOELTER, W. Discarin-H, ein neues peptidalkaloid aus *Discaria febrifuga* Mart. **Chemiker Zeitung**, v.108, p.406, 1984.

HERZOG, R., MOREL, A. F. BIERMANN, J. VOELTER, W. Ein neues peptidalkaloid aus *Discaria febrifuga* Mart. **Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie**, v.365, p.1351-1354, 1984.

JEFFREY, G. A. **An Introduction to Hydrogen Bonding**. 1. ed. New York: Oxford University Press, 1997. 320p.

JOULLIE, M. M.; NUTT, R. F. **Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives**. New York: Wiley, 1984. p.113-168.

KARPLUS, M. Contact electron-spin coupling of nuclear magnetic moments. **Journal of Chemical Physics**, v.30, p.11-15, 1959.

KO, H.; SHIM, G.; KIM, Y. Evidences that  $\beta$ -Lactose forms hydrogen bonds in DMSO. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v.26, p.2001-2006, 2005.

LEE, S-S.; SU, W-C.; LIU, K. C. S. Cyclopeptide alkaloids from stems of *Paliurus ramossissimus*. **Phytochemistry**, v.58, p.1271- 1276, 2001.

MACHADO, E. C.; FILHO, A. A.; MOREL, A. F. Four cyclopeptide alkaloids from *Discaria longispina*. **Journal of Natural Products**, v.58, p.548, 1995.

MACHADO, E. C.; ZANATTA, N.; MOREL, A. F. Atribuição dos deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do alcalóide ciclopeptídico discarina-B por técnicas de RMN 1D e 2D. **Química Nova**, v.5, p.397-403, 1993.

MALDANER, G. "Estudo dos metabólitos secundários de *Scutia buxifolia* e sua atividades biológicas". Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, **Tese de doutorado em Química**, 201p., 2010.

MENEZES, A. S.; MOSTARDEIRO, M. A.; ZANATTA, N.; MOREL, A. F. Scutianine-J, a cyclopeptide alkaloid isolated from *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v.38, p.783-786, 1995.

MOREL, A. F.; ARAUJO, C. A.; SILVA, U. F.; HOELZEL, S. C. S. M.; ZÁCHIA, R.; BASTOS, N. R. Antibacterial cyclopeptide alkaloids from the bark of *Condalia buxifolia*. **Phytochemistry**, v.61, p.561-566, 2002.

MOREL, A. F.; BRAVO, R. V. F.; REIS, F. A. M.; RÚVEDA, E. A. Peptide alkaloids of *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v.18, p. 473-477, 1979.

MOREL, A. F.; FLACH, A.; ZANATTA, N.; ETHUR, E. M.; MOSTARDEIRO, M. A.; GEHRKE, I. T. S. A new cyclopeptide alkaloid from the bark of *Waltheria douradinha*. **Tetrahedron Letters**, v.40, p.9205-9209, 1999.

MOREL, A. F.; GEHRKE, I. T. S.; MOSTARDEIRO, M. A.; ETHUR, E. M.; ZANATTA, N.; MACHADO, E. C. S. Cyclopeptide alkaloids from the bark of *Waltheria douradinha*. **Phytochemistry**, v.51, p.473-474, 1999.

MOREL, A. F.; HERZOG, R.;BIERMANN, J.; VOELTER, W. Ein neues peptidalkaloid aus *Discaria febrifuga* Mart. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.39b, p.1825-1827, 1984.

MOREL, A. F.; HERZOG, R.; VOELTER, W. Discarin-E, ein neues peptidealkaloid aus *Discaria febrifuga* Mart. **Chimia**, v.39, p.98, 1985.

MOREL, A. F.; MACHADO, E. C.; MOREIRA, J. J.; MENEZES, A. S.; MOSTARDEIRO, M. A.; ZANATTA, N.; WESSJOHANN, L. A. Cyclopeptide alkaloids of *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v.47, p.125-129, 1998.

MOREL, A. F.; MACHADO, E. C.; WESSJOHANN, L. A. Cyclopeptide alkaloids of *Discaria febrifuga* (Rhamnaceae). **Phytochemistry**, v.39, p.431-434, 1995.

