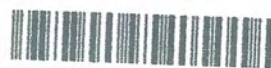


ALCALÓIDES INDÓLICOS DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DAS RAÍZES  
DE RAUVOLFIA GRANDIFLORA (APOCYNACEAE)

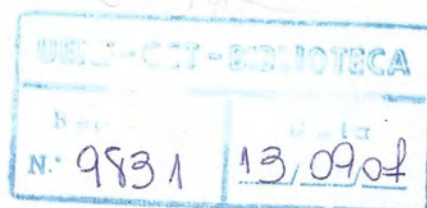


01615620009831

Alcalóides indólicos do extrat

547.72 B238a MON

LARA FONSECA BARBOSA



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

547.72  
B238a  
MON

547.72  
B238a  
MON

SETEMBRO DE 2005

**ALCALÓIDES INDÓLICOS DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DAS RAÍZES  
DE RAUVOLFIA GRANDIFLORA (APOCYNACEAE)**

**LARA FONSECA BARBOSA**

“Monografia apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia da  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do título de Graduado  
em Licenciatura em Química”.

Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
SETEMBRO DE 2005**

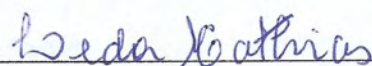
**ALCALÓIDES INDÓLICOS DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DAS  
RAÍZES DE RAUVOLFIA GRANDIFLORA (APOCYNACEAE)**

**LARA FONSECA BARBOSA**

“Monografia apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Graduado em Licenciatura em Química”.

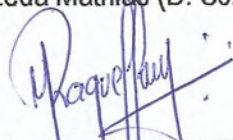
Aprovada em 30 de setembro de 2005

Comissão Examinadora:



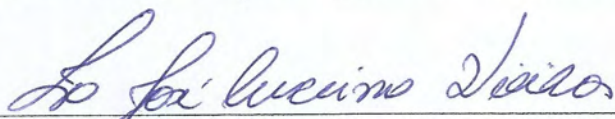
---

Prof<sup>a</sup> Leda Mathias (D. Sc. Química de Produtos Naturais) - UENF



---

Prof<sup>a</sup> Maria Raquel Garcia Vega (M. Sc. Faculdade de Medicina de Campos)



---

Prof<sup>o</sup> José Curcino Vieira (D. SC. Química Orgânica) - UENF  
(Orientador)



**Dedico este trabalho aos meus pais, Antônio Luiz e Maria Lúcia que são fundamentais em minha vida, a minha irmã Nathália e ao Flávio.**



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por tudo que sou e por todas as coisas que tem me proporcionado.

Aos meus pais Antônio Luiz e Maria Lúcia que tanto amo, pelo incentivo, confiança e o amor de sempre. Obrigado por estarem ao meu lado me apoiando em todos os momentos e por sempre me incentivarem a estudar.

A minha irmã Nathália pelo amor, carinho, compreensão e pela maravilhosa irmã de sempre.

A minha avó Maria Zelima pelo amor. A minha madrinha Rosa pelo carinho e por sempre me apoiar e ajudar.

Ao meu namorado e amigo Flávio, obrigado por estar sempre ao meu lado me dando apoio e incentivo principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus tios e primos que sempre me apoiaram.

Aos amigos; Débora, Marcelo, Viviane, Vinicius pela amizade e os bons momentos de graduação

Em especial as amigas Jucimar e Priscilla, por todos os momentos que passamos juntas, pela confiança, pelo carinho e pela grande amizade que tenho.

A Raquel, pela qual tenho grande carinho, pela amizade, pelos ensinamentos e por ter aceitado fazer parte da banca, e a sua família.

A Lanamar, pelo carinho, confiança e pela ajuda de sempre.

Aos amigos de laboratório, Elaine, Cecilia, Luciana, Adriana, Vilma, Graziela, Ildomar, Moema e Márcia pela amizade, pelos bons momentos e pela colaboração.

