

ANTÔNIA TORRES ÁVILA PIMENTA

PSYCHOTRIA STACHYOIDES: DESCOBERTAS QUÍMICAS E ESTRUTURAIS

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-graduação em Química Orgânica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química Orgânica.

Área de concentração: Produtos Naturais

Orientadora Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima

FORTALEZA

2009

A 104653

R 13968270 (CATIVO)

P697P Pimenta, Antônia Torres Ávila
Psychotria stachyoides : descobertas químicas e estruturais / Antônia
Torres Ávila Pimenta , 2009.
219 f. ; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Área de concentração: Química Orgânica
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências.
Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2009.

1. *Psychotria stachyoides*. 2. Alcalóides indólicos. 3. Cromatografia. 4.
Espectroscopia. I. Lima, Mary Anne Sousa (orienta.). II. Universidade
Federal do Ceará – Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título .

CDD 547

Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Antônia Torres Ávila Pimenta

TESE APROVADA EM: 02/06/2009

EXAMINADORES:

~~Prof. Dra.~~ Mary Anne Sousa Lima (orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

~~Prof. Dra.~~ Gilvandete Maria Pinheiro Santiago
Universidade Federal do Ceará – UFC

~~Prof. Dra.~~ Telma Leda Gomes de Lemos
Universidade Federal do Ceará – UFC

~~Prof. Dr.~~ Ivo José Curcino Vieira
Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF

~~Prof. Dra.~~ Mariana Helena Chaves
Universidade Federal do Piauí – UFPI

AGRADECIMENTOS

Para agradecer as pessoas mais importantes durante a realização deste trabalho seria necessária uma grande retrospectiva relatando os primeiros passos, os primeiros tombos, escorregões e as conquistas. Naturalmente não me estenderei em descrever minha trajetória, já a gratidão posso resumir em uma palavra repleta de significados: obrigada.

Em especial à Profa. Mary Anne, pela forma sempre cuidadosa com que orientou esta tese, deixando marcas indeléveis de sua competência, ética e da zelosa amizade construída. Agradeço também ao Prof. Edilberto, que tem contribuição em todas as etapas da produção deste trabalho, desde a coleta de plantas à disponibilização do CENAUREMN. Também ao professor Elnatan, pela identificação das espécies usadas ao longo deste trabalho. Ao Prof. Raimundo Braz-Filho, personificação da rara combinação de competência e brandura, pela colaboração na elucidação estrutural das substâncias isoladas. Aos colegas de laboratório e curso: Artur, Henrique, Érica, Cris, Gizelle, Glauber, Renata, Luciana e em especial ao Daniel pelas instruções no uso do HPLC. Aos servidores técnico-administrativos Mundinha, Lana e Célia. Gostaria de agradecer também ao Sales, pelo apoio e incentivo deste projeto. Finalmente, sou grata aos professores, colegas e a todos os que de forma direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Agradeço ao CNPq e à CAPES pelo suporte financeiro.

RESUMO

Neste trabalho foi realizada a investigação fitoquímica das folhas, talos e raízes de *Psychotria stachyoides*. A ausência de dados na literatura a cerca da constituição química desta espécie motivou a realização deste estudo, que adicionou novos elementos para o conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Psychotria*. O isolamento de seis alcalóides de caráter inédito na literatura denominados de correantosídeos A-F, corroborou os dados que sugerem os alcalóides como importantes marcadores quimiotaxômicos do gênero, além de comprovar a tendência de espécies do subgênero *Heteropsychotria* em produzir alcalóides indólicos monoterpênicos. Além disso, foram isolados o C₁₃ *nor*-Isoprenóide bizantionosida B, a 2-hidroxi-piranona tetilapirona, os triterpenos ácido babinérvico e α -amirina, as quinonas alizarina-1-metiléter e rubiadina, a cumarina escopoletina e a mistura de estóides sitosterol e estigmasterol glicosilados. Com exceção da α -amirina e da mistura de esteróides, todas as outras substâncias isoladas possuem caráter inédito no gênero, contribuindo, desta forma, para o conhecimento do perfil químico do mesmo. O isolamento dos constituintes químicos foi realizado através do uso de diversas técnicas cromatográficas, como: cromatografia "flash", cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP), cromatografia por exclusão molecular em Sephadex LH-20 e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados, foram utilizados infravermelho (IV), espectroscopia de massas, e técnicas uni e bidimensionais de ressonância magnética nuclear (RMN).

Palavras chaves: *Psychotria stachyoides*, alcalóides indólicos, cromatografia, espectroscopia.

ABSTRACT

In this work we present the phytochemical investigation of stems, leaves and roots of *Psychotria stachyoides*. The lack of reports on chemical studies with this species led us to this investigation, which brought new data to the chemotaxonomic knowledge of *Psychotria* genus. The isolation of six new alkaloids named correantosides A-F corroborated the idea that alkaloids are important chemotaxonomic markers of this genus, and confirmed species of the *Heteropsychotria* sub-genus as monoterpene indole alkaloids producers. Moreover, the C₁₃ nor-isoprenoid byzantionoside B, the hydroxypyran-2-ones tetillapyrone, the triterpenes barbivetic acid and α -amyrine, the quinones alizarin 1-methyl-ether and rubiadine, the coumarin scopoletin and the glycosyl steroids sistosterol and stigmasterol as mixture were isolated. All the isolated compounds are new in the *Psychotria* genus, with exception of α -amyrine and the steroids. The isolation of the chemical constituents were performed by the use of chromatographic techniques, including flash chromatography, thin layer chromatography, preparative chromatography, size exclusion chromatography and preparative high-performance liquid chromatography. The structural characterizations were performed by the use of infrared, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance, including one and two-dimensional pulse sequences.

Key words: *Psychotria stachyoides*, indole alkaloids, chromatography, spectrometry.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BB	Broad Band Decoupling
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COSY	Correlação Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EFPS	Extrato Etanólico das Folhas de <i>Psychotria stachyoides</i>
EM	Espectrometria de Massas
ETPS	Extrato Etanólico dos Talos de <i>Psychotria stachyoides</i>
ERPS	Extrato Etanólico das Raízes de <i>Psychotria stachyoides</i>
FAF	Fração Alcaloídica das Folhas
FAT	Fração Alcaloídica dos Talos
FNAF	Fração Não-Alcaloídica das Folhas
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio
IE	Impacto Eletrônico
IV	Infravermelho
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
t _R	Tempo de Retenção

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Psychotria stachyoides</i> em seu habitat natural, com detalhe de flores e folhas.....	26
Figura 2 – Distribuição relativa dos alcalóides isolados em espécies do gênero <i>Psychotria</i> ...	29
Figura 3 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-1.....	85
Figura 4 – Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-1.....	85
Figura 5 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT 135° (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-1.....	86
Figura 6 – Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de PS-1.....	86
Figura 7 – Mapa de correlação ¹ H- ¹ H-COSY (CD ₃ OD) de PS-1.....	87
Figura 8 – Mapa de correlação HSQC (CD ₃ OD) de PS-1.....	88
Figura 9 – Mapa de correlação HMBC (CD ₃ OD) de PS-1.....	89
Figura 10 – Mapa de correlação NOESY (CD ₃ OD) de PS-1.....	90
Figura 11 – Espectro de massas de alta resolução de PS-1.....	91
Figura 12 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-1.....	91
Figura 13 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-3.....	97
Figura 14 – Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-3.....	98
Figura 15 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT 135 ° (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-3.....	99
Figura 16 – Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de PS-3.....	100
Figura 17 – Mapa de correlação ¹ H- ¹ H-COSY (CD ₃ OD) de PS-3.....	101
Figura 18 – Mapa de correlação HSQC (CD ₃ OD) de PS-3.....	102
Figura 19 – Mapa de correlação HMBC (CD ₃ OD) de PS-3.....	103
Figura 20 – Espectro de massas de PS-3.....	104
Figura 21 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-9.....	111
Figura 22 – Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-9.....	111
Figura 23 – Espectro RMN ¹³ C-DEPT 135° (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-9.....	112
Figura 24 – Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de PS-9.....	113
Figura 25 – Mapa de correlação ¹ H- ¹ H-COSY (CD ₃ OD) de PS-9.....	114
Figura 26 – Mapa de correlação HSQC (CD ₃ OD) de PS-9.....	115
Figura 27 – Espectro de massas de alta resolução de PS-9.....	115
Figura 28 – Mapa de correlação HMBC (CD ₃ OD) de PS-9.....	116
Figura 29 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-8.....	122
Figura 30 – Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-8.....	122
Figura 31 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT 135 (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-8.....	123
Figura 32 – Espectro de RMN ¹ H (500MHz, CD ₃ OD) de PS-8.....	124
Figura 33 – Mapa de correlação ¹ H- ¹ H-COSY (CD ₃ OD) de PS-8.....	125
Figura 34 – Mapa de correlação HSQC (CD ₃ OD) de PS-8.....	126
Figura 35 – Mapa de correlação HMBC (CD ₃ OD) de PS-8.....	127
Figura 36 – Espectro de massas de PS- 8.....	128
Figura 37 – Mapa de correlação NOESY (CD ₃ OD) de PS-8.....	128
Figura 38 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-2.....	135
Figura 39 – Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de PS-2.....	135
Figura 40 – Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CD ₃ OD) de PS-2.....	136

Figura 41 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CD_3OD) de PS-2.	136
Figura 42 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-2.....	137
Figura 43 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-2.....	138
Figura 44 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-2.....	138
Figura 45 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-2.....	139
Figura 46 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-6.....	145
Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-6.....	145
Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-6.....	146
Figura 49 – Espectro de massas de PS-6.	146
Figura 50 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-6.....	147
Figura 51 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-6.....	148
Figura 52 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-6.....	149
Figura 53 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-6.....	150
Figura 54 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-7.....	155
Figura 55 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-7.....	155
Figura 56 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CD_3OD) de PS-7.	156
Figura 57 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-7.....	156
Figura 58 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-7.....	157
Figura 59 – Espectro de massas de PS-7.	158
Figura 60 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-7.....	158
Figura 61 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-7.....	159
Figura 62 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-4.....	164
Figura 63 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-4.....	164
Figura 64 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-4.....	165
Figura 65 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-4.....	165
Figura 66 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-4.....	166
Figura 67 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-4.	167
Figura 68 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-4.....	168
Figura 69 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-4.....	169
Figura 70 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-10.....	173
Figura 71 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) de PS-10.	173
Figura 72 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, Acetona- d_6) de PS-10.	174
Figura 73 – Espectro de massas de PS-10.	174
Figura 74 – Mapa de correlação HSQC (Acetona- d_6) de PS-10.	175
Figura 75 – Mapa de correlação HMBC (Acetona- d_6) de PS-10.	176
Figura 76 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-11.....	180
Figura 77 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-11.....	180
Figura 78 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-11.....	181
Figura 79 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-11.....	181
Figura 80 – Espectro de massas de PS-11.	182
Figura 81 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-11.....	182
Figura 82 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-11.....	183
Figura 83 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-11.....	184
Figura 84 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-14.....	189

Figura 85 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-14.....	189
Figura 86 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-14.....	190
Figura 87 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-14.....	191
Figura 88 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-14.....	191
Figura 89 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-14.....	192
Figura 90 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-14.....	193
Figura 91 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-14.....	193
Figura 92 – Expansão do mapa de correlação HMBC de PS-14.....	194
Figura 93 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-5.....	197
Figura 94 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-5.....	197
Figura 95 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-5.....	198
Figura 96 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-12.....	202
Figura 97 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.....	202
Figura 98 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.....	203
Figura 99 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-12.....	203
Figura 100 – Mapa de correlação HSQC ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.....	204
Figura 101 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.....	204
Figura 102 – Mapa de correlação HMBC ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.....	205
Figura 103 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-13.....	208
Figura 104 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, piridina- d_5) de PS-13.....	208
Figura 105 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, piridina- d_5) de PS-13.....	209
Figura 106 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de PS-13.....	209

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Biossíntese dos alcalóides indólicos monoterpênicos.	30
Quadro 2 – Condensação de <i>N</i> _β -metiltriptaminas: biossíntese de alcalóides pirroindólicos....	31
Quadro 3 – Biossíntese dos alcalóides quinólicos.....	32
Quadro 4 – Biossíntese dos alcalóides tetrahydroisoquinolínicos monoterpênicos.....	33
Quadro 5 – Estruturas químicas de correantosídeo (30), <i>N</i> -β-D-glucopiranosil vincosamida (38) e PS-1 (88).	80
Quadro 6 – Zonas de proteção (+) e desproteção (-) na <i>N</i> -β-D-glucopyranosil vincosamida (38) e PS-1 (88).	80
Quadro 7 – Proposta mecanística para alguns fragmentos de PS-1.	83
Quadro 8 – Estruturas de PS-3 (90) e PS-1 (88), com alguns valores de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C.	95
Quadro 9 – Proposta mecanística para alguns fragmentos de PS-2, de acordo com seu espectro de massa.....	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Alcalóides isolados em espécies do gênero <i>Psychotria</i>	34
Tabela 2 – Alcalóides isolados em espécies de <i>Psychotria</i>	36
Tabela 3 – Outras classes de metabólitos secundários isoladas de <i>Psychotria</i>	43
Tabela 4 – Outros metabólitos secundários isolados de <i>Psychotria</i>	44
Tabela 5 – Cromatografia em Sephadex da fração alcaloídica das folhas (FAF).....	56
Tabela 6 – Cromatografia de F1 (6-7).....	56
Tabela 7 – Cromatografia de F1 (6-7) (8-19).....	59
Tabela 8 – Cromatografia de FNAF.....	60
Tabela 9 – Cromatografia de FNAF-A.....	60
Tabela 10 – Cromatografia de F1 (27-49).....	61
Tabela 11 – Cromatografia de FAT.....	63
Tabela 12 – Cromatografia de ERPS.....	65
Tabela 13 – Cromatografia de ERPS-H.....	66
Tabela 14 – Cromatografia de FH (39-57).....	66
Tabela 15 – Cromatografia de ERPS-H (39-57) (20-30).....	67
Tabela 16 – Cromatografia de ERPS-H (58- 70).....	67
Tabela 17 – Cromatografia de ERPS-D.....	69
Tabela 18 – Dados de RMN ¹³ C de PS-1 com padrão de hidrogenação.....	74
Tabela 19 – Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-1 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros de HSQC e HMBC.....	77
Tabela 20 – Comparação dos dados de RMN ¹³ C de PS-1 e correantossídeo.....	84
Tabela 21 – Dados de RMN ¹³ C de PS-3 com padrão de hidrogenação.....	93
Tabela 22 – Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-3 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.....	94
Tabela 23 – Comparação dos dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-3 e PS-1.....	96
Tabela 24 – Dados de RMN ¹³ C de PS-9 com padrão de hidrogenação.....	106
Tabela 25 – Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-9 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.....	108
Tabela 26 – Comparação dos dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-9 e PS-1.....	110
Tabela 27 – Dados de RMN ¹³ C de PS-8 com padrão de hidrogenação.....	118
Tabela 28 – Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-8 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.....	121
Tabela 29 – Dados de RMN ¹³ C de PS-2 com padrão de hidrogenação.....	130
Tabela 30 – Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-2 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.....	134
Tabela 31 – Dados de RMN ¹³ C de PS-6 com padrão de hidrogenação.....	141
Tabela 32 – Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de PS-6 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.....	143
Tabela 33 – Comparação dos dados de RMN ¹³ C de PS-6, PS-1 e PS-2.....	144
Tabela 34 – Dados de RMN ¹³ C de PS-7 com padrão de hidrogenação.....	151

Tabela 35 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-7 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^{13}C da tetilapirona registrado na literatura.....	153
Tabela 36 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-4 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^{13}C da bizantionosida B registrados na literatura.	162
Tabela 37 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-10 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^{13}C da rubiadina registrados na literatura.	172
Tabela 38 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-11 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^1H de alizarina-1-metiléter, registrado na literatura.	179
Tabela 39 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-14 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C do ácido barbinérvico registrado na literatura.	188
Tabela 40 – Dados de RMN de ^{13}C de PS-5 e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C de α -amirina, registrados na literatura.....	196
Tabela 41 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-12 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C da escopoletina registrado na literatura.	201
Tabela 42 – Dados de RMN de ^{13}C de PS-13 e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C do estigmasterol e sitosterol glicosilado registrados na literatura.....	207

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	23
2.1. Considerações botânicas sobre o gênero <i>Psychotria</i>	23
2.2. Considerações botânicas sobre a espécie <i>Psychotria stachyoides</i> Benth	24
3. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	28
3.1. O Gênero <i>Psychotria</i> : metabólitos secundários e atividade farmacológica	28
3.1.1. Introdução	28
3.1.2. Fitoquímica.....	29
3.1.3. Estudos farmacológicos.....	47
3.1.3.1. Alcalóides	47
3.1.3.2. Outras classes de metabólitos secundários.....	49
4. PARTE EXPERIMENTAL	51
4.1. Material Vegetal.....	51
4.2. Métodos Cromatográficos	51
4.2.1. Cromatografia de adsorção.....	51
4.2.2. Cromatografia de exclusão.....	52
4.2.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	52
4.3. Métodos Espectroscópicos.....	52
4.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	52
4.3.2. Espectrometria de Massas (EM).....	53
4.3.3. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H) e de Carbono-13 (RMN ¹³ C).....	53
4.4. Outras determinações	54
4.4.1. Ponto de fusão	54
4.4.2. Rotação ótica.....	55
4.5. Estudo fitoquímico das folhas de <i>Psychotria stachyoides</i>	55
4.5.1. Obtenção do extrato etanólico das folhas	55
4.5.2. Obtenção da fração alcaloídica do extrato etanólico das folhas de <i>Psychotria stachyoides</i> (EFPS).....	55
4.5.3. Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica das folhas (FAF).....	56
4.5.4. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7).....	56
4.5.5. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7) (7) e isolamento de PS-2.....	57
4.5.6. Fracionamento cromatográfico de F1 (31-35) e isolamento de PS-3	57
4.5.7. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7) (8-19) e isolamento de PS-1	58
4.5.8. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7) (8-19) (7-13) e isolamento de PS-4.....	59

4.5.9.	Partição líquido-líquido da fração não-alcaloídica das folhas (FNAF)	60
4.5.10.	Fracionamento cromatográfico da FNAF-A.....	60
4.5.11.	Fracionamento cromatográfico de F1 (27-49) e isolamento de PS-5.....	61
4.6.	Estudo fitoquímico dos talos de <i>Psychotria stachyoides</i>	62
4.6.1.	Obtenção do extrato etanólico dos talos.....	62
4.6.2.	Obtenção da fração alcaloídica a partir do extrato etanólico dos talos (ETPS).....	63
4.6.3.	Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica dos talos (FAT).....	63
4.6.4.	Fracionamento cromatográfico de F1 (17-25) e isolamento de PS-6 e PS-7	63
4.6.5.	Fracionamento cromatográfico de F1 (26-33) e isolamento de PS-8 e PS-9	64
4.7.	Estudo fitoquímico das raízes de <i>Psychotria stachyoides</i>	65
4.7.1.	Partição líquido-líquido do ERPS	65
4.7.2.	Fracionamento cromatográfico de ERPS-H	65
4.7.2.1.	Fracionamento cromatográfico de ERPS-H (39-57).....	66
4.7.2.2.	Fracionamento cromatográfico de ERPS-H (39-57)(20-30) e isolamento de PS-10.....	66
4.7.2.3.	Fracionamento cromatográfico de ERPS-H (58-70) e isolamento de PS-11	67
4.7.3.	Fracionamento cromatográfico de ERPS-D e isolamento de PS-12 e PS-13	68
4.7.3.1.	Fracionamento de ERPS-D (85-97) e isolamento de PS-14.....	69
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
5.1.	Estruturas das substâncias isoladas de <i>Psychotria stachyoides</i>	72
5.2.	Determinação estrutural dos metabólitos secundários isolados de <i>Psychotria stachyoides</i>	73
5.2.1.	Determinação estrutural de PS-1	73
5.2.2.	Determinação Estrutural de PS-3	92
5.2.3.	Determinação Estrutural de PS-9	105
5.2.4.	Determinação Estrutural de PS-8	117
5.2.5.	Determinação Estrutural de PS-2	129
5.2.6.	Determinação Estrutural de PS-6	140
5.2.7.	Determinação Estrutural de PS-7	151
5.2.8.	Determinação Estrutural de PS-4	160
5.2.9.	Determinação Estrutural de PS-10	170
5.2.10.	Determinação Estrutural de PS-11	177
5.2.11.	Determinação Estrutural de PS-14	185
5.2.12.	Determinação Estrutural de PS-5	195
5.2.13.	Determinação estrutural de PS-12	199
5.2.14.	Determinação Estrutural de PS-13	206
6.	CONCLUSÃO	211
	REFERÊNCIAS.....	212

INTRODUÇÃO

Psychotria, "psique" (alma) e "trophos" (alimento), possui atividade sobre o sistema nervoso central e é uma prolífica fonte de alcalóides bioativos.

1. INTRODUÇÃO

Psychotria, “psique” (alma) e “trophos” (alimento), é um dos maiores gêneros da família Rubiaceae com cerca de 1000-1650 espécies, que se encontram distribuídas nos extratos arbustivos das matas tropicais (SANTOS *et al.*, 2001). Devido ao grande número de espécies é um gênero taxonomicamente complexo, como conseqüência, a sua delimitação tem sido objeto de investigação de vários autores (FRAGOSO, 2007).

Baseados em caracteres morfológicos e na distribuição geográfica, as espécies do gênero encontram-se divididas nos subgêneros *Psychotria* (espécies pantotrópicais), *Tetramera* (espécies da África e Madagascar) e *Heteropsychotria* (espécies restantes de *Psychotria* neotropical), além de estarem também estreitamente relacionadas com os gêneros *Palicourea*, *Rudgea* e *Cephaelis*. Este último é também considerado por alguns autores como sinônimo do subgênero *Heteropsychotria* (SIMÕES-PIRES *et al.*, 2006).

Dentre as inúmeras atividades farmacológicas apresentadas por espécies de *Psychotria*, se destaca a atividade sobre o sistema nervoso central. Relatos indicam algumas espécies com propriedades alucinógenas, como é o caso de *P. viridis* e *P. carthagenensis*, que juntamente com *Banisteriopsis caapi*, são usadas no preparo da bebida alucinógena utilizada em rituais religiosos e medicinais, conhecida como ayahuasca ou Santo Daime. Em adição, a espécie *P. viridis* possui o alcalóide *N,N*-dimetiltriptamina, que age no sistema nervoso central levando ao aparecimento de estados hipnóticos e alucinógenos (GAZDA, 2004).

Na medicina popular estas espécies possuem uso etnofarmacológico em vários países do mundo, com indicações para o tratamento de diversas doenças. As flores de *Psychotria colorata*, por exemplo, são usadas por caboclos da Amazônia como analgésico para o alívio de dores de ouvido e abdominais. Por outro lado, as flores de *P. poeppigiana* são usadas com diferentes finalidades, os índios Palikur (Amazônia) usam como antitussígeno, enquanto que os índios Wayapi (Guiana Francesa) como analgésico, estes últimos também usam *P. ulviformes* (planta inteira) em banho antipirético, e as folhas de *P. platypoda* como cataplasma em furúnculos. 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, 1993). Na América Central as espécies de *Psychotria* são usadas para diferentes indicações

terapêuticas, tais como, tonturas, alucinações, demência e rubéola, enquanto que na farmacopéia européia, a preparação das folhas de *Psychotria ipecacuanha* é descrita como emética e expectorante (ACHENBACH *et al.*, 1995).

Do ponto de vista químico o gênero tem sido caracterizado como uma prolífica 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 têm sido uma ferramenta importante para a classificação quimiotaxonômica das espécies dentro dos três sub-gêneros. Observa-se no subgênero *Psychotria* a presença dos alcalóides do tipo poliindólicos, enquanto que o subgênero *Heteropsychotria* tem sido caracterizado pela presença de alcalóides indólicos monoterpênicos, e para o subgênero *Tetramera* não foi encontrado nenhum relato na literatura de estudos fitoquímicos.

P. stachyoides Benth. é conhecida popularmente como “casca-d’anta”, “erva-da-anta” e “pasto-de-anta” tendo ocorrência no Brasil principalmente nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais e Santa Catarina (DELPRETE; SMITH; KLEIN, 2005). Baseados na ausência de dados na literatura a cerca da constituição química de *P. stachyoides*, aliado ao potencial químico e farmacológico das espécies de *Psychotria*, e ainda na possibilidade de contribuir com estudo quimiotaxonômico do gênero, o presente trabalho teve como objetivo principal a investigação química das diversas partes da planta, visando o isolamento de alcalóides e/ou outros metabólitos secundários bioativos.

Para realização deste projeto foram utilizadas várias técnicas cromatográficas, como cromatografia do tipo “flash”, cromatografia em camada delgada preparativa (CCD), cromatografia por exclusão molecular em Sephadex LH-20 e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para caracterização estrutural foram empregadas técnicas espectroscópicas, utilizando infravermelho (IV), espectroscopia de massas (EM) e técnicas uni e bidimensionais de ressonância magnética nuclear (RMN).

O tema abordado neste trabalho apresenta-se articulado de acordo com a descrição a seguir. No capítulo 2 são apresentadas as considerações botânicas sobre o gênero *Psychotria* e a espécie *P. stachyoides*. O capítulo 3 descreve o levantamento bibliográfico sobre o gênero *Psychotria*, com abordagem relacionada aos tipos de metabólitos secundários encontrados nas espécies e as respectivas atividades farmacológicas comprovadas. No capítulo 4 encontram-se



CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

O gênero *Psychotria* possui cerca de 1500-1700 espécies e o maior gênero das Rubiáceas e um dos maiores das Fanerógamas.

2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1. Considerações botânicas sobre o gênero *Psychotria*

O gênero *Psychotria* possui cerca de 1500-1700 espécies distribuídas nas regiões tropicais do mundo, e mais raramente das regiões subtropicais. Para os países da América tropical se estima cerca de 600 espécies nativas. As folhas de várias espécies deste gênero são tidas como alimento para Tapirídeos (antas) e Cervídeos (veados), e os frutos são usados por muitas espécies de aves (DELPRETE; SMITH; KLEIN, 2005).

Como amplamente circunscrito, *Psychotria* é o maior gênero das Rubiáceas e um dos maiores das Fanerógamas (STEYERMARK, 1972), e, conseqüentemente, sempre apresentou dificuldades na delimitação de suas fronteiras (BREMELAMP, 1934; STEYERMARK, 1972; TAYLOR, 1996; NEPOKROEFF, 1999). Segundo as filogenias moleculares produzidas por Nepokroeff (1999) e Andersson (2002), *Psychotria* resulta ser um complexo parafilético. Os resultados destes últimos autores demonstraram que o gênero *Palicourea* forma um clado robusto com o subgênero *Heteropsychotria*, sugerindo a fusão destes em um gênero próprio.

Baseado em estudos morfológicos e moleculares, Taylor (2001) restabeleceu o gênero *Notopleura*, separando-o de *Psychotria*. Segundo Taylor, *Notopleura* é um gênero de aproximadamente 62 espécies que ocorrem na América Central e na América do Sul, no Brasil e na Bolívia. *Notopleura* se distingue de *Psychotria* por ter hábito suculento, estípulas com um apêndice interpeciolar inserido abaixo da margem, inflorescências pseudo-axilares e pirênios com duas fendas de geminação na base da face ventral. Andersson (2002), baseado sobre as próprias filogenias moleculares, restabeleceu *Carapichea*, um gênero de 4-5 espécies (DELPRETE, 2001, 2003), onde é também incluída a *Ipecacuanha* verdadeira, *Carapichea ipecacuanha*. Devido ao estado incerto da circunscrição dos gêneros da tribo Psychotrieae, *Psychotria* foi aqui mantido como definido por Taylor (1996), menos as espécies incluídas em *Notopleura*, *Carapichea*, *Margaritopsis* e *Ronabea*.

2.2. Considerações botânicas sobre a espécie *Psychotria stachyoides* Benth

Psychotria stachyoides (Figura 1, p.26), conhecida popularmente como “casca-d’anta”, “erva-de-anta” e “pasto-de-anta”, floresce desde agosto até dezembro, com época predominante entre outubro e dezembro, e por consequência, os frutos amadurecem no outono e inverno. Possui distribuição geográfica no Brasil, em Espírito Santo e Minas Gerais até Santa Catarina, característica e exclusivo da floresta ombrófila densa da encosta atlântica. É uma espécie esciófila ou de luz difusa e seletiva higrófila, sem, contudo, apresentar acentuadas preferências por condições físicas especiais de solos. Desta forma, desenvolve-se preferencialmente no interior das florestas primárias, situadas ao longo das encostas não muito íngremes, podendo, no entanto, chegar, por vezes, até as matas de topo de morro. Penetra até a borda oriental do planalto para os sub-bosques dos pinhais, onde parece ser espécie rara e estranha. Raramente foi observada na vegetação secundária do tipo capoeira (DELPRETE; SMITH; KLEIN, 2005).

Erva, subarbusto ou arbusto subereto até ereto, comumente de 0,5-1(-2) m de altura, basalmente viloso ou vilósulo-pubescente e cinzento. Caule delgado, de aproximadamente 4 mm de diâmetro, curtamente pauci-ramoso; caules e ramos cilíndricos com entrenós de 3-5 cm de comprimento. Estípulas invaginantes, basalmente infladas, conadas, bífidas, de 6-9 mm de comprimento, pálido-fuscas, por fora vilósulas, com dois lobos estreitamente triangulares a subulados de 3-5 mm de comprimento. Folhas opostas, curtamente pecioladas; pecíolos de 2-3 mm comprimento, lâminas lanceoladas ou lanceolado-elípticas, de 5-13 cm de comprimento, 1,5-2,5 cm de largura, longo- ou abruptamente cuspidado-acuminadas, base aguda, cartáceas, com 9-11 nervuras secundárias de cada lado, oblíquas, longamente ascendentes, embaixo proeminentes e mais densamente cinéreas (DELPRETE; SMITH; KLEIN, 2005).

Inflorescências terminais e axilares, paniculadas, frondosas, brúneo-tomentosas, de 2,5-5 cm de comprimento com cimeiras laterais compactas, com 3-5 capítulos subtendidos por brácteas; brácteas exteriores subigualando as flores, livres, triangular-ovadas ou ovado-triangulares, agudas, densamente adpresso-pubescentes; bractéolas semelhantes, porém mais estreitas; pedúnculos curtos, delgados, de 0,5-4 cm de comprimento. Flores sésseis ou quase. Hipanto seríceo. Cálice medindo com o ovário 2-2,5 mm comprimento, 5-fido, meio fendido; tubo com um coléter em cada seio dos lobos lanceolados, desiguais, densamente ciliados.

Corola estreitamente campanulada, de 6-7 mm de comprimento quando aberta, membranácea, branca, na parte superior externa hirtela, por dentro glabra; tubo na parte interior um pouco acima do meio estaminífero, pubescente próximo aos estames; lobos 1/3 da corola, de 2-3 mm de compr. Anteras dorsifixas a 2/5 do comprimento, quatro vezes mais longas do que largas. Estilete glabro.

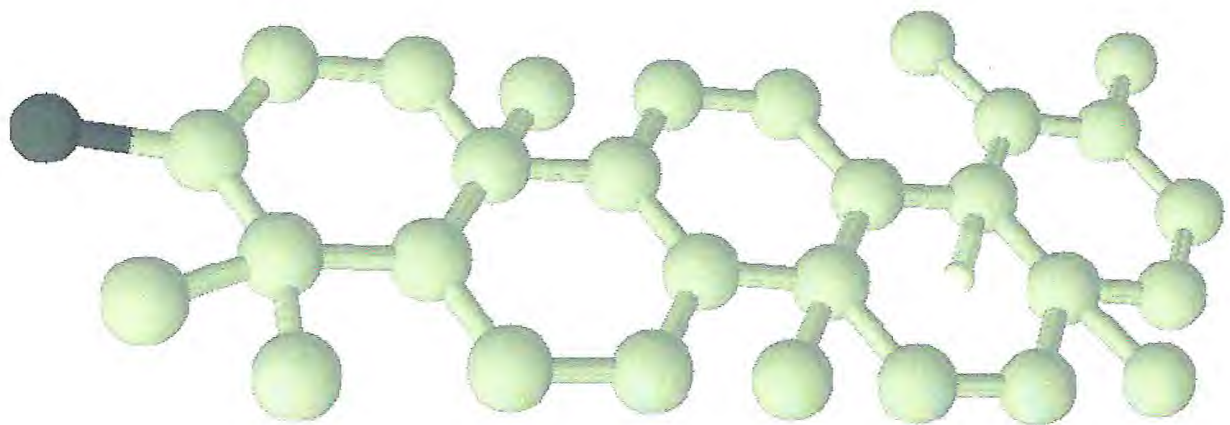
Fruto elipsóide ou subgloboso, dídimos, de aproximadamente 3,5-4 mm de comprimento, 4-5 mm de largura, azul escuro quando maduro, costado seco, com cálice persistente. Pirênios 2, com face ventral plana e centralmente sulcada, face dorsal 5-costada. Sementes solitárias em cada pirênio, endosperma abundante (DELPRETE; SMITH; KLEIN, 2005).



Figura 1 – *Psychotria stachyoides* em seu habitat natural, com detalhe de flores e folhas.

Fotos: Prof. Edilberto R. Silveira

LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO



Das 1.500 espécies de *Psychotria* existentes, apenas 29 foram estudadas do ponto de vista químico/farmacológico



3. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.1. O Gênero *Psychotria*: metabólitos secundários e atividade farmacológica

3.1.1. Introdução

A pesquisa bibliográfica acerca dos metabólitos secundários do gênero *Psychotria* e as suas respectivas atividades farmacológicas foi realizada no *Chemical Abstract* (SciFinder Scholar), através dos periódicos disponíveis no portal da CAPES (<http://periodicos.capes.gov.br>), Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>) e COMUT (<http://ibict.br>), a partir do período de 1974 até o ano de 2008.

A partir dos dados obtidos pôde-se observar que das 1.500 espécies existentes, apenas 29 foram estudadas do ponto de vista fitoquímico/farmacológico, o que torna patente a carência de estudos científicos com espécies deste gênero, a despeito da vasta presença de alcalóides farmacologicamente ativos.

Este estudo revelou o isolamento e caracterização estrutural de 87 diferentes metabólitos secundários, dos quais 62 % pertencem à classe dos alcalóides, e 38 % foram relacionadas a outras classes de substâncias tais como, diterpenos, triterpenos, esteróides, benzoquinonas, iridóides, cumarinas, flavonóides e cerebrosídeos. De acordo com a Figura 2 (p. 29) observa-se que, dentre as classes de alcalóides encontradas, o maior percentual está reservado aos alcalóides indólicos (88,9%) de forma muito superior ao dos alcalóides isoquinolínicos (11,1%). A Figura 2 (p. 29) discrimina ainda o percentual relativo dos tipos de alcalóides indólicos, verificando-se uma maior incidência para os indólicos monoterpênicos (38,9 %) e pirroloindólicos (29,6 %), seguido dos quinolínicos (16,7 %), o restante (3,7%) foi relacionado a outros tipos de alcalóides indólicos.

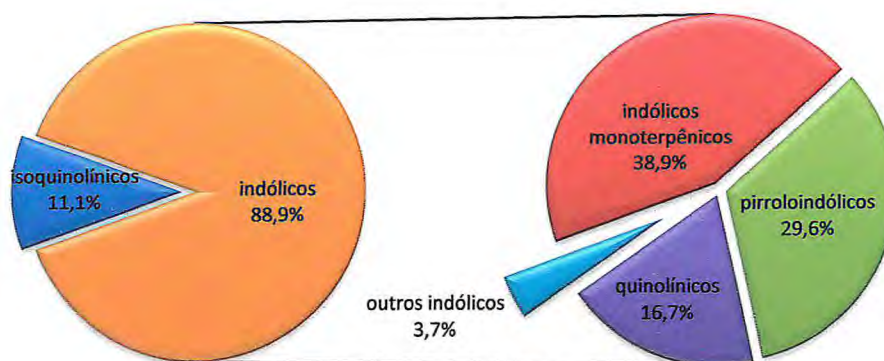
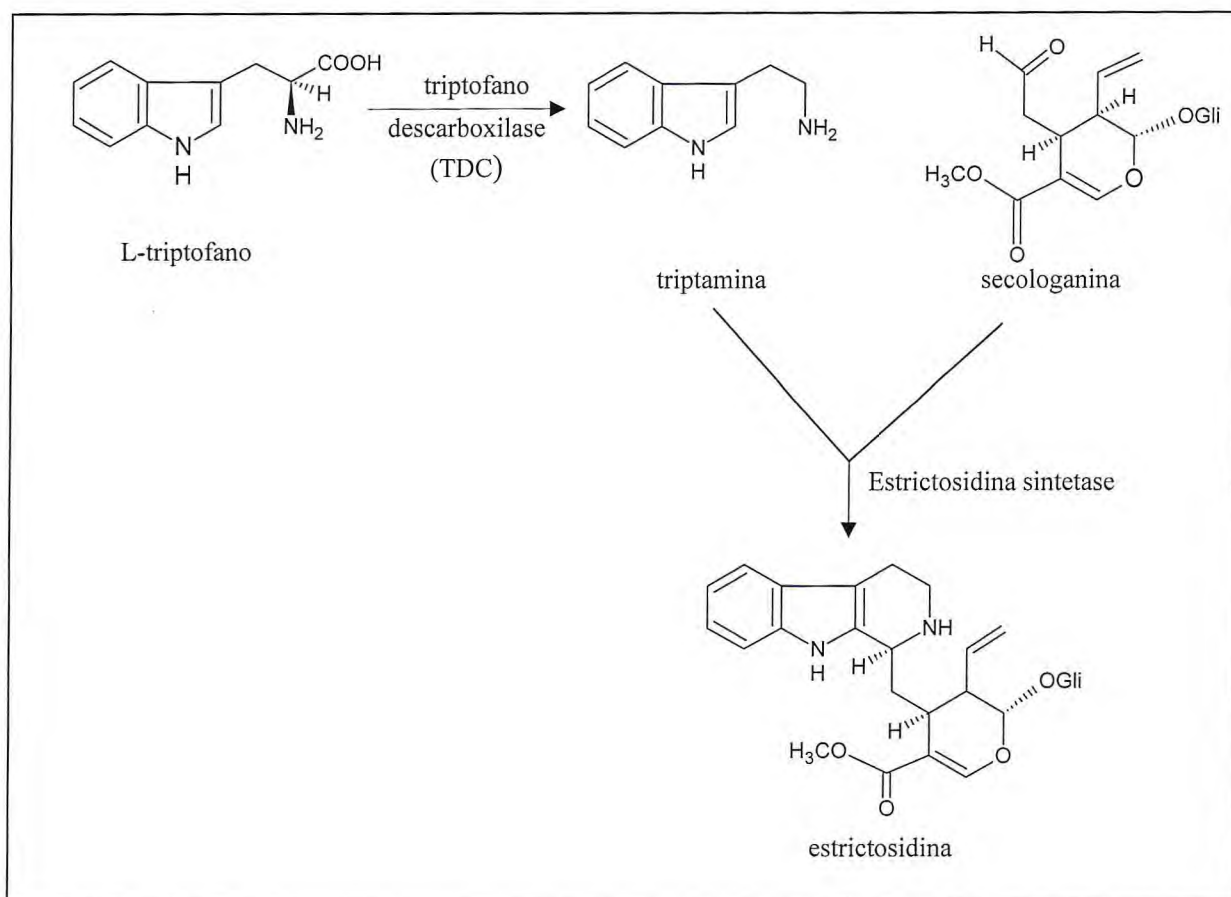


Figura 2 – Distribuição relativa dos alcalóides isolados em espécies do gênero *Psychotria*.

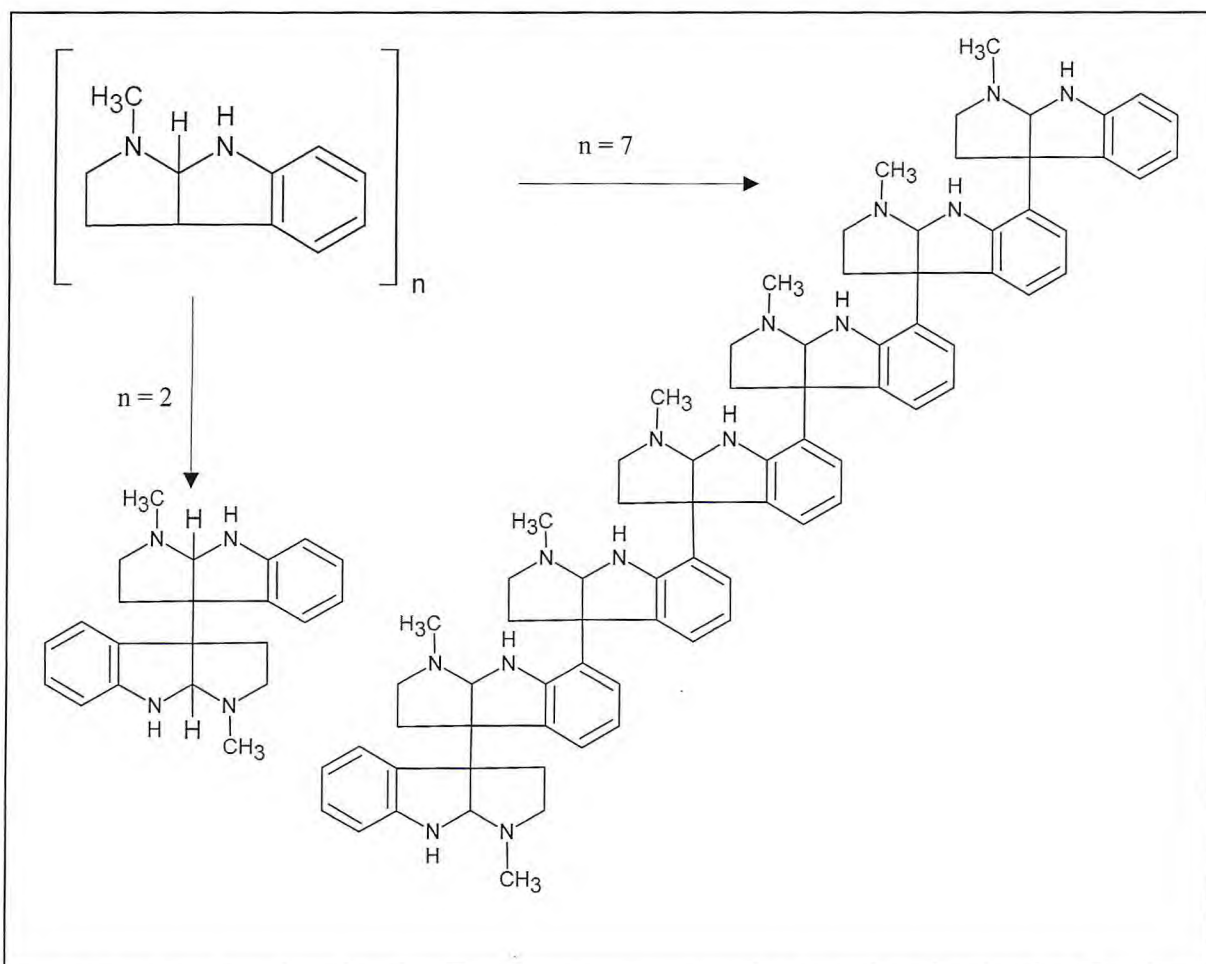
3.1.2. Fitoquímica

Como já evidenciado, os alcalóides são os principais metabólitos secundários em espécies de *Psychotria*, sendo considerados, inclusive, como marcadores quimiotaxonômicos do gênero. Para o subgênero *Heteropsychotria*, são encontrados principalmente os alcalóides do tipo indólicos monoterpênicos, que possuem origem biossintética a partir da condensação de uma unidade de triptamina com uma unidade de secologanina (SIMÕES-PIRES *et al.*, 2006) (Quadro 1, p. 30).



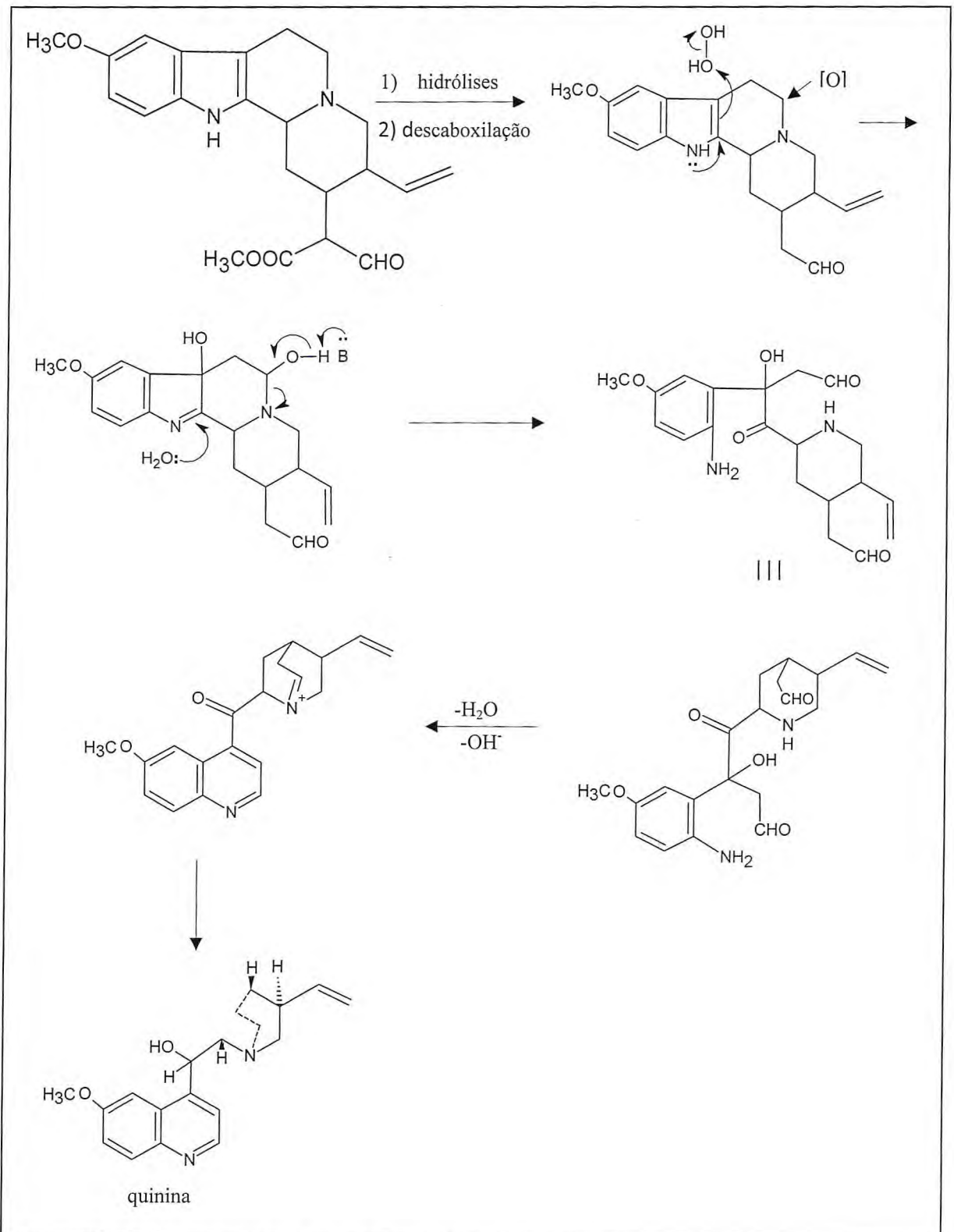
Quadro 1 – Biossíntese dos alcalóides indólicos monoterpênicos.

Por outro lado, o subgênero *Psychotria* tem sido caracterizado pela marcante presença de alcalóides pirroloindólicos, resultantes da condensação de várias unidades de *N_b*-metiltriptaminas (SOLIS *et al.*, 1995) (Quadro 2, p. 31).

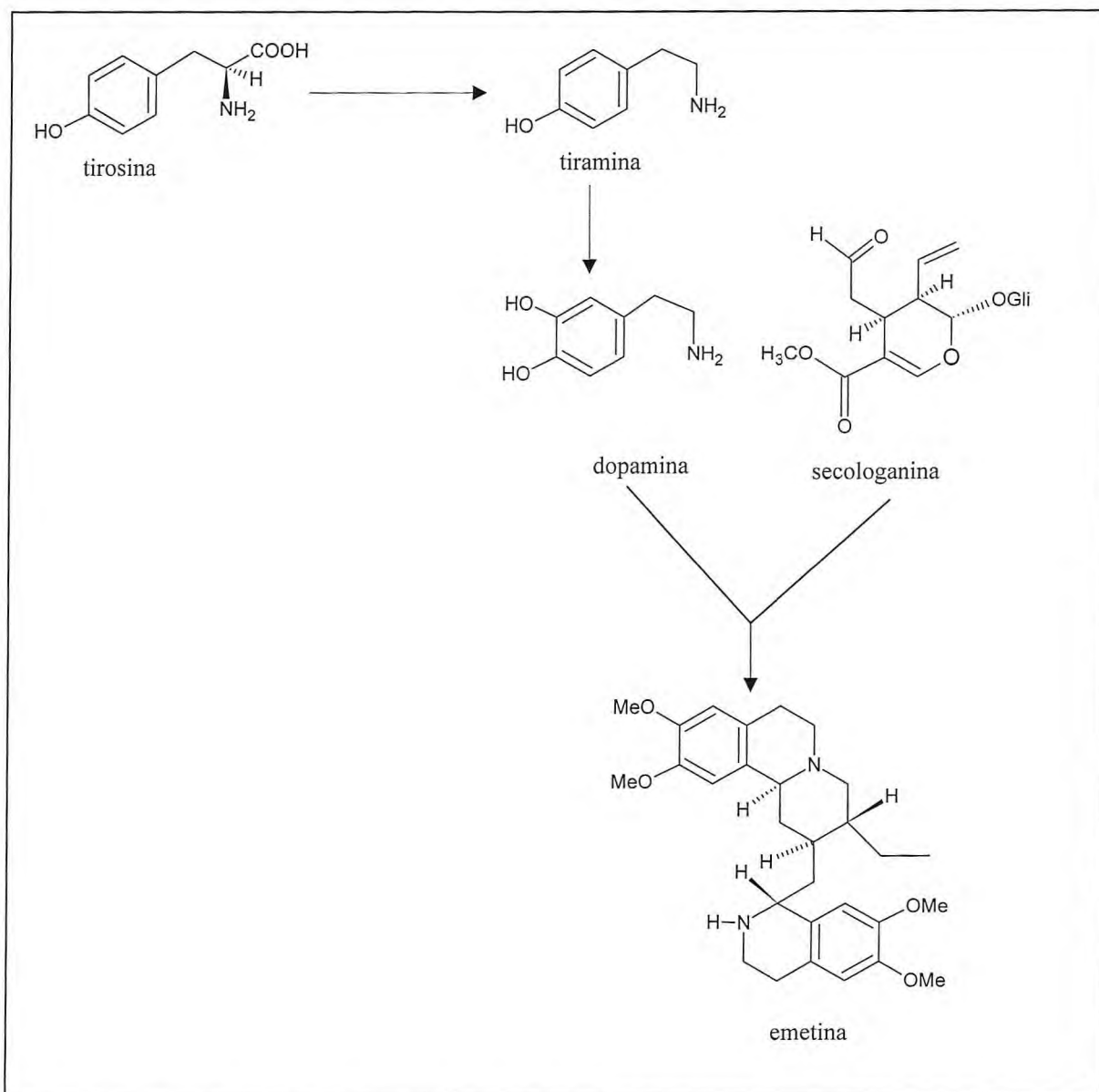


Quadro 2 – Condensação de *N_b*-metiltriptaminas: biossíntese de alcalóides pirroindólicos.

Os alcalóides quinolínicos são produtos oriundo do rearranjo dos alcalóides indólicos monoterpênicos (SIMÕES *et al.*, 2002) (Quadro 3, p. 32) e os alcalóides tetrahydroisoquinolínicos monoterpênicos, cujo esqueleto é formado pela condensação de dopamina e secologanina, originam estruturas do tipo emetina (SOLIS *et al.*, 1995) (Quadro 4, p. 33).



Quadro 3 – Biossíntese dos alcalóides quinolínicos.



Quadro 4 – Biossíntese dos alcalóides tetrahidroisoquinolínicos monoterpênicos.

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado, todos os alcalóides isolados a partir de *Psychotria* estão listados na Tabela 1 (p. 34) e as respectivas estruturas químicas podem ser visualizadas na Tabela 2 (p. 36).

Na Tabela 3 (p. 43) encontram-se destacadas outras classes de metabólitos secundários menos frequentes no gênero como diterpenos, triterpenos, esteróides, benzoquinonas, iridóides, cumarinas, flavonóides, cerebrosídeos. As respectivas estruturas químicas destas substâncias encontram-se apresentadas na Tabela 4 (p. 44).

R13968270

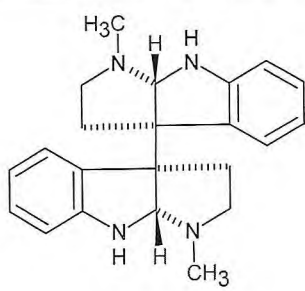
Tabela 1 – Alcalóides isolados em espécies do gênero *Psychotria*.

Pirroloindólicos		
ALCALÓIDES	ESPÉCIE	REFERÊNCIA
(+)-quimonantina (1)	<i>P. colorata</i> <i>P. muscosa</i> <i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004; VEROTTA <i>et al.</i> , 1998, 1999
mesoquimonantina (2)	<i>P. forsteriana</i> <i>P. lyciiflora</i> <i>P. muscosa</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992; JANNIC <i>et al.</i> , 1999; VEROTA <i>et al.</i> , 1999
<i>N</i> ₆ -desmetil-mesoquimonantina (3)	<i>P. lyciiflora</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999
hodgkinsina (4)	<i>P. colorata</i> <i>P. lyciiflora</i> <i>P. muscosa</i> <i>P. oleoides</i> <i>P. rostrata</i>	GUÉRITTE-VOEGELEIN <i>et al.</i> , 1992; JANNIC <i>et al.</i> , 1999; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004; VEROTTA <i>et al.</i> , 1998, 1999
Psicotrimina (5)	<i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004
quadrigemina A (6)	<i>P. forsteriana</i>	ROTH <i>et al.</i> , 1985
quadrigemina B (7)	<i>P. forsteriana</i> <i>P. rostrata</i> <i>P. colorata</i>	ROTH <i>et al.</i> , 1985; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004; VEROTTA <i>et al.</i> , 1998
quadrigemina C (8)	<i>P. oleoides</i> <i>P. colorata</i>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987; VEROTTA <i>et al.</i> , 1998
quadrigemina I (9)	<i>P. oleoides</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999
psicotridina (10)	<i>P. beccariooides</i> <i>P. colorata</i> <i>P. forsteriana</i> <i>P. oleoides</i>	HART <i>et al.</i> , 1974; LIBOT <i>et al.</i> , 1987; ROTH <i>et al.</i> , 1985; VEROTTA <i>et al.</i> , 1999
isopsicotridina A (11)	<i>P. oleoides</i>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987
isopsicotridina B (12)		
isopsicotridina C (13)	<i>P. forsteriana</i>	ROTH <i>et al.</i> , 1985
psicopentamina (14)	<i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004
oleoidina (15)	<i>P. oleoides</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999
caledinina (16)		
Quinolínicos		
calicantina (17)	<i>P. forsteriana</i> <i>P. rostrata</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992; LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993
(-)-calicantina (18)	<i>P. forsteriana</i> <i>P. colorata</i> <i>P. muscosa</i> <i>P. rostrata</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004; VEROTTA <i>et al.</i> , 1998, 1999;
isocalicantina (19)	<i>P. colorata</i> <i>P. forsteriana</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992; VEROTTA <i>et al.</i> , 1998, 1999
(8-8a),(8'-8'a)- tetrahydroisocalicantina 3a(R), 3'a(R) (20)	<i>P. colorata</i> <i>P. muscosa</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998, 1999

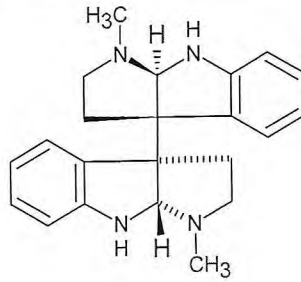
glomerulatina A (21) glomerulatina B (22) glomerulatina C (23) calicosidina (24)	<i>P. glomerulata</i> <i>P. rostrata</i>	SOLÍS <i>et al.</i> , 1997 TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004
psicoleina (25)	<i>P. oleiodes</i>	GUÉRITTE-VOEGELEIN <i>et al.</i> , 1992
Indólicos monoterpênicos		
correantina A (26) correantina B (27) 20- <i>epi</i> -correantina B (28) correantina C (29) correantosídeo (30) 10-hidroxicorreantosídeo (31) isodolicantosídeo (32)	<i>P. correae</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1995
braquicerina (33)	<i>P. brachyceras</i>	KERBER <i>et al.</i> , 2001
umbelatina ou psicolatina (34)	<i>P. umbellata</i>	BOTH <i>et al.</i> , 2002
lialosídeo (35) naucletina (36)	<i>P. suterella</i>	SANTOS <i>et al.</i> , 2001
estrictosamida (37)	<i>P. bahiensis</i> <i>P. suterella</i>	PAUL; MAXUELL; REYNOLDS, 2003; SANTOS <i>et al.</i> , 2001
<i>N</i> , β-D-glicopiranosil vincosamida (38)	<i>P. leiocarpa</i>	HENRIQUES <i>et al.</i> , 2004
angustina (39) (<i>E</i>)-valesiacotamina (40) (<i>Z</i>)-valesiacotamina (41) 5α-carboxiestrictosidina (42) bahienosida A (43) bahienosida B (44)	<i>P. bahiensis</i>	PAUL; MAXUELL; REYNOLDS, 2003
miriantosina (45) ácido estrictosidinico (46)	<i>P. myriantha</i>	SIMÕES-PIRES <i>et al.</i> , 2006
Outros indólicos		
harmano (47) N,N-dimetiltriptamina (48)	<i>P. suerrensis</i> <i>P. viridis</i>	MURILLO; CASTRO, 1998 PINEDO; CARMEN, 1994
Isoquinolínicos-monoterpênicos		
klugina (49) 7- <i>O</i> -metilipecosida(50) isocefaelina (51) 7'- <i>O</i> -desmetilisocefaelina (52) cefaelina (53) emetina (54)	<i>P. klugii</i> <i>P. ipecacuanha</i>	MUHAMMAD <i>et al.</i> , 2003 MOELLER <i>et al.</i> , 2007

Tabela 2 – Alcalóides isolados em espécies de *Psychotria*.

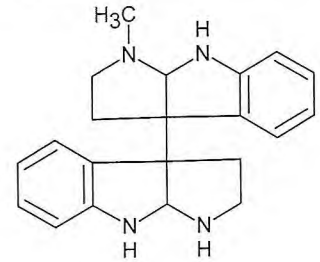
Alcalóides pirroloindólicos



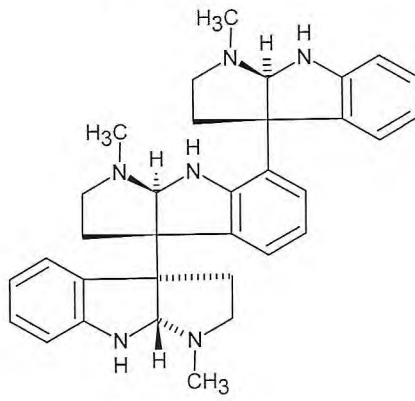
1



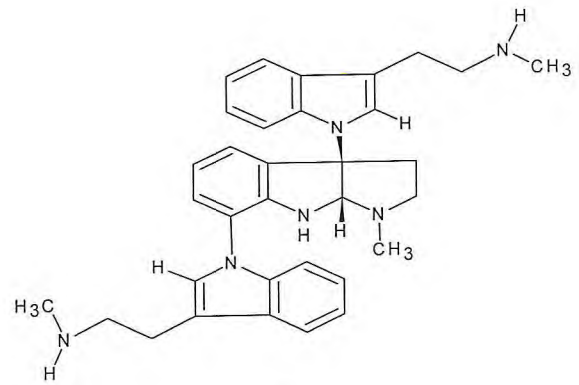
2



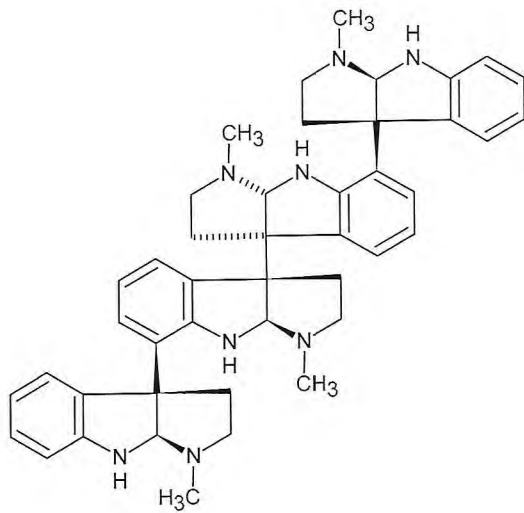
3



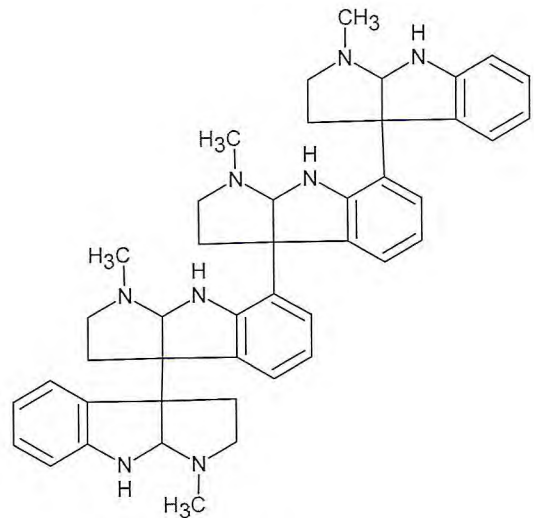
4



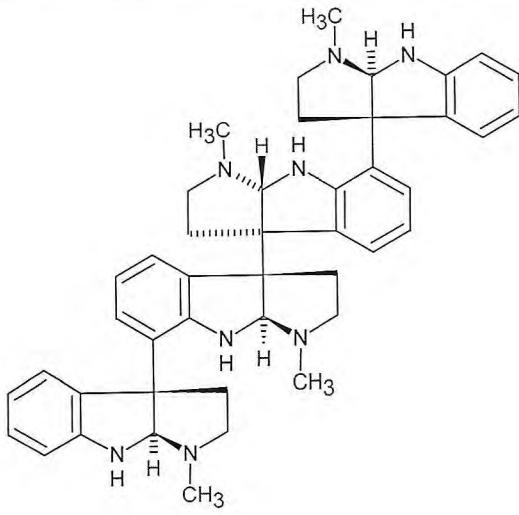
5



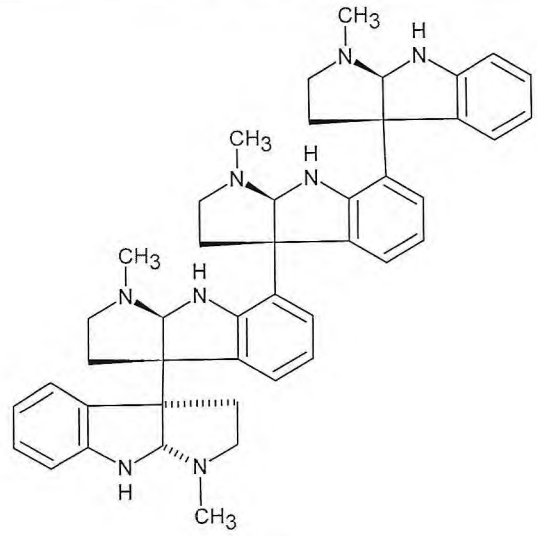
6



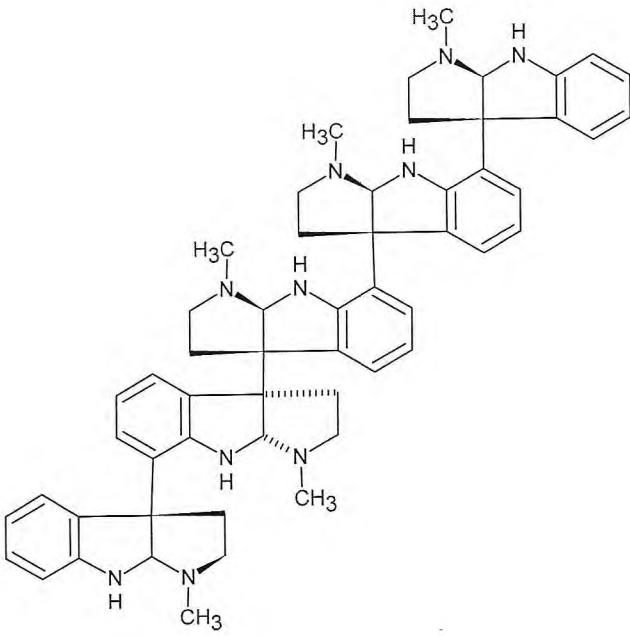
7



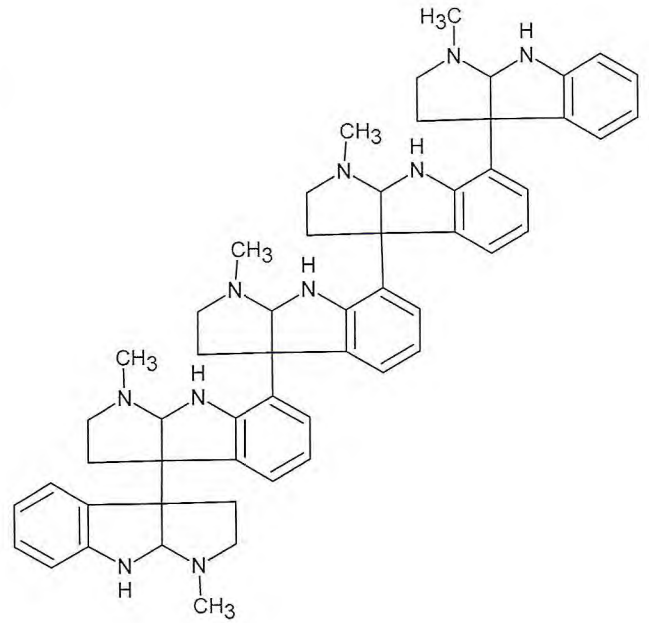
8



9

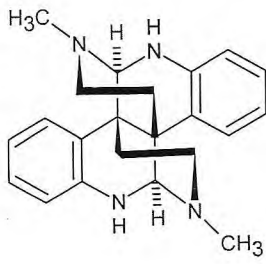


10

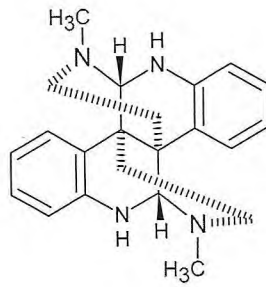


11

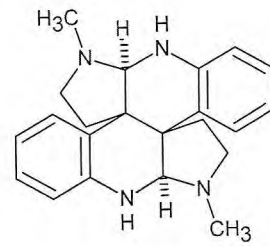
Quinolínicos



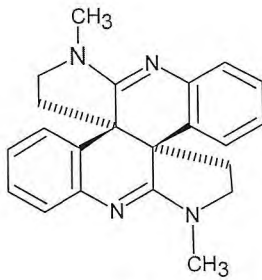
17



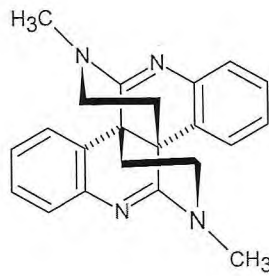
18



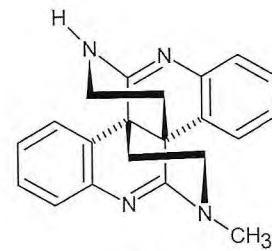
19



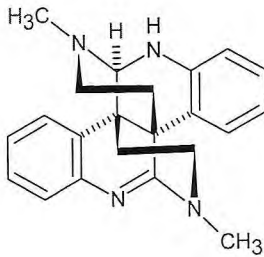
20



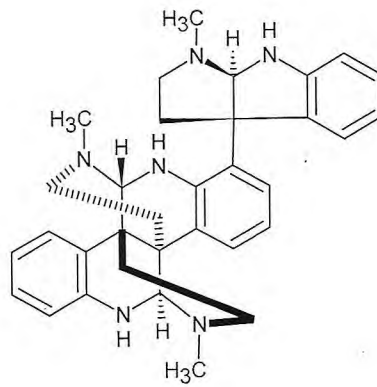
21



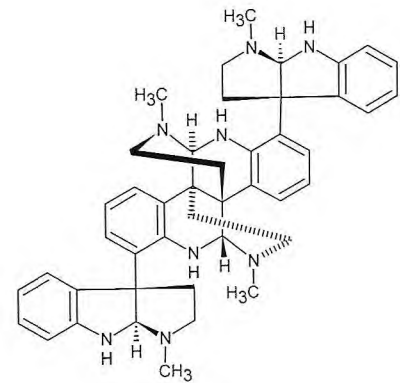
22



23

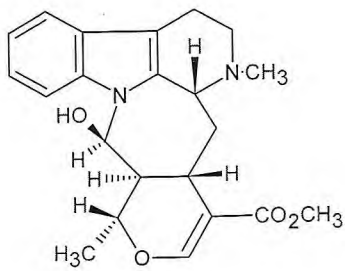


24

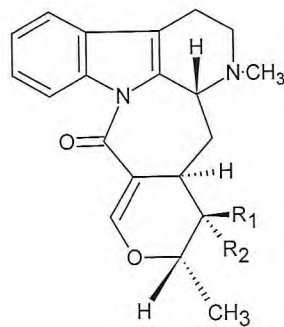
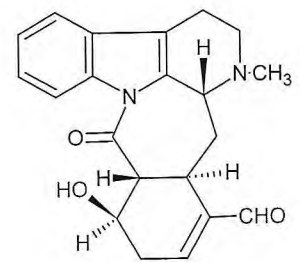


25

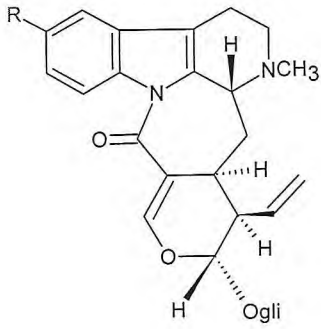
Alcalóides indólicos monoterpênicos



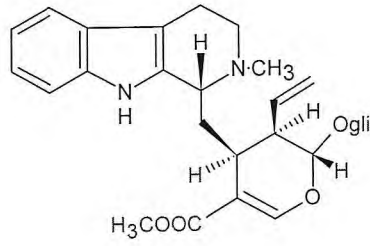
26

27 (R₁ = H, R₂ = CHO)28 (R₁ = CHO, R₂ = H)

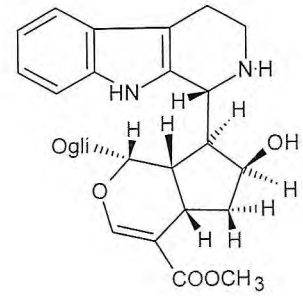
29



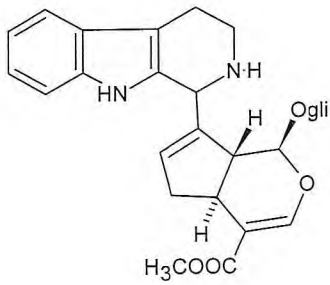
30 (R = H)
31 (R = OH)



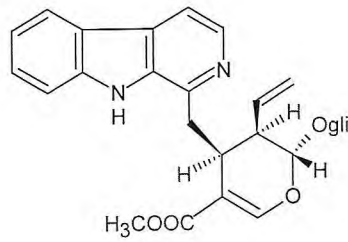
32



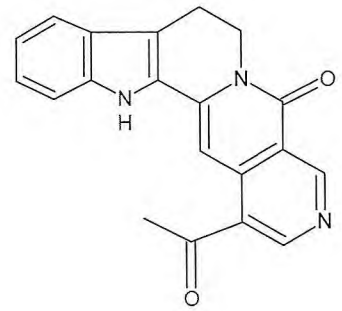
33



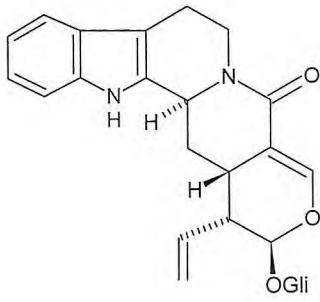
34



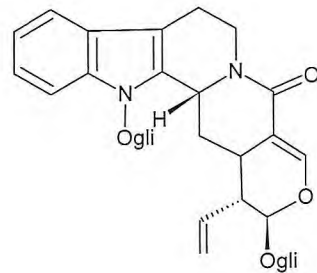
35



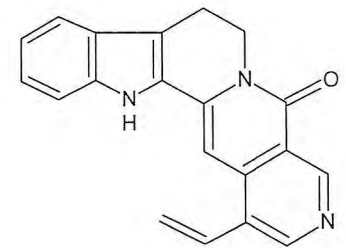
36



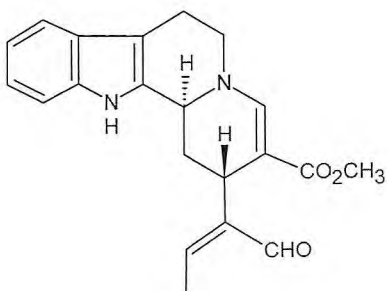
37



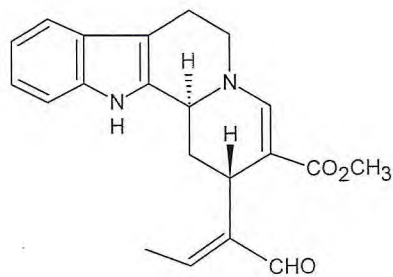
38



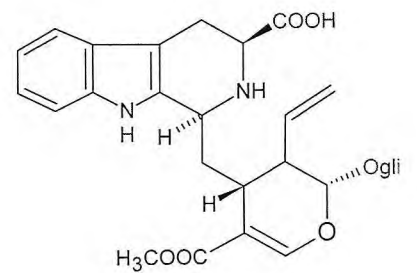
39



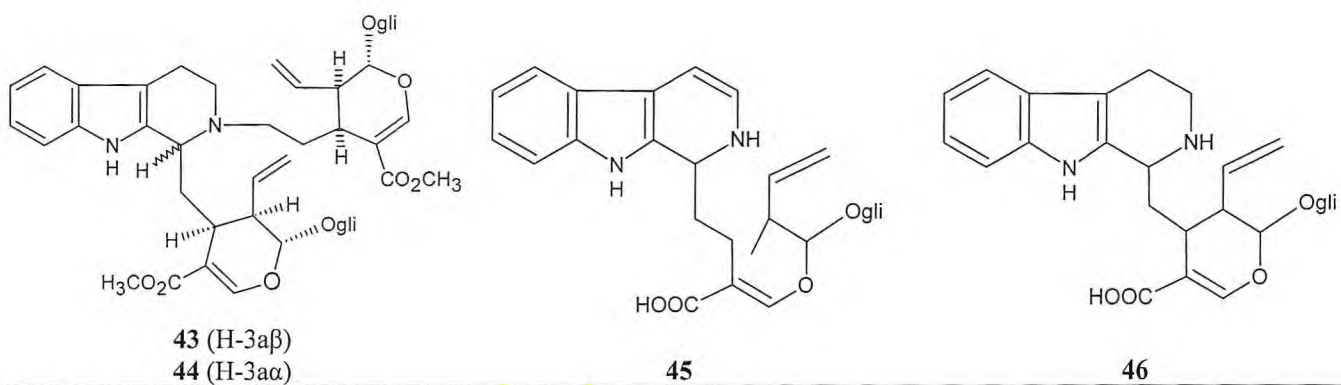
40



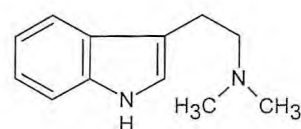
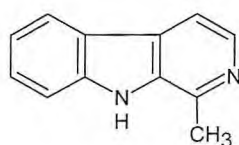
41



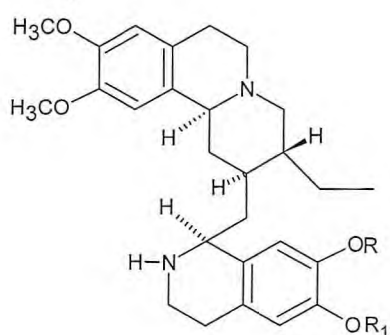
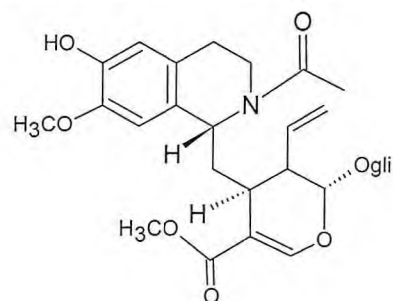
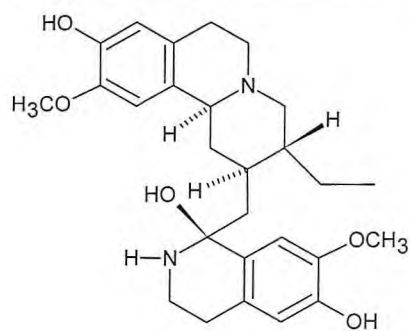
42



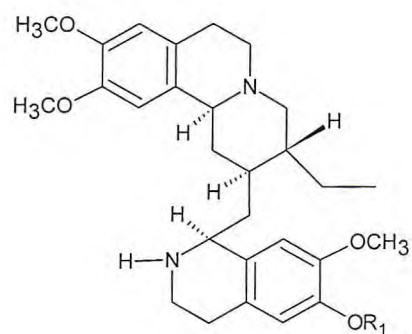
Outros Indólicos



Isoquinolínicos monoterpênicos



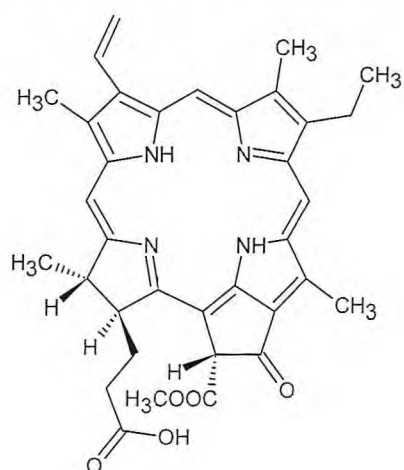
52 (R = R₁ = H)



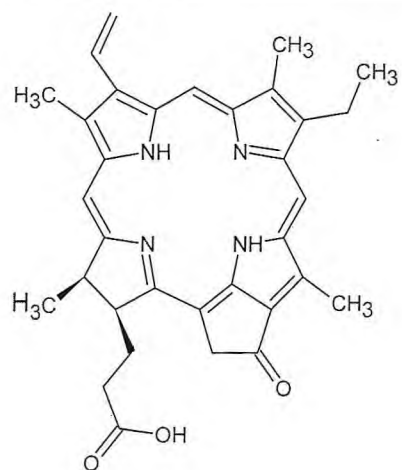
54 (R = Me)

Tabela 3 – Outras classes de metabólitos secundários isoladas de *Psychotria*.

