

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



Estudo Fitoquímico de  
*Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers.

Allana Kellen Lima Santos

Fortaleza  
2008

**Allana Kellen Lima Santos**

Estudo Fitoquímico de *Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers.

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

Orientador:

Prof. Dra. Telma Leda Gomes Lemos.

Co-Orientador:

Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho.

Fortaleza

2008

S233e Santos, Allana Kellen Lima

Estudo Fitoquímico de *Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers. / Allana Kellen Lima Santos. 2008.

151 f.; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Ph.D. Telma Leda Gomes de Lemos .

Co-Orientador: Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho.

Área de concentração: Química de Produtos Naturais

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências.  
Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2008

1. Grão-de-galo 2. Olivacina, peschienina 3. *N*-hidroxi-peschienina  
4. Isovoacristina hidroxindolenina I. Lemos, Telma Leda Gomes de  
(orient.) II. Braz-Filho, Raimundo (co-orient.) III. Universidade Federal  
do Ceará - Curso Doutorado em Química Orgânica IV. Título

CDD 547

“O que aconteceu acontecerá de novo,  
O que já foi feito será feito de novo,  
Nada de novo há debaixo do sol. ”

Eclesiastes 1.9

*Tempo Fugit*

“Vai, portanto, come a tua comida e alegra-te com ela,  
Bebe o teu vinho com um coração feliz.  
Veste-te sempre de branco  
E que não falte óleo perfumado nos teus cabelos.  
Goza a tua vida com quem amas todos os dias da tua vida...  
Pois Deus já aceitou o que fizeste... ”

Eclesiastes 9.7

*Carpe Diem*

*Ao meu esposo Juscelino.*

*Ao meu filho Victor Hugo.*

*A minha mãe Irascilda.*

*As minhas tias Francisca e Salete.*

*As minhas irmãs Karyzia e Kênia.*

*Aos meus avós (in memoriam) José Gabriel  
e Maria da Glória.*

# Agradecimentos

A Deus por ter me levado nos braços por todo esse tempo e ter me dado coragem pra continuar.

A Juscelino pelo amor, incentivo, companhia e ajuda em horas abstrusas.

À minha mãe Irascilda pela sua existência, pela força e amor incondicional que sempre demonstrou.

Às minhas tias: Francisca Maria e Salete pela ajuda, confiança e amor.

Às minhas irmãs: Karyzia e Kênia pelo carinho e companhia mesmo que à distância.

A meu filho, Victor Hugo, que é a minha obra mais perfeita e amada.

Em especial a Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos, pela acolhida, amizade, atenção, competência e dedicação como orientadora.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz Filho (UENF - RJ) pela valiosa contribuição na co-orientação e elucidação das estruturas.

Ao Dr. Francisco José de Abreu Matos pela atenção e carinho.

Ao corpo docente da Pós Graduação em Química Orgânica, especialmente, Mary Anne Lima, Francisco José Queiroz Monte, Ângela Arriaga e Otilia Deusdênia.

A equipe do CENAUREM pelos espectros, em especial ao Prof. Edilberto, Luciana

Lucas, Glauber, Daniel Esdras e Aluísio.

Aos operadores do massa, Sammy, João Carlos e Délcio.

Aos professores da URCA Henrique Douglas, Ivanildo e Galberto pelo incentivo e apoio.

Aos meus grandes amigos Fátima, Mozarina, Glauber, Luciana Lucas e Luciana Bertini que me ajudaram em horas difíceis e compartilharam comigo bons momentos.

Aos colegas do laboratório por todo carinho, amizade e companheirismo: Luciana Bertini, Ayla, Lobinha, Délcio, Hélcio, Sammy, Irineu, Aluísio, Leonardo Alcântara, Leonardo Carvalho, Cleane e Ticiane.

Aos colegas do curso: Rosa Virgínia, Gizelle, Cristiane, Antônia, Grazielle Malcher, Arthur, Jacqueline, Renata Mendonça, Mônica, João Carlos, Bartholomeu, João Henrique, Davina, Alexandre Praxedes e Daniel Marcos.

E os funcionários: Célia, Paulo Ribeiro, Lana e Mundinha.

Aos meus cunhados: Joelio e Júnior pela amizade e disponibilidade para me ajudar sempre que precisava.

A meu pai José Romão, a minha família e a minha sogra Lucy.

Aos meus amigos: Elen, Tiago Alencar, Flávio, Damião Junio, Jocel, Cícero C., Valdeir, Ana Clébia, Edvaldo, Paulo Alexandre, Izália, Paulo Alvacely, Karine, Nynna, Carlos Alberto, Valdneide, Cícero, Tony, e Silvana.

A CAPES, CNPq e FUNCAP pelo suporte financeiro.

# Sumário

Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	xi
Lista de Fluxogramas	xii
Lista de Abreviaturas	xiii
Resumo	xv
Abstract	xvi
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2 Abordagem Taxonômica da Família Apocynaceæ</b>	<b>5</b>
2.1 Taxonomia de Apocynaceæ . . . . .	5
2.2 Taxonomia de <i>Peschiera</i> . . . . .	7
2.3 Descrição Botânica de <i>Peschiera affinis</i> . . . . .	7
<b>3 Alcalóides de <i>Peschiera</i></b>	<b>10</b>



3.1	Introdução . . . . .	10
3.2	Considerações Biossintéticas dos Alcalóides Indólicos Terpenóides . . . . .	11
3.3	Alcalóides de <i>Peschiera</i> - Levantamento Bibliográfico . . . . .	13
3.4	Alcalóides de <i>Peschiera affinis</i> . . . . .	19
<b>4</b>	<b>Determinação Quantitativa da Olivacina por CLAE</b>	<b>33</b>
4.1	Introdução . . . . .	33
4.2	Quantificação do alcalóide olivacina nas raízes e caule de <i>Peschiera affinis</i> por CLAE . . . . .	34
4.3	Análise Quantitativa . . . . .	35
<b>5</b>	<b>Atividade Antioxidante de <i>Peschiera affinis</i></b>	<b>39</b>
5.1	Introdução . . . . .	39
5.2	Método do $\beta$ -Caroteno . . . . .	41
5.3	Método de Seqüestro do Radical DPPH . . . . .	41
<b>6</b>	<b>Determinação Estrutural</b>	<b>44</b>
6.1	Determinação estrutural dos constituintes fixos isolados da espécie <i>Peschiera affinis</i> . . . . .	44
6.1.1	Determinação estrutural de PA-1 . . . . .	44
6.1.2	Determinação estrutural de PA-2 . . . . .	50
6.1.3	Determinação estrutural de PA-3 . . . . .	55

6.1.4	Determinação estrutural de PA-4 . . . . .	62
6.1.5	Determinação estrutural de PA-5 . . . . .	67
6.1.6	Determinação estrutural de PA-6 . . . . .	72
6.1.7	Determinação estrutural de PA-7 . . . . .	77
6.1.8	Determinação estrutural de PA-8 . . . . .	83
6.1.9	Determinação estrutural de PA-9 . . . . .	91
6.1.10	Determinação estrutural de PA-10 . . . . .	98
<b>7</b>	<b>Parte Experimental</b>	<b>104</b>
7.1	Material Vegetal . . . . .	104
7.2	Métodos Cromatográficos . . . . .	105
7.2.1	Cromatografia em Coluna Aberta (CC) . . . . .	105
7.2.2	Cromatografia em Camada Delgada (CCD) . . . . .	105
7.3	Métodos Espectroscópicos . . . . .	106
7.3.1	Espectroscopia na região do Infravermelho (IV) . . . . .	106
7.3.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN <sup>1</sup> H) e de Carbono-13 (RMN <sup>13</sup> C) . . . . .	106
7.3.3	Espectrometria de Massas . . . . .	107
7.3.4	Espectrometria no Ultravioleta (UV) . . . . .	107
7.4	Ponto de Fusão (pf) . . . . .	107
7.5	Atividade Antioxidante . . . . .	108

7.5.1	Método do $\beta$ -caroteno . . . . .	108
7.5.2	Método de Seqüestro do Radical DPPH . . . . .	108
7.6	Isolamento dos constituintes fixos de <i>Peschiera affinis</i> (Müell. Arg.) Miers	109
7.6.1	Obtenção dos Extratos Hexânico e Etanólico das Raízes de <i>Peschiera affinis</i> (Müell. Arg.) Miers . . . . .	109
7.6.2	Fracionamento Cromatográfico de EERPA . . . . .	109
7.6.3	Fracionamento Cromatográfico de EERPA – C . . . . .	110
7.6.4	Isolamento de PA-1 . . . . .	111
7.6.5	Isolamento de PA-2 . . . . .	113
7.6.6	Isolamento de PA-3 e PA-4 . . . . .	113
7.6.7	Isolamento de PA-5 . . . . .	115
7.6.8	Isolamento de PA-6 . . . . .	115
7.6.9	Fracionamento Cromatográfico de EHRPA e Isolamento de PA-7, PA-9 e PA-10 . . . . .	116
7.6.10	Obtenção do Extrato Etanólico do Caule de <i>Peschiera affinis</i> (Müell. Arg.) Miers e Isolamento de PA-8 . . . . .	118
<b>8</b>	<b>Conclusões</b>	<b>120</b>
	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>122</b>
	<b>Índice Remissivo</b>	<b>127</b>

# Lista de Figuras

1.1	<i>Peschiera affinis</i> . Fotografia: A. Lima. . . . .	3
1.2	Estruturas dos constituintes químicos isolados da espécie <i>Peschiera affinis</i> . . . . .	4
2.1	Folhas, flores, fruto e semente de Apocynaceae. Foto obtida do site Wikipédia. . . . .	6
2.2	Fotografia de um espécime de <i>Peschiera affinis</i> localizado no Campus do Pici-Fortaleza-Ce . . . . .	9
2.3	Fotografia da exsicata, frutos e inflorescência de <i>Peschiera affinis</i> . . . . .	9
3.1	Grupos de alcalóides indólicos: <i>Corynanto</i> , <i>Aspidosperma</i> e <i>Iboga</i> . . . . .	12
3.2	Proposta biossintética de alcalóides indólicos terpenóides. . . . .	13
3.3	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (10c - 19) . . . . .	20
3.4	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (20 - 31) . . . . .	21
3.5	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (32 - 41) . . . . .	22
3.6	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (42 - 50) . . . . .	23

3.7	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (51 - 58) . . . . .	24
3.8	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (59 - 66) . . . . .	25
3.9	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (67 - 76) . . . . .	26
3.10	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (77 - 87) . . . . .	27
3.11	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (88 - 97) . . . . .	28
3.12	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (98 - 107) . . . . .	29
3.13	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (108 - 116) . . . . .	30
3.14	Estruturas dos compostos identificados em <i>Peschiera (Tabernaemontana)</i> (117 - 123) . . . . .	31
3.15	Estruturas dos compostos 124 e 125 identificados em <i>Peschiera affinis</i> . . .	32
4.1	Olivacina, Ellipticina e 9-metoxiellipticina . . . . .	34
4.2	Curva analítica da olivacina . . . . .	36
4.3	Cromatograma do extrato etanólico das raízes de <i>P. affinis</i> (45 ppm) em CLAE . . . . .	37
4.4	Cromatograma do extrato etanólico das raízes de <i>P. affinis</i> (45 ppm) após adição de olivacina (1000 ppm) em CLAE . . . . .	37

4.5	Cromatograma do extrato etanólico do caule de <i>P. affinis</i> (45 ppm) em CLAE . . . . .	38
4.6	Cromatograma do extrato etanólico do caule de <i>P. affinis</i> (45 ppm) após adição de olivacina (1000 ppm) em CLAE . . . . .	38
5.1	Estruturas do DPPH, Trolox e BHT . . . . .	41
5.2	Estruturas dos padrões rutina e vitamina C . . . . .	42
5.3	CCD borrifada com solução de $\beta$ -caroteno . . . . .	42
5.4	Gráfico da Absorbância X Concentração da Atividade Antioxidante . . . . .	43
6.1	Espectro no IV de PA-1 . . . . .	45
6.2	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-1 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	46
6.3	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135° de PA-1 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	47
6.4	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-1 [500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	47
6.5	Espectro de Massas de PA-1 . . . . .	48
6.6	Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-1 . . . . .	50
6.7	Expansão do diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-1 . . . . .	50
6.8	Representação dos acoplamentos de A-I observados no HMBC de PA-1 . . . . .	51
6.9	Diagrama de contorno do espectro NOESY de PA-1 . . . . .	51
6.10	Representação dos acoplamentos de J-L observados no NOESY de PA-1 . . . . .	51
6.11	Espectro no UV de PA-1 . . . . .	52
6.12	Espectro no IV de PA-2 . . . . .	52

6.13	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-2 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	54
6.14	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-2 [500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	55
6.15	Espectro de Massas de PA-2 . . . . .	55
6.16	Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-2 . . . . .	56
6.17	<b>a)</b> Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-2; <b>b)</b> Expansão do espectro <b>a</b> . . . . .	57
6.18	Representação dos acoplamentos de A-D observados no HMBC de PA-2 . . . . .	57
6.19	Diagrama de contorno do espectro COSY . . . . .	58
6.20	Espectro no UV de PA-2 . . . . .	58
6.21	Espectro no IV de PA-3 . . . . .	59
6.22	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-3 [500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	60
6.23	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-3 [125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	61
6.24	Espectro de Massas de PA-3 . . . . .	61
6.25	Diagrama de contorno do espectro COSY . . . . .	62
6.26	Diagrama de contorno do espectro NOESY de PA-3 . . . . .	62
6.27	Representação dos acoplamentos observados no NOESY de PA-3 . . . . .	63
6.28	Espectro no UV de PA-3 . . . . .	63
6.29	Espectro no IV de PA-4 . . . . .	64
6.30	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-4 [500 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	67
6.31	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-4 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	68

6.32	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135° de PA-4 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	68
6.33	Espectro de Massas de PA-4 . . . . .	69
6.34	Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-4 . . . . .	69
6.35	a) Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-4; b) Expansão do espectro <b>a</b> . . . . .	70
6.36	Representação dos acoplamentos de A-G observados no HMBC de PA-4 .	70
6.37	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-5 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . .	72
6.38	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135° de PA-5 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	73
6.39	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-5 [500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	73
6.40	Affinisina e Iboxigaina . . . . .	74
6.41	Espectro no IV de PA-6 . . . . .	74
6.42	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-6 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . .	75
6.43	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135° de PA-6 [125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ]	76
6.44	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-6 [500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	76
6.45	Espectro de Massas de PA-6 . . . . .	77
6.46	Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-6 . . . . .	78
6.47	Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-6 . . . . .	79
6.48	Representação dos acoplamentos de A-G observados no HMBC de PA-6 .	79
6.49	Espectro no UV de PA-6 . . . . .	80
6.50	Espectro no IV de PA-7 . . . . .	81



6.51	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-7 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	81
6.52	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-7 [500 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	82
6.53	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT $135^\circ$ de PA-7 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	82
6.54	Espectro de Massas de PA-7 . . . . .	83
6.55	Acetatos de $\beta$ -amirina e $\alpha$ -amirina . . . . .	83
6.56	Espectro no IV de PA-8 . . . . .	85
6.57	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-8 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	88
6.58	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT $135^\circ$ de PA-8 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	89
6.59	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-8 [500 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	90
6.60	Espectro de Massas de PA-8 . . . . .	90
6.61	Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-8 . . . . .	91
6.62	Expansão do diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-8 . . . . .	91
6.63	Representação dos acoplamentos de A-G observados no HMBC de PA-8 . . . . .	92
6.64	Representação da configuração do C-19 de PA-8 . . . . .	92
6.65	Espectro no UV de PA-8 . . . . .	92
6.66	Espectro no IV de PA-9 . . . . .	93
6.67	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-9 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	93
6.68	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT $135^\circ$ de PA-9 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	94
6.69	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-9 [500 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	95
6.70	Espectro de Massas de PA-9 . . . . .	96

6.71	Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-9 . . . . .	98
6.72	Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-9 . . . . .	98
6.73	Representação dos acoplamentos de A-J observados no HMBC de PA-9 . .	99
6.74	Espectro no UV de PA-9 . . . . .	99
6.75	Voacangina . . . . .	99
6.76	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – BB de PA-10 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . .	100
6.77	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT $135^\circ$ de PA-10 [125 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . .	102
6.78	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PA-10 [500 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta(\text{ppm})$ ] . . . . .	102
6.79	R=H Coronaridina; R=MeO Voacangina . . . . .	103

# Lista de Tabelas

3.1	Espécies de <i>Peschiera</i> ( <i>Tabernamontana</i> ) com seus respectivos compostos identificados. . . . .	14
5.1	Nutrientes que apresentam propriedades antioxidantes, atividades e suas fontes. . . . .	40
5.2	Resultado do teste da atividade antioxidante. . . . .	43
6.1	Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}$ de PA-1 com padrão de hidrogenação (RMN $^{13}\text{C}$ – BB e DEPT; $\delta$ ; $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz) . . . . .	45
6.2	Dados de RMN $^{13}\text{C}$ e RMN $^1\text{H}$ de PA-1 e comparação com dados da literatura de olivacina (GOGOLL, PLOBECK, 1990) . . . . .	49
6.3	Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}$ de PA-2 com padrão de hidrogenação (RMN $^{13}\text{C}$ – BB; $\delta$ ; $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz) . . . . .	53
6.4	Dados de RMN $^{13}\text{C}$ e RMN $^1\text{H}$ de PA-2 e comparação com os dados de RMN $^{13}\text{C}$ de PA-1 . . . . .	56
6.5	Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}$ de PA-3 com padrão de hidrogenação (RMN $^{13}\text{C}$ – BB; $\delta$ ; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ; 125 MHz) . . . . .	59
6.6	Dados de RMN $^{13}\text{C}$ e RMN $^1\text{H}$ de PA-3 e comparação com os dados de RMN $^{13}\text{C}$ de PA-1 . . . . .	64

6.7	Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C de PA-4 com padrão de hidrogenação (RMN <sup>13</sup> C – BB e DEPT 135°; δ; CDCl <sub>3</sub> ; 125 MHz) . . . . .	65
6.8	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-4 e comparação com os dados da literatura de voacristina (PEREIRA, et al, 2008) . . . . .	66
6.9	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-5 . . . . .	71
6.10	Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C de PA-6 com padrão de hidrogenação (RMN <sup>13</sup> C – BB e DEPT 135°; δ; CD <sub>3</sub> OD; 125 MHz) . . . . .	74
6.11	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-6 e comparação com os dados de RMN <sup>13</sup> C de PA-1 . . . . .	78
6.12	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-7 e comparação com os dados da literatura dos acetatos de α-amirina e β-amirina . . . . .	84
6.13	Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C de PA-8 com padrão de hidrogenação (RMN <sup>13</sup> C – BB e DEPT 135°; δ; CDCl <sub>3</sub> ; 125 MHz) . . . . .	85
6.14	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-8 . . . . .	87
6.15	Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C de PA-9 com padrão de hidrogenação (RMN <sup>13</sup> C – BB e DEPT 135°; δ; CDCl <sub>3</sub> ; 125 MHz) . . . . .	94
6.16	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-9 e comparação com os dados da literatura de voacangina (PEREIRA, et al, 2008) . . . . .	97
6.17	Dados de RMN <sup>13</sup> C e RMN <sup>1</sup> H de PA-10 e comparação com os dados da literatura de coronaridina (PEREIRA, et al, 2008) . . . . .	101
7.1	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico de EERPA – FA . . . . .	110
7.2	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico I de EERPA – C . . . . .	111
7.3	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico II de EERPA – C . . . . .	111

7.4	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 2 (2,416 g)	. 114
7.5	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 2*	. . . . . 114
7.6	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 2**	. . . . . 115
7.7	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 12-35 (PA-6)	116
7.8	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração hexânica de EHRPA	. . . . . 116
7.9	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt da fração hexânica de EHRPA	. . . . . 117
7.10	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica do EECPA	. . . . . 118
7.11	Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração CHCl <sub>3</sub> da FA de EECPA	. . . . . 119

# Lista de Fluxogramas

7.1	Extração ácido-base de alcalóides das raízes de <i>P. affinis</i> . . . . .	110
7.2	Isolamento de PA-1 a PA-6. . . . .	112
7.3	Isolamento de PA-7, PA-9 e PA-10. . . . .	112
7.4	Isolamento de PA-8. . . . .	113

# Lista de Abreviaturas

- $\delta$  – Deslocamento Químico
- AcOEt – acetato de etila
- BHT – 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol
- CC – Cromatografia em Coluna aberta
- CCD – Cromatografia em Camada Delgada
- CDCl<sub>3</sub> – Clorofórmio deuterado
- CD<sub>3</sub>OD – Metanol deuterado
- CG/EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa
- CGL/EM – Cromatófago Gás-Líquido acoplado a Espectrômetro de Massa
- CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- COSY – Correlation Spectroscopy
- DEPT 135° – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer com ângulo de nutação de 135°
- DPPH – 1,1-difenil-2-picrilidrazila
- EECPA – Extrato etanólico do caule de *Peschiera affinis*
- EERPA – Extrato etanólico das raízes de *Peschiera affinis*
- EHRPA – Extrato hexânico das raízes de *Peschiera affinis*
- EM – Espectrometria de massa
- HMBC – Heteronuclear Multiple Bond Correlation
- HMQC – Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
- IDH – Índice de Deficiência de Hidrogênio
- IV – Infravermelho
- $J$  – Constante de Acoplamento
- PA – Para análise
- ppm – partes por milhão

- RMN  $^{13}\text{C}$ -BB – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 Broad Band
- RMN  $^1\text{H}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- UV – Ultravioleta



# Resumo

**P***eschiera affinis* é um arbusto da família Apocynaceæ, conhecida popularmente como “empigeira”, “grão de bode”, “grão de porco” em diversas partes do País e como “grão de galo” no estado do Ceará. É uma espécie rica em alcalóides indólicos, os quais exibem diversas atividades biológicas tais como anti-tumoral, antimicrobiana, anti-hipertensiva, contraceptiva dentre outras. Estudos fitoquímicos anteriores relatam a presença de alcalóides indólicos do tipo iboga, sarpagina, vobasina, além de alcalóides do tipo piridocarbazol e terpenóides. O presente trabalho relata o estudo fitoquímico das raízes e caule de *P. affinis*. Análise cromatográfica dos extratos hexânico e etanólico das raízes e do extrato etanólico do caule permitiu o isolamento e identificação de dez constituintes químicos entre estes: os alcalóides olivacina, peschienina, *N*-hidroxi-peschienina, voacangina, a mistura dos alcalóides indólicos affinisina e iboxigaina, *Nb*-óxido de olivacina, isovoacristina hidroxindolenina, voacangina, a mistura dos alcalóides do tipo iboga voacangina e coronaridina e a mistura dos terpenóides acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina. Na determinação estrutural dos compostos isolados utilizaram-se as técnicas espectrométricas: IV, EM, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  incluindo técnicas bidimensionais (COSY, HMQC, HMBC, NOESY) e ainda, comparação com dados espectrométricos descritos na literatura. Os acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina e o *Nb*-óxido de olivacina são reportados pela primeira vez nesta espécie enquanto que os alcalóides peschienina, *N*-hidroxi-peschienina e isovoacristina hidroxindolenina são substâncias novas. Foi feita a quantificação do alcalóide indólico olivacina na fração alcaloídica dos extratos etanólicos das raízes e caule por meio de CLAE. O extrato etanólico das raízes, a fração alcaloídica, a fração não-alcaloídica e compostos puros foram submetidos a ensaios antioxidantes utilizando os métodos do  $\beta$ -caroteno e do DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila). PA-9 e a fração alcaloídica apresentaram significativa atividade e PA-8 revelou média atividade.

# Abstract

**P***eschiera affinis* is a shrub of the Apocynaceae family, popularly known as “empigeira”, “grão de bode”, “grão de porco” in diverse parts of the Brazil and as “grão de galo” in the state of the Ceará. It is rich specie in indole alkaloids, which show diverse biological activities such as anti-tumor, anti-microbial, anti-hypertensive, contraceptive and so on. Previous phytochemical investigations reports indole alkaloids type iboga, sarpagine, vobasine, beyond alkaloids of the type pyridocarbazole and terpenoids. The present work deals with to the phytochemical study of the roots and stem of *P. affinis*. The chromatographic analysis of extracts hexanic and etanolic of the roots and the etanolic extract of the stem allowed to the isolation and identification of ten chemical constituent, the alkaloids: olivacine, peschienine, *N*-hydroxy-peschienine, voacangine, mixture of indole alkaloids affinisine and iboxygaine, olivacine *Nb*-oxide, isovoacristine hydroxyindolenine, voacangine, mixture of the type iboga alkaloids of voacangine and coronaridine and the mixture of terpenoids  $\alpha$ -amirine and  $\beta$ -amirine acetates. Structural determination of compounds were done by the spectrometrics techniques including IR, EM,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR including techniques (COSY, HMQC, HMBC, NOESY) and still, comparison with described spectrometrics data in literature. The  $\alpha$ -amirine and  $\beta$ -amirine acetates and olivacine *Nb*-oxide are reported for the first time in this species while that the alkaloids peschienine, *N*-hydroxy-peschienine and isovoacristine hydroxyindolenine are new substances. Quantification of the olivacine alkaloid was done by the alkaloidic fraction of etanolics extracts of the roots and stem by means of HPLC. Extracts and pure compounds were avaluated for scavenger activity using  $\beta$ -carotene and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl) bioassay and results showed significant activity for alkaloid PA-9 and fraction alkaloidic and PA-8 showed an average activity.

# Capítulo 1

## Introdução

*“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido. Não na vitória propriamente dita.”*

Mahatma Gandhi

A família Apocynaceae caracteriza-se quimicamente pela freqüente ocorrência de compostos alcalóidicos. Nas espécies de *Peschiera*, há predominantemente a ocorrência de alcalóides indólicos, os quais apresentam diversidades estruturais. A literatura reporta a presença de alcalóides indólicos como alguns dos mais significativos marcadores quimiotaxonômicos deste gênero (KAM,SIM,PANG, 2003a; MONNERAT, et al, 2005; PEREIRA, et al 2007).

Os alcalóides indólicos apresentam diversas atividades biológicas tais como anti-tumoral, anti-microbiana, anti-hipertensiva, contraceptiva, anti-inflamatória, anti-malarial, anti-HIV, bactericida e atividade leishmanicida além de ação estimulante sobre o sistema nervoso central (ANDRADE, et al, 2005; MONNERAT, et al, 2005).

A espécie vegetal *Peschiera affinis* (Fig.1.1, Pág.3) é popularmente conhecida como “grão de galo” no estado do Ceará, entretanto, apresenta outros nomes vulgares como “empigeira”, “grão de bode”, “grão de porco” ou “impingeira”. É uma espécie que tem como habitat natural o cerrado brasileiro, entretanto existem registros de sua ocorrência no Nordeste, especialmente no estado do Ceará (MONNERAT, et al 2005).

O presente trabalho descreve uma reinvestigação fitoquímica dos metabólitos especiais das raízes e caule da espécie *Peschiera affinis*, a qual foi coletada no Campus do Pici, Fortaleza, Ceará. A escolha desta espécie para análise fitoquímica baseia-se sobre a grande incidência de alcalóides indólicos, os quais apresentam significante importância biológica, como visto anteriormente.

Estudos anteriores realizados na espécie revelaram a presença de alcalóides indólicos: olivacina (**1**), 19-*epi*-voacristina (**30**), kimvulina ou iboxigaina (**5b**), (-)-coronaridina (**20**), (-)-voacangina (**21**), (-)-voacangarina ou voacristina (**4**), 19-*epi*-heyneanina (**29**), 19-hidroxiibogamina (**124**), affinisina (**5a**), (-)-vobasina (**76**) (LEMOS, et al, 1996, WOLTER-FILHO, et al, 1985; MATOS, et al, 1976; CAVA, et al, 1964; WEISBACH, et al, 1963) e terpenóides (+)-lupeol (**104**), (+)- $\beta$ -amirina (**125**) e acetato de lupeol (**19**) (MATOS, et al, 1976).

Dos extratos hexânico e etanólico das raízes e do extrato etanólico do caule de *Peschiera affinis* após cromatografias sucessivas foram isoladas e identificadas nove alcalóides: olivacina (**1**), peschienina (**2**), *N*-hidroxi-peschienina (**3**), voacristina (**4**), affinisina (**5a**), iboxigaina (**5b**), *Nb*-óxido olivacina (**6**), isovoacristina hidroxiindolenina (**8**), voacangina (**9=10b**), coronaridina (**10a**) e uma mistura de terpenóides: acetato de  $\alpha$ -amirina (**7b**) e  $\beta$ -amirina (**7a**) (Fig. 1.2, Pág. 4).

No estudo químico de *P. affinis* encontram-se descritas as técnicas cromatográficas de isolamento e determinação estrutural das substâncias isoladas da espécie, bem como a identificação por métodos espectrométricos: infravermelho (IV), massa (EM), ressonância magnética nuclear hidrogênio-1 (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), técnicas de RMN bidimensionais (COSY, HMQC, HMBC, NOESY), além de comparação com dados na literatura quando necessário.

O capítulo 1 trata da presente introdução. No capítulo 2 é descrita a abordagem taxonômica da família Apocynaceae. O capítulo 3 relata o levantamento bibliográfico dos alcalóides do gênero *Peschiera* e da espécie em estudo. O capítulo 4 reporta a determinação quantitativa do alcalóide olivacina utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O capítulo 5 aborda a atividade antioxidante dos extratos etanólicos das raízes e caule de *Peschiera affinis*, das frações alcaloídicas e não-alcaloídicas de ambos extratos

e substâncias. O capítulo 6 descreve a determinação estrutural. No capítulo 7 são descritos os procedimentos experimentais que resultaram no isolamento das substâncias, as técnicas utilizadas e especificações dos materiais e instrumentos. O capítulo 8 é dedicado às conclusões, além das referências bibliográficas consultadas para a elaboração deste trabalho.



Figura 1.1: *Peschiera affinis*. Fotografia: A. Lima.

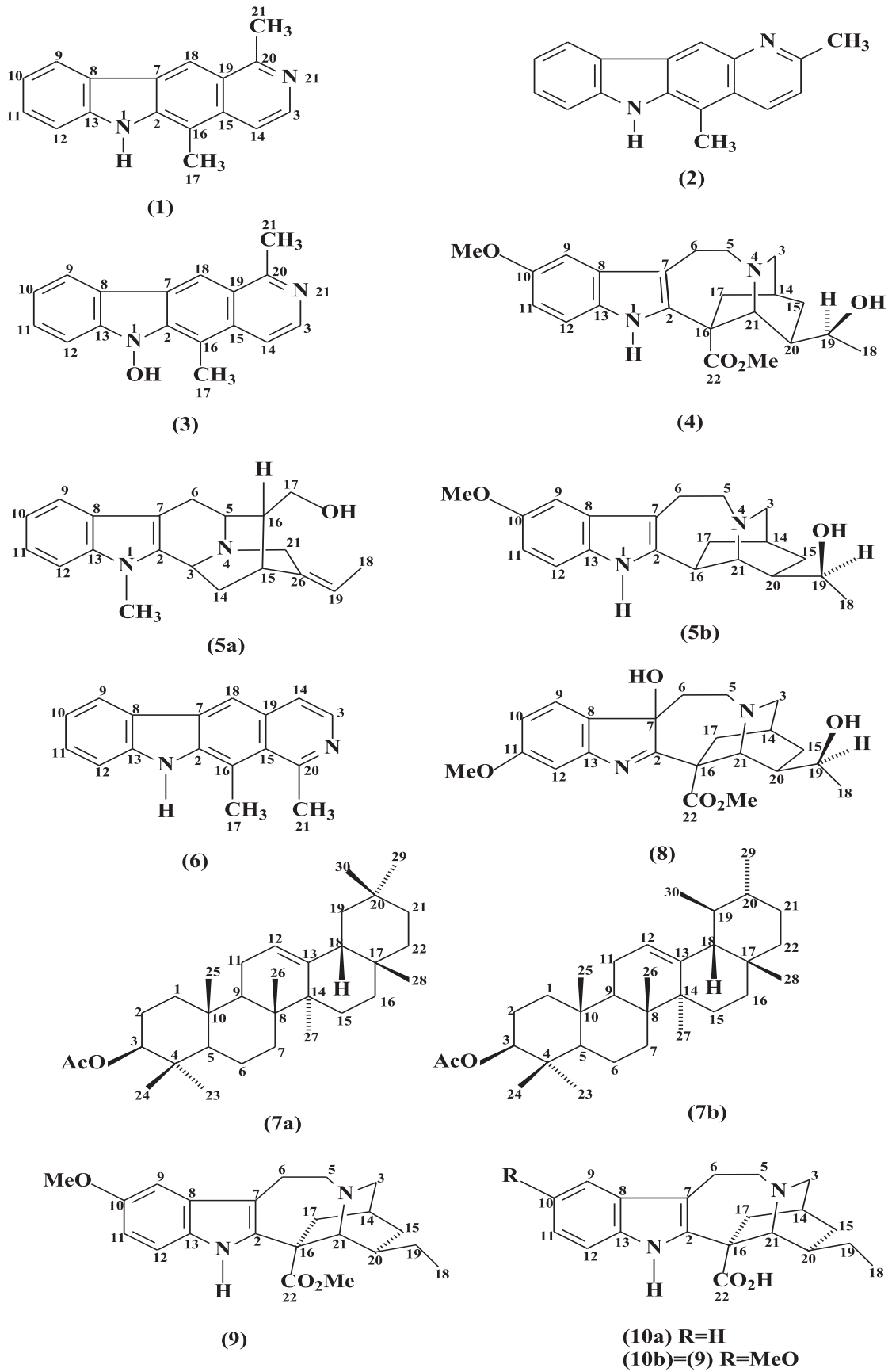


Figura 1.2: Estruturas dos constituintes químicos isolados da espécie *Peschiera affinis*.

# Capítulo 2

## Abordagem Taxonômica da Família Apocynaceæ

*“A ciência é constituída de fatos, assim como uma casa é construída com tijolos, mas um conjunto de fatos não é uma ciência do mesmo modo que um amontoado de tijolos não é uma casa.”*

Henri Poincaré

### 2.1 Taxonomia de Apocynaceæ

**P**lantas da família Apocynaceæ estão incluídas fitogeneticamente na ordem Gentianales e subclasse Asteridae sendo considerada como espécies dicotiledôneas bem evoluídas e são caracterizadas normalmente pela presença de látex. Apocynaceæ está entre as dez maiores famílias de angiospermas englobando de 250 a mais de 550 gêneros e entre 3.700 e 5.100 espécies reconhecidas e distribuídas em todos os continentes, exceto na Antártica. Localizam-se principalmente nas regiões de climas tropicais a temperados, de todo o mundo. Na flora brasileira são catalogadas como apocináceas mais de 400 espécies em 41 gêneros, sendo 32 destes encontrados na Amazônia (RAPINI, 2000; PEREIRA, et al, 2007).

As plantas desta família apresentam hábito muito variado, ervas, trepadeiras, su-

barbustos, arbustos e árvores. Localizam-se desde o nível do mar até as altas montanhas, principalmente em solos secos, mas também sobre rochas ou em áreas alagadas, raramente estão submersas na beira do rio (RAPINI, 2000).

As folhas (Fig. 2.1, Pág. 6) são opostas ou em verticilos às vezes alternas, simples, rara vez com estípulas. O cálice, geralmente, divide-se em quatro ou cinco lacínios, com segmentos iguais ou desiguais entre si. Corola glabra ou pilosa internamente. Em geral, as Apocynaceae de ovário sincárpico dão origem a frutos simples. As sementes (Fig. 2.1) variam de uma a muitas (BARROSO, 1986).

As inflorescências são determinadas, terminais ou nodais, paniculadas, racemosas, corimbosas ou umbeliformes, raramente flores solitárias. Flores (Fig. 2.1) actinomorfas ou quase, bissexuais, usualmente cinco meras (exceto o gineceu); cinco sépalas, conatas (ao menos na base); coleteres internos frequentemente presentes ao longo da base ou em grupos alternadamente às sépalas; cinco pétalas, conatas (ao menos na base); os óvulos numerosos, raramente um ou dois por lóculo, anátropos, pêndulos. Frutos (Fig. 2.1) geralmente doisfóliculos, frequentemente apenas um desenvolvido, raramente fundidos, cápsulas, bagas ou drupas (RAPINI, 2000).



Figura 2.1: Folhas, flores, fruto e semente de Apocynaceae. Foto obtida do site Wikipédia.



## 2.2 Taxonomia de *Peschiera*

O gênero *Peschiera* é também conhecido pela sinonímia *Tabernaemontana*. Esse é um gênero de 100-110 espécies de plantas floridas pertencente à família Apocynaceae, com uma distribuição tropical. Elas são arbustos e pequenas árvores que chegam a atingir de 1-1,5 m de altura. As folhas são sempre verdes, opostas, subsésseis ou com pecíolo pouco distinto de limbo (base atenuada a decurrente), de 3-25 cm de comprimento, com látex. As flores são perfumadas, com 1-5 cm de diâmetro (WIKIPÉDIA, 30/07/07; RIBEIRO, et al, 1999; CHATURVEDULA, et al, 2003).

## 2.3 Descrição Botânica de *Peschiera affinis*

“*Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers é um arbusto esgalhado com cerca de 1-1,5 m de altura. Todas as partes possuem abundante látex branco e viscoso. A floração, nos anos de chuvas normais, é iniciada em agosto atingindo o seu apogeu entre os meses de janeiro e fevereiro, quando começa a frutificação.

A parte aérea de *Peschiera affinis* é formada por vários caules epigeos, lenhosos, curtos, muito ramificados e originados de um xilopódio subterrâneo. Os espécimes mais velhos chegam a formar um tronco tortuoso de pequena espessura 3-10 cm, revestido por um súber pardo escuro muito rugoso e fendilhado.

A ramificação é cimosa e forma um dicásio muito semelhante à ramificação dicotômica, em virtude do desaparecimento completo do gomo terminal. Os ramos vegetativos têm folhas (Fig. 2.2, Pág. 9) quase desde a base, em disposição alterna cruzada e são articulados em nós e entre-nós bem evidentes. Os ramos floríferos têm folhas apenas na parte mais próxima à inflorescência, ou, mais raramente, são desprovidos das folhas.

As folhas adultas dos ramos ensolarados têm o limbo pouco coriáceo, quebradiço quando seco, de forma elíptica, arqueado sobre o dorso, ápice agudo e base atenuada que continua com duas estreitas asas sobre o pecíolo curto; bordos sem recortes e levemente ondulados; as nervuras primárias e secundárias são muito salientes na face inferior

e marcadas por estreitas linhas deprimidas e de tonalidade mais escura na face superior; da nervura principal, reta, partem 9-12 pares (mais frequentemente 9) de nervuras secundárias, quase sempre opostas, formando com a nervura principal um ângulo de aproximadamente 60°; são levemente arqueadas em direção ao ápice e ligadas entre si, próximo ao bordo onde formam uma linha crenada. As nervuras terciárias são perpendiculares às secundárias, anastomosadas, e formam uma malha delicada. A cor é verde clara, mais escura na face superior, que é fosca. Podem ser encontrados na face inferior, raramente, pêlos unicelulares, curtos, localizados geralmente ao lado das nervuras e só observáveis com o auxílio do microscópio.

A inflorescência é cimosa terminal, erecta, comumente par, muito ramificada desde a base, terminando cada ramificação final em duas flores. Cada inflorescência tem cerca de 8-35 flores de corola branca levemente amarelada no centro. As brácteas são muito pequenas de 1-2 mm, triangulares e reflexas, aparecendo uma por cada pedicelo do cálice e nas bases das ramificações de primeira e segunda ordem.

O pedúnculo floral é três vezes maior que o comprimento das sépalas; estas em número de cinco, são pubescentes, ásperas, reflexas, pequenas de 2-3 mm, de ápice quase obtuso e base truncada; na parte basal interna de cada lacínio existem 3-6 glândulas pluricelulares, visíveis com o auxílio de lupa.

O tubo da corola é três vezes maior que o cálice e, externamente, pouco áspero; é glabro, com lobos largo-ovóides, obtusos, levemente pubescente nos bordos e do mesmo tamanho do tubo (9 mm); internamente é pubescente desde a base, que é mais dilatada e estaminífera. Os estames têm filete convergente na base.

O ovário é binocular semiovoide (1 mm), dividido por profundo sulco longitudinal e está encimado por um estilete duas vezes maior, cujo estigma (1 mm) termina por um ápice bífido.

Os frutos são folículos divergentes, ovóides, de ápice obtuso, alcançando cada mericarpo cerca de 5-6 cm de comprimento por 3-3,5 cm de diâmetro na parte mais larga; toda a sua superfície externa é verrucosa. Após sua deiscência longitudinal, podem-se ver em seu interior numerosas sementes pretas, estriadas longitudinalmente e par-

cialmente envolvidas por um arilo mole, carnoso na consistência e na cor, e de sabor adocicado” (WOLTER-FILHO, 1981, apud MATOS\*, 1960).

A espécie *Peschiera affinis* em estudo foi coletada no Campus do Pici, Fortaleza-Ce, por Paulo Ribeiro e identificada pelo professor Edson P. Nunes do Departamento de Biologia (UFC). A exsicata (Fig. 2.3, Pág. 9) encontra-se armazenada no Herbário Prisco Bezerra sob número 33.339.



(a) Fotografia do detalhes das folhas



(b) Fotografia das folhas. Fotógrafo: A. Lima

Figura 2.2: Fotografia de um espécime de *Peschiera affinis* localizado no Campus do Pici-Fortaleza-Ce



(a) Fotografia da exsicata de *Peschiera affinis* (nº 33.339)



(b) Fotografia do detalhe dos frutos e inflorescência. Fotógrafo: A. Lima

Figura 2.3: Fotografia da exsicata, frutos e inflorescência de *Peschiera affinis*.

\*MATOS, F. J. A. *Tese de Livre Docência em Farmacognosia*. UFC, Fortaleza - Ce, 1960.

# Capítulo 3

## Alcalóides de *Peschiera*

*“A esperança é o alimento de nossa alma, ao qual sempre se mistura o veneno do medo.”*

Voltaire

### 3.1 Introdução

**A**lcalóides são compostos orgânicos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente em espécies pertencentes às angiospermas, mas em menor extensão em microorganismos e animais. Na sua grande maioria, possuem caráter alcalino (SIMÕES, et al, 2004).

Os alcalóides contendo um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico e derivados de aminoácidos são chamados de *alcalóides verdadeiros* e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias em que o átomo de nitrogênio não pertence a um sistema heterocíclico são denominadas de *protoalcalóides*. Compostos nitrogenados com ou sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos são chamados *pseudoalcalóides* (SIMÕES, et al, 2004).

Frequentemente, os alcalóides são classificados segundo a natureza do nitrogênio

presente na estrutura, por exemplo, pirrolidínico, piperidínico, quinolínico, isoquinolínico, indólico, etc (DEWICK, 2004).

## 3.2 Considerações Biossintéticas dos Alcalóides Indólicos Terpenóides

Os alcalóides indólicos terpenóides estão compreendidos em mais de 3000 compostos identificados de modo que esta classe de metabólitos pode ser considerada como uma das maiores dentre as plantas. Eles estão distribuídos principalmente em oito famílias, sendo que Apocynaceæ, Loganiaceæ e Rubiaceæ são as que abrangem o maior número de ocorrências (DEWICK, 2004).

Estes alcalóides estão organizados em três grupos nomeados *Corynanto*, como exemplo ajmalicina, *Aspidosperma*, como em tabersonina e *Iboga*, exemplificado por catharanthina (Fig. 3.1, Pág. 12). Estes grupos de alcalóides apresentam uma porção triptamina, derivada de aminoácido, e uma parte da estrutura com nove ou dez átomos de carbono de origem terpenoídica. Entretanto estes grupos podem ser relatados e compreendidos em termos de rearranjos ocorridos na porção terpenoíde da estrutura. Secologanina contém dez átomos de carbono típico do grupo *Corynanto*. Os grupos *Aspidosperma* e *Iboga* podem ser originados a partir de rearranjos do esqueleto *Corynanto*. Quando a unidade terpenoíde C<sub>9</sub> é observada, o alcalóide normalmente parece ter perdido o átomo de carbono indicado no círculo. Isto corresponde à função carboxilato da secologanina e sua perda por hidrólise/descarboxilação é então compreendida (Fig. 3.1) (DEWICK, 2004).

A biossíntese dos alcalóides indólicos terpenóides se dá através da condensação da triptamina com secologanina em uma reação tipo-Mannich produzindo o sistema tetraidro- $\beta$ -carbolina produzindo a *strictosidina* (Fig. 3.2, Pág. 13). Hidrólise da função glicosídeo permite abertura do hemiacetal, e conseqüentemente formação de um grupo aldeído, que pode reagir com a amina secundária originando uma base de Schiff quaternária. Isomerização alílica, com migração da ligação dupla vinílica em conjugação com o grupo

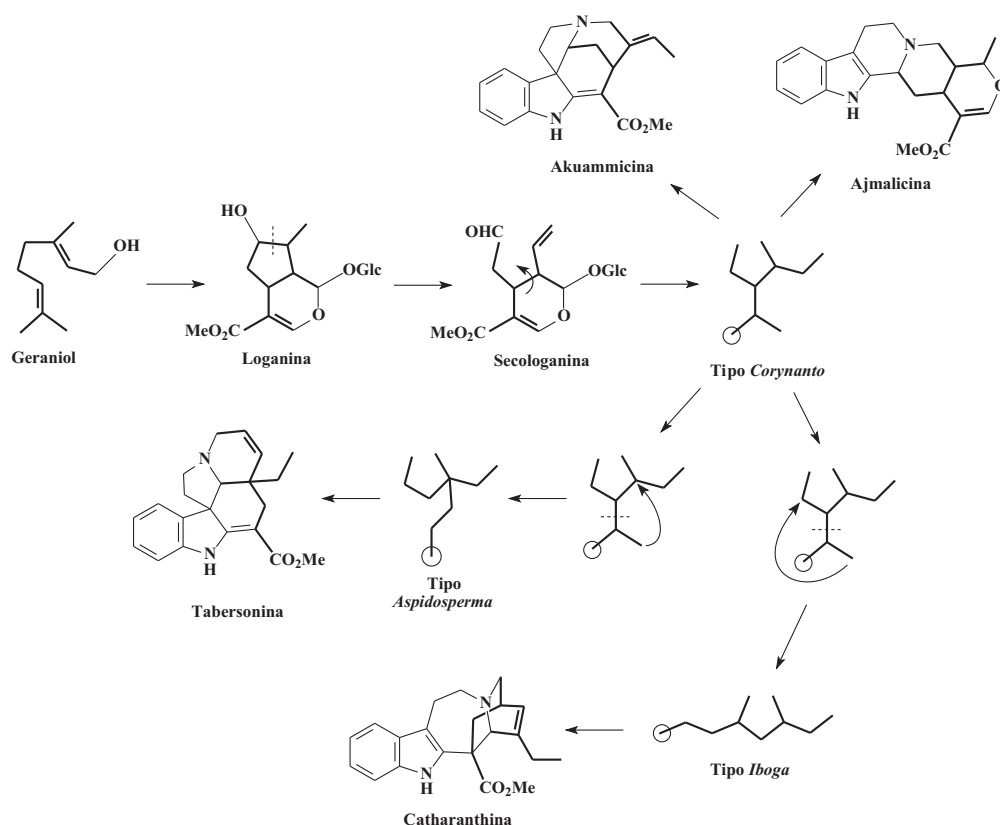


Figura 3.1: Grupos de alcalóides indólicos: *Corynanto*, *Aspidosperma* e *Iboga*.

início origina *deidrogeissoschizina*. No início os intermediários são alcalóides tal como *preakuammicina*, que embora seja claramente do tipo *Corynanto*, é algumas vezes designado do tipo *Strychnos*. Isto é por causa da unidade terpenóide *Corynanto*, originalmente ligada ao carbono- $\alpha$  indol, estar agora ligado ao carbono- $\beta$ , e uma nova ligação ocorre entre a unidade  $C_3$  e  $C - \alpha$ . *Stemmadenina* origina-se da cisão da ligação  $C - \beta$ , e então cisões posteriores produzem um intermediário hipotético, a importância de que a unidade  $C_3$  rearranjada foi clivada do resto dos carbonos terpenóides deve ser considerada. Alcalóides do tipo *Aspidosperma*, por exemplo, *tabersonina* e *vindolina*, e do tipo *Iboga*, por exemplo, *catharanthina*, são originados deste intermediário por diferentes modos de ligação (DEWICK, 2004).

