



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Raimundo Regivaldo Gomes do Nascimento**

**Estudo Químico e Biológico de *Margaritopsis carrascoana* Wright  
(Rubiaceae)**

**FORTALEZA**  
**2014**

**Raimundo Regivaldo Gomes do Nascimento**

**Estudo Químico e Biológico de *Margaritopsis carrascoana* Wright  
(Rubiaceae)**

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima

**FORTALEZA**

**2014**


Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia


- 
- N195e Nascimento, Raimundo Regivaldo Gomes do.  
Estudo químico e biológico de *Margaritopsis carrascoana* Wriqth (Rubiaceae) / Raimundo Regivaldo Gomes do Nascimento. – 2014.  
275 f. : il. color., enc. ; 30 cm.†
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2014.  
Área de Concentração: Química Orgânica.  
Orientação: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima.
1. Alcalóides. 2. Flavonóides. 3. Compostos bioativos. 4. Espectroscopia de Ressonância Magnética. I. Título.

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

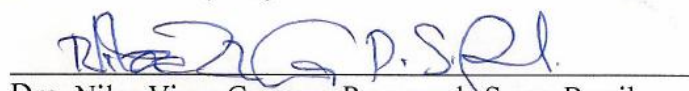
  
**Raimundo Regivaldo Gomes do Nascimento**

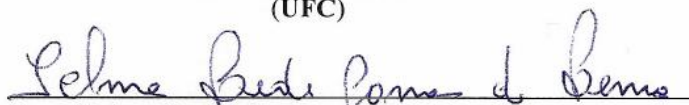
Tese aprovada em: **16/12/2014.**

  
Dra. Mary Anne Sousa Lima  
(Orientadora - UFC)

  
Dr. Kirley Marques Canuto  
(Embrapa/CE)

  
Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago  
(UFC)

  
Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil  
(UFC)

  
Dra. Telma Leda Gomes de Lemos  
(UFC)



*A Deus, pela oportunidade de conviver com  
pessoas que desempenharam papéis  
importantes em minha formação.*

*À minha família, pelo apoio, incentivo e  
confiança.*

*À Evilene, minha parceira e detentora do meu  
amor, carinho e respeito.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e esperança que me tem fornecido frente aos obstáculos diários. Por me levantar e me deixar cair algumas vezes. E, acima de tudo, por ter colocado em meu caminho tantas pessoas solidárias e comprometidas com este trabalho.

Aos meus pais, Francisco do Nascimento e Luiza Gomes do Nascimento, pelo apoio e por todos os ensinamentos indispensáveis para minha vida.

A minha esposa, Maria Evilene de Sousa Abreu, pelo companheirismo, pela paciência, amor e carinho. Por me ajudar a enxergar além das dificuldades, a suportar os fracassos e a celebrar os sucessos, a você Vivi, meu muito obrigado.

Aos meus irmãos Ednaldo, Regineide, Lucineide e Lucileide, pela convivência familiar saudável, incentivo e apoio incondicional durante toda minha jornada em busca do aprender.

À minha orientadora Profa. Mary Anne Sousa Lima pelo voto de confiança, pelo conhecimento transmitido e por todos os momentos de compreensão, dedicação, críticas e sugestões, que foram imprescindíveis para o meu crescimento e aprimoramento desta tese.

Ao Prof. Edilberto Rocha Silveira, pela coleta da planta e a oportunidade de conhecer um pouco mais sobre Ressonância Magnética Nuclear no CENAUREMN. Ao Prof. Elnatan Bezerra de Souza, pela identificação botânica da espécie estudada e ao Prof. Raimundo Braz-Filho, pela valiosa contribuição na elucidação estrutural dos compostos isolados.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Química, de forma especial ao prof. Manoel Andrade Neto, ao qual tenho como um amigo e fonte de inspiração profissional, obrigado pelos ensinamentos e apoio.

Às Profas. Maria Teresa Salles Trevisan, Letícia Veras Lotufo e Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal, pelos testes biológicos.

Aos amigos do Laboratório, Honório, Daniel, Paula, Paulo, Mariano, João Vitor, João Evangelista, Hélio, Henrique, Davi e Thiago, pela convivência saudável e espírito de grupo. Em especial, à Profa. Antonia por ter me acompanhado desde a iniciação científica, contribuindo significativamente para o meu crescimento e amadurecimento na pesquisa.

Agradeço a FUNCAP, CNPq, CAPES, FINEP e PRONEX, pelo suporte financeiro.

Finalmente, sou grato aos funcionários, aos colegas e a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho.

## RESUMO

*Margaritopsis carrascoana* é um pequeno arbusto pertencente à família Rubiaceae e endêmico da flora do Nordeste brasileiro, que cresce em solos arenosos do planalto da Ibiapaba e serra do Araripe - Ceará. A ausência de relatos acerca de estudos fitoquímicos relacionados à espécie, aliada a ocorrência de alcalóides bioativos no gênero, nos motivou ao seu estudo químico. Desta forma, o espécimen vegetal foi coletado na chapada do Araripe, município de Moreilândia-PE. A investigação fitoquímica do extrato etanólico dos talos resultou no isolamento dos alcalóides calicosidina, hodgkinsina, N-8''-formilcalicosidina e N-8''-metil-N-1'-desmetilisocalicosidina, da neolignana álcool 4-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-di-hidro-desidrodiconiferílico, do flavonóide 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil luteolina, dos triterpenos lupeol e o ácido ursólico, e da mistura de esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol, como agliconas e nas formas glicosiladas. A partir do estudo do extrato etanólico das folhas foram isolados os flavonóides 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina, 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] crisoeriol, 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina e 7-O-{ $\alpha$ -L-ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 6) - [ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina. Os alcalóides N-8''-formilcalicosidina e N-8''-metil-N-1'-desmetilisocalicosidina, e os flavonóides 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina e 7-O-{ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina, estão sendo relatados pela primeira vez na literatura, enquanto todas as demais substâncias possuem caráter inédito no gênero *Margaritopsis*. O isolamento dos metabólitos secundários foi conduzido através de técnicas cromatográficas clássicas, incluindo cromatografia de adsorção em gel de sílica, cromatografia por exclusão molecular em Sephadex LH-20, cromatografia de fase reversa (C-18) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a caracterização estrutural foram utilizadas técnicas espectroscópicas utilizando infravermelho, espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear, incluindo técnicas uni (RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135) e bidimensionais (HMBC, HSQC, COSY e NOESY), além de comparação com dados descritos na literatura. Em adição, os flavonóides 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina, 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina, 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina e 7-O-{ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6) - [ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina apresentaram atividade antioxidante maior que os padrões BHT e quercetina, enquanto os extratos etanólicos dos talos e folhas apresentaram atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase. Por outro lado, o alcaloide hodgkinsina apresentou potencial citotóxico frente às células de ovário, glioblastoma e colon. No teste de nocicepção, realizado com o extrato etanólico das folhas e a fração alcalóidica, foram observados resultados positivos para ambas as frações. O extrato etanólico das folhas foi submetido a teste de atividade antiúlcera gástrica, levando a uma redução significativa da área de lesão gástrica induzida pelo etanol em camundongos.

**Palavras chave:** *Margaritopsis carrascoana*, alcalóides pirrolidinoindólicos, flavonóides, dados de RMN, atividades biológicas.

## ABSTRACT

*Margaritopsis carrascoana* is a small shrub belonging to the Rubiaceae family and endemic from northeastern of Brazil flora growing in the sandy soils of the region of Ibiapaba and Araripe plateaus – Ceará state. The absence of reports of phytochemical studies related to this species, combined with occurrence of bioactive alkaloids in the genus, motivated us to perform chemical study. The plant specimen was collected in Araripe plateau, in Moreilândia-PE county. The phytochemical investigation of the ethanolic extract from the stems yielded the alkaloids calycosidine, hodgkinsine, N-8''-formyl-calycosidine and N-8''-methyl-N-1'-desmethylisocalycosidine, besides neolignan dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, the flavonol luteolin 7-O- $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl, the triterpenes lupeol and ursolic acid, and the mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol steroids, as aglycones and glycosylated. From the ethanolic extract of the leaves were isolated the flavonoid luteolin 7-O-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside, chrysoeriol 7-O-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside, luteolin 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl} and luteolin 7-O-{ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl}. The alkaloids N-8''-formyl-calycosidine, N-8''-methyl-N-1'-desmethylisocalycosidine, luteolin 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl} and luteolin 7-O-{ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl}, are being reported for the first time in the literature, and the other secondary metabolites are unprecedented in the genus *Margaritopsis*. The secondary metabolites were isolated using classical chromatography techniques; including adsorption chromatography on silica gel, exclusion chromatography on Sephadex LH-20, reverse phase chromatography (C-18), and high performance liquid chromatography (HPLC). For structural characterization were used infrared spectroscopy, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance techniques including uni ( $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR and DEPT 135) and two-dimensional experiments (HMBC, HSQC, COSY and NOESY), and comparison with the literature data. In addition, the flavonoids flavonol luteolin 7-O- $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl, luteolin 7-O-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside, luteolin 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl} and luteolin 7-O-{ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl, showed antioxidant activity greater than the BHT and quercetin standards, while ethanol extracts of stems and leaves showed inhibitory activity on the acetylcholinesterase enzyme. On the other hand, hodgkinsine showed potent cytotoxic activity against ovary, glioblastoma and colon cancer cells lines. The ethanol extract of the leaves and its alkaloidal fraction were submitted to nociception test and yielded good results. The ethanolic extract of the leaves was subjected to gastric antiulcer activity test, leading to a significant reduction in gastric lesions induced by ethanol in mice.

**Keywords:** *Margaritopsis carrascoana*, pyrrolidinoindoline alkaloids, flavonoids, NMR data, biological activities

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Fotografias de <i>Margaritopsis carrascoana</i> com destaque para folhas e frutos.....	<b>23</b>
<b>Figura 2</b> Formação do núcleo pirroloindólico.....	<b>25</b>
<b>Figura 3</b> Distribuição dos alcalóides de esqueleto pirroloindólico catalogados de fungos, plantas e marinhos.....	<b>26</b>
<b>Figura 4</b> Representação gráfica do número de alcalóides de esqueleto pirroloindólico catalogados de fungos.....	<b>26</b>
<b>Figura 5</b> Alcalóides de esqueleto pirroloindólico isolados de animais marinhos.....	<b>27</b>
<b>Figura 6</b> Distribuição por gênero dos alcalóides de esqueleto pirroloindólico catalogados em plantas.....	<b>27</b>
<b>Figura 7</b> Espécies vegetais que apresentaram alcalóides de esqueleto pirroloindólico.....	<b>28</b>
<b>Figura 8</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-A 2.....	<b>73</b>
<b>Figura 9</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-A 2.1.....	<b>76</b>
<b>Figura 10</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-A 2.4.....	<b>77</b>
<b>Figura 11</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-NBS 2.3.....	<b>81</b>
<b>Figura 12</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-NBS 2.2.....	<b>83</b>
<b>Figura 13</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCFE-NBS 2.3.....	<b>88</b>
<b>Figura 14</b> Cromatograma obtido por CLAE da fração MCFE-NBS 2.2.....	<b>89</b>
<b>Figura 15</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 1.....	<b>98</b>
<b>Figura 16</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 1.....	<b>98</b>
<b>Figura 17</b> Correlações observadas no HMBC para o sistema aromático III de MCT-A 1.....	<b>99</b>
<b>Figura 18</b> Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCT-A 1.....	<b>99</b>
<b>Figura 19</b> Correlações observadas no HMBC para o sistema aromático I e II de MCT-A 1.....	<b>100</b>
<b>Figura 20</b> Acoplamento dos hidrogênios metilênicos observados no HMBC de MCT-A 1.....	<b>100</b>
<b>Figura 21</b> Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 1.....	<b>101</b>
<b>Figura 22</b> Modelos moleculares de MCT-A 1 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY.....	<b>101</b>
<b>Figura 23</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C das estruturas químicas protonada e desprotonada de MCT-A 1.....	<b>103</b>
<b>Figura 24</b> Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 1.....	<b>105</b>
<b>Figura 25</b> Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 1.....	<b>105</b>
<b>Figura 26</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>106</b>
<b>Figura 27</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>106</b>
<b>Figura 28</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>107</b>
<b>Figura 29</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>107</b>
<b>Figura 30</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>108</b>
<b>Figura 31</b> Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>108</b>
<b>Figura 32</b> Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>109</b>
<b>Figura 33</b> Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>109</b>
<b>Figura 34</b> Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>110</b>
<b>Figura 35</b> Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>111</b>
<b>Figura 36</b> Expansões do espectro de RMN-COSY [500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD] de MCT-A 1.....	<b>111</b>
<b>Figura 37</b> Espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1.....	<b>112</b>
<b>Figura 38</b> Expansões do espectro de RMN-NOESY [500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD] de MCT-A 1.....	<b>112</b>
<b>Figura 39</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1 desprotonada.....	<b>113</b>
<b>Figura 40</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1 desprotonada.....	<b>113</b>
<b>Figura 41</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1 desprotonada.....	<b>114</b>

<b>Figura 42</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1 desprotonada.....	<b>114</b>
<b>Figura 43</b> Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 1 desprotonada..	<b>115</b>
<b>Figura 44</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT- A 1 desprotonada	<b>115</b>
<b>Figura 45</b> Correlações observadas para a identificação dos dez carbonos não hidrogenados de MCT-A 2.....	<b>117</b>
<b>Figura 46</b> Correlações que definiram a localização das três metilas e da formamida de MCT-A 2.....	<b>117</b>
<b>Figura 47</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 2.....	<b>118</b>
<b>Figura 48</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 2.....	<b>118</b>
<b>Figura 49</b> Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 2.....	<b>119</b>
<b>Figura 50</b> Modelos moleculares de MCT-A 2 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY.....	<b>120</b>
<b>Figura 51</b> Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 2.....	<b>122</b>
<b>Figura 52</b> Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 2.....	<b>122</b>
<b>Figura 53</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>123</b>
<b>Figura 54</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>123</b>
<b>Figura 55</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>124</b>
<b>Figura 56</b> Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>124</b>
<b>Figura 57</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>125</b>
<b>Figura 58</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>125</b>
<b>Figura 59</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>126</b>
<b>Figura 60</b> Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>126</b>
<b>Figura 61</b> Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>127</b>
<b>Figura 62</b> Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>127</b>
<b>Figura 63</b> Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>128</b>
<b>Figura 64</b> Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>128</b>
<b>Figura 65</b> Espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>129</b>
<b>Figura 66</b> Expansões do espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 2.....	<b>129</b>
<b>Figura 67</b> Correlações observadas para a identificação dos dez carbonos não hidrogênados de MCT-A 3.....	<b>131</b>
<b>Figura 68</b> Correlações que definiram a localização das três metilas de MCT-A 3.....	<b>131</b>
<b>Figura 69</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 3.....	<b>132</b>
<b>Figura 70</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 3.....	<b>132</b>
<b>Figura 71</b> Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 3.....	<b>133</b>
<b>Figura 72</b> Modelos moleculares de MCT-A 3 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY.....	<b>133</b>
<b>Figura 73</b> Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 3.....	<b>136</b>
<b>Figura 74</b> Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 3.....	<b>136</b>
<b>Figura 75</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>137</b>
<b>Figura 76</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>137</b>
<b>Figura 77</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>138</b>
<b>Figura 78</b> Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>138</b>
<b>Figura 79</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>139</b>
<b>Figura 80</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>139</b>
<b>Figura 81</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>140</b>
<b>Figura 82</b> Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>140</b>
<b>Figura 83</b> Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>141</b>

<b>Figura 84</b> Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>141</b>
<b>Figura 85</b> Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>142</b>
<b>Figura 86</b> Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>142</b>
<b>Figura 87</b> Espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>143</b>
<b>Figura 88</b> Expansões do espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de MCT-A 3.....	<b>143</b>
<b>Figura 89</b> Espectros de RMN <sup>1</sup> H de MCT-A 4 com variação da temperatura.....	<b>144</b>
<b>Figura 90</b> Importantes correlações dos hidrogênios aromáticos de MCT-A 4.....	<b>146</b>
<b>Figura 91</b> Correlações que definiram a localização das três metilas e dos hidrogênios metilênicos de MCT-A 4.....	<b>147</b>
<b>Figura 92</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 4.....	<b>147</b>
<b>Figura 93</b> Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 4.....	<b>148</b>
<b>Figura 94</b> Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 4.....	<b>148</b>
<b>Figura 95</b> Modelos moleculares de MCT-A 4 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY.....	<b>149</b>
<b>Figura 96</b> Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 4.....	<b>151</b>
<b>Figura 97</b> Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 4.....	<b>151</b>
<b>Figura 98</b> Espectro e expansões de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>152</b>
<b>Figura 99</b> Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>153</b>
<b>Figura 100</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>154</b>
<b>Figura 101</b> Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>155</b>
<b>Figura 102</b> Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>156</b>
<b>Figura 103</b> Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>157</b>
<b>Figura 104</b> Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>158</b>
<b>Figura 105</b> Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>159</b>
<b>Figura 106</b> Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>160</b>
<b>Figura 107</b> Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>161</b>
<b>Figura 108</b> Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>162</b>
<b>Figura 109</b> Espectro e expansões de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4.....	<b>163</b>
<b>Figura 110</b> Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCT-NB 1 para o posicionamento da unidade glicosídica e da metoxila.....	<b>165</b>
<b>Figura 111</b> Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCT-NB 1.....	<b>166</b>
<b>Figura 112</b> Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-NB 1.....	<b>168</b>
<b>Figura 113</b> Espectro de massas de alta resolução de MCT-NB 1.....	<b>168</b>
<b>Figura 114</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>169</b>
<b>Figura 115</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>169</b>
<b>Figura 116</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>170</b>
<b>Figura 117</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>170</b>
<b>Figura 118</b> Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>171</b>
<b>Figura 119</b> Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1....	<b>171</b>
<b>Figura 120</b> Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>172</b>
<b>Figura 121</b> Expansões do espectro de RMN-HMBC (125x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1....	<b>172</b>
<b>Figura 122</b> Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB1....	<b>173</b>
<b>Figura 123</b> Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 1.....	<b>173</b>
<b>Figura 124</b> Correlações que definiram a localização das unidades glicosídicas de MCT-NB 2....	<b>175</b>
<b>Figura 125</b> Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCT-NB 2.....	<b>176</b>
<b>Figura 126</b> Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-NB 2.....	<b>178</b>
<b>Figura 127</b> Espectro de massas de alta resolução de MCT-NB 2.....	<b>178</b>
<b>Figura 128</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>179</b>
<b>Figura 129</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>179</b>

<b>Figura 130</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>180</b>
<b>Figura 131</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>180</b>
<b>Figura 132</b>	Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>181</b>
<b>Figura 133</b>	Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2....	<b>181</b>
<b>Figura 134</b>	Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>182</b>
<b>Figura 135</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2...	<b>182</b>
<b>Figura 136</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2...	<b>183</b>
<b>Figura 137</b>	Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2.....	<b>183</b>
<b>Figura 138</b>	Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2....	<b>184</b>
<b>Figura 139</b>	Relevantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCFE-NB 1.....	<b>186</b>
<b>Figura 140</b>	Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCFE-NB 1.....	<b>187</b>
<b>Figura 141</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 1.....	<b>189</b>
<b>Figura 142</b>	Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 1.....	<b>189</b>
<b>Figura 143</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>190</b>
<b>Figura 144</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>190</b>
<b>Figura 145</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>191</b>
<b>Figura 146</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>191</b>
<b>Figura 147</b>	Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>192</b>
<b>Figura 148</b>	Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1....	<b>192</b>
<b>Figura 149</b>	Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>193</b>
<b>Figura 150</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1...	<b>193</b>
<b>Figura 151</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1...	<b>194</b>
<b>Figura 152</b>	Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1.....	<b>194</b>
<b>Figura 153</b>	Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 2.....	<b>196</b>
<b>Figura 154</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 2.....	<b>198</b>
<b>Figura 155</b>	Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 2.....	<b>198</b>
<b>Figura 156</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>199</b>
<b>Figura 157</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>199</b>
<b>Figura 158</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>200</b>
<b>Figura 159</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>200</b>
<b>Figura 160</b>	Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>201</b>
<b>Figura 161</b>	Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2....	<b>201</b>
<b>Figura 162</b>	Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>202</b>
<b>Figura 163</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2...	<b>202</b>
<b>Figura 164</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2...	<b>203</b>
<b>Figura 165</b>	Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2.....	<b>203</b>
<b>Figura 166</b>	Esqueleto básico da flavona luteolina.....	<b>204</b>
<b>Figura 167</b>	Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 3.....	<b>205</b>
<b>Figura 168</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 3.....	<b>208</b>
<b>Figura 169</b>	Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 3.....	<b>208</b>
<b>Figura 170</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>209</b>
<b>Figura 171</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>209</b>
<b>Figura 172</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>210</b>
<b>Figura 173</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>210</b>
<b>Figura 174</b>	Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>211</b>
<b>Figura 175</b>	Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3....	<b>211</b>
<b>Figura 176</b>	Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>212</b>
<b>Figura 177</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3...	<b>212</b>
<b>Figura 178</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3...	<b>213</b>
<b>Figura 179</b>	Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3.....	<b>213</b>
<b>Figura 180</b>	Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3....	<b>214</b>



<b>Figura 181</b>	Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 4.....	<b>216</b>
<b>Figura 182</b>	Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 4.....	<b>217</b>
<b>Figura 183</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 4.....	<b>219</b>
<b>Figura 184</b>	Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 4.....	<b>219</b>
<b>Figura 185</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>220</b>
<b>Figura 186</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>220</b>
<b>Figura 187</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>221</b>
<b>Figura 188</b>	Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>221</b>
<b>Figura 189</b>	Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>222</b>
<b>Figura 190</b>	Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>222</b>
<b>Figura 191</b>	Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>223</b>
<b>Figura 192</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4..	<b>223</b>
<b>Figura 193</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4..	<b>224</b>
<b>Figura 194</b>	Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4..	<b>224</b>
<b>Figura 195</b>	Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4.....	<b>225</b>
<b>Figura 196</b>	Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4....	<b>225</b>
<b>Figura 197</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-H 1.....	<b>228</b>
<b>Figura 198</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 1.....	<b>228</b>
<b>Figura 199</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 1.....	<b>229</b>
<b>Figura 200</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 1.....	<b>229</b>
<b>Figura 201</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 1.....	<b>230</b>
<b>Figura 202</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-H 2.....	<b>233</b>
<b>Figura 203</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 2.....	<b>233</b>
<b>Figura 204</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 2.....	<b>234</b>
<b>Figura 205</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 2.....	<b>234</b>
<b>Figura 206</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 2.....	<b>235</b>
<b>Figura 207</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 2.....	<b>235</b>
<b>Figura 208</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-D 1.....	<b>238</b>
<b>Figura 209</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 1.....	<b>238</b>
<b>Figura 210</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 1.....	<b>239</b>
<b>Figura 211</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 1.....	<b>239</b>
<b>Figura 212</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 1.....	<b>240</b>
<b>Figura 213</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 1.....	<b>240</b>
<b>Figura 214</b>	Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-D 2.....	<b>243</b>
<b>Figura 215</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 2.....	<b>243</b>
<b>Figura 216</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 2.....	<b>244</b>
<b>Figura 217</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 2.....	<b>244</b>
<b>Figura 218</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 2.....	<b>245</b>
<b>Figura 219</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 2.....	<b>245</b>
<b>Figura 220</b>	Avaliação da toxicidade do alcalóide MCT-A 1 em neutrófilos humano.....	<b>252</b>
<b>Figura 221</b>	Efeito gastroprotetor do extrato MCFE na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.....	<b>254</b>

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

<b>Fluxograma 1</b> Obtenção e fracionamento cromatográfico da porção alcaloídica do extrato etanólico dos talos de <i>M. carrascoana</i> .....	74
<b>Fluxograma 2</b> Metodologia de isolamento de MCT-A 1 a partir da sub-fração MCTE-A 2.....	75
<b>Fluxograma 3</b> Metodologia de isolamento das substâncias MCT-A 2 e MCT-A 3 obtidas da sub-fração MCTE-A 2.1.....	76
<b>Fluxograma 4</b> Isolamento de MCT-A 4 a partir do fracionamento cromatográfico da sub-fração MCTE-A 2.4.....	78
<b>Fluxograma 5</b> Obtenção e partição do extrato etanólico dos talos de <i>M. carrascoana</i> ...	79
<b>Fluxograma 6</b> Fracionamento cromatográfico da fração <i>n</i> -butanólica obtida do extrato etanólico dos talos de <i>M. carrascoana</i> .....	80
<b>Fluxograma 7</b> Metodologia de isolamento de MCT-NB 1 a partir da sub-fração MCTE-NBS 2.3.....	82
<b>Fluxograma 8</b> Metodologia isolamento de MCT-NB 2 a partir da sub-fração MCTE-NBS 2.2.....	84
<b>Fluxograma 9</b> Obtenção e partição do extrato etanólico das folhas de <i>M. carrascoana</i> .	85
<b>Fluxograma 10</b> Fracionamento cromatográfico da fração <i>n</i> -butanólica obtida do extrato etanólico das folhas de <i>M. carrascoana</i> .....	87
<b>Fluxograma 11</b> Metodologia de isolamento de MCF-NB 1 obtida da sub-fração MCFE-NBS 3.....	88
<b>Fluxograma 12</b> Metodologia de isolamento das substâncias MCF-NB 2, MCF-NB 3 e MCF-NB 4 a partir da sub-fração MCFE-NBS 2.2.....	90
<b>Fluxograma 13</b> Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração hexânica do extrato etanólico dos talos de <i>M. carrascoana</i> .....	93
<b>Fluxograma 14</b> Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração diclorometano do extrato etanólico dos talos de <i>M. carrascoana</i> .....	95

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 1.....	<b>105</b>
<b>Quadro 2</b> Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 2.....	<b>122</b>
<b>Quadro 3</b> Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 3.....	<b>136</b>
<b>Quadro 4</b> Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 4.....	<b>151</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Relação dos alcalóides pirrolidinoindólicos descritos na literatura, fontes botânica (espécie), solventes empregados para obtenção dos espectros de RMN e as referências correspondentes.....	31
<b>Tabela 2</b> Relação dos alcalóides pirrolidinoindólicos descritos na literatura, fungo (espécie), solventes empregados para obtenção dos espectros de RMN <sup>13</sup> C e as referências correspondentes.....	32
<b>Tabela 3</b> Relação dos alcalóides pirrolidinoindólicos descritos na literatura, animal marinho (espécie), solventes empregados para obtenção dos espectros de RMN e as referências correspondentes.....	34
<b>Tabela 4</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-A.....	73
<b>Tabela 5</b> Partição do extrato etanólico de MCTE.....	78
<b>Tabela 6</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-NB.....	79
<b>Tabela 7</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-NBS 2.....	80
<b>Tabela 8</b> Partição do extrato etanólico de MCFE.....	85
<b>Tabela 9</b> Fracionamento cromatográfico de MCFE-NB.....	86
<b>Tabela 10</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-NBS 2.....	86
<b>Tabela 11</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-H.....	91
<b>Tabela 12</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-H 5.....	91
<b>Tabela 13</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-H 3.....	92
<b>Tabela 14</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-D.....	94
<b>Tabela 15</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-D 2.....	94
<b>Tabela 16</b> Fracionamento cromatográfico de MCTE-D 4.....	95
<b>Tabela 17</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, MeOD) de MCT-A 1 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (20 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da literatura.....	104
<b>Tabela 18</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, MeOD) de MCT-A 2 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, MeOD) de MCT-A 1.....	121
<b>Tabela 19</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, MeOD) de MCT-A 3 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, MeOD) de MCT-A 1.....	135
<b>Tabela 20</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-A 4 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da literatura.....	150
<b>Tabela 21</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, MeOD) de MCT-NB 1 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD) da literatura.....	167
<b>Tabela 22</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-NB 2 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) da literatura descrito para a flavona 7-O-[α-L-ramnopiranosil-(1 → 6)-β-D-glicopiranosil luteolina.....	177
<b>Tabela 23</b> Dados de RMN <sup>13</sup> C para diferentes unidades glicosídicas de acordo com a literatura.....	186
<b>Tabela 24</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 1 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD) da literatura.....	188
<b>Tabela 25</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 2 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de MCF-NB 1 e	

RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, MeOD) da literatura.....	197
<b>Tabela 26</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 3 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de MCT-NB 2.....	207
<b>Tabela 27</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCF-NB 4 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de MCT-NB 3.....	218
<b>Tabela 28</b> Dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 1 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (50 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da literatura.....	227
<b>Tabela 29</b> Dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de MCT-H 2 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (50 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da literatura.....	232
<b>Tabela 30</b> Dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 1 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) da literatura.....	237
<b>Tabela 31</b> Dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de MCT-D 2 e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) da literatura.....	242
<b>Tabela 32</b> Atividade captadora do radical DPPH (IC <sub>50</sub> ).....	249
<b>Tabela 33</b> Valores de IC <sub>50</sub> com um intervalo de confiança de 95% obtido por regressão não-linear.....	251
<b>Tabela 34</b> Inibição da primeira e da segunda fase do teste da formalina em camundongos.....	253
<b>Tabela 35</b> Efeito gastroprotetor do extrato etanólico MCFE no modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.....	255

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AChE</b>	Enzima Acetilcolinesterase
<b>ACTCI</b>	Iodeto de Acetilcolina
<b>BHT</b>	<i>Butylated Hydroxytoluene</i>
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>COSY</b>	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<b>CLAE</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>DEPT</b>	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DPPH</b>	1,1-Difenil-2-Picril-Hidrazila
<b>DPM</b>	Desvio Padrão da Média
<b>EM</b>	Espectrometria de Massas
<b>HMBC</b>	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IDH</b>	Índice de Deficiência de Hidrogênio
<b>IE</b>	Ionização por Elétrons
<b>IES</b>	Ionização por Electrospray
<b>IUPAC</b>	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>LDH</b>	Enzima Lactato Desidrogenase
<b>MCTE</b>	Extrato Etanólico dos Talos de <i>Margaritopsis carrascoana</i>
<b>MCFE</b>	Extrato Etanólico das Folhas de <i>Margaritopsis carrascoana</i>
<b>NCI</b>	<i>National Cancer Institute</i>
<b>NOESY</b>	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
<b>p.f.</b>	Ponto de fusão
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
<b>ATF</b>	Ácido trifluoroacético
<b>TOCSY</b>	<i>Total Correlation Spectroscopy</i>

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO 2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS</b> .....	<b>22</b>
2.1 Família Rubiaceae.....	22
2.2 O Gênero <i>Margaritopsis</i> .....	22
<b>CAPÍTULO 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO</b> .....	<b>24</b>
3.1 Levantamento dos dados de RMN <sup>13</sup> C para alcalóides de esqueleto pirroloindólicos, entre os anos 1976 a 2014.....	25
<b>CAPÍTULO 4 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>67</b>
4.1 Material Botânico.....	67
4.2 Métodos Cromatográficos.....	67
4.2.1 Cromatografia de Adsorção.....	67
4.2.2 Cromatografia Líquida de Exclusão Molecular.....	68
4.2.3 Cromatografia em Coluna de Fase Reversa C18.....	68
4.2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	68
4.3 Métodos Espectrométricos.....	69
4.3.1 Espectroscopia na região do Infravermelho (IV).....	69
4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup> H) e de carbono-13 (RMN <sup>13</sup> C).....	69
4.3.3 Espectrometria de Massa (EM).....	70
4.4 Métodos Físicos.....	71
4.4.1 Ponto de fusão.....	71
4.4.2 Rotação Óptica.....	71
4.5 Métodos Computacionais.....	71
4.6 Estudo Fitoquímico de <i>Margaritopsis carrascoana</i> .....	71
4.6.1 Obtenção do Extrato Etanólico dos Talos (MCTE) e Folhas (MCFE) de <i>M.</i> <i>carrascoana</i> .....	71
4.6.2 Obtenção da Fração Alcaloídica de MCTE.....	72
4.6.2.1 Fracionamento cromatográfico de MCTE-A.....	72
4.6.2.2 Fracionamento cromatográfico de MCTE-A 2.....	73
4.6.2.3 Fracionamento de MCTE-A 2.2 e isolamento de MCT-A 1.....	74
4.6.2.4 Fracionamento de MCTE-A 2.1 e isolamento de MCT-A 2 e MCT-A 3.....	75
4.6.2.5 Fracionamento de MCTE-A 2.4 e isolamento de MCT-A 4.....	77
4.6.3 Partição Líquido-Líquido de MCTE.....	78
4.6.3.1 Fracionamento cromatográfico de MCTE-NB.....	79
4.6.3.2 Fracionamento cromatográfico de MCTE-NBS 2.....	80
4.6.3.3 Isolamento de MCT-NB 1.....	81
4.6.3.4 Isolamento de MCT-NB 2.....	82
4.6.4 Partição Líquido-Líquido de MCFE.....	84
4.6.4.1 Fracionamento cromatográfico de MCFE-NB.....	85
4.6.4.2 Fracionamento cromatográfico de MCFE-NBS 2.....	86
4.6.4.3 Isolamento de MCF-NB 1.....	87
4.6.4.4 Fracionamento cromatográfico de MCFE-NBS 2.2.....	89
4.6.4.5 Isolamento de MCF-NB 2.....	89
4.6.4.6 Isolamento de MCF-NB 3 e MCF-NB 4.....	90
4.6.5.1 Fracionamento cromatográfico de MCTE-H e isolamento de MCT-H 1 e MCT-H 2.....	91

4.6.5.2 Fracionamento cromatográfico de MCTE-D e isolamento de MCT-D 1 e MCT-D 2.....	93
<b>CAPÍTULO 5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....</b>	<b>96</b>
5.1 Determinação Estrutural de MCT-A 1.....	96
5.1.1 Reação de Neutralização de MCT-A 1.....	102
5.2 Determinação Estrutural de MCT-A 2.....	116
5.3 Determinação Estrutural de MCT-A 3.....	130
5.4 Determinação Estrutural de MCT-A 4.....	144
5.5 Determinação Estrutural de MCT-NB 1.....	164
5.6 Determinação Estrutural de MCT-NB 2.....	174
5.7 Determinação Estrutural de MCF-NB 1.....	185
5.8 Determinação Estrutural de MCF-NB 2.....	195
5.9 Determinação Estrutural de MCF-NB 3.....	204
5.10 Determinação Estrutural de MCF-NB 4.....	215
5.11 Determinação Estrutural de MCT-H 1.....	226
5.12 Determinação Estrutural de MCT-H 2.....	231
5.13 Determinação Estrutural de MCT-D 1.....	236
5.14 Determinação Estrutural de MCT-D 2.....	241
<b>CAPÍTULO 6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....</b>	<b>246</b>
6.1 Avaliação da inibição da enzima acetilcolinesterase e atividade oxidante.....	246
6.1.1 Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE).....	246
6.1.2 Ensaio de sequestro de radicais DPPH•.....	248
6.2 Avaliação da atividade citotóxica pelo método MTT das substâncias isoladas de <i>M. carrascoana</i> .....	249
6.3 Avaliação da atividade biológica do extrato etanólico, fração alcaloídica e alcalóide isolado das folhas de <i>M. carrascoana</i> .....	251
6.3.1 Atividade da enzima Lactato desidrogenase (LDH) em neutrófilo humano.....	251
6.3.2 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina em camundongos.....	252
6.3.3 Atividade antiúlcera gástrica: Lesão Gástrica Induzida por Etanol.....	254
<b>CAPÍTULO 7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>256</b>
<b>CAPÍTULO 8 CONSTANTES FÍSICAS.....</b>	<b>258</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>267</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização a humanidade utiliza espécies vegetais com finalidade terapêutica. Muitas das propriedades tóxicas ou curativas das plantas foram sendo descobertas enquanto buscava alimentação para a sobrevivência. Esta prática milenar ultrapassou todos os obstáculos e chegou até os dias atuais, contribuindo com um grande acúmulo de conhecimento etnofarmacológico.

Certamente, a medicina moderna, composta por um grande número de medicamentos com ações específicas sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria atingido o grau de desenvolvimento atual se não fosse com o auxílio dos produtos naturais, notadamente os derivados de plantas superiores.

Entre as espécies que são empregadas popularmente na cultura tradicional para fins terapêuticos podemos citar as representantes da família Rubiaceae, a exemplo da *Genipa americana* (jenipapo) que tem suas folhas utilizadas como antidiarreico e o caule no tratamento de luxações e contusões (ERBANO; DUARTE, 2010). Algumas espécies dessa família possuem importância econômica como a *Coffea arabica* (café), e outras são utilizadas como plantas ornamentais *Ixora coccinea* (PAIVA; GERMANO FILHO; MOURA, 2009).

O gênero *Psychotria*, um dos maiores gêneros da família Rubiaceae, com cerca de 1000-1650 espécies (SANTOS *et al.*, 2001), tem se destacado por apresentar espécies com inúmeras atividades farmacológicas. Relatos indicam algumas espécies com propriedades alucinógenas, como é o caso de *P. viridise* *P. carthagenensis*, que juntamente com *Banisteriopsis caapi*, são usadas no preparo de uma bebida utilizada em rituais religiosos e medicinais, conhecida como ayahuasca ou Santo Daime (GAZD, 2004). Os índios Tikunas da Amazônia usam as folhas de *P. alboviridula* em picadas de formigas de fogo (ELISABETSKY *et al.*, 1997), enquanto que a decocção das folhas de *P. rostrata* é usada no tratamento da constipação, pela sociedade Malay (França) (LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993).

Do ponto de vista químico o gênero *Psychotria* tem sido caracterizado como uma prolífera fonte de alcalóides bioativos, e por este motivo é objeto de grande interesse científico, baseado nos inúmeros relatos atribuídos às suas atividades farmacológicas. O isolamento desta classe de metabólitos secundários também tem sido uma ferramenta importante para a classificação quimiotaxonômica das espécies dentro dos subgêneros. Observa-se no subgênero *Psychotria* a presença dos alcalóides do tipo pirrolidinoindólico, enquanto que o subgênero *Heteropsychotria* tem sido caracterizado pela presença de alcalóides indólicos monoterpênicos.

Estudos recentes revelaram que algumas espécies incluídas no subgênero *Heteropsychotria* foram segregadas em quatro gêneros distintos: *Neopleura*, *Ronabea*, *carapichea* e *Margaritopsis* (TAYLOR, 2005). Dentre estas se encontra *Margaritopsis carrascoana*, uma espécie endêmica da vegetação do carrasco, encontrada em solos arenosos do Planalto da Ibiapaba e também no litoral cearense, e que inicialmente foi classificada como *Psychotria carrascoana* (DELPRETE; SOUZA, 2004).

Apesar do grande número de publicações envolvendo espécies do gênero *Psychotria*, a literatura apresenta apenas um estudo para espécies do gênero *Margaritopsis*. O estudo químico da espécie *Margaritopsis cymuligera*, revelou a presença dos alcalóides pirrolidinoindólicos hodgkinsina (19, p. 39) e quadrigemina (23, p. 41), acetiladas (BRAND *et al.*, 2012).

Visando contribuir para o conhecimento químico, taxonômico e farmacológico do gênero *Margaritopsis*, o presente trabalho descreve o estudo fitoquímico da espécie *M. carrascoana*, coletada no município de Moreilândia (PE), na chapada do Araripe. Este trabalho tem como objetivo o isolamento e caracterização estrutural dos metabólitos secundários, bem como a realização de testes biológicos: atividade antioxidante, teste de inibição da enzima acetilcolinesterase, atividade citotóxica, nocicepção induzida e atividade antiúlcera gástrica.

## 2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

### 2.1 Família Rubiaceae

A família Rubiaceae é quarta em número de espécies entre as Angiospermas, possuindo uma grande variedade de espécies com representantes na maioria dos biomas, o que a torna uma das mais importantes famílias da vegetação tropical (DELPRETE; JARDIM, 2012).

Espécies de Rubiaceae são endêmicas das regiões mais quentes, principalmente dos trópicos, onde mais de 70% das espécies crescem. Esta vasta família compreende cerca de 13100 espécies distribuídas em 611 gêneros (DELPRETE; JARDIM, 2012), sendo largamente representada no Ceará, por arbustos e árvores, divididos em gêneros endêmicos e espécies inéditas do ponto de vista botânico.

Devido à sua grande abundância, diversidade (ervas, arbustos, árvores, cipós) e presença em diferentes habitats (cerrado, restinga, campos abertos, florestas, etc), a família Rubiaceae possui uma relevante importância relacionada a estudos ecológicos, passando a ser a principal referência usada em estudos comparativos e de acompanhamento do estado de conservação da vegetação tropical. Além disso, a família Rubiaceae juntamente com as espécies da família Melastomataceae, são as que mais fornecem frutos comestíveis para aves tropicais (DELPRETE; JARDIM, 2012).

### 2.2 O Gênero *Margaritopsis*

*Margaritopsis* foi descrito originalmente para o Caribe, especialmente para Cuba e Ilha de Espanhola (ANDERSSON, 2001). Esse pequeno gênero, inserido na tribo Psychotrieae, caracteriza-se como arbustos ou pequenas árvores com estípulas não caducas e endurecidas, inflorescências com poucas flores brancas (4-5 pétalas) ou reduzidas a uma flor, frutos carnosos de cor laranja ou vermelha e sementes ventralmente achatadas (ANDERSSON, 2001; TAYLOR, 2005). Várias espécies foram removidas do gênero *Psychotria* L. por Andersson (2001) e incluídas em *Margaritopsis* com base em dados moleculares de *rps16* intron (cpDNA), o que ampliou o conceito do gênero e sua distribuição geográfica. *Margaritopsis*, em sua nova circunscrição, é um gênero pantropical com aproximadamente 50 espécies. Na América são reconhecidas 27 espécies em três

agrupamentos: *Margaritopsis*, *Chazaliella* e *Chytropsia*, sendo o último grupo o principal representante do gênero em número de espécies (TAYLOR, 2005).

O gênero *Margaritopsis* é representado no Brasil por 15 espécies, das quais quatro são endêmicas (TAYLOR; ZAPPI, 2013). *M. carrascoana* (**fig. 1**), uma espécie endêmica do Nordeste do Brasil, foi inicialmente descrita como *Psychotria* (DELPRETE; SOUZA, 2004). Posteriormente, Taylor (2005) reconheceu essa espécie como *Margaritopsis*, sendo realizada uma nova denominação: *M. carrascoana* (Delprete & E.B. Souza) C.M. Taylor & E.B. Souza. Essa espécie é um subarbusto com estípulas endurecidas, frutos vermelhos e sementes com face ventral plana e lisa, encontrada em solos arenosos do Planalto da Ibiapaba, serra do Araripe e também no litoral cearense.

**Figura 1** Fotografias de *Margaritopsis carrascoana* com destaque para folhas e frutos



Foto: Edilberto R. Silveira

### 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

De acordo com Pelletier (1988): “Um alcalóide seria uma substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos.”

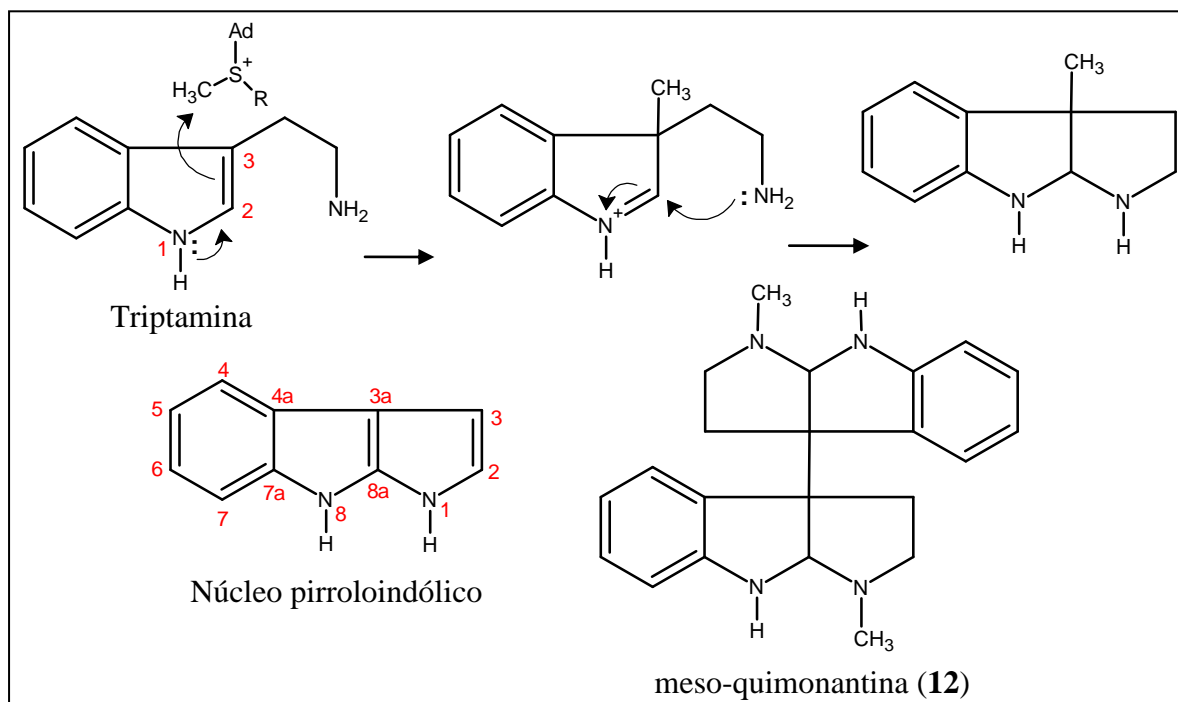
Essa classe de substância é predominantemente encontrada em plantas e em menor extensão em animais e microorganismos. Geralmente possuem caráter alcalino e são pouco estáveis, podendo ser sensíveis à luz, pH, aquecimento e, até mesmo, a determinados solventes orgânicos.

A biossíntese de alcalóide inclui a presença de pelo menos um aminoácido. De acordo com o precursor biogênico, os alcalóides podem ser subdivididos em classes: os derivados do aminoácido ornitina (alcalóides tropanico e pirrolizidinico), lisina (alcalóides piperidinico, quinolizidinico e indolizidinico), tirosina (alcalóides tetraidroisoquinolidinico, fenetilsisoquinolidinico, tetraidroisoquinolidinico terpenóide), e os derivados do triptofano (alcalóides indólico,  $\beta$ -carbolínico, indólico terpenóide, quinolidínico, pirroloindólico) (DEWICK, 1997).

Neste levantamento abordaremos apenas os alcalóides derivados do triptofano classificados como pirroloindólico.

#### **Alcalóides pirroloindólico**

O esqueleto pirroloindólico pode ser obtido pela metilação de C-3 da triptamina, seguido da formação de um anel, envolvendo o ataque da amina primária ao carbono nucleofílico C-2 da triptamina. Dímeros com este sistema de anel também são conhecidos, por exemplo, a quimonantina (**12**), obtidos a partir do acoplamento entre os carbonos C-3 do núcleo indol (**fig. 2, p. 25**) (DEWICK, 1997).

**Figura 2** Formação do núcleo pirroloindólico

### 3.1 Levantamento dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ para alcalóides de esqueleto pirroloindólicos, entre os anos 1976 a 2014

Tendo em vista a inexistência de artigos de revisão com dados de RMN de carbono 13 de alcalóides com esqueleto pirroloindólico, e visando contribuir com uma fonte bibliográfica de dados de RMN  $^{13}\text{C}$  dessa subclasse de substância, foi efetuada uma minuciosa revisão bibliográfica entre os anos 1976 e 2014.

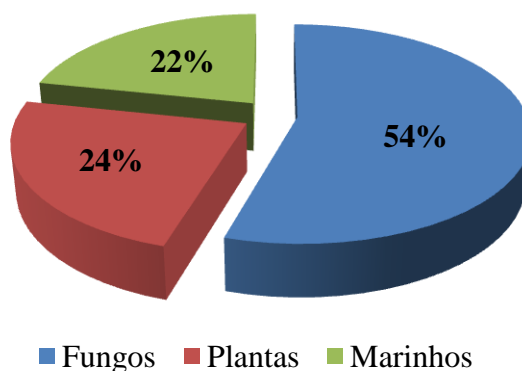
A ferramenta de pesquisa empregada foi o Scifinder, uma base de dados que reúne informações registradas no Chemical Abstracts. Foram catalogados 153 alcalóides naturais, 36 de origem vegetal, 83 isolados de fungos e 33 de animais marinhos, resultando num banco de dados de RMN  $^{13}\text{C}$ .

Nas **tabela 1 (p. 31)**, **tabela 2 (p. 32)** e **tabela 3 (p. 34)**, foram listados os nomes e os números correspondentes às estruturas dos alcalóides isolados de plantas, fungos e animais marinhos, juntamente com o nome da espécie da qual foi isolada a substância, referência consultada e o solvente deuterado utilizado no experimento.

As **figuras [1 a 36 (p. 35 a 43), 37 a 119 (p. 44 a 60) e 120 a 153 (p. 61 a 66)]** contêm as estruturas químicas com os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  dos alcalóides pirrolidinoindólicos obtidos de plantas, fungos e marinhos, respectivamente.

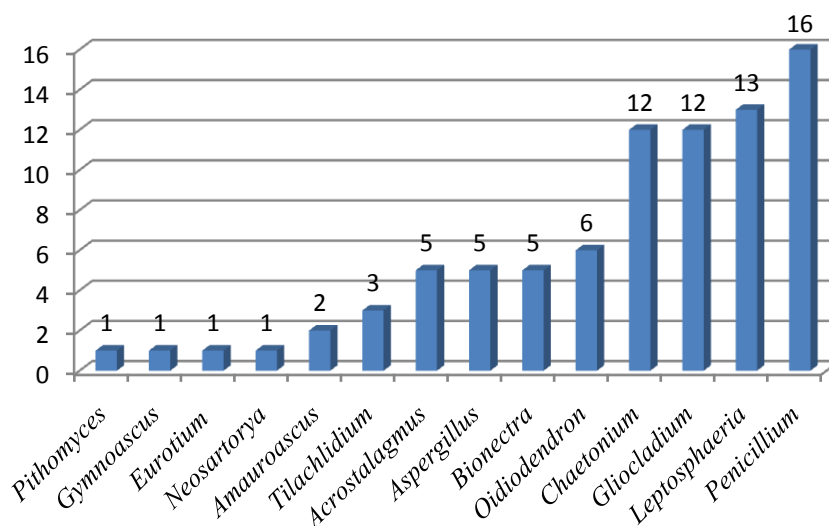
A **figura 3** mostra a distribuição percentual dos alcalóides de esqueletos pirroloindólico catalogados neste levantamento. Esse resultado revela que a maioria desses alcalóides estão sendo isoladas de fungos (54%), seguida de plantas (24%) e animais marinhos (22%).

**Figura 3** Distribuição dos alcalóides de esqueleto pirroloindólico catalogados de fungos, plantas e marinhos



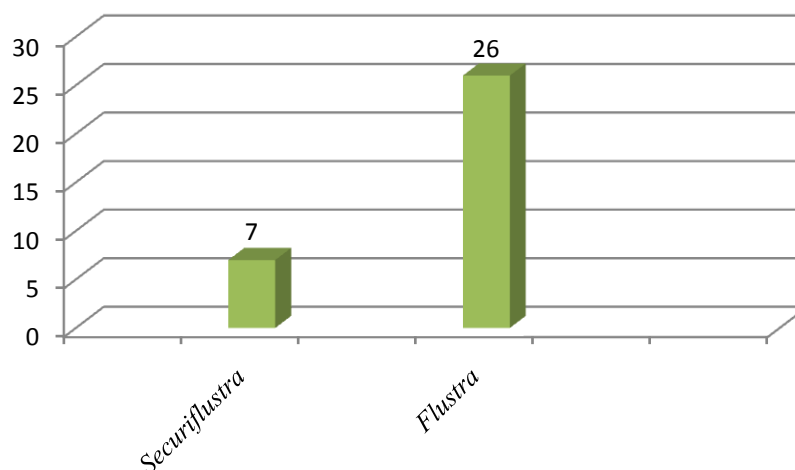
A análise dos dados referentes ao número de alcalóides de esqueleto pirroloindólico isolados de fungos mostrou o gênero *Penicillium* com o maior número de alcalóides catalogados, seguido do gênero *Leptosphaeria*, *Gliocladium* e *Chaetonium*, como mostra a **figura 4**.

**Figura 4** Representação gráfica do número de alcalóides de esqueleto pirroloindólico catalogados de fungos

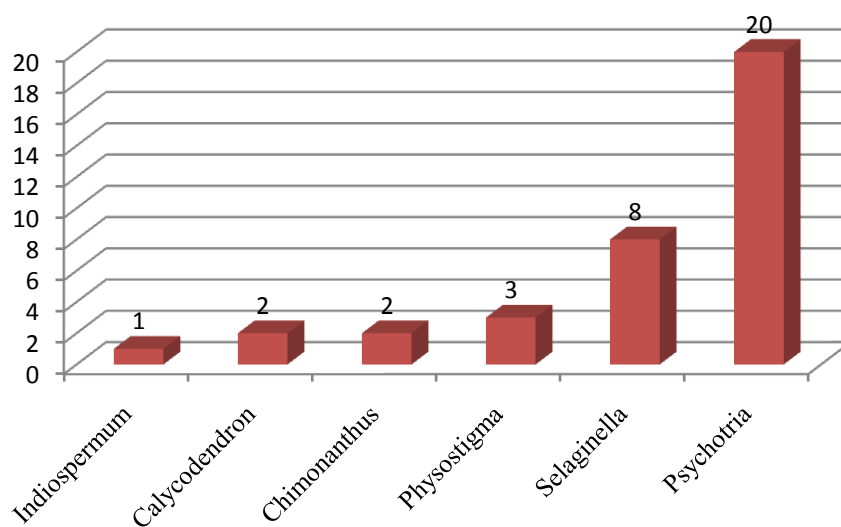


No levantamento feito com marinhos apenas dois gêneros revelaram a presença de alcalóides pirroloindólico, sendo o gênero *Flustra* o principal representante, com 26 substâncias, como mostra a **figura 5, p. 27**.



**Figura 5** Alcalóides de esqueleto pirroloindólico isolados de animais marinhos

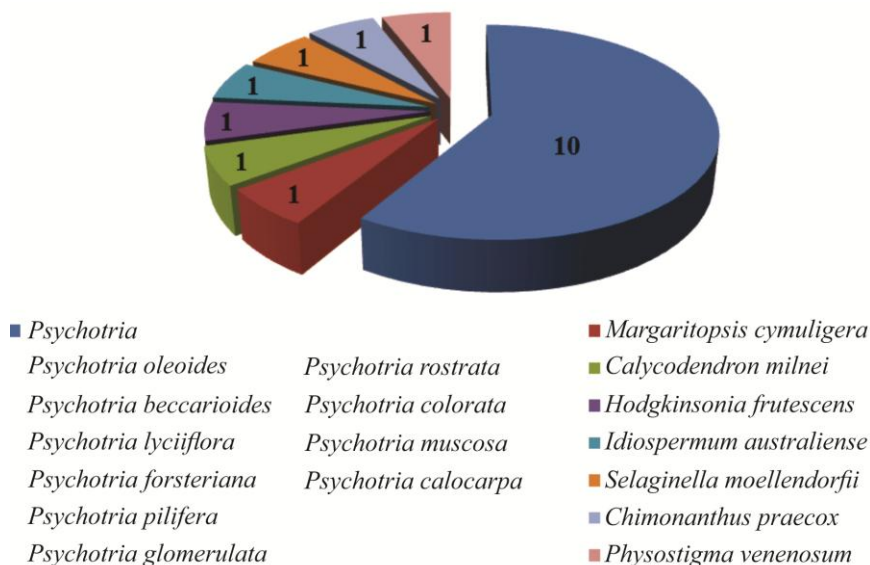
Já no estudo feito com plantas, os dados verificados na **figura 6** permitem inferir que dentre as espécies que apresentam alcalóides pirroloindólico, as pertencentes ao gênero *Psychotria* assumem como principais representantes.

**Figura 6** Distribuição por gênero dos alcalóides de esqueleto pirroloindólico catalogados em plantas

Ao analisar a família das espécies nas quais foram identificados alcalóides pirroloindólicos, quatro famílias foram representadas: Rubiaceae, com 13 espécies distribuídas nos gêneros *Psychotria*, *Margaritosis*, *Hodkinsonia*, *Calycodendron*; Calicantaceae, com duas espécies: *Idiospermum australiense* e *Chimonanthus praecox* e as demais famílias com apenas uma espécie: Fabaceae (*Physostigma venenosum*) e Selaginellaceae (*Selaginella moellendorffii*), como ilustrado na **figura 7, p. 28**.

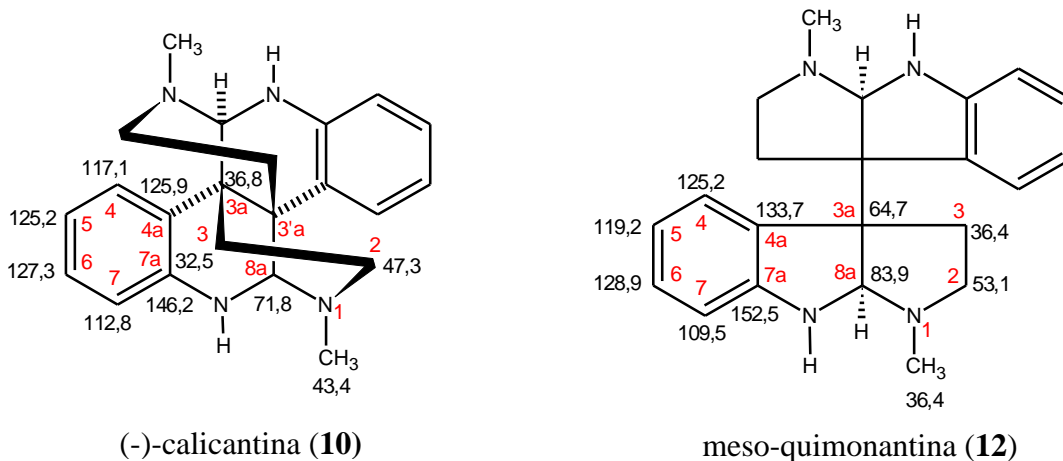


**Figura 7** Espécies vegetais que apresentaram alcalóides de esqueleto pirroloindólico

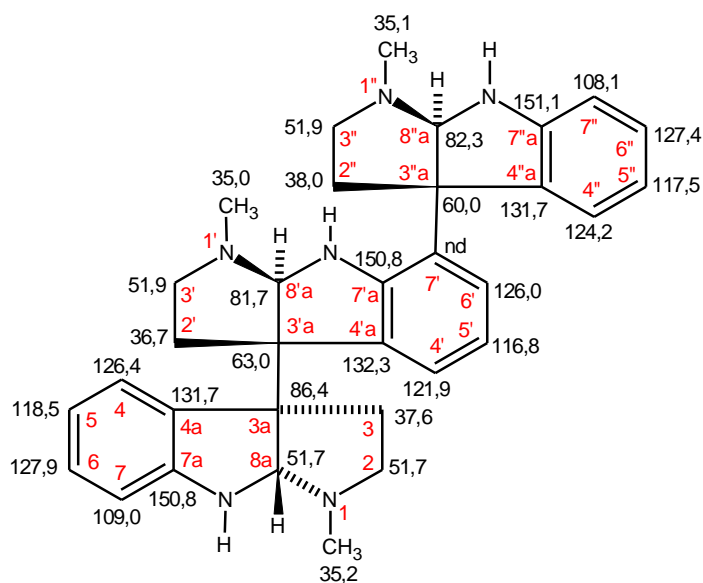


A seguir são apresentados os deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  característicos de alcalóides de esqueleto pirroloindólicos, comentando os possíveis efeitos de (des) blindagem que justificam os valores encontrados.

A absorção do carbono  $\text{sp}^3$  ligado a dois nitrogênios (C-8a) é registrada geralmente entre  $\delta$  71-95. O efeito indutivo retirador de elétrons do nitrogênio, justifica o maior deslocamento químico para C-8a. Ao analisar os carbonos metilênicos C-2 ( $\delta$  45-56) e C-3 ( $\delta$  30-39) do esqueleto pirroloindólico, o incremento de  $\Delta\delta = 15-17$  observado para C-2, também estaria relacionado ao efeito indutivo retirador de elétrons do nitrogênio. Os deslocamentos químicos dos carbonos C-3a ( $\delta$  59-86) aparecem numa região de maior desblindagem nas estruturas com esqueleto pirroloindólico isolados (**12**), quando comparados com os carbonos C-3a ( $\delta$  36-49) em estruturas condensadas (**10**), este efeito de blindagem é justificado pela compressão estérica dos anéis.

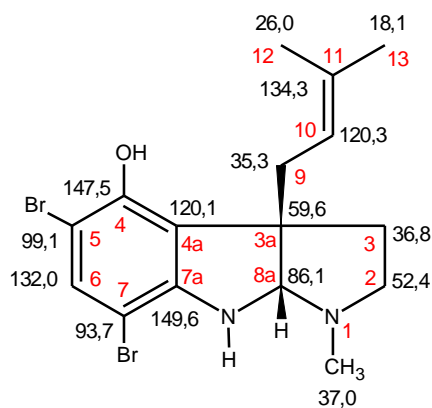


O esqueleto pirroloindólico é caracterizado ainda pela presença de carbonos aromáticos com absorções registradas entre  $\delta$  107-153. Os sinais dos carbonos C-7 e C-7'' ( $\delta$  108-113) e C-5, 5' e 5'' ( $\delta$  116-120) aparecem mais protegidos, devido ao efeito mesomérico doador de elétrons do nitrogênio. Já para os carbonos C-7a, 7'a e 7''a ( $\delta$  145-153) diretamente ligado ao nitrogênio, observa-se uma desproteção devido ao efeito indutivo retirador de elétrons do nitrogênio (**19**).



hodgkinsina (**19**)

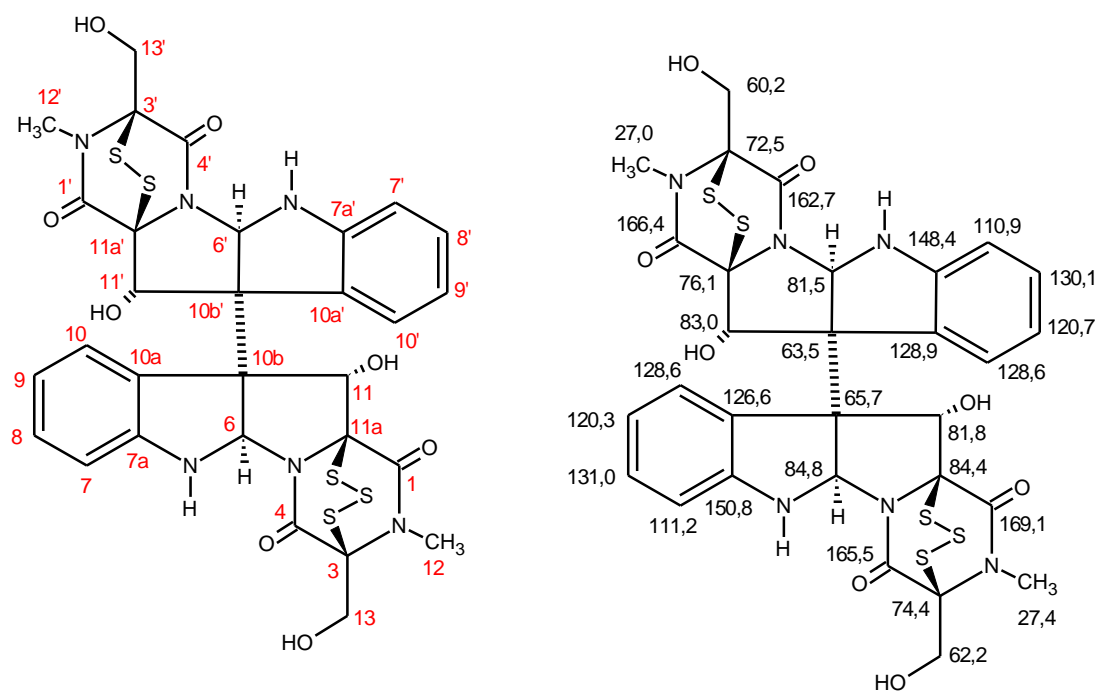
Carbonos aromáticos oxigenados sofrem desproteção devido ao efeito indutivo retirado de elétrons do oxigênio, elemento entre os mais eletronegativos. Embora importante, o efeito indutivo retirador de elétrons não deve ser analisado separadamente de outros efeitos, por exemplo, o átomo de bromo protege os carbonos C-4 e C-5 ao qual está diretamente ligado, por ser um átomo volumoso e possuir pares de elétrons livres. Diferentemente do átomo de oxigênio em que o efeito indutivo retirador de elétrons prevalece (C-4) (**142**).



debromoflustramina B (**142**)

Os deslocamentos químicos dos carbonos C-11a e C-11a' ( $\delta$  74-84) (**108**, p. 30) são particularmente afetados pela proximidade das carbonilas C-1 e C-1' ( $\delta$  160-169), efeito

mesomérico retirador de elétrons, e devido ao efeito indutivo retirador de elétrons do enxofre. O efeito anisotrópico das carbonilas produz uma blindagem nas metilas C-12 e C-12' ( $\delta$  27-30), por se encontrarem na região de proteção anisotrópica. Os carbonos C-11 e C-11' ( $\delta$  77-83), C-13 e C-13' ( $\delta$  59-62), sofrem desblindagem, decorrente do efeito indutivo retirador de elétrons do oxigênio (**108**).



chetracina B (**108**)

**Tabela 1** Relação dos alcalóides pirrolidinoindólicos descritos na literatura, fontes botânicas (espécies), solventes empregados para obtenção dos espectros de RMN e as referências correspondentes

<b>Alcalóides pirrolidinoindólicos de plantas</b>			
<b>Alcalóides</b>	<b>Espécie</b>	<b>Solvente</b>	<b>Referência</b>
fisostigmina <sup>b</sup> (1) eseramina <sup>a</sup> (2) N <sub>8</sub> -norfisostigmina <sup>b</sup> (3)	<i>Physostigma venenosum</i>	CDCl <sub>3</sub> <sup>b</sup> DMSO-d <sub>6</sub> <sup>a</sup>	CROOKS; ROBINSON; COHN, 1976
psicotridina E (4)	<i>Psychotria forsteriana</i>	CDCl <sub>3</sub>	ROTH <i>et al.</i> , 1986
quadrigemina C (5) calicosidina (6) isopsicotridina B (7)	<i>P. oleoides</i>	CDCl <sub>3</sub>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987
vatine (8) vatamine (9)	<i>Calycodendron milnei</i>	CDCl <sub>3</sub>	ADJIBADÉ <i>et al.</i> , 1990
(-)-calicantina (10) iso-calicantina (11) meso-quimonantina (12)	<i>P. forsteriana</i>	CDCl <sub>3</sub>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992
psicoleina (13)	<i>P. oleoides</i>	CDCl <sub>3</sub>	GUÉRITTE- VOEGELEIN <i>et al.</i> , 1992
(-)-idiospermulina (14)	<i>Idiospermum australiense</i>	CDCl <sub>3</sub>	DUKE <i>et al.</i> , 1995
(8-8a),(8 <sup>2</sup> -8a)-tetrahydro(-)-calicantina (15) (8-8a),(8 <sup>2</sup> -8 <sup>2</sup> a)-tetrahydro-N <sup>7</sup> -demetil (-)- calicantina (16) (8-8a)-didehidro(-)-calicantina (17)	<i>P. glomerulata</i>	C <sub>6</sub> D <sub>6</sub>	SOLIS <i>et al.</i> , 1997
(8-8a), (8 <sup>2</sup> -8a)-tetrahydroisocali-cantina 3a (R), 3 <sup>2</sup> a (R) (18) hodgkinsina (19)	<i>P. colorata</i>	CDCl <sub>3</sub>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998
N <sub>6</sub> -desmetil-mesoquimonantina (20) caledonina (21) oleoidina (22) quadrigemina (23)	<i>P. lyciiflora</i>	CDCl <sub>3</sub>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999
psicotrimina (24) psichopentamina (25)	<i>P. rostrata</i>	CDCl <sub>3</sub>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004
CPC-1 (26)	<i>Chimonanthus proeox</i>	CDCl <sub>3</sub>	KITAJIMA <i>et al.</i> , 2006
ácido selaginélico (27) ácido 5-hidroxiselaginélico (28) 5-hidroxi-N <sub>8</sub> -N <sub>8</sub> -dimetilpseudofrinaminol (29) N-selagineloil-L-fenilalanina (30) N-(5-hidroxiselagineloil)-L-fenilalanina (31) ácido neoselaginélico (32) N-neoselaginélico-L-fenilalanina (33) N-(5-hidroxi-neoselagineloil)-L-fenilalanina (34)	<i>Selaginella moellendorffii</i>	CD <sub>3</sub> OD	WANG <i>et al.</i> , 2009
L-folicantina (35)	<i>C. praecox</i>	CDCl <sub>3</sub>	ZHANG <i>et al.</i> , 2009
psicotriasina (36)	<i>P. calocarpa</i>	CD <sub>3</sub> OD	ZHOU <i>et al.</i> , 2010

**Tabela 2** Relação dos alcalóides pirrolidinoindólicos descritos na literatura, fungo (espécie), solventes empregados para obtenção dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e as referências correspondentes

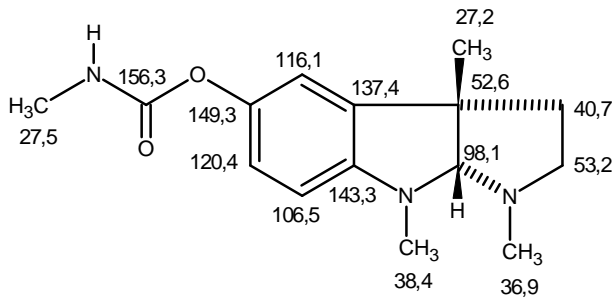
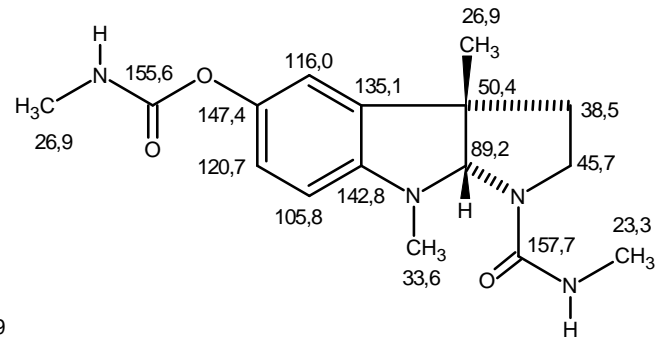
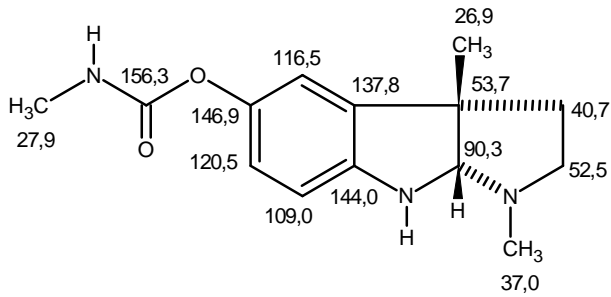
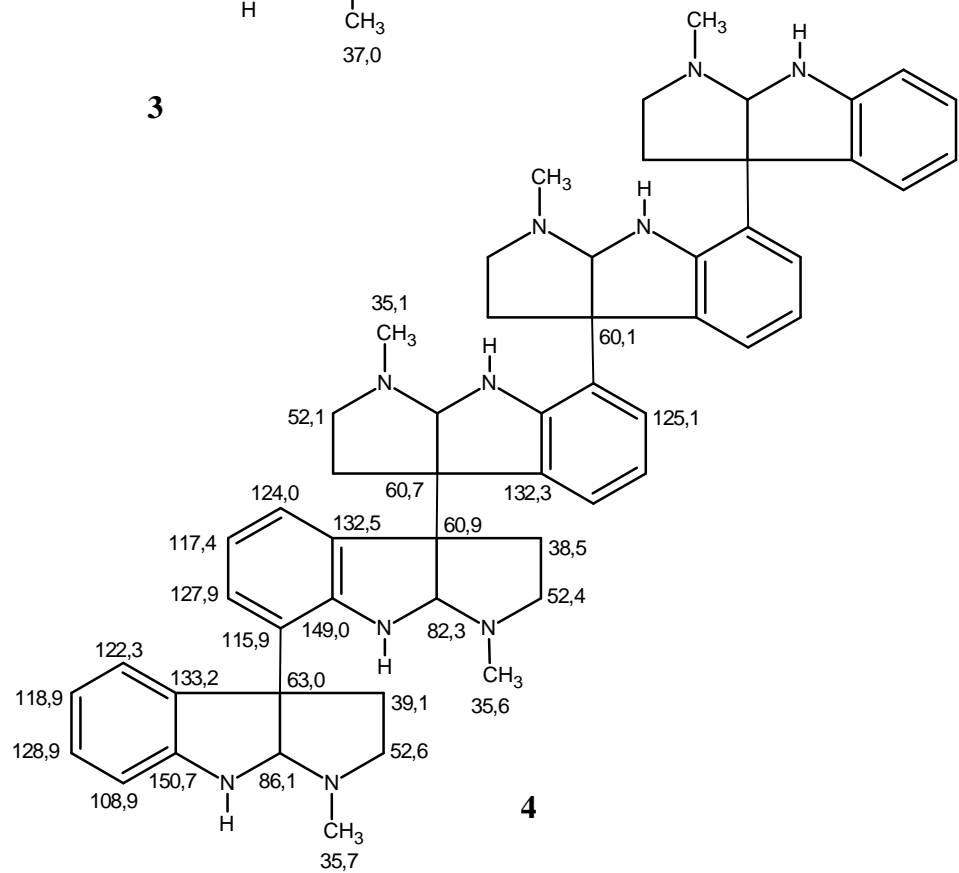
Alcalóides pirrolidinoindólicos de fungo			
Alcalóides	Espécie	Solvente	Referência
melinacidina I (37), II (38), IV (39)	<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i>	$\text{CDCl}_3$	ARGOUDELIS; MIZSAK, 1977
chetomina (40)	<i>Chaetomium cochliodes</i>	$\text{CDCl}_3$	BREWER <i>et al.</i> , 1978
roquefortina (41) isoroquefortina (42)	<i>Penicillium roqueforti</i>	$\text{CDCl}_3$	VLEGGGAAR; WESSELS, 1980
aszonalenina (43) monoacetato de aszonalenina (44)	<i>Aspergillus zonatus</i>	$\text{CDCl}_3$	KIMURA; HAMASAKI; NAKAJIMA, 1982
amauromina (45) tetrahydroamauromina (46)	<i>Amauroascus sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	TAKASE <i>et al.</i> , 1984
triacetato de chaetocina II (47) triacetato de chetracina A (48)	<i>Chaetomium sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	SAITO <i>et al.</i> , 1985
ditriptofenalina (49)	<i>Aspergillus flavus</i>	$\text{CDCl}_3$	MAES; POTGIETER; STEYN, 1986
verrucofortina (50)	<i>Penicillium verrucosum</i>	$\text{CDCl}_3$	HODGE; HARRIS, C.; HARRIS, T., 1988
diacetato de chaetocina (51) <sup>b</sup> diidroxicheatocina (52) <sup>a</sup> triacetato de diidroxicheatocina (53) <sup>b</sup> triacetato de chetracina A (54) <sup>b</sup> diacetato de chaetocina B (55) <sup>b</sup> , C (56) <sup>b</sup>	<i>Chaetomium sp.</i>	$\text{CDCl}_3^b$ $\text{DMSO-d}_6^a$	SAITO <i>et al.</i> , 1988
sporidesmina A (57)	<i>Pithomyces chartarum</i>	$\text{CDCl}_3$	MILES; MUNDAY; WILKINS, 1992
$\text{N}_6$ -formil-roquefortina C (58)	<i>Penicillium verrucosum</i>	$\text{CDCl}_3$	MUSUKU <i>et al.</i> , 1994
leptosina A (59), B (60), C (61), D (62), E (63), F (64)	<i>Leptosphaeria sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	TAKAHASHI <i>et al.</i> , 1994
sch 52900 (65), sch 52901 (66), verticillina A (67)	<i>Gliocladium sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	CHU <i>et al.</i> , 1995
leptosina K (68), K1 (69), K2 (70)	<i>Leptosphaeria sp.</i>	$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	TAKAHASHI <i>et al.</i> , 1995
verticillina D <sup>a</sup> (71), E <sup>a</sup> (72), F <sup>b</sup> (73) triacetato de verticillina D <sup>c</sup> (74)	<i>Gliocladium Catenulatum</i>	$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}^a$ $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}^b$ $\text{CDCl}_3^c$	JOSHI; GLOER; WICKLOW, 1999
fellutanina D (75)	<i>Penicillium fellutanum</i>	$\text{CDCl}_3$	KOZLOVSKY <i>et al.</i> , 2000
leptosinas M (76), M1 (77), N (78), N1 (79) T998 A (80) <sup>a</sup> , B (81) <sup>b</sup> , C (82) <sup>b</sup>	<i>Leptosphaeria sp.</i> <i>Tilachlidium sp.</i>	$\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$ $\text{CDCl}_3^a$ $\text{CD}_3\text{OD}^b$	YAMADA <i>et al.</i> , 2002 FENG <i>et al.</i> , 2004
roquefortina E (83)	<i>Gymnoascus reessii</i>	$\text{CDCl}_3$	CLARK <i>et al.</i> , 2005
gliocladina A (84), B (85), C (86), D (87), E (88)	<i>Gliocladium roseum</i>	$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	DONG <i>et al.</i> , 2005
chaetocochinas A (89) <sup>a</sup> , B (90) <sup>b</sup> , C (91) <sup>b</sup>	<i>Chaetomium cochliods</i>	$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}^a$ $\text{CDCl}_3^b$	Li <i>et al.</i> , 2006
bionectinas A (92), B (93), C (94)	<i>Bionectra byssicola</i>	$\text{CDCl}_3$	ZHENG <i>et al.</i> , 2006
verticillina G (95)	<i>B. byssicola</i>	$\text{CDCl}_3$	ZHENG <i>et al.</i> , 2007
brevicompanina B (96), D (97), E (98), F (99), G (100), H (101)	<i>Penicillium sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	DU <i>et al.</i> , 2009
roquefortina H (102), I (103)	<i>Penicillium sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	DU <i>et al.</i> , 2010
16-hydroxyroquefortina C (104)	<i>Penicillium spp.</i>	$\text{CD}_3\text{OD}$	SHAN <i>et al.</i> , 2010
protubonina A (105), B (106)	<i>Aspergillus sp.</i>	$\text{CDCl}_3$	LEE <i>et al.</i> , 2011
verticillina H (107)	<i>Bionectriaceae</i>	$\text{CDCl}_3$	FIGUEROA <i>et al.</i> , 2012

chetracina B <sup>a</sup> ( <b>108</b> ), C <sup>b</sup> ( <b>109</b> ) melinacidina IV <sup>b</sup> ( <b>110</b> ), chetracina D <sup>b</sup> ( <b>111</b> ) oidioperazina A <sup>b</sup> ( <b>112</b> ), T988 A <sup>b</sup> ( <b>113</b> )	<i>Oidiodendron truncatum</i>	CDCl <sub>3</sub> <sup>a</sup> DMSO-d <sub>6</sub> <sup>b</sup>	LI <i>et al.</i> , 2012
eurocristatina ( <b>114</b> )	<i>Eurotium cristatum</i>	DMSO-d <sub>6</sub>	GOMES <i>et al.</i> , 2012
luteoalbusina A ( <b>115</b> ), B ( <b>116</b> )	<i>Acrostalagmus luteoalbus</i>	DMSO-d <sub>6</sub>	WANG <i>et al.</i> , 2012
1-formil-5-hidroxiasonalenina ( <b>117</b> )	<i>Neosartorya fischeri</i>	CDCl <sub>3</sub>	EAMVIJARN <i>et al.</i> , 2013
roquefortina L ( <b>118</b> ), F ( <b>119</b> )	<i>Penicillium chrysogenum</i>	CDCl <sub>3</sub>	RIES <i>et al.</i> , 2013

**Tabela 3** Relação dos alcalóides pirrolidinoindólicos descritos na literatura, animal marinho (espécie), solventes empregados para obtenção dos espectros de RMN e as referências correspondentes

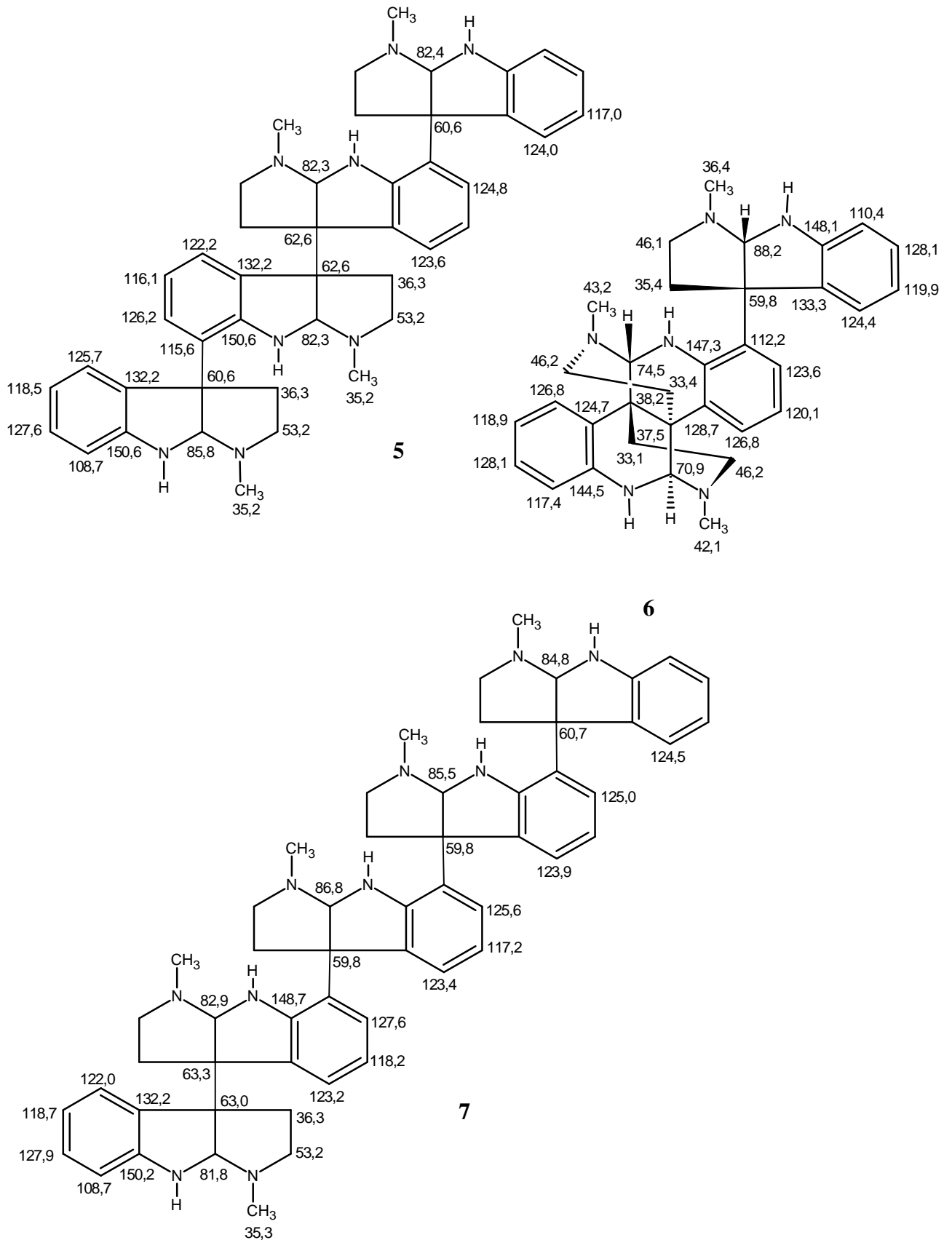
Alcalóides pirrolidinoindólicos de animal marinho			
Alcalóides	Espécie	Solvente	Referência
flustramina A (120), B (121)	<i>F. lustra foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	CARLÉ; CHRISTOPHERSEN, 1980
flustramina C (122) flustraminol A (123), B (124)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	CARLÉ; CHRISTOPHERSEN, 1981
2-oxoflustramina A (125)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	WULFF; CARLÉ; CHRISTOPHERSEN, 1982
bromo-diidroflustramina (126)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	WRIGHT, 1984
flustramina D (127) N-oxidodiidroflustramina C (128) N-oxidoflustramina D (129)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	LAYCOCK <i>et al.</i> , 1986
flustramina E (130)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	HOLST <i>et al.</i> , 1994
securamina A (131), B (132), C (133), D (134)	<i>Securiflustra securifrons</i>	CDCl <sub>3</sub>	RAHBAEK <i>et al.</i> , 1996
securamina E (135), F (136), G (137)	<i>S. securifrons</i>	CDCl <sub>3</sub>	RAHBAEK; CHRISTOPHERSEN, 1997
(3a <i>R</i> , 8a <i>S</i> )-6-bromo-3a-[(2 <i>E</i> )-3,7-dimetil-2,6-octadienil]-1,2,3,3a,8,8a-hexaidropirrololo[2,3- <i>b</i> ]-indol-7-ol (138)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	PETERS <i>et al.</i> , 2002
debromodiidroflustramina C (139) debromoflustramina A (140), E (141), B (142)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	RÍOS <i>et al.</i> , 2002
flustramina F (143), G (144), H (145), J (146), I (147), K (148), L (149), M (150), O (151), P (152)	<i>F. foliaceae</i>	CDCl <sub>3</sub>	ROCHFORT <i>et al.</i> , 2009

## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta

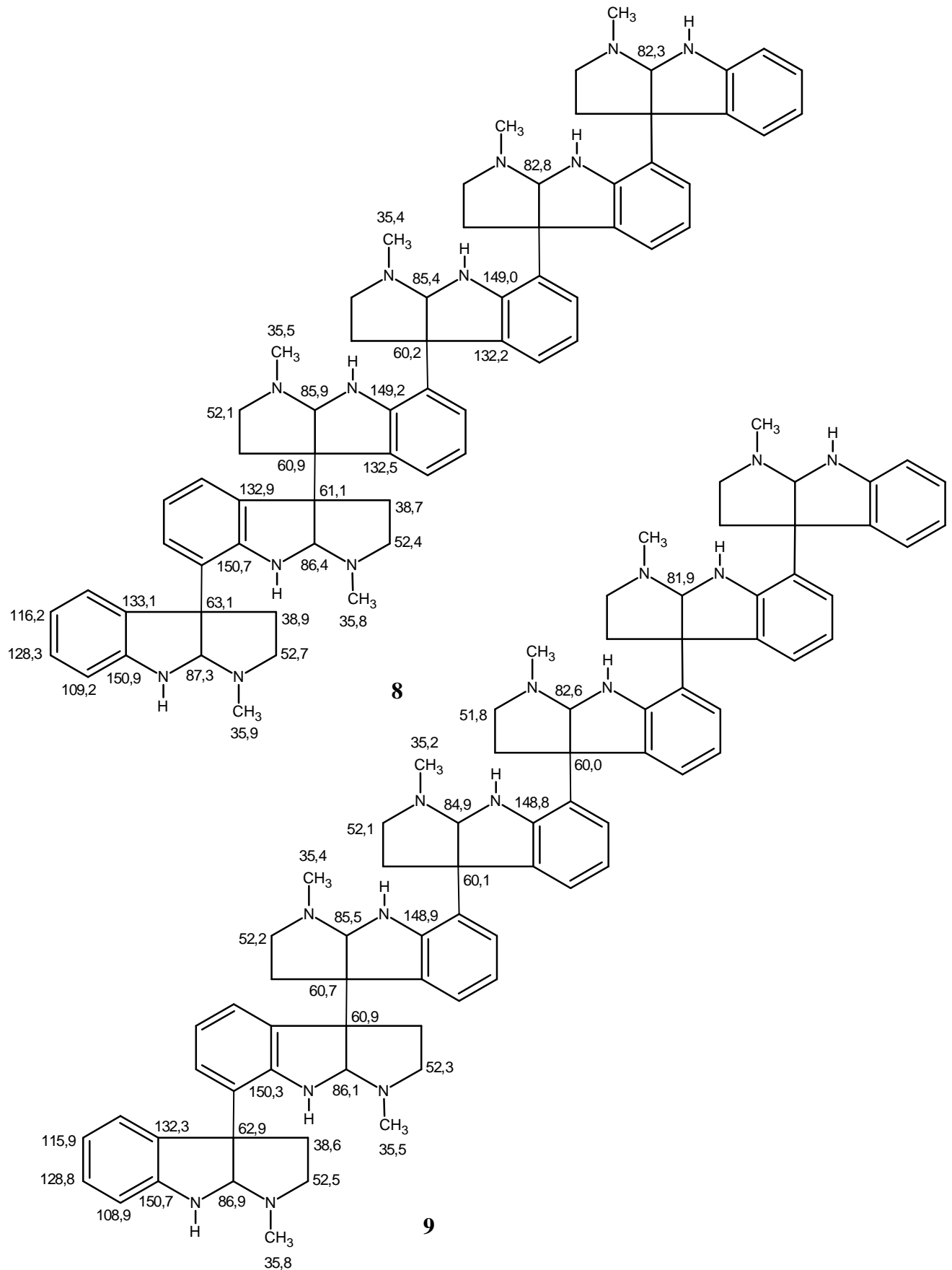
**1****2****3****4**



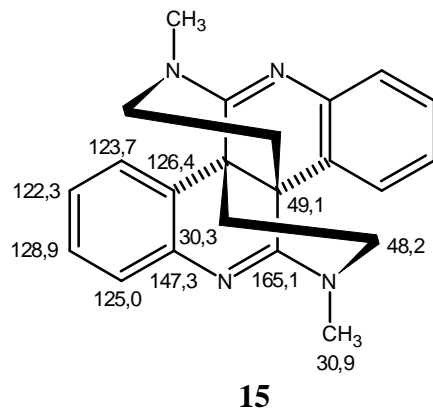
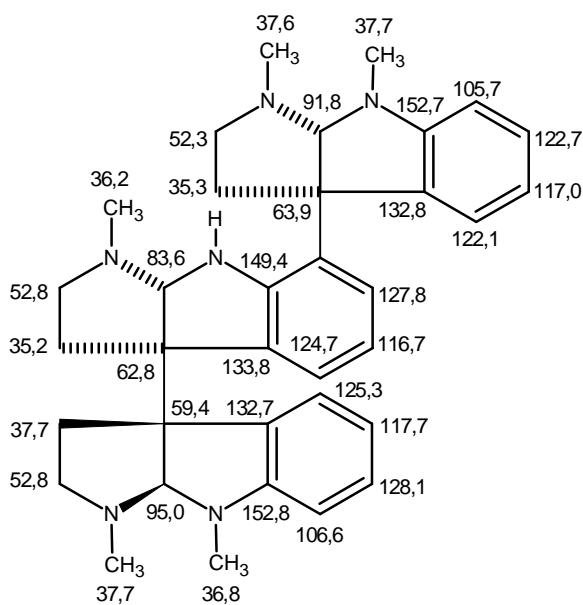
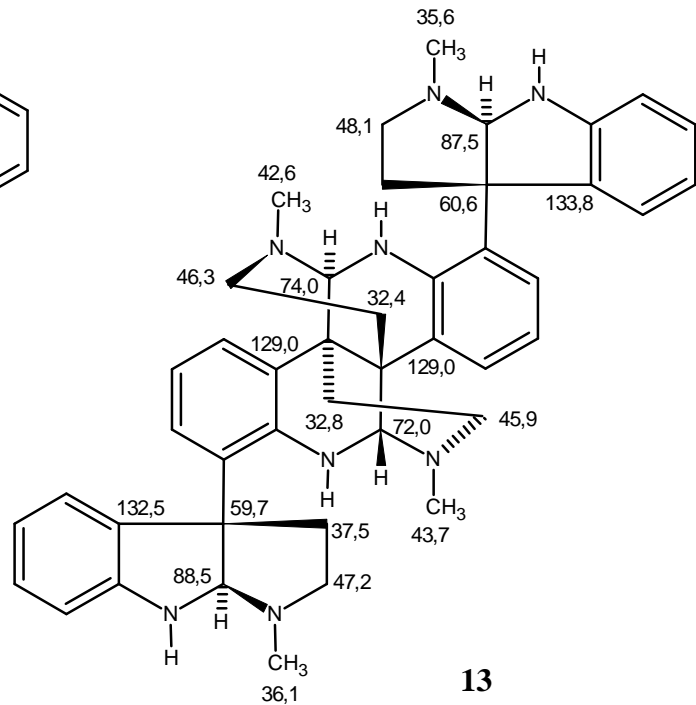
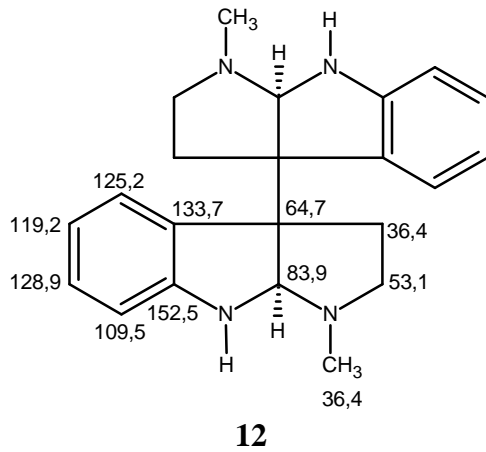
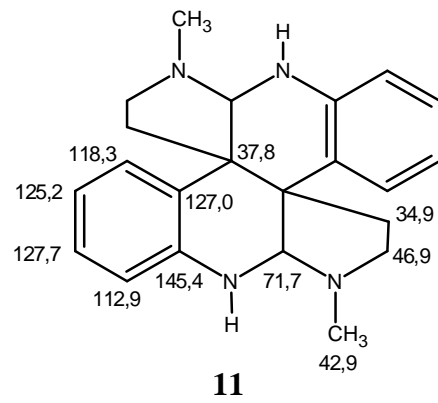
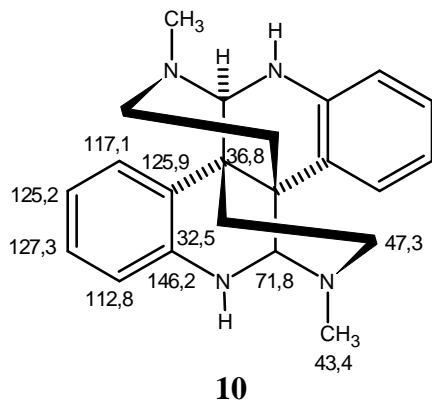
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta



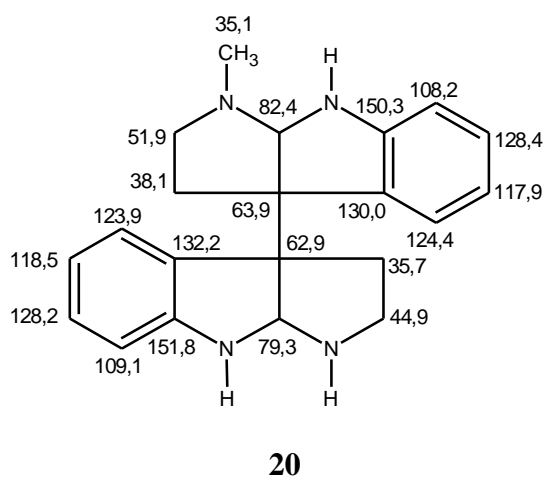
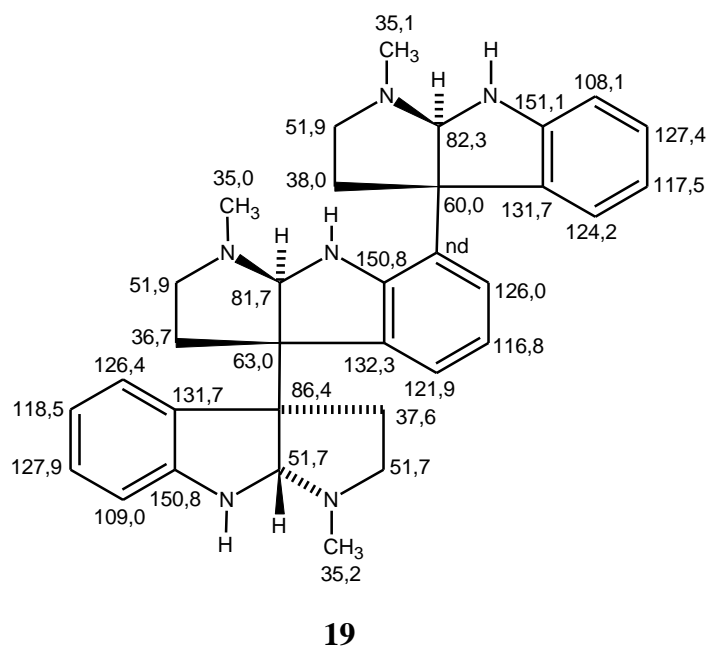
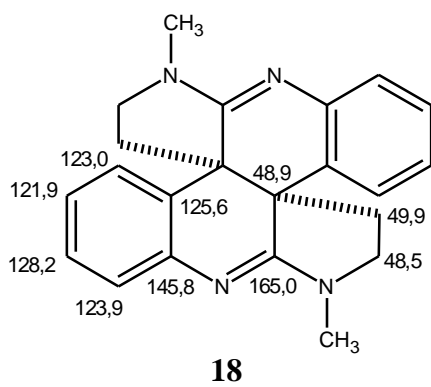
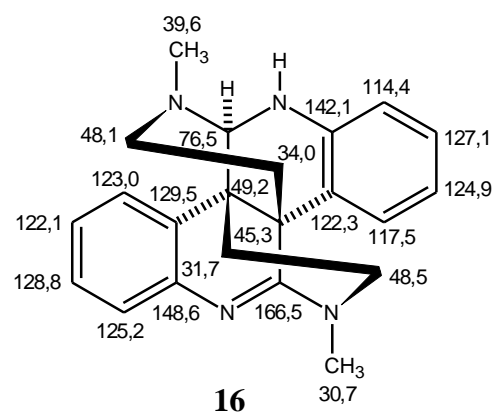
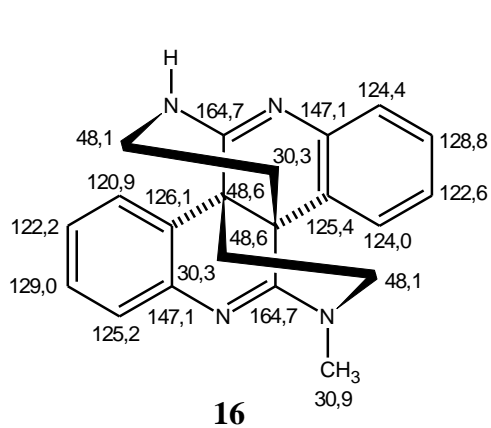
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta



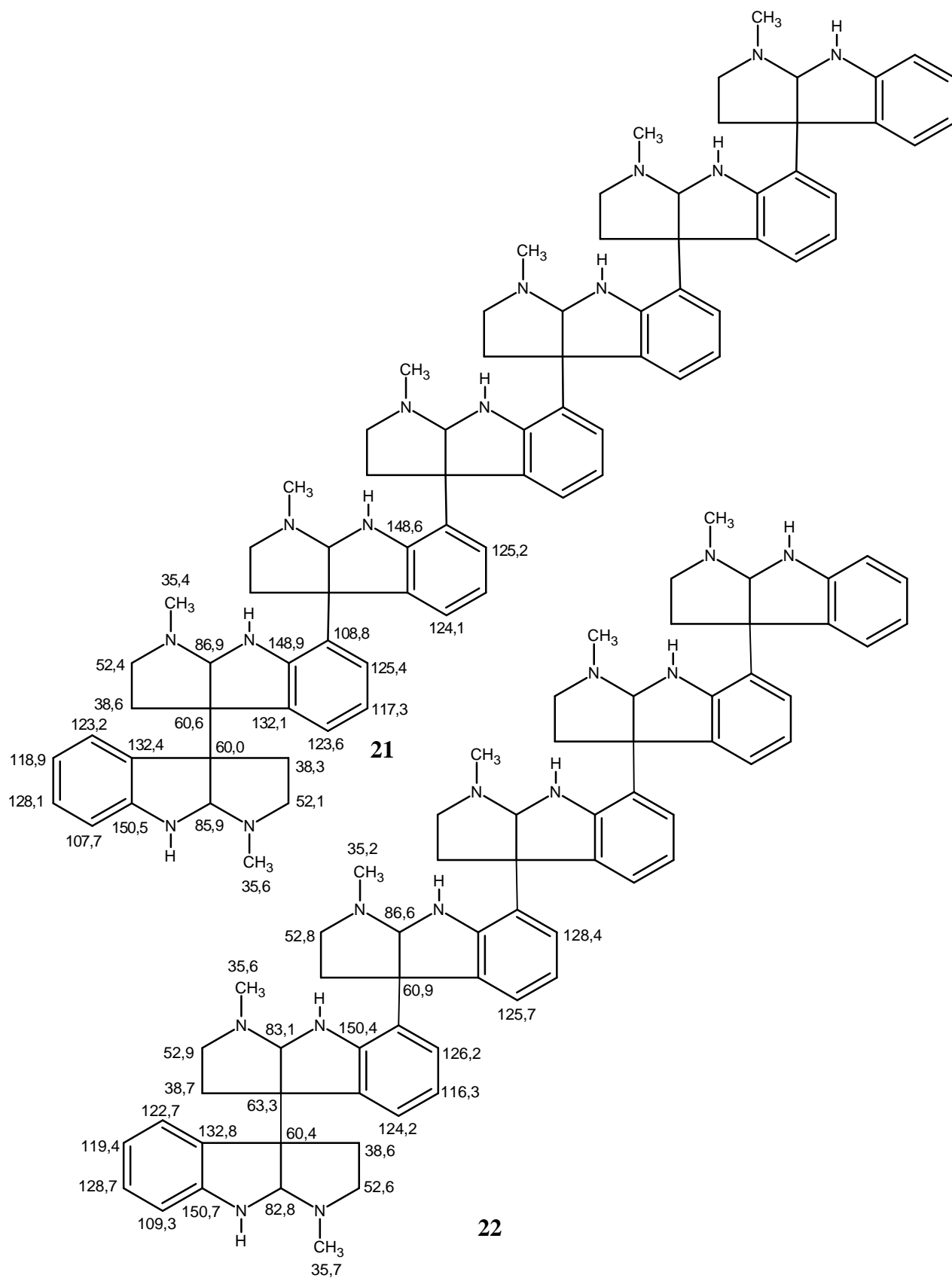
### Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta



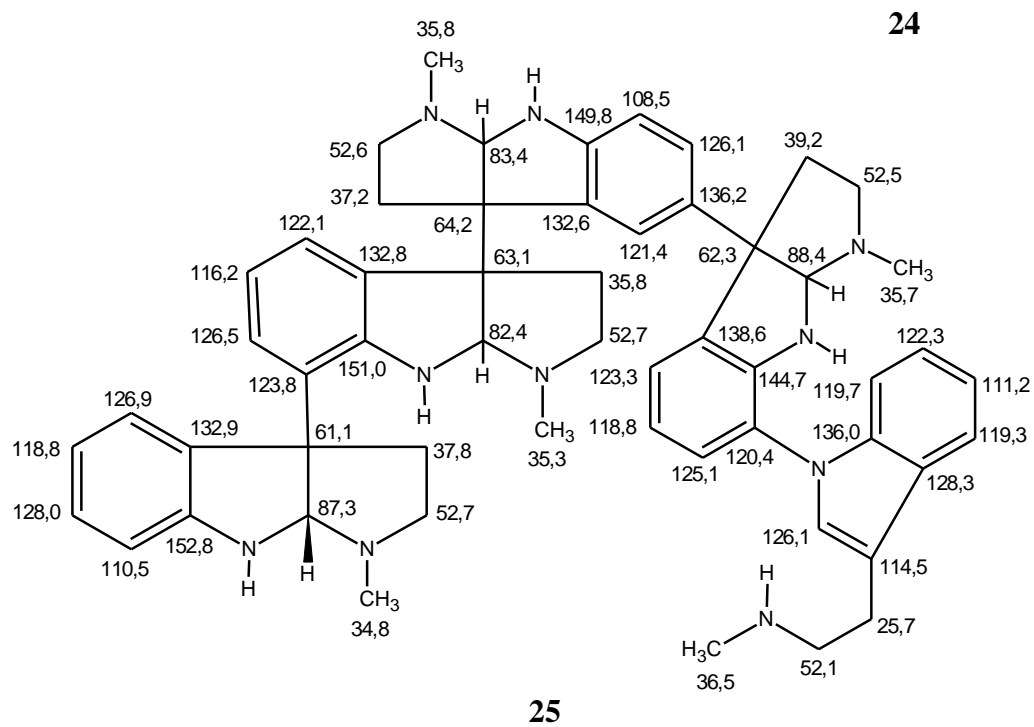
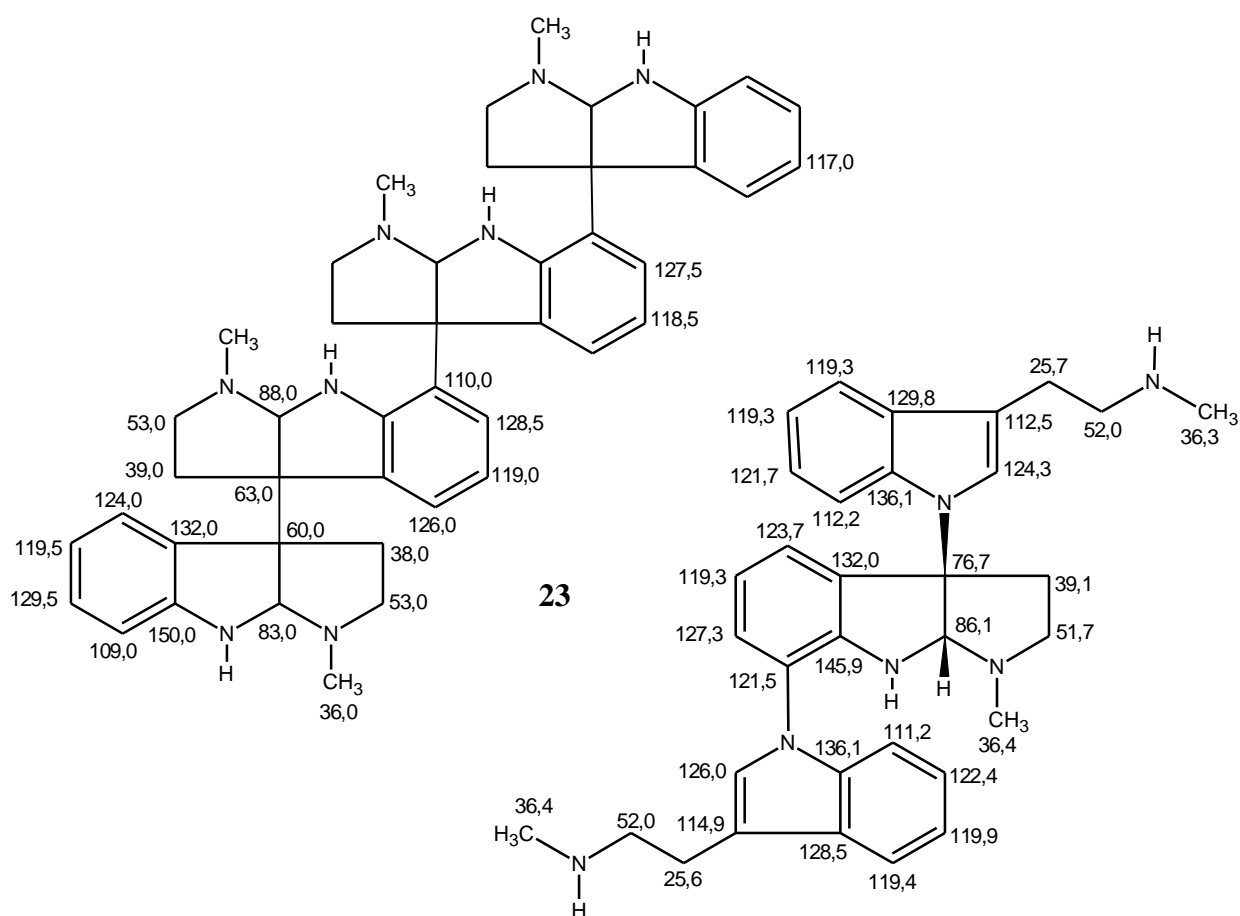
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta



## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta

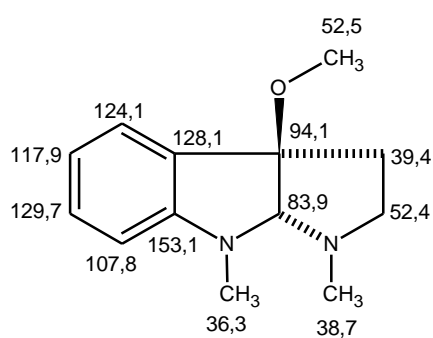
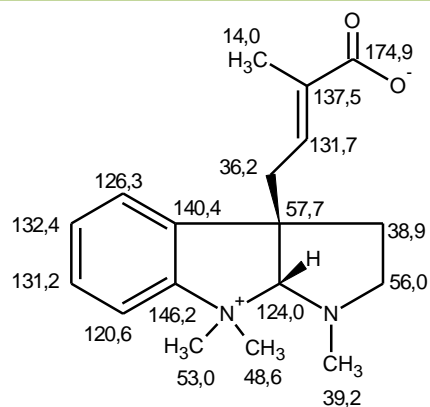
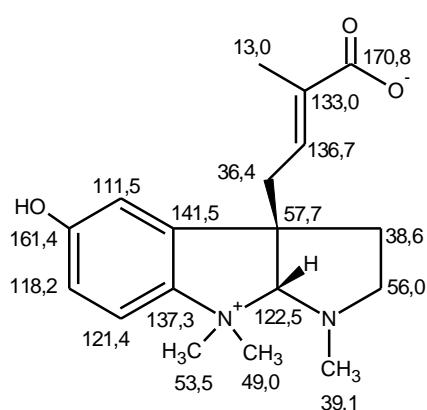
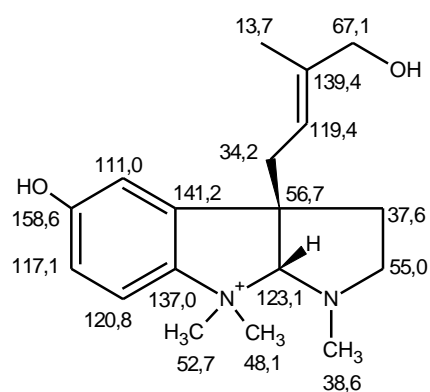
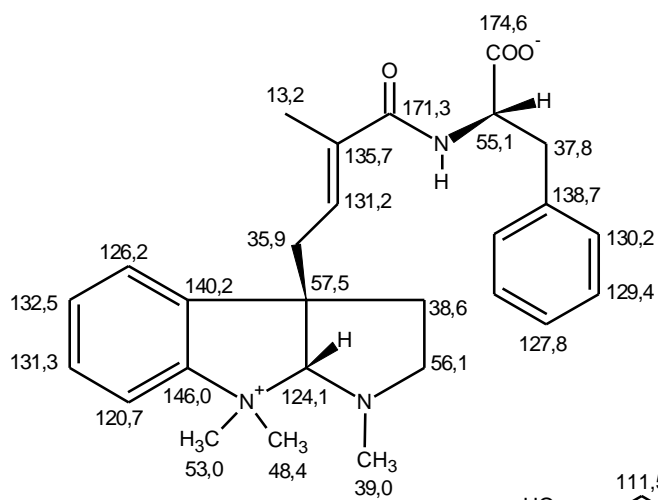
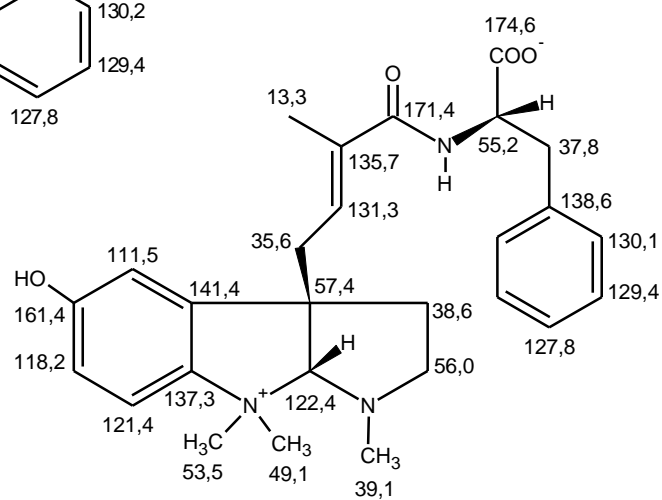


## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta

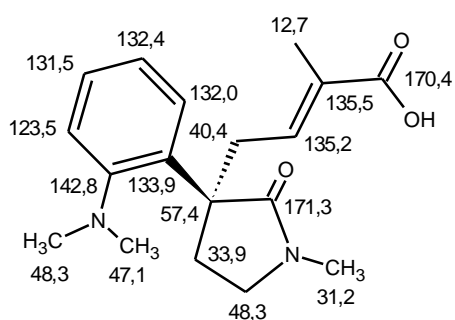


**25**

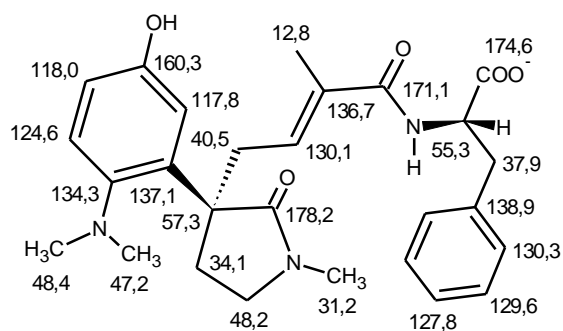
### Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta

**26****27****28****29****30****31**

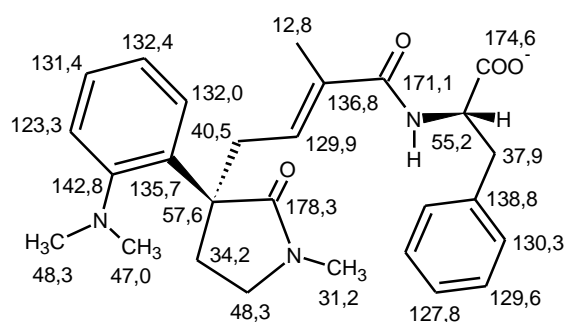
### Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de planta



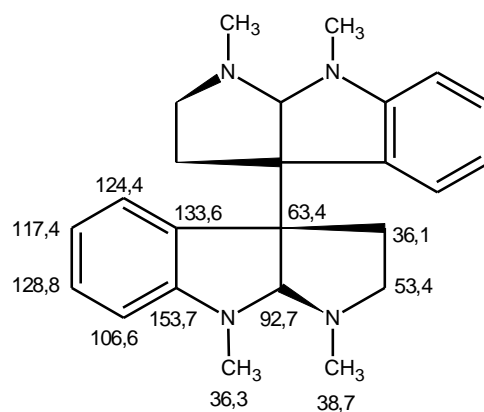
32



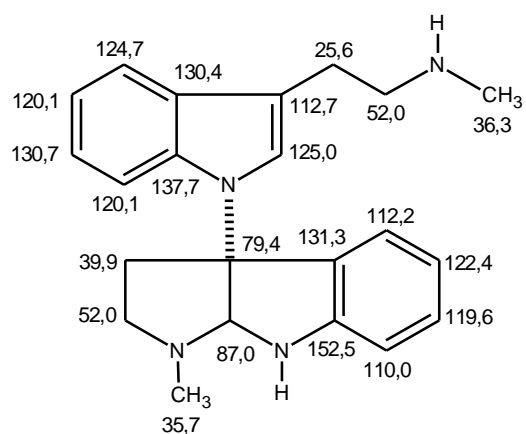
33



34



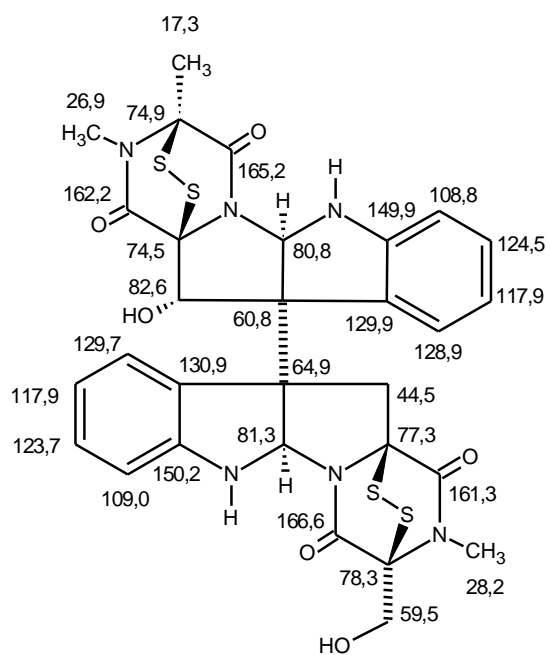
35



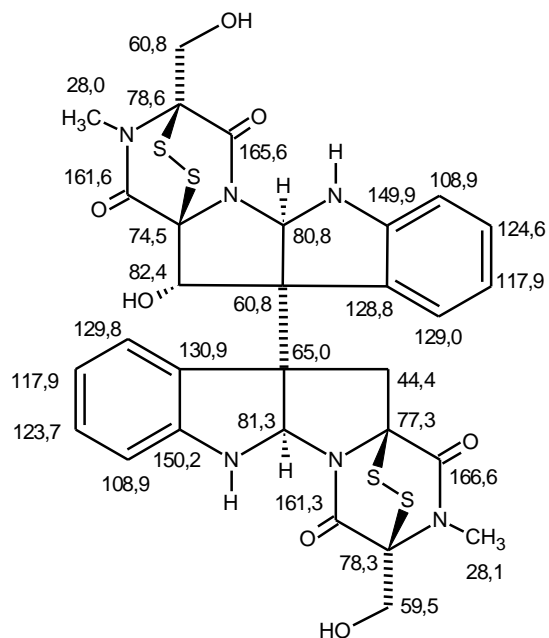
36



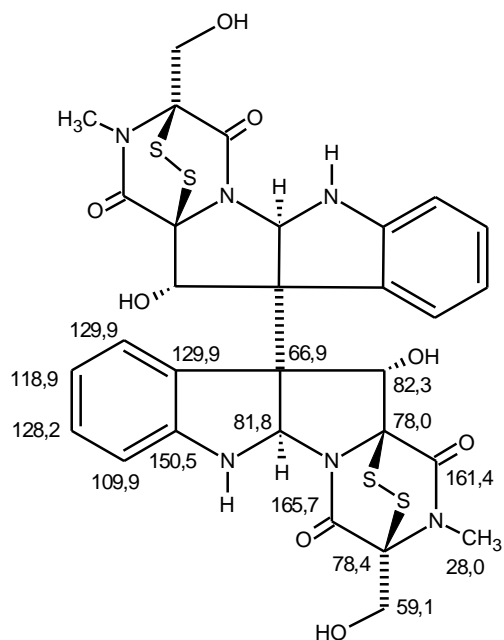
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



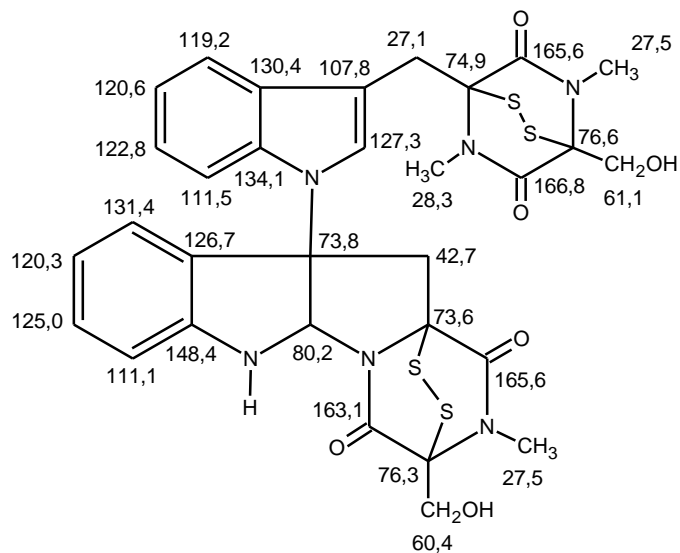
37



38

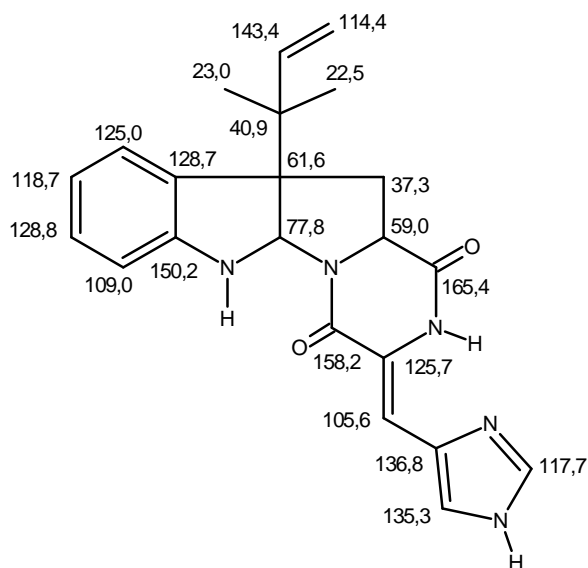


39

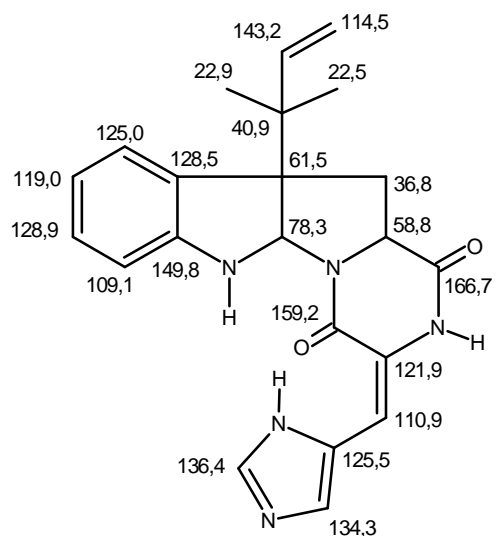


40

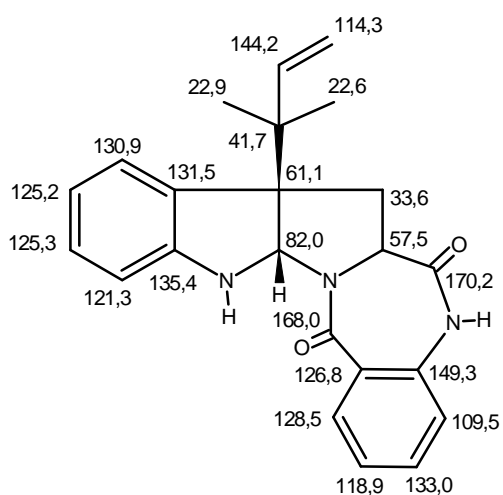
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



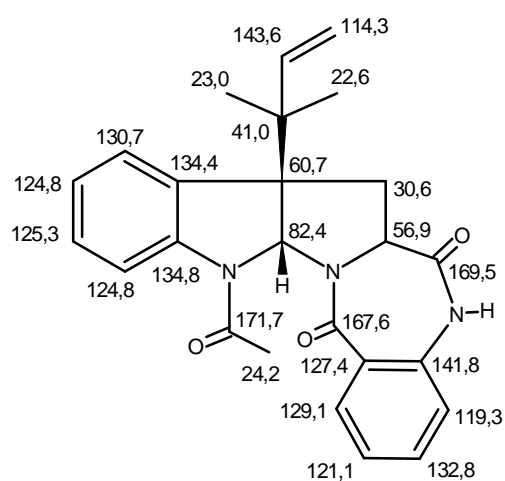
41



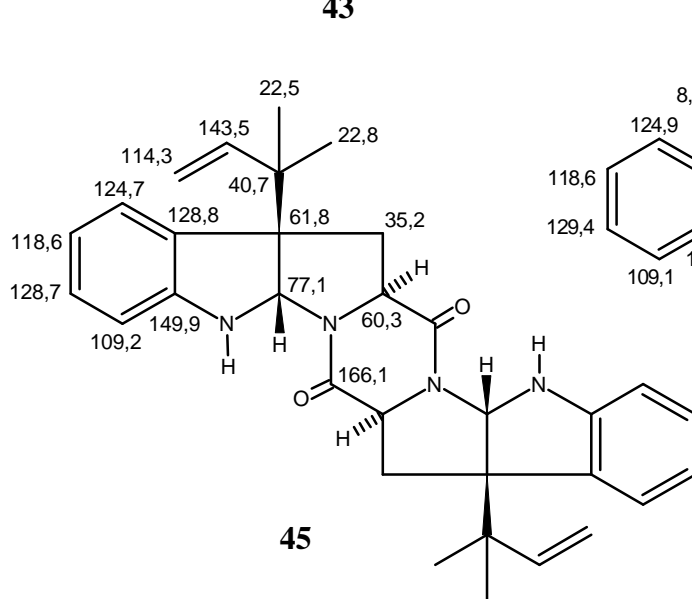
42



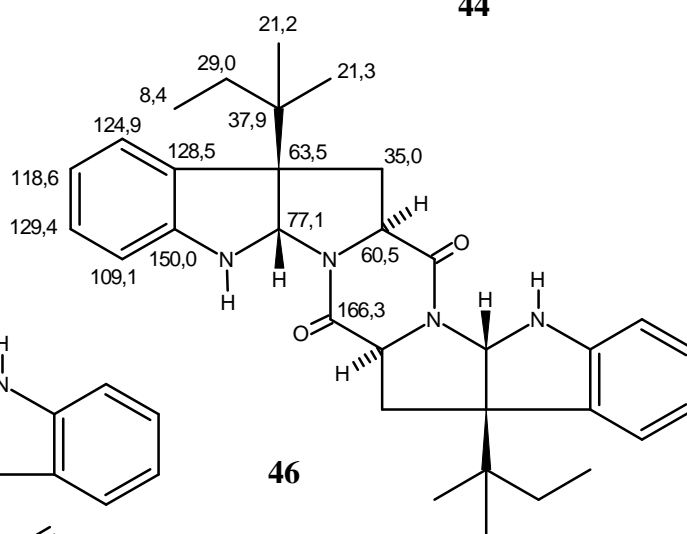
43



44

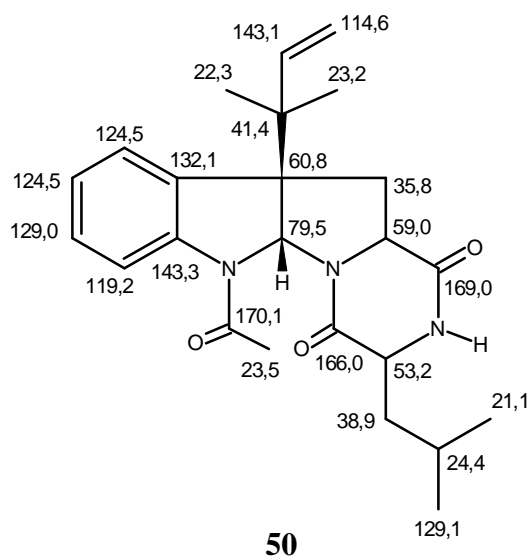
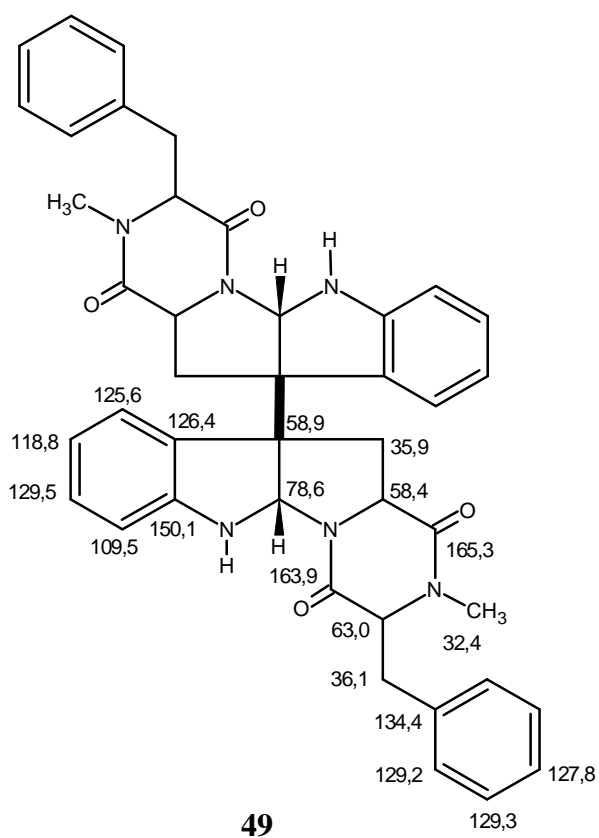
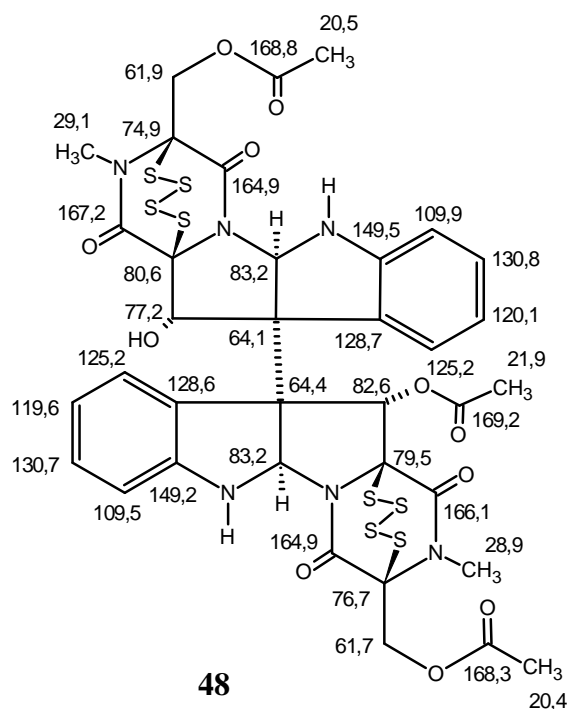
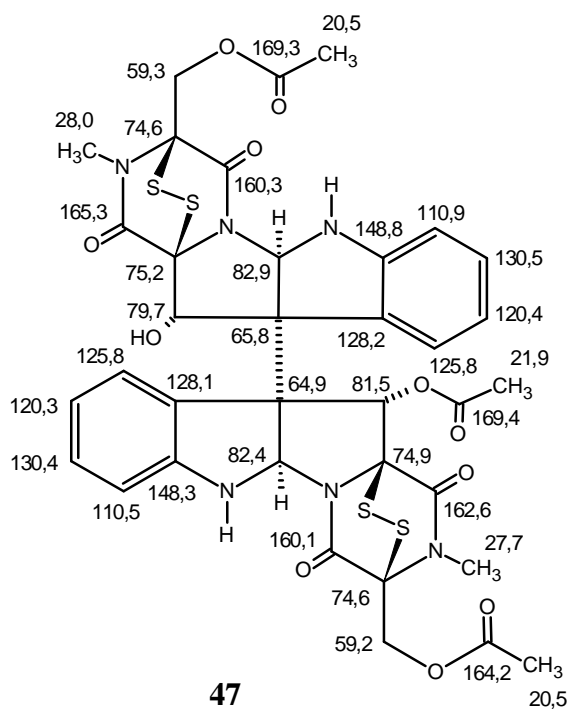