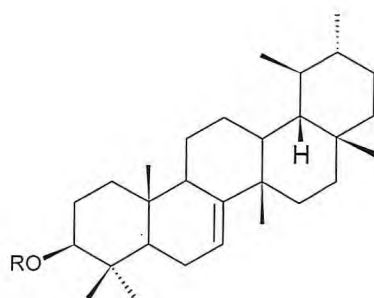
<i>Substância</i>	<i>Espécie</i>	<i>Classe</i>	<i>Referência</i>
pheophorbida a (55)	<i>P. acuminata</i>	Pigmento	GLINSKI <i>et al.</i> , 1995
pyropheophorbide a (56)		Pigmento	
acetato de bauerenol (57)	<i>P. adenophylla</i>	Triterpeno	DAN, SIPRA; DAN, SAILENDRA, 1986
bauerenol (58)		Triterpeno	
betulina (59)		Triterpeno	
ácido betulínico (60)		Triterpeno	
friedelina (61)		Triterpeno	
ácido ursólico (62)		Triterpeno	
α -amirina (63)		Triterpeno	
sitosterol (64)		Esteróide	
ácido ursólico (62)	<i>P. carthagenensis</i>	Triterpeno	LOPES; MORENO; HENRIQUES, 2000
sitosterol (64)		Esteróide	
1-hidroxi-benzoisocromanquinona (65)	<i>P. camponutans</i>	Benzoquinona	SOLIS <i>et al.</i> , 1995
benz[g]isoquinolina-5,10-diona (66)		Benzoquinona	
luteína (67)	<i>P. correae</i>	Carotenóide	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1995
ácido rotungenico (68)		Triterpenos	
ácido cletrico (69)		Triterpenos	
sitosterol glicosilado (70)		Esteróides	
estigmasterol glicosilado (71)		Esteróides	
cerebrosídeo B _{1b} (72)		Cerebrosídeo	
cerebrosídeo (73)		Cerebrosídeo	
megastigm-5-ene-3,6-diol (74)		C ₁₃ .Norisoprenoides	
S(+)-deidrovoimfoliol (75)		C ₁₃ .Norisoprenoides	
asperulosida (76)		<i>P. leiocarpa</i>	
deacetilasperulosida (77)	Iridóides		
ciclopsicotrídeo A (78)	<i>P. longipes</i>	Peptídeo cíclico	WITHERUP <i>et al.</i> , 1994
helenalina (79)	<i>P. rubra</i>	Naftoquinonas	HAYASHI; SMITH; LEE, 1987
psicorubrina (80)		Naftoquinonas	
ácido ursólico (62)	<i>P. serpens</i>	Triterpeno	LEE <i>et al.</i> , 1988
solidagenona (81)	<i>P. spectabilis</i>	Diterpenos	BENEVIDES; YOUNG; BOLZANI, 2004
deoxisolidagenona (82)		Diterpenos	
cumarina (83)		Cumarina	
umbeliferona (84)		Cumarina	
psoralena (85)		Cumarina	
quercetina (86)		Flavonóides	
quercetrina (87)		Flavonóides	
ácido ursólico (62)		<i>P. vulgaris</i>	

Tabela 4 – Outros metabólitos secundários isolados de *Psychotria*.

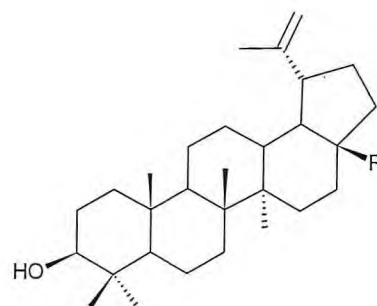
55



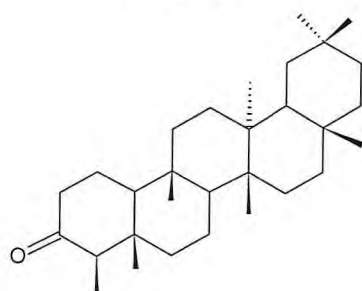
56



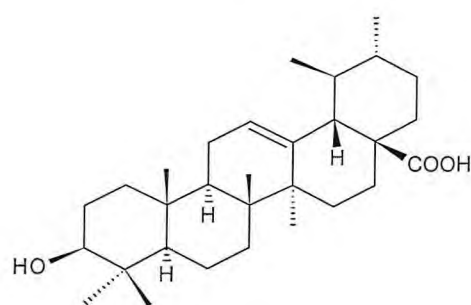
57 (R = Ac)
58 (R = H)



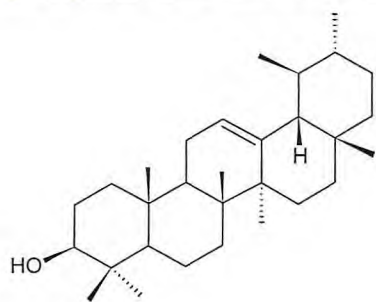
59 (R = CH₂OH)
60 (R = COOH)



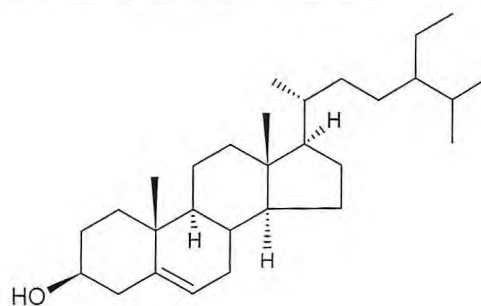
61



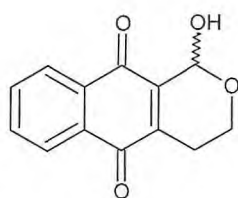
62



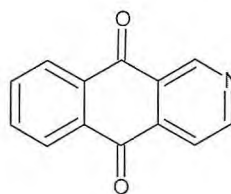
63



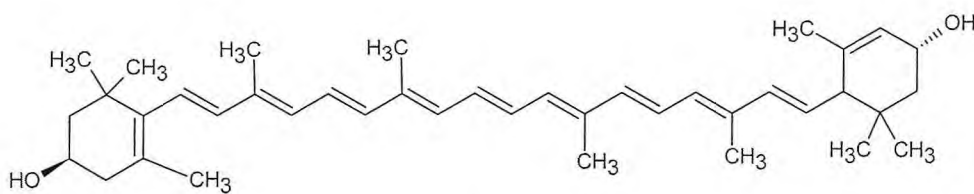
64



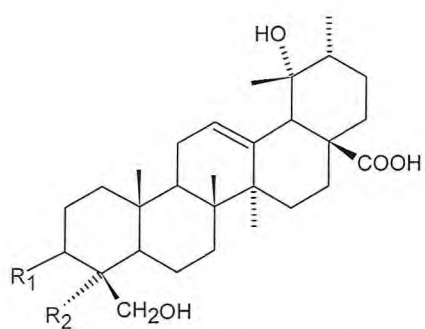
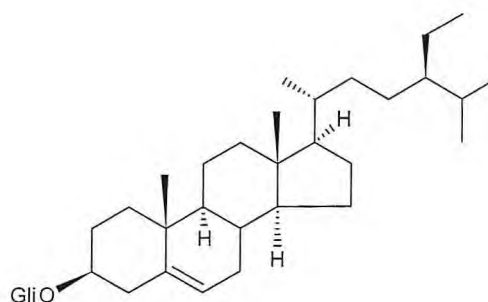
65



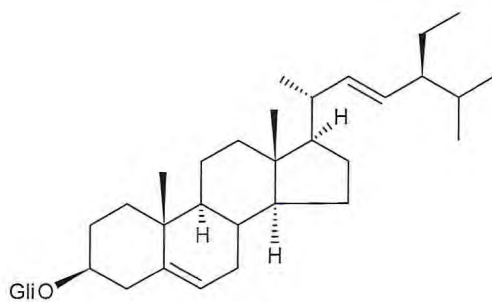
66



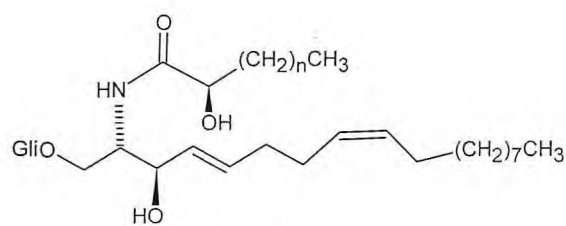
67

68 ($R^1 = \beta\text{-OH}$; $R^2 = \text{Me}$)69 ($R^1 = \alpha\text{-OH}$; $R^2 = \text{CH}_2\text{OH}$)

70



71

72 ($n = 13$)73 ($n = 15$)

3.1.3. Estudos farmacológicos

3.1.3.1. Alcalóides

As flores, frutos e raízes de *P. colorata* são usados por caboclos da Amazônia como medicação caseira no alívio da dor. Estudos etnofarmacológicos (ELISABETSKY *et al.*, 1995, 1997) comprovaram a atividade analgésica desta espécie, e investigações fitoquímicas posteriores levaram ao isolamento dos alcalóides hodgkinsina (**4**) e psicotridina (**10**). A hodgkinsina apresentou um duplo mecanismo de ação, envolvendo a ativação dos receptores opiáceos e o antagonismo dos receptores glutamínérgicos NMDA (AMADOR *et al.*, 2000). A psicotridina mostrou interação com os receptores glutamínérgicos NMDA, porém destituída de atividade opióide (AMADOR *et al.*, 2001).

O estudo fitoquímico das cascas e galhos de *P. rostrata* levou ao isolamento de dois alcalóides, (+)-quimonantina (**1**) e a calicosidina (**24**). Estudos posteriores de síntese e atividade antinociceptiva revelaram que estes dois alcalóides, possuem perfil analgésico semelhante ao encontrado para hodgkinsina (VEROTTA *et al.*, 2002).

Os extratos alcaloídicos de *Psychotria pubigera*, *P. nuda* e *P. myriantha* foram avaliados quanto à atividade analgésica em camundongos, através da análise da resposta ao estímulo térmico em aparelho da placa quente. O único extrato que apresentou atividade analgésica foi o de *P. myriantha* na dose 200 mg/kg (BOTH *et al.*, 2002). Esta atividade foi atribuída aos alcalóides ácido strictosidínico (**46**) e miriantosina (**45**), que apresentaram atividade inibidora da migração de leucócitos polimorfonucleares e sugeriram, desta forma, um efeito antiinflamatório (SIMÕES-PIRES *et al.*, 2006).

A psicoleína (**25**) e a quadrigemina C (**8**), isolados de *P. oleoides*, atuam como antagonistas da somatostatina (hormônio inibidor da liberação do hormônio do crescimento). Este foi o primeiro relato de substância não-peptídica isolada de planta contendo interação com os receptores SRIF, bem como foi o primeiro antagonista descrito para a SRIF (GUÉRITTE-VOEGELEIN *et al.*, 1992; RASOLONJANAHARY *et al.*, 1995).

A partir da investigação fitoquímica de *P. umbellata* foi isolada a umbelatina (**34**), também conhecido como psicolatina, que exibiu atividades analgésica (BOTH, 2002), ansiolítica, antidepressiva e efeitos amnésico, por modular diferentes sistemas

neurotransmissores, incluindo os receptores NMDA, opióide e 5HT_{2A/C} (BOTH *et al.*, 2005, 2006). Estudos recentes demonstraram ainda, que tanto o extrato metanólico das folhas como a psicolatina (**34**) possuem também propriedades antimutagênica e antioxidante (FRAGOSO *et al.*, 2008).

Os alcalóides quadrigemina A (**6**), quadrigemina B (**7**), psicotridina (**10**) e isopsicotridina C (**13**), isolados de *P. forsteriana* demonstraram atividade citotóxica (ROTH *et al.*, 1986) para a linhagem celular HTC (hepatoma de ratos). Estes alcalóides mostraram toxicidade mais elevada contra células HTC do que a vincristina, a droga comumente usada em quimioterapia. Em adição, estas substâncias também demonstraram serem inibidores da agregação plaquetária (BERETZ *et al.*, 1985). Por outro lado, a calicantina (**17**), apresentou potente efeito convulsivante, análogo ao da estricnina, cujo mecanismo de ação ainda é desconhecido (ADJIBADE *et al.*, 1991).

O estudo fitoquímico de *P. klugii* levou ao isolamento dos alcalóides isoquinolínicos, klugina (**49**), 7'-*O*-desmetilisocefaelina (**52**), cefaelina (**53**), isocefaelina (**51**) e 7-*O*-metilipecosida (**50**), estas substâncias apresentaram atividade antiparasitária. A atividade antileishmania foi avaliada, e revelou que as substâncias klugina (**49**) (IC₅₀ 0,40 µg/mL), cefaelina (**53**) (IC₅₀ 0,03 µg/mL) e isocefaelina (**51**) (0,45 µg/mL) apresentaram forte atividade contra as formas promastigotas de *L. donovani*. Dentre estes, a cefaelina (**53**) foi mais potente e foi também mais ativa que as drogas de referência pentamina (IC₅₀ 0,7 µg/mL) e anfotericina B (0,17 µg/mL). Klugina (**49**) e cefaelina (**53**) exibiram potente atividade antimalárica contra *Plasmodium falciforme* clones W2 e D6 (IC₅₀ 27,7- 46,3 ng/mL). Com relação à atividade citotóxica a cefaelina (**53**) se mostrou ativa contra quatro linhagens de células tumorais, SK-MEL, KB, BT-549 e SK-OV-3, enquanto que a klugina (**49**) foi inativa (MUHAMMAD *et al.*, 2003).

Os extratos metanólicos fracionados das folhas, raízes e casca do caule de *P. microblasta* foram testados em bactérias e protozoários e apresentaram uma forte atividade antimicrobiana (KHAN; KIHARA; OMOLOSO, 2001). Por outro lado, a emetina (**54**), um alcalóide isolado de *Psychotria ipecacuanha*, induziu apoptose em células leucêmicas (MOELLER *et al.*, 2007).

3.1.3.2. Outras classes de metabólitos secundários

Durante o fracionamento bioguiado dos talos e raízes de *P. camponutans* foram isolados duas benzoquinonas que mostraram forte atividade *in vitro* contra *Artemia salina*, células KB e *P. falciparum*. A benz[g]isoquinolina-5,10 dione (**66**) foi a mais ativa contra *Artemia salina* que a 1-hidroxibenzoisocomanquinona (**65**), enquanto que a atividade dos dois compostos em células KB foi bastante similar. Em testes para avaliação da atividade antimalárica a benz[g]isoquinolina-5,10 diona mostrou-se mais ativa que 1-hidroxibenzoisocomanquinona (SOLÍS *et al.*, 1995).

Estudos para avaliação das atividades antifúngica e citotóxica foram realizados com diterpenos e cumarinas isoladas de *P. spectabilis*. A solidagenona (**81**) e o psoraleno (**85**) tiveram resultados superiores ao da nistatina, uma substância antifúngica de referência, além de apresentarem atividade citotóxica contra Rad 52Y, uma cepa mutante de *Saccharomyces cerevisiae* (BENEVIDES; YOUNG; BOLZANI, 2004).

O ácido ursólico (**62**), isolado de *P. serpens*, apresentou significativa atividade contra leucemia linfocítica P-388 ($ED_{50} = 3,15 \mu\text{g/mL}$) e L-1210 ($ED_{50} = 4,00 \mu\text{g/mL}$), bem como em câncer de pulmão A-549 ($ED_{50} = 4,00 \mu\text{g/mL}$). Também exibiu citotoxicidade em células KB ($ED_{50} = 6,6 \mu\text{g/mL}$), câncer de cólon (HCT-8) ($ED_{50} = 4,5 \mu\text{g/mL}$) e de mama (MCF-7) ($ED_{50} = 4,9 \mu\text{g/mL}$) (LEE *et al.*, 1988).

O estudo de *P. longipes* levou ao isolamento de um peptídeo cíclico, o ciclopsicotrídeo A (**78**) que inibiu a neurotensina e estimulou o aumento dos níveis de Ca^{2+} citosólico (WITHERUP *et al.*, 1994). Em adição, a psicorubrina (**80**), uma naftoquinona isolada de *P. rubra*, exibiu significativa atividade citotóxica em células KB ($ED_{50} = 3,0 \mu\text{g/mL}$) (HAYASHI; SMITH; LEE, 1987).

PARTE EXPERIMENTAL



O espécime vegetal *Psychotria stachyoides* Benth. foi coletado na cidade de Pacoti-CE, tendo sido utilizadas diversas técnicas cromatográficas para o isolamento dos constituintes químicos.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Material Vegetal

O espécime vegetal *Psychotria stachyoides* Benth. foi coletada na cidade de Pacoti-CE pelo prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira, e identificada pelo Dr. Piero Giuseppe Delprete do Institut de Recherche pour le Développement - IRD, UMR AMAP, Montpellier, França. A exsicata referente à coleta encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, sob o registro de nº 31674 (EAC).

4.2. Métodos Cromatográficos

4.2.1. Cromatografia de adsorção

Nas cromatografias de adsorção foi empregada gel de sílica 60 Merck (0,040-0,063 mm). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras e as quantidades de gel de sílica utilizadas. Para cromatografia de camada delgada utilizou-se gel de sílica S (Carlo Erba) em placas de vidro e cromatoplas de gel sílica 60 F₂₅₄ sobre alumínio Merck. Os eluentes usados foram: hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol, dietilamina, hidróxido de amônia puros ou combinados.

A revelação das substâncias nas cromatoplas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) realizada em aparelho Spetroline modelo ENF-240 C/F. Os reagentes de pulverização utilizados foram solução de Dragendorff, sem aquecimento e aspersão com solução de vanilina (C₈H₈O₃) e ácido perclórico (C₂H₆O) em etanol, seguido de aquecimento em chapa.

4.2.2. Cromatografia de exclusão

Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram efetuados em colunas contendo gel de dextrana Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals), utilizando metanol como fase móvel.

4.2.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os fracionamentos por cromatografia líquida de alta eficiência foram realizados em dois equipamentos. Um constituído de uma bomba binária Waters-1525 e um detector DAD Waters-2996 a 254 nm, utilizando colunas XTerra[®] RP-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) e XTerra[®] RP-18 (10 x 250 mm, 10 µm), e outro equipamento constituído de uma bomba ternária Shimadzu LC-20AT e um detector Shimadzu SPD-M20A, utilizando coluna Phenomenex RP-18 (250 x 10 mm, 5 µm).

Os solventes empregados apresentaram grau de pureza HPLC (MeOH-Tedia, CH₃CN-Tedia, H₂O e TFA-Merck) e foram filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45 µm (Phenomenex), seguido de degaseificação a vácuo durante 5 min. As amostras foram dissolvidas nas fases móveis empregadas em cada análise, e filtradas através de membranas de teflon com poros de 0,45 µm (Waters).

4.3. Métodos Espectroscópicos

4.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando pastilhas de KBr para análise das amostras.

4.3.2. Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massas de baixa resolução foram registrados num espectrômetro Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50, através de impacto eletrônico a 70 eV. Os espectros de massas de alta resolução foram adquiridos usando um espectrômetro de massas modelo LCMS-IT-TOF (225-07100-34) - SHIMADZU, equipado com fonte de ionização por *electrospray* pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste da Universidade Federal do Ceará (LEMANOR-UFC).

4.3.3. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Carbono-13 (RMN ^{13}C)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 e/ou modelo Avance DRX-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 e magneto de 7,046 T, foi operado nas frequências de 300,13 e 75,47 MHz para hidrogênio e carbono, respectivamente. Nos experimentos realizados no aparelho Bruker Avance DRX-500, foram aplicadas frequências de 500,13 MHz (^1H) e 125,75 MHz (^{13}C), sob um campo magnético de 11,744 T. O tipo de sonda variou conforme o tipo de técnica: sonda dual de 5 mm com detecção direta (experimentos unidimensionais) e sonda multinuclear de 5 mm com detecção inversa (experimentos bidimensionais).

As amostras foram dissolvidas em alíquotas de 0,6 mL de solvente deuterado: clorofórmio (CDCl_3), metanol (CD_3OD), acetona ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) ou piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), comercializados pela empresas ACROS, Cambridge Isotope Laboratories, Merck ou Aldrich.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não-deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ_{H} 7,27), metanol (δ_{H} 3,31), acetona (δ_{H} 2,05) e piridina (δ_{H} 8,74; 7,58; 7,22). Nos espectros de

carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ_C 77,23), metanol (δ_C 49,17), acetona (δ_C 202,68 e 29,92) e piridina (δ_C 150,35; 135,91; 123,87).

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), q (quarteto), m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulos de nutação de 135° , CH e CH_3 com amplitudes em oposição aos CH_2 e 90° , somente CH, foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C , descrito segundo a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT 135 do espectro de BB.

Os experimentos bidimensionais de correlação homonuclear (^1H - ^1H -COSY e ^1H - ^1H -NOESY) e heteronuclear (HMQC, HSQC e HMBC), realizados em aparelho Bruker Avance DRX-500, foram efetuados em sonda multinuclear de 5 mm, com detecção inversa, empregando-se gradiente de campo, posicionado no eixo z e magnitude de 10 A. Os valores de J utilizados para os experimentos pertinentes foram $^1J_{\text{H,C}} = 145$, $^nJ_{\text{H,C}} = 7$, onde $n = 2, 3$ e 4.

4.4. Outras determinações

4.4.1. Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento da Mettler Toledo, composto por uma placa aquecedora FP82HT e uma unidade de processamento FP90, a uma taxa de aquecimento de $2^\circ\text{C}/\text{min}$ e não foram corrigidos.

4.4.2. Rotação ótica

As rotações ópticas foram determinadas em polarímetro Perkin-Elmer, modelo 341, sendo as medidas realizadas a 589 nm (20 °C).

4.5. Estudo fitoquímico das folhas de *Psychotria stachyoides*

4.5.1. Obtenção do extrato etanólico das folhas

As folhas de *P. stachyoides* (2,7 kg) foram secas ao ar livre por um período de 24 h. Em seguida, foram trituradas em moinho de facas e submetidas à extração com etanol, de modo exaustivo e à temperatura ambiente. A solução resultante foi filtrada e destilada sob pressão reduzida, fornecendo 186,0 g de um extrato escuro e viscoso denominado EFPS.

4.5.2. Obtenção da fração alcaloídica do extrato etanólico das folhas de *Psychotria stachyoides* (EFPS)

Para a obtenção da fração alcaloídica utilizou-se 130,0 g do extrato EFPS, e destes alíquotas de 22,0 g foram suspensos em 100 mL de uma solução de HCl 10% sob agitação mecânica por quatro horas. A solução resultante foi extraída com acetato de etila (4 x 200 mL cada). À fase orgânica foi adicionado Na₂SO₄ anidro, e em seguida o solvente foi destilado sob pressão reduzida, fornecendo 8,0 g de um resíduo com aspecto físico escuro e viscoso, denominado FNAF (fração não alcaloídica das folhas). À fase aquosa ácida foi adicionada NH₄OH até alcançar pH 9, através de monitoramento em papel de pH. A solução básica resultante foi extraída com acetato de etila (4 x 200 mL cada). Em seguida, esta fração foi tratada com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi destilado sob pressão reduzida, para a obtenção de um resíduo marrom escuro denominado FAF (fração alcaloídica das folhas). Este procedimento foi repetido por seis vezes consecutivas, para levar à obtenção de 2,2 g de FAF e 8,8 g de FNAF (fração não alcaloídica das folhas).

4.5.3. Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica das folhas (FAF)

A fração FAF (2,2 g) foi cromatografada em uma coluna ($\varnothing = 4$ cm e $h = 32$ cm) contendo Sephadex LH-20, usando MeOH como eluente. A partir deste fracionamento foram coletadas 40 frações de 10 mL, que após a análise comparativa por CCD as frações semelhantes foram reunidas em cinco frações resultantes (Tabela 5, p. 56).

Tabela 5 – Cromatografia em Sephadex da fração alcaloídica das folhas (FAF).

FRAÇÃO	MASSA
F1 (1-5)	180,0 mg
F1 (6-7)	400,0 mg
F1 (8-23)	330,0 mg
F1 (24-30)	800,0 mg
F1 (31-35)	180,0 mg
Rendimento	85,0 %

4.5.4. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7)

A fração F1 (6-7) (400,0 mg) foi recromatografada em uma coluna contendo sílica flash, usando como eluente uma mistura ternária de solventes $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (95:05:50 gts/ 100 ml), em ordem crescente de polaridade. Este procedimento resultou em 19 frações, que foram posteriormente reunidas de acordo com suas semelhanças em CCD em 4 frações resultantes (Tabela 6, p. 56).

Tabela 6 – Cromatografia de F1 (6-7).

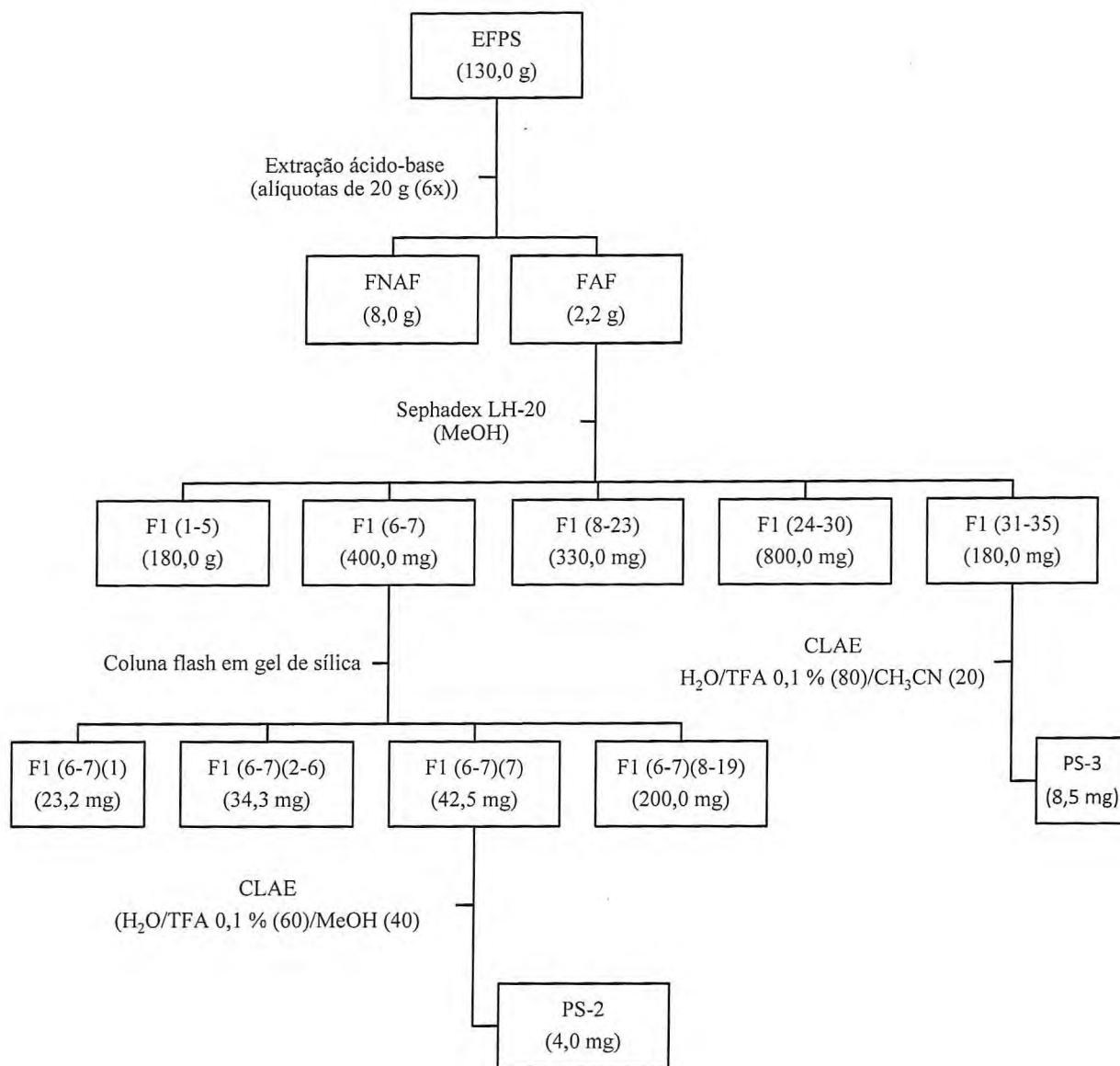
FRAÇÃO	MASSA
F1 (6-7)(1)	23,2 mg
F1 (6-7)(2-6)	34,3 mg
F1 (6-7)(7)	42,5 mg
F1 (6-7)(8-19)	200,0 mg
Rendimento	75 %

4.5.5. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7) (7) e isolamento de PS-2

A fração F1 (6-7)(7) (42,5 mg) foi recromatografada em CLAE, utilizando-se uma coluna em fase reversa C₁₈ – XTerra e uma fase móvel composta por uma solução de H₂O/TFA 0,1% (60)/ MeOH (40), em um fluxo de 4,72 mL/min. Este procedimento resultou no isolamento de uma resina marrom, que foi denominada de PS-2 (4,0 mg) ($[\alpha]_D^{20} = -39,2^\circ$, *c* 0,37, MeOH).

4.5.6. Fracionamento cromatográfico de F1 (31-35) e isolamento de PS-3

A fração F1 (31-35) (180,0 mg) foi cromatografada em CLAE, utilizando-se uma coluna em fase reversa C₁₈ - XTerra e uma fase móvel composta por H₂O/TFA 0,1% (80)/ CH₃CN (20), em um fluxo de 4,72 mL/min. Este processo resultou no isolamento de uma resina marrom que foi denominada de PS-3 (8,5 mg) ($[\alpha]_D^{20} = -32,5^\circ$, *c* 0,42, MeOH), de acordo com o Fluxograma 1, p. 58.



Fluxograma 1 – Fracionamento cromatográfico da FAF e isolamento de PS-2 e PS-3.

4.5.7. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7) (8-19) e isolamento de PS-1

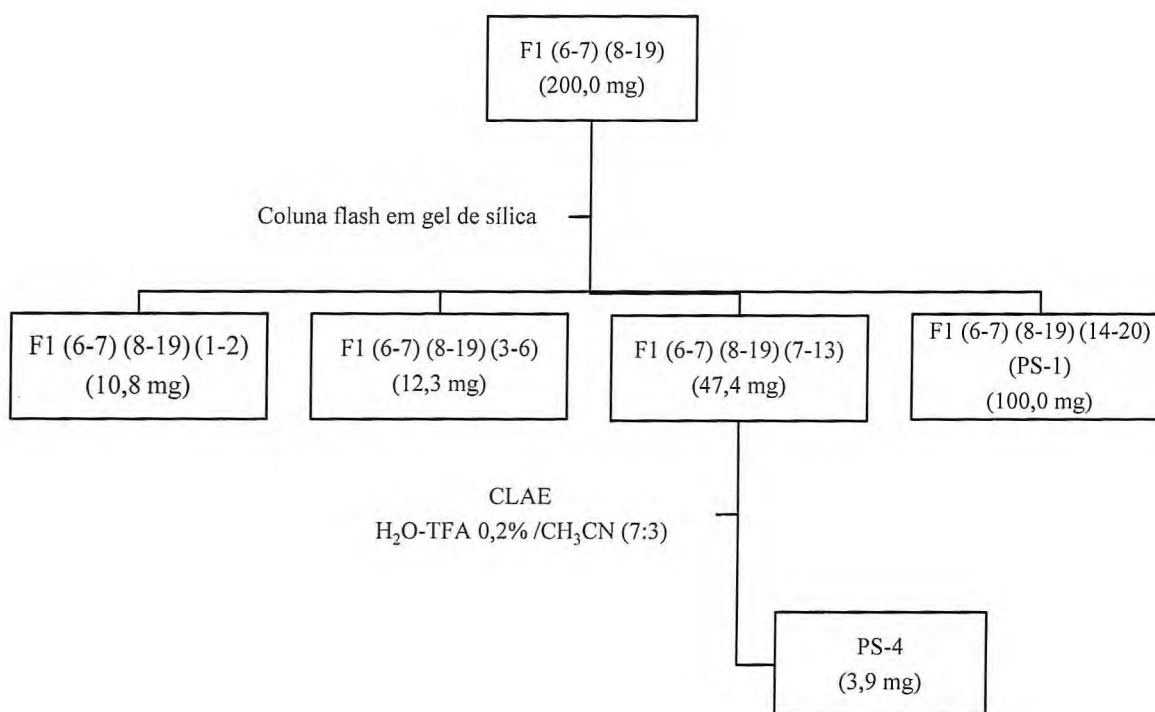
A fração F1 (6-7) (8-19) (200,0 mg) foi recromatografada em sílica flash, utilizando como eluente a mistura ternária $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (95:05:50 gts/ 100 mL), em ordem crescente de polaridade. Deste procedimento obteve-se 27 frações, que foram reunidas em 4 frações resultantes, conforme suas semelhanças em CCD (Tabela 7, p. 59). A fração F1 (6-7) (8-19) (14-20) (100,0 mg) apresentou-se como um sólido marrom (p.f entre 200,6-202,8 °C; $[\alpha]_D^{20} = -173^\circ$, c 0,075, MeOH) e foi denominada de PS-1 (Fluxograma 2, p. 59).

Tabela 7 – Cromatografia de F1 (6-7) (8-19).

FRAÇÃO	MASSA
F1 (6-7) (8-19)(1-2)	10,8 mg
F1 (6-7)(8-19)(3-6)	12,3 mg
F1 (6-7)(8-19)(7-13)	47,4 mg
F1 (6-7)(8-19)(14-20)	100,0 mg
Rendimento	85%

4.5.8. Fracionamento cromatográfico de F1 (6-7) (8-19) (7-13) e isolamento de PS-4

A fração F1 (6-7) (8-19) (7-13) (47,4 mg) foi recromatografada em CLAE, por eluição isocrática com mistura de H₂O-TFA (0,2%) / CH₃CN (7:3), em um fluxo de 4,72 ml/min. Esta metodologia levou ao isolamento de uma resina marrom (3,9 mg), que foi denominada de PS-4.



Fluxograma 2 – Isolamento de PS-1 e PS-4.

4.5.9. Partição líquido-líquido da fração não-alcaloídica das folhas (FNAF)

A fração FNAF (8,0 g) foi solubilizada em uma mistura de H₂O/MeOH (1:1). A solução resultante transferida para funil de separação, e em seguida extraída com hexano (3 x 200 mL), CH₂Cl₂ (3 x 200 mL), e posteriormente com AcOEt (3 x 200 mL). As respectivas frações orgânicas foram secas com Na₂SO₄ anidro e evaporadas sob pressão reduzida, resultando em quatro frações conforme a Tabela 8 (p. 60).

Tabela 8 – Cromatografia de FNAF.

FRAÇÃO	MASSA
FNAF-H	1,0 g
FNAF-D	2,4 g
FNAF-A	2,0 g
FNAF-M	1,4 g
Rendimento	85%

4.5.10. Fracionamento cromatográfico da FNAF-A

A fração FNAF-A (300,0 mg) foi adsorvida com 500 mg de gel de sílica flash e acondicionada em uma coluna contendo 14,5 g de sílica. A eluição foi feita utilizando a mistura de solventes hexano/acetato de etila (9:1). Neste procedimento foram coletadas 88 frações, que após comparação por CCD e reunião das frações idênticas foram obtidas seis frações resultantes (Tabela 9, p. 60).

Tabela 9 – Cromatografia de FNAF-A.

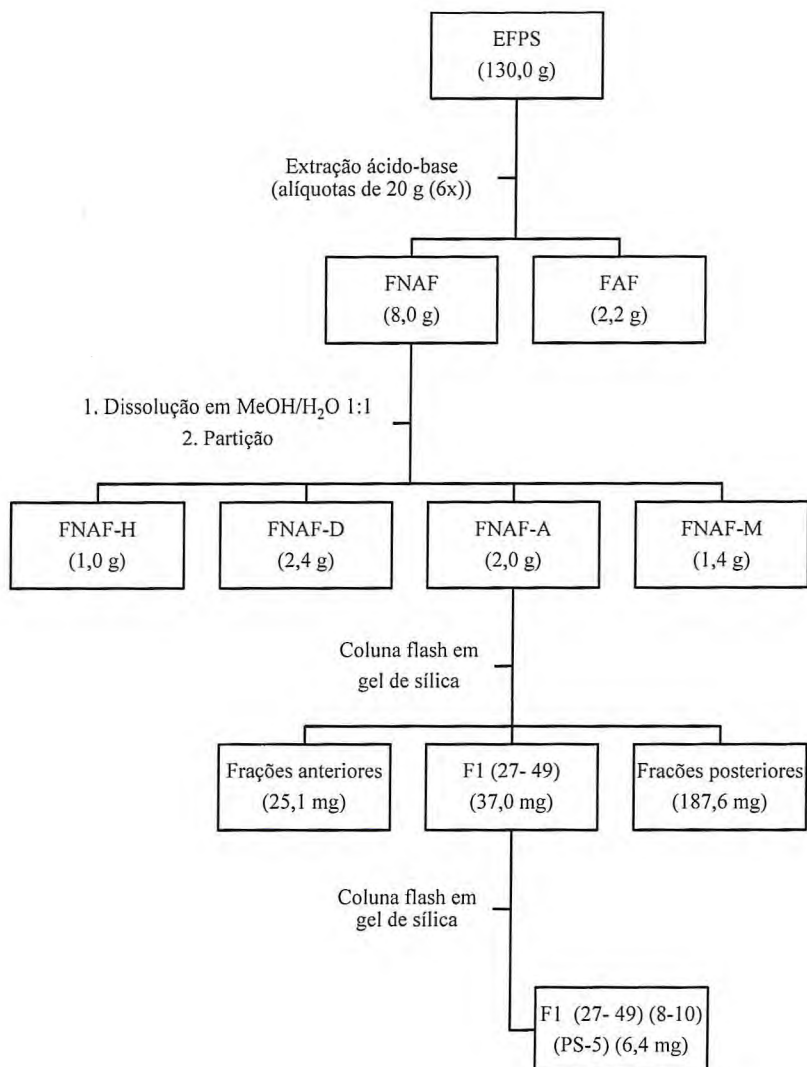
FRAÇÃO	MASSA
F1 (1-10)	10,5 mg
F1 (11-26)	15,6 mg
F1 (27-49)	37,0 mg
F1 (50-67)	59,1 mg
F1 (68-75)	78,2 mg
F1 (76-88)	50,3 mg
Rendimento	83%

4.5.11. Fracionamento cromatográfico de F1 (27-49) e isolamento de PS-5

A fração F1 (27- 49) (37,0 mg) foi recromatografada em gel de sílica flash, usando como eluente a mistura binária de solventes $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/$ (95:05), em ordem crescente de polaridade. Obteve-se neste procedimento 35 frações, que foram posteriormente reunidas conforme suas semelhanças em CCD em apenas 3 frações resultantes (Tabela 10, p. 61). A fração F1 (27-49)(8-10) se mostrou como um sólido branco, amorfo, e foi denominada de PS-5 (Fluxograma 3, p. 62).

Tabela 10 – Cromatografia de F1 (27-49).

FRAÇÃO	MASSA
F1 (27- 49) (1-7)	2,0 mg
F4 (27- 49) (8-10)	6,4 mg
F4 (27- 49) (11-35)	15,3 mg
Rendimento	64,0%



Fluxograma 3 – Isolamento de PS-5.

4.6. Estudo fitoquímico dos talos de *Psychotria stachyoides*

4.6.1. Obtenção do extrato etanólico dos talos

Os talos de *P. stachyoides* (4,2 kg) foram secos, triturados em moinho de facas e extraídos com etanol, de modo exaustivo e à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se 291,7 g de um extrato escuro e viscoso denominado de ETPS.

4.6.2. Obtenção da fração alcaloídica a partir do extrato etanólico dos talos (ETPS)

A extração da fração alcaloídica do ETPS foi realizada de acordo com o procedimento descrito no item 4.5.2. (Fluxograma 4, p. 64). Ao final deste procedimento foram obtidas 3,5 g de FAT (fração alcaloídica dos talos) e 10,5 g de FNAT (fração não-alcaloídica dos talos), proveniente do tratamento ácido-base de 142,9 g do extrato ETPS (sete extrações usando alíquotas de 20 g).

4.6.3. Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica dos talos (FAT)

A fração FAT (3,5 g) foi cromatografada em coluna ($\varnothing = 5$ cm e $h = 32$ cm) Sephadex LH-20 por eluição com MeOH, para fornecer 47 frações. Após a análise comparativa por CCD as frações semelhantes foram reunidas em 7 frações resultantes (Tabela 11, p. 63).

Tabela 11 – Cromatografia de FAT.

FRAÇÃO	MASSA
F1 (1)	0,10 g
F1 (2-8)	0,23 g
F1 (9-16)	1,00 g
F1 (17-25)	0,9 g
F1 (26-33)	0,70 g
F1 (34-44)	0,20 g
F1 (45-47)	0,14 g
Rendimento	93%

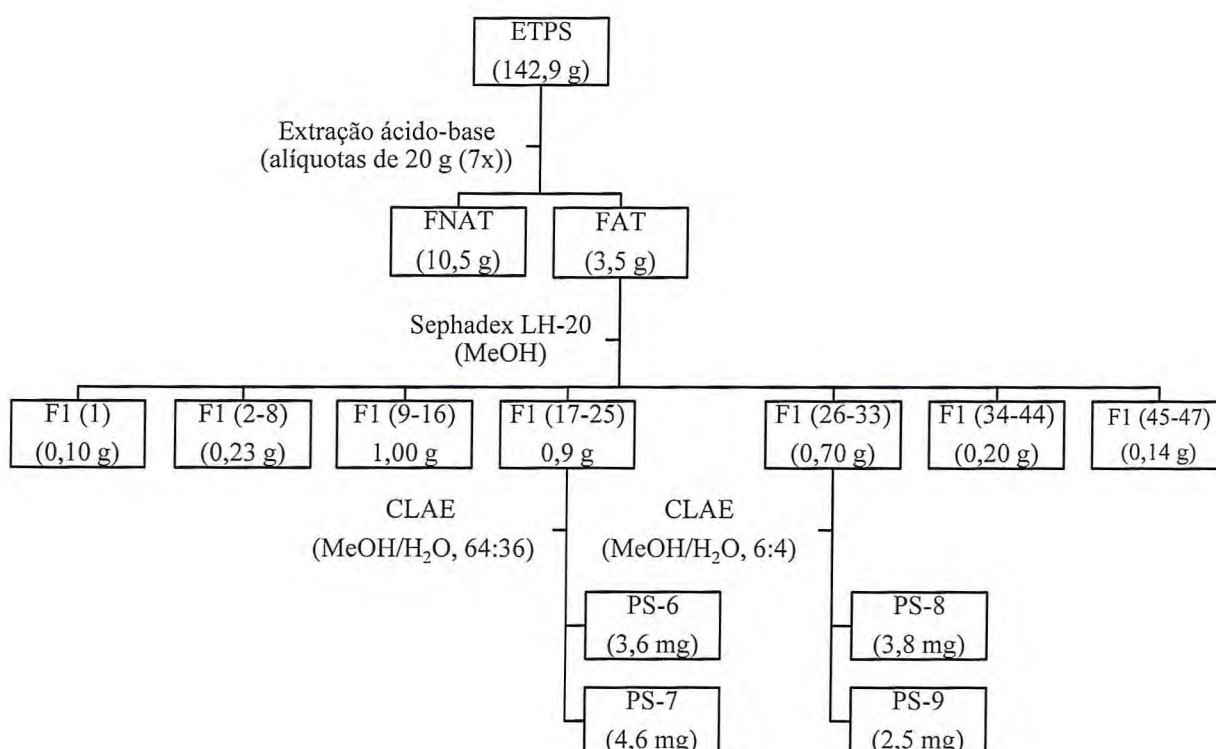
4.6.4. Fracionamento cromatográfico de F1 (17-25) e isolamento de PS-6 e PS-7

A fração F1 (17-25) (900 mg) foi analisada por CLAE numa coluna em fase reversa, empregando-se uma mistura isocrática de MeOH/H₂O (64:36) e fluxo de 4,75 mL/min. As injeções foram realizadas através de alíquotas de 200 μ L de solução filtrada da amostra, dissolvida na fase móvel. A 254 nm, foram detectados e coletados 6 sinais principais: sinal 1 (várias substâncias), sinal 2 ($t_R = 5,2$ min), sinal 3 ($t_R = 6,3$ min), sinal 4 ($t_R = 7,4$ min), sinal

5 ($t_R = 8,5$) e sinal 6 ($t_R = 14,0$ min). O sinal 6 se mostrou como uma resina marrom que foi denominada de PS-6 (3,6 mg) ($[\alpha]_D^{20} = -90^\circ$, c 0,135, MeOH). O material correspondente ao sinal 1 foi reinjetado (MeOH/H₂O (15:85)) e desdobrado em 2 sinais principais, sinal 1.2 e sinal 1.3 levando ao isolamento de uma resina marrom, denominada PS-7 (4,6 mg) (Fluxograma 4, p. 64).

4.6.5. Fracionamento cromatográfico de F1 (26-33) e isolamento de PS-8 e PS-9

A fração F1 (26-33) (70,0 mg) foi recromatografada em CLAE, utilizando a mistura de solventes MeOH/H₂O (6:4), fluxo de 4,72 mL/min e coluna em fase reversa C₁₈. Foram injetados 200 μ L de solução filtrada da amostra, dissolvida na fase móvel. O cromatograma visualizado a 254 nm, mostrou a separação de 4 sinais principais: sinal 1 ($t_R = 3,8$ min), sinal 2 ($t_R = 6,5$ min), sinal 3 ($t_R = 8,1$ min) e sinal 4 ($t_R = 9,9$ min). Verificou-se através de RMN ¹H que o sinal 3 (resina marrom) e o sinal 4 (resina marrom) tratavam-se de substâncias puras que foram denominadas de PS-8 (3,7 mg) ($[\alpha]_D^{20} = -128^\circ$, c 0,185, MeOH) e PS-9 (2,5 mg) ($[\alpha]_D^{20} = -140^\circ$, c 0,06, MeOH), respectivamente (Fluxograma 4, p. 64).



Fluxograma 4 – Isolamento de PS-6, PS-7, PS-8 e PS-9.

4.7. Estudo fitoquímico das raízes de *Psychotria stachyoides*

As raízes de *P. stachyoides* (1,2 kg) foram secas, trituradas em moinho de facas e extraídas com etanol, de modo exaustivo e à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se um extrato escuro e viscoso denominado de ERPS (100,4 g).

4.7.1. Partição líquido-líquido do ERPS

Parte do extrato ERPS (50,4 g) foi solubilizado em uma mistura de H₂O/MeOH (3:2). A solução resultante foi transferida para funil de separação e extraída com hexano (3 x 200 mL), CH₂Cl₂ (3 x 200 mL), AcOEt (3 x 200 mL) e MeOH. As respectivas frações foram secas com Na₂SO₄ anidro, e o solvente evaporado sob pressão reduzida para fornecer 4 frações resultantes conforme a Tabela 12 (p. 65).

Tabela 12 – Cromatografia de ERPS.

FRAÇÃO	MASSA
ERPS-H	3,9 g
ERPS-D	11,4 g
ERPS-A	1,4 g
ERPS-M	23,4 g
Rendimento	79 %

4.7.2. Fracionamento cromatográfico de ERPS-H

A fração ERPS-H (3,9 g) cromatografada em coluna flash e a mistura eluotrópica constou de hexano e AcOEt puros e em misturas binárias, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Este procedimento forneceu 93 frações, que foram reunidas em dez frações resultantes, de acordo com o resultado da análise comparativa por CCD (Tabela 13, p. 66).

Tabela 13 – Cromatografia de ERPS-H.

FRAÇÃO	MASSA
ERPS-H (1-10)	600 mg
ERPS-H (11-20)	124,8 mg
ERPS-H (21-30)	78,3 mg
ERPS-H (31-38)	18,4 mg
ERPS-H (39-57)	329,4 mg
ERPS-H (58-70)	243,4 mg
ERPS-H (71-82)	493,7 mg
ERPS-H (83-86)	562,8 mg
ERPS-H (87-91)	503,2 mg
ERPS-H (92-93)	822,0 mg
Rendimento	97 %

4.7.2.1. Fracionamento cromatográfico de ERPS-H (39-57)

A fração ERPS-H (39-57) (329,4 mg) foi submetida a um fracionamento em coluna flash cromatográfico isocrático utilizando uma mistura de hexano/AcOEt (95:05) como eluente. As 40 frações obtidas foram posteriormente reunidas em 3 frações resultantes, de acordo a análise comparativa por CCD, Tabela 14 (p. 66).

Tabela 14 – Cromatografia de FH (39-57).

FRAÇÃO	MASSA
ERPS-H (39-57) (1-19)	150,0 mg
ERPS-H (39-57) (20-30)	40,2 mg
ERPS-H (39-57) (31-40)	45,7 mg
Rendimento	71%

4.7.2.2. Fracionamento cromatográfico de ERPS-H (39-57)(20-30) e isolamento de PS-10.

A fração ERPS-H (39-57) (20-30) (40,2 mg) foi submetida a uma cromatografia preparativa, por eluição com hexano e acetato de etila (75:25). Deste procedimento resultaram duas frações resultantes (Tabela 15, p. 67).

Tabela 15 – Cromatografia de ERPS-H (39-57) (20-30).

FRAÇÃO	MASSA
ERPS-H (39-57) (20-30) P1	7,3 mg
ERPS-H (39-57) (20-30) P2	14 mg
Rendimento	53%

A fração ERPS-H (39-57) (20-30) P2 foi recromatografada em coluna flash, usando como eluente a mistura isocrática hexano/acetato de etila (98:02), para levar a obtenção de um sólido amarelo(4,2 mg), que foi denominado de PS-10.

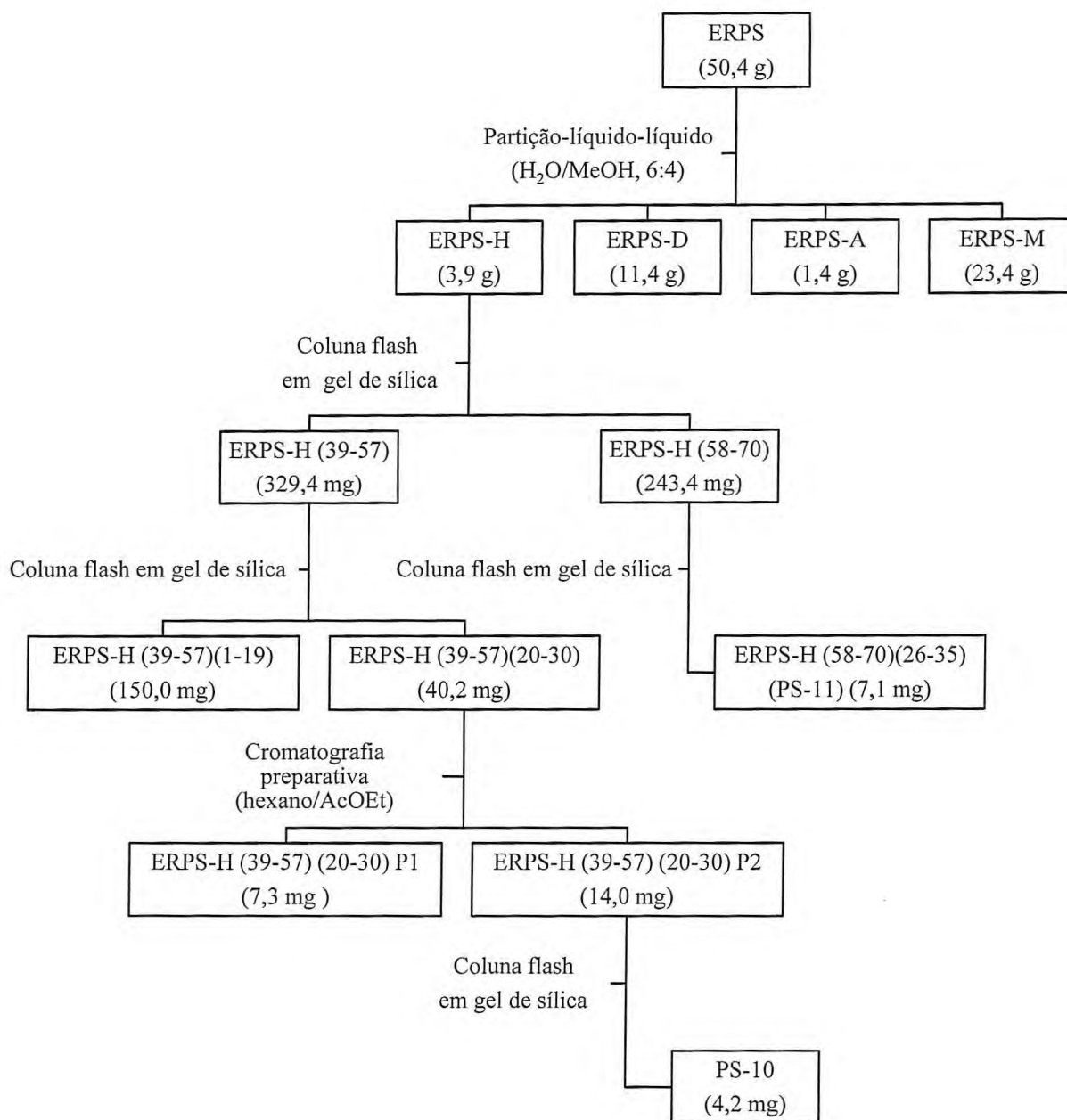
4.7.2.3. Fracionamento cromatográfico de ERPS-H (58-70) e isolamento de PS-11

A fração ERPS-H (58-70) (243,4 mg) foi recromatografada em coluna flash de gel de sílica e eluída com misturas binárias de hexano/AcOEt, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Este procedimento cromatográfico levou à obtenção de 43 frações, que foram posteriormente reunidas em 4 frações resultantes, conforme o perfil em CCD (Tabela 16, p. 67).

Tabela 16 – Cromatografia de ERPS-H (58- 70).

FRAÇÃO	MASSA
ERPS-H (58-70) (1-14)	6,7 mg
ERPS-H (58-70) (15-25)	20 mg
ERPS-H (58-70) (26-35)	38,5 mg
ERPS-H (58-70) (36-43)	44,5 mg
Rendimento	45%

A fração ERPS-H (58-70) (26-35) se mostrou como um sólido vermelho, e foi purificado em cromatografia preparativa, usando-se a mistura hexano/AcOEt (60:40) como eluente. Este procedimento resultou em um sólido vermelho (7,1 mg) que se mostrou homogêneo em CCD e foi denominado de PS-11 (Fluxograma 5, p. 68).



Fluxograma 5 – Isolamento de PS-10 e PS-11.

4.7.3. Fracionamento cromatográfico de ERPS-D e isolamento de PS-12 e PS-13

A fração ERPS-D (2,6 g) foi cromatografada em coluna flash, preenchida com 60,4 g de sílica gel e eluída com CH_2Cl_2 e MeOH puros, e em misturas binárias, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Ao final do procedimento foram obtidas 97 frações, que depois de analisadas por CCD, foram reunidas em 9 frações resultantes de acordo com as suas semelhanças (Tabela 17, p. 69).

Tabela 17 – Cromatografia de ERPS-D.

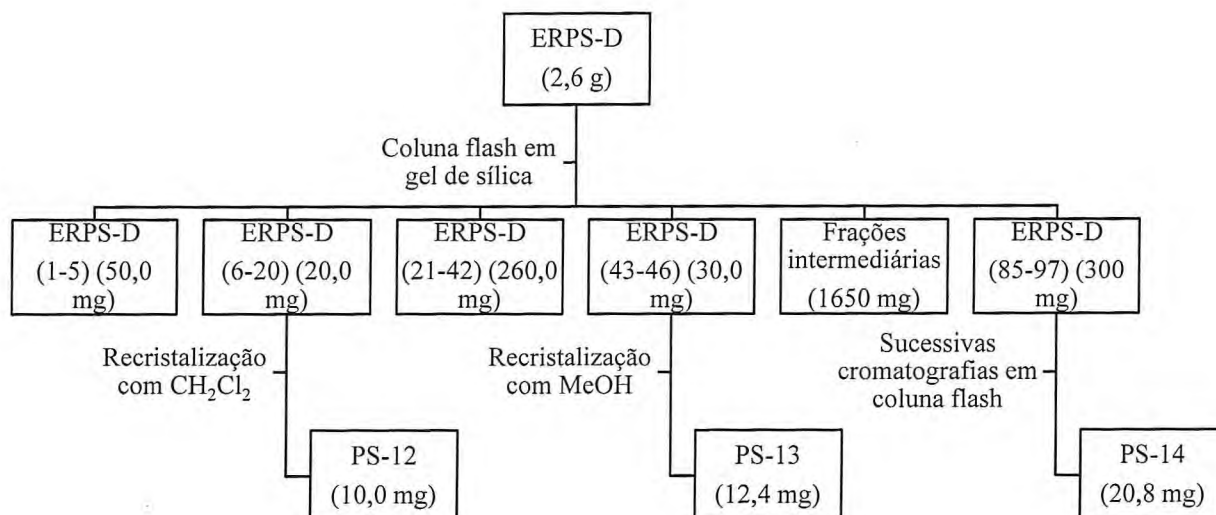
FRAÇÃO	MASSA
ERPS-D (1-5)	0,05 g
ERPS-D (6-20)	0,02 g
ERPS-D (21-42)	0,26 g
ERPS-D (43-46)	0,03 g
ERPS-D (47-59)	0,90 g
ERPS-D (60-65)	0,33 g
ERPS-D (66-71)	0,19 g
ERPS-D (72-84)	0,23 g
ERPS-D (85-97)	0,30 g
Rendimento	88%

A fração ERPS-D (6-20), se mostrou como um substância cristalina marrom, que após lavagem com diclorometano forneceu 10,0 mg de cristais incolores, denominado de PS-12.

A fração ERPS-D (43-46) foi submetida a lavagens com metanol, obtendo-se 12,4 mg de um sólido branco, que foi denominado de PS-13. Esta substância foi relacionada ao β -sitosterol glicosilado, segundo análise cromatográfica por CCD, cuja confirmação foi efetivada através da análise espectrométrica por RMN ^1H .

4.7.3.1. Fracionamento de ERPS-D (85-97) e isolamento de PS-14

Tratamento cromatográfico da fração ERPS-D (85-97) (300,0 mg) em coluna flash de gel de sílica, utilizando misturas binárias dos solventes hexano/AcOEt em uma ordem crescente de polaridade, possibilitou o isolamento de um sólido branco, amorfo (20,8 mg) denominado de PS-14. Após análise espectrométrica por RMN e comparação com dados da literatura (SU, 2003), PS-14 foi identificado como sendo o triterpeno ácido barbinérvico (Fluxograma 6, p. 70).



Fluxograma 6 – Isolamento de PS-12, PS-13 e PS-14.

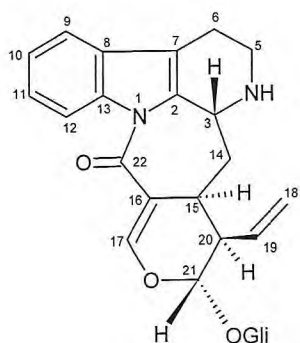
RESULTADOS E DISCUSSÃO



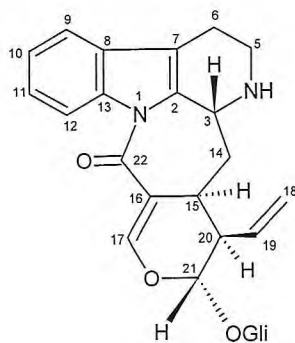
Para a caracterização estrutural dos constituintes químicos foram utilizados infravermelho, espectroscopia de massa, e técnicas unidimensionais e bidimensionais de ressonância magnética nuclear.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

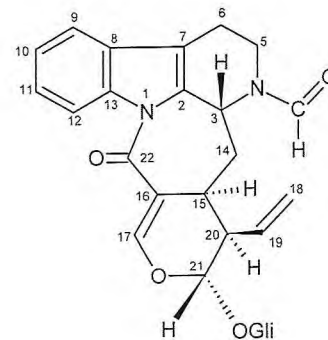
5.1. Estruturas das substâncias isoladas de *Psychotria stachyoides*



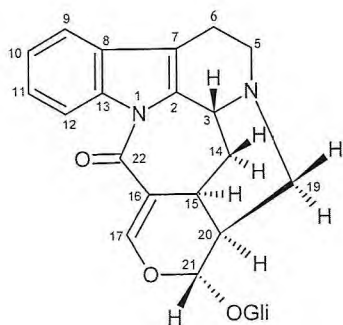
PS-1



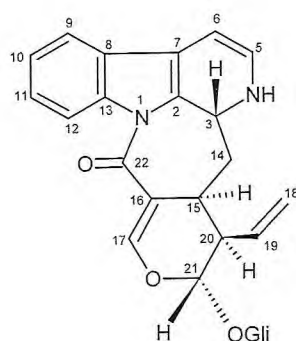
PS-3



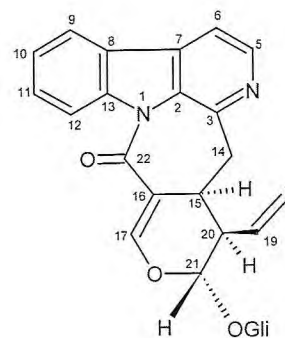
PS-9



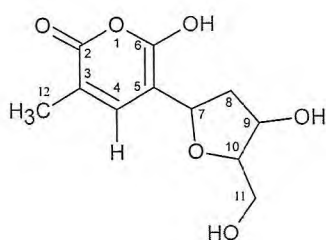
PS-8



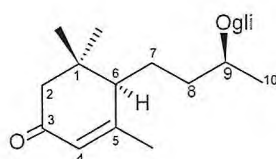
PS-2



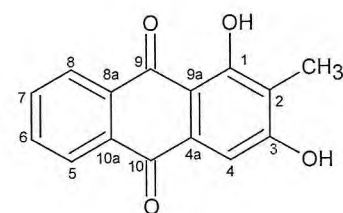
PS-6



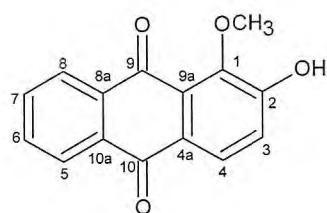
PS-7



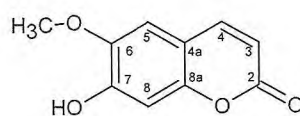
PS-4



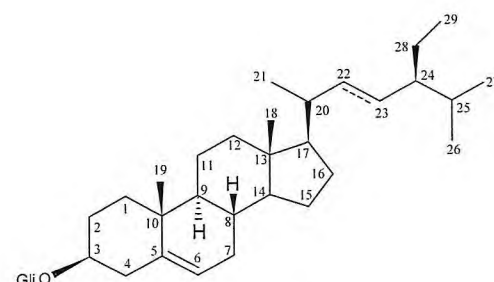
PS-10



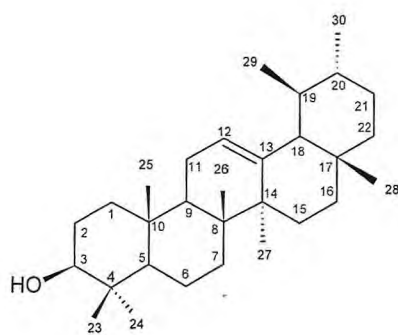
PS-11



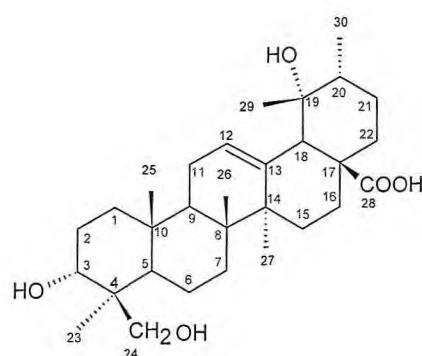
PS-12



PS-13



PS-5



PS-14

5.2. Determinação estrutural dos metabólitos secundários isolados de *Psychotria stachyoides*

5.2.1. Determinação estrutural de PS-1

Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração alcaloídica, obtida a partir do extrato etanólico das folhas (EFPS) de *P. stachyoides*, possibilitou o isolamento de uma substância sólida marrom, ponto de fusão 200,6-202,8 °C e $[\alpha]_D^{20} = -173^\circ$ (c 0,0075, MeOH), denominada de PS-1.

O espectro de absorção na região do infravermelho de PS-1 (Figura 3, p. 85) mostrou uma banda larga em 3414 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de ligação O-H/N-H, caracterizando presença de hidroxila ou grupo amina, além de absorção em 1675 cm^{-1} relativa à deformação axial C=O, evidenciando a existência de carbonila de amida. Foram ainda visualizadas bandas em 1616 e 1454 cm^{-1} de ligação C=C_{arom.}; 1201 e 1166 cm^{-1} referentes às deformações axiais C-O, e em 899 e 821 cm^{-1} relacionadas à deformação angular de ligação =C-H.

O espectro de RMN ^{13}C -BB de PS-1 (Figura 4, p. 85) apresentou 26 linhas espectrais, que após comparação com os dados obtidos no espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 5, p. 86), foi possível a identificação de 6 absorções relativas a carbonos não-hidrogenados (C), 15 absorções indicativas de carbonos metínicos (CH), e 5 absorções relativas a carbonos metilênicos (CH₂), (Tabela 18, p. 74). O sinal em δ_C 168,6 (C-22) foi atribuído a uma carbonila, enquanto que os sinais em δ_C 100,7 (C-1'), 74,9 (C-2'), 78,7 (C-3'), 71,8 (C-4'), 78,2 (C-5') e 63,1 (C-6') foram associados a carbonos sp³ oxigenados, compatíveis com uma

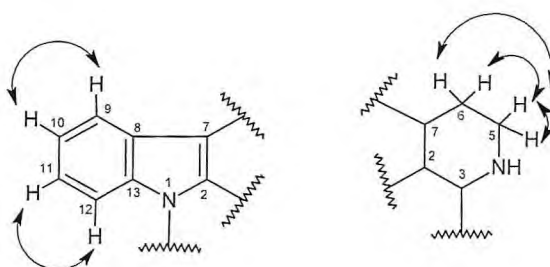
unidade de glicose. Na faixa de δ_C 112,7-155,6 foram relacionados 12 sinais de carbonos sp^2 , enquanto que 7 absorções na faixa de δ_C 23,2-97,5 foram atribuídos a carbonos sp^3 (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

O espectro de RMN 1H (Figura 6, p. 86) apresentou características de esqueleto aromático orto dissustituído, que foram reveladas pelos sinais em δ_H 7,22 (td, $J = 7,4$ Hz e 1,0 Hz, H-10), δ_H 7,26 (td, $J = 7,4$ Hz e 1,3 Hz, H-11), δ_H 7,45 (dd, $J = 7,4$ Hz e 1,3 Hz, H-9) e δ_H 8,15 (dd, $J = 7,4$ Hz e 1,0 Hz, H-12). Foram observados ainda sinais relativos a dois grupos metilênicos em δ_H 3,10 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H-5) e δ_H 2,70 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H-6), além de sinais de hidrogênios olefínicos em δ_H 5,20 (d, $J = 10,7$ Hz, H-18 α), δ_H 5,23 (d; $J = 17,4$ Hz, H-18 β), δ_H 5,85 (ddd, $J = 17,7, 10,1$ e $7,6$ Hz, H-19) e δ_H 7,71 (s, H-17). A existência de vários sinais com diferentes multiplicidades na faixa δ 4,82 a 3,23 confirmou a presença de hidrogênios osídicos, cujo sinal em δ_H 4,82 (d, $J = 8,2$ Hz, H-1') foi associado a um hidrogênio ligado a carbono anomérico com configuração β , através do valor da constante de acoplamento.

Tabela 18 – Dados de RMN ^{13}C de PS-1 com padrão de hidrogenação.

C	CH	CH ₂
112,7	35,7	23,2
117,0	45,6	36,7
131,0	50,6 (C-NH)	40,0
136,0 (C-N)	71,8 (C-OH)	63,1 (C-OH)
137,3	74,9 (C-OH)	119,3
168,6 (C=O)	78,2 (C-OH)	
	78,7	
	97,5 (C-O)	
	100,7 (C-O)	
	116,4	
	119,2	
	124,4	
	125,5	
	135,2	
	155,6 (C-O)	
6 C	15 CH	5 CH ₂
		C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₈

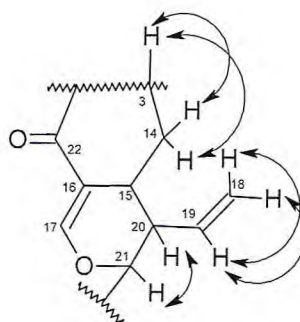
O espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (Figura 7, p. 87) mostrou o acoplamento do hidrogênio metínico e aromático em δ_{H} 7,45 (H-9) com o hidrogênio em δ_{H} 7,22 (H-10), e deste último com o hidrogênio em δ_{H} 7,26 (H-11), que por sua vez acopla com o hidrogênio δ_{H} 8,15 (H-12), confirmando a presença do anel aromático dissustituído do sistema indólico. Neste espectro foi observado também o acoplamento dos hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,10 (2H-5) com os outros em δ_{H} 2,70 (2H-6), indicando, desta forma, a existência de um sistema do tipo tetrahydro- β -carbolínico (SIMÕES-PIRES, 2006), conforme mostrado nas subestruturas 1 e 2.



Subestrutura 1 de PS-1.

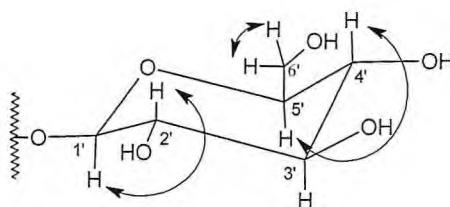
Subestrutura 2 de PS-1.

Foi evidente ainda o acoplamento do hidrogênio metínico em δ_{H} 4,20 (dd, $J = 7,3$ e $3,4$ Hz, H-3) com os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 1,98 (m, H-14 β) e 2,10 (m, H-14 α); e o acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 5,74 (d, $J = 8,65$ Hz, H-21) com o hidrogênio metínico em δ_{H} 2,64 (t, $J = 7,65$ Hz, H-20). Em adição, o acoplamento do hidrogênio olefínico metínico em δ_{H} 5,85 (H-19) com os metilênicos em δ_{H} 5,23 e 5,20 (H-18 α e H-18 β), revelaram a presença de uma dupla terminal monossustituída, e determinaram a presença de uma unidade de secologanina, como mostrado na subestrutura 3.



Subestrutura 3 de PS-1.

A existência de uma unidade osídica evidenciada no espectro de RMN ^1H , foi confirmada através do acoplamento do hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,80 (H-1') com o hidrogênio em δ_{H} 3,23 (H-2'); do hidrogênio em δ_{H} 3,30 (H-4') com o hidrogênio em δ_{H} 3,32 (H-5'); além de revelar o acoplamento geminal dos hidrogênios em δ_{H} 3,92 (H-6' α) e 3,68 (H-6' β), como visto na subestrutura 4, abaixo:



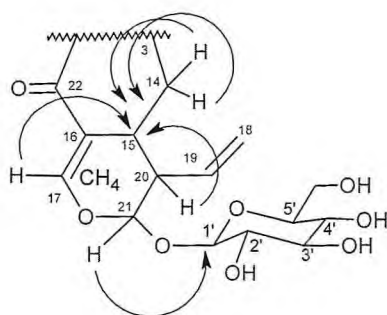
Subestrutura 4 de PS-1.

O espectro de HSQC (Figura 8, p. 88) permitiu a associação inequívoca de cada hidrogênio a seu respectivo carbono, de acordo com a Tabela 19 (p. 77). Neste espectro observou-se que os hidrogênios metínicos em δ_{H} 7,45 (H-9), 7,22 (H-10), 7,26 (H-11) e 8,15 (H-12) estavam conectados aos carbonos δ_{C} 119,2 (C-9), 124,4 (C-10), 125,5 (C-11) e 116,4 (C-12), respectivamente. Os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,10 (2H-5) mostraram-se relacionados ao carbono em δ_{C} 40,0 (C-5), enquanto que os hidrogênios em δ_{H} 2,70 (2H-6) se mostraram correlacionado ao carbono em δ_{C} 23,2 (C-6). Ainda neste espectro foi possível verificar que hidrogênios metilênicos não-equivalentes em δ_{H} 2,10 e 1,98 (2H-14) estavam ligados ao carbono em δ_{C} 119,3 (C-14), enquanto que os hidrogênios metilênicos da unidade glicopiranosídica em δ_{H} 3,93 e 3,70 (2H-6') encontravam-se relacionados ao carbono δ_{C} 63,1 (C-6').

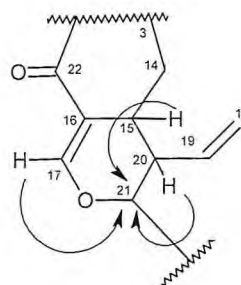
Tabela 19 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-1 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros de HSQC e HMBC.

	HSQC		HMBC	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., JHz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	136,0	-	H-3	2H-6; H-14b
7	117,0	-	2H-6	H-3; 2H-5; H-9
8	131,0	-	H-9	H-10; H-12
13	137,3	-	H-12	H-9; H-11
16	112,7	-	H-15; H-17	H-14a; H-20
22	168,6	-		H-15; H-17
CH				
3	50,6	4,20 (dd, 7,3 e 3,4)	2H-14	2H-5
9	119,2	7,45 (dd, 7,4 e 1,3)		
10	124,4	7,22 (td, 7,4 e 1,0)		H-12
11	125,5	7,26 (td, 7,4 e 1,3)		H-9
12	116,4	8,15 (dd, 7,4 e 1,0)	H-11	H-10
15	35,7	2,64 (t, 7,7)	2H-14; H-20	H-17; H-21
17	155,6	7,71 (s)		H-15
19	135,2	5,85(ddd, 17,65; 10,05 e 7,60)	2H-18; H-20	H-15; H-21
20	45,6	2,64 (t, 7,7)	H-15	H-14b
21	97,5	5,74 (d, 8,7)	H-20	H-1'; H-15; H-17; H-19
1'	100,7	4,82 (d, 8,2)	H-2'	H-3'; H-5'; H-21
2'	74,9	3,23 (dd, 9,1 e 8,0)	H-3'	
3'	78,7	3,41 (t, 9,1)	H-4'	
4'	71,8	3,30 (t, 9,1)	H-3'; H-5'	2H-6'
5'	78,2	3,32 (m)		
CH ₂				
5	40,0	3,10 (t, 5,5)	2H-6	
6	23,2	2,70 (t, 5,4)	2H-5	
14	36,7	1,98 (m); 2,10 (m)	H-15	H-20
18	119,3	5,20 (d, 10,7 Hz); 5,23 (d, 17,4)		H-20
6'	63,1	3,70 (dd, 11,9 e 6,2); 3,93 (dd, 11,9 e 1,9)	H-5'	H-4'

O espectro de HMBC (Figura 9, p. 89) corroborou com estes dados, à medida que revelou importantes correlações dos hidrogênios em δ_{H} 1,98 (H-14 α), δ_{H} 2,10 (H-14 β), δ_{H} 2,64 (H-20) e δ_{H} 7,71 (H-17) com o carbono em δ_{C} 35,7 (C-15). A posição da unidade glicosídica foi definitivamente estabelecida através da correlação do hidrogênio em δ_{H} 5,74 (H-21) com o carbono anomérico em δ_{C} 100,7 (C-1'), como mostrado na subestrutura 5. Observou-se também importantes correlações dos hidrogênios em δ_{H} 2,64 (H-20), δ_{H} 2,64 (H-15) e δ_{H} 7,71 (H-17) com o carbono em δ_{C} 97,5 (C-21), o que caracterizou definitivamente a unidade secologanina como observado na subestrutura 6.

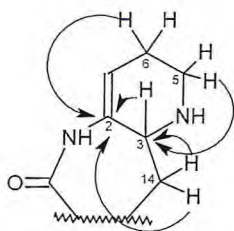


Subestrutura 5 de PS-1.

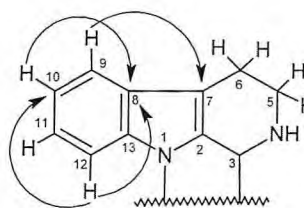


Subestrutura 6 de PS-1.

Continuando a análise do espectro bidimensional HMBC, observou-se as correlações dos hidrogênios em δ_H 3,10 (H-5) e 2,10 (H-14 β) com o carbono em δ_C 50,6 (C-3), além das correlações dos hidrogênios em δ_H 4,20 (H-3), δ_H 2,70 (2H-6) e δ_H 1,98 (H-14 α) com o carbono em δ_C 136,0 (C-2), como indicado na subestrutura 7. Neste espectro verificou-se também que o hidrogênio em δ_H 8,15 (H-12) acoplou com os carbonos em δ_C 131,0 (C-8) e 124,4 (C-10); o hidrogênio em δ_H 7,22 (H-10) mostrou correlação com o carbono em δ_C 131,0 (C-8), e o hidrogênio em δ_H 7,45 (H-9) correlacionou-se com o carbono em δ_C 117,0 (C-7), respectivamente, de acordo com a subestrutura 8:



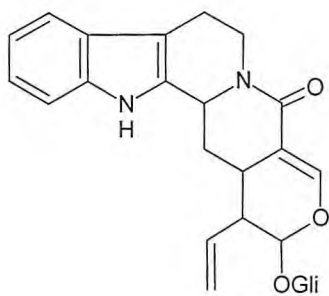
Subestrutura 7 de PS-1.



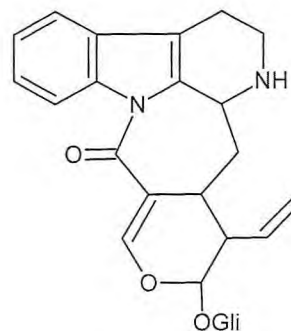
Subestrutura 8 de PS-1.

A reunião de todos estes dados espectroscópicos nos levou a duas alternativas estruturais possíveis para PS-1.

- I. A carbonila da unidade secologanina poderia estar ligada ao N-4, de acordo com um esqueleto indólico usualmente encontrado na literatura (Estrutura A);
- II. A carbonila da unidade secologanina poderia estar ligada ao N-1 (Estrutura B), cuja ocorrência de alcalóides contendo este tipo de esqueleto é rara, sendo encontrada apenas em *P. correae*.



