

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO DO  
GÊNERO STRYCHNOS DA FLORA AMAZÔNICA**

**Maria Lúcia Belém Pinheiro**

Tese apresentada à Coordenação de  
Pós-Graduação em Química Orgânica  
como requisito parcial para a obtenção  
do Título de Doutor .

**Fortaleza - Ceará**

**Dezembro - 2000**

650

Botânica - Amazonas  
Plantas florestais  
Química vegetal

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**

Tese orientada pelo Prof. Dr. Francisco José Queiroz Monte, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará e co-orientada pelo Prof. Dr. Arnaldo Felisberto Imbiriba da Rocha, da Universidade do Amazonas.

Fortaleza – Ceará

Dezembro- 2000

Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários a obtenção do Título de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

---

Maria Lúcia Belém Pinheiro

TESE APROVADA EM: 04/12/00

EXAMINADORES:

---

Prof. Dr. Arnaldo Felisberto Imbiriba da Rocha  
Universidade do Amazonas-UA

---

Profª. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Profª. Dra. Ângela Martha Campos Arriaga  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Profª. Dra. Maria Iracema Lacerda Machado  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Adolfo Henrique Müller  
Universidade Federal do Pará - UFPa

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francisco José Queiroz Monte, pela amizade e confiança em aceitar-me como orientada, por todos os ensinamentos e incondicional apoio que asseguraram a realização desta tese.

Ao Prof. Dr. Arnaldo F. I. da Rocha, meu co-orientador, pelos ensinamentos e amizade ao longo de quase duas décadas de pesquisa conjunta em fitoquímica da Amazônia. As proveitosas discussões, valiosas sugestões e constante incentivo impulsionaram a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Humberto Souza Andrade, pela amizade e grande incentivo para meu ingresso na UFC.

Ao amigo Ayrton Urizzi Martins, pelas importantes sugestões, estímulo e incansável envolvimento na formatação deste trabalho.

Aos amigos prof. Paulo Rogério Couceiro e estudante Marco Aurélio do Nascimento Fernandes, ex -bolsistas de iniciação científica do curso de Química da UA, pela grande contribuição na parte experimental desta tese.

À Universidade do Amazonas, pela liberação das minhas tarefas acadêmicas no período de cursos e trabalho experimental.

Ao Departamento de Química da Universidade do Amazonas, especialmente, os professores Túlio de Orleans Gadelha Costa, Jefferson Rocha de A. Silva, Afonso D. Leão de Souza, Ayssor Paulo Mourão e ao ex-técnico da Central Analítica, bioquímico Anderson Guimarães, pelo integral apoio e incentivo, imprescindíveis para concretizar esta tarefa.

Às professoras Dras. Yvone B. Memória Poliquen, Telma Leda Gomes de Lemos e Maria Iracema L. Machado, pela acolhida, ensinamentos e amizade demonstrada durante a minha permanência na UFC.

Aos professores do curso de Doutorado da UFC, especialmente, Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva e Dr. Edilberto Silveira, pelos conhecimentos transmitidos, de grande importância para a minha formação acadêmica.

À bióloga Joneide M. de Brito, do Projeto Flora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, que gentilmente realizou a identificação botânica de *S.cogens*.

Aos colegas da pós-graduação da UFC, pela agradável convivência, companheirismo e enriquecedoras trocas nas longas jornadas de estudos, valiosas para nossa formação acadêmica, fortificando nossa amizade e ideais de pesquisa.

À amiga Sônia Maria Oliveira Costa, por incontáveis colaborações, estímulo e amizade no decorrer deste trabalho.

À amiga prof. Marluce Alves Portugaels, pela correção do *Abstract*, grande contribuição para finalização desta tese.

Ao amigo acadêmico Ronaldo Parente, estagiário do CPD da U.A., pela elaboração do programa para o banco de dados.

Ao CENAUREMN, através do prof. Dr. Edilberto Silveira e colega Daniel Esdras de Andrade Uchôa, pela realização dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear.

À colega Waleska pelas medidas de rotação óptica.

Às estudantes Waldireny e Lilian, ex-estagiárias da Central Analítica da Universidade do Amazonas e à amiga Izandina, da Coordenação de Produtos Naturais do Inpa, pelos espectros no IV e UV.

Ao amigo prof. Dr. Massuo Jorge Kato do IQ-USP, pela atenção e estímulo sempre dispensados e à Dra. Adelaide Faljoni Alário do Departamento de Bioquímica da USP pela gentileza em obter a curva de Dicroísmo Circular.

Ao Dr. Antonio Jorge Ribeiro da Silva, do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela obtenção de cromatogramas e espectros de massa.

Ao amigo pesquisador Iran Reis Luz do Instituto de Pesquisas da Amazônia, pela obtenção de cromatogramas (CG).

Ao Prof. Dr. Edson Rodrigues do Laboratório de Espectrometria da Universidade Federal de S. Carlos pela pronta colaboração realizando os espectros de massa ESI.

Aos botânicos de campo do INPA, Dionísio Coelho e José Ramos, pela ajuda nas coletas.

À Célia Regina, da Secretaria Geral de pós-graduação em Química, à Lana, da Secretaria do Curso de pós-graduação em Q. Orgânica, à Mundinha, do Laboratório de pós-graduação em Q. Orgânica, e às bibliotecárias da UFC, pelo prestimoso atendimento às minhas inúmeras solicitações.

Ao CNPq pela concessão de 2 anos de bolsa de estudos.

# SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	xi
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xiii
<b>LISTA E FIGURAS</b>	xiv
<b>LISTA DE QUADROS</b>	xx
<b>RESUMO</b>	xxi
<b>ABSTRACT</b>	xxiii
<b>INTRODUÇÃO</b>	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
1. Aspectos botânicos, fitogeográficos, fitoquímicos, etnofarmacológicos e farmacológicos do gênero <i>Strychnos</i>	5
1.1. Aspectos botânicos e fitogeográficos	5
1.2. Aspectos etnobotânicos/etnofarmacológicos	11
1.2.1. O gênero <i>Strychnos</i> e o curare	11
1.2.1.1. Os antigos venenos de guerra	11
1.2.1.2. Os verdadeiros curares	12
1.2.2. O gênero <i>Strychnos</i> na medicina folclórica	16
1.3. Aspectos fitoquímicos do gênero <i>Strychnos</i>	18
1.4. Aspectos farmacológicos dos alcalóides de <i>Strychnos</i>	38

1.4.1. Efeitos convulsivantes de alcalóides tipo estricnina	38
1.4.2. Ação curarizante	39
<i>1.4.3. Ação Antitumor/Anticâncer</i>	40
1.4.4. Pesquisas de antimaláricos	41
1.5. Atividade biológica de outras classes de substâncias isoladas de espécies de <i>Strychnos</i> americanas	41
1.6. Pesquisas anteriores sobre as espécies <i>S.mattogrossensis</i> , <i>S.guianensis</i> e <i>S.cogens</i>	42
 <b>CAPÍTULO II</b>	
2. Aspectos quimiosistemáticos do gênero <i>Strychnos</i>	44
2.1. Alcalóides indólicos como marcadores quimiosistemáticos	46
2.2. Caracterização da tendência de produção de alcalóides indoloterpênicos, pertencentes a grupos específicos de esqueletos, pelas espécies das seções botânicas.	50
2.3. Verificação da similaridade das espécies que compõem as três seções botânicas em função de seus alcalóides.	53
2.4. Considerações importantes	56
 <b>CAPÍTULO III</b>	
3. Descrição botânica, ecologia e distribuição geográfica das espécies <i>Strychnos cogens</i> Bentham, <i>S. guianensis</i> (Aubl.) Mart. <i>S. mattogrossensis</i> S.Moore	58
3.1. <i>Strychnos cogens</i> Bentham	58
3.1.1. Descrição botânica	58
3.1.2. Ecologia e distribuição geográfica	58
3.2. <i>Strychnos guianensis</i> (Aublet) Martius	59
3.2.1. Descrição botânica	59
3.2.2. Ecologia e distribuição geográfica	59
3.3. <i>Strychnos mattogrossensis</i> S. Moore	60
3.3.1. Descrição botânica	60
3.3.2. Ecologia e distribuição geográfica	60
 <b>CAPÍTULO IV</b>	
4. Identificação dos constituintes isolados de <i>S.cogens</i>	65
4.1. Identificação de SCA1 (lupeol)	65
4.2. Identificação de SCA2 (longicaudatina)	72

## CAPÍTULO V

5. Identificação e determinação estrutural dos constituintes isolados da raiz de <i>Strychnos guianensis</i> (Aublet) Martius	93
5.1. Identificação de SG1 (harmano)-	93
5.2. Identificação de SGA1 (olivil)-	93
5.3. Identificação de SGA2. (cicloolivil)-	107
5.4. Determinação estrutural SGA3 ( carbonato de cicloolivil)-	120
5.5. Identificação da mistura de ácidos graxos SGHA (ácidos palmítico, oleico,esteárico e nonadecanóico)	132

## CAPÍTULO VI

6. Identificação e determinação estrutural dos constituintes do caule e casca do caule de <i>S.mattogrossensis</i> S.Moore.	137
6.1. Identificação de SM1 (Estricnobrasilina)	137
6.2. Identificação de SM3 (12-Hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina)	155
6.3. Determinação estrutural de SMR1 (12-Hidroxi- 10,11-dimetoxiestricnobrasilina-	164
6.4. Identificação dos constituintes de SMC1 (mistura de esteróides campesterol,estigmasterol e sitosterol))	181
6.5. Identificação dos constituintes da mistura de ácidos graxos provenientes de SM (Acidos palmítico, linoleico, oleico, esteárico e behênico.	190

## CAPÍTULO VII

7. Banco de dados sobre espécies americanas do gênero <i>Strychnos</i>	193
7.1. Descrição do programa STRYC	193

## CAPÍTULO VIII

8. Considerações biogenéticas sobre as substâncias obtidas	204
--	-----

## CAPÍTULO IX

9. Parte experimental	212
9.1. Material e métodos	212
9.1.1. Métodos cromatográficos	212
9.1.2. Métodos espectrométricos	213

9.2. Reagentes e testes de identificação	214
9.3. Coleta e identificação botânica	215
9.4. Secagem e moagem	216
9.5. Ensaio preliminares	216
9.6. Isolamento dos constituintes da casca da raiz de <i>S.cogens</i>	217
9.6.1. Cromatografia em coluna de RC1 em Sephadex LH-20	220
9.6.2. Cromatografia em coluna de RC em Sephadex LH-20	220
9.6.3. Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) de SC1	221
9.6.4. Cromatografia Gasosa/ Espectrometria de Massa (CG/E.M) de SC	221
9.7. Isolamento dos constituintes da raiz sem casca de <i>S.guianensis</i>	221
9.7.1. Cromatografia em coluna de RG1+RG2	222
9.7.2. Cromatografia em coluna de RG3	223
9.8. Processo de saponificação de SGH	226
9.9. Metilação de SGHA	227
9.10. Cromatografia gasosa dos ésteres metílicos de SGHA	229
9.11. Isolamento dos constituintes da casca do caule de <i>S.mattogrossensis</i>	229
9.11.1. Cromatografia de RM1	230
9.11.2. Cromatografia Gasosa/ Espectrometria de Massa (CG/E.M) de SMC1	231
9.11.3. Cromatografia de RM2	231
9.12. Isolamento dos constituintes do caule de <i>S.mattogrossensis</i>	235
9.13. Saponificação de SMH e metilação dos ácidos graxos provenientes do processo	236

## CAPÍTULO X

10. Constantes físicas e dados espectrométricos das substâncias obtidas	238
10.1. SCA1-Lupeol	238
10.2. SCA2-Longicaudatina	239
10.3. SGA1- (-) Olivil	240
10.4. SGA2- (+) Cicloolivil	241
10.5. SGA3-Carbonato de cicloolivil	242
10.6. SM1-Estricnobrasilina	243
10.7. SM3-12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina	244
10.8. SMR1-12-hidroxi- 10,11- dimetoxiestricnobrasilina	245

10.9. SMC1- (Campesterol, estigmasterol, sitosterol)	246
10.9.1-SMC1.1-Campesterol	246
10.9.2 -SMC1.2 Estigmasterol	246
10.9.2- SMC1.3- Sitosterol	246
<b>CONCLUSÕES</b>	247
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	249

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\delta$  - deslocamento químico

Ac OEt - Acetato de Etila

AcOH- Ácido acético

BB - Broad Band

CCD- Cromatografia de Camada Delgada

CCDP- Cromatografia de Camada Delgada Preparativa

CGAR- Cromatografia Gasosa de Alta Resolução

COLOC - Correlation Spectroscopy for Long-range Couplings

J- Constante de acoplamento

COSY - Correlation Spectroscopy

COSY - LR- Correlation Spectroscopy- Long Range

CQ- Cloroquina

d- duplete

DEPT- Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer

E.M. - Espectro de Massa

EMAR- Espectro de Massa de Alta Resolução

m/ z- Relação massa/carga

ESI - Electrospray Ionization

EtOH - Etanol

FT - Fourier Transform

Gs- Gradient selected

HETCOR - Heteronuclear Correlation Spectroscopy

HMBC - Heteronuclear Multiple Bond Coherence

HMQC Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

I.V. - Infravermelho

IsopropOH- Isopropanol

l- largo

m- multiplete

MeOH - Metanol

NÔE - Nuclear Overhauser Effect

NOESY- Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

pr- com supressão

q- quarteto

RMN<sup>1</sup> H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN<sup>13</sup> C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13.

t - tripleto

U.V.-Ultravioleta

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1.</b>	Ocorrência de alcalóides dos Grupos nas seções de <i>Strychnos americanas</i> .....	52
<b>Tabela 4.1.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> ) de SCA1 e lupeol.....	72
<b>Tabela 4.2.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SCA2 em DMSO <i>d</i> <sub>6</sub> .....	89
<b>Tabela 4.3.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SCA2 em DMSO <i>d</i> <sub>6</sub> e da longicaudatina.....	90
<b>Tabela 5.1</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H de SGA1 e olivil.....	104
<b>Tabela 5.2.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>13</sup> C de SGA1 e olivil.....	105
<b>Tabela 5.3</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SGA2 em CD <sub>3</sub> OD e de cicloolivil a 80 MHz p/ <sup>1</sup> H e 20 MHz p/ <sup>13</sup> C.....	118
<b>Tabela 5.4</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125MHz) de SGA2 ( cicloolivil) em CD <sub>3</sub> OD .....	119
<b>Tabela 5.5.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C 75 MHz de SGA3 (carbonato de cicloolivil) em CD <sub>3</sub> CN.....	128
<b>Tabela 5.6</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e <sup>13</sup> C (75 MHz) de SGA3 em CD <sub>3</sub> CN e de SGA2 em MeOD a 500 MHz p/ <sup>1</sup> H e 125 MHz p/ <sup>13</sup> C .....	129
<b>Tabela 6.1.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SM1 em CDCl <sub>3</sub> , a 298 <sup>0</sup> K. ....	142
<b>Tabela 6.2.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SM1 e Estrictobrasilina [S] em CDCl <sub>3</sub> .....	143
<b>Tabela 6.3.</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SM1 em CDCl <sub>3</sub> a 288 <sup>0</sup> K.e 308 <sup>0</sup> K.....	144
<b>Tabela 6.4</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) de SM3 em CDCl <sub>3</sub> .....	163
<b>Tabela 6.5</b>	Dados de espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e RMN <sup>13</sup> C( 125 MHz) de SMR1 em CDCl <sub>3</sub> . ....	177

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b>	Zonas de Curare .....	14
<b>Figura 1.2.</b>	<i>d</i> -tubocurarina .....	18
<b>Figura 1.3.</b>	Exemplos de alcalóides das séries Normal, Pseudo e N-Metil-secpseudo.....	20
<b>Figura 1.4.</b>	Cromóforos característicos de alcalóides de <i>Strychnos</i> .....	21
<b>Figura 2.1.</b>	Classes de alcalóides indolo-terpênicos: C-Corinanteano, D-Vincosano, V- Valesiachotamano, S- Estrictano. Aspidospermatano, E- Eburnano, P- Plumerano, I- Ibogano e T-Tacamano (107) . .....	49
<b>Figura 2.2.</b>	Classificação dos alcalóides indoloterpênicos segundo evolução biogenética.....	51
<b>Figura 2.3.</b>	Distribuição dos grupos de alcalóides nas seções Rouhamon, Breviflorae e <i>Strychnos</i> .....	52
<b>Figura 2.4.</b>	Dendograma representando os agrupamentos das espécies de <i>Strychnos</i> em função dos alcalóides presentes.....	54
<b>Figura 2.5.</b>	Representação dos agrupamentos A1, A2, A3 e A4.....	55
<b>Figura 3.1.</b>	Amostra herborizada de <i>Strychnos cogens</i> do herbário da Universidade do Amazonas.....	61
<b>Figura 3.2.</b>	Distribuição geográfica de <i>Strychnos cogens</i> , <i>Strychnos guianensis</i> e <i>Strychnos mattogrossensis</i> segundo Krukoff (19) , na Amazônia brasileira.....	62
<b>Figura 3.3.</b>	Amostra herborizada de <i>Strychnos guianensis</i> do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.....	63
<b>Figura 3.4.</b>	Amostra herborizada de <i>Strychnos mattogrossensis</i> do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.....	64
<b>Figura 4.1.</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SCA1.....	66
<b>Figura 4.2.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz) de SCA1.....	67
<b>Figura 4.3.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de SCA1.....	68
<b>Figura 4.4.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135 (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de SCA1...	69
<b>Figura 4.5.</b>	SCA1 (lupeol).....	70
<b>Figura 4.6.</b>	Cromatograma de íons totais (CIT) de SCA1.....	71

<b>Figura 4.7</b>	Espectro de massa de SCA1.....	71
<b>Figura 4.8.</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SCA2.....	73
<b>Figura 4.9.</b>	Espectro no ultravioleta (MeOH) de SCA2.....	74
<b>Figura 4.10</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (DMSO <sub>d6</sub> , 500 MHz) de SCA2.....	75
<b>Figura 4.11.</b>	Espectro de RMN 2D-HMQC (DMSO <sub>d6</sub> ) parcial de SCA2.....	76
<b>Figura 4.12.</b>	Espectro de RMN 2D- <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY-gs (DMSO <sub>d6</sub> ,) parcial de SCA2.....	77
<b>Figura 4.13.</b>	Espectro de RMN 2D-HMBC (DMSO <sub>d6</sub> ) de SCA2.....	78
<b>Figura 4.14.</b>	(A) Fragmento indólico de SCA2; (B) Fragmento indolínico de SCA2.....	79
<b>Figura 4.15.</b>	Espectro de RMN 2D-HMQC (DMSO <sub>d6</sub> ) de SCA2.....	81
<b>Figura 4.16.</b>	Espectro de RMN 2D- <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY-pr (DMSO <sub>d6</sub> ) de SCA2.....	82
<b>Figura 4.17.</b>	Espectro de RMN 2D- <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY-gs (DMSO <sub>d6</sub> ) de SCA2.....	83
<b>Figura 4.18.</b>	Espectro de RMN 2D- NOESY (DMSO <sub>d6</sub> ) de SCA2.....	85
<b>Figura 4.19.</b>	Estrutura da Longicaudatina (SCA2).....	86
<b>Figura 4.20.</b>	Estrutura tridimensional da Longicaudatina (Programa Spartan)	87
<b>Figura 4.21.</b>	Espectros de massa (ESI e EM/EM) de SCA2.....	88
<b>Figura 4.22.</b>	Espectros de massa (ESI e EM/EM) de SCA2.....	88
<b>Figura 4.23.</b>	Esquema de interpretação da fragmentação (ESI-EM/EM) de SCA2 (Longicaudatina).....	91
<b>Figura 4.24.</b>	Esquema de interpretação da fragmentação (ESI-EM/EM) de SCA2 (Longicaudatina).....	92
<b>Figura 5.1</b>	SG1-Harmano.....	93
<b>Figura 5.2</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SGA1.....	95
<b>Figura 5.3.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> CN, 300 MHz) de SGA1).....	96
<b>Figura 5.4.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (BB) (CD <sub>3</sub> CN, 75 MHz) de SGA1).....	97
<b>Figura 5.5.</b>	DEPT Editado (CD <sub>3</sub> CN) de SGA1.....	98
<b>Figura 5.6.</b>	Espectro de Massa de Alta Resolução de SGA1.....	99
<b>Figura 5.7.</b>	Espectros de RMN <sup>1</sup> H de SGA1 com dupla irradiação em frequências selecionadas: a) Branco b) Irradiação em $\delta$ 4,78 c) Irradiação em $\delta$ 2,39 .....	102
<b>Figura 5.8.</b>	SGA1-(-)Olivil.....	103
<b>Figura 5.9.</b>	Proposta de fragmentação no EM de SGA1.....	106
<b>Figura 5.10</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SGA2 .....	108

<b>Figura 5.11</b>	Espectro de Massa (EI,70 eV) de SGA2.....	109
<b>Figura 5.12.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD, 500 MHz) de SGA2.....	110
<b>Figura 5.13.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (BB) (CD <sub>3</sub> OD, 125 MHz) de SGA2.....	111
<b>Figura 5.14.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135 (CD <sub>3</sub> OD) de SGA2.....	114
<b>Figura 5.15.</b>	Espectro de RMN 2D HMQC (CD <sub>3</sub> OD) de SGA2.....	115
<b>Figura 5.16.</b>	Espectro de RMN 2D de <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY (CD <sub>3</sub> OD) de SGA2.....	116
<b>Figura 5.17.</b>	Espectro de RMN 2D HMMBC (CD <sub>3</sub> OD) de SGA2 .....	117
<b>Figura 5.18.</b>	SGA2-(+) Cicoolivil.....	117
<b>Figura 5.19</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SGA3.....	121
<b>Figura 5.20</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> CN, 500MHZ) de SGA3.....	123
<b>Figura 5.20.1</b>	Espectros de RMN <sup>1</sup> H parciais ampliados (CD <sub>3</sub> CN, 500MHZ) de SGA3.....	124
<b>Figura 5.21.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (BB) (CD <sub>3</sub> CN, 75 MHZ) de SGA3.....	125
<b>Figura 5.22.</b>	Espectro de Massa de Alta Resolução (EI, 70 eV) de SGA3.....	126
<b>Figura 5.23.</b>	Estruturas preliminares propostas para SGA3.....	127
<b>Figura 5.24.</b>	Espectro de RMN 2D de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-COSY (CD <sub>3</sub> CN) de SGA3.....	130
<b>Figura 5.25.</b>	Espectro de RMN 2D de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-COSY-LR (CD <sub>3</sub> CN) de SGA3.....	131
<b>Figura 5.26.</b>	Espectro no infravermelho da mistura de ácidos graxos (SGHA). .....	133
<b>Figura 5.27.</b>	Espectro no infravermelho da mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos (SGHA).....	134
<b>Figura 5.28.</b>	Cromatograma da mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos (SGHA).....	135
<b>Figura 5.29.</b>	Cromatograma da mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos (SGHA)+padrões autênticos.....	136
<b>Figura 6.1.</b>	Espectro no ultravioleta (MeOH) de SM1.....	138
<b>Figura 6.2.</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SM1.....	139
<b>Figura 6.3.</b>	SM1(Estricnobilina).....	140
<b>Figura 6.4.</b>	Estruturas parciais dos Rotâmeros a e b.....	140
<b>Figura 6.5.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H a 298 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> , 500MHz) de SM1.....	145
<b>Figura 6.6.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (BB) a 298 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de SM1 .....	146
<b>Figura 6.7.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H a 288 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> , 500MHz) de SM1.....	147
<b>Figura 6.8.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (BB) a 288 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de SM1 .....	148

<b>Figura 6.9.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H a 308 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> , 500MHz) de SM1.....	149
<b>Figura 6.10</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (BB) a 308 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de SM1	150
<b>Figura 6.11.</b>	Espectro de RMN 2D HMQC a 298 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> ) de SM1.....	151
<b>Figura 6.12</b>	Espectro de RMN 2D HMBC a 298 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> ) de SM1.....	152
<b>Figura 6.13</b>	Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY a 298 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> ) de SM1	153
<b>Figura 6.14.</b>	Espectro de RMN 2D NOESY a 298 <sup>0</sup> K (CDCl <sub>3</sub> ) de SM1.....	154
<b>Figura 6.15.</b>	Espectro no Infravermelho (KBr) de SM3.....	156
<b>Figura 6.16.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz)de SM3.....	157
<b>Figura 6.17.</b>	SM3 (12-Hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina).....	158
<b>Figura 6.18</b>	Espectro de RMN 2D HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de SM3.....	159
<b>Figura 6.19</b>	Espectro de RMN 2D HMQC (CDCl <sub>3</sub> ) de SM3.....	160
<b>Figura 6.20.</b>	Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY (CDCl <sub>3</sub> ) de SM3.....	161
<b>Figura 6.21.</b>	Espectro de RMN 2D NOESY (CDCl <sub>3</sub> ) de SM3.....	162
<b>Figura 6.22.</b>	Espectro no ultravioleta (MeOH) de SMR1 .....	166
<b>Figura 6.23</b>	Espectro no infravermelho (KBr) de SMR1.....	167
<b>Figura 6.24</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz) de SMR1.....	168
<b>Figura 6.25.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de SMR1.....	169
<b>Figura 6.26.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135 (CDCl <sub>3</sub> ) de SMR1.....	170
<b>Figura 6.27</b>	Espectro de RMN 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY (CDCl <sub>3</sub> ) de SMR1.....	171
<b>Figura 6.28.</b>	Espectro de RMN 2D HMQC (CDCl <sub>3</sub> ) de SMR1.....	172
<b>Figura 6.29.</b>	Espectro de RMN 2D HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de SMR1.....	173
<b>Figura 6.30.</b>	SMR1 ( 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina).....	174
<b>Figura 6.31.</b>	Espectro de Massa (EI,70 eV) de SMR1.....	175
<b>Figura 6.32.</b>	Fragmentos do Espectro de Massa característicos da parte indolínica de SMR1.....	176
<b>Figura 6.33.</b>	Curva de Dicroísmo Circular (MeOH) de SMR1.....	178
<b>Figura 6.34.</b>	Espectro de RMN 2D NOESY (CDCl <sub>3</sub> ) de SMR1.....	179
<b>Figura 6.35. -</b>	Estrutura tridimensional da 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina (Programa Spartan).....	180
<b>Figura 6.36.</b>	Espectro no Infravermelho (KBr) de SMC1.....	182
<b>Figura 6.37.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) de SMC1.....	183
<b>Figura 6.38.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 75 MHz) de SMC1.....	184

<b>Figura 6.39.</b>	Cromatograma de íons totais de SMC1.....	185
<b>Figura 6.40.</b>	Estrutura de esteróides constituintes de SMC1 .a) campesterol, b) estigmasterol, c) sitosterol.....	186
<b>Figura 6.41.</b>	Espectro de Massa de SMC1.1 (campesterol).....	187
<b>Figura 6.42.</b>	Espectro de Massa de SMC1.2 ( estigmasterol).....	188
<b>Figura 6.43.</b>	Espectro de Massa de SMC1.3 ( sitosterol).....	189
<b>Figura 6.44.</b>	Cromatograma dos ésteres metílicos de SM.....	191
<b>Figura 6.45</b>	Cromatograma dos ésteres metílicos de SM + padrões.....	192
<b>Figura 7.1</b>	Menu principal do programa STRYC.....	194
<b>Figura 7.2</b>	Menu de apresentação do Cadastro de Espécies.....	195
<b>Figura 7.3.</b>	Menu de apresentação do Cadastro de Alcalóides.....	196
<b>Figura 7.4.</b>	Menu de apresentação do Cadastro Geral.....	197
<b>Figura 7.5.</b>	Menu de apresentação do sistema de Relatórios da aba Espécie	198
<b>Figura 7.6.</b>	Menu de apresentação do sistema de Relatórios da aba Alcalóide	198
<b>Figura 7.7.</b>	Menu de apresentação do sistema de Relatórios da aba Geral.....	199
<b>Figura 7.8.</b>	Relatório: Espécies que possuem o alcalóide diabolina.....	200
<b>Figura 7.9.</b>	Relatório: Referências sobre o alcalóide estriknobrasilina.....	201
<b>Figura 7.10.</b>	Relatório: Alcalóides presentes na espécie <i>Strychnos brasiliensis</i>	202
<b>Figura 7.11.</b>	Relatório: espécies da seção Breviflorae.....	203
<b>Figura 8.1.</b>	Esquema de biossíntese de alcalóides Corinante/Estricano (128,129).....	206
<b>Figura 8.2.</b>	Rotas biogenéticas propostas para alcalóides indoloterpênicos isolados de <i>S.mattogrossensis</i> .....	207
<b>Figura 8.3.</b>	Rotas biogenéticas propostas para alcalóides indoloterpênicos isolados.....	209
<b>Figura 8.4.</b>	Relações biogenéticas entre precursores (derivados do ácido chiquímico) de lignanas e alcalóides indoloterpênicos.....	210
<b>Figura 8.5..</b>	Rotas biogenéticas propostas para lignanas isoladas de <i>S. guianensis</i> .....	211
<b>Figura 9.1.</b>	CCd analítica de RC,RC1 e RC2 obtidos na marcha química para isolamento dos constituintes da casca da raiz de <i>S.cogens</i> . Revelador Dragendorff.....	218
<b>Figura 9.2.</b>	Marcha química para isolamento de constituintes do extrato da casca da raiz de <i>S.cogens</i> .....	219

<b>Figura 9.3.</b>	Coluna cromatográfica de RC1 em Sephadex LH20.....	220
<b>Figura 9.4.</b>	Marcha química para isolamento de constituintes do extrato da raiz sem casca de <i>S.guianensis</i> .....	224
<b>Figura 9.5.</b>	Coluna cromatográfica de RG1+RG2 em sílica gel.....	225
<b>Figura 9.6.</b>	Coluna cromatográfica de RG3 em sílica gel.....	226
<b>Figura 9.7.</b>	Processo de saponificação de SGH.....	227
<b>Figura 9.8</b>	Processo de metilação nde SGHA.....	228
<b>Figura 9.9.</b>	Marcha química para isolamento de constituintes do extrato da casca do caule de <i>S.mattogrossensis</i> .....	230
<b>Figura 9.10.</b>	Coluna cromatográfica de RM1 em sílica gel.....	231
<b>Figura 9.11.</b>	Coluna cromatográfica de RM2 em sílica gel.....	233
<b>Figura 9.12.</b>	Coluna cromatográfica de Fr.40-45, proveniente de SM2, em sílica gel.....	234
<b>Figura 9.13.</b>	CCD analítica das frações obtidas na marcha química para isolamento dos constituintes do caule de <i>S.mattogrossensis</i> Revelador: Dragendorff.....	236.
<b>Figura 9.14</b>	Marcha Química para isolamento de constituintes do extrato do caule de <i>S.mattogrossensis</i> .....	237

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 01.</b> Substâncias obtidas das espécies estudadas.....	4
<b>Quadro 1.1.</b> Distribuição das espécies americanas de <i>Strychnos</i> por seção.....	6
<b>Quadro 1.2.</b> Espécies americanas de <i>Strychnos</i> .....	8
<b>Quadro 1.3.</b> Distribuição de <i>Strychnos</i> nos estados da Amazônia brasileira.....	10
<b>Quadro 1.4.</b> Uso na medicina popular de espécies de <i>Strychnos</i> americanas.....	17
<b>Quadro 1.5.</b> Alcalóides de <i>Strychnos</i> americanas.....	22
<b>Quadro 1.6.</b> Principais efeitos farmacológicos dos alcalóides de espécies americanas de <i>Strychnos</i> .....	42
<b>Quadro 2.1.</b> Posição filogenética do gênero <i>Strychnos</i> .....	45
<b>Quadro 2.2.</b> Espécies comparadas quanto a ocorrência de alcalóides indoloterpênicos.....	57
<b>Quadro 6.1.</b> Comparação de fragmentos do espectro de massa de SM-3 e SMR1.	178
<b>Quadro 9.1.</b> Material botânico coletado.....	215
<b>Quadro 9.2.</b> Ensaio fitoquímico preliminar do material botânico.....	217

## RESUMO

O gênero *Strychnos*, principal representante da família Loganiaceae, é natural de regiões tropicais e compreende, aproximadamente, 200 espécies.

Além do emprego na confecção de “curares” (veneno de flecha de origem vegetal, preparado por algumas tribos de índios da Amazônia) o gênero *Strychnos* tem história na medicina folclórica, registrando-se para as espécies americanas, efeitos antimaláricos, tônicos, afrodisíacos, febrífugos e anti-anêmicos. As ações farmacológicas mais estudadas, são as convulsivantes e relaxantes, entretanto, estudos mais recentes revelaram a presença de novas estruturas que apresentam atividades antimutagênica, citotóxica, antimicrobiana, antitumoral, amebicida, hipotensiva, antipalúdica etc

Nesta tese, além do levantamento bibliográfico sobre aspectos fitogeográficos, botânicos, etnofarmacológicos, químicos e farmacológicos do gênero *Strychnos* na América do Sul, foi elaborado um banco de dados sobre as informações acumuladas, realizado um estudo quimiosistemático sobre suas seções, e desenvolvido estudos fitoquímicos sobre as espécies *S.cogens*, *S.guianensis* e *S.mattogrossensis*. Os estudos fitoquímicos das espécies selecionadas permitiram o isolamento e identificação das seguintes substâncias: triterpeno lupeol e alcalóide longicaudatina de *S.cogens*; alcalóide harmano, lignanas olivil, cicloolivil e carbonato de cicloolivil, ácidos graxos palmítico, oleico, esteárico e nonadecanóico, de *S.guianensis*; alcalóides estricnobraçilina, 12-hidroxi-11-metoxiestricnobraçilina, 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobraçilina, esteróides campesterol, estigmasterol e sitosterol e ácidos graxos palmítico, linoleico, oleico, esteárico e behênico, de *S.mattogrossensis*.

As análises envolveram marcha química convencional para obtenção de alcalóides, técnicas cromatográficas e espectrométricas modernas (ESI, HMQC, HMBC, etc). Foram realizados espectros de RMN da estricnobraçilina em três temperaturas, registrando-se os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  dos dois rotâmeros, a  $298^{\circ}\text{K}$  (temperatura ambiente) e a  $288^{\circ}\text{K}$ , sendo que a  $308^{\circ}\text{K}$ , observou-se a coalescência de sinais dos dois rotâmeros.

A 12-hidroxi- 10,11-dimetoxiestricnobrasilina e o carbonato de cicloolivil são inéditos como produtos naturais, embora o último possa ter sido formado durante a marcha analítica utilizada.

A estricnobrasilina não apresenta efeito antimalárico intrínseco, mas, exibe significativa ação CQ-potencializante, revertendo a resistência do *Plasmodium falciparum* à cloroquina. A longicaudatina, tem efeito biológico análogo à reserpina. Para os esteróides (sitosterol e estigmasterol) e o triterpeno lupeol, comumente encontrados em plantas, destacam-se, respectivamente, ações analgésica e imunossupressora. Olivil e cicloolivil apresentam ação antioxidante, geralmente associada à atividade anticâncer. O carbonato de cicloolivil apresentou atividade inibitória não significativa para neuroblastoma em camundongos, nos testes preliminares realizados nos laboratórios da FIOCRUZ, do Rio de Janeiro. Esta ocorrência de lignanas representa o primeiro registro em *Strychnos* americanas

Os estudos fitoquímicos confirmaram o gênero *Strychnos* como fonte promissora de alcalóides, revelando-o ainda como uma nova fonte de lignanas.

A potencialidade farmacológica dos lignóides e o grande rendimento de lupeol (~1,00%) obtido do extrato da casca da raiz de *Strychnos cogens*, justificam uma investigação mais intensiva do conteúdo não alcaloídico destas plantas, quiçá, responsável por muitas das virtudes atribuídas ao táxon, pela medicina popular.

## ABSTRACT

The genus *Strychnos*, the principal genus of the Loganiaceae family, is natural of tropical regions and comprises about 200 species.

Besides being used to make "curare" (arrow poison obtained from vegetal sources prepared by some Amazonian Indian tribes), this genus has history in folk medicine, being registered for the American species, antimalarial, tonic, aphrodisiac, febrifuge, and antianaemic effects. The most studied pharmacological actions are the convulsants and relaxants. However, more recent studies have revealed some new structures that present antimutagenic, cytotoxic, antimicrobial, antitumoral, amoebicide, hypotensive, antipaludism activities, etc.

In this thesis, besides a bibliographic survey of phytogeographical, botanical, ethnopharmacological, chemical and pharmacological aspects of genus *Strychnos* in South America, a bank of data with accumulated information found in the literature was elaborated, chemosystematic studies about *Strychnos* sections were carried out, and phytochemical studies about the *S.cogens*, *S.guianensis* and *S.mattogrossensis* species were accomplished.

The phytochemical investigations of the selected species allowed the isolation and identification of the following substances: lupeol (triterpene) and longicaudatine (alkaloid) of *S.cogens*; harmane (alkaloid), olivil, cicloolivil and cicloolivil carbonate (lignans), palmitic, oleic, estearic and nonadecanoic acids (fatty acids) of *S.guianensis*; strychnobrasiline, 12-hydroxy-11-methoxystrychnobrasiline, 12-hydroxy-10,11-dimethoxystrychnobrasiline (alkaloids), campesterol, sitosterol, stigmasterol (steroids), palmitic, linoleic, oleic, estearic and behenic acids (fatty acids) of *S.mattogrossensis*.

The analyses involved conventional chemical route for alkaloid isolation, as well as chromatographic methods and spectrometric (ESI, HMQC, HMBC, etc) modern techniques. RMN spectra of strychnobrasiline were accomplished at three temperatures, being registered RMN  $^1\text{H}$  and RMN  $^{13}\text{C}$  spectra of two rotamers, at 298°

(ambient temperature) and 288° K, whereas the signal coalescences of the two rotamers at 308° K were observed.

The 12-hydroxy-10, 11-dimethoxystrychnobrasiline and the cicloolivil carbonate are unknown as natural products, although the latter could be formed during the chemical procedure used.

Strychnobrasiline is devoid of intrinsic antimalarial effect, but it exhibits significant CQ-potentianting actions, reverting the chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*. Longicaudatine has a reserpine-like activity. For the steroids (sitosterol and stigmasterol) and triterpene lupeol, common in plants, analgesic and immunosuppression actions, respectively, are remarkable. Olivil and cicloolivil present antioxidant action, usually associated to anticancer activity. Cicloolivil carbonate exhibited no significant inhibitory activity against neuroblastoma in mice, in preliminary tests carried out at FIOCRUZ, Rio de Janeiro. This occurrence of lignans represents the first register in American *Strychnos* species.

Phytochemical studies confirmed the genus *Strychnos* as a promising alkaloid source, and also revealed it as a new lignan source. The pharmacological potentiality of the lignoids and the large yield of lupeol (~1,0%) obtained from the root barks extracts of *Strychnos cogens* justify a more intensive investigation of the non-alkaloidal content of these plants, maybe responsible for many activities attributed to taxon by the folk medicine.

## INTRODUÇÃO

A Amazônia representa um imenso reservatório de novas moléculas, sendo uma das áreas de maior diversidade em espécies vegetais do planeta (1). Entretanto, apenas aproximadamente 1% desta riqueza foi investigada fitoquimicamente e a percentagem submetida a estudos de bioatividade é ainda menor (2). Assim, a intensificação do estudo da sua flora é fundamental não somente pela perspectiva de se conhecer espécies inéditas e esclarecer a sistemática de diversos grupos taxonômicos, mas, também pela necessidade de se chegar a descoberta de moléculas bioativas importantes. Este estudo que vem sendo realizado há algumas décadas, por químicos de produtos naturais, baseado em informações da medicina popular e *screenings* fitoquímicos e farmacológicos, precisa ser avaliado e incrementado, inclusive, com recursos da quimiosistemática, que permitem inventariar e quantificar o conhecimento acumulado, possibilitando melhor seleção de espécies promissoras em substâncias úteis. Há, também, necessidade de se ir além das identificações, determinações estruturais e ensaios biológicos, aprofundando a investigação de rotas biossintéticas e informatizando os dados obtidos, para divulgação, manipulação e melhor aplicação dos mesmos. É imperioso encontrar alternativas mais eficazes para o rápido conhecimento científico e aproveitamento racional dos produtos naturais da Amazônia em benefício de suas populações, principalmente, como fitoterápicos, fármacos ou como modelos para sínteses, antes que o processo de devastação e alienação desses recursos, que avança celeremente, inviabilize qualquer iniciativa. Estas reflexões inspiraram o trabalho desenvolvido nesta tese.

As espécies de *Strychnos* sulamericanas são famosas pelo seu emprego na confecção do veneno de flecha denominado "curare", cujos alcalóides quaternários, juntamente com a *d*-tubo curarina, isolada de Menispermaceae, revolucionaram o arsenal terapêutico das cirurgias, inspirando uma linha de miorelaxantes sintéticos, coadjuvantes em anestésias.

Tendo em vista que a taxa de espécies com atividade citotóxica ou anticâncer, usadas como veneno de flechas, revelou-se cinco vezes superior à taxa apresentada pelo total das espécies pesquisadas, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (U.S.A.)

(3), as pesquisas atuais em *Strychnos* têm se voltado para este alvo, revelando estruturas de alcalóides terciários, com significativa ação antimitótica. Outras investigações têm evidenciado compostos com variadas atividades, tais como, antimicrobiana, antitumoral, amebicida, hipotensiva (4) e mais recentemente, antipalúdicas (5).

Por outro lado, como destaca Gottlieb (6), pode-se correlacionar a posição sistemática de um táxon a sua capacidade de produzir compostos bioativos, sendo esta propriedade, característica de subclasses primitivas como Magnolidae (*sensu* Cronquist) e avançadas como Asteridae, onde se enquadra o gênero *Strychnos*, da família Loganiaceae.

Deste modo, a potencialidade químico-farmacológica do gênero *Strychnos* inerente a sua posição filogenética e história na etnomedicina, aliada à carência de estudos botânicos, químicos, farmacológicos e quimiotaxonômicos das espécies americanas, justificam um estudo sistemático e contínuo deste gênero, em um amplo contexto. Visando contribuir neste sentido, foram traçados os seguintes objetivos para esta tese:

- Levantamento de aspectos botânicos, fitogeográficos, fitoquímicos, farmacológicos, etnofarmacológicos e quimiotaxonômicos, com vistas a obter o máximo de informações sobre o gênero, através de pesquisa na literatura e registros da medicina folclórica;
- Informatização das informações obtidas, através de elaboração de um banco de dados sobre as espécies americanas;
- Estudo fitoquímico de espécies promissoras em compostos bioativos, principalmente alcalóides. As espécies selecionadas foram *S. matogrossensis*, *S. guianensis* e *S. cogens*. As duas primeiras, em continuação, com base nos resultados anteriormente obtidos (7, 8, 9, 10). O interesse em estudar *S. cogens*, decorreu de sua grande ocorrência nos arredores de Manaus, o que possibilitará futuros estudos de rotas biossintéticas e interações com microrganismos, especialmente fungos endofíticos;
- Encaminhamento das substâncias obtidas na marcha analítica para investigação de suas atividades biológicas;

Os estudos fitoquímicos das espécies selecionadas permitiram o isolamento e/ou identificação de ácidos (palmítico, linoleico, oleico, esteárico, behênico e nonadecanóico, esteróides (campesterol, estigmasterol e sitosterol), triterpeno (lupeol), lignanas (olivil,

cicoolivil e carbonato de cicoolivil) e alcalóides (harmano, estricnobrasilina, 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina, 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina, e longicaudatina) (Quadro 0.1). As análises envolveram marcha química, técnicas cromatográficas e espectrométricas modernas. A 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina e carbonato de cicoolivil são inéditos como produtos naturais, embora o último possa ter sido formado durante a marcha analítica utilizada. O carbonato de cicoolivil apresentou atividade inibitória não significativamente para neuroblastoma em camundongos. A stricnobrasilina, segundo registro na literatura (5) e experiências recentes na Universidade de Liège, reverte a resistência do *Plasmodium falciparum* à cloroquina, vislumbrando-se a possibilidade de uso como coadjuvante em tratamentos antipalúdicos. A longicaudatina, tem efeito biológico análogo à reserpina (11). Olivil e cicoolivil apresentam ação antioxidante (12), geralmente associada à atividade anticâncer. Para os esteróides (sitosterol e estigmasterol) e o triterpeno lupeol, comumente encontrados em plantas, destacam-se, respectivamente, ações analgésica (13) e imunossupressora (14).

A tese compreende dez capítulos de acordo com os objetivos visados, abrangendo revisões bibliográficas, metodologias, discussões, resultados e conclusões:

- Capítulo I - Aspectos botânicos, fitogeográficos, fitoquímicos, farmacológicos e etnofarmacológicos do gênero *Strychnos*.
- Capítulo II - Estudos quimiosistemáticos sobre o gênero *Strychnos*
- Capítulo III - Descrição botânica, ecologia e distribuição geográfica de *S. cogens*, *S. guianensis* e *S. mattogrossensis*.
- Capítulo IV - Identificação e determinação estrutural de substâncias isoladas de *S. cogens*.
- Capítulo V - Identificação e determinação estrutural das substâncias isoladas de *S. guianensis*.
- Capítulo VI - Identificação e determinação estrutural de substâncias isoladas de *S. mattogrossensis*
- Capítulo VII - Banco de dados sobre espécies do gênero *Strychnos* da América do Sul.
- Capítulo VIII - Considerações biogênicas sobre substâncias isoladas.
- Capítulo IX - Experimental
- Capítulo X - Constantes físicas e dados espectrométricos das substâncias obtidas.

- Conclusões .

**Quadro 0 1.** Substâncias obtidas das espécies estudadas

Espécie estudada	Parte da planta	Substância isolada e identificada
<i>S. cogens</i>	casca da raiz	lupeol e longicaudatina .
<i>S.mattogrossensis</i>	caule	estricnobrasilina; 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina; ácido palmítico, ácido linoleico, ácido oleico, ácido esteárico e ácido behênico.
<i>S.mattogrossensis</i>	casca do caule	10,11-dimetoxi-12-hidroxiestricnobrasilina; estigmasterol, campesterol e sitosterol
<i>S. guianensis</i>	raiz s/casca	Lignanas olivil, cicloolivil e carbonato de cicloolivil ; harmano, ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico e ácido nonadecanóico.

## CAPÍTULO I

### 1. Aspectos botânicos, fitogeográficos, fitoquímicos, etnofarmacológicos e farmacológicos do gênero *Strychnos*

#### 1.1. Aspectos botânicos e fitogeográficos

A família Loganiaceae consiste de 20 gêneros e 500 espécies, largamente espalhados nas regiões tropicais e subtropicais, com relativamente poucas espécies em climas temperados (15). O gênero *Strychnos*, principal representante da família Loganiaceae, foi descrito por Lineu com base em *Strychnos nux-vomica*, a espécie tipo, e *Strychnos colubrina* (= *S. minor*). Compreende, aproximadamente, 200 espécies, que podem ser divididas em três grupos geograficamente distintos: 75 espécies ocorrem na África, 44 na Ásia e 79 na América. A espécie *S. potatorum*, é encontrada na África e na Ásia (16).

O primeiro registro sobre sistemática das espécies americanas do gênero *Strychnos* foi apresentado por Progel, na Flora Brasiliensis de Martius, em 1868. Na década dos 30, surgiram os trabalhos de Sandwith que foram os precursores da Monografia de Krukoff-Monachino, publicada em 1942 seguida de 21 suplementos (17). Estes trabalhos, associados às valiosas contribuições dos botânicos Ducke e Froes, do Instituto Agrônômico do Norte, hoje EMBRAPA, com sede Belém-PA, constituem a literatura fundamental sobre a botânica de *Strychnos* da América do Sul.

Mais recentemente, Leewenberg (18) classificou as espécies de *Strychnos* em 12 seções em que as representantes americanas estão restritas às seções *Strychnos*, *Rouhamon* e *Breviflorae*. Estas seções foram adotadas por Krukoff (19) com base em caracteres florais e correspondem, respectivamente, às suas seções *Longiflorae*, *Intermediae* e *Breviflorae* (20) (Quadro 1.1), baseada em caracteres florais.

Quadro 1.1. Distribuição das espécies americanas de *Strychnos* por Seção

Strychnos (Longiflorae)	Rouhamon (Intermediae)	Breviflorae (Breviflorae)
<i>S. amazonica</i>	<i>S. bicolor</i>	<i>S. acuta</i>
<i>S. araguaensis</i>	<i>S. cayensis</i>	<i>S. alvimiana</i>
<i>S. asperula</i>	<i>S. cogens</i>	<i>S. atlantica</i>
<i>S. bahiensis</i>	<i>S. duckei</i>	<i>S. brachistantha</i>
<i>S. barnhartiana</i>	<i>S. ecuadoriensis</i>	<i>S. brasiliensis</i>
<i>S. brachiata</i>	<i>S. glabra</i>	<i>S. castelnaeana</i>
<i>S. chlorantha</i>	<i>S. goianensis</i>	<i>S. cerradoensis</i>
<i>S. colombiensis</i>	<i>S. guianensis</i>	<i>S. fendleri</i>
<i>S. croatii</i>	<i>S. hirsuta</i>	<i>S. fulvotomentosa</i>
<i>S. bredemeyeri</i>	<i>S. melinoniana</i>	<i>S. grayi</i>
<i>S. davidsei</i>	<i>S. panurensis</i>	<i>S. malacosperma</i>
<i>S. diaboli</i>	<i>S. subcordata</i>	<i>S. mattogrossensis</i>
<i>S. dariensis</i>		<i>S. neglecta</i>
<i>S. divaricans</i>		<i>S. nigricans</i>
<i>S. jobertiana</i>		<i>S. oiapocensis</i>
<i>S. krukoffiana</i>		<i>S. pachycarpa</i>
<i>S. lobellioides</i>		<i>S. parviflora</i>
<i>S. macrophyla</i>		<i>S. parvifolia</i>
<i>S. medeola</i>		<i>S. poeppigii</i>
<i>S. mitscherlichii</i> var. <i>amapensis</i>		<i>S. progeliana</i>
<i>S. mitscherlichii</i> var. <i>mitscherlichii</i>		<i>S. recognita</i>
<i>S. mitscherlichii</i> var. <i>pubescentur</i>		<i>S. rubiginosa</i>
<i>S. panamensis</i>		<i>S. setosa</i>
<i>S. peckii</i>		<i>S. schultesiana</i>
<i>S. pseudoquina</i>		<i>S. schunkei</i>
<i>S. pubiflora</i>		
<i>S. ramentifera</i>		
<i>S. romeu-belenii</i>		
<i>S. rondeletioides</i>		
<i>S. sandwithiana</i>		
<i>S. tabascana</i>		
<i>S. tomentosa</i>		
<i>S. toxifera</i>		
<i>S. trinervis</i>		
<i>S. tsea: num</i>		

As espécies americanas de *Strychnos* se apresentam como plantas lenhosas, frequentemente cipós ou arbustos que se tornam escandentes acompanhando os vegetais que as apoiam, podendo atingir dimensões de 55 m de comprimento e 30 cm de diâmetro na base. A espécie *S. hirsuta* é um arbusto ereto, natural de submata, apresentando ramos flageliformes, enquanto a *S. pseudoquina*, própria do cerrado, é a única espécie brasileira que se constitui numa árvore, de pequeno porte. Certas espécies brasileiras possuem espinhos e quase todas apresentam gavinhas. As flores, em geral brancas, verdes ou amarelo-pálidas, têm cheiro agradável, com exceção de *S. nigricans*

que tem odor fétido. Outra importante característica do gênero consiste em suas folhas opostas, com nervuras recurvadas, que variam de 3 a 7, incluindo a central. Os frutos, cujos diâmetros variam de 1 a 10 cm, foram estudados, principalmente por Ducke, que elaborou uma chave fundamental para identificação de algumas espécies (17). Digno de nota, é o fato de que o fruto de pelo menos 20 espécies tem uma polpa doce que pode ser comida por seres humanos e animais (21).

A hiléia é o centro de dispersão do gênero *Strychnos* no Continente Americano, observando-se maior número de espécies, a medida que se avança do Atlântico para os Andes. Em direção Norte, há ocorrência do gênero até a América Central, enquanto para o Sul, alcança o Paraguai, Bolívia, Argentina e sul do Brasil. Krukoff (19) considera que a distribuição geográfica não está completamente conhecida e na Amazônia, foram mais exploradas as regiões dos rios Negro, Solimões e Juruá e os arredores de Manaus e Belém, sendo provável que as mesmas espécies do rio Juruá sejam também encontradas no rio Purus. Preconiza ainda que serão descobertas novas espécies, na parte sul da Bacia Amazônica, particularmente no alto rio Xingu, nos rios Tapajós e Madeira, num desafio para a atual geração de botânicos e fitoquímicos. O Quadro 1.2 registra 79 espécies e 2 variedades conhecidas, de acordo com Krukoff (19, 22-27), assinala as usadas em curares e as estudadas quimicamente. O Quadro 1.3 enfoca a distribuição nos estados da Amazônia brasileira.

As espécies de *Strychnos*, de modo geral, ocorrem em regiões de mata pluvial em formação primária (mata virgem). Na Amazônia, a maior parte habita a mata virgem de terra firme, sendo assinaladas ocorrências em restingas de várzeas e mesmo em matas ribeirinhas, temporariamente inundáveis, de rios e igarapés. Ducke (17) ressalta nunca haver encontrado *Strychnos* nas caatingas e campinas amazônicas com solo fortemente ácido, húmus escuro e areia branca.

Quadro 1.2. Espécies americanas de *Strychnos*

- 1 *S. acuta* Prog
- 2 *S. alvimiana* Krukoff & Barney+
- 3 *S. amazonica* Krukoff+
- 4 *S. araguaensis* Krukoff & Barneby
- 5 *S. asperula* Sprague & Sandw
- 6 *S. atlantica* Krukoff & Barneby+
- 7 *S. bahiensis* Krukoff & Barneby
- 8 *S. barnhartiana* Krukoff +
- 9 *S. bicolor* Prog
- 10 *S. brachiata* Ruiz & Pavon \*+
- 11 *S. brachistanta* Standl
- 12 *S. brasiliensis* (Spreng.) Martius+
- 13 *S. bredemeyeri* (Schultes) Sprag. & Sandw.\*
- 14 *S. castelnaeana* Wedd.\*+
- 15 *S. cayensis* Krukoff & Barneby
- 16 *S. cerradoensis* Krukoff & Barneby
- 17 *S. chloranta* Prog. +
- 18 *S. cogens* Bentham \*+
- 19 *S. colombiensis* Krukoff & Barneby
- 20 *S. croatii* Krukoff & Barneby
- 21 *S. darienensis* Seem
- 22 *S. davidsei* Krukoff & Barneby
- 23 *S. diaboli* Sandw+
- 24 *S. divaricans* Ducke+
- 25 *S. duckei* Krukoff & Monachino
- 26 *S. ecuadoriensis* Krukoff & Barneby
- 27 *S. eugeniifolia* Monachino
- 28 *S. erichisonii* Richard Schomb.\*+
- 29 *S. fendleri* Sprague & Sandw+
- 30 *S. froesii* Ducke+
- 31 *S. fulvotomentosa* Gilg
- 32 *S. gardneri* DC. +
- 33 *S. glabra* Sagot ex Prog. \*+
- 34 *S. goiasensis* Krukoff & Barneby
- 35 *S. grayi* Grisebach
- 36 *S. guianensis* (Aubl.) Mart.\*+
- 37 *S. hirsuta* Spr ex Bth. +
- 38 *S. javariensis* Krukoff \*
- 39 *S. jobertiana* Baill. \*+
- 40 *S. krukoffiana* Ducke
- 41 *S. lobelioides* Krukoff & Barneby
- 42 *S. macrophyla* Barbosa Rodrigues \*+
- 43 *S. malacosperma* Ducke & Froes
- 44 *S. mattogrossensis* S. Moore +
- 45 *S. medeola* Sagot ex Prog. +
- 46 *S. melinoniana* Baillon+ \*

- 47 *S. mitscherlichii* var. *mitscherlichii*+ Richard Schomburg\*
- S. mitscherlichii* var. *amapensis* Krukoff & Barneby+
- S. mitscherlichii* var. *pubescentior* Sandwith \*
- 48 *S. neglecta* Krukoff & Barneby
- 49 *S. nigricans* Prog.
- 50 *S. oiapocensis* Froes
- 51 *S. pachycarpa* Ducke
- 52 *S. panamensis* Seemann+
- 53 *S. pamurensis* Sprague & Sandw\*
- 54 *S. parvifolia* D.C.+
- 55 *S. parviflora* Spruce ex Benth
- 56 *S. peckii* B.L. Robinson \*
- 57 *S. poeppigii* Prog
- 58 *S. progeliana* Krukoff & Barneby
- 59 *S. pseudoquina* A. St. Hilaire +
- 60 *S. pubiflora* Krukoff
- 61 *S. ramentifera* Ducke
- 62 *S. recognita* Krukoff & Barneby
- 63 *S. romeu-belenii* Krukoff & Barneby+
- 64 *S. rondeletioides* Spuce ex Bth+\*
- 65 *S. rubiginosa* DC+
- 66 *S. sandwithiana* Krukoff & Barneby+\*
- 67 *S. schultesiana* Krukoff
- 68 *S. shunkei* Krukoff & Barneby
- 69 *S. setosa* Krukoff & Barneby
- 70 *S. solerederi* Gilg. \*+
- 71 *S. solimoesana* Krukoff \*+
- 72 *S. subcordata* Spr. Ex Bentham\*+
- 73 *S. tabascana* Spr. & Sandw.+
- 74 *S. tarapotensis* Spr. & Sandw.
- 75 *S. tomentosa* Bentham. \*+
- 76 *S. toxifera* Robert Schomb. Ex Bentham \*+
- 77 *S. trinervis* (Vell. ) Mart +
- 78 *S. tseamum* Krukoff & Barneby
- 79 *S. xinguensis* Krukoff

Obs.: As espécies assinaladas com \* foram usadas em curares.

As espécies assinaladas com + foram estudadas quimicamente tendo as estruturas dos alcaloides isolados elucidadas.



## 1.2. Aspectos etnobotânicos/ etnofarmacológicos

As espécies de *Strychnos* americanas são famosas, principalmente, pelo seu emprego na confecção do "curare" termo genérico usado para nomear os venenos de flechas dos índios amazônicos. A palavra "curare" é uma corruptela das palavras indígenas "ourari" ou "uiraery" - veneno de matar pássaros (28)

### 1.2.1. O gênero *Strychnos* e o curare

A história do curare é dividida por Biocca (29), em dois períodos: o período das lendas fantásticas em que é confundido com os antigos venenos de guerra e o período, das verdadeiras pesquisas científicas, que começa com os trabalhos de Felice Fontana (1781), precursores das experiências do fisiologista francês Claude Bernard (1875), e com a viagem de Humboldt e Bonpland ao Novo Mundo (1799). Por este motivo, há necessidade de se fazer uma diferença entre os antigos venenos de guerra dos ameríndios e os verdadeiros curares, quase desconhecidos até o século XVIII.

#### 1.2.1.1. Os antigos venenos de guerra

Segundo Vellard (30), quando os espanhóis chegaram à América defrontaram-se com tribos indígenas, que usavam "flechas herboladas" isto é, impregnadas de sucos vegetais. Tais flechas provocaram profundo terror nos conquistadores que, segundo Walter Raleigh (1596) não conseguiam saber seus segredos, nem através da doação de presentes, nem por meio da aplicação de tortura aos nativos. O menor ferimento provocado por estes engenhos provocava convulsões, dores violentas e morte lenta em 24 horas, não se conhecendo nenhum antídoto eficaz. Os primeiros relatos sobre o assunto se encontram na carta que em 1516, Martire D'Anghera enviou ao papa Leão X e no seu livro "De orbe novo", datado de 1530, onde são descritos os efeitos do veneno, sua preparação a partir de ingredientes vegetais e animais e a morte de mulheres velhas encarregadas de sua confecção. Cronistas da época como Lopez de Gomara, Cieza de Leon, Juan de Pimentel e outros fizeram descrições similares às de D'Anghera, sendo unânimes em apontar como componente principal destes venenos, a

planta “mancenilha” (*Hippomane mancinella* L.), da família Euphorbiaceae, associada a outros constituintes de origem animal e vegetal, ratificando o registro da morte das preparadoras. Estes venenos eram conhecidos de todas as tribos guerreiras que habitavam as costas do mar das Caraíbas, tendo o seu uso se estendido na direção Sul, até a Guiana e o Brasil, e na direção Norte, até o México.

Em “Pharmacopées traditionnelles en Guyane” (31), a ocorrência da “mancenilha” é considerada restrita às ilhas e à costa do mar das Caraíbas, sendo outra Euphorbiaceae, a *Hura crepitans* (açacú), empregada como veneno de guerra pelas tribos guiano-amazonenses.

Angenot (32) aponta os ésteres de álcoois diterpênicos, tipo forbol, também encontrados em Euphorbiaceae e Thymelaeaceae da região semi-desértica do Sudão, na África, como os princípios ativos destes venenos, de ações irritantes e lentas. Os constituintes de “*Hura crepitans*” são, um diterpeno tóxico com esqueleto dafnânico, triterpenos derivados do cicloartenol e do eufano e a huratoxina (31, 33).

Deve ser ressaltado que, a despeito dos relatos de Biocca (29) e Vellard (30) sobre a época do aparecimento e ação dos verdadeiros curares, Bisset (34) reporta que, quando os espanhóis chegaram à América, além dos venenos de guerra acima citados, encontraram tribos que usavam venenos com ação semelhante a dos verdadeiros curares, descritos a seguir, cujos primeiros relatos foram feitos por Alonso Perez de Tolosa (1548) durante a exploração do lago de Maracaibo, na região da Colômbia.

#### 1.2.1.2. Os verdadeiros curares

O primeiro curare estudado, foi o dos ticunas, provavelmente de *Strychnos castelnaeana*, levado por La Condamine (1745), para Europa (30). A primeira planta de curare identificada botanicamente, foi coletada no Suriname e descrita, em 1783, com o nome de *Toxicaria americana*, sendo posteriormente identificada como *Strychnos guianensis* (17). Entretanto, é a chegada de Humboldt e Bonpland à América, no começo do século XIX, que assinala o início das pesquisas científicas sobre o curare (29). Humboldt e Bonpland tiveram o privilégio de assistir a preparação do curare no Alto Orinoco, numa localidade chamada Esmeralda. A descrição minuciosa da operação no livro “Voyage aux regions equinoxiales du Nouveau Continent” de autoria de Humboldt e Bonpland, é considerada um marco, para o conhecimento científico dos

curares, tanto pelas observações detalhadas do processo de confecção, como pela identificação botânica do ingrediente principal, o “bejuco de mavacure”, que foi considerada uma planta do gênero *Strychnos*, hoje identificada como *S. guianensis*.

Durante todo o século XIX e a primeira metade do século XX, sucederam-se expedições científicas de naturalistas e exploradores, com o objetivo de conhecer os segredos da preparação dos curares, identificar constituintes botânicos, testar efeitos biológicos e caracterizar as diversas tribos envolvidas nestas práticas. Pesquisadores como Martius, Spix, De Castelnau, Wedell, Crevaux, Barbosa Rodrigues, Vellard, Biocca e Froes, entre outros, assistiram a preparação de curares de diversas tribos indígenas e reconheceram a participação de *Strychnos*, muitas vezes associados a menispermáceas, como responsáveis pelos princípios ativos (29, 30). O explorador americano R.C. Gill, negou a utilização de *Strychnos* nestes venenos. Generalizando, erroneamente, observações que fez em tribos da selva equatoriana, afirmou que apenas a Menispermaceae *Chododendron tomentosum* era usada para a preparação do curare. Seu trabalho, contudo, conseguiu grande repercussão nos Estados Unidos, onde a firma farmacêutica E. R. Squibb & Sons, Inc. elaborou e comercializou produtos de ação curarizante, para uso médico (35).

Da maioria das descrições conhecidas, pode ser resumido que o curare, é um veneno de origem vegetal, preparado por algumas tribos de índios da Amazônia, a partir de espécies do gênero *Strychnos* e (ou) da família Menispermaceae. O processo de preparação consiste na extração dos princípios ativos do material botânico (principalmente cascas da raiz e do caule), triturado ou raspado, com água fria ou quente, seguida de filtração e concentração por aquecimento. A estes extratos, são adicionados sucos de outras plantas ou substâncias de origem animal, cuja função é reforçar a toxicidade, facilitar a absorção pelo sangue, ou apenas torná-los mais aderentes às flechas. Entre os ingredientes usados estão sucos de euforbiáceas, piperáceas e solanáceas, dentes de serpentes, formigas, etc variando de acordo com a disponibilidade da região. Não existe magia e nem ritual para a preparação do curare, mas sim, certas prescrições, superstições, ou mesmo cuidados que devem ser observados, como horário, estação da coleta das plantas e jornada de execução da tarefa, em geral, feita pelos homens. O segredo mantido é consequência da desconfiança do índio para com o branco (30).

O curare é, em essência, um veneno de caça, embora algumas tribos como a dos Maku e a dos Nhambiquaras, o tenham empregado também para a guerra (29). O

animal atingido pela flecha envenenada é imobilizado imediatamente. A paralisia começa pelos músculos do pescoço e da nuca, depois atinge os membros e por último alcança o diafragma. A morte sobrevém por asfixia, devido a impossibilidade de respirar (29). A caça pode ser aproveitada como alimento, sem nenhum perigo, pois o veneno, praticamente, não é absorvido por via digestiva. Barbosa Rodrigues (28) fala de curares mais fracos e do uso do sal de cozinha como antídoto, para recuperar alguns animais que os índios criavam em suas malocas, chamados de “xerimbabos”.

É possível dividir a zona geográfica dos curares em 4 regiões, formando um semicírculo, abaixo e acima do equador (Fig.1.1): a região ocidental, pré-andina-1, estendendo-se pelos rios Napo, afluentes do Marañon e Ucayali, onde predominavam os curares a base de Menispermaceae; as regiões oriental guiano-amazonense- 3 , compreendendo as bacias do Orinoco e Amazonas e do Planalto Central- 4 , onde predominavam os curares a base de *Strychnos* e a região intermediária-2, entre os rios Napo, Negro e Javari, onde se usava, alternativamente, *Strychnos*, Menispermaceae, ou a mistura de ambos. Além destes, há um tipo de curare que é colocado diretamente na ponta das flechas, derivado de Loganiaceae e/ou Menispermaceae, chamado curare "flecha-ponta", usado na fronteira da Venezuela e Brasil (36).

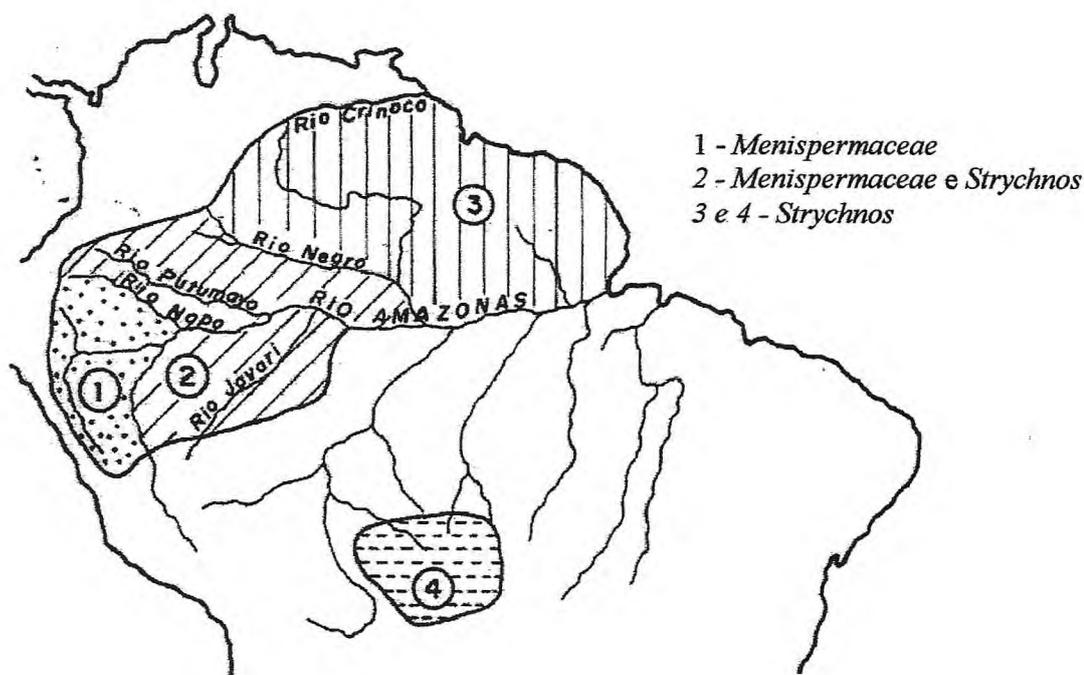


Figura 1.1. Zonas de Curare <sup>36</sup>

Para Berta Ribeiro e Melo Carvalho (37), a zona do curare envolvia 15 famílias linguísticas diferentes, mas, enquadradas sob o ponto de vista cultural, num grupo da área da floresta tropical, cuja característica era a agricultura de "corte e queima", que tinha a mandioca como produto básico. Possuíam vilas mais estáveis, tecnologia mais desenvolvida em relação às tribos vizinhas, trabalhos de cerâmica e têxtil, melhores meios de comunicação, uso de instrumentos metálicos que contribuíam para construção de canoas, casas, armas e agricultura mais avançada. Os autores registram também um intenso intercâmbio entre as tribos, após a conquista, que seria responsável pela difusão dos curares e das zarabatanas, citando tribos que, apesar de excluídas desse ciclo cultural, também produziam curares. Referem-se ainda ao "complexo do curare", como formando um sistema baseado na troca, em que uns grupos produziam o veneno, outros as zarabatanas, outros as cestas para guardar as zarabatanas etc, conforme a disponibilidade de matéria-prima e a especialização de cada um.

Vellard (30), entretanto, considera ser o curare "um elemento característico dos caçadores inferiores da floresta amazônica", que não conheciam nem o arco nem a flecha e dos quais a arma de guerra era a lança. Viviam em pequenos grupos isolados na floresta e só ficaram conhecidos quando os conquistadores europeus penetraram nos afluentes secundários do Amazonas, daí os verdadeiros curares não terem sido descritos até o século XVIII. Comenta ainda, que os contatos entre as tribos de várias origens criaram as trocas culturais. Os "agricultores" aprenderam com os "caçadores" o uso e a preparação do curare e os empregaram em suas flechas. Os "caçadores" por sua vez, emprestaram os arcos dos agricultores", substituindo algumas vezes as zarabatanas.

Krukoff (19) afirma existir uma irrefutável evidência de que vinte e uma espécies e uma variedade de *Strychnos* foram usadas para fazer curare (Quadro 1.2) e destaca como principais, *S. toxifera*, *S. solimoesana*, *S. guianensis*, *S. glabra* e *S. castelnaeana*.

Alúcio Pimenta (38) descreve efeitos curarizantes de *Strychnos* do Brasil extra-amazônico, que jamais foram usadas para envenenar flechas, uma vez que tal prática, não era adotada pelas tribos das regiões onde ocorriam.

Até 1970, só eram conhecidos os venenos curarizantes usados pelos índios americanos. As espécies de *Strychnos* empregadas em venenos de flechas na Ásia (*S. ignatii* e outros) e na África (*S. icajá*), produziam efeitos tetanizantes (39). Trabalhos de Angenot (40) revelaram que a tribo africana dos Banyambos, habitantes das margens do rio Akagera, fronteira de Ruanda com a Tanzânia, usavam as raízes e folhas de *S.*

*usambarensis*, para preparar venenos de flechas, de ação curarizante. Como os ameríndios, os banyambos adicionavam aos venenos, outros vegetais, entre eles euforbiáceas, para exaltar os efeitos tóxicos e ou dar consistência gomosa, necessária para a aderência às flechas .

A prática de envenenar flechas para caça remanesce em algumas tribos amazônicas, notando-se uma variação nas espécies utilizadas e efeitos biológicos observados, o que evidencia a perspicácia dos nossos índios em descobrir novas fontes vegetais que lhes garantam a sobrevivência.

Trabalho de Prance (41) sobre etnobotânica de 4 tribos amazônicas, revela que os Waikás (Yanomamis), da serra dos Surucucús, estado de Roraima, usam em suas flechas uma resina da casca de *Virola theiodora* ( Myristicaceae) que também é fonte de um alucinógeno. Os Denis, do Alto Cunhuá e os Jamamadis do rio Apituíá, a 120 km de Lábrea, preparam o curare tradicional, cujo componente majoritário é uma *Strychnos*. Os Maku, tribo nômade do Alto Rio Negro, habitantes do rio Uneiuxi, envenenam suas flechas com o látex de uma Moraceae, embora estudos de Biocca (29) atestem que, em passado recente, os Maku (do rio Tiquié), preparavam curare a base de Menispermaceae.

### 1.2.2. O gênero *Strychnos* na medicina folclórica

Além do famoso emprego na confecção de curares, o gênero *Strychnos* tem história na medicina folclórica, justificando o interesse na intensificação do estudo das espécies amazônicas.

Espécies de *Strychnos* da Ásia e da África fazem parte de inúmeras preparações aborígenes. Monique Tits (42) assinala o emprego em: cura de doenças venéreas e do tubo digestivo, como afrodisíacos, emenagogos, abortivos, eméticos, antivomitivos, purgativos, antidiarréicos, anti-epilépticos, analgésicos e cicatrizantes, contra mordida de serpentes e em alguns casos de doenças mentais.

No que concerne a espécies de *Strychnos* sulamericanas, são encontradas várias referências de seu uso medicinal, entretanto, em menor proporção que dos africanos e asiáticos. O relato de Humboldt e Bonpland de que os índios de Esmeralda consideravam o curare bom para o estômago, pode ser considerado o primeiro registro. São conhecidos o emprego como antimalárico de *S. pseudoquina* , a “quina do campo”,

usada para preparar a chamada “água inglesa”, de ação tônica e febrífuga (43). *Strychnos brasiliensis*, *Strychnos fendleri* e *S. trinervis* também são usados como antimaláricos (21). Ducke (17) cita “capitão” (*S. rubiginosa*), como planta medicinal de Pernambuco. Os extratos de “murapé vermelho” (*S. guianensis*) e “murapé branco” (*S. tomentosa*), tem virtudes farmacológicas no Estado do Pará. A espécie *S. acuta* é usada no estado de São Paulo e outros estados do sul do Brasil, como bebida tônica, o “chá paulista” (38). Na farmacopéia guianense (31) *S. erichsonii* aparece como afrodisíaco utilizado pelos saramaka, nativos do Suriname. No Quadro 1.4 é apresentado o resumo dos empregos medicinais mais conhecidos, referentes a diversas espécies de *Strychnos* americanas.

Quadro 1.4. Uso na medicina popular de espécies de *Strychnos* americanas

Espécie	Uso Popular
<i>S. acuta</i>	Estimulante e tônico
<i>S. brasiliensis</i>	Estimulante, tônico, antipirético e antimalárico
<i>S. erichsonii</i>	Males do abdome e estômago, na menstruação, aborto, doenças venéreas, afrodisíaco, veneno de pesca.
<i>S. fendleri</i>	Antipirético e antimalárico
<i>S. guianensis</i>	Estimulante, tônico, anti-anêmico
<i>S. javariensis</i>	Analgésico e anti-reumático
<i>S. melinoniana</i>	Afrodisíaco
<i>S. mitscherlichii</i>	Afrodisíaco
<i>S. nigricans</i>	Afrodisíaco
<i>S. oiapocensis</i>	Afrodisíaco
<i>S. panamensis</i>	Analgésico e anti-reumático
<i>S. pseudoquina</i>	Estimulante, tônico, males do estômago e abdome antipirético, antimalárico.
<i>S. rondeletioides</i>	Veneno de pesca
<i>S. trinervis</i>	Estimulante, tônico, males do estômago e abdome, antimalárico
<i>S. tomentosa</i>	Analgésico e anti-reumático
<i>S. toxifera</i>	Anticonvulsivante

### 1.3. Aspectos fitoquímicos do gênero *Strychnos*

Por indicação de Humboldt e a convite de Bolívar (44) Boussingault realizou os primeiros estudos sobre a composição química dos curares. Em 1928, juntamente com Roulin relatou que o “bejuco de mavacure” não continha estricnina, mas, sim alcalóides altamente hidrossolúveis, posteriormente identificados como sais de amônio quaternários.

Seguiram-se os trabalhos de Boehm (45) mostrando que nos curares, além de sais de amônio denominados “curarinas”, existiam bases terciárias, as “curinas”, sem efeitos curarizantes. Boehm classificou os curares, conforme os recipientes em que eram guardados, em 3 grupos: curares de pote, curares de tubo; curares de cabaça. A validade desta classificação foi questionada, pois além de existirem outras embalagens, não havia uma uniformidade na potência dos efeitos biológicos dos curares contidos em recipientes similares. Dos curares de tubo, preparados a partir de *Menispermaceae*, King (28) isolou, em 1935, um alcalóide bisbenzilisoquinolínico, a *d*-tubocurarina (Figura 1.2). Obtida posteriormente de *Chododendron tomentosum*, por Winsterteiner e Dutcher (46) nos laboratórios da Squibb, foi empregada, a partir da década dos 40, como coadjuvante em anestesia geral, servindo de modelo para os curarizantes sintéticos estudados por Bovet (47) e de estímulo às pesquisas sobre os curares de cabaça, que se mostraram similares aos extratos de várias espécies de *Strychnos*.

Trabalhos de King, Barredo-Carneiro, Marini-Bettolo e outros, confirmaram que os alcalóides dos curares eram idênticos ou proximamente relacionados aos obtidos dos extratos das plantas usadas em suas preparações. Sabe-se, todavia, que alguns destes alcalóides são muito sensíveis a ácidos e ao calor, podendo sofrer transformações durante os processos de extração, tanto no laboratório como nas preparações artesanais.

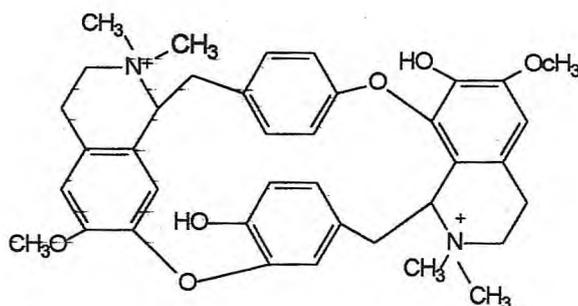


Figura 1.2. *d*-tubocurarina

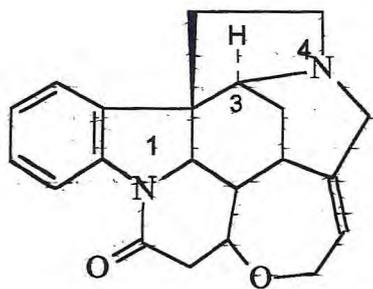
A natureza indólica dos alcalóides de *Strychnos* ficou evidenciada desde as primeiras investigações de Wieland e King, mas, foram os trabalhos de Karrer e Schmid que permitiram relacionar os seus espectros no ultravioleta com determinados cromóforos (45) (Figura 1.3), que também são responsáveis por colorações peculiares, quando tratados com sulfato cérico.

A pesquisa iniciada, a partir de 1952, por Marini-Bettolo e colaboradores, com a ajuda do botânico Ducke e Krukoff, ao cabo de 20 anos conduziu a estudos fitoquímicos farmacológicos, para efeitos curarizantes, de trinta e uma das quarenta e duas espécies e uma variedade, registradas nas Américas Central e do Sul, até a década de setenta. Das 79 espécies conhecidas até hoje, somente 37 foram estudadas quimicamente.

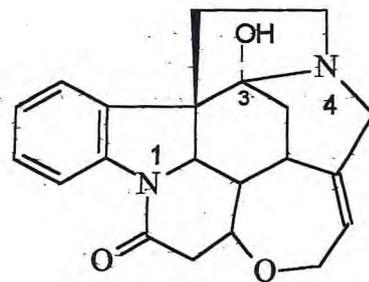
Destaca-se deste esforço, a descoberta da distribuição diferenciada dos alcalóides nos órgãos das plantas, que revelou a presença de alcalóides terciários nos galhos finos, partes superiores dos caules, sementes e frutos e de alcalóides quaternários nas cascas das partes baixas dos caules e nas raízes (44).

Vale ressaltar, que muitos destes compostos, caracterizados por suas propriedades físico-químicas, por Marini-Bettolo, não tiveram suas estruturas elucidadas. Além disto, as espécies *S. acuta*, *S. atlantica*, *S. fulvotomentosa*, *S. pachycarpa*, *S. javariensis*, *S. cogens*, *S. peckii*, *S. glabra* e *S. parviflora*, apesar de possuírem comprovado conteúdo alcaloídico, não tiveram seus constituintes isolados e identificados (44).

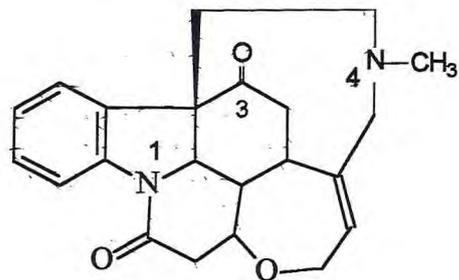
O Quadro 1.5 mostra as estruturas dos alcalóides isolados de espécies americanas, organizados em grupos segundo seu grau de evolução biogenética, determinada pelo número e posição de ciclizações na molécula (48). A nomenclatura usada é a trivial e a numeração obedece ao sistema de Le Men/Taylor (49) que atribui aos carbonos de mesma origem biogenética o mesmo número, em qualquer dos alcalóides. Observa-se na classificação, as 3 séries estabelecidas por Bisset (Figura 1.4.), em função da substituição no C-3 (18): Série normal (portando hidrogênio em C-3), série pseudo (substituindo H por OH) e série sec-pseudo (C-3 é uma carbonila e o N-4 ou N<sub>6</sub> apresenta um substituinte, em geral uma metila).