45

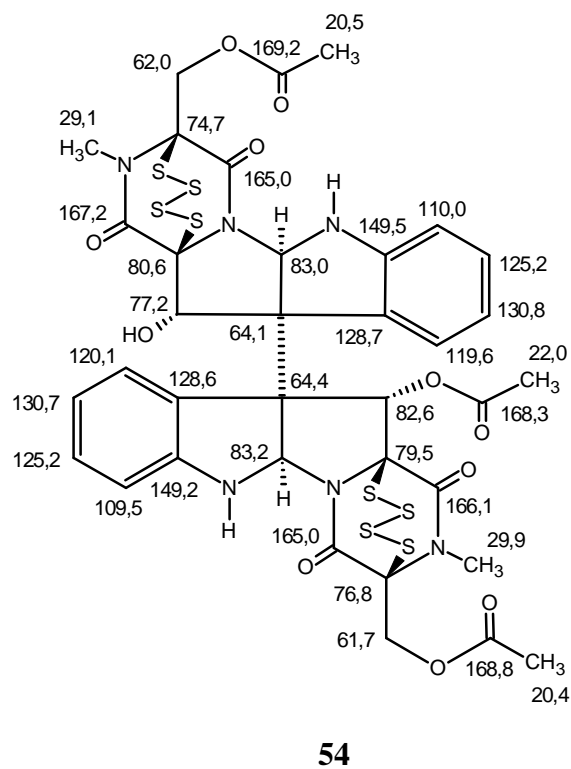
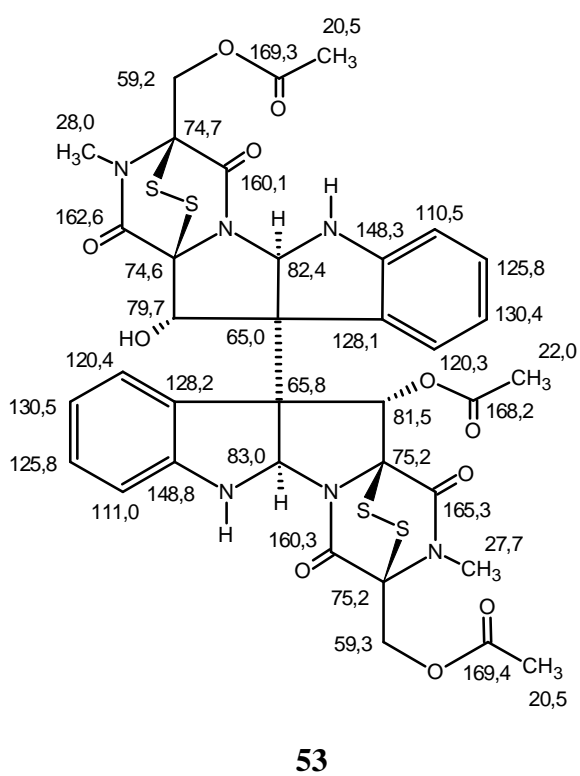
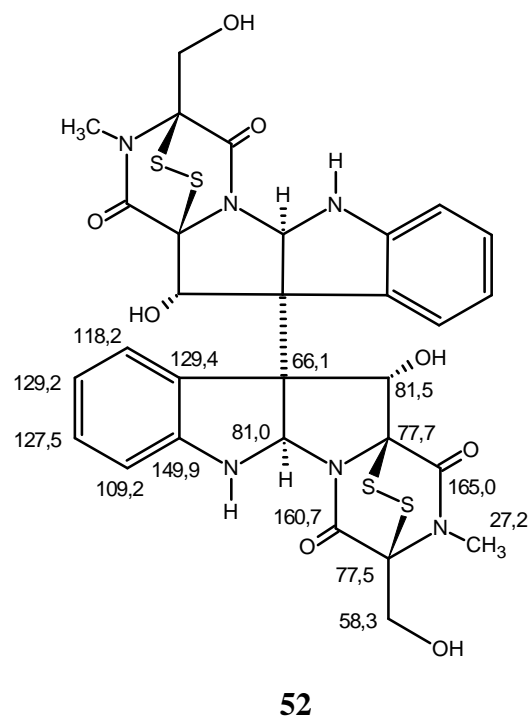
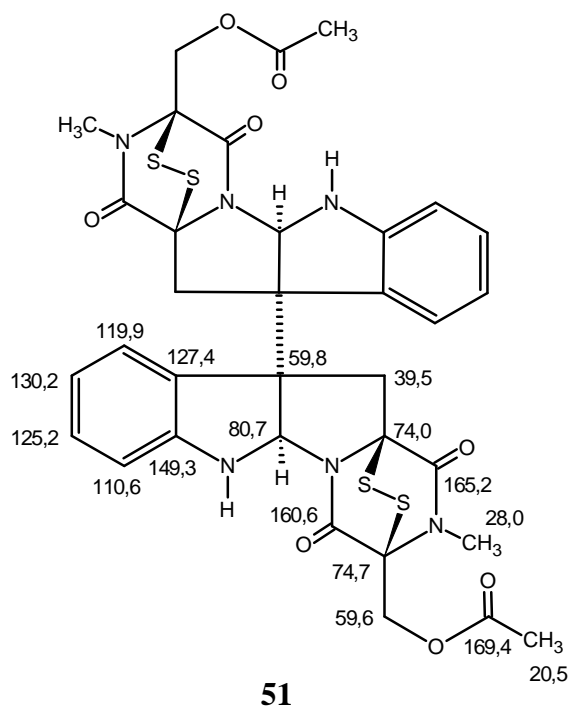


46

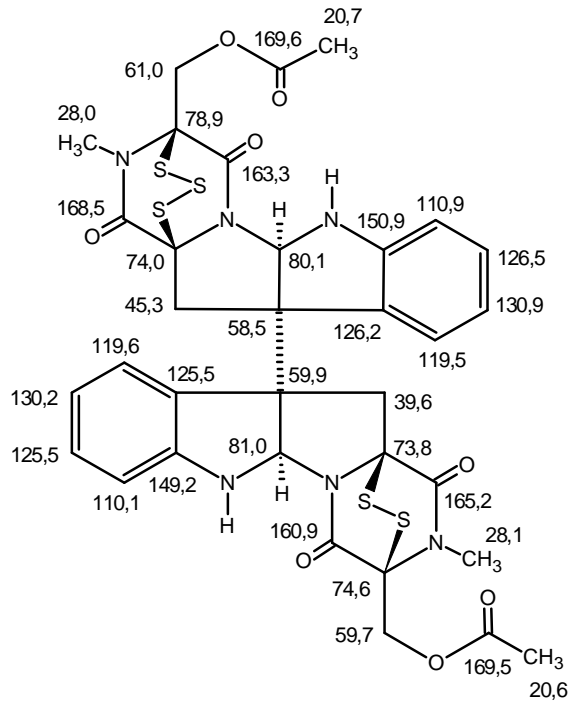
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



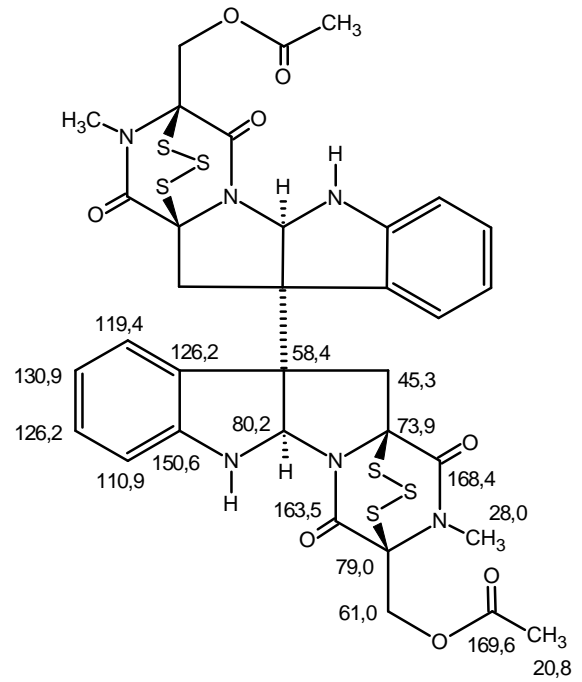
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



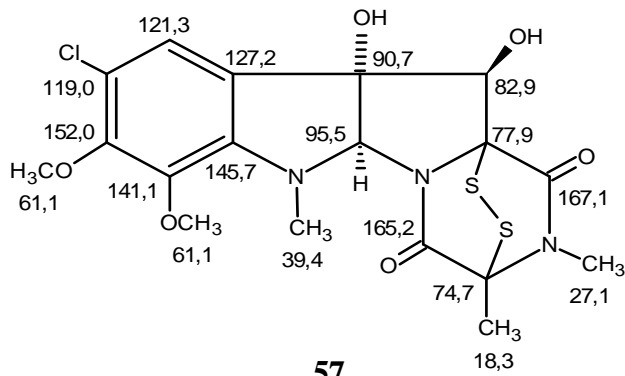
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



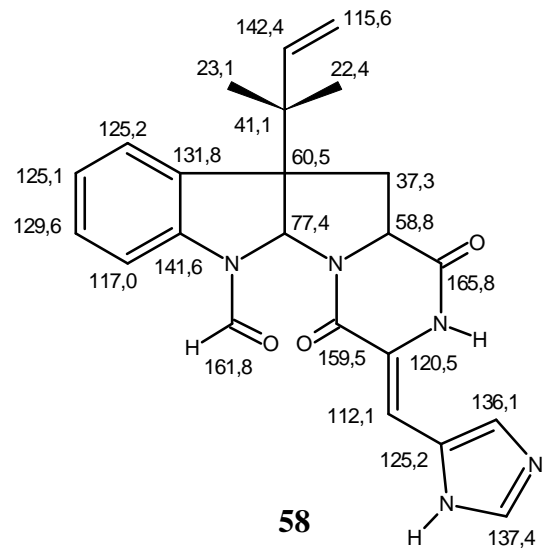
55



56

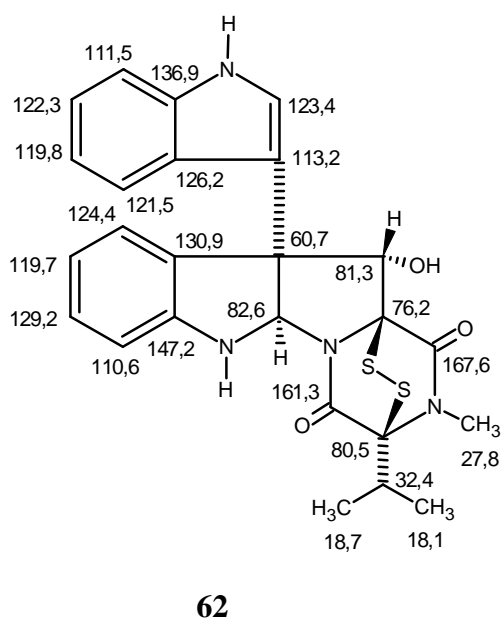
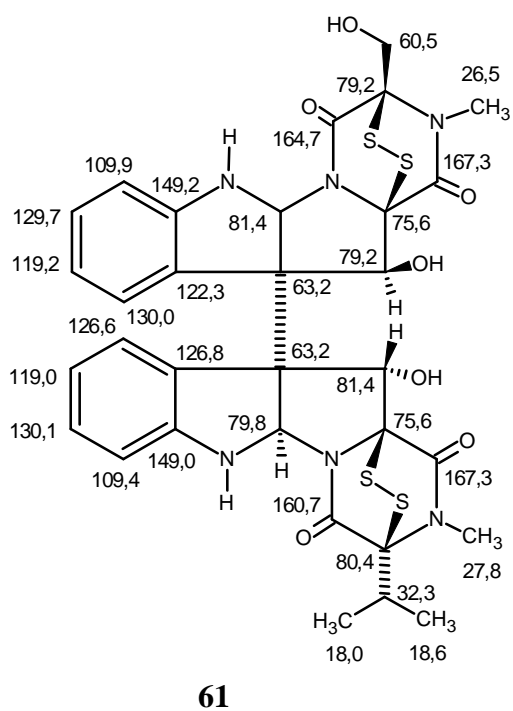
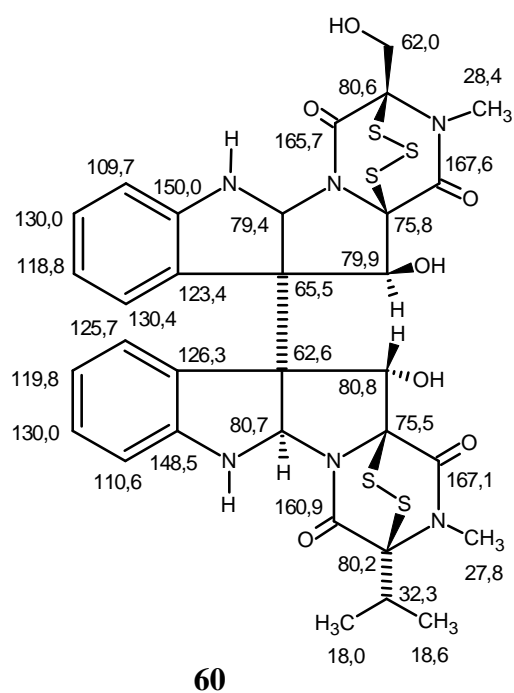
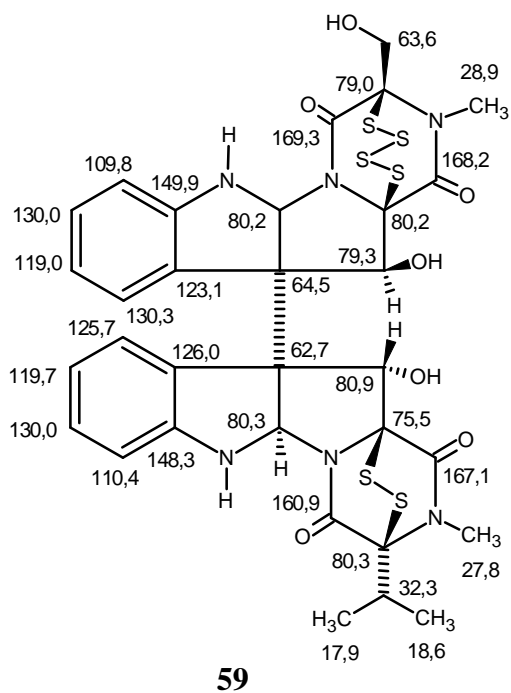


57

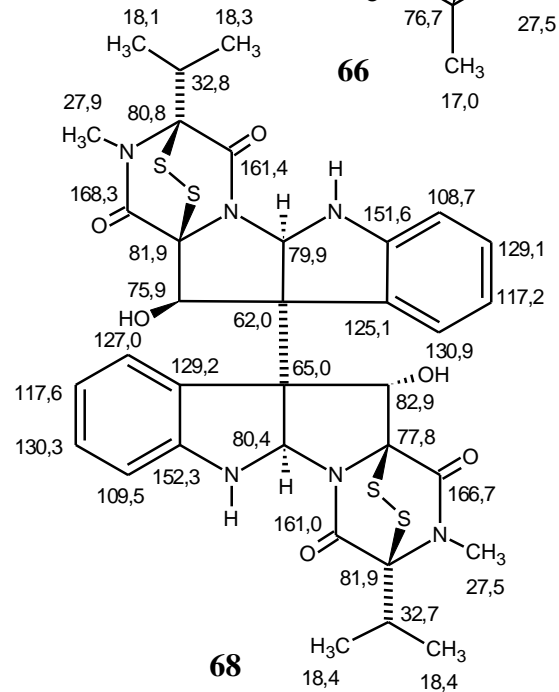
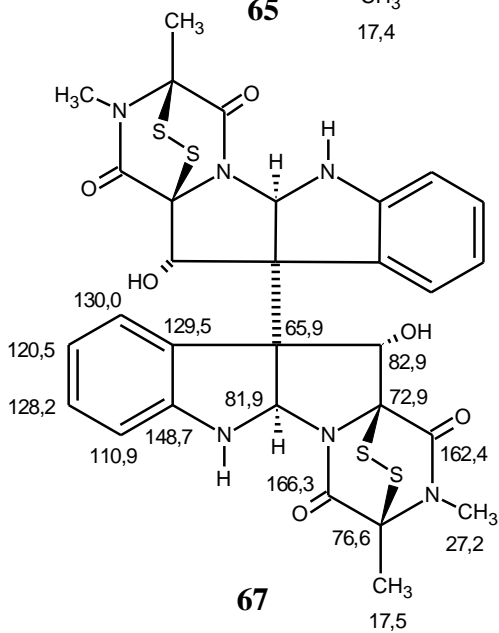
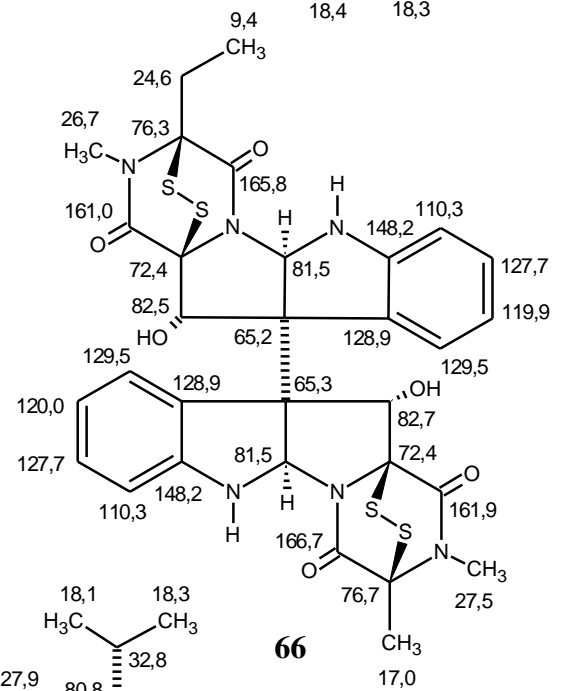
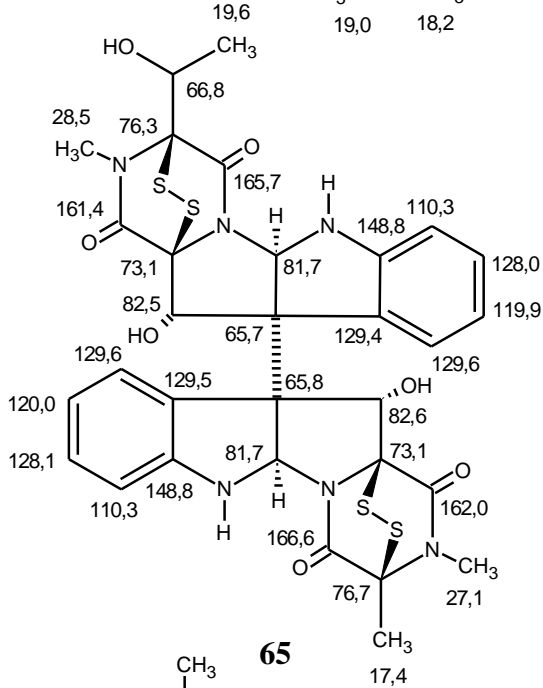
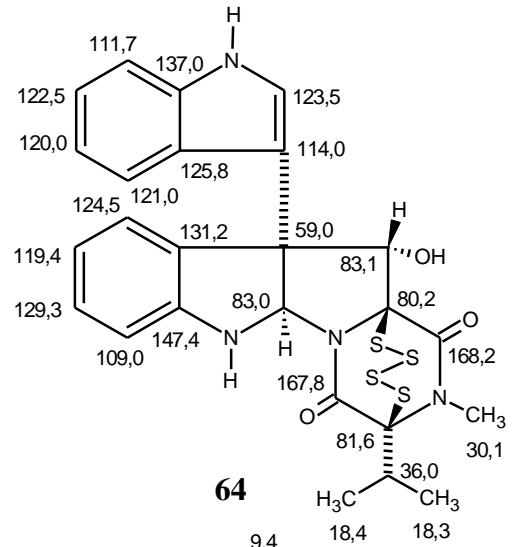
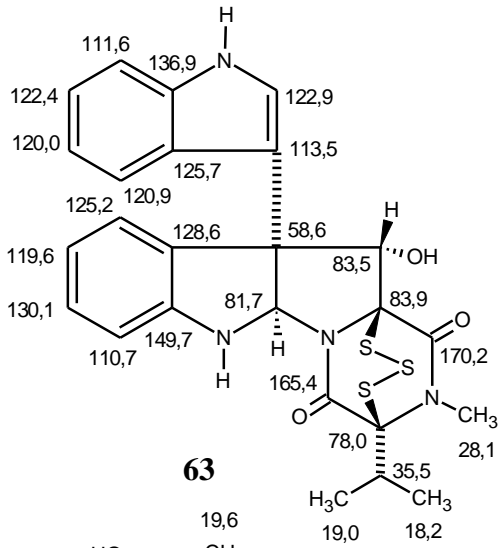


58

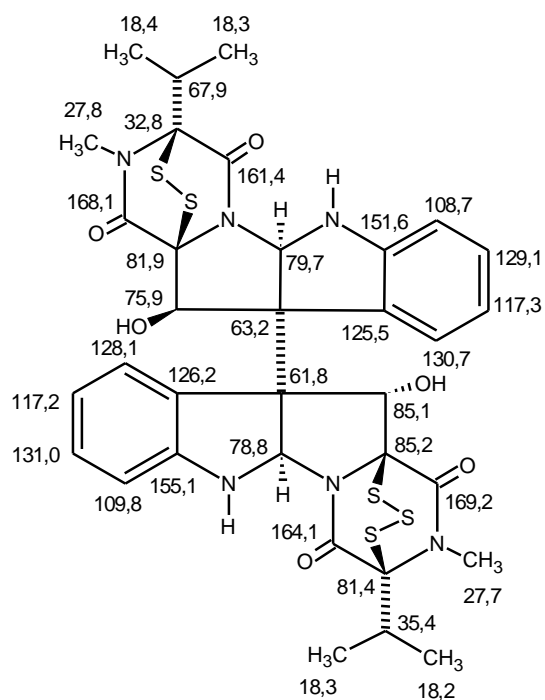
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



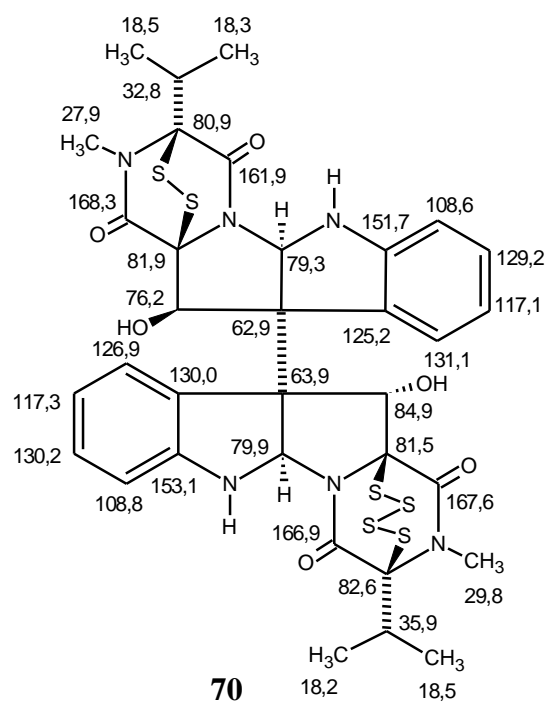
Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de fungo



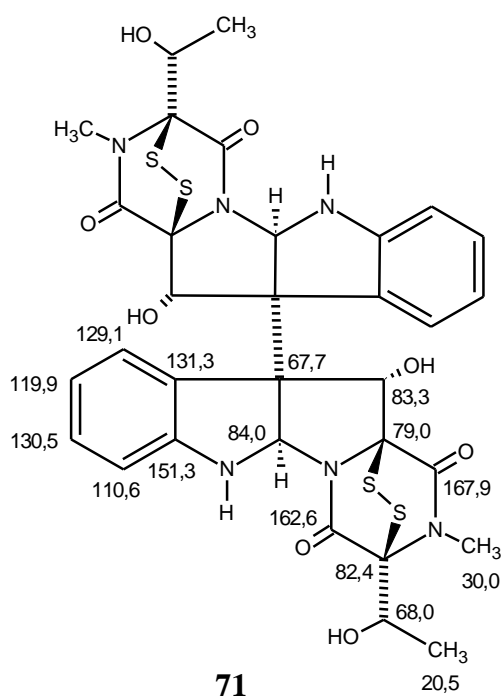
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



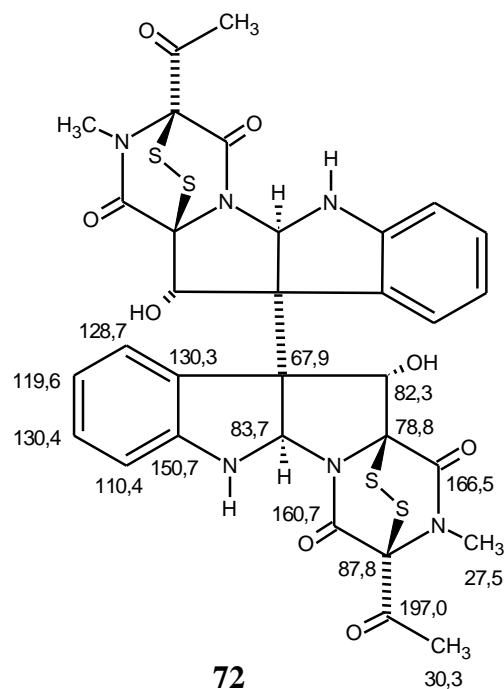
69



70



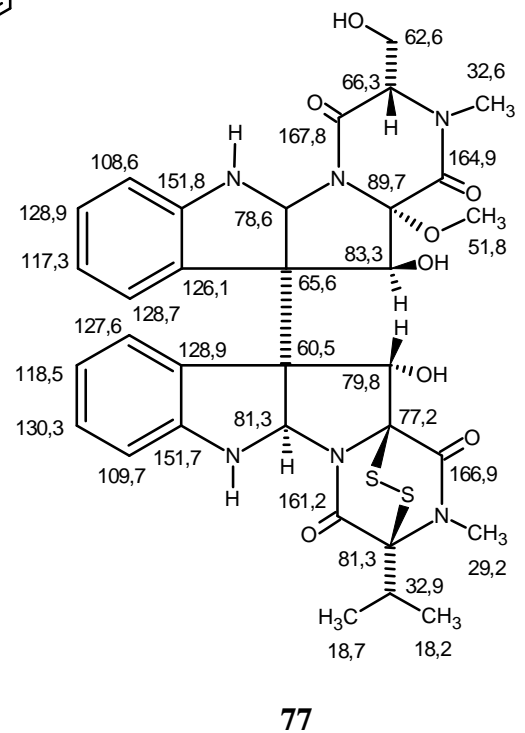
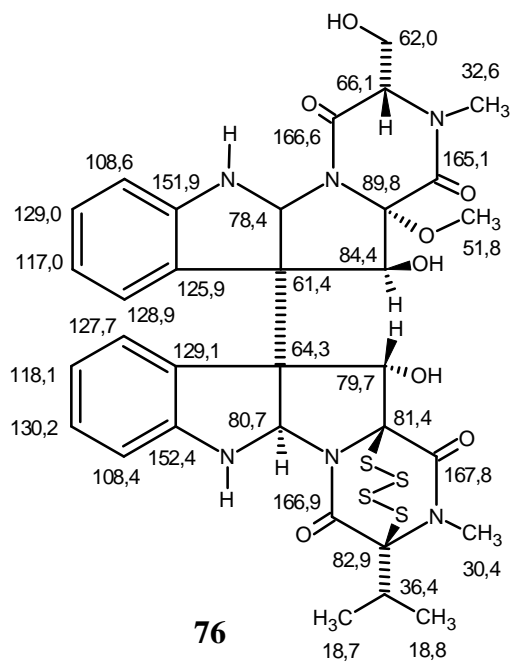
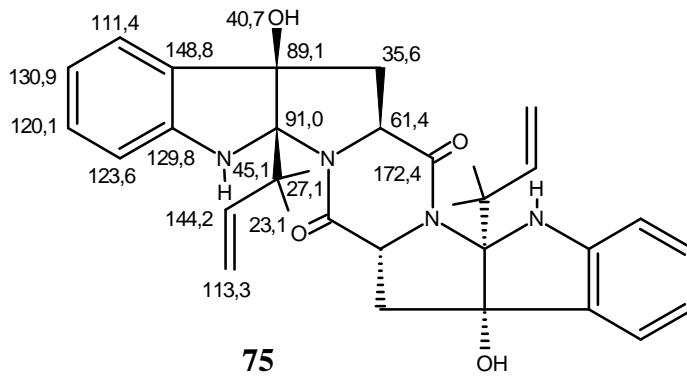
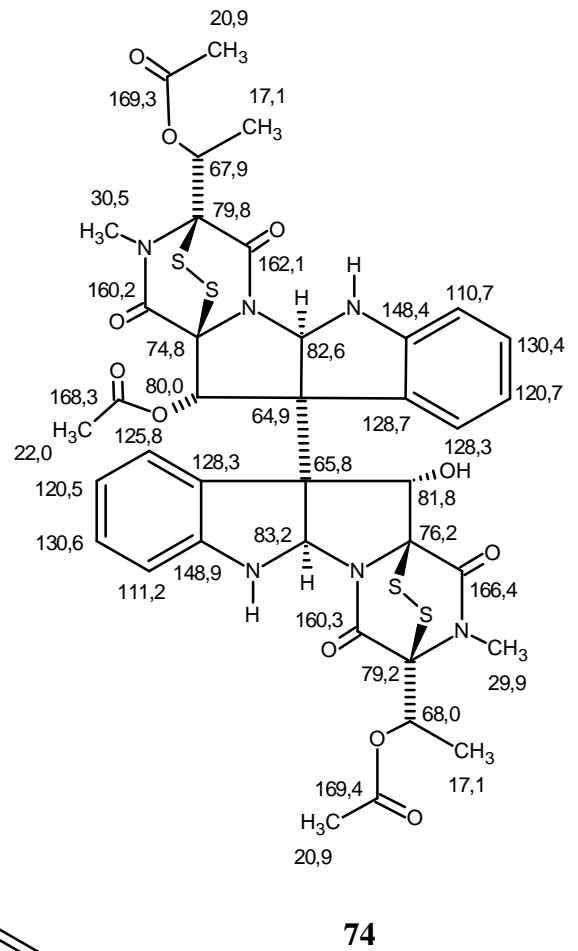
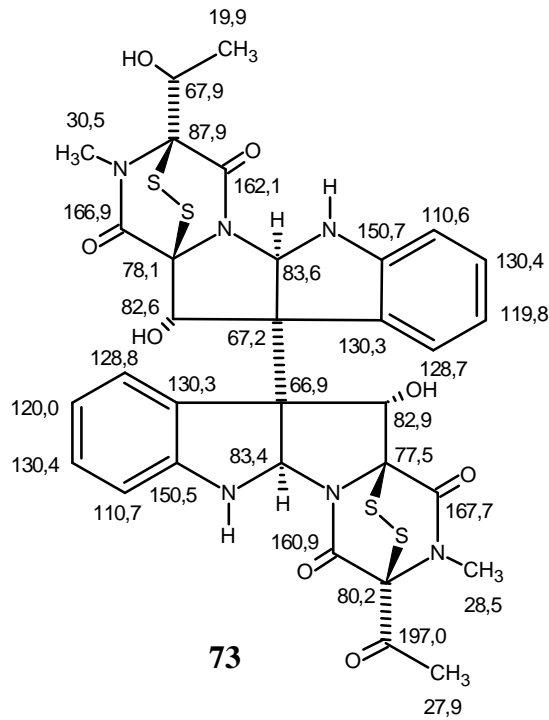
71



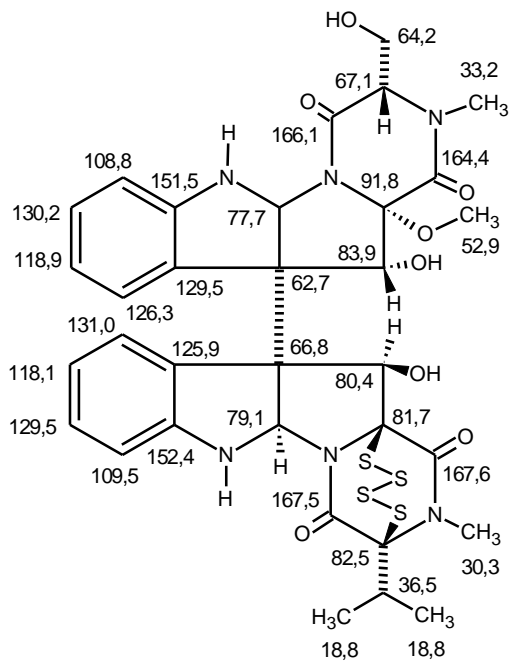
72



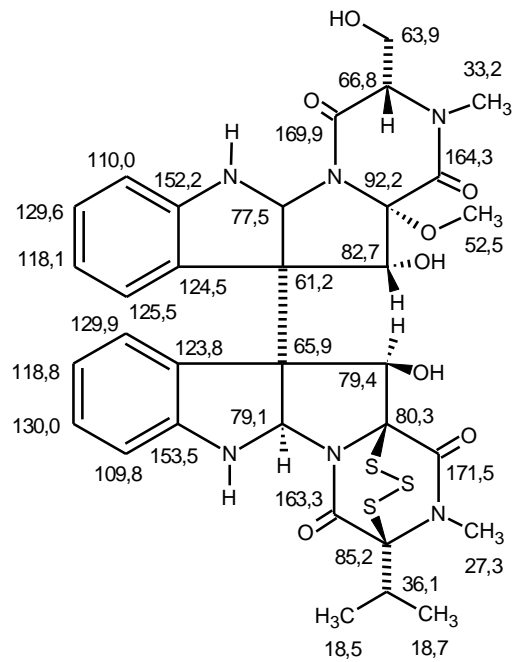
### Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



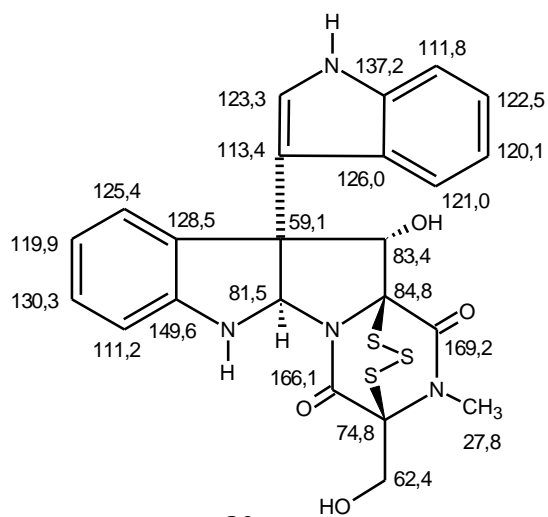
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



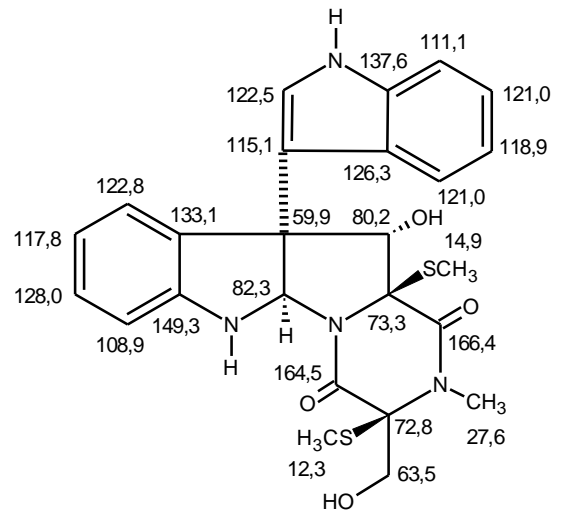
78



79

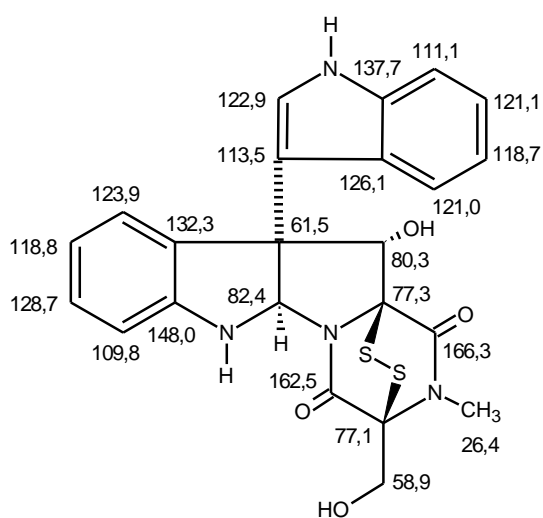


80

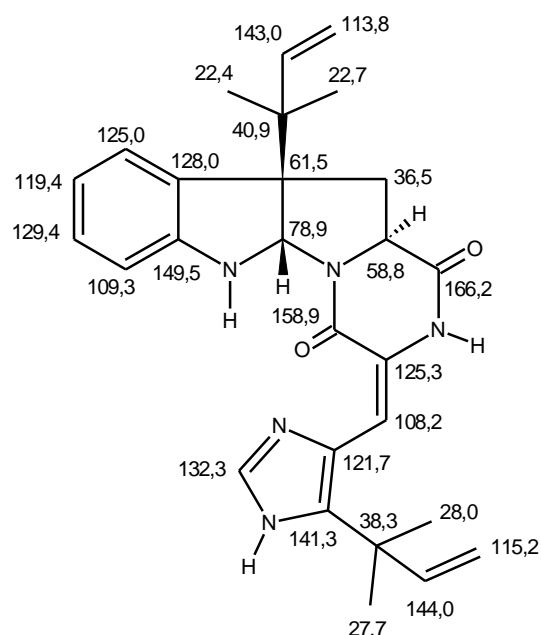


81

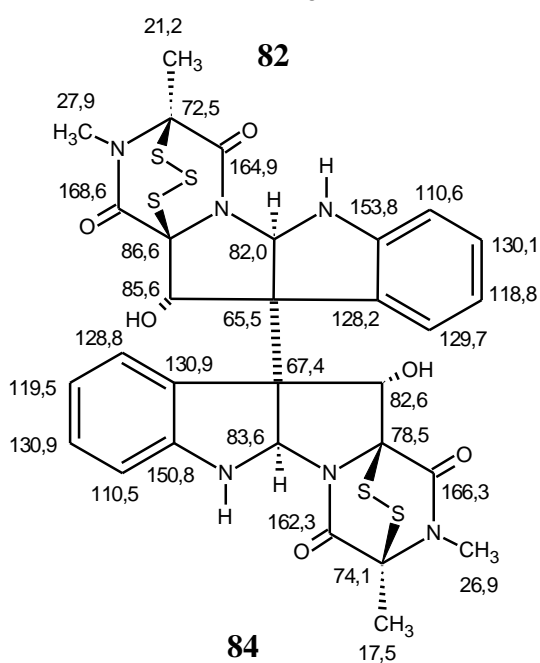
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



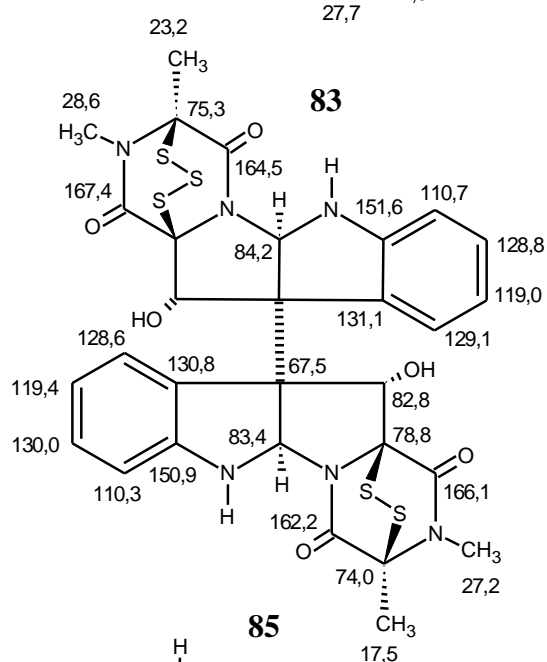
82



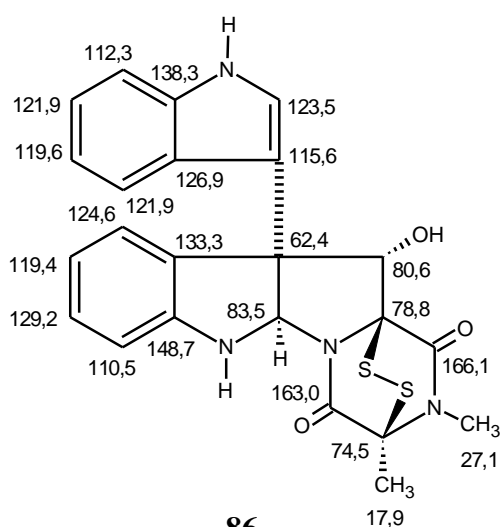
83



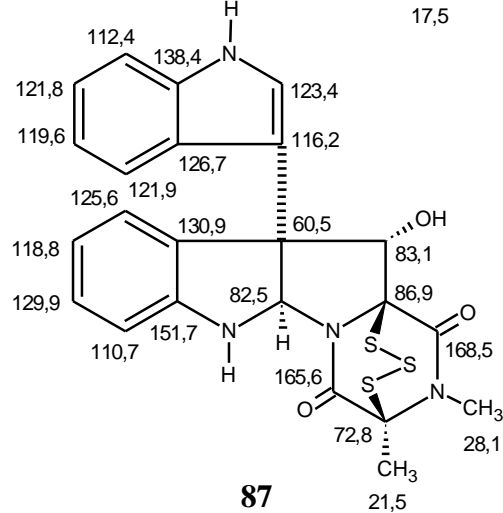
84



85

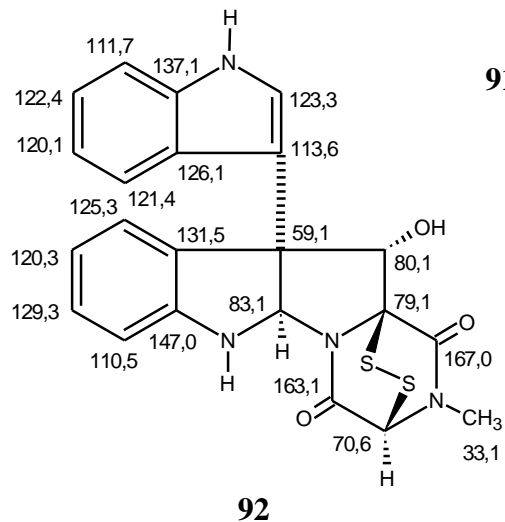
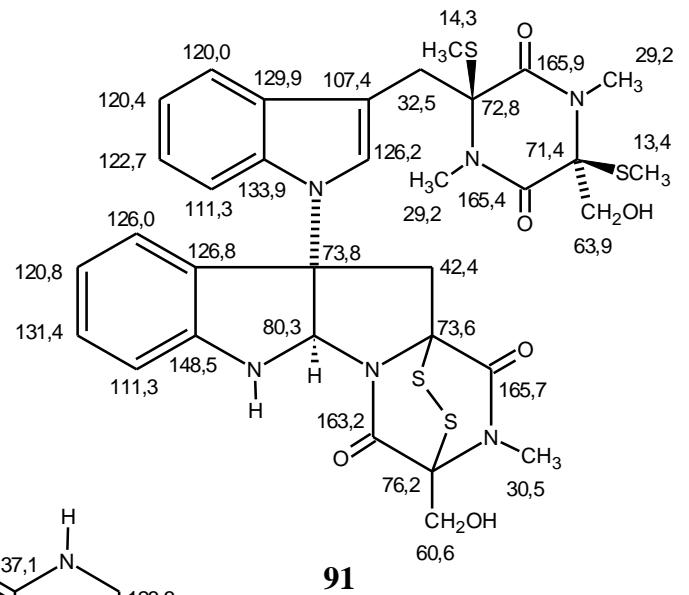
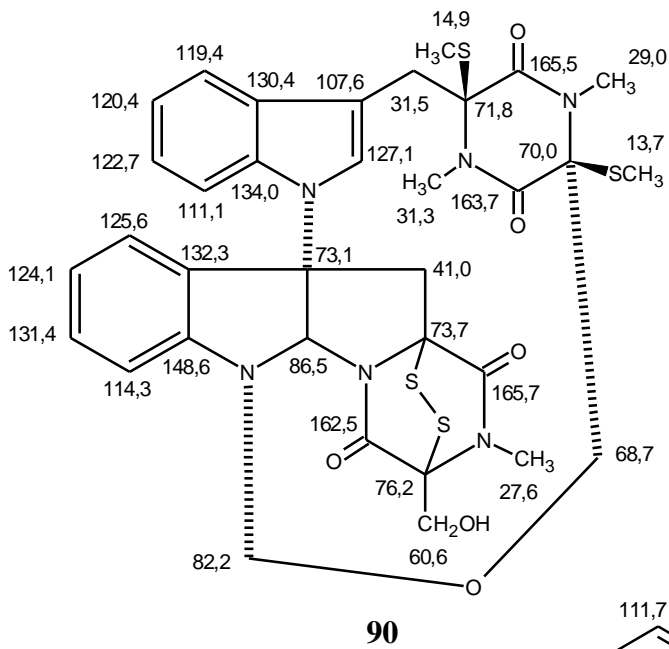
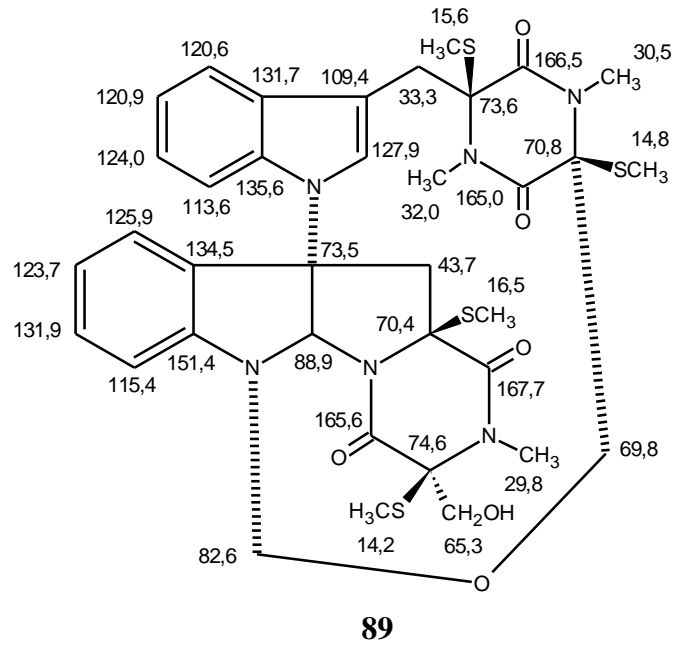
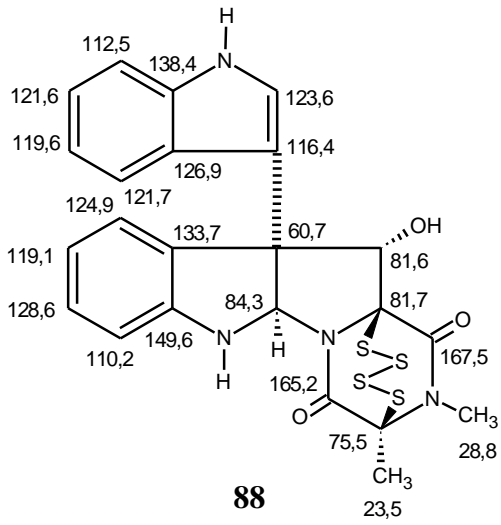


86

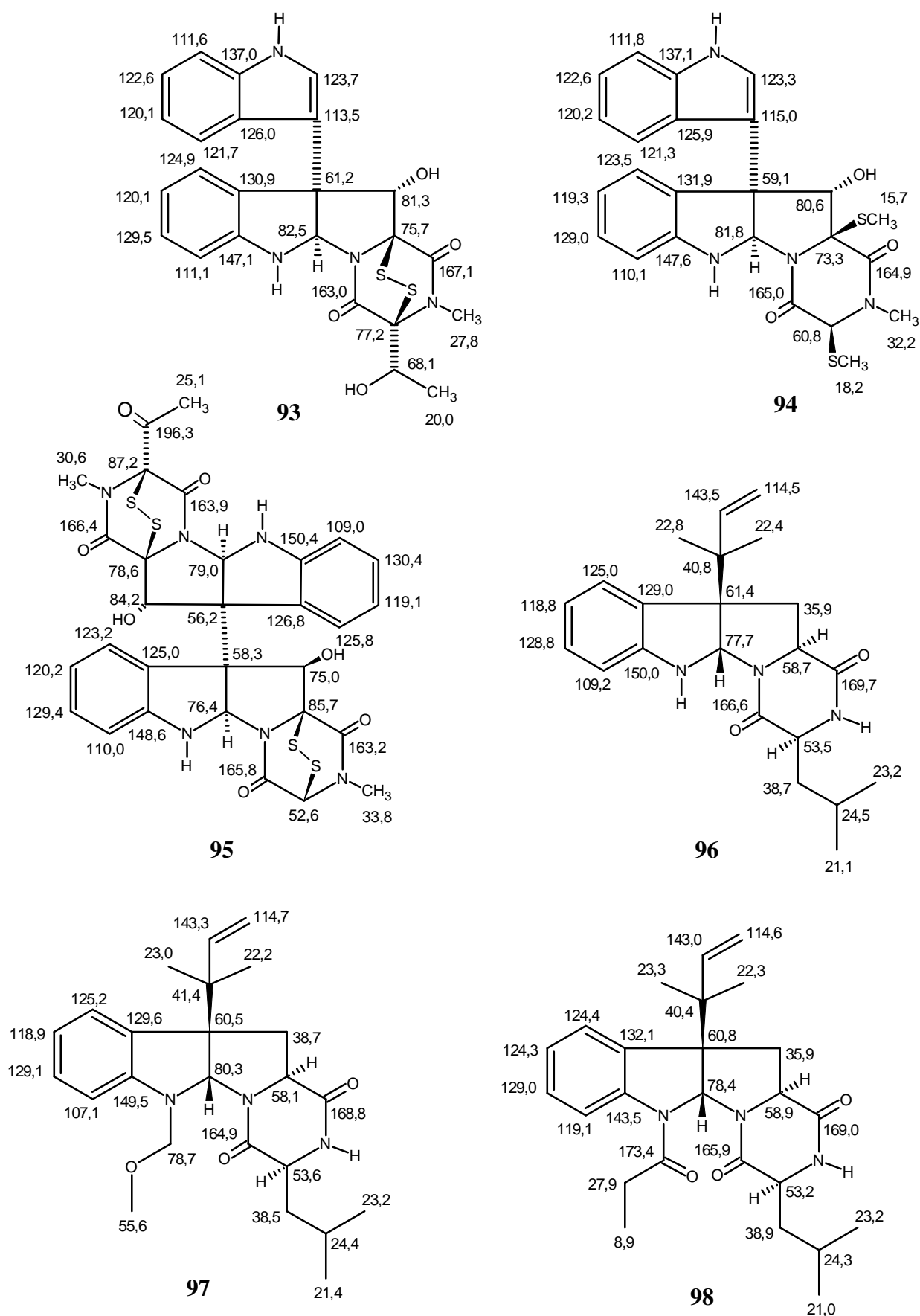


87

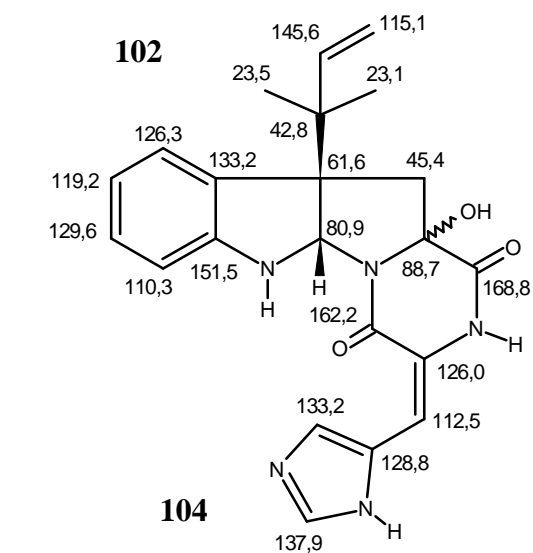
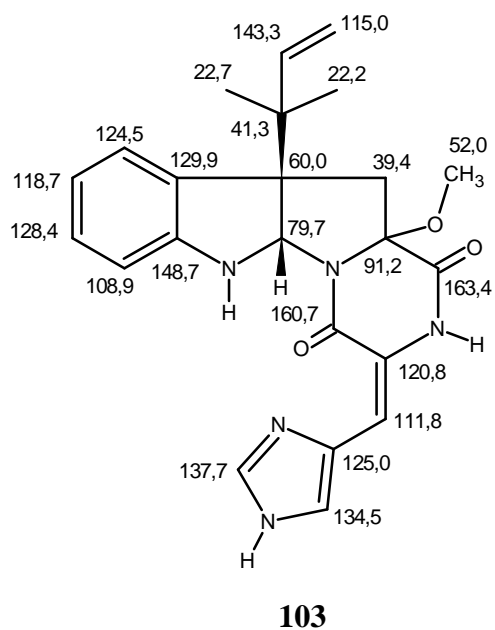
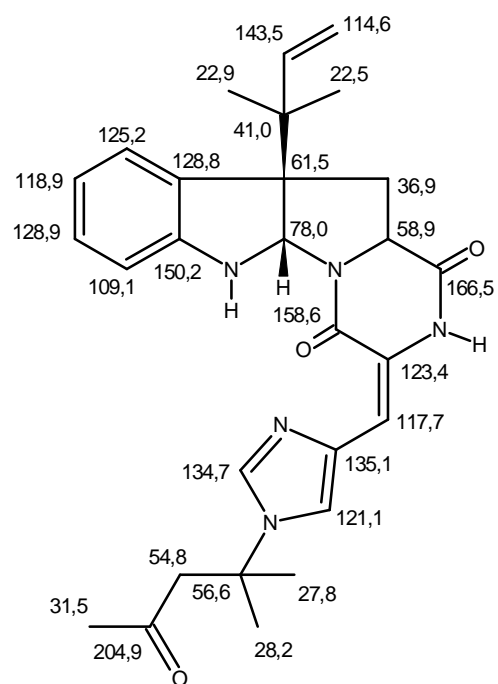
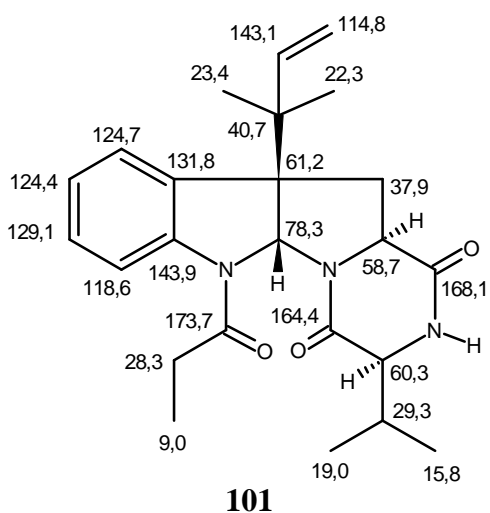
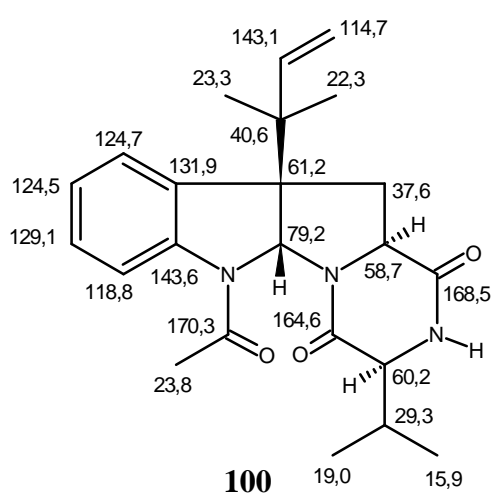
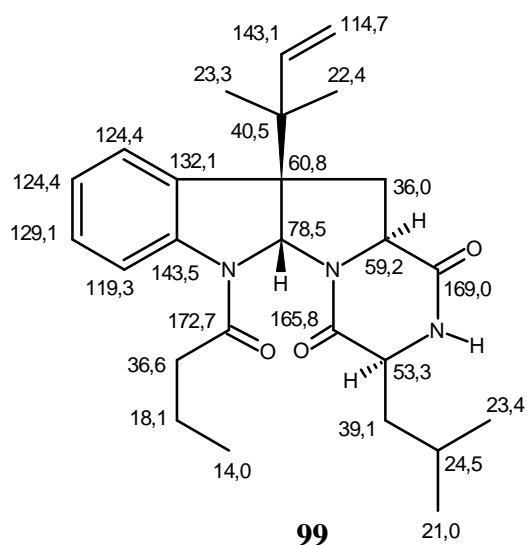
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



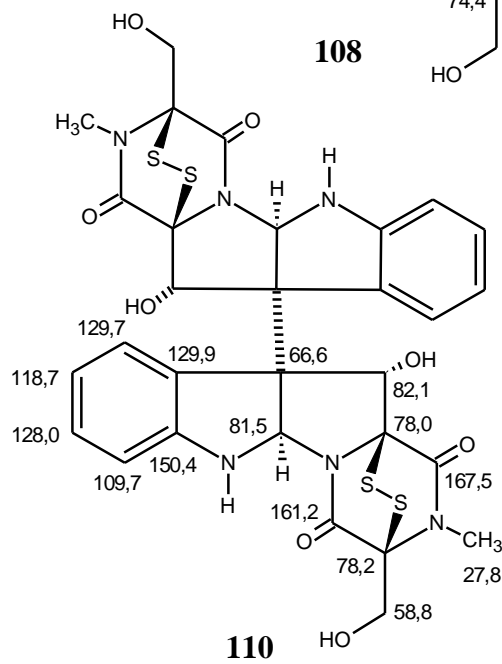
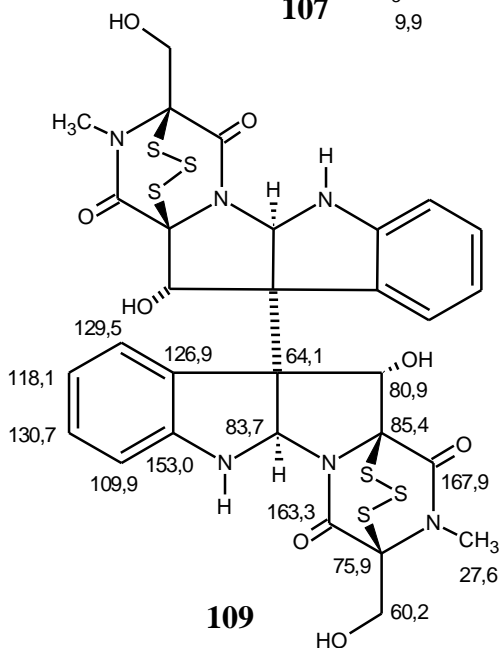
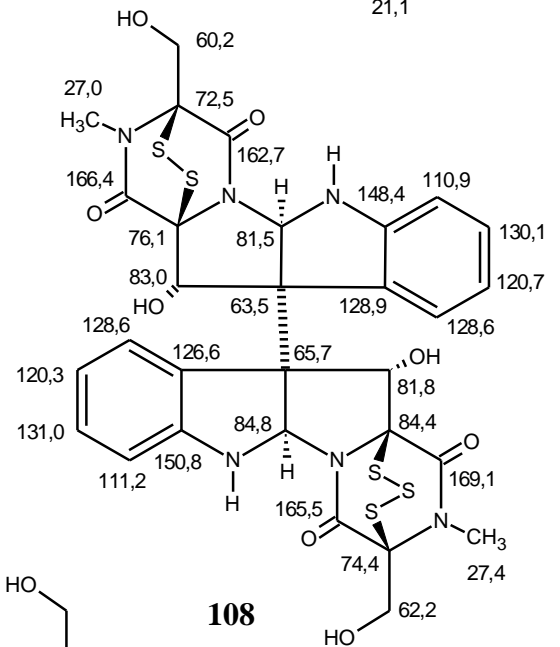
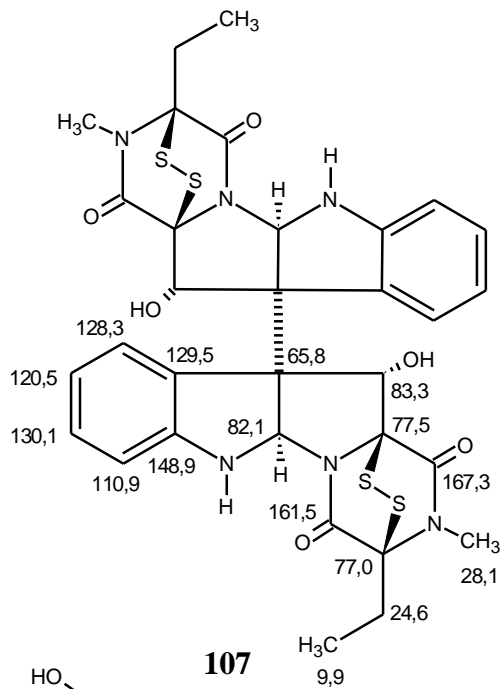
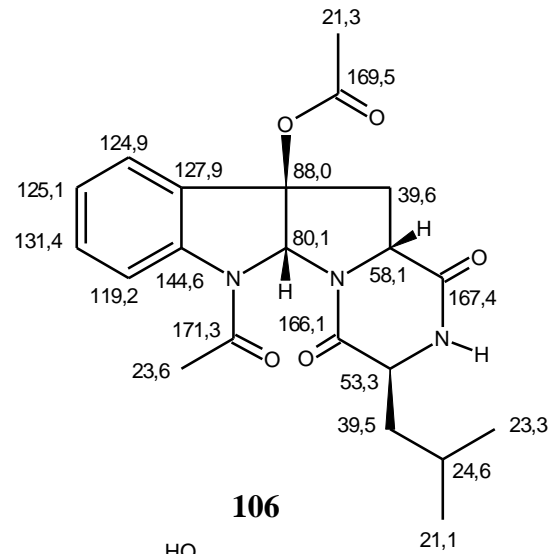
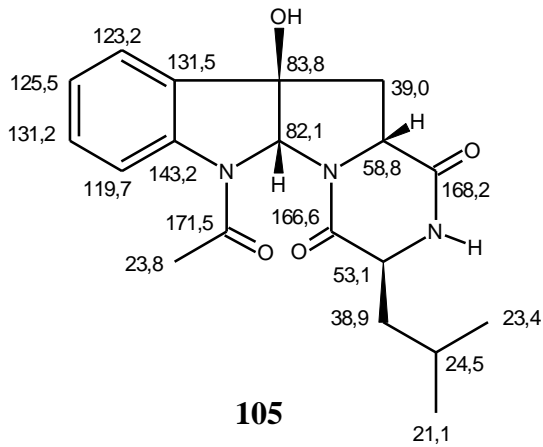
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



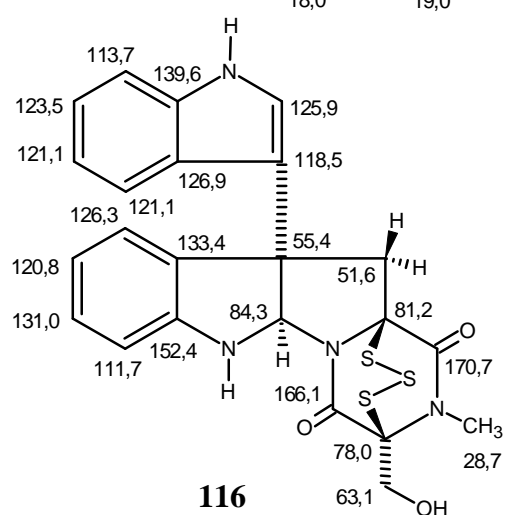
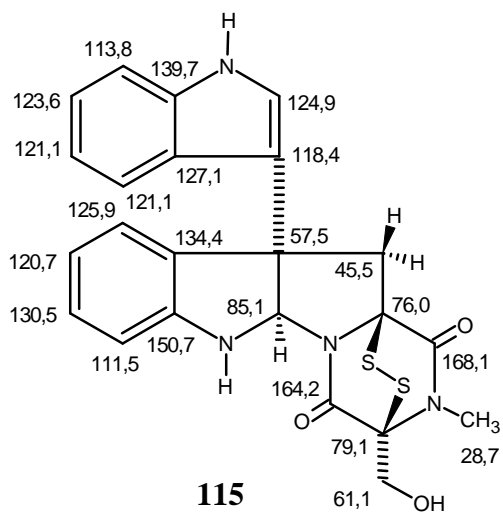
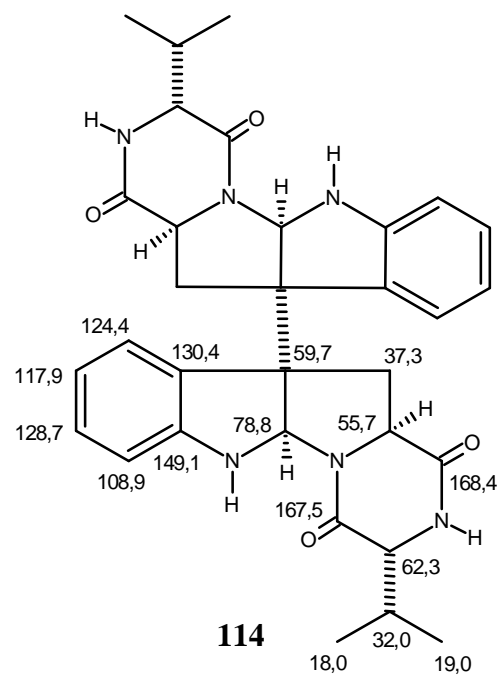
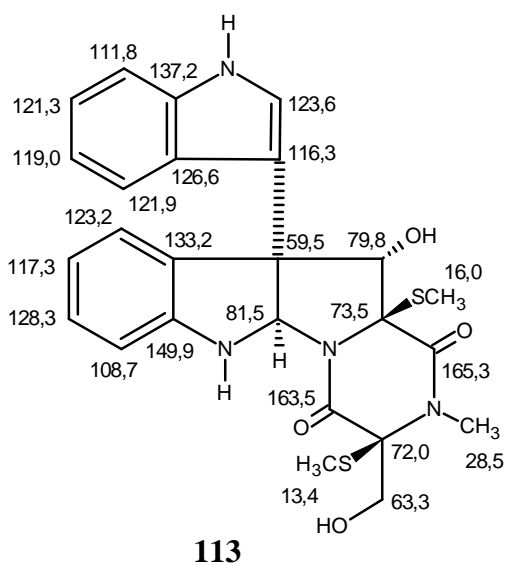
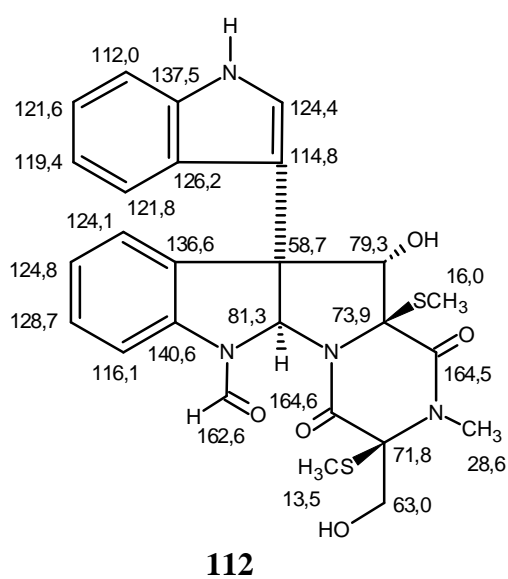
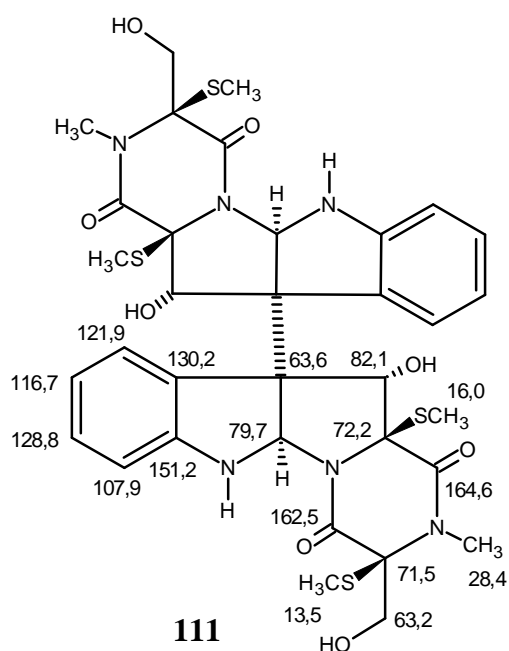
## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo



## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo

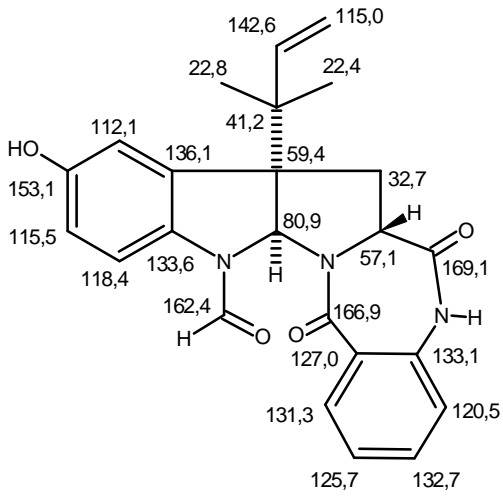


## Alcalóides pirrolidinoindólicos aislados de fungo

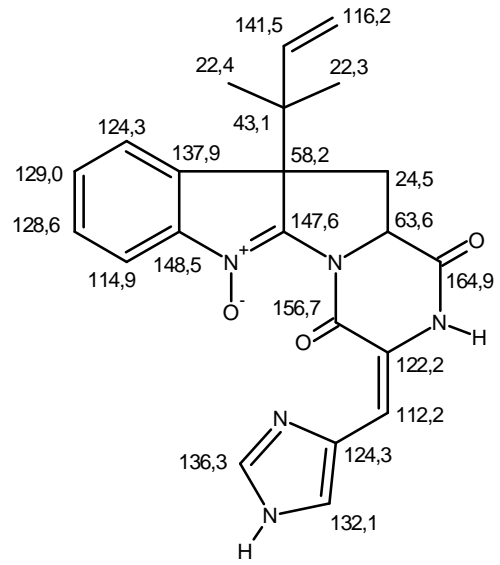




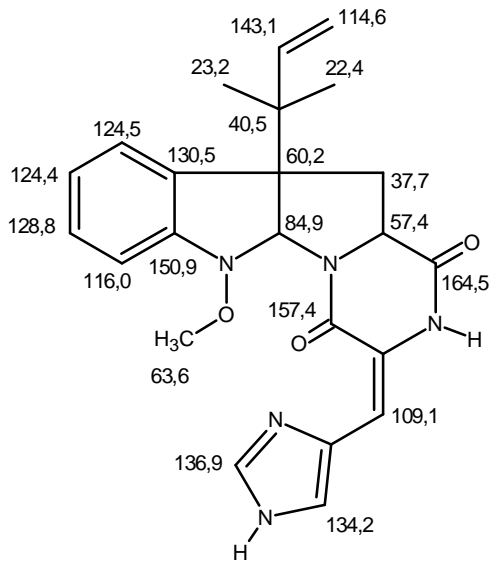
**Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de fungo**



117

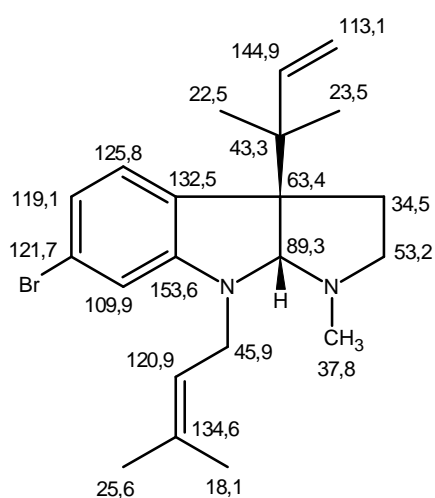
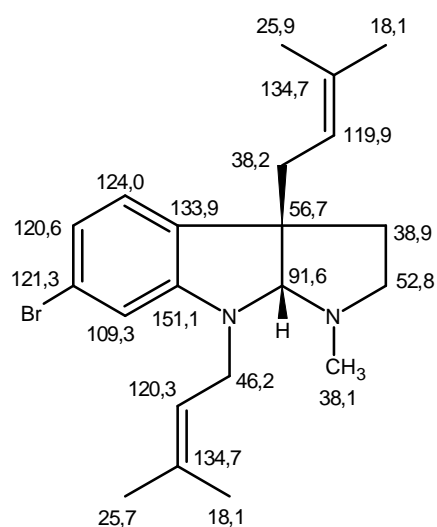
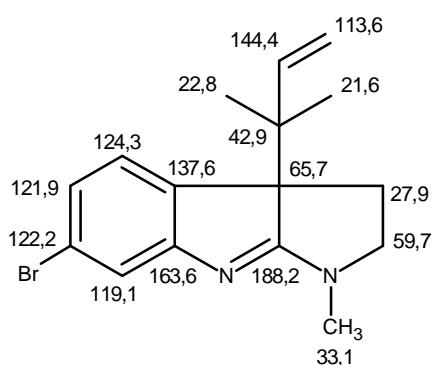
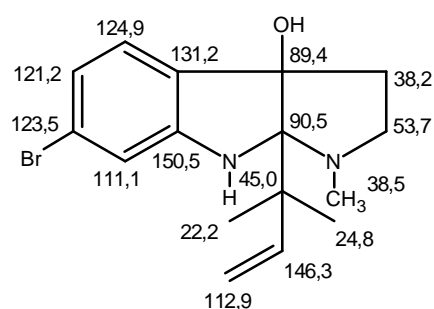
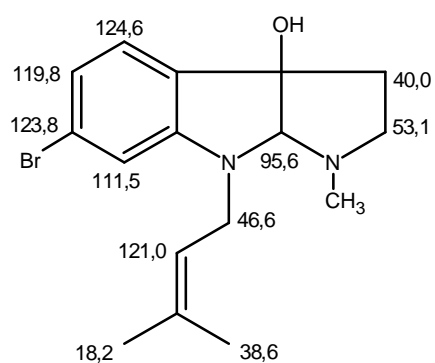
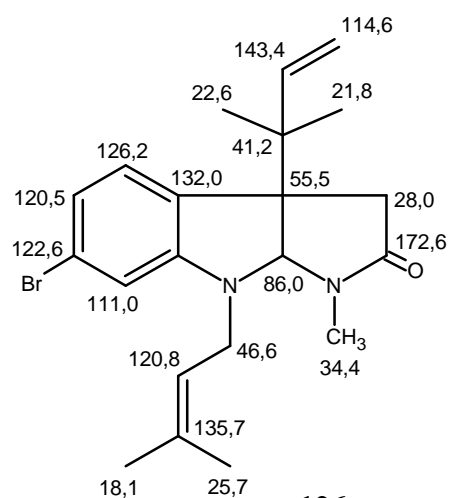


118

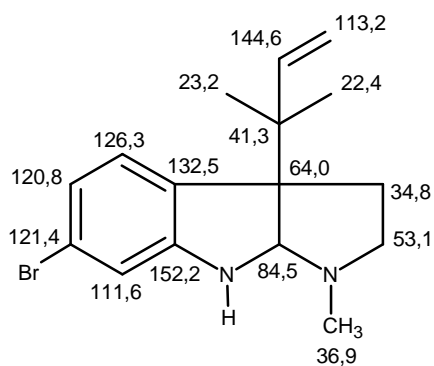
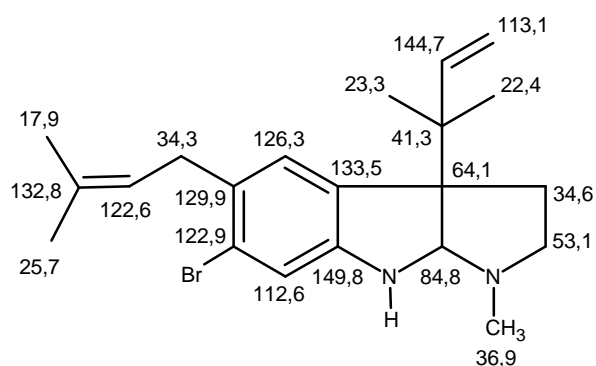
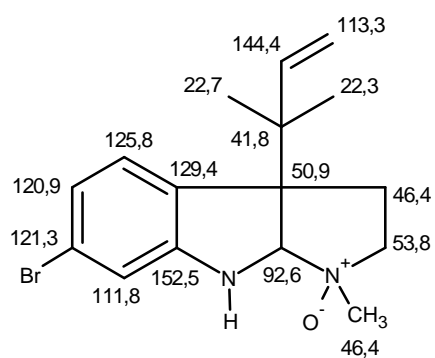
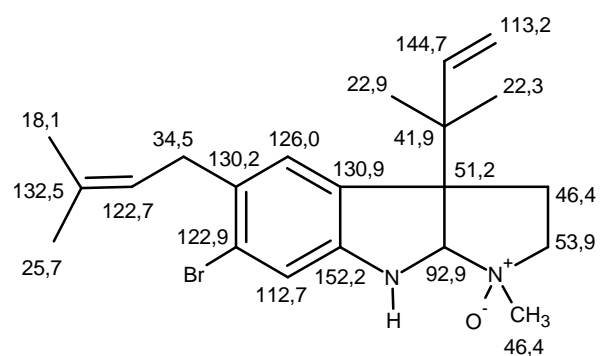
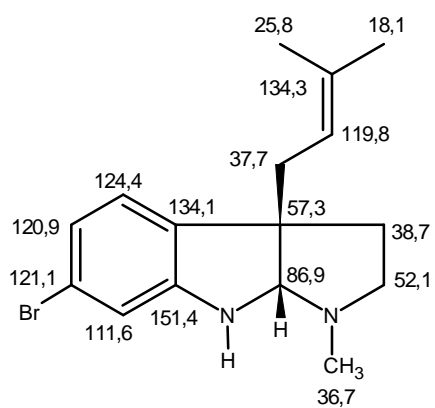
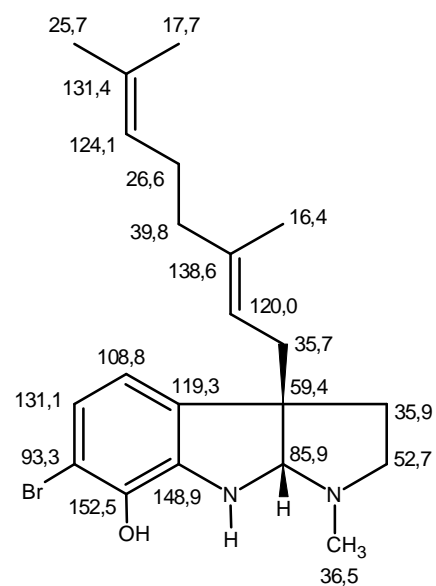


119

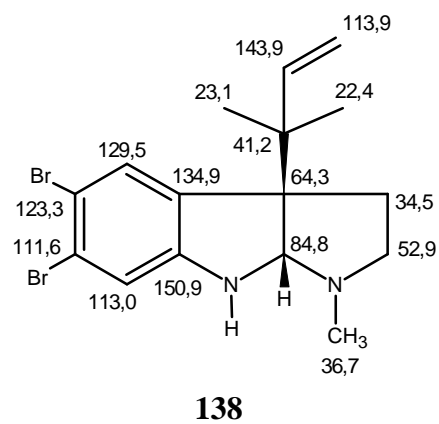
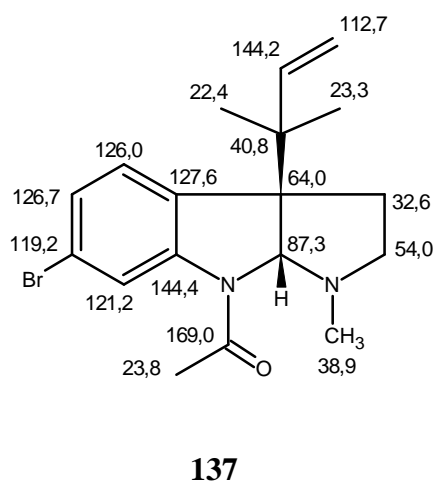
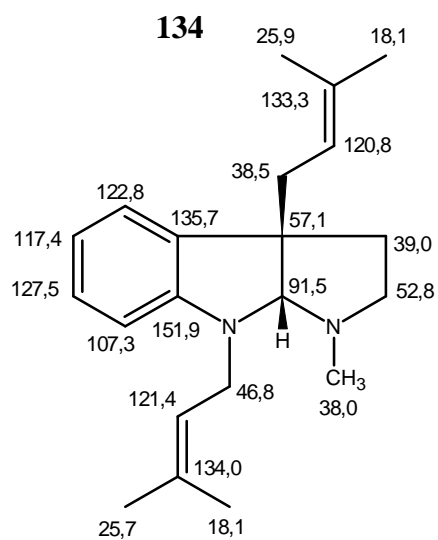
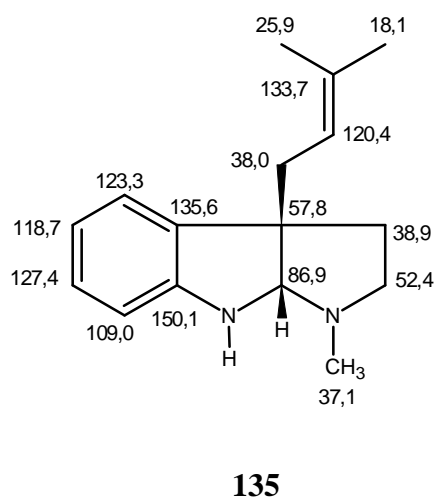
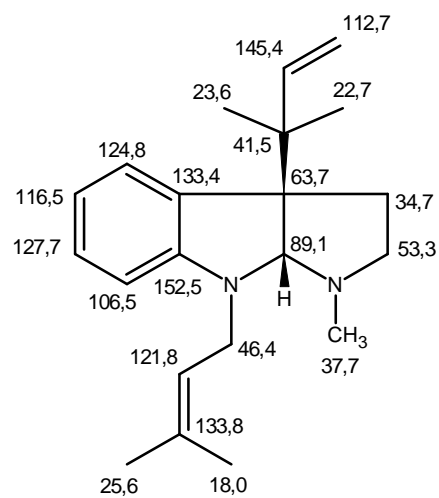
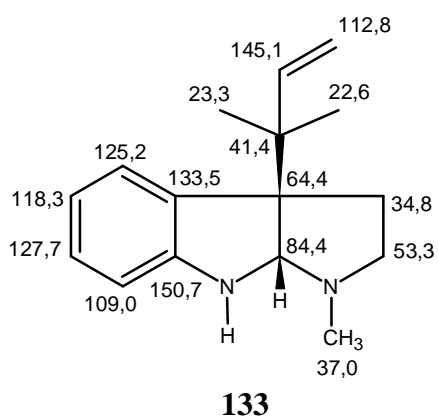
### Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de animal marinho

**120****122****123****124****125****126**

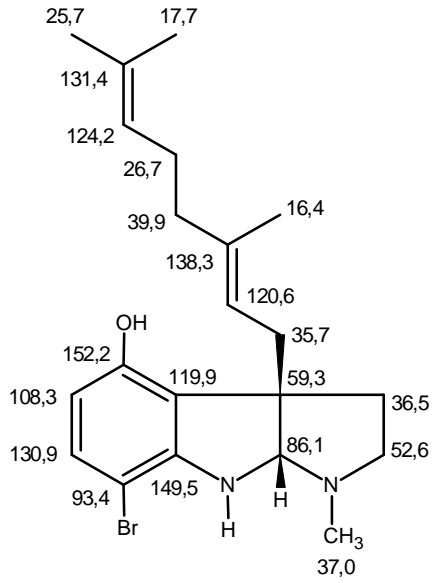
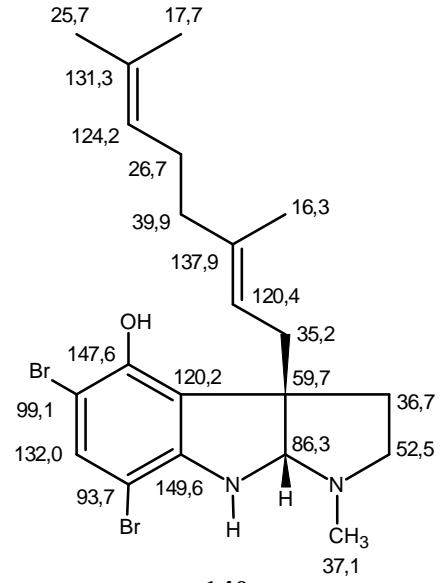
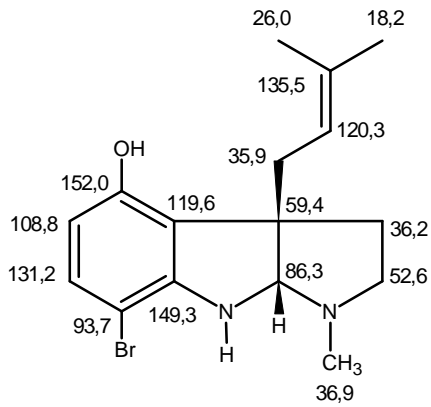
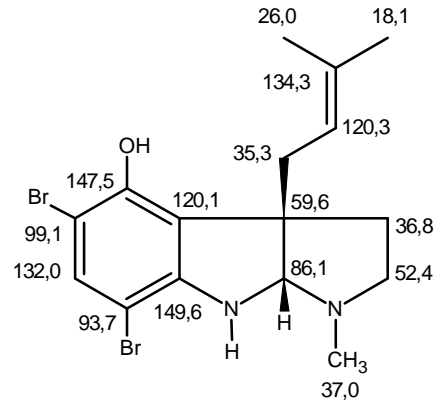
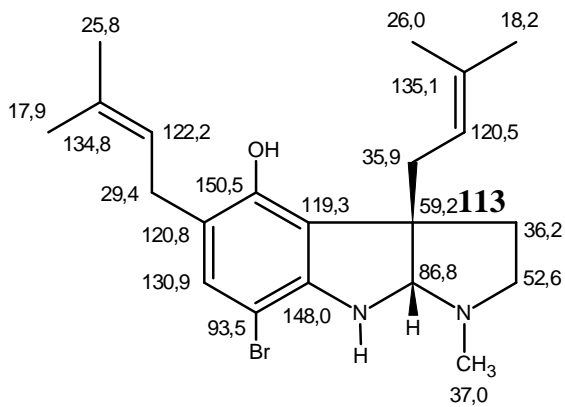
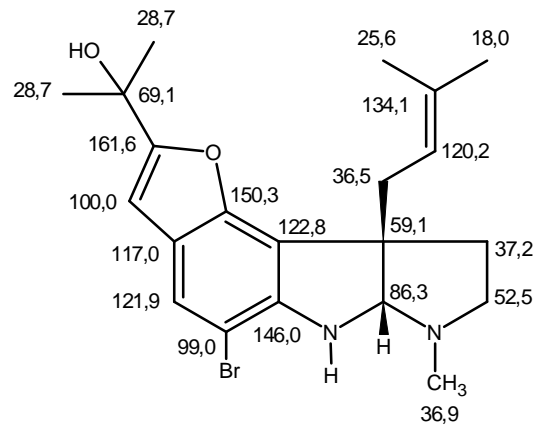
## Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de animal marinho

**127****128****129****130****131****132**

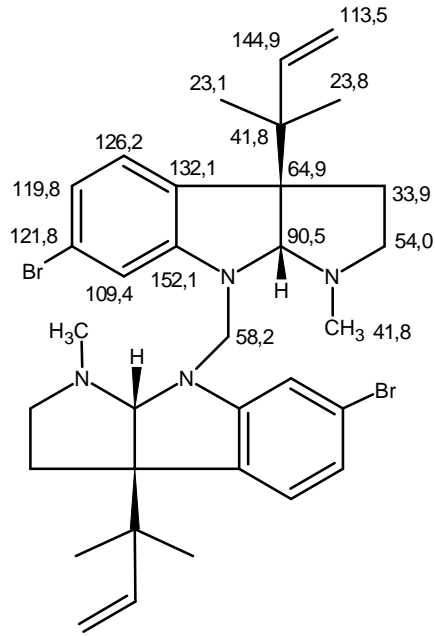
### Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de animal marinho



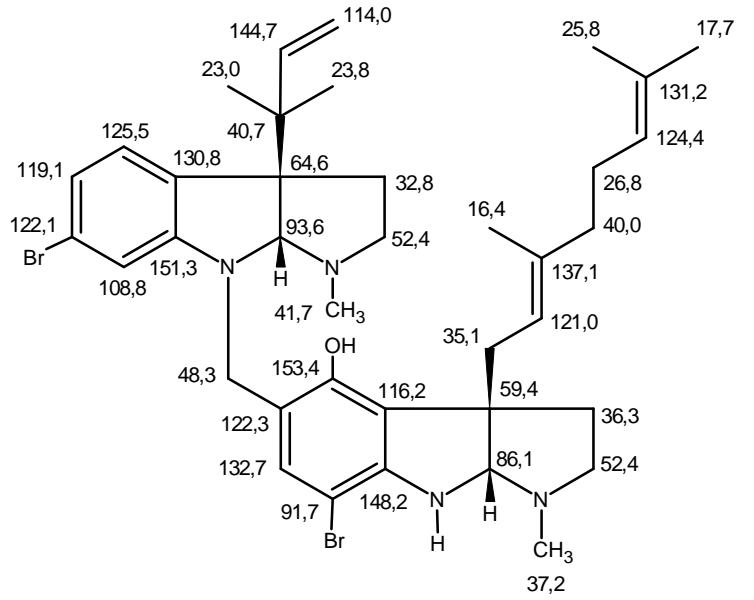
**Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de animal marinho**

**139****140****141****142****143****144**

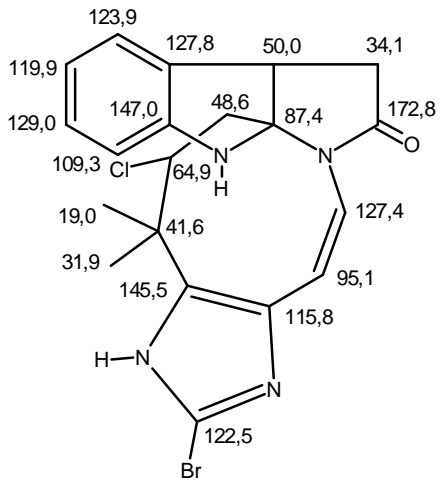
**Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de animal marinho**



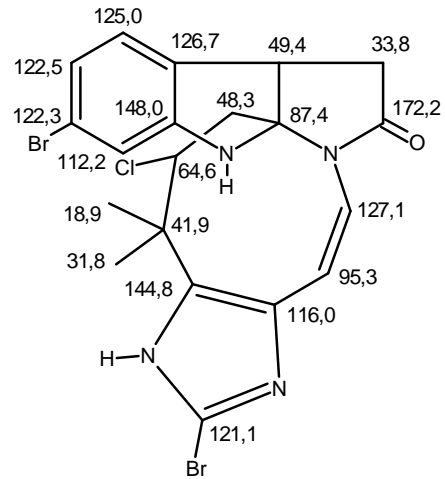
145



146

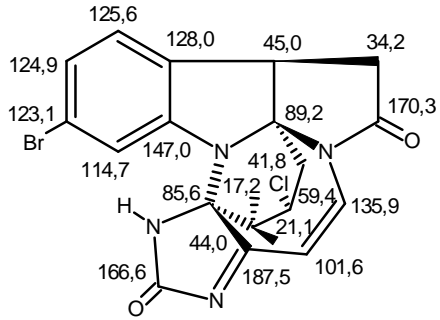


147

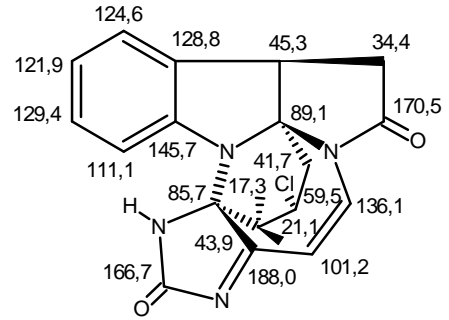


148

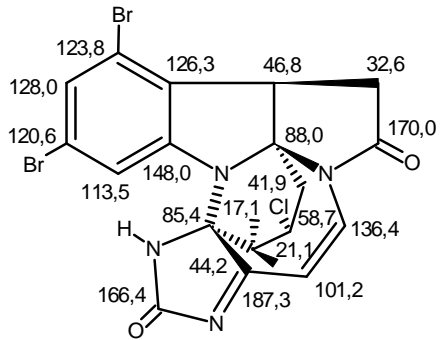
**Alcalóides pirrolidinoindólicos isolados de animal marinho**



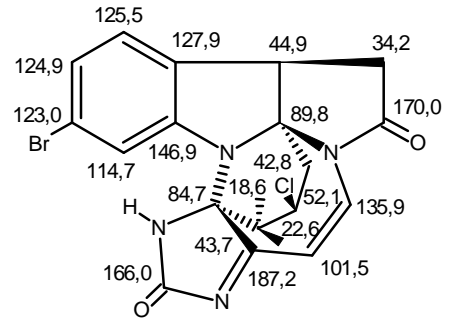
149



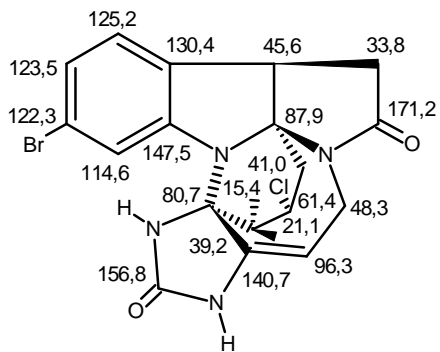
150



151



152



153

## 4 PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 Material Botânico

*Margaritopsis carrascoana* foi coletada na chapada do Araripe, município de Moreilândia-PE, pelo professor Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

A identificação botânica foi realizada pelo professor Elnatan Bezerra de Souza, do Departamento de Biologia da Universidade do Vale do Acaraú. A exsicata encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, sob o número 22075.

### 4.2 Métodos Cromatográficos

#### 4.2.1 Cromatografia de Adsorção

As Cromatografias Líquido-Sólido (CLS) foram realizadas utilizando-se colunas de gel de sílica 60 ( $\emptyset$  63-200  $\mu\text{m}$ ) para cromatografia em coluna aberta e gel de sílica 60 ( $\emptyset$  40-63  $\mu\text{m}$ ) para cromatografia sob pressão (cromatografia “flash”) da VETEC. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as massas das amostras e a quantidade de gel sílica utilizada. As colunas utilizadas nas cromatografias de adsorção sob pressão média (cromatografia flash) foram de vidro resistente à pressão e continham bulbos no ápice, para armazenamento de solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact N° 682403 de Ind. de Aparelhos Médicos Ltda.

Para a cromatografia de camada delgada (CCD) utilizam-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 ( $\emptyset$  2- 25  $\mu\text{m}$ ) sobre alumínio da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm).

Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, acetato de etila, puros ou combinados em proporções crescentes de polaridade. Os eluentes utilizados nos tratamentos por cromatografia de adsorção sobre média pressão foram escolhidos após análise prévia das frações por CCD, a fim de permitir que o constituinte desejado (ou aquele de menor  $R_F$ ) apresente  $R_F$  próximo de 0,3. Estes eluentes escolhidos foram utilizados no empacotamento da sílica nas colunas e como eluentes de partidas no procedimento cromatográfico.



A revelação das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) realizado em aparelho Spectroline modelo ENF 240 C/F, por aspersão com o Revelador de Dragendorff e solução de vanilina ( $C_8H_8O_3$ ). Sendo necessário aquecimento em estufa a 100 °C por aproximadamente 5 minutos, quando o revelador era vanilina.

#### **4.2.2 Cromatografia Líquida de Exclusão Molecular**

Os fracionamentos por cromatografia de exclusão molecular foram efetuados em gel de dextrana Sephadex LH-20<sup>®</sup>, utilizando-se metanol puro como fase móvel.

#### **4.2.3 Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (C-18)**

As cromatografias em coluna de fase reversa C-18 foram realizadas em cartuchos de octadecil-silica utilizando colunas Phenomenex (500 mg).

#### **4.2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi realizada em equipamento constituído de uma bomba ternária de alta pressão SHIMADZU LC-20AT, detector UV Visível com arranjo de diodo SHIMADZU SPD-M20A e um forno termostático para acomodação da coluna.

Para as análises cromatográficas utilizou-se uma coluna semi-preparativa de fase reversa Phenomenex RP-18 (250 x 10 mm, 5 µm). Os solventes empregados como fase móvel foram água Milli-Q, solução de TFA 0,1 % e metanol com grau de pureza CLAE, que foram filtrados em membrana de nylon com poros de 0,45 µm. As amostras foram dissolvidas com os solventes usados na fase móvel e filtradas num sistema manual de membrana de teflon com poros de 0,45 µm.

### 4.3 Métodos Espectrométricos

#### 4.3.1 Espectroscopia na região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 100-FT-IR usando o aparato UATR (Universal Attenuated Total Reflectance), pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LEMANOR-UFC). Os experimentos foram realizados com as amostras sólidas ou dissolvidas, neste caso, utilizando-se o solvente etanol.

#### 4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN $^1\text{H}$ ) e de carbono-13 (RMN $^{13}\text{C}$ )

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) uni e bidimensionais de MCT-A 1, MCT-A 2, MCT-A 3, MCT-NB 1, MCT-NB 2, MCF-NB 1, MCF-NB 2, MCF-NB 3, MCF-NB 4, MCT-H 1, MCT-H 2, MCT-D 1 e MCT-D 2, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Advance DPX-300 ou modelo Advance DPX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC).

O espectrômetro Bruker Avance DRX-300, equipado com sonda de detecção inversa de 5 mm, foi operado nas frequências de 300,13 ( $^1\text{H}$ ) e 75,47 ( $^{13}\text{C}$ ) MHz sob um campo magnético de 7,05 T. Nos experimentos realizados no aparelho Advance DPX-500, equipado com sonda multinuclear de 5 mm com detecção inversa, foi aplicado frequências de 499,70 ( $^1\text{H}$ ) e 125,66 ( $^{13}\text{C}$ ) MHz sob um campo magnético de 11,74 T.

As amostras foram dissolvidas em alíquotas de 0,6 mL de solvente deuterado: metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ), piridina ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) e clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), comercializados pela Cambridge Isotope Laboratories.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e bidimensionais de MCT-A 4, foram obtidos em espectrômetro Agilent, modelo VNMR5-500, pertencentes ao Laboratório Multiusuário de Análise por RMN, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LMAR-UFRJ), operando na frequência do hidrogênio a 499,70 MHz.

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e referenciado, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes

às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: metanol ( $\delta$ 3,31), piridina ( $\delta$ 8,74; 7,58; 7,22) e clorofórmio ( $\delta$ 7,27). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: metanol ( $\delta$ 49,15), piridina ( $\delta$ 150,35; 135,91; 123,87) e clorofórmio ( $\delta$ 77,23).

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), dt (duplo triplete), q (quarteto), qt (quinteto) e m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN  $^{13}\text{C}$ , descrito segundo a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico),  $\text{CH}_3$  (carbono metílico).

Os experimentos bidimensionais de correlação homonuclear (COSY e NOESY) e heteronuclear (HSQC e HMBC), realizados no aparelho Bruker Avance DRX-500, foram efetuados em sonda multinuclear de 5 mm, com detecção inversa, empregando-se gradiente de campo no eixo Z e magnitude de 10 A. Os valores de  $J$  utilizados para os experimentos pertinentes foram  $^1J_{\text{H,C}} = 145^\circ$ ,  $^nJ_{\text{H,C}} = 7$ , onde  $n \geq 2$ .

#### 4.3.3 Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massas de alta resolução de MCT-A 1, MCT-A 2, MCT-A 3, MCT-A 4, foram obtidos usando um espectrômetro de massas Waters modelo Xevo QTOF, equipado com fonte de ionização por *electrospray*, pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Os espectros de massas de alta resolução de MCT-NB 1, MCT-NB 2, MCF-NB 1, MCF-NB 2, MCF-NB 3 e MCF-NB 4 foram obtidos usando um espectrômetro de massa Shimaduz modelo LCMS-IT-TOF, equipado com fonte de ionização por *electrospray* (IES) ou ionização química a pressão atmosférica (APCI), pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LAMANOR-UFC), sendo os *scans* adquiridos no modo positivo ou negativo. Condições gerais das análises: voltagens do capilar 3500 V; temperatura e fluxo do gás secante: 150 °C e 150  $\mu\text{L/h}$ . Nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização e solução de NaTFA foi usada como padrão para calibração do IT-TOF. As amostras (5  $\mu\text{L}$ ) dissolvidas em solvente grau CLAE [acetoneitrila ou metanol] numa concentração de 1  $\mu\text{g/mL}$  foram introduzidas por injeção direta

na fonte de ionização. Os valores de massas observados, bem como os cálculos de erros foram obtidos através do software *Formula Predictor*.

#### **4.4 Métodos Físicos**

##### **4.4.1 Ponto de fusão**

O ponto de fusão das substâncias isoladas foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, da Universidade Federal do Ceará, em equipamento da Marconi modelo MA 381, composto por uma placa aquecedora N480D, a uma taxa de aquecimento de 3 °C/min.

##### **4.4.2 Rotação Óptica**

As medidas de rotação óptica foram obtidos em polarímetro Jasco modelo P-2000, na faixa do sódio (589 nm), a 20 °C, pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LAMANOR-UFC).

#### **4.5 Métodos Computacionais**

As estruturas de menores energias foram obtidas pelo método SCAN através da rotação dos ângulos diedro de 60 em 60°. As estruturas encontradas foram relaxadas, primeiramente, pelo método semiempírico AM1 e posteriormente pelo programa Gaussian 09 da Gaussian INC, através do método da teoria funcional da densidade B3LYP com bases 6-31+G(d,p). Foi aplicado o método PCM de solvatação continua para simular o solvente do experimento de RMN.

#### **4.6 Estudo Fitoquímico de *Margaritopsis carrascoana*.**

##### **4.6.1 Obtenção do Extrato Etanólico dos Talos e Folhas de *M. carrascoana***

Os talos de *M. carrascoana* (7,6 kg), depois de secos e triturados, foram extraídos exaustivamente com etanol. Após a destilação do solvente sob pressão reduzida em

evaporador rotativo, obteve-se um extrato de coloração esverdeada denominado MCTE (295,5 g).

1,8 kg de folhas de *M. carrascoana*, depois de secas e trituradas, foram submetidas à extração exaustiva com etanol. A solução etanólica obtida foi destilada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se um extrato de coloração esverdeada denominado MCFE (118,5 g).

#### 4.6.2 Obtenção da Fração Alcaloídica de MCTE

Uma alíquota de 33,0 g de MCTE foi colocada em um erlenmeyer e adicionada 200 mL de solução de HCl 5%. A suspensão foi deixada sob agitação mecânica por um período de 4 horas.

Ao erlenmeyer foram adicionados 200 mL de acetato de etila. A solução foi transferida para um funil de separação, obtendo-se uma fase orgânica (não alcaloídica) e uma fase aquosa (porção alcaloídica), o procedimento de separação foi repetido 3 vezes. A fase orgânica, denominada MCTE-O (4,6 g), foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida.

A fase aquosa (porção alcaloídica) foi alcalinizada com  $\text{NH}_4\text{OH}$  até pH 11. Esta fase foi submetida a uma partição com acetato de etila (4 x 200 mL cada), obtendo-se uma fase orgânica (porção alcaloídica) e uma fase aquosa (não alcaloídica). A fase alcaloídica foi lavada com  $\text{H}_2\text{O}$ , seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo a fração alcaloídica denominada MCTE-A (1,1 g) (**flux. 1, p. 77**).

##### 4.6.2.1 Fracionamento cromatográfico de MCTE-A

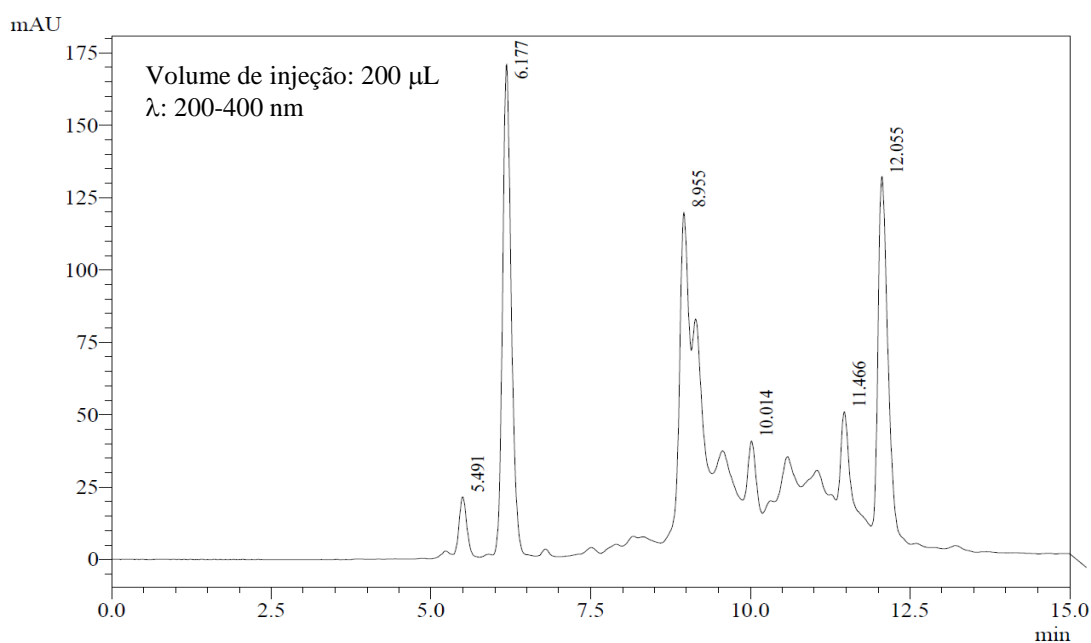
Uma alíquota de 1,0 g de MCTE-A foi dissolvida em 2 mL da solução de ( $\text{H}_2\text{O}/\text{ATF}$  0,1%)/MeOH (1:1) e submetida a sucessivos fracionamentos em um cartucho SPE-C18 (500 mg/6 mL), por eluição com soluções de ( $\text{H}_2\text{O}/\text{ATF}$  0,1%)/MeOH 1:1 a ( $\text{H}_2\text{O}/\text{ATF}$  0,1%)/MeOH 3:7 em ordem decrescente de polaridade, e posteriormente, com metanol. Deste procedimento obteve-se 4 frações denominadas MCTE-A 1, MCTE-A 2, MCTE-A 3 e MCTE-AR, conforme a **tabela 4, p. 73 (flux. 1, p. 74)**.

**Tabela 4** Fracionamento cromatográfico de MCTE-A

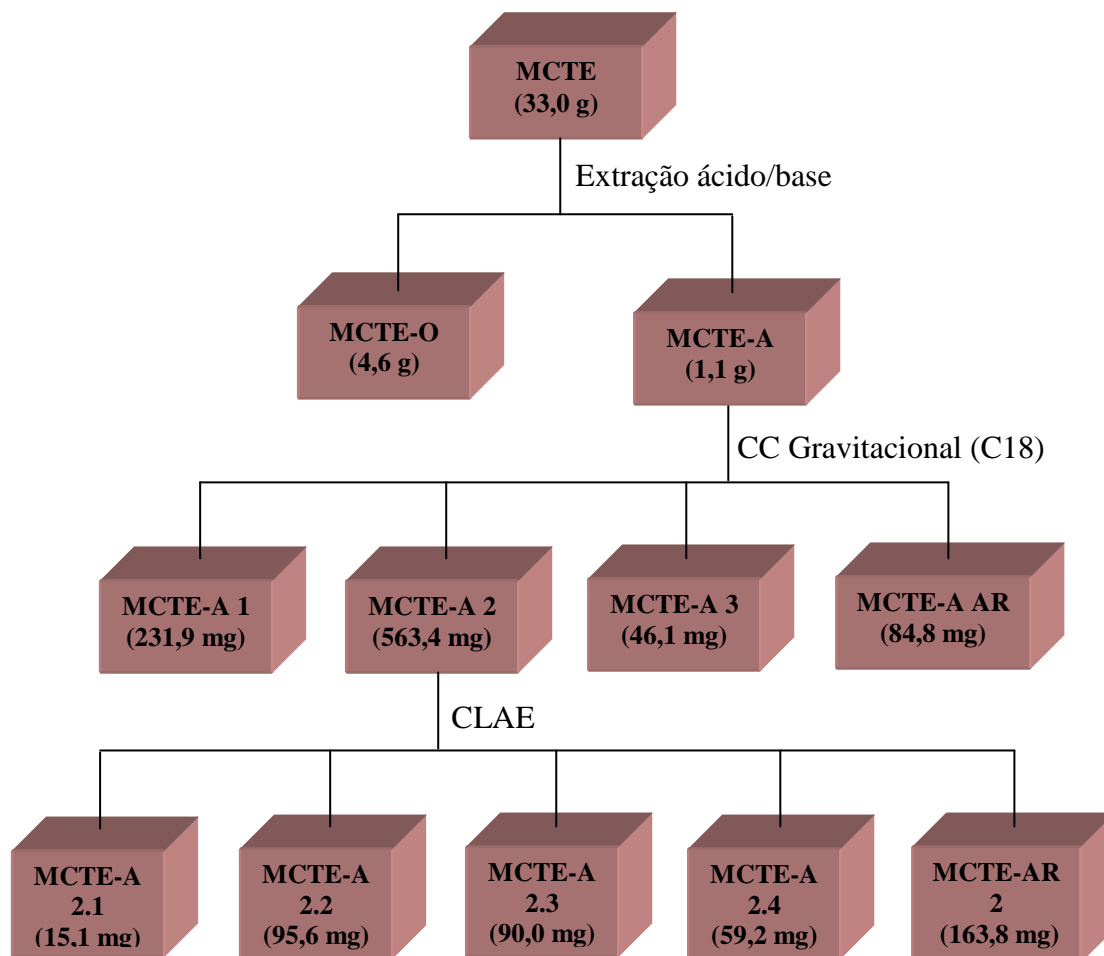
Solvente	Fração	Massa (mg)
(H <sub>2</sub> O/TFA 0,1%)/MeOH 1:1	MCTE-A 1	231,9
(H <sub>2</sub> O/TFA 0,1%)/MeOH 2:3	MCTE-A 2	563,4
(H <sub>2</sub> O/TFA 0,1%)/MeOH 3:7	MCTE-A 3	46,1
Metanol	MCTE-AR	84,8
Rendimento		926,2 (92,6%)

#### 4.6.2.2 Fracionamento cromatográfico de MCTE-A 2

A fração MCTE-A 2 (563,4 mg) foi cromatografada em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em uma coluna RP-18 (250 x 10 mm, 5 µm), e eluída através de um gradiente (H<sub>2</sub>O/ATF 0,1%)-metanol, variando 25-75% de metanol, numa corrida de 15 min, com fluxo de 4,72 mL/min. Deste procedimento foram coletados cinco frações, quatro denominados MCTE-A 2.1 (15,1 mg), MCTE-A 2.2 (95,6 mg), MCTE-A 2.3 (90,0 mg) e MCTE-A 2.4 (59,2 mg), referentes as amostras com tempo de retenção ( $t_R$ ) 5,5; 6,2; 8,9 e 12,1 min, respectivamente, e a quinta denominada MCTE-AR 2 (163,8 mg), proveniente da eluição com metanol (**fig. 8 e flux. 1, p. 74**).

**Figura 8** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-A 2

**Fluxograma 1** Obtenção e fracionamento cromatográfico da porção alcaloídica do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*



#### 4.6.2.3 Fracionamento de MCTE-A 2.2 e isolamento de MCT-A 1

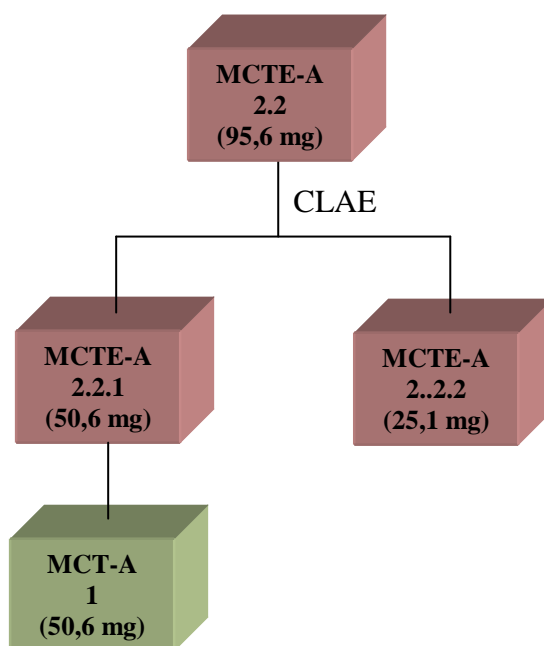
Uma alíquota da fração MCTE-A 2.2 (88,7 mg), foi recromatografada em CLAE, utilizando uma mistura isocrática ( $\text{H}_2\text{O}/\text{ATF}$  0,1%)/metanol 3:1, numa corrida de 10 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento obteve-se duas frações MCTE-A 2.2.1 (50,6 mg) e MCTE-A 2.2.2 (25,1 mg) (**flux. 2, p. 75**).

A fração MCTE-A 2.2.1 (50,6 mg), um sólido marrom amorfo denominado MCT-A 1, foi identificada através de RMN como sendo um alcalóide. A análise espectroscópica por RMN e comparação com dados da literatura, mostraram que MCT-A 1 tratava-se do alcalóide pirrolidinoindólico denominado de calicosidina.

Uma alíquota da fração MCT-A 1 (39,2 mg) foi submetida a um processo de neutralização, conforme o procedimento: a fração foi dissolvida numa menor quantidade possível de metanol. Foi adicionado uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  20% até pH 12. A solução

básica foi transferida para um funil de separação e extraída com acetato de etila, obtendo-se uma fase orgânica (fase alcaloidica) e uma fase aquosa. A fase alcaloidica foi lavada com H<sub>2</sub>O, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em rotaevaporador, obtendo-se um solido amorfo marrom denominado MCT-A 1 desprotonada (16,7 mg).

**Fluxograma 2** Metodologia de isolamento de MCT-A 1 a partir da sub-fração MCTE-A 2.2



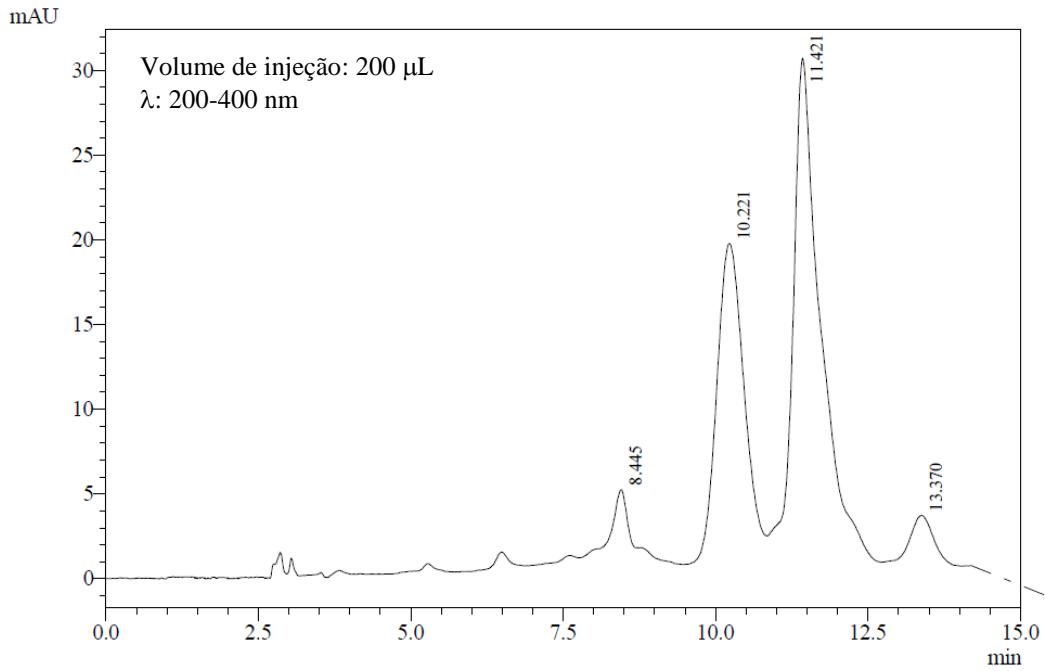
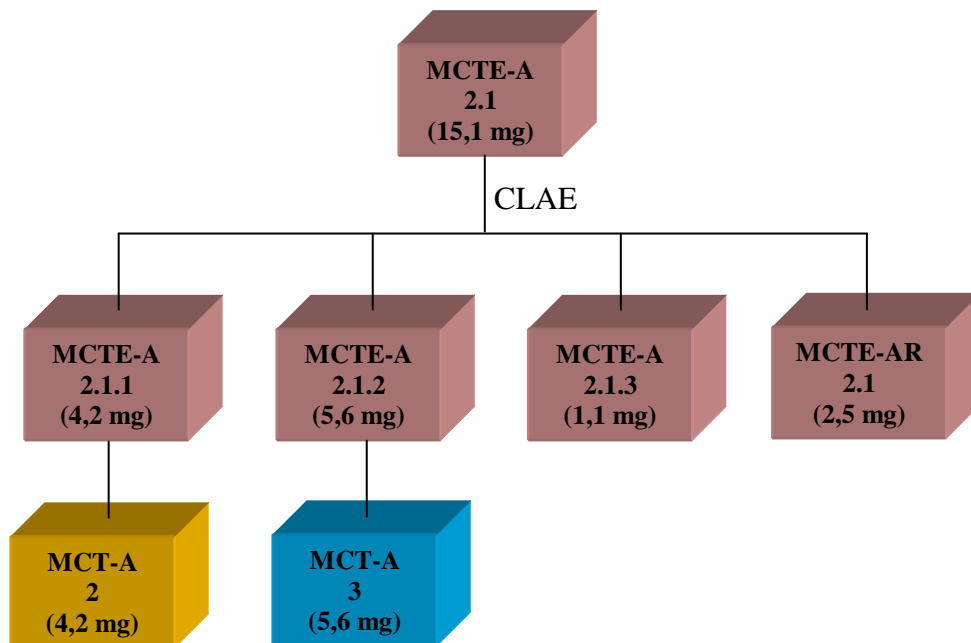
#### 4.6.2.4 Fracionamento de MCTE-A 2.1 e isolamento de MCT-A 2 e MCT-A 3

A fração MCTE-A 2.1 (15,1 mg), foi recromatografada em CLAE, utilizando uma mistura isocrática (H<sub>2</sub>O/ATF 0,1%)/metanol 2:1, numa corrida de 15 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento obteve-se três frações MCTE-A 2.1.1 (4,2 mg), MCTE-A 2.1.2 (5,6 mg), MCTE-A 2.1.3 (1,1 mg), referentes as amostras com tempo de retenção ( $t_R$ ) 10,2; 11,4 e 13,4 min, respectivamente, e quarta denominada MCTE-AR 2.1 (2,5 mg), proveniente da eluição com metanol (**fig. 9** e **flux. 3, p. 76**).

A fração MCTE-A 2.1.1 (4,2 mg), uma resina marrom denominado MCT-A 2, foi identificada através de RMN como sendo um alcalóide de esqueleto pirrolidinoindólico de caráter inédito na literatura.

A fração MCTE-A 2.1.2 (5,6 mg), denominado MCT-A 3, apresentou-se como uma resina amarela e foi identificada através de RMN como sendo um alcalóide pirrolidinoindólico. A análise espectroscópica por RMN mostrou que MCT-A 3 esta sendo relatada pela primeira vez na literatura.



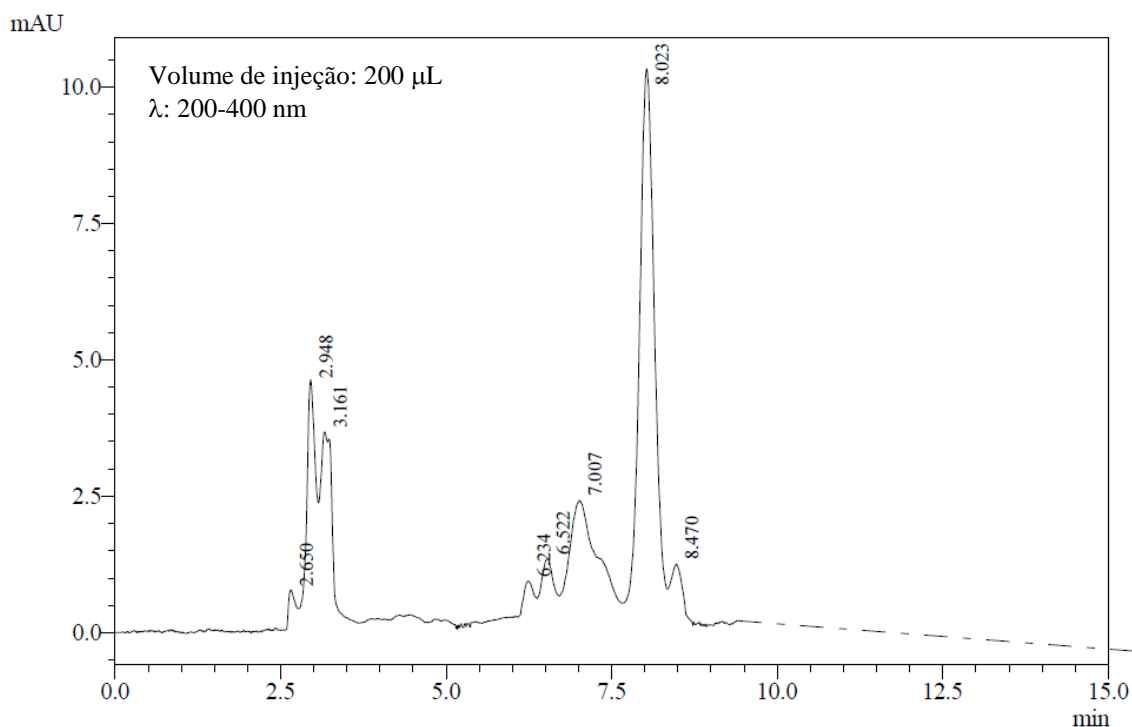
**Figura 9** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-A 2.1**Fluxograma 3** Metodologia de isolamento das substâncias MCT-A 2 e MCT-A 3 obtidas da sub-fração MCTE-A 2.1

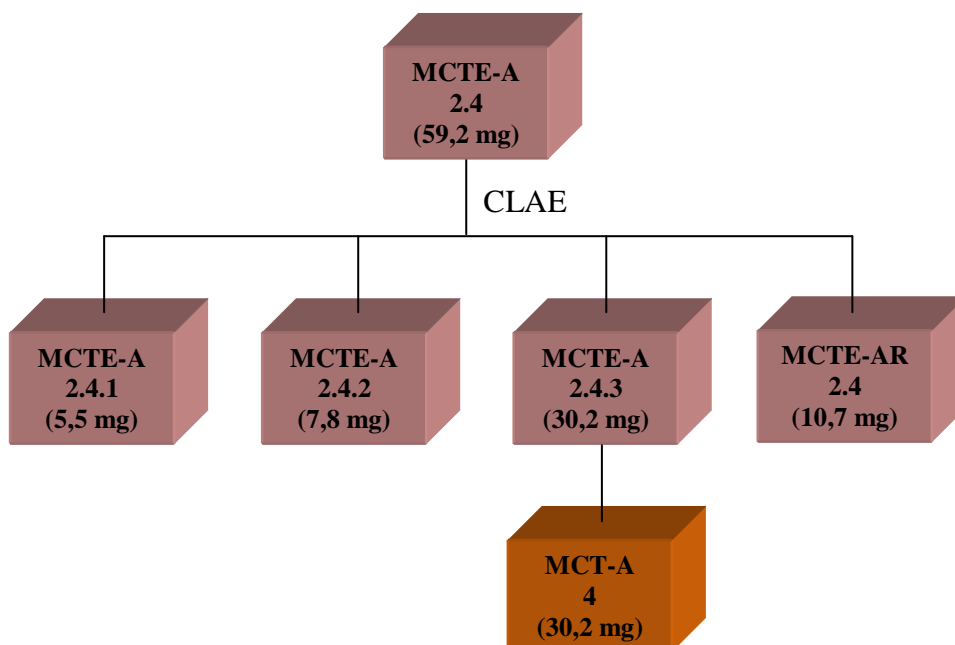
#### 4.6.2.5 Fracionamento de MCTE-A 2.4 e isolamento de MCT-A 4

A fração MCTE-A 2.4 (59,2 mg), foi analisada em CLAE, utilizando-se uma fase móvel isocrática composta por (H<sub>2</sub>O/ATF 0,1%)/metanol 31:19, numa corrida 10 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento obtiveram-se 4 frações, três denominadas MCTE-A 2.4.1 (5,5 mg; t<sub>R</sub> = 2,5-3,2 min), MCTE-A 2.4.2 (7,8 mg; t<sub>R</sub> = 6,0-7,5 min), MCTE-A 2.4.3 (30,2 mg; t<sub>R</sub> = 8,0 min), e a quarta denominada MCTE-AR 2.4 (10,7 mg), proveniente da eluição com metanol (**fig. 10, flux. 4, p. 78**).

A fração MCTE-A 2.4.3 apresentou-se como um sólido marrom amorfo denominado MCT-A 4 e foi identificado através de RMN como sendo um alcalóide pirrolidinoindólico. A posterior caracterizado estrutural de MCT-A 4 através de técnicas espectroscópicas e comparação com dados da literatura, possibilitou a identificação de MCT-A 4 como sendo a Hodgkinsina.

**Figura 10** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-A 2.4



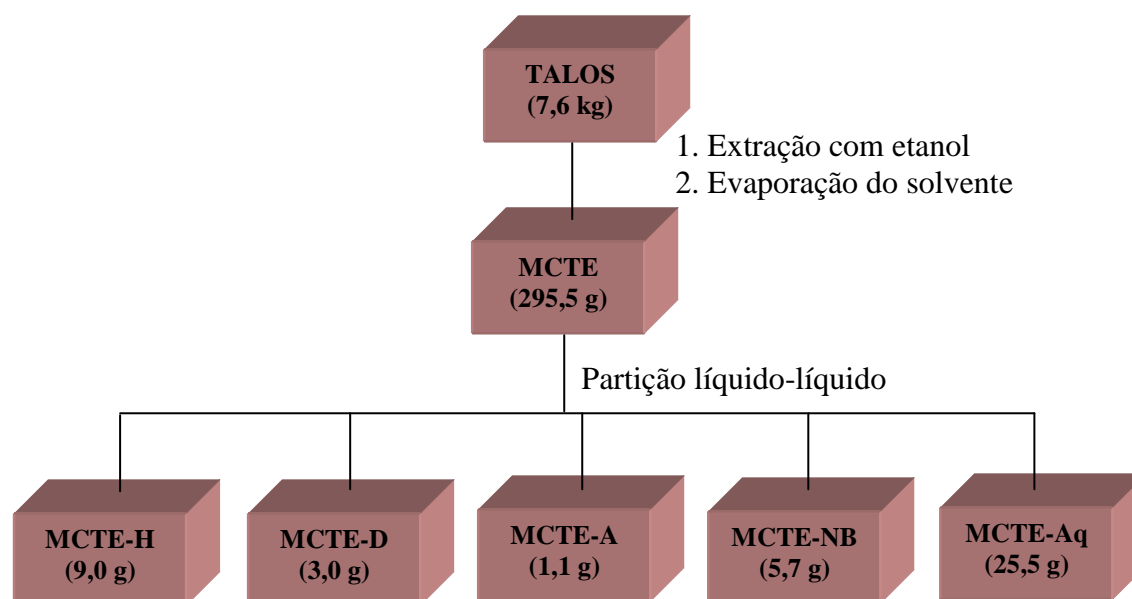
**Fluxograma 4** Isolamento de MCT-A 4 a partir do fracionamento cromatográfico da sub-fração MCTE-A 2.4

#### 4.6.3 Partição Líquido-Líquido de MCTE

Uma alíquota de 51,3 g de MCTE foi dissolvida em uma solução contendo 30 mL de metanol e 140 mL de H<sub>2</sub>O. A solução foi submetida a uma partição líquido/líquido utilizando os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. As frações obtidas foram denominadas MCTE-H, MCTE-D, MCTE-A, MCTE-NB e MCTE-FA. A **tabela 5** descreve as massas e o rendimento da partição (**flux. 5, p. 79**).

**Tabela 5** Partição do extrato etanólico de MCTE

Solvente	Fração	Massa (g)
Hexano	MCTE-H	9,0
Diclorometano	MCTE-D	3,0
Acetato de etila	MCTE-A	1,1
<i>n</i> -Butanol	MCTE-NB	5,7
Fase aquosa	MCTE-Aq.	25,5
Rendimento		44,3 (86,4%)

**Fluxograma 5** Obtenção e partição do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*

#### 4.6.3.1 Fracionamento cromatográfico de MCTE-NB

Uma alíquota da fração MCTE-NB (3,9 g), sólido marrom dissolvido em 5 mL de MeOH, foi cromatografada em Sephadex LH-20 ( $\varnothing = 5$  cm e 13 cm de altura), gerando 6 frações de 20 mL, por eluição com metanol. Após análise comparativa por CCD as frações semelhantes foram reunidas em 3 frações resultantes denominadas MCTE-NBS 1, MCTE-NBS 2 e MCTE-NBS 3. A **tabela 6** descreve as massas e o rendimento do fracionamento, (**flux. 6, p. 80**).