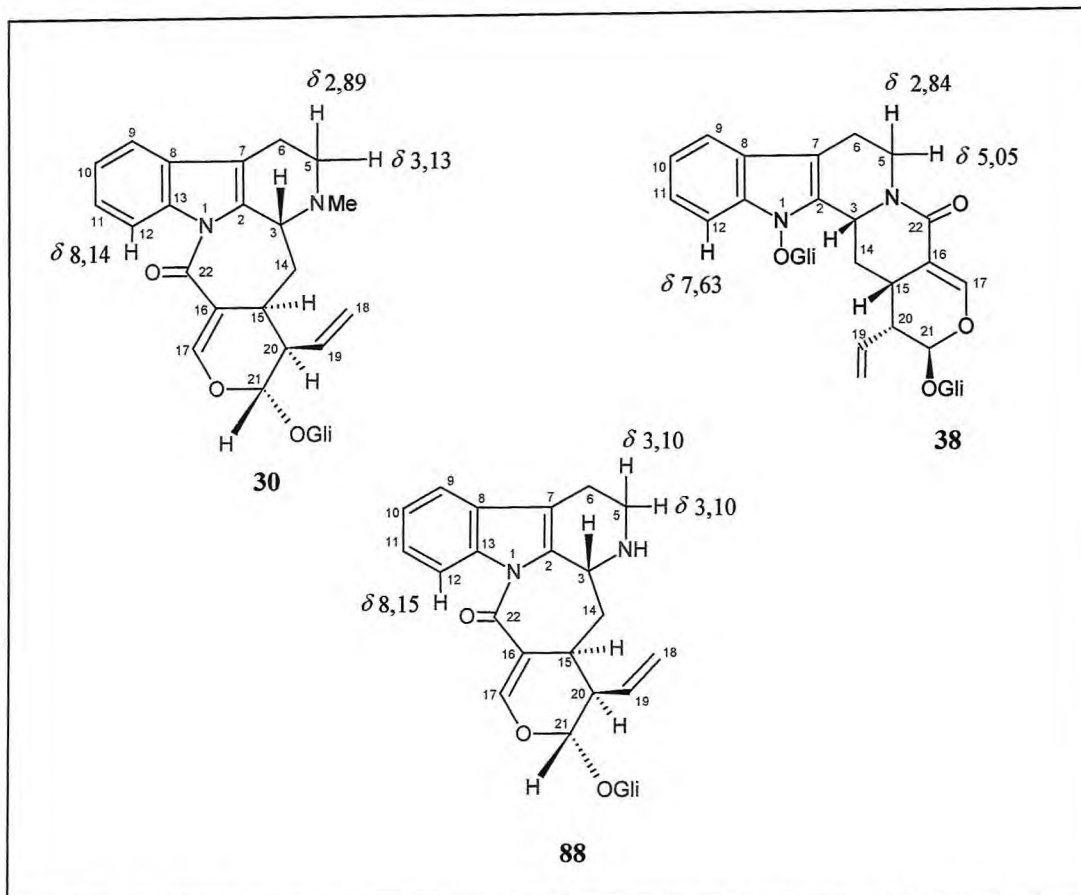
Estrutura A.



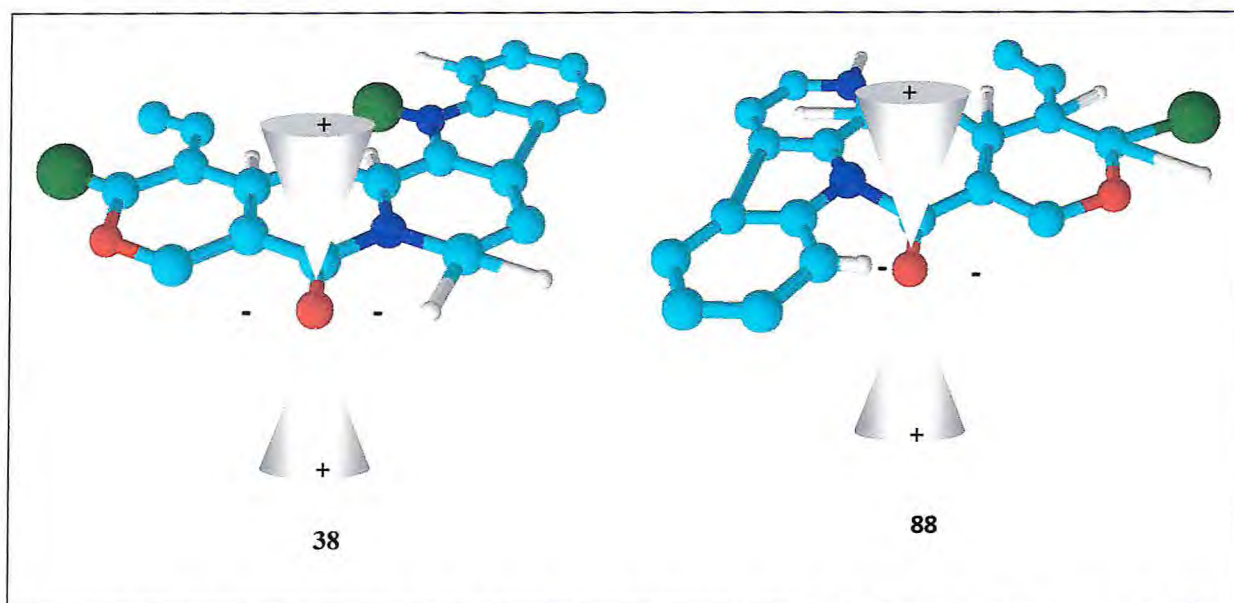
Estrutura B.

A confirmação para a estrutura definitiva de PS-1 se deu após comparação dos seus dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C com os dados registrados na literatura para o alcalóide do tipo β -carbolínicos, correantosídeo (30), isolado de *Psychotria correa*, e *N*- β -D-glicopiranosil vincosamida (38), isolada de *Psychotria leiocarpa* (ACHENBACH, 1995; HENRIQUES, 2004).

Observando estes dados, concluiu-se que a unidade de secologanina em PS-1 deveria estar ligada ao N-1. Para as estruturas de PS-1 e correantosídeo, o hidrogênio H-12 absorve em aproximadamente δ_{H} 8,15, em situação de desproteção em relação ao mesmo hidrogênio na estrutura da *N*- β -D-glicopyranosyl vincosamida, que se encontra absorvendo em δ_{H} 7,63. Estes dados podem ser explicados pela ação do efeito anisotrópico de blindagem que a carbonila em C-22 exerce sobre o hidrogênio H-12. Por outro lado, observou-se ainda, que quando a secologanina está ligada ao N-4, como no caso da estrutura da *N*, β -D-glicopyranosil vincosamida, este efeito anisotrópico de blindagem é evidenciado no hidrogênio H-5b, que absorve em δ_{H} 5,05, e, desta forma, se encontra blindado em torno de δ 1,95 ppm em relação ao mesmo hidrogênio na estrutura de PS-1 e do correantosídeo (Quadro 5, p. 80 e Quadro 6, p. 80).

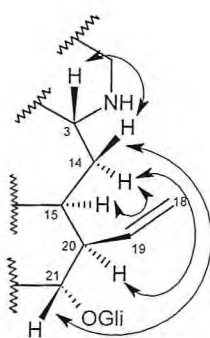


Quadro 5 – Estruturas químicas de correantósideo (30), *N*- β -D-glucopiranosil vincosamida (38) e PS-1 (88).



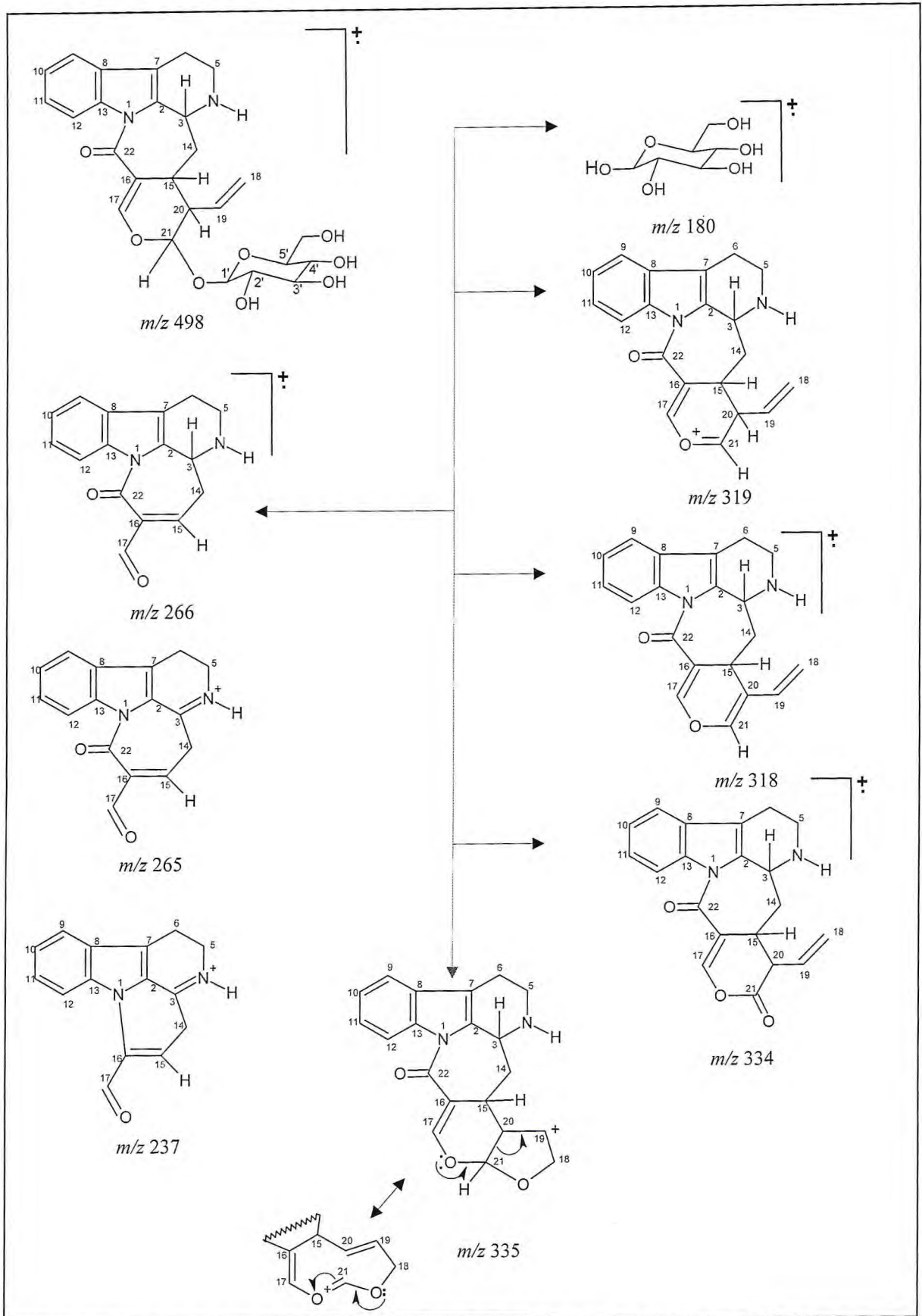
Quadro 6 – Zonas de proteção (+) e desproteção (-) na *N*- β -D-glucopyranosil vincosamida (38) e PS-1 (88).

A determinação da estereoquímica relativa para PS-1 foi determinada baseada principalmente no experimento de ^1H - ^1H -NOESY (Figura 10, p. 90), que mostrou as interações espaciais entre os hidrogênios em δ_{H} 4,20 (H-3) com δ_{H} 2,10 (H-14 β), e deste último com o hidrogênio em δ_{H} 5,74 (H-21); além dos acoplamentos do hidrogênio em δ_{H} 1,98 (H-14 α) com os hidrogênios em δ_{H} 2,64 (H-15) e δ_{H} 2,64 (H-20), de acordo com a subestrutura 9.



Subestrutura 9 de PS-1.

A observação do pico correspondente ao íon molecular em m/z 499,2039 daltons $[\text{M} + \text{H}]^+$, observado no espectro de massas de alta resolução de PS-1 (Figura 11, p. 91), aliado aos dados de integração do espectro de RMN ^1H , e ao número de carbonos notados no espectro de RMN ^{13}C , permitiram sugerir para PS-1 a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$, com Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a treze. O Quadro 7 (p. 83) mostra os principais fragmentos registrados no espectro de massa por impacto eletrônico (Figura 12, p. 91), e que auxiliaram na elucidação da estrutura proposta para PS-1.



Quadro 7 – Proposta mecânica para alguns fragmentos de PS-1.

Tabela 20 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C de PS-1 e correantosídeo.

	Correantosídeo (CD_3OD) (ACHENBACH, 1995)	PS-1 (CD_3OD)
C		
2	134,3	136,0
3	57,8	50,6
5	46,4	40,0
6	18,8	23,2
7	115,7	117,0
8	130,4	131,0
9	119,2	119,2
10	124,2	124,4
11	125,5	125,5
12	116,0	116,4
13	137,3	137,3
14	34,4	36,7
15	35,7	35,7
16	112,2	112,7
17	155,7	155,6
18	119,2	119,3
19	135,1	135,2
20	45,4	45,6
21	97,4	97,5
22	168,2	168,6
1'	100,5	100,7
2'	74,7	74,9
3'	78,6	78,7
4'	71,6	71,8
5'	78,0	78,2
6'	62,9	63,1

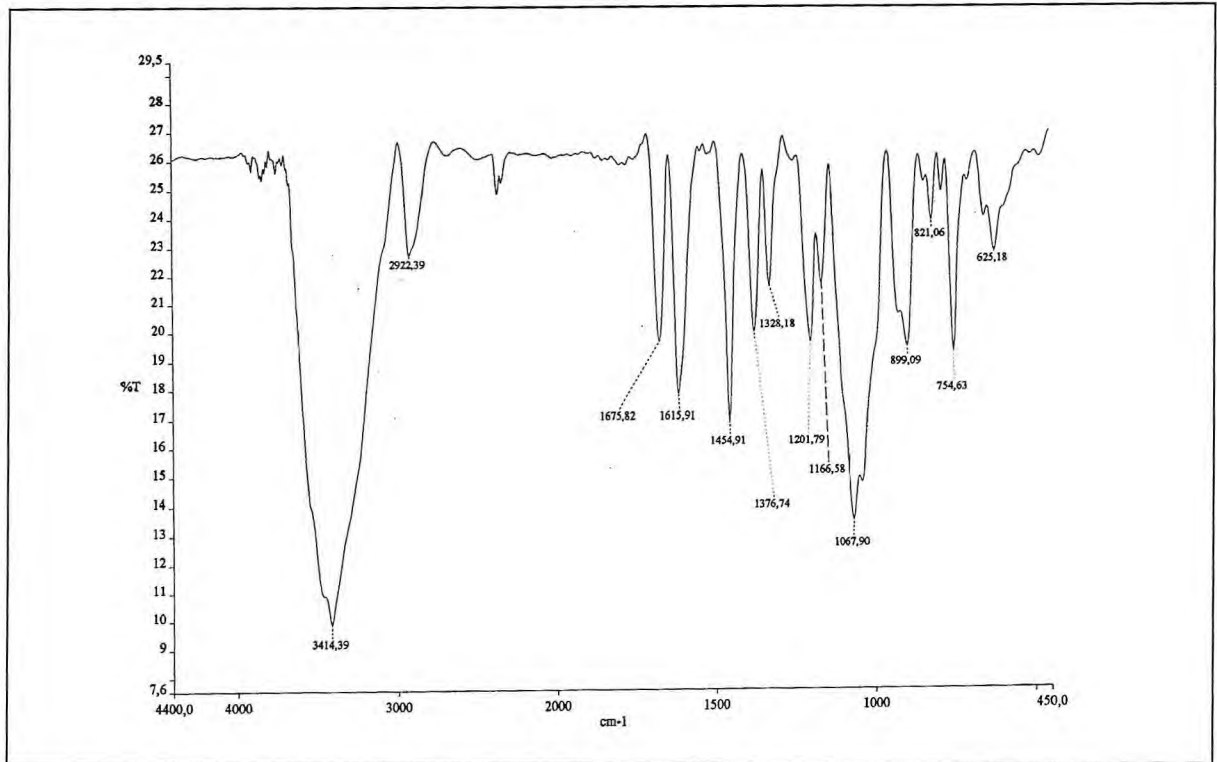


Figura 3 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-1.

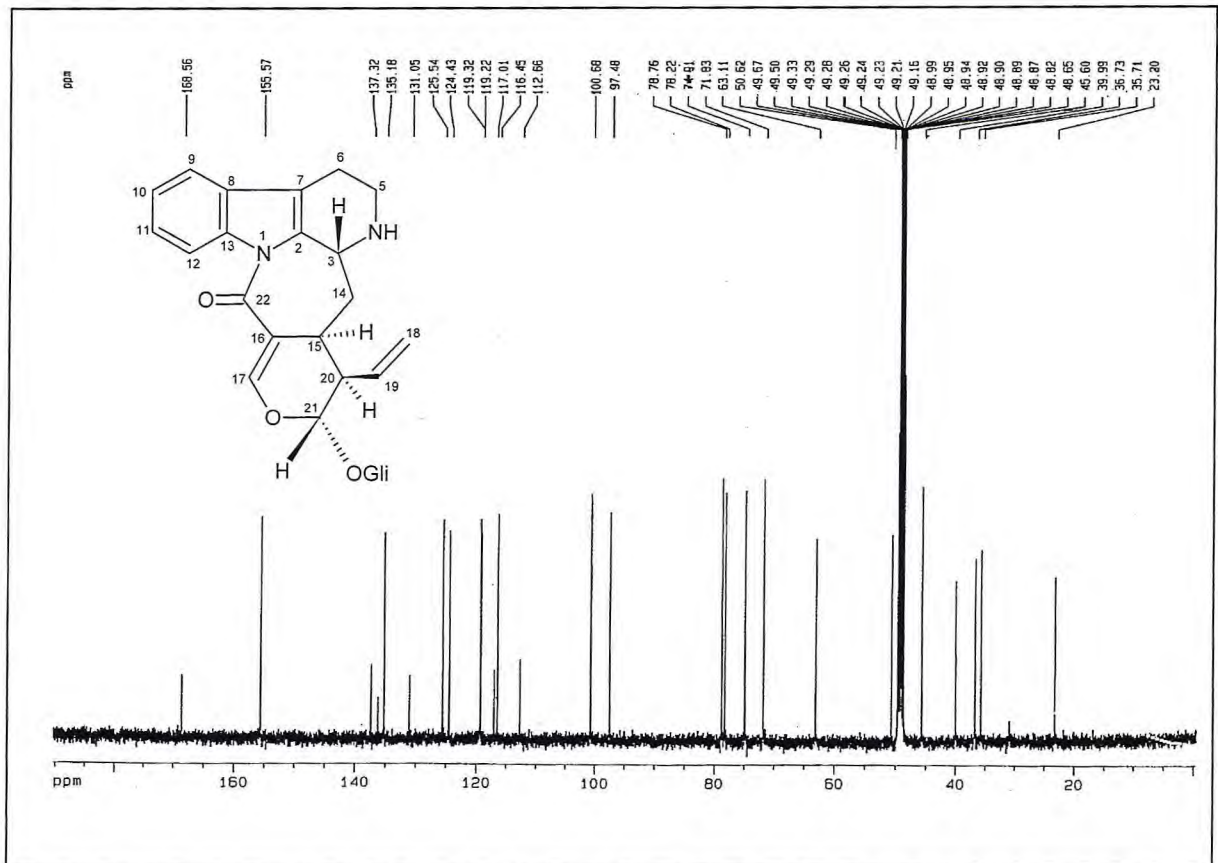


Figura 4 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD) de PS-1.

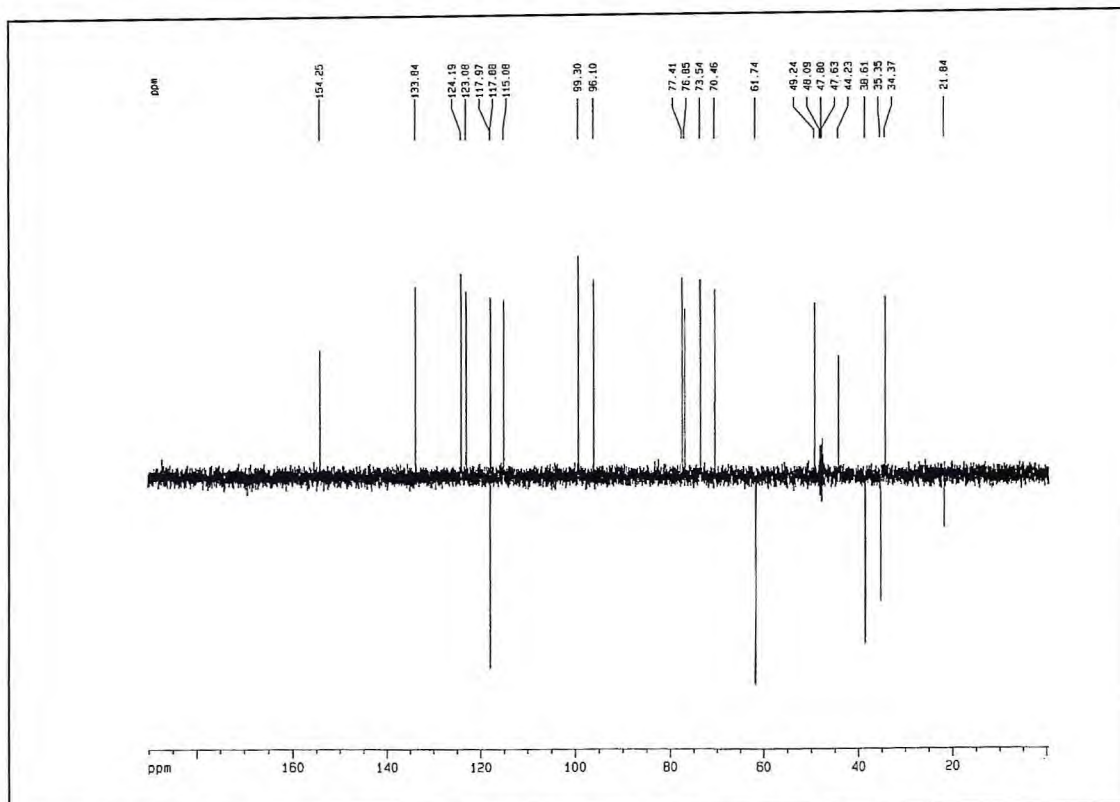


Figura 5 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-1.

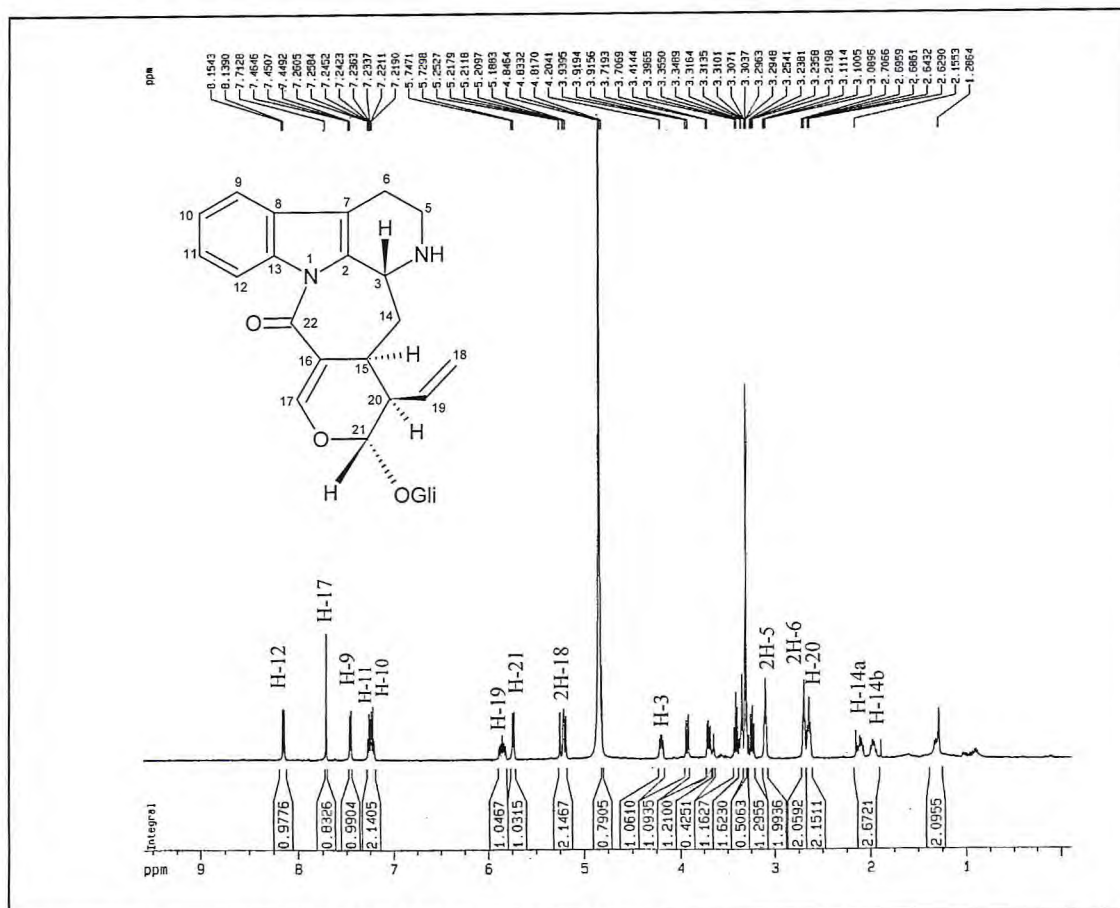


Figura 6 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-1.

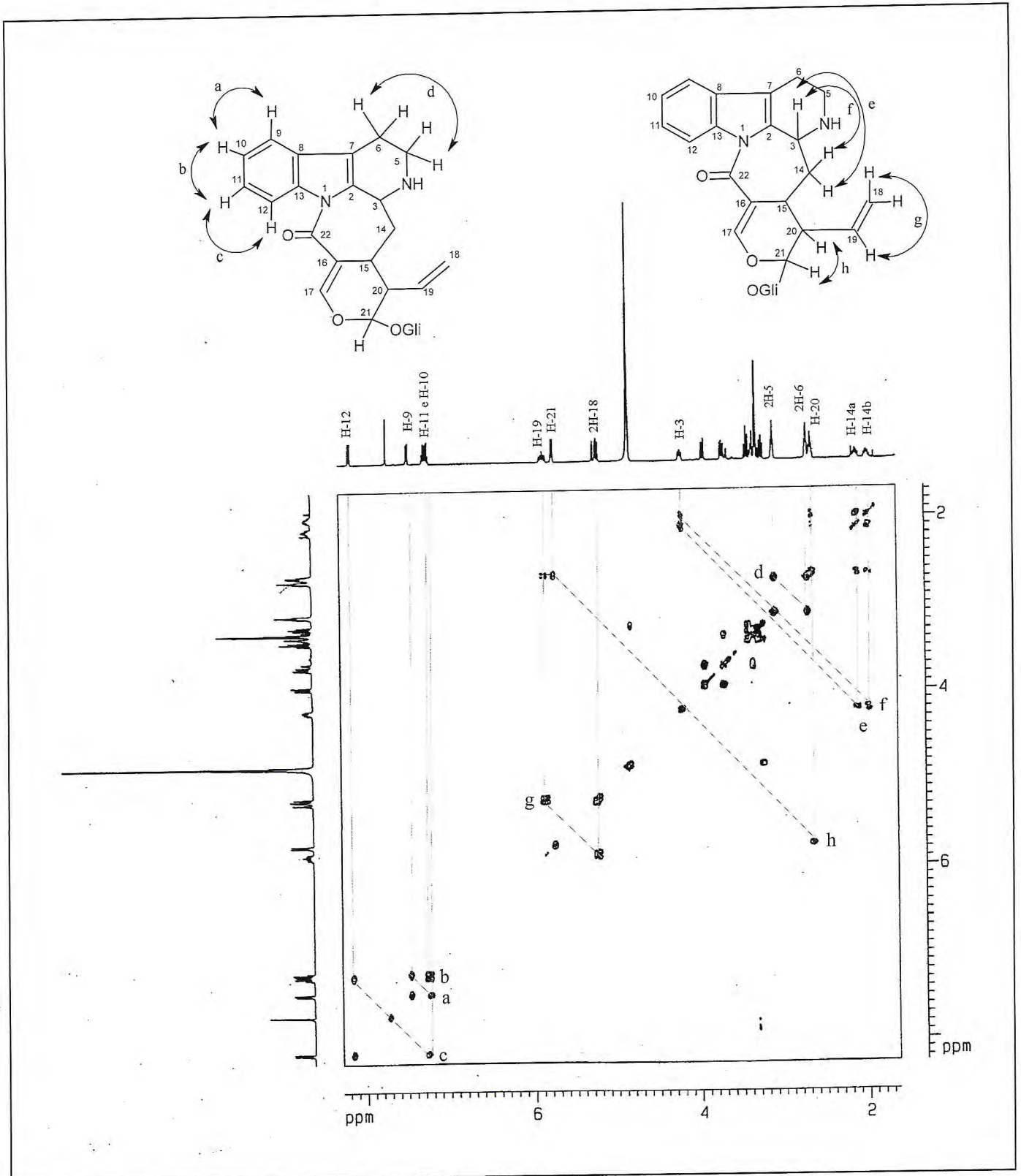


Figura 7 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-1.

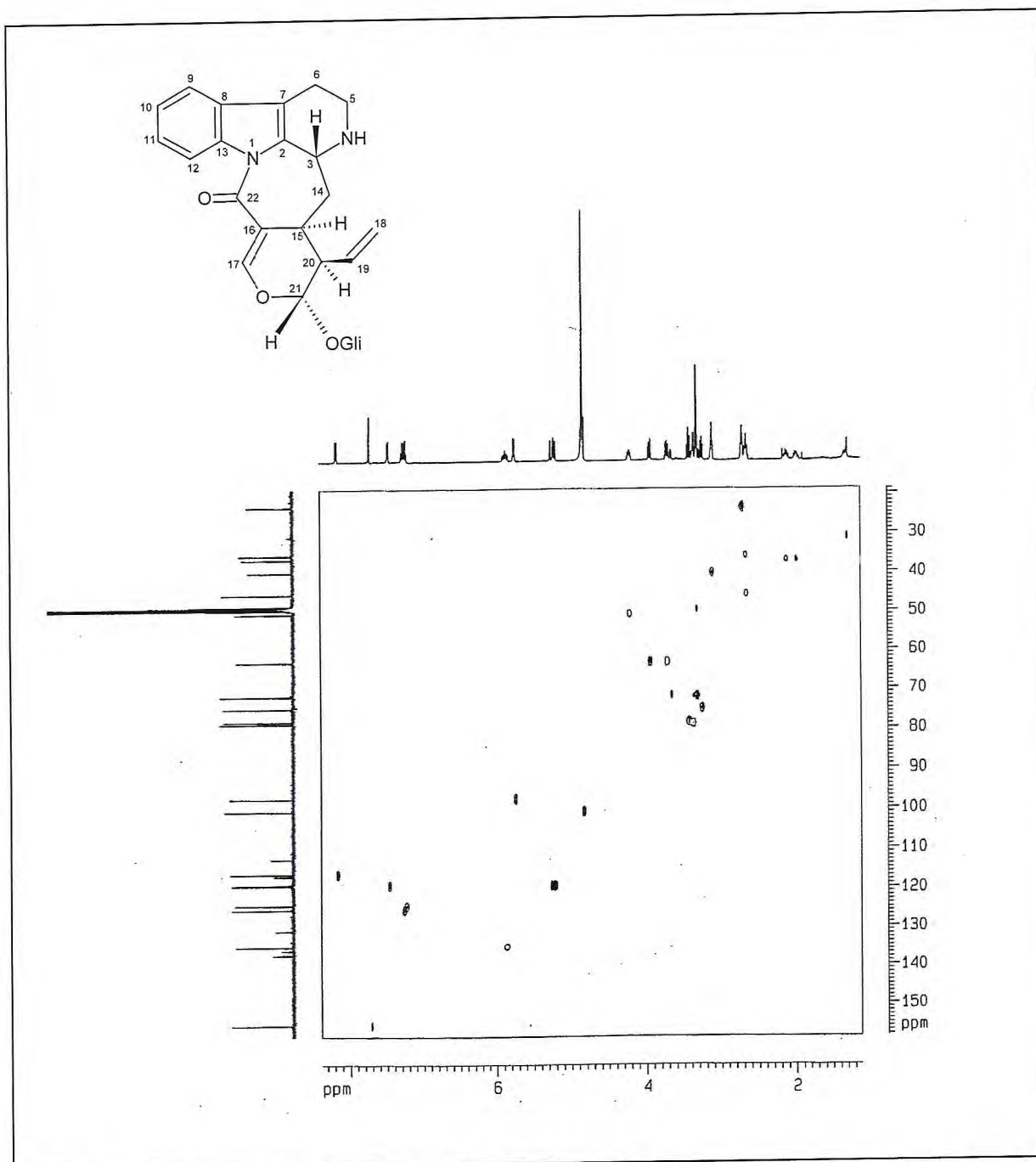


Figura 8 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-1.

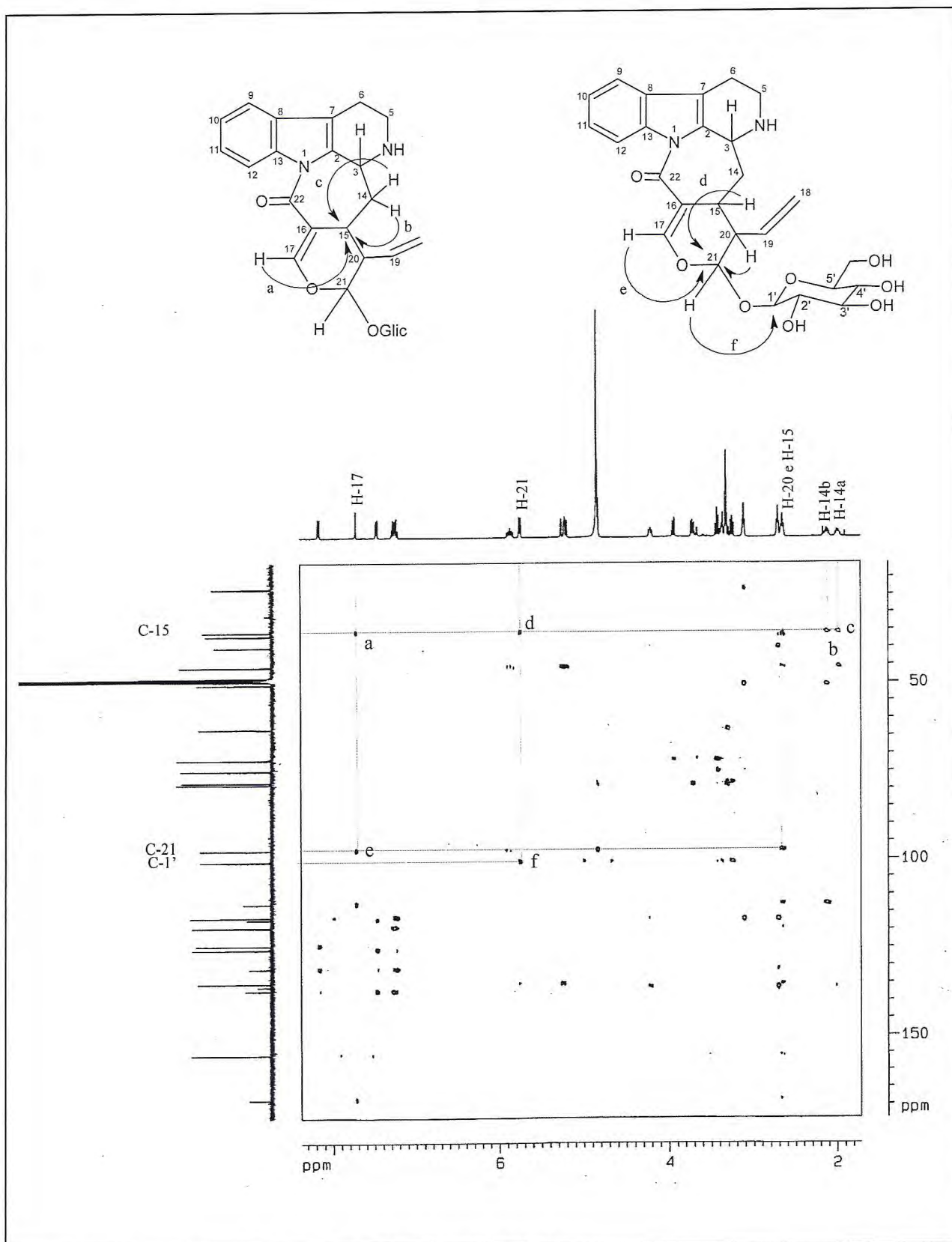


Figura 9 – Mapa de correlação HMBC (CD₃OD) de PS-1.

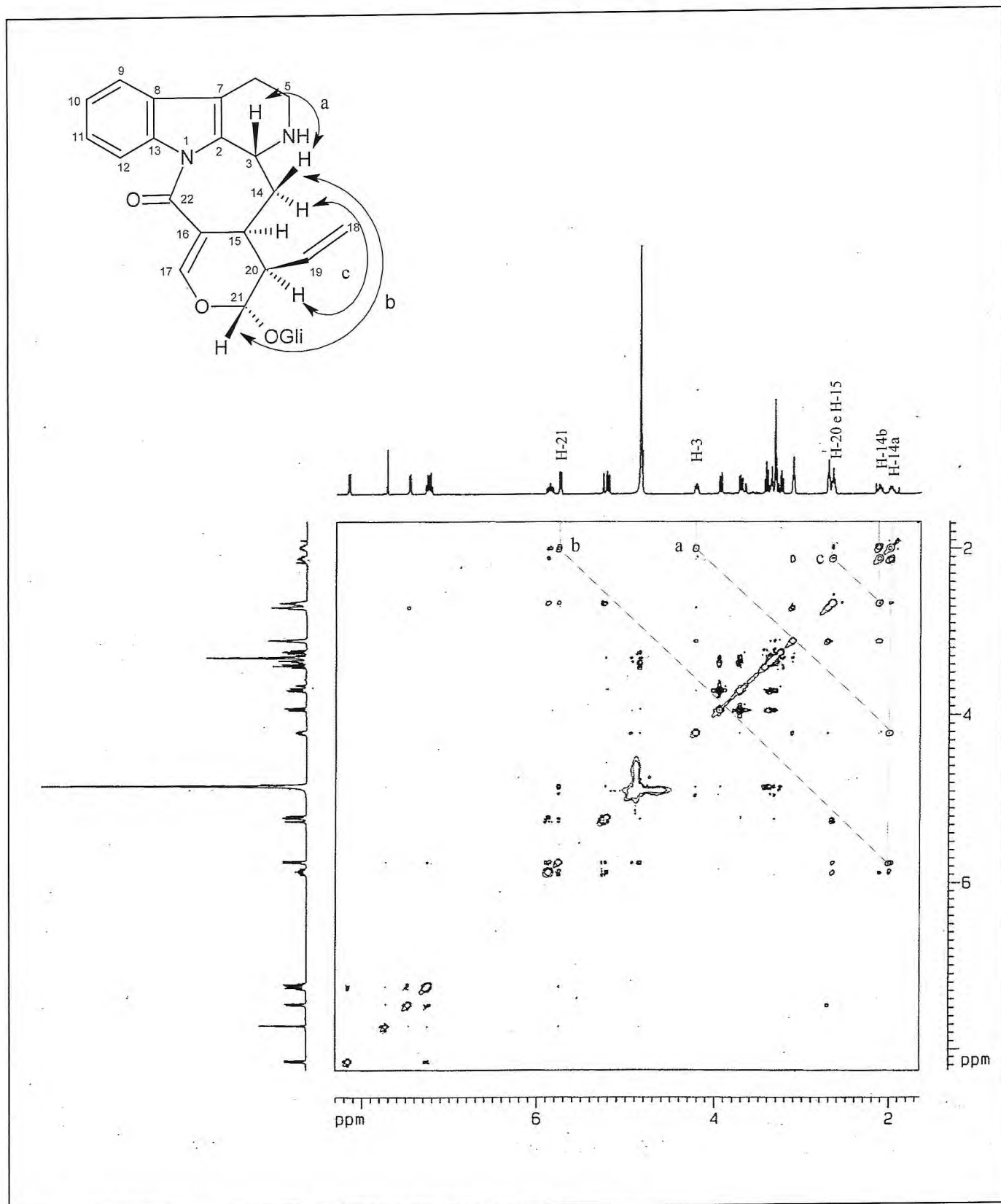


Figura 10 – Mapa de correlação NOESY (CD_3OD) de PS-1.

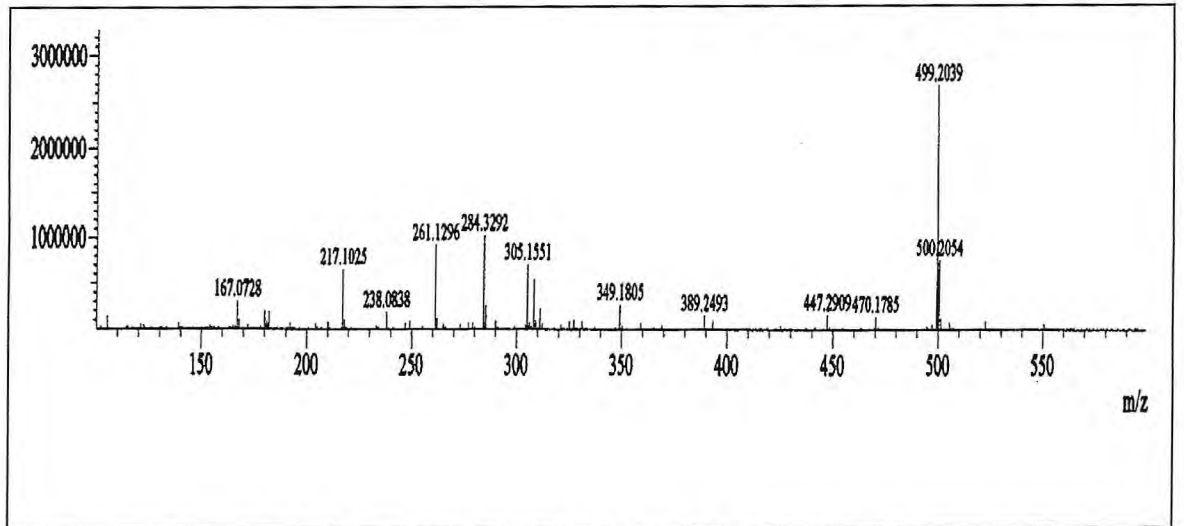


Figura 11 – Espectro de massas de alta resolução de PS-1.

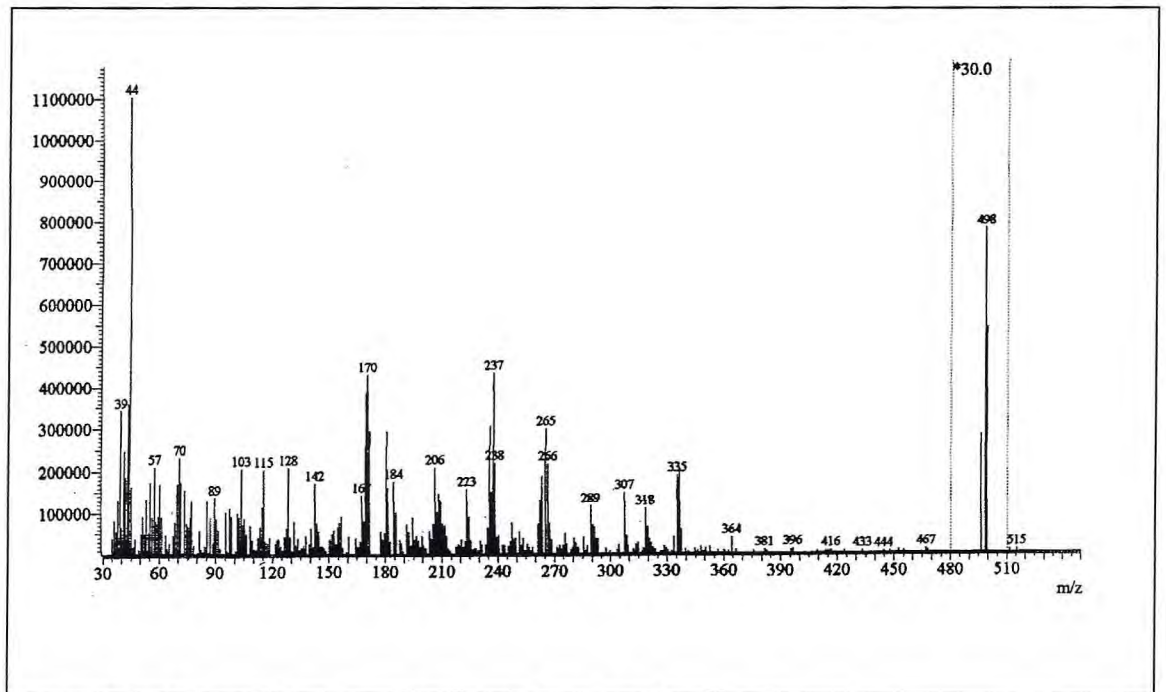


Figura 12 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-1.

5.2.2. Determinação Estrutural de PS-3

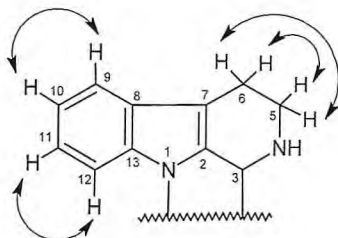
Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração alcaloídica obtida a partir do extrato etanólico das folhas (EFPS), levou ao isolamento de PS-3 como uma resina marrom, rotação óptica, $[\alpha]_D^{20} = -32,5^\circ$ (c 0,42, MeOH).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 13, p. 97), de PS-3, apresentou uma banda larga na região de 3423 cm^{-1} , correspondente á deformação axial de ligação O-H/N-H, caracterizando presença de grupos hidroxila e/ou amina, e absorção em 1684 cm^{-1} relativa á deformação axial C=O, evidenciando a existência de carbonila. Além destas, foram visualizados também bandas em 1206 e 1142 cm^{-1} referentes às deformações axiais C-O, e bandas esqueléticas em 1451 cm^{-1} referente á ligação C=C, que juntamente com as absorções em 803 e 724 cm^{-1} , de deformações angulares de ligações =C-H, ratificaram a presença de um núcleo aromático (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

O espectro de RMN ^{13}C de PS-3 (Figura 14, p. 98) mostrou-se bastante semelhante a PS-1. Assim como em PS-1, foram apresentadas 26 linhas espectrais, das quais 12 absorções foram referentes a carbonos sp^2 na faixa de δ_{C} 110,9-157,1 e 7 absorções foram relacionadas a carbonos sp^3 na faixa de δ_{C} 19,6-97,4. O sinal em δ_{C} 167,4 (C-22) foi atribuído a uma carbonila, enquanto que os sinais em δ_{C} 100,7 (C-1'), 74,8 (C-2'), 78,1 (C-3'), 71,8 (C-4'), 78,8 (C-5') e 63,1 (C-6') foram associados a carbonos sp^3 oxigenados, compatíveis com uma unidade glicosídica. Comparação destes dados com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 15, p. 99), possibilitou determinar para a estrutura de PS-3 a presença de 6 carbonos não-hidrogenados (C), 15 carbonos metínicos (CH) e 5 carbonos metilênicos (CH_2) (Tabela 21, p. 93).

Os dados do espectro de RMN ^1H (Figura 16, p. 100) de PS-3 também demonstrou uma estreita semelhança com aqueles obtido para PS-1. Neste espectro foi observado a presença do sistema tetrahydro- β -carbolínico, através dos sinais em δ_{H} 7,56 (d, $J = 7,6$ Hz, H-9) e δ_{H} 8,20 (d, $J = 7,6$ Hz, H-12), δ_{H} 7,30 (t, $J = 7,6$ Hz, H-10) e δ_{H} 7,36 (t, $J = 7,6$ Hz, H-11), além dos sinais de dois grupos metilênicos em δ_{H} 3,63 (m, H-5) e δ_{H} 3,08 (m, H-6). Esta informação foi confirmada no espectro de COSY (Figura 17, p. 101) através dos acoplamentos do hidrogênio metínico em δ 7,56 (H-9) com o hidrogênio em δ_{H} 7,30 (H-10); do hidrogênio em δ_{H} 7,36 (H-11) com o hidrogênio em δ_{H} 8,20 (H-12); e dos hidrogênios

metilênicos em δ_H 3,63 (2H-5) com o hidrogênio em δ_H 3,08 (2H-6) (Subestrutura 1). Foram ainda visualizados no espectro de RMN 1H os sinais característicos da unidade de glicose na faixa de δ_H 3,25 a 4,85, além dos hidrogênios olefínicos da unidade secologanina em δ_H 7,80 (s, H-17), δ_H 5,30 (d, $J = 17,2$, H-18 α), δ_H 5,25 (d, $J = 10,7$, H-18 β) e δ_H 5,82 (m, H-19).



Subestrutura 1 de PS-3.

Tabela 21 – Dados de RMN ^{13}C de PS-3 com padrão de hidrogenação.

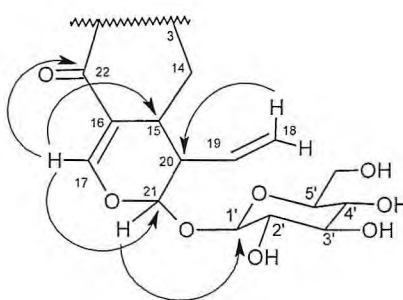
C	CH	CH ₂
110,9	34,7	19,6
115,3	45,0	34,0
129,2 (C-N)	51,2 (C-NH)	39,0
129,4	71,8 (C-OH)	63,1 (C-OH)
137,8	74,8 (C-OH)	120,1
167,4 (C = O)	78,1 (C-OH)	
	78,8 (C-O)	
	97,4	
	100,7 (C-O)	
	116,6	
	119,8	
	124,9	
	126,8	
	134,5	
	157,1 (C-O)	
6 C	15 CH	5 CH ₂
		C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₈

A correlação direta dos hidrogênios de PS-3 aos seus respectivos carbonos foi realizada através do espectro HSQC, (Figura 18, p.102) cujos dados observados neste espectro possibilitaram a construção da Tabela 22 (p. 94).

Tabela 22 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-3 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.

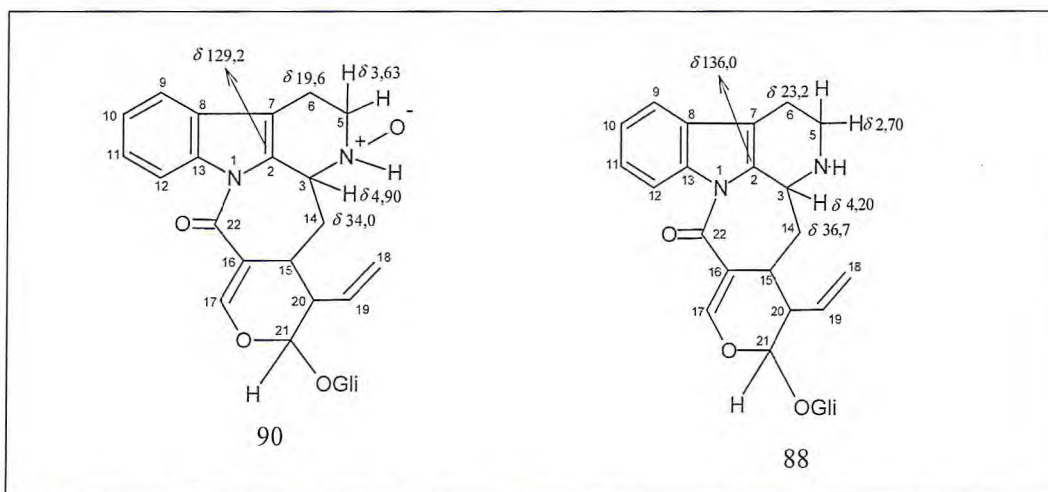
	HSQC		HMBC	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	129,2	-		
7	115,3	-		H-9
8	129,4	-		H-10; H-12
13	137,8	-		H-9; H-11
16	110,9	-	H-17	
22	167,4	-		H-17
CH				
3	51,2	4,90		
9	119,8	7,56 (d, 7,6)		H-11
10	124,9	7,30 (t, 7,6)		H-12
11	126,8	7,36 (t, 7,6)		H-9
12	116,6	8,20 (d, 7,6)		H-10
15	34,7	2,82 (m)		H-17
17	157,1	7,80 (s)		
19	134,4	5,82 (m)	2H-18	
20	45,0	2,71 (m)		2H-18
21	97,4	5,77 (d, 9,3)		H-1'; H-17
1'	100,7	4,85	H-2'	H-21
2'	74,8	3,25 (m)		
3'	78,1	3,42 (m)	H-4'	
4'	71,8	3,31	H-3'	
5'	78,8	3,36 (m)	H-6'b	
CH ₂				
5	39,6	3,63 (m)		
6	19,6	3,08 (m)		
14	34,0	2,33 (m); 2,25 (m)		
18	120,1	5,30 (d, 17,2); 5,25 (d, 10,7)		
6'	63,1	3,97 (d, 11,3); 3,68 (m)		

O espectro de correlação bidimensional à longa distância HMBC (Figura 19, p. 103) mostrou as correlações do hidrogênio em δ_{H} 7,80 (s, H-17) com os carbonos em δ_{C} 34,7 (C-15), 97,4 (C-21) e 167,4 (C-22); e dos hidrogênios metilênicos em δ_{H} 5,30 (d, $J = 17,2$ Hz, H-18 α) e 5,25 (d, $J = 10,65$ Hz, H-18 β) com o carbono em δ_{C} 45,0 (C-20). Assim como em PS-1, a posição relativa da ligação glicosídica em C-21 foi confirmada através da correlação do hidrogênio cetálico em δ_{H} 5,77 (d, $J = 9,3$ Hz, H-21) com o carbono anomérico em δ_{C} 100,7 (C-1'). Estes dados nos levaram à construção da subestrutura 2 relacionada a unidade de secologanina, como observado para PS-1.



Subestrutura 2 de PS-3.

A análise de todos os dados espectrais indicou que PS-3 possui o mesmo esqueleto que PS-1, porém com algumas diferenças de deslocamentos químicos, principalmente referentes aos hidrogênios em δ_H 4,90 (H-3), δ_H 3,63 (2H-5), e dos carbonos em δ_C 129,2 (C-2), δ_C 19,6 (C-6) e δ_C 34,0 (C-14) (Tabela 23, p. 96). Desta forma, foi proposto para PS-3 a presença do grupo N-óxido (N-O), oriundo da oxidação do nitrogênio-4, o que justificou a blindagem desses hidrogênios em relação a PS-1. A presença deste grupo também explicaria a relativa blindagem dos carbonos C-2, C-6 e C-14 em PS-3 em relação a PS-1, devido à influência do efeito de proteção γ do átomo de oxigênio nestes carbonos (Quadro 8, p. 95).



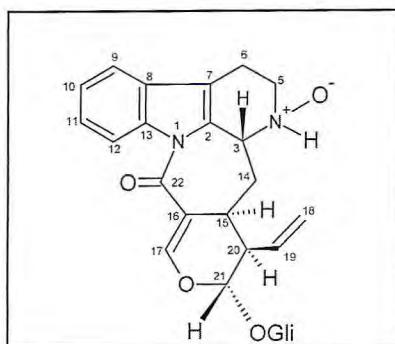
Quadro 8 – Estruturas de PS-3 (90) e PS-1 (88), com alguns valores de deslocamentos químicos de RMN 1H e ^{13}C .

Tabela 23 – Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-3 e PS-1.

	PS-3		PS-1	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
2	129,2	-	136,0	-
7	115,3	-	117,0	-
8	129,4	-	131,0	-
13	137,8	-	137,3	-
16	110,9	-	112,7	-
22	167,4	-	168,6	-
CH				
3	51,2	4,90	50,6	4,20
9	119,8	7,56	119,2	7,45
10	124,9	7,30	124,4	7,22
11	126,8	7,36	125,5	7,26
12	116,6	8,20	116,4	8,15
15	34,7	2,82	35,7	2,64
17	157,1	7,80	155,6	7,71
19	134,4	5,82	135,2	5,85
20	45,0	2,71	45,6	2,64
21	97,4	5,77	97,5	5,74
1'	100,7	4,85	100,7	4,82
2'	74,8	3,25	74,9	3,23
3'	78,1	3,42	78,7	3,41
4'	71,8	3,31	71,8	3,30
5'	78,8	3,36	78,2	3,32
CH ₂				
5	39,6	3,63	40,0	3,10
6	19,6	3,08	23,2	2,70
14	34,0	2,33 ; 2,25	36,7	1,98; 2,10
18	120,1	5,30; 5,25	119,3	5,20; 5,23
6'	63,1	3,97; 3,68	63,1	3,70; 3,93

Esta sugestão foi posteriormente confirmada através da obtenção do espectro de massas de alta resolução (Figura 20, p. 104), que revelou o pico do aduto molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ com m/z 537,3963, com 16 unidades de massa a mais que PS-1.

A junção de todos os dados espectrais reunidos possibilitou sugerir a estrutura de PS-3 como um derivado oxidado de PS-1, denominado de correantósídeo B e de caráter inédito na literatura (Estrutura 90).



Estrutura de PS-3 (90).

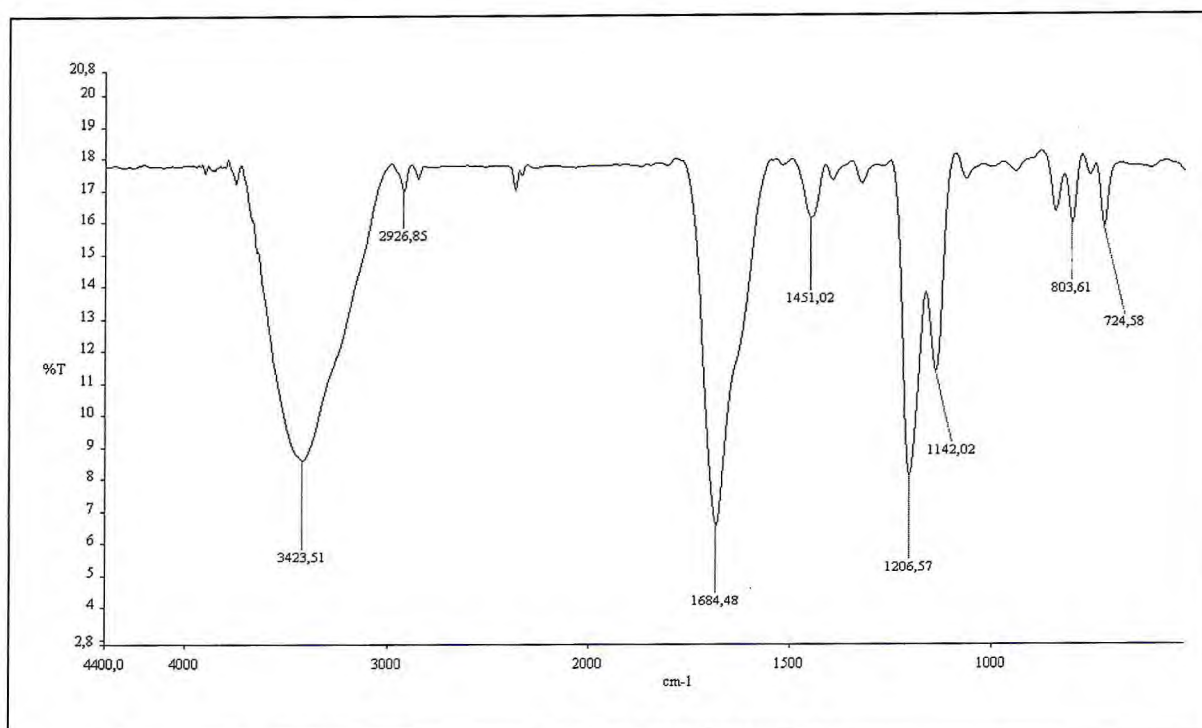


Figura 13 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-3.

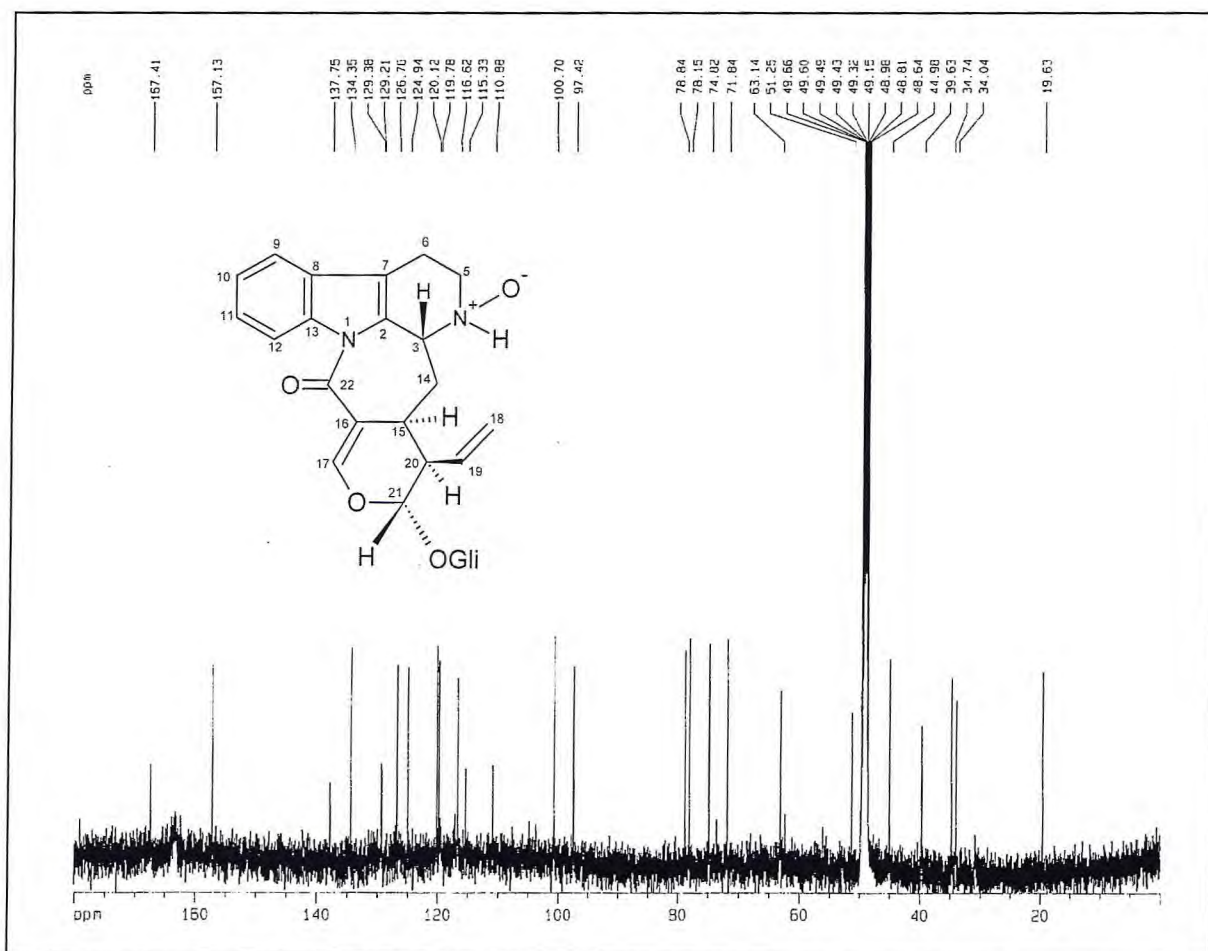


Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-3.

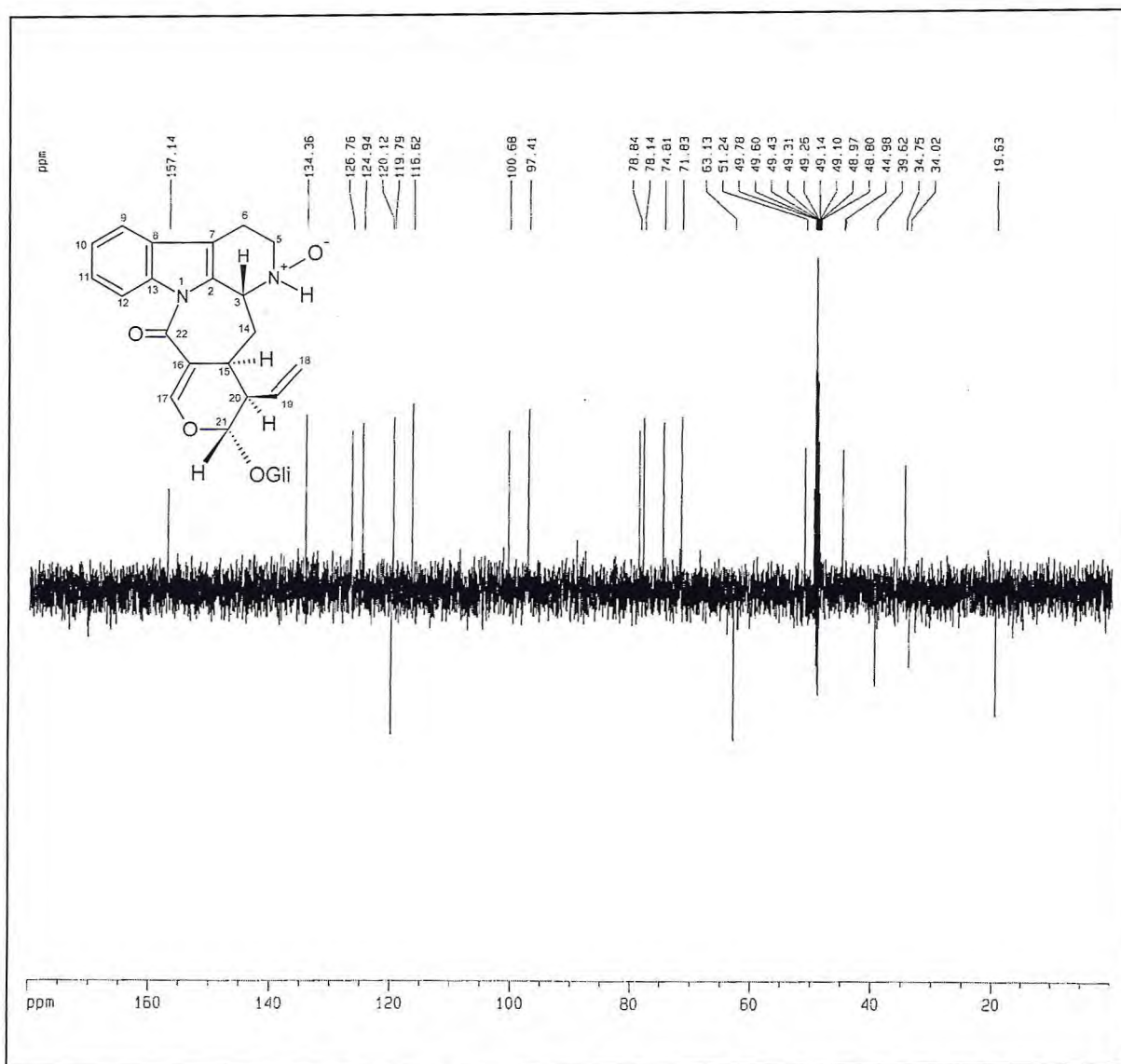


Figura 15 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 ° (125 MHz, CD_3OD) de PS-3.

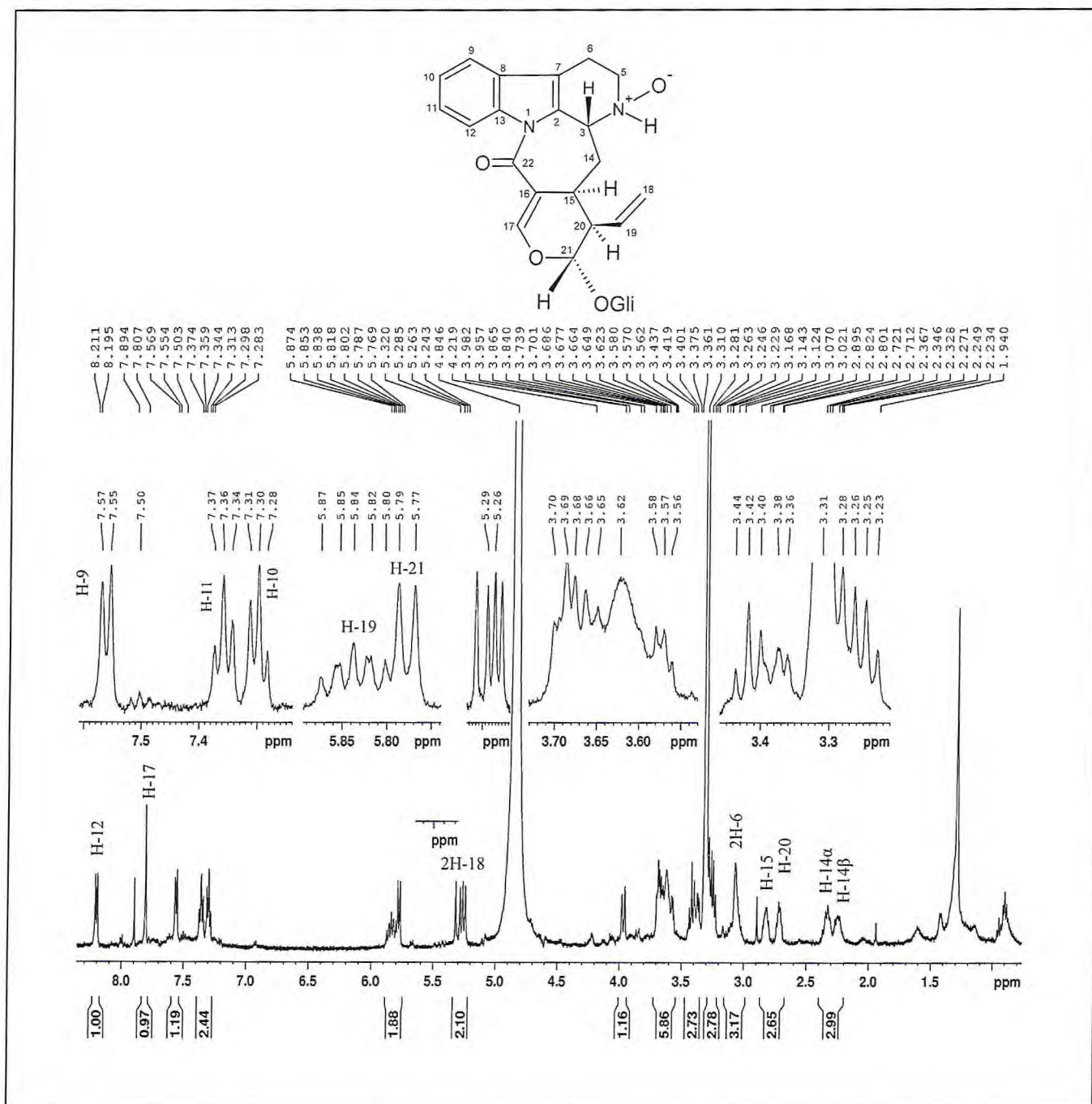


Figura 16 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-3.

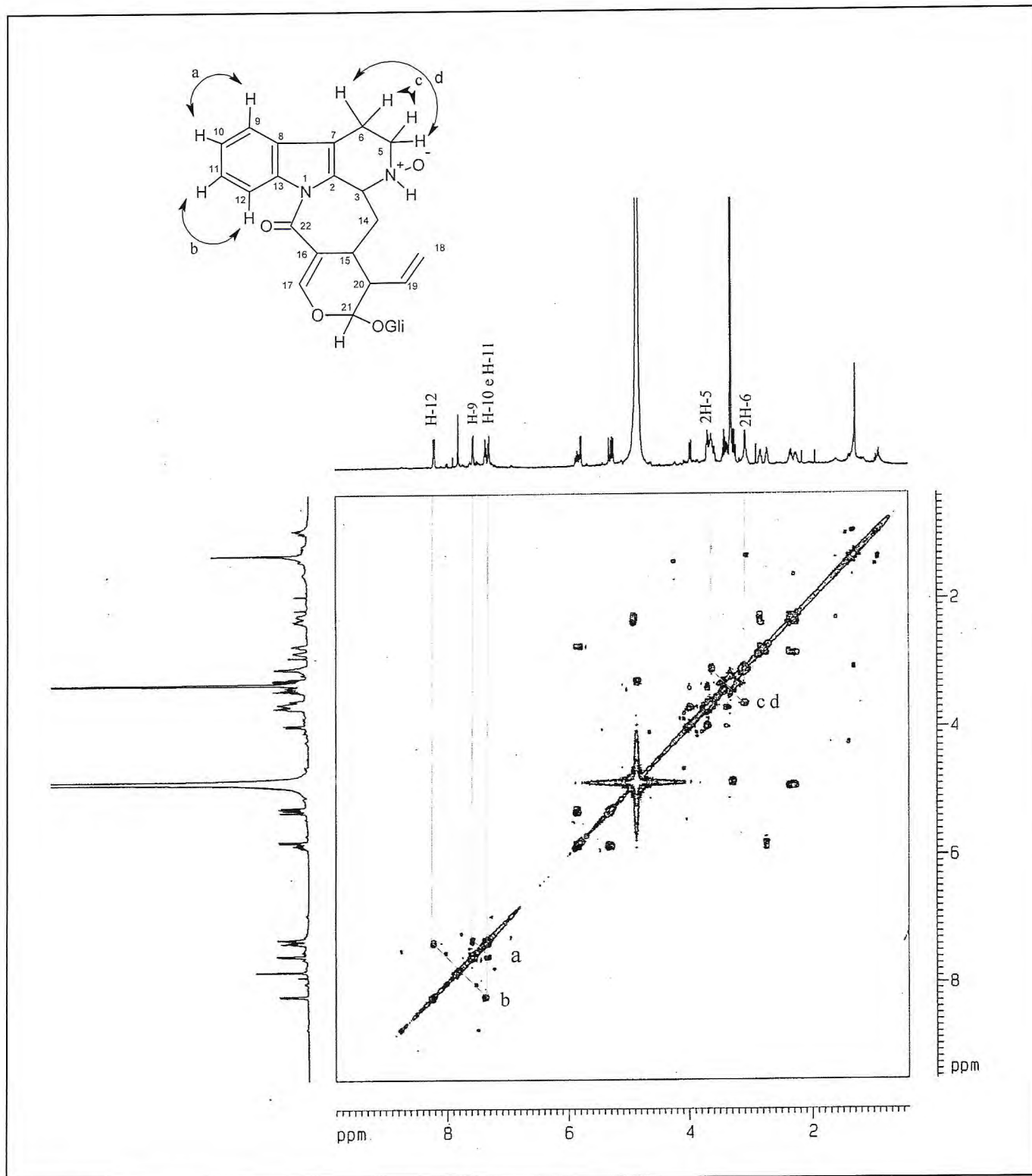


Figura 17 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-3.

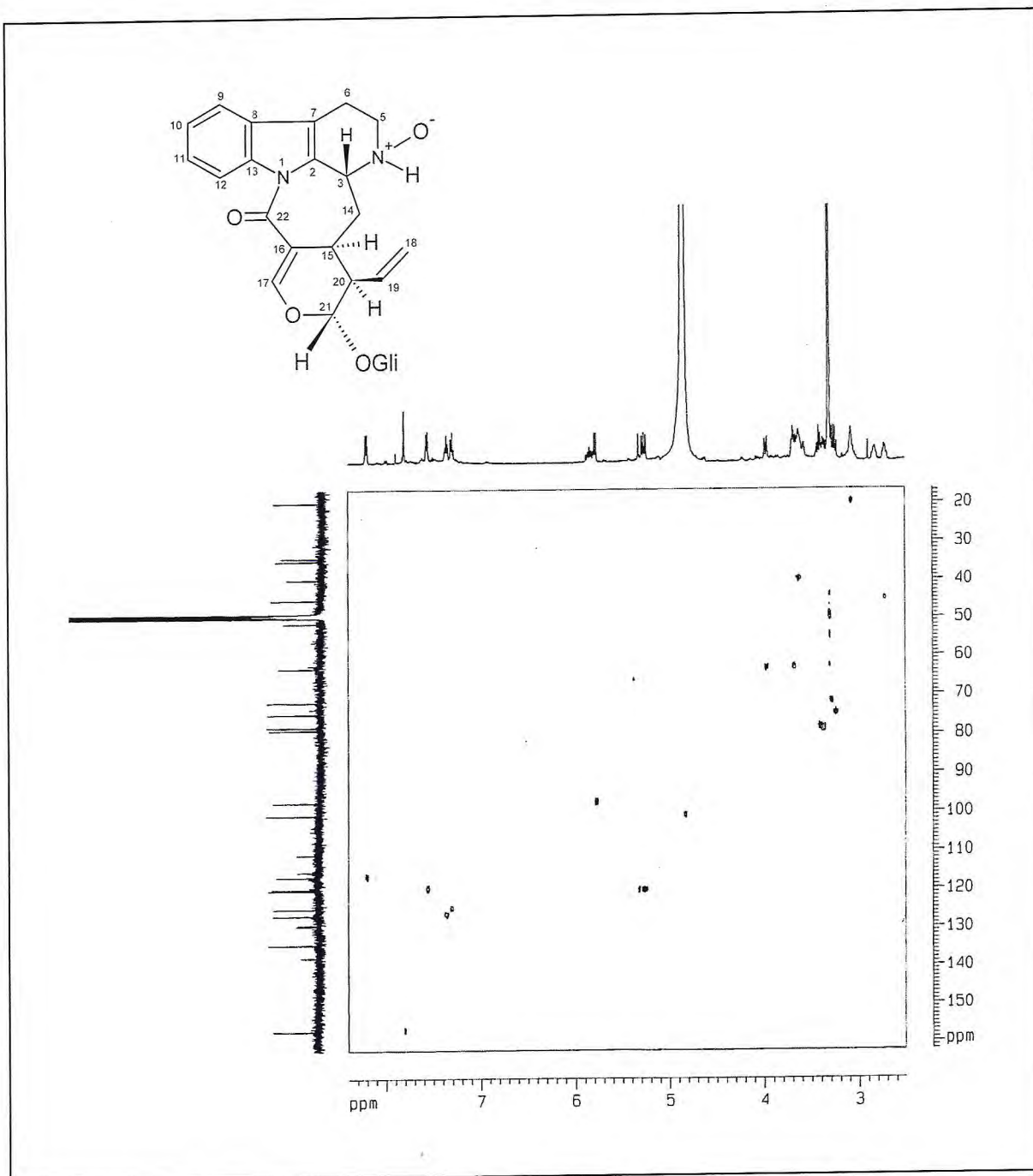


Figura 18 – Mapa de correlação HSQC (CD₃OD) de PS-3.