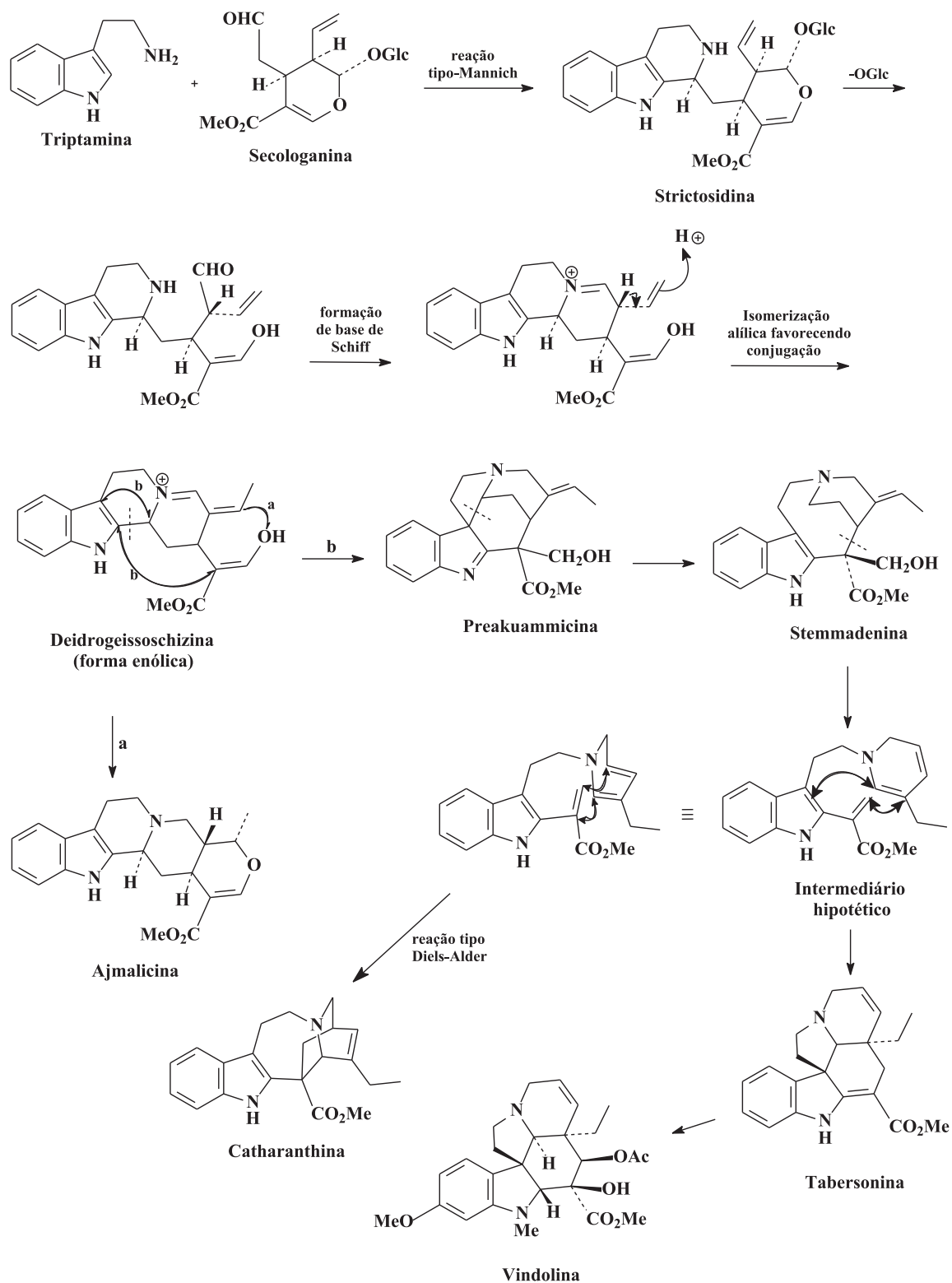


Figura 3.2: Proposta biossintética de alcalóides indólicos terpenóides.

### 3.3 Alcalóides de *Peschiera* - Levantamento Bibliográfico

De acordo com pesquisa bibliográfica realizada no *Chemical Abstract* (SciFinder Scholar) e nos periódicos disponíveis nos endereços eletrônicos da CAPES\*, Science di-

\*<http://www.periodicos.capes.gov.br>

rect<sup>†</sup>, e Web of Science<sup>‡</sup>, revelou que os estudos fitoquímicos acerca do gênero *Peschiera* (*Tabernamontana*) tiveram início em 1901 com o isolamento do alcalóide ibogina  $C_{26}H_{32}N_2O_2$ , hoje conhecido com ibogaína (**32**), extraído da casca do caule, raízes e folhas de *Tabernamontana ssp* (HALLER, HECKEL, 1902). Desde então, muitos outros metabólitos foram isolados de várias espécies deste gênero. Hoje, encontram-se registrados mais de 400 trabalhos de estudo fitoquímico relatando o isolamento de metabólitos das classes de alcalóides, terpenóides, esteróides e lignanas (LEMOS, et al, 1996; ACHENBACH, BENIRSCHKE, 1997, MATOS, et al, 1976, WOLTER-FILHO, et al, 1985).

A Tabela 3.1 que mostra as substâncias químicas detectadas no gênero *Peschiera* resulta do levantamento bibliográfico dos últimos onze anos (1996-2007). Esta consta de doze espécies estudadas, seus compostos identificados e referências bibliográficas. As estruturas dos compostos químicos isolados do gênero *Peschiera* (*Tabernamontana*) encontram-se ilustradas nas Figuras 3.3 - 3.14 (Págs. 20 - 31).

Tabela 3.1: Espécies de *Peschiera* (*Tabernamontana*) com seus respectivos compostos identificados.

ESPÉCIE	COMPOSTOS IDENTIFICADOS	REFERÊNCIAS
<i>T. divaricata</i>	$\alpha$ -amirina ( <b>10c</b> ), acetato de $\alpha$ -amirina ( <b>7b</b> ), calicosina ( <b>11</b> ), farnisina ( <b>12</b> ), acetato de taraxasterol ( <b>13</b> ), formononetina ( <b>14</b> )	Liang, et al, 2006
<i>T. hystrix</i>	<i>Nb</i> -metilaffinisina ( <b>15</b> ), affinisina ( <b>5a</b> ), affinina ( <b>16</b> ), histrixnina ( <b>17</b> ), ibogamina ( <b>18</b> ), olivacina ( <b>1</b> ), acetato de $\alpha$ -amirina ( <b>7b</b> ), acetato de $\beta$ -amirina ( <b>7a</b> ), acetato de lupeol ( <b>19</b> )	Monnerat, et al, 2005

<sup>†</sup><http://www.sciencedirect.com>

<sup>‡</sup><http://www.webofscience.com>



<i>T. calcarea</i>	coronaridina ( <b>20</b> ), ibogamina ( <b>18</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), 19- <i>epi</i> -voacristina hidroxiiindolenina ( <b>22</b> ), 19- <i>epi</i> -3-oxovoacristina ( <b>23</b> ), 3 <i>R/S</i> -hidroxitabernantina ( <b>24</b> ), isovoacangina ( <b>25</b> ), heyneanina ( <b>26</b> ), isovoacristina ( <b>27</b> ), 11-hidroxicoronaridina ( <b>28</b> ), 19- <i>epi</i> -heyneanina ( <b>29</b> ), 19- <i>epi</i> -voacristina ( <b>30</b> )	Chaturvedula, et al, 2005
<i>T. australis</i>	coronaridina ( <b>20</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), voacangina hidroxiiindolenina ( <b>31</b> ), ibogamina ( <b>18</b> ), ibogaina ( <b>32</b> ), ibogalina ( <b>33</b> ), voachalotina ( <b>34</b> ), affinisina ( <b>5a</b> )	Andrade, et al, 2005
<i>T. divaricata</i>	harmina ( <b>35</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), apparicina ( <b>36</b> ), heyneanina ( <b>26</b> )	Joshi, et al, 2004
<i>T. divaricata</i>	(3 <i>S</i> )-3-cianocoronaridina ( <b>37</b> ), (3 <i>S</i> )-3-cianoisovoacangina ( <b>38</b> ), conolobina A ( <b>39</b> ), conolobina B ( <b>40</b> ), conolidina ( <b>41</b> )	Kam, et al, 2004a
<i>T. divaricata</i>	conoduserina ( <b>42</b> )	Kam, Pang, 2004b
<i>T. divaricata</i>	taberhanina ( <b>43</b> ), voafinina ( <b>44</b> ), <i>N</i> -metilvoafinina ( <b>45</b> ), voafinidina ( <b>46</b> ), voalenina ( <b>47</b> ), ibogaina ( <b>32</b> ), ibogamina ( <b>18</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), pachysifina ( <b>48</b> ), apparicina ( <b>49</b> ), isositsirikina ( <b>50</b> ), voafillina ( <b>51</b> ), voaharina ( <b>52</b> ), (–)-mehranina ( <b>53</b> ), peduncularidina ( <b>54</b> ), voastrictina ( <b>55</b> ), isositsirikina oxindol ( <b>56</b> ), conofillina ( <b>57</b> ), conofolina ( <b>58</b> ), conofillidina ( <b>59</b> )	Kam, Sim, 2003b

<i>T. calcarea</i>	voacangina ( <b>21</b> ), isovoacangina ( <b>25</b> ), coronaridina ( <b>20</b> ), 11-hidroxicoronaridina ( <b>28</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), 19- <i>epi</i> -voacristina ( <b>30</b> ), isovoacristina ( <b>27</b> ), ibogamina ( <b>18</b> ), heyneanina ( <b>26</b> ), 19- <i>epi</i> -heyneanina ( <b>29</b> )	Chaturvedula, et al, 2003
<i>T. corymbosa</i>	conodirinina A ( <b>60</b> )	Kam, Sim, 2003c
<i>T. corymbosa</i>	conodiparina A ( <b>61</b> ), conodiparina C ( <b>62</b> ), conodiparina E ( <b>63</b> )	Kam, Sim, Pang, 2003a
<i>T. corymbosa</i>	19' <i>S</i> -hidroxitabernamina ( <b>64</b> ), 19' <i>R</i> -hidroxitabernamina ( <b>65</b> ), 19'-oxotabernamina ( <b>66</b> )	Kam, Sim 2002a
<i>T. heyneana</i>	15- $\beta$ -stemmadenina ( <b>67</b> )	Grover, et al, 2002
<i>T. corymbosa</i>	vobasonidina ( <b>68</b> ), vobatricina ( <b>69</b> )	Kam, Sim, 2002b
<i>T. corymbosa</i>	19 <i>S</i> -hidroxiibogamina ( <b>70</b> ), 3- <i>oxo</i> -19-epiheyneanina ( <b>71</b> )	Kam, Sim 2002c
<i>P. fuchsiaeifolia</i>	conofaringina ( <b>72</b> ), ibogaina ( <b>32</b> ), tabernantina ( <b>73</b> ), coronaridina ( <b>20</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), affinisina ( <b>5a</b> ), descarbometoxivoacamina ( <b>74</b> ), 12-metoxi- <i>Nb</i> -metilvoachalotina ( <b>75</b> ), voachalotina ( <b>34</b> ), vobasina ( <b>76</b> )	Lepine, et al, 2002
<i>T. heyneana</i>	ervatina ( <b>77</b> ), tabersonina ( <b>78</b> ), coronaridina ( <b>20</b> ), heyneanina ( <b>26</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), hidroxiibogamina ( <b>70</b> ), coronaridina hidroxindolenina ( <b>79</b> )	Srivastava, Singh, Kulshreshtha, 2001
<i>T. corymbosa</i>	voastrictina ( <b>55</b> )	Kam, sim, Lim, 2001

<i>T. laeta</i>	<i>Nb</i> -metilvoachalotina ( <b>80</b> ), tabernamina ( <b>81</b> ), coronaridina ( <b>20</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), acetato de $\alpha$ -amirina ( <b>7b</b> ), acetato de $\beta$ -amirina ( <b>7a</b> ), acetato de lupeol ( <b>19</b> ), acetato de taraxasterol ( <b>13</b> ), $\beta$ -sitosterol ( <b>82</b> )	Medeiros, et al, 2001
<i>T. penduliflora</i>	10-hidroxicoronaridina ( <b>83</b> ), voacangina ( <b>21</b> )	Masuda, et al, 2000
<i>T. corymbosa</i>	tronocarpina ( <b>84</b> )	Kam, 2000
<i>P. fuchsiaefolia</i>	conofaringina ( <b>72</b> ), coronaridina ( <b>20</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), voachalotina ( <b>34</b> ), vobasina ( <b>76</b> ), affinisina ( <b>5a</b> ), 16- <i>epi</i> -affinina ( <b>85</b> ), <i>Nb</i> -metilaffinisina ( <b>15</b> ), 12-metoxi- <i>Nb</i> -metilvoachalotina ( <b>75</b> ), ibogamina ( <b>18</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), heyneanina ( <b>26</b> ), 3-hidroxicoronaridina ( <b>86</b> ), tabernamina ( <b>81</b> ), ervahanina A ( <b>87</b> ), fuchsiaefolina ( <b>88</b> )	Federici, et al, 2000
<i>T. catharinensis</i>	coronaridina ( <b>20</b> ), coronaridina hidroxindolenina ( <b>79</b> ), voacangina hidroxindolenina ( <b>31</b> ), heyneanina ( <b>26</b> ), vobasina ( <b>76</b> )	Pereira, et al, 1999
<i>T. corymbosa</i>	tronoharina ( <b>89</b> )	Kam, Sim, Lim, 1999a
<i>T. bovina</i>	tabernaemontabovina ( <b>90</b> ) tabernaemontavina ( <b>91</b> )	Ripperger, et al, 1999
<i>T. corymbosa</i>	dippinina A ( <b>92</b> )	Kam, Sim, 1999b
<i>T. bovina</i>	isovoacristina ( <b>27</b> ), tabernaebovina ( <b>93</b> ), metilenebismehranina ( <b>94</b> )	Lien, et al, 1998a
<i>T. bovina</i>	3-oxomehranina ( <b>95</b> ), (-)-mehranina ( <b>53</b> ), hecubina ( <b>96</b> ), ibogaina ( <b>32</b> ), ibogalina ( <b>31</b> ), 20-hidroxiconofaringina ( <b>97</b> ), conofolina ( <b>58</b> )	Lien, et al, 1998b

<i>T. corymbosa</i>	voacangina ( <b>21</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), tabernaemontanina ( <b>98</b> ), dregamina ( <b>99</b> ), ervatamina ( <b>100</b> ), 20-epiervatamina ( <b>101</b> )	Takayama, et al, 1998
<i>T. cymosa</i>	coronaridina ( <b>20</b> ), voacangina ( <b>21</b> ), tabersonina ( <b>78</b> ), stemmadenina ( <b>102</b> ), ácido ( <i>Z,Z</i> )-9,12-octadecadienóico ( <b>103</b> ), lupeol ( <b>104</b> ), voacristina ( <b>4</b> ), heyneanina ( <b>26</b> ), condilocarpina ( <b>105</b> ), tetrahidroalstonina ( <b>106</b> ), isositsirikina ( <b>50</b> ), sweroside ( <b>107</b> ), (+)-lyoniresinol ( <b>108</b> ), obtusifoliol ( <b>109</b> ), <i>N</i> -óxido-tabersonina ( <b>110</b> ), 3-oxotabersonina ( <b>111</b> ), <i>N</i> -óxido-stemmadenina ( <b>112</b> ), 10-hidroxicoronaridina ( <b>83</b> ), (+)-3 $\alpha$ - <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)lyoniresinol ( <b>113</b> ), (-)-3 $\alpha$ - <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)lyoniresinol ( <b>114</b> ), (-)-3 $\alpha$ -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)-5'-metoxiisolariciresinol ( <b>115</b> ), (+)-8,8'-dimetoxi-1- <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)secoisolariciresinol ( <b>116</b> ), (-)-2 $\alpha$ - <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)lyoniresinol ( <b>117</b> ), (+)-5,5'-dimetoxi-9- <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)lariciresinol ( <b>118</b> ), 9-( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosiloxi)tetrahidroalstonina ( <b>119</b> ), ácido 3- <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)-5- <i>O</i> -metilgálico ( <b>120</b> ), cloreto de 4-clorometilstemmadenínio ( <b>121</b> ), 5,5'-dimetoxi-9- <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)lariciresinol hexaacetato ( <b>122</b> ), ácido 3- <i>O</i> -( $\beta$ - <i>D</i> -glucopiranosil)-5- <i>O</i> -metilgálico pentaacetato ( <b>123</b> )	Achenbach, Benirschke, Torrenegra, 1997

De acordo com a tabela acima, o levantamento mostrou a presença dos alcalóides indólicos nas 12 espécies deste gênero no período de 1996-2007, perfazendo um total de 119

compostos isolados incluindo terpenóides, esteróides, flavonóides, lignanas e alcalóides, observando-se, entretanto, a maior predominância de alcalóides.

A espécie que apresentou maior ocorrência de alcalóides indólicos foi a *T. divaricata* com 30 alcalóides seguida em ordem decrescente por *T. fuchsiaefolia* com 25 e *T. corymbosa* com 19.

### 3.4 Alcalóides de *Peschiera affinis*

Com o levantamento bibliográfico realizado sobre alcalóides do gênero *Peschiera* (*Tabernaemontana*), foram encontrados poucos relatos sobre *Peschiera affinis*. Destes têm-se registro de alcalóides do tipo piridocarbazólico como a olivacina (**1**), e indólicos do tipo iboga como: 19-*epi*-voacristina (**30**), kimvulina ou iboxigaina (**5b**), (–)-coronaridina (**20**), (–)-voacangina (**21**), (–)-voacangarina ou voacristina (**4**), 19-*epi*-heyneanina (**29**), 19-hidroxiibogamina (**124**), indólico do tipo sarpagina como: affinisina (**5a**), indólico do tipo vobasina como (–)-vobasina (**76**) e os terpenóides: (+)-lupeol (**104**), (+)- $\beta$ -amirina (**125**) e acetato de lupeol (**19**) (Figs. 3.3 - 3.15) (LEMOS, et al, 1996; WOLTER-FILHO, et al, 1985; MATOS, et al, 1976; CAVA, et al, 1964; WEISBACH, 1963).

No presente reestudo, a partir do espécime coletado em Fortaleza, usando as raízes como material botânico, foram isolados nove alcalóides, sendo quatro do tipo piridocarbazólico e cinco indólicos do tipo iboga além de uma mistura dos acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina. Na Figura 1.2 (Pág. 4) são encontrados tais compostos.

Os alcalóides com esqueleto piridocarbazol chamados de peschienina (**2**), *N*-hidroxipeschienina (**3**) e o isovoacristina hidroxindolenina (**8**), alcalóide indólico do tipo iboga são substâncias novas e o *N*-óxido olivacina (**6**) e a mistura dos terpenos acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina (**7b,7a**) estão sendo reportados pela primeira vez na espécie.

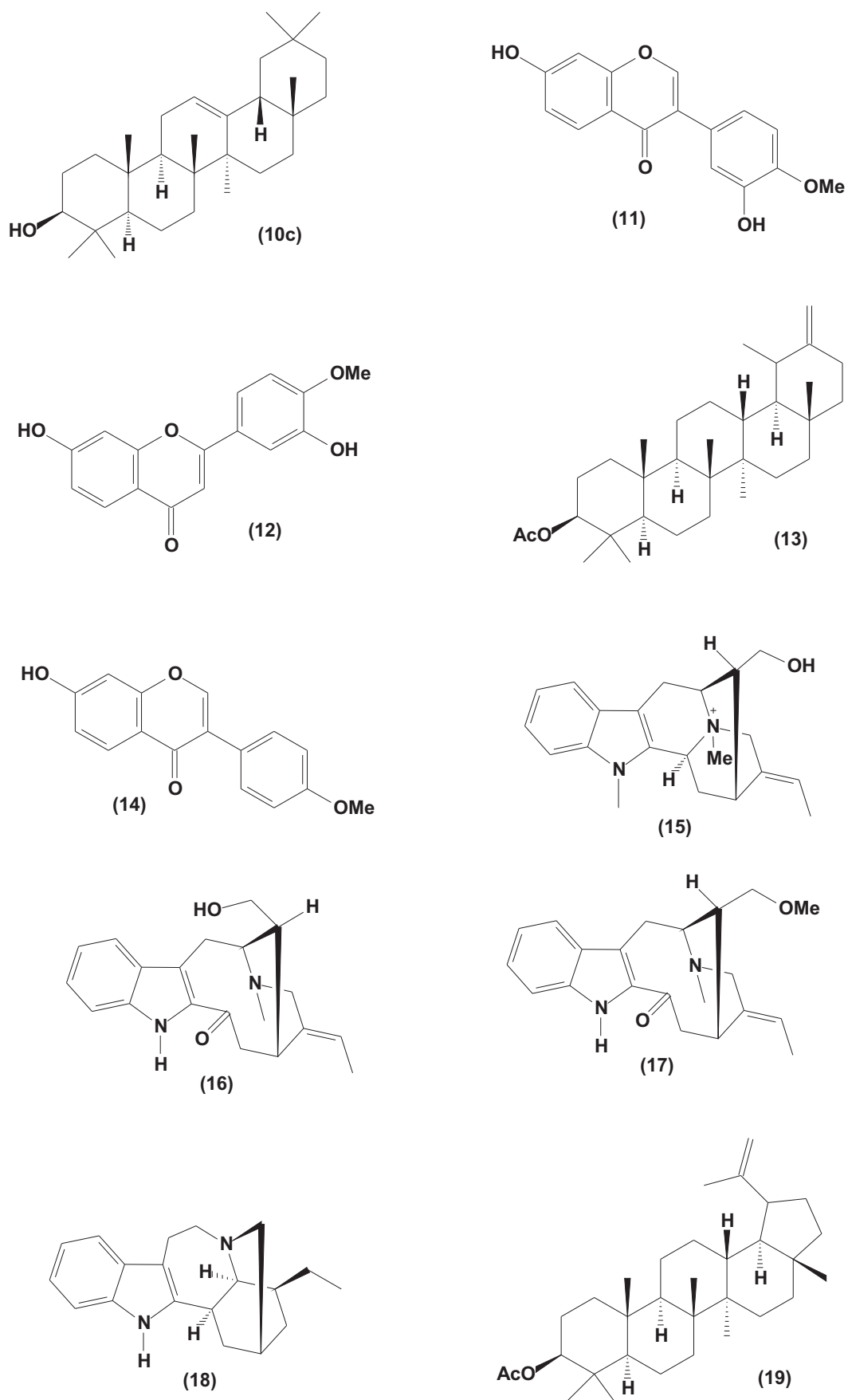


Figura 3.3: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (10c - 19)

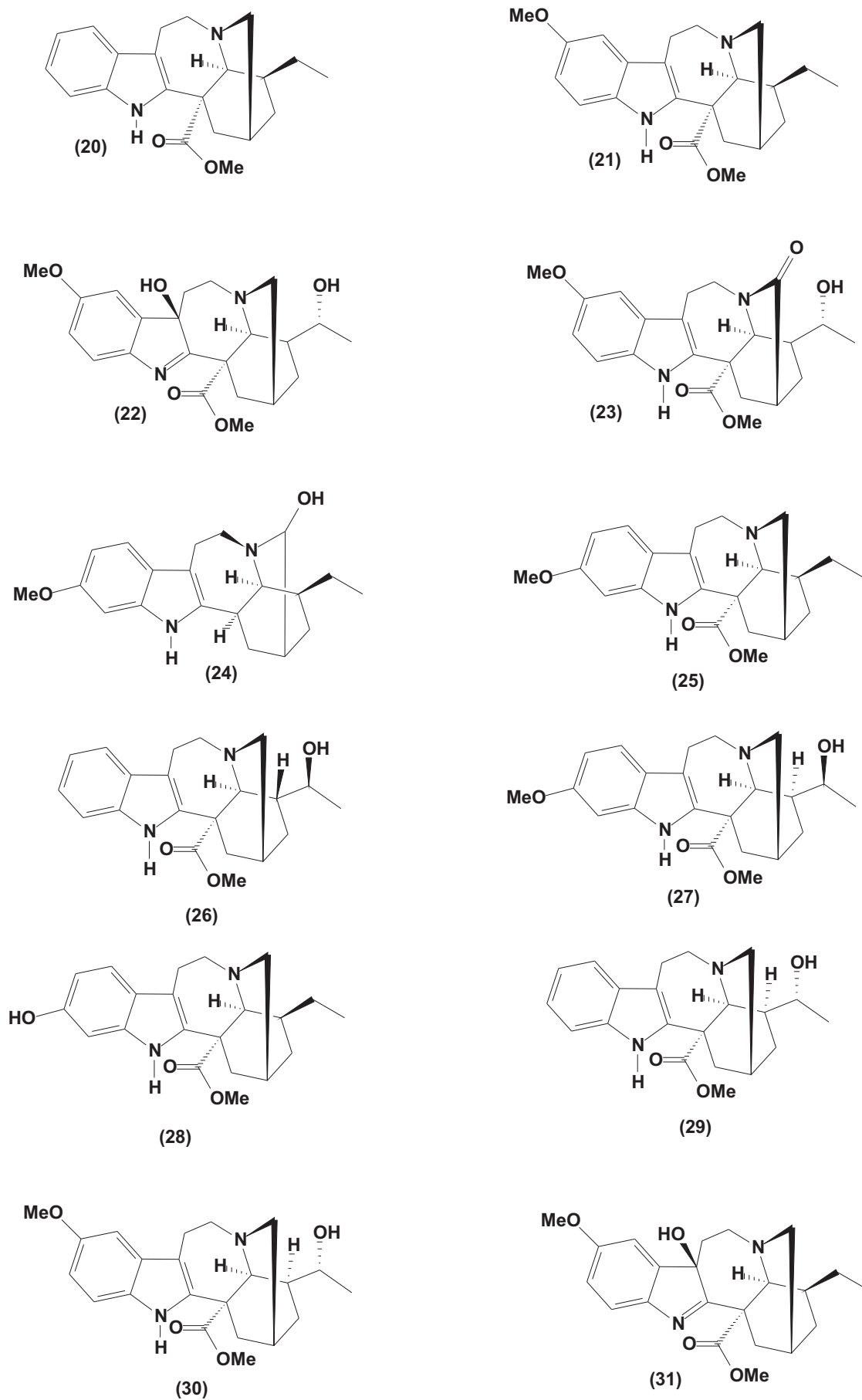


Figura 3.4: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (20 - 31)

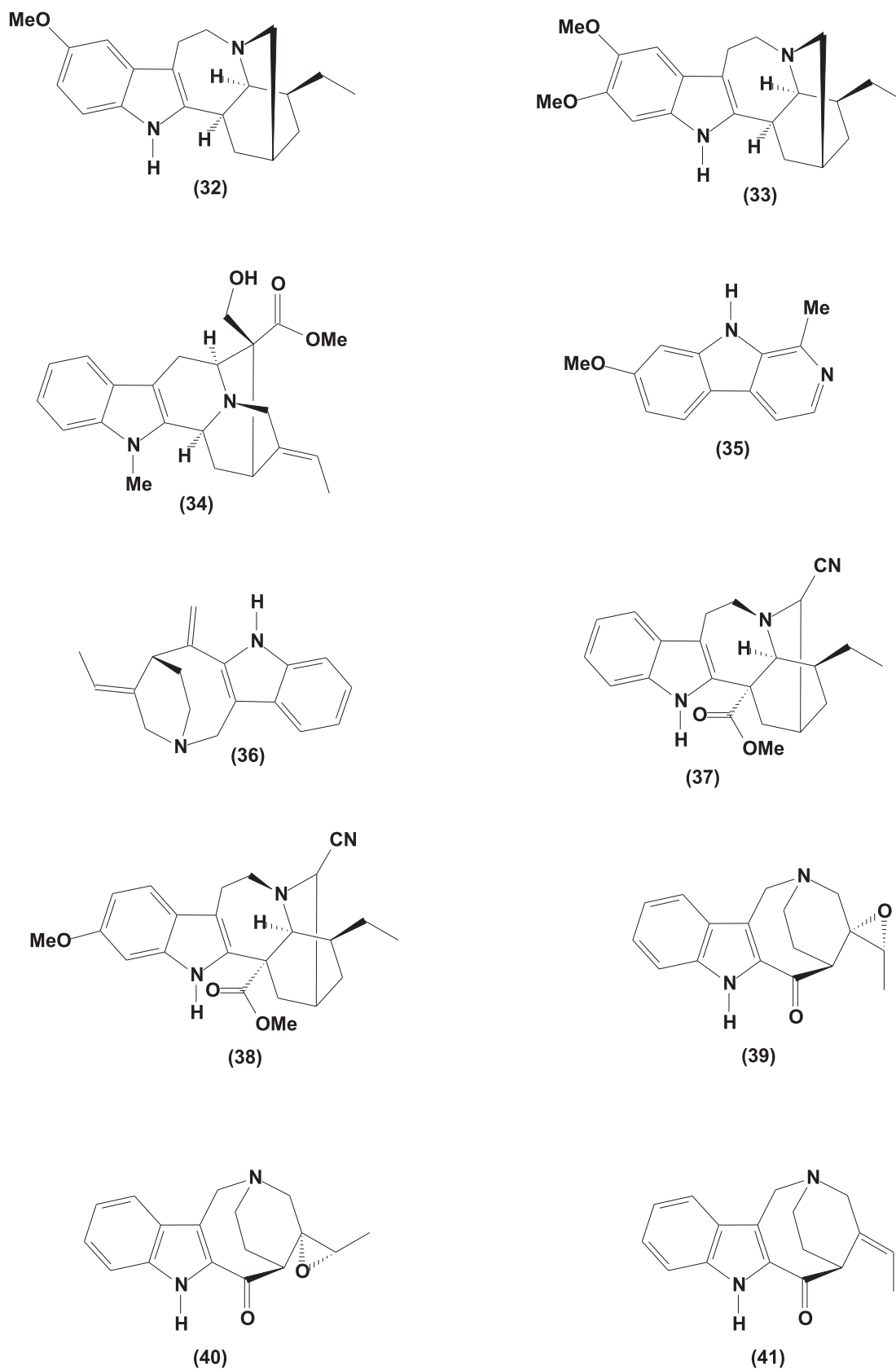


Figura 3.5: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera (Tabernaemontana)* (32 - 41)



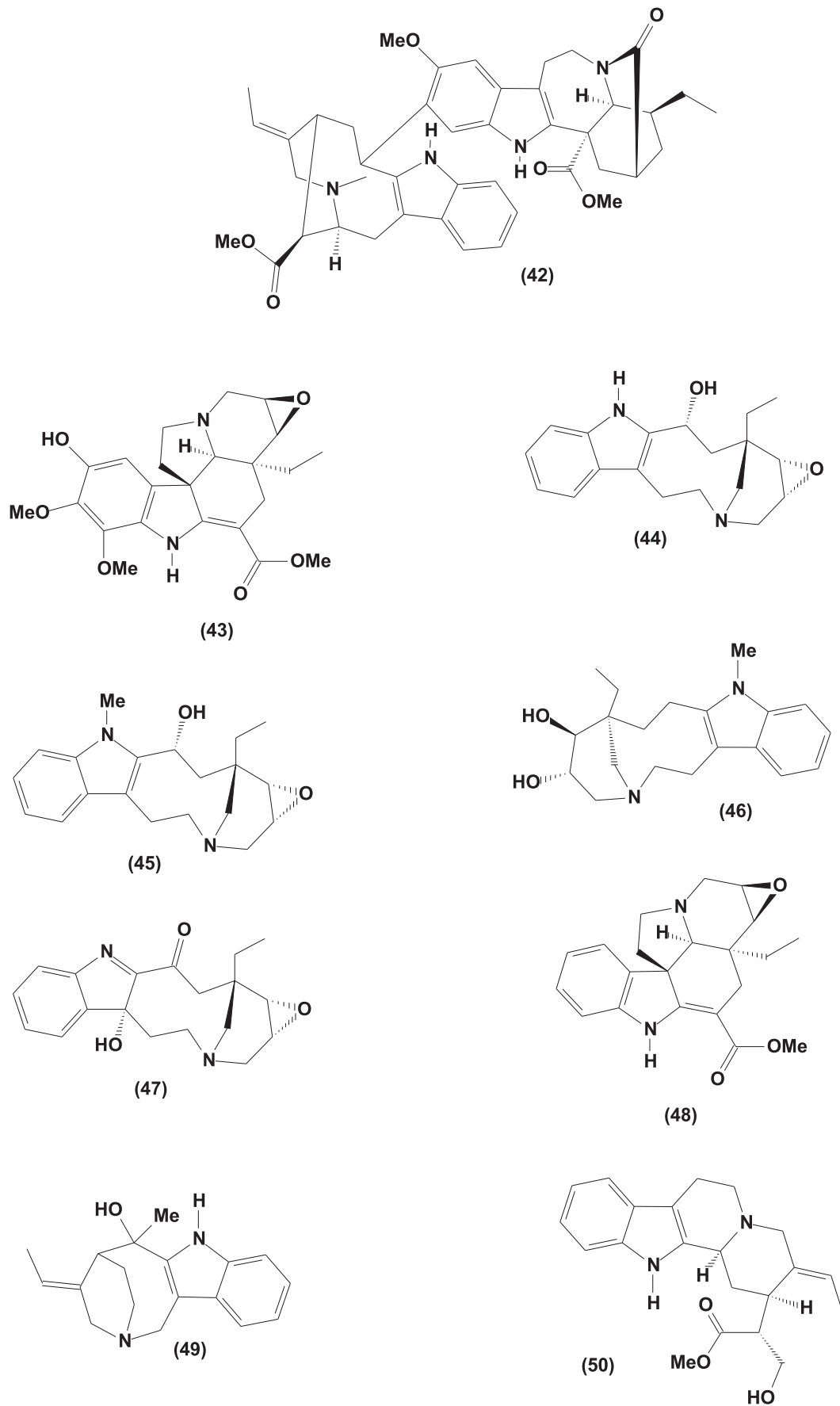


Figura 3.6: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera (Tabernaemontana)* (42 - 50)

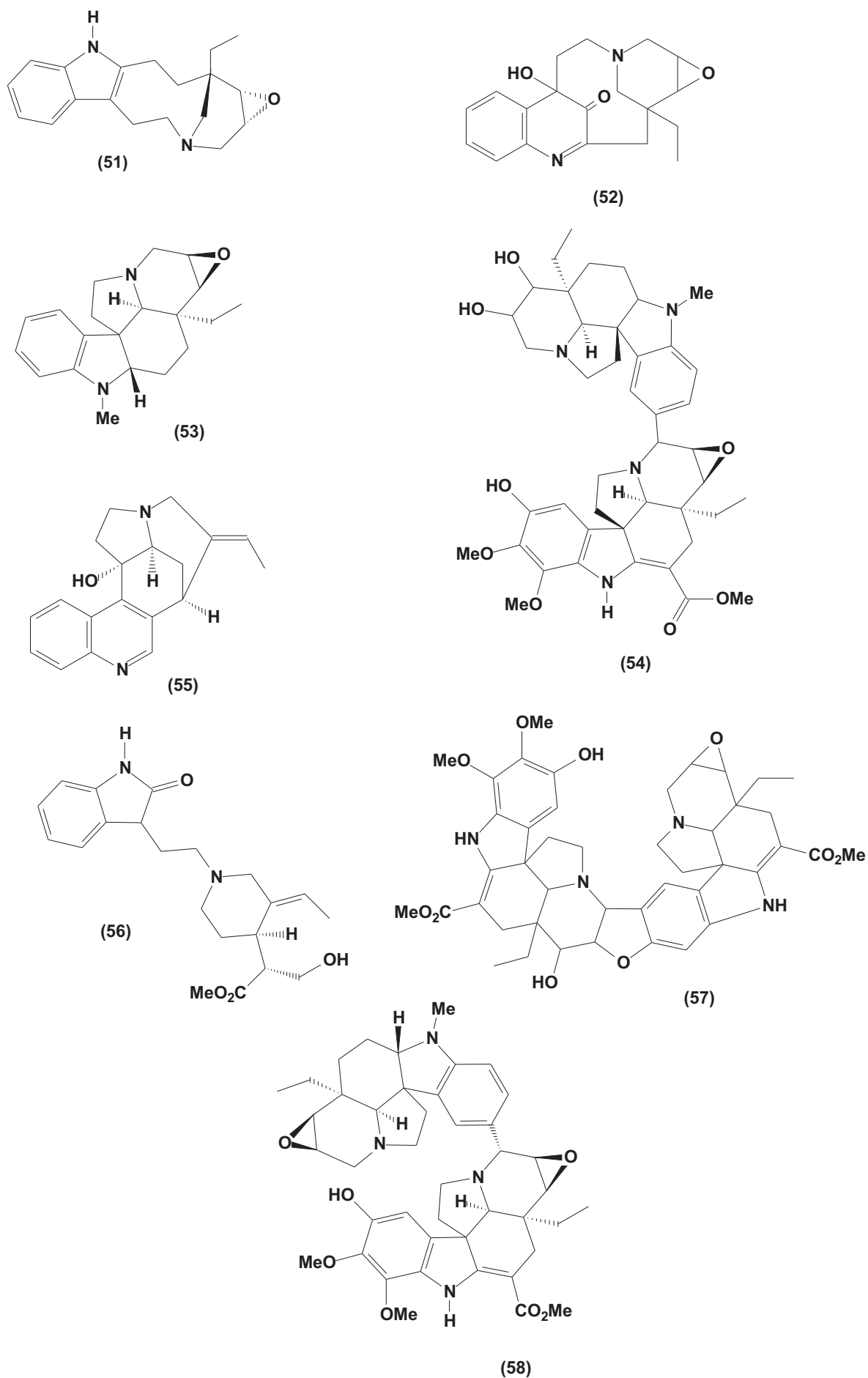


Figura 3.7: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera (Tabernaemontana)* (51 - 58)

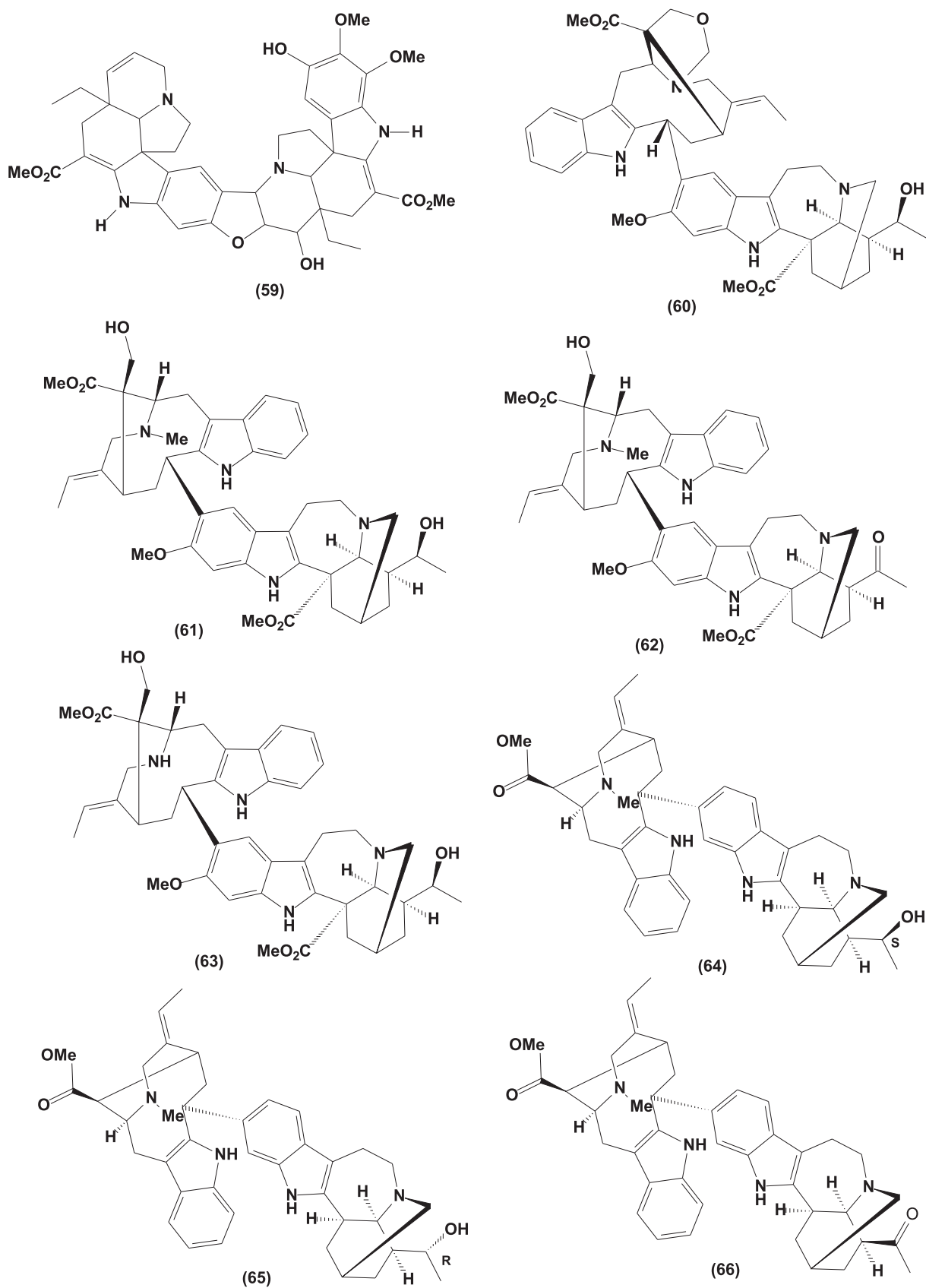


Figura 3.8: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (59 - 66)

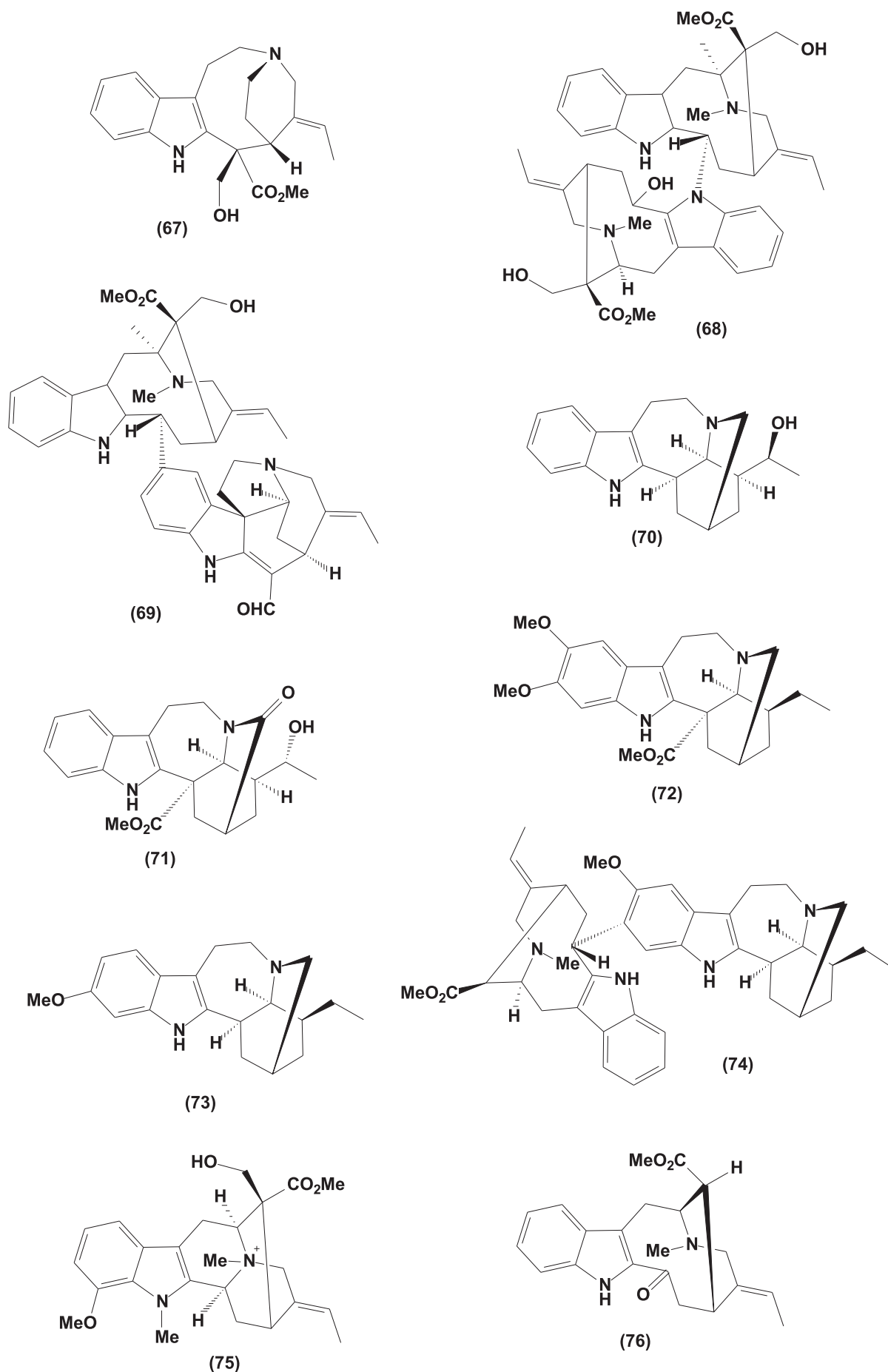


Figura 3.9: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (67 - 76)

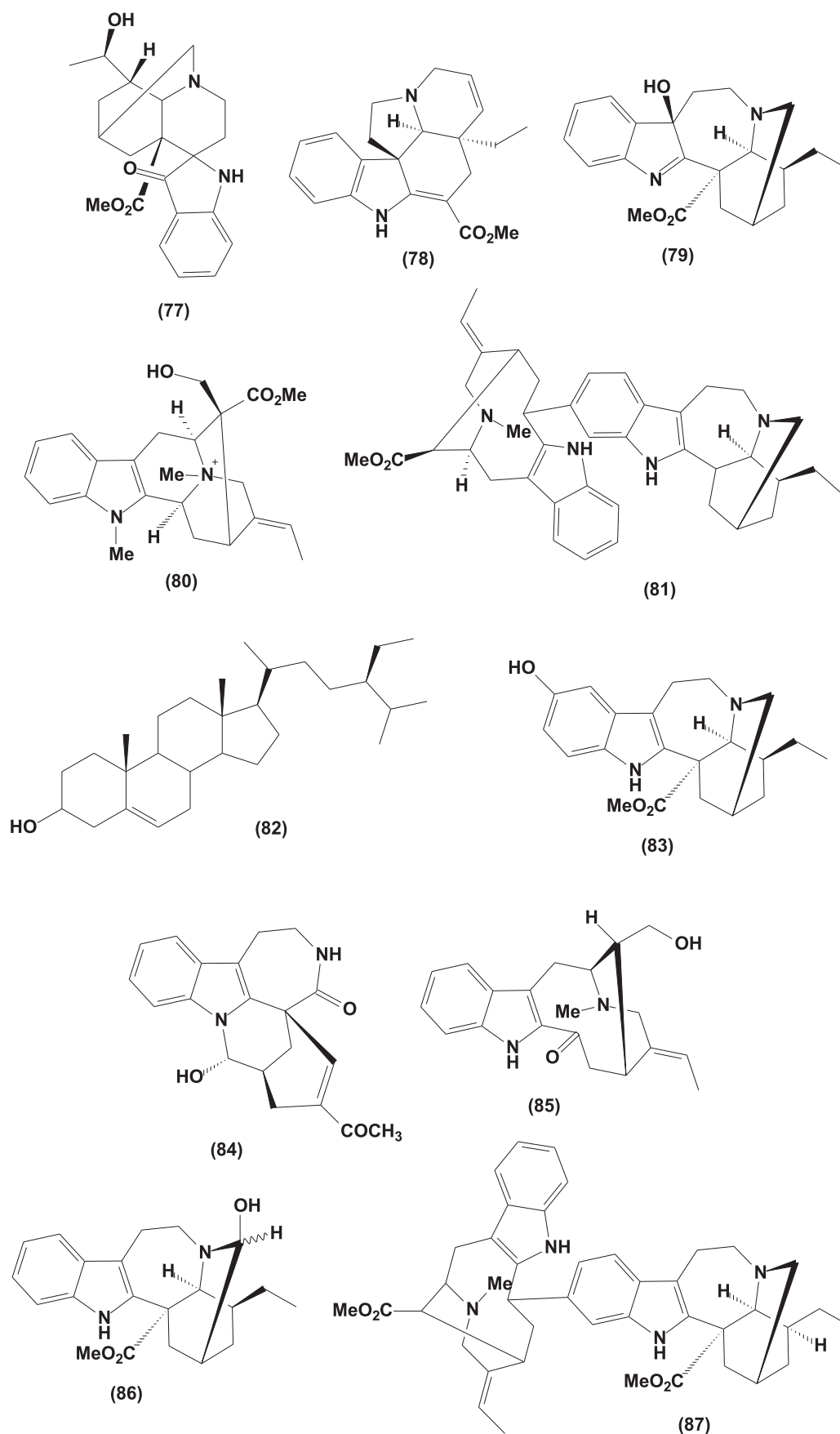


Figura 3.10: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (77 - 87)

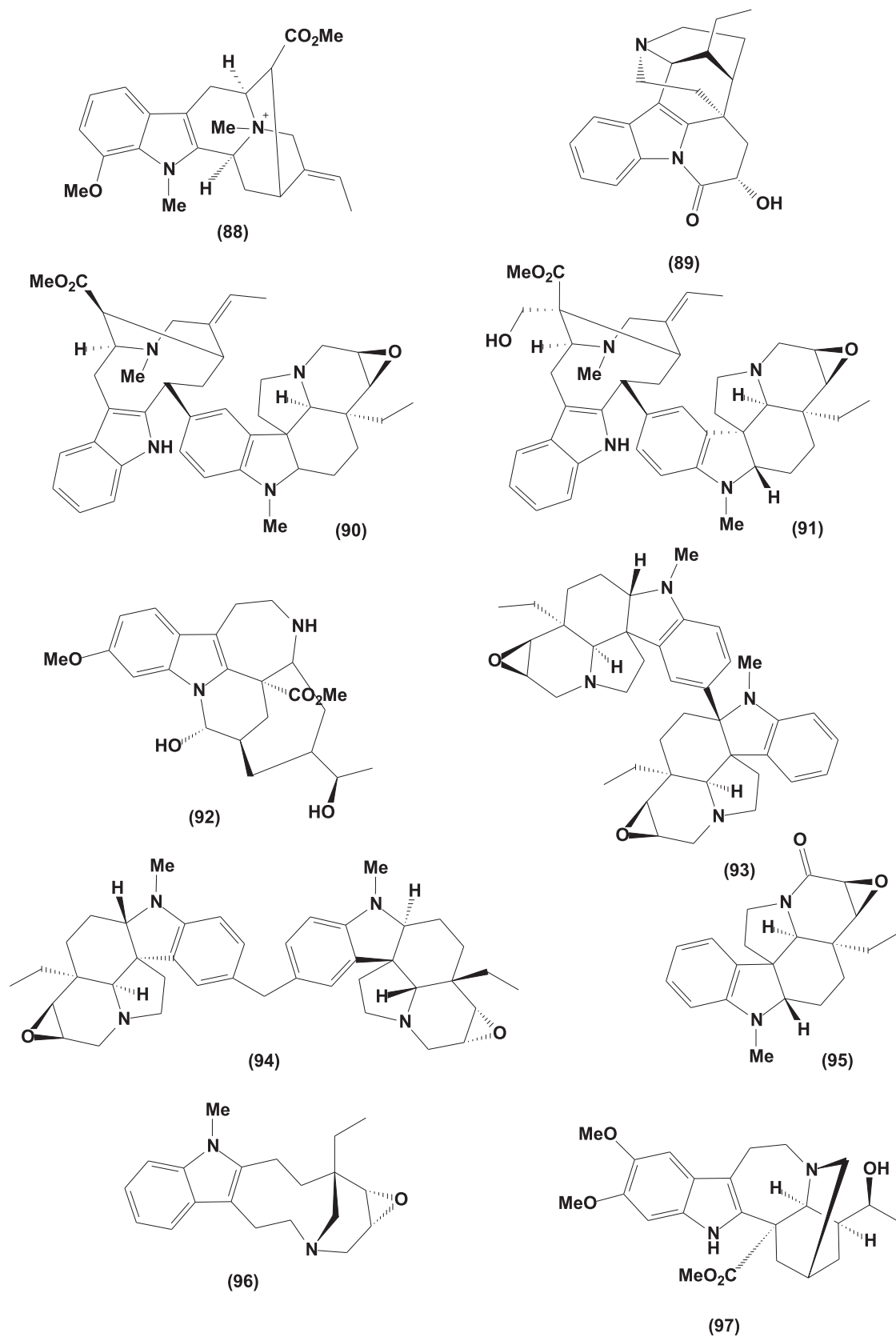


Figura 3.11: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (88 - 97)