**Tabela 6** Fracionamento cromatográfico de MCTE-NB

Fração	Massa (mg)
MCTE-NBS 1	482,4
MCTE-NBS 2	3200,0
MCTE-NBS 3	106,3
Rendimento	3788,7 (97,1%)

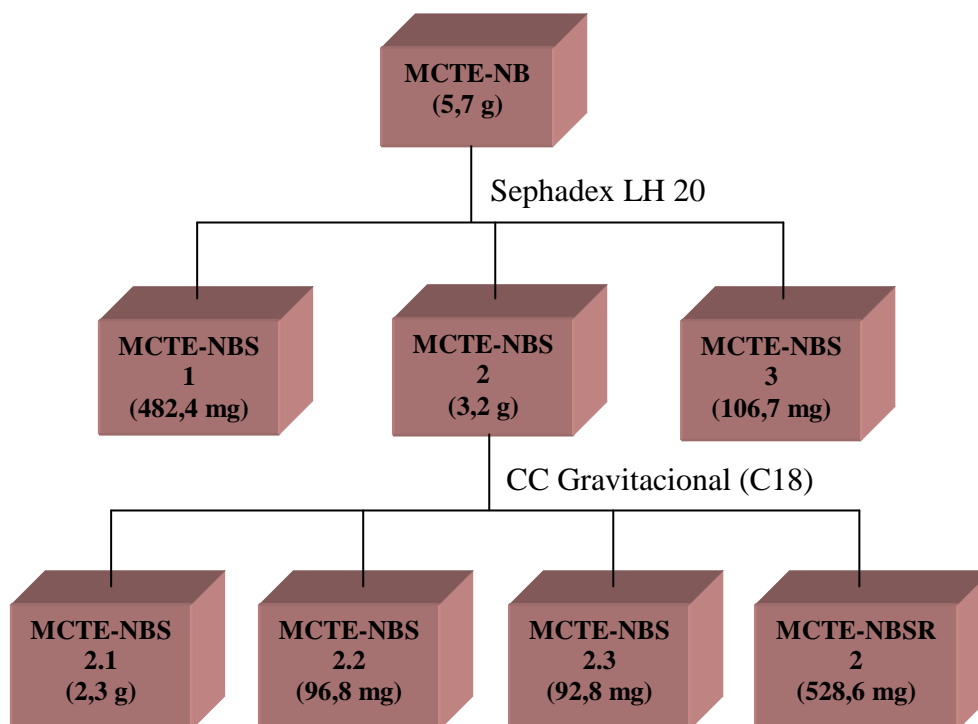
#### 4.6.3.2 Fracionamento cromatográfico de MCTE-NBS 2

A fração MCTE-NBS 2 (3,2 g) foi dissolvida em 6 mL da solução de água/metanol 4:1 e submetida a sucessivos fracionamentos cromatográficos em um cartucho SPE-C18 (500 mg/6 mL), por eluição com soluções de H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1 a H<sub>2</sub>O/MeOH 1:4 em ordem decrescente de polaridade, e posteriormente, com metanol. Deste procedimento foram obtidas 4 frações denominadas MCTE-NBS 2.1, MCTE-NBS 2.2, MCTE-NBS 2.3 e MCTE-NBSR 2. Conforme a **tabela 7** abaixo (**flux. 6**).

**Tabela 7** Fracionamento cromatográfico de MCTE-NBS 2

Solvente	Fração	Massa (mg)
H <sub>2</sub> O/MeOH 4:1	MCTE-NBS 2.1	2300,0
H <sub>2</sub> O/MeOH 1:1	MCTE-NBS 2.2	96,8
H <sub>2</sub> O/MeOH 1:4	MCTE-NBS 2.3	92,8
Metanol	MCTE-NBSR 2	528,6
Rendimento		3018,2 (94,3%)

**Fluxograma 6** Fracionamento cromatográfico da fração *n*-butanólica obtida do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*

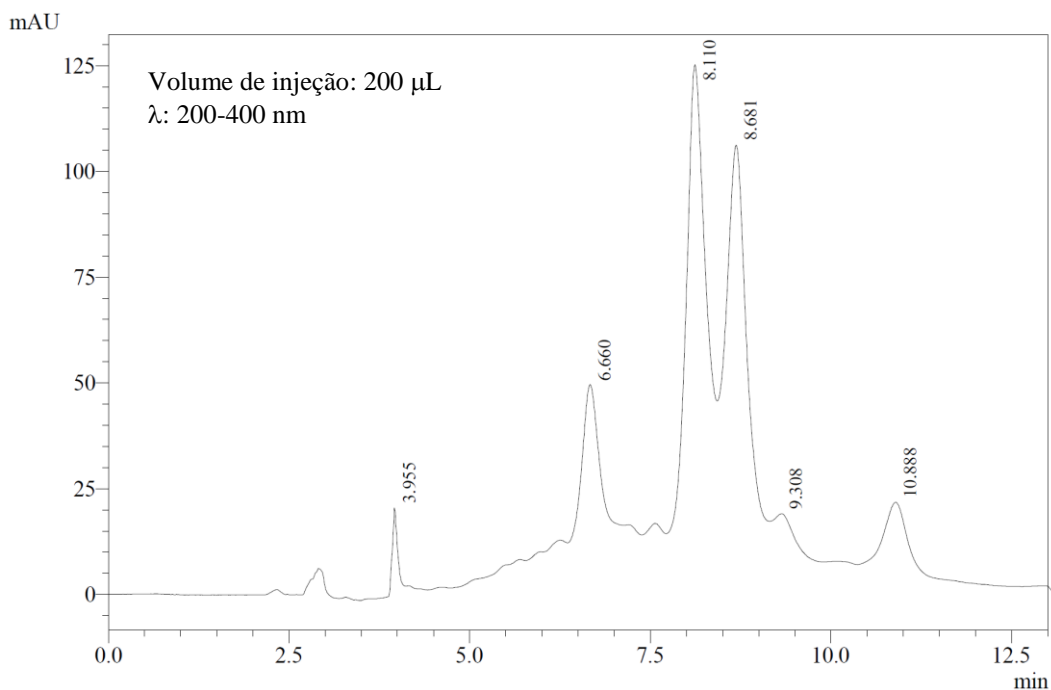


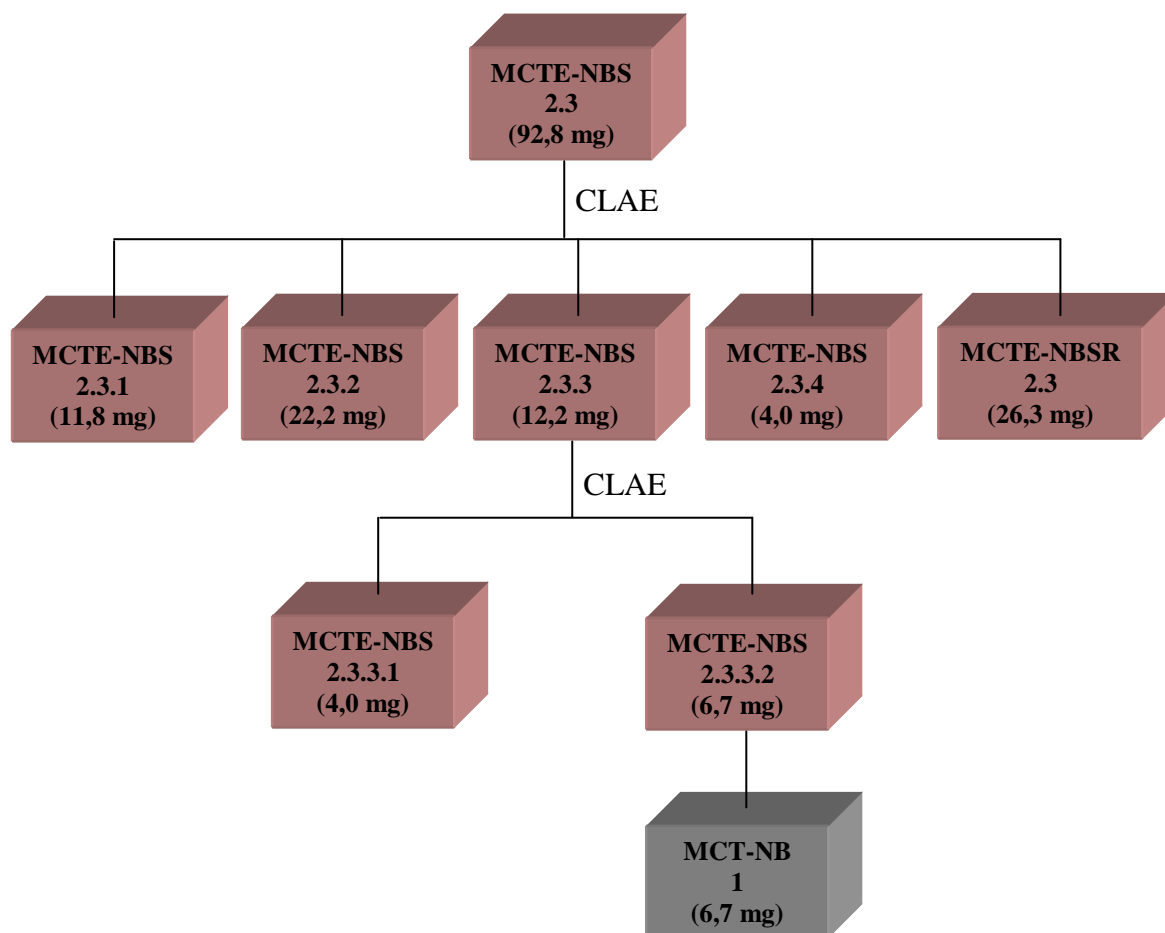
#### 4.6.3.3 Isolamento de MCT-NB 1

A fração MCTE-NBS 2.3 (92,8 mg), foi cromatografada em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em uma coluna RP-18 (250 x 10 mm, 5  $\mu$ m), por eluição com H<sub>2</sub>O/acetonitrila 4:1, numa corrida de 13 min, com fluxo de 4,72 mL/min. Deste procedimento foram coletadas cinco frações, quatro denominadas MCTE-NBS 2.3.1 (11,8 mg;  $t_R$  = 6,7 min), MCTE-NBS 2.3.2 (22,2 mg;  $t_R$  = 8,1 min), MCTE-NBS 2.3.3 (12,2 mg;  $t_R$  = 8,7 min) e MCTE-NBS 2.3.4 (4,0 mg;  $t_R$  = 10,9 min) e a quinta denominada MCTE-NBSR 2.3 (26,3 mg), proveniente da eluição com metanol (**fig. 11, flux. 7, p. 82**).

A fração MCTE-NBS 2.3.3 (12,2 mg) foi purificada por CLAE, utilizando-se uma fase móvel composta por H<sub>2</sub>O - metanol 3:2, em 10 min, empregando-se um fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento foram obtidas duas frações denominadas MCTE-NBS 2.3.3.1 (4,0 mg) e MCTE-NBS 2.3.3.2 (6,7 mg). A fração 2.3.3.2, um sólido amarelo amorfo denominado MCT-NB 1, foi caracterizada através de técnicas espectroscópicas como sendo a neolignana denominada de álcool 4-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-di-hidro-desidrodiconiferílico (**flux. 7, p. 82**).

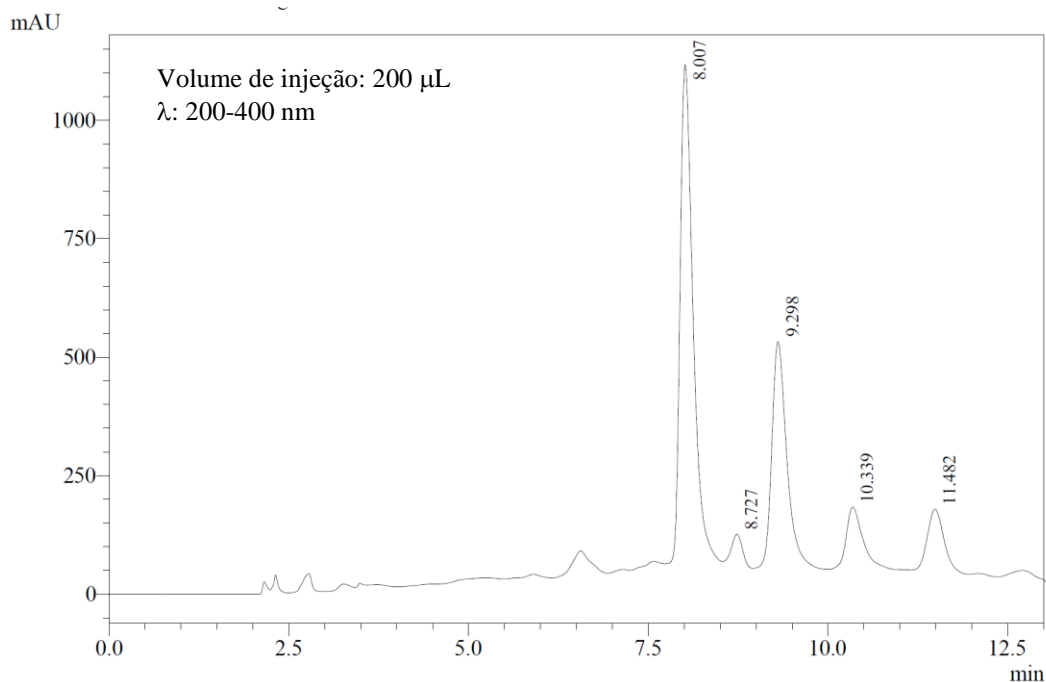
**Figura 11** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-NBS 2.3



**Fluxograma 7** Metodologia de isolamento de MCT-NB 1 a partir da sub-fração MCTE-NBS 2.3

#### 4.6.3.4 Isolamento de MCT-NB 2

A fração MCTE-NBS 2.2 (96,8 mg), foi analisada em CLAE, empregando-se uma mistura isocrática  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  4:1, numa corrida 12 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento foram obtidas 5 cinco frações, quatro denominados MCTE-NBS 2.2.1 (29,0 mg;  $t_R = 8,0$  min), MCTE-NBS 2.2.2 (12,1 mg;  $t_R = 9,3$  min), MCTE-NBS 2.2.3 (11,0 mg;  $t_R = 10,3$  min) e MCTE-NBS 2.2.4 (9,5 mg;  $t_R = 11,5$  min) e a quinta denominada MCTE-NBSR 2.2 (28,3 mg), proveniente da eluição com metanol (**fig. 12, p. 83, flux. 8, p. 84**).

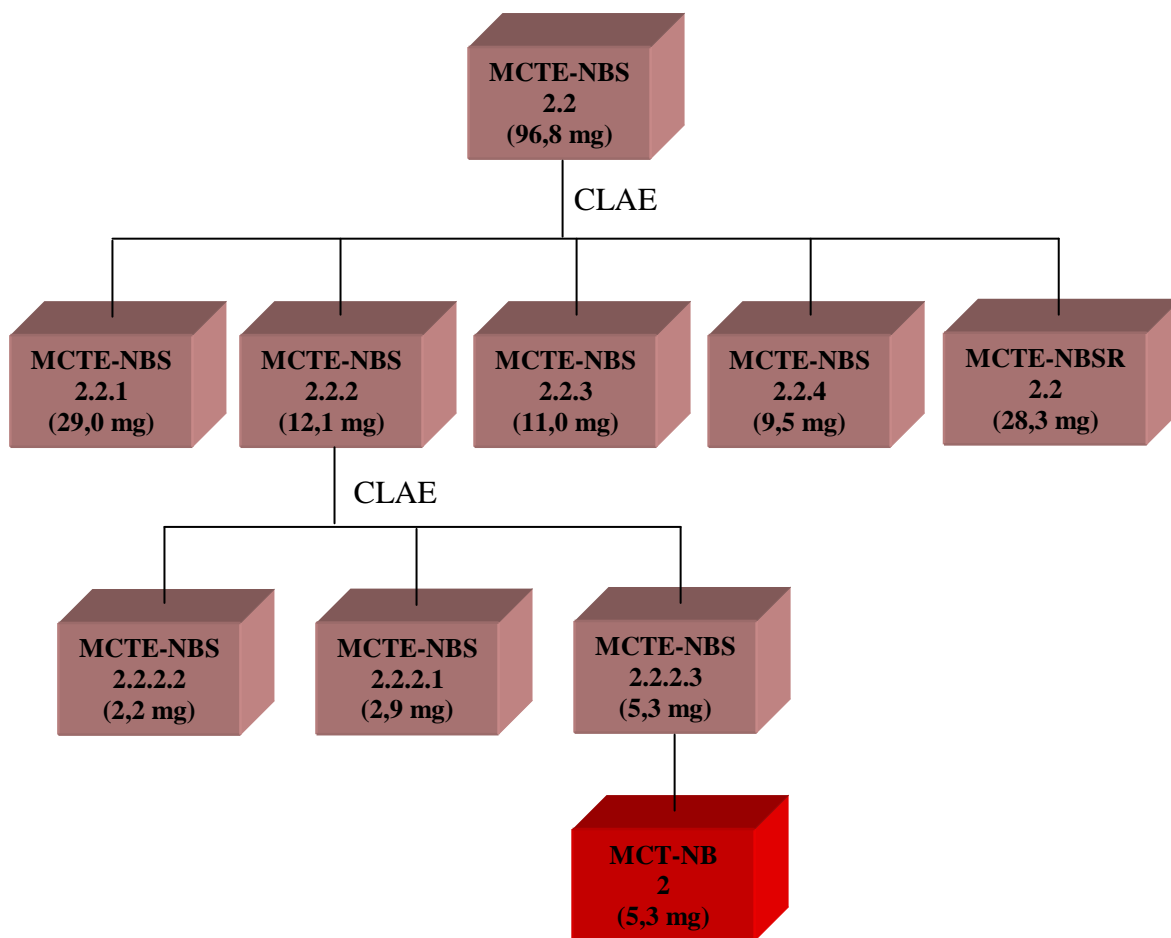
**Figura 12** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCTE-NBS 2.2

A fração MCTE-NBS 2.2.2 (12,1 mg), foi recromatografada em CLAE para purificação, usando como eluente uma fase móvel composta por H<sub>2</sub>O/MeOH 11:9, numa corrida de 13 min, com fluxo de 4,72 mL/min. Desta análise obtiveram-se três frações denominadas MCTE-NBS 2.2.2.1 (2,9 mg), MCTE-NBS 2.2.2.2 (2,2 mg) e MCTE-NBS 2.2.2.3 (5,3 mg) (**flux. 8, p. 84**).

A fração MCTE-NBS 2.2.2.3 (5,3 mg), um sólido amarelo amorfo denominado MCT-NB 2, foi identificada através de RMN como sendo um flavonóide. A análise espectroscópica por RMN e comparação com dados da literatura, mostraram que MCT-NB 2 tratava-se da flavona 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil luteolina.



**Fluxograma 8** Metodologia de isolamento de MCT-NB 2 a partir da sub-fração MCTE-NBS 2.2

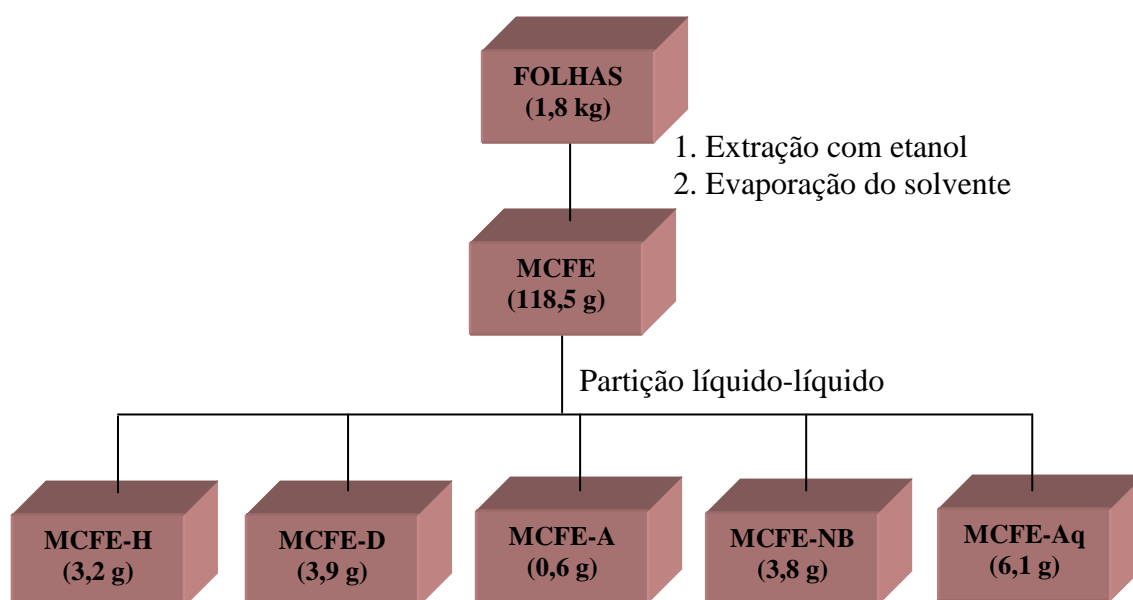


#### 4.6.4 Partição Líquido-Líquido de MCFE

Uma alíquota de 21,0 g de MCFE foi dissolvida em uma solução contendo 30 mL de metanol e 150 mL de água. A solução foi submetida a uma partição líquido/líquido utilizando os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. As frações obtidas foram denominadas MCFE-H, MCFE-D, MCFE-A, MCFE-NB e MCFE-FA. A **tabela 8, p. 85** descreve as massas e o rendimento da partição (**flux. 9, p. 85**).

**Tabela 8** Partição do extrato etanólico de MCFE

Solvente	Fração	Massa (g)
Hexano	MCFE-H	3,2
Diclorometano	MCFE-D	3,9
Acetato de etila	MCFE-A	0,6
<i>n</i> -Butanol	MCFE-NB	3,8
Fase aquosa	MCFE-Aq.	6,1
Rendimento		17,6 (83,8%)

**Fluxograma 9** Obtenção e partição do extrato etanólico das folhas de *M. carrascoana*

#### 4.6.4.1 Fracionamento cromatográfico de MCFE-NB

Uma alíquota da fração MCFE-NB (1,5 g), foi dissolvida em 3 mL de metanol e cromatografada em Sephadex LH-20 ( $\emptyset = 5$  cm e 13 cm de altura), gerando 8 frações de 20 mL, por eluição com metanol. Após análise comparativa por CCD, as frações semelhantes foram reunidas em 3 frações denominadas MCFE-NBS 1, MCFE-NBS 2 e MCFE-NBS 3. A **tabela 9, p. 86** descreve as massas e o rendimento do fracionamento (**flux. 10, p. 87**).

**Tabela 9** Fracionamento cromatográfico de MCFE-NB

Fração	Massa (mg)
MCFE-NBS 1	557,3
MCFE-NBS 2	813,6
MCFE-NBS 3	37,2
Rendimento	1408,1 (93,9%)

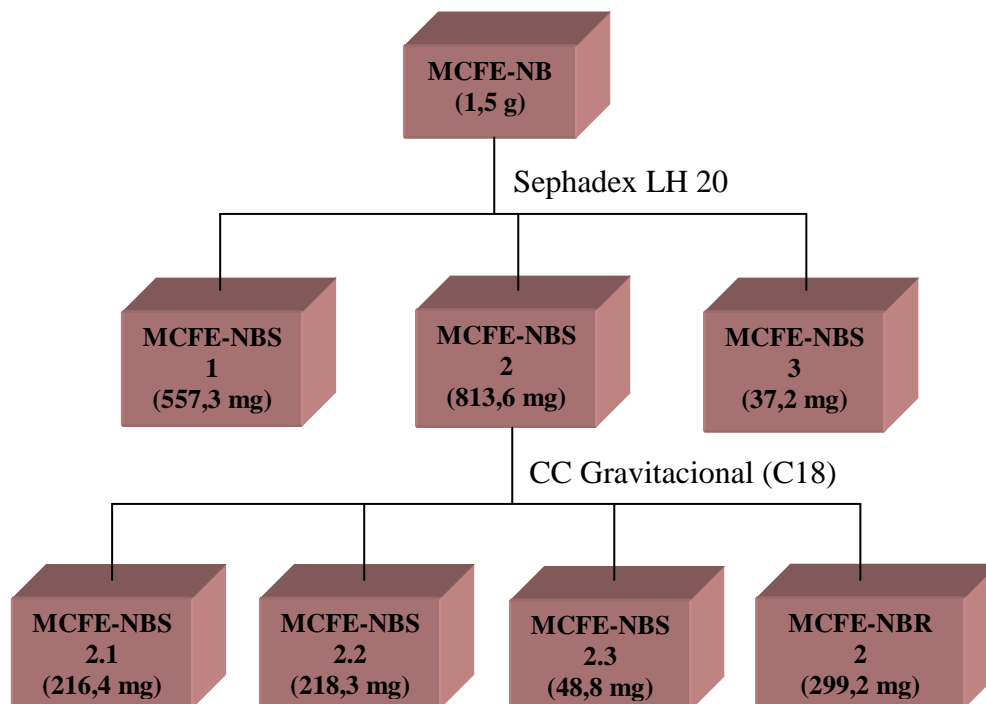
#### 4.6.4.2 Fracionamento cromatográfico de MCFE-NBS 2

A fração MCFE-NBS 2 (813,6 mg) foi dissolvida em 2 mL da solução de H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1 e submetida a sucessivos fracionamentos cromatográficos em um cartucho SPE-C18 (500 mg/6 mL), por eluição com soluções de H<sub>2</sub>O/MeOH 1:4 a H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1 em ordem decrescente de polaridade, e posteriormente, com metanol. Deste procedimento obteve-se 4 frações resultantes denominadas MCFE-NBS 2.1, MCFE-NBS 2.2, MCFE-NBS 2.3 e MCFE-NBSR 2, conforme mostrado na **tabela 10 (flux. 10, p. 87)**.

**Tabela 10** Fracionamento cromatográfico de MCFE-NBS 2

Solvente	Fração	Massa (mg)
H <sub>2</sub> O/MeOH 4:1	MCFE-NBS 2.1	216,4
H <sub>2</sub> O/MeOH 1:1	MCFE-NBS 2.2	218,3
H <sub>2</sub> O/MeOH 1:4	MCFE-NBS 2.3	48,8
Metanol	MCFE-NBSR 2	299,2
Rendimento		782,7 (96,2%)

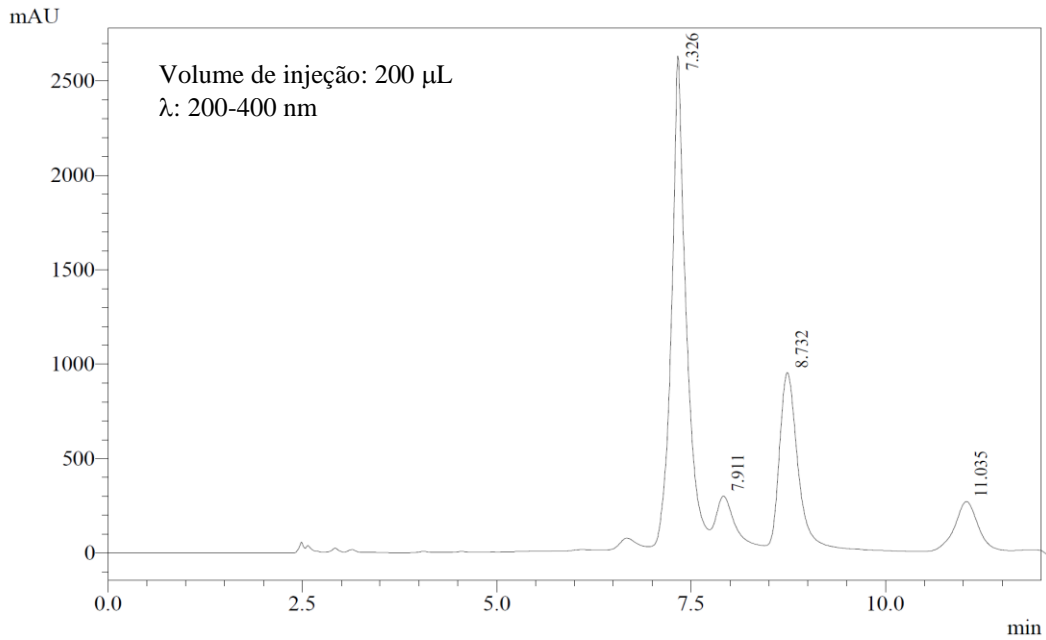
**Fluxograma 10** Fracionamento cromatográfico da fração *n*-butanólica obtida do extrato etanólico das folhas de *M. carrascoana*



#### 4.6.4.3 Isolamento de MCF-NB 1

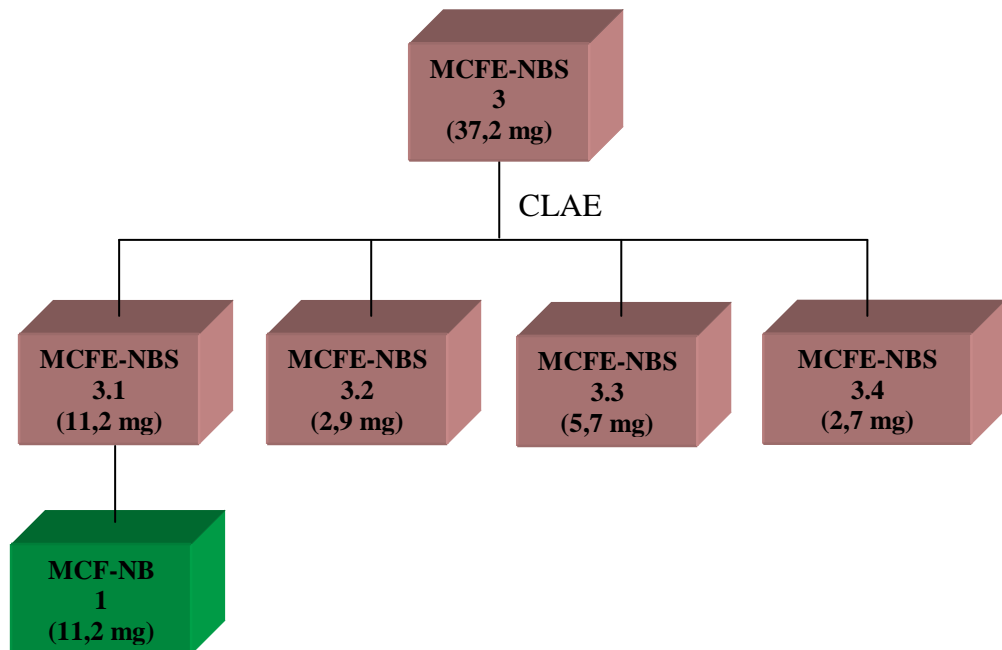
A fração MCFE-NBS 3 (37,2 mg), foi cromatografada em cromatografia líquida de alta eficiência, empregando-se como eluente uma mistura isocrática H<sub>2</sub>O/MeOH 57:43, numa corrida de 12 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento foram coletadas quatro frações denominadas MCFE-NBS 3.1 (11,2 mg;  $t_R = 7,3$  min), MCFE-NBS 3.2 (2,9 mg;  $t_R = 7,9$  min), MCFE-NBS 3.3 (5,7 mg;  $t_R = 8,7$  min) e MCFE-NBS 3.4 (2,7 mg;  $t_R = 11,0$  min) (**fig 18 e flux. 11, p. 88**).

**Figura 13** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCFE-NBS 2.3



A fração MCFE-NBS 3.1 (11,2 mg) um sólido amarelo amorfo denominada MCF-NB 1, foi identificada através de RMN como sendo um flavonóide. A análise espectroscópica por RMN e comparação com dados da literatura, mostraram que MCF-NB 1 tratava-se da flavona 7-O- $[\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina.

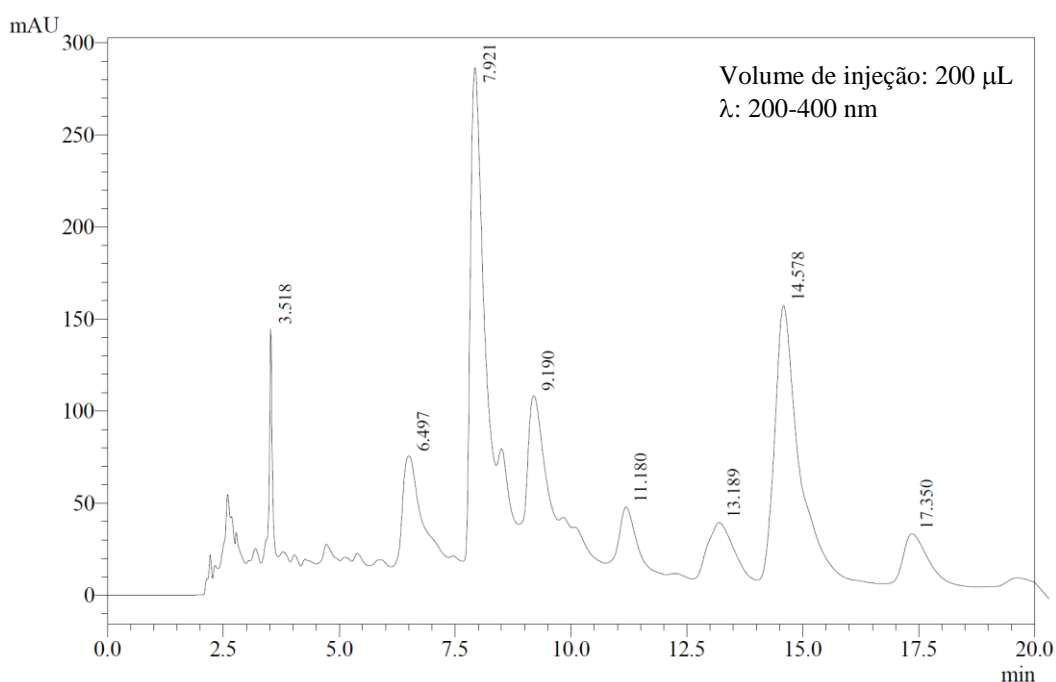
**Fluxograma 11** Metodologia de isolamento de MCF-NB 1 obtida da sub-fração MCFE-NBS 3



#### 4.6.4.4 Fracionamento cromatográfico de MCFE-NBS 2.2

A fração MCFE-NBS 2.2 (218,3 mg), foi cromatografada em CLAE, usando como eluente uma mistura binária H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 4:1, numa corrida de 20 min, sob fluxo de 4,72 mL/min. Foram obtidas cinco frações, quatro denominadas MCFE-NBS 2.2.1 (16,7 mg; t<sub>R</sub> = 6,5 min), MCFE-NBS 2.2.2 (33,6 mg; t<sub>R</sub> = 7,9 min), MCFE-NBS 2.2.3 (26,7 mg; t<sub>R</sub> = 9,2 min), MCFE-NBS 2.2.4 (32,1 mg; t<sub>R</sub> = 14,6 min) e a quinta denominada MCFE-NBSR 2.2 (95,9 mg), proveniente da eluição com metanol 100% (**fig. 19, flux. 12, p. 90**).

**Figura 14** Cromatograma obtido por CLAE da fração MCFE-NBS 2.2



#### 4.6.4.5 Isolamento de MCF-NB 2

A fração MCFE-NBS 2.2.4 (32,1 mg), foi recromatografada em CLAE para purificação, usando como eluente uma fase móvel composta por H<sub>2</sub>O/MeOH 3:2, numa corrida de 15 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir desta procedimento obtiveram-se quatro frações denominadas MCFE-NBS 2.2.4.1 (5,3 mg), MCFE-NBS 2.2.4.2 (13,3 mg), MCFE-NBS 2.2.4.3 (4,8 mg) e MCFE-NBS 2.2.4.4 (3,5 mg) (**flux. 12, p. 90**).

A fração MCFE-NBS 2.2.4.2 (13,3 mg), um sólido amarelo amorfo denominado MCF-NB 2, foi identificada através de RMN como sendo um flavonóide. A análise espectroscópica por RMN e comparação com dados da literatura, mostraram que MCF-NB 2 tratava-se da flavona 7-O-[β-D-glicopiranosil-(1→6)-β-D-apiofuranosil] crisoeriol.

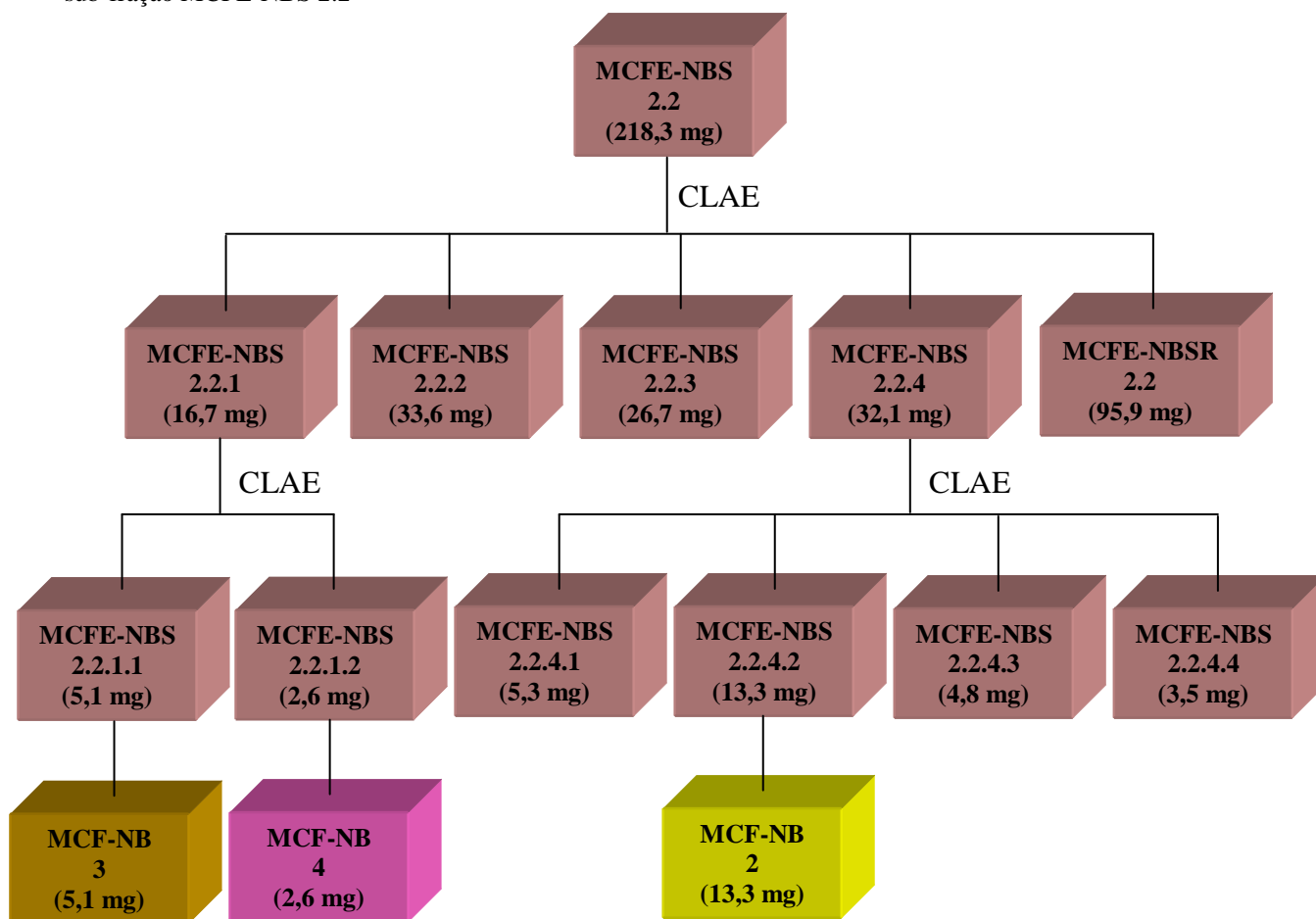
#### 4.6.4.6 Isolamento de MCF-NB 3 e MCF-NB 4

A fração MCFE-NBS 2.2.1 (16,7 mg), foi recromatografada em cromatografia líquida de alta eficiência para purificação, empregando-se como eluente uma mistura isocrática H<sub>2</sub>O/MeOH 3:2, numa corrida de 13 min, com fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento foram coletadas duas frações denominadas MCFE-NBS 2.2.1.1 (5,1 mg) e MCFE-NBS 2.2.1.2 (2,6 mg) (**flux. 12**).

A fração MCFE-NBS 2.2.1.1 (5,1 mg), sólido amarelo amorfo foi identificada através de RMN como sendo um flavonóide e denominada MCF-NB 3. Dados de RMN mostraram que MCF-NB 3 não havia sido relatado anteriormente na literatura.

A fração MCFE-NBS 2.2.1.2 (2,6 mg), denominada MCF-NB 4, apresentou-se como um sólido amorfo amarelo e foi identificada através de RMN como sendo um flavonóide. A análise espectroscópica por RMN mostrou que MCF-NB 4 esta sendo relatada pela primeira vez na literatura.

**Fluxograma 12** Metodologia de isolamento das substâncias MCF-NB 2, MCF-NB 3 e MCF-NB 4 a partir da sub-fração MCFE-NBS 2.2



#### 4.6.5.1 Fracionamento cromatográfico de MCTE-H e isolamento de MCT-H 1 e MCT-H 2

A fração MCTE-H (3,2 g) foi cromatografada em aproximadamente 60 g de gel de sílica 60 ( $\varnothing$  35-70  $\mu$ m), numa coluna de 4,5 cm de diâmetro. Para a eluição da coluna, foi utilizada como eluente uma mistura binária dos solventes hexano/diclorometano, em ordem crescente de polaridade. Deste procedimento foram obtidas 18 frações que após a análise comparativa em CCD, foram reunidas em 6 frações resultantes, conforme as suas semelhanças (**tab. 11, flux. 13, p. 93**).

**Tabela 11** Fracionamento cromatográfico de MCTE-H

Solvente	Fração	Massa (mg)
Hexano	MCTE-H 1	459,6
Hexano/Diclorometano 3:2	MCTE-H 2	367,6
Hexano/Diclorometano 1:1	MCTE-H 3	337,9
Hexano/Diclorometano 2:3	MCTE-H 4	1609,8
Diclorometano	MCTE-H 5	133,6
Metanol	MCTE-HR	254,6
Rendimento		3163,1 (98,8%)

A fração MCTE-H 5 (133,6 mg) foi recromatografada em gel de sílica 60 ( $\varnothing$  60-200  $\mu$ m) (30,3 g), numa coluna de 2,5 cm de diâmetro, utilizando como solvente diclorometano. A partir deste procedimento foram obtidas 10 frações que após a análise comparativa em CCD foram reunidas em 3 frações resultantes (**tab. 12, flux. 13, p. 93**).

**Tabela 12** Fracionamento cromatográfico de MCTE-H 5

Fração	Massa (mg)
MCTE-H 5.1	15,2
MCTE-H 5.2	53,2
MCTE-HR 5	58,9
Rendimento	127,3 (95,3%)



A fração MCTE-H 5.2 (53,2 mg), um sólido branco foi denominada MCT-H 1. A análise espectroscópica por RMN e comparação com dados da literatura, mostraram que MCT-H 1 tratava-se da mistura de esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol.

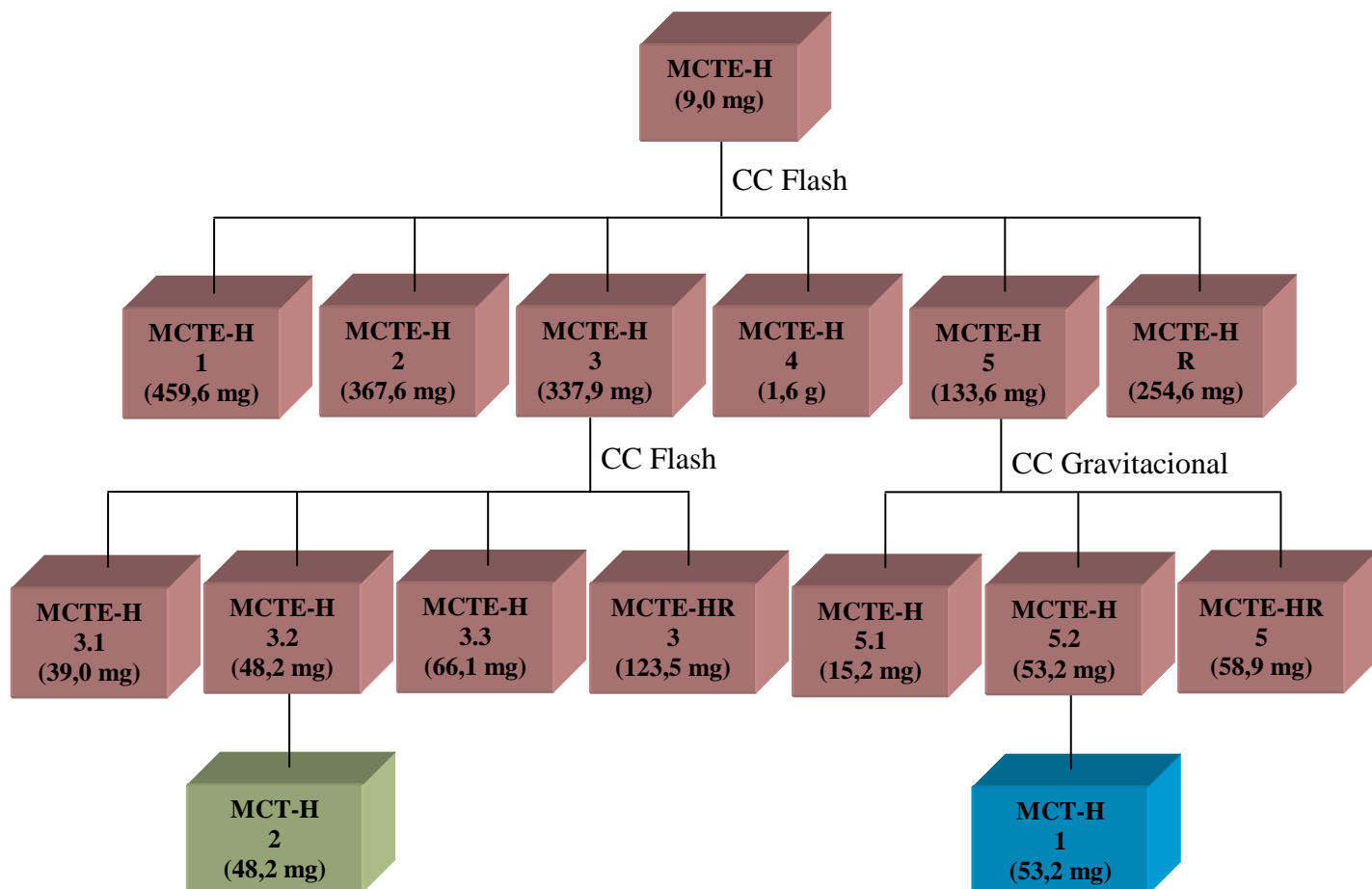
337,9 mg da fração MCTE-H 3 foram adsorvidas sobre 30 g de gel de sílica 60 ( $\emptyset$  35-70  $\mu$ m), numa coluna de 2,5 cm de diâmetro e utilizando como solvente uma mistura binária de hexano/diclorometano 1:1. Foram obtidas 17 frações que após a análise comparativa em CCD permitiu a reunião das frações semelhantes, conforme descrito na **tabela 13 (flux. 13, p. 93)**.

**Tabela 13** Fracionamento cromatográfico de MCTE-H 3

Fração	Massa (mg)
MCTE-H 3.1	39,0
MCTE-H 3.2	48,2
MCTE-H 3.3	66,1
MCTE-HR 3	123,5
Rendimento	276,8 (81,9%)

A fração MCTE-H 3.2 (48,2 mg), um sólido em forma de agulhas e denominado de MCT-H 2, apresentou-se homogênea em CCD e foi caracterizado por RMN como sendo um triterpeno pentacíclico de esqueleto lupano. A posterior análise comparativa com dados da literatura, possibilitou identificar que MCT-H 2 trata-se do lupeol, metabólito secundário facilmente encontrado em plantas da família Rubiaceae.

**Fluxograma 13** Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração hexânica do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*



#### 4.6.5.2 Fracionamento cromatográfico de MCTE-D e isolamento de MCT-D 1 e MCT-D

2

A fração MCTE-D (1,8 g) foi cromatografada em aproximadamente 48,6 g de gel de sílica 60 ( $\emptyset$  60-200  $\mu\text{m}$ ), numa coluna de 3,0 cm de diâmetro. Para a eluição da coluna, foi utilizada como eluente uma mistura binária dos solventes diclorometano/metanol, em ordem crescente de polaridade. Deste procedimento foram obtidas 20 frações que após a análise comparativa em CCD, foram reunidas em 6 frações resultantes (tab. 14, p. 94, flux. 14, p. 95).

**Tabela 14** Fracionamento cromatográfico de MCTE-D

Solvente	Fração	Massa (mg)
Diclorometano/Metanol 95:5	MCTE-D 1	304,4
Diclorometano/Metanol 9:1	MCTE-D 2	178,3
Diclorometano/Metanol 3:2	MCTE-D 3	285,9
Diclorometano/Metanol 1:1	MCTE-D 4	140,6
Diclorometano/Metanol 2:3	MCTE-D 5	614,7
Metanol	MCTE-DR	61,4
Rendimento		1585,3 (88,1%)

A fração MCTE-D 2 (178,3 mg) foi adsorvidas sobre 31,6 g de gel de sílica 60 (Ø 60-200 µm), numa coluna de 2,5 cm de diâmetro. Para a eluição da coluna foi utilizado como solvente uma mistura binária de diclorometano/metanol 49:1. Deste procedimento foram obtidas 26 frações que após a análise comparativa em CCD foram reunidas em 4 frações resultantes, conforme descrito na **tabela 15 (flux. 14, p. 95)**.

**Tabela 15** Fracionamento cromatográfico de MCTE-D 2

Fração	Massa (mg)
MCTE-D 2.1	69,8
MCTE-D 2.2	23,8
MCTE-D 2.3	23,0
MCTE-DR 2	40,5
Rendimento	157,1 (88,1%)

A fração MCTE-D 2.2 (23,8 mg), denominada de MCT-D 1, mostrou-se como um sólido amorfo branco, homogênea em CCD e caracterizado por RMN como sendo um triterpeno pentacíclico de esqueleto ursólico. A posterior análise espectroscópica comparativa com dados da literatura, mostraram que MCT-D 1 tratava-se do ácido ursólico, comum em plantas da família Rubiaceae.

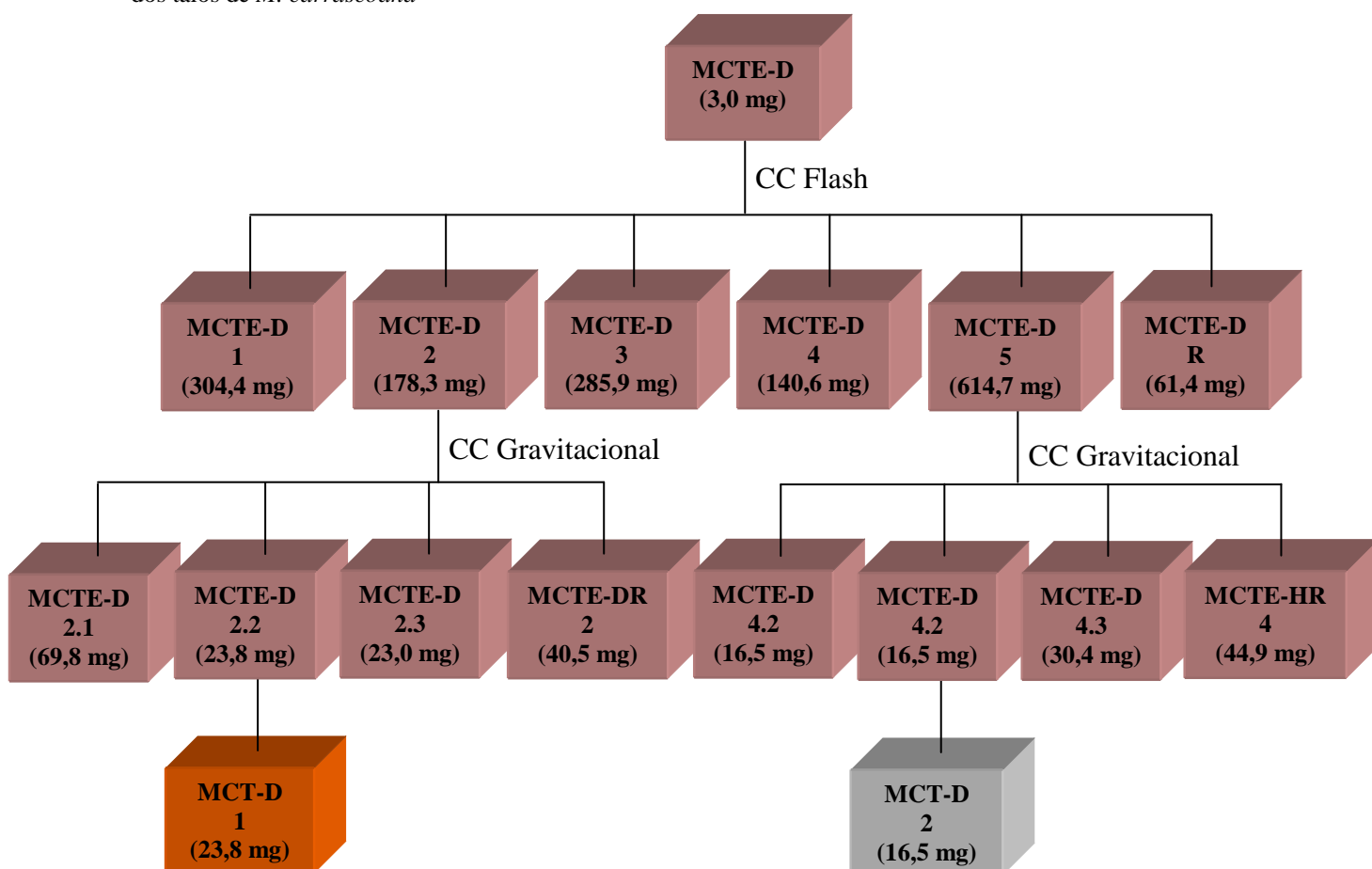
A fração MCTE-D 4 (140,6 mg) foi recromatografada em gel de sílica 60 (Ø 60-200 µm) (31,8 g), numa coluna de 2,5 cm de diâmetro, utilizando como solvente uma mistura binária diclorometano/metanol 95:5. A partir deste procedimento foram obtidas 20 frações que após a análise comparativa em CCD foram reunidas em 4 frações resultantes (**tab. 16 e flux. 14, p. 95**).

**Tabela 16** Fracionamento cromatográfico de MCTE-D 4

Fração	Massa (mg)
MCTE-D 4.1	33,4
MCTE-D 4.2	16,5
MCTE-D 4.3	30,4
MCTE-DR 4	44,9
Rendimento	125,2 (89,0%)

A fração MCTE-D 4.2 (16,5 mg), foi denominada MCT-D 2, um sólido branco. A análise espectroscópica por RMN e comparação com dados da literatura, mostraram que MCT-D 2 tratava-se da mistura de esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol glicosilados.

**Fluxograma 14** Metodologia de isolamento das substâncias obtidas da fração diclorometano do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*



## 5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

### 5.1 Determinação Estrutural de MCT-A 1

A fração MCTE-A, sólido marrom proveniente do processo de extração de alcalóide do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*, foi submetida a cromatografias de adsorção (C18) e purificada em CLAE (fase reversa), resultando na obtenção de um sólido amorfo marrom (50,6 mg), denominado MCT-A 1 (p.f. 191,9 - 195,4 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -8,5^\circ$ , MeOH,  $c$  0,1) (item 4.6.2.3, p. 74).

O espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 1 (fig. 24, p. 105) mostrou um banda em  $3287\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação N-H ou de O-H; bandas esqueléticas em 1668, 1611 e  $1486\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação de aromático; absorções em  $1177$  e  $1122\text{ cm}^{-1}$  referentes a deformação axial C-N; banda em  $3034\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial C-H de carbono  $sp^2$  e em  $2816\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial de C-H alifático. Além de bandas correspondentes a deformações angulares fora do plano para N-H em 833,  $798\text{ cm}^{-1}$  e em 748 e  $720\text{ cm}^{-1}$  para C-H de aromático.

A partir da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 (fig. 26, p. 106) foram observados dois conjuntos de sinais característicos de esqueletos aromáticos *orto* dissubstituídos em  $\delta$  7,56 (d,  $J = 7,3$  Hz, H-4), 7,39 (m, H-6), 7,02 (dd,  $J = 7,3$ ; 0,9 Hz, H-7), 7,11 (t,  $J = 7,3$  Hz, H-5) e em  $\delta$  7,38 (m, H-4''), 7,19 (dt,  $J = 7,6$ ; 0,7 Hz, H-6''), 6,90 (dt,  $J = 7,6$ ; 0,7 Hz, H-5''), 6,85 (d,  $J = 7,6$  Hz, H-7''), além de sinais de hidrogênios aromáticos *orto* trissubstituídos em  $\delta$  7,38 (m, H-4'), 7,66 (d,  $J = 7,3$  Hz, H-6'), 7,14 (t,  $J = 7,3$  Hz, H-5').

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  revelou ainda sinais relacionados a seis grupos metilênicos em  $\delta$  3,10 (dd,  $J = 13,5$ ; 4,9 Hz, H-2 $\alpha$ ) e 2,68 (m, H-2 $\beta$ );  $\delta$  2,03 (dt,  $J = 13,5$ ; 4,9 Hz, H-3 $\alpha$ ) e 1,71 (dd,  $J = 14,3$  Hz, H-3 $\beta$ );  $\delta$  2,91 (dd,  $J = 13,5$ ; 5,5 Hz, H-2' $\alpha$ ) e  $\delta$  2,27 (dt,  $J = 13,5$ ; 3,5 Hz, H-3' $\alpha$ ); 2,33 (dt,  $J = 14,1$ ; 3,2 Hz, H-2' $\beta$ ) e 1,77 (d,  $J = 14,1$  Hz, H-3' $\beta$ );  $\delta$  3,06 (dd,  $J = 12,3$ ; 5,0 Hz, H-2'' $\alpha$ ) e 2,73 (m, H-2'' $\beta$ ) e em  $\delta$  2,45 (dt,  $J = 12,3$ ; 5,0 Hz, 2H-3''), que aliados à presença de três simpletos em  $\delta$  6,07 (H-8'a), 5,92 (H-8a'') e 5,57 (H-8a), foram sugestivos para a existência de um esqueleto pirrolidinoindólico (JANNIC *et al.*, 1999). Também foram observados três simpletos intensos em  $\delta$  2,83 ( $\text{CH}_3$ -1), 2,79 ( $\text{CH}_3$ -1') e 2,65 ( $\text{CH}_3$ -1''), compatíveis com três grupos metilas ligados a nitrogênio.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 (**fig. 29, p. 107**) apresentou 33 linhas espectrais, sendo três atribuídas a carbonos  $\text{sp}^2$  nitrogenados em  $\delta$  148,8 (C-7''a); 145,6 (C-7'a) e 143,6 (C-7a).

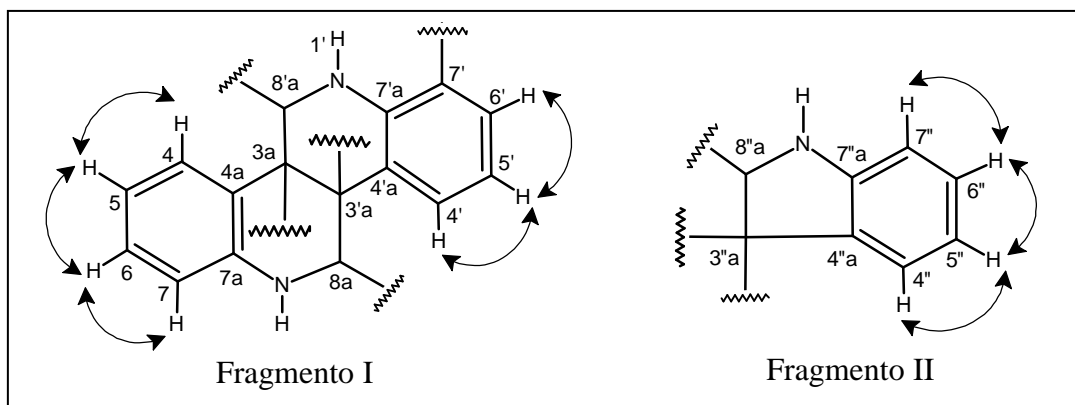
A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (**fig. 30, p. 108**), revelou a presença de quatorze carbonos metínicos, dos quais onze foram relacionados a carbonos  $\text{sp}^2$  [ $\delta$  131,6 (C-6), 130,8 (C-6''), 126,7 (C-4), 125,0 (C-6'), 124,8 (C-4''), 124,7 (C-4'), 124,2 (C-5'), 122,9 (C-5), 122,1 (C-5''), 116,0 (C-7) e 112,3 (C-7'')] e três a carbonos  $\text{sp}^3$  dinitrogenados em  $\delta$  89,7 (C-8''a), 75,6 (C-8'a) e 73,4 (C-8a); seis carbonos metilênicos, dos quais três nitrogenados em  $\delta$  48,5 (C-2'), 47,8 (C-2), 46,2 (C-2'') e três não funcionalizados em  $\delta$  35,1 (C-3''), 32,8 (C-3) e 32,8 (C-3'), além de três carbonos metílicos nitrogenados em  $\delta$  41,5 ( $\text{CH}_3$ -1'), 40,6 ( $\text{CH}_3$ -1) e 33,6 ( $\text{CH}_3$ -1'').

A subtração das linhas espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  do DEPT 135°, possibilitou identificar dez carbonos não hidrogenados, sendo sete referentes a carbonos aromáticos [ $\delta$  148,8 (C-7''a), 145,6 (C-7'a), 143,6 (C-7a), 132,4 (C-4''a), 131,3 (C-4'a), 118,8 (C-4a) e 115,7 (C-7')] e três referentes a carbonos alifáticos em  $\delta$  60,5 (C-3''a), 38,6 (C-3a) e 36,2 (C-3'a).

A partir dos dados espectroscópicos até então descritos para MCT-A 1, foi possível deduzir a fórmula molecular  $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_6$ , com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a dezoito, confirmada pela presença do pico molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  519,3243, no espectro de massas de MCT-A 1 (EM-IES, **fig. 25, p. 105**). Foram observados ainda a presença de importantes picos com  $m/z$  462,2718 e 405,2113, devido a perda de  $\text{C}_3\text{H}_7\text{N}$ , fragmentos típicos do esqueleto da calicosidina, formada pelas subunidades pirrolidinoindólico e calicantina ligados em C-7' e C-3''a (**qua. 1, p. 105**) (LIBOT *et al.*, 1988).

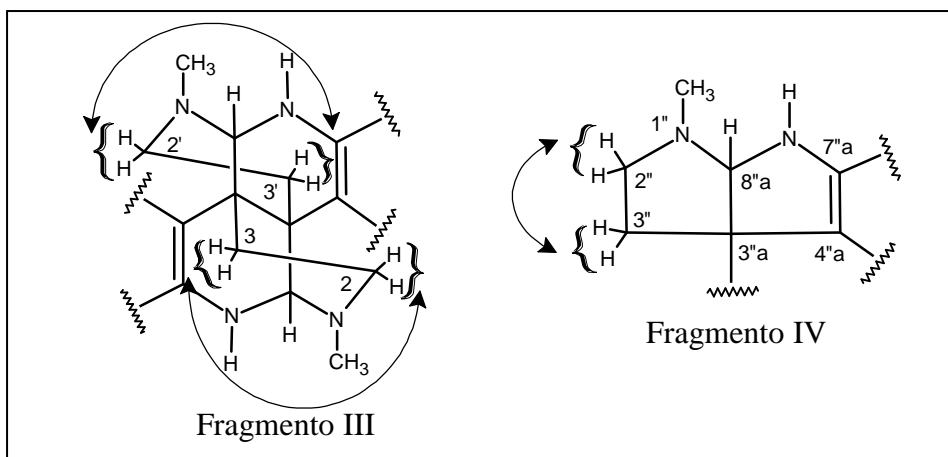
O espectro de correlação homonuclear RMN-COSY (**fig. 35, p. 111**), permitiu a identificação dos hidrogênios ligados aos três sistemas aromáticos, através do acoplamento entre o hidrogênio em  $\delta$  7,11 (H-5) com os hidrogênios  $\delta$  7,56 (H-4), 7,39 (H-6) e do sinal em  $\delta$  7,02 (H-7) com  $\delta$  7,39 (H-6), além da correlação do hidrogênio  $\delta$  7,14 (H-5') com os hidrogênios  $\delta$  7,66 (H-6') e 7,38 (H-4') (**fragmento I**); do hidrogênio  $\delta$  7,19 (H-6'') com os hidrogênios  $\delta$  6,85 (H-7'') e 6,90 (H-5''), do hidrogênio  $\delta$  7,38 (H-4'') com  $\delta$  6,90 (H-5'') (**fragmento II**) (**fig. 15, p. 98**).

**Figura 15** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 1



No espectro COSY foram evidenciados ainda acoplamentos entre os seis hidrogênios metilênicos, confirmando a presença de três conjuntos de sinais, observados a partir da correlação dos hidrogênios  $\delta$  3,10 e 2,68 (2H-2) com os hidrogênios em  $\delta$  2,03 e 1,71 (2H-3), dos hidrogênios  $\delta$  2,91 e 2,33 (2H-2'') com  $\delta$  2,27 e 1,77 (2H-3') (**fragmento III**); e entre os hidrogênios  $\delta$  3,06 e 2,73 (2H-2'') com os hidrogênios em  $\delta$  2,45 (2H-3'') (**fragmento IV**) (**fig. 16**).

**Figura 16** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 1

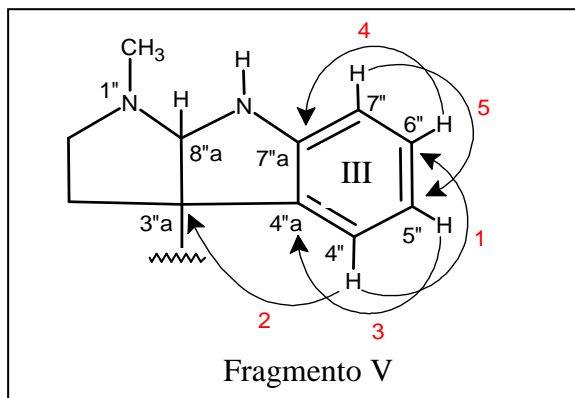


O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação RMN-HSQC (**fig. 31, p. 108**) permitiu a associação inequívoca dos deslocamentos químicos dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ) (**tab. 17, p. 104**). A partir da análise desse experimento foi possível identificar a presença de dois carbonos metilênicos com o mesmo deslocamento químico, através das correlações dos hidrogênios em  $\delta$  2,27 (H-3' $\alpha$ ), 2,03 (H-3 $\alpha$ ), 1,77 (H-3' $\beta$ ) e 1,71 (H-3 $\beta$ ) com um sinal em  $\delta$  32,8 (C-3 e C-3').

A análise do espectro de correlação heteronuclear a longa distância ( $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$ ) RMN-HMBC (**fig. 33, p. 109**), corroborou com os dados até então discutidos através das correlações do hidrogênio  $\delta$  7,38 (H-4'') com os carbonos em  $\delta$  130,8 (C-6'') e 60,5 (C-3''a),

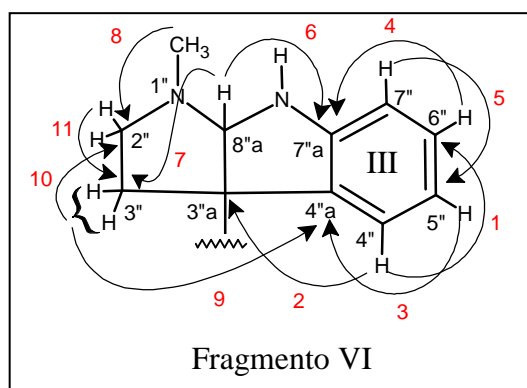
do hidrogênio  $\delta$  6,90 (H-5'') com o carbono  $\delta$  132,4 (C-4''a), acoplamento do hidrogênio  $\delta$  7,19 (H-6'') com o carbono em  $\delta$  148,8 (C-7''a) e do em hidrogênio  $\delta$  6,85 (H-7'') com o carbono em  $\delta$  122,1 (C-5''), posicionando os hidrogênios no sistema aromático III (**fragmento V**) (**fig. 17, tab. 17, p. 104**).

**Figura 17** Correlações observadas no HMBC para o sistema aromático III de MCT-A 1



Foram observadas ainda as correlações do hidrogênio em  $\delta$  5,92 (H-8a'') com os carbonos em  $\delta$  148,8 (C-7''a) e 35,1 (C-3''), dos hidrogênios da metila em  $\delta$  2,65 (CH<sub>3</sub>-1'') com o carbono em  $\delta$  46,2 (C-2''), dos hidrogênios metilênicos em  $\delta$  2,45 (2H-3'') com os carbonos em  $\delta$  132,4 (C-4''a) e 46,2 (C-2'') e do hidrogênio em  $\delta$  2,73 (H-2'' $\beta$ ) com o carbono em  $\delta$  35,1 (C-3'') (**fragmento VI**) (**fig. 18**).

**Figura 18** Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCT-A 1

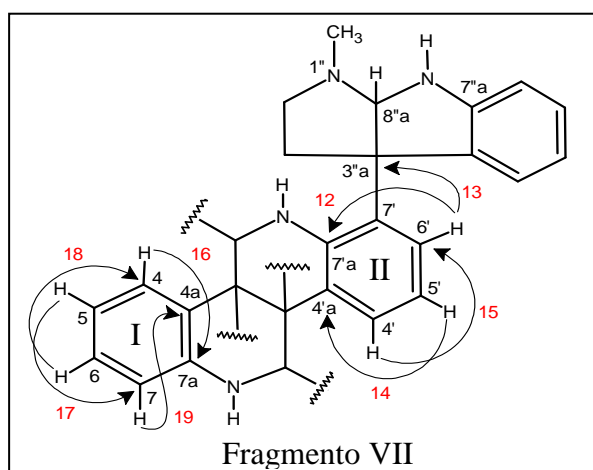


O espectro de HMBC mostrou também as correlações do sinal de hidrogênio em  $\delta$  7,66 (H-6') com os carbonos em  $\delta$  145,6 (C-7'a) e 60,5 (C-3''a), permitindo posicionar o fragmento IV no carbono  $\delta$  115,7 (C-7'). Além disso, os acoplamentos do hidrogênio em  $\delta$  7,14 (H-5') com o carbono em  $\delta$  131,3 (C-4'a) e do hidrogênio em  $\delta$  7,38 (H-4') com  $\delta$  125,0 (C-6') foram importantes para localizar os hidrogênios no sistema aromático II (**fragmento VII**) (**fig. 19, p. 100**).



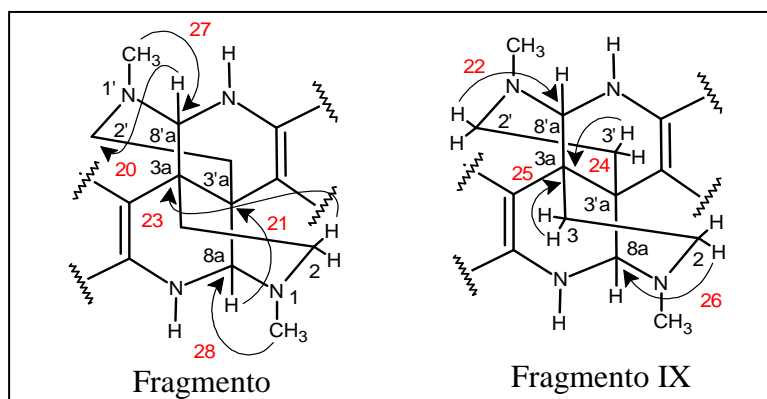
A continuação da análise do espectro de HMBC permitiu localizar os hidrogênios pertencentes ao sistema aromático I através do acoplamento do hidrogênio em  $\delta$  7,56 (H-4) com o carbono em  $\delta$  143,6 (C-7a), do hidrogênio em  $\delta$  7,11 (H-5) com o carbono em  $\delta$  116,0 (C-7), do sinal em  $\delta$  7,39 (H-6) com o carbono em  $\delta$  126,7 (C-4) e do hidrogênio em  $\delta$  7,02 (H-7) com o carbono em  $\delta$  118,8 (C-4a), possibilitando identificar os hidrogênios pertencentes (**fragmento VII**) (**fig. 19**).

**Figura 19** Correlações observadas no HMBC para o sistema aromático I e II de MCT-A 1



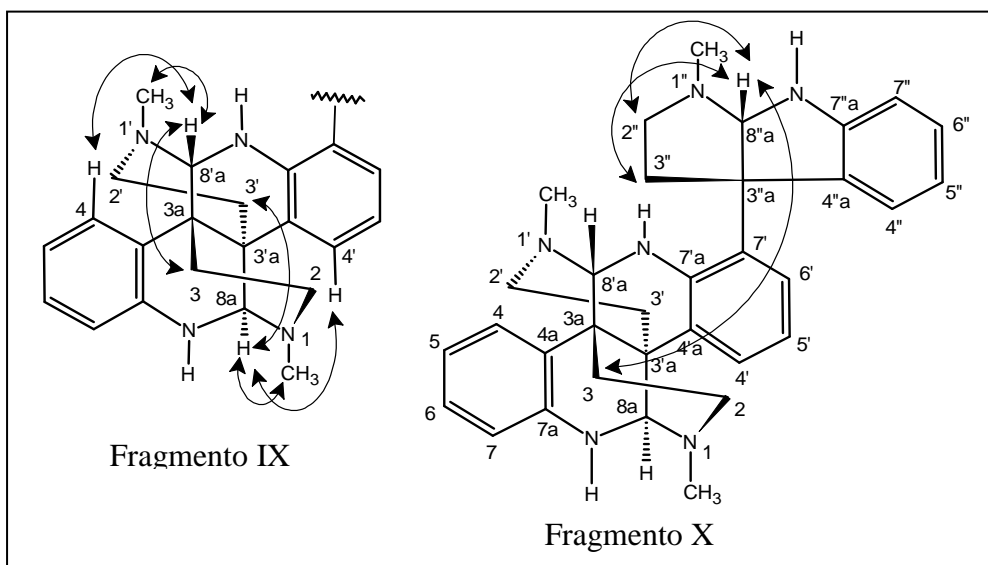
A análise do HMBC revelou ainda importantes acoplamentos entre o hidrogênio em  $\delta$  6,07 (H-8'a) com o carbono em  $\delta$  48,5 (C-2') e do hidrogênio em  $\delta$  5,57 (H-8a) com o carbono em  $\delta$  36,2 (C-3'a), posicionando os hidrogênios ligados aos carbonos nitrogenados. Foram observados ainda acoplamentos do hidrogênio em  $\delta$  2,33 (H-2' $\beta$ ) com o carbono em  $\delta$  75,6 (C-8'a) e dos hidrogênios em  $\delta$  3,10 (H-2 $\alpha$ ), 2,03 (H-3 $\alpha$ ) e 1,77 (H-3' $\beta$ ) com o carbono em  $\delta$  38,6 (C-3a), que em adição ao acoplamento do hidrogênio em  $\delta$  3,10 (H-2 $\alpha$ ) com o carbono em  $\delta$  73,4 (C-8a), foram importantes na localização dos hidrogênios metilênicos. O acoplamento dos hidrogênios em  $\delta$  2,79 (CH<sub>3</sub>-1') com o carbono em  $\delta$  75,6 (C-8'a) e dos hidrogênios em  $\delta$  2,83 (CH<sub>3</sub>-1) com o carbono em  $\delta$  73,4 (C-8a) definiram a localização das duas metilas (**fragmentos VIII e IX**) (**fig. 20**).

**Figura 20** Acoplamentos dos hidrogênios metilênicos observados no HMBC de MCT-A 1

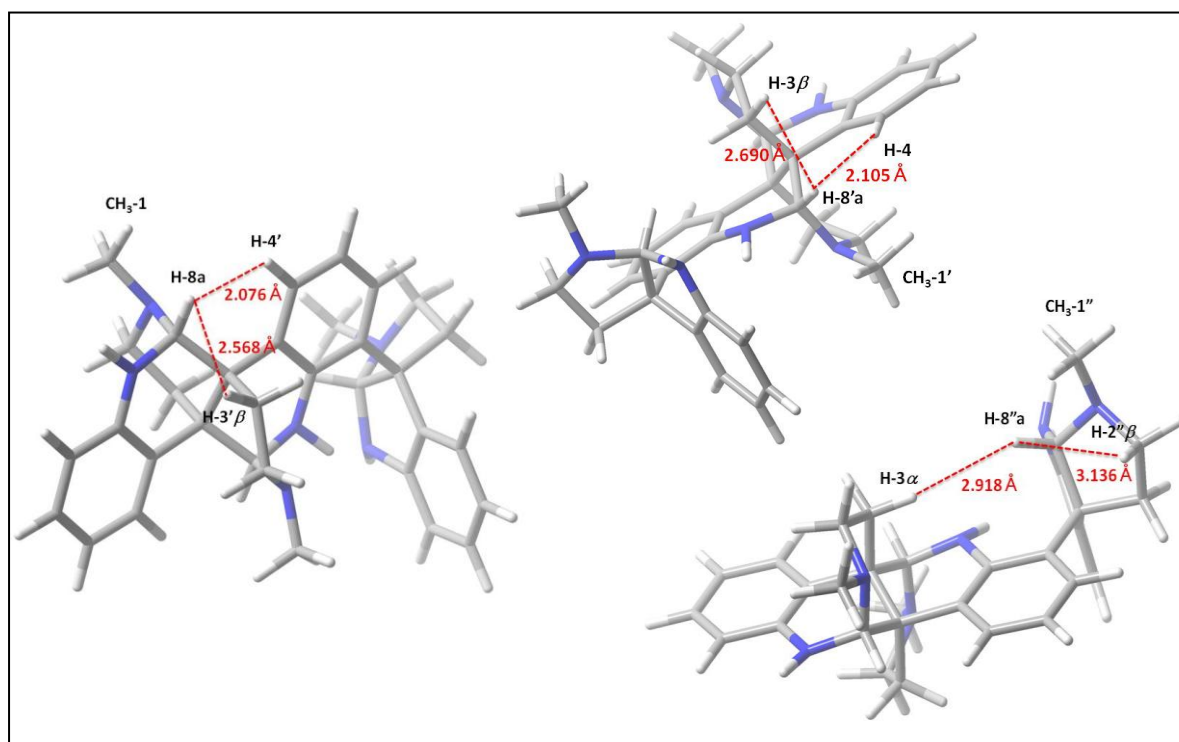


A estereoquímica relativa para MCT-A 1 foi determinada a partir da análise do espectro de correlação homonuclear RMN-NOESY (**fig. 37, p. 112**), que apresentou importantes correlações dipolares entre os hidrogênios:  $\delta$  5,92 (H-8''a) com  $\delta$  2,45 (2H-3''), 3,06 e 2,73 (2H-2''), 2,03 (H-3 $\alpha$ ); do hidrogênio  $\delta$  6,07 (H-8'a) com  $\delta$  7,56 (H-4), 2,03 e 1,71 (2H-3), 2,79 (CH<sub>3</sub>-1') e do hidrogênio  $\delta$  5,57 (H-8a) com  $\delta$  7,38 (H-4'), 2,27 e 1,77 (2H-3'), 2,83 (CH<sub>3</sub>-1) (**fragmento IX e X**) (**fig. 21**). Acoplamentos confirmados a partir de modelagem molecular de MCT-A 1 (**fig. 22**).

**Figura 21** Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 1



**Figura 22** Modelos moleculares de MCT-A 1 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY



A partir dos dados espectroscópicos discutidos, aliada à comparação com dados da literatura, foi possível identificar MCT-A 1 como sendo a calicosidina, um alcalóide indólico de esqueleto pirrolidinoindólico, já isolado anteriormente de *Psychotria oleoides* (LIBOT *et al.*, 1987).

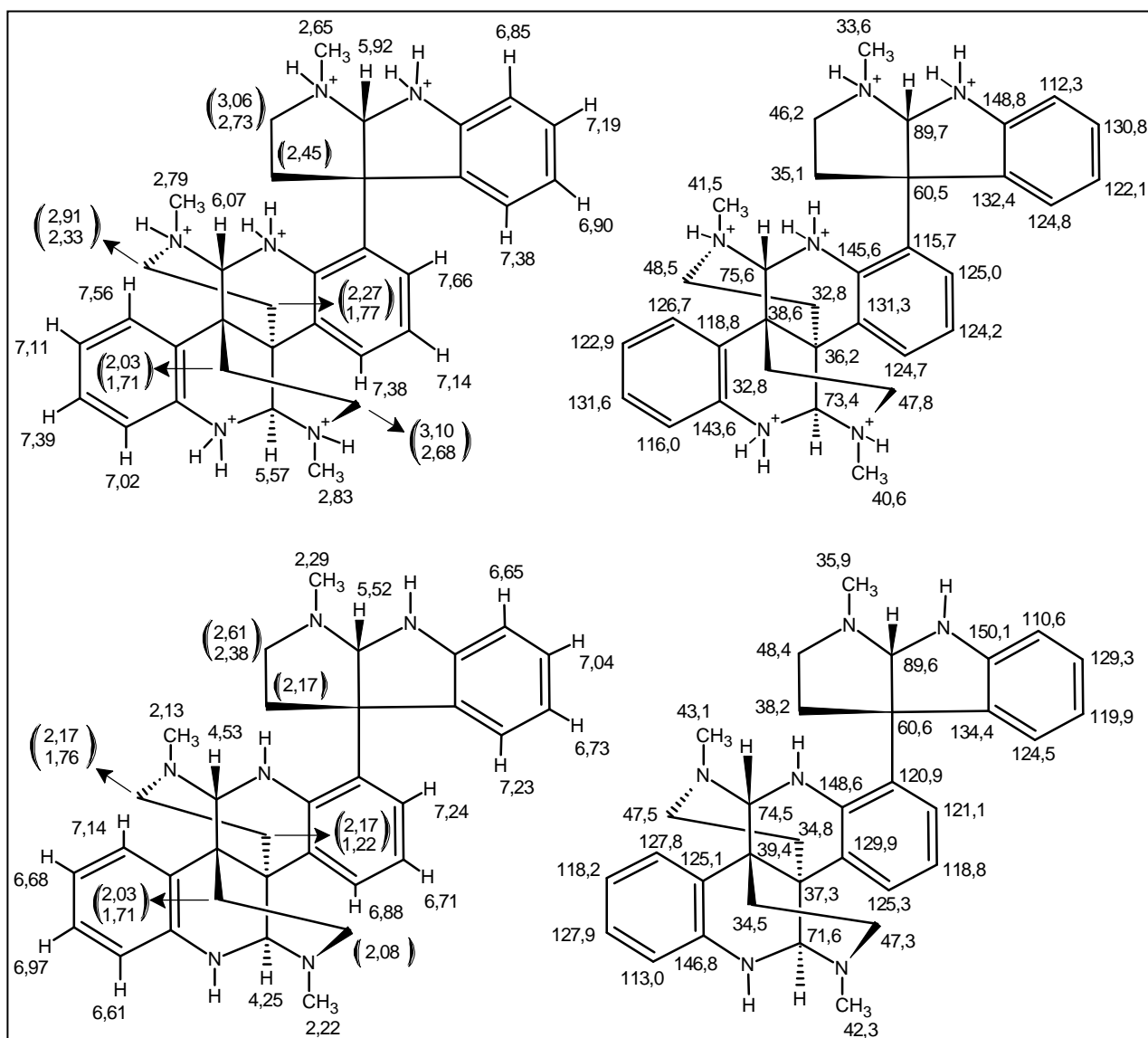
A análise comparativa com os dados da literatura apresentou variações nos deslocamentos químicos de alguns carbonos, podendo ser atribuído à mudança do solvente deuterado (CDCl<sub>3</sub>) e/ou pela protonação da substância durante o isolamento, devido ao uso da solução de ácido trifluoroacético 0,1% (TFA). Com o objetivo de neutralizar MCT-A 1, uma alíquota da amostra foi submetida ao processo de desprotonação (**ver item 4.6.2.3, p. 74**).

### 5.1.1 Reação de Neutralização de MCT-A 1

A análise dos espectros de RMN <sup>1</sup>H de MCT-A 1 desprotonada (**fig. 39, p. 113**), apresentou mudanças acentuadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios que estão próximos aos nitrogênios, tais como:  $\delta$  5,52 (H-8''a), 4,53 (H-8'a), 4,25 (H-8a), 2,29 (CH<sub>3</sub>-1''), 2,22 (CH<sub>3</sub>-1) e 2,13 (CH<sub>3</sub>-1'), que se encontram mais desprotegidos em MCT-A 1:  $\delta$  5,92 (H-8''a), 6,07 (H-8'a), 5,57 (H-8a), 2,65 (CH<sub>3</sub>-1''), 2,83 (CH<sub>3</sub>-1) e 2,79 (CH<sub>3</sub>-1') (**fig. 26, p. 106**). A desproteção observada para os sinais de hidrogênios na molécula protonada, foi atribuído ao efeito ocasionado pela carga positiva sobre nitrogênio, tornando-o mais eletronegativo (**fig. 23, p. 103**).

No espectro de RMN <sup>13</sup>C de MCT-A 1 desprotonada (**fig. 42, p. 114**), observou-se mudanças nos deslocamentos químicos dos carbonos em  $\delta$  113,0 (C-7), 118,2 (C-5), 110,6 (C-7'') e 110,6 (C-7'') ocasionada devido à proteção mesomérica *orto* e *para* dos pares de elétrons livres do nitrogênio. Foram observados ainda uma desproteção nos sinais referentes as metilas em  $\delta$  43,1 (CH<sub>3</sub>-1'), 42,3 (CH<sub>3</sub>-1) e 35,9 (CH<sub>3</sub>-1'') (**fig. 23, p. 103**).

**Figura 23** Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  das estruturas químicas protonadas e desprotonadas de MCT-A 1



Esse estudo despertou a atenção sobre a influência do solvente durante o processo isolamento de alcalóides, surgindo a necessidade de fazer o tratamento de neutralização sempre que usar uma solução ácida.

**Tabela 17** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (20 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da literatura

# C	HSQC		HMBC		LIBOT <i>et al.</i> , 1987
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
CH <sub>3</sub> -1	40,6	2,83 (s)		H-8a	42,1
CH <sub>3</sub> -1'	41,5	2,79 (s)		H-8'a	43,2
CH <sub>3</sub> -1''	33,6	2,65 (s)			36,4
2	47,8	3,10 (dd, 13,5; 4,9) 2,68 (m)	H-3 $\alpha$	H-8''; CH <sub>3</sub> -1	46,2
2'	48,5	2,91 (dd, 13,5; 3,5) 2,33 (dt, 14,1; 3,2)	H-3' $\alpha$	H-8'a; CH <sub>3</sub> -1'	46,2
2''	46,2	3,06 (dd, 12,3; 5,0) 2,73 (m)	2H-3''	CH <sub>3</sub> -1''	46,1
3	32,8	2,03 (dt, 13,5; 4,9) 1,71 (d, 14,3)		H-8'a	33,1
3'	32,8	2,27 (dt, 13,5; 3,5) 1,77 (d, 14,1)		H-8a	33,4
3''	35,1	2,45 (dt, 12,3; 5,0)		H-8''a	35,4
3a	38,6	-	H-2 $\alpha$ ; H-3 $\alpha$ ; H-8'a	H-3' $\beta$ ; H-4; H-8a	38,2
3'a	36,2	-	H-2' $\alpha$ ; H-3' $\beta$ ; H-8a	H-4'; H-8'a	37,5
3''a	60,5	-	2H-3''; H-8''a	H-4''; H-6'	59,8
4	126,7	7,56 (d, 7,3)		H-6	126,8
4'	124,7	7,38 (m)		H-6'	126,8
4''	124,8	7,38 (m)		H-6''	124,4
4a	118,8	-	H-3 $\alpha$	H-5; H-7	124,7
4'a	131,3	-		H-5'	128,7
4''a	132,4	-	2H-3''	H-5''; H-7''; H-8''a	133,3
5	122,9	7,11 (t, 7,3)		H-7	118,9
5'	124,2	7,14 (t, 7,3)			120,1
5''	122,1	6,90 (dt, 7,6; 0,9)		H-7''	119,9
6	131,6	7,39 (m)		H-4	128,1
6'	125,0	7,66 (d, 7,3)		H-4'	123,6
6''	130,8	7,19 (dt, 7,6; 0,9)		H-4''	128,1
7	116,0	7,02 (dd, 7,3; 0,9)		H-5	117,4
7'	115,7	-		H-5'	112,2
7''	112,3	6,85 (d, 7,6)		H-5''	110,4
7a	143,6	-		H-4; H-6; H-8a	144,5
7'a	145,6	-		H-4'; H-6'; H-8'a	147,3
7''a	148,8	-		H-4''; H-6''; H-8''a	148,1
8a	73,4	5,57 (s)		CH <sub>3</sub> -1; H-2 $\alpha$	70,9
8'a	75,6	6,07 (s)		CH <sub>3</sub> -1'; H-2' $\alpha$	74,5
8''a	89,7	5,92 (s)		2H-3''	88,2

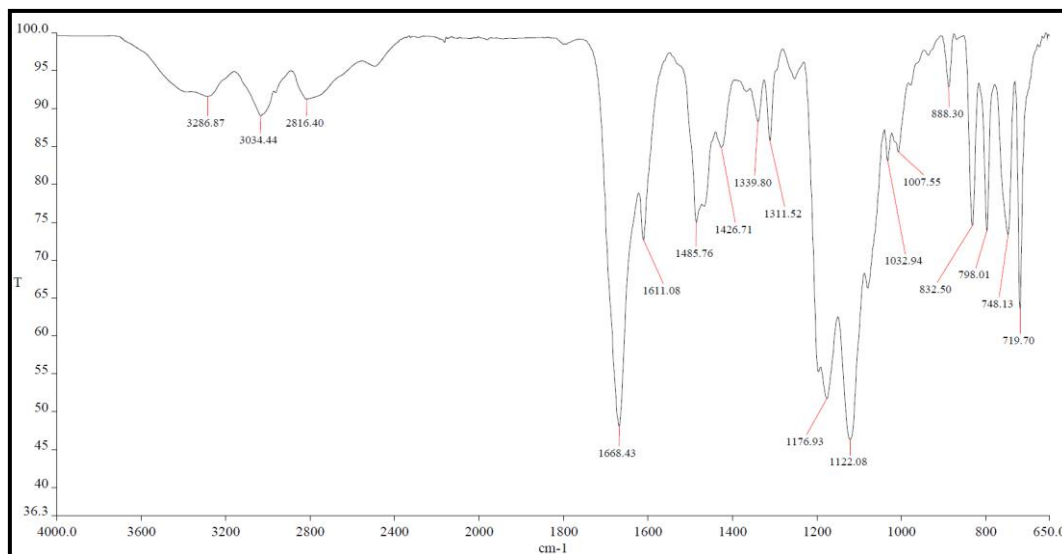
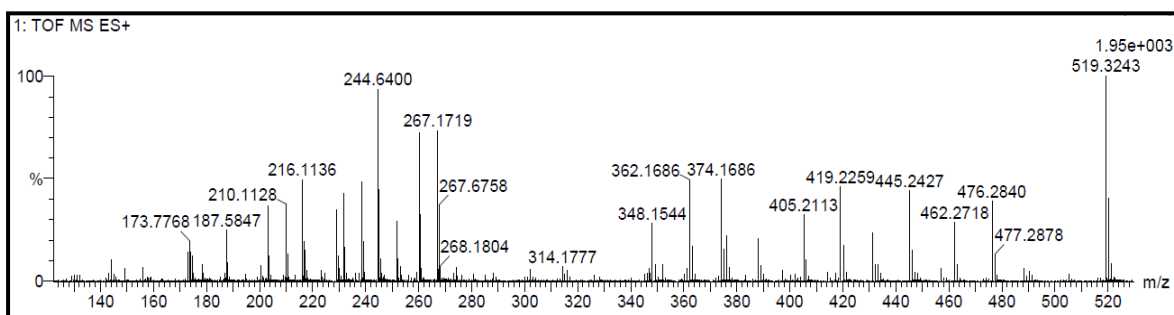
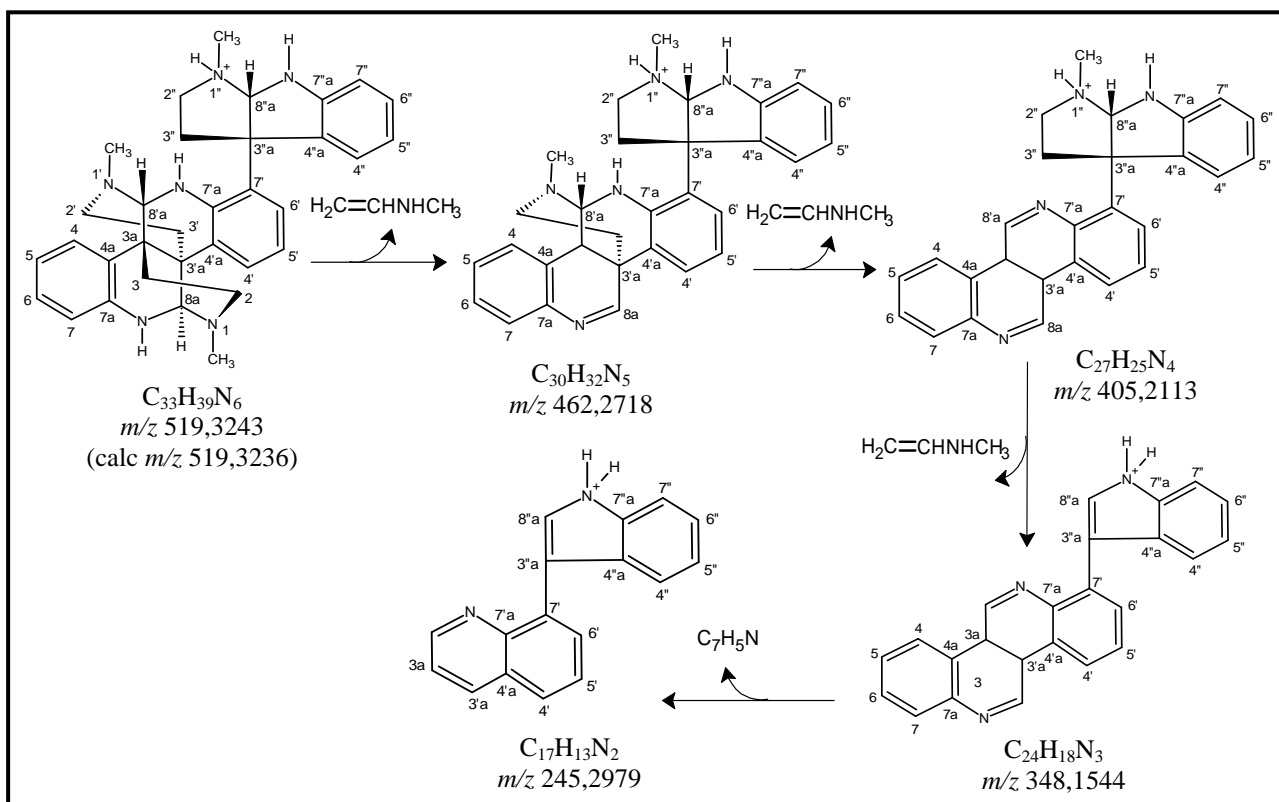
**Figura 24** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 1**Figura 25** Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 1**Quadro 1** Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 1

Figura 26 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCTA 1

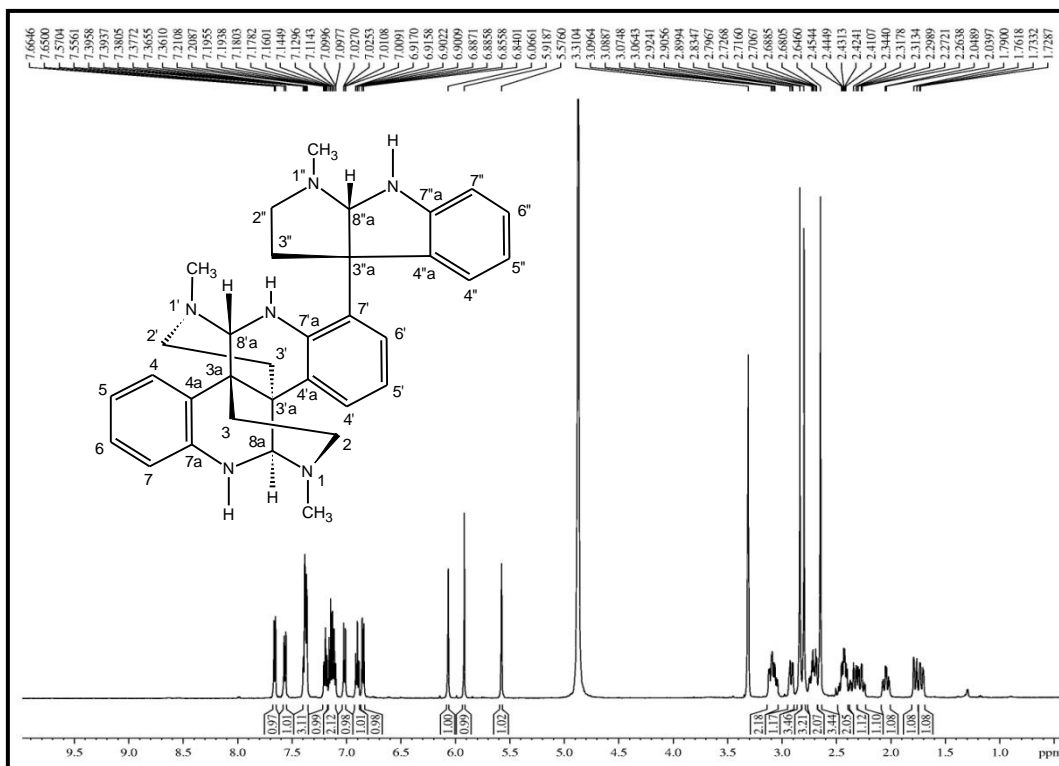


Figura 27 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1

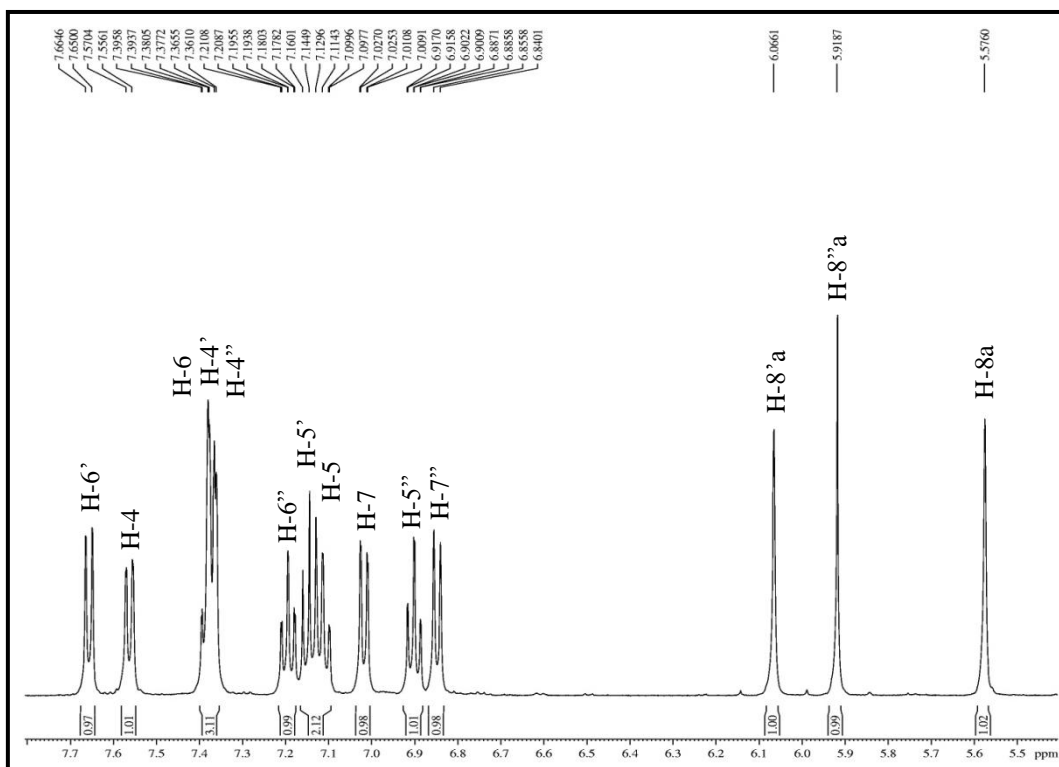


Figura 28 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1

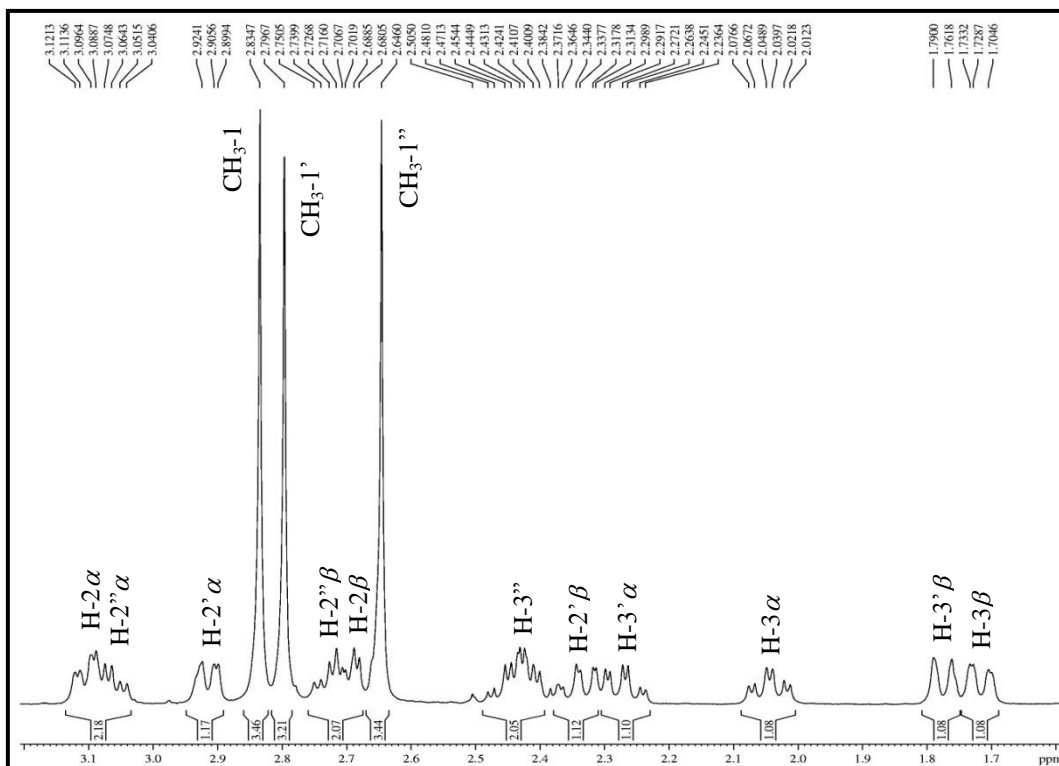
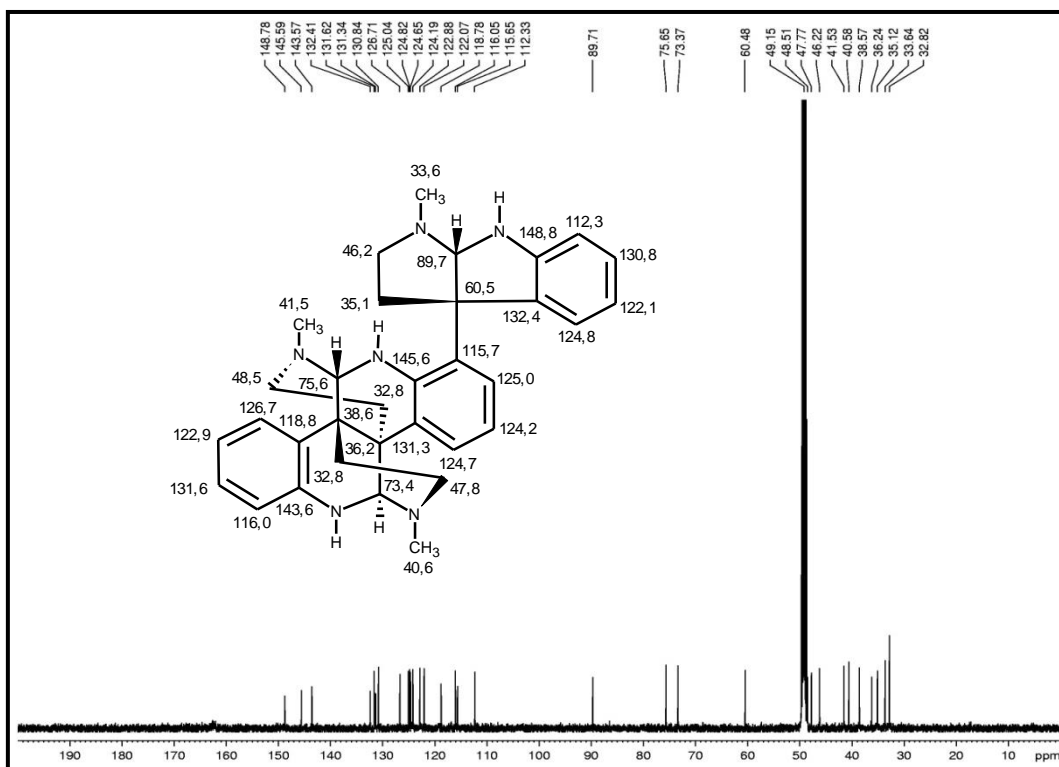
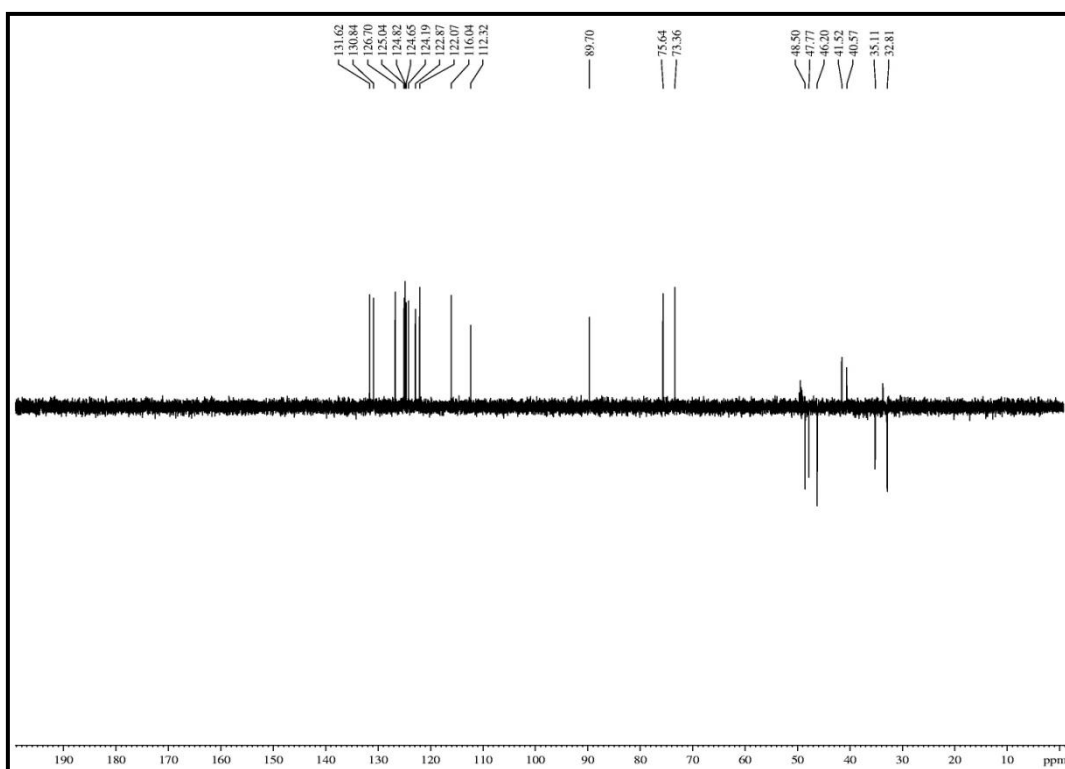
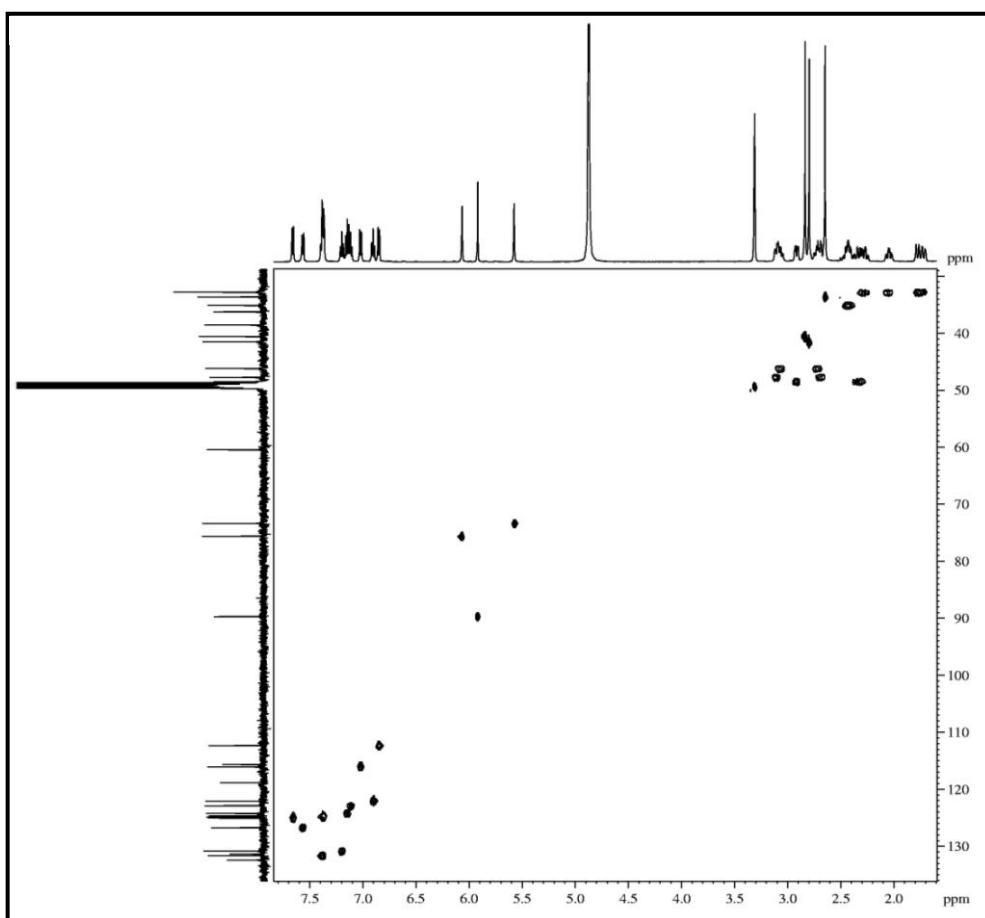
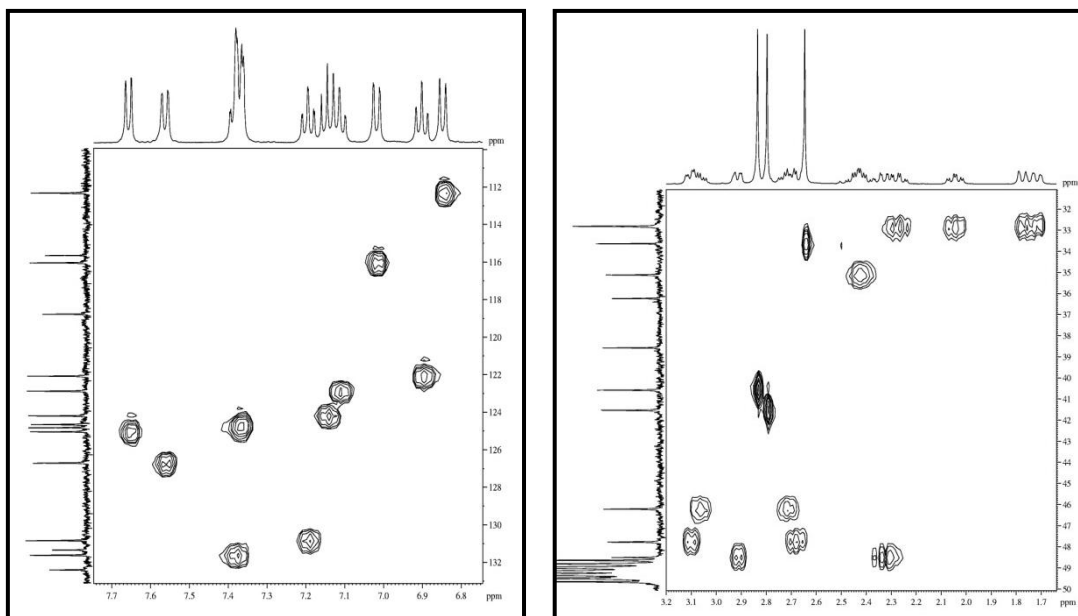
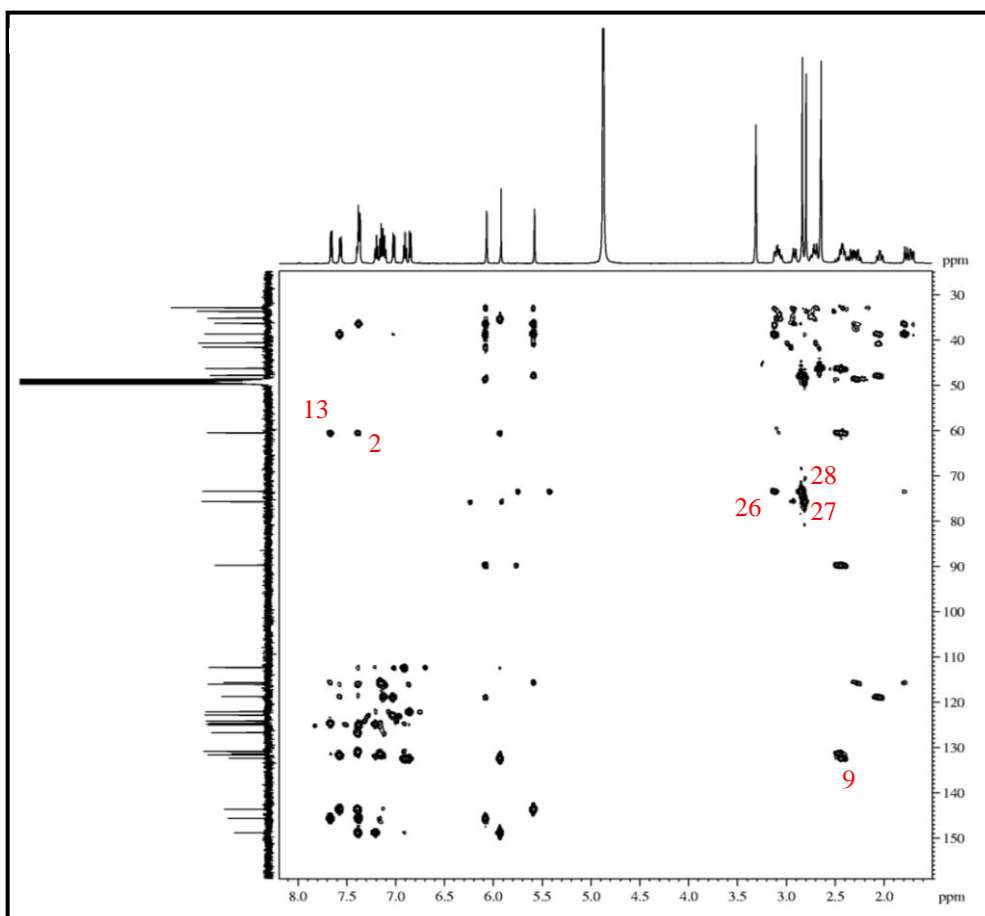


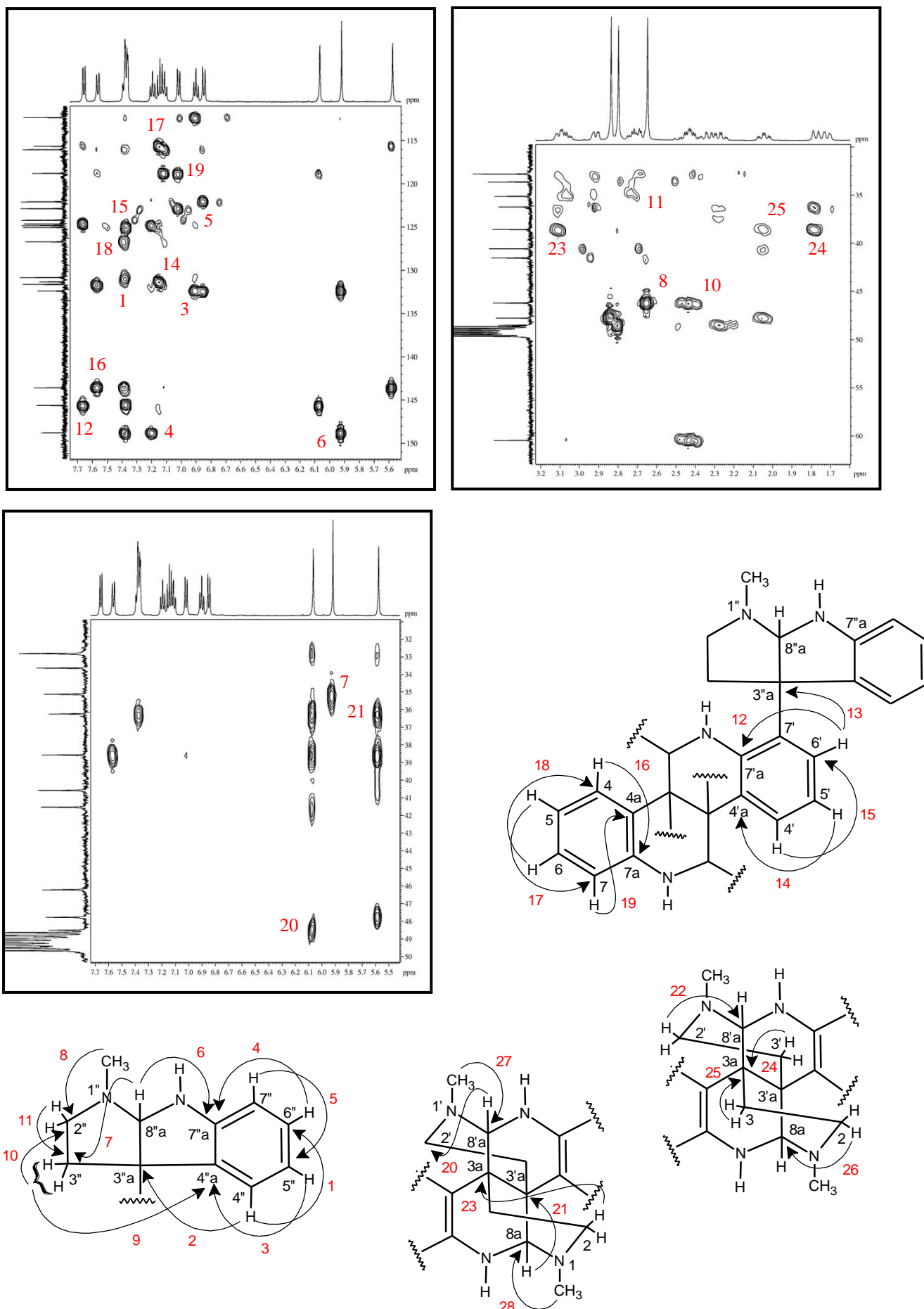
Figura 29 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1



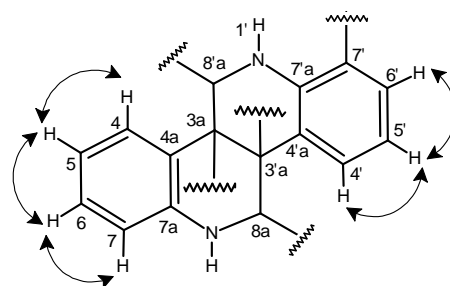
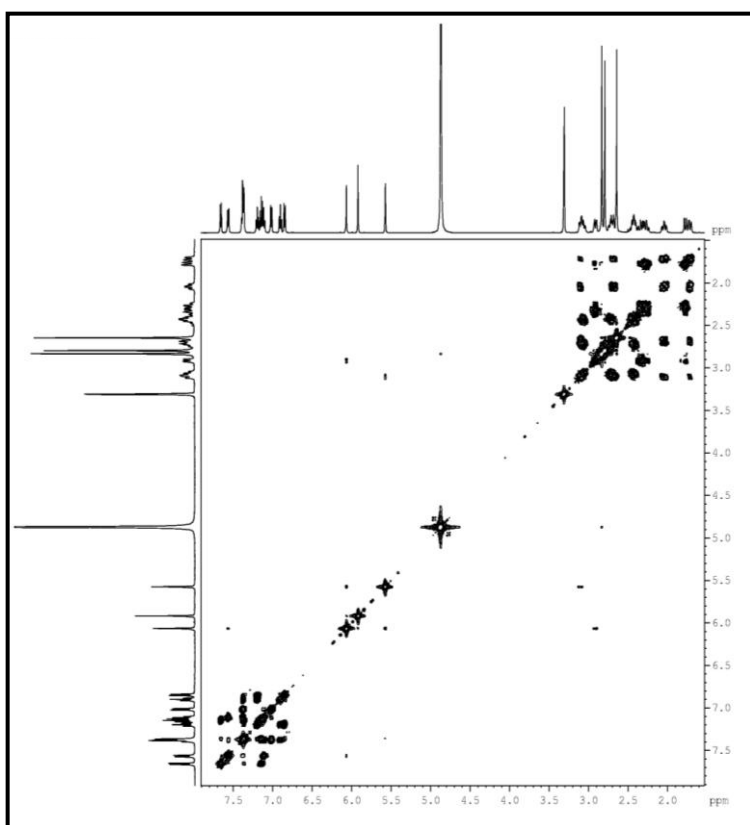


**Figura 30** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT- A 1**Figura 31** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1

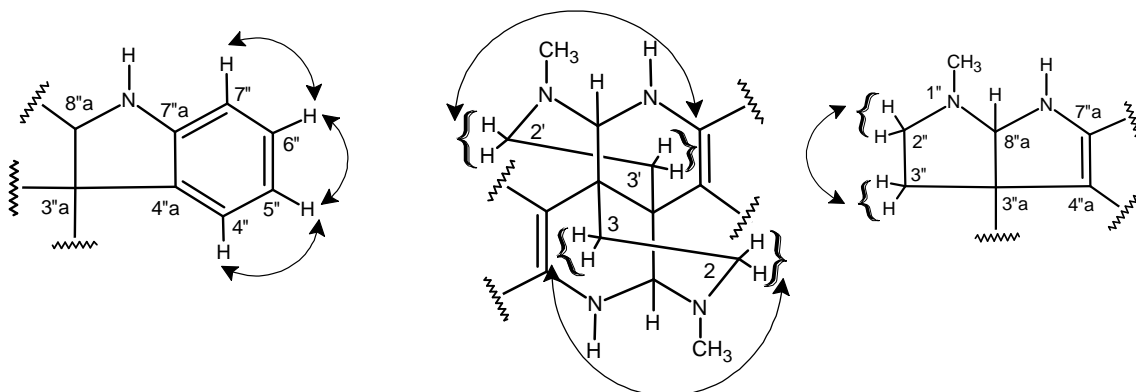
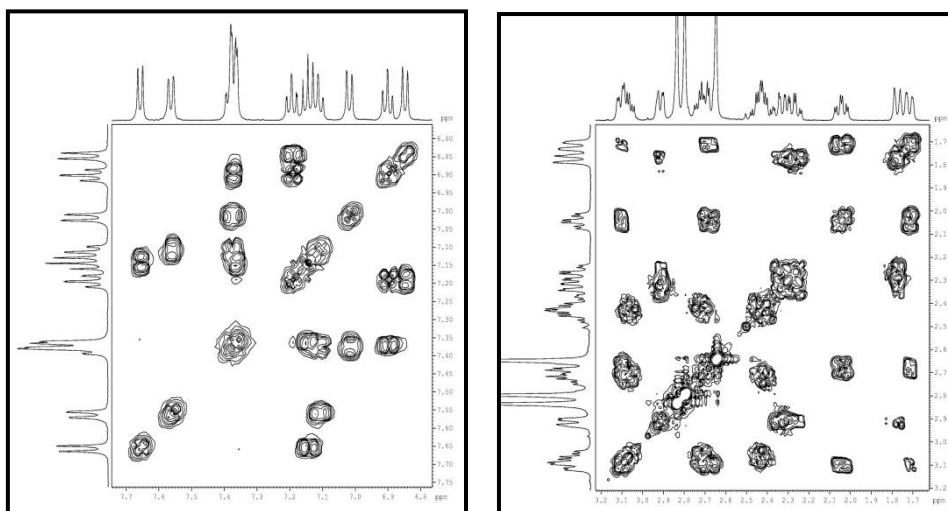
**Figura 32** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 1**Figura 33** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 1



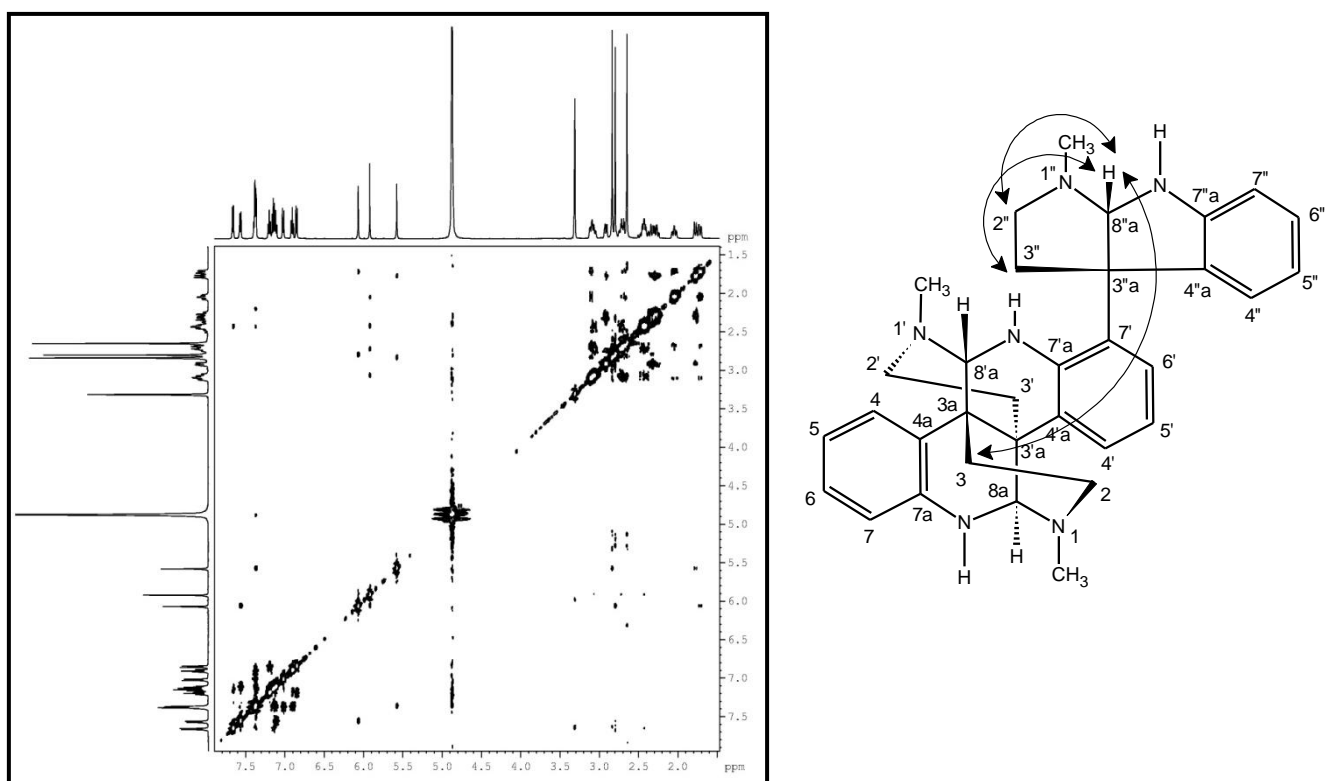
**Figura 35** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 1



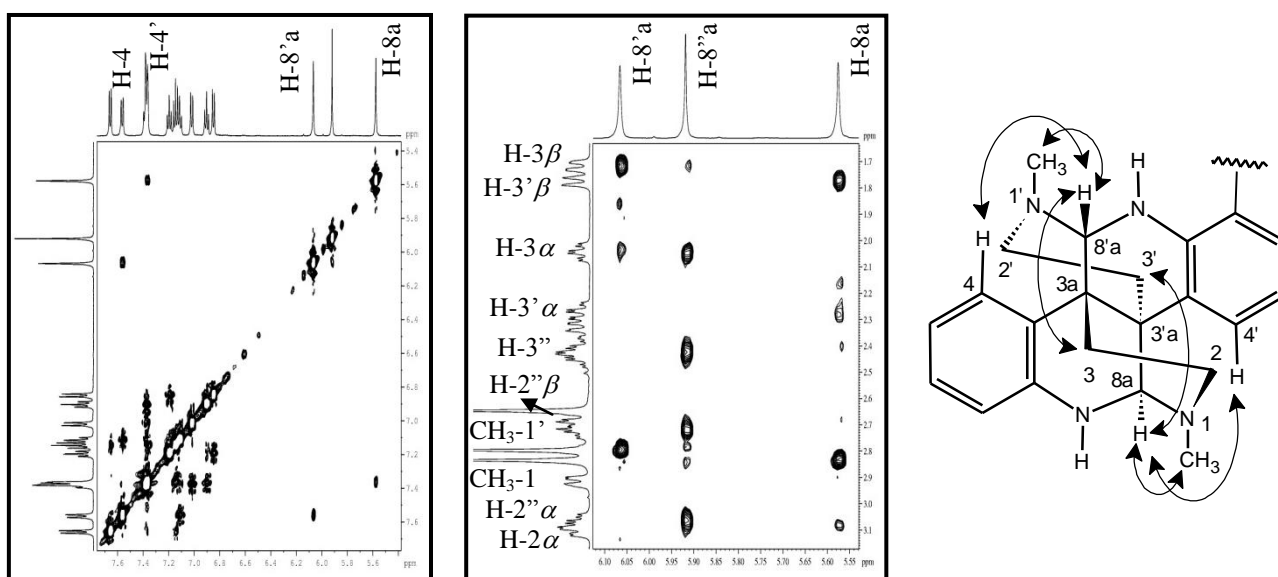
**Figura 36** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 1



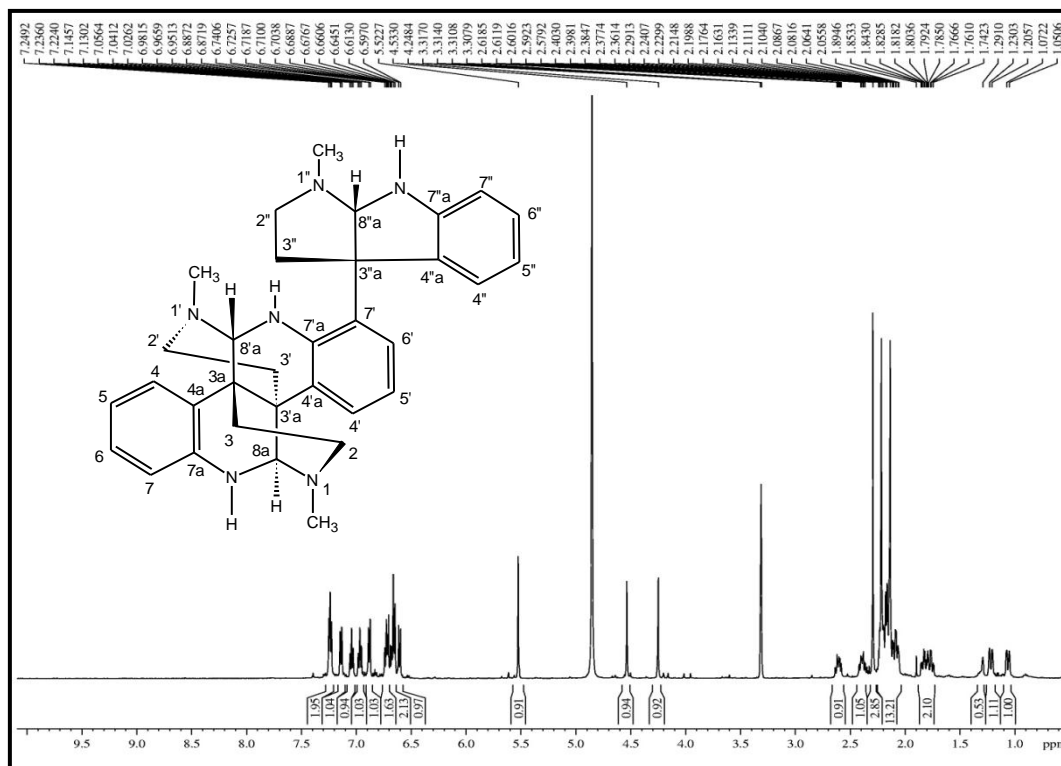
**Figura 37** Espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 1



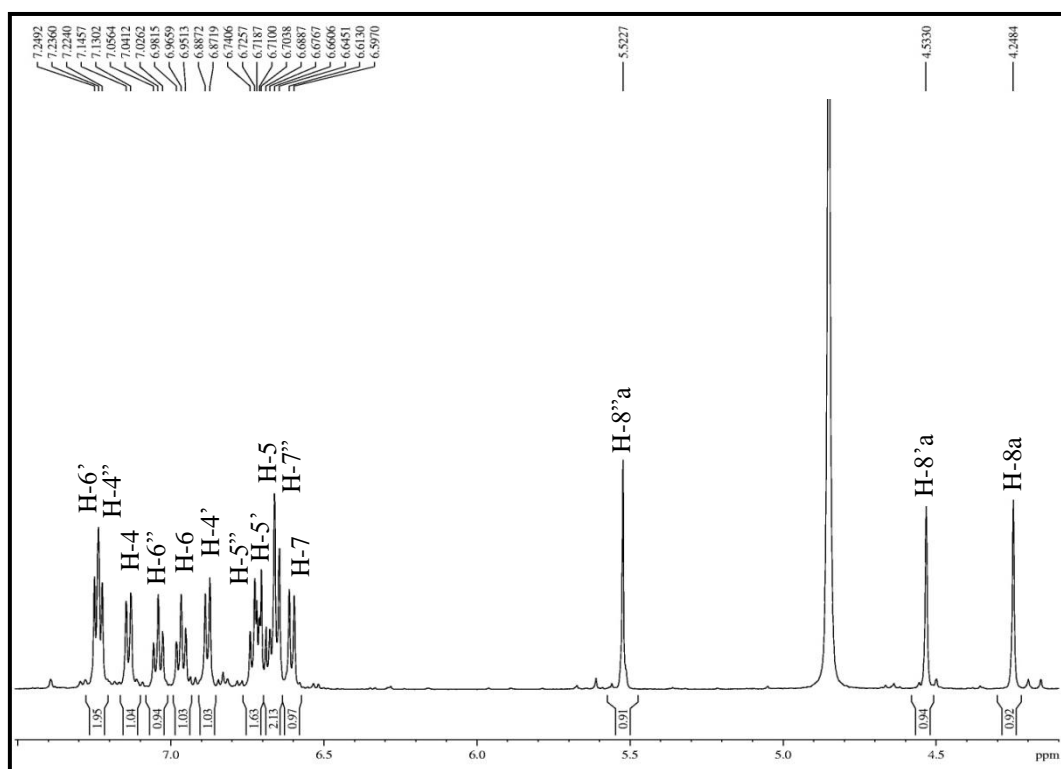
**Figura 38** Expansões do espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 1



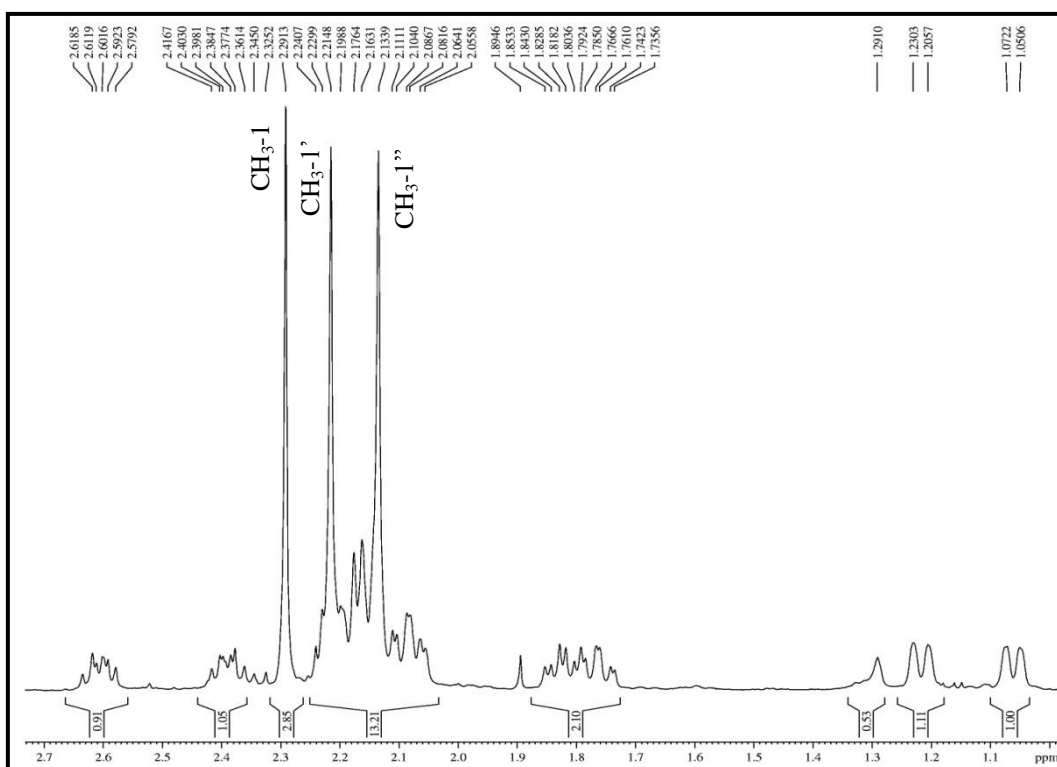
**Figura 39** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 desprotonada



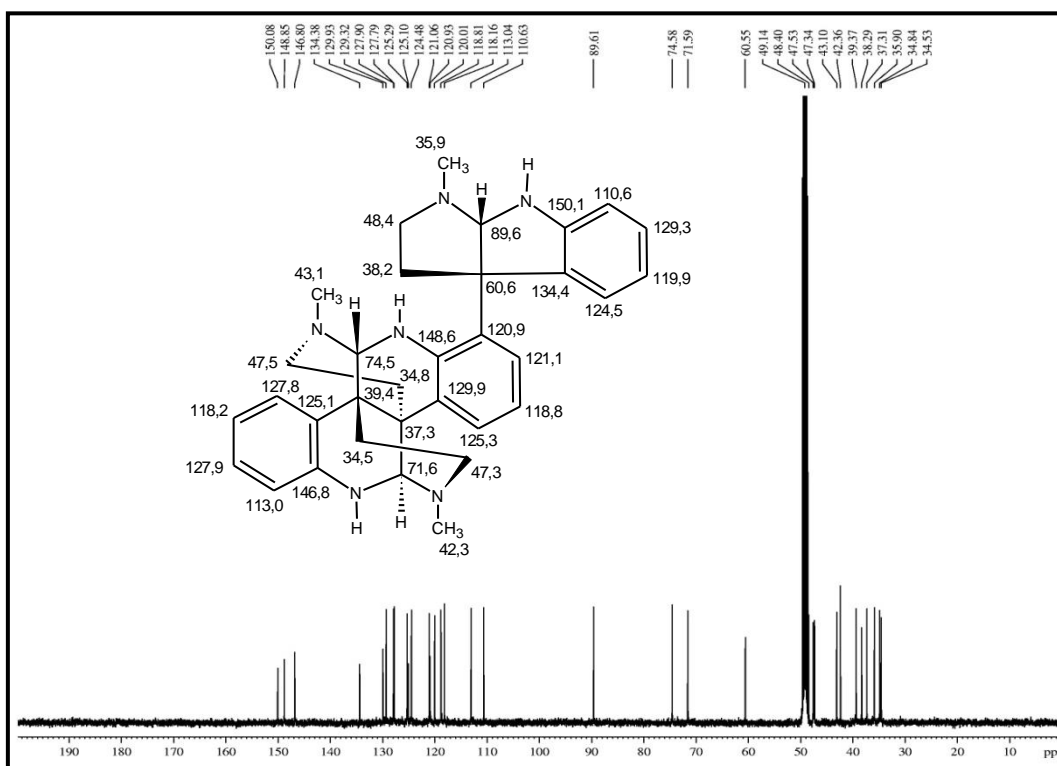
**Figura 40** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 desprotonada



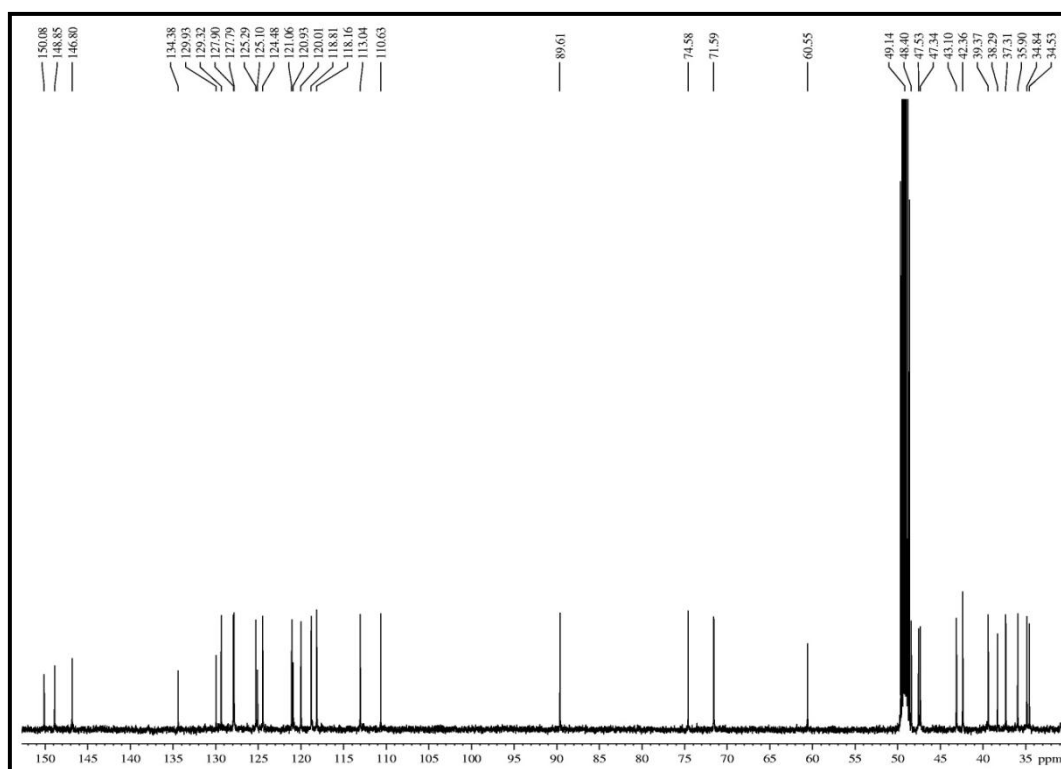
**Figura 41** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 desprotonada



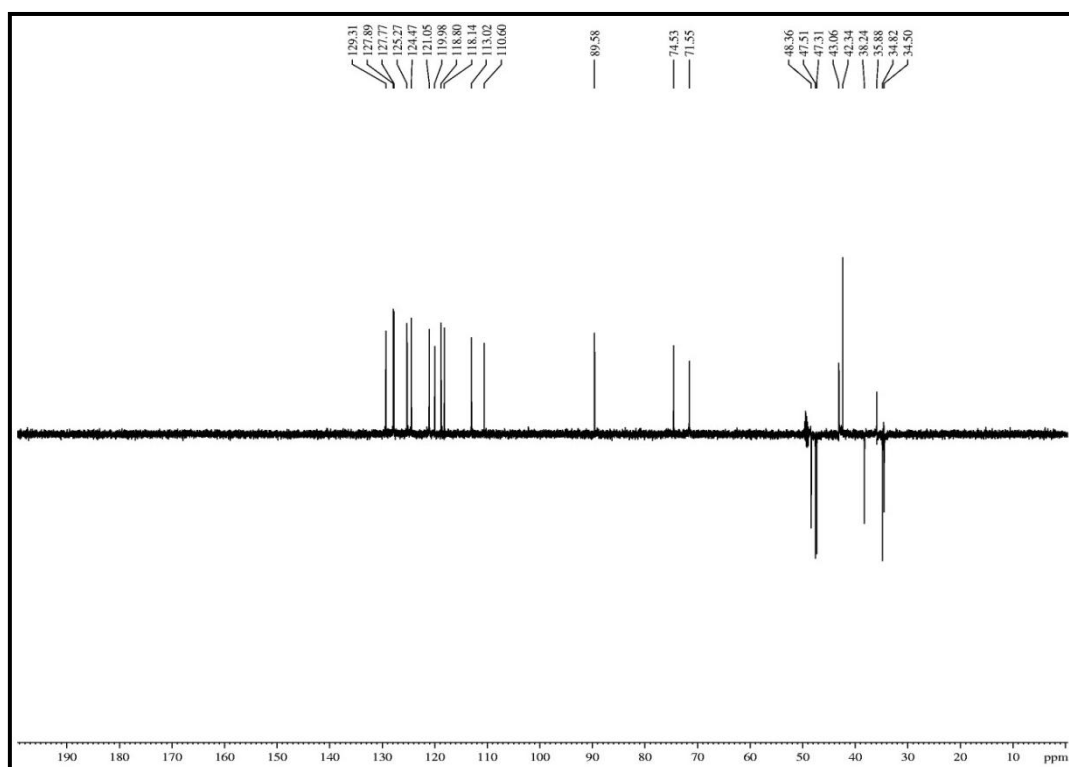
**Figura 42** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 desprotonada



**Figura 43** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1 desprotonada



**Figura 44** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT  $135^\circ$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT- A 1 desprotonada





## 5.2 Determinação Estrutural de MCT-A 2

A fração MCTE-A, sólido marrom proveniente do processo de extração de alcalóide do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*, foi submetida a cromatografias de adsorção (C18) e purificada em CLAE (fase reversa), resultando na obtenção de resina marrom (4,2 mg), denominada MCT-A 2 ( $[\alpha]_D^{20} = +4,6^\circ$ , MeOH,  $c$  0,1) (item 4.6.2.4, p. 75).

O espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 2 (fig. 51, p. 122) mostrou um banda em  $3346\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação N-H ou de O-H; uma banda intensa em  $1678\text{ cm}^{-1}$  relativa à deformação axial C=O, corroborando com a presença de uma carbonila; bandas esqueléticas em  $1600$ ,  $1487$  e  $1462\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação de aromático e absorções em  $1206$  e  $1136\text{ cm}^{-1}$  referentes a deformação axial C-N.

De forma similar a MCT-A 1 (fig. 26, p. 106), o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 2 (fig. 53, p. 123) apresentou três conjuntos de sinais característicos de hidrogênios aromáticos: [ $\delta$  7,37 (m, H-4), 7,29 (m, H-6), 7,04 (m, H-5), 6,95 (d,  $J = 7,9$  Hz, H-7)]; [ $\delta$  7,64 (m, H-4''), 7,56 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-7''), 7,43 (m, H-6''), 7,32 (m, H-5'')] e [ $\delta$  7,58 (m, H-4'), 7,68 (m, H-6') e 7,15 (m, H-5')]. Além de um simpleto em  $\delta$  9,18 (s, CHO-8'), característico de sinal de hidrogênio ligado a carbonila de aldeído.

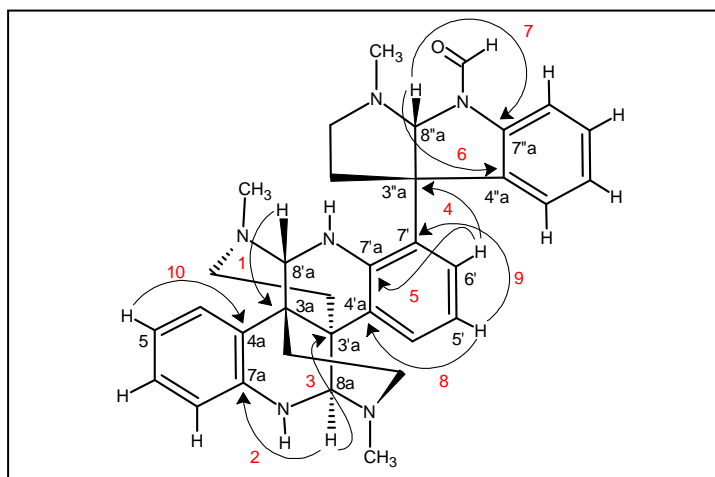
Em adição, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MCT-A 2 revelou ainda sinais relacionados a seis grupos metilênicos em  $\delta$  3,12 (m, H-2 $\alpha$ ) e 2,74 (m, H-2 $\beta$ );  $\delta$  2,60 (m, H-2' $\alpha$ ) e 2,18 (m, H-2' $\beta$ );  $\delta$  3,05 (m, H-2'' $\alpha$ ) e  $\delta$  2,98 (t,  $J = 12,7$  Hz, H-2'' $\beta$ ); 2,06 (m, H-3 $\alpha$ ) e 1,73 (d,  $J = 14,7$  Hz, H-3 $\beta$ );  $\delta$  2,18 (m, H-3' $\alpha$ ) e 1,62 (d,  $J = 12,2$ , H-3' $\beta$ ) e em  $\delta$  2,57 (m, H-3'' $\alpha$ ) e 2,42 (m, H-3'' $\beta$ ), que aliados à presença de três simpletos em  $\delta$  6,58 (s, H-8''a), 5,49 (s, H-8'a) e 5,48 (s, H-8a), foram sugestivos para a existência de um esqueleto pirrolidinoindólico. Também foram observados três simpletos intensos em  $\delta$  2,81 ( $\text{CH}_3$ -1), 2,66 ( $\text{CH}_3$ -1'') e 2,41 ( $\text{CH}_3$ -1'), compatíveis com três grupos metilas ligados a nitrogênio.

O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação RMN-HSQC de MCT-A 2 (fig. 56, p. 124), mostrou a correlação dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ), possibilitando identificar vinte e quatro carbonos hidrogenados, além de confirmar a presença de seis carbonos metilênicos através das correlações dos hidrogênios em  $\delta$  3,12; 2,74 (H-2) com  $\delta$  47,9 (C-2); dos hidrogênios em  $\delta$  2,60; 2,18 (H-2') com o carbono em  $\delta$  47,8 (C-2'); dos hidrogênios em  $\delta$  3,05; 2,98 (H-2'') com o carbono em  $\delta$  46,3 (C-2''); dos hidrogênios em  $\delta$  2,06; 1,73 (H-3) com o carbono em  $\delta$  33,0 (C-3); dos hidrogênios em  $\delta$  2,18; 1,62 (H-3')

com  $\delta$  33,1 (C-3') e dos hidrogênios em  $\delta$  2,57; 2,42 (H-3'') com o carbono em  $\delta$  35,1 (C-3'') (tab. 18, p. 121).

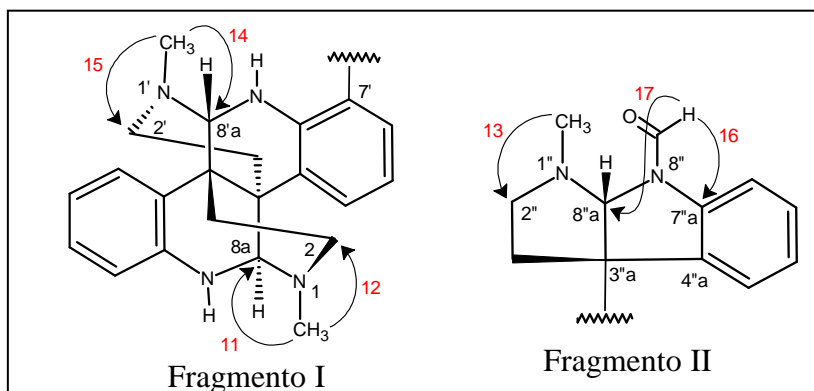
As correlações observadas no espectro de RMN-HMBC de MCT-A 2 (fig. 60, p. 126), entre o hidrogênio em  $\delta$  5,49 (H-8'a) e o carbono em  $\delta$  36,4 (C-3a), do hidrogênio em  $\delta$  5,48 (H-8a) com os carbonos  $\delta$  143,2 (C-7a) e 38,5 (C-3'a), do hidrogênio em  $\delta$  7,68 (H-6') com os carbonos  $\delta$  59,5 (C-3''a) e 146,5 (C-7'a), do  $\delta$  6,58 (H-8''a) com os carbonos  $\delta$  135,5 (C-4''a) e 140,2 (C-7''a), do hidrogênio em  $\delta$  7,15 (H-5') com os carbonos em  $\delta$  128,8 (C-4'a) e 116,7 (C-7'), do hidrogênio  $\delta$  7,04 (H-5) com o carbono  $\delta$  120,1 (C-4a), permitiram a localização de dez carbonos não hidrogenados (fig. 45, tab. 18, p. 121).

Figura 45 Correlações observadas para a identificação dos dez carbonos não hidrogenados de MCT-A 2



O espectro de HMBC mostrou também as correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta$  2,81 (CH<sub>3</sub>-1) com os carbonos em  $\delta$  73,9 (C-8a) e 47,9 (C-2), dos hidrogênios em 2,66 (CH<sub>3</sub>-1'') com o carbono em  $\delta$  46,3 (C-2'') e do simpleto em  $\delta$  2,41 (CH<sub>3</sub>-1') com os carbonos em  $\delta$  76,2 (C-8'a) e 47,8 (C-2'a), permitindo posicionar as três metilas. Em adição, os acoplamentos do hidrogênio em  $\delta$  9,18 (CHO-8'') com os carbonos  $\delta$  140,2 (C-7''a) e 85,6 (C-8''a), foram importantes para localização da porção formamida no nitrogênio N-8'' (fragmentos I e II) (fig. 46).

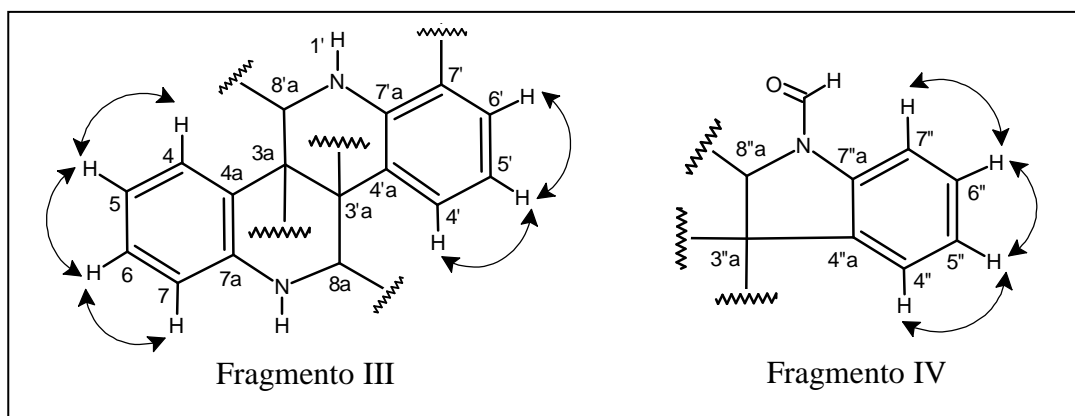
Figura 46 Correlações que definiram a localização das três metilas e da formamida de MCT-A 2



A partir dos dados espectroscópicos até então descritos para MCT-A 2, foi possível deduzir a fórmula molecular  $C_{34}H_{38}N_6O$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a dezenove, confirmada pela presença do pico molecular  $[M+H]^+$   $m/z$  547,3199 ( $C_{34}H_{39}N_6O$  Calculado: 547,3212), no espectro de massas de MCT-A 2. De forma análoga a MCT-A 1, foram observadas perdas de  $C_3H_7N$ , justificando os picos íons moleculares com  $m/z$  490,2646 e 433,2057 (EM-IES, **fig. 52** e **qua. 2, p. 122**).

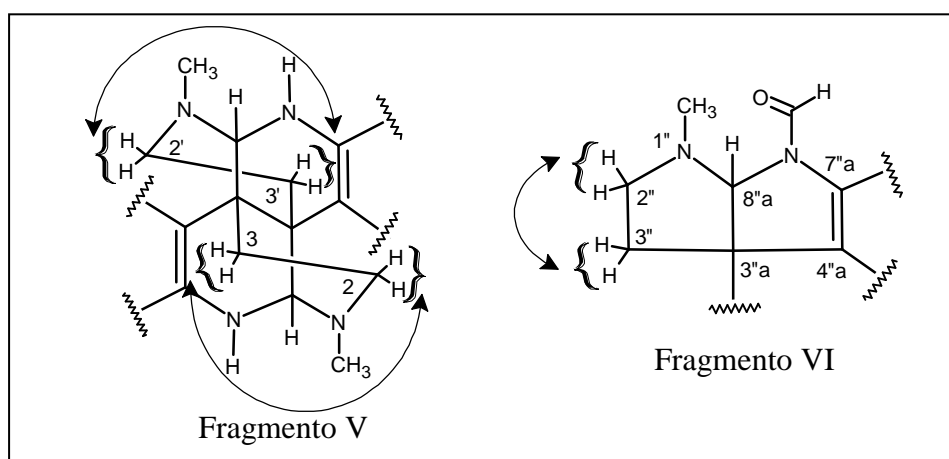
De forma análoga à MCT-A 1, o espectro de correlação homonuclear  $^1H$ ,  $^1H$  - COSY (**fig. 63, p. 128**), permitiu a identificação dos hidrogênios ligados aos três sistemas aromáticos: sistema I [ $\delta$  7,37 (H-4)  $\longleftrightarrow$  7,04 (H-5)  $\longleftrightarrow$  7,29 (H-6)  $\longleftrightarrow$  6,95 (H-7)]; sistema II [ $\delta$  7,58 (H-4')  $\longleftrightarrow$  7,15 (H-5')  $\longleftrightarrow$  7,68 (H-6')] (**fragmento III**) e sistema III [ $\delta$  7,64 (H-4'')  $\longleftrightarrow$  7,32 (H-5'')  $\longleftrightarrow$  7,43 (H-6'')  $\longleftrightarrow$  7,56 (H-7'')] (**fragmento IV**) (**fig. 47**).

**Figura 47** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 2



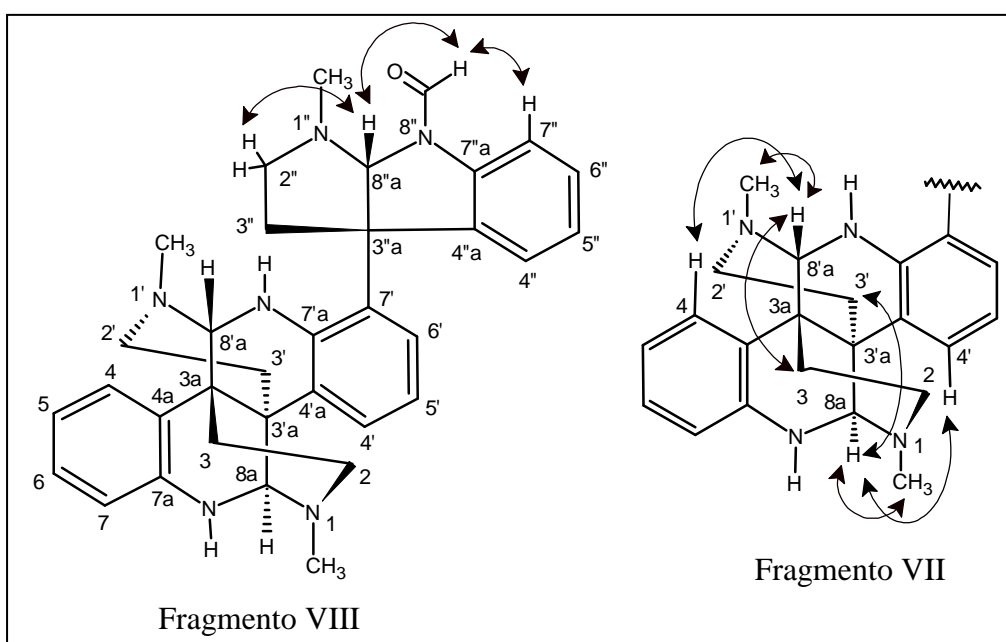
No espectro RMN-COSY foi evidenciado ainda acoplamentos entre os seis hidrogênios metilênicos, confirmando a presença de três conjuntos de sinais, observados a partir da correlação dos hidrogênios  $\delta$  3,12 e 2,74 (2H-2)  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,06 e 1,73 (2H-3), dos hidrogênios  $\delta$  2,60 e 2,18 (2H-2')  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,18 e 1,62 (2H-3') (**fragmento V**); e entre os hidrogênios  $\delta$  3,05 e 2,98 (2H-2'')  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,57 e 2,42 (2H-3'') (**fragmento VI**) (**fig. 48**).

**Figura 48** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 2



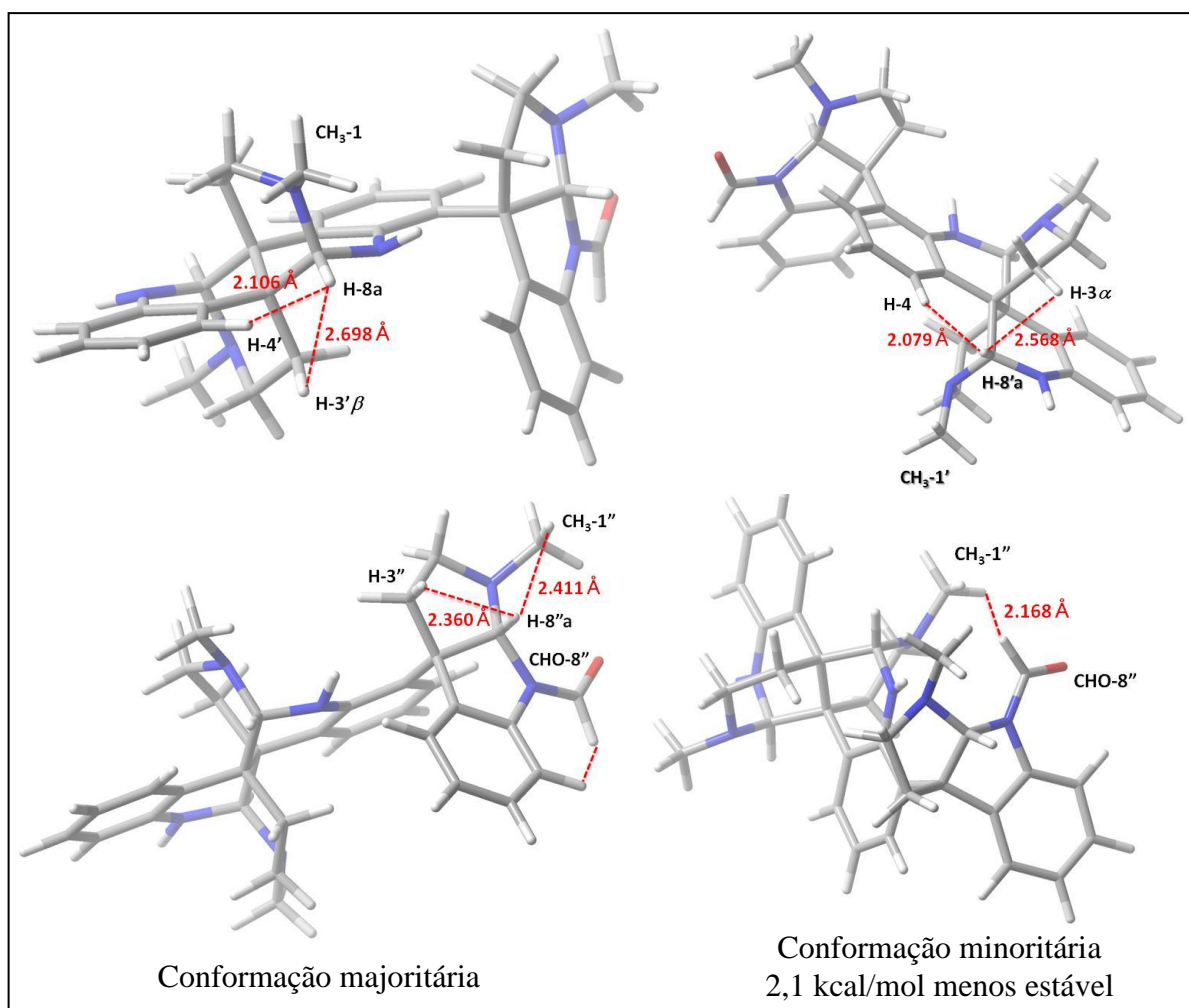
A estereoquímica relativa para MCT-A 2 foi determinada a partir da análise do espectro de correlação homonuclear RMN-NOESY (**fig. 65, p. 129**), que apresentou importantes correlações dipolares entre os hidrogênios:  $\delta$  6,58 (H-8''a) com  $\delta$  9,19 (CHO-8'') e 2,98 (H-2'' $\beta$ ); do hidrogênio 7,56 (H-7'') com  $\delta$  9,18 (CHO-8''); do hidrogênio  $\delta$  5,49 (H-8'a) com  $\delta$  7,37 (H-4), 2,06 (H-3 $\alpha$ ) e 2,41 (CH<sub>3</sub>-1'); do hidrogênio  $\delta$  5,48 (H-8a) com  $\delta$  7,38 (H-4'), 2,81 (CH<sub>3</sub>-1) e 1,62 (H-3' $\beta$ ) (**fragmentos VII e VIII**) (**fig. 49**). Acoplamentos confirmados a partir de modelagem molecular de MCT-A 2 (**fig. 50, p. 120**).

**Figura 49** Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 2

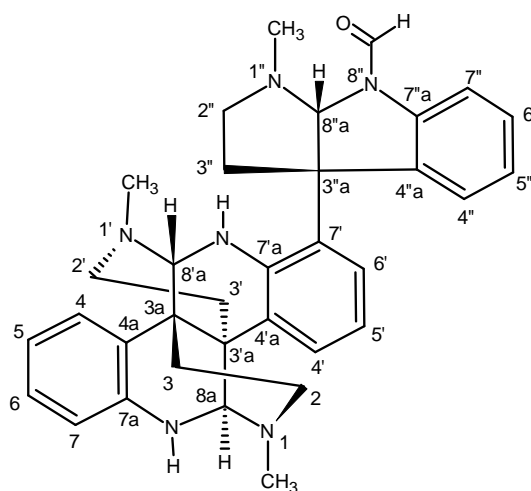


A análise conformacional usando modelagem molecular forneceu duas estruturas estáveis, sendo a conformação com a carbonila em posição *trans* ao anel aromático mais estável do que *cis* por 2,1 kcal/mol (**fig. 50, p. 120**). No espectro de RMN <sup>1</sup>H de MCT-A 2 foram observados sinais com menor intensidade em  $\delta$  8,01 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-7''), 6,64 (s, H-8''a) e 2,67 (s, CH<sub>3</sub>-N-1''), atribuídos aos hidrogênios da conformação menos estável de MCT-A 2. Foi observado uma desproteção desses sinais, ocasionado pelo efeito de desproteção anisotrópica da carbonila da formamida (**fig. 53, p. 123**).

**Figura 50** Modelos moleculares de MCT-A 2 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY



A partir da análise espectroscópica discutida, aliada à comparação com dados obtidos para MCT-A 1, permitiu caracterizar MCT-A 2 como sendo um alcalóide de esqueleto pirrolidinoindólico denominado N-8''-formilcalicosidina, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.



N-8''-formilcalicosidina

**Tabela 18** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 2 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1

# C	HSQC		HMBC		MCT-A 1
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
CHO-8''	163,3	9,18 (s)			-
CH <sub>3</sub> -1	40,5	2,81 (s)			40,6
CH <sub>3</sub> -1'	41,3	2,41 (s)			41,5
CH <sub>3</sub> -1''	33,7	2,66 (s)			33,6
2	47,9	3,12 (m); 2,74 (m)		H-8a; CH <sub>3</sub> -1	47,8
2'	47,8	2,60 (m); 2,18 (m)		CH <sub>3</sub> -1'	48,5
2''	46,3	3,05 (m) 2,98 (t, 12,7)		CH <sub>3</sub> -1''	46,2
3	33,0	2,06 (m) 1,73 (d, 14,7)			32,8
3'	33,1	2,18 (m) 1,62 (d, 12,2)			32,8
3''	35,1	2,57 (m); 2,42 (m)		H-8''a	35,1
3a	36,4	-		H-8'a	38,6
3'a	38,5	-		H-4'; H-8a	36,2
3''a	59,5	-		H-6'	60,5
4	127,8	7,37 (m)		H-6	126,7
4'	125,5	7,38 (m)		H-6'	124,7
4''	126,1	7,64 (m)		H-6''	124,8
4a	120,1	-		H-7; H-5	118,8
4'a	128,8	-		H-5'	131,3
4''a	135,5	-		H-7''; H-5''; H-8''a	132,4
5	122,3	7,04 (m)		H-7	122,9
5'	124,1	7,15 (q, 7,6)	H-4'		124,2
5''	127,8	7,32 (m)		H-7''	122,1
6	130,7	7,29 (m)		H-4	131,6
6'	124,8	7,68 (m)			125,0
6''	131,2	7,43 (m)		H-4''	130,8
7	115,5	6,95 (d, 7,9)		H-5	116,0
7'	116,7	-		H-5'	115,7
7''	113,2	7,56 (d, 7,8)		H-5''	112,3
7a	143,2	-		H-6; H-4; H-8a	143,6
7'a	146,5	-		H-6'; H-4'	145,6
7''a	140,2	-	H-7''	CHO-8''; H-6''; H-4''; H-8''a	148,8
8a	73,9	5,48 (s)		CH <sub>3</sub> -1	73,4
8'a	76,2	5,49 (s)		CH <sub>3</sub> -1'	75,6
8''a	85,6	6,58 (s)		CHO-8''	89,7

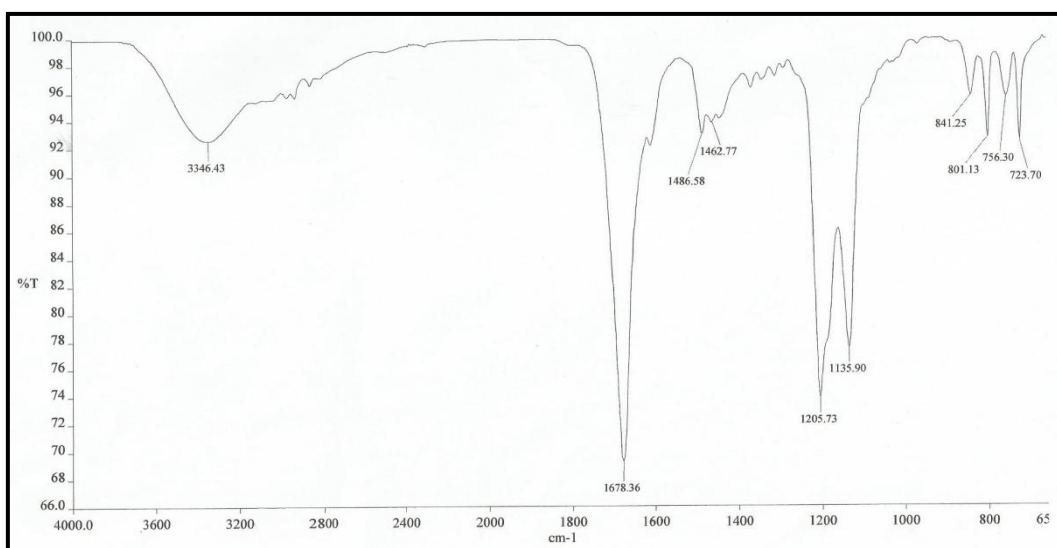
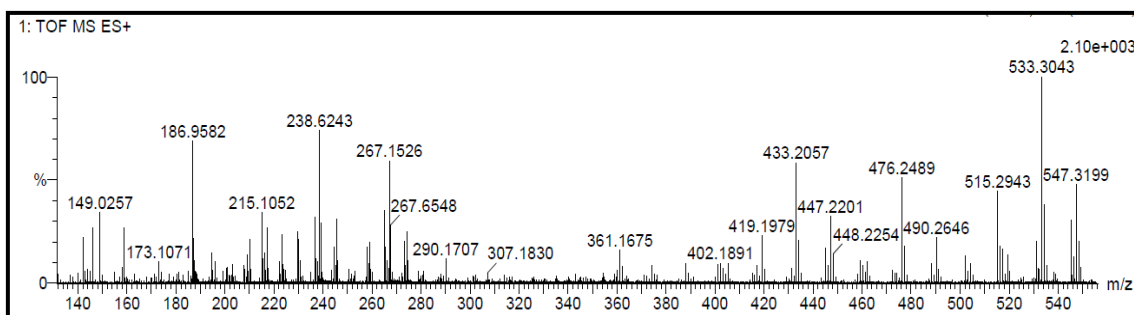
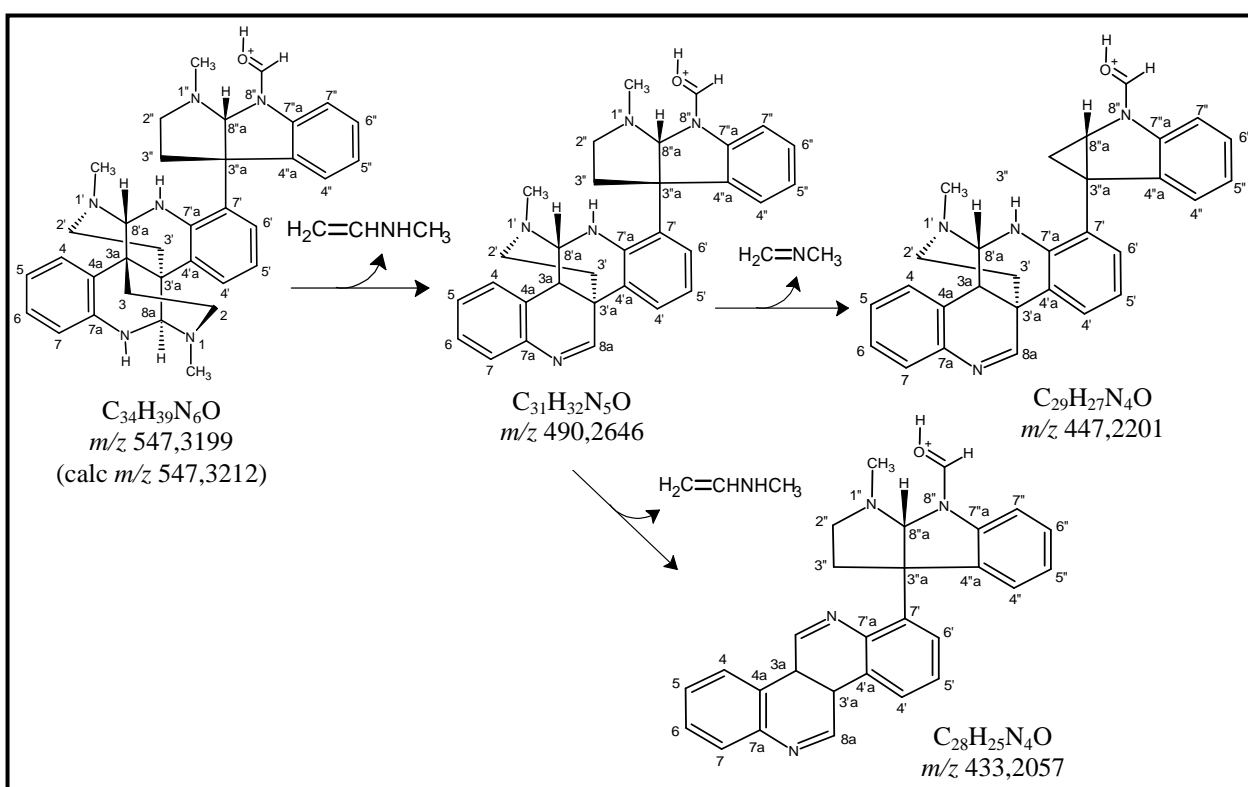
**Figura 51** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 2**Figura 52** Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 2**Quadro 2** Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 2

Figura 53 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 2

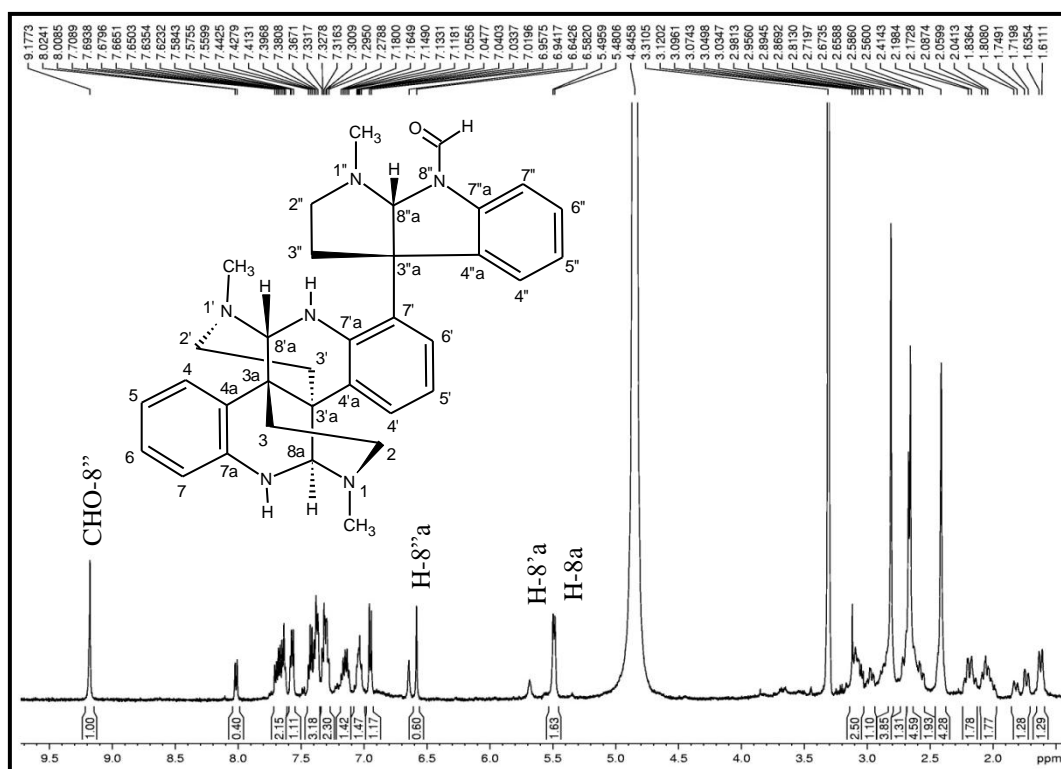


Figura 54 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 2

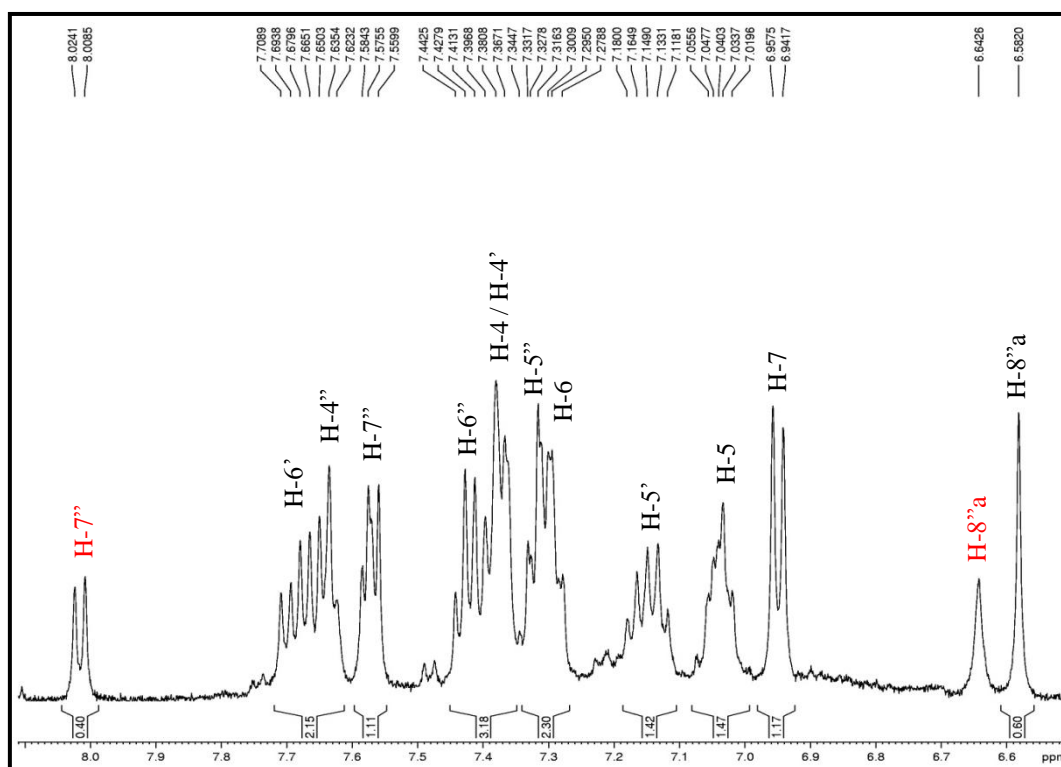




Figura 55 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 2

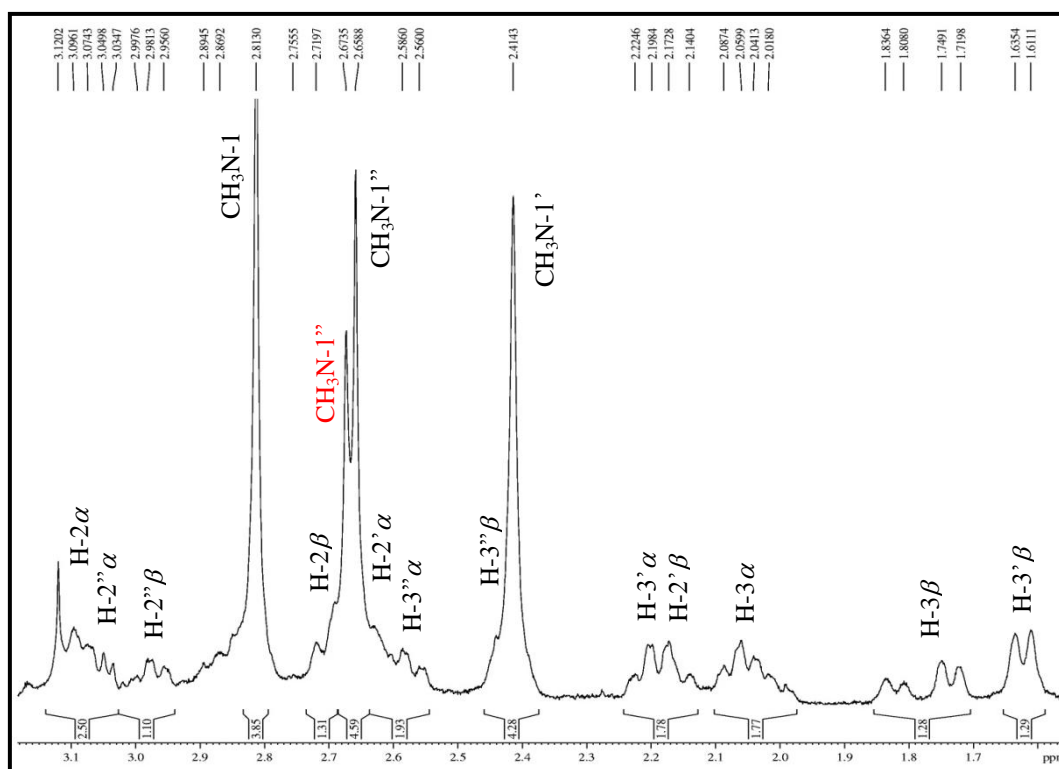


Figura 56 Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 2

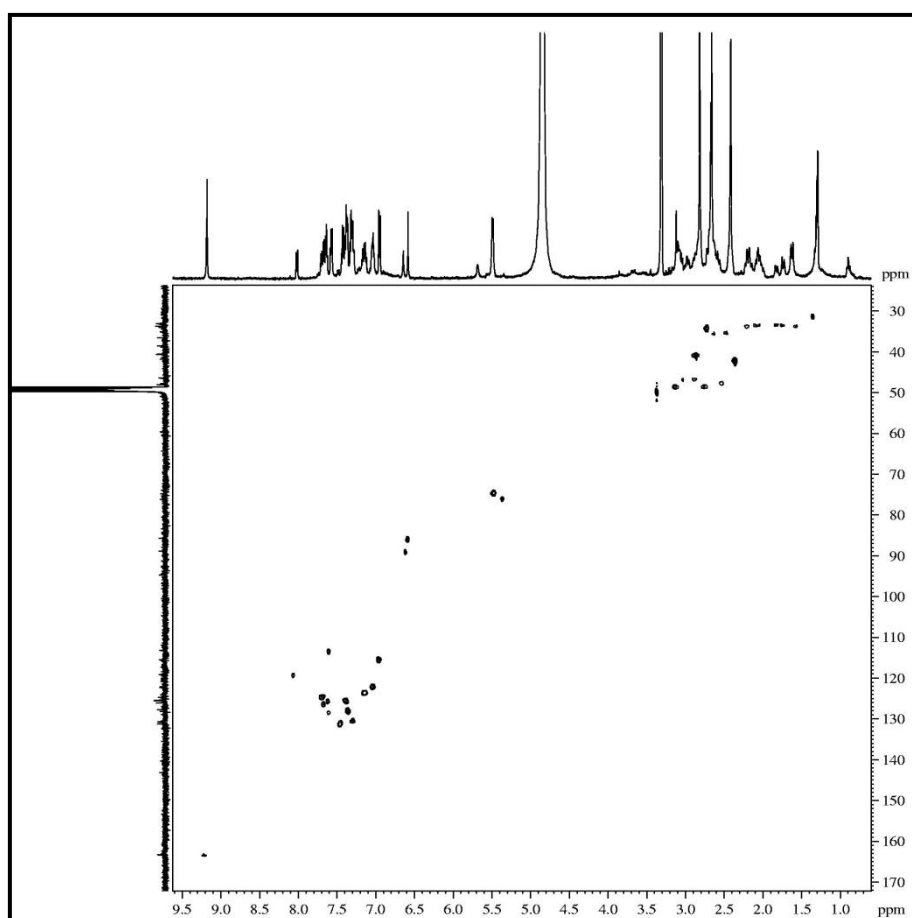


Figura 57 Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2

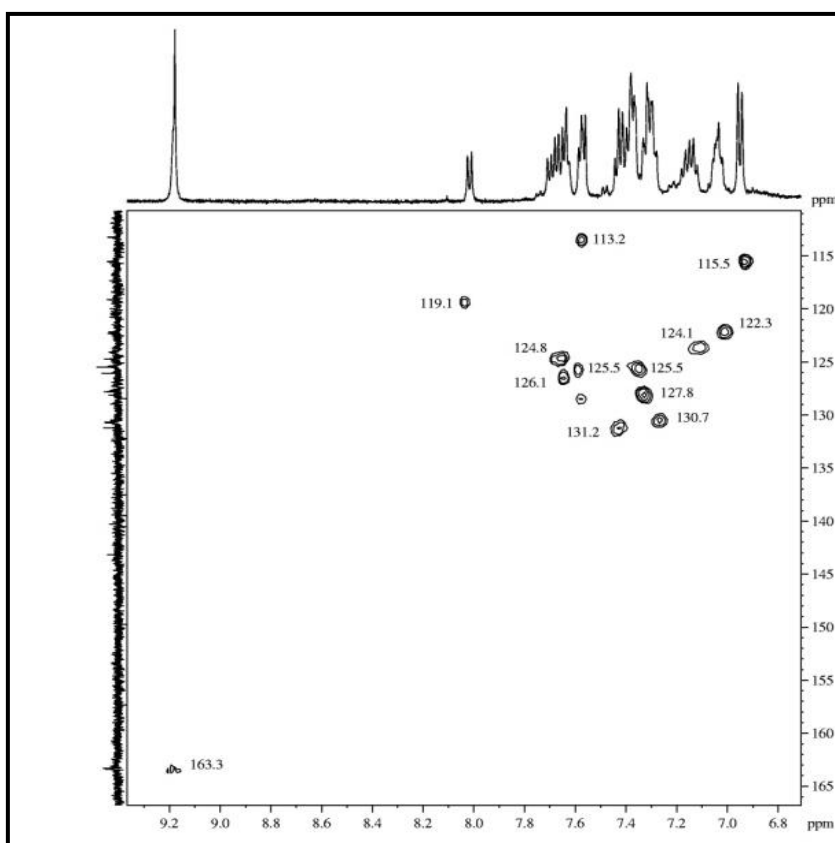
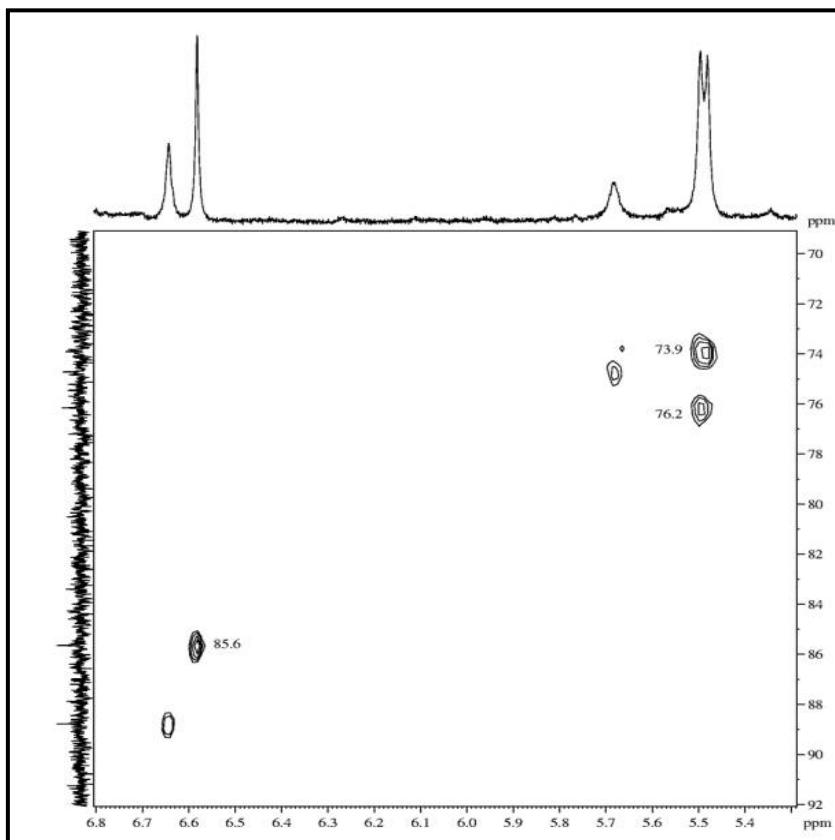
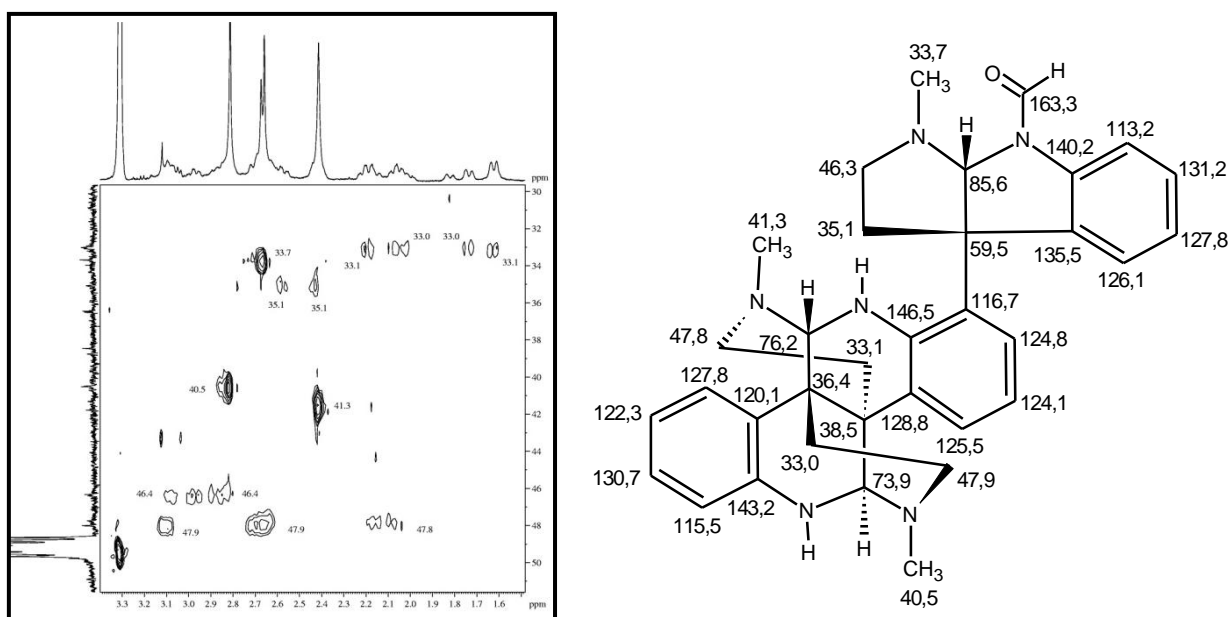


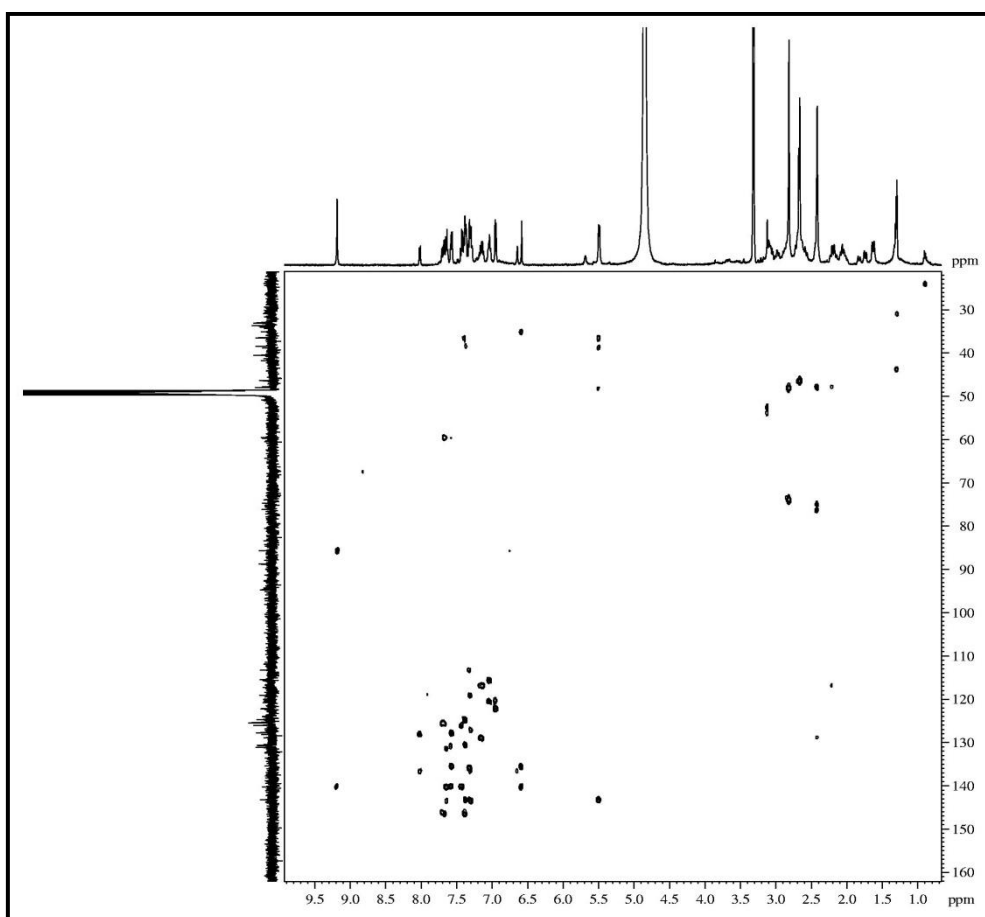
Figura 58 Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



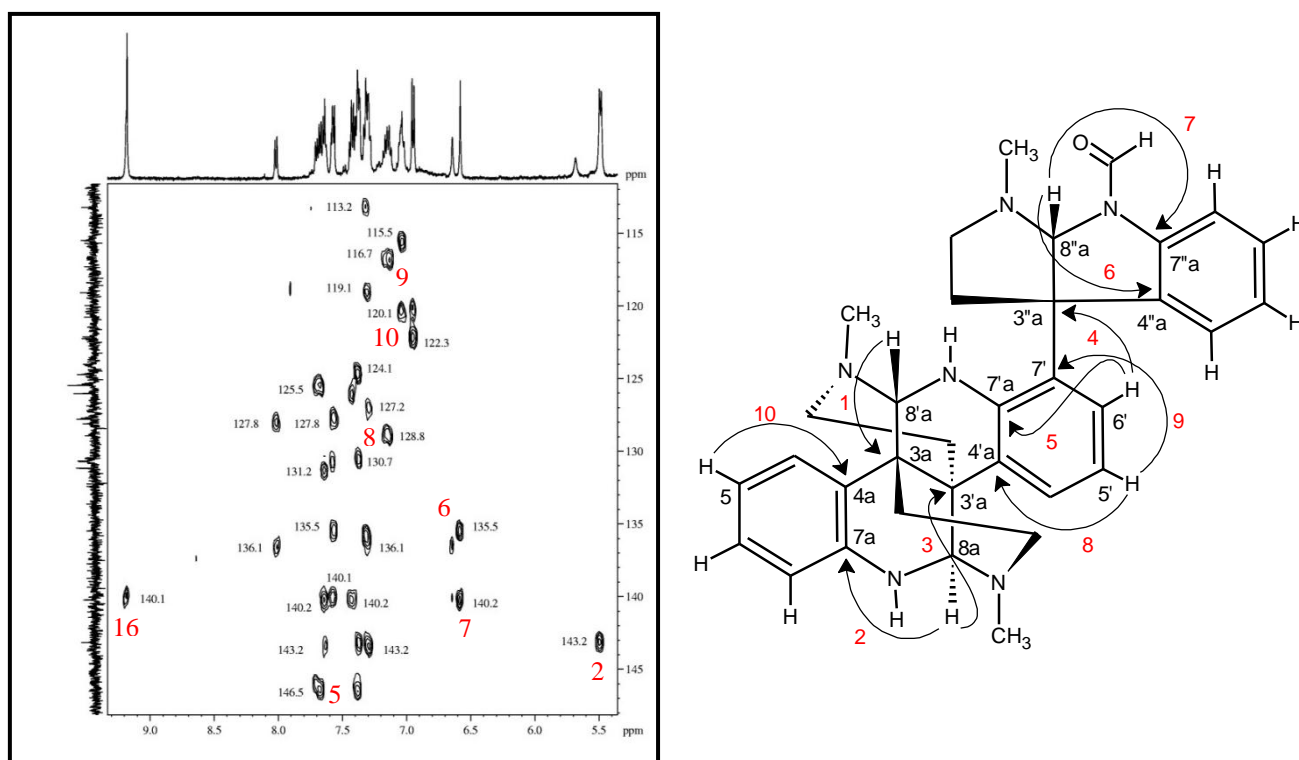
**Figura 59** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



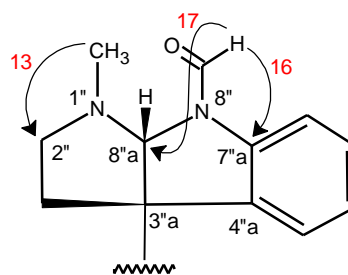
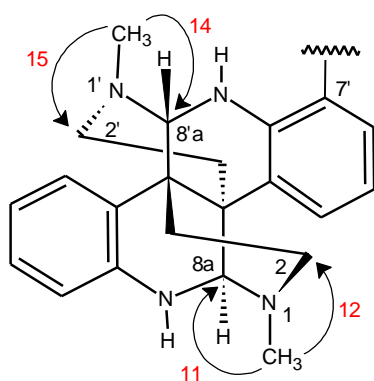
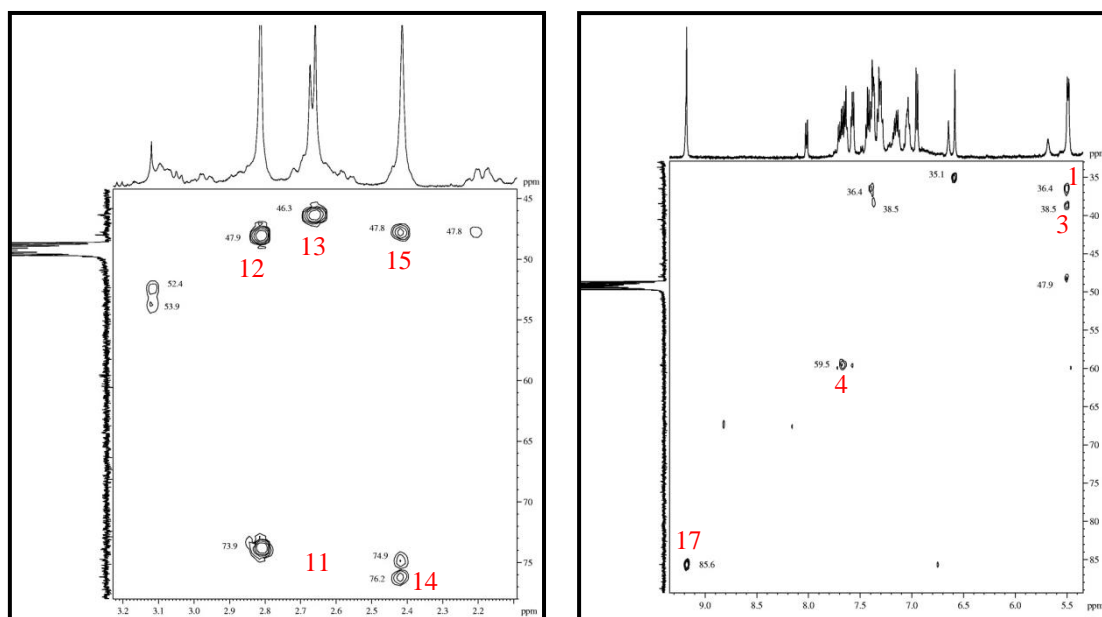
**Figura 60** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



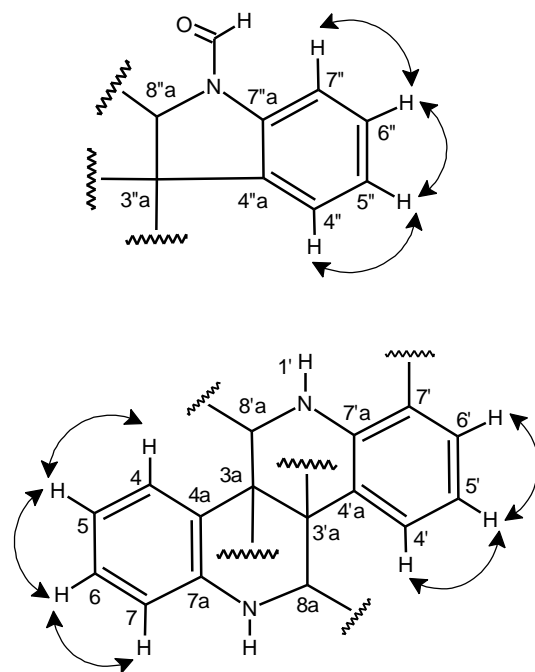
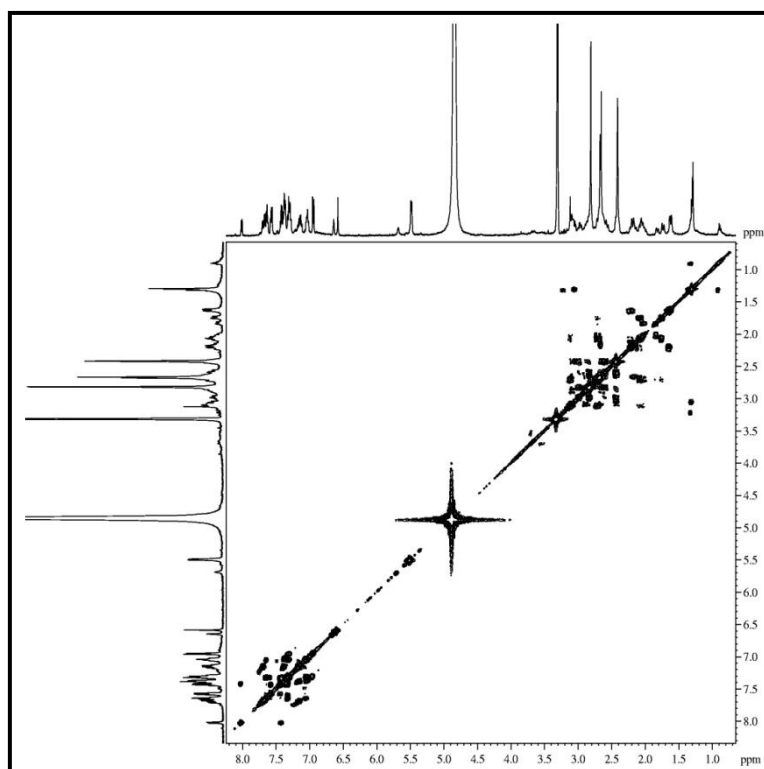
**Figura 61** Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



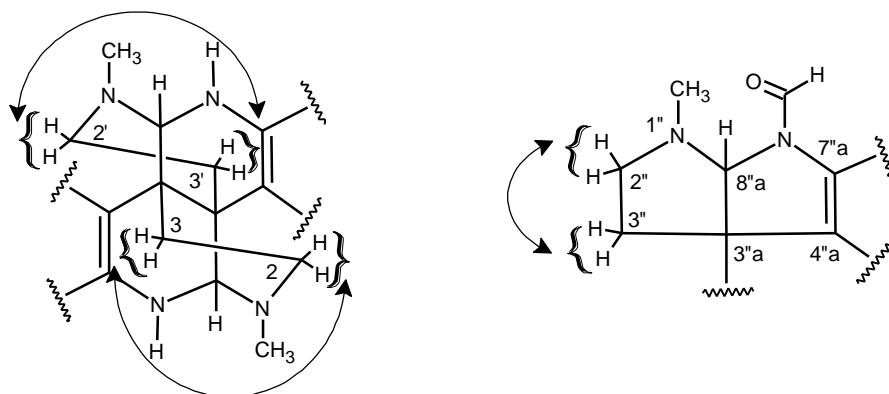
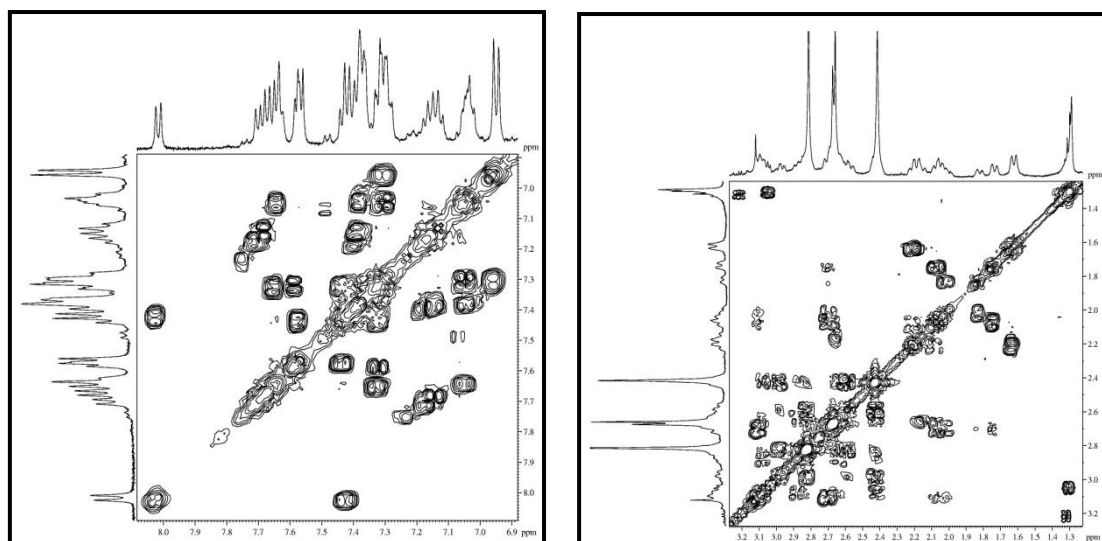
**Figura 62** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



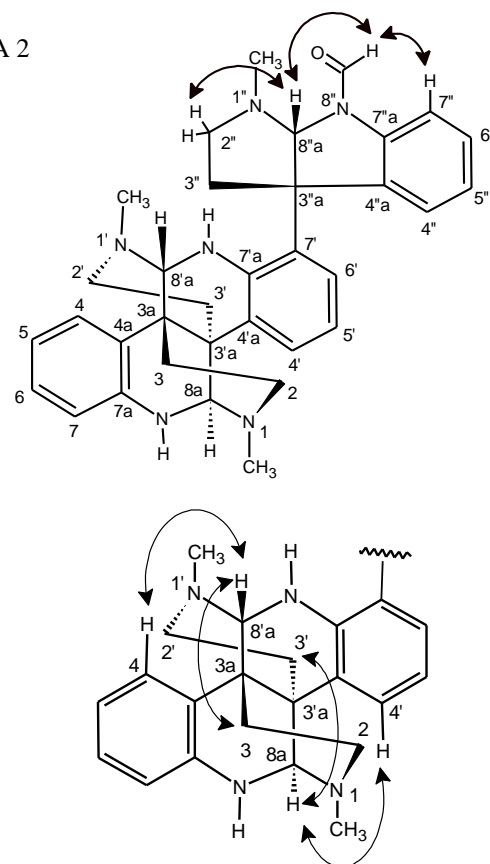
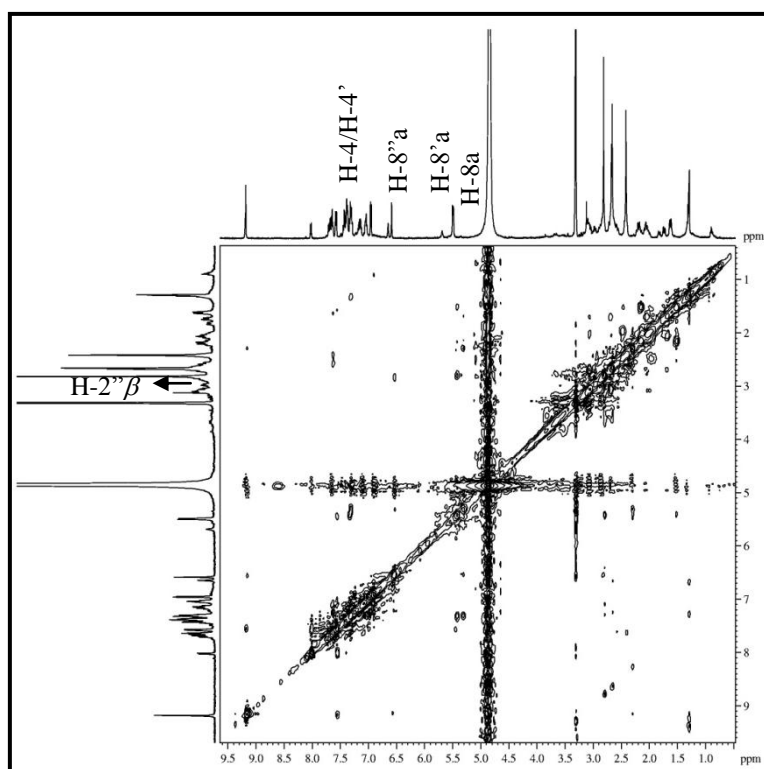
**Figura 63** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



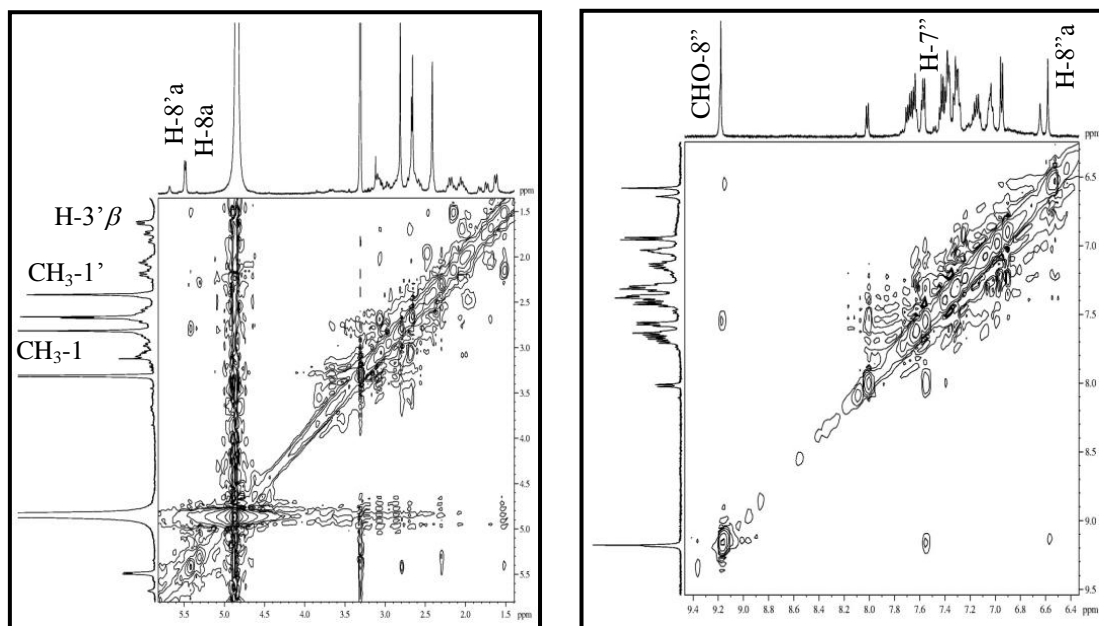
**Figura 64** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



**Figura 65** Espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



**Figura 66** Expansões do espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 2



### 5.3 Determinação Estrutural de MCT-A 3

A fração MCTE-A, sólido marrom proveniente do processo de extração de alcalóide do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*, foi submetida à cromatografia de adsorção (C18) e purificada em CLAE (fase reversa), resultando na obtenção de resina marrom (5,6 mg), denominada MCT-A 3 ( $[\alpha]_D^{20} = -3,3^\circ$ , MeOH, *c* 0,05) (item 4.6.2.4, p. 75).

A similaridade observada entre os espectros de infravermelho de MCT-A 3 (fig. 73, p. 136) e MCT-A 1 (fig. 24, p. 105) sinalizou a uma estreita semelhança estrutural entre as substâncias, confirmada pela identificação dos mesmos grupos funcionais: hidroxila e/ou N-H ( $3346\text{ cm}^{-1}$ ), anel aromático ( $1678, 1457\text{ cm}^{-1}$ ) e carbonos nitrogenados ( $1205$  e  $1139\text{ cm}^{-1}$ ).

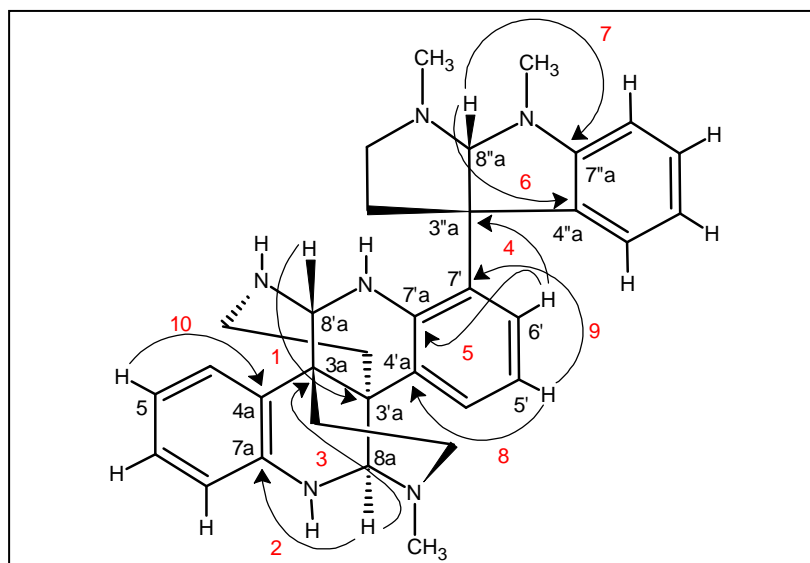
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 3 (fig. 75, p. 137) foram observados dois conjuntos de sinais de hidrogênios aromáticos *orto* dissustituídos em  $\delta$  7,67 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-4), 7,36 (m, H-6), 7,09 (m, H-5), 6,99 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-7) e em  $\delta$  7,46 (d,  $J = 7,5$  Hz, H-4''), 7,21 (t,  $J = 7,8$  Hz, H-6''), 6,91 (t,  $J = 7,5$  Hz, H-5''), 6,83 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-7''); além de sinais de hidrogênios aromáticos *orto* trissustituídos em  $\delta$  7,56 (d,  $J = 7,6$  Hz, H-6'), 7,36 (m, H-4') e 7,06 (m, H-5').

De forma análoga a MCT-A 1 (fig. 26, p. 106), foram observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MCT-A 3 sinais relacionados a seis grupos metilênicos em  $\delta$  3,12 (m, H-2 $\alpha$ ) e 2,72 (m, H-2 $\beta$ );  $\delta$  3,04 (dd,  $J = 13,9; 4,9$  Hz, H-2' $\alpha$ ) e 2,54 (m, H-2' $\beta$ );  $\delta$  2,89 (m, H-2'' $\alpha$ ) e  $\delta$  2,82 (m, H-2'' $\beta$ ); 2,13 (dt,  $J = 14,3; 3,7$  Hz, H-3 $\alpha$ ) e 1,82 (d,  $J = 13,1$  Hz, H-3 $\beta$ );  $\delta$  2,21 (dt,  $J = 13,9; 4,9$  Hz, H-3' $\alpha$ ) e 1,59 (d,  $J = 14,7$ , H-3' $\beta$ ) e em  $\delta$  2,57 (m, H-3'' $\alpha$ ) e 2,47 (dt,  $J = 12,6; 4,6$  Hz, H-3'' $\beta$ ). Três simpletos em  $\delta$  6,25 (H-8'a), 5,78 (H-8''a) e 5,53 (H-8a) foram sugestivos para a existência de um alcalóide de esqueleto pirrolidinoindólico. Em adição a presença de três simpletos intensos, relacionado a metilas ligadas a nitrogênio em  $\delta$  3,25 ( $\text{CH}_3\text{-8''}$ ), 2,84 ( $\text{CH}_3\text{-1}$ ) e 2,67 ( $\text{CH}_3\text{-1''}$ ).

A partir da análise do espectro de correlação heteronuclear a uma ligação RMN-HSQC de MCT-A 3 (fig. 78, p. 138), foi possível atribuir os deslocamentos químicos aos vinte e três carbonos hidrogenados, confirmando a presença de seis carbonos metilênicos através das correlações dos hidrogênios  $\delta$  3,12; 2,72 (H-2) com  $\delta$  48,1 (C-2);  $\delta$  3,04; 2,54 (H-2') com  $\delta$  38,7 (C-2'); dos hidrogênios em  $\delta$  2,89; 2,82 (H-2'') com  $\delta$  46,9 (C-2'');  $\delta$  2,13; 1,82 (H-3) com  $\delta$  33,5 (C-3); dos hidrogênios em  $\delta$  2,21; 1,59 (H-3') com  $\delta$  32,4 (C-3') e  $\delta$  2,57; 2,47 (H-3'') com  $\delta$  36,2 (C-3'') (tab. 19, p. 135).

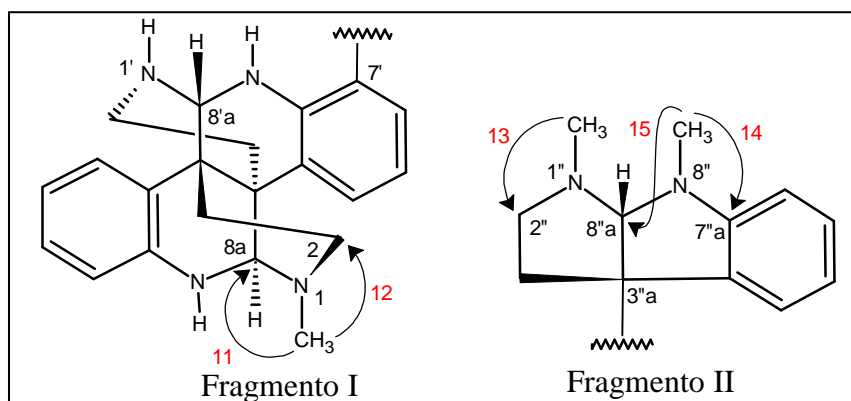
Os deslocamentos químicos dos dez carbonos não hidrogenados, foram atribuídos a partir das correlações observadas no espectro de RMN-HMBC de MCT-A 3 (**fig. 82, p. 140**), entre o hidrogênio  $\delta$  6,25 (H-8'a) e o carbono  $\delta$  37,5 (C- 3a), do hidrogênio  $\delta$  5,53 (H-8a) com os carbonos  $\delta$  143,7 (C- 7a) e 38,2 (C-3a), do hidrogênio em  $\delta$  7,56 (H-6') com os carbonos  $\delta$  60,7 (C- 3''a) e 145,5 (C-7'a), do  $\delta$  5,78 (H-8''a) com os carbonos  $\delta$  133,9 (C- 4''a) e 153,0 (C-7''a), do hidrogênio em  $\delta$  7,06 (H-5') com os carbonos em  $\delta$  131,2 (C- 4'a) e 116,1 (C-7'), do hidrogênio  $\delta$  7,09 (H-5) com o carbono  $\delta$  119,2 (C-4a) (**fig. 67, tab. 19, p. 135**).

**Figura 67** Correlações observadas para a identificação dos dez carbonos não hidrogênados de MCT-A 3



No espectro de HMBC foram observados ainda correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta$  2,84 (CH<sub>3</sub>-1) com os carbonos  $\delta$  73,2 (C-8a) e 48,1 (C-2), dos hidrogênios 2,67 (CH<sub>3</sub>-1'') com o carbono em  $\delta$  46,9 (C-2'') e do simpleto em  $\delta$  3,25 (CH<sub>3</sub>-8'') com os carbonos em  $\delta$  153,0 (C-7''a) e 95,1 (C-8''a), permitindo posicionar as três metilas e sugerir que MCT-A 3 trata-se de um isômero constitucional de MCT-A 1, tendo como diferença a mudança da metila ligada ao nitrogênio 1' em MCT-A 1, para o nitrogênio 8'' em MCT-A 3 (**fragmentos I e II**) (**fig. 68**).

**Figura 68** Correlações que definiram a localização das três metilas de MCT-A 3

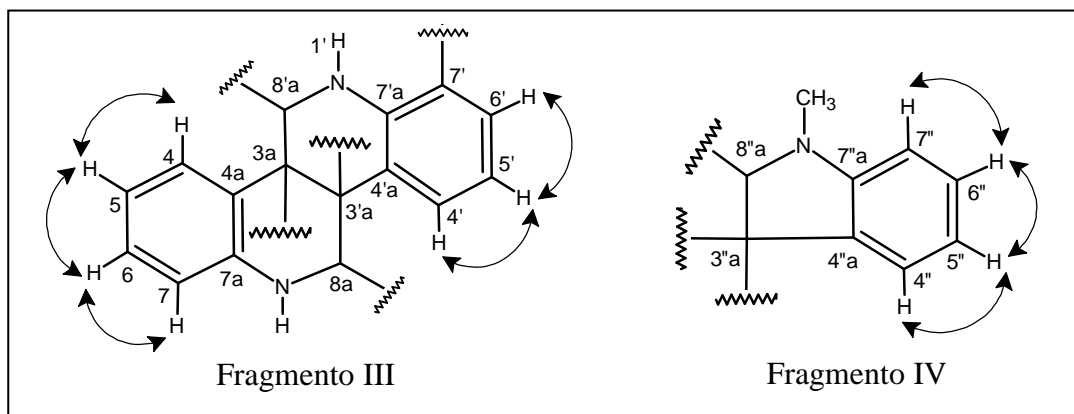




A reunião dos dados espectroscópicos até então descritos para MCT-A 3, possibilitou deduzir a fórmula molecular  $C_{33}H_{38}N_6$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a dezoito, confirmada pela presença do pico molecular  $[M+H]^+$   $m/z$  519,3246 ( $C_{33}H_{39}N_6$  Calculado: 519,3236), no espectro de massas. Foram observados ainda a presença dos picos com  $m/z$  462,2684 e 419,5402, devido a perda de  $C_3H_7N$  e  $C_2H_5N$ , respectivamente (EM-IES, **fig. 74 e qua. 3, p. 136**).

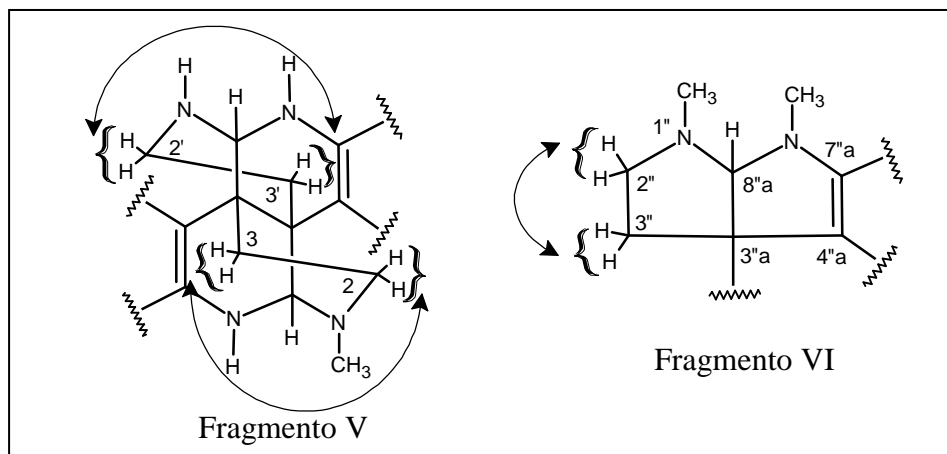
A análise do espectro de correlação homonuclear RMN-COSY (**fig. 85, p. 142**) de MCT-A 3, permitiu a identificação dos hidrogênios ligados aos três sistemas aromáticos: sistema I [ $\delta$  7,67 (H-4)  $\longleftrightarrow$  7,09 (H-5)  $\longleftrightarrow$  7,36 (H-6)  $\longleftrightarrow$  6,99 (H-7)]; sistema II [ $\delta$  7,36 (H-4')  $\longleftrightarrow$  7,06 (H-5')  $\longleftrightarrow$  7,56 (H-6')] (**fragmento III**) e sistema III [ $\delta$  7,46 (H-4'')  $\longleftrightarrow$  6,91 (H-5'')  $\longleftrightarrow$  7,21 (H-6'')  $\longleftrightarrow$  6,83 (H-7'')] (**fragmento IV**) (**fig. 69**).

**Figura 69** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 3



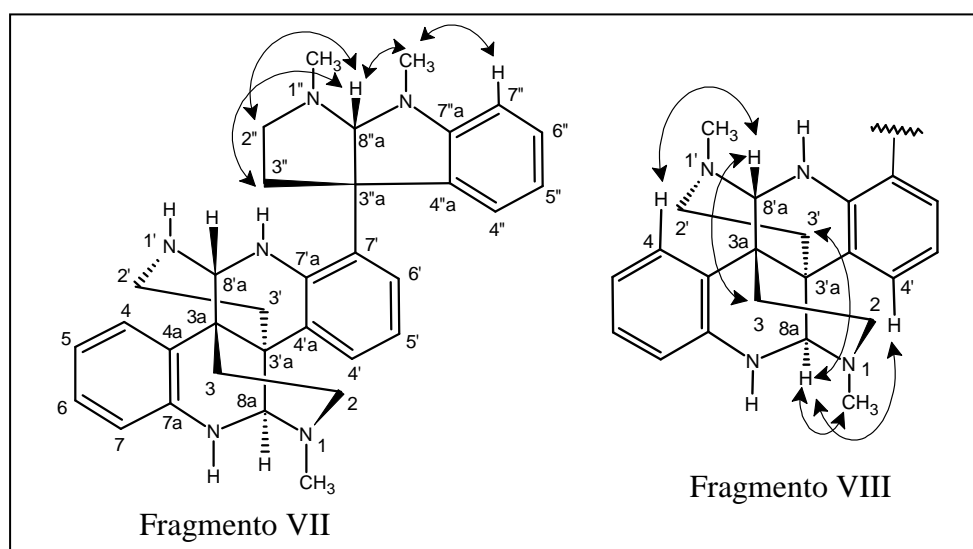
No espectro COSY foi evidenciado ainda acoplamentos entre os seis hidrogênios metilênicos, confirmando a presença de três conjuntos de sinais, observados a partir da correlação dos hidrogênios  $\delta$  3,12 e 2,72 (2H-2)  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,13 e 1,82 (2H-3), dos hidrogênios  $\delta$  3,04 e 2,54 (2H-2')  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,21 e 1,59 (2H-3') (**fragmento V**); e entre os hidrogênios  $\delta$  2,89 e 2,82 (2H-2'')  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,57 e 2,47 (2H-3'') (**fragmento VI**) (**fig. 70**).

**Figura 70** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 3

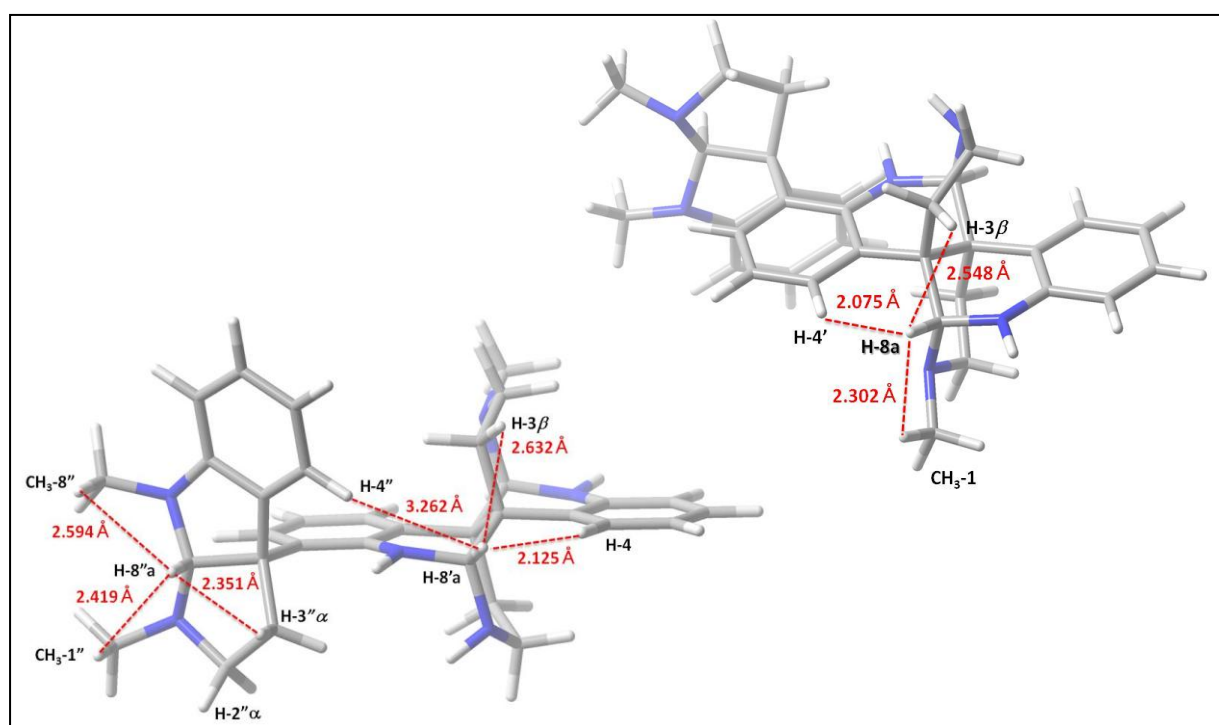


A estereoquímica relativa para MCT-A 3 foi determinada a partir da análise do espectro de correlação homonuclear RMN-NOESY (**fig. 87, p. 143**), que apresentou importantes correlações dipolares entre os hidrogênios:  $\delta$  5,78 (H-8''a) com  $\delta$  2,47 (H-3'' $\beta$ ), 2,89 (H-2'' $\alpha$ ) e 3,25 (CH<sub>3</sub>-8''); do hidrogênio  $\delta$  6,83 (H-7'') com 3,25 (CH<sub>3</sub>-8''); do hidrogênio  $\delta$  6,25 (H-8'a) com  $\delta$  7,67 (H-4) e 1,82 (H-3 $\beta$ ) e do hidrogênio  $\delta$  5,53 (H-8a) com  $\delta$  7,36 (H-4'), 1,59 (H-3' $\beta$ ) e 2,84 (CH<sub>3</sub>-1) (**fragmento VII e VIII**) (**fig. 71**). Acoplamentos confirmados a partir de modelagem molecular de MCT-A 3 (**fig. 72**).

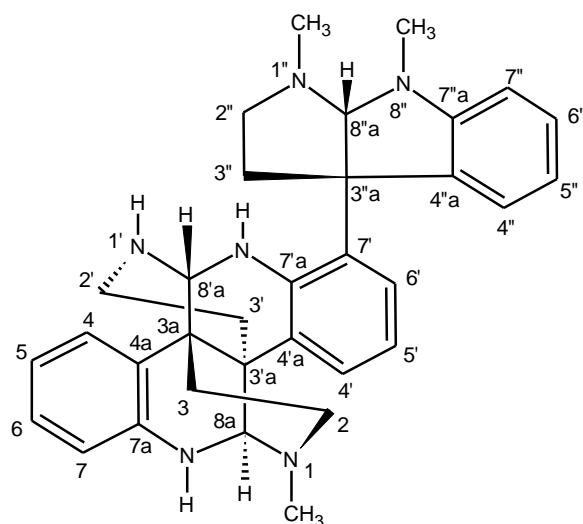
**Figura 71** Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 3



**Figura 72** Modelos moleculares de MCT-A 3 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY



A partir da análise espectroscópica discutida, aliada a comparação com dados obtidos para MCT-A 1, permitiu caracterizar MCT-A 3 como sendo um alcalóide de esqueleto pirrolidinoindólico denominado N-8''-metil-N-1'-desmetilisocalicosidina, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.



N-8''-metil-N-1'-desmetilisocalicosidina

**Tabela 19** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 3 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 1

# C	HSQC		HMBC		MCT-A 1
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
CH <sub>3</sub> -1	40,8	2,84 (s)			40,6
CH <sub>3</sub> -1'	-	-			41,5
CH <sub>3</sub> -1''	33,8	2,67 (s)			33,6
CH <sub>3</sub> -8''	39,9	3,25 (s)		H-8''a	-
2	48,1	3,12 (m) 2,72 (m)		CH <sub>3</sub> -1	47,8
2'	38,7	3,04 (dd, 13,9; 4,9) 2,54 (m)	H-3' $\alpha$		48,5
2''	46,9	2,89 (m); 2,82 (m)	2H-3''	CH <sub>3</sub> -1''	46,2
3	33,5	2,13 (dt, 14,3; 3,7) 1,82 (d, 13,1)			32,8
3'	32,4	2,21 (dt, 13,9; 4,9) 1,59 (d, 14,7)			32,8
3''	36,2	2,57 (m) 2,47 (dt, 12,6; 4,6)		H-8''a	35,1
3a	38,2	-		H-4; H-8a	38,6
3'a	37,5	-	H-3' $\alpha$	H-4'; H-2' $\alpha$ ; H-8'a	36,2
3''a	60,7	-	H-8''a; 2H-3''	H-6'; H-4''	60,5
4	127,5	7,67 (d, 7,8)		H-6	126,7
4'	125,5	7,36 (m)		H-6'	124,7
4''	124,0	7,46 (d, 7,5)		H-6''	124,8
4a	119,2	-		H-5; H-7; H-3 $\alpha$	118,8
4'a	131,2	-		H-5	131,3
4''a	133,9	-		H-5''; H-7''; H-8''a; H-3''	132,4
5	122,5	7,09 (m)		H-7	122,9
5'	123,7	7,06 (m)			124,2
5''	122,4	6,91 (t, 7,5)		H-7''	122,1
6	131,4	7,36 (m)	H-5	H-4	131,6
6'	124,9	7,56 (d, 7,4)		H-4'	125,0
6''	130,4	7,21 (t, 7,8)		H-4''	130,8
7	115,9	6,99 (d, 7,8)		H-5	116,0
7'	116,1	-		H-5'; H-8''a	115,7
7''	113,4	6,83 (d, 7,8)		H-5''	112,3
7a	143,7	-		H-4; H-6; H-8a	143,6
7'a	145,5	-		H-6'; H-4'; H-8'a	145,6
7''a	153,0	-		H-4''; H-6''; H-8''a; CH <sub>3</sub> -8''	148,8
8a	73,2	5,53 (s)		CH <sub>3</sub> -1	73,4
8'a	67,9	6,25 (s)		H-2' $\alpha$	75,6
8''a	95,1	5,78 (s)		CH <sub>3</sub> -8''; 2H-3''	89,7

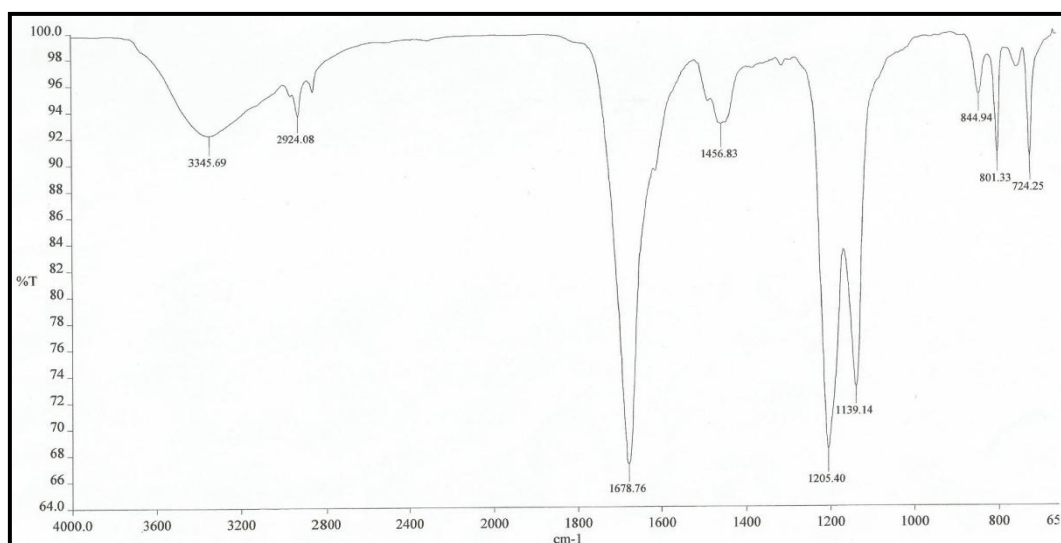
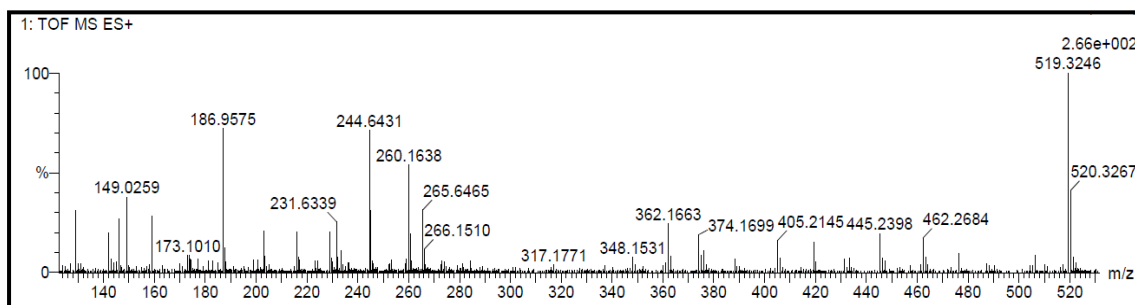
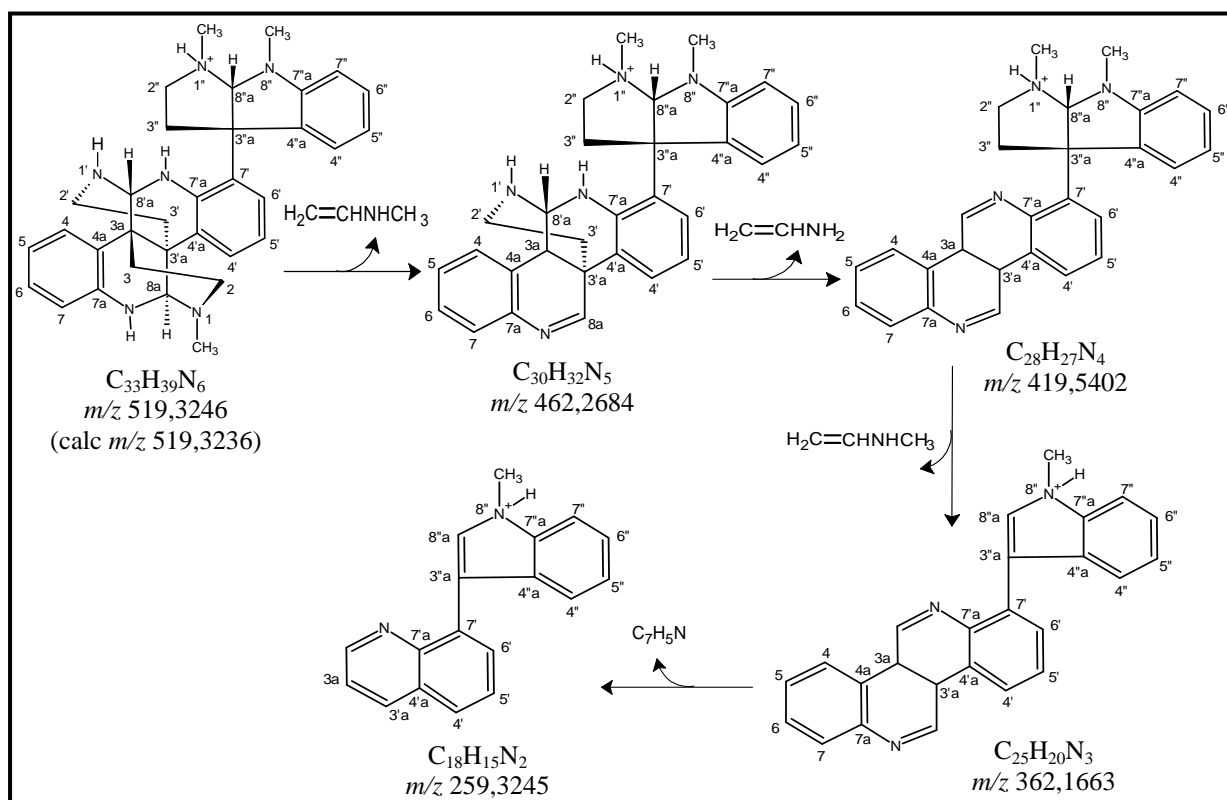
**Figura 73** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 3**Figura 74** Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 3**Quadro 3** Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 3

Figura 75 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 3

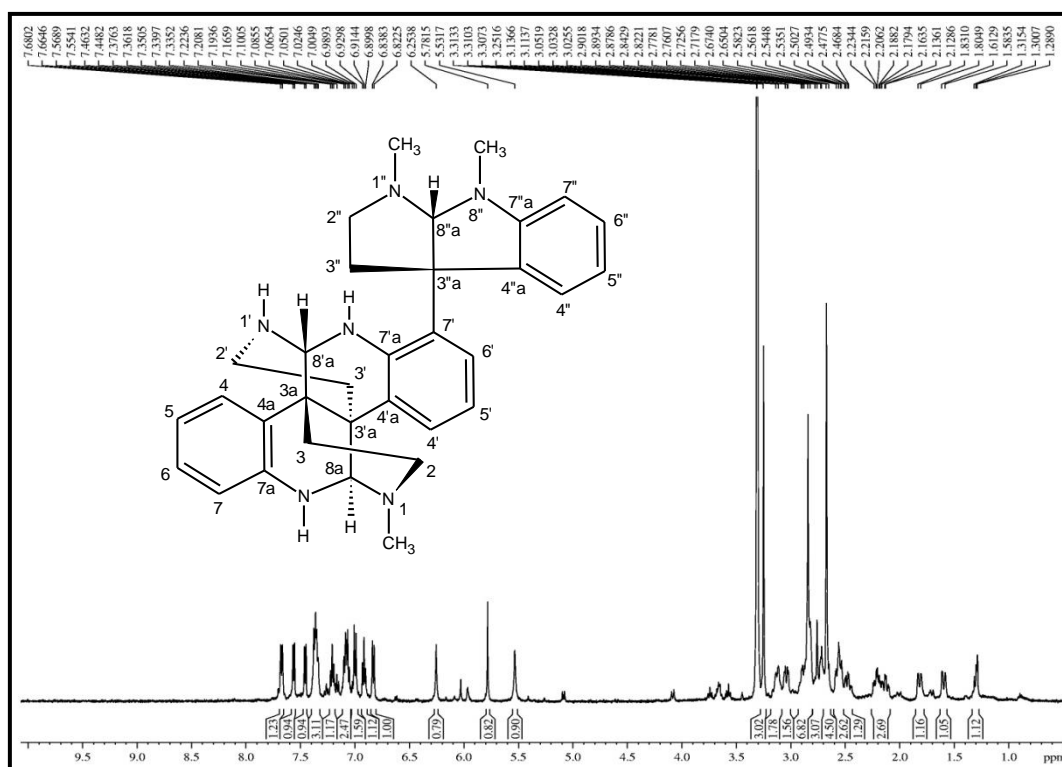


Figura 76 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 3

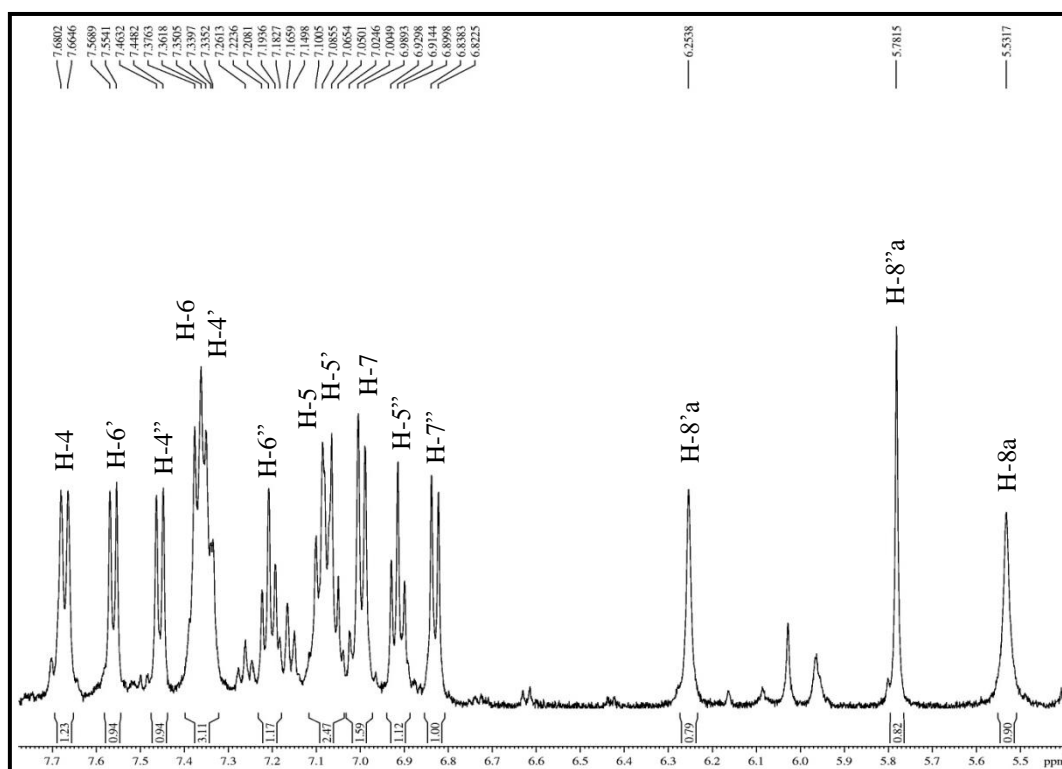


Figura 77 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 3

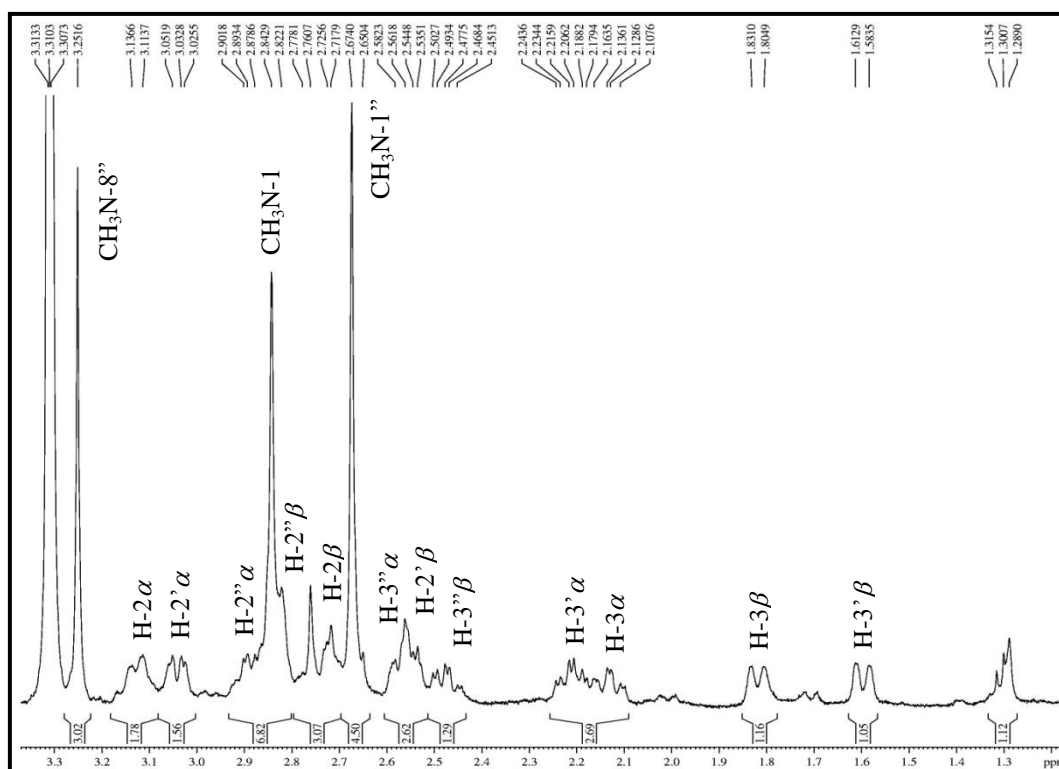
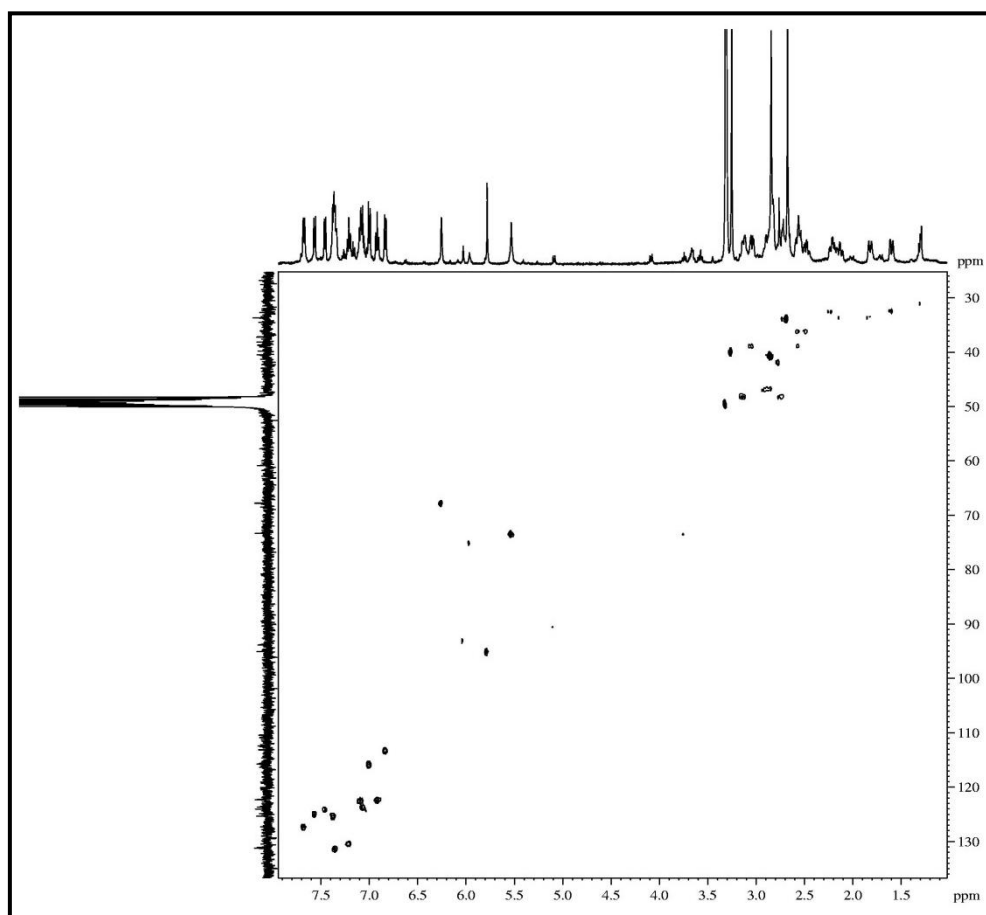
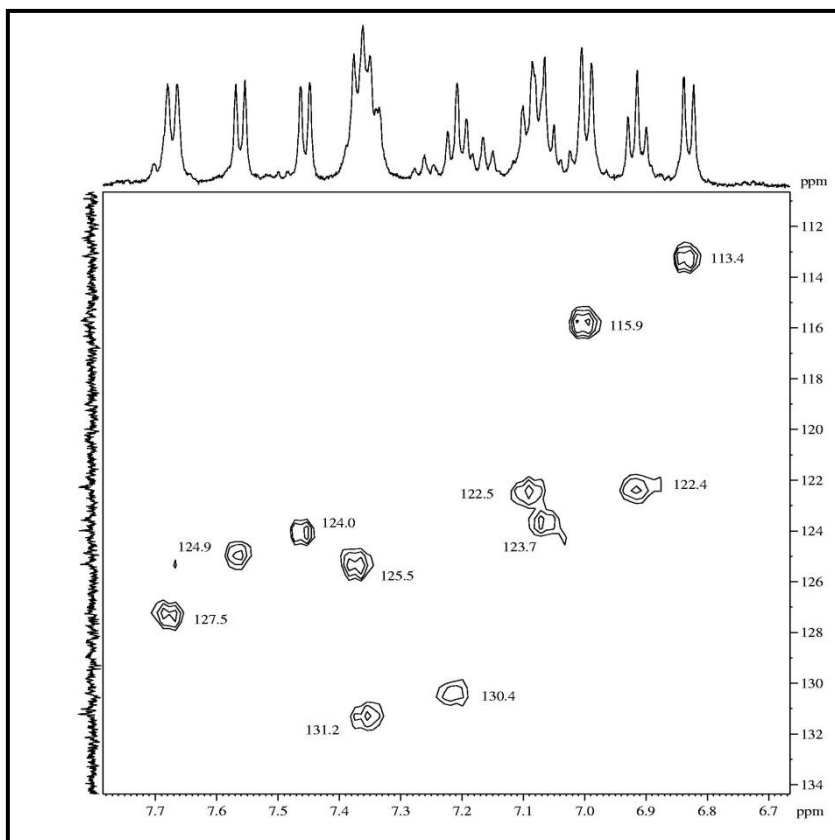
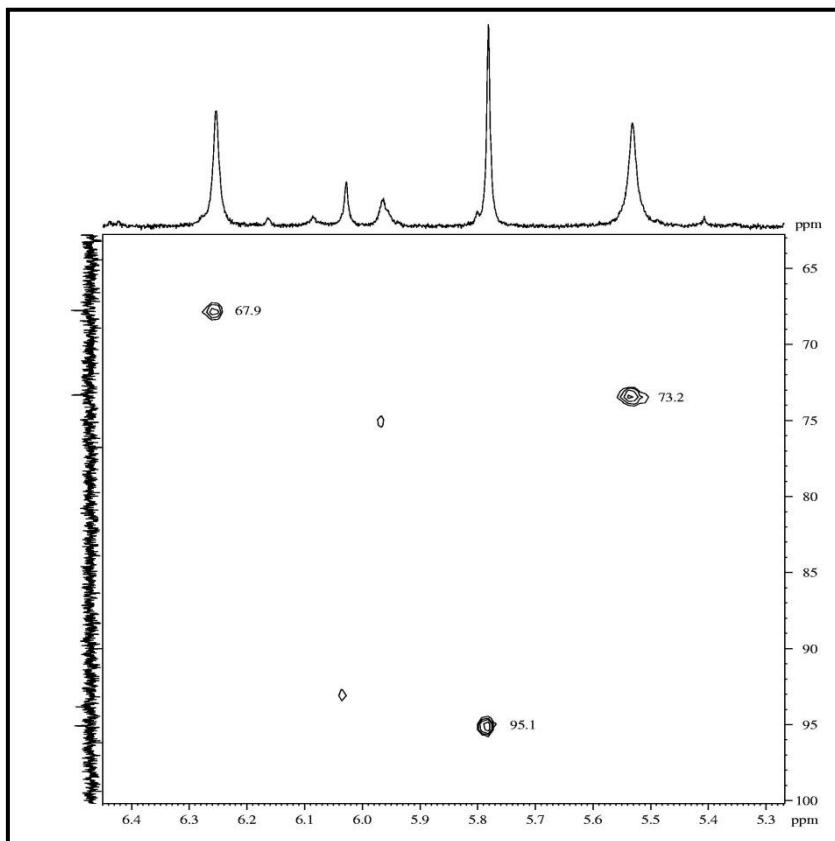


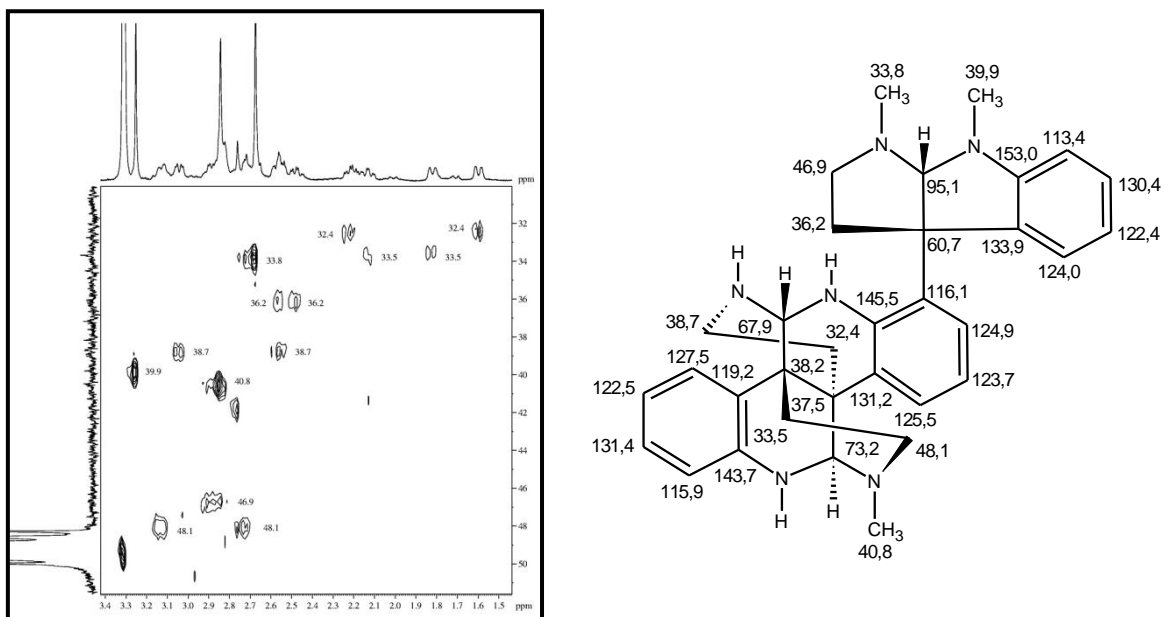
Figura 78 Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-A 3