Estricnina  
Série Normal



3-hidroxiestricnina  
Série Pseudo



Icajina  
Série Sec-pseudo

**Figura 1.4-** Exemplos de alcalóides das séries Normal, Pseudo e N-Metil-secpseudo

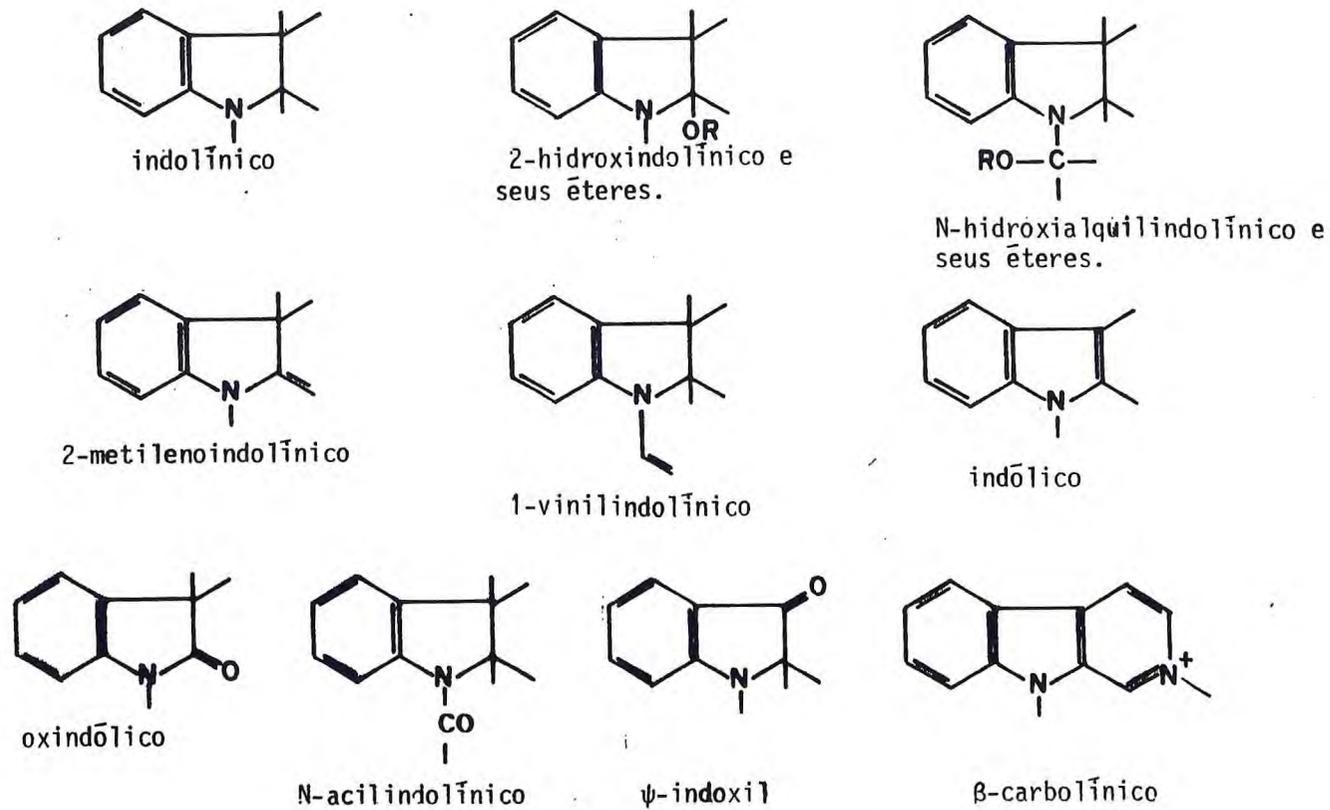
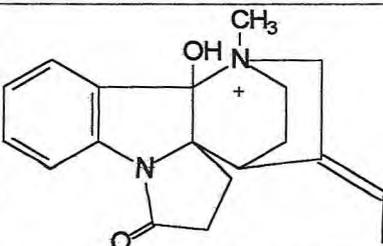
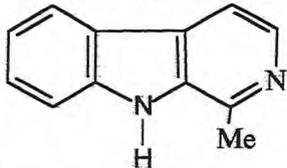
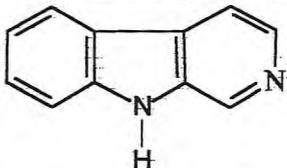
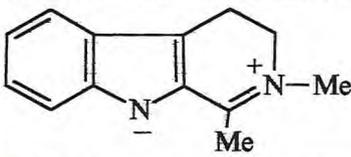
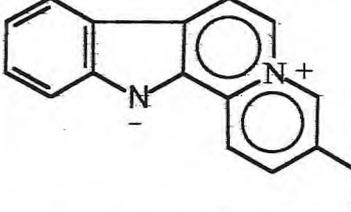
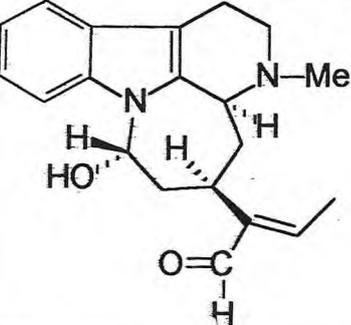
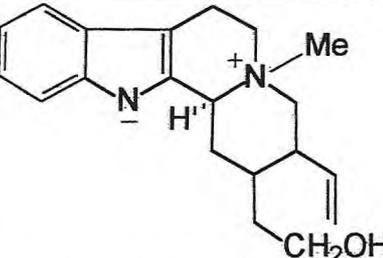
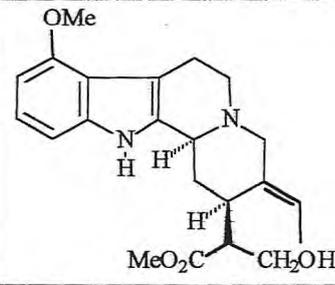
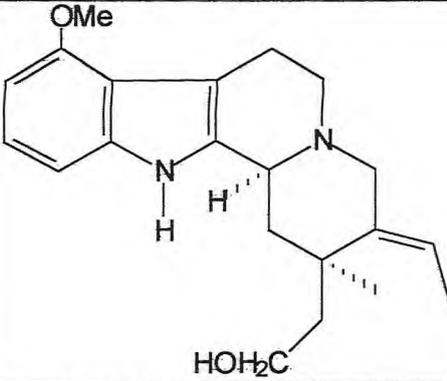
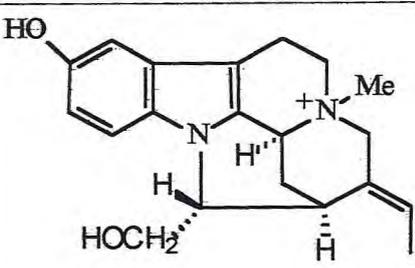
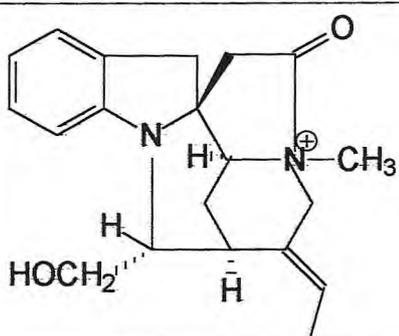
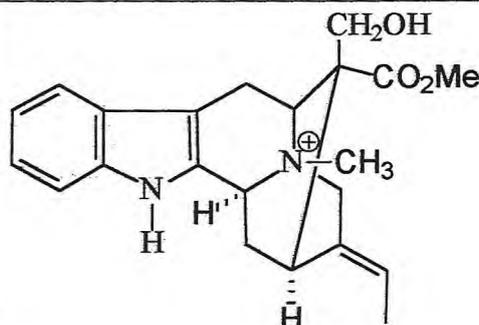
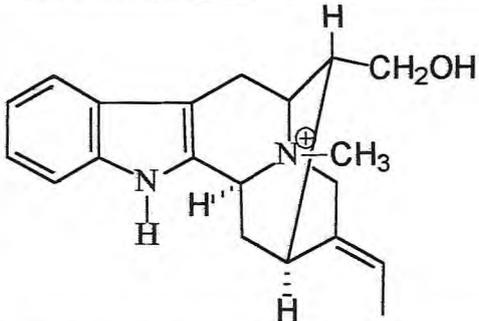
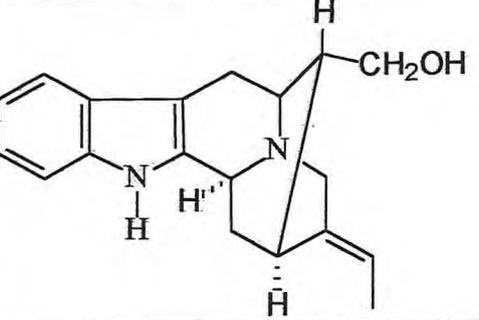
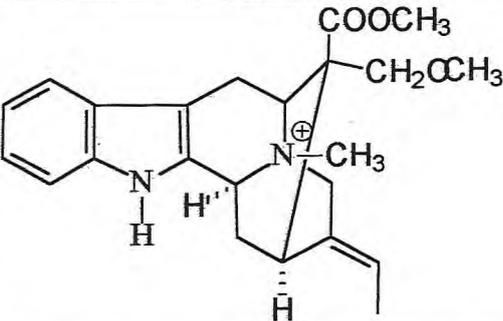
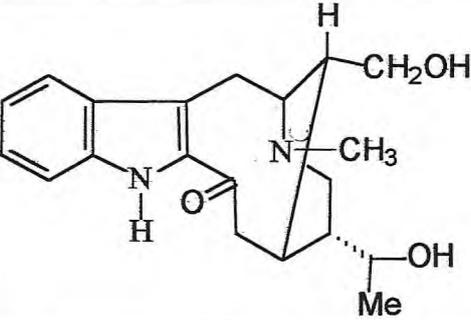
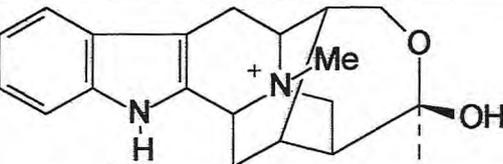
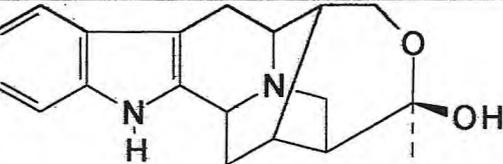


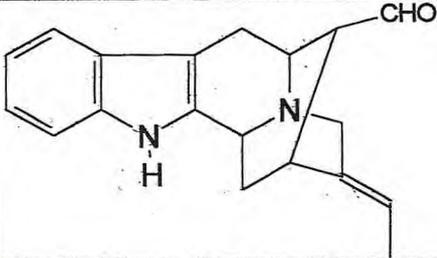
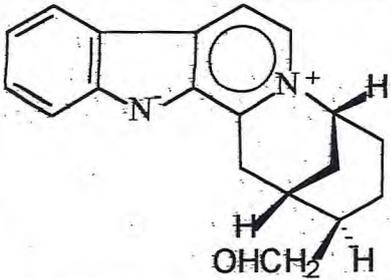
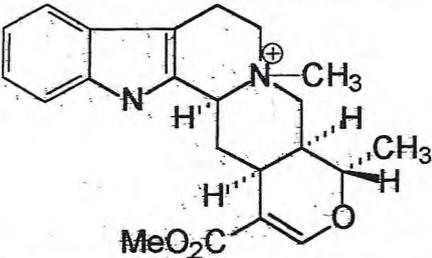
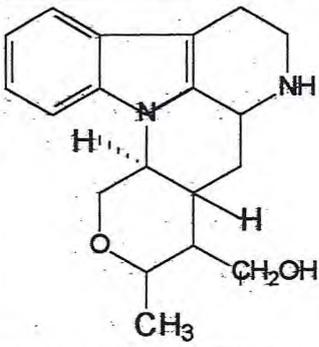
Figura 1.4. Cromóforos característicos de alcalóides de *Strychnos*

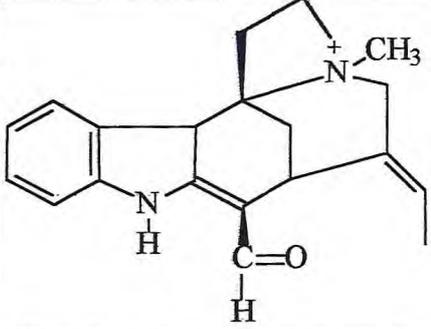
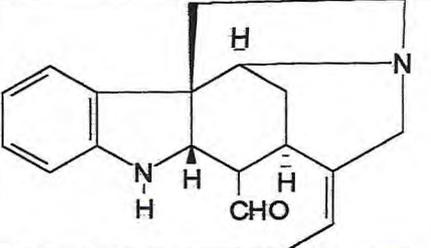
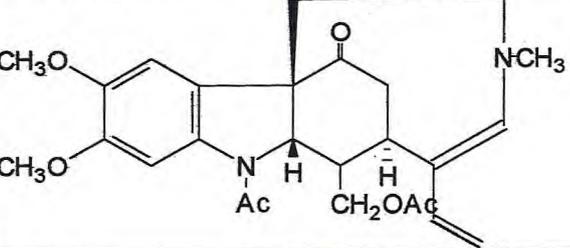
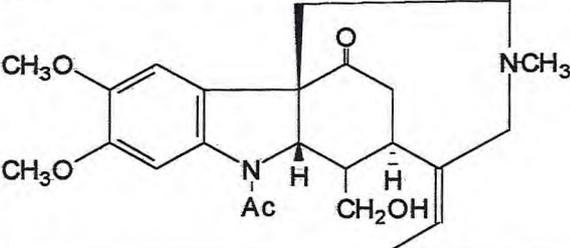
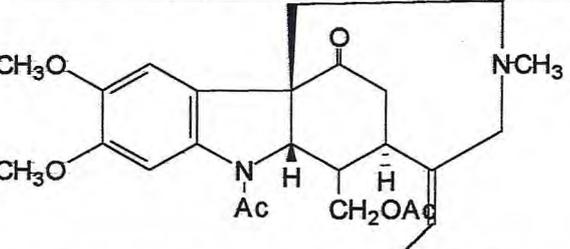
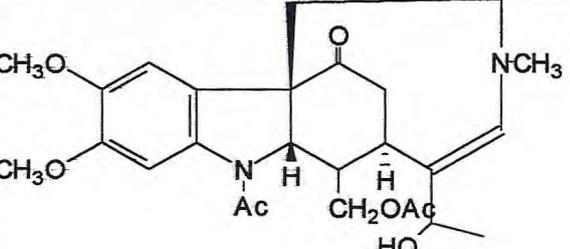
**Quadro 1.5.** Alcaloides de *Strychnos americanas*

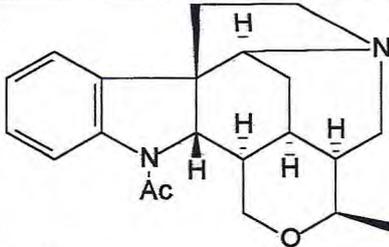
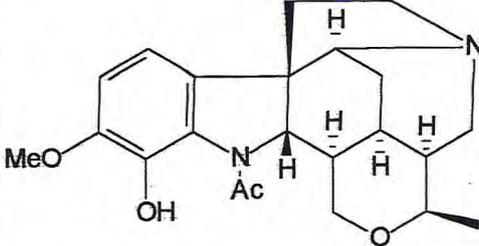
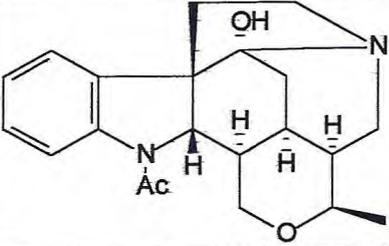
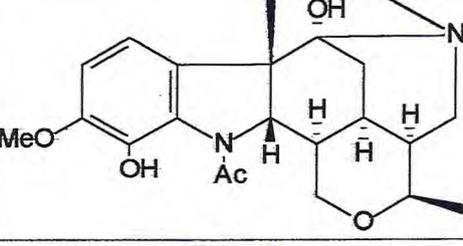
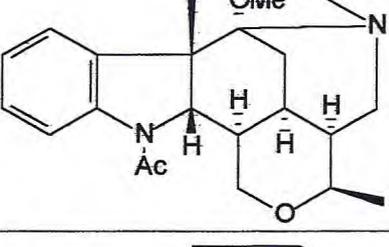
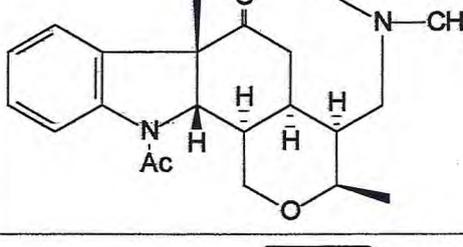
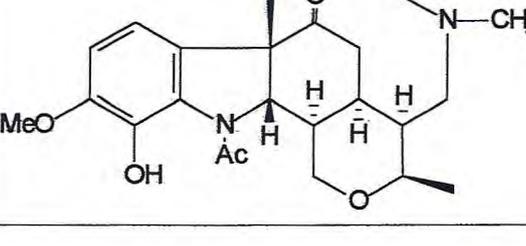
Grupo	Tipo/alcalóides	Estrutura	Espécie	Ref.
Não triptamínico	C-calebassinina		<i>S.solimoesana</i>	50
Beta-carbólico	Harmano/Harmano		<i>S.guianensis</i>	*
	Harmano/ nor-Harmano		<i>S.barnhartiana</i>	21
	Harmano/Melinonina F		<i>S.melinoniana</i>	51
	Indolo quinolizidina/Flavope reirina=Melinonina G			51
Grupo II	Acagerina/Acagerina		<i>S.gardneri</i> <i>S.jobertiana</i> <i>S.parvifolia</i>	52 21 21
	Corinante/ Melinonina B		<i>S.melinoniana</i>	53

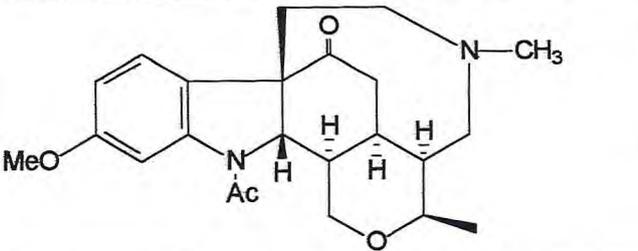
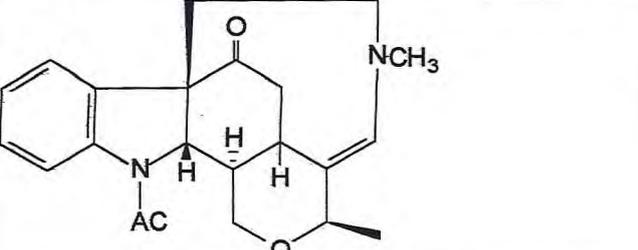
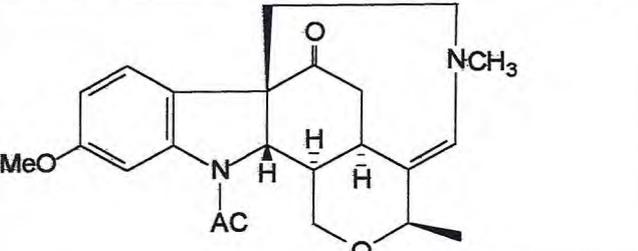
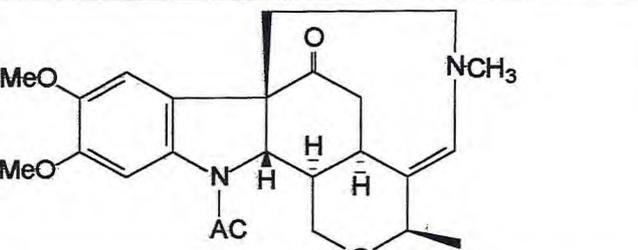
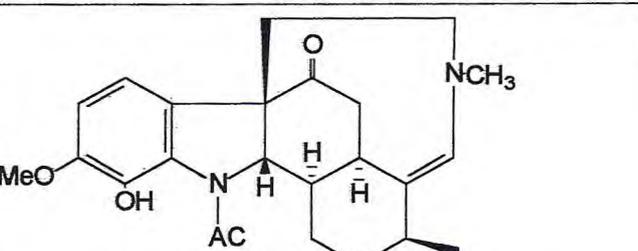
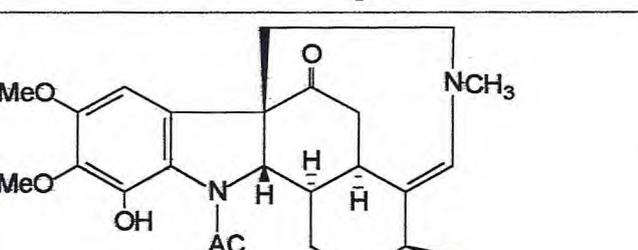
	Corinante/ Estricnorubigina		<i>S. rubiginosa</i>	54
	Corinante/ 9- metoxigeissoschizol		<i>S. guianensis</i>	9
Grupo III	Mavacurina /C-Mavacurina		<i>S. parvifolia</i> <i>S. toxifera</i> <i>S. macrophyla</i> <i>S. mitscherlichii</i> var. <i>amapensis</i> <i>S. subcordata</i> <i>S. divaricans</i> <i>S. melinoniana</i> <i>S. amazônica</i> <i>S. froesi</i>	44 55 56 57 58 59 58 51 60 60
	Mavacurina/- Fluorocurina= C- mavacurina - pseudoindoxil		<i>S. macrophyla</i> <i>S. mitscherlichii</i> var. <i>amapensis</i> <i>S. subcordata</i> <i>S. melinoniana</i> <i>S. toxifera</i> <i>S. panamensis</i> <i>S. solimoesana</i>	56 57 58 59 51 55 61 50
	Macusina/Macusina A		<i>S. toxifera</i>	55

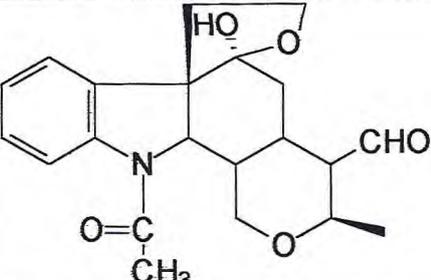
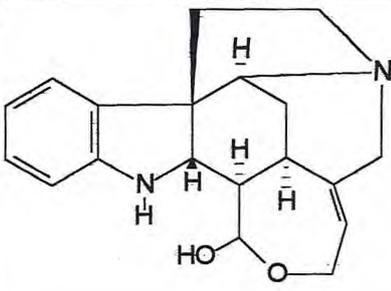
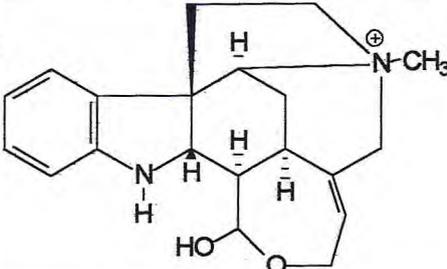
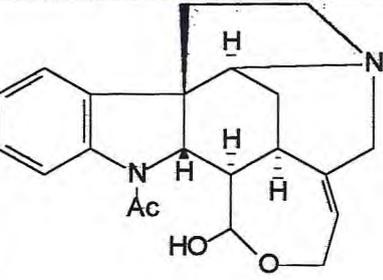
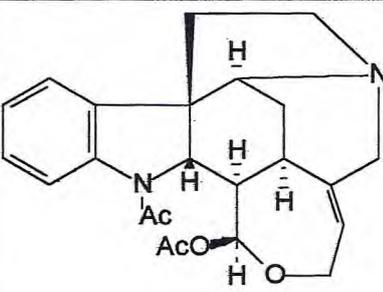
	Macusina/Macusina B		<i>S. toxifera</i> <i>S. amazonica</i>	62 63 60 64
	Macusina/Nor-Macusina B		<i>S. medeola</i> <i>S. rubiginosa</i>  <i>S. trinervis</i> <i>S. atlantica</i>	65 66  67 68
	Macusina/Macusina C		<i>S. toxifera</i>	62 63
	Macusina/Ericsonina		<i>S. erichsonii</i>	69
	Macusina/Venecurina		Curare venezuelano	70
	Macusina/Trinervina		<i>S. trinervis</i>	71

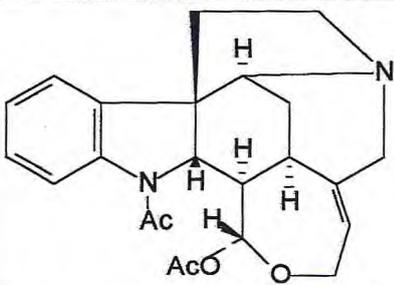
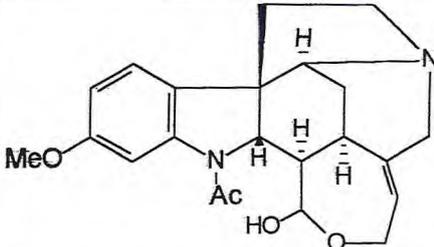
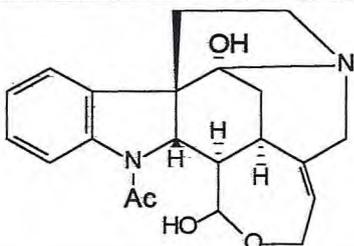
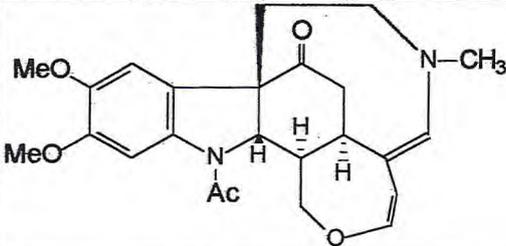
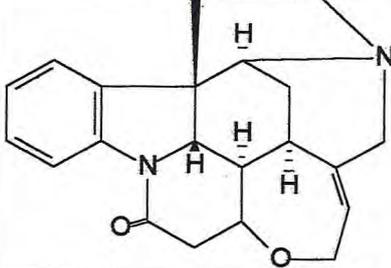
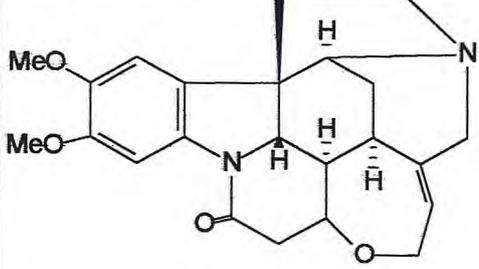
	Macusina/ Velosimina		<i>S.divaricans</i>	72
	Ioimbina/Melinonina E		<i>S.melinoniana</i>	73
	Ajmalicina/ Melinonina A		<i>S.melinoniana</i>	63
Grupo III	Estricnohirsutina/ estricnohirsutina		<i>S.hirsuta</i>	64 74
	Estricnohirsutina/3,4, 5,6-tetrahidroestricnohirsutina		<i>S.hirsuta</i>	54 74

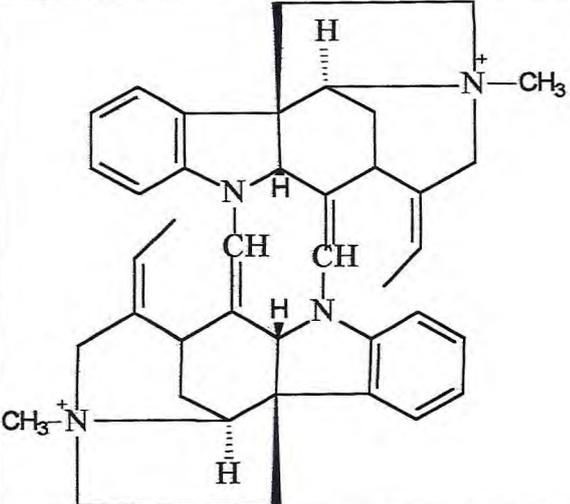
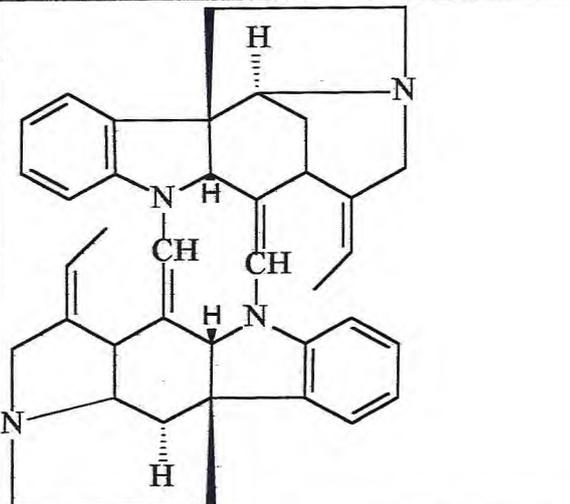
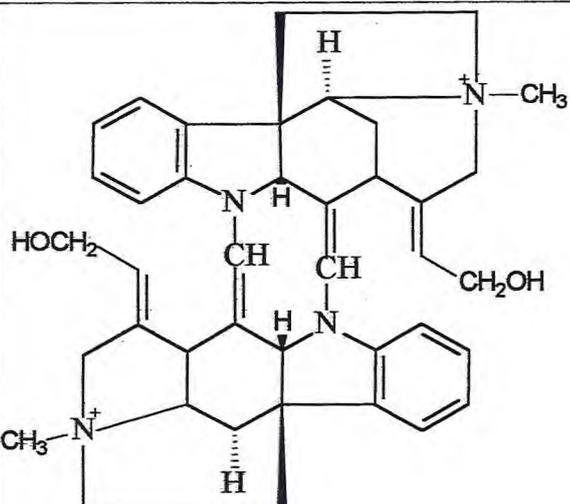
Grupo IV	Retulina/ Série Normal/C-Fluocurarina=Curarina III		<i>S. trinervis</i> <i>S. parvifolia</i> <i>S. divaricans</i> <i>S. subcordata</i> <i>S. solimoesana</i> <i>S. tomentosa</i>	67 44 58 59 50 75
	Retulina/Normal/Nor dihidro fluorocurarina=18-desoxialdeído		<i>S. amazonica</i> <i>S. froesii</i>	60 60
	Retulina/N-Metil-secpseudo/Estricnosilina		<i>S. brasiliensis</i> <i>S. alvimiana</i>	76 77
	Retulina/Série N-Metil-sec pseudo/Tabascanina		<i>S. tabascanina</i> <i>S. alvimiana</i>	78 77
	Retulina/série N-Metilsecpseudo/Estricnosilidina		<i>S. tabascanina</i> <i>S. alvimiana</i> <i>S. brasiliensis</i>	78 77 76
	Retulina/série N-Metil=secpseudo/Alvimina		<i>S. alvimiana</i>	77

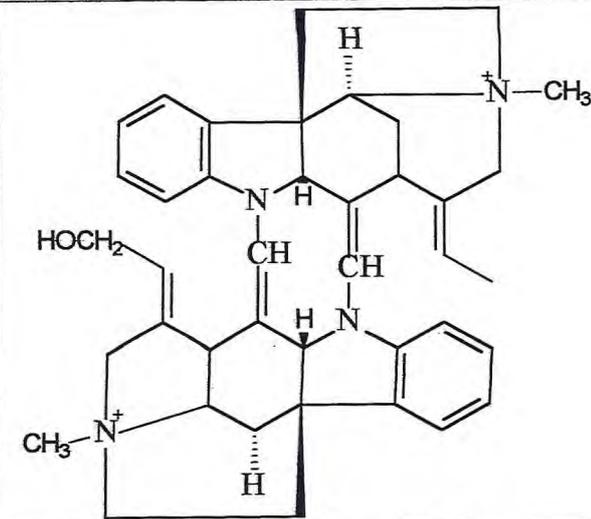
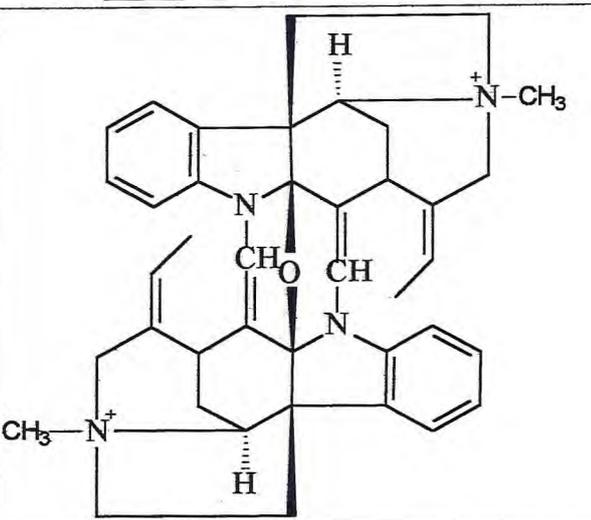
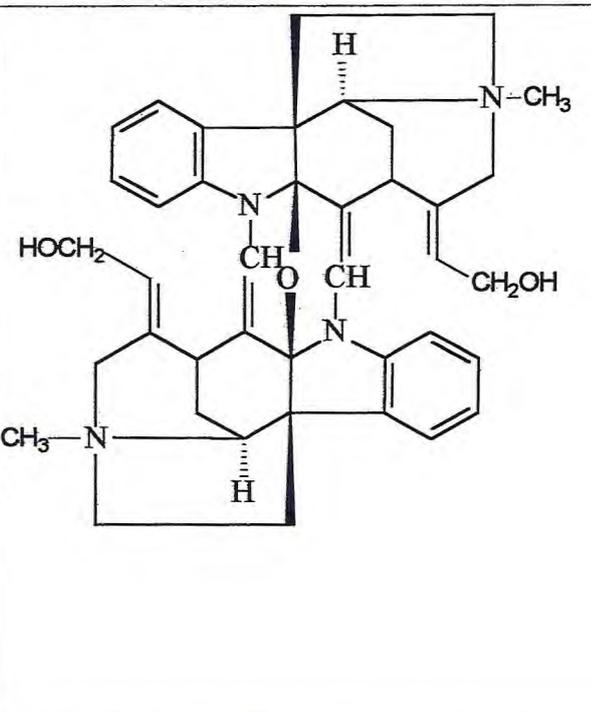
Grupo V	Espermoestricnina/Série Normal/Espermoestricnina		<i>S. brasiliensis</i> <i>S. fendleri</i>	76 79
	Espermoestricnina/Série Normal/ 12-hidroxi-11-metoxi-espermoestricnina		<i>S. brasiliensis</i>	76
	Espermoestricnina/Série pseudo/N-acetilestricnoesplendina		<i>S. fendleri</i>	79
	N-Acetil-12-hidroxi-11-metoxiestricnoesplendina		<i>S. fendleri</i>	79
	Espermoestricnina/Série pseudo/N-Acetil-3-metoxiestricnoesplendina		<i>S. tabascana</i>	78
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/Estricnofendlerina		<i>S. fendleri</i>	79
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/12-Hidroxi-11-metoxiestricnofendlerina		<i>S. fendleri</i>	79

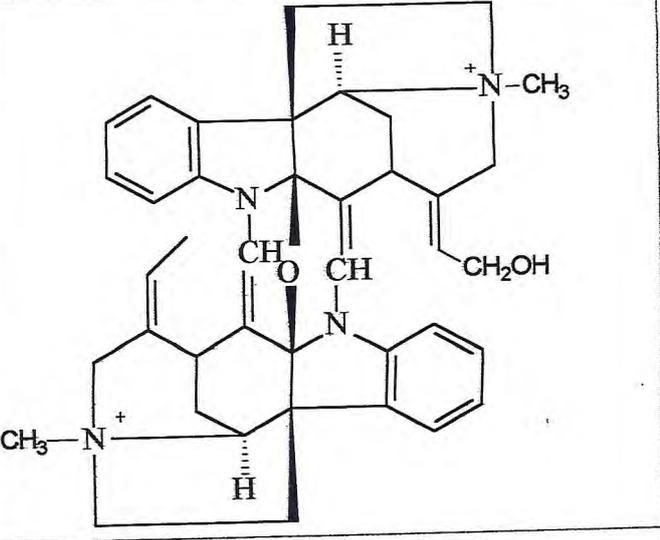
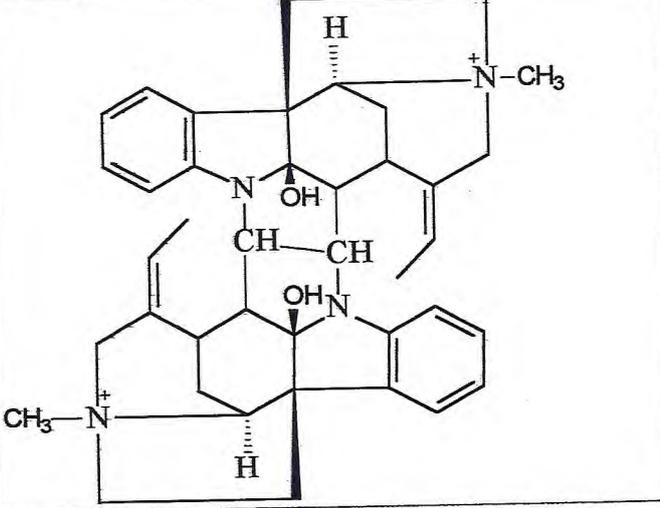
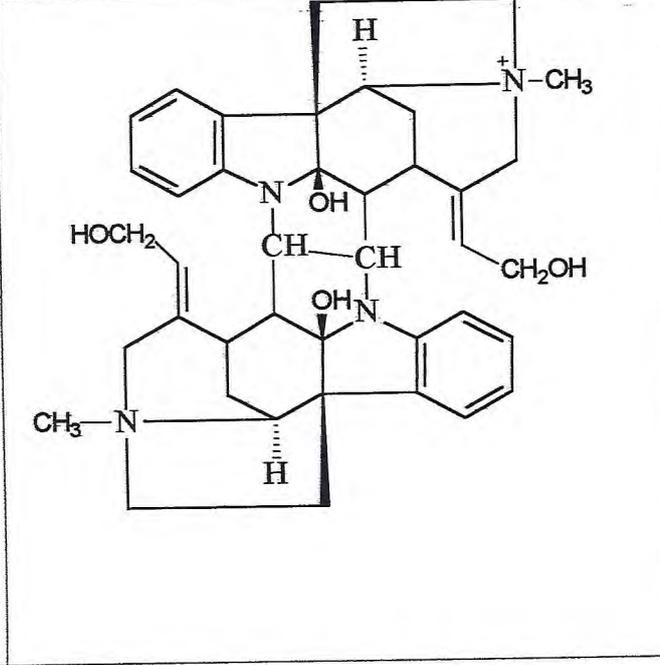
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/11-Metoxiestricnofendlerina		<i>S.fendleri</i>	80
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/Estricnobrasilina		<i>S.tabascana</i> <i>S.brasiliensis</i> <i>S.alvimiana</i> <i>S.mattogrossensis</i>	78 76 77 7
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/11-metoxiestricnobrasilina		<i>S.tabascana</i>	78
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/10, 11-dimetoxiestricnobrasilina		<i>S.brasiliensis</i>	76
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/ 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina		<i>S.brasiliensis</i> <i>S.mattogrossensis</i>	76 7
	Espermoestricnina/Série N-Metil-secpseudo/ 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina		<i>S.mattogrossensis</i>	*

	Espermoestricina/Série N-Metil-secpseudo com degradação do anel C/mattogrossina		<i>S. mattogrossensis</i>	7
	Diabolina/Normal/Cara curina VII= Aldeído de Wieland Gumlich		<i>S. diaboli</i> <i>S. froesii</i> <i>S. rondeletioides</i> <i>S. toxifera</i> <i>S. sandwithiana</i> <i>S. solerederi</i> <i>S. subcordata</i> <i>S. brachiata</i>	81 82 60 83 55 44 44 59 64
	Diabolina/Série Normal/Hemitoxiferina		<i>S. toxifera</i>	62
	Diabolina/Série Normal/Diabolina		<i>S. chlorantha</i> <i>S. rodolentioides</i> <i>S. diaboli</i> <i>S. jobertiana</i> <i>S. solerederi</i> <i>S. castelnaeana</i> <i>S. fendleri</i> <i>S. erichsonii</i> <i>S. solimoesana</i> <i>S. froesii</i> <i>S. panamensis</i> <i>S. pseudoquina</i>	84 85 82 83 44 85 78 69 54 60 61 86
	Diabolina/Série Normal/Heningsamina =O-acetildiabolina A		<i>S. fendleri</i> <i>S. chlorantha</i> <i>S. jobertiana</i>	78 84 83

	Diabolina/Série Normal/Jobertina =O-acetildiabolina B		<i>S. jobertiana</i> <i>S. castelnaeana</i>	83 85
	Diabolina/Série Normal/ 11-Metoxidiabolina		<i>S. romeu-belenii</i> <i>S. brachiata</i> <i>S. amazônica</i> <i>S. gardneri</i> <i>S. medeola</i> <i>S. pseudoquina</i> <i>S. rubiginosa</i>	87 64 60 52 65 86 66
	Diabolina/Série Pseudo/ 3-hidroxi-diabolina		<i>S. castelnaeana</i>	85
	Diabolina/Série N-Metil-secpseudo/Alviminina		<i>S. alvimiana</i>	77
Grupo VI	Estricnina/ Estricnina		<i>S. panamensis</i>	88
	Estricnina/brucina		<i>S. panamensis</i>	88

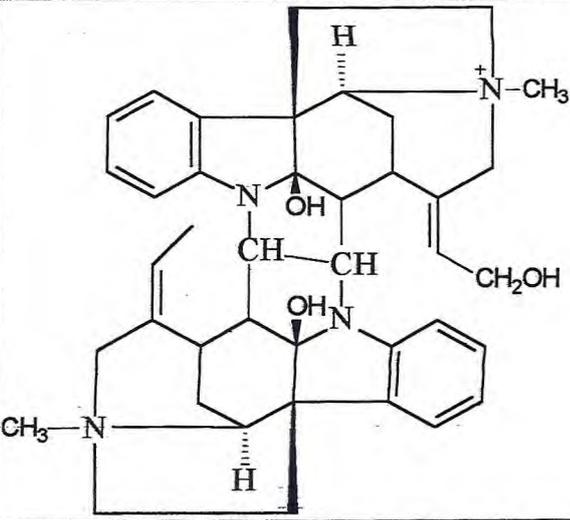
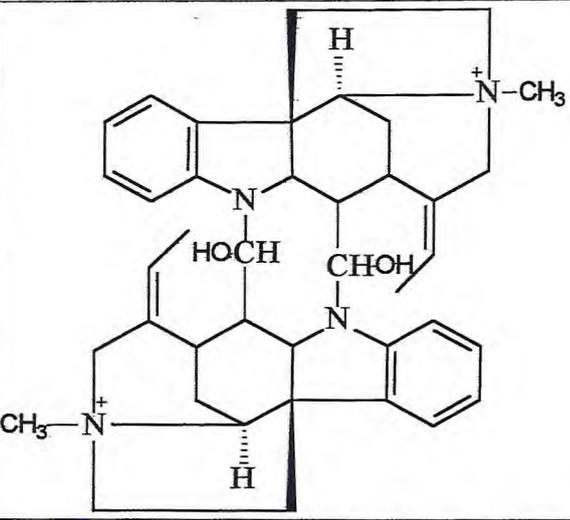
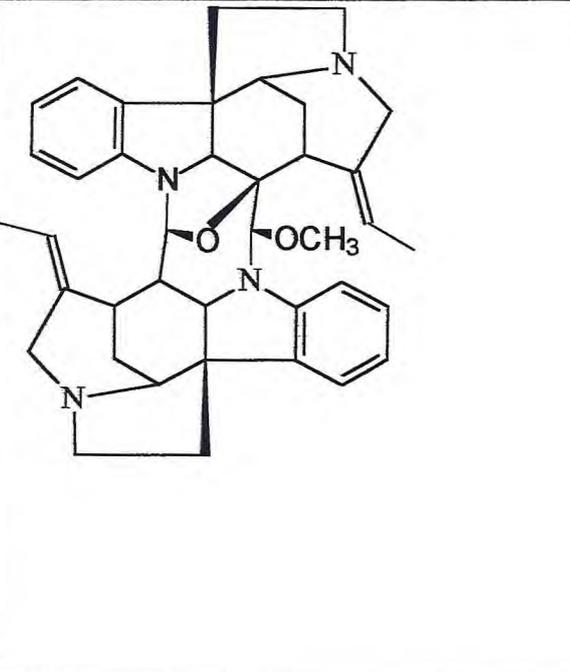
<p>Grupo VII</p>	<p>Retulina/ C-Dihidrotoxiferina=C-Alcalóide K</p>		<p><i>S.toxiferna</i> <i>S.trinervis</i> <i>S.panamensis</i> <i>S.froesii</i></p>	<p>89 67 61 60</p>
	<p>Retulina/ Bisnordihidrotoxiferina</p>		<p><i>S.toxifera</i> <i>S.pseudoquina</i> <i>S.trinervis</i></p>	<p>89 90</p>
	<p>Retulina/ C-Toxiferina-I</p>		<p><i>S.toxifera</i> <i>S.tomentosa</i> <i>S.froesii</i></p>	<p>59 75 60</p>

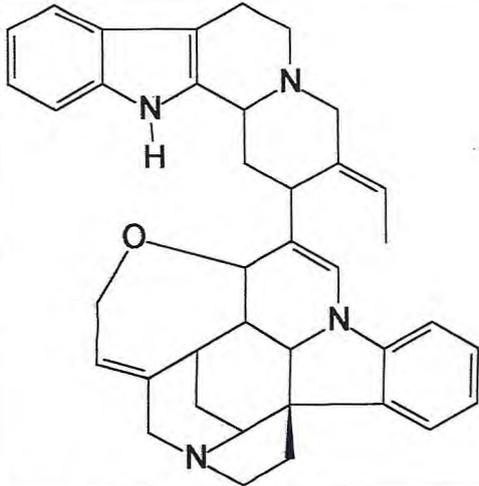
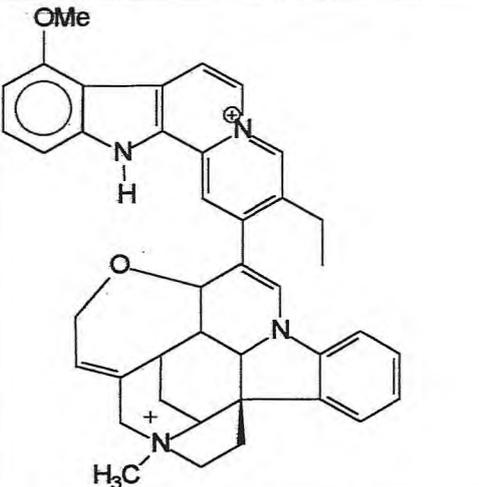
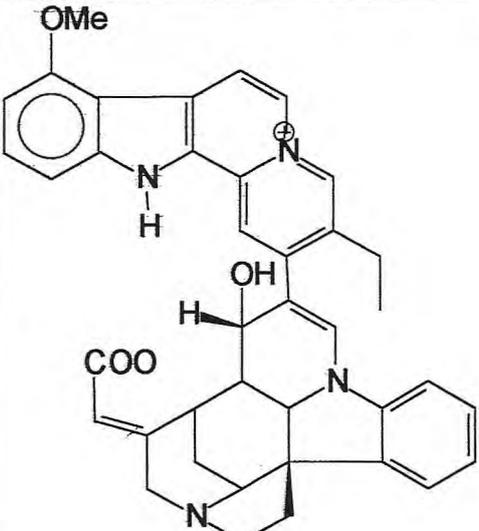
Retulina/C-Alcaloide H	 <p>The structure shows a complex polycyclic alkaloid core. It features two quaternary nitrogen atoms, each bonded to a methyl group (CH<sub>3</sub>-N<sup>+</sup>). The core is substituted with two benzene rings, two imine groups (CH=N), and a hydroxymethyl group (HOCH<sub>2</sub>) attached to one of the imine carbons. Stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds.</p>	<i>S. trinervis</i>	64
Retulina/C-Curarina I	 <p>The structure is similar to the first one but lacks the hydroxymethyl group. Instead, it has a formyl group (CHO) attached to one of the imine carbons. The rest of the polycyclic core, including the quaternary nitrogens and benzene rings, remains the same.</p>	<i>S. trinervis</i> <i>S. froesii</i> <i>S. divaricans</i> <i>S. tomentosa</i> <i>S. solimoesana</i> <i>S. guianensis</i> <i>S. gardneri</i>	64 75 56 75 50 44 44
Retulina/Alcaloide E	 <p>The structure is similar to the second one but has a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH) attached to the other imine carbon instead of a formyl group. The rest of the polycyclic core is identical.</p>	<i>S. solimoesana</i> <i>S. tomentosa</i> <i>S. froesii</i>	60 75 75

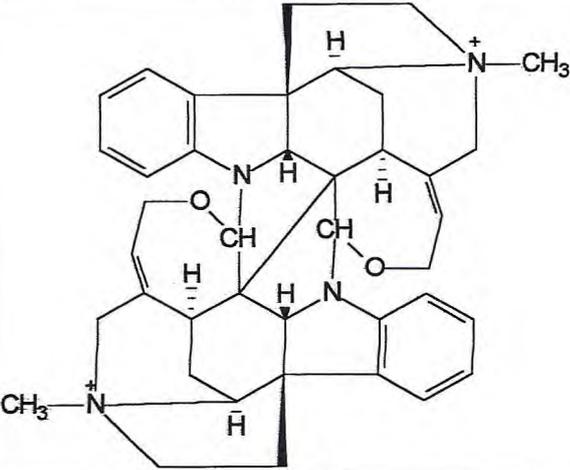
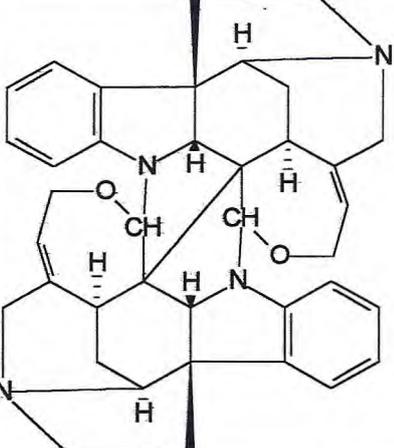
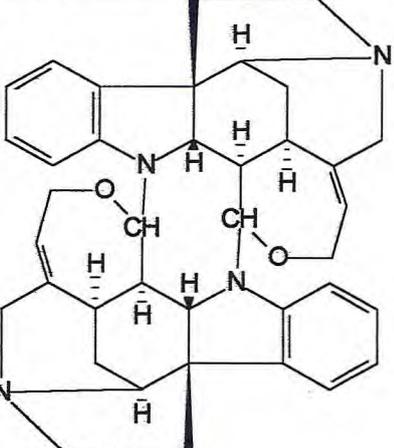
Retulina/C-Alcalóide G		 <p>The structure shows a complex polycyclic alkaloid with two piperidine rings and two indole-like rings. It features a central carbon atom bonded to a hydrogen atom (dashed bond), a methylammonium group (N-CH3, solid wedge), a carbonyl group (C=O), and a methylene group (CH). Other substituents include a hydroxymethyl group (CH2OH), a methylammonium group (N-CH3, solid wedge), and a hydrogen atom (dashed bond).</p>	<i>S.panamensis</i> <i>S.solimoesana</i>	61 50
Retulina/C- Calebassina=C- toxiferina II		 <p>The structure is similar to the first one but lacks the carbonyl group. Instead, it has a hydroxyl group (OH) on the central carbon, which is also bonded to a hydrogen atom (dashed bond), a methylammonium group (N-CH3, solid wedge), and a methylene group (CH). Other substituents include a hydroxyl group (OH), a methylammonium group (N-CH3, solid wedge), and a hydrogen atom (dashed bond).</p>	<i>S.trinervis</i> <i>S.solimoesana</i> <i>S.divaricans</i> <i>S.mitscherlichii</i> var. <i>amap.</i> <i>S.parvifolia</i>	67 50 58 58 44
Retulina/C-Alcaloide A		 <p>The structure is similar to the second one but has a hydroxymethyl group (HOCH2) on the left side of the central carbon. The central carbon is bonded to a hydrogen atom (dashed bond), a methylammonium group (N-CH3, solid wedge), a methylene group (CH), and a hydroxyl group (OH). Other substituents include a hydroxyl group (OH), a methylammonium group (N-CH3, solid wedge), and a hydrogen atom (dashed bond).</p>	<i>S.toxifera</i>	55

R13840748

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
 BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

Retulina/C-Alcaloide F	 <p>The structure shows a complex polycyclic alkaloid with a central ring system. It features a quaternary nitrogen atom (N-CH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> at the top right, a secondary nitrogen atom (N-CH<sub>3</sub>) at the bottom left, and another secondary nitrogen atom (N) at the bottom right. The central ring has a hydroxyl group (OH) and a hydrogen atom (H) attached to it. The side chains include a vinyl group (CH=CH<sub>2</sub>), a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH), and a methyl group (CH<sub>3</sub>).</p>	<i>S. panamensis</i> <i>S. solimoesana</i> <i>S. mitscherlichii</i> var. <i>amap.</i>	61 50 58
Retulina/C-Alcaloide D	 <p>The structure is similar to the one above but with different substituents. It features a quaternary nitrogen atom (N-CH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> at the top right, a secondary nitrogen atom (N-CH<sub>3</sub>) at the bottom left, and another secondary nitrogen atom (N) at the bottom right. The central ring has a hydroxyl group (OH) and a hydrogen atom (H) attached to it. The side chains include a vinyl group (CH=CH<sub>2</sub>), a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH), and a methyl group (CH<sub>3</sub>).</p>	<i>S. solimoesana</i> <i>S. mitscherlichii</i> var. <i>amapensis</i> <i>S. castelnaeana</i>	50 58 85
Retulina/Divarina	 <p>The structure shows a complex polycyclic alkaloid with a central ring system. It features a quaternary nitrogen atom (N-CH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> at the top right, a secondary nitrogen atom (N-CH<sub>3</sub>) at the bottom left, and another secondary nitrogen atom (N) at the bottom right. The central ring has a hydroxyl group (OH) and a hydrogen atom (H) attached to it. The side chains include a vinyl group (CH=CH<sub>2</sub>), a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH), and a methyl group (CH<sub>3</sub>).</p>	<i>S. divaricans</i>	91

<p>Longicaudatina /Longicaudatina</p>		<p><i>S. atlantica</i> <i>S. cogens</i> <i>S. trinervis</i></p>	<p>68 * 71</p>
<p>Longicaudatina /Guiaflavina</p>		<p><i>S. guianensis</i></p>	<p>10</p>
<p>Longicaudatina /Guianensina</p>		<p><i>S. guianensis</i></p>	<p>8</p>

<p><b>Diabolina/Toxiferina IX</b></p>	 <p>The structure shows a complex polycyclic alkaloid with a central core of fused rings. It features two quaternary nitrogen atoms, one of which is methylated (N-CH<sub>3</sub><sup>+</sup>). There are two ether linkages (C-O-C) and two phenyl rings attached to the system. Stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds.</p>	<p><i>S.toxifera</i></p>	<p>92</p>
<p><b>Diabolina/CaracurinaII</b></p>	 <p>This structure is similar to Diabolina IX but lacks the methylated quaternary nitrogen. It features a secondary amine (NH) and the same polycyclic core, ether linkages, and phenyl substituents.</p>	<p><i>S.toxifera</i></p>	<p>55</p>
<p><b>Diabolina /Caracurina V</b></p>	 <p>This structure is identical to Diabolina/Caracurina II, showing the same polycyclic alkaloid core with a secondary amine and two ether linkages.</p>	<p><i>S.toxifera</i></p>	<p>55</p>

#### 1.4. Aspectos farmacológicos dos alcalóides de *Strychnos*

Os estudos farmacológicos de *Strychnos* se concentraram na principal classe de substância encontrada no táxon, os alcalóides. As ações farmacológicas mais investigadas são as convulsivantes e curarizantes, embora outros efeitos biológicos tenham sido registrados, como as atividades antitumor, hipotensiva, amebicida, antimicrobiana etc. Recentemente, as pesquisas também vem sendo dirigidas para ações anticâncer e antipalúdicas.

##### 1.4.1 Efeitos convulsivantes de alcalóides tipo estricnina ( Figura 1.3 e Quadro 1.5)

A estricnina foi isolada em 1819, de *S. ignatii* e *S. nux-vomica* por Pelletier e Caventou (94). Suas atividades biológicas foram logo reconhecidas e aplicadas (poderoso raticida), mas, sua determinação estrutural se constituiu numa das mais memoráveis "batalhas" da química Orgânica, estendendo-se por mais de um século, envolvendo químicos famosos (Lechs, Robinson, Perkin e seus colaboradores) e chegando a termo, somente em 1948 (95) Identificada como princípio ativo das espécies de *Strychnos* utilizados como venenos de flechas tetanizantes, foi também isolada de outras espécies asiáticas, da espécie africana *S. icajá* e da espécie americana *S. panamensis*. Seu uso atual em medicina é limitado, porém é considerada como um dos instrumentos mais valiosos para o estudo da inibição do Sistema Nervoso Central (SNC). Este composto, que é o protótipo dos alcalóides de ação convulsivante, bloqueia os efeitos inibidores da glicina, ligando-se aos seus receptores.

Os alcalóides de *Strychnos* possuem propriedades convulsivantes em maior ou menor extensão, de acordo com as modificações moleculares em relação à estricnina, enquadrando-se em quatro grupos ( Figura 1.3 e Quadro 1.5)): a) Alcalóides tipo estricnina das séries normal e pseudo b); Alcalóides tipo estricnina da série N-Metil-sec-pseudo; c) Alcalóides tipo diabolina d) Alcalóides tipo espermoestricnina.

a) Alcalóides tipo estricnina das séries normal e pseudo.

Substituições no anel aromático, nas posições 10 ou 11 por grupos OH e MeO diminuem a atividade, acentuando-se o decréscimo quando ocorrem substituições em

ambas as posições. A 12-hidroxiestricnina apresenta atividade quase equivalente a da estricnina, devido a formação de uma ponte de hidrogênio entre a hidroxila fenólica e a carbonila amídica, que implica na diminuição da disponibilidade eletrônica do substituinte introduzido, resultando em adsorvidades semelhantes para as duas moléculas. A presença da hidroxila em C<sub>3</sub>, parece também, não modificar a interação com o receptor, pois a pseudo-estricnina, é quase tão ativa quanto a estricnina. Por outro lado, a saturação da dupla ligação entre C<sub>19</sub>- C<sub>20</sub> atenua a atividade. O N-óxido apresenta decréscimo considerável de atividade, evidenciando a necessidade de um nitrogênio terciário para a ação convulsivante.

b) Alcalóides tipo estricnina da série N-Metil-sec-pseudo

São menos ativos, devido o grupo 3-ceto alterar a estereoquímica da molécula, dificultando a fixação do receptor.

c) Alcalóides tipo diabolina (Quadro 1.5)

A abertura da lactama, presente na estricnina, e a introdução de uma hidroxila em C<sub>17</sub> parecem ter um efeito crucial, causando uma grande diminuição da atividade convulsivante.

d) Alcalóides tipo espermoestricnina (Quadro 1.5)

Suas respostas são análogas às dos alcalóides tipo diabolina.

#### 1.4.2. Ação curarizante

A quaternização do N<sub>6</sub> da estricnina e seus derivados leva ao aparecimento de efeitos mio-relaxantes curarizantes fracos. tais moléculas são mais polares e não conseguem ultrapassar a barreira hematoencefálica, deixando de atingir os sítios do SNC. A atividade curarizante ocorre eletivamente, na junção neuro-muscular impedindo que o impulso nervoso passe ao músculo (96). O agente curarizante inibe a ação da

acetilcolina, mediador químico da transmissão neuromuscular voluntária, combinando-se com os seus receptores, o que resulta na paralisia dos músculos esqueléticos.

Os alcalóides dímeros quaternários têm efeito curarizante efetivo, devido à presença na mesma molécula, de 2 átomos de nitrogênio quaternários situados a uma distância adequada (o máximo de 14,5 Å, para moléculas flexíveis e, aproximadamente, 10 Å para moléculas rígidas). Variações de tamanho e forma da molécula também influenciam esta atividade. Um exemplo elucidativo, é o da *l*-tubocurarina, verificada ser de 20 a 60 vezes, menos ativa que seu estereoisômero *d*-tubocurarina, embora os dois alcalóides possuam a mesma distância (10,3 Å) entre os nitrogênios (16).

Segundo a ação curarizante, os alcalóides dímeros quaternários de *Strychnos* são divididos em 3 grupos: da C-toxiferina I, da C-curarina e da C-calebassina. Os dois primeiros são considerados possuir a estereoquímica mais adequada para a ação curarizante, sendo mais ativos que a *d*-tubocurarina. A C-calebassina é menos ativa que a *d*-tubo curarina, em face da deformação da molécula por uma ponte C-C no anel central, que reduz a distância entre os dois nitrogênios quaternários a 8,6 Å.

#### 1.4.3. Ação Antitumor/ Anticâncer

As atividades de numerosos medicamentos antitumor/anticâncer são devidas à capacidade de interação com pares de bases de DNA, permitida pelo caráter plano das suas moléculas. Entre as substâncias oncolíticas, isoladas que, em maior ou menor grau se enquadram neste tipo de interação, estão: elipticina, serpentina, alstonina, melinonina F, dihidroflavopereirina e sempervirina (97). Destas, somente a melinonina F (Quadro 1.5) foi isolada de espécie americana (51).

Baseados em analogia estrutural com a emetina, um conhecido agente anticâncer de grande toxicidade, que inibe a síntese de proteínas, Angenot e colaboradores chegaram a um grupo de substâncias com esqueleto usambarano, de ação antimetabólica, entre as quais se destacam, 18,19-dihidrousambarina, a estricnofilina e a estricnopentamina, sendo a última mais ativa (4)

O alcalóide mattogrossina, isolado dos galhos finos de *Strychnos mattogrossensis*, possui discreta ação antimetabólica, *in vitro* (98)

#### 1.4.4. Pesquisas de anti-maláricos

A resistência a inseticidas do mosquito *Anopheles*, responsável pela transmissão da malária, e a resistência de linhagens de *Plasmodium* a agentes quimioterápicos como a cloroquina tornam a malária a doença tropical mais espalhada no mundo. As estatísticas revelam que a cada ano 300-500 milhões de pessoas adoecem de malária e alguns milhões morrem, especialmente nos países do Terceiro Mundo, conforme divulgação da International Malaria Foundation na página <http://www.malaria.org>. A maioria dos óbitos é de crianças com menos de 5 anos. No estado do Amazonas a malária é uma doença endêmica, atingindo principalmente as populações do interior do estado e periferia da cidade de Manaus. Avanços nas pesquisas de vacinas contra malária alimentam a expectativa de eliminação da doença em futuro próximo. Entretanto, ainda é reconhecida a necessidade de agentes quimioterápicos. Novas drogas antimaláricas com novas ações estão sendo pesquisadas e os produtos naturais de plantas representam uma fonte alternativa desses esforços.

Pesquisas iniciadas recentemente na Universidade de Liège apontam discreta atividade antimalárica para o alcalóide 10-hidroxiusambarensina e uma maior atividade para a 3',4'-dihidroxusambarensina (99) Testes realizados pelo mesmo grupo, com estricnobraisina, isolada da espécie *S. mattogrossensis*, confirmou ação significativa deste alcalóide em reverter a resistência do *Plasmodium falciparum* ao agente antimalárico cloroquina, confirmando trabalho anterior (5), o qual também detectou ausência de atividade antimalárica intrínseca à estrutura.

O Quadro 1.6 apresenta um resumo dos principais efeitos farmacológicos detectados para os alcalóides de *Strychnos americanas*.

#### 1.5. Atividade biológica de outras classes de substâncias isoladas de espécies *Strychnos americanas*.

Testes biológicos preliminares realizados nos laboratórios da Fiocruz, Rio de Janeiro, com a lignana carbonato de cicloolivil, apresentaram resultados não significativos de sua atividade contra neuroblastoma em camundongos. Olivil e cicloolivil (12) apresentam ação antioxidante, sendo portanto, potenciais agentes

anticâncer. O sitosterol e o estigmasterol têm ação analgésica (13). O triterpeno lupeol possui ação imunossupressora (14)

**Quadro 1.6.** Principais efeitos farmacológicos dos alcalóides de espécies americanas de *Strychnos*

Alcalóides	Efeito farmacológico	Ref.
Dímeros quaternários	Curarizante	44; 16
N-acetil-O-metilestricnoesplendina	Relaxante muscular	100
Acagerina	Convulsivante, citotóxico	16; 4
Bisnordihidrotoxiferna	Espasmolítico	71
	Antimicrobiano, antidiarréico	101; 102
Brucina	Convulsivante	16
Diabolina	Hipotensivo	16
Estricnina	Convulsivante	16
Estricnobrasilina	Reverte a resistência do <i>Plasmodium falciparum</i> à cloroquina	5
Harmano	Inibe a monoamino oxidase,	103
	Citotóxico	104
Longicaudatina	Reserpínico (hipotensivo, tranquilizante)	11
Mattogrossina	Antimitótico	98
Melinonina F	Antimitótico	97
Nor-fluorocurarina ( vincanina)	Convulsivante, analéptico	4
Normacusina B (tombozina)	Hipotensivo, sedativo	4

1.6. Pesquisas anteriores sobre as espécies *S. mattogrossensis*, *S. guianensis* e *S. cogens*

Os estudos fitoquímicos sobre *S. mattogrossensis* (7) concentraram-se nos galhos finos e raiz tendo sido isolados os alcalóides mattogrossina, estricnobrasilina e 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina, das duas partes da planta. Como já citado, o alcalóide mattogrossina apresentou ação antimitótica *in vitro*.

*Strychnos guianensis* é considerada a espécie mais usada como ingrediente principal de curare. Foi descrita em 1783 por Schreber, sob o nome de *Toxicaria americana*, componente do curare de certas tribos de índios do Suriname. Humboldt e Bonpland a chamaram “Bejuco de Mavacure”, considerando-a como um dos principais ingredientes dos curares de Esmeralda, alto Orinoco, Venezuela. Hoehene reportou o uso da espécie em curares dos Nhambiquaras do Rio Juruena, no Mato Grosso. Foi estudada química e farmacologicamente por King, a partir de espécies da Guiana e por Marini-Bettolo, Bovet e colaboradores, através de plantas amazônicas, coletadas por Ducke, nos anos cinquenta. A partir de coleta no estado do Pará, foram isolados das cascas da raiz e do caule os alcalóides: guiacurarina I, II, III, VI, VII, VIII, IX, guiacurina I, II, eritrocurarina I, II e curarina. Da casca do caule de uma trepadeira coletada na estrada do Aleixo, em Manaus, foram isolados os alcalóides: guiacurarina I-VIII e guianina. Outra coleta em Manaus forneceu a urarina. Estes alcalóides foram caracterizados por seus comportamentos em cromatografia em papel, reação cromogênica com o sulfato cérico, e alguns, por seus espectros no UV. Com exceção da C-curarina, nenhum deles possui estrutura determinada (19). Em pesquisas recentes, foram isolados os alcalóides guianensina (9), 9-metoxigeissoschizol (10) e guiaflavina (11), das cascas do caule de *S. guianensis*. Guianensina apresentou UV similar à guiacurarina III, porém o seu R<sub>f</sub> indica substância menos polar.

*Strychnos cogens* foi estudado química e farmacologicamente por Marini-Bettolo, Bovet e seus colaboradores, apresentando fraca ação curarizante e conteúdo alcaloídico mínimo (44). De acordo com os irmãos Schomburg, a espécie serviu de ingrediente do curare dos índios Macuxi, na Guiana, sendo reportado o seu uso no curare da bacia do rio Cuchivero, em Bolívar, na Venezuela (19).

## CAPÍTULO II

### 2. Aspectos quimiosistemáticos do gênero *Strychnos*

A produção de compostos biologicamente ativos por espécies brasileiras famosas na etnomedicina como venenos de flechas, alucinógenos, ictiotóxicos, drogas, estimulantes, perfumes, pigmentos, etc pode ser correlacionada a sua posição filogenética. É característica das Angiospermas, principalmente da subclasse Magnoliidae (*sensu* Cronquist) ou da subclasse Asteridae. Gottlieb (6) destaca que a ocorrência natural de compostos específicos, biologicamente ativos, é condicionada a fatores ecológicos e posições sistemáticas, o que permite construir um sistema capaz de prever a existência e natureza de substâncias, de acordo com os taxa a que pertencem. A posição filogenética do gênero *Strychnos* (16, 106) (Quadro 2.1) aliada a sua história na medicina folclórica o credencia como potencial portador de substâncias biologicamente ativas importantes.

Com base nestas premissas e considerando a falta de estudos quimiosistemáticos no nível de táxons inferiores (gêneros e seções) e as peculiaridades da composição alcaloídica do gênero *Strychnos*, analisou-se as espécies americanas, com os seguintes objetivos :

- Caracterização da produção de alcalóides indoloterpênicos, pertencentes a grupos específicos de esqueletos, por espécies de cada uma de suas seções.
- Verificação da similaridade das espécies que compõem suas três seções em função da presença de alcalóides indoloterpênicos.

QUADRO 2.1 - Posição filogenética do Gênero *Strychnos*

Divisão	Classe	Subclasse	Ordem*	Família	Tribo	Gênero	Seção
Magnoliophyta (Angiospermae)	Magnoliatae (Dicotyledonae)	Asteridae	Gentianales	Loganiaceae	Spigeliae Loganieae <b>Strychneae</b> Gelsemieae Plocospermeae Antonieae Buddlejeae Retzieae Potalieae Desfontainieae	<i>Gardneria</i> <i>Neuburgia</i> <b><i>Strychnos</i></b>	<b>Strychnos</b> <b>Rouhamon</b> <b>Breviflorae</b> Penicillatae Aculeatae Spinosae Brevitubae Lanigerae Phaeotrichae Densiflorae Dolichanthae Scyphostrychnos

Obs. A posição das Seções de **Strychnos** americanas é destacada em negrito.

## 2. 1 Alcalóides indólicos como marcadores quimiosistemáticos

Um resumo panorama das pesquisas sobre alcalóides indólicos como marcadores quimiosistemáticos revela que o número de estruturas conhecidas chega hoje a mais de 2000 (107) e que, segundo suas características estruturais, podem ser divididos em duas classes principais:

- Alcalóides indólicos simples, contendo somente o núcleo indólico. Enquadram-se nesta classe, derivados do triptofano, como a triptamina, serotonina e alcalóides  $\beta$ -carbolínicos, tipo harmano. Apresentam ocorrência dispersa e menos característica, do ponto de vista quimiosistemático.
- Alcalóides indoloterpênicos, derivados da triptamina ou triptofano (parte indólica) e da secologanina (unidade C9 ou C10 monoterpênica). Estes têm distribuição específica e são biogeneticamente interrelacionados, constituindo-se por isso, em adequado veículo para investigações quimiosistemáticas.

Os alcalóides indoloterpênicos ocorrem principalmente (108) em 3 famílias da ordem Gentianales: Rubiaceae, Apocynaceae e Loganiaceae .

Baseado em pesquisa na literatura e considerando as sequências biogenéticas destes alcalóides, Rocha (108), da escola de quimiosistemática de Gottlieb, construiu uma tabela (mapa biogenético), onde onze esqueletos básicos são dispostos na 1ª linha das colunas, de acordo com o número de passos reacionais que os afasta do esqueleto precursor, considerado estar na posição 1. Estes esqueletos apresentam derivados oxigenados, situados nas respectivas colunas, em ordem de crescente complexidade ou número de oxigenações. A ordenação das estruturas permite a visualização dos dois grandes tipos de esqueletos indoloterpênicos: esqueletos com a porção secologanínica não rearranjada (corinante- estricno) e esqueletos com a porção secologanínica rearranjada (iboga e aspidosperma). Em princípio, quanto menos frequente os esqueletos derivados, mais especializada é a via que leva a sua formação. A partir do mapa, Rocha propôs 2 métodos quimiotaxonômicos, um dos quais - de quimiotaxonomia comparada- possibilita o zoneamento de táxons (gêneros e tribos) das três famílias, pela presença de certos esqueletos em determinadas colunas. O outro - de quimiotaxonomia numérica - atribui a cada alcalóide dois índices de probabilidade

relativa de ocorrência (PRO), concernentes a probabilidade relativa de ocorrência do esqueleto (PROx) e probabilidade relativa das oxigenações do sistema indólico. (PROy). A visualização da composição química do táxon é obtida através de diagramas tridimensionais, em que as coordenadas representam determinadas características estruturais. O estágio evolutivo de um gênero é representado por PROs médias, denominadas probabilidades de estágio evolutivo (PEEs). A pontuação em um mapa bidimensional, destas médias, sugere avanços químicos evolutivos relativos e afinidades químicas dos gêneros. Rocha concentrou seus estudos nos gêneros de Apocynaceae.

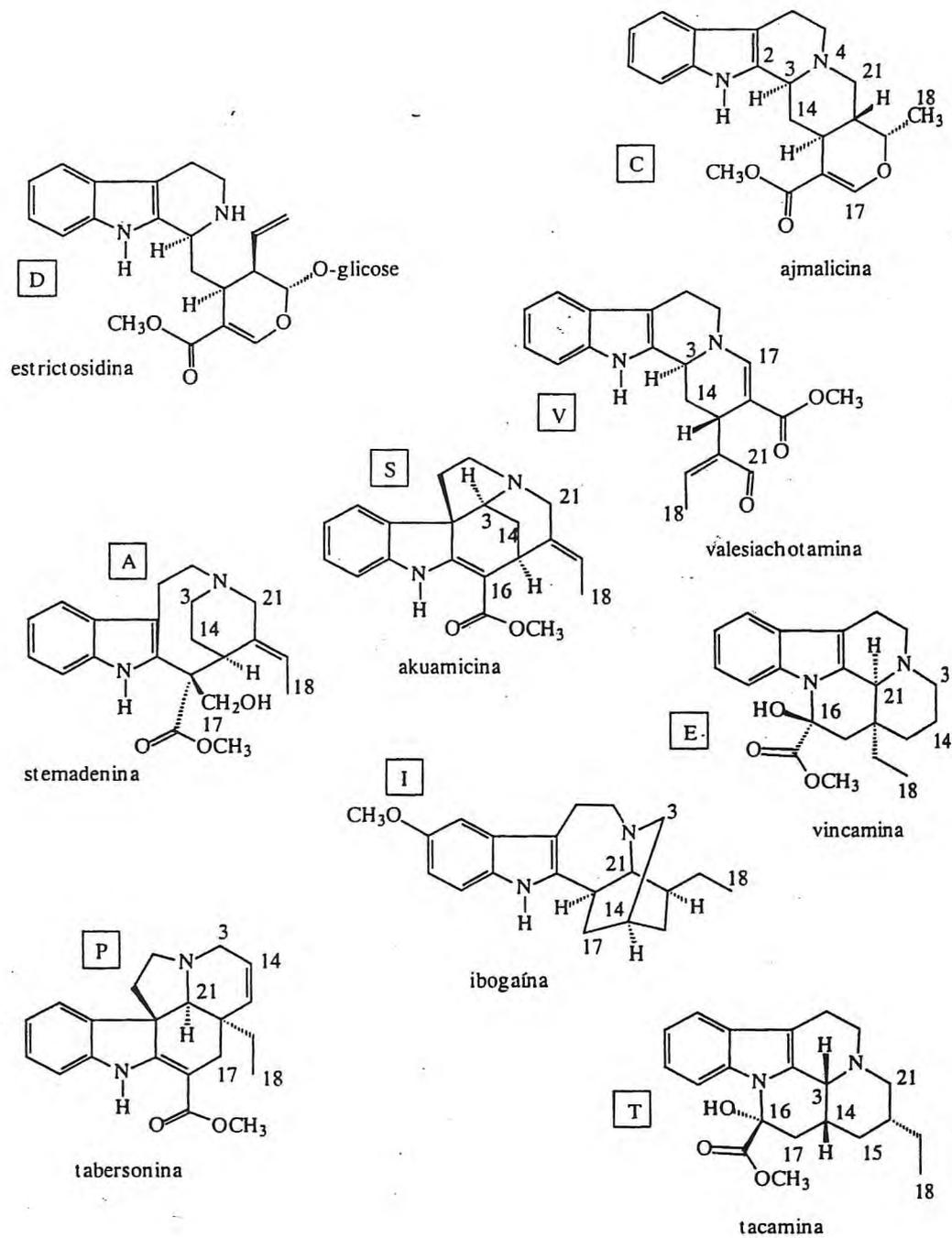
Com base no mapa biogenético citado e ampliando o universo pesquisado, Bolzani (109), substituiu os índices de probabilidades de ocorrências, por valores de especialização referentes a esqueleto (E) e a substituições ou oxidações no esqueleto (O) e calculou parâmetros de avanço evolutivos com relação ao esqueleto (AEe) e à oxidação (AEo), dados pela média destes valores nos táxons, o que possibilitou estudar a evolução e o grau de afinidade química entre eles. Entre as conclusões do estudo de Bolzani (109) destaca-se a de que a especialização, tanto em oxidação como em esqueleto de alcalóides indoloterpênicos, se dá na sequência, Rubiaceae, Apocynaceae, Loganiaceae, na mesma direção do desenvolvimento evolutivo baseado em caracteres morfológicos, segundo conceitos de Sporne (110).

Mais recentemente, Gottlieb (1) e colaboradores apresentaram fórmulas diretas para cálculo de E (especialização do esqueleto) e O (nível de oxidação) e conseqüentemente AEe e AEo (Parâmetros de Avanço Evolutivo), aplicáveis a qualquer nível hierárquico (famílias, gêneros, espécies, etc) o que simplifica e agiliza os estudos quimiotaxonômicos dentro desta linha de pesquisa.

Kisakurek *et al.* (111), estudando a quimiotaxonomia de plantas das famílias Apocynaceae, Loganiaceae e Rubiaceae, classificaram os alcalóides indoloterpênicos em oito classes (C-Corinanteano, D-Vincosano, V-Valesiachotamano, S-Estricniano, A-Aspidospermatano, E-Eburnano, P-Plumerano, I-Ibogano) segundo considerações biogenéticas e o número de etapas necessárias para derivar uma certa variação esquelética, a partir de um composto precursor, ampliando a classificação inicial, proposta por Le Men e Taylor (49) restrita a três classes: ioimbinóide, aspidosperma e

iboga. Recentemente, foram acrescentadas mais três classes por Van Beek ( Tacamano (T), uma classe para os bis-indólicos e outra para os diversos tipos não enquadrados). São conhecidas, atualmente, cerca de 46 subclasses (107). Exemplo de alcalóides de nove classes são apresentados na Figura 2. 1.

Na família Loganiaceae os alcalóides indoloterpênicos estão representados nas tribos Strychneae e Gelsemieae (108), sendo mais frequentes no gênero *Strychnos*, pertencente a primeira. Trabalho de Coune (48), ampliado por Ohiri et al (16) organizou os alcalóides indoloterpênicos de *Strychnos*, em grupos, segundo seu grau de evolução biogenética, determinada pela posição e número de ciclizações na molécula (Fig 2.2), registrando a ocorrência de alcalóides desses grupos, em espécies africanas, com algumas observações sobre aspectos quimiotaxonômicos. A "árvore biogenética" de Coune é descrita sucintamente como segue: o grupo I contém os gluco-alcalóides, onde se enquadra a strictosidina, precursor universal dos alcalóides de *Strychnos* (Ver Cap.VIII, sobre considerações biogenéticas). Os alcalóides trinitrogenados também foram enquadrados neste grupo. A hidrólise do glicosídeo conduz à formação de uma molécula hipotética, muito instável portando duas funções aldeídicas, uma no C-17 e outra no C-21. A condensação de um destes aldeídos com N-1(N<sub>a</sub>) ou N-4 (N<sub>b</sub>) determina a síntese dos alcalóides de 4 ciclos que constituem o grupo II (tipos acagerina,, corinante,, valeisiachotamina). A condensação do C-16 de um alcalóide tipo corinante com diferentes posições conduz aos alcalóides de 4 ciclos do grupo III (tipos mavacurina, macusina, ioimbina, ajmalicina). Os alcalóides do grupo II podem sofrer mudanças profundas em suas estruturas com ciclizações C-2---C-16 e C-3---C-7, formando alcalóides de 5 ciclos, constituindo o grupo IV (tipo retulina) . A partir do grupo IV uma condensação do C-17 com diferentes posições leva aos alcalóides de 6 ciclos que constituem o grupo V (tipos espermoestricnina e diabolina). Enfim, uma nova ciclização entre o C-22 e C-17 fornece os alcalóides de 7 ciclos do grupo VI (tipo estricnina). Os dímeros são colocados junto com os seus monômeros, a exceção das toxiferinas, que parecem um grupo original e homogêneo, que passou a constituir o grupo VII .Na proposta feita posteriormente, por Ohri *et al.* , adotada neste trabalho, o grupo VII abriga todos os dímeros, classificados segundo seus monômeros ou alcalóide modelo. Ohiri *et al* acrescentaram mais 3 grupos, VIII, IX e X , de ocorrência restrita , nenhum deles com representantes em *Strychnos* americanas. O Quadro 1.5 (Capítulo I) apresenta os alcalóides das espécies americanas em seus respectivos grupos.



**Figura 2.1.** Classes de alcalóides indoloterpênicos : C-Corinanteano, D- Vincosano, V- Valesiachotamano, S- Estricnano. A- Aspidospermatano, E- Eburnano, P- Plumerano, I- Ibogano e T -Tacamano (107).

## 2.2 Caracterização da tendência de produção de alcalóides indoloterpênicos, pertencentes a grupos específicos de esqueletos, pelas espécies das seções botânicas.

Para caracterização da tendência de produção de alcalóides indoloterpênicos, pertencentes a grupos específicos de esqueletos, pelas espécies das seções botânicas, escolheu-se a proposta de Coune-Ohiri *et al*, por ser restrita aos tipos de esqueleto e dirigida para o gênero. Aplicou-se a metodologia desenvolvida por Gottlieb (1), utilizando-se como parâmetros, o Número de Ocorrências (NO) e o Número de Ocorrências normalizado (NO<sub>n</sub>).

Número de ocorrências (NO)- é um parâmetro químico que fornece o grau de relevância de uma determinada categoria metabólica para um táxon escolhido. É obtido pelo cômputo do número de substâncias diferentes de uma mesma categoria química registradas na literatura para cada espécie do táxon escolhido. A coincidência de uma mesma substância ser encontrada em diversas espécies é desconsiderada, uma vez que caracteriza a tendência de sua produção no táxon.

A categoria metabólica escolhida foi alcalóides indoloterpênicos dos Grupos de Coune e Ohiri *et al*. (48,16) (Figura 2.2) e os táxons são as seções botânicas Breviflorae, Rouhamon e Strychnos do gênero *Strychnos* da América.

Para padronização do número de ocorrências, dividiu-se NO pelo número de espécies das respectivas seções, obtendo-se NO<sub>n</sub>. NO<sub>n</sub> expressa o número de ocorrências em uma espécie hipotética da seção, representando suas características médias. As seções Rouhamon, Breviflorae e Strychnos possuem respectivamente, 12, 26 e 41 espécies, das quais foram estudadas quimicamente, 5 de Rouhamon, 10 de Breviflorae e 22 de Strychnos, correspondendo a aproximadamente 40 % das duas primeiras e 54 %, da última. A Tabela 2.1 resume os dados obtidos para as 3 seções. Estes resultados podem ser melhor visualizados na Figura 2.3.

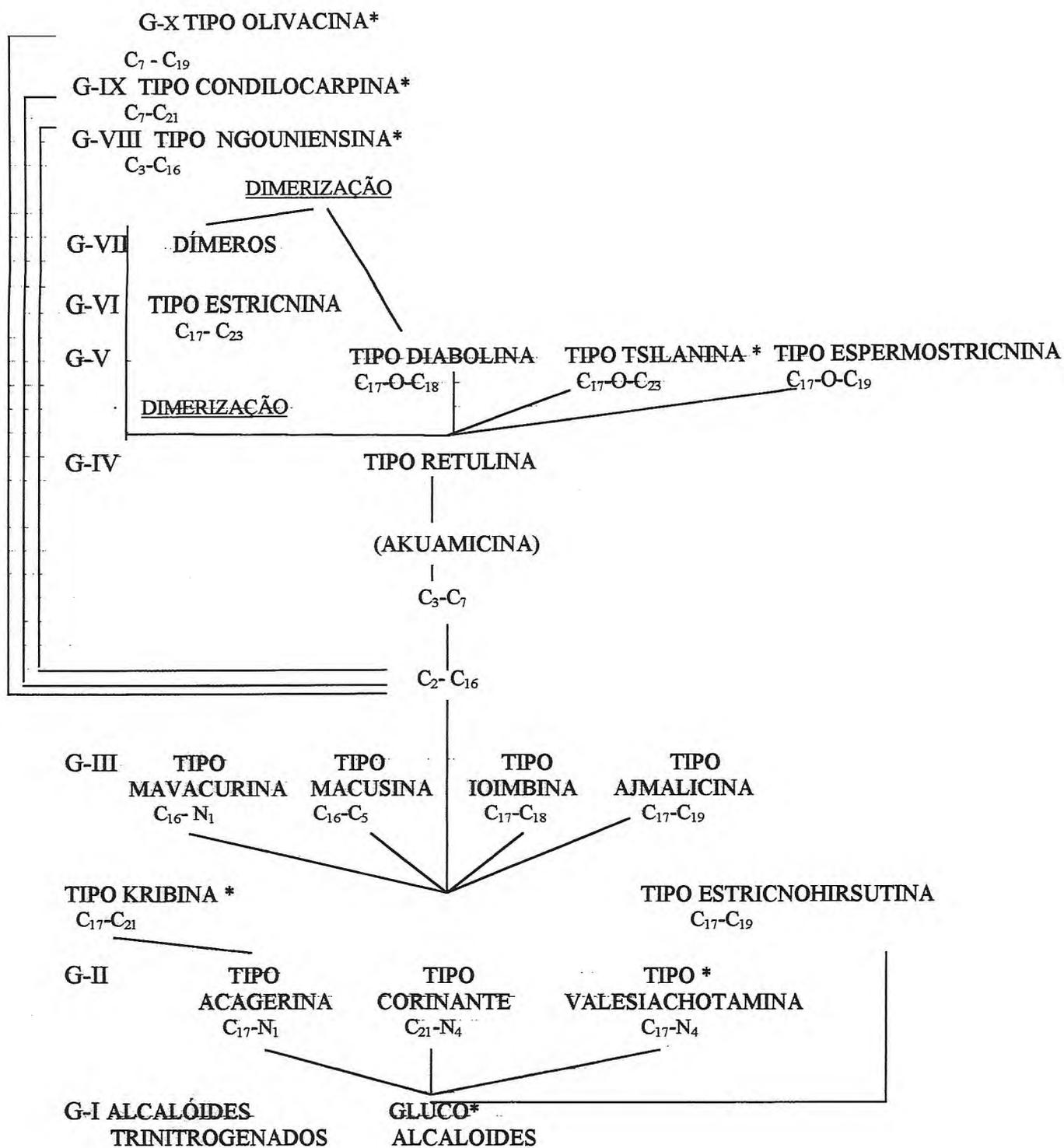


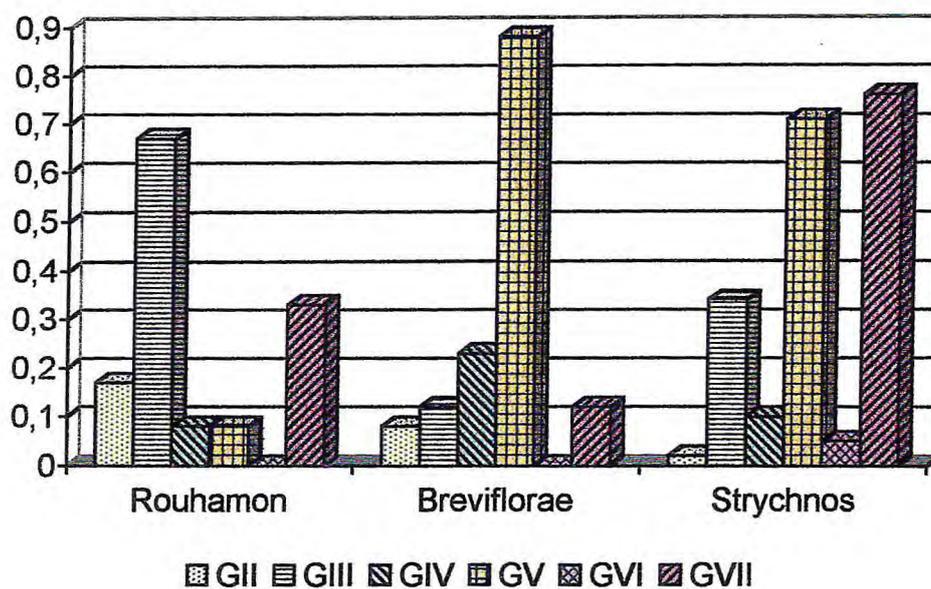
Figura 2.2- Classificação dos alcalóides indoloterpênicos segundo evolução biogenética

\* Tipos não isolados de espécies americanas

**Tabela 2.1** Ocorrência de alcalóides dos Grupos nas seções de *Strychnos*

Grupos	Rouhamon		Breviflorae		Strychnos	
	NO	NO <sub>n</sub>	NO	NO <sub>n</sub>	NO	NO <sub>n</sub>
II	2	0.17	2	0.08	1	0.02
III	8	0.67	3	0.12	14	0.34
IV	1	0.08	6	0.23	4	0.10
V	1	0.08	23	0,88	29	0.71
VI					2	0.05
VII	4	0.33	3	0.12	31	0.76

NO=Número de ocorrências. NO<sub>n</sub> =Número de ocorrências normalizado



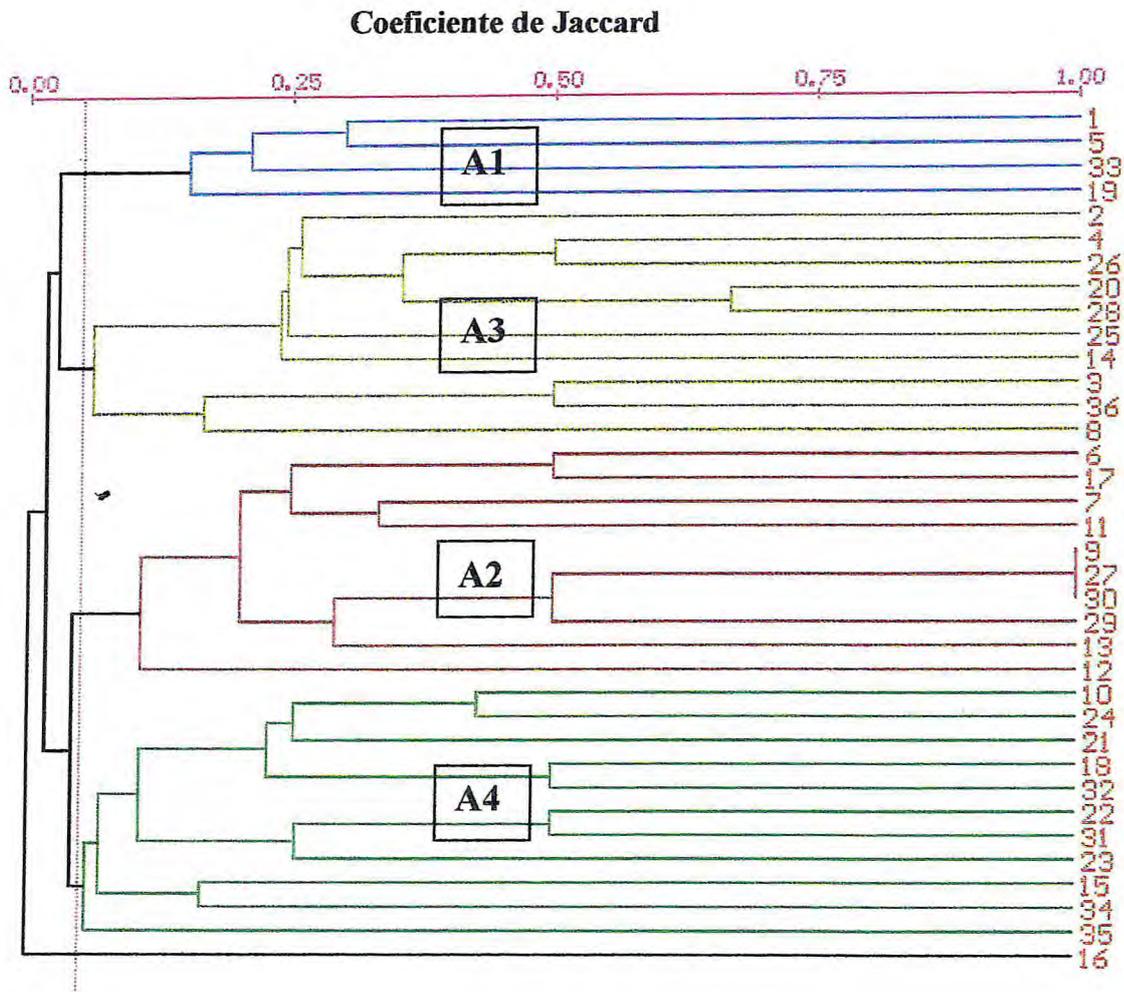
**Figura 2.3-** Distribuição dos grupos de alcalóides nas seções Rouhamon, Breviflorae e Strychnos

- Na Seção Rouhamon, há predominância do Grupos III, seguida do Grupo VII e II, sendo que os grupos IV e V ocorrem em menor extensão.
- Na Seção Breviflorae, há predominância do Grupos V, seguida dos Grupo IV, VII e III, estando II em menor proporção.
- Na Seção Strychnos, há predominância dos Grupos VII e V, seguida dos Grupos III e IV, estando VI e II menos representados.
- Ficou evidenciada a capacidade das 3 seções produzirem alcalóides dos grupos II,III,IV, V, VI e VII, observando-se que o grupo VI só tem representantes em Strychnos (estricnina e brucina), os quais também ocorrem em espécies asiáticas da mesma seção (*S.mux-vomica*, *S.ignatii*, *S.wallichiana*, etc). Os demais grupos, à exceção do grupo I, detectado em folhas de herbário das três seções (16) através das bases angustinas, não tiveram representantes isolados de espécies americanas.
- Os dímeros encontrados em Rouhamon e Breviflorae são principalmente do tipo Longicaudatina (Corinante- Aldeído de Wieland-Gumlich ou 18-desoxi aldeído W.G.), com unidades pertencentes aos grupos II e V ou IV. A seção Strychnos possui a maior ocorrência de dímeros predominando os dímeros tipo retulina (grupo das toxiferinas).
- Com base nos estudos realizados, ficou demonstrado, que os alcalóides que predominam em Rouahmon estão mais próximos ao precursor biogenético e os de Breviflorae mais distantes, ficando a Seção Strychnos em uma posição intermediária, destacando-se, entretanto, pela grande ocorrência de dímeros tipo retulina.

### 2. 3. Verificação da similaridade das espécies que compõem as três Seções botânicas em função dos alcalóides presentes.

Para verificação da similaridade das espécies que compõem as três seções botânicas em função dos alcalóides presentes, optou-se pelo método de agrupamento de pares com média aritmética não ponderada (UPGMA), que possibilita a descrição do padrão de similaridade entre as unidades estudadas (espécies). Com os dados de presença e ausência dos alcalóides nas espécies, organizados numa matriz base de 68 colunas (alcalóides) e 36 linhas (espécies estudadas) foi calculado coeficiente de Jaccard (112) para cada par de espécie. Este coeficiente foi escolhido por não

considerar o par "0-0", pois a ausência de um alcalóide no par de unidades (espécies) não contribui para a similaridade entre elas e por isso não deve ser considerada. O resultado da análise é apresentado em forma de dendograma (Figura 2.4).



**Figura 2.4** Dendograma representando os agrupamentos das espécies de *Strychnos* em função dos alcalóides presentes.

A análise do dendograma leva as seguintes observações e conclusões:

- Apesar do relativamente baixo valor encontrado, em média, para o coeficiente de Jaccard, verifica-se que as espécies (Quadro 2.2) foram reunidos em 4

agrupamentos identificados pela coloração das linhas e codificados como A1 (azul), A2 (vermelho), A3 (amarelo) e A4 (verde), ficando 1 espécie não agrupada. A composição dos agrupamentos foi a seguinte:

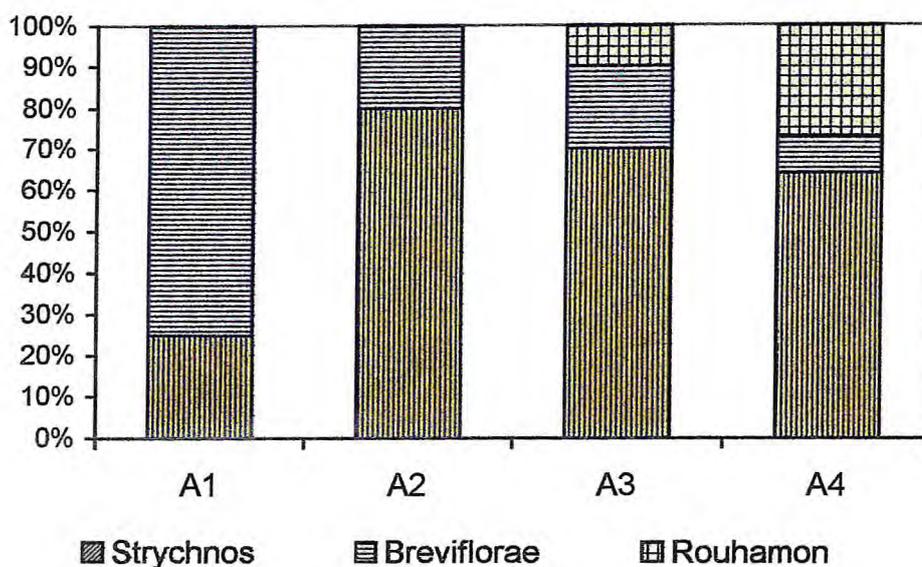
**A1** 75% Breviflorae e 25% Strychnos;

**A2** 80% Strychnos e 20 % Breviflorae;

**A3** 70% Strychnos , 20 % Breviflorae e 10% de Rouhamon

**A4** 64 % Strychnos, 27% Rouhamon e 9 % Breviflorae

Este resultado pode ser visualizado no gráfico da figura 2.5.



**Figura 2.5.** Representação dos grupamentos A1, A2, A3 e A4

- Os agrupamentos não correspondem exatamente às seções, obviamente, pela habilidade das suas espécies produzirem todos os alcalóides do gênero, como evidenciado anteriormente. A tendência constatada nos agrupamentos pode ser consequência de um maior ou menor desenvolvimento das rotas biogênicas dos alcalóides, nas seções.
- A análise da composição dos agrupamentos A1, A2, A3 e A4, confirma o afastamento (menor similaridade) entre as espécies de Breviflorae e Rouhamon, evidenciada na análise anterior e a situação intermediária (similaridade com as

duas seções) de *Strychnos*. Observe-se que botanicamente as seções Rouhamon e *Strychnos* são mais próximas entre si e mais afastadas de *Breviflorae* (19).

#### 2.4 Considerações importantes

O universo de informações disponíveis sobre os alcalóides isolados de *Strychnos* americanas para estudos taxonômicos é pequeno, uma vez que somente 37 espécies foram estudadas quimicamente, muitas vezes superficialmente. Entretanto, pode-se considerar, pelo menos 3 motivos imediatos para justificar tais estudos:

- as dificuldades experimentais para se chegar a um estudo completo nas próximas décadas, dada a velocidade de desmatamento da Amazônia ;
- a possibilidade de que os novos dados venham a confirmar a potencialidade quimioterápica dos alcalóides de *Strychnos*;
- a necessidade de racionalizar os estudos fitoquímicos das espécies americanas.

Por outro lado, embora muito bem estabelecida a idéia de unidade do gênero pela ocorrência de alcalóides comuns (diabolina, estricnina etc), nas espécies americanas, asiáticas e africanas, o conteúdo alcaloídico de uma espécie, depende de vários fatores, entre os quais, o *habitat* sendo, portanto, necessário, a caracterização das espécies americanas, principalmente da Amazônia.

Este trabalho objetiva, contribuir para a organização do conhecimento acumulado, traçando o perfil atual de *Strychnos* americanas, indicando as tendências na produção de determinados grupos de alcalóides indoloterpênicos, o que certamente possibilitará um melhor selecionamento de espécies para estudos químicos e farmacológicos.

Há, ainda, necessidade de mais estudos, inclusive comparativos, das espécies dos três continentes, para melhor esclarecer as relações quimiotaxonômicas do gênero.

**Quadro 2.2- Espécies comparadas quanto a ocorrência de alcalóides indolo terpênicos**

Nº	Nome
1	<i>S. alvimiana</i> Krukoff & Barneby.
2	<i>S. amazonica</i> Krukoff.
3	<i>S. atlantica</i> Krukoff & Barneby .
4	<i>S. brachiata</i> Ruiz & Pavon .
5	<i>S. brasiliensis</i> (Spreng.) Martius .
6	<i>S. castelnaeana</i> Wedd.
7	<i>S. chloranta</i> Prog.
8	<i>S. cogens</i> Bentham
9	<i>S. diaboli</i> Sandw
10	<i>S. divaricans</i> Ducke
11	<i>S. erichisonii</i> Richard Schomb.
12	<i>S. fendleri</i> Sprag & Sandw .
13	<i>S. froesii</i> Ducke
14	<i>S. gardneri</i> DC.
15	<i>S. guianensis</i> (Aubl.) Mart.
16	<i>S. hirsuta</i> Spr ex Bth.
17	<i>S. jobertiana</i> Baill.
18	<i>S. macrophyla</i> Barbosa Rodrigues
19	<i>S. mattogrossensis</i> S. Moore
20	<i>S. medeola</i> Sagot ex Prog.
21	<i>S. melinoniana</i> Baillon
22	<i>S. mitscherlichii</i> Krukoff & Barneby var. amapensis,...
23	<i>S. panamensis</i> Seemann .
24	<i>S. parvifolia</i> D.C.
25	<i>S. pseudoquina</i> St Hil.
26	<i>S. romeu-belenii</i> Krukoff & Barneby .
27	<i>S. rondeletioides</i> Spuce ex Bth .
28	<i>S. rubiginosa</i> DC .
29	<i>S. sandwithiana</i> Krukoff & Barneby .
30	<i>S. solerederi</i> Gilg.
31	<i>S. solimoesana</i> Krukoff .
32	<i>S. subcordata</i> Spr. Ex Bth.
33	<i>S. tabascana</i> Spr. & Sandw.
34	<i>S. tomentosa</i> Bth.
35	<i>S. toxifera</i> Robert Schomb. Ex Bth.
36	<i>S. trinervis</i> (Vell.) Mart.

## CAPÍTULO III

### 3. Descrição botânica, ecologia e distribuição geográfica das espécies *Strychnos cogens* Bentham, *S. guianensis* (Aubl.) Mart., *S. mattogrossensis* S. Moore.

As características botânicas, ecologia e distribuição geográfica das espécies estudadas são descritas a seguir de acordo com Krukoff (19).

#### 3.1. *Strychnos cogens* Bentham (Figura 3.1)

##### 3.1.1. Descrição botânica

Liana de porte médio, alcançando cerca de 30 m de comprimento e 11 cm de diâmetro. Folhas com pecíolos 4-7 mm de comprimento; lâmina largamente elíptica-ovalada a estreitamente lanceolada, 4-15 cm de comprimento, 2-6,5 cm de largura, base geralmente obtusa e ápice acuminado, opaco a brilhante em ambas faces, verde-acinzentado a marrom, cartáceo a coriáceo, 3(5) plinervado com o par interno suboposto ou alternado e divergindo 0-15 mm da base.

Inflorescência em cimeiras congestas (algumas vezes acima de 1,5 cm de comprimento); flores sésses, brácteas 2,5-3 mm X 1,2-1,6 mm, ovado a ovado-acuminado; cálice 2,4 mm de comprimento, lobos ovados, obtusos; corola 6 mm de comprimento, tubo 2 mm de comprimento, largamente lanceolado; ovário glabro, estilete piloso na base.

Frutos mais ou menos globosos, pequenos, 2,5 cm de diâmetro; casca fina, cerca 0,75 mm de espessura (exocarpo muito fino e mesocarpo mais desenvolvido), amarelado, brilhante. Pedicelo com ca. 2,5 mm de diâmetro. Semente, 1-2, mais ou menos discóides, ca. 15 mm de comprimento, 11 mm de largura e 3 mm de espessura.

##### 3.1.2. Ecologia e distribuição geográfica (Figura 3.2)

Habita mata terra firme ou capoeiras, sendo comum nas vizinhanças de Manaus. Ocorre raramente em resquícios de floresta de savanas. Na Venezuela, é reportada ser

comum em floresta alta no sul do Rio El Tigre, próximo ao Rio Cuchivero, especialmente em lugares pouco úmidos.

Distribui-se na Venezuela, Guiana e Guiana Francesa e na Amazônia brasileira, nos estados de Roraima e do Amazonas (Parintins, bacias do Alto e Baixo Rios Negro e Solimões, Rio Tonantins, Igarapé Jandiatuba e Igarapé de Belém). Dúvidas ocorrem sobre a existência nas adjacências da Colômbia e Peru, assim como no Suriname.

### 3.2. *Strychnos guianensis* (Aublet) Martius (Figura 3.3)

#### 3.2.1. Descrição botânica

Liana de porte médio, algumas vezes alcançam grande tamanho. Folhas com pecíolos 2-6 mm de comprimento; lâmina muito variada, ovalada a lanceolada ou obovada a oblanceolada, 3-9 cm de comprimento, 1.5-4.5 cm de largura, base subcordada a cuneada, ápice arredondado a agudo ou não agudo, mucronulado, opaco ou brilhante em ambas faces, mais pálida abaixo, submembranáceas a cartáceas ou subcoriácea, 3(5)-plinervedas, com o par mais interno usualmente alternado e divergindo 0-13 mm a partir da base, reticulação usualmente fraca em ambas as superfícies.

Inflorescência em cimeiras curto-racemosas; poucas flores (maioria 5-7); lobos do cálice variado, largamente ovado a estreitamente lanceolado; lobos da corola lanoso na face inferior, na superior muiro papiloso e glabro; ovário e estilete glabros.

Frutos maduros oblongos ou subovados, mucronados na base, muito pequenos, ca. 2 cm de comprimento e 1,7 cm de largura; Pedicelo do fruto ca. 1,5 mm de diâmetro. Casca muito fina, ca 0,5 mm de espessura, amarelo-laranja, brilhante, lisas; testa muito fina, glabra; sementes 1 (ou 2), mais ou menos discóides, ca. 14 mm de comprimento, 9 mm de largura e 4 mm de espessura.

#### 3.2.2. Ecologia e distribuição geográfica (Figura 3.2)

Espécie mais comum no Bacia Amazônica, em variados *habitats*: terra-firme, várzea, restinga, igapó, resquícios de florestas de savanas, em mata virgem e secundária. É particularmente comum na margem inundada de rios, riachos e lagos de águas brancas (ricas em sedimentos).

Bem distribuída na bacia do Médio e Alto Rio Orenoco e através da toda a Bacia Amazônica: Brasil, Venezuela, Equador, Peru, e nas Guianas e Suriname. No Brasil, ocorre nos estados do Pará (rios Trombetas, Amazonas, Xingu, Tapajós, Tocantins, Acará, Guamá e outros), Amapá (bacia do Oiapoque) Amazonas (bacia dos rios Urubú, Rio Negro, Madeira, Juruá, Jutai, Solimões e Javari) Rondônia, Roraima e Mato Grosso (Rio Juruena).

### 3.3. *Strychnos mattogrossensis* S.Moore (Figura 3.4)

#### 3.3.1. Descrição botânica

Liana lenhosa de grandes dimensões, cujos caules velhos (caducos) desprendem uma casca ferrugínea, em pequenas lâminas. Os galhos têm gavinhas e espinhos. Folhas com pecíolos de 2-7 mm de comprimento; lâmina ovado-lanceolada a lanceolada ou oblanceolada, 2,5-14 cm de comprimento e 1-4 cm de largura, base arredondada a aguda, ápice acuminado a finamente agudo, opacas em ambas faces, membranáceas a cartáceas, 3-plinervadas, com par interno suboposto ou alternado, divergindo em 1-13 mm a partir da base, reticulação tênue em ambas as faces na parte inferior da nervura principal, puberulentas.

Inflorescência em panícula cimosa, usualmente hemisférica e multifloras, glabra ou muito esparsamente puberulentas; lobos do cálice, usualmente ovado-lanceolados, geralmente desiguais em tamanho, ligeiramente acima de 1 mm de comprimento. Lobos da corola em geral obscuramente papilosos externamente; ovário e estilete glabros.

