

CAPÍTULO 6

ANEXOS

6 – ANEXOS

6.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

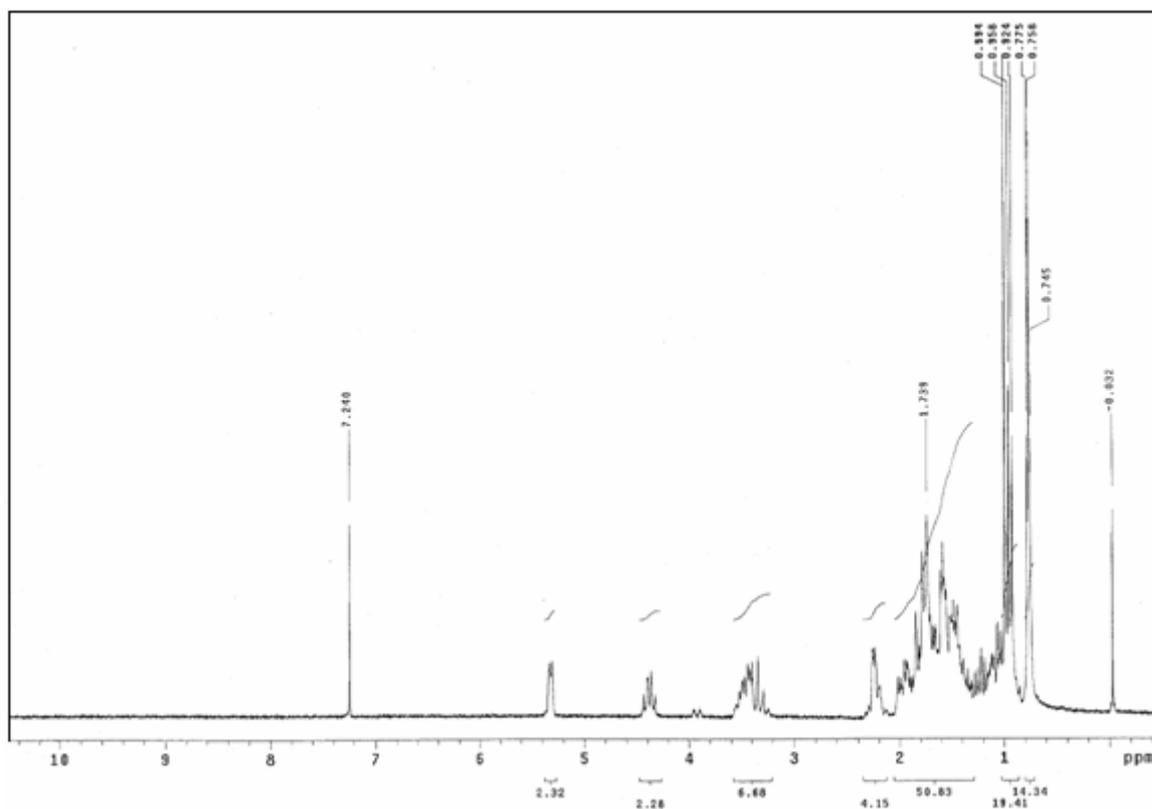


Figura 6.1. Espectro geral de RMN-¹H da diosgenina.

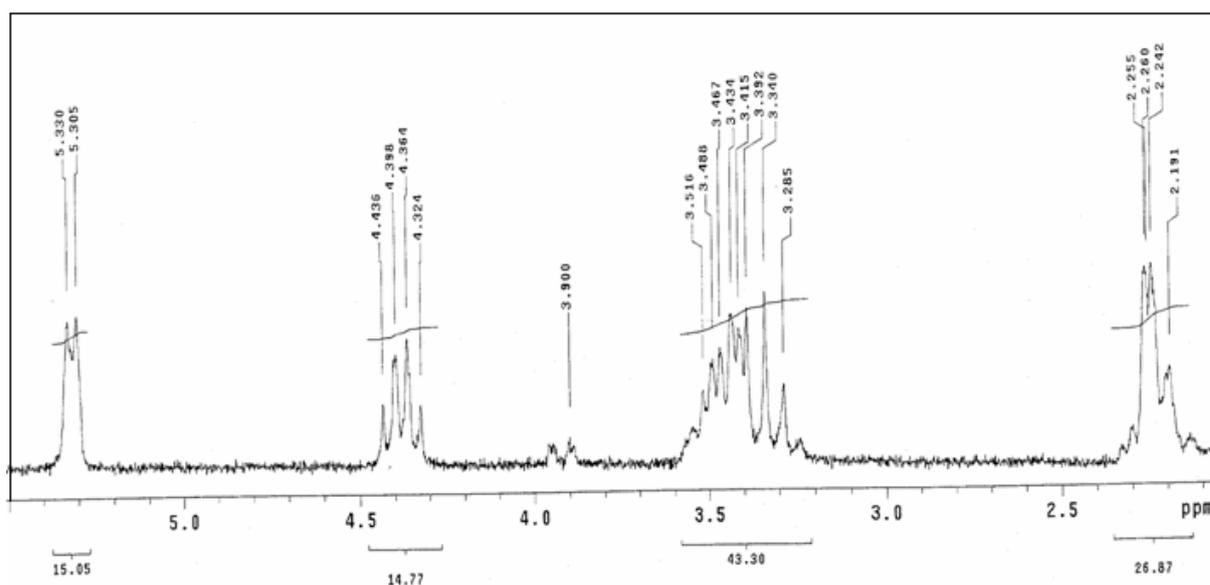


Figura 6.2. Visão ampliada do espectro de RMN-¹H da diosgenina na região de 2 a 5,5ppm.

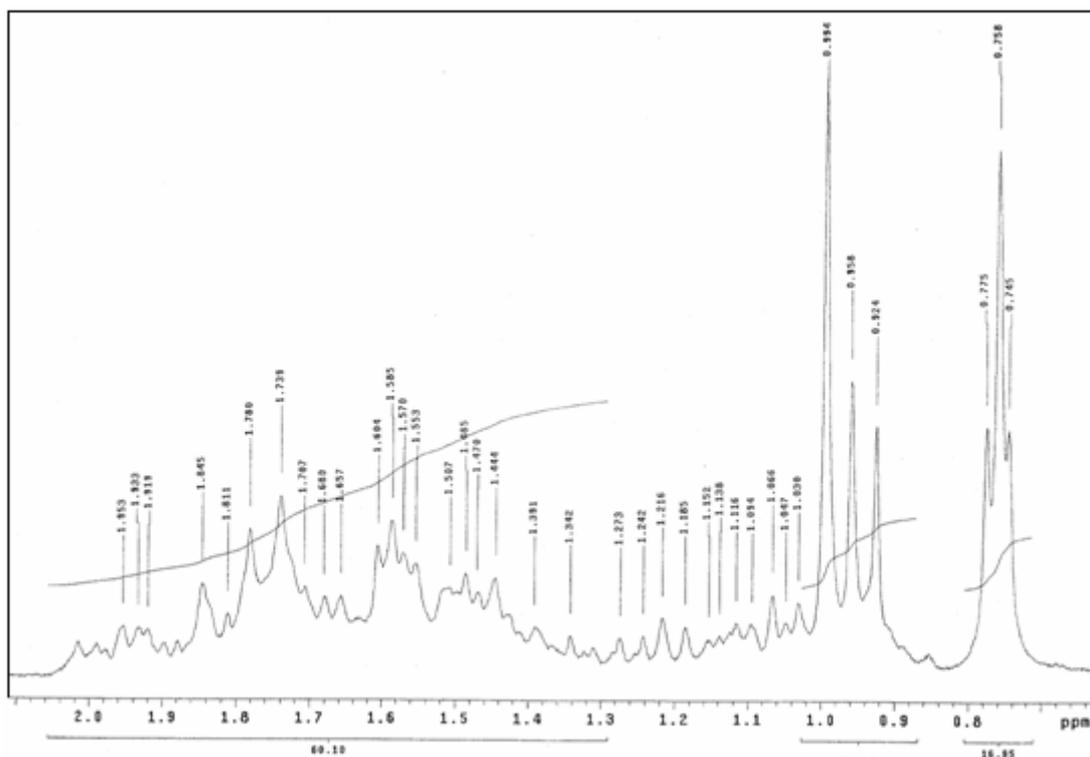


Figura 6.3. Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H da diosgenina na região de 0,65 a 2,1ppm.

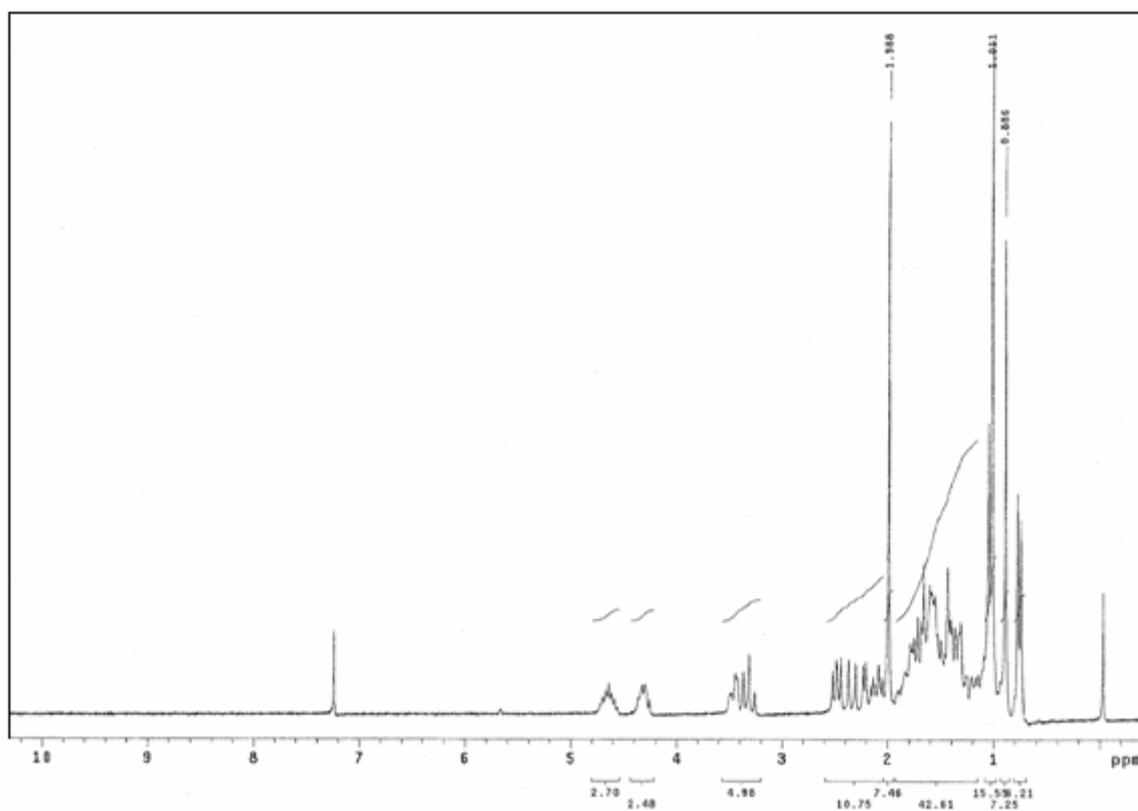


Figura 6.4. Espectro geral de RMN- ^1H do acetato de hecogenina.

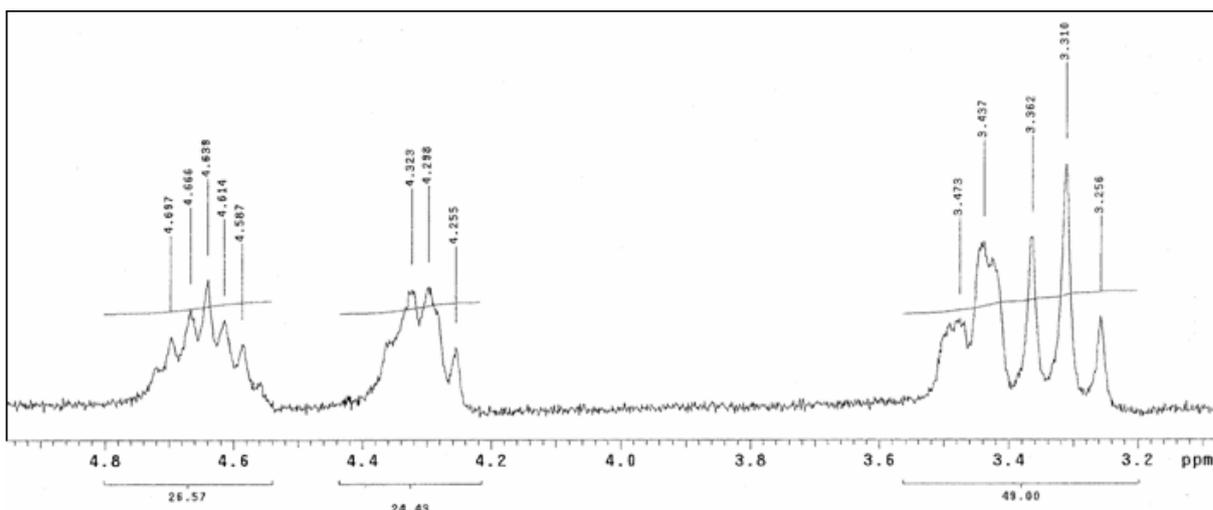


Figura 6.5. Visão ampliada do espectro de RMN-¹H do acetato de hecogenina na região de 3 a 5ppm.

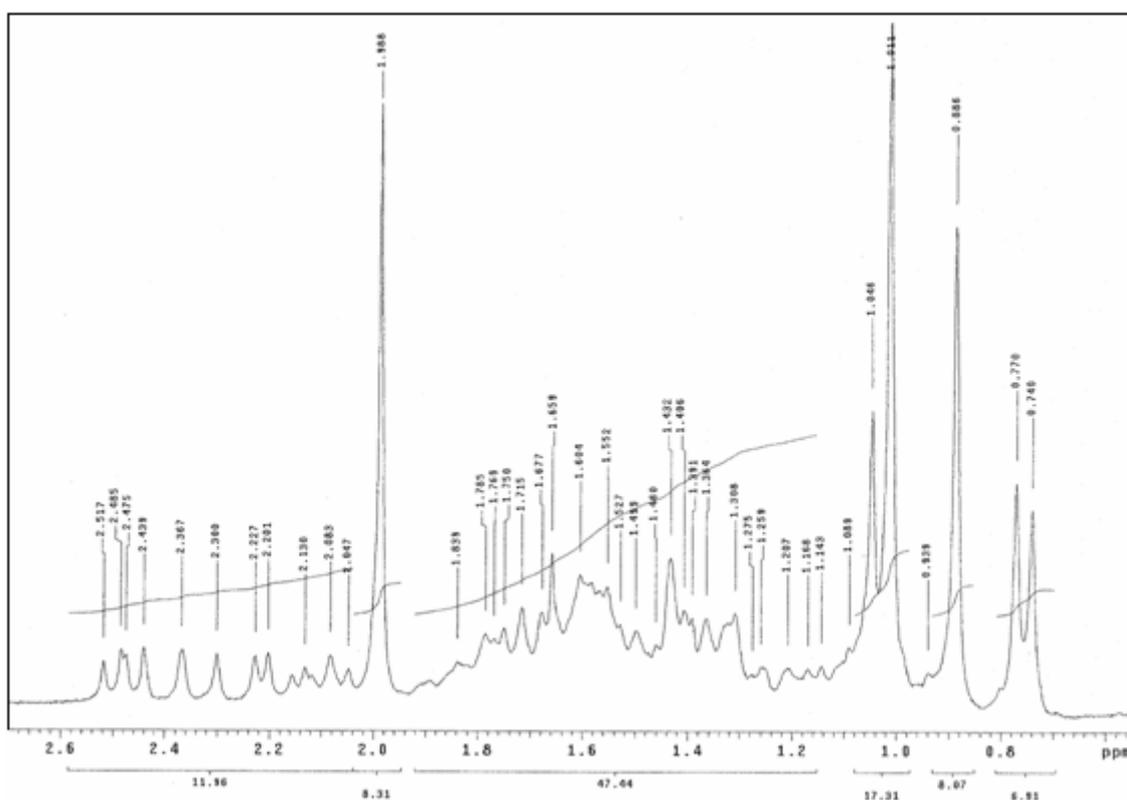


Figura 6.6. Visão ampliada do espectro de RMN-¹H do acetato de hecogenina na região de 0,6 a 2,7ppm.

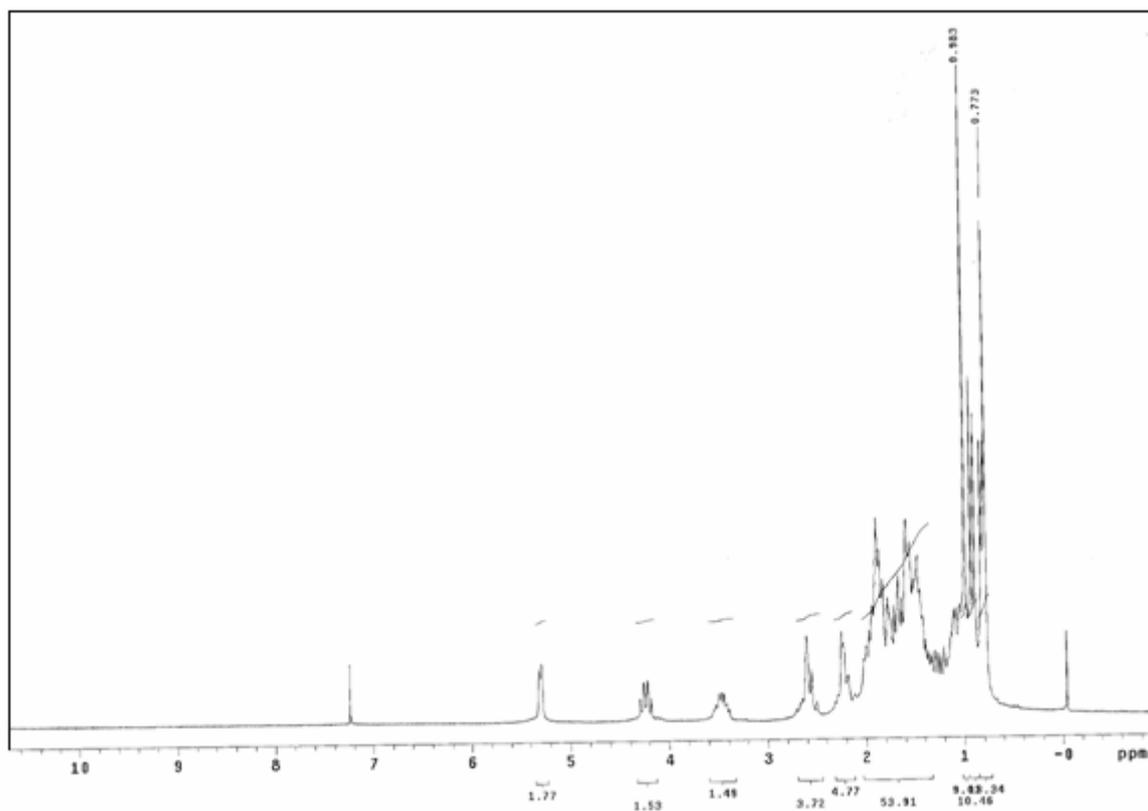


Figura 6.7. Espectro geral de RMN- ^1H da solasodina.

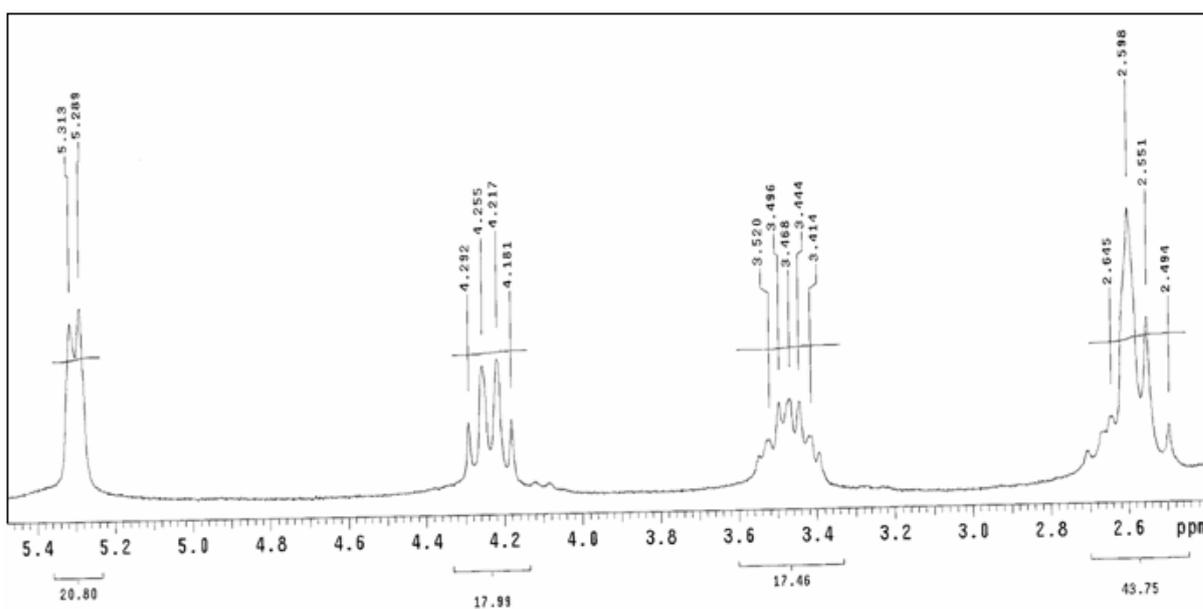


Figura 6.8. Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H da solasodina na região de 2,4 a 5,5ppm.

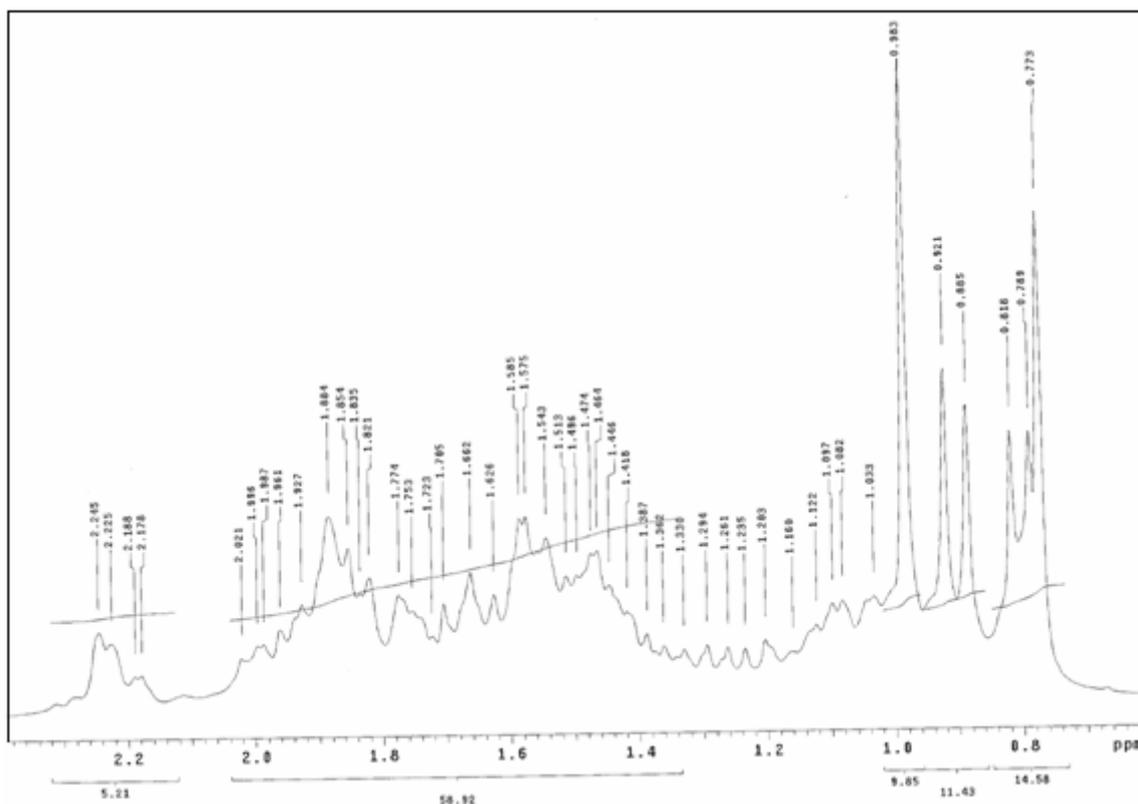


Figura 6.9. Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H da solasodina na região de 0,6 a 2,4ppm.