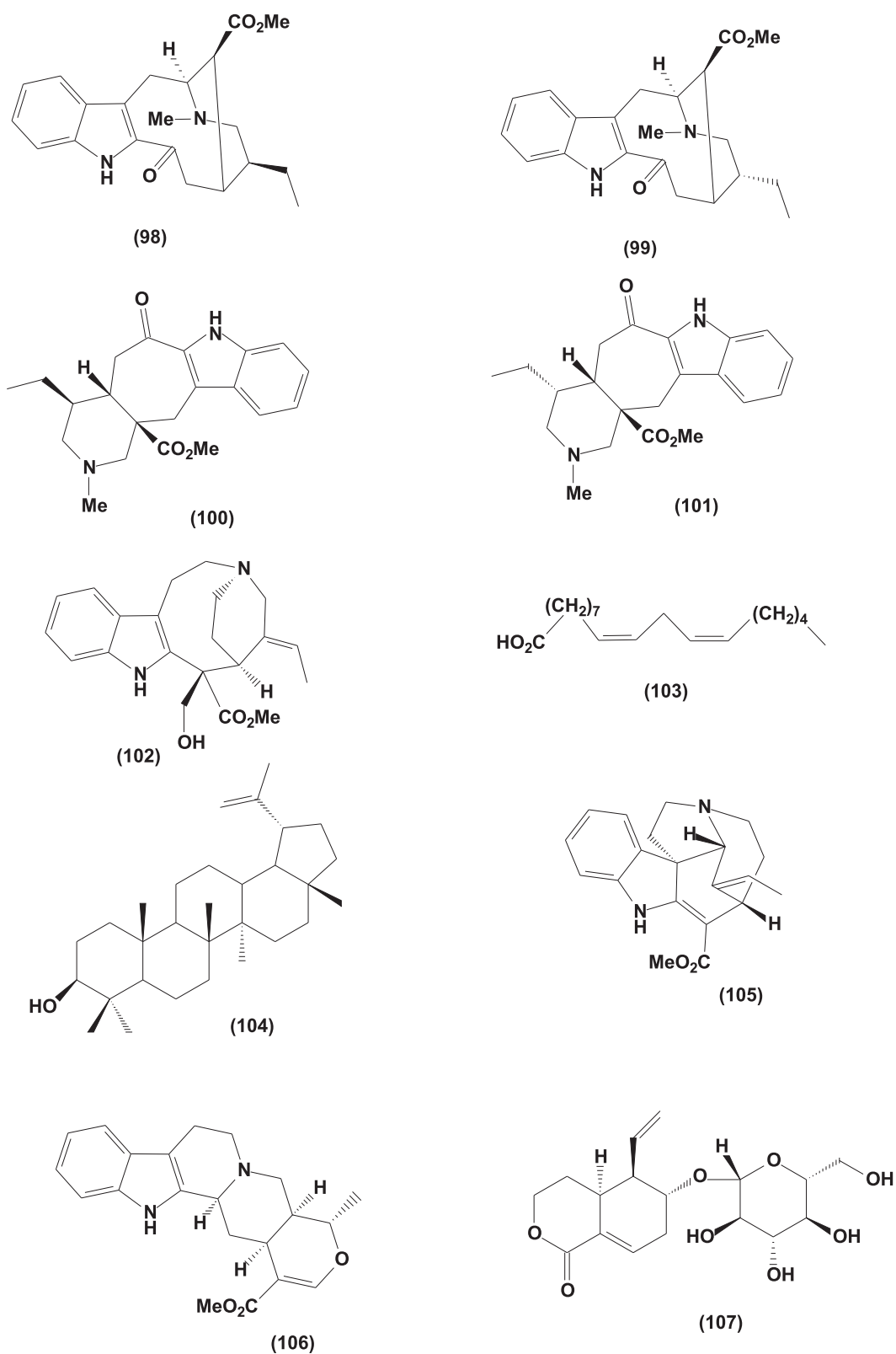


Figura 3.12: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (98 - 107)

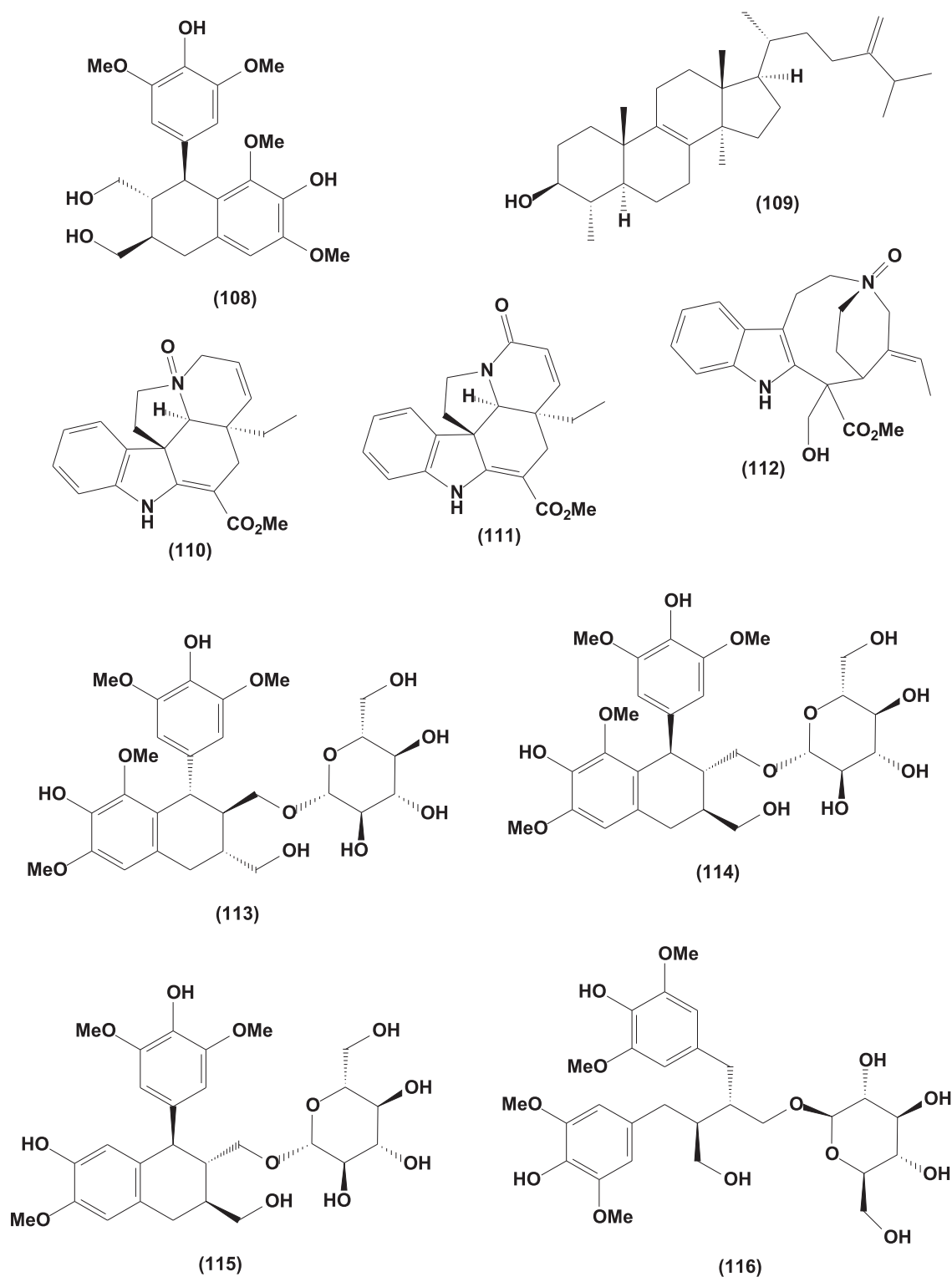


Figura 3.13: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (108 - 116)



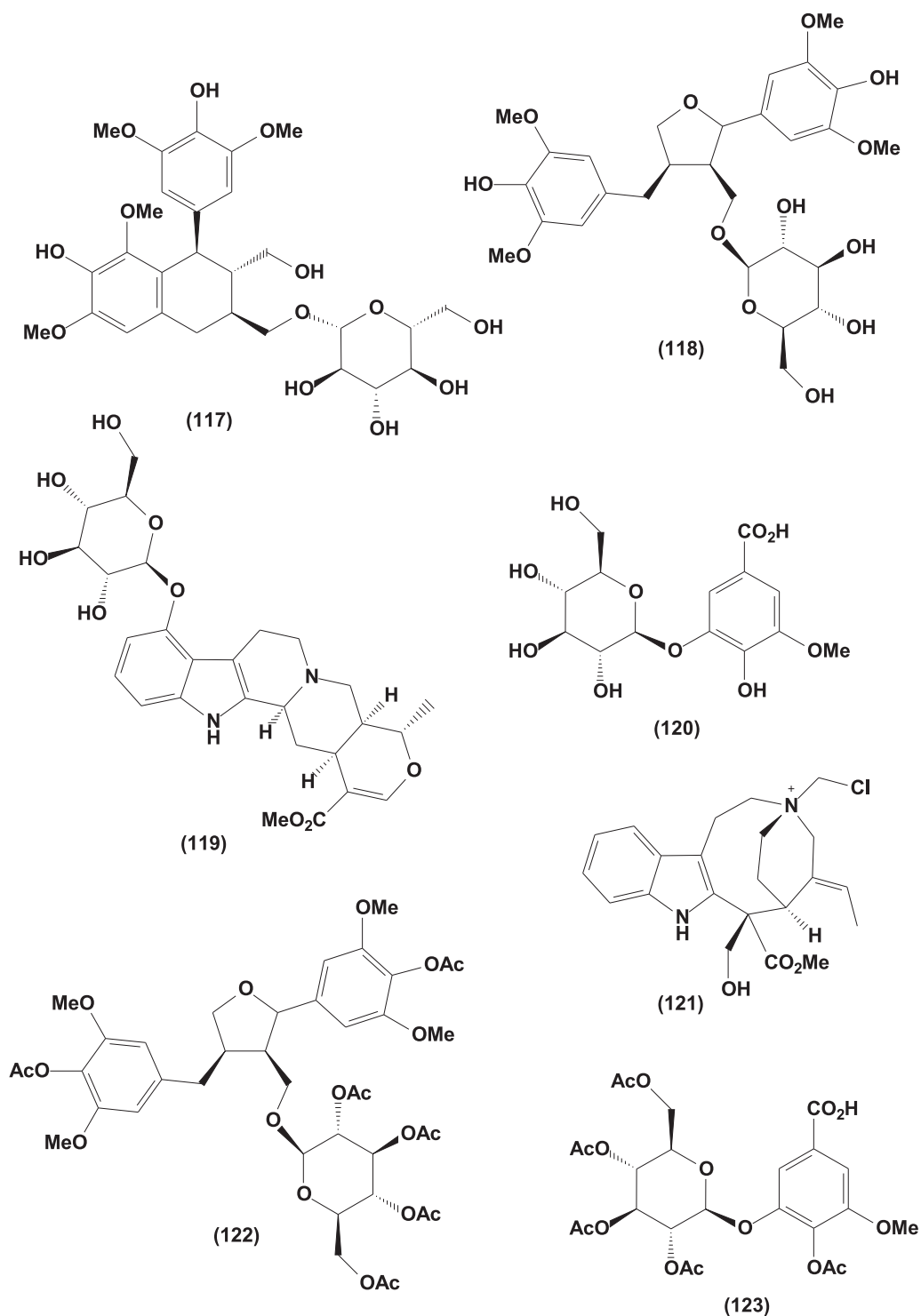


Figura 3.14: Estruturas dos compostos identificados em *Peschiera* (*Tabernaemontana*) (117 - 123)

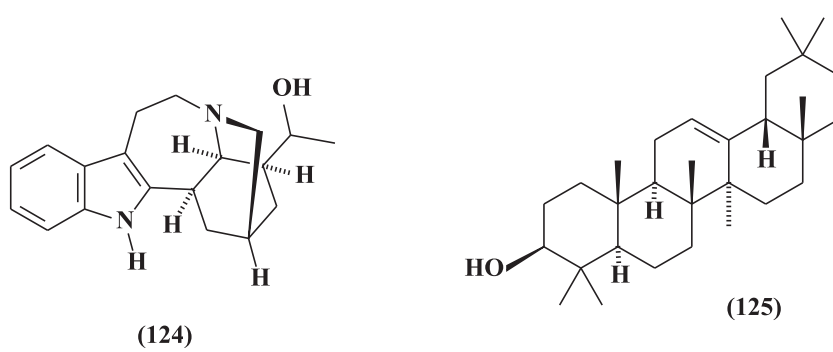


Figura 3.15: Estruturas dos compostos 124 e 125 identificados em *Peschiera affinis*

# Capítulo 4

## Determinação Quantitativa da Olivacina por CLAE

“Nenhuma mente que se abre para uma nova idéia voltará a ter o tamanho original.”

Albert Einstein

### 4.1 Introdução

**A**olivacina (1,5-dimetil-6*H*-pirido[4,3-*b*]carbazole) é um composto pertencente ao grupo de alcalóides denominado piridocarbazol. Ela foi primeiramente isolada da casca do caule de *Aspidosperma olivaceum* e tem sido procurada por possuir significativa atividade antitumoral similar ao seu isômero, *ellipticina*, e compostos como 9-*metoxiellipticina* (Fig. 4.1, Pág. 34) (HAIDER, SOTELO, 2002).

Devido ao fato da olivacina ser um importante alcalóide e apresentar atividade biológica contra o câncer, foi proposto neste trabalho quantificar este alcalóide nos extratos etanólicos das raízes e caule de *Peschiera affinis*. O método de quantificação foi realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência se desenvolveu muito nos últimos anos, recebendo o nome de cromatografia líquida porque a sua fase móvel é um solvente. A

CLAE utiliza instrumentos muito sofisticados que podem ser totalmente automatizados. É um tipo de cromatografia líquida que emprega colunas recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (COLLINS, BRAGA, BONATO, 1997).

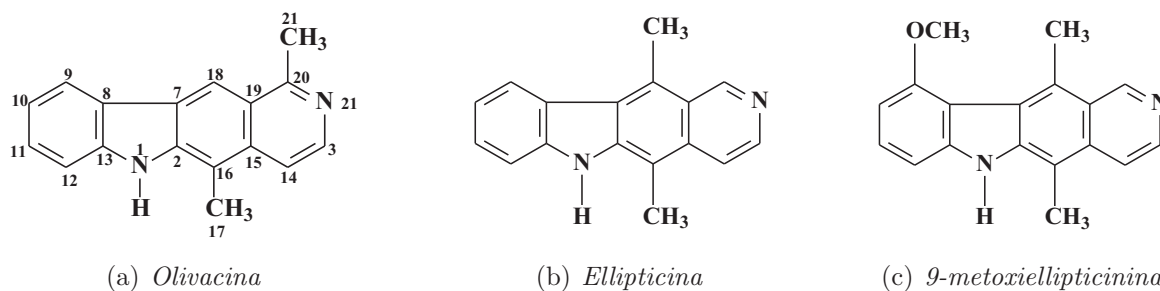


Figura 4.1: Olivacina, Ellipticina e 9-metoxiellipticina

## 4.2 Quantificação do alcalóide olivacina nas raízes e caule de *Peschiera affinis* por CLAE

A facilidade de obtenção de olivacina no extrato etanólico das raízes (fração alcalóidica), aliada a sua grande importância biológica, nos motivou a identificar o teor desta substância nas raízes. Apesar da olivacina não ter sido detectada no extrato etanólico do caule (fração alcalóidica) por processos cromatográficos clássicos, porém através de comparação em CCD, pode-se verificar a sua presença e desta forma foi também interessante quantificá-la nesta fração.

Este estudo foi realizado por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna atuando de modo reverso (C-18) 250×4,60 mm e 5μ de diâmetro (modelo OOG-4252), com eluição isocrática. O comprimento de onda ideal foi determinado por análise em ultravioleta na região do visível, onde obteve-se a maior absorvância no comprimento de 295 nm fazendo-se uso de uma curva padrão de calibração pelo método

do padrão externo. A escolha do solvente foi feita após análise criteriosa de uma série de eluentes, tendo sido selecionado MeOH como o melhor solvente. O solvente utilizado foi filtrado em membranas especiais e em seguida degaseificado. Após escolhido o solvente foram feitas várias injeções para determinar o fluxo ideal, sendo encontrado o valor de 0,5 mL/min. Para todas as medidas foram feitas injeções de 20 µL de concentrações conhecidas do padrão e das frações alcaloídicas dos extratos etanólicos das raízes e do caule.

### 4.3 Análise Quantitativa

A análise de uma amostra com o objetivo de quantificar os seus constituintes por cromatografia líquida de alta eficiência requer a elaboração inicial de uma curva de calibração, cujas amostras contenham concentrações conhecidas do analito. Para a quantificação da olivacina segundo o método do padrão externo, obteve-se inicialmente a curva de calibração por meio de injeção da solução padrão em concentração de 50, 40, 30, 20 e 10 ppm. As amostras na mesma concentração foram injetadas três vezes e utilizou-se a média aritmética das áreas de cada pico para a elaboração da curva padrão de calibração. Depois foi feita a injeção de alíquotas de cada extrato.

A Figura 4.2 registra o gráfico de calibração linear obtido por meio das áreas dos picos (Y) versus a concentração injetada em ppm (X) de olivacina, onde a equação de regressão  $Y = a + b \cdot X$  é  $Y = 8210,1 + 1504,03 \cdot X$ , tempo de retenção  $T_r = 7,5$  min e o coeficiente de correlação linear é  $r^2 = 0,99577$ , cujo valor próximo da unidade justifica a relação de linearidade da curva obtida.

A Figura 4.3 (Pág. 37) mostra o cromatograma do extrato etanólico das raízes de *Peschiera affinis*. Para determinar o pico referente à olivacina, uma amostra desta substância na concentração de 1000 ppm foi adicionada ao extrato etanólico (fração alcaloídica) das raízes na concentração de 45 ppm, filtrada e injetada sob as mesmas condições observando um aumento de intensidade no pico com  $T_r = 7,5$  min identificado como a olivacina (Fig. 4.4, Pág. 37).

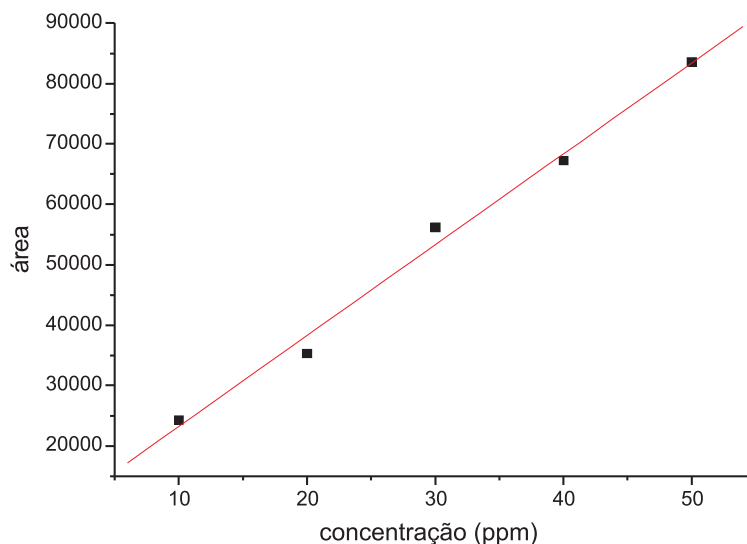


Figura 4.2: Curva analítica da olivacina

Para determinar o pico referente a olivacina no extrato de caule de *Peschiera affinis*, desenvolveu-se o mesmo procedimento descrito para a raiz. A Figura 4.5 (Pág. 38) mostra o cromatograma do caule de *Peschiera affinis*.

A quantificação da olivacina no extrato etanólico das raízes foi feita tomando-se como base a área dos picos obtidos dos padrões externos, cujo resultado mostra uma relação linear evidenciada pelo coeficiente de correlação próximo a unidade. A determinação da concentração de olivacina nesta fração alcaloídica é de 56,81 ppm indicando que 5,7% da fração alcaloídica corresponde à olivacina. Este pico de 7,5 minutos foi comprovado com a dopagem do padrão.

No extrato etanólico do caule a quantificação da olivacina foi feita semelhante à metodologia descrita para a raiz, tomando-se como base a área dos picos obtidos dos padrões externos, cujo resultado mostra uma relação linear evidenciada pelo coeficiente de correlação próximo a unidade. A determinação da concentração de olivacina nesta fração é de 8,34 ppm indicando que 0,8% da fração alcaloídica corresponde a olivacina. Este pico de 7,5 minutos foi comprovado com a dopagem do padrão (Fig. 4.6, Pág. 38).

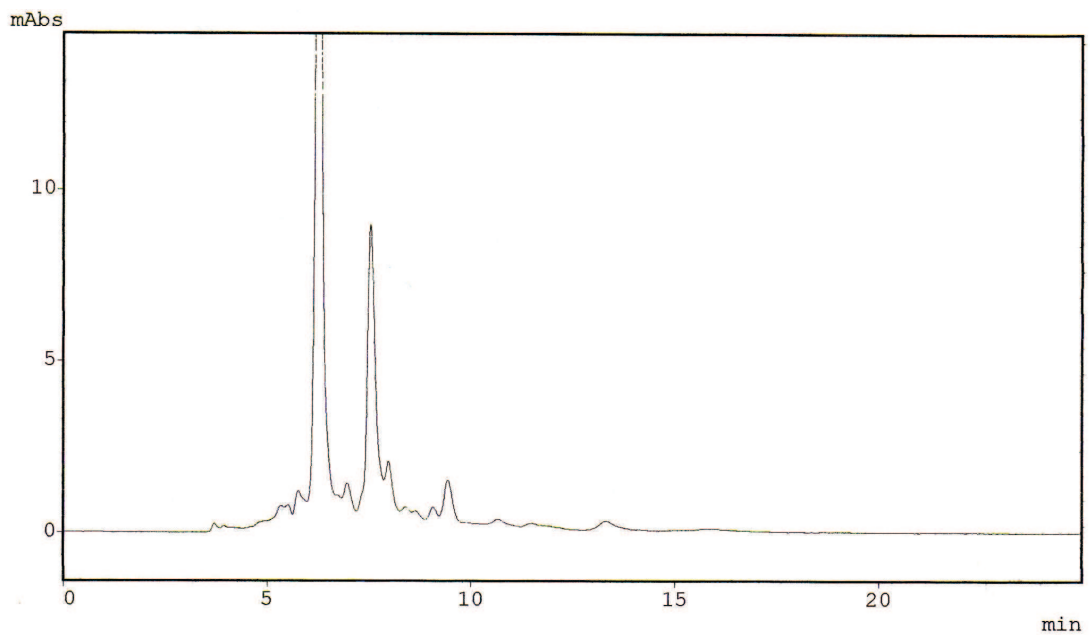


Figura 4.3: Cromatograma do extrato etanólico das raízes de *P. affinis* (45 ppm) em CLAE

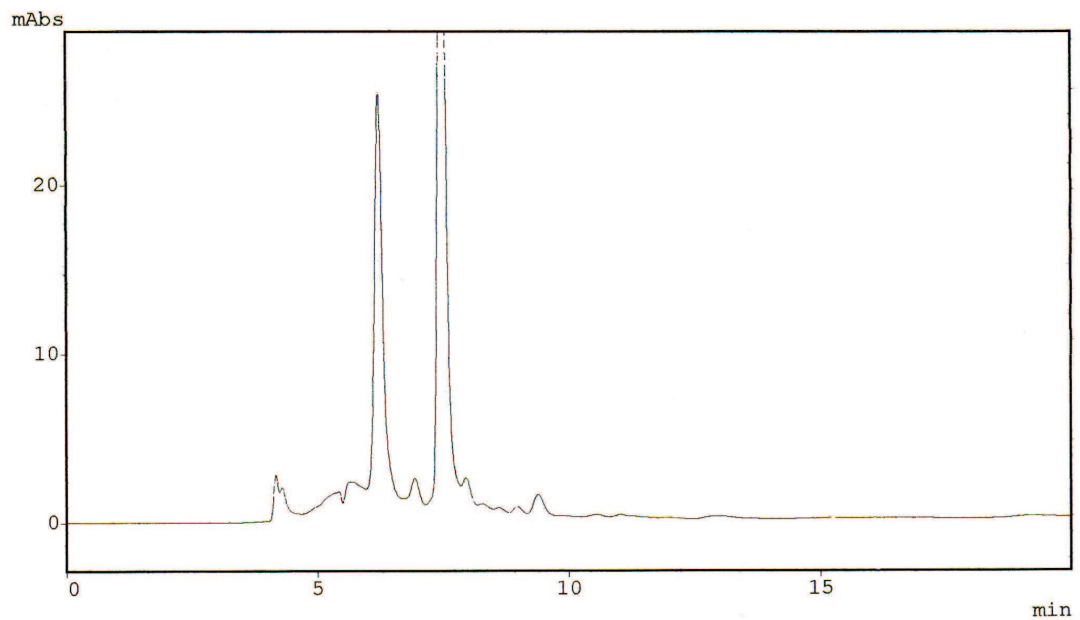


Figura 4.4: Cromatograma do extrato etanólico das raízes de *P. affinis* (45 ppm) após adição de olivacina (1000 ppm) em CLAE

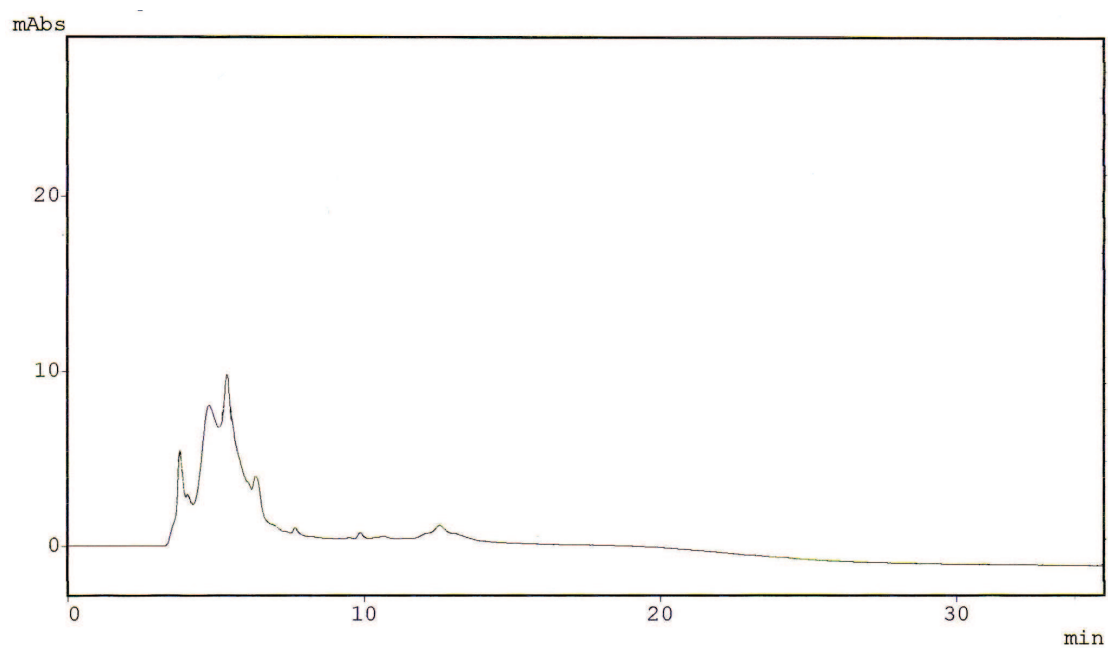


Figura 4.5: Cromatograma do extrato etanólico do caule de *P. affinis* (45 ppm) em CLAE

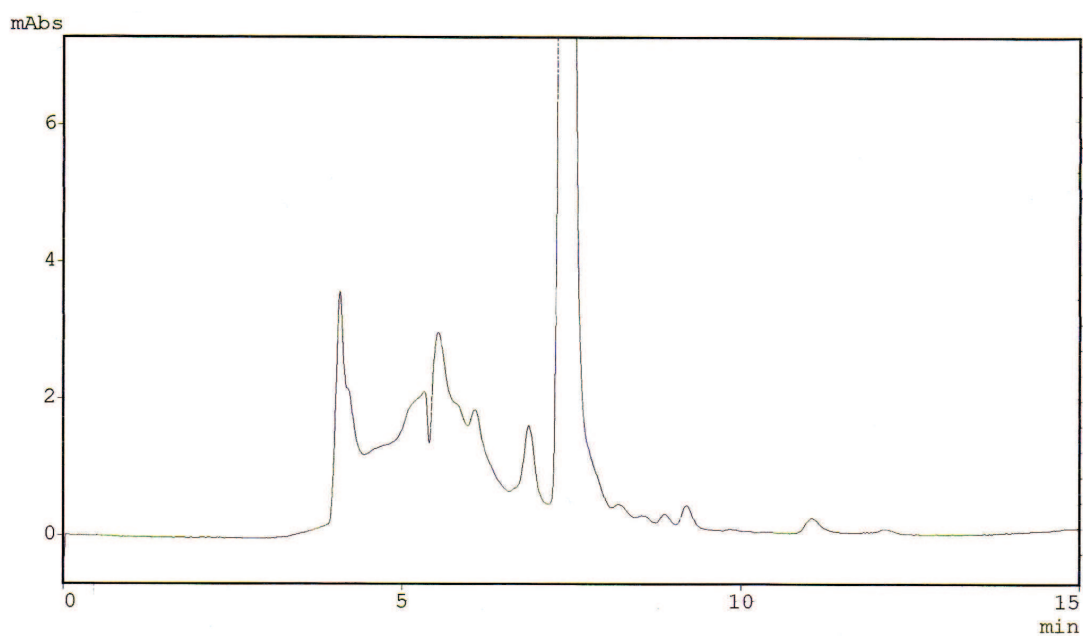


Figura 4.6: Cromatograma do extrato etanólico do caule de *P. affinis* (45 ppm) após adição de olivacina (1000 ppm) em CLAE



## Capítulo 5

# Atividade Antioxidante de *Peschiera affinis*

*“Nenhum vento sopra a favor de quem não sabe para onde ir.”*

Sêneca

### 5.1 Introdução

**A**s células do nosso corpo estão constantemente sujeitas à danos tóxicos pela formação de radicais livres. Esses radicais livres são provenientes da oxidação da membrana celular, responsáveis pela ocorrência de diversas enfermidades e processos degenerativos do organismo humano (STELLA, 2003).

Alguns nutrientes, naturalmente presentes ou adicionados nos alimentos, possuem propriedade antioxidante. O termo antioxidante é utilizado para denominar a função de proteção celular contra os efeitos danosos dos radicais livres (STELLA, 2003).

São vários os nutrientes que têm essa ação no organismo. Entre eles estão os carotenóides, as vitaminas C e E. Para que saibamos um pouco mais sobre antioxidantes, a Tabela 5.1 mostra alguns nutrientes e suas atividades.

Tabela 5.1: Nutrientes que apresentam propriedades antioxidantes, atividades e suas fontes.

NUTRIENTE	ATIVIDADES	FONTES ALIMENTARES
Vitamina C	Eficiente fotoprotetor da pele; Aumento da atividade imunológica; Prevenção de câncer de estômago e de pulmão.	Acerola, frutas cítricas, tomate, melão, pimentão, repolho cru, morango, abacaxi, goiaba, batata e kiwi. Instável ao calor e álcalis.
Vitamina E	Eficiente fotoprotetor da pele; Previne doenças respiratórias; Aumenta imunidade celular; Tratamento de doenças neurológicas.	Germe de trigo, óleos vegetais, vegetais de folhas verdes, gordura do leite, gema de ovo e nozes. Estável ao calor e aos ácidos.
Licopeno (carotenóide)	Previne doenças cardiovasculares; Previne o câncer de próstata e de mama.	Tomate, pimenta, goiaba, melancia. Estável ao calor.
Betacaroteno (carotenóide)	Eficiente fotoprotetor celular; Previne o câncer de mama e próstata; Previne doenças respiratórias e catarata.	Cenoura, mamão, abobrinha, vegetais e frutas alaranjadas. Estáveis ao calor.

A vitamina E ( $\alpha$ -toferol) desempenha importante papel no corpo que é a inibição de reações de radicais, que poderiam provocar danos à célula. A vitamina C também é um antioxidante e o BHT é conhecido por capturar radicais. Os antioxidantes podem inibir o aparecimento de células cancerígenas e retardar o envelhecimento das células (SOLOMONS, FRYHLE, 2001).

Desta forma, descobrir substâncias com propriedades antioxidantes de origem natural vem despertando o interesse de pesquisadores e indústrias em todo o mundo. A literatura reporta muitos métodos tanto qualitativo como o teste em CCD borrifada com solução de  $\beta$ -caroteno quanto quantitativo como o teste espectrofotométrico utilizando o

radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e como controladores positivos o ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) e o 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT) (Fig. 5.1) sendo que estes são considerados os mais simples (CARDOSO, et al, 2005).

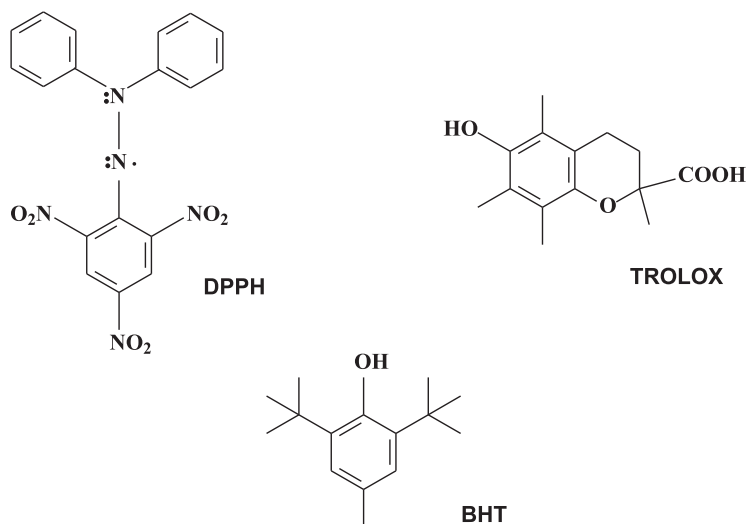


Figura 5.1: Estruturas do DPPH, Trolox e BHT

## 5.2 Método do $\beta$ -Caroteno

Um teste de atividade antioxidante de caráter qualitativo é o em CCD borrifada com solução de  $\beta$ -caroteno (ver procedimento experimental, Pág. 108) o mesmo foi realizado com o extrato etanólico das raízes, as frações alcaloídicas e não-alcaloídicas e as substâncias PA-1, PA-2, PA-3, PA-4, PA-6, PA-7, PA-8 e PA-9. Os padrões utilizados foram a rutina e a vitamina C (Fig. 5.2, Pág. 42) e as frações que apresentaram teste positivo para a atividade antioxidante foram: o extrato etanólico das raízes, as frações alcaloídicas e não-alcaloídicas e as substâncias PA-4, PA-8 e PA-9 (Fig. 5.3, Pág. 42).

## 5.3 Método de Seqüestro do Radical DPPH

O teste de atividade antioxidante, cujo método é o do seqüestro de radicais livres (ver procedimento experimental, Pág. 108) foi realizado com o extrato etanólico das

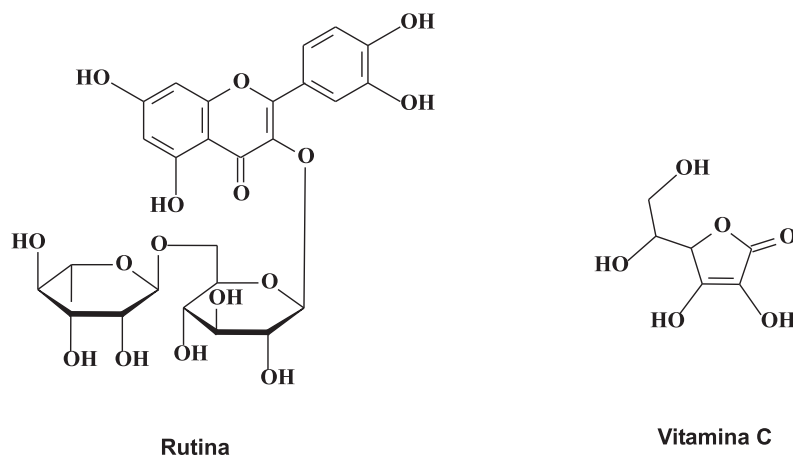
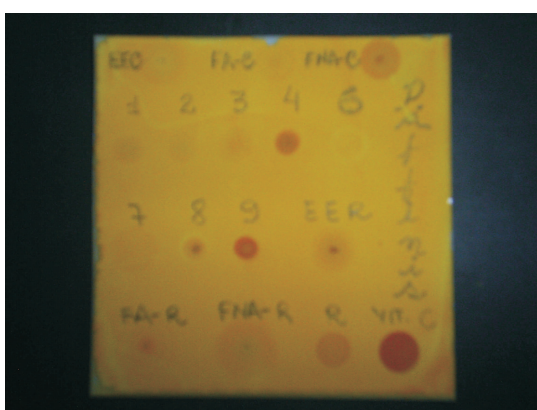


Figura 5.2: Estruturas dos padrões rutina e vitamina C



1=PA-1	EER=extrato etanólico das raízes
2=PA-2	FA-R=fração alcaloídica das raízes
3=PA-3	FNA-R=fração não-alcaloídica das raízes
4=PA-4	EER=extrato etanólico do caule
6=PA-6	FA-C=fração alcaloídica do caule
7=PA-7	FNA-C=fração não-alcaloídica do caule
8=PA-8	R=rutina
9=PA-9	VIT. C=vitamina C

Figura 5.3: CCD borrifada com solução de  $\beta$ -caroteno

raízes de grão de galo (eergg) bem como as frações alcaloídicas (faeergg) e não-alcaloídicas (fnaeergg) e ainda as substâncias PA-8 e PA-9. O teste foi realizado em três concentrações, as quais encontram-se na Tabela 5.2, Pág. 43. A figura 5.4 (Pág. 43) representa a absorvância  $\times$  concentração das frações testadas na atividade antioxidante. Destas, as frações que apresentaram melhores resultados frente ao seqüestro dos radicais livres com um percentual médio de 58,6% foram PA-9 e a fração alcaloídica das raízes. Em seguida as frações não-alcaloídica e o extrato etanólico das raízes com uma média de 57,3% e 54,4%, respectivamente. E PA-8 com 25,5%.

Tabela 5.2: Resultado do teste da atividade antioxidante.

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)								
TRATAMENTO	1,00		0,20		0,040		0,008	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Control	0,2769±	0,00	0,2769±	0,00	0,2769±	0,00	0,2769±	0,00
	0,0000		0,0000		0,0000		0,0000	
Trolox	0,0156±	94,37	0,0162±	94,15	0,0173±	93,75	0,0183±	93,39
	0,0000		0,0003		0,0000		0,0001	
BHT	0,0191±	93,10	0,0295±	89,35	0,0351±	87,32	0,378±	86,35
	0,0010		0,0000		0,0001		0,0004	
eergg	0,0620±	77,61	0,0867±	68,69	0,1538±	44,47	0,2031±	26,65
	0,0002		0,0003		0,0002		0,0002	
fnaeergg	0,0508±	81,65	0,0775±	72,01	0,1377±	50,27	0,2071±	25,21
	0,0003		0,0000		0,0003		0,0001	
faeergg	0,0670±	75,80	0,0746±	73,06	0,1140±	58,83	0,2029±	26,72
	0,0001		0,0000		0,0000		0,0001	
PA-9	0,0603±	78,22	0,0728±	73,71	0,1220±	55,94	0,2034±	26,54
	0,0002		0,0001		0,0000		0,0001	
PA-8	0,1386±	49,95	0,2106±	23,94	0,2333±	15,75	0,2425±	12,42
	0,0007		0,0001		0,0001		0,0001	

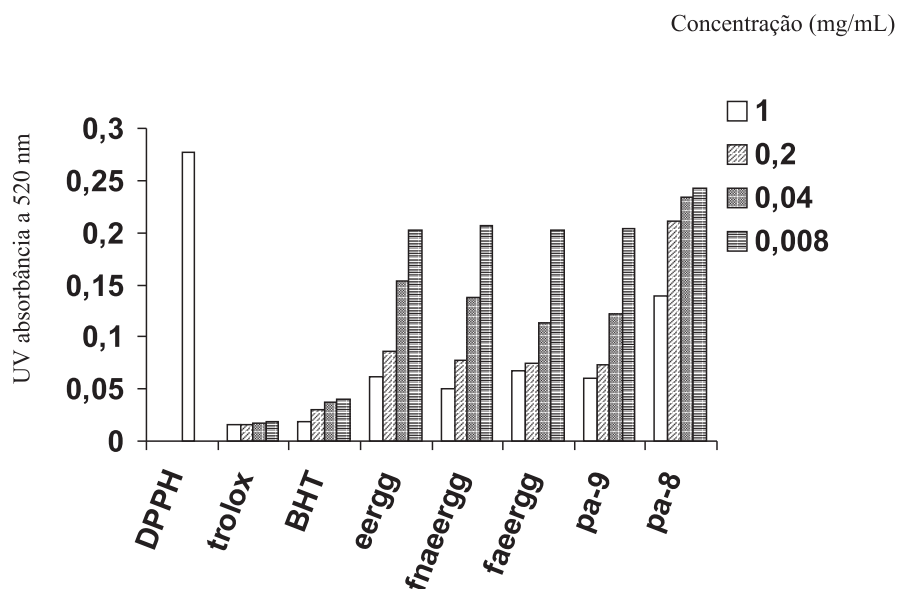


Figura 5.4: Gráfico da Absorvância X Concentração da Atividade Antioxidante

# Capítulo 6

## Determinação Estrutural

*“Adoro as coisas simples. Elas são o último refúgio de um espírito complexo.”*

Oscar Wilde

### 6.1 Determinação estrutural dos constituintes fixos isolados da espécie *Peschiera affinis*

#### 6.1.1 Determinação estrutural de PA-1

**D**a fração clorofórmica do extrato etanólico da raiz foi isolado um sólido cristalino de cor amarela de ponto de fusão 241-243 °C, homogêneo em CCD, ou seja, apresentou-se como um único halo, solúvel em MeOH, denominado PA-1 (ver procedimento experimental, Pág. 111).

O espectro de absorção na região do IV de PA-1, (Fig. 6.1, Pág. 45) apresentou banda em 3.444  $\text{cm}^{-1}$  referente a deformação axial de ligação NH; em 1.633 e 1.472  $\text{cm}^{-1}$  decorrentes de deformação axial C=C no plano de aromático; em 869, 807 e 737  $\text{cm}^{-1}$ , deformação angular de CH aromático fora do plano.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (Fig. 6.2, Pág. 46) de PA-1 observou-se 15 linhas espectrais que após serem comparadas com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT (135°)

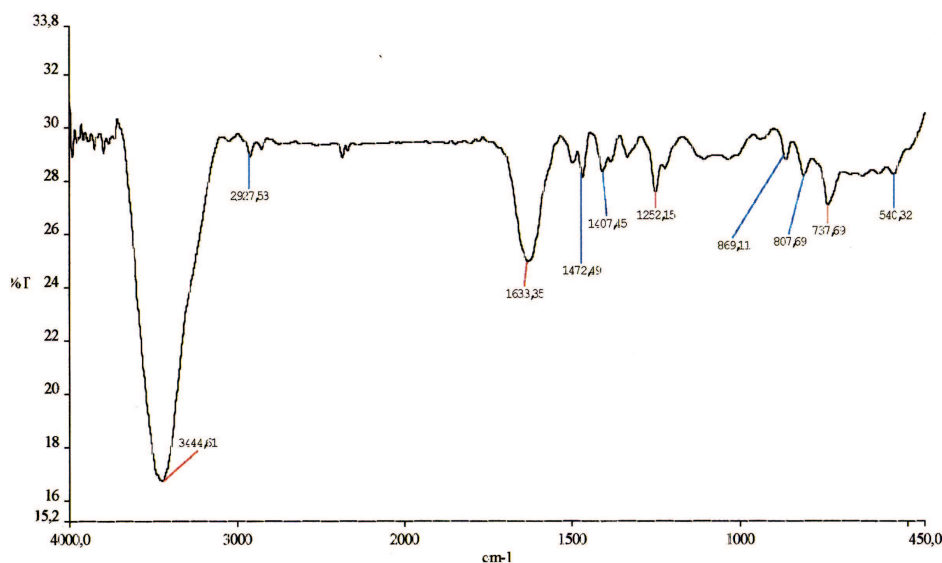


Figura 6.1: Espectro no IV de PA-1

Tabela 6.1: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-1 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e DEPT;  $\delta$  ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz)

C	CH	$\text{CH}_3$
160,8	138,5	22,6
144,9	129,6	12,9
143,6	122,7	-
134,9	120,8	-
124,6	117,4	-
123,9	116,8	-
	112,4	-
$\text{C}_6$	$\text{C}_7\text{H}_7$	$\text{C}_2\text{H}_6$
Total: $\text{C}_{15}\text{H}_{13}$		

(Fig. 6.3, Pág. 47) possibilitou elaborar a Tabela 6.1. Na qual foram observadas duas absorções em  $\delta$  12,9 e 22,6 referentes a carbonos metílicos, treze absorções referentes a carbonos insaturados aromáticos na região  $\delta$  112,4-160,8.

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 6.4, Pág. 47) de PA-1 mostrou absorções em  $\delta$  2,83 e 3,08 e na forma de singlete, com integração para três prótons cada, que foram correlacionados a hidrogênios de duas metilas, onde a última apresenta-se bastante desprotegida sugerindo estar posicionada em um carbono  $\alpha$  a um nitrogênio. Os sinais em  $\delta$  7,26 e 7,52 com integração para um próton cada apresentaram-se, ambos, como multipletos,  $\delta$  7,89, 8,16 e 8,27 dubletos com integração para um próton cada, sendo que o primeiro apresenta constante de acoplamento igual a 7,7 Hz, compatível com o acoplamento orto e

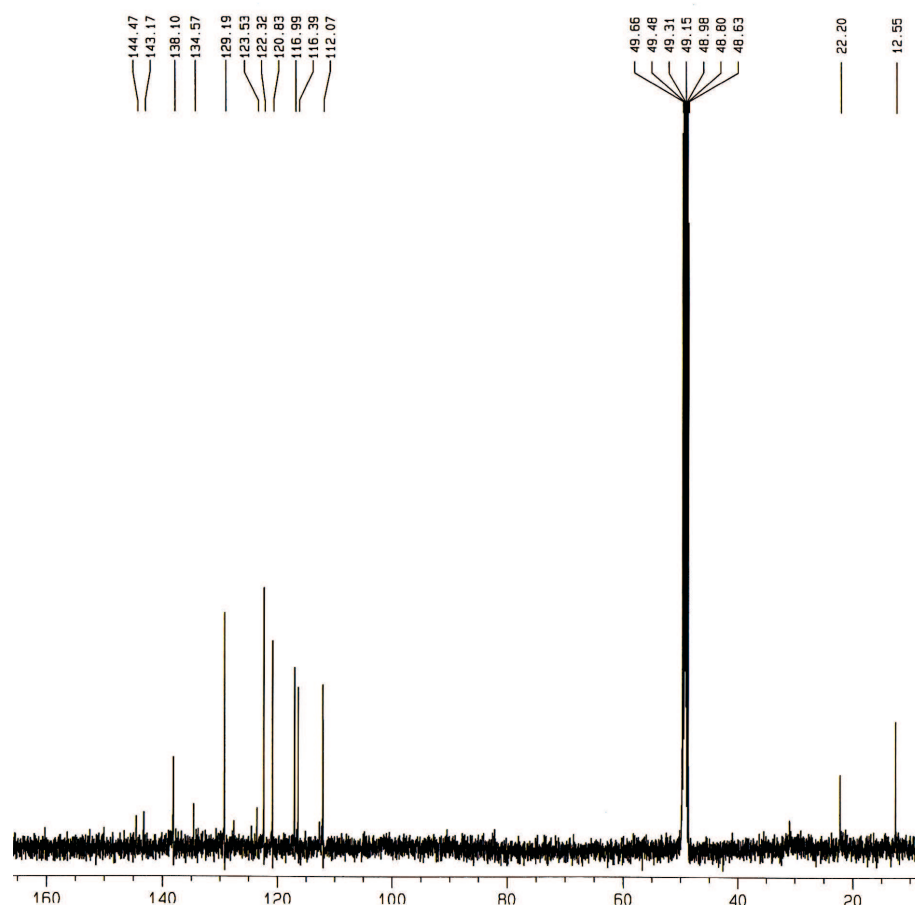


Figura 6.2: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-1 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

os outros dois com  $J=6,3$  Hz, ambos indicando um acoplamento vicinal e o sinal em  $\delta$  8,86, singlete, correspondente a um prótio. O conjunto de absorções nesta região e comparação com dados da literatura permitiu propor que PA-1, um composto alcaloídico, apresentava um sistema indólico.

