

DI-HIDROCUCURBITACINA B: SEMI-SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS GLICOSILADOS

Vanessa R. Machado^a, Karen L. Lang^b, Fernando J. Durán^c, Gabriela M. Cabrera^c, Jorge A. Palermo^c, Eloir P. Schenkel^a e Lillian S. C. Bernardes^{a,*}

^aDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário, 88040-900 Florianópolis – SC, Brasil

^bDepartamento de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, 35020-220 Governador Valadares – MG, Brasil

^c UMYFOR-CONICET - Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Recebido em 14/04/2014; aceito em 27/08/2014; publicado na web em 24/10/2014

DIHYDROCUCURBITACIN B: SEMISYNTHESIS OF NEW GLYCOSIDE DERIVATIVES. In the last ten years, the interest in natural and semi-synthetic cucurbitacin derivatives has increased, primarily due their cytotoxic and anti-tumoral activities. However, the isolation of glycosylated cucurbitacins has been difficult due the presence of β -glucosidase enzyme. With the aim of obtaining new glycosylated derivatives, the glycosylation of dihydrocucurbitacin B under Koenigs-Knorr and imidate reaction conditions was studied. Novel glycoside derivatives 16-(1,2-orthoacetate-3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl)-dihydrocucurbitacin B (**2**), 2-*O*- β -D-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-galactopyranosyl dihydrocucurbitacin B (**3**) and 2-*O*- β -D-galactopyranosyl dihydrocucurbitacin B (**4**) were synthesized for the first time in 17% (**2** and **3**) and 48% (**4**) yields.

Keywords: *Wilbrandia ebracteata*; glycosylated cucurbitacins; *O*-glycosylation reaction; molecular modification.

INTRODUÇÃO

A busca por compostos bioativos, a partir de fontes naturais, continua sendo inspiração para os químicos medicinais no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos.¹⁻⁴ Os produtos naturais (PNs) ocupam um espaço químico diferenciado quando comparados aos compostos totalmente sintéticos. A biossíntese fornece estruturas com características particulares difíceis de serem obtidas com a síntese total, como por exemplo: a diversidade de esqueletos, compostos altamente funcionalizados e controle estereoquímico.³⁻⁴ O Brasil apresenta uma ampla biodiversidade, a qual é considerada uma fonte de substâncias biologicamente ativas.² Neste contexto, nosso grupo de pesquisa desenvolve trabalhos centrados na investigação da constituição química e na avaliação das propriedades biológicas de espécies vegetais da família Cucurbitaceae, utilizadas popularmente com o nome de taiuiá.⁵ Algumas dessas espécies são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento das mais variadas enfermidades, dentre elas, artrite, sinusite, tumores de pele, doenças reumáticas e também contra efeitos de venenos de cobra.⁶

De maneira geral, os componentes majoritários de espécies da família Cucurbitaceae são as cucurbitacinas, triterpenos tetracíclicos de esqueleto incomum 19 (10 \rightarrow 9 β) *abeo*-5 α -lanosteno (Figura 1). Até o presente momento, já foram descritas mais de 50 cucurbitacinas e suas principais diferenças estruturais estão relacionadas às funcionalidades no anel A, cadeia lateral e fatores estereoquímicos.⁷ Os compostos desta classe podem ser isolados na forma livre (aglicona) ou glicosilada, no entanto, o isolamento de glicosídeos de cucurbitacinas é dificultado pela presença da enzima β -glucosidase em muitos tecidos vegetais.⁸

Entre as espécies investigadas destaca-se *Wilbrandia ebracteata*, da qual foram identificados mais de 20 cucurbitacinas até o momento.^{9,10} A di-hidrocurbitacina B (**1**; Figura 1) é o composto majoritário do extrato diclorometânico das raízes *W. ebracteata* e

apresentou resultados relevantes em estudos *in vivo* com redução significativa do crescimento celular, quando avaliada frente à linhagem de melanoma (B16F10), assim como inibição do edema de pata induzido por carragenina.^{11,12} Nos últimos anos, as cucurbitacinas têm despertado interesse, principalmente em função das atividades citotóxica e antitumoral que apresentam. Elas são capazes de induzir alterações morfológicas e fisiológicas em células tumorais, atuando por diferentes mecanismos de ação¹³ e alguns estudos demonstraram que os derivados glicosilados apresentam menor toxicidade quando comparado ao derivado não glicosilado.¹⁴

Adicionalmente, em trabalhos anteriores, foi descrita a atividade citotóxica em linhagens tumorais de cucurbitacinas obtidas de *W. ebracteata*, bem como de análogos obtidos por modificações moleculares da di-hidrocurbitacina B, realizadas principalmente nas posições 2 e 16.^{10,15} Em sequência a esses trabalhos, tornou-se importante a obtenção de derivados glicosilados de cucurbitacinas, os quais ocorrem na planta em baixas concentrações, para avaliação de suas propriedades biológicas. Apesar do interesse renovado pelas propriedades biológicas de cucurbitacinas,¹³ são poucos os trabalhos direcionados para obtenção de novos derivados desta classe de produtos naturais, glicosilados ou não.¹⁵⁻¹⁷ Com esse objetivo, foram realizadas reações de glicosilação na di-hidrocurbitacina B, seguindo metodologias clássicas como a reação de Koenigs-Knorr e as reações com os derivados tricloroacetimidato da glicose e galactose peracetiladas.^{18,19}