6.2 - Espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13

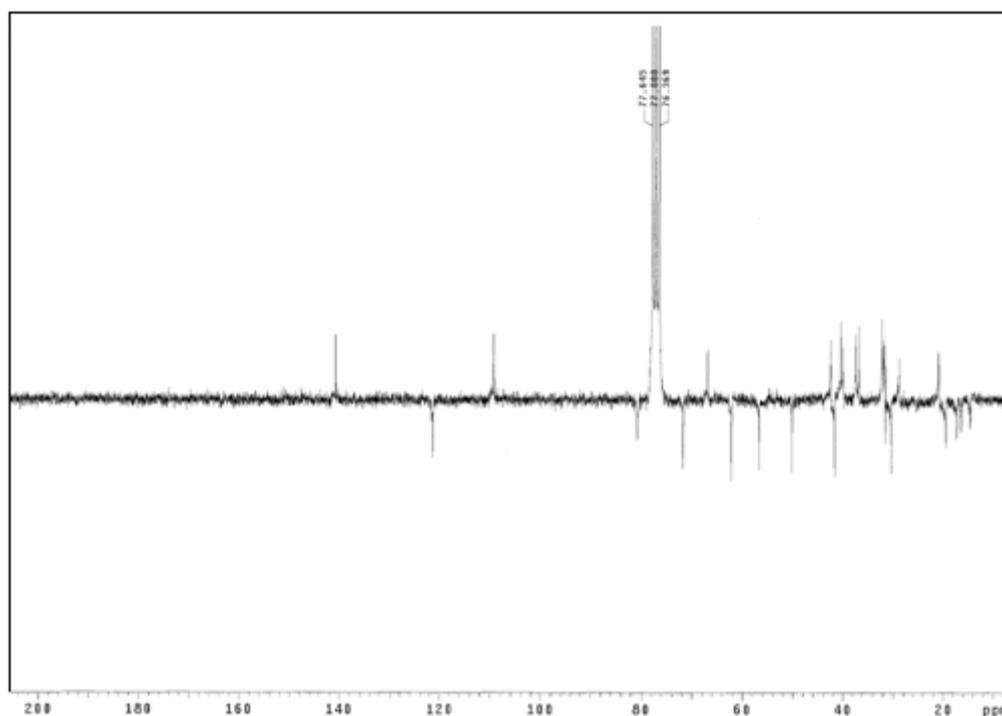


Figura 6.10. Espectro geral de RMN- ^{13}C da diosgenina.

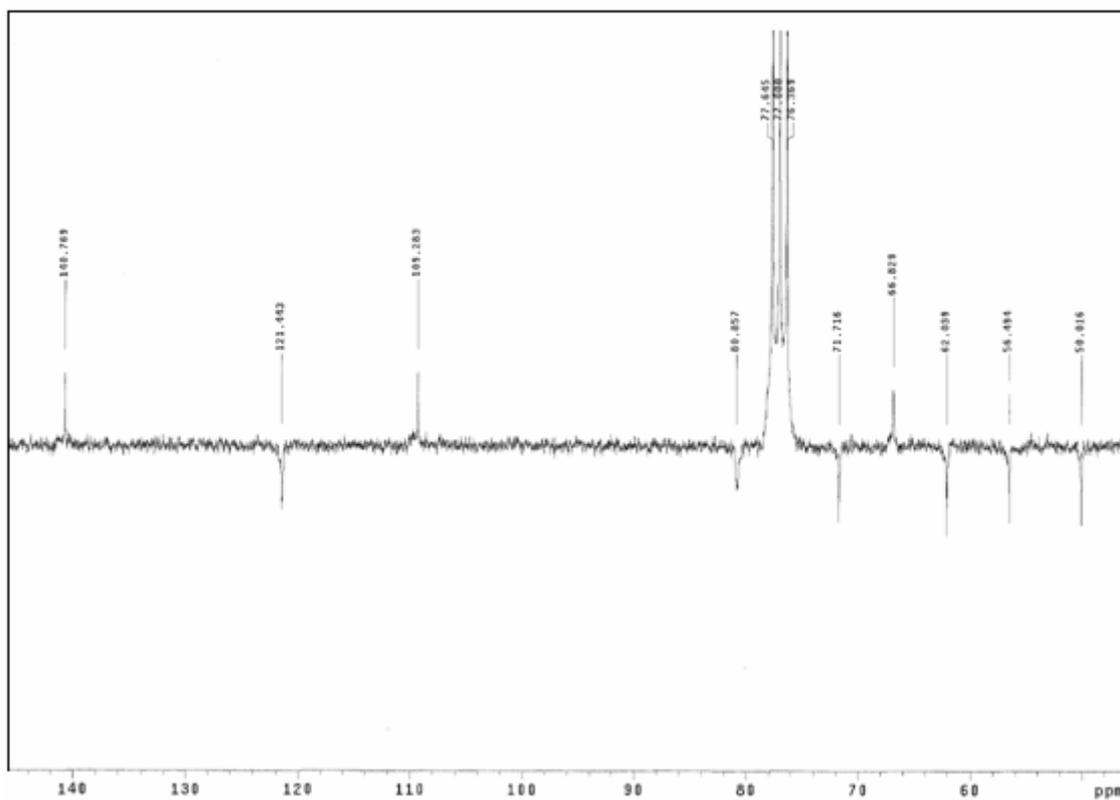


Figura 6.11. Espectro de RMN-¹³C da diosgenina (46-146ppm).

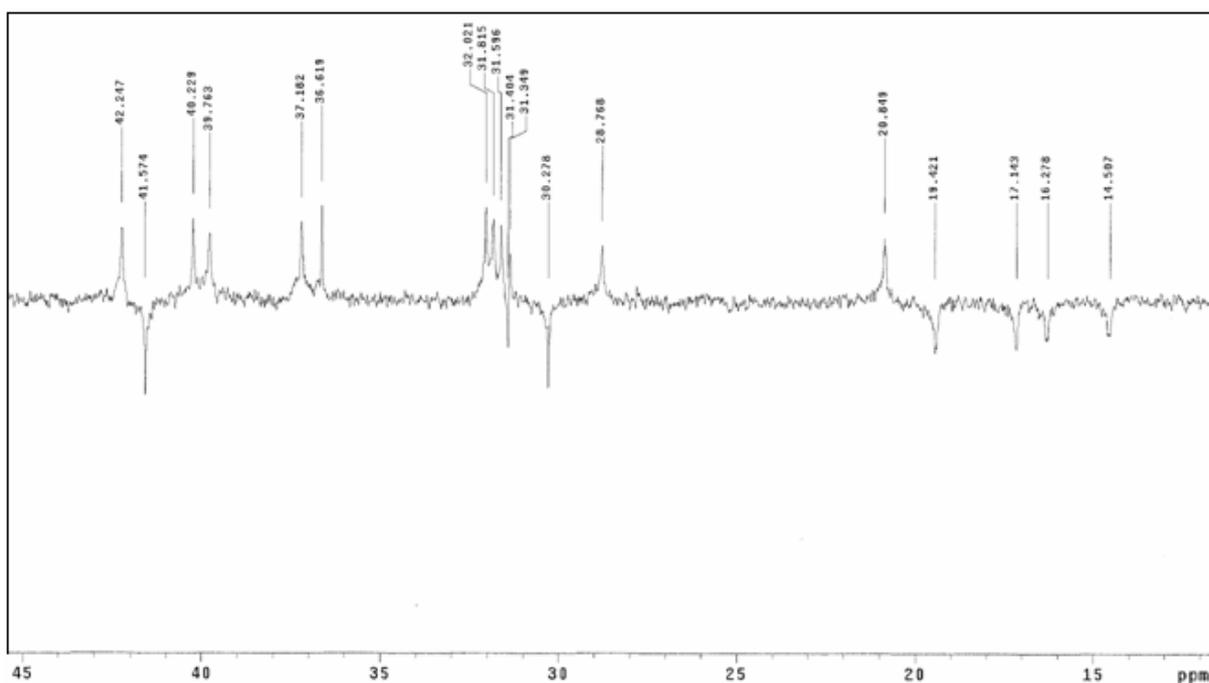


Figura 6.12. Espectro de RMN-¹³C da diosgenina (12-45ppm).

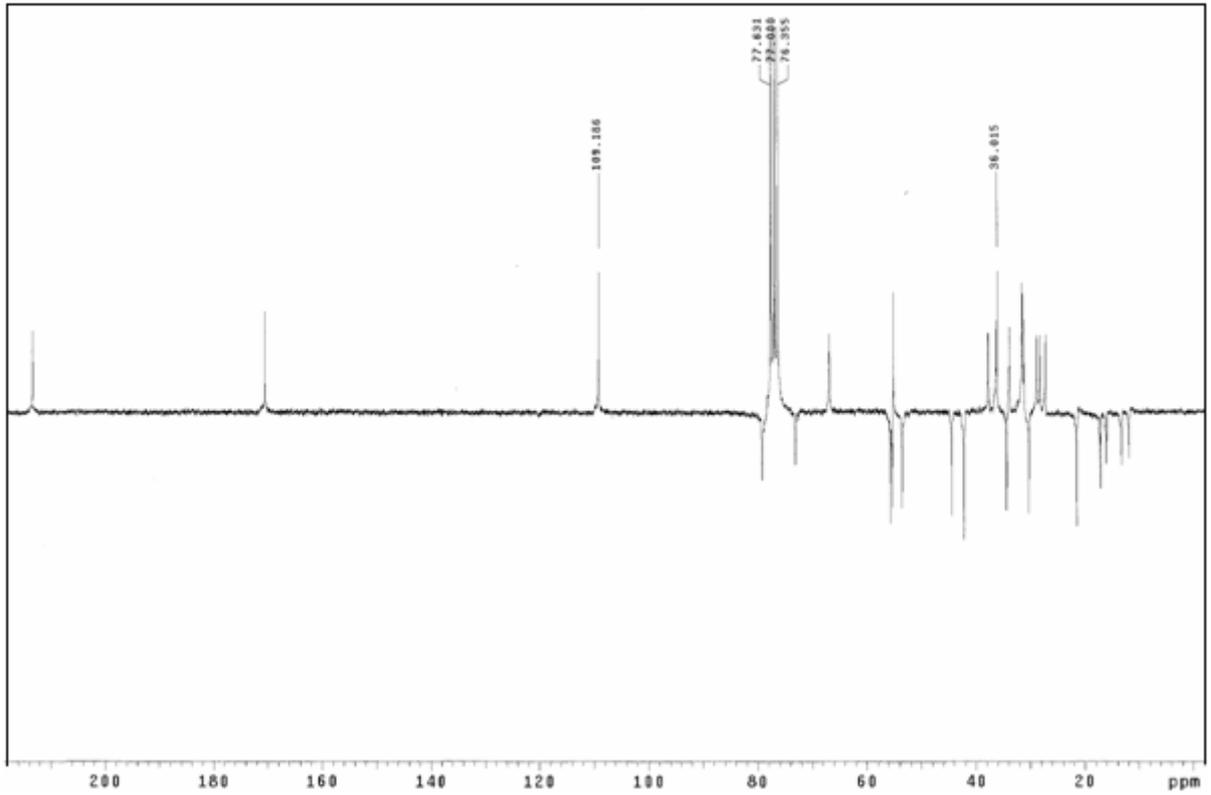


Figura 6.13. Espectro geral de RMN- ^{13}C do acetato de hecogenina.

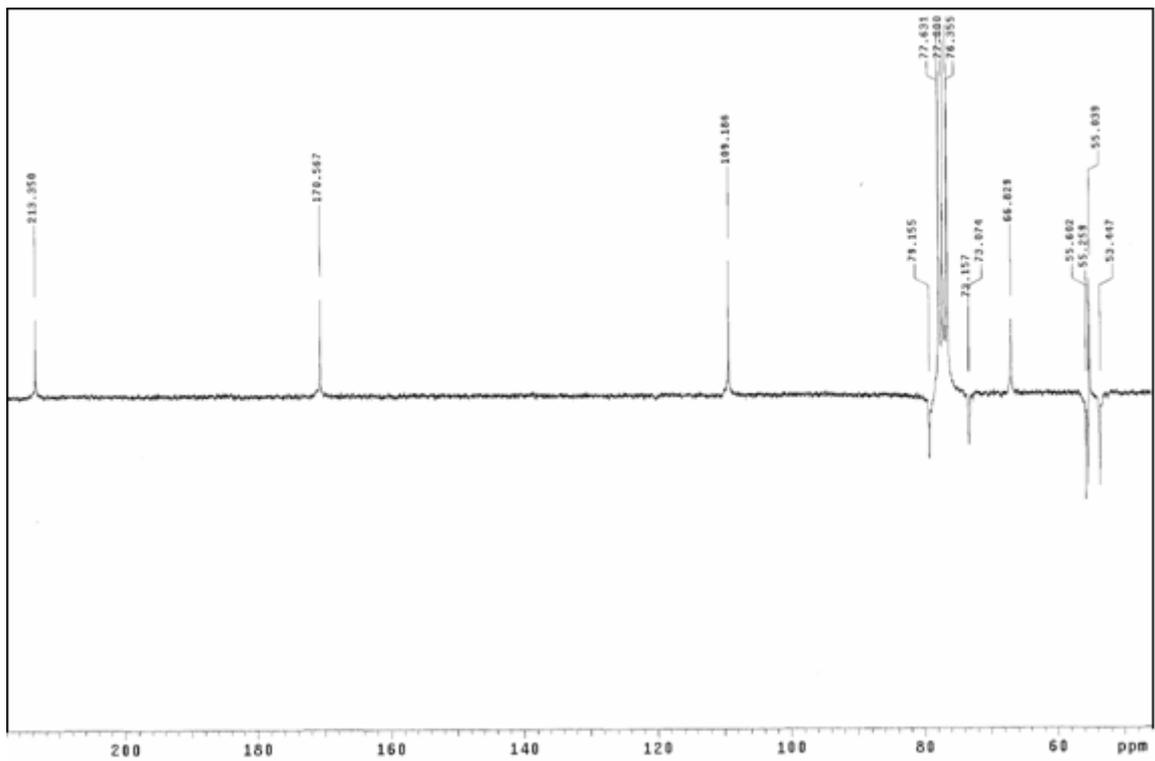


Figura 6.14. Espectro de RMN- ^{13}C do acetato de hecogenina (46-218ppm).

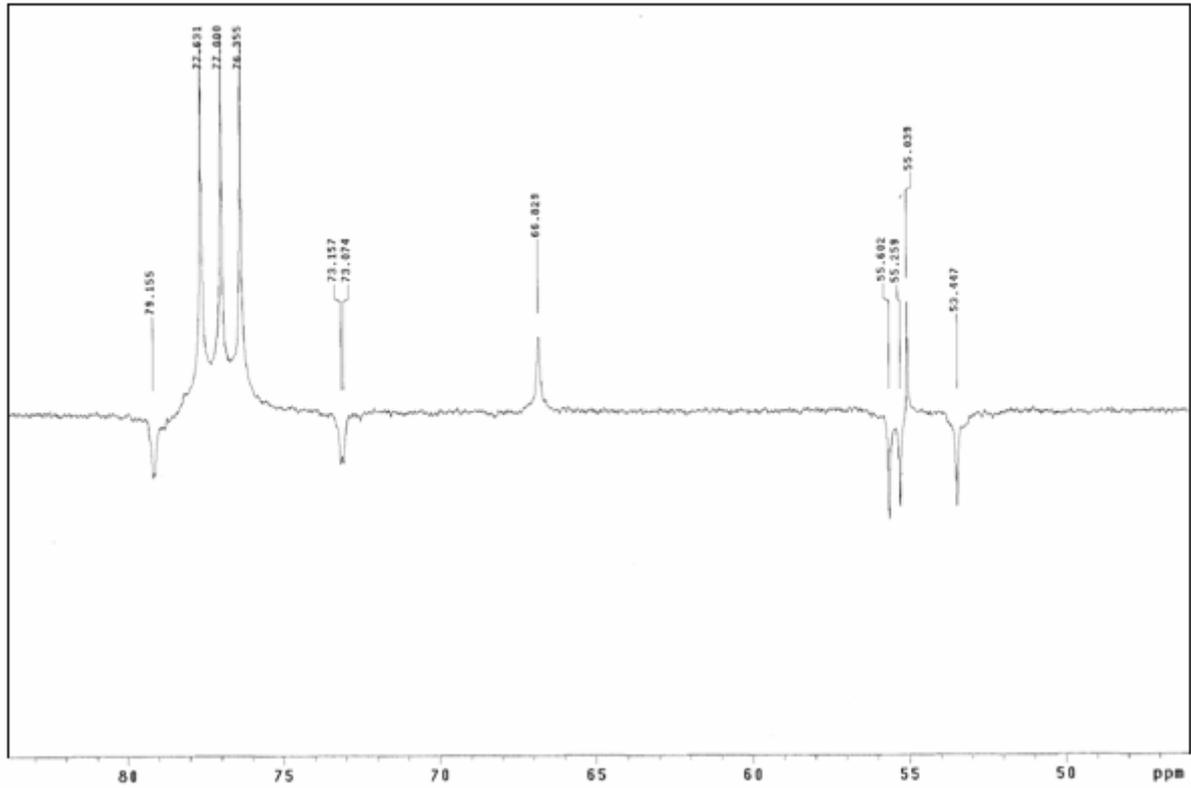


Figura 6.15. Espectro de RMN-¹³C do acetato de hecogenina (46-84ppm).

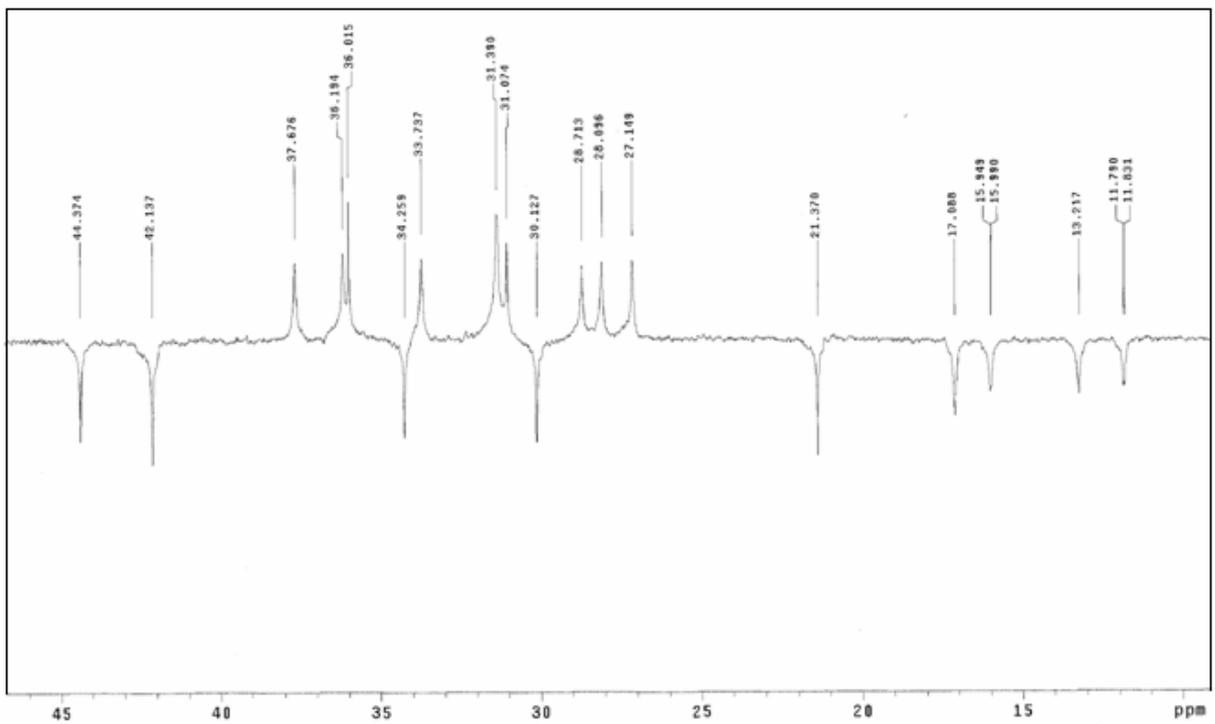


Figura 6.16. Espectro de RMN-¹³C do acetato de hecogenina (10-47ppm).

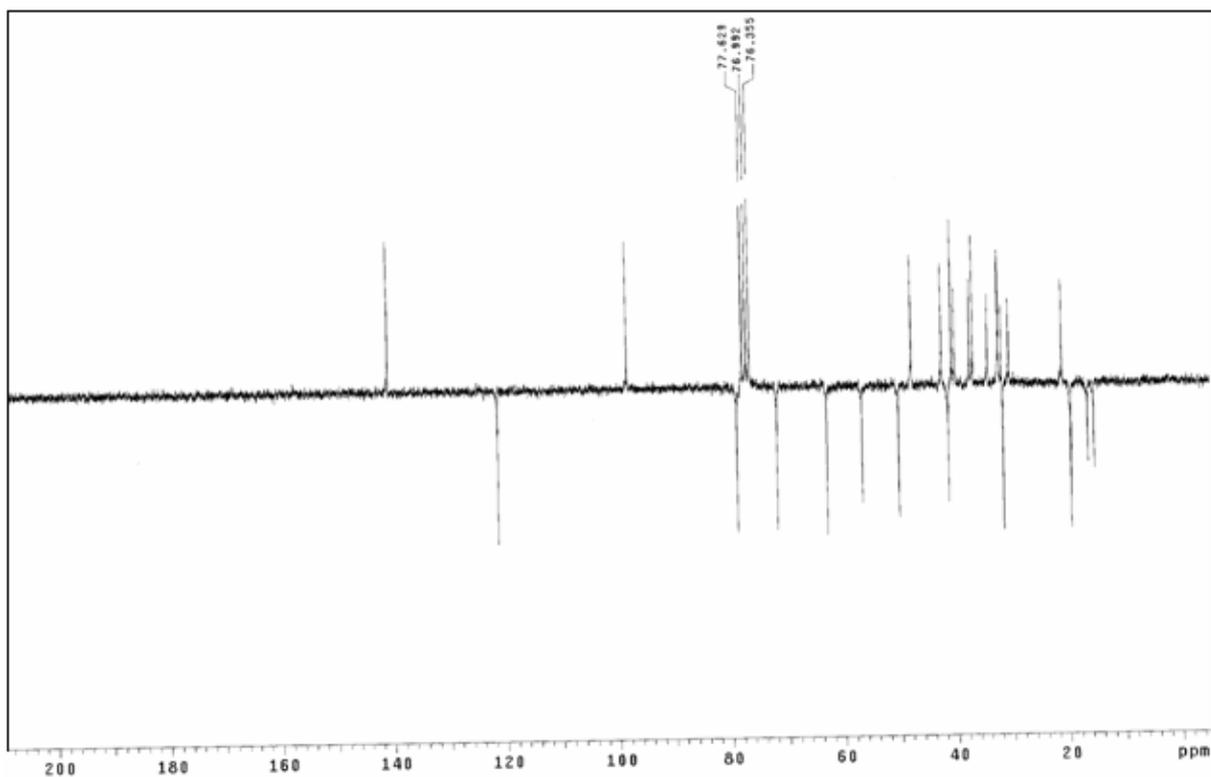


Figura 6.17. Espectro geral de RMN- ^{13}C da solasodina.

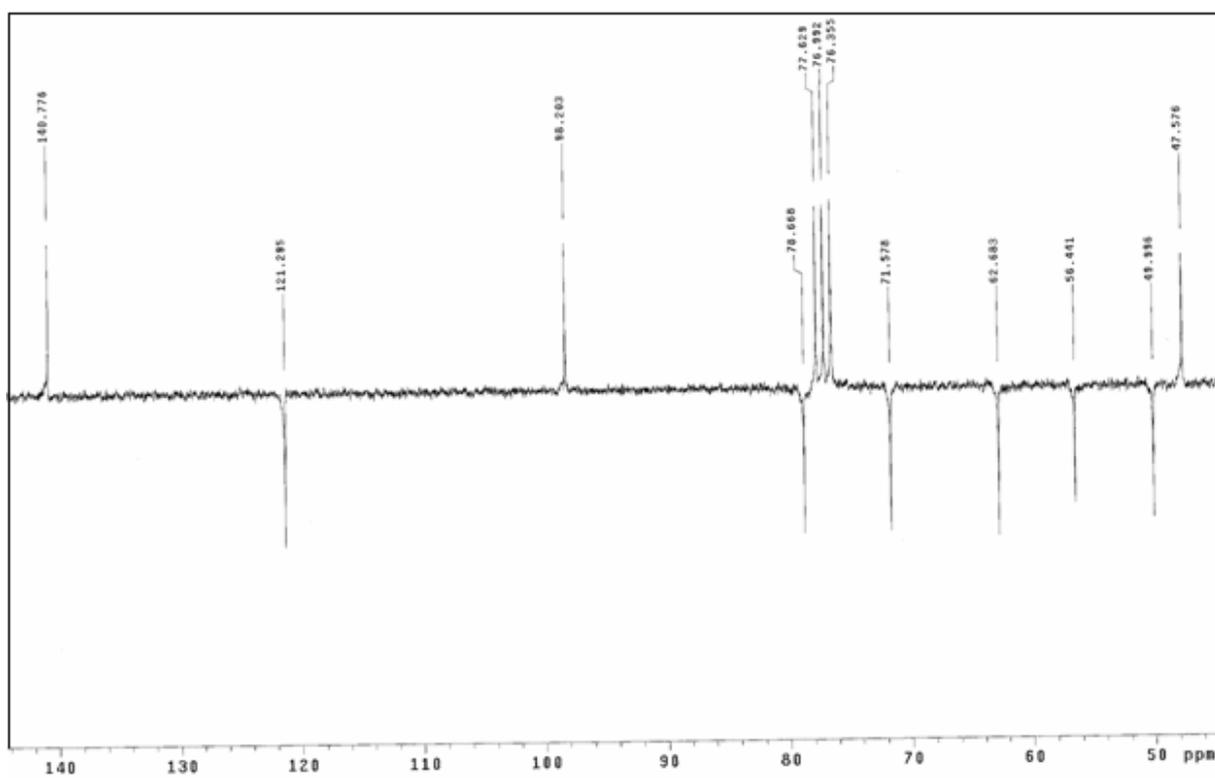


Figura 6.18. Espectro de RMN- ^{13}C da solasodina (44-144ppm).