O espectro de massas (Fig. 6.5, Pág. 48) obtido de PA-1 apresentou o pico do íon molecular  $m/z$  246.

De acordo com os dados dos espectros de RMN, IV e EM foi possível prever que um dos sinais do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB era relativo a dois carbonos e que PA-1 apresentava fórmula molecular  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2$  e conseqüentemente um índice de deficiência de hidrogênio igual a 12.

Análise do espectro bidimensional de correlações heteronucleares, HMQC (Fig. 6.6, Pág. 50) de PA-1 possibilitou observar os acoplamentos entre os prótios observados



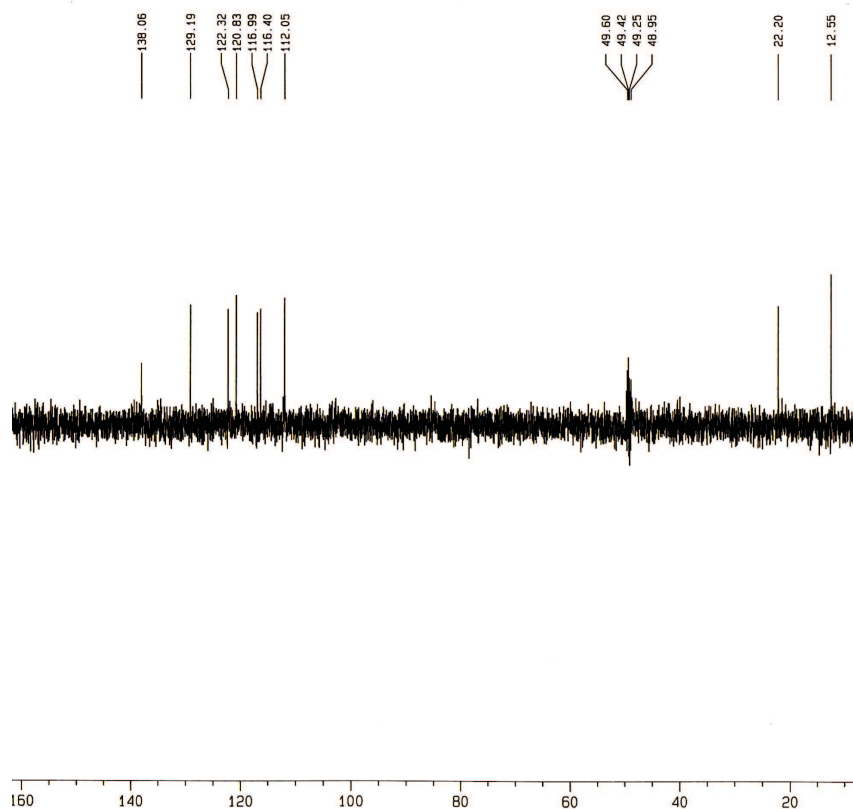


Figura 6.3: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-1 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

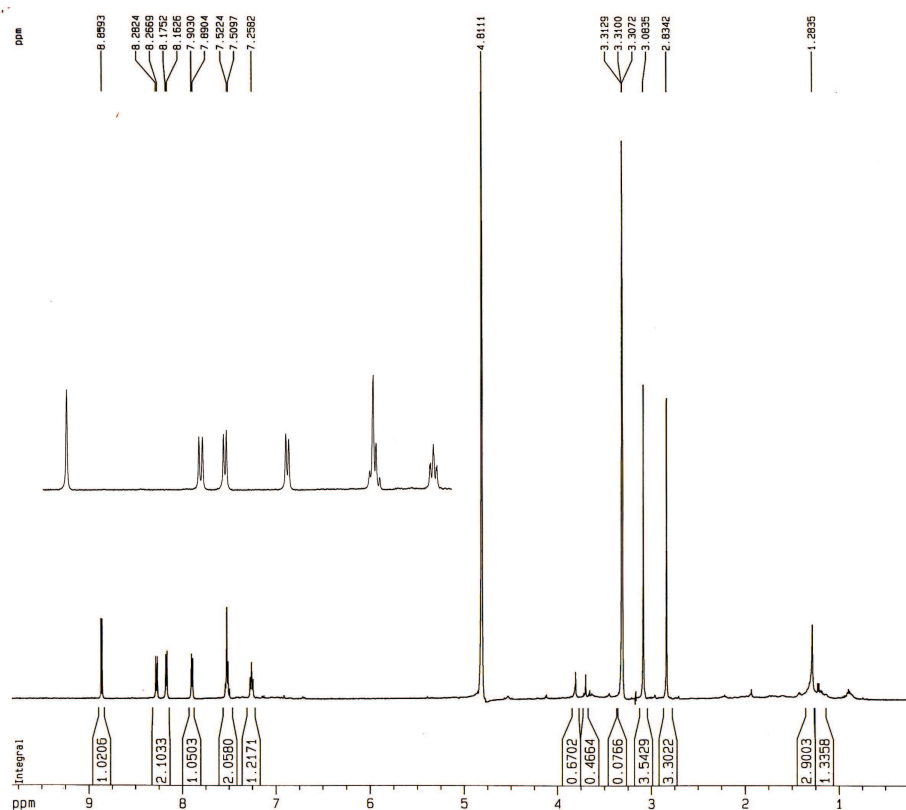


Figura 6.4: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-1 [500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

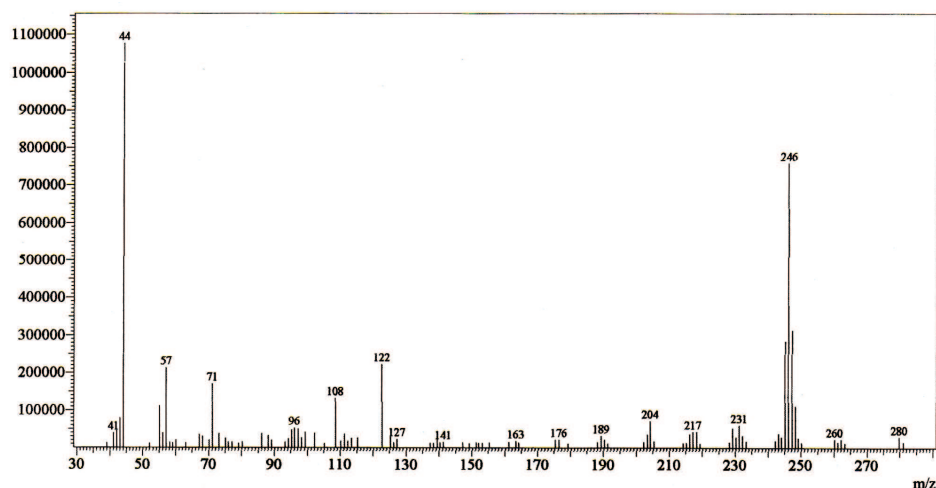


Figura 6.5: Espectro de Massas de PA-1

no espectro de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Neste espectro observa-se o acoplamento  $^1J_{C,H}$  entre o carbono em  $\delta$  116,8 (C-18) com o prótio em  $\delta$  8,86 (H-18); acoplamento entre os carbonos  $\delta$  138,5 (C-3) e 117,4 (C-14) com os prótios  $\delta$  8,16 (H-3) e 7,89 (H-14) respectivamente, além de outros acoplamentos que estão relacionados na Tabela 6.2 (Pág. 49).

O espectro de HMBC (Fig. 6.7, Pág. 50) (Tabela 6.2, Pág. 49) mostrou correlação  $^3J_{C,H}$  do carbono quaternário  $\delta$  143,6 (C-2) com os prótios metílicos a  $\delta$  2,83 (3H-17) e o prótio a  $\delta$  8,86 (H-18) (Fig. 6.8, acoplamentos A e B, Pág. 51). Acoplamento  $^3J_{C,H}$  do carbono quaternário  $\delta$  138,5 (C-15) com o prótio a  $\delta$  8,16 (H-3), com os prótios metílicos a  $\delta$  2,83 (3H-17) e com o prótio a  $\delta$  8,85 (H-18) (Fig. 6.8, acoplamentos C, D e E, Pág. 51).

Observa-se ainda o acoplamento  $^3J_{C,H}$  entre o carbono quaternário  $\delta$  124,9 (C-16) com o prótio a  $\delta$  7,89 (H-14) (Fig. 6.8, acoplamento F, Pág. 51). O acoplamento  $^2J_{C,H}$  entre o carbono mono-hidrogenado  $\delta$  117,4 (C-14) com o prótio a  $\delta$  8,16 (H-3) (Fig. 6.8, acoplamento G, Pág. 51), bem como o acoplamento  $^2J_{C,H}$  entre o carbono quaternário  $\delta$  160,6 (C-20) com os prótios metílicos a  $\delta$  3,08 (3H-21) (Fig. 6.8, acoplamento I, Pág. 51) são verificados. Isso comprova que o C-3 liga-se ao C-14 e o C-20 liga-se ao C-21.

A posição do C-3 ligado ao nitrogênio do anel piridínico foi confirmada com o acoplamento  $^3J_{C,H}$  entre o carbono quaternário  $\delta$  160,6 (C-20), o qual está ligada ao N

Tabela 6.2: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-1 e comparação com dados da literatura de olivacina (GOGOLL, PLOBECK, 1990)

	HMQC		HMBC		Olivacina
C	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{C,H}$	$^3J_{C,H}$	$\delta_C$ (DMSO)
2	143,2	-	-	3H-17; H-18	140,5
3	138,1	8,16(d, $J=6,3$ Hz)	-	-	139,5
7	138,1	-	-	-	124,7
8	134,6	-	-	-	122,7
9	122,3	8,27(d, $J=7,7$ Hz)	-	-	121,4
10	120,8	7,26 (m)	-	-	119,0
11	129,2	7,52 (m)	-	H-9	127,6
12	112,1	7,52 (m)	-	H-10	110,8
13	144,5	-	-	H-9	142,5
14	117,0	7,89(d, $J=6,3$ Hz)	H-3	-	114,7
15	138,1	-	-	H-3; 3H-17; H-18	132,4
16	124,6	-	3H-21	H-14	111,0
17	12,5	2,83 (s)	-	-	12,4
18	116,4	8,86 (s)	-	-	114,9
19	123,5	-	-	H-14; 3H-17	121,8
20	160,7	-	3H-21	H-3; 3H-17	158,7
21	22,2	3,08 (s)	-	-	23,0

do anel piridínico, com o prótio a  $\delta$  8,86 (H-3) e com o prótio a  $\delta$  8,85 (H-18).

Análise do espectro de correlação homonuclear NOESY (Fig. 6.9, Pág. 51) permitiu identificar a posição das duas metilas presentes nesta molécula segundo o acoplamento dipolar entre os prótios metílicos em  $\delta$  3,08 (3H-21) e o prótio do carbono 18 em  $\delta$  8,86 e este com o prótio do carbono 9 em  $\delta$  8,27 (Fig. 6.10, acoplamentos J e K, Pág. 51). Ainda o acoplamento entre os prótios metílicos em  $\delta$  2,83 (3H-17) com o prótio do C-14 em  $\delta$  7,89 (Fig. 6.10, acoplamento L, Pág. 51). Assim a posição das duas metilas foi definida, a Me-17 encontra-se ligada ao C-16 e a Me-21 ligada ao C-20.

O espectro na região do ultravioleta (Fig. 6.11, Pág. 52) mostrou absorção em 295 nm.

Com base nas análises dos dados obtidos e comparação com dados encontrados na literatura pode-se propor que a substância PA-1 trata-se da *olivacina* (1), um alcalóide indólico do tipo piridocarbazol, já isolada das raízes da espécie *P. affinis* e outras espécies da família Apocynaceae (GOGOLL, PLOBECK, 1990).

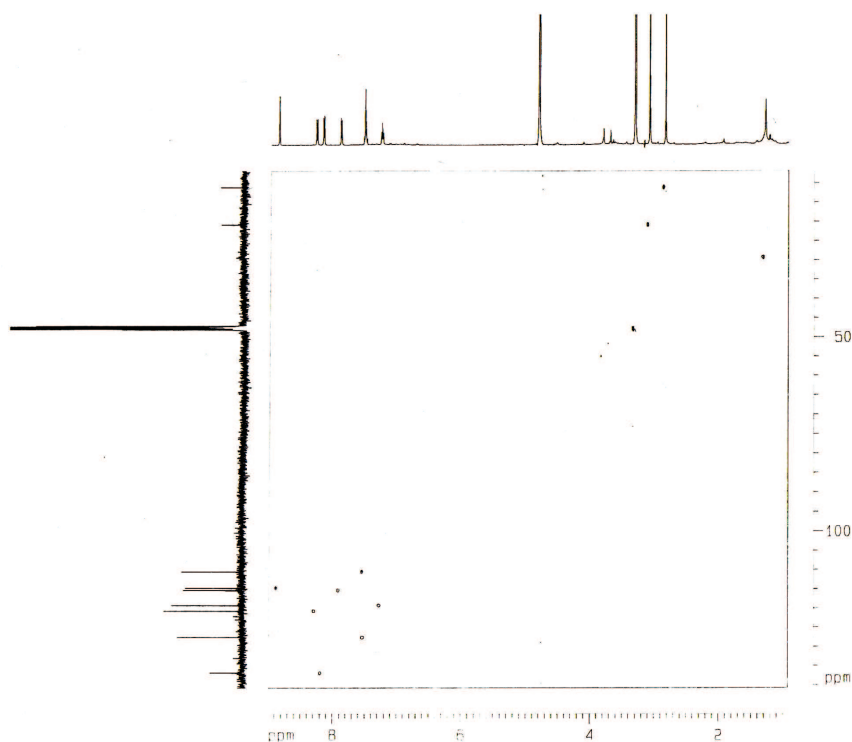


Figura 6.6: Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-1

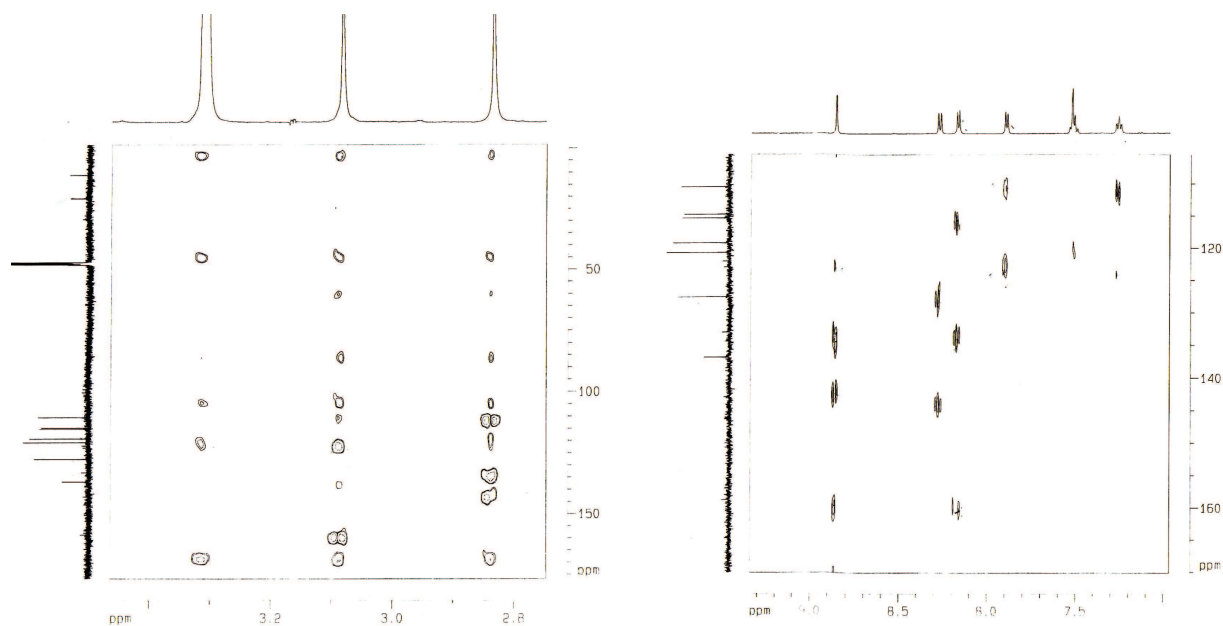


Figura 6.7: Expansão do diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-1

### 6.1.2 Determinação estrutural de PA-2

Da fração clorofórmica do extrato etanólico da raiz foi isolado um sólido cristalino de cor amarela de ponto de fusão 170-172 °C, homogêneo em CCD, solúvel em MeOH,

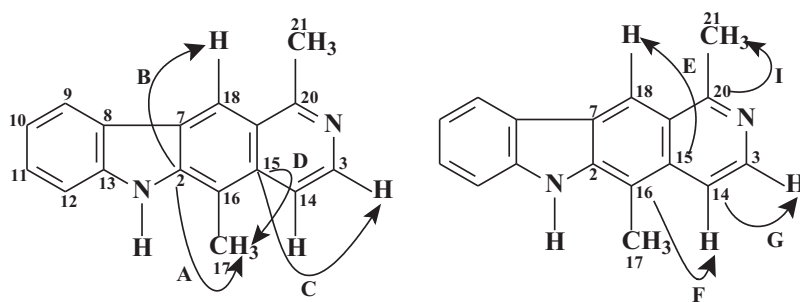


Figura 6.8: Representação dos acoplamentos de A-I observados no HMBC de PA-1

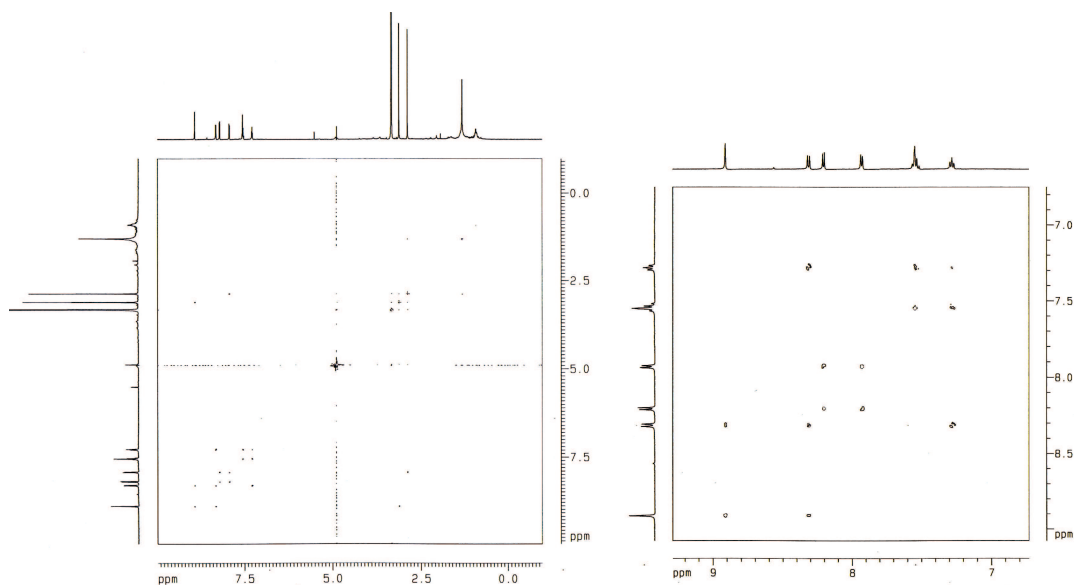


Figura 6.9: Diagrama de contorno do espectro NOESY de PA-1

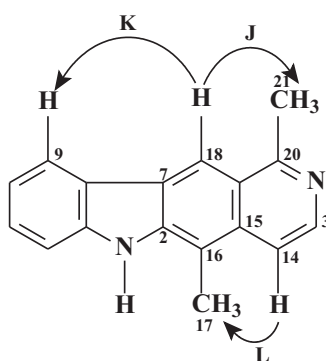


Figura 6.10: Representação dos acoplamentos de J-L observados no NOESY de PA-1

denominado PA-2 (ver procedimento experimental, Pág. 113).

O espectro de absorção na região do IV de PA-2, (Fig. 6.12, Pág. 52) revelou banda característica de deformação axial de ligação NH em  $3.450\text{ cm}^{-1}$ , bandas em  $1.649$  e  $1.465\text{ cm}^{-1}$  decorrentes de deformação axial C=C no plano de núcleo aromático, em  $807$

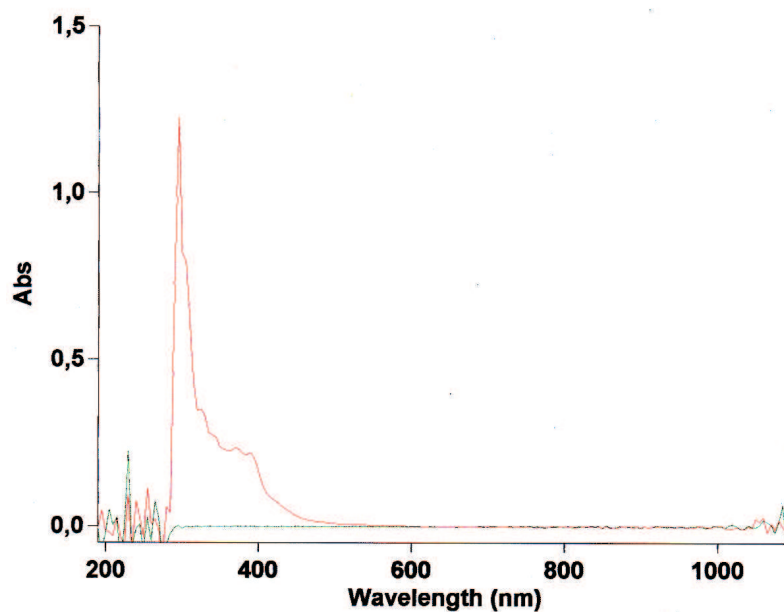


Figura 6.11: Espectro no UV de PA-1

e  $751\text{ cm}^{-1}$  deformação angular de CH aromático fora do plano.

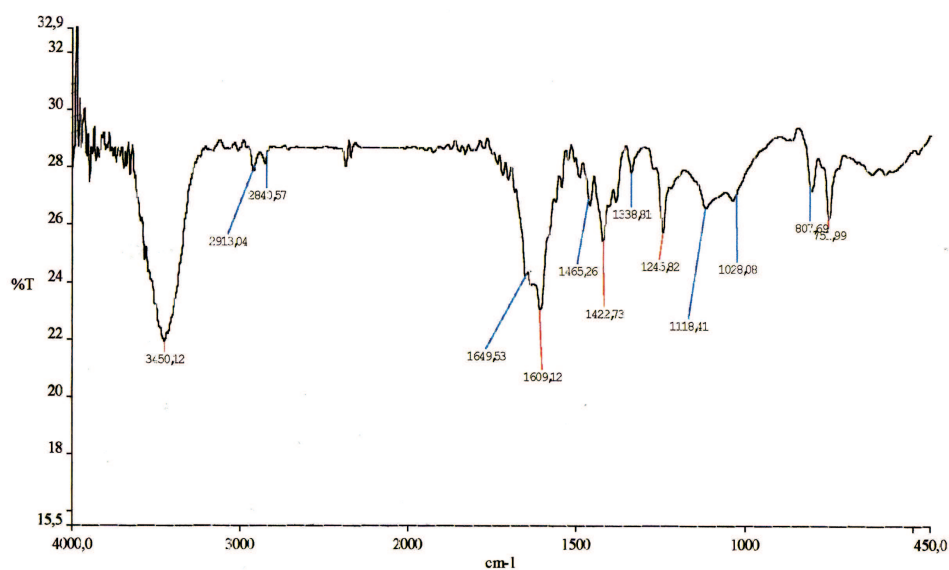


Figura 6.12: Espectro no IV de PA-2

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (Fig. 6.13, Pág. 54) de PA-2 apresentou 15 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-1 (Fig. 6.2, Pág. 46), verificou-se uma grande semelhança e possibilitou elaborar a Tabela 6.3 (Pág. 53), a qual revelou sete absorções relativas a carbonos não-hidrogenados, sete a carbonos mono-hidrogenados e duas referentes a carbonos metílicos.

Tabela 6.3: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-2 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB;  $\delta$ ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz)

C	CH	CH <sub>3</sub>
159,0	131,0	19,6
144,5	129,6	13,0
143,0	128,1	-
135,6	123,5	-
133,6	122,5	-
124,1	120,0	-
119,6	113,1	-
C <sub>7</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>
Total: C <sub>16</sub> H <sub>13</sub>		

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 6.14, Pág. 55) de PA-2 observa-se absorções na região  $\delta$  7,37-9,19 características de um sistema indólico e uma absorção de metila em  $\delta$  2,92.

O espectro de massas (Fig. 6.15, Pág. 55) obtido de PA-2 apresentou o pico do íon molecular  $m/z$  246.

De acordo com os dados obtidos foi possível propor que PA-2 apresentava fórmula molecular C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub> e assim, 12 índices de deficiência de hidrogênio.

Análise do espectro de HMQC de PA-2 (Fig. 6.16, Pág. 56), possibilitou relacionar os carbonos hidrogenados observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  com seus respectivos hidrogênios, permitindo a elaboração da Tabela 6.6 (Pág. 64)

No diagrama de contorno do espectro bidimensional de correlação heteronuclear C-H à longa distância, HMBC (Fig. 6.17, Pág. 57) (Tab. 6.6, Pág. 64), foram observados os acoplamentos  $^3J_{\text{C,H}}$  do prótio em  $\delta$  9,19 (H-16) com o carbono em  $\delta$  120,0 (C-14) (Fig. 6.18, acoplamento A, Pág. 57) e do prótio em  $\delta$  8,15 (H-3) com o carbono 20 em  $\delta$  159,08 (Fig. 6.18, acoplamento B, Pág. 57). O acoplamento  $^2J_{\text{C,H}}$  do prótio em  $\delta$  9,16 (H-16) com os carbonos  $\delta$  143,0 (C-2) e 135,6 (C-15) (Fig. 6.18, acoplamentos C e D, Pág. 57) permitindo inferir que o carbono 16 é mono-hidrogenado e o C-18 está ligado a metila 17, quando comparada com PA-1 (**1**) houve uma troca de grupos entre tais carbonos.

No espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY de PA-2 (Fig. 6.19,

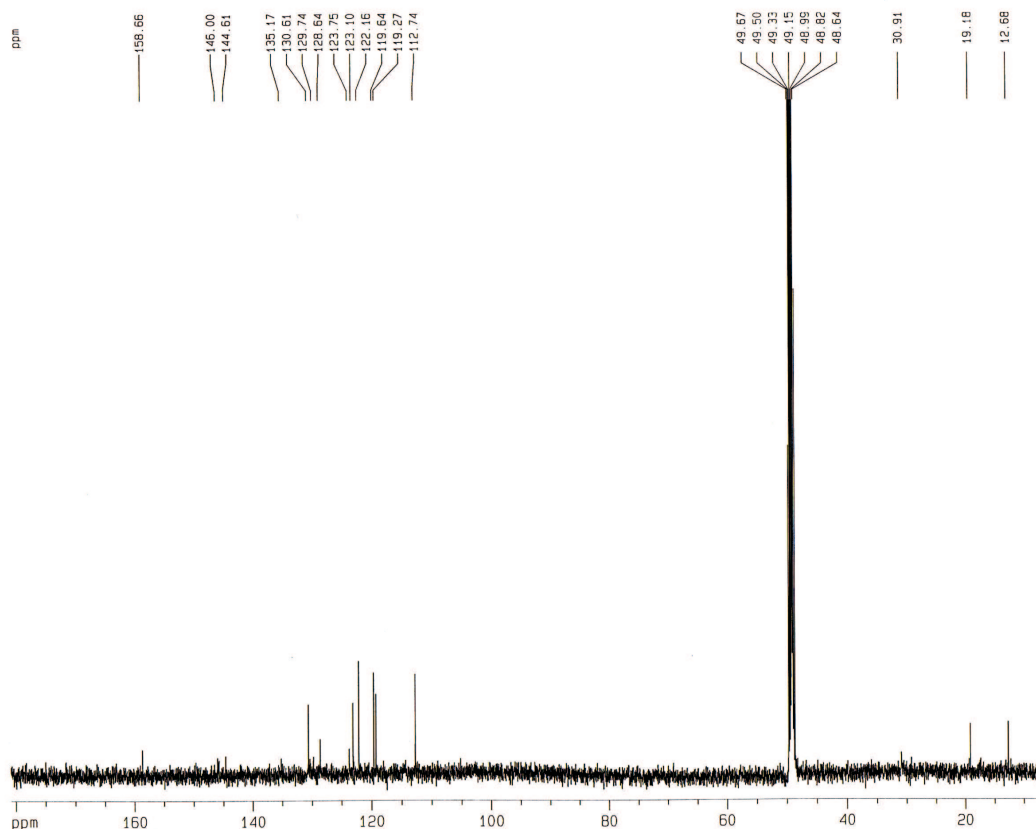


Figura 6.13: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-2 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

Pág. 58) pode-se verificar o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  8,32 (H-14) e  $\delta$  8,15 (H-3); entre os hidrogênios em  $\delta$  7,37 (H-10) e  $\delta$  7,62 (H-11); entre  $\delta$  7,37 (H-10) e  $\delta$  8,39 (H-9).

O espectro na região do ultravioleta (Fig. 6.20, Pág. 58) mostrou absorção em 295 nm igual a PA-1 confirmando que ambas apresentam mesmo núcleo.

Com base nos dados obtidos e comparação com dados encontrados na literatura, foi possível prever que PA-2 seria um isômero da olivacina (**1**). Sendo assim, PA-2 foi identificada como *peschienina* (**2**), um alcalóide indólico do tipo piridocarbazol, inédito na literatura.



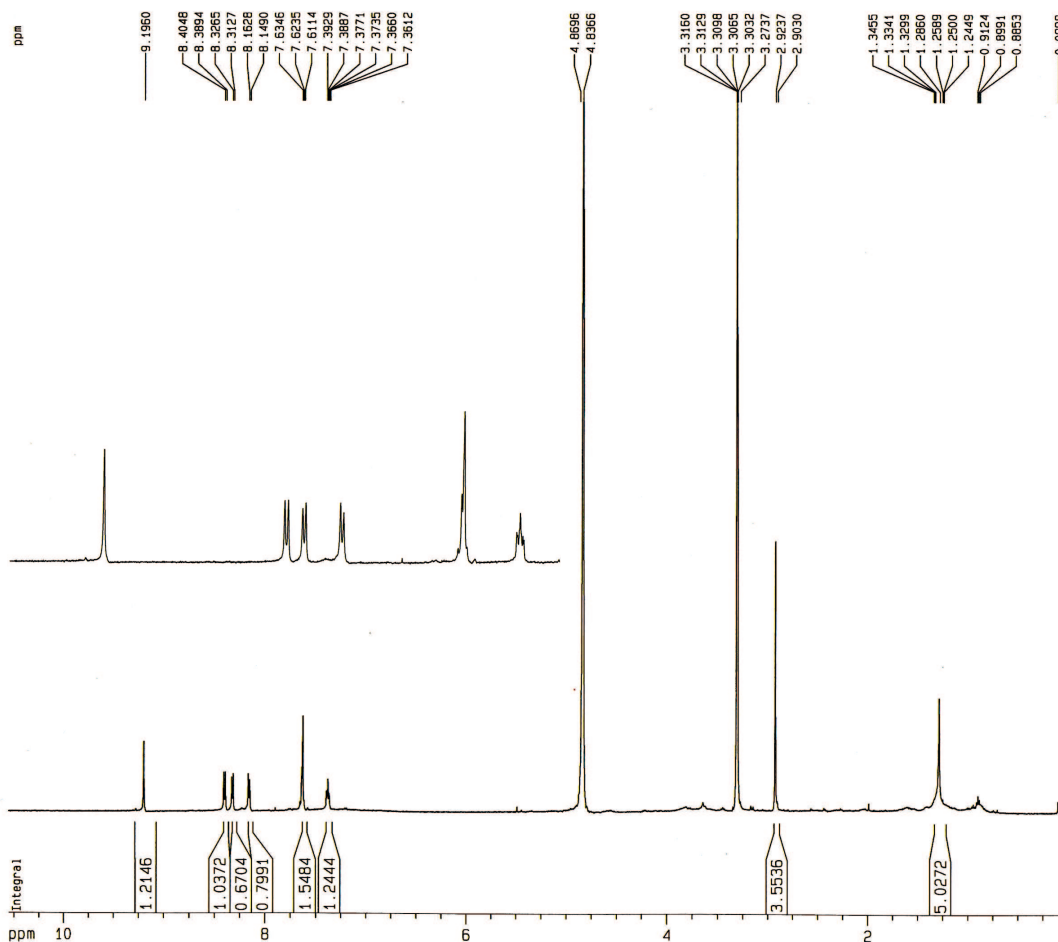


Figura 6.14: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-2 [500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

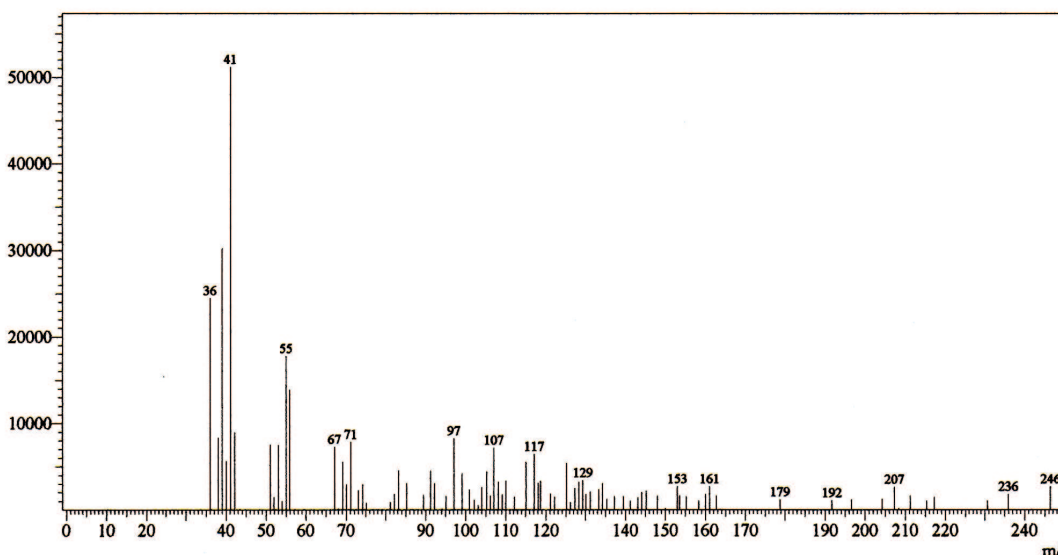


Figura 6.15: Espectro de Massas de PA-2

### 6.1.3 Determinação estrutural de PA-3

Da fração clorofórmica do extrato etanólico da raiz foi isolado um sólido cristalino de cor amarelada de ponto de fusão 286-289 °C, homogêneo em CCD, solúvel em piridina,

Tabela 6.4: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-2 e comparação com os dados de RMN<sup>13</sup>C de PA-1

C	HMQC		HMBC		PA- 1
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{C,H}$	$^3J_{C,H}$	
2	144,6	-	H-16	-	143,2
3	128,6	8,15(d, $J=6,9$ Hz)	H-14	-	138,1
7	135,1	-	-	-	138,1
8	135,1	-	-	-	134,6
9	123,1	8,39(d, $J=7,7$ Hz)	-	-	122,3
10	122,1	7,37 (m)	-	H-12	120,8
11	130,6	7,63 (m)	H-10	-	129,2
12	112,7	7,63 (m)	-	H-10	112,1
13	146,0	-	-	H-11	144,5
14	119,6	8,32(d, $J=6,9$ Hz)	-	-	117,0
15	135,1	-	H-16	H-3	138,1
16	119,2	9,16 (s)	-	H-14	124,6
17	12,6	2,92 (s)	-	-	12,5
18	129,7	-	-	-	116,4
19	123,7	-	-	-	123,5
20	158,6	-	-	H-3	160,7
21	19,1	3,35 (s)	-	-	22,2

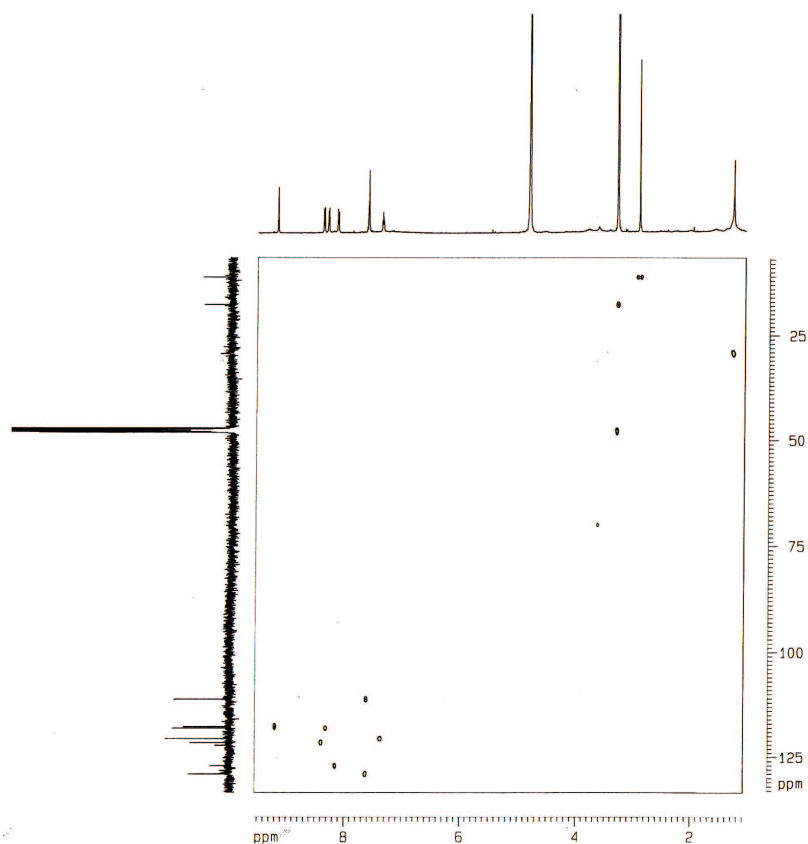


Figura 6.16: Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-2

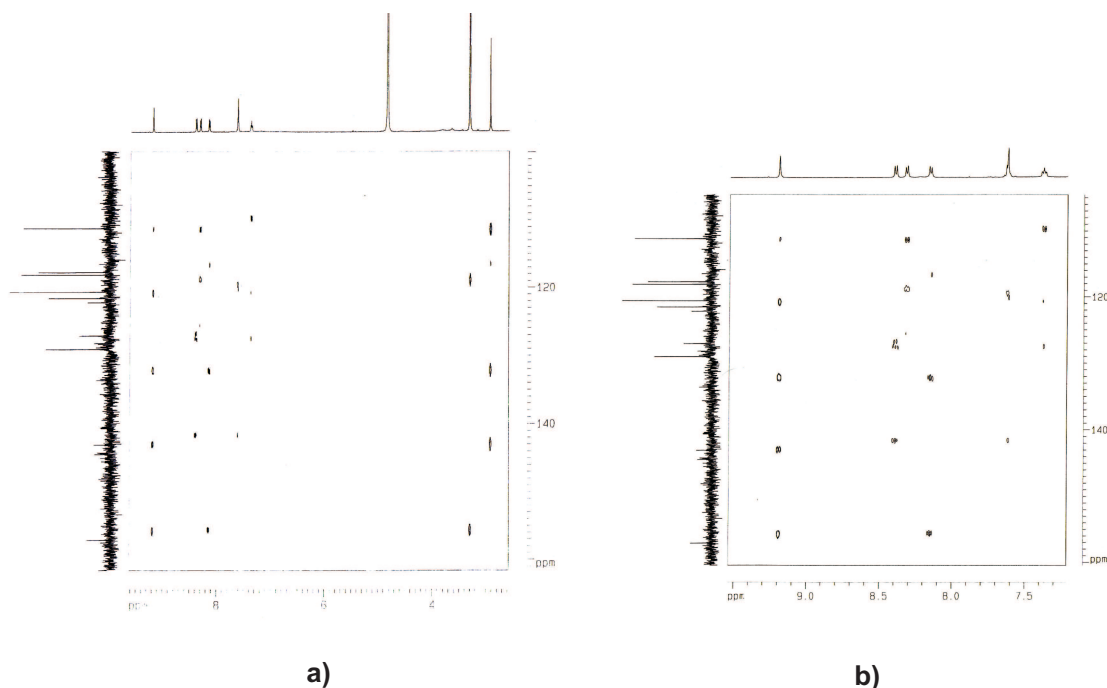


Figura 6.17: a) Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-2; b) Expansão do espectro a

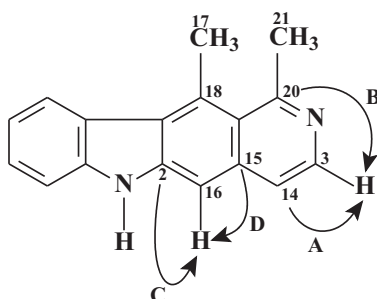


Figura 6.18: Representação dos acoplamentos de A-D observados no HMBC de PA-2 denominado PA-3 (ver procedimento experimental, Pág. 113).

O espectro de absorção na região do IV de PA-3, (Fig. 6.21, Pág. 59) revelou banda característica de deformação axial de ligação NH em  $3.452\text{ cm}^{-1}$  bastante intensa, podendo ser resultado de uma sobreposição de uma banda de deformação axial de OH. Banda em  $1.336\text{ cm}^{-1}$  relativo à deformação axial de amina secundária aromática e em  $1254\text{ cm}^{-1}$  decorrente de deformação axial C-N em aromáticos.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-3 (Fig. 6.22, Pág. 60) foi possível observar a presença de uma absorção característica de um prótio de hidroxila quelada em  $\delta\ 12,35$  a qual não foi observada no espectro de RMN  $^1\text{H}$  em PA-1. Observaram-se absorções em

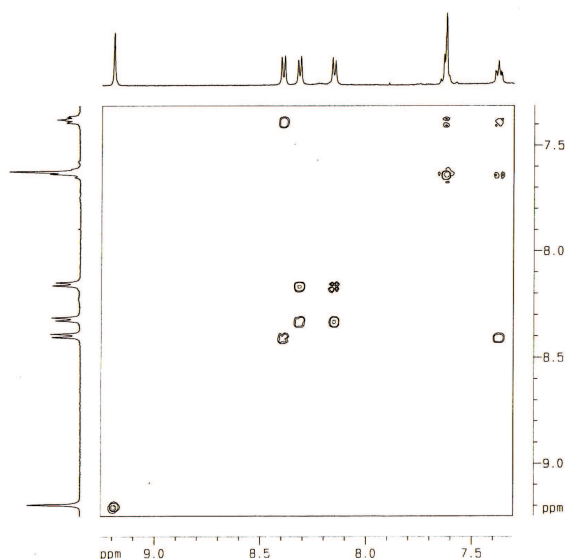


Figura 6.19: Diagrama de contorno do espectro COSY

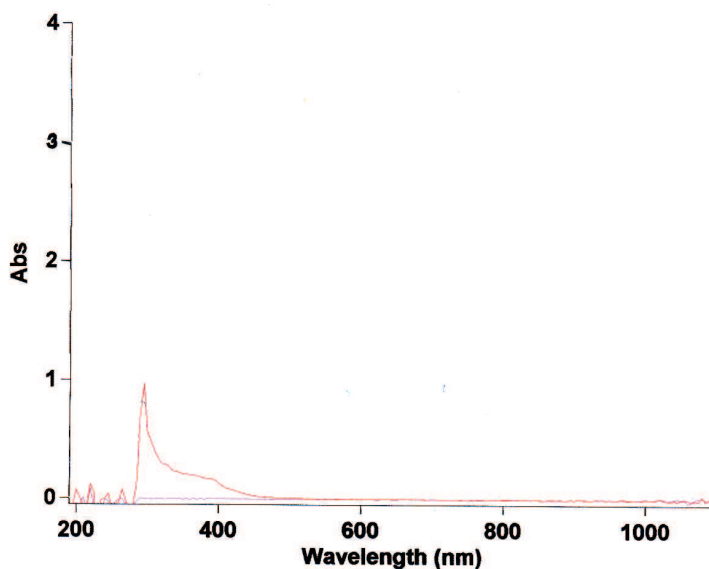


Figura 6.20: Espectro no UV de PA-2

$\delta$  3,25 (3H) e 2,91 (3H) referentes a átomos de hidrogênio de dois grupamentos metilas. Na região de aromático observaram-se as absorções em  $\delta$  7,42 (2H) e 7,61 (2H) com multiplicidade duplos dubletos. Apresentaram ainda quatro dubletos com integração para um prótio cada e um singlete referente a um prótio, características de sistema indólico.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-3 (Fig. 6.23 , Pág. 61 ) quando comparado com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-1 (Fig. 6.2, Pág. 46), mostrou-se bastante semelhante também com 16 linhas espectrais. Isto possibilitou elaborar a Tabela 6.5 (Pág.

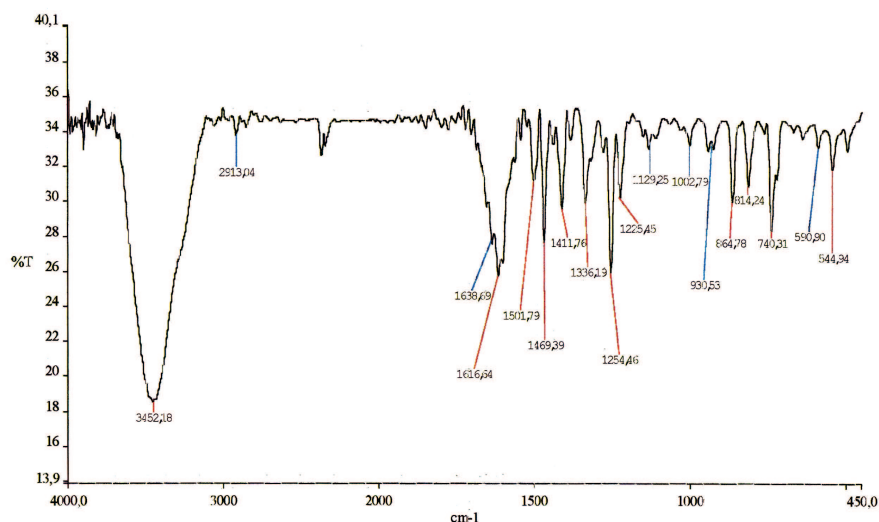


Figura 6.21: Espectro no IV de PA-3

59), a qual revelou sete absorções relativas a carbonos não-hidrogenados, sete a carbonos mono-hidrogenados e duas referentes a carbonos metálicos. Como não foi verificada a presença de nenhum carbono  $sp^2$  oxigenado, conclui-se que a hidroxila reconhecida no espectro de RMN  $^1\text{H}$  está ligada a um nitrogênio.

Tabela 6.5: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-3 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB;  $\delta$ ;  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ; 125 MHz)

C	CH	CH <sub>3</sub>
160,1	140,8	23,3
144,4	128,6	13,4
142,4	122,3	-
134,0	120,3	-
126,9	116,0	-
123,5	115,9	-
112,3	111,9	-
C <sub>7</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>
Total: C <sub>16</sub> H <sub>13</sub>		

O espectro de massas (Fig. 6.24, Pág. 61) obtido de PA-3 apresentou o pico do íon molecular  $m/z$  262.

A partir da análise dos espectros descritos, foi possível propor que PA-3 apresentava fórmula molecular  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a 12.

No espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY de PA-3 (Fig. 6.25, Pág. 62) pode-se verificar o acoplamento entre o prótio em  $\delta$  8,62 (H-3) com o H-14 em

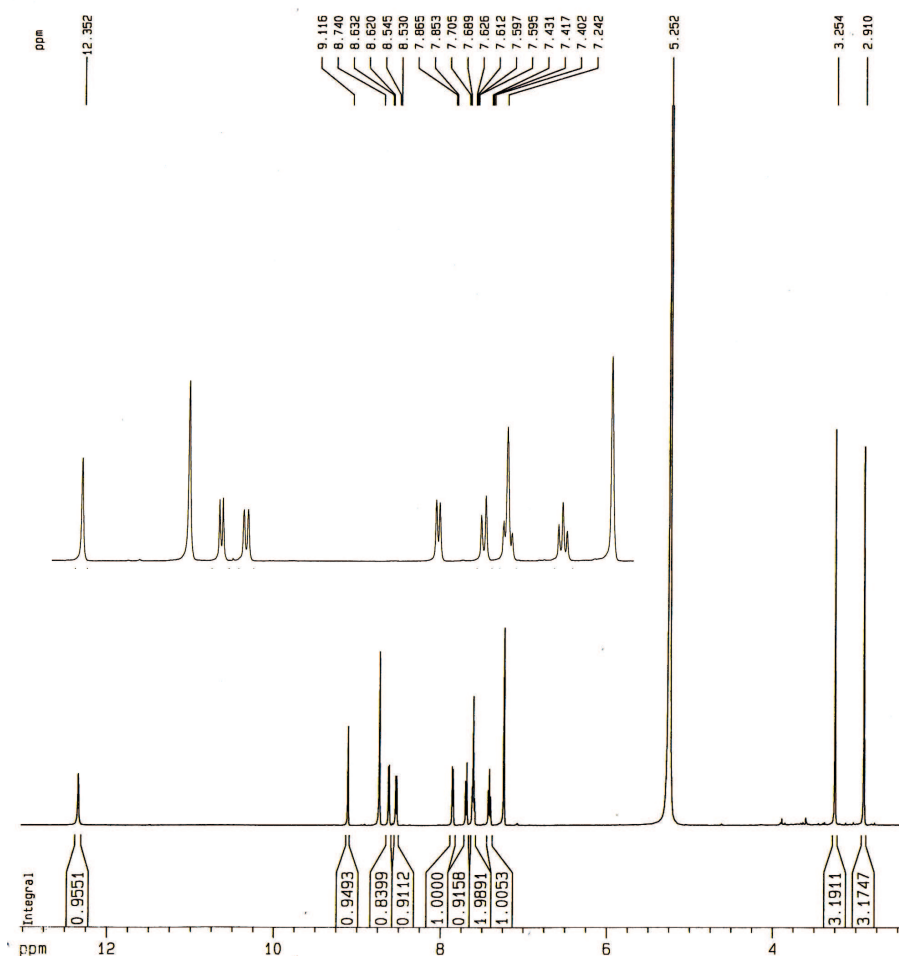


Figura 6.22: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-3 [500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

$\delta$  7,86. Foram também observados os acoplamentos entre  $\delta$  7,42 (H-10) e  $\delta$  8,53 (H-9); entre  $\delta$  7,42 (H-10) e  $\delta$  7,61 (H-11); entre  $\delta$  7,61 (H-11) e  $\delta$  7,69 (H-12).

Análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear NOESY (Fig. 6.26, Pág. 62) possibilitou identificar a posição da hidroxila a partir do acoplamento dipolar entre o prótio da hidroxila em  $\delta$  12,35 e o prótio do carbono 12 em  $\delta$  7,69 e os prótios metílicos (3H-17)  $\delta$  2,91 (Fig. 6.27, acoplamentos A e B, Pág. 63). Verificou-se acoplamento entre os prótios metílicos  $\delta$  2,91 (3H-17) e o prótio do carbono 14 em  $\delta$  7,86 (Fig. 6.27, acoplamento C, Pág. 63). E ainda acoplamento entre o prótio do carbono 18 em  $\delta$  9,12 e os prótios metílicos em  $\delta$  3,25 (3H-21) e o prótio do carbono 9 em  $\delta$  8,53 (Fig. 6.27, acoplamentos D e E, Pág. 63).

O espectro na região do ultravioleta (Fig. 6.28, Pág. 63) mostrou absorção em 295 nm igual a PA-1 confirmando que ambas apresentam mesmo núcleo.

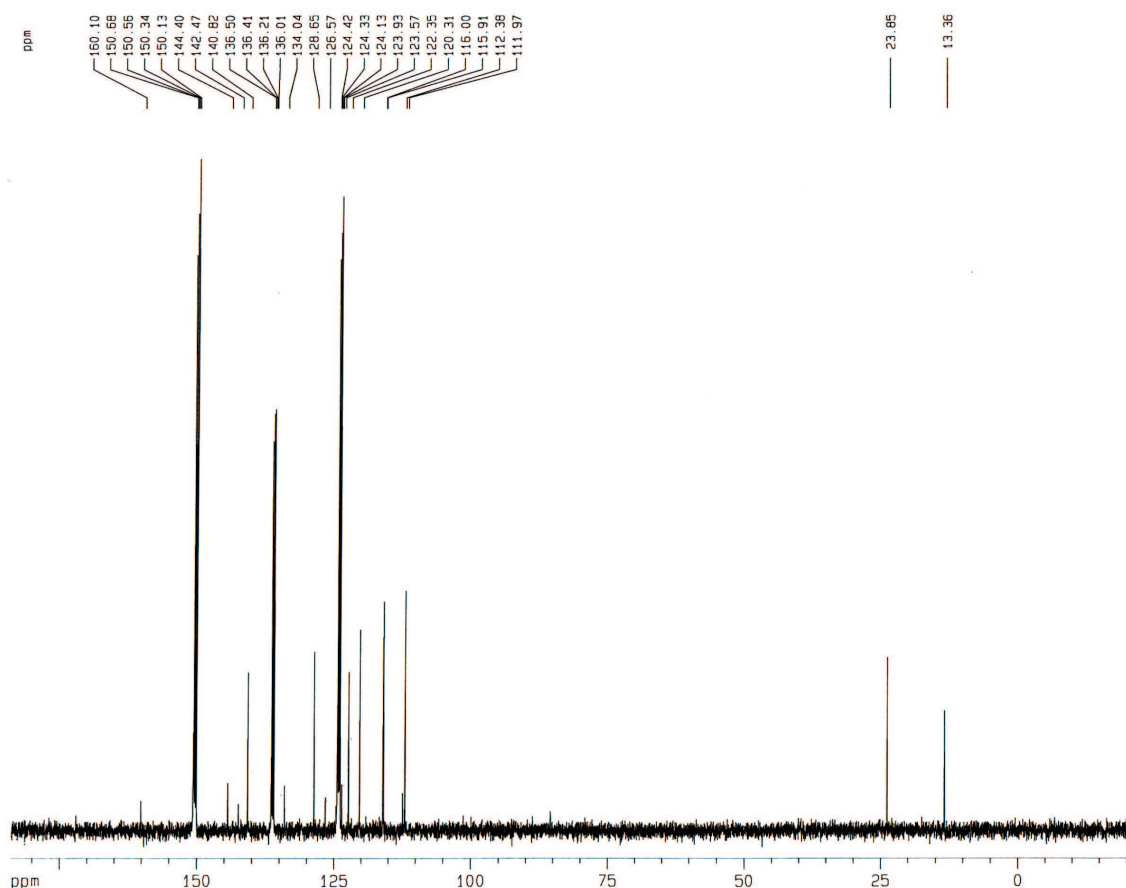


Figura 6.23: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-3 [125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

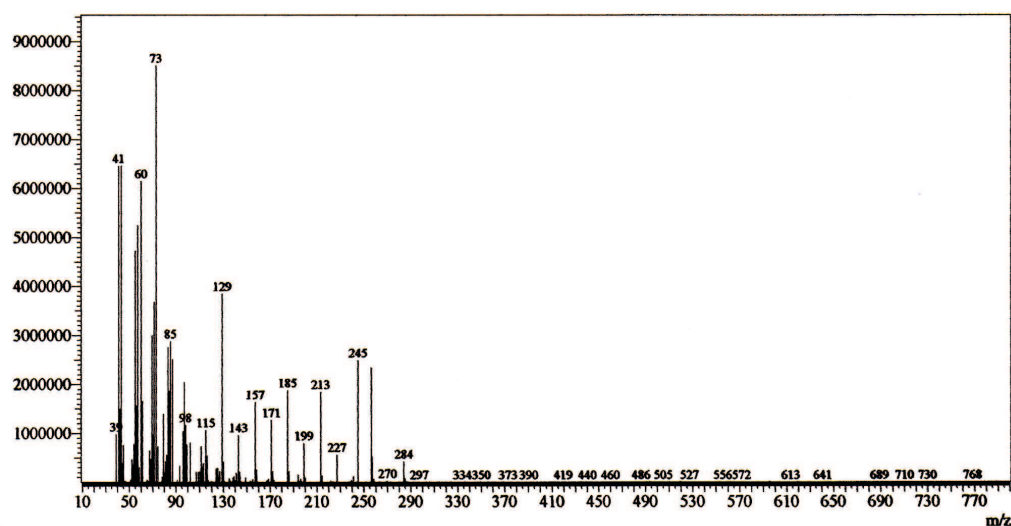


Figura 6.24: Espectro de Massas de PA-3

Comparação entre os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-3 com os dados de PA-1 (Tab. 6.6, Pág. 69), permitiu propor a estrutura (**3**), um alcalóide indólico do tipo piridocarbazol inédito na literatura, denominado *N-hidroxi-peschienina*.

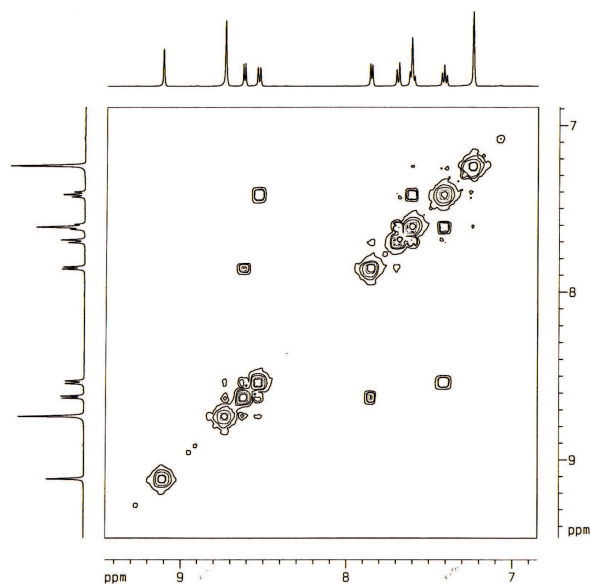


Figura 6.25: Diagrama de contorno do espectro COSY de PA-3

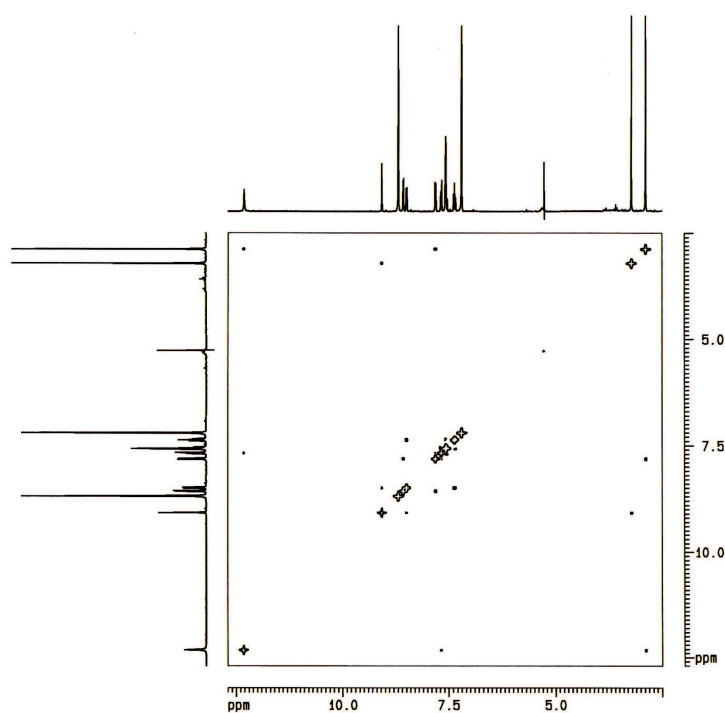


Figura 6.26: Diagrama de contorno do espectro NOESY de PA-3

#### 6.1.4 Determinação estrutural de PA-4

Da fração clorofórmica do extrato etanólico da raiz foi isolado um sólido de cor amarelada de ponto de fusão 122-124 °C, homogêneo em CCD, solúvel em CHCl<sub>3</sub>, denominado PA-4 (ver procedimento experimental, Pág. 113).



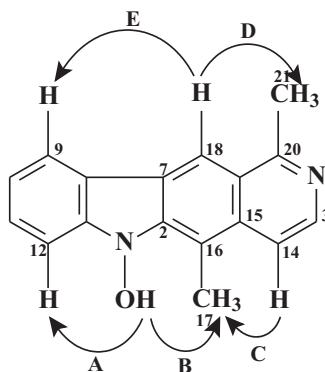


Figura 6.27: Representação dos acoplamentos observados no NOESY de PA-3

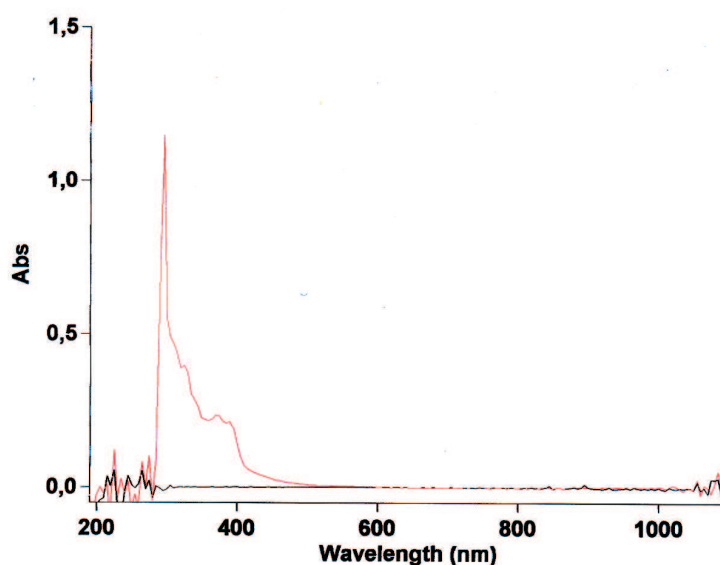


Figura 6.28: Espectro no UV de PA-3

O espectro de absorção na região do IV de PA-4, (Fig. 6.29, Pág. 64) revelou uma banda característica de deformação axial de ligação NH em  $3.342\text{ cm}^{-1}$ , banda em  $1.731\text{ cm}^{-1}$  relativo à deformação axial de C=O provavelmente de éster.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-4 (Fig. 6.30, Pág. 67) mostrou a presença de dois sinais em  $\delta$  3,73 e 3,85 relativos a duas metoxilas, bem como absorções em  $\delta$  6,83 (1H) e 7,15 (1H) ambas dubletos relativas a prótios de sistema aromático. Observou-se um singletto largo em  $\delta$  6,92 também de aromático, outro singletto largo em  $\delta$  7,84 característico de prótio ligado a nitrogênio ou de hidroxila. Além de absorções na região  $\delta$  1,28-4,14 de prótios ligados a carbonos  $sp^3$ . A absorção em  $\delta$  1,28 (3H), um dubleto, está associada a uma metila ligada a um carbono mono-hidrogenado.

Tabela 6.6: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-3 e comparação com os dados de RMN<sup>13</sup>C de PA-1

C	HMQC		PA- 1
	$\delta_C$	$\delta_H$	
2	142,4	-	143,2
3	140,8	8,62(d, $J=6,1$ Hz)	138,1
7	126,8	-	138,1
8	123,5	-	134,6
9	122,3	8,53(d, $J=7,6$ Hz)	122,3
10	128,6	7,42 (dd, $J=8,0$ e $7,6$ Hz)	120,8
11	128,6	7,61 (m)	129,2
12	111,9	7,69 (d, $J=8,0$ Hz)	112,1
13	144,4	-	144,5
14	116,0	7,86 (d, $J=6,1$ Hz)	117,0
15	134,0	-	138,1
16	112,3	-	124,6
17	13,4	2,91 (s)	12,5
18	115,9	9,12 (s)	116,4
19	122,3	-	123,5
20	160,1	-	160,7
21	23,8	3,25 (s)	22,2
HO-N	-	12,35 (s)	-

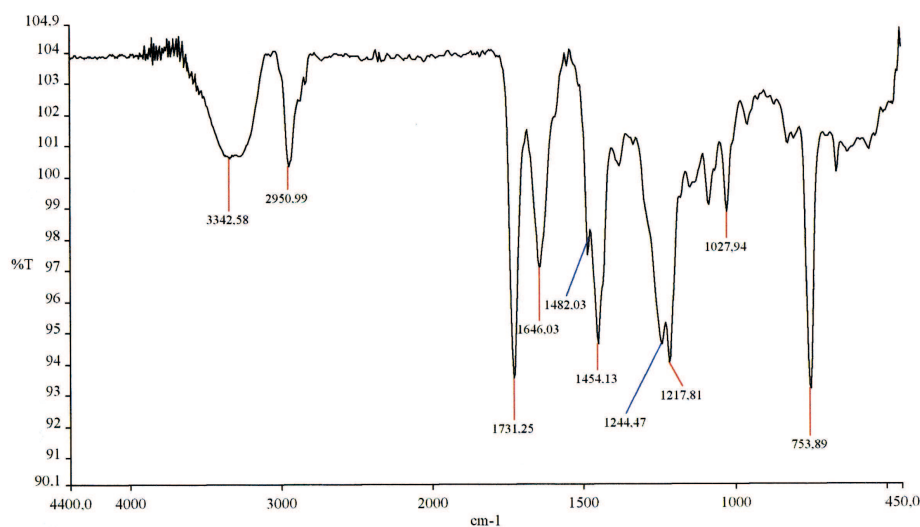


Figura 6.29: Espectro no IV de PA-4

No espectro de RMN<sup>13</sup>C de PA-4 (Fig. 6.31, Pág. 68) revelou 22 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro RMN <sup>13</sup>C – DEPT (135°) (Fig. 6.32, Pág. 68), possibilitou elaborar a Tabela 6.7 (Pág. 65 ).

Na Tabela são observadas treze absorções na região de carbono  $sp^3$ , destas as absorções em  $\delta$  53,1 e 56,3 correspondem a duas metoxilas sendo que a primeira é carac-

Tabela 6.7: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-4 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e DEPT 135°;  $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
174,9	112,6	52,5	56,2
154,4	111,5	51,2	53,0
136,6	101,0	36,8	22,4
130,8	70,7	28,7	-
129,1	54,5	21,3	-
109,7	40,4	-	-
53,9	27,0	-	-
C <sub>7</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub>
Total: C <sub>22</sub> H <sub>26</sub>			

terística de éster metílico, uma absorção em  $\delta$  70,7 relativa a um carbono  $sp^3$  oxigenado e absorção em  $\delta$  22,4 relacionada a uma metila. Uma absorção em  $\delta$  174,9 é relativa à carbonila de éster e  $\delta$  154,4 corresponde a um carbono  $sp^2$  oxigenado, além de sete absorções na região  $\delta$  100,9-136,6 atribuídas a carbonos aromáticos.

O espectro de massas (Fig. 6.33, Pág. 69) obtido de PA-4 apresentou o pico do íon molecular  $m/z$  384. O pico do íon base  $m/z$  366 provavelmente corresponde à perda de uma molécula de  $\text{H}_2\text{O}$ .

Com os dados obtidos, foi possível propor que PA-4 apresentava fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ , com IDH = 10, sendo uma destas deficiências relacionada à carbonila de éster.

Análise do espectro de Ressonância Magnética Nuclear bidimensional de correlações heteronucleares, HMQC (Fig. 6.34, Pág. 69), possibilitou relacionar os carbonos observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB com seus respectivos hidrogênios, resultando na elaboração da Tabela 6.8 (Pág. 66), que juntamente com o espectro bidimensional HMBC (Fig. 6.35, Pág. 70), permitiu a identificação da vizinhança de cada carbono analisado.

No espectro de HMBC observou-se os acoplamentos  $^3J_{\text{C,H}}$  entre o carbono 10 em  $\delta$  154,4 e os prótios  $\delta$  3,85 (MeO-10) e  $\delta$  7,15 (H-12) (Fig. 6.36, acoplamentos A e B, Pág. 70). Verificou-se acoplamento  $^2J_{\text{C,H}}$  entre o carbono  $\delta$  154,4 (C-10) e os prótios  $\delta$  6,83 (H-11) e 6,92 (H-9) (Fig. 6.36, acoplamentos C e D, Pág. 70). E ainda acoplamento  $^3J_{\text{C,H}}$  entre o carbono 7 em  $\delta$  109,7 e o prótio a  $\delta$  7,84 (HN-1) (Fig. 6.36, acoplamento E,

Tabela 6.8: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-4 e comparação com os dados da literatura de voacristina (PEREIRA, et al, 2008)

C	HMQC		HMBC		Voacristina
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{C,H}$	$^3J_{C,H}$	$\delta_C$
2	136,6	-	-	2H-6	136,6
3	51,1	3,00-3,20 (m); 2,83 (d, $J=9,1$ Hz)	-	-	52,3
5	52,4	3,75 (m); 3,00- 3,20 (m)	-	-	51,4
6	21,7	3,00-3,20 (m)	-	-	21,4
7	109,7	-	2H-6	HN-1	109,4
8	129,1	-	-	HN-1; 2H-6; H-12	128,7
9	101,0	6,92 (sl)	-	H-11	100,0
10	154,4	-	H-9; H-11-	H-12; MeO-10	154,0
11	111,5	6,83 (dl, $J=8,7$ Hz)	-	H-9	112,1
12	112,6	7,15 (d, $J=8,7$ Hz)	-	-	111,3
13	130,8	-	-	H-9; H-11	130,7
14	27,0	2,02 (m)	-	-	26,6
15	28,7	1,80 (m)	-	-	22,9
16	53,9	-	-	-	55,9
17	36,8	2,75 (d, $J=9,7$ Hz); 2,00 (m)	-	-	36,8
18	22,4	1,28 (d, $J=6,2$ Hz)	-	-	20,3
19	70,7	3,91 (m)	-	3H-18	71,2
20	40,4	1,43 (t, $J=8,6$ Hz)	-	-	39,4
21	54,5	4,14 (sl)	-	-	59,6
22	174,9	-	-	-	174,6
MeO-10	56,2	3,85 (s)	-	-	54,0
MeO-22	53,0	3,73 (s)	-	-	52,9

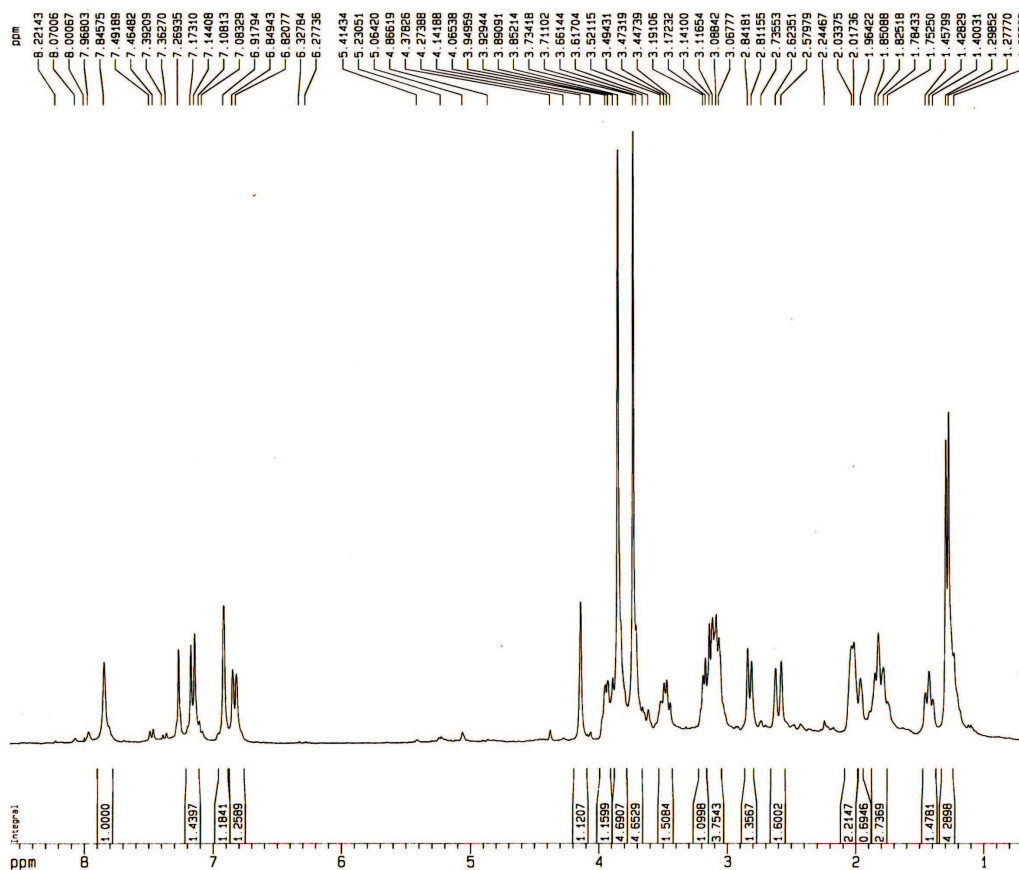


Figura 6.30: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-4 [500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

Pág. 70) e acoplamento  $^2J_{\text{C,H}}$  do carbono 7 a  $\delta$  109,7 e os prótios metilênicos  $\delta$  3,00-3,20 (2H-6). Observou-se acoplamento  $^2J_{\text{C,H}}$  do carbono 19 a  $\delta$  70,76 e os prótios metílicos a  $\delta$  1,28 (3H-18) (Fig. 6.36, acoplamentos F e G, Pág. 70).

Com base nos dados obtidos e comparação com dados da literatura, concluiu-se que PA-4 trata-se do alcalóide indólico do tipo iboga conhecido como *voacristina* (**4**), já isolado das raízes da espécie *P. affinis* (PEREIRA, et al, 2008).

### 6.1.5 Determinação estrutural de PA-5

Da fração clorofórmica do extrato etanólico da raiz foi isolado um sólido de cor amarelada, homogêneo em CCD, solúvel em MeOH, denominado PA-5 (ver procedimento experimental, Pág. 115).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-5 (Fig. 6.37, Pág. 72) apresentou 40 linhas

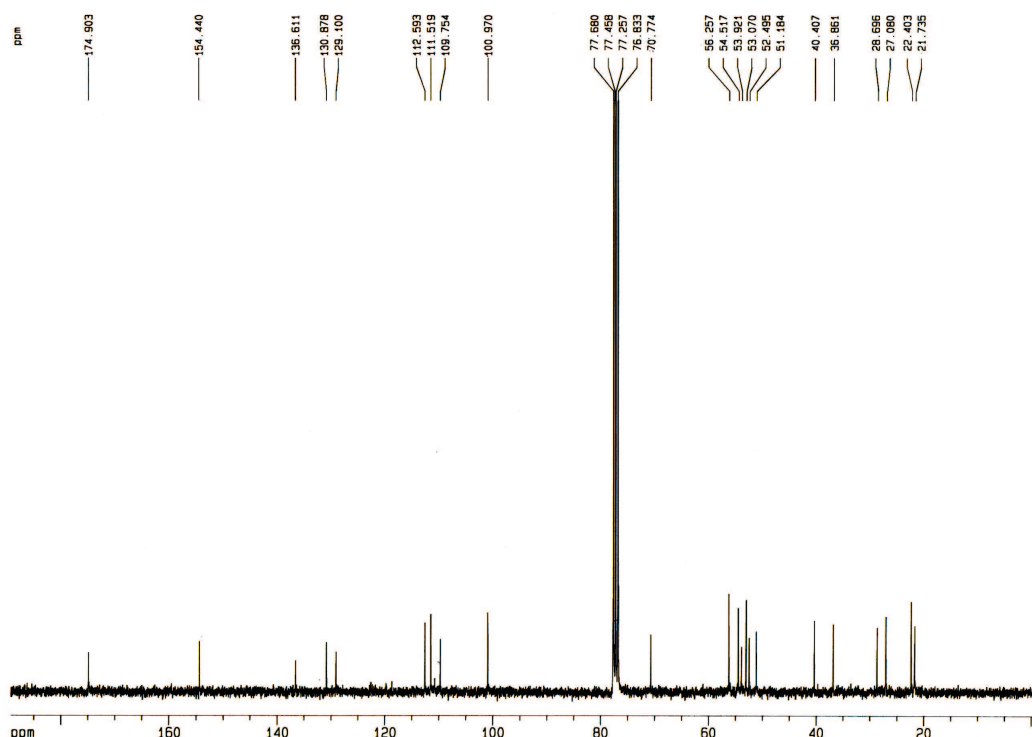


Figura 6.31: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-4 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

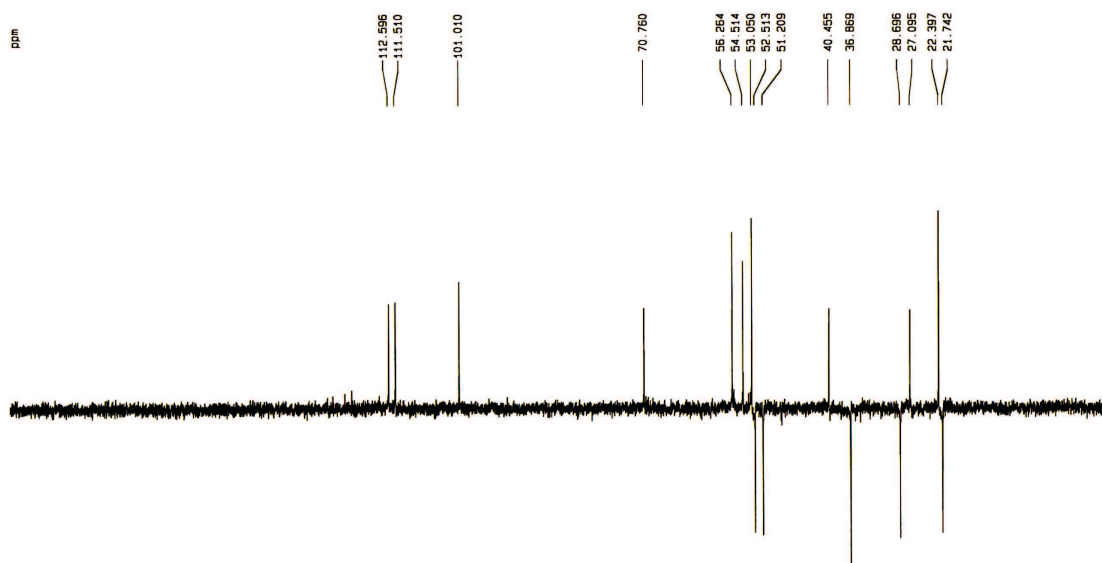


Figura 6.32: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-4 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

espectrais que ao serem comparadas com os dados obtidos do espectro RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT ( $135^\circ$ ) (Fig. 6.38, Pág. 73), possibilitou a identificação de 10 absorções relativas a carbonos não-hidrogenados, dezessete absorções indicativas de carbonos mono-hidrogenados, nove absorções relativas a carbonos metilênicos e quatro absorções referentes a carbonos metílicos (Tab. 6.9, Pág. 71).

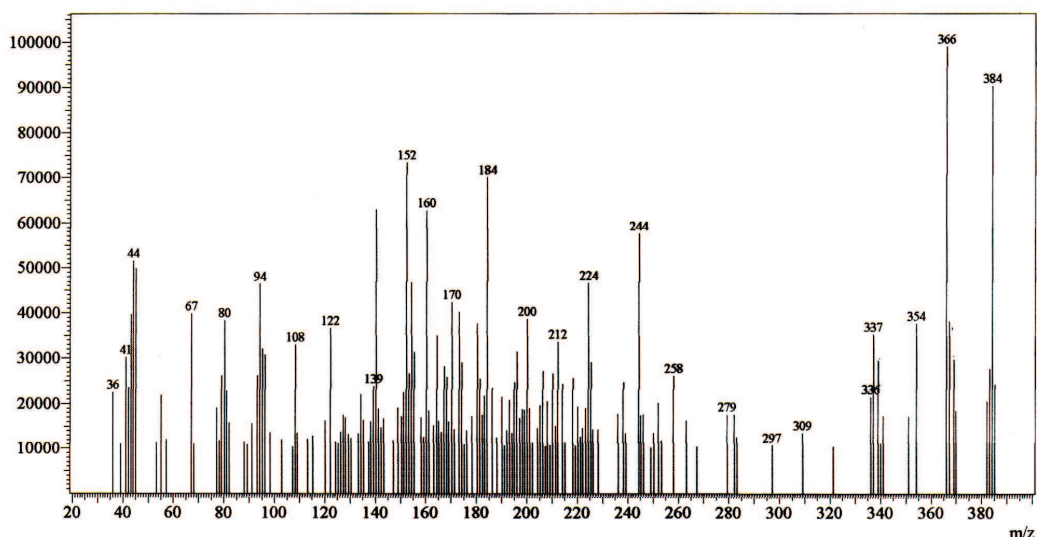


Figura 6.33: Espectro de Massas de PA-4

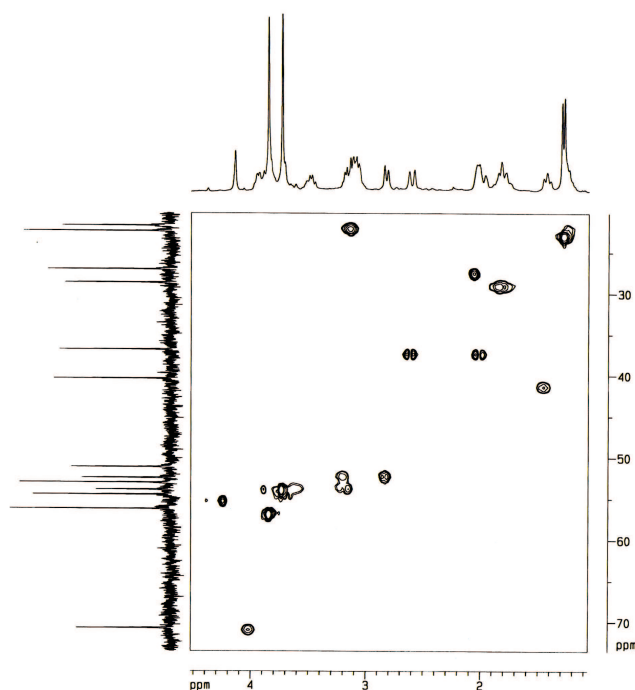


Figura 6.34: Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-4

Os sinais em  $\delta$  118,3 e 136,3 foram relacionados a carbonos de dupla ligação C=C, enquanto que os sinais em  $\delta$  13,17, 22,28 e 29,17 foram relacionados a grupos metila e o sinal em  $\delta$  56,6 a uma metoxila. Além de  $\delta$  155,1 referente a um carbono  $sp^2$  oxigenado. E os sinais em  $\delta$  65,7 e 72,0 são de C  $sp^3$  oxigenados.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-5 (Fig. 6.39, Pág. 73) foram observadas várias absorções na região  $\delta$  1,27-4,29 de prótio ligado a carbono  $sp^3$ . Um dubleto em  $\delta$  5,48

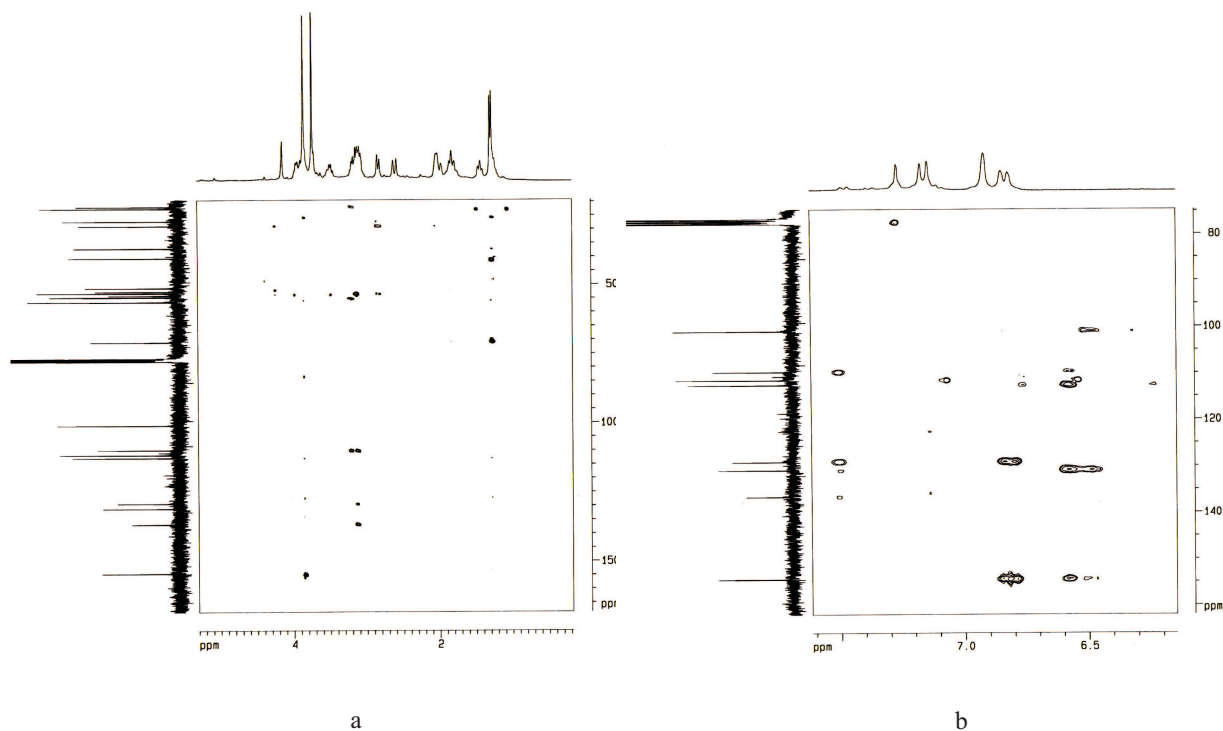


Figura 6.35: a) Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-4; b) Expansão do espectro a

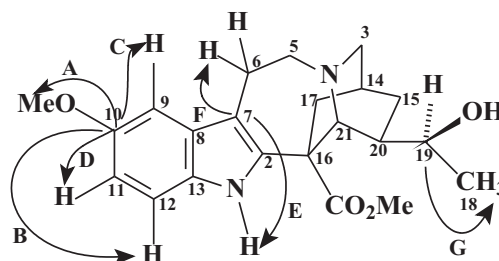


Figura 6.36: Representação dos acoplamentos de A-G observados no HMBC de PA-4

refere-se a um prótio de uma ligação dupla. Além de absorções na região de hidrogênio de anel aromático entre  $\delta$  6,68-7,43, há também presença de um dubleto em  $\delta$  1,26 atribuída aos prótios do grupo metila, confirmou a existência do prótio carbinólico, pois neste ambiente estrutural os prótios da metila estão interagindo com o prótio carbinólico e aparecem no espectro representado por um dubleto.

Com os dados obtidos e comparação com dados da literatura, foi possível caracterizar que PA-5 tratava-se de uma mistura de alcalóides em cerca de 55% para *affinisina* (**5a**) um alcalóide indólico do tipo sapargina e 45% para *iboxigaina* (**5b**) um alcalóide indólico do tipo iboga. Ambos já foram isolados anteriormente das raízes desta espécie.



Tabela 6.9: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-5

C	PA – 5a		PA – 5b	
	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$
2	140,5	-	143,9	-
3	50,6	4,29 (dl, $J=8,2$ Hz)	54,5	3,27 (m), 3,17 (m)
5	56,3	2,75 (m)	50,4	3,14 (m), 2,96 (m)
6	27,9	3,03 (m), 2,75 (m)	21,5	3,35 (m), 2,71 (m)
7	104,4	-	108,5	-
8	128,7	-	131,2	-
9	118,9	7,43 (d, $J=7,7$ Hz)	100,4	6,90 (d, $J=2,2$ Hz)
10	120,0	7,03 (t, $J=7,3$ Hz)	155,0	-
11	122,2	7,14 (m)	111,4	6,69 (dd, $J=2,2$ e 8,1 Hz)
12	109,9	7,33 (dl, $J=8,2$ Hz)	112,0	7,12 (d, $J=8,1$ Hz)
13	139,1	-	132,0	-
14	33,9	2,18 (m), 1,70 (m)	27,7	1,90 (m)
15	28,5	2,67 (m)	30,2	1,91 (m), 1,54 (m)
16	45,7	1,82 (m)	41,2	3,03 (m)
17	65,7	3,41 (m)	35,2	2,14 (m), 1,59 (m)
18	13,1	1,57 (d, $J=6,8$ Hz)	22,2	1,27 (d, $J=6,3$ Hz)
19	118,3	5,48 (q, $J=6,8$ Hz)	72,0	3,85 (m)
20	136,2	-	45,8	1,71 (m)
21	56,9	3,65 (m), 3,53 (m)	56,1	3,36 (m)
MeN-1	29,1	3,67 (s)	-	-
MeO-10	-	-	56,5	3,82 (s)

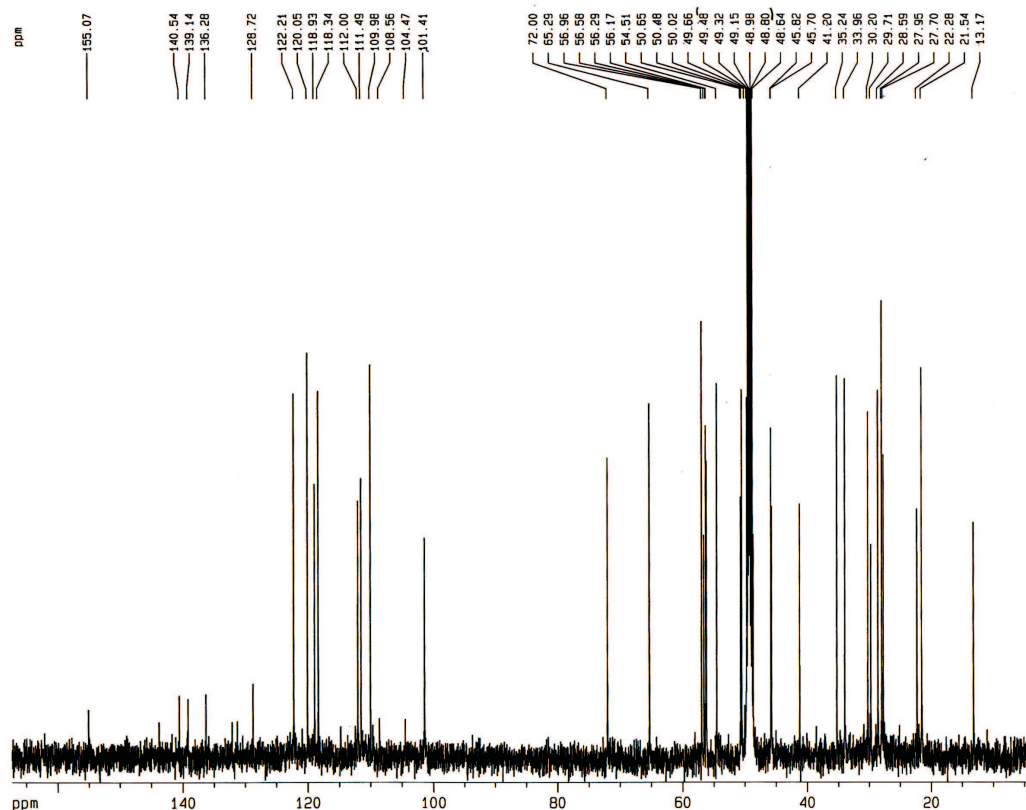


Figura 6.37: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-5 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

### 6.1.6 Determinação estrutural de PA-6

Da fração clorofórmica do extrato etanólico da raiz foi isolado um sólido de cor amarelada de ponto de fusão 232-235 °C, homogêneo em CCD, solúvel em MeOH, denominado PA-6 (ver procedimento experimental, Pág. 115).

O espectro na região do IV de PA-6, (Fig. 6.41, Pág. 74) mostrou uma banda larga característica de deformação axial de ligação NH em  $3.413\text{ cm}^{-1}$ , bandas em  $1.633$  e  $1.614\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial de ligação C=C de aromático.

Análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-6 (Fig. 6.42, Pág. 75) possibilitou a visualização de 15 sinais que foram comparados com os sinais observados no espectro RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT ( $135^\circ$ ) (Fig. 6.43, Pág. 76), possibilitando a identificação de seis carbonos não-hidrogenados, sete carbonos mono-hidrogenados e dois carbonos metílicos, permitindo a confecção da Tabela 6.10 (Pág. 74). Esta Tabela mostra dois sinais em  $\delta$  11,0 e 19,2 relacionados a duas metilas e sinais na região  $\delta$  112,4-157,8 semelhantes aos

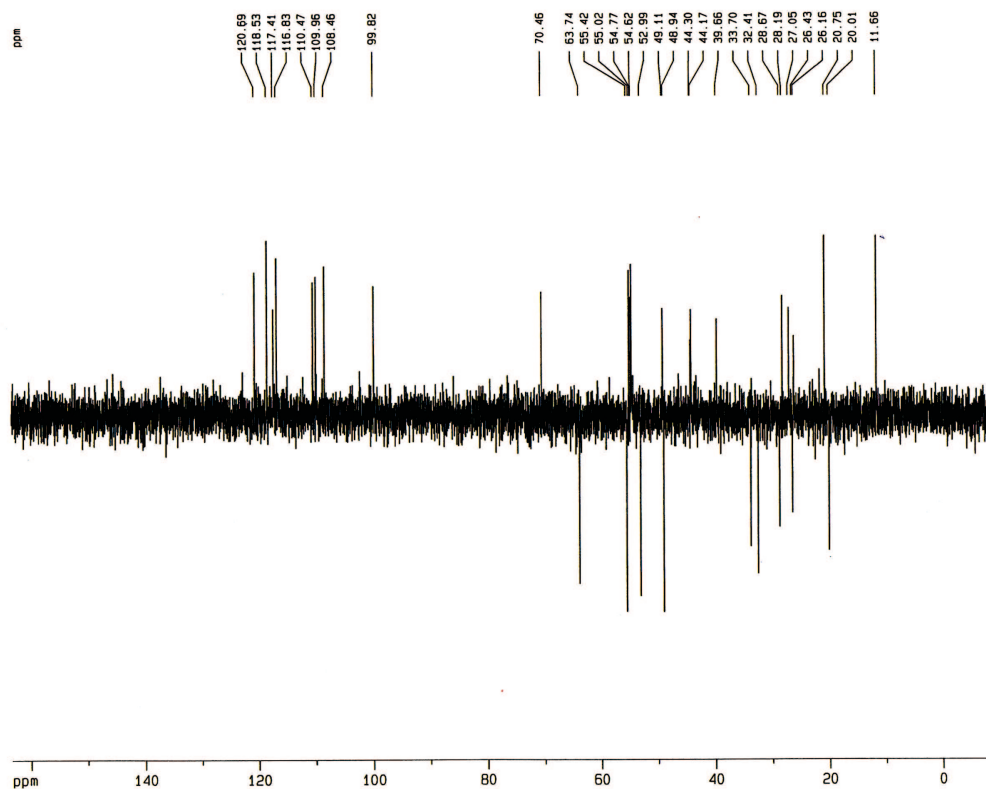


Figura 6.38: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-5 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

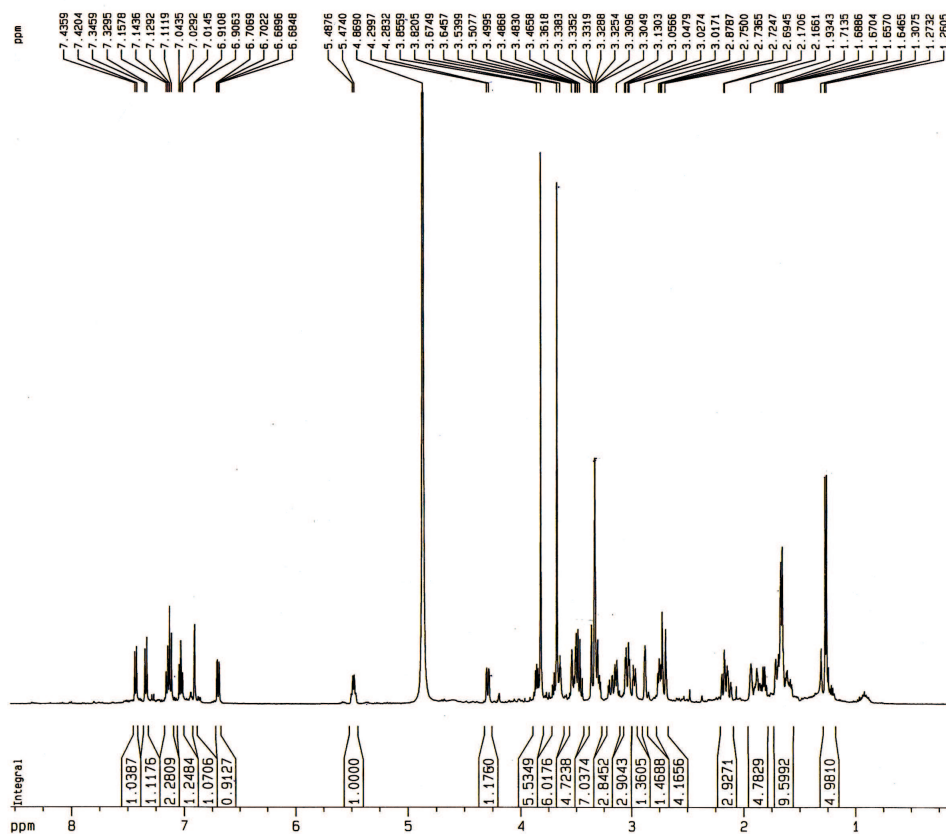


Figura 6.39: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-5 [500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

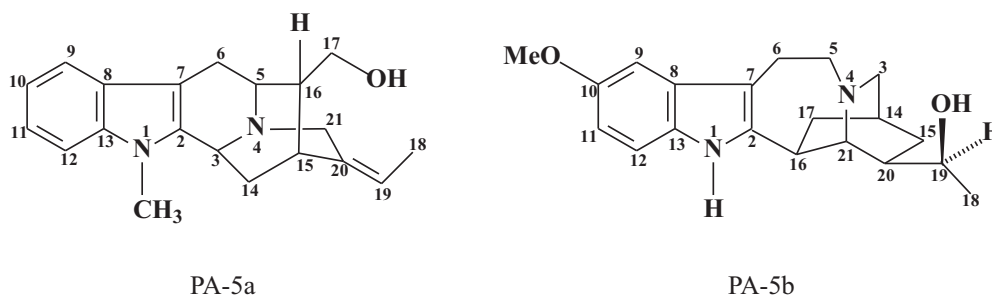


Figura 6.40: Affinisina e Iboxigaina

de PA-1 (1).