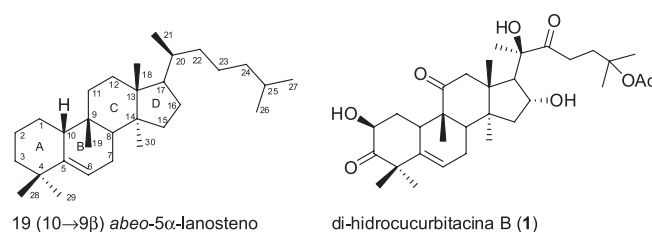


Figura 1. Estrutura geral do esqueleto cucurbitano e da di-hidrocurbitacina B

*e-mail: l.bernardes@ufsc.br

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O precursor di-hidrocurbitacina B (**1**) foi isolado do extrato diclorometânico das raízes de *W. ebracteata* com rendimentos satisfatórios (20%), conforme metodologia já descrita.¹⁰

Os derivados glicosilados 16-(1,2-ortoacetato-3,4,6-tri-*O*-acetil- α -D-glicopiranosil)di-hidrocurbitacina B (**2**), 2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)di-hidrocurbitacina B (**3**) e 2-*O*-(β -D-galactopiranosil)di-hidrocurbitacina B (**4**), apresentados na Figura 2, foram preparados conforme método de Koenigs-Knorr e reações com imidatos, respectivamente.^{18,19}

Em ambas as reações estudadas foram utilizados derivados haletos e imidatos de glicose e galactose como unidades doadoras de glicosídeos (Esquema 1). A obtenção destes doadores envolve a preparação de intermediários comuns, os compostos 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil-D-glicopiranosil (**6a**) e 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil-D-galactopiranosil (**6b**), os quais foram obtidos a partir da proteção da D-glicose **5a** e D-galactose **5b** com anidrido acético, na presença de iodo molecular.²⁰ Os derivados haletos, brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glicopiranosila (**7a**) e brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosila (**7b**) foram preparados a partir das unidades monossacarídicas protegidas **6a** e **6b** com rendimentos de 67% e 62%, respectivamente, pela reação com ácido bromídrico em ácido acético (33%). Os derivados imidatos, 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glicopiranosila tricloroacetimidato (**9a**) e tricloroacetimidato 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosila (**9b**) foram obtidos com rendimentos de 50% e 62%, respectivamente, pela reação inicial dos compostos **6a** e **6b** com acetato de hidrazina, para desproteção seletiva em C-1 (carbono anomérico) gerando os compostos **8a** e **8b** e posterior reação destes com tricloroacetimidato, na presença de DBU.

O composto glicosilado 16-(1,2-ortoacetato-3,4,6-tri-*O*-acetil- α -D-glicopiranosil)di-hidrocurbitacina B (**2**) foi obtido seguindo a metodologia clássica de Koenigs-Knorr com rendimento de 17%, pela reação entre di-hidrocurbitacina B e quantidades equimolares do doador **7a** e Ag₂O como promotor da *O*-glicosilação (Esquema 2A).¹⁸

A mesma reação foi desenvolvida com o doador **7b**, seguindo as mesmas condições reacionais e alternativamente com algumas variações como, por exemplo, tempo reacional, número de equivalentes, variação do solvente e do agente promotor (Ag₂CO₃). Porém, foram obtidas misturas complexas de difícil separação cromatográfica, não sendo possível identificar a formação de derivado glicosilado.

A identificação estrutural do derivado 1,2-ortoacetato **2** foi realizada com base na constatação da presença de apenas 3 grupos acetilas na unidade monossacarídica, ao invés dos 4 presentes no doador, ao mesmo tempo que se observa um sinal adicional no espectro de RMN ¹³C em δ 122,0 ppm, sendo este valor típico de ortoésteres.²¹ A análise do mapa de correlação heteronuclear (HMBC) demonstrou correlação do sinal em δ 122,0 ppm com um simpleto (3H) em δ 1,55 ppm, o qual não está presente no espectro de RMN ¹H de **1**. Por meio da correlação do simpleto em δ 1,55 ppm pode-se atribuir a posição de substituição do produto **2**, uma vez que o mesmo correlaciona-se com o sinal em δ 73,8 ppm referente a C-16.

O mecanismo de formação do composto **2** pode ser explicado pelo ataque nucleofílico da hidroxila em C-16 ao íon oxocarbenium do composto **7a**, porém no carbono carbonílico do grupamento acetato de C-2' (Figura 3).

Na análise do espectro de RMN ¹H foi possível observar a formação de diastereoisômeros na proporção de 2:1, com base nas integrais do hidrogênio olefínico (H-6). De acordo com a literatura,²² a isomeria é com relação à estereoquímica da metila em δ 1,55 ligada ao carbono carbonílico (δ 122), o qual sofreu o ataque nucleofílico. A metila pode estar orientada em β caracterizando o composto *exo* (*trans* ao anel pirano) ou *endo* quando disposta em α (Figura 3).