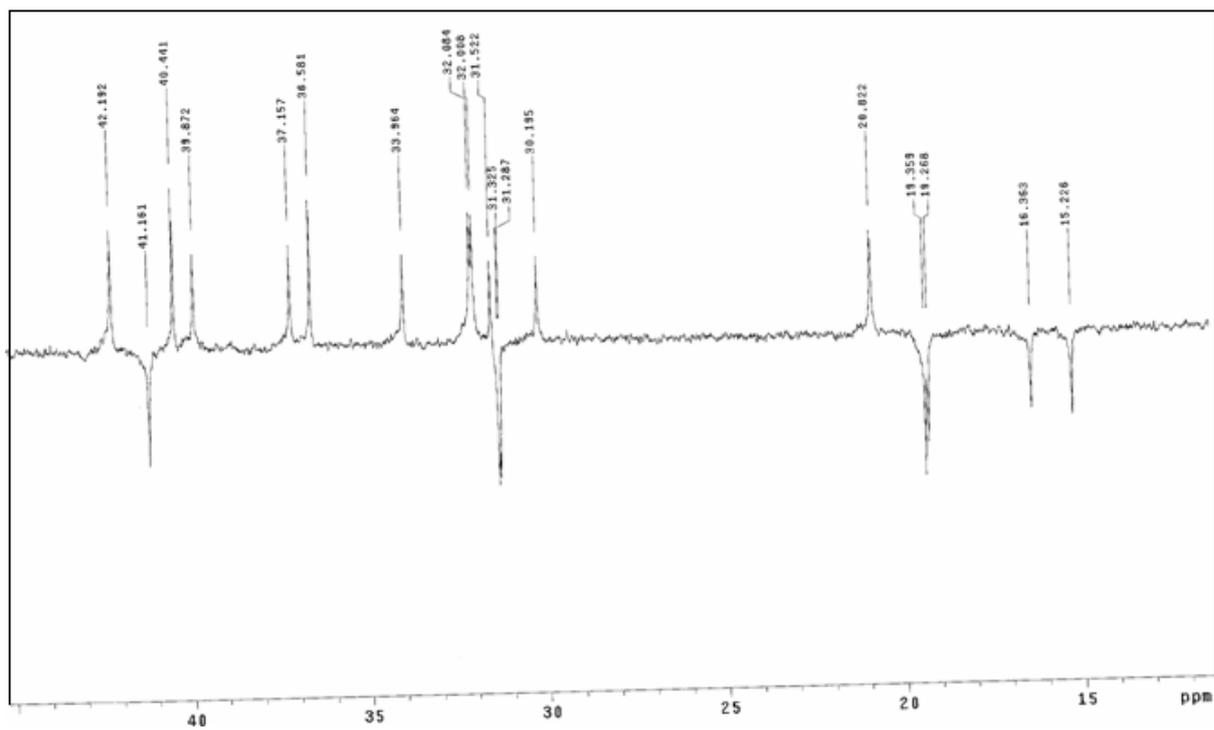


Figura 6.19. Espectro de RMN- ^{13}C da solasodina (12-45ppm).

6.3 - Tabelas para determinação do mecanismo de reação

Tabela 6.1. Coeficientes de correlação e desvios padrão dos mecanismos testados para a diosgenina.

Mecanismo de reação	Razão de aquecimento					
	5°C.min ⁻¹		10°C.min ⁻¹		15°C.min ⁻¹	
	r	s	r	s	r	s
Am2	0,9905	0,0487	0,9927	0,0442	0,9949	0,0379
Am3	0,9862	0,0323	0,9916	0,0292	0,9941	0,0250
Am4	0,9876	0,0241	0,9901	0,0218	0,9932	0,0186
D1	0,9995	0,0318	0,9984	0,0611	0,9971	0,0835
D2	0,9998	0,0202	0,9998	0,0209	0,9994	0,0433
D3	0,9973	0,1001	0,9985	0,0782	0,9992	0,0588
D4	0,9993	0,0451	0,9998	0,0257	0,9997	0,0295
F1	0,9916	0,0979	0,9936	0,0891	0,9955	0,0765
F2	0,8647	0,3235	0,8728	0,3451	0,8868	0,3398
F3	0,8735	0,6474	0,8817	0,6909	0,8945	0,6804
R1	0,9995	0,0161	0,9982	0,0309	0,9967	0,0420
R2	0,9990	0,0199	0,9995	0,0190	0,9997	0,0150
R3	0,9971	0,0498	0,9984	0,0387	0,9991	0,0290

Onde: r = Coeficiente de correlação linear; s = Desvio padrão.

Tabela 6.2. Coeficientes de correlação e desvios padrão dos mecanismos testados para o acetato de hecogenina.

Mecanismo de reação	Razão de aquecimento					
	5°C.min ⁻¹		10°C.min ⁻¹		15°C.min ⁻¹	
	r	s	r	s	r	s
Am2	0,9887	0,0515	0,9877	0,0569	0,9932	0,0438
Am3	0,9871	0,0342	0,9858	0,0377	0,9923	0,0290
Am4	0,9850	0,0255	0,9834	0,0281	0,9911	0,0216
D1	0,9998	0,0161	0,9996	0,0307	0,9981	0,0675
D2	0,9995	0,0350	0,9993	0,0444	0,9996	0,0322
D3	0,9963	0,1141	0,9960	0,1258	0,9985	0,0780
D4	0,9988	0,0602	0,9986	0,0685	0,9997	0,0325
F1	0,9901	0,1036	0,9892	0,1143	0,9940	0,0883
F2	0,8565	0,3132	0,8552	0,3548	0,8796	0,3481
F3	0,8666	0,6269	0,8652	0,7103	0,8872	0,6968
R1	0,9999	0,0083	0,9995	0,0155	0,9997	0,0340
R2	0,9981	0,0373	0,9978	0,0417	0,9995	0,0207
R3	0,9961	0,0568	0,9957	0,0626	0,9984	0,0387

Onde: r = Coeficiente de correlação linear; s = Desvio padrão.

Tabela 6.3. Coeficientes de correlação e desvios padrão dos mecanismos testados para a solasodina.

Mecanismo de reação	Razão de aquecimento					
	5°C.min ⁻¹		10°C.min ⁻¹		15°C.min ⁻¹	
	r	s	r	s	r	s
Am2	0,9930	0,0421	0,9937	0,0404	0,9965	0,0315
Am3	0,9920	0,0279	0,9927	0,0267	0,9960	0,0208
Am4	0,9907	0,0208	0,9916	0,0199	0,9953	0,0154
D1	0,9986	0,0555	0,9984	0,0605	0,9954	0,1049
D2	0,9999	0,0130	0,9999	0,0163	0,9987	0,0630
D3	0,9985	0,0747	0,9988	0,0684	0,9996	0,0384
D4	0,9998	0,0218	0,9999	0,0165	0,9995	0,0413
F1	0,9939	0,0849	0,9944	0,0814	0,9969	0,0638
F2	0,8751	0,3233	0,8790	0,3213	0,8942	0,3393
F3	0,8838	0,6471	0,8874	0,6432	0,9016	0,6794
R1	0,9984	0,0280	0,9982	0,0305	0,9948	0,0528
R2	0,9996	0,0177	0,9997	0,0146	0,9997	0,0158
R3	0,9984	0,0371	0,9987	0,0339	0,9996	0,0189

Onde: r = Coeficiente de correlação linear; s = Desvio padrão.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

***Estudo térmico e cinético de
precursores naturais de hormônios***

MARCELO ALEXANDRE DA SILVA

João Pessoa – PB - Brasil

Fevereiro/2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ESTUDO TÉRMICO E CINÉTICO DE PRECURSORES NATURAIS DE HORMÔNIOS

MARCELO ALEXANDRE DA SILVA

Bolsista CNPq

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. José Regis Botelho

2° Orientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho

João Pessoa – PB - Brasil

Fevereiro/2008

S 586e

Silva, Marcelo Alexandre da.

Estudo térmico e cinético de precursores naturais de hormônios/ Marcelo Alexandre Silva. – João Pessoa, 2008.

87p.: il.

Orientador: José Regis Botelho

Orientador: Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.

Dissertação (Mestrado). UFPB/CCEN

1.Cinética química. 2. Diosgenina. 3. Solasodina.
4.Hecogenina.

UFPB/BC

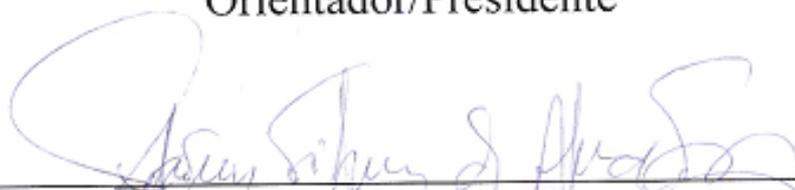
CDU 544.4 (043)

ESTUDO TÉRMICO E CINÉTICO DE PRECURSORES
NATURAIS DE HORMÔNIOS

Aprovada pela banca examinadora:



Prof. Dr. José Régis Botelho
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho
2º. Orientador



Prof^ª. Dr^ª. Crislene Rodrigues da Silva Moraes
Examinadora



Prof^ª. Dr^ª. Elizete Ventura do Monte
Examinadora

Dedico:

- ✓ À Deus
- ✓ À minha mãe Maria de Lourdes (in memoriam)
 - ✓ Ao meu pai Edivaldo
 - ✓ Aos meus irmãos Maurício e Rafael
- ✓ À minha esposa Iolanda e à minha filha Amanda

AGRADECIMENTOS

- ✓ À Deus, por me iluminar e proteger nos momentos mais difíceis.
- ✓ À minha família, por estar ao meu lado em qualquer circunstância.
- ✓ Ao Prof. Dr. José Regis Botelho, por ter me proporcionado a oportunidade de realizar este trabalho e por sua orientação competente, firme e eficaz.
- ✓ Ao Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho pelo apoio.
- ✓ Ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho do LTF-UFPB, por ter fornecido os compostos estudados neste trabalho.
- ✓ Ao Prof. Dr. José Geraldo de Paiva Espínola, pela importante ajuda nos temas relativos à análise térmica.
- ✓ À Prof^a. Dr^a. Elizete Ventura do Monte, à Prof^a. Dr^a. Crislene Rodrigues da Silva Moraes e ao Prof. Dr. Bruno Freitas Lira pelas valiosas sugestões para o enriquecimento deste trabalho.
- ✓ À Prof^a. Dr^a. Marta Célia Dantas Silva pela elucidação de dúvidas a respeito dos cálculos cinéticos.
- ✓ Aos funcionários Lúcia, Rogério e Vicente pela realização das análises termogravimétricas, de infravermelho e de RMN respectivamente.
- ✓ Aos colegas Alexsandro, Ana Fernanda, Ane Josana, Arquimedes, Christiano, Cledualdo, Evando, Geuza, Manoel, Márcia, Marcos, Michelle, Oberto, Patrícia, Roberlúcia, Ulysses e Vasconcelos pela ajuda direta ou indireta e principalmente pela amizade.
- ✓ Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Química, Marcos Pequeno, pelo apoio.
- ✓ À todos os professores das disciplinas cursadas durante este trabalho pela amizade e pelos valiosos conhecimentos adquiridos.
- ✓ Ao CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

Título: Estudo térmico e cinético de precursores naturais de hormônios.

Autor: Marcelo Alexandre da Silva.

Orientador: Prof. Dr. José Régis Botelho.

2° Orientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.

A diosgenina, a hecogenina e a solasodina são compostos naturais que possuem diversas funções terapêuticas e são usados principalmente como precursores na produção industrial de hormônios esteroidais. O presente trabalho analisa o comportamento térmico destes compostos através da termogravimetria (TG) e da calorimetria exploratória diferencial (DSC) e suas cinéticas de decomposição através da termogravimetria não-isotérmica. As três substâncias estudadas apresentaram perda de massa em um único evento, atribuídas unicamente ao processo de decomposição térmica das mesmas. Considerando-se a temperatura inicial de decomposição, o acetato de hecogenina apresentou a maior estabilidade seguido da solasodina e diosgenina que apresentaram estabilidades semelhantes entre si. As curvas DSC dos três compostos apresentaram transições endotérmicas referentes aos processos de fusão e decomposição. A sobreposição das curvas TG/DSC mostrou que a decomposição térmica dos três compostos inicia-se no estado líquido. Para a diosgenina e a solasodina, o modelo cinético que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o R2, o qual é baseado no modelo geométrico com crescimento bidimensional e simetria cilíndrica. Para o acetato de hecogenina, o modelo cinético que melhor se ajustou foi o R1, que é baseado no modelo geométrico com crescimento nuclear unidimensional e simetria plana. Os compostos estudados foram caracterizados utilizando espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética de hidrogênio e carbono 13.

Palavras-chave: Diosgenina, solasodina, hecogenina, cinética, decomposição térmica.

ABSTRACT

Title: Thermal and kinetic study of natural precursors of hormones.

Author: Marcelo Alexandre da Silva.

Advisor: Prof. Dr. José Regis Botelho.

2° Advisor: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.

Diosgenin, hecogenin and solasodine are natural compounds that have various therapeutic functions and are mainly used as precursors in the industrial production of steroid hormones. This study analyzes the thermal behavior of these compounds through thermogravimetric (TG) and differential scanning calorimetry (DSC) and its kinetics of decomposition by thermogravimetric non-isothermal. The three substances showed loss of mass in a single event, attributed to their process of thermal decomposition. Considering the initial temperature of decomposition, hecogenin acetate showed the greatest stability, followed by solasodine and diosgenin that presented similar stabilities between each other. The DSC curves of the three compounds showed endothermic transitions concerning melting and decomposition processes. The overlapping of the TG/DSC curves showed that the thermal decomposition of the three compounds starts in the liquid state. For diosgenin and solasodine, the kinetic model that best fit the experimental data was R2, which is based on a geometric model with two-dimensional nuclear growth and cylindrical symmetry. For hecogenin acetate, the kinetic model that best fit was R1, which is based on the geometric model with one-dimensional nuclear growth and flat symmetry. The compounds analyzed were characterized by using infrared spectroscopy, hydrogen and carbon-13 magnetic resonance.

Key words: Diosgenin, solasodine, hecogenin, kinetics, thermal decomposition.

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	x
Lista de tabelas.....	xiii
Lista de siglas e símbolos.....	xv
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1. Saponinas e sapogeninas esteroidais.....	3
1.2. Diosgenina.....	5
1.3. Hecogenina.....	8
1.4. Solasodina.....	11
1.5. Análise térmica.....	13
1.5.1. Termogravimetria (TG).....	14
1.5.2. Termogravimetria derivada (DTG).....	15
1.5.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	16
1.6. Decomposição térmica de sólidos.....	17
1.6.1. Cinética da decomposição térmica de sólidos.....	18
1.7. Métodos termogravimétricos isotérmico e não-isotérmico no estudo cinético da decomposição térmica de sólidos.....	21
1.7.1. Método isotérmico.....	21
1.7.2. Método não-isotérmico.....	23
1.7.2.1. Métodos Aproximados.....	24
1.7.2.1.1. Método de Van Krevelen (VK).....	25
1.7.2.1.2. Método de Horowitz-Metzger (HM).....	25
1.7.2.2. Métodos Integrais.....	26
1.7.2.2.1. Método de Coats-Redfern (CR).....	26
1.7.2.2.2. Método de Madhusudanan (MD).....	28
1.8. Objetivos.....	29
1.8.1. Objetivo geral.....	29
1.8.2. Objetivos específicos.....	29

CAPÍTULO 2.....	30
2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	31
2.1. Procedência dos compostos estudados.....	31
2.1.1. Solasodina.....	31
2.1.2. Acetato de hecogenina.....	32
2.1.3. Diosgenina.....	32
2.2. Purificação dos compostos não-comerciais.....	32
2.2.1. Purificação da diosgenina.....	33
2.2.2. Purificação da solasodina.....	33
2.3. Técnicas de caracterização.....	33
2.3.1. Ponto de fusão.....	33
2.3.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	34
2.3.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (^1H e ^{13}C).....	34
2.4. Estudo térmico.....	34
2.4.1. Termogravimetria não-isotérmica.....	34
2.4.2. Calorimetria exploratória diferencial.....	34
2.5. Estudo cinético.....	35
2.5.1. Escolha do mecanismo de decomposição.....	35
2.5.2. Determinação dos parâmetros cinéticos.....	36
CAPÍTULO 3.....	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
3.1. Caracterização das substâncias estudadas.....	38
3.1.1. Ponto de fusão.....	38
3.1.2. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho.....	38
3.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (^1H).....	41
3.1.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (^{13}C).....	44
3.2. Comportamento térmico.....	47

3.2.1. Termogravimetria (TG) e Termogravimetria derivada (DTG).....	47
3.2.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	54
3.3. Cinética da decomposição térmica.....	57
3.3.1. Determinação dos parâmetros cinéticos através do método não-isotérmico.....	57
3.3.2. Determinação do mecanismo de reação pelo método de Coats-Redfern.....	60
CAPÍTULO 4.....	62
4. CONCLUSÕES.....	63
4.1. Perspectivas	64
CAPÍTULO 5.....	65
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
CAPÍTULO 6.....	74
6. ANEXOS.....	75
6.1. Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio.....	75
6.2. Espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13.....	79
6.3. Tabelas para determinação do mecanismo de reação.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.	Estrutura geral das saponinas esteroidais.....	4
Figura 1.2.	Estrutura da diosgenina.....	6
Figura 1.3.	Estrutura do acetato de hecogenina.....	8
Figura 1.4.	Principais hormônios produzidos a partir da hecogenina	9
Figura 1.5.	Estrutura da solasodina.....	11
Figura 1.6.	Conversão de diosgenina e solasodina em acetato de 16-desidropregnenolona.....	12
Figura 1.7.	Curva TG típica de uma reação em um único estágio....	15
Figura 1.8.	Comparação entre as curvas de TG e DTG.....	16
Figura 3.1.	Espectro de infravermelho da diosgenina.....	39
Figura 3.2.	Espectro de infravermelho do acetato de hecogenina....	39
Figura 3.3.	Espectro de infravermelho da solasodina.....	39
Figura 3.4.	Numeração padrão dos carbonos nas sapogeninas esteroidais.....	41
Figura 3.5.	Sobreposição da curvas TG/DTG da diosgenina na razão de aquecimento $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	47
Figura 3.6.	Sobreposição da curvas TG/DTG da diosgenina na razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	47
Figura 3.7.	Sobreposição da curvas TG/DTG da diosgenina na razão de aquecimento $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	48
Figura 3.8.	Sobreposição da curvas TG/DTG do acetato de hecogenina na razão de aquecimento $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	48
Figura 3.9.	Sobreposição da curvas TG/DTG do acetato de hecogenina na razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	49
Figura 3.10.	Sobreposição da curvas TG/DTG do acetato de hecogenina na razão de aquecimento $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	49
Figura 3.11.	Sobreposição da curvas TG/DTG da solasodina na razão de aquecimento $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	50

Figura 3.12.	Sobreposição da curvas TG/DTG da solasodina na razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	50
Figura 3.13.	Sobreposição da curvas TG/DTG da solasodina na razão de aquecimento $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	51
Figura 3.14.	Sobreposição das curvas termogravimétricas não-isotérmicas obtidas em diferentes razões de aquecimento para a diosgenina.....	51
Figura 3.15.	Sobreposição das curvas termogravimétricas não-isotérmicas obtidas em diferentes razões de aquecimento para o acetato de hecogenina.....	52
Figura 3.16.	Sobreposição das curvas termogravimétricas não-isotérmicas obtidas em diferentes razões de aquecimento para a solasodina.....	52
Figura 3.17.	Sobreposição da curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para a diosgenina.....	54
Figura 3.18.	Sobreposição da curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para o acetato de hecogenina.....	54
Figura 3.19.	Sobreposição da curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para a solasodina.....	55
Figura 6.1.	Espectro geral de RMN-H da diosgenina.....	75
Figura 6.2.	Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H da diosgenina na região de 2 a 5,5ppm.....	75
Figura 6.3.	Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H da diosgenina na região de 0,65 a 2,1ppm.....	76
Figura 6.4.	Espectro geral de RMN-H do acetato de hecogenina.....	76
Figura 6.5.	Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H do acetato de hecogenina na região de 3 a 5ppm.....	77
Figura 6.6.	Visão ampliada do espectro de RMN- ^1H do acetato de hecogenina na região de 0,6 a 2,7ppm...	77
Figura 6.7.	Espectro geral de RMN-H da solasodina.....	78

Figura 6.8.	Visão ampliada do espectro de RMN- ¹ H da solasodina na região de 2,4 a 5,5ppm.....	78
Figura 6.9.	Visão ampliada do espectro de RMN- ¹ H da solasodina na região de 0,6 a 2,4ppm.....	79
Figura 6.10.	Espectro geral de RMN- ¹³ C da diosgenina.....	79
Figura 6.11.	Espectro de RMN- ¹³ C da diosgenina (46-146ppm).....	80
Figura 6.12.	Espectro de RMN- ¹³ C da diosgenina (12-45ppm).....	80
Figura 6.13.	Espectro geral de RMN- ¹³ C do acetato de hecogenina...	81
Figura 6.14.	Espectro de RMN- ¹³ C do acetato de hecogenina (46-218ppm).....	81
Figura 6.15.	Espectro de RMN- ¹³ C do acetato de hecogenina (46-84ppm).....	82
Figura 6.16.	Espectro de RMN- ¹³ C do acetato de hecogenina (10-47ppm).....	82
Figura 6.17.	Espectro geral de RMN- ¹³ C da solasodina.....	83
Figura 6.18.	Espectro de RMN- ¹³ C da solasodina (44-144ppm).....	83
Figura 6.19.	Espectro de RMN- ¹³ C da solasodina (12-45ppm).....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1.	Equações cinéticas para a decomposição térmica dos sólidos.....	20
Tabela 2.1.	Modelos cinéticos e função $g(\alpha)$ utilizados para determinar o provável mecanismo de decomposição térmica.....	36
Tabela 3.1.	Ponto de fusão dos compostos.....	38
Tabela 3.2.	Principais bandas de absorção no infravermelho dos compostos estudados.....	40
Tabela 3.3.	Principais deslocamentos de RMN de ^1H para os compostos.....	42
Tabela 3.4.	Comparação dos valores de ^{13}C encontrados na literatura com os valores dos compostos utilizadas neste trabalho.....	45
Tabela 3.5.	Perfil termogravimétrico dos compostos estudados.....	53
Tabela 3.6.	Parâmetros cinéticos não-isotérmicos obtidos para a diosgenina através das equações de COATS-REDFERN (CR), MADHUSUDANAN (MD), VAN KREVELEN (VK) e HOROWITZ-METZGER (HM).....	57
Tabela 3.7.	Parâmetros cinéticos não-isotérmicos obtidos para o acetato de hecogenina através das equações de COATS-REDFERN (CR), MADHUSUDANAN (MD), VAN KREVELEN (VK) e HOROWITZ-METZGER (HM).....	58
Tabela 3.8.	Parâmetros cinéticos não-isotérmicos obtidos para a solasodina através das equações de COATS-REDFERN (CR), MADHUSUDANAN (MD), VAN KREVELEN (VK) e HOROWITZ-METZGER (HM).....	59
Tabela 3.9.	Parâmetros cinéticos obtidos pela aplicação de funções $g(\alpha)$ à equação de Coats-Redfern para os compostos estudados.....	61

Tabela 6.1.	Coeficientes de correlação e desvios padrão dos mecanismos testados para a diosgenina.....	85
Tabela 6.2.	Coeficientes de correlação e desvios padrão dos mecanismos testados para o acetato de hecogenina.....	86
Tabela 6.3.	Coeficientes de correlação e desvios padrão dos mecanismos testados para a solasodina.....	87

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

A = Fator pré-exponencial

Ac. = Acetato

Am2 = Mecanismo de nucleação caótica seguida do crescimento nuclear à velocidade constante, sem superposição de núcleos ($n = 2$)

Am3 = Mecanismo de nucleação caótica seguida do crescimento nuclear à velocidade constante, sem superposição de núcleos ($n = 3$)

Am4 = Mecanismo de nucleação caótica seguida do crescimento nuclear à velocidade constante, sem superposição de núcleos ($n = 4$)

CR = Coats-Redfern

D1 = Mecanismo de difusão unidimensional

D2 = Mecanismo de difusão bidimensional

D3 = Mecanismo de difusão tridimensional (Equação de Jander)

D4 = Mecanismo de difusão tridimensional (Eq. de Gistling-Brounshtein)

DSC = Calorimetria exploratória diferencial

DTG = Termogravimetria derivada

E = Energia de ativação

F1 = Mecanismo baseado na ordem de reação (1ª ordem)

F2 = Mecanismo baseado na ordem de reação (2ª ordem)

F3 = Mecanismo baseado na ordem de reação (3ª ordem)

HM = Horowitz-Metzger

k = Constante de velocidade

MD = Madhusudanan

n = Ordem de reação

ppm = Partes por milhão

r = Coeficiente de correlação linear

R = Constante universal dos gases

R1 = Mecanismo baseado em modelos geométricos com crescimento nuclear unidimensional

R2 = Mecanismo baseado em modelos geométricos com crescimento nuclear unidimensional

R3 = Mecanismo baseado em modelos geométricos com crescimento nuclear unidimensional

RMN = Ressonância magnética nuclear

s = Desvio padrão

T = Temperatura

t = Tempo

TG = Termogravimetria ou curva termogravimétrica

T_{pico} = Temperatura de pico

VK = Van Krevelen

α = Fração decomposta

\emptyset = Razão de aquecimento

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

Os compostos naturais diosgenina, hecogenina e solasodina além de possuírem diversas atividades terapêuticas, são utilizados industrialmente como materiais de partida na síntese de hormônios esteroidais tais como a progesterona, a cortisona e muitos outros (OASHI, 1999).

No passado, a síntese industrial destes hormônios partia de compostos de origem animal como, por exemplo, o colesterol e os ácidos biliares, até que, em meados dos anos 40, o cientista norte-americano Dr. Russell Marker desenvolveu um processo para a síntese de progesterona, estrona e testosterona a partir da diosgenina, um composto isolado principalmente das raízes do inhame mexicano, irmão do nosso cará (família *Dioscoreáceas*) (LEHMANN e BOLIVAR, 1973). Mais tarde, o método foi aprimorado, tornando-se economicamente viável.