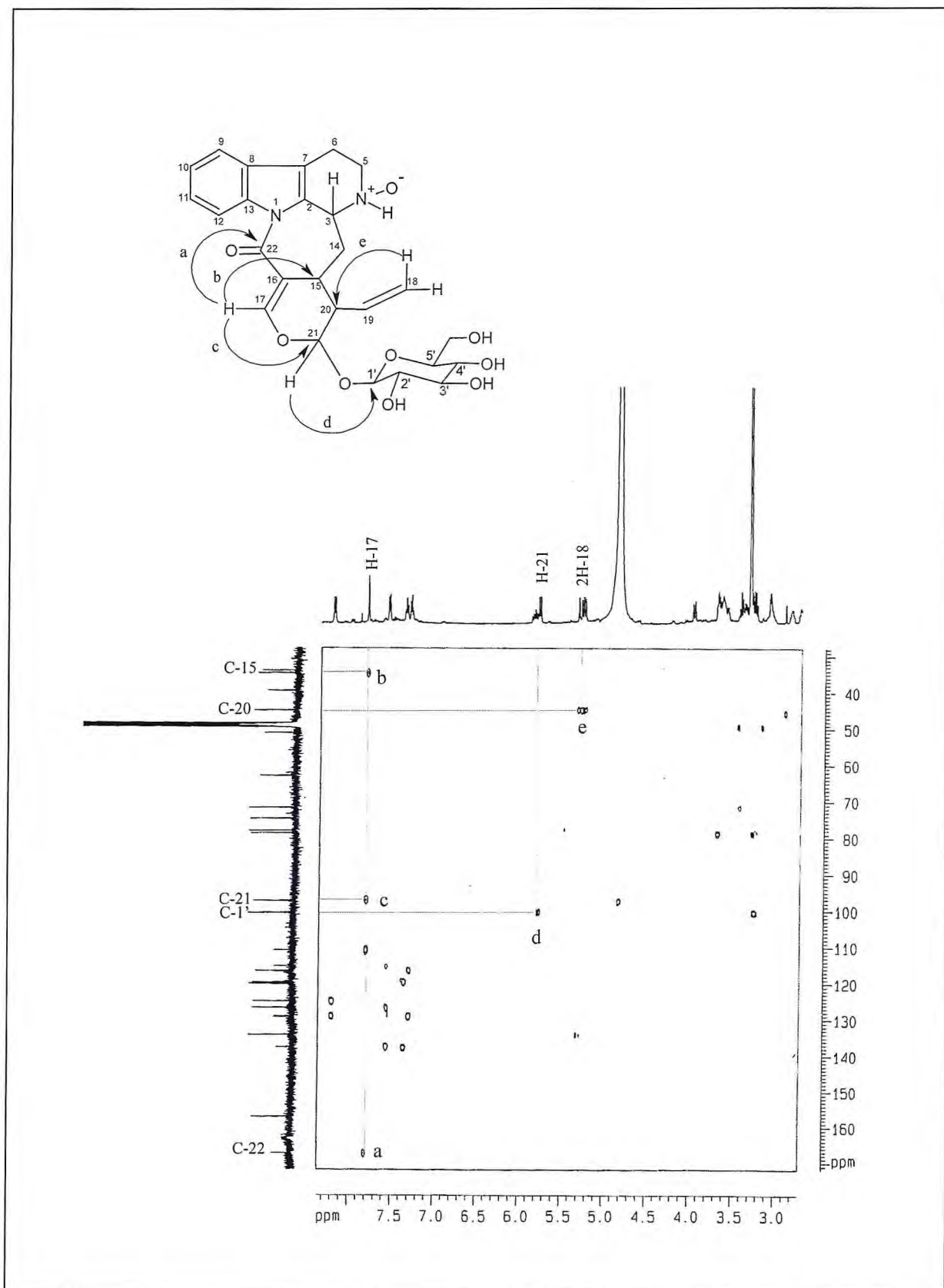


Figura 19 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-3.

5.2.3. Determinação Estrutural de PS-9

Sucessivas cromatografias da fração alcaloídica, obtida a partir do extrato etanólico dos talos de *Psychotria stachyoides*, possibilitou o isolamento de uma resina marrom, com rotação óptica, $[\alpha]_D^{20} = -140^\circ$ (c 0,06, MeOH) e denominada de PS-9.

A análise do espectro de absorção do IV de PS-9 (Figura 21, p. 111) revelou uma banda em 3414 cm^{-1} , relacionada à deformação axial de O-H; bandas em 1674 e 1624 cm^{-1} , relacionadas à deformações axiais de C=O; banda em 2853 cm^{-1} referente à deformação axial C-H de aldeídos, além de banda esquelética em 1455 cm^{-1} de ligação C=C_{arom} (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

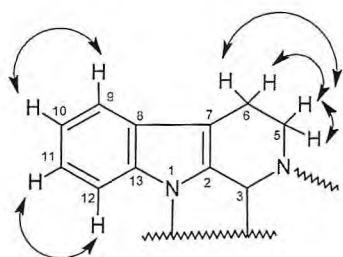
O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 22, p. 111) de PS-9 exibiu 27 linhas espectrais, e desta forma, revelou um carbono a mais que PS-1. Os sinais em δ_C 168,6 (C-22) e 163,9 (C-23) foram atribuídos a dois grupos carbonilas. De forma análoga aos alcalóides PS-1 e PS-3 já descritos, os sinais em δ_C 100,8 (C-1'); 74,9 (C-2'); 78,2 (C-3'); 71,7 (C-4'); 78,7 (C-5') e 63,0 (C-6') foram associados a carbonos sp^3 oxigenados compatíveis com os deslocamentos químicos de uma unidade de glicose. Comparando-se os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 23, p. 112), pôde-se deduzir a presença de 5 absorções correspondentes a carbonos metilênicos (CH_2), 16 absorções referentes a carbonos metínicos (CH) e por diferença de espectros, constatou-se a ausência de 6 carbonos não-hidrogenados (C), como apresentado na Tabela 24 (p. 106).

O espectro de RMN ^1H (Figura 24, p. 113) apresentou um sinal simples em δ_H 8,16 (s, H-23) que foi relacionado ao hidrogênio de um grupo formila, como já observado no espectro de IV. A presença do sistema tetrahydro- β -carbolínico pôde ser visualizado, através dos sinais dos hidrogênios aromáticos em δ_H 8,17 (d, $J = 7,5$ Hz, H-12) e δ_H 7,48 (d, $J = 7,5$ Hz, H-9), em δ_H 7,25 (t, $J = 7,5$ Hz, H-10) e 7,30 (t, $J = 7,5$ Hz, H-11), e dos dois grupos metilênicos em δ_H 3,98 (m, H-5 α) e 3,66 (m, H-5 β); δ_H 2,87 (m, 2H-6). Da mesma forma, a unidade secologanina foi identificada pelos sinais dos hidrogênios olefínicos em δ_H 7,80 (s, H-17), δ_H 5,24 (d, $J = 17,2$, H-18 α), δ_H 5,24 (d, $J = 1,7$, H-18 β) e δ_H 5,84 (m, H-19), e a porção glicosídica foi evidenciada pelos sinais na faixa de δ_H 3,23-4,80.

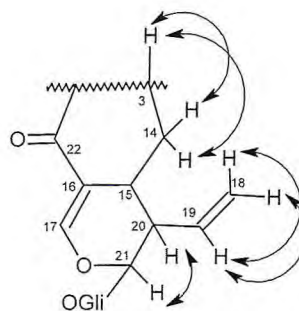
Tabela 24 – Dados de RMN ^{13}C de PS-9 com padrão de hidrogenação.

C	CH	CH ₂
111,8	35,6	19,6
116,2	45,3	34,0
130,1 (C-N)	47,9 (C-N)	39,0
132,4	71,7 (C-OH)	63,1 (C-OH)
137,7	74,9 (C-OH)	119,5
168,6 (C=O)	78,2 (C-OH)	
	78,7 (C-O)	
	97,6	
	100,8 (C-O)	
	116,4	
	119,5	
	124,6	
	126,0	
	135,0	
	156,5 (C-O)	
	163,9 (C=O)	
6 C	16 CH	5 CH ₂ C ₂₇ H ₃₀ N ₂ O ₉

O espectro de ^1H - ^1H -COSY (Figura 25, p. 114) mostrou o acoplamento dos hidrogênios metínicos do sistema indólico em δ_{H} 7,48 (H-9) com o hidrogênio em δ_{H} 7,25 (H-10); e do hidrogênio em δ_{H} 7,30 (H-11) com o hidrogênio em δ_{H} 8,17 (H-12). Em adição, o sistema tetra-hidrocarbolina foi definitivamente visualizado através dos acoplamentos geminais entre os hidrogênios em δ_{H} 3,98 (H-5 α) e 3,66 (H-5 β), e deste último com os hidrogênios em δ_{H} 2,87 (2H-6) também foram observados. A unidade secologanina foi estabelecida através do acoplamento do hidrogênio metínico em δ_{H} 5,52 (tl, $J = 9,9$ Hz, H-3) com o grupo metilênico em δ_{H} 2,09 (m, H-14 α) e δ_{H} 2,13 (H-14 β); do hidrogênio metínico em δ_{H} 5,78 (d, $J = 9,3$ Hz, H-21) com o hidrogênio em δ_{H} 2,73 (m, H-20); e do hidrogênio metínico em δ_{H} 5,84 (m, H-19) com os hidrogênios metilênicos geminais em δ_{H} 5,19 (d, $J = 10,7$ Hz, H-18 α) e 5,24 (d, $J = 17,2$ Hz, H-18 β), como mostrado nas subestruturas a seguir.

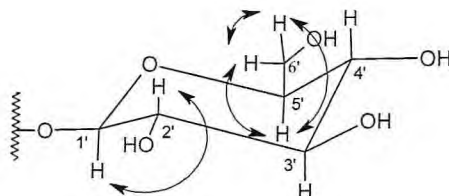


Subestrutura 1 de PS-9.



Subestrutura 2 de PS-9.

Para a porção osídica foram observados os acoplamento entre os hidrogênios em δ_H 4,80 (H-1') e δ 3,23 (H-2'), além do acoplamento geminal dos hidrogênios em δ_H 3,92 (H-6'a) e 3,68 (H-6'β), e destes com o hidrogênio em δ_H 3,36 (H-5'), como visto na subestrutura 3.



Subestrutura 3 de PS-9.

O espectro de HSQC (Figura 26, p. 115) permitiu associar inequivocamente os sinais de todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos, conforme descrito na Tabela 25 (p. 108). Neste espectro foi possível visualizar a correlação do hidrogênio em δ_H 8,16 (H-23) com o carbono carbonílico em δ_C 163,9 (C-23), confirmando, a presença do grupo formila na estrutura de PS-9.

A fórmula molecular $C_{27}H_{30}N_2O_9$ foi deduzida a partir do íon molecular com m/z 527,1983 $[M + H]^+$, obtida no espectro de massas de alta resolução (Figura 27, p. 115), e foi compatível com um Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a 14.

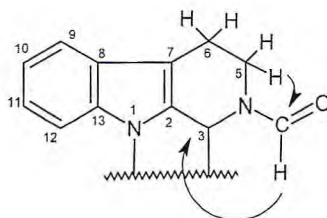
Tabela 25 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-9 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC

	HSQC		HMBC	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	132,4	-		
7	116,2	-		H-5a
8	130,1	-		H-10; H-12
13	137,7	-		H-9; H-11
16	111,8	-	H-17	
22	168,1	-		H-19
CH				
3	47,9	5,52 (t, 9,9)		H-5a; H-23
9	119,5	7,48 (d, 7,5)		H-11
10	124,6	7,25 (t, 7,5)		H-12
11	126,0	7,30 (t, 7,5)		H-9
12	116,4	8,17 (d, 7,5)		H-10
15	35,6	2,72 (m)	2H-14	
17	156,5	7,80 (s)		
19	134,9	5,84(m)	2H-18	
20	45,3	2,73 (m)		2H-18
21	97,6	5,78 (d, 9,3)		H-1'; H-17
23	163,9	8,16 (s)		H-5a
1'	100,8	4,80		H-21
2'	74,9	3,23 (dd, 9,2 e 7,8)		
3'	78,2	3,42 (t, 9,2)	H-2'	
4'	71,7	3,31 (t, 9,1)	H-3'; H-5'	
5'	78,7	3,36 (m)	H-4'	
CH ₂				
5	41,6	3,98 (m); 3,66 (m)		
6	23,2	2,87 (m)		
14	34,8	2,13 (m); 2,09 (m)		
18	119,5	5,24 (d, 17,2); 5,19 (d, 10,7)		
6'	63,0	3,92 (d, 12,1); 3,68 (dd, 12,1 e 6,0)	H-5'	

A comparação dos dados espectroscópicos de RMN ^1H e de ^{13}C com aqueles atribuídos para PS-1 (Tabela 26, p. 110) indicou que PS-9 trata-se de um alcalóide tetrahydro β -carbolínico, porém com diferença nos deslocamentos químicos dos carbonos em δ_{C} 132,4 (C-2), δ_{C} 47,9 (C-3), δ_{C} 41,6 (C-5) e δ_{C} 34,8 (C-14), que se encontram mais blindados em torno de 2,7 ppm. Outra diferença relevante foi observada nos deslocamentos químicos dos hidrogênios em δ 5,52 (H-3), 3,98 (H-5 α) e 3,66 (H-5 β), que se encontram mais blindados em PS-9.

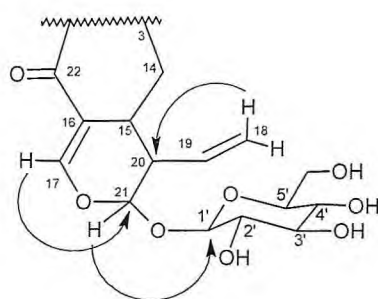
O espectro de HMBC (Figura 28, p. 116) corroborou com os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C -BB, à medida que revelou importantes acoplamentos a longa distância, entre o hidrogênio do grupo formila em δ 8,16 (H-23) e o carbono em δ_{C} 47,9 (C-3); além da

correlação do hidrogênio em δ 3,98 (H-5 α) com o carbono carbonílico em δ_C 163,9 (C-23). Estes acoplamentos permitiram localizar a exata posição do grupo formila em N-4, e justificou os dados de deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C (subestrutura 4).



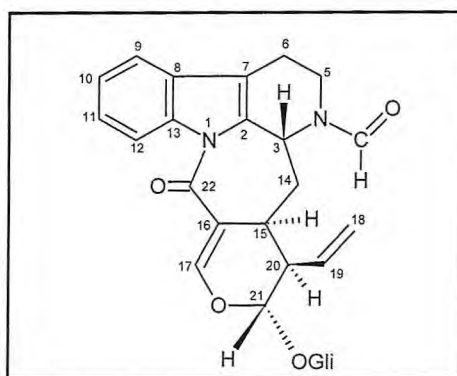
Subestrutura 4 de PS-9.

Neste espectro foram visualizadas ainda as correlações dos hidrogênios em δ 7,80 (H-17) e δ 4,80 (H-1') com o carbono em δ_C 97,6 (C-21); e dos hidrogênios metilênicos em δ 5,24 (d, $J = 17,2$ Hz, H-18 α) e 5,19 (d, $J = 1,7$ Hz, H-18 β) com o carbono em δ_C 45,3 (C-20). A posição relativa da porção glicosídica em C-21 foi confirmada através da correlação do hidrogênio em δ 5,78 (d, $J = 9,3$ Hz, H-21) com o carbono em δ_C 100,8 (C-1'). Estes dados nos levaram a obtenção da subestrutura 5, como já observado para as estruturas de PS-1 e PS-3.



Subestrutura 5 de PS-9.

Desta forma, PS-9 foi caracterizado como sendo um derivado estrutural de PS-1 com um grupo formila no nitrogênio N-1 e de caráter inédito na literatura, que foi denominado de correantosídeo C (Estrutura 96).



Estrutura de PS-9 (96).

Tabela 26 – Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-9 e PS-1.

	PS-9		PS-1	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
2	132,4	-	136,0	-
7	116,2	-	117,0	-
8	130,1	-	131,0	-
13	137,7	-	137,3	-
16	111,8	-	112,7	-
22	168,1	-	168,6	-
CH				
3	47,9	5,52	50,6	4,20
9	119,5	7,48	119,2	7,45
10	124,6	7,25	124,4	7,22
11	126,0	7,30	125,5	7,26
12	116,4	8,17	116,4	8,15
15	35,6	2,72	35,7	2,64
17	156,5	7,80	155,6	7,71
19	134,9	5,84	135,2	5,85
20	45,3	2,73	45,6	2,64
21	97,6	5,78	97,5	5,74
23	163,9	8,16	-	-
1'	100,8	4,80	100,7	4,82
2'	74,9	3,23	74,9	3,23
3'	78,2	3,42	78,7	3,41
4'	71,7	3,31	71,8	3,30
5'	78,7	3,36	78,2	3,32
CH ₂				
5	41,6	3,98; 3,66	40,0	3,10
6	23,2	2,87	23,2	2,70
14	34,8	2,13; 2,09	36,7	1,98; 2,10
18	119,5	5,24; 5,19	119,3	5,20 ;5,23
6'	63,0	3,92 ; 3,68	63,1	3,70; 3,93

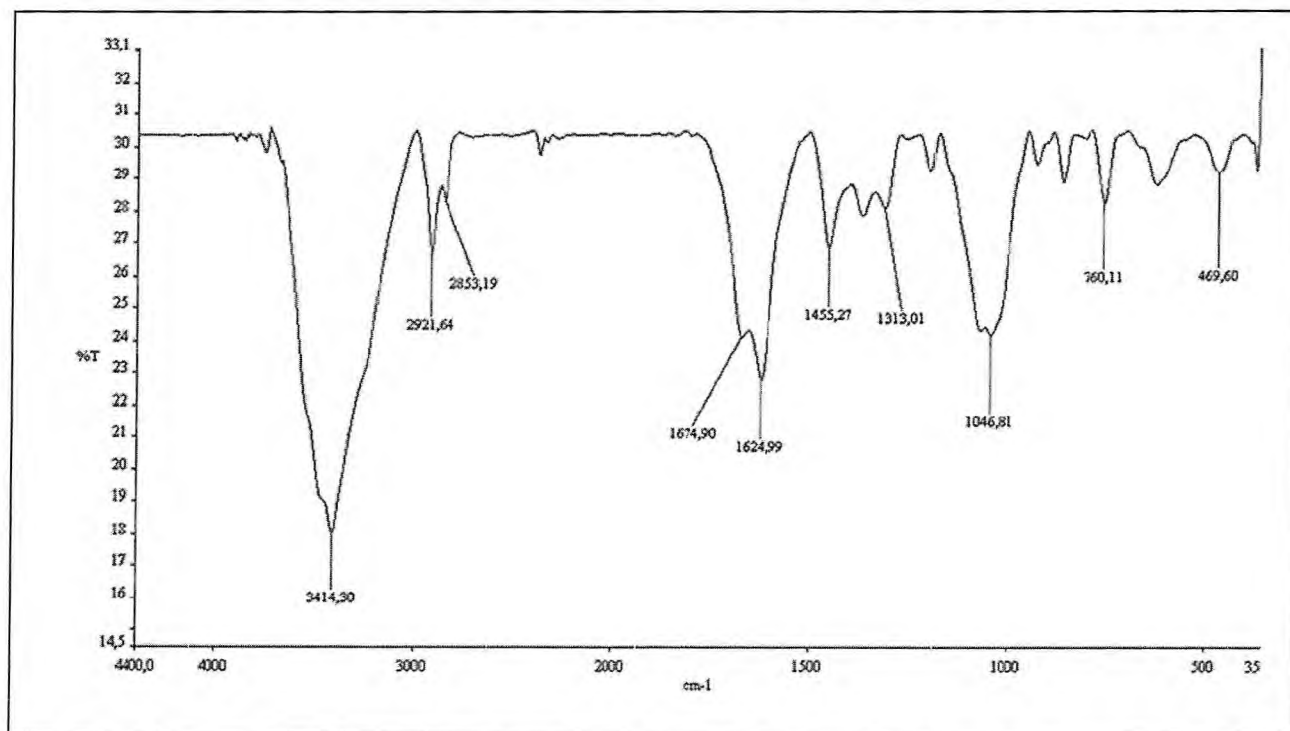


Figura 21 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-9.

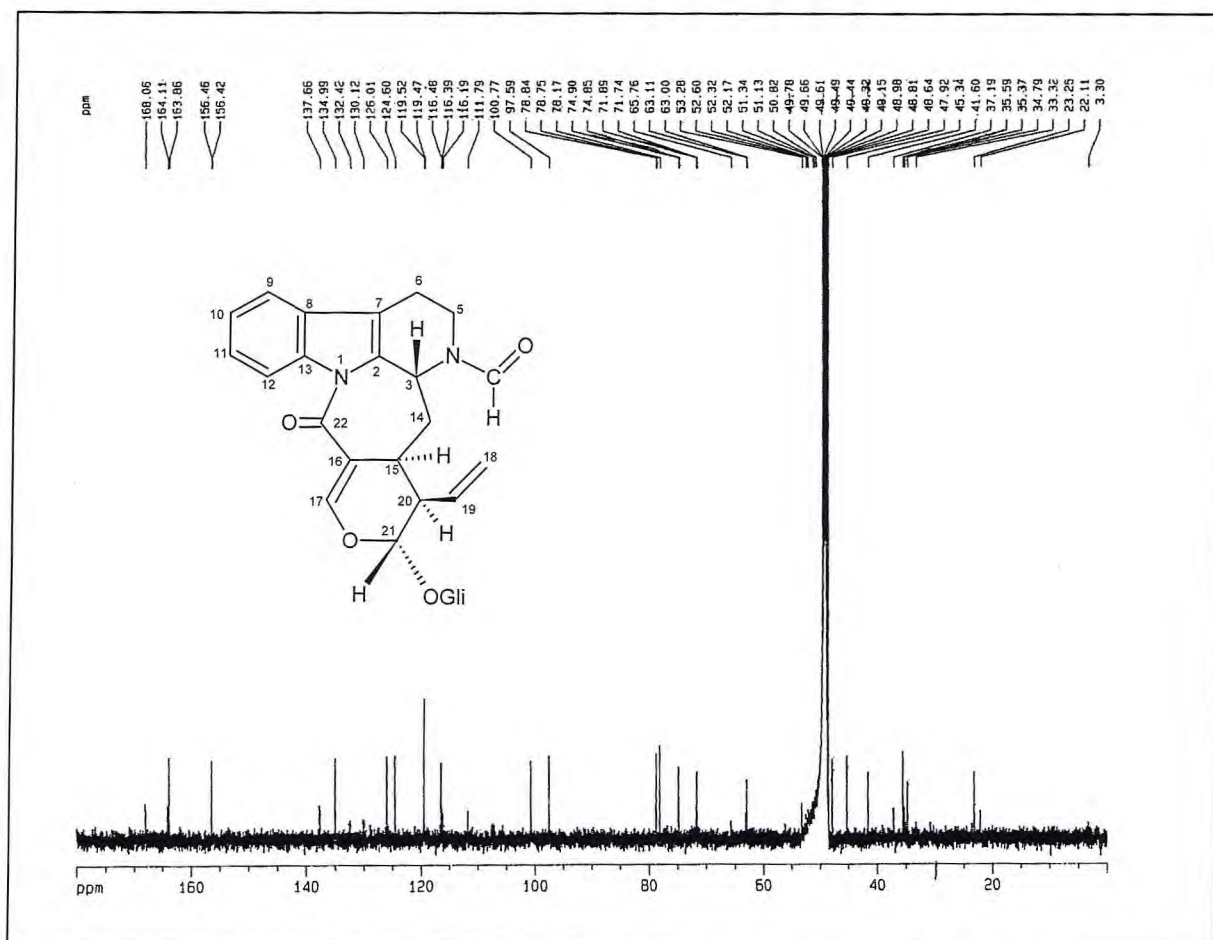


Figura 22 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD) de PS-9.

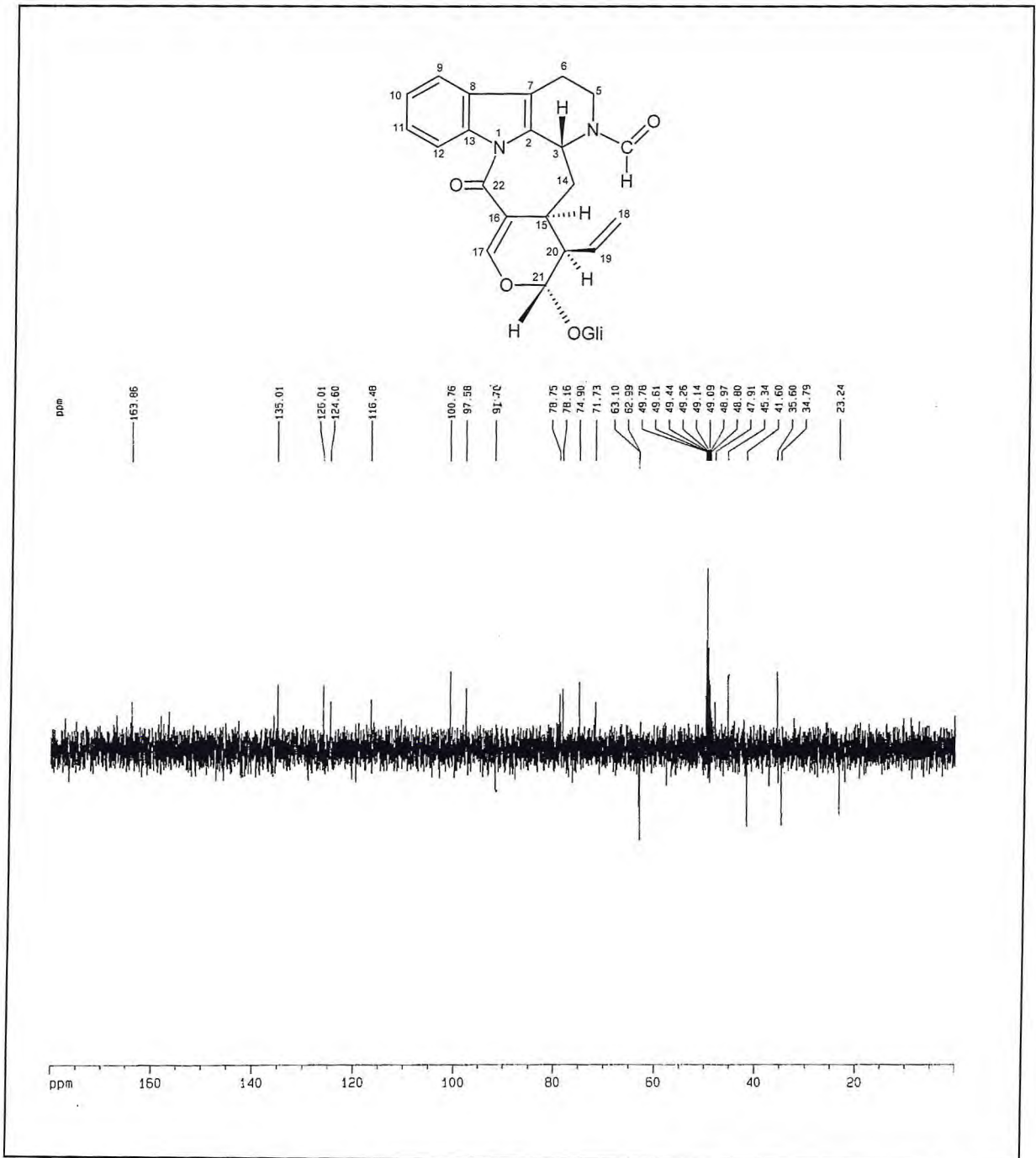


Figura 23 – Espectro RMN ¹³C-DEPT 135° (125 MHz, CD₃OD) de PS-9.

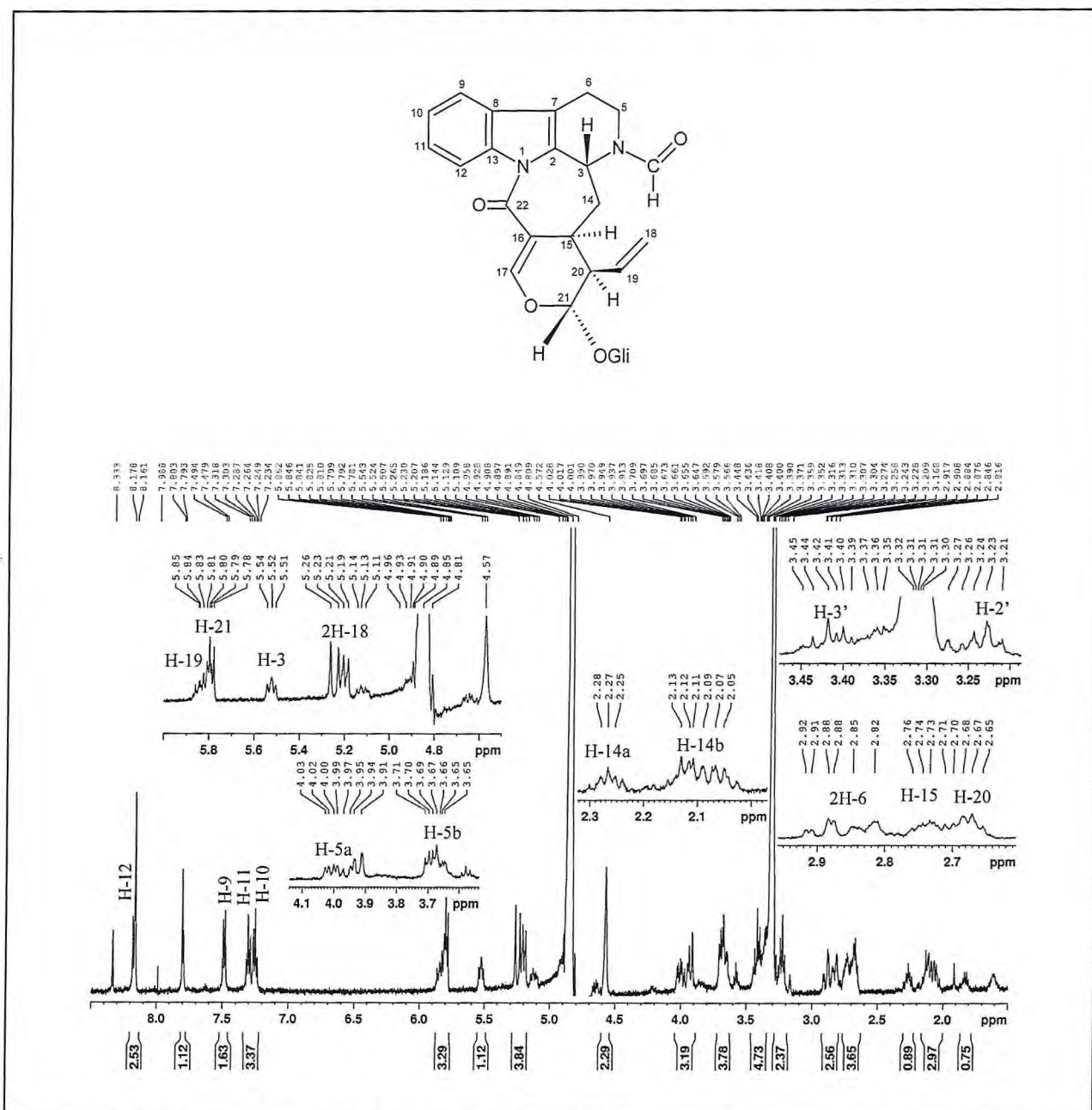


Figura 24 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-9.

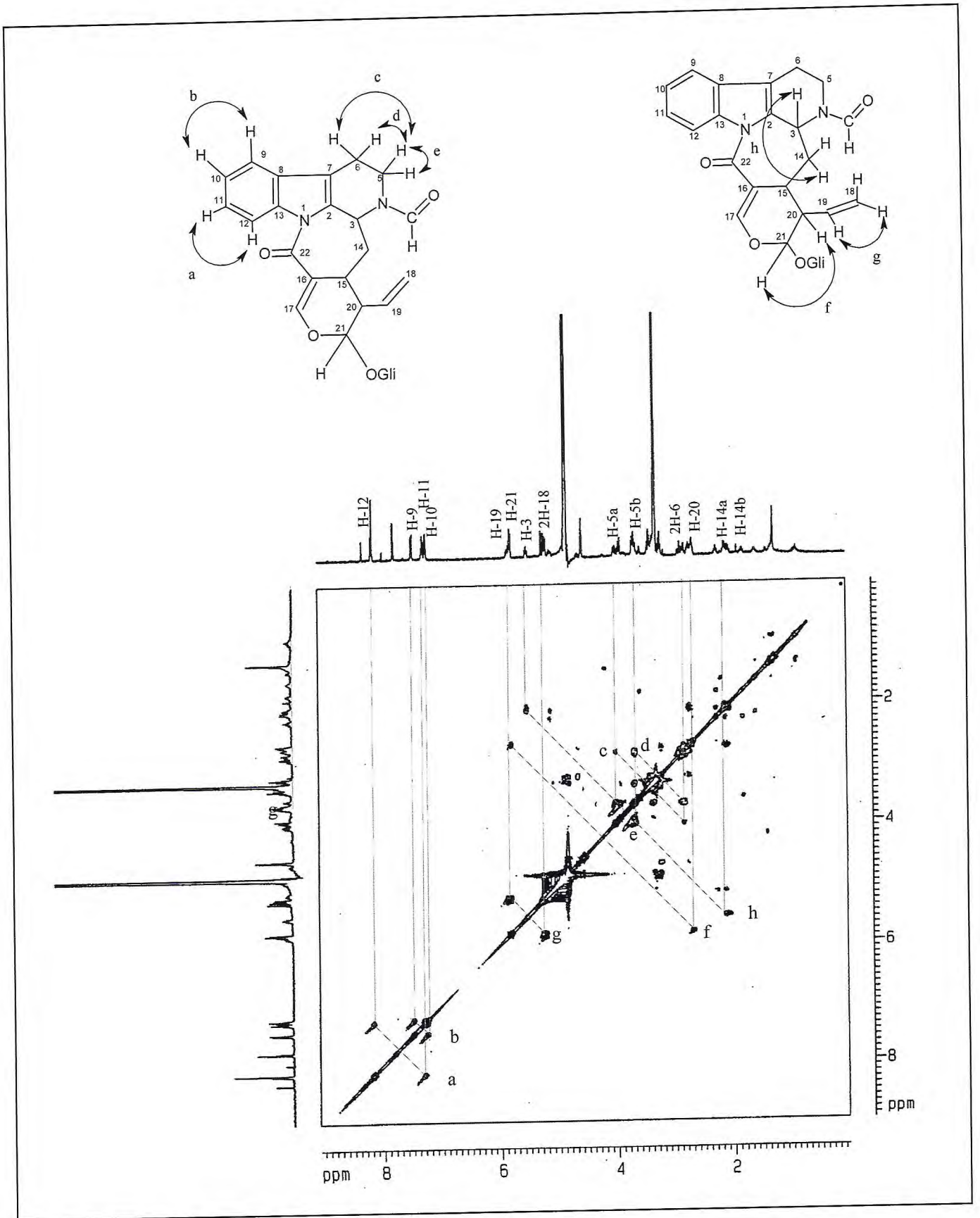


Figura 25 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-9.

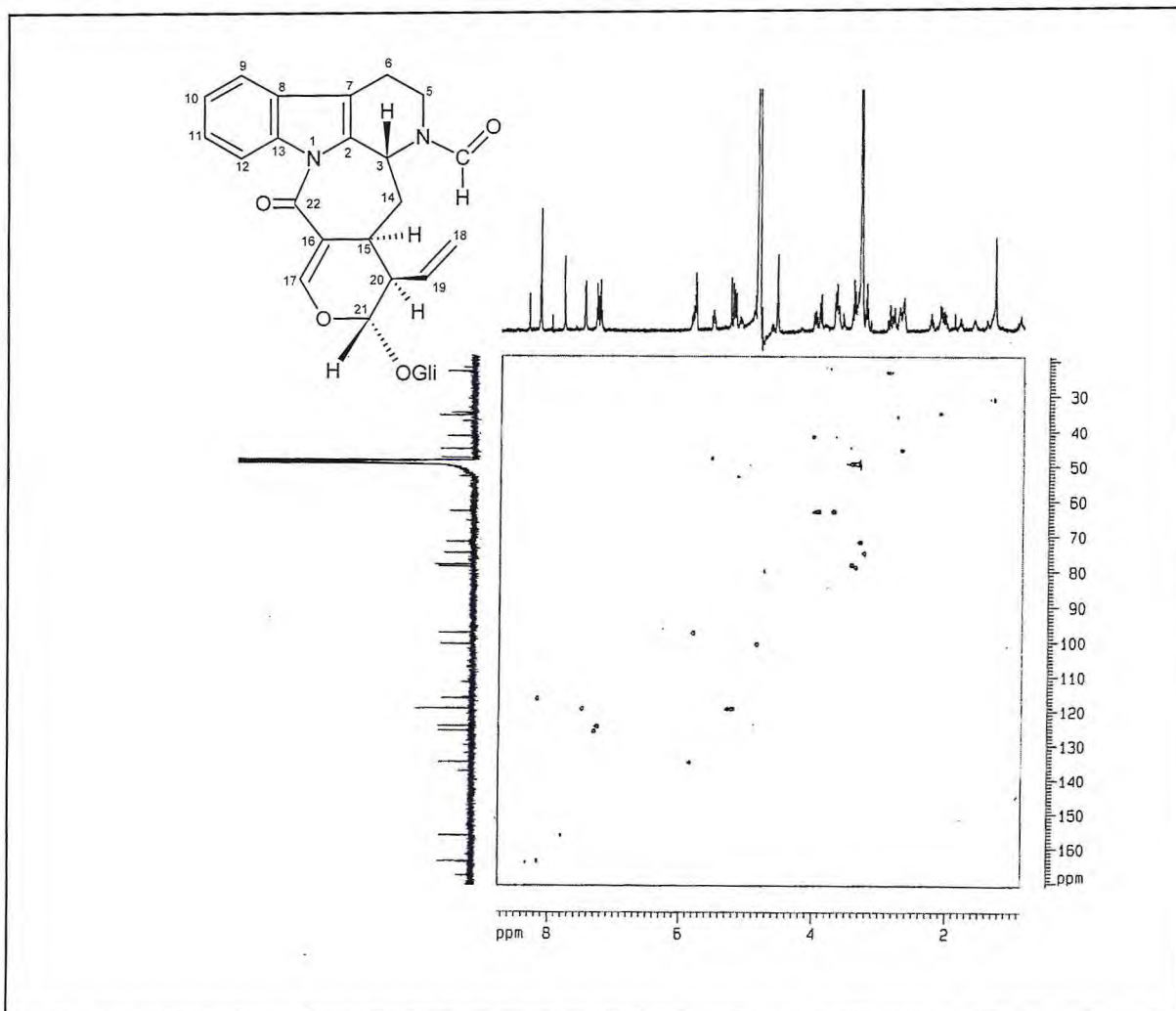


Figura 26 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-9.

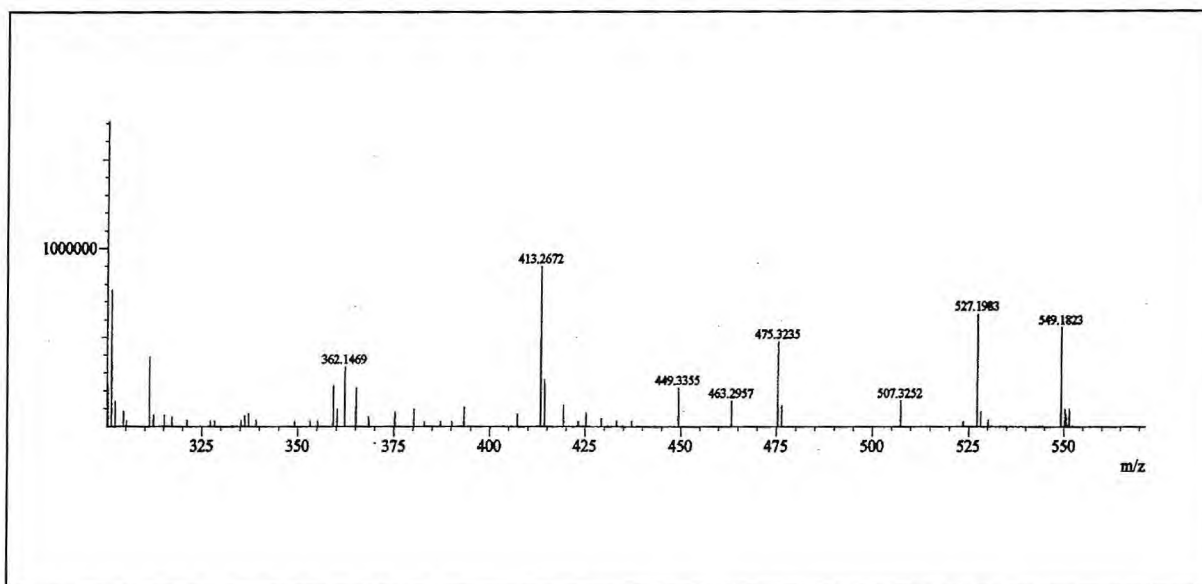


Figura 27 – Espectro de massas de alta resolução de PS-9.

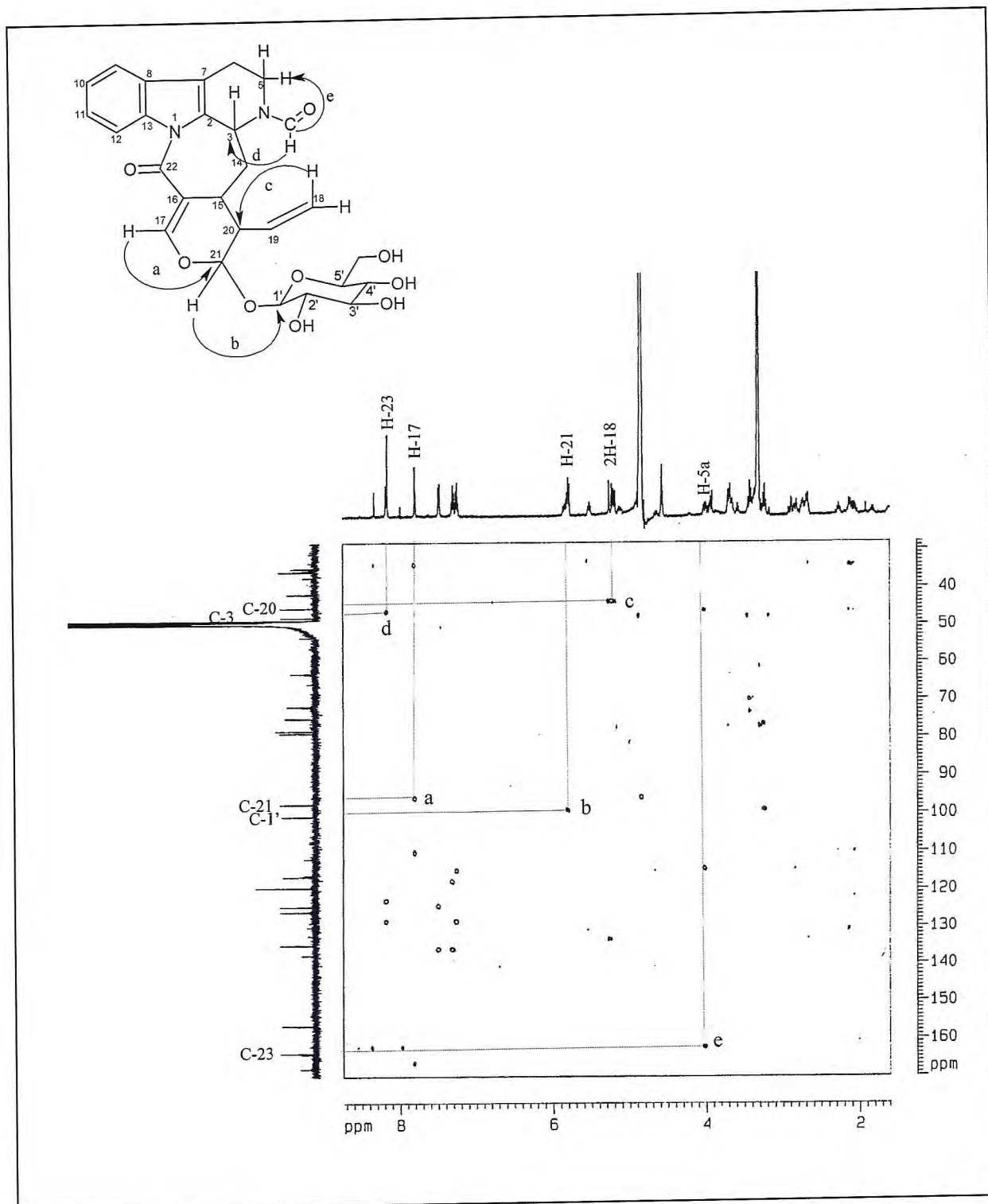


Figura 28 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-9.

5.2.4. Determinação Estrutural de PS-8

A partir da fração alcaloídica, obtida do extrato etanólico dos talos de *Psychotria stachyoides*, foi possível o isolamento de uma resina marrom com rotação óptica, $[\alpha]_D^{20} = -128^\circ$ (c 0,165, MeOH), que foi denominada de PS-8.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 29, p. 122) revelou uma banda em 3415 cm^{-1} , relacionada à deformação axial de ligação O-H/N-H, caracterizando presença de hidroxila ou grupo amina, além de bandas em 2926 cm^{-1} referente à deformação axial C-H, e em 1620 cm^{-1} relacionada à deformação axial de C=O, evidenciando a presença de carbonila. A absorção em 1454 cm^{-1} foi relacionada à ligação C=C, que juntamente com a absorção em 619 cm^{-1} foram relacionadas a deformações angulares de ligações =C-H, e confirmaram a presença de um esqueleto aromático (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

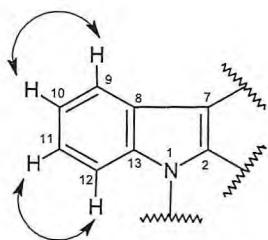
O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 30, p. 122) exibiu 25 sinais espectrais. O sinal em δ_C 169,0 (C-22) foi atribuído a uma carbonila, enquanto que os sinais em δ_C 114,8 (C-16) e 148,7 (C-17) foram associados a carbonos olefínicos, sendo este último oxigenado. Assim como nos outros compostos, os sinais em δ_C 100,3 (C-1'); 74,9 (C-2'); 78,5 (C-3'); 71,9 (C-4'); 78,5 (C-5') e 63,0 (C-6') foram associados a carbonos de uma unidade glicosídica. Comparando-se os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 31, p. 123), pôde-se deduzir a presença de 5 absorções correspondentes a carbonos metilênicos (5 CH_2), 14 absorções de carbonos metínicos (14 CH) e por diferença de espectros, constatou-se a ausência de 6 carbonos não-hidrogenados (6 C), como apresentado na Tabela 27 (p. 118).

O espectro de RMN ^1H (Figura 32, p. 124) de PS-8 mostrou-se bastante semelhante àquele obtido para PS-1. Neste espectro foi observado a presença do sistema tetrahydro- β -carbolínico através dos sinais dos hidrogênios em δ_H 8,47 (d, $J = 8,2$ Hz, H-12), δ_H 7,47 (d, $J = 7,2$ Hz, H-9), 7,36 (td, $J = 7,2$ e 1,0 Hz, H-11) e δ_H 7,31 (td, $J = 7,2$ e 1,3 Hz, H-10), além dos sinais dos grupos metilênicos em δ_H 3,45 (m, H-5 α), 3,25 (m, H-5 β) e δ 2,92 (m, 2H-6). Os sinais com diferentes multiplicidades na faixa de δ_H 4,77-3,26 foram associados aos hidrogênios da unidade de glicose. Diferentemente dos outros alcalóides descritos, neste espectro percebeu-se a ausência dos sinais relativos ao grupo vinílico terminal da unidade de secologanina, os quais foram substituídos pelos sinais de hidrogênios em δ_H 4,00 (dl, $J = 10,2$ Hz, H-19 α) e δ_H 4,50 (dd, $J_1 = 10,2$ Hz e 6,6 Hz, H-19 β).

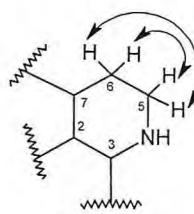
Tabela 27 – Dados de RMN ^{13}C de PS-8 com padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂
114,8	32,9	21,2
118,4	51,7 (C-N)	43,7
129,2	53,3	48,0
139,1	71,9 (C-OH)	63,0 (C-OH)
137,1 (C-N)	74,9 (C-OH)	72,4
169,0 (C=O)	78,5 (C-OH)	
	78,5 (C-O)	
	95,5	
	100,3 (C-O)	
	118,3	
	119,7	
	125,2	
	126,8	
	148,7 (C-O)	
6 C	14 CH	5 CH ₂
		C ₂₅ H ₂₆

O espectro de ^1H - ^1H -COSY (Figura 33, p. 125) confirmou a existência do sistema tetrahydro- β -carbolínico, observado no espectro de RMN ^1H , através dos acoplamentos mostrados na subestrutura 1. Foram observados os acoplamentos do hidrogênio metínico aromático em δ_{H} 7,47 (H-9) com o hidrogênio em 7,31 (H-10); e do hidrogênio em δ_{H} 7,36 (H-11) com o hidrogênio em δ_{H} 8,47 (H-12). Observou-se também o acoplamento entre os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,92 (2H-6) com os hidrogênios em 3,45 (H-5 α) e 3,25 (H-5 β), como observados na subestrutura 2.

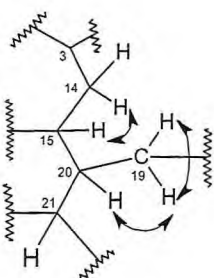


Subestrutura 1 de PS-8



Subestrutura 2 de PS-8

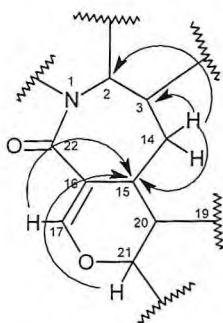
Observou-se ainda neste espectro o acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 4,50 (H-19 β) com o hidrogênio em δ_{H} 4,00 (H-19 α) e δ_{H} 3,05 (t, $J = 7,2$ Hz, H-20); além do acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 3,11 (m, H-15) com o outro em δ_{H} 2,30 (m, H-14 α).



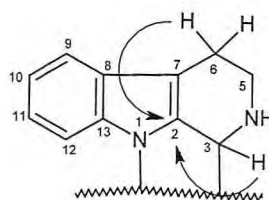
Subestrutura 3 de PS-8.

A Tabela 28 (p. 121) apresenta os deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C , correlacionando os hidrogênios aos seus respectivos carbonos, a partir das informações extraídas do espectro de HSQC (Figura 34, p. 126).

O espectro de HMBC (Figura 35, p. 127) corroborou estas sugestões através das correlações do hidrogênio em δ 2,12 (H-14 β) com os carbonos em δ_{C} 137,1 (C-2), 51,7 (C-3) e 32,9 (C-15); dos hidrogênios metínicos em δ_{H} 6,97 (H-17) e δ_{H} 5,80 (H-21) com o carbono em δ_{C} 32,9 (C-15); e dos hidrogênios em δ_{H} 2,32 (H-3) e δ_{H} 2,92 (H-6) com o carbono em δ_{C} 137,1 (C-2), mostrados na subestrutura 4 e 5.

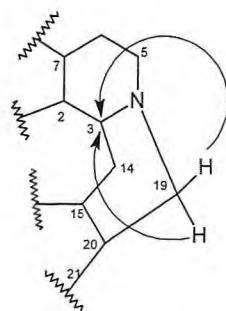


Subestrutura 4 de PS-8



Subestrutura 5 de PS-8

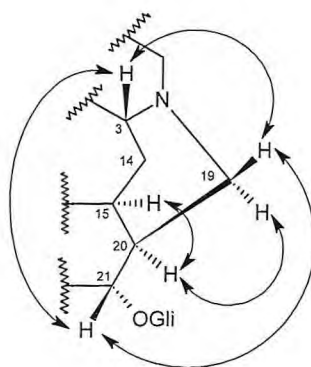
Uma importante correlação apresentada neste espectro foi mostrada entre os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 4,00 (H-19 α) e δ_{H} 4,50 (H-19 β) com o carbono em δ_{C} 51,72 (C-3), o que levou a construção da subestrutura 6:



Subestrutura 6 de PS-8

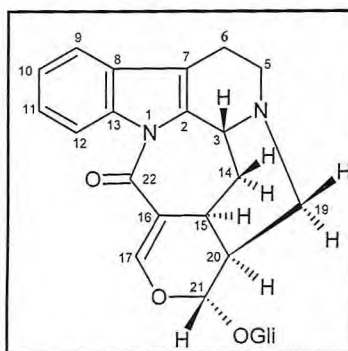
Esta sugestão foi posteriormente confirmada através da obtenção espectro de massas de alta resolução (Figura 36, p. 128), que revelou o pico aduto do íon molecular em m/z 507,3328 daltons $[M + 23]^+$.

A estereoquímica relativa de PS-8 foi fundamentada no experimento de ^1H - ^1H -NOESY (Figura 37, p. 128), que mostrou as interações espaciais entre o hidrogênio em δ_{H} 3,06 (H-20) com os hidrogênios em δ_{H} 3,11 (H-15) e δ_{H} 4,00 (H-19 α); do hidrogênio em δ_{H} 2,32 (H-3) com o hidrogênio δ_{H} 4,50 (H-19 β); e do hidrogênio em δ_{H} 5,80 (H-21) com os hidrogênios em δ_{H} 2,32 (H-3) e δ_{H} 4,50 (H-19 β), como mostrado na subestrutura 7.



Subestrutura 7 de PS-8

Assim como os outros alcalóides já descritos neste trabalho (PS-1, PS-3 e PS-9), PS-8 (Estrutura 95) também se mostrou como um alcalóide do tipo tetrahydro- β -carbolínico, porém sofreu ciclização através do ataque intramolecular do N-1 à ligação dupla da unidade secologanina e possui caráter inédito na literatura.



Estrutura de PS-8 (95)

Tabela 28 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-8 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC

	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H} (ppm, multip., J/Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	137,1	-	H-3	2H-6; 2H-14
7	118,4	-	2H-6	H-9
8	129,2	-		H-10; H-12
13	139,1	-		H-9; H-11
16	114,8	-	H-17	2H-14; H-19
22	169,0	-		H-17
CH				
3	51,7	2,32	H-14b	H-15
9	119,7	7,47 (d, 7,2)	H-10	H-11
10	125,2	7,31 (td, 7,2; 1,3)	H-9	H-12
11	126,8	7,36 (td, 7,2; 1,0)	H-12	H-9
12	118,3	8,47 (d, 8,2)	H-11	H-10
15	32,9	3,11 (m)	2H-14	H-3; H-17; H20
17	148,7	6,97 (d, 2,3)		H-20; H-21
20	53,3	3,06 (t, 7,1)		2H-14
21	95,5	5,80 (s)		H-1'; H-15; H-17
1'	100,3	4,77 (d, 8,0)	H-2'	H-21
2'	74,9	3,26 (dd, 7,9; 9,9)	H-3'	
3'	78,5	3,40 (t, 9,0)	H-2'; H-4'	
4'	71,9	3,31	H-3'	
5'	78,5	3,35 (m)	H-4'	
CH ₂				
5	48,0	3,45 (m), 3,25	2H-6	
6	21,2	2,92 (m), 2,87 (m)	H-5a	
14	43,7	2,30 (m); 2,12 (d, 12,1)		
19	72,4	4,51 (dd, 10,2; 6,6)		
		4,00 (dl, 10,2);		
6'	63,0	3,93 (dd, 11,9; 2,0)		H-4'
		3,68 (dd, 11,9; 6,2)		

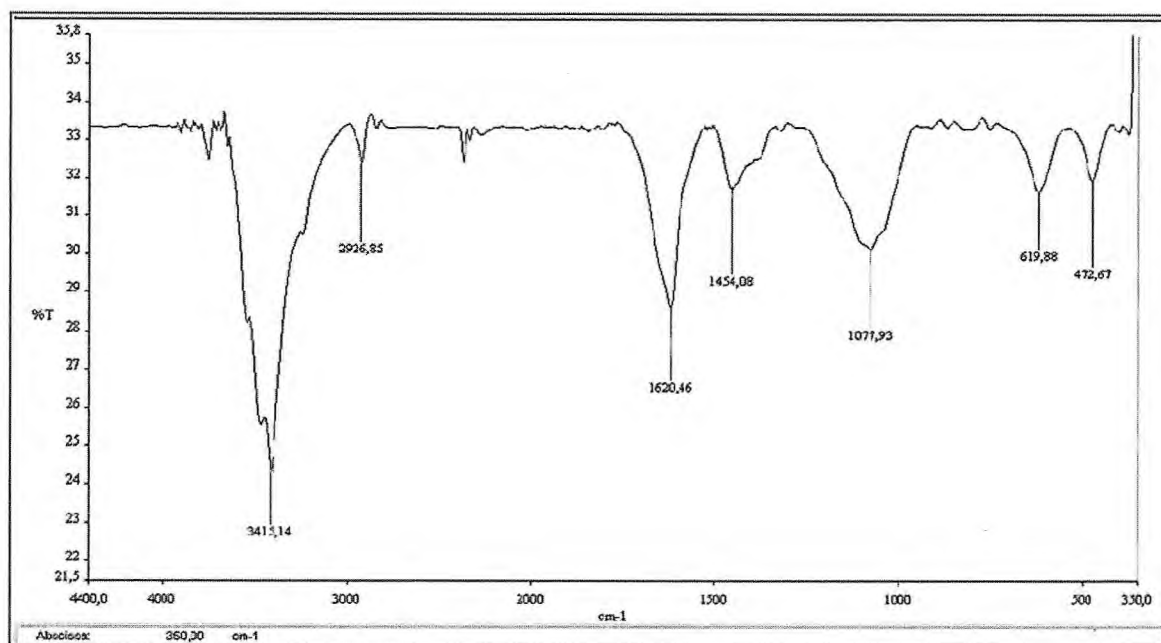


Figura 29 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-8.

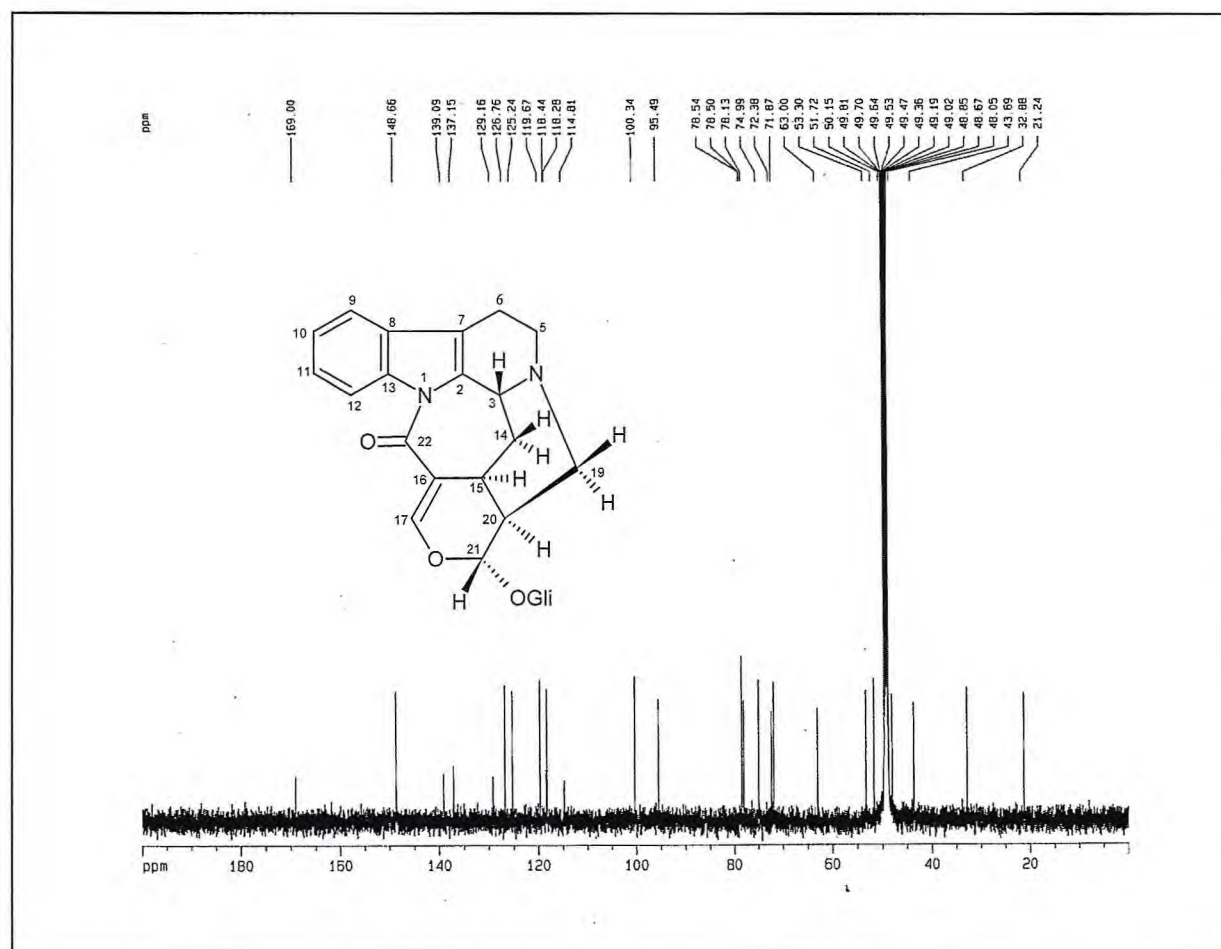


Figura 30 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-8.

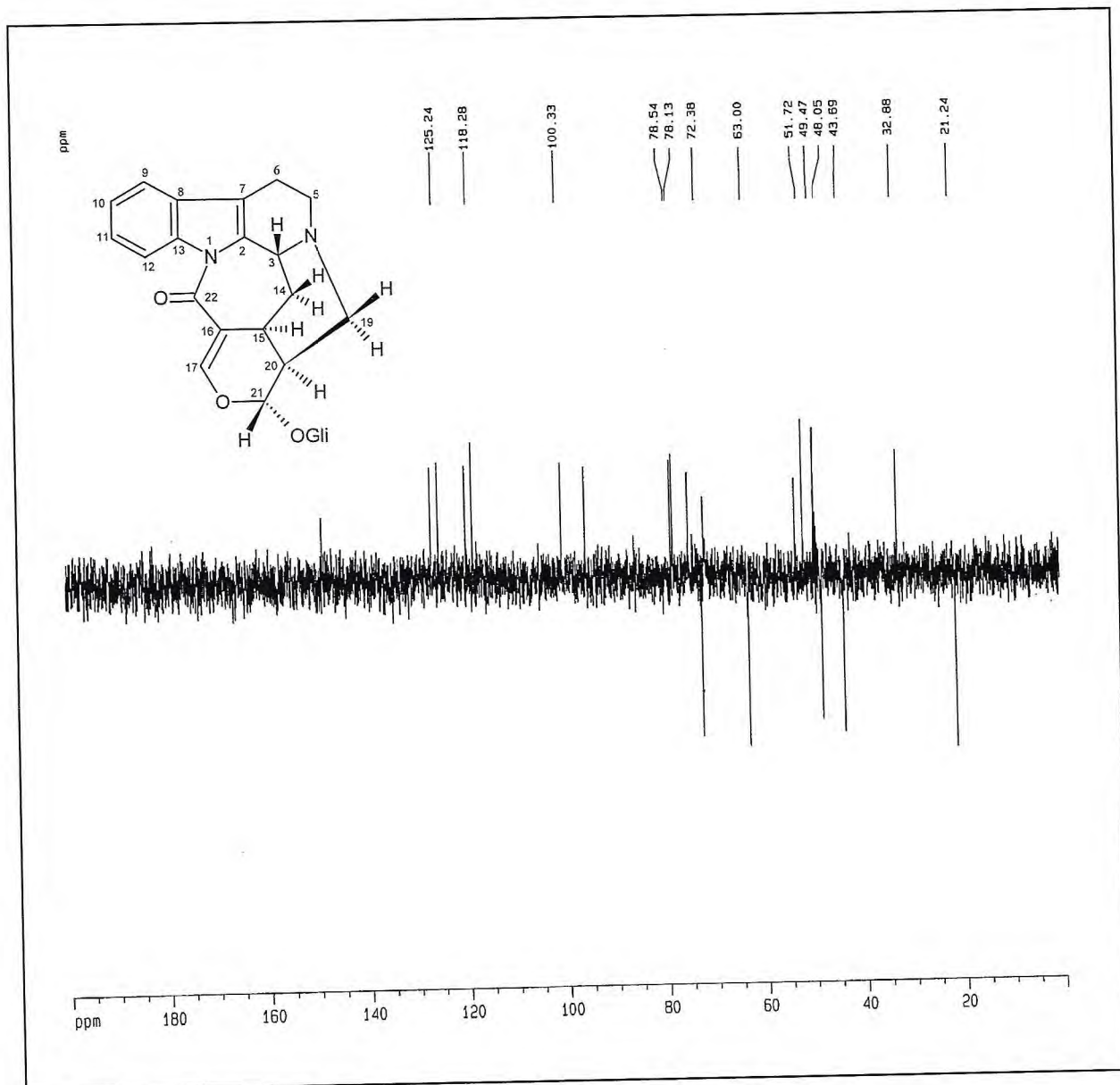


Figura 31 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CD_3OD) de PS-8.

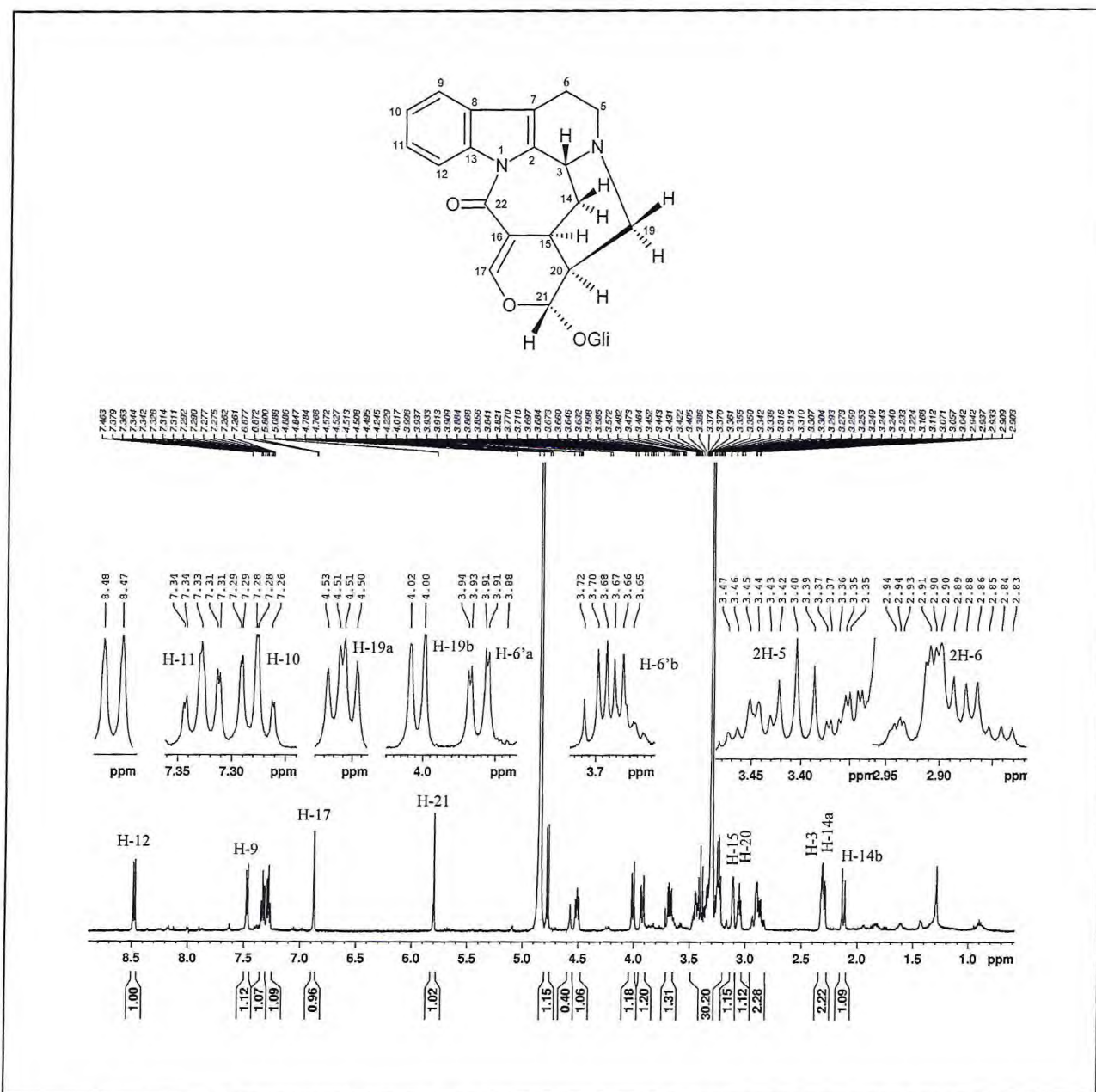


Figura 32 – Espectro de RMN ^1H (500MHz, CD_3OD) de PS-8.

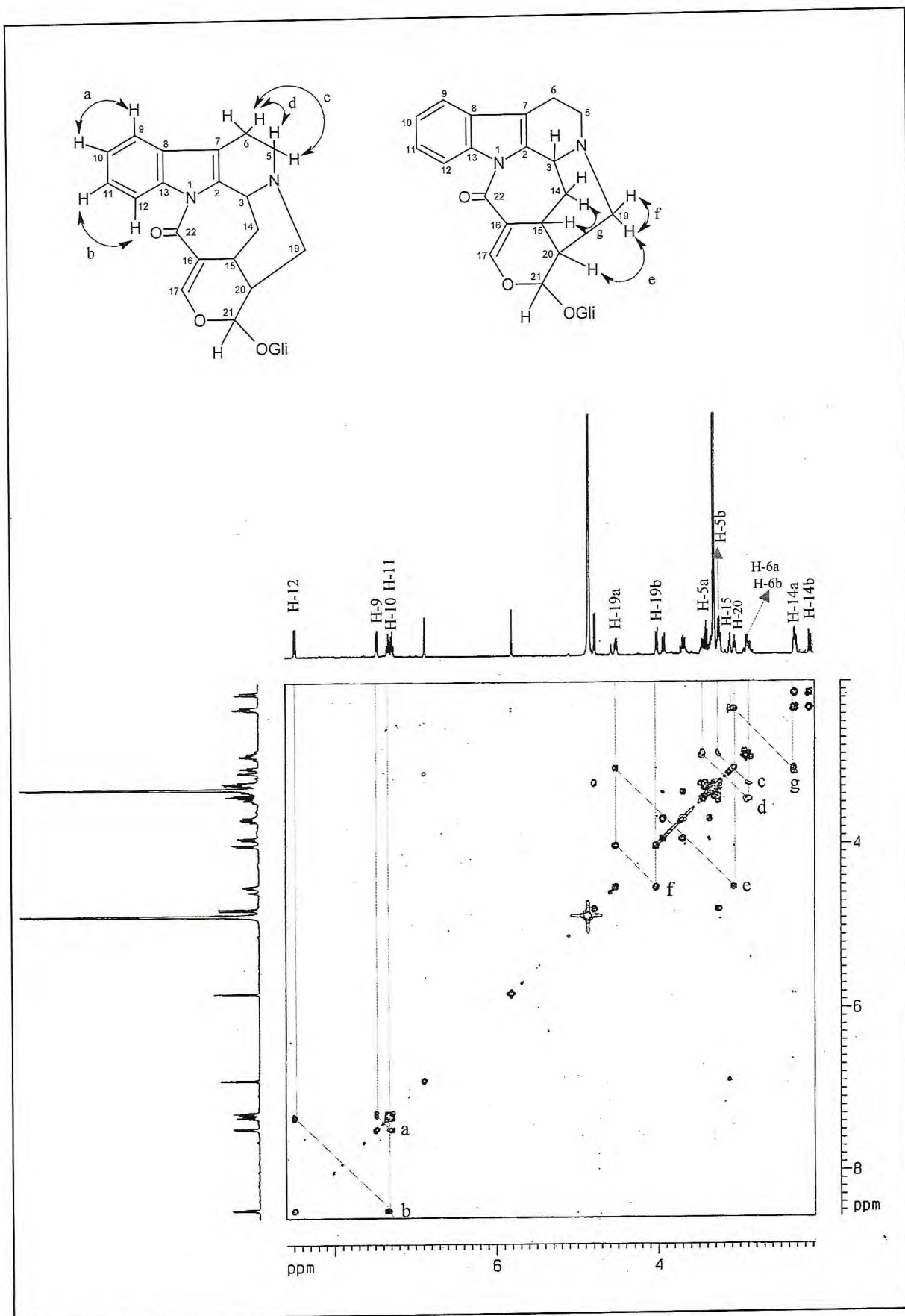


Figura 33 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-8.

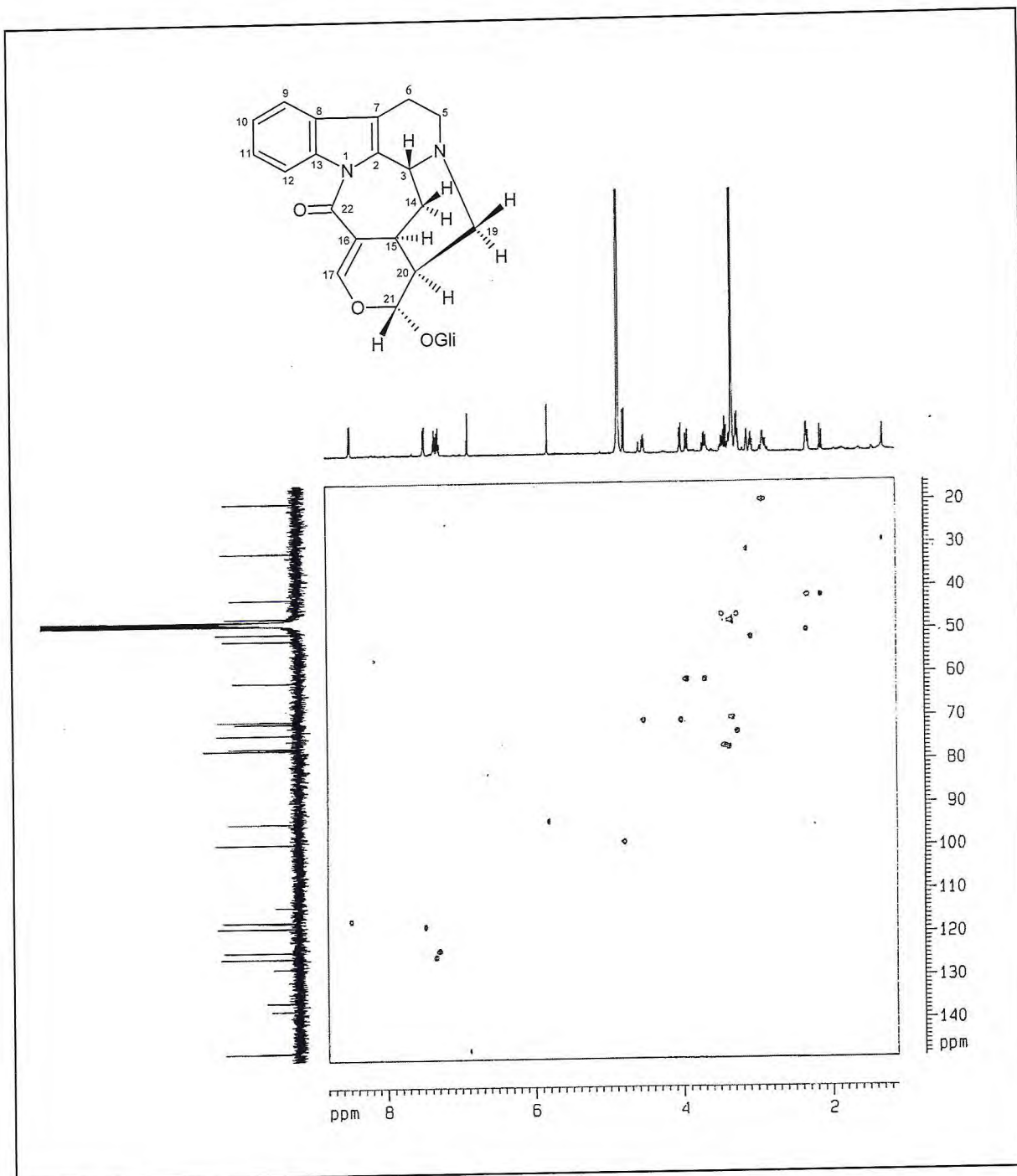


Figura 34 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-8.

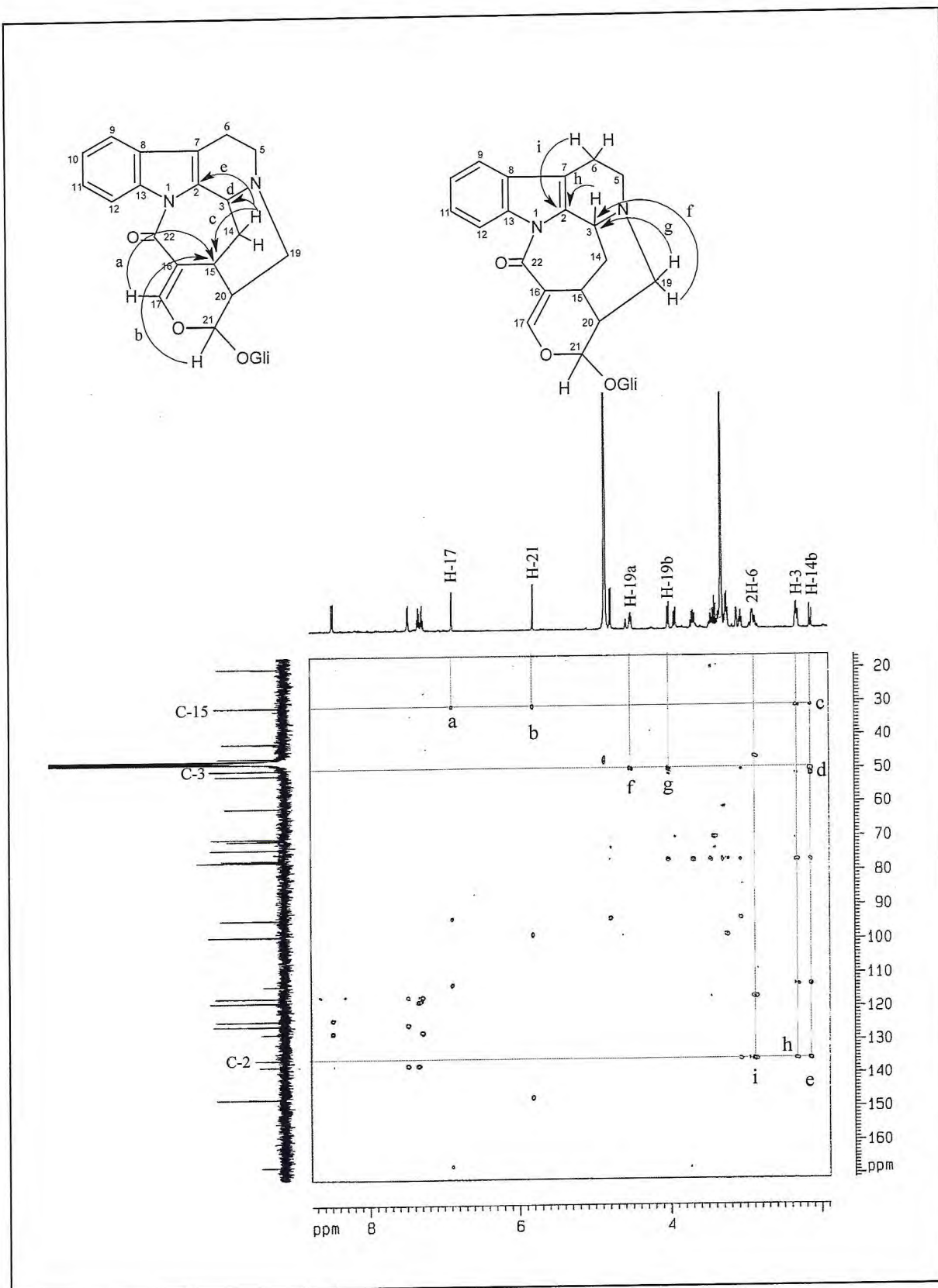


Figura 35 – Mapa de correlação HMBC (CD₃OD) de PS-8.