O derivado 2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)di-hidrocurbitacina B (**3**) foi obtido com rendimento de 17% pela reação do doador imidato **9b** com a di-hidrocurbitacina B, na presença de triflato de trimetilsilila (TMSOTf) como catalisador, sob atmosfera de nitrogênio (Esquema 2B).¹⁹ Porém, utilizando essa metodologia não foi possível obter o derivado de di-hidrocurbitacina B contendo a unidade monossacarídica glicose (reação entre

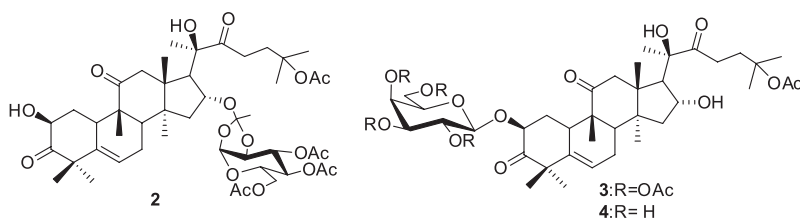
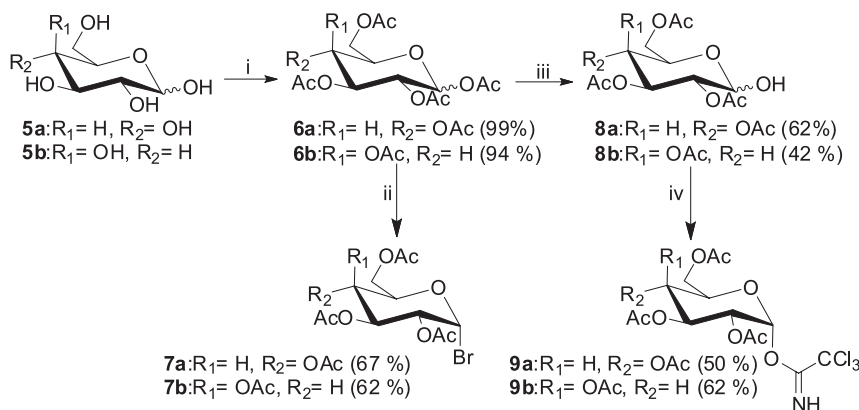
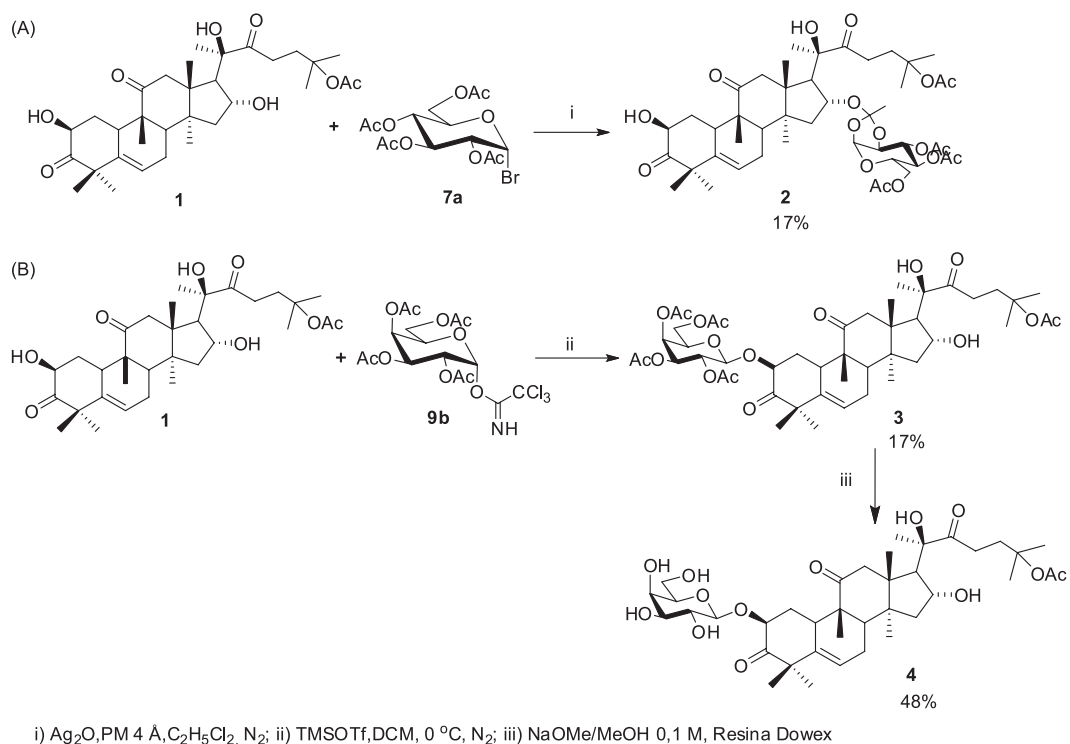


Figura 2. Derivados glicosilados de di-hidrocurbitacina B 2, 3 e 4



i) Ac₂O, I₂; ii) HBr/AcOH; iii) H₂NNHAc, DMF; iv) CCl₃CN, DBU, CH₂Cl₂, 0 °C

Esquema 1. Rota de síntese para preparação dos doadores de unidades monossacarídicas 7a-b e 9a-b



Esquema 2. Esquemas de síntese de obtenção dos derivados glicosilados 2 (2A), 3 e 4 (2B)

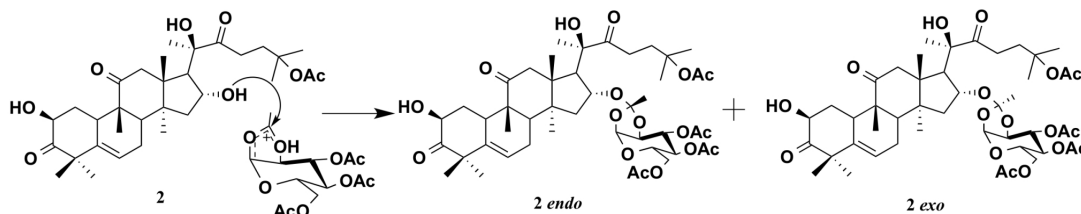


Figura 3. Mecanismo provável para formação do 1,2-ortoéster 2 (diastereoisômeros endo e exo)

1 e composto 9a). A formação do composto 3 foi confirmada por espectro de RMN ^1H devido à presença de um duplete em δ 4,63 ppm, cuja constante de acoplamento ($J = 7,8$ Hz) indica a formação do isômero β -D-galactopiranosídeo. A posição de substituição na aglicona di-hidrocurbitacina B foi determinada por análise dos mapas de contorno HMBC e COSY. A confirmação foi possível devido ao deslocamento do sinal de espectro de RMN ^{13}C referente a C-2, o qual apresentava-se em δ 71,7 ppm no produto de partida (1) e, após a formação da ligação glicosídica (3), deslocou-se para δ 76,0 ppm.