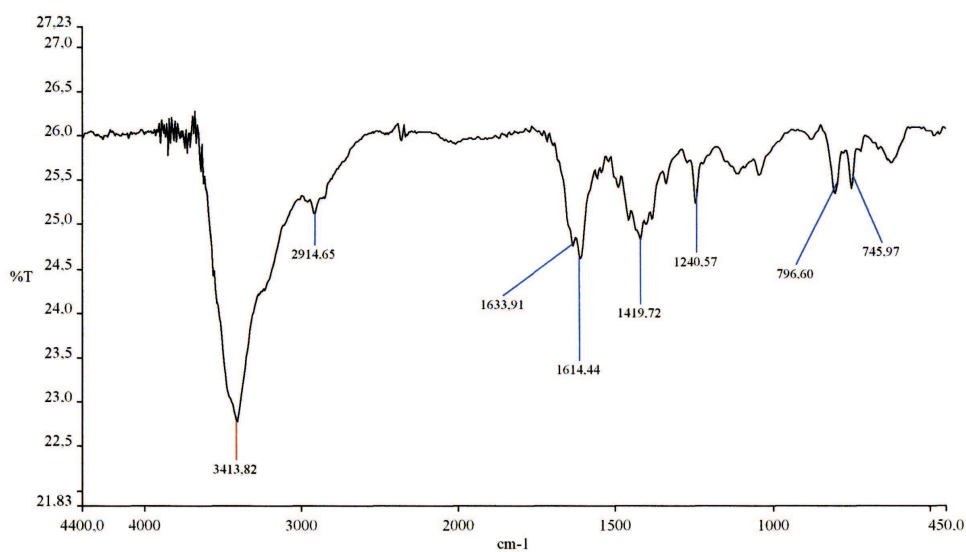


Figura 6.41: Espectro no IV de PA-6

Tabela 6.10: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-6 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e DEPT 135°;  $\delta$ ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz)

C	CH	CH <sub>3</sub>
157,8	131,9	19,1
142,9	128,3	11,0
133,2	121,0	-
126,9	119,9	-
122,5	116,6	-
111,8	116,0	-
-	110,8	-
C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>
Total: C <sub>15</sub> H <sub>13</sub>		

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-6 (Fig. 6.44, Pág. 76) observou-se sinais na região  $\delta$  7,29-8,93 característicos de um sistema indólico e sinais em  $\delta$  2,86 e 3,16 referentes a duas metilas.

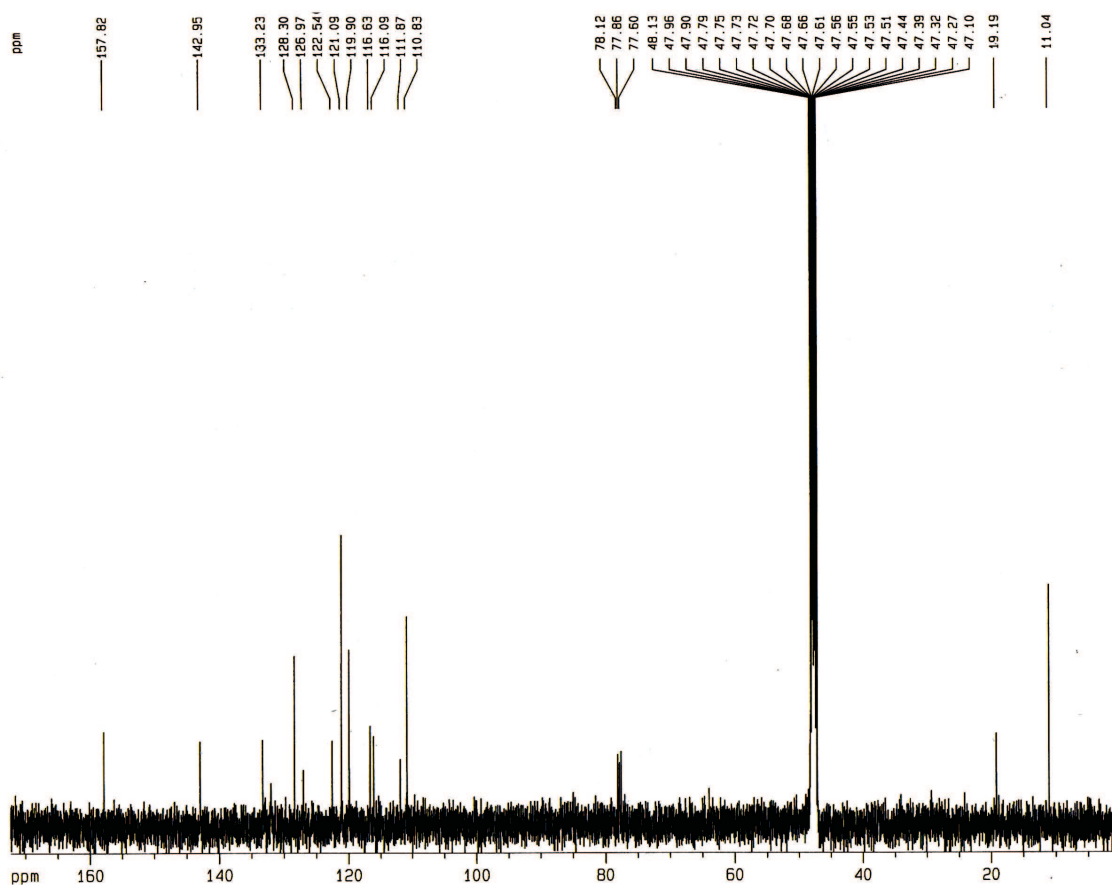


Figura 6.42: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-6 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

O espectro de massas de PA-6 (Fig. 6.45, Pág. 77) revelou o pico do íon molecular  $m/z$  262.

A partir da análise dos espectros descritos, foi possível propor que PA-6 apresentava fórmula molecular  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$  e deduziu-se que este composto apresentava 12 deficiências de hidrogênio.

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC (Fig. 6.46, Pág. 78), possibilitou a correlação dos hidrogênios aos seus respectivos átomos de carbono, resultando na correlação descrita na Tabela 6.11 (Pág. 78).

Análise do espectro bidimensional HMBC de PA-6 (Fig. 6.47, Pág. 79) (Tab. 6.11) mostrou que os prótios que absorvem em  $\delta$  2,86 (3H-17), 8,14 (H-3) e 8,95 (H-18) apresentavam correlações de acoplamento  $^3J_{\text{C,H}}$  com o carbono quaternário em  $\delta$  133,2

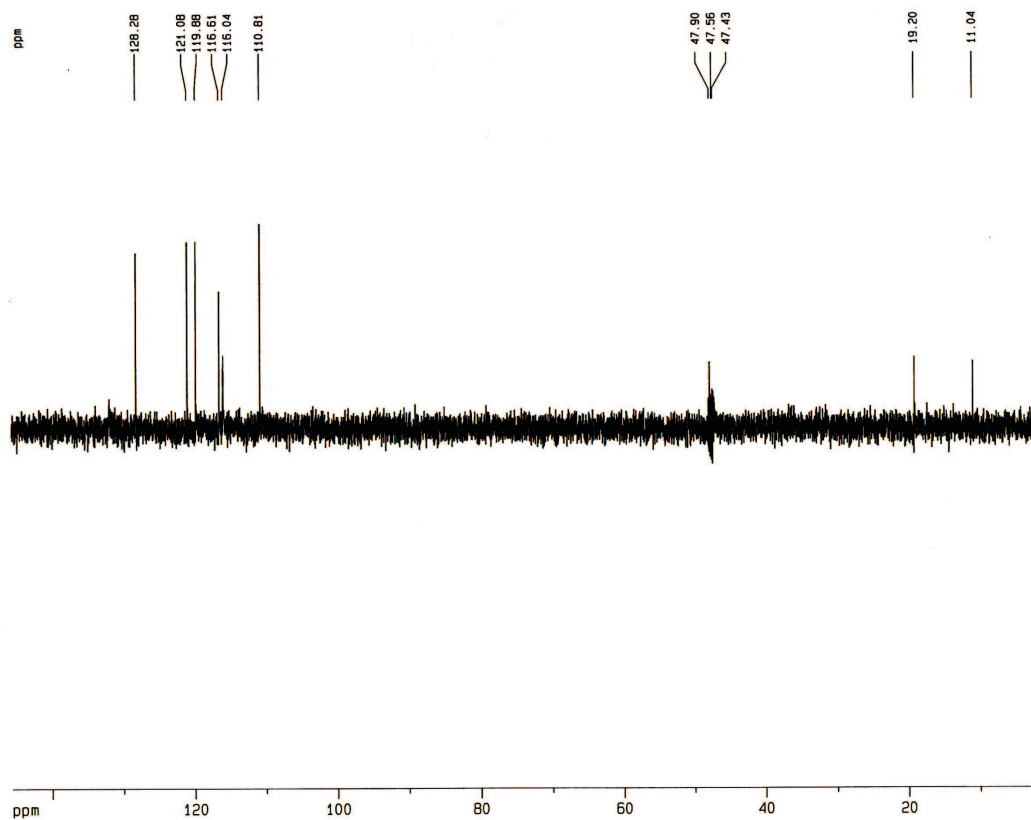


Figura 6.43: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-6 [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

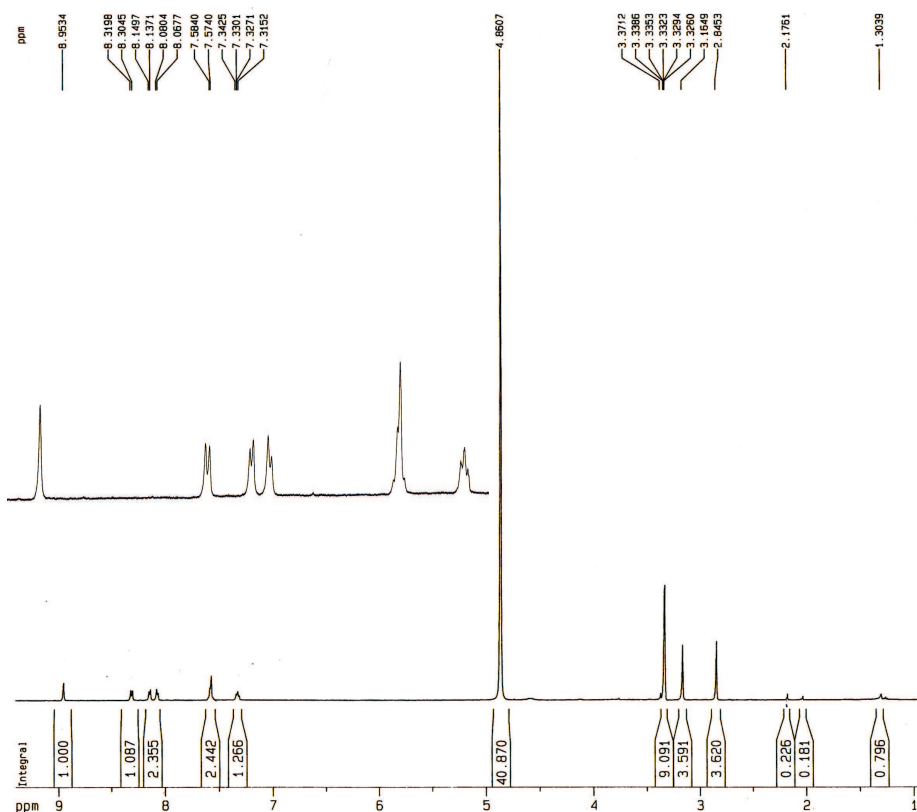


Figura 6.44: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-6 [500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

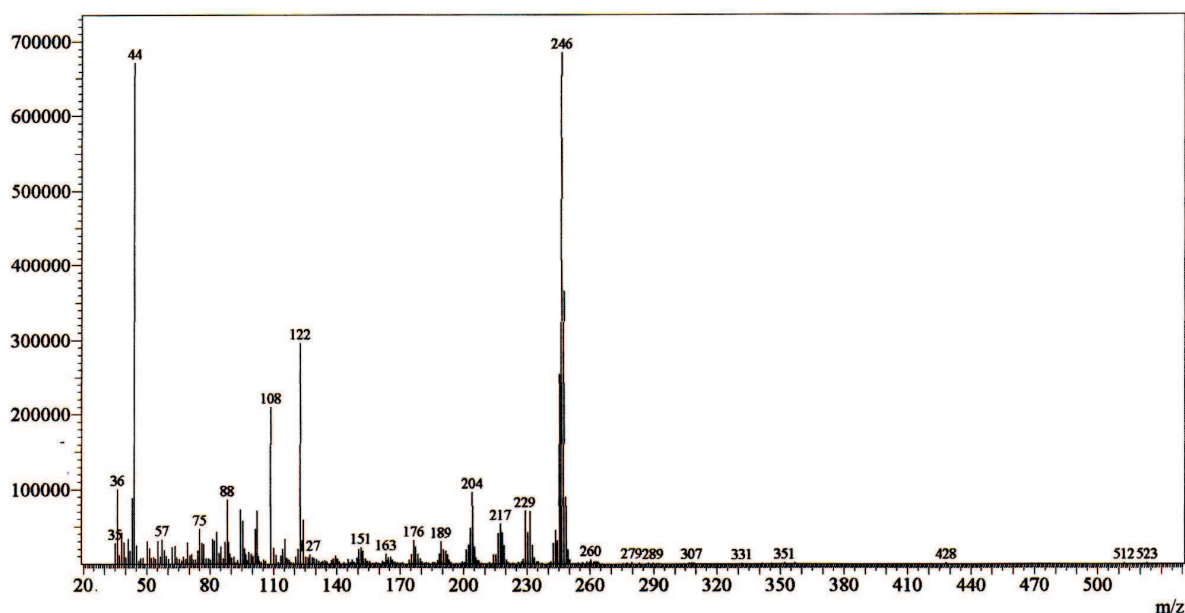


Figura 6.45: Espectro de Massas de PA-6

(C-15) (Fig. 6.48, acoplamentos A, B e C, Pág. 79). Ainda foi observado o acoplamento dos prótios em  $\delta$  8,14 (H-3) e 8,95 (H-18) com o carbono quaternário em  $\delta$  157,8 (C-20) (Fig. 6.48, acoplamentos D e E, Pág. 79), bem como dos prótios em  $\delta$  3,16 (3H-21) e 8,07 (H-14) com o carbono quaternário em  $\delta$  121,1 (C-19) (Fig. 6.48, acoplamentos F e G, Pág. 79).

O espectro na região do ultravioleta (Fig. 6.49, Pág. 80) mostrou absorção em 290 nm.

Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-6 com os de PA-1 mostrou que as absorções entre os dois eram bastante semelhantes, exceto nas correlações dos carbonos 3, 7, 8 e 16. Desta forma, foi possível propor a correlação dos dados de carbono-13 para PA-6 a partir dos dados de PA-1 (1). Sendo assim, foi proposto que PA-6 tratava-se do *N*-óxido de olivacina (**6**), um alcalóide indólico do tipo piridocarbazol inédito na espécie.

### 6.1.7 Determinação estrutural de PA-7

Da fração hexânica do extrato hexânico da raiz foi isolado um sólido de cor branca de ponto de fusão 179-181 °C, homogêneo em CCD, solúvel em  $\text{CHCl}_3$ , denominado PA-7

Tabela 6.11: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-6 e comparação com os dados de RMN<sup>13</sup>C de PA-1

C	HMQC		HMBC		PA- 1
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{C,H}$	$^3J_{C,H}$	
2	142,9	-	-	3H-17; H-18	143,2
3	131,9	8,14 (d, $J=6,3$ Hz)	H-14	-	138,1
7	126,9	-	-	H-9	138,1
8	122,5	-	-	H-10; H-12; H-18	134,6
9	121,0	8,31 (d, $J=7,6$ Hz)	-	H-11	122,3
10	119,9	7,33 (t, $J=7,6$ Hz)	-	H-12	120,8
11	128,3	7,57 (m)	H-10	H-9	129,2
12	110,8	7,57 (m)	-	H-10	112,1
13	142,9	-	-	H-9; H-11	144,5
14	116,6	8,07 (d, $J=6,3$ Hz)	H-3	-	117,0
15	133,2	-	-	H-3; 3H-17; H-18	138,1
16	111,8	-	3H-17	H-14	124,6
17	11,0	2,86 (m)	-	-	12,5
18	116,0	8,95 (m)	-	-	116,4
19	121,0	-	H-18	H-14; 3H-21	123,5
20	157,8	-	3H-21	H-3; H-18	160,7
21	19,2	3,16 (s)	-	-	22,2

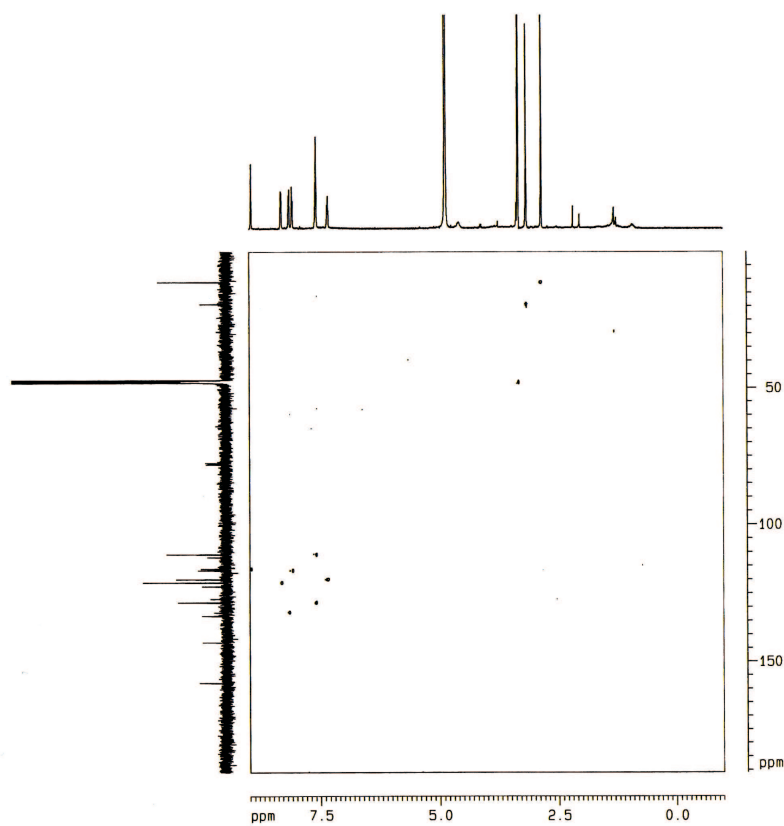


Figura 6.46: Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-6



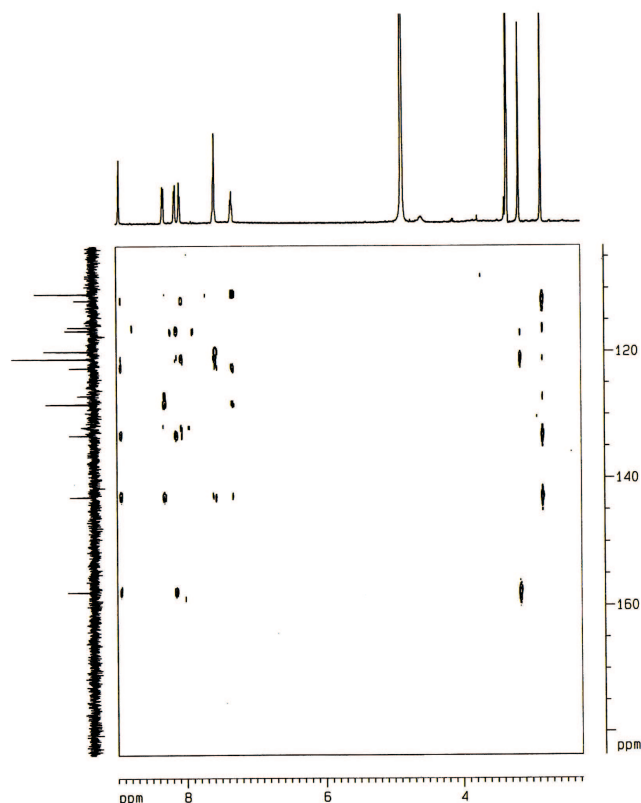


Figura 6.47: Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-6

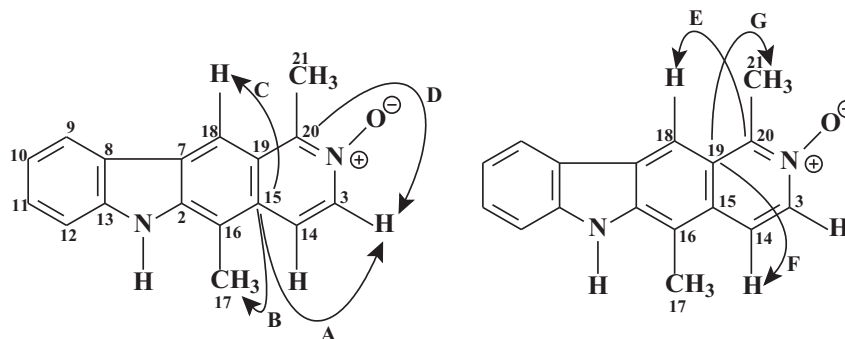


Figura 6.48: Representação dos acoplamentos de A-G observados no HMBC de PA-6

(ver procedimento experimental, Pág. 116).

O espectro na região do IV de PA-7, (Fig. 6.50) revelou absorções em 2945, 1446 e 1372  $\text{cm}^{-1}$  características de deformação axial de ligação C-H alifático. Uma banda em 1731  $\text{cm}^{-1}$  de ligação C=O de éster e banda de deformação axial de C-O de éster em 1244  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (Fig. 6.51, Pág. 81) exibiu um elevado número de

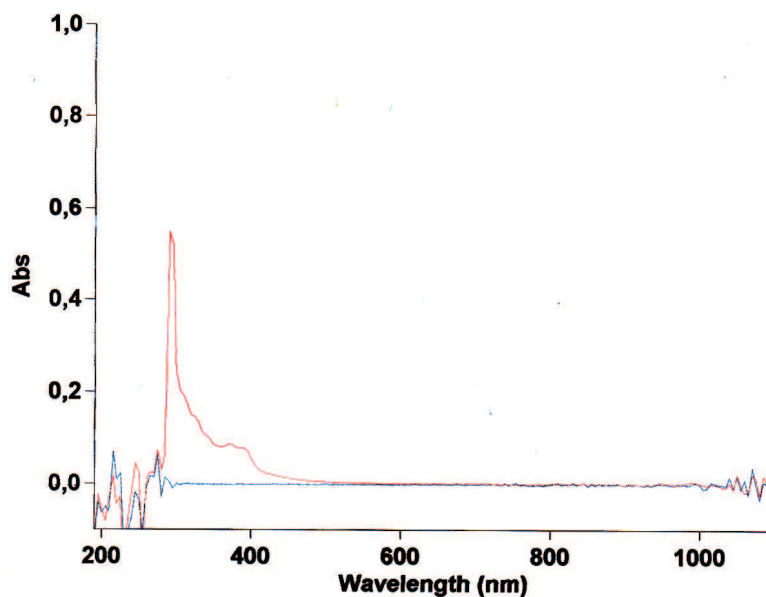


Figura 6.49: Espectro no UV de PA-6

linhas espectrais na região de carbonos saturados  $\delta$  15,8-59,3 característicos de moléculas triterpenoídicas, em confirmação com o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 6.52, Pág. 82) onde foram observados sinais típicos desta classe de compostos, indicadas pelas absorções entre  $\delta$  0,78-2,03.

Através da comparação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $135^\circ$ ) (Fig. 6.53, Pág. 82) pode-se verificar sinais em  $\delta$  124,5 (CH), 139,8 (C) e 121,8 (CH), 145,4 (C), correspondentes a duas ligações duplas trissubstituídas de triterpenos com esqueleto ursano e oleanano, respectivamente, em acordo com o espectro de RMN  $^1\text{H}$  que exibiu dois sinais em  $\delta$  5,16 e 5,22 referentes a dois hidrogênios característicos destas classes de compostos.

Um singlete intenso em  $\delta$  2,03 (3H) observado no espectro de hidrogênio foi atribuído aos hidrogênios de um grupo acetila e o sinal em  $\delta$  171,2 no espectro de carbono refere-se ao carbono de uma carbonila de éster, sugerindo assim, um grupamento acetoxila. Ainda foi observado no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB sinal em  $\delta$  81,2 pertencente a carbono metínico oxigenado e no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , um sinal em  $\delta$  4,52 referente ao hidrogênio carbinólico.

O espectro de massas de PA-7 (Fig. 6.54, Pág. 83) apresentou o pico do íon molecular  $m/z$  468, compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ , com 7 deficiências de

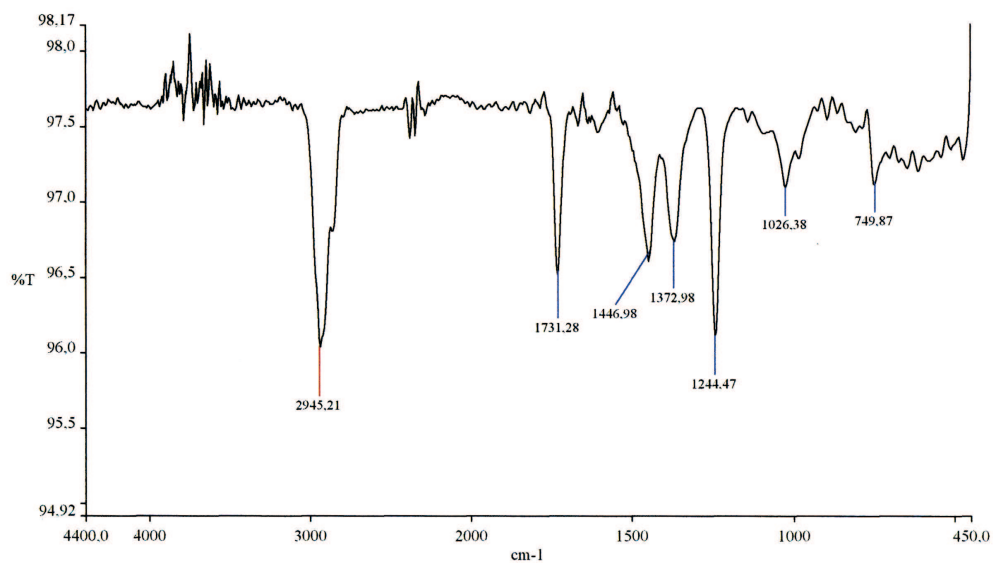


Figura 6.50: Espectro no IV de PA-7

hidrogênio.

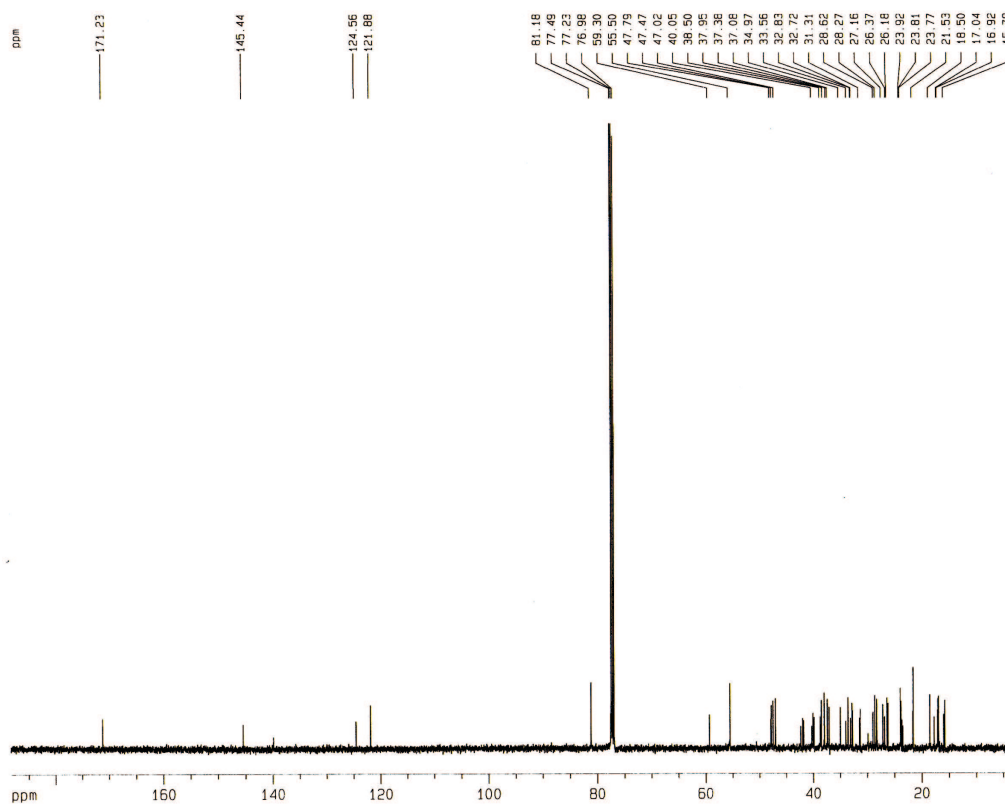


Figura 6.51: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-7 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

De acordo com os dados obtidos e comparação com os dados da literatura (Tab. 6.12, Pág. 84), pode-se concluir que PA-7 trata-se da mistura binária de triterpenos de esqueleto ursano e oleanano esterificados com um grupo acetila no carbono 3, sendo

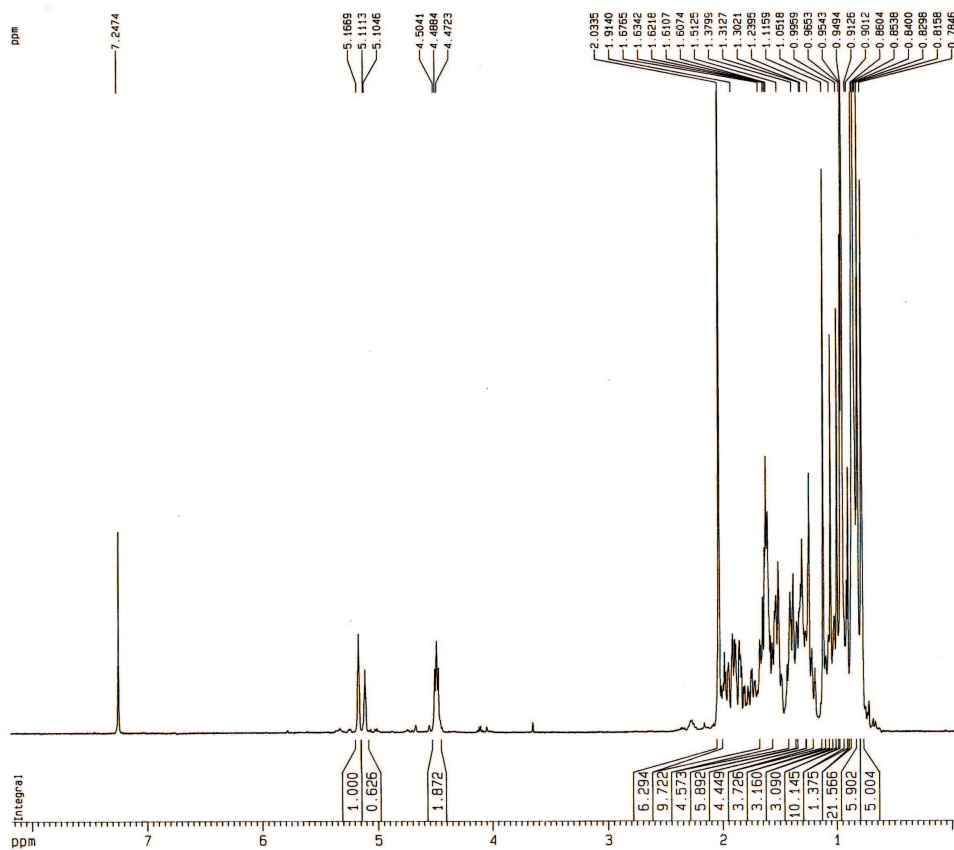


Figura 6.52: Espectro de RMN <sup>1</sup>H de PA-7 [500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

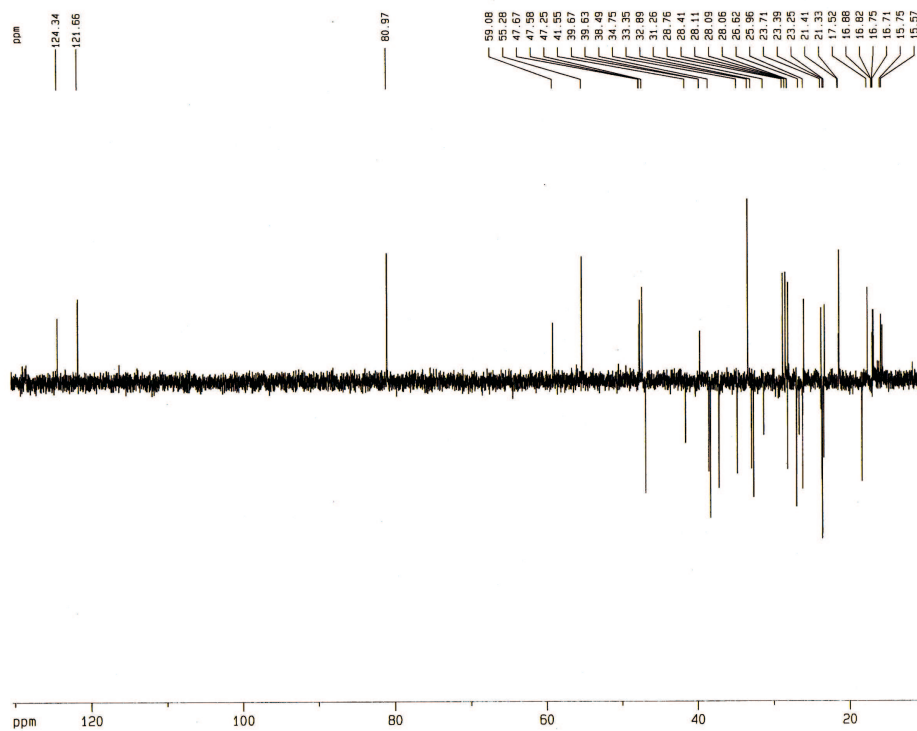


Figura 6.53: Espectro de RMN <sup>13</sup>C – DEPT 135° de PA-7 [125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

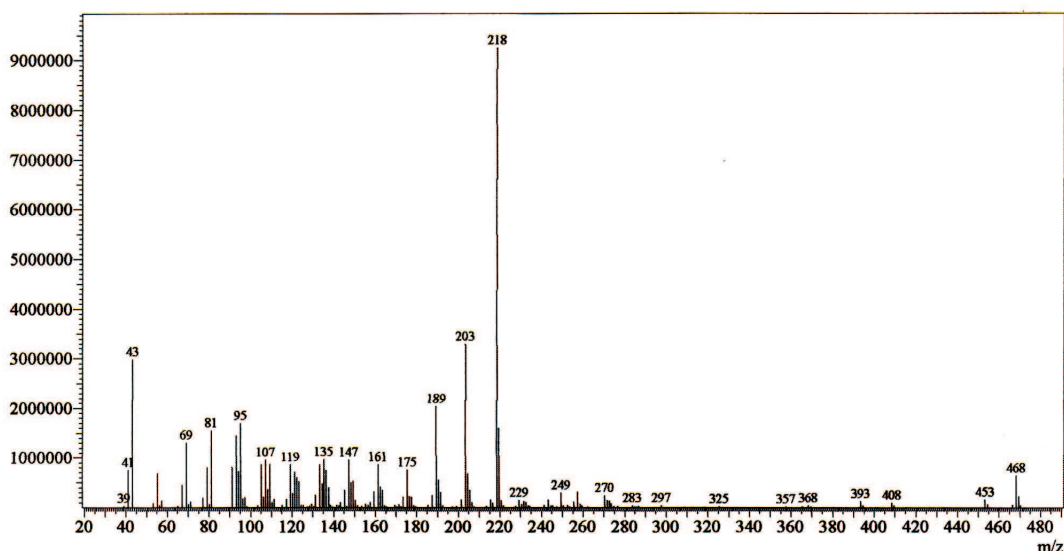
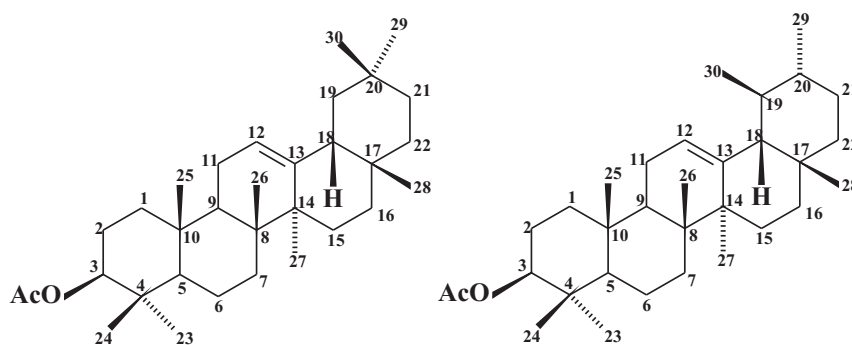


Figura 6.54: Espectro de Massas de PA-7

denominados de *acetatos de  $\alpha$ -amirina (7b)* e  *$\beta$ -amirina (7a)*.

Figura 6.55: Acetatos de  $\beta$ -amirina e  $\alpha$ -amirina

### 6.1.8 Determinação estrutural de PA-8

Da fração clorofórmica do extrato etanólico do caule foi isolado um sólido amarelo de ponto de fusão 107-108 °C, homogêneo em CCD, solúvel em  $\text{CHCl}_3$ , denominado PA-8 (ver procedimento experimental, Pág. 118).

O espectro de absorção na região do IV de PA-8, (Fig. 6.56, Pág. 85) apresentou banda em  $3.393 \text{ cm}^{-1}$  referente à deformação angular de ligação OH e NH; duas bandas em  $2927$  e  $2859 \text{ cm}^{-1}$  deformações axiais de intensidade forte características de  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ . Banda em  $1.730 \text{ cm}^{-1}$  decorrentes de deformação axial de ligação de  $\text{C}=\text{O}$  de carbonila de

Tabela 6.12: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-7 e comparação com os dados da literatura dos acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina

	7b	Acetato de $\alpha$ -amirina	7a	Acetato de $\beta$ -amirina
C	$\delta_C$	$\delta_C$	$\delta_C$	$\delta_C$
1	38,5	38,6	38,5	38,6
2	27,1	26,8	26,3	26,8
3	81,1	81,1	81,1	81,1
4	38,5	38,6	38,5	38,6
5	55,5	55,4	55,5	55,4
6	18,5	18,4	18,5	18,4
7	32,8	33,0	32,8	33,0
8	40,0	40,2	38,5	38,6
9	47,7	47,8	47,7	47,7
10	37,0	37,0	37,9	37,9
11	23,7	23,4	23,7	23,8
12	124,5	124,5	121,8	121,8
13	139,8	139,8	145,4	145,4
14	42,0	42,2	41,7	41,7
15	28,6	28,9	26,3	26,8
16	26,3	26,8	26,3	26,8
17	33,5	33,9	31,3	31,4
18	59,3	59,2	47,7	47,7
19	39,8	39,8	47,7	47,7
20	39,8	39,8	31,4	31,4
21	31,3	31,4	33,5	33,9
22	41,7	41,7	37,0	37,0
23	28,2	28,2	28,2	28,2
24	17,0	17,0	15,7	15,9
25	15,7	15,9	15,7	15,9
26	18,5	18,4	16,9	16,9
27	23,8	23,5	26,3	26,8
28	28,3	28,3	28,3	28,3
29	17,7	17,7	32,8	33,0
30	21,5	21,5	23,7	23,8
1'	171,2	171,1	171,2	171,1
2'	21,6	21,6	21,6	21,6

éster, em  $1242\text{ cm}^{-1}$  deformação axial de ligação C-O de éster, em  $754\text{ cm}^{-1}$ , deformação angular de CH aromático fora do plano do anel.

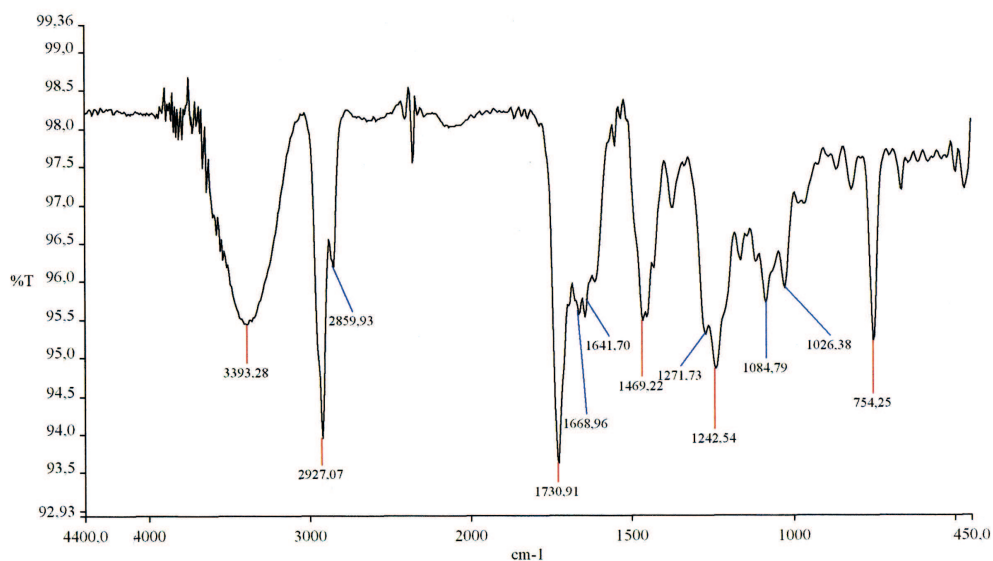


Figura 6.56: Espectro no IV de PA-8

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (Fig. 6.57, Pág. 88) de PA-8 observou-se 39 linhas espectrais que após serem comparadas com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT ( $135^\circ$ ) (Fig. 6.58, Pág. 89) possibilitou elaborar a Tabela 6.13 (Pág. 85). Na qual foi observada uma absorção em  $\delta$  53,6 referente a éster metílico, absorção em  $\delta$  55,9 referente a uma metoxila e em  $\delta$  22,2 correspondente a uma metila, oito absorções referentes a carbonos  $sp^2$  na região  $\delta$  108,2-186,3, sendo que a absorção em  $\delta$  159,5 refere-se a um carbono oxigenado, quatorze absorções referentes a carbonos  $sp^3$  na região  $\delta$  22,2-88,1, onde os sinais em  $\delta$  70,4 e 88,1 trata-se de carbonos oxigenados.

Tabela 6.13: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-8 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e DEPT  $135^\circ$ ;  $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
186,3	121,7	48,7	55,9
173,2	114,1	48,1	53,6
159,5	108,2	35,1	22,2
144,9	70,1	33,3	-
144,1	54,6	29,5	-
88,1	39,6	-	-
57,5	26,7	-	-
C <sub>7</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub>
Total: C <sub>22</sub> H <sub>26</sub>			

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 6.59, Pág. 90) de PA-8 mostrou absorções em  $\delta$  3,71 e 3,81 na forma de singleto, com integração para três prótios cada, que foram correlacionados a duas metoxilas, dubleto em  $\delta$  1,24 referente a uma metila. Foram observados sinais característicos de hidrogênio de anel aromático em  $\delta$  6,93 e 7,38 com integração para um prótio cada apresentaram-se, ambos, como dubleto, em  $\delta$  6,83 duplo dubleto com integração para um prótio ligado a carbono  $sp^2$ . E ainda um singleto largo em  $\delta$  2,07 com integração para um hidrogênio ligado a carbono  $sp^3$ . De acordo com os espectros de carbono-13 e hidrogênio pode-se observar que se trata de uma mistura de alcalóides indólicos do tipo iboga, onde apenas o constituinte majoritário foi determinado.

O espectro de massas (Fig. 6.60, Pág. 90) obtido de PA-8 apresentou o pico do íon molecular  $m/z$  400. O pico em  $m/z$  383 é coerente com a fragmentação de grupamento hidroxila apesar de não ser muito comum.

De acordo com os dados dos espectros de RMN, IV e EM foi possível prever que PA-8 apresentava fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$  e conseqüentemente 10 índices de deficiência de hidrogênio.

Análise do espectro bidimensional de correlações heteronucleares, HMQC (Fig. 6.61, Pág. 91) de PA-8 possibilitou observar os acoplamentos entre os prótios observados no espectro de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Neste espectro observa-se o acoplamento  $^1J_{\text{C,H}}$  entre o carbono em  $\delta$  121,7 (C-9) com o prótio em  $\delta$  7,38 (H-9); acoplamento entre os carbonos  $\delta$  108,2 (C-12) e 114,1 (C-10) com os prótios  $\delta$  6,83 (H-10) e 6,93 (H-12) respectivamente, além de outros acoplamentos que estão relacionados na Tabela 6.14 (Pág. 87).

O espectro de HMBC (Fig. 6.62, Pág. 91) (Tabela 6.14, Pág. 87) mostrou o acoplamento  $^3J_{\text{C,H}}$  do carbono quaternário  $\delta$  186,2 (C-2) com os prótios metilênicos a  $\delta$  2,52 e 2,76 (2H-17) (Fig. 6.63, acoplamento A, Pág. 92). Acoplamento  $^3J_{\text{C,H}}$  do carbono metilênico  $\delta$  29,5 (C-15) com o prótio a  $\delta$  4,41 (H-21) (Fig. 6.63, acoplamento B, Pág. 92).

Observa-se ainda o acoplamento  $^3J_{\text{C,H}}$  entre o carbono mono-hidrogenado  $\delta$  70,1 (C-19) com o prótio a  $\delta$  4,41 (H-21) (Fig. 6.63, acoplamento C, Pág. 92). O acoplamento



Tabela 6.14: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-8

C	HMQC		HMBC	
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{C,H}$	$^3J_{C,H}$
2	186,3	-	-	2H-17
3	48,2	2,92 (m); 2,74 (m)	-	H-15; H-17 $\alpha$ ; H-21
5	48,0	3,62 (m); 2,98 (m)	-	H-21
6	33,5	2,05 (m); 1,79 (m)	-	-
7	88,1	-	-	-
8	144,9	-	-	H-10; H-12
9	121,7	7,38 (d, $J=8,4$ Hz)	-	-
10	114,1	6,83 (dd, $J=8,4, 2,5$ Hz)	-	H-12
11	159,5	-	H-10; H-12	H-9; MeO-11
12	108,3	6,93 (d, $J=2,5$ Hz)	-	H-10
13	144,1	-	-	H-9
14	26,9	2,07 (sl)	-	-
15	29,5	1,80 (m)	-	H-17 $\alpha$ ; H-21
16	57,5	-	2H-17; H-21	-
17	35,2	2,52 (m); 2,76 (m)	-	H-21
18	22,3	1,24 (d, $J=6,3$ Hz)	-	-
19	70,4	3,90 (m)	3H-18	H-21
20	39,6	1,47 (m)	H-21	3H-18
21	54,4	4,41 (s)	-	2H-17
22	173,2	-	-	H-17 $\alpha$ ; H-21; MeO-22
MeO-11	55,9	3,81 (s)	-	-
MeO-22	53,6	3,71 (s)	-	-

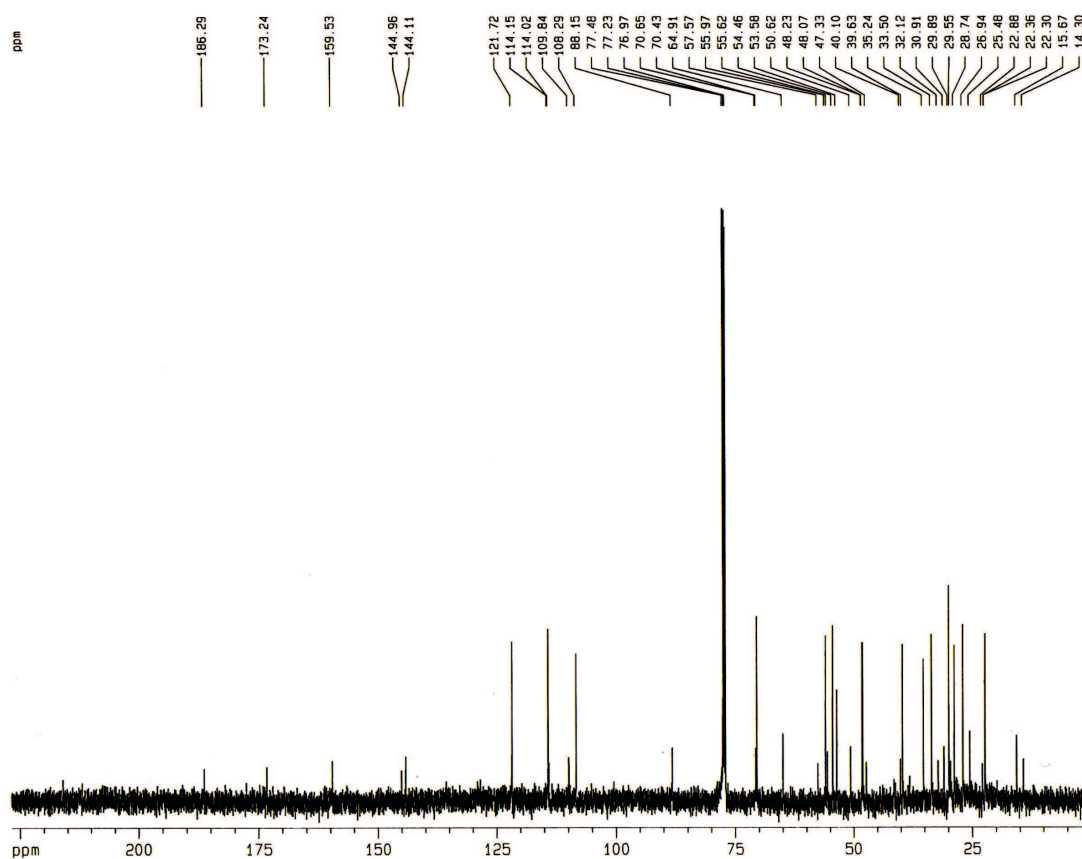


Figura 6.57: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-8 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

$^2J_{\text{C,H}}$  entre o carbono mono-hidrogenado  $\delta$  70,1 (C-19) com os prótios metílicos a  $\delta$  1,24 (3H-18), acoplamento entre o carbono mono-hidrogenado  $\delta$  39,6 (C-20) com o prótio  $\delta$  4,41 (H-21) (Fig. 6.63, acoplamentos D e E, Pág. 92), bem como o acoplamento  $^2J_{\text{C,H}}$  entre o carbono quaternário  $\delta$  57,5 (C-16) com os prótios metilênicos a  $\delta$  2,52 e 2,76 (2H-17) e com o prótio  $\delta$  4,41 (H-21) (Fig. 6.63, acoplamentos F e G, Pág. 92).