Logo, as indústrias se adaptaram a este processo e a demanda por diosgenina cresceu tremendamente nos anos seguintes. Contudo, o inhame mexicano é uma espécie de difícil cultivo fora do México e, naquelas regiões onde seu cultivo tinha êxito, ele não apresentava os mesmos rendimentos de diosgenina que aqueles verificados em seu local de origem. A saída foi a diversificação da indústria de hormônios esteroidais com a busca de outros esteróides de ocorrência natural.

Assim, algumas firmas se tornaram representantes de seus países de origem no uso de determinado composto esteroide como, por exemplo, a firma inglesa Glaxo baseou parte de sua tecnologia química de síntese de hormônios esteroidais em hecogenina, sapogenina isolada do suco de sisal, matéria prima abundante no Brasil e na África, descartada no processo de produção da fibra de agave, único produto comercial da cultura sisaleira (OASHI, 1999). Já a empresa americana Upjohn, desenvolveu sua tecnologia dirigida para o aproveitamento do stigmasterol, composto abundante na soja, enquanto que a Rússia e outros países da Europa Oriental como, por exemplo, a Hungria, desenvolveram processos químicos para o aproveitamento industrial da

solasodina, obtida da espécie vegetal *Solanum laciniatum* (MOLA et al., 1997).

Por diversas razões de ordem química e industrial, a diosgenina é considerada ainda como a principal matéria-prima para a produção de compostos farmacêuticos esteroidais, mas a crescente demanda tem aberto espaço para outras substâncias, tais como a hecogenina e a solasodina. A venda mundial de hormônios sexuais, drogas antiinflamatórias, anticoncepcionais e outros medicamentos de natureza esteroidal é da ordem de bilhões de dólares por ano.

O presente trabalho analisa o comportamento térmico e a cinética de decomposição destes importantes precursores na indústria de hormônios esteroidais.

1.1 - Saponinas e sapogeninas esteroidais

Dá-se o nome de saponinas (do latim sapon = sabão) a um grupo de glicoconjugados que se dissolvem na água e diminuem sua tensão superficial de modo que, ao se agitar suas soluções, forma-se uma espuma abundante e relativamente estável.

A estrutura das saponinas consiste em uma porção oligossacarídea formada por carboidratos como glicose, galactose, N-acetilglucosamina, ácido glicurônico, xilose, ramnose ou metilpentose ligada a uma porção aglicona (não-acúcar), insolúvel em água, chamada genericamente de sapogenina e quando esta possui um esqueleto esteroidal, ela é chamada de sapogenina esteroidal.

Portanto, sapogenina é a porção não-polar de uma saponina. O oligossacarídeo nas saponinas está ligado normalmente na posição C-3 mas muitos o apresentam ligado no C - 6, 7, 15, 16, 24, e 26. A porção sacarídea pode ser linear ou ramificada, contendo de 2 a 5 resíduos monossacarídeos (WILLIAMS e GONG, 2007).

Na Figura 1.1 é apresentado um esquema geral da estrutura das saponinas esteroidais.

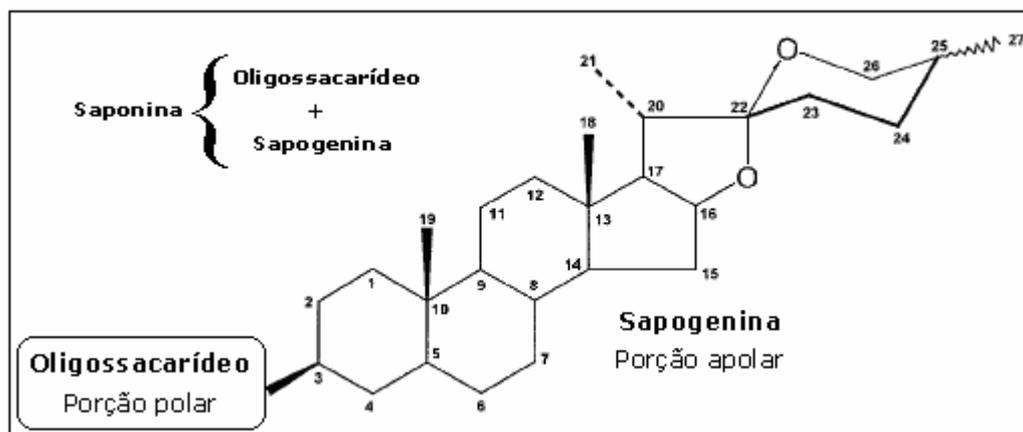


Figura 1.1. Estrutura geral das saponinas esteroidais.

A natureza da aglicona e a porção oligossacarídea da molécula da saponina contribuem para as propriedades individuais das saponinas. Há uma extensa variedade de estruturas de saponinas uma vez que tanto a sapogenina e a porção oligossacarídea podem ser variadas quanto os locais e a estereoquímica da conjugação na sapogenina e no carboidrato podem também variar (WILLIAMS e GONG, 2007).

As saponinas ocorrem em pelo menos 400 espécies de plantas pertencentes a 60 famílias diferentes, mas somente cerca de 28 são usadas como alimento, como por exemplo, soja, grão-de-bico, amendoim, espinafre, berinjela, jiló e inhames além do sisal usado na alimentação animal (ÁLVARES, 2006). Muitas saponinas diferentes podem ocorrer dentro de uma única espécie de planta. Nas plantas, acredita-se que as sapogeninas esteroidais são biossintetizadas do colesterol nelas presente via uma série de etapas de oxigenação e hidroxilação, e que elas são então glicosiladas para a forma de saponinas esteroidais. Entretanto, as enzimas e os genes envolvidos na biossíntese destas moléculas complexas são na maior parte não-caracterizados (KOHARA et al., 2005).

As saponinas esteroidais são incomuns nos animais. No reino animal estão presentes em estrelas e pepinos do mar e encontradas somente raramente em corais, esponjas e em alguns peixes servem como repelentes ao ataque de tubarões (WILLIAMS e GONG, 2007).

As saponinas atraem frequentemente a atenção de pesquisadores devido a suas atividades farmacológicas. Muitos relatos descreveram a estrutura química das saponinas e suas bioatividades incluindo efeitos antiinflamatórios, anticâncer, anti-herpes, hipocolesterolêmicos e imunostimulantes (KOHARA et al., 2005).

Possuem também características antimicrobianas, prevenindo o crescimento de fungos, podendo ser consideradas uma parte do sistema de defesa das plantas e indicadas como fitoprotetoras. Têm grande atividade como surfactantes, ou seja, diminuem a tensão superficial. Esta propriedade parece ser importante na absorção dos nutrientes já que foi demonstrado que determinadas saponinas afetam a permeabilidade das células da mucosa intestinal (ÁLVARES, 2006).

1.2 - Diosgenina

A diosgenina é uma sapogenina esteroidal que pode ser encontrada em diversas espécies vegetais e particularmente em raízes do inhame selvagem (*Dioscorea villosa*), o qual pertence à mesma família, *Dioscoreáceas*, do tubérculo conhecido no Brasil como cará. Estas plantas são caracterizadas por apresentar tubérculos os quais acumulam uma quantidade considerável de fécula, destinadas à alimentação humana. O inhame selvagem é oriundo de vários países de clima tropical, sendo muito abundante no México, daí o fato de também ser chamado de inhame mexicano, onde de 1950 até fins dos anos 70 esta planta se constituiu como a única fonte de matéria-prima para a produção de pílulas anticoncepcionais (NARULA et al., 2007). A Figura 1.2 apresenta a estrutura da diosgenina.

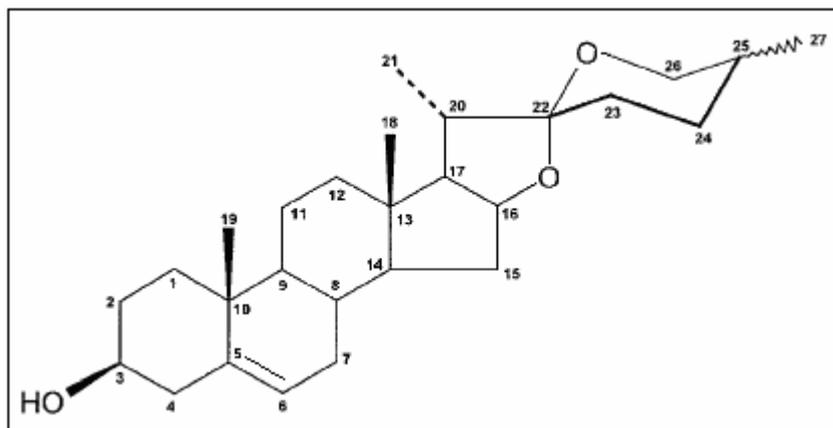


Figura 1.2. Estrutura da diosgenina.

A diosgenina é usada mais comumente como um ingrediente ativo na preparação de muitas drogas esteroidais, hormônios sexuais e pílulas anticoncepcionais orais fornecendo cerca de 50% do material bruto para a produção de cortisona, progesterona e muitos outros hormônios esteroidais. A indústria produtora de tais substâncias é um ramo multibilionário do comércio mundial. Os esteróides derivados da diosgenina estão entre os dez medicamentos de origem vegetal mais prescritos no mundo (NARULA et al., 2007).

Uma vez que a diosgenina é o precursor para a síntese industrial em larga escala de diferentes hormônios entre eles a progesterona, acreditou-se, a princípio, que ela poderia ser convertida em progesterona e outros esteróides sexuais *in vivo*. Contudo, a síntese comercial da progesterona a partir da diosgenina envolve múltiplas etapas complexas. Portanto, é pouco provável que a conversão metabólica da diosgenina em vários esteróides sexuais ocorra *in vivo* (AU et al., 2004).

Uma característica importante da diosgenina é a sua vasta aplicação terapêutica em diferentes áreas. Alimentos naturais contendo diosgenina foram divulgados em alguns países como sendo eficazes no tratamento de doenças tais como a osteoporose e tensão pré-menstrual em mulheres (NOGUCHI et al., 2006).

O consumo de diosgenina demonstrou propriedades hipoglicêmicas em ratos diabéticos, alterando a morfologia intestinal e abaixando os

níveis de glicose do sangue e o perfil lipídico de tais ratos (MCANUFF et al., 2002; MCANUFF-HARDING et al., 2003; MCANUFF et al., 2005; MCANUFF-HARDING et al., 2006).

Foi relatado que a diosgenina retardou a progressão da osteoporose, e possui efeitos antiinflamatórios em ratos. Além disso, a diosgenina estimulou o crescimento da glândula mamária de ratos ovariectomizados bem como causou uma relaxação aguda da artéria coronária de porcos podendo beneficiar no futuro, pacientes com entupimento nessa artéria (AU et al., 2004).

Os efeitos antiinflamatórios e estrogênicos da diosgenina foram previamente hipotetizados devido à similaridade estrutural da molécula ao estrogênio. A diosgenina mostrou ser útil para a manutenção de níveis saudáveis de colesterol no sangue e impediu significativamente a perda óssea na mesma extensão que o estrogênio, indicando que ela pode ser utilizada para reduzir a progressão da osteoporose (YEN et al., 2005).

Usuários de drogas opiáceas (aquelas derivadas do ópio, tais como a morfina e a heroína), com a infecção HIV e portadores de um gene específico, ApoE4, apresentam um risco maior de desenvolver demência. A diosgenina, juntamente com a substância L-deprenil, tem um potencial terapêutico nesta população (TURCHAN-CHOLEWO et al., 2006).

Outra área em que a diosgenina tem sido muito pesquisada é a de terapia anticâncer, já que ela é forte indutora da apoptose em alguns tipos de células cancerosas. A apoptose, ou a morte programada da célula, é um tipo de "autodestruição celular", um processo natural de morte celular que desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de organismos pluricelulares. A apoptose mantém a homeostase celular (condições estáveis para as células) pela substituição de células danificadas ou anormais, com o objetivo de assegurar as funcionalidades dos tecidos e órgãos e a viabilidade do organismo. Os fatores que protegem contra a apoptose conduzem à sobrevivência prolongada de células anormais que favorece a acumulação de mutações genéticas e a proliferação de tumores (CORBIÈRE et al., 2004).

A diosgenina inibe a proliferação de células do tipo osteosarcoma (tumor ósseo) pela indução da apoptose e interrupção do ciclo celular (MOALIC et al., 2001; CORBIÈRE et al., 2003; CORBIÈRE et al., 2004; TROUILLAS et al., 2005; BÉGAUD-GRIMAUD et al. 2006); pode inibir a proliferação de células do câncer de mama (LI et al., 2005); induz a apoptose em células do tipo eritroleucemia humana (LÉGER et al., 2004a; LÉGER et al., 2004b; LÉGER et al., 2006); inibe o crescimento e induz a apoptose na linhagem celular do câncer de cólon humano (RAJU et al., 2004).

1.3 - Hecogenina

A hecogenina é uma sapogenina esteroidal obtida comercialmente a partir do suco do sisal, produto descartado durante o processo de desfibramento de suas folhas.

A hecogenina apresenta também, embora de forma menos acentuada que a diosgenina, propriedades antiproliferativas e pró-apoptóticas em determinados tipos de linhagens de células cancerosas (CORBIERE et al., 2003) e (TROUILLAS et al., 2005).

No presente trabalho, a hecogenina foi estudada em sua forma de acetato cuja estrutura está representada na Figura 1.3.

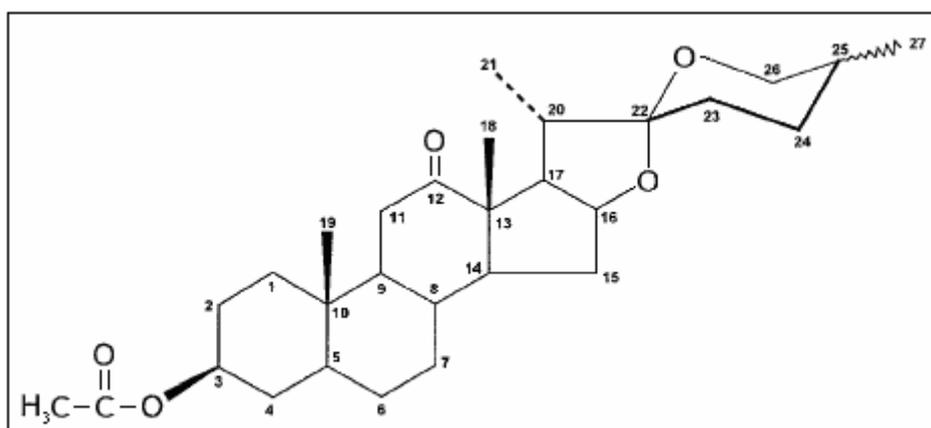


Figura 1.3. Estrutura do acetato de hecogenina.

Devido à presença do grupo ceto no C-12, a hecogenina não é apropriada para a manufatura de anticoncepcionais de uso oral, contudo, segundo OASHI (1999), esta carbonila presente no C-12 pode ser transposta para o C-11. A facilidade de transformação torna a hecogenina a sapogenina mais importante para a síntese de hormônios corticóides.

Entre os hormônios adrenocorticais dos quais a hecogenina é usada como matéria prima na produção, destacam-se cortisol, prednisolona, prednisona, dexametasona e betametasona (GHOGHARI e RAJANI, 2006), todos com estruturas similares à hecogenina conforme mostra o esquema na Figura 1.4.

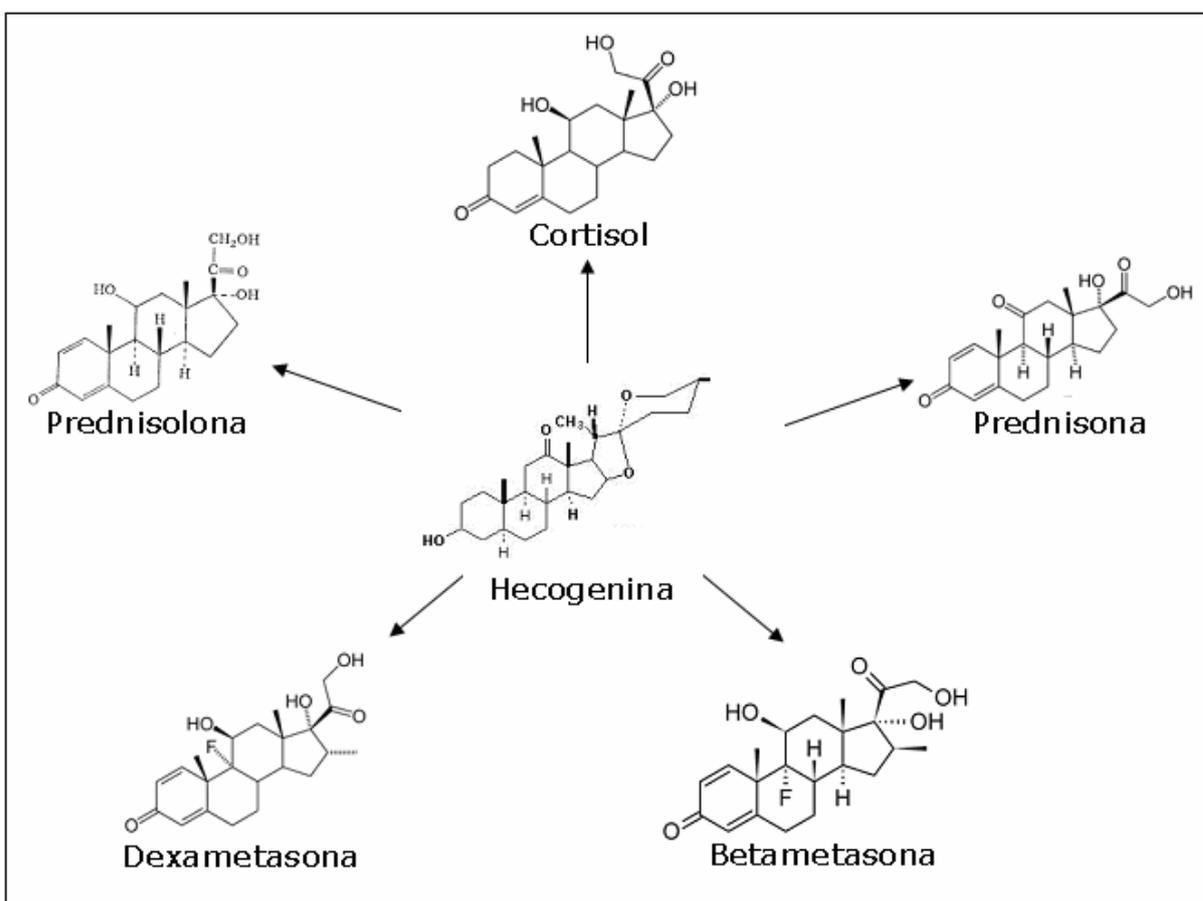


Figura 1.4. Principais hormônios produzidos a partir da hecogenina.

A seguir, são listadas algumas das diversas funções biológicas e terapêuticas dos hormônios produzidos a partir da hecogenina:

Cortisol: hormônio envolvido na resposta ao estresse; aumenta a pressão arterial e o açúcar do sangue, além de suprimir o sistema imune. A forma sintética, chamada de hidrocortisona é uma medicação principalmente usada para o combate a alergias e inflamações.

Prednisona: particularmente efetiva como imunossupressora e atua virtualmente em todo o sistema imunológico. Portanto pode ser usada em enfermidades auto-imunes e inflamatórias (como asma, alergias epidérmicas por contato com determinadas plantas venenosas, e doença de Crohn), problemas do ouvido médio e interno e várias enfermidades dos rins como a síndrome nefrótica. Também é usada para prevenir e tratar rejeição de órgãos em transplantes.

Prednisolona: aplicada no tratamento de conjuntivite palpebral e bulbar, em córnea danificada devido à queimadura química, térmica, por radiação ou penetração de corpo estranho. Nas desordens endócrinas, reumáticas, nos distúrbios do colágeno, dermatológicos e nos estados alérgicos. Prednisolona é indicada nas desordens oftálmicas, respiratórias, hematológicas, neoplásicas, gastrintestinais e nos estados edematosos.

Dexametasona: atua no controle de velocidade de síntese de proteínas. Seu efeito principal está relacionado à profunda alteração promovida na resposta imune linfocitária, devido à ação antiinflamatória e imunossupressora, podendo prevenir ou suprimir processos inflamatórios de várias naturezas.

Betametasona: indicada especialmente quando a retenção de água é indesejável. Usada para estimular a maturação do pulmão fetal e diminuir a incidência e a mortalidade por hemorragia intracraniana em bebês prematuros. Também é usada como um creme tópico para aliviar a irritação da pele. Betametasona também parece eficaz em tratar a fimose nos meninos, e evita frequentemente a necessidade de circuncisão.

1.4 - Solasodina

A solasodina é um alcalóide esteroidal, chamado também de sapogenina alcalóide por alguns autores (TRIVEDI e PUNDARIKAKSHUDU, 2007), encontrado na natureza em muitas plantas da família das *Solanáceas*, particularmente do gênero *Solanum*. O gênero *Solanum* é um dos mais numerosos do reino vegetal com cerca de 1800 espécies dentre as quais a berinjela, o jiló e a jurubeba. Na medicina indiana, diversas espécies *Solanum* como *S. khasianum*, *S. xanthocarpum*, *S. nigrum*, *S. gracile* e *S. laciniatum* são amplamente utilizadas contra várias doenças como asma, doenças hepáticas e inflamações. Recentemente, estudos com uma mistura de glicosídeos da solasodina (CHAM, 2007) e (SOUZA et al., 2002) e extratos de plantas *Solanum* contendo principalmente solasodina (SHAHJAHAN et al., 2005) mostraram atividade citotóxica contra alguns tipos de tumores. Algumas espécies *Solanum* mostraram possuir também propriedades letais contra o molusco *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário do parasita *Schistosoma mansoni*, responsável pela esquistossomose (SILVA et al., 2006). Nas plantas *Solanum*, a solasodina ocorre principalmente como os triglicosídeos solasonina e solamargina.

A estrutura da solasodina é mostrada na Figura 1.5.

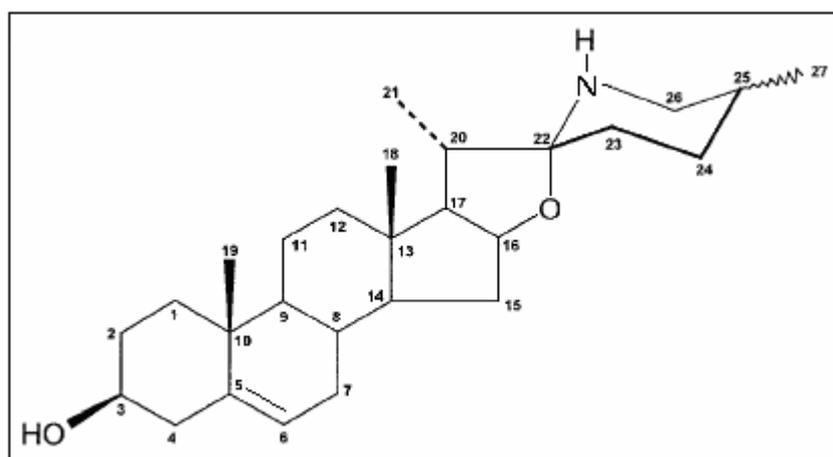


Figura 1.5. Estrutura da solasodina.

Glicoalcalóides esteroidais naturais contêm três porções estruturais: uma composta por monossacarídeos ligados a posição 3 da aglicona, uma unidade esteróide não polar e uma porção básica. Provavelmente na maioria das plantas que produzem glicoalcalóides, a principal aglicona é a solasodina (CHERKAOUI et al., 2001).

A importância comercial deste composto é que ele é um análogo nitrogenado da sapogenina triterpenóide diosgenina e pode ser usado na indústria farmacêutica como precursor na síntese dos hormônios esteroidais e na síntese de drogas antiinflamatórias, além de prontamente poder ser convertido ao acetato de 16-desidropregnenolona (Figura 1.6), um intermediário chave na síntese, por exemplo, de drogas esteroidais como progesterona e cortisona (MOLA et al., 1997).

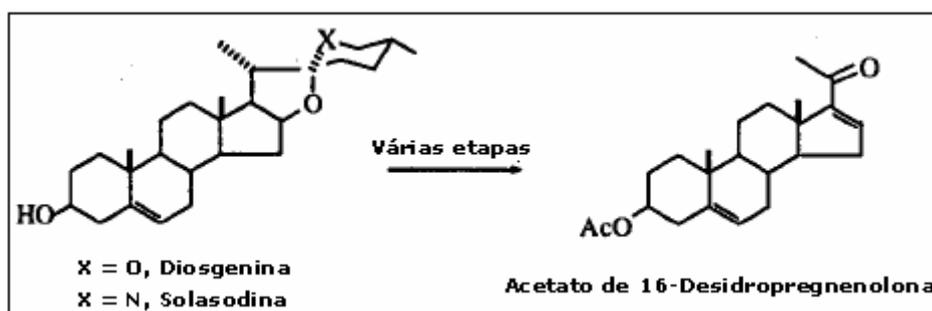


Figura 1.6. Conversão de diosgenina e solasodina em acetato de 16-desidropregnenolona. Fonte: (MOLA et al., 1997).