Finalmente, a desacetilação do derivado 3, na presença de metóxido de sódio e metanol, conduziu à formação do 2-O-(β -D-galactopiranosil)di-hidrocurbitacina B (4), com 48% de rendimento.

Os compostos glicosilados 2, 3 e 4 foram avaliados quanto à atividade citotóxica frente à linhagem celular de adenocarcinoma de pulmão (A549) e os resultados contribuíram para estudos de QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) de uma biblioteca de derivados de cucurbitacinas, obtidas em trabalhos anteriores.²³

CONCLUSÃO

Os derivados glicosilados 16-(1,2-ortoacetato-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glicopiranosil)-di-hidrocurbitacina B (2) e 2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil) de di-hidrocurbitacina B (3) foram obtidos com 17% de rendimento, pela reação de di-hidrocurbitacina B (1) na presença de Ag_2O e TMSOTf, respectivamente. A reação de

desacetilação de 3 forneceu o derivado 2-O-(β -D-galactopiranosil) di-hidrocurbitacina B (4) com 48% de rendimento.

As metodologias de glicosilação estudadas permitiram a síntese de compostos glicosilados inéditos (compostos 2, 3 e 4), os quais se destacam pelo fato de que poucos derivados glicosilados de cucurbitacina com padrão de substituição em C-16 são descritos, além de não existirem relatos quanto ao isolamento de derivados contendo galactose como unidade monossacarídica.

PARTE EXPERIMENTAL

Os reagentes e os solventes utilizados nas reações e nos procedimentos de purificação foram previamente tratados conforme métodos descritos na literatura.²⁴ Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram realizados em CDCl_3 a temperatura ambiente (25 °C) em espectrofotômetro Bruker Avance 2 a uma frequência de 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C . Os deslocamentos químicos foram expressos em δ relativo ao tetrametilsilano (TMS). Espectrometria de Massas de alta resolução foi realizada em equipamento Bruker Daltonics MicroTOF-Q II. As colunas cromatográficas foram realizadas utilizando gel de sílica com granulometria 40-63 μm ou 63-200 μm . Agentes cromogênicos de detecção: vanilina fosfórica (2,5 g de vanilina em 50 mL de etanol e 12,5 mL de ácido orto-fosfórico 85%) e solução ácida de molibdato cério e amônio [cério molibdênio 1%, ácido molibdico 1,5% diluídos em ácido sulfúrico concentrado 10% (v/v) e água destilada qsp.].

Isolamento de di-hidrocurbitacina B das raízes de *W. Ebracteta*

As raízes dessecadas de *W. ebracteta* (3,7 kg) foram moídas em moinho de facas e em seguida submetidas a maceração exaustiva em diclorometano (10,0 L). Inicialmente, foi realizado um fracionamento cromatográfico com o extrato DCM (10 G) do tipo CLV (coluna líquida à vácuo) em funil com placa de vidro sinterizado, utilizando como fase estacionária gel de sílica para CCD G60. A fase móvel foi constituída com a mistura de solventes hexano-acetato de etila, em gradiente de polaridade crescente até acetato de etila 100%. Deste fracionamento inicial foram obtidas 9 frações, sendo que 3 dessas foram reunidas devido a sua semelhança cromatográfica em CCD e também por apresentarem di-hidrocurbitacina B como constituinte majoritário. A etapa seguinte foi a realização de uma nova coluna cromatográfica das frações reunidas contendo di-hidrocurbitacina B majoritariamente. A fase estacionária foi sílica gel G60 e a fase móvel foi a mistura de solventes hexano e acetato de etila na proporção 60:40 (v/v). O rendimento final de di-hidrocurbitacina B foi de 20% em relação ao extrato DCM (m/m).