Infrutescência com pedicelos com ca. 2 mm de diâmetro; frutos maduros globosos, muito pequenos, com ca. 1,5 cm de diâmetro, casca com aproximadamente 0,5 mm de espessura brilhante, lisa, testa com fibras lanosas, marrons: 1 ou 2 sementes, mais ou menos discóides, com ca. 7 mm de largura.

#### 3.3.2. Ecologia e distribuição geográfica. (Figura 3.2)

Encontrada em vários *habitat*, sendo freqüente em igarapés e rios de água branca (rica em sedimentos). Sua presença é registrada na Colômbia, Venezuela e Peru. No Brasil, é encontrada nos estados do Pará, Mato Grosso, Ceará, Rio Grande do Norte, Bahia e Amazonas. Sua distribuição geográfica no Amazonas compreende as bacias dos Rios Madeira, Solimões, Japurá e Içá.

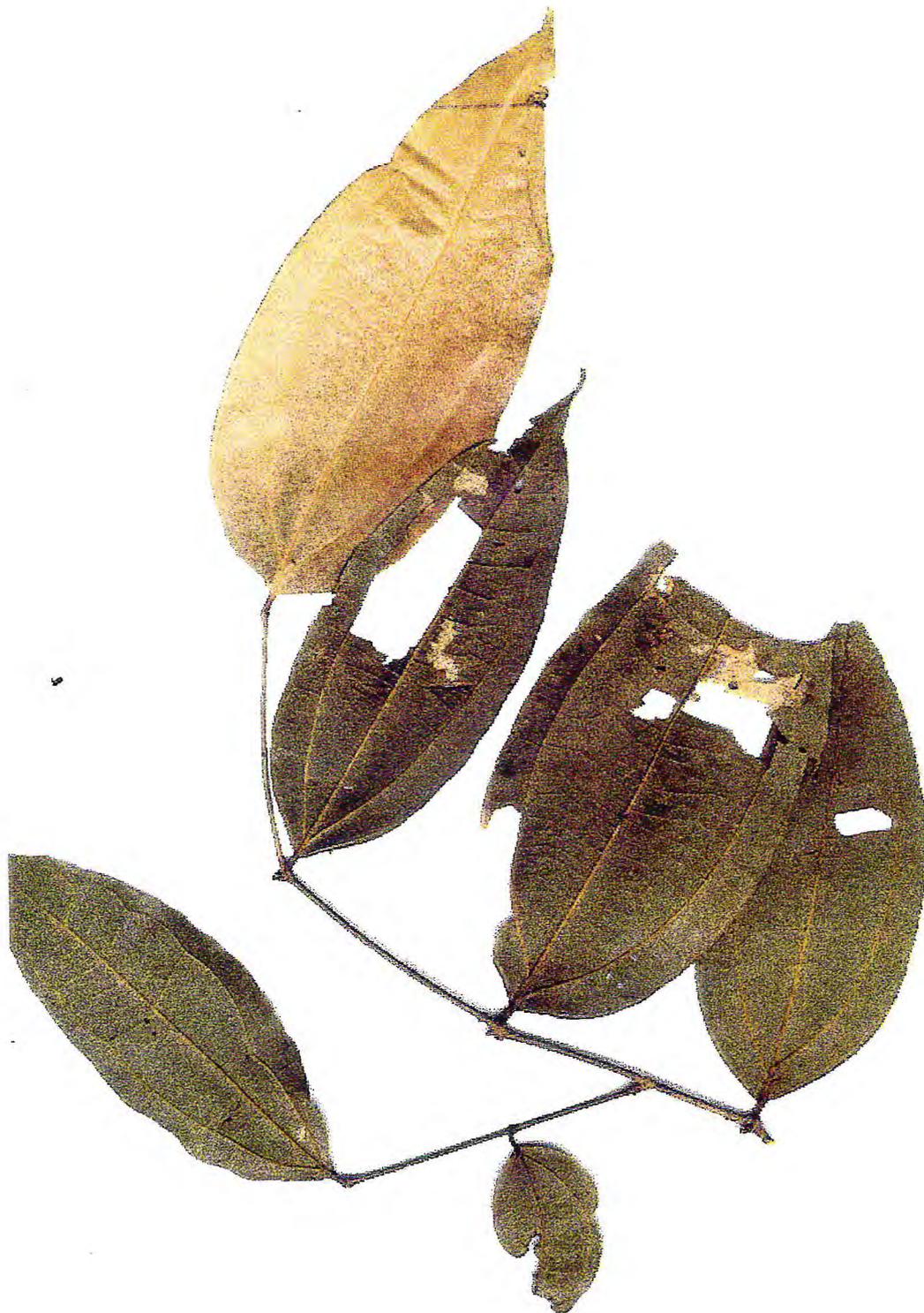
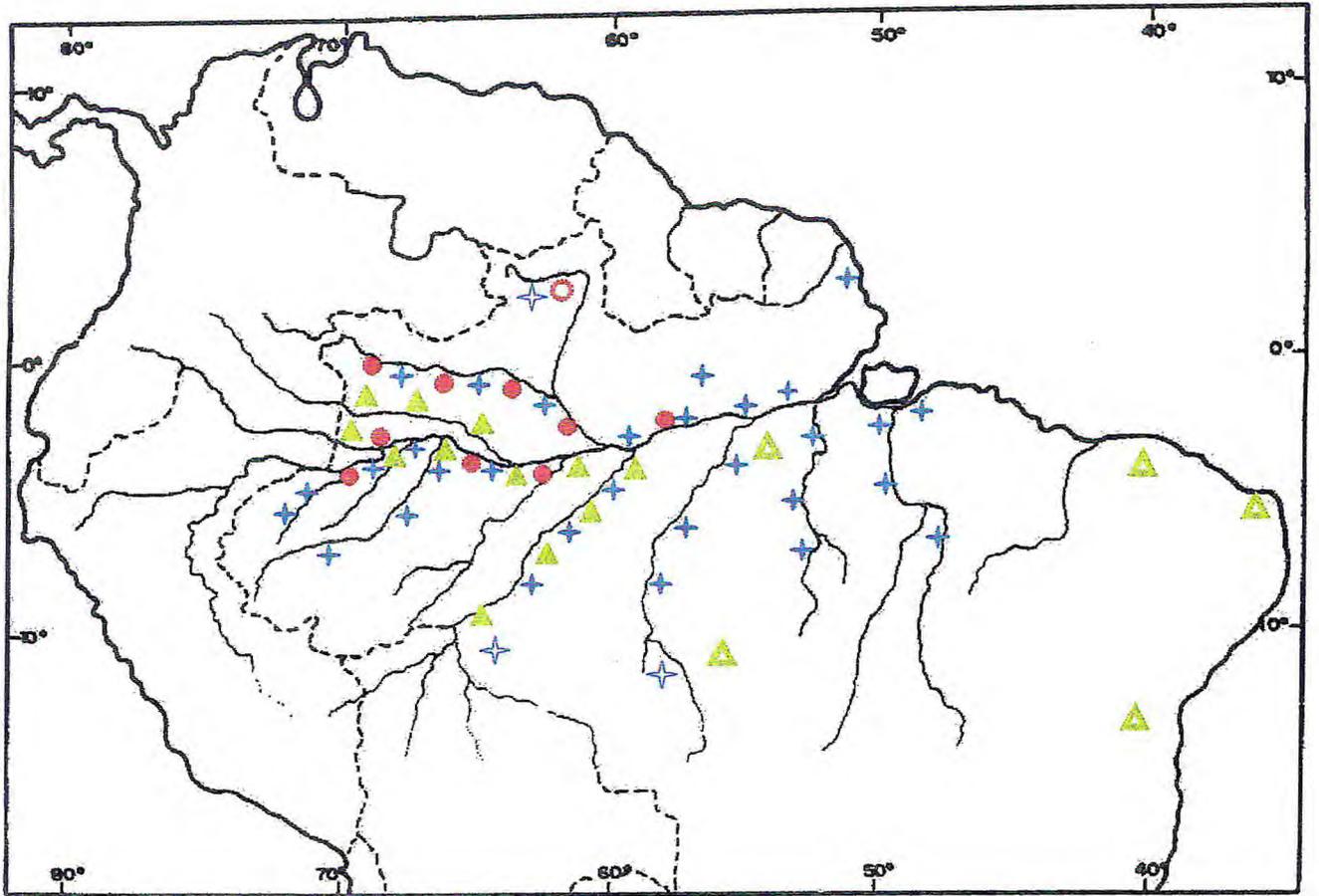


Figura 3.1. Amostra herborizada de *Strychnos cogens*. do herbário da Universidade do Amazonas .



- *Strychnos cogens*      ○ *S. cogens* localização não detalhada      ✚ *S. guianensis*
- ✚ *S. guianensis* localização não detalhada      ▲ *S. mattogrossensis*      ▲ *S. mattogrossensis* localização não detalhada

Figura 3.2. Distribuição geográfica de *Strychnos cogens*, *Strychnos guianensis* e *Strychnos mattogrossensis* segundo Krukoff (19), na Amazônia brasileira.



**Figura 3.3.** Amostra herborizada de *Strychnos guianensis* do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.



**Figura 3.4.** Amostra herborizada de *Strychnos mattogrossensis* do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia .

## CAPÍTULO IV

### 4. Identificação de constituintes de *S.cogens*

#### 4.1. Identificação de SCA1 (lupeol)

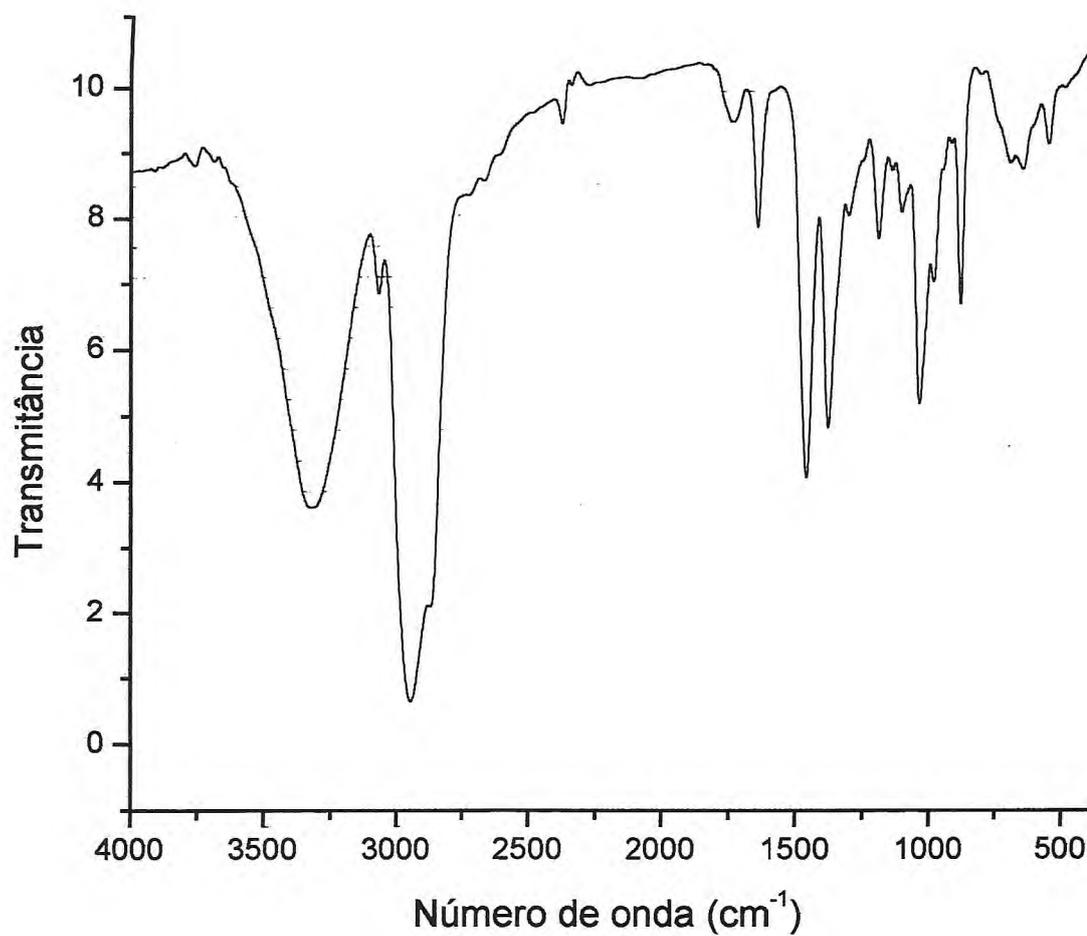
SCA1 foi obtido como um sólido cristalino branco, ponto de fusão 178-180° C, solúvel em clorofórmio, apresentando coloração vermelha diante do reagente de Liebermann- Burchard, característica de triterpenos pentacíclicos.

O espectro no infravermelho (Figura 4.1) apresentou banda intensa em 3313  $\text{cm}^{-1}$ , típica de grupamento OH associado e em 2946, 2900, 1458 e 1381  $\text{cm}^{-1}$ , característica de estiramentos CH,  $\text{CH}_2/\text{CH}_3$ , observando-se ainda absorções de baixa intensidade em 3068, 1640  $\text{cm}^{-1}$ , compatíveis com deformações axiais de =C-H e C=C olefínicos, respectivamente.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 4.2) revelou intensos sinais na região 0,7-1,01 ppm, característicos de grupos metila de estruturas triterpênicas, registrados em  $\delta$  0,74; 0,77; 0,81; 0,92; 0,96; 1,01. Observou-se ainda dois dupletos, respectivamente em  $\delta$  4,67 (1H, d, J= 2,0 Hz) e 4,54 (1H, J=2,0 Hz), compatíveis com a existência de um grupo metileno terminal, os quais, aliados ao registro de uma absorção em  $\delta$  1,68 típica de um grupo metila ligado a carbono olefínico, indicaram a presença de um grupo isopropenil na molécula. Também era evidente um duplo dubleto em  $\delta$  3,16 (dd,  $J_s=11,4$  e 4,9 Hz), atribuído a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (Figura 4.3) totalmente desacoplado apresentou 30 linhas espectrais. Através do experimento DEPT-135 (Figura 4.4) verificou-se a presença de sete carbonos metílicos, onze metilênicos (sendo um  $\text{sp}^2$ ) e seis metínicos, deduzindo-se a ocorrência de seis carbonos não hidrogenados por comparação com o espectro de RMN<sup>13</sup>C (BB). Um sinal em  $\delta$  79,05 revelado como de carbono metínico mostrou estar o grupo hidroxila ligado a um carbono secundário e os sinais em  $\delta$  150,96 e  $\delta$  109,34 no espectro de RMN<sup>13</sup>C (BB) ratificaram a ocorrência de ligação

dupla terminal, permitindo identificar SCA1 como o triterpeno do grupo lupano, lup-20(29)-eno-3 $\beta$ -ol (lupeol) (Figura 4.5).



**Figura 4.1 .** Espectro no infravermelho ( KBr) de SCA1

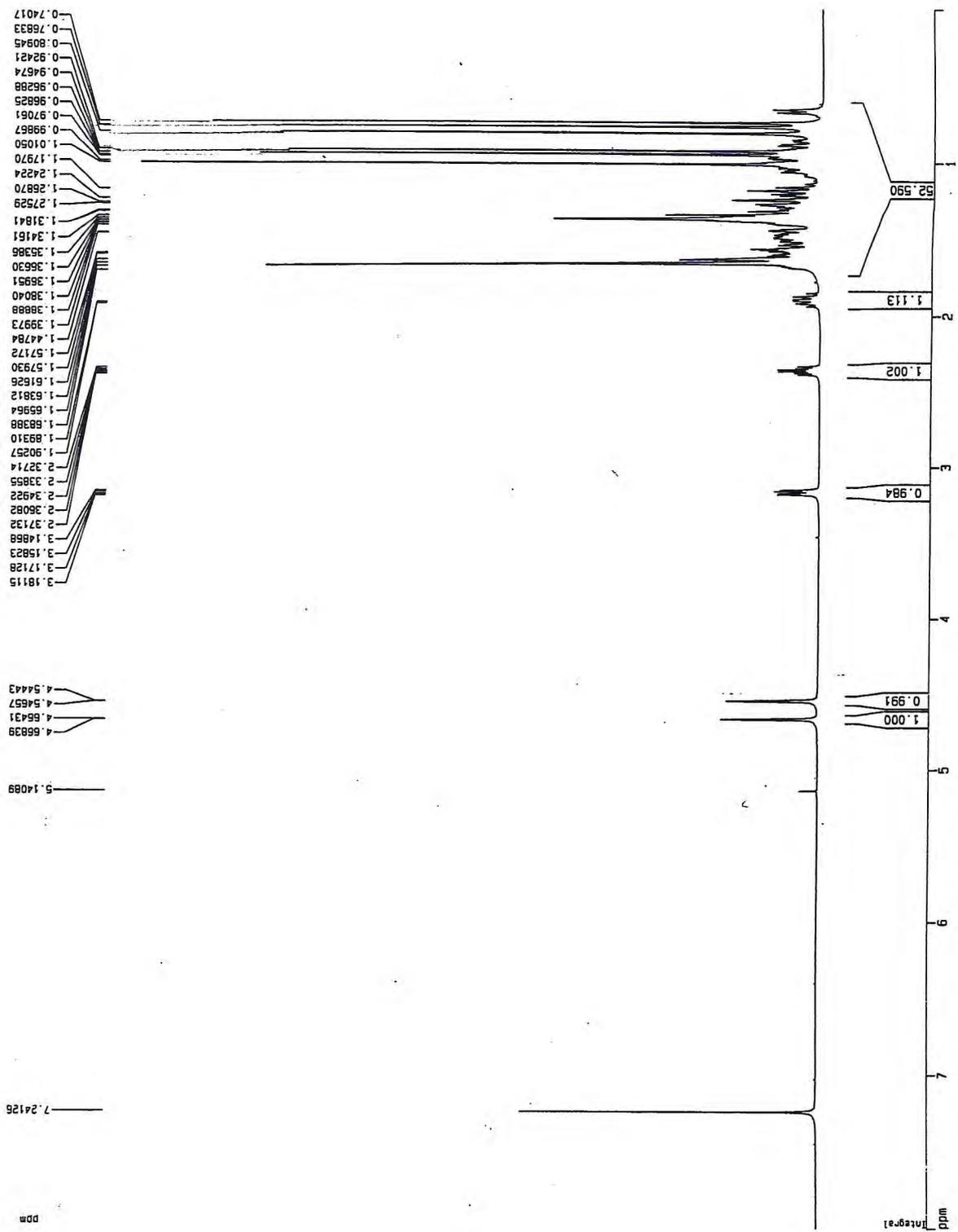


Figura 4.2. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de SCA1

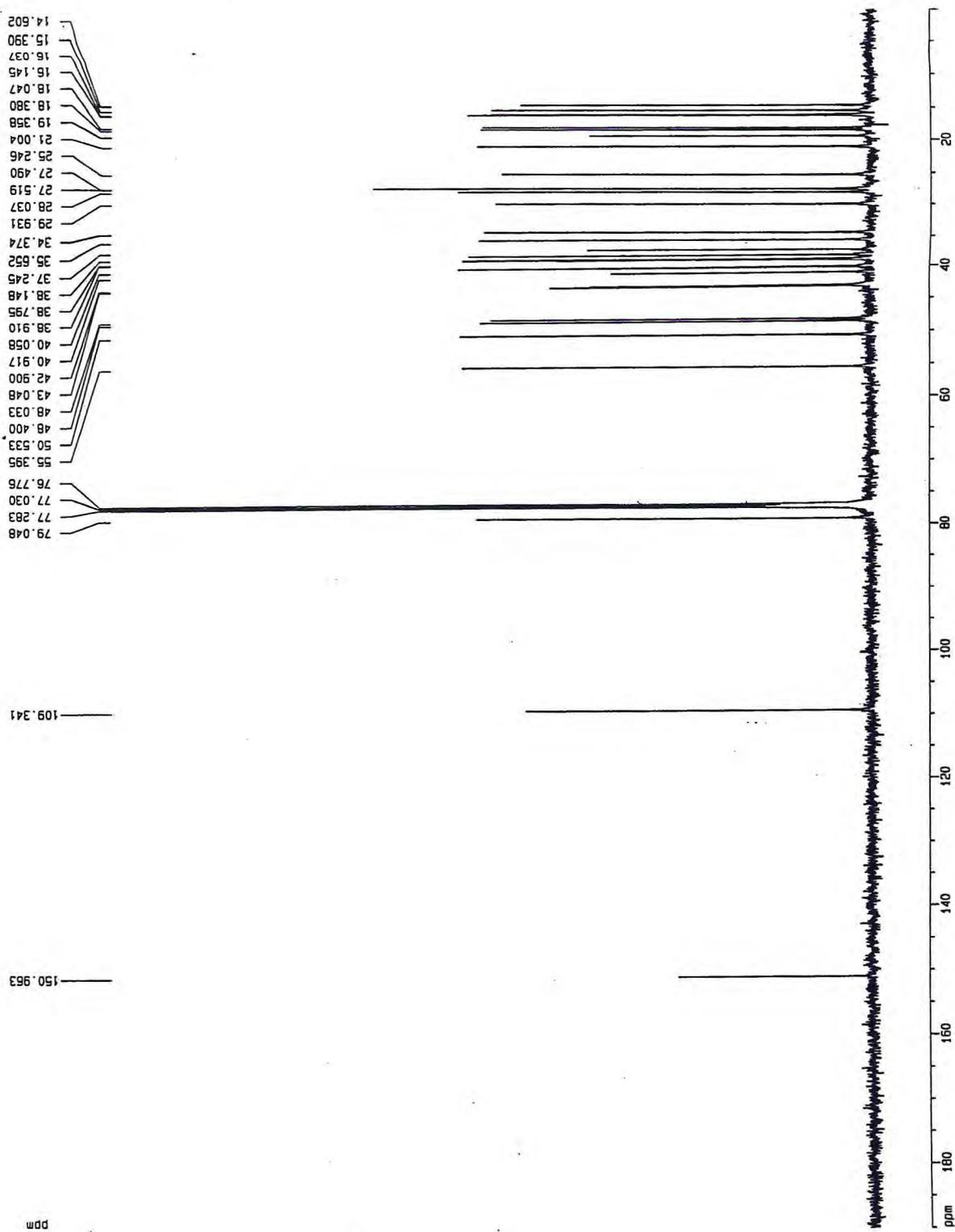


Figura 4.3. Espectro de RMN<sup>13</sup>C ( CDCl<sub>3</sub> , 125 MHz) de SCA1

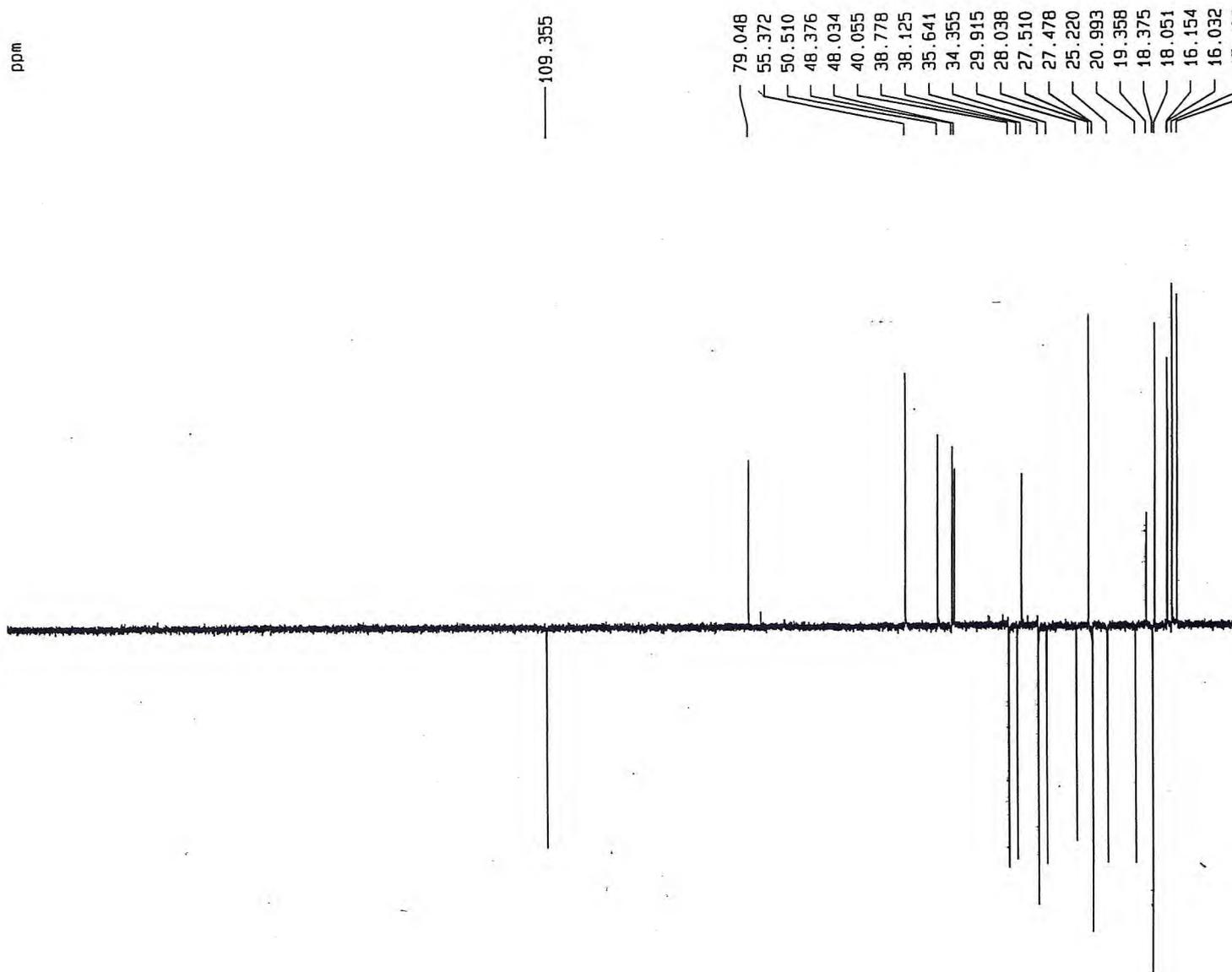
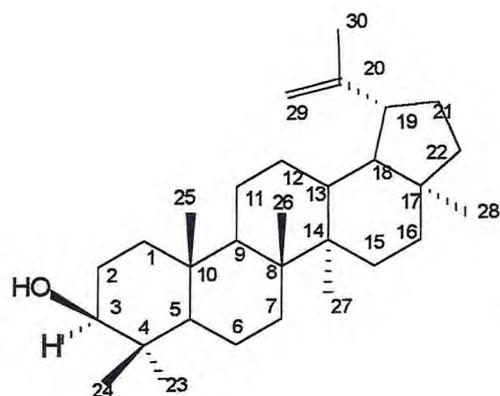


Figura 4.4. Espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) de SCA1



**Figura 4.5.** SCA1 (lupeol)

O cromatograma de íons totais (CIT) (Figura 4.6) de SCA1, obtido através de um sistema constituído de um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa, revelou um único componente, com tempo de retenção compatível com o do lupeol. O espectro de massa (Figura 4.7) apresentando íon molecular  $[M^+]$  426 ( $C_{30}H_{50}O$ ) e um pico intenso em  $m/z$  189, confirmou a proposta, a qual ainda foi ratificada através de comparação dos dados espectrais de  $RMN^{13}C$  de SCA1 e do lupeol, constantes da literatura (113) conforme visto na Tabela 4.1.

File : C:\HPCHEM\1\DATA\FAR548.D  
Operator : JC  
Acquired : 9 Aug 98 12:47 pm using AcqMethod JC  
Instrument : GC/MS Ins  
Sample Name: SOGENS  
Misc Info : ANDERSON  
Vial Number: 1

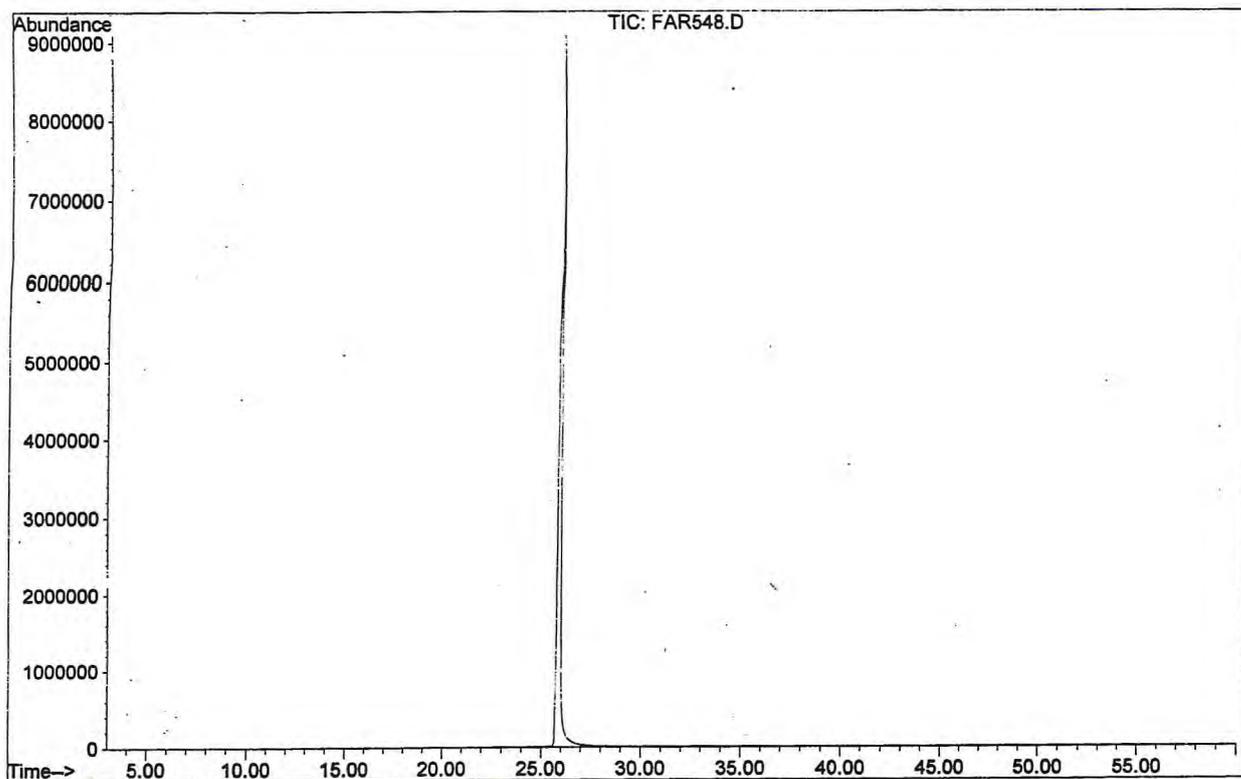


Figura 4.6. Cromatograma de íons totais (CIT) de SCA1

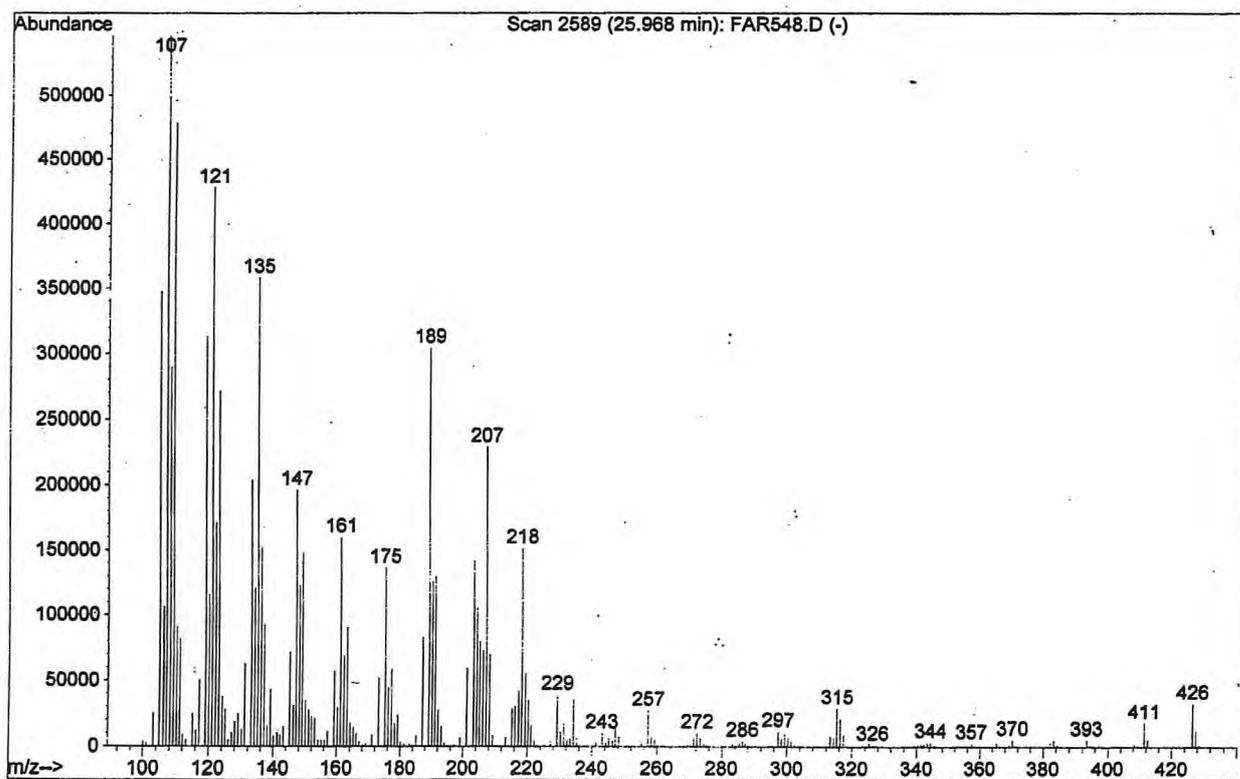


Figura 4.7. Espectro de massa de SCA1.

**Tabela 4.1.**Dados de espectros de RMN<sup>13</sup> C (CDCl<sub>3</sub>) e lupeol\*

Nº C	Tipo C	δC observado	δC lupeol
1	CH <sub>2</sub>	38,78	38,7
2	CH <sub>2</sub>	27,78	27,4
3	CH-OH	79,05	78,8
4	C	38,91	38,8
5	CH	55,37	55,2
6	CH <sub>2</sub>	18,36	18,3
7	CH <sub>2</sub>	34,36	34,2
8	C	40,91	40,8
9	CH	50,51	50,4
10	C	37,26	37,1
11	CH <sub>2</sub>	20,99	20,9
12	CH <sub>2</sub>	25,22	25,1
13	CH	38,13	38,0
14	C	42,90	42,8
15	CH <sub>2</sub>	27,51	27,4
16	CH <sub>2</sub>	35,64	35,5
17	C	43,04	42,9
18	CH	48,38	48,2
19	CH	48,03	47,9
20	C=	150,96	150,6
21	CH <sub>2</sub>	29,92	29,8
22	CH <sub>2</sub>	40,06	39,9
23	CH <sub>3</sub>	28,04	28,0
24	CH <sub>3</sub>	15,40	15,4
25	CH <sub>3</sub>	16,15	16,1
26	CH <sub>3</sub>	16,03	15,9
27	CH <sub>3</sub>	14,60	14,5
28	CH <sub>3</sub>	18,05	18,0
29	=CH <sub>2</sub>	109,36	109,2
30	CH <sub>3</sub>	19,36	19,3

\* Patra, A., Mukhopadhyay, A.K., Mitra, A. K., 1981 (113)  
**Org.Magn.Res.**, 17, 3, 166-8

#### 4.2. Identificação de SCA2 ( longicaudatina)

SCA2 foi isolado como um sólido branco que passa a uma coloração avermelhada, ponto de fusão acima de 300 ° C . Em cromatoplaça de sílica gel absorve fortemente a luz UV, 254 nm. Apresenta coloração alaranjada com o reagente Dragendorff e azul com o sulfato cérico, característica de alcalóides dos grupos das toxiferinas e longicaudatinas (114).

O espectro no infravermelho (Fig.4.8) apresentou bandas características de NH /OH( 3413 e 3 247  $\text{cm}^{-1}$  ) e de ligações duplas olefínicas e aromáticas (1635, 1600 , 1450 e 756  $\text{cm}^{-1}$ ).

O espectro no UV ( Fig. 4.9) apresentou máximos em 283, 290 e 310 nm, típicos de cromóforos indolo-indolínicos (115).

O espectro de RMN<sup>1</sup>H( Fig. 4.10) mostrou sinais para 11 hidrogênios aromáticos/olefínicos, um hidrogênio em campo muito baixo ( $\delta$  11,06), provavelmente de NH ou OH e um conjunto complexo de hidrogênios entre 4,5- 0,8 ppm.

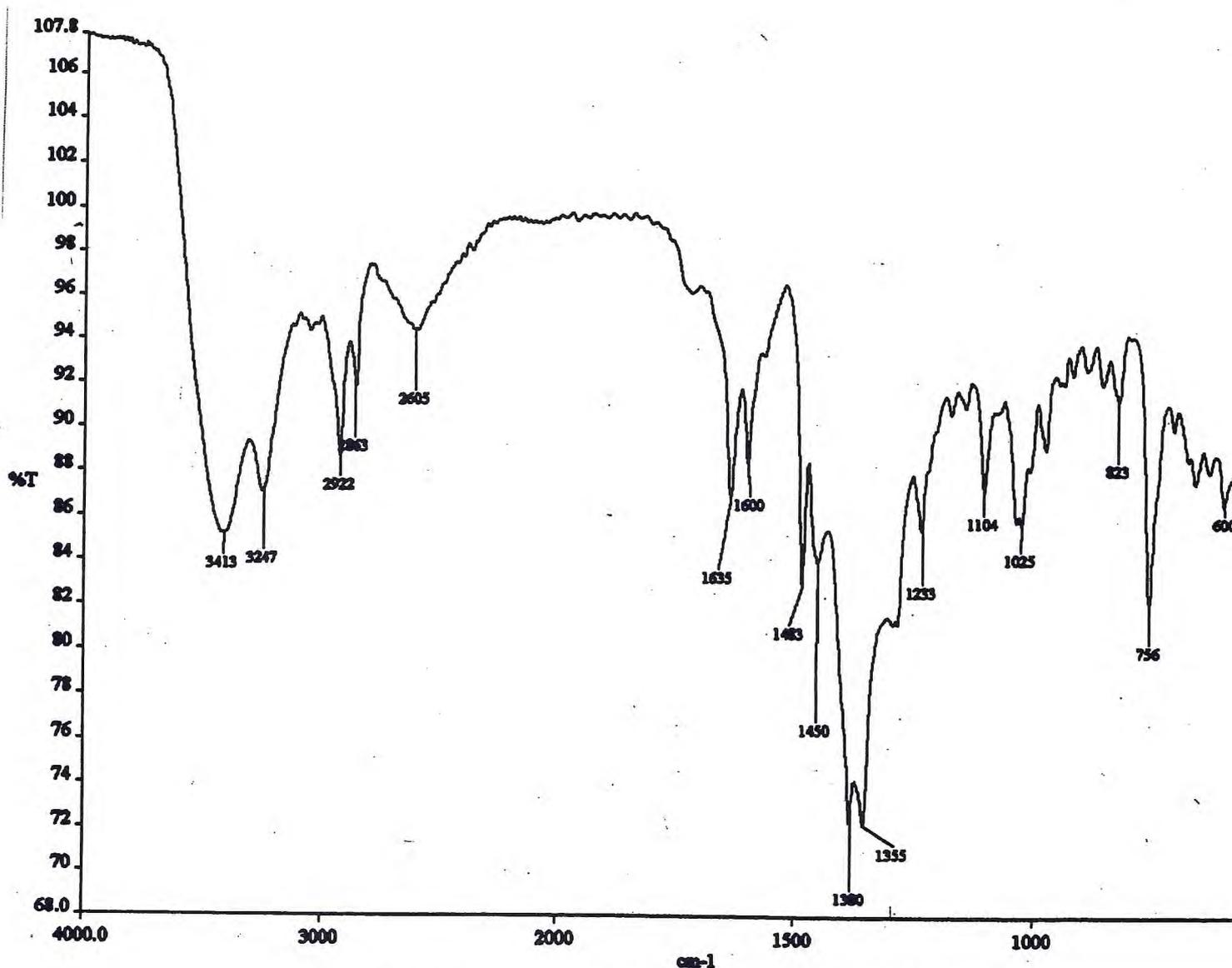


Figura 4.8. Espectro no infravermelho (KBr) de SCA2

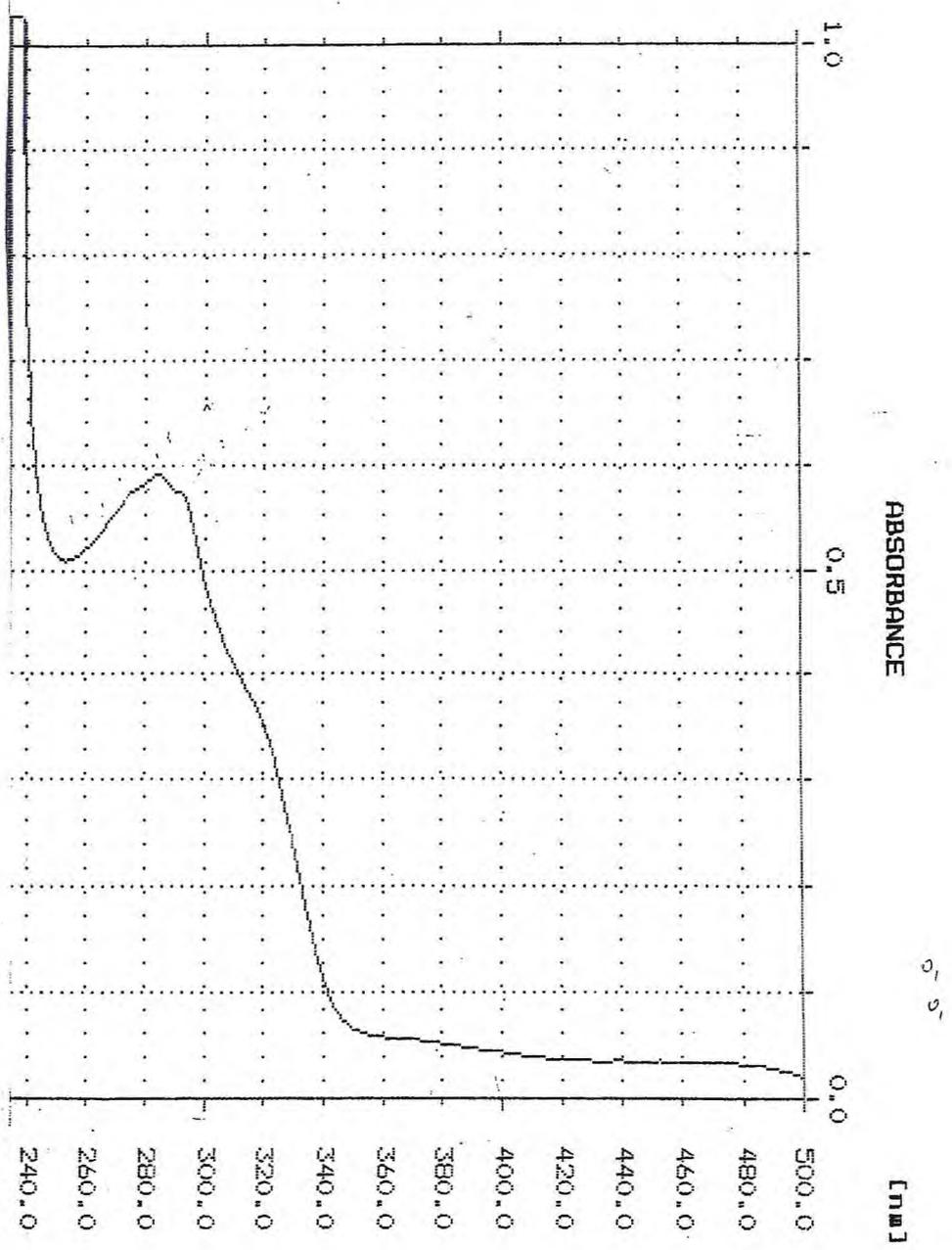


Figura 4.9. Espectro no ultravioleta ( MeOH) de SCA2

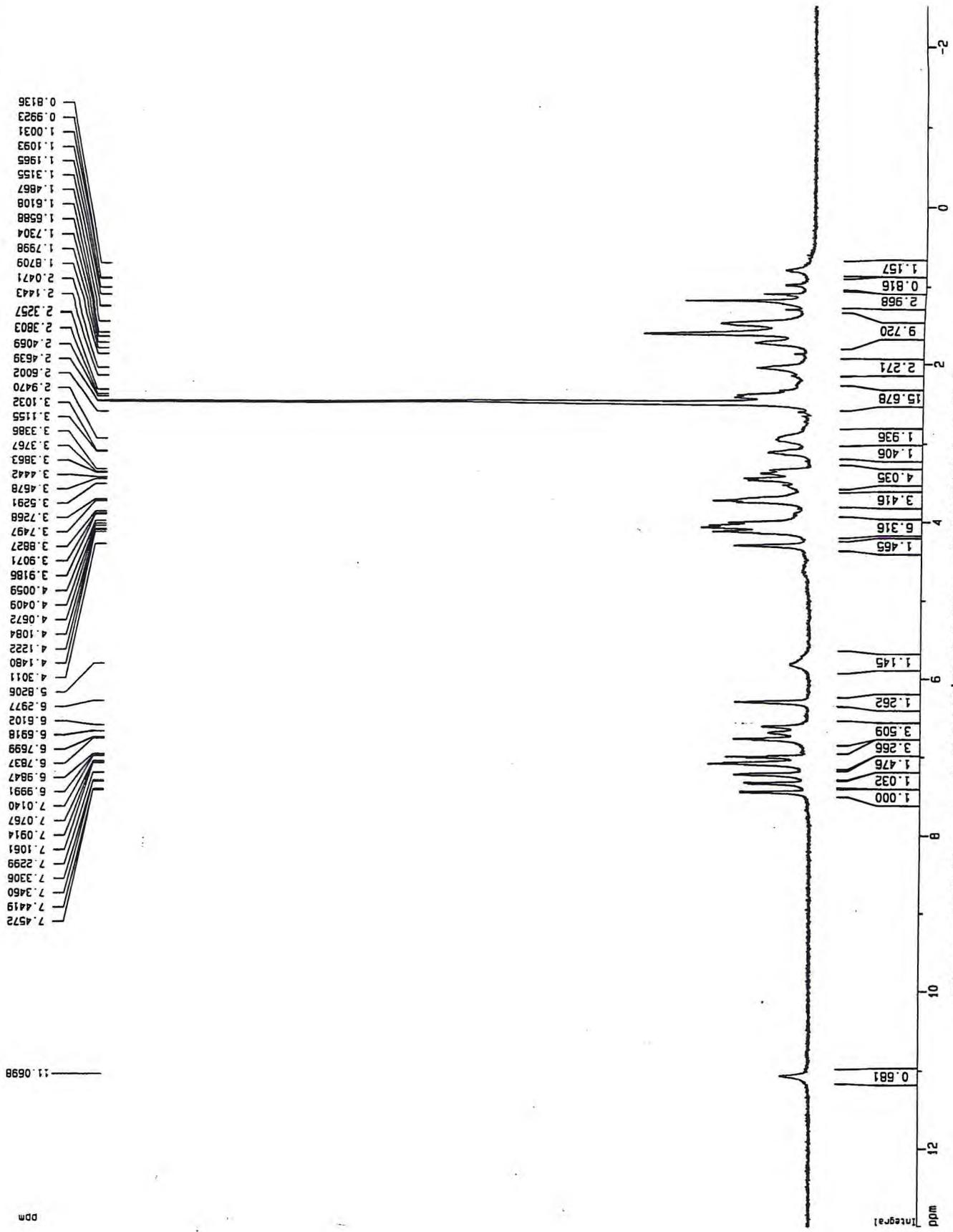


Figura 4.10. Espectro de R.M.N.<sup>1</sup>H (DMSO<sub>d6</sub>, 500 MHz) de SCA2

Na região aromático/olefínica do espectro de RMN<sup>1</sup>H, pela utilização do espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono-13 através de uma ligação (<sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMQC, Figura 4.11) observou-se onze picos de correlação, correspondendo a 11 hidrogênios metínicos.

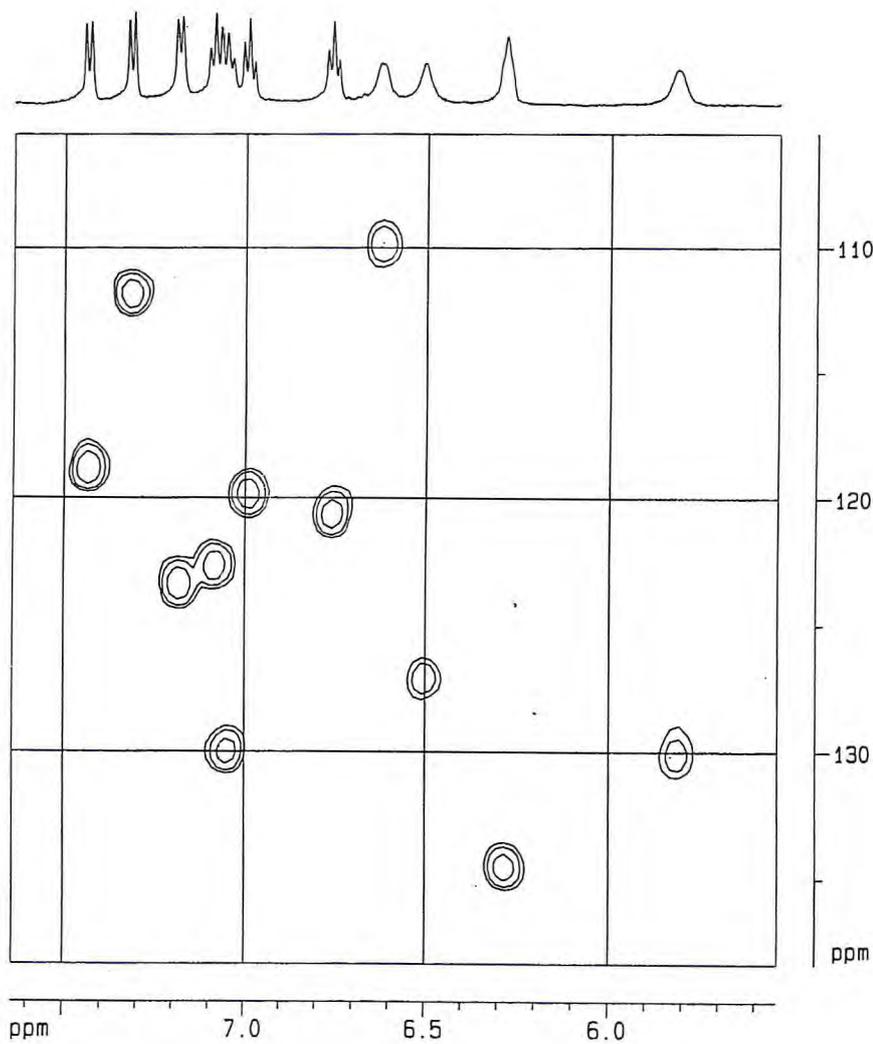


Figura 4.11. Espectro de RMN 2D-HMQC (DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub>) parcial de SCA2

No espectro de Ressonância Magnética Nuclear bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio-hidrogênio com gradiente de campo ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-gs) (Figura 4.12) constatou-se que oito dos onze hidrogênios evidenciados, se agrupavam em dois conjuntos de sinais [  $\delta = 7,45$  (d); 6,98 (t); 7,00 (t); 7,34 (d) e 7,23 (d); 6,78 (t); 6,99 (t) 6,69 (dl) ], representando dois sistemas de quatro hidrogênios esperados para uma molécula contendo dois fragmentos indólicos não substituídos. Esta técnica (Figura 4.16), também colocou em evidência outras subestruturas, tais como, a unidade etilideno  $\text{CH}_3\text{CH}=\text{C}$  [ quarteto largo em  $\delta$  5,82 (1H) e duplete em  $\delta$  1,69 (3H) ] e o fragmento  $=\text{CHCH}_2\text{O}$ , através dos sinais de hidrogênios em  $\delta$  6,30 [triplete largo (1H) ] e  $\delta$  4,0-  $\delta$  4,10 (multiplete).

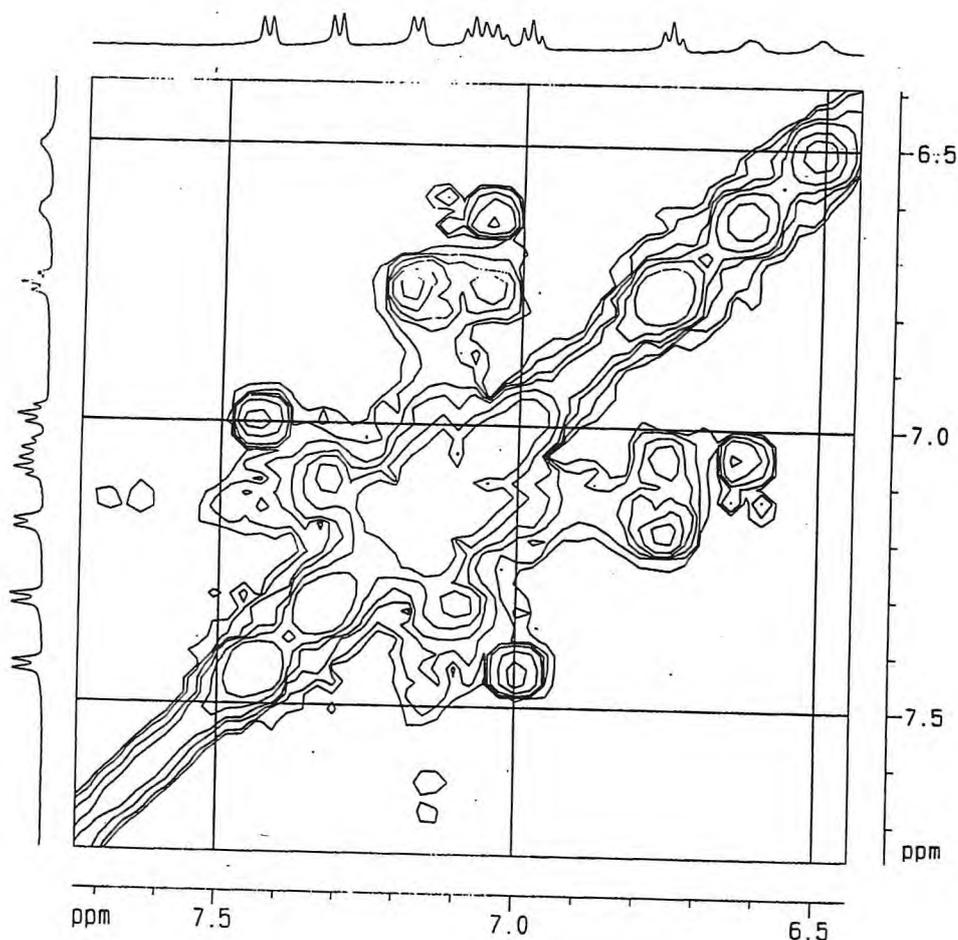


Figura 4.12. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear 2D- $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-gs (DMSO $_d$ , 500 MHz) de SCA2 parcial

Definidos os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbonos hidrogenados, foi possível determinar os deslocamentos químicos dos carbonos não hidrogenados através do espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono-13 a longa distância ( $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC, Figura 4.13, Tabela 4.3), o qual também permitiu definir os núcleos indólico e indolínico da molécula (Figura 4.14 A e 4.14 B), principalmente através de acoplamentos a três ligações. Assim, pôde-se verificar que : H-9' ( $\delta$  7,45 d) estava correlacionado com C-13' ( $\delta$  137,0) e C-11' ( $\delta$  122,0); H-10' ( $\delta$  6,98 t) com C-8' ( $\delta$  126,0); H-11' (7,00 t) com C-9' ( $\delta$  118,0); H-12' com C-8' ( $\delta$  126,0) e C-10' ( $\delta$  120,0), observando-se ainda que o sinal em  $\delta$  11,06 (s), acoplava com C-7' ( $\delta$  106,0) e C-8' ( $\delta$  126,0), sendo por isso, atribuído a um hidrogênio ligado ao nitrogênio (NH) do sistema indólico. Do mesmo modo, eram evidentes os seguintes acoplamentos: H-9 ( $\delta$  7,23 d) com C-13 (147,0), C-11 (130,0) e C-7 ( $\delta$  50,5) e H-10 ( $\delta$  6,78 t) com C-8 ( $\delta$  129,0) e C-12 ( $\delta$  110,0).

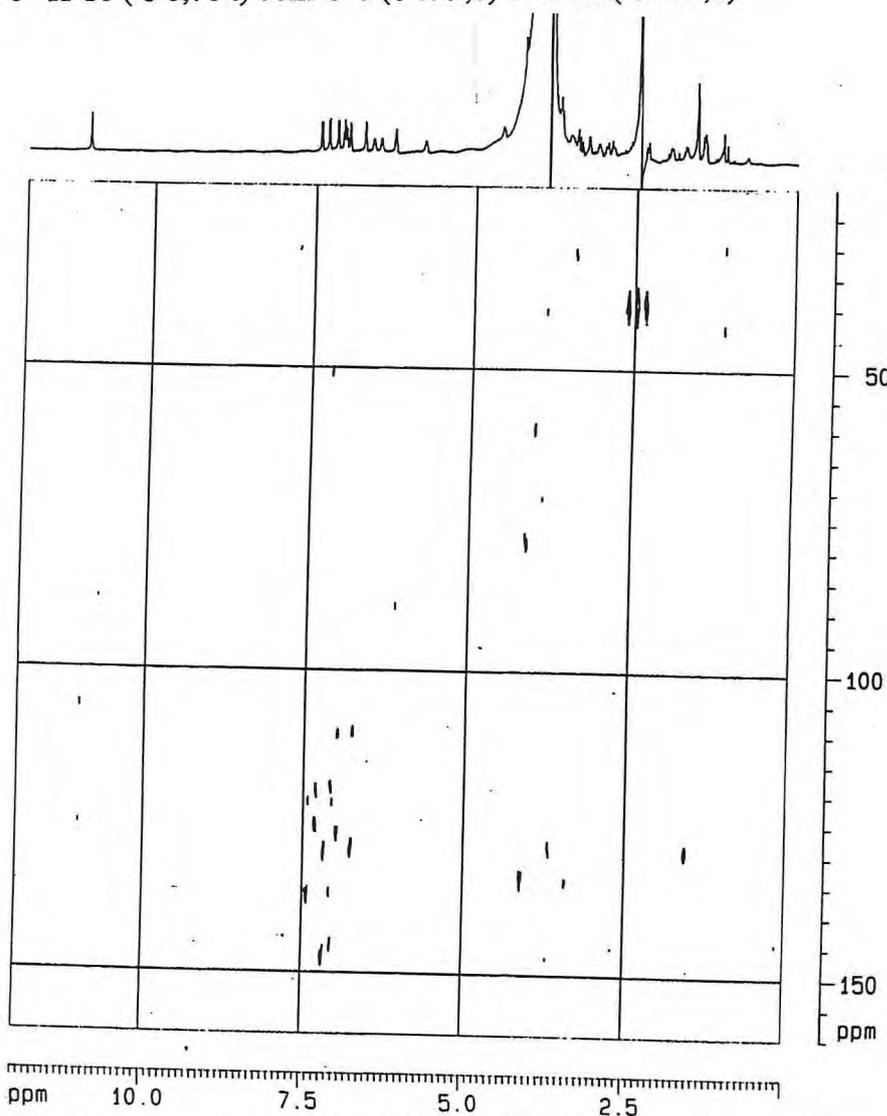


Figura 4.13. Espectro de RMN 2D-HMBC ( $\text{DMSO-d}_6$ ) de SCA2



**Figura 4. 14** (A) Fragmento indólico de SCA2; (B) Fragmento indolínico de SCA2.

Na faixa de  $\delta_H$  3,5-  $\delta_H$  1,4 x  $\delta_C$  10- $\delta_C$  47 , do espectro RMN 2D HMQC (Fig. 4.15) nove picos de correlação foram prontamente definidos, como 3 metilenos, 2 metinos e 1 metila .

Grupo	$\delta H$	$\delta C$
CH	1,45	42,0
CH <sub>2</sub>	1,45 e 2,38	25,0
CH <sub>3</sub>	1,60	13,0
CH <sub>2</sub>	1,70 e 1,90	39,0
CH <sub>2</sub>	2,9 e 3,0	18,0
CH	3,30	31,5

Na faixa de  $\delta_H$  3,5- 4,5 x  $\delta_C$  48,0-100,0 a interpretação do espectro RMN 2D HMQC foi dificultada pela absorção de água pelo solvente, gerando muitos picos indesejáveis e impedindo os assinalamentos de alguns carbonos, nesta região do espectro.

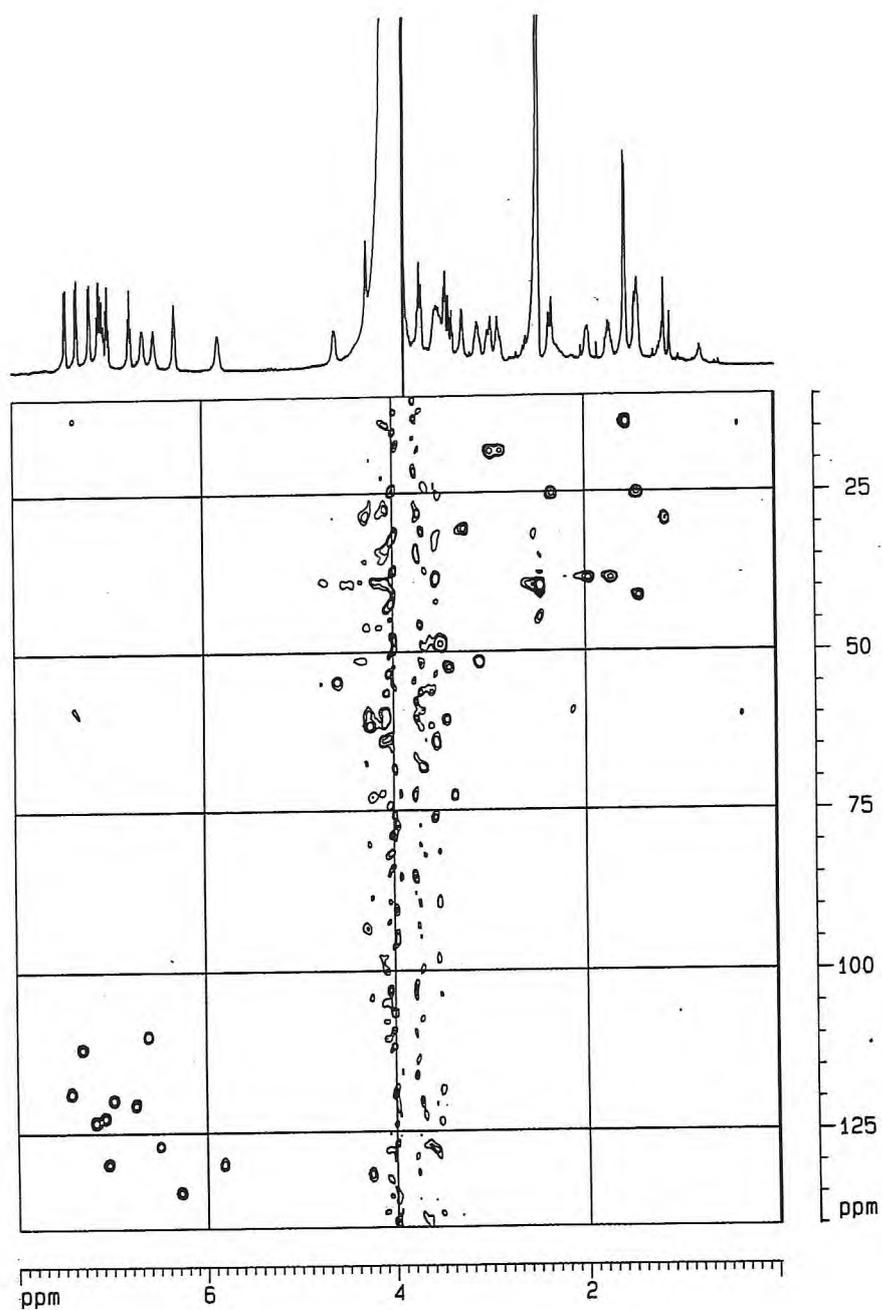
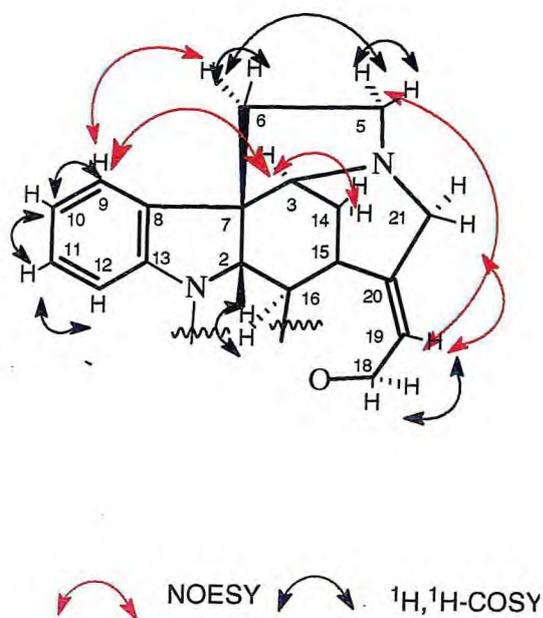


Figura 4. 15 - Espectro de RMN 2D HMQC (DMSO<sub>d6</sub>) de SCA2 .

Através da análise do espectro RMN 2D  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-pr (Figura 4.16) observou-se o acoplamento dos pares de hidrogênios geminais com sinais em  $\delta$  1,70 / 1,90 e  $\delta$  2,9 / 3,0, respectivamente com pares de hidrogênios assinalados em  $\delta$  3,2 /  $\delta$  3,7 e  $\delta$  3,5 / 3,9, caracterizando a presença de dois segmentos triptamínicos  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{N}$ . Adicionalmente, verificou-se pico de correlação entre o metino em  $\delta$  1,45 ( $\delta_{\text{C}}$  42,0) e o sinal de um hidrogênio situado em  $\delta$  3,7, compatíveis, respectivamente, com H-16 e H-2. No espectro RMN 2D  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-gs (Figura 4.17) verificou-se que um sinal em  $\delta$  2,38-2,40 apresentava acoplamento com os localizados em  $\delta$  4,3 e  $\delta$  4,5, atribuídos respectivamente a H-3 e H-3'.

As interações dipolares, reveladas no espectro de efeito nuclear Overhauser 2D (NOESY) (Figura 4.18) dos hidrogênios assinalados em  $\delta$  7,23 (H-9) /  $\delta$  1,70, e  $\delta$  7,45 (H-9') / 3,0- 2,9, justificaram a posição do primeiro segmento na metade indolínica da molécula e do segundo, na parte indólica.

O NOESY revelou ainda que o H-9 acopla espacialmente com o hidrogênio metínico em  $\delta$  4,3, confirmado como o H-3. H-3 também interage dipolarmente com um hidrogênio com sinal em  $\delta$  1,45, compatível com o H-14B. Verificou-se também um acoplamento entre o hidrogênio olefínico ( $\delta$  6,30) do segmento  $\text{HC}=\text{C-CH}_2\text{O}$  e sinais em  $\delta$  3,4, atribuído ao H-21B, e  $\delta$  3,2, confirmando o H-5B. Estas observações permitiram constatar a subestrutura estricnana abaixo para SCA2.



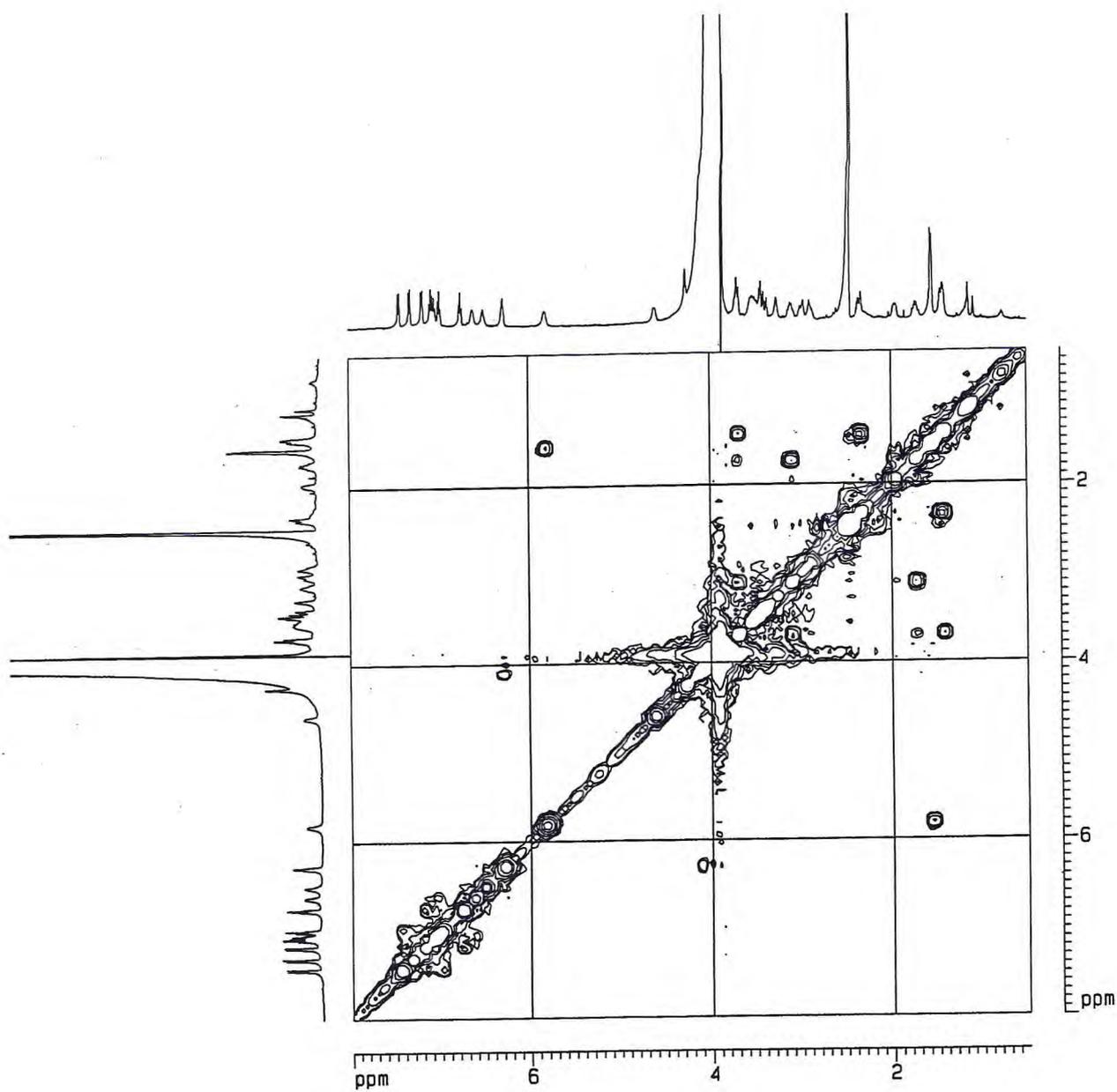


Figura 4.16. Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-pr ( $\text{DMSO}_{d_6}$ ) de SCA2

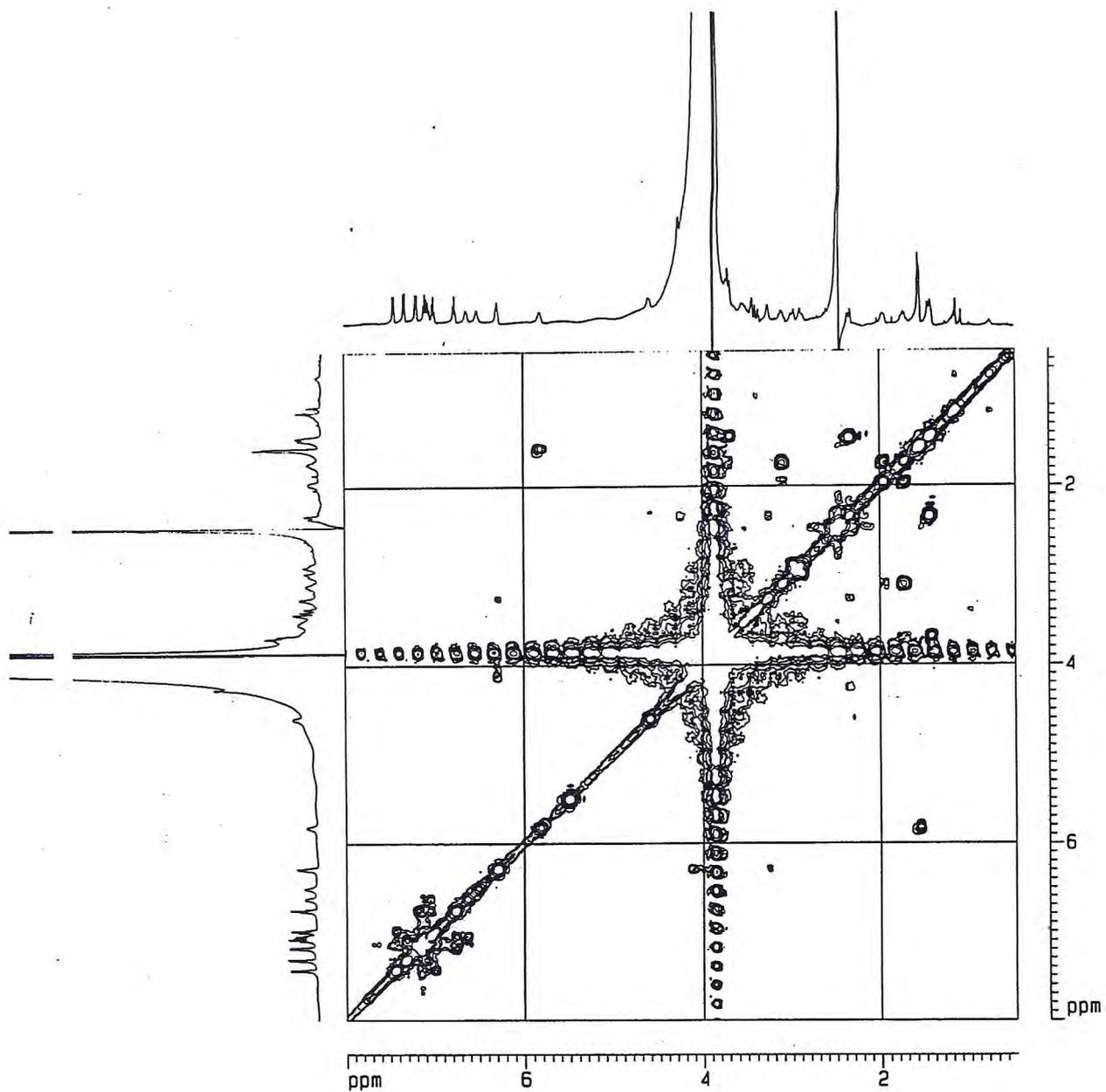
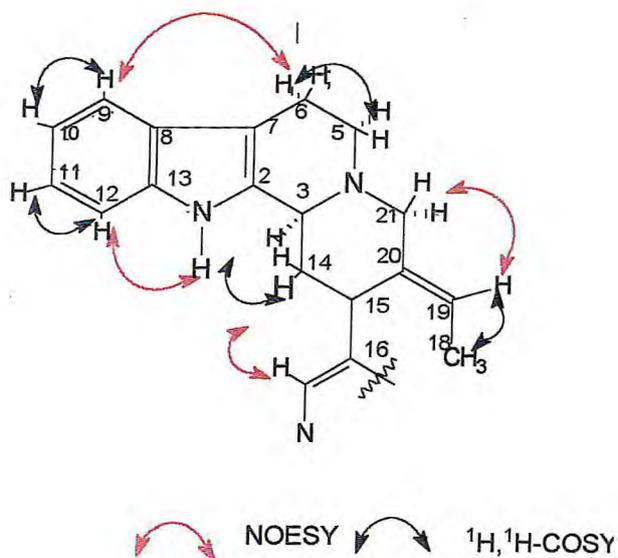


Figura 4.17. Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-gs ( $\text{DMSO}_{d6}$ ) de SCA2

O registro de um singlete em  $\delta$  6,51 correlacionado a um carbono em  $\delta$  127,0 no espectro *HMOC*, caracterizou o hidrogênio enamínico H-17' e acentuou as semelhanças de SCA2 com uma estrutura corinante-estricno, do grupo da longicaudatina. Um forte pico de correlação no NOESY, entre o H-17' e um sinal em  $\delta$  2,4 atribuído a um dos H-14' também indicaram um sistema corinante na molécula. No mesmo espectro, um pequeno pico de correlação, entre esse hidrogênio (H-17') e os do grupo metila do grupo  $(20')C = (19')CHCH_3$  e outro entre o H-19' ( $\delta$  5,82) e os hidrogênios localizados em  $\delta$  3, 6 e  $\delta$  4,0 atribuídos respectivamente a H-21' B e H-21' A, confirmaram o segmento delineado abaixo:



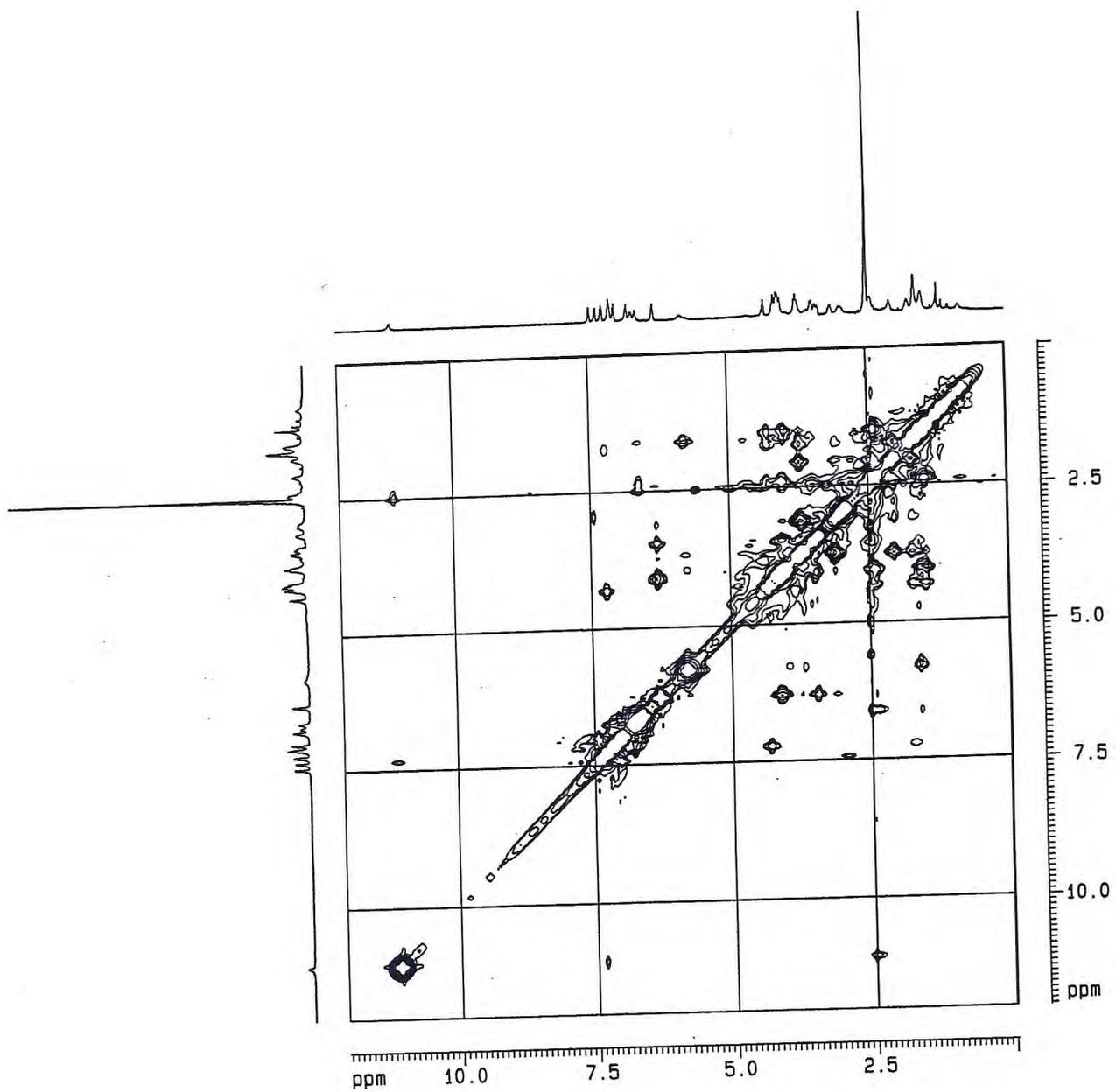
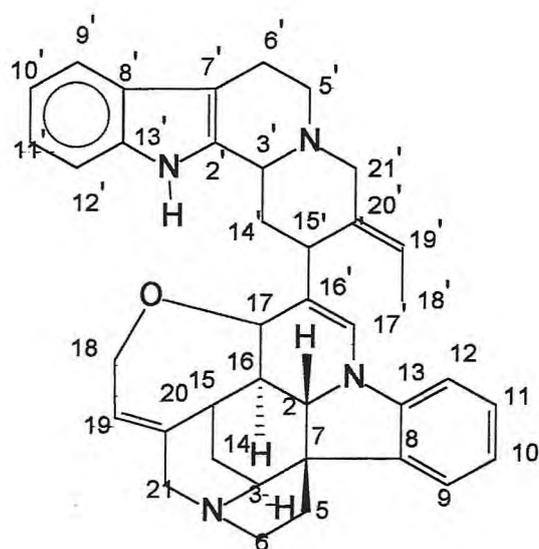
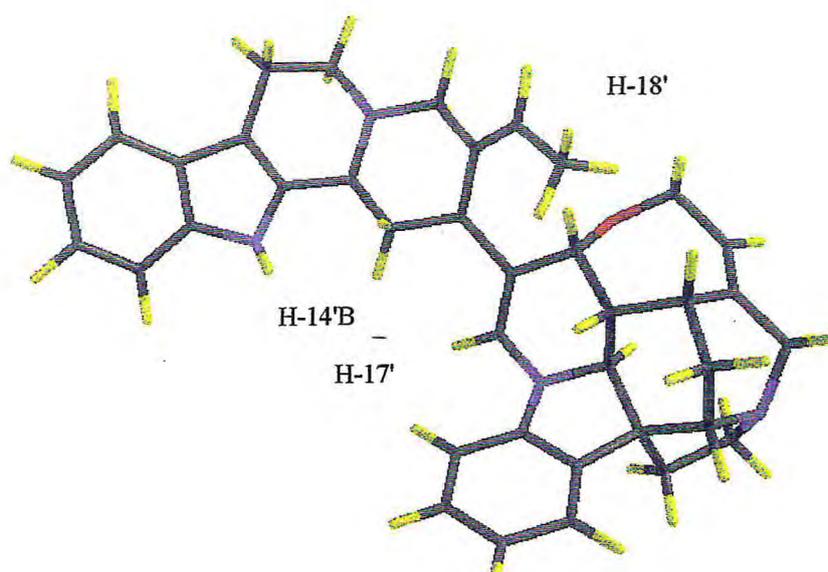


Figura 4.18. Espectro de RMN 2D NOESY (  $\text{DMSO}_{d_6}$  ) de SCA2

A partir destas informações, verificou-se a semelhança de SCA2 com os dados da literatura (68, 114) do alcalóide longicaudatina (Figuras 4.19 e 4.20, Tabela 4.2), observando-se que os deslocamentos químicos, se encontram na maioria das vezes em campo mais baixo, e não sendo possível assinalar alguns carbonos, principalmente os quaternários (Tabela 4.3). A troca nas atribuições dos deslocamentos químicos de C-9 e C-11 em relação às realizadas por Mukherjee *et al.* (68) foi baseada nos acoplamentos evidenciados no espectro HMBC e NOESY, mantendo-se as atribuições feitas por Massiot *et al.* (114).



**Figura 4.19.** Estrutura da Longicaudatina (SCA2)



**Figura 4.20.** Estrutura tridimensional da longicaudatina (Programa Spartan)

Os espectros de massa, usando o modo de ionização electrospray (ESI), e de espectrometria tandem EM/EM (Figuras 4.21 e 4.22), confirmaram a identificação de SCA2 como a longicaudatina. O primeiro revelou um íon proeminente em 569,2  $(M+H)^+$  (100%), correspondendo à fórmula molecular  $C_{38}H_{40}N_4O$ , observando-se o pico base em  $m/z$  273 [ $(M+H)^+ - 2H_2 - C_{19}H_{20}N_2O$ ] e fragmentos em  $m/z$  251, característicos do sistema indoloquinolizidina não substituído da parte corinante e em  $m/z$  144, evidenciando presença de esqueleto estricnano. Um íon em  $m/z$  536,3 [ $(M+2H)^{2+} - 2H_2 - H_2CO$ ], oriundo de íon em  $m/z$  566, [ $(M+2H)^{2+} - 2H_2$ ] (espectro ESI-EM/EM), caracterizou presença do éter cíclico na molécula (115). Interpretação da fragmentação com perdas de fragmentos neutros nas Figura 4.23 e 4.24.

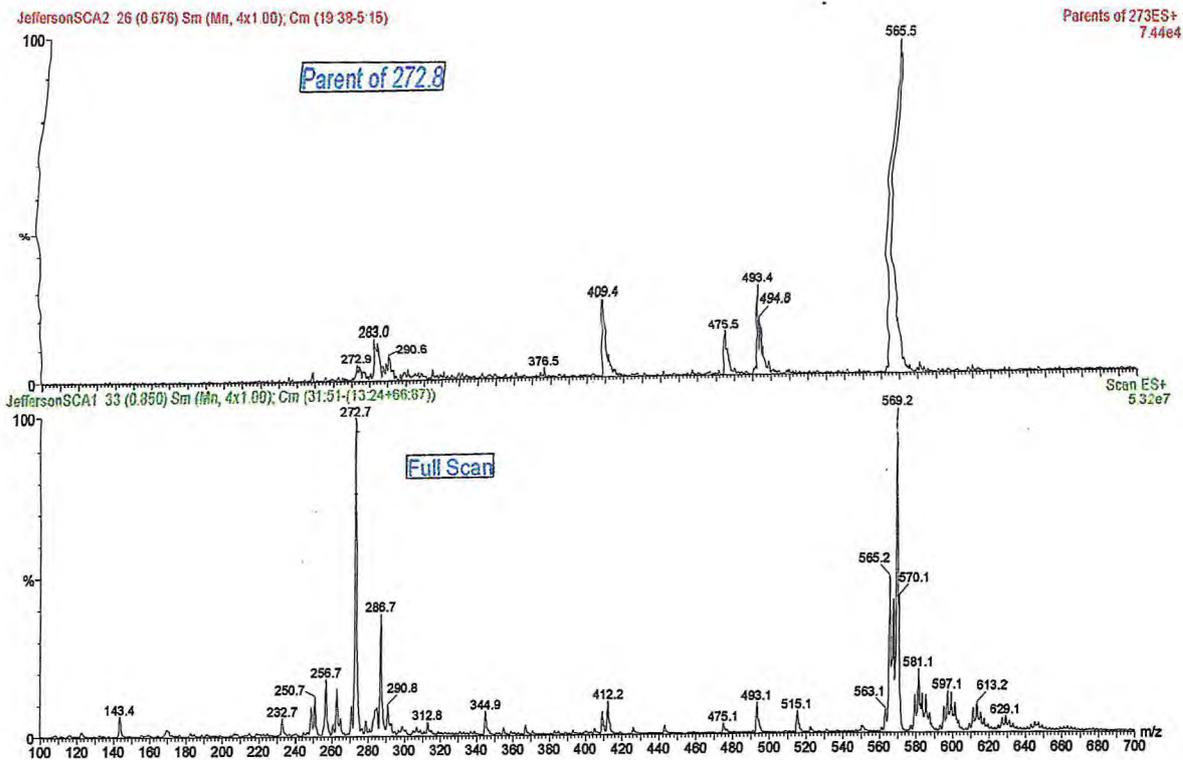


Figura 4.21. Espectros de massa (ESI e EM/EM) de SCA2

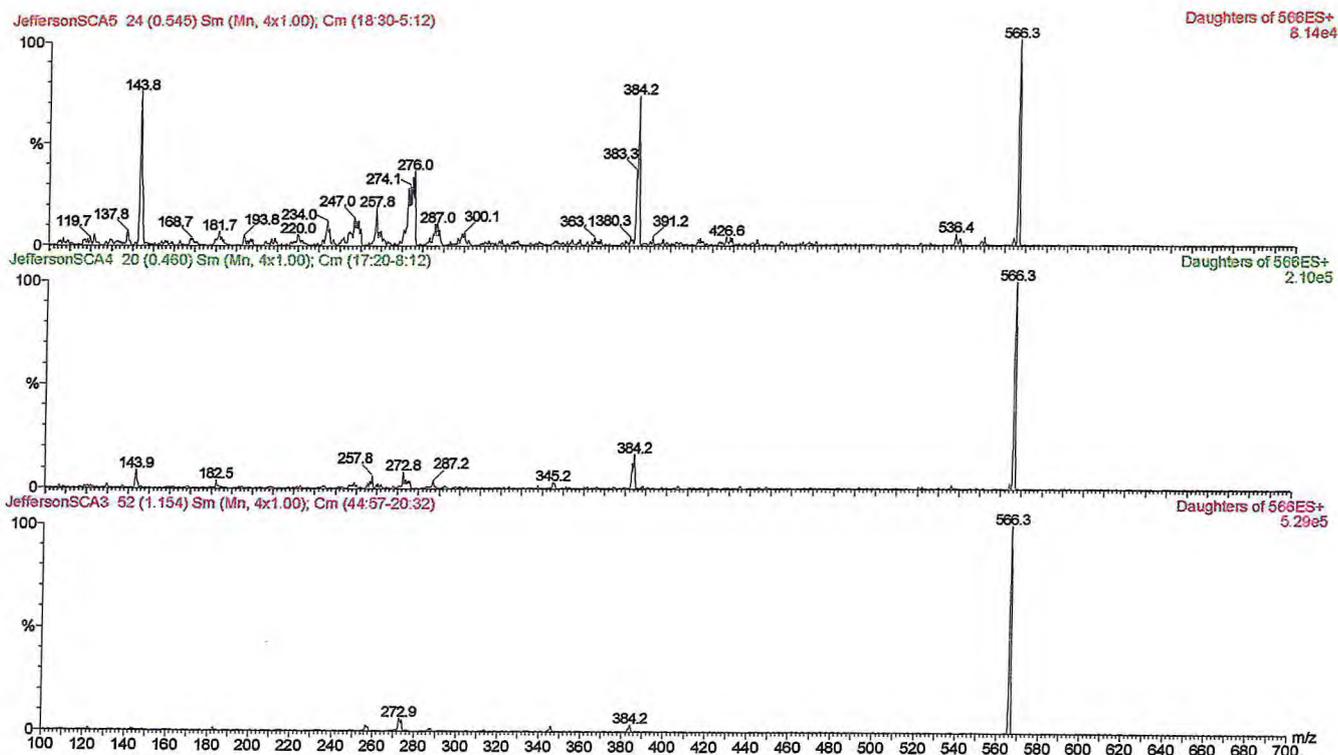


Figura 4.22. Espectros de massa (ESI-EM/EM) de SCA2

**Tabela 4.2.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H(500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C(125 MHz) de SCA2 em DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub>

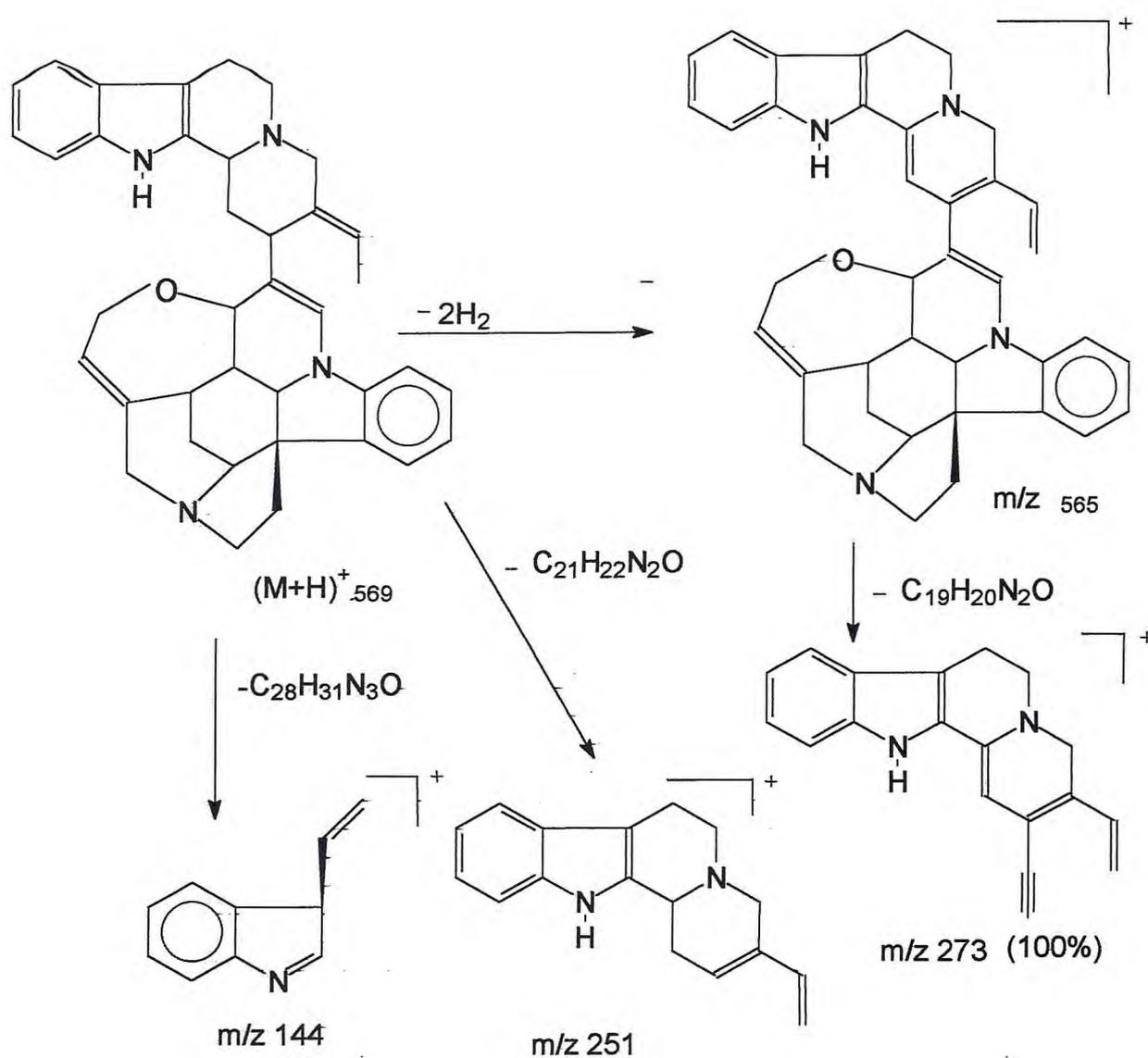
Posição	δ H*	δ C*	COSY	NOESY	HMBC*
2'					
3'	4,5	54,5			
5'A; 5'B	3,9; 3,5	49,9	6'A; 6'B		
6'A; 6'B	3,0; 2,9	18,0	5'A; 5'B		
7'		106,0			
8'		126,0			
9'	7,45 d	118,0	10'	6-B'	13'; 11'
10'	6,98 t	120,0	9'; 12'		8'
11'	7,0 t	122,0	12'		9'
12'	7,34 d	112,0	11'	NH	8'; 10'
13'		137,0			
NH	11,06 s			12'; 14'	7'
14'A;14'B	2,4	32,0			
15'	3,5	38,0			
16'					
17'	6,51 s	127,0		14'; 18'	
18'A; 18'B	1,60	13,0	19'	17'; 19'	19'
19'	5,82 ql	130,0	18'	21'A; 21'B	
20'					
21'A ; 21'B	4,0; 3,6				
2	3,7	61,0	16		
3	4,3	61,0			
5A ; 5B	3,7; 3,2	51,0	6A; 6B		
6A ; 6B	1,90; 1,70	39,0	5A ; 5B		
7		50,5			
8		129,0			
9	7,23 d	123,0	10	3; 6B'	13; 11;7
10	6,78 t	121,0	9; 11		8; 12
11	6,99 t	130,0	10; 12		
12	6,69	110,0	11		
13		147			
14A ; 14B	2,38; 1,45	25,0			
15	3,3	31,0			
16	1,45	42,0	2		
17	4,0	80,0			2
18A ; 18B	4,1; 4,0	64,0			17; 19
19	6,30	134,0	18A	18; 21B	
20					
21 <sup>A</sup>	4,1				
21B	3,4				15; 19

\* Correlações a partir de H com os carbonos indicados.  
Assinalamentos de <sup>13</sup>C baseados no HMQC.