Segundo WEISSEBERG (2001), além de seu valor potencial como um material precursor bruto para a síntese de drogas esteroidais, a solasodina mostrou possuir certa atividade biológica como fungicida, reguladora do crescimento de insetos e inibidor enzimático. A solasodina também é valiosa, conforme relatos de efeitos farmacológicos, incluindo atividade citotóxica significante *in vitro* contra uma variedade de linhagens de células cancerosas, e é eficiente também na reparação de fragmentos de DNA que sofreram mutação. A solasodina também se mostrou ser capaz de curar várias lesões de Herpes na pele, inibir o crescimento *in vitro* do *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da Doença de Chagas,

mobilizar glucocorticóides das glândulas adrenais de ratos e exibir um efeito anti-hepatotóxico nos mesmos. A solasodina apresenta um efeito antiarteriosclerótico sobre o colesterol ruim de coelhos, um efeito hipotensivo em gatos e um efeito antiespermatogênico em seres humanos, bovinos, macacos *Rhesus*, e cães. Por outro lado, um efeito teratogênico relativamente baixo, embriotóxico, e um aumento benigno do fígado foram também notados. Além disso, a solasodina injetada intravenosamente mostrou ser excretada lentamente em humanos e em ramsters sírios.

A solasodina mostrou atividade antiinflamatória em ratos, contra edemas induzidos por carragenina, um extrato solúvel em água, derivada da carragena, uma alga marinha muito utilizada para induzir reação inflamatória aguda em animais de laboratório (EMMANUEL et al., 2006).

1.5 - Análise térmica

Conceitua-se análise térmica como um conjunto de técnicas que permitem medir as mudanças de uma propriedade física ou química de uma substância ou material em função da temperatura ou tempo, enquanto a substância é submetida a controle programado de temperatura (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

Em um sistema de termoanálise, a amostra é colocada em um ambiente no qual é possível observar, direta ou indiretamente, uma modificação em função da temperatura e do tempo. As mudanças ocorridas na amostra são monitoradas por um transdutor apropriado que produz um sinal elétrico associado à mudança física ou química. Este sinal é amplificado de modo eletrônico e aplicado ao dispositivo de leitura em um registrador.

As vantagens da análise térmica são muitas (necessita de uma pequena quantidade de amostra para os ensaios, variedade de resultados em um único gráfico), e sua aplicabilidade ocorre em diversas áreas: alimentícia, catálise, cerâmica, engenharia civil, farmacêutica, inorgânica,

orgânica, petroquímica, polímeros, vidros, dentre outras. Mas há algumas desvantagens no uso da análise térmica, como o custo relativamente alto dos equipamentos, além de ser uma técnica destrutiva (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

As técnicas termoanalíticas são métodos extremamente úteis no estudo das propriedades térmicas, avaliação de decomposição, controle de reações químicas e os riscos a estas associados, avaliação de falhas de operação e elucidação da cinética e do mecanismo dos processos de decomposição térmica.

1.5.1 - Termogravimetria (TG)

A termogravimetria ou análise termogravimétrica baseia-se no estudo da variação de massa de uma amostra, resultante de uma transformação física (sublimação, evaporação, condensação) ou química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura. É uma técnica com vasta área de aplicação na determinação do comportamento térmico dos materiais.

O instrumental básico da termogravimetria consiste numa balança de precisão acoplada a um forno que permite programar aumento de temperatura de forma linear com o tempo. A amostra é colocada em uma pequena plataforma acoplada à balança. Os dados de massa gerados são captados pela saída serial do microcomputador. Um pequeno forno elétrico envolve a plataforma, de maneira que a temperatura da amostra pode ser controlada variando-se a potência do forno. Os resultados são apresentados sob forma de curva termogravimétrica (TG), na qual a variação de massa é registrada em função do tempo (TG isotérmica) ou da temperatura (TG dinâmica) (CIENFUEGOS e VAITSMAN, 2000).

Os resultados obtidos pela termogravimetria podem ser afetados de acordo com os seguintes fatores: efeitos instrumentais (velocidade de aquecimento, atmosfera do forno, geometria do cadinho) e efeitos característicos da amostra (peso, tamanho, modo de preparação).

A Figura 1.7 apresenta uma curva termogravimétrica não-isotérmica de uma reação em um único estágio. A perda de massa é caracterizada por duas temperaturas: T_i , que é chamada de temperatura inicial de decomposição e T_f , que é a temperatura final. A temperatura inicial de decomposição é a temperatura na qual a variação de massa acumulada atinge a magnitude que a termobalança pode detectar. A temperatura final é a temperatura na qual a variação de massa acumulada atinge seu valor máximo de degradação, correspondendo ao término da reação. A diferença entre essas duas temperaturas ($T_f - T_i$) é chamada de intervalo de reação.

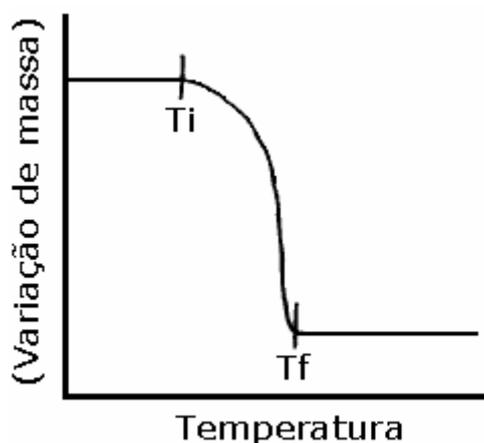


Figura 1.7. Curva TG típica de uma reação em um único estágio.

Fonte: (DOLLIMORE et al., 1996).

1.5.2 - Termogravimetria derivada (DTG)

A derivada da curva TG, conhecida como DTG, é uma valiosa ferramenta de visualização e esclarecimento dos passos das curvas TG visto que variações seguidas uma após outra ou muito próximas não são distinguíveis e notam-se estágios coincidentes. Curvas DTG separam em duas partes tais variações.

Os principais parâmetros fornecidos pela DTG são: a temperatura inicial de cada decomposição, temperatura em que a velocidade de cada decomposição é máxima (máxima de pico da derivada originária do ponto

de inflexão da curva TG) e a temperatura final de decomposição, além da massa perdida da amostra, que é proporcional à área abaixo de cada pico.

A Figura 1.8 apresenta uma comparação entre curvas TG e DTG. Uma série de picos é obtida no lugar da curva "degrau", onde a área dos picos é proporcional ao total de massa perdida pela amostra.

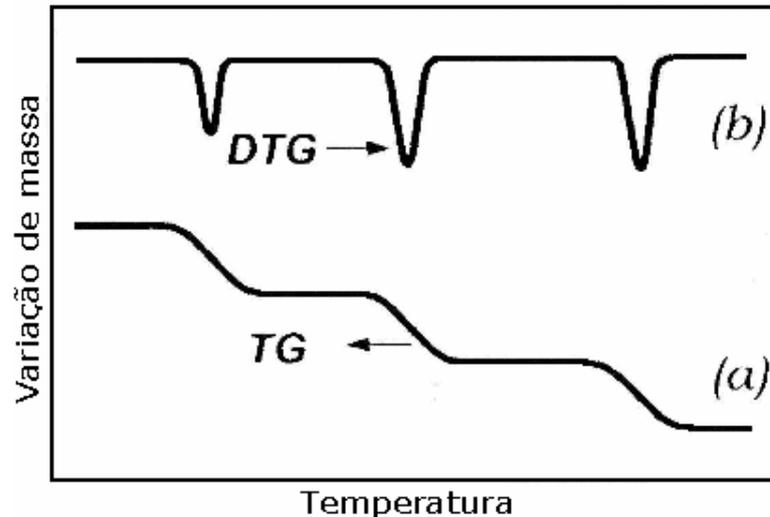


Figura 1.8. Comparação entre as curvas TG (a) e DTG (b).

Fonte: (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

1.5.3 - Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

É uma técnica que mede a diferença de energia necessária à substância em relação a um material de referência, termicamente inerte na faixa de temperatura do experimento, enquanto ambos são submetidos a uma variação controlada de temperatura, de maneira que a amostra e a referência sejam mantidas em condições isotérmicas, uma em relação à outra, independente do evento térmico que esteja ocorrendo na amostra.

DSC pode ser definida como uma técnica que mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Esta técnica proporciona informações tais como: transição vítrea, temperatura e tempo de cristalização, ponto de fusão, calor específico, oxidação, pureza, estabilidade térmica, ponto de ebulição, cinética de reação e outros (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

1.6 - Decomposição térmica de sólidos

Quando amostras sólidas são submetidas a tratamento térmico, podem sofrer determinadas transformações físicas e químicas tais como fusão, sublimação, recristalização espontânea e decomposição térmica. Às vezes, algumas transformações podem ocorrer mesmo abaixo do ponto de fusão do sólido (SILVA, 2005).

O mecanismo de uma reação no estado sólido geralmente apresenta três estágios consecutivos, contudo, nem sempre todos são observáveis experimentalmente (IOSHIDA, 1993). São eles:

1 - nucleação: consiste no surgimento de novas áreas nas interfaces reagente-reagente e reagente-produto em locais onde a reação ainda não tenha se estabelecido previamente. A nucleação ocorre quando as variações energéticas do cristal são suficientes para fornecer energia livre de ativação para a formação dos núcleos;

2 - crescimento nuclear: os núcleos formados crescem até atingirem uma interface de reação contínua. O crescimento nuclear surge como consequência de mudanças que ocorrem na geometria da interface durante o desenvolvimento da reação;

3 - etapa desaceleratória: a formação da interface de reação contínua, normalmente é acompanhada de uma fase de retardamento à medida que a reação avança em direção ao interior das partículas sólidas, o que é observado experimentalmente em intervalos de α entre 0,1 a 0,9. Durante esta fase final da reação pode ocorrer a difusão do produto gasoso através do sólido decomposto e que pode até mesmo ser a etapa determinante da velocidade de reação.

Na prática, a interface não se desloca uniformemente, mas o avanço é mais rápido onde o cristal apresenta imperfeições. Regiões com imperfeições ou deformações na rede cristalina são as que apresentam maior reatividade, conseqüentemente, a reatividade de um sólido depende do número total de tais sítios.

1.6.1 - Cinética da decomposição térmica de sólidos

Equações bastante complexas para sólidos têm sido propostas na tentativa de desenvolver-se uma expressão matemática geral que relacione a formação do produto com o crescimento nuclear como função do tempo ou da temperatura. No entanto, têm-se introduzido simplificações no tratamento dos dados experimentais e na interpretação da cinética da reação (SILVA, 2005).

A maioria das reações do estado sólido pode ser representada pela equação 1.

$$g(\alpha) = k(T)t \quad (1)$$

Onde: α = fração decomposta no tempo t ; $k(T)$ = constante de velocidade; $g(\alpha)$ = é a forma matemática integrada que representa o modelo cinético da reação.

A expressão cinética que melhor representa a decomposição térmica de um sólido geralmente é determinada analisando-se os dados experimentais e utilizando a equação que proporcione um melhor ajuste da curva experimental. As expressões cinéticas mais utilizadas para a decomposição térmica de sólidos estão listadas na Tabela 1.1.

Geralmente, as equações cinéticas que descrevem a decomposição térmica de sólidos, podem ser classificadas em diferentes tipos de processos que incluem aspectos geométricos e físico-químicos, dependendo da etapa determinante da velocidade (YOSHIDA, 1993):

- I. Processos controlados por nucleação;
- II. Processos controlados pelos mecanismos de difusão;
- III. Processos controlados pelas reações na fase limítrofe.

I. Processos controlados por nucleação: Ocorrem quando a nucleação é seguida pelo crescimento nuclear, com ou sem superposição de núcleos e as velocidades de ambas as etapas são consideradas por serem

significativas na descrição da cinética de decomposição. Teoricamente, este processo pode ser descrito pelas seguintes equações:

- Lei de potência;
- Equação de Avrami-Erofeyev;
- Equação de Prout-Tompkins;
- Equação de ordem 1.

II. Processos controlados pelos mecanismos de difusão: Ocorrem nos processos onde a nucleação é instantânea e o prosseguimento da reação baseia-se na interpenetração das partículas reagentes, que por hipótese, é a etapa determinante da velocidade do processo, provavelmente, tem-se um dos seguintes modelos:

- D1 (difusão unidimensional);
- D2 (difusão bidimensional);
- D3 (difusão tridimensional, equação de Jander);
- D4 (difusão tridimensional, equação de Ginstiling-Brounshtein).

III. Processos controlados por reações na fase limítrofe: Quando a difusão é extremamente rápida, impedindo que os reagentes se combinem na interface da reação a fim de estabelecer o estado de equilíbrio, o processo será controlado pela fase limítrofe. A velocidade de transformação é governada pelo movimento da interface, e as relações entre α e t podem ser encontradas a partir de considerações geométricas. Estes modelos são conhecidos também por "geometria em contração" e são denominados de:

- R1 (Crescimento nuclear unidimensional);
- R2 (Crescimento nuclear bidimensional);
- R3 (Crescimento nuclear tridimensional).

A Tabela 1.1 resume a discussão feita sobre modelos cinéticos para a decomposição térmica dos sólidos.

Tabela 1.1 – Equações cinéticas para a decomposição térmica dos sólidos.

Função	Mecanismo	$g(\alpha)$
1. Curvas α versus t aceleratórias:		
Pn	Lei de Potência → crescimento uni, bi ou tridimensional à velocidade constante, sem superposição de núcleos.	$\alpha^{1/n}$
E1	Lei Exponencial	$\ln \alpha$
2. Curvas α versus t sigmoidais:		
Am	Avrami-Erofeyev → nucleação caótica seguida do crescimento nuclear à velocidade constante, sem superposição de núcleos (n= 2, 3 ou 4).	$[-\ln(1-\alpha)]^{1/n}$
An	Prout-Tompkins → nucleação em cadeias ramificadas independentes do tempo.	$\ln[\alpha/(1-\alpha)]+C$
Ax	Prout-Tompkins modificado → nucleação em cadeias ramificadas com superposição de núcleos e velocidade de ramificação inversamente proporcional a t.	$\ln[\alpha/(1-\alpha)]+C$
3. Curvas α versus t desaceleratórias:		
3.1 Baseadas nos modelos geométricos		
R1	Ordem 0 → reação na fase limítrofe, crescimento nuclear unidimensional, simetria plana.	$1-(1-\alpha)$
R2	Ordem 1/2 → reação na fase limítrofe, crescimento nuclear bidimensional, simetria cilíndrica.	$1-(1-\alpha)^{1/2}$
R3	Ordem 2/3 → reação na fase limítrofe, crescimento nuclear tridimensional, simetria esférica.	$1-(1-\alpha)^{2/3}$
3.2 Baseadas nos mecanismos de difusão		
D1	Difusão unidimensional → simetria plana, lei parabólica.	α^2
D2	Difusão bidimensional → simetria cilíndrica.	$(1-\alpha)\ln(1-\alpha)+\alpha$
D3	Difusão tridimensional → simetria esférica, equação de Jander.	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$
D4	Difusão tridimensional → simetria esférica, equação de Gistling-Brounshtein.	$(1-2\alpha/3)-(1-\alpha)^{2/3}$
3.3 Baseadas na "ordem de reação"		
F1	1ª ordem → nucleação caótica, único núcleo por partícula – Lei de decaimento unimolecular (Mampel).	$-\ln(1-\alpha)$
F2	2ª ordem	$1/(1-\alpha)$
F3	3ª ordem	$[1/(1-\alpha)]^2$

Fonte: (LOPES, 2005)

1.7 - Métodos termogravimétricos isotérmico e não-isotérmico no estudo cinético de decomposição térmica de sólidos

Uma vez que a decomposição térmica de sólidos é um processo bastante complexo, não existe uma única equação que descreva todos os casos. Em função disso, tem-se duas linhas de tratamentos teóricos para a cinética de decomposição que são os métodos isotérmico e não-isotérmico.

1.7.1 - Método isotérmico

Esse método permite que a variação da amostra seja registrada como uma função do tempo a uma temperatura constante. O uso deste método dificulta a observação da etapa inicial da reação devido à brusca variação da temperatura causada sobre a amostra. A fundamentação para o estudo da cinética isotérmica é dada pela seguinte expressão:

$$V = \frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \quad (2)$$

Onde: α = fração decomposta; t = tempo de reação; T = temperatura da amostra.

A função $f(\alpha)$ é determinada experimentalmente e indica o provável mecanismo através do qual a reação de decomposição se processa. Desenvolvendo a Equação (2), tem-se:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \therefore \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = k(T)dt \therefore \int_0^{\alpha} \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = k(T) \int_0^t dt \quad (3)$$

Fazendo,

$$g(\alpha) = \int_0^{\alpha} \frac{d\alpha}{f(\alpha)} \quad (4)$$

Tem-se:

$$g(\alpha) = kt \quad (5)$$

A função $g(\alpha)$ é determinada tentando-se ajustar as equações mostradas na Tabela 1.1, com o auxílio de programas computacionais. A função $k(T)$, que descreve a constante de velocidade da reação em relação à temperatura, é usualmente descrita pela lei de Arrhenius:

$$k = A.e^{-E/RT} \quad (6)$$

Esta expressão é totalmente aceita para reações homogêneas e então estendida para reações heterogêneas, apesar do significado dos parâmetros serem questionáveis neste caso. Assim, para distinguir entre reações homogêneas e heterogêneas no estado sólido, os parâmetros cinéticos devem ser designados aparentes. Deste modo, o fator pré-exponencial (A), deve ser chamado de fator pré-exponencial aparente e a energia de ativação (E) deve ser chamada de energia de ativação aparente.

Cada curva cinética é tratada matematicamente e este tratamento consiste na determinação dos coeficientes de regressão linear de todas as equações testadas. O melhor modelo é aquele que apresenta o menor desvio padrão e o maior coeficiente de correlação linear entre os valores experimentais e calculados de $g(\alpha)$, como também um valor aceitável para a energia. Definido o modelo cinético que descreve a reação em estudo (Equação 1), a repetição do experimento em diferentes temperaturas permite que se calcule a energia de ativação e o fator pré-exponencial através da Equação de Arrhenius na forma linearizada:

$$\ln k = \ln A - \frac{E}{RT} \quad (7)$$

Plotando-se o gráfico de $\ln k$ versus $1/T$, obtém-se o fator pré-exponencial pelo coeficiente linear da reta ($\ln A$) e a energia de ativação aparente pelo coeficiente angular da reta ($-E/R$) (SILVA, 2005).

1.7.2 - Método não-isotérmico

Neste método a amostra é aquecida em um ambiente no qual a variação de temperatura está programada ou pré-determinada, preferencialmente em velocidade linear.

Assim como no método isotérmico, os cálculos cinéticos da termogravimetria dinâmica são baseados na Equação (2):

$$V = \frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha)$$

Onde o valor de $k(T)$, que geralmente aplica-se a intervalos limitados de temperatura (SESTÁK, 1966; ZSAKÓ, 1968), é substituído de acordo com a equação de Arrhenius, Equação (6), e incluindo-se a razão de aquecimento \emptyset :

$$\emptyset = \frac{dT}{dt} \quad (8)$$

Tem-se a seguinte Equação:

$$\frac{d\alpha}{f(\alpha)} = \frac{A}{\emptyset} e^{-\frac{E}{RT}} dT \quad (9)$$

Escrevendo a Equação (9) na forma integral, tem-se:

$$\int_{\alpha=0}^{\alpha=1} \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = g(\alpha) = \frac{A}{\emptyset} \int_0^T e^{-\frac{E}{RT}} dT \quad (10)$$

O primeiro termo da Equação (10) é de fácil resolução e depende da função $f(\alpha)$, porém, a integral da exponencial não apresenta solução exata, necessitando de tratamentos matemáticos para a sua resolução, dando origem a diferentes métodos para o cálculo de parâmetros cinéticos (HOROWITZ e METZGER, 1963; ZSAKÓ, 1968; TANAKA et al., 1982; COATS e REDFERN, 1964).

A Equação (10) é frequentemente escrita como:

$$g(\alpha) = \frac{AE}{R\theta} p(x) \quad (11)$$

Onde $p(x)$ representa a integral conhecida como integral de temperatura.

$$\int_0^T e^{-\frac{E}{RT}} dt = \left(\frac{E}{R}\right) \int_x^\infty \frac{e^{-x}}{x^2} dx = \left(\frac{E}{R}\right) p(x) \quad (12)$$

O tratamento matemático das equações não-isotérmicas é realizado de acordo com métodos diferenciais, aproximados e integrais. Neste trabalho foram utilizados quatro métodos para determinação dos parâmetros cinéticos a partir da Equação (10), sendo dois desses métodos, aproximados e os outros dois, integrais.

1.7.2.1 - Métodos Aproximados

Estes métodos baseiam-se na Equação (10), onde no segundo termo da equação, a integral é aproximada pela inclusão da temperatura de pico da curva DTG. Dentre as poucas equações propostas utilizando este tratamento matemático, destacam-se as equações de Van Krevelen e de Horowitz-Metzger.

1.7.2.1.1 - Método de Van Krevelen (VK)

O método é baseado na integração aproximada da Equação (10), resultando numa relação linear, a partir da qual a energia de ativação e o fator pré-exponencial podem ser facilmente determinados (VAN KREVELEN et al., 1951). As equações usadas são as seguintes:

$$\log[-\ln(1-\alpha)] = \log \left[\frac{A}{\emptyset} \left(\frac{0,368}{T_{\text{pico}}} \right)^{\frac{E}{RT_{\text{pico}}}} \frac{1}{\left(\frac{E}{RT_{\text{pico}}} + 1 \right)} \right] + (ERT_{\text{pico}}+1)\log T \quad \text{para } n=1 \quad (13)$$

$$\log \left[\frac{-\ln(1-\alpha)^{1-n}}{1-n} \right] = \log \left[\frac{A}{\emptyset} \left(\frac{0,368}{T_{\text{pico}}} \right)^{\frac{E}{RT_{\text{pico}}}} \frac{1}{\left(\frac{E}{RT_{\text{pico}}} + 1 \right)} \right] + (ERT_{\text{pico}}+1)\log T \quad \text{para } n \neq 1 \quad (14)$$

Onde: T = temperatura absoluta; T_{pico} = Temperatura do pico da curva DTG; R = constante dos gases; \emptyset = razão de aquecimento.

1.7.2.1.2 - Método de Horowitz-Metzger (HM)

Neste método, tem-se que um gráfico de $\ln(1-\alpha)$ é plotado em função de \emptyset , resultando numa reta cuja inclinação é dada por E/RT_{pico} (HOROWITZ e METZGER, 1963). As equações utilizadas são:

$$\ln[-\ln(1-\alpha)] = \frac{E\emptyset}{RT_{\text{pico}}} \quad \text{para } n=1 \quad (15)$$

$$\ln \left[\frac{-\ln(1-\alpha)^{1-n}}{1-n} \right] = \frac{E\emptyset}{RT_{\text{pico}}} \quad \text{para } n \neq 1 \quad (16)$$

1.7.2.2 - Métodos Integrais

Os métodos integrais se originam das diferentes aproximações propostas para resolver a integral de $p(x)$ representada na Equação (12). Dentre estes métodos, estão os de Coats-Redfern e o de Madhusudanan.

1.7.2.2.1 - Método de Coats-Redfern (CR)

Este é um dos métodos mais utilizados para o cálculo dos parâmetros cinéticos não-isotérmicos.

Em reações do tipo: $A_{(s)} \rightarrow B_{(g)} + C_{(s)}$, a velocidade de consumo de A é expressa pela Equação (10):

$$\int_{\alpha=0}^{\alpha=1} \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = g(\alpha) = \frac{A}{\varnothing} \int_0^T e^{-\frac{E}{RT}} dT$$

onde a função $f(\alpha)$ utilizada pelo autor é a que melhor representa o modelo de ordem de reação.

O lado direito da Equação (10) não possui solução exata, no entanto, fazendo-se a substituição $U = E/RT$ e usando a aproximação feita pelos autores (COATS e REDFERN, 1964), tem-se:

$$\int_{\mu}^{\infty} e^{-\mu} \mu^{-b} d\mu \cong \mu^{1-b} e^{-\mu} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n (b)^n}{\mu^{n+1}} \quad (17)$$

onde os termos com $n > 2$ são desprezados.

A Equação (10) torna-se:

$$\frac{g(\alpha)}{T^2} = \frac{AR}{\emptyset E} \left[1 - \frac{2RT}{E} \right] e^{-E/RT} \quad (18)$$

Aplicando logaritmo, teremos:

$$\ln \left[\frac{g(\alpha)}{T^2} \right] = \ln \left(\frac{AR}{\emptyset E} \right) \left(\frac{1-2RT}{E} \right) - \frac{E}{RT} \quad (19)$$

Na maioria dos casos, o termo $1 - 2RT/E$ é muito próximo de 1, pois $2RT \ll E$. Logo, a Equação (19) torna-se:

$$\ln \left[\frac{g(\alpha)}{T^2} \right] = \ln \left(\frac{AR}{\emptyset E} \right) - \frac{E}{RT} \quad (20)$$

O plote do primeiro termo da Equação (20) versus $1/T$ resulta numa linha reta com inclinação $(-E/RT)$ para o valor correto da ordem de reação (n). Os valores de energia de ativação (E) e o fator pré-exponencial (A) são determinados a partir dos coeficientes angular e linear, respectivamente. Se a função $g(\alpha)$ for desconhecida pode-se testar as funções de sólidos (Tabela 1.1) e optar-se pela função que apresentar um melhor coeficiente de correlação (SILVA, 2005). Levando-se em conta apenas os mecanismos do tipo "ordem de reação", COATS e REDFERN (1964) obtiveram as seguintes expressões:

$$\ln \left[\frac{-\ln(1-\alpha)}{T^2} \right] = \ln \left(\frac{AR}{\emptyset E} \right) - \frac{E}{RT} \quad \text{para } n=1 \quad (21)$$

$$\ln \left[\frac{1-(1-\alpha)^{1-n}}{(1-n)T^2} \right] = \ln \left(\frac{AR}{\emptyset E} \right) - \frac{E}{RT} \quad \text{para } n \neq 1 \quad (22)$$

1.7.2.2.2 - Método de Madhusudanan (MD)

Neste método, a energia de ativação pode ser calculada utilizando-se as seguintes equações (MADHUSUDANAN et al., 1993):

$$\ln \left[\frac{-\ln(1-\alpha)}{T^{1,9206}} \right] = \ln \frac{AR}{\varnothing R} + 0,02 - 1,9206 \ln \frac{E}{R} - 0,12040 \frac{E}{RT} \quad \text{para } n=1 \quad (23)$$

$$\ln \left[\frac{1 - \ln(1-\alpha)}{T^{1,9206}(1-n)} \right] = \ln \frac{AR}{\varnothing R} + 0,02 - 1,9206 \ln \frac{E}{R} - 0,12040 \frac{E}{RT} \quad \text{para } n \neq 1 \quad (24)$$

1.8 - OBJETIVOS

1.8.1 - Objetivo geral

Analisar através de parâmetros termoanalíticos e cinéticos a diosgenina, o acetato de hecogenina e a solasodina.