Di-hidrocurbitacina B (**1**): Sólido branco; P.F.: 180-184 °C; Rf 0,53 [Hex:AcOEt:50:50 (v/v)]. ESI-EM [M - H]⁻: calculado para C₃₂H₄₇O₈: 559,3276; encontrado: 559,3300. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz)²⁵, δ: 5,79 (1H, ddd, J_{6-7α} = 6 Hz; J_{6-7β} = 2 Hz; J₆₋₁₀ = 2 Hz, H-6), 4,41 (1H, dd, J_{2-1β} = 13,0 Hz; J_{2-1α} = 6,0, H-2), 4,31 (1H, ddd, J_{16-15β} = 9,0; J_{16,17} = 7,4 Hz; J_{16,15α} = 1,0, H-16), 3,25 (1H, d, J_{12α-12β} = 14,5 Hz, H-12α), 2,82 (1H, m, 23a), 2,73 (1H, m, H-10), 2,70 (1H, d, J_{12β-12α} = 14,5 Hz, H-12β), 2,54 (1H, m, H-23b), 2,49 (1H, d, J_{17,16} = 7,4 Hz, H-17), 2,41 (1H, m, H-7β), 2,31 (1H, ddd, J_{1α-1β} = 13,0 Hz; J_{1α-2} = 6,0 Hz; J_{1α-10} = 3,6 Hz, H-1α), 2,03 (2H, m, H-24a, H-24b), 1,99 (1H, m, H-7α), 1,98 (1H, m, H-8), 1,96 (3H, s, -OCOCH₃), 1,85 (1H, dd, J_{15β-16} = 9,0 Hz; J_{15β-15α} = 13,0 Hz; H-15β), 1,46 (3H, s, CH₃-27), 1,44 (3H, s, CH₃-26), 1,43 (3H, s, CH₃-21), 1,40 (1H, m, H-15α), 1,37 (3H, s, CH₃-30), 1,35 (3H, s, CH₃-28), 1,29 (3H, s, CH₃-29), 1,24 (1H, m, H-1β), 1,08 (3H, s, CH₃-19), 0,98 (3H, s, CH₃-18). RMN ¹³C (CDCl₃, 125,8 MHz), δ: 213,9 (C-22), 213,1 (C-3), 212,1 (C-11), 140,6 (C-5), 120,5 (C-6), 81,3 (C-25), 78,9 (C-20), 71,7 (C-2), 71,1 (C-16), 57,8 (C-17), 50,7 (C-14), 50,3 (C-4), 49,0 (C-13), 48,7 (C-12), 48,4 (C-9), 45,5 (C-15), 42,3 (C-8), 36,1 (C-1), 38,4 (C-24), 33,8 (C-10), 30,7 (C-23), 29,4 (C-29), 26,2 (C-26), 25,8 (C-27), 24,5 (C-21), 23,9 (C-7), 21,3 (C-28), 20,1 (C-19), 19,8 (C-18), 18,8 (C-30), -OAc (170,4; 22,0).

Síntese dos derivados *O*-glicosilados

16-(1,2-ortoacetato-3,4,6-tri-*O*-acetil-α-D-glicopiranosil)-di-hidrocurbitacina B (**2**): Em um balão de 2 bocas contendo o composto brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-glicopiranosila (**7a**) (242,0 mg; 0,54 mmol), di-hidrocurbitacina B (100,0 mg; 0,18 mmol), Ag₂O (124,0 mg; 0,54 mmol) e peneira molecular 4Å (300,0 mg) foram adicionados 5 mL de 1,2-dicloroetano seco. Posteriormente o sistema foi submetido à atmosfera de N₂ sob proteção de luz e mantido com agitação por 24 horas à temperatura ambiente, sendo acompanhado por CCD [hexano: acetato de etila 4:6 (v/v)]. Após 24 horas a mistura reacional foi diluída em diclorometano e filtrada em Celite® utilizando funil com placa de vidro sinterizado. O produto bruto da reação foi purificado por coluna cromatográfica em gel de sílica [hexano: acetato de etila 1:1 (v/v)] e o composto **2** foi isolado como um sólido branco com 17% de rendimento (27,0 mg, 0,030 mmol). Dados do composto: Rf 0,38 [AcOEt: Hex 1:1 (v/v)]. ESI-EM: calculado para C₄₆H₇₀O₁₇N [M + NH₄]⁺: 908,4638; encontrado 908,4632; calculado para C₄₆H₆₆NaO₁₇ [M + Na]⁺: 913,4192; encontrado 913,4181. RMN

¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ: 5,85 (1H, ddd, J_{6-7α} = 6 Hz; J_{6-7β} = 2 Hz; J₆₋₁₀ = 2 Hz, H-6), 5,61 (1H, d, J_{1,2} = 5,0 Hz, H-1), 5,10 (1H, m, H-5'), 4,89 (1H, dd, J_{3,4} = 9,7 Hz; J_{4,5} = 2,8 Hz, H-4'), 4,40 (1H, m, H-2), 4,30 (1H, ddd, J_{16-15β} = 9,0; J_{16,17} = 7,4 Hz; J_{16,15α} = 1,0, H-16), 4,20 (2H, m, H-2', H-6a'), 4,18 (1H, m, H-6b'), 3,89 (1H, m, H-3'), 3,60 (1H, d, J_{OH,2} = 4,0 Hz), 3,20 (1H, d, J_{12α,12β} = 15,0 Hz, H-12α), 2,72 (1H, d, J_{12α,12β} = 15,0 Hz, H-12β), 2,70 (1H, m, H-10), 2,68 (1H, m, H-23a), 2,58 (1H, d, J_{16,17} = 7,0 Hz, H-17), 2,51 (1H, m, H-23b), 2,03 (2H, m, H-24a, H-24b), 2,13 (3H, s, COCH₃), 2,10 (3H, s, COCH₃), 2,09 (3H, s, COCH₃), 1,98 (1H, m, H-8), 1,96 (2H, s, OCOCH₃), 1,74 (1H, m, H-15β), 1,65 (1H, m, H-15α), 1,55 (3H, s, CH₃'), 1,45 (3H, s, CH₃-27), 1,44 (3H, s, CH₃-26), 1,42 (3H, s, CH₃-21), 1,34 (3H, s, CH₃-28), 1,27 (3H, s, CH₃-29), 1,26 (3H, s, CH₃-30), 1,24 (1H, m, H-1β), 1,09 (3H, s, CH₃-19), 0,98 (3H, s, CH₃-18). RMN ¹³C (CDCl₃, 125,8 MHz), δ: 213,9 (C-22), 212,9 (C-3), 211,9 (C-11), 170,7 (C-OAc), 170,2 (C-OAc), 169,7 (C-OAc), 169,3 (C-OAc), 140,0 (C-5), 122 (C-7'), 120,8 (C-6), 96,7 (C-1'), 81,3 (C-25), 78,9 (C-20), 73,8 (C-16), 72,3 (C-2'), 71,7 (C-2), 70,6 (C-5'), 68,0 (C-4'), 67,0 (C-3'), 62,9 (C-6'), 56,3 (C-17), 50,1 (C-4), 49,0 (C-13), 48,7 (C-12), 48,3 (C-9), 48,1 (C-14), 42,3 (C-8), 41,1 (C-15), 35,9 (C-1), 35,0 (C-24), 33,8 (C-10), 30,1 (C-23), 29,4 (C-29), 26,2 (C-26), 25,8 (C-27), 24,4 (C-21), 23,6 (C-7), 22,4 (C-OAc), 21,3 (C-28), 21,3 (C-8'), 20,1 (C-19, C-OAc), 19,8 (C-18, C-OAc), 19,6 (C-OAc) 18,8 (C-30).