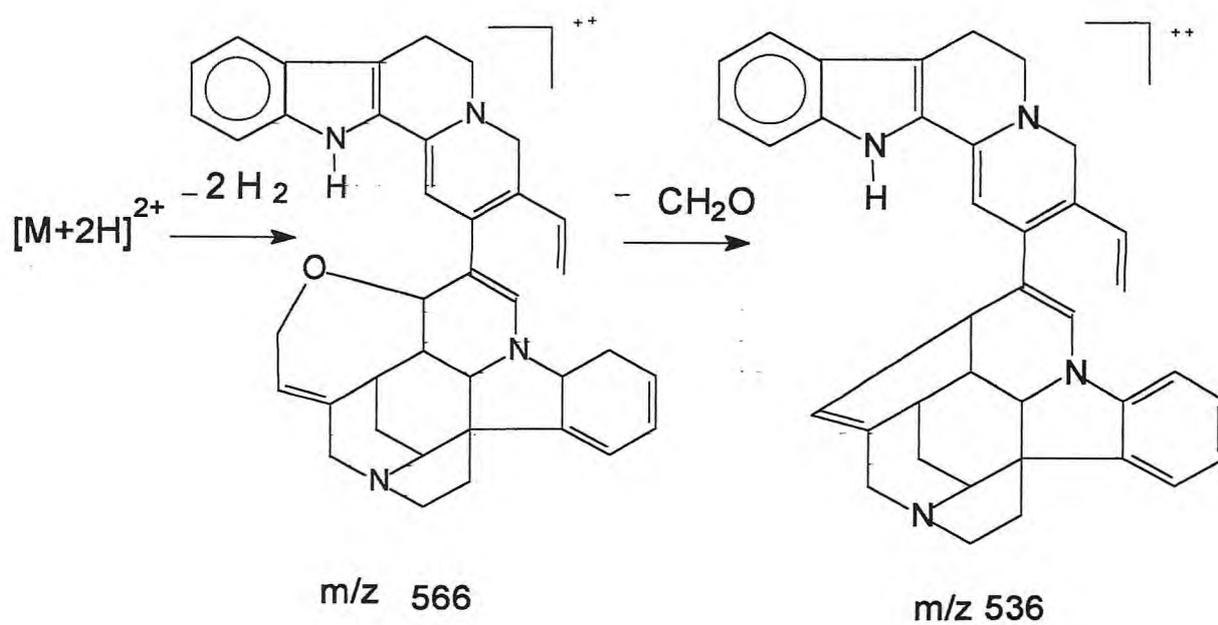
**Tabela 4.3.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SCA2 em DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub> e da Longicaudatina \* #

Posição	SCA2 δ C	SCA2 δ H	*Longicaudatina δ C	* Longicaudatina δ H	# δ C
2'			133,35		132
3'	54,5	4,5	54,5	4,10 sl	54,2
5'A; 5'B	49,9	3,9; 3,5	50,72 ou 50,66	3,02m; 3,13m	50,6
6'A; 5'B	18,0	3,0; 2,9	14,90	2,59m 2,92	18,3
7'	106,0		106,36		108,1
8'	126,0		127,43		127,8
9'	118,0	7,45 d	117,81	7,31 d	117,9
10'	120,0	6,98 t	118,78	6,87 t	118,9
11'	122,0	7,00 t	120,68	6,91 t	119,1
12'	112,0	7,34 d	110,24	7,19 d	110,5
13'	137,0		136,22		135,6
14'	32,0	2,4	31,48	2,15m ; 2,58m	31,4
15'	38,0	3,5	38,31	3,30 t	38,2
16'			116,23		117
17'	127,0	6,51 s	126,87	5,96 s	127
18'	13,0	1,60 d	12,87	1,42 d	13,1
19'	130,0	5,82 ql	122,47	5,51 q	124,5
20'			134,65		134,5
21'A; 21'B		4,0; 3,6	54,80	3,01d; 3,50m	52,4
2	61,0	3,7	60,17	3,48	60,5
3	61,0	4,3	59,55	3,70 m	59,9
5A; 5B	51,0	3,7; 3,2	50,66 ou 50,77	2,85m 3,20m	51,4
6 A; 6 B	39,0	1,70 ; 1,90	39,37	1,48m ; 1,60m	39,9
7	50,5		50,95		51
8	129,0		131,13		136,9
9	123,0	7,23 d	128,25	6,85 d	122,6
10	121,0	6,78 t	119,53	6,58 t	119,4
11	130,0	6,99 t	122,36	6,86 t	128,1
12	110,0	6,69 d	108,46	6,19 t	108,5
13	147,5		146,49		147,0
14A; 14B	25,0	2,38; 1,45	26,58	2,18; 1,34	27,1
15	31,0	3,3	31,74	3,11	32,2
16	42,0	1,45	42,29	1,39	42,7
17	80,0	4,0	82,16	3,97	82,6
18A; 18B	64,0	4,0; 4,1	64,65	4,13 ; 4,32	64,9
19	134,0	6,30 tl	127,28	6,02	129,8
20			140, 85		132,5
21A; 21B		4,1; 3,4	52,62	2,75; 3,64	53,2

\* Mukherjee et al. *Phytochemical Anal.* 1997,8,115-119 (68) # Massiot et al. *Phytochemistry* 1988, 7, 10, 3293-3304.



**Figura 4.23.** Esquema de interpretação da fragmentação (ESI-EM/EM) de SCA2 (Longicaudatina)



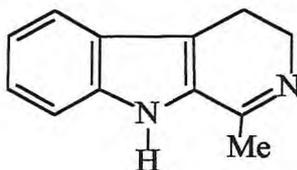
**Figura 4.24.** Esquema de interpretação da fragmentação (ESI-EM/EM) de SCA2 (Longicaudatina)

## CAPÍTULO V

### 5. Identificação e determinação estrutural dos constituintes isolados da raiz de *Strychnos guianensis* (Aublet) Martius

#### 5.1. Identificação de SG1 (harmano)

A substância codificada como SG1, detectada no extrato metanólico da raiz, apresentou fluorescência azul sob luz UV (366 nm) e foi identificada como o alcalóide harmano (Figura 5.1), através de comparação cromatográfica em CCD analítica, utilizando os sistemas de solvente AcOEt/IsopropOH/NH<sub>4</sub> OH (90:8:2) e CHCl<sub>3</sub>/MeOH (9:1), com amostra autêntica



**Figura 5.1.** SG1- Harmano

#### 5.2. Identificação de olivil- SGA1

SGA1, isolada do extrato metanólico da raiz, apresentou-se como um sólido esbranquiçado, ponto de fusão 144-146° C,  $[\alpha]_D^{25} - 46,4$  (c 0,125, MeOH) insolúvel em clorofórmio, solúvel em acetona, acetonitrila e metanol. Absorve fortemente a luz UV de comprimento de onda 254 nm, apresenta coloração amarela ao Dragendorff e violeta com sulfato cérico/ácido sulfúrico.

O espectro na região do infravermelho (Figura 5.2) registrou banda larga em 3400 cm<sup>-1</sup> característica de deformação axial de O-H, em acordo com as deformações axiais em 1270 e 1030 cm<sup>-1</sup>, devido a ligação C-O. Absorções em 1600, 1510 e 1445

$\text{cm}^{-1}$ , típicas de vibrações esqueléticas de sistema aromático ( $\nu\text{C}=\text{C}$ ), foram ratificadas pelas bandas em  $700$  e  $770 \text{ cm}^{-1}$ , compatíveis com deformação angular  $=\text{C}-\text{H}$ , fora do plano.

O espectro de RMN- $^1\text{H}$  (Figura 5.3), apresentou um sinal simples e intenso em  $\delta$  3,98, caracterizando a presença de grupo  $\text{CH}_3\text{O}$ , compatível com o registro de duas absorções, quase superpostas em  $\delta$  55,52 e 55,49 no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 5.4). Observou-se também sinais entre  $\delta$  7,22 e 6,91, correspondentes a 8 hidrogênios na região aromática e, como o espectro DEPT (Figura 5.5) apresentou somente 6 carbonos  $\text{CH sp}^2$ , dois foram atribuídos a hidrogênios de hidroxilas fenólicas ( $\delta$  6,89, 2H). O DEPT indicou, também, a ocorrência de 3 grupos metilênicos, correspondendo aos sinais em  $\delta$  39,09, 59,59 e 76,62, no espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ , observando-se que os dois últimos, evidenciavam carbonos oxigenados (2  $\text{CH}_2\text{-O}$ ). Observou-se ainda, a presença de dois carbonos metínicos ( $\text{CH}$ )  $\text{sp}^3$ , em  $\delta$  60,23 e 83,67 sendo o último oxigenado. Por comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  totalmente desacoplado, deduziu-se a presença de um carbono não hidrogenado em  $\delta$  81,168, também revelando vizinhança com o oxigênio. Estas observações foram confirmadas pelo espectro de RMN  $^1\text{H}$ , que registrou sinais para 10 hidrogênios entre  $\delta$  3,6 e  $\delta$  4,0, sendo 4 compatíveis com dois grupamentos  $\text{CH}_2\text{O}$  ( $\delta$  3,92/3,68, 2H e 3,82/3,78, 2 H). Os outros 6 hidrogênios foram, obviamente, correlacionados a dois grupos metoxilas ( $\delta$  3,98, s, 6H).

O Espectro de Massa de Alta Resolução (EMAR)(Figura 5.6) registrou íon molecular com razão de massa/carga ( $m/z$ ) 376,15228, compatível com fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_7$ , levando ao índice de deficiência de hidrogênios igual a nove. Considerando a natureza aromática do composto e, o registro de 12 sinais para carbonos  $\text{sp}^2$ , no espectro de RMN $^{13}\text{C}$ , os nove graus de insaturação foram justificadas através de três anéis, sendo dois benzênicos. O pico base em  $m/z$  137,06 (100%), acompanhado de outro em  $m/z$  138,0 (96,51%), correspondentes aos fragmentos  $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2$  e  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ , sugeriu a presença de um fragmento benzílico substituído com uma hidroxila e uma metoxila, devendo os outros dois grupos  $\text{OH}$  e  $\text{CH}_3\text{O}$ , evidenciados nos espectros de ressonância, estar localizados no segundo anel aromático.

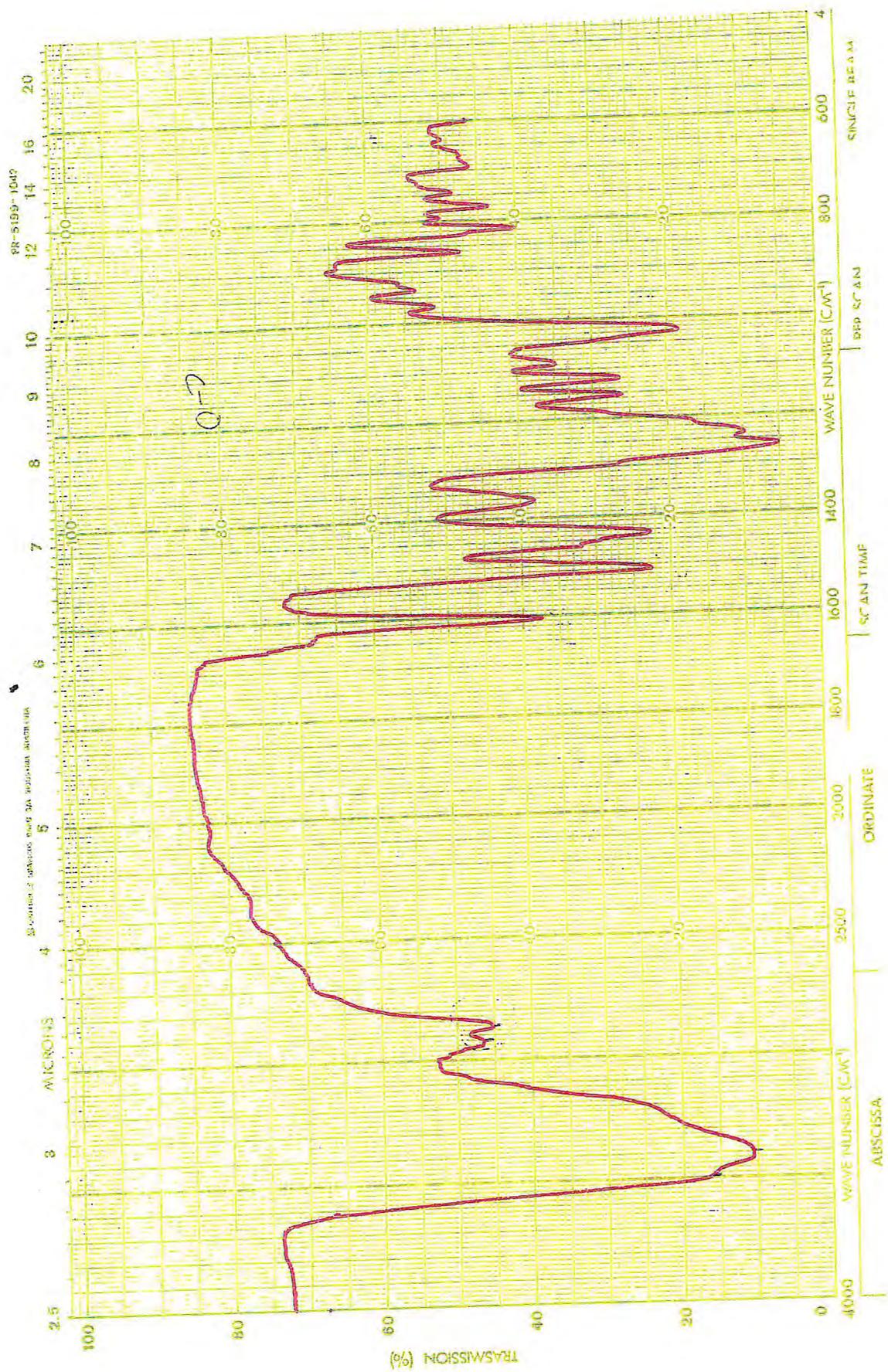


Figura 5.2. Espectro no infravermelho (KBr) de SGAl.

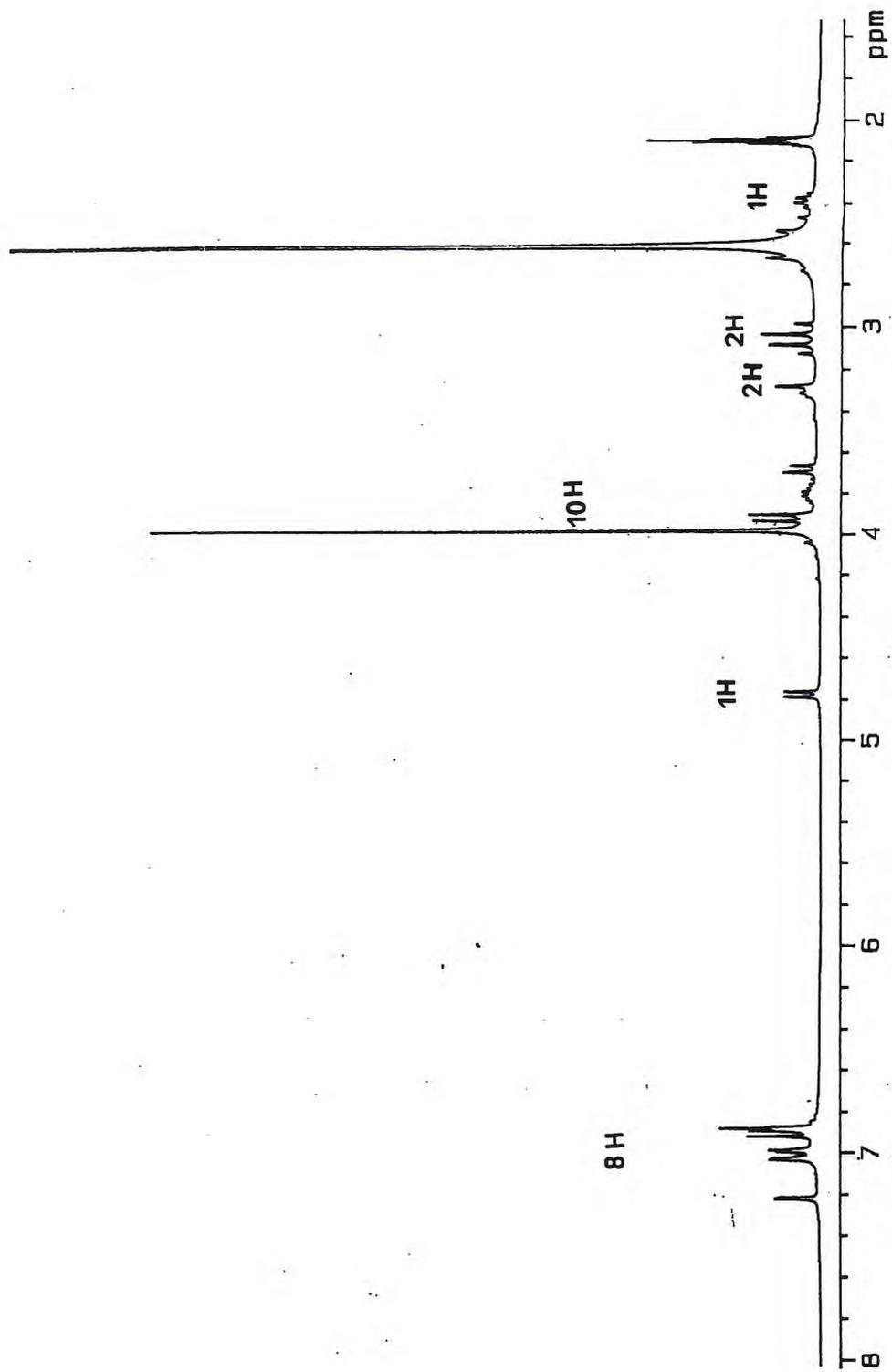


Figura 5.3. Espectro de RMN<sup>1</sup> H ( CD<sub>3</sub>CN , 300 MHz ) de SGA1

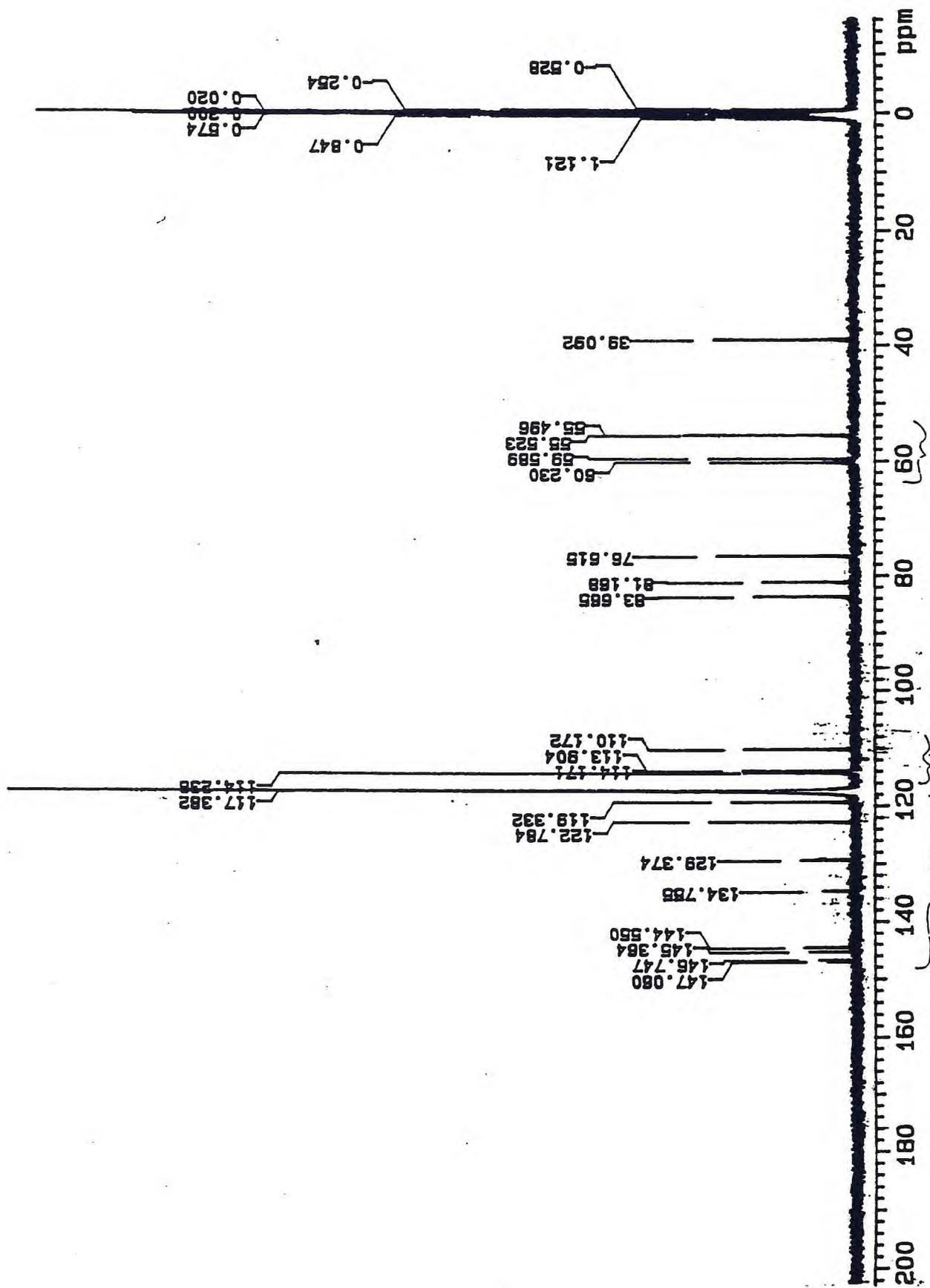


Figura 5.4. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (BB) ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 75 MHz) de SGA1

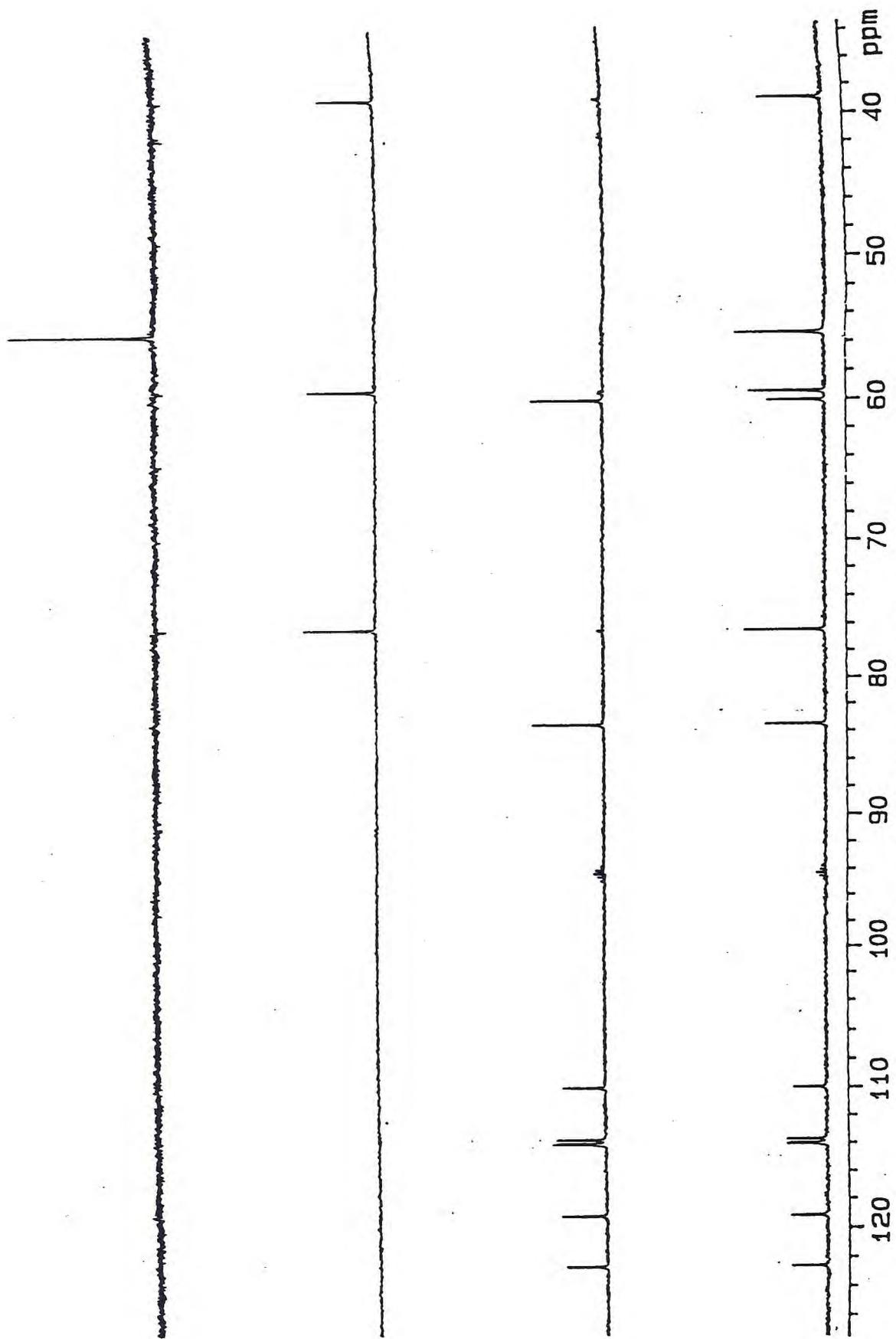


Figura 5.5. DEPT Editado (CD<sub>3</sub>CN) de SGAI.

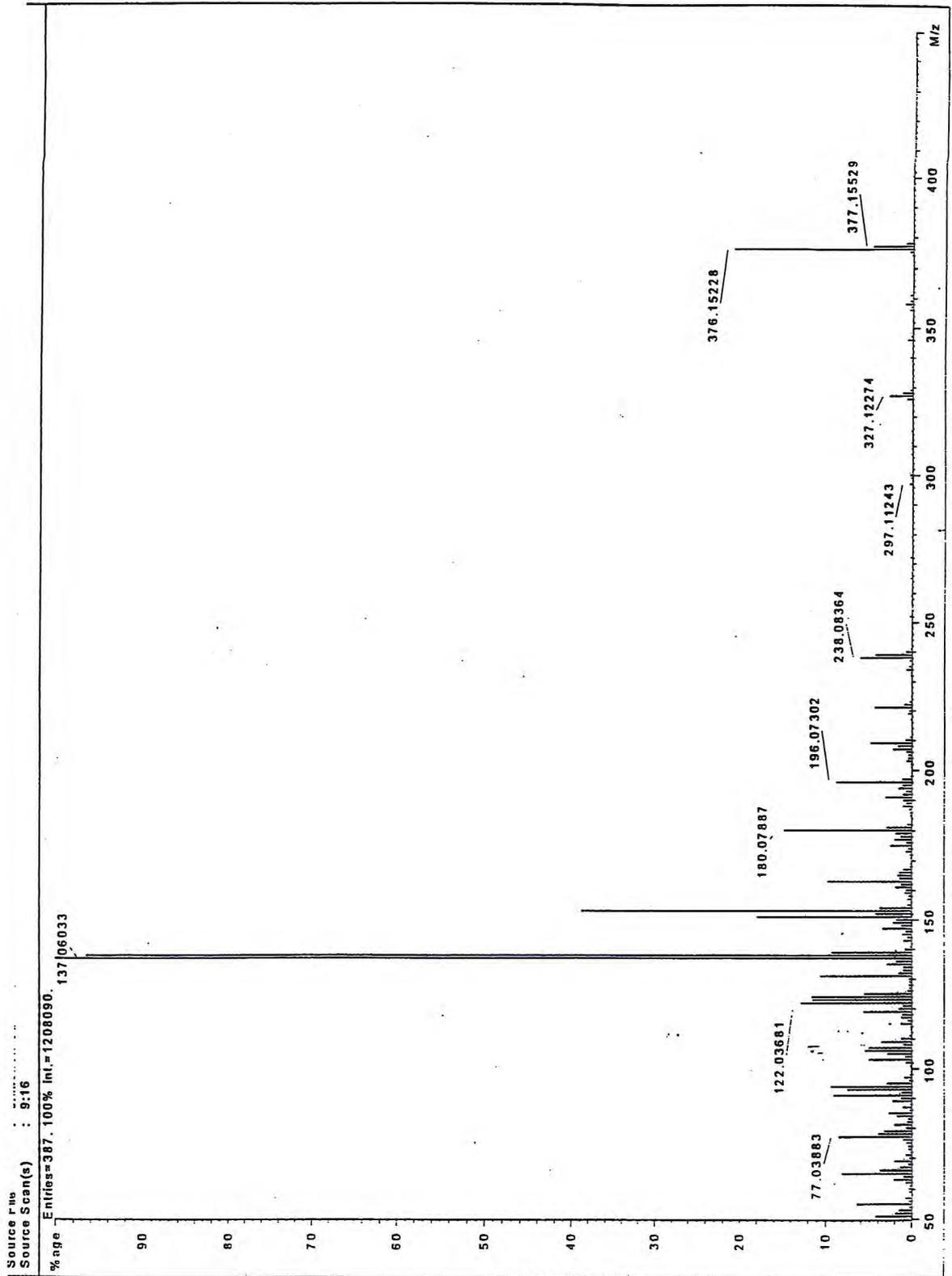


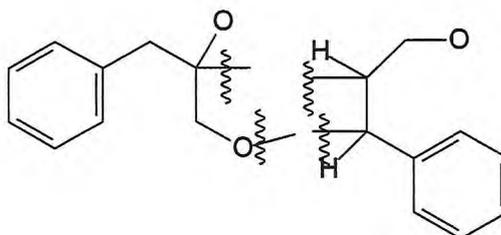
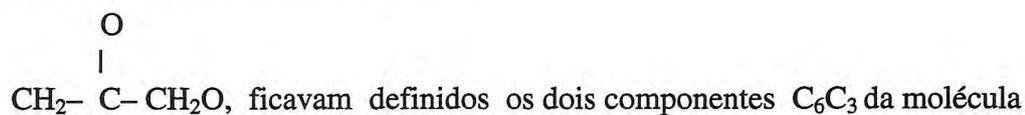
Figura 5.6. Espectro de Massa de Alta Resolução (EI, 70eV) de SGAI

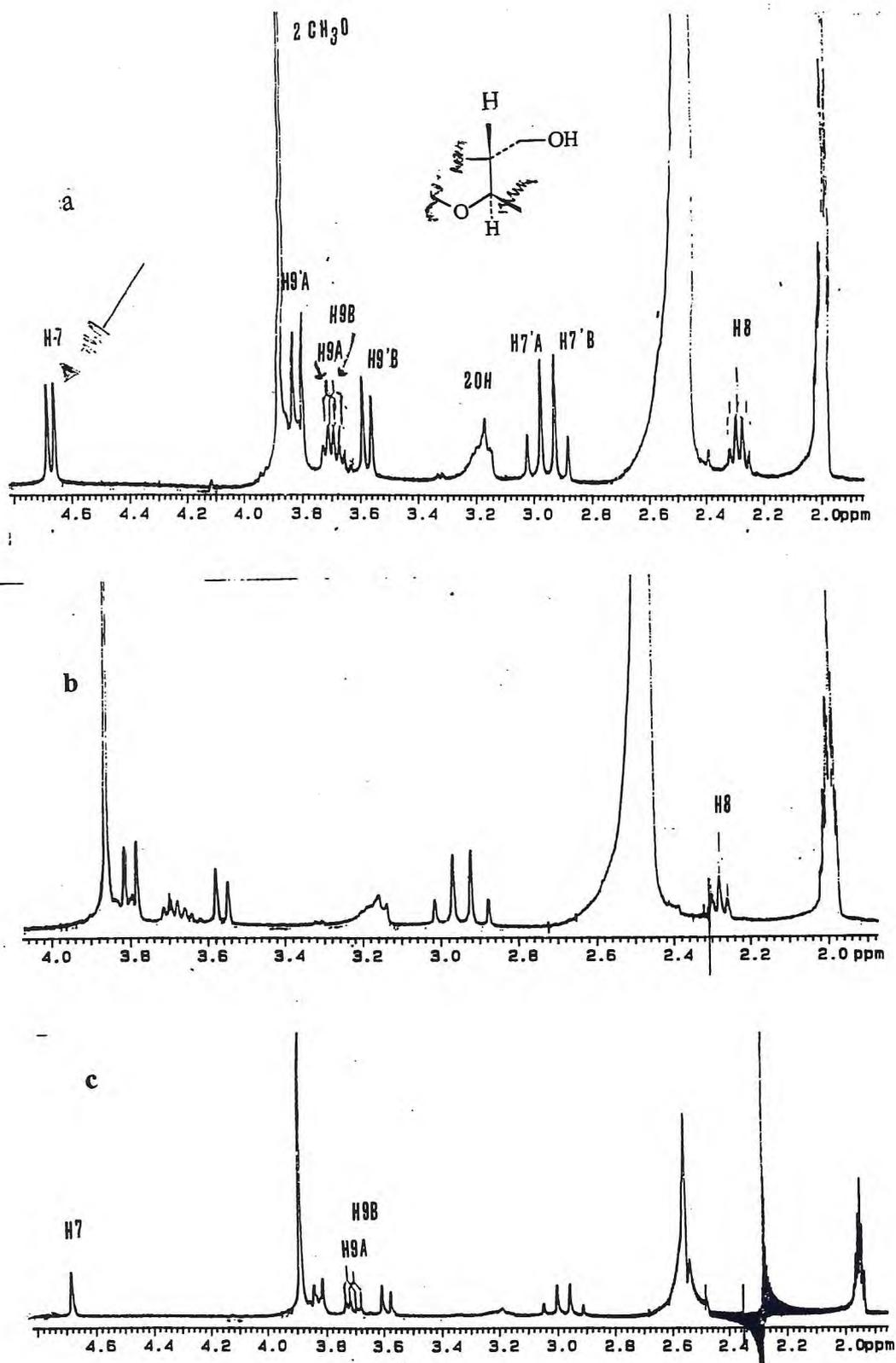
Estes dados espectrais permitiram verificar que se tratava de uma substância com esqueleto básico com 18 carbonos, apontando para a presença de um dímero  $(C_6 C_3)_2$  de natureza fenilpropanóide, provavelmente, uma lignana. A presença de um duplo duplete centrado em  $\delta$  2,39 ( $J=7,0$  Hz , 1H) acoplado a um duplete em  $\delta$  4,78 ( $J=7,0$  Hz, 1H) e a dois duplos dupletos, respectivamente em  $\delta$  3,78 ( $J_s= 10,7$  e  $7,0$ Hz, 1H) e  $\delta$  3,82 ( $J_s= 10,7$  e  $7,0$  Hz, 1 H) revelaram a presença do segmento



na molécula, confirmado com base em experiências de dupla ressonância em frequências selecionadas (Figura 5.7). Assim é que a irradiação do duplete em 4,78  $\delta$  transformou o duplo duplete situado em  $\delta$  2,39 em um tripleto, enquanto a irradiação deste sinal levou à substituição do duplete em  $\delta$  4,78 por um singlete e ao colapso dos dois duplos dupletos em  $\delta$  3,78 e 3,82 para dois dupletos simples, característicos de hidrogênios geminais.

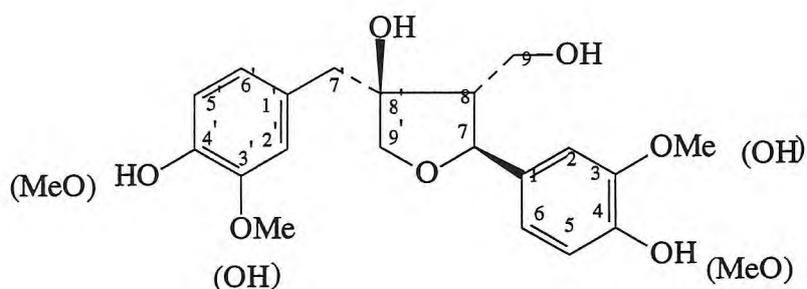
Dois dupletos mutuamente acoplados em  $\delta$  3,01 (d,14,0 Hz, 1H) e 3,10 (d,14,0 Hz, 1H) ratificaram a presença de um metileno benzílico, evidenciado no E.M. e compatível com o sinal a  $\delta$  39,09 no espectro de RMN  $^{13}C$ , constituindo um sistema isolado. Também era evidente a presença de outro sistema isolado de hidrogênios geminais, em  $\delta$  3,92 (9,1Hz, d) e 3,68  $\delta$  (9,1 Hz ,d) . Considerando-se que o carbono não hidrogenado em  $\delta$  81,17 portando um átomo de oxigênio, servia de ponte entre dois grupos metilenos constituindo o segmento



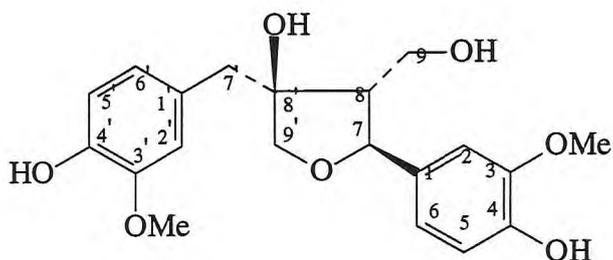


**Figura 5.7.** Espectros de RMN<sup>1</sup>H de SGA1 com dupla irradiação em frequências selecionadas: a-Branco b-Irradiação em  $\delta$  4.78 c-Irradiação em  $\delta$  2.39.

A posição dos substituintes nos dois anéis aromáticos foi definida pelo padrão de acoplamento dos dois conjuntos de hidrogênios (3 hidrogênios em cada anel). Assim, foram observados, sinais em  $\delta$  7,22 (d, 2,0 Hz, 1H) e  $\delta$  7,02 (d, 1,8 Hz, 1H) acoplados, respectivamente, com hidrogênios em  $\delta$  7,00 (dd, 7,7; 2,0 Hz, 1H) e  $\delta$  6,89  $\delta$  (dd 7,7; 1,8 Hz, 1 H), que estavam, independentemente, orto-acoplados com um sinal representando 2 hidrogênios em  $\delta$  6,91 (d, 7,7 Hz, 2H), configurando a presença de 2 anéis benzênicos 1, 3, 4 tri-substituídos.



Comparação com dados da literatura (116, 117), principalmente de RMN<sup>1</sup>H (Tabela 5.1) e RMN<sup>13</sup> C (Tabela 5.2) permitiu identificar SGA1 como a lignana (-) olivil (Figura 5.8). A proposta de fragmentação da molécula apresentada na Figura 5.9, baseada no E.M, ratifica a identidade de SGA1 com (-) olivil.



**Figura 5.8.** SGA1- (-) Olivil

**Tabela 5.1.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H- de SGA1 e olivil \*

N <sup>o</sup> H	SG A1 solvente: Acetonitrila- <i>d</i> <sub>3</sub>		Olivil-solvente: acetona- <i>d</i> <sub>6</sub>	
	δ (ppm)	J em Hz	δ	J em Hz
2	7,22-1H	d, 2,0	7,14-1H	d, 2,0
5	6,91-1H	d, 7,7	6,73- 1H	
6	7,00-1H	dd, 7,7; 2,0	6,88 -1H	dd, 8,0; 2,0
7	4,78 1H	d, 7,0	4,72 1H	d, 7,5
8	2,39 1H	dd, 7,0;7,0	2,31 -1H	ddd, 6-7
9	3,78-1H	dd, 10,7;7,0	3,95-3,73	-
9	3,82-1H	dd, 10,7;7,0	3,95-3,73	-
2'	7,02-1H	d, 1,8	6,96-1H	d, 2,0
5'	6,91-1H	d, 7,7	6,75-1H	d, 8,0
6'	6,89-1H	dd, 7,7;1,8	6,77-1H	dd, 8,0; 2,0
7'	3,01-1H	d, 14,0	2,95 -1H	d, 14,0
7'	3,10-1H	d, 14,0	3,05-1H	d, 14,0
9'	3,92-1H	d, 9,1	3,95-3,73	-
9'	3,68-1H	d, 9,1	3,60 1H	-
MeO	3,98-6H	s	3,83-6H	
OH	6,89-1H	s	7,39	
OH	6,89-1H	s	7,40	
OH-8'	3,25-1H		3,83	
OH-9	3,25-1H		3,90	

\*Achenbach, H. *et al* . 1983 .*Phytochemistry*, 22, 3, 749 (116)

**Tabela 5.2.** Dados de espectros de RMN<sup>13</sup>C (BB) de SGA1 e olivil \*

N <sup>o</sup> C	SGA1 a 75 MHz , em acetonitrila-d <sub>3</sub> , δ (ppm)	Olivil a 100 MHz, em piridina-d <sub>5</sub> , δ (ppm)
1	134,8	135,6
2	110,2	111,6
3	147,1	148,7
4	145,4	147,6
5	114,2	116,1
6	119,3	120,5
7	83,7	84,8
8	60,2	62,1
9	59,6	60,5
1 <sup>o</sup>	129,4	130,1
2 <sup>o</sup>	113,9	115,4
3 <sup>o</sup>	146,7	148,2
4 <sup>o</sup>	144,6	146,7
5 <sup>o</sup>	114,2	116,0
6 <sup>o</sup>	122,8	123,7
7 <sup>o</sup>	39,9	40,7
8 <sup>o</sup>	81,2	82,0
9 <sup>o</sup>	76,6	78,1
2 MeO	55,5	55,8 55,9

\* Abe, F. *et al.* 1989. *Phytochemistry*. 28, 12, 3473 (117)

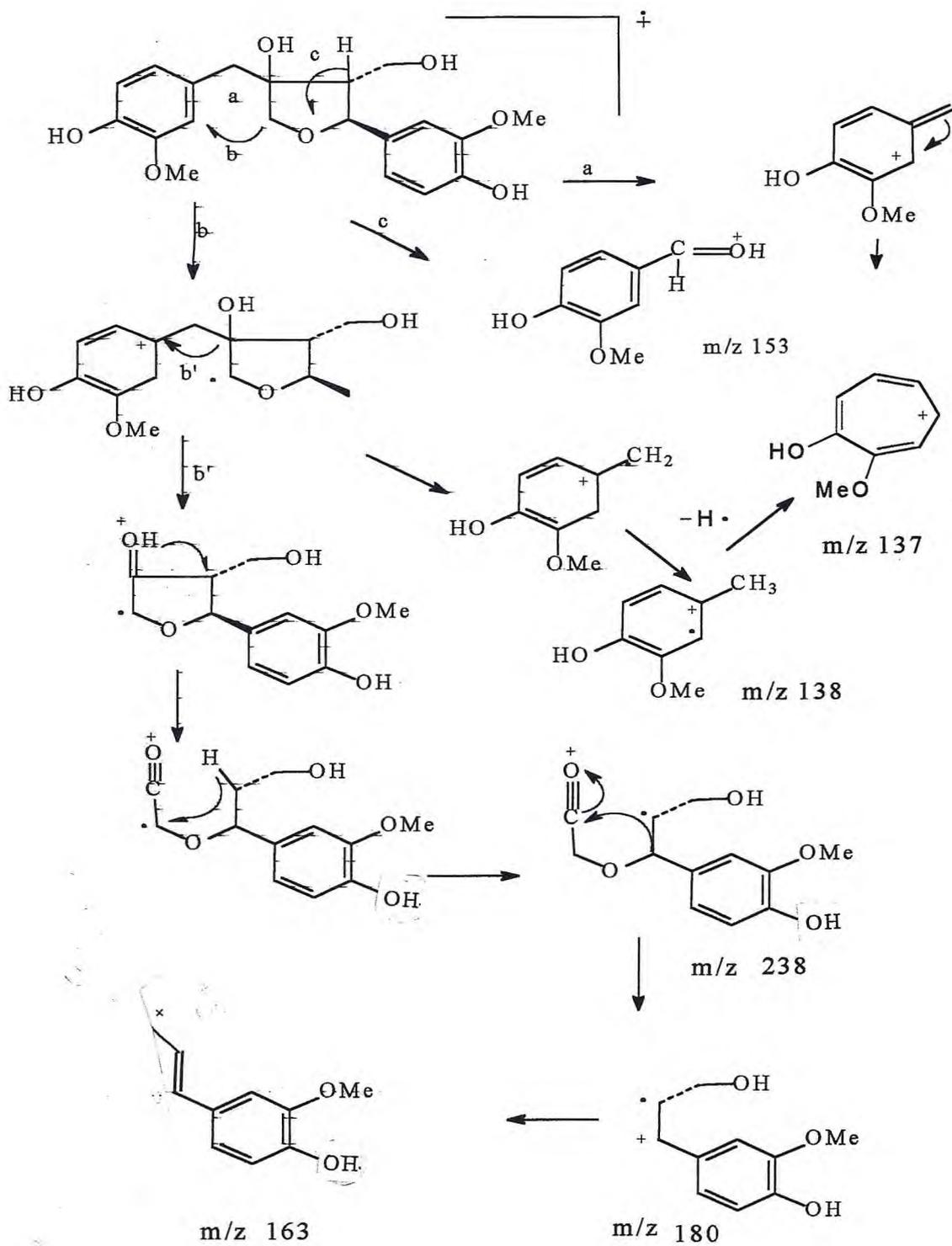


Figura 5.9. Proposta de fragmentação no Espectro de Massa de SGA1

### 5.3. Identificação de SGA2 (cicloolivil)

SAG2 apresentou-se como um sólido amarelado, p.f. 162-166° C,  $[\alpha]_D^{25} + 39,5$  (c 0,12, MeOH) insolúvel em clorofórmio e solúvel em metanol. Como SGA1, absorve fortemente a radiação UV (254 nm), apresenta coloração amarela ao Dragendorff e violeta com reagente sulfato cérico/ácido sulfúrico.

O espectro no IV (Figura 5.10) apresentou semelhanças com o de SGA1, registrando absorções características de grupamento OH em 3500- 3310  $\text{cm}^{-1}$  e deformações axiais C-O em 1260, 1220, 1030  $\text{cm}^{-1}$ . Absorções em 1600, 1520 e 1450  $\text{cm}^{-1}$ , típicas de estiramento  $\text{-C=C-}$ , confirmaram a natureza aromática do composto, ratificada pela deformação angular fora do plano em 700 e 770  $\text{cm}^{-1}$  de  $\text{=C-H}$ .

O espectro de massa (Figura 5.11) de baixa resolução, revelou íon molecular 376, semelhante ao de SGA1, compatível com a mesma fórmula molecular,  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_7$ , diferindo, porém, com relação ao padrão de fragmentação. Do mesmo modo que SGA1, evidenciou a presença de duas metoxilas, nos espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  ( $\delta$  3,78 e  $\delta$  3,75) (Figura 5.12) e  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (BB) ( $\delta$  56,43 e  $\delta$  56,46) (Figura 5.13).

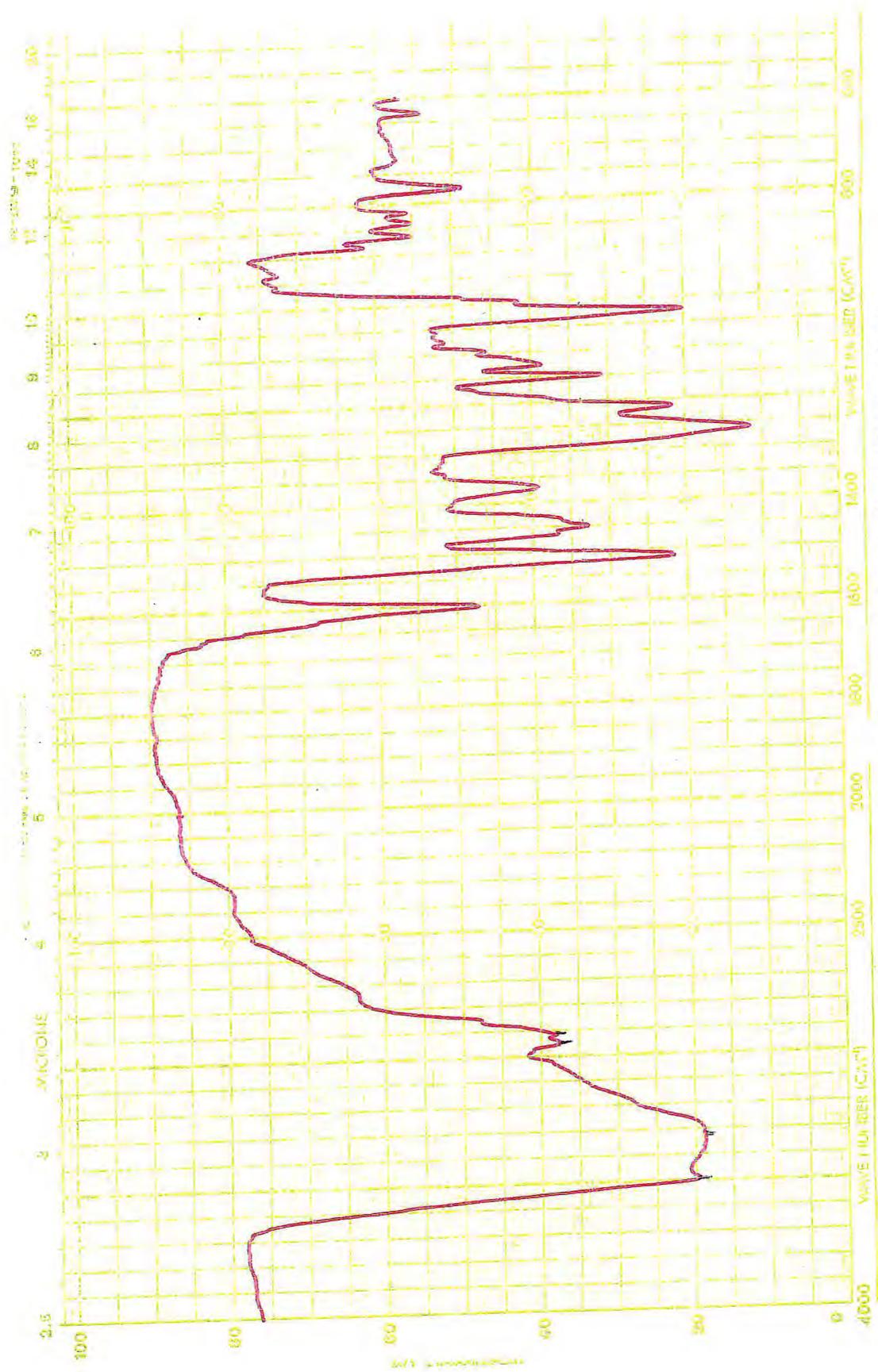


Figura 5.10. Espectro no infravermelho (KBr) de SGA2

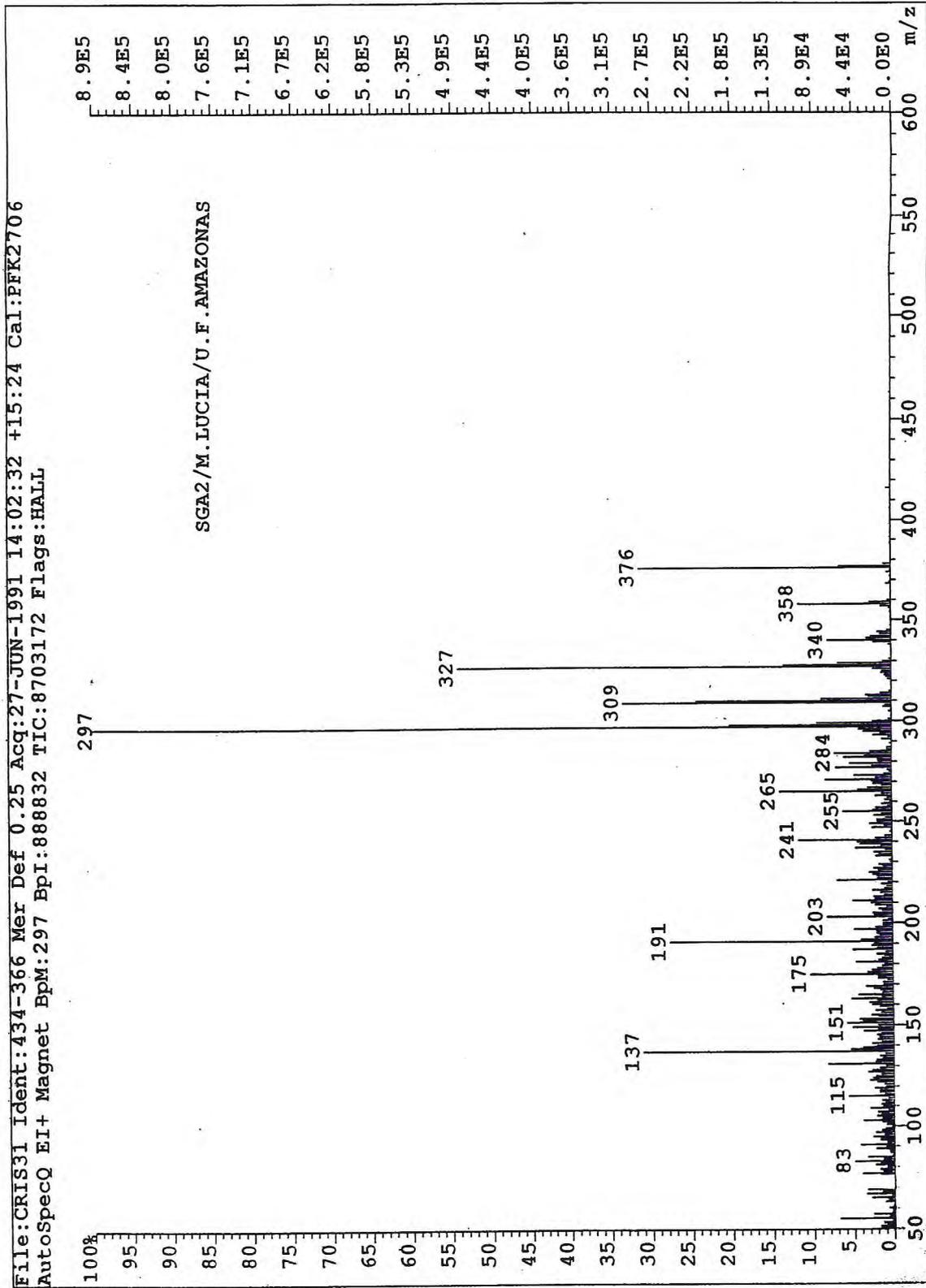


Figura 5.11. Espectro de Massa (EI, 70 eV) de SGA2

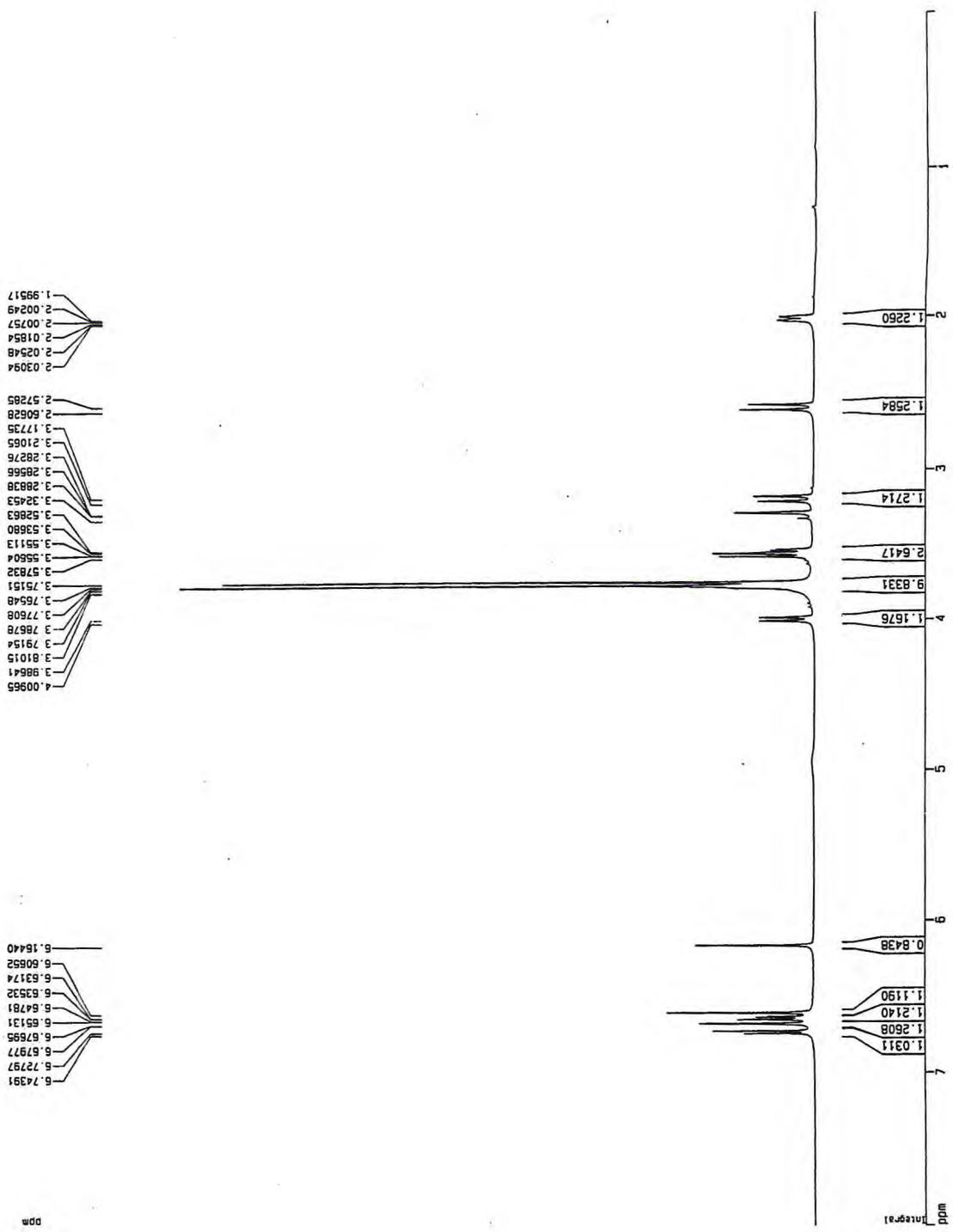


Figura 5.12. Espectro de RMN<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub> OD, 500 MHz) de SGA2

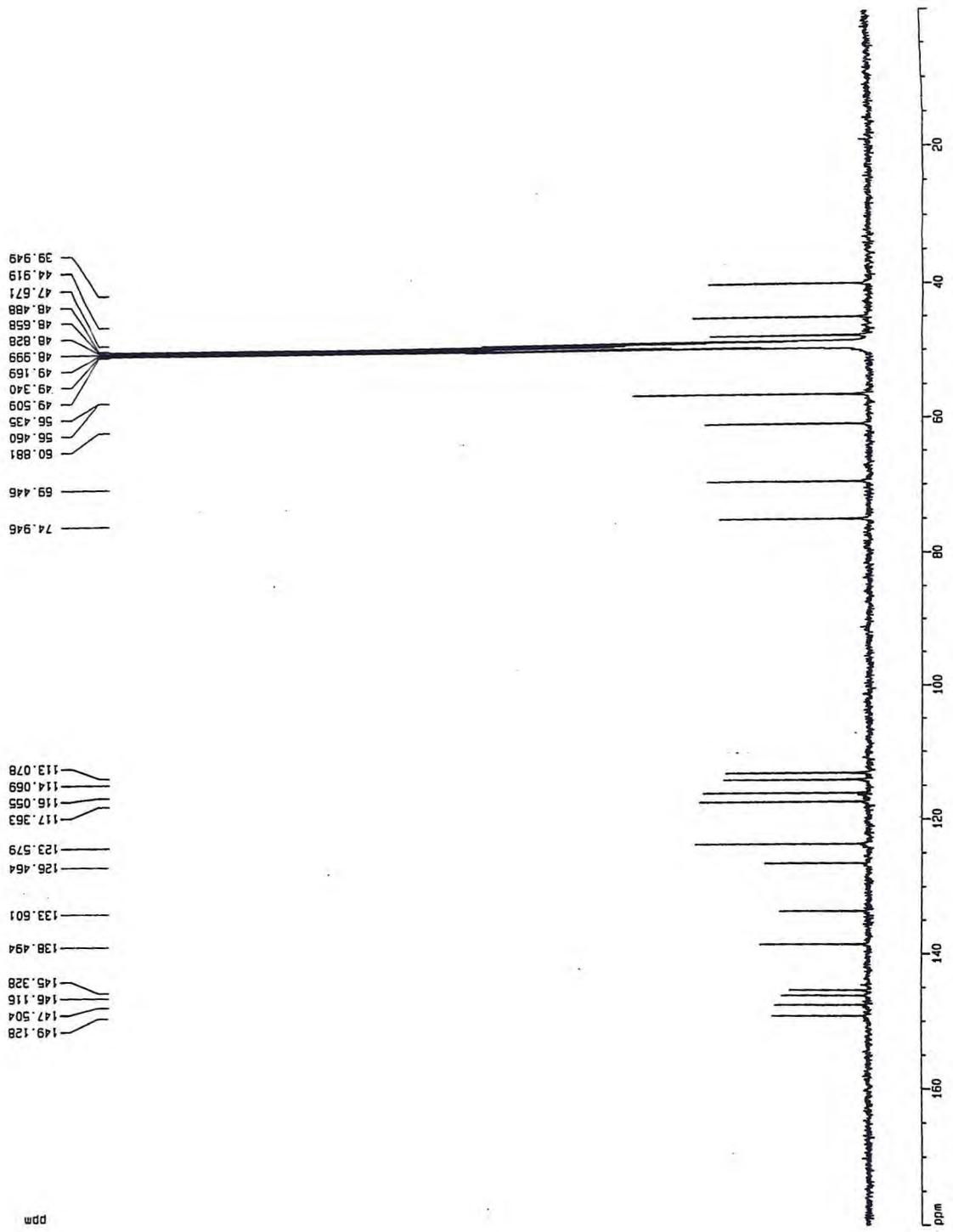


Figura 5.13. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (BB) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) de SGA2

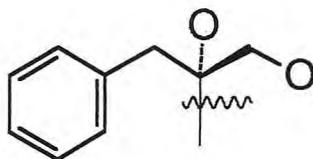
Entretanto, várias diferenças entre SGA1 e SGA2 foram observadas nos espectros de RMN, através de técnicas modernas uni e bi-dimensionais. O espectro de RMN<sup>1</sup>H apresentou sinais para cinco hidrogênios entre  $\delta$  6,74-6,16 distribuídos em dois conjuntos: um conjunto constituído de 1 hidrogênio em  $\delta$  6,65 (J =8,0 e 1,6 Hz, 1H) acoplado com sinais em  $\delta$  6,67 (J=1,6 Hz, , d, 1H) e  $\delta$  6,75 (J=8,0 Hz, d, 1H), e outro constituído de dois singletos respectivamente em  $\delta$  6,16 e 6,61 configurando a presença de dois anéis aromáticos, o primeiro 1, 3, 4 tri-substituído, e o segundo 1,2,4,5 tetra substituído. Estes dados foram confirmados pelo espectro DEPT-135 (Figura 5.14) e HMQC (Figura 5.15) que evidenciaram presença de cinco CH sp<sup>2</sup>, dois dos quais oxigenados, deduzindo-se a presença de sete carbonos não hidrogenados, por comparação com o espectro de RMN<sup>13</sup> C totalmente desacoplado (BB).

Na região alifática, através dos espectros de RMN<sup>13</sup> C (BB) e DEPT-135 foi constatada a presença de três carbonos metilênicos ( $\delta$  39,95,  $\delta$  60,88,  $\delta$  69,45) dois dos quais ligados a oxigênio, dois metínicos ( $\delta$  44,92 e 47,67) e um carbono oxigenado não hidrogenado ( $\delta$  74,95). O espectro de RMN<sup>1</sup>H mostrou um duplo triplete em  $\delta$  2,01 (dt, 11,5 , 4.1 e 2,6 Hz , 1 H) acoplado a um duplete em  $\delta$  4,00 (d, 11,5H Hz, 1H) e a sinais em  $\delta$  3,54 ( dd, 10.4 e 4.1 Hz, 1H) e 3,79 (dd, 10.4 e 2.6 Hz , 1H), confirmados no espectro <sup>1</sup>H , <sup>1</sup>H- COSY (Figura 5.16), indicando a presença do segmento CH-CH-CH<sub>2</sub>O, também compatível com a seguinte correlação no espectro HMQC:

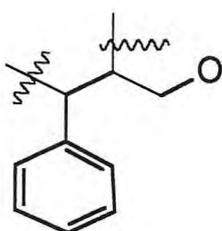
Parte do segmento	$\delta$ <sup>1</sup> H	$\delta$ <sup>13</sup> C
CH	4,0	44,92
CH	2,01	47,00
CH <sub>A</sub>	3,54	60,88
CH <sub>B</sub>	3,79	60,88

Os outros dois grupos metilênicos CH<sub>2</sub> e CH<sub>2</sub> O constituíam conjuntos assim localizados: dois dupletos respectivamente em  $\delta$  2,59 (J=16,72 Hz) e  $\delta$  3,19 (J=16,72 Hz), correspondendo, provavelmente a um carbono benzílico, assinalado em  $\delta$  39,95 e outros dois dubletos em 3,56  $\delta$  (d, 11,14 Hz, 1H) e 3,19  $\delta$  (d,11,14 Hz,1H), correspondendo ao carbono do metileno registrado em  $\delta$  69,45, verificado através das

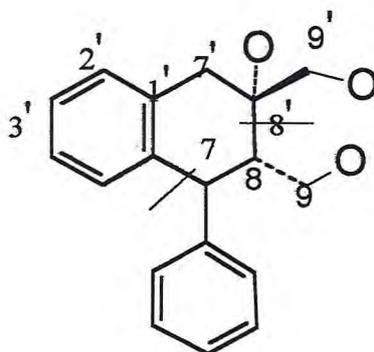
mesmas técnicas. Considerando-se que o carbono não hidrogenado em  $\delta$  74,95 servia de ponte entre os carbonos metilênicos, pôde-se delinear a estrutura parcial



O outro anel aromático deveria estar ligado ao segmento  $-CHCHCH_2O$ , constituindo a outra unidade  $C_6C_3$  da lignana, correspondendo ao fragmento.



A junção das subestruturas evidenciadas foi apoiada no espectro HMBC (Figura 5.17) onde foram observados os acoplamentos de H-9B com C-8 e C-8'; H-9A com C-8 e C-7; H-7 com C-1' e C-1, configurando-se a estrutura preliminar de uma lignana com esqueleto do tipo tetrahidronaftaleno, tridroxilado na parte alifática. As outras quatro oxigenações foram localizadas nos anéis aromáticos.



Ainda através do HMBC foi possível localizar inequivocamente as duas metoxilas em 3,3', considerando as oxigenações remanescentes como hidroxilas, situadas nas posições 4,4', com base nos deslocamentos químicos dos respectivos carbonos (Tabela 5.4).

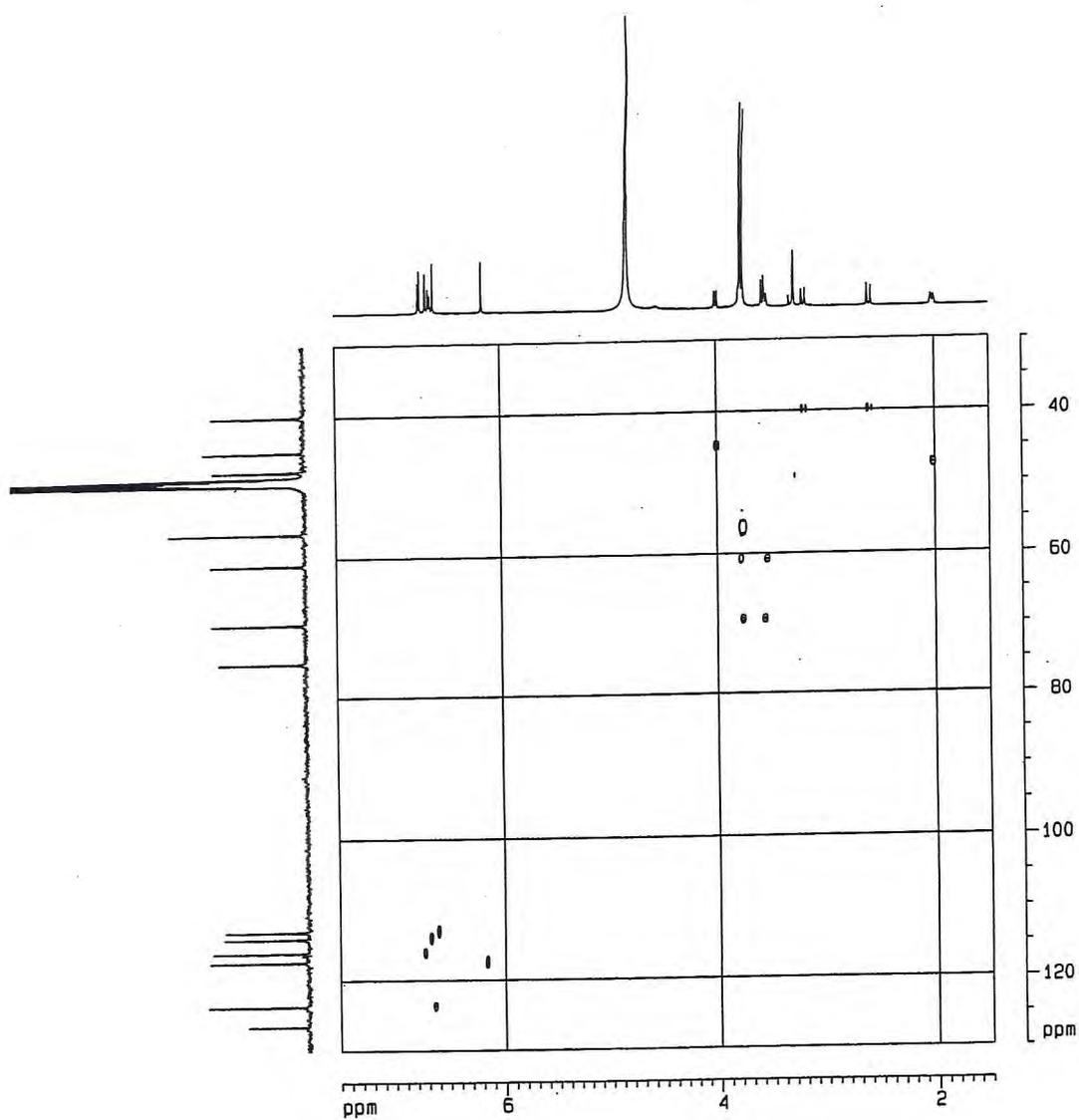


Figura 5.15. Espectro de RMN HMQC (CD<sub>3</sub> OD) de SGA2

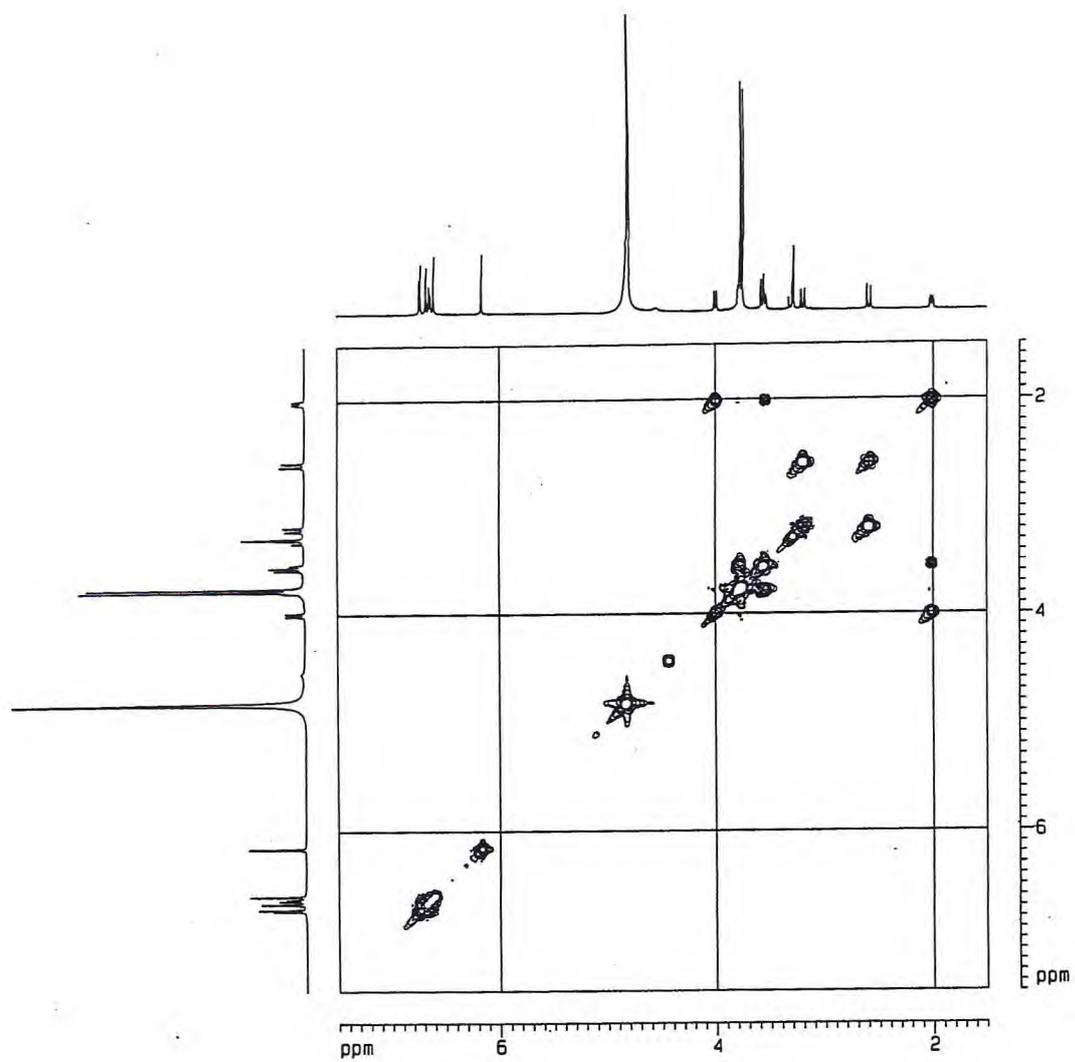


Figura 5.16. Espectro de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ - COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de SGA2

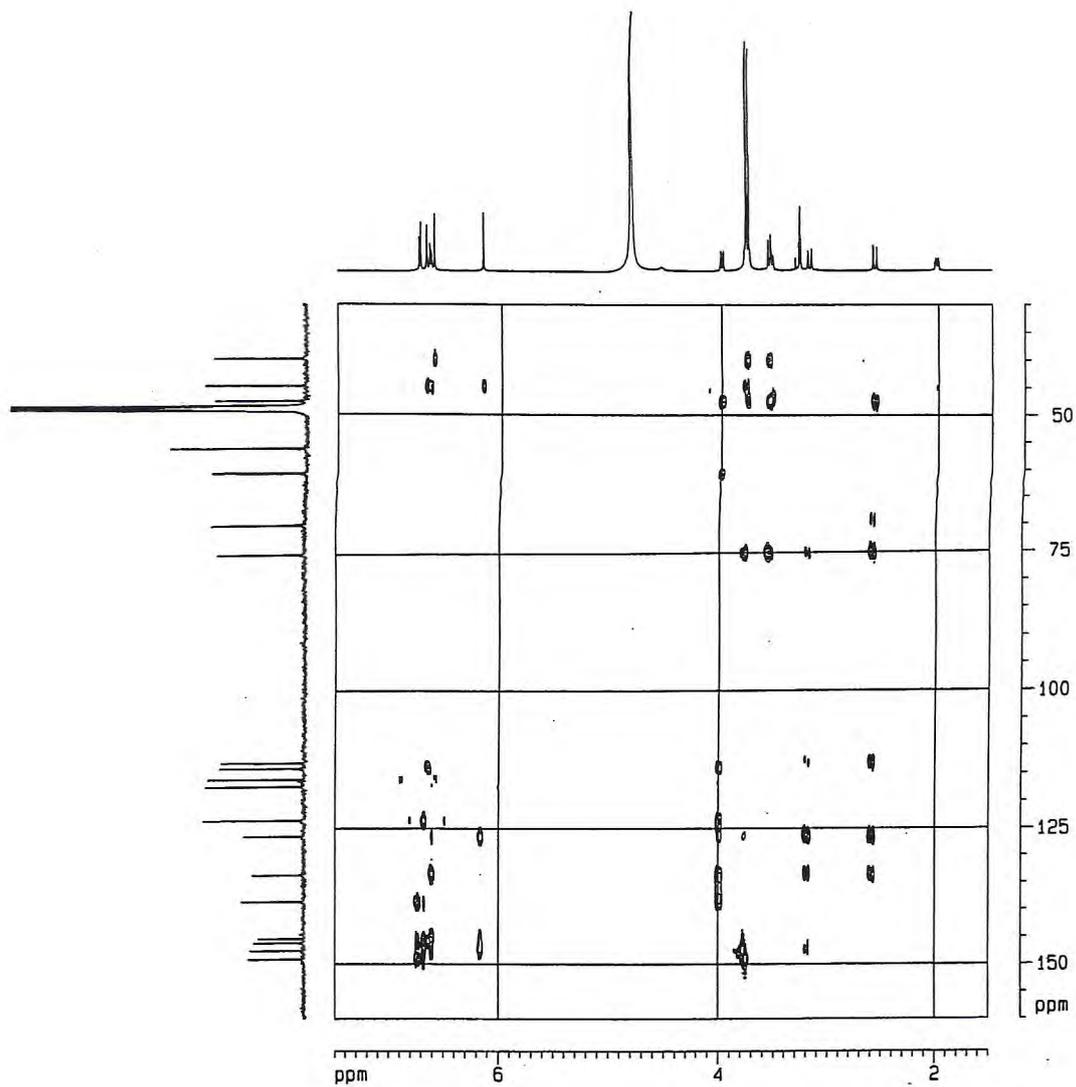


Figura 5.17 Espectro de RMN HMBC (CD<sub>3</sub>OD) de SGA2

Através de comparação destes dados com os da literatura (118, 119), SGA2 foi identificado como (+) ciclooilvil (Figura 5.18)

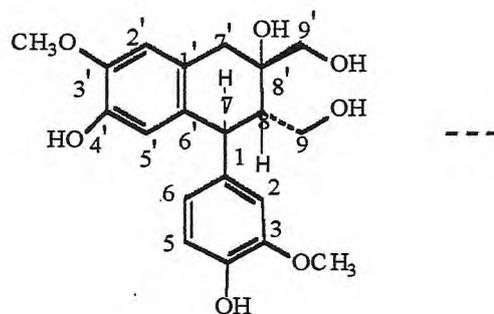


Figura 5.18. SGA2- (+) Ciclooilvil

**Tabela 5.3.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SGA2 em CD<sub>3</sub>OD e de cicloolivil a 80 MHz p/ <sup>1</sup>H e 20 MHz p/ <sup>13</sup>C.

Nº do H e C	δH † de SGA2	δ C de SGA2	δH † de cicloolivil +	δ C de cicloolivil+
1'		133,60		138,40#
2'	6,61 (s, 1H)	113,08	6,20 (s, 1H)	113,30
3'		147,50		147,60
4'		145,33		145,50
5'	6,16 (s, 1H)	117,36	6,61 (s, 1H)	116,20
6'	-	126,46		126,60
7'	2,59 (d, 16,72, 1H) 3,19 (d, 16,72, 1H)	39,95	2,60 (d, 16,7, 1H) 3,21 (d, 16,7, 1H)	40,10
8'		74,95		74,90
9'	3,56 (d, 11,14, 1H) 3,77 (d, 11,14, 1H)	69,45*	3,54 (d, 11,30, 1H) 3,76 (d, 11,30, 1H)	61,00 #
1		138,49		133,70 #
2	6,67 (d, 1,6, 1H)	114,07	6,68 (d, 1,9, 1H)	114,30
3		149,13		149,20
4		146,12		146,20
5	6,75 (d, 8,00, 1H)	116,06	6,75 (d, 7,8, 1H)	117,36
6	6,65 (dd, 8,0; 1,6, 1H)	123,58	6,66 (dd, 7,8; 1,9, 1H)	123,70
7	4,00 (d, 11,5, 1H)	44,91	4,01 (d, 10,5, 1H)	45,00
8	2,01 (dt, 11,5; 2,6 1H)	47,67		47,90
9	3,54 (dd, 10,4; 4,1, 1H) 3,79 (dd, 10,4; 2,6, 1H)	60,88 *	3,46 (dd, 12,0; 2,5, 1H) 3,77 (dd, 12,0; 4,1 Hz)	69,50 #
20 Me	3,78 (s, 3H) 3,75 (s, 3H)	56,46 56,43	3,76	56,60

+ Ghogomu-Tih, R., Bodo, B., Niasse, B., Sondengan, B.L., 1985 Planta Médica, 464 (118)

# HMBC demonstra inequivocamente que estes valores estão trocados.

\* Compatível com a literatura (119). † Multiplicidades e constantes de acoplamento em Hz entre parênteses.

**Tabela 5.4.** Dados de espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125MHz) de SGA2 (cicoolivil) em  $\text{CD}_3\text{OD}$

Nº do H e C	$\delta\text{H}$ de SGA2 †	$\delta\text{C}$ de SGA2	HMBC* Correlações H/C
1'		133,60	
2'	6,61s	113,08	1', 6', 4', 7', 5'
3'		147,50	
4'		145,33	
5'	6,16s	117,36	6', 3', 7
6'	-	126,46	
7'	2,59 (d, 16,72, 1 H) 3,19 (d, 16,72, 1 H)	39,95	8'; 9'; 8; 2'; 6'; 1' 8'; 2'; 6'; 1'
8'		74,95	
9'	3,56 (d d, 11,14, 1H) e 3,77 (d, 11,14, 1H)	69,45	7', 8 7', 8
1		138,49	
2	6,67 (d, 1,6, 1H))	114,07	6, 4, 1
3		149,13	
4		146,12	
5	6,75 (d, 8,00, 1H)	116,06	1, 4, 3
6	6,65 (dd, 8,0; 1,6, 1H)	123,58	7, 2
7	4,00 (d, 11,5, 1H)	44,91	2, 6, 1', 1
8	2,01 (dt, 11,5; 2,6, 1H)	47,67	
9	3,54 (dd, 10,4; 4,01, 1H) 3,79 (dd, 10,4; 2,6, 1H)	60,88	8, 8' 7, 8'
2OMe	3,75 3,78	56,43 56,46	3 3'

\* Correlações a partir de H com os carbonos indicados. Assinalamentos apoiados no HMQC. † Multiplicidades e constantes de acoplamento em Hz entre parênteses.

#### 5.4. Determinação estrutural de SGA3 (carbonato de cicloolivil)

SGA3, isolada do extrato metanólico da raiz, apresentou-se como um sólido branco, ponto de fusão 118-122 ° C,  $[\alpha]_D^{25} + 68,0$  (c 0,05, MeOH) insolúvel em clorofórmio, solúvel em acetona, acetonitrila e metanol. Absorve fortemente a luz de comprimento de onda 254 nm, apresenta coloração amarela ao Dragendorff e violeta com reagente sulfato cérico/ácido sulfúrico.

Do espectro no IV (Figura 5.19) destaca-se: uma banda larga em 3 360  $\text{cm}^{-1}$ , associada a deformação axial de grupamento OH; uma intensa absorção em 1785 $\text{cm}^{-1}$ , característica de carbonila com um ombro 1820  $\text{cm}^{-1}$ ; uma absorção larga desdobrada em dois picos a 1250 e 1240  $\text{cm}^{-1}$ , própria de deformação axial de C-O; três absorções em 1600, 1505 e 1450  $\text{cm}^{-1}$  juntamente com uma absorção em 765  $\text{cm}^{-1}$  (compatível com deformação =C-H fora do plano) indicando, tal como em SGA2, a natureza aromática de SGA3. Estes dados demonstraram semelhança entre as duas substâncias, diferindo entretanto, pela presença da carbonila em SGA3.

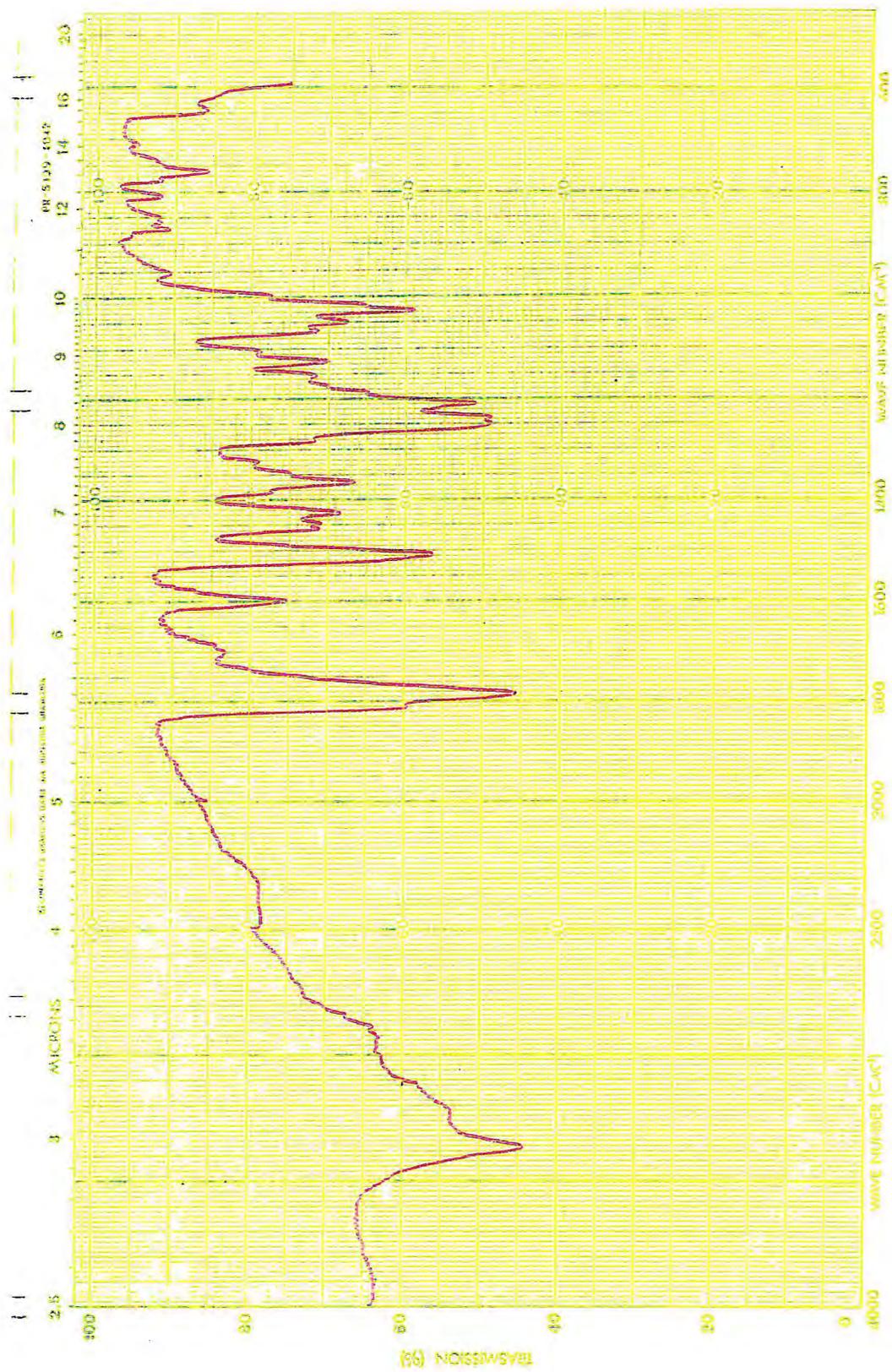
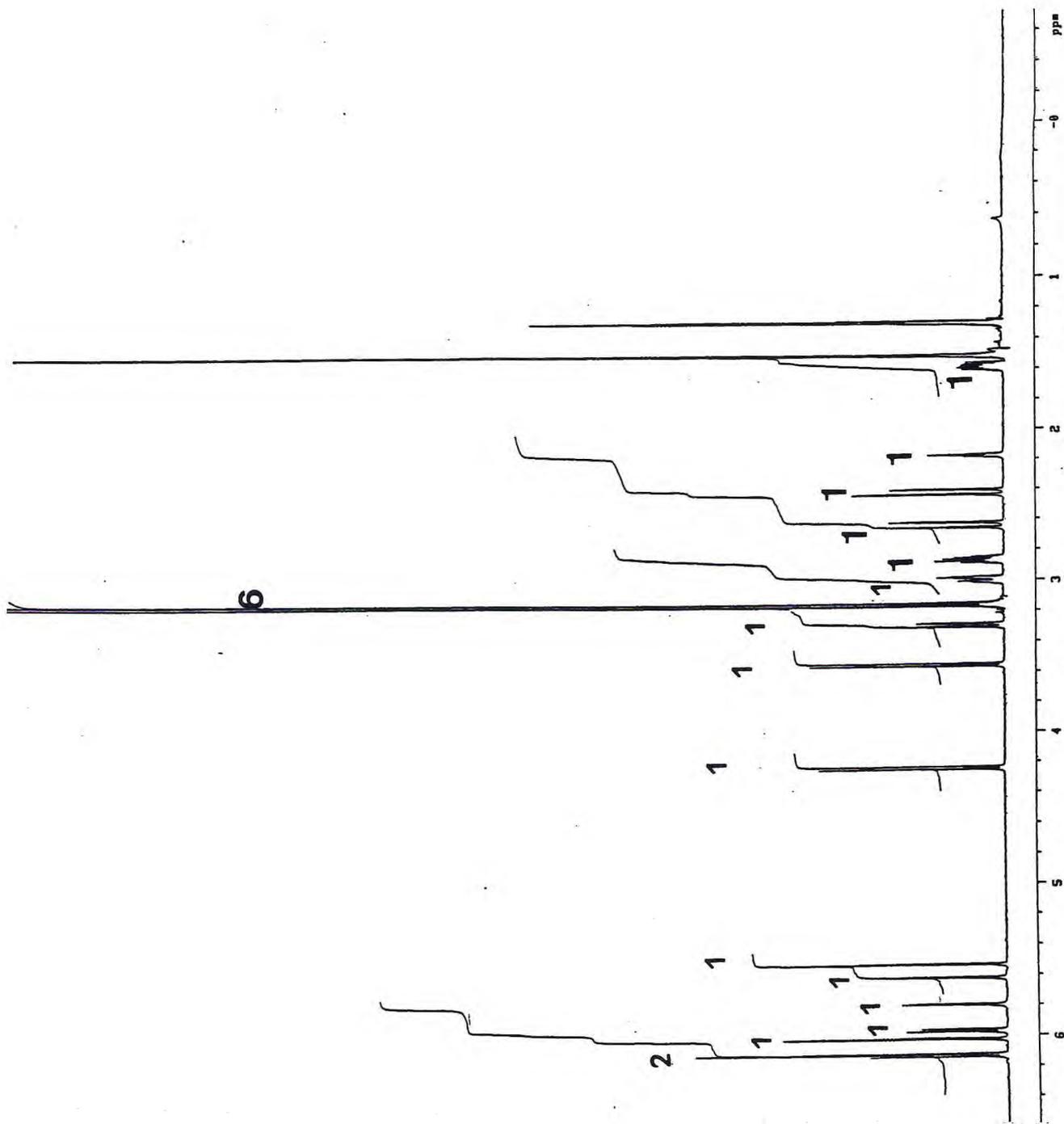


Figura 5.19. Espectro no infravermelho (KBr) de SGA3

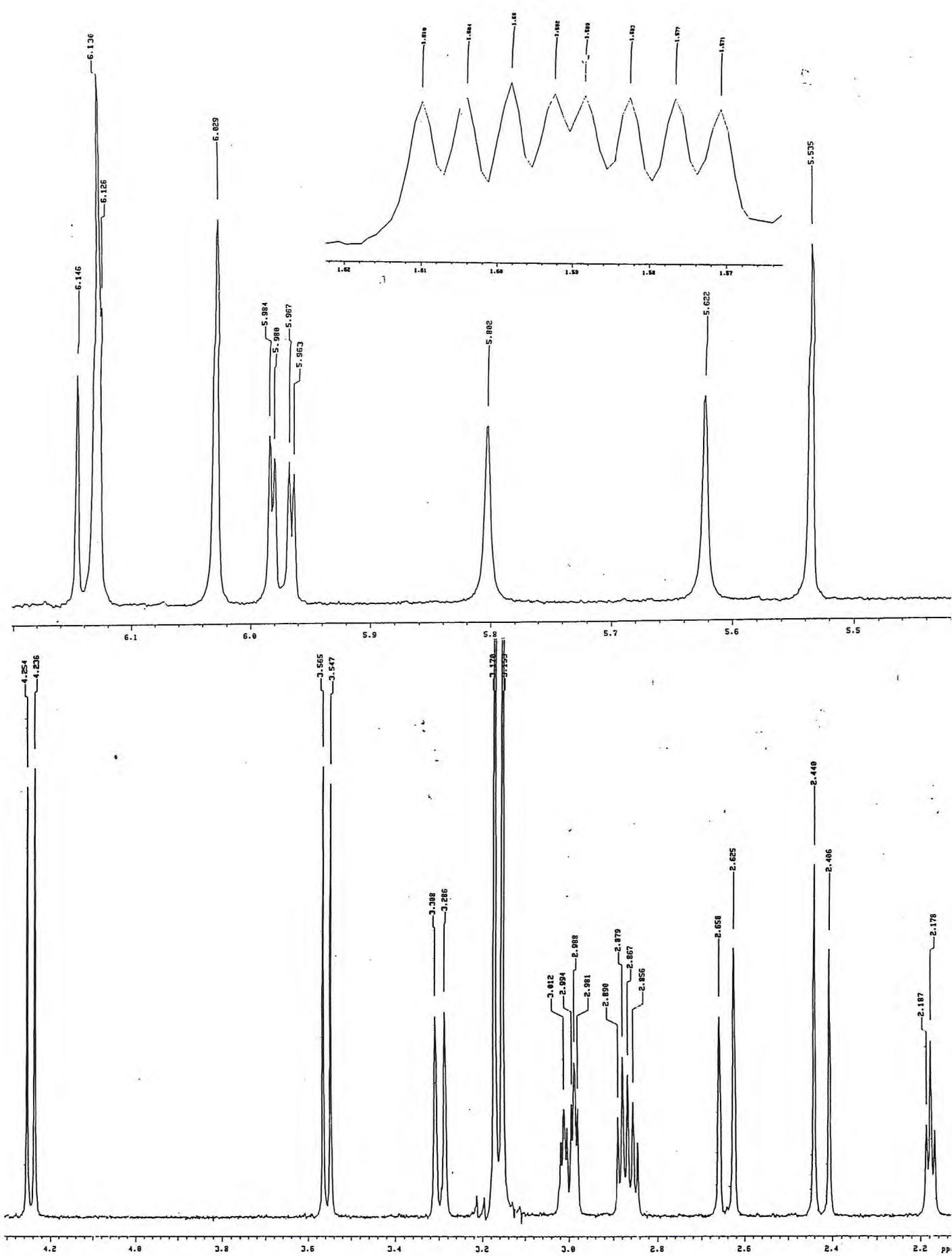
O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figuras 5.20 e 5.20.1) apresentou duas absorções em  $\delta$  3,80(s,3H) e 3,78 (s,3H), características da presença de metoxilas, confirmadas pelo sinal de dois carbonos, respectivamente em  $\delta$  56, 62 e 56,57 no espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 5.21). Observou-se também os sinais de 7 hidrogênios na região aromática, entre 6,8 e 6,1 ppm, sendo dois deles hidroxílicos. Constatou-se a presença de 13 carbonos sp<sup>2</sup> entre  $\delta$  155,99 e  $\delta$  112,1 sendo o assinalamento em  $\delta$  155,99 atribuído à carbonila registrada no espectro de infravermelho, compatível com a molécula de um alquilcarbonato (120)

O espectro de massa de alta resolução (EMAR) registrou íon molecular (Figura 5.22) à m/z 402,12992, correspondendo a fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>, implicando em onze insaturações, das quais, seis estão associadas a duplas ligações C=C, uma a ligação C=O e as quatro restantes a anéis, sendo dois deles aromáticos.