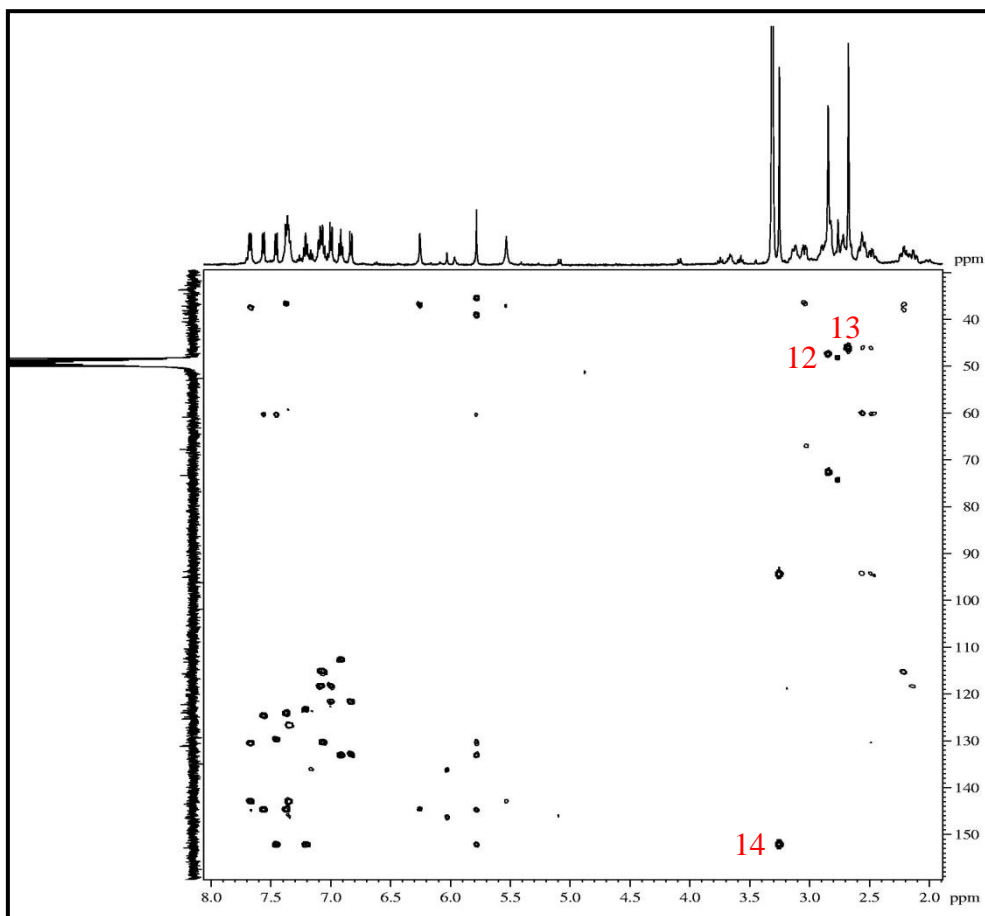
**Figura 79** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3**Figura 80** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



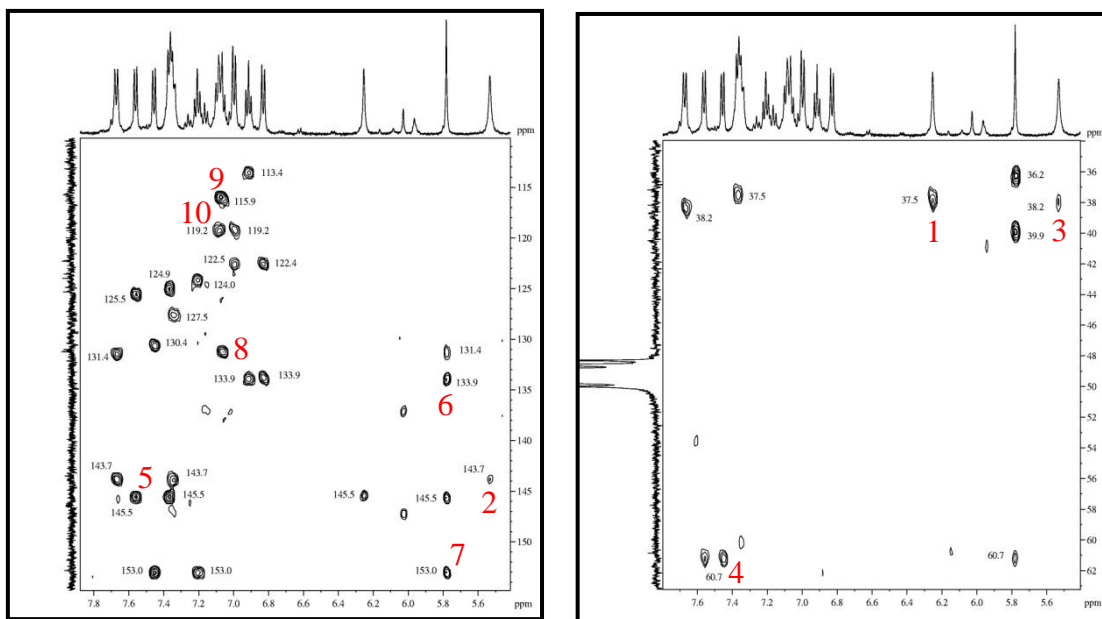
**Figura 81** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



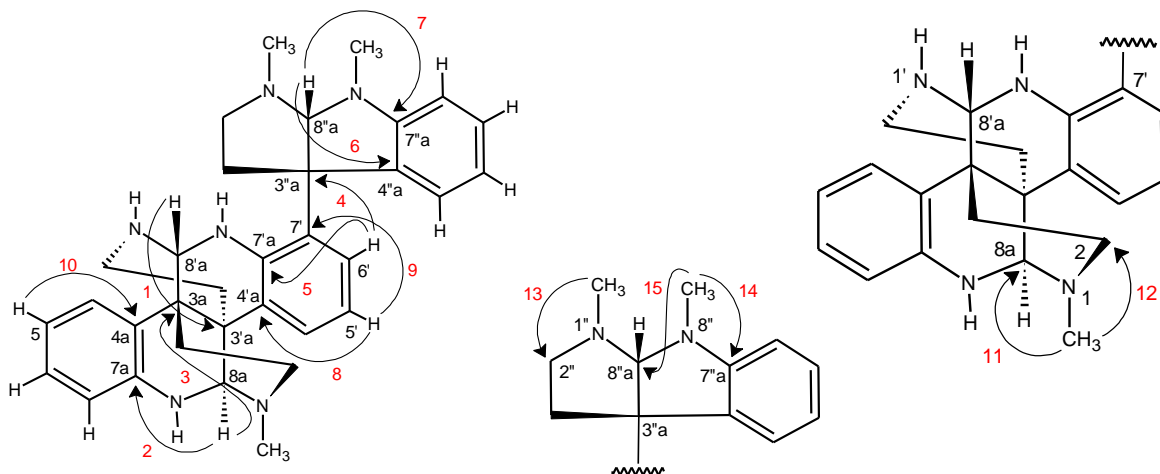
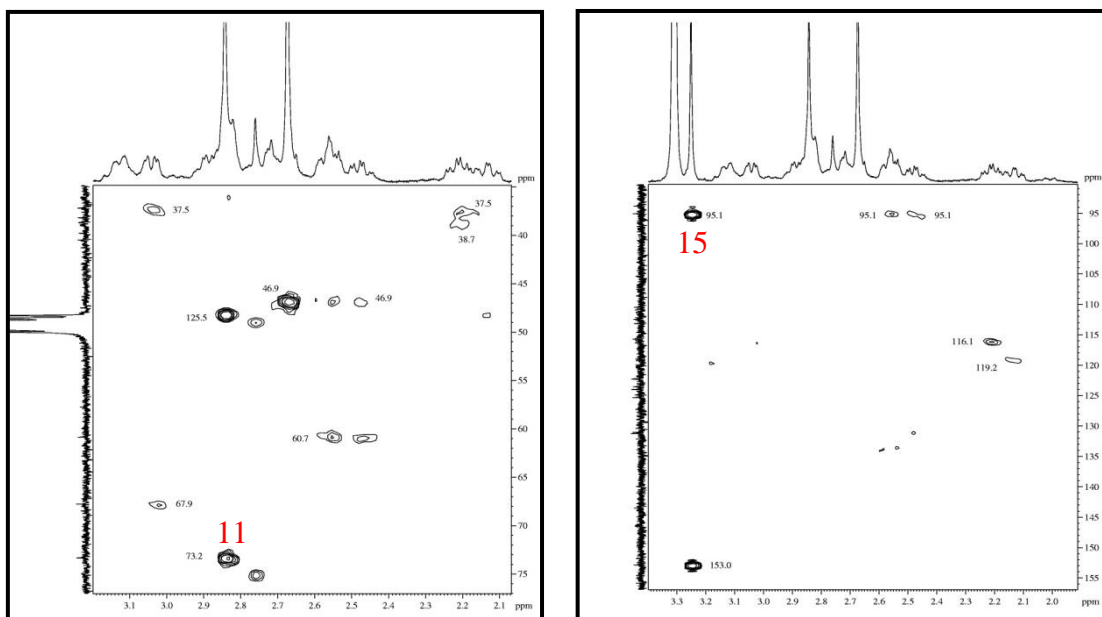
**Figura 82** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



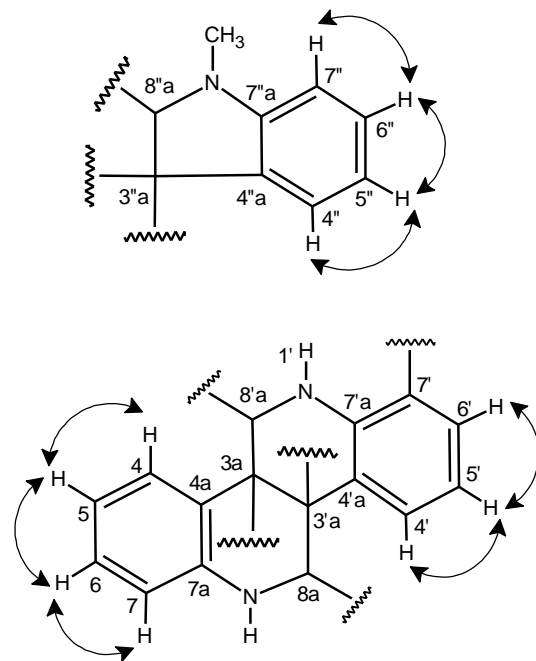
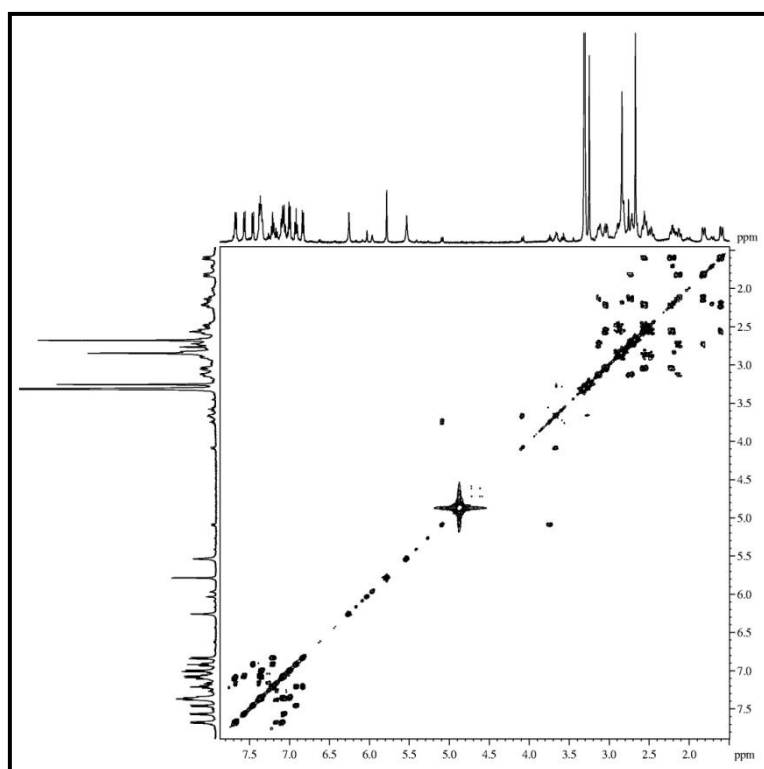
**Figura 83** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



**Figura 84** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



**Figura 85** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



**Figura 86** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3

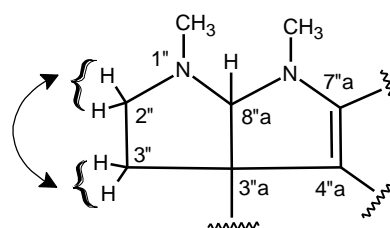
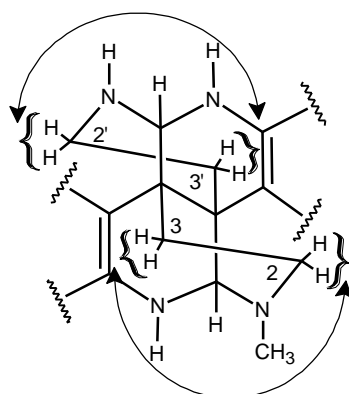
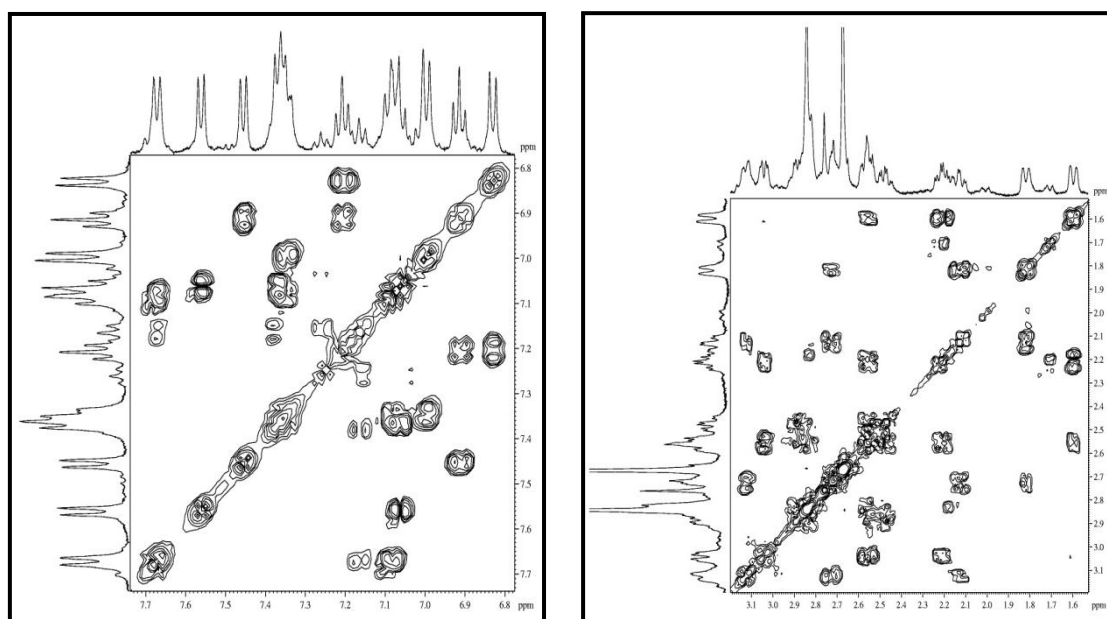


Figura 87 Espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3

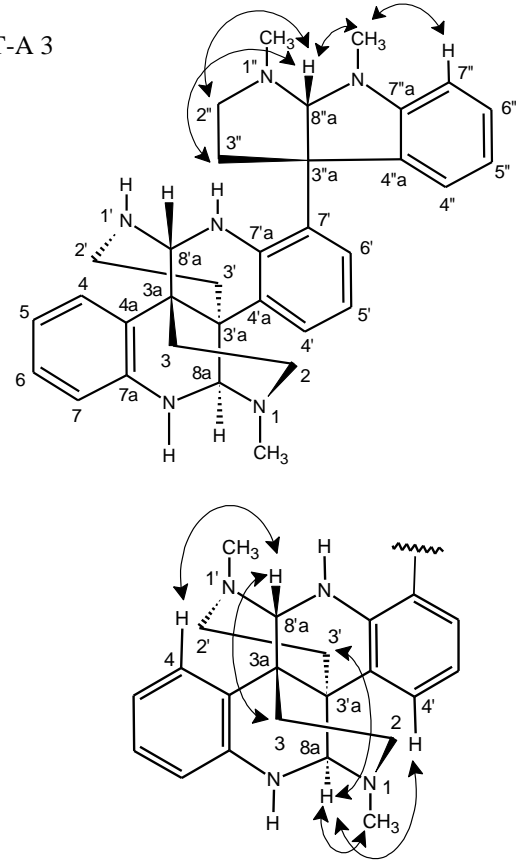
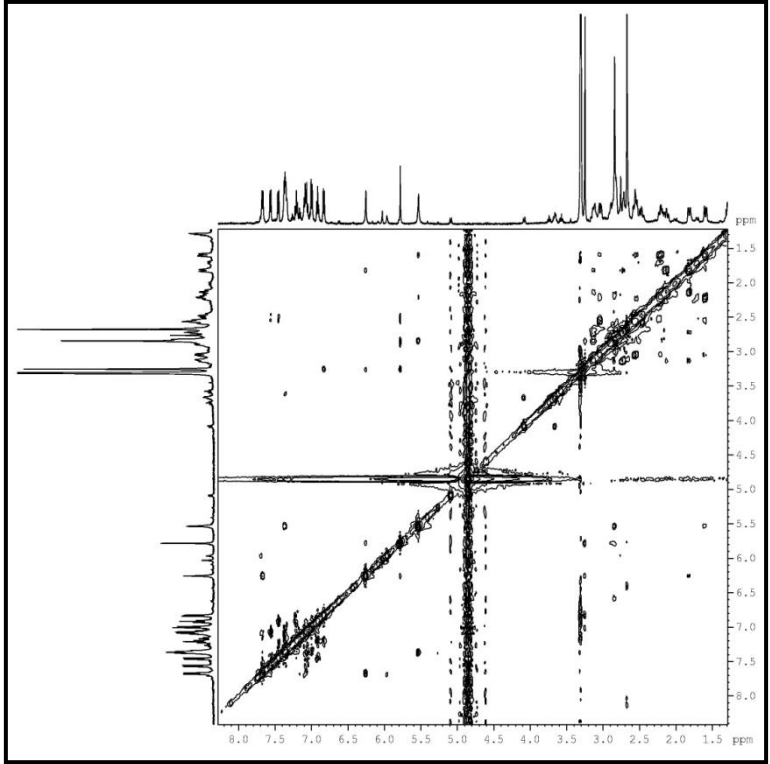
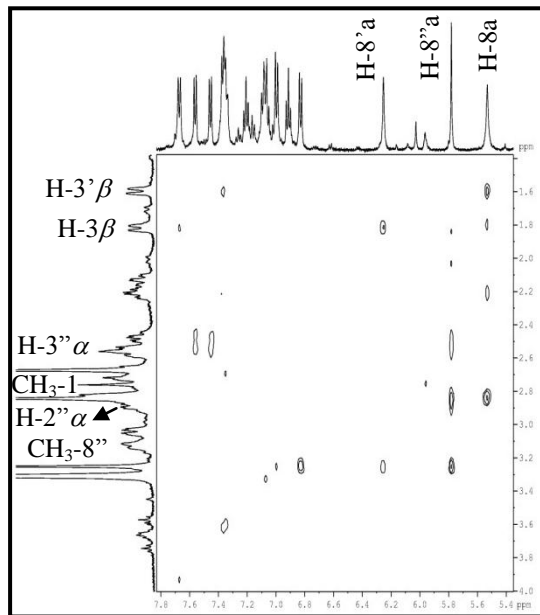
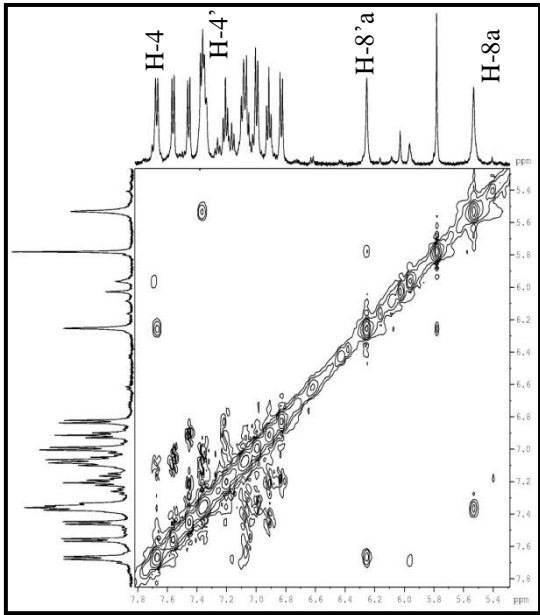


Figura 88 Expansões do espectro de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-A 3



#### 5.4 Determinação Estrutural de MCT-A 4

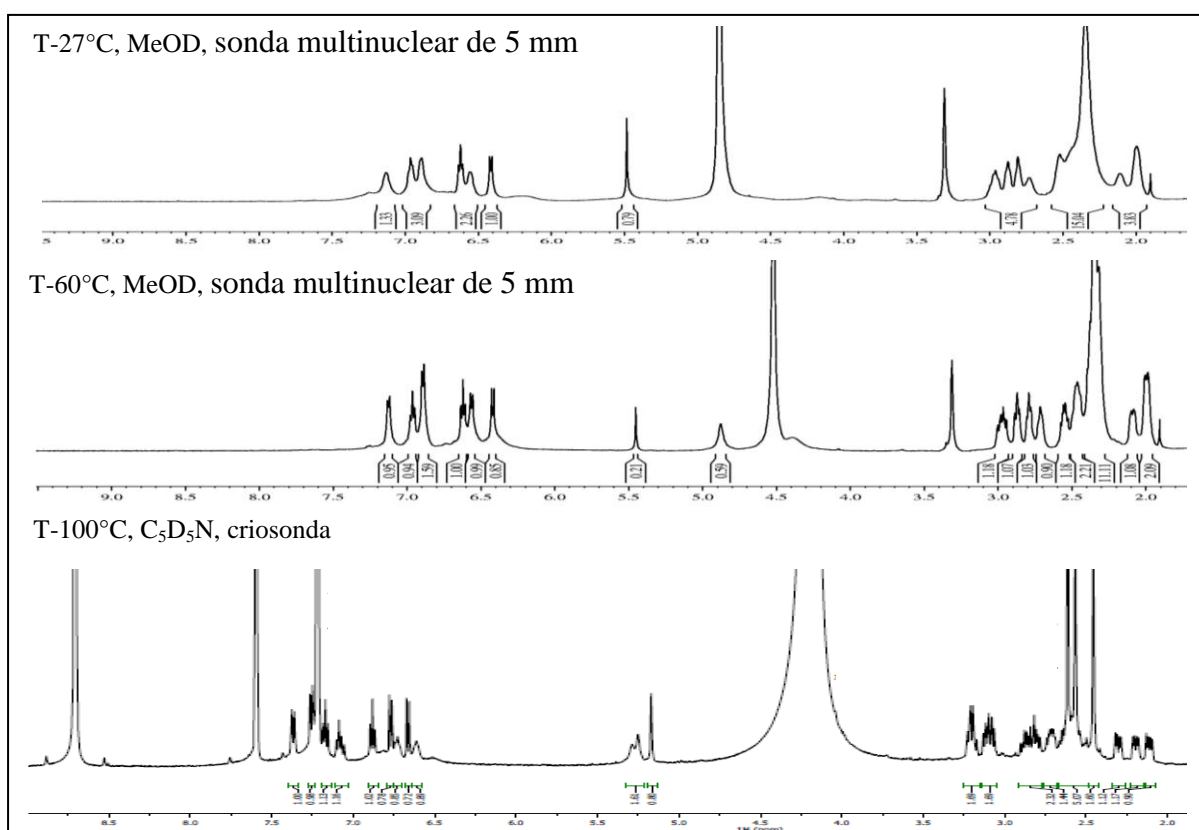
Sucessivas cromatografias de adsorção (C18) e CLAE (fase reversa) da fração MCTE-A, obtida do processo de extração de alcalóide do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*, forneceu 30,2 mg de um sólido amorfo marrom, denominado MCT-A 4 (p.f. 130,8-131,9;  $[\alpha]_D^{20} = -48,4^\circ$ , MeOH,  $c$  0,1) (item 4.6.2.5, p. 77).

De forma análoga a MCT-A 1, uma alíquota de MCT-A 4 foi submetida ao processo de desprotonação descrito no item 4.6.2.3, p. 74.

O espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 4 (fig. 96, p. 151) mostrou um banda em  $3279\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação N-H; absorções em  $2966\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial C-H de carbono  $\text{sp}^2$  e em  $2713\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial de C-H alifático; bandas esqueléticas em  $1674$ ,  $1609$  e  $1485\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação de aromático e absorções em  $1200$  e  $1130\text{ cm}^{-1}$  referentes à deformação axial C-N.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e bidimensionais, foram obtidos sob aquecimento de  $100^\circ\text{C}$ , usando criosonda. A figura 89 mostra os espectros de RMN  $^1\text{H}$  de MCTA- 4 em diferentes temperaturas. O aumento da temperatura diminui a barreira rotacional, levando a uma melhor resolução do espectro.

**Figura 89** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  de MCT-A 4 com variação da temperatura



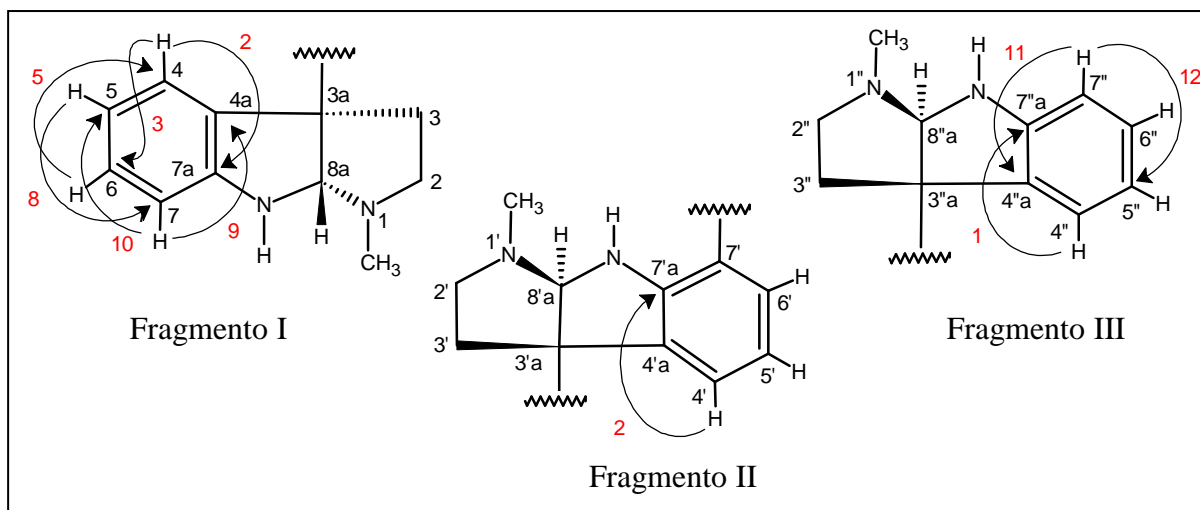
De forma similar a MCT-A 1, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-A 4 (**fig. 98, p. 152**) apresentou dois conjuntos de sinais característicos de esqueletos aromáticos *orto* dissubstituídos em  $\delta$  7,26 (d,  $J = 10,0$  Hz, H-4), 7,17 (t,  $J = 10,0$  Hz, H-6), 6,88 (t,  $J = 10,0$  Hz, H-5), 6,77 (d,  $J = 10,0$  Hz, H-7) e em  $\delta$  7,26 (d,  $J = 5,0$  Hz, H-4''), 7,09 (m, H-6''), 6,67 (d,  $J = 5,0$  Hz, H-7''), 6,61 (t,  $J = 5,0$  Hz, H-5''); além de hidrogênios aromáticos *orto* trissubstituídos em  $\delta$  7,37 (d,  $J = 10,0$  Hz, H-4'), 7,09 (m, H-6') e 6,63 (t,  $J = 10,0$  Hz, H-5'), evidenciando a existência de três sistemas aromáticos.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MCT-A 4 revelou ainda sinais relacionados a seis grupos metilênicos diastereotópicos em  $\delta$  3,11 (m, H-2 $\alpha$ ) e 2,60 (m, H-2 $\beta$ );  $\delta$  3,20 (m, H-2' $\alpha$ ) e 2,71 (m, H-2' $\beta$ );  $\delta$  3,11 (m, H-2'' $\alpha$ ) e  $\delta$  2,64 (m, H-2'' $\beta$ ); 3,20 (m, H-3 $\alpha$ ) e 2,11 (dd,  $J = 10,0$ ; 5,0 Hz, H-3 $\beta$ );  $\delta$  2,80 (m, H-3' $\alpha$ ) e 2,20 (dd,  $J = 10,0$ ; 5,0 Hz, H-3' $\beta$ ) e em  $\delta$  2,88 (m, H-3'' $\alpha$ ) e 2,30 (dd,  $J = 10,0$ ; 5,0 Hz, H-3'' $\beta$ ), que aliado à presença de três simpletos em  $\delta$  5,29 (s, H-8'a), 5,25 (s, H-8''a) e 5,17 (s, H-8a), foram sugestivos para a existência de um alcalóide de esqueleto pirrolidinoindólico. Também foram observados três simpletos intensos em  $\delta$  2,61 ( $\text{CH}_3$ -1''), 2,57 ( $\text{CH}_3$ -1') e 2,46 ( $\text{CH}_3$ -1), compatíveis com três grupos metilas ligados a nitrogênio.

O espectro de RMN-HSQC de MCT-A 4 (**fig. 99, p. 153**), mostrou a correlações dos hidrogênios  $\delta$  3,11; 2,60 (H-2) com  $\delta$  52,6 (C-2);  $\delta$  3,20; 2,71 (H-2') com  $\delta$  52,7 (C-2'); dos hidrogênios em  $\delta$  3,11; 2,64 (H-2'') com  $\delta$  52,5 (C-2'');  $\delta$  3,20; 2,11 (H-3) com  $\delta$  39,0 (C-3); dos hidrogênios em  $\delta$  2,80; 2,20 (H-3') com  $\delta$  36,7 (C-3') e  $\delta$  2,88; 2,30 (H-3'') com  $\delta$  36,2 (C-3''), confirmando a presença de seis carbonos metilênicos. Em adição, possibilitou identificar vinte e três carbonos hidrogenados (**tab. 20, p. 150**).

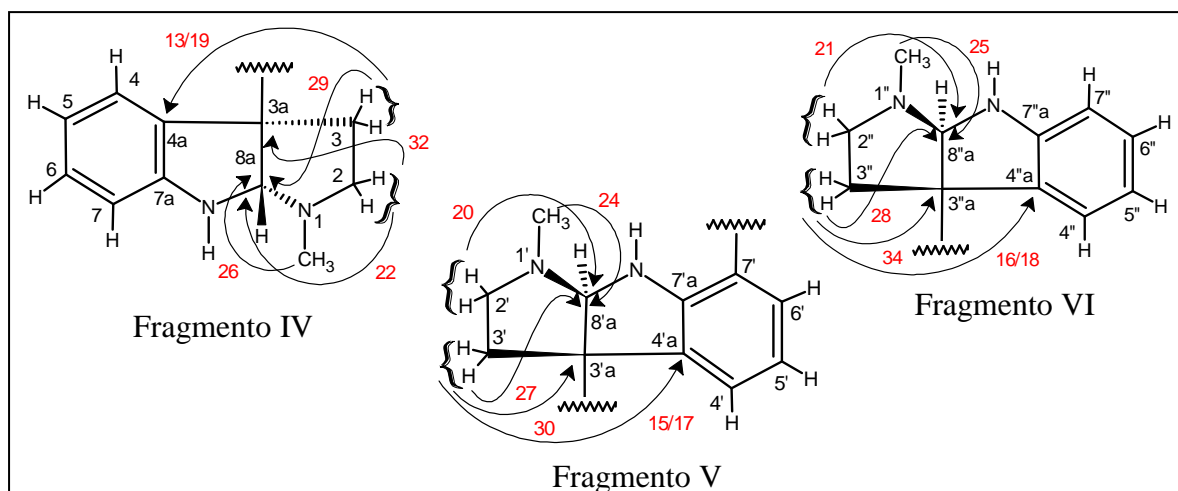
A análise do espectro de RMN-HMBC de MCT-A 4 (**fig. 102, p. 156**), forneceu a localização dos hidrogênios aromáticos, a partir da correlação do hidrogênio  $\delta$  7,26 (H-4) e os carbonos  $\delta$  152,7 (C-7a) e 129,5 (C-6), do hidrogênio  $\delta$  6,88 (H-5) com o carbono  $\delta$  109,1 (C-7), do hidrogênio em  $\delta$  7,17 (H-6) com o carbono  $\delta$  126,3 (C-4), do hidrogênio  $\delta$  6,77 (H-7) com os carbonos  $\delta$  119,0 (C-5) e 133,5 (C-4a), dos hidrogênios em  $\delta$  7,37 (H-4') com o carbono em  $\delta$  151,0 (C-7'a), além do acoplamento do hidrogênio  $\delta$  6,67 (H-7'') com os carbonos  $\delta$  118,7 (C-5'') e 133,7 (C-4''a), e do  $\delta$  7,26 (H-4'') com o carbono  $\delta$  152,7 (C-7''a) (**fragmentos I, II e III**) (**fig. 90, p. 146 e tab. 20, p. 150**).

**Figura 90** Importantes correlações dos hidrogênios aromáticos de MCT-A 4



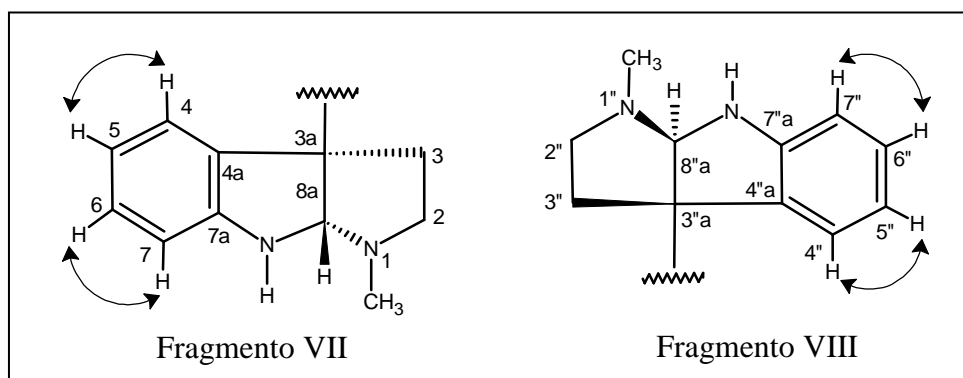
O espectro de HMBC mostrou também as correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta$  2,46 (CH<sub>3</sub>-1), 3,11 (H-2 $\alpha$ ) e 2,11 (H-3 $\beta$ ) com o carbono  $\delta$  88,5 (C-8a), dos hidrogênios 3,20 (H-3 $\alpha$ ) e 2,11 (H-3 $\beta$ ) com o carbono em  $\delta$  133,5 (C-4a) e do hidrogênio em 3,11 (H-2 $\alpha$ ) com o carbono em  $\delta$  62,1 (C-3a), permitindo o posicionamento dos hidrogênios alifáticos ao primeiro núcleo pirrolidinoindólico (**fragmentos IV**) (**fig. 91, p. 147**).

Foram observados ainda acoplamentos dos hidrogênios  $\delta$  2,57 (CH<sub>3</sub>-1'), 3,20 (H-2' $\alpha$ ) e 2,20 (H-3' $\beta$ ) com o carbono  $\delta$  85,0 (C-8'a), dos hidrogênios 2,88 (H-3' $\alpha$ ) e 2,30 (H-3' $\beta$ ) com o carbono em  $\delta$  132,7 (C-4'a) e do hidrogênio em 2,80 (H-3' $\alpha$ ) com o carbono em  $\delta$  64,5 (C-3'a), definido a localização dos hidrogênios ao segundo núcleo pirrolidinoindólico (**fragmentos V**). Em adição, os acoplamentos dos hidrogênios  $\delta$  2,61 (CH<sub>3</sub>-1''), 3,11 (H-2'' $\alpha$ ) e 2,30 (H-3'' $\beta$ ) com o carbono  $\delta$  84,5 (C-8''a), dos hidrogênios 2,88 (H-3'' $\alpha$ ) e 2,30 (H-3'' $\beta$ ) com o carbono em  $\delta$  133,7 (C-4''a) e do hidrogênio em 2,88 (H-3'' $\alpha$ ) com o carbono em  $\delta$  62,0 (C-3''a) foram importantes para localização dos hidrogênios ao terceiro núcleo pirrolidinoindólico (**fragmentos VI**) (**fig. 91, p. 147**).

**Figura 91** Correlações que definiram a localização das três metilas e dos hidrogênios metilênicos de MCT-A 4

A partir dos dados espectroscópicos até então descritos para MCT-A 4, foi possível deduzir a fórmula molecular  $C_{33}H_{38}N_6$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a dezoito, confirmada pela presença do pico molecular  $[M+H]^+$   $m/z$  519,3247, no espectro de massas de MCT-A 4. Os picos com  $m/z$  345,2106 e 173,1099, devido a perda de  $C_{11}H_{14}N_2$  e  $C_{11}H_{12}N_2$ , respectivamente, corroboram com um esqueleto pirrolidinoindólico com três subunidades (EM-IES, **fig. 97** e **qua. 4**, p. 151).

O espectro de correlação homonuclear RMN-COSY (**fig. 107**, p. 161), forneceu a maioria dos acoplamentos geminais e vicinais do composto. Dentre as correlações observadas destacam-se os acoplamentos de  $\delta$  7,26 (H-4) com 6,88 (H-5);  $\delta$  7,17 (H-6) com 6,77 (H-7);  $\delta$  7,26 (H-4'') com 6,61 (H-5'') e  $\delta$  7,09 (H-6'') com 6,67 (H-7'') (**fragmento VII e VIII**) (**fig. 92**).

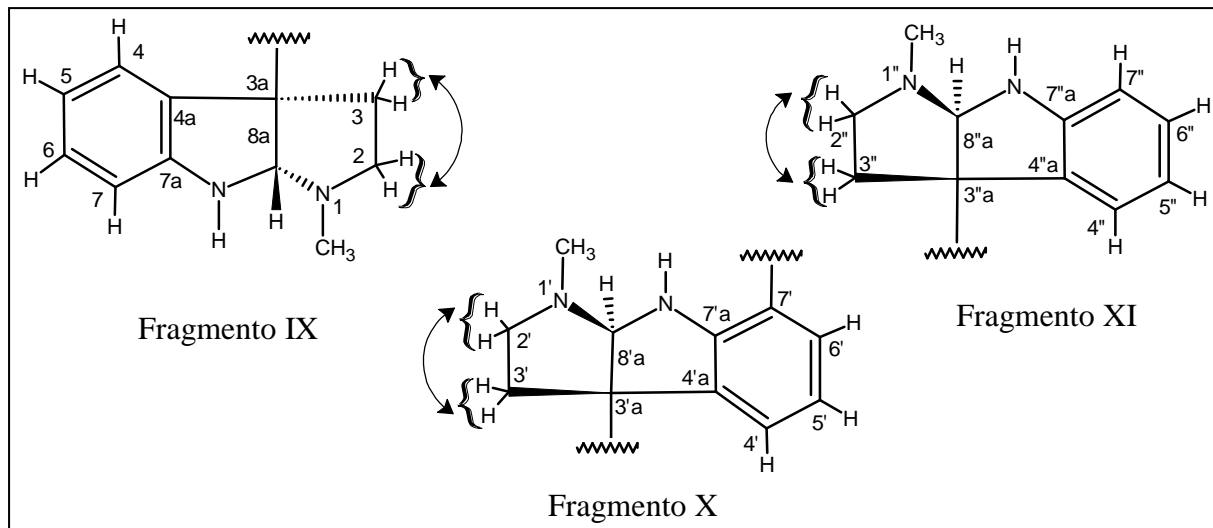
**Figura 92** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios aromáticos de MCT-A 4

No espectro COSY foram evidenciados ainda acoplamentos entre os seis hidrogênios metilênicos, confirmando a presença de três conjuntos de sinais, observados a partir da correlação dos hidrogênios  $\delta$  3,11 e 2,60 (2H-2)  $\leftrightarrow$   $\delta$  3,20 e 2,11 (2H-3) (**fragmento IX**), dos hidrogênios  $\delta$  3,20 e 2,71 (2H-2')  $\leftrightarrow$   $\delta$  2,80 e 2,20 (2H-3')



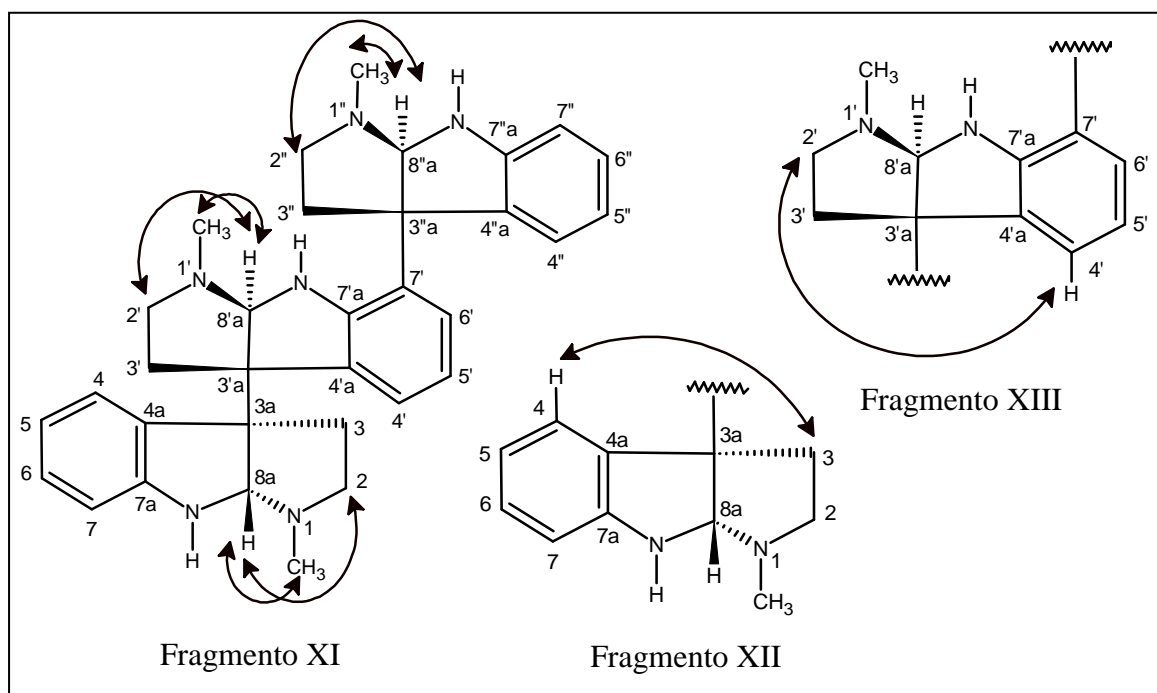
(**fragmento X**); e entre os hidrogênios  $\delta$  3,11 e 2,64 (2H-2'')  $\longleftrightarrow$   $\delta$  2,88 e 2,30 (2H-3'') (**fragmento XI**) (**fig. 93**).

**Figura 93** Correlações observadas no espectro de COSY para os hidrogênios metilênicos de MCT-A 4

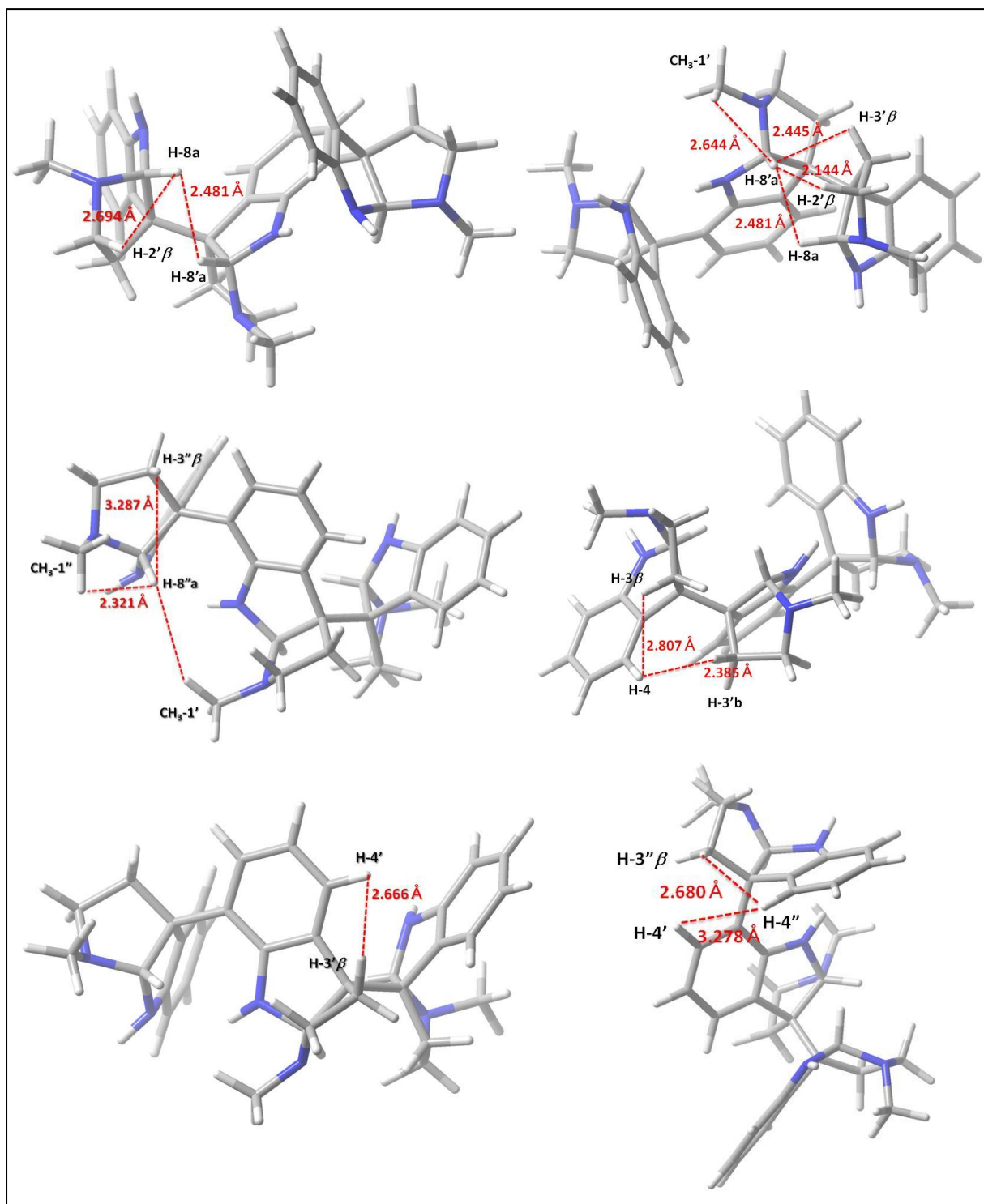


A análise do espectro RMN-NOESY (**fig. 109, p. 163**) de MCT-A 4 apresentou importantes correlações dipolares entre os hidrogênios:  $\delta$  5,29 (H-8'a) com  $\delta$  2,71 (H-2' $\beta$ ) e 2,57 (CH<sub>3</sub>-1'); do hidrogênio  $\delta$  5,25 (H-8''a) com  $\delta$  2,64 (H-2'' $\beta$ ) e do hidrogênio  $\delta$  5,17 (H-8a) com  $\delta$  2,46 (CH<sub>3</sub>-1) e 2,60 (H-2 $\beta$ ); além do acoplamento entre o hidrogênio  $\delta$  7,37 (H-4') com 3,20 (H-2' $\alpha$ ) e do hidrogênio em  $\delta$  7,26 (H-4) com 2,11 (H-3 $\beta$ ) (**fragmento XI, XII e XIII**) (**fig. 94**). Acoplamentos confirmados a partir de modelagem molecular de MCT-A 4 (**fig. 95, p. 149**).

**Figura 94** Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de MCT-A 4



**Figura 95** Modelos moleculares de MCT-A 4 em 3D, justificando principais acoplamentos observados no espectro NOESY



A partir dos dados espectroscópicos discutidos e a posterior comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  descritos na literatura, possibilitou identificar MCT-A 4 como sendo um alcalóide de esqueleto pirrolidinoindolico denominado Hodgkinsina, isolado anteriormente das flores de *Psychotria colorata* (VEROTTA *et al.*, 1998).

**Tabela 20:** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC e HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-A 4 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da literatura

# C	HSQC		HMBC		VEROTTA <i>et al.</i> , 1998
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
CH <sub>3</sub> -1	35,3	2,46 (s)			35,2
CH <sub>3</sub> -1'	35,2	2,57 (s)			35,0
CH <sub>3</sub> -1''	35,1	2,61 (s)			35,1
2	52,6	3,11 (m); 2,60 (m)	H-3 $\alpha$	CH <sub>3</sub> -1	51,7
2'	52,7	3,20 (m); 2,71 (m)		CH <sub>3</sub> -1'	51,9
2''	52,5	3,11 (m); 2,64 (m)	H-3'' $\alpha$	CH <sub>3</sub> -1''	51,9
3	39,0	3,20 (m); 2,11 (dd, 10,0; 5,0)			37,6
3'	36,7	2,80 (m); 2,20 (dd, 10,0; 5,0)			36,7
3''	36,2	2,88 (m); 2,30 (dd, 10,0; 5,0)			38,0
3a	62,1			H-3 $\alpha$	62,8
3'a	64,5			H-3' $\alpha$	63,0
3''a	62,0			H-2'' $\alpha$	60,0
4	126,3	7,26 (d, 10,0)		H-6	126,4
4'	127,5	7,37 (d, 10,0)			121,9
4''	126,3	7,26 (d, 5,0)			124,2
4a	133,5			H-5; H-7; H-3 $\alpha$ ; H-3 $\beta$	131,7
4'a	132,7			H-3' $\alpha$ ; H-3' $\beta$	132,3
4''a	133,7			H-7''; H-3'' $\alpha$ ; H-3'' $\beta$	131,7
5	119,0	6,88 (t, 10,0)		H-7	118,5
5'	118,5	6,63 (t, 10,0)		H-7''	116,8
5''	118,7	6,61 (t, 5,0)			117,5
6	129,5	7,17 (t, 10,0)		H-4	127,9
6'	129,2	7,09 (m)			126,0
6''	129,2	7,09 (m)			127,4
7	109,1	6,77 (d, 10,0)		H-5	109,0
7'	-	-			-
7''	109,0	6,67 (d, 5,0)			108,1
7a	152,7			H-4; H-6	150,8
7'a	151,0			H-4'	150,8
7''a	152,7			H-4''	151,1
8a	88,5	5,17 (sl)		H-2 $\alpha$ ; CH <sub>3</sub> -1; H-3 $\beta$	86,4
8'a	85,0	5,29 (sl)		H-2' $\alpha$ ; CH <sub>3</sub> -1'; H-3' $\beta$	81,7
8''a	84,5	5,25 (sl)		H-2'' $\alpha$ ; CH <sub>3</sub> -1''; H-3'' $\beta$	82,3

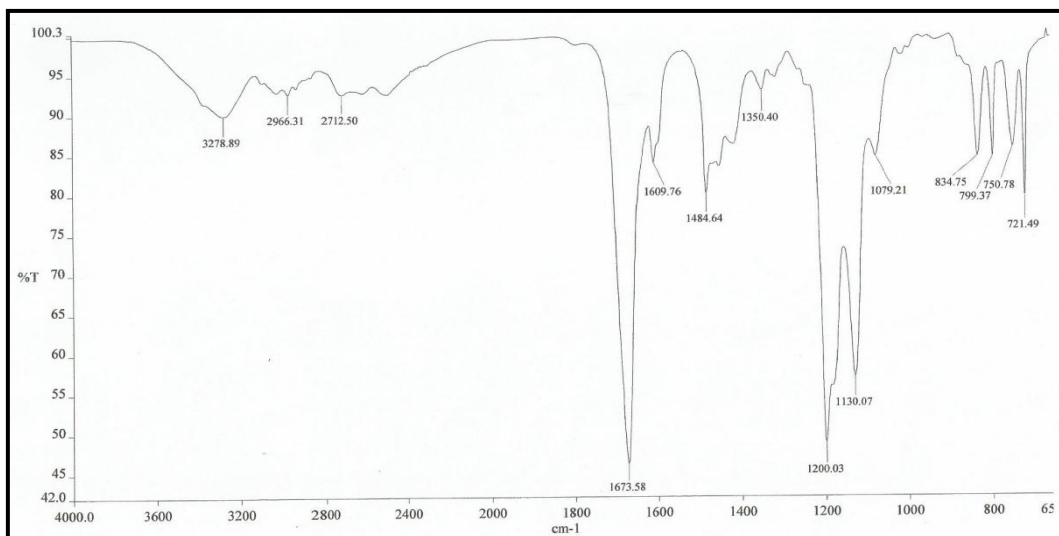
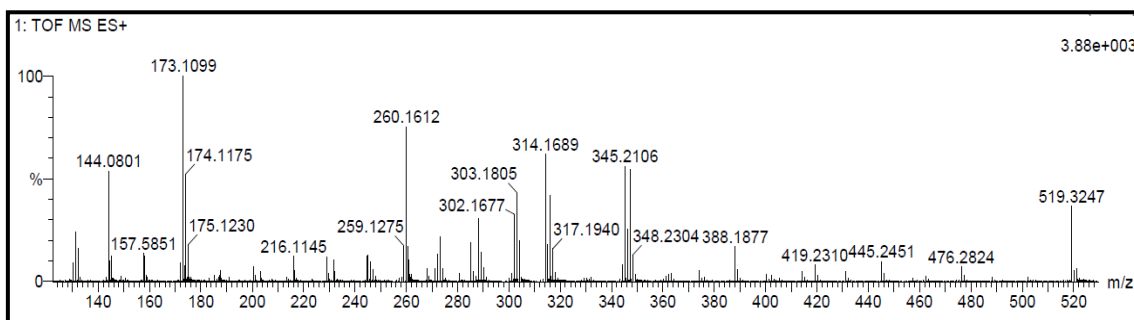
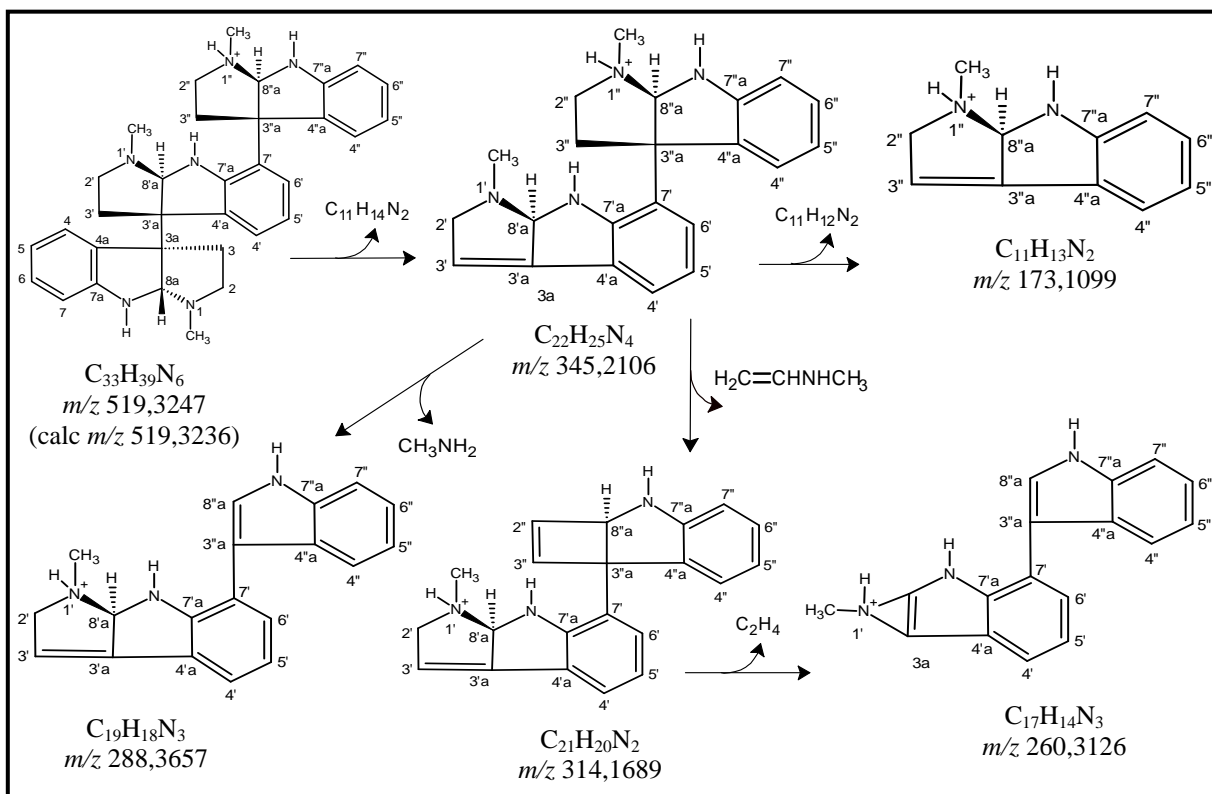
**Figura 96** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-A 4**Figura 97** Espectro de massas de alta resolução de MCT-A 4**Quadro 4** Proposta mecanística que justificam fragmentos típicos do esqueleto pirrolidinoindólico registrado no espectro de massa de MCT-A 4

Figura 98 Espectro e expansões de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-A 4

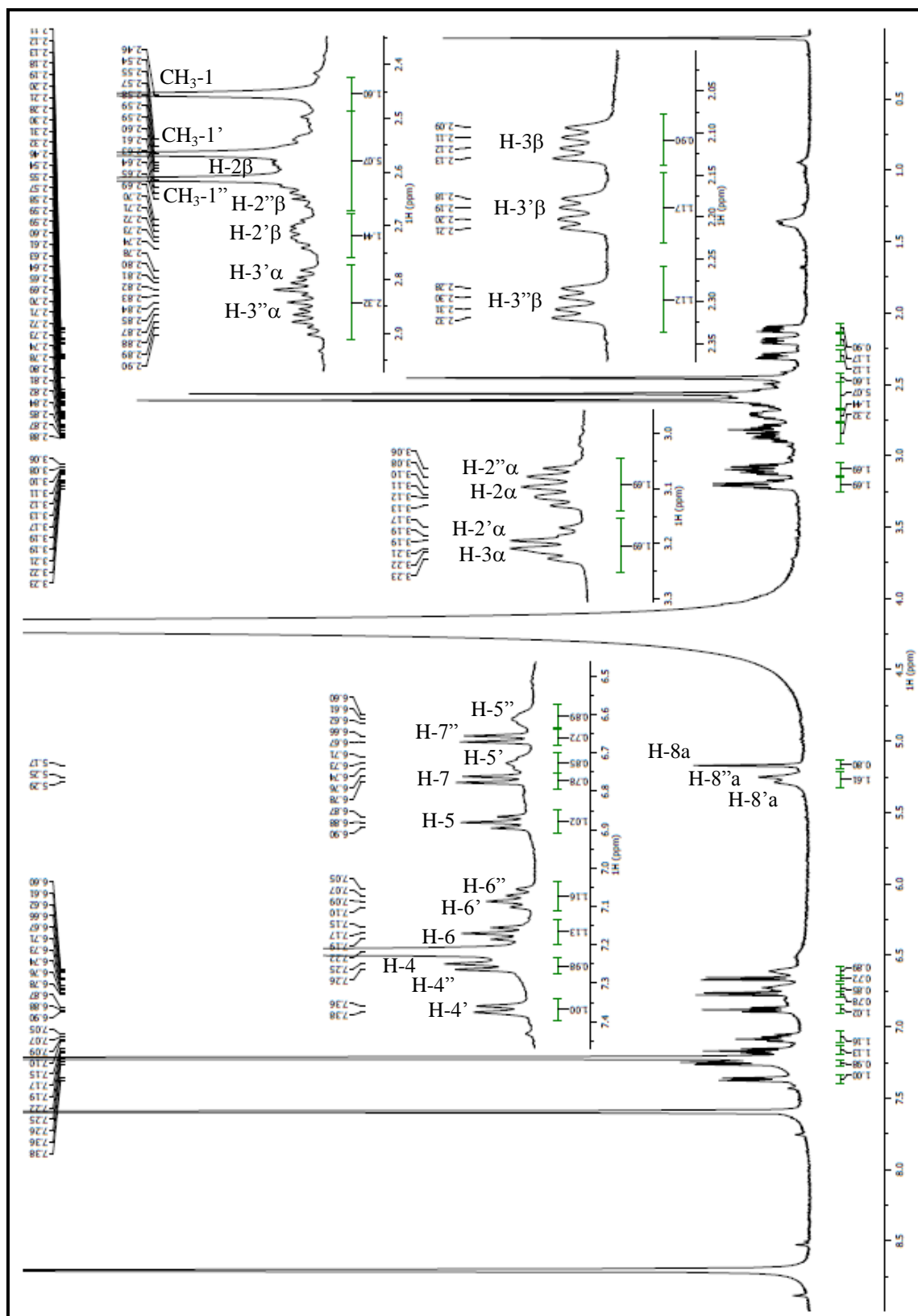
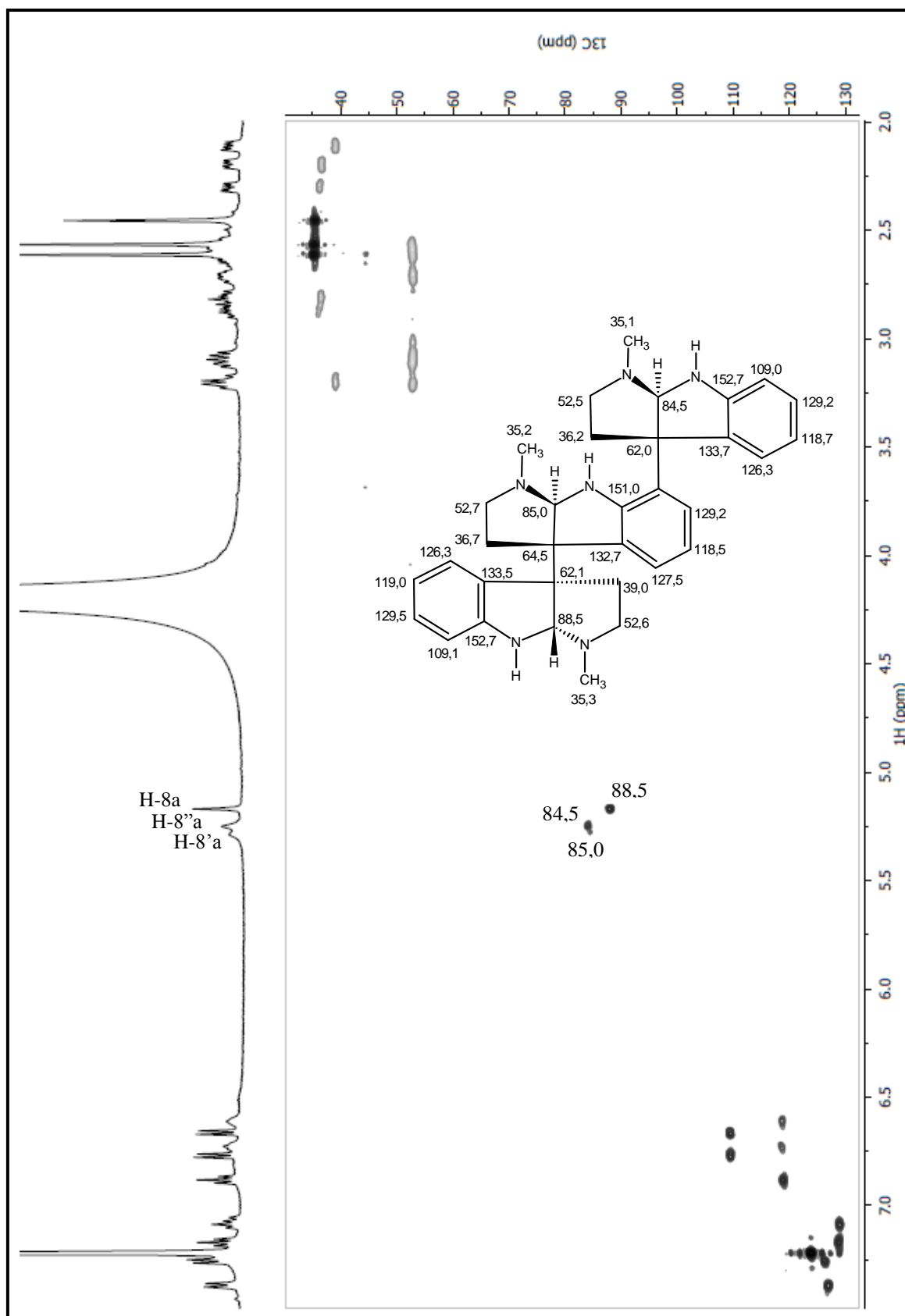
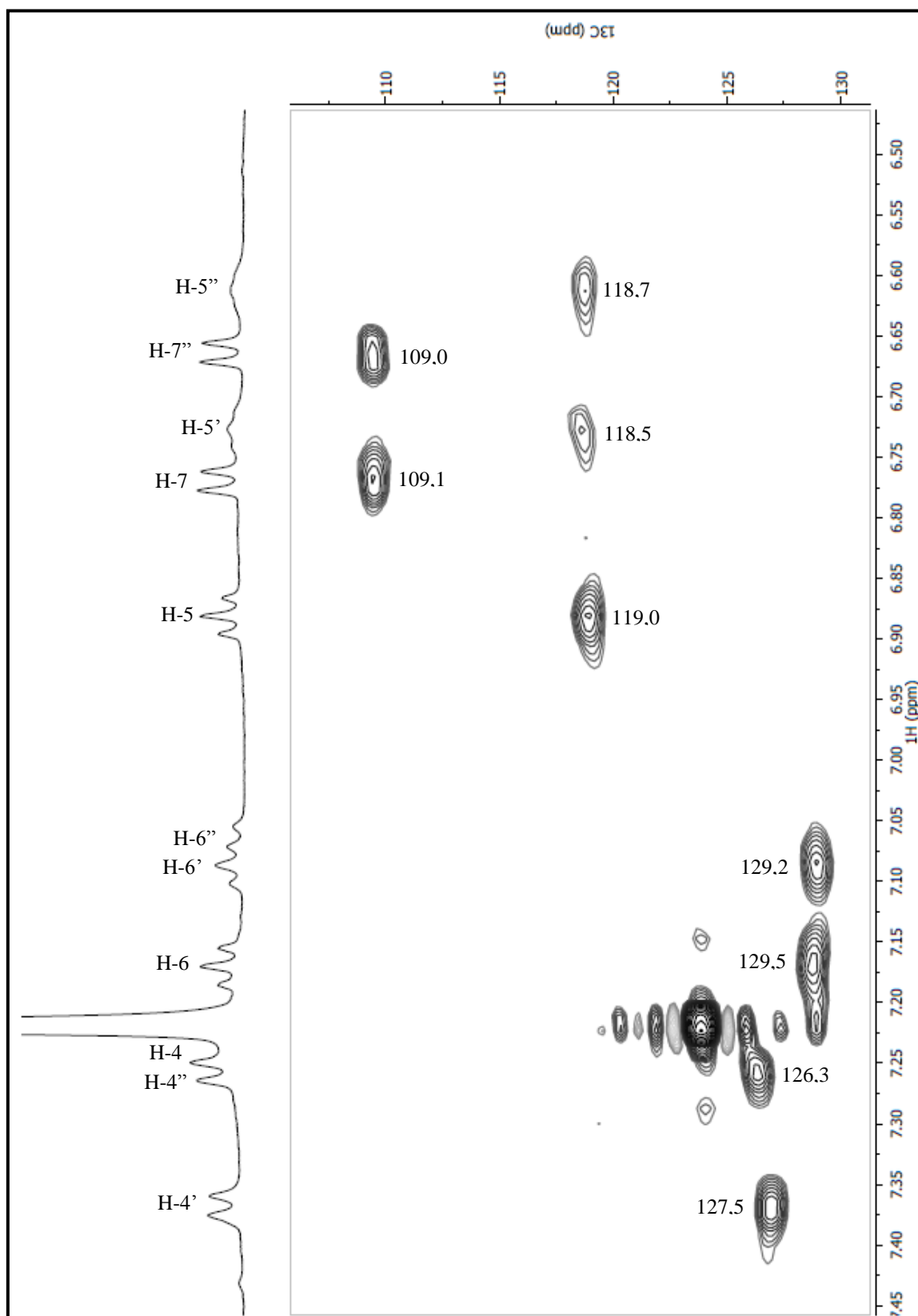
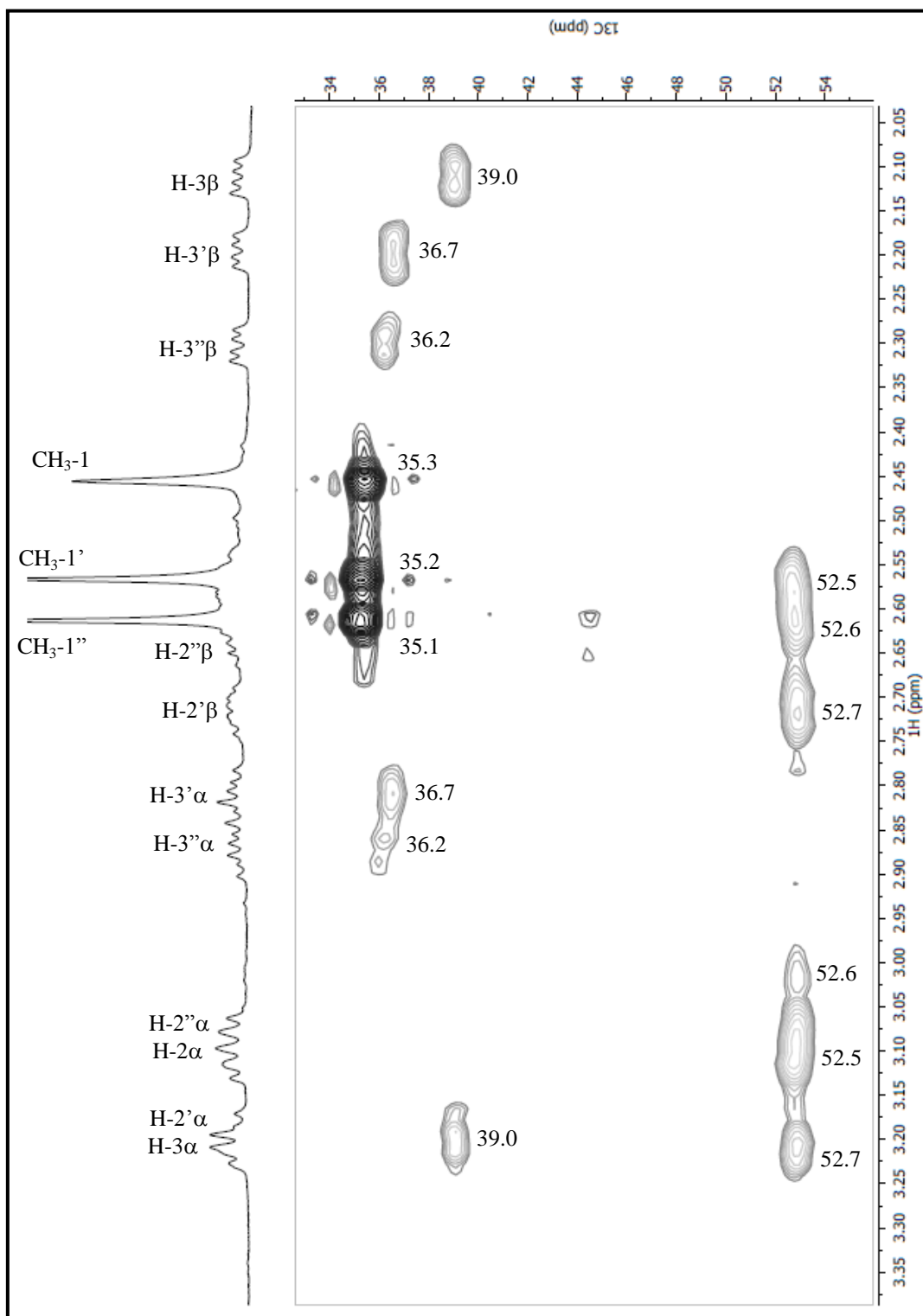
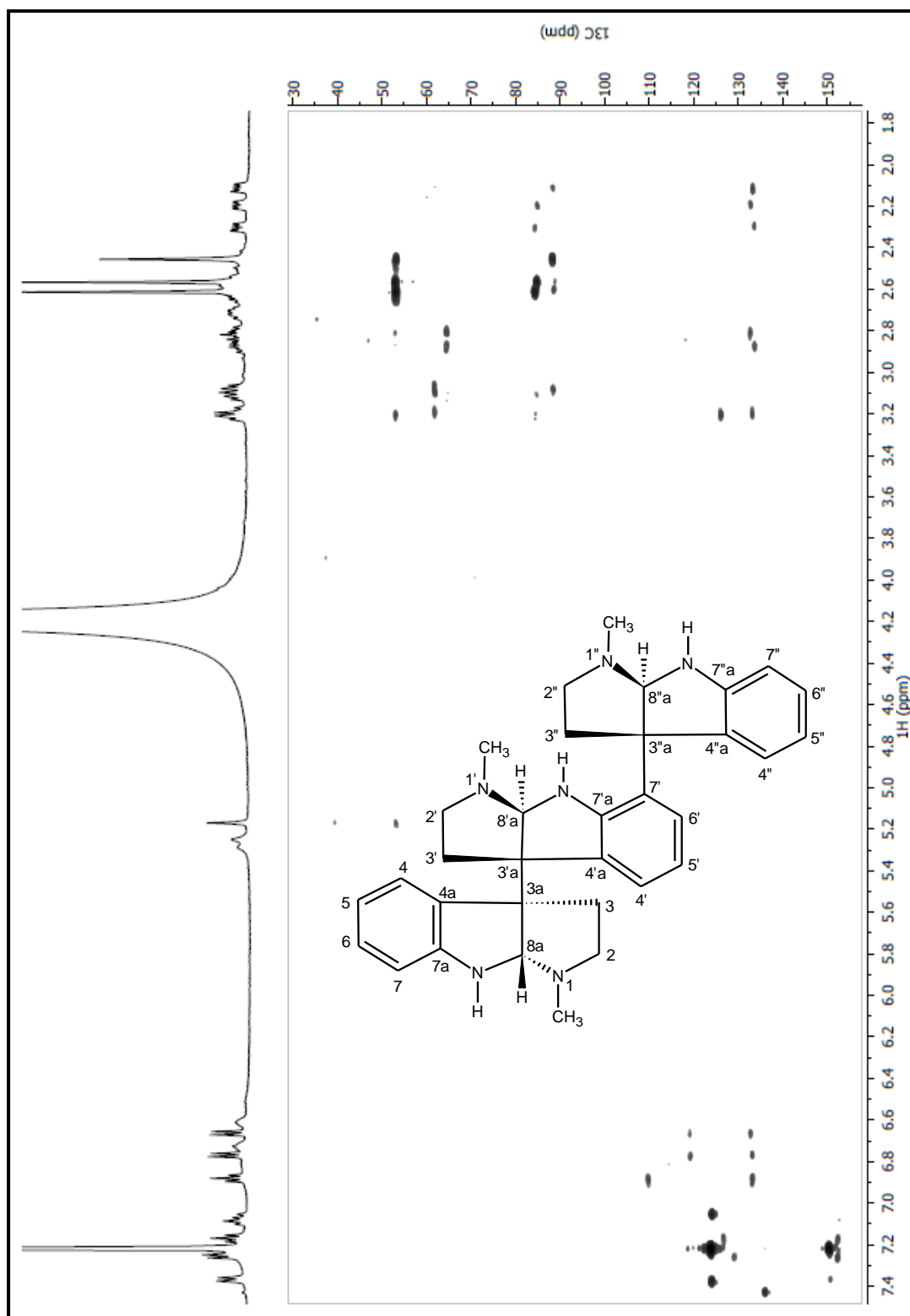


Figura 99 Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

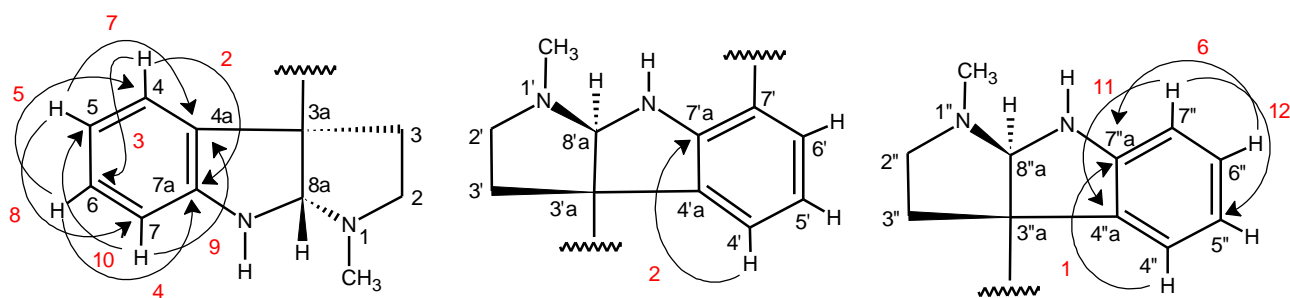
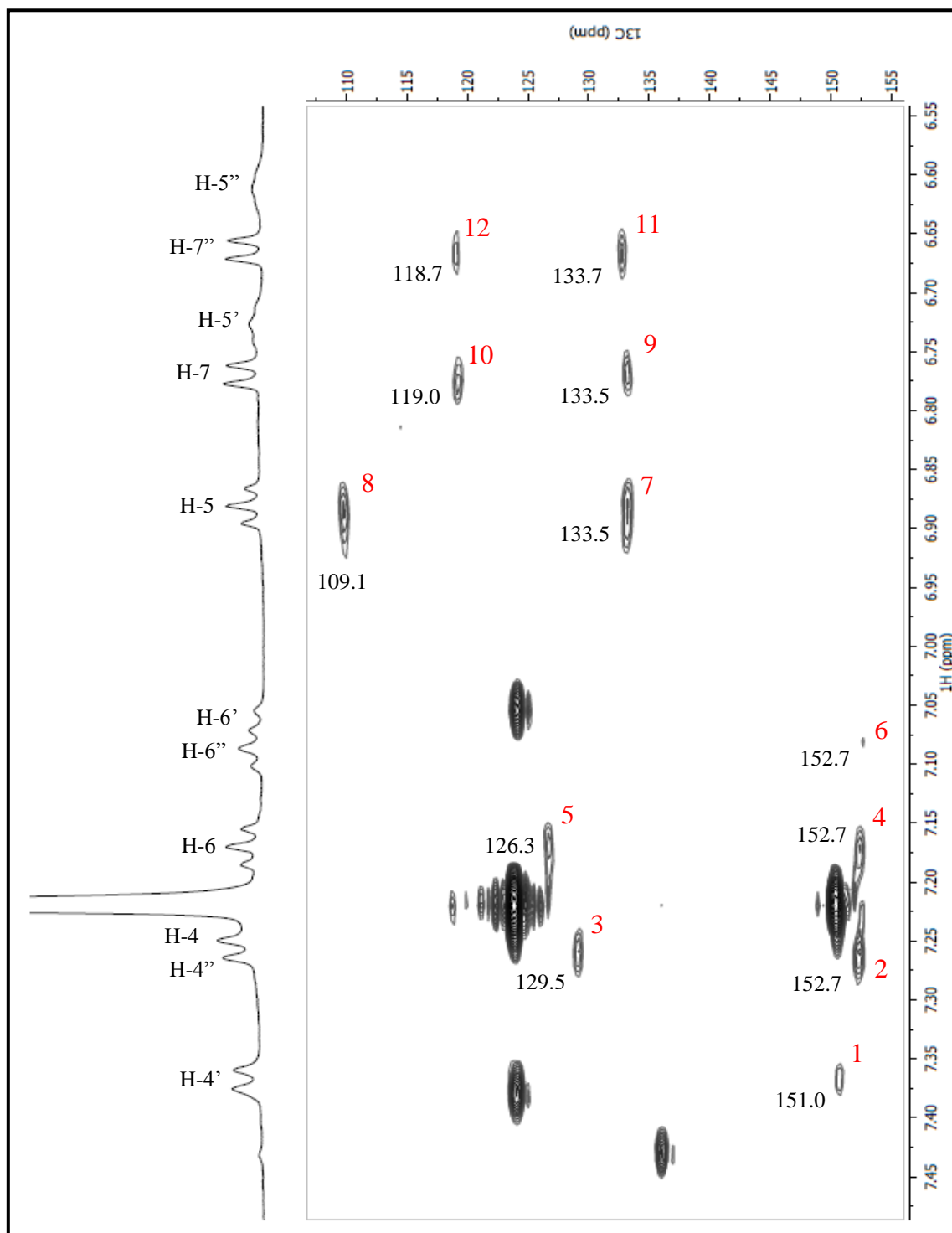
**Figura 100** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

**Figura 101** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

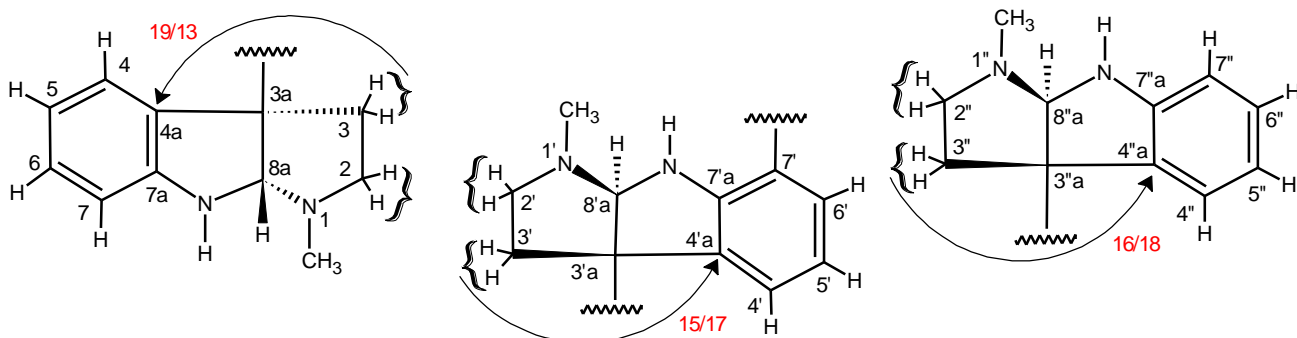
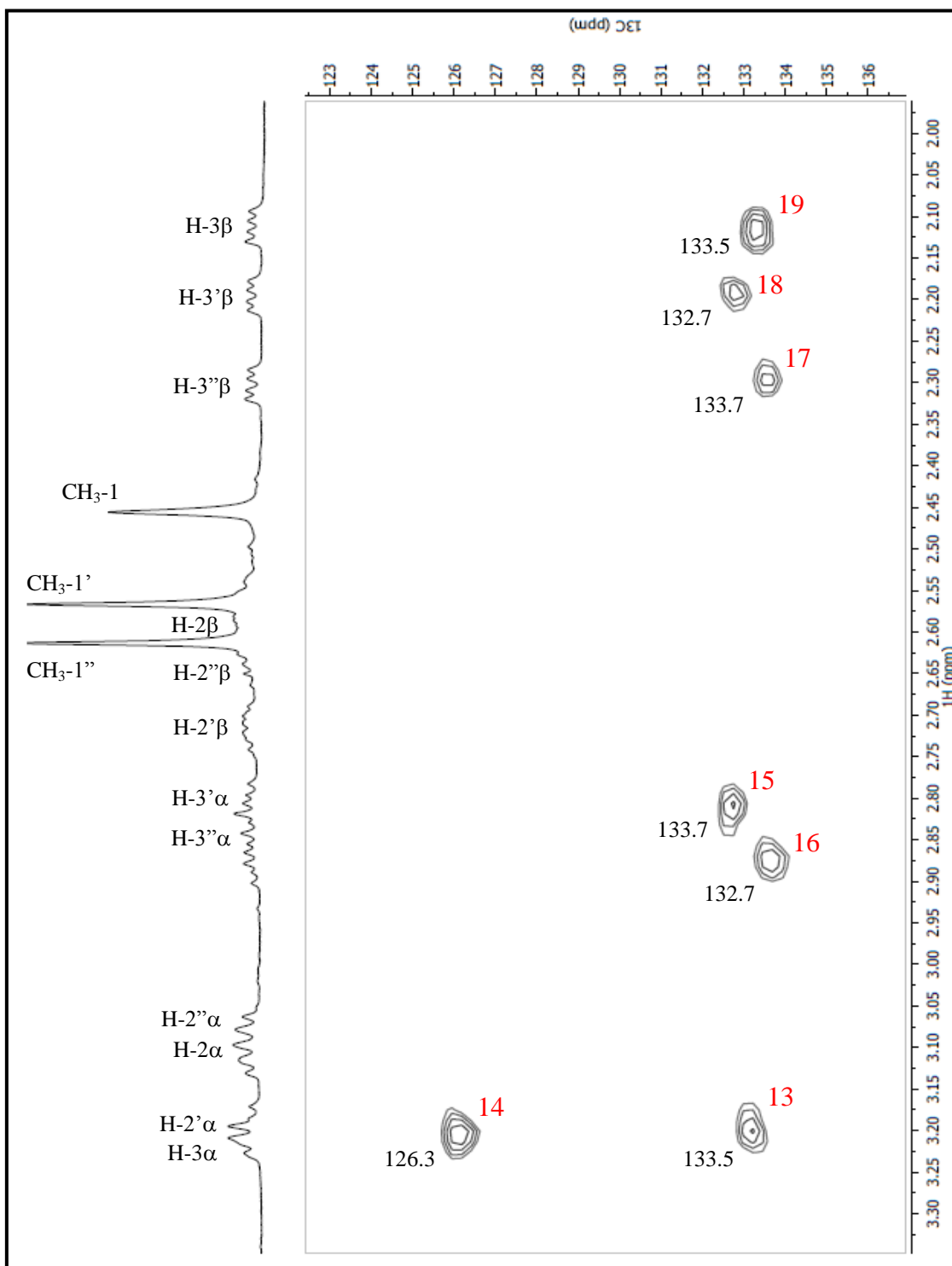


**Figura 102** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

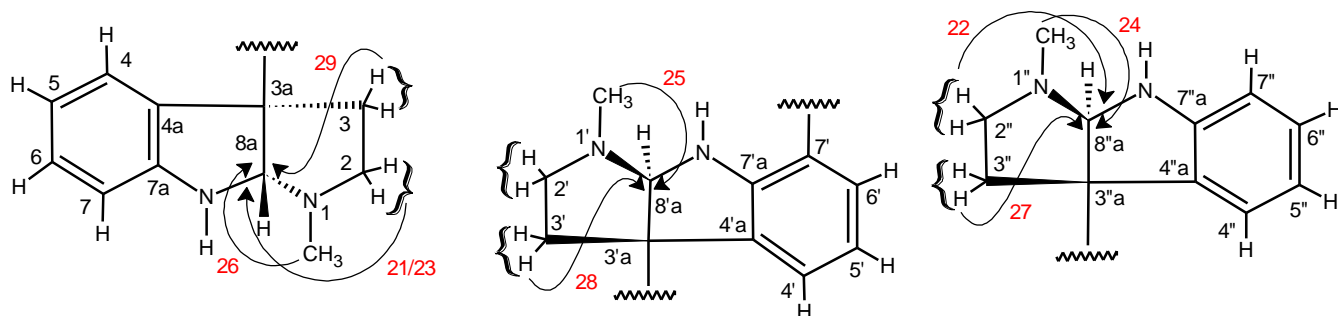
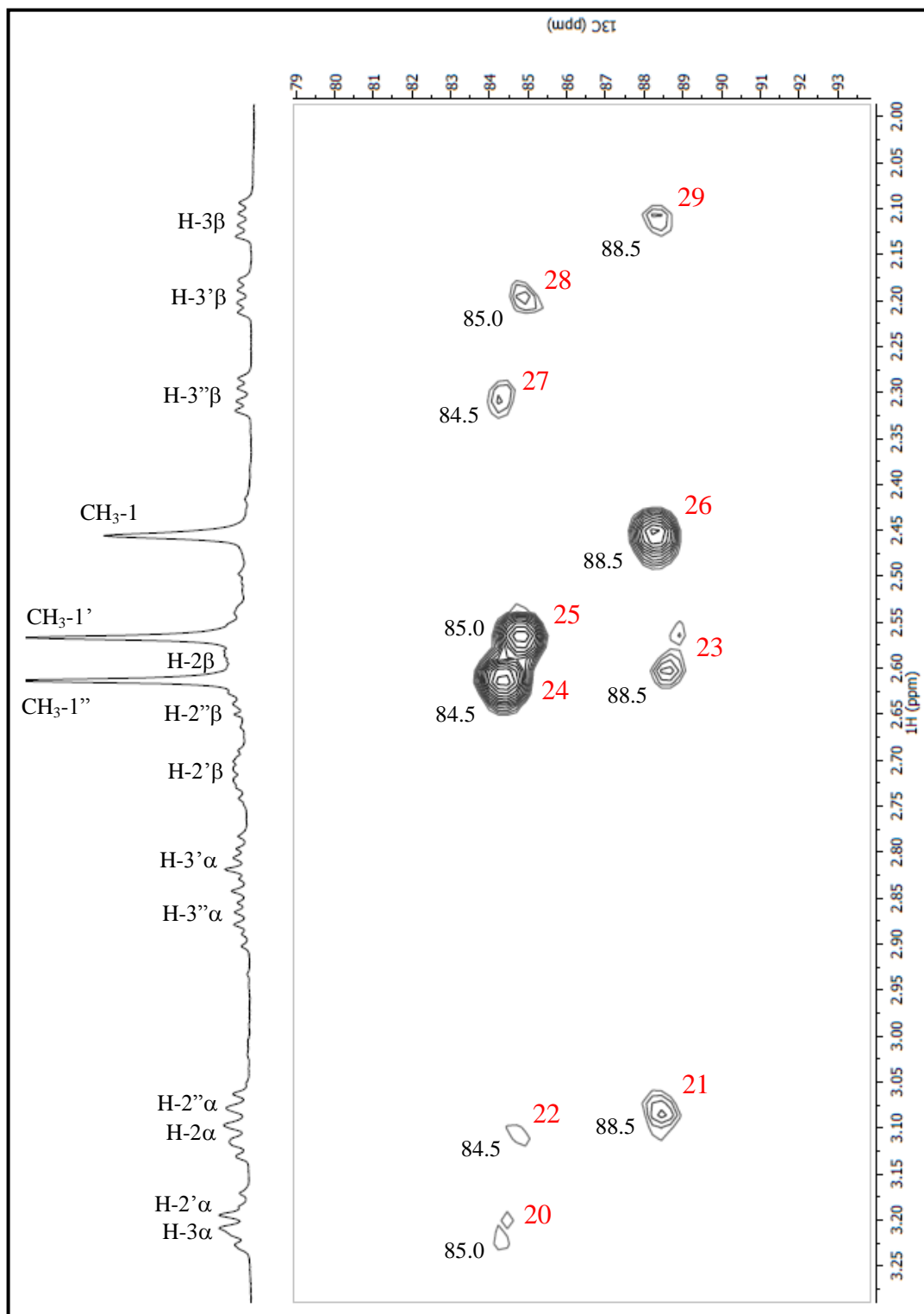
**Figura 103** Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4



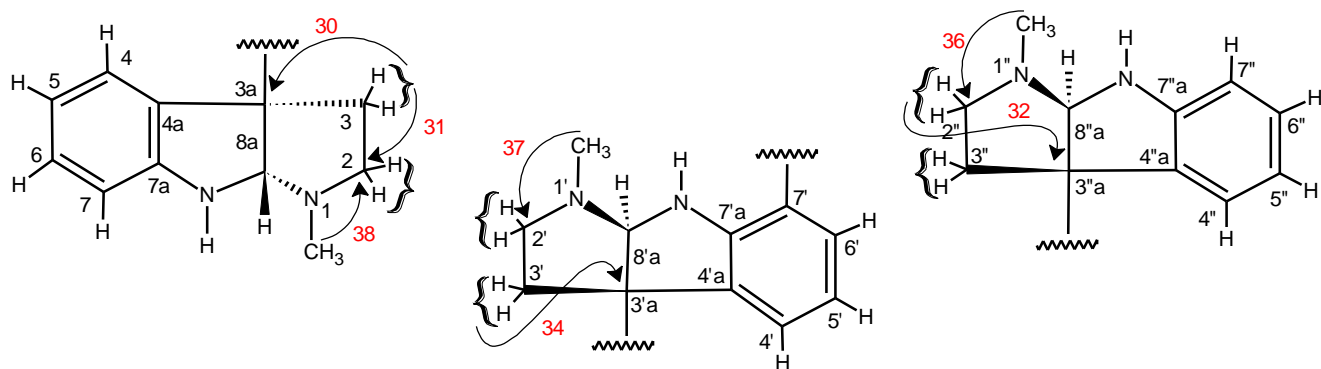
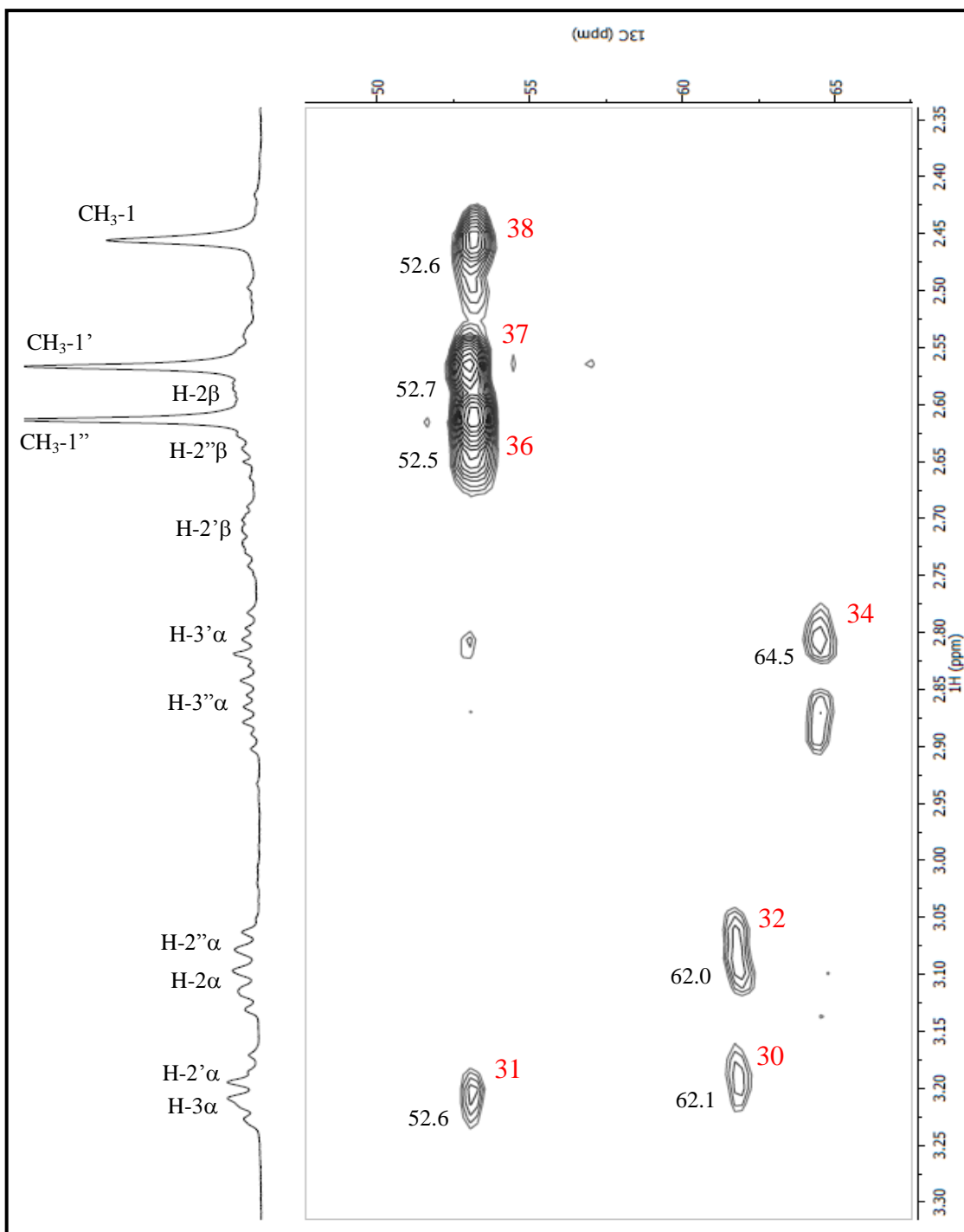
**Figura 104** Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

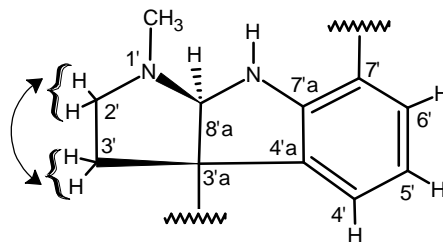
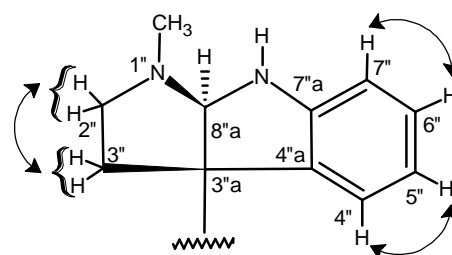
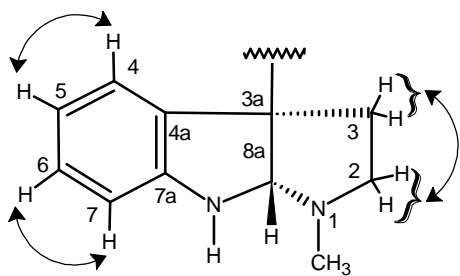
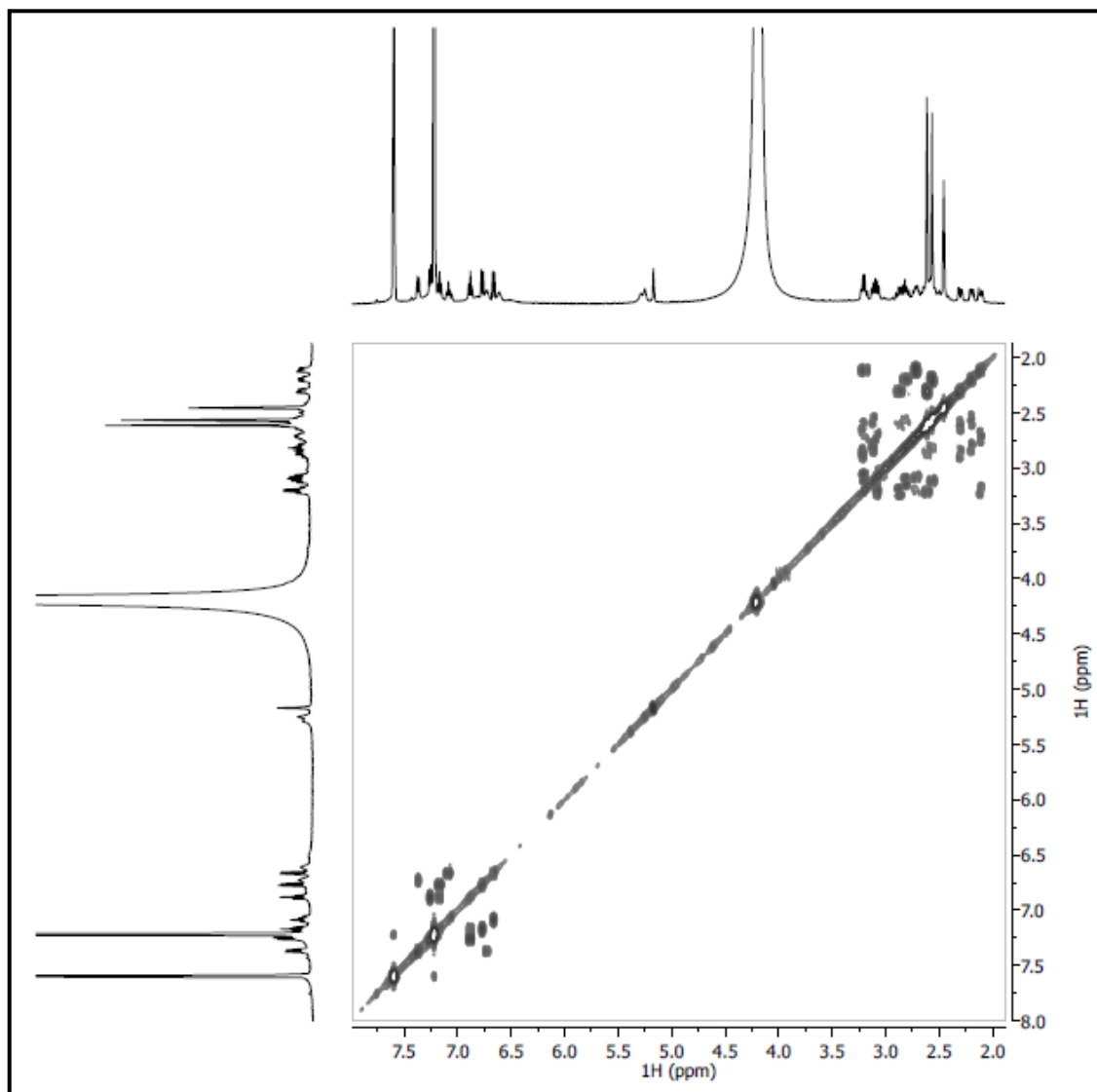


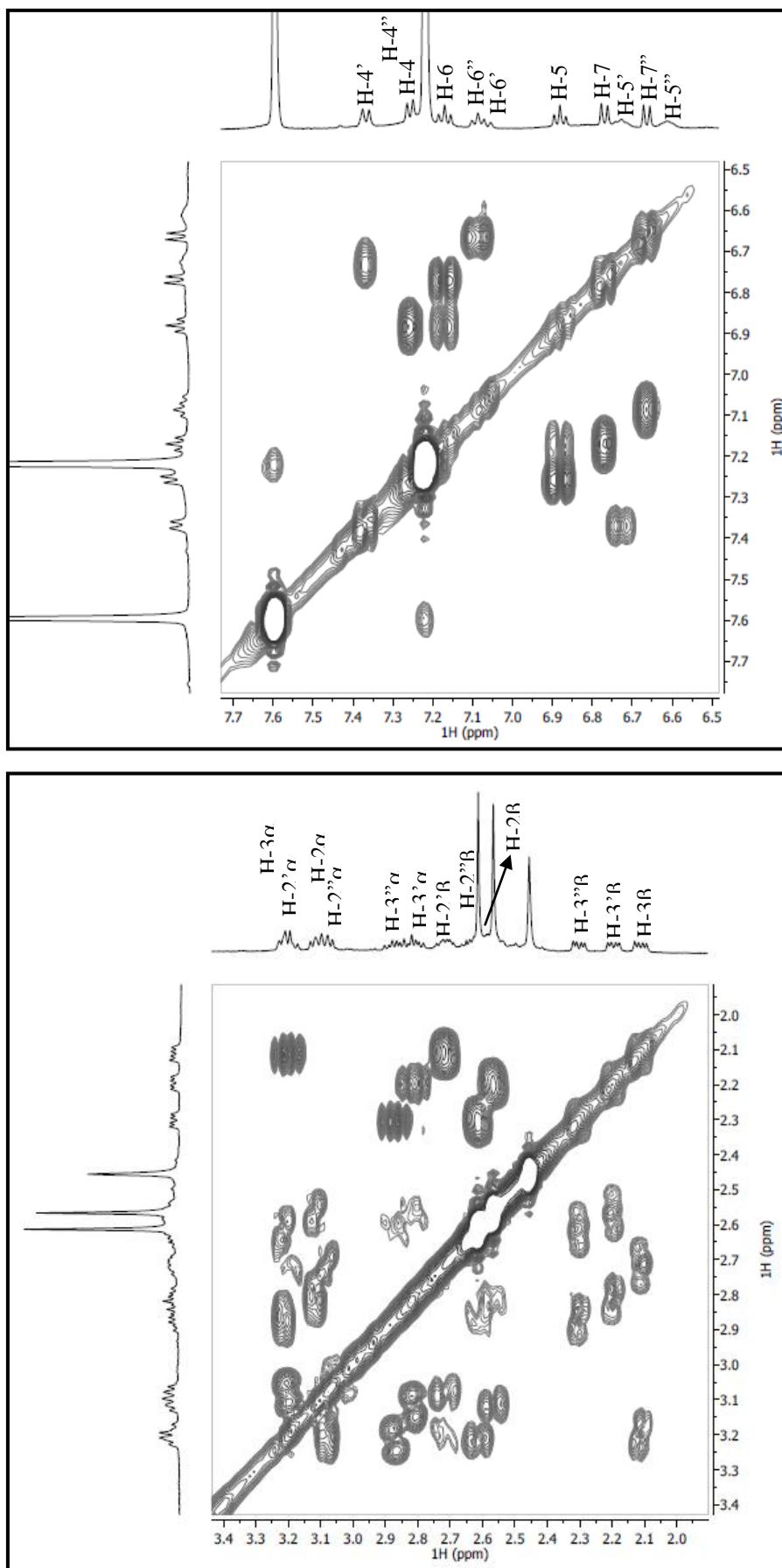
**Figura 105** Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4



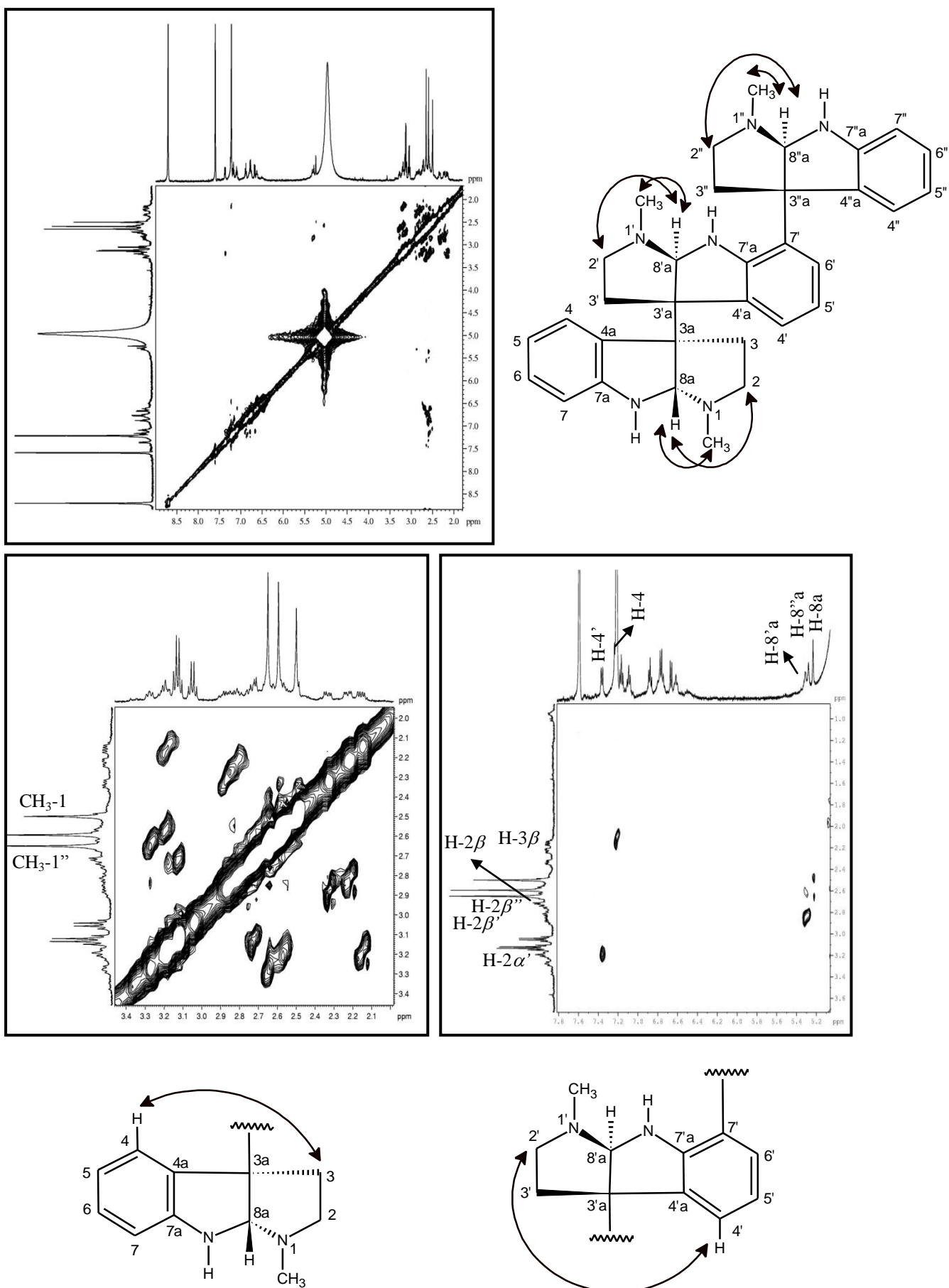
**Figura 106** Expansão do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4



**Figura 107** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

**Figura 108** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4

**Figura 109** Espectro e expansões de RMN-NOESY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-A 4





### 5.5 Determinação Estrutural de MCT-NB 1

A fração MCTE-NB, sólido marrom originado da partição líquido-líquido do extrato etanólico dos talos de *M. carrascoana*, foi submetida a cromatografias de exclusão molecular, adsorção e purificada em CLAE (fase reversa), resultando na obtenção de um sólido amarelo (6,7 mg), denominado MCT-NB 1 (p.f. 123,4 - 125,6 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -14,5^\circ$ , MeOH, *c* 0,37) (item 4.6.3.3, p. 81).

O espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-NB 1 (fig. 112, p. 168) mostrou uma banda larga em  $3326\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila; bandas esqueléticas em 1603, 1513 e  $1452\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação de aromático; absorção em  $1264$  e  $1212\text{ cm}^{-1}$  referentes às deformações axiais C-O; bandas em  $1067$  e  $1029\text{ cm}^{-1}$  relacionadas à deformação angular C-H de aromático e deformações axiais em  $2934$  e  $2877\text{ cm}^{-1}$  de C-H alifático.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1 (fig. 114, p. 169) foram observados sinais na região de hidrogênios heterosídicos e metilênicos oxigenados ( $\delta$  4,90-3,40), um duplete em  $\delta$  5,55 (d,  $J = 5,8$  Hz, H-7) relacionado a hidrogênio oximetínico, três conjuntos de sinais em  $\delta$  7,14 (d,  $J = 8,4$  Hz, H-5), 7,03 (d,  $J = 1,9$  Hz, H-2) e 6,93 (dd,  $J = 8,4; 1,9$  Hz, H-6), atribuídos a hidrogênios pertencentes a anel aromático 1,3,4-trissubstituído.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$ , mostrou ainda dois simpletos em  $\delta$  6,73 (s, H-2') e 6,72 (s, H-6'), compatíveis com um anel aromático tetrassubstituído com hidrogênios *meta*-posicionados e dois sinais intensos em  $\delta$  3,86 (s, H-10') e  $\delta$  3,83 (s, H-10), característicos de hidrogênios metoxílicos, além de dois conjuntos de sinais em  $\delta$  2,63 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H-7') e  $\delta$  1,81 (m, 2H-8'), referentes a hidrogênios alifáticos.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1 (fig. 116, p. 170) apresentou 26 linhas espectrais, sendo cinco atribuídos a carbonos  $\text{sp}^2$  oxigenados:  $\delta$  151,1 (C-3); 147,8 (C-4); 147,7 (C-4') e 145,4 (C-3').

A análise em conjunto dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (fig. 117, p. 170), revelou a presença de doze carbonos metínicos, dos quais cinco foram relacionados a carbonos  $\text{sp}^2$  [ $\delta$  119,5 (C-6); 118,3 (C-5); 118,1 (C-6'); 114,4 (C-2') e 111,4 (C-2)] e sete carbonos  $\text{sp}^3$ , sendo seis oxigenados em  $\delta$  102,9 (C-1''); 88,6 (C-7); 78,4 (C-5''); 78,0 (C-3''); 75,1 (C-2'') e 71,5 (C-4'') e um não-oxigenado em  $\delta$  55,8 (C-8), sugerindo a

estrutura da glicose, tendo o carbono em  $\delta$  102,9 como carbono anomérico (C-1'') e o sinal em  $\delta$  88,6 (C-7) relacionado ao grupo oximetínico.

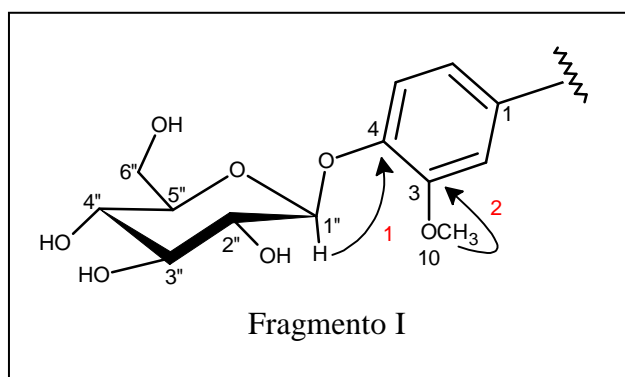
Foram observados ainda cinco sinais referentes a carbonos metilênicos, sendo três oxigenados  $\delta$  65,2 (C-9), 62,7 (C-6''), 62,4 (C-9') e dois não-oxigenados  $\delta$  35,9 (C-8') e 33,0 (C-7') e dois carbonos metílicos oxigenados  $\delta$  56,8 (C-10) e 56,9 (C-10'), corroborando com a existência de duas metoxilas. As demais absorções de  $^{13}\text{C}$  em  $\delta$  138,6 (C-1), 129,8 (C-5') e 137,2 (C-1'), ausentes no espectro DEPT 135, foram determinadas como sendo de carbonos aromáticos não hidrogenados.

A reunião dos dados espectroscópicos de MCT-NB 1 até então descritos, permitiu a dedução da fórmula molecular  $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a dez, confirmado pelo pico do aduto molecular em  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z$  545,2058 e  $[\text{M}+\text{K}]^+$   $m/z$  561,1753, no espectro de massas (EM-IES, **fig. 113, p. 168**).

O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação RMN-HSQC (**fig. 118, p. 171**), permitiu a correlação inequívoca dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ) (**tab. 21, p. 167**), além da correlação do hidrogênio em  $\delta$  4,88 (H-1'') com o carbono em  $\delta$  102,9 (C-1''), confirmando presença do hidrogênio acetálico. A correlação do duplete em  $\delta$  5,55 (H-7) com o carbono em  $\delta$  88,6 (C-7) ratificou a existência de um grupo oximetínico.

No espectro de correlação heteronuclear à longa distância ( $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$ ) RMN-HMBC (**fig. 120, p. 172**), foram observado acoplamentos do hidrogênio anomérico em  $\delta$  4,88 (H-1'') com o carbono em  $\delta$  147,8 (C-4), dos hidrogênios da metoxila  $\delta$  3,83 (H-10) com o carbono em  $\delta$  151,1 (C-3) (**fragmento I**) (**fig. 110, tab. 21, p. 167**).

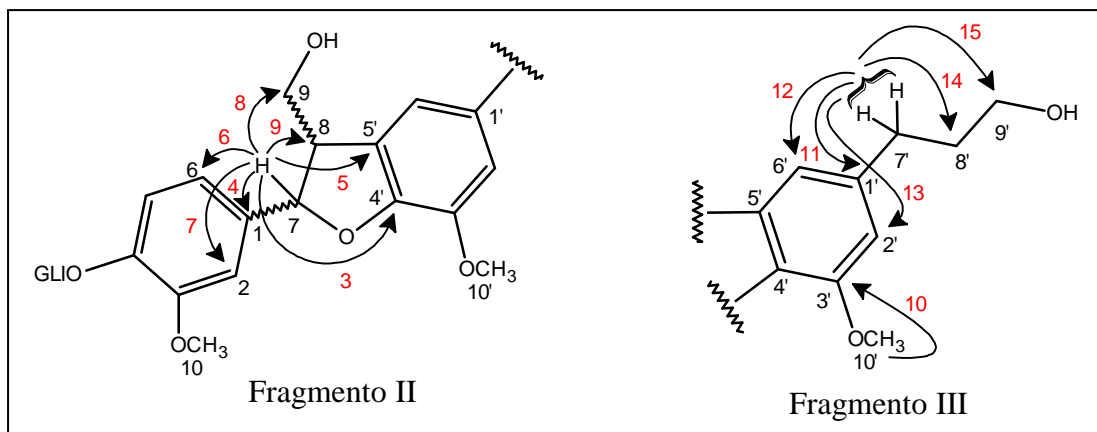
**Figura 110** Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCT-NB 1 para o posicionamento da unidade glicosídica e da metoxila



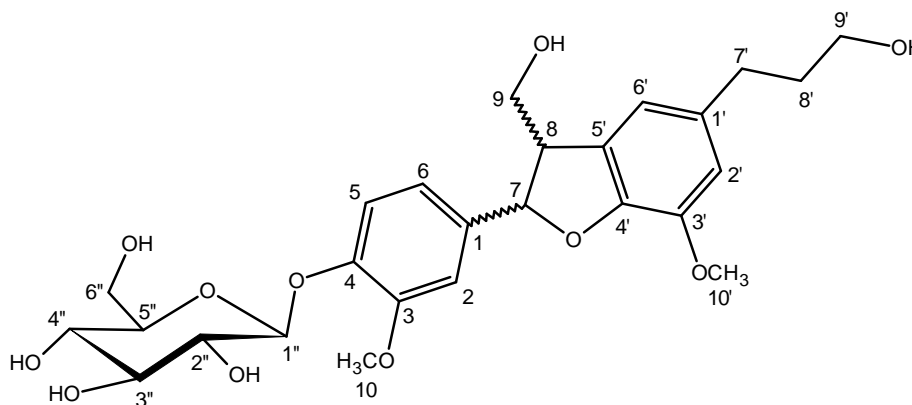
Foram observados ainda acoplamentos do hidrogênio oximetínico em  $\delta$  5,55 (H-7) com os carbonos em  $\delta$  147,7 (C-4'), 138,6 (C-1), 129,8 (C-5'), 119,5 (C-6), 111,4 (C-2), 65,2 (C-9) e 55,8 (C-8) (**fragmento II**); além das correlações dos hidrogênios da metoxila em  $\delta$  3,86 (H-10') com o carbono em  $\delta$  145,4 (C-3') e dos hidrogênios em  $\delta$  2,63 (H-7') com os

carbonos em  $\delta$  137,2 (C-1'), 118,1 (C-6'), 114,4 (C-2'), 35,9 (C-8') e 62,4 (C-9') (**fragmento III**) (fig. 111).

**Figura 111** Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCT-NB 1



A análise dos dados discutidos, aliada à comparação com dados da literatura, permitiu identificar MCT-NB 1 como sendo a neolignana álcool 4-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-di-hidro-desidrodiconiferílico isolada anteriormente das folhas de *Viburnum awabuki* K. Koch (MATSUDA *et al.*, 1996).