2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosil)-di-hidrocurbitacina B (**3**): em um balão foram reunidos os compostos di-hidrocurbitacina B (100,0 mg; 0,178 mmol), 1-tricloroacetimidato de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-galactopiranosila (**9b**) (105,0 mg; 0,214 mmol) e peneira molecular 4 Å. Em seguida, foram diluídos em diclorometano destilado (5,0 mL) e mantidos sob N₂ a temperatura de -10 °C para a adição do promotor triflato de trimetilsilila (TMSOTf) (14 μL; 77 μmol). O sistema foi agitado por 1 hora nas condições mencionadas anteriormente e, em seguida, a reação foi finalizada com a adição de Et₃N concentrada. O produto bruto da reação foi purificado por coluna cromatográfica em gel de sílica [hexano: acetato de etila 1:1 (v/v)], sendo o composto **3** isolado como um sólido branco com rendimento de 17% (27,0 mg; 0,030 mmol). Dados do composto: Rf 0,31 [AcOEt: Hex 1:1 (v/v)]. ESI-EM: calculado para C₄₆H₆₅O₁₇ [M - H]⁻: 889,4227; valor encontrado 889,4191. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz), δ: 5,76 (1H, ddd, J_{6-7α} = 6 Hz; J_{6-7β} = 2 Hz; J₆₋₁₀ = 2 Hz, H-6), 5,39 (1H, dd, J_{3,4} = 3,4 Hz; J_{4,5} = 1,0 Hz, H-4'), 5,20 (1H, dd, J_{1,2} = 7,9 Hz; J_{2,3} = 10,8 Hz, H-2'), 5,03 (1H, dd, J_{3,4} = 3,4 Hz; J_{3,2} = 10,8 Hz, H-3'), 4,63 (1H, d, J_{1,2} = 7,8 Hz, H-1'), 4,54 (1H, dd, J_{2,1β} = 13,0 Hz; J_{2,1α} = 5,7 Hz, H-2), 4,31 (1H, ddd, J_{16-15β} = 9,0; J_{16,17} = 7,4 Hz; J_{16,15α} = 1,0, H-16), 4,25 (1H, dd, J_{6a',5'} = 5,7 Hz; J_{6a',6b'} = 11,2 Hz, H-6a'), 4,05 (1H, dd, J_{6b',5'} = 7,8 Hz; J_{6a',6b'} = 11,2 Hz, H-6b'), 3,81 (1H, m, H-5'), 3,28 (1H, d, J_{12α,12β} = 15,0 Hz, H-12α), 2,82 (1H, m, H-23a), 2,76 (1H, m, H-10), 2,70 (1H, d, J_{12α,12β} = 15,0 Hz, H-12β), 2,54 (1H, d, J_{16,17} = 7,0 Hz, H-17), 2,52 (1H, m, H-23b), 2,40 (1H, m, H-7β), 2,20 (1H, m, H-1β), 2,18 (3H, s, OCOCH₃), 2,16 (3H, s, OCOCH₃), 2,06 (3H, s, OCOCH₃), 2,05 (2H, m, H-24a, H-24b), 2,00 (3H, s, OCOCH₃), 1,97 (1H, m, H-8), 1,96 (1H, s, COOCH₃), 1,95 (1H, m, H-7α), 1,84 (1H, m, H-15β), 1,46 (3H, s, CH₃-27), 1,44 (3H, s, CH₃-26), 1,42 (3H, s, CH₃-21), 1,42 (1H, m, H-1α), 1,40 (1H, m, H-15α), 1,36 (3H, s, CH₃-30), 1,27 (3H, s, CH₃-28), 1,25 (3H, s, CH₃-29), 1,07 (3H, s, CH₃-19), 0,98 (3H, s, CH₃-18). RMN ¹³C (CDCl₃, 125,8 MHz), δ: 213,9 (C-22), 212,0 (C-11), 208,7 (C-3), 170,5 (C-OAc), 170,4 (C-OAc), 170,3 (C-OAc), 170,2 (C-OAc), 170,0 (C-OAc), 140,0 (C-5), 120,3 (C-6), 100,1 (C-1'), 81,3 (C-25), 78,9 (C-20), 76,0 (C-2), 71,1 (C-16), 70,8 (C-3'), 70,5 (C-5'), 68,8 (C-2'), 66,8 (C-4'), 60,9 (C-6'), 57,8 (C-17), 50,7 (C-14), 50,3 (C-4), 48,9 (C-12), 48,5 (C-13), 48,4 (C-9), 45,5 (C-15), 42,3 (C-8), 34,9 (C-24), 34,4 (C-10), 33,8 (C-1), 30,7 (C-23), 28,8 (C-29), 26,2

(C-26), 25,8 (C-27), 24,5 (C-21), 23,9 (C-7), 22,4 (C-OAc), 21,5 (C-28), 21,1 (C-OAc), 20,8 (C-OAc), 20,6 (C-OAc, C-OAc), 20,0 (C-19), 19,8 (C-18), 18,7 (C-30).