1.8.2 - Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar a diosgenina, o acetato de hecogenina e a solasodina utilizando as técnicas de determinação dos pontos de fusão, Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons e Carbono.
- ✓ Estudar o perfil da decomposição térmica dos compostos estudados através de curvas termogravimétricas não-isotérmicas.
- ✓ Determinar o provável mecanismo da reação de decomposição térmica dos compostos estudados, através de dados termogravimétricos não-isotérmicos.
- ✓ Obter os parâmetros cinéticos: energia de ativação aparente (E), fator pré-exponencial (A) e ordem de reação (n) sob condições não-isotérmicas.
- ✓ Estudar o perfil calorimétrico dos compostos através da Calorimetria Exploratória Diferencial, com o intuito de determinar as transições endotérmicas e exotérmicas em função da temperatura.

CAPÍTULO 2

METODOLOGIA EXPERIMENTAL

2 - METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Neste capítulo apresenta-se a procedência das substâncias estudadas, incluindo-se as técnicas utilizadas para a extração e purificação da diosgenina e da solasodina. Também estão descritos os equipamentos usados na caracterização e no estudo térmico das substâncias estudadas bem como os métodos empregados no estudo cinético.

2.1 - Procedência dos compostos estudados

2.1.1 - Solasodina

A solasodina foi fornecida pelo Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) o qual a extraiu da espécie *Solanum paludosum*, conhecida popularmente como jurubeba, coletada no município de João Pessoa no Estado da Paraíba. A técnica utilizada na extração da solasodina está descrita abaixo.

Inicialmente 200g do pó vegetal seco da jurubeba foi extraído com etanol em Soxhlet. O extrato alcoólico foi concentrado sob vácuo até 66mL e a ele foi adicionado um volume igual de HCl 0,5M. A mistura anterior foi lavada com 3x15mL de tolueno à temperatura de 65°C. Uma solução de NaOH 6M foi adicionada à mistura quente (65°C) até alcançar pH=10. O líquido foi esfriado até 15° e deixado em repouso por 30 minutos. Foi obtido então um precipitado consistindo de glicosídeos crus o qual foi separado por centrifugação a 3000 RPM. O precipitado foi hidrolisado por refluxo em uma solução de 15 mL de EtOH 95° e 15 mL de HCl 3,0M para cada 1,0g do sólido. Uma solução de NaOH 6M foi adicionada à mistura quente até alcançar pH=10. A mistura foi esfriada a 15°C e deixada em repouso por 30 minutos. O precipitado produzido foi separado por filtração à vácuo, seco a 70°C e pulverizado. O rendimento foi de 1,5% (MOLA et al., 1997).

2.1.2 - Acetato de hecogenina

O acetato de hecogenina foi adquirido junto à empresa SIGMA, sendo a única, das três substâncias estudadas no presente trabalho, de procedência comercial.

2.1.3 - Diosgenina

A diosgenina foi fornecida pelo Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) o qual a extraiu da espécie *Dioscorea composita*, da mesma família do tubérculo conhecido com cará, cujas sementes foram obtidas no México e cultivadas no herbário da UFPB. A técnica utilizada na extração está descrita abaixo.

Primeiramente raízes secas e pulverizadas de *D. composita* (500g), foram desengorduradas por hexano em Soxhlet durante 8 horas. Depois desse período, o pó desengordurado foi extraído com etanol 90% por 16 horas. O extrato etanólico foi concentrado à vácuo em evaporador rotatório a 50°C e em seguida hidrolisado com H₂SO₄ 10% durante duas horas. A suspensão foi filtrada em Buchner e o sólido lavado com água até pH neutro. O material sólido e seco foi submetido à nova extração em Soxhlet com hexano por trinta horas. O extrato hexânico obtido foi concentrado e o resíduo submetido à cromatografia em coluna utilizando como eluente benzeno-acetato de etila (86:14). Apenas uma fração foi aproveitada mostrando através de técnicas espectroscópicas ser a diosgenina. O rendimento foi de pouco mais de 1%.

2.2 - Purificação dos compostos não-comerciais

As amostras não-comerciais, após serem obtidas no LTF, foram purificadas no intuito de eliminar possíveis impurezas adquiridas durante seu armazenamento.

2.2.1 - Purificação da diosgenina

A diosgenina foi recristalizada dissolvendo-se o pó à quente em etanol e em seguida deixando-o em repouso por 24h. Adicionaram-se então pequenas quantidades de água destilada até que a solução se tornasse turva. A solução turva foi levada para a geladeira e deixada em repouso por 24h. O precipitado formado foi filtrado a vácuo e coletado.

2.2.2 - Purificação da solasodina

A solasodina foi purificada através de dois processos distintos. Na primeira purificação a solasodina foi refluxada com tolueno (1,0g para 10 mL) durante 20 minutos. Em seguida, a solução de tolueno e solasodina foi filtrada ainda à quente e então resfriada a 5-8°C. Após a cristalização da solasodina, a mesma foi separada por filtração à vácuo e lavada com tolueno frio (0 a 5°C).

A solasodina purificada foi submetida em seguida a um segundo processo de purificação (o mesmo que foi aplicado à diosgenina): Dissolveu-se a solasodina à quente em etanol e em seguida deixou-se a solução em repouso por 24h. Adicionou-se então pequenas quantidades de água destilada até que a solução se tornasse turva. A solução turva foi levada para a geladeira e deixada em repouso por 24h. O precipitado formado foi filtrado a vácuo e coletado.

2.3 - Técnicas de caracterização

2.3.1 - Ponto de fusão

As medidas de ponto de fusão foram realizadas em um aparelho marca MICROQUÍMICA, modelo MQAPF – 301, com razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ e através das curvas calorimétricas (DSC).

2.3.2 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras foram obtidos em um espectrômetro da marca BOMEM, modelo MB-102, usando pastilha de KBr, na faixa de 4000-400 cm^{-1} , do Laboratório de Combustíveis (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

2.3.3 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (^1H e ^{13}C)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H) e de carbono (^{13}C) foram obtidos através de um espectrofotômetro da marca VARIAN-MERCURY, com frequência de 200MHz, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

2.4 - Estudo térmico

2.4.1 - Termogravimetria não-isotérmica

As curvas termogravimétricas foram obtidas no Laboratório de Combustíveis (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), utilizando uma termobalança da marca SHIMADZU, modelo TGA-50 em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ numa faixa de temperatura que variou entre a temperatura ambiente e 650 $^{\circ}\text{C}$ com razões de aquecimento de 5, 10 e 15 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e a quantidade de massa utilizada foi de 2,1 \pm 0,1mg.

2.4.2 - Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em um analisador térmico da marca TA Instruments, modelo MDSC 2920, em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, na razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em uma

faixa de temperatura que variou entre a temperatura ambiente e 500°C, com cadinho de Al, no modo Standard e a quantidade de massa utilizada foi de $2,3 \pm 0,1$ mg.

2.5 - Estudo cinético

A partir dos resultados obtidos das curvas termogravimétricas não-isotérmicas, foram feitos os tratamentos para obtenção dos dados cinéticos. Este estudo corresponde à determinação do mecanismo de reação e dos parâmetros cinéticos: ordem de reação (n), energia de ativação aparente (E_a) e fator pré-exponencial (A). Para isto utilizaram-se razões de aquecimento de 5, 10 e 15°C.min⁻¹ e intervalo de fração decomposta (α) de 0,15 a 0,95. Esses estudos foram realizados com o auxílio de programas computacionais desenvolvidos no Laboratório de Combustíveis (LACOM) da UFPB.

2.5.1 - Escolha do mecanismo de decomposição

Para elucidar o provável mecanismo da reação de decomposição térmica, obtiveram-se as curvas termogravimétricas utilizando-se massas de $2,1 \pm 0,1$ mg, nas razões de aquecimento de 5, 10 e 15°C.min⁻¹ e fração decomposta (α) de 0,15 a 0,95.

A escolha do provável mecanismo que descreve as reações de decomposição térmica é determinada pela função $g(\alpha)$ utilizando-se o método de COATS-REDFERN (1964), de acordo com a Equação (20):

$$\ln \left[\frac{g(\alpha)}{T^2} \right] = \ln \left(\frac{AR}{\phi E} \right) - \frac{E}{RT} \quad (20)$$

Utilizando-se o Programa de Mecanismos de Decomposição Térmica de Sólidos pelo Método Dinâmico de COATS-REDFERN (1964), foram testadas as funções $g(\alpha)$ apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Modelos cinéticos e função $g(\alpha)$ utilizados para determinar o provável mecanismo de decomposição térmica.

Modelo	$g(\alpha)$
AM2	$[-\ln(1-\alpha)]^{1/2}$
AM3	$[-\ln(1-\alpha)]^{1/3}$
AM4	$[-\ln(1-\alpha)]^{1/4}$
D1	α^2
D2	$(1-\alpha)\ln(1-\alpha)+\alpha$
D3	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$
D4	$(1-2\alpha/3)-(1-\alpha)^{2/3}$
F1	$-\ln(1-\alpha)$
F2	$1/(1-\alpha)$
F3	$[1/(1-\alpha)]^2$
R1	$1-(1-\alpha)$
R2	$1-(1-\alpha)^{1/2}$
R3	$1-(1-\alpha)^{2/3}$

Para cada função $g(\alpha)$, fez-se o gráfico de $\ln[g(\alpha)/T^2]$ versus $1/T$, utilizando-se um programa computacional de regressão linear por mínimos quadrados desenvolvido na linguagem Visual Basic (NUNES, 1995). A função escolhida foi aquela que forneceu o coeficiente de correlação linear o mais próximo da unidade e o menor desvio padrão.

2.5.2 - Determinação dos parâmetros cinéticos

A determinação dos parâmetros cinéticos para as curvas termogravimétricas dinâmicas dos compostos estudados no trabalho foi realizada utilizando-se as equações de COATS-REDFERN (1964), MADHUSUDANAN et al. (1993), HOROWITZ-METZGER (1963) e VAN KREVELEN (1951), aplicadas no Programa de Determinação de Parâmetros Cinéticos desenvolvido na linguagem Turbo Basic (NUNES, 1995), utilizando-se um intervalo de fração decomposta de 0,15 a 0,95.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos na caracterização, no estudo térmico e no estudo cinético da diosgenina, do acetato de hecogenina e da solasodina.

3.1 - Caracterização das substâncias estudadas

3.1.1 - Ponto de fusão

As temperaturas de fusão da diosgenina, do acetato de hecogenina e da solasodina estão apresentadas na Tabela 3.1. As medidas foram obtidas também através do DSC. Os resultados corroboram com a literatura.

Tabela 3.1 Pontos de fusão (°C) dos compostos.

Substância	Ponto de fusão		Ponto de fusão
	Literatura	Experimental	DSC
Diosgenina	202 - 205	200 – 202	202,6
Ac. de hecogenina	250 - 253	250 – 252	252,7
Solasodina	200 - 203	200 – 202	203,4

3.1.2 - Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho

As Figuras 3.1 a 3.3 mostram os espectros vibracionais na região do infravermelho dos compostos estudados.

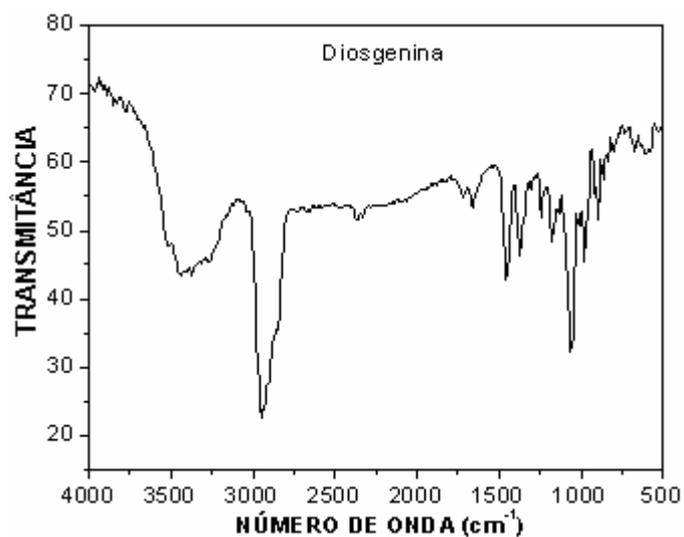


Figura 3.1. Espectro de infravermelho da diosgenina.

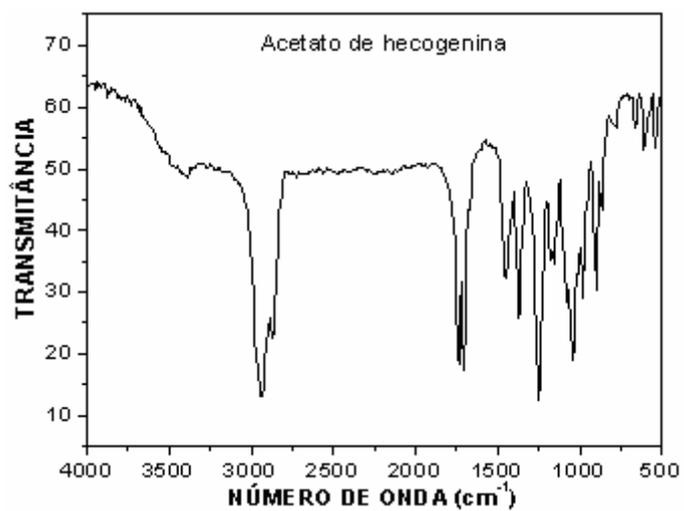


Figura 3.2. Espectro de infravermelho do acetato de hecogenina.

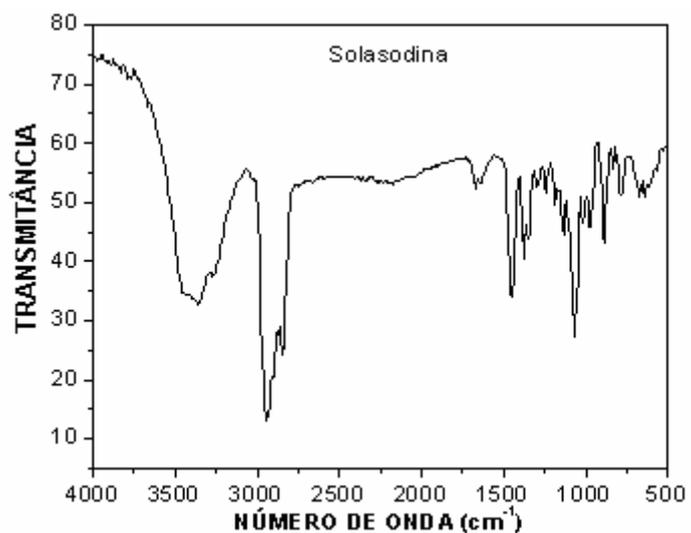


Figura 3.3. Espectro de infravermelho da solasodina.

A Tabela 3.2 apresenta as principais bandas de absorção no infravermelho da diosgenina, do acetato de hecogenina e da solasodina.

Tabela 3.2 Principais bandas de absorção no infravermelho dos compostos estudados.

Substância	Absorção (cm ⁻¹)	Atribuição
Diosgenina	3621-3118(m)	Estiramento O-H
	2946 (F)	Estiramento C-H
	1660 (f)	Estiramento C=C
	1460 (m)	Deformação CH ₃
	1372 (m)	Deformação CH ₂
	1061 (m-F)	Estiramento C-O
Acetato de hecogenina	2935 (F)	Estiramento C-H
	1703 (F)	Carbonila (cetona)
	1732 (F)	Carbonila (éster)
	1452 (m)	Deformação CH ₃
	1367 (m-F)	Deformação CH ₂
	1254 (F)	Estiramento C-O
Solasodina	3621-3076 (m)	Estiramento O-H e N-H
	2946 (F)	Estiramento C-H
	1675 (f)	Estiramento C=C
	1452 (m)	Deformação CH ₃
	1380 (m)	Deformação CH ₂
	1074 (m)	Estiramento C-O

(F) = forte; (f) = fraco; (m) = médio

Devido a similaridade estrutural, os espectros de absorção no infravermelho dos três compostos estudados foram semelhantes, mostrando bandas de absorção parecidas como a de 1452cm⁻¹ referente à vibração de deformação dos grupos metílicos. Outros valores de absorção similares entre os compostos foram as vibrações de estiramento C-H e a

vibração de deformação dos grupos metilênicos. As principais absorções que caracterizam os compostos estudados bem como os diferenciam são: Para a diosgenina a presença de uma banda larga característica da absorção da ligação O-H e banda fraca relativa a absorção da ligação C=C. Já o acetato de hecogenina apresentou absorções fortes em 1732 e 1703 cm^{-1} referentes às carbonilas do éster e da cetona respectivamente. Enquanto a solasodina mostrou bandas entre 3691-3076 cm^{-1} referentes à sobreposição das absorções do estiramento das ligações O-H e N-H e a banda fraca em 1675 cm^{-1} referente à ligação dupla C=C.

3.1.3 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (^1H)

Com a finalidade de ilustrar os comentários sobre a caracterização dos compostos, é apresentada abaixo a Figura 3.4 que contém a numeração padrão dos carbonos nas sapogeninas esteroidais.

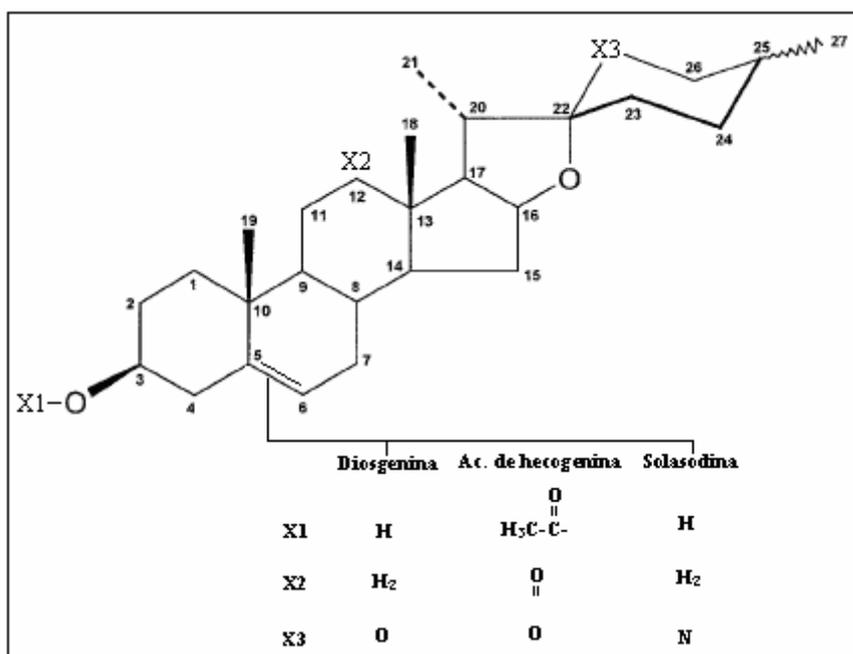


Figura 3.4. Numeração padrão dos carbonos nas sapogeninas esteroidais.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono dos compostos utilizados neste trabalho, encontram-se no Capítulo 6 (Anexos).

A Tabela 3.3 apresenta os principais deslocamentos de RMN de ^1H da diosgenina, do acetato de hecogenina e da solasodina.

Tabela 3.3 Principais deslocamentos de RMN de ^1H para os compostos.

Composto	Deslocamento químico (ppm)	Multiplicidade	Atribuição
Diosgenina	0,76	dubleto	Metila - 27
	0,76	singleto	Metila - 18
	0,94	dubleto	Metila - 21
	0,99	singleto	Metila - 19
	3,41	multiplete	H - 3
	4,38	quarteto	H - 16
	5,32	dubleto	H - 6
Acetato de hecogenina	0,75	dubleto	Metila - 27
	0,89	singleto	Metila - 18
	1,03	dubleto	Metila - 21
	1,01	singleto	Metila - 19
	1,99	singleto	Metila - Acetato
	4,31	quarteto	H - 16
	4,64	quinteto	H - 3
Solasodina	0,77	singleto	Metila - 18
	0,80	dubleto	Metila - 27
	0,90	dubleto	Metila - 21
	0,98	singleto	Metila - 19
	3,47	multiplete	H - 3
	4,24	quarteto	H - 16
	5,30	dubleto	H - 6

A diosgenina e a solasodina possuem quatro metilas cada uma. Estas metilas estão localizadas nos carbonos 18, 19, 21 e 27. As metilas 18 e 19 estão ligadas a carbonos quaternários, ou seja, elas não apresentam hidrogênios vizinhos capazes de produzirem desdobramentos e são identificadas no espectro de RMN - ^1H por singletos. Porém, as metilas 21 e 27 estão ligadas a carbonos terciários e possuem portanto um hidrogênio vizinho que desdobra seus sinais em dubletos. Além dessas quatro metilas citadas para a diosgenina e solasodina, o acetato de hecogenina possui ainda a metila do grupo acetato que por não possuir hidrogênios vizinhos, produz um singlete. Esta metila apresenta um deslocamento químico maior que as demais pelo fato de estar ligada a uma carbonila, o que aumenta sua desproteção.

Em relação às metilas, a diosgenina e a solasodina apresentaram seis picos, dentre os quais se observou dois singletos e dois dubletos cujos valores de deslocamento e atribuições encontram-se na Tabela 3.3.

A metila do grupo acetato no acetato de hecogenina foi identificada como um singlete em 1,99ppm confirmando assim a previsão de que ela seria a metila mais deslocada devido à ligação com a carbonila. Ainda sobre o acetato de hecogenina, um dos sinais do dublete relativo à metila 21 foi sobreposto ao singlete relativo à metila 19 em 1,01ppm. Chegou-se a esta conclusão após a análise da integral dos picos em 1,01 e 1,05ppm que mostrou uma proporção aproximadamente duas vezes maior que a integral dos picos relativos às demais metilas. Com isso, para o acetato de hecogenina obtiveram-se três singletos e dois dubletos para as cinco metilas onde os deslocamentos e atribuições são dados na Tabela 3.3.

Analisando-se a estrutura dos compostos estudados através da Figura 3.4, observa-se que todos possuem um hidrogênio ligado ao carbono 16. Este carbono encontra-se ligado a um oxigênio o que conduz a uma maior desproteção do hidrogênio 16 (H-16) levando a um maior deslocamento químico. O H-16 possui três hidrogênios vizinhos, dois ligados ao carbono 15 e um ao carbono 17 e espera-se, portanto, a formação de um quarteto no espectro de RMN- ^1H . Os três compostos

apresentaram quartetos relativamente bem deslocados $4,31 \pm 0,07$ ppm, identificando assim, o H-16 nestes compostos. A presença de um quinteto em 4,64ppm no espectro do acetato de hecogenina foi atribuída ao deslocamento do H-3 que se encontra ligado a um carbono vizinho ao grupo acetato. Na diosgenina e na solasodina, o H-3 está ligado a um carbono vizinho de uma hidroxila. A desproteção provocada pelo grupo acetato é maior que aquela provocada pela hidroxila devido a fatores como ressonância e eletronegatividade o que resulta num deslocamento menor do H-3 nessas duas substâncias. A diosgenina e a solasodina apresentaram multipletos em 3,41 e 3,47ppm respectivamente, atribuídos ao H-3 mas com picos sobrepostos a sinais de outros hidrogênios não identificados.

Além disso, a diosgenina e a solasodina apresentaram também um dubleto em 5,32 e 5,30ppm respectivamente, referente ao hidrogênio ligado ao carbono 6. Esses valores de deslocamento devem-se ao fato de no carbono 6 haver uma ligação dupla com o carbono 5 ocasionando o efeito anisotrópico que aumenta a desproteção e conseqüentemente o deslocamento químico. Embora sejam vistos dubletos, espera-se que com uma maior resolução apareça um dubleto de dubleto nessa região pois os dois hidrogênios vizinhos ao H-6 no carbono 7 estão em ambientes químicos diferentes.

3.1.4 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (^{13}C)

A análise da Tabela 3.4 mostra que a comparação dos valores obtidos neste trabalho e os da literatura (PURI et al, 1994; WAWER et al, 2001; YANG et al, 2003) apresentou uma boa concordância para a RMN – ^{13}C . Como não foi possível obter-se uma referência da literatura para valores de deslocamento químico do acetato de hecogenina, usou-se valores da hecogenina como parâmetros de referência. Com isso, foram observados valores discrepantes nos carbonos 2, 3 e 4 na comparação

hecogenina - acetato de hecogenina uma vez que o grupo acetato, que se encontra ligado ao carbono 3, afetou o deslocamento desses carbonos.

Tabela 3.4 Comparação dos valores de ^{13}C encontrados na literatura com os valores dos compostos utilizados neste trabalho.