\* Acrescentar + 0,62 ppm nos deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$ .

**Figura 5.20.** Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 500 MHz) de SGA3



\* Acrescentar + 0,62 ppm nos deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$ .

Figura 5.20.1. Espectros de RMN $^1\text{H}$  parciais ampliados de SGA3 ( $\text{CD}_3\text{CN}$ , 500 MHz)

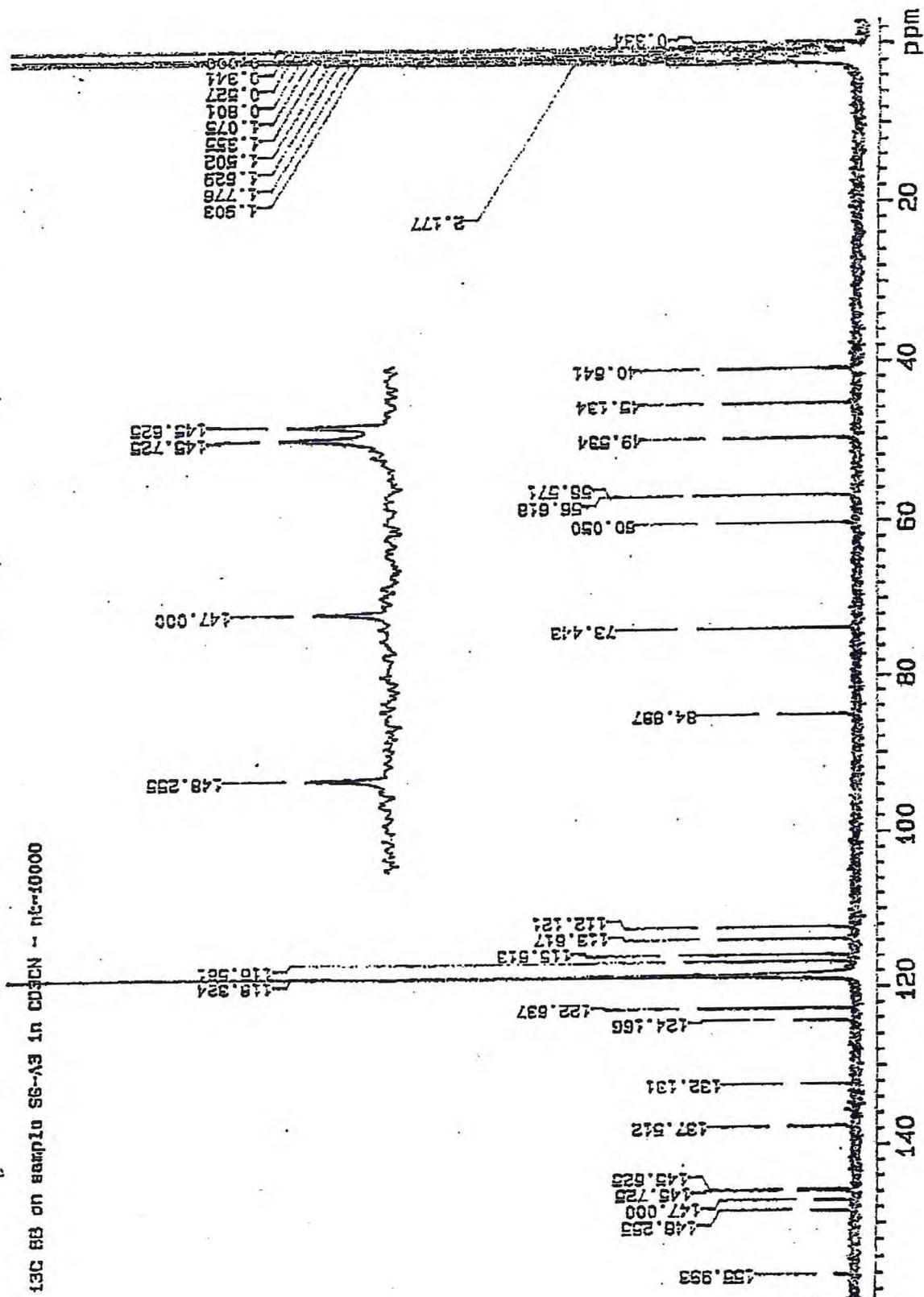


Figura 5.21. Espectro de RMN<sup>13</sup> C (BB) (CD<sub>3</sub> CN, 75 MHz) de SGA3

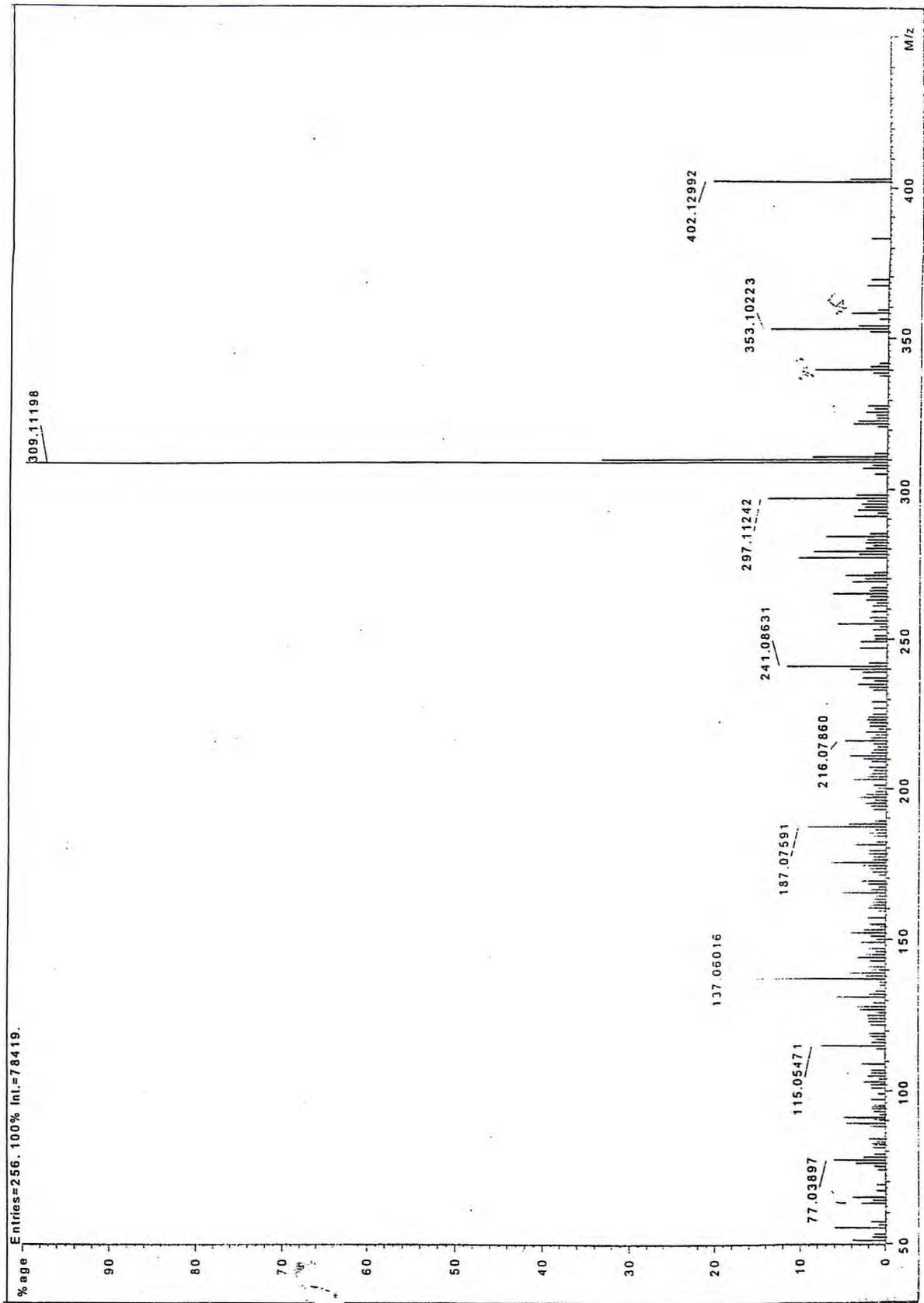
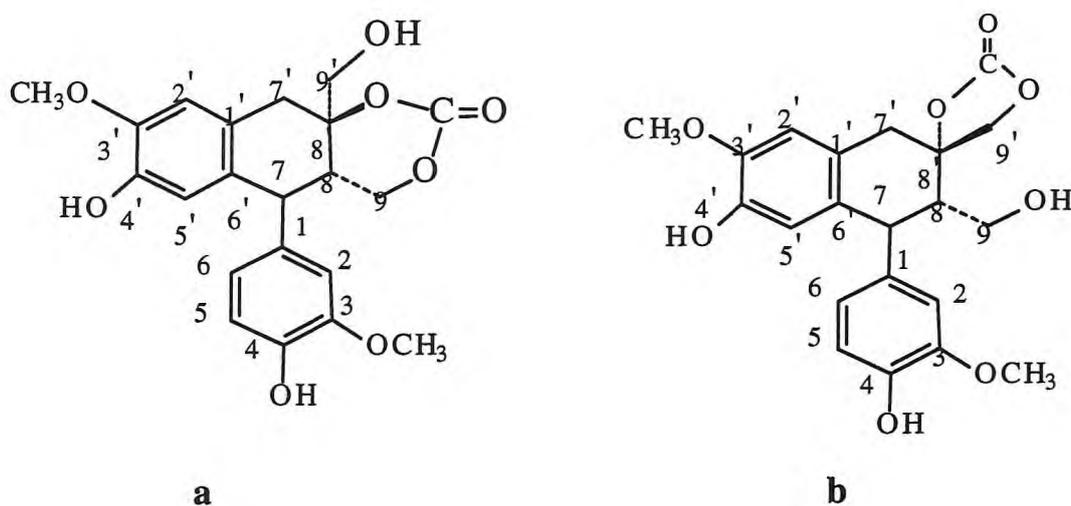


Figura 5.22. Espectro de Massa de Alta Resolução (EI, 70 eV) de SGA3

A clara semelhança entre SGA2 e SGA3 patenteada através de dados espectrais de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C (Tabelas 5.4 e 5.5), e a diferença de 28 daltons adicionais no espectro de massa de SGA3, atribuída a uma carbonila (evidente nos espectros de IV e RMN<sup>13</sup>C), aliadas ao aumento de duas insaturações, configuraram a presença de um cicloalquilcarbonato derivado do cicloolivil, tendo-se como prováveis, as estruturas 5.23a e 5.23b (Figura 5.23)..



**Figura 5.23.** Estruturas preliminares propostas para SGA3

Os sinais dos hidrogênios geminais isolados em  $\delta$  4,18 (d, 8,8 Hz, 1H) e 4,87 (d, 8,8 Hz, 1 H) correlacionados ao carbono metilênico em  $\delta$  73,4, associados às absorções em 1785 e 1820 cm<sup>-1</sup> registradas para a carbonila no espectro de infravermelho, diagnosticando alquilcarbonatos com anéis de 5 membros (121), permitiram atribuir a estrutura 5.23b à SGA3. As atribuições dos deslocamentos químicos estão de acordo com os espectros <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-COSY (HETCOR) (Figura 5.24) e <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-COSY LR (Figura 5.25).

**Tabela 5.5.** Dados de espectros de RMN- $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de SGA3 (carbonato de cicoolivil) em  $\text{CD}_3\text{CN}$  a 500 MHz p/  $^1\text{H}$  e 75 MHz p/  $^{13}\text{C}$

Nº C e H	$\delta\text{H}$ *†	$\delta\text{C}$ *	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$ acoplados a LR*
1'	-	132,13	-
2'	6,65(s,1H)	112,12	147,0; 132,1; 40,6
3'	-	147,00	-
4'-OH	6,24 (s,1H)	145,72	116,6
5'	6,16 (s,1H)	116,58	147,0; 145,7; 124,2; 45,1, 40,6
6'	-	124,17	-
7'	3,27 (d, 16,7;1H) 3,05 (d, 16,7; 1H)	40,64	132,1; 124,2; 84,8,73,4;49,5
8'	-	84,84	-
9'	4,18 (d, 8,8; 1H) 4,87 (d, 8,8; 1H)	73,44	84,8; 49,5; 40,6
1	-	137,51	-
2	6,75 ( d,2,0 1H)	113,62	148,3; 145,6; 137,5; 122,6
3	-	148,26	-
4-OH	6,42	145,63	115,6
5	6,76 (d, 8,5; 1H)	115,61	148,2; 145,6; 137,5; 122,6
6	6,60 (dd, 8,5 e 2,0 1H)	122,64	145,6; 113,6
7	3,93 (d, 11,0; 1H)	45,13	137,5; 132,1;124,2; 122,6; 113,6; 60,1; 49,5
8	2,20 (ddd, 11,0; 6,0; 3,0; 1H)	49,53	
9	3,63 (m) 3,50 (m)	60,05	
9OH	2,81 (t ,4,5, 1H)	-	-
OMe	3,78 (s, 3H)	56,57	
OMe	3,80(s,3H)	56,62	-
O-CO-		155,95	-

\* Assinalamentos compatíveis com o  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -COSY ( Figura 5.24). † Multiplicidades e constantes de acoplamento em Hz entre parênteses.

**Tabela 5.6.** Dados de espectros de RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz) e <sup>13</sup>C (75 MHz) de SGA3 em CD<sub>3</sub>CN e de SGA2 em MeOD, a 500 MHz p/<sup>1</sup>H e 125 MHz p/<sup>13</sup>C

Nº C e H	SGA3 ( carbonato de cicoolivil)		SGA2 (olivil)	
	δH †	δC	δH †	δC
1'	---	132,13	---	133,60
2'	6,65 (s,1H)	112,12	6,61, s	113,08
3'	---	147,00	---	147,50
4'-OH	6,24(s,1H)	---	---	145,33
5'	6,16 (s,1H)	145,72	6,16, s	117,36
6'	---	116,58	---	126,46
7'	3,27 (d, 16,7;1H)	124,17	2,59 ( d , 16,72,1H )	39,95
	3,05 (d, 16,7; 1H)	40,64	3,19 (d,16,72 , 1H)	
8'	---	84,84	---	74,95
9'	4,18 (d, 8,8; 1H)	73,44	3,56 ( d , 11,14, 1H)	69,45
	4,87 (d, 8,8; 1H)		3,77 (d, 11,14, 1H)	
1	---	137,51	---	138,49
2	6,75 (d; 2, 1H)	113,62	6,67 ( d , 1,6, 1H)	114,07
3	---	---	---	149,13
		148,26		
4-OH	6,42	145,63	---	146,12
5	6,76 (d, 8,5; 1H)	115,61	6,75 ( d , 8,00 , 1H)	116,06
6	6,60 (dd, 8,5 ; 2,0 1H)	122,64	6,65 (dd , 8,0 ;1,6 ,1H)	123,58
7	3,93 (d, 11,0; 1H	45,13	4,00 ( d , 11,5 1H)	44,91
8	2,20 (ddd, 11,0; 6,0;3,0 ; 1H)	49,53	2,01 (dt , 11,5 ; 2,6 , 1 H)	47,67
9	3,63 (m)	60,05	3,54 ( dd , 10,4 ; 4,01 1H)	60,88
	3,50 (m)		3,79 (dd ,10,4 ; 2,6 1H)	
9-OH	2,81 (t , 4,5)	-	---	---
OMe	3,78 (s,3H)	56,57	3,75 (s, 3H)	56,43
OMe	3,80 (s,3H)	56,62	3,78 (s, 3H)	56,46
O-CO-	---	155,95	---	---

† Multiplicidades e constantes de acoplamento em Hz entre parênteses.

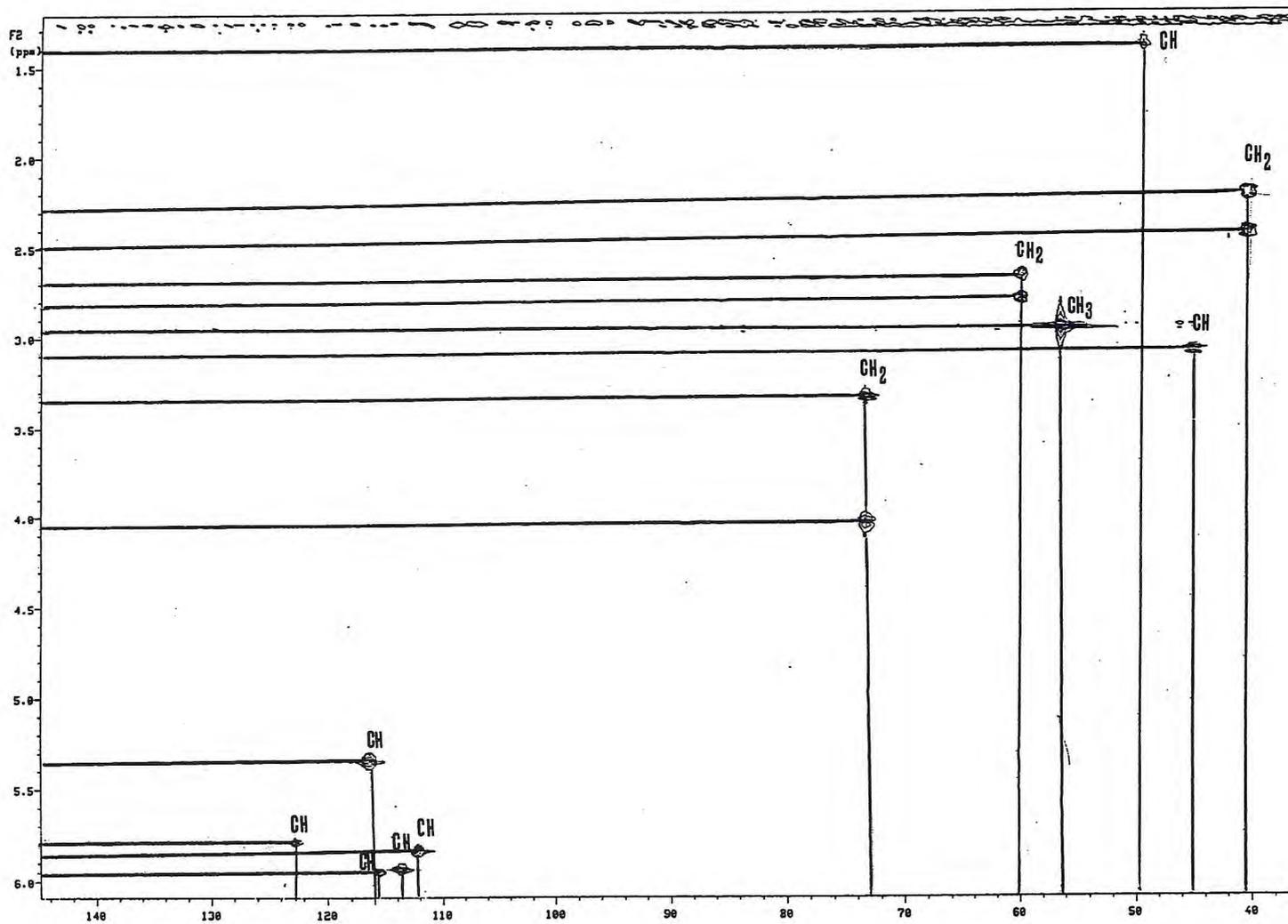


Figura 5.24. Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -COSY ( $\text{CD}_3\text{CN}$ ) de SGA3

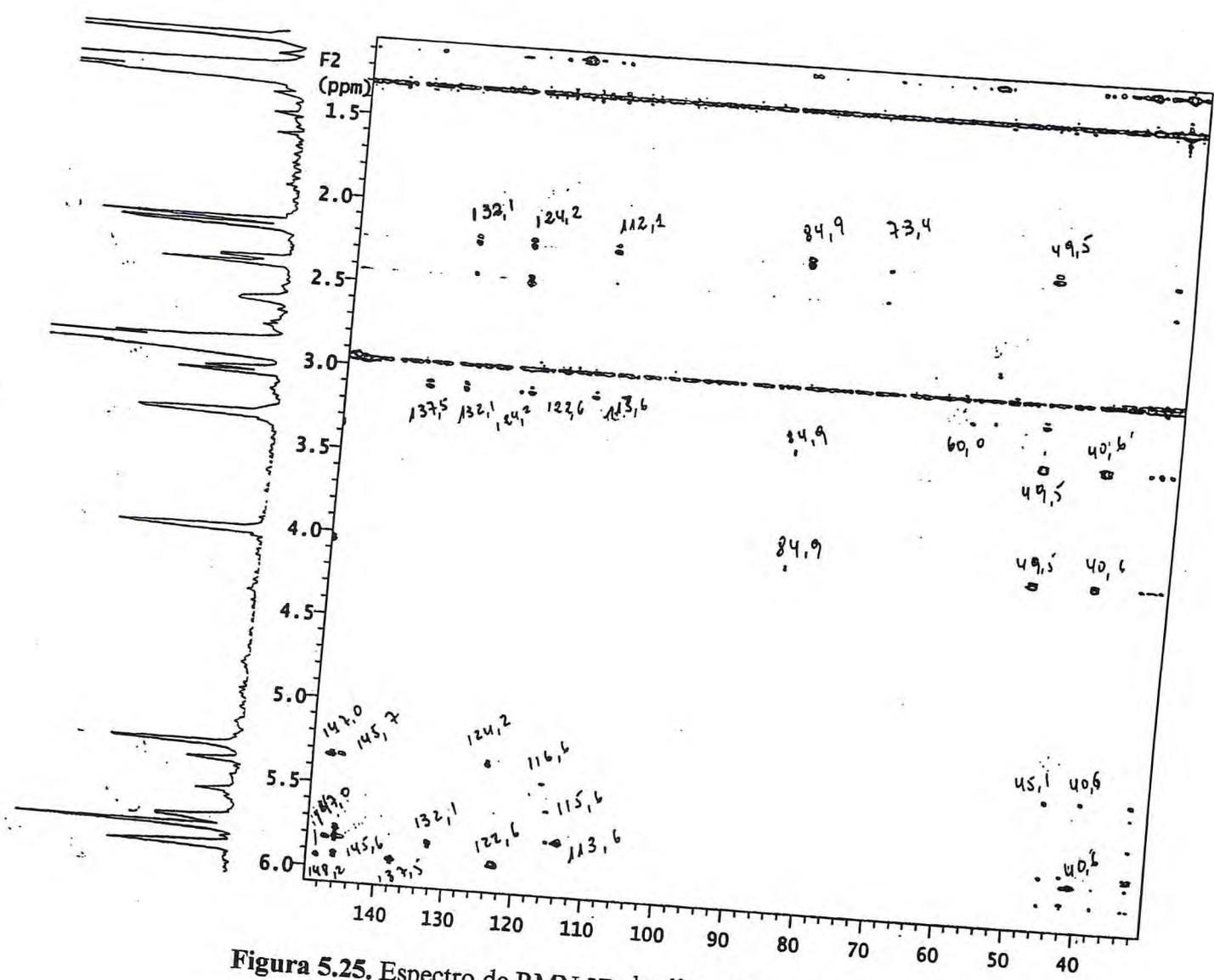


Figura 5.25. Espectro de RMN 2D.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -COSY-LR ( $\text{CD}_3\text{CN}$ ) de SGA3

### 5.5. Identificação da mistura de ácidos graxos SGHA (ácidos palmítico, oleico, esteárico e nonadecanoico)

Após saponificação seguida de acidificação, SGHA forneceu um material oleoso, cujo espectro no IV (Figura 5.26), apresentou bandas intensas em 2 920 e 2880  $\text{cm}^{-1}$  superpostas a uma absorção larga entre 3 500-2800  $\text{cm}^{-1}$ , compatíveis, respectivamente, com estiramentos de grupos CH e OH. Absorção adicional em 1715  $\text{cm}^{-1}$ , própria de C=O, caracterizou a presença de carboxila típica de uma mistura de ácidos graxos. Após metilação com  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$ , ficou evidenciada o processo de esterificação pelo desaparecimento da absorção referente a hidroxila e deslocamento da absorção da carbonila para maior frequência (Figura 5.27). Através de análise por cromatografia gasosa (Figura 5.28 e 5.29) foi identificada, com base nos tempos de retenção e co-injeção com amostras autênticas, uma mistura de ésteres metílicos dos ácidos carboxílicos: ácido palmítico (43.85 %), ácido oleico (33.33 %), ácido esteárico (6.14 %) e ácido nonadecanoico (7.01 %),

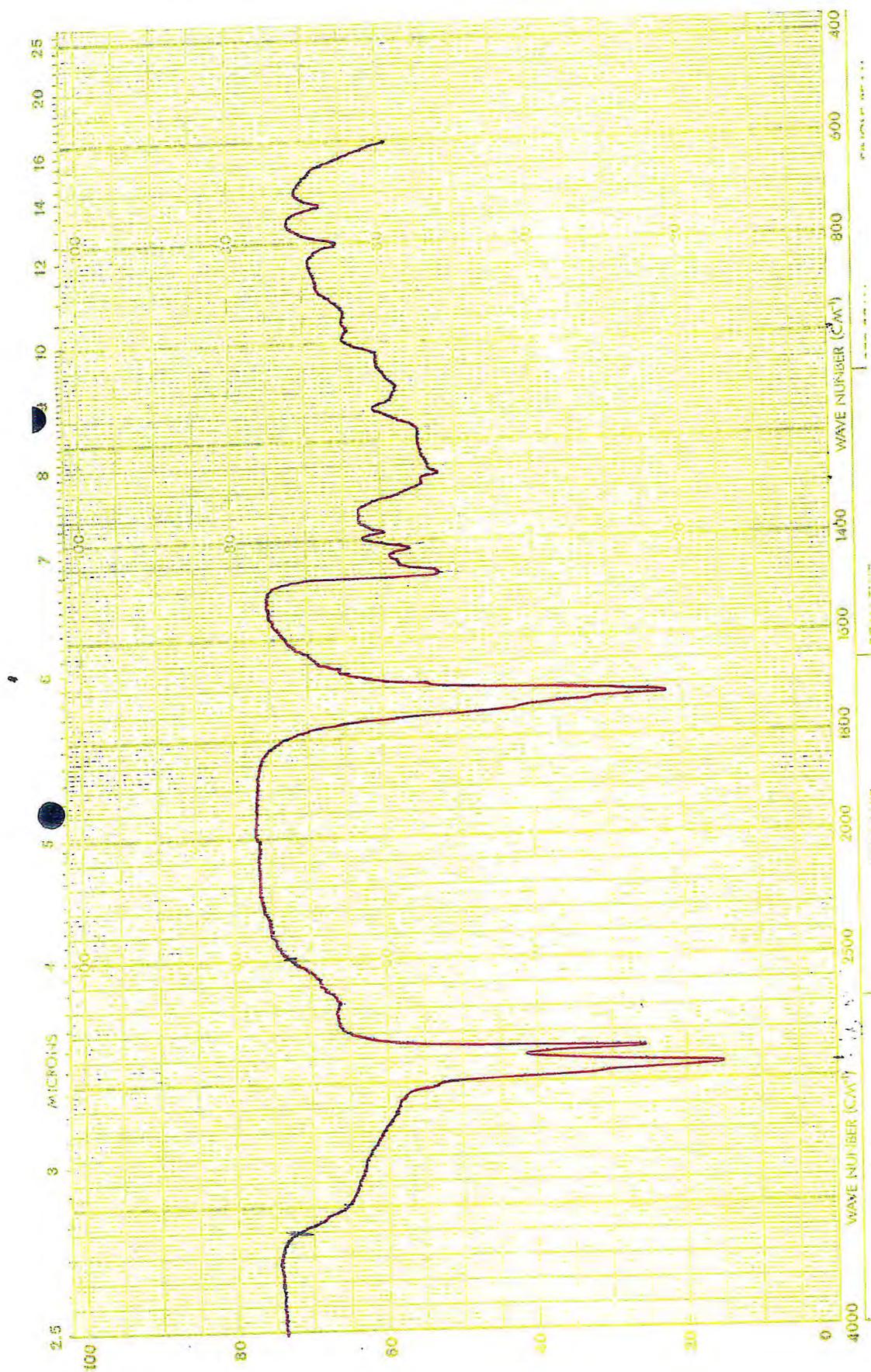


Figura 5.26. Espectro no infravermelho da mistura de ácidos graxos (SGHA)

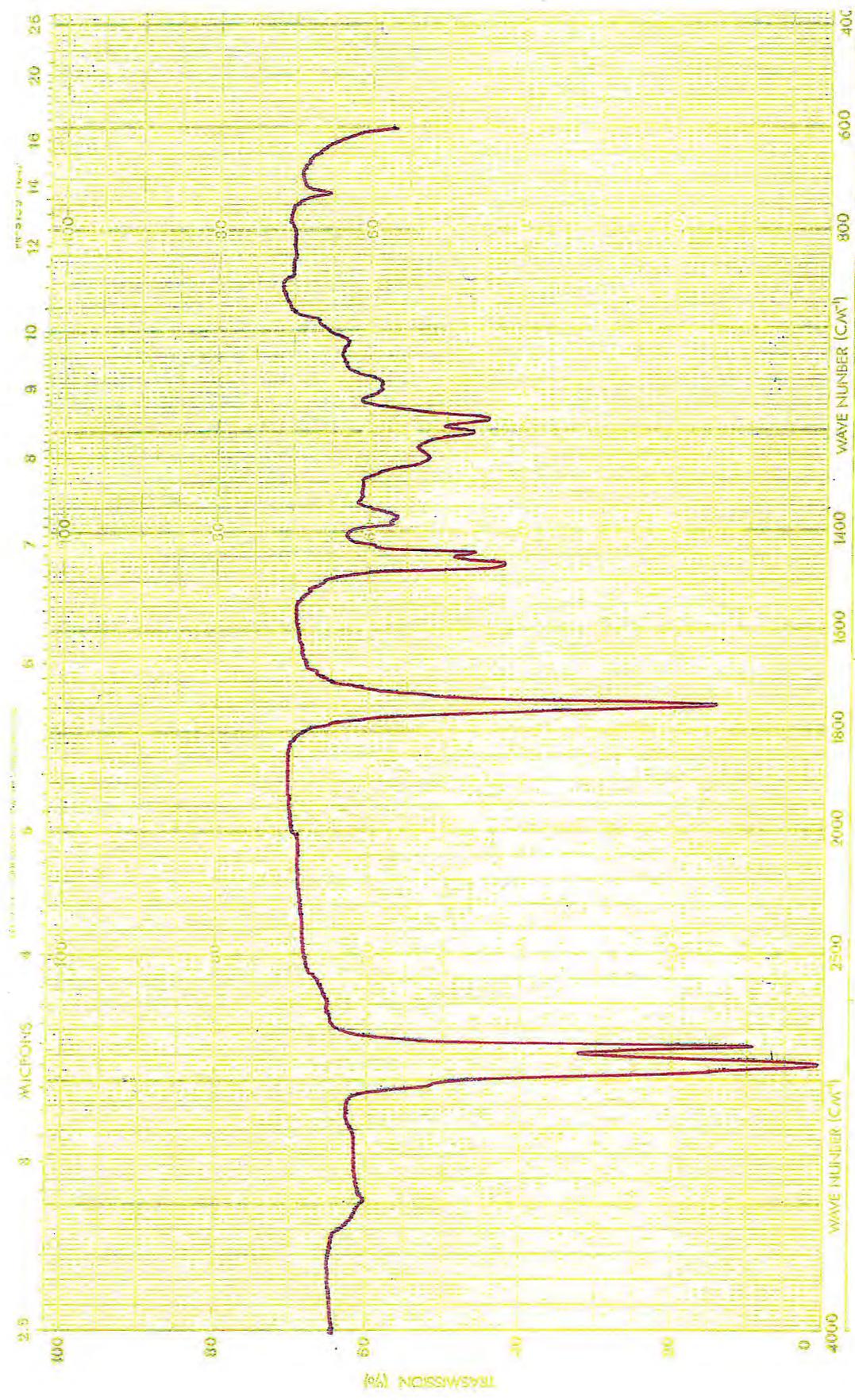


Figura 5.27. Espectro no infravermelho da mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos (SGHA).

## CAPÍTULO VI

### 6. Identificação e determinação estrutural dos constituintes do caule e casca do caule de *S. mattogrossensis* S. Moore

#### 6.1. Identificação de SM1 (Estricnobrasilina)

SM-1 foi isolado como um sólido cristalino branco, ponto de fusão 208 ° C (AcOEt). Absorve fortemente luz UV (254 nm, apresenta coloração laranja com o reagente de Dragendorff e salmão com sulfato cérico/ácido sulfúrico.

O espectro no UV (Figura 6.1) registrou máximos a 207 e 247 nm e ombros a 278 e 285nm, sugerindo a presença de um cromóforo N-acetilindolínico (76)

O espectro no IV (Figura 6.2) revelou absorções em 1592 e 1574  $\text{cm}^{-1}$ , correlacionados a estiramento C=C do anel aromático e em 755  $\text{cm}^{-1}$ , típica de deformação angular fora do plano de =CH, indicando um sistema benzênico orto- substituído. Também foi identificada uma banda intensa em 1660  $\text{cm}^{-1}$ , compatível com a presença de carbonilas, encontradas em alcalóides N-acil indolínicos da série N-Metil-secpseudo(76)

Comparação com amostra autêntica através de CCD analítica, utilizando dois sistemas de solvente [AcOEt/Isoprop-OH/NH<sub>4</sub> OH (80:15:5) e CHCl<sub>3</sub>/MeOH (7:3)], e espectros no UV e IV revelou a identidade de SM-1 com a estricnobrasilina (Figura 6.3) fórmula molecular C<sub>22</sub> H<sub>26</sub> N<sub>2</sub> O<sub>3</sub>, isolada anteriormente de *S. brasiliensis* (75) e *S. mattogrossensis* (7)

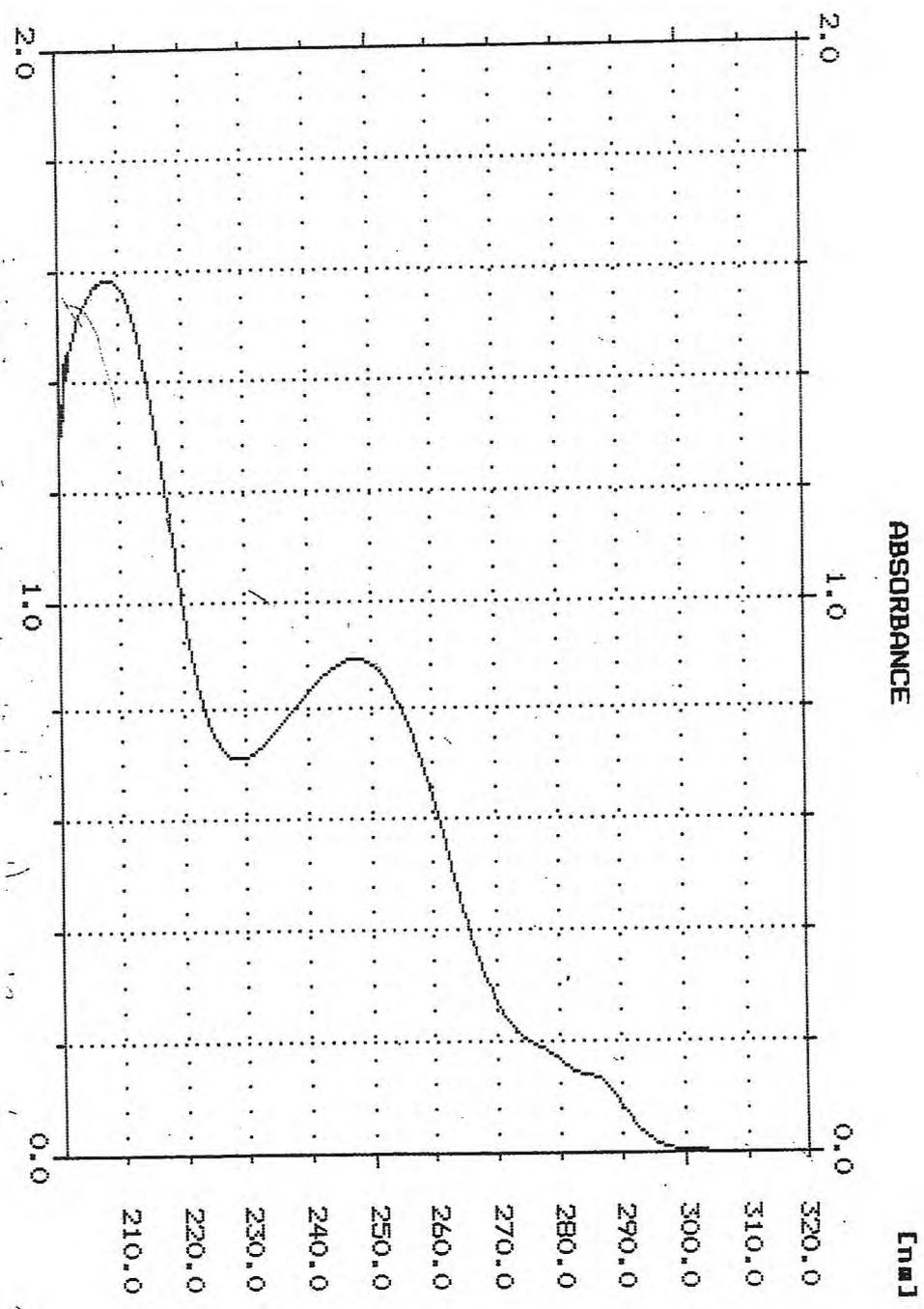


Figura 6.1. Espectro no ultravioleta (MeOH) de SM1

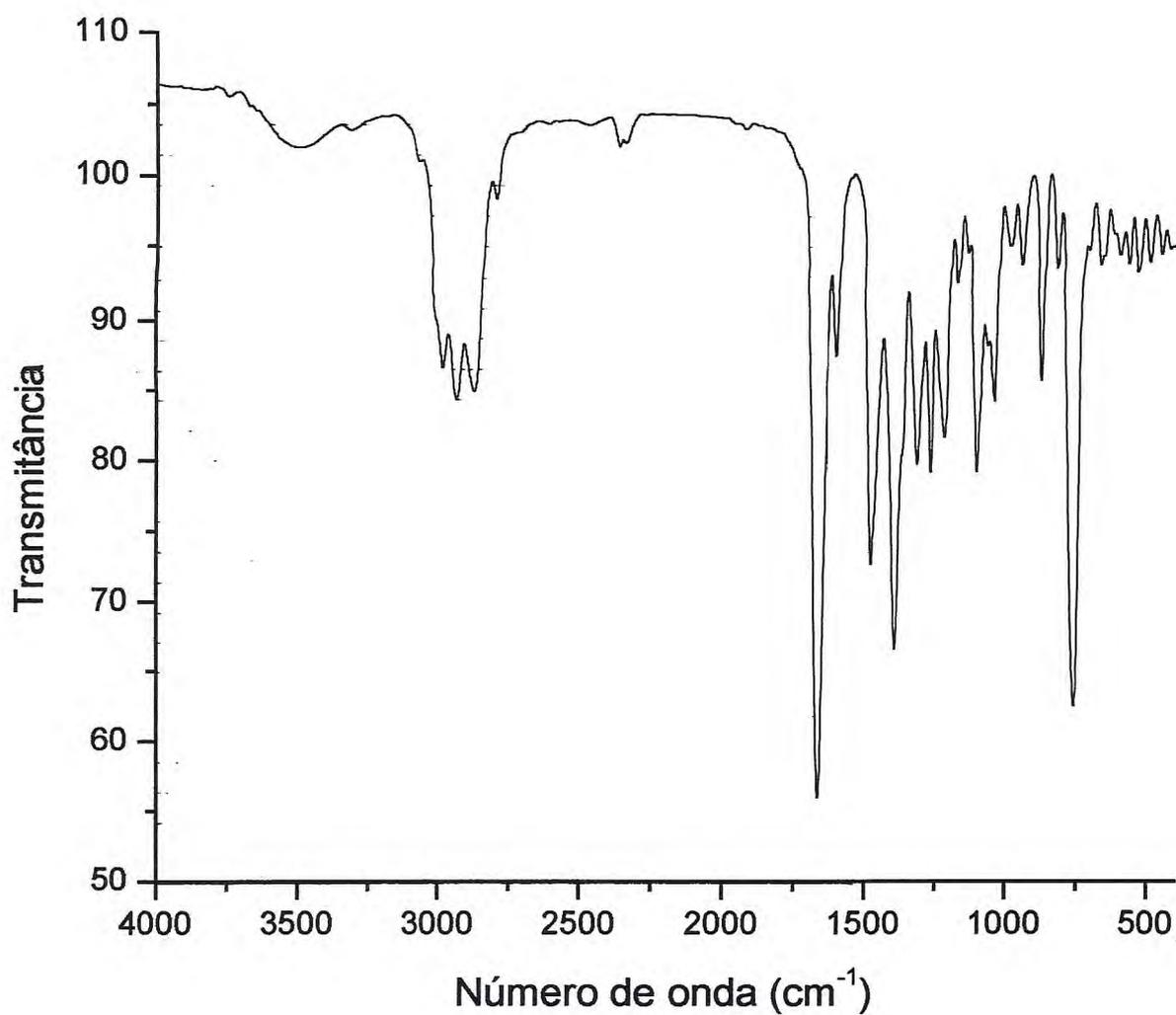
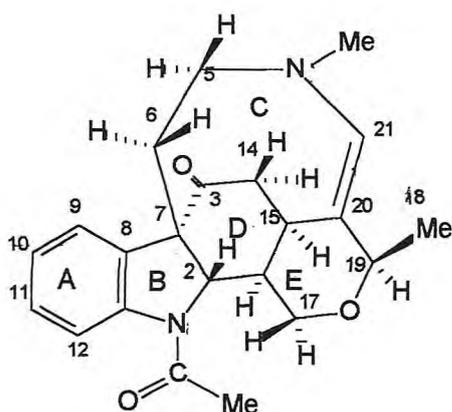


Figura 6.2. Espectro no Infravermelho (KBr) de SM-1



**Figura 6.3** - SM1 (Estrictobrasilina)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear da estricnobrasilina (SM1) são complexos, indicando a presença de rotâmeros, decorrentes da presença do grupo N-acetil, que através de conjugação do par de elétrons do nitrogênio com a carbonila restringe parcialmente a rotação do grupo acetil, (Figura 6.4).



**Figura 6.4.** Estruturas parciais dos Rotâmeros a e b.

O novo isolamento deste alcalóide ensejou a obtenção de espectros de RMN a diferentes temperaturas com vistas à caracterização de seus rotâmeros. Foram obtidos espectros unidimensionais (RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  (BB) em três temperaturas (288°, 298° e

308<sup>0</sup> K), e bidimensionais (H,H- COSY, NOESY, HMQC e HMBC) incluindo técnicas de detecção inversa para as experiências realizadas à temperatura ambiente (298<sup>0</sup> K).

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C (BB), registrados a 298<sup>0</sup> K e a 288<sup>0</sup> K (Figuras 6.5, 6.6, 6.7 e 6.8) colocaram em evidência a presença de um equilíbrio conformacional, cujas interconversões, especialmente a temperatura mais baixa, devem ser mais lentas que o fenômeno de RMN. Assim, foi possível observar os espectros de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C dos dois rotâmeros, sendo que as principais diferenças entre seus deslocamentos químicos, ocorrem nas proximidades do grupamento amida, particularmente, a 288<sup>0</sup> K. Muito diferente é o perfil dos espectros realizados a 308<sup>0</sup> K, onde é evidenciada a coalescência de sinais (Figuras 6.9 e 6.10 e Tabela 6.3), como pode ser verificado no espectro de RMN<sup>13</sup>C, de modo completo, e para alguns sinais do espectro de RMN<sup>1</sup>H (H-12, H-2, H-17A, H-17-B, H-16 e H-21).

Os espectros HMQC (Figura 6.11), HMBC (Figura 6.12), H,H-COSY (Figura 6.13) e NOESY (Figura 6.14) permitiram a atribuição da maioria dos sinais dos rotâmeros a 298<sup>0</sup> K (Tabela 6.1) e por comparação, foram feitos os registros nas duas outras temperaturas, observando-se os sinais dos 2 rotâmeros a 288<sup>0</sup>K e a simplificação do espectro a 308<sup>0</sup> K. Estes dados confirmaram os prévios assinalamentos para o rotâmero principal (7) (Tabela 6.2) exceto para os pares H-6A /6B e 14H-A/14H-B, cujos registros da literatura (7) estão trocados em relação aos verificados através dos espectros <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-COSY [ H-6A ( δ 2,96 ) acopla com H-6B ( δ 1,75) e ambos acoplam com H-5A (δ 2,77 ) e NOESY [ H-2 (δ 4,60) interage dipolarmente com 5A e 6A e 6B].

Através do NOESY não foi possível observar os dois rotâmeros em função dos picos de correlação de H-2 e H-12 com os hidrogênios metílicos do grupo acetil (CH<sub>3</sub>CO), pois os sinais das metilas se encontram superpostos. Entretanto, o "congelamento" (ou seja, restrição à rotação do grupo N-acetil) já foi evidenciado através da mesma técnica, a - 40<sup>0</sup> C (122), onde se pôde verificar um NOE entre H-2 (a) e os hidrogênios do grupo acetil, do rotâmero principal e entre H-12 (b) e os hidrogênios deste grupo no rotâmero minoritário.

A razão entre o rotâmero a e rotâmero b estimada com base na integração dos sinais de H-2(a) e H-2 (b) nas temperatura 288<sup>0</sup> e 298<sup>0</sup> K ,é, aproximadamente, 70:30, em acordo com o verificado na literatura (7, 122).

Nas Tabelas 6.1, 6.2 e 6.3 são apresentados os dados completos e comparativos de RMN, obtidos nas 3 temperaturas

**Tabela 6.1.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SM1 em CDCl<sub>3</sub>, a 298<sup>o</sup> K

Posição	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{13C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{13C}}$	COSY		NOESY		HMBC
	298 <sup>o</sup> K	298 <sup>o</sup> K	298 <sup>o</sup> K	298 <sup>o</sup> K	Correlações H/H		Correlações H/H		Correlações
	rot a	Rot.a	rot b	rot b	Rot a	Rot b	Rot a	Rot b	Rot a
2	4,60	63,25	5,24	62,46	16	16	5A; 6A; 6B; MeCO		
3	-	193,83	-	193,83					
5A	2,77	53,45	2,77	53,45	5B; 6B		6A ; 6B; 21		
5B	2,63		2,63		5A				7
6A	2,96	41,01	2,96	41,01	6B; 5A; 5B		2; 21	2	
6B	1,75		1,75		6A; 5A		2	2	7; 3
7		57,53		57,53					
8		133,19		133,19					
9	7,50	125,15	7,60	126,37	10				
10	7,05	124,83	7,05	124,52	11; 9				8; 12; 9
11	7,22	128,19	7,22	127,87	12; 10		12		13; 12; 9
12	7,92	119,14	7,05	116,86	11		MeCO; 11		11
13		141,45		141,45					
14A	2,59	40,60	2,59	40,60	14 B		14B		16; 7
14B	2,45		2,45		14A		14A		16
15	2,62	41,02	2,62	41,12	16		16		
16	1,95	41,73	1,82	41,73	15, 2		2	15; 17A; 17B	
17A	4,03	68,50	4,09	69,52	17B		15; 16		19
17B	3,75		3,65		17A		15; 16		
18	1,35	16,87	1,35	16,87	19		21		19; 20
19	4,01		4,01						
20		136,68		137,02					
21	5,99	134,20		134,20			N-Me ; 18; 5A; 6A		15; 20
CO-Me	2,34 <sup>s</sup>	23,09	2,37 <sup>s</sup>	23,55			2; 12	2; 12	
CO-Me		169,60		169,60					CO- Me
N-Me	2,20	42,39					21	21	5

Obs. As atribuições são apoiadas no HMQC . <sup>s</sup> Aparecem superpostos no NOESY.

**Tabela 6.2.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SM1 e Estricnobilina [S] (7) em CDCl<sub>3</sub>.

Posição	$\delta_{\text{H}}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta^{13}\text{C}$
	[S]	[S]	298 <sup>o</sup> K rot a	298 <sup>o</sup> K rot a	298 <sup>o</sup> K rot b	298 <sup>o</sup> K rot b
	(7)	(7)	SM1	SM1	SM1	SM1
2	4,63	63,2	4,60	63,25	5,24	62,46
3	-	193,4	-	193,83	-	193,83
5A	2,5	53,6	2,77	53,45	2,77	53,45
5B	2,7		2,63		2,63	
6A	2,2	40,7 <sup>a</sup>	2,96	41,01	2,96	41,01
6B	2,6		1,75		1,75	
7		57		57,53		57,53
8	-	133,2		133,19		133,19
9	7,5	125	7,50	125,15	7,50	126,37
10	7,0-7,2	125,3	7,05	124,83	7,05	124,52
11	7,0-7,2	128,3	7,22	128,19	7,22	127,87
12	7,9	119,3	7,92	119,14	7,05	116,86
13	-	141,5		141,45		141,45
14A	3,0	41,5 <sup>a</sup>	2,59	40,60	2,59	40,60
14B						
	1,7		2,29		2,45	
15	2,68	41,8 <sup>b</sup>	2,62	41,12	2,62	41,73
16	1,8	41,2 <sup>b</sup>	1,95	41,73	1,82	41,12
17A	4,0	68,6	4,03	68,50	4,09	69,52
17B	3,7		3,75		3,65	
18	1,37	16,9	1,35	16,90	1,35	16,87
19	4,0	77,3	4,01	77,32	4,01	77,32
20	-	136,8		136,68		137,02
21	6,0	134,3	5,99	134,20		134,20
CO-Me	2,35	23,2	2,34	23,09	2,37	23,55
CO-Me	-	169,7		169,60		169,60
N-Me	2,2	42,5	2,20	42,39	2,20	42,73

<sup>a,b</sup> Intercambiáveis

**Tabela 6.3.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SM1 em CDCl<sub>3</sub>, a 288<sup>o</sup> K. e 308<sup>o</sup> K.

Posição	$\delta_H^*$	$\delta^{13}_C$	$\delta_H$	$\delta^{13}_C$	$\delta^{13}_C$	$\delta^{1}_H$
	288 <sup>o</sup> K rot a	288 <sup>o</sup> K rot a	288 <sup>o</sup> K rot b	288 <sup>o</sup> K rot b	308 <sup>o</sup> K	308 <sup>o</sup> K
2	4,59	63,23	5,22	62,36	63,17	
	(d,10,3,1H)					
3		193,48	-	193,48	193,1	
5A		53,36		53,36	53,58	2,82
5B						2,61
6A	2,95	40,97	2,95	40,97	40,68	2,97
6B	1,73		1,73			1,71
7		57,45		56,21	57,20	
8		133,18		133,18	133,96	
9	7,49	125,21	7,69	126,37	125,40	7,24
10	7,05	124,52	7,05	124,52	124,63	7,02
11	7,21	127,26	7,21	127,97	127,99	7,20
12	7,91	119,16	7,05	116,86	118,20	7,54
13		141,35		141,17	141,49	
14A	2,59	40,52	2,59	40,52	40,68	2,60
14B	2,30		2,30			2,25
15		41,59		41,59	41,26	2,58
16	1,88	40,97	1,76	40,97	41,26	1,85
	(d, 10,3,1H)		(d, 10,3,1H)			
17A	4,04		4,04	69,54	68,78	4,06
17B	3,77		3,74			3,71
18	1,34	16,96	1,34(6,1)	16,96	16,75	1,34
	(d, 6,1, 3H)					
19	4,04	76,71	3,94	76,71	76,69	4,00
20		136,55		136,91	136,93	
21	6,00 (s, 1H)	134,14	5,95 (s, 1H)	135,44	133,96	5,98
CO-Me	2,35 (s, 3H)	23,23	2,37 (s, 3H)	23,81	23,03	2,37
CO-Me		169,74		169,89	169,53	
N-Me	2,19 (s, 3H)		2,18 (s, 3H)	42,60	42,39	2,20

\* Multiplicidades e constantes de acoplamentos em Hz entre parênteses.

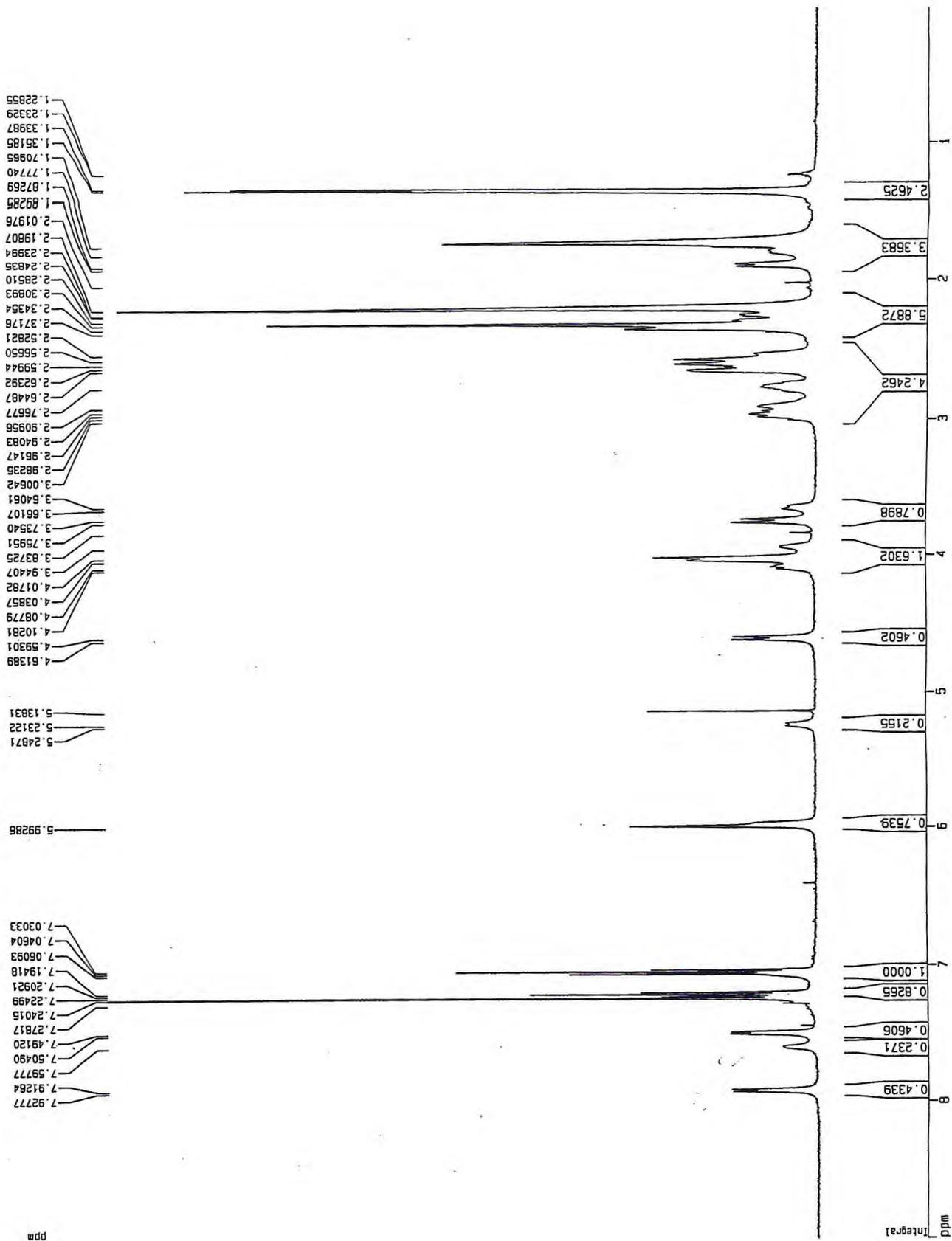


Figura 6.5. Espectro de RMN<sup>1</sup> H a 298<sup>0</sup> K (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de SM1

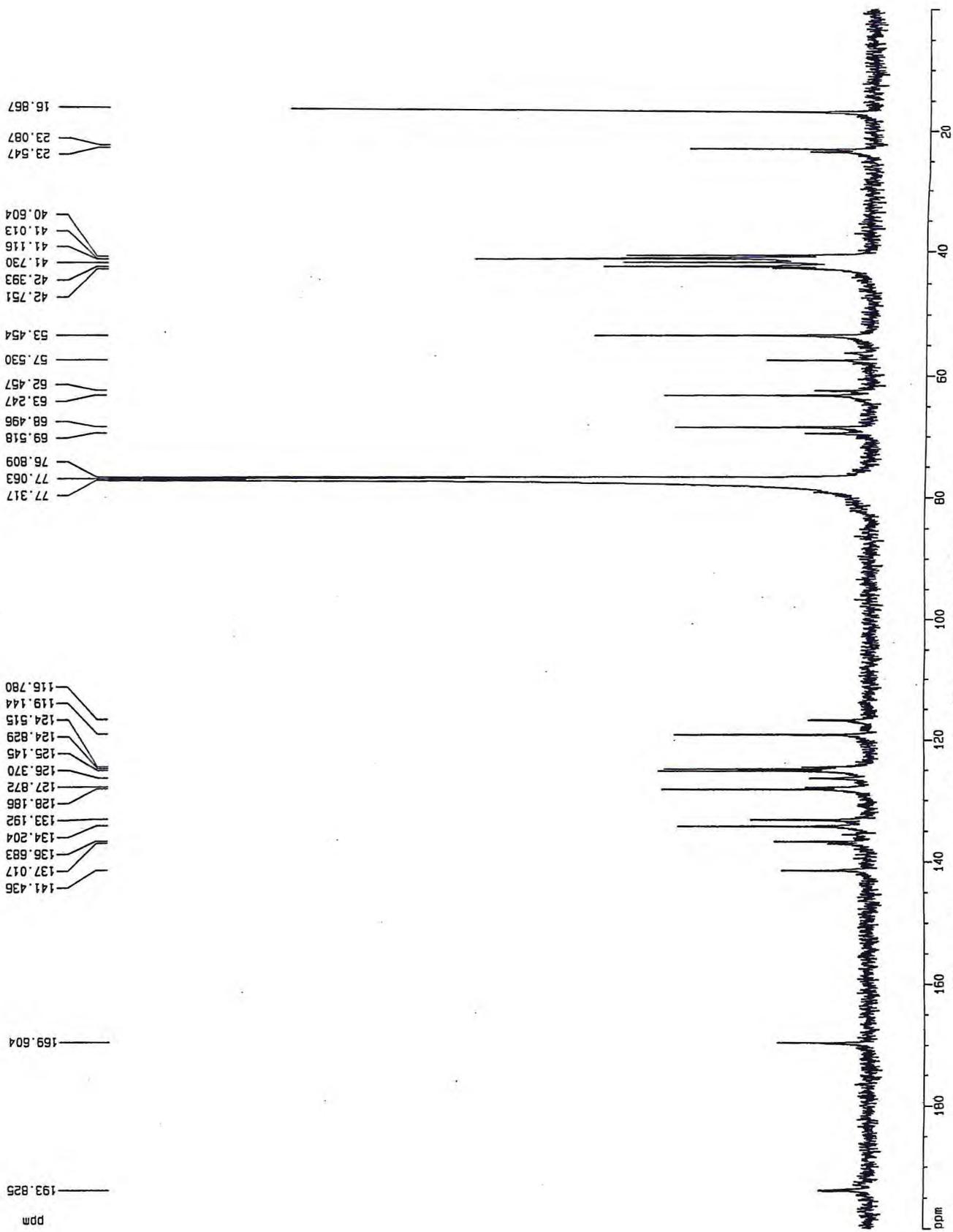


Figura 6.6. Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (BB) a  $298^{\circ}\text{K}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de SMI



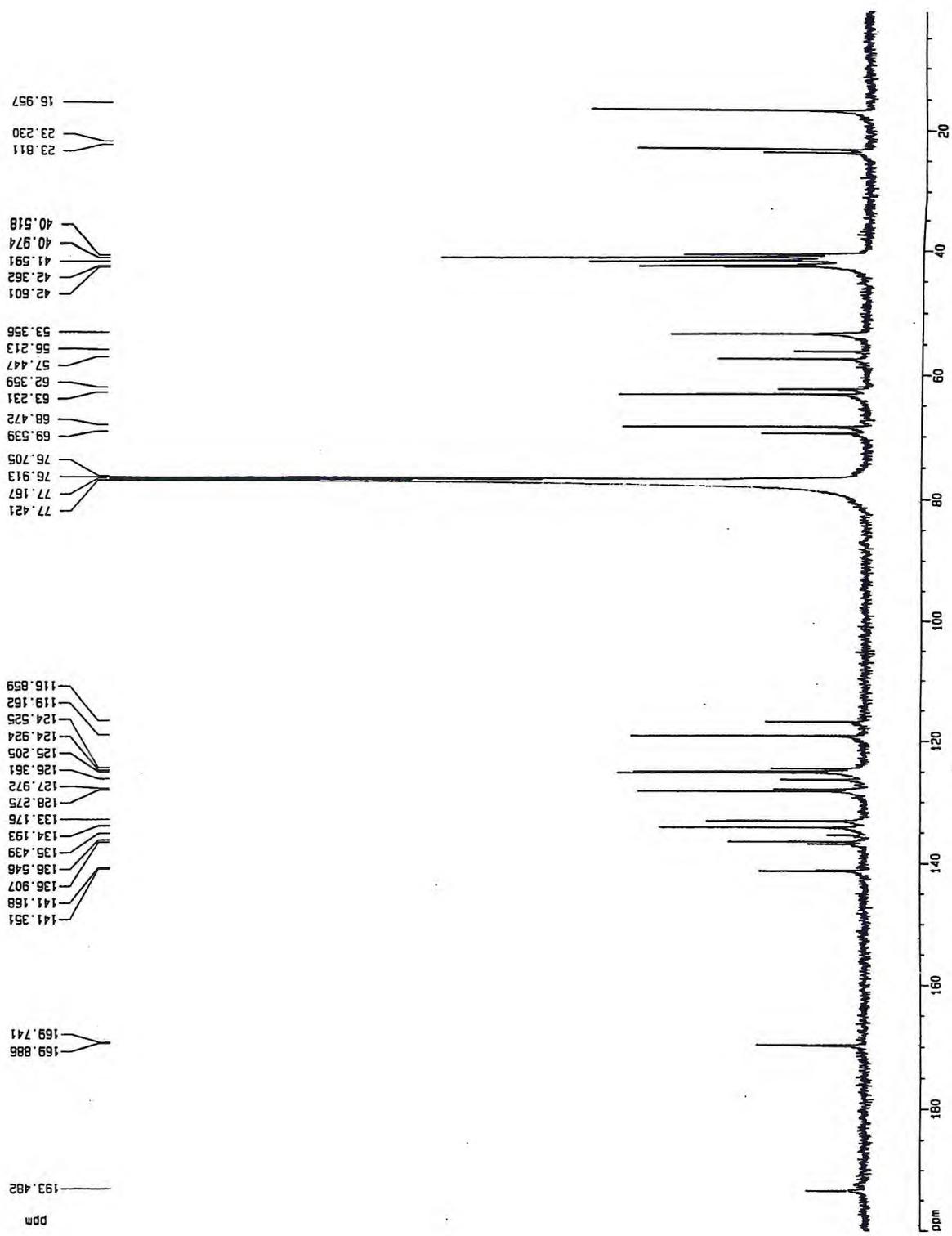


Figura 6.8. Espectro de RMN<sup>13</sup> C (BB) a 288<sup>0</sup> K (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) de SMI

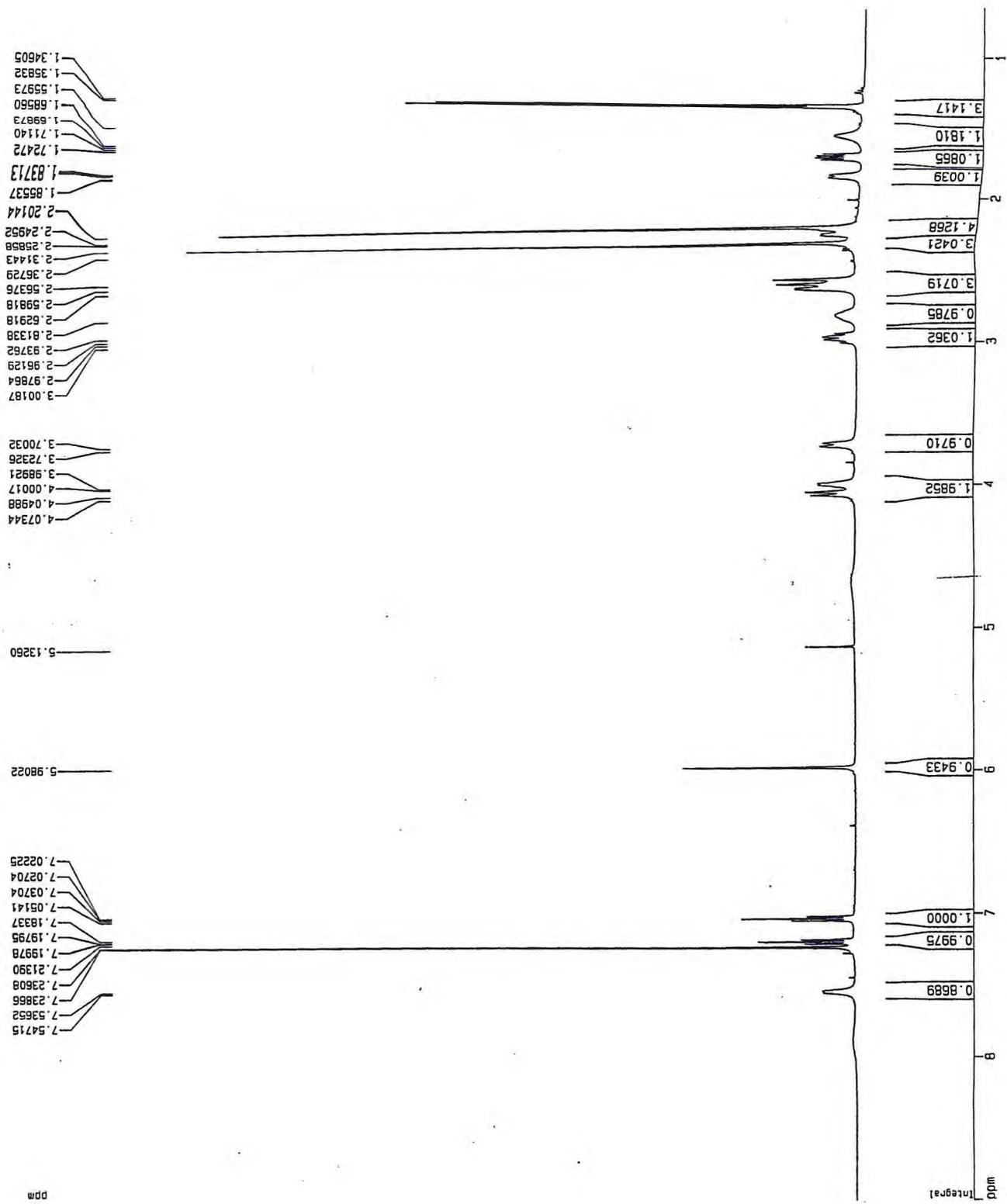


Figura 6.9. Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  a  $308^\circ\text{K}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500\text{ MHz}$ ) de SM1

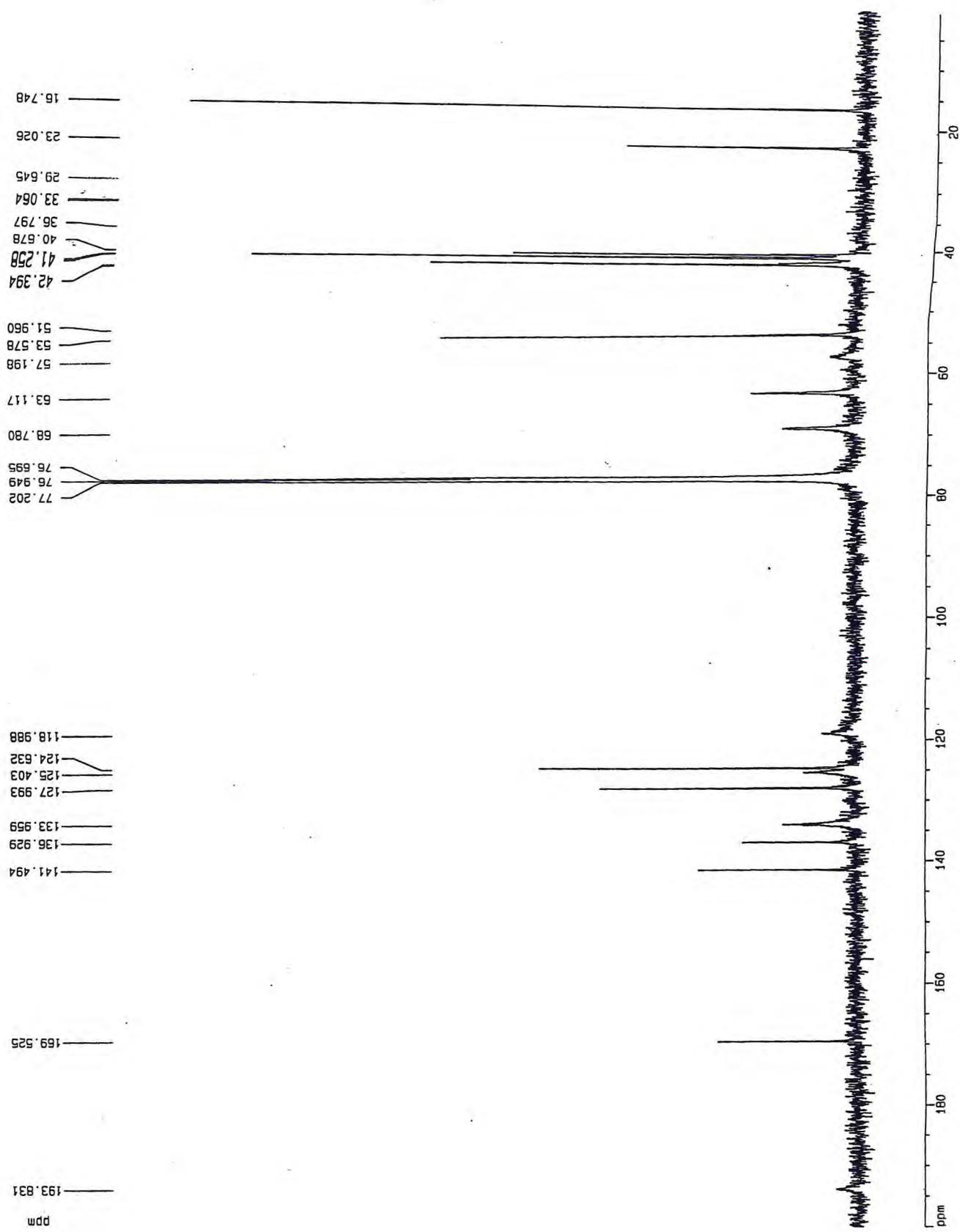


Figura 6.10. Espectro de RMN<sup>13</sup> C (BB) a 308<sup>0</sup> K (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) de SM1

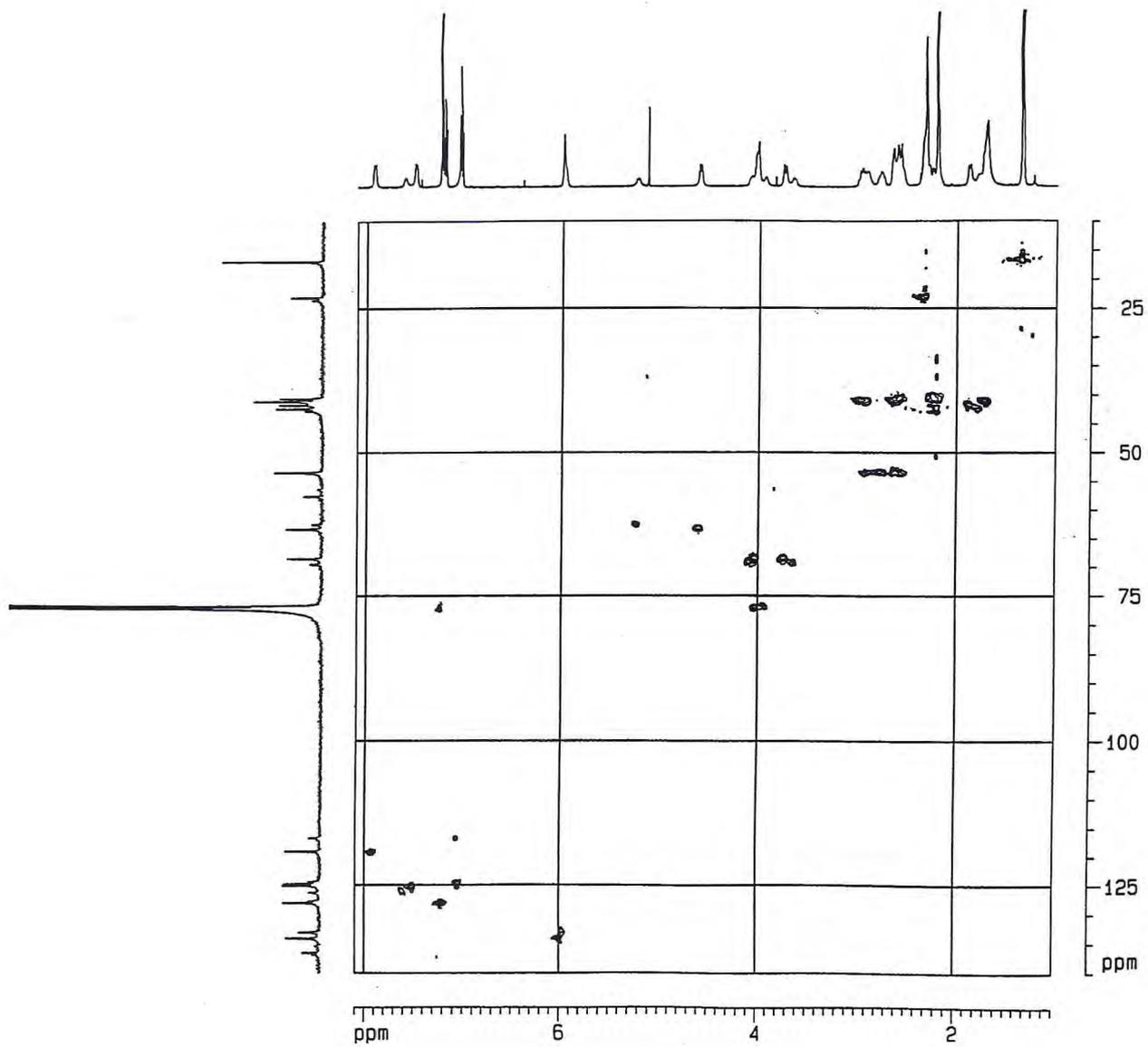


Figura 6.11 Espectro RMN 2D HMQC a  $298^{\circ}\text{K}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de SM1

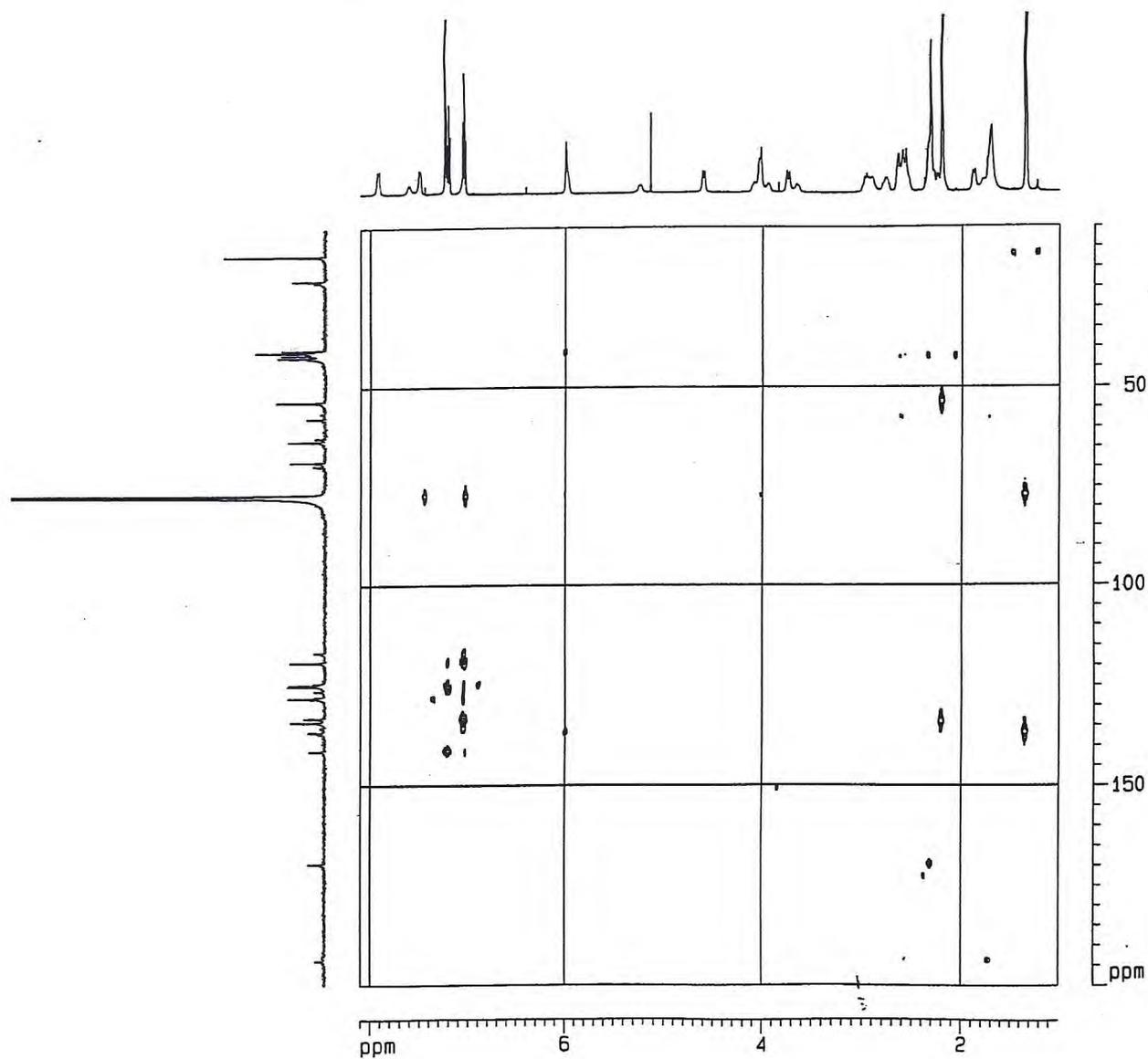


Figura 6.12. Espectro RMN 2D HMBC a  $298^{\circ}\text{K}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de SM1

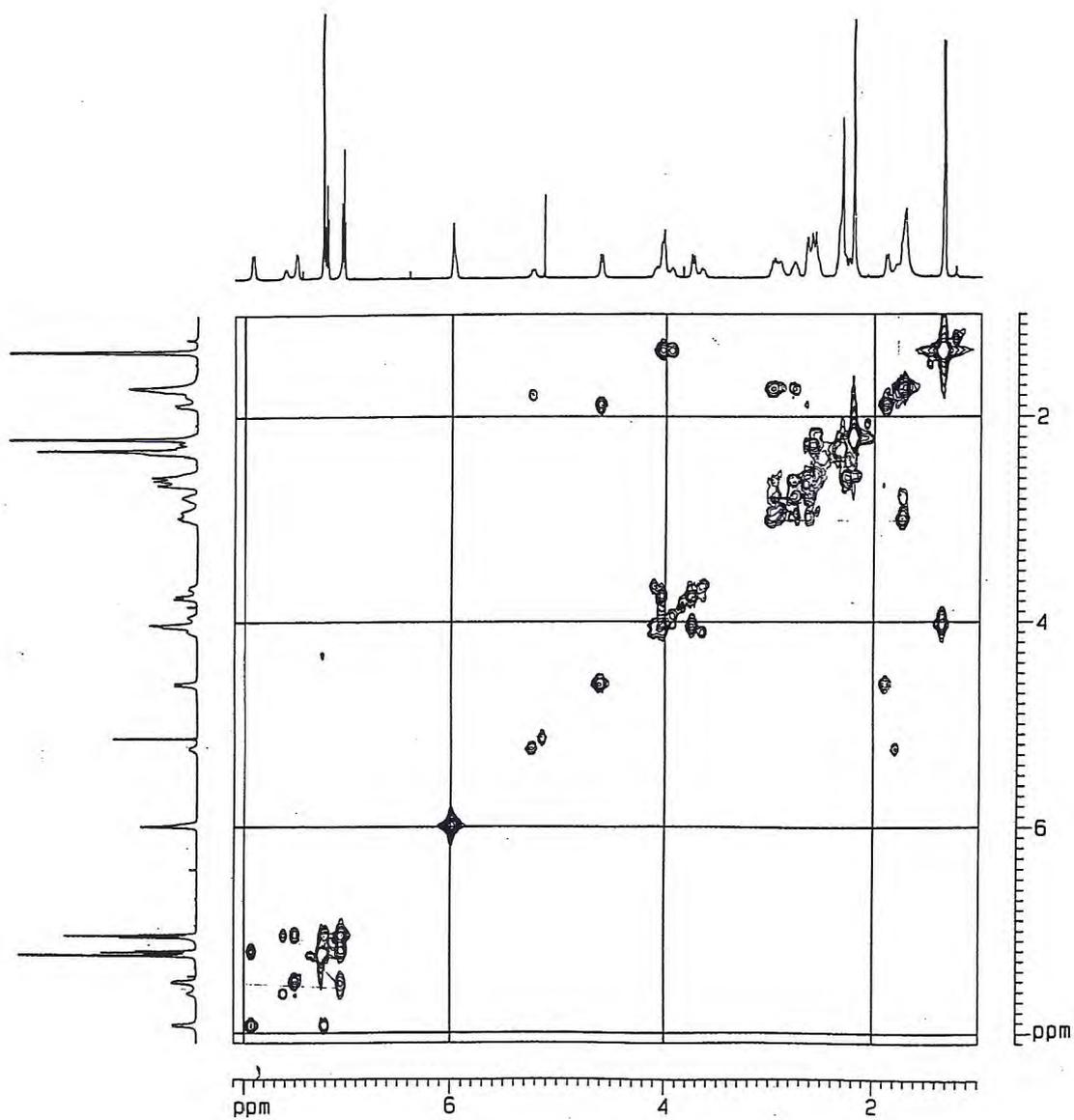


Figura 6.13. Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY a  $298^{\circ}\text{K}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de SM1

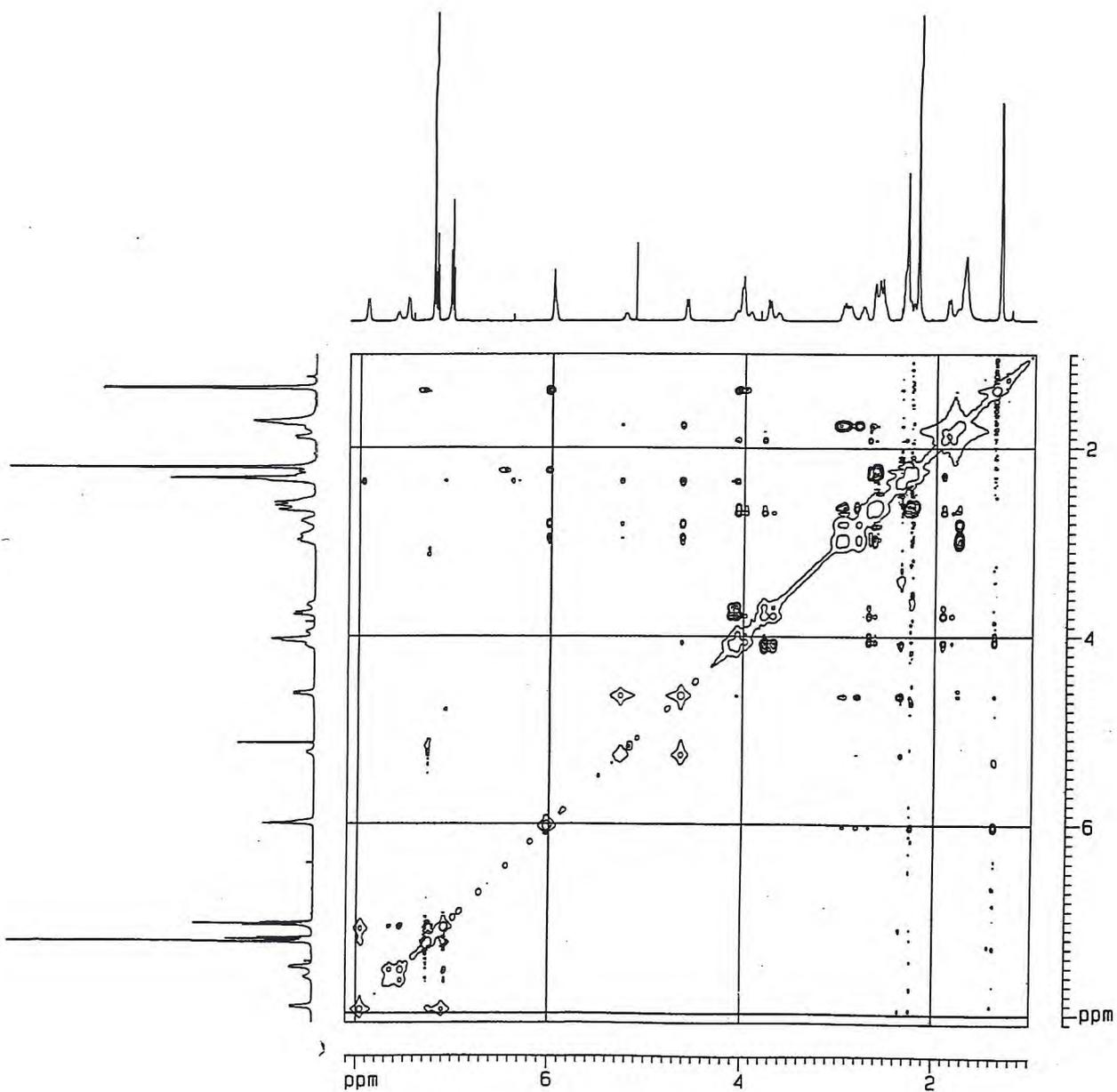


Figura 6.14. . Espectro RMN 2D NOESY a 298<sup>0</sup> K (CDCl<sub>3</sub>) de SM1

## 6.2. Identificação de SM-3 ( 12-Hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina )

SM-3 apresentou-se como um sólido cristalino branco, ponto de fusão 220-222<sup>0</sup> C (metanol). Absorve fortemente a luz UV ( 254 nm ) , apresenta coloração laranja com o reagente Dragendorff e violeta com reagente sulfato cérico/ácido sulfúrico.

O espectro no IV (Figura 6. 15) revelou absorções em 3500 cm<sup>1</sup>, caracterizando a presença de uma hidroxila e em 1665, 1630 cm<sup>-1</sup> típicos de carbonilas conjugadas e ligações duplas. O espectro de RMN<sup>1</sup> H (Figura 6.16) exibiu uma absorção em  $\delta$  10.05 (s, 1H), atribuída a uma hidroxila fenólica e uma absorção em  $\delta$  3.85 (s, 3H), compatível com a presença de uma metoxila. Apresentou também um sistema AB na região de hidrogênios aromáticos ( $\delta$  6.96, d, 8.3;  $\delta$  6.69, d, 8.3). Com base nestes dados e através de comparação com amostra autêntica em CCD analítica, utilizando dois sistemas de solvente [AcOEt/IsopropOH/NH<sub>4</sub> OH (80:15:5) e CHCl<sub>3</sub>/MeOH (1:1)] verificou-se a identidade de SM-3 com a 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina (Figura 6.17), fórmula molecular C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> , isolada anteriormente de *S.brasiliensis* (75 ) e *S. mattogrossensis* (7).

A frequência mais baixa da C=O amídica no IV, indicativa de associação por ponte de hidrogênio é compatível com a posição C-12 para a hidroxila . O espectro HMBC (Figura 6.18), não mencionado na literatura, confirmou a posição da hidroxila em C-12 e justificou a da metoxila em C-11.

O espectro HMQC (Figura 6.19) estabeleceu, inequivocamente, o deslocamento químico de H-5A /H-5B em  $\delta$  2.,72 e 2,65 respectivamente, e H-15 em  $\delta$  2,65. Os espectros de <sup>1</sup>H , <sup>1</sup>H-COSY (Figura 6.20) e NOESY (Figura 6.21) confirmaram os dados anteriormente obtidos na literatura (7), exceto para os deslocamentos químicos dos pares H-6A/H-6B e H-14A/H-14B cujos assinalamentos estão mutuamente trocados. A definição dos deslocamentos químicos de H-5A/H-5B e H-15, pelo HMQC e os acoplamentos no espectro <sup>1</sup>H , <sup>1</sup>H-COSY, entre o sinal em  $\delta$  2,72 , referente a H-5A, com os sinais em  $\delta$  3,0 e  $\delta$  1,73, justificaram a atribuição dos últimos, respectivamente, a H-6A e H-6B, o que foi confirmado no espectro HMBC (<sup>2</sup>J<sub>H6B-C7</sub>). Quanto ao H-15, sua atribuição foi confirmada pelo NOESY que evidencia, uma interação dipolar entre H-16 ( $\delta$  1,90) e H-15 ( $\delta$  2,65), confirmando ainda a estereoquímica previamente determinada para a junção dos anéis D/E. Na Tabela 6.4 estão registrados os dados completos e comparativos da molécula.