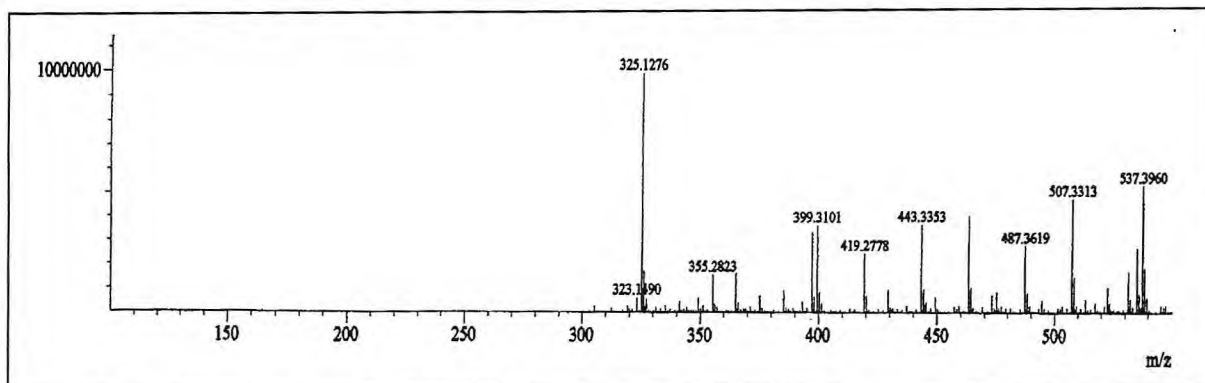


Figura 36 – Espectro de massas de PS- 8.

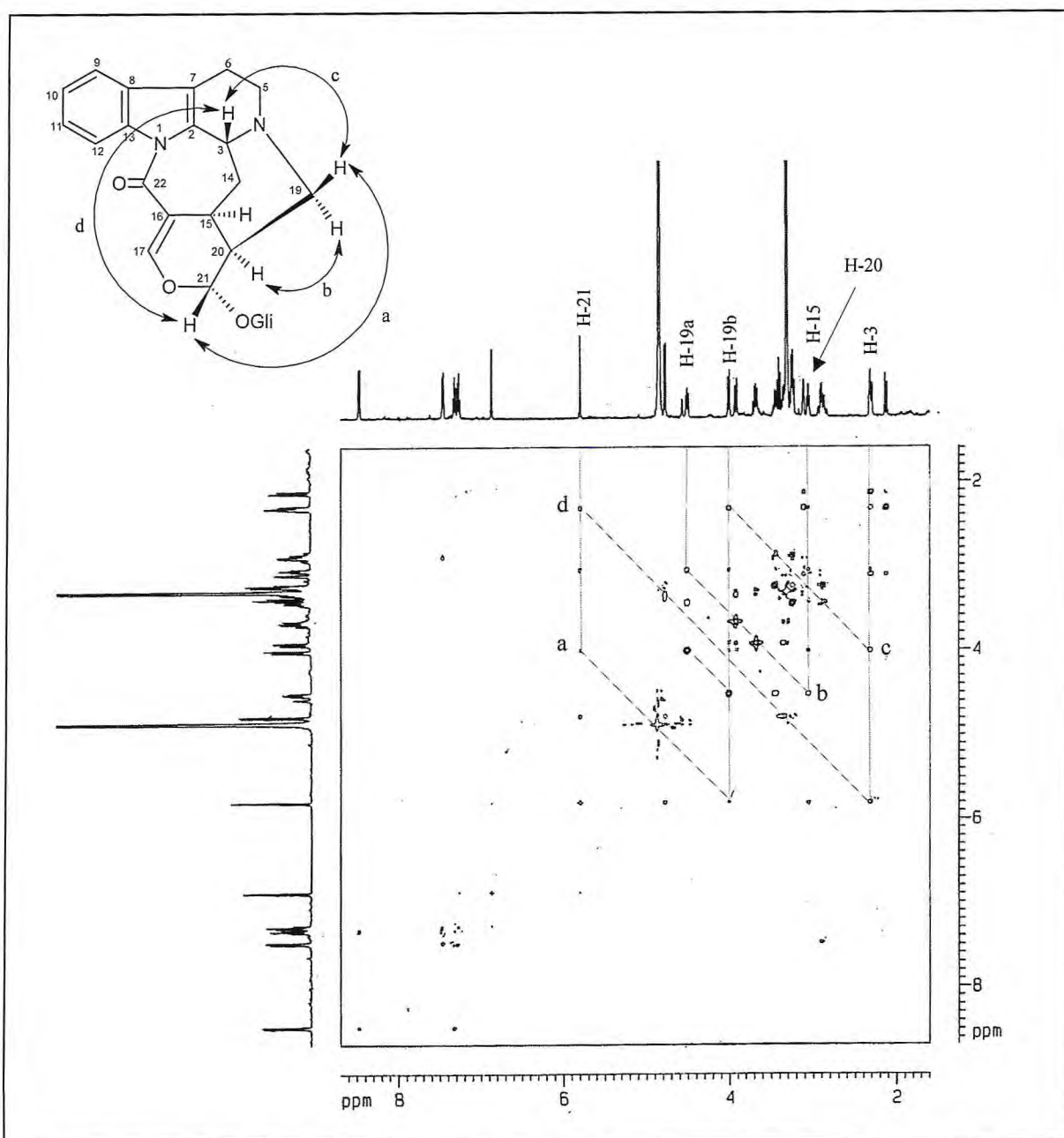


Figura 37 – Mapa de correlação NOESY (CD₃OD) de PS-8.

5.2.5. Determinação Estrutural de PS-2

Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração alcaloídica obtida a partir do extrato etanólico das folhas (EEFPS) de *P. stachyoides*, permitiu o isolamento de uma substância que se apresentou como uma resina marrom, $[\alpha]_D^{20} = -39,2^\circ$ (*c* 0,37, MeOH), e foi denominada de PS-2.

PS-2 apresentou em seu espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 38, p. 135) uma banda larga em 3415 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de ligação O-H/N-H, caracterizando presença de grupos hidroxila ou grupo amina, além de absorção em 1679 cm^{-1} relativa à deformação axial C=O de grupo carbonila. Foram também visualizadas banda esquelética em 1450 cm^{-1} de ligação C=C_{arom.}, e absorções em 1203 e 1136 cm^{-1} referentes à deformação axial de ligação C-O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

O espectro de RMN ^1H de PS-2 (Figura 39, p. 135) mostrou sinais compatíveis com um sistema β -carbolínico através dos sinais em $\delta_{\text{H}} 7,58$ (dd, $J = 7,9$ e $7,5$ Hz, H-10) e $\delta_{\text{H}} 7,78$ (dd, $J = 7,5$ e $8,3$ Hz, H-11), $\delta_{\text{H}} 8,33$ (d, $J = 7,9$ Hz, H-9) e $\delta_{\text{H}} 8,5$ (d, $J = 8,3$ Hz, H-12), já observados anteriormente. No entanto, para PS-2 foram visualizados a presença de dois hidrogênios olefínicos adicionais em $\delta_{\text{H}} 8,46$ (d, $J = 5,6$ Hz, H-5) e $\delta_{\text{H}} 8,35$ (d, $J = 5,6$ Hz, H-6), em substituição aos hidrogênios dos grupos metilênicos do sistema tetrahidrocarbolínico, como observado para os outros alcalóides. Este espectro também mostrou a presença das unidades de glicose e secologanina, através dos sinais relativos ao grupo vínílico terminal em $\delta_{\text{H}} 5,42$ (dd, $J = 10,3$ e $1,1$ Hz, H-18 α), $\delta_{\text{H}} 5,51$ (d; $J = 17, 15$ Hz, H-18 β); $\delta_{\text{H}} 5,88$ (m, H-19), e do sinal em $\delta_{\text{H}} 4,72$ (d, $J = 7,9$ Hz, H-1') relacionado ao hidrogênio anomérico da unidade de açúcar.

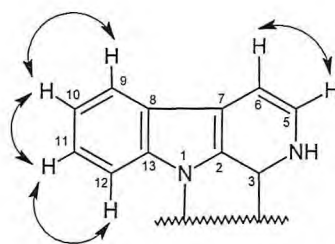
De forma análoga a PS-1, o espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 40, p. 136) de PS-2 também exibiu 26 linhas espectrais, no entanto, foram observados o surgimento de dois carbonos sp^2 adicionais em $\delta_{\text{C}} 116,2$ (C-6) e $\delta_{\text{C}} 137,0$ (C-5), sugerindo que PS-2 possui uma insaturação a mais que PS-1. O sinal em $\delta_{\text{C}} 167,9$ (C-22) foi atribuído a uma carbonila, enquanto que os sinais em $\delta_{\text{C}} 100,1$ (C-1'), $74,8$ (C-2'), $78,0$ (C-3'), $71,7$ (C-4'), $78,0$ (C-5') e $62,9$ (C-6') foram associados aos carbonos da unidade de glicose. O espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 41, p. 136) em comparação com o espectro de RMN ^{13}C revelou a

presença de 3 carbonos metilênicos (3 CH₂), 17 carbonos metínicos (17 CH) e 6 carbonos não-hidrogenados (6 C) (Tabela 29, p. 130).

Tabela 29 – Dados de RMN ¹³C de PS-2 com padrão de hidrogenação

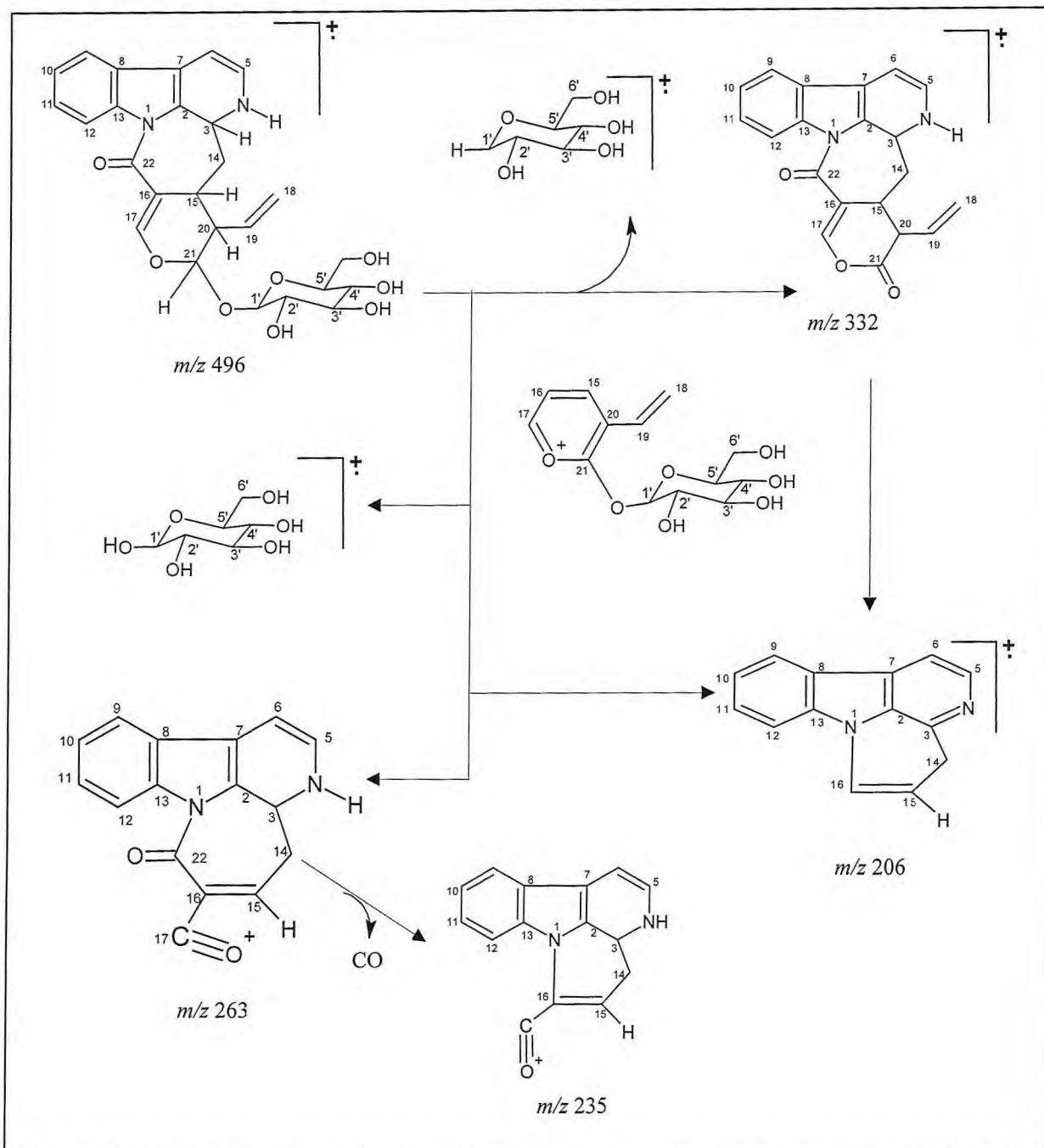
C	CH	CH ₂
113,5	30,5	36,6
123,9	46,4	62,9 (C-OH)
138,0	50,0 (C-NH)	121,8
144,0	71,7(C-OH)	
145,7 (C-N)	74,8 (C-OH)	
167,9 (C=O)	78,0 (C-OH)	
	78,0 (C-O)	
	97,9	
	100,1 (C-O)	
	116,2	
	119,8	
	123,9	
	126,3	
	133,5	
	133,6	
	137,0	
	157,2 (C-O)	
6 C	17 CH	3 CH ₂ C ₂₆ H ₂₈ N ₂ O ₈

No espectro de ¹H- ¹H-COSY (Figura 42, p. 137) foram observados os acoplamentos dos hidrogênios metínicos em δ_H 7,58 (H-10) com os hidrogênios em δ_H 8,33 (H-9) e 7,78 (H-11), e deste com o hidrogênio em δ_H 8,5 (H-12), confirmando a presença do sistema indólico. Em adição, foi observado o importante acoplamento do hidrogênio olefínico em δ_H 8,46 (d, $J = 5,6$ Hz, H-5) com o outro em δ_H 8,35 (d, $J = 5,6$ Hz, H-6), indicando a presença de uma ligação dupla entre os carbonos C-6 e C-5. De acordo com estes dados, pôde-se inferir a existência de um sistema di-hidro- β -carbolínico para PS-2, conforme mostrado na subestrutura 1.



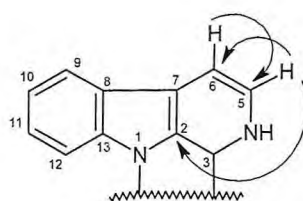
Subestrutura 1 de PS-2

O espectro de massa por impacto eletrônico (Figura 43, p. 138) confirmou as informações reveladas pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , através do pico do íon molecular com m/z 496 Daltons, correspondente a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$ com Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a doze. Os principais fragmentos apresentados por este espectro estão apresentados no Quadro 9, p. 132.



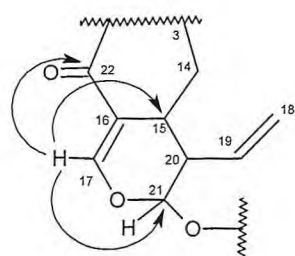
Quadro 9 – Proposta mecânica para alguns fragmentos de PS-2, de acordo com seu espectro de massa.

O espectro de HSQC (Figura 44, p. 138) revelou de forma inequívoca as correlações de todos os hidrogênios e seus respectivos carbonos, como mostrado na Tabela 30, (p. 134). Por outro lado, o espectro de HMBC (Figura 45, p. 139) corroborou as sugestões anteriores através das correlações do hidrogênio em δ_H 8,46 (H-5) com o carbono em δ_C 116,2 (C-6); do hidrogênio em δ_C 8,46 (H-5) com o carbono em δ_C 145,7 (C-2), e do hidrogênio δ_H 8,35 (H-6) com o carbono δ_C 137,0 (C-5), como mostrado na subestrutura 2.

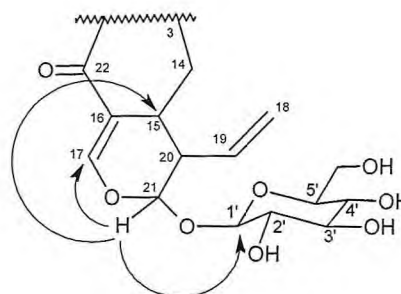


Subestrutura 2 de PS-2

Neste espectro foram também mostrados os acoplamentos do hidrogênio olefínico em δ_H 7,98 (s, H-17) com os carbonos em δ_C 30,5 (C-15), 97,9 (C-21) e 167,9 (C-22); e do hidrogênio acetálico em δ_H 5,70 (H-21) com os carbonos em δ_C 30,5 (C-15) e δ_C 157,2 (C-17) e δ_C 100,1 (C-1'), o que evidenciou a posição relativa da glicose no carbono 21, como mostrado nas subestruturas 3 e 4.

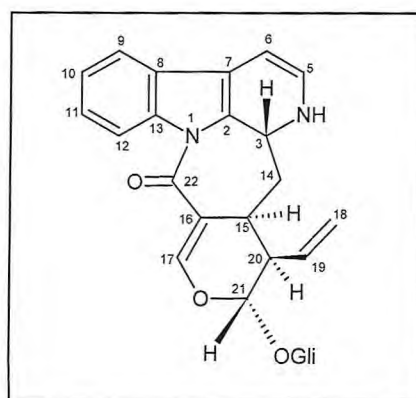


Subestrutura 3 de PS-2



Subestrutura 4 de PS-2

De acordo com os dados espectroscópicos descritos, foi possível concluir que, diferentemente dos outros alcalóides, PS-2 possui um sistema di-hidro- β -carbólico. Desta forma, PS-2 foi denominado de correantósídeo E de caráter inédito na literatura (Estrutura 89).



Estrutura de PS-2 (89)

Tabela 30 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-2 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC

	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	145,7	-		H-5; 2H-14
7	138,0	-		H-5; H-9
8	123,9	-		H-10; H-12
13	144,0	-	H-12	H-9; H-11
16	113,5	-	H-15; H-17	H-14
22	167,9	-		H-17
CH				
3	50,0	3,41		
5	137,0	8,46 (d, 5,6)	H-6	
6	116,2	8,35 (d, 5,6)	H-5	
9	123,9	8,33 (d,7,9)		H-11
10	126,3	7,58 (t, 7,9; 7,5)		H-12
11	133,5	7,78 (t, 7,5; 8,3)		H-9
12	119,8	8,5 (d, 8,3)		H-10
15	30,5	3,46		H-17; H-21
17	157,2	7,98 (s)		H-21
19	133,6	5,88 m		H-15
20	46,4	2,92 (m)	H-15, H-19	H-14; 2H-18
21	97,9	5,70 (d, 3,56)		H-1'
1'	100,1	4,72 (d, 7,9)	H-2'	H-21
2'	74,8	3,12 (dd, 7,9 e 8,9)	H-3'	
3'	78,0	3,37	H-2'; H-4'	
4'	71,7	3,24 (t, 9,2)	H-3'	H-6'a
5'	78,0	3,31		
CH ₂				
14	36,6	3,48 e 3,41		
18	121,8	5,51 (d, 17,2)	H-19	
		5,42 (dd, 10,3)		
6'	62,9	3,91 (dd, 11,9 e 2,0)		H-4'
		3,66 (dd, 11,8 e 6,8)		

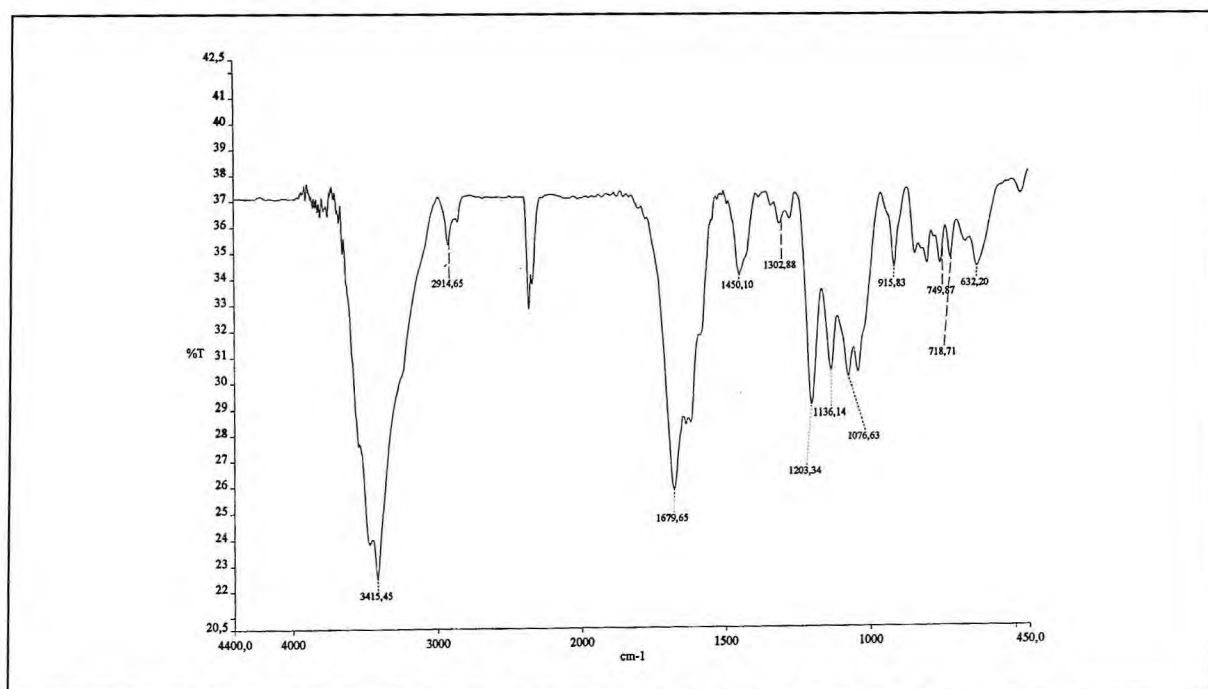


Figura 38 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-2.

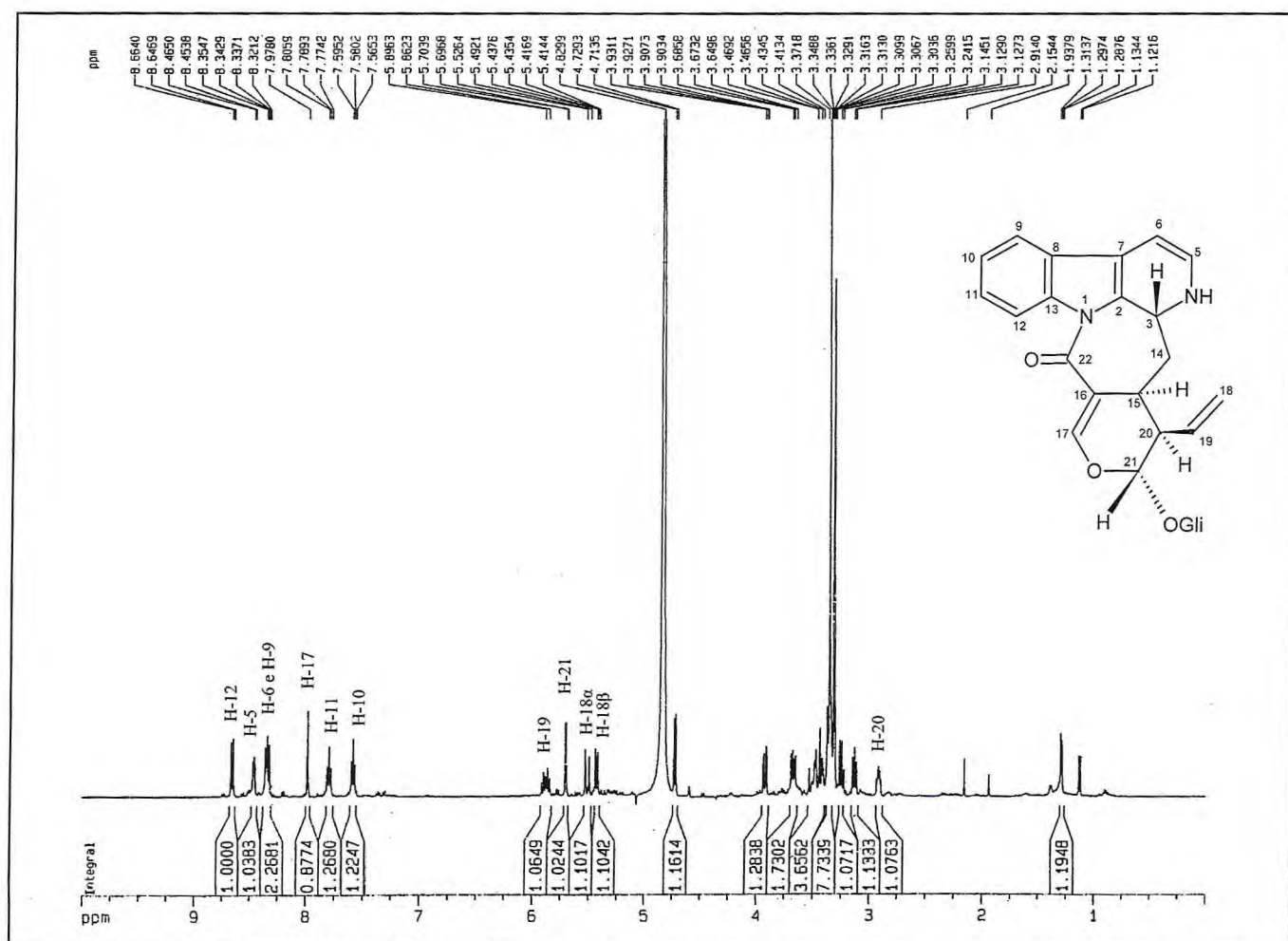


Figura 39 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-2.

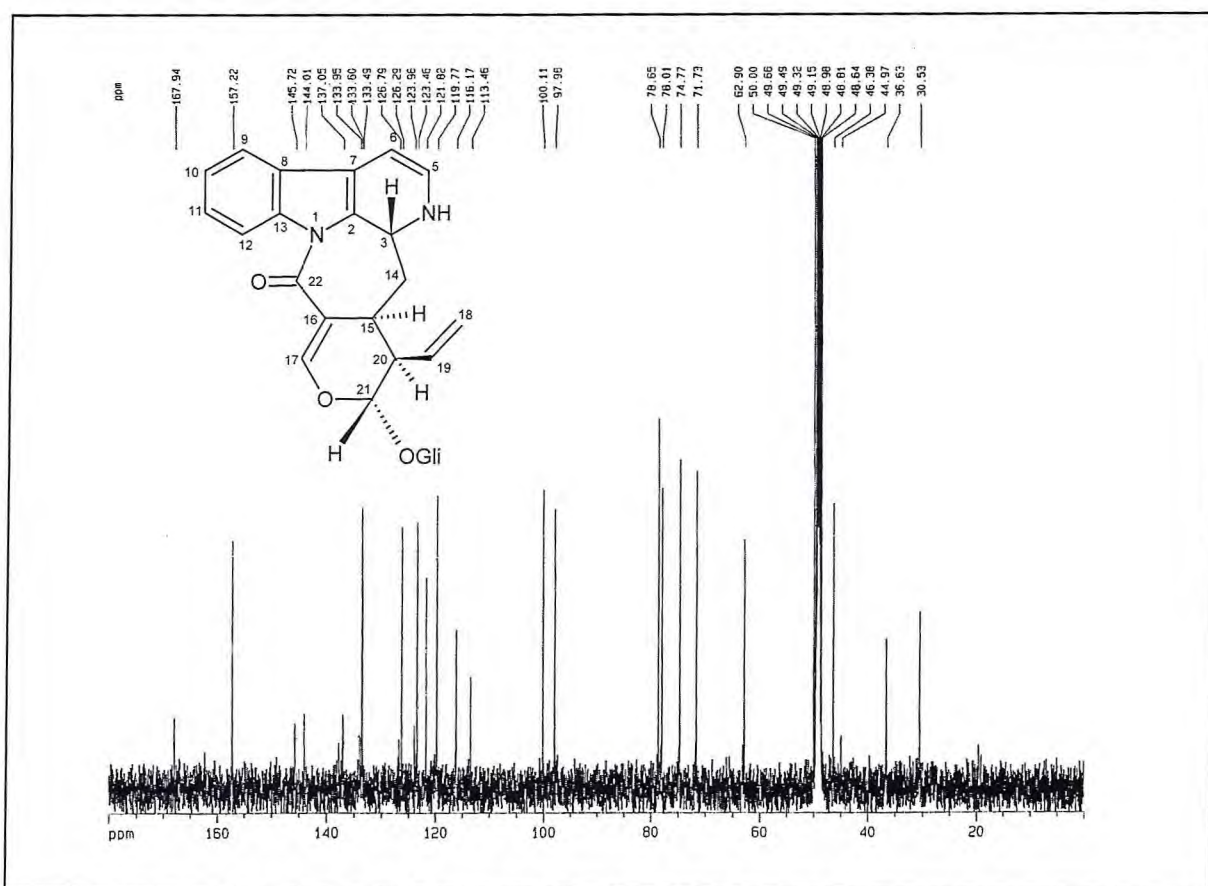


Figura 40 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-2.

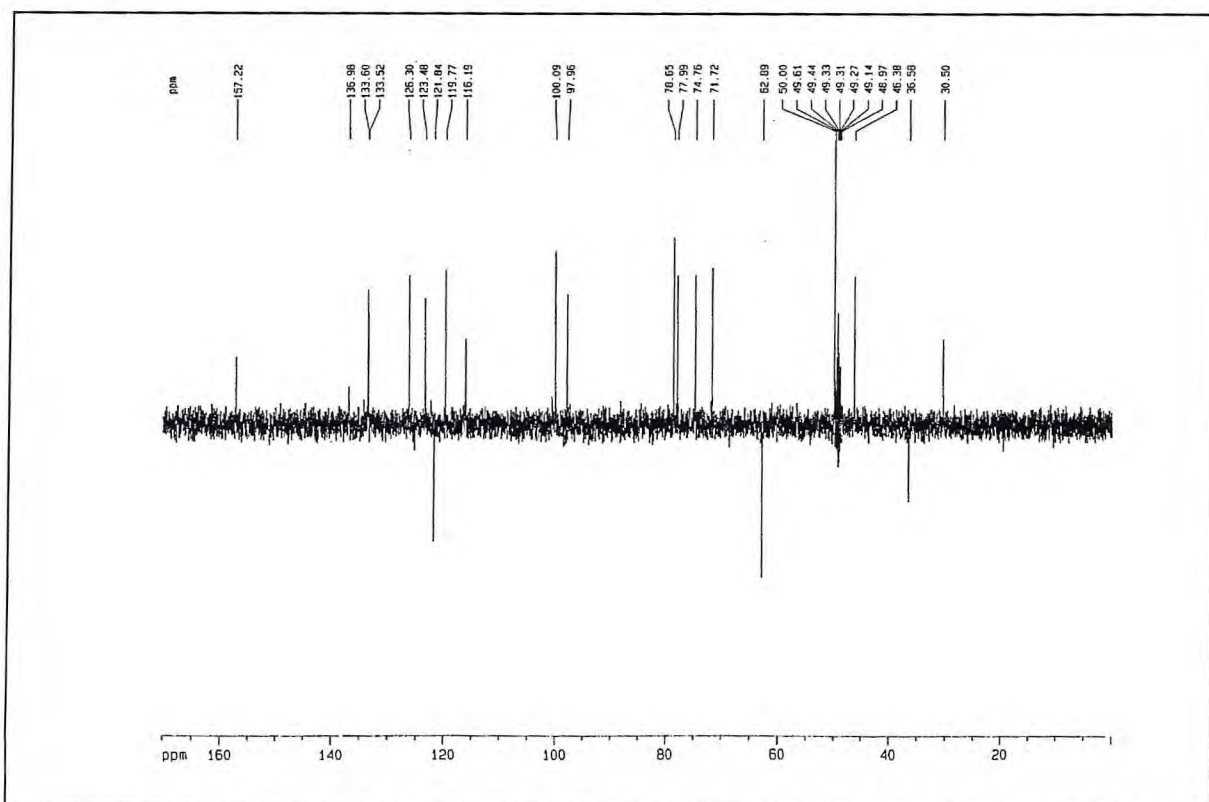


Figura 41 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CD_3OD) de PS-2.

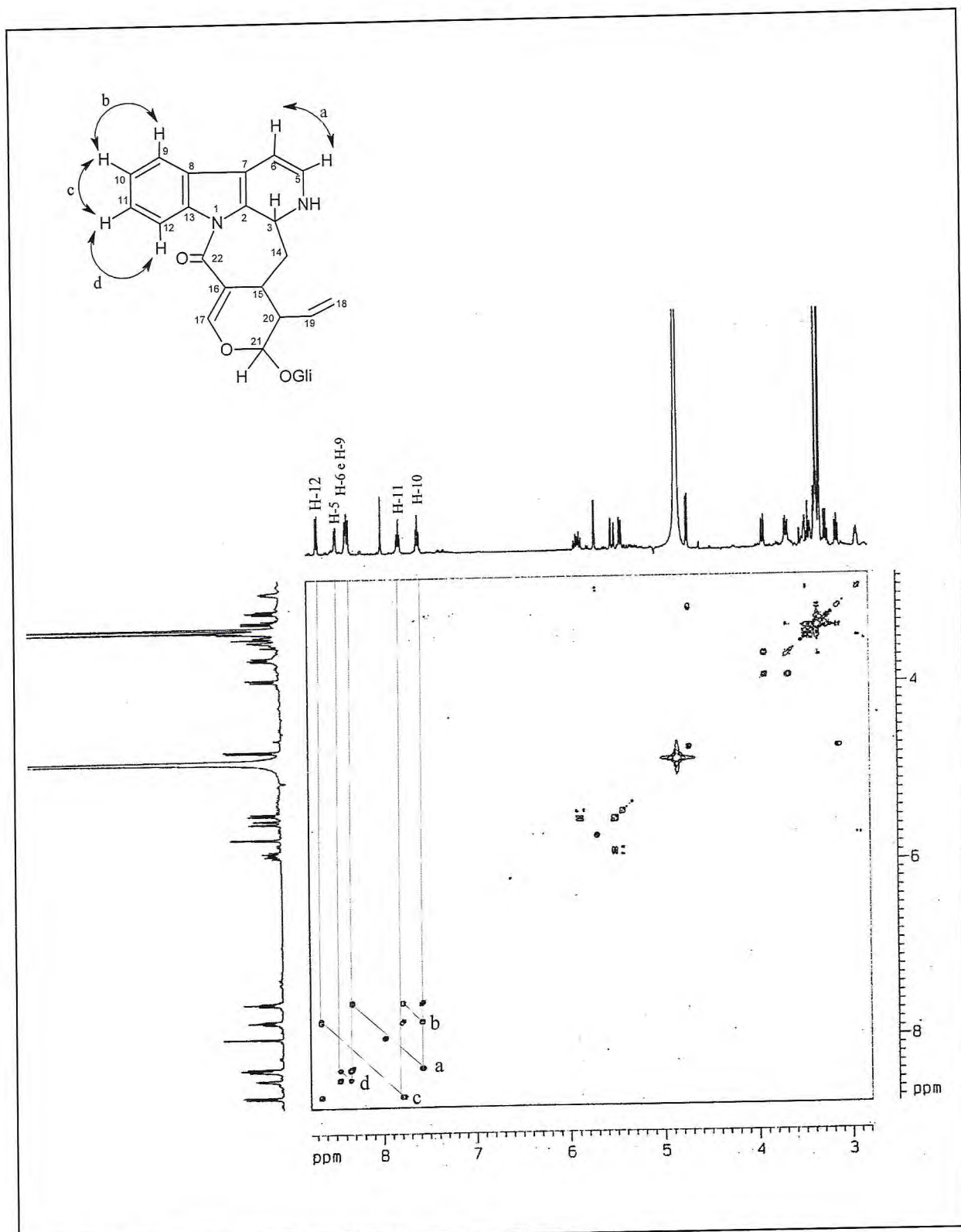


Figura 42 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-2.

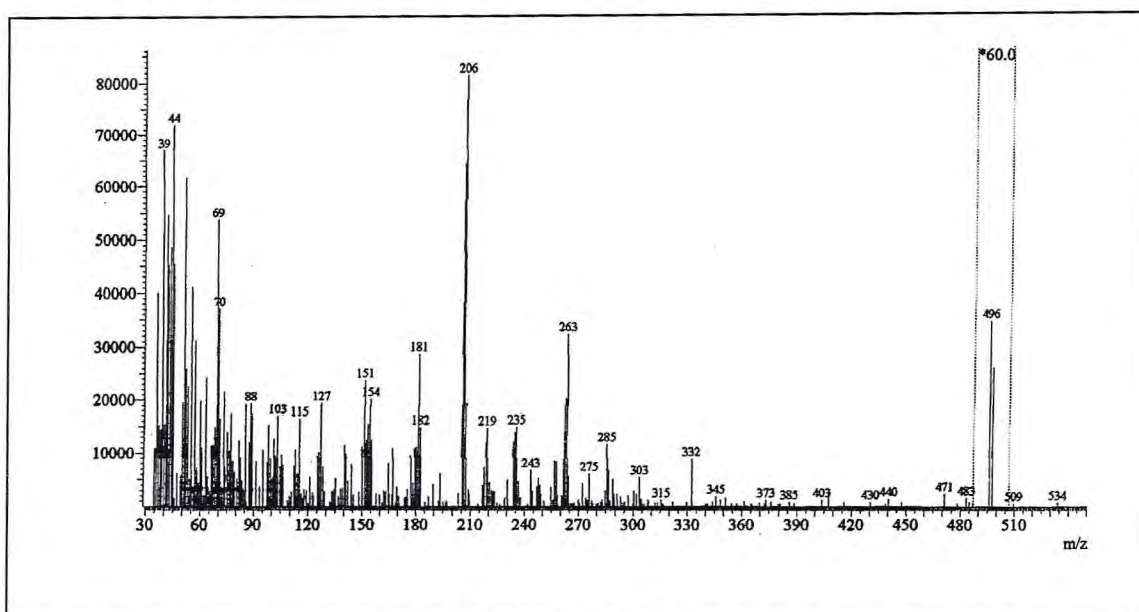


Figura 43 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-2.

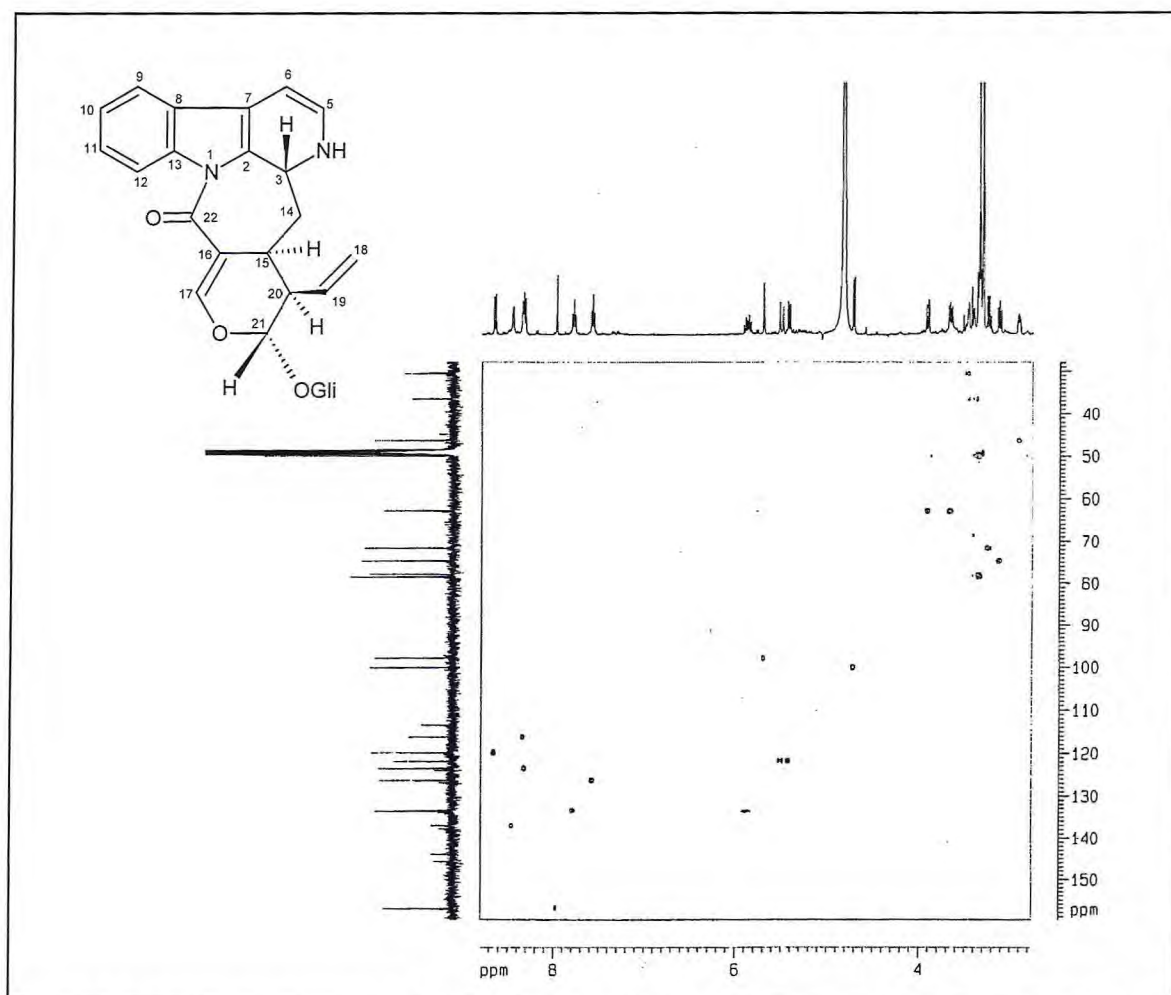


Figura 44 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-2.

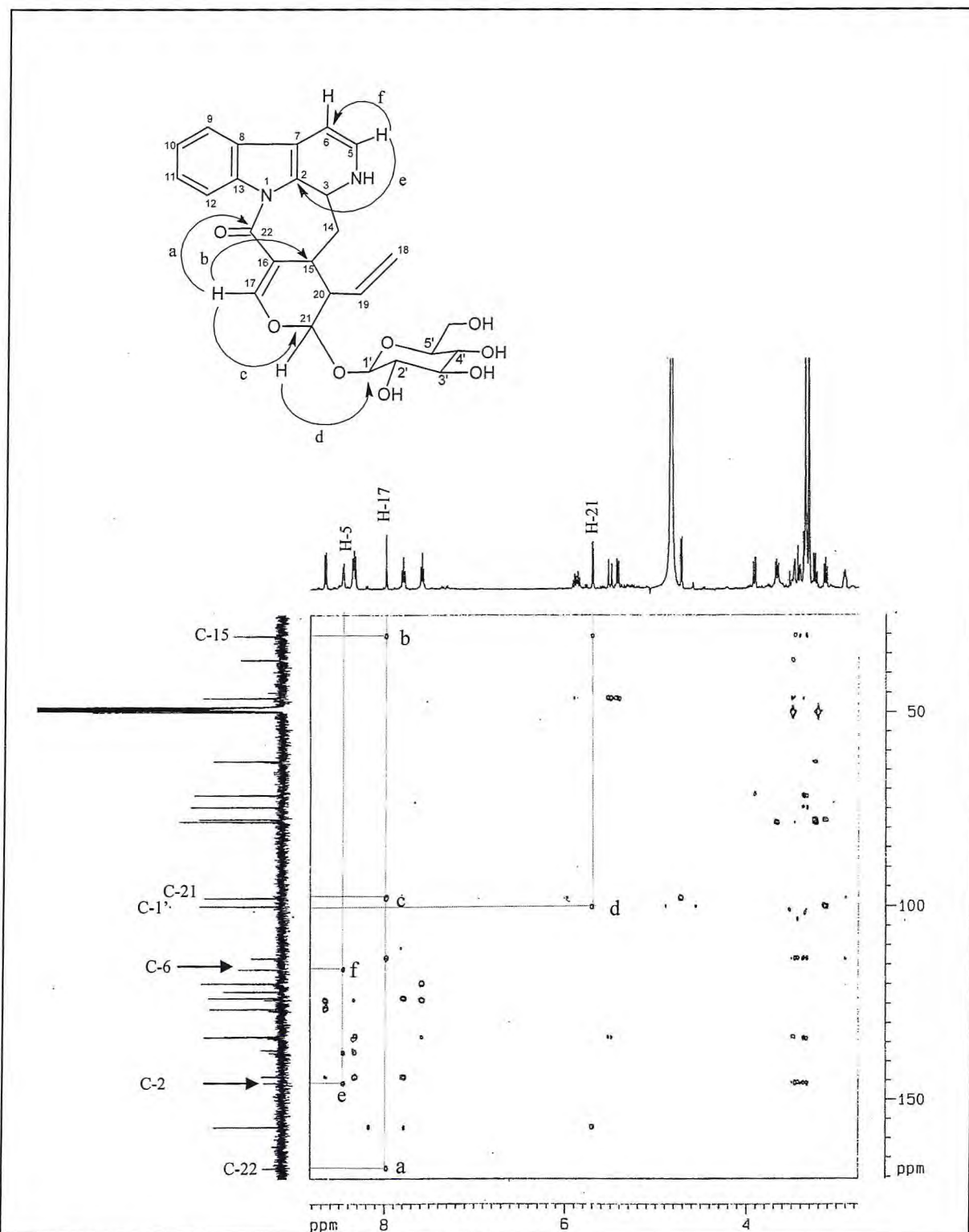


Figura 45 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-2.

5.2.6. Determinação Estrutural de PS-6

PS-6 foi isolada a partir de sucessivas cromatografias da fração alcaloídica do extrato etanólico dos talos de *P. stachyoides*, como uma resina marrom e $[\alpha]_D^{20} = -90,0^\circ$ (c.0,135, MeOH).

O espectro de infravermelho de PS-6 (Figura 46, p. 145) apresentou uma absorção em 3416 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de ligação O-H referente a um grupo hidroxila; uma banda em 1621 cm^{-1} associada à deformação axial de ligação C=O de carbonila de amida; além de uma banda em 1454 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C=C_{arom} (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

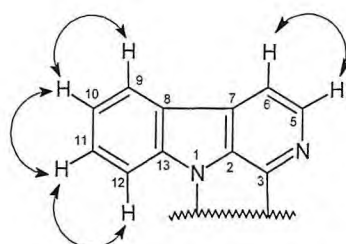
De forma análoga ao espectro de RMN ^{13}C de PS-1, o espectro de RMN ^{13}C (Figura 47, p. 145) de PS-6 também exibiu 26 linhas espectrais. Os espectros destes compostos mostraram-se bastante semelhantes, com exceção da presença de três carbonos sp^2 adicionais em δ_{C} 148,1 (C-3), 116,2 (C-6) e δ_{C} 137,0 (C-5) em PS-6, indicando que este composto possui duas insaturações a mais que PS-1. Análise comparativa com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 48, p. 146) permitiu determinar o padrão de hidrogenação dos carbonos como sendo 3 carbonos metilênicos (3 CH_2), 16 metínicos (6 CH) e 7 carbonos não-hidrogenados (C), de acordo com a Tabela 31 (p. 141). O espectro de massa de alta resolução (Figura 49, p. 146) corroborou estes dados através do pico íon molecular em m/z 495,1742 $[\text{M} + \text{H}]^+$, correspondente a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8$ e Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a quinze, duas insaturações a mais que PS-1.

O espectro de RMN ^1H (Figura 50, p. 147) mostrou sinais compatíveis com o sistema indólico através dos sinais centrados em δ_{H} 7,49 (t, $J = 7,9$ e $7,7$ Hz, H-10) e δ_{H} 7,65 (t, $J = 7,7$ e $8,4$ Hz, H-11), δ_{H} 8,14 (d, $J = 8,0$ Hz, H-9) e δ_{H} 8,63 (d, $J = 8,4$ Hz, H-12). Assim como em PS-2, observou-se neste espectro sinais correspondentes a hidrogênios olefínicos adicionais em δ_{H} 8,25 (d, $J = 5,0$, H-5 Hz) e δ 7,79 (d, $J = 5,0$ Hz, H-6).

Tabela 31 – Dados de RMN ^{13}C de PS-6 com padrão de hidrogenação.

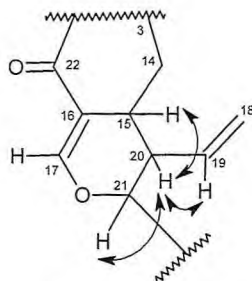
C	CH	CH ₂
114,5	21,2	39,8
125,2	46,7	62,9 (C-OH)
134,0 (C-N)	71,7 (C-OH)	121,3
134,4	74,7 (C-OH)	
142,3	77,9 (C-OH)	
148,1 (C-N)	78,6	
168,8 (C=O)	97,9 (C-O)	
	100,1 (C-O)	
	114,5	
	119,7	
	122,3	
	125,5	
	131,3	
	134,1	
	142,6	
	155,9 (C-O)	
7C	16 CH	3 CH ₂
		C ₂₆ H ₂₆ N ₂ O ₈

De maneira semelhante a PS-1 e PS-2 o espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY de PS-6 (Figura 51, p. 148) mostrou os acoplamentos dos hidrogênios do sistema indólico, através da correlação do hidrogênio metínico em δ_{H} 8,14 (H-9) com o hidrogênio em δ_{H} 7,49 (H-10), e deste com o hidrogênio δ_{H} 7,65 (H-11), que por sua vez acopla com o hidrogênio δ_{H} 8,63 (H-12). Neste espectro também foram observados o acoplamento dos hidrogênios olefínicos em δ_{H} 8,25 (H-5) com o outro em δ_{H} 7,79 (H-6), que foram atribuídos a hidrogênios α e β do anel piridínico. Estes dados, em conjunto com os dados de RMN ^1H e ^{13}C possibilitaram propor para PS-6 a subestrutura 1:



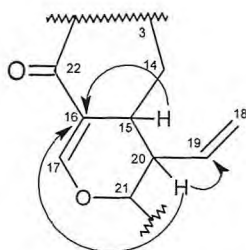
Subestrutura 1 de PS-6.

Assim como visualizado para os outros alcalóides já descritos, o espectro de COSY mostrou a correlação do hidrogênio olefínico em δ_H 5,87 (m, H-19) com o hidrogênio em δ_H 2,86 (m, H-20), e deste com os hidrogênios em δ_H 3,35 (H-15) e 5,67 (d, $J = 2,7$, H-21), caracterizando a unidade secologanina (subestrutura 2).

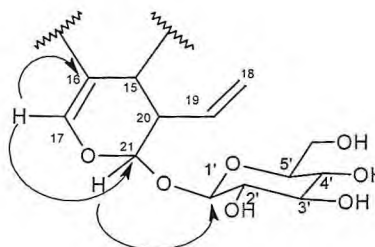


Subestrutura 2 de PS-6.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos com os seus respectivos hidrogênios foi realizada de forma inequívoca, através da análise do espectro de HSQC (Figura 52, p. 149), cujos dados apresentam-se na Tabela 32 (p. 143). No espectro de HMBC (Figura 53, p. 150) foram evidenciados o acoplamento do hidrogênio em δ_H 5,85 (H-20) com os carbonos em δ_C 114,5 (C-16) e δ 134,1 (C-19), e do hidrogênio em δ_H 3,35 (H-15) com o carbono em δ_C 114,5 (C-16); do hidrogênio olefínico em δ_H 7,90 (H-17) com os carbonos em δ_C 114,5 (C-16) e δ_C 97,9 (C-21); do hidrogênio acetálico em δ_H 5,67 (H-21) com o carbono em δ_C 100,1 (C-1'), o que confirmou a posição da glicose no carbono 21, (subestrutura 3 e 4).



Subestrutura 3 de PS-6.

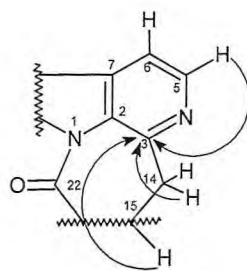


Subestrutura 4 de PS-6.

Tabela 32 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-6 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMBC.

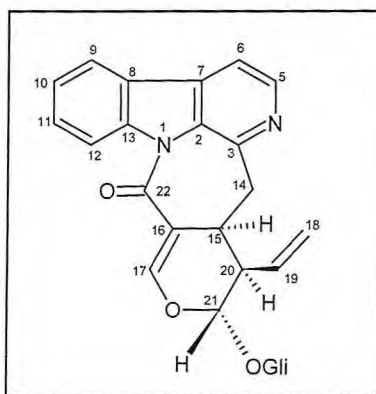
	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	134,4	-		H-6; H-14; H-15
3	148,1		H-14	H-5; H-15
7	134,0	-		H-5; H-9
8	125,2	-	H-6; H-19; H-12	
13	142,3	-		H-9; H-11
16	114,5	-	H-15; H-17	H-14; H-20
22	168,8	-		H-17
CH				
5	142,6	8,25 (d, 5,0)		
6	114,5	7,79 (d, 5,0)	H-5	
9	122,3	8,14 (d, 8,0)		
10	125,5	7,49 (dd, 7,9 e 7,7)		H-12
11	131,3	7,65 (dd, 7,7 e 8,4)		H-9
12	119,7	8,63 (d, 8,4)		
15	21,2	3,35	H-14	H-17; H-21
17	155,9	7,90 (s)		
19	134,1	5,88 (m)	H-20	
20	46,7	5,85 (m)		2H-18
21	97,9	5,67 (d, 2,7)		H-17
1'	100,1	4,72 (d, 8,0)	H-2'	
2'	74,7	3,17	H-3'	
3'	77,9	3,35	H-2'; H-4'	
4'	71,7	3,23	H-3'	
5'	78,6	3,36	H-4'; H6'b	
CH ₂				
14	39,8	3,23		
18	121,3	5,48 (d, 16,9); 5,32 (d, 10,4)		
6'	62,9	3,91 (d, 10,8) 3,66 (dd, 10,8 e 6,0)		

Este espectro mostrou ainda as correlações dos hidrogênios do sistema β -carbolínico em δ_{H} 8,25 (H-5), δ_{H} 3,23 (H-14) e δ_{H} 3,35 (H-15) com o carbono em δ_{C} 148,06 (C-3), corroborando a presença de um alcalóide β -carbolínico piridínico como mostrado na subestrutura 3:



Subestrutura 5 de PS-6.

Com base nas informações aqui descritas, pôde-se concluir que PS-6 é estruturalmente muito semelhante a PS-1 e PS-2, sendo que o primeiro é um alcalóide do tipo β -carbolínico piridínico, o segundo tetrahydro- β -carbolínico e o terceiro dihydro- β -carbolínico (Tabela 33, p. 144). Desta forma PS-6 foi denominado correantosídeo F e possui caráter inédito na literatura (Estrutura 93).



Estrutura de PS-6 (93).

Tabela 33 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C de PS-6, PS-1 e PS-2.

	PS-6 (CD_3OD)	PS-1 (CD_3OD)	PS-2 (CD_3OD)
C			
2	134,4	136,0	145,7
3	148,1	50,6	50,0
5	142,6	40,0	137,0
6	114,5	23,2	116,2
7	134,0	117,0	138,0
8	125,2	131,0	123,9
9	122,3	119,2	123,9
10	125,5	124,4	126,3
11	131,3	125,5	133,5
12	119,7	116,4	119,8
13	142,3	137,3	144,0
14	39,8	36,7	36,6
15	21,2	35,7	30,5
16	114,5	112,7	113,5
17	155,9	155,6	157,2
18	121,3	119,3	121,8
19	134,1	135,2	133,6
20	46,7	45,6	46,4
21	97,9	97,5	97,9
22	168,8	168,6	167,9
1'	100,1	100,7	100,1
2'	74,7	74,9	74,8
3'	77,9	78,7	78,0
4'	71,7	71,8	71,7
5'	78,6	78,2	78,0
6'	62,9	63,1	62,9

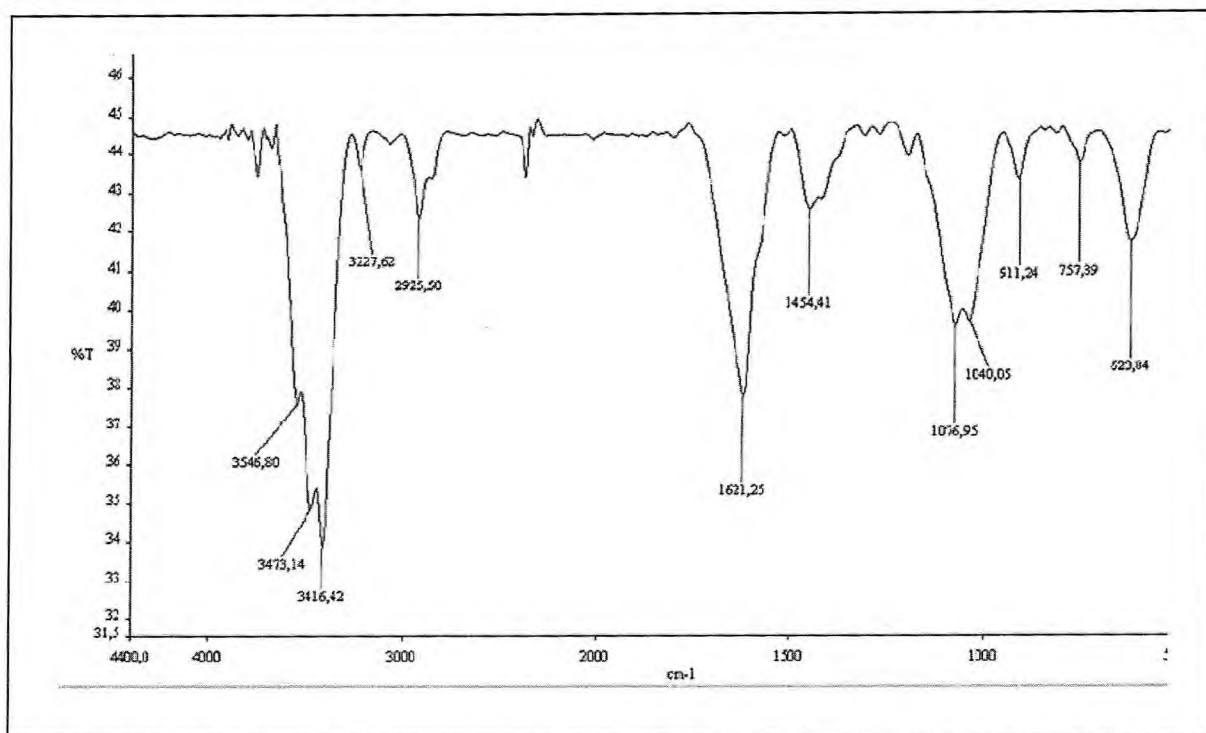


Figura 46 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-6.

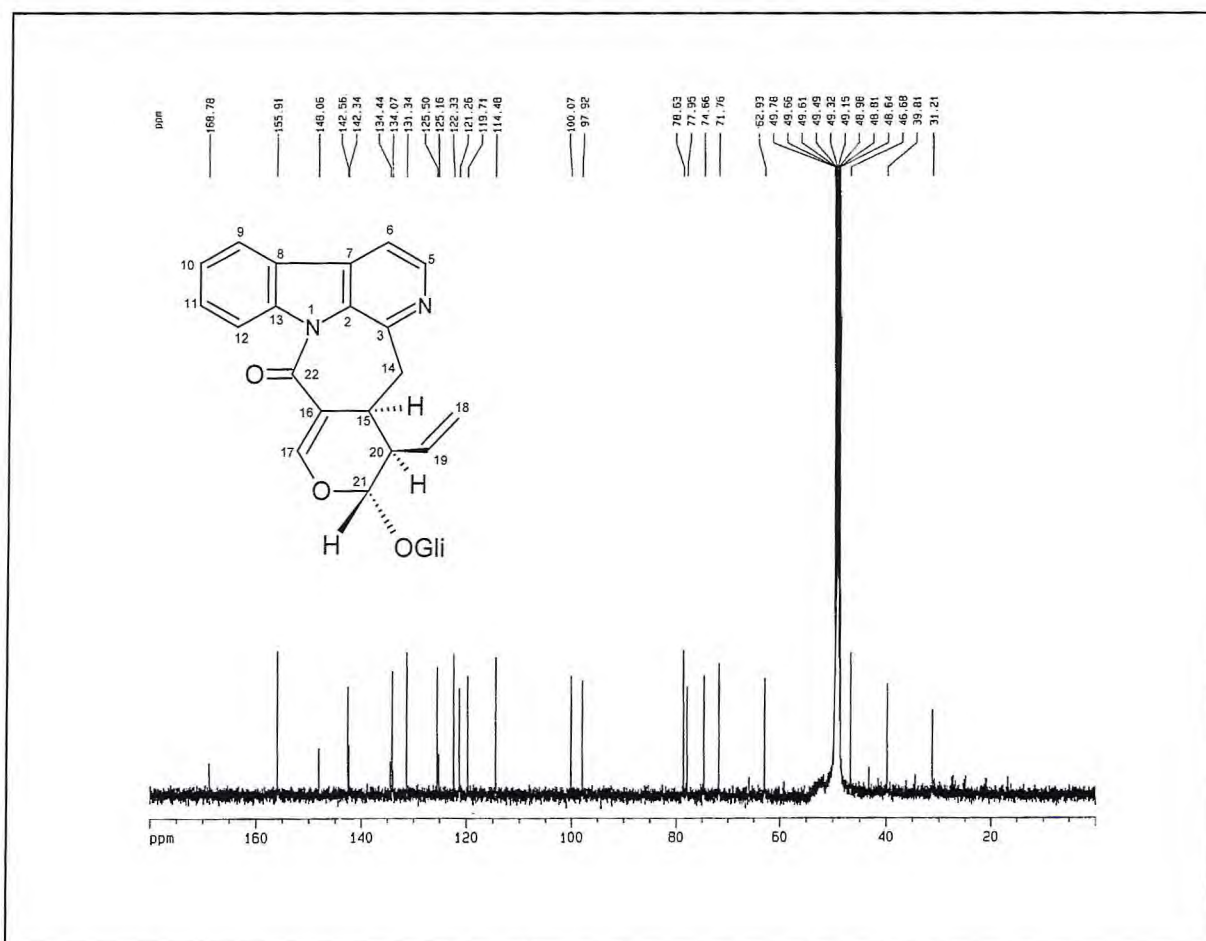


Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-6.

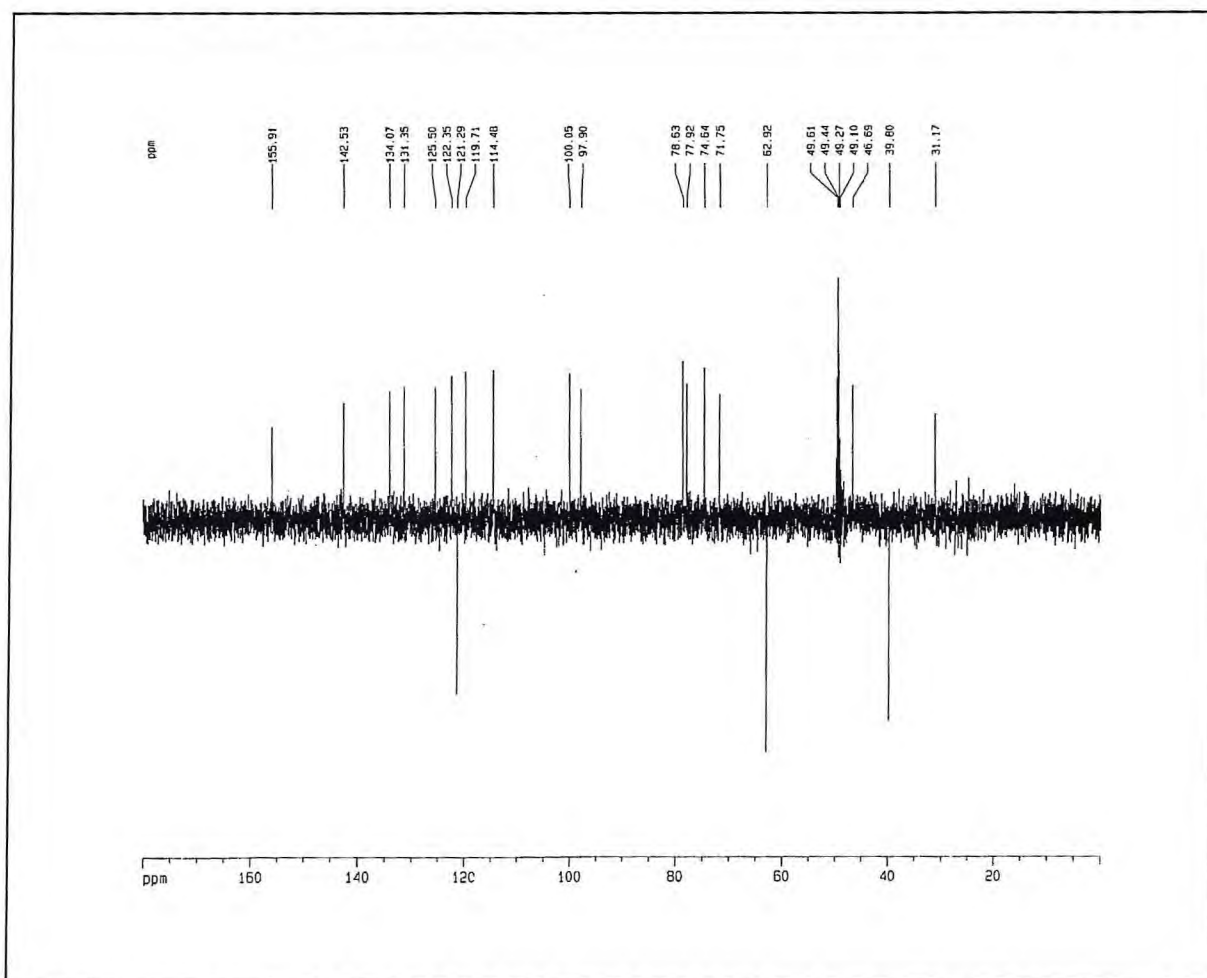


Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-6.

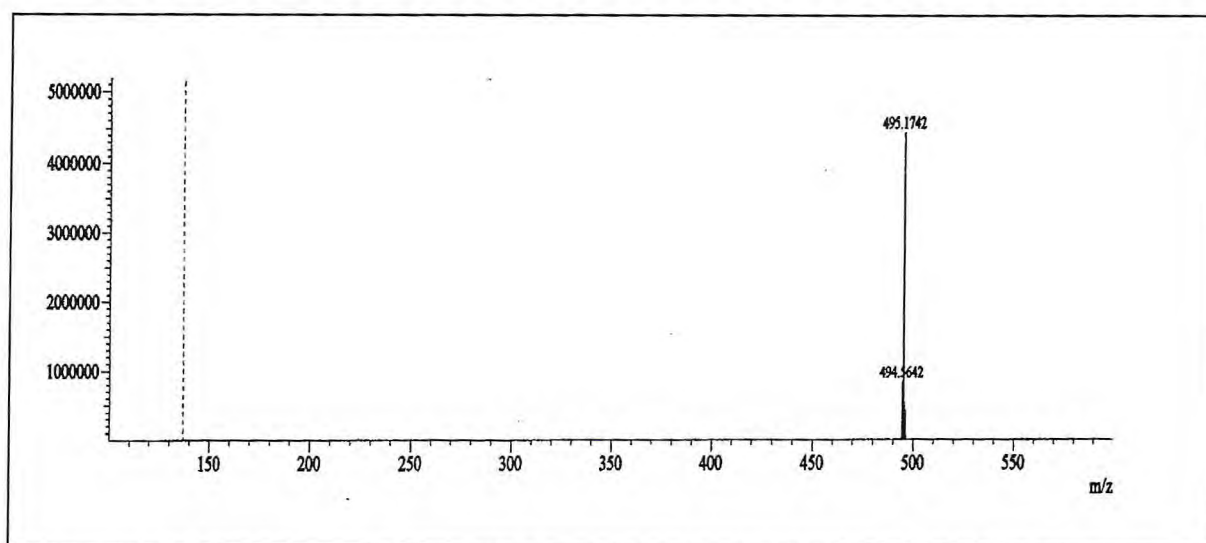


Figura 49 – Espectro de massas de PS-6.

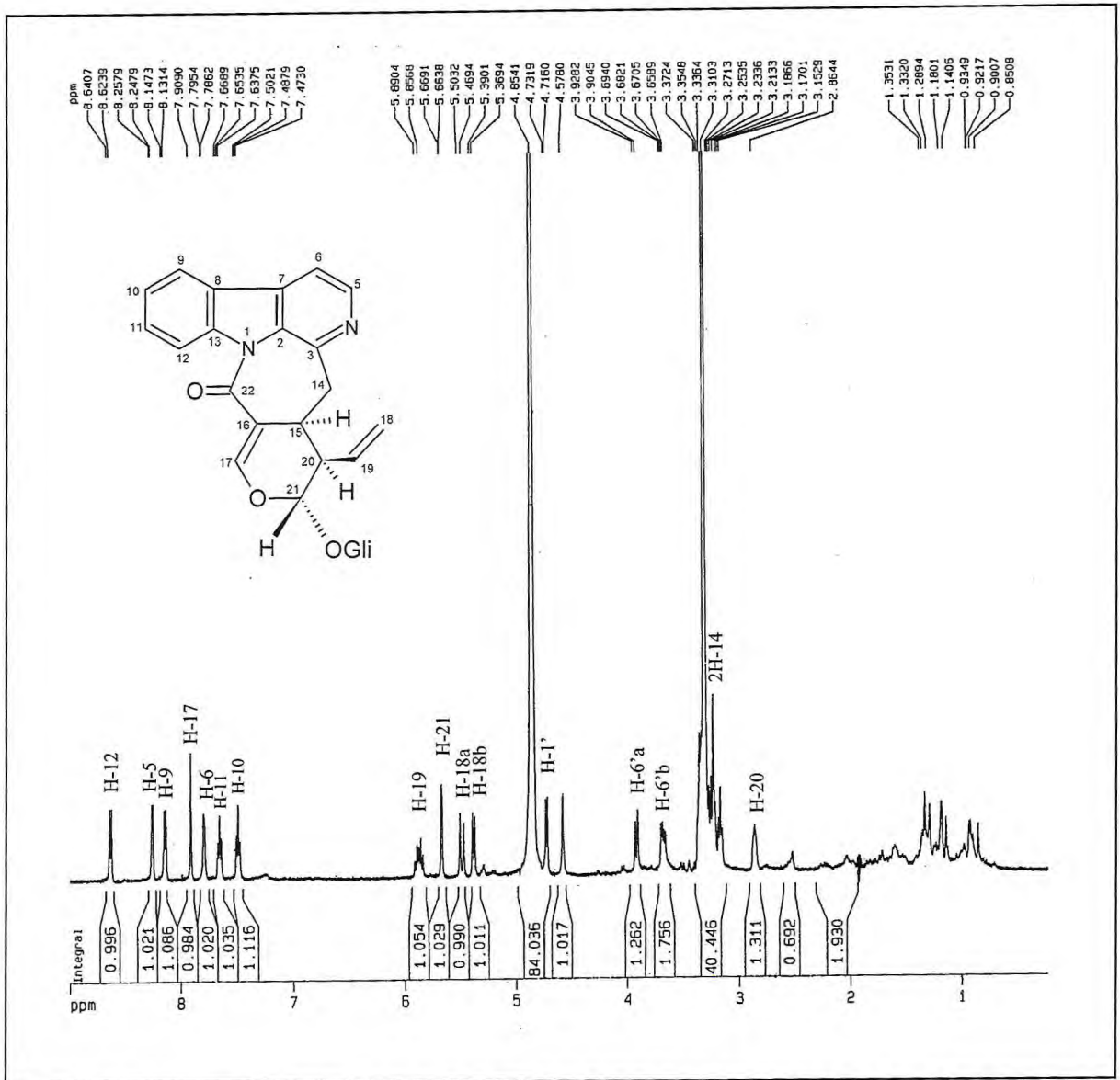


Figura 50 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-6.

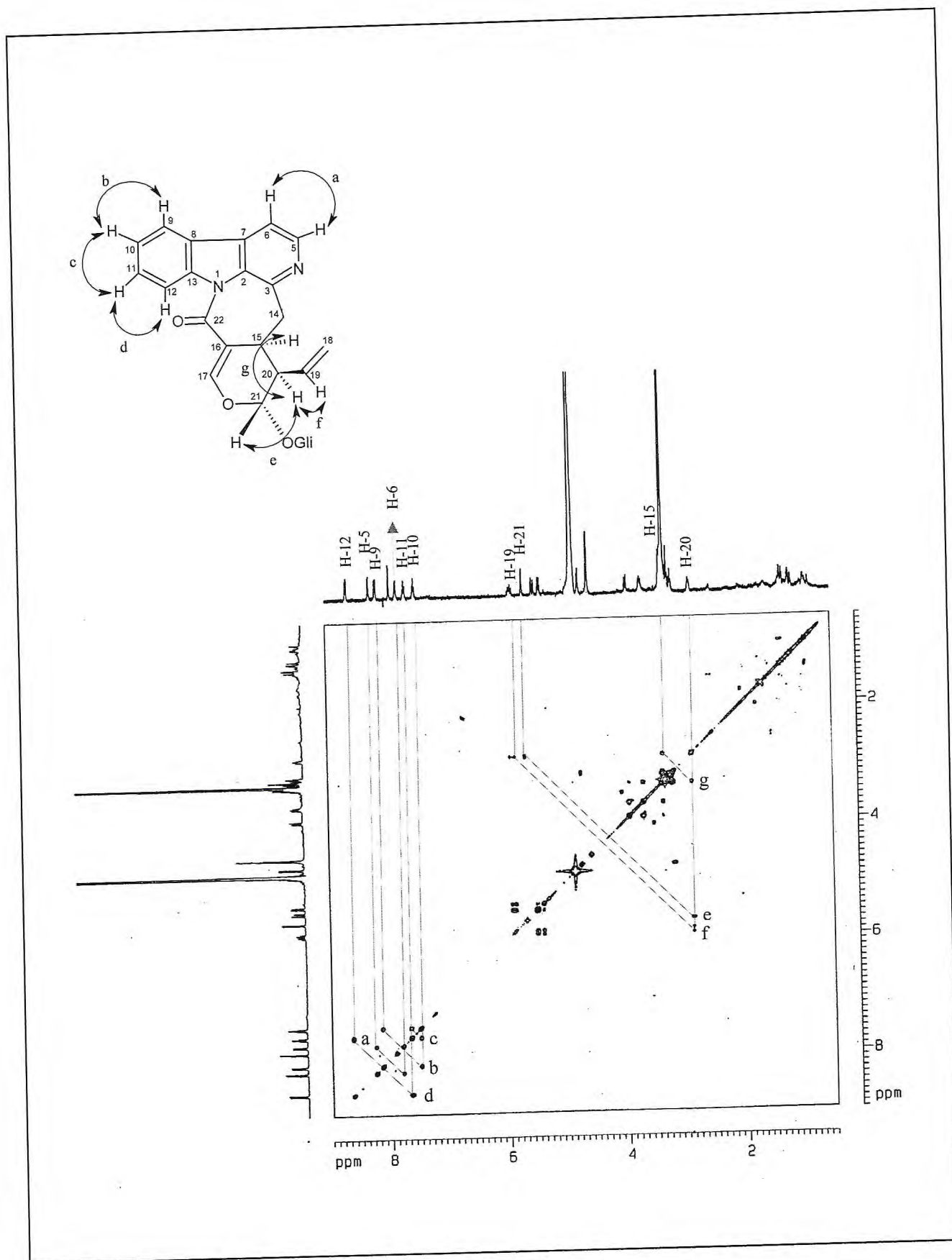


Figura 51 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-6.