Analisando os deslocamentos químicos de C-15 e C-21 verifica-se que o primeiro encontra-se mais desprotegido enquanto que o segundo está mais protegido, isso ocorre quando a  $\text{CH}_3$ -18 encontra-se na posição  $\beta$ , pois esta atua com efeito  $\gamma$  sobre o C-21. Quando a  $\text{CH}_3$ -18 encontra-se na posição  $\alpha$  o C-15 é quem sofre esse efeito  $\gamma$  e passa a ser protegido ao mesmo tempo em que C-21 fica desprotegido. Desta forma, conclui-se que o C-19 possui configuração *S* (Fig. 6.64, Pág. 92).

O espectro na região do ultravioleta (Fig. 6.65, Pág. 92) mostrou absorção em 295 nm.

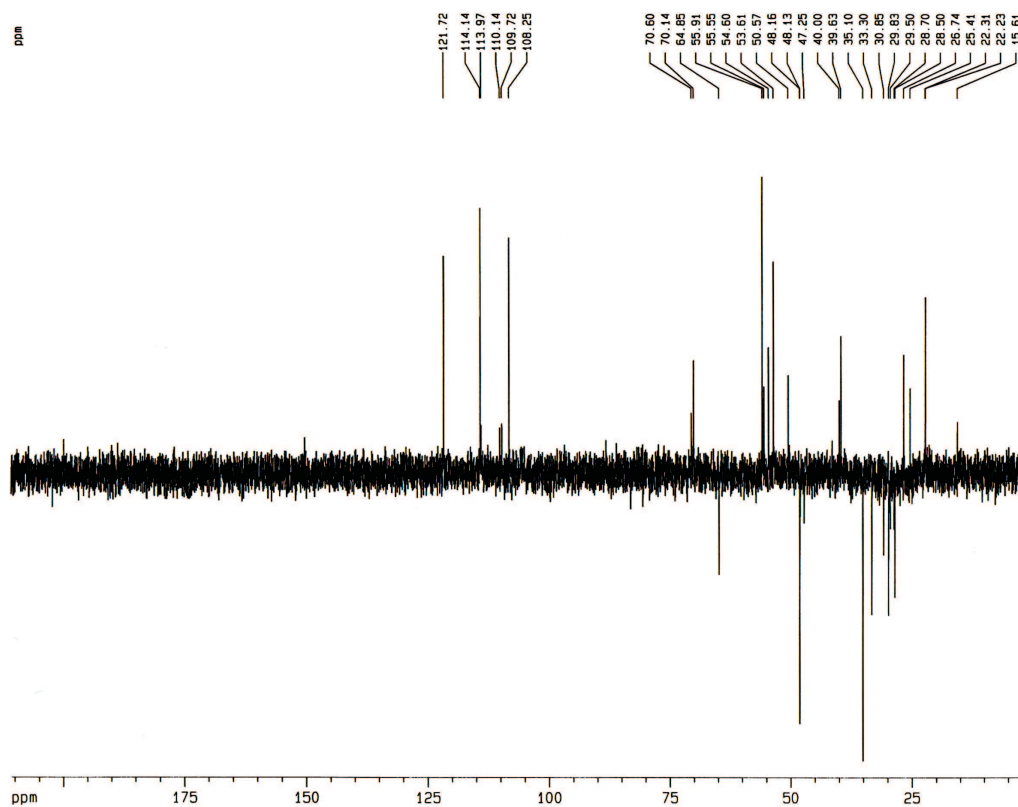


Figura 6.58: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-8 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

Com base nas análises dos dados obtidos e consulta na literatura pode-se propor que a substância PA-8 trata-se da *isovoacristina hidroxindolenina* (**8**), um alcalóide indólico do tipo iboga inédito na literatura.

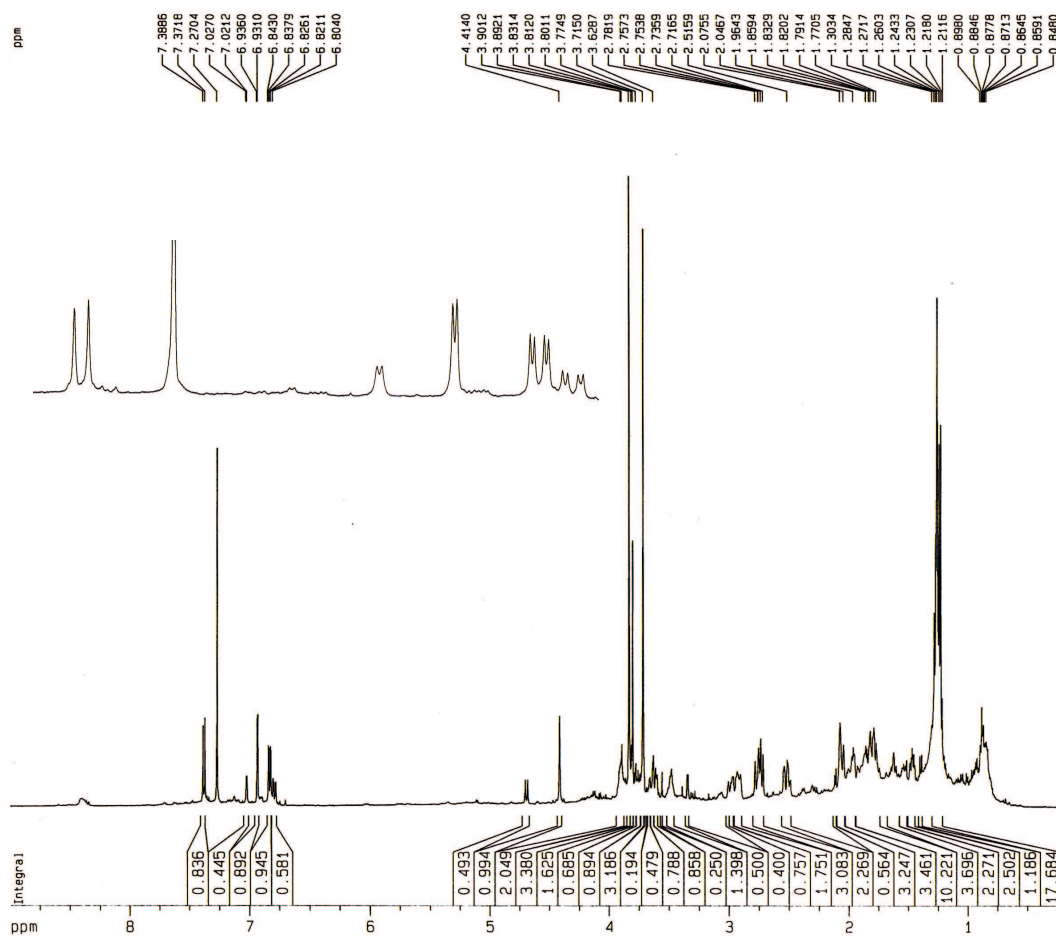


Figura 6.59: Espectro de RMN <sup>1</sup>H de PA-8 [500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)]

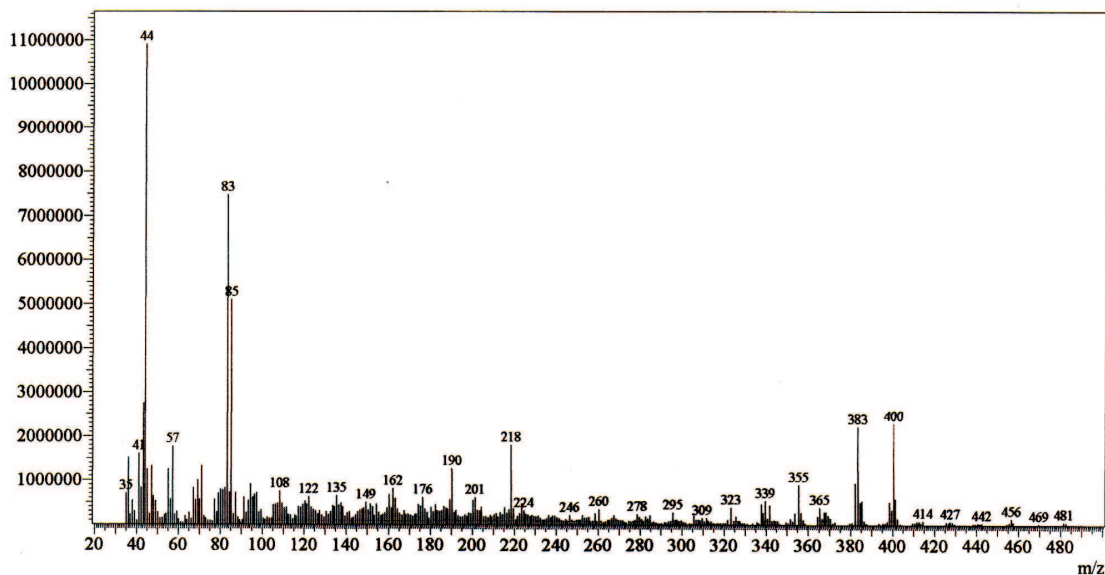


Figura 6.60: Espectro de Massas de PA-8

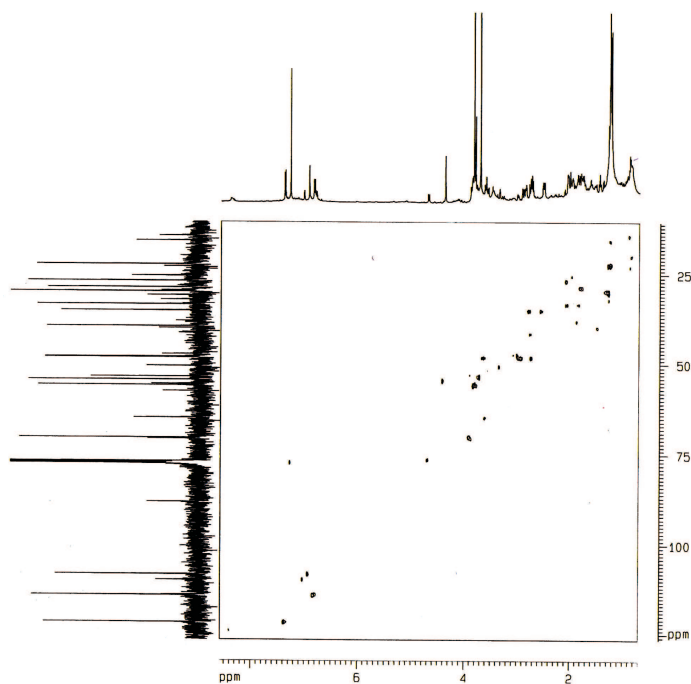


Figura 6.61: Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-8

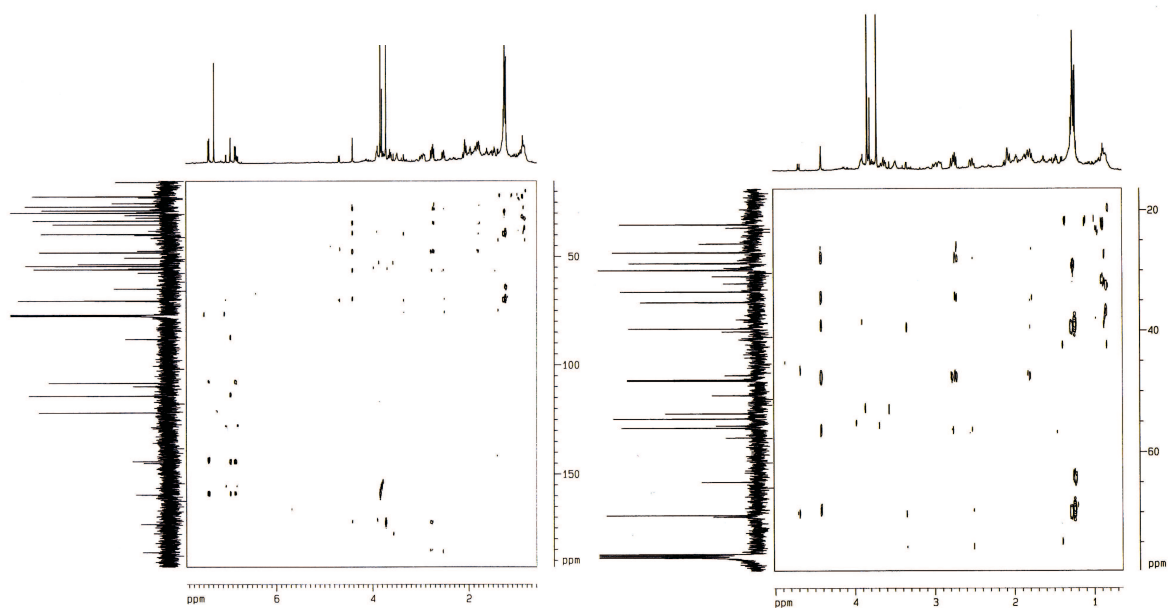


Figura 6.62: Expansão do diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-8

### 6.1.9 Determinação estrutural de PA-9

Da fração hexânica do extrato hexânico da raiz foi isolado um sólido de cor amarela de ponto de fusão 128-130 °C, homogêneo em CCD, solúvel em  $\text{CHCl}_3$ , denominado PA-9 (ver procedimento experimental, Pág. 116).

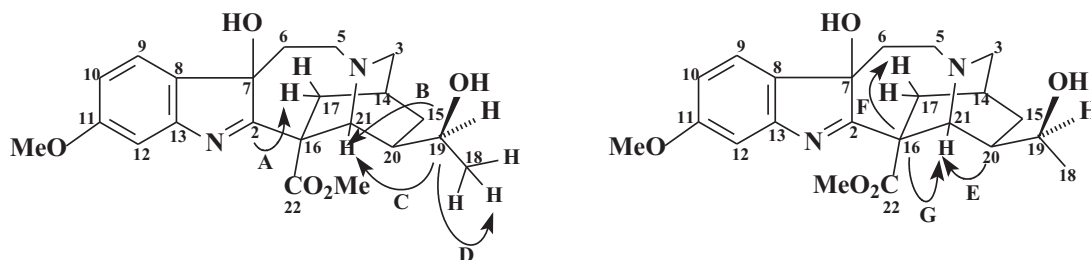


Figura 6.63: Representação dos acoplamentos de A-G observados no HMBC de PA-8

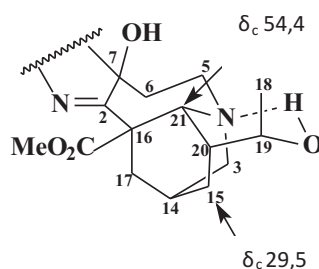


Figura 6.64: Representação da configuração do C-19 de PA-8

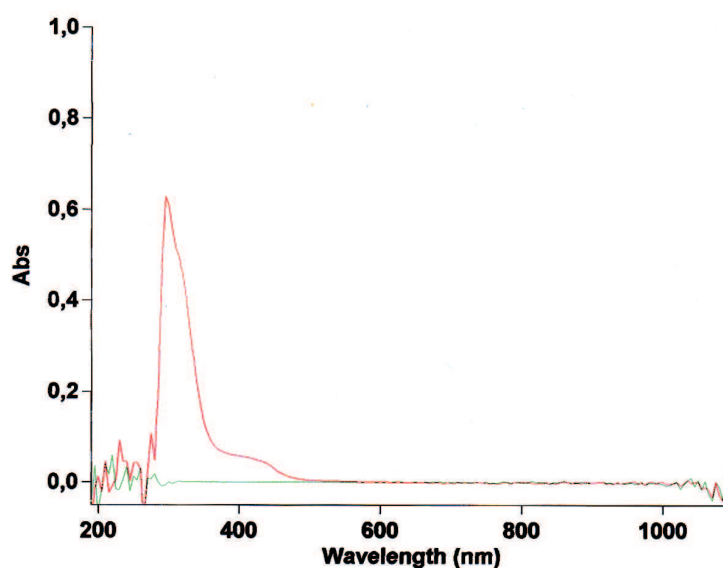


Figura 6.65: Espectro no UV de PA-8

No espectro de infravermelho de PA-9, (Fig. 6.66, Pág. 93) pode-se observar uma banda em  $3.368\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação axial de ligação N-H, em  $2931$  e  $2859\text{ cm}^{-1}$  deformação axial de ligação  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ . Banda em  $1727\text{ cm}^{-1}$  de carbonila de éster.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-9 (Fig. 6.67, Pág. 93) apresentou 22 linhas espectrais que foram comparadas com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT ( $135^\circ$ ) (Fig. 6.68, Pág. 94), possibilitando a identificação de sete absorções relativas a carbonos não-

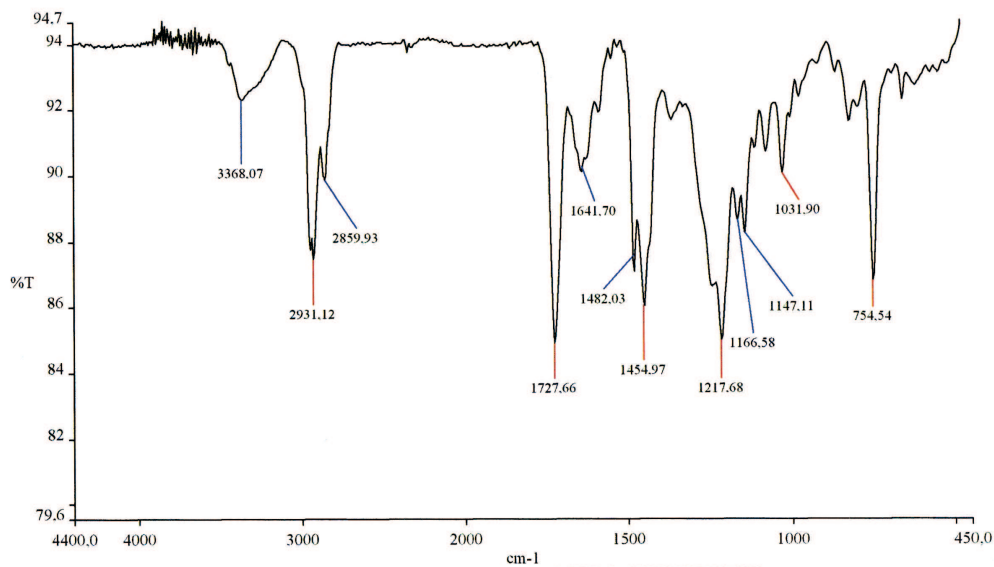


Figura 6.66: Espectro no IV de PA-9

hidrogenados, seis de carbonos mono-hidrogenados e três referentes a carbonos metílicos, permitindo a confecção da Tabela 6.15 (Pág. 94).

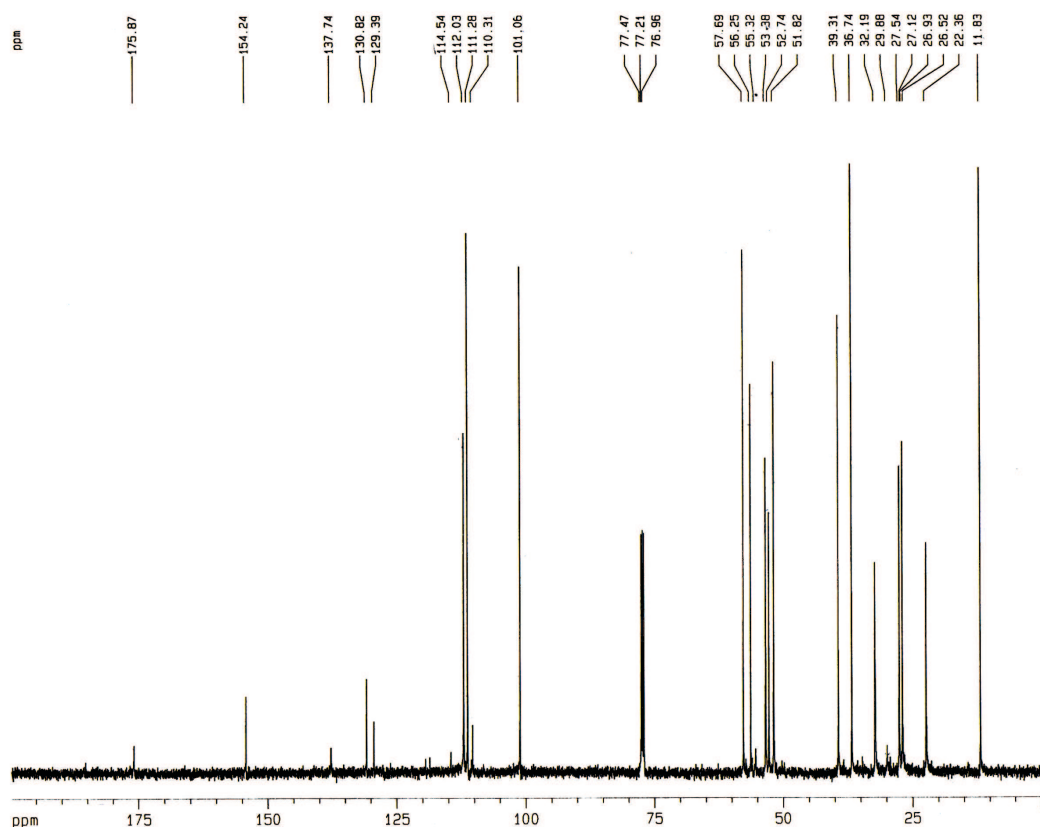


Figura 6.67: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB de PA-9 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

A absorção em  $\delta$  175,8 no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB foi relacionada a uma

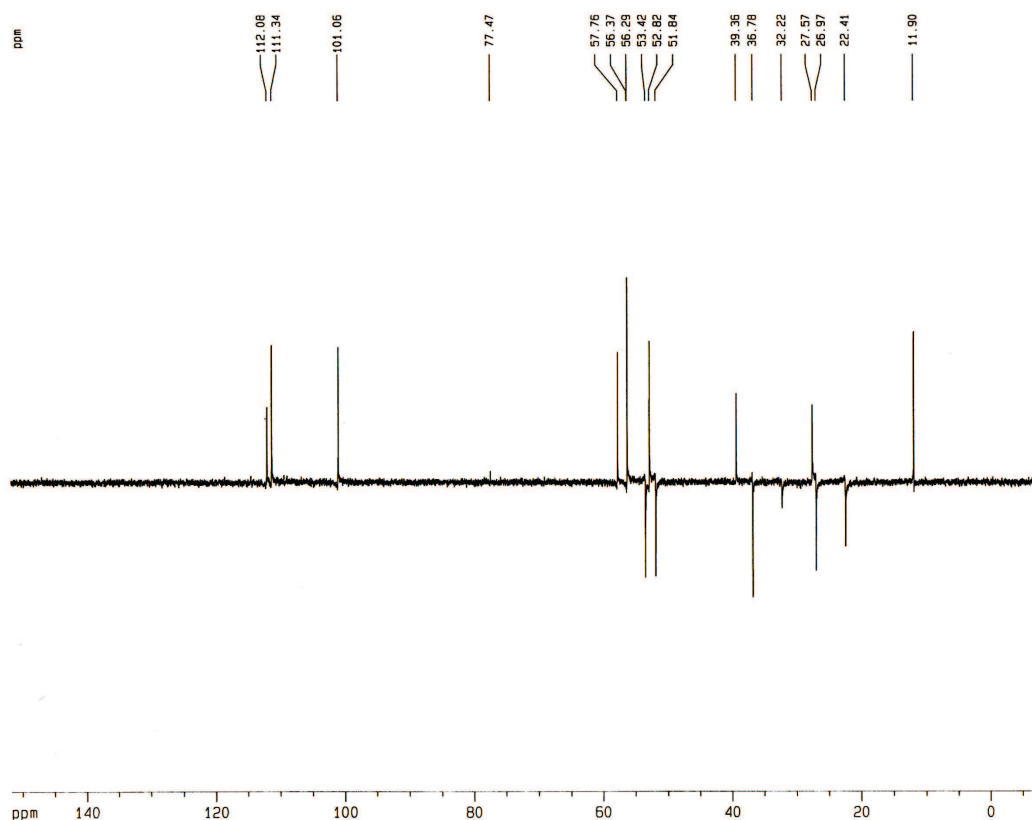

 Figura 6.68: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-9 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

 Tabela 6.15: Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de PA-9 com padrão de hidrogenação (RMN  $^{13}\text{C}$  – BB e DEPT  $135^\circ$ ;  $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
175,8	112,0	53,3	56,2
154,2	111,2	51,8	52,7
137,7	101,0	36,7	11,8
130,8	57,7	32,2	-
129,4	39,3	26,9	-
110,3	27,5	22,3	-
55,3	-	-	-
C <sub>7</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub>
Total: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub>			

carbonila de éster, a absorção em  $\delta$  154,2 corresponde a um carbono  $sp^2$  oxigenado. Em  $\delta$  52,7 e 56,3 foram associadas a duas metoxilas e  $\delta$  11,8 a uma metila.

Análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-9 (Fig. 6.69, Pág. 95) mostrou uma absorção em  $\delta$  7,74 característica de prótio ligado a nitrogênio. Absorções na região  $\delta$  6,80-7,15 característico de três prótios de um sistema aromático, provavelmente de um



sistema indólico. A presença de um tripleto em  $\delta$  0,90 sugere um grupo metílico sentindo efeito vicinal de dois prótios indicando um grupo  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ . Os singletos em  $\delta$  3,72 e 3,86 estão relacionados a duas metoxilas. Observou-se várias absorções na região de prótios ligados a carbonos  $sp^3$  em  $\delta$  0,90-3,57 sugerindo tratar-se de um alcalóide indólico do tipo iboga.

O espectro de massas de PA-9 (Fig. 6.70, Pág. 96) mostrou o pico do íon molecular com  $m/z$  368.

Com os dados obtidos foi possível propor que a fórmula molecular de PA-9 era  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$  apresentando 10 deficiências de hidrogênio, onde uma delas refere-se à carbonila de éster.

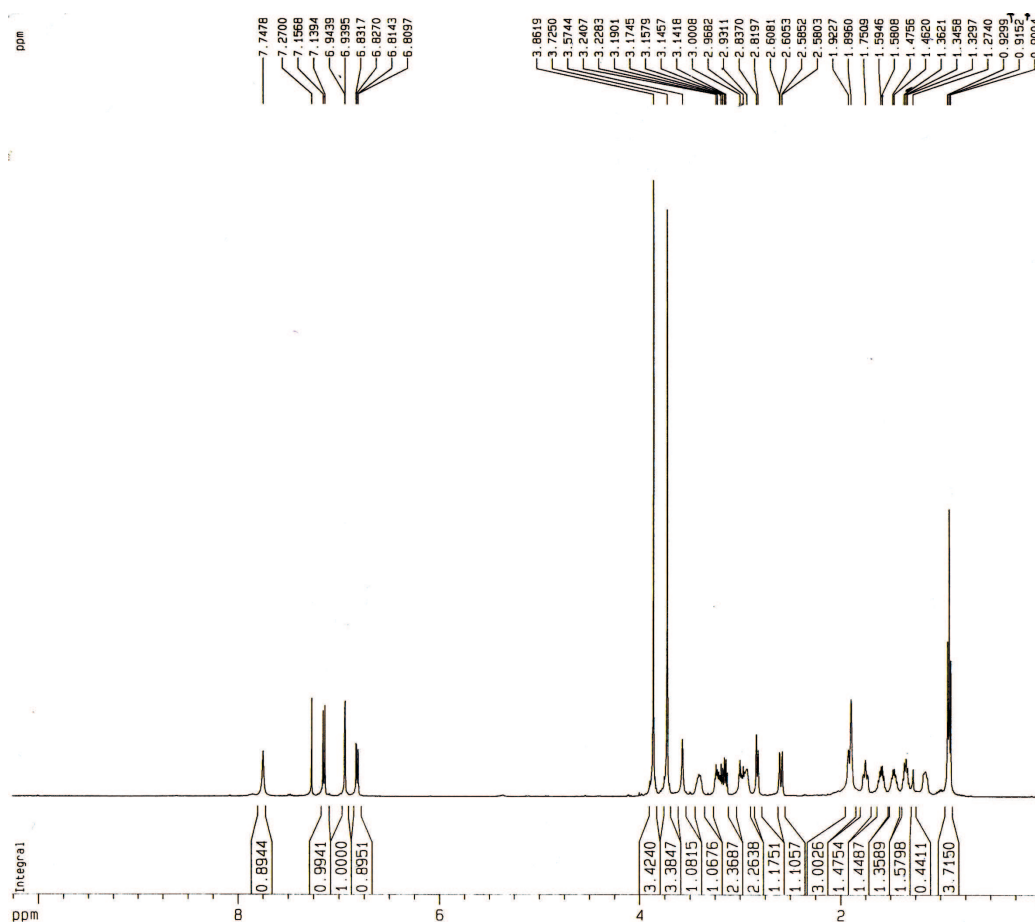


Figura 6.69: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-9 [500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ (ppm)]

Com o auxílio do espectro bidimensional HMQC de PA-9 (Fig. 6.71, Pág. 98) foi possível relacionar os hidrogênios observados no espectro de prótio aos seus respectivos átomos de carbono através do acoplamento a uma ligação  $^1J_{\text{C,H}}$ , que resultou na formação

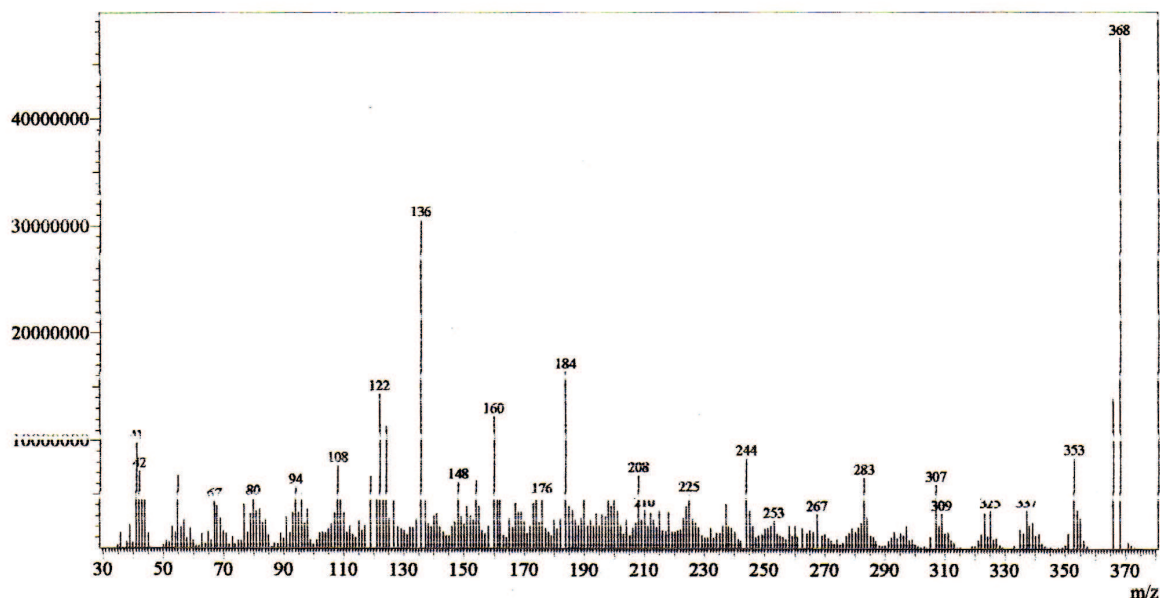


Figura 6.70: Espectro de Massas de PA-9

da Tabela 6.16 (Pág. 97).

No espectro bidimensional de HMBC (Fig. 6.72, Pág. 98) (Tab. 6.16, Pág. 97) foi observado o acoplamento  $^3J_{C,H}$  entre o carbono 7 em  $\delta$  110,3 e os prótios a  $\delta$  3,39 (H-5 $\beta$ ), 6,94 (H-9) e 7,74 (HN-1) (Fig. 6.73, acoplamentos A, B e C, Pág. 99). Acoplamento  $^3J_{C,H}$  entre o carbono 21 em  $\delta$  57,7 e os prótios a  $\delta$  1,46 (H-19 $\beta$ ), 1,75 (H-15 $\alpha$ ) e 3,39 (H-5 $\beta$ ) (Fig. 6.73, acoplamentos D, E e F, Pág. 99). Acoplamento entre o carbono 15 em  $\delta$  32,2 e os prótios a  $\delta$  1,46 e 1,58 (H-19 $\alpha$ ,  $\beta$ ); 2,58 e 2,60 (H-17 $\alpha$ ,  $\beta$ ) e 2,82 (H-3 $\alpha$ ); (Fig. 6.73, acoplamentos G, I e J, Pág. 99).

O espectro na região do ultravioleta (Fig. 6.74, Pág. 99) mostrou absorção em 304 nm.

Comparação com dados obtidos e dados da literatura chegou-se a conclusão de que PA-9 trata-se da *voacangina* (**9**), um alcalóide indólico do tipo iboga já isolado nesta espécie (PEREIRA, et al, 2008).

Tabela 6.16: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-9 e comparação com os dados da literatura de voacangina (PEREIRA, et al, 2008)

C	HMQC		HMBC		Voacangina
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{C,H}$	$^3J_{C,H}$	$\delta_C$
2	137,7	-	HN-1	2H-6; H-17 $\beta$	137,3
3	51,8	2,93 (m) H-3 $\beta$ ; 2,82 (dl, $J=8,7$ Hz) H-3 $\alpha$	-	H-17 $\beta$	51,6
5	53,3	3,39 (m) H-5 $\beta$ ; 3,24 (m) H-5 $\alpha$	2H-6	H-3 $\beta$	52,6
6	22,3	3,15 (m) H-6 $\alpha$ ; 3,00 (m) H-6 $\beta$	-	-	22,2
7	110,3	-	2H-6	HN-1; H-9; H-5 $\beta$	109,9
8	129,4	-	-	HN-1; 2H-6; H-12	129,0
9	101,0	6,94 (d, $J=2,2$ Hz)	-	H-11	100,7
10	154,2	-	H-9; H-11	H-12; MeO-10	154,0
11	112,0	6,82 (dd, $J=8,7;2,2$ Hz)	-	H-9	111,8
12	111,2	7,14 (d, $J=8,7$ Hz)	-	-	111,1
13	130,8	-	-	H-9; H-11	130,5
14	27,5	1,92 (m)	2H-17; H-3 $\beta$ ; H-15 $\alpha$	H-20	26,9
15	32,2	1,75 (m) H-15 $\alpha$ ; 1,13 (m) H-15 $\beta$	H-20	H-3 $\beta$ ; 2H-17; 2H-19	31,6
16	55,3	-	-	-	55,7
17	36,7	2,60 (d, $J=1,4$ Hz)H-17 $\alpha$ ; 2,58 (d, $J=2,5$ Hz)H-17 $\beta$	-	H-3 $\beta$	36,4
18	11,8	0,91 (t, $J=7,4$ Hz)	2H-19	H-20	11,5
19	26,9	1,58 (m) H-19 $\alpha$ ; 1,46 (m) H-19 $\beta$	3H-18	-	26,4
20	39,3	1,34 (m)	H-19 $\beta$	3H-18	38,9
21	57,7	3,57 (sl)	-	H-5 $\beta$ ; H-19 $\beta$ ; H-15 $\alpha$	57,5
22	175,8	-	-	H-17 $\beta$ ; MeO-22	175,4
MeO-10	56,2	3,86 (s) (s)	-	-	56,0
MeO-22	52,7	3,72 (s)	-	-	52,6
HN-1	-	7,74 (sl)	-	-	-

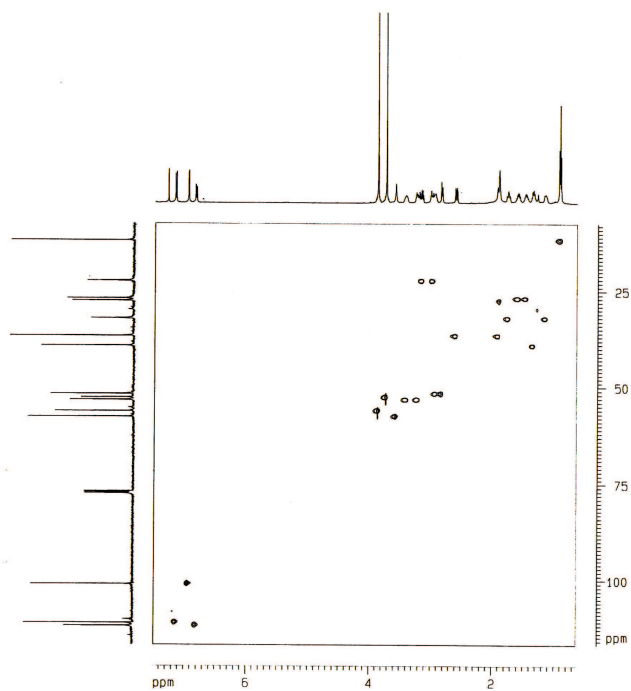


Figura 6.71: Diagrama de contorno do espectro HMQC de PA-9

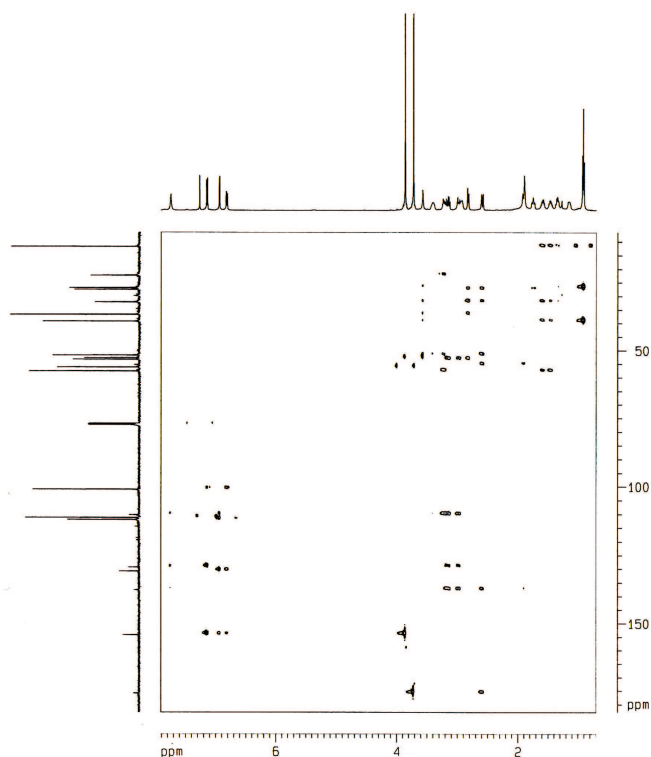


Figura 6.72: Diagrama de contorno do espectro HMBC de PA-9

### 6.1.10 Determinação estrutural de PA-10

Da fração hexânica do extrato hexânico da raiz foi isolado um sólido de cor amarelada, homogêneo em CCD, solúvel em  $\text{CHCl}_3$ , denominado PA-10 (ver procedimento

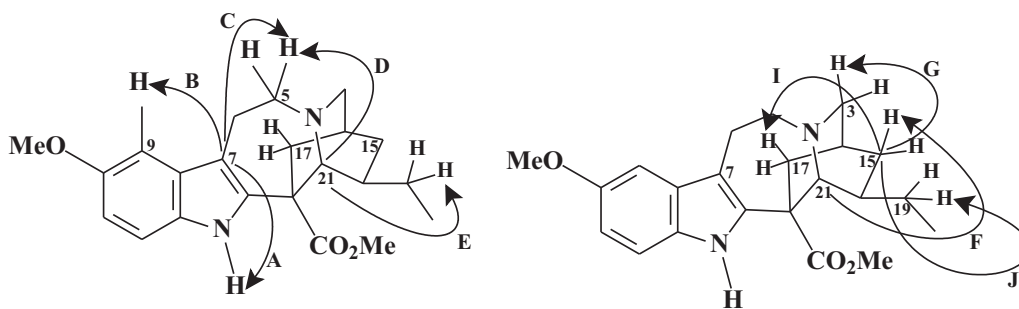


Figura 6.73: Representação dos acoplamentos de A-J observados no HMBC de PA-9

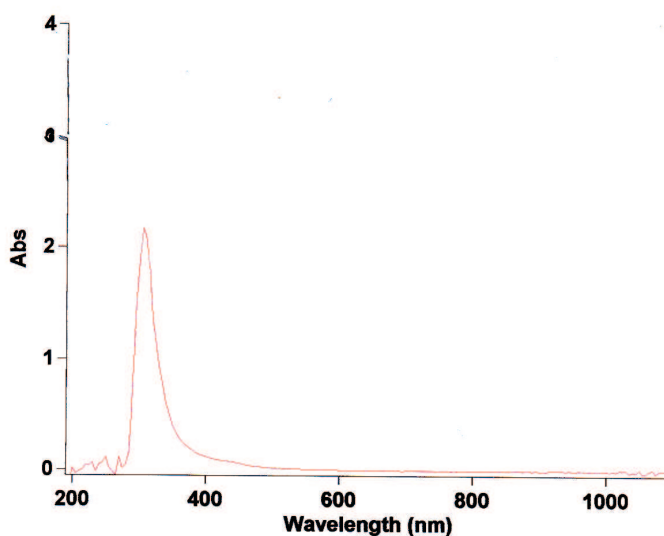


Figura 6.74: Espectro no UV de PA-9

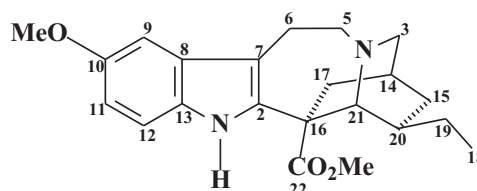


Figura 6.75: Voacangina

experimental, Pág. 116).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ –BB de PA-10 (Fig. 6.76, Pág. 100) apresentou 31 linhas espectrais que ao serem comparadas com os dados obtidos do espectro RMN  $^{13}\text{C}$ –DEPT ( $135^\circ$ ) (Fig. 6.77, Pág. 102), possibilitou a identificação de 11 absorções relativas a carbonos não-hidrogenados, 10 absorções indicativas de carbonos mono-hidrogenados, sete absorções relativas a carbonos metilênicos e três absorções referentes a carbonos metálicos (Tab. 6.17, Pág. 101).

Os sinais compreendidos na região  $\delta$  100,9-175,7 foram relacionados a carbonos de dupla ligação C=C, enquanto que os sinais na região  $\delta$  11,6-57,5 foram relacionados a carbonos  $sp^3$ , destes os sinais em  $\delta$  52,6 e 56,1 correspondem a duas metoxilas e o sinal em  $\delta$  11,6 é característico de metila. Além de  $\delta$  154,1 referente a um carbono  $sp^2$  oxigenado, e o sinal em  $\delta$  175,7 corresponde a uma carbonila de éster.

No espectro de RMN  $^1H$  de PA-10 (Fig. 6.78, Pág. 102) foram observadas várias absorções na região  $\delta$  0,88-3,84 de prótios ligados a carbono  $sp^3$ , além de absorções na região de hidrogênio de anel aromático entre  $\delta$  6,79-7,76. Há também presença de um singlete em  $\delta$  7,76 atribuído ao prótio ligado ao nitrogênio do núcleo indólico e os sinais em  $\delta$  3,71 e 3,84 correspondem a duas metoxilas.

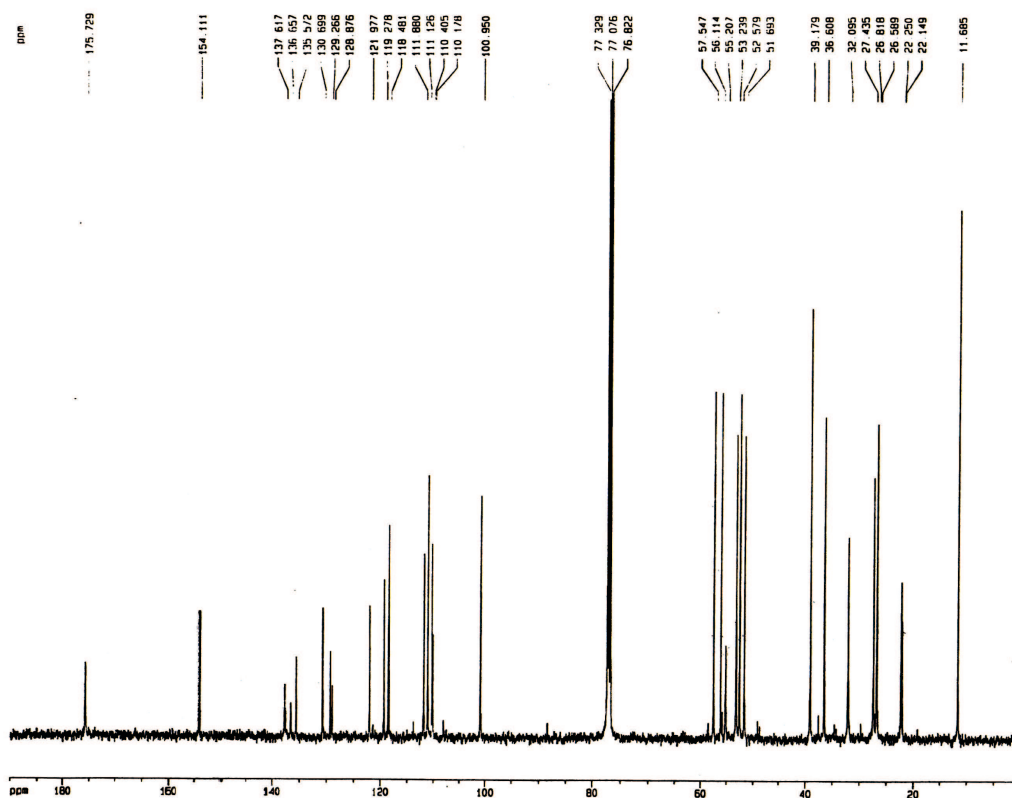


Figura 6.76: Espectro de RMN  $^{13}C$  – BB de PA-10 [125 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ (ppm)]

Com os dados obtidos e comparação com dados da literatura, foi possível caracterizar que PA-10 tratava-se de uma mistura dos alcalóides indólicos do tipo iboga *coronaridina* (**10a**) com 37,8% e *voacangina* (**10b=9**) com 62,2%. Ambos já foram isolados anteriormente das raízes desta espécie (PEREIRA, et al, 2008).