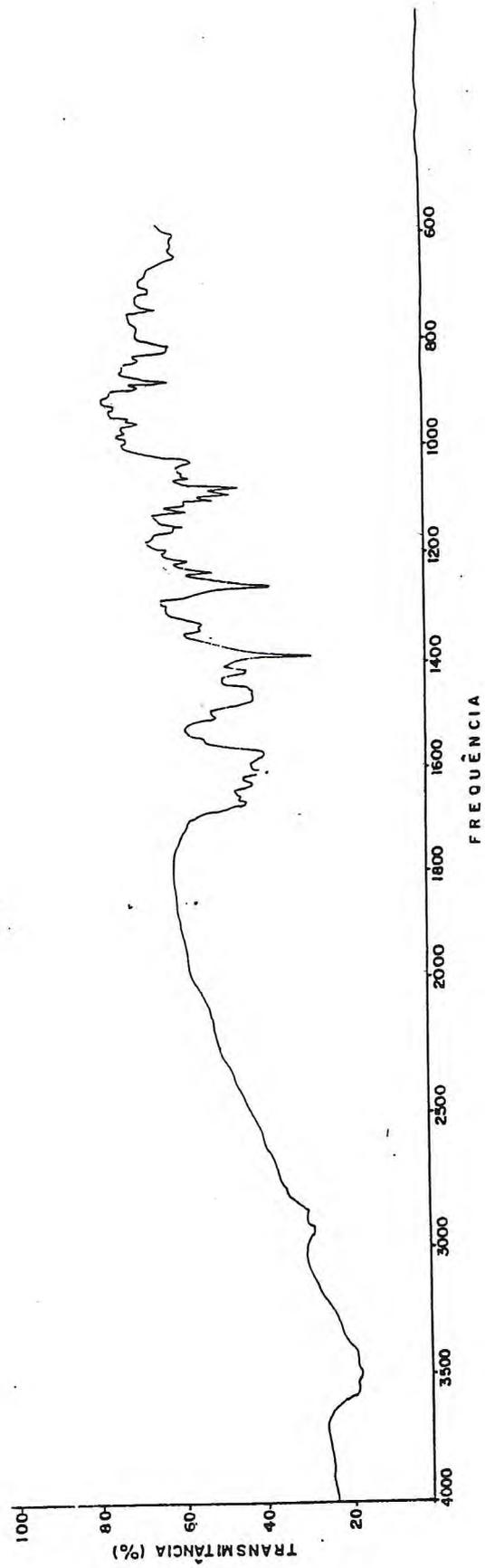


Figura 6.15 Espectro no Infravermelho (KBr) de SM-3



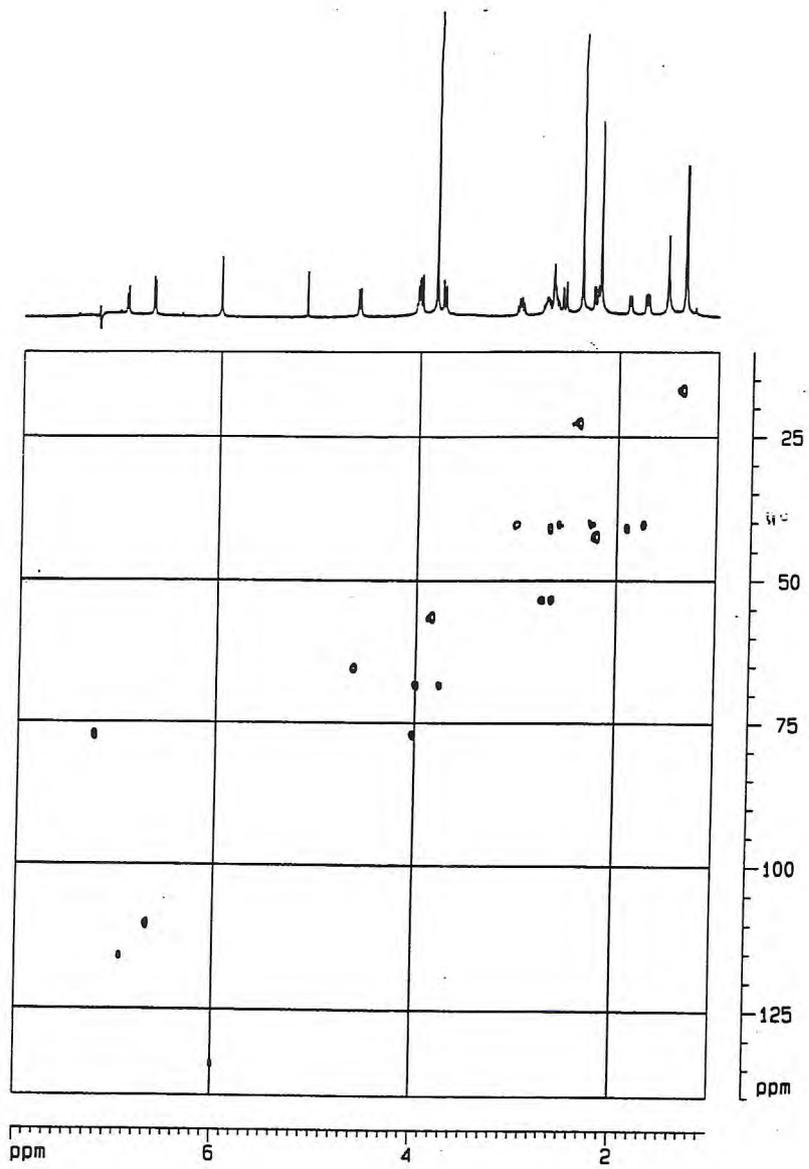


Figura 6.18. . Espectro RMN 2D HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de SM3

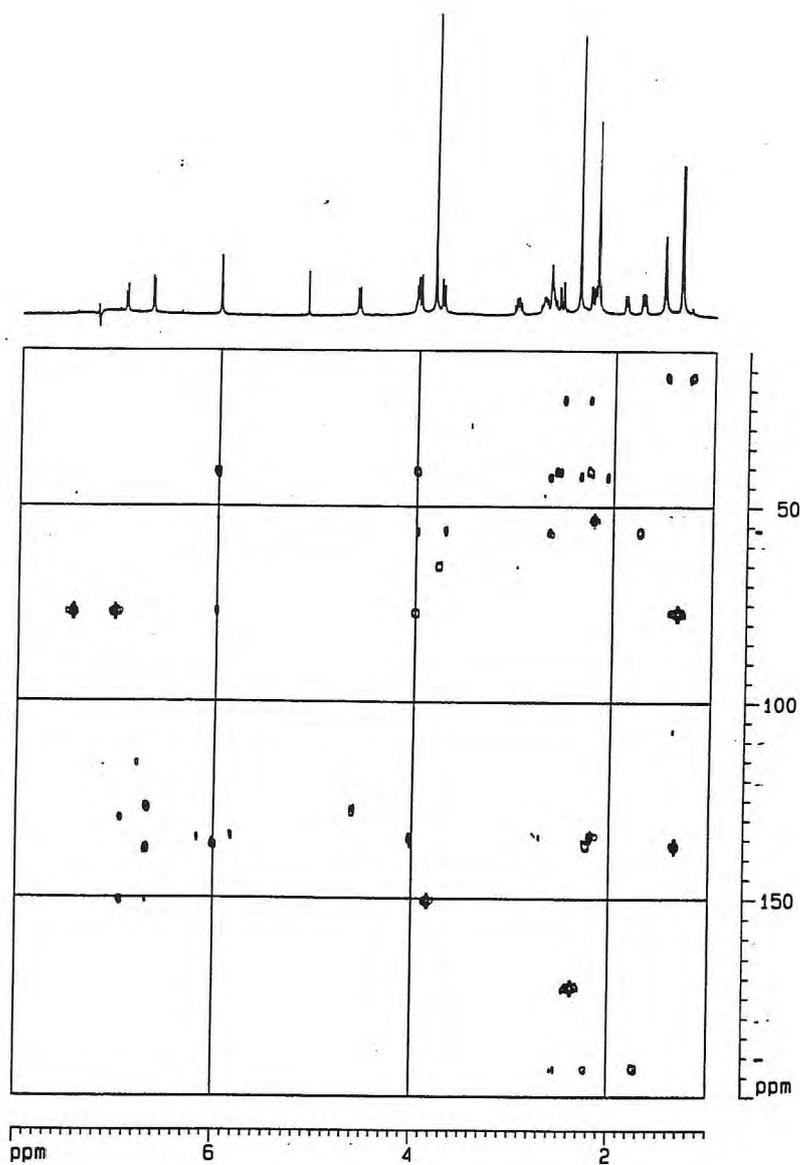


Figura 6.19. Espectro RMN 2D HMQC ( $\text{CDCl}_3$ ) de SM3

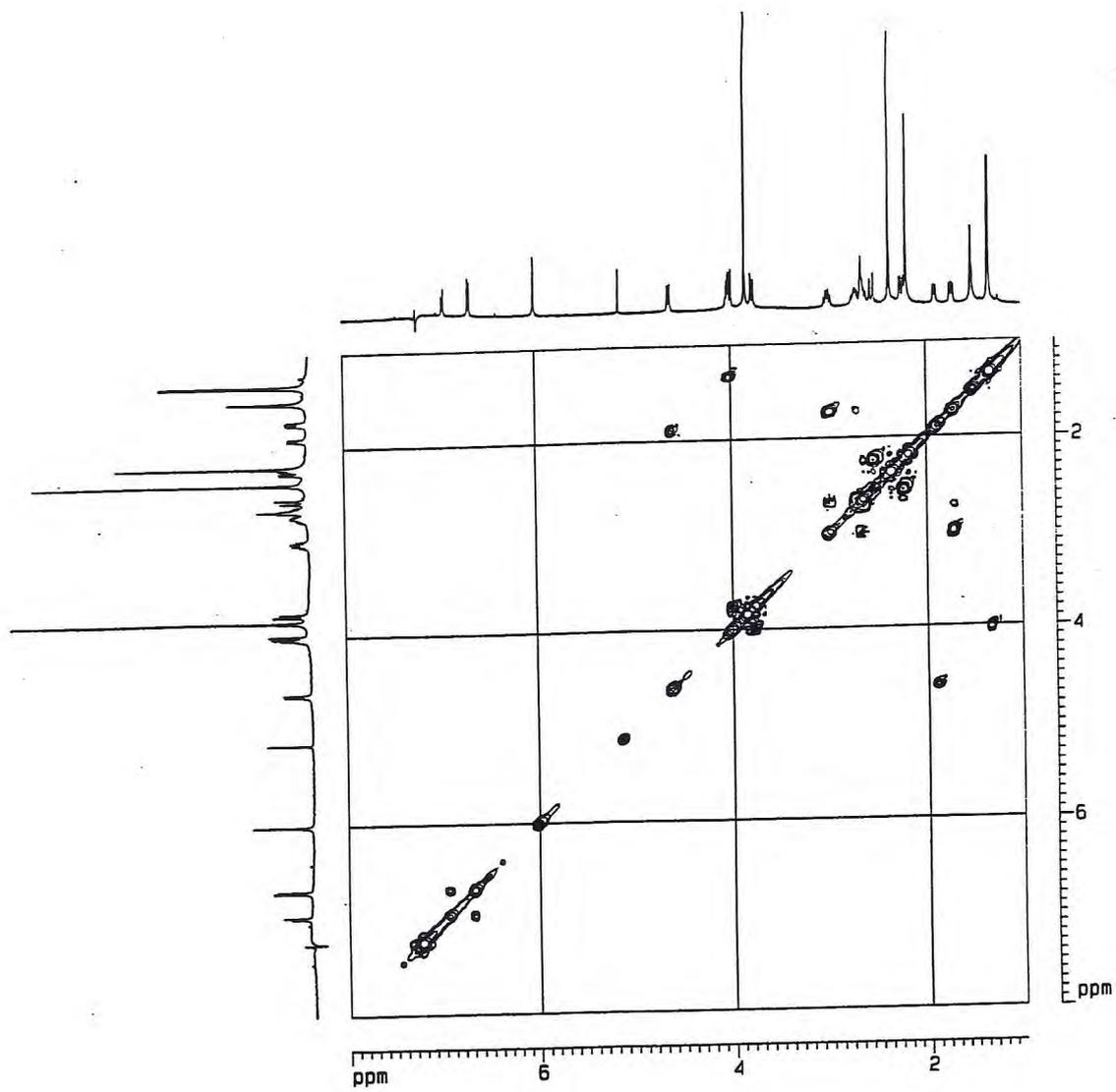


Figura 6.20. Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) de SM3

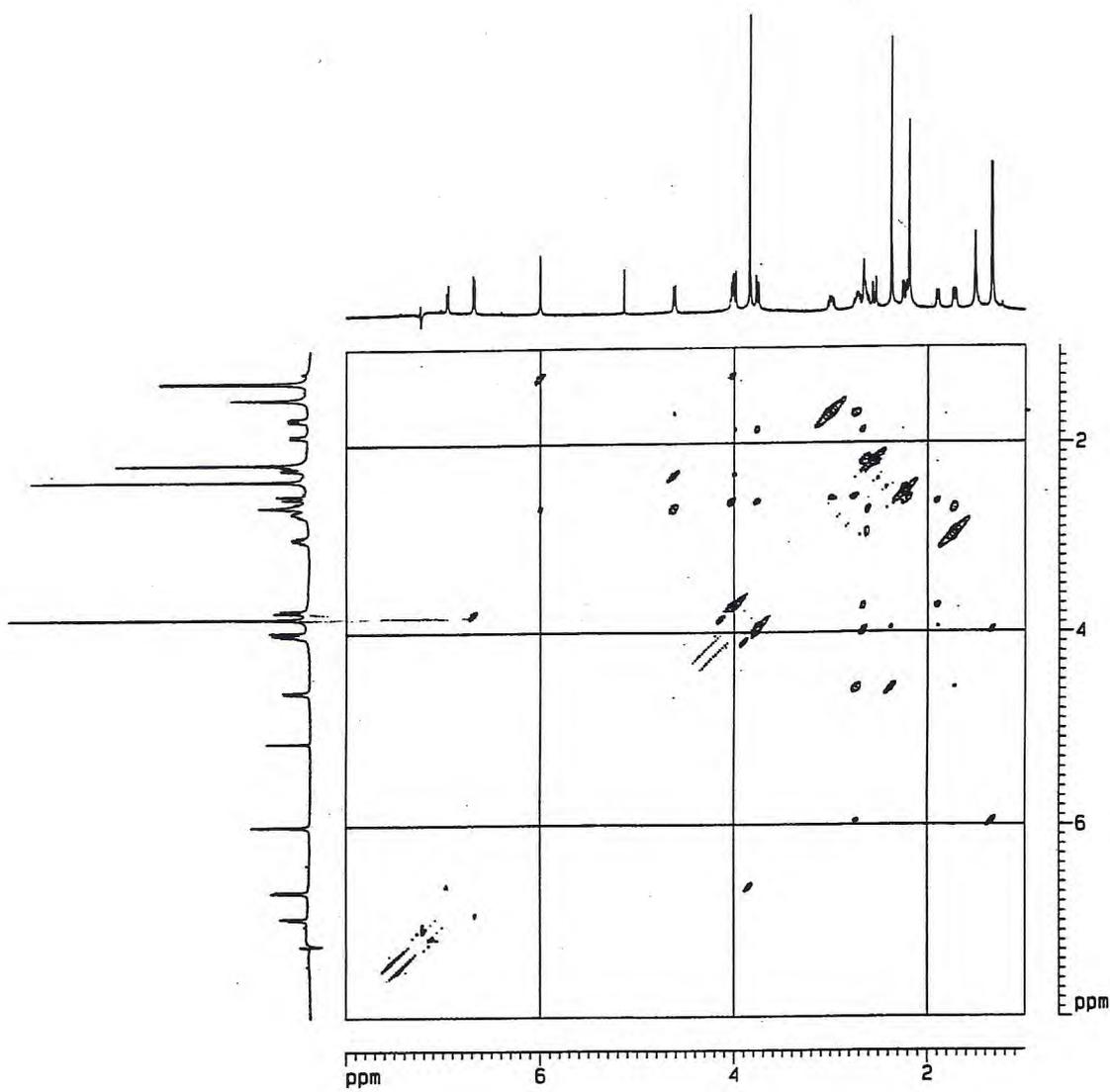


Figura 6.21 Espectro de RMN 2D - NOESY (  $\text{CDCl}_3$  ) de SM3

**Tabela 6.4.** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SM3 em CDCl<sub>3</sub> e de 11-metoxi-12-hidroxiestricnobraisina [S1] (7)

Posição	[S1](7) δ <sub>H</sub>	SM-3 δ <sub>H</sub>	[S1](7) δ <sup>13</sup> <sub>C</sub>	SM-3 δ <sup>13</sup> <sub>C</sub>	HMBC Correlações H/C No. do C	NOESY Correlações H/H No. do H	HxH-COSYGS Correlações H/H No. do H
2	4,62	4,63(d, 10,7)	65,4	65,0	13	5A, <u>Me</u> -CO	16
3	-	-	192,9	192,0			
5A	2,67	2,72 (m,1H)	53,5	53,0	21	2, 5B, 6B	6A, 6B
5B	2,67	2,65 (m, 1H)			<u>Me</u> -N; 7	5A; 6A	
6A	2,53	3,00 (m,1H)	40,3 <sup>a</sup>	40,0		6B, 5B	6B, 5A
6B	2,27	1,75 (m,1H)			7; 3	6A, 5A	6A, 5A
7	-	-	57,01				
8				137			
9	6,96	6,96(d, 8,3,1H)	115,9	116,0	11; 13	10	10
10	6,70	6,69(d, 8,3,1H)	110,1	110,0	12, 8 ;11	9, MeO	9
11	-	-	150,6	150,5			
12	-	-	127,0	127,0			
13	-	-	129,5	129,0			
14A	3,00	2,56(d,17, 5, 1H)	40,4 <sup>a</sup>	40,0	3, 16	14B	14B
14B	1,75	2,23(d,17, 5, 1H)			3, 16	14A	14A 15
15	2,67	2,65 (m,1H)	41,1 <sup>b</sup>	41,0		16	14B
16	1,9	1,90(d, 10,7,1H)	41,02 <sup>b</sup>	41,0		17B, 17A, 15	2
17A	4,02	4,00 (d, 12,4,1H)	68,4	68,0	19, 15	17B, 15, 16	17B
17B	3,80	3,80(d,12,4, 1H)			2	17A, 15	17A
18	1,34	1,34(d, 6,1, 3H)	16,90	16,5	20, 19	21, 19	19
19	3,9	4,01 (m,1H)	77,26	77,0	21	18, 15	18
20	-		137,0	137,0			
21	6,01	6,01	134,4	134,5	19,20,15	18, 5A	
N-Me	2,2	2,21 (s,3H)	42,5	42,5	5		
N-COMe			172,5	172,0			
N-COMe	2,40	2,38 (s,3H)	22,7	23,0		17A	
O-Me	3,85	3,85 (s,3H)	56,6	56,5			
OH	10,08	10,05 (s,1H)					

<sup>a,b</sup> Intercambiáveis

\* Multiplicidades e constantes de acoplamentos em Hz entre parênteses.

### 6.3- Determinação estrutural de 12-Hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobraasilina-SMR1

SMR-1 apresentou-se como um sólido cristalino, ponto de fusão 260-262 ° C (AcOEt). Absorve fortemente a luz de comprimento de onda 254 nm, apresenta coloração laranja ao Dragendorff e amarela ao reagente sulfato cérico/ácido sulfúrico.

O espectro no UV (Fig.6 22) apresentou máximos em 222 (log  $\epsilon$  4.29), 255 (log  $\epsilon$  3.94) ombro, 294 (log  $\epsilon$  3.14) nm.

O espectro no IV (Figura 6.23) revelou uma banda larga em torno de 3460  $\text{cm}^{-1}$ , caracterizando um grupamento OH ou NH. Apresentou ainda absorções em 1600 e 1580  $\text{cm}^{-1}$  típicas de estiramento C=C do anel aromático e em 760  $\text{cm}^{-1}$ , própria de deformação fora do plano de C=C-H. Absorções intensas em 1660 e 1630  $\text{cm}^{-1}$ , indicaram a presença de duas carbonilas, a última provavelmente amídica em ponte de hidrogênio intramolecular, sugerindo a presença do grupamento N-acilindolínico de alcalóides da série N-Metilsecpseudo.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 6.24) apresentou semelhanças com o da 12-hidroxi-11-metoxiestricnobraasilina (SM3), exceto pelo registro de sinal de um único hidrogênio na região aromática, representado por um singleto em  $\delta$  6.68, e dois sinais em  $\delta$  3.84 (3H, s) e  $\delta$  3.85 (em 3H, s) indicativos da presença de duas metoxilas. No espectro de RMN<sup>13</sup>C (BB) (Figura 6.25) e DEPT-135 (Figura 6.26) verificou-se, a presença de dois carbonos ligados a oxigênio, em  $\delta$  56,25 e  $\delta$  60,70, compatíveis com a presença de duas metoxilas, previamente identificadas no espectro de RMN<sup>1</sup>H. Os sinais característicos de N-CH<sub>3</sub> ( $\delta$  2.18, s, 3 H) e do grupo acetil ( $\delta$  2,37, s, 3H) eram evidentes no espectro de RMN<sup>1</sup>H que também mostrou um dubleto em  $\delta$  1.31 devido a um terceiro grupo metila acoplado a um hidrogênio em  $\delta$  4.02. O dubleto em  $\delta$  4.58 (J=10,5 Hz) atribuído a H-2 em função do acoplamento com H-16 ( $\delta$  1.93, m) e um singleto em  $\delta$  6.0 caracterizando um único hidrogênio olefínico em C-21 acentuou a semelhança com uma estrutura derivada da estricnobraasilina.

Através dos acoplamentos dos hidrogênios metilênicos em  $\delta$  3,00 e  $\delta$  1,73 com os hidrogênios em  $\delta$  2,74 e  $\delta$  2,64, observados no espectro de RMN 2D <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H- COSY (Figura 6.27), observou-se a presença do segmento (6)CH<sub>2</sub>(5)CH<sub>2</sub>N na molécula. Este espectro ratificou a presença dos segmentos (2)CH(16)CH e (18)CH<sub>3</sub>(19)CH-O, observados no espectro de RMN<sup>1</sup>H, evidenciando ainda a sequência (16)CH(15)CH(14B)CH. Os espectros de HMQC (Figura 6.28) e DEPT-135 constataram presença de 4 metilenos, 6 metinos e 5 metilas, definindo os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos correlacionados

(Tabela 6.5). Através do espectro HMBC (Figura 6.29) identificou-se os carbonos não hidrogenados e a maioria das conectividades da molécula. Assim é que os acoplamentos dos sinais atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-9 (H-2 / C-7, C-8, C-13; H-9/C-10, C-11, C-8 e C-13), confirmaram o núcleo indolínico. Um pico de correlação entre o H-6 e C-2 conectou a sequência (6)CH<sub>2</sub>(5)CH<sub>2</sub>N a este núcleo, caracterizando a parte triptamínica da estrutura, o que, juntamente com as correlação entre os hidrogênios do grupo CH<sub>3</sub>N. com o C-21 e do H-21 com C-5 e C-20 ratificou o anel C. Por outro lado, os segmentos (2)CH(16)CH e (16)CH(15)CH(14B)CH, evidenciados no espectro H,H-COSY, aliados ao acoplamento no espectro HMBC do H-14A com C-3, C-7 e C-15 e do H-14B com C-15, C-3 e C-20, configuraram a presença do anel D. A conexão entre estes anéis e o anel E (tetrahidropirânico) foi caracterizada pelo acoplamento do H-21 com C-15, C-19 e C-20 e do H-17A com C-16, C-2 e C-19. A localização das metoxilas em C-10 e C-11 decorreu das correlações dos seus hidrogênios, respectivamente com os carbonos aromáticos em  $\delta$  152,698 e  $\delta$  138,79. Com base nestes dados, concluiu-se que SMR-1 era o derivado inédito da estricnobraçilina, 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobraçilina Figura 6.30.

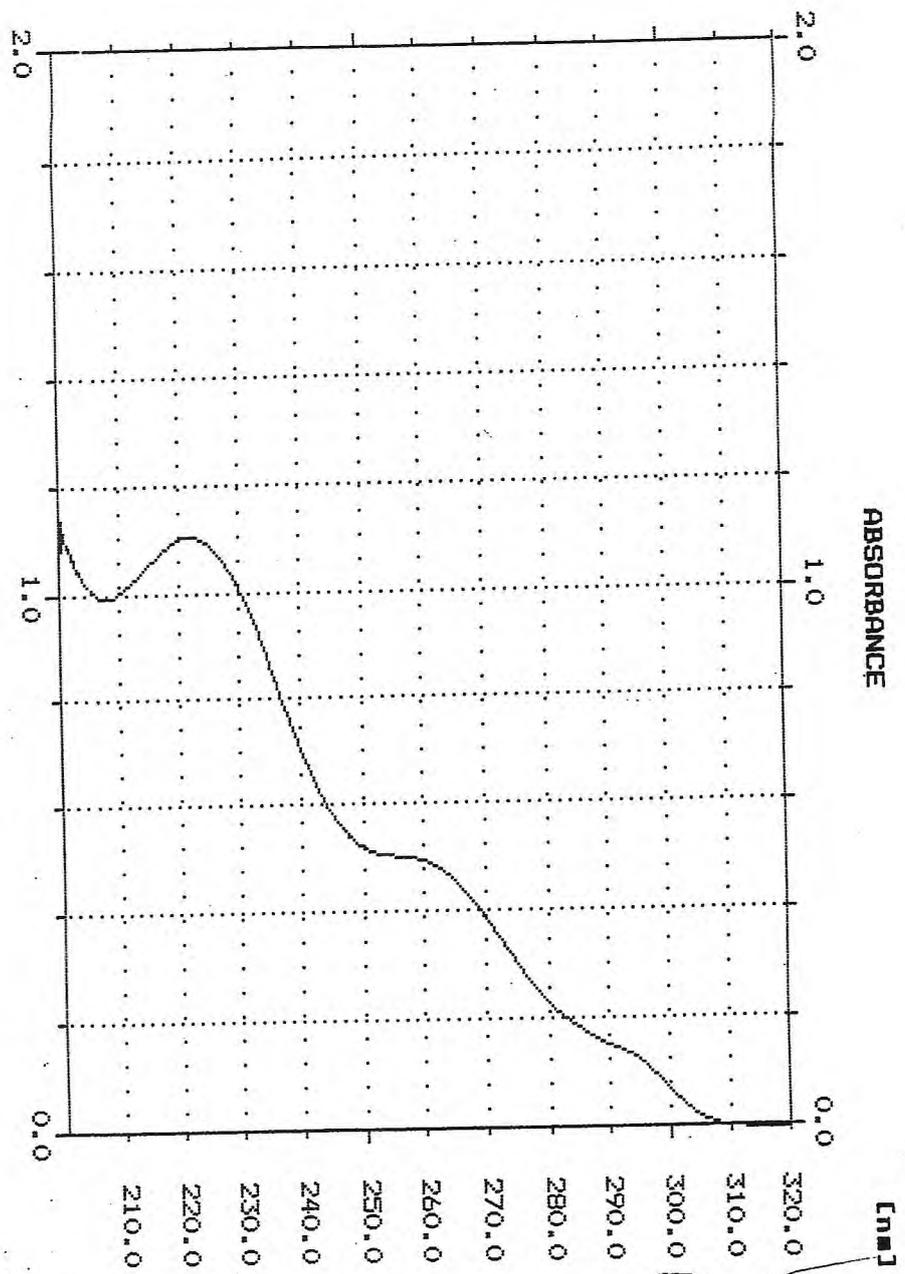


Figura 6.22. Espectro no ultravioleta( MeOH) de SMR1

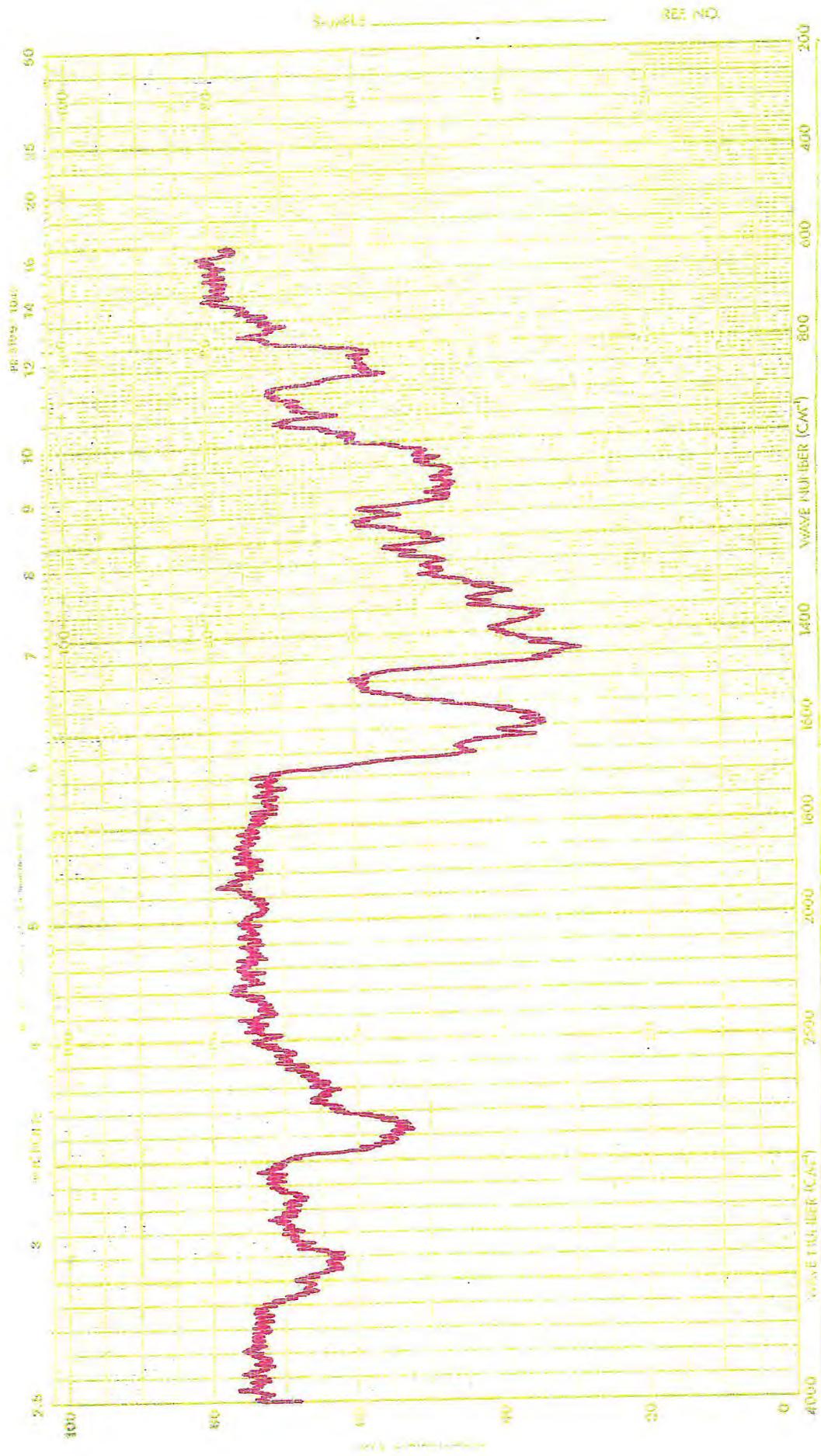


Figura 6.23. Espectro no Infravermelho (KBr) de SMRI

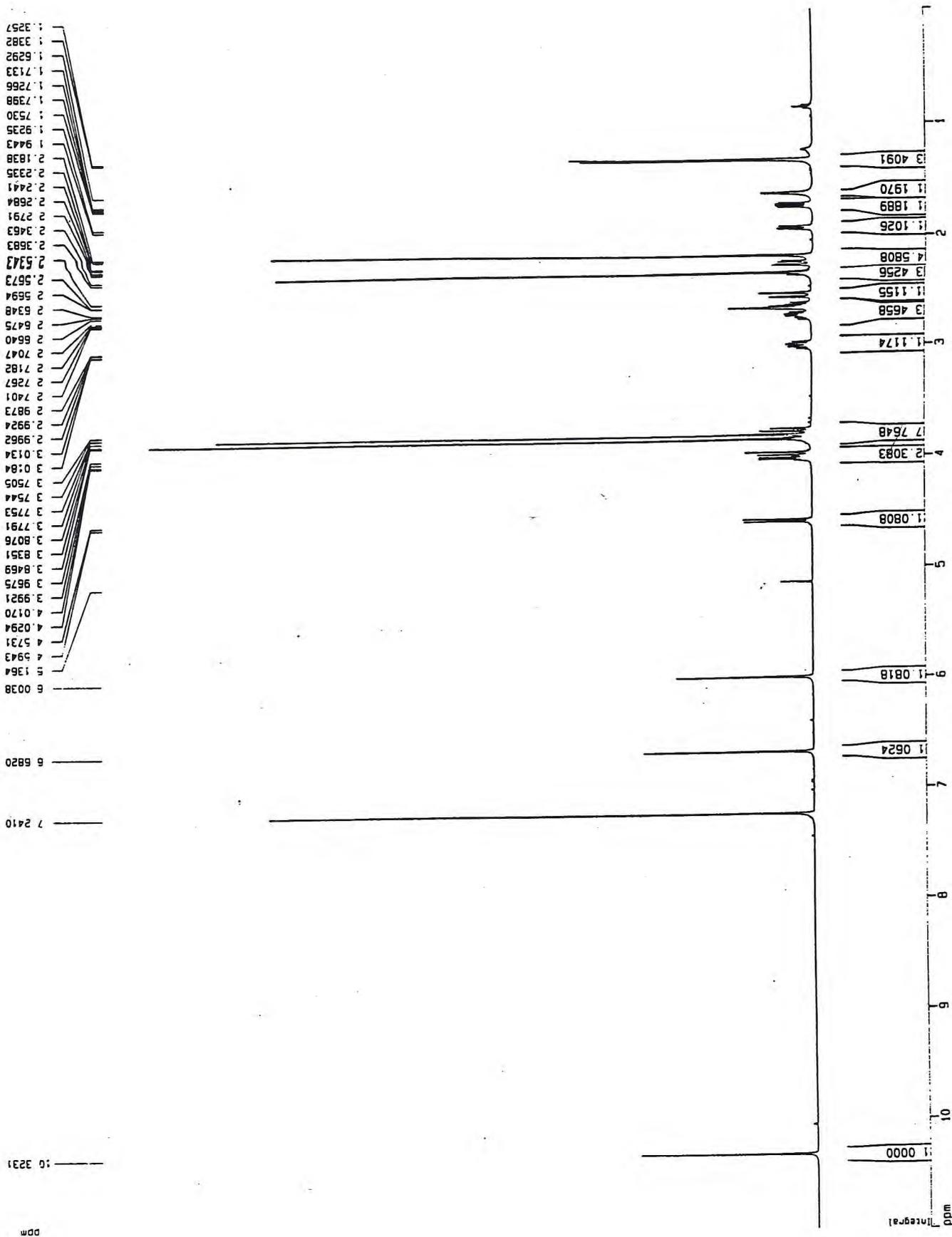


Figura 6.24. Espectro de RMN<sup>1</sup> H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de SMR1

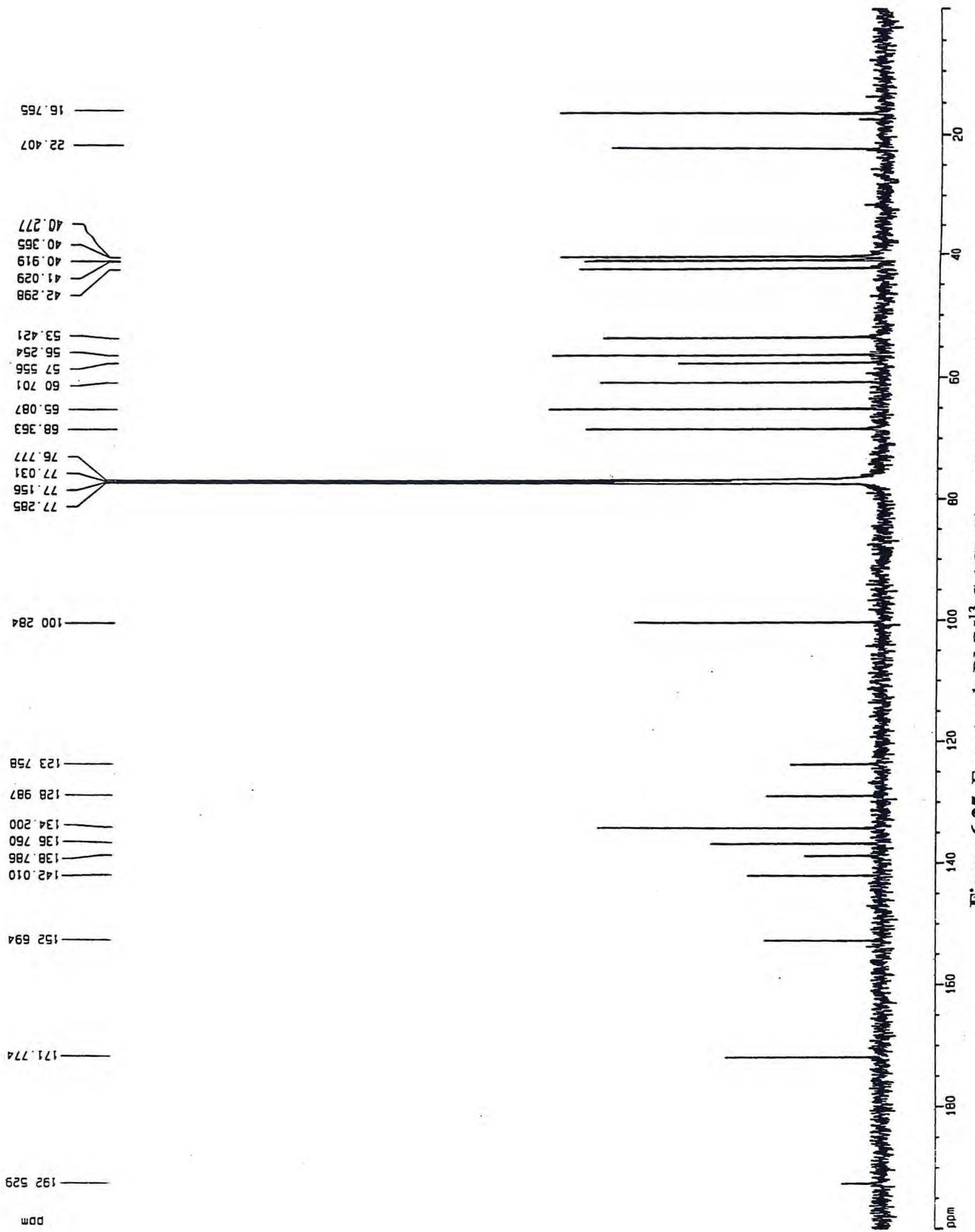


Figura 6.25. Espectro de RMN<sup>13</sup> C ( CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) de SMR1

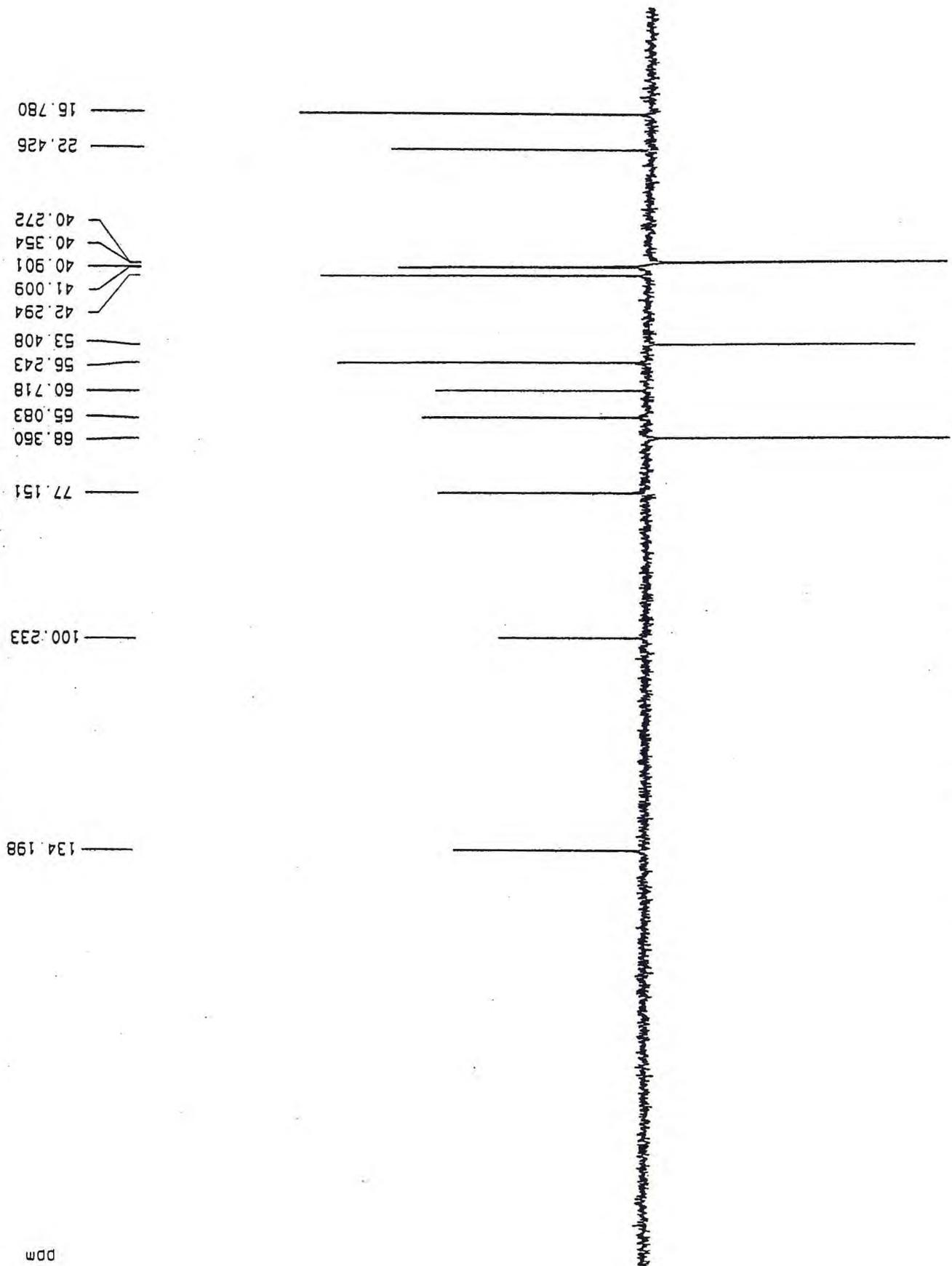


Figura 6.26. Espectro  $\text{RMN}^{13}\text{C}$ -DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ ) de SMRI

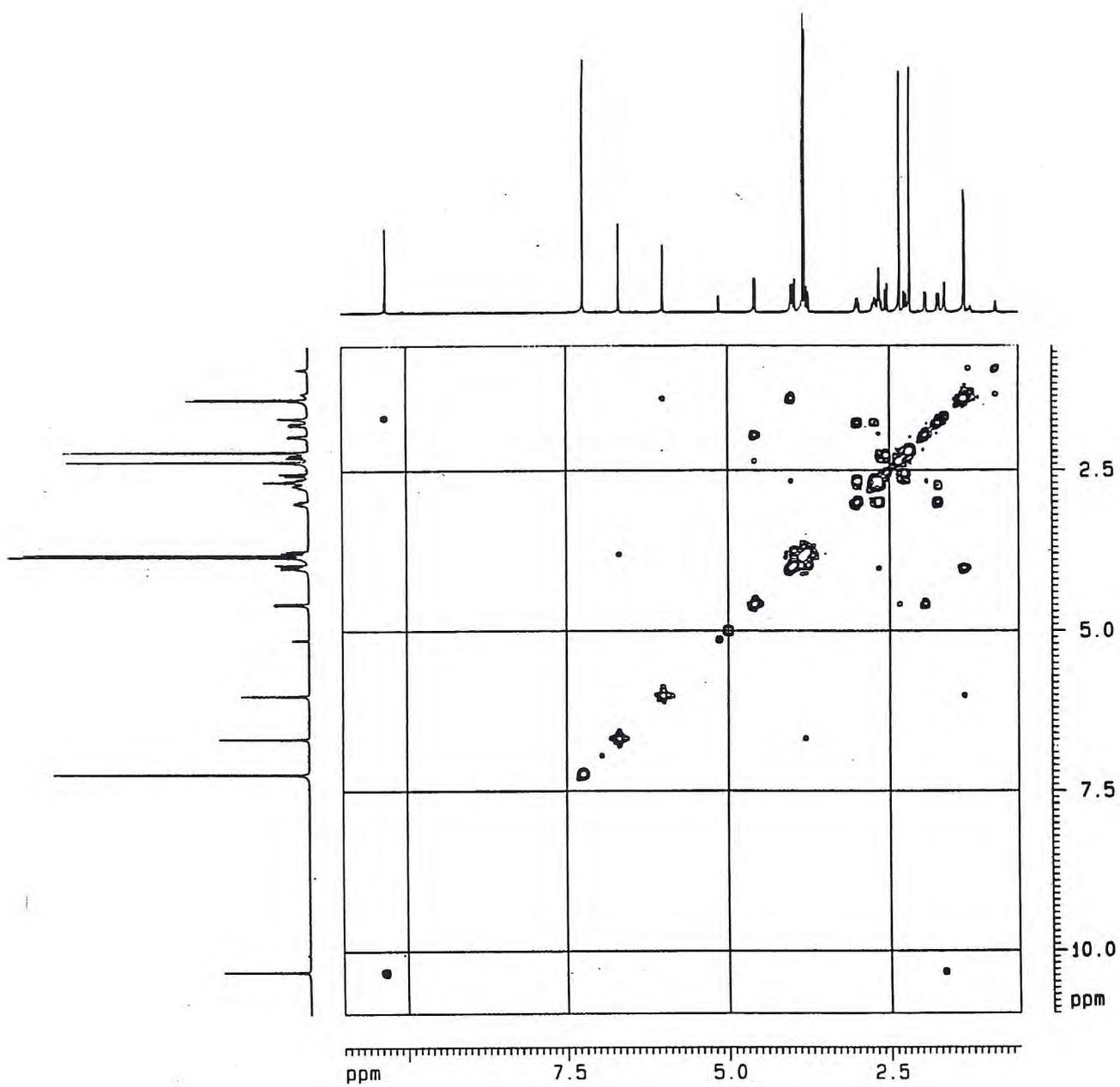


Figura 6.27. Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) de SMR1

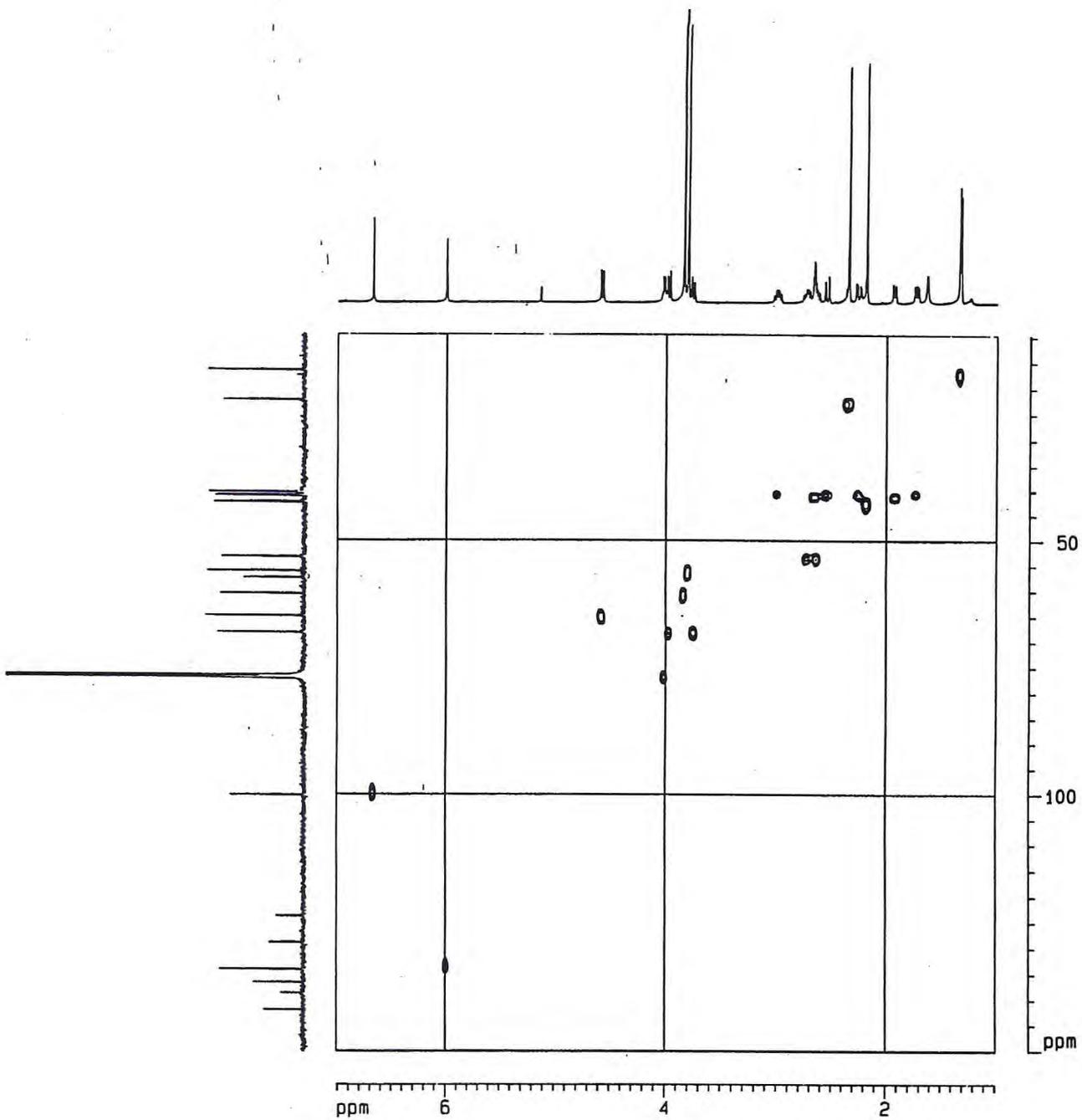


Figura 6.28. Espectro de RMN 2D HMQC ( $\text{CDCl}_3$ ) de SMR1

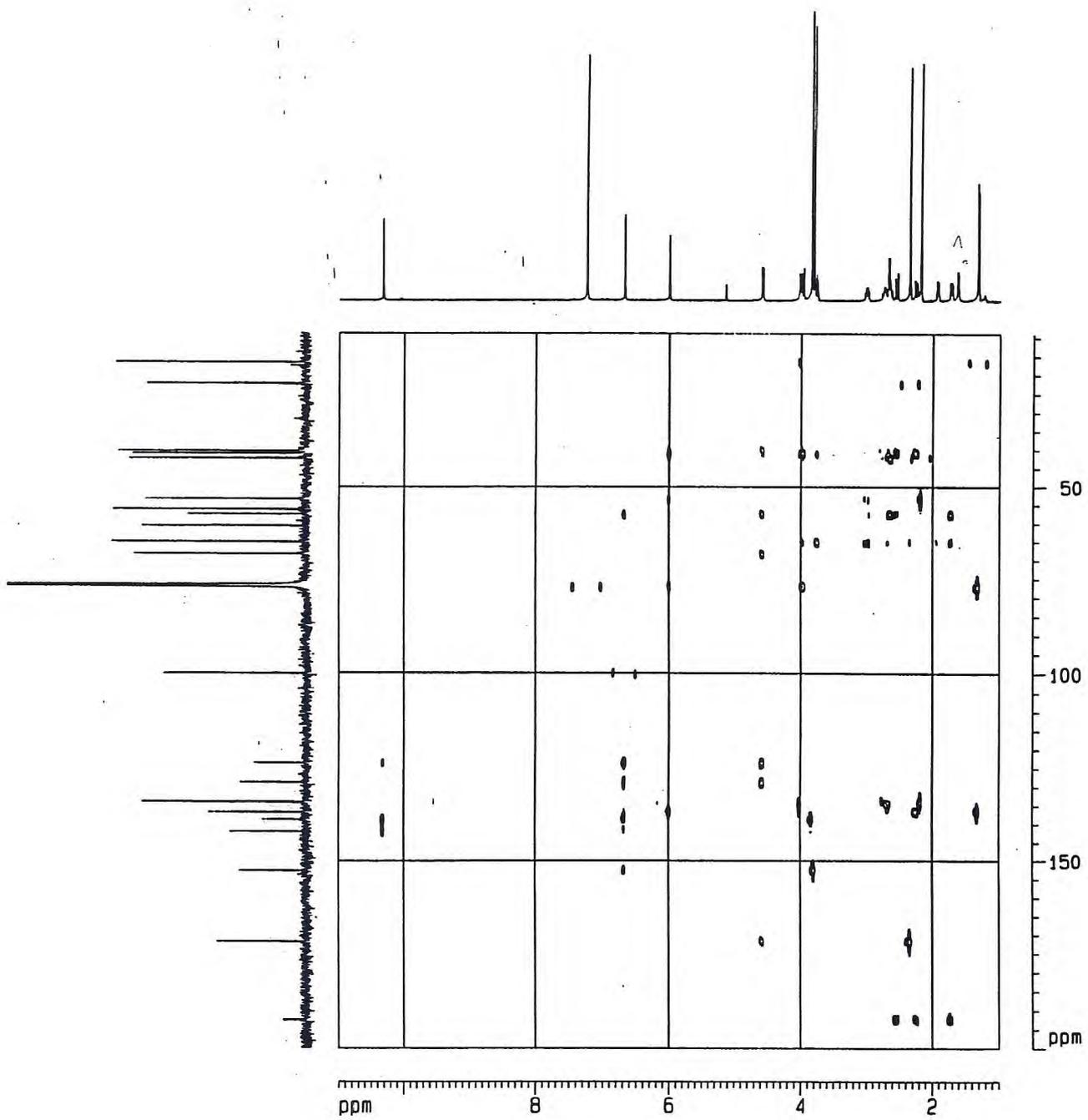
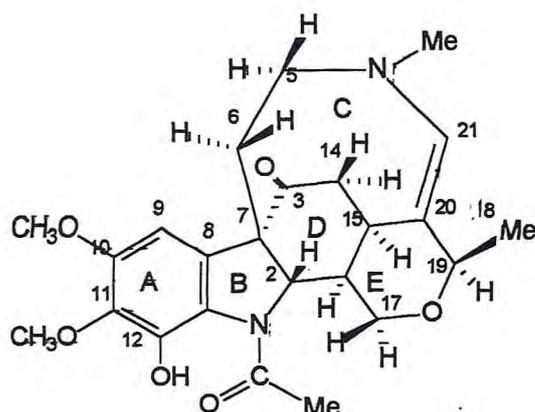


Figura 6.29. Espectro de RMN 2D HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de SMR1



**Figura 6.30.** SMR1 ( 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina )

Em apoio a esta conclusão, o espectro de massa (Figura 6.31) apresentou íon molecular  $M^+$  a  $m/z$  442 , correspondendo a fórmula molecular  $C_{24} H_{30} N_2 O_6$  e fragmentos em  $m/z$  427 ( $M^+ - CH_3$  ), 262, 220, 206, 194, 180, 166. Comparando-se com o espectro de massa de SM-3 (Quadro 6.1), verifica-se uma diferença de 30 daltons, correspondente a substituição de um átomo de hidrogênio por um grupamento metoxila, nos fragmentos correspondentes à parte indolínica da molécula (Figura 6.32), enquanto que a fragmentação da parte terpenóide, revelou-se semelhante nas duas estruturas.

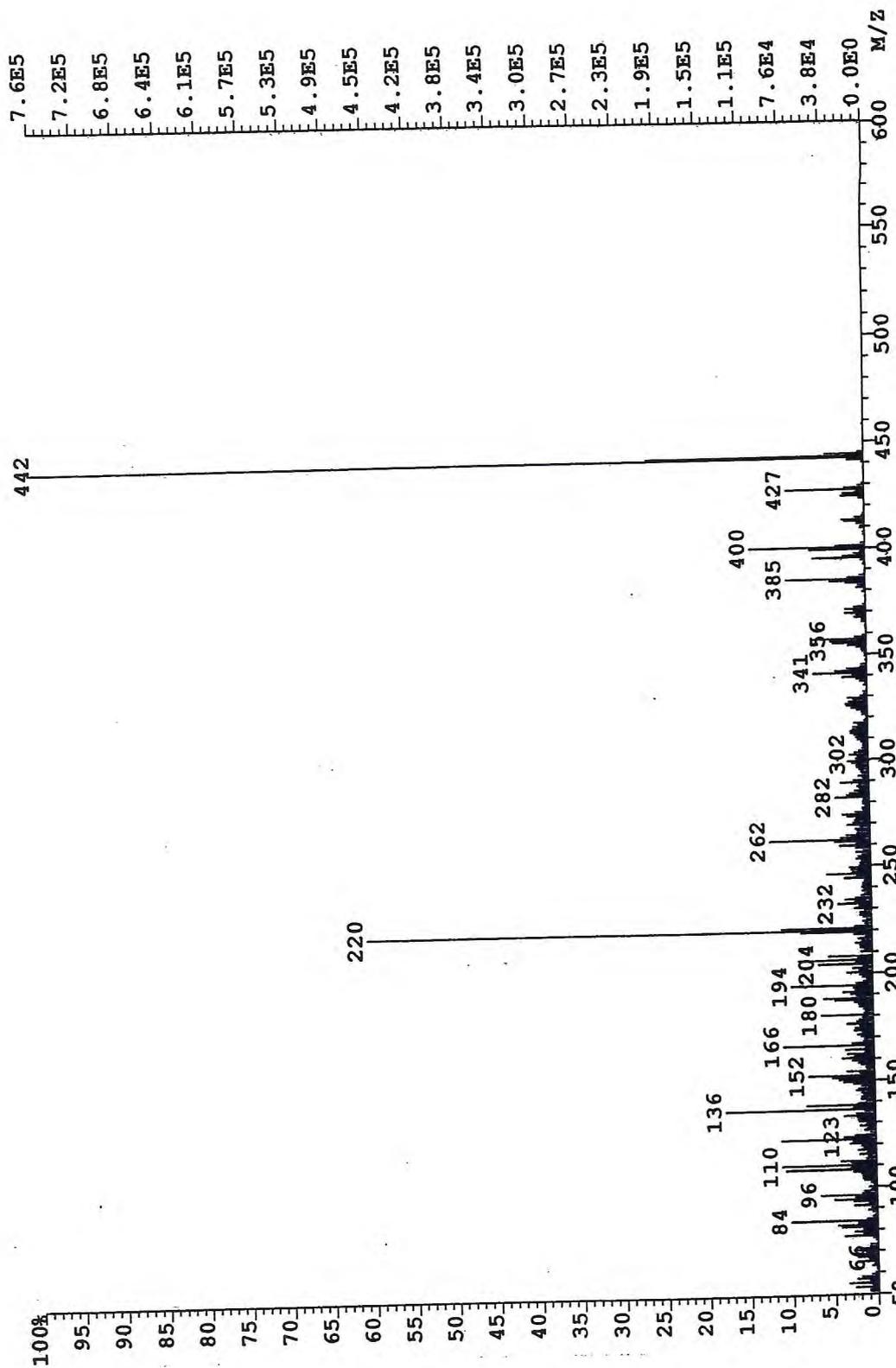


Figura 6.31. Espectro de Massa (EI, 70 eV) de SMRI



**Tabela 6.5** Dados de espectros de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) e RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) de SMR1 em CDCl<sub>3</sub>. Deslocamentos químicos (δ) em ppm a partir do TMS.

Posição	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H <sup>a</sup>	DEPT-135	HMBC (correlações H/C) N <sup>o</sup> do C	COSY (correlações H/H) N <sup>o</sup> do H	NOESY (correlações H/H) N <sup>o</sup> do H
2	65,09	4,58 (d, 10,50)	CH	8; 13,7; 15; 17; CO-Me		6 A; 6B; CH <sub>3</sub> CO
3	192,53					
5A	53,42	2,74 (m)	CH <sub>2</sub>	21	6A; 6B	
5B		2,64 (m)				
6 A	40,28	3,00 (m)	CH <sub>2</sub>	2; 5; 7	6B; 5A	
6 B		1,73 (dd, 13,9; 6,6)		2; 5; 7		2
7	57,56					
8	128,99					
9	100,28	6,68 (s)	CH	8; 13; 10; 11; 7		CH <sub>3</sub> O
10	152,69					
11	138,79					
12	142,02					
13	123,76					
14 A	40,37	2,54 (bd, 17,3)	CH <sub>2</sub>	7; 15; 3	14B	
14 B		2,25 (dd, 17,3 ; 5,3)		15;16; 3; 20	14 A ; 15	15
15	41,03	2,66 (m)	CH	16; 14	14 B; 16	14A; 14B;17A ;16
16	40,92	1,93 (dl, 10,5)	CH		2; 15	15; 17A ;17B
17A	68,36	3,98 (dl, 12,5)	CH <sub>2</sub>	16; 2; 19		16
17 B		3,76 (dd, 12,5 ; 1,9)		16; 2		16
18	16,77	1,31 (d, 6,3)	CH <sub>3</sub>	19; 20	19	19; 21
19	77,17	4,02 (q, 6,3)	CH	20; 21		15, 18
20	136,76					
21	134,20	6,0 (s)	CH	20 ; 19; 15; 5		6A; 18; 22
CH <sub>3</sub> CO	171,72					
CH <sub>3</sub> CO	22,40	2,37(s)	CH <sub>3</sub>			2
N-CH <sub>3</sub>	42,29	2,18(s)	CH <sub>3</sub>	21		
-O-CH <sub>3</sub>	56,25	3,84 (s)	CH <sub>3</sub>	10		9
-O-CH <sub>3</sub>	60,70	3,85 (s)	CH <sub>3</sub>	11		
-OH		10,32 (s)		11; 12; 13		

<sup>a</sup> Multiplicidades e constantes de acoplamento em Hz estão entre parênteses.

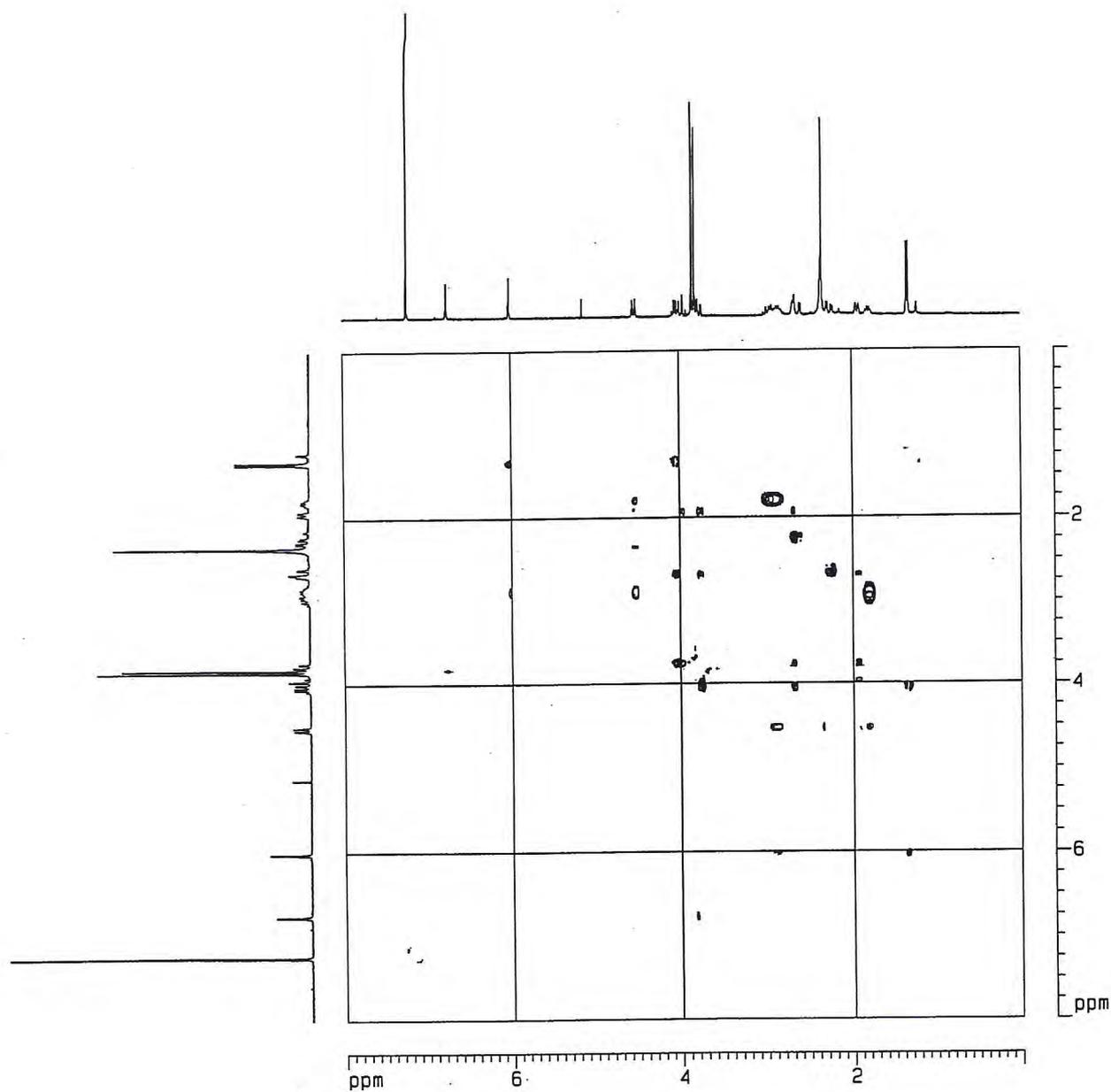


Figura 6.34. Espectro de RMN 2D NOESY (CDCl<sub>3</sub>) de SMR1



**Figura 6.35.** Estrutura tridimensional da 12-hidroxi-10,11- dimetoxiestricnobraisilina (Programa Spartan)

#### 6.4- Identificação dos constituintes de SMC1 (mistura de esteróides campesterol, estigmasterol e sitosterol)

SMC1 apresentou-se como um sólido cristalino, p.f. 135<sup>o</sup>-140<sup>o</sup> C, e reação característica para esteróides no reagente de Liebermann-Burchard

O espectro de IV (Figura 6.36) mostrou banda larga em 3500-3180 cm<sup>-1</sup>, caracterizando estiramento OH, confirmada pela presença de um pico em 1050 cm<sup>-1</sup> característica de deformação axial C-O. Uma absorção fraca em 1630 cm<sup>-1</sup> atribuída a uma ligação C=C, acrescida de uma banda em 970 cm<sup>-1</sup> era compatível com uma dupla ligação dissustituída trans (121). Fortes absorções em 2940, 2900 e 2860, características de estiramento CH de grupos metil e metileno, bem como, a ausência de absorções típicas de substâncias aromáticas, evidenciaram a natureza alifática do sólido.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 6.37) apresentou um multipletto em  $\delta$  5,35 indicativo da presença de hidrogênio vinílico de esqueleto esteroidal e dois duplos dupletos a  $\delta$  5,05 (16,0 e 8,7 Hz) e em  $\delta$  5,15 (16,0 e 8,7 Hz), mutuamente acoplados, confirmando a presença de dupla ligação trans dissustituída (124). Um multipletto em  $\delta$  3,52, correspondendo a um hidrogênio carbinólico e sinais a  $\delta$  0,66, 0,76, 0,82, 0,84, 0,90 e 1,0, sugeriram a presença de grupos metilas de esteróides.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (Figura 6.38), apresentou sinais em  $\delta$  140,64 e 121,62 típico de esqueleto esteroidal 3 $\beta$ -ol-5-en, e em  $\delta$  138,22 e 129,15 compatível com a presença de outra ligação dupla, localizada em cadeia lateral de esteróides.

O cromatograma de íons totais (TIC) (Figura 6.39), obtido em sistema CG/EM apresentou três picos, identificados através de seus tempos de retenção (R<sub>t</sub>) e comparação com amostra similar autêntica, como campesterol (14,7%), estigmasterol (78,4%) e sitosterol (6,9%) (Figura 6.40), comumente encontrados em plantas. As Figuras (6.41, 6.42 e 6.43) apresentam o espectro de massa de cada componente.

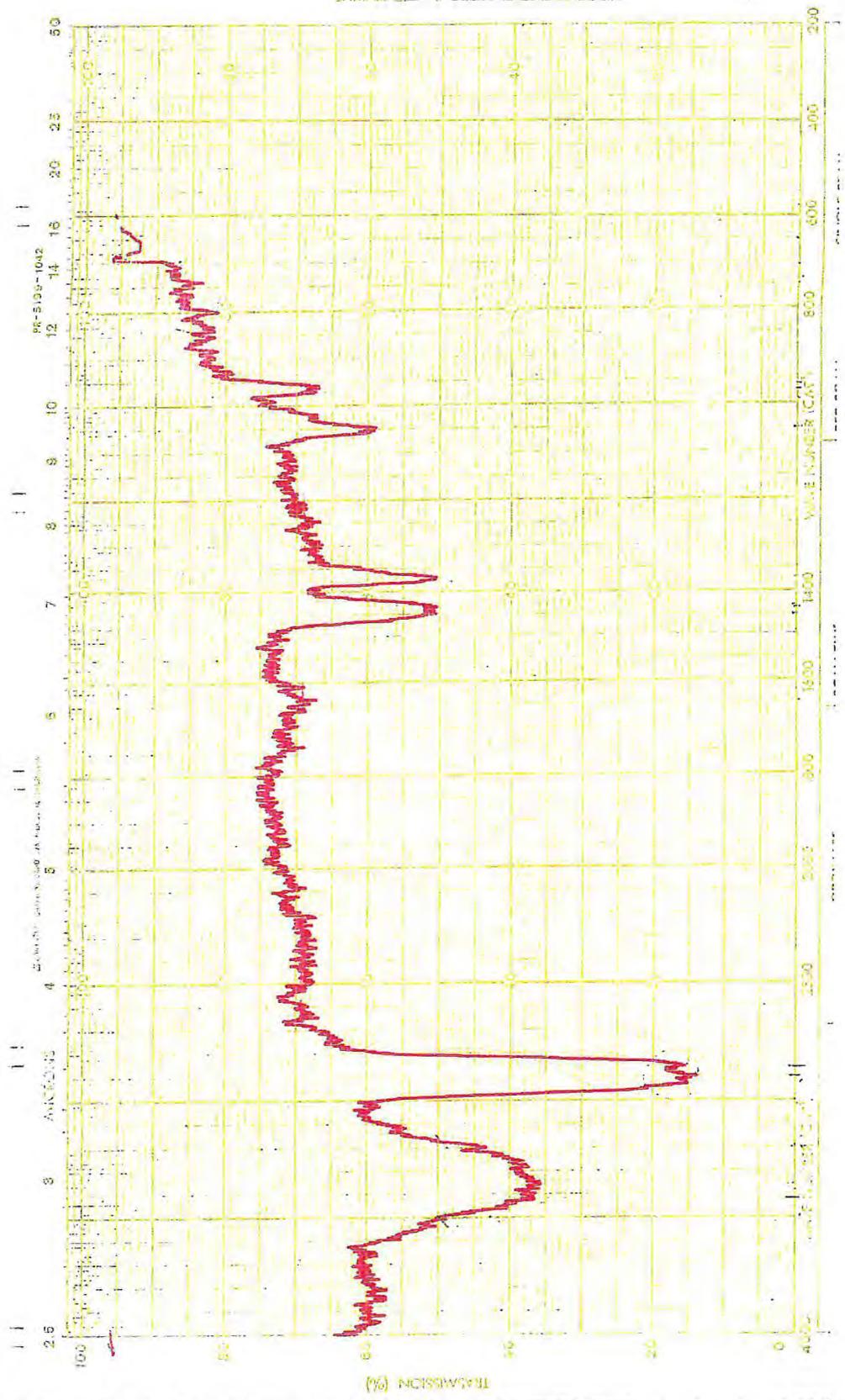


Figura. 6.36. Espectro no Infravermelho (KBr) de SMC1

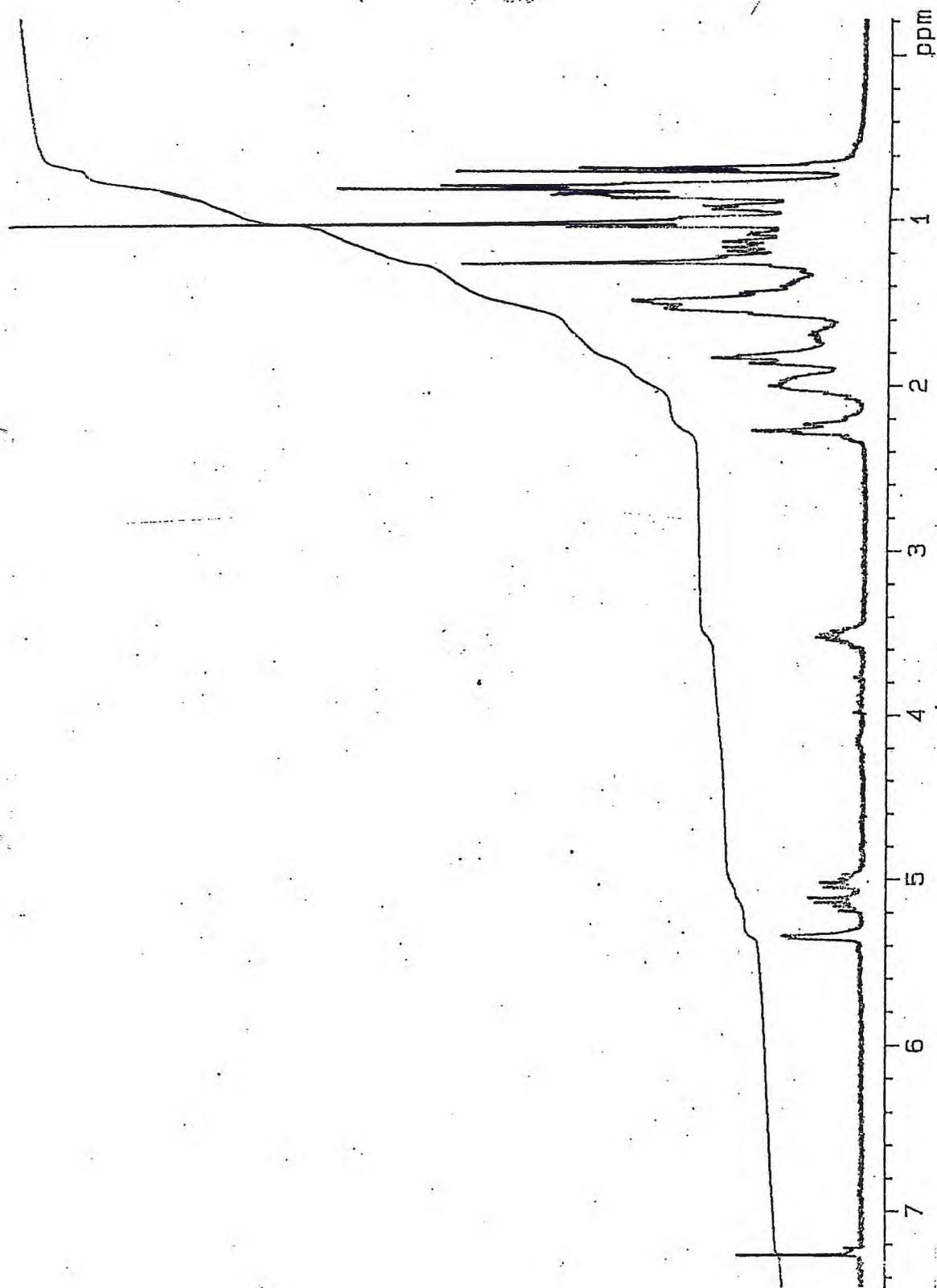


Figura 6.37. Espectro de RMN<sup>1</sup> H ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de SMC1

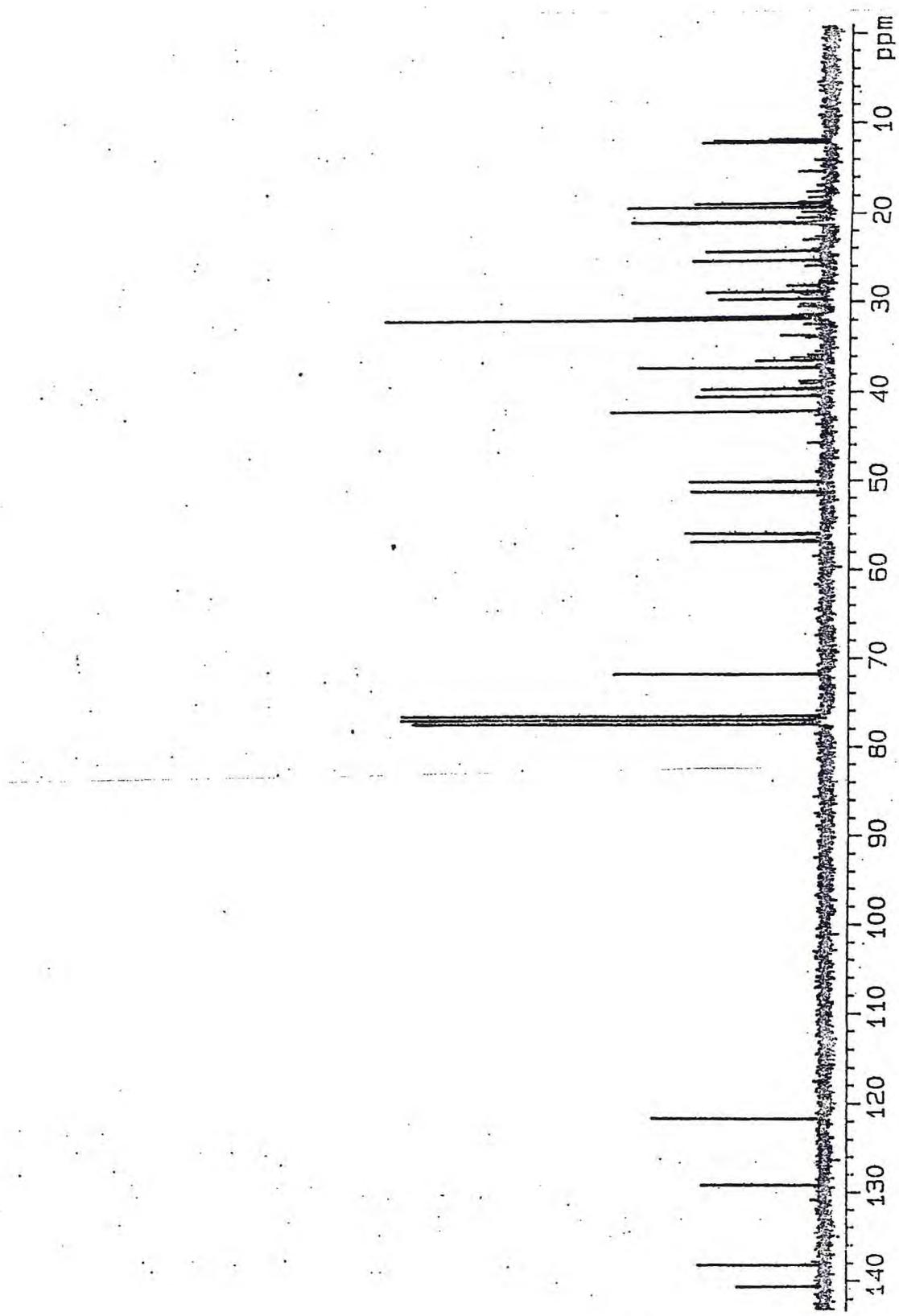


Figura 6.38. Êspectro de RMN<sup>13</sup> C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) de SMC1

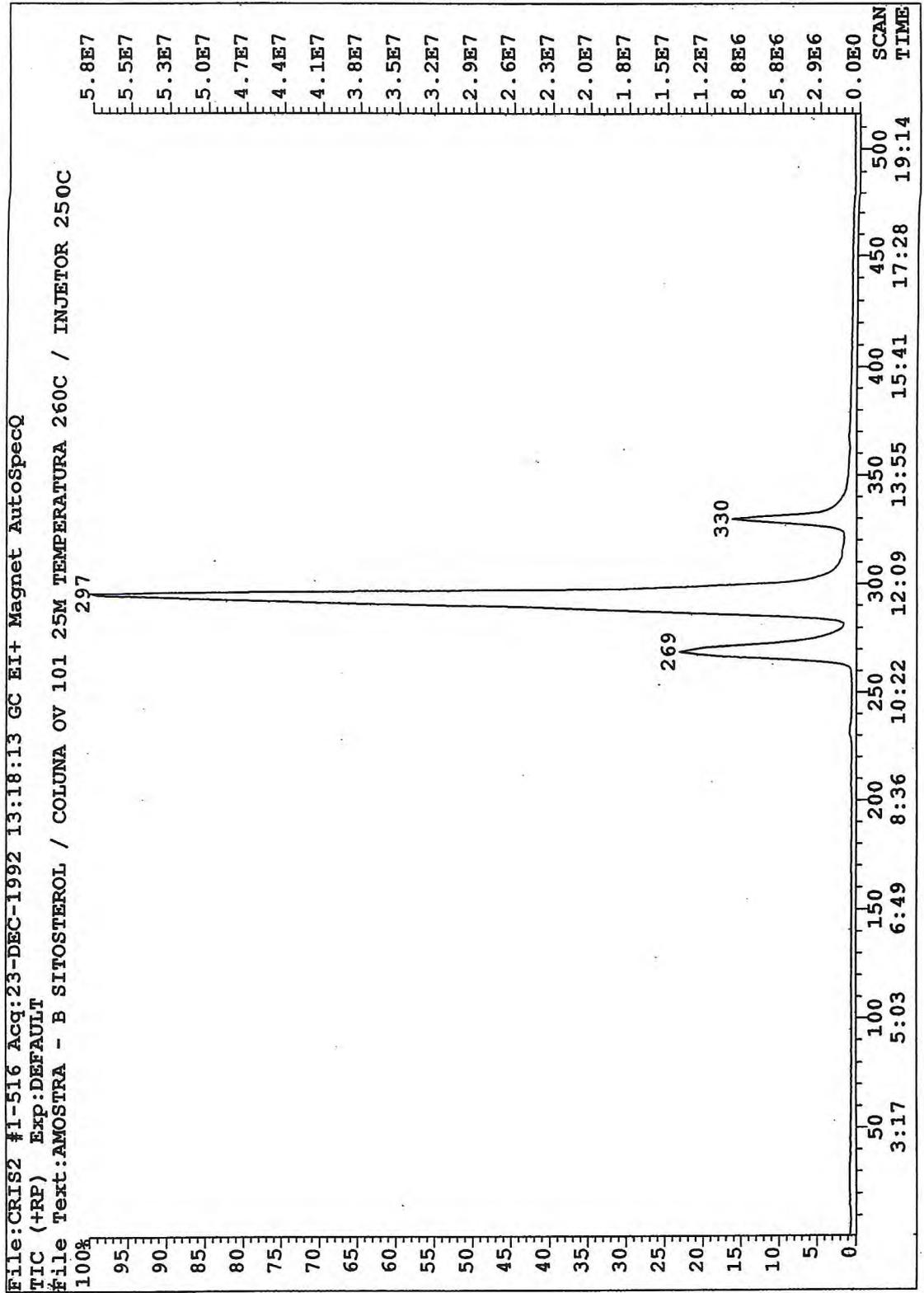


Figura 6.39. Cromatograma de íons totais de SMC1

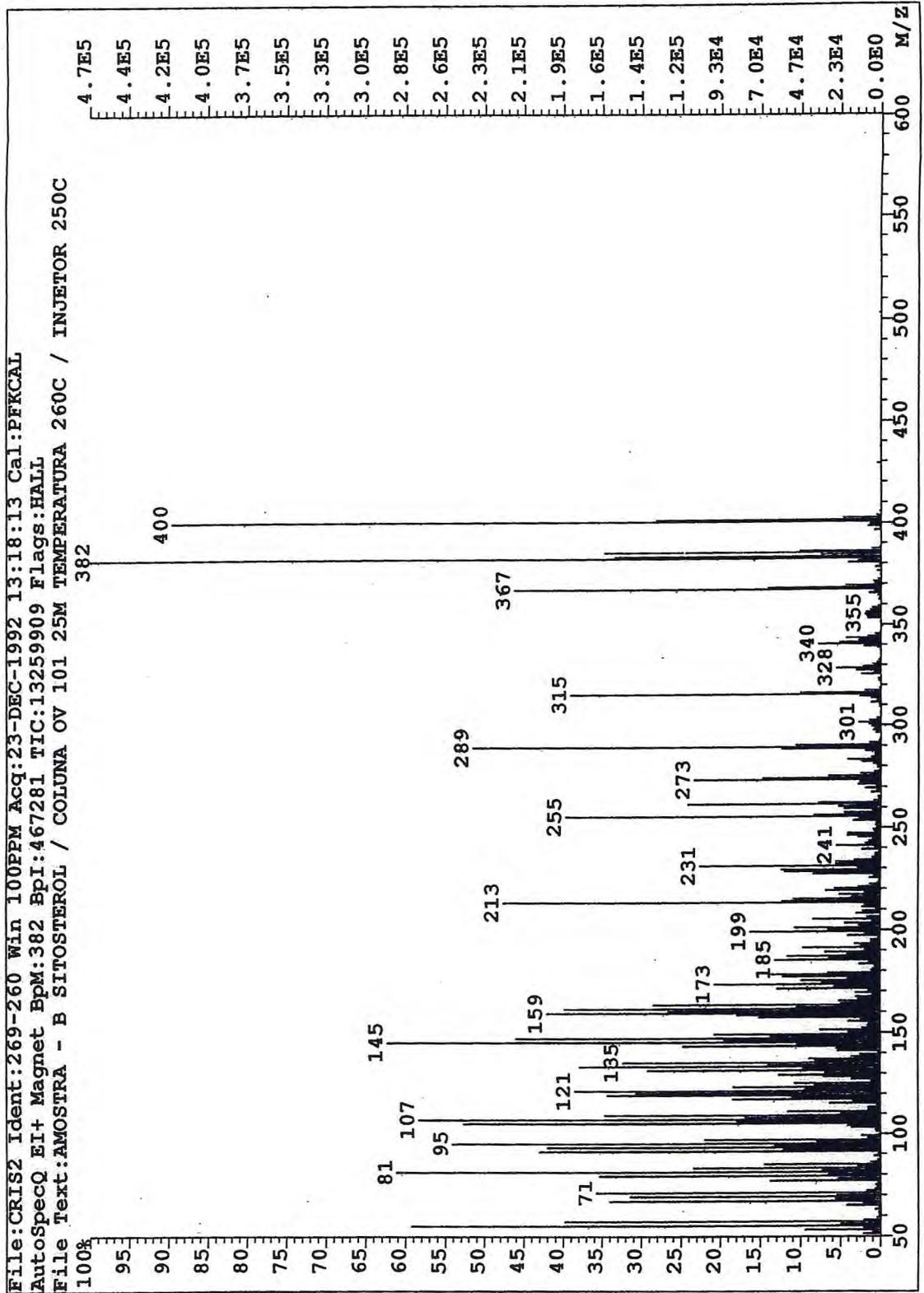


Figura 6.41. Espectro de Massa de SMC1.1 (campesterol)

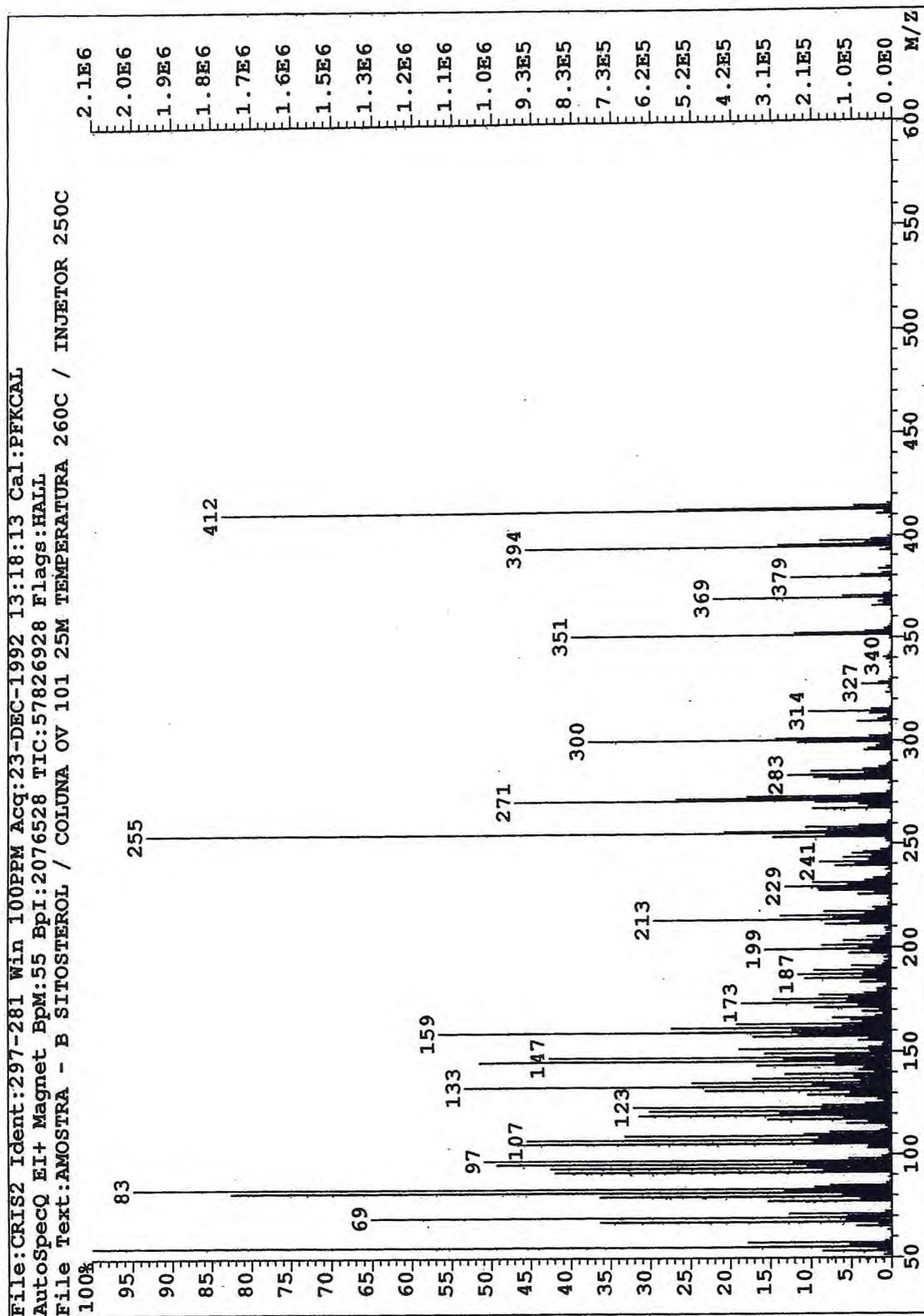


Figura 6.42. Espectro de Massa de SMC1.2 (estigmasterol)

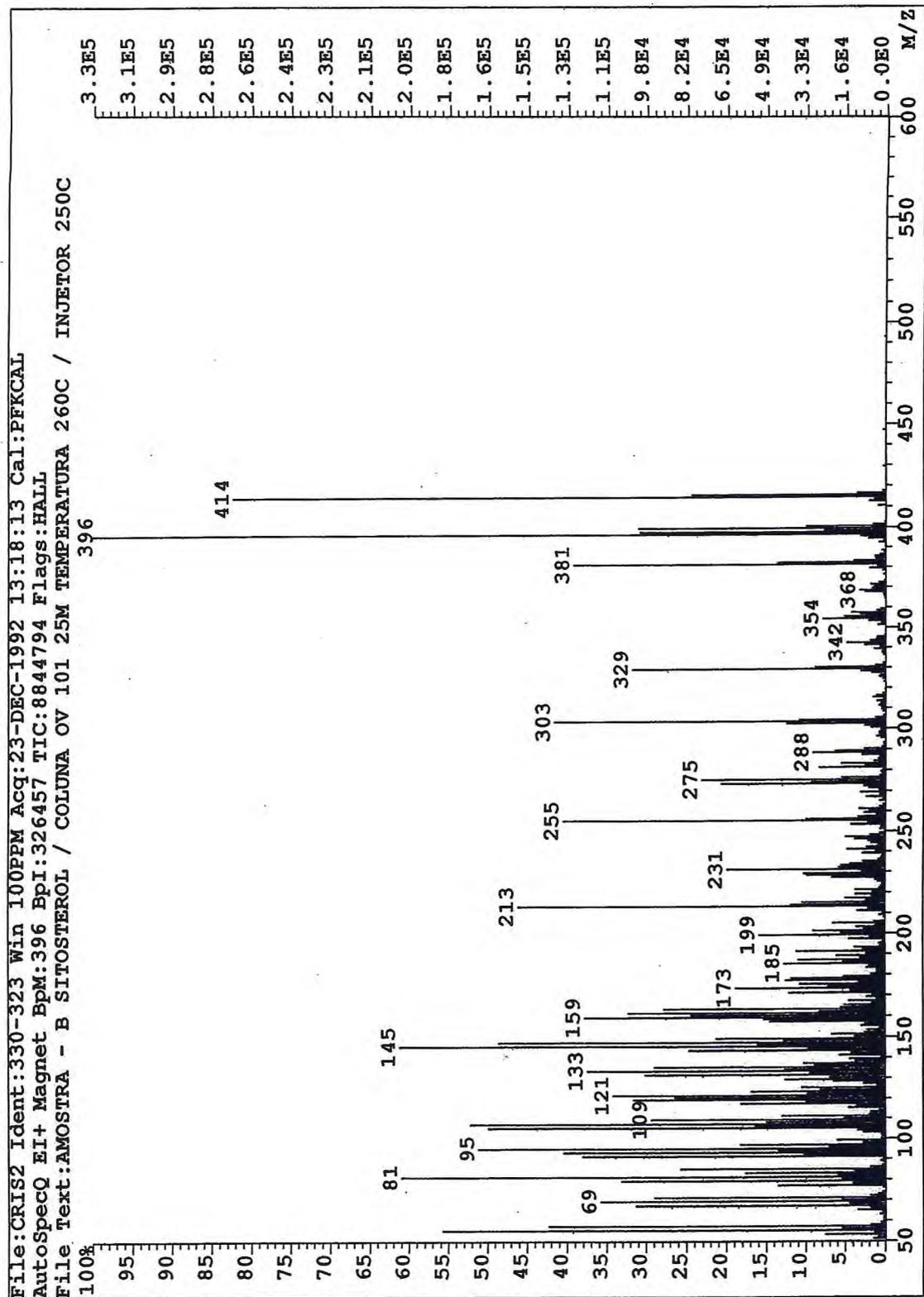
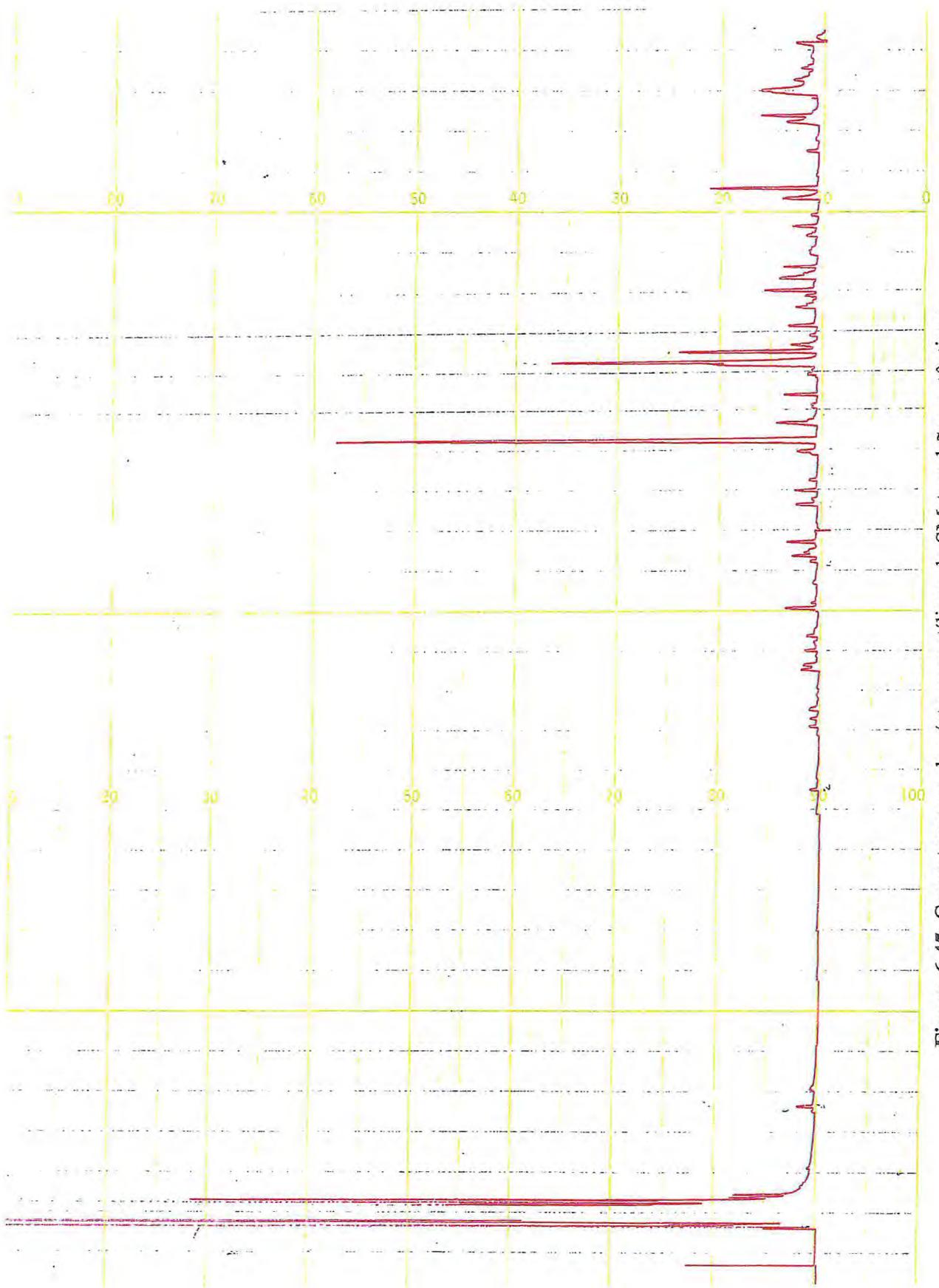


Figura 6.43. Espectro de Massa de SMC1.3 (sitosterol)

#### 6.5- Identificação dos constituintes da mistura de ácidos graxos provenientes SM ( ácidos palmítico, linoleico,oleico, esteárico e behênico).