álcool 4-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-di-hidro-desidrodiconiferílico

**Tabela 21** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da literatura

# C	HSQC		HMBC		MATSUDA <i>et al.</i> , 1996
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
<b>C</b>					
1	138,6	-	H-2; H-7	H-5; H-8	138,4
1'	137,2	-	2H-7'	2H-8'	137,1
1''	102,9	4,88 (d*)	H-2''		102,8
2	111,4	7,03 (d, 1,9)		H-6; H-7	112,2
2'	114,4	6,73 (s)		H-6'; 2H-7'	114,3
2''	75,1	3,48 (m)	H-3''		74,4
3	151,1	-	H-2	H-5; H-10	150,9
3'	145,4	-	H-2'	H-10'	145,2
3''	78,0	3,47 (m)	H-2''		78,2
4	147,8	-	H-5	H-6; H-2; H-1''	147,6
4'	147,7	-		H-7; H-2'; H-6'	147,5
4''	71,5	3,40 (m)	H-3''	2H-6''	71,3
5	118,3	7,14 (d, 8,4)			118,2
5'	129,8	-	H-6'; H-8	H-7; 2H-9	129,6
5''	78,4	3,40 (m)	H-4''; 2H-6''		77,8
6	119,5	6,93 (dd, 8,4; 1,9)		H-2; H-7	119,4
6'	118,1	6,72 (s)		H-2'; 2H-7'	118,0
6''	62,7	3,67; 3,88			62,5
7	88,6	5,55 (d, 5,8)	H-8	2H-9	88,5
7'	33,0	2,63 (t, 7,3)	2H-8'	H-2'; 2H-9'	32,9
8	55,8	3,43 (m)	H-7; 2H-9	H-6'	55,6
8'	35,9	1,81 (m)	H-7'; 2H-9'		35,8
9	65,2	3,74; 3,82	H-8	H-7	65,1
9'	62,4	3,57 (t, 6,4)	2H-8'	2H-7'	62,2
10	56,8	3,83 (s)			56,7
10'	56,9	3,86 (s)			56,8

\*O outro pico do sinal do H-1'' está encoberto pelo sinal da  $\text{H}_2\text{O}$

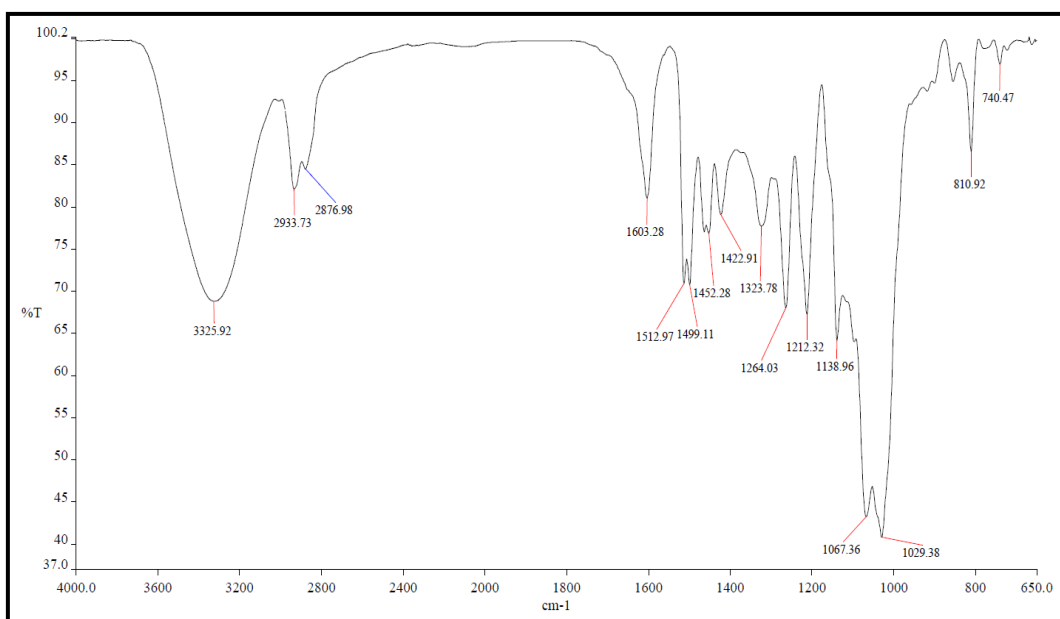
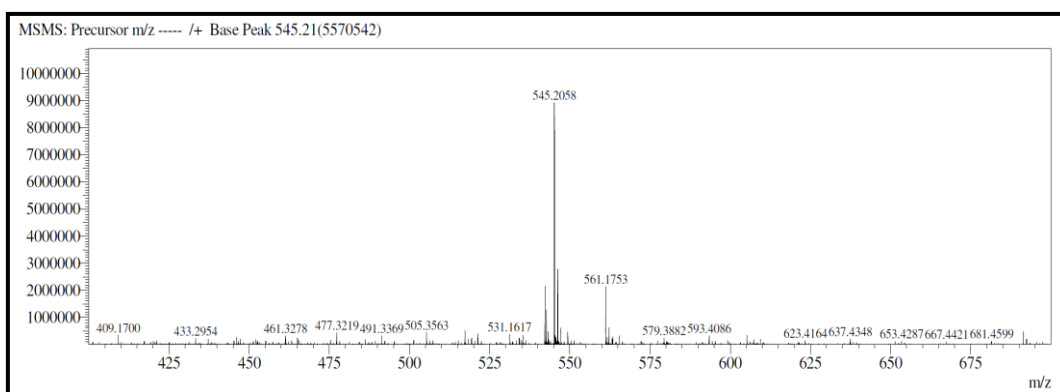
**Figura 112** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-NB 1**Figura 113** Espectro de massas de alta resolução de MCT-NB 1

Figura 114 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1

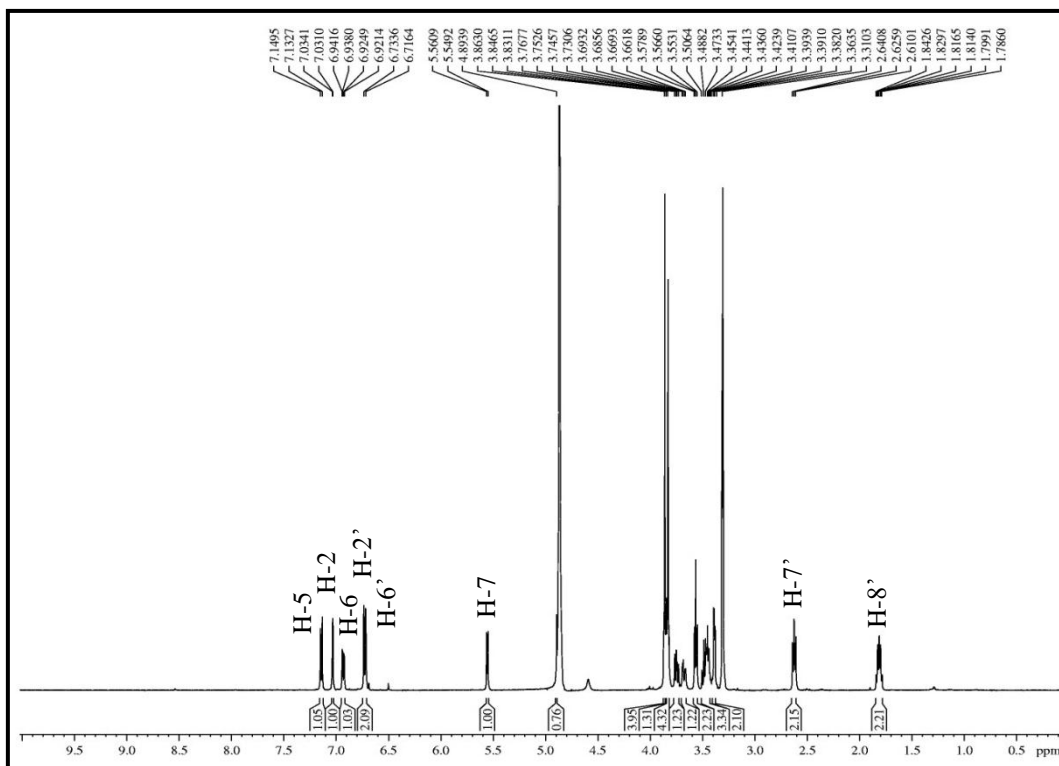
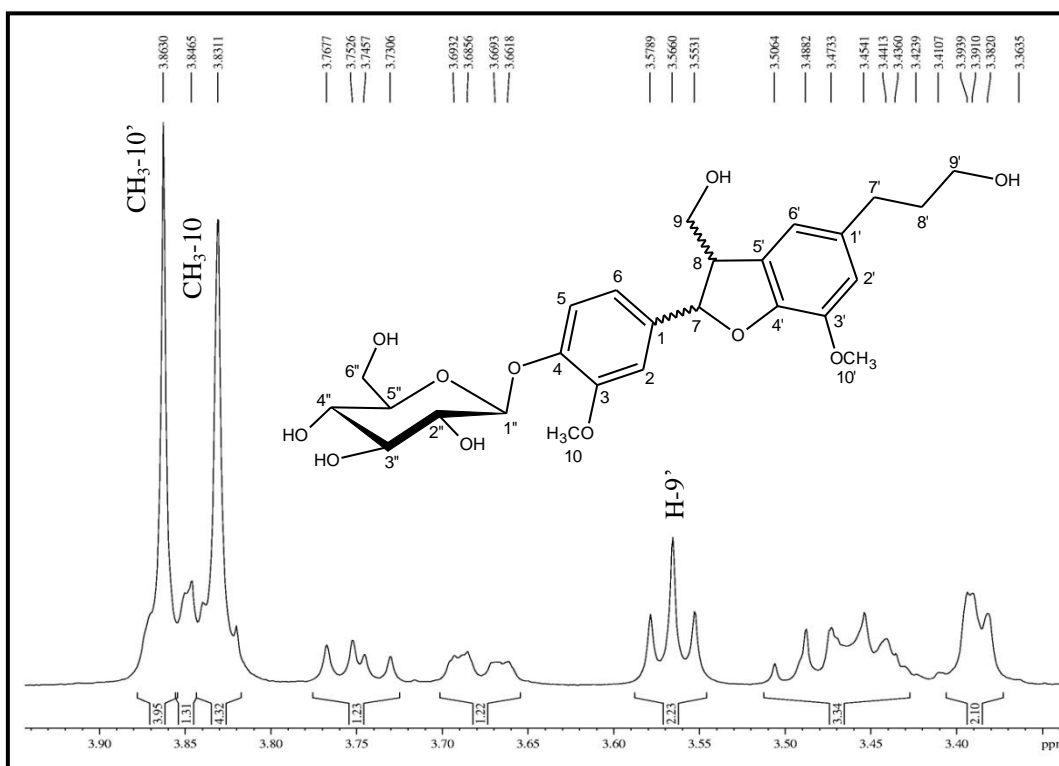
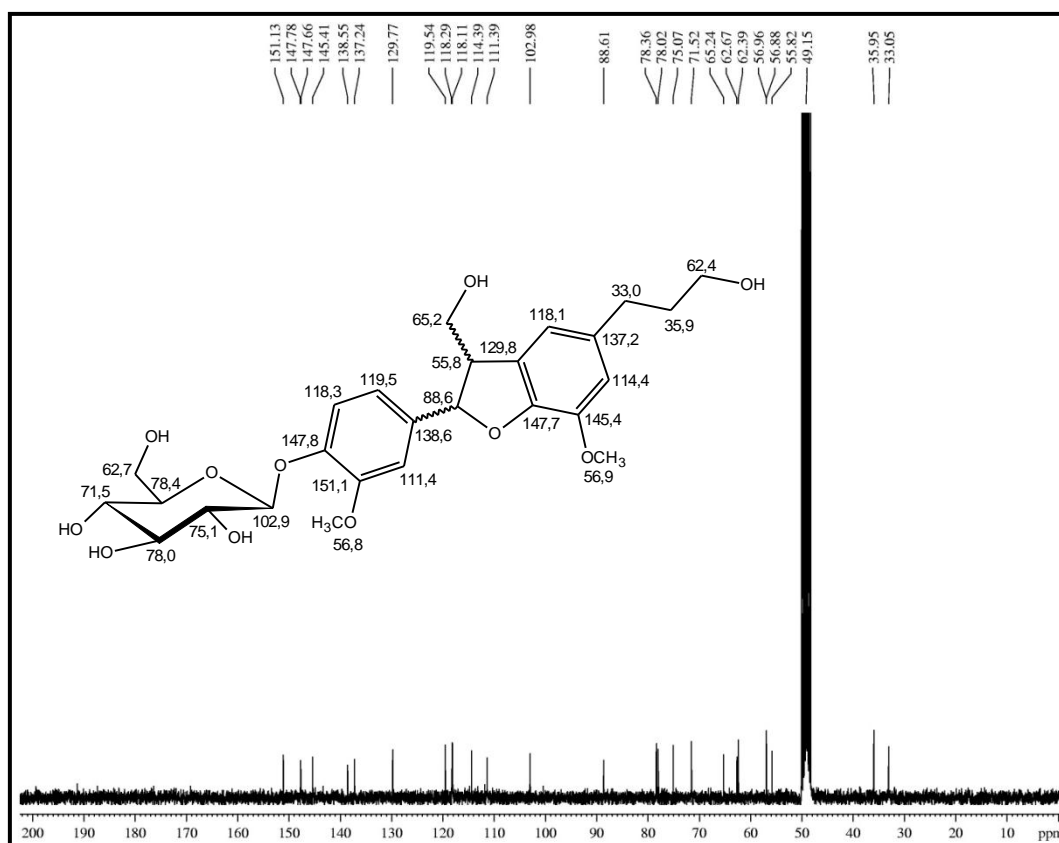


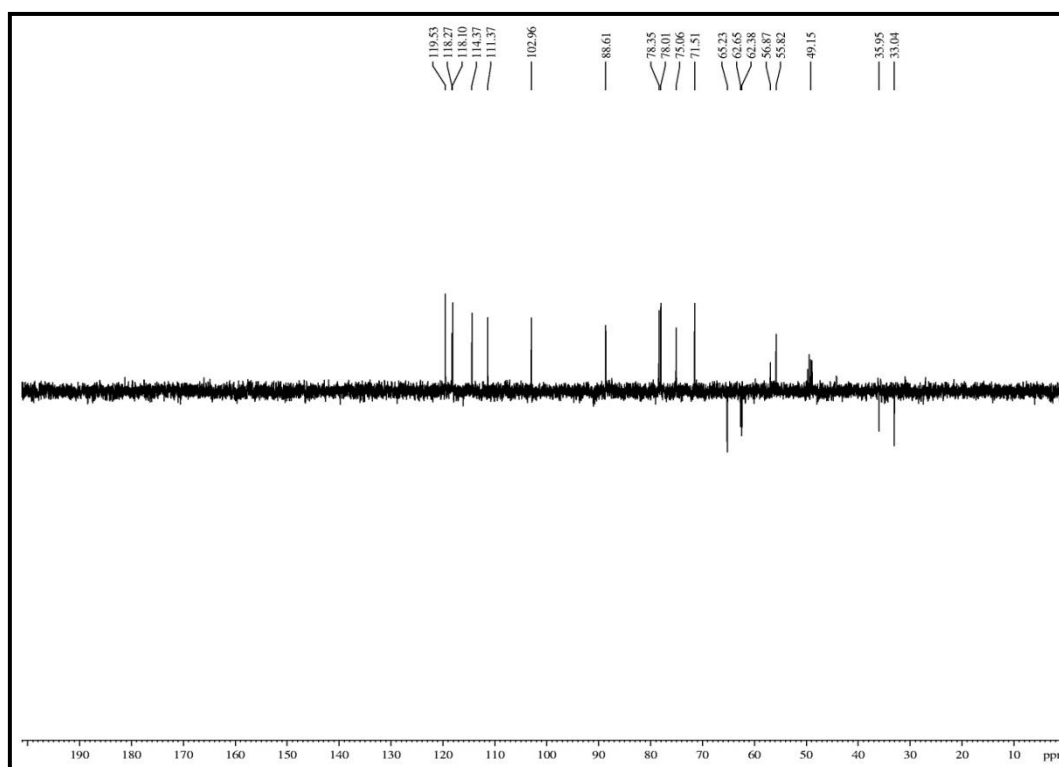
Figura 115 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1



**Figura 116** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1



**Figura 117** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de MCT-NB 1



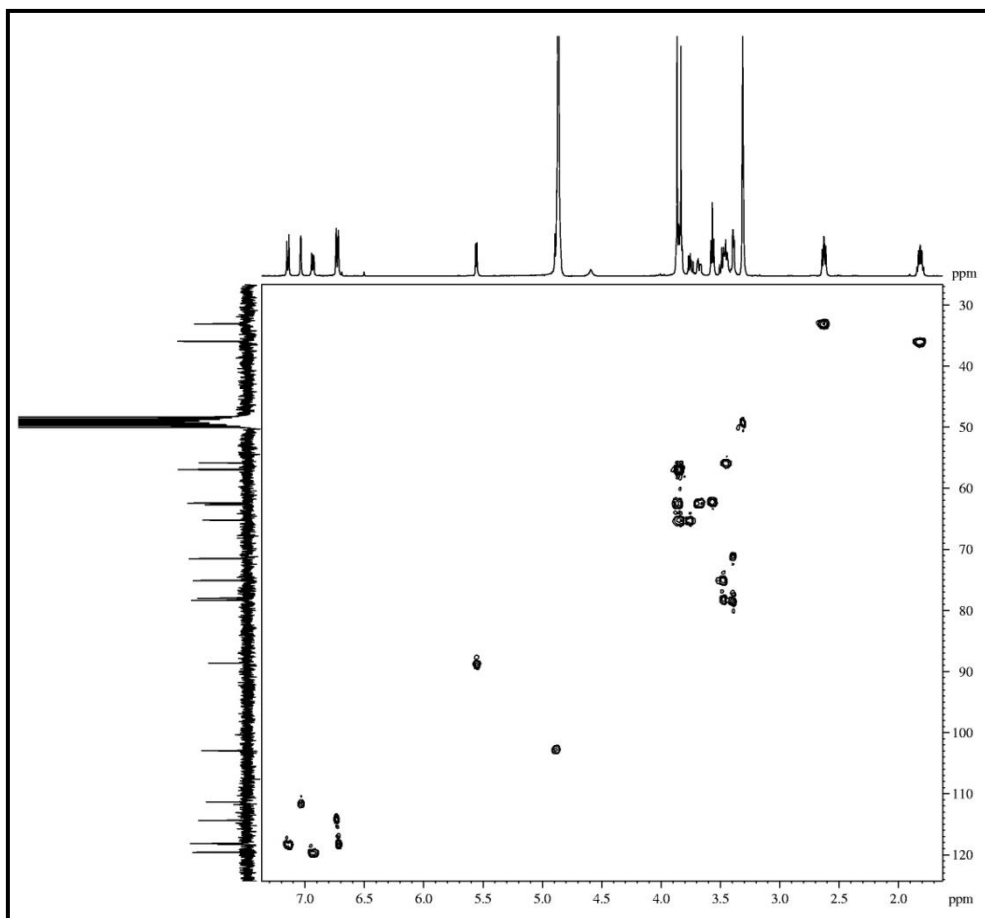
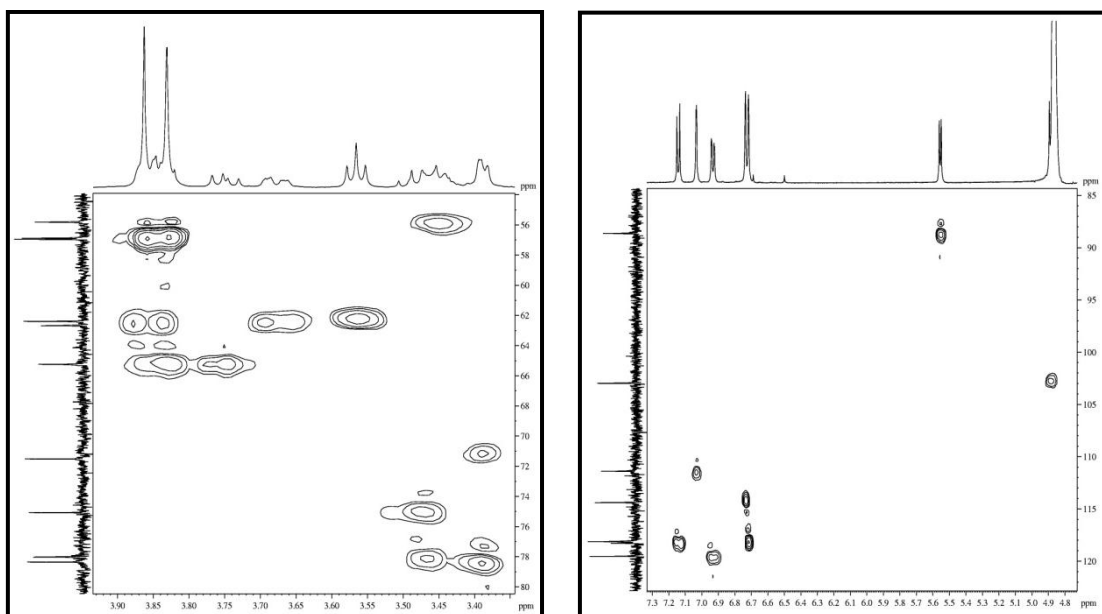
**Figura 118** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-NB 1**Figura 119** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-NB 1



Figura 120 Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-NB 1

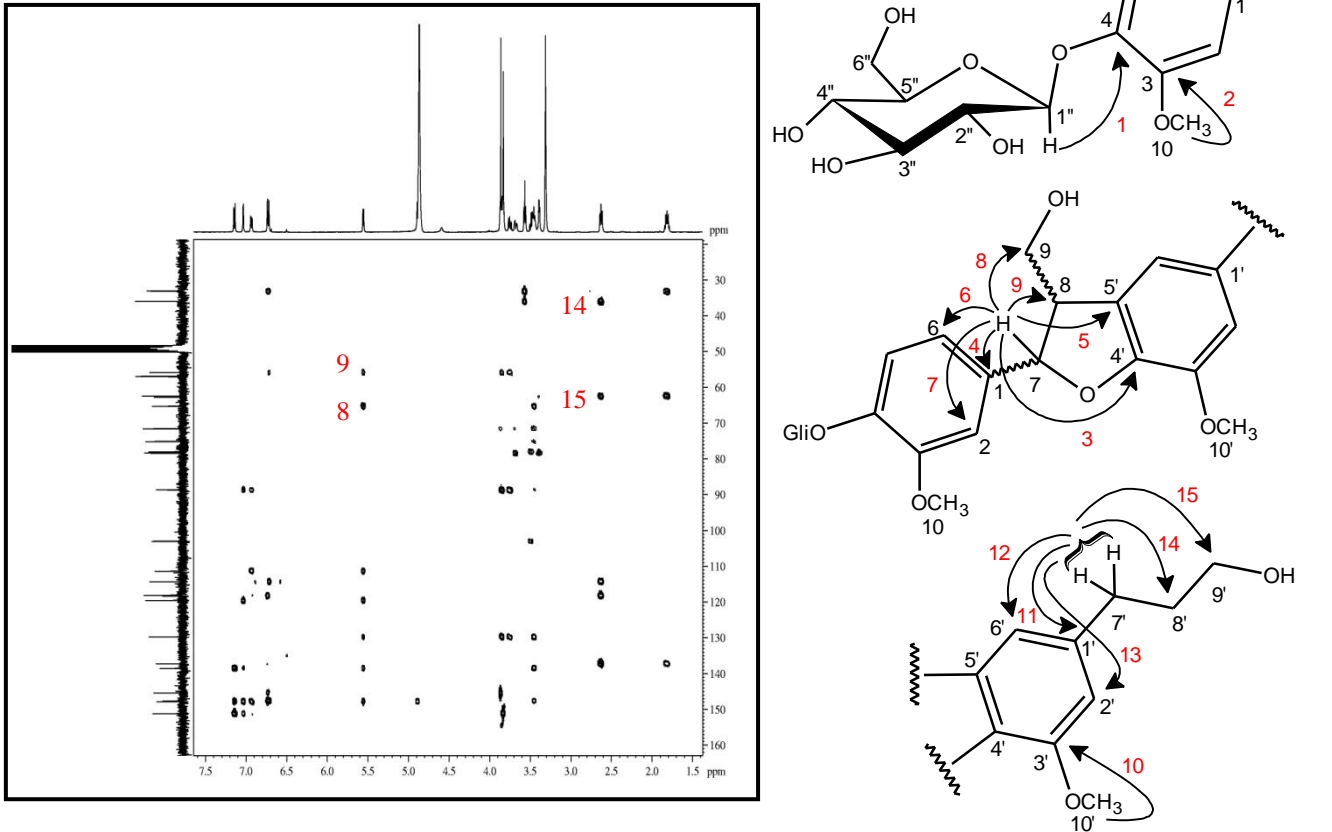
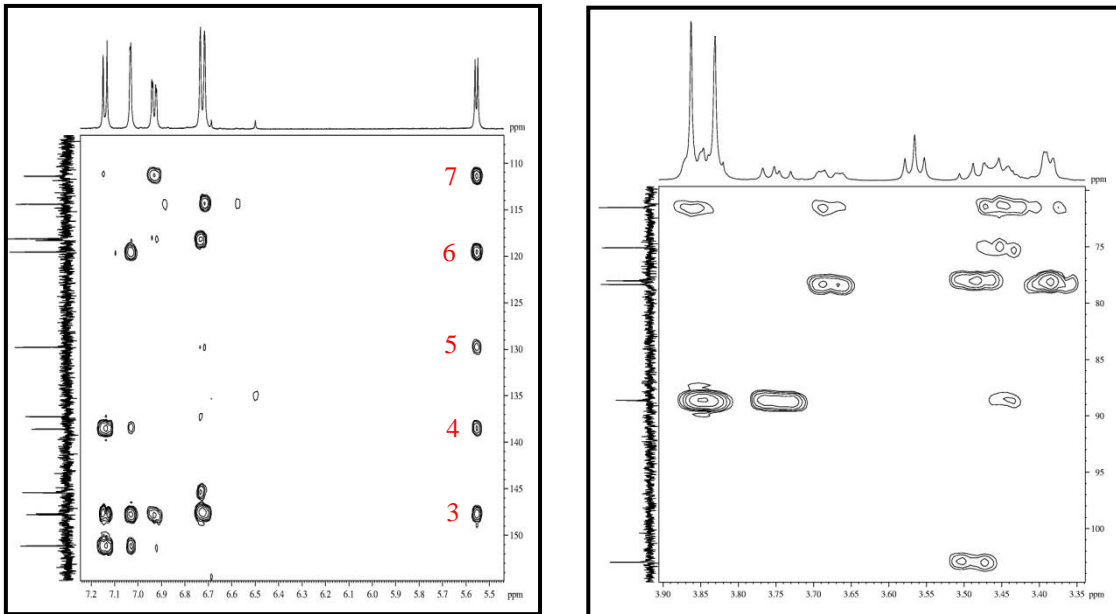
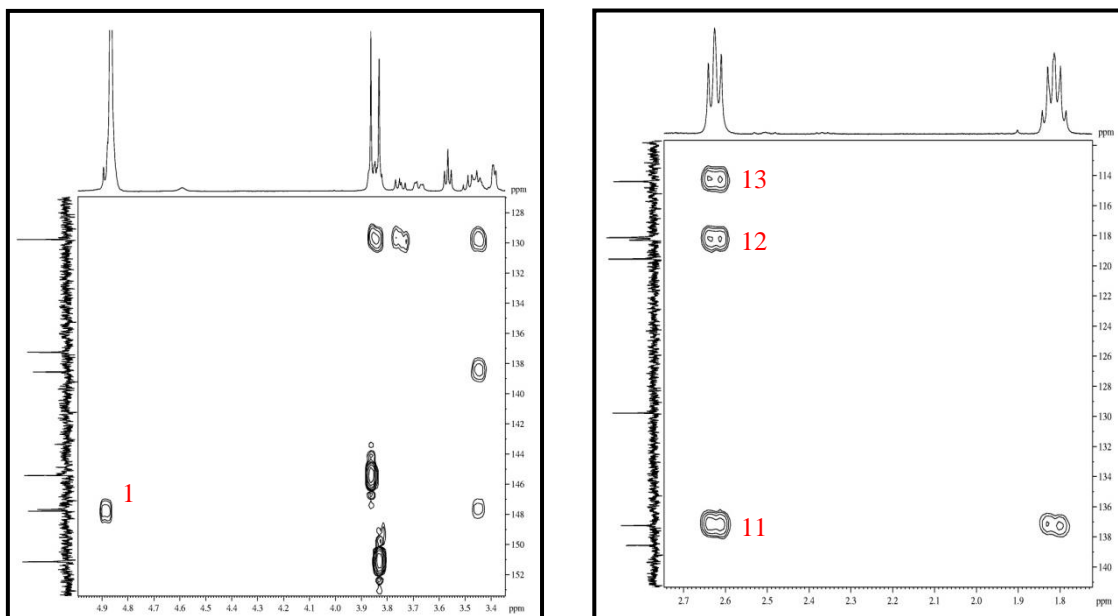
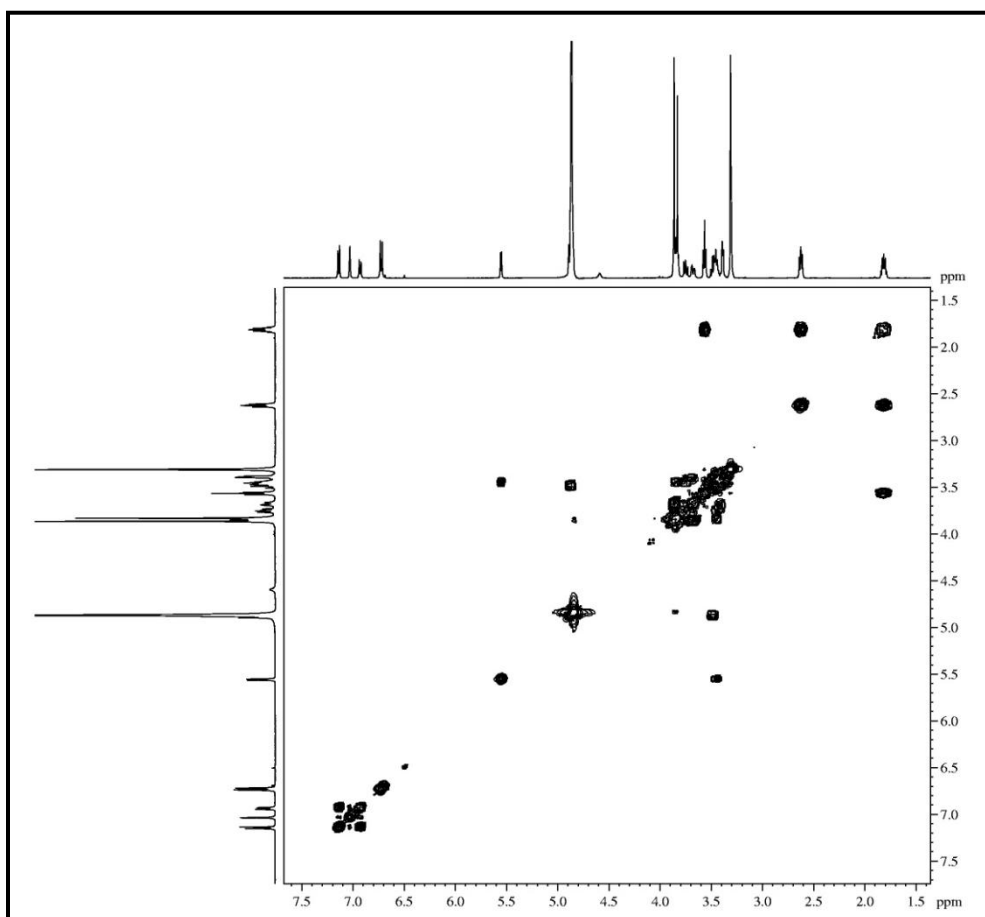


Figura 121 Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-NB 1



**Figura 122** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-NB 1**Figura 123** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de MCT-NB 1

## 5.6 Determinação Estrutural de MCT-NB 2

O tratamento cromatográfico da fração MCTE-NB, através de cromatografias de exclusão molecular, adsorção e purificada em CLAE (fase reversa), possibilitou o isolamento de um sólido amorfo amarelo (5,3 mg), denominado MCT-NB 2 (p.f. 245,1 - 247,6 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -47,9^\circ$ , MeOH, *c* 0,1) (ítem 4.6.3.4, p. 82).

O espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-NB 2 (fig. 126, p. 178) mostrou uma banda larga em 3269  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila; absorção em 1655  $\text{cm}^{-1}$  relativa à deformação axial C=O, corroborando com a presença de uma carbonila. Este espectro relevou ainda bandas esqueléticas em 1599, 1499 e 1448  $\text{cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação de aromático; absorção em 1256 e 1180  $\text{cm}^{-1}$  referentes às deformações axiais C-O; bandas em 1060, 1038  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas à deformação angular C-H aromático e deformação axial em 2925  $\text{cm}^{-1}$  de C-H alifático.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2 (fig. 128, p. 179) apresentou um conjunto de sinais em  $\delta$  7,91 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2'); 7,53 (dd,  $J = 8,4$  e 2,0 Hz, H-6') e 7,27 (d,  $J = 8,4$  Hz, H-5'), referentes a um sistema aromático de spin ABX, além de dois dupletos em  $\delta$  7,04 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-8) e 6,98 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-6), compatíveis com hidrogênios aromáticos *meta*-posicionados. A presença de sinais na região de hidrogênios heterosídicos ( $\delta$  4,82-4,11), aliada à existência de dois sinais de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos em  $\delta$  6,40 (s, H-1'') e 5,75 (d,  $J = 7,7$  Hz, H-1''), sugeriram a presença de duas unidades glicosídicas.

O sinal de hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,75, duplete com constante de acoplamento  $J = 7,7$  Hz, evidenciou a presença de uma unidade de glicose com configuração  $\beta$ . A presença do duplete intenso em  $\delta$  1,81 (d,  $J = 6,2$  Hz, 3H-6'''), sugeriu a existência de uma unidade ramnosídica. A análise do espectro RMN  $^1\text{H}$  mostrou ainda um simpleto largo em campo baixo  $\delta$  13,60 (s, HO-5), característico de hidrogênio de hidroxila quelada com carbonila.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2 (fig. 130, p. 180) apresentou 27 linhas espectrais, sendo a absorção  $\delta$  183,1 (C-4) associada a uma carbonila de cetona conjugada e seis sinais atribuídos a carbonos  $\text{sp}^2$  oxigenados:  $\delta$  165,6 (C-2); 163,9 (C-7); 162,9 (C-5); 158,1 (C-9); 152,2 (C-4') e 148,0 (C-3').

A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (fig. 131, p. 180) revelou a presença de dezesseis carbonos metínicos, dos quais seis foram relacionados a

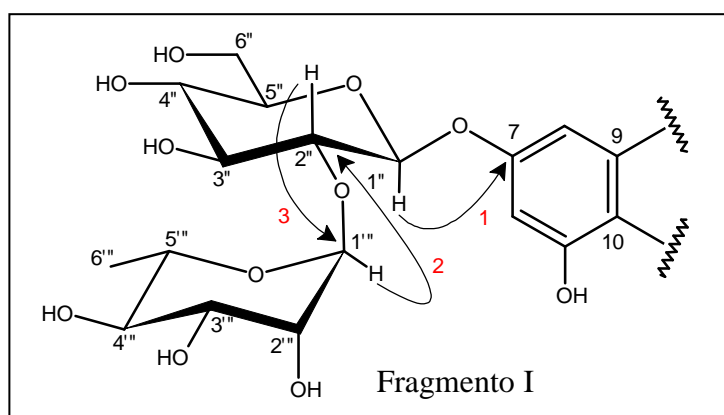
carbonos  $sp^2$  [ $\delta$  120,0 (C-6'); 117,2 (C-5'); 114,9 (C-2'); 104,4 (C-3); 100,8 (C-6) e 95,5 (C-8)] e dez a carbonos  $sp^3$  oxigenados:  $\delta$  102,8 (C-1'''); 99,9 (C-1''); 79,5 (C-5''); 79,3 (C-3''); 78,2 (C-2''); 74,4 (C-4''); 73,0 (C-3'''); 72,7 (C-2'''); 71,5 (C-4'') e 70,3 (C-5'''), corroborando com a existência das duas unidades glicosídicas. Os sinais de carbonos em  $\delta$  102,8 e 99,9 foram relacionados aos carbonos anoméricos (C-1''' e C-1''), além de um carbono metilênico oxigenados em  $\delta$  62,4 (C-6''), e um carbono metílico não oxigenado em  $\delta$  19,2 (C-6''). As demais absorções de  $^{13}C$  em  $\delta$  122,9 (C-1') e 106,9 (C-10), ausentes no espectro DEPT 135, foram determinadas como sendo de carbonos  $sp^2$  não hidrogenados.

A **tabela 22, p. 177** apresenta os deslocamentos químicos de  $^1H$  e  $^{13}C$ , correlacionando os hidrogênios aos seus respectivos carbonos, a partir de informações extraídas do espectro RMN-HSQC (**fig. 132, p. 181**), através do qual se puderam notar as correlações inequívocas dos hidrogênios anoméricos em  $\delta$  6,40 (H-1''') e 5,75 (H-1''), com seus respectivos carbonos em  $\delta$  102,8 (C-1''') e 99,9 (C-1'').

A partir dos dados espectroscópicos descritos para MCT-NB 2, foi possível deduzir a fórmula molecular  $C_{27}H_{30}O_{15}$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a treze. Esta informação foi confirmada pela presença do pico molecular  $[M-H]^-$   $m/z$  593,1525 e do aduto molecular  $[M+Cl]^-$   $m/z$  629,1251, no espectro de massas de MCT-NB 2 (EM-IES, **fig. 127, p. 178**).

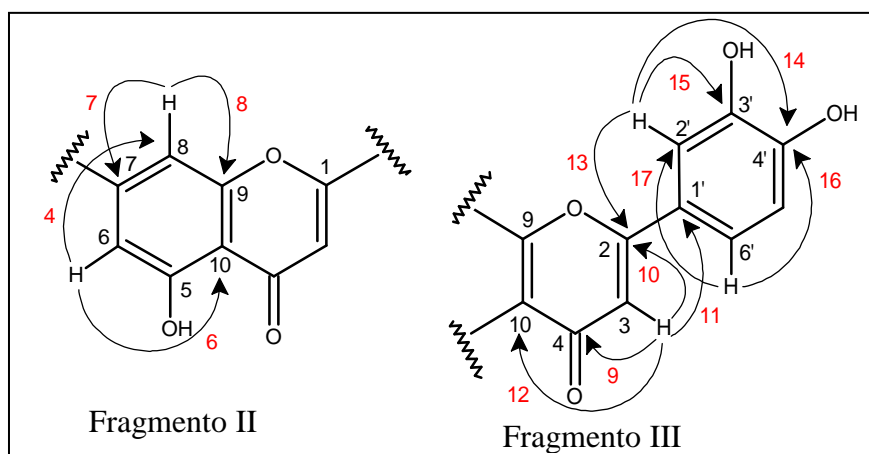
A correlação entre o hidrogênio anomérico  $\delta$  5,75 (H-1'') e o carbono aromático  $\delta$  163,9 (C-7), registrada no espectro heteronuclear a longa distância ( $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$ ) RMN-HMBC de MCT-NB 2 (**fig. 134, p. 182**), permitiu identificar a posição da ligação heterosídica. A presença da ramnose ligada no C-2'' foi definitivamente determinada pela correlação do hidrogênio anomérico  $\delta$  6,40 (H-1''') com o carbono glicosídico C-2'', e do sinal de hidrogênio  $\delta$  4,52 (H-2'') com o carbono C-1''', justificando os efeitos sobre os deslocamentos químicos dos carbonos C-2'' (efeito  $\beta$ ) e C-1''' (efeito  $\gamma$ ) (**fragmento I**) (**fig 124**).

**Figura 124** Correlações que definiram a localização das unidades glicosídicas de MCT-NB 2

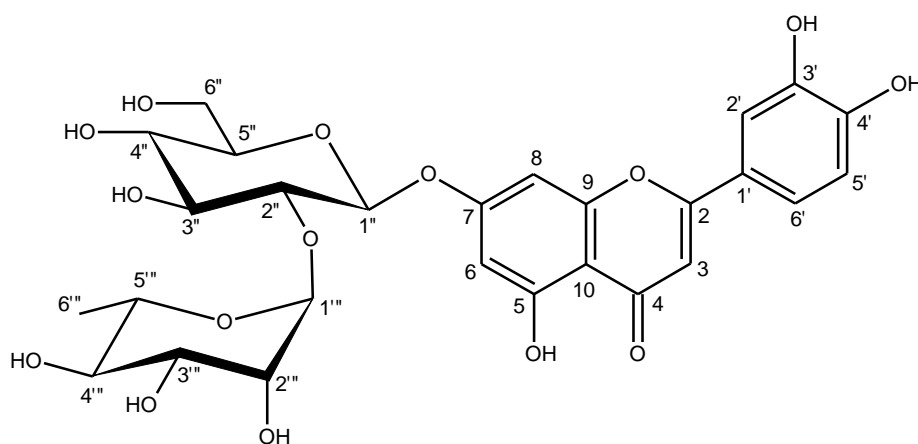


O espectro de HMBC mostrou também as correlações do sinal de hidrogênio em  $\delta$  6,98 (H-6) com os carbonos em  $\delta$  106,9 (C-10) e 95,5 (C-8) e do sinal de hidrogênio em  $\delta$  7,04 (H-8) com os carbonos em  $\delta$  163,9 (C-7) e 158,1 (C-9), permitindo atribuir para estes hidrogênio as posições 6 e 8 no anel A (**Fragmento II**). O hidrogênio em  $\delta$  6,94 (H-3) mostrou correlação com os carbonos  $\delta$  183,1 (C-4), 165,6 (C-2), 122,9 (C-1') e 106,9 (C-10), posicionando o hidrogênio H-3 no anel C (**Fragmento III**). Foi observado ainda acoplamento do hidrogênio  $\delta$  7,91 (H-2') com os carbonos  $\delta$  165,6 (C-2), 152,2 (C-4') e 148,0 (C-3'), do sinal de hidrogênio em  $\delta$  7,53 (H-6') com os carbonos  $\delta$  152,2 (C-4') e 114,9 (C-2') (**Fragmento III**), determinando o padrão de hidrogenação do anel B (**fig. 125, tab. 22, p. 177**).

**Figura 125** Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCT-NB 2



A reunião de todos os dados espectroscópicos e a comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  descritos na literatura, possibilitou identificar MCT-NB 2 como sendo o flavonóide 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil luteolina, pertencente a classe das flavonas, já isolado anteriormente de *Cyclopia subternata* Vogel (Kokotkiewicz *et al.*, 2012).



7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil luteolina

**Tabela 22** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) da literatura descrito para a flavona 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1  $\rightarrow$  6)- $\beta$ -D-glicopiranosil luteolina

# C	HSQC		HMBC		KOKOTKIEWICZ <i>et al.</i> , 2012
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1'	122,9	-		H-5'; H-3	122,0
1''	99,9	5,75 (d, 7,7)	H-2''		101,0
1'''	102,8	6,40 (s)		H-2''	102,0
2	165,6	-	H-3	H-2', H-6'	165,5
2'	114,9	7,91 (d, 2,0)		H-6'	114,0
2''	78,2	4,52 (m)	H-3''	H-1'''	74,5
2'''	72,7	4,82 (s)		H-4'''	71,5
3	104,4	6,94 (s)			103,5
3'	148,0	-	H-2'	H-5'	146,0
3''	79,3	4,40 (t, 9,4)	H-4''	H-5''	77,5
3'''	73,0	4,57 (dd, 9,3; 3,2)	H-2'''; H-4'''	H-1'''	72,0
4	183,1	-	H-3		183,0
4'	152,2	-	H-5'	H-2'; H-6'	150,0
4''	71,5	4,25 (t, 9,4)	H-3''; H-2''		71,0
4'''	74,4	4,35 (t, 9,5)	H-3'''	H-2'''; 3H-6'''	73,0
5	162,9	-			162,0
5'	117,2	7,27 (d, 8,4)			116,5
5''	79,5	4,12 (m)		H-3''	77,0
5'''	70,3	4,80 (m)	H-1'''; H-4'''; 3H-6'''		69,5
6	100,8	6,98 (d, 2,0)		H-8	100,0
6'	120,0	7,53 (dd, 8,4; 2,0)		H-2'	119,5
6''	62,4	4,51 (d, 12,5) 4,33 (dd, 12,5; 5,3)		H-4''	67,0
6'''	19,2	1,81 (d, 6,2)		H-4'''	18,5
7	163,9	-	H-8; H-1''		164,0
8	95,5	7,04 (d, 2,0)		H-6	95,5
9	158,1	-	H-8		157,0
10	106,9	-		H-8; H-6; H-3	106,0
HO-5	-	13,60 (sl)			

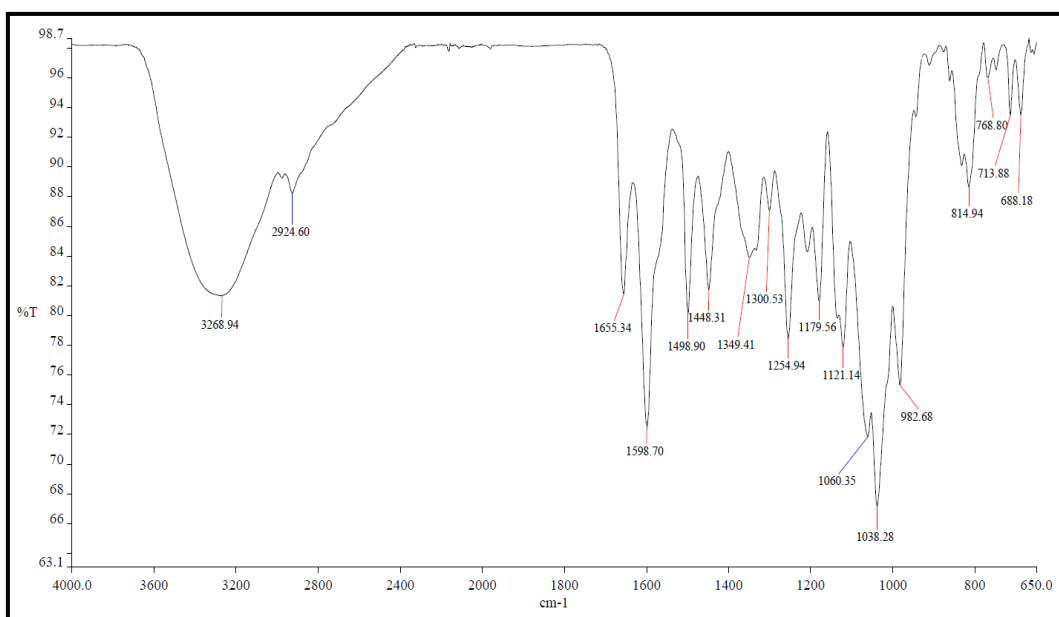
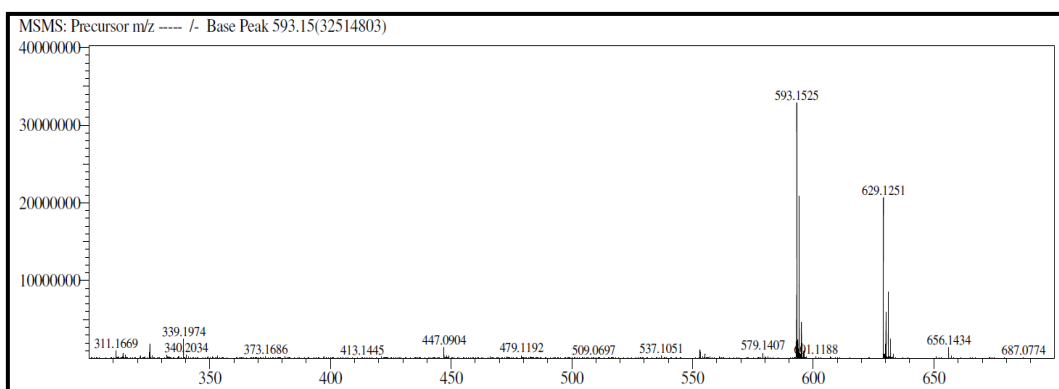
**Figura 126** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-NB 2**Figura 127** Espectro de massas de alta resolução de MCT-NB 2

Figura 128 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2

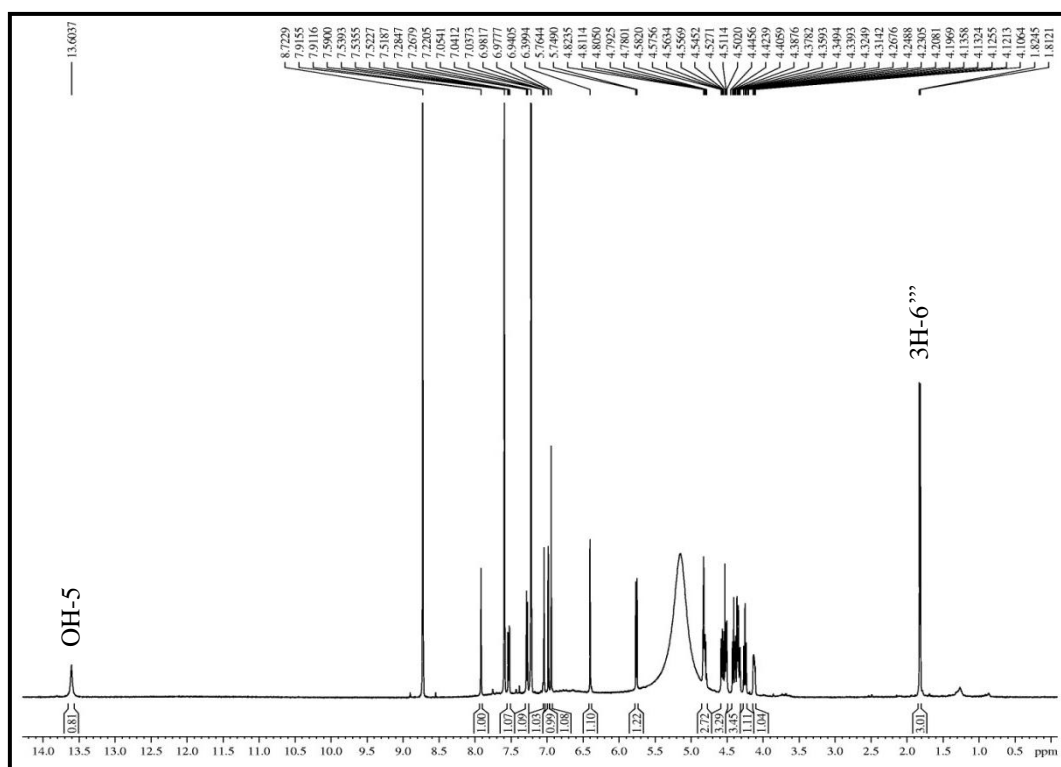
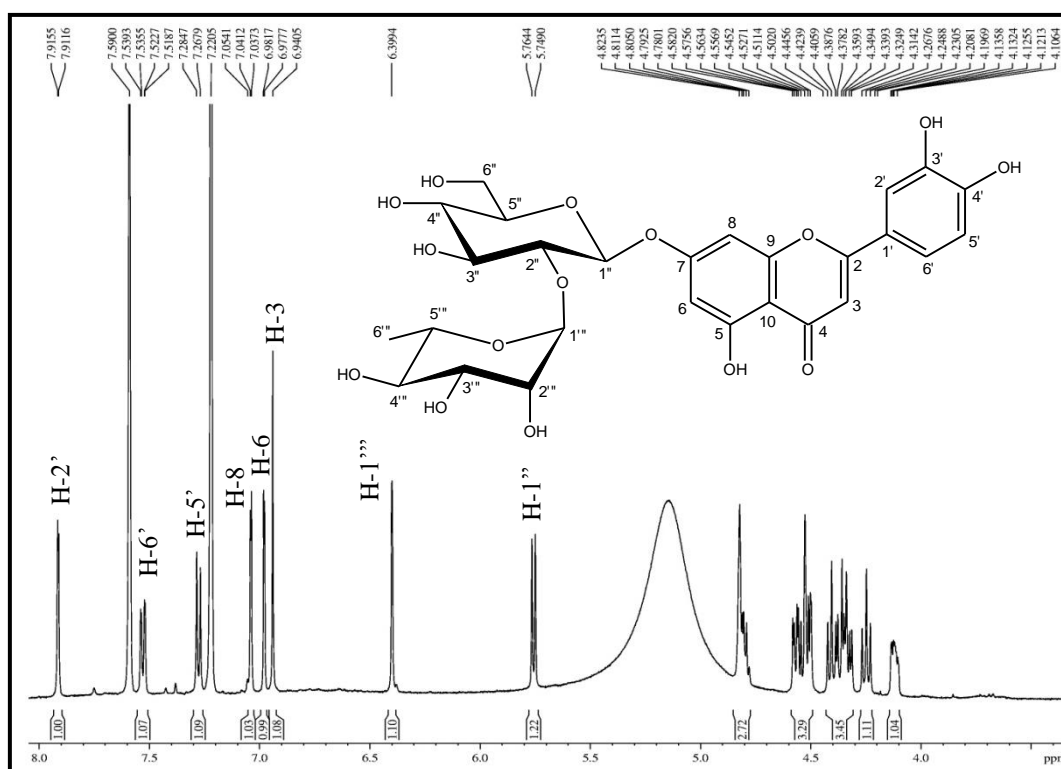
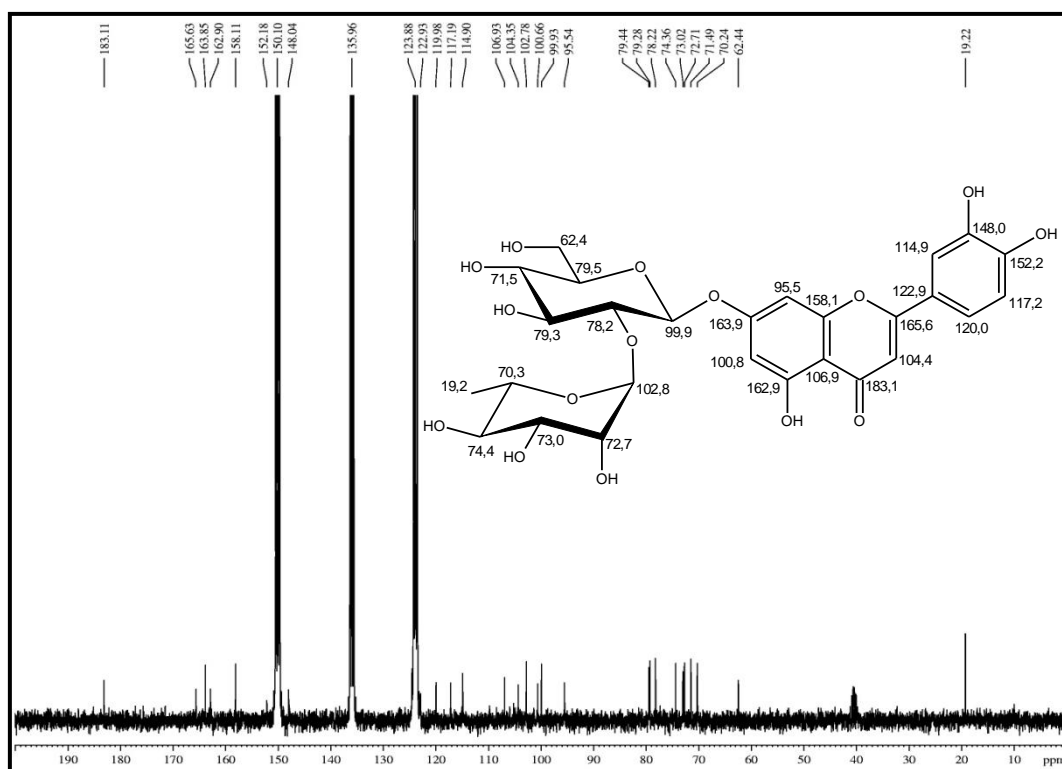


Figura 129 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2

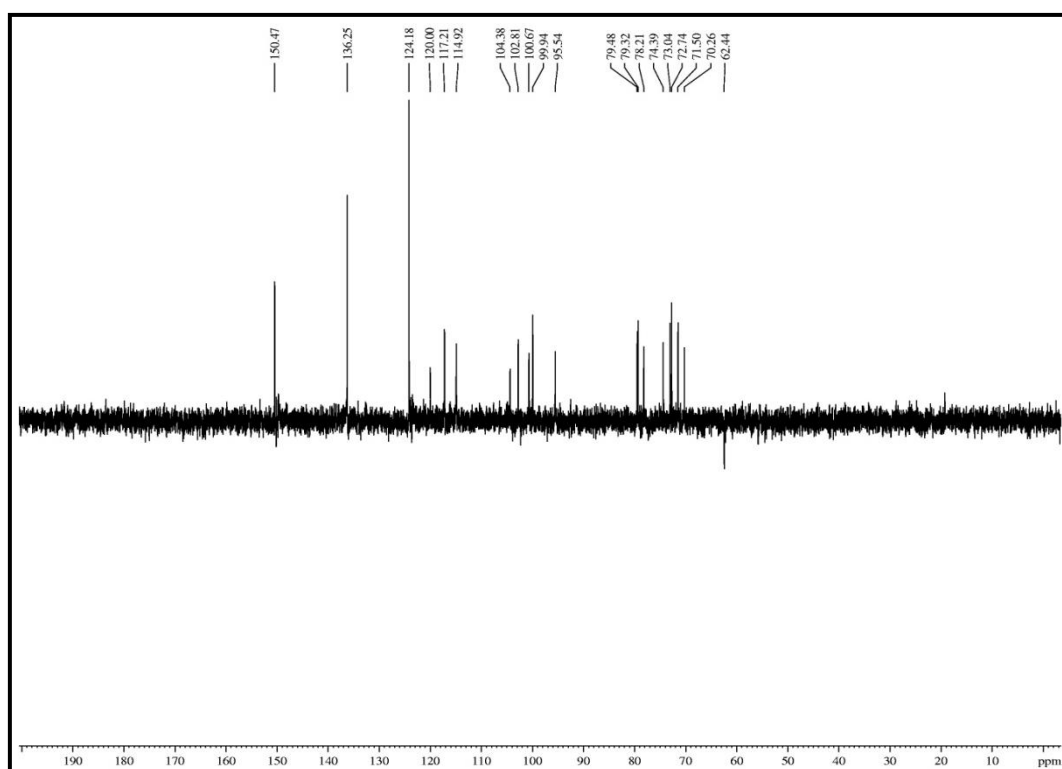


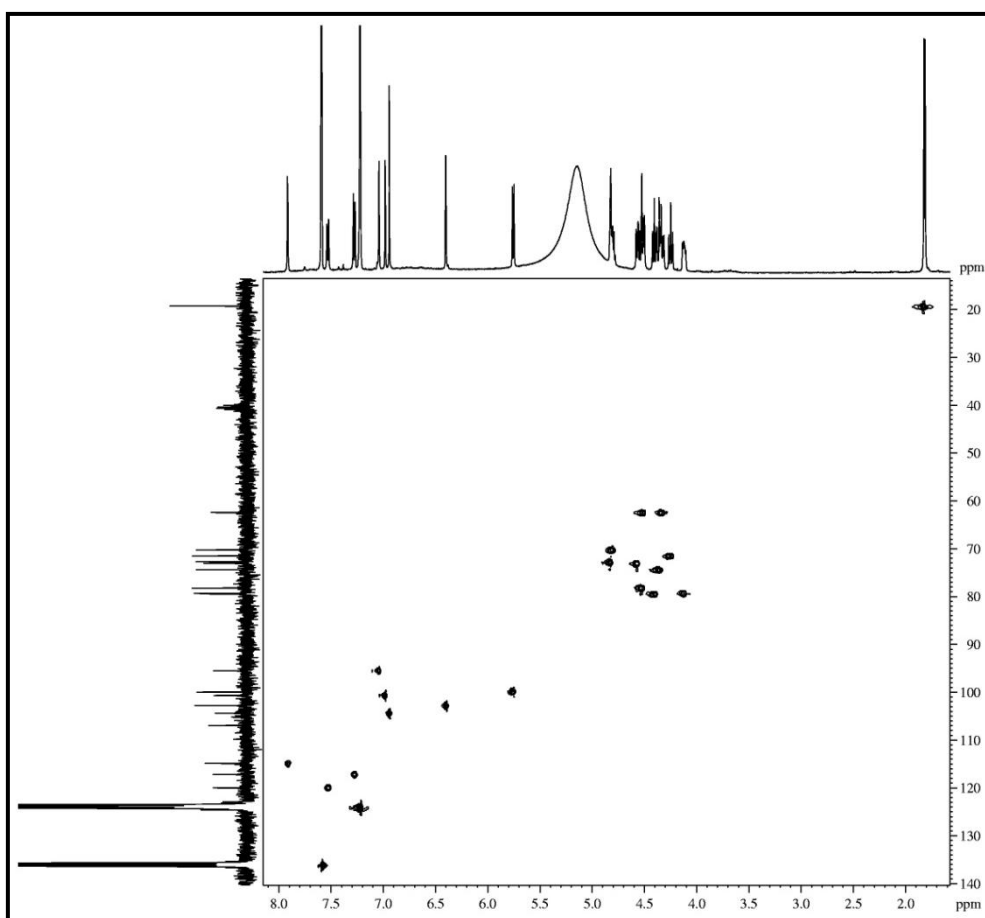
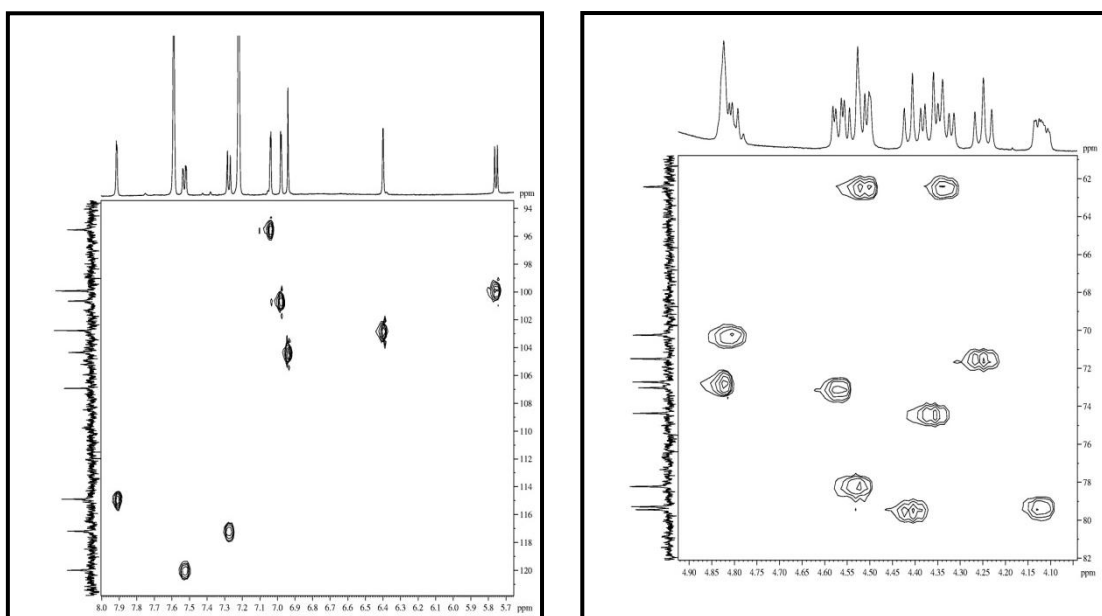


**Figura 130** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2

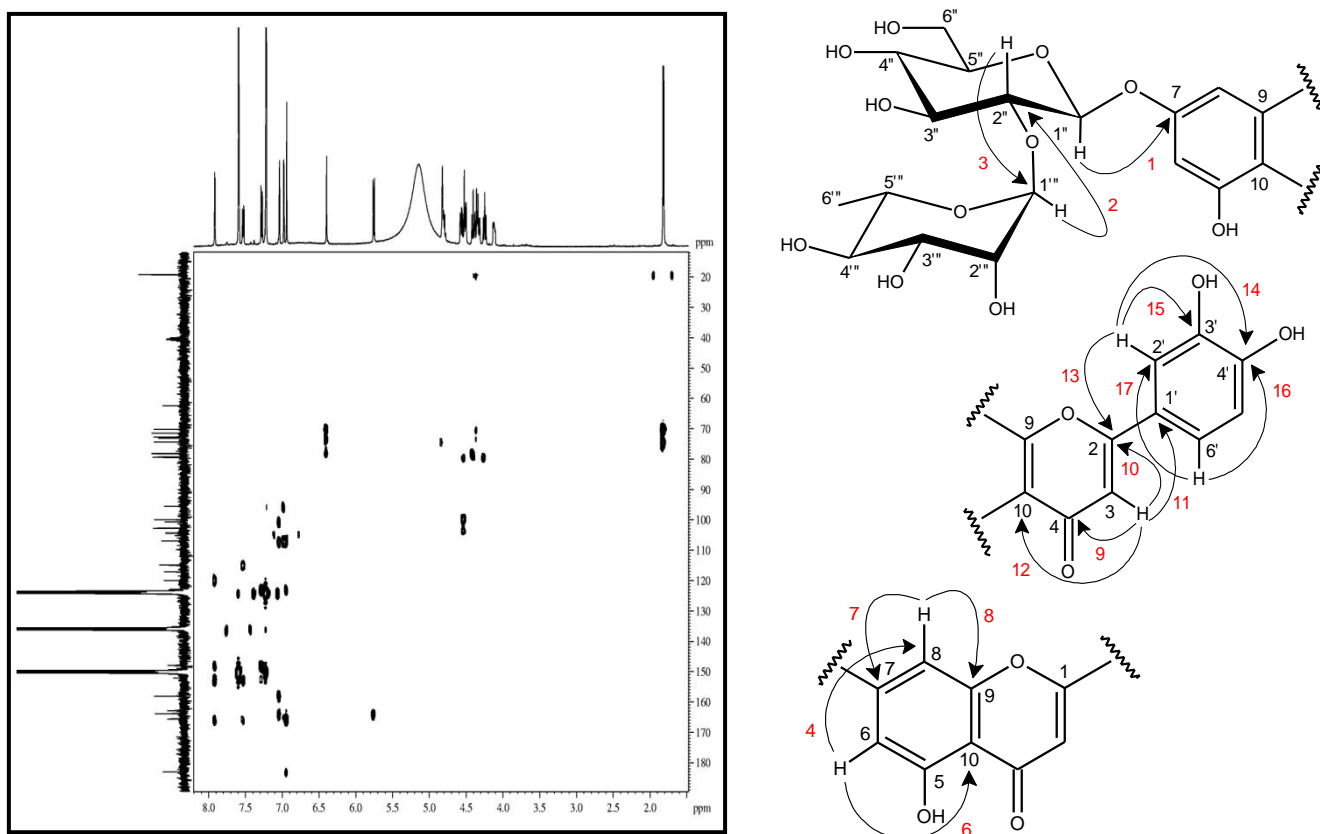


**Figura 131** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-NB 2

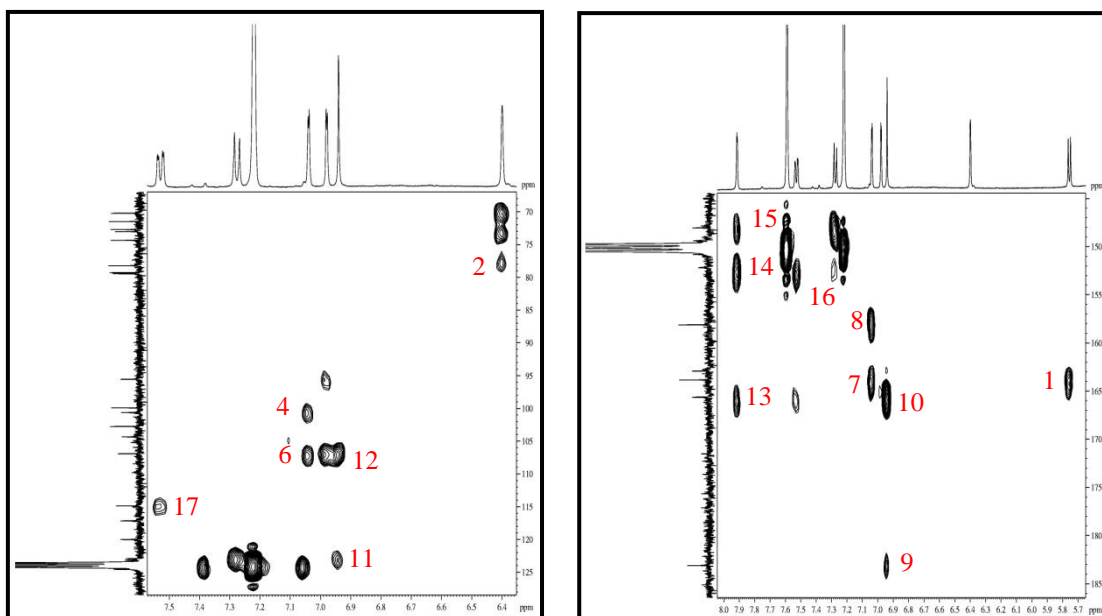


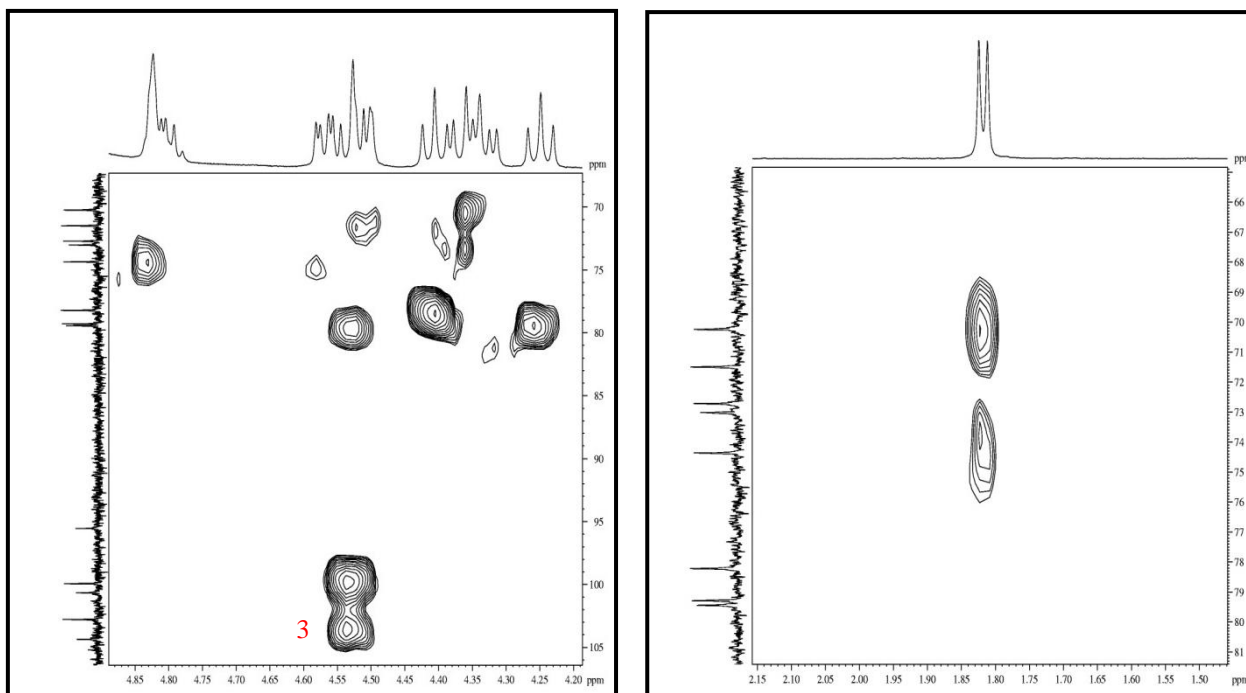
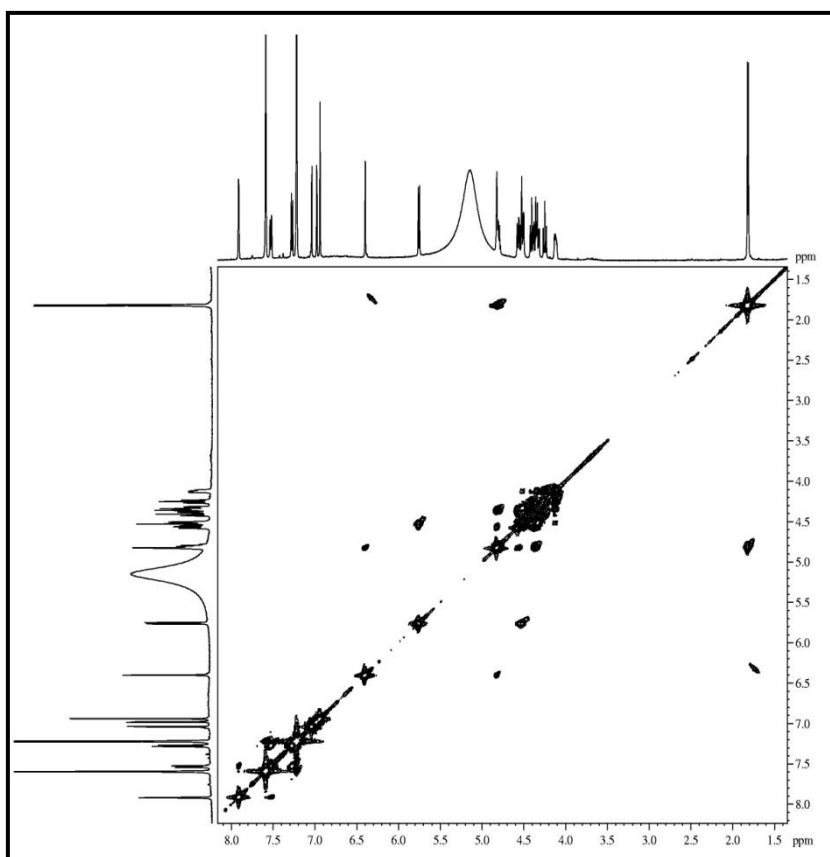
**Figura 132** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2**Figura 133** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2

**Figura 134** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2

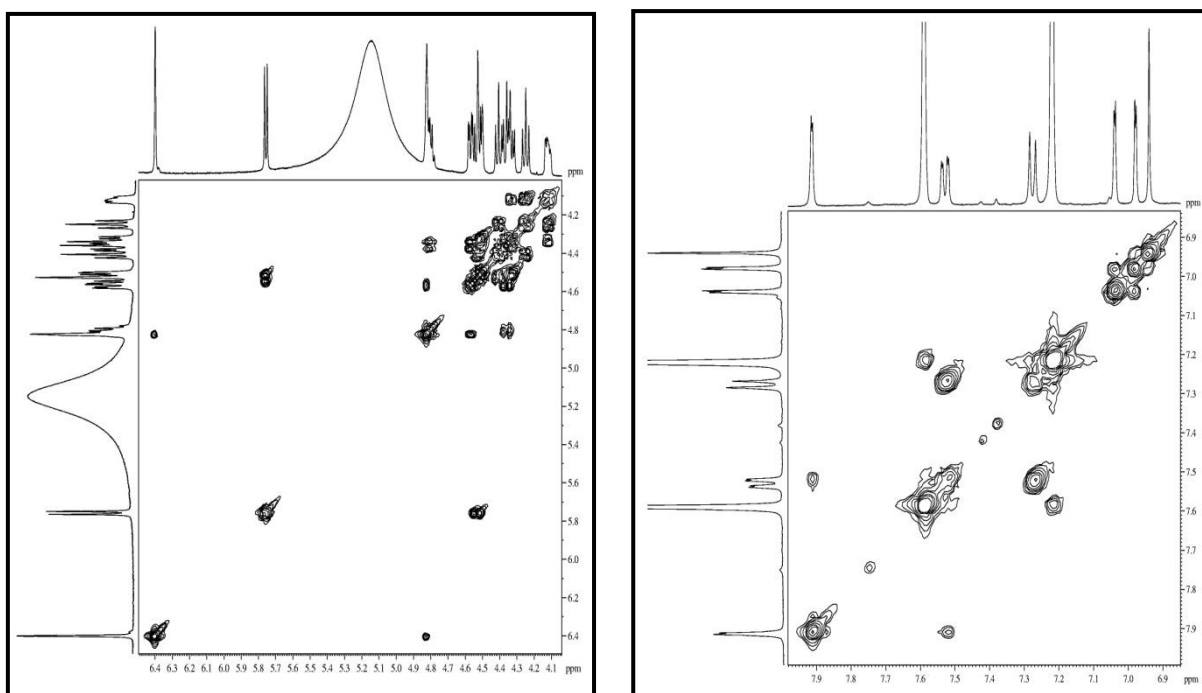


**Figura 135** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2



**Figura 136** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2**Figura 137** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2

**Figura 138** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2



### 5.7 Determinação Estrutural de MCF-NB 1

A partir do tratatamento cromatográfico da fração MCFE-NB, proveniente da partição líquido-líquido do extrato etanólico das folhas de *M. carrascoana*, através de cromatografias de exclusão molecular, adsorção e purificada em CLAE (fase reversa), levou ao isolamento de um sólido amarelo (11,2 mg), denominado MCF-NB 1 (p.f. 188,8 - 191,7 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -76,6^\circ$ , MeOH,  $c$  0,05) (ítem 4.6.4.3, p. 87).

A similaridade observada entre os espectros de infravermelho de MCT-NB 2 e MCF-NB 1 (fig. 141, p. 189) sinalizou a uma estreita semelhança estrutural entre eles, confirmada pela identificação dos mesmos grupos funcionais: hidroxila ( $3263\text{ cm}^{-1}$ ), carbonila ( $1654\text{ cm}^{-1}$ ), anel aromático ( $1599$ ,  $1493$  e  $1444\text{ cm}^{-1}$ ) e carbonos oxigenados ( $1255$  e  $1173\text{ cm}^{-1}$ ).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1 (fig. 143, p. 190) apresentou um par de dupletos  $\delta$  6,95 (d,  $J = 1,8\text{ Hz}$ , H-8) e 6,86 (d,  $J = 1,8\text{ Hz}$ , H-6), compatíveis com hidrogênios aromáticos *meta*-posicionados e um conjunto de sinais em  $\delta$  7,94 (sl, H-2'); 7,58 (H-6') e 7,36 (d,  $J = 8,3\text{ Hz}$ , H-5'), referentes a um sistema aromático de spin ABX. No espectro de COSY (fig. 152, p. 194), observou-se a correlação dos hidrogênios H-5' com H-6', permitindo posicioná-los no anel aromático B e um simpleto largo em campo baixo  $\delta$  13,62 (s, HO-5), característico de hidrogênio de hidroxila quelada com carbonila. De forma semelhante a MCT-NB 2, observou-se a existência de sinais na região de hidrogênios heterosídicos ( $\delta$  4,82-4,13), com a presença de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos em  $\delta$  5,75 (sl, H-1'''), 5,70 (d,  $J = 7,1\text{ Hz}$ , H-1'''), sugeriram a presença de duas unidades glicosídicas.

O duplete referente ao hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,70 (H-1''') com constante de acoplamento  $J = 7,1\text{ Hz}$ , sugeriu a presença de uma unidade de glicose com configuração  $\beta$ . Entretanto a ausência do duplete em  $\delta$  1,81, descartou a possibilidade da segunda unidade glicosídica ser a ramnose.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1 (fig. 145, p. 191) apresentou 26 linhas espectrais, dentre os quais foi possível assinalar a similaridade com os sinais apresentados para MCT-NB 2, tendo como principais diferenças o desaparecimento da metila  $\delta$  19,2 (C-6''') e o surgimento de dois sinais de carbonos metilênicos em  $\delta$  75,5 (C-4''') e 66,1 (C-5'''). Além disso, a presença do carbono carbinólico em  $\delta$  111,5 (C-1''') e o aparecimento de um carbono oxigenado não hidrogenado em  $\delta$  80,8 (C-3''') sugeriram a existência de uma unidade glicosídica apiose, comprovada pela comparação com dados RMN

$^{13}\text{C}$  da literatura [(LAMIDI *et al.*, 2006)<sup>1</sup>; (SANTOS; SCHRIPEMA; KUSTER, 2005)<sup>2</sup>] (tab. 23).

**Tabela 23** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para diferentes unidades glicosídicas de acordo com a literatura

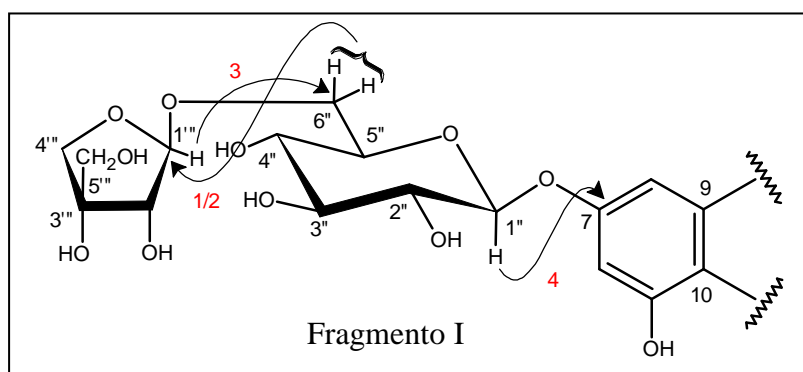
# C	$\delta(\text{CD}_3\text{OD})$			$\delta(\text{DMSO-d}_6)$		
	Apiose <sup>1</sup>	Glucose <sup>1</sup>	Xilose <sup>1</sup>	Ramnose <sup>2</sup>	Galactose <sup>2</sup>	Arabinose <sup>2</sup>
1	111,1	100,9	100,9	102,4	102,4	101,9
2	77,9	74,0	78,9	70,6	71,8	72,2
3	80,7	79,1	78,2	71,7	73,3	71,3
4	75,4	70,9	70,9	71,1	68,5	66,7
5	65,7	78,6	66,9	70,9	76,3	64,9
6	-	67,3	-	18,0	60,5	-

A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (fig. 146, p. 191), permitiu correlacionar os carbonos de MCF-NB 1 com seu respectivo padrão de hidrogenação, apresentando três carbonos metilênicos, treze carbonos metínicos e dez carbonos não hidrogenados, o que sugeriu a fórmula  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{15}$  com índice de deficiência de hidrogênio igual a treze, confirmada pela presença do pico molecular  $[\text{M-H}]^-$   $m/z$  579,1144 e do aduto molecular  $[\text{M+Cl}]^-$   $m/z$  615,1118, no espectro de massas de MCF-NB 1 (EM-IES, fig. 142, p. 189).

O espectro de RMN-HSQC de MCF-NB 1 (fig. 147, p. 192) forneceu as correlações dos hidrogênios ligados diretamente aos seus carbonos, permitindo atribuir as absorções pertencentes a cada sistema aromático e às unidades de açúcares (tab. 24, p. 188).

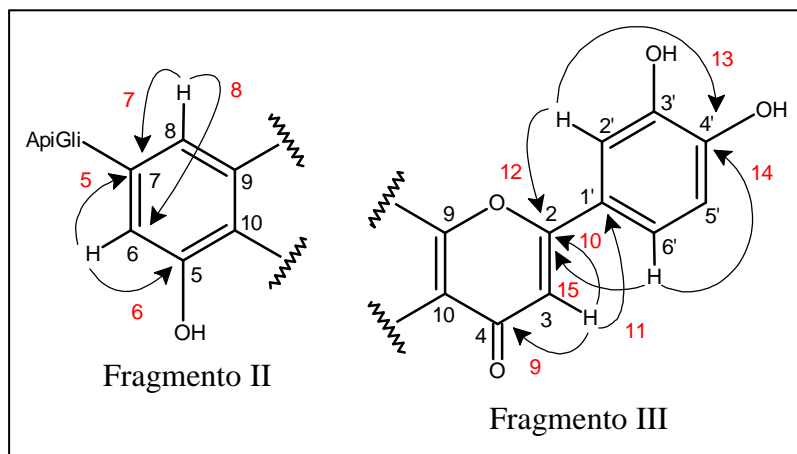
O espectro de RMN-HMBC de MCF-NB 1 (fig. 149, p. 193) demonstrou a posição da ligação entre as unidades glicosídicas, através das correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta$  4,78 e 4,17 (2H-6'') com o carbono carbinólico  $\delta$  111,5 (C-1''') e do hidrogênio anomérico  $\delta$  5,75 (H-1''') com o carbono metilênico  $\delta$  69,1 (C-6''), da ligação heterosídica entre o hidrogênio anomérico  $\delta$  5,70 (H-1'') e o carbono aromático  $\delta$  164,4 (C-7) (fragmento I) (fig. 139, tab. 24, p. 188).

**Figura 139** Relevantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 1

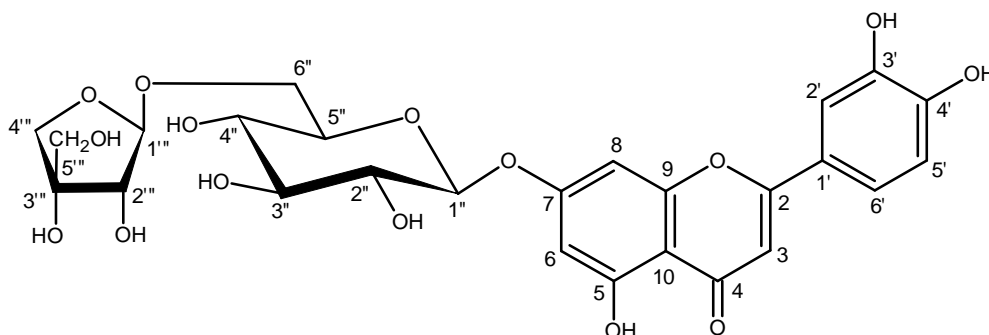


Foram observados ainda correlações do hidrogênio em  $\delta$  6,86 (H-6) com os carbonos em  $\delta$  164,4 (C-7) e 162,9 (C-5) e do sinal de hidrogênio em  $\delta$  6,95 (H-8) com os carbonos em  $\delta$  164,4 (C-7) e 101,1 (C-6), permitindo atribuir para estes hidrogênios as posições 6 e 8 no anel **A** (**fragmento II**). Em adição, observou-se acoplamento do hidrogênio  $\delta$  6,89 (H-3) com os carbonos em  $\delta$  183,2 (C-4), 165,7 (C-2) e 123,1 (C-1'), posicionando o hidrogênio H-3 no anel **C**, além da correlação do hidrogênio  $\delta$  7,94 (H-2') com os carbonos  $\delta$  165,7 (C-2) e 152,2 (C-4'), do hidrogênio em  $\delta$  7,58 (H-6') com os carbonos  $\delta$  152,2 (C-4') e 165,7 (C-2), permitindo determinar o padrão de substituição do anel **B** (**fragmento III**) (**fig. 140**).

**Figura 140** Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 1



A partir dos dados espectroscópicos discutidos e a posterior comparação com dados de RMN<sup>13</sup>C descritos na literatura, possibilitou identificar MCF-NB 1 como sendo a flavona 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1  $\rightarrow$  6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina, já isolada anteriormente das partes aéreas de *Phlomis nissollii* (BUCAR *et al.*, 1998).



7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1  $\rightarrow$  6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina



**Tabela 24** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC e HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOD) da literatura

# C	HSQC		HMBC		BUCAR <i>et al.</i> , 1998
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1'	123,1	-		H-3; H-5	123,5
1''	102,4	5,70 (d, 7,1)	H-2''	H-3''	101,6
1'''	111,5	5,75 (sl)		2H-4''' ; 2H-6''	111,0
2	165,7	-	H-3	H-2' ; H-6'	165,5
2'	115,0	7,94 (sl)		H-6'	114,2
2''	75,1	4,31 (m)	H-3'''		74,7
2'''	78,2	4,83 (sl)		2H-5''' ; 2H-4'''	78,2
3	104,5	6,89 (s)			103,5
3'	148,1	-	H-2'	H-5'	147,1
3''	77,9	4,31 (m)	H-2'' ; H-4''	H-5'' ; H-4''	77,8
3'''	80,8		H-4''' ; H-5'''	H-1'''	80,5
4	183,2	-	H-3		184,1
4'	152,2	-	H-5'	H-2' ; H-6'	151,3
4''	71,8	4,17 (m)	H-3'' ; H-5''	2H-6''	71,5
4'''	75,5	4,62 (d, 9,3) 4,36 (d, 9,3)		H-1''' ; H-2''' ; H-5'''	75,1
5	162,9	-	H-6		163,0
5'	117,3	7,36 (d, 8,3)			116,8
5''	78,8	4,36 (d, 9,2)	H-4'' ; 2H-6''	H-3''	77,2
5'''	66,1	4,23 (s)		H-2''' ; H-4'''	65,8
6	101,1	6,86 (d, 1,8)		H-8	101,1
6'	120,2	7,58*		H-2'	120,6
6''	69,1	4,78 (d, 11,0) 4,17 (m)		H-1'' ; H-4'' ; H-4''	68,7
7	164,4	-	H-6; H-8	H-1''	164,7
8	95,8	6,95 (d, 1,8)		H-6	95,5
9	158,2	-	H-8		158,9
10	107,0	-			107,1
HO-5	-	13,62 (s)			

\* Sinal encoberto pelo solvente deuterado e determinado pelo HSQC e HMBC

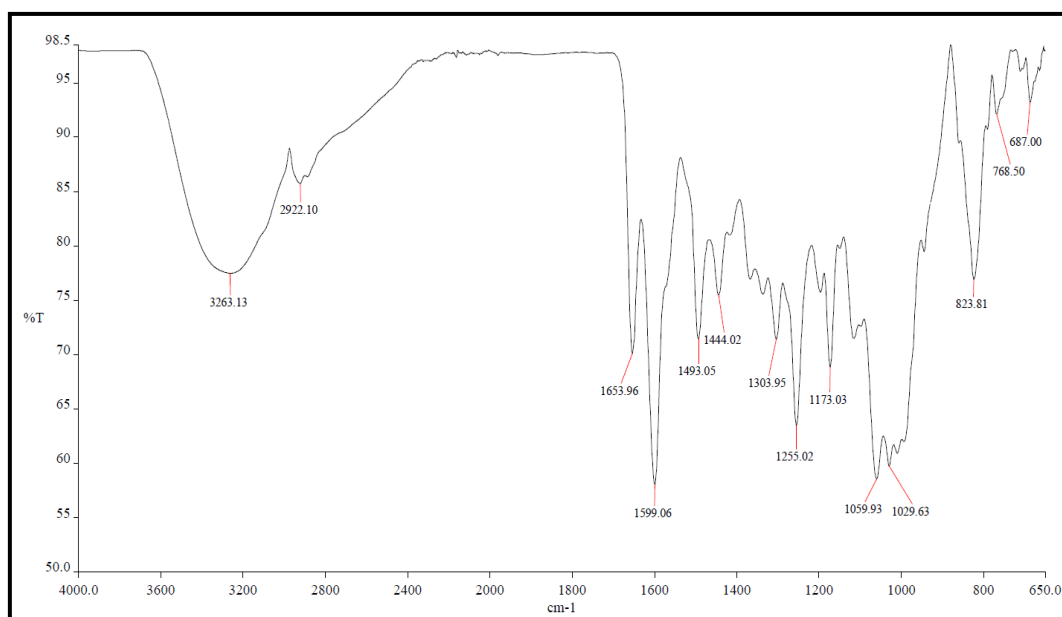
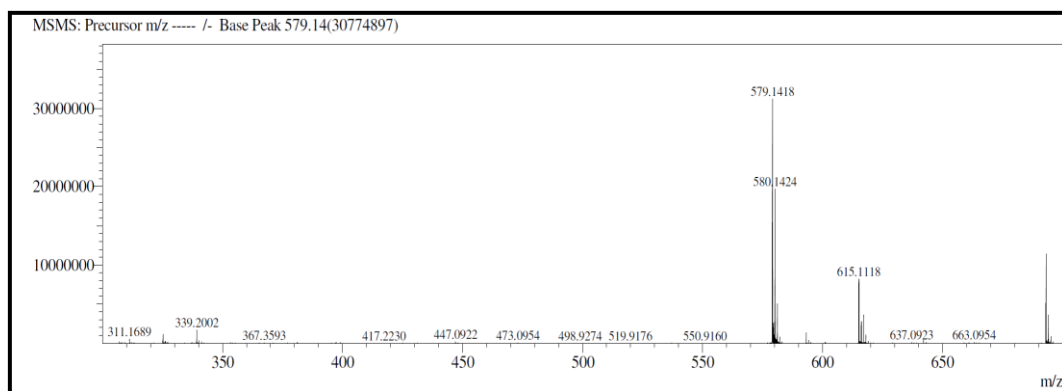
**Figura 141** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 1**Figura 142** Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 1

Figura 143 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1

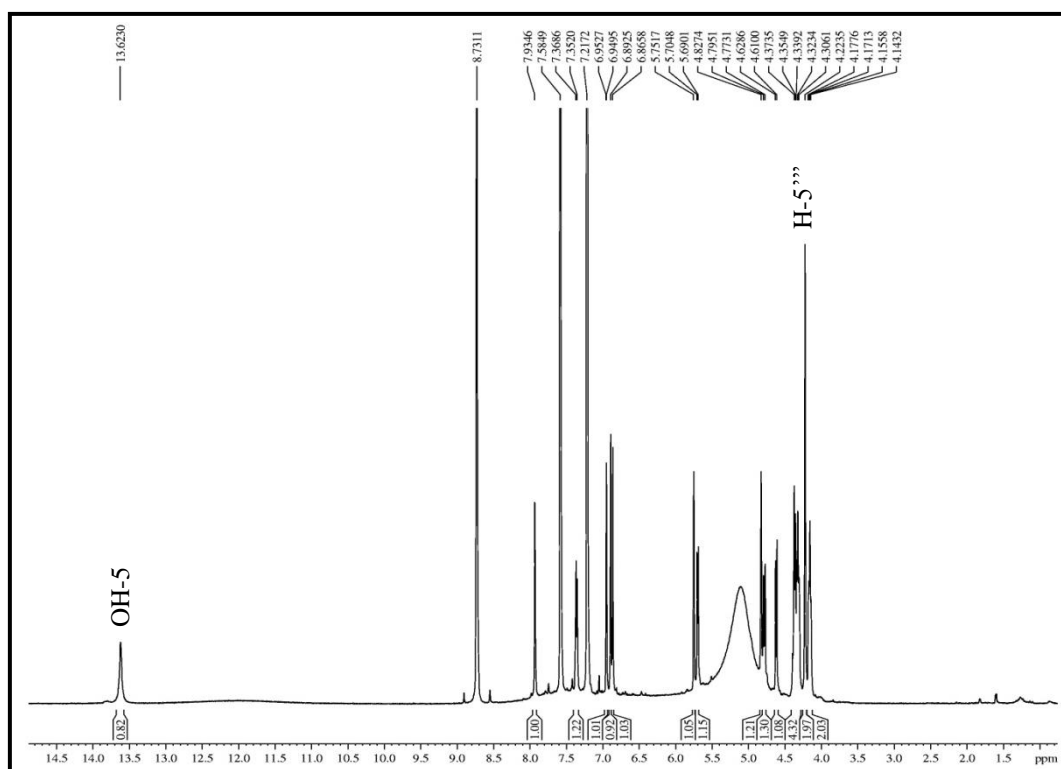


Figura 144 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1

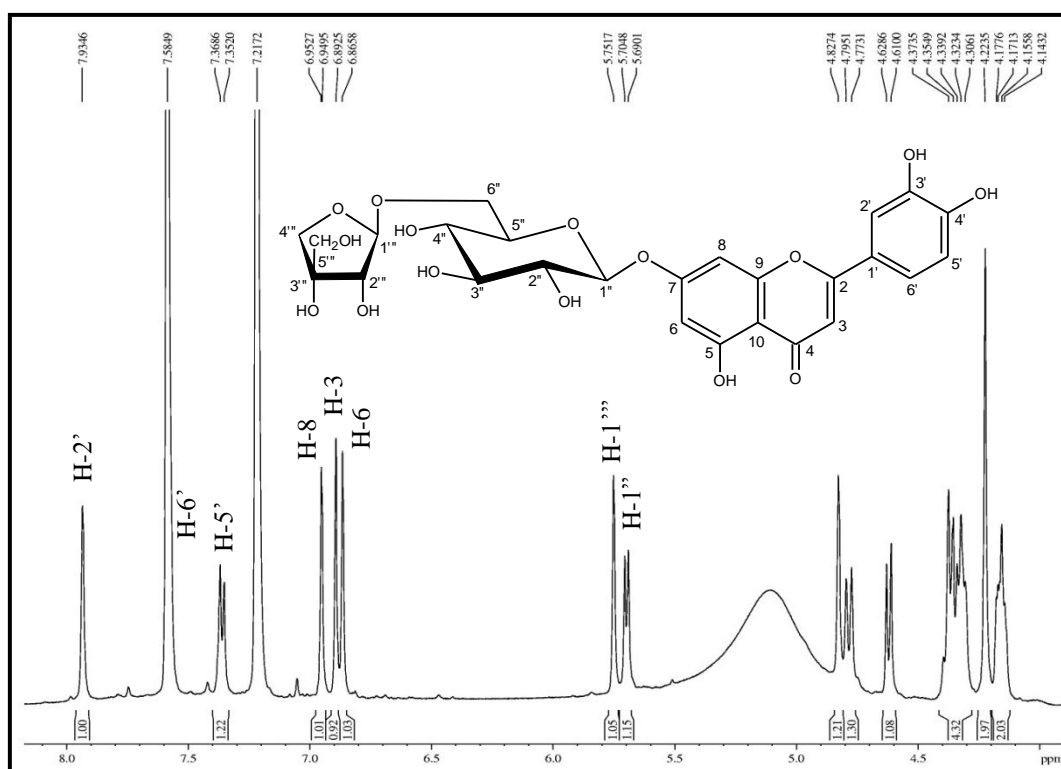


Figura 145 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1

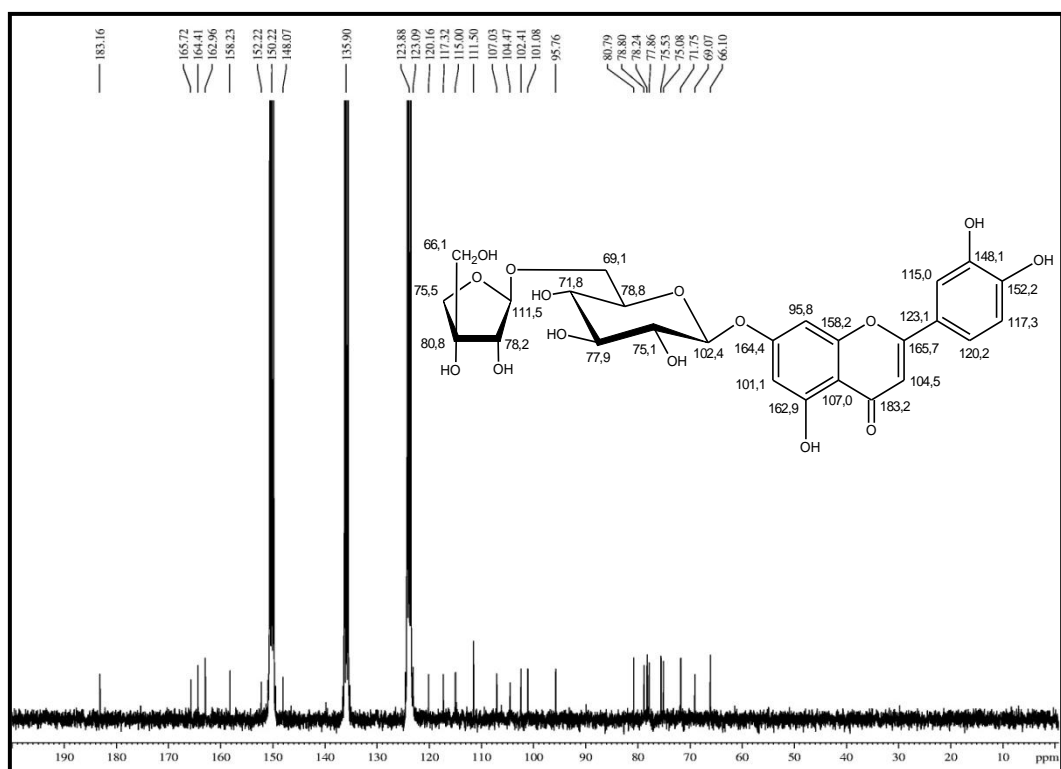
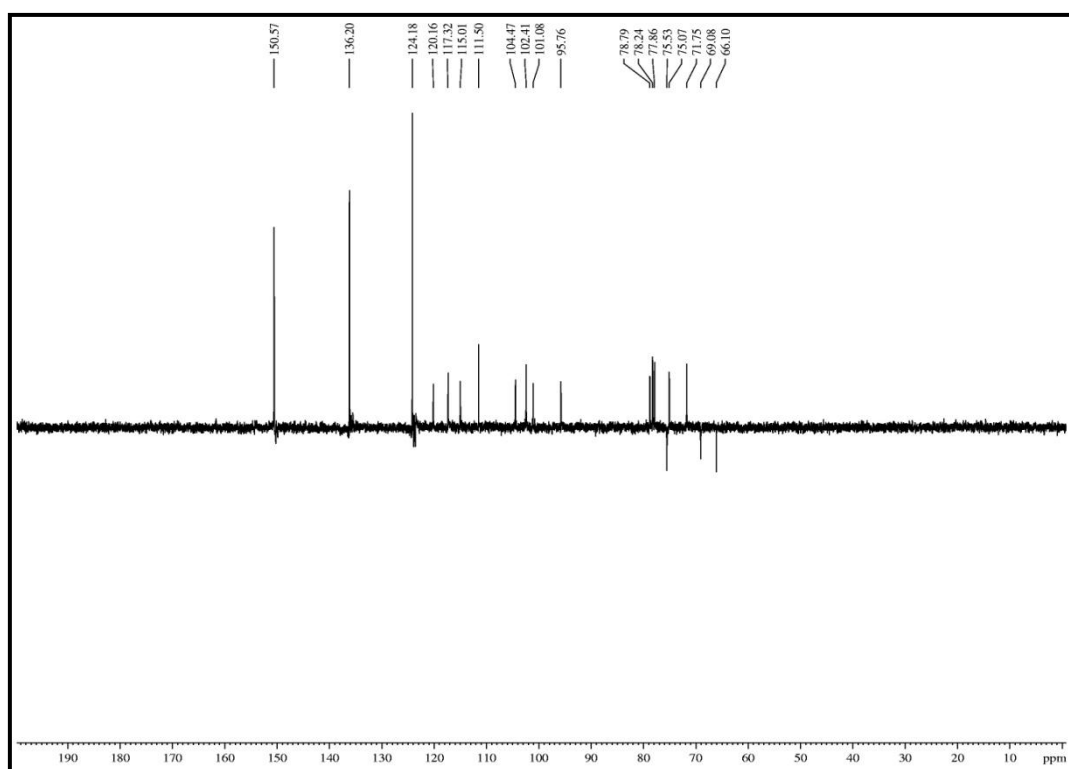
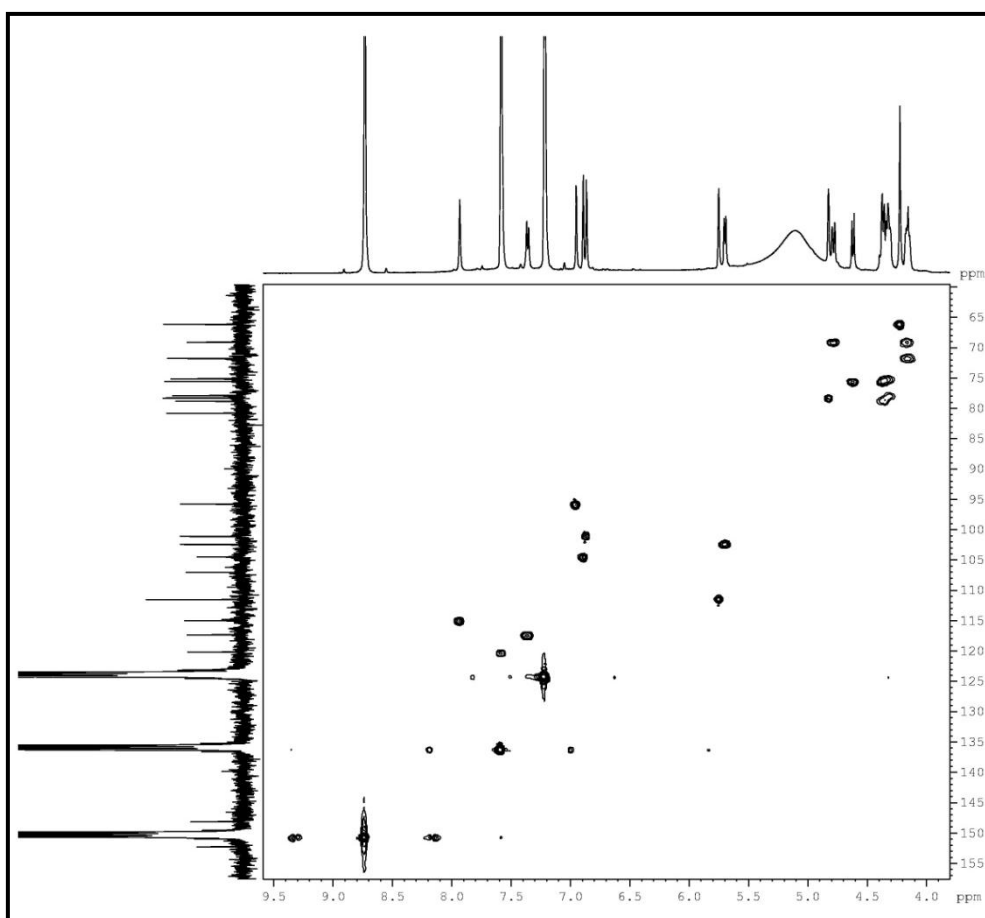
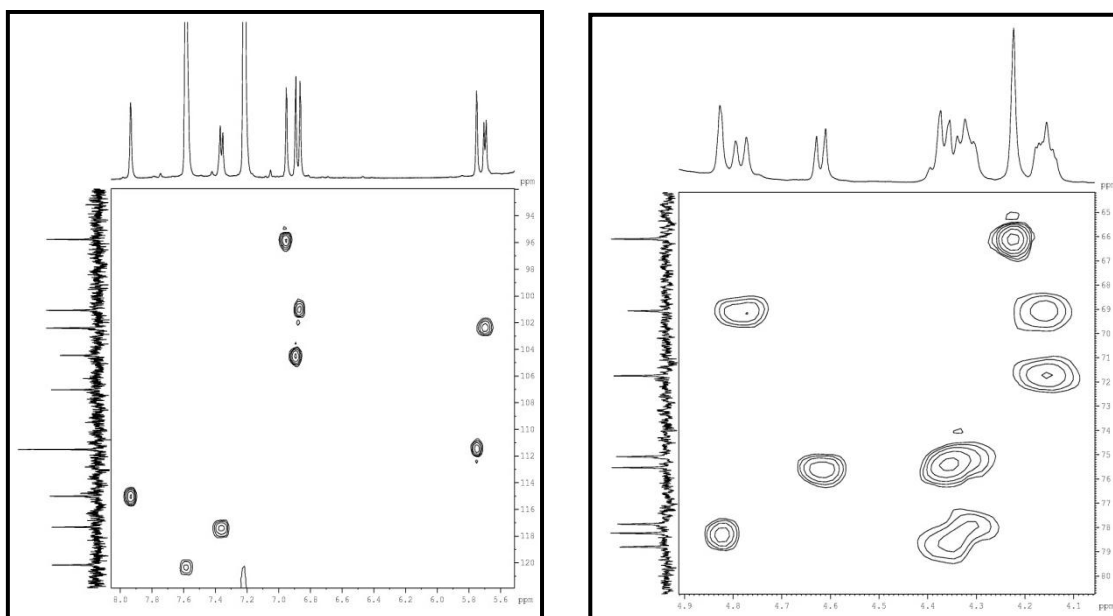
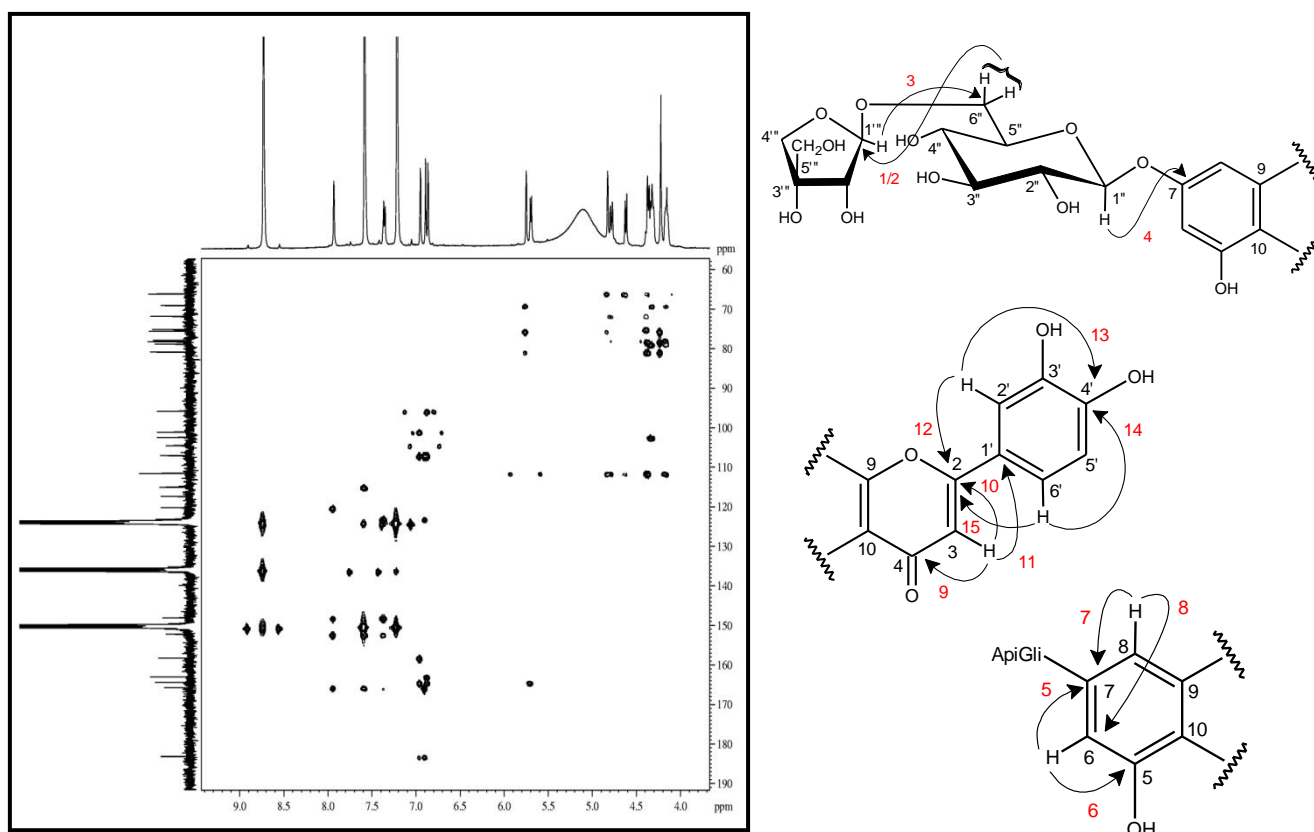


Figura 146 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 1

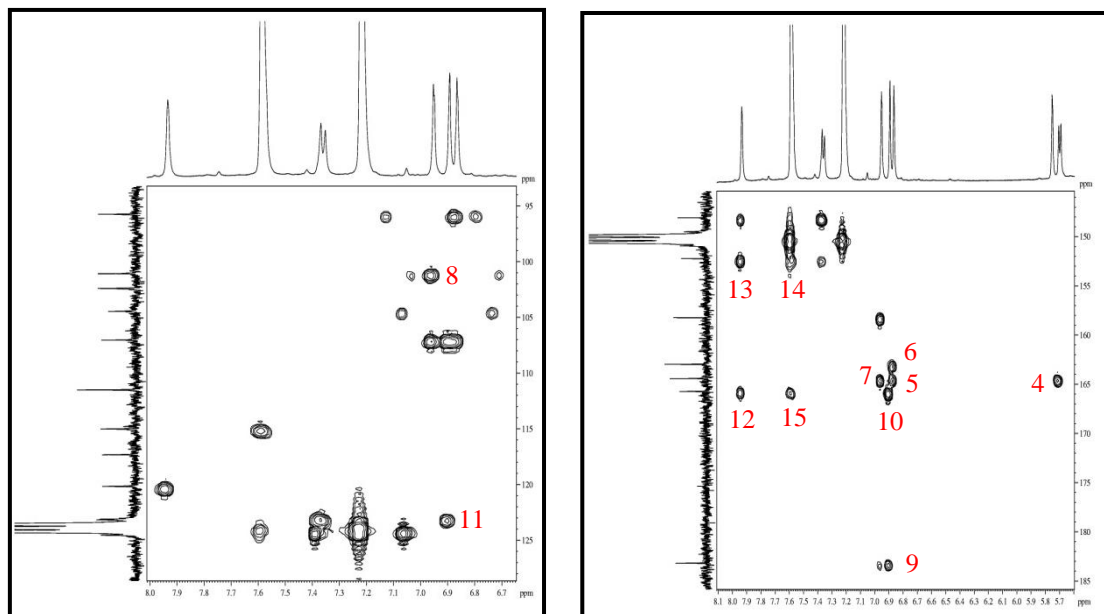


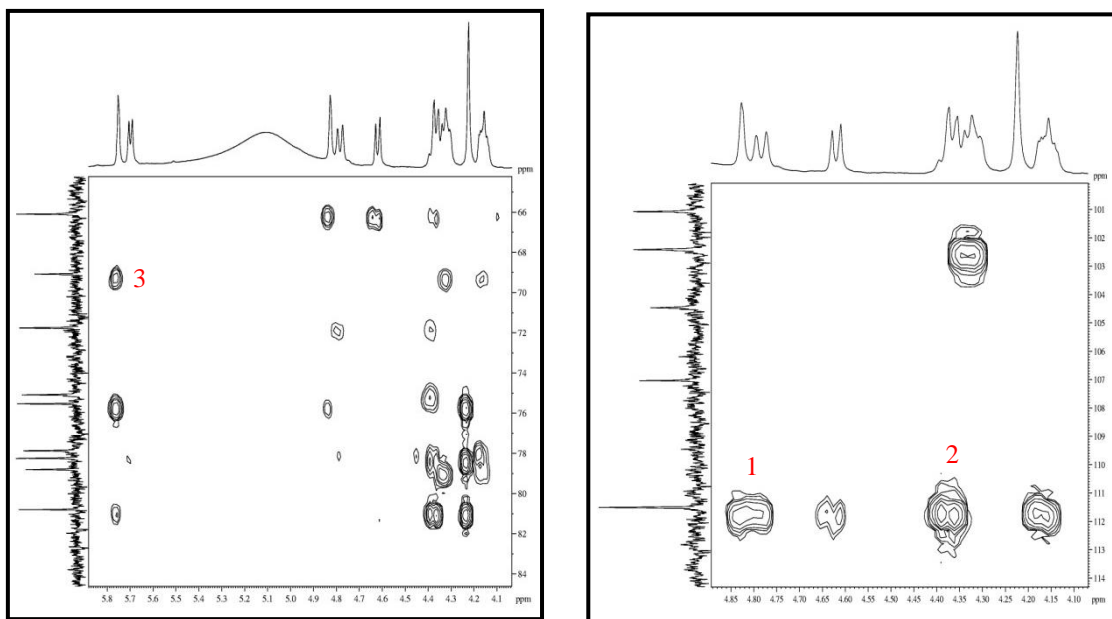
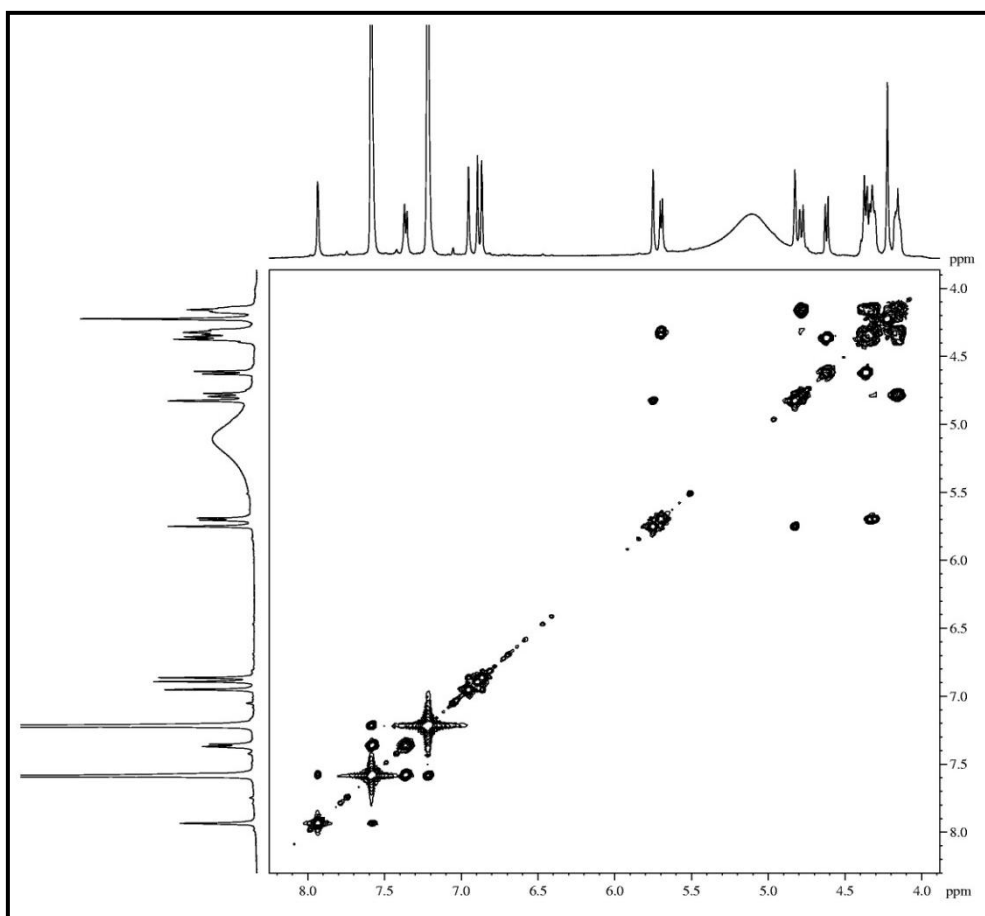
**Figura 147** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 1**Figura 148** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 1

**Figura 149** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 1



**Figura 150** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 1



**Figura 151** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 1**Figura 152** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 1

## 5.8 Determinação Estrutural de MCF-NB 2

A fração MCFE-NB, foi submetida a tratamentos cromatográficos através de cromatografias de exclusão molecular, adsorção e CLAE (fase reversa), levando ao isolamento de um sólido amarelo (13,3 mg), denominado MCF-NB 2 (p.f. 163,7 - 169,3 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -105,8^\circ$ , MeOH, *c* 0,1) (**item 4.6.4.5, p. 89**).

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) (**fig. 156, p. 199**) e RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) (**fig. 158, p. 200**) de MCF-NB 2 mostraram-se semelhantes aos espectros obtidos para MCF-NB 1, exceto pela surgimento de sinais em  $\delta$  3,88 (s, 3H-7') e em  $\delta$  56,5 (C-7'), os quais foram atribuídos a uma metoxila, contabilizando um total de 27 linhas espectrais. Foi observado ainda mudança no deslocamento químico do carbono em  $\delta$  110,8 (C-2') para campo alto, ocasionado pelo efeito mesomérico doador de elétrons do grupo metoxila.

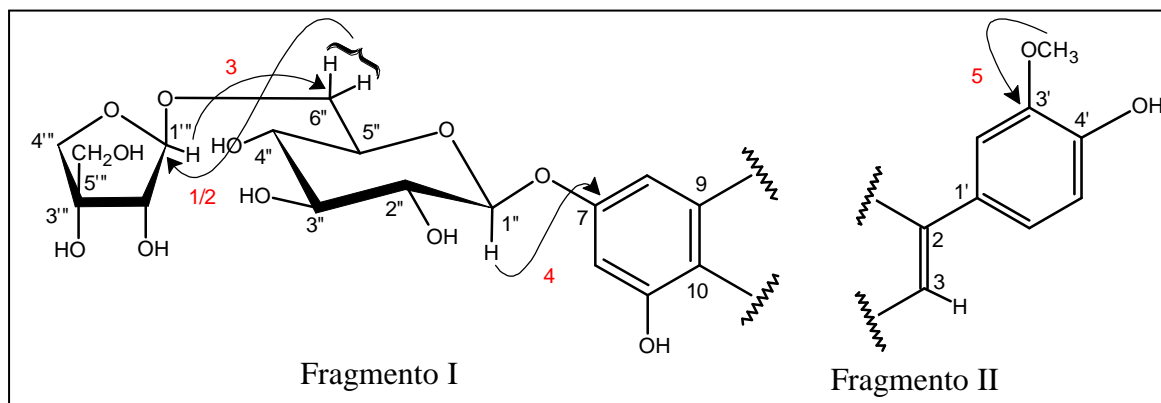
A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (**fig. 159, p. 200**), revelou a presença de treze carbonos metínicos, três carbonos metilênicos, um carbono metílico e dez carbonos não hidrogenados. Estas informações, em adição ao valor do pico do íon molecular  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  593,1589 e do aduto molecular  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$   $m/z$  629,1326, possibilitaram inferir a fórmula molecular  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$  para MCF-NB 2 (EM-IES, **fig. 155, p. 198**).

Analisando o espectro de RMN-HSQC de MCF-NB 2 (**fig. 160, p. 201**) foi possível estabelecer inequivocadamente a correlação de todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos (**tab. 25, p. 197**).

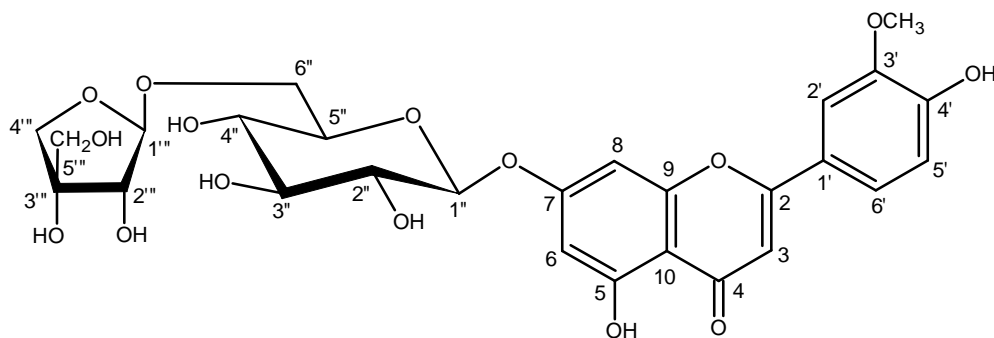
As correlações observadas no espectro de RMN-HMBC para MCF-NB 2 (**fig. 162, p. 202**), demonstraram grande similaridade com os acoplamentos observados para MCFE-NB 1, sendo importante destacar o acoplamento dos hidrogênios metilênicos em  $\delta$  4,75 e 4,20 (2H-6'') com o carbono carbinólico  $\delta$  111,5 (C-1''') e do hidrogênio anomérico  $\delta$  5,75 (H-1''') com o carbono metilênico  $\delta$  69,1 (C-6''), posicionado a unidade glicosídica apiose. Foram observados ainda a correlação do hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,74 (H-1''') com o carbono aromático em  $\delta$  164,4 (C-7), importante para determinar a ligação entre a unidade heterosídica glicose e à aglicona no anel A (**fragmento I**); além da correlação dos hidrogênios da metoxila em  $\delta$  3,88 (H-7') com o carbono em  $\delta$  149,3 (C-3'), posicionando a metoxila no carbono C-3' do anel C, justificando o efeito de blindagem eletrônica sentido pelo carbono C-2' que está em posição *orto* a metoxila (**fragmento II**) (**fig. 153, p. 196 e tab. 25, p. 197**).



**Figura 153** Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 2



A partir da análise espectroscópica discutida e a posterior comparação com dados de RMN <sup>13</sup>C de MCF-NB 1, aliada à comparação com os dados RMN <sup>13</sup>C descritos na literatura, possibilitou identificar MCF-NB 2 como sendo a flavona 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] crisoeriol, isolada anteriormente da parte aérea de *Phlomis nissollii* (BUCAR *et al.*, 1998).



7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] crisoeriol

**Tabela 25** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 2 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de MCF-NB 1 e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOD) da literatura

# C	HSQC		HMBC		MCF-NB 1	BUCAR <i>et al.</i> , 1998
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		
1'	122,7	-		H-5'; H-3	123,1	123,5
1''	102,2	5,74 (d, 7,3)	H-2''	H-3''	102,4	101,6
1'''	111,5	5,75 (d, 2,2)	H-2'''	2H-6''; H-4'''	111,5	111,0
2	165,4	-	H-3	H-6'; H-2'	165,7	165,5
2'	110,8	7,61 (sl)		H-6'	115,0	110,6
2''	75,0	4,35 (m)			75,1	74,7
2'''	78,2	4,79 (d, 2,2)		H-5'''	78,2	78,2
3	104,6	6,94 (s)			104,5	103,5
3'	149,3	-	H-2'	H-5'; 3H-7'	148,1	147,1
3''	77,8	4,32 (m)		H-5''	77,9	77,8
3'''	80,7	-	2H-5'''; H-4'''	H-1'''	80,8	80,5
4	183,2	-	H-3		183,2	184,1
4'	152,9	-	H-5'	H-6'; H-2';	152,2	151,3
4''	71,7	4,16 (m)		H-6''	71,8	71,5
4'''	75,5	4,63 (d,12,9) 4,35 (d, 12,9)		H-5'''; H-1'''	75,5	75,1
5	162,9	-	H-6		162,9	163,0
5'	117,4	7,36 (d, 8,3)			117,3	116,8
5''	78,7	4,31 (m)		H-3''	78,8	77,2
5'''	66,0	4,20 (s)		H-2'''; 2H-4'''	66,1	65,8
6	101,0	6,91 (d, 1,8)		H-8	101,1	101,1
6'	121,9	7,69 (dd, 8,3; 1,8)		H-2'	120,2	120,6
6''	68,9	4,75 (d, 11,1); 4,20 (m)		H-1'''	69,1	68,7
7	164,4	-	H-6; H-8	H-1''	164,4	164,7
7'	56,5	3,88 (s)			-	56,6
8	95,9	7,04 (d, 1,8)		H-6	95,8	95,5
9	158,2	-	H-8		158,2	158,9
10	106,7	-		H-6; H-8; H-3	107,0	107,1
HO-5	-	13,60 (sl)				

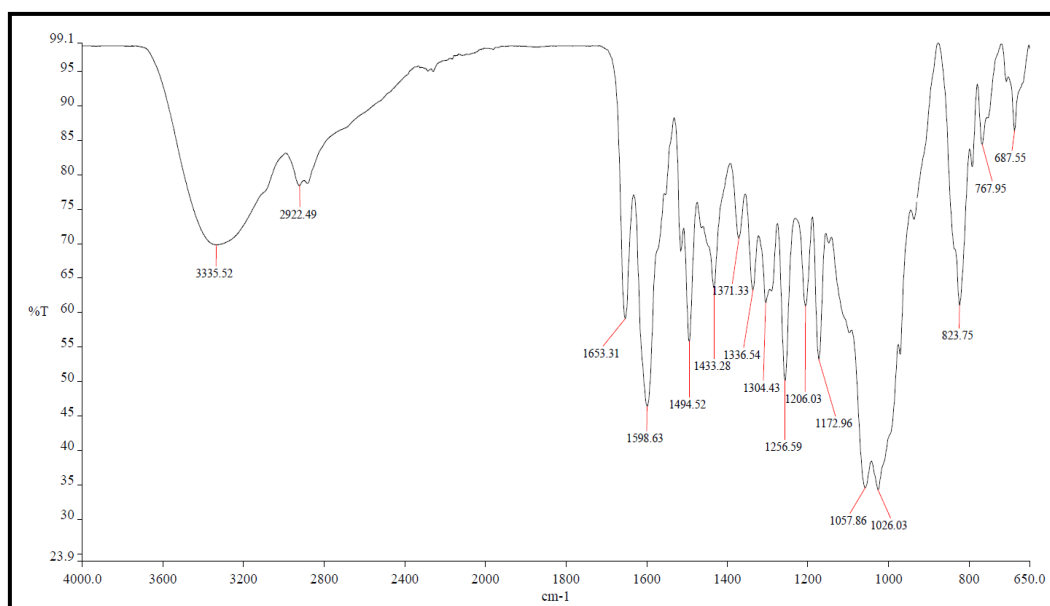
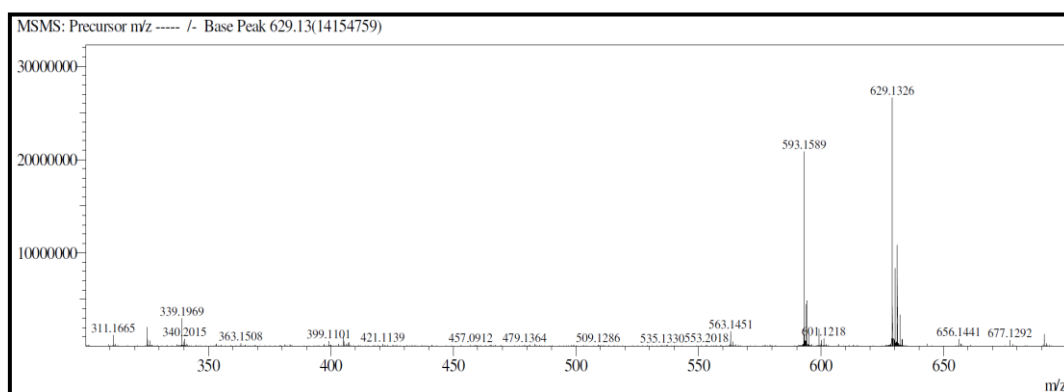
**Figura 154** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 2**Figura 155** Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 2

Figura 156 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 2

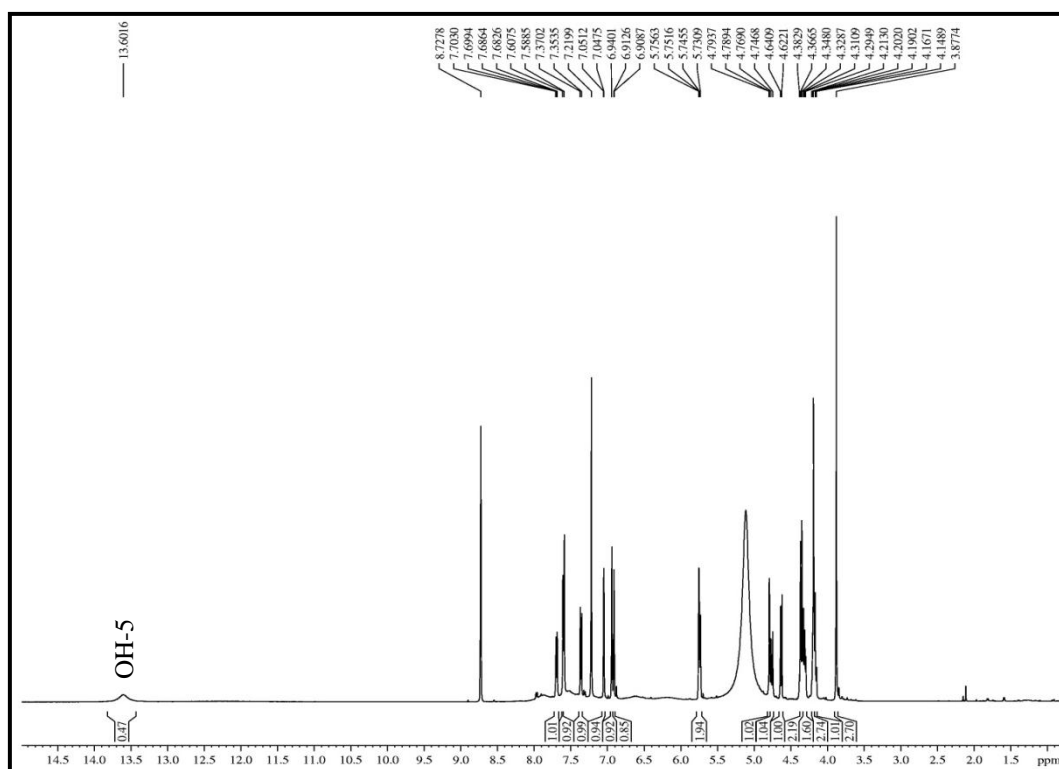


Figura 157 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 2

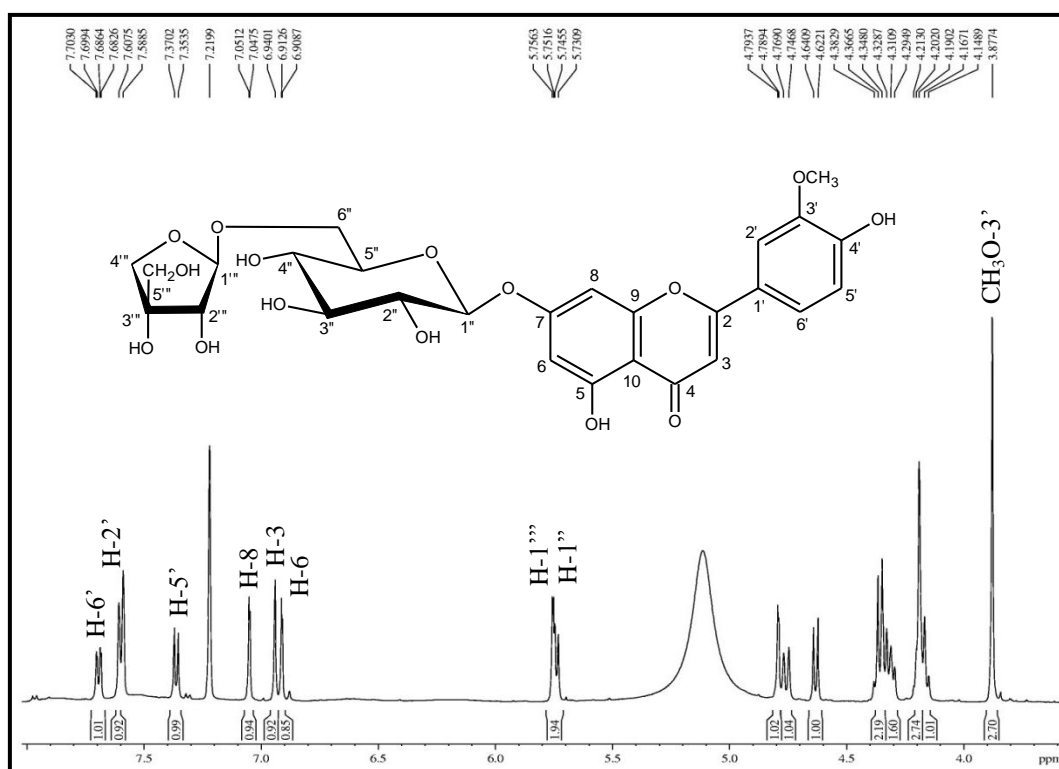


Figura 158 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 2

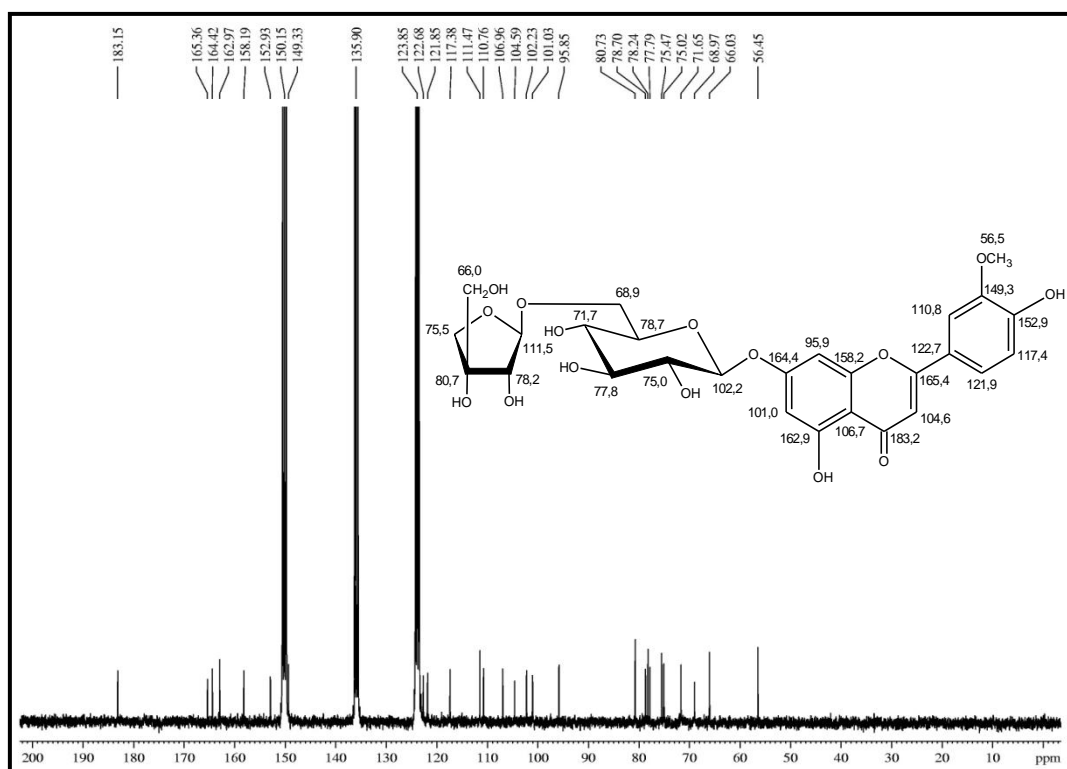
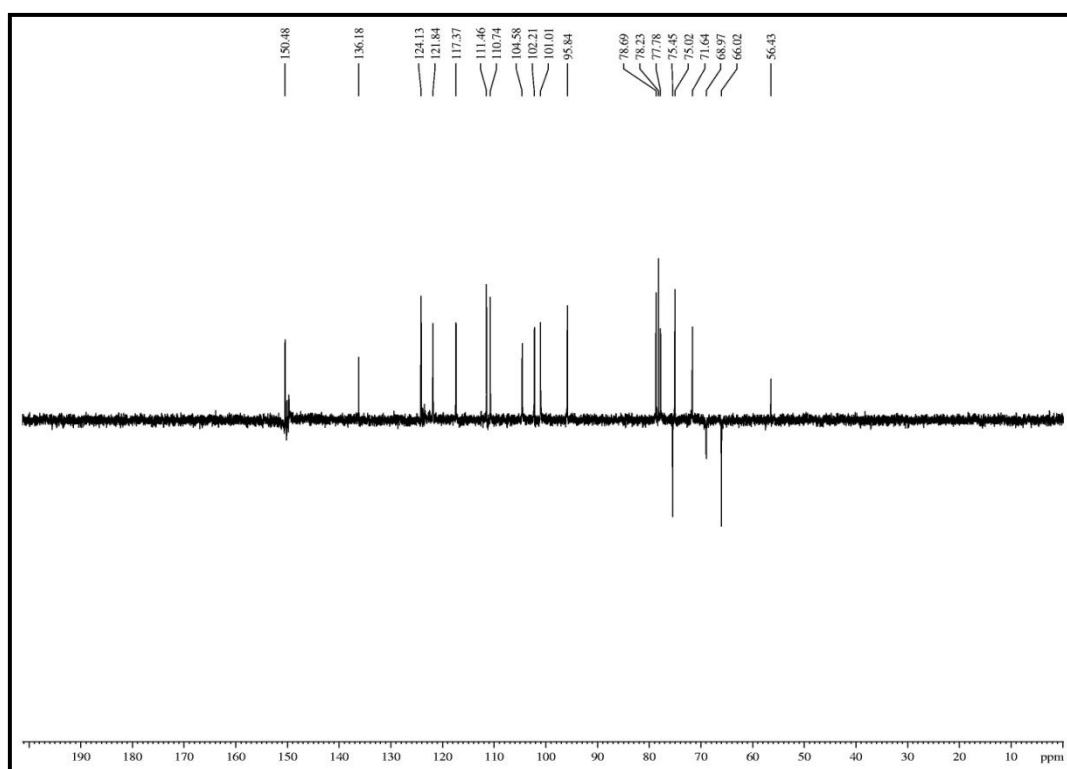
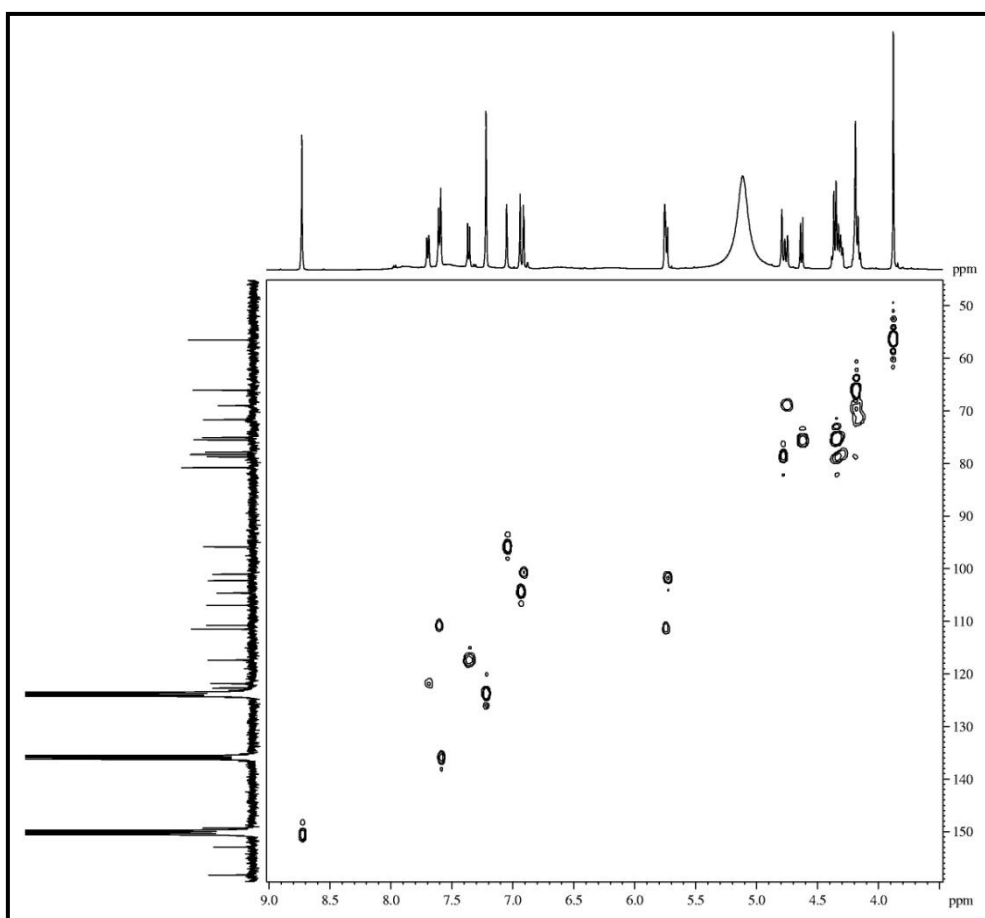
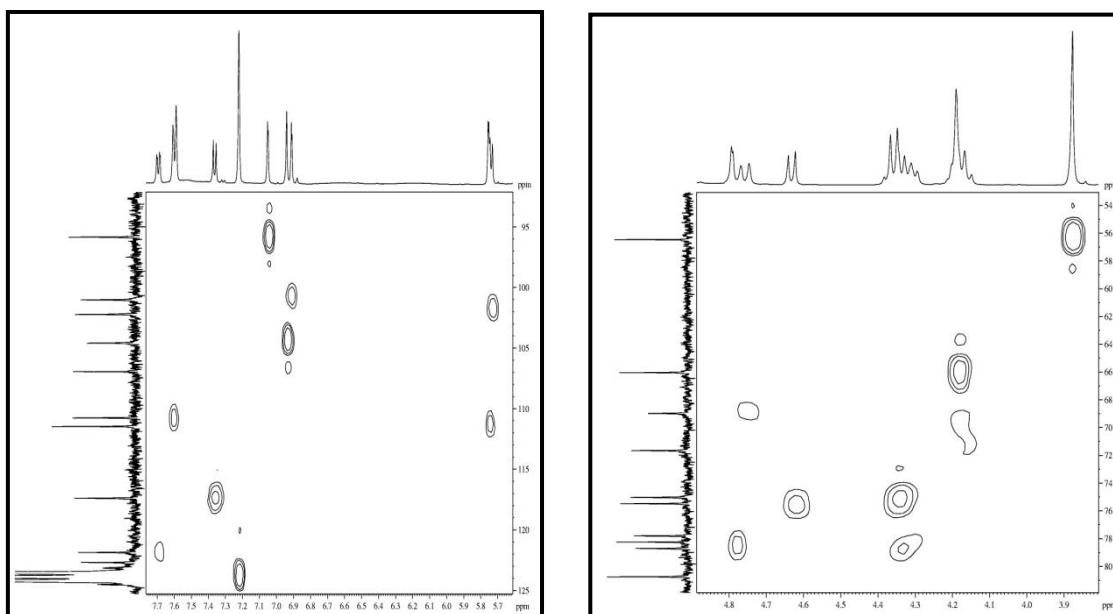
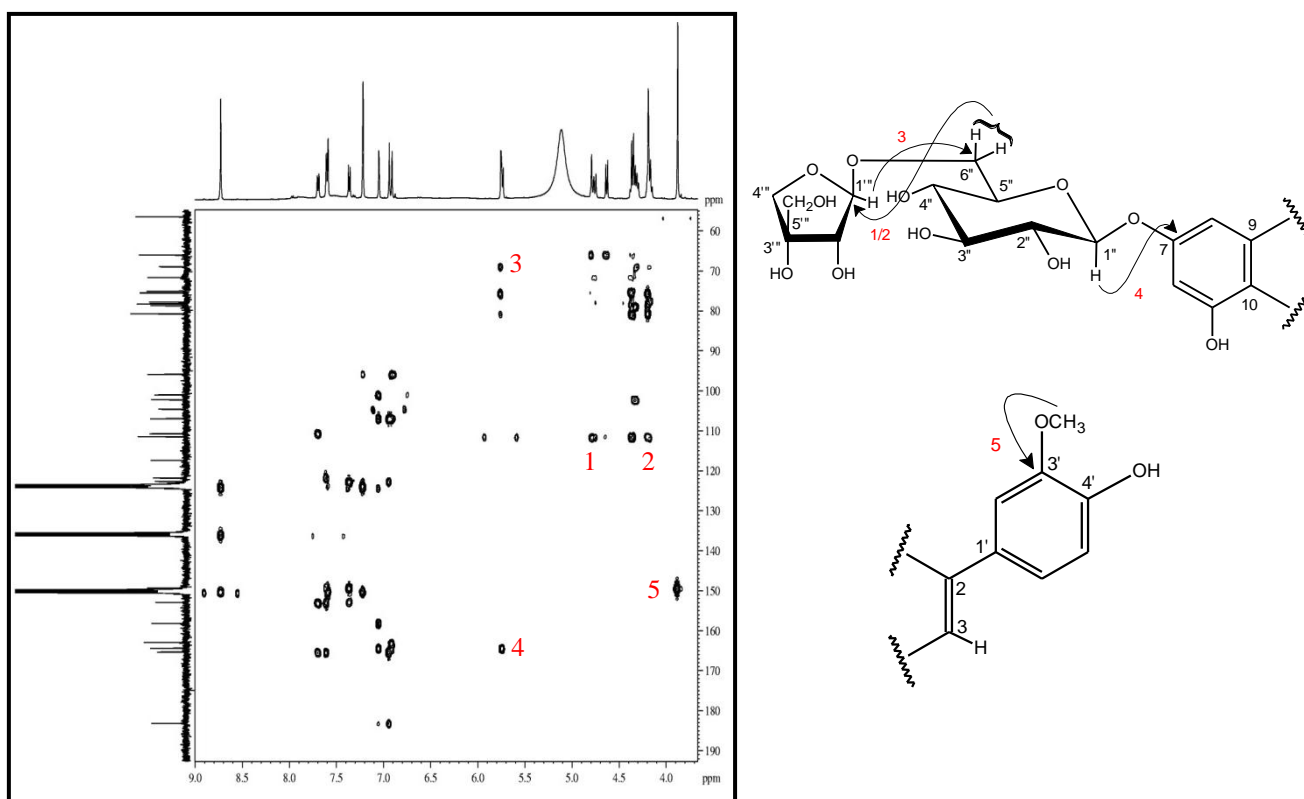


Figura 159 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 2

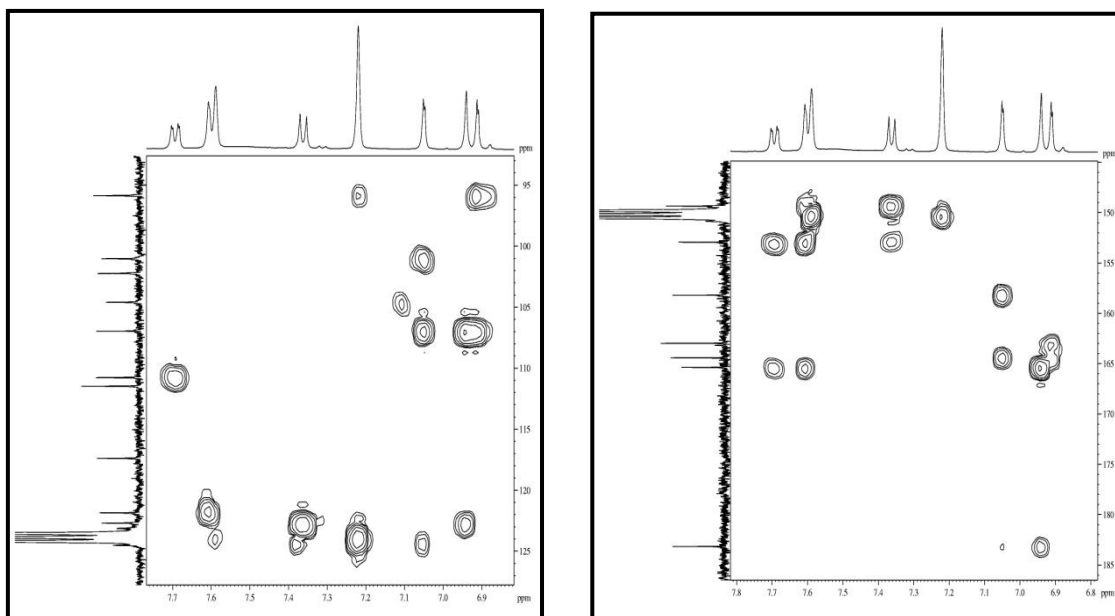


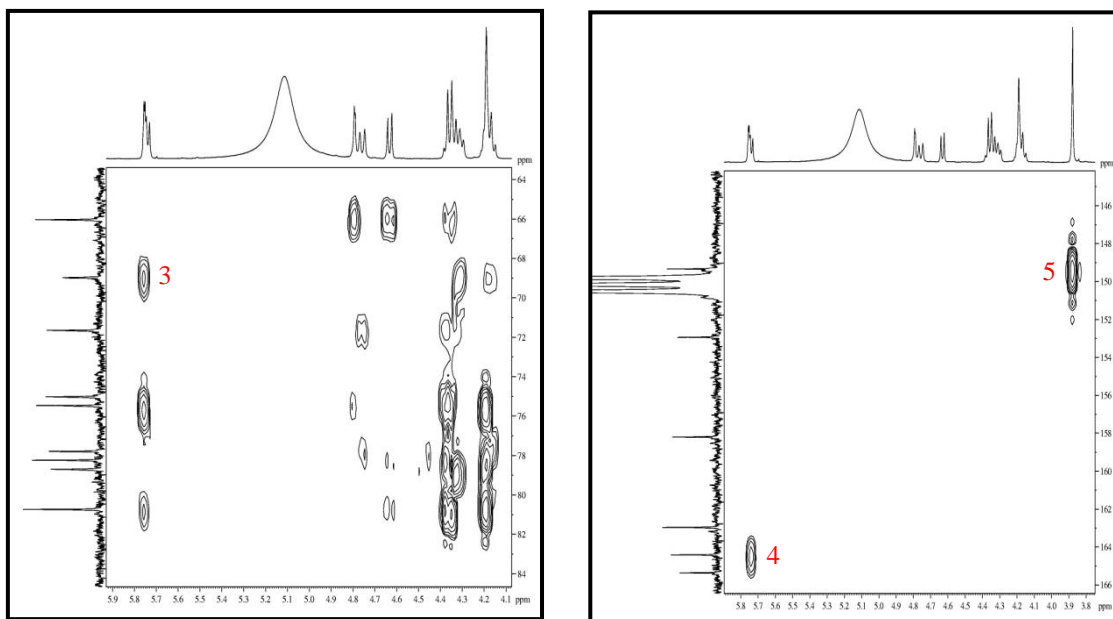
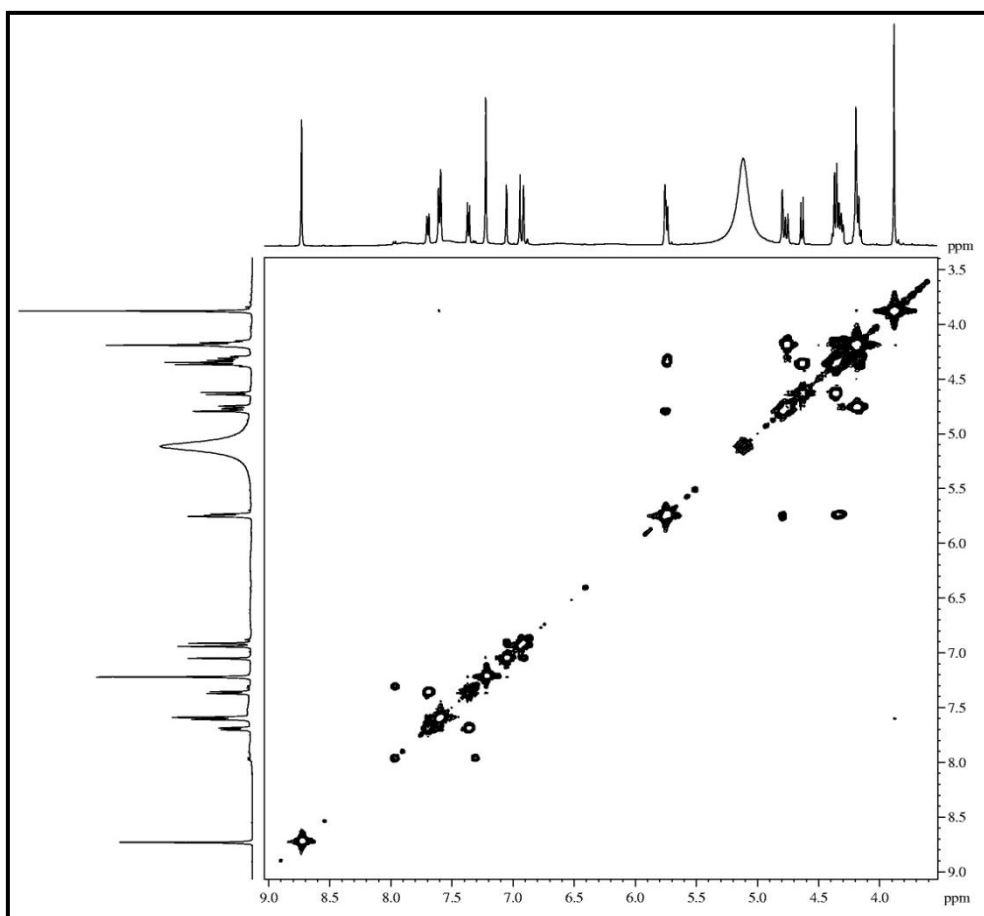
**Figura 160** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 2**Figura 161** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 2

**Figura 162** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 2



**Figura 163** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 2



**Figura 164** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 2**Figura 165** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 2

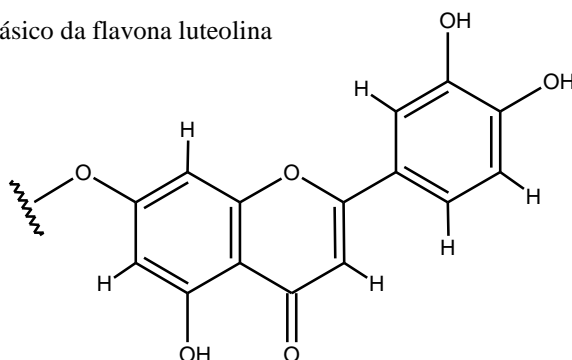


### 5.9 Determinação Estrutural de MCF-NB 3

O fracionamento cromatográfico da fração MCFE, usando cromatografias de exclusão molecular, adsorção e CLAE (fase reversa), resultou na obtenção de um sólido amarelo (5,1 mg), denominado MCF-NB 3 (p.f. 200,2 - 203,9 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -93,1^\circ$ , MeOH,  $c$  0,05) (item 4.6.4.6, p. 90).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3 (fig. 170, p. 209), mostrou uma estreita similaridade com os sinais apresentados por MCT-NB 2, sendo observado o sistema aromático de spin ABX, de acordo com o conjunto de sinais em  $\delta$  7,93 (sl, H-2'); 7,56 (H-6') e 7,33 (d,  $J = 8,4$  Hz, H-5') e dois sinais em  $\delta$  7,01 (sl, H-8) e 7,03 (d,  $J = 1,8$  Hz, H-6), compatíveis com hidrogênios aromáticos *meta*-posicionados, além da presença de um simpleto em  $\delta$  6,90 (s, H-3), sugerindo a existência do mesmo grupo aglicona caracterizado para MCT-NB 2 (fig. 166).