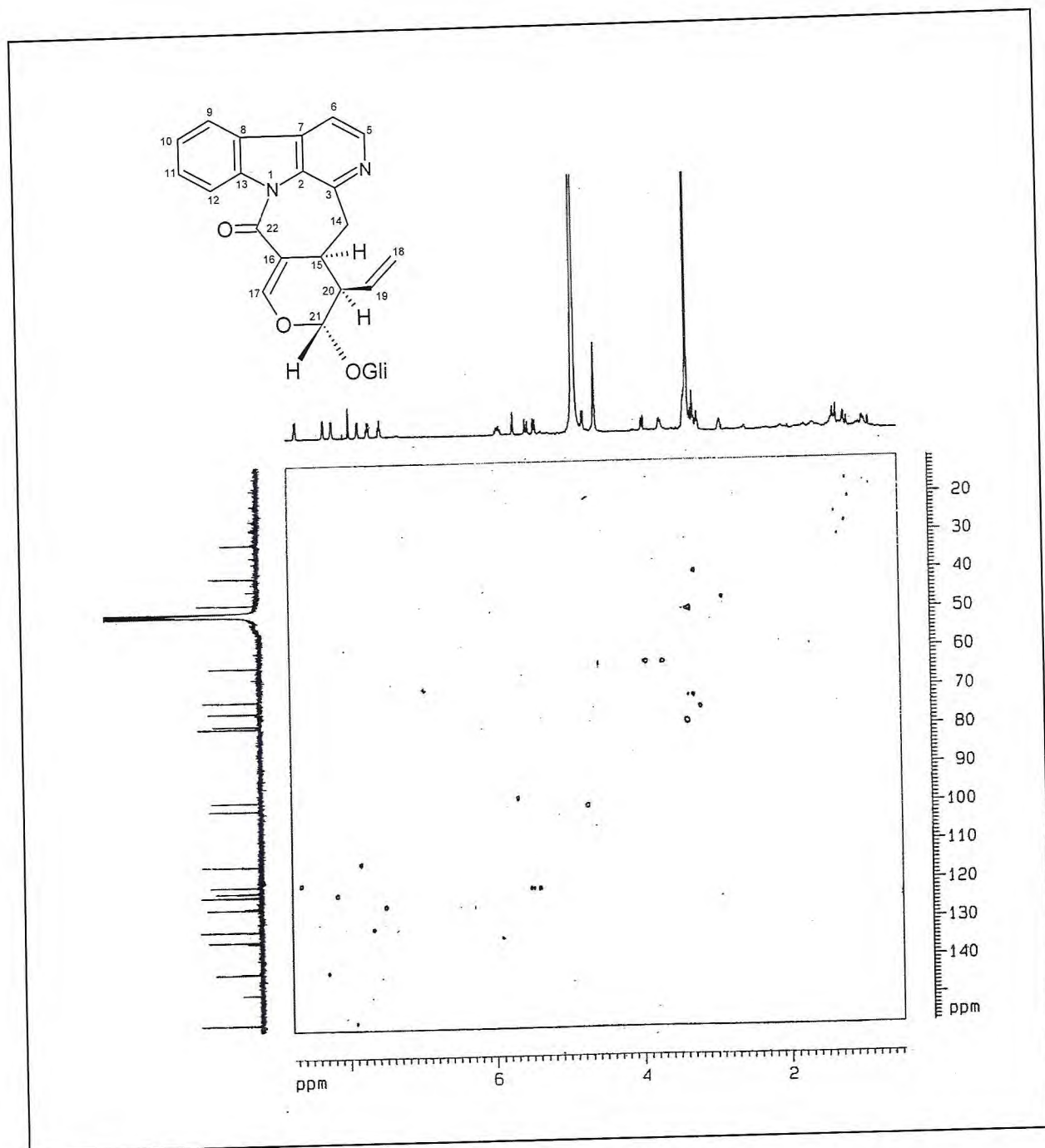


Figura 52 – Mapa de correlação HSQC (CD₃OD) de PS-6.

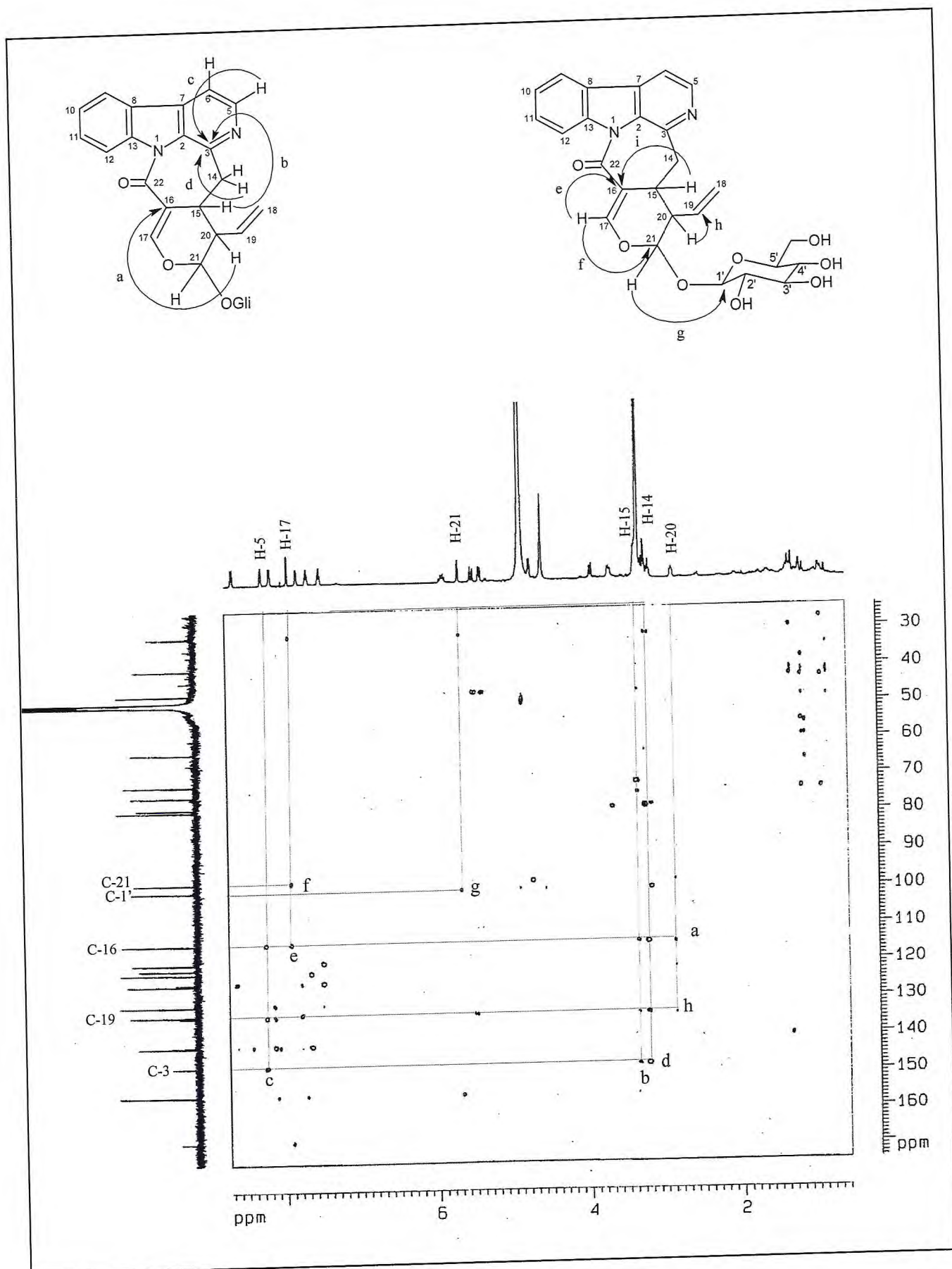


Figura 53 – Mapa de correlação HMBC (CD₃OD) de PS-6.

5.2.7. Determinação Estrutural de PS-7

O tratamento cromatográfico da fração alcaloídica, obtida a partir do extrato etanólico dos talos (ETPS) de *P. stachyoides*, resultou no isolamento de uma resina marrom denominada de PS-7.

O espectro de absorção na região do IV (Figura 54, p. 155) de PS-7 apresentou uma banda em 3415 cm^{-1} característica de deformação axial O-H de hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$), uma banda em 2972 cm^{-1} relacionada a C-H de carbono sp^3 ($\nu_{\text{C-H}}$), além de bandas intensas em 1681 cm^{-1} e em 1273 cm^{-1} características de deformações axiais de ligação ($\nu_{\text{C=O}}$) e ligação C-O ($\nu_{\text{C-O}}$), respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

Dentre as 11 linhas espectrais mostradas no espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 55, p. 155) de PS-7, a absorção em δ_{C} 166,6 (C-2) foi associada a um carbono carbonílico de éster conjugado; 4 absorções foram relacionadas a carbonos sp^2 δ_{C} 138,3 (C-4), 111,6 (C-5) e 111,6 (C-3); 5 a carbonos oxigenados em δ_{C} 152,5 (C-6), 86,4 (C-7), 72,4 (C-9), 88,9 (C-10) e 63,0 (C-11), e por último, as 2 absorções em δ_{C} 41,3 (C-8) e δ_{C} 12,3 (C-12) foram relacionadas a carbonos sp^3 . O padrão de hidrogenação dos carbonos fornecido pelo espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 56, p. 156), mostrou que 4 carbonos eram mono-hidrogenados, 2 metilênicos e 1 carbono metílico. Por diferença de espectros, verificou-se que 4 carbonos eram não-hidrogenados, Tabela 34 (p. 151).

Tabela 34 – Dados de RMN ^{13}C de PS-7 com padrão de hidrogenação.

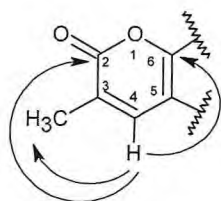
C	CH	CH ₂	CH ₃
166,6 (C=O)	138,3	63,0 (C-O)	12,6
152,5 (C-O)	88,9 (C-OH)	41,3	
111,6	86,4 (C-OH)		
111,6	72,4 (C-OH)		
4C	4CH	2 CH ₂	1 CH ₃
			C ₁₁ H ₁₄ O ₆

O espectro de RMN ^1H (Figura 57, p. 156) apresentou dois sinais simples em δ_{H} 7,81 (s, H-4) e em δ_{H} 1,89 (3H-12) relacionados a um hidrogênio olefínico e um grupo metila, respectivamente. Foram observados também sinais característicos de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, como mostrados através dos sinais em δ_{H} 6,28 (t, $J = 5,8\text{ Hz}$, H-7), δ_{H}

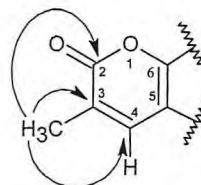
Tabela 35 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-7 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^{13}C da tetilapirona registrado na literatura.

	<i>Tetilapirona</i> (DMSO- d_6) (WATANADILOK, 2001)		PS-7 (CD_3OD)		
	δ_{C}	δ_{C}	HSQC δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	HMBC $^3J_{\text{CH}}$
C					
2	163,8	166,6	-		H-4; 3H-12
3	109,4	111,6	-	3H-12	
5	109,4	111,6	-	H-4	2H-8
6	150,54	152,5			H-4
CH					
4	136,2	138,3	7,81 (s)		H-6; 3H-12
7	83,8	86,4	6,28 (t, 5,8)	2H-8	
9	70,51	72,4	4,40 (m)	2H-8	
10	87,83	88,9	3,90 (m)		
CH_2					
8	39,47	41,3	2,23 (m)		
11	61,4	63,0	3,79 (dd, 11,9 e 2,9) 3,73 (dd, 11,9 e 3,5)		H-9
CH_3					
12	12,3	12,6	1,89 (sl)		H-3

Através do espectro de HMBC (Figura 61, p. 159) foi possível postular a existência de um anel piranolactônico α,β -insaturado, justificado pelo acoplamento do hidrogênio olefínico em δ_{H} 7,81 (H-4) com os carbonos em δ_{C} 166,6 (C-2); 152,5 (C-6) e 12,6 (C-12); além do acoplamento dos hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,89 (3H-12) com os carbonos em δ_{C} 166,6 (C-2); 138,3 (C-4) e 111,6 (C-3), como indicados nas subestruturas 3 e 4.

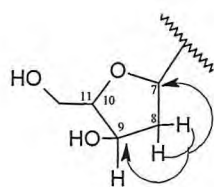


Subestrutura 3 de PS-7.

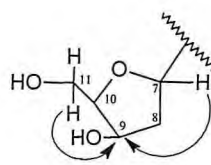


Subestrutura 4 de PS-7.

Este espectro mostrou ainda o acoplamento dos hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,23 (2H-8) com os carbonos em δ_{C} 86,4 (C-7) e δ 72,4 (C-9); e o acoplamento do hidrogênio metínico em δ_{H} 6,28 (H-7) e metilênicos δ_{H} 3,79 (H-11 α) com o carbono em δ_{H} 72,4 (C-9), de acordo com as subestruturas 5 e 6, abaixo:

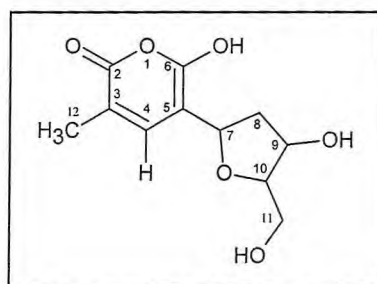


Subestrutura 5 de PS-7.



Subestrutura 6 de PS-7.

Após levantamento bibliográfico verificou-se que PS-7 (Estrutura 94) tratava-se da tetilapirona, isolada anteriormente de *Tetilla japônica* (Tetillidae), uma esponja marinha (WATANADILOK, 2001), no entanto está sendo descrita pela primeira em plantas.



Estrutura de PS-7 (94).

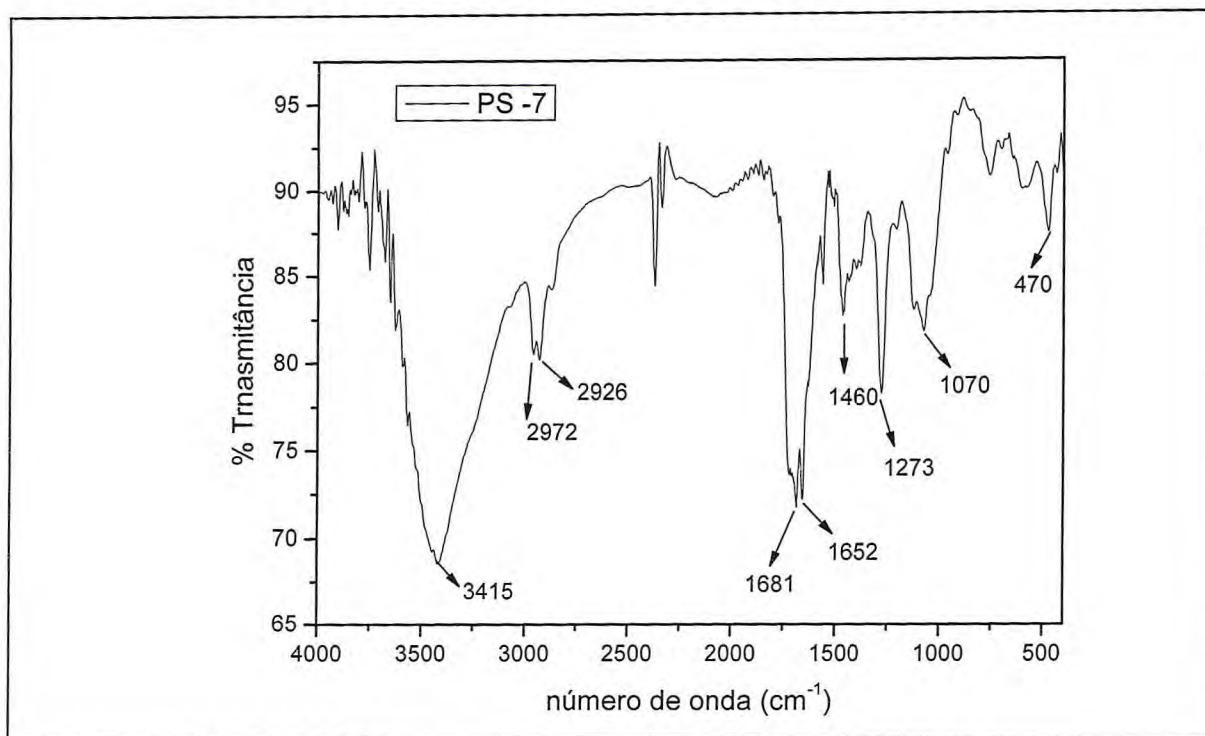


Figura 54 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-7.

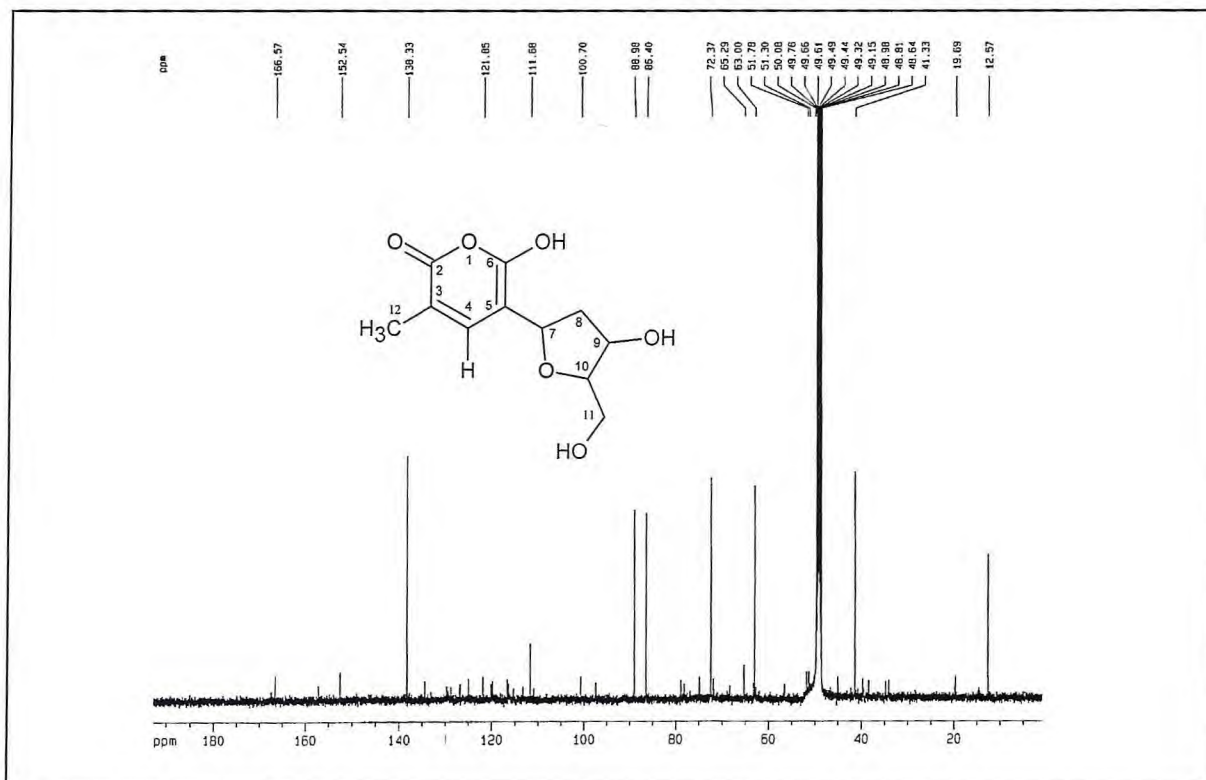


Figura 55 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD) de PS-7.

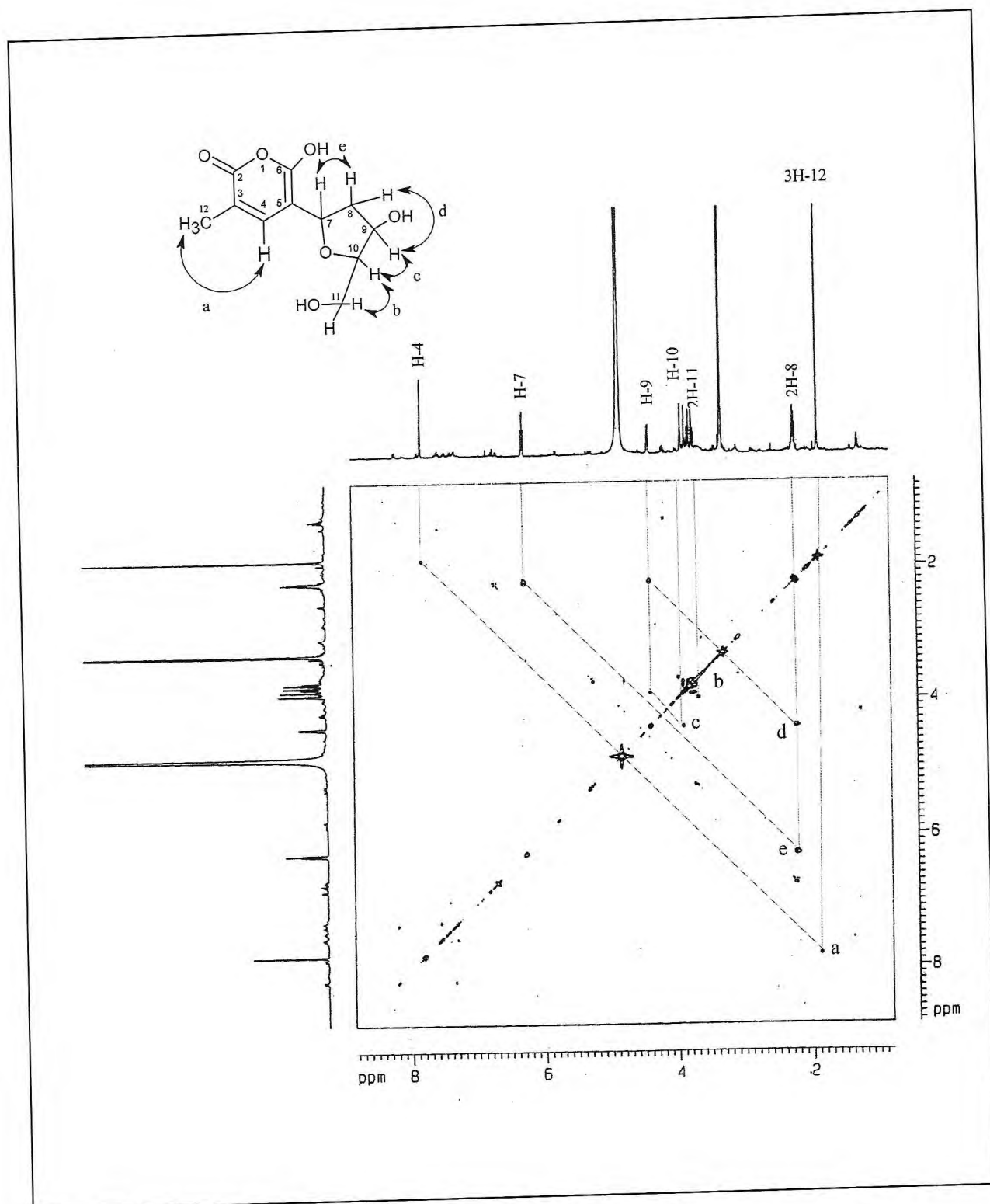


Figura 58 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-7.

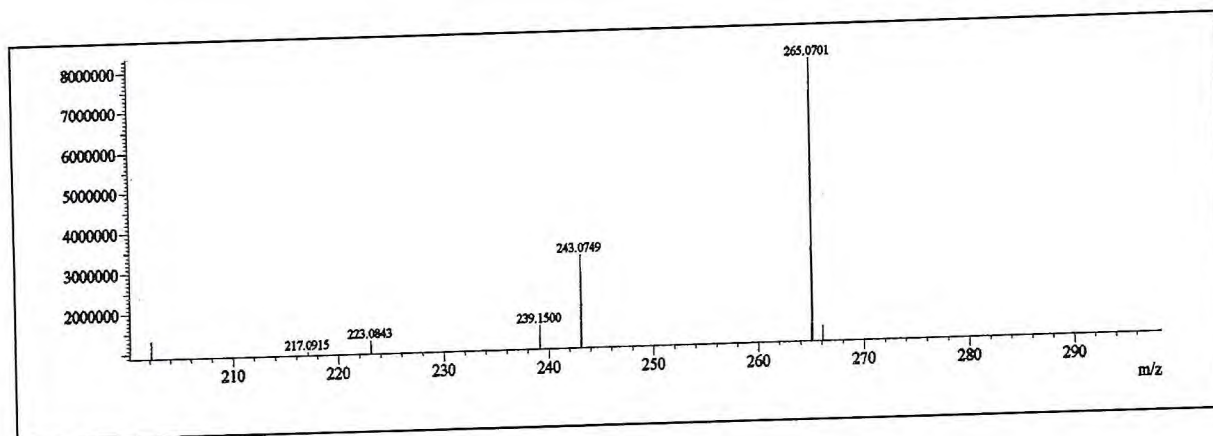


Figura 59 – Espectro de massas de PS-7.

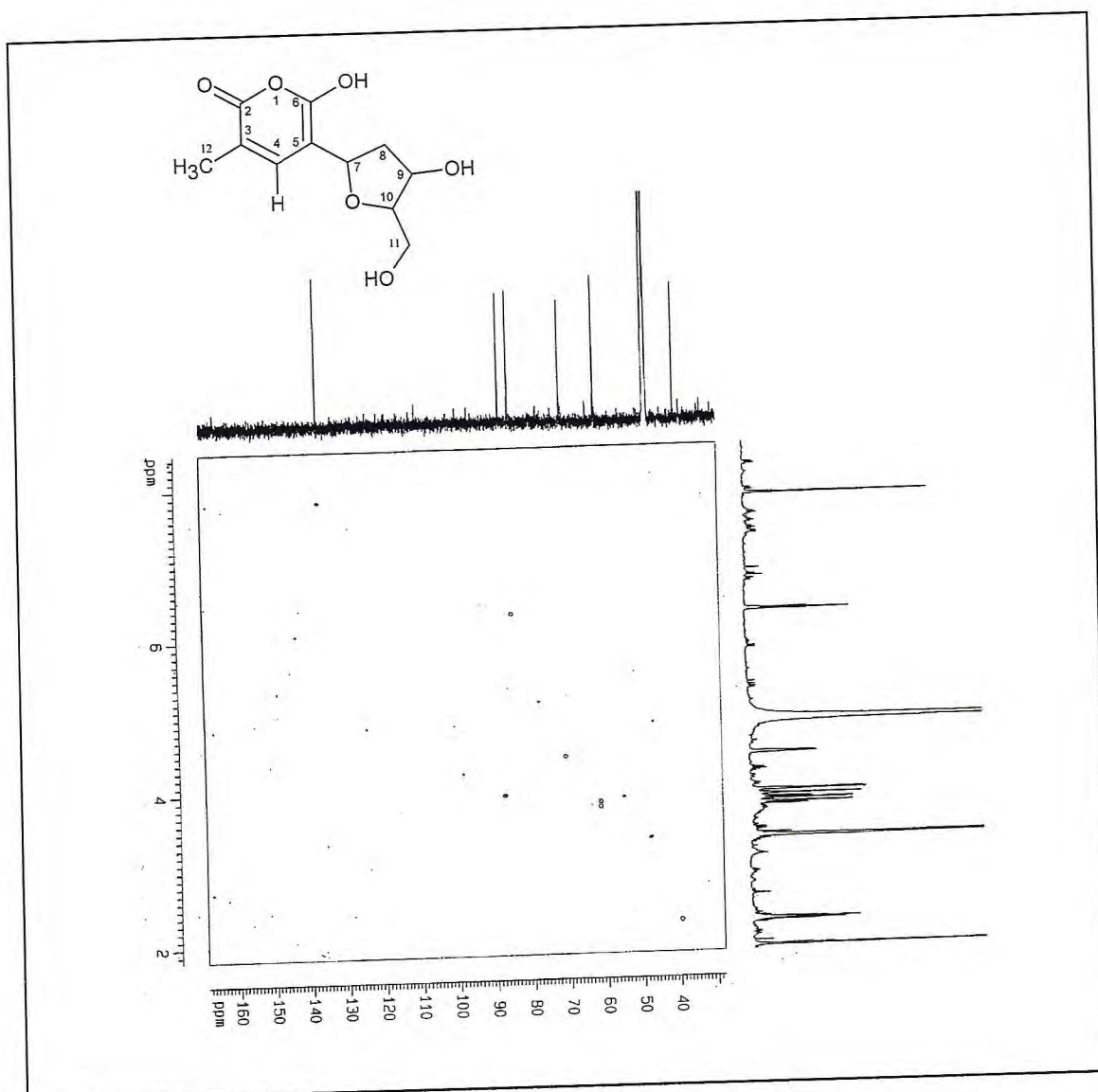


Figura 60 – Mapa de correlação HSQC (CD₃OD) de PS-7.

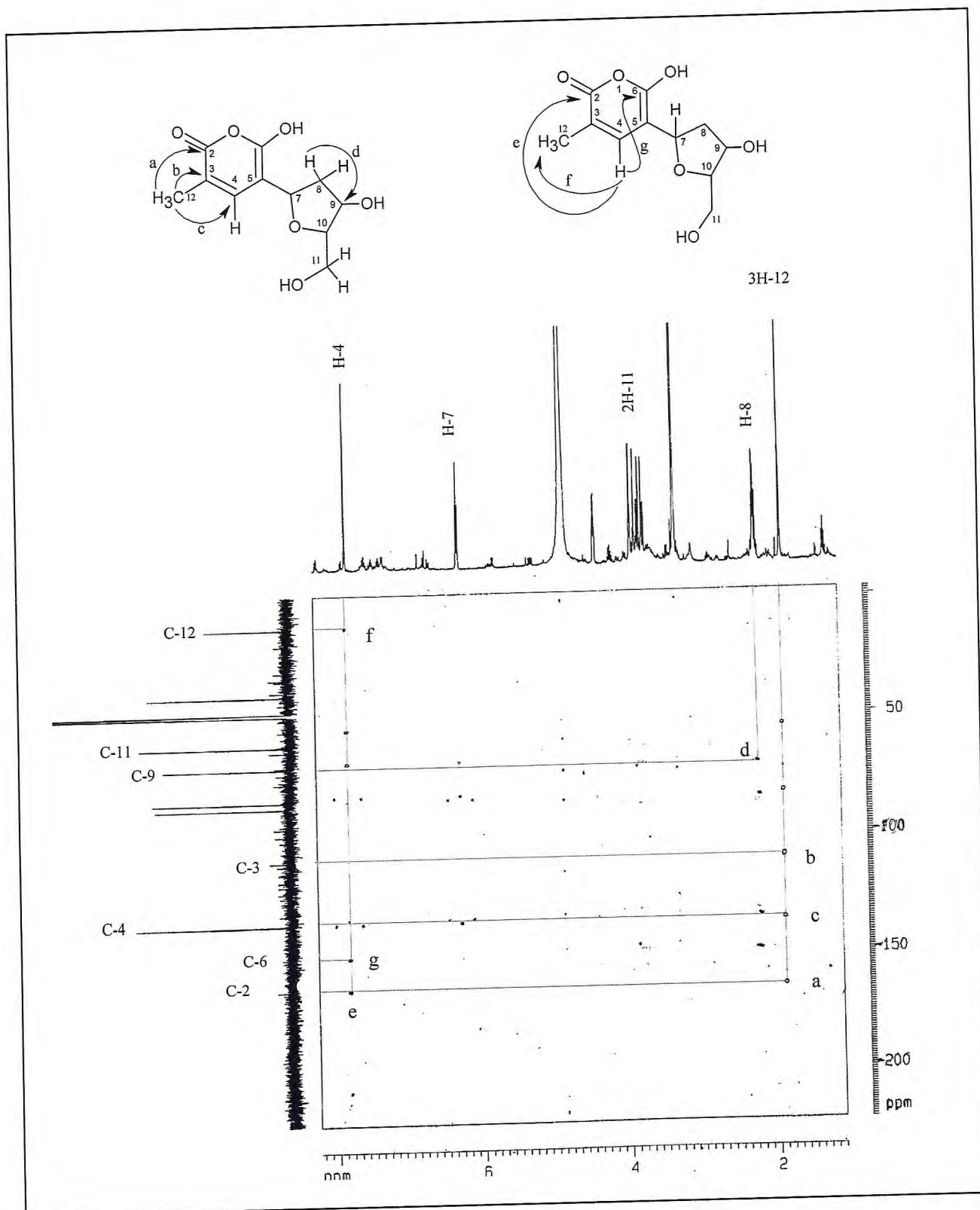


Figura 61 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-7.

5.2.8. Determinação Estrutural de PS-4

A partir de sucessivas cromatografias da fração alcaloídica, obtida a partir do extrato etanólico das folhas de *P. stachyoides*, foi possível o isolamento de uma resina marrom, denominada de PS-4.

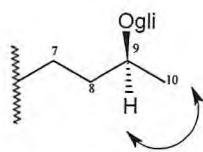
PS-4 revelou em seu espectro de absorção na região do IV (Figura 62, p. 164), dentre outras, uma banda larga em 3417 cm^{-1} característica de deformação axial de O-H ($\nu_{\text{O-H}}$), uma banda em 2926 cm^{-1} relacionada a deformação axial de C-H de carbono sp^3 ($\nu_{\text{C-H}}$), uma banda em 1681 cm^{-1} característica de deformação axial de carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$), além de bandas em 1202 e 1140 cm^{-1} relacionadas às deformações axiais C-O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 63, p. 164) de PS-4, apresentou 19 linhas espectrais. A comparação com as informações obtidas pelo espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (Figura 64, p. 165) permitiu verificar o padrão de hidrogenação dos átomos de carbonos onde se constatou que PS-4 continha 3 sinais relativos a carbonos não-hidrogenados (C), 8 sinais indicativos de carbonos metínicos (CH), 4 sinais de carbono metilênicos (CH_2) e 4 referentes a carbonos metílicos (CH_3). O sinal em $\delta_{\text{C}} 202,6$ (C-3) foi atribuído a uma carbonila, e os sinais em $\delta_{\text{C}} 102,3$ (C-1'); $75,7$ (C-2'); $78,3$ (C-3'); $72,0$ (C-4'); $78,0$ (C-5'); $63,0$ (C-6') foram associados a carbonos sp^3 oxigenados, compatíveis com os deslocamentos químicos de uma unidade de glicose. Foram evidentes ainda 4 sinais em $\delta_{\text{C}} 20,0$; $25,1$; $27,7$ e $29,2$ referentes a grupos metilas.

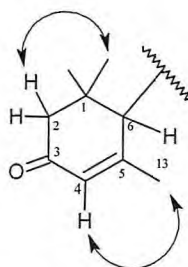
No espectro de RMN ^1H (Figura 65, p. 165) foram observados sinais relativos a três grupamentos metilas ligadas a carbono não-hidrogenados em $\delta_{\text{H}} 1,09$ (s, H-11); $1,01$ (s, H-12) e $2,05$ (s, H-13), e uma metila ligada a um carbono mono-hidrogenado em $\delta_{\text{H}} 1,17$ (d, $J = 6,1$ Hz, H-10). Notou-se ainda um sinal em $\delta_{\text{H}} 3,87$ (m, H-9) relativo a hidrogênio de carbono carbinólico, um sinal simples em $\delta_{\text{H}} 5,80$ (sl, H-4) referente a um hidrogênio olefínico, além de um conjunto de sinais numa faixa de deslocamento químico típicos de unidade osídica em $\delta_{\text{H}} 3,3 - 4,3$.

No espectro de ^1H - ^1H -COSY (Figura 66, p. 166) foi possível verificar as posições relativas dos grupamentos metilas através das correlações do hidrogênio metínico em $\delta_{\text{H}} 3,87$ (m H-9) com os hidrogênios metílicos em $\delta_{\text{H}} 1,17$ (d, $J = 6,1$ Hz, H-10); do hidrogênio olefínico em $\delta_{\text{H}} 5,80$ (s, H-4) com os hidrogênios metílicos em $\delta_{\text{H}} 2,05$ (sl, H-13) e do

hidrogênio metilênico em δ_H 2,46 (d, $J = 17,0$ Hz, H-2 β) com os hidrogênios metílicos em δ_H 1,01 (s, H-12), de acordo a subestrutura 1 e 2 abaixo.



Subestrutura 1 de PS-4.



Subestrutura 2 de PS-4.

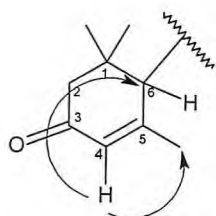
De acordo com estes dados e observação do pico correspondente ao íon molecular em m/z 372 daltons, no espectro de massa (Figura 67, p. 167), foi possível sugerir para PS-4 a fórmula molecular $C_{19}H_{32}O_7$, com Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a 4.

A análise do espectro de HSQC (Figura 68, p. 168) permitiu atribuir inequivocamente os valores de deslocamentos químicos dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 36, p. 162).

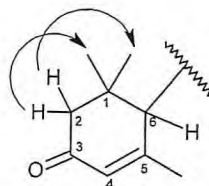
O espectro de HMBC (Figura 69, p. 169) mostrou acoplamentos à longa distância do hidrogênio olefínico em δ_H 5,80 (H-4) com o carbono metílico em δ_C 25,1 (C-13) e com o carbono metínico em δ_C 52,5 (C-6) (subestrutura 3); além das correlações dos hidrogênios metilênicos em δ_H 1,97 (H-2 α) e δ_H 2,46 (H-2 β) com os carbonos metílicos em δ_C 27,7 (C-11) e δ_C 29,2 (C-12) respectivamente, como mostrado na subestrutura 4.

Tabela 36 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-4 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^{13}C da bizantionosida B registrados na literatura.

	<i>Byzantionosida B</i> (CD_3OD) (TAKEDA, 1997)		PS-4 (CD_3OD)		
	δ_{C}	δ_{C}	HSQC δ_{H} (ppm, múltip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	HMBC $^3J_{\text{CH}}$
C					
1	37,2	37,5	-	3H-11; 3H-12	
3	202,3	202,6	-	2H-2	
5	170,0	170,3	-	3H-13	
CH					
4	125,3	125,5	5,80 (s)		3H-13
6	52,3	52,5	1,52 (m)		3H-11; 3H-12; 3H-13; H-2; H-4
9	75,0	75,7	3,87 (m)		
1'	102,0	102,3	4,30 (d, 7,8)		
2'	75,4	75,3	3,15 (m)		H-3'
3'	78,0	78,3	3,77 (m)	H-4'	
4'	71,7	72,0	3,26 (m)	H-3'	
5'	77,7	77,9	3,27 (m)	H-6'	
CH ₂					
2	48,0	48,2	1,97 (d, 17,0); 2,46 (d, 17,0)		3H-11; 3H-12
7	26,7	26,9	1,95 (m)		
8	37,7	37,9	1,64 (m)		3H-10
6'	62,8	63,0	3,66 (m) 3,87 (m);		
CH ₃					
10	19,8	20,0	1,17 (d, 6,1)		
11	27,5	27,7	1,09 (s)		3H-12
12	29,0	29,2	1,01 (s)		3H-11
13	25,0	25,1	2,05 (s)		

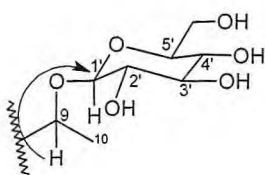


Subestrutura 3 de PS-4



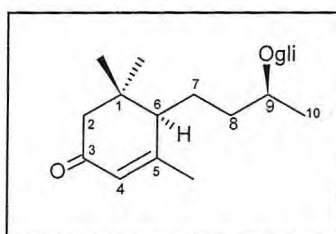
Subestrutura 4 de PS-4

Outra importante correlação foi observada entre o hidrogênio em δ_H 3,15 (H-9) com o carbono anomérico em δ_C 102,3 (C-1'), indicando, desta maneira, a posição relativa da unidade de glicose no C-9, conforme mostrado na subestrutura 5 abaixo:



Subestrutura 5 de PS-4.

Baseada em todas essas considerações e aliada a comparação com dados da literatura (TAKEDA, 1997), pôde-se concluir de que PS-4 tratava-se de um megastigmano glicosilado, denominado bizantionosida B (Estrutura 92), isolado anteriormente de *Stachys byzantina* (Lamiaceae), porém inédita no gênero *Psychotria*.



Estrutura de PS-4 (92).

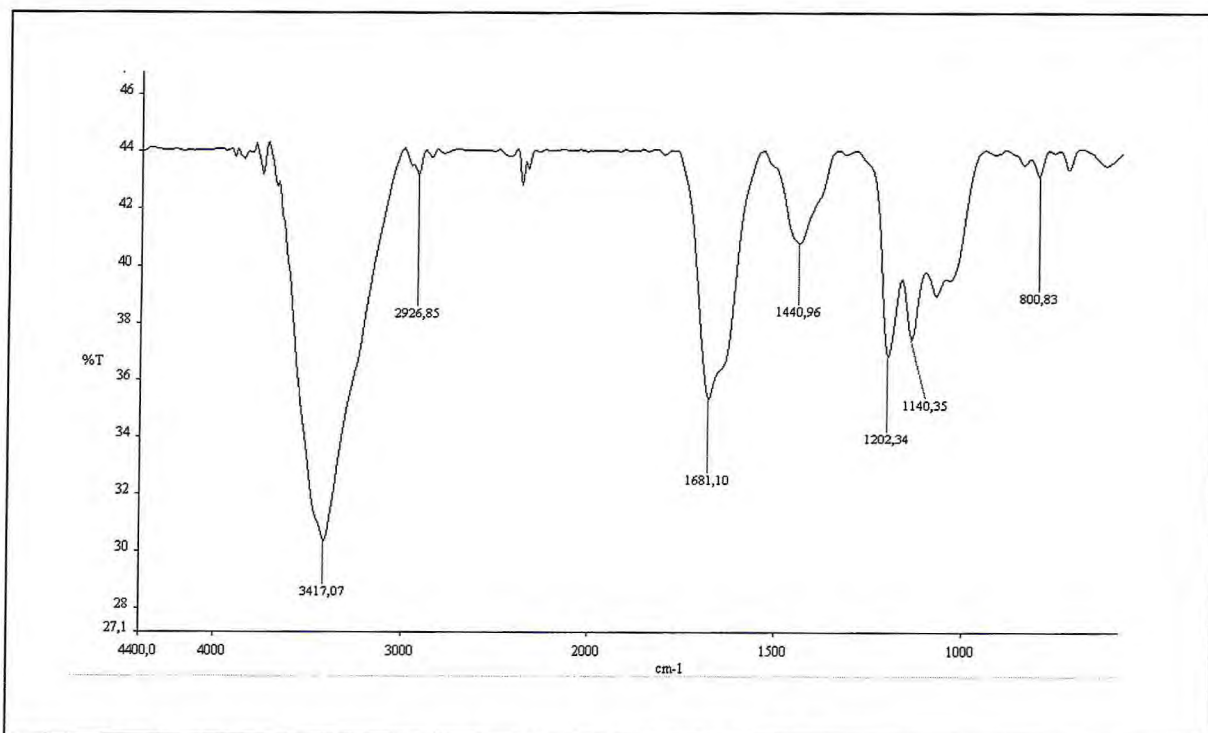


Figura 62 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-4.

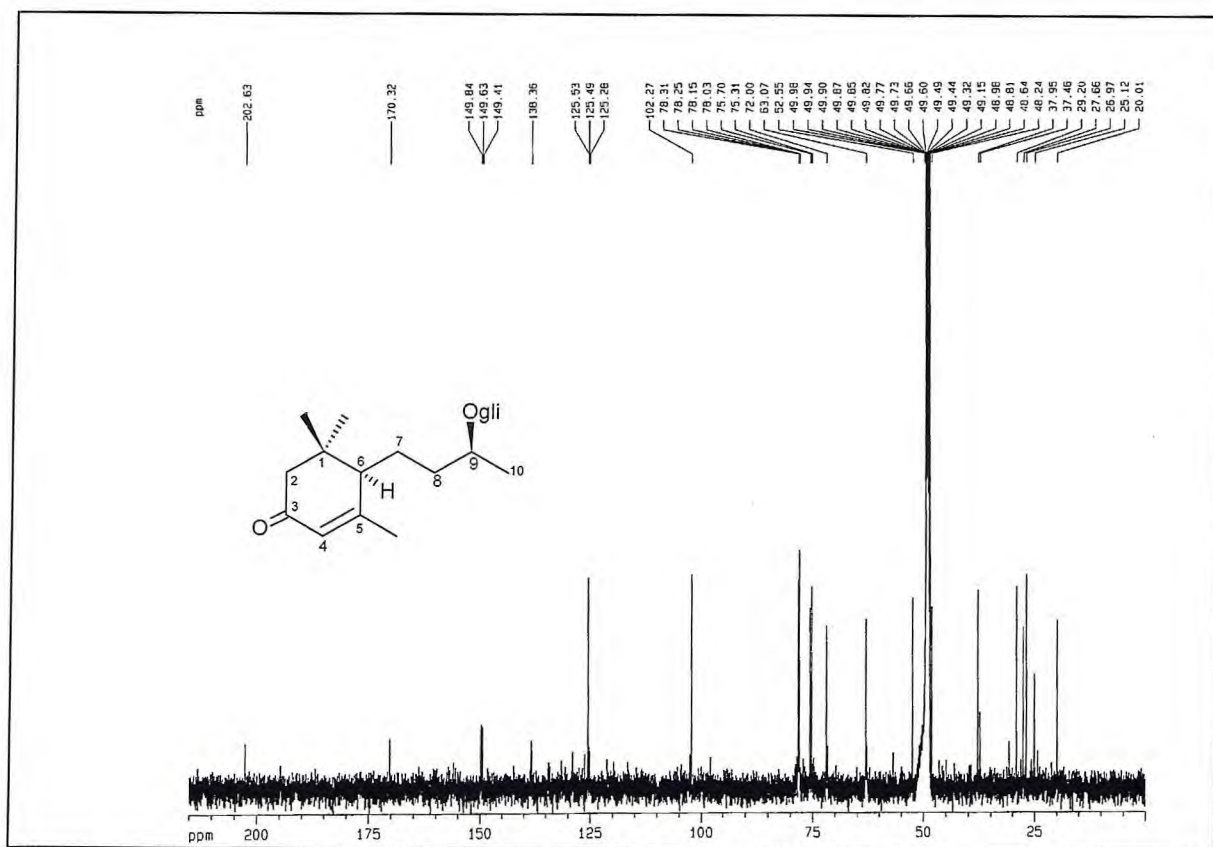


Figura 63 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD) de PS-4.

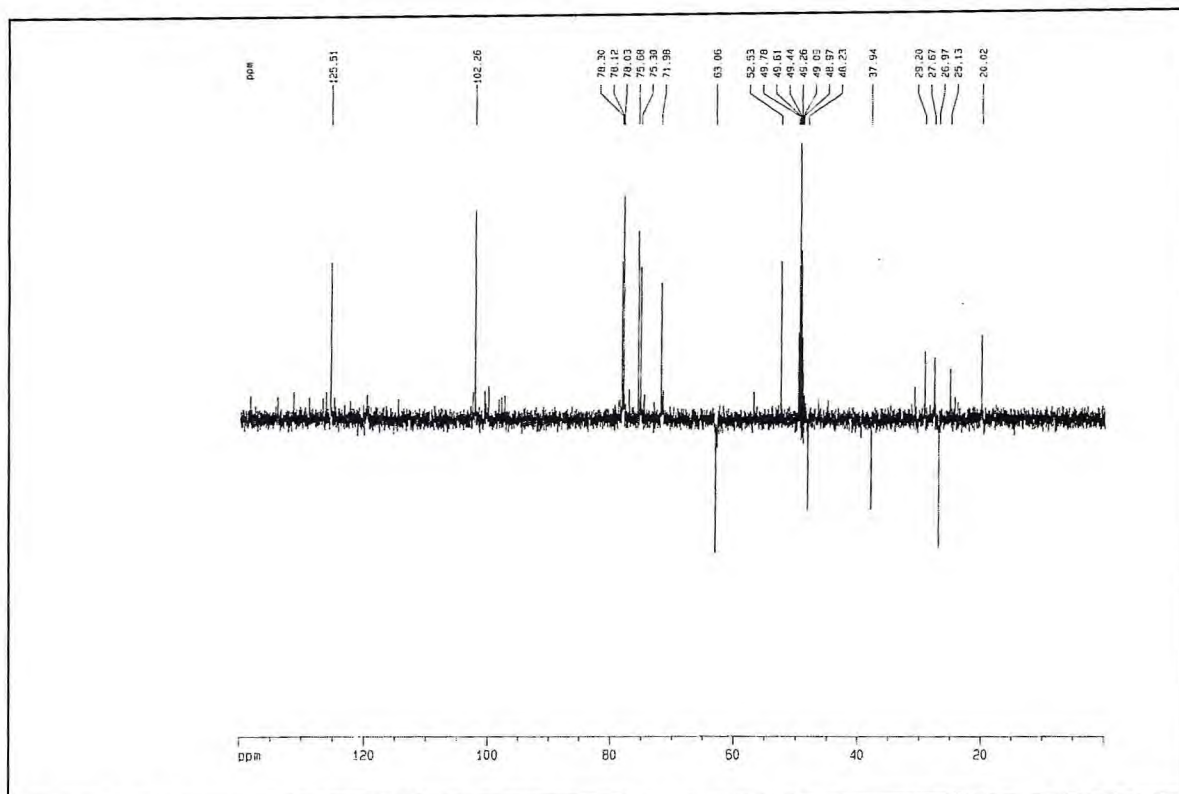


Figura 64 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-4.

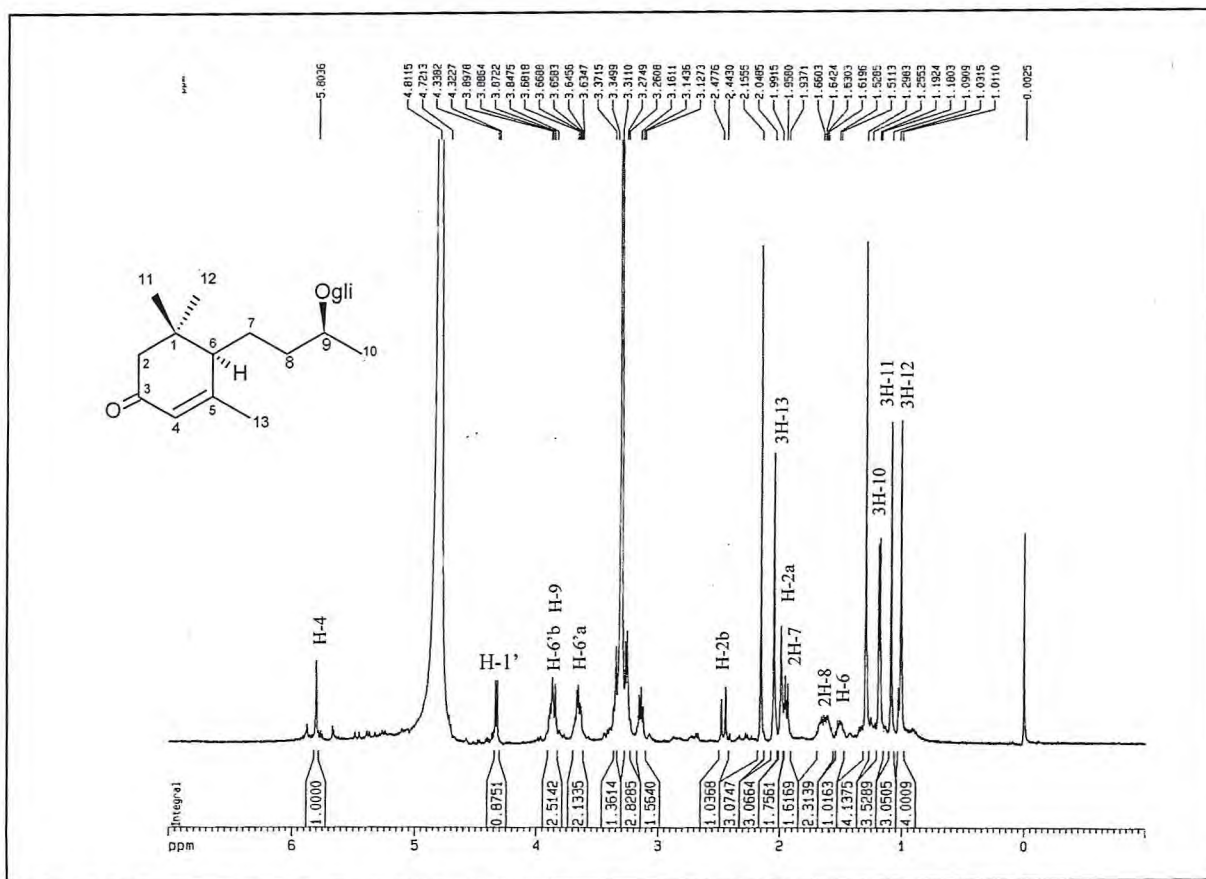


Figura 65 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-4.

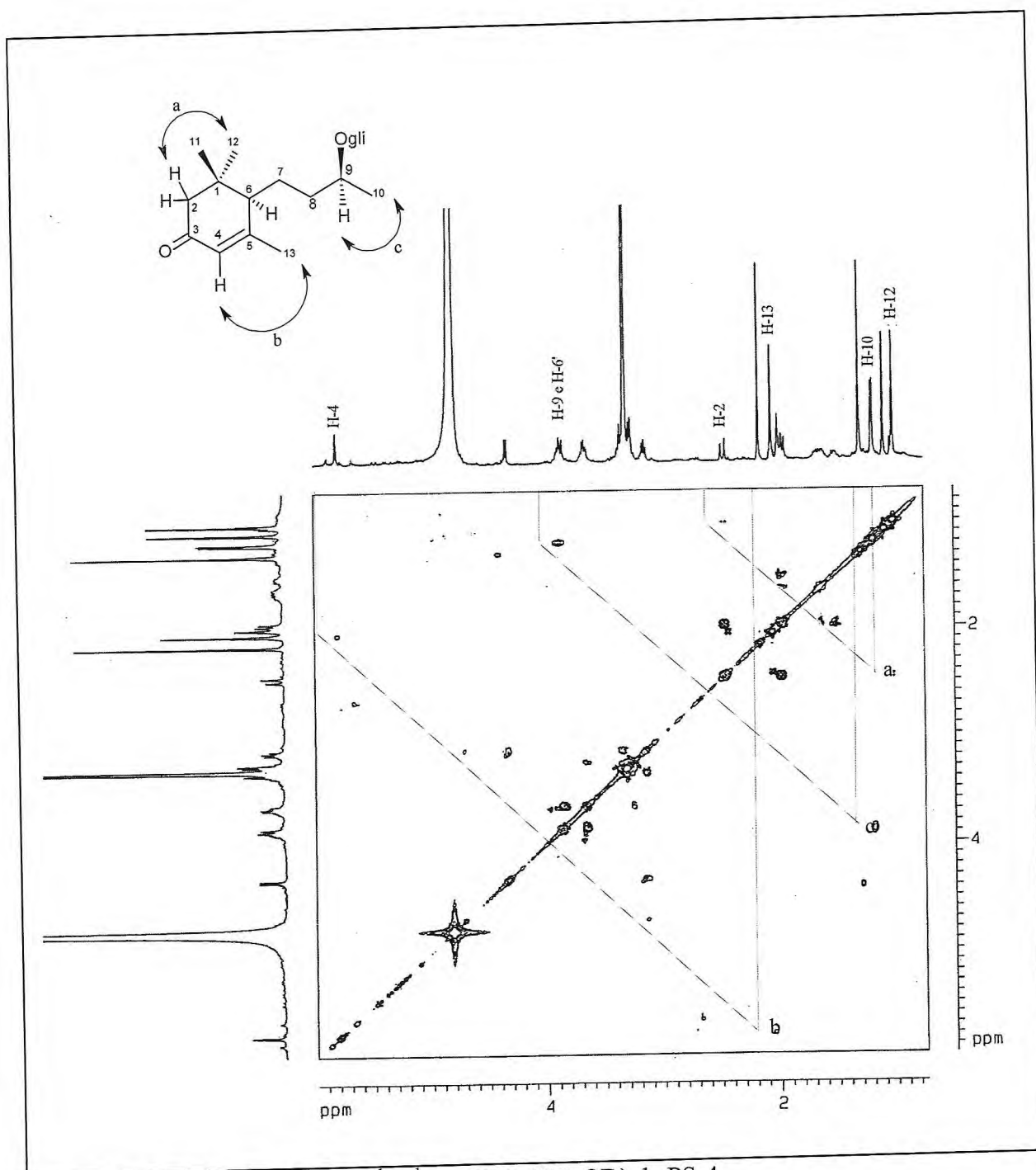


Figura 66 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-4.

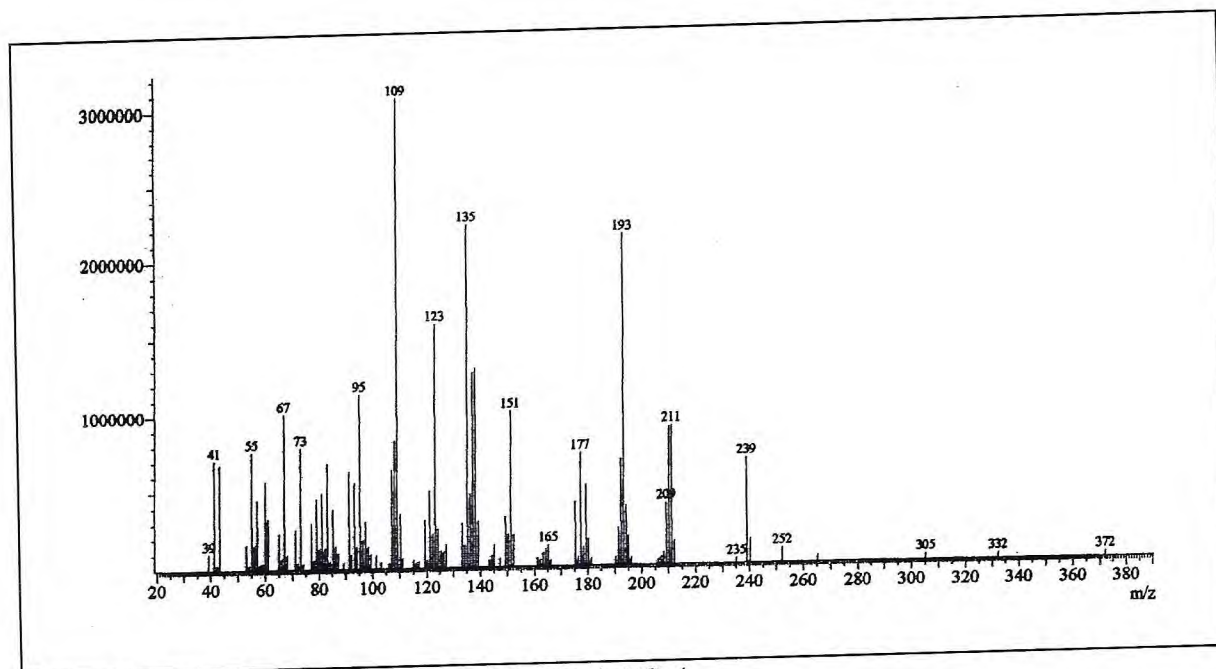


Figura 67 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-4.

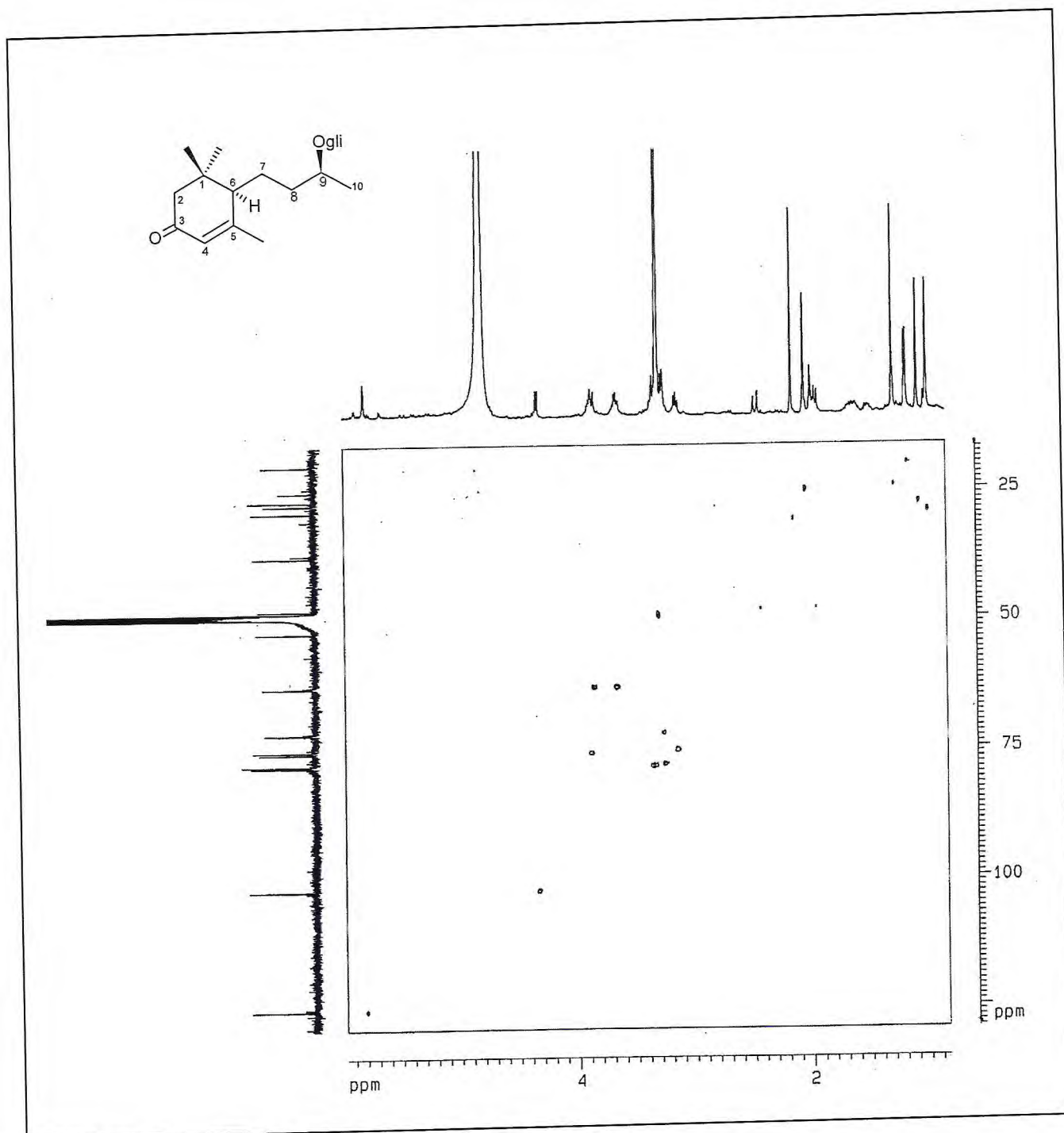


Figura 68 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-4.

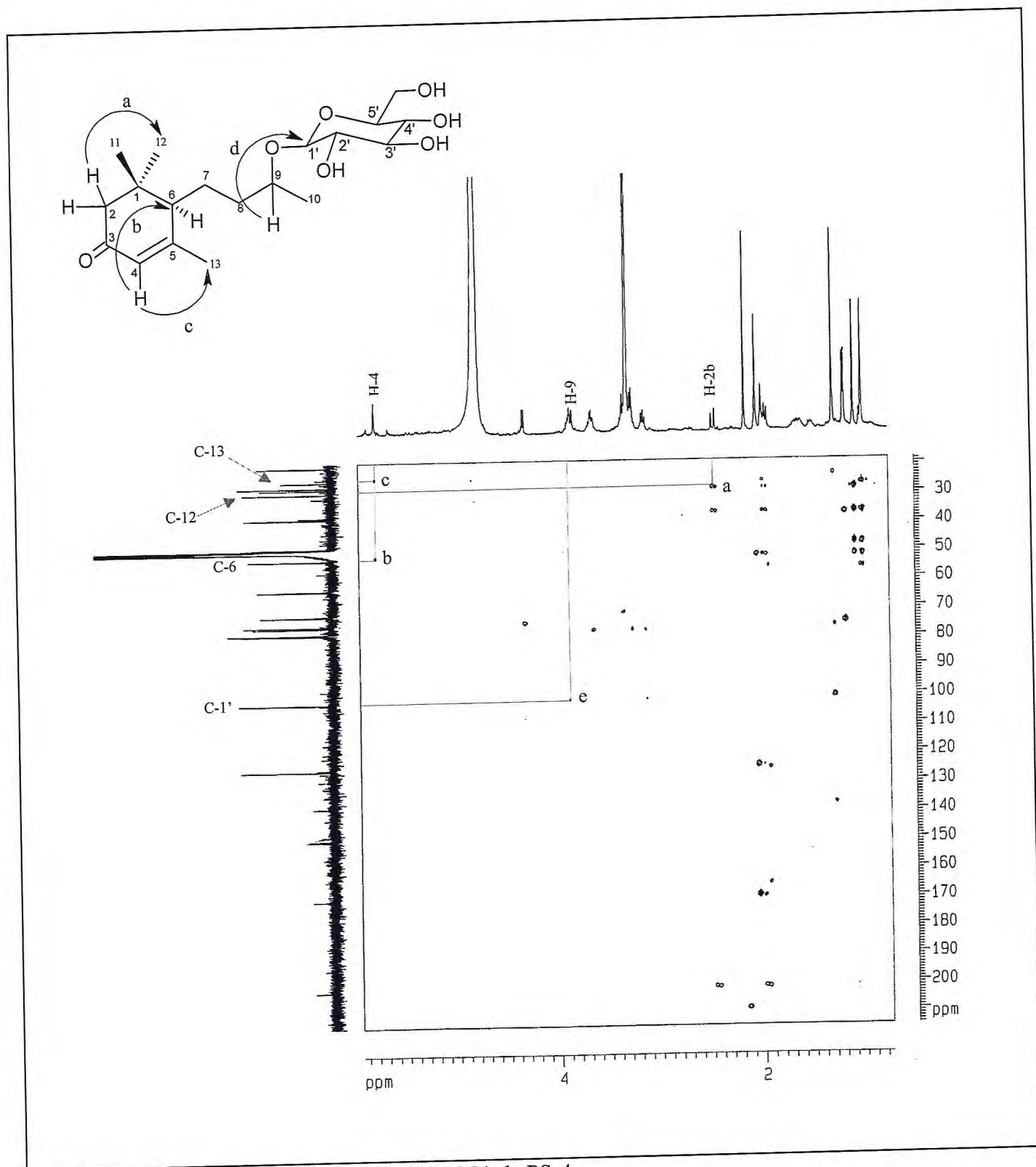


Figura 69 – Mapa de correlação HMBC (CD₃OD) de PS-4.

5.2.9. Determinação Estrutural de PS-10

Sucessivos fracionamentos cromatográficos do extrato etanólico das raízes (ERPS) de *P. stachyoides*, possibilitou o isolamento de um sólido amarelo, denominado de PS-10.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 70, p. 173) apresentou uma banda centrada em 3397 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação O-H de fenol; absorções intensas em 2925 e 2859 cm^{-1} referente às deformações axiais de ligação C-H; além de duas bandas relativas à deformação axial de ligação C=O em 1663 cm^{-1} e 1624 cm^{-1} (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 71, p. 173) revelou o caráter aromático de PS-10 através dos hidrogênios em $\delta_{\text{H}} 8,28$ (dd, $J = 7,4$ e $1,7$ Hz, H-8), $\delta_{\text{H}} 8,20$ (dd, $J = 7,2$ e $1,8$ Hz, H-5), $\delta_{\text{H}} 7,91$ (td, $J = 7,3$ Hz, H-6), $\delta_{\text{H}} 7,88$ (td, $J = 7,3$ Hz, H-7) e $\delta_{\text{H}} 7,36$ (s, H-4). Este espectro revelou ainda dois sinais referentes a hidroxilas em $\delta_{\text{H}} 10,32$ e $\delta_{\text{H}} 13,21$. Na região de hidrogênios alifáticos observou-se apenas um sinal simples em $\delta_{\text{H}} 2,15$ (CH_3 -2), atribuído a um grupo metila ligado a carbono aromático.

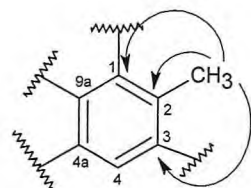
O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 72, p. 174) apresentou 12 sinais na região de carbonos sp^2 , 1 sinal em $\delta_{\text{C}} 8,3$ (CH_3 -2) referente a grupo metila, além de 2 sinais relativos à carbonilas em $\delta_{\text{C}} 187,8$ (C-9) e $182,8$ (C-10). Estes dados, aliados aos obtidos no espectro de RMN ^1H , caracterizaram um núcleo antraquinônico para a estrutura de PS-10 (MOREIRA, 2006).

O espectro de massas (Figura 73, p. 174) revelou o pico correspondente ao íon molecular em $m/z 253,0509$ $[\text{M} - 1]^-$ daltons, que em comparação com os dados de RMN ^{13}C e RMN ^1H levou à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$, com Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a 11.

A correlação de todos os hidrogênios com os respectivos carbonos (Tabela 37, p. 172) para PS-10 foi feita de forma inequívoca através da análise do espectro de HSQC (Figura 74, p. 175).

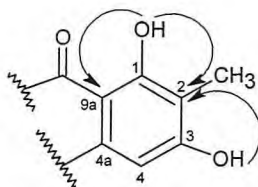
A posição relativa do grupo metila no C-2 foi confirmada através da análise do espectro de HMBC (Figura 75, p. 176), que mostrou a correlação dos hidrogênios em $\delta_{\text{H}} 2,15$

(3H-Me) com os carbonos em δ_C 118,9 (C-2), 164,2 (C-1) e 164,0 (C-3), como mostrado na subestrutura 1:



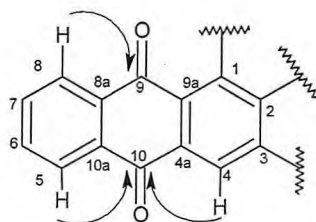
Subestrutura 1 de PS-10.

Prosseguindo a análise do espectro HMBC, verificou-se as correlações da hidroxila quelada em δ_H 13,21 (OH-1) com os carbonos em δ_C 118,9 (C-2) e 110,6 (C-9a), enquanto a outra hidroxila em δ_H 10,32 (OH-3) só apresentou correlação com o carbono em δ_C 118,9 (C-2), como indicado na subestrutura 2.



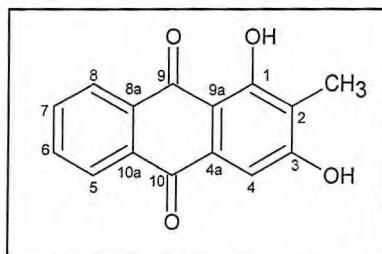
Subestrutura 2 de PS-10.

A confirmação da existência do núcleo antraquinônico foi observada através do acoplamento do hidrogênio em δ_H 8,28 (H-8) com o carbono em δ_C 187,8 (C-9); e dos hidrogênios em δ_H 8,20 (H-5) e 7,36 (H-4) com o carbono em δ_C 182,8 (C-10), como visto na subestrutura 3 abaixo:



Subestrutura 3 de PS-10.

Com base nos dados discutidos, e posterior comparação com dados de RMN ¹³ descritos na literatura para antraquinonas substituídas (LIKHITWITAYAWUID, 1999), foi possível identificar para PS-10 a estrutura da rubiadina, isolada anteriormente de *Prismatomeris sessiflora* (Rubiaceae) e de caráter inédito no gênero *Psychotria* (estrutura 97).



Estrutura de PS-10 (97).

Tabela 37 – Dados de RMN ¹H e ¹³C de PS-10 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ¹³C da rubiadina registrados na literatura.

	<i>Rubiadina</i> (DMSO-d ₆) (LIKHITWITAYAWUID, 1999)		PS-10 (Acetona-d ₆)		
	δ_C	δ_C	HSQC δ_H (ppm, multip., J Hz)	² J _{CH}	HMBC ³ J _{CH}
C					
1	163,1	164,2	-	HO-1	Me-2
2	118,0	118,9	-	Me-2	HO-1; HO-3; H-4
3	163,8	164,0	-		Me-2
9	186,6	187,8	-		H-8
10	182,4	182,8	-		H-4; H-5
4a	132,4	133,3	-	H-4	
9a	109,5	110,6	-		HO-1; H-4
8a	133,7	134,6	-		H-7
10a	133,6	134,4	-		H-6
CH					
4	108,3	108,2	7,36 (s)		
5	127,4	127,7	8,20 (dd, 7,2 e 1,8 Hz)		H-7
6	134,9	135,2	7,91 (td, 7,3 Hz)		H-8
7	135,1	135,2	7,88 (td, 7,3 Hz)		H-5
8	127,0	127,4	8,28 (dd, 7,4 e 1,7 Hz)		H-6
CH ₃					
Me-2	9,1	8,3	2,15 (s)		
OH-1	-	-	13,21 (s)		
OH-3	-	-	10,32 (s)		

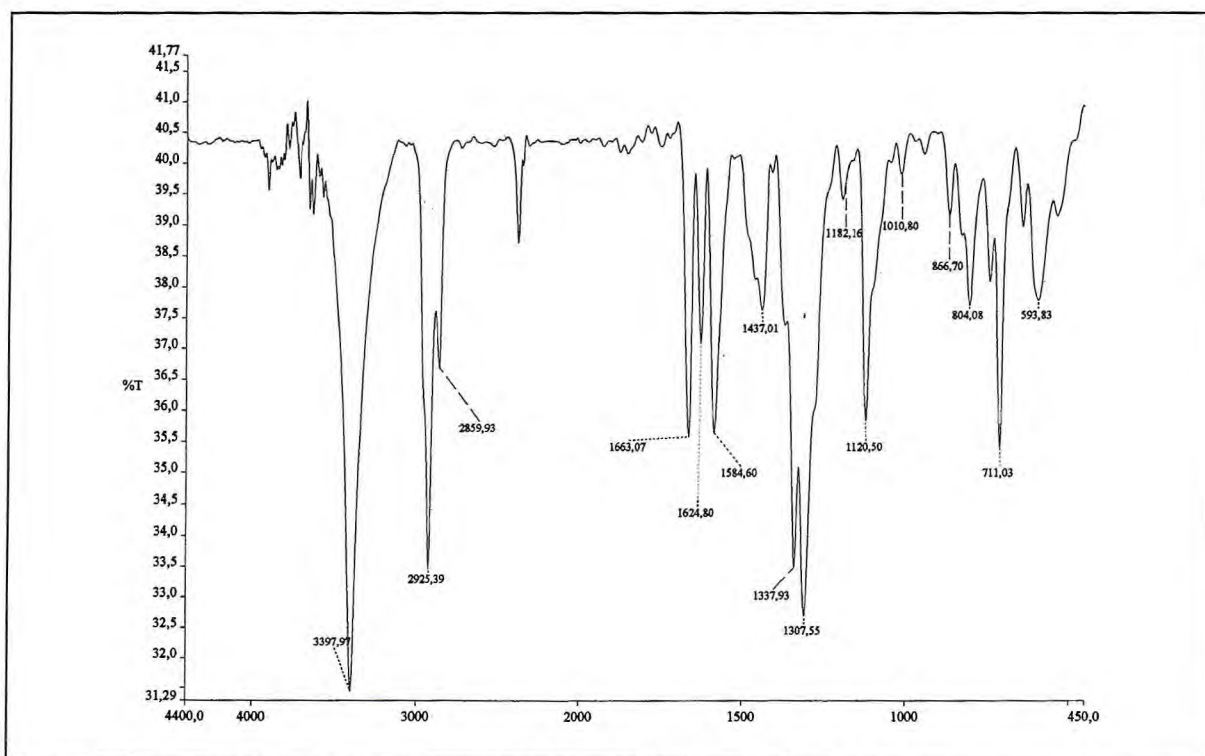


Figura 70 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-10.

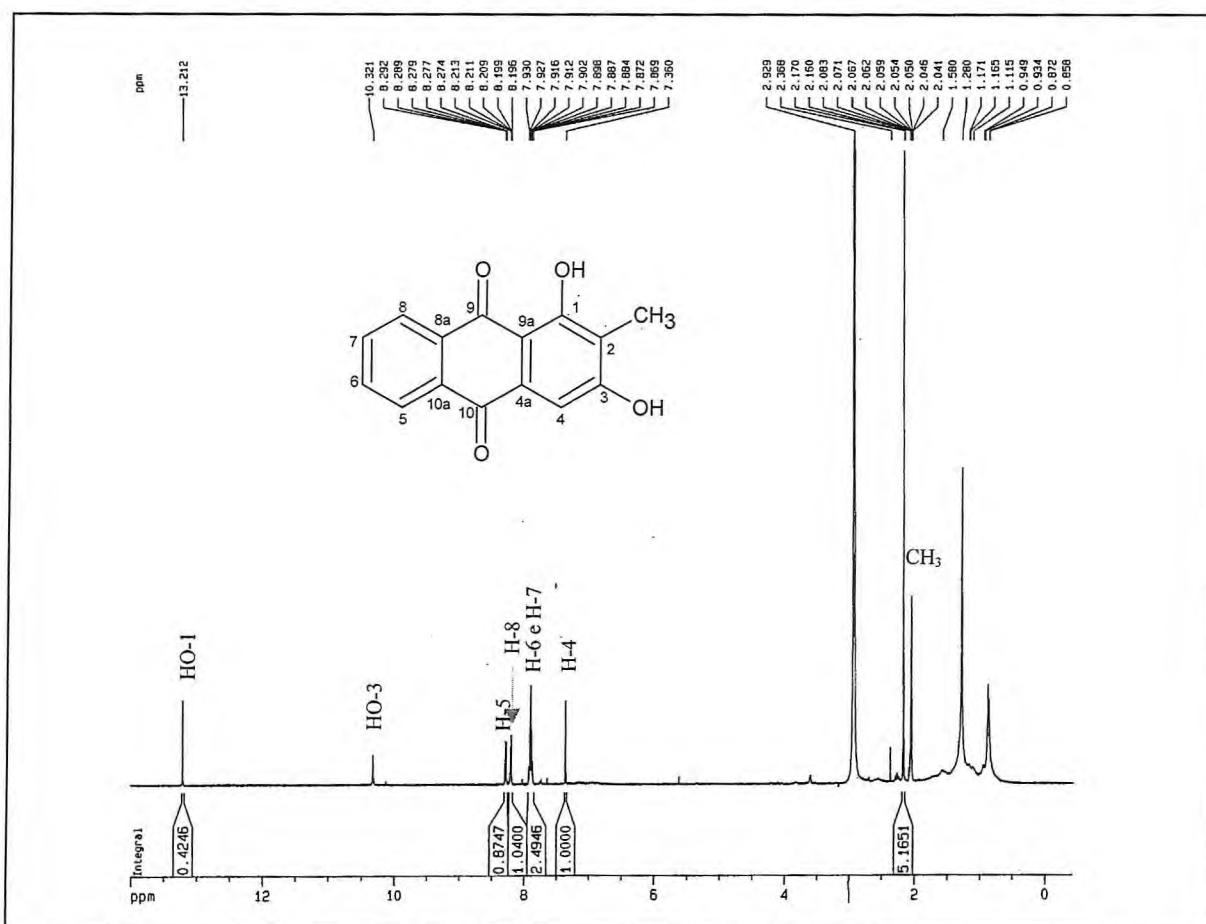


Figura 71 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) de PS-10.