Após saponificação seguida de metilação, SM forneceu um material oleoso, o qual foi analisado através de cromatografia a gás , sendo identificada, por comparação dos tempos de retenção e co-injeção com amostras autênticas, uma mistura de ésteres metílicos de ácidos carboxílicos: ácido palmítico (27.08 %), ácido linoleico (5.64%), ácido oleico (14.67), ácido esteárico (7.7 %) e ácido behênico (5,86 %) (Figuras.6.44 e 6.45).



**Figura 6.45.** Cromatograma dos ésteres metílicos de SM + padrões autênticos.

## CAPÍTULO VII

### 7. Banco de dados sobre espécies americanas do gênero *Strychnos*

A informatização do conhecimento fitoquímico já existente sobre a Amazônia e a utilização deste recurso nas novas pesquisas é indiscutível, em vista da premência de se acelerar tais investigações, até o momento restritas a menos de 1% (2) das espécies de sua flora, em constante ameaça de devastação e alienação de seu patrimônio genético. Visando contribuir para a realização desta tarefa, foi desenvolvido o programa STRYC, o qual pode ser adaptado para aplicação a qualquer táxon.

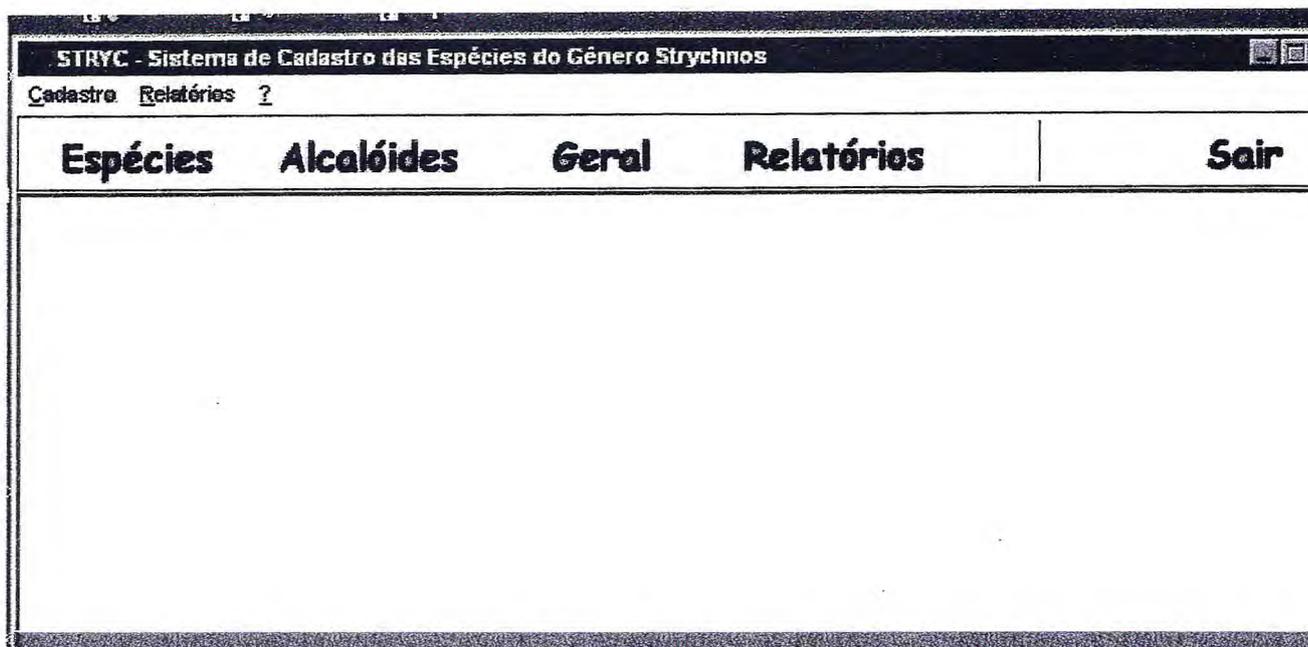
#### 7.1 Descrição do programa STRYC

A elaboração do programa STRYC, sobre espécies americanas do gênero *Strychnos*, especialmente da flora amazônica, decorreu da necessidade de se organizar e facilitar o acesso às informações sobre o gênero, para pesquisadores e estudantes da área de produtos naturais. O programa foi desenvolvido em Delphi 4 utilizando um banco de dados na plataforma MS Access 7.0 e visa o controle das informações sobre aspectos fitoquímicos, botânicos, fitogeográficos, farmacológicos e etnofarmacológicos, condensando o acervo disperso na literatura, herbários e fontes populares. Seus objetivos não contemplam a realização de classificação botânica ou determinação estrutural de substâncias, embora possa auxiliar estes estudos inclusive, sob o ponto de vista quimiotaxonômico.

Para instalação do programa STRYC, há necessidade que haja um ambiente operacional composto dos seguintes recursos básicos:

- a) CPU com 16 Mb de memória RAM e disco rígido de no mínimo 810 Mb.
- b) Unidade de vídeo com placa controladora CGA.
- c) Teclado padrão IBM-PC ou customizado para o português,
- d) Sistema operacional Windows 95 ou superiores.
- e) Impressora padrão HP, Epson, etc.
- f) Mouse.

O programa apresenta uma grande capacidade de armazenamento de dados, aliada a uma flexibilidade que permite atualização contínua de informações. Possibilita a inserção, exclusão e alterações dos dados, através de três Cadastros (**de Espécies, de Alcalóides e Geral**), que podem ser acessados na tela através dos botões que estão na janela principal do programa, ou através do menu principal (Figura 7. 1), de onde se pode acessar também os Relatórios gerados pelo programa:



**Figura 7.1.** Menu principal do Programa STRYC

O Cadastro de Espécies (Figura 7.2) apresenta dados relacionados às espécies cadastradas, tipo:

Nome da Espécie, Seção, Alcalóides, Uso Popular, Distribuição Geográfica, Outras Substâncias, Referências e Observações. Nesta tela aparecem seis botões com as opções:

- **Novo** – permite inclusão de novas espécies,
- **Abrir** – mostra a lista de espécies já registradas, para a procura de uma específica.
- **Salvar** – salva as alterações feitas.
- **Imprimir** – apresenta todos os dados referentes à espécie em um formulário de relatório, podendo imprimi-lo, se acionado o botão da impressora existente na barra de ferramentas.

- **Excluir** – exclui uma espécie.
- **Sair** – Sai do cadastro.

Com exceção do campo Nome da Espécie, que é digitado pelo usuário, os outros dados lançados nos campos do Cadastro de Espécies provém de dados inseridos através dos Cadastros Geral e de Alcalóides.

**STRYC - Cadastro de Espécies**

Nome da Espécie:

Seção:

Alcalóides:
 

10,11-Dimetoxiestricnobrasilina
12-Hidroxi-11-metoxiespermoestricnina
12-Hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina
Espermoestricnina
Estricnobrasilina
...

Use Popular:

Distribuição Geográfica:

Referências:
 

Nome	Ano
Iwataki, I., Comin, J., Tetrahedron 27: 2541-52, 1971	1971

Outras Substâncias:

Observações:

Figura 7.2 Menu de apresentação do Cadastro de Espécies

O Cadastro de Alcalóides ( Figura 7.3) apresenta os dados referentes aos alcalóides, como:

Nome do Alcalóide, Grupo, Tipo, Série, Estrutura, Atividade biológica, Peso Molecular, Fórmula e Referências.

Na tela de apresentação aparecem seis botões com as mesmas opções do menu do Cadastro de Espécies, podendo-se também visualizar todos os dados referentes ao alcalóide a partir do botão **Imprimir**.

Com exceção dos campos Nome do Alcalóide e Estrutura, que são digitados ou inseridos diretamente pelo usuário na tela do cadastros de alcalóides, os outros dados são provenientes do Cadastro Geral.

<b>Novo</b>	<b>Abrir</b>	<b>Salvar</b>	<b>Imprimir</b>	<b>Excluir</b>	<b>Sair</b>
-------------	--------------	---------------	-----------------	----------------	-------------

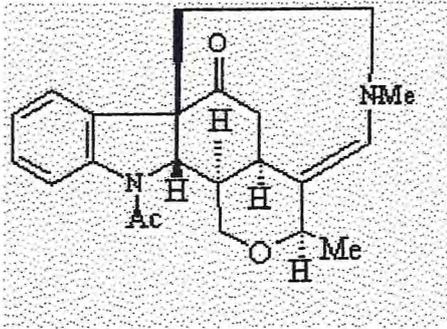
Nome do Alcalóide:	Estrutura:
<input type="text" value="Estricnobraisilina"/>	
Grupo:	
<input type="text" value="V"/>	
Tipo:	
<input type="text" value="Espermoestricnina"/>	
Série:	
<input type="text" value="Secpseudo"/>	
Peso Molecular:	Fórmula:
<input type="text" value="366"/>	<input type="text" value="C22H26N2O3"/>
Atividade Biológica:	
<input type="text" value="Reverte resistência do Falciparum à cloroquina"/>	
	Referências:

Figura 7.3 Menu de apresentação do Cadastro de Alcalóides.

O Cadastro Geral é supridor das informações usadas pelos dois cadastros descritos anteriormente. Como mostrado na sua tela de apresentação (Figura 7.4) possui 11 opções correspondendo a 11 tabelas denominadas:

Países, Estados, Grupos, Tipos, Séries, Usos Populares, Atividades biológicas, Substâncias, Seção, Peso Molecular e Referências. Possui apenas quatro botões: **Novo**, **Salvar**, **Excluir** e **Sair**. A abertura dos registros é feita mediante um toque nas opções que ficam marcadas e somente o cadastro de Referências tem opção de impressão, a partir diretamente desta janela.

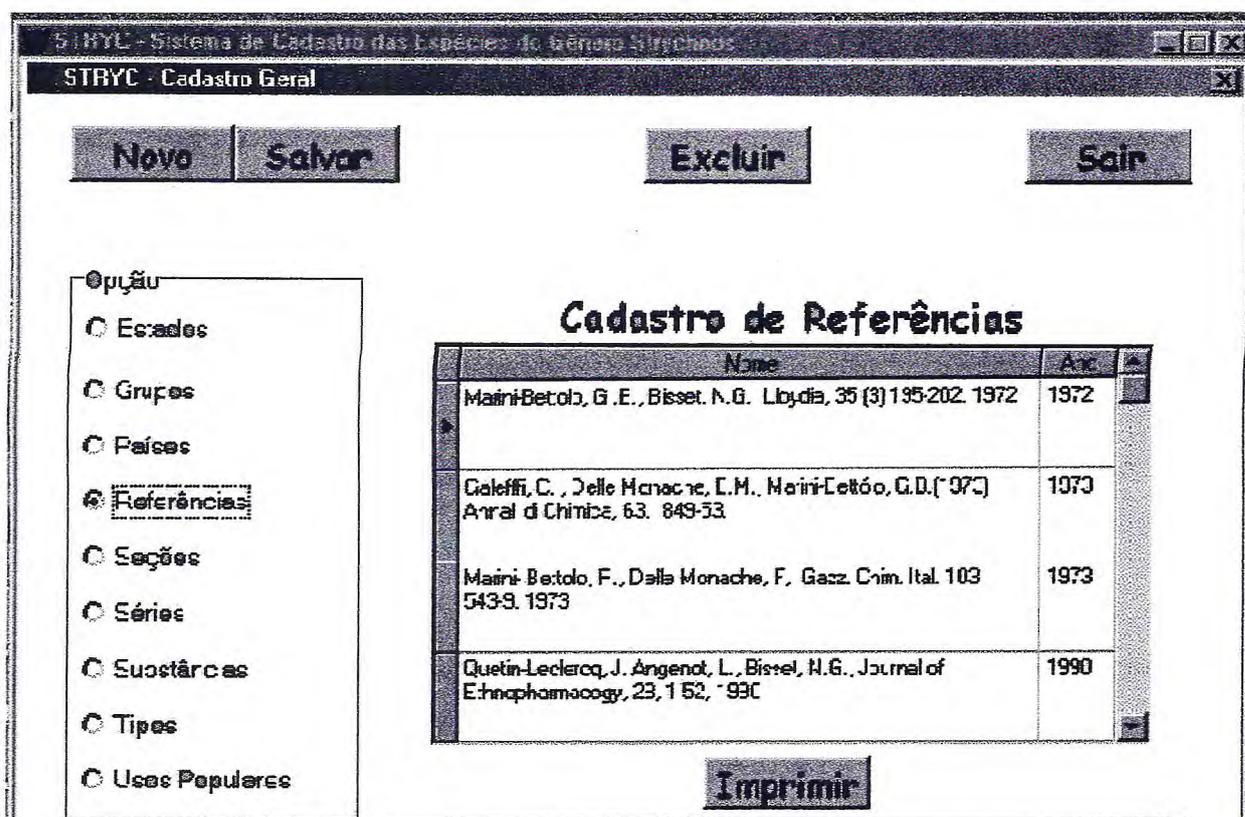


Figura 7.4. Menu de apresentação do cadastro geral

O programa também pode fornecer Relatórios. Através de um clique no botão Relatório do menu principal é aberta uma tela ( Figura 7.5) com os botões **Imprimir** e **Sair** e abas denominadas Espécie, Alcalóide e Geral, cada uma com as opções listadas nas respectivas páginas ( Fig. 7.6 e Fig. 7.7 ). A partir de um clique nas opções, seguido de um toque no botão **Imprimir**, são gerados Relatórios, que são visualizados na tela, podendo ser impressos se acionado o botão da impressora existente na barra de ferramentas. As figuras 7.8, 7.9, 7.10 e 7.11, são demonstrativos deste tipo de Relatório.

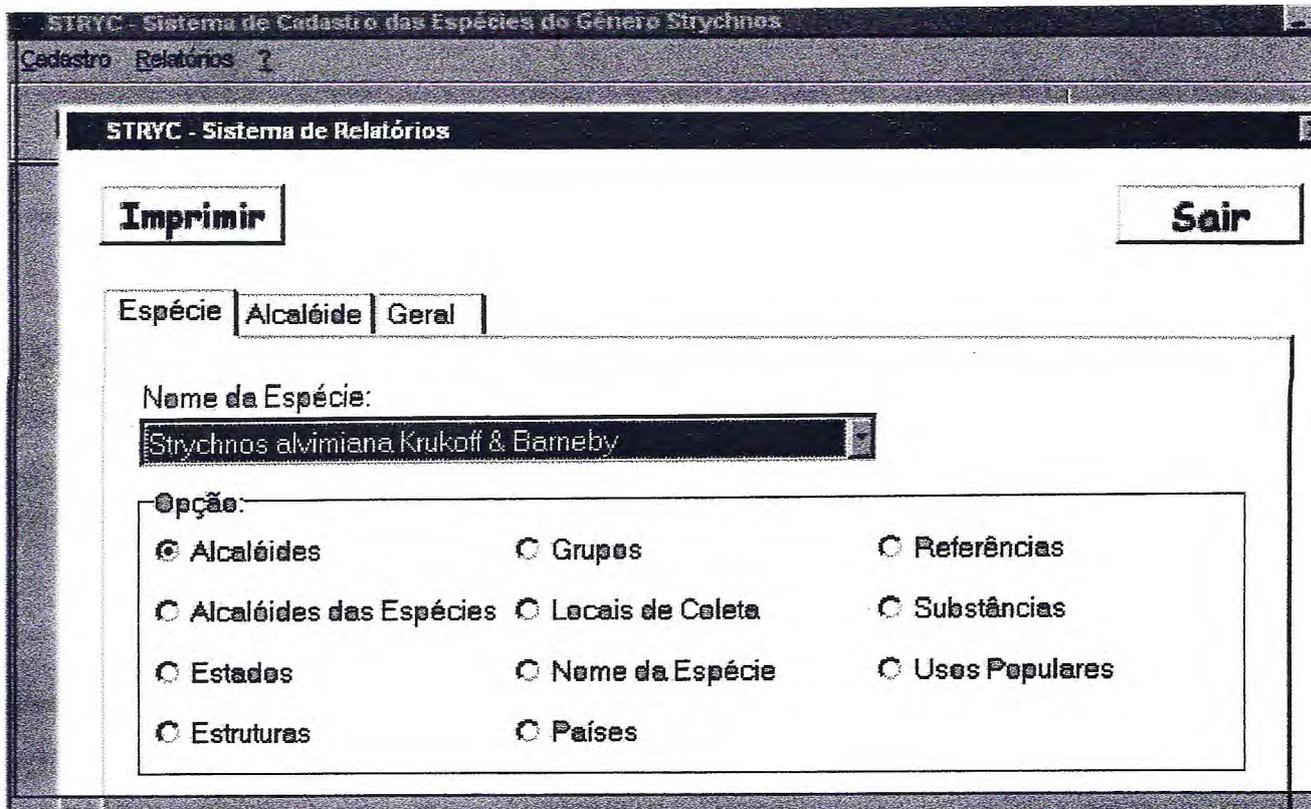


Figura 7.5 Menu de apresentação do sistema de Relatórios da aba Espécie

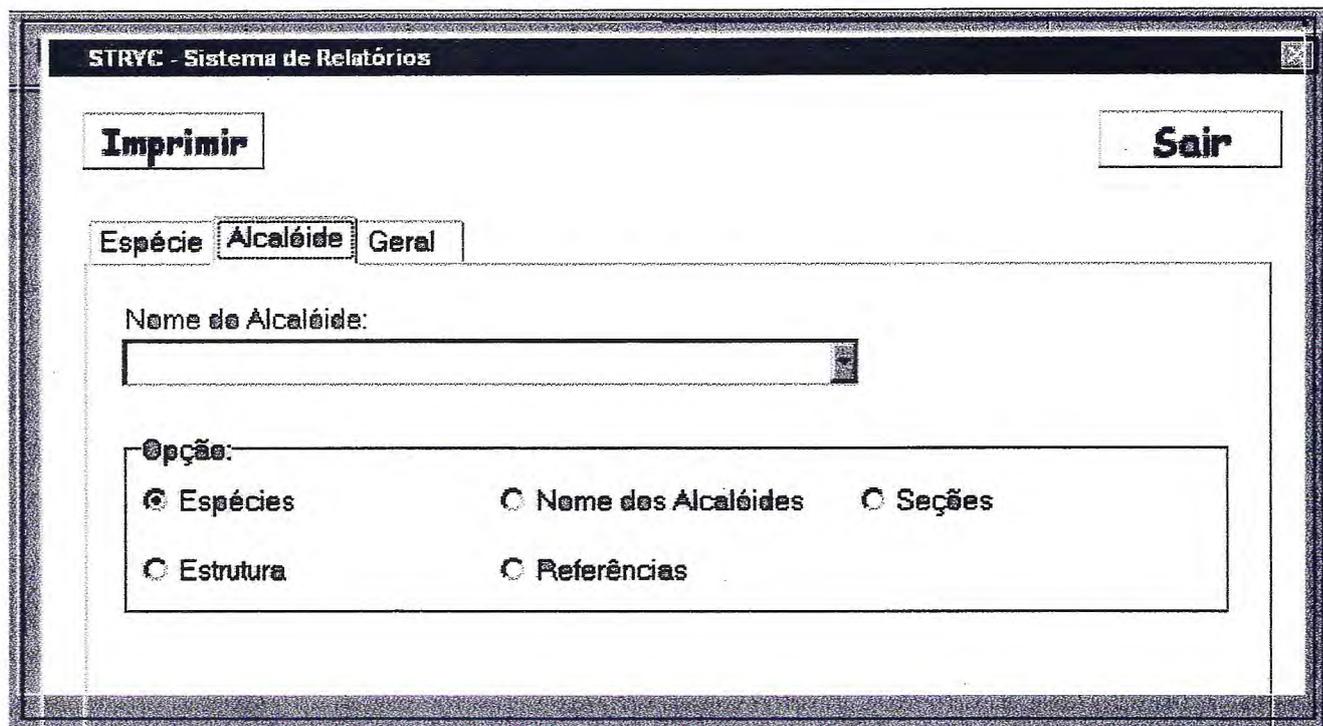


Figura 7.6 Menu de apresentação do sistema de Relatórios da aba Alcalóide

**STRYC - Sistema de Relatórios**

**Imprimir** **Sair**

Espécie Alcalóide Geral

Estado Grupo País Peso Molecular Referência Seção Substância Usr

Nome	Ano
Amis H., Waser, P., Schmid H., Karrer P. (1955) Helv. Chim. Acta 38, 1661-68.	1955
Amis H., Schmid, H., Karrer P. (1954) Helv. Chim. Acta 37, 1983-92.	1954
Angenot L., Belém-Pinheiro, M.L., Rocha, A. F. Imbiriba da. Poukens-Renwart P., Quetin-Leclercq, J., Warin, R. Phytochemistry 29, (8) :2746-9, 1990	1990

Opção:

Alcalóides

Espécies

Dada a Referência, listar, segundo a Opção, os Alcalóides ou as Espécies que são citados em tal Referência.

Figura 7.7 Menu de apresentação do sistema de Relatórios da aba Geral

*STRYC - Cadastro de Alcalóides*

22/10/2000 22:1

**Relatório: Espécies que possuem o Alcalóide**

Alcalóide: Diabolina

---

<b>Espécie(s):</b>
Strychnos castelnaeana Wedd.
Strychnos chloranta Prog.
Strychnos diaboli Sandw.
Strychnos erichsonii Richard Schomb
Strychnos fendleri Sprag & Sandw.
Strychnos froesii Ducke
Strychnos jobertiana Baill.
Strychnos panamensis Seemann
Strychnos pseudoquina St.Hil.
Strychnos rondelentioides Spruce ex Bth
Strychnos solerederi Gilg.
Strychnos solimoesana Krukoff

---

Total de Espécies = 12

---

**Figura 7.8.** Relatório : Espécies que possuem o alcalóide diabolina

**STRYC - Cadastro de Alcalóides**

22/10/2000 22:11:

**Relatório: Referências acerca do Alcalóide**

Alcalóide: Estrictnobrasilina

Referência(s)	Ano
Nome	
Angenot L., Belém-Pinheiro, M.L., Rocha, A. F. Imbiriba da, Poukens-Renwart P., Quetin-Leclercq, J., Warin, R, Phytochemistry 29, (8) :2746-9, 1990	1990
Galeffi, C., Ciasca Rendina, M.Delle Monache, E.M., Marini-Bettólo, G.B., ( 1971) Il Farmaco ( Ed. Sci) ,26, 1100-1114.	1971
Iwataki, I., Comin, J., Tetrahedron 27: 2541-52, 1971	1971
Marini-Bettólo, G.B.,Messana,J., Nicoletti, M., Patamia, M., Galeffi, C. (1982), Anales Assoc.Quim. Argentina 70,263-70	1982
Total de Referências = 04	

**Figura 7.9.** Relatório : Referências sobre o alcalóide estricnobrasilina

**Relatório: Alcalóides presentes na Espécie**

Espécie: *Strychnos brasiliensis* (Spreng.) Mart.

---

Alcalóide(s)
10,11-Dimetoxiestricnobrasilina
12-Hidroxi-11-metoxiespermoestricnina
12-Hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina
Epermoestricnina
Estricnobrasilina
Estricnosilidina=Acetiltabascanina
Estricnosilina

---

Total de Alcalóides = 07

---

**Figura 7.10.** Relatório : Alcalóides presentes na espécie *Strychnos brasiliensis*

**STRYC - Cadastro Geral**  
**Relatório: Espécies da Seção**  
**Seção: Breviflorae**

22/10/2000 22:17:3

---

Espécie(s)
<i>Strychnos acuta</i> Progel
<i>Strychnos alvimiana</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos atlantica</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos brachistanta</i> Standl.
<i>Strychnos brasiliensis</i> (Spreng.) Mart.
<i>Strychnos castelnaeana</i> Wedd.
<i>Strychnos cerradoensis</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos fendleri</i> Sprag & Sandw.
<i>Strychnos fulvotomentosa</i> Gilg
<i>Strychnos grayi</i> Grisebach
<i>Strychnos malacosperma</i> Ducke & Froes
<i>Strychnos mattogrossensis</i> S. Moore
<i>Strychnos neglecta</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos nigricans</i> Prog.
<i>Strychnos oiapocensis</i> Froes
<i>Strychnos pachycarpa</i> Ducke
<i>Strychnos parviflora</i> Spruce & Benth
<i>Strychnos parvifolia</i> DC.
<i>Strychnos poeppigii</i> Prog.
<i>Strychnos progeliana</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos recognita</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos rubiginosa</i> DC
<i>Strychnos schultesiana</i> Krukoff
<i>Strychnos schunkei</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos setosa</i> Krukoff & Barneby
<i>Strychnos tarapotensis</i> Spr. & Sandw.

---

Total de Espécies = 26

---

**Figura 7.11.** Relatório : Espécies da seção Breviflorae.

## CAPÍTULO VIII

### 8. Considerações biogenéticas sobre as substâncias obtidas

- Alcalóides indoloterpênicos

Os estudos para elucidar o caminho biossintético dos alcalóides indoloterpênicos e as etapas enzimáticas envolvidas, vêm sendo realizados, há algumas décadas. Basicamente, toda informação disponível sobre a biossíntese desses alcalóides, foi obtida em experimentos com *Catharanthus roseus* (125, 126, 127 etc). Até o presente, várias enzimas envolvidas nesta biossíntese foram isoladas e caracterizadas, e os genes codificando algumas enzimas foram clonados (128), o que poderá melhorar a produção de alcalóides por modificação genética de planta ou culturas de células.

Numerosos experimentos demonstraram que a porção aromática é derivada do triptofano, que fornece a triptamina através da descarboxilação pela enzima triptofano descarboxilase (TDC) Está também definido experimentalmente, que a componente triterpênica provêm da loganina ou mais precisamente da seco-loganina, através de várias etapas que ocorrem depois da hidroxilação do geraniol pela enzima geraniol-10-hidroxilase (G10H) (128). A reação entre estas duas substâncias catalisada pela strictosidinassintase (SSS) forma a 3 ( $\alpha$ ) (S) strictosidina, precursor universal dos alcalóides indoloterpênicos. A partir deste intermediário, várias rotas levam a alcalóides das diversas classes e subclasses (CAP II, Figura 2.1). O que exatamente governa a divergência de rotas não está bem conhecido, mas a próxima etapa enzimática, em que ocorre a hidrólise da strictosidina é importante no processo (129). A enzima envolvida, strictosidina  $\beta$ -D-glicosidase (SG), parcialmente purificada a partir de *C. roseus* leva a um hemiacetal, que está em equilíbrio com um dialdeído altamente instável, que seria convertido, através de vários rearranjos intramoleculares em 4,21-desidrogeissoschizina e subsequentemente, em catenamina e ajmalicina. Recentemente, um novo modelo proposto por Stevens, mostrou que nesta etapa, não se

forma 4,21-desidrogeissoschizina e sim uma carbinolamina da catenamina, esclarecendo mais um passo na biossíntese dos alcalóides indoloterpênicos (128).

Os únicos estudos biogênicos realizados diretamente com *Strychnos* foram dirigidos à formação da estricnina em *S. nux-vomica* (130) os quais mostraram como intermediários, a strictosidina, geissoschizina, desidropreakuamicina e aldeído de Wieland -Gumlich. Baseado nestes estudos e nos alcalóides isolados dos diversos órgãos de *Strychnos*, Bisset (18) propôs um caminho biossintético, envolvendo intermediários (alguns hipotéticos), que justifica a diversificação das estruturas obtidas e coloca em evidência as relações entre elas.

O isolamento de longicaudatina de *S.cogens* é compatível com as tendências reveladas pela seção Rouhamon em produzir este tipo dímero, também existente na espécie *S. guianensis*, da qual foram isolados os alcalóides guianensina e guiaflavina e um dos prováveis precursores destes alcalóides, o 9-metoxigeissoschizal. Do mesmo modo, o isolamento de estricnobrasilina e seus derivados de *S.mattogrossensis* confirma as tendências reveladas pela seção Breviflorae em produzir alcalóides do grupo V.

Na figura , 8.1 é esquematizada uma rota biossintética adaptada da literatura, (128, 129))para alcalóides com esqueleto corinante/estricno. Nas Figuras 8.2 e 8.3 são apresentados esquemas biogênicos para os alcalóides de *S.mattogrossensis* e *S.cogens*, com base na literatura (18, 11).

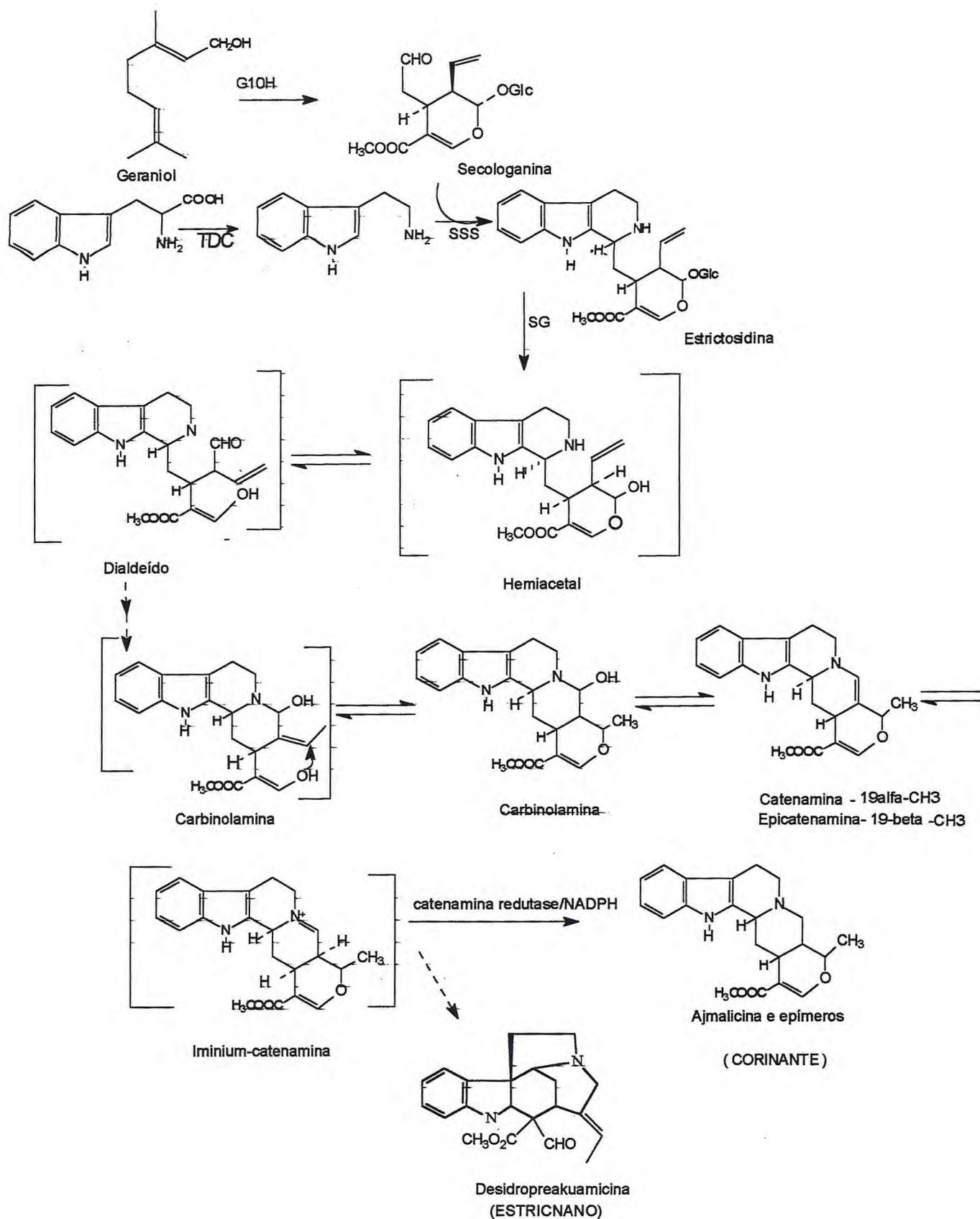
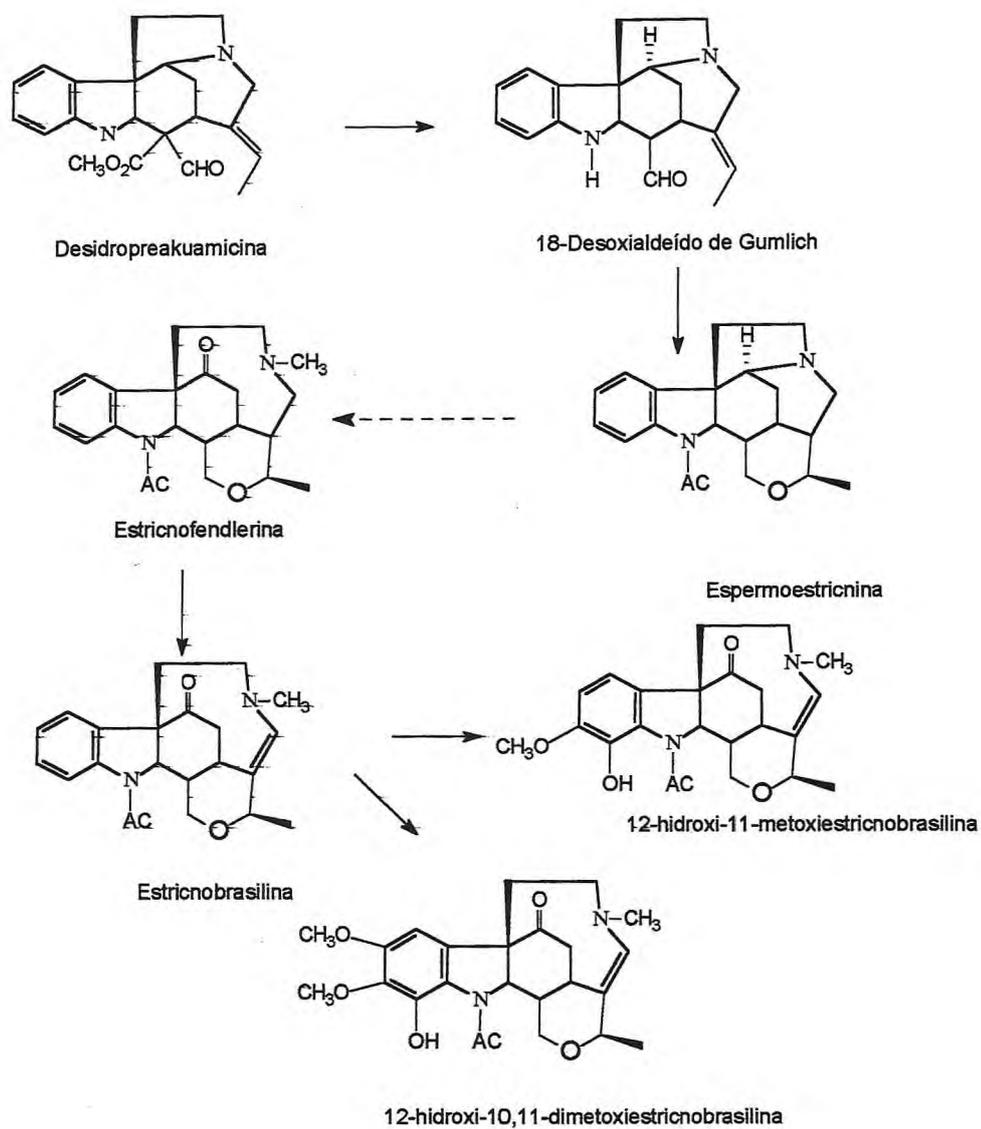
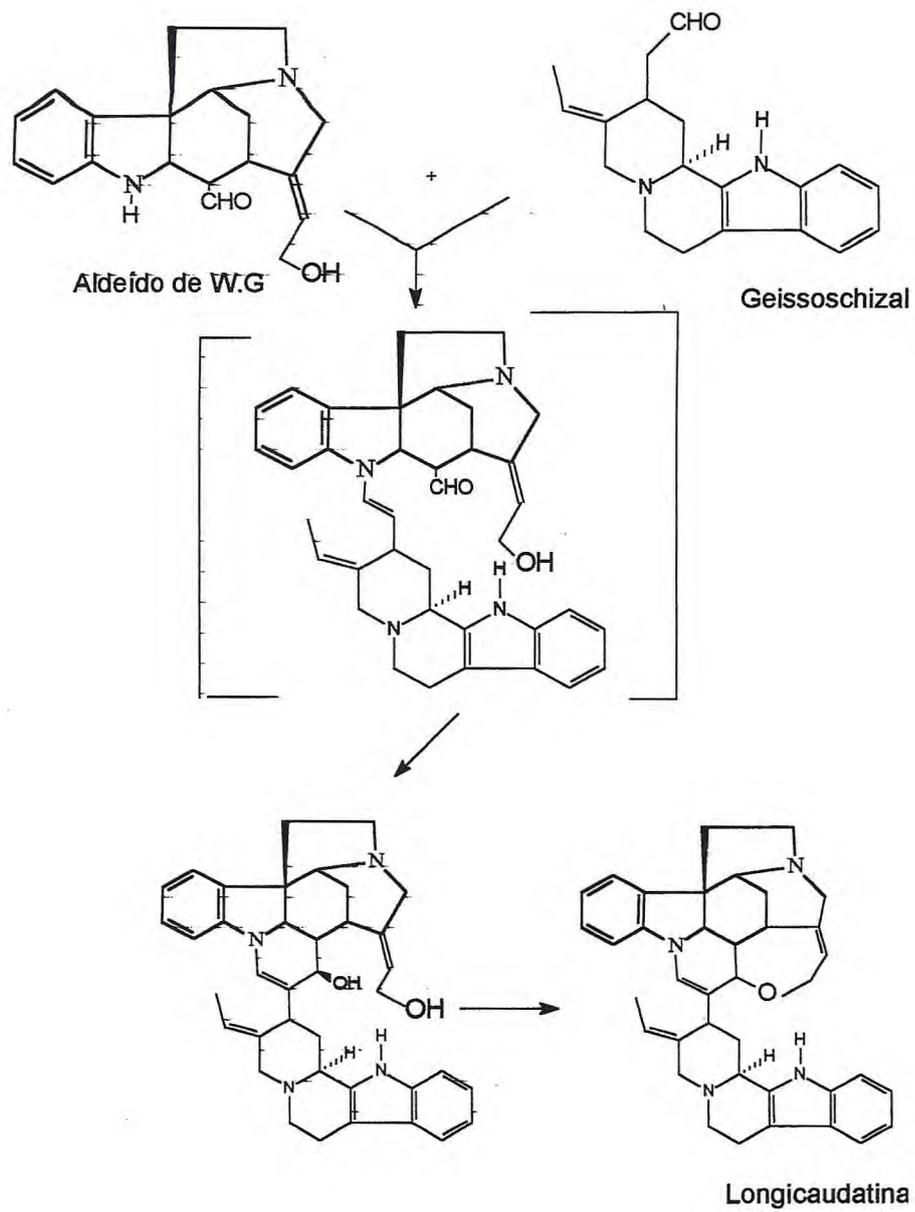


Figura 8.1. Esquema de biossíntese de alcalóides Corinante/Estricnano (128,129)



**Figura 8.2.** Rotas biogénicas propostas para alcalóides indoloterpênicos isolados de *S. mattogrossensis* (18,11)



**Figura 8.3.** Rotas biogénicas propostas para alcalóides indoloterpênicos isolados de *S. cogens* (18,8)

- Lignanas

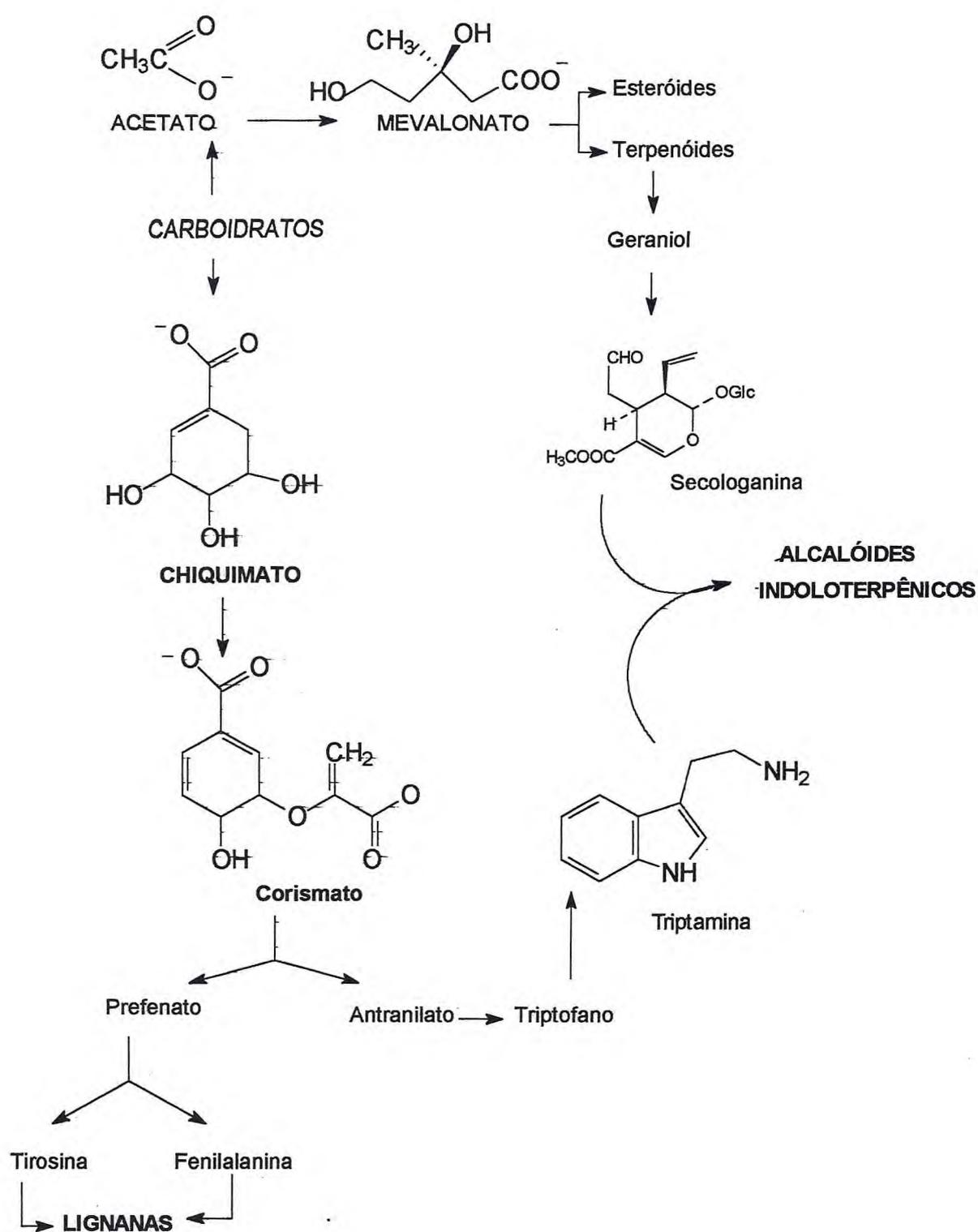
As Angiospermas são uma rica e variada fonte de lignanas, encontradas tanto em mono como em dicotiledôneas. Segundo Lewis *et al.* (131), há uma aparente progressão estrutural dentro das diferentes superordens que podem ser de imenso valor para propósitos classificatórios.

Resumidamente, as lignanas de Angiospermas podem ser divididas em três grandes categorias: lignanas com esqueleto derivado do pinoresinol, isto é, contendo funções oxigenadas em C<sub>9</sub> / C<sub>9'</sub>; lignanas possuindo grupos metílicos ou metilênicos em C<sub>9</sub> / C<sub>9'</sub>, derivados aparentemente de alil ou propenil fenóis (neolignanas); dímeros arilciclobutanos, achados principalmente em monocotiledôneas. As lignanas isoladas de *Strychnos guianensis* se enquadram no primeiro grupo, constituindo-se, provavelmente, nos primeiros registros de esqueletos ariltetrahidronaftalenos na ordem Gentianales (*sensu* Dahlgren), em acordo com os estudos de Lewis *et al.* (131).

Ao lado das lignanas liriioresinol A e B, isoladas da espécie africana *Strychnos dinklagei* [132], as lignanas de *S. guianensis* representam os únicos registros desta classe na literatura para o gênero, sendo o primeiro em *Strychnos* americanas.

Entretanto, o isolamento de lignanas do gênero *Strychnos* não surpreende, uma vez que estas plantas são portadoras de outros metabólitos secundários (alcalóides, flavonóides) oriundos da rota do chiquimato.

Na Figura 8.4 são resumidas as relações biogênicas entre os precursores (derivados do ácido chiquímico) de lignanas e alcalóides indoloterpênicos. Na Figura 8.5 é apresentada uma proposta de biossíntese para as lignanas de *S. guianensis*, adaptada da literatura (131)



**Figura 8.4.** Relações biogénicas entre precursores (derivados do ácido chiquímico) de lignanas e alcalóides indoloterpênicos

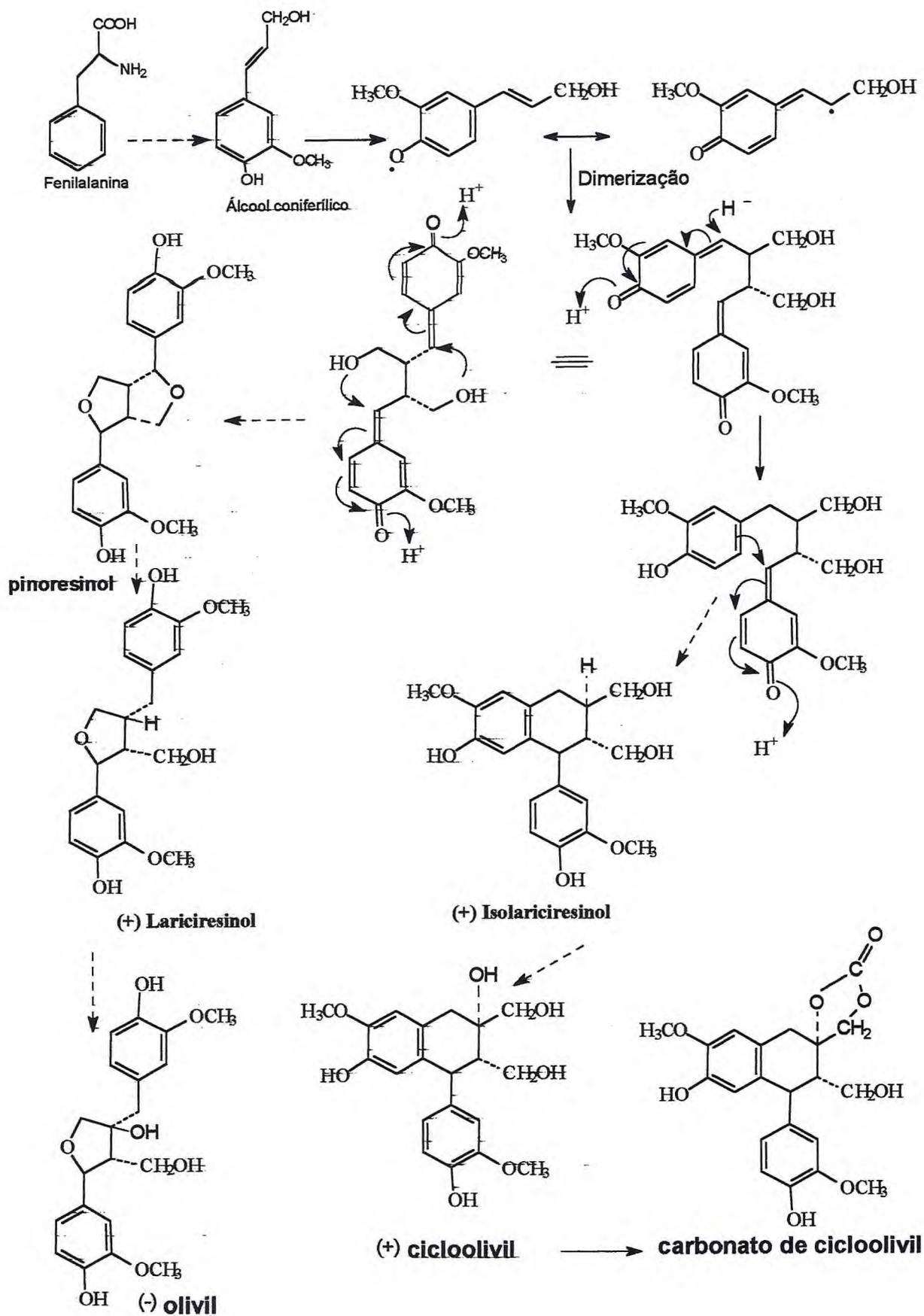


Figura 8.5. Rotas biogénicas propostas para lignanas isoladas de *S. guianensis*.

## CAPÍTULO IX

### 9. Parte experimental

#### 9.1. Material e métodos

##### 9.1.1. Métodos cromatográficos

As colunas cromatográficas, analíticas ou filtrantes, foram realizadas em colunas de vidro de vários tamanhos, utilizando como fase estacionária sílica gel-Merck (0,063-0,209 mm, 70-230 mesh ASTM) ou Sephadex LH-20 - PHARMACIA. Como eluentes foram usados solventes orgânicos p.a., Merck e Vetec.

A Cromatografia de Camada Delgada (CCD) analítica foi desenvolvida em cromatofolhas Merck Pl, sílica gel 60 F<sub>254</sub>, 0,2mm de espessura, usando solventes orgânicos ou mistura destes com hidróxido de amônio, como eluentes. Como reveladores, foram usados, iodo ressublimado, ácido sulfúrico a 5% em etanol, sulfato cérico IV/ácido sulfúrico, Reagente de Dragendorff e Luz UV 254 e 366 nm.

A Cromatografia de Camada Delgada Preparativa (CCDP) foi desenvolvida em placas confeccionadas com sílica gel 60 PF 250 Merck. Aproximadamente 90g de sílica foram suspensos em 180 ml de água e colocados com espalhador Desaga, regulado para 1 mm, em placas de vidro de 20x40 cm. As placas foram eluídas com misturas de acetato de etila/isopropanol/hidróxido de amônio (80:15:5) ou CHCl<sub>3</sub>/MeOH (7:3). As faixas foram reveladas com luz UV 254 e 366 nm, reagente de Dragendorff e sulfato cérico IV/ ácido sulfúrico.

A Cromatografia Gasosa (CG) dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada em aparelho Carlo- Erba, Modelo 3160, munido com Detector de Ionização de Chama (DIC), utilizando coluna capilar de sílica SE-54 -0,25 m de comprimento e hélio como gás de arraste, com velocidade 33 cm/s a 150<sup>0</sup> C. A programação de temperatura utilizada foi de 6<sup>0</sup> C/min, até 230<sup>0</sup> C e a temperatura de injeção foi 50<sup>0</sup> C.

### 9.1.2. Métodos espectrométricos

- **Ultravioleta** - Os espectros no ultravioleta foram obtidos em aparelho Perkin Elmer, modelo Lambda 11. O comprimento de onda de cada máximo de absorção ( $\lambda_{\max}$ ) é expresso em nanômetros (nm) e sua intensidade é dada em  $\log \epsilon$ . As amostras foram solubilizadas em clorofórmio ou metanol..
- **Infravermelho** - Os espectros no infravermelho foram obtidos em aparelhos Perkin Elmer modelos 297 e Spectrum 2000, FT-IR, utilizando pastilhas de KBr.  $\nu_{\max}$  é expresso em  $\text{cm}^{-1}$ .
- **Ressonância Magnética Nuclear** - Os espectros de RMN uni e bidimensionais, foram registrados em aparelhos Bruker, modelos DPX300 e DRX500, operando, respectivamente a 300, 500 MHz para RMN de  $^1\text{H}$  e a 75,0 e 125,0 MHz para RMN $^{13}\text{C}$ . As sequências de pulsos utilizadas nas experiências bidimensionais foram as contidas nos subprogramas Bruker (zg30, zgpg30, dept135, cosygs, cosypr, inv4gstp, inv4gslprnd). As amostras foram solubilizadas em  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$  ou  $\text{DMSO}-d_6$ . Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as multiplicidades dos sinais indicadas segundo a convenção: s (singleto), sl (singleto largo), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (tripleto), q (quarteto) e m (multipeto). As constantes de acoplamento foram registradas em Hz. Tetrametilsilano, TMS, foi usado como padrão de referência interno. Para as experiências feitas com variação de temperatura, as amostras foram aquecidas dentro da própria sonda através de um "heater" e após a temperatura estabilizar foram obtidos os espectros. O gás utilizado no fluxo foi o nitrogênio.
- **Espectros de Massa** - Os espectros de massa foram obtidos através de ionização por impacto de elétrons a 70 e V, em aparelho Espectrômetro de Massa de alta resolução VG AutoSpec; ou por electrospray e espectrometria Tandem MS/MS, sendo os dados coletados em um quadrupolo Micromass Quattro LC, equipado com uma fonte Z-spray, com registro de íons positivos.
- **CG/EM** - A análise da mistura de esteróides foi feita em aparelho GC/AutoSpec Q, coluna OV101, 25m. Os triterpenos foram analisados em um sistema de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR-EM) Hewlett Packard modelo 6890, com analisador de íons quadrupolo e ionização por impacto de elétrons, 70

eV, e espectroteca Wiley 59943B, usando coluna capilar HP-5 (5% fenil e 95% dimetilsiloxano), 30mx0,32mm.

- **Curva de Dicroísmo Circular (DC)**- A curva de dicroísmo circular foi realizada em espectropolarímetro JASCO 720, usando em metanol como solvente. Os valores foram expressos em elipticidade molecular  $[\theta]_{\lambda}$ .
- **Rotação Óptica** - As rotações ópticas foram obtidas em polarímetro digital Perkin-Elmer, modelo 341.
- **Ponto de Fusão** - A determinação de pontos de fusão foi realizada em um bloco de Kofler adaptado a um microscópio. Os valores encontrados não foram corrigidos.

## 9.2. Reagentes e testes de identificação

- **Reagente de Dragendorff (com modificação de Munier)**- (133) Solução A: 1,7 g de nitrato de bismuto III e 20,0 g de ácido tartárico dissolvidos em 80 mL de água destilada. Solução B: 16,0 g de iodeto de potássio dissolvidos em 40 mL de água destilada. A mistura de partes iguais destas soluções constituiu a solução estoque. Para borrifação das placas, adicionou-se, 10,0 g de ácido tartárico, dissolvido em 50,0 mL de água destilada. Aparecimento de precipitado laranja após adição de 3-4 gotas do reagente de Dargendorff à solução ácida da amostra, indicou presença de alcalóides. Após borrifação em placa cromatográfica, os *spots* de substâncias alcaloídicas apresentaram coloração laranja.
- **Reagente de Mayer** (134) Solução A; 1,35 g de cloreto de mercúrio dissolvidos em 60 mL de água. Solução B: 5,0 g de iodeto de potássio em 20 mL de água. Misturou-se as duas soluções e diluiu-se até 100 mL. Aparecimento de precipitado esbranquiçado, após adição de 3-4 gotas do reagente à amostra indicou presença de alcalóides.
- **Reagente de Hager** (134) 12,0 g de ácido pícrico em 100 mL de água destilada quente, seguida de resfriamento. Aparecimento de precipitado amarelo, após adição de 3-4 gotas do reagente à solução da amostra com pH 5, indicou a presença de alcalóides.

- **Sulfato cérico/ácido sulfúrico (134)** - Solução a 1% de sulfato cérico (IV) em ácido sulfúrico a 10 %. Através de borrifação em placa cromatográfica os *spots* das amostras apresentaram colorações características dos seus cromóforos, a frio ou após aquecimento em estufa, por aproximadamente 2 minutos a 110<sup>0</sup> C.
- **Ácido sulfúrico/etanol (134)** - Solução a 5-10% em etanol. Através de borrifação em placa cromatográfica os *spots* das substâncias apresentaram colorações características dos seus cromóforos, após aquecimento em estufa por aproximadamente 2 minutos a 110<sup>0</sup> C.
- **Teste de Liebermann-Burchard (134)** Solubilizou-se as amostras em mistura de clorofórmio / anidrido acético (1:1), e acrescentou-se 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. O aparecimento de coloração azul passando a verde, ou vermelha passando a marron, indicou, respectivamente, a presença de esteróides e triterpenos pentacíclicos.
- **Teste de Shinoda - (135)-** Agregou-se pequenas quantidades de pó de magnésio a uma solução alcoólica das amostras e em seguida adicionou-se 2-3 gotas de ácido clorídrico concentrado. Desenvolvimento de colorações vermelha, azul ou verde, indicou presença de flavonóides.

### 9.3. Coleta e identificação botânica

Foram escolhidas para estudo fitoquímico, as seguintes espécies do gênero *Strychnos*: *S. mattogrossensis* S.Moore, *S. guianensis* (Aublet) Martius e *S. cogens* Bentham. A coleta do material botânico (raiz, caule e folhas) ocorreu em datas e locais descritos no Quadro 9.1

#### Quadro 9.1 Material botânico coletado

Data	Espécie	Local de coleta
01/1988	<i>S. mattogrossensis</i>	Igarapé Grande, situado à margem direita do Rio Amazonas, município do Careiro, estado do Amazonas.
04/1988	<i>S. guianensis</i>	Igarapé do Tarumã, situado a noroeste da cidade de Manaus .
01/1998	<i>S. cogens</i>	Estrada Manaus-Itacoatiara, Km 65 .

A identificação botânica de *S.mattogrossensis* e *S.guianensis*, foi feita pelo Dr. A. J. M. Leewenberg, do Departamento de Taxonomia de Plantas da Universidade de Agricultura de Wageningen, Holanda. As exsicatas se encontram no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), estando registrados respectivamente sob os números 142.800 (Coletor: Dionísio Coêlho) e 162.891. (Coletor : José Ramos). A identificação botânica de *S.cogens* foi feita pela bióloga Joneide M. de Brito, responsável pela família Loganiaceae do Projeto Flora da Ducke, Inpa- AM. As exsicatas se encontram no Herbário da Universidade do Amazonas, registradas sob o N° 6791 (Coletor: José Ramos).

#### 9.4. Secagem e moagem

O material botânico coletado foi seco à sombra e à temperatura ambiente, sendo em seguida, pulverizado em moinho de facas.

#### 9.5. Ensaio preliminares.

Pequenas quantidades do material botânico seco e moído foram submetidas a ensaios preliminares para avaliação qualitativa de alcalóides, esteróides, triterpenos e flavonóides. Os resultados estão resumidos no Quadro 9.2. Para os testes de alcalóides, utilizou-se os reagentes de Dragendorff, Mayer e Hager. Para esteróides/ triterpenos e flavonóides, usou-se, respectivamente os reagentes de Libermann-Burchard e Shinoda.

**Quadro 9.2.** Ensaio fitoquímico preliminar do material botânico

Espécie	Parte da planta	Alcalóides	Esteróides/ triterpenos	Flavonóides
<i>S. mattogrossensis</i>	Casca do caule	+	+	-
	Caule s/casca	+		-
	Folhas	-		+
<i>S. guianensis</i>	Casca da raiz	+	+	-
	Raiz	+	+	-
	Folhas	-		+
<i>S. cogens</i>	Folhas	-		-
	Casca da raiz	+	+	-
	Raiz s/casca	+	+	-

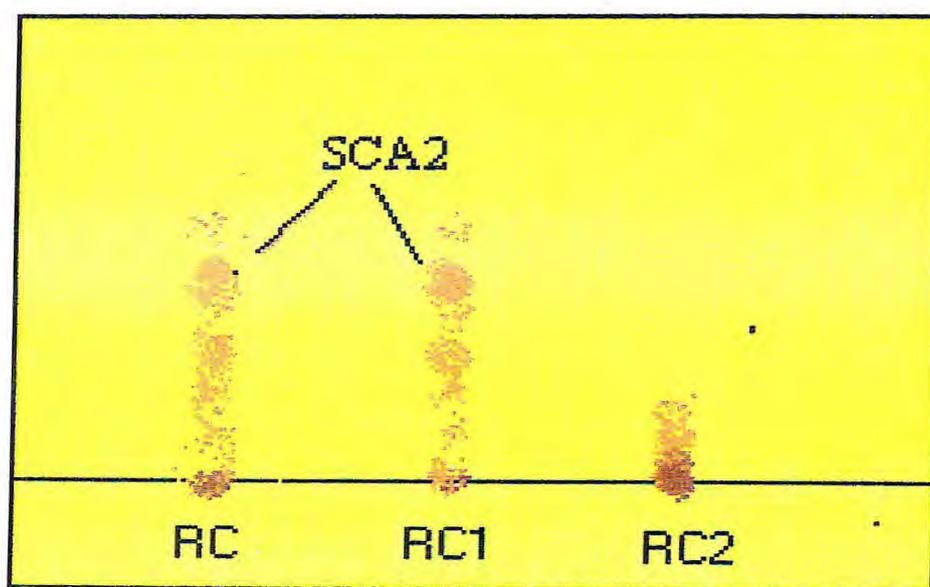
Os sinais (+) e (-), indicam, respectivamente, presença ou ausência das classes de substâncias pesquisadas.

#### 9.6. Isolamento dos constituintes da casca da raiz de *S. cogens*

710,0 g de material botânico seco e moído foi macerado durante 1 semana, com metanol contendo 1% de ácido acético, renovando-se o solvente, a cada 2-3 dias. As soluções obtidas foram reunidas e concentradas a vácuo, precipitando um material esbranquiçado, separado por filtração, o qual, após recristalização em clorofórmio/metanol, forneceu 6,0g do sólido cristalino não alcaloídico (SCA1). Ao filtrado, adicionou-se igual volume de água, evaporando-se o metanol restante. A solução aquosa ácida foi extraída 3 vezes com clorofórmio, obtendo-se duas frações: Fração clorofórmica (FC) e Fração Aquosa Ácida 1 (FA1). FC foi tratada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em rotavapor, obtendo-se 0,700g de sólido amorfo (RC), que apresentou teste positivo para alcalóide ao reagente Dragendorff. FA1 foi alcalinizada com carbonato de sódio até pH 8 e submetida a nova extração com clorofórmio, resultando duas frações: Fração Clorofórmica 1 (FC1) e Fração Aquosa Básica 1 (FB1). FC1 foi tratada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em rotavapor, obtendo-se 0,340g de um material pastoso (RC1). FB1 foi levado a pH 11 com hidróxido de sódio e extraído com clorofórmio, obtendo-se duas novas frações: Fração Aquosa Básica 2 (FB2) e Fração

Clorofôrmica 2 (FC2) . Após tratamento de FC2 com sulfato de sódio anidro e eliminação do solvente, foram obtidos 0,134 g de material oleoso (RC2) .

Avaliação cromatográfica em CCD analítica (Fase móvel, AcOEt/Isopropanol/ $\text{NH}_4\text{OH}$  (85:15:5) - Reagente de Dragendorff de RC, RC1 e RC2, revelou misturas complexas, evidenciando presença de dois alcalóides de média polaridade, de Rfs semelhantes, nos dois primeiros. RC2 apresentou alcalóides mais polares (Figura 9.1) FB2 foi levado a pH 5 com ácido acético, apresentando precipitado amarelo (alcalóides quaternários), imediatamente enegrecido, na presença do reagente de Hager. Marcha química resumida na Figura 9.2.



**Figura 9.1.** CDD analítica de RC, RC1 e RC2 obtidos na marcha química para isolamento dos constituintes da casca da raiz de *S. cogens*. Revelador Dragendorff.

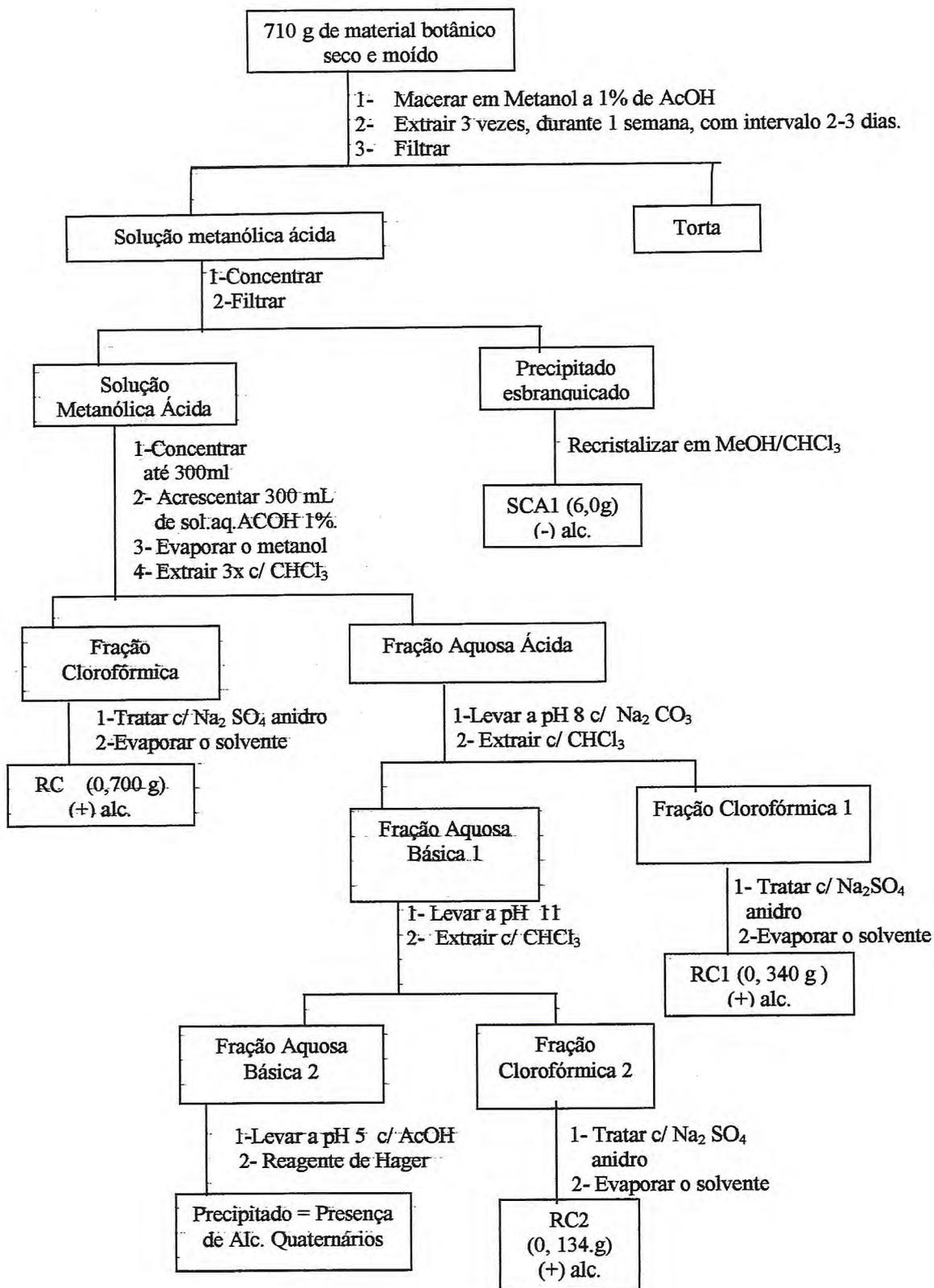


Figura 9.2. Marcha química para isolamento de constituintes do extrato da casca da raiz de *S. cogens*

### 9.6.1. Cromatografia em coluna de RC1 em Sephadex LH-20

0,340 g de RC1 foram solubilizados em 5mL de metanol, filtrados através de funil de placa porosa, aplicados em uma coluna de Sephadex LH-20 (42 cm de comprimento x 2,5 cm de diâmetro) e eluídos com metanol. Foram coletadas 36 frações de 12 mL cada uma. Avaliação cromatográfica em CCD analítica de sílica gel [Fase móvel- AcOEt/Isopropanol/NH<sub>4</sub> OH (85:15:5)]/ Reagente de Dragendorff *spray*, revelou similaridade em conteúdo alcaloídico das frações 5, 6 e 7, que foram reunidas e após eliminação do solvente forneceram 0,140 g de um sólido amorfo avermelhado, codificado SC1. As frações 9-12, após evaporação do solvente precipitaram 0,150 g de um sólido cristalino branco de natureza triterpenoidal ao reagente de Libermann - Burchard, recristalizado em clorofórmio/metanol, o qual apresentou em CCD analítica Rf semelhante ao de SCA1 (Figura 9.3). Das demais frações não foi isolada nenhuma substância.

### 9.6.2. Cromatografia em coluna de RC em Sephadex LH-20

O mesmo procedimento utilizado para RC1 foi adotado por 2 vezes para RC, utilizando-se 0,350g, em cada vez, obtendo-se no total, 0,198 g de sólido avermelhado semelhante a SC1(Figura 9.3),ao qual foi reunido.

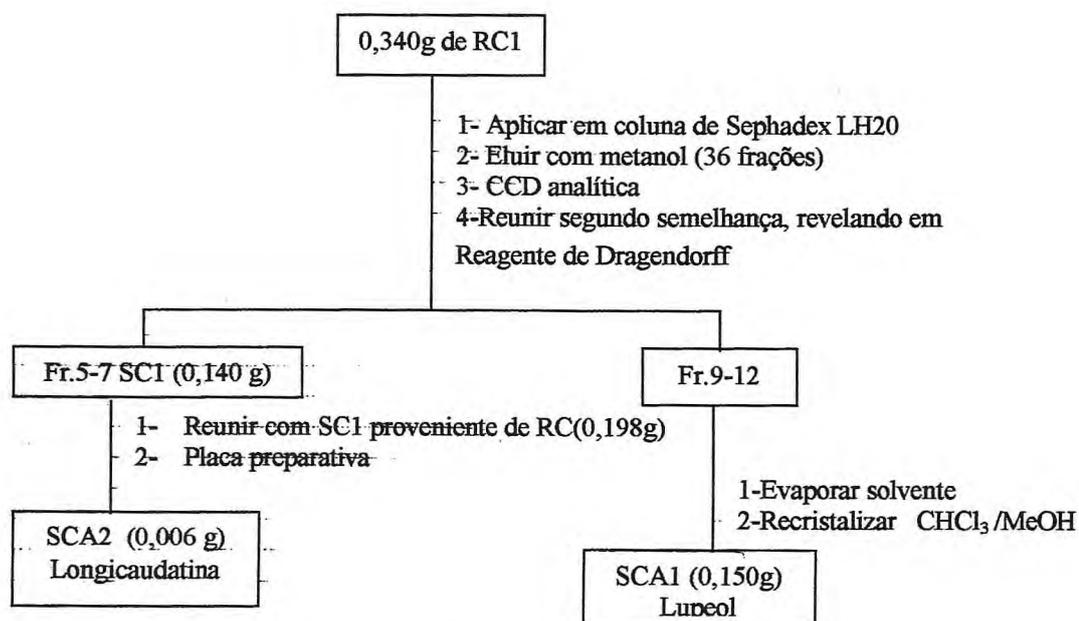


Figura 9.3. Coluna cromatográfica de RC1 em Sephadex LH-20

#### 9.6.3 Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) de SC1

0,338 g de SC1, provenientes de RC1 e RC obtidos a partir de colunas de Sephadex, foram cromatografados em placa preparativa de sílica gel (1 mm de espessura), usando como fase móvel acetato de etila/isopropanol/hidróxido de amônio (80:15:5), obtendo-se 0,006 g de um sólido, codificado como SCA2, que se torna vermelho em contato prolongado com a sílica, com reação positiva para alcalóide ao reagente Dragendorff e apresentando coloração azul, a frio, em sulfato cérico IV (Figura 9.3).

#### 9.6.4. Cromatografia Gasosa / espectrometria de Massa (CG/EM) de SC

SC foi analisado em um sistema de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR-EM) Hewlett Packard modelo 6890, com analisador de íons quadrupolo e ionização por impacto de elétrons, 70 eV, espectroteca Wiley 59943B, usando coluna capilar HP-5 (5% fenil e 95% dimetilsiloxano), 30mx 0,32mm, a temperatura 150-290° C, com programação de 5° C por minuto e fluxo de 0,5 ml/minuto, sendo identificado como principal componente o triterpeno lupeol.

#### 9.7. Isolamento dos constituintes da raiz sem casca de *S.guianenses*

800,0 g de material botânico seco e moído foram extraídos durante dois dias, com hexano, em aparelho Soxhlet. A solução hexânica foi tratada com sulfato de sódio anidro e concentrada em rotavapor, obtendo-se um resíduo com 7,53 g (SGH). A torta foi submetida a extração com metanol por procedimento semelhante ao anterior e descartada. A solução metanólica foi concentrada até o volume de 300 mL e tratada com 150 mL de uma de solução de ácido acético a 5%, precipitando um resíduo escuro. O metanol foi eliminado em rotavapor e a solução ácida resultante, após

filtração, foi extraída 6 vezes com clorofórmio, obtendo-se uma Fração Clorofórmica (FC) e uma Fração Aquosa Ácida 1 (FA1). FA1 foi alcalinizada com carbonato de sódio até pH 8 e submetida a extração com clorofórmio, resultando duas frações: Fração Clorofórmica 1 (FC1) e Fração Aquosa Básica 1 (FB1). FC1 foi tratada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada em rotavapor, obtendo-se 0,615 g de uma pasta escura RG1. FB1 foi levada a pH 11 com hidróxido de sódio e extraída com clorofórmio, obtendo-se duas novas frações: Fração Aquosa Básica 2 (FB2) e Fração Clorofórmica 2 (FC2). Após tratamento de FC2 com sulfato de sódio anidro e eliminação do solvente, foram obtidos 0,200 g de um resíduo marrom (RG2). FC apresentou teste positivo para alcalóide ao reagente Dragendorff, foi concentrada em rotavapor e tratada com 100 mL de solução de ácido acético a 5%. Após eliminação do clorofórmio em rotavapor foi obtida uma Fração Aquosa Ácida (FA) que foi alcalinizada com carbonato de sódio até pH 8 e submetida a nova extração com clorofórmio, resultando duas frações: Fração Clorofórmica 3 (FC3) e Fração Aquosa Básica (FB). FC3 foi tratado com sulfato de sódio anidro, fornecendo após eliminação do solvente, 0,428 g de RG3. FB2 e FB foram levados a pH 5 e testados com o reagente de Hager, havendo a formação de precipitado característico da presença de alcalóide quaternário. Marcha analítica resumida na Figura 9.4.

#### 9.7.1. Cromatografia em coluna de RG1 + RG2

Pela semelhança revelada em CCD analítica, RG1 e RG2 foram reunidos e cromatografados em sílica gel, utilizando como fase móvel, hexano, hexano/clorofórmio, clorofórmio, clorofórmio/metanol em variados gradientes de eluição. Foram obtidas 180 frações, reunidas em doze grupos, dos quais apenas oito apresentaram reação positiva ao reagente de Dragendorff (Figura 9.5). A fração 25-33, codificada como SG1 apresentou mancha única em CCD analítica, com fluorescência azul (revelada em lâmpada UV-366nm) e reação positiva ao Dragendorff. As frações 102-112 e 131-140 apresentaram depósitos cristalinos, que foram purificados através de recristalizações sucessivas com mistura de clorofórmio, metanol e hexano e codificados, respectivamente como SGA1 (0,040 g) e SGA2 (0,020g). Tentativas de isolamento e purificação de outras substâncias por intermédio de tratamentos cromatográficos e recristalizações foram infrutíferas.

### 9.7.2. Cromatografia em coluna de RG3.

0,428 g de RG3 foram submetidos a processo de separação cromatográfica em coluna de sílica gel (Figura 9.6) utilizando como fase móvel, hexano, hexano/clorofórmio, clorofórmio, clorofórmio/metanol e metanol, em variados gradientes de eluição, fornecendo 110 frações. As frações 83-91 e 92-94 revelaram reação positiva ao reagente Dragendorff, sendo que 83-91 forneceu 0,037g do sólido SGA3 . Tentativas de isolamento e purificação de outras substâncias por intermédio de tratamentos cromatográficos e recristalizações foram infrutíferas.

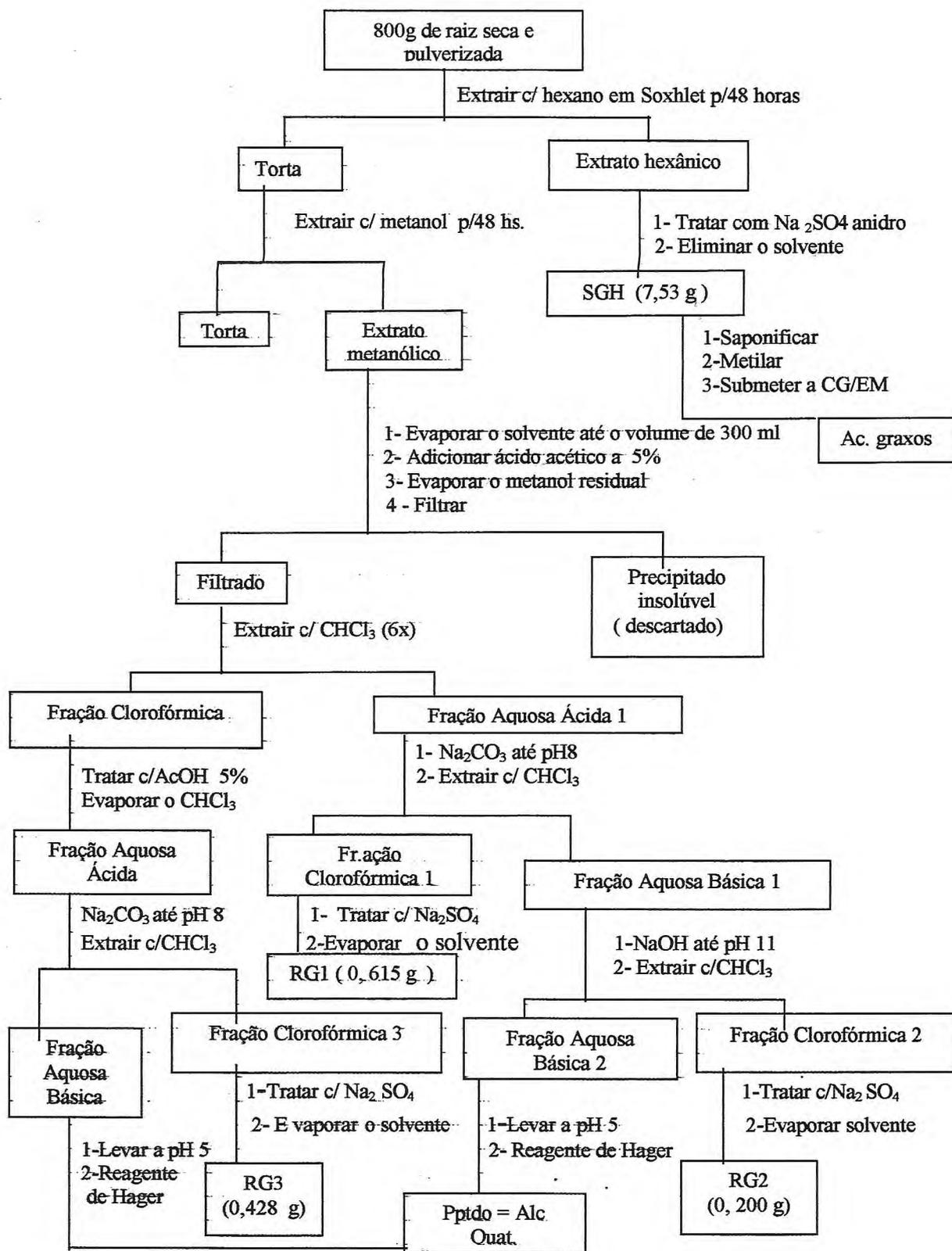


Figura 9.4. Marcha química para isolamento de constiuintes do extrato da raiz sem casca de *S. guianensis*

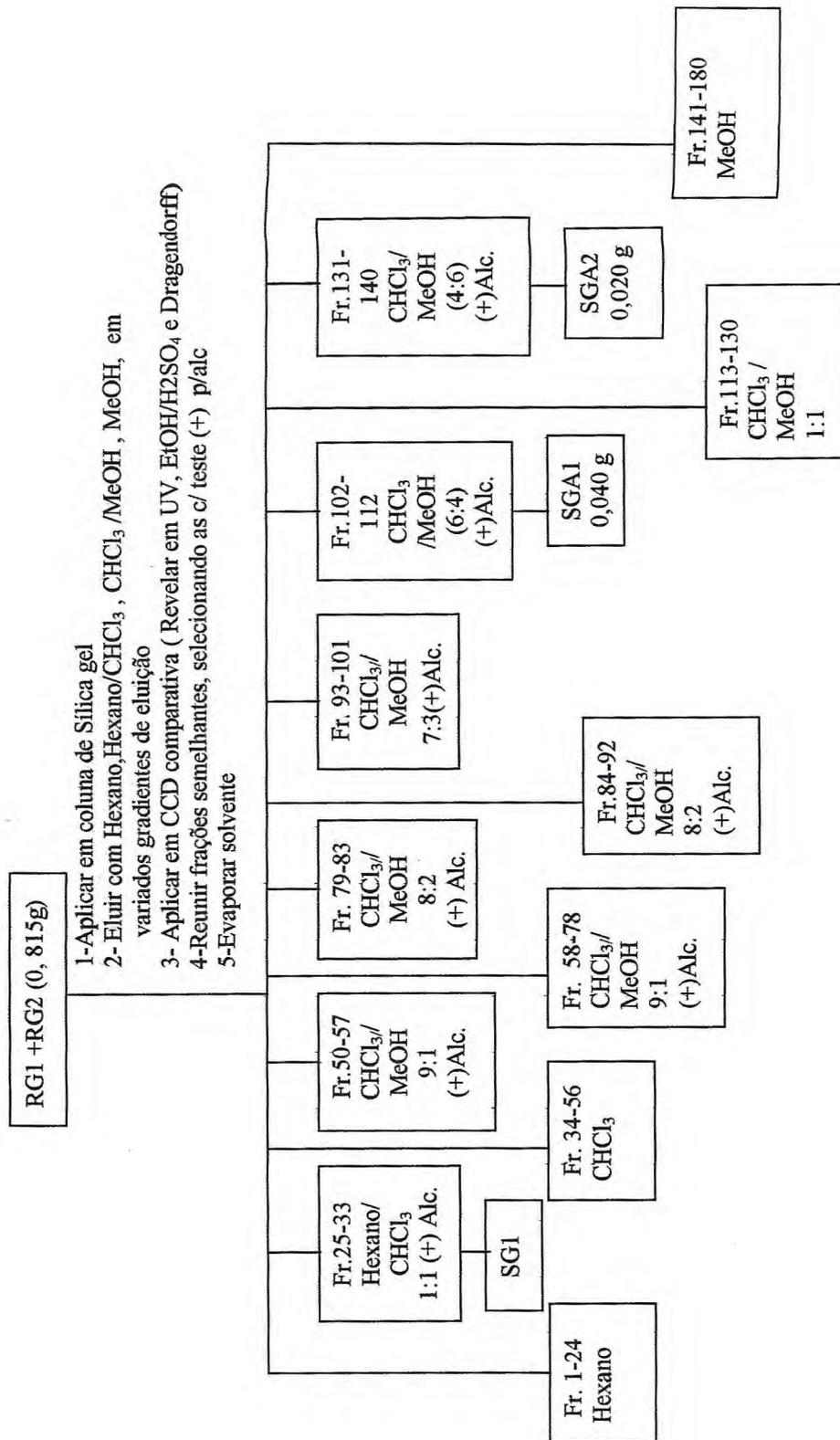
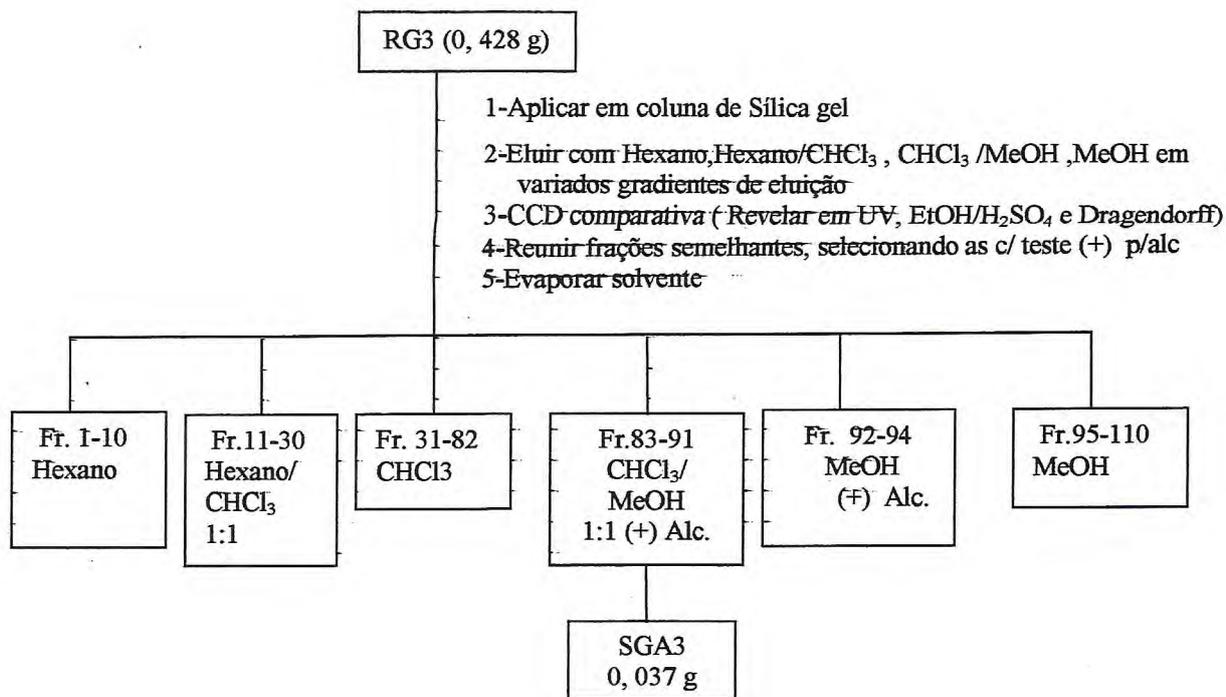


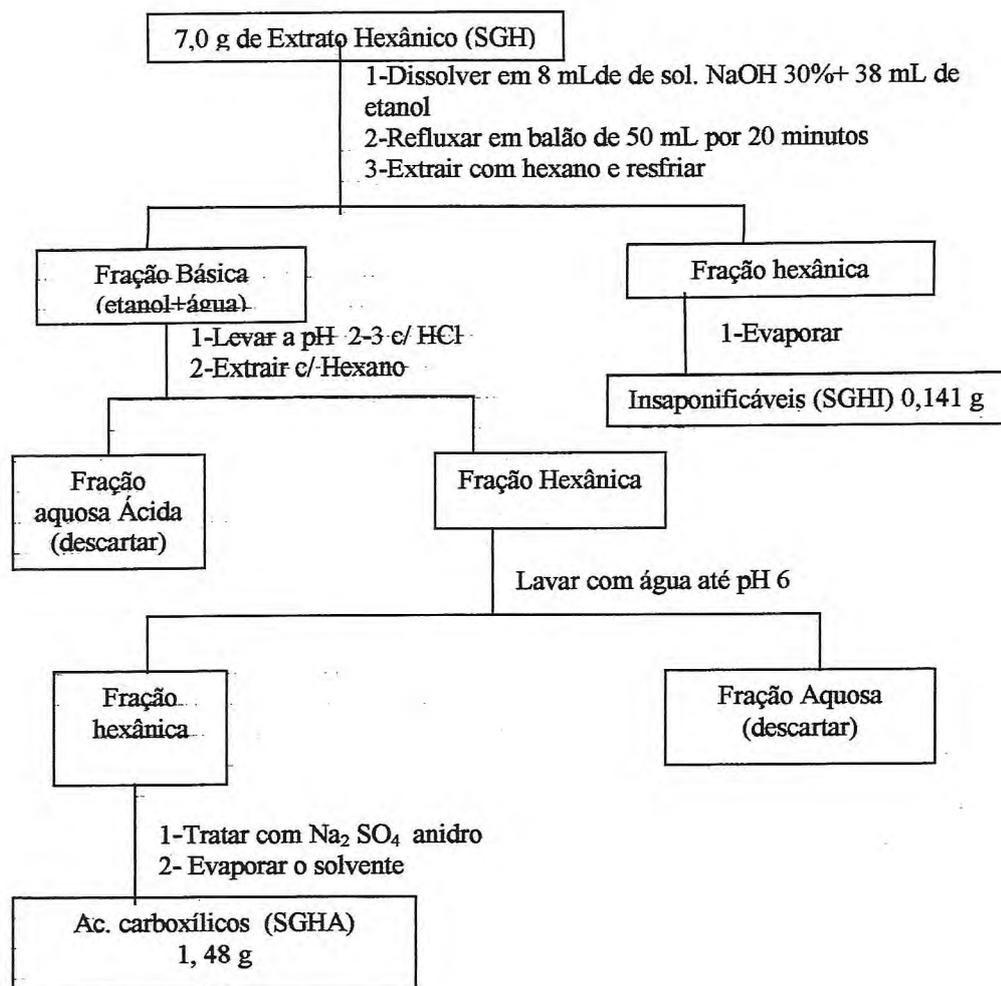
Figura 9.5. Coluna cromatográfica de RG1+RG2 em sílica gel .



**Figura 9.6.** Coluna cromatográfica de RG3 em sílica gel.

### 9.8. Processo de Saponificação de SGH

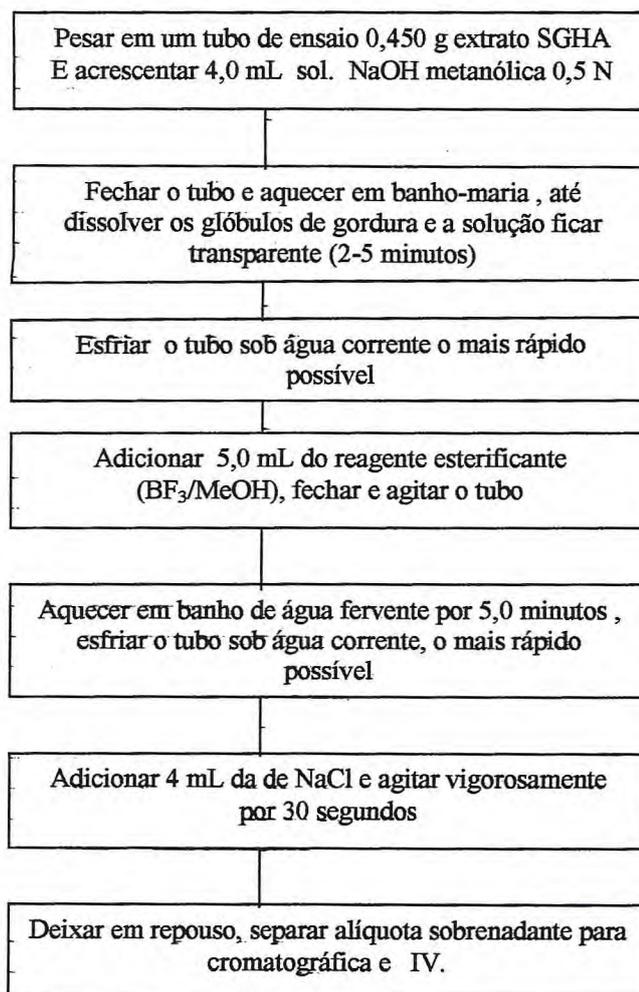
7,0 g de SGH acrescidos de 8 mL de solução de NaOH a 30% e 37 mL de etanol, foram colocados em um balão de 50 mL e submetidos a refluxo durante vinte minutos. O conteúdo do balão foi transferido para um funil de separação, extraindo-se 3 vezes com hexano, obtendo-se duas frações, a hexânica, contendo os insaponificáveis, denominada SGHI (0,141 g) e a fração aquosa alcalina contendo os saponificados. Esta última fração foi acidificada com HCl a 30 % até pH 2-3 e extraída com hexano. A fração hexânica resultante foi lavada com água destilada até alcançar pH 6, tratada com sulfato de sódio anidro e submetida a eliminação do solvente a vácuo, em rotavapor, fornecendo 1, 48 g de um óleo contendo os ácidos carboxílicos livres, codificado como SGHA (Figura 9.7).