Tabela 6.17: Dados de RMN<sup>13</sup>C e RMN<sup>1</sup>H de PA-10 e comparação com os dados da literatura de coronaridina (PEREIRA, et al, 2008)

C	PA – 10a		PA – 10b		Coronaridina
	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
2	136,6	-	137,6	-	136,5
3	51,6	2,94 (m) H-3 $\beta$ ; 2,80 (m) H-3 $\alpha$	51,6	2,94 (m) H-3 $\beta$ ; 2,80 (m) H-3 $\alpha$	51,5
5	53,2	3,39 (m) H-5 $\beta$ ; 3,21 (m) H-5 $\alpha$	53,2	3,39 (m) H-5 $\beta$ ; 3,21 (m) H-5 $\alpha$	53,1
6	22,1	3,15 (m) H-6 $\alpha$ ; 3,02 (m) H-6 $\beta$	22,2	3,15 (m) H-6 $\alpha$ ; 2,98 (m) H-6 $\beta$	22,0
7	110,1	-	110,1	-	110,2
8	128,8	-	129,2	-	128,7
9	118,4	7,47 (d, $J=7,9$ Hz)	100,9	6,92 (d, $J=2,2$ Hz)	118,4
10	119,2	7,08 (t, $J=7,9$ Hz)	154,1	-	119,1
11	121,9	7,14 (t, $J=7,9$ Hz)	111,8	6,80 (dd, $J=8,7$ ; 2,2 Hz)	121,8
12	110,4	7,24 (d, $J=7,9$ Hz)	111,1	7,13 (d, $J=8,7$ Hz)	110,3
13	135,5	-	130,7	-	135,4
14	27,4	1,87 (m)	27,4	1,90 (m)	27,3
15	32,0	1,73 (m) H-15 $\alpha$ ; 1,13 (m) H-15 $\beta$	32,0	1,73 (m) H-15 $\alpha$ ; 1,13 (m) H-15 $\beta$	32,0
16	55,2	-	55,2	-	55,0
17	36,6	2,57 (m) H-17 $\alpha$ ; 1,89 (m) H-17 $\beta$	36,6	2,73 (m) H-17 $\alpha$ ; 2,57 (m) H-17 $\beta$	36,4
18	11,6	0,90 (t, $J=7,2$ Hz)	11,6	0,89 (t, $J=7,4$ Hz)	11,6
19	26,8	1,57 (m) H-19 $\alpha$ ; 1,45 (m) H-19 $\beta$	26,8	1,57 (m) H-19 $\alpha$ ; 1,45 (m) H-19 $\beta$	26,7
20	39,1	1,33 (m)	39,1	1,33 (m)	39,1
21	57,5	3,56 (dl, $J=6,5$ Hz)	57,5	3,56 (dl, $J=6,5$ Hz)	57,4
22	175,7	-	175,7	-	175,7
MeO-10	-	-	56,1	3,84 (s)	-
MeO-22	52,6	3,71 (s)	52,6	3,71 (s)	52,5
HN-1	-	7,88 (sl)	-	7,76 (sl)	-

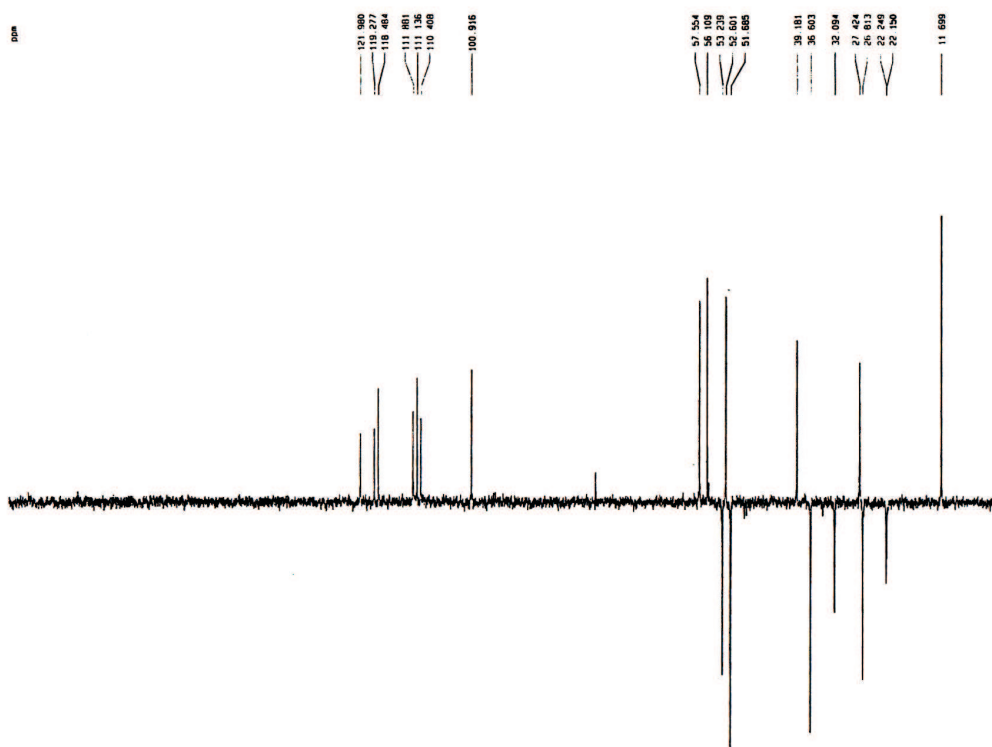


Figura 6.77: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT  $135^\circ$  de PA-10 [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]

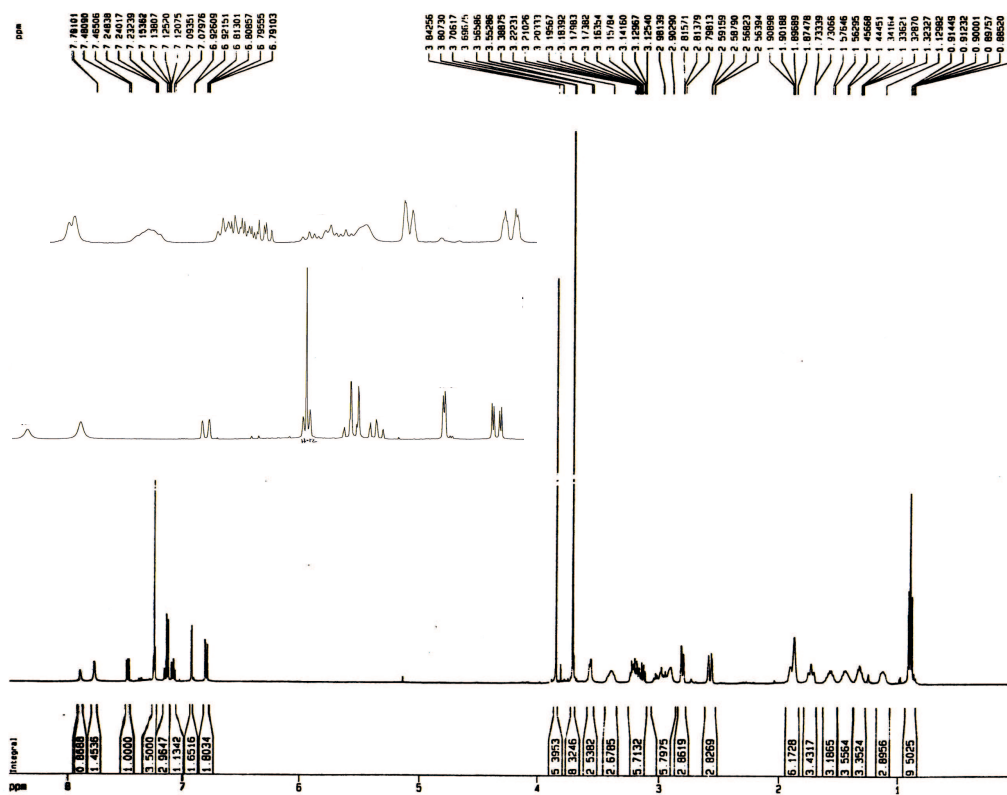


Figura 6.78: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PA-10 [500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ]



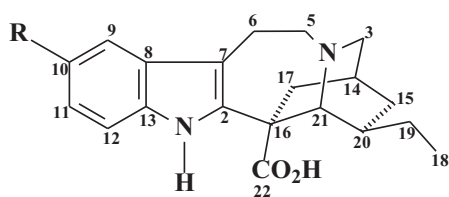


Figura 6.79: R=H Coronaridina; R=MeO Voacangina

# Capítulo 7

## Parte Experimental

*“Experiência é o nome que nós damos aos nossos próprios erros.”*

Oscar Wilde

### 7.1 Material Vegetal

O presente trabalho de pesquisa realizado teve como objetivo, a reinvestigação fitoquímica da espécie vegetal: *Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers bem como testes antioxidantes utilizando as raízes e o caule. A espécie foi coletada nos arredores da Universidade Federal do Ceará (Campus do Pici) do município de Fortaleza- Ce por Paulo Ribeiro e identificada pelo Professor Edson P. Nunes - Departamento de Biologia - UFC. Sua exsicata de número 33.339 encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia (UFC).

## 7.2 Métodos Cromatográficos

### 7.2.1 Cromatografia em Coluna Aberta (CC)

Nas cromatografias de adsorção em coluna aberta, foram utilizadas gel de sílica 60 de marca MERCK ( $\phi$  0,063-0,200 mm; 70-230 mesh) , para a fração não-alcaloídica e a mesma sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5%, para a fração alcaloídica. O fracionamento das frações ainda requereu o uso de sílica Sephadex LH-20.

De acordo com as quantidades de material a ser cromatografado e de gel de sílica foram determinados comprimento e o diâmetro das colunas utilizadas. Para a eluição das colunas foram usados os seguintes solventes: hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol puros e/ou em misturas binárias seguindo um gradiente de concentração em ordem crescente de polaridade. Os mesmos eram de qualidade PA (Synth) ou previamente destilados.

### 7.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Em cromatografia de camada delgada, utilizou-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 G ( $\phi$  5-40  $\mu\text{m}$ ) da marca MERCK, em placas de vidro nas dimensões de 10  $\times$  5 cm, sendo uma das faces revestidas por camada de 0,5 mm de espessura. Também se utilizou cromatoplasmas da marca SIGMA ( $\phi$  2-25  $\mu\text{m}$ ), com camada de 250  $\mu\text{m}$  de espessura e dimensões 20  $\times$  20 cm.

As substâncias em cromatoplasmas foram reveladas usando-se os seguintes reveladores: borrifação com revelador Dragendorff e/ou solução de vanilina. Após a pulverização com o revelador vanilina, as cromatoplasmas foram aquecidas em estufas a 100 °C por aproximadamente 3 min.

Os extratos e as frações resultantes das colunas cromatográficas foram concentrados sob pressão reduzida (15 mm de Hg) em rotaevaporador Heidolph - Laborota 4000.

## 7.3 Métodos Espectroscópicos

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

Os espectros de absorção na região do IV foram obtidos em um espectrômetro PERKIM-ELMER, modelo FT-IR Spectrum 1000. Para análise das amostras sólidas utilizou-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) e quando solúveis em  $\text{CHCl}_3$ , cloreto de sódio (NaCl).

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

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -BB, incluindo os bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros de BRUCKER, modelo Avance DRX-500, operando na frequência de 500 MHz para hidrogênio e 125 MHz para carbono 13, onde se encontram instalados no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN - UFC).

Na dissolução das amostras utilizou-se os seguintes solventes deuterados: clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e piridina ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) para obtenção dos espectros.

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em ppm, sendo referenciados para RMN  $^1\text{H}$ , pelos sinais dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas do solvente deuterado: clorofórmio ( $\delta_{\text{H}}$  7,27), metanol ( $\delta_{\text{H}}$  3,31 e 4,87) e piridina ( $\delta_{\text{H}}$  7,22, 7,58 e 8,74). Para os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos sinais dos carbonos-13 do solvente: clorofórmio ( $\delta_{\text{C}}$  77,23), metanol ( $\delta_{\text{C}}$  49,15) e piridina ( $\delta_{\text{C}}$  123,87, 135,91 e 150,35) contendo tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

As multiplicidades dos sinais de hidrogênios foram indicadas de acordo com a convenção: *s* = singlete, *sl* = singlete largo, *d* = dubleto, *dd* = duplo dubleto, *dl* = dubleto largo, *t* = triplete, *q* = quarteto e *m* = multiplete.

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN  $^{13}\text{C}$ -BB foi determinado através da técnica RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) com ângulo de nutação de  $135^\circ$ , CH e  $\text{CH}_3$  com amplitudes em oposição ao  $\text{CH}_2$ . Sendo descrita a convenção: C para carbonos não-hidrogenados; CH para carbonos metínicos;  $\text{CH}_2$  para carbonos metilênicos e  $\text{CH}_3$  para carbonos metílicos, onde se obteve a caracterização dos carbonos não-hidrogenados pela comparação dos sinais do espectro da técnica RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  pelos do espectro da técnica RMN  $^{13}\text{C}$ -BB.

### 7.3.3 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas dos constituintes foram obtidos em espectrômetro de massa QP5050A da SHIMADZU, operando em impacto eletrônico de 70 eV, da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC).

### 7.3.4 Espectrometria no Ultravioleta (UV)

Os espectros de absorção na região do visível (UV) foram obtidos em um espectrômetro VARIAN, modelo 50 CONC.

## 7.4 Ponto de Fusão (pf)

Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram determinados em aparelho de microdeterminação digital da Microquímica, MQAPF-302, modelo 12038DV. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  e não foram corrigidos.

## 7.5 Atividade Antioxidante

### 7.5.1 Método do $\beta$ -caroteno

Este é um método de atividade antioxidante relativamente simples, no qual placas de CCD após serem feitas aplicações e secas foram mergulhadas numa solução de  $\beta$ -caroteno 5%, semelhante ao descrito por Cardoso. Essas placas permaneceram sob luz natural até a descoloração do fundo ser observada. Os espotes que persistiram amarelos como os padrões rutina e vitamina C indicam que são substâncias com potencial antioxidante (CARDOSO, et al, 2005).

### 7.5.2 Método de Seqüestro do Radical DPPH

A metodologia utilizada no teste de atividade antioxidante foi a do seqüestro de radicais livres, semelhante à descrita por Hegazi e Hady, na qual o radical utilizado foi o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) na concentração de 60 mmol. Numa cubeta de 3 mL colocou-se 1 mL de DPPH em seguida adicionou-se 1 mL de EtOH, então fez-se a leitura no UV, cuja absorbância observada foi 520 nm e obteve-se uma absorbância X (HEGAZI, HADY, 2002).

Foram preparadas três amostras em diferentes concentrações que estão descritas na Tabela 5.2, Pág. 43. Colocou-se 1 mL da amostra e adicionada 1 mL do DPPH na cubeta e lidas em espectrofotômetro UV, para que fosse feita uma leitura Y. O declínio da concentração é registrado como declínio na absorbância em  $\lambda_{\text{máx}} = 520 \text{ nm}$  por um período de 30 minutos. A absorbância correspondente a 100% de seqüestro de radical é determinada com o teste realizado usando-se os controladores positivos Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) e BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol) (Figura 5.1, Pág. 41), que causam o seqüestro completo dos radicais livres. Este teste foi realizado no Laboratório de Biotransformações e Produtos Naturais (LBPN) da UFC, onde utilizou o espectrômetro (UV) Varian acoplado a um computador Pentium D. Para análise utilizou uma célula de quartzo de caminho ótico de 1,0 cm (HEGAZI, HADY, 2002).

A porcentagem de seqüestro é calculada como:

$$100 \cdot \left( \frac{X}{Y} - 1 \right), \text{ onde :}$$

- X=absorbância com DPPH;
- Y=absorbância com DPPH mais absorbância da substância teste.

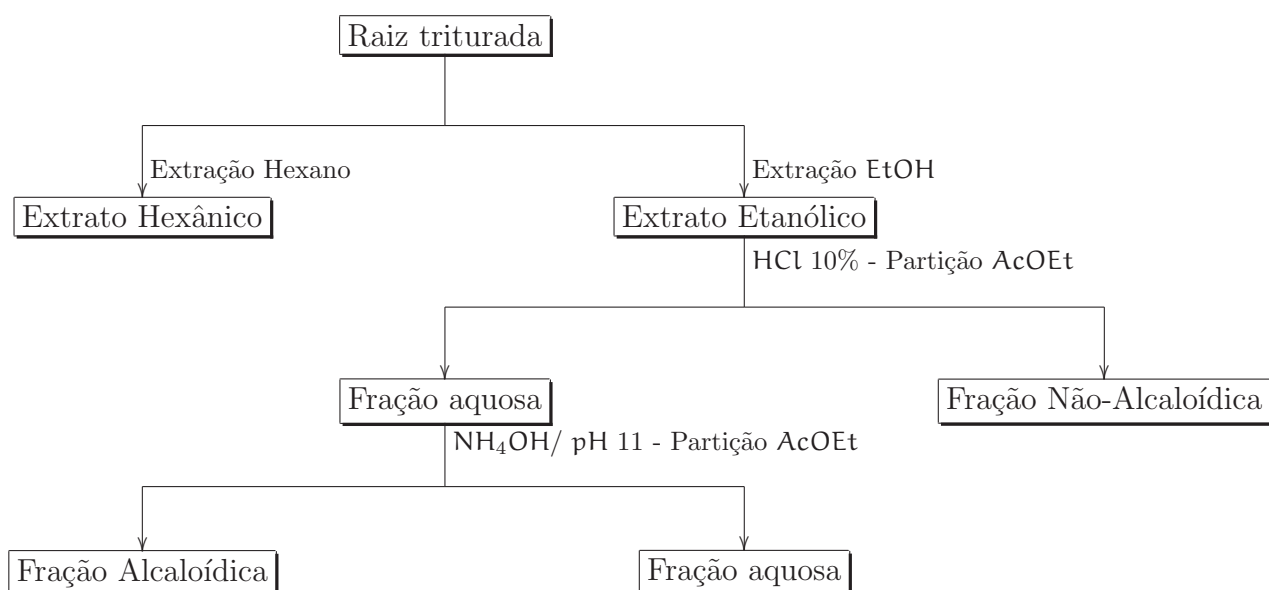
## 7.6 Isolamento dos constituintes fixos de *Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers

### 7.6.1 Obtenção dos Extratos Hexânico e Etanólico das Raízes de *Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers

O material em estudo foi seco à temperatura ambiente e triturado, obtendo-se 2000 g, o qual foi submetido à extração exaustiva a frio com hexano e posteriormente com etanol. Os extratos hexânico e etanólico foram concentrados por destilação do solvente sob pressão reduzida fornecendo 9 g de EHRPA e 20 g de EERPA.

### 7.6.2 Fracionamento Cromatográfico de EERPA

Ao extrato etanólico das raízes de *P. affinis* (EERPA, 10 g) foi adicionado cerca de 40 mL de solução de HCl 10% e deixado em agitação por 4 horas. Após este período a amostra foi extraída com AcOEt (3x80 mL) separando-se a fase orgânica (AcOEt) e a fase aquosa. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporado sob pressão reduzida fornecendo a fração não-alcaloídica (2,1 g). A fase aquosa foi alcalinizada com NH<sub>4</sub>OH até pH 11. Esta fração foi então extraída com AcOEt (3x80 mL) obtendo-se a fase orgânica (fração alcaloídica) e a fase aquosa foi desprezada. A fase orgânica (fração alcaloídica) foi evaporada sob vácuo fornecendo 4,4 g. O fluxograma 7.1 (Pág. 110) mostra a obtenção das frações alcaloídicas, não-alcaloídicas e aquosa. A

Fluxograma 7.1: Extração ácido-base de alcalóides das raízes de *P. affinis*

fração alcaloídica foi cromatografada em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5%, sendo pulverizada em gral de porcelana e submetido ao processo de desadsorção escalonada (coluna filtrante) a vácuo e eluída com solventes em ordem crescente de polaridade: hexano,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt e MeOH. As frações coletadas encontram-se descritas na Tab. 7.1.

Tabela 7.1: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico de EERPA – FA

ELUENTES	FRAÇÕES	PESO	SIGLA
Hexano	1	0,106 g	EERPA – H
$\text{CHCl}_3$	2	3,597 g	EERPA – C
AcOEt	3	0,077 g	EERPA – A
MeOH	4	0,551 g	EERPA – M

### 7.6.3 Fracionamento Cromatográfico de EERPA – C

Uma parte da fração EERPA – C (973 g) obtida do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica de EERPA (Tab. 7.1), foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana,



devidamente acondicionada sobre gel de sílica em coluna cromatográfica. Os eluentes utilizados puros e em misturas binárias com escala crescente de polaridade encontram-se descritos na Tabela 7.2

Tabela 7.2: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico I de EERPA – C

ELUENTES	FRAÇÕES
Hexano	1*-1'**
Hexano-AcOEt(4:1)	2*-2'**
Hexano-AcOEt(3:2)	3
Hexano-AcOEt(2:3)	4
Hexano-AcOEt(1:4)	5
AcOEt	6
MeOH	7

\* Presença de precipitado

\*\* Sobrenadante

A outra parte da fração EERPA – C (2,624 g) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio a 5% e pulverizada em gral de porcelana e submetida à cromatografia a vácuo. Os eluentes foram utilizados puros em escala crescente de polaridade onde encontram-se descritos na Tab. 7.3, Pág. 111.

Tabela 7.3: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico II de EERPA – C

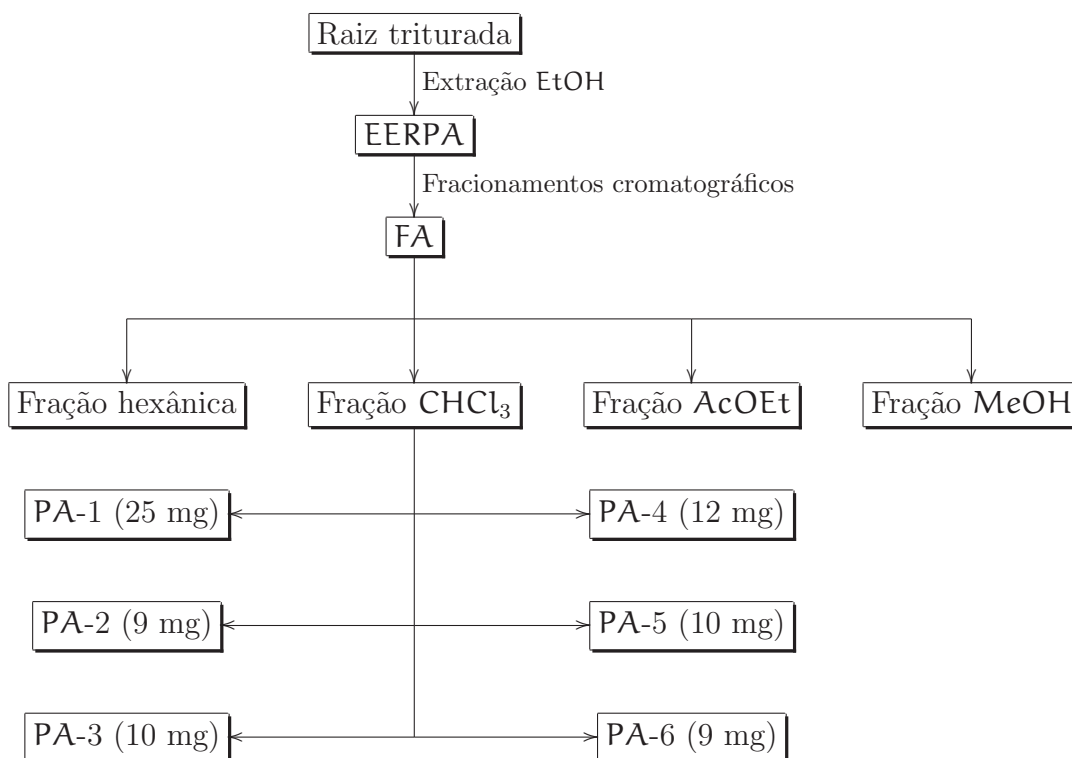
ELUENTES	FRAÇÕES	PESO
Hexano	1	0,046 g
CHCl <sub>3</sub>	2	2,416 g
AcOEt	3	0,025 g
MeOH	4	0,090 g

#### 7.6.4 Isolamento de PA-1

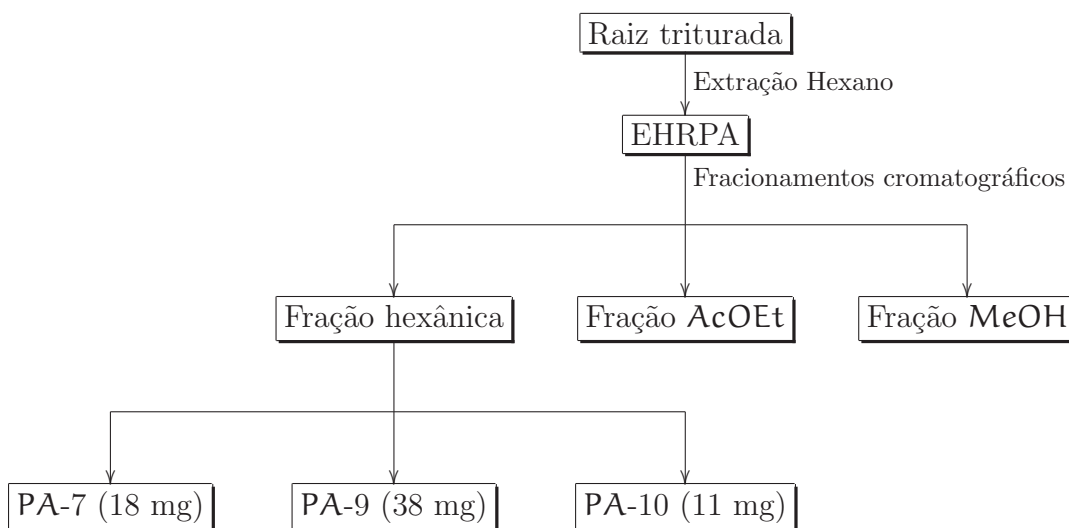
A fração 2, obtida do fracionamento cromatográfico I de EERPA – C, (35 mg) (Tab. 7.2, Pág.111) foi diluída em MeOH e submetida à cromatografia de exclusão, Sephadex LH-20, sendo eluída com MeOH e fornecendo 40 frações.

As frações após serem analisadas por CCD, foram reunidas de acordo com suas semelhanças. A fração 17-34 (25 mg) forneceu um sólido de cor levemente amarelada,

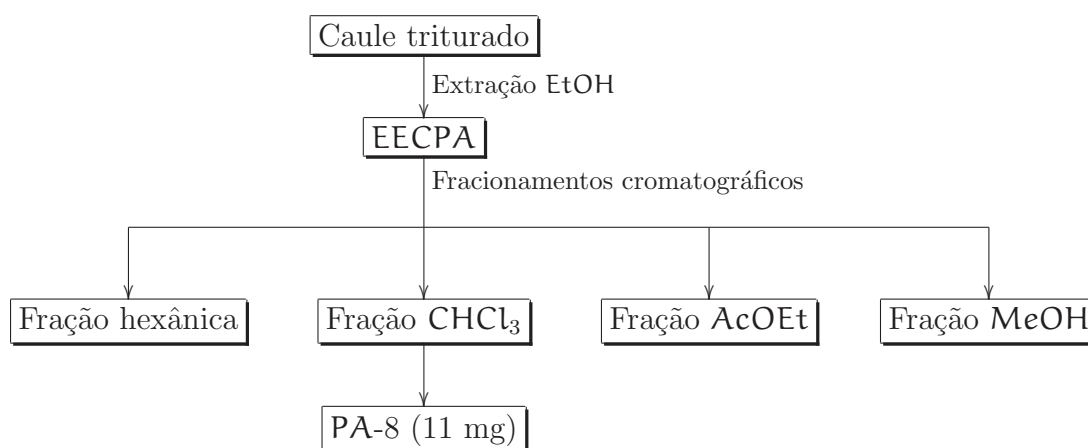
Fluxograma 7.2: Isolamento de PA-1 a PA-6



Fluxograma 7.3: Isolamento de PA-7, PA-9 e PA-10



Fluxograma 7.4: Isolamento de PA-8



denominada PA-1 que após análise espectroscópica por RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-BB e RMN <sup>13</sup>C-DEPT (135°), pode ser associado ao alcalóide olivacina (**1**) (Fluxograma 7.2, Pág.112).

### 7.6.5 Isolamento de PA-2

As frações 1 e 3 (71 mg) (Tab. 7.3, Pág.111) obtidas do fracionamento cromatográfico II de EERPA – C foram reunidas devido a sua semelhança. Esta foi diluída em MeOH e cromatografada em Sephadex LH-20. A coluna foi eluída no mesmo solvente e forneceu 70 frações.

Um sólido de cor levemente amarelada foi obtida da fração 60-66 (9 mg), o qual foi denominado PA-2. Após análise espectroscópica por RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-BB e RMN <sup>13</sup>C-DEPT (135°), pode ser associado à peschienina (**2**), um alcalóide indólico inédito na literatura (Fluxograma 7.2, Pág.112).

### 7.6.6 Isolamento de PA-3 e PA-4

A fração 2 (2,416 g) (Tab. 7.3, Pág. 111) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio a 5% e pulverizada em gral de porcelana e submetida à cromatografia a vácuo. Os eluentes foram utilizados puros em escala crescente de polaridade e encontram-se descritos na Tab. 7.4, Pág. 114.

Tabela 7.4: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 2 (2,416 g)

ELUENTES	FRAÇÕES	PESO
Hexano	1	0,067 g
CHCl <sub>3</sub>	2*	2,228 g
AcOEt	3	0,020 g
Acetona	4	0,023 g
MeOH	5	0,035 g

A fração 2\* (2,228 g) (Tab. 7.4) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio a 5% e pulverizada em gral de porcelana e submetida à cromatografia a vácuo. Os eluentes foram utilizados puros em escala crescente de polaridade e encontram-se descritos na Tabela 7.5.

Tabela 7.5: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 2\*

ELUENTES	FRAÇÕES	PESO
Hexano	1	0,132 g
CHCl <sub>3</sub>	2**	1,797 g
AcOEt	3	0,033 g
Acetona	4	0,016 g
MeOH	5	0,083 g

Da Tabela 7.5, a fração 2\*\* (1,797 g) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana, devidamente acondicionada sobre gel de sílica em coluna cromatográfica. Os eluentes utilizados puros e em misturas binárias com escala crescente de polaridade encontram-se descritos na Tabela 7.6 (Pág. 115).

A fração 1-16 (10 mg) (Tab. 7.6) forneceu um sólido amarelo o qual foi denominado PA-3 que após análise espectroscópica por RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-BB e RMN <sup>13</sup>C-DEPT (135°), pode ser associado à *N*-hidroxi-peschienina (**3**), um alcalóide indólico inédito na literatura (Fluxograma 7.2, Pág. 112).

A fração 17-21 (120 mg) (Tab. 7.6) também foi submetida ao processo de cromatografia por exclusão, Sephadex LH-20, obtendo-se 20 frações. Destas, a fração 11 (12 mg) forneceu um sólido amarelo o qual foi denominado PA-4 que após análise espectroscópica por RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C-BB e RMN <sup>13</sup>C-DEPT (135°), pode ser associado à voacristina (**4**) (Fluxograma 7.2, Pág. 112).

Tabela 7.6: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 2\*\*

ELUENTES	FRAÇÕES
Hexano	1
Hexano-AcOEt(9:1)	2
Hexano-AcOEt(4:1)	3-7
Hexano-AcOEt(7:3)	8-23
Hexano-AcOEt(3:2)	24-37
Hexano-AcOEt(1:1)	38-41
Hexano-AcOEt(2:3)	42-48
Hexano-AcOEt(1:4)	49-51
AcOEt	52-58
AcOEt – MeOH(1:1)	59-69
MeOH	70-78

### 7.6.7 Isolamento de PA-5

A fração 28-39 (49 mg), Tabela 7.6 (Pág. 115, após cromatografia por exclusão, Sephadex LH-20, forneceu 23 frações. A fração 13-18 (10 mg) também um sólido amarelo, foi denominado PA-5. Após análise espectroscópica por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT(135°), pode ser associado à mistura dos alcalóides affinisina (**5a**) e iboxigaine (**5b**) (Fluxograma 7.2, Pág.112).

### 7.6.8 Isolamento de PA-6

A fração 2' (184 mg) (Tab.7.2, Pág. 111) foi diluída em MeOH e cromatografada em Sephadex LH-20. O mesmo solvente foi utilizado na eluição e rendeu 50 frações. A fração 12-35 (162 mg) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana, devidamente acondicionada sobre gel de sílica em coluna cromatográfica. Os eluentes utilizados puros e em misturas binárias com escala crescente de polaridade encontram-se descritos na Tabela 7.7.

A fração 1-4 (86 mg) foi diluída em MeOH e cromatografada em Sephadex LH-20. Para eluição foi utilizado o mesmo solvente e foram obtidas 10 frações. A fração 6 (9 mg) rendeu em um sólido amarelo denominado PA-6. Após análise espectroscópica por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (135°), pode ser associado ao *Nb*-óxido de olivacina

Tabela 7.7: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração 12-35 (PA-6)

ELUENTES	FRAÇÕES
Hexano	1
Hexano-AcOEt(9:1)	2
Hexano-AcOEt(4:1)	3
Hexano-AcOEt(3:2)	4-5
Hexano-AcOEt(2:3)	6-9
Hexano-AcOEt(1:4)	10-16
AcOEt	17-20
AcOEt – MeOH(1:4)	21-36
AcOEt – MeOH(1:1)	37-40
MeOH	41-47

(6) (Fluxograma 7.2, Pág.112).

### 7.6.9 Fracionamento Cromatográfico de EHRPA e Isolamento de PA-7, PA-9 e PA-10

O extrato hexânico (9 g) (EHRPA) foi adsorvido em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana e submetida a cromatografia a vácuo. Os eluentes utilizados puros foram: hexano, AcoEt e MeOH (Fluxograma 7.3, Pág. 112).

A fração hexânica (3,868 g) do EHRPA foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana, devidamente acondicionada sobre gel de sílica em coluna cromatográfica. Os eluentes utilizados puros e em misturas binárias com escala crescente de polaridade encontram-se descritos na Tabela 7.8.

Tabela 7.8: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração hexânica de EHRPA

ELUENTES	FRAÇÕES
Hexano	1-100
Hexano-AcOEt(19:1)	101-107
MeOH	108-113

Cerca de 257g da fração 74-100 (Tab. 7.8) foi submetida ao mesmo processo

Tabela 7.9: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt da fração hexânica de EHRPA

ELUENTES	FRAÇÕES
Hexano	1-2
Hexano-AcOEt(4:1)	3-15
Hexano-AcOEt(3:2)	16-44
Hexano-AcOEt(2:3)	45-57
Hexano-AcOEt(1:4)	58-73
AcOEt	74-85
AcOEt – MeOH(1:1)	86-92
MeOH	93-117

descrito acima. Os eluentes utilizados puros em escala crescente de polaridade foram: hexano: 1-22 e MeOH: 23-24. A fração 21-22 (18 mg) rendeu em um sólido branco denominado PA-7 que após análise espectroscópica por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (135°), pode ser associado aos acetatos de  $\alpha$ -amirina (**7b**) e  $\beta$ -amirina (**7a**) (Fluxograma 7.3, Pág.112).

A fração Hexano-AcOEt (370 mg) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana, devidamente acondicionada sobre gel de sílica em coluna cromatográfica. Os eluentes utilizados puros e em misturas binárias com escala crescente de polaridade encontram-se descritos na Tabela 7.9, Pág. 117.

Cerca de 140 mg obtidos da fração 10-23 (Tab. 7.9) foram diluídos em MeOH e cromatografados em Sephadex LH-20. O mesmo solvente foi utilizado na eluição e forneceu 20 frações e a fração 12-20 (80 mg) também foi submetida ao mesmo processo, fornecendo 9 frações. Destas, foi possível o isolamento de dois compostos: a fração 7-8 (38 mg) forneceu um sólido amarelo o qual foi denominado PA-9 que após análise espectroscópica por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (135°), pode ser associado à voacangina (**9**) (Fluxograma 7.3, Pág. 112).

A fração 4-6 (11 mg), a qual forneceu um sólido amarelo denominado PA-10 que após análise espectroscópica por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (135°), pode ser associado à mistura dos alcalóides do tipo iboga coronaridina (**10a**) e voacangina (**10b**) (Fluxograma 7.3, Pág. 112).

### 7.6.10 Obtenção do Extrato Etanólico do Caule de *Peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers e Isolamento de PA-8

O caule de *P. affinis* foi seco à temperatura ambiente e triturado, obtendo-se 1.500 g, o qual foi submetido à extração exaustiva com etanol a frio. O extrato etanólico foi concentrado por destilação do solvente sob pressão reduzida fornecendo 13,6 g (EECPA).

O EECPA foi submetido ao processo convencional de extração de alcalóides ácido-base fornecendo duas frações: a alcaloídica (2,12 g) e a não-alcaloídica (7,9 g). A fração alcaloídica foi cromatografada em sílica gel previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5%, sendo pulverizada em gral de porcelana e submetido ao processo de desadsorção escalonada (coluna filtrante) a vácuo e eluída com solventes em ordem crescente de polaridade: hexano,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt e MeOH. As frações coletadas encontram-se descritas na Tabela 7.10.

Tabela 7.10: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica do EECPA

ELUENTES	FRAÇÕES	PESO
Hexano	1	0,056 g
$\text{CHCl}_3$	2	1,224 g
AcOEt	3	0,557 g
MeOH	4	0,167 g

A fração  $\text{CHCl}_3$  (1224 mg) foi adsorvida em gel de sílica previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio 5% e pulverizada em gral de porcelana e submetida à cromatografia a vácuo. Os eluentes utilizados puros com escala crescente de polaridade foram hexano,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt e MeOH. A fração  $\text{CHCl}_3$  (770 mg) foi submetida ao processo de cromatografia em coluna aberta. Os eluentes utilizados puros ou em misturas binárias com escala crescente de polaridade encontram-se descritos na Tabela 7.11, Pág. 119.

A fração 9-14 (50 mg) (Tab. 7.11, Pág. 119) foi diluída em MeOH e cromatografada em Sephadex LH-20. O mesmo solvente foi utilizado na eluição e forneceu 37 frações. A fração 6-10 (11 mg) revelou um sólido amarelo o qual foi denominado PA-8 que após análise espectroscópica por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $135^\circ$ ), pode ser associado à isovoacristina hidroxindolenina (**8**), um alcalóide indólico inédito na



Tabela 7.11: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração  $\text{CHCl}_3$  da FA de EECPA

ELUENTES	FRAÇÕES
Hexano	1-3
Hexano-AcOEt(7:3)	4-17
Hexano-AcOEt(2:3)	18-33
Hexano-AcOEt(1:9)	34-42
AcOEt – MeOH(4:1)	43-56
AcOEt – MeOH(1:1)	57-71
AcOEt – MeOH(3:7)	72-82
MeOH	83-90

literatura (Fluxograma 7.4, Pág.113).

# Capítulo 8

## Conclusões

*“A vida é o que acontece enquanto você está ocupado fazendo outros planos.”*

John Lennon

O estudo fitoquímico das raízes e caule de *Peschiera affinis* resultou no isolamento de substâncias pertencentes às seguintes classes de metabólitos especiais: alcalóides indólicos, os quais são bastante comuns neste gênero além de dois triterpenóides.

Os extratos hexânico e etanólico das raízes de *P. affinis* forneceram as seguintes substâncias: olivacina (**1**), peschienina (**2**), *N*-hidroxi-peschienina (**3**), voacristina (**4**), affinisina (**5a**), iboxigaina (**5b**), *Nb*-óxido de olivacina (**6**), acetatos de  $\beta$ -amirina (**7a**), acetato de  $\alpha$ -amirina (**7b**), voacangina (**9**) e a mistura de coronaridina (**10a**) e voacangina (**10b = 9**). Enquanto que do extrato etanólico do caule foi isolada isovoacristina hidroxiiindolenina (**8**). Destas, a mistura dos acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina e *Nb*-óxido de olivacina estão sendo reportadas pela primeira vez na espécie, enquanto que peschienina (**2**), *N*-hidroxi-peschienina (**3**) e isovoacristina hidroxiiindolenina (**8**) são substâncias novas.

Para a quantificação da olivacina, o método utilizado foi a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), segundo o método do padrão externo. Como resultado obteve-se que a concentração de olivacina na fração alcaloídica obtida do extrato etanólico das raízes é de 56,81 ppm indicando que 5,7% da fração alcaloídica corresponde a olivacina.

E na fração alcaloídica obtida do extrato etanólico do caule a concentração de olivacina é de 8,34 ppm correspondente a 0,8%.

O extrato etanólico das raízes, as frações alcaloídicas e não-alcaloídicas e as substâncias PA-1, PA-2, PA-3, PA-4, PA-6, PA-7, PA-8 e PA-9 foram, submetidas ao teste de atividade antioxidante o qual consta em borrifar uma CCD em solução de  $\beta$ -caroteno tendo como padrões rutina e vitamina C. Obteve-se com resultado positivo o extrato etanólico das raízes de grão de galo (eergg), as frações alcaloídicas (faeergg) e não-alcaloídicas (fnaeergg) e as substâncias PA-8 e PA-9. Então, estas foram submetidas a ensaios antioxidantes usando DPPH como seqüestrador de radicais livres. O resultado do teste, comparado com padrões Trolox e BHT, revelou que PA-9 e a fração alcaloídica das raízes tiveram os melhores resultados frente ao seqüestro dos radicais livres com um percentual médio de 58,6%, ambas. Vindo em seguida as frações não-alcaloídica e o extrato etanólico das raízes com uma média de 57,3% e 54,4%, repectivamente.

Portanto, as substâncias isoladas demonstram que uma reinvestigação fitoquímica faz-se viável e necessária, pois a cada estudo há possibilidades de encontrar novos metabólitos especiais aumentando, assim, a variedade destes, contribuindo para o conhecimento da biodiversidade.

# Referências Bibliográficas

- ✓ ACHENBACH, H.; BENIRSCHKE, M.; TORRENEGRA, R. *Phytochemistry*, v. 45, n. 2, p. 325-335, **1997**.
- ✓ ANDRADE, M. T.; LIMA, J. A.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M.; CARVALHO, M. P.; EPIFANIO, R. A. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 13, n. 12, p. 4092-4095, **2005**.
- ✓ ASSUNÇÃO, J. C. C. *Estudo Fitoquímico de Própolis do Ceará*. 2004. 126p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, **2004**.
- ✓ BARROSO, G. M. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. v.3. Viçosa - MG: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, **1986**.
- ✓ CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 16, n. 6B, p. 1353-1359, **2005**.
- ✓ CAVA, M. P.; TALAPATRA, S. K.; WEISBACH, J. A.; DOUGLAS, B.; RAFFAUF, R. F.; RIBEIRO, O. *Chem. Ind.*, v.26, p. 1193-1194, **1964**.
- ✓ CHATURVEDULA, V. S. P.; SPRAGUE, S.; SCHILLING, J. K.; KINGSTON, D. G. I. *J. Nat. Prod.*, v. 66, p. 528-531, **2003**.
- ✓ CHATURVEDULA, V. S. P.; SPRAGUE, S.; SCHILLING, J. K.; KINGSTON, D. G. I. *J. Nat. Prod.*, v. 68, n. 9, 1444, **2005**.
- ✓ COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. *Introdução a Métodos Cromatográficos*. Campinas: Editora UNICAMP, **1997**.
- ✓ DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. England: John Wiley & Sons Ltd. 507p., **2004**.

- ✓ FEDERICI, E.; PALAZZINO, G.; NICOLETTI, M.; GALEFFI, C. *Planta Med.*, v. 66, n. 1, p. 93-95, **2000**.
- ✓ GOGOLL, A.; PLOBECK, N. A. *Magn. Reson. Chem.*, v. 28, p. 635-641, **1990**.
- ✓ GROVER, R. K.; SRIVASTVA, S.; KULSHRESHTHA, D. K.; ROY, R. *Magn. Reson. Chem.*, v. 40, n. 7, p. 474-476, **2002**.
- ✓ HAIDER, N.; SOTELO, E. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 50, n. 11, p. 1479-1483, **2002**.
- ✓ HALLER, A.; HECKEL, E. *J. Chem. Soc.*, Abstr. 82, I, p. 174, **1901**.
- ✓ HEGAZI, A. G.; HADY, F. K. A., *Z. Naturforsch*, 57c, p. 395, **2002**.
- ✓ JOSHI, A. B.; SATYANARAYANA, D.; CHANDRASHEKAR, K. S.; SUBRAHMANYAM, E. V. S. *J. Nat. Prod. Sc.*, v. 10, n. 3, 96-98, **2004**.
- ✓ KAM, T-S.; PANG, H-S.; CHOO, Y-M.; KOMIYAMA, K. *J. Chem. Biodivers.*, v. 1, n. 4, 646-656, **2004a**.
- ✓ KAM, T-S.; PANG, H-S. *Heterocycles*, v. 63, n. 4, p. 845-850, **2004b**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M.; PANG, H-S. *J. Nat. Prod.*, v. 66, n. 1, p. 11-16, **2003a**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M. *Phytochemistry*, v. 63, n. 5, p. 625-629, **2003b**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M. *Helv. Chim. Acta.*, v. 86, n. 1, p. 122-126, **2003c**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M. *Heterocycles*, v. 57, n. 11, p. 2137-2143, **2002a**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M. *Helv. Chim. Acta.*, v. 85, n. 4, p. 1027-1032, **2002b**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M. *J. Nat. Prod.*, v. 65, n. 5, p. 669-672, **2002c**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M.; LIM, T-M. *Tetrahedron Lett.*, v. 42, n. 28, p. 4721-4723, **2001**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M.; LIM, T-M. *Tetrahedron Lett.*, v. 41, n. 15, p. 2733-2736, **2000**.
- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M.; LIM, T-M. *Tetrahedron Lett.*, v. 40, n. 29, p. 5409-5412, **1999a**.

- ✓ KAM, T-S.; SIM, K-M. *Nat. Prod. Lett.*, v. 13, n. 2, p. 143-146, **1999b**.
- ✓ LEMOS, T. L. G.; ANDRADE, C. H. S.; GUIMARÃES, A. M.; WOLTER FILHO, W.; BRAZ-FILHO, R. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 7, n. 2, p. 123-126, **1996**.
- ✓ LEPINE, F.; MILOT, S.; ZAMIR, L.; MOREL, R. *J. Mass Spectrom.*, v. 37, n. 2, p. 216-222, **2002**.
- ✓ LIANG, S.; CHEN, H.; DU, J.; WANG, H.; SHEN, Y.; HUANG, M. *Dier Junyi Daxue Xuebao*, v. 27, n. 8, p. 892-894, **2006**.
- ✓ LIEN, T. P.; KAMPERDICK, C.; VAN SUNG, T.; ADAM, G.; RIPPERGER, H. *Phytochemistry*, v. 49, n. 6, p. 1797-1799, 1998a.
- ✓ LIEN, T. P.; RIPPERGER, H.; PORZEL, A.; MERZWEILER, K.; VAN SUNG, T.; ADAM, G. *Phytochemistry*, v. 49, n. 5, p. 1457-1461, **1998b**.
- ✓ MASUDA, K.; AKIYAMA, T.; TAKI, M.; TAKAISHI, S.; IJIMA, Y.; YAMAZAKI, M.; AIMI, N.; JATO, J.; WATERMAN, P. G. *Planta Med.*, v. 66, n. 2, p. 169-171, **2000**.
- ✓ MATOS, F. J. A.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, O. R.; MACHADO, F. W. MADRUGA, M. I. L. M. *Phytochemistry*, v.15, n. 4, p.551-553, **1976**.
- ✓ MEDEIROS, W. L. B.; VIEIRA, I. J. C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; SCHRIPSEMA, J. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 12, n. 3, p. 368-372, **2001**.
- ✓ MONNERAT, C. S.; SOUZA, J. J.; MATHIAS, L. BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. *J. J. Braz. Chem. Soc.*, v. 16, n. 6B, p. 1331-1335, **2005**.
- ✓ PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S.C.; OLIVEIRA, P. V. A.; BREVES, C. M. S.; PEREIRA, S. I. V.; SAMPAIO, S. V.; NOMIZO, A.; DIAS, D.A. *Quim. Nova*, v. 31, n. 1, p. 20-24, **2008**.
- ✓ PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D.S. *Quim. Nova*, v. 30, n. 4, p.970-983, **2007**.
- ✓ PEREIRA, S.; DIAS, D. A.; FRANCA, S.C.; SAMPAIO, S. V.; TOLDO, M. P. A.; ALBUQUERQUE, S. *Acta Hort.*, n. 501, p. 165-170, **1999**.

- ✓ RAPINI, A. *Sistemática: Estudos em Asclepiadoideae (Apocynaceae) da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais*. 2000. 283p. Tese (Doutorado em Ciências na área de Botânica) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, **2000**.
- ✓ RIBEIRO, J. E. L. et al. *Flora da Reserva Ducke - Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia central*. Manaus: Inpa, 816p., **1999**.
- ✓ RIPPERGER, H.; KAMPERDICK, C.; ADAM, G.; TRINH PHUONG LIEN; T. V. S. *J. fuer Praktische Chemie*, v. 341, n. 5, p. 506-508, **1999**.
- ✓ SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 1.102p., **2004**.
- ✓ SOLOMONS, G.; FRYHLE, C., *Química Orgânica*, 7 ed., v. 1, p. 393, Rio de Janeiro: LTC, **2001**.
- ✓ SRIVASTAVA, S.; SINGH, M. M.; KULSHRESHTHA, D. K. *Planta Med.*, v. 67, n. 6, p. 577-579, **2001**.
- ✓ STELLA, R. *Antioxidantes*. São Paulo, **2003**. Disponível em <[http://www1.uol.com.br/cyberdiet/colunas/030321\\_nut\\_antiox.htm](http://www1.uol.com.br/cyberdiet/colunas/030321_nut_antiox.htm)>. Acessado em 14 Ago 07.
- ✓ TAKAYAMA, H.; SUDA, S.; KITAJIMA, M.; SAKAI, S-I.; SANTIARWORN, D.; LIARUANGRATH, B.; AIMI, N. *Nat. Medicines*, v. 52, n. 3, p. 289, **1998**.
- ✓ WEISBACH, J. A.; RAFFAUF, R. F.; RIBEIRO, O.; MACKO, E.; DOUGLAS, B. *J. Pharm. Sci.*, v. 52, p. 350-353, **1963**.
- ✓ WIKIPÉDIA. Desenvolvido pela Wikimedia Foundation. Apresenta conteúdo enciclopédico. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Apocynaceae&oldid=6834773>>. Acesso em: **30 Jul 2007**.

- ✓ WOLTER FILHO, W. *Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *peschiera affinis* (Müell. Arg.) Miers*. 1981. 156p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, **1981**.
  
- ✓ WOLTER FILHO, W.; ANDRADE, C. H. S.; BRAZ-FILHO, R.; MATOS, F. J. A. *Acta Amazônica*, v. 15, n. 1-2, p. 193-197, **1985**.



# Índice Remissivo

- A
- Acetatos de  $\alpha,\beta$ -amirina, 77
  - Affinisina, 67
  - Alcalóides Indólicos, 10
  - Alcalóides Indólicos de *P. affinis*, 19
  - Antioxidantes, 39
  - Apocynaceæ, 1, 5
- B
- Beta-caroteno, 41
  - Biossíntese de alcalóides indólicos, 11
- C
- CLAE, 33
  - Coronaridina, 98
- D
- DPPH, 41
- E
- Extração ácido-base, 109
- H
- N*-hidroxi-pschienina, 55
- I
- Iboxigaina, 67
  - Isolamento de acetatos de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina, 116
  - Isolamento de affinisina, 115
  - Isolamento de coronaridina, 116
  - Isolamento de iboxigaina, 115
  - Isolamento de isovoacristina hidroxiiindolenina, 118
  - Isolamento de olivacina, 111
  - Isolamento de peschienina, 113
  - Isolamento de voacangina, 116
  - Isolamento de voacristina, 113
  - Isolamento de *N*-óxido de olivacina, 115
  - Isolamento de *N*-hidroxi-pschienina, 113
  - Isovoacristina hidroxiiindolenina, 83
- O
- Olivacina, 44
  - N*-óxido de olivacina, 72
- P
- Peschienina, 50
  - Peschiera affinis*, 1, 7
  - Peschiera*, 7
- Q
- Quantificação de olivacina, 34
- T
- Taxonomia de Apocynaceæ, 5
- V
- Voacangina, 91, 98
  - Voacristina, 62