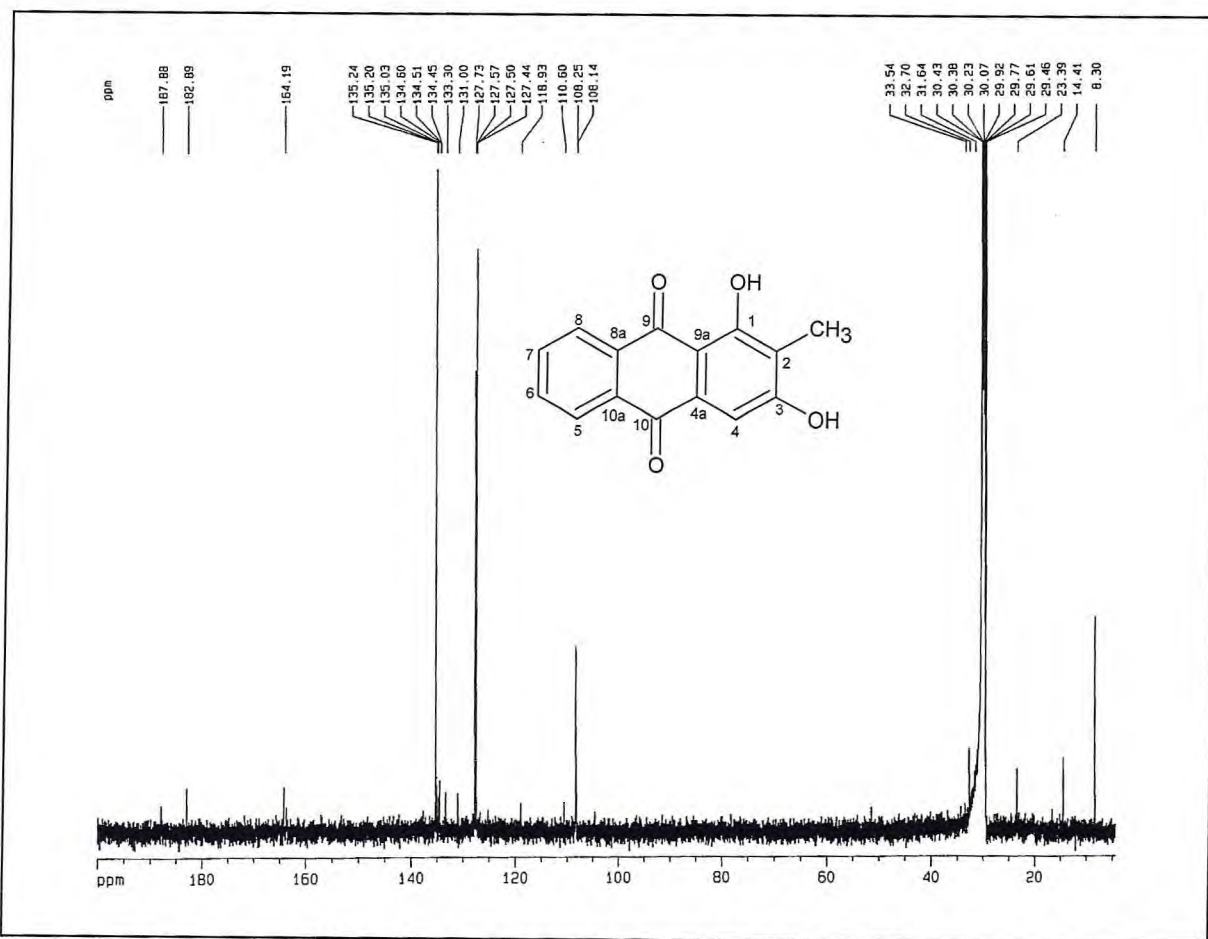


Figura 72 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, Acetona-d₆) de PS-10.

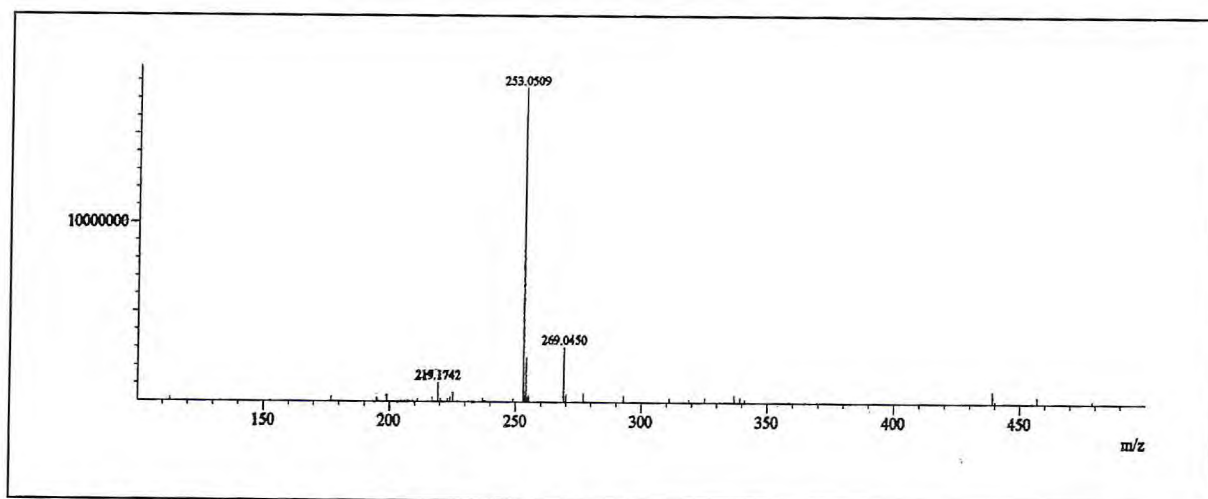


Figura 73 – Espectro de massas de PS-10.

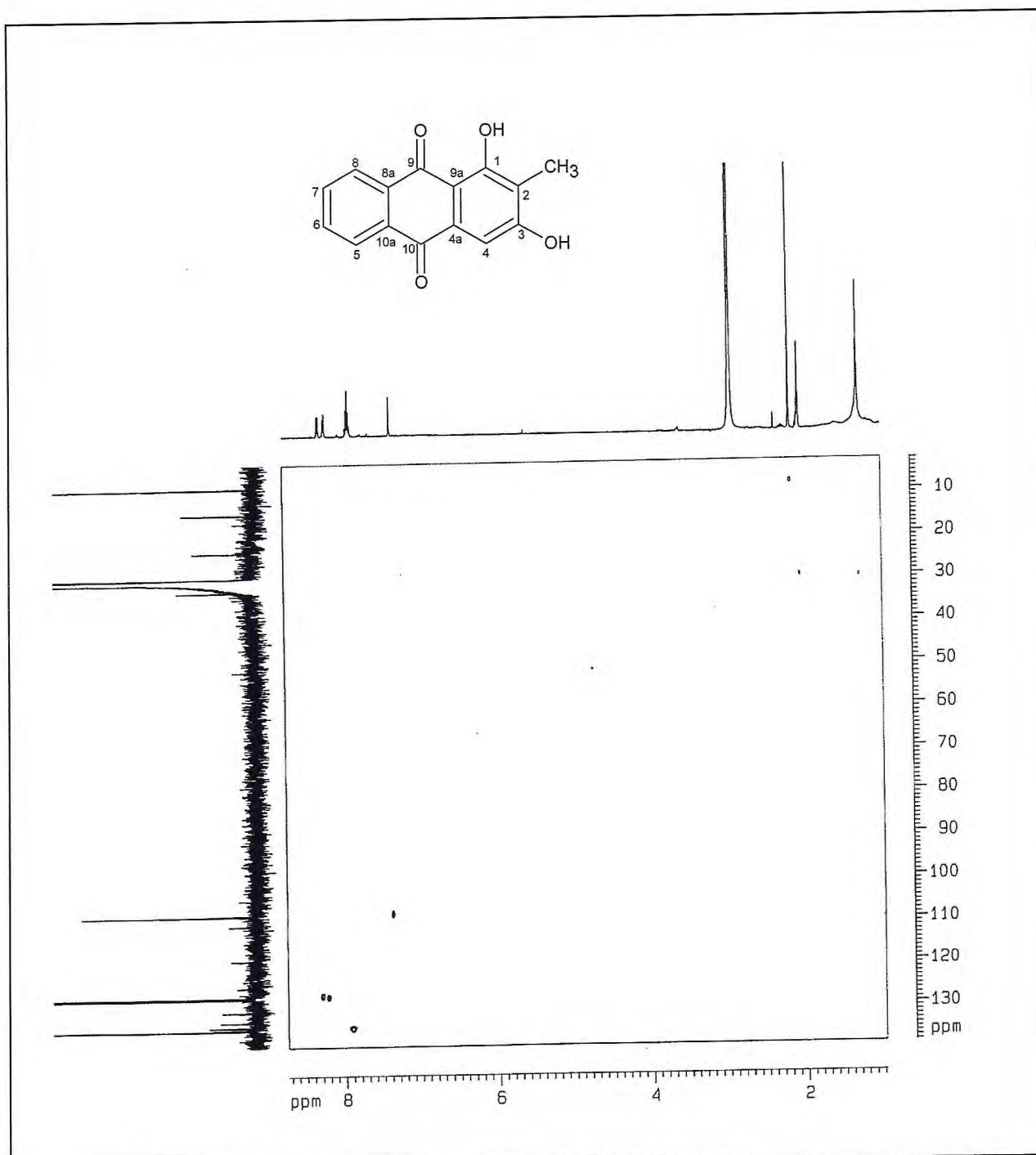


Figura 74 – Mapa de correlação HSQC (Acetona-*d*₆) de PS-10.

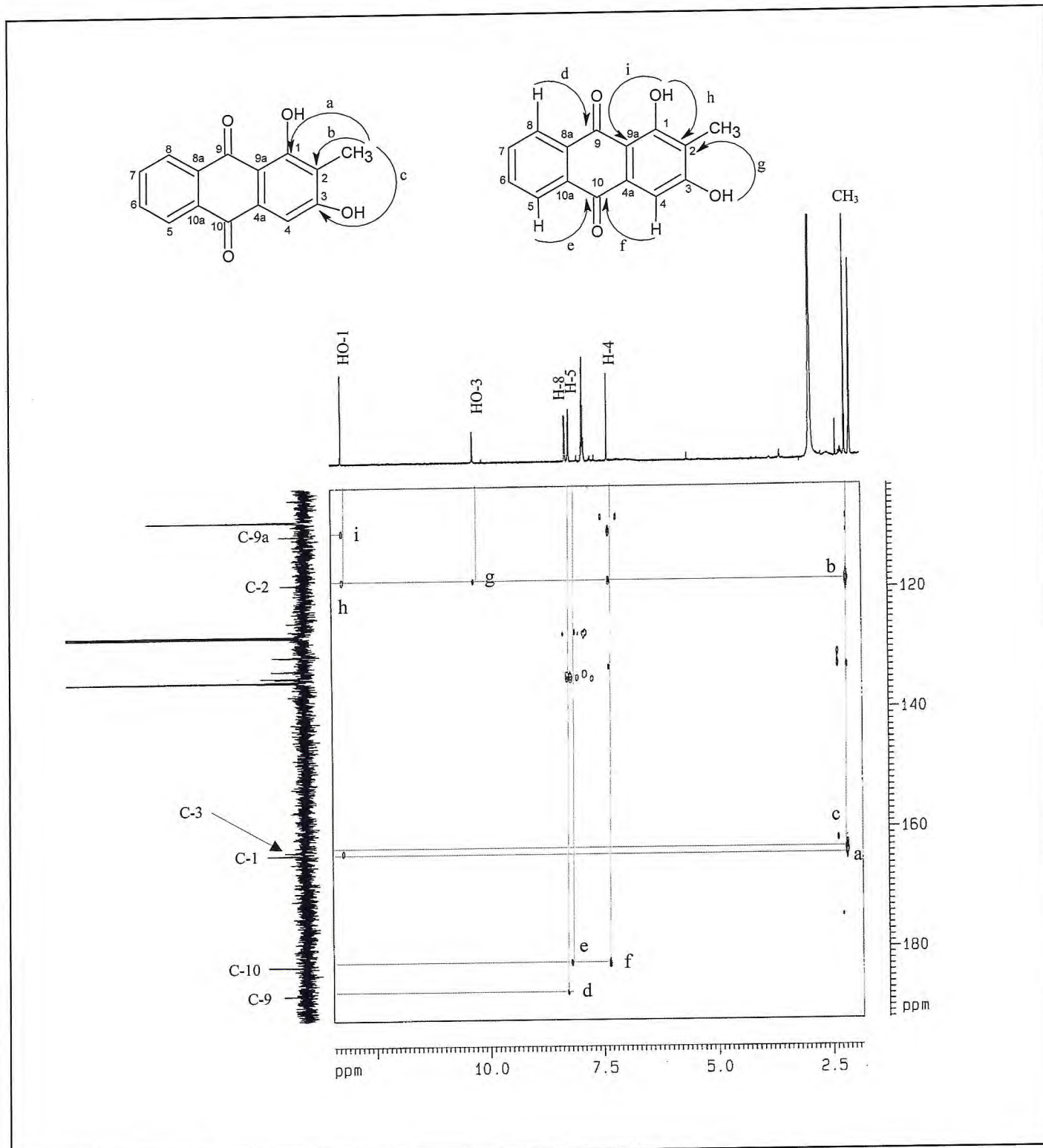


Figura 75 – Mapa de correlação HMBC (Acetona-*d*₆) de PS-10.

5.2.10. Determinação Estrutural de PS-11

Sucessivos fracionamentos cromatográficos do extrato etanólico das raízes (ERPS) de *P. stachyoides*, possibilitou o isolamento de um sólido vermelho, denominado de PS-11.

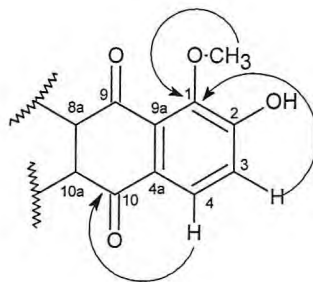
O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 76, p. 180) apresentou uma banda centrada em 3485 cm^{-1} relativa à deformação axial de ligação O-H fenólica; absorção em 2920 cm^{-1} referente à deformação axial C-H; além de bandas em 1665 e 1586 cm^{-1} relativas à deformação axial C=O de carbonilas (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 77, p. 180) mostrou 14 sinais, dos quais 13 carbonos eram sp^2 e 1 carbono sp^3 . A comparação com espectro de DEPT (Figura 78, p. 181) permitiu observar a presença de 1 carbono metílico, 6 metínicos e 9 carbonos não-hidrogenados. As absorções em δ_{C} 185,4 (C-9) e 183,4 (C-10) foram atribuídas a 2 carbonilas, característicos de um núcleo antraquinônico (MOREIRA, 2006), como observado em PS-11. Foi observado ainda um sinal em δ_{C} 61,3 (MeO-1), que foi atribuído a um grupo metoxila.

O espectro de RMN ^1H (Figura 79, p. 181) mostrou dois sinais relativos a hidrogênios aromático em δ_{H} 7,96 (d, $J = 8,6$ Hz, H-4) e 7,08 (d, $J = 8,6$ Hz, H-3) com acoplamento *orto*. Outros dois sinais foram observados em δ_{H} 8,17 e 7,76, com integração para dois hidrogênios que foram atribuídos a hidrogênios de um núcleo antraquinônico (H-5, H-6, H-7 e H-8), além de sinal referente uma metoxila em δ_{H} 3,84.

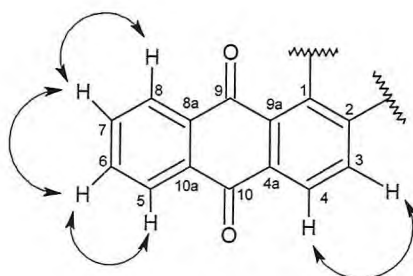
O espectro de massas de baixa resolução (Figura 80, p. 182) mostrou o pico correspondente ao íon molecular em m/z 254 daltons, que, em comparação com os dados de RMN ^{13}C e RMN ^1H , nos levou à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$, com Índice de Deficiência de Hidrogênio igual a 11.

O espectro de HSQC (Figura 81, p. 182) revelou as correlações dos hidrogênios ligados diretamente a seus respectivos carbonos (Tabela 38, p. 179). Por outro lado, o espectro HMBC (Figura 82, p. 183) exibiu a correlação do hidrogênio em δ_{H} 7,96 (H-4) com o carbono em δ_{C} 183,4 (C-10), e do hidrogênio em δ_{H} 7,08 (H-3, 3J) com o carbono em δ_{C} 150,9 (C-1), determinando a posição dos dois substituintes no esqueleto antraquinônico (subestrutura 1). Esta subestrutura também mostra a correlação dos hidrogênios em δ_{H} 3,84 (MeO) com o carbono em δ_{C} 150,9 (C-1).



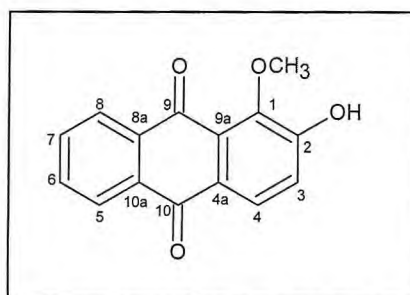
Subestrutura 1 de PS-11.

O espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (Figura 83, p. 184) mostrou o acoplamento do hidrogênio metínico em δ_{H} 8,18 (H-5) com o hidrogênio em δ_{H} 7,76 (H-6); deste com o hidrogênio em δ_{H} 7,76 (H-7), e deste último com o hidrogênio em δ_{H} 8,17 (H-8), confirmando o sistema aromático *orto* substituído. Foi também revelado os acoplamentos dos hidrogênios em δ_{H} 7,08 (H-3) e 7,96 (H-4), como indicados na subestrutura 2.



Subestrutura 2 de PS-11.

A conferência dos dados de PS-11 foram coincidentes com os encontrados na literatura para a antraquinona alizarina-1-metiléter (BANTHORPE, 1995), isolado anteriormente de *Galium verum* (Rubiaceae), e de caráter inédito no gênero *Psychotria* (Estrutura 98).



Estrutura de PS-11 (98).

Tabela 38 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-11 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de RMN ^1H de alizarina-1-metiléter, registrado na literatura.

	Alizarina-1-metiléter (CDCl_3) (BANTHORPE, 1995)	PS-11 (CD_3OD)			
	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	HSQC δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	δ_{C}	$^2J_{\text{CH}}$	HMBC $^3J_{\text{CH}}$
C					
1	-	-	150,9		H-3; MeO-1
2	-	-	128,0	H-3	H-4
9	-	-	185,4		
10	-	-	183,4		H-4; H-5
4a	-	-	122,0		H-4
9a	-	-	117,0		
8a	-	-	135,0		H-7
10a	-	-	135,1		H-6
CH					
3	7,34 (d, 8,5)	7,08 (d, 8,6)	124,3	H-4	
4	8,13 (d, 8,5)	7,96 (d, 8,6)	127,3		
5	8,25 (m)	8,18 (m)	127,4		
6	7,75 (m)	7,76 (m)	134,8		H-8
7	7,75 (m)	7,76 (m)	134,6		H-5
8	8,25 (m)	8,17 (m)	127,9		
CH_3					
MeO-1	4,02 (s)	3,84 (s)	61,3		
OH-2	-	-	-		

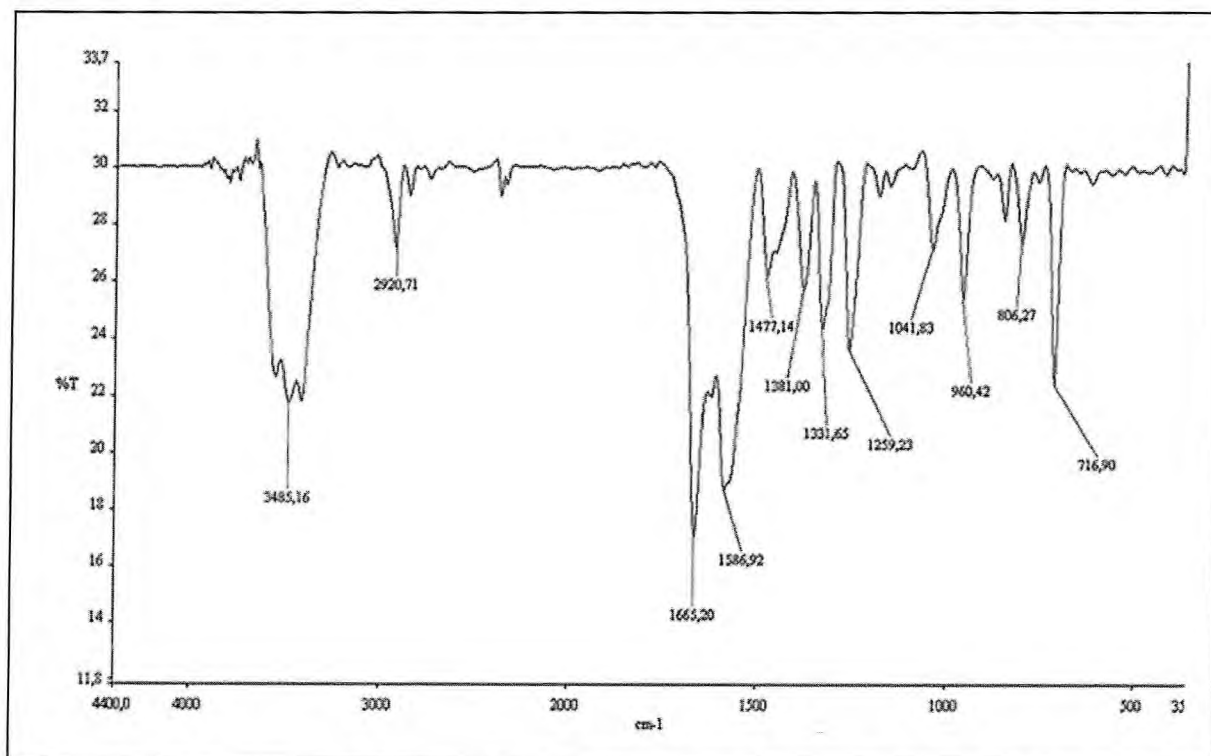


Figura 76 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-11.

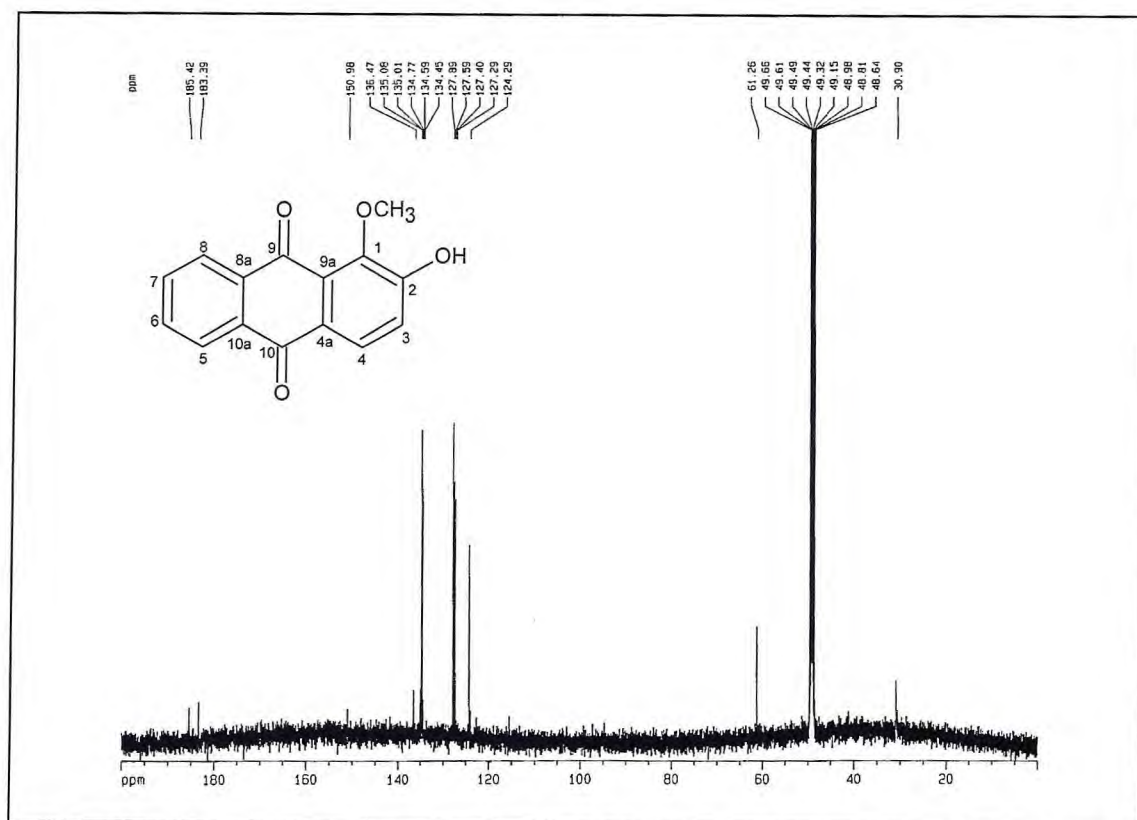


Figura 77 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD) de PS-11.

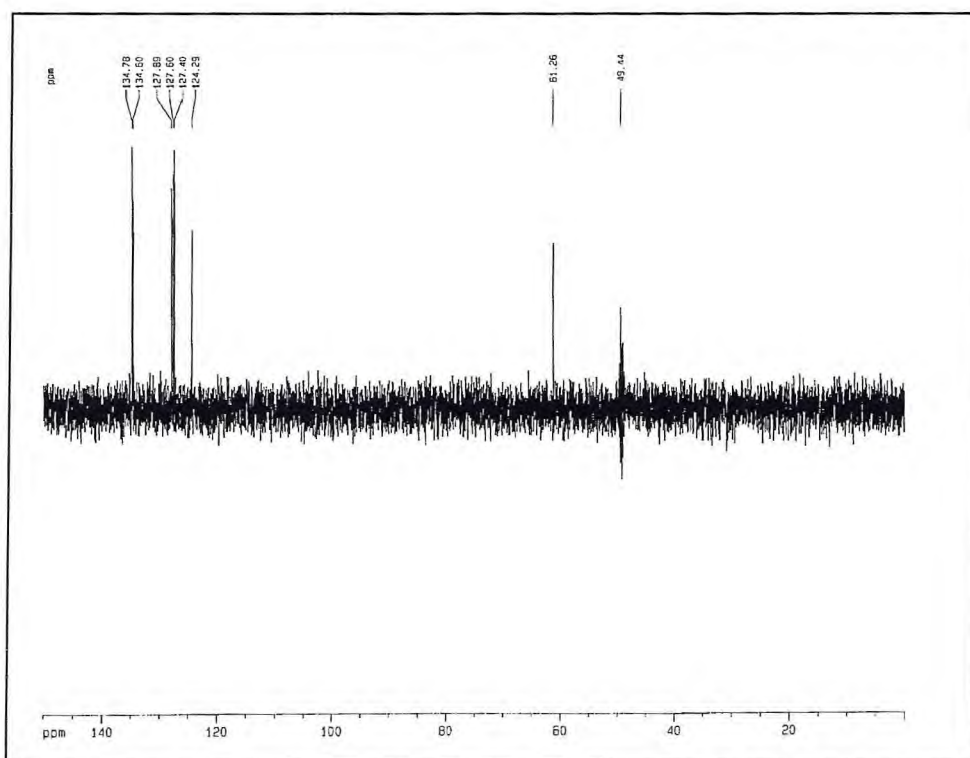


Figura 78 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-11.

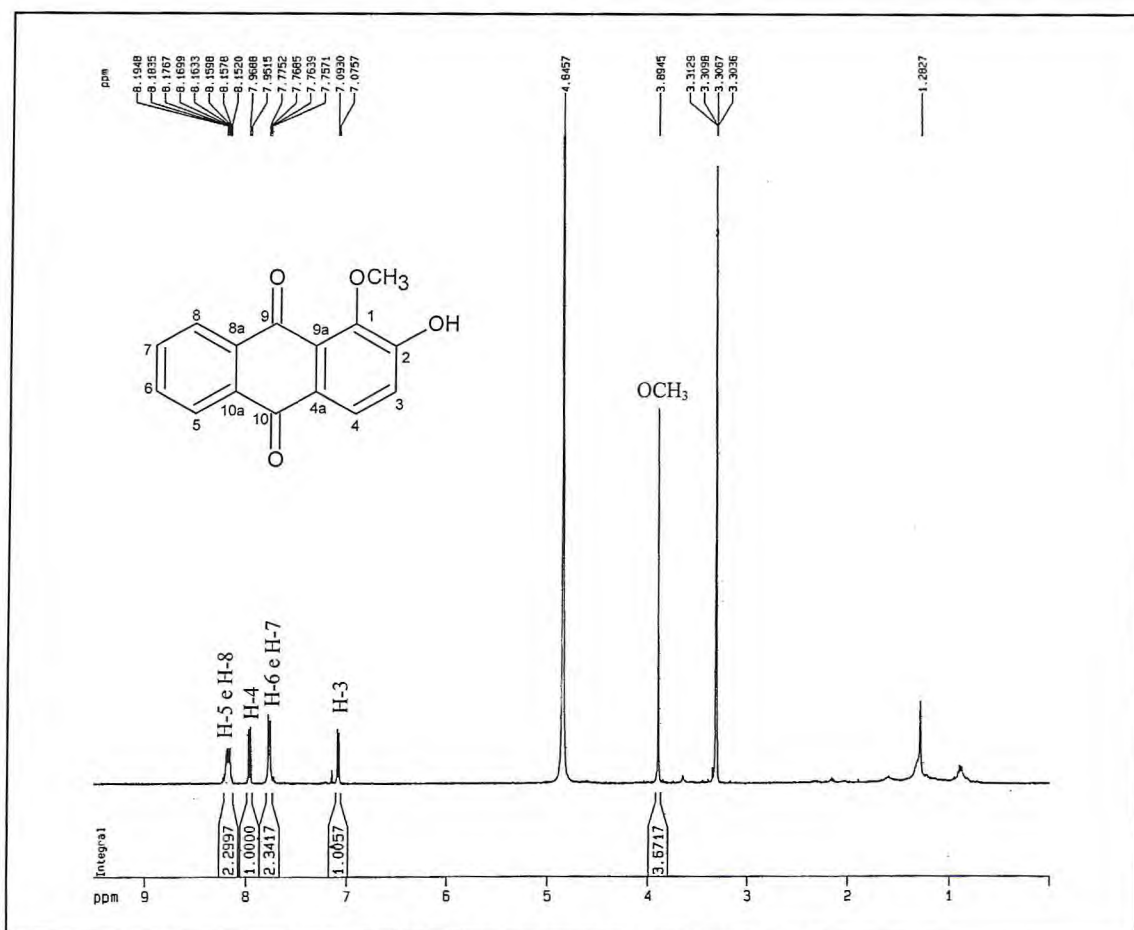
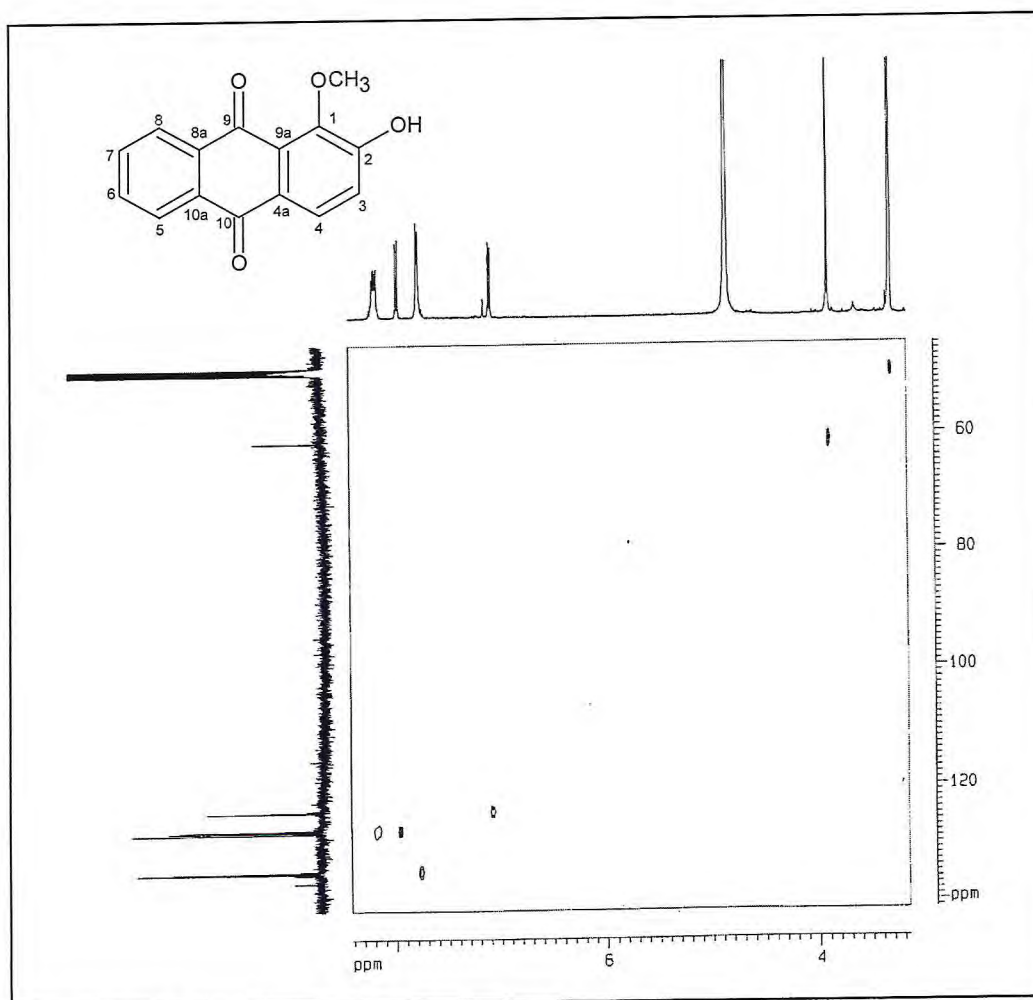
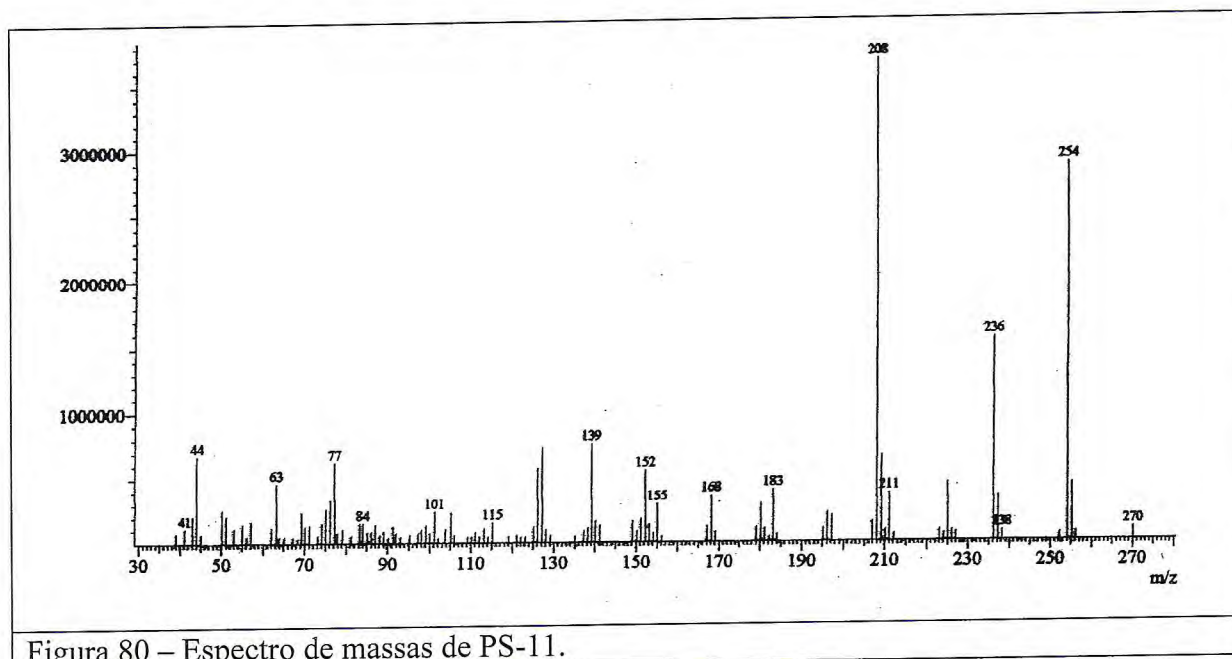


Figura 79 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-11.



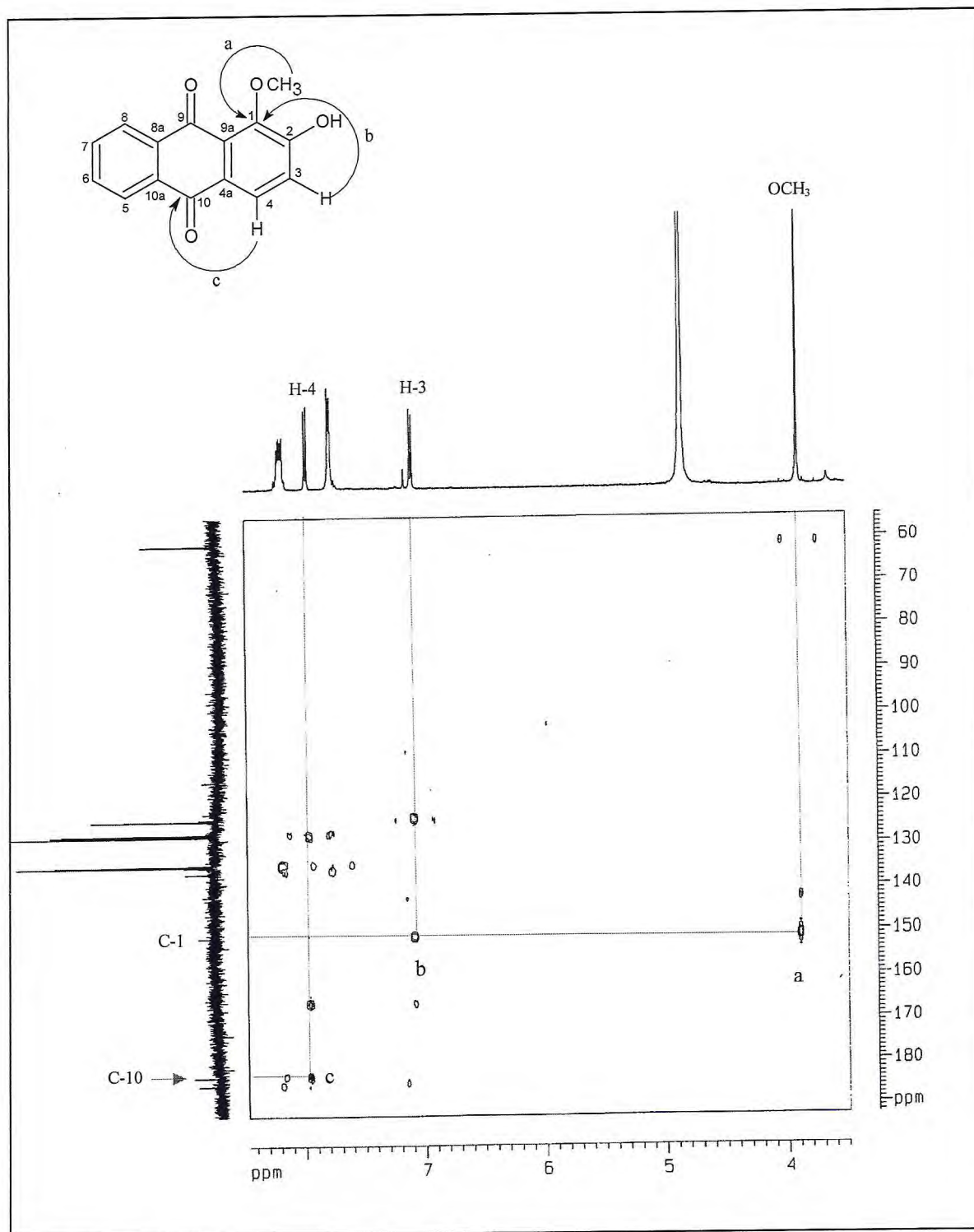


Figura 82 – Mapa de correlação HMBC (CD₃OD) de PS-11.

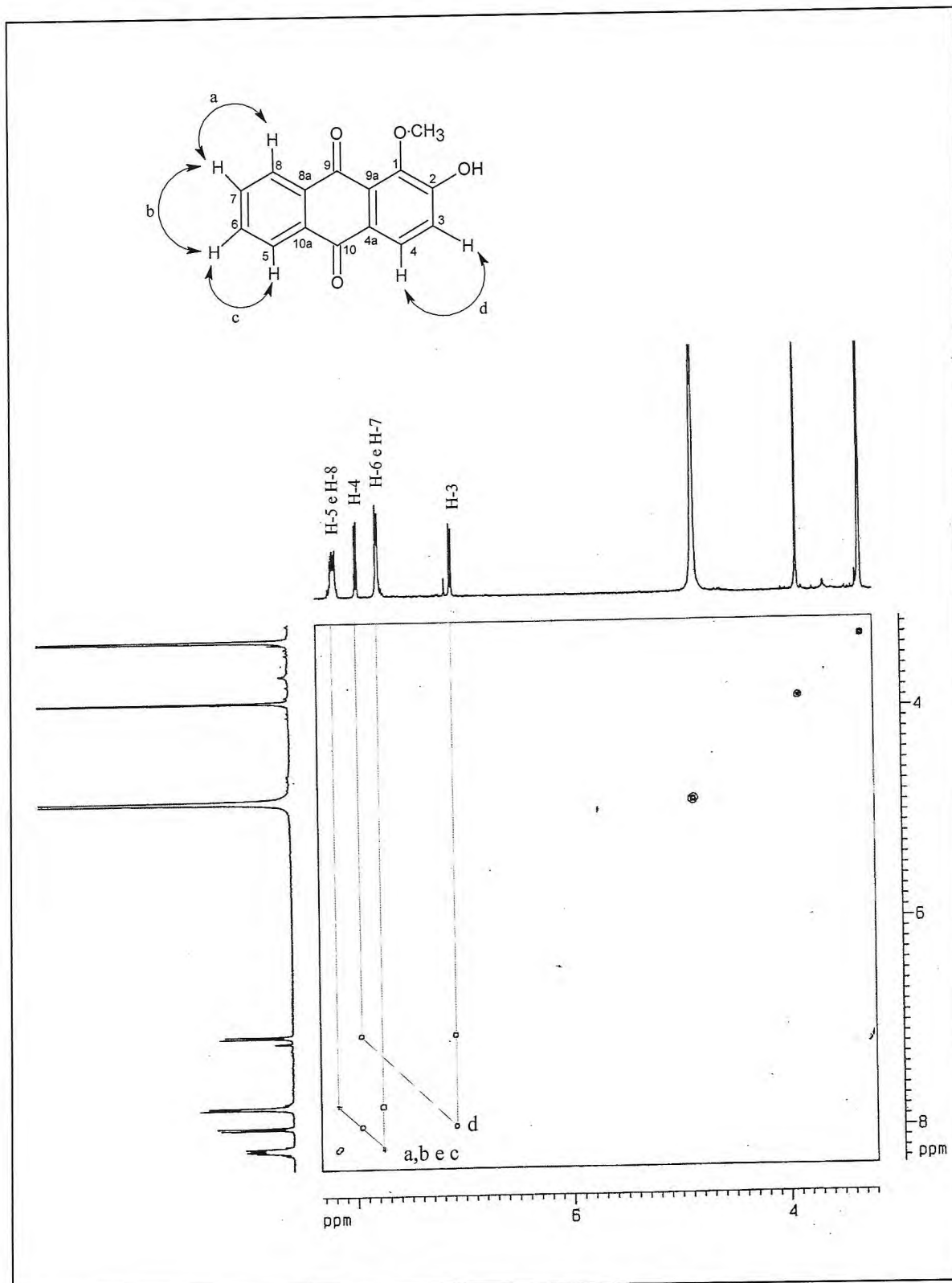


Figura 83 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-11.

5.2.11. Determinação Estrutural de PS-14

PS-14 foi isolada como um sólido branco, homogêneo em CCD, após sucessivas cromatografias do extrato etanólico das raízes.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 84, p. 189) de PS-14 apresentou uma banda larga em 3416 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de ligação O-H caracterizando presença de hidroxila; uma banda intensa em 2931 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação C-H, além de uma banda em 1691 cm^{-1} característica de estiramento carboxílico ($\nu_{\text{C=O}}$) (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

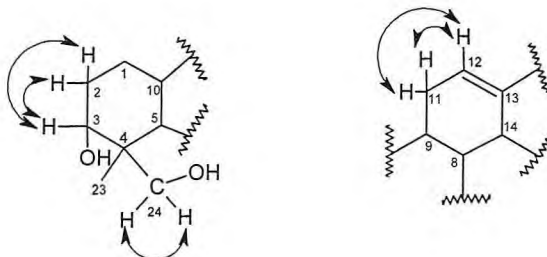
Trinta sinais foram notados no espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 85, p. 189), sugerindo a natureza triterpênica de PS-14. A absorção em $\delta_{\text{C}} 182,4$ foi atribuída a uma carbonila de ácido carboxílico, enquanto que as absorções em $\delta_{\text{C}} 129,6$ (C-12) e $\delta_{\text{C}} 140,2$ (C-13) foram relacionadas a uma dupla ligação trissubstituída. Por fim, os sinais em $\delta_{\text{C}} 71,5$ (C-3), $66,5$ (C-24) e $73,8$ (C-19) foram imputados a carbonos oxigenados. Análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPT (Figura 86, p. 190), permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono como sendo 6 metílicos (CH_3), 10 metilênicos (CH_2), 6 metínicos (CH) e 8 não-hidrogenados (C).

Análise do espectro de RMN ^1H (Figura 87, p. 191) revelou cinco simpletos em $\delta_{\text{H}} 0,78$ (s, H-26), $0,92$ (s, H-25), $1,04$ (s, H-23), $1,16$ (s, H-29), $1,35$ (s, H-27), e um dubleto em $\delta_{\text{H}} 0,93$ (d, $J = 6,7$ Hz, H-30) referentes a seis grupos metilas, características de um esqueleto triterpênico do tipo ursano. Foi observado ainda um sinal simples em $\delta_{\text{H}} 5,28$ (sl, H-12) referente a hidrogênio olefínico de uma ligação dupla, além dos sinais em $\delta_{\text{H}} 3,39$ (d, $J = 11,3$ Hz, H-24 α), $3,69$ (d, $J = 11,3$ Hz, H-24 β) e $3,77$ (s, H-3) que foram associados a hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos.

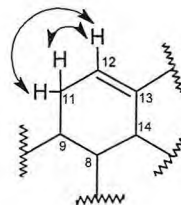
O espectro de massa de PS-14 (Figura 88, p. 191) mostrou a presença do pico correspondente ao íon molecular em m/z 488 daltons, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$. Os sinais em 264 e $223\ m/z$ foram característicos de uma clivagem do tipo retro-Diels-Alder, normalmente encontrado em espectros de triterpenos do tipo ursano (NAKATANI, 1989).

No espectro de correlação homonuclear ^1H , ^1H -COSY (Figura 89, p. 192), observou-se o acoplamento geminal entre os hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em $\delta_{\text{H}} 3,39$ (H-

24 α) e 3,69 (H-24 β); do hidrogênio em δ_H 3,77 (H-3) com o hidrogênio em δ_H 1,55 (2H-2); e do hidrogênio olefínico em δ_H 5,28 (H-12) com os hidrogênios δ_H 2,00 (H11 α) e δ_H 1,92 (H-11b), como mostrado nas subestruturas 1 e 2 abaixo.



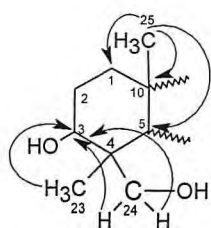
Subestrutura 1 de PS-14.



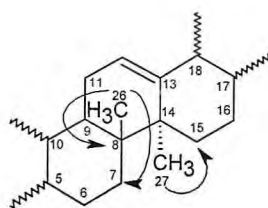
Subestrutura 2 de PS-14.

A partir da análise detalhada do espectro de HSQC (Figura 90, p. 193) foi possível a associação de cada hidrogênio ao seu respectivo carbono de forma inequívoca, como mostrado na Tabela 39 (p. 188).

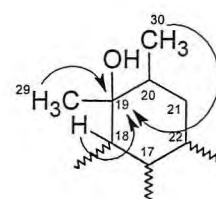
No espectro de correlação heteronuclear à longa distância ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$) de RMN-HMBC (Figura 91, p. 193 e Figura 92, p. 194), pôde-se observar o acoplamento do hidrogênio metílico em δ_H 1,04 (3H-23) e dos hidrogênios em δ_H 3,69 (H-24 α) e 3,39 (H-24 β) com o carbono oxigenado em δ_C 71,5 (C-3), além dos acoplamentos dos hidrogênios em δ_H 0,92 (3H-25) com os carbonos em δ_C 34,6 (C-1), 50,8 (C-5) e 38,1(C-10), como indicado na subestrutura 3. Este espectro mostrou também o acoplamento do hidrogênio metílico em δ_H 0,78 (3H-26) com os carbonos em δ_C 34,4 (C-7), δ_C 41,34 (C-8); e do hidrogênio metílico em δ_H 1,35 (H-27) com o carbono em δ_C 29,7 (C-15), de acordo com a subestrutura 4. Por outro lado a subestrutura 5 mostra as correlações dos hidrogênios em δ_H 2,50 (H-18), 1,16 (3H-29) e 0,93 (3H-30) com o carbono carbinólico em δ_C 73,8 (C-19).



Subestrutura 3 de PS-14.

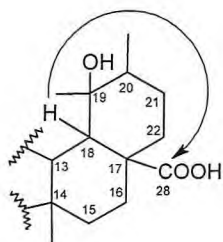


Subestrutura 4 de PS-14.

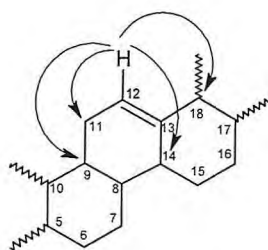


Subestrutura 5 de PS-14.

O espectro de HMBC mostrou ainda o acoplamento do hidrogênio em δ_H 2,50 (H-18) com o carbono carbonílico em δ_C 182,4 (C-28), confirmando a posição da carboxila em C-28 (subestrutura 6). Observou-se ainda neste espectro o acoplamento do hidrogênio olefínico em δ_H 5,28 (H-12) com os carbonos em δ_C 55,3 (C-18), δ_C 49,7 (C-9) δ_C 42,8 (C-14) e δ_C 24,9 (C-11), evidenciando assim a posição da ligação dupla nos carbonos C-12 e C-13 (subestrutura 7).

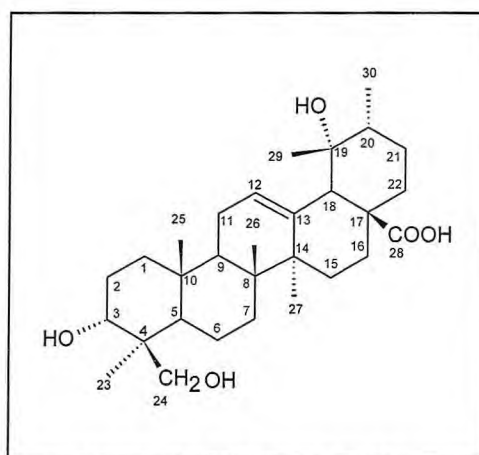


Subestrutura 6 de PS-14.



Subestrutura 7 de PS-14.

Os dados acima discutidos permitiram propor para PS-14 a estrutura de um triterpeno ursano conhecido como ácido barbinérvico, após comparação dos dados de RMN ^{13}C -BB com dados descritos na literatura (SU, 2003). Esta substância já foi isolada de *Coussarea brevicaulis* (Rubiaceae), porém possui caráter inédito no gênero *Psychotria* (Estrutura 101).



Estrutura de PS-14 (101).

Tabela 39 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C de PS-14 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C do ácido barbinérvico registrado na literatura.

	Ácido barbinérvico (90 MHz, piridina- d_5) (SU, 2003)		PS-14 (125 MHz, CD_3OD)		
	δ_{C}	δ_{C}	HSQC δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	HMBC $^3J_{\text{CH}}$
C					
4	44,0	44,2	-	2H-24	3H-23
8	40,6	41,3	-	3H-26	
10	37,5	38,1	-	3H-25	
13	140,0	140,2	-		
14	42,1	42,8	-		
17	48,3	48,5	-		
19	72,7	73,8	-	2H-18; 3H-29	3H-30
CH					
3	69,9	71,5	3,77 (s)		3H-23; 2H-24
5	50,2	50,8	1,43 (s)		3H-23; 3H-25
9	47,8	49,7	3,30		
12	128,1	129,6	5,28 (sl)		
18	54,6	55,3	2,50 (s)		3H-29
20	42,4	43,2	1,35		2H-18; 3H-29
CH ₂					
1	34,0	34,6	1,33 (2H)		3H-25
2	26,5	26,8	1,55 (m, 2H)		
6	19,2	19,7	1,55 (m, 2H)		
7	34,1	34,3	1,33 (2H)		3H-26
11	24,3	24,9	1,92 e 2,00 (m)		
15	29,3	29,7	1,80 e 1,83 (m)		3H-27
16	26,4	26,2	1,86 e 1,91 (m)		
21	27,0	27,5	-		
22	38,5	39,2	1,74 (sl) e 1,76 (sl)		
24	65,7	66,5	3,39 (d, 11,3) e 3,69 (d, 11,3)		3H-23
CH ₃					
23	23,7	23,0	1,04 (s)		2H-24
25	16,0	16,3	0,92 (s)		
26	17,2	17,6	0,78 (s)		
27	24,6	24,9	1,35 (s)		
29	27,1	27,3	1,16 (s)		
30	16,8	16,7	0,93 (d, 6,7)		
COOH	180,7	182,4			H-18

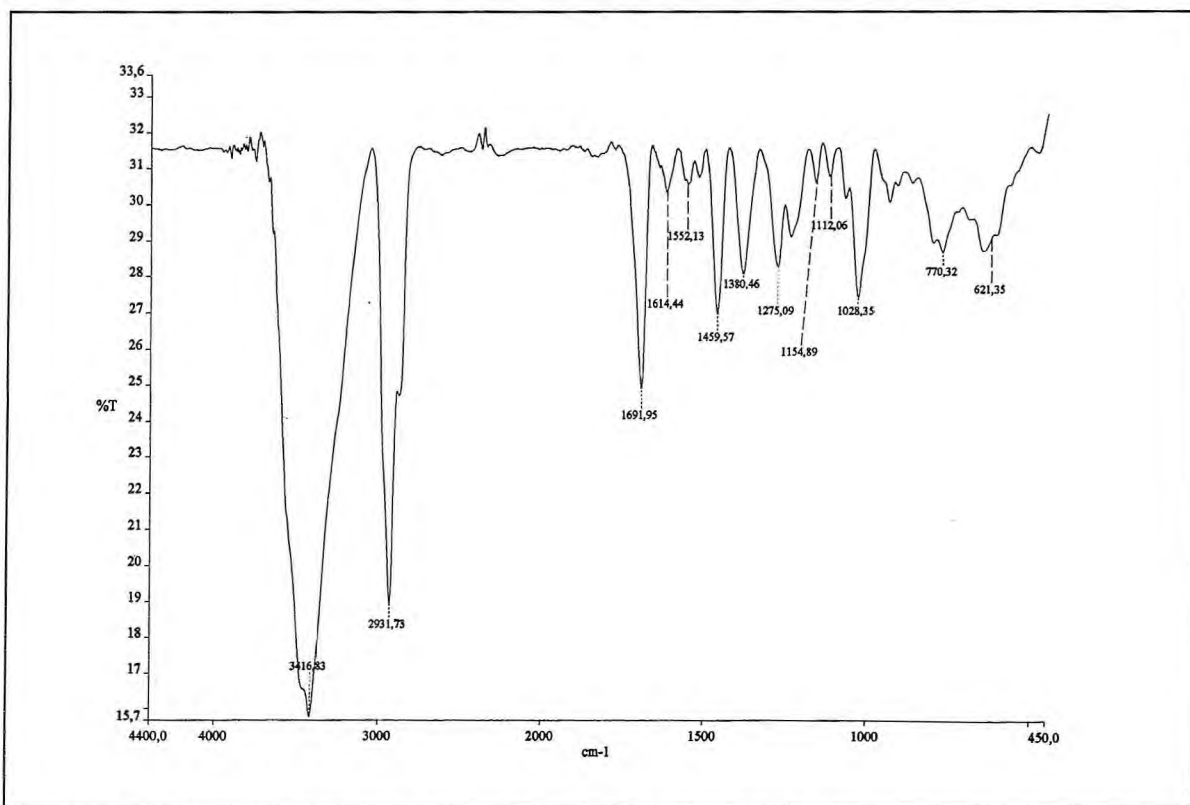


Figura 84 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-14.

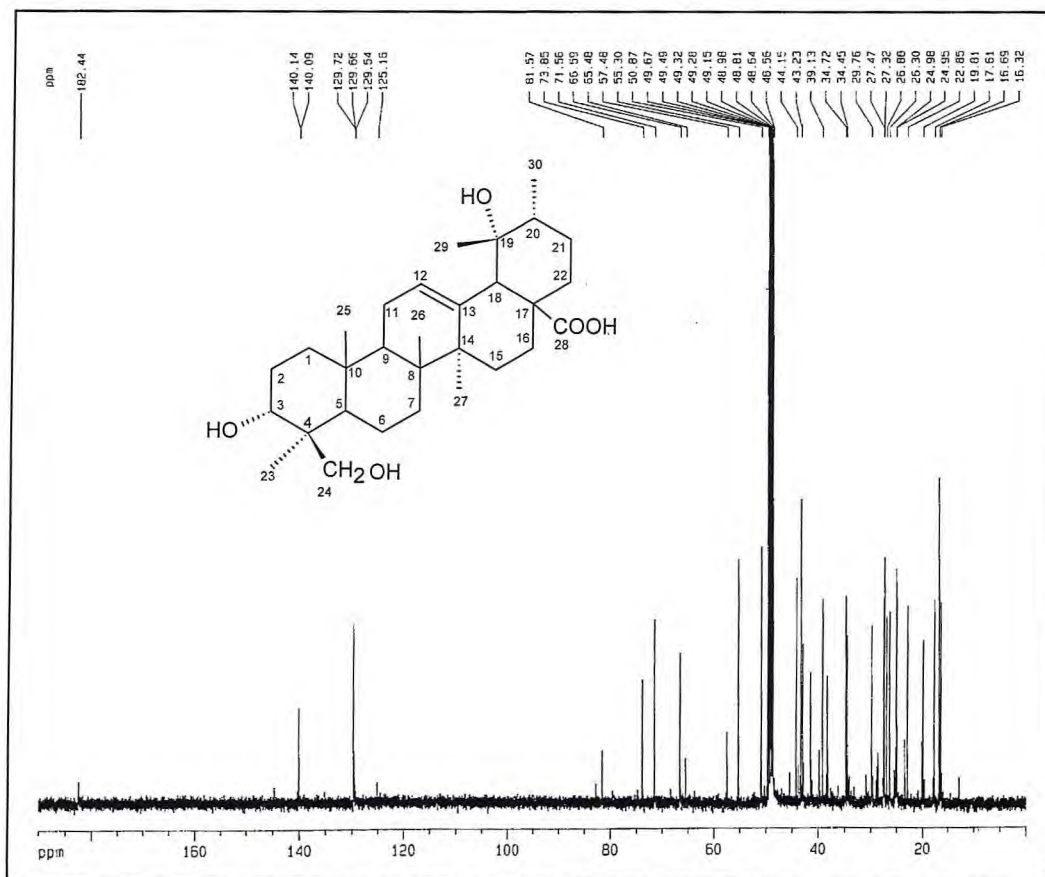


Figura 85 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-14.

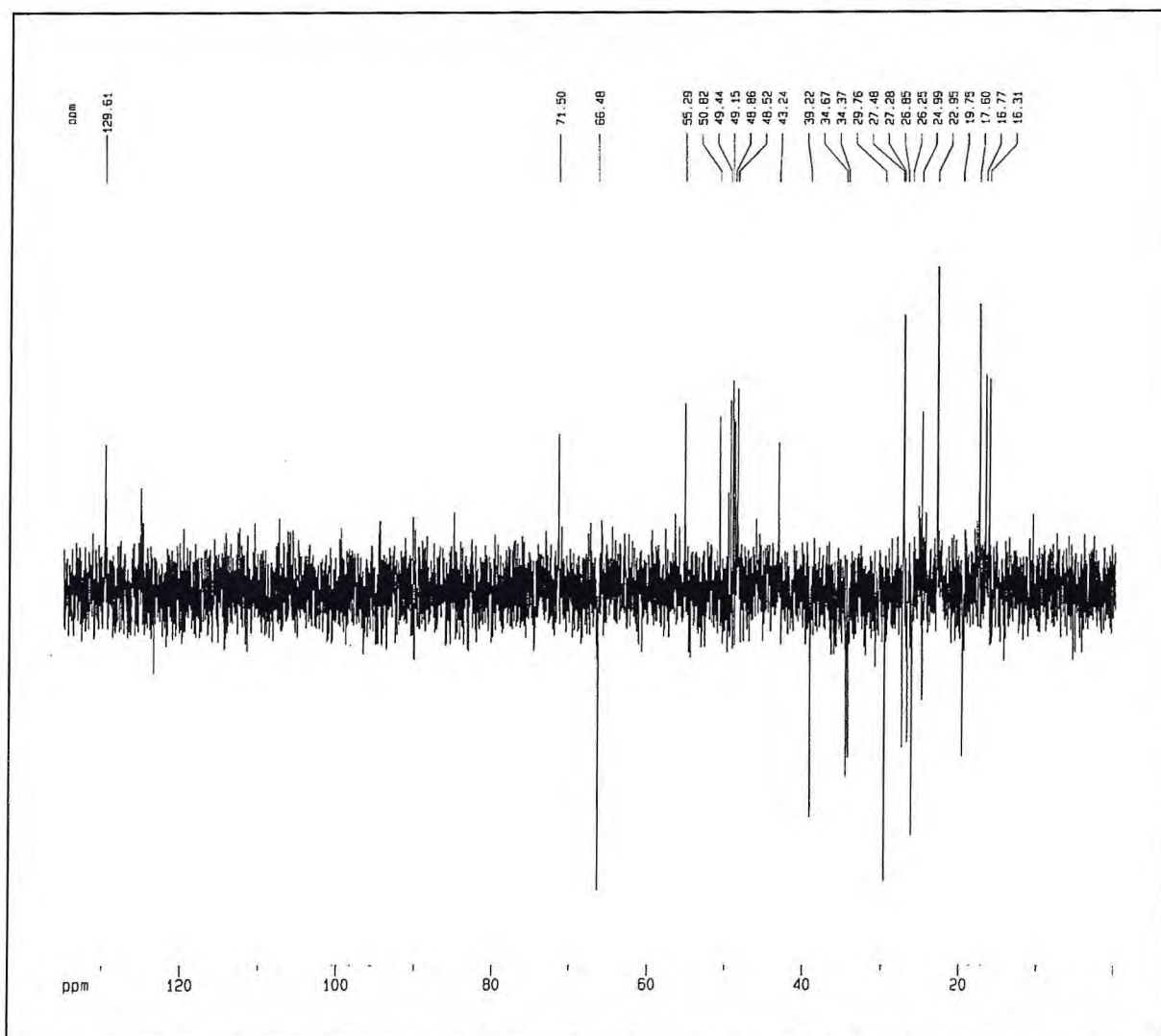


Figura 86 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-14.

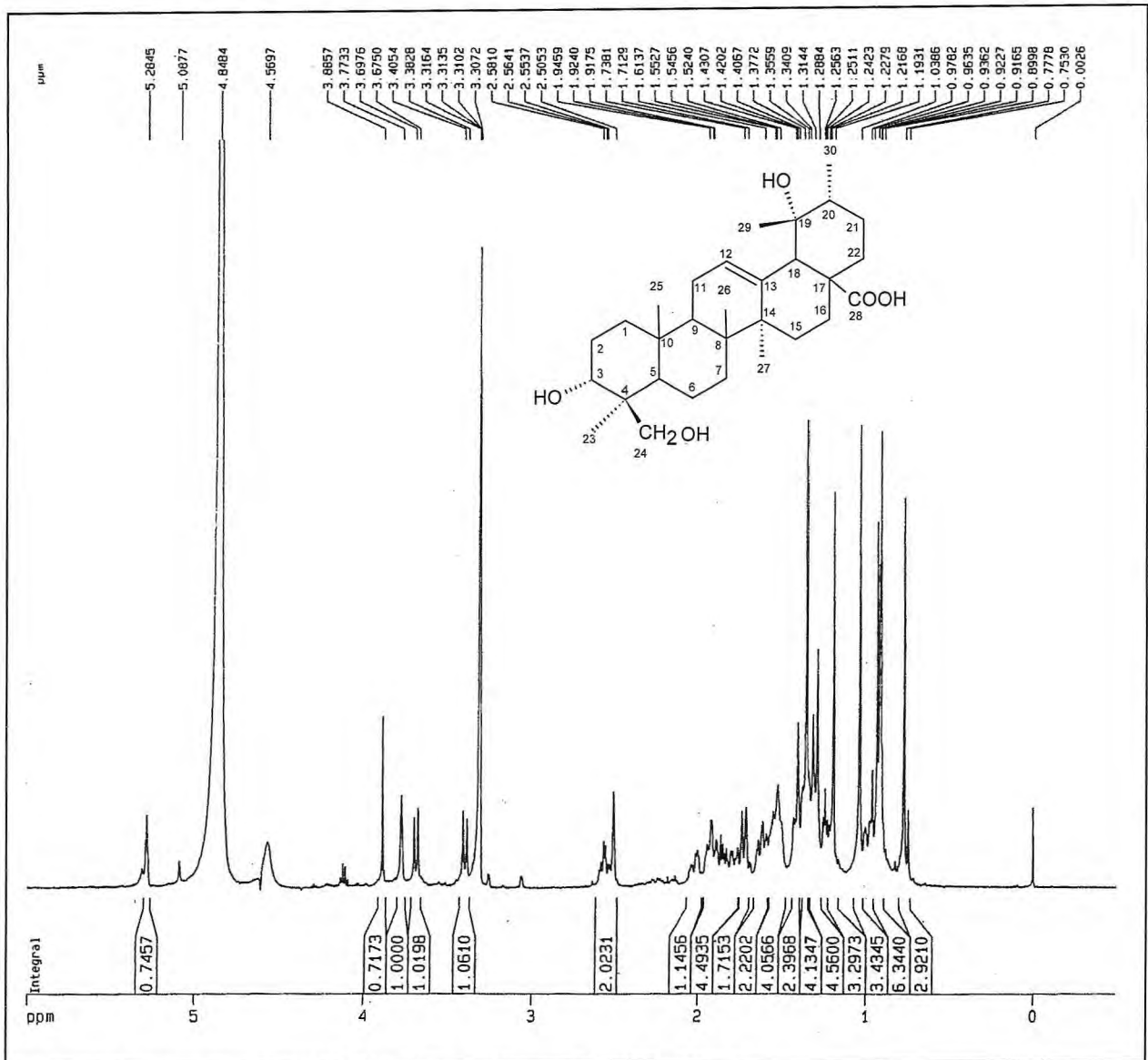


Figura 87 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-14.

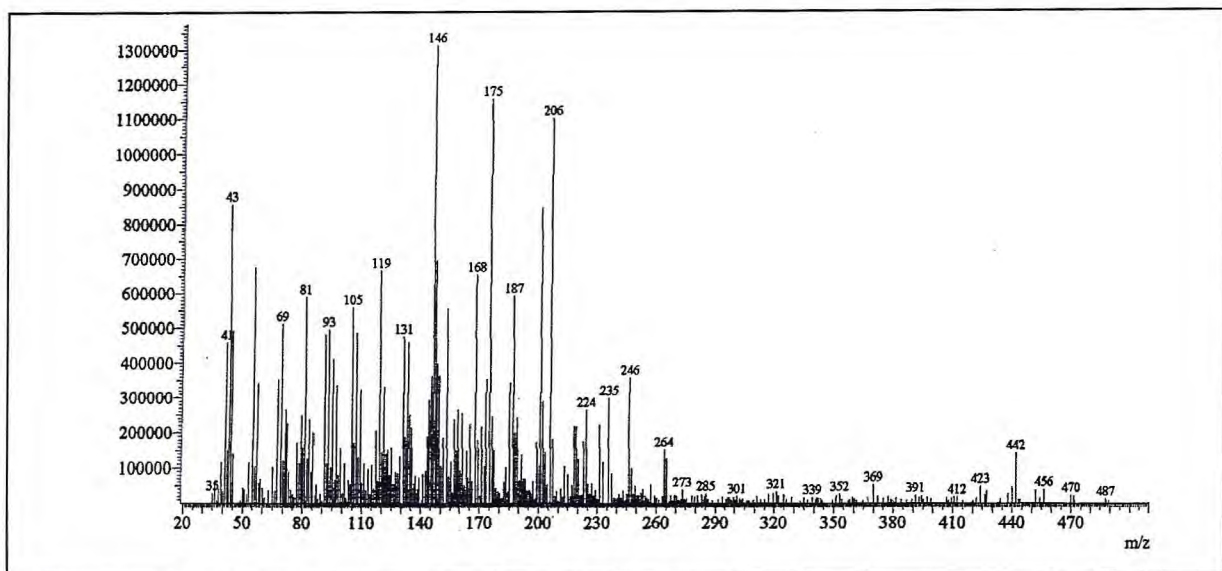


Figura 88 – Espectro de massas (IE, 70 eV) de PS-14.

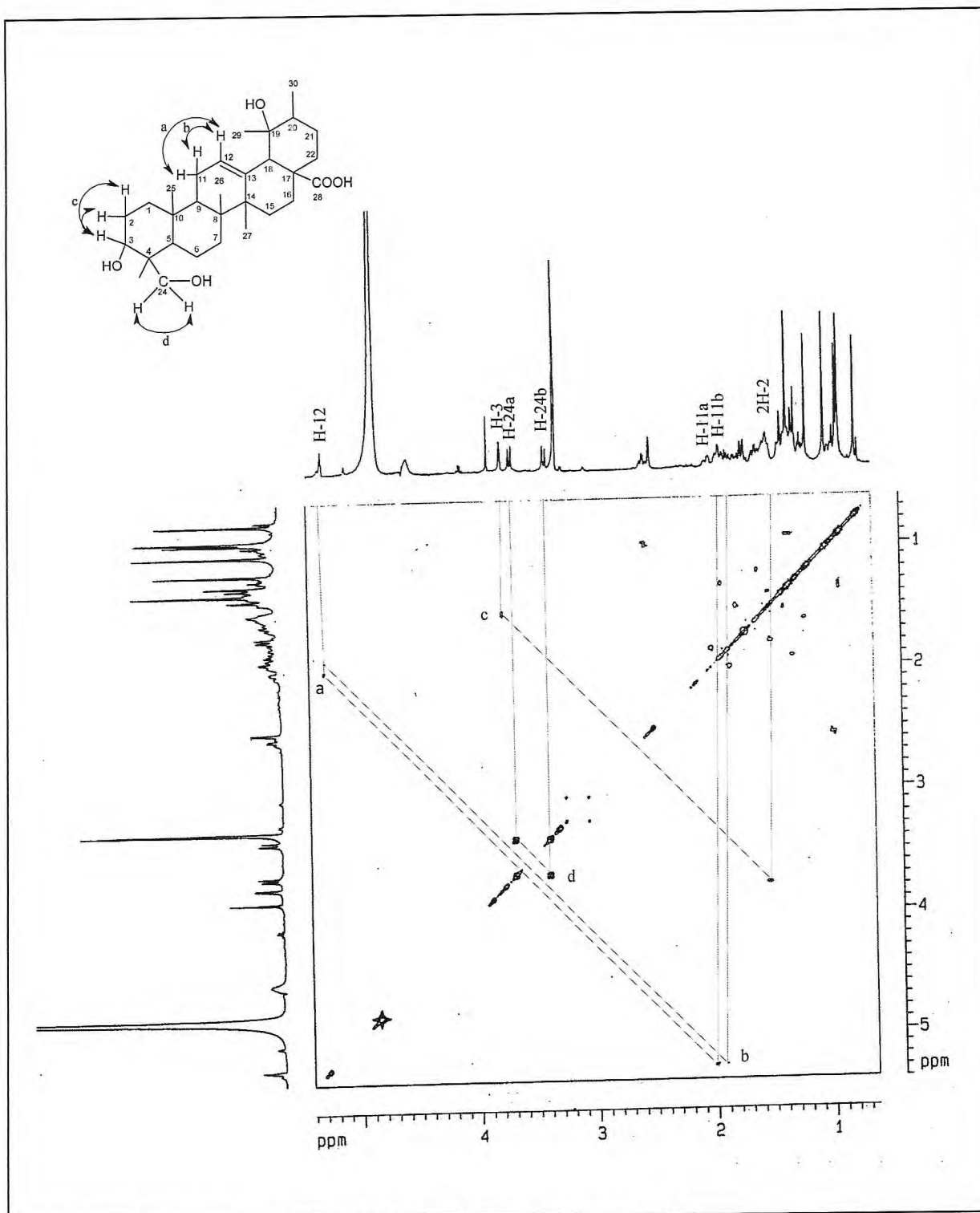


Figura 89 – Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY (CD_3OD) de PS-14.

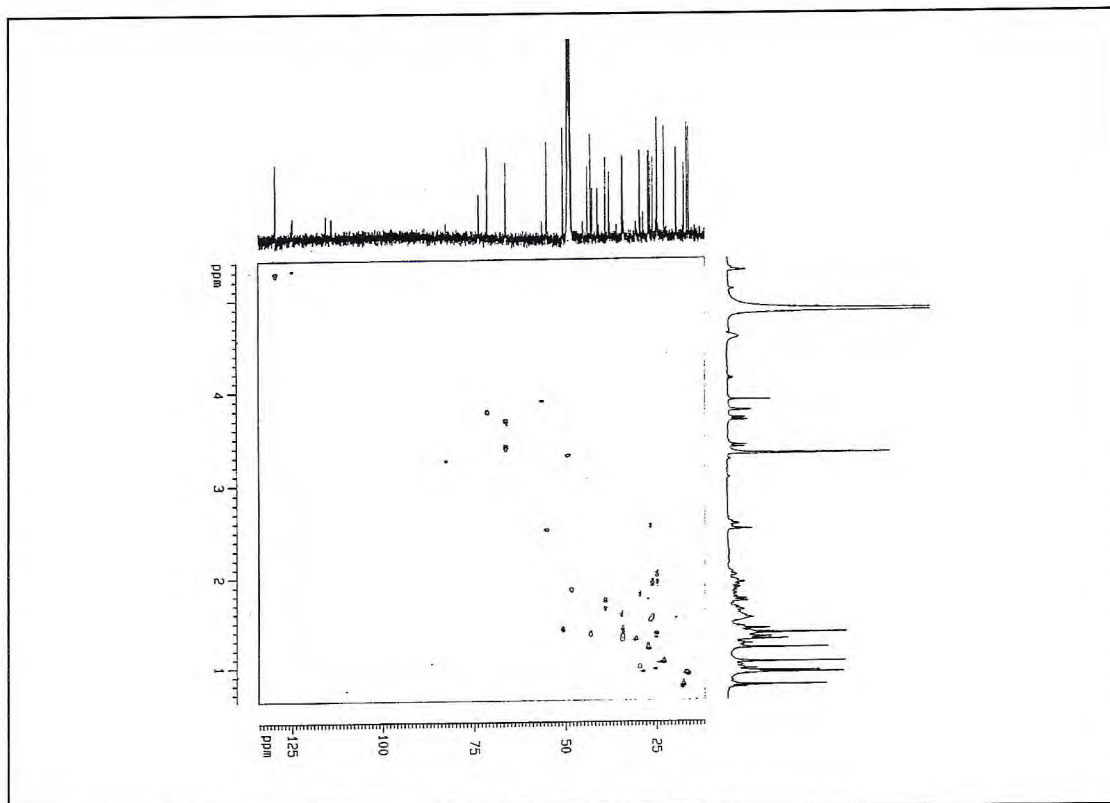


Figura 90 – Mapa de correlação HSQC (CD_3OD) de PS-14.

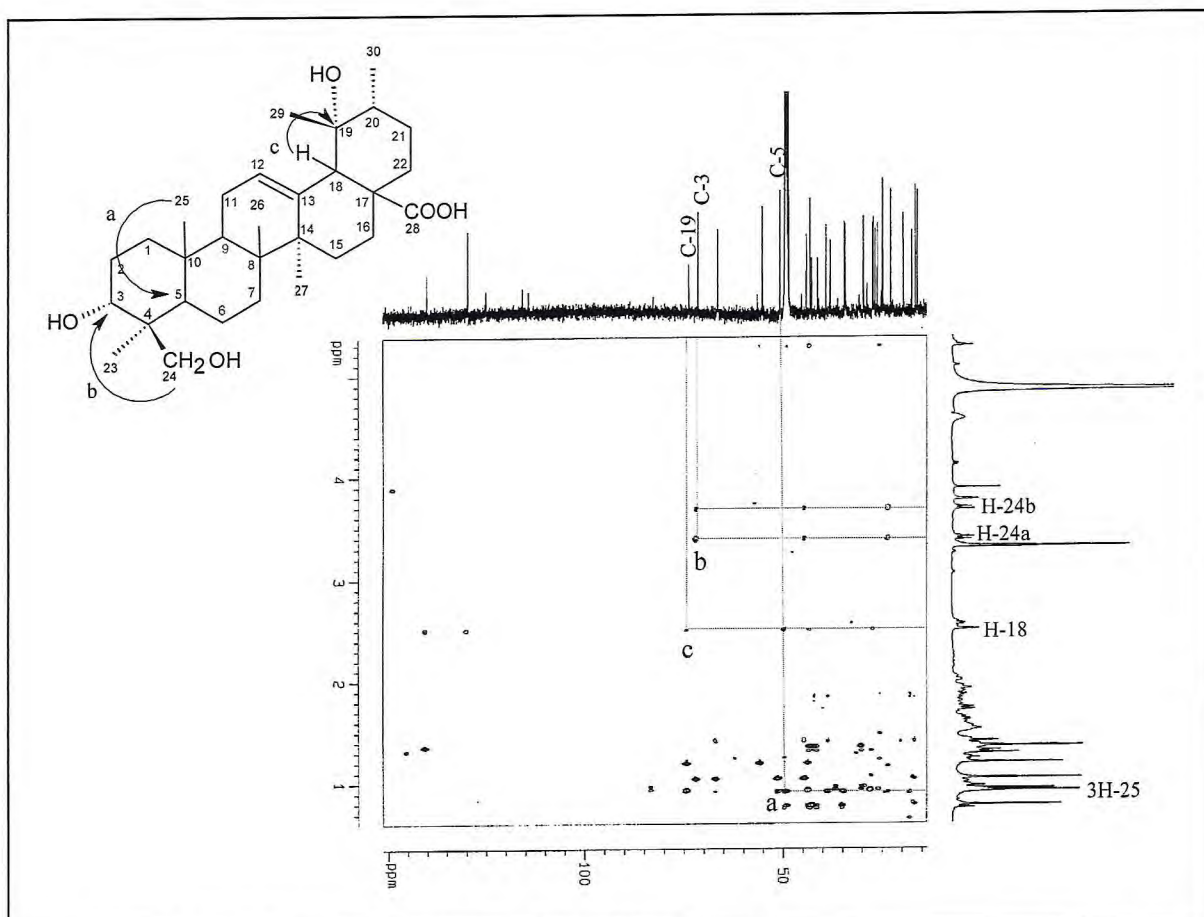


Figura 91 – Mapa de correlação HMBC (CD_3OD) de PS-14.