Posição	Diosgenina		Ac. de hecogenina		Solasodina	
	Lit.	Trab.	Lit.*	Trab.	Lit.	Trab.
1	38,3	37,2	35,8	36,0	37,2	37,2
2	33,0	32,0	31,4	28,1	32,0	31,5
3	71,7	71,7	69,6	73,1	71,6	71,6
4	43,9	42,2	38,2	31,4	42,2	42,2
5	142,4	140,7	43,9	44,3	140,9	140,8
6	121,1	121,4	28,8	28,7	121,4	121,3
7	32,8	31,8	31,4	31,0	32,1	32,1
8	32,2	31,3	34,8	34,2	31,5	31,3
9	50,9	50,0	55,1	53,4	50,0	50,0
10	37,5	36,6	35,8	33,7	36,6	36,6
11	21,7	20,8	38,2	36,2	20,8	20,8
12	40,4	39,7	211,9	213,3	39,8	39,9
13	40,9	40,2	55,1	55,0	40,4	40,4
14	57,2	56,5	55,1	55,2	56,5	56,4
15	32,7	31,6	29,8	31,3	32,1	32,0
16	81,6	80,8	79,0	79,1	78,9	78,7
17	63,4	62,0	55,1	55,6	62,7	62,7
18	16,9	16,3	16,6	13,2	16,3	16,4
19	20,1	19,4	12,3	11,8	19,3	19,4
20	42,4	41,6	42,4	42,1	41,2	41,2
21	15,5	14,5	13,3	16,0	15,1	15,2
22	109,7	109,3	109,7	109,2	98,2	98,2
23	32,3	31,3	29,5	27,1	33,9	34,0
24	29,7	28,7	29,2	37,7	30,1	30,2
25	31,1	30,3	29,5	30,1	31,3	31,3
26	67,3	66,8	66,7	66,8	47,5	47,6
27	17,8	17,1	17,7	17,1	19,2	19,3
3-Ac	-	-	-	21,3	-	-
3-Ac	-	-	-	170,5	-	-

Lit. = Valores da literatura; Trab. = Valores do trabalho;

(*)hecogenina.

A diosgenina e a solasodina possuem heteroátomos diferentes entre os carbonos 22 e 26. Na diosgenina esse heteroátomo é o oxigênio e na solasodina tem-se o nitrogênio. Como o oxigênio é um átomo mais eletronegativo que o nitrogênio, os carbonos 22 e 26 estão mais desprotegidos na diosgenina, fazendo com que seus deslocamentos sejam maiores (109,3 e 66,8ppm respectivamente) em relação à solasodina (98,2 e 47,6ppm). Para o acetato de hecogenina foram obtidos valores semelhantes à diosgenina para os carbonos citados acima (109,2 e 66,8ppm) uma vez que nele o oxigênio também é o heteroátomo presente. O deslocamento do carbono 22 foi maior que o do 26 nos três compostos pois ele está ligado a um segundo heteroátomo, o de oxigênio, que aumenta sua desproteção.

O carbono 16 se encontra ligado a um oxigênio nos três compostos e, por isso, apresentou valores relativamente elevados, 80,8, 79,1 e 78,7ppm para a diosgenina, o acetato de hecogenina e solasodina, respectivamente.

Ligações duplas provocam valores elevados de deslocamento químico devido ao efeito anisotrópico. A ligação dupla presente entre os carbonos 5 e 6 tanto na diosgenina quanto na solasodina foi então identificada pelos altos valores de deslocamento, 140,7 e 140,8ppm para o carbono 5 e 121,4 e 121,3ppm para o carbono 6 nesses dois compostos respectivamente. No acetato de hecogenina este fato não foi observado visto que o mesmo apresenta sua molécula totalmente saturada.

A maior eletronegatividade do oxigênio em relação ao carbono faz com que as ligações entre ambos tornem o carbono desprotegido de elétrons o que aumenta seu deslocamento químico no espectro de RMN – ^{13}C . Em carbonilas, a interação oxigênio-carbono é aumentada pela ligação dupla fazendo com que a desproteção, e conseqüentemente o deslocamento químico, sejam também elevados. Os maiores valores de deslocamento observados para o acetato de hecogenina, 213,3 e 170,5ppm, foram atribuídos respectivamente aos carbonos das carbonilas (na posição 12 e no grupo acetato).

3.2 - Comportamento térmico

3.2.1 - Termogravimetria (TG) e Termogravimetria derivada (DTG)

Nas Figuras 3.5 a 3.13 estão as curvas TG/DTG obtidas nas razões de aquecimento (5, 10 e 15°C.min⁻¹) para a diosgenina, acetato de hecogenina e solasodina.

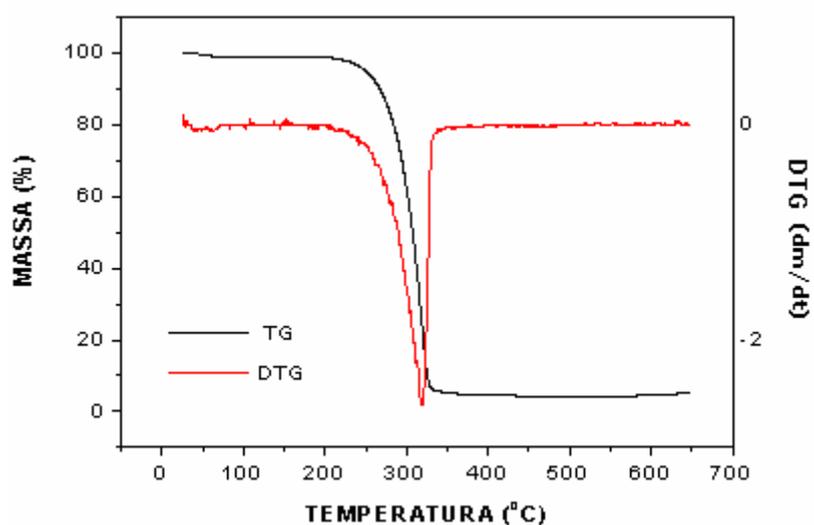


Figura 3.5. Sobreposição das curvas TG/DTG da diosgenina na razão de aquecimento 5°C.min⁻¹.

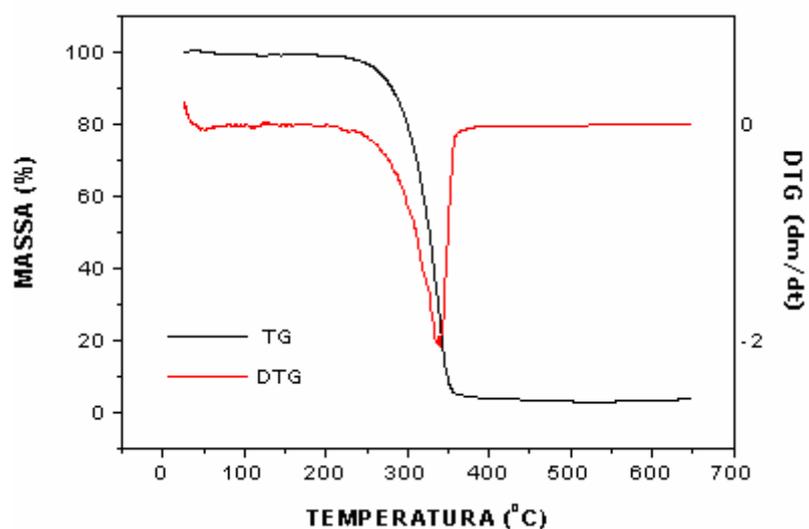


Figura 3.6. Sobreposição das curvas TG/DTG da diosgenina na razão de aquecimento 10°C.min⁻¹.

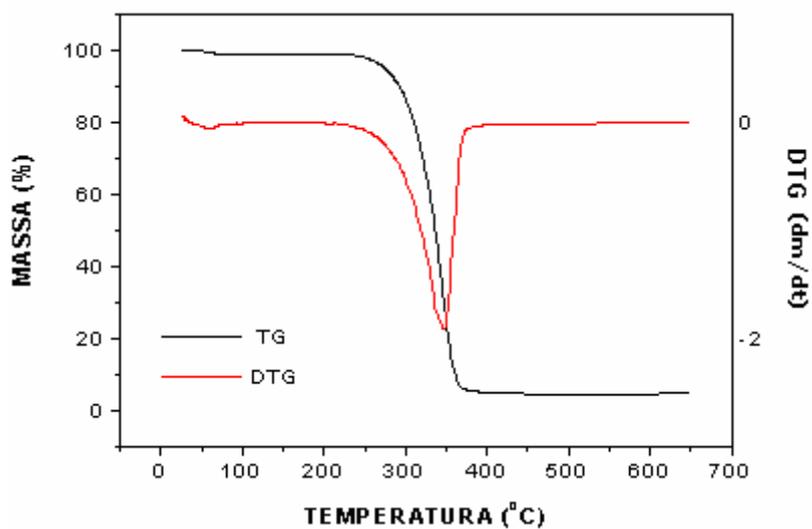


Figura 3.7. Sobreposição da curvas TG/DTG da diosgenina na razão de aquecimento $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

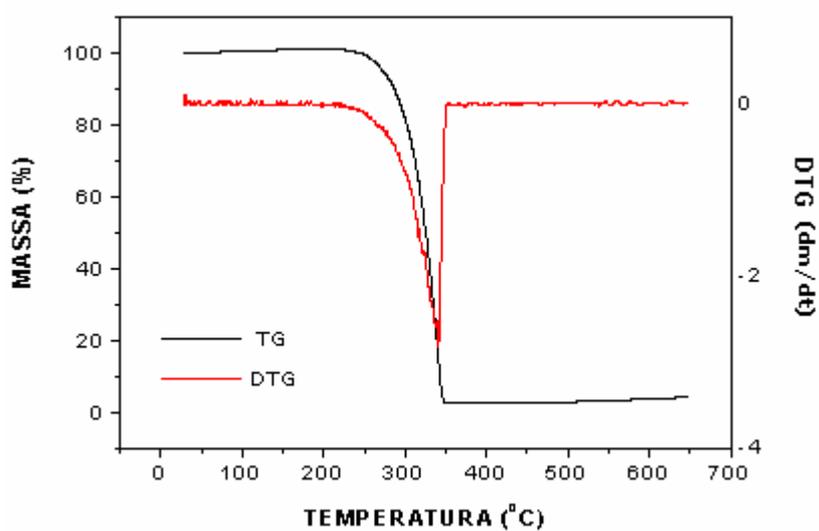


Figura 3.8. Sobreposição da curvas TG/DTG do acetato de hecogenina na razão de aquecimento $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

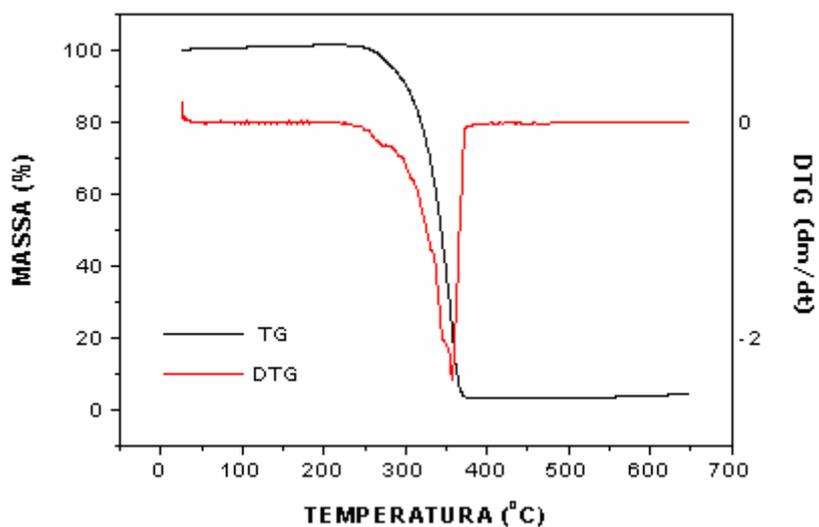


Figura 3.9. Sobreposição da curvas TG/DTG do acetato de hecogenina na razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

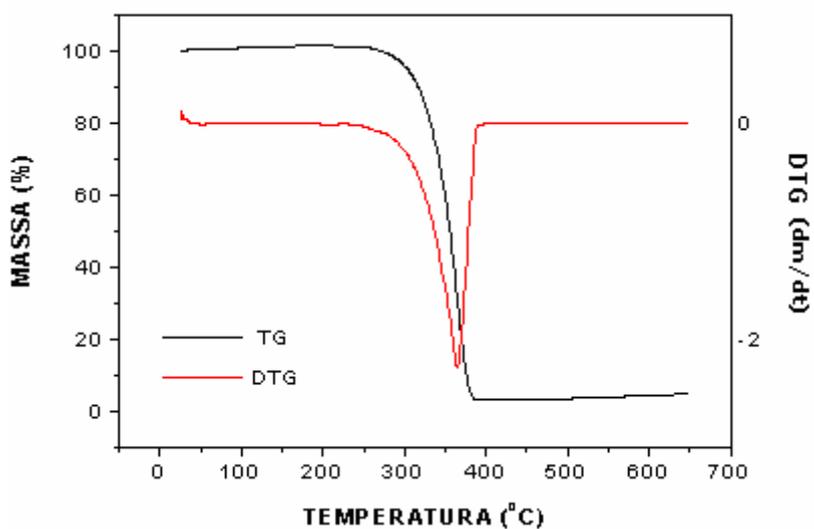


Figura 3.10. Sobreposição da curvas TG/DTG do acetato de hecogenina na razão de aquecimento $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

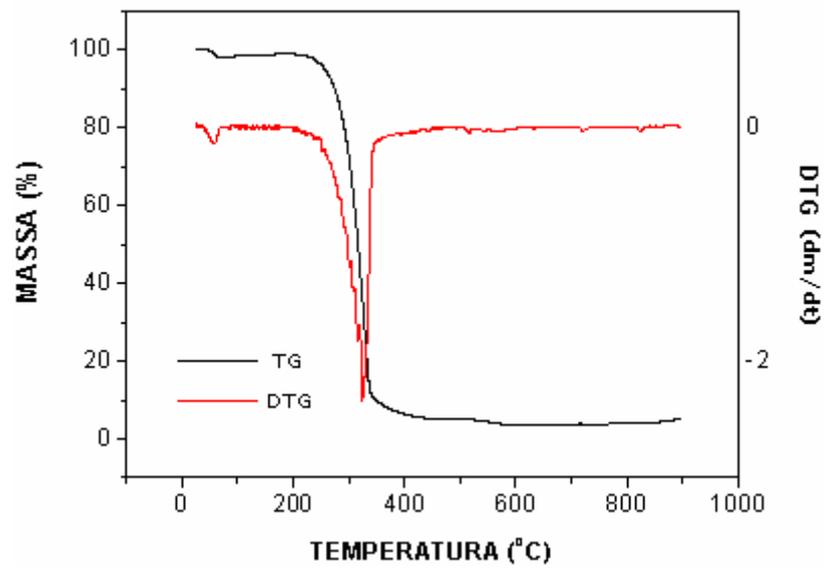


Figura 3.11. Sobreposição da curvas TG/DTG da solasodina na razão de aquecimento $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

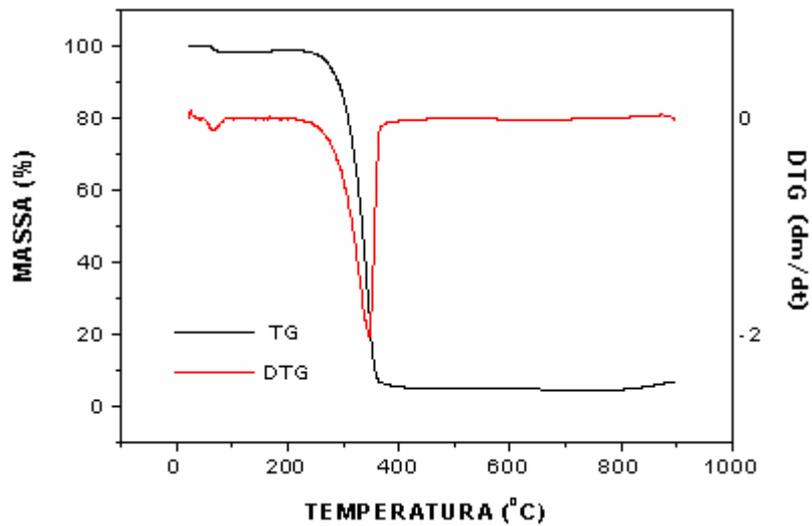


Figura 3.12. Sobreposição da curvas TG/DTG da solasodina na razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

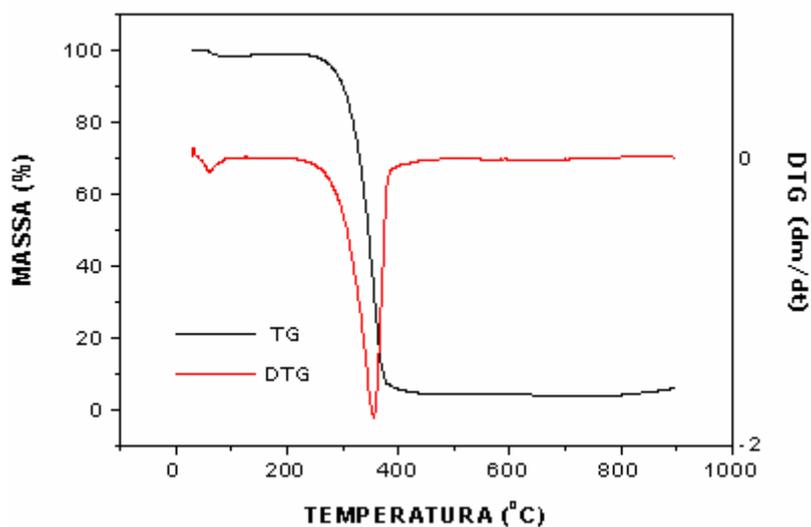


Figura 3.13. Sobreposição da curvas TG/DTG da solasodina na razão de aquecimento $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Nas Figuras de 3.14 a 3.16 estão as sobreposições das curvas TG nas três razões de aquecimento (5 , 10 e $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) para cada substância estudada.

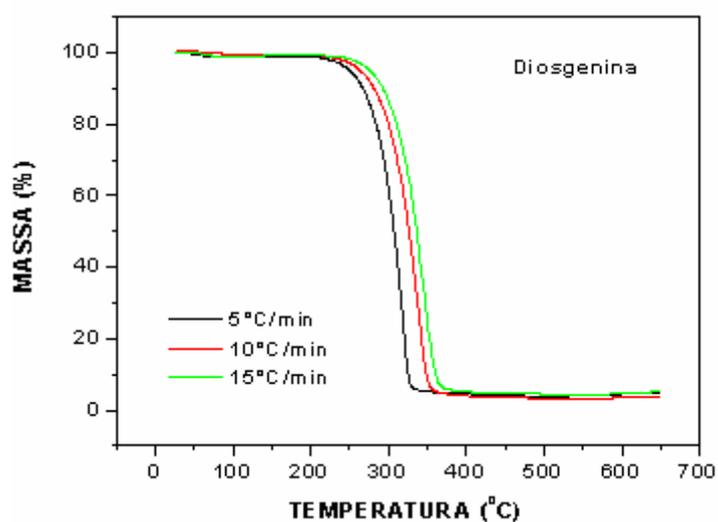


Figura 3.14. Sobreposição das curvas termogravimétricas não-isotérmicas obtidas em diferentes razões de aquecimento para a diosgenina.

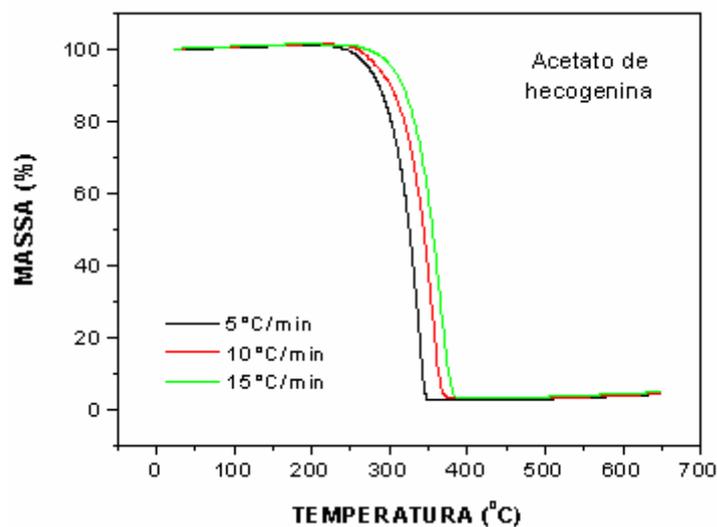


Figura 3.15. Sobreposição das curvas termogravimétricas não-isotérmicas obtidas em diferentes razões de aquecimento para o acetato de hecogenina.

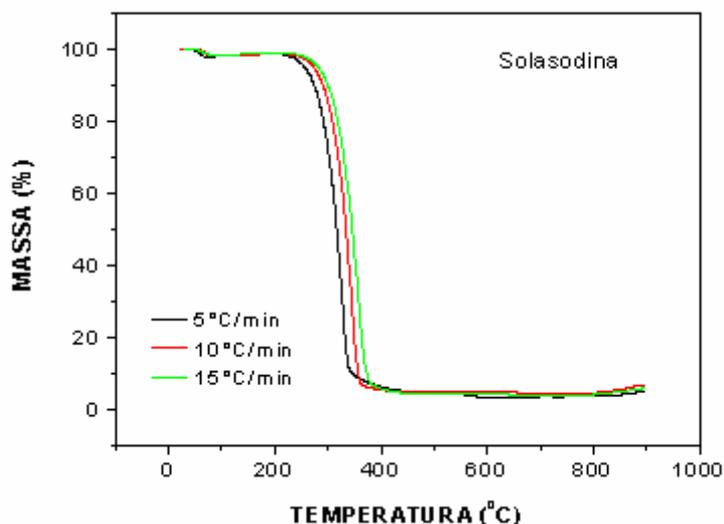


Figura 3.16. Sobreposição das curvas termogravimétricas não-isotérmicas obtidas em diferentes razões de aquecimento para a solasodina.

A Tabela 3.5 apresenta um resumo dos dados termogravimétricos para a diosgenina, o acetato de hecogenina e a solasodina nas três razões de aquecimento (5, 10 e 15 °C.min⁻¹) incluindo as temperaturas iniciais e finais de decomposição e a perda de massa ocorrida na etapa única do processo.

Tabela 3.5. Perfil termogravimétrico dos compostos estudados.

Substância	Razão de aquecimento	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Perda de massa (%)
Diosgenina	5°C.min ⁻¹	223	336	92,3
	10°C.min ⁻¹	231	362	93,5
	15°C.min ⁻¹	244	378	92,6
Acetato de Hecogenina	5°C.min ⁻¹	235	352	98,3
	10°C.min ⁻¹	254	376	97,2
	15°C.min ⁻¹	261	390	97,7
Solasodina	5°C.min ⁻¹	222	420	93,2
	10°C.min ⁻¹	245	384	92,3
	15°C.min ⁻¹	249	413	92,9

As três substâncias estudadas apresentaram perda de massa em um único evento, atribuídas unicamente ao processo de decomposição térmica das mesmas. A diosgenina e a solasodina mostraram, nas três razões de aquecimento (5, 10 e 15°C.min⁻¹), uma pequena perda de massa (1,14±0,01%) no início do termograma a qual foi atribuída a evaporação de solvente residual das amostras. As mudanças nas razões de aquecimento não alteraram significativamente as perdas de massa para nenhuma das três substâncias estudadas. Contudo, percebe-se que à medida que se aumenta a razão de aquecimento, há um aumento concomitante nas temperaturas verificadas. O acetato de hecogenina apresentou perda de massa maior que a diosgenina e solasodina que mostraram valores semelhantes por serem muito parecidos estruturalmente.

Considerando-se a temperatura inicial de decomposição, tem-se a seguinte ordem crescente de estabilidade:

Diosgenina ≈ Solasodina < Acetato de hecogenina

3.2.2 - Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As Figuras 3.17 a 3.19 apresentam a sobreposição das curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para a diosgenina, acetato de hecogenina e solasodina respectivamente.