Figura 166 Esqueleto básico da flavona luteolina



A presença de sinais na região de hidrogênios heterosídeos ( $\delta$  4,84-4,04), em conjunto com a existência de três sinais de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos em  $\delta$  6,41 (sl, H-1'''), 5,72 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-1''') e 5,65 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-1'''), foram sugestivos para a presença de três unidades glicosídicas, uma unidade a mais que MCT-NB 2.

Analisando as constantes de acoplamentos dos hidrogênios anoméricos, observa-se o duplete em  $\delta$  5,65 com constante de acoplamento  $J = 7,8$  Hz, evidenciando a presença de uma unidade de glicose com configuração  $\beta$ ; um simpleto largo em  $\delta$  6,41, que aliada à presença de um duplete intenso em  $\delta$  1,82 (d,  $J = 6,1$  Hz, 3H-6''') corroborou com a existência de uma unidade de ramnose com configuração  $\alpha$ .

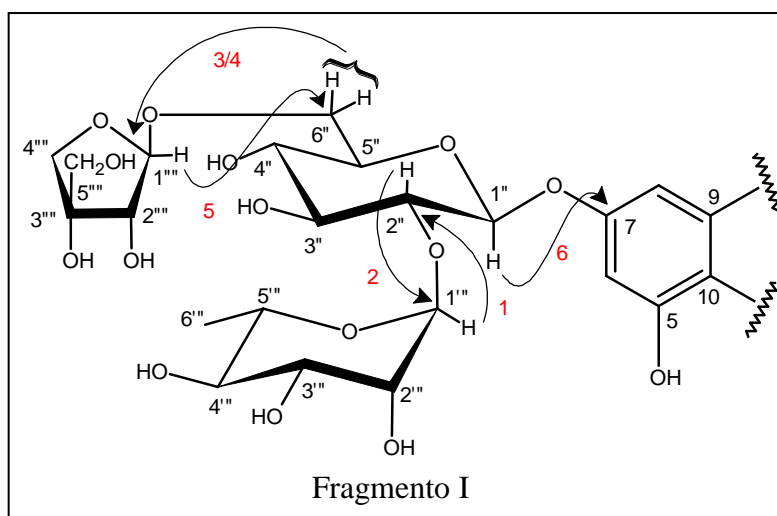
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3 (fig. 172, p. 210) apresentou 32 linhas espectrais, cinco sinais a mais que MCT-NB 2, atribuídos a carbonos  $\text{sp}^3$  oxigenados:  $\delta$  111,5 (C-1'''); 80,8 (C-3'''); 78,2 (C-2'''); 75,5 (C-4''') e 66,1 (C-5'''), ratificando a presença da terceira unidade glicosídica e sugerindo tratar-se da apiose.

A análise em conjunto dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (**fig. 173, p. 210**), revelou a presença de dezoito carbonos metínicos; três carbonos metilênicos; um carbono metílico e dez carbonos não hidrogenados. A partir dos dados espectroscópicos discutidos e em adição ao valor do pico do íon molecular  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  725,1937 ( $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_{19}$  Calculado: 725,1935), foi possível inferir a fórmula molecular  $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{19}$ , com IDH igual a quatorze, para MCF-NB 3 (EM-IES, **fig. 169, p. 208**).

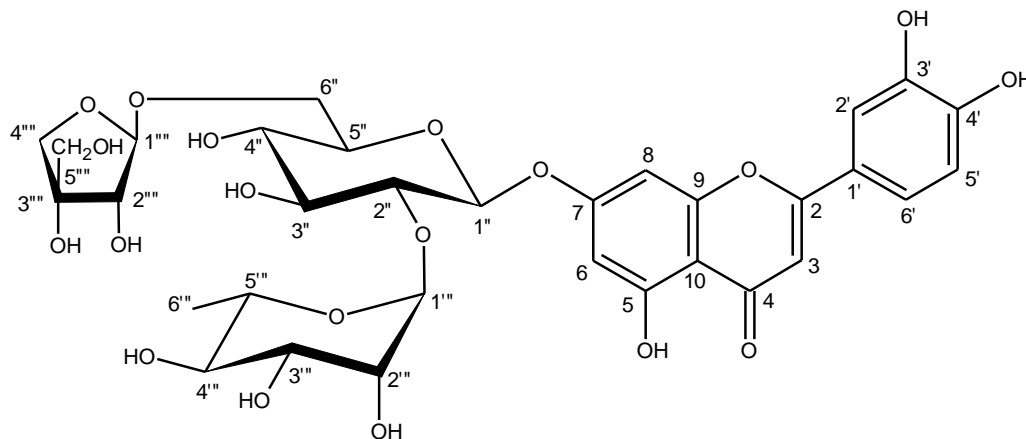
A atribuição dos sinais de hidrogênios aos respectivos carbonos de MCF-NB 3 foi realizada através do espectro de correlação heteronuclear a uma ligação RMN-HSQC (**fig. 174, p. 211**) (**tab. 26, p. 207**).

O espectro de RMN-HMBC de MCF-NB 3 (**fig. 176, p. 212**) apresentou correlações similares às observadas para MCT-NB 2, sendo importante destacar o acoplamento do hidrogênio anomérico em  $\delta$  6,41 (H-1''') com o carbono em  $\delta$  78,0 (C-2'') e do hidrogênio metínico em  $\delta$  4,50 (H-2'') com o carbono carbinólico  $\delta$  102,8 (C-1'''), posicionando a unidade glicosídica ramnose no carbono C-2'' da glicose. Foram observados ainda a correlação dos hidrogênios metilênicos em  $\delta$  4,71 e 4,15 (2H-6'') com o carbono carbinólico em  $\delta$  111,5 (C-1''') e do hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,72 (H-1''') com o carbono metilênico em  $\delta$  68,9 (C-6''), localizando a unidade glicosídica apiose no carbono C-6'' da glicose. Em adição, a importante correlação do hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,65 (H-1'') com o carbono aromático em  $\delta$  164,0 (C-7) foi decisiva para determinar a ligação entre a unidade heterosídica glicose e à aglicona no carbono 7 do anel A (**fragmento I**) (**fig. 167, tab. 26, p. 207**).

**Figura 167** Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 3



A partir da análise espectroscópica discutida, aliada à comparação com dados obtidos para MCT-NB 2, permitiu caracterizar MCF-NB 3 como sendo a flavona 7-O- $\{\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.



7-O- $\{\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina

**Tabela 26** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de MCT-NB 2

# C	HSQC		HMBC		MCT-NB 2
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1'	123,1	-		H-5'; H-3	122,9
1''	100,3	5,65 (d, 7,8)	H-2''	H-5''	99,9
1'''	102,8	6,41 (sl)		H-2''	102,8
1''''	111,5	5,72 (d, 2,0)	H-2''''	2H-6'''; H-4''''	-
2	165,7	-	H-3	H-2'; H-6'	165,6
2'	114,9	7,93 (sl)		H-6'	114,9
2''	78,0	4,50 (t, 8,8)		H-1'''	78,2
2'''	72,8	4,82 (m)			72,7
2''''	78,2	4,83 (m)		H-4''''; 2H-5''''	-
3	104,4	6,90 (s)			104,4
3'	148,1	-	H-2'	H-5'	148,0
3''	79,6	4,36 (m)	H-2''; H-4''	H-1''	79,3
3'''	73,1	4,58 (dd, 9,3; 2,9)	H-4'''	H-1'''; H-5'''	73,0
3''''	80,8	-	H-4''''; H-5''''	H-1''''	-
4	183,1	-	H-3		183,1
4'	152,3	-	H-5'	H-2'; H-6'	152,2
4''	71,8	4,06 (t, 9,4)	H-3''	H-6''	71,5
4'''	74,5	4,37 (m)	H-3'''	H-6'''; H-2'''	74,4
4''''	75,5	4,62 (d, 9,3) 4,36 (d, 9,3)		H-1''''; 2H-5''''	-
5	163,1	-	H-6		162,9
5'	117,3	7,33 (d, 8,4)			117,2
5''	77,6	4,26 (m)	2H-6''		79,5
5'''	70,3	4,83 (m)	3H-6'''; H-4'''	H-1'''	70,3
5''''	66,1	4,22 (sl)		H-2''''; 2H-4''''	-
6	100,8	7,03 (d, 1,8)		H-8	100,8
6'	120,1	7,56 (d*)	H-5''	H-2''	120,0
6''	68,9	4,71 (d, 10,9) 4,15 (dd, 11,0; 7,0)	H-5''	H-1''''; H-4''	62,4
6'''	19,3	1,82 (d, 6,1)			19,2
7	164,0	-	H-6; H-8	H-1''	163,9
8	95,7	7,01 (sl)		H-6	95,5
9	158,2	-	H-8		158,1
10	107,1	-		H-8; H-6; H-3	106,9
HO-5	-	13,62 (sl)			-

\*O outro pico do sinal do H-6' está encoberto pelo sinal do solvente deuturado

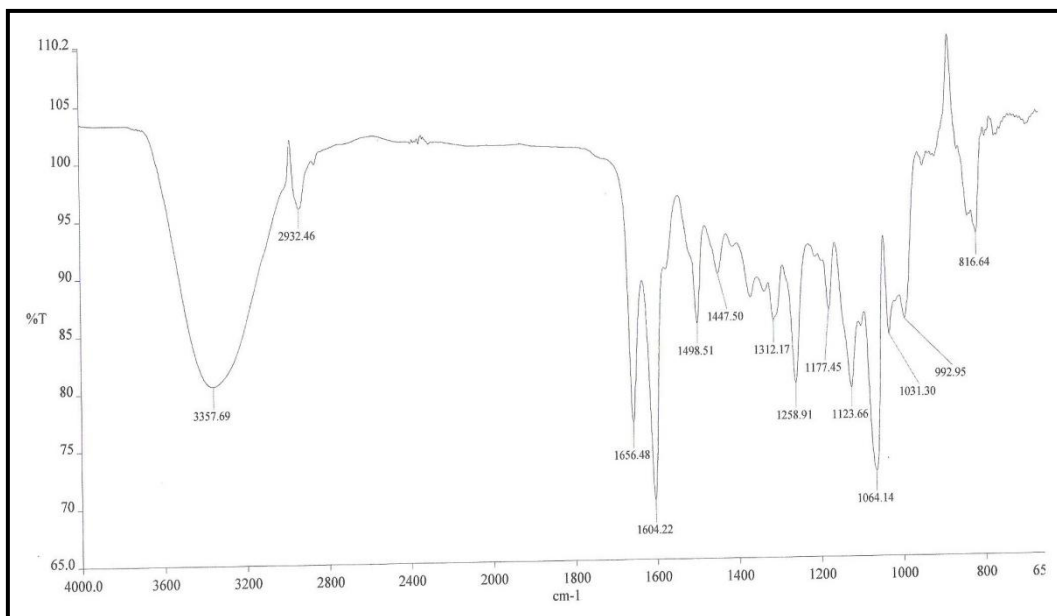
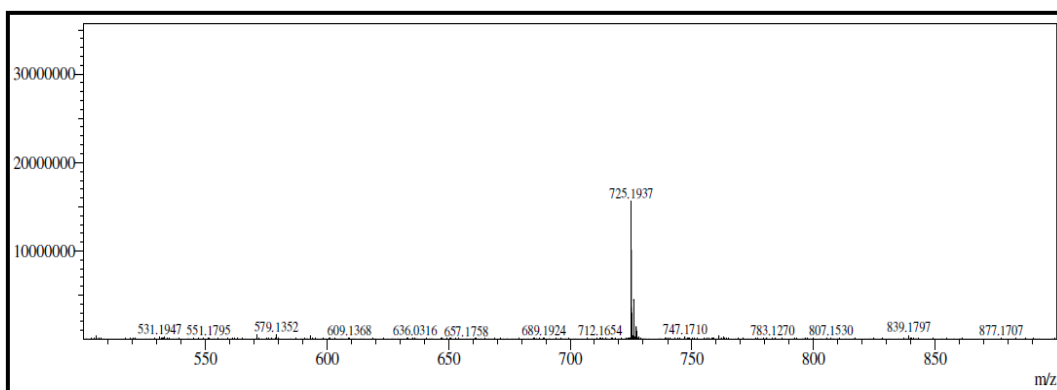
**Figura 168** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 3**Figura 169** Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 3

Figura 170 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3

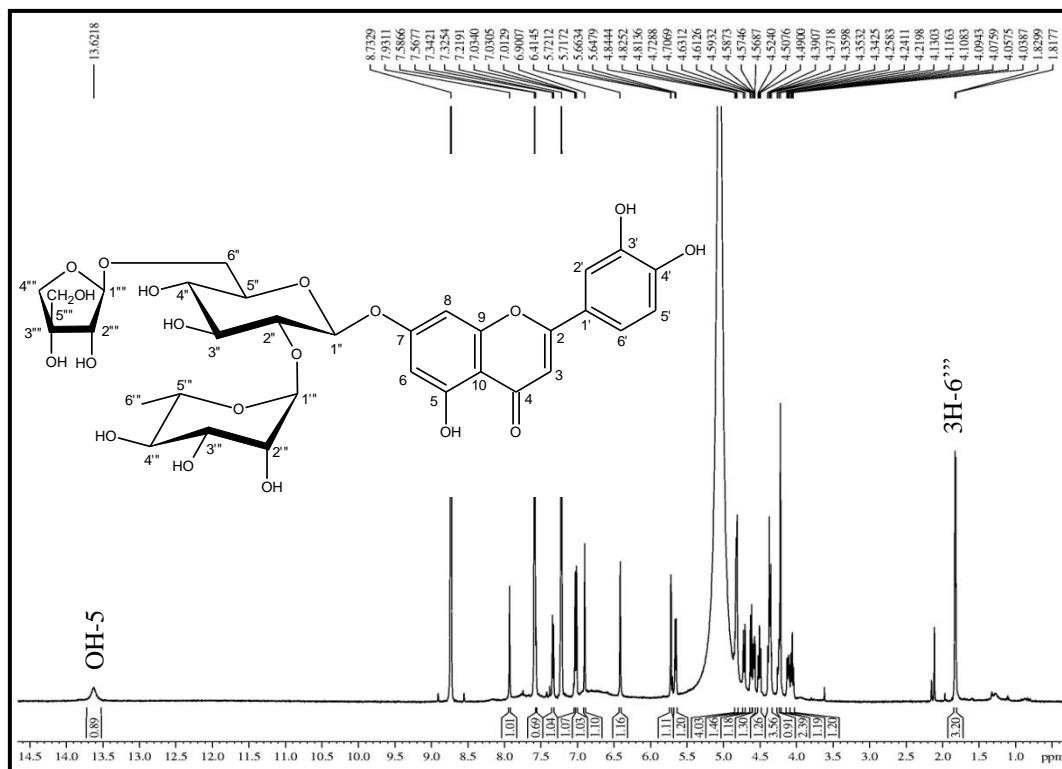


Figura 171 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3

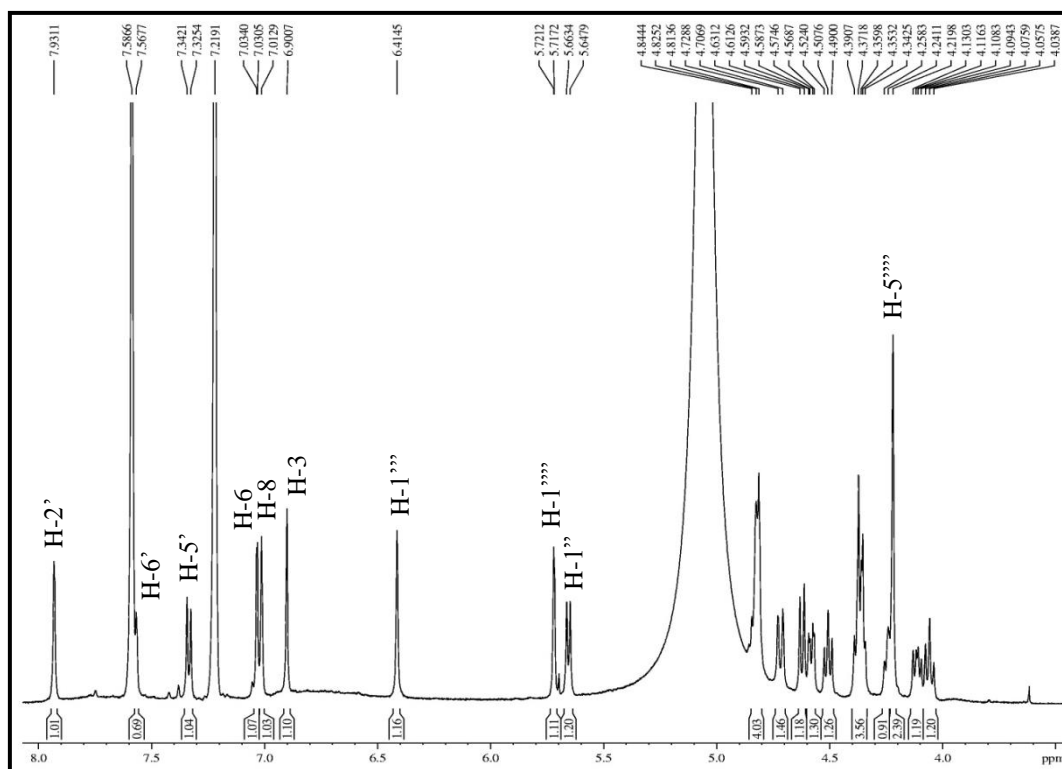


Figura 172 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3

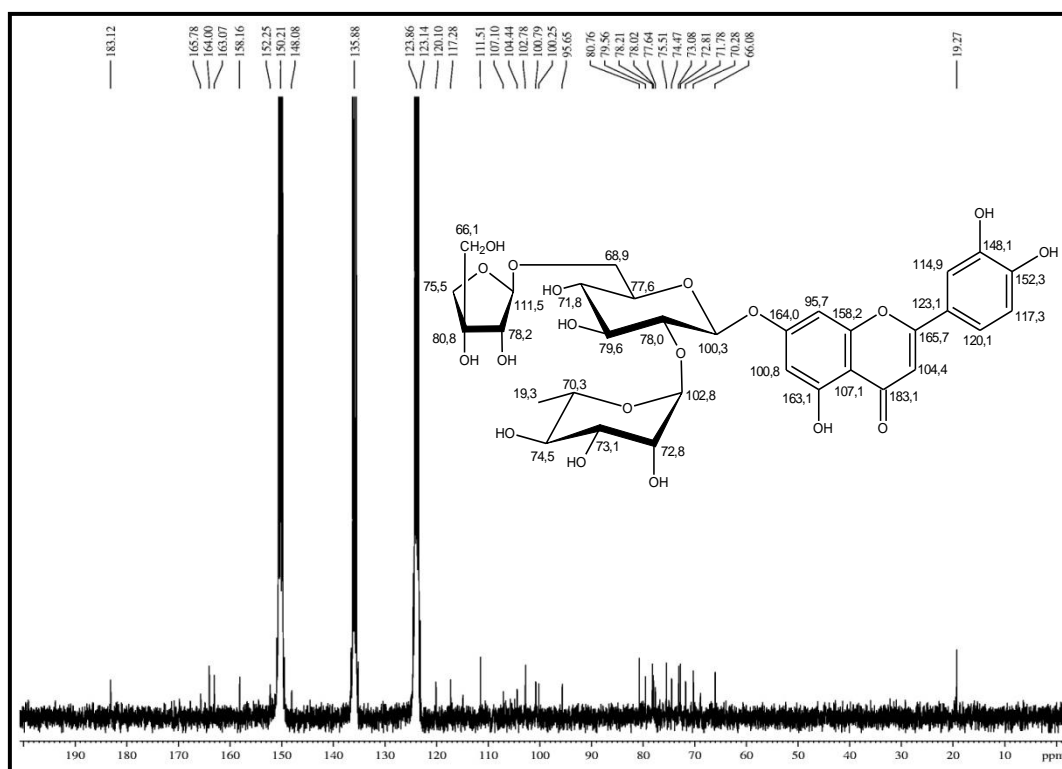
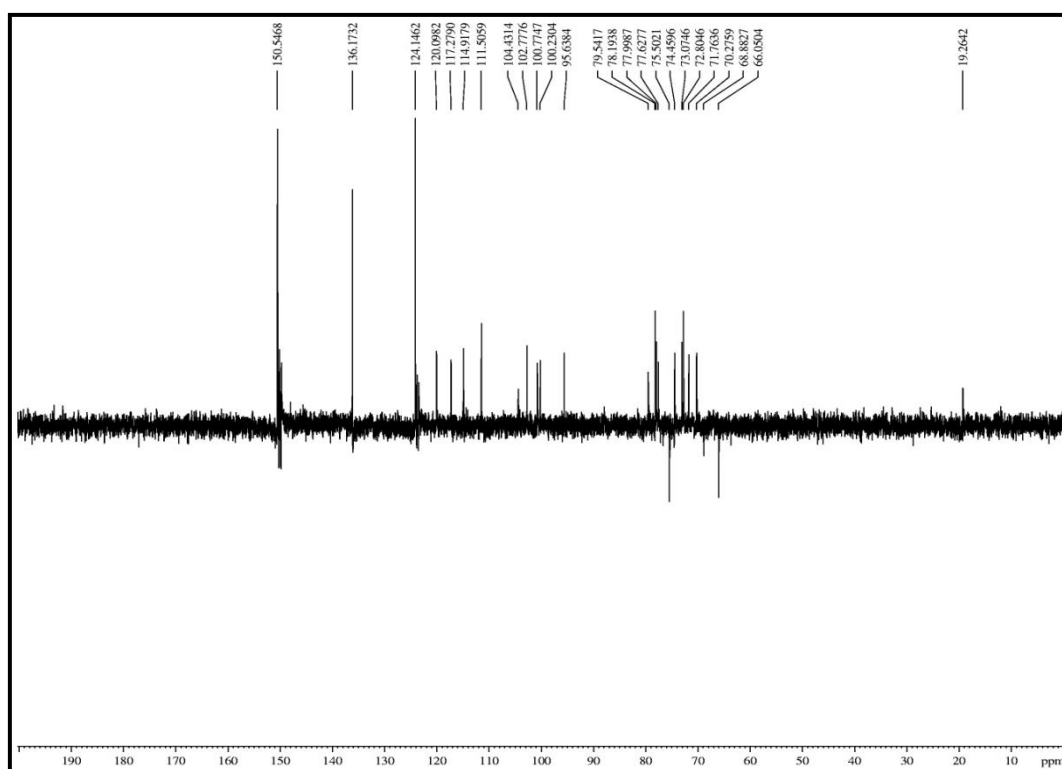
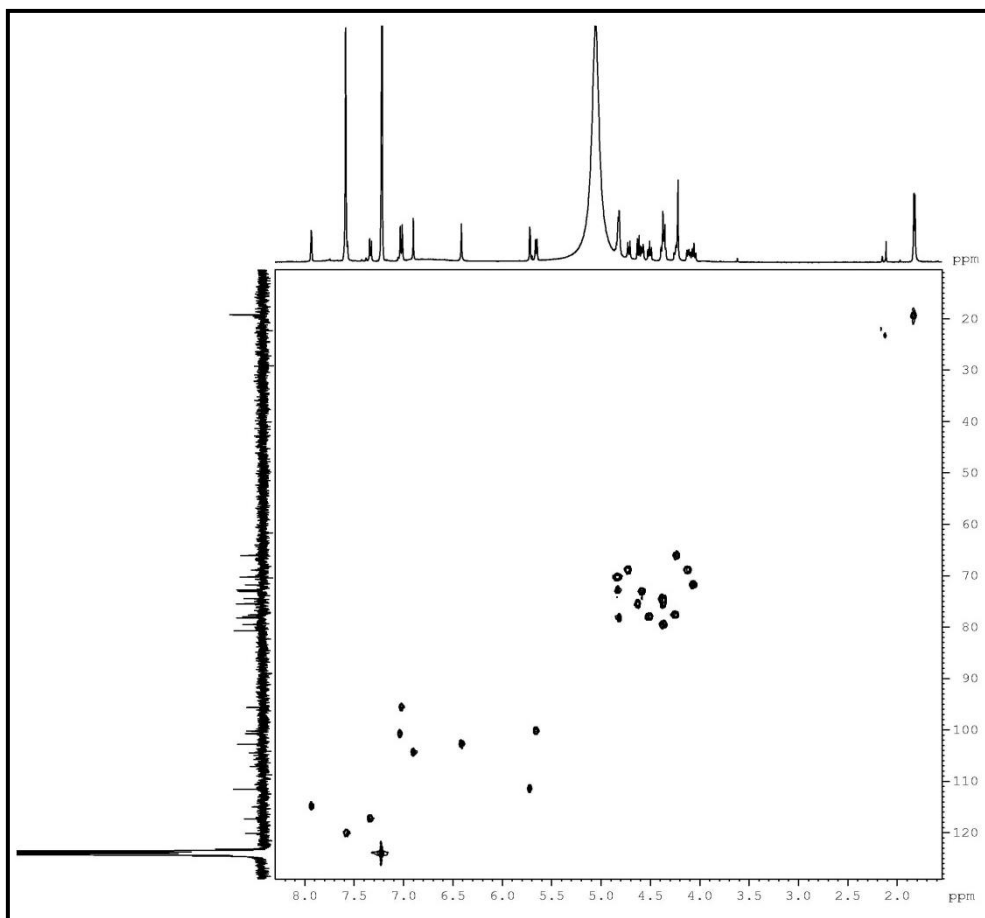
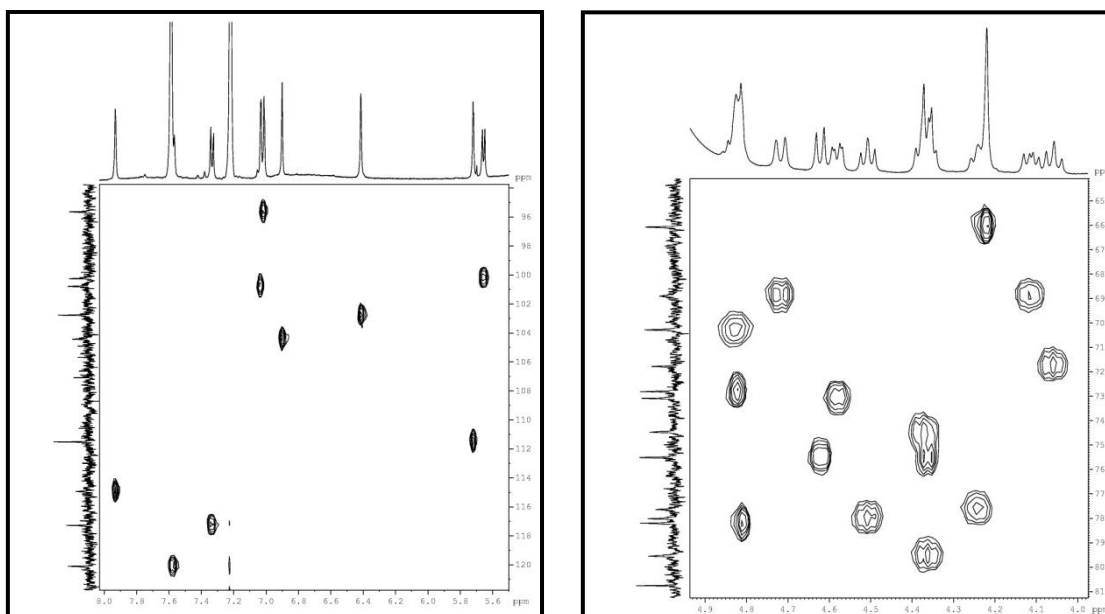


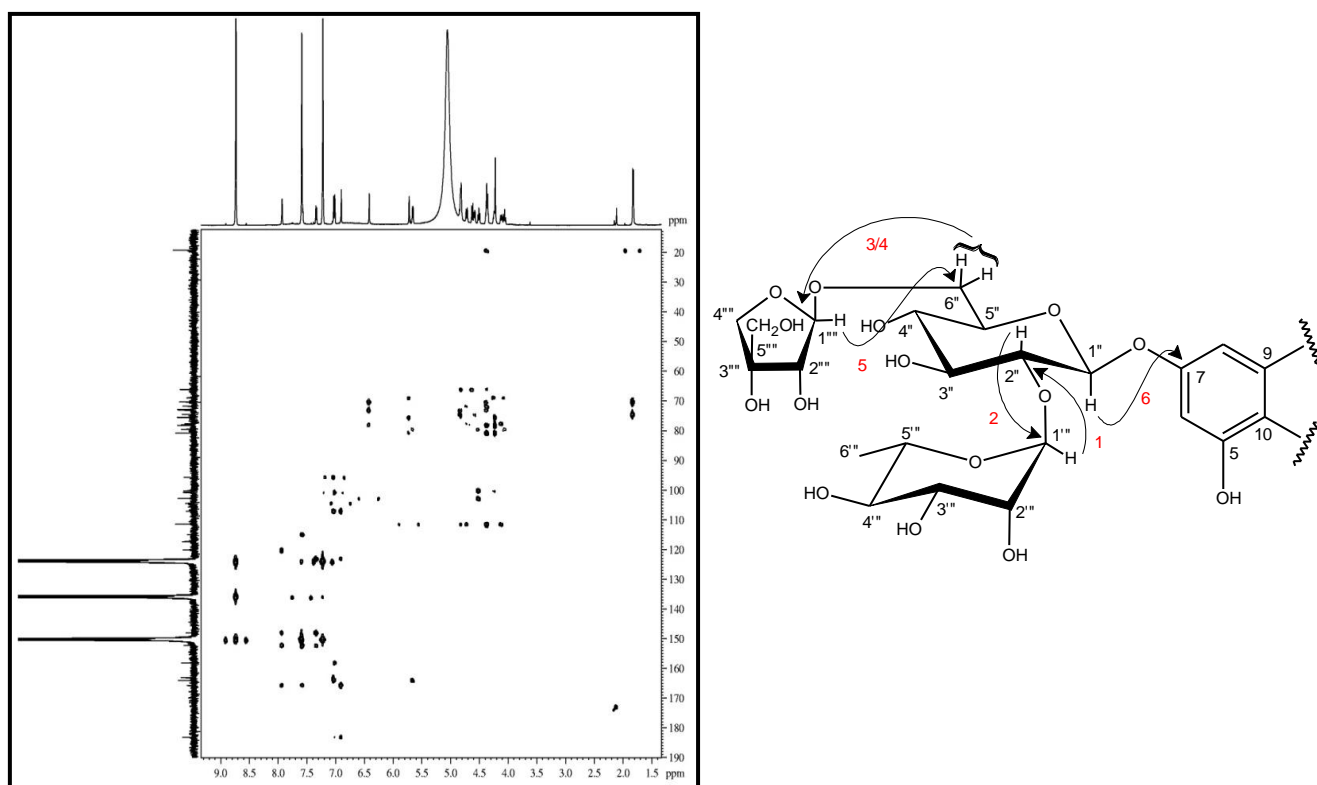
Figura 173 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 3



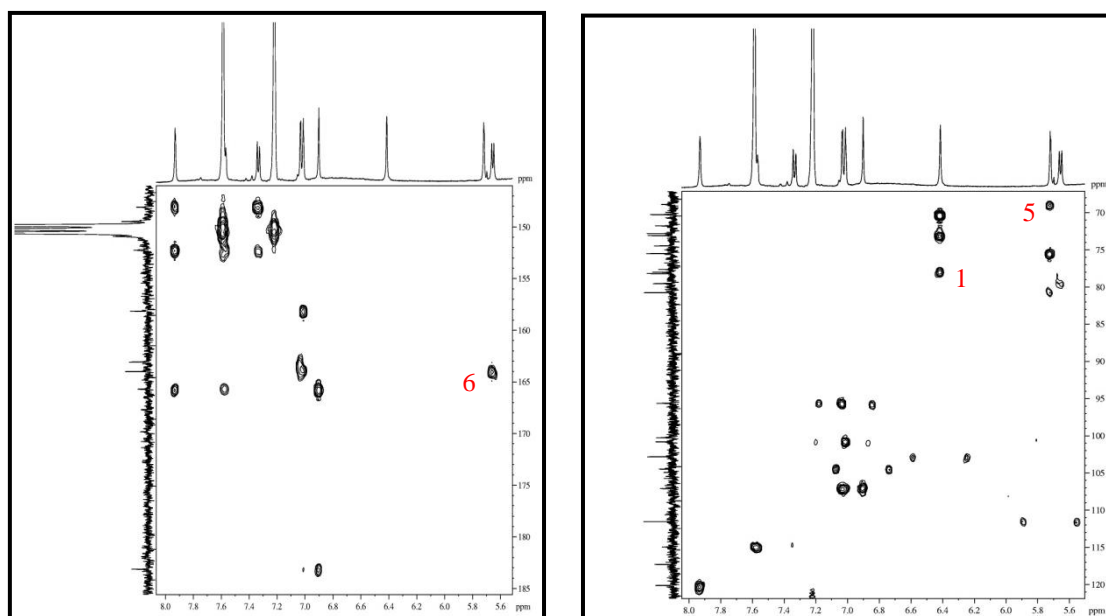
**Figura 174** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3**Figura 175** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3

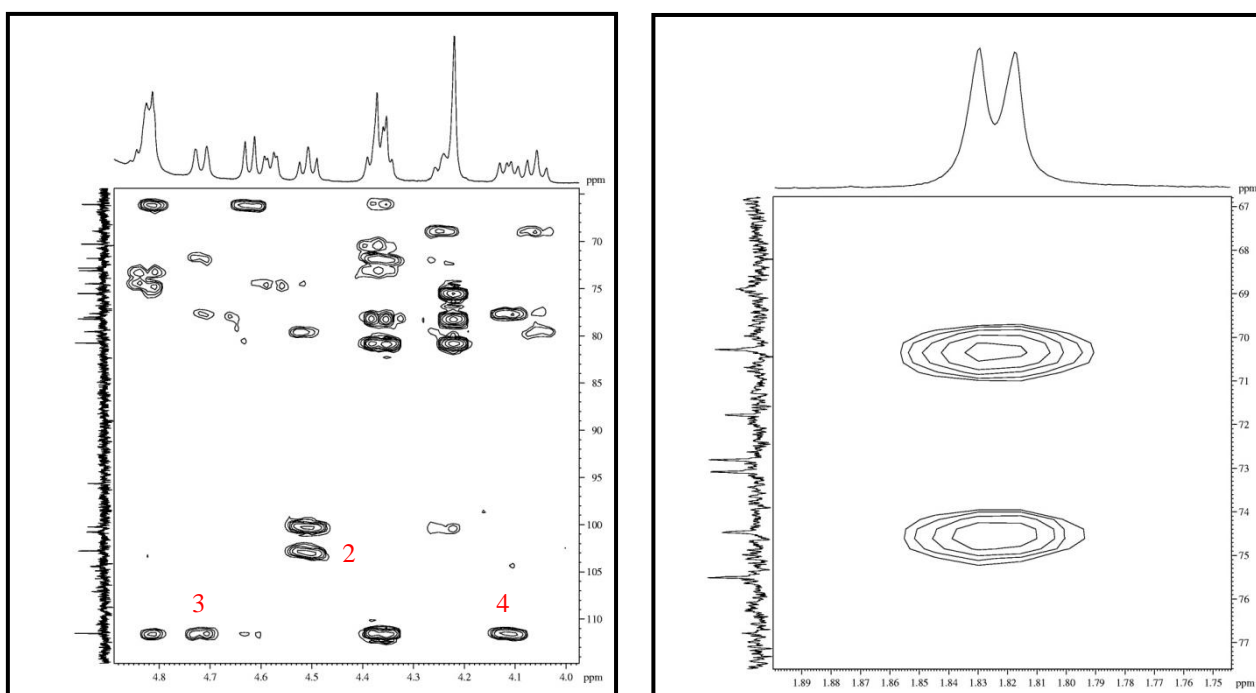
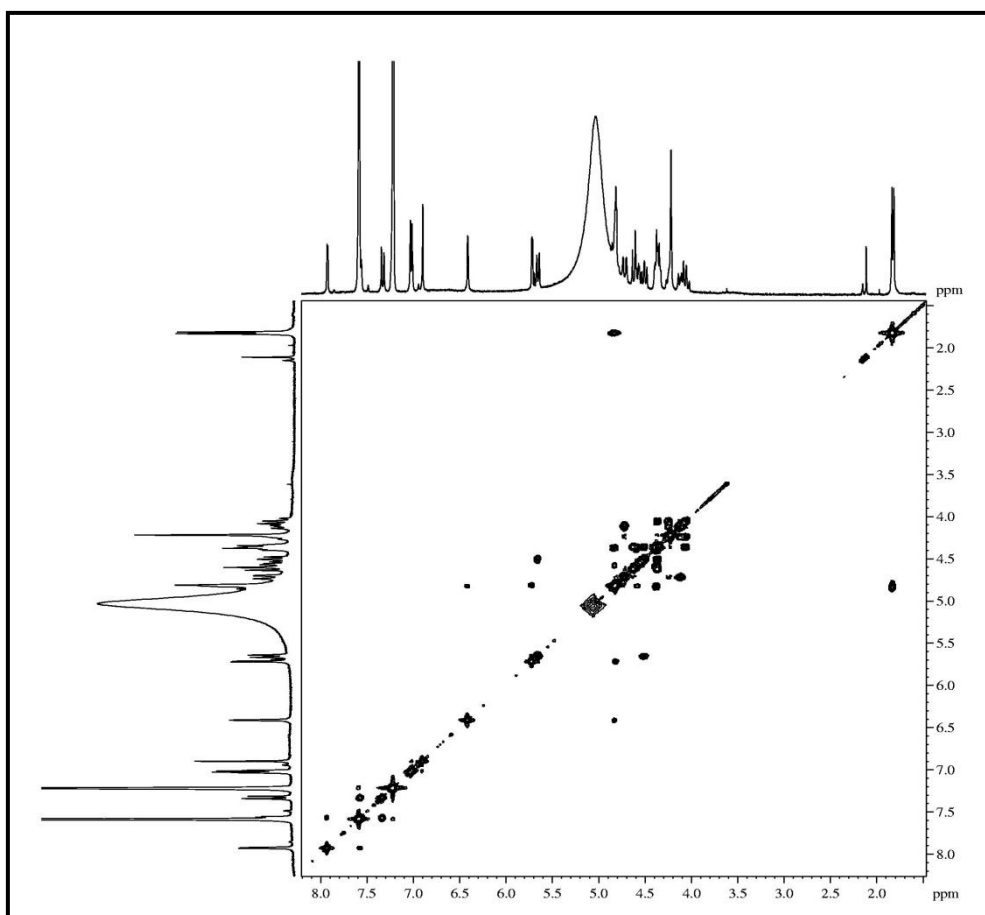


**Figura 176** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3

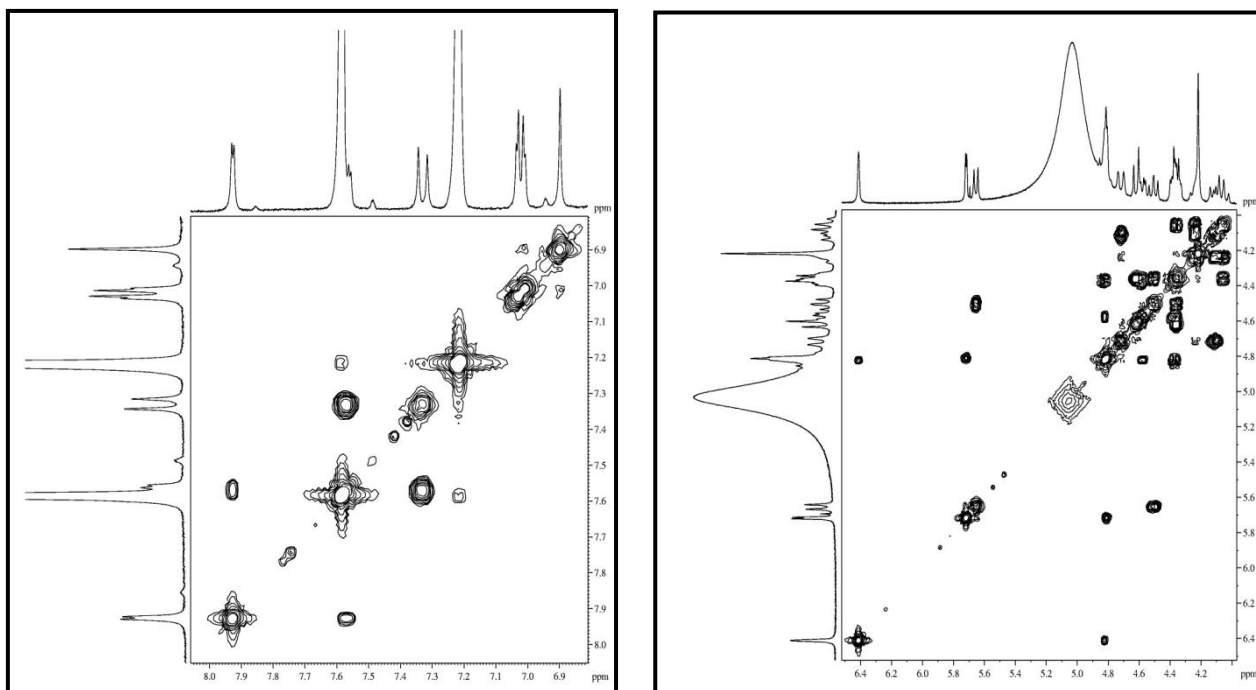


**Figura 177** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3



**Figura 178** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3**Figura 179** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3

**Figura 180** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 3



### 5.10 Determinação Estrutural de MCF-NB 4

O tratamento cromatográfico da fração MCFE, usando cromatografias de exclusão molecular, adsorção e CLAE (fase reversa), resultou na obtenção de um sólido amarelo (6,7 mg), denominado MCF-NB 4 (p.f. 262,7 - 264 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -39,2^\circ$ , MeOH, *c* 0,23) (**item 4.6.4.6, p. 90**).

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 4 (**fig. 185, p. 220**), apresentou o conjunto de sinais  $\delta$  7,93 (sl, H-2'); 7,55 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-6') e 7,35 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'), característico de um sistema aromático de spin ABX; dois sinais  $\delta$  7,01 (sl, H-6) e 7,00 (sl, H-8), compatíveis com hidrogênios aromáticos meta-posicionados, além da presença de um simpleto em  $\delta$  6,87 (s, H-3). Mostrando grande semelhança com o padrão de hidrogenação observado para MCF-NB 3 e sugerindo a existência da mesma aglicona.

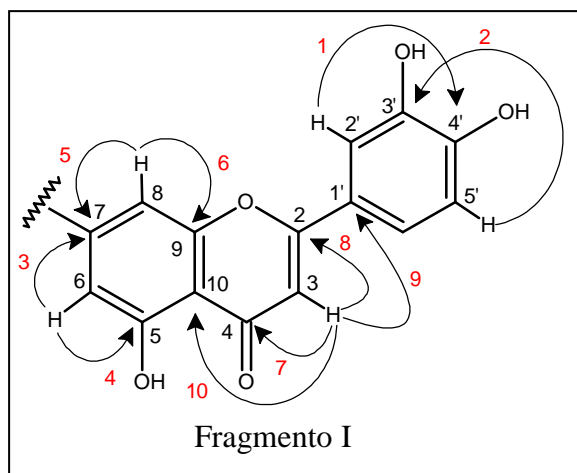
De forma análoga a MCF-NB 3, foram observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MCF-NB 4, sinais na região de hidrogênios heterosídeos ( $\delta$  4,84-4,04), aliado à presença de três sinais de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos em  $\delta$  6,42 (sl, H-1'''), 5,64 (d,  $J = 7,7$  Hz, H-1'') e 5,42 (sl, H-1'''), sugerindo a existência de três unidades glicosídicas. O duplete em  $\delta$  5,64 com constante de acoplamento  $J = 7,7$  Hz referente ao hidrogênio anomérico H-1'', sugeriu a presença de uma unidade de glicose com configuração  $\beta$ ; já a existência de dois dupletos intensos em  $\delta$  1,82 (d,  $J = 6,2$  Hz, 3H-6''') e 1,58 (d,  $J = 5,9$  Hz, 3H-6''), foram sugestivos para a presença de duas unidades de ramnose.

O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação RMN-HSQC de MCF-NB 4 (**fig. 188, p. 221**), mostrou a correlação dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ), possibilitando atribuir o valor de deslocamentos químicos aos vinte e quatro carbonos hidrogenados, além de confirmar a presença de um carbono metilênico devido a correção dos hidrogênios em  $\delta$  4,68; 4,09 (H-6'') com  $\delta$  67,5 (C-6''); de dois carbonos metílicos em  $\delta$  1,82 (H-6''') com  $\delta$  19,1 (C-6''') e  $\delta$  1,58 (H-6'') com  $\delta$  18,7 (C-6''), ratificando a existência das duas unidades de ramnose (**tab. 27, p. 218**).

As correlações observadas no espectro de RMN-HMBC de MCF-NB 4 (**fig. 191, p. 223**), entre o hidrogênio em  $\delta$  7,97 (H-2') e o carbono em  $\delta$  152,3 (C- 4'), do hidrogênio em  $\delta$  7,35 (H-5') com o carbono em  $\delta$  147,9 (C- 3'), do hidrogênio em  $\delta$  7,01 (H-6) com os carbonos em  $\delta$  164,0 (C- 7) e 163,5 (C-5). Em adição, as correlações do hidrogênio em  $\delta$  7,00 (H-8) com os carbonos em  $\delta$  164,0 (C- 7) e 157,9 (C-9), do hidrogênio em  $\delta$  6,87 (H-3) com os carbonos  $\delta$  182,9 (C- 4), 165,8 (C-2), 122,8 (C-1') e 107,1 (C-10), permitiram localizar nove carbonos não hidrogenados (**fragmento I**) (**fig. 181, p. 216**).

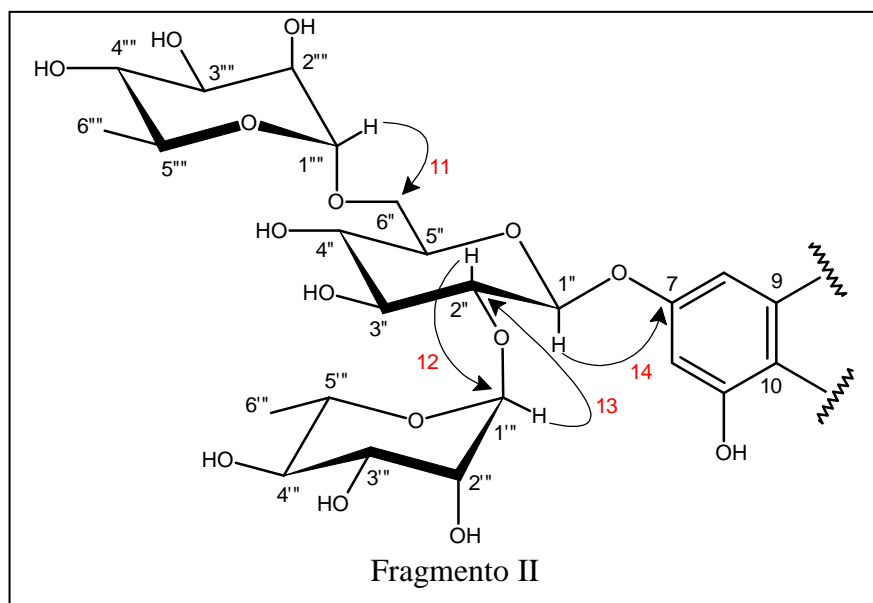
A reunião dos dados espectroscópicos até então descritos para MCF-NB 4, possibilitou deduzir a fórmula molecular  $C_{33}H_{40}O_{19}$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a quatorze, confirmada pela presença do pico do íon  $[M-H]^-$  em  $m/z$  739,2093 ( $C_{33}H_{39}O_{19}$  Calculado: 739,2091), no espectro de massas (EM-IES, **fig. 184, p. 219**).

**Figura 181** Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 4

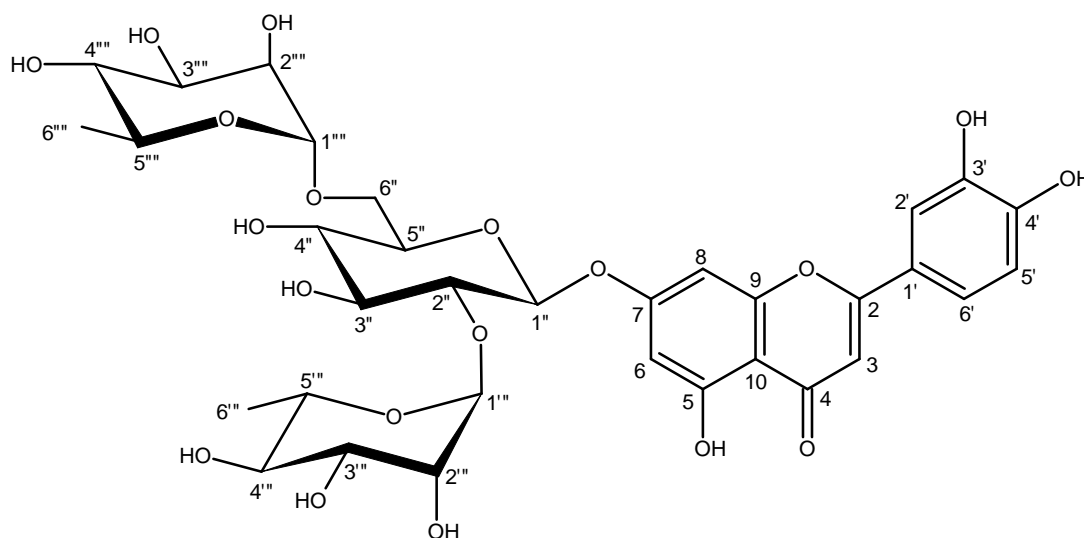


A análise do espectro de HMBC de MCF-NB 4, permitiu posicionar de forma inequívoca as unidades glicosídicas, através do acoplamento do hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,42 (H-1''') com o carbono metilênico em  $\delta$  67,5 (C-6''), localizando a primeira unidade ramnose no carbono C-2'' da glicose. As correlações entre o hidrogênio em  $\delta$  4,51 (H-2'') com o carbono carbinólico em  $\delta$  102,5 (C-1'') e do hidrogênio anomérico em  $\delta$  6,42 (H-1'') com o carbono em  $\delta$  77,8 (C-2''), localizou a segunda unidade glicosídica ramnose carbono C-6'' da glicose, enquanto que a correlação do hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,64 (H-1'') com o carbono aromático em  $\delta$  164,0 (C-7), foi importante para determinar a ligação entre a unidade heterosídica glicose e à aglicona no carbono 7 do anel A (**fragmento II**) (**fig. 182, p. 217**).

**Figura 182** Importantes correlações observadas no espectro de HMBC de MCF-NB 4



A partir da análise espectroscópica discutida, aliada a comparação com dados obtidos para MCF-NB 3, permitiu caracterizar MCF-NB 4 como sendo a flavona 7-O- $\{\alpha$ -L-ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 6) - [ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]luteolina, relatada pela primeira vez na literatura.



7-O- $\{\alpha$ -L-ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 6) - [ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]luteolina

**Tabela 27** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de RMN-HSQC, HMBC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 4 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de MCT-NB 3

# C	HSQC		HMBC		MCF-NB 3
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1'	122,8	-		H-5'; H-3	123,1
1''	100,1	5,64 (d, 7,7)	H-2''		100,3
1'''	102,5	6,42 (sl)		H-2''	102,8
1''''	102,6	5,42 (sl)			111,5
2	165,8	-	H-3	H-2'; H-6'	165,7
2'	114,8	7,97 (sl)		H-6'	114,9
2''	77,8	4,51 (t, 8,3)	H-3''	H-1'''	78,0
2'''	72,9	4,83 (m)	H-1''''	H-4''''	72,8
2''''	72,2	4,71 (m)	H-1'''''		78,2
3	104,4	6,87 (s)			104,4
3'	147,9	-	H-2'	H-5'	148,1
3''	79,3	4,38 (m)	H-2''		79,6
3'''	73,1	4,59 (dd, 21,3; 8,9)	H-4''''		73,1
3''''	72,5	4,83 (m)	H-1'''''		80,8
4	182,9	-	H-3		183,1
4'	152,3	-		H-2'; H-6'	152,3
4''	71,6	4,03 (t, 9,4)			71,8
4'''	74,3	4,36 (m)		H-6''''	74,5
4''''	74,1	4,23 (t, 9,2)	H-5'''''	H-6'''''	75,5
5	163,5	-	H-6		163,1
5'	117,2	7,35 (d, 8,0)			117,3
5''	77,4	4,21 (m)	H-6''		77,6
5'''	70,0	4,27 (m)	H-6''''; H-4''''	H-1''''	70,3
5''''	70,1	4,83 (m)	H-6''''; H-4''''	H-1''''	66,1
7	164,0	-	H-6; H-8	H-1''	164,0
6	100,8	7,01 (sl)		H-8	100,8
6'	120,1	7,55 (d, 8,0)		H-2'	120,1
6''	67,5	4,68 (d, 11,3) 4,09 (dd, 11,3; 7,2)	H-5''	H-1''''	68,9
6'''	18,7	1,58 (d, 5,9)			-
6''''	19,1	1,82 (d, 6,2)			19,3
8	95,3	7,00 (sl)		H-6	95,7
9	157,9	-	H-8		158,2
10	107,1	-		H-6; H-8; H-3	107,1

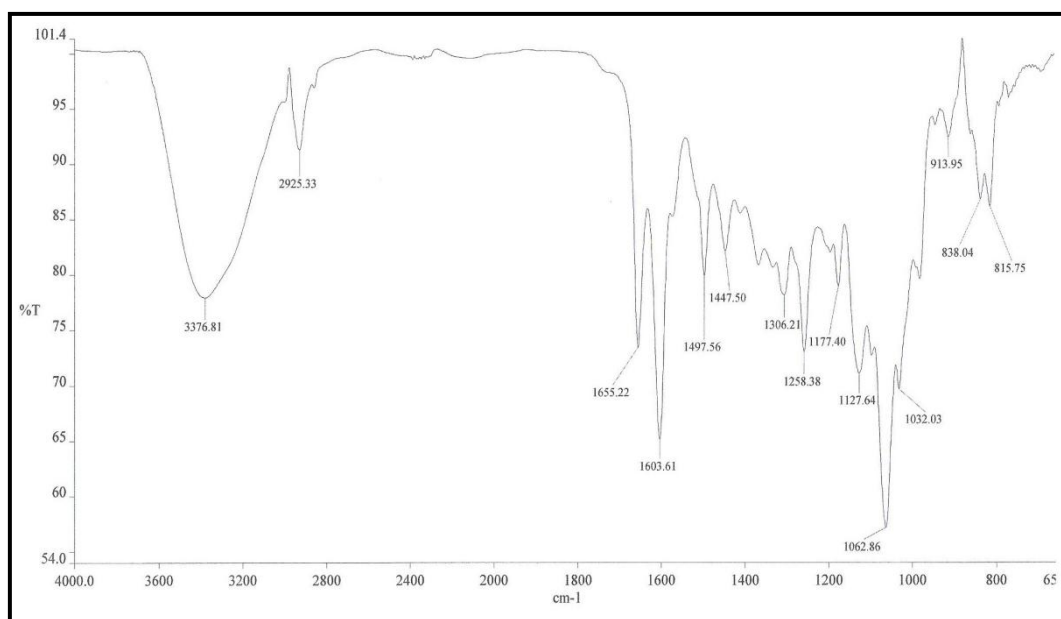
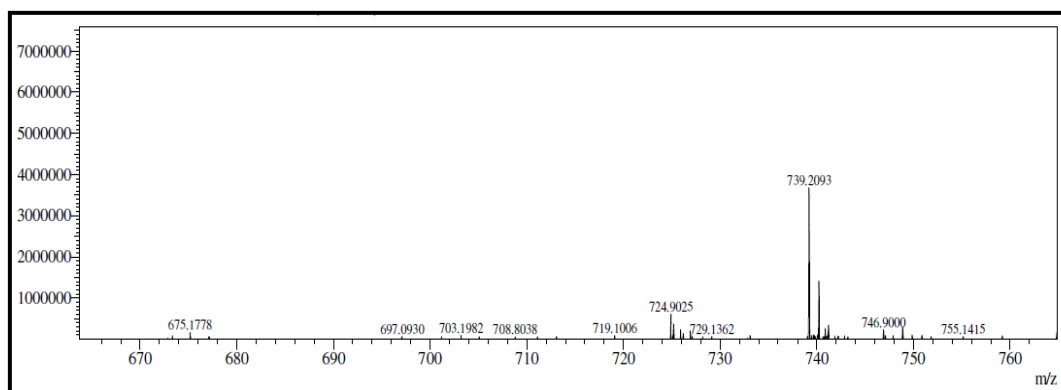
**Figura 183** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCF-NB 4**Figura 184** Espectro de massas de alta resolução de MCF-NB 4



Figura 185 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 4

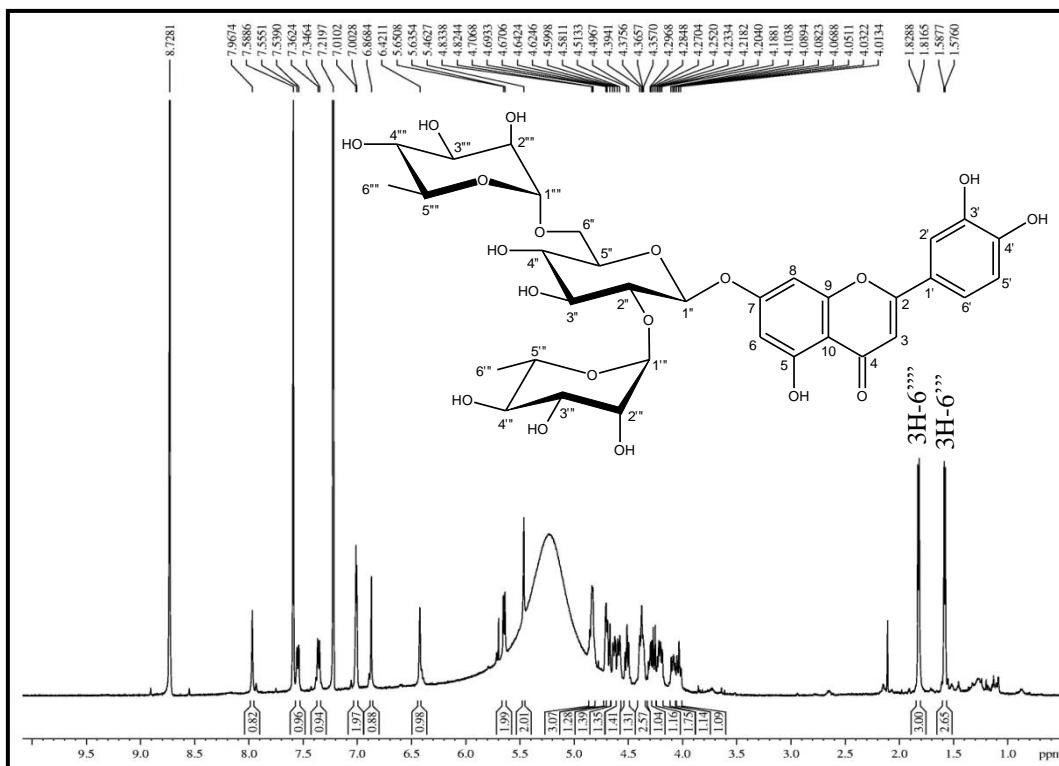
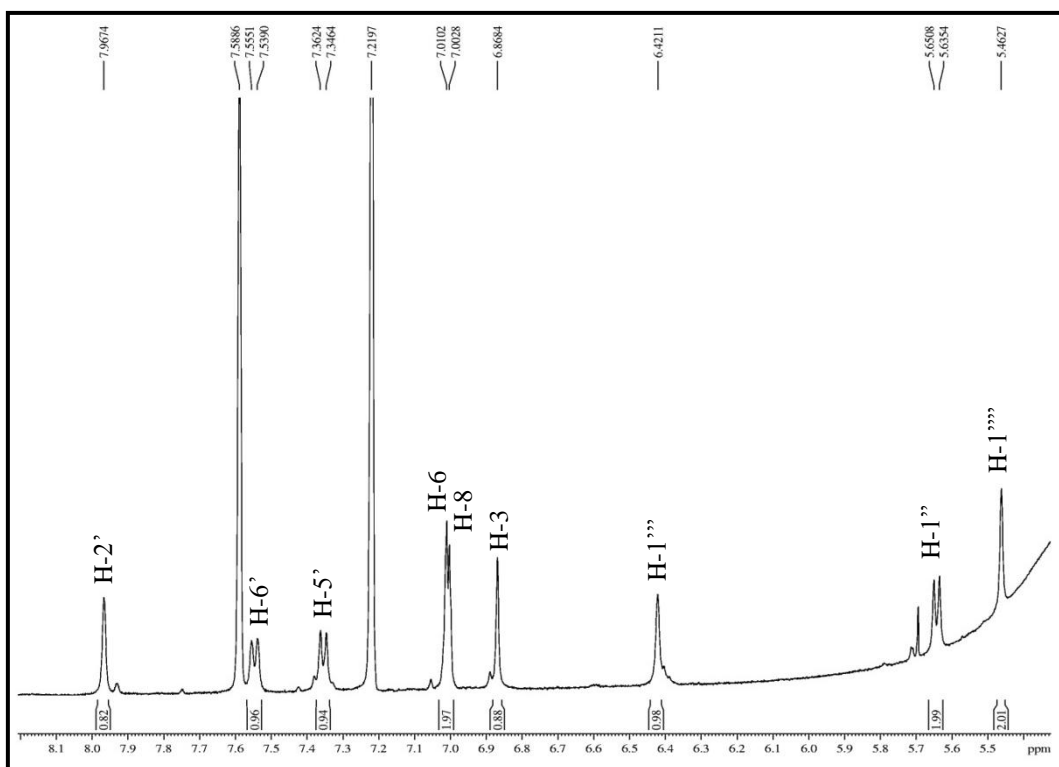
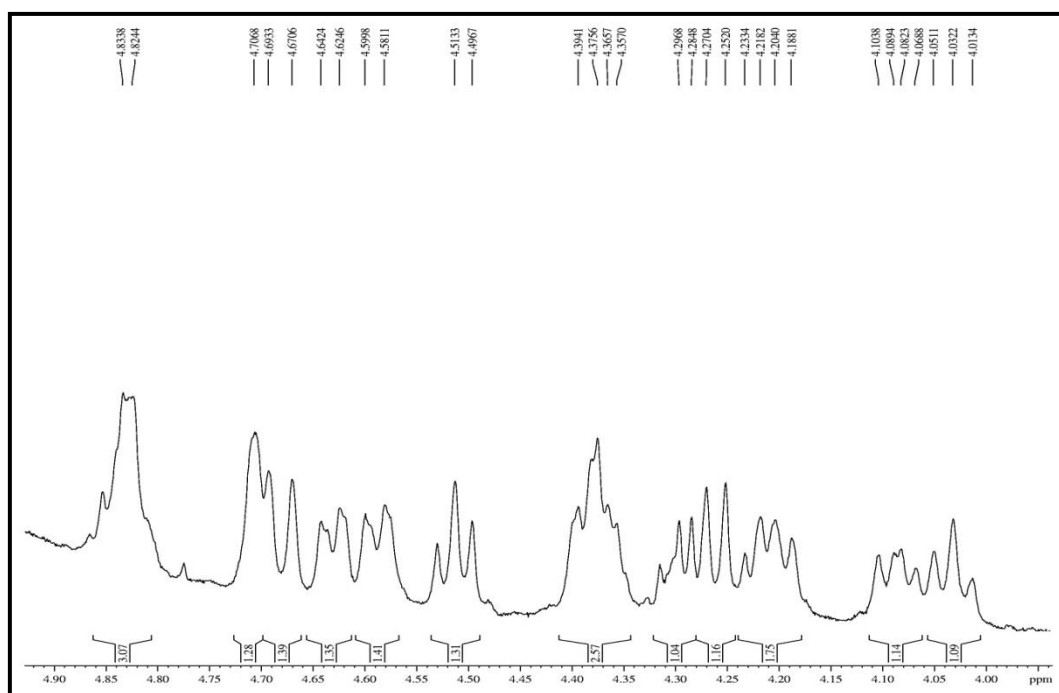
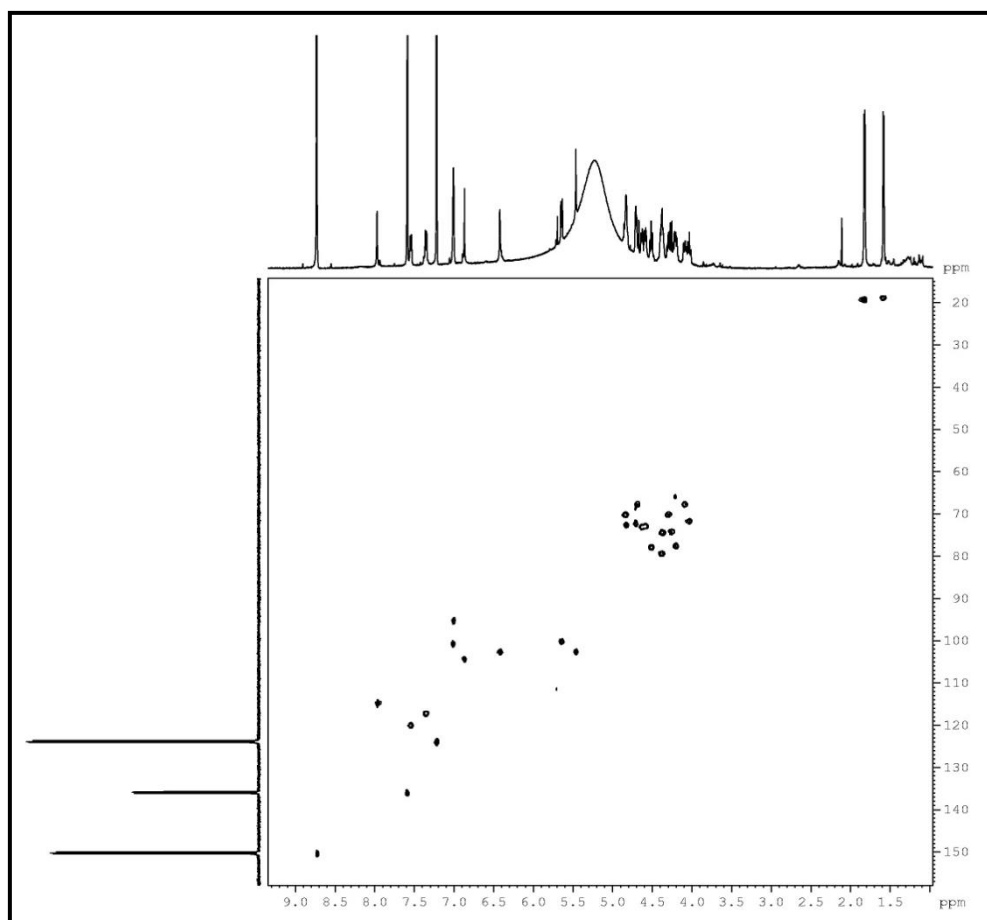
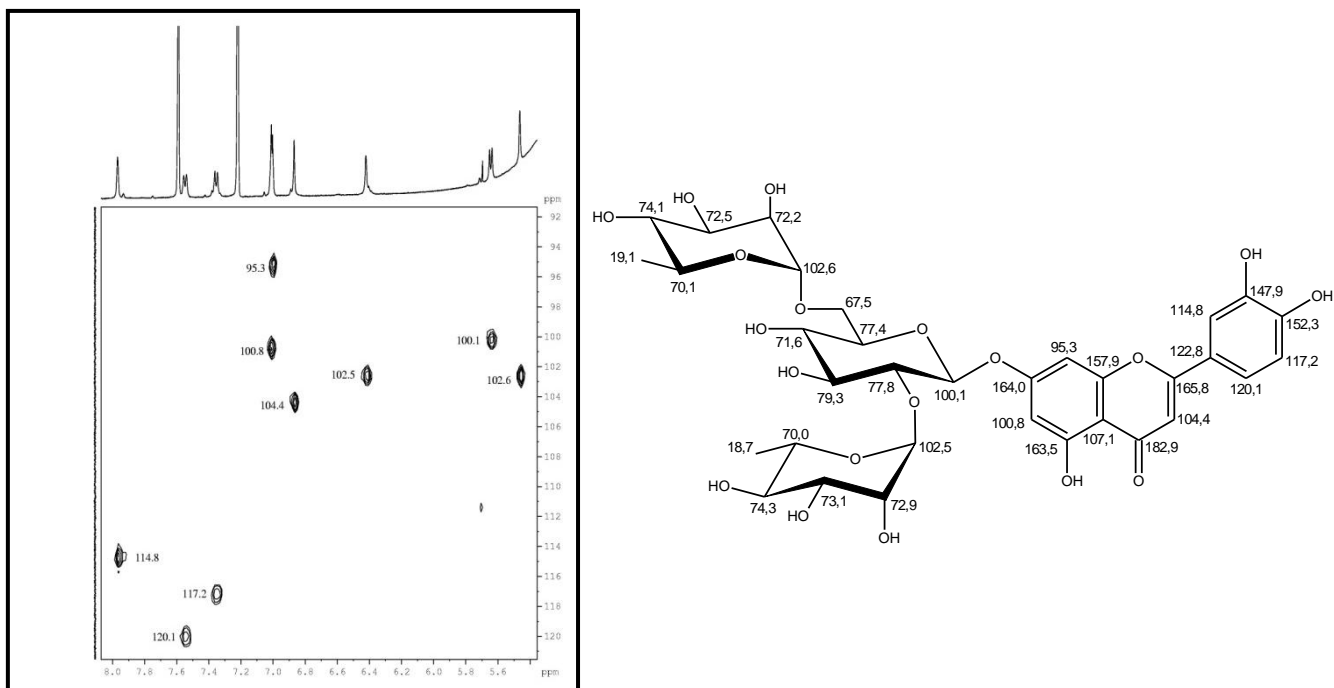


Figura 186 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 4

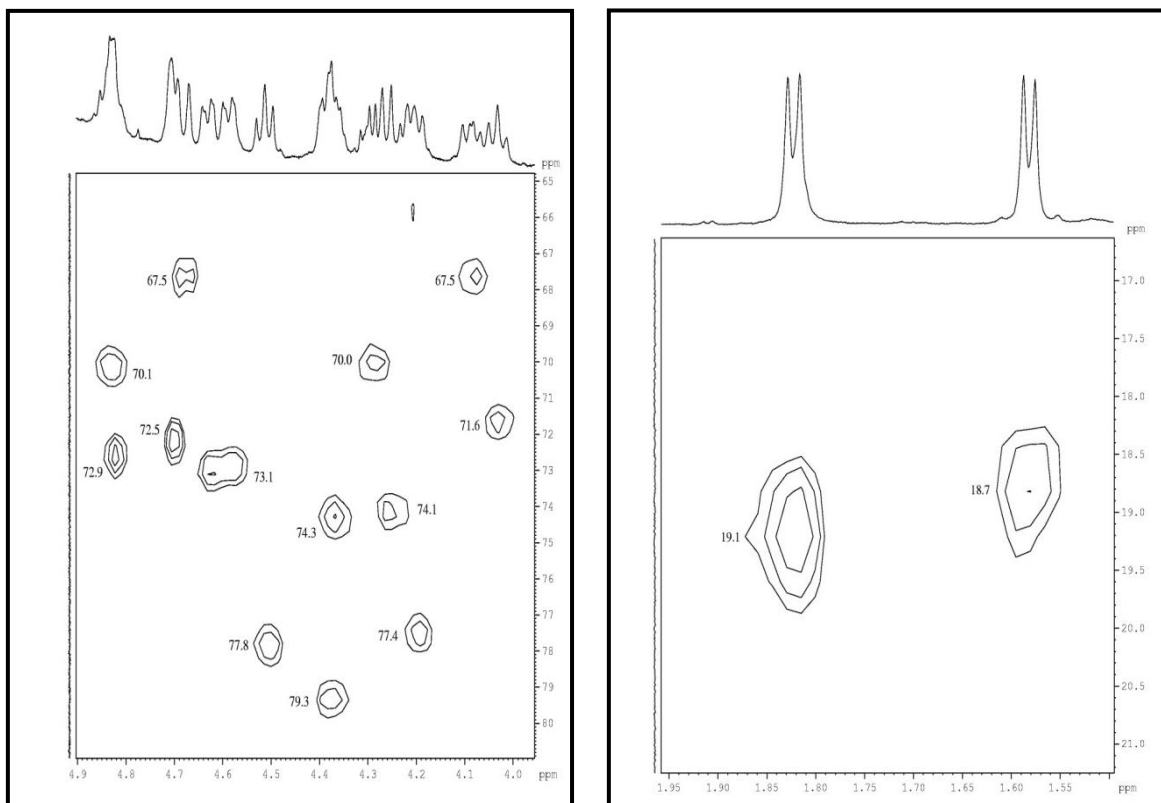


**Figura 187** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 4**Figura 188** Espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCF-NB 4

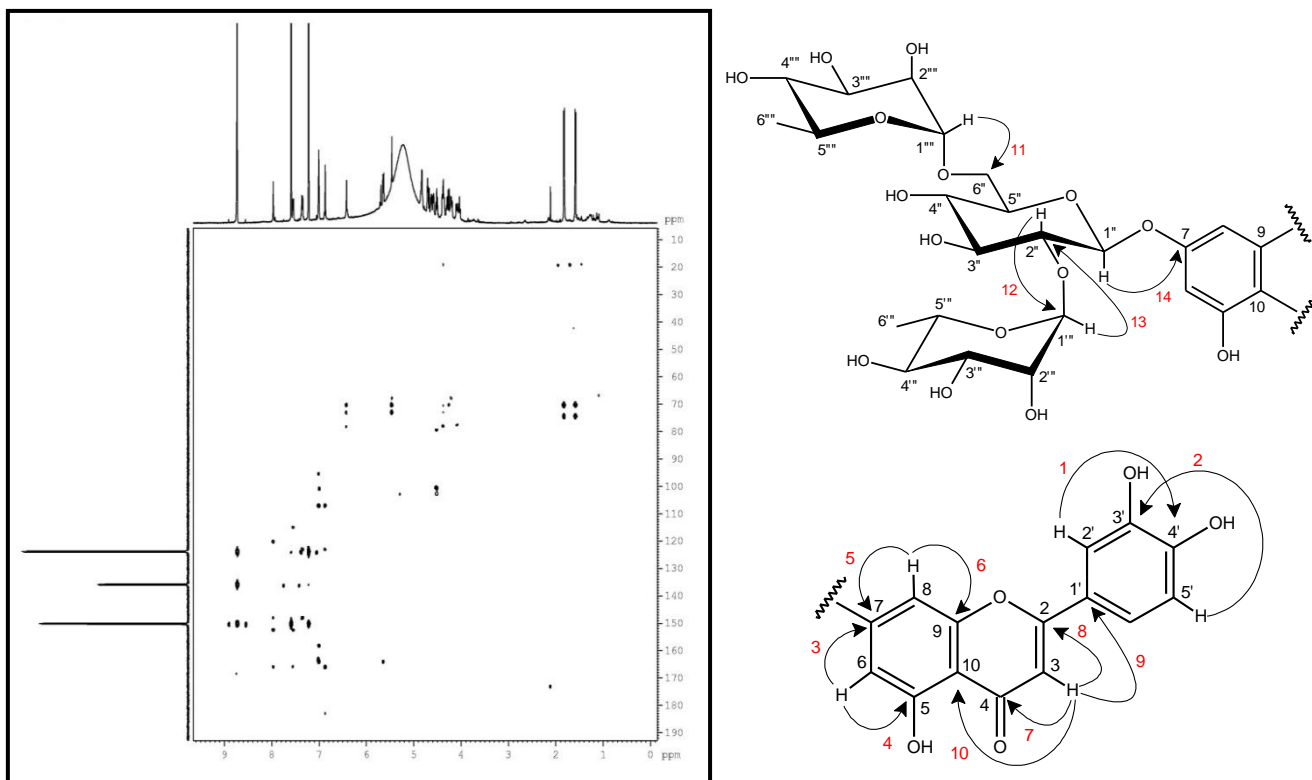
**Figura 189** Expansão do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4



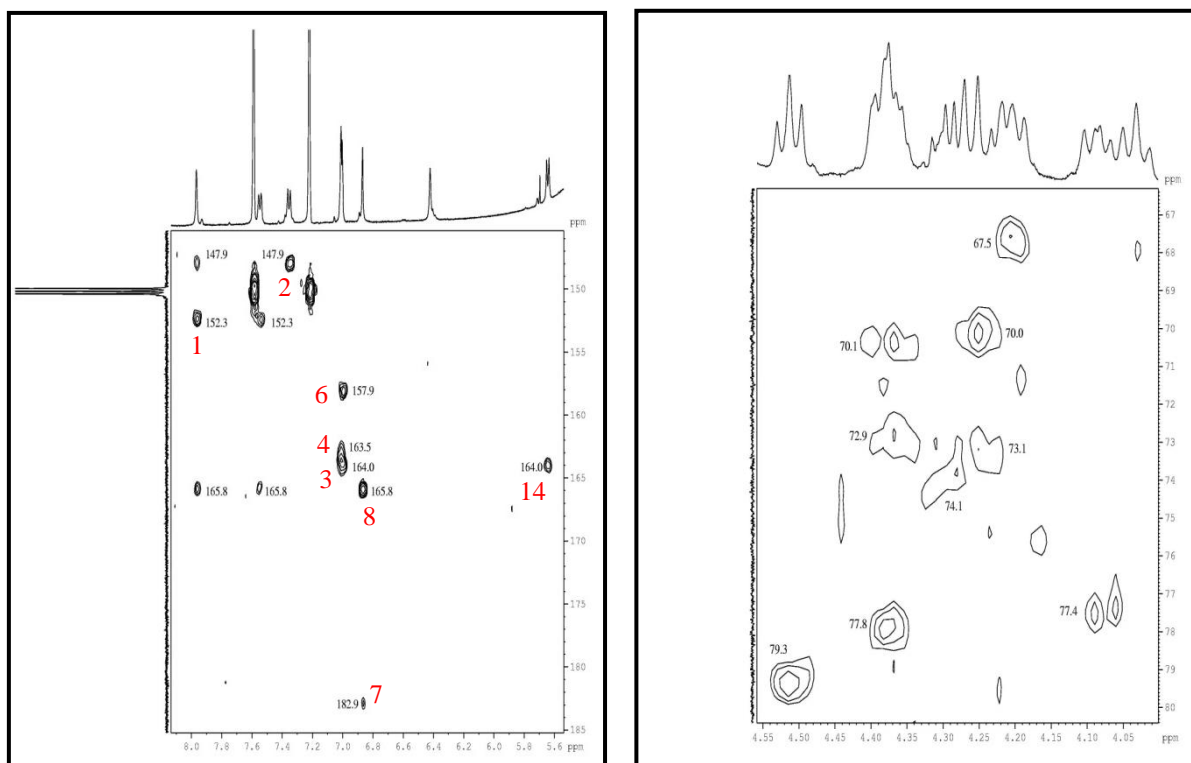
**Figura 190** Expansões do espectro de RMN-HSQC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4



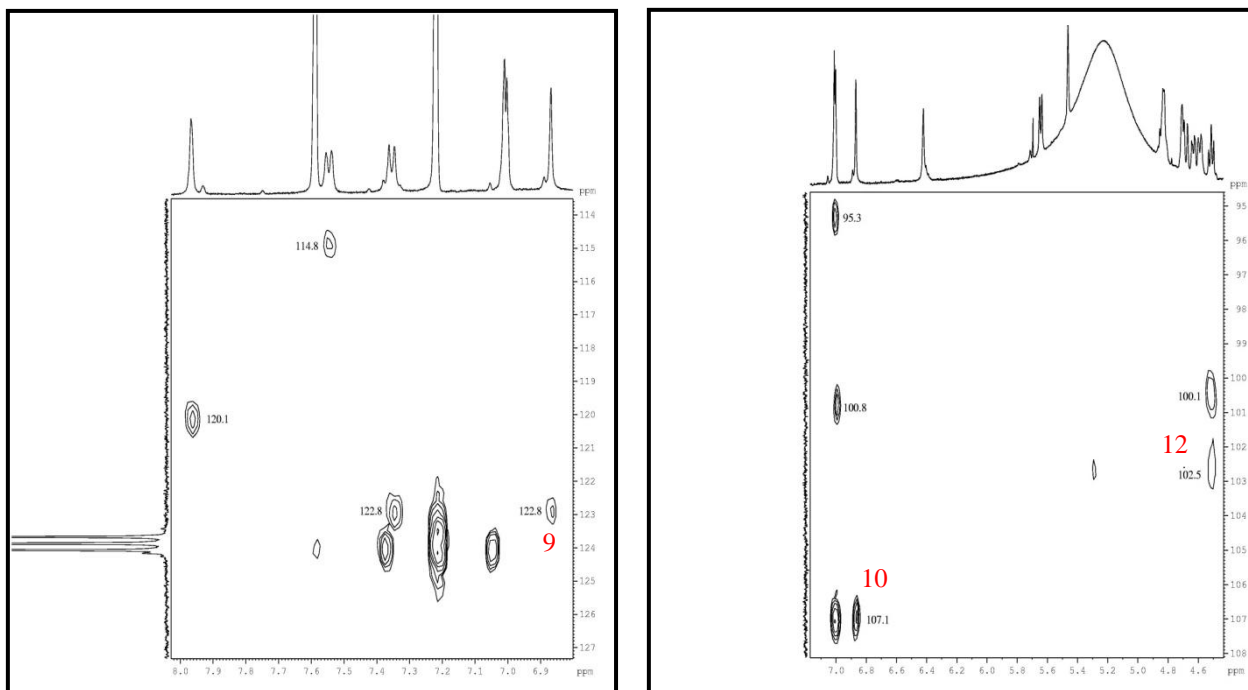
**Figura 191** Espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4



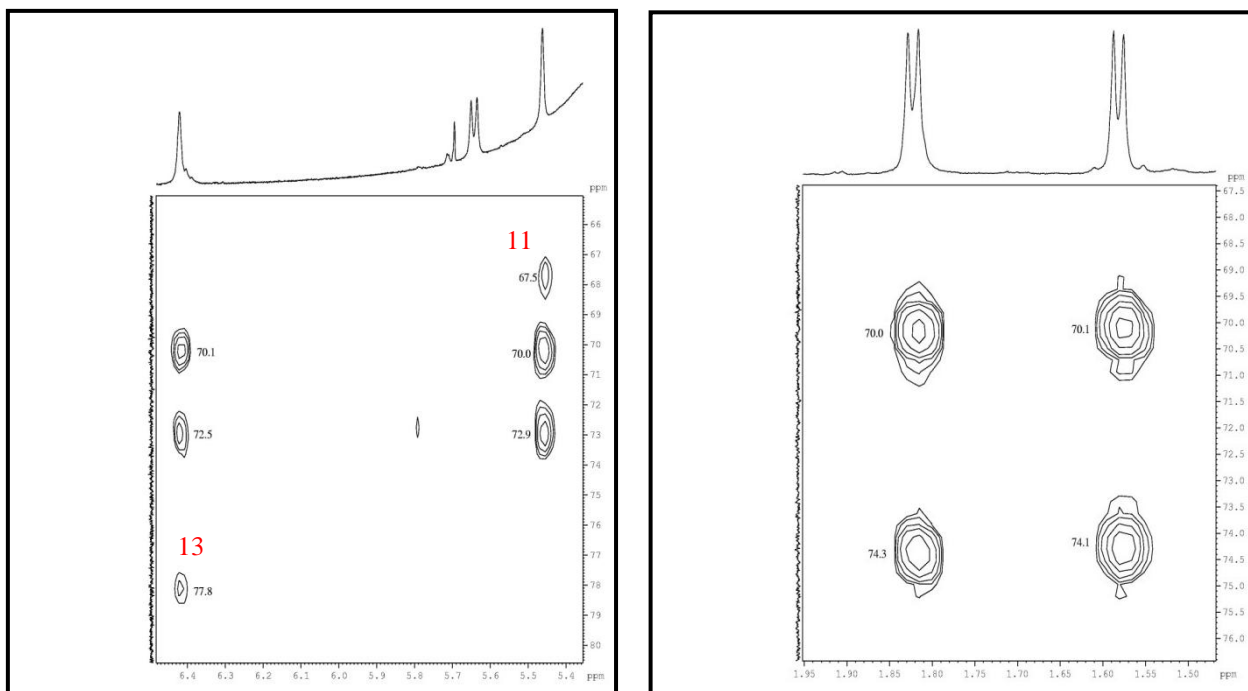
**Figura 192** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4

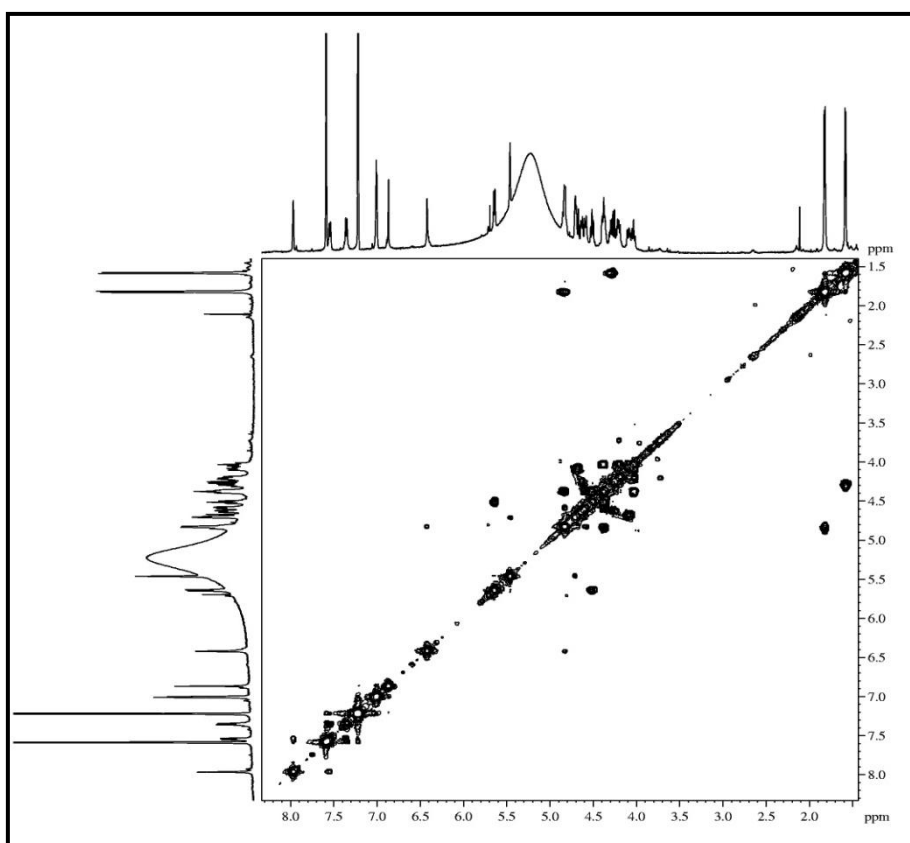
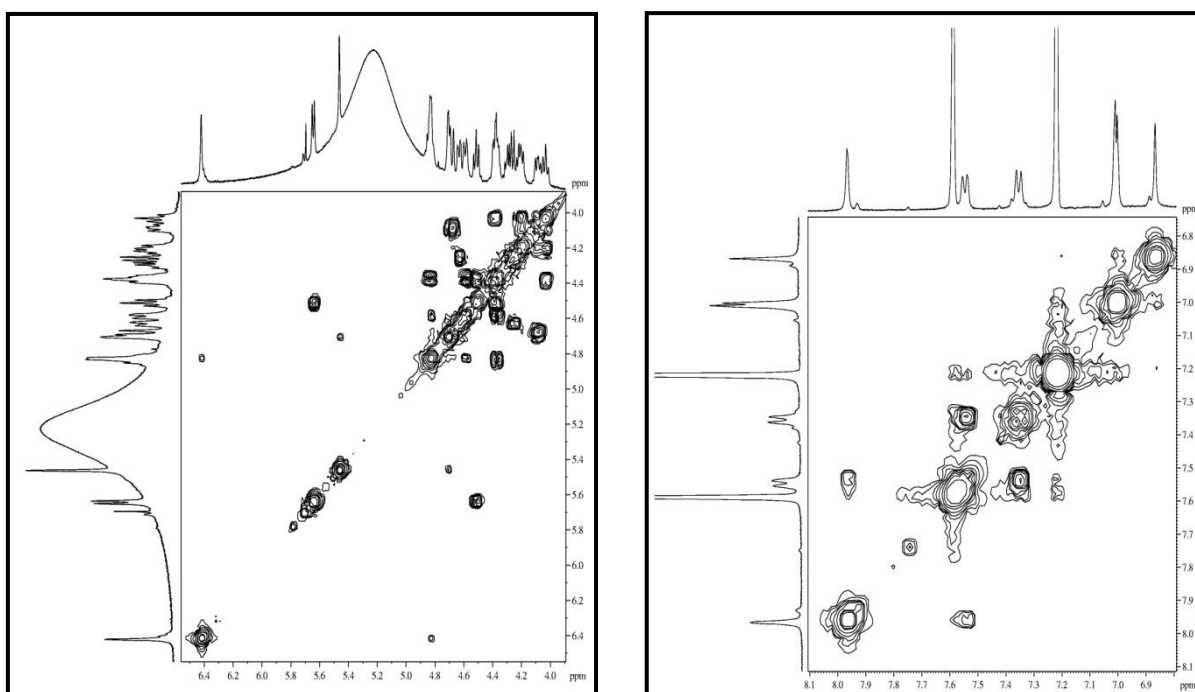


**Figura 193** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4



**Figura 194** Expansões do espectro de RMN-HMBC (125 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4



**Figura 195** Espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCF-NB 4**Figura 196** Expansões do espectro de RMN-COSY (500 x 500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-NB 4

### 5.11 Determinação Estrutural de MCT-H 1

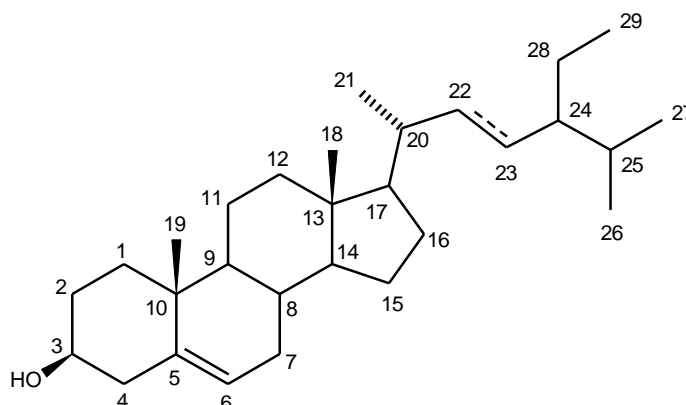
O tratamento cromatográfico da fração MCTE, usando sucessivas cromatografias flash, resultou na obtenção de um sólido branco (53,2 mg) denominado de MCT-H 1 (**item 4.6.5.1, p. 91**).

O espectro de absorção na região do IV de MCT-H 1 (**fig. 197, p. 228**) mostrou uma banda larga em  $3444\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila; bandas em  $1709$ ,  $1463$  e  $1377\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação e deformações axiais em  $2930$  e  $2854\text{ cm}^{-1}$  de C-H alifático.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 1 (**fig. 198, p. 228**) foram observados sinais característicos de hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,35 (m, 2H-6), 5,15 (dd,  $J = 15,1$ ; 8,7 Hz, H-22) e 5,01 (dd,  $J = 15,1$ ; 8,7 Hz, H-23), e um sinal em  $\delta$  3,53 (m, 2H-3) relativo a hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Foi observado ainda um conjunto de sinais no intervalo entre  $\delta$  0,68-2,33 típicos de hidrogênios alifáticos de esqueletos terpênicos ou esteroidícos.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 1 (**fig. 200, p. 229**) apresentou 40 linhas espectrais, sendo um sinal em  $\delta$  71,8 (C-3) referente a um carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado, além de quatro sinais em  $\delta$  121,7 (C-6), 129,3 (C-23), 138,3 (C-22) e 140,7 (C-5) referentes a carbonos olefínicos.

A posterior análise comparativa com dados da literatura (**tab. 28, p. 227**) permitiu caracterizar MCT-H 1 como sendo a mistura dos esteroides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol. As percentagens aproximadas dos dois constituintes na mistura foram calculadas com base nas integrações correspondentes a H-6 (área: 1,03,  $\beta$ -sitosterol + estigmasterol) e H-22 (área: 0,35, estigmasterol). Subtraindo 0,35 de 1,03, obtem-se 0,68, correspondente a área de um hidrogênio da molécula de  $\beta$ -sitosterol. Sendo 1,03 ( $\beta$ -sitosterol + estigmasterol = 100%), a mistura possui aproximadamente 66% de  $\beta$ -sitosterol e 34% de estigmasterol (GOULART *et al.*, 1993).

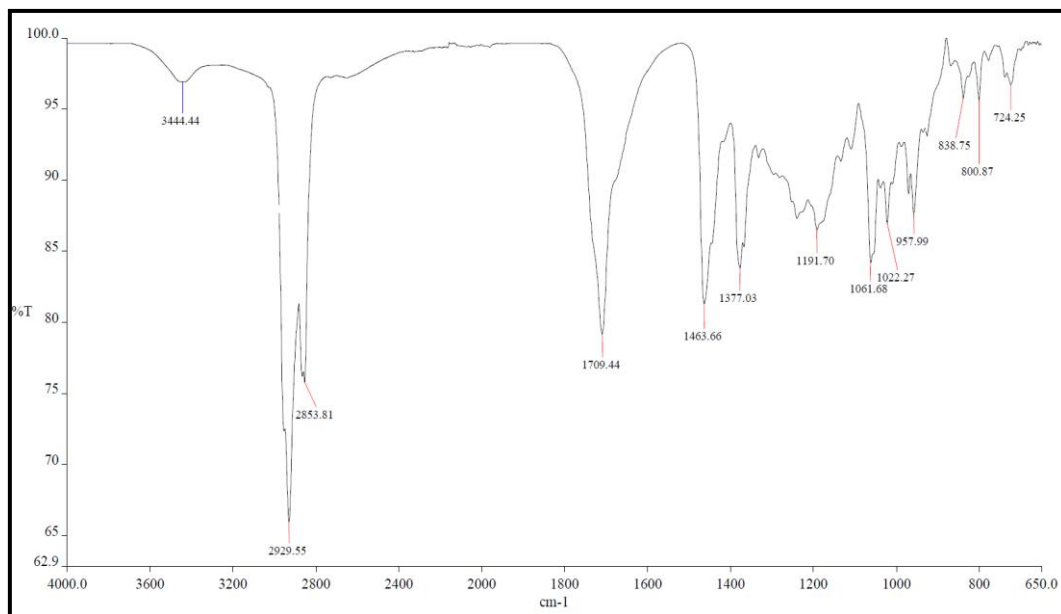


**Tabela 28** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 1 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da literatura

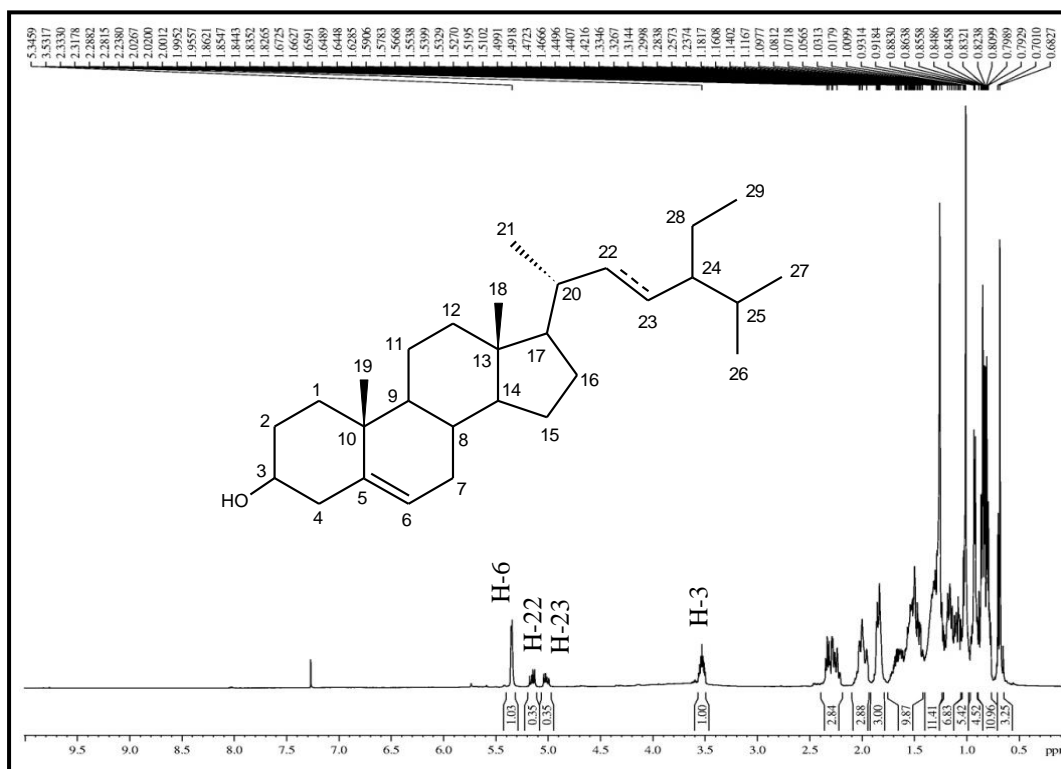
# C	$\beta$ -sitosterol MCT-H 1	Estigmasterol MCT-H 1	$\beta$ -sitosterol [Goulart <i>et al.</i> , 1993]	Estigmasterol [Goulart <i>et al.</i> , 1993]
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	37,2	37,2	37,3	37,3
2	31,6	31,6	31,6	31,6
3	71,8	71,8	71,8	71,8
4	42,2	42,2	42,3	42,3
5	140,7	140,7	140,7	140,7
6	121,7	121,7	121,7	121,7
7	31,9	31,9	31,9	31,9
8	31,9	31,9	31,9	31,9
9	50,1	50,1	50,1	50,1
10	36,5	36,5	36,4	36,4
11	21,1	21,1	21,1	21,1
12	39,8	39,7	39,8	39,7
13	42,3	42,3	42,3	42,3
14	56,7	56,8	56,8	56,9
15	24,2	24,3	24,3	24,4
16	28,2	28,2	28,2	28,2
17	56,1	55,9	56,1	55,9
18	11,8	11,8	11,9	11,9
19	19,4	19,4	19,4	19,4
20	36,1	40,4	36,2	40,5
21	18,9	21,2	19,0	21,2
22	33,9	138,3	33,9	138,4
23	39,1	129,3	39,1	129,3
24	45,8	51,2	45,8	51,2
25	26,1	31,9	26,0	31,9
26	18,8	19,0	18,8	19,0
27	19,8	19,0	19,8	19,0
28	23,1	25,4	23,1	25,4
29	11,9	12,2	11,9	12,3



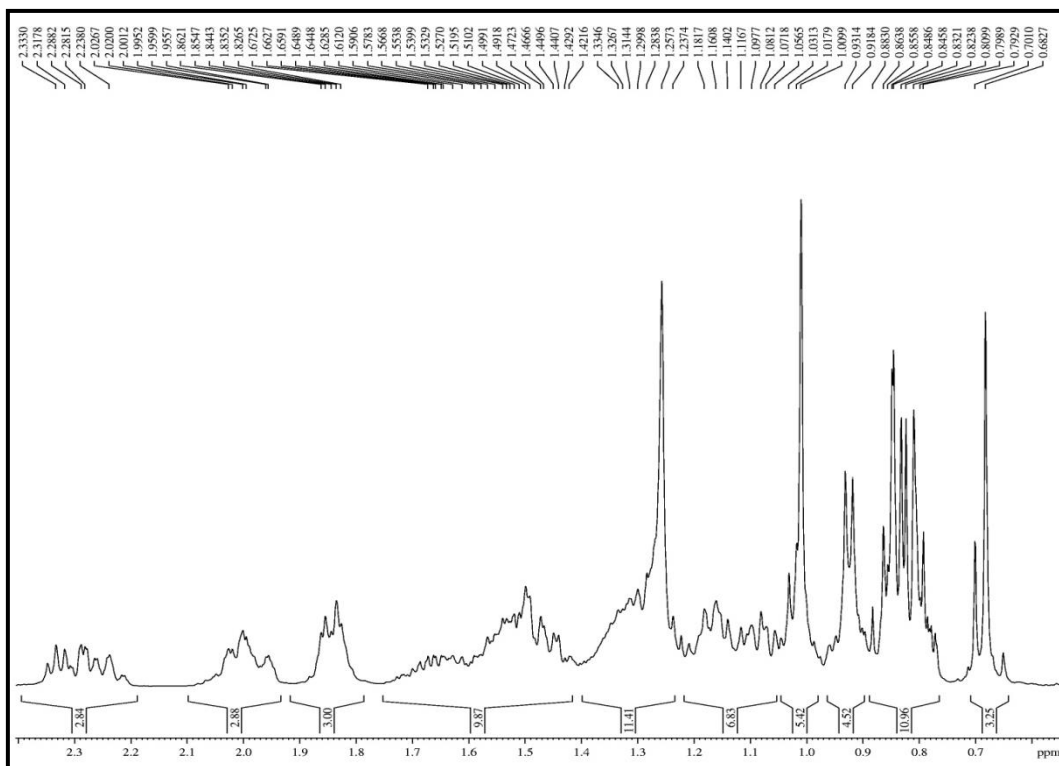
**Figura 197** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-H 1



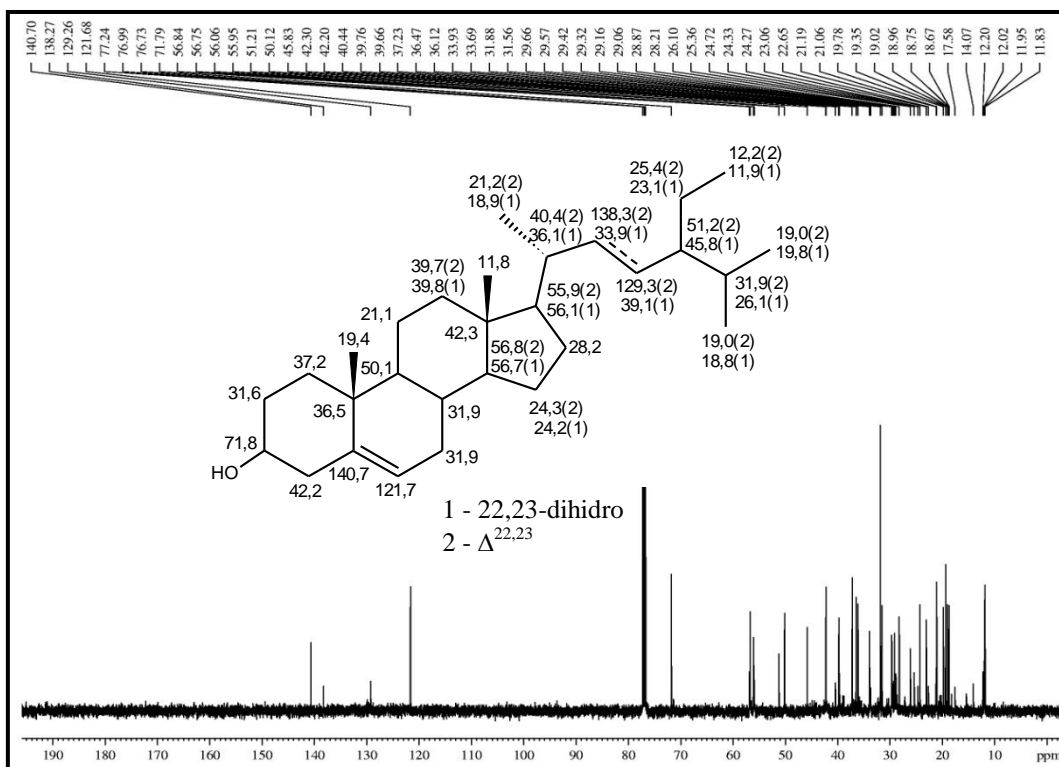
**Figura 198** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de MCT-H 1

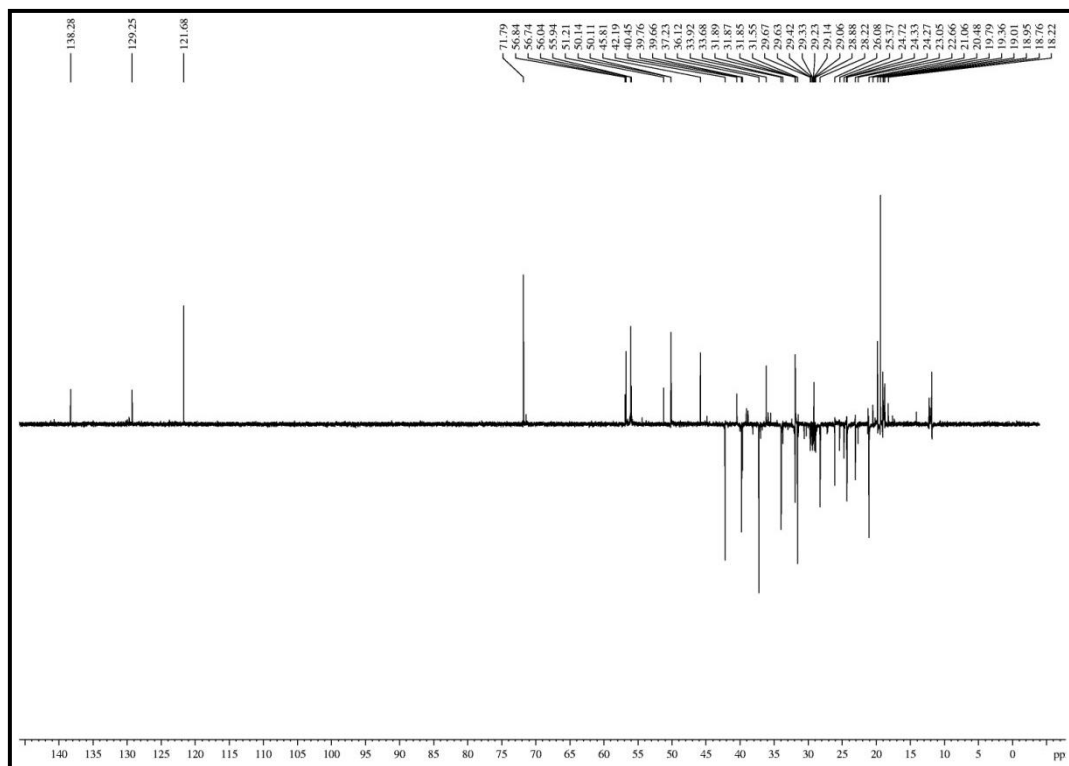


**Figura 199** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 1



**Figura 200** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 1



**Figura 201** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT  $135^\circ$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 1

## 5.12 Determinação Estrutural de MCT-H 2

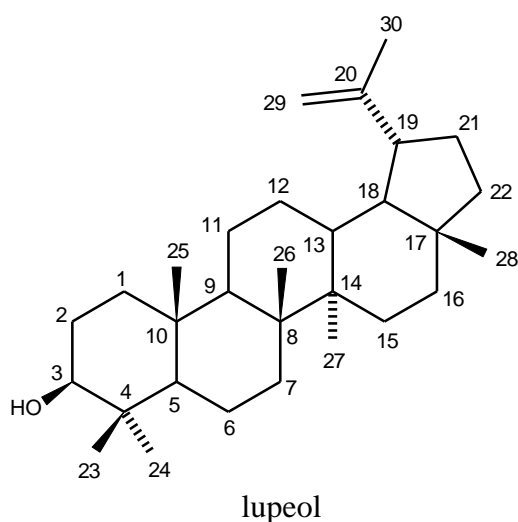
O tratamento cromatográfico da fração MCTE, usando cromatografias flash e gravitacional, resultou na obtenção de um sólido em forma de agulhas (48,2 mg) denominado de MCT-H 2 (item 4.6.5.1, p. 91).

O espectro de absorção na região do IV de MCT-H 2 (fig. 202, p. 233) mostrou uma banda larga em  $3291\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila; bandas em  $1735$ ,  $1453$  e  $1379\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação e deformações axiais em  $2921$  e  $2851\text{ cm}^{-1}$  de C-H alifático.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2 (fig. 203, p. 233) foram observados seis metilas simpletos ligadas a carbonos  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  0,76 (s, 3H-24), 0,79 (s, 3H-28), 0,83 (s, 3H-25), 0,95 (s, 3H-27), 0,97 (s, 3H-23), 1,03 (s, 3H-26) e uma metila simpleto em  $\delta$  1,68 (s, 3H-30) ligada a carbono  $\text{sp}^2$ . Foram observados ainda sinais em  $\delta$  4,57 (dd,  $J = 2,2$ ; 1,2 Hz, H-29) e em  $\delta$  4,68 (d,  $J = 2,2$  Hz, H-29) característicos de hidrogênios de dupla terminal, e um sinal em  $\delta$  3,19 (dd,  $J = 11,4$ ; 4,9 Hz, H-3) relativo a hidrogênio ligado a carbono oxigenado.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2 (fig. 206, p. 235) apresentou 30 linhas espectrais, sendo um sinal em  $\delta$  79,2 (C-3) referente a um carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado, além de dois sinais em  $\delta$  151,2 (C-20) e 109,5 (C-29) referentes a carbonos  $\text{sp}^2$  dissubstituído e terminal, respectivamente

A posterior análise comparativa com dados da literatura (tab. 29, p. 232) permitiu caracterizar MCT-H 2 como sendo um triterpeno pentacíclico de esqueleto lupano, contendo uma insaturação entre os carbonos C-20 e C-29, denominado de lupeol (MAHATO; KUNDU, 1994).