2-*O*-(β -D-galactopiranosil)di-hidrocurbitacina B (**4**): o composto 2-*O*- β -D-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-galactopiranosídeo) de di-hidrocurbitacina B (**3**) (33,0 mg, 0,037 mmol) foi dissolvido em MeOH (1,0 mL) seguido do tratamento com solução de NaOMe 1 mol L⁻¹ até pH 9-10. O sistema reacional foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 1 hora, e em seguida resfriado a 0 °C para a adição de resina Dowex 50WX8-200 para a neutralização (pH 7,0) da mistura reacional. O produto bruto da reação foi filtrado, concentrado e purificado por coluna cromatográfica com sistema de solventes [DCM: MeOH 5:0,5 (v/v)]. O composto 2-*O*- β -D-galactopiranosídeo de di-hidrocurbitacina B **4** foi isolado com 48% de rendimento (13 mg; 0,018 mmol). Dados do composto: Rf 0,17 [DCM: MeOH: 5:0,5 (v/v)]. ESI-EM: calculado para C₃₈H₆₂O₁₃N [M + NH₄]⁺: 740.4216; valor encontrado 740,4204; calculado para C₃₈H₅₈NaO₁₃ [M + Na]⁺: 745.3770; valor encontrado 745.3768. ESI-EM/EM m/z 740 (15 eV): 501.3213 [M + NH₄-Gal-AcOH]⁺, 100% (calculado para C₃₀H₄₅O₆: 501.3211), 663.3739 [M + NH₄-AcOH]⁺, 26% (calculado para C₃₆H₅₅O₁₁: 663.3739). RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 5,77 (1H, H-6), 4,57 (1H, H-2), 4,31 (1H, H-16), 4,28 (1H, H-1'), 4,08 (1H, H-6a'), 3,99 (1H, H-4'), 3,84 (1H, H-6b'), 3,75 (1H, H-2'), 3,63 (1H, H-5'), 3,55 (1H-H3'), 3,28 (1H,H-12a), 2,81 (1H, H-23a), 2,76 (1H,H-10), 2,70 (1H, H-12b), 2,54 (1H, H-17), 2,52 (1H, H-23b), 2,44 (1H, H-1a) 2,41 (1H, H-7a), 2,04 (2H, H-24), 1,97 (1H, H-7b), 1,96 (3H, COOCH₃), 1,84 (1H, H-15a), 1,81 (1H, H-1a), 1,47 (1H, H-1b) 1,46 (3H, CH₃-27) 1,44 (3H, CH₃-26), 1,42 (3H, CH₃-21), 1,40 (1H, H-15b), 1,36 (3H, CH₃-30), 1,28 (3H, CH₃-28), 1,26 (3H, CH₃-29), 1,06 (3H, CH₃-19), 0,96 (3H, CH₃-18). RMN ¹³C (CDCl₃, valores de ¹³C atribuídos com base no mapa de contornos HSQC), δ : 120,3 (C-6), 104,0 (C-1'), 79,2 (C-2), 75,2 (C-3'), 73,7 (C-5'), 71,4 (C-2'), 71,3 (C-16), 68,4 (C-4'), 62,5 (C-6'), 57,9 (C-17), 48,9 (C-12), 45,2 (C-15), 42,3 (C-8), 34,8 (C-1), 30,7 (C-23) 28,7 (CH₃-29), 26,1 (CH₃-26), 25,8 (CH₃-27), 24,3 (CH₃-21), 21,4 (C-OAc), 19,9 (CH₃-19), 19,7, (CH₃-18), 18,5 (CH₃-30).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UMYFOR-CONICET, Argentina) e UBA (Universidad de Buenos Aires, Argentina) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Harvey, A. L.; *Drug Discovery Today* **2008**, *13*, 894; Beghyn, T.; Deprez-Poulin, R.; Willand, N.; Folleas, B.; Deprez, B.; *Chem. Biol. Drug Des.* **2008**, *72*, 3; Chin, Y. W.; Balunas, M. J.; Chai, H. B.; Kinghorn, A. D.; *AAPS J.* **2006**, *8*, E239; Koehn, F. E.; Carter, G. T.; *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 206; Viegas Junior, C.; Bolzani, A. S.; Furlam, M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 655.
- Barreiro, E. J.; Bolzani, V. S.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 679.
- Ganesan, A.; *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 306.
- Newman, D. J.; Cragg, G. M.; *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311.
- Farias, M. R.; Schenkel, E. P.; Vianna, R. M. J.; Santos, R. I.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **1986**, *1*, 200.
- Moreira, N. J.; *Diccionario de plantas medicinales brasileiras.* **1862**, *1*, 144; Corrêa, P.; *Diccionario das Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, 1ª ed., Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1978.
- Valente, L. M. M.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 944; Cheng, H.; Cao, X.; Xian, M.; Fang, L.; Cai, T. B.; Ji, J. J.; Tunac, J. B.; Sun, D.; Wang, P. G.; *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 645; Chen, J. C.; Chiu, M. H.; Nie, R. L.; Cordell, G. A.; Qiu, S. X.; *J. Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22*, 386; Miro, M.; *Phytoter. Res.* **1995**, *9*, 159.