MOREL, A. F.; MALDANER, G.; ILHA, V. “**The alkaloids, Chemistry and Pharmacology**”. New York: Academic Press, 2009, 62p.

MOREL, A. F.; MALDANER, G.; ILHA, V.; MISSAU, F.; SILVA, U. F.; DALCOL, I. I. Cyclopeptide alkaloids from *Scutia buxifolia* Reiss and their antimicrobial activity. **Phytochemistry**, v.66, p.2571-2576, 2005.

OLIVEIRA, P. L.; TANAKA, C. M. A.; KATO, L.; SILVA, C. C.; MEDINA, R. P.; MORAES, A. P.; SABINO, J. R.; OLIVEIRA, C. M. A. Amaiouine, a cyclopeptide alkaloid from the leaves of *Amaioua guianensis*. **Journal of Natural Products**, v.72, p.1195-1197, 2009.

PAÏS, M.; JARREAU, F. X.; SIERRA, M. G.; MASCARETTI, O. A.; RUVEDA E. A.; CHANG, J. C.; HAGMAN, E. W.; WENKERT, E. Carbon-13 nmr analysis of cyclic peptide alkaloids. **Phytochemistry**, v.18, p.1869, 1979.

PAIS, M.; MONSEUR, X.; LUSINCHI, X.; GOUTAREL, R. Alcaloïdes peptidiques. II. – Structure de la pandamine, alcaloïde du *Panda oleosa* Pierre (Pandacées). **Bulletin de la Societe Chimique de France**. p. 817, 1964.

REYNOLDS, W. F.; ENRÍQUEZ, R. G. Choosing the best pulse sequences, acquisition parameters, postacquisition processing strategies, and probes for natural product structure elucidation by nmr spectroscopy. **Journal of Natural Products**, v.65, p.221-244, 2002.

SCHMIDT, U.; LIEBERKNECKT, A.; HASLINGER, E. “**The Alkaloids**”, **Chemistry and Pharmacology**. New York: Academic Press, 1985, 299 p.

SERVIS, R. E.; KOSAK, A. I.; TSCHESCHE, R.; FROHBERG, E.; FEHLHABER, H. W. Peptide alkaloids from *Ceanothus americanus* L. (Rhamnaceae). **Journal of the American Chemical Society**, v.91, p.5619-5624, 1969.

SIERRA, M. G.; MASCARETTI, O. A.; MERKUZA, V. M.; TOSTI, E. L.; RUVEDA, E. A.; CHANG, C.-J. Peptide alkaloids of *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v.13, p.2865, 1974.

SILVA, M.; BHAKUNI, D. S.; SAMMES, P. G.; PAIS, M.; JARREAU, F. X. A new peptide alkaloid from *Discaria crenata*. **Phytochemistry**, v.13, p.861-863, 1974.

SILVA, U. F.; CARDOSO, C. D.; ZANATTA, N.; MOREL, A. F.; ICHELN, D.; GEHRCKE, B. Determination of the stereochemistry of the N,N-dimethyl amino acid and the  $\alpha$ -amino acid residue of peptide alkaloids by chiral gas chromatography. **Phytochemical Analysis**, v.7, p.20-23, 1996.

SILVERTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 508p.

SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/ UFRGS/ Ed. da UFSC, 2002. 824p.

TSCHESCHE, R.; AMMERMANN, E. Scutianin-C, -D und -E, drei weitere cyclopeptidalkaloide aus *Scutia buxifolia* Reiss. **Chemische Berichte**, v.107, p.2274-2283, 1974.

TSCHESCHE, R.; HILLEBRAND, D. Scutianin-G, ein weiteres cyclopeptidalkaloide aus *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v.16, p.1817- 1818, 1977.

TSCHESCHE, R.; LAST, H. Franganin und frangufolin, zwei weitere peptid-alkaloide aus *Rhamnus frangula* L. **Tetrahedron Letters**, v.9, p.2993-2998, 1968.

VOELTER, W.; MOREL, A. F.; ATTA-UR-RAHMAN; QURESHI, M. M. Studies on the peptide alkaloids of *Discaria febrifuga*. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.42b, p.467-472, 1987.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. 1. ed. Chapecó: Argos, 2001. 500p.