**Figura 9.7.** Processo de saponificação de SGH

### 9.9. Metilação de SGHA

0,450g de SGHA, foram colocados em um tubo de ensaio, adicionando-se 4,0 mL de solução de NaOH metanólica 0,5 N. O tubo foi tampado e aquecido em banho-maria até dissolver todos os glóbulos gordurosos, tornando-se transparente (3-5 minutos). Em seguida resfriou-se o tubo sob água corrente, adicionando-se 5 mL do reagente esterificante ( $\text{BF}_3 / \text{MeOH}$ ). O tubo de ensaio foi fechado, agitado e levado novamente a aquecimento em água fervente por 5 minutos, resfriando-se novamente em água corrente. Posteriormente, adicionou-se 4,0 mL de solução saturada de cloreto de sódio, acrescentando-se 5,0 mL de hexano (Figura 9.8). A solução hexânica sobrenadante foi analisada através de cromatografia gasosa e espectroscopia IV



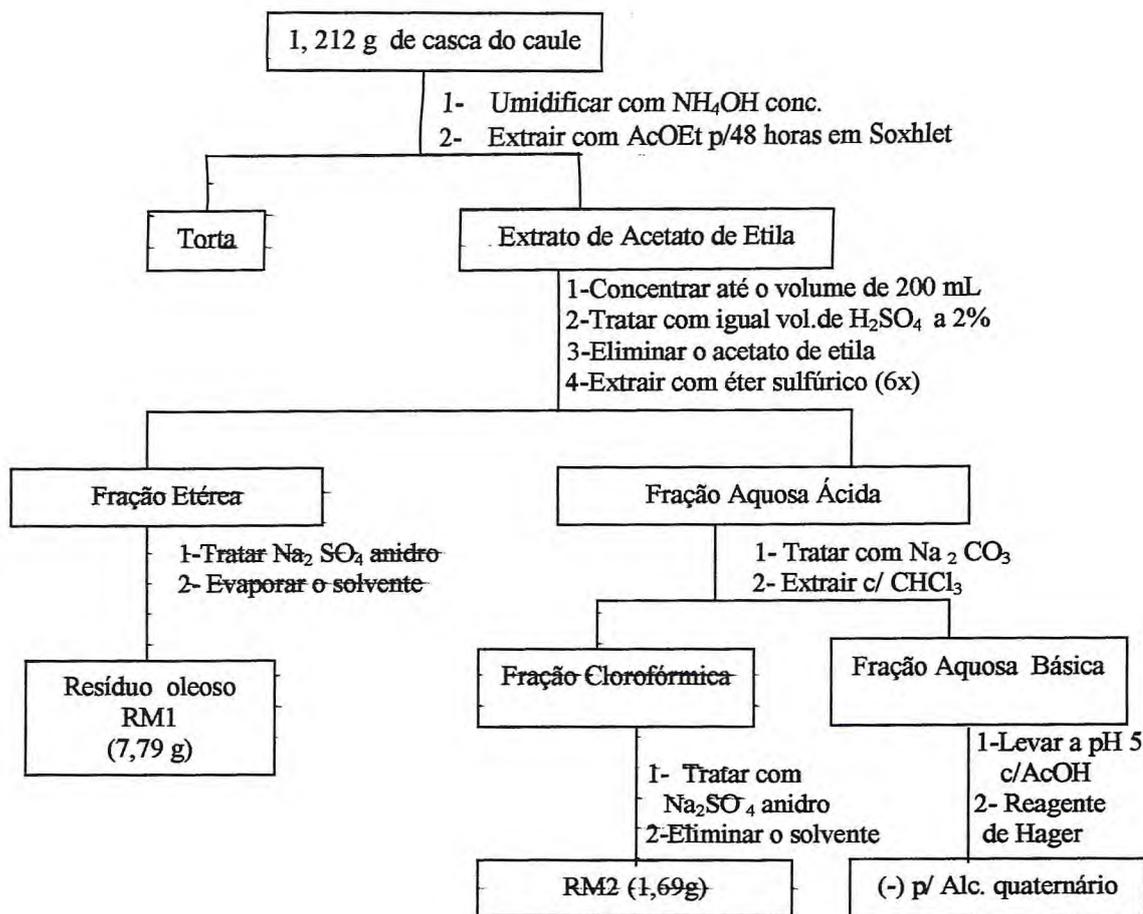
**Figura 9.8.** Processo de metilação de SGHA

#### 9.10. Cromatografia gasosa dos ésteres metílicos de SGHA

Os ésteres metílicos foram analisados em cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica de SE-54. Foi usado hélio como gás de arraste, regulado para fornecer uma velocidade linear de 33 cm/segundo (medida a 150 ° C) e fluxo compatível com a relação 20:1. Foram injetados 2 µl, no modo "splitless", usando-se uma solução de hexano 1000:1, seguida de intervalo de 130 segundos para purgar o solvente. A injeção foi feita com a temperatura do forno de 50° C e após os 3 minutos iniciais, a elevação da temperatura foi programada para 6° C/minuto, até 230° C. As identificações foram feitas por comparação de tempos de retenção com dados análogos de substâncias autênticas e confirmadas através de co-injeção, verificando-se a presença dos ácidos palmítico (43,85 %), oleico (33,33 %) esteárico (6,14 %) e nonadecanóico (7,01%).

#### 9.11. Isolamento dos constituintes da casca do caule de *S. mattogrossensis*

1.212 g de casca do caule foram umidificados com hidróxido de amônio e submetidos a extração contínua com acetato de etila, por um período de 48 horas, em aparelho Soxhlet. O extrato obtido foi concentrado em rotavapor até aproximadamente o volume de 200ml, adicionando-se igual quantidade de solução de ácido sulfúrico a 2%. Em seguida, foi eliminado o acetato de etila e procedidas seis extrações com 100 mL de éter sulfúrico, cada uma, obtendo-se uma Fração Etérea (FE) e uma Fração Aquosa Ácida (FA). Após tratamento com sulfato de sódio, seguido de eliminação do solvente, FE forneceu 7,79 g do resíduo oleoso RM1. FA foi alcalinizada com carbonato de sódio e submetida à extração com clorofórmio, resultando duas novas frações, a Fração Aquosa Básica (FB) e a Fração Clorofórmica (FC). FC foi tratada com sulfato de sódio anidro e o solvente eliminado, obtendo-se 1,69 g de resíduo escuro RM2. FB foi levada a pH 5 e em seguida testada com reagente de Hager, não havendo formação de precipitado, evidenciando ausência de alcalóides quaternários (Figura 9.9).



**Figura 9.9.** Marcha química para isolamento de constituintes do extrato da casca do caule de *S.mattogrossensis*

#### 9.11.1. Cromatografia de RM1

7,79g de RM1 foram solubilizados em clorofórmio e a solução filtrada. O filtrado foi adsorvido em sílica gel e aplicado em uma coluna filtrante de sílica, utilizando como fase móvel, hexano, hexano/clorofórmio (7:3), clorofórmio e metanol. Foram coletadas as frações: Hexano (0,041g); Hexano/Clorofórmio (1,603); Clorofórmio (0,600 g); Metanol (2,116 g). A fração clorofórmica foi cromatografada em coluna analítica de sílica gel, com os mesmos eluentes da coluna filtrante, fornecendo 60 frações de aproximadamente 15 ml. As frações foram comparadas por

CCD analítica e reunidas segundo a semelhança apresentada. A fração obtida da reunião de 48-55 [ eluição com com Hexano / Clorofórmio (7:3) e Clorofórmio], foi recristalizada em metanol, obtendo-se 0,150 g de um sólido branco cristalino, denominado SMC-1 (Figura 9.10) .

#### 9.11.2 . Cromatografia Gasosa /Espectrometria de Massa (CG/EM) de SMC1

SMC1 foi analisado através de um sistema de cromatografia gasosa acoplado a um espectrômetro de massa AutoSpec Q, usando coluna OV 101, 25 m , a temperatura de 260° C, com temperatura do injetor de 250° C, sendo identificado através de comparação padrões da biblioteca do computador, como uma mistura de campesterol ( 14,7 %), estigmasterol (78,4%) e sitosterol (6,9%).

#### 9.11.3. Cromatografia de RM2

1,69 g de RM2 , foram adsorvidos em sílica gel e aplicados em uma coluna cromatográfica (Figura 9.11) com fase estacionária de sílica gel, utilizando hexano, clorofórmio e metanol, em variados gradientes de eluição, fornecendo 76 frações, de aproximadamente 15 mL.

As frações coletadas foram comparadas por CCD analítica e reunidas segundo a semelhança, evaporando-se o solvente. O material proveniente da reunião de 40-50 foi cromatografado em sílica gel (Figura 9.12), fornecendo 42 novas frações de aproximadamente 3 ml, que foram comparados por CCD analítica.

As frações 9 e 10 foram reunidas, por apresentarem semelhança, quando reveladas em lâmpada UV a 254 nm e Reagente Dragendorff. Após evaporação do solvente foram adicionadas algumas gotas de metanol e 2 mL de hexano à fração proveniente da reunião , aquecendo-se até a ebulição para evaporação do metanol. Resfriada até a temperatura ambiente, a solução apresentou turvação sendo transferida, com auxílio de uma pequena pipeta, para outro frasco, restando um resíduo escuro no recipiente inicial. Repetiu-se o procedimento por mais duas vezes, obtendo-se, após eliminação do hexano, 0,030g de um sólido branco, denominado SMR-1, que analisado em CCD analítica apresentou uma única mancha (observada em lâmpada UV

a 254 nm, reagente de Dragendorff e Sulfato Cérico IV/H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>) com teste positivo para alcalóide, identificado como a 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina.

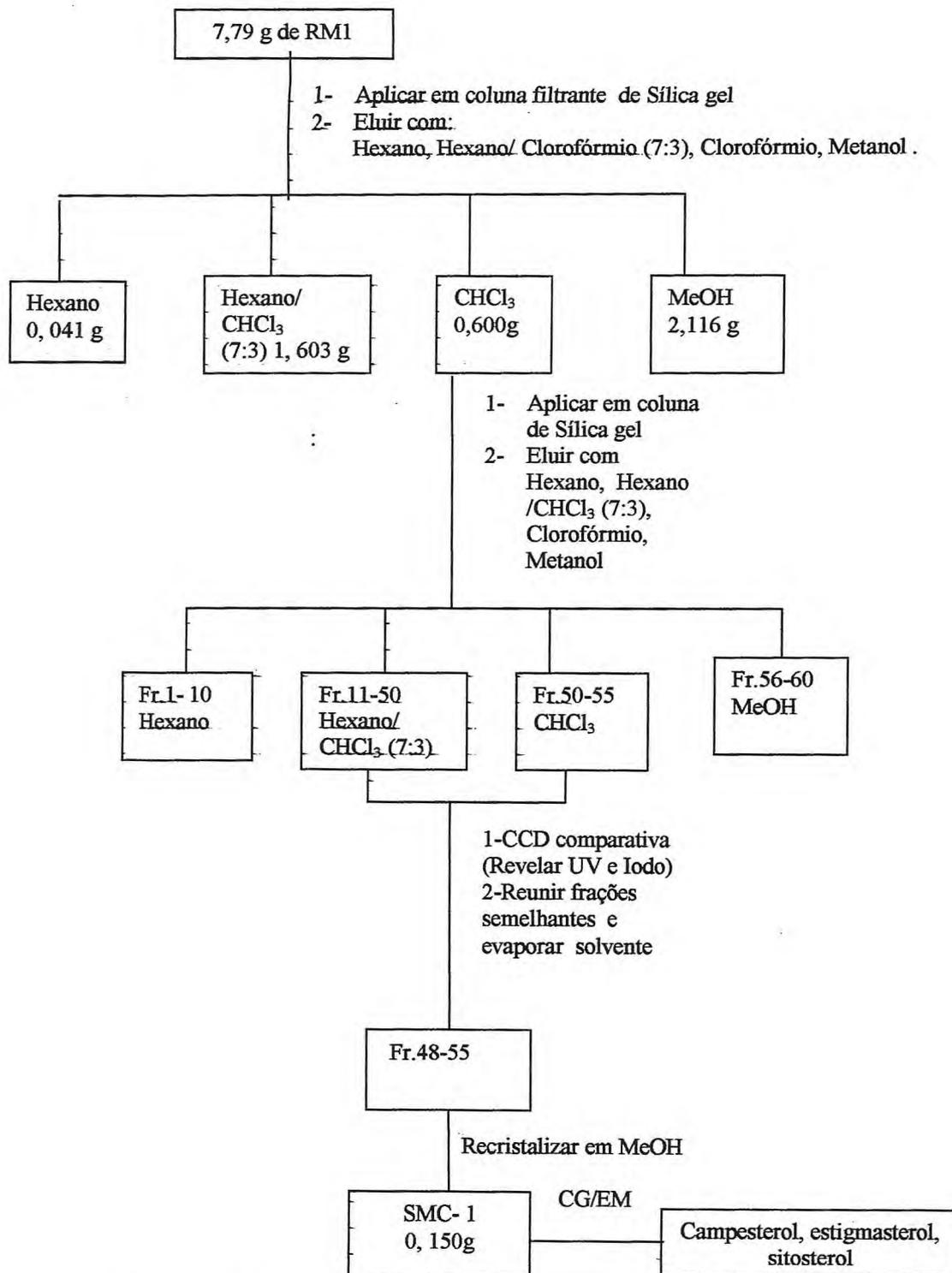


Figura 9.10. Coluna cromatográfica de RM1 em sílica gel

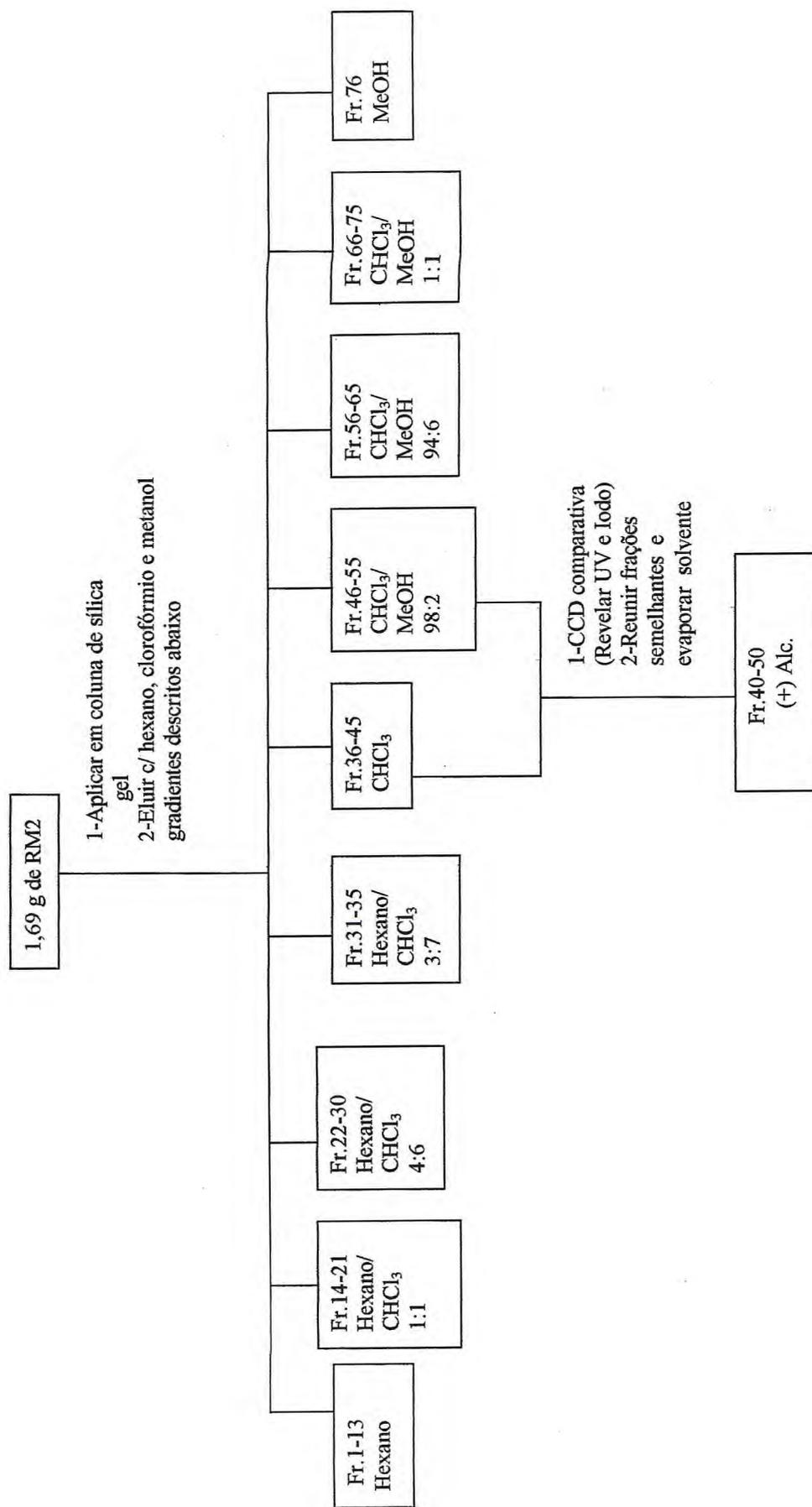


Figura 9.11. Coluna cromatográfica de RM2 em sílica gel

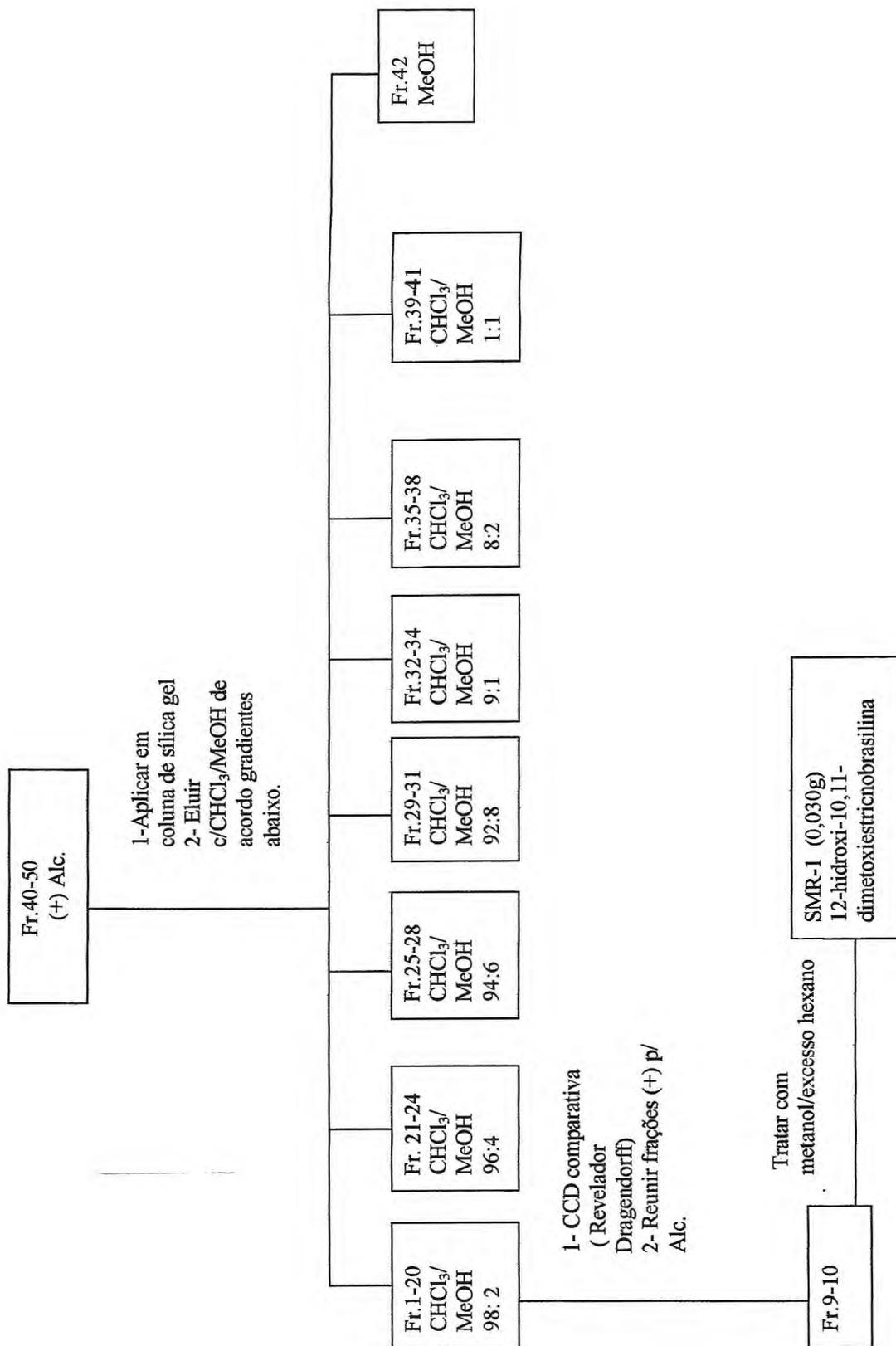


Figura 9.12. Coluna cromatográfica de Fr. 40-45, proveniente de RM2 em sílica gel

### 9.12. Isolamento dos constituintes do caule de *S. matogrossensis*

880,0 g de material botânico secos e moídos foram submetidos a extração a frio (maceração), durante cinco dias com hexano, obtendo-se, após evaporação do solvente, 6,0 g de um extrato hexânico codificado SMH e uma torta que foi umidificada com hidróxido de amônio concentrado e submetida a nova extração a frio, durante 12 dias, com acetato de etila, renovando-se o solvente a cada 48 horas. Após eliminação do solvente, a pressão reduzida, em evaporador rotativo, obteve-se 8,4g de um resíduo escuro RM'.

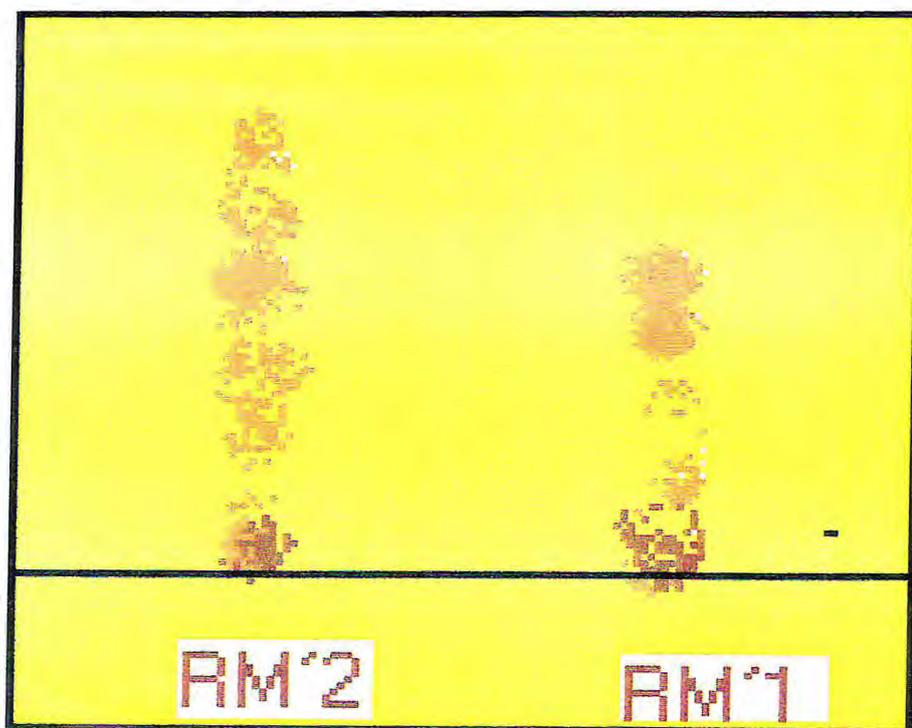
RM' foi solubilizado em 100 mL de acetato de etila e filtrado. O filtrado foi tratado com 200 mL de solução de ácido acético a 5%, sendo a mistura destilada em rotavapor, a pressão reduzida, até eliminação do acetato. A solução ácida remanescente foi extraída 6 vezes com clorofórmio, obtendo-se a Fração clorofórmica 1 (FC1) e Fração Aquosa Ácida (FA). FC1 foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada a vácuo, restando um resíduo (RM'1) de massa igual a 0,601g. FA foi alcalinizada com carbonato de sódio até pH 8 e extraída com clorofórmio, resultando a Fração Clorofórmica 2 (FC2) e Fração Aquosa Básica (FB). FC2 foi tratada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em rotavapor, obtendo-se um resíduo (RM'2) de massa igual a 0,550 g. FB foi levada a pH 5 com ácido acético e testado com o reagente de Hager, apresentando resultado negativo para alcalóide quaternário.

RM'1, um sólido amarronzado, de reação positiva para alcalóide, foi solubilizado em um mínimo de metanol, adicionando-se em seguida excesso de hexano. Após filtração e aquecimento da mistura para eliminação do metanol obteve-se uma solução que se tornou turva. A evaporação hexano levou a 0,025 g de um precipitado esbranquiçado cristalino, cuja análise em CCD analítica [fase estacionária- sílica e fase móvel-acetato de etila/Isopropanol/hidróxido de amônio (80:15:5)] revelou conter, principalmente dois alcalóides com Rfs muito próximos (Figura 9.13), os quais foram separados em placa preparativa de sílica gel utilizando como eluente, clorofórmio/metanol (7:3), obtendo-se 0,003g e 0,006g, de dois sólidos codificados, respectivamente, como SM-1 e SM-3. RM'2 apresentou-se como uma pasta escura,

de reação positiva para alcalóide, que submetido ao mesmo procedimento usado para RM'1 revelou uma mistura complexa (Figura 9.13), com predominância de um constituinte de natureza alcaloídica. Através de placa preparativa em sílica gel, utilizando acetato de etila, isopropanol/hidróxido de amônio (8:15:5), seguida de sucessivas recristalizações em acetato de etila, forneceu 0,010 g de um sólido puro, com mesmo Rf de SM-1. Esquema da marcha química na Figura 9.14.

### 9.13. Saponificação de SMH e metilação dos ácidos graxos provenientes do processo.

0,450g de SMH foram diretamente saponificados e metilados de acordo com o esquema descrito na Figura 9.8, sendo analisados através de cromatografia gasosa com a mesma metodologia descrita para os ésteres metílicos de SG-HA, item 9.10, identificando-se os ácidos palmítico (27,08 %), linoleico (5,64 %), oleico (14,67%) , esteárico (7,7 %) e behênico (5,86 %).



**Figura 9.13.** CDD analítica das frações obtidas na marcha química para isolamento dos constituintes do caule de *S.mattogrossensis*. Revelador: Dragendorff

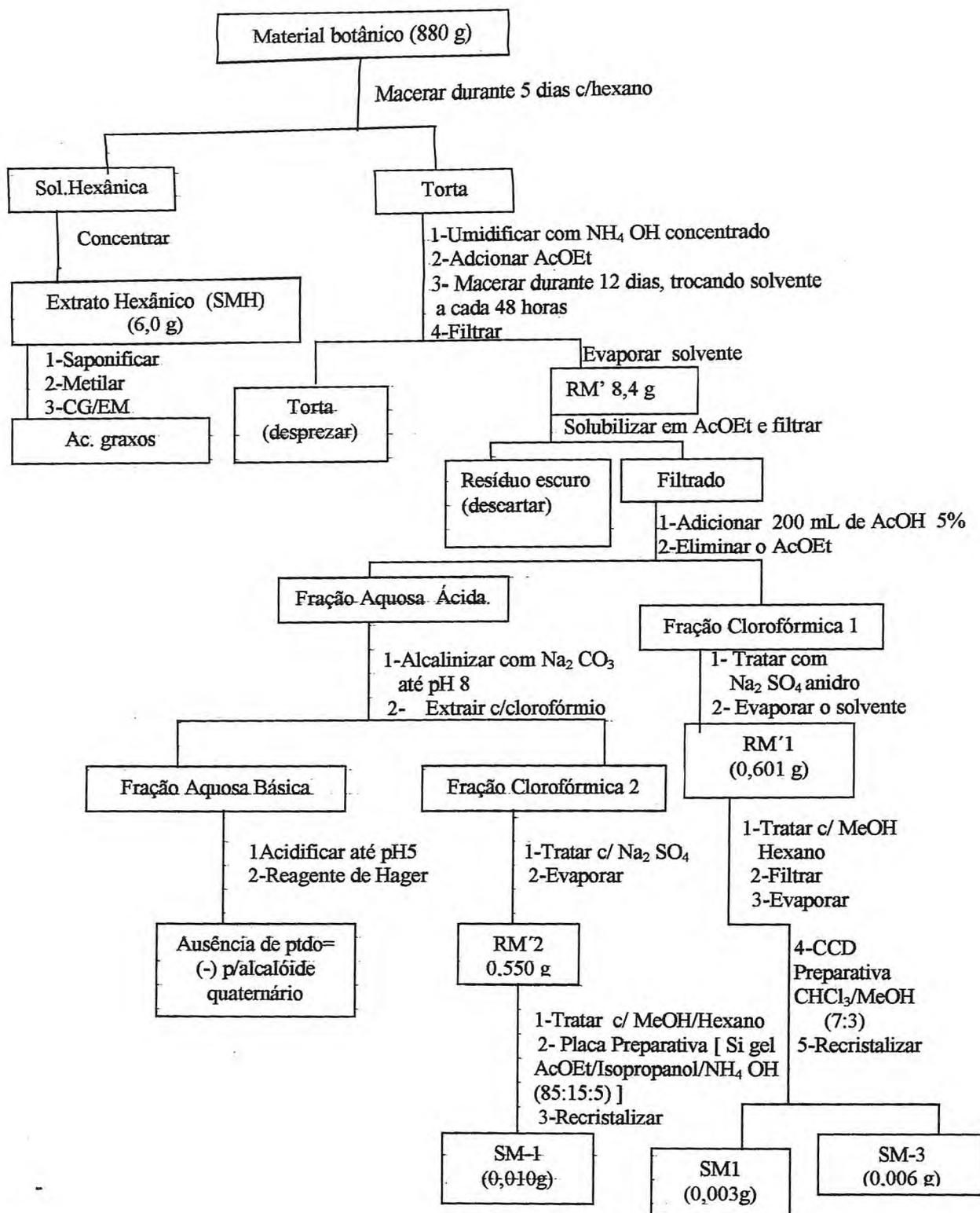


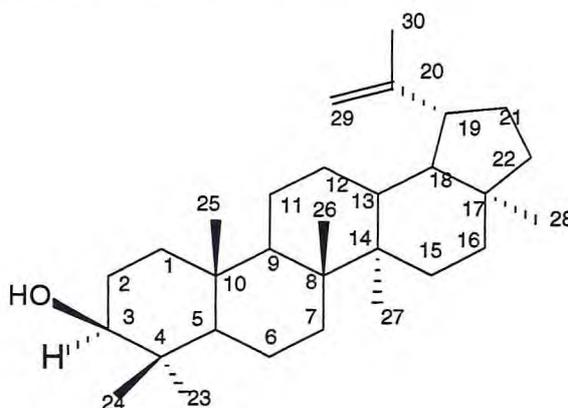
Figura 9.14. Marcha química isolamento dos constituintes do extrato do caule de *S.mattogrossensis*

## Capítulo X

### 10. Constantes físicas e dados espectrométricos das substâncias obtidas

#### 10.1. SCA1 - Lupeol

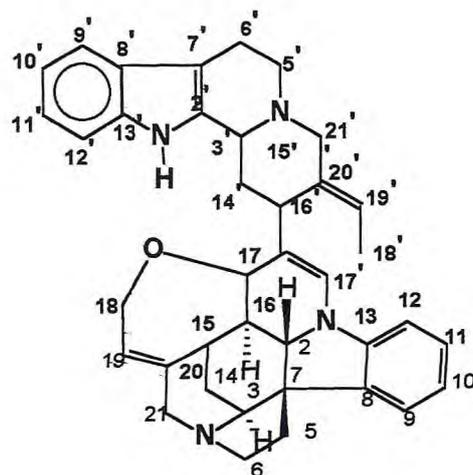
- Fórmula Molecular -  $C_{30}H_{50}O$
- Aspecto: sólido branco
- Solubilidade : Clorofórmio
- Ponto de Fusão: 178-180<sup>0</sup> C



- I.V. (KBr,  $\nu$   $cm^{-1}$ ): 3313, 3068, 2946, 1640, 1458, 1381, 1302, 1190, 1141, 1106, 1038, 981, 944, 880.
- E.M. EI, 70eV, m/z (%) 426 (7), 234 (7), 219 (29), 207 (44), 189 (59), 135 (69), 121 (80), 107 (100).
- RMN<sup>1</sup> H, 500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ , Hz TMS=0: H-29A, 4,67 (d, 2,0,1H); H-29-B, 4,54 (d, 2,0,1H); H-3, 3,16 (dd, 11,4 e 4,9, 1H); 2,34 (m); 1,68; 1,01; 0,97; 0,95; 0,92; 0,81; 0,77; 0,74.
- RMN<sup>13</sup> C, 125 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ , TMS=0: C-1, 38,78; C-2 27,78; C-3, 79,05; C-4, 38,91; C-5, 55,37; C-6, 18,36; C-7, 34,36; C-8 40,91; C-9, 50,51; C-10, 37,26; C-11, 20,99; C-12, 25,22; C-13, 38,13; C-14, 42,90; C-15, 27,51; C-16, 35,64; C-17, 43,04; C-18, 48,38; C-19, 48,03; C-20, 150,96; C-21, 29,92; C-22, 40,06; C-23, 28,04; C-24, 15,40; C-25, 16,15; C-26, 16,03; C-27, 14,60; C-28, 18,05; C-29, 109,36; C-30, 19,36.

## 10.2. SCA2 -Longicaudatina

- Fórmula Molecular -C<sub>38</sub> H<sub>40</sub> N<sub>4</sub> O
- Aspecto: Sólido branco- passando a avermelhado
- Solubilidade : Metanol, Dimetilsulfóxido
- Ponto de Fusão: > 300 ° C



- I.V. (KBr,  $\nu$  cm<sup>-1</sup>): 3413, 3247, 2922, 2863, 1635, 1600, 1483, 1450, 1380, 1355, 1235, 1104, 1025, 823, 756.
- E.M. (ESI), m/z (%) [M+H]<sup>+</sup> 569,2 (100), 565,2 (48), 493,5 (4,5), 412,2 (5), 344,9 (4,8), 286,7(39), 272,7(100), 256,7 (8), 250,7 (6), 143,4 (4).
- RMN<sup>1</sup>H, 500 MHz, DMSO<sub>d6</sub>,  $\delta$ , Hz, TMS=0 :H-3', 4,5 (1H); H-5'A, 3,9 H-5'B, 3,5; H- 6'A, 3,0 (1H); H-6'B, 2,9 H-9', 7,45 (d, 1H) ; H-10', 6,98 (t, 1H); H- 11', 7,00 (t, 1H); H-12', 7,34 (dl, 1H); H-14', 2,40 (1H); H-15', 3,5 (1H); 17', 6,51 (s, 1H); H-18', 1,60 (d, 3H); H-19', 5,82 (ql, 1, H-21'A, 4,0 (1H); H-21'B, 3,6 (1H); H-2, 3,7 (1H); H-3, 4,3 (1H) H-5A, 3,7 (1H) ; 5B, 3,2 (1H); H- 6A,1,90 (1H) ; H-6 B, 1,70 (1H); H-9,7,23 (d, 1H) H-10, 6,78 (t, 1H); H-11, 6,99 (t, 1H); H-12, 6,69 (d, 1H); H-14A, 2,38 (1H); H-14B, 1,45 (1H) H-15, 3,3 (1H); H- 16, 1,45 (1H) ; H-17, 4,0 (1H) H-18A, 4,0 (1H) H-18B, 4,1 (1H); H-19, 6,30 (tl, 1H); H-21A, 4,1 H-21B, 3,4 (1H).
- RMN<sup>13</sup> C, 125 MHz, DMSO<sub>d6</sub>,  $\delta$ , TMS=0: C-3', 54,5; C-6', 18,0; C-7',106,0; C-8', 126,0; C-9',118,0; C-10', 120,0; C-11', 122,0; C-12', 112,0; C-13', 137,0; C-14', 32,0; C-15',0,-38; C-17',127; C-18',13; C-19',130; C-2, 61,0; C-3, 61,0; C-5, 51,0; C-6, 39,0; C-7,50,5; C-8, 129,0; C-9, 123,0; C-10, 121,0; C-11,130,0; C-12,110,0; C-13, 147,5; C-14, 25,0; C-15, 31,0; C-16, 42,0; C-17, 80,0; C-18, 64,0; C-19,134,0.

### 10.3. SGA1 - (-) Olivil

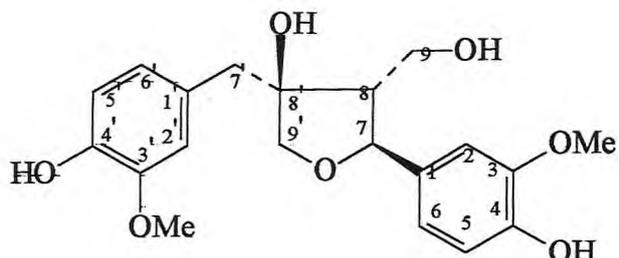
- Fórmula Molecular - C<sub>20</sub> H<sub>24</sub> O<sub>7</sub>

- Aspecto: sólido amarelado

- Solubilidade : Metanol

- Ponto de Fusão: 144- 146<sup>0</sup> C

- [α]<sup>25</sup><sub>D</sub> - 46,4 ( c 0,125, MeOH)



- I.V. (KBr, ν cm<sup>-1</sup>)- 3400, 2910, 2830, 1600, 1510,1445, 1330,1270, 1240, 1150, 1120, 1090, 1030, 970, 940, 860, 820,770, 750, 700.
- E.M. (alta resolução) EI, 70 eV,m/z (%) M<sup>+</sup> 376,15228 (20,88), 327, 12274 (2,71), 297, 11243 (4,35), 238,08364 (6,03 ), 196,07302 (8,76), 180,07 88 7 (14,79), 163,07563 (9,71), 138, 6775 9(96,51) ,137,06033 (100), 122,03681 (2,81).
- RMN<sup>1</sup> H , 300 MHz, CD<sub>3</sub>CN , δ, Hz, TMS=0 . H-2, 7,22 (d, 2,0 ,1H0); H-5, 6,91(d,7,7 , 1H); H-6, 7,00 (dd, 7,7 ; 2,0,1H); H-7, 4,78 (d, 7,0, 1H); H-8, 2,39 ( dd, 7,0; 7,0, 1H); H-9A, 3,82 (dd , 10,7; 7,0) H-9B, 3,78(dd,10,7; 7,0, 1H); H-2', 7,02 (d, 1,8,1H); H-5', 6,91 (d, 7,7, 1H); H-6', 6,89 (dd, 7,7; 1,8, 1H); H-7'A , 3,10 (d, 14,0,1H); H-7'B, 3,01, d,14,0, 1H); H-9'A , 3,92 (d, 9,1,1H); H- 9'B, 3,68 (d, 9,1, 1H); 2 CH<sub>3</sub> O , 3,98 (s, 6H); OH, 6,89 (s, 2H); OH, 3,25 (s, 2H).
- RMN<sup>13</sup> C, 75 MHz, CD<sub>3</sub>CN, δ, TMS=0. C-1, 134.8; C-2, 110,2; C-3, 147,1; C-4, 145,4, C-5, 114,2; C-6, 119,3; C-7, 83.7; C-8, 60,2,, C-9, 59,6; C-1', 129,4; C-2', 113,9; C-3', 146,7; C-4', 144,6; C-5', 114,2; C-6',122,8,, C-7', 39,9, C-9'; 76,6, 2 CH<sub>3</sub> O- 55,5.

#### 10.4. SGA2 -Cicloolivil

• Fórmula Molecular -  $C_{20}H_{24}O_7$

• Solubilidade : Metanol

• Aspecto: Sólido amarelado

• Ponto de Fusão: 162- 166<sup>o</sup> C

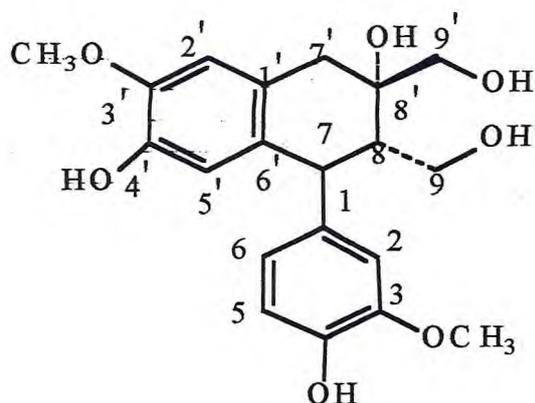
•  $[\alpha]_D^{25} + 39,5$  (c 0,12, MeOH)

• I.V. (KBr),  $\nu$   $cm^{-1}$ - 3500, 3310, 2930 , 2910, 1600, 1520,, 1450, 1370, 1260, 1220, 1150, 1130, 1030, 890, 860, 840, 820, 780.

• E.M. EI, 70 eV (%)-  $M^+$  376-(31), 358 (13) 340 (9), 327 (54) 309 (34), 297 (100), 284 (7), 265 (15), 191 (28), 137 (31) 115 (6).

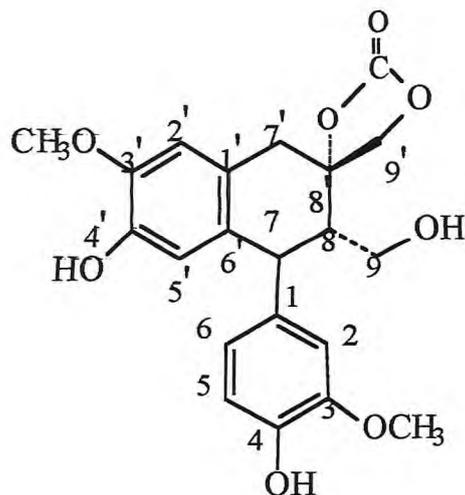
• RMN<sup>1</sup> H , 500 MHz, MeOH ,  $\delta$  , Hz . TMS=0, H-2', 6,61 (s,1H); H-5',6,16 (s, 1H); H-7'A ,2,59 (d , 16,72 , 1H); H-7'B, 3,19 (d ,16,72 , 1H); H- 9'A, 3,77 (d, 11,14,1H); H-9'B , 3,56 (d , 11,14 ,1H); H-2, 6,67 (d , 1,6, 1H); H-5, 6,75 (d , 8,00 ,1H); H- 6, 6,65 (dd, 8,0 ; 1,6 , 1H); H- 7, 4,00 (d, 11, 5 , 1H); H-8, 2,01 (dt ,11,5 ; 2,6 1H); H- 9A, 3,54 (dd ,10,4 ; 4,01 ,1H); H-9B, 3,79 (dd ,10,4 ; 2,6, 1H); 2  $\underline{CH_3}$  O-3,78 (s, 6H).

• RMN<sup>13</sup> C, 125 MHz, MeOH,  $\delta$ , TMS=0-C-1',133,60; C-2', 113,08; C-3',147,50; C-4', 145,33; C-5', 117,36; C-6',126,46; C-7',39,95; C-8', 74,95; C-9', 69,45 ; C-1, 138,49 ; C-2, 114,07; C-3, 149,13; C-4, 146,12; C-5, 116,06; C-6, 123,58; C-7, 44,91; C-8, 47,67; C-9,60,88;  $\underline{CH_3}$  O-56,43,  $\underline{CH_3}$ O-56,46



10.5 . SGA3 - Carbonato de cicloolivil

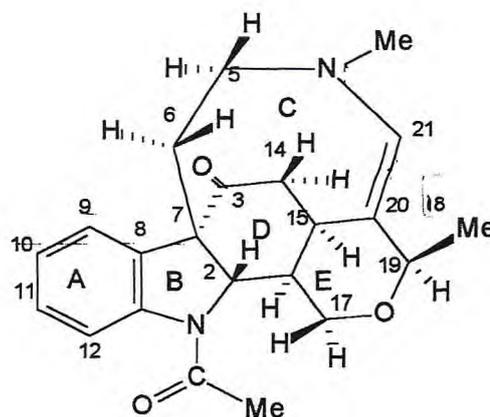
- Fórmula Molecular:  $C_{21} H_{22} O_8$
- Aspecto: Sólido branco
- Solubilidade : Metanol
- Ponto de Fusão: 118-122<sup>o</sup> C
- $[\alpha]_D^{25} +68$  (c 0,05, MeOH)



- I.V. (KBr),  $\nu$   $cm^{-1}$ - 3380, 1785, 1820, 1600, 1510, 1450, 1430, 1365, 1250, 1210, 1030, 760.
- E.M. EI, 70 eV-(alta resolução) m/z (%)  $M^+$  402,12992 (20,67), 353,10223 (13,60), 309, 11198 (100), 297,11242 (13,84) , 241,08631 (11,58), 187,07591 (9,32), 137,06016(17,11), 115,05471 (7,67), 77, 03897 (6,06).
- RMN<sup>1</sup> H , 500 MHz, CD<sub>3</sub>CN ,  $\delta$  ,Hz. TMS=0. H-2', 6,65 (s,1H); 4'-OH, 6,24(s,1H); H-5', 6,16 (s,1H); H-7'A , 3,27 (d, 16,7;1H); H-7'B, 3,05 (d, 16,7; 1H); H-9'A, 4,87 (d, 8,8; 1H); H-9'B, 4,18 (d, 8,8; 1H); H-2- 6,75 (d,1H);4.OH-6,42, H-5, 6,76 (d, 8,5; 1H); H-6- 6,60 (dd, 8,5 e 2,0 1H); H-7-3,93 (d, 11,0; 1H); H-8- 2,20 (ddd, 11,0; 6,0; 3,0; 1H); H-9A, 3,63 (m); H-9B-3,50 (m); 9-OH, 2,81 (t ,4,5, 1H); CH<sub>3</sub> O - 3,80 (s,3H) CH<sub>3</sub>O- 3,78 (s, 3H).
- RMN<sup>13</sup> C , 75 MHz, CD<sub>3</sub>CN ,  $\delta$ , TMS=0- C-1' ,132,13; C- 2', 112,12; C-3', 147,00; C-4', 145,72 ; C- 5', 116,58 ; C-6', 124,17; C-7', 40,64; C-8', 84,84; C-9', 73,44 ; C-1, 137,51; C-2, 113,62; C-3, 148,26; C-4, 145,63, C-5, 115,61; C-6, 122,64; C- 7,45,13; C- 8, 49,53; C-9, 60,05 ; CH<sub>3</sub>O -56,57, CH<sub>3</sub>O -56,62, CO- 155,95.

### 10.6. SMI -Estricnobrasilina

- Fórmula Molecular:  $C_{22} H_{26} N_2 O_3$ .
- Aspecto: Sólido branco
- Solubilidade: Clorofórmio
- Ponto de Fusão :  $208^{\circ} C$  (AcOEt)



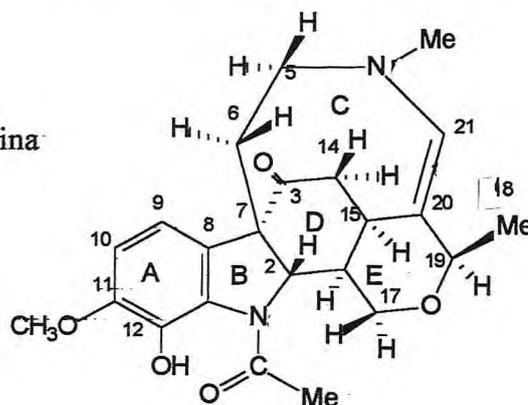
- I.V. (KBr),  $\nu$   $cm^{-1}$ - 2979, 2931, 2868, 1660, 1592, 1474, 1391, 1310, 1262, 1212, 1165, 1129, 1096, 1033, 980, 940, 868, 816, 755.
- RMN<sup>1</sup> H , 500 MHz, CDCl<sub>3</sub> ,  $\delta$ , TMS=0-298<sup>0</sup> K, rot a [rot b]- H-2 , 4,60, [H-2, 5,24] H-5<sup>A</sup>, 2,60, H-5B, 2,77; H-6A, 2,96; H-6B, 1,75, H-9, 7,50; H-10, 7,05; H-11, 7,22 ; H-12 , 7,92 [H-12 , 7,05]; H-14A, 2,59; H-14B, 2,29; H-15, 2,62, H-16, 1,95 [ H-16 , 1,82]; H-17 A , 4, 03; H-17 B , 3,75 [H-17 A , 4,09; H-17 B , 3,65]; H-18,1,35; H-19, 4,01; H-21; 5,99, CH<sub>3</sub> CO, 2,34 [CH<sub>3</sub> CO , 2,37], CH<sub>3</sub> N- 2,20.
- RMN<sup>1</sup> H , 500 MHz, CDCl<sub>3</sub> ,  $\delta$  , Hz ,TMS=0, 288<sup>0</sup> K, rot a [rot b]- H-2 , 4,59, [H-2, 5,22]; H-6A, 2,95; H-6B, 1,73; H-9, 7,49; H-10, 7,05; H-11,7,21; H-12 , 7,91 [H-12 ,7,05 ]; H-14 A, 2,59; H-14B, 2,30; H-16; 1,88 (s, 1H); H-17A; 4,04 ; H- 17B , 3,77 [ H-17A , 4,04; 17B , 4,74]; H-18, 1,34 (d, 6,15,3H); H-19; 4,04 (m, 1H); H-21, 6,00 (s, 1H); CH<sub>3</sub>CO, 2,35 (s, 3H); CH<sub>3</sub> N- 2,19 (s, 3H).
- RMN<sup>1</sup> H , 500 MHz, CDCl<sub>3</sub> ,  $\delta$  , Hz,TMS=0, 308<sup>0</sup> K- H-5A, 2,82, H-5B, 2,61, H-6A, 2,97; H-6B, 1,71; H-9, 7,24; H-10, 7,02; H-11, 7,20; H-12, 7,54; H-14 A, 2, 60; H-14B, 2,25; H-15, 2,58, H-16, 1,85, H-17A , 4,06; H-17B, 3,71; H-18, 1,34; H-19, 4,00 ; H-21, 5.98; CH<sub>3</sub>CO, 2,37; CH<sub>3</sub> N, 2.20.
- RMN<sup>13</sup> C, 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , TMS=0 , 298<sup>0</sup> K, rot a[rot b] - C-2, 63,25 [C-2, 62,46]; C-3, 193,83; C-5, 53,45; C-6, 41,01; C-7, 57,53; C-8, 133,19; C-9, 125,15 [C-9, 126,36] ; C-10, 124,83 [C-10, 124,52]; C-11, 128,19 [C-11, 127,87]; C-12, 119,14 [C-12, 116,86]; C-13, 141,45; C-14, 40,60; C-15, 41,12; C-16, 41,73;

C-17, 68,50 [C-1769,52]; C-18, 16,90; C-19, 77,32; C-20, 136,68 [C-20, 137,02]; C-21,134,20;  $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$ , 23,09 [ $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$  23,55];  $\underline{\text{CH}_3\text{N}}$ , 42,39 [ $\underline{\text{CH}_3\text{N}}$  42,73];  $\text{CH}_3\text{CO}$  169,60.

- RMN  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , TMS=0, 288 $^\circ$  K, rot a [rot b]- 63,23 [C-2, 62,36]; C-3, 193,48 [C-3, 193,1]; C-5, 53,36; C-6, 40,97; C-7, 57,45 [C-7, 56,21], C-8-133,18; C-9, 125,21 [C-9, 126,37]; C-10, 124,52; C-11, 127,26 [C-11, 127,97]; C-12, 119,16 [C-12, 116,86]; C-13, 141,35 [C-13, 141,17]; C-14, 40,52, C-15, 41,59; C-16; 40,97; C-17, 68,47 [C-17, 69,54]; C-18, 16,96; C-19, 76,71; C-20, 136,55 [136,91]); C-21, 134,14 [C-21, 135,44];  $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$ , 23,23 [ $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$ , 23,81]  $\underline{\text{CH}_3\text{N}}$ , 42,36 [ $\underline{\text{CH}_3\text{N}}$ , 42,60],  $\text{CH}_3\text{CO}$ , 169,74 [ $\text{CH}_3\text{CO}$  169,89].
- RMN  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , TMS=0, 308 $^\circ$  K - C-2, 63,17; C-3,193,1; C-5, 53,58; C-6, 40,68; C-7,57,20; C-8-133,96; C-9, 125,40; C-10, 124,63; C-11, 127,99; C-12, 118,20; C-13, 141,49; C-14, 40,68; C-15, 41,26; C-16, 41,26; C-17, 68,78; C-18, 16,75; C-19, 76,69; C-20, 136,93; C-21,133,96;  $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$ , 23,03;  $\underline{\text{CH}_3\text{N}}$ , 42,39  $\text{CH}_3\text{CO}$ - 169,53.

#### 10.7. SM3 - 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina

- Fórmula Molecular:  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$ .
- Aspecto: Sólido branco
- Solubilidade : Clorofórmio, metanol
- Ponto de Fusão : 220-222 $^\circ$  C (MeOH)

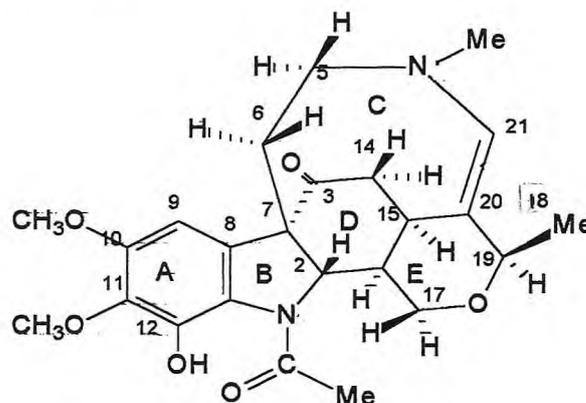


- I.V. (KBr),  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ - 3500, 2950, 2925, 2865, 1665,1630, 1605, 1565,1500, 1460, 1415,1385, 1335,1258, 1230, 1212, 1148, 1122, 1100, 1089, 1079, 954,874, 818, 800, 740, 705.
- RMN $^1\text{H}$ , 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , Hz TMS=0 - H-2, 4,63 (d, 10,7,1H); H-5A, 2,72 (m, 1H); H-5B, 2,65 (m, 1H); H-6A,3,00 (m, 1H); H-6B, 1,75 (m, 1H); H-9, 6,96 (d, 8,3, 1H); H-10, 6,69 (d, 8,3, 1H); H-14A, 2,56 (d, 17,5,1H); H-14B, 2,23 (d, 17,5, 1H); H-15, 2,65 (m,1H); H-16, 1,90 (d, 10,7,1H); H-17A, 4,00 (d, 12,4, 1H); H-17B, 3,80 (d, 12,4,1H); H-18, 1,34 (d, 6,1,1H); H-19, 4,01 (m, 1H);  $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$ , 2,38 (s, 3H),  $\underline{\text{CH}_3\text{N}}$ , 2,21 (s, 3H);  $\underline{\text{CH}_3\text{O}}$ , 3,85 (s, 3H); 10,05 (s, 1H).

- RMN <sup>13</sup> C, 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, TMS=0- C-2, 65,0; C-3, 192,0; C-5, 53,0; C-6, 40,0; C-7, C-8, 137,0; C-9, 116,0; C-10, 110,0; C-11, 150,5; C-12, 127,0; C-13, 129,0; C-14, 40,0; C-15,41,0; C-16,41,0; C-17, 68,0; C-18, 16,5; C-19, 77,0; C-20, 137,0; C-21, 134,5; CH<sub>3</sub>CO, 23,0, CH<sub>3</sub>CO-172,0, CH<sub>3</sub>N, 42,5; CH<sub>3</sub>O-56,5.

#### 10.8. SMR1- 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina

- Fórmula Molecular: C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.
- Aspecto: Sólido branco
- Solubilidade : Clorofórmio, metanol
- Ponto de fusão : 260-262 ° C (AcOEt).



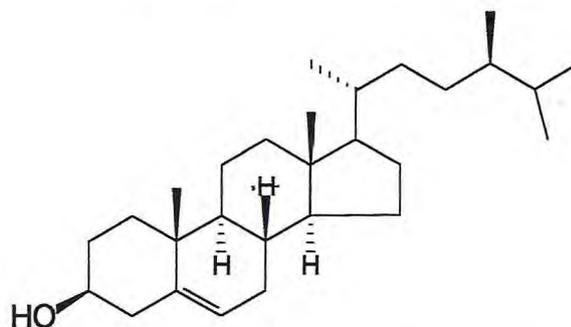
- I.V. ( KBr ),  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)-3460, 2960, 2920, 2880, 2860, 1660, 1630, 1600,1590, 1360, 1320, 1250, 1120, 1090, 1060, 1040, 950, 860, 760.
- E.M. EI, 70 eV, m/z(%)- [M]<sup>+</sup> 442, (100) , 427 (10) 262( 12), 220(60), 204(6), 194 (9), 180 (6), 166 (10), 152 (8), 136 (18), 110 (11).
- RMN<sup>1</sup> H , 500 MHz, CDCl<sub>3</sub> , δ , Hz - TMS=0- H-2; 4,58 (d, 10,50,1H); H-5A; 2,74 (m, 1H) H-5 B, 2,64 (m,1H); H-6 A, 3,00 (m,1H ); H-6B, 1,73 (dd, 13,9; 6,61,1H), H-9, 6,68 (s,1H); H-14 A, 2,54 ( bd, 17,3 ,1H), H-14 B- 2,25 (dd, 17,3 ; 5,30,1H),H-15- 2,66 (m,1H) H-16- 1,93 (bd, 10,50,1H); H-17A, 3,98 (bd, 12,50,1H); H-17B, 3,76 (dd, 12,5 ; 1,9,1H); H-18, 1,31 (d, 6,3, 1H); H-19, 4,02 (q, 6,3 1H); H-21, 6,0 (s, 1H ); CH<sub>3</sub>CO, 2,37 (s,3H); CH<sub>3</sub>N, 2,18 ( s, 3H); CH<sub>3</sub>O 3,84 (s, 3H); CH<sub>3</sub>O 3,85 (s, 3 H); OH 10,32 (s, 1H).
- RMN <sup>13</sup> C, 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, TMS=0- C-2, 65,09; C-3, 192,53; C-5, 53,42; C-6, 40,28; C-7, 57,56, C-8, 128,99; C-9, 100,28; C-10, 152,69; C-11, 138,79; C-12, 142,02; C-13; 123,76; C-14, 40,37; C-15, 41,03; C-16, 40,92; C-17, 68,36; C-18, 16,77; C-19, 77,17; C-20, 136,76; C-21, 134, 20; CH<sub>3</sub>CO , 171,72 ; CH<sub>3</sub>CO, 22,40; CH<sub>3</sub>N, 42,29; CH<sub>3</sub>O, 56,25; CH<sub>3</sub>O, 60,70.

- Curva de Dicroísmo Circular :  $[\theta]_{277\text{nm}} + 14046$
- Rotação óptica específica :  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 5,8$  (c 0.36 ,  $\text{CHCl}_3$ )

#### 10.9. SMC1 - (mistura de Campesterol, estigmasterol, $\beta$ -sitosterol)

- I.V. (KBr),  $\nu \text{ cm}^{-1}$ - 3500, 2940, 2860, 1630, 1450, 1430, 1370, 1050, 970.
- Aspecto: Sólido branco

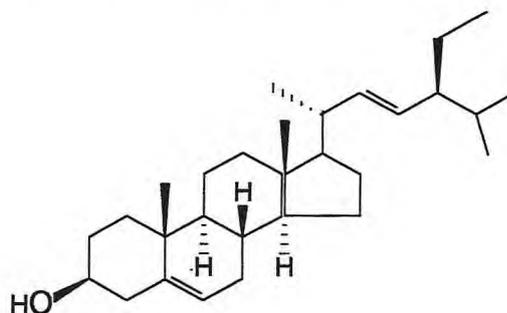
- Solubilidade : Clorofórmio
- Ponto de Fusão :  $135^{\circ}$ - $140^{\circ}$  C
- SMC1.1 - Campesterol
- Fórmula Molecular:  $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$



- E.M. EI, 70 eV,  $m/z(\%)$ - $\text{M}^+$  400(100), 367 (46), 315 (39), 289 (52), 273 (23), 255 (40), 213 (47), 159 (42), 145 (62)

- 10.9.2- SMC1.2 - Estigmasterol

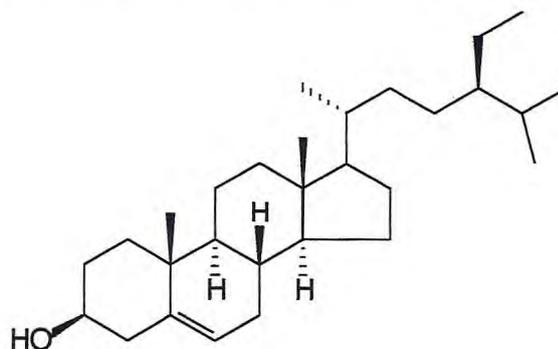
- Fórmula Molecular:  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$



- E.M. EI, 70 eV,  $m/z(\%)$ - $\text{M}^+$  412 (83), 394 (45), 300 (38), 273 (18), 271 (47), 255 (93), 213 (29), 159 (57).

- 10.9.3-SMC1.3 - Sitosterol

- Fórmula Molecular:  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$



- E.M. EI, 70 eV,  $m/z(\%)$ - $\text{M}^+$  414, 396 (100), 381(39), 329 (32), 303 (41), 275 (23), 273 (20), 255 (40), 231 (20), 213 (46).

## Conclusões

Nesta tese, além do levantamento bibliográfico sobre aspectos fitogeográficos, botânicos, etnofarmacológicos, químicos e farmacológicos do gênero *Strychnos* na América do Sul, foi elaborado um banco de dados sobre as informações acumuladas, realizado um estudo quimiosistemático sobre as seções, e desenvolvido estudos fitoquímicos sobre as espécies *S.cogens*, *S.guianensis* e *S.mattogrossensis*.

Através do programa STRYC, o Banco de Dados facilitará o controle de informações sobre as espécies de *Strychnos* americanas, condensando o acervo disperso na literatura, herbários e fontes populares.

Independente da necessidade de mais estudos para definir com maior clareza as relações quimiotaxonômicas das seções de *Strychnos*, os estudos quimiosistemáticos revelaram que os alcalóides que predominam na seção Rouhamon estão mais próximos ao precursor biogenético e os de Breviflorae mais afastados, enquanto a seção *Strychnos* situa-se em posição intermediária, destacando-se, porém, pela maior produção de alcalóides bis-indólicos.

O estudo fitoquímico das espécies *S.cogens* e *S.mattogrossensis* levou à obtenção do alcalóide longicaudatina (0,0008%) das cascas da raiz da primeira e dos alcalóides estricnobrasilina (0,002%), 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina (0,0007%) e 12-hidroxi-10,11-dimetoxiestricnobrasilina (0,003%), respectivamente do caule e casca do caule da segunda. Da espécie *S.guianensis* (raiz) foram isoladas as lignanas (-) olivil (0,005%), (+) cicloolivil (0,003%) e carbonato de cicloolivil (0,005%), sendo detectado o alcalóide harmano. A partir de *S.cogens* foi obtido aproximadamente 1% do triterpeno lupeol, enquanto *S.mattogrossensis* forneceu 0,01% de uma mistura de esteróides, constituída principalmente de estigmasterol (78,4%) seguida de campesterol (14,7%) e sitosterol (6,9%).

As espécies *S.guianensis* (raiz) e *S.mattogrossensis* (caule) apresentaram, respectivamente 0,9% e 0,7% de material graxo, sendo o primeiro constituído de ácido palmítico (43,85%), ácido oleico (33,33%), ácido esteárico (6,14%) e ácido

nonadecanóico (7,01%) e o último, de ácido palmítico (27,08%), ácido linoleico (5,64%), ácido oleico (14,67%), ácido esteárico (7,7%) e ácido behênico (5,86 %).

As análises envolveram marcha química convencional para obtenção de alcalóides, técnicas cromatográficas e espectrométricas modernas (ESI, HMQC, HMBC, etc). Com exceção de *S.mattogrossensis*, as espécies estudadas apresentaram teste positivo para alcalóides quaternários

Foram realizados espectros de RMN da estricnobraisina em três temperaturas, registrando-se os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  do rotâmero minoritário, a  $298^{\circ}\text{K}$  (temperatura ambiente) e a  $288^{\circ}\text{K}$ , sendo que a  $308^{\circ}\text{K}$ , observou-se a coalescência de sinais dos dois rotâmeros. O conhecimento da estrutura dos seus rotâmeros é importante para elucidação do mecanismo de sua atividade biológica e obtenção de derivados.

A 12-hidroxi- 10,11-dimetoxiestricnobraisina e carbonato de cicloolivil são inéditos como produtos naturais, embora o último possa ter sido formado durante a marcha analítica utilizada

A estricnobraisina reverte a resistência do *Plasmodium falciparum* à cloroquina vislumbrando-se a possibilidade de uso como coadjuvante em tratamentos antipalúdicos

O carbonato de cicloolivil apresentou atividade inibitória de neuroblastoma em camundongos não significativa, em testes preliminares realizados nos laboratórios da FIOCRUZ, do Rio de Janeiro.

A longicaudatina, tem efeito biológico análogo à reserpina, ou seja hipotensivo e tranquilizante. Para os esteróides (sitosterol e estigmasterol) e o triterpeno lupeol, comumente encontrados em plantas, destacam-se, respectivamente, ações analgésica e imunossupressora. Olivil e cicloolivil apresentam ação antioxidante, geralmente associada à atividade anticâncer.

Os estudos fitoquímicos confirmaram o gênero *Strychnos* como fonte promissora de alcalóides, revelando-o ainda como uma nova fonte de lignanas.

A potencialidade farmacológica dos lignóides e o grande rendimento de lupeol (~1,00%) obtido do extrato da casca da raiz de *Strychnos cogens*, justificam uma investigação mais intensiva do conteúdo não alcaloídico destas plantas, quiçá, responsável por muitas das virtudes atribuídas ao táxon, pela medicina popular.

## Referências Bibliográficas

1. Gottlieb, O.; Kaplan, M.A.C.; Borin, M.R., de M.B. 1996. **Biodiversidade. Um enfoque químico-biológico.** Rio de Janeiro:Editora UFRJ, 267p.
2. Strobel G. A. e Long, D. M. 1998 .Endophytic microbes embody pharmaceutical potential. **ASM News**, 64,5,263-8.
3. Farnsworth, N.R. e Kaas, C.J. 1981. An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor-inhibiting plants. **J. Ethnopharmacol.** 3: 85-99.
4. Leclercq, J.; Pauw-Gillet; Bassleer, R.; e Angenot, L. 1986. Screening of citotoxic activities of *Strychnos* alkaloids (Methods and Results). **J. Ethnopharmacol.** 15, 305-316.
5. Rasoanaivo, P.; Ratsimamanga-Urverg, S.; Milijaona, R.; Rafatro, H.; Rakoto-Ratsimamanga, A.; Galeffi, C.; Nicoletti, M. 1994. *In vitro* and *in vivo* chloroquine-potentiating action of *Strychnos myrtoides* alkaloides against chloroquine-resistant strains of *Plasmodium malaria*. **Planta Med.** 60,13-16
6. Gottlieb, O. R. 1982. Ethnopharmacology *versus* chemosystematics in the search for biologically active principles in plants. **J.Ethnopharmacol.** 6, 227-38.
7. Angenot, L.; Belem-Pinheiro, M.L.; Rocha , A. I. da; Quetin-Leclercq, J.; Warin, R. 1990. An indolinic cryptoalkaloid from *Strychnos mattogrossensis* **Phytochemistry**, 29, 8, 379-381.
8. Quetin-Leclercq, J; Llabres, G.; Warin, R.; Belém-Pinheiro ,M.L.; Mavar-Manga, H.; Angenot, L. 1995. Guianensine, a zwitterionic alkaloid from *Strychnos guianensis*. **Phytochemistry** , 40, 5, 1557-1560.
9. Mavar-Manga , H.; Quetin-Leclercq, J.; Llabres, G.; Belém-Pinheiro, M.L.; Da Rocha, A. F. I.; Angenot, L. 1996. 9-methoxygeissoschizol, an alkaloid from bark of *Strychnos guianensis*. **Phytochemistry**, 43, 5, 1125-1127.
10. Penelle, J.; Tits, M.; Christen, P.; Brandt, V.; Frederich, M.; Angenot L. 1999 Guiaflavine, a new bisindole quaternary alkaloid from the stem bark of *Strychnos guianensis*. **J. Nat. Prod.** 62, 6, 898-900.

11. Massiot, G.; Zéches, M.; Mirand, C.; Le Men-Olivier, L.; Delaude, C.; Baser, K., Bavovada, R.; Bisset, N. G.; Hylands, P.J.; Strombom, J.; Verpoorte, R. 1983. Occurrence of Longicaudatine, a new type of bisindole base and bisnor-C-alkaloid H in *Strychnos* species. **J.Org.Chem.** 48, 1869-72.
12. Lee, S.K.; Mbwambo Z. H.; Chung, H.; Luyengi L.; Gamez E.J.; Mehta, R.G.; Kimghom, A. D.; Pezzuto, J.M. 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. **Comb. Chem. High Throughput Screen**, 1, 35-46.
13. Chechinel Filho, V. e Yunes, R.A. 1998. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, 21, 1, 99-103.
14. Olim, J.A. C.V. de; Olea, R. S. G.; Guerra, R. N. M, Silveira, M. da S. 1999. Atividade imunossupressora do triterpeno lupeol e derivados. **Livro de Resumos da 22<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química** PN-090.
15. Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants.** Columbia University Press. New York, 1267 p.
16. Ohiri, F. C.; Verpoort, R.; Svendsen, A. B. 1983. The african *Strychnos* species and their alkaloids: a review. **J.Ethnopharmacol.** 9, 167-223.
17. Ducke, A. 1695. O gênero *Strychnos* no Brasil. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Norte**, 30, 1-64.
18. Bisset N.G. 1980. Alkaloids of Loganiaceae. **In: Indole and biogenetically related alkaloids.** Editado por Phillipson, J.D. e Zenk, M.N. Academic Press. New York. p.27-61.
19. Krukoff, B. A. 1972. American species of *Strychnos*, **Lloydia**, 35, 3 , 193-271.
20. Krukoff, B. A. 1965 Supplementary notes on the american species of *Strychnos* VII. **Memoirs of the New York Botanic Garden** 12, 2, 1-94.
21. Quetin-Leclercq, J.; Angenot L.; Bisset, N. G. 1990. South american *Strychnos* species. Ethnobotany (Except curare) and alkaloid screening. **J.Ethnopharmacol.** 28, 1-52.
22. Krukoff, B.A. 1972. Supplementary notes on the american species of *Strychnos* XII, **Phytology** 25, 1, 49-54.
23. Krukoff, B.A. 1973. Supplementary notes on the american species of *Strychnos* XIII, **Phytology**, 27, 2, 97-107.

24. Krukoff, B.A. 1976. Supplementary notes on the american species of *Strychnos* XIV, **Phytology**, 33, 5, 305-322.
25. Krukoff, B.A. 1976. Supplementary notes on the american species of *Strychnos* XVII, **Phytology**, 41, 4, 201-210.
26. Krukoff, B.A. 1980. Supplementary notes on the american species of *Strychnos* XIX, **Phytology**, 46, 2, 65-74.
27. Krukoff, B.A. 1982. Supplementary notes on the american species of *Strychnos* XXI, **Phytology**, 51, 7, 433-9.
28. Barbosa Rodrigues, J. 1903. **L' uiraêry ou curare**. Veuve Mormon, Bruxelles, 180p.
29. Biocca, E. 1954. Pesquisa sobre o método de preparação do curare pelos índios. **Revista do Museu Paulista**, N. S., 8, 164-226.
30. Vellard, J. 1959. La preparation des curares indiens: legendes et realités. **In: Curare and Curare-like agents**. Editado por Bovet, D., Bovet-Nitti, F. e Marini-Bettolo, G.B., Elsevier Publishing Co. Amsterdam p.3-33.
31. Grenand, P.; Moretti, C. E.; Jacquemin, H. 1987. **Pharmacopées traditionnelles en Guyane. Creoles, Palikur, Wayapi**. Editions l' Orstom. Paris, 569 p.
32. Angenot, L., 1978. Recherches contemporaines sur les poisons de fleches. **Annales Medicales de Nancy**, 307-312.
33. Sakata, K.; Kawazu, K.; Mitsui, T., 1971. Structure and stereochemistry of huratoxin, a piscidal constituent of *Hura crepitans*. **Tetrahedron Lett.** 16, 1, 141-44.
34. Bisset, N.G. 1992. War and hunting poisons of the New World. Part.1. Notes on the early history of curare. **J.Ethnopharmacol.** 361-26.
35. Burke, J.C. 1968. Three decades of natural products. **Ciência e Cultura**, 20, 1, 51-7.
36. Bisset, N.G. 1988. Curare, Botany, Chemistry and Pharmacology. **Acta Amazonica**, 18, 1/2 Suplemento.
37. Ribeiro, B.G. e Melo Carvalho, J.C. de. 1959. Curare: a weapon for hunting and warfare. **In: Curare and Curare-like agents**. Editado por Bovet, D., Bovet-Nitti, F.; Marini-Bettolo, G.B. Elsevier Publishing Co. Amsterdam p.34-58.
38. Pimenta, A. 1959. The alkaloids of the brazilian species of *Strychnos*. **In: Curare and Curare-like agents**. Editado por Bovet, D.; Bovet-Nitti, F.; Marini-Bettolo, G.B. Elsevier Publishing Co. Amsterdam. p.149-52.

39. Bisset, N.G. 1974. The asian species of *Strychnos*. Part III. The ethnobotany. **Lloydia** 37, 1, 1-114.
40. Angenot, L. 1971. De l' existence en Afrique Centrale d' un poison de fleche curarisant africain, issu du *Strychnos usambarensis* Gilg. **Ann. Pharm. Franç.** 29, 353-64.
41. Prance, G.T. 1972. An ethnobotanical comparison of four tribes of amazonian indians. **Acta Amazonica**, 2, 2, 7-27.
42. Tits, M. 1982. Contribution à l' étude du *Strychnos* variables, plante toxique du Bas Zaïre: isolement et determination de structure de nouveaux alcaloïdes. **Tese de Doutoramento**. Universidade de Liège. Bélgica.
43. Corrêa, P. 1952. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das cultivadas exóticas. Vol. III.** Ministério da Agricultura. Rio de Janeiro. 646p.
44. Marini-Bettolo, G. B. e Bisset, N.G. 1972. Chemical studies on the alkaloids of american *Strychnos* species. **Lloydia**, 35, 3, 195-202.
45. Battersby, A. e Hodson, H.F. 1960. Alkaloids of calabash-curare and *Strychnos* species. **Quarterly reviews**, 14, 77-103.
46. Winstersteiner, O. e Ductcher, J.D. 1943. Curare alkaloids from *Chondodendron tomentosum*. **Science**, 97, 267.
47. Bovet, D. 1959. Rapports entre constitution chimique et activité pharmacodinamique des quelques series de curare de synthese. **In: Curare and curare-like agents**. Editado por Bovet, D.; Bovet-Nitti, F.; Marini-Bettolo, G.B., Elsevier Publishing, Co. Amsterdam. p. 3-33.
48. Coune, C. 1980. Contribution a l' étude du *S.gossweileri* du Zaïre. Isolement et determination de structure de nouveaux alcaloïdes. **Tese de Doutoramento**. Universidade de Liège. Bélgica.
49. Le Men, J. e Taylor, W. I., 1965. A uniforme numbering system for indole alkaloids. **Experientia**, 508-10.
50. Marini-Bettolo, G.B.; Berredo-Carreiro, P.; Casinovi, G.C. 1957. Gli alcaloidi della *Strychnos solimoesana*. **Rend. Ist. Super. Sanità**, 20, 342-57.
51. Bachli, E., Vamvacas, C.; Schmid, H.; Karrer P. 1957. Uber die alkaloids aus der rinde von *Strychnos melinoniana* Baillon, **Helv. Chim. Acta**, 40, 1167-87.

52. Marini-Bettolo, G.B.; Messina, I.; Nicoletti, M.; Patamia, M.; Galeffi. 1980. The occurrence of akagerine in South american *Strychnos*. **J.Nat.Prod.** 43 (6), 717-20.
53. Schlittler, E. e Hohl, J. 1952. Uber die alkaloids aus *Strychnos melinoniana* Baillon. **Helv.Chim. Acta**, 35, 29-45.
54. Marini-Bettolo, G.B.; Galeffi, C.; Nicoletti, M.; Messina, J. 1978. Strychnorubigine, strychnohirsutine, tetrahydrostrychnohirsutine and methoxystrychnofendlerine: New alkaloids of American *Strychnos*. **Atti dell' Accad. Naz dei Lincei C1. Rend. della clas.[ viii] Sci.Fis.Mat. Nat.** 65 293-6.
55. Asmis, H.; Schmid, H.; Karrer, P. 1954. Uber alkaloids aus einer *Strychnos toxifera* Rinde aus Venezuela. **Helv. Chim. Acta**. 37, 1983-92.
56. Bovet, D.; Ducke, A.; Adank, K.; Marini-Bettolo, G.B. 1954. Ricerche sugli alcaloidi curazzanti di varie specie di *Strychnos* del Brasile. Nota II. Studi preliminari su sette nuove specie di *Strychnos*. **Gazz.Chim.Ital**, 84, 1141-46.
57. Iorio, M.A.; Corvillon, O.; Magalhães, A., H. e Marini-Bettolo, G.B. 1957. Ricerche sugli alcaloidi curazzanti di varie specie di *Strychnos* del Brasile. Nota VIII. Gli alcaloidi della *S. macrophyla* Barb.R. **Rendconti dell' Istituto Superiore di Sanità** 20, 334-41.
58. Marini-Bettolo, G. B.; Jorio, M.A; Ducke, A.; Bovet, D. 1954. Ricerche sugli alcaloidi curarizzanti di varie s'pecie di *Strychnos* del Brasile. Nota V. Studi cromatografici su carta degli alcaloidi quaternari della *S. guianensis* (Aubl). Mart. *S. divaricans* Ducke e *S. mitscherlichii* Rich. Schomb. **Gazz. Chim. Ital.** 84, 1161-70.
59. Penna, A.; Jorio, M. A.; Chiavarelli, S.; Marini-Bettolo, G.B. 1957. Nota 10. Gli alcaloidi della *Strychnos subcordata* Spruce. **Gazz.Chim. Ital.** 87, 1163-73.
60. Marini-Bettolo, G.B.; Delle Monache F. 1973. The occurrence of nordihydrofluocurarine in *Strychnos amazonica* Kruk. and *Strychnos froesii*. Ducke. XXV. On the alkaloids of *Strychnos* XXV **Gazz.Chim.Ital.** 103, 543-9.
61. Pellicciari, R.; Delle Monache, F.; Reyes, N.L.; Casinovi, C. G.; Marini-Bettolo, G. B. 1966. Ricerche sugli alcaloidi delle *Strychnos*. Nota XV. Gli alcaloidi della *Strychnos panamensis* Seem. **Ann. Ist. Super. Sanità**. 2, 411-13.
62. Battersby, A. R.; Binks, R.; Hodson, H. F.; Yeowell, D. A. 1960. Alkaloids of calabash-curare and *Strychnos* species Part.II. Isolation of new alkaloids. **J.Chem. Soc.** 1848-54.

63. Battersby, A. R. e Yeowell, D. A. 1964 .Alkaloids of calabash-curare and *Strychnos* species .Part.III.Structure and absolute stereochemistry of macusine-A, macusine-B and macusine-C. **J.Chem. Soc.** 4419-27.
64. Galeffi C., Delle Monache, E.M., Marini- Bettolo, G. B.1973. Gli alcaloidi di *Strychnos amazonica* Krukoff e di *Strychnos brachiata* Ruiz & Pavon XXVIII- Sugli alcaloidi di *Strychnos*. **Annali di Chimica**, 63, 849-53.
65. Marini-Bettolo, G. B.; Giuffra, S.E.; Galeffi, C.; Delle-Monache, E.M. 1973. Alkaloids of *Strychnos medeola* Sagot ex Progel. Structure and configuration of normacusine B, by spectral data XXVI on alkaloids of *Strychnos* .**Gazz. Chim. Ital.** 103, 591-7
66. Marini-Bettolo, G. B.; Galeffi, C.; Nicoletti, M.; Messana I. 1980. On the alkaloids of *Strychnos* .Part XXXIII. Alkaloids of *Strychnos rubiginosa*. **Phytochemistry**, 19 (5), 992-4.
- 67 Adank, K.; Bovet, D.; Ducke, A.; Marini-Bettolo. 1953. Ricerche sugli alcaloidi curarizanti di varie specie di *Strychnos* del Brasile. Gli alcaloidi della *Strychnos trinervis* (Vel) Mart. Nota 1. **Gazz.Chim. Ital.** 83, 966-82.
68. Mukherjee, R.; Silva, T. M. S. da; Guimarães, J. B. L.; Oliveira, E. de J.; Keifer, P. A.; Shoolery, J. N. 1997. Tertiary alkaloid fraction of *Strychnos atlantica*: confirmation of the identity and structures of indole alkaloids by high field nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Phytochemical Analysis**, 8, 115- 9.
69. Forgacs, P.; Jehanno, A.; Provost, J.; Thal, C.; Guilhem, J.; Pascard, C.; Moretti, C. 1986. Indole alkaloid from *Strychnos erichsonii*. **Phytochemistry** 25 ,4, 969-71.
70. Quetin-Leclercq, J. Warin,R.,Bisset, N.G.;Angenot, L.1989. Venecurine a indole alkaloid from curare.. **Phytochemistry**, 28,8, 2221-3.
- 71 Mukherjee, R.; Melo, M.F.F.; Santos, C.A. de M.; Guitet, E.; Das, B. C. 1990. Trinervine, a new indole alkaloid from *Strychnos trinervis*. **Heterocycles**, 31, 10, 1819-22.
72. Silva, B. A.; Araújo Filho, A. P. de; Mukherjee, R.; Chiappeta, A. de A.1993. Bisnordihydrotoxiferine and vellosimine from *Strychnos divaricans* : root: spamolitic properties of bisnordihydrotoxiferine. **Phytother. Res.** 7, 419-24.
73. Borris, R. P., Guggisberg, A.; Hesse, M. 1984.The structure of melinonine-E, a quaternary indole alkaloid from *Strychnos melinoniana* Baillon. **Helv.Chim.Acta** 67, 455-60.

74. Galeffi, C. e Marini-Bettolo, G. B. 1981. On the alkaloids of *Strychnos* - XXXVI. The alkaloids of *Strychnos hirsuta* Spruce ex Betham: Two new  $\beta$ -carboline alkaloids, strychnohirsutine and tetrahydrostrychnohirsutine. **Tetrahedron**, 37,3167-70.
75. Pimenta, A.; Jorio, M. A.; Adank, K.; Marini-Bettolo, G. B. 1954. Ricerchi sugli alcaloidi di varie specie di *Strychnos* de Brasile. Gli alcaloidi della *Strychnos tomentosa* (Benth) della *Strychnos froesii* Ducke e della *Strychnos rubiginosa* D.C., **Gazz. Chim. Ital.** 84, 1147-54.
76. Iwataki, I. e Comin, J. 1971. Studies on argentine plants-XXXI. Alkaloids from *Strychnos brasiliensis*. **Tetrahedron**, 27, 2541-52
77. Marini-Bettolo, G.B.; Messana, J.; Nicoletti, M.; Patamia, M; Galeffi, C. 1982. On the alkaloids of *Strychnos* XXVIII. Alvimine and alviminine from *Strychnos alvimiana* Krukoff & Barneby. **Anales Asoc. Quim. Argentina**, 70, 263-70.
78. Galeffi, C.; Ciasca-Rendina, M.; Delle Monache, E.M; Marini-Bettolo, G.B. 1971. On the alkaloids of *Strychnos* XXIV. The alkaloids from *Strychnos tabascana*. **Farmaco, Ed. Sci.** 26, 1100-14.
79. Galeffi, C.; Lupi, A.; Marini-Bettolo, G.B. 1976. The alkaloids of *Strychnos* XXIX, new indoline alkaloids from *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith, **Gazz.Chim. Ital.** 106, 773.
80. Galeffi, C. e Marini-Bettolo, G.B. 1980. On the alkaloids of *Strychnos* XXXII- The alkaloids of *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith. **Gazz. Chim. Ital.** 110,81- 5.
81. Bader, F.E.; Schlittler, E; Schwarz, H. 1953. Zur konstitution des alkaloids diabolin. **Helv. Chim. Acta** 36, 1256-66.
82. King, H. 1949. Examination of some *Strychnos* specie from British Guyane, characterization of diaboline, an alkaloid of *Strychnos diabolii* Sandw. **J.Chem. Soc.** 955-9.
83. Delle Monache, F.; Corio, E.; Marini-Bettolo, G. B. 1967. Research on the alkaloids of *Strychnos* XVII. The alkaloids of *Strychnos jobertiana* Baill and *Strychnos rondeletiioides* Spruce: the occurrence of a new alkaloid, jobertine (O-acetyl-diaboline B) in *Strychnos jobertiana*. **Ann. Ist. Super. Sanita.** 3, 564-6.
84. Muller, H.; Hesse, M.; Waser, P.; Schmid, H.; Karrer, P. 1965. Alkaloids aus *Strychnos chlorantha* Prog. **Helv. Chim. Acta** 48, 320-7.

85. Delle Monache, F.; Corio, E.; Cartoni, C.R.; Carpi, A.; Marini-Bettolo, G.B. 1970. *Strychnos* alkaloids XX. Alkaloids of *Strychnos castelnaeana*, **Lloydia**, 33, 3, 279-83.
86. Nicoletti, M.; Goulart, M.O. F.; de Lima, R.A.; Goulart, A. E.; Delle Monache, F.; Marini-Bettolo, G. B. 1984. Flavonoids and alkaloids from *Strychnos pseudoquina*. **J. Nat. Prod.**, 47,6, 953-7.
87. Marini-Bettolo, G.B.; Delle Monache, E.M.; Erazoguiera, S.; Gleffi, C. 1971. A new alkaloid of *Strychnos romeu-belenii* Krukoff & Barneby. **Gazz.Chim. Ital.** 101, 971.
88. Marini-Bettolo, G.B.; Ciasca, M.; Galeffi, C.; Bisset, N.G.; Krukoff, B.A. 1972. The occurrence of strychnine and brucine in a new American species of *Strychnos*. **Phytochemistry**, 11, 381-4.
89. Asmis, H.; Waser, P.; Schmid, H.; Karrer, P. 1955. Zur Kenntnis der Caracurine des Nord-C-dihydrotoxiferins und C-dihydrotoxiferins. **Helv.Chim. Acta**, 38, 1661-8
90. Delle Monache, F.; Aldo, P. F.; Marini-Bettolo, G. B. 1969. Occurrence of nordihydrotoxiferine in *Strychnos pseudoquina*. **Tetrahedron Lett.** 25, 2009-10.
91. Mukherjee, R.; Silva, B. A. da; Das, B. C.; Keifer, P. A.; Shoolery, J. N. 1991. Structure and stereochemistry of divaricine, a new bisindole alkaloid from *Strychnos divaricans* Ducke. **Heterocycles**, 32,5, 985-90
92. King, H. 1949. Some alkaloids of *Strychnos toxifera* R. Schomb. **J.Chem. Soc.** 3263-71.
93. Mukherjee, R.; Das, B. C.; Keifer, P.; Shoolery, J. N. 1994. Structure and stereochemistry of divarine another new bisindole alkaloid from *Strychnos divaricans* Ducke. **Heterocycles**, 38, 9, 1965-70.
94. Pelletier, J. e Caventou, J. B., 1819 *apud* Bisset, N. G. 1976. Asian species of *Strychnos*. Part IV. The alkaloids. **Lloydia**, 39,5, 263-325.
95. Woodward, R. B. e Brehm, W.J. 1948. The structure of strychnine. Formulation of the neo base. **J. Am. Chem. Soc.** 70, 6, 2107-15.
96. Gilman, A. G.; Goodman, L. S.; Rall, T.W.; Murad, F. 1965 **Pharmacological basis of therapeutic**, 7 th Ed. Macmillan Publishing Company, New York. 1195p.

97. Bassleer, R.; Clermont, D.; Marnette, J. M.; Caprasse, M.; Tits, M.; Angenot, L. 1985. Effets de la dihydroflavopereirinine et de la sempervirine (alcalides dérivés de la carboline) sur des cellules cancéreuses en culture. **Ann. Pharm. Franç.** 43, 1, 83- 8.
98. Angenot, L. 1989. Rapport-sur les activités récemment développées dans la coopération entre le de Phytochimie du Prof. A. F. Imbiriba da Rocha (Universidade do Amazonas -Manaus) et le laboratoire de Pharmacognosie du Prof.L. Angenot (université de Liège) sous les auspices du FNRS et du CNPq.
99. Frederich M.; Titis, M.; Hayette, M-P.; Brandt, V.; Penelle, J.; DeMol Llabres, G.; Angenot, L. 1999. 10<sup>1</sup>-Hydroxyusambarensine, a new antimalarial bisindole alkaloid from the roots of *Strychnos usambarensis*. **J. Nat. Prod.** 62, 619-21.
100. Wright, C. W.; Allen, D.; Cai, Y.; Chen, Z.; Phillipson, J. D.; Kirby, G. C.; Warhurst, D. C.; Tits, M.; Angenot, L. 1994. Selective antiprotozoal activity of some *Strychnos* alkaloids. **Phytother. Res.** 8, 3, 149-52.
101. Weeratunga, G.; Gooetileke, A.; Rolfsen W.; Bohlin, L.; Sandberg, F. 1984 **apud** Quetin-Leclercq; Angenot L.; Bisset, N.G. 1990. South american *Strychnos* species. Ethnobotany (Except curare) and alkaloid screening. **J. Ethnopharmacol.** 28, 1-52.
102. Melo, M. de F.F.; Thomas, G.; Mukherjee, R. 1988. Antidiarrhoeal activity of bisnordihydrotoxiferine isolated from the root bark of *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart. (Loganiaceae). **J. Pharm. Pharmacol.** 40, 79-82.
103. Thomas, G ; Melo Diniz M. de F.F; Melo e Mukherjee, R. 1992. Further studies on the antidiarrhoeal activity of bisnordihydrotoxiferine, a tertiary alkaloid in rodents. **Phytother. Res.** 6, 84-8.
104. Udenfriend, S.; Witkop, B.; Redfield, B. G.; Weissbach, H. 1958. Studies with reversible inhibitors of monoamine oxidase: harmaline and related compounds. **Biochemical Pharmacology**, 1, 160-165.
105. Remsen, J.F. e Cerutti, P.A. 1979. Inhibition of DNA -synthesis by harman in human alveolar tumor cells. **Biochemical and Biophysical Research. Communication**, 86, 124-9.
106. Ribeiro, J. E. L. da S.; Hopkins, M. J. G.; Vicentini, A; Sothers, C. A; Costa, M. A da S.; Brito, J. M. de; Souza, M. A., D. de; Martins, L. H. P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P. A. C. L.; Pereira, E. V. C.; Silva, C. F. da, Mesquita, M. R. e Procópio, L. C.,

1999. **Flora da Reserva Ducke. Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central.** INPA-DFID. Manaus 800p.
107. Schripsema, J.; Dagnino, D.; Gosmann, G. 1999. Alcalóides indólicos. **In: Farmacognosia da planta ao medicamento.** Editora da UFSC e Editora da Universidade /UFRGS. Porto Alegre/ Florianópolis. 679-706.
108. Rocha, A. I. da. 1977. Alcalóides indolo-terpenicos como marcadores quimiosistemáticos. **Tese de Doutorado.** Universidade de São Paulo. São Paulo. 162p.
109. Bolzani, V. da S. 1981. Alcalóides indolo-terpenicos como marcadores sistemáticos em angiospermas. **Tese de Doutorado.** Universidade de São Paulo. São Paulo. 386p.
110. Kisakurek, M. V.; Leeuwenberg, A. J. M.; Hesse, M. 1982. A chemotaxonomic investigation of plant families of Apocynaceae, Loganiaceae, and Rubiaceae by their indole alkaloid content. 1982. **In: Alkaloids Chemical and biological perspectives.** Editado por Pelletier, S.W. John Wiley & Sons. New York., v.1.p 211-376.
111. Sporne, K. R. 1980, *apud* Bolzani, V. da S. 1981. Alcalóides indolo-terpenicos como marcadores sistemáticos em angiospermas. **Tese de Doutorado.** Universidade de São Paulo. São Paulo .386p.
112. Romesburg, H. C. 1990. **Cluster Analysis for Researchers.** Krieger Publishing Company. Malabar, Florida, USA. 344p.
113. Patra, A.; Mukhopadhyay, A.; Mitra, A. K. 1981. Carbon-13 resonance assignments of some friedelanes and taraxasteranes. **Org.Mag.Reson.** 17, 3, 166-8.
114. Massiot, G.; Massoussa, B.; Jacquier, M. J.; Thépénier, P.; Le Men-Olivier, Delaude, C.; Verpoorte, R. 1988. Alkaloids from roots of *Strychnos matopensis*. **Phytochemistry**, 27, 10, 3293-3304.
115. McLafferty, F. W. e Turecek, F. 1993. **Interpretation of mass spectra.** 4ª Edição. University Science Books. Sausalito. Califórnia. 371 p.
116. Achenbach, H.; Waibel, R.; Addae-Mensah. 1983. Lignans and other constituents from *Carissa edulis*. **Phytochemistry**, 22, 3, 749-53.
117. Abe, F.; Yamauchi, T.; Wan, A. S. 1989. Cerberalignanas J-N, oligolignanas from *Cerbera mangas*. **Phytochemistry**, 28, 12, 3473-6.

118. Ghogomu-Tih, R.; Bodo, B.; Niasse, B.; Sondengan, B. L. 1985. Isolation and identification of (-) olivil e (+)- cycloolivil from *Stereospermum kunthianum*. **Planta Med.** 464.
119. Agrawal P. K. e Pathak, A. K. 1994. Reference Data Review. Influence of skeletal alteration of lignoids on Carbon-13 NMR chemical shifts. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 32,753-73.
120. Pouchert, C. J. e Behnke, J. 1993. **The Aldrich Library of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  FT NMR Spectra. Edition I.** Aldrich Chemical Co. USA.
121. Colthup, N. B.; Daly, L. H.; Wiberley, S. E. 1964. **Introduction to infrared and Raman spectroscopy.** Academic Press. Nova York e Londres, 511p.
122. Martin, M-T; Frapier, F.; Rasoanaivo, P.; Randrianarivelosia, M. 1996.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral assignment of strychnobrasiline, **Magnetic Resonance in Chemistry**, 34, 489-91.
123. Klyne, W.; Buckingham, J. 1974 in **Atlas of stereochemistry. Absolute Configurations of Organic Molecules.** Chapman and Hall, Londres.
124. Gunther, H. 1994. **NMR spectroscopy. Basic principles, concepts, and applications in chemistry.** 2<sup>a</sup> Edição. John Wiley & Sons. Nova York. 581p.
125. Battersby, A. R.; Burnett, A. R.; Parsons, P. G. 1968. Partial synthesis and isolation of vincoside and isovincoside: biosynthesis of the three major classes of indole alkaloids from carboline system. **Chem Comm.** 1282-4.
126. Stockigt, J. e Zenk, M. H., 1977. Strictosidine (isovincoside): the Key intermediate in the biosynthesis of monoterpene indole alkaloids. **J.C.S. Chem. Comm.** 646-8
127. Stockigt, J. 1979. Enzymatic formation of intermediates in the biosynthesis of ajmalicine: strictosidine and cathenamine, **Phytochemistry**, 18, 965-71.
128. Moreno, P. R. H. 1994. Influence of stress factors on the secondary metabolism in suspension cultured *Catharanthus roseus* cells. **Tese de Doutorado** Universidade de Leiden, 155p.
129. Luijendijk, T.J.C. 1995. Strictosidine glucosidase in indole alkaloid biosynthesis. **Tese de Doutorado.** Universidade de Leiden, 125p.
130. Heimberger S. I. e Scott, A. I. 1973. Biosynthesis of Strychnine. **J. C. S. Chem. Comm.** 217-8.

131. Lewis, N. G.; Kato, M. J.; Lopes N.; Davin, L. B. 1995. Lignans: diversity, Biosynthesis and Function. Ch.13. **In ACS Symp.Ser.** 588,135-67.
132. Michel, S.; Thilequim, F.; Koch, M. 1982. Alcaloides des ecorces de tige de *Strychnos dinklagei*. **J. Nat. Prod.** 489-94.
133. Munier, R. 1953. *apud* Merck. 1971. **Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography.** E. Merck, Darmstadt, Germany, 118 p.
134. Mattos, F. J. A. 1988. **Introdução à fitoquímica experimental.** 2<sup>a</sup> Ed. UFC. Fortaleza, Ceará, 126p.
135. Ugaz, O. L. 1988. **Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales.** Pontificia Universidad Católica del Perú, 213p.