- Lavie, D.; Gloter, E.; *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* **1971**, *29*, 307; Dinan, L.; Harmatha, J.; Lafont, R.; *J. Chromatogr. A* **2001**, *935*, 105.
- Schenkel, E. P.; Farias, M. R.; Mayer, R.; Breitmaier, E.; Rücker, G.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1329; Farias, M. R.; Schenkel, E. P.; Mayer, R.; Rücker, G.; *Planta Med.* **1993**, *59*, 272.
- Lang, K. L.; Guimarães, T. R.; Machado, V. R.; Zimmermann, L. A.; Silva, I. T.; Teixeira, M. R.; Durán, F. J.; Palermo, J. A.; Simões, C. M. O.; Caro, M. S. B.; Schenkel, E. P.; *Planta Med.* **2011**, *59*, 272.
- Krepesky, P. B.; Cervelin, M. O.; Porath, D.; Peters, R. R.; Ribeiro-do-Valle, R. M.; Farias, M. R.; *Pharmacognosy* **2009**, *19*, 715.
- Peters, R. R.; Farias, M. R.; Ribeiro-do-Valle, R. M.; *Planta Med.* **1997**, *63*, 525; Siqueira Jr., J. M.; Peters, R. R.; Gazola, A. C.; Krepesky, P. B.; Farias, M. R.; Rae, G. A.; Brum-Fernandes, A. J.; Ribeiro-do-Valle, R. M.; *Life Sci.* **2007**, *80*, 1382; Siqueira Jr., J. M.; Gazola, A. C.; Farias, M. R.; Volkov, L.; Rivard, N.; Brum-Fernandes, A. J.; Ribeiro-do-Valle, R. M.; *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2009**, *64*, 529.
- Lee, D. H.; Iwanski, G. B.; Thoenissen, N. H.; *Sci. World J.* **2010**, *10*, 413; Chan, K. T.; Meng, F. Y.; Li, Q.; Ho, C. Y.; Lam, T. S.; To, Y.; Lee, W. H.; Li, M.; Chu, K. H.; Toh, M.; *Cancer Lett.* **2010**, *294*, 118; Thoenissen, N. H.; Iwanski, G. B.; Doan, N. B.; Okamoto, R.; Lin, P.; Abbassi, S.; Song, J. H.; Yin, D.; Toh, M.; Xie, W. D.; Said, J. W.; Koeffler, H. P.; *Cancer Res.* **2009**, *69*, 5876; Escandell, J. M.; Kaler, P.; Recio, M. C.; Sasazuki, T.; Shirasawa, S.; Augenlicht, L.; Ríos, J. L.; Klampfer, L.; *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 198; Wakimoto, N.; Yin, D.; O'Kelly, J.; Haritunians, T.; Karlan, B.; Said, J.; Xing, H. Koeffler, H. P.; *Cancer Sci.* **2008**, *99*, 1793; Sun, J.; Blaskovich, M. A.; Jove, R.; Livingston, S. K.; Coppola, D.; Sebtii, S. M.; *Oncogene* **2008**, *27*, 1344; Yang, L.; Wu, S.; Zhang, Q.; Liu, F.; Wu, P.; *Cancer Lett.* **2007**, *256*, 267; Shi, X.; Franko, B.; Frantz, C.; Amin, H. M.; Lai, R.; *Br. J. Haematol.* **2006**, *135*, 26.
- Tannin-Spitz, T.; Grossman, S.; Dovrat, S.; Gottlieb, H. E.; Bergman, M.; *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73*, 56; Bartalis, J.; Halaweish, F. T.; *J. Chromatogr. B* **2005**, *818*, 159.
- Lang, K. L.; Silva, I. T.; Zimmermann, L. A.; Machado, V. R.; Teixeira, M. R.; Lapuh, M. I.; Galetti, M. A.; Palermo, J. A.; Cabrera, G. M.; Bernardes, L. S. C.; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Caro, M. S. B.; Durán, F. J.; *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3016.
- Jung, M. E.; Lui, M. R.; *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 7146.
- Ryu, S. Y.; Choi, S. U.; Lee, S. H.; Lee, C. O.; No, Z.; Ahn, J. W.; *Arch. Pharm. Res.* **1995**, *18*, 60.
- Köenigs, W.; Knorr, E.; *Chem. Ber.* **1901**, *34*.
- Schmidt, R. R.; Kinzy, W.; *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1992**, *50*, 21.
- Kartha, K. P.; Field, R. A.; *Tetrahedron.* **1997**, *53*, 11753.
- Seebacher, W.; Haslinger, E.; Weis, R.; *Monatsh. Chem.* **2001**, *132*, 839.
- Milijkovic, M.; *Carbohydrates Synthesis, Mechanisms and Stereoelectronic Effects*, Springer: New York, 2010. 539 p.
- Lang, K. L.; Silva, I. T.; Machado, V. R.; Zimmermann, L. A.; Caro, M. S. B.; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Bernardes, L. S. C.; Melo, E. B.; *J. Mol. Graphics Modell.* **2014**, *48*, 70.
- Perrin, D. D.; Armarego, W. L.; Perrin, D. R.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 4ª ed., Elsevier: EUA, 1996.
- Farias, M. R.; *Tese de doutorado*, Universitât Bonn, Alemanha, 1991.