**Tabela 29** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da literatura

# C	MCT-H 2	Lupeol MAHATO; KUNDU, 1994
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	38,9	38,7
2	27,7	27,4
3	79,2	78,9
4	39,1	38,8
5	55,5	55,3
6	18,5	18,3
7	34,5	34,2
8	41,0	40,8
9	50,6	50,4
10	37,4	37,1
11	21,1	20,9
12	25,3	25,1
13	38,3	38,0
14	43,0	42,8
15	27,6	27,4
16	35,8	35,5
17	43,2	43,0
18	48,5	48,2
19	48,2	47,9
20	151,2	150,9
21	30,1	29,8
22	40,2	40,0
23	28,2	28,0
24	15,6	15,4
25	16,3	16,1
26	16,2	15,9
27	14,8	14,5
28	18,2	18,0
29	109,5	109,3
30	19,5	19,3

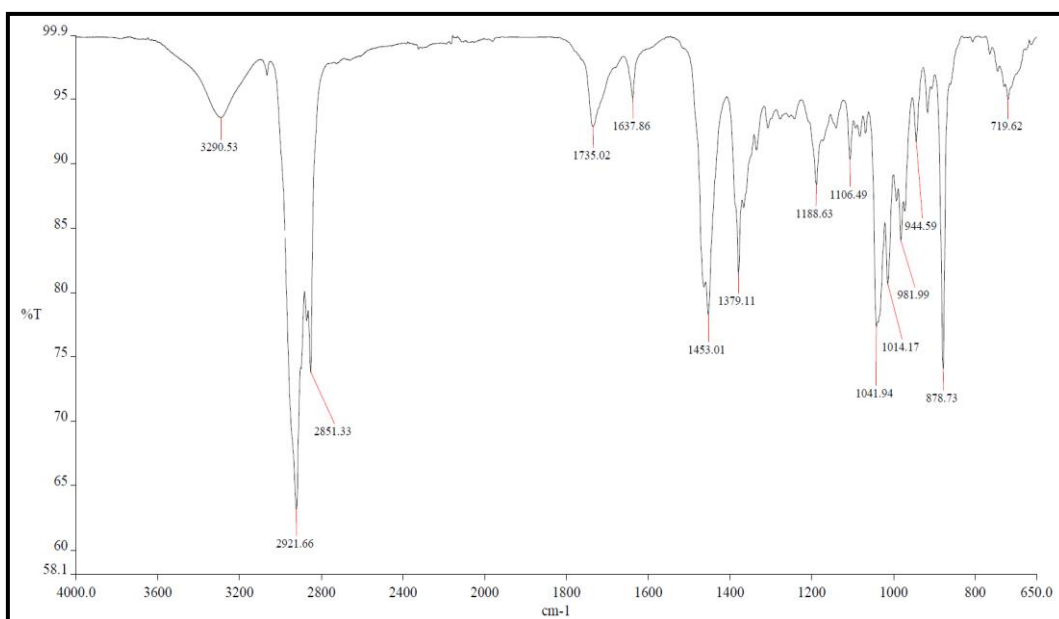
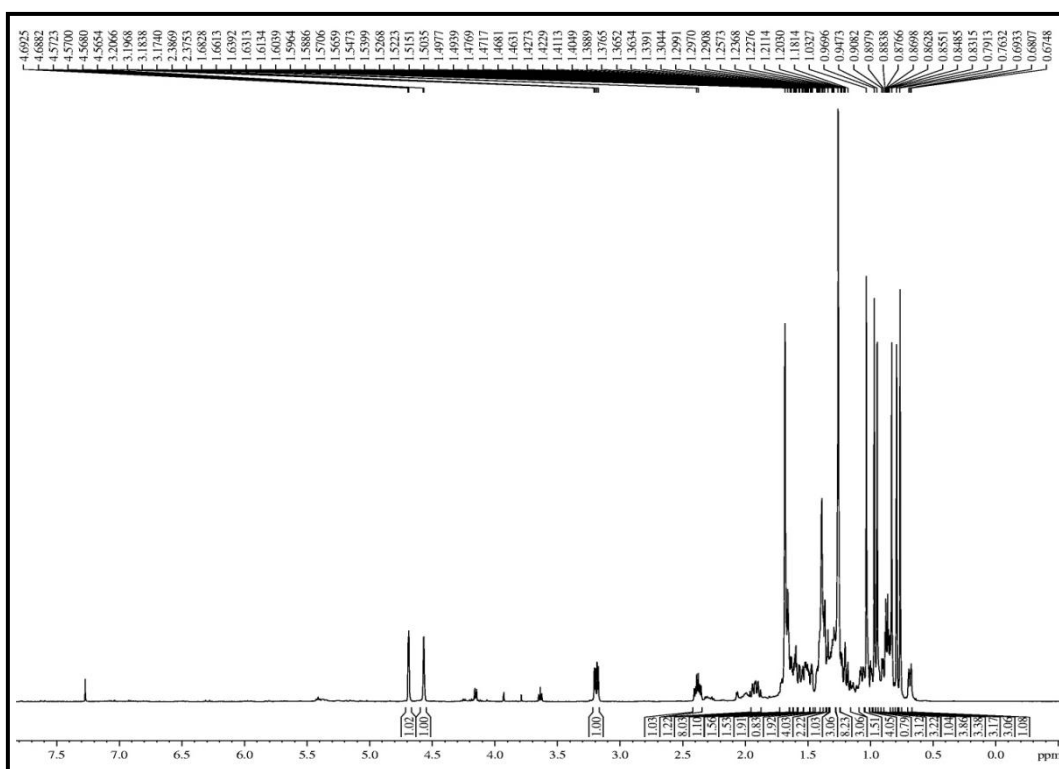
**Figura 202** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-H 2**Figura 203** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de MCT-H 2

Figura 204 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2

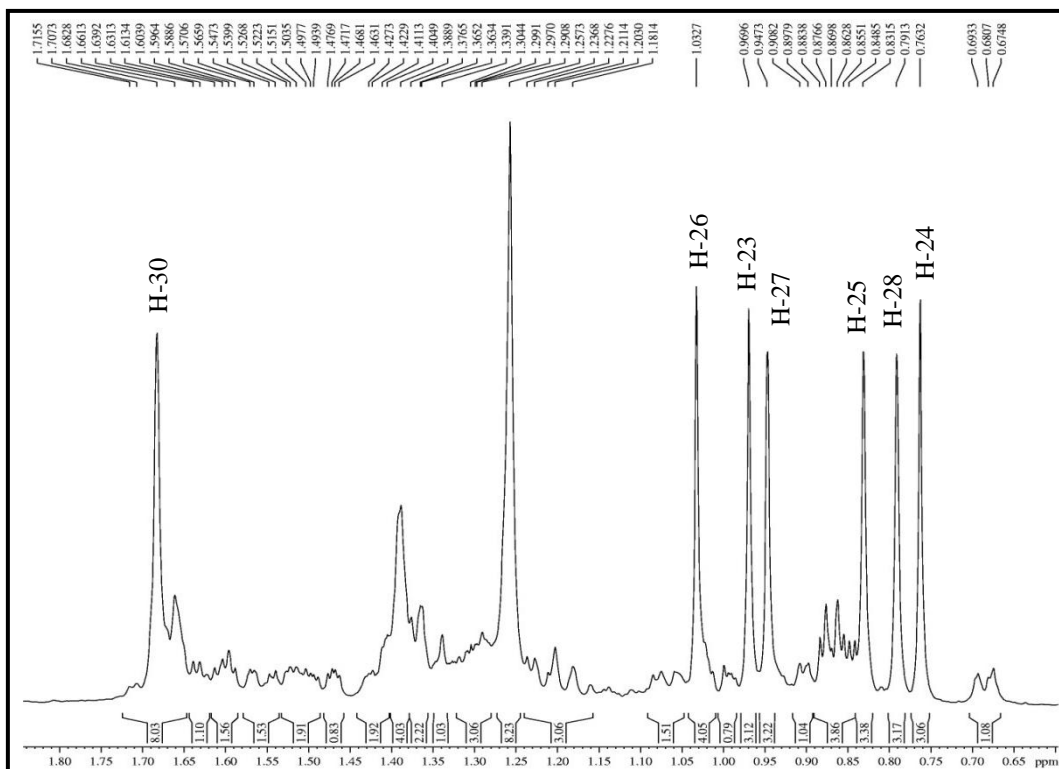


Figura 205 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2

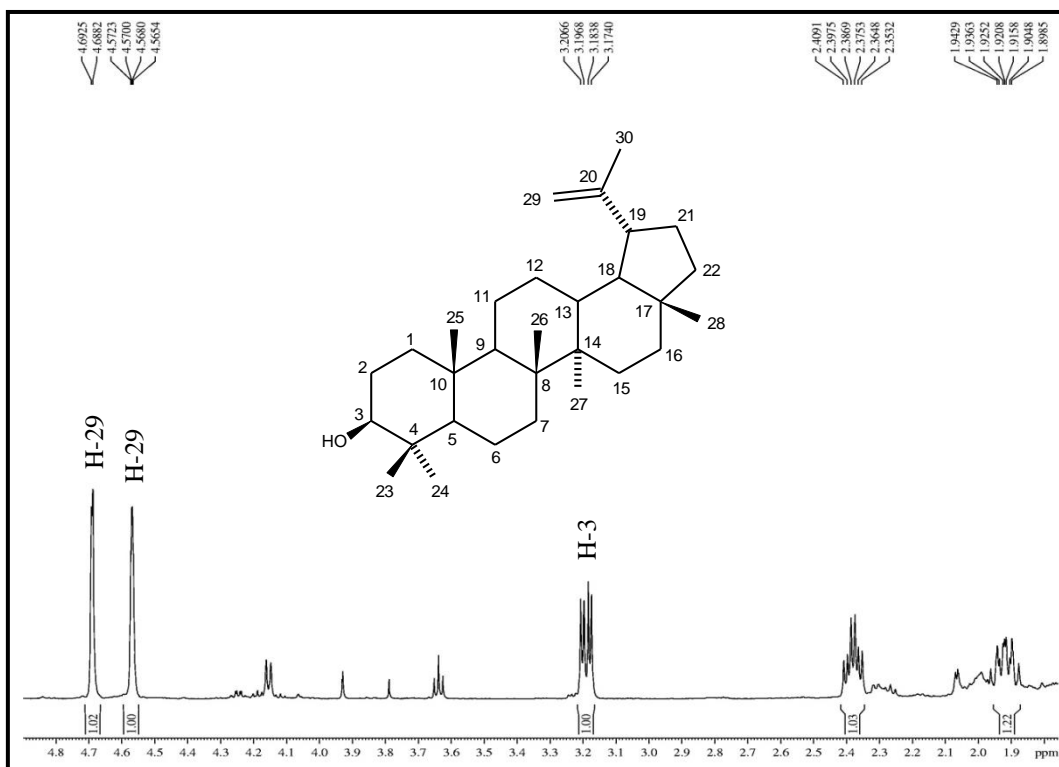


Figura 206 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2

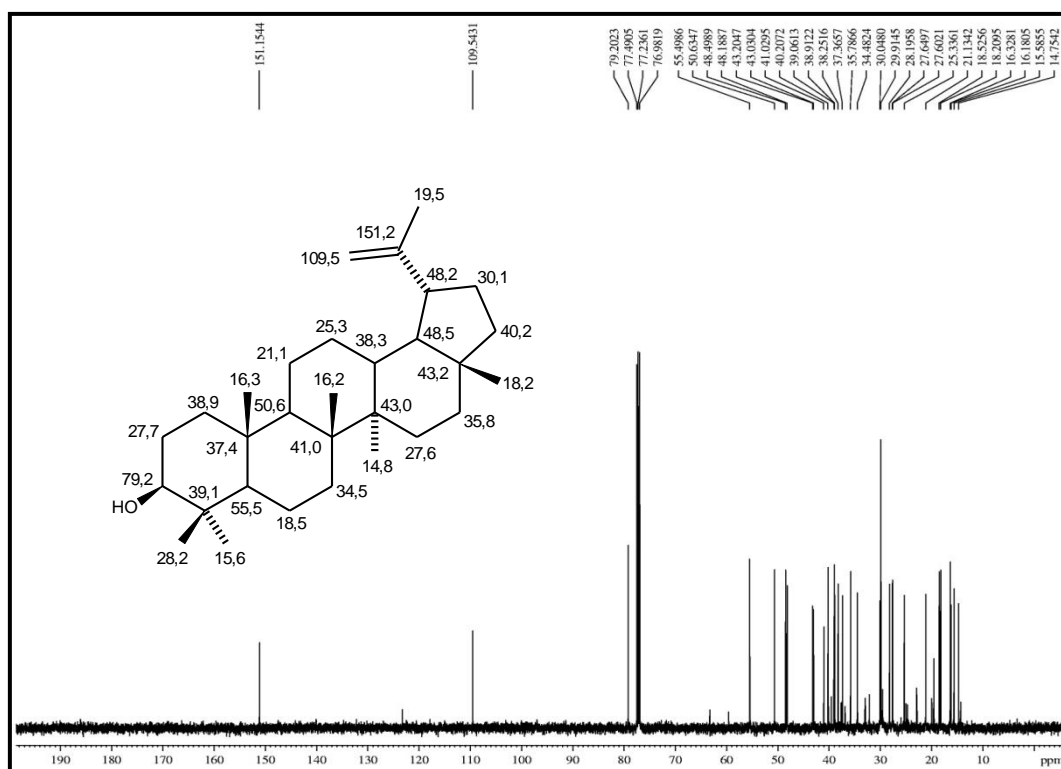
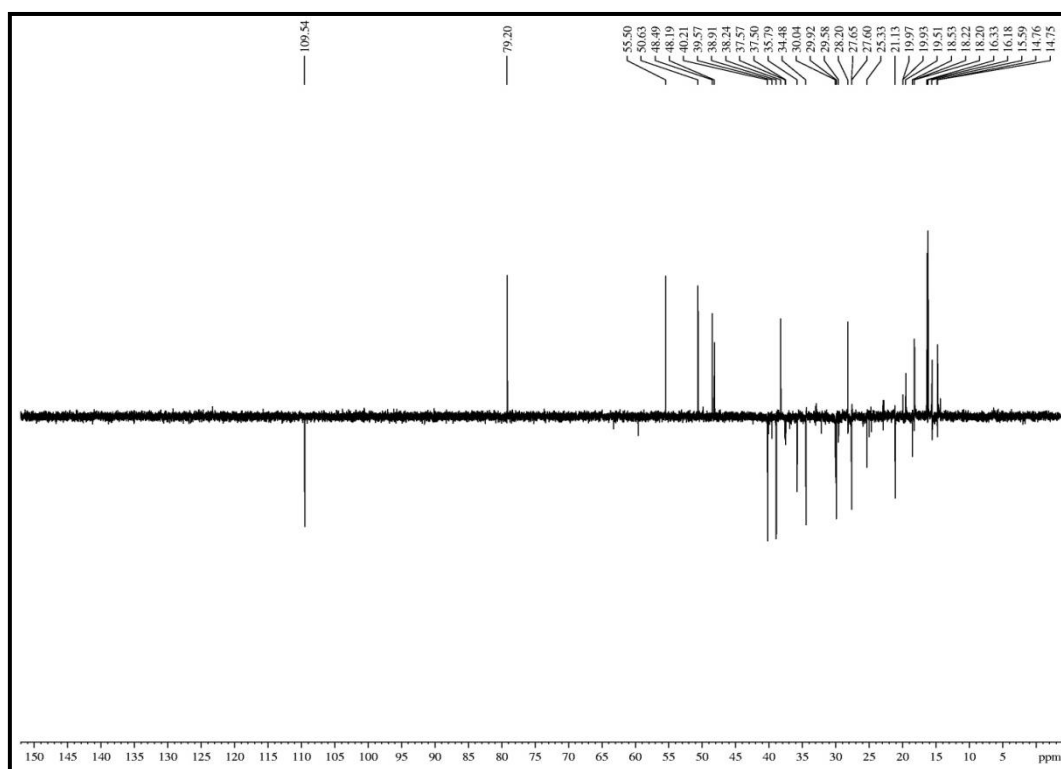


Figura 207 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de MCT-H 2





### 5.13 Determinação Estrutural de MCT-D 1

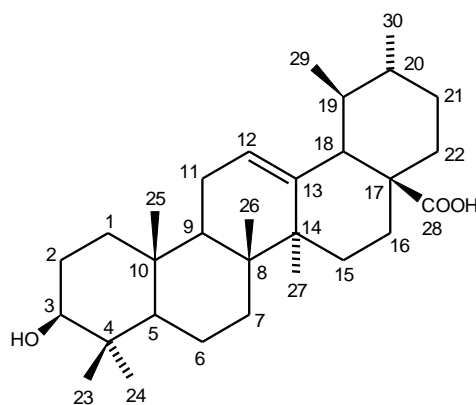
O tratamento cromatográfico da fração MCTE, usando cromatografias flash e gravitacional, resultou na obtenção de um sólido branco (23,8 mg) denominado de MCT-D 1 (ítem 4.6.5.2, p. 93).

O espectro de absorção na região do IV de MCT-D 1 (fig. 208, p. 238) revelou a presença de uma banda larga em  $3405\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação O-H; vibrações de deformações axiais da ligação C=O em  $1687\text{ cm}^{-1}$ , evidenciando a existência de carbonila. Foram observadas ainda deformações axiais em  $2926$  e  $2869\text{ cm}^{-1}$  de C-H alifático.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1 (fig. 209, p. 238) foram observados cinco metilas simpletos ligadas a carbonos  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  0,90 (s, 3H-25), 1,04 (s, 3H-24), 1,06 (s, 3H-26), 1,24 (s, 3H-27) e 1,26 (s, 3H-23) e duas metilas ligadas a carbonos terciários em  $\delta$  0,97 (m, 3H-30) e 1,01 (m, 3H-29). Foi observado ainda um sinal em  $\delta$  5,50 (m, H-12) referente a hidrogênio olefínico e um multiplete em  $\delta$  3,48 (m, H-3) relativo a hidrogênio ligado a carbono oxigenado.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1 (fig. 211, p. 239) apresentou 30 linhas espectrais, sendo o sinal em  $\delta$  180,3 (C-28) associado a carbonila de ácido carboxílico; além do sinal em  $\delta$  78,5 (C-3) referente a carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado. Foram observados ainda dois sinais em  $\delta$  139,6 (C-13) e 125,9 (C-12) referentes a carbonos  $\text{sp}^2$ , característicos de triterpenos pentacíclicos de esqueleto ursano.

A reunião dos dados acima discutidos e a posterior comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  descritos na literatura, possibilitou identificar MCT-D 1 como sendo o triterpeno ácido ursólico (ALVES *et al.*, 2000) (tab. 30, p. 237).

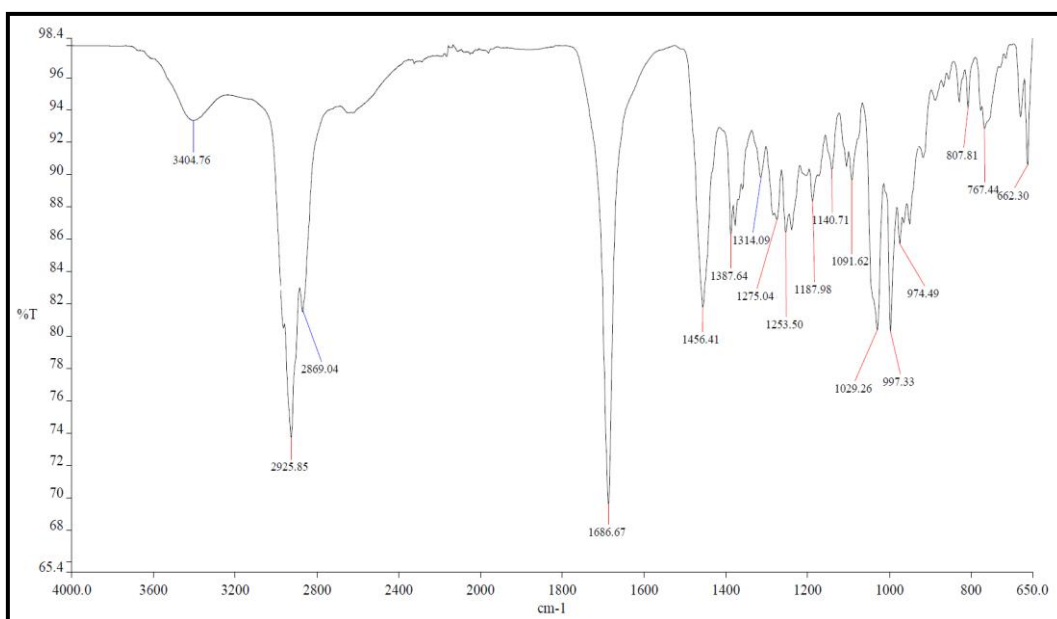


ácido ursólico

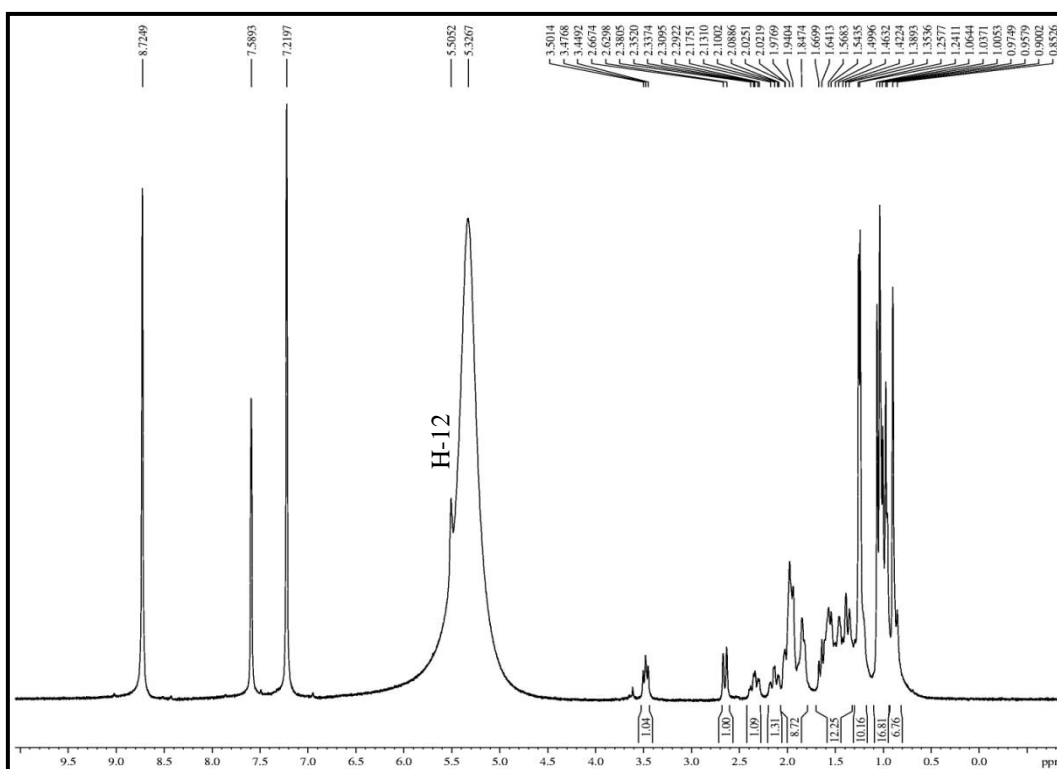
**Tabela 30** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) da literatura

# C	MCT-D 1	Ácido Ursólico ALVES <i>et al.</i> , 2000
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	39,4	39,8
2	28,4	28,6
3	78,5	78,6
4	39,7	39,5
5	56,2	56,3
6	19,1	19,2
7	33,9	34,0
8	40,3	40,3
9	48,4	48,5
10	37,6	37,7
11	23,9	24,1
12	125,9	126,1
13	139,6	139,7
14	42,9	43,0
15	29,0	29,1
16	25,3	25,4
17	48,4	48,5
18	53,9	54,0
19	39,8	39,9
20	39,7	39,9
21	31,5	31,5
22	37,8	37,9
23	29,1	29,3
24	16,9	17,0
25	16,0	16,1
26	17,8	17,9
27	24,3	24,4
28	180,3	180,0
29	17,9	18,0
30	21,7	21,9

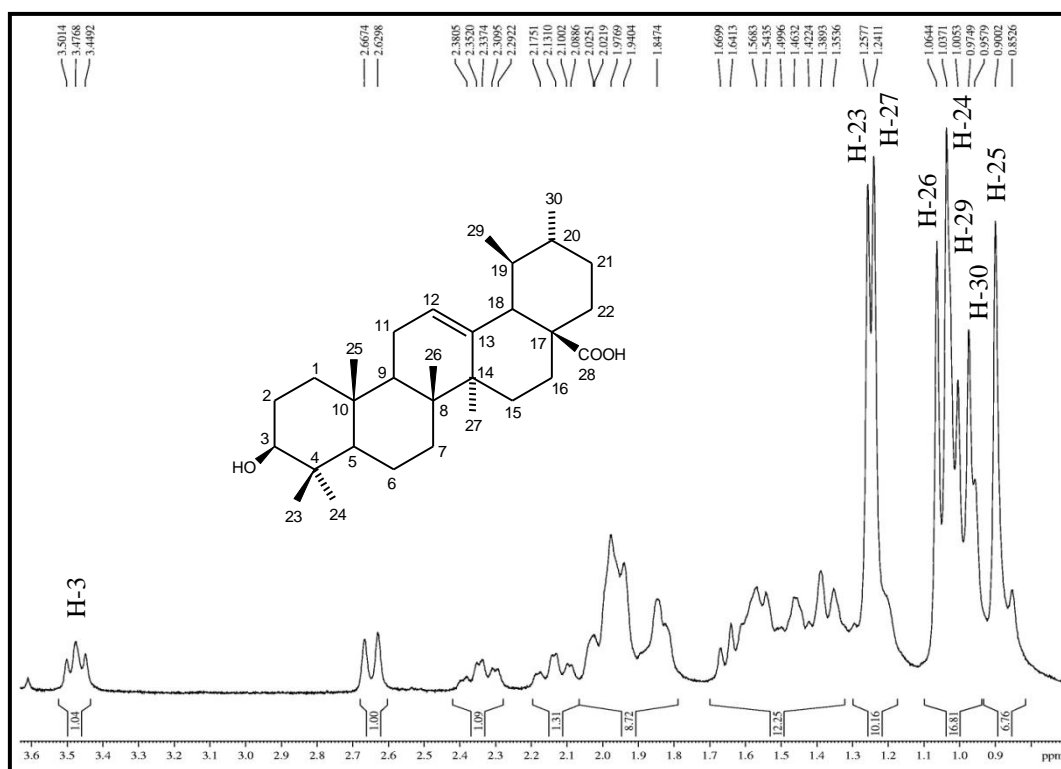
**Figura 208** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-D 1



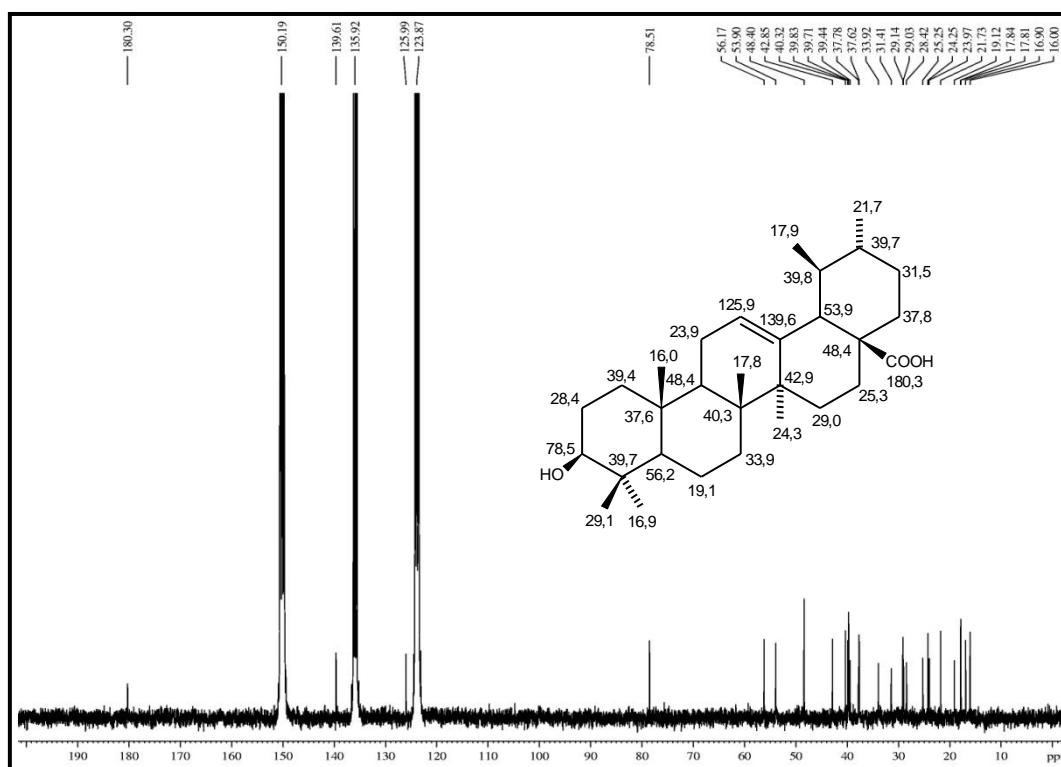
**Figura 209** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de MCT-D 1



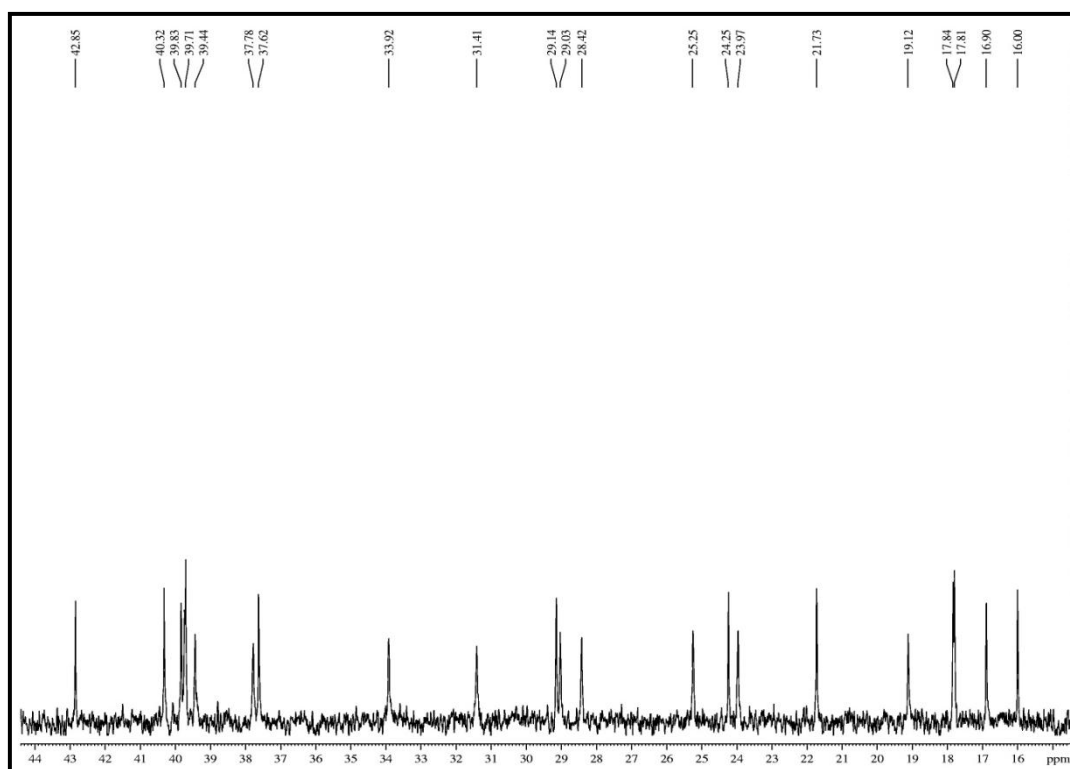
**Figura 210** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1



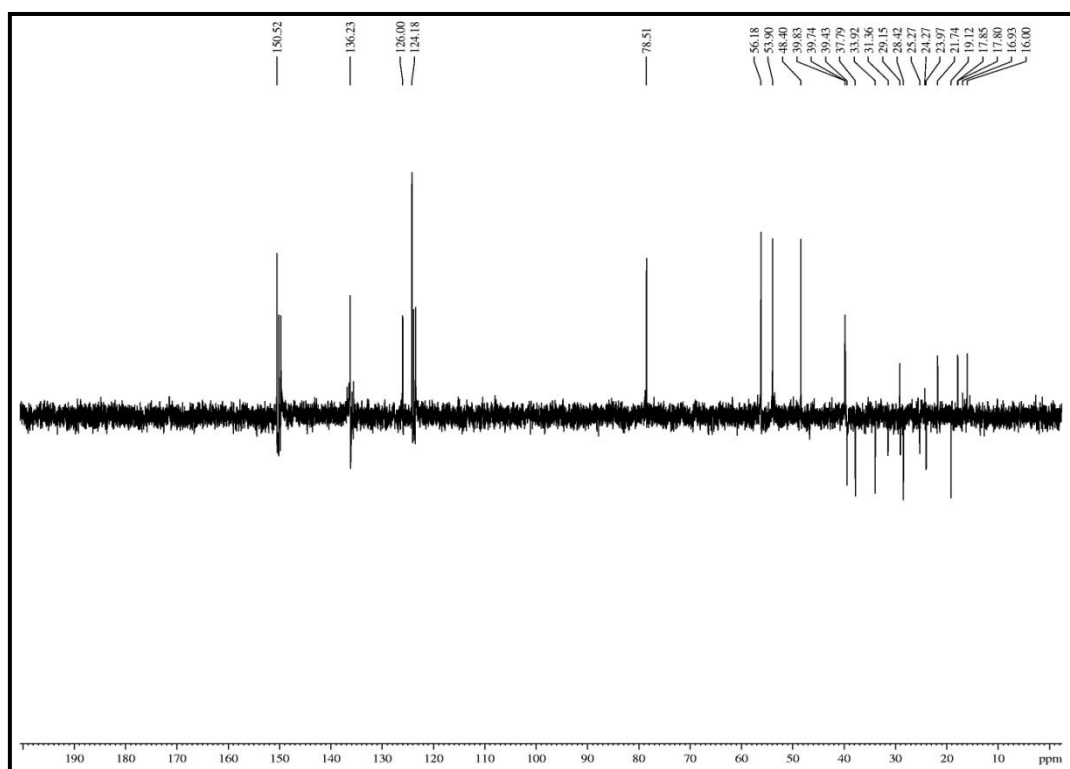
**Figura 211** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1



**Figura 212** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1



**Figura 213** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 1



### 5.14 Determinação Estrutural de MCT-D 2

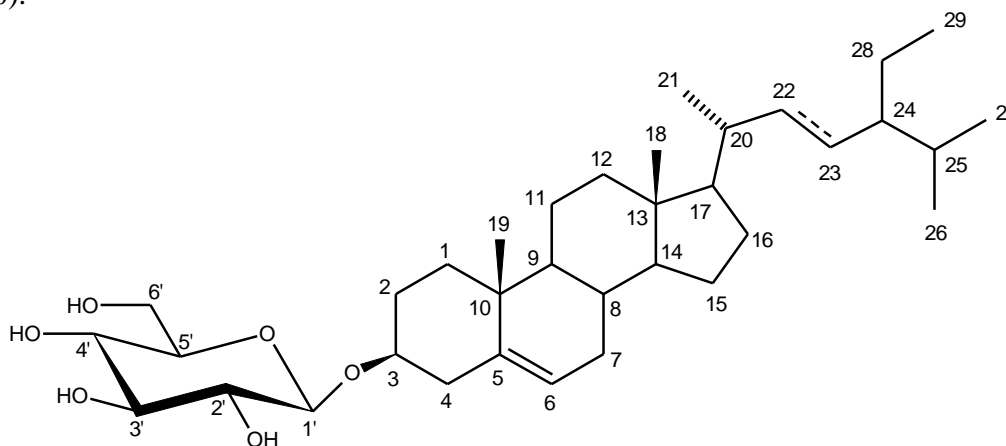
O tratamento cromatográfico da fração MCTE, usando sucessivas cromatografias flash, resultou na obtenção de um sólido branco (16,5 mg) denominado de MCT-D 2 (**item 4.6.5.2, p. 93**).

O espectro de absorção na região do IV de MCT-D 2 (**fig. 214, p. 243**) mostrou uma banda larga em  $3383\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação axial de ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila; bandas em  $1460$  e  $1366\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial C=C, evidenciando a existência de dupla ligação e deformações axiais em  $2956$ ,  $2932$  e  $2867\text{ cm}^{-1}$  de C-H alifático.

A partir da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2 (**fig. 215, p. 243**) foram observados sinais característicos de hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,36 (m, 2H-6), 5,22 (m, H-22 e H-23), e um sinal em  $\delta$  3,97 (m, H-3) relativo a hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Foi observado ainda um conjunto de sinais no intervalo  $\delta$  3,97-5,08, característicos de hidrogênios heterosídicos.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2 (**fig. 218, p. 245**) apresentou 42 linhas espectrais, sendo um conjunto de sinais no intervalo  $\delta$  63,2-79,0 referentes a carbonos  $\text{sp}^3$  oxigenados. Foi observado ainda sinal em  $\delta$  102,9 (C-1') relacionado a carbono anomérico e quatro absorções em  $\delta$  122,3 (C-6), 129,8 (C-23), 139,2 (C-22) e 141,3 (C-5) referentes a carbonos olefínicos.

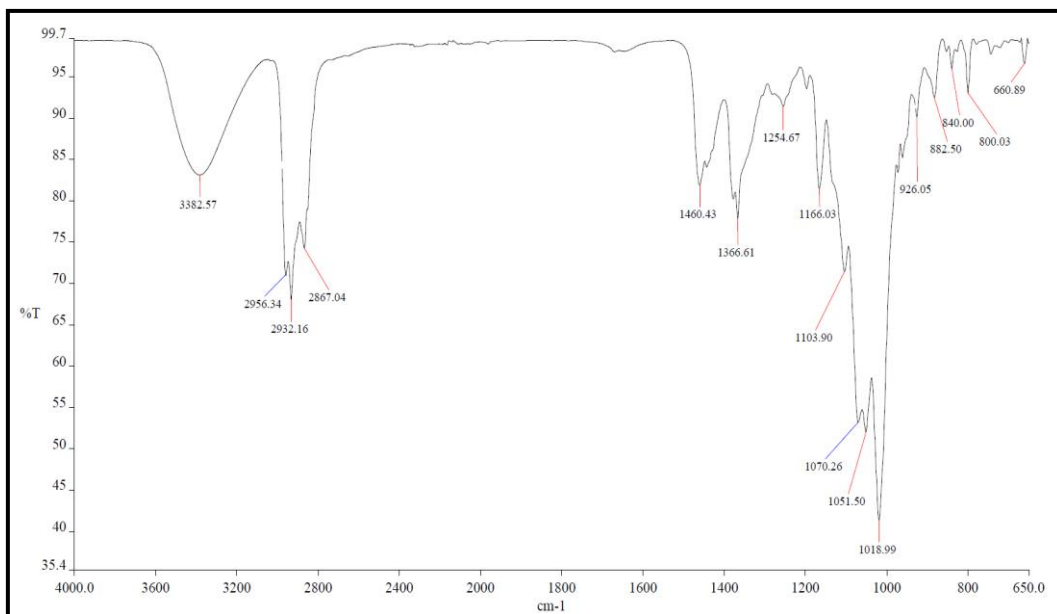
A reunião dos dados espectroscópicos e posterior comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  descritos na literatura (**tab. 31, p. 242**) possibilitou caracterizar MCT-D 2 como sendo a mistura dos esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol glicosilados (KOJIMA *et al.*, 1990).



**Tabela 31** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) da literatura

# C	$\beta$ -sitosterol MCT-D 2	Estigmasterol MCT-D 2	$\beta$ -sitosterol [KOJIMA <i>et al.</i> , 1990]	Estigmasterol [KOJIMA <i>et al.</i> , 1990]
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	37,9	37,9	37,6	37,6
1'	102,9	102,9	102,6	102,6
2	30,6	30,6	30,3	30,3
2'	75,7	75,7	75,4	75,4
3	78,5	78,5	78,3	78,3
3'	79,0	79,0	78,7	78,7
4	39,7	39,7	39,4	39,4
4'	72,1	72,1	71,7	71,7
5	141,3	141,3	141,0	141,0
5'	78,9	78,9	78,5	78,5
6	122,3	122,3	122,0	122,0
6'	63,2	63,2	62,9	62,9
7	32,6	32,6	32,2	32,2
8	32,4	32,4	32,1	32,1
9	50,7	50,7	50,4	50,4
10	37,3	37,3	37,0	37,0
11	21,7	21,7	21,4	21,4
12	40,3	40,2	40,0	39,9
13	42,9	42,7	42,6	42,4
14	57,2	57,3	57,0	57,1
15	24,9	24,9	24,6	24,7
16	28,9	29,7	28,7	29,4
17	56,6	56,5	56,3	56,2
18	12,4	12,4	12,0	12,3
19	19,6	19,6	19,3	19,3
20	36,8	41,2	36,5	40,9
21	19,4	21,1	19,1	21,7
22	34,6	139,2	34,3	138,9
23	26,8	129,8	26,4	129,5
24	46,4	51,8	46,1	51,5
25	29,9	32,0	29,5	32,2
26	20,4	22,3	19,5	21,4
27	20,4	20,4	20,1	20,1
28	23,8	26,1	23,4	25,8
29	12,5	12,9	12,2	12,6

**Figura 214** Espectro de absorção na região do infravermelho de MCT-D 2



**Figura 215** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2

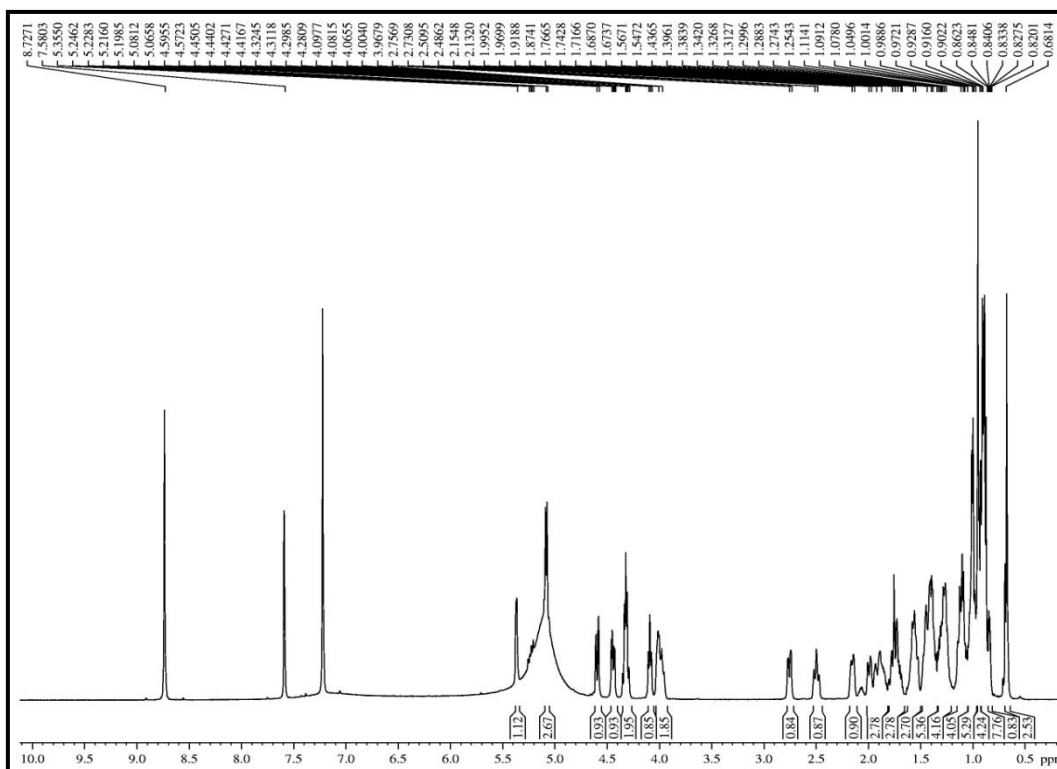




Figura 216 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2

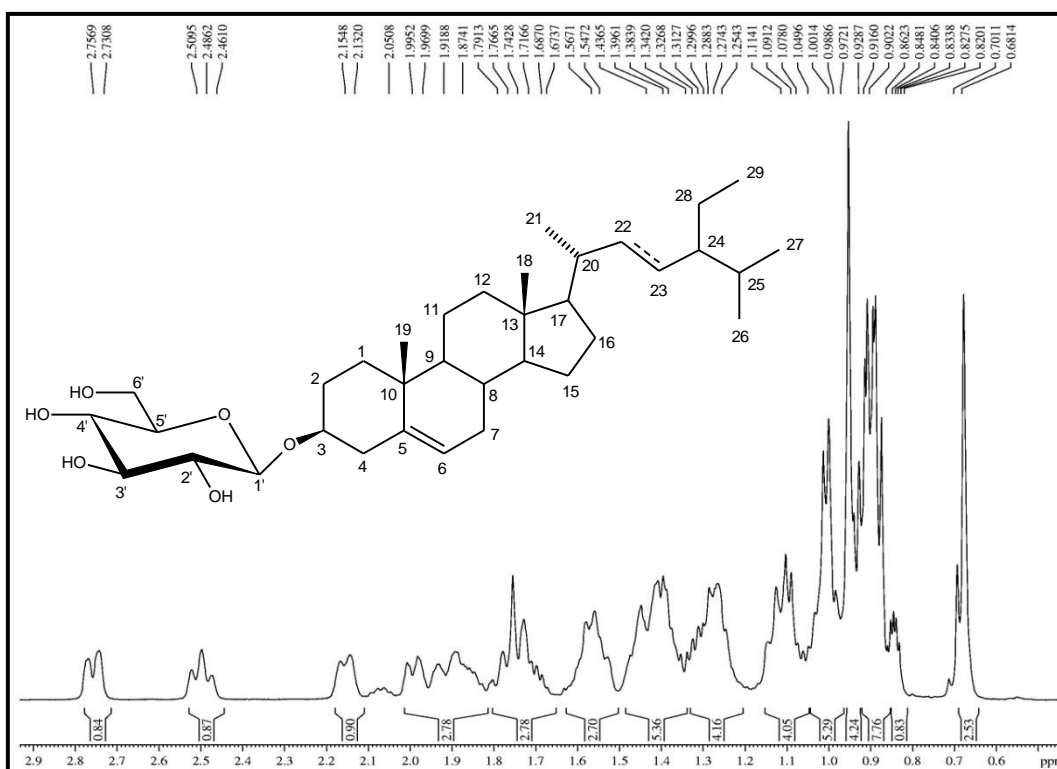


Figura 217 Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2

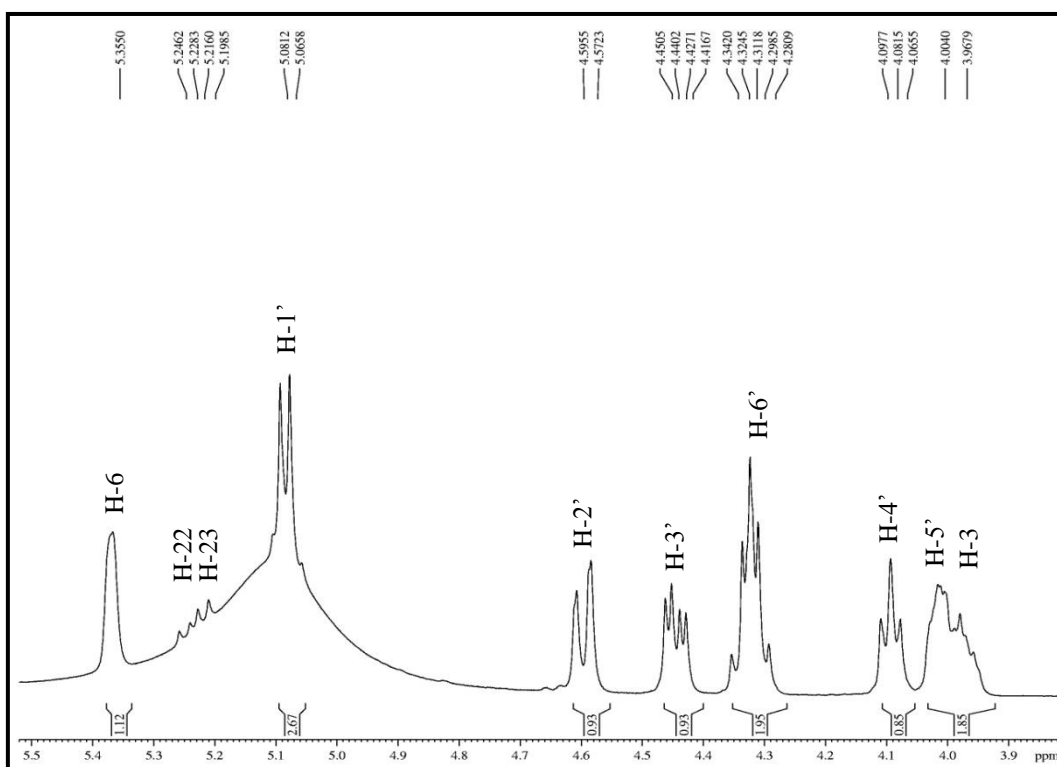


Figura 218 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2

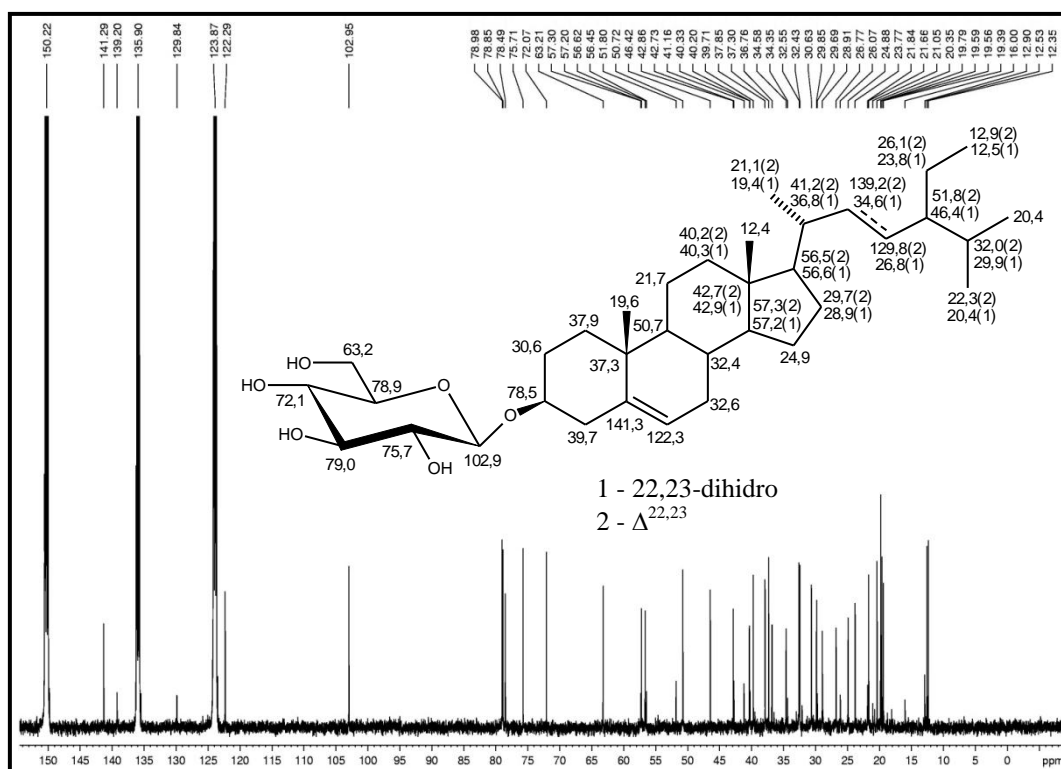
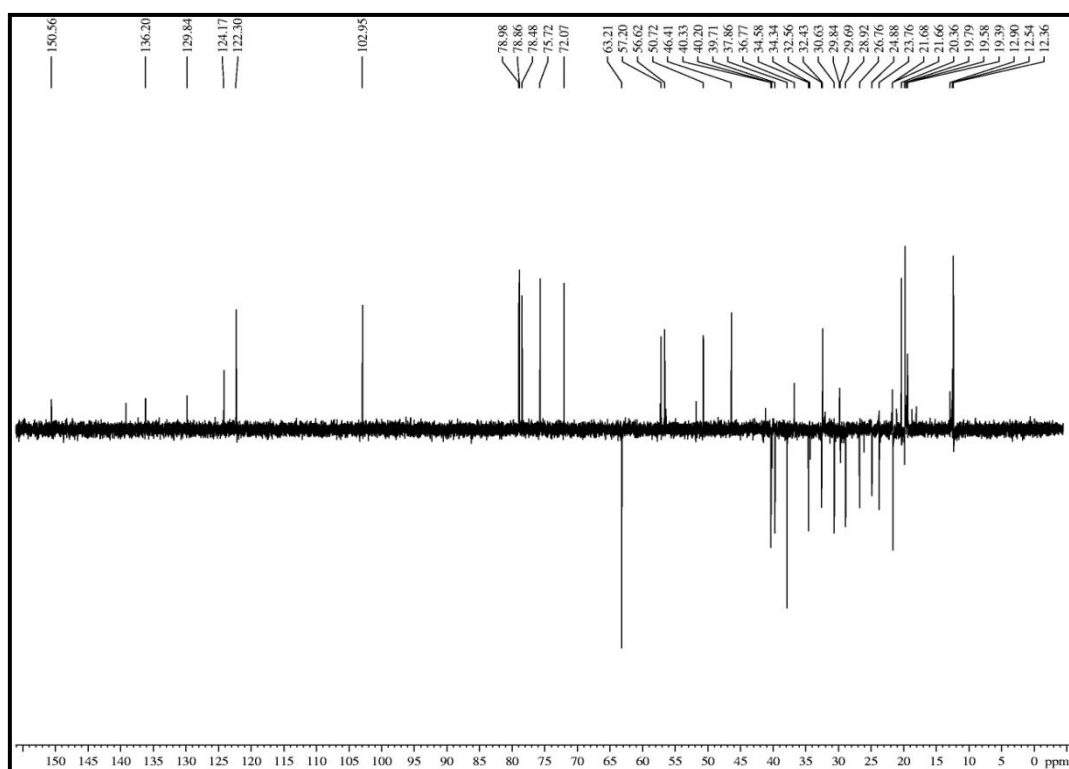


Figura 219 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de MCT-D 2



## 6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

### 6.1 Avaliação da inibição da enzima acetilcolinesterase e atividade oxidante

Os extratos etanólicos dos talos e folhas de *Margaritopsis carrascoana*, assim como as substâncias isoladas das frações *n*-butanólicas obtidas da partição líquido-líquido desses extratos, foram submetidos à avaliação do potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase e capacidade sequestradora de radicais livres, sendo seus resultados comparados aos efeitos demonstrados por padrões da literatura. Os extratos etanólicos dos talos, folhas e fração *n*-butanólica foram denominados MCTE, MCFE e MCFE-NB, respectivamente. Esta pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, da Universidade Federal do Ceará, sob coordenação da Profa. PhD Maria Teresa Salles Trevisan.

#### 6.1.1 Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE)

Este ensaio colorimétrico é baseado em procedimento descrito por Ellman *et al.* (1961), adaptado para CCD por Rhee *et al.* (2001). Esse método pode ser utilizado de forma qualitativa e quantitativa, mas nesse trabalho foi utilizada somente com finalidade qualitativa. É um método rápido e sensível para a seleção de amostras com ação anticolinesterásica.

A metodologia consiste em retirar uma alíquota de 1,5-2,5  $\mu\text{L}$  de substância ou extrato na concentração 10 mg/mL e aplicar em uma cromatoplaça, DC Alufolien, Silicagel 60 F<sub>254</sub>, 0,2 mm Merck. Após a evaporação do solvente, foi borrifado uma mistura (1:1) de iodeto de acetilcolina (ATCI) 1 mmol.L<sup>-1</sup> com o reagente de Ellman (ácido 5,5'-Ditiobis-(2-nitrobenzóico, DTNB, 1 mmol.L<sup>-1</sup>), deixando em repouso por 3 minutos para a secagem da placa. Em seguida foi borrifado a enzima acetilcolinesterase (3U/mL). Após 10 minutos, ocorre o surgimento de uma coloração amarela, porém, onde há inibição da enzima, observa-se um halo branco em torno dos “spots” onde foram aplicadas as amostras. Em 20-30 minutos a coloração desaparece.

Estudos demonstram que biomarcadores de stress oxidativo se encontram bastante alterados em cérebros na Doença de Alzheimer. O tratamento da doença é sintomático e consiste na tentativa de restauração da função colinérgica, já que a elevação do nível da acetilcolina pode se mostrar útil para amenizar a deficiência da aprendizagem, um dos

principais sinais da doença. Desta forma, os inibidores da acetilcolinesterase são amplamente usados no tratamento da doença, procedimento que se baseia na hipótese colinérgica.

Dentre os produtos naturais relatados como inibidores da acetilcolinesterase, os alcalóides são os mais eficientes (WILLIAMS; SORRIBAS; HOWES, 2011), porém possuem efeitos colaterais adversos relacionados à hepatotoxicidade e distúrbios gastrointestinais (HAMMEL *et al.*, 1990). Dentro deste contexto, os flavonóides se apresentam como uma fonte promissora no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento da Doença de Alzheimer, devido ao seu largo espectro em atividades farmacológicas, principalmente pela capacidade de se ligar aos polímeros biológicos (enzimas, hormônios e DNA), bem como agir como quelantes de íons metálicos ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) catalisando transporte eletrônico e impedindo a formação de radicais livres, além da baixa toxicidade (JI, 2006).

Os extratos etanólicos dos talos (MCTE) e folhas (MCFE) de *M. carrascoana* mostraram atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE). O extrato MCFE mostrou-se mais potente que o extrato MCTE, enquanto que as substâncias MCT-NB 1, MCT-NB 2, MCF-NB 1, MCF-NB 2, MCF-NB 3 e MCF-NB 4, não inibiram a enzima. Este fato pode ser corroborado com a informação de que alguns autores sugerem que a presença de grupos 4'-OMe e 7-O-glicosil são necessários para inibição da enzima (FAN *et al.*, 2008).

O resultado negativo para as substâncias puras foi observado através da placa de CCD que não mostrou a presença de halos brancos, indicando que as substâncias não possuem ação inibitória sobre a enzima AChE. A verificação da inibição foi feita seguindo-se a metodologia de Elmann, adaptada por Rhee, para cromatografia em camada delgada fina. Neste ensaio, utiliza-se a solução dos reagentes ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) e iodeto de acetilcolina (ATCI) em tampão e, posteriormente, aplica-se a enzima AChE (3 U/mL).

Sabe-se que muitas vezes que o sinergismo das substâncias presentes no extrato faz com que ocorra uma inibição da acetilcolinesterase, a qual não ocorre nas substâncias isoladas separadamente. As atividades observadas para o extrato etanólico das folhas podem ser justificadas pela possível presença de compostos alcaloídicos, detectados através do teste positivo para o reagente de Dragendorf.

### 6.1.2 Ensaio de sequestro de radicais DPPH•

Os ensaios para avaliação qualitativa da capacidade sequestradora de radicais livres frente ao radical sintético 1,1-difenil-2-picril-hidrazina (DPPH•) foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Soler, Espin e Wichers (2000).

A determinação da atividade antioxidante foi feita através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH•. Neste ensaio, o radical estável DPPH• absorve entre 515-528 nm (cor violeta), e a medida de absorbância da solução violeta foi feita em triplicata a 515 nm, em uma leitora de Elisa Thermoplate.

Alíquotas de 0,1 mL das soluções das amostras foram individualmente colocadas em frascos, e o metanol foi utilizado para a solução controle. Em seguida, 0,9 mL da solução de DPPH• (100 µmol/L) foi adicionada a cada uma das soluções, que foram protegidas da luz e homogeneizadas. Após a aplicação de 200 µL de cada solução em microplacas, as leituras referentes a cinco concentrações (50 a 300 µg/mL) foram obtidas após 30 minutos, utilizando o BHT e a quercetina como soluções padrões.

Para avaliar a atividade captadora de radical, foi obtida a porcentagem de inibição, descrita de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ de Inibição} = [(Absorbância \text{ do controle} - \text{absorbância da amostra}) / \text{absorbância do controle}] \times 100$$

A determinação da IC<sub>50</sub>, ou seja, a concentração da amostra ou do padrão que causa 50% de inibição da concentração inicial de DPPH• foi obtida por regressão linear. Para a plotagem dos pontos, foram utilizados os valores das médias obtidas de triplicatas realizadas para cada um dos testes.

Os agentes antioxidantes utilizados pelo organismo para retardar ou prevenir processos oxidativos geralmente apresentam estruturas fenólicas, que são consideradas como as principais funções responsáveis pelo impedimento da formação de radicais livres (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Muitas substâncias naturais, obtidas especialmente das plantas, têm sido identificadas como captadoras de espécies reativas de oxigênio (GULÇIN *et al.*, 2003), e os estudos com flavonóides fenólicos glicosilados revelam estes compostos como eficientes captadores radicalares, através do uso do método do radical estável DPPH• (LI *et al.*, 2009).

As amostras MCT-NB 2, MCF-NB 1, MCF-NB 3 e MCF-NB 4 apresentaram atividade sequestradora do radical DPPH• melhor que o padrão BHT e a quercetina. Os valores médios de concentração das amostras e dos padrões (BHT e quercetina), que causam

50% de inibição do radical DPPH• (IC<sub>50</sub>) estão representados na **tabela 32**. A fração MCFE-NB apresentou o menor valor de IC<sub>50</sub> quando comparado aos dois padrões utilizados, cujo resultado pode estar associado ao sinergismo das substâncias presentes.

As substâncias MCT-NB 1 e MCF-NB 2 exibiram valores de IC<sub>50</sub> maiores que o padrão BHT, devido a ausência de hidroxilas fenólicas no composto MCT-NB 1 e da substituição de uma hidroxila fenólica por uma metoxila no composto MNF-NB 2, enquanto que as amostras MCT-NB 2 e MCF-NB 4 apresentaram valores de IC<sub>50</sub> menores que o BHT nas diferentes concentrações.

Ao se comparar as substâncias isoladas com o padrão quercetina, percebemos que a substituição da hidroxila no esqueleto da quercetina por grupos glicosilados, ocasiona uma diminuição do valor de IC<sub>50</sub>, confirmando uma maior capacidade captadora de radicais livres, fazendo com que essas substâncias sejam uma alternativa promissora de antioxidantes naturais.

**Tabela 32** Atividade captadora do radical DPPH (IC<sub>50</sub>)

Amostra/Padrões	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
MCT-NB 1	0,556 ± 0,026
MCT-NB 2	0,248 ± 0,029
MCF-NB 1	0,188 ± 0,045
MCF-NB 2	0,376 ± 0,027
MCF-NB 3	0,197 ± 0,025
MCF-NB 4	0,277 ± 0,023
MCFE-NB	0,173 ± 0,039
BHT	0,372 ± 0,031
Quercetina	0,348 ± 0,048

## 6.2 Avaliação da atividade citotóxica pelo método MTT das substâncias isoladas de *M. carrascoana*

Na busca por fontes naturais com atividades farmacológicas, as substâncias isoladas das folhas e talos de *M. carrascoana* foram submetidas a teste de atividade citotóxica no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, sob coordenação da Profa. Dra. Letícia Veras Lotufo, frente a três linhagens de células tumorais humanas: ovário (OVCAR-8), glioblastoma (SF-295) e Colon (HCT-116).

Avaliação de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa

mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). Foi descrita primeiramente por Mossman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

As linhagens tumorais humanas utilizadas OVCAR-8 (ovário), SF-295 (glioblastoma) e HCT-116 (colon) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 10 µg/mL.

As células tumorais foram plaqueadas nas concentrações de 0,1 x 10<sup>6</sup> cél/mL para as linhagens OVACAR-8 e SF-295 e 0,7 x 10<sup>5</sup> cél/mL para a linhagem HCT-116. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3 h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média ± desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism*.

Dentre as amostras testadas, os compostos MCT-A 4 e MC-D 1 apresentaram potencial citotóxico para as células tumorais testadas. As demais amostras apresentaram valores de IC<sub>50</sub> maiores que 10 µg/mL, portanto, consideradas inativas. Os valores de IC<sub>50</sub> das amostras testadas estão apresentados na **tabela 33, p. 251**.

**Tabela 33** Valores de IC<sub>50</sub> com um intervalo de confiança de 95% obtido por regressão não-linear

AMOSTRAS	HCT-116*	SF-295*	OVCAR-8*
MCT-A 1	> 10	> 10	> 10
MCT-A 2	> 10	> 10	> 10
MCT-A 3	> 10	> 10	> 10
MCT-A 4	1,67 (1,52-1,82)	1,0 (0,91-1,11)	1,41 (1,33-1,5)
MCT-NB 1	> 10	> 10	> 10
MCT-NB 2	> 10	> 10	> 10
MCF-NB 1	> 10	> 10	> 10
MCF-NB 2	> 10	> 10	> 10
MCF-NB 3	> 10	> 10	> 10
MCF-NB 4	> 10	> 10	> 10
MC-H 2	> 10	> 10	> 10
MC-D 1	2,95 (2,23-3,91)	3,39 (3,04-3,79)	3,37 (2,77-4,11)
DOXORRUBICINA	0,12 (0,09-0,17)	0,24 (0,2-0,27)	0,26 (0,17-0,3)

\* células tumorais: HCT-116 (ovário); SF-295 (glioblastoma); OVCAR-8 (colon)

### 6.3 Avaliação da atividade biológica do extrato etanólico, fração alcalóidica e alcalóide isolado das folhas de *M. carrascoana*

Visando o desenvolvimento de medicamentos a partir de plantas medicinais, o extrato etanólico das folhas (MCTE), fração alcalóidica (MCFE-A) e o alcalóide calicosidina (MCT-A 1), isolado de *M. carrascoana*, foram submetidas a teste de avaliação da citotoxicidade, atividade antinociceptiva e anti-úlceras, realizados no Laboratório de Toxicologia e Farmacologia Celular, da Universidade Federal do Ceará, sob coordenação da Profa. Dra. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal.

#### 6.3.1 Atividade da enzima Lactato desidrogenase (LDH) em neutrófilo humano

Neutrófilos humanos ( $2,5 \times 10^6$  células/mL) foram incubados por 15 minutos a 37 °C na presença do alcalóide MCT-A 1 (25, 50 e 100 µg/mL), DMSO (veículo - alcalóide), Hanks (células não tratadas) ou Triton X-100 (2% - controle positivo).

A seguir, os tubos de reação foram centrifugados a 755 g, por 10 minutos a 4 °C. Os sobrenadantes foram transferidos para outros tubos e mantidos em banho de gelo para a determinação da atividade da enzima LDH, cuja localização está no citoplasma das células,



sendo liberada quando essas células são lesadas ou necrosadas. Esta enzima é responsável pela conversão de piruvato a lactato na presença de NADH. O ensaio foi realizado utilizando o kit LDH (Liquiform) e baseia-se na medida do decréscimo da absorvância em 340 nm devido a oxidação do NADH, a qual é proporcional a atividade da enzima LDH na amostra.

Alíquotas de 300 µL de substrato (reagentes de trabalho) foram incubadas com 30 µL de amostra do sobrenadante para realização da leitura da absorvância em 340 nm nos tempos 1 e 3 minutos a 37 °C, em espectrofotômetro. A atividade da enzima LDH foi calculada seguindo-se as especificações do fabricante da seguinte maneira:

$$A = [(A_1 - A_2) / 2] \times 1746,03$$

Onde:

A = atividade da enzima LDH na amostra em U/L

A<sub>1</sub> = absorvância inicial (1 min) em 340 nm

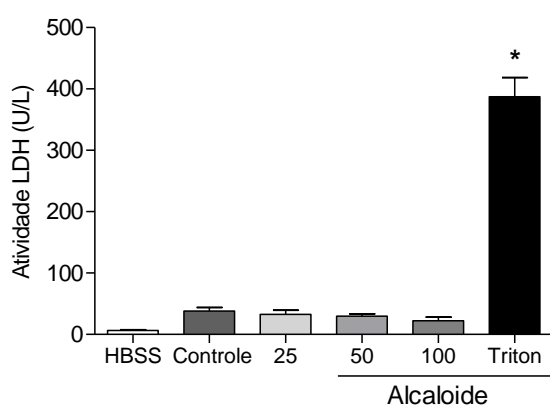
A<sub>2</sub> = absorvância final (3 min) em 340 nm

1746,03 = fator de cálculo estipulado pelo fabricante para o volume de amostra de 30 µL.

A toxicidade do alcaloide foi avaliada em três experimentos independentes, com medidas em triplicata.

Na **figura 220** pode ser observado que o alcalóide MCT-A 1 (25, 50 e 100 µg/mL) não promoveu o aumento da atividade da LDH ( $32,63 \pm 6,86$ ;  $29,97 \pm 3,37$ ;  $22,15 \pm 5,86$  U/L, respectivamente) quando comparado ao grupo veículo ( $37,98 \pm 5,99$ U/L) indicando a ausência de citotoxicidade em neutrófilo nas condições experimentais investigadas.

**Figura 220** Avaliação da toxicidade do alcalóide MCT-A 1 em neutrófilos humano



### 6.3.2 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina em camundongos

Este modelo permite avaliar a dor de origem neurogênica (primeira fase: 0-5 min) e a dor inflamatória (segunda fase: 20-30 min).

Os animais receberam 20 µL de formalina a 2% na região plantar da pata posterior direita. Após a injeção da formalina foi registrado o tempo (segundos) que o animal permaneceu lambendo a pata na qual foi injetada a formalina (“licking time”), sendo esse período considerado como indicativo de dor.

Grupos de animais (n=10) foram tratados com extrato etanólico obtido das folhas de *M. carrascoana* [50 e 100 mg/kg, via oral (v.o.)] e com a fração alcalóidica do extrato (50 mg/kg, v.o.) 60 minutos antes da administração da formalina. Os grupos controles foram tratados com veículo (água - 10 ml/kg, v.o.) e morfina/droga padrão [5 mg/kg, subcutânea (s.c.)] 60 min e 30 min antes da administração da formalina, respectivamente. Os resultados foram expressos como o tempo de lambedura em segundos  $\pm$  E.P.M. (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Os efeitos do extrato etanólico das folhas (MCFE) e da fração rica em alcaloides (MCFE-A) no teste de nocicepção estão demonstrados na **tabela 34**. O grupo controle tratado apenas com água (controle) antes da administração da formalina apresentou o tempo de lambedura de  $60,93 \pm 7,6$  e  $113,5 \pm 13,67$  seg. O extrato etanólico, na dose de 100 mg/kg, foi capaz de reduzir o tempo de lambedura da pata de maneira significativa ( $p < 0,05$ ) na primeira fase do teste ( $21,36 \pm 4,99$ ; inibição de 69,44%) e na segunda fase ( $44,27 \pm 10,75$ ; inibição de 60,96%). A fração rica em alcaloides também reduziu o tempo de lambedura da pata na primeira fase ( $25,0 \pm 3,04$ ; inibição de 58,97%) e na segunda fase ( $58,3 \pm 13,08$ ; inibição de 48,63%). A morfina (5 mg/kg; s.c.), usada como droga de referência, inibiu tanto a primeira fase quanto a segunda fase da nocicepção induzida pela formalina em 68,82% e 96,85%, respectivamente.

**Tabela 34** Inibição da primeira e da segunda fase do teste da formalina em camundongos

Tratamento	Tempo de lambedura da pata (s)			
	Fase Neurogênica		Fase Inflamatória	
	1º Fase	Inibição (%)	2º Fase	Inibição (%)
Controle	$60,93 \pm 7,6$	-	$113,5 \pm 13,67$	-
Morfina 5 mg/kg s.c.	$19,0 \pm 4,65^*$	68,82	$3,57 \pm 2,15^*$	96,85
MCFE 50 mg/kg v.o.	$69,67 \pm 6,12$	-	$81,44 \pm 7,72$	-
MCFE 100 mg/kg v.o.	$21,36 \pm 4,99^*$	69,44	$44,27 \pm 10,75^*$	60,96
MCFE-A 50 mg/kg v.o.	$25,0 \pm 3,04^*$	58,97	$58,30 \pm 13,08^*$	48,63

Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) do tempo de lambedura da pata em segundos; \* =  $p < 0,05$  (ANOVA – Student-Neuman-Keuls, n = 10)

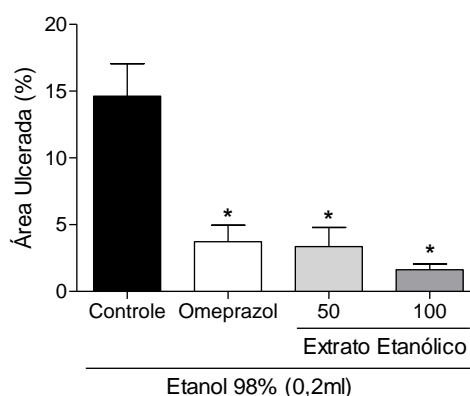
### 6.3.3 Atividade anti-úlcera gástrica: Lesão Gástrica Induzida por Etanol

Os camundongos após jejum de sólidos por 18 h foram submetidos à lesão gástrica induzida pela administração de etanol 98 % (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 60 minutos, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e seus estômagos retirados, abertos ao longo da curvatura maior, lavados com solução salina 0,9 % e comprimidos entre duas placas de Petri para captura digital da imagem através de câmera fotográfica. A área de lesão gástrica glandular foi determinada com o auxílio de um programa de planimetria gráfica e os dados expressos em termos de porcentagem de área lesada em relação à área total do corpo gástrico.

Para avaliar o efeito do extrato etanólico das folhas de *M. carrascoana* no modelo, o mesmo foi administrado nas doses de 50 e 100 mg/kg, v.o. 60 minutos antes da indução da lesão. Como controles foram usados animais tratados com água/controle negativo (10 mL/kg, v.o.) ou omeprazol (30 mg/kg, v.o., droga padrão). Decorridos 60 minutos, a lesão gástrica por etanol (0,2 mL/animal, v.o.) foi induzida, os estômagos retirados e o percentual de lesão medido conforme descrito anteriormente.

Os resultados da avaliação realizada nas mucosas gástricas para investigação do efeito gastroprotetor do extrato MCFE podem ser observados na **figura 221 e tabela 35, p. 255**. A administração do etanol promoveu dano à mucosa gástrica no grupo de animais que recebeu somente água. A área lesionada, expressa como percentual em relação à área total do corpo gástrico no grupo controle foi de  $14,62 \pm 2,43\%$ . O tratamento dos animais com o extrato etanólico, nas doses de 50 e 100 mg/kg v.o., reduziu significativamente, a área da lesão gástrica induzida pelo etanol para  $(3,35 \pm 1,43; 1,63 \pm 0,41 \%$ , respectivamente). O omeprazol, fármaco inibidor da bomba de prótons, reduziu significativamente as lesões gástricas  $(3,73 \pm 1,21)$ .

**Figura 221** Efeito gastroprotetor do extrato MCFE na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos



**Tabela 35** Efeito gastroprotetor do extrato etanólico MCFE no modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.

Tratamento	Área Ulcerada (%)	% de inibição
Controle	14,62 ± 2,43	
Omeprazol 30 mg/kg, v.o.	3,73 ± 1,21*	74,49
MCFE 50 mg/kg, v. o.	3,35 ± 1,43*	77,09
MCFE 100 mg/kg, v. o.	1,63 ± 0,41*	88,85

Os valores representam a média ± E.P.M. do percentual da área lesionada do estômago, após 60 min da indução da lesão. \* =p < 0.0001 (ANOVA - Teste de Newman-Keuls).

## 7 CONCLUSÕES

O estudo químico dos talos e folhas de *Margaritopsis carrascoana* conduziu ao isolamento e caracterização de quatorze metabólitos secundários. A partir do extrato etanólico dos talos foram isolados quatro alcalóides de esqueleto pirrolidinoindólico: calicosidina e hodgkinsina já relatadas anteriormente, e N-8''-formilcalicosidina, N-8''-metil-N-1'-desmetilisocalicosidina inéditos na literatura, além da neolignana álcool 4-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-di-hidro-desidrodiconiferílico, o flavonóide 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina, lupeol, ácido ursólico e a mistura de esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol, nas formas glicosiladas e agliconas.

A partir do extrato etanólico das folhas de *M. carrascoana*, após sucessivos tratamentos cromatográficos da fração *n*-butanólica, levou ao isolamento de quatro flavonóides: 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina e 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] crisoeriol isolados anteriormente das partes aéreas de *Phlomis nissolii* (BUCAR *et al*, 1998), em conjunto com 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]} luteolina e 7-O-{ $\alpha$ -L-ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 6) - [ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]} luteolina, registrados pela primeira vez na literatura.

Os flavonóides isolados, a neolignana e a fração *n*-butanólica das folhas de *M. carrascoana* foram submetidos a testes de atividade antioxidante e anticolinesterásica. Todas as frações testadas apresentaram uma potencial atividade seqüestradora do radical DPPH•, sendo que os resultados para 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil] luteolina, 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina, 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]} luteolina e 7-O-{ $\alpha$ -L-ramnopiranosil - (1 $\rightarrow$ 6) - [ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]} luteolina, mostraram-se melhores que o padrão BHT e a quercetina. Os extratos etanólicos dos talos e folhas de *M. carrascoana* apresentaram atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase.

Testes de atividades citotóxica, nociceptiva e antiúlcera gástrica foram realizadas com as substâncias isoladas, extratos etanólicos e fração alcaloídica de *M. carrascoana*. No teste de citotoxicidade apenas o ácido ursólico e a hodgkinsina foram ativos. Já no teste de nocicepção, realizado com o extrato etanólico das folhas e a fração alcaloídica, foram observados resultados positivos para ambas as frações. O extrato etanólico das folhas de *M.*

*carrascoana* foi submetido a teste de atividade antiúlcera gástrico, levando a uma redução significativa da área de lesão gástrica induzida pelo etanol nos camundongos.

Os resultados descritos neste trabalho corroboram com o potencial fitoquímico da espécie *M. carrascoana* como fonte prolífera de alcalóides e flavonóides, justificando a continuidade da investigação química de outras espécies do gênero *Margaritopsis* que ainda não foram estudadas, visando a obtenção de novas moléculas de interesse químico, espectroscópico e farmacológico, e a contribuição para a quimiotaxonomia do gênero.

## 8 CONSTANTES FÍSICAS

### MCT-A 1

**Nome:** Calicosidina

**F. M.:** C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>

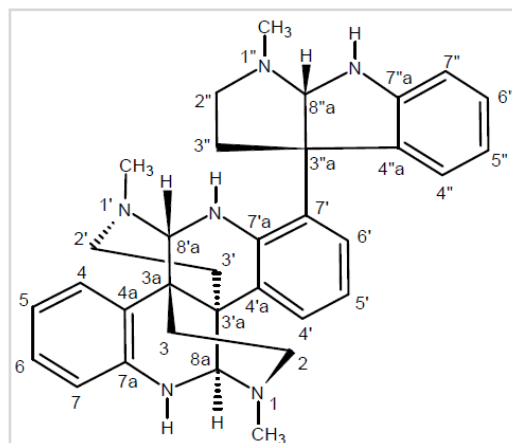
**M. M.:** 518 daltons

**p. f.:** 191,9 - 195,4 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>:** -8,5° (c 0,1, MeOH)

**Solubilidade:** MeOH

**Aspecto:** Sólido marrom amorfo



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>):** 3287; 3034; 2816; 1668; 1611; 1513; 1486; 1177; 1122.

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  (ppm) 148,8 (C-7''a), 145,6 (C-7'a), 143,6 (C-7a), 132,4 (C-4''a), 131,6 (C-6), 131,3 (C-4'a), 130,8 (C-6''), 126,7 (C-4), 125,0 (C-6'), 124,8 (C-4''), 124,7 (C-4'), 124,2 (C-5'), 122,9 (C-5), 122,1 (C-5''), 118,8 (C-4a), 116,0 (C-7), 115,7 (C-7'), 112,3 (7''), 89,7 (C-8''a), 75,6 (C-8'a), 73,4 (C-8a), 60,5 (C-3''a), 48,5 (C-2'), 47,8 (C-2), 46,2 (C-2''), 41,5 (CH<sub>3</sub>-1'), 40,6 (CH<sub>3</sub>-1), 38,6 (C-3a), 36,2 (C-3'a), 35,1 (C-3''), 33,6 (CH<sub>3</sub>-1''), 32,8 (C-3 e C-3').

### MCT-A 2

**Nome:** N-8''-formilcalicosidina

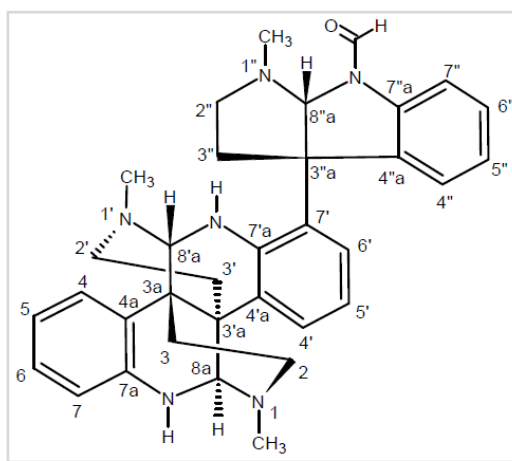
**F. M.:** C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O

**M. M.:** 546 daltons

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>:** +4,6 ° (c 0,1, MeOH)

**Solubilidade:** MeOH

**Aspecto:** Resina marrom



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>):** 3346, 1678, 1600, 1487, 1462, 1206, 1136.

**Espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  (ppm) 9,18 (s, CHO-8''), 7,68 (m, H-6'), 7,64 (m, H-4''), 7,56 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-7''), 7,43 (m, H-6''), 7,38 (m, H-4'), 7,37 (m, H-4), 7,04 (m, H-5), 7,29 (m, H-6), 7,15 (q,  $J = 7,6$  Hz, H-5'), 7,04 (m, H-5), 6,95 (d,  $J = 7,9$  Hz, H-7), 6,58 (s, H-8''a), 5,49 (s, H-8'a), 5,48 (s, H-8a), 3,12 (m, H-2 $\alpha$ ), 3,05 (m, H-2'' $\alpha$ ), 2,98 (t,  $J$

= 12,7 Hz, H-2'' $\beta$ ), 2,81 (s, CH<sub>3</sub>-1), 2,74 (m, H-2), 2,66 (s, CH<sub>3</sub>-1''), 2,60 (m, H-2'), 2,57 (m, H-3'' $\alpha$ ), 2,42 (m, H-3'' $\beta$ ), 2,41 (s, CH<sub>3</sub>-1'), 2,18 (m, H-2' $\beta$  e H-3' $\alpha$ ), 2,06 (m, H-3 $\alpha$ ), 1,73 (d,  $J$  = 14,7 Hz, H-3 $\beta$ ).

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta^{**}$  (ppm) 163,3 (CHO-8''), 146,5 (C-7'a), 143,2 (C-7a), 140,2 (C-7''a), 135,5 (C-4''a), 131,2 (C-6''), 130,7 (C-6), 128,8 (C-4'a), 127,8 (C-4 e C-5''), 126,1 (C-4''), 125,5 (C-4'), 124,8 (C-6'), 124,1 (C-5'), 122,3 (C-5), 120,1 (C-4a), 116,7 (C-7'), 115,5 (C-7), 116,7 (C-7''), 113,2 (7''), 85,6 (C-8''a), 76,2 (C-8'a), 73,9 (C-8a), 59,5 (C-3''a), 47,9 (C-2), 47,8 (C-2'), 46,3 (C-2''), 41,3 (CH<sub>3</sub>-1'), 40,5 (CH<sub>3</sub>-1), 38,5 (C-3'a), 36,4 (C-3a), 35,1 (C-3''), 33,7 (CH<sub>3</sub>-1''), 33,1 (C-3), 33,0 C-3'). \*\*Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono de **MCT-A 2**, foram atribuídos pela análise dos espectros 2D de correlação heteronuclear HSQC e HMBC.

### MCT-A 3

**Nome:** N-8''-metil-N-1'-desmetilisocalicosidina

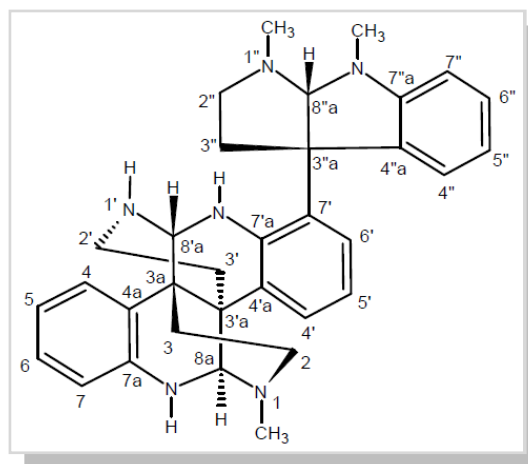
**F. M.:** C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>

**M. M.:** 518 daltons

**$[\alpha]_D^{20}$ :** - 3,3 ° (c 0,1, MeOH)

**Solubilidade:** MeOH

**Aspecto:** Resina marrom



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>):** 3346, 2924, 1678, 1457, 1205, 1139, 844, 801, 724.

**Espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  (ppm) 7,67 (d,  $J$  = 7,8 Hz, H-4), 7,56 (d,  $J$  = 7,4 Hz, H-6') 7,46 (d,  $J$  = 7,5 Hz, H-4''), 7,36 (m, H-4' e H-6), 7,21 (t,  $J$  = 7,8 Hz, H-6''), 7,09 (m, H-5), 7,06 (m, H-5'), 6,99 (d,  $J$  = 7,8 Hz, H-7), 6,91 (t, 7,5 Hz, H-5''), 6,83 (d,  $J$  = 7,8 Hz, H-7''), 6,25 (s, H-8'a), 5,78 (s, H-8''a), 5,53 (s, H-8a), 3,25 (s, CH<sub>3</sub>-8''), 3,12 (m, H-2 $\alpha$ ), 3,04 (m, H-2' $\alpha$ ), 2,89 (m, H-2'' $\alpha$ ), 2,84 (s, CH<sub>3</sub>-1), 2,82 (m, H-2'' $\beta$ ), 2,72 (m, 2 $\beta$ ), 2,67 (s, CH<sub>3</sub>-1''), 2,57 (m, H-3'' $\alpha$ ), 2,54 (m, H-2' $\beta$ ), 2,47 (dt,  $J$  = 12,6; 4,6, H-3'' $\beta$ ), 2,21 (dt,  $J$  = 13,9; 4,9 Hz, H-3' $\alpha$ ), 2,13 (dt,  $J$  = 14,3; 3,7, H-3 $\alpha$ ), 1,82 (d,  $J$  = 13,1 Hz, H-3 $\beta$ ), 1,59 (d,  $J$  = 14,7 Hz, H-3' $\beta$ ).

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  (ppm) 153,0 (C-7''a), 145,5 (C-7'a), 143,7 (C-7a), 133,9 (C-4''a), 131,4 (C-6), 131,2 (C-4'a), 130,4 (C-6''), 127,5 (C-4), 125,5 (C-4'), 124,9 (C-6'), 124,0 (C-4''), 123,7 (C-5'), 122,5 (C-5), 122,4 (C-5''), 119,2 (C-4a), 115,9



(C-7), 116,1 (C-7'), 113,4 (7''), 95,1 (C-8''a), 73,2 (C-8a), 67,9 (C-8'a), 60,7 (C-3''a), 48,1 (C-2), 40,8 (CH<sub>3</sub>-1), 39,9 (CH<sub>3</sub>-8''), 38,7 (C-2'), 38,2 (C-3a), 37,5 (C-3'a), 36,2 (C-3''), 33,8 (CH<sub>3</sub>-1''), 33,5 (C-3), 32,4 (C-3'). \*\*Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono de **MCT-A 3**, foram atribuídos pela análise dos espectros 2D de correlação heteronuclear HSQC e HMBC.

#### MCT-A 4

**Nome:** Hodgkinsina

**F. M.:** C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>

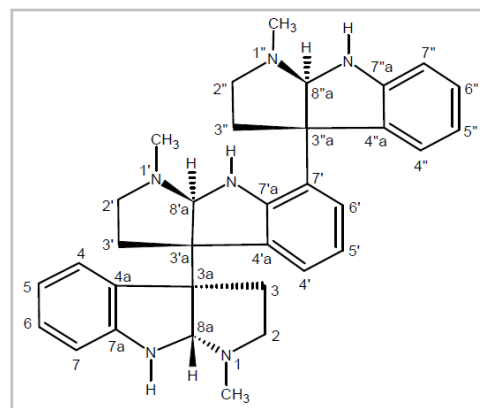
**M. M.:** 518 daltons

**p. f.:** 131,8 - 132,9 °C

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>:** - 48,4° (c 0,1, MeOH)

**Solubilidade:** MeOH, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N

**Aspecto:** Sólido marrom amorfo



**Espectroscopia na região do IV (ν<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>):** 3279; 2966; 2712; 1674; 1609; 1485; 1350; 1200; 1130; 1079.

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N):** δ (ppm) 152,7 (C-7a e C-7''a), 151,0 (C-7'a), 132,7 (C-4'a), 133,5 (C-4a), 133,7 (C-4''a), 129,5 (C-6), 129,2 (C-6' e C-6''), 127,5 (C-4'), 126,3 (C-4 e C-4''), 119,0 (C-5), 118,7 (C-5''), 118,5 (C-5'), 109,1 (C-7), 109,0 (C-7''), 88,5 (C-8a), 85,0 (C-8'a), 84,5 (C-8''a), 64,5 (C-3'a), 62,1 (C-3a), 62,0 (C-3'a), 52,7 (C-2'), 52,6 (C-2), 52,5 (C-2''), 39,0 (C-3), 36,7 (C-3'), 36,2 (C-3''), 35,3 (CH<sub>3</sub>-1), 35,2 (CH<sub>3</sub>-1'), 35,1 (CH<sub>3</sub>-1''). Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono de **MCT-A 4**, foram atribuídos pela análise dos espectros 2D de correlação heteronuclear.

#### MCT-NB 1

**Nome:** Álcool 4-O-β-D-glicopiranosil-di-hidro-desidrodiconiferílico

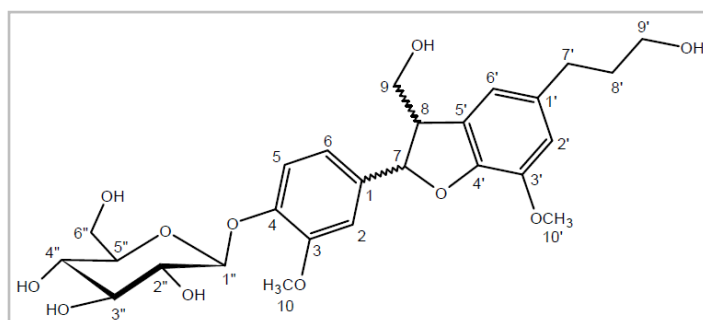
**F. M.:** C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>11</sub>

**M. M.:** 522 daltons

**p. f.:** 123,4 - 125,6 °C

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>:** -14,5° (c 0,37, MeOH)

**Solubilidade:** MeOH



**Aspecto:** Sólido amarelo amorfo

**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ ):** 3326; 2934; 2877; 1603; 1513; 1452; 1264; 1212.

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  (ppm) 151,1 (C-3), 147,8 (C-4), 147,7 (C-4'), 145,4 (C-3'), 138,6 (C-1), 137,2 (C-1'), 129,8 (C-5'), 119,5 (C-6), 118,3 (C-5), 118,1 (C-6'), 114,4 (C-2'), 111,4 (C-2), 102,9 (C-1''), 88,6 (C-7), 78,4 (5''), 78,0 (C-3''), 75,1 (C-2''), 71,5 (C-4''), 65,2 (C-9), 62,7 (C-6''), 62,4 (C-9'), 56,9 (C-10'), 56,8 (C-10), 55,8 (C-8).

## MCT-NB 2

**Nome:** 7-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1  $\rightarrow$  2)- $\beta$ -D-glicopiranosil luteolina

**F. M.:**  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$

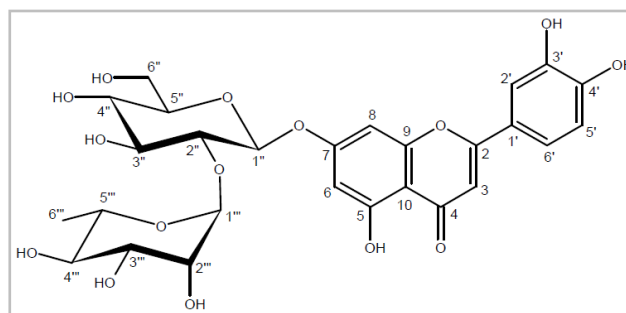
**M. M.:** 594 daltons

**p. f.:** 245,1 - 247,6  $^{\circ}\text{C}$

**$[\alpha]_D^{20}$ :** -47,9 $^{\circ}$  (c 0,1, MeOH)

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

**Aspecto:** Sólido amarelo amorfo



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ ):** 3269; 2925; 1655; 1599; 1499; 1448; 1256; 1180.

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 183,1 (C-4), 165,6 (C-2), 163,9 (C-7), 162,9 (C-5), 158,1 (C-9), 152,2 (C-4'), 148,0 (C-3'), 122,9 (C-1'), 120,0 (C-6'), 117,2 (C-5'), 114,9 (C-2'), 106,9 (C-10), 104,4 (C-3), 102,8 (C-1'''), 100,8 (C-6), 99,9 (C-1''), 95,5 (C-8), 79,5 (C-5''), 79,3 (C-3''), 78,2 (C-2''), 74,4 (C-4'''), 73,0 (C-3'''), 72,7 (C-2'''), 71,5 (C-4''), 70,3 (C-5'''), 62,4 (C-6''), 19,2 (C-6''').

## MCF-NB 1

**Nome:** 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1  $\rightarrow$  6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] luteolina

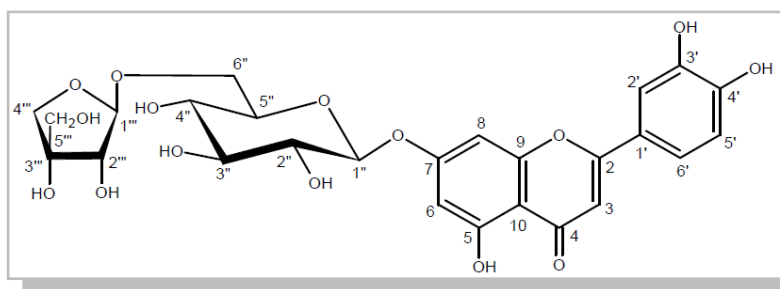
**F. M.:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{15}$

**M. M.:** 580 daltons

**p. f.:** 188,8 - 191,7  $^{\circ}\text{C}$

**$[\alpha]_D^{20}$ :** -76,6 $^{\circ}$  (c 0,05, MeOH)

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$



**Aspecto:** Sólido amarelo amorfo

**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ ):** 3263, 1654, 1599, 1493, 1444, 1255, 1173.

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 183,2 (C-4), 165,7 (C-2), 164,4 (C-7), 162,9 (C-5), 158,2 (C-9), 152,2 (C-4'), 148,1 (C-3'), 123,1 (C-1'), 120,2 (C-6'), 117,3 (C-5'), 115,0 (C-2'), 111,5 (C-1'''), 107,0 (C-10), 104,5 (C-3), 102,4 (C-1''), 101,1 (C-6), 95,8 (C-8), 80,8 (C-3'''), 78,8 (C-5''), 78,2 (C-2'''), 77,9 (C-3''), 75,5 (4'''), 75,1 (C-2''), 71,8 (C-4''), 69,1 (C-6''), 66,1 (C-5''').

## MCF-NB 2

**Nome:** 7-O-[ $\beta$ -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-apiofuranosil] crisoeriol

**F. M.:**  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$

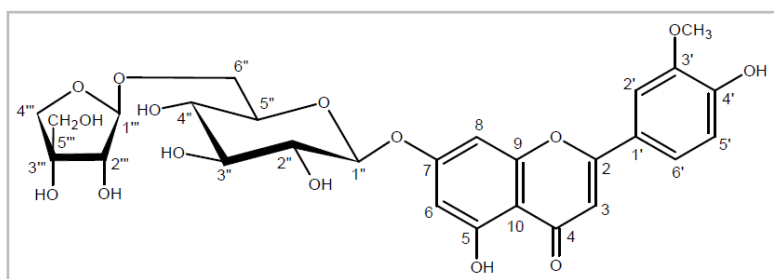
**M. M.:** 594 daltons

**p. f.:** 163,7 - 169,3  $^{\circ}\text{C}$

**$[\alpha]_D^{20}$ :** -105,8 $^{\circ}$  (*c* 0,1, MeOH)

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

**Aspecto:** Sólido amarelo amorfo



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ ):** 3263, 1654, 1599, 1493, 1444, 1255, 1173.

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 183,2 (C-4), 165,4 (C-2), 164,4 (C-7), 162,9 (C-5), 158,2 (C-9), 152,9 (C-4'), 149,3 (C-3'), 122,7 (C-1'), 121,9 (C-6'), 117,4 (C-5'), 111,5 (C-1'''), 110,8 (C-2'), 106,7 (C-10), 104,6 (C-3), 102,2 (C-1''), 101,0 (C-6), 95,9 (C-8), 80,7 (C-3'''), 78,7 (C-5''), 78,2 (C-2'''), 77,8 (C-3''), 75,5 (C-4'''), 75,0 (C-2''), 71,7 (C-4''), 68,9 (C-6''), 66,0 (C-5'''), 56,5 (C-7').

## MCF-NB 3

**Nome:** 7-O-{ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glicopiranosil]}

**F. M.:**  $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{19}$

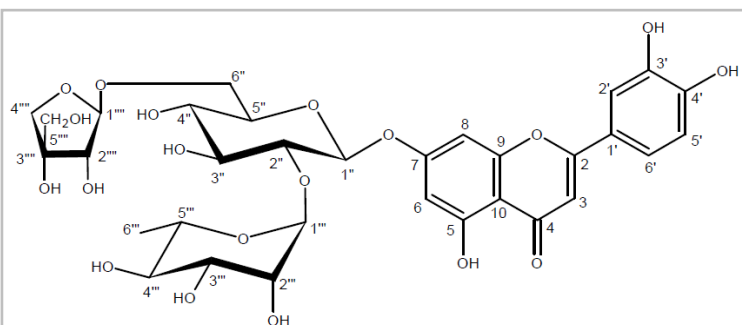
**M. M.:** 726 daltons

**p. f.:** 200,2 - 203,9  $^{\circ}\text{C}$

**$[\alpha]_D^{20}$ :** -93,1 $^{\circ}$  (*c* 0,05, MeOH)

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

**Aspecto:** Sólido amarelo amorfo



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ ):** 3263, 1654, 1599, 1493, 1444, 1255, 1173.

**Espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 13,62 (sl, HO-5), 7,93 (sl, H-2'), 7,56 (d\*, H-6'), 7,33 (d,  $J = 8,4$  Hz, H-5'), 7,03 (d,  $J = 1,8$  Hz, H-6), 7,01 (sl, H-8), 6,90 (s, H-3), 6,41 (s, H-1'''), 5,72 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-1''''), 5,65 (d,  $J = 7,8$  Hz, H-1''), 4,83 (m, H-2'''' e H-5'''), 4,82 (m, H-2'''), 4,71 (d,  $J = 10,9$  Hz, H-6''), 4,62 (d,  $J = 9,3$  Hz, H-4''''), 4,58 (dd,  $J = 9,3$  e  $2,9$  Hz, H-3'''), 4,50 (t,  $J = 8,8$  Hz, H-2''), 4,37 (m, H-4'''), 4,36 (m, H-3'' e H-4'''), 4,26 (m, H-5''), 4,22 (sl, H-5'''), 4,15 (dd,  $J = 11,0$  e  $7,0$  Hz, H-6''), 4,06 (t,  $J = 9,4$  Hz, H-4''), 1,82 (d,  $J = 6,1$  Hz, H-6'''). \* Sinal sobreposto ao solvente.

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 183,1 (C-4), 165,7 (C-2), 164,0 (C-7), 163,1 (C-5), 158,2 (C-9), 152,3 (C-4'), 148,1 (C-3'), 123,1 (C-1'), 120,1 (C-6'), 117,3 (C-5'), 114,9 (C-2'), 111,5 (C-1'''), 107,1 (C-10), 104,4 (C-3), 102,8 (C-1''), 100,8 (C-6), 100,3 (C-1'), 95,7 (C-8), 80,8 (C-3'''), 79,6 (C-3''), 78,2 (C-2'''), 78,0 (C-2''), 77,6 (C-5''), 75,5 (C-4'''), 74,5 (C-4''), 73,1 (C-3'''), 72,8 (C-2'''), 71,8 (C-4''), 70,3 (C-5''), 68,9 (C-6''), 66,1 (C-5'''), 19,3 (C-6''').

#### MCF-NB 4

**Nome:** 7-O- $\{\alpha\text{-L-ramnopiranosil} - (1 \rightarrow 6) - [\alpha\text{-L-ramnopiranosil}-(1 \rightarrow 2)\text{-}\beta\text{-D-glicopiranosil}]\}$

luteolina

**F. M.:**  $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$

**M. M.:** 740 daltons

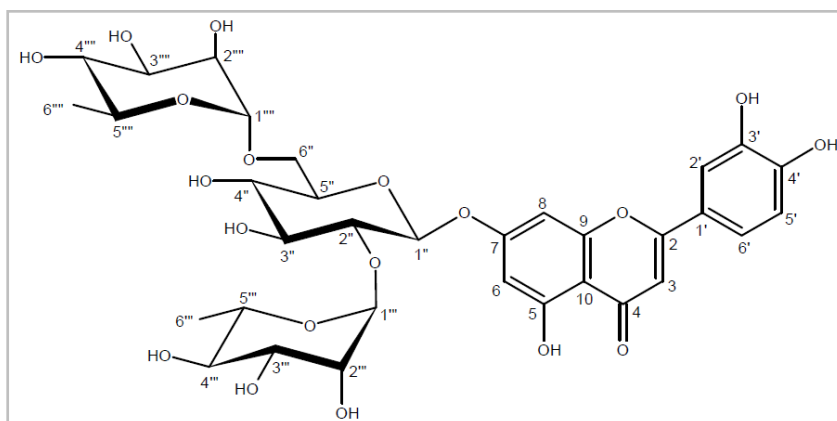
**p. f.:** 262,7 - 264,0°C

$[\alpha]_D^{20}$ : -39,2° (c 0,23,

MeOH)

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

**Aspecto:** Sólido amorfo



**Espectroscopia na região do IV ( $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$ ):** 3377, 1655, 1604, 1498, 1448, 1258, 1177.

**Espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 7,97 (sl, H-2'), 7,55 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-6'), 7,35 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'), 7,01 (sl, H-6), 7,00 (sl, H-8), 6,87 (s, H-3), 6,42 (sl, H-1'''), 5,64 (d,  $J = 7,7$  Hz, H-1''), 5,42 (sl, H-1''''), 4,83 (m, H-2'''' e H-5'''), 4,71 (m, H-2'''), 4,68 (d,  $J = 11,3$  Hz, H-6''), 4,83 (m, H-2 e H-3'''), 4,59 (dd,  $J = 21,3$ ;  $8,9$  Hz, H-3'''), 4,51 (t,  $J = 8,3$  Hz, H-2''), 4,38 (m, H-3''), 4,36 (m, H-4'''), 4,27 (m, H-5''), 4,23 (m, H-4'''), 4,21 (m,

H-5''), 4,09 (dd,  $J = 11,3; 7,2$  Hz, H-6''), 4,03 (t,  $J = 9,4$  Hz, H-4''), 1,82 (d,  $J = 6,2$  Hz, H-6'''), 1,58 (d, 5,9 Hz, H-6''').

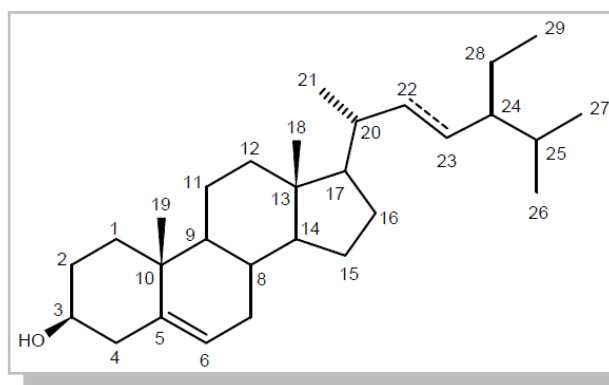
**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta^{**}$  (ppm) 182,9 (C-4), 165,8 (C-2), 164,0 (C-7), 163,5 (C-5), 157,9 (C-9), 152,3 (C-4'), 147,9 (C-3'), 122,8 (C-1'), 120,1 (C-6'), 117,2 (C-5'), 114,8 (C-2'), 107,1 (C-10), 104,4 (C-3), 102,6 (C-1'''), 102,5 (C-1''), 100,8 (C-6), 100,1 (C-1''), 95,3 (C-8), 79,3 (C-3''), 77,8 (C-2''), 77,4 (C-5''), 74,3 (C-4'''), 74,1 (C-4'''), 73,1 (C-3'''), 72,9 (C-2'''), 72,5 (C-3'''), 72,2 (C-2'''), 71,6 (C-4''), 70,1 (C-5'''), 70,0 (C-5''), 67,5 (C-6''), 19,1 (C-6'''), 18,7 (C-6'''). \*\*Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono de **MCF-NB 4**, foram atribuídos pela análise dos espectros 2D de correlação heteronuclear HSQC e HMBC.

### MCT-H 1

**Nome:**  $\beta$ -Sitotesrol (**1**) + Estigmasterol (**2**)

**Solubilidade:**  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

**Aspecto:** Sólido branco amorfo



**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) 140,7 (C-5, **1 + 2**), 138,3 (C-22, **2**), 129,3 (C-23, **2**), 121,7 (C-6, **1 + 2**), 71,8 (C-3, **1 + 2**), 56,7 (C-14, **1**), 56,8 (C-14, **2**), 56,1 (C-17, **1**), 55,9 (C-17, **2**), 51,2 (C-24, **2**), 50,1 (C-9, **1 + 2**), 45,8 (C-24, **1**), 42,3 (C-13, **1 + 2**), 42,2 (C-4, **1 + 2**), 40,4 (C-20, **2**), 39,8 (C-12, **1**), 39,7 (C-12, **2**), 39,1 (C-23, **1**), 37,2 (C-1, **1 + 2**), 36,5 (C-10, **1 + 2**), 36,1 (C-20, **1**), 33,9 (C-22, **1**), 31,9 (C-7 e C-8, **1 + 2**), 31,9 (C-25, **2**), 31,6 (C-2, **1 + 2**), 28,2 (C-16, **1 + 2**), 26,1 (C-25, **1**), 25,4 (C-28, **2**), 24,3 (C-15, **2**), 24,2 (C-15, **1**), 23,1 (C-28, **1**), 21,2 (C-21, **2**), 21,1 (C-11, **1 + 2**), 19,8 (C-27, **1**), 19,4 (C-19, **1 + 2**), 19,0 (C-26 e C-27, **2**), 18,8 (C-26, **1**), 12,2 (C-29, **2**), 11,9 (C-29, **1**), 11,8 (C-18, **1 + 2**).

### MCT-H 2

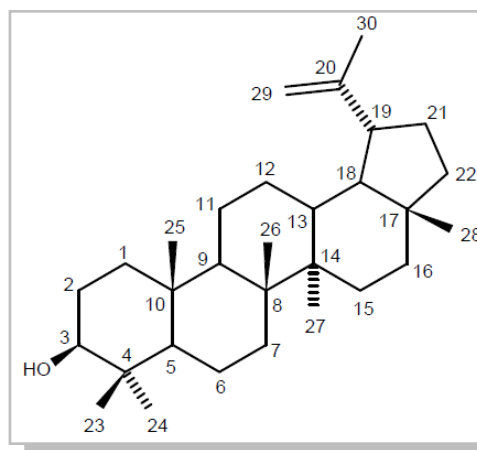
**Nome:** Lupeol

**F. M.:**  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$

**M. M.:** 426 daltons

**Solubilidade:**  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

**Aspecto:** Sólido em forma de agulhas



**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) 151,2 (C-20), 109,5 (C-29), 79,2 (C-3), 55,5 (C-5), 50,6 (C-9), 48,5 (C-18), 48,2 (C-19), 43,2 (C-17), 43,0 (C-14), 41,0 (C-8), 40,2 (C-22), 39,1 (C-4), 38,9 (C-1), 38,3 (C-13), 37,4 (C-10), 35,8 (C-16), 34,5 (C-7), 30,1 (C-21), 28,2 (C-23), 27,7 (C-2), 27,6 (C-15), 25,3 (C-12), 21,1 (C-11), 19,5 (C-30), 18,5 (C-6), 18,2 (C-28), 16,3 (C-25), 16,2 (C-26), 15,6 (C-24), 14,8 (C-27).

### MCT-D 1

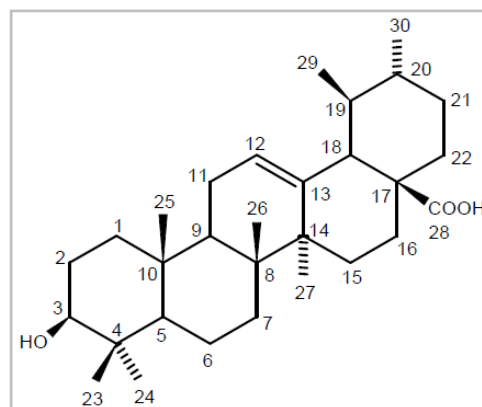
**Nome:** Ácido Ursólico

**F. M.:**  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$

**M. M.:** 456 daltons

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

**Aspecto:** Sólido branco amorfo



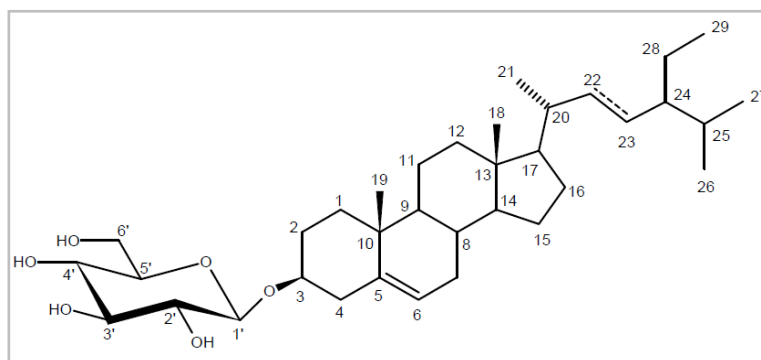
**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 180,3 (C-28), 139,6 (C-13), 125,9 (C-12), 78,5 (C-3), 56,2 (C-5), 53,9 (C-18), 48,4 (C-9 e C-17), 42,9 (C-14), 40,3 (C-8), 39,8 (C-19), 39,7 (C-4 e C-20), 39,4 (C-1), 37,8 (C-22), 37,6 (C-10), 33,9 (C-7), 31,5 (C-21), 29,1 (C-23), 29,0 (C-15), 28,4 (C-2), 25,3 (C-16), 24,3 (C-27), 23,9 (C-11), 21,7 (C-30), 19,1 (C-6), 17,9 (C-29), 17,8 (C-26), 16,9 (C-24), 16,0 (C-25).

### MCT-D 2

**Nome:** Mistura do  $\beta$ -Sitotesolol (1) + Estigmasterol (2) glicosilados

**Solubilidade:**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

**Aspecto:** Sólido branco amorfo



**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):**  $\delta$  (ppm) 141,3 (C-5, **1 + 2**), 139,2 (C-22, **2**), 129,8 (C-23, **2**), 122,3 (C-6, **1 + 2**), 102,9 (C-1', **1 + 2**), 79,0 (C-3', **1 + 2**), 78,9 (C-5', **1 + 2**), 78,5 (C-3, **1 + 2**), 75,7 (C-2', **1 + 2**), 72,1 (C-4', **1 + 2**), 63,2 (C-6', **1 + 2**), 57,3 (C-14, **2**), 57,2 (C-14, **1**), 56,6 (C-17, **1**), 56,5 (C-17, **2**), 51,8 (C-24, **2**), 50,7 (C-9, **1 + 2**), 46,4 (C-24, **1**), 42,9 (C-13, **1**), 42,7 (C-13, **2**), 41,2 (C-20, **2**), 40,3 (C-12, **1**), 40,2 (C-12, **2**), 39,7 (C-4, **1 + 2**), 37,9 (C-1, **1 + 2**), 37,3 (C-10, **1 + 2**), 36,8 (C-20, **1**), 34,6 (C-22, **1**), 32,6 (C-7, **1 + 2**), 32,4 (C-8, **1 + 2**), 32,0 (C-25, **2**), 30,6 (C-2, **1 + 2**), 29,9 (C-25, **1**), 29,7 (C-16, **2**), 28,9 (C-16, **1**), 26,8 (C-23, **1**), 26,1 (C-28, **2**), 24,9 (C-15, **1 + 2**), 23,8 (C-28, **1**), 22,3 (C-26, **2**), 21,7 (C-11, **1 + 2**), 21,1 (C-21, **2**), 20,4 (C-27, **1 + 2**), 20,4 (C-26, **1**), 19,6 (C-19, **1 + 2**), 19,4 (C-21, **1**), 12,9 (C-29, **2**), 12,5 (C-29, **1**), 12,4 (C-18, **1 + 2**).

## REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H.; LOTTES, M.; WAIBEL, R.; KARIKAS, G. A.; CORREA, M. D.; GUPTA, M. P. Alkaloids and other compounds from *Psychotria correae*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 6, p. 1537-1545, 1995.
- ADJIBADÉ, Y.; SAAD, H.; SÉVENET, T.; KUBALLA, B.; QUIRION, J. C.; ANTON, R. New polyindolenine alkaloids from *Calycodendron milnei*. **Planta Médica**, v. 56, p. 212-215, 1990.
- ADJIBADÉ, Y.; WENIGER, B.; QUIRION, J. C.; KUBALLA, B.; CABALION, P.; ANTON, R. Dimeric alkaloids from *Psychotria forsteriana*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 1, p. 317-319, 1992.
- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 of Flavonoids**. Elsevier: New York, 1989, 564 p.
- ALVES, J. S.; CASTRO, J. C. M.; FREIRE, M. D.; CUNHA, E. V. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S. Complete assignment of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of four triterpenes of the ursane, artane, lupine and friedelane groups. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 38, p. 201-206, 2000.
- ANDERSSON, L. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) in a pantropical genus. **Systematics and Geography of Plants**, v. 71, p. 73-85, 2001.
- ARGOUDELIS, A. D.; MIZSAK, S. A. Melinacidins II, III and IV structural studies. **The Journal of Antibiotics**, n. 6, p. 468-473, 1977.
- BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; McCOY, K. D.; WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, v. 4, p. 14-19, 1996.
- BRAND, G.; HENRIQUES, A. T.; PASSOS, C. S.; BALDOQUI, D. C.; SANTIN, S. M. O.; COSTA, W. F.; SARRAGIOTTO, M. H. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Margaritopsis cymuligera* (Muell. Arg.) C. M. Taylor (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 45, p. 155-157, 2012.
- BREWER, D.; MCLNNES, A. G.; SMITH, D. G.; TAYLOR, A.; WALTER, J. A. The structure of chetomin, a toxic metabolite of *Chaetomium cochliodes*, by nitrogen-15 and carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. **Journal of the Chemical Society Perkin I**, v. 10, p. 1248-1251, 1978.
- BUCAR, F.; NINOV, S.; IONKOVA, I.; KARTNIG, T.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; ASENOV, I.; KONUKLUGIL, B. Flavonoids from *Phlomis nissolh*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 3, p. 573-575, 1998.
- CARLÉ, J. S.; CHRISTOPHERSEN, C. Bromo alkaloids fom marine bryozoans *Flustra foliacea*. Isolation and structure elucidation. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 45, p. 1586-1589, 1980.



CARLÉ, J. S.; CHRISTOPHERSEN, C. Bromo-substituted alkaloids from marine bryozoan *Flustra foliacea*, flustramine C and flustraminol A and B. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 46, p. 3440-3443, 1981.

CHU, M.; TRUUMEEES, I.; ROTHOFSKI, M. L.; PATEL, M. G. GENTILE, F.; DAS, P. R.; PUAR, M. S.; LIN, S. L. Inhibition of *c-fos* proto-oncogene induction by sch 52900 and sch 52901, novel diketopiperazines produced by *Gliocladium sp.* **The Journal of Antibiotics**, v. 48, n. 12, p. 1440-1445, 1995.

CLARK, B.; CAPON, R. J.; LACEY, E.; TENNANT, S.; GILL, J. H. Roquefortine E, a diketopiperazine from an Australian isolate of *Gymnoascus reessii*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 11, p. 1661-1664, 2005.

CROOKS, P. A.; ROBINSON, B.; COHN, O. M. The <sup>13</sup>C-Nuclear magnetic resonance spectra of physostigmine and related compounds. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1092-1093, 1976.

DELPRETE, P. G.; JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 101-128, 2012.

DELPRETE, P. G.; SOUZA, E. B. *Psychotria carrascoana* (Rubiaceae), a new species from the carrasco vegetation of Northeastern Brazil. **Novon**, v. 14, n. 2, p. 158-162, 2004.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos**, 5<sup>a</sup> ed., Wiley: Curitiba, 2004.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: A Biosynthetic Approach**, 2<sup>a</sup> ed., John Wiley e Sons: New York, 1997, 466 p.

DONG, J. Y.; HE, H. P.; SHEN, Y. M.; ZHANG, K. Q. Nematicidal epipolysulfanyldioxopiperazines from *Gliocladium roseum*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 10, p. 1510-1513, 2005.

DUKE, R. K.; ALLAN, R. D.; JOHNSTON, G. A. R.; MEWETT, K. N.; MITROVIC, A. D. Idiospermuline, a trimeric pyrrolidinoindoline alkaloid from the of *Idiospermum australiense*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 8, p. 1200-1208, 1995.

DU, L.; FENG, T.; ZHAO, B.; LI, D.; CAI, S.; ZHU, T.; WANG, F.; XIAO, X.; GU, Q. Alkaloids from a deep ocean sediment-derived fungus *Penicillium sp.* and their antitumor activities. **The Journal of Antibiotics**, v. 63, p. 165-170, 2010.

DU, L.; YANG, X.; ZHU, T.; WANG, F.; XIAO, X.; PARK, H.; GU, Q. Diketopiperazine alkaloids from a deep ocean sediment derived fungus *Penicillium sp.* **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 8, p. 873-876, 2009.

EAMVIJARN, A.; GOMES, N. M.; DETHOUP, T.; BUARUANG, J.; MANOCH, L.; SILVA, A.; PEDRO, M.; MARINI, I.; ROUSSIS, V. Bioactive meroditerpenes and indole alkaloids from the soil fungus *Neosartorya fischeri* (KUFC 6344), and the marine-derived

fungi *Neosartorya laciniosa* (KUFC 7896) and *Neosartorya tsunodae* (KUFC 9213). **Tetrahedron**, v. 69, p. 8583-8591, 2013.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; LEAL, M. B.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C. T.; VEROTTA, L. Merging ethnopharmacology with chemotaxonomy: an approach to unveil bioactive natural products. The case of Psychotria alkaloids as potencial analgesics. **Natural Products Research in Brazil**, v. 49, n. 5, 6, p. 378-384, 1997.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JUNIOR, V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

ERBANO, M.; DUARTE, M. R. Morfoanatomia de folhas e caule de *Genipa amaricana* L., Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia e Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 825-832, 2010.

FAN, P.; HAY, A.E.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Acetylcholinesterase-inhibitory activity of linarin from *Buddleja davidii*, structure-activity relationships of related Flavonoids, and chemical investigation of *Buddleja nitida*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 9, p. 596-601, 2008.

FIGUEROA, M.; GRAF, T. N.; AYERS, S.; ADCOCK, A. F.; KROLL, D. J.; YANG, J.; SWANSON, S. M.; ACUNA, U. M.; BLANCO, E. J. C.; AGRAWAL, R.; WANI, M. C.; DARVEAUX, B. A.; PEARCE, C. J.; OBERLIES, N. H. Cytotoxic epipolythiodioxopiperazine alkaloids from filamentous fungi of the *Bionectriaceae*. **The Journal of Antibiotics**, v. 65, p. 559-564, 2012.

FENG, Y.; BLUNT, J. W.; COLE, A. L. J.; MUNRO, M. H. G. Novel cytotoxic thiodiketopiperazine derivatives from a *Tilachlidium* sp. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 12, p. 2090-2092, 2004.

GAZD, V. E. Abordagem química e estudo da atividade biológica das raízes de *Chiococca Alba* (L.) HITCHC. (RUBIACEAE). 2004, 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GUÉRITTE-VOEGELEIN, F.; SÉVENET, T.; PUSSET, J.; ADELINÉ, M. T.; GILLET, B.; BELOEIL, J. C.; GUÉNARD, D.; POTIER, P. Alkaloids from *Psychotria oleoides* With activity on growth hormone release. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 7, p. 923-930, 1992.

GOMES, N. M.; DETHOUP, T.; SINGBURAUDOM, N.; GALES, L.; SILVA, A. M. S.; KIJJOA, A. Eurocristatine, a new diketopiperazine dimer from the marine sponge-associated fungus *Eurotium cristatum*. **Phytochemistry Letters**, v. 5, n. 3, p. 573-575, 2012.

GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. H.; CARVALHO, M. G.; BRAZ FILHO, R. Fitoconstituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*. Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos jatrolonas A e B. **Química Nova**, v. 16, n. 2, p. 95-100, 1993.

- GULÇIN, I.; OKTAY, M.; KIREÇCI, E.; KUFREVIOGLU, O. I. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. **Food Chemistry**, v. 83, p. 371-382, 2003.
- HAMMEL, P.; LARREY, D.; BERNUAU, J.; KALAFAT, M.; FRENEAUX, E.; BABANY, G.; DEGOTT, C.; FELDMANN, G.; PESSAYRE, D.; BENHAMOU, J. P. Acute Hepatitis After Tetrahydroaminoacridine Administration for Alzheimer's Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 12, n. 3, p. 329, 1990.
- HODGE, R. P.; HARRIS, C. M.; HARRIS, T. M.; Verrucofortine, a major metabolite of *Penicillium verrucosum* Var. *Cyclopium*, the fungus that produces the mycotoxin verrucosidin. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 1, p. 66-73, 1988.
- HOLST, P. B.; ANTHONI, U.; CHRISTOPHERSEN, C.; NIELSEN, P. H. Two alkaloids, flustramine and debromo marine bryozoan *Flustra foliacea*. **Journal of Natural Products**, v. 57, N. 7, p. 997-987, 1994.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice - dissociation between inflammatory and noninflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-114, 1987.
- JANNIC, V.; GUÉRITTE, F.; LAPRÉVOTE, O.; SERANI, L.; MARTIN, M. T.; SÉVENET, T.; POTIER, P. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria oleoids* and *Psychotria lyciiflora*. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 838-843, 1999.
- JI, H. F.; ZHANG, H. Y. Theoretical evaluation of flavonoids as multipotent agents to combat Alzheimer's disease. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 767, p. 3-9, 2006.
- JOSHI, B. K.; GLOER, J. B.; WICKLOW, D. T. New verticillin and glisoprenin analogues from *Gliocladium catenulatum*, a mycoparasite of *Aspergillus flavus* Sclerotia. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 5, p. 730-733, 1999.
- KIMURA, Y.; HAMASAKI, T.; NAKAJIMA, H. Structure of aszonalenin, a new metabolite of *Aspergillus zonatus*. **Tetrahedron Letters**, v. 23, n. 2, p. 225-228, 1982.
- KITAJIMA, M.; MORI, I.; ARAI, K.; KOGURE, N.; TAKAYAMA, H. Two new tryptamine-derived alkaloids from *Chimonanthus praecox* f. *concolor*. **Tetrahedron Letters**, v. 47, p. 3199-3202, 2006.
- KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.
- KOKOTKIEWICZ, A.; LUCZKIEWICZ, M.; SOWINSKI, P.; GLOD, D.; GORYNSKI, K.; BUCINSKI, A. Isolation and structure elucidation of phenolic compounds from *Cyclopia subternata* Vogel (honeybush) intact plant and in vitro cultures. **Food Chemistry**, v. 133, p. 1373-1382, 2012.
- KOZLOVSKY, A. G.; VINOKUROVA, N. G.; ADANIN, V. M.; BURKHARDT, G.; DAHSE, H. M.; GRAFE, U. New diketopiperazine alkaloids from *Penicillium fellutanum*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 698-700, 2000.

LAJIS, N. H.; MAHMUD, Z.; TOIA, R. F. The alkaloids of *Psychotria rostrata*. **Planta Medica**, v. 59, n. 4, p. 383-384, 1993.

LAMIDI, M.; RONDI, M. L.; FAURE, R.; DEBRAUWER, L.; NZE-EKERKANG, L.; BALANSARD, G.; OLLIVER, E. Flavonoid glycosides from *Sclerochiton vogelii*. **Comptes Rendus Chimie**, v. 9, p. 1309-1313, 2006.

LAYCOCK, M. V.; WRIGHT, J. L. C.; FINDLAY, J. A.; PATIL, A. D. New physostigmine related bromoalkaloids from the marine bryozoan *Flustra foliacea*. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 64, p. 1312-1316, 1986.

LEE, S. U.; ASAMI, Y.; LEE, D.; JANG, J. H.; AHN, J. S.; OH, H. Protuboxepins A and B protubonines A and B from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. SF-5044. **Journal of Natural Products**, v. 74, p. 1284-1287, 2011.

LIBOT, F.; MIET, C.; KUNESCH, N.; POISSON, J. E. Rubiacées d'océanie: alcaloïdes de *Psychotria oleozdes* de nouvelle-calbonie et de *Calycodendron mzlnez* du Vanuatu (Nouvelles-Herbrides). **Journal of Natural Products**, v. 50, n.3, p. 468-473, 1987.

LIBOT, F.; KUNESCH, N.; POISSON, J. E.; KAISER, M.; DUDDECK, H. Biomimetic transformation of Hodgkinsine, a pyrrolidinoindoline alkaloid. **Heterocycles**, v. 27, n.10, p. 2381-2386, 1988.

LI, C.; DU, H.; WANG, L.; SHU, Q.; ZHENG, Y.; XU, J.; ZHANG, J.; YANG, R.; GE, Y. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia* Section *Moutan*) yellow flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8496-8503, 2009.

LI, G. Y.; LI, B. G.; YANG, T.; YAN, J. F.; LIU, G. Y.; ZHANG, G. L. Chaetocochins A-C, epipolythiodioxopiperazines from *Chaetomium cochliodes*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 9, p. 1374-1376, 2006.

LI, L.; LI, D.; LUAN, Y.; GU, Q.; ZHU, T. Cytotoxic metabolites from the antarctic psychrophilic fungus *Oidiodendron truncatum*. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 920-927, 2012.

LI, Y. L.; LI, J.; WANG, N. L.; YAO, X. S. Flavonoids and a new polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd. **Molecules**, v. 13, p. 1931-1941, 2008.

MAES, C. M.; POTGIETER, M.; STEYN, P. S. N. m. r. assignments, conformation, and absolute configuration of ditryptophenaline and model dioxopiperazines. **Journal of the Chemical Society Perkin I**, v.0, p. 861-866, 1986.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MATSUDA, N.; SATO, H.; YAOITA, Y.; KIKUCHI, M. Isolation and absolute structures of the neolignan glycosides with the enantiometric aglycones from the leaves of *Viburnum awabuki* K. Koch. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 44, n. 5, p. 1122-1123, 1996.

MILES, C. O.; MUNDAY, S. C.; WILKINS, A. L. Improved method for purification of epidithiodioxopiperazines from fungal extracts: purification of sporidesmin A. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2458-2460, 1992.

MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MUSUKU, A.; SELALA, M. I.; BRUYNE, T.; CLAEYS, M.; SCHEPENS, P. J. C. Isolation and structure determination of a new roquefortine-related mycotoxin from *Penicillium verrucosum* Var. *Cyclopium* isolated from cassava. **Journal of Natural Products**, v. 57, N. 7, p. 983-987, 1994.

PAIVA, A. M.; GERMANO FILHO, P.; MOURA, M. V. L. Rubiaceae ornamentais do Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. **Floresta e Ambiente**, v. 16, n.1, p. 39-46, 2009.

PELLETIER, S. W. **Alkaloides chemical and biological perspectivas**. New York: Wiley, 1988.

PETERS, L.; KONIG, G. M.; TERLAU, H.; WRIGHT, A. D. Four new bromotryptamine derivatives from the marine bryozoan *Flustra foliacea*. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 1633-1637, 2002.

RAHBAEK, L.; ANTHONI, U.; CRISTOPHERSEN, C.; NIELSEN, P. H.; PETERSEN, B. O. Securamines and securines, halogenated indole-imidazole alkaloids from the marine bryozoan *Securiflustra securifrons*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 61, p. 887-889, 1996.

RAHBAEK, L.; CHRISTOPHERSEN, C. Three new alkaloids, securamines E-G, from the marine bryozoan *Securiflustra securifrons*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 60, p. 175-177, 1997.

RANG, H. P.; DALE, M.M.; RITTER, J. M.; **Farmacologia**, 4<sup>a</sup> ed., Editora Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 2001.

RIES, M. I.; ALI, H.; LANKHORST, P. P.; HANKEMEIER, T.; BOVENBERG, R. A. L.; DRIESSEN, A. J. M.; VREEKEN, R. J. Novel key metabolites reveal further branching of the roquefortine/meleagrins biosynthetic pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 52, p. 37289-37295, 2013.

RIOS, M. S. M.; SANCHEZ, N. F. S.; CASTILLO, O. R. S.; NATHAN, P. J. Conformational studies on indole alkaloids from *Flustra foliacea* by NMR and molecular modeling. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 40, p. 677-682, 2002.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal Chromatography A**, v. 915, p. 217-223, 2001.

- ROCHFORD, S. J.; MOORE, S.; CRAFT, C.; MARTIN, N. H.; WAGONER, R. M. V.; WRIGHT, J. L. C. Further studies on the chemistry of the flustra alkaloids from the bryozoan *Flustra foliacea*. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1773-1781, 2009.
- ROTH, A.; BOUNTHANH, C.; CABALION, P.; SÉVENET, T.; BECK, J. P.; ANTON, R. Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae). **Planta Médica**, v. 6, p. 450-453, 1986.
- SAITO, T.; KOYAMA, K.; NATORI, S.; IITAKA, Y. Chetracin A, a new epipolythiodioxopiperazine having a tetrasulfide bridge from *Chaetomium abuense* and *C. retardatum*. **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 39, p. 4731-4734, 1985.
- SAITO, T.; SUZUKI, Y.; KOYAMA, K.; NATORI, S.; IITAKA, Y.; KINOSHITA, T. Chetracin A and chaetocins B and C, three new epipolythiodioxopiperazines from *Chaetomium* spp. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 6, p. 1942-1956, 1988.
- SANTOS, L. V.; FETT-NETO, A. G.; KERBER, V. A.; ELISABETSKY, E.; QUIRION, J. C.; HENRIQUES, A. T. Indole monoterpene alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* Mull. Arg. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 11, p. 1185-1187, 2001.
- SANTOS, P. M. L.; SCHRIPEMA, J.; KUSTER, R. M. Flavonóides *O*-glicosilados de *Croton campestris* ST. Hill. **Revista Brasileira de Farmacognosia e Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 4, p. 312-325, 2005.
- SHAN, W. G.; YING, Y. M.; YU, H. N.; LIU, W. H.; ZHAN, Z. J. Diketopiperazine alkaloids from *Penicillium* spp. HS-3, an endophytic fungus in *Huperzia serrata*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 93, p. 772-776, 2010.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 6ªed., Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Editora da UFSC, 2010.
- SIMÕES-PIRES, C. A.; FARIAS, F. M.; MARSTON, A. QUEIROZ, E. F.; CHAVES, C. G.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Indole monoterpenes with antichemotactic activity from *Psychotria myriantha*: chemotaxonomic significance. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 1, p. 1101-1106, 2006.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.
- SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107-1112, 1990.
- SOLER, R., C.; ESPIN, J.C.; WICHERS, H.J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 330-338, 2000.

SOLIS, P. N.; LANGA'T, C. GUPTA, M. P.; KIRBY, G. C.; WARHURST, D. C.; PHILLIPSON, J. D. Bio-active compounds from *Psychotria camponutans*. **Planta Médica**, v. 61, n. 1, p. 62-65, 1995.

SOLÍS, P. N.; RAVELO, A. G.; PALENZUELA, J. A.; GUPTA, M. P.; GONZÁLEZ, A. PHILLIPSON, J. D. Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 5, p. 963-969, 1997.

TAKAHASHI, C.; NUMATA, A.; ITO, Y.; MATSUMURA, E.; ARAKI, H.; IWAKI, H.; KUSHIDA, K. Leptosins, antitumour metabolites of a fungus isolated from a marine alga. **Journal of the Chemical Society Perkin I**, v. 13, p. 1859-1864, 1994.

TAKAHASHI, C.; MINOURA, K.; YAMADA, T.; NUMATA, A.; KUSHIDA, K.; SHINGU, T.; HAGISHITA, S.; NAKAI, H.; SATO, T.; HARADA, H. Potent cytotoxic metabolites from a *Leptosphaeria* species. Structure determination and conformational analysis. **Tetrahedron**, v. 51, n. 12, p. 3483-3498, 1995.

TAKASE, S.; KAWAI, Y.; UCHIDA, I.; TANAKA, H.; AOKI, H. Structure of amauromine, a new alkaloid with vasodilating activity produced by *Amauroascus sp.* **Tetrahedron Letters**, v. 25, n. 41, p. 4673-4676, 1984.

TAKAYAMA, H.; MORI, I.; KITAJIMA, M.; AIMI, N.; LAJIS, N. H. New type of trimeric and pentameric indole alkaloids from *Psychotria rostrata*. **Organic Letters**, v. 6, n. 17, p. 2945-2948, 2004.

TAYLOR, C. M. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) in the Neotropics. **Systematics and Geography of Plants**, v. 75, p. 161-177, 2005.

TAYLOR, C.M.; ZAPPI, D.C. *Margaritopsis* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14110>). 2013.

VEROTTA, L.; PILATI, T.; TATÒ, M.; ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; NUNES, D. S. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata*. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 392-396, 1998.

VLEGGAR, R.; WESSELS, P. L.; Stereochemistry of the dehydrogenation of (2S)-histidine in the biosynthesis of roquefortine and oxaline. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, v. 4, p. 160-162, 1980.

WANG, Y. H.; LONG, C. L.; YANG, F. M.; WANG, X.; SUN, Q. Y.; WANG, H. S.; SHI, Y. N.; TANG, G. H. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Selaginella moellendorffii*. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1151-1154, 2009.

WANG, F. Z.; HUANG, Z.; SHI, X. F.; CHEN, Y. C.; ZHANG, W. M.; TIAN, X. P.; LI, J.; ZHANG, S. Cytotoxic indole diketopiperazines from the deep sea-derived fungus *Acrostalagmus luteoalbus* SCSIO F457. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 7265-7267, 2012.

WILLIAMS, P.; SORRIBAS, A.; HOWES, M.J.R. Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. **Natural Product Reports**, v. 28, p. 48-77, 2011.

WRIGHT, J. L. C. A new antibiotic from the marine bryozoan *Flustra foliaceae*. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 5, p. 893-895, 1984

WU, B.; TAKAHASHI, T.; KASHIWAGI, T.; TEBAYASHI, S. I.; KIM, C. S. New flavonoid glycosides from the leaves of *Solidago altissima*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, p. 815-816, 2007.

WULFF, P.; CARLÉ, J. S.; CHRISTOPHERSEN, C. Marine alkaloids-5. Flustramide A and 6-bromo-*N*<sub>b</sub>-methyl-*N*<sub>b</sub>-formyltryptamine from the marine bryozoan *Flustra foliacea*. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 71, N. 3, p. 523-524, 1982.

YAMADA, T.; IWAMOTO, C.; YAMAGAKI, N.; YAMANOUCHI, T.; MINOURA, K.; YAMORI, T.; UEHARA, Y.; ANDOH, T.; UMEMURA, K.; NUMATA, A. Leptosins M-N<sub>1</sub>, cytotoxic metabolites from a *Leptosphaeria* species separated from a marine alga. Structure determination and biological activities. **Tetrahedron**, v. 58, p. 479-487, 2002.

ZHANG, J. W.; GAO, J. M.; XU, T.; ZHANG, X. C.; MA, Y. T.; JARUSSOPHON, S.; KONISHI, Y. Antifungal activity of alkaloids from the seeds of *Chimonanthus praecox*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, p. 838-844, 2009.

ZHENG, C. J.; KIM, C. J.; BAE, K. S.; KIM, Y. H.; KIM, W. G. Bionectins A-C, epidithiodioxopiperazines with anti-MRSA activity, from *Bionectra byssicola* F120. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 12, p. 1816-1819, 2006.

ZHENG, C. J.; PARK, S. H.; KOSHINO, H.; KIM, Y. H.; KIM, W. G. Verticillin G, a new antibacterial compound from *Bionectra byssicola*. **The Journal of Antibiotics**, v. 60, n. 1, p. 61-64, 2007.

ZHOU, H.; HE, H. P.; WANG, Y. H.; HAO, X. J. A new dimeric alkaloid from the leaf of *Psychotria calocarpa*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 93, p. 1650-1652, 2010.