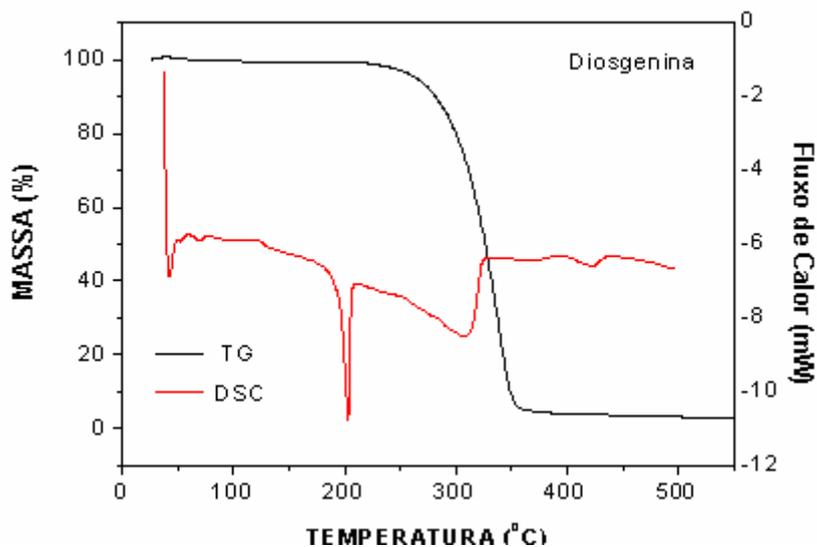


Figura 3.17. Sobreposição da curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para a diosgenina

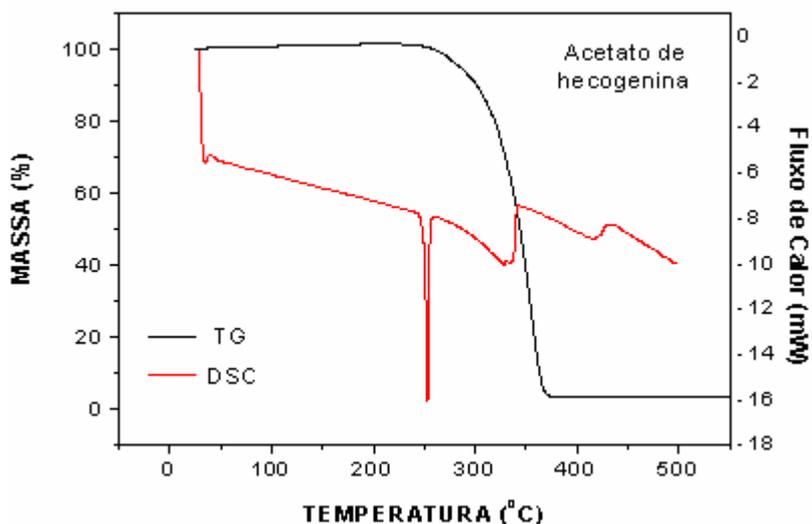


Figura 3.18. Sobreposição da curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para o acetato de hecogenina

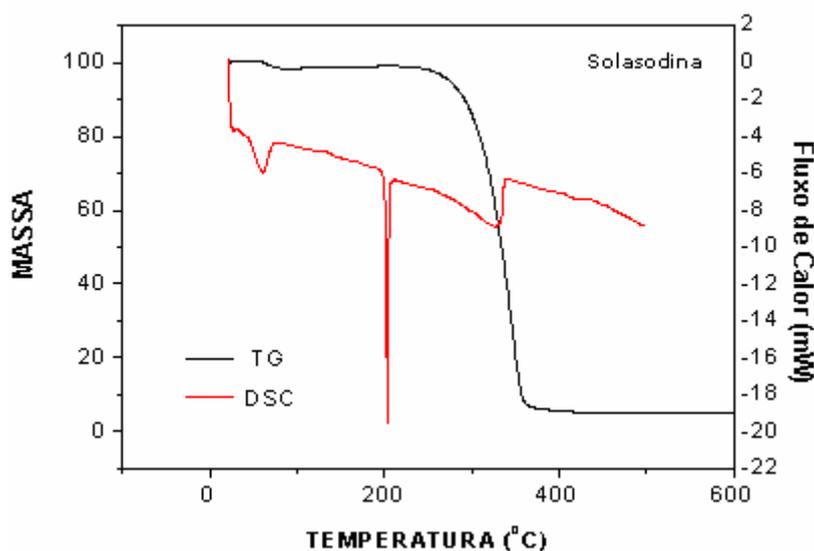


Figura 3.19. Sobreposição das curvas TG/DSC obtidas à razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ para a solasodina

A diosgenina apresentou quatro transições endotérmicas, sendo que a primeira, logo no início do experimento, foi atribuída a evaporação de solvente residual. A segunda transição é relativa à fusão da amostra a qual apresentou temperatura de $203,4^{\circ}\text{C}$. A terceira transição é relativa ao processo de decomposição térmica e a quarta transição (pequeno pico) foi atribuída à decomposição de eventuais impurezas da amostra.

O acetato de hecogenina apresentou três transições endotérmicas. A primeira transição endotérmica é relativa à fusão da amostra a qual apresentou temperatura de $252,7^{\circ}\text{C}$. A segunda transição endotérmica é relativa ao processo de decomposição térmica e a terceira foi atribuída a decomposição de eventuais impurezas.

A solasodina apresentou três transições endotérmicas, sendo que a primeira, logo no início do experimento, foi atribuída a evaporação de solvente residual. A segunda transição endotérmica é relativa à fusão da amostra a qual apresentou temperatura de $203,4^{\circ}\text{C}$. A terceira transição endotérmica é relativa ao processo de decomposição térmica.

Os três compostos apresentaram um grande desvio endotérmico na linha base no início do experimento. Este desvio é causado pela diferença de capacidade calorífica entre a amostra e a referência. Como a

capacidade calorífica está diretamente ligada à massa, um desvio endotérmico indica que o cadinho de referência utilizado, foi muito leve em relação à amostra.

A sobreposição das curvas TG/DSC mostra que a decomposição das três substâncias estudadas inicia-se após a fusão das mesmas, ou seja, elas iniciam sua reação de decomposição térmica no estado líquido. No acetato de hecogenina estes dois processos foram bem próximos.

3.3 - Cinética da decomposição térmica

3.3.1 - Determinação dos parâmetros cinéticos através do método dinâmico ou não-isotérmico

Os dados cinéticos obtidos através de diferentes métodos para as substâncias estudadas estão apresentados nas Tabelas 3.6 a 3.8.

Tabela 3.6 Parâmetros cinéticos não-isotérmicos obtidos para a diosgenina através das equações de COATS-REDFERN (CR), MADHUSUDANAN (MD), VAN KREVELEN (VK) e HOROWITZ-METZGER (HM).

\emptyset	Parâmetro Cinético	Método			
		CR	MD	VK	HM
5	n	0,16	0,28	0,35	0,28
	E	107,23	112,80	122,23	129,62
	A	$7,758 \times 10^6$	$2,935 \times 10^7$	$7,254 \times 10^{13}$	$1,003 \times 10^9$
	r	1,000	1,000	0,993	0,999
10	n	0,37	0,27	0,41	0,41
	E	103,81	99,08	116,10	122,45
	A	$3,712 \times 10^6$	$1,649 \times 10^6$	$1,805 \times 10^{13}$	$1,844 \times 10^8$
	r	1,000	1,000	1,000	0,999
15	n	0,44	0,40	0,51	0,56
	E	109,99	108,34	120,09	132,22
	A	$1,442 \times 10^7$	$1,091 \times 10^7$	$4,430 \times 10^{13}$	$1,482 \times 10^9$
	r	0,999	0,999	0,995	0,999

Onde: \emptyset = Razão de aquecimento ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$); n = ordem de reação; E = energia de ativação ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$); A = fator de frequência (s^{-1}); r = coeficiente de correlação.

Tabela 3.7 Parâmetros cinéticos não-isotérmicos obtidos para o acetato de hecogenina através das equações de COATS-REDFERN (CR), MADHUSUDANAN (MD), VAN KREVELEN (VK) e HOROWITZ-METZGER (HM).

\varnothing	Parâmetro Cinético	Método			
		CR	MD	VK	HM
5	n	0,00	0,10	0,11	0,19
	E	98,63	102,79	117,07	124,63
	A	$5,120 \times 10^5$	$1,550 \times 10^6$	$1,054 \times 10^{13}$	$1,366 \times 10^8$
	r	1,000	1,000	1,000	0,999
10	n	0,07	0,15	0,22	0,22
	E	98,04	101,57	112,01	121,98
	A	$5,467 \times 10^5$	$1,268 \times 10^6$	$3,881 \times 10^{12}$	$8,153 \times 10^7$
	r	0,999	0,999	0,996	0,999
15	n	0,30	0,38	0,46	0,47
	E	116,29	120,64	130,64	142,17
	A	$2,328 \times 10^7$	$6,207 \times 10^7$	$1,728 \times 10^{14}$	$4,515 \times 10^9$
	r	0,999	0,999	0,991	0,999

Onde: \varnothing = Razão de aquecimento ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$); n = ordem de reação; E = energia de ativação ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$); A = fator de frequência (s^{-1}); r = coeficiente de correlação.

Tabela 3.8 Parâmetros cinéticos não-isotérmicos obtidos para a solasodina através das equações de COATS-REDFERN (CR), MADHUSUDANAN (MD), VAN KREVELEN (VK) e HOROWITZ-METZGER (HM).

\emptyset	Parâmetro Cinético	Método			
		CR	MD	VK	HM
5	n	0,25	0,30	0,33	0,45
	E	102,21	104,62	110,14	128,07
	A	$1,944 \times 10^6$	$3,598 \times 10^6$	$3,795 \times 10^{12}$	$4,913 \times 10^8$
	r	1,000	1,000	0,985	0,999
10	n	0,33	0,32	0,43	0,46
	E	108,79	108,59	119,22	132,28
	A	$7,853 \times 10^6$	$8,129 \times 10^6$	$2,619 \times 10^{13}$	$1,000 \times 10^9$
	r	1,000	1,000	0,989	0,999
15	n	0,56	0,49	0,62	0,67
	E	113,03	109,76	124,08	135,25
	A	$1,932 \times 10^7$	$1,042 \times 10^7$	$7,162 \times 10^{13}$	$1,711 \times 10^9$
	r	0,999	0,999	0,999	0,999

Onde: \emptyset = Razão de aquecimento ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$); n = ordem de reação; E = energia de ativação ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$); A = fator de frequência (s^{-1}); r = coeficiente de correlação.

A análise das Tabelas 3.6 a 3.8 mostra que os parâmetros cinéticos obtidos pelos quatro métodos utilizados neste trabalho apresentaram sempre valores de coeficiente de correlação bastante próximos de 1,0. Observa-se também que, de uma forma geral, houve uma proximidade nos valores dos parâmetros cinéticos obtidos pelos métodos integrais (CR e MD). A mesma proximidade foi observada com os parâmetros obtidos pelos métodos de aproximação (HM e VR). Destaca-se também que os valores obtidos pelos métodos integrais foram, na maioria das vezes,

menores que aqueles obtidos por métodos aproximados. Estes fatos estão relacionados com os diferentes tipos de tratamento matemático pelos quais as equações de cada método são submetidas para serem resolvidas.

Considerando em média os valores obtidos para as energias de ativação através de todos os métodos e razões de aquecimento, pode-se sugerir a seguinte ordem crescente de estabilidade:

Acetato de hecogenina < Diosgenina < Solasodina

Vale salientar que é comum não se observar a mesma ordem de estabilidade térmica baseada na temperatura inicial de decomposição com a ordem de estabilidade baseada na energia de ativação obtida pelos diferentes métodos empregados visto que se tratam de dois parâmetros completamente distintos (LOPES, 2005).

3.3.2 - Determinação do mecanismo de reação pelo método de Coats-Redfern

A escolha do mecanismo para o evento de decomposição térmica dos compostos estudados foi feita testando-se as diferentes equações apresentadas na Tabela 1.1 (página 20) com o auxílio do Programa de Mecanismos de Termodecomposição de Sólidos pelo Método de Coats-Redfern (NUNES, 1995). Os valores dos coeficientes de correlação e dos desvios padrão para cada uma das equações testadas na determinação dos mecanismos de decomposição, encontram-se no Capítulo 6 (Anexos).

Para a diosgenina e a solasodina, o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais, apresentando coeficientes de correlação mais próximos de 1 e menores desvios padrão foi o R2, ou seja, $1-(1-\alpha)^{1/2}$, o qual é baseado no modelo geométrico com crescimento bidimensional com simetria cilíndrica. Para o acetato de hecogenina, o modelo que melhor se ajustou foi o R1, $1-(1-\alpha)$, o qual é baseado no modelo geométrico com crescimento nuclear unidimensional com simetria plana.

Os resultados dos parâmetros cinéticos obtidos pela aplicação de funções $g(\alpha)$ à equação de COATS e REDFERN (1964) para os compostos estudados neste trabalho estão apresentados na Tabela 3.9

Tabela 3.9 Parâmetros cinéticos obtidos pela aplicação de funções $g(\alpha)$ à equação de Coats-Redfern para os compostos estudados.

Composto (Modelo)	Parâmetros cinéticos	Razões de aquecimento		
		5°C/min	10°C/min	15°C/min
Diosgenina Modelo (R2)	E(kJ.mol ⁻¹)	122,85	109,67	112,92
	A(s ⁻¹)	1,32.10 ⁸	6,77.10 ⁶	1,36.10 ⁷
	r	0,9988	0,9995	0,9997
	s	0,030	0,019	0,015
Acetato de hecogenina Modelo (R1)	E(kJ.mol ⁻¹)	98,54	95,23	102,31
	A(s ⁻¹)	5,63.10 ⁵	3,00.10 ⁵	1,25.10 ⁶
	r	0,9999	0,9995	0,9979
	s	0,008	0,015	0,034
Solasodina Modelo (R2)	E(kJ.mol ⁻¹)	113,39	116,81	109,93
	A(s ⁻¹)	1,19.10 ⁷	2,24.10 ⁷	5,02.10 ⁶
	r	0,9996	0,9997	0,9997
	s	0,018	0,015	0,016

Onde: E = Energia de ativação; A = Fator pré-exponencial; r = Coeficiente de correlação; s = desvio padrão.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES

4 - CONCLUSÕES

- ✓ Em relação à caracterização dos compostos, os pontos de fusão medidos através do método convencional e por DSC apresentaram uma boa concordância com os valores da literatura. No espectro infravermelho, foram observadas as principais bandas de absorção características das funções orgânicas presentes nos compostos tais como as carbonilas do acetato de hecogenina e as hidroxilas da diosgenina e da solasodina. Os picos relativos aos hidrogênios das metilas dos compostos estudados e dos hidrogênios mais deslocados, como aqueles ligados a carbonos com heteroátomos e ligações duplas, foram identificados pelo RMN - ^1H . Todos os sinais obtidos no espectro de RMN - ^{13}C foram identificados e atribuídos aos seus respectivos carbonos nos três compostos estudados sendo que a comparação entre os valores de deslocamento químico obtidos no trabalho e os da literatura apresentaram uma boa concordância.
- ✓ Os três compostos estudados apresentaram um perfil termogravimétrico semelhante, com a presença de apenas um único evento, sendo este atribuído à decomposição térmica. Levando-se em consideração a temperatura inicial de decomposição, o composto de maior estabilidade térmica foi o acetato de hecogenina seguido da solasodina e da diosgenina que apresentaram estabilidades semelhantes.
- ✓ As curvas DSC dos três compostos apresentaram transições endotérmicas referentes aos processos de fusão e decomposição. A sobreposição das curvas TG/DSC mostrou que a decomposição térmica dos três compostos inicia-se no estado líquido.

- ✓ Os modelos cinéticos que melhor se ajustaram aos dados termogravimétricos não-isotérmicos foram o R1 para o acetato de hecogenina e o R2 para a diosgenina e solasodina. Estes mecanismos são baseados em modelos geométricos de processos controlados pelas reações na fase limítrofe com crescimento nuclear unidimensional para R1 e bidimensional para R2.

4.1 - Perspectivas

- ✓ Estudar o perfil termogravimétrico da diosgenina, do acetato de hecogenina e da solasodina em atmosfera de oxigênio visando a observação de seus comportamentos térmicos no ambiente em que são utilizados.
- ✓ Realizar o estudo cinético da decomposição dos três compostos estudados através do método isotérmico com a finalidade de se realizar uma comparação com o método não-isotérmico.
- ✓ Caracterizar os compostos estudados neste trabalho utilizando a espectrometria de massa.

CAPÍTULO 5

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AU, A. L. S. et al, Activation of iberiotoxin-sensitive, Ca^{2+} -activated K^+ channels of porcine isolated left anterior descending coronary artery by diosgenin, *European Journal of Pharmacology*, 502: 123, 2004.
2. ÁLVARES, A. A. A. *Influência da adição de extrato de yucca schidigera nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de cães adultos consumindo duas rações comerciais*. Curitiba, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, UFPR, 2006. Dissertação de mestrado, 47p.
3. BÉGAUD-GRIMAUD, G. et al, Pre-apoptotic sub-population cell sorting from diosgenin apoptosis induced 1547 cells by Sedimentation Field-Flow Fractionation. The effect of channel thickness on sorting performance, *Journal of Chromatography A*, 1128: 194, 2006.
4. CHAM B. E., Solasodine rhamnosyl glycosides specifically bind cancer cell receptors and induce apoptosis and necrosis. Treatment for skin cancer and hope for internal cancers, *Journal of Biological Sciences*, 4: 503, 2007.
5. CHERKAOUI, S. et al, Non-aqueous capillary electrophoresis with diode array and electrospray mass spectrometric detection for the analysis of selected steroidal alkaloids in plant extracts, *Journal of Chromatography A*, 922: 321, 2001.
6. CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. *Análise instrumental*. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

7. COATS, A. W.; REDFERN, J. P., Kinetic parameters from thermogravimetric data, *Nature*, 201: 68, 1964.
8. CORBIÈRE, C. et al, Different contribution of apoptosis to the antiproliferative effects of diosgenin and other plant steroids, hecogenin and tigogenin, on human 1547 osteosarcoma cells, *International Journal of Oncology*, 22: 899, 2003.
9. CORBIÈRE, C. et al, SdFFF monitoring of cellular apoptosis induction by diosgenin and different inducers in the human 1547 osteosarcoma cell line, *Journal of Chromatography B*, 808: 255, 2004.
10. DOLLIMORE, D.; TONG, P.; ALEXANDER, K.S., The kinetic interpretation of the decomposition of calcium carbonate by use of relationships other than the Arrhenius equation, *Thermochimica Acta*, 282/283: 13, 1996.
11. EMMANUEL, S. et al, Antiinflammatory activity of *Solanum trilobatum*, *Fitoterapia*, 77: 611, 2006.
12. GHOGHARI, A. M. ; RAJANI, M. Densitometric determination of hecogenin from *Agave americana* leaf using HPTLC, *Chromatographia*, 64: 113, 2006.
13. HOROWITZ, H. H.; METZGER, G., A new analysis of thermogravimetric traces, *Analytic Chemistry*, 35: 1464, 1963.
14. IOSHIDA, M. I. *Cinética e mecanismo de reação de decomposição térmica no estado sólido: influência de variações estruturais no ligante sobre os parâmetros cinéticos*. Belo Horizonte, Programa de Pós-Graduação em Química, UFMG, 1993. Tese de doutorado, 173p.

15. KOHARA, A. et al, A novel glucosyltransferase involved in steroid saponin biosynthesis in *Solanum aculeatissimum*, *Plant Molecular Biology*, 57: 225, 2005.
16. KURUP, M. R. P.; LUKOSE, E.; MURALEEDHARAN, K., Synthesis, characterization and thermal studies of some iron(III) complexes of vannilin oxime, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 59: 815, 2000.
17. LÉGER, D. Y. et al, Diosgenin induces cell cycle arrest and apoptosis in HEL cells with increase in intracellular calcium level, activation of cPLA₂ and COX-2 overexpression, *International Journal of Oncology*, 25: 555, 2004a.
18. LÉGER, D. Y. et al, Diosgenin dose-dependent apoptosis and differentiation induction in human erythroleukemia cell line and sedimentation field-flow fractionation monitoring, *Analytical Biochemistry*, 335: 267, 2004b.
19. LÉGER, D. Y. et al, Megakaryocyte cell sorting from diosgenin-differentiated human erythroleukemia cells by sedimentation field-flow fractionation, *Analytical Biochemistry*, 355: 19, 2006.
20. LEHMANN, P. A.; BOLIVAR, A., Russel E. Marker, pioneer of the mexican steroid industry, *Journal Chemical Education*, 50: 195, 1973.
21. LI, J. et al, Electrochemical study of breast cancer cells MCF-7 and its application in evaluating the effect of diosgenina, *Analytical Sciences*, 21: 561, 2005.

22. LOPES, W. S. *Síntese, caracterização e cinética da decomposição térmica de complexos de lantanídeos*. João Pessoa, Programa de Pós Graduação em Química, UFPB, 2005. Tese de doutorado, 160p.
23. MADHUSUDANAN, P. M.; KRISHNAN, K.; NINAN, K. N., New equations for kinetics analysis of non-isothermal reactions, *Thermochimica Acta*, 221: 13, 1993.
24. MCANUFF, A. M. et al, Plasma and liver lipid distributions in streptozotocin-induced diabetic rats fed sapogenin extract of the Jamaican bitter yam (*Dioscorea polygonoides*), *Nutrition Research*, 22: 1427, 2002.
25. MCANUFF-HARDING, M. A. et al, Alterations in intestinal morphology of streptozotocin-induced diabetic rats fed Jamaican bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) steroidal sapogenin extract, *Nutrition Research*, 23: 1569, 2003.
26. MCANUFF, M. A. et al, Hypoglycemic effects of steroidal sapogenins isolated from Jamaican bitter yam, *Dioscorea polygonoides* *Food and Chemical Toxicology*, 43: 1667, 2005.
27. MCANUFF-HARDING, M. A.; OMORUYI, F. O.; ASEMOTA, H. N. Intestinal disaccharidases and some renal enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats fed sapogenin extract from bitter yam (*Dioscorea polygonoides*), *Life Sciences*, 78: 2595, 2006.
28. MOALIC, S. et al, A plant steroid, diosgenin, induces apoptosis, cell cycle arrest and COX activity in osteosarcoma cells, *FEBS Letters*, 506: 225, 2001.

29. MOLA, J. L.; ARAÚJO, E. R.; MAGALHÃES G. C., Solasodina em espécies de *Solanum* do cerrado do Distrito Federal, *Química Nova*, 20: 460, 1997.
30. MOTHE, C. G.; AZEVEDO, A. D. *Análise térmica de materiais*. São Paulo: iEditora, 2002.
31. NARULA, A.; KUMAR, S.; SRIVASTAVA, P. S. Genetic fidelity of in vitro regenerants, encapsulation of shoot tips and high diosgenin content in *Dioscorea bulbifera* L., a potential alternative source of diosgenin, *Biotechnology Letters*, 29: 623, 2007.
32. NOGUCHI, E. et al, Metabolism of tomato steroidal glycosides in humans, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 54: 1312, 2006.
33. NUNES, L. M. *Cinética da decomposição térmica de complexos dialquilditiocarbomatos de cádmio (II) no estado sólido*, João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 1995. Dissertação de mestrado, 120p.
34. OASHI, M. C. G. *Estudo da cadeia produtiva como subsídio para pesquisa e desenvolvimento do agro negócio do sisal na Paraíba*. Florianópolis, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, UFSC, 1999. Tese de doutorado, 178p.
35. PURI, R.; WONG, T. C.; PURI, R. K., ^1H - and ^{13}C -NMR assignments and structural determination of a novel glycoalkaloid from *Solanum platanifolium*, *Journal of Natural Products*, 57: 587, 1994.

36. RAJU, J. et al, Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek), Inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13: 1392, 2004.
37. SESTÁK, J., Errors of kinetic data obtained from thermogravimetric curves at increasing temperature, *Talanta*, 13: 567, 1966.
38. SHAHJAHAN, M.; VANI G.; SHYAMALADEVI C.S., Effect of *Solanum trilobatum* on the antioxidant status during diethyl nitrosamine induced and phenobarbital promoted hepatocarcinogenesis in rat, *Chemico-Biological Interactions*, 156: 113, 2005.
39. SILVA, M. C. D. *Obtenção e avaliação térmica do corante natural bixina a partir das sementes de urucum (Bixa orellana, L.)*. João Pessoa, Programa de Pós Graduação em Química, UFPB, 2005. Tese de doutorado, 122p.
40. SILVA, M. S. S. et al, Molluscicidal activity of *Solanum* species of the Northeast of Brazil on *Biomphalaria glabrata*, *Fitoterapia*, 77: 449, 2006.
41. SILVA, S. A. et al, Thermal analysis of the powder and the bran of algaroba, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 75: 411, 2004.
42. SOUZA, A. E. et al, Cytotoxic Activities Against Ehrlich Carcinoma and Human K562 Leukaemia of Alkaloids and Flavonoid from Two *Solanum* Species, *Journal Brazilian Chemical Society*, 13: 838, 2002.

43. STRASZKO, J.; OLSZAK-HUMIENIK, M.; MOZEJKO, J., Study of the mechanism and kinetic parameter of the thermal decomposition of cobalt sulphate hexahydrate, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 59: 935, 2000.
44. TANAKA, H.; OHSHIMA, S. C.; NEGITA, H., The problem of discerning kinetic models for solid decompositions from isothermal analysis, *Thermochimica Acta*, 53: 387, 1982.
45. TRIVEDI, P.; PUNDARIKAKSHUDU, K., Novel TLC densitometric method for quantification of solasodine in various solanum species, market samples and formulations, *Chromatographia*, 65: 239, 2007.
46. TROUILLAS, P. et al, Structure–function relationship for saponin effects on cell cycle arrest and apoptosis in the human 1547 osteosarcoma cells: a molecular modelling approach of natural molecules structurally close to diosgenin, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13: 1141, 2005.
47. TURCHAN-CHOLEWO, J. et al, Increased vulnerability of ApoE4 neurons to HIV proteins and opiates: Protection by diosgenin and l-deprenyl, *Neurobiology of Disease*, 23: 109, 2006.
48. VAN KREVELEN, D. W.; VAN HEERDEN, C.; HUTJENS, F. J., Kinetics study by thermogravimetry, *Fuel*, 30: 253, 1951.
49. WAWER, I.; NARTOWSKA, J.; CICHOWLAS, A. A., ¹³C cross-polarization MAS NMR study of some steroidal saponins, *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 20: 35, 2001.

50. WEISSENBERG, M., Isolation of solasodine and other steroidal alkaloids and saponinins by direct hydrolysis-extraction of Solanum plants or glycosides therefrom, *Phytochemistry*, 58: 501, 2001.
51. WILLIAMS, J. R.; GONG, H., Biological activities and syntheses of steroidal saponins: the shark-repelling pavoninins, *Lipids*, 42: 77, 2007.
52. YANG, D.; LU, T.; HWANG, L. S., Isolation and identification of steroidal saponins in Taiwanese yam cultivar (*Dioscorea pseudojaponica* Yamamoto), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6438, 2003.
53. YEN, M. L. et al, Diosgenin induces hypoxia-inducible factor-1 activation and angiogenesis through estrogen receptor-related phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in osteoblasts, *Molecular Pharmacology*, 68: 1061, 2005.
54. ZSAKÓ, J., Kinetic analysis of thermogravimetric data, *Journal of Physical Chemistry*, 72: 2406, 1968.