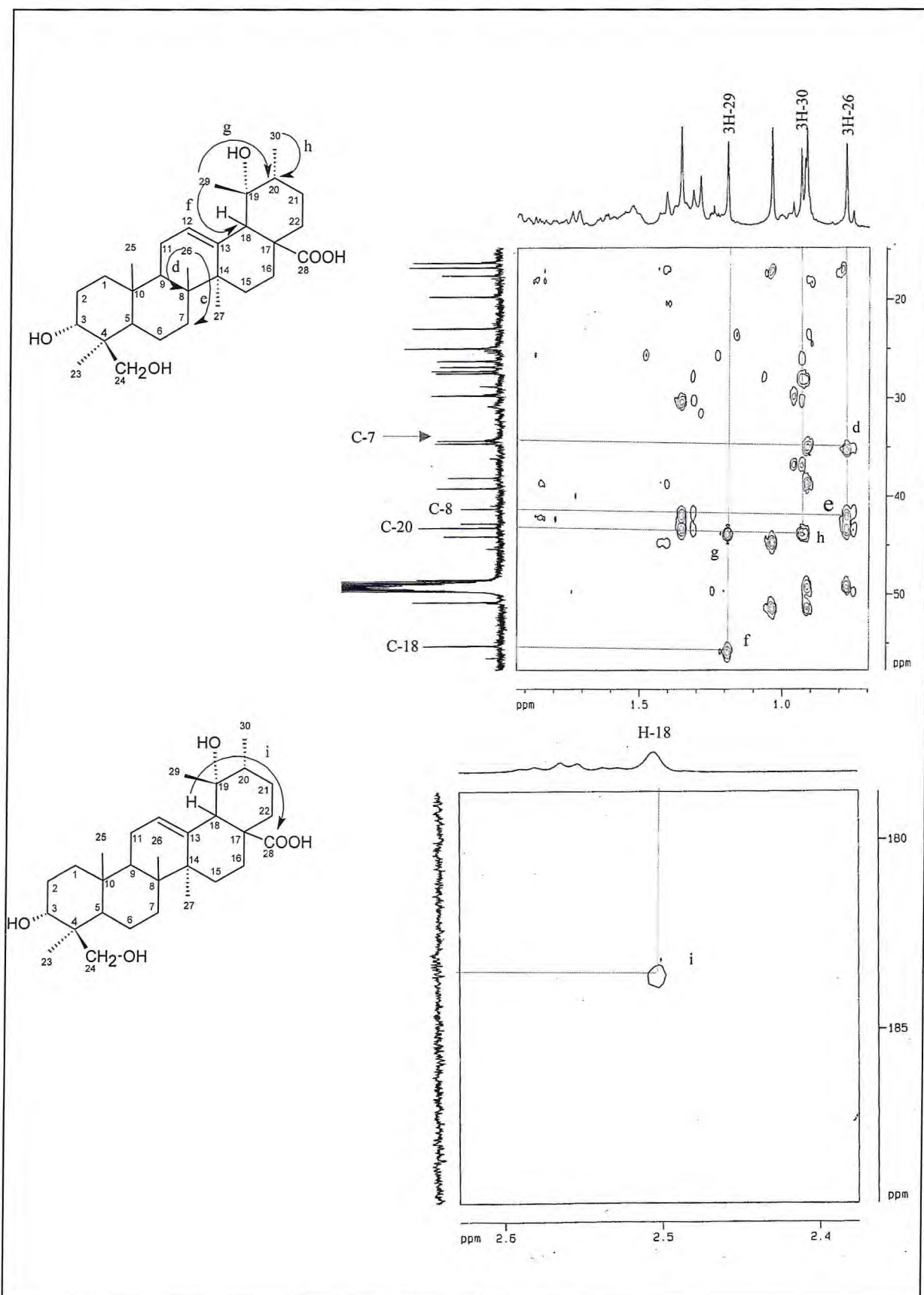


Figura 92 – Expansão do mapa de correlação HMBC de PS-14.

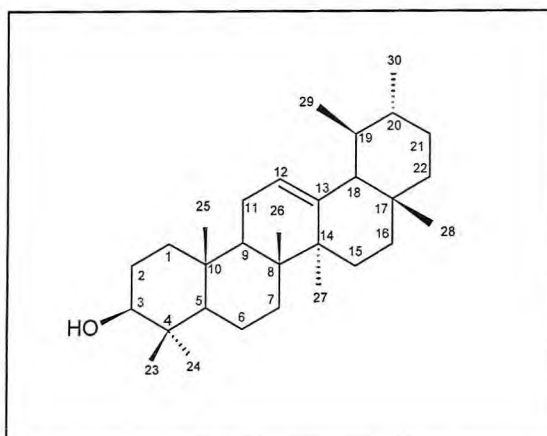
5.2.12. Determinação Estrutural de PS-5

O tratamento cromatográfico da fração não-alcaloídica do extrato etanólico das folhas (EFPS), resultou no isolamento de um sólido branco e amorfo que foi denominado de PS-5.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 93, p. 197) de PS-5 apresentou linhas espectrais correspondentes a 30 átomos de carbono, revelando a natureza triterpenoídica do composto. Análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135° (Figura 94, p. 197), mostrou a presença de 7 grupos metínicos (CH), 9 grupos metilênicos (CH_2), 8 grupos metilas (CH_3) e 6 carbonos não-hidrogenados (C). As absorções em δ_{C} 127,3 (C-12) e δ_{C} 140,2 (C-13) foram atribuídas a uma ligação dupla trissubstituída, enquanto que o sinal em δ_{C} 80,2 (C-3) foi relacionado a um carbono oxigenado. De acordo com os dados obtidos e a posterior comparação com os dados da literatura (MENDES, 1999) PS-5 foi relacionado a um triterpeno pentacíclico de esqueleto ursano.

O espectro de RMN ^1H (Figura 95, p. 198) apresentou um conjunto de sinais na região de δ 0,78 a 2,0, corroborando com o espectro de RMN ^{13}C . Foram visualizados ainda sinais correspondentes a 8 grupamentos metílicos, 6 dos quais ligados a carbonos não-hidrogenados em δ_{H} 1,12 (3H-27); 0,98 (3H-23); 0,98 (3H-28); 0,94 (3H-25); 0,85 (3H-26); 0,78 (3H-24), e dois ligados a carbono metínico em δ_{H} 0,88 (3H-29) e 0,97 (3H-30). Na região de blindagem foram observados os sinais em δ_{H} 5,23 (t, $J = 3,2$ Hz, H-12) e 3,15 (dd, $J = 11,5$ e $5,2$ Hz, H-3), relativos a um hidrogênio olefínico em uma ligação trissubstituída e um hidrogênio ligado a carbono oxigenado, respectivamente.

De acordo com dados obtidos e com base na análise comparativa dos dados de RMN ^{13}C registrados na literatura para triterpenos (Tabela 40, p. 196) (MAHATO, 1994), chegou-se à conclusão que PS-5 (Estrutura 92) trata-se do triterpeno de esqueleto ursano, denominado de α -amirina, já isolado no gênero para a espécie *P. adenophylla*.



Estrutura de PS-5 (92).

Tabela 40 – Dados de RMN de ^{13}C de PS-5 e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C de α -amirina, registrados na literatura.

	α -amirina (CDCl_3) (MAHATO, 1994)	PS-5 (CD_3OD)
C	δ_{C}	δ_{C}
1	38,7	38,9
2	27,2	28,4
3	78,3	80,2
4	38,7	40,3
5	55,2	54,9
6	18,3	19,9
7	32,9	34,9
8	40,0	41,3
9	47,7	47,0
10	36,9	38,6
11	23,3	24,9
12	124,3	127,3
13	139,3	140,2
14	42,0	43,8
15	28,7	29,7
16	26,6	25,9
17	33,7	34,1
18	58,9	57,2
19	39,6	40,9
20	39,6	40,9
21	31,2	32,3
22	41,5	40,5
23	28,1	29,3
24	15,6	16,5
25	15,6	16,4
26	16,8	18,4
27	23,3	24,6
28	28,1	29,3
29	17,4	18,1
30	21,3	23,9

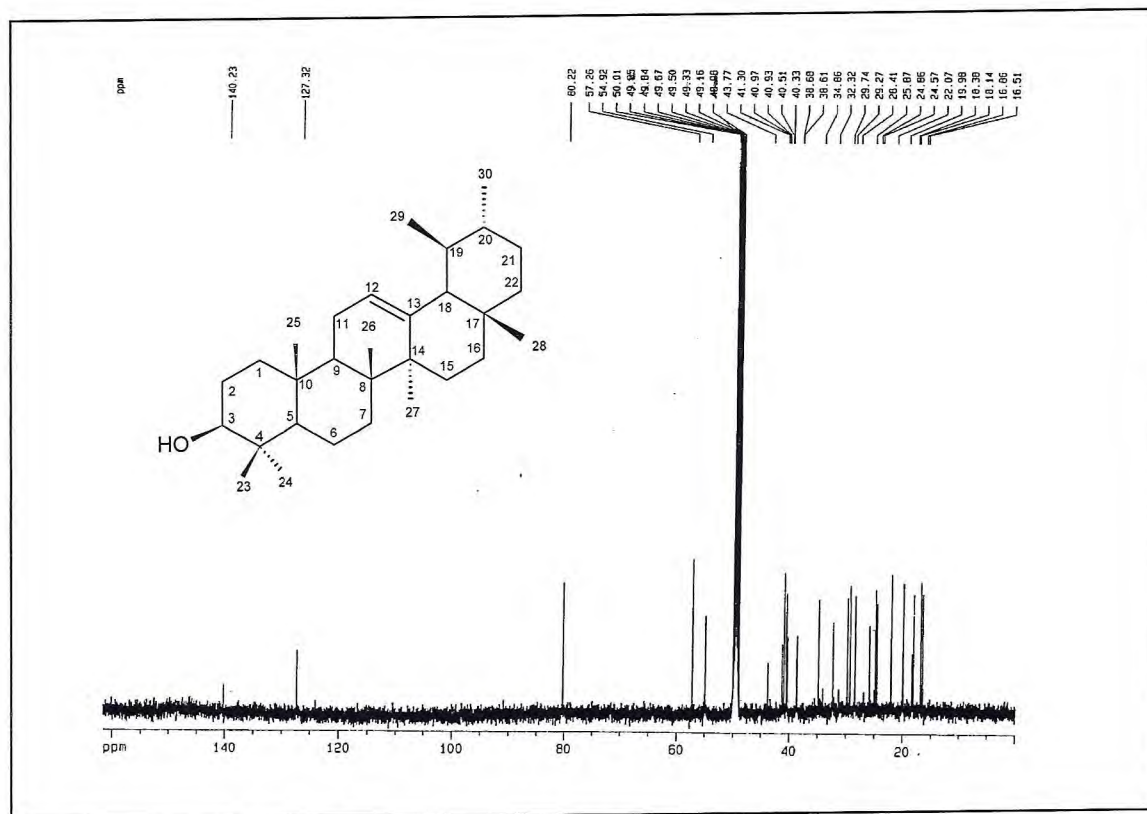


Figura 93 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de PS-5.

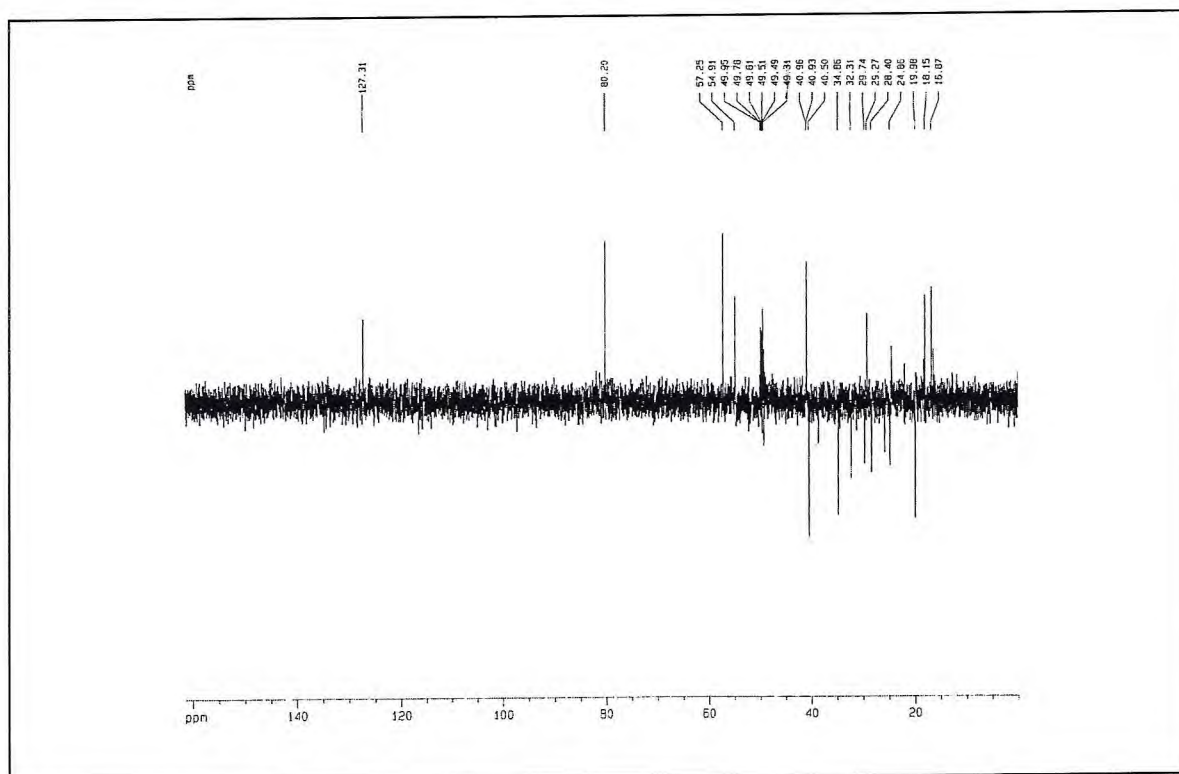


Figura 94 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de PS-5.

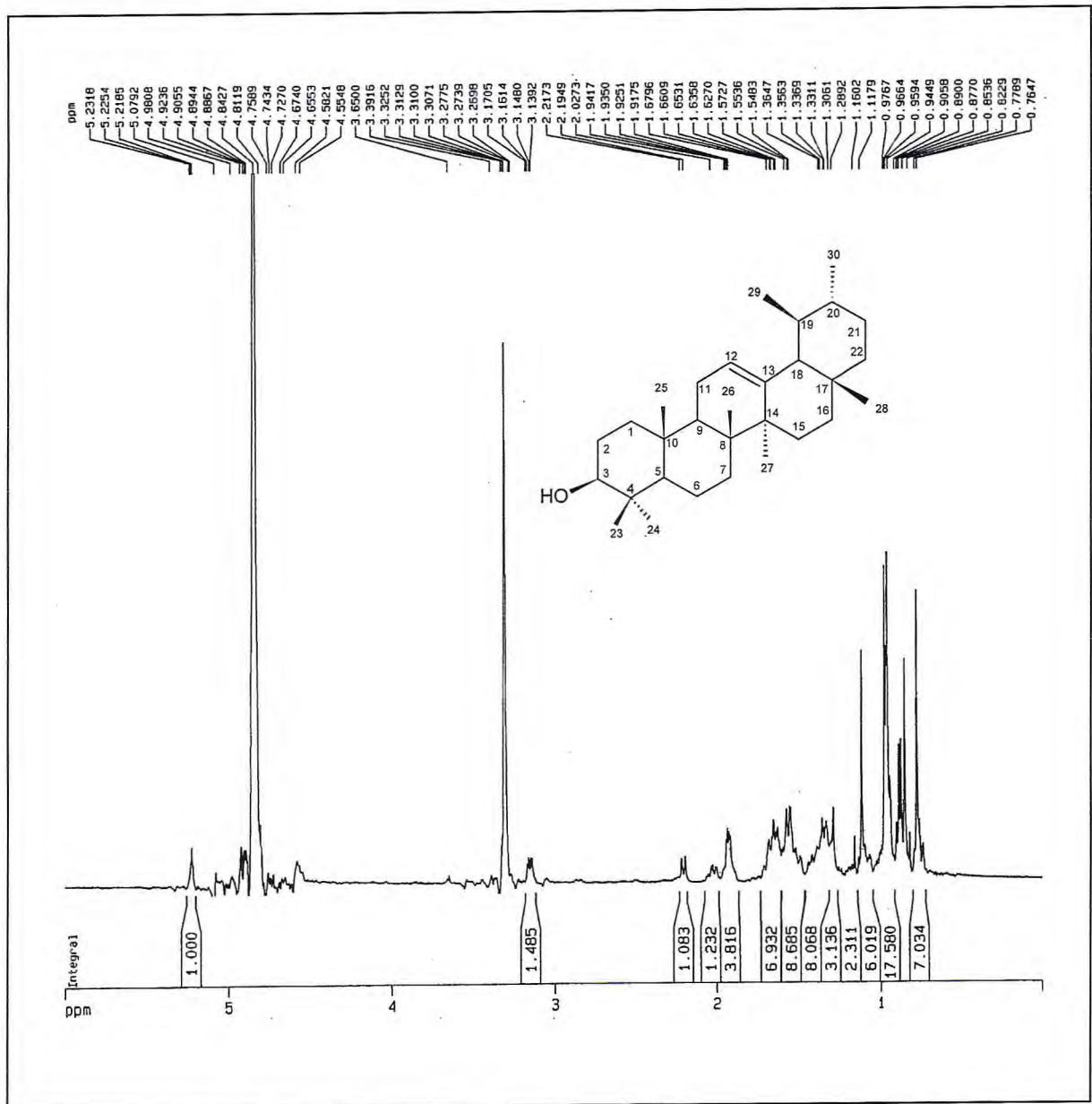


Figura 95 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de PS-5.

5.2.13. Determinação estrutural de PS-12

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano, obtida a partir do fracionamento do extrato etanólico das raízes de *P. stachyoides*, possibilitou o isolamento de uma substância sob a forma de cristais incolores, denominada de PS-12.

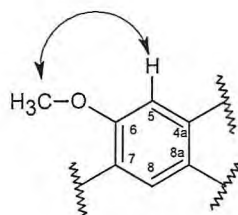
O espectro de absorção na região do infravermelho de PS-12 (Figura 96, p. 202) exibiu uma banda larga em 3.288 cm^{-1} correspondente à deformação axial de ligação O-H, uma banda em 1.706 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=O de carbonila conjugada. Foram ainda visualizadas absorções em 1618 , 1.560 e 1.507 cm^{-1} indicativas de deformações axiais de C=C de anel aromático e uma banda em 1.290 cm^{-1} relacionada à deformação axial de ligação C-O.

Análise do espectro de RMN ^1H (Figura 97, p. 202) mostrou um sinal simples relativo a um grupo metoxila em δ 3,90 (s, 3H); e sinais de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 6,19 (d, $J = 9,4$ Hz, H-3) e 7,45 (d, $J = 9,4$ Hz, H-4). Foram observados ainda absorções relacionadas a um anel aromático tetrassubstituído através dos sinais em δ_{H} 6,97 (s, H-8) e 6,78 (s, H-5).

O espectro de carbono RMN ^{13}C (Figura 98, p. 203) apresentou 10 linhas espectrais, dos quais 6 foram relacionadas a carbonos aromáticos em δ_{C} 103,9 (C-8); 109,4 (C-5); 112,1 (C-4a); 146,6 (C-6); 150,9 (C-8a) e 152,3 (C-7), 2 a carbonos olefínicos em δ_{C} 112,4 (C-3) e 145,6 (C-4), a uma carbonila α,β -insaturada em δ_{C} 163,8 (C-2), e o sinal em δ_{C} 56,8 foi relacionado a uma metoxila. A comparação dos espectros de RMN ^{13}C BB e DEPT 135° (Figura 99, p. 203) revelou a presença de 4 carbonos metínicos (CH), 1 carbono metílico (CH_3) e por diferença 5 são referentes a carbonos não-hidrogenados (C).

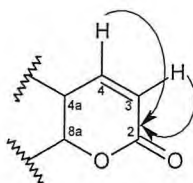
A correlação dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios foi obtida a partir da análise do espectro bidimensional HSQC (Figura 100, p. 204), cujos dados encontram-se descritos na Tabela 41 (p. 201).

No espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H -COSY (Figura 101, p. 204), foi possível visualizar o acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 7,45 (H-4) com o hidrogênio em δ_{H} 6,19 (H-3), e do hidrogênio em δ_{H} 6,97 (H-5) com o grupo metoxila em δ_{H} 3,89 (OCH_3), o que determinou a posição relativa da metoxila no sistema aromático, como indicado na subestrutura 1:



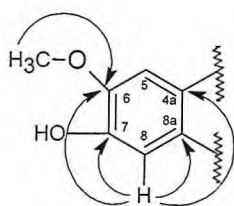
Subestrutura 1 de PS-12.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC (Figura 102, p. 205), observou-se o acoplamento à longa distância dos hidrogênios em δ_{H} 6,19 (H-3) e 7,45 (H-4) com o carbono em δ_{C} 163,8 (C-2), determinando, assim, a existência de um sistema lactônico α,β -insaturado de acordo com a subestrutura 2 abaixo:

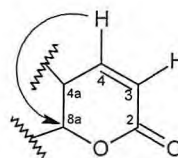


Subestrutura 2 de PS-12.

Continuando a análise do espectro bidimensional observou-se a correlação do hidrogênio aromático em δ 6,78 (H-8) com os carbonos em δ_{C} 112,1 (C-4a), 146,6 (C-6), 152,3 (C-7) e 150,9 (C-8a); dos hidrogênios da metoxila em δ_{H} 3,89 (OCH₃) com o carbono em δ_{C} 146,6 (C-6); e do hidrogênio em δ_{H} 7,45 (H-4) com o carbono em δ_{C} 150,9 (C-8a), estabelecendo, desta forma, a posição relativa da hidroxila fenólica e do sistema α,β -insaturado de acordo com as subestruturas 3 e 4 abaixo:



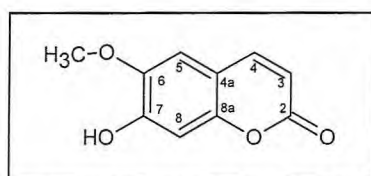
Subestrutura 3 de PS-12.



Subestrutura 4 de PS-12.

Os dados apresentados permitiram postular para PS-12, a fórmula molecular $C_{10}H_8O_4$ com 7 lacunas de insaturação, sendo 4 relacionadas ao anel aromático, 3 referentes a uma carbonila α,β -insaturada e a outra relacionada a uma ligação dupla.

A comparação dos dados de RMN ^{13}C BB de PS-12 com os dados descritos na literatura (FALCÃO, 2003), confirmaram que PS-12 trata-se da cumarina 7-hidroxi-6-metoxicumarina, conhecida usualmente como escopoletina, de grande ocorrência no reino vegetal, porém inédita no gênero *Psychotria* (Estrutura 99).



Estrutura de PS-12 (99).

Tabela 41 – Dados de RMN 1H e ^{13}C de PS-12 dispostos segundo as correlações obtidas através dos espectros HSQC e HMQC e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C da escopoletina registrado na literatura.

C	escopoletina (CD_3OD) (FALCÃO, 2003)		PS-13 ($CD_3OD + CDCl_3$)		
	δ_C	HSQC δ_C	δ_H (ppm, multip.; J Hz)	HMBC $^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
2	164,3	163,8	-	-	-
4a	112,9	112,1	-	-	-
6	147,4	146,6	-	-	-
7	153,2	152,3	-	-	-
8a	151,7	150,9	-	-	-
CH					
3	112,9	112,4	6,19 (d, J, 9,4)	C-2	C-4a
4	146,4	145,6	7,45 (d, J, 9,4)		C-2; C-5; C-8a
5	110,3	109,4	6,97 (s)		
8	104,2	103,9	6,78 (s)	C-7; C-8a	C-4a; C-6
OCH ₃	57,1	56,8	3,89 (s)		C-6

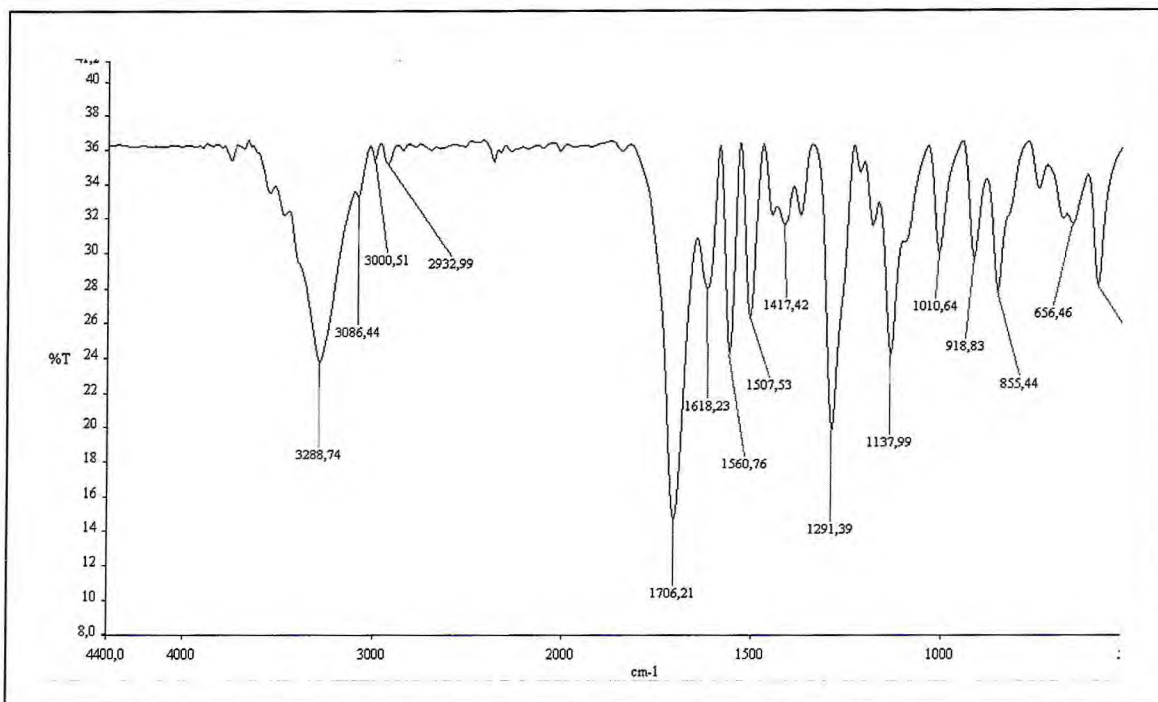


Figura 96 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-12.

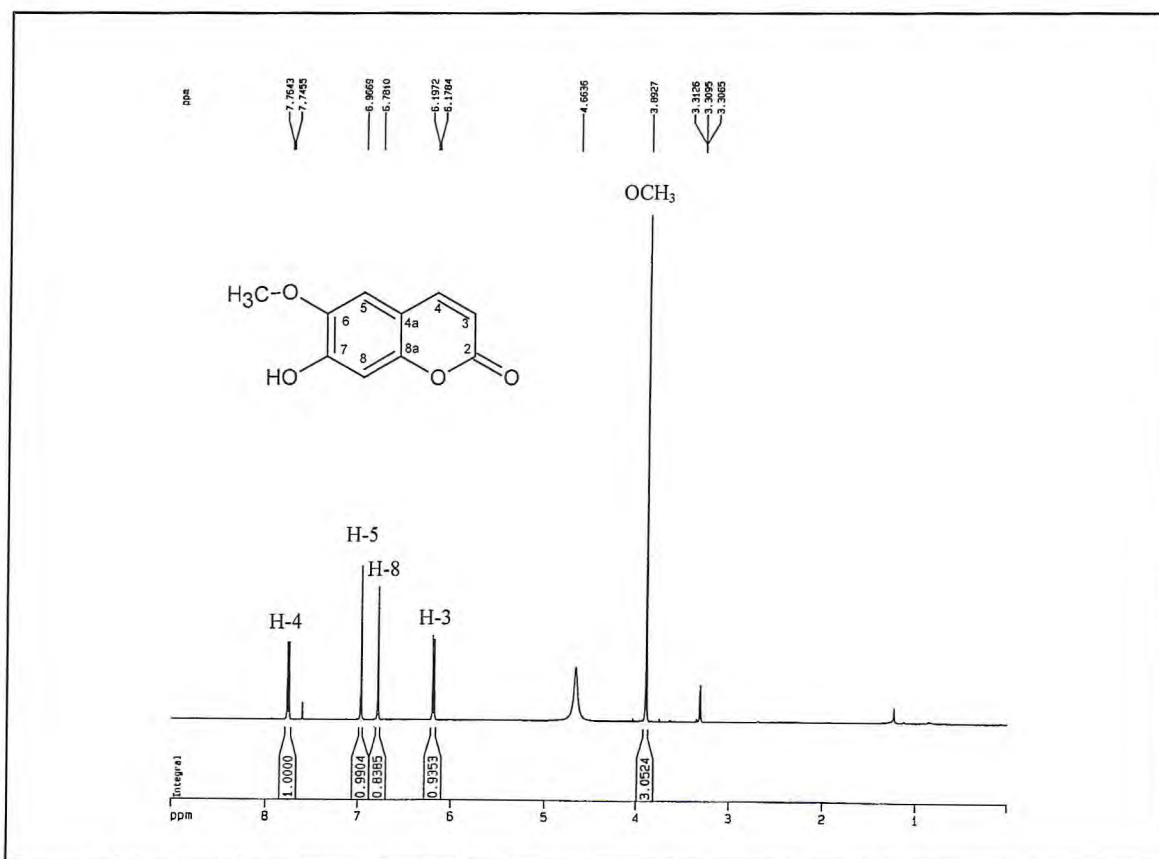


Figura 97 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.

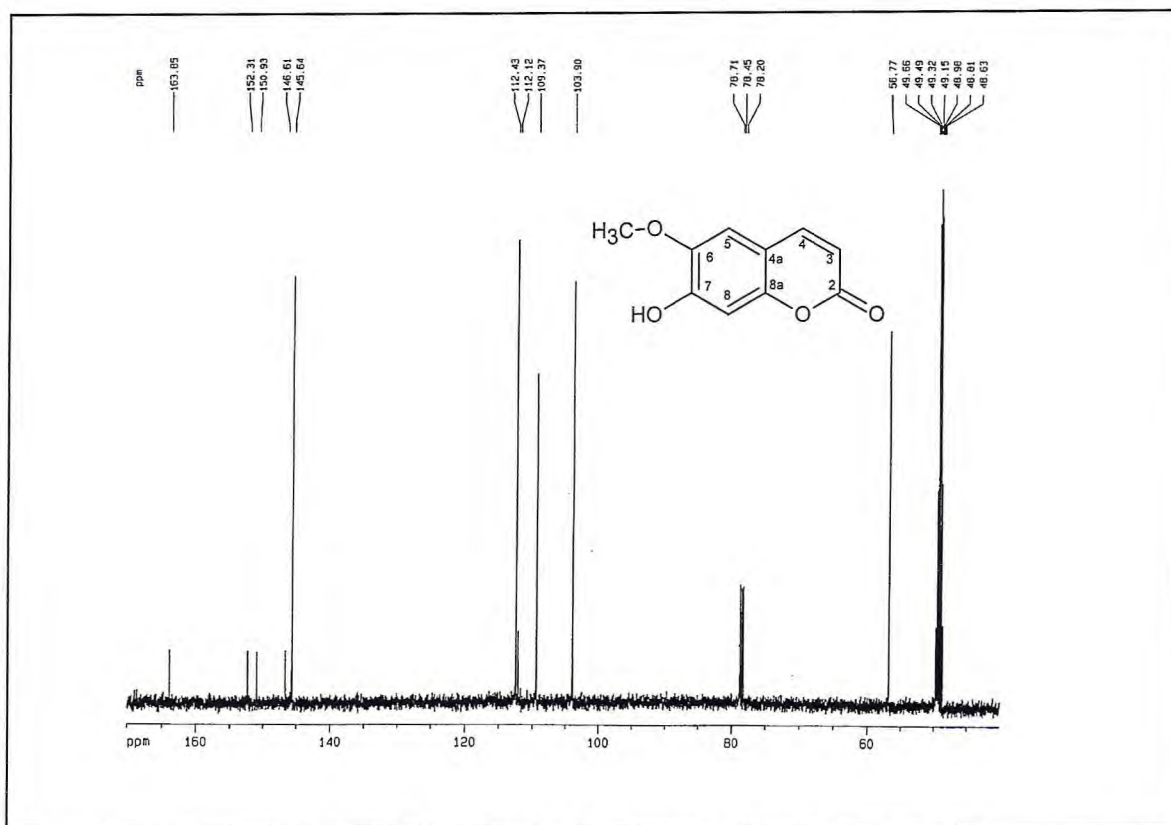


Figura 98 – Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CD₃OD/CDCl₃) de PS-12.

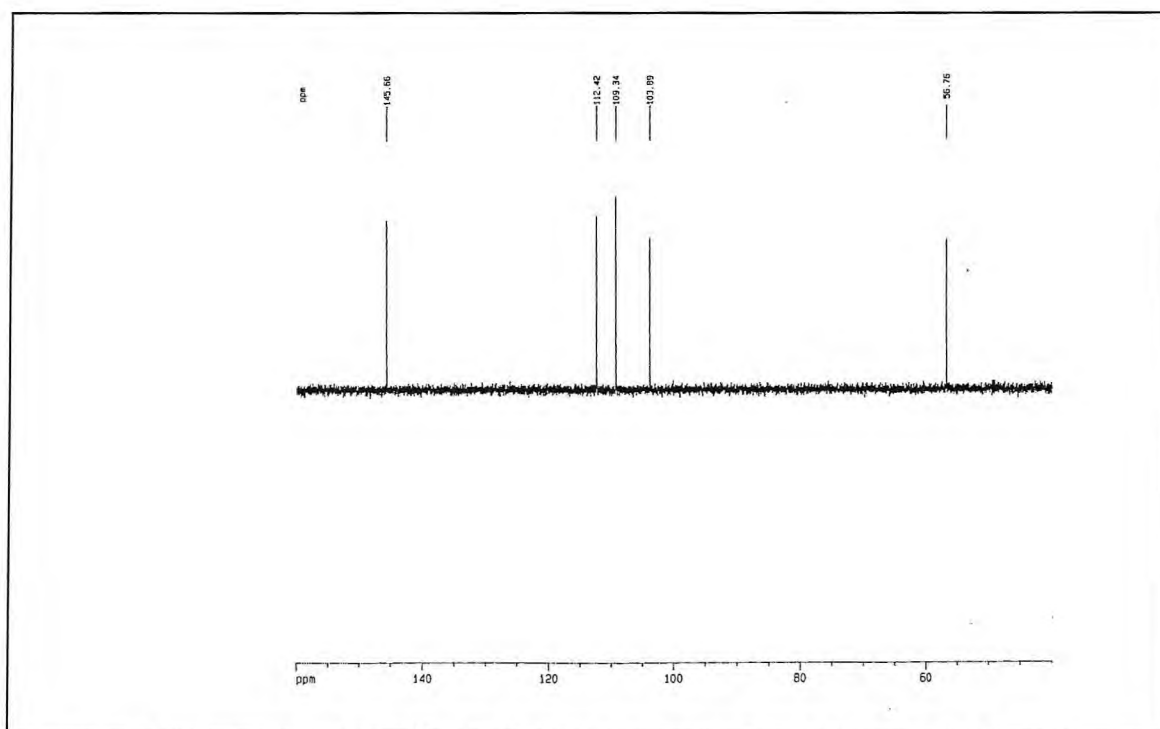


Figura 99 – Espectro de RMN ¹³C DEPT 135° (125 MHz, CD₃OD) de PS-12.

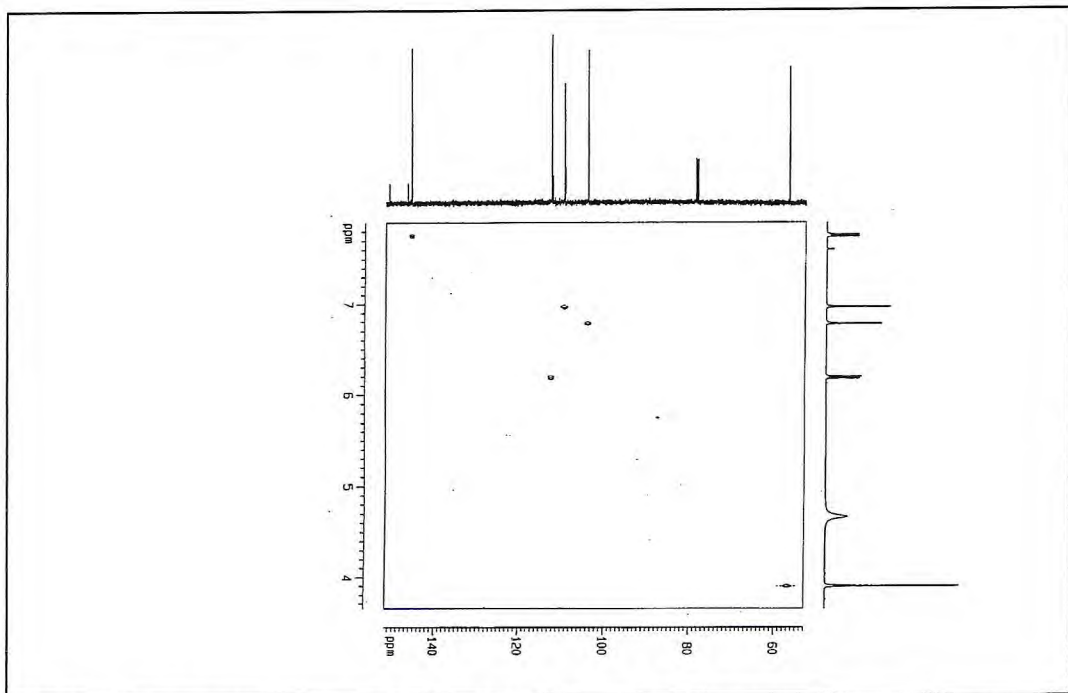


Figura 100 – Mapa de correlação HSQC ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.

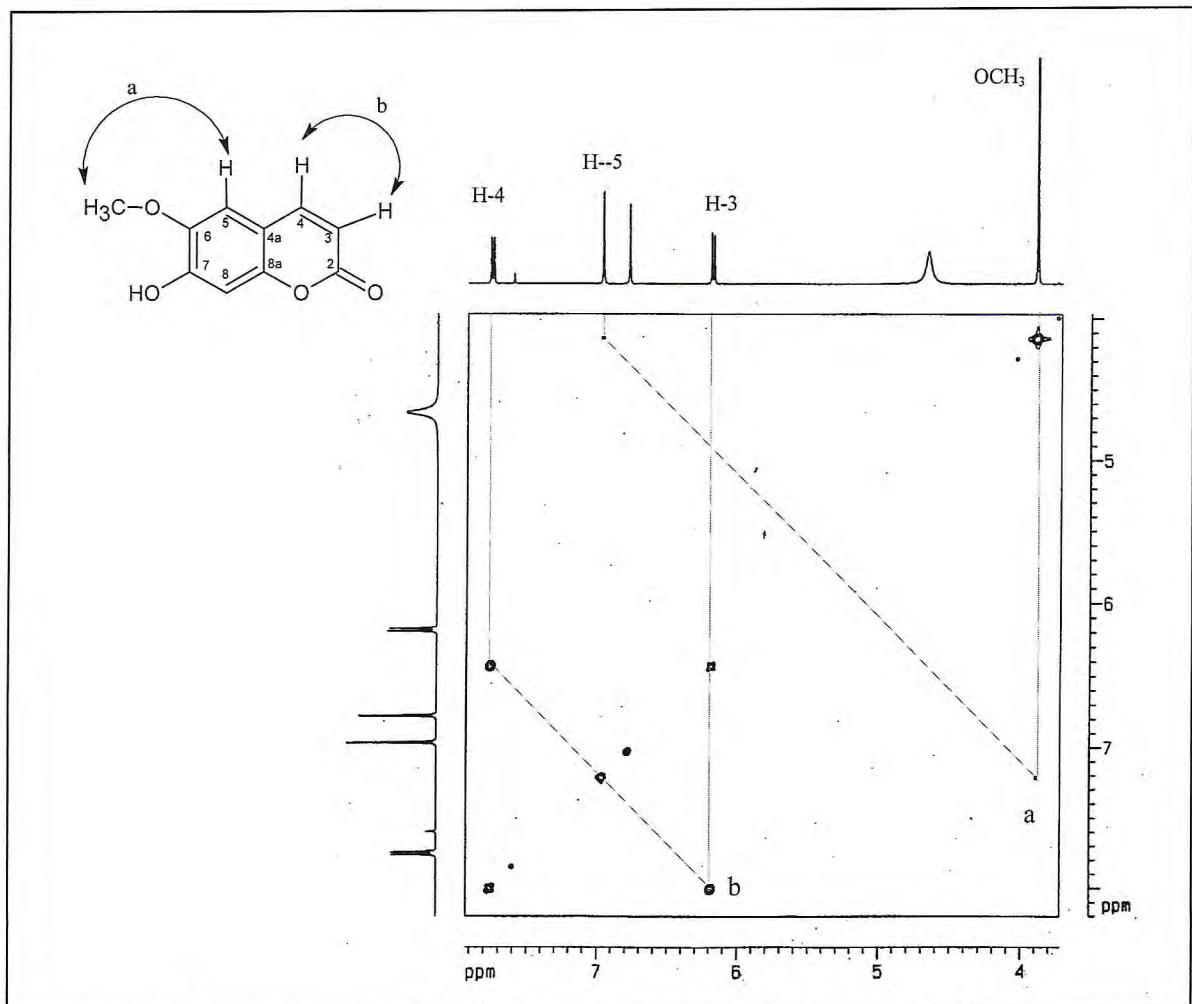


Figura 101 – Mapa de correlação $^1\text{H}-^1\text{H}$ -COSY ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.

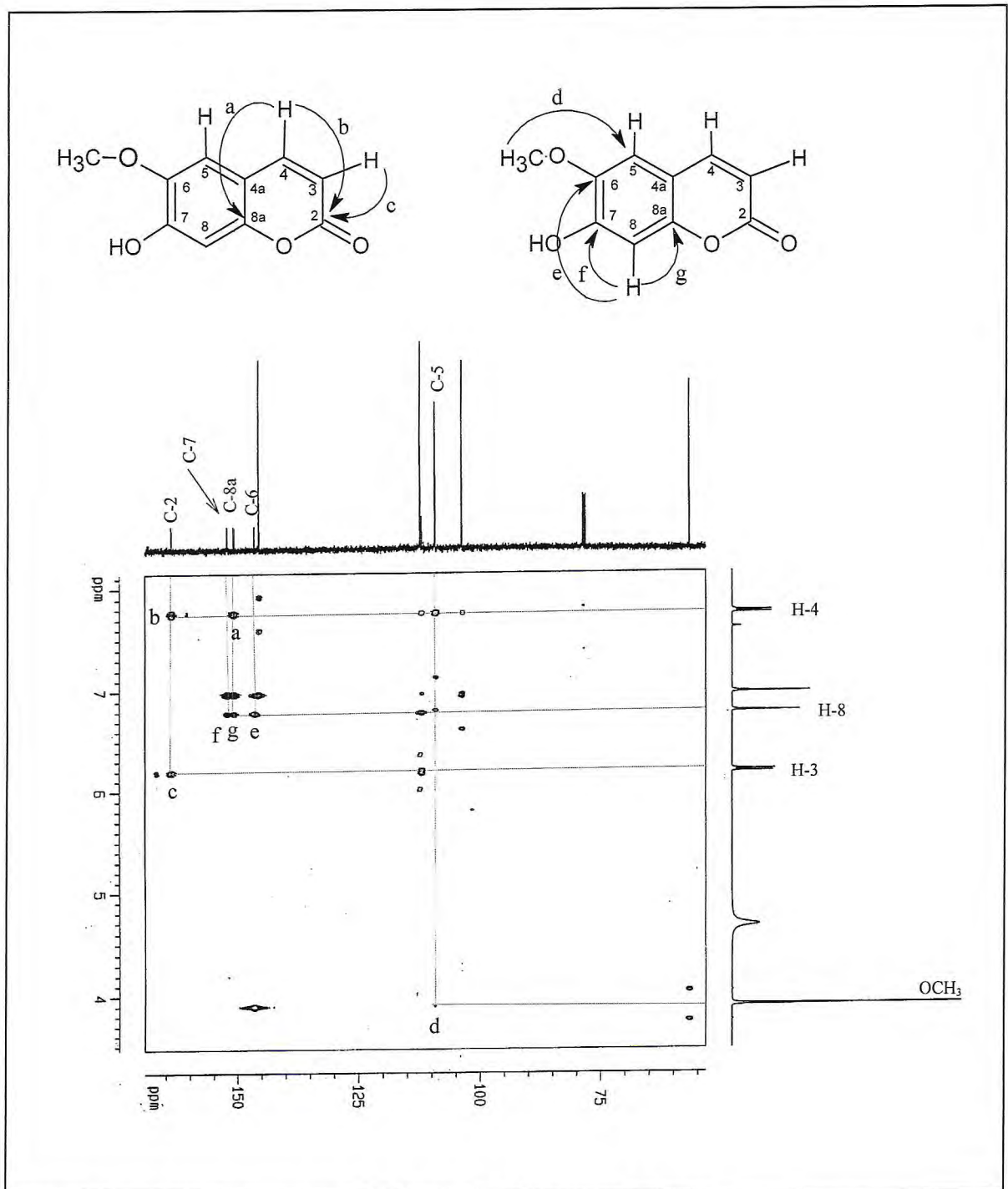


Figura 102 – Mapa de correlação HMBC ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$) de PS-12.

5.2.14. Determinação Estrutural de PS-13

Sucessivos fracionamentos cromatográficos do extrato etanólico das raízes (ERPS) de *P. stachyoides*, possibilitou o isolamento de um sólido branco amorfo, denominado de PS-13.

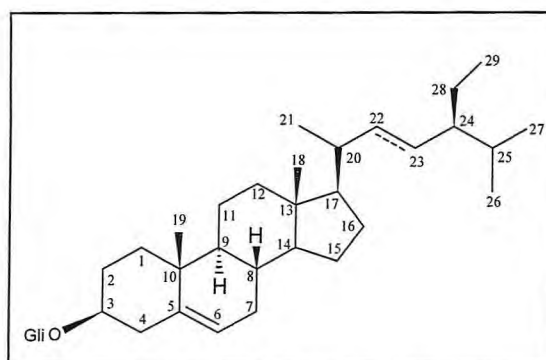
O espectro de absorção na região do IV (Figura 103, p. 208) de PS-13 apresentou uma banda em 3410 cm^{-1} típica de deformação axial de O-H ($\nu_{\text{O-H}}$); uma absorção em 2936 cm^{-1} característica de deformação axial C-H de carbono sp^3 ($\nu_{\text{C-H}}$); além de bandas em 1069 e 1026 cm^{-1} de estiramento C-O ($\nu_{\text{C-O}}$) e absorções em 1375 e 1460 cm^{-1} de deformação angular de CH_3 e CH_2 , respectivamente.

Na análise do espectro de RMN ^1H (Figura 104, p. 208), foram observados sinais de hidrogênios olefinicos na região de δ_{H} 5,06 a 5,37. A presença da unidade osídica foi mostrada através do hidrogênio anomérico em δ_{H} 5,07 (1H, d, $J = 7,8\text{ Hz}$) e dos sinais com diferentes multiplicidades na faixa de δ_{H} 4,59 e δ_{H} 3,98. Além disso, foram também observados sinais característicos de hidrogênios terpênicos ou esteroidais em δ_{H} 1,75 a δ_{H} 0,68.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 105, p. 209) exibiu pelo menos 35 linhas espectrais, das quais 4 foram compatíveis com carbonos sp^2 (δ_{C} 141,4; 139,2; 129,9 e 122,3). A absorção relativa a um carbono anomérico em δ_{C} 103,02, juntamente com as absorções referentes a carbonos oxigenados na faixa de δ_{C} 79,03 a 63,30, evidenciou a presença de uma unidade β -glicopiranosídica, como já observado no espectro de RMN ^1H .

Dentre as absorções observadas no espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (Figura 106, p. 209), constatou-se que δ_{C} 135,9; 129,5 e 123,5 eram referentes a carbonos insaturados mono-hidrogenados, e por diferença, que a absorção em δ_{C} 140,7 era de carbono não-hidrogenado. A existência de 8 carbonos metílicos também sugeriu que PS-13 tratava-se de uma mistura de esteróides.

A comparação dos dados de RMN ^{13}C de PS-13 (Tabela 42, p. 207) com dados descritos na literatura (ARAGÃO, 1990) confirmou que PS-13 tratava-se da mistura de esteróides sitosterol e estigmasterol glicosilados (Estrutura 100), cujo isolamento já foi citado no gênero para a espécie *P. correae*.



Estrutura de PS-13 (100).

Tabela 42 – Dados de RMN de ^{13}C de PS-13 e comparação com deslocamentos químicos de ^{13}C do estigmasterol e sitosterol glicosilado registrados na literatura.

C	Estigmasterol (CDCl_3) (ARAGÃO, 1990)	PS-13 (piridina- d_5)	Sitosterol (CDCl_3) (ARAGÃO, 1990)
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	37,4	37,3; 37,3	37,2
2	31,7	30,0; 30,0	31,6
3	74,1	75,1; 71,5	71,7
4	36,8	37,3; 37,3	38,9
5	139,8	141,3; 141,3	140,7
6	122,8	122,3; 122,3	121,6
7	32,0	31,9; 31,89	31,8
8	32,0	31,9; 31,99	31,8
9	50,3	50,1; 50,19	50,1
10	36,7	36,2; 36,20	36,4
11	21,1	24,3; 24,32	21,1
12	39,8	39,7; 39,7	39,7
13	42,3	42,4; 42,4	42,3
14	56,9	56,6; 56,6	56,7
15	24,5	24,3; 24,3	24,2
16	28,9	29,3; 29,3	28,1
17	56,1	56,1; 56,1	56,1
18	12,1	11,9; 11,7	11,9
19	19,3	19,2; 19,3	19,3
20	40,6	40,5; 40,5	36,0
21	21,1	21,0; 21,0	21,1
22	138,5	139,2; 31,9	33,9
23	129,5	129,9; 25,4	26,1
24	51,4	51,4; 45,9	45,8
25	32,0	32,1; 32,1	29,1
26	19,0	19,2; 19,4	19,6
27	21,1	19,4; 19,0	18,9
28	25,5	25,4; 23,2	23,0
29	12,2	12,3; 11,9	11,9
1'		102,3	
2'		77,9	
3'		78,2	
4'		71,5	
5'		78,3	
6'		62,6	

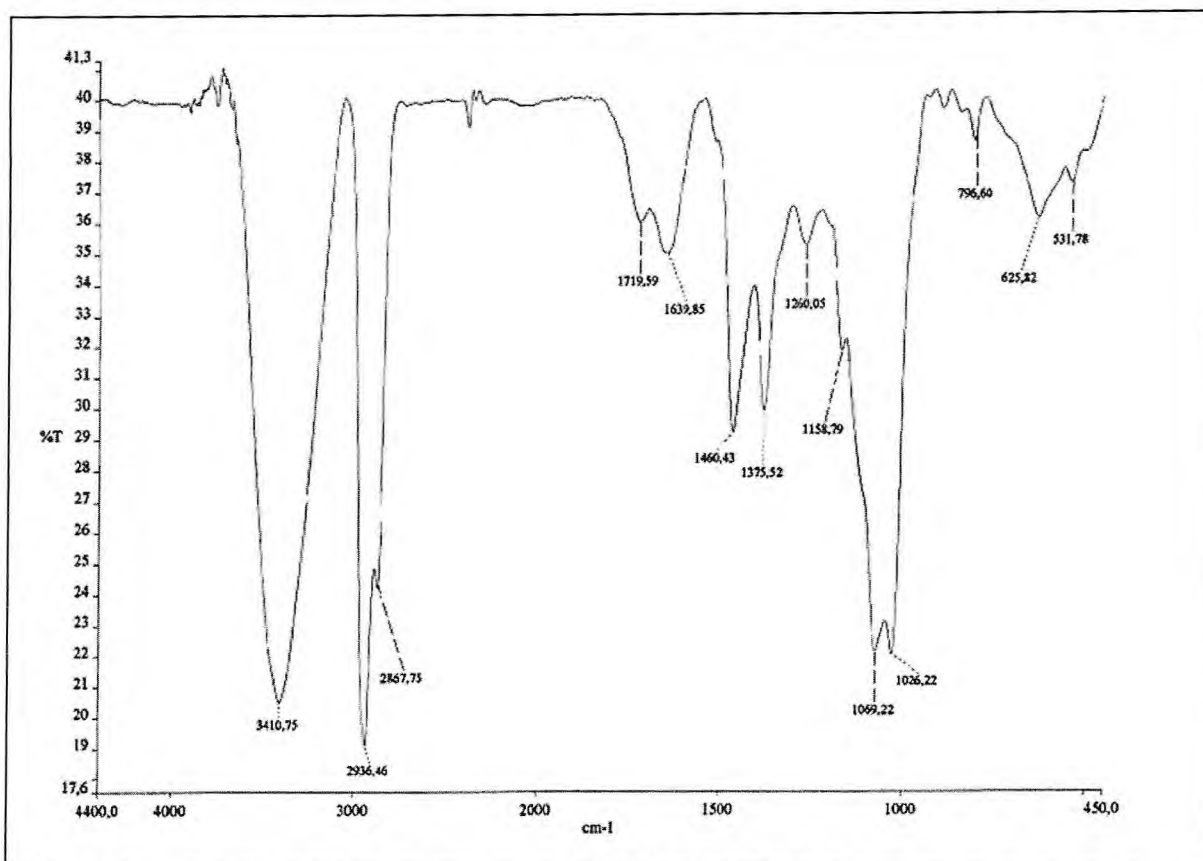


Figura 103 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de PS-13.

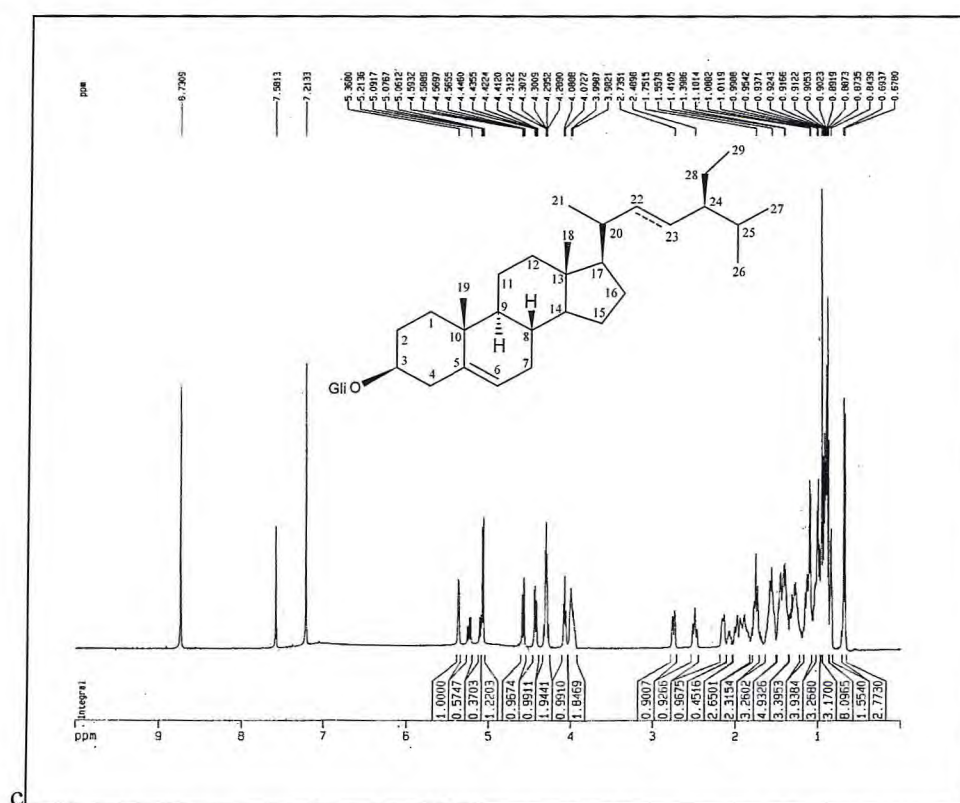


Figura 104 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, piridina- d_5) de PS-13.

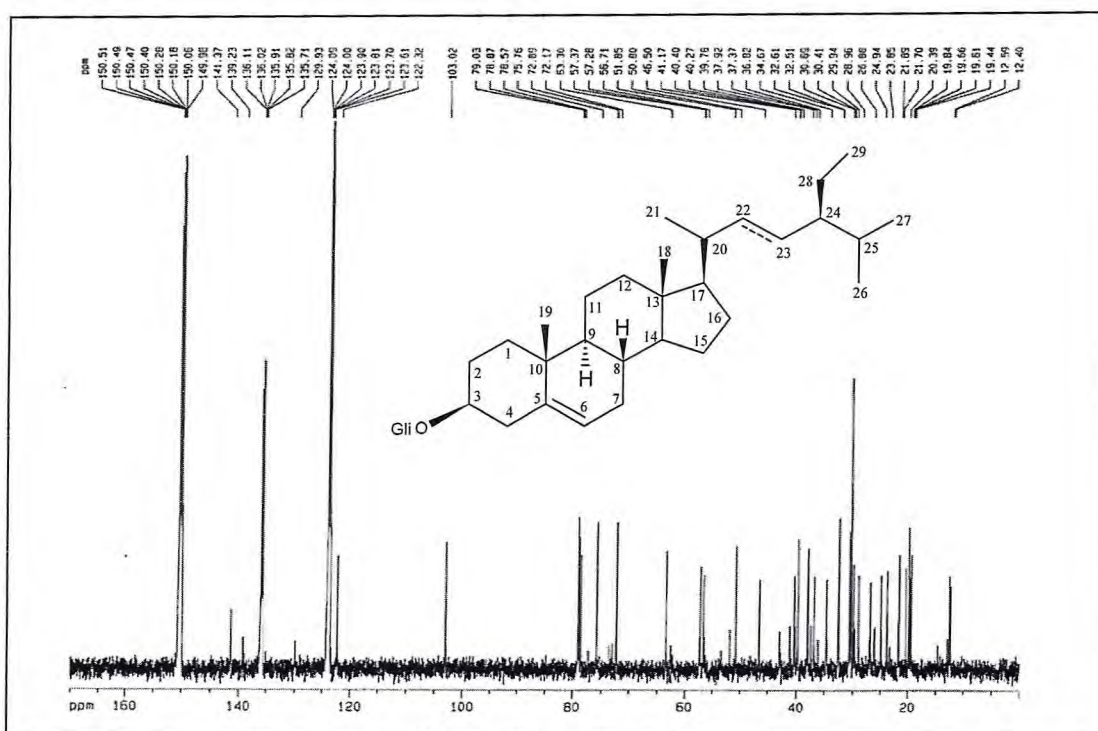


Figura 105 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, piridina- d_5) de PS-13.

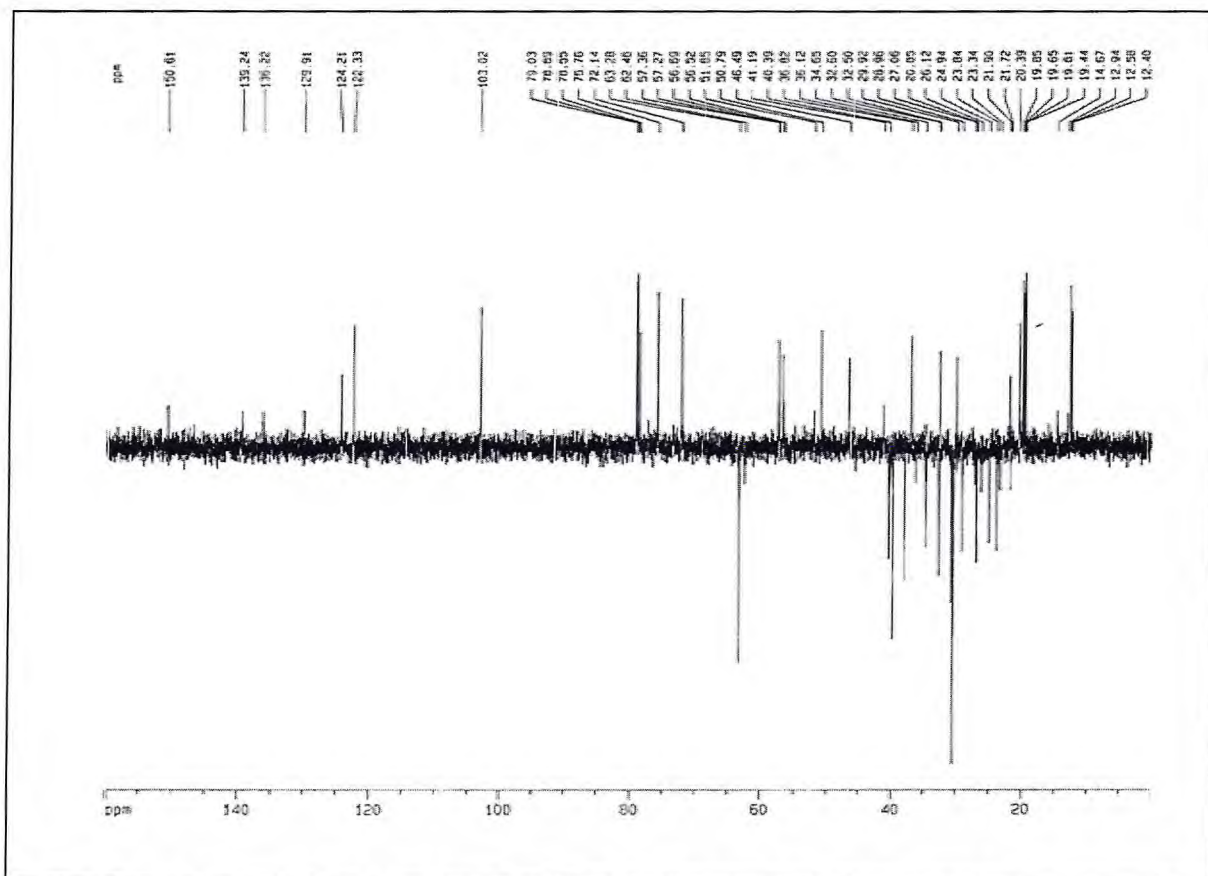


Figura 106 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de PS-13.

6. CONCLUSÃO

A investigação fitoquímica das folhas, talos e raízes de *P. stachyoides* levou ao isolamento e caracterização estrutural de 14 metabólitos secundários divididos em diversas classes estruturais como alcalóides, quinonas, triterpenos, cumarinas, *nor*-isoprenóides e esteróides.

O estudo das folhas resultou no isolamento de três alcalóides de caráter inédito na literatura, correantosídeo A, B e C; do *nor*-Isoprenóide bizantionosida B e do triterpeno α -amirina. A partir dos talos obteve-se os três alcalóides inéditos correantosídeo D, E e F e a 2-hidroxi-piranona tetilapirona. O estudo das raízes revelou uma maior diversidade de classe de metabólitos secundários, dentre as quais antraquinonas, alizarina-1-metiléter e rubiadina, a cumarina escopoletina, o triterpeno ácido babinérvico e a mistura de esteróides sitosterol e estigmasterol glicosilados, no entanto, para esta parte da planta não foi observada a presença de alcalóides. Com exceção da α -amirina e da mistura de esteróides que são inéditas apenas na espécie em estudo, todas as outras substâncias isoladas possuem caráter inédito no gênero *Psychotria*, contribuindo desta forma, para determinação do perfil químico do mesmo.

Os seis alcalóides indólicos correantosídeos A-F constituem um tipo esquelético raro e específico do gênero *Psychotria*, através da ciclização da unidade secologanina no nitrogênio 1. Apenas um relato na literatura acerca deste tipo estrutural de alcalóide foi observado para a espécie *P. correa*.

Partindo-se das informações de que os alcalóides são importantes marcadores quimiotaxonômicos para o complexo táxon *Psychotria*, e baseado na teoria de que o subgênero *Heteropsychotria* é caracterizado pela presença de alcalóides indólicos monoterpênicos, o isolamento dos alcalóides correantosídeos A-F em *P. stachyoides* corroborou estes dados, e confirmam a classificação inequívoca desta espécie neste subgênero.

REFERÊNCIAS

ACHENBACH, H.; LOTTES, M.; WAIBEL, R.; KARIKAS, G. A.; CORREA, A.; MIREYA D.; GUPTA, M. P. Alkaloids and other compounds from *Psychotria correae*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 6, p. 1537-1545, 1995.

ADJIBADE, 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.

ADJIBADE, Y.; HUE, B.; PELHATE, M.; ANTON, R. Action of calycanthine on nervous transmission in cockroach central nervous system. **Planta medica**, v. 57, n. 2, p. 99-100, 1991.

AMADOR, T. A.; VEROTTA, L.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Involvement of NMDA receptors in the analgesic properties of psychotridine. **Phytomedicine**, v. 8, n. 3, p. 202-206, 2001.

AMADOR, T. A.; VEROTTA, L.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Antinociceptive profile of hodgkinsine. **Planta Médica**, v. 66, n. 8, p. 770-772, 2000.

ANDERSSON, L. Re-establishment of *Carapichea* (Rubiaceae, Psychotrieae). **Kew Bulletin**, v. 57, p. 363-374, 2002.

ARAGÃO, P. C. A.; TOLEDO, J. B. T.; MORAIS, A. A.; BRAZ-FILHO, R. Substâncias naturais isoladas de *Stigmaphyllon tomentosum* e *Byrsonima variabilis*. **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 254-259, 1990.

BANTHORPE, D. V.; WHITE, J. J. Novel anthraquinones from undifferentiated cell cultures of *Galium verum*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 1, p. 107-111, 1995.

BENEVIDES, P. J. C.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. Biological Activities of Constituents from *Psychotria spectabilis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 8, p. 565-569, 2004.

BERETZ, A.; ROTH-GEORGER, A.; CORRE, G.; KUBALLA, B.; ANTON, R.; CAZENAVE, J. P. Polyindolinic alkaloids from *Psychotria forsteriana*. Potent inhibitors of the aggregation of human platelets. **Planta Médica**, v. 51, n. 4, p. 300-303, 1985.

BOTH, F. L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A. T.; ELISABETSKY, E. Analgesic Properties of umbellatine from *Psychotria umbellata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, n. 5, p. 336-341, 2002.

BOTH, F. L.; FARIAS, F. M.; NICOLAO, L. L.; MISTURINI, J.; HENRIQUES, A. T.; ELISABETSKY, E. Avaliação da atividade analgésica de extratos alcaloídicos de espécies de *Psychotria*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 1, p. 41-45, 2002.

BOTH, F. L.; MENEGHINI, L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A. T.; ELISABETSKY, E. Psychopharmacological profile of the alkaloid psychollatine as a 5HT_{2A/C} serotonin modulator. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 3, p. 374-380, 2005.

BOTH, F. L.; MENEGHINI, L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A. T.; ELISABETSKY, E. Role of glutamate and dopamine receptors in the psychopharmacological profile of the indole alkaloid psychollatine. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 342-345, 2006.

BREMEKAMP, C. E. B. Notes on the Rubiaceae of Surinam. **Recueil des Travaux Botanique Néerlandais**, v. 31, p. 248-308, 1934.

DAN, S; DAN, S. S. Phytochemical study of *Adansonia digitata*, *Coccoloba excoriata*, *Psychotria adenophylla* and *Schleichera oleosa*. **Fitoterapia**, v. 57, n. 6, p. 445-446, 1986.

DELPRETE, P. Notes on some South America species of *Psychotria* subgenus *Heteropsychotria* (Rubiaceae), with observations on rubiaceous taxonomic characters. **Brittonia**, v. 53, n. 3, p. 396-404, 2001.

DELPRETE, P. *Carapichea guianensis*: the correct name for *Psychotria carapichea* (Rubiaceae), with a correction on the authority of *P. carapichea*, and a new combination in *Carapichea*. **Brittonia**, v. 55, n. 1, p. 88-89, 2003.

DELPRETE, P.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. B. Rubiaceas, vol. 2 – gêneros G-Z: 20. Gardenia até 46. Tocoyena (com observações ecológicas por R. Klein, A. Reis & O. Iza). In: A. Reis (Ed.), **Flora Ilustrada Catarinense**, I Parte, Monografia RUBI, pp. 345-843. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, Santa Catarina, Brasil, 2005.

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 potential analgesics. **Natural Products Research in Brazil**, v. 49, n. 5/6, p. 378-384, 1997.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C.T. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. Ex R. & S.) Muell. Arg. Alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 48, n. 2, p. 77-83, 1995.

FALCÃO, M. J. C. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste *Platymiscium floribundum* VOG. (Leguminosae)**. 2003. 275 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FRAGOSO, V.; NASCIMENTO, N. C.; MOURA, D. J.; SILVA, A. C. R.; RICHTER, M. F.; SAFFI, J.; FETT-NETO, A. G. Antioxidant and antimutagenic properties of the monoterpene indole alkaloid psychollatine and the crude foliar extract of *Psychotria umbellata* Vell. **Toxicology in Vitro**, v. 22, n. 3, p. 559-566, 2008.

FRAGOSO, V. **Alcalóides de *Psychotria*: fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicas**. 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GAZDA, 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.

GLINSKI, J. A.; JAN A.; DAVID, E.; WARREN, T. C.; HANSEN, G.; LEONARD, S. F.; PITNER, P.; PAV, S.; ARVIGO, R.; BALICK, M. J. Inactivation of cell surface receptors by pheophorbide a, a green pigment isolated from *Psychotria acuminata*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 62, n. 1, p. 144-150, 1995.

GUÉRITTE-VOEGELIN, F.; SEVENET, T.; PUSSET, J.; ADELIN, M. T.; GILLET, B.; BELOEIL, J. C.; GUENARD, 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.

HART, N. K.; JOHNS, S. R.; LAMBERTON, J. A.; SUMMONS, R. E. Psychotridine, a C₅₅H₆₂N₁₀ alkaloid from *Psychotria beccarioides* (Rubiaceae). **Australian Journal of Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 639-646, 1974.

HAYASHI, T.; SMITH, F. T.; LEE, K. H. Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 2005-2008, 1987.

HENRIQUES, A. T.; LOPES, S. O.; PARANHOS, J. T.; GREGIANINI, T. S.; VON POSER, G. L.; FETT-NETO, A. G.; SCHRIPEMA, J. N. β -D-Glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 4, p. 449-454, 2004.

JANNIC, V.; GUERITTE, F.; LAPREVOTE, O.; SERANI, L.; MARTIN, M. T.; SEVENET, T.; POTIER, P. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria oleoides* and *Psychotria lyciiflora*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 6, p. 838-843, 1999.

KERBER, V. A.; GREGIANINI, T. S.; PARANHOS, J. T.; SCHWAMBACH, J.; FARIAS, F.; FETT, J. P.; FETT-NETO, A.; ZUANAZZI, J. A. S.; QUIRION, J. C.; ELISABETSKY, E.; HENRIQUES, A. T. Brachycerine, a novel monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 5, p. 677-679, 2001.

KHAN, M. R.; KIHARA M; OMOLOSO, A. D. Antimicrobial activity of *Psychotria microlabastra*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 818-821, 2001.

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

LEE, K. H.; LIN, Y. M.; WU, T. S.; ZHANG, C.; YAMAGISHI, T.; HAYASHI, T.; HALL, I. H.; CHANG, J. J.; WU, R. Y.; YANG, T. H. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives. **Planta Médica**, v. 54, n. 4, p. 308-311, 1988.

LIBOT, F.; MIET, C.; KUNESCH, N.; POISSON, J. E.; PUSSET, J.; SEVENET, T. Rubiacées D'océanie: alcaloïdes de *Psychotria oleoides* de nouvelle-calédonie et de *Calycodendron milnei* du vanuatu (nouvelles-hébrides). **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 3, p. 468-473, 1987.

LIKHWITWITAYAWUID, K.; DEJ-ADISAI, S.; JONQBUNPRASERT, V.; KRUNGKRAI, J. Antimalarials from *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros Montana* and *Murraya siamensis*. **Planta Médica**, v. 65, n. 8, p. 754-756, 1999.

LOPES, S. O.; VON POSER, G. L.; KERBER, V. A.; FARIAS, F. M.; KONRATH, E. L.; MORENO, P. R. H.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 1187-1195, 2004.

LOPES, S. O.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Growth characteristics and chemical analysis of *Psychotria carthagenensis* cell suspension cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, n. 2-4, p. 259-264, 2000.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 65, p. 1517-15750, 1994.

MOELLER, M.; HERZER, K.; WENGER, T.; HERR, I.; WINK, M. The alkaloid emetine as a promising agent for the induction and enhancement of drug-induced apoptosis in leukemia cells. **Oncology Reports**, v. 18, n. 3, p. 737-744, 2007.

MENDES, C. C.; CRUZ, G. F.; DAVID, J. M.; NASCIMENTO, I. P.; DAVID, J. P. Triterpenos esterificados com ácidos graxos e ácidos triterpênicos isolados de *Byrsonima microphylla*. **Química Nova**, v. 22, n. 2, p. 185-188, 1999.

MOREIRA, R. Y. O.; ARRUDA, M. S. P.; ARRUDA, A. C.; SANTOS, L. S.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, S. A.; Terezo E. Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 392-396, 2006.

MURILLO, R.; CASTRO, V. Isolation of the alkaloid harmine from *Psychotria suerrensii*. **Ingeniería y Ciencia Química**, v. 18, n. 2, p. 61-62, 1998.

MUHAMMAD, I.; DUNBAR, D. C.; KHAN, S. I.; TEKWANI, B. L.; BEDIR, E.; TAKAMATSU, S.; FERREIRA, D.; WALKER, L. A. Antiparasitic alkaloids from *Psychotria klugii*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 7, p. 962-967, 2003.

NAKATANI, M.; MIYAZAKI, Y.; IWASHITA, T.; NAOKI, H.; HASE, T. Triterpenes from *Ilex Rotunda* fruits. **Phytochemistry**, v. 28, n. 5, p. 1479-1482, 1989.

NEPOKROEFF, M.; BREMER, B.; SYSTMA, K. J. Reorganization of the genus *Psychotria* and the tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, v. 24, n. 1, p. 5-27, 1999.

PAUL, J. H. A.; MAXWELL, A. R.; REYNOLDS, W. F. Novel Bis (monoterpenoid) Indole Alkaloids from *Psychotria bahiensis*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 6, p. 752-754, 2003.

PINEDO, V. R.; CARMEN, V. T. Aislamiento del alcaloide N, N-dimetiltriptamina de la "chacrana" (*Psychotria viridis* R. & P.). **Boletín de la Sociedad Química del Perú**, v. 60, n. 1, p. 21-23, 1994.

RASOLONJANAHARY, R.; SEVENET, T.; GUERITTE-VOEGELEIN, F.; KORDON, C. Psycholeine, a natural alkaloid extracted from *Psychotria oleoides*, acts as a weak antagonist of somatostatin. **European Journal of Pharmacology**, v. 285, n. 1, p. 19-23, 1995.

ROTH, A.; KUBALLA, B.; BOUNTHANH, C.; CABALION, P.; SEVENET, T.; BECK, J. P.; ANTON, R. Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae) (1). **Planta Medica**, v. 52, n. 6, p. 450-453, 1986.

ROTH, A.; KUBALLA, B.; CABALION, P.; ANTON, R. Preliminary study of the alkaloids of *Psychotria forsteriana*. **Planta Médica**, v. 51, n. 3, p. 289, 1985.

SANTOS, L. V. DE.; FETT-NETO, A. G.; KERBER, V. A.; ELISABETSKY, E.; QUIRION, J.C.; HENRIQUES, A. T. Indole monoterpene alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* M.ull. Arg. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 11, p. 1185-1187, 2001.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F. X. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 6. Ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 2000.

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.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. A. ; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2002.

SOLIS, P. N.; LANG'AT, 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.; GONZALEZ, A.; PHILLIPSON, J. D. Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 5, p. 963-969, 1997.

SU, B. N.; KANG, Y. H.; PINOS, R. E.; SANTARSIERO, B. D.; MESECAR, A. D.; SOEJARTO, D. D.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Isolation and absolute stereochemistry of coussaric acid, a new bioactive triterpenoid from the stems of *Coussarea brevicaulis*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 293-302, 2003.

STEYERMARK, J. A. Rubiaceae. In: MAGUIRE, B. et al. (Eds.). **Botany of the Guayana Highlands, Part IX**. New York: Memoirs of the New York botanical Garden, 1972. p. 227-832.

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.

TAKEDA, Y.; ZHANG, H.; MASUDA, T.; HONDA, G.; OTSUKA, H.; SEZIK, E.; YESILADA, E.; SUN, H. Megastigmane glucosides from *Stachys byzantina*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 7, p. 1335-1337, 1997.

TAYLOR, C. M. Overview of the neotropical genus *Notopleura* (Rubiaceae; Psychotrieae), with the description of some new species. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 88, n. 3, p. 478-515, 2001.

TAYLOR, C. M. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Botanica Belgica**, v. 7, p. 261-270, 1996.

VEROTTA, L.; PILATI, T.; TATO, M.; ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; NUNES, D. S. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata*. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 3, p. 392-396, 1998.

VEROTTA, L.; ORSINI, F.; SBACCHI, M.; SCHEIDLER, M. A.; AMADOR, T. A.; ELISABETSKY, E. Synthesis and antinociceptive activity of chimonanthines and pyrrolidinoindoline-type alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 7, p. 2133-2142, 2002.

VEROTA, L.; PETERLONGO, F.; ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; NUNES, D. S. High-performance liquid chromatography-diode array detection-tandem mass spectrometry analyses of the alkaloid extracts of the alkaloid extracts of Amazon *Psychotria* species. **Journal of Chromatography A**, v. 841, n. 2, p. 165-176, 1999.

WATANADILOK, R.; SONCHAENG, P.; KIJJOA, A.; DAMAS, A. M.; GALES, L.; SILVA, A. M. S.; HERZ, W. Tetillapyrone and Nortetillapyrone, two unusual hydroxypyran-2-ones from the marine sponge *Tetilla japonica*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 8, p. 1056-1058, 2001.

WITHERUP, K. M.; BOGUSKY, M. J.; ANDERSON, P. S.; RAMJIT, H.; RANSOM, R. W.; WOOD, T.; SARDANA, M. Cyclopsychotride A, a biologically active, 31-residue cyclic peptide isolated from *Psychotria longipes*. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 12, p. 1619-1625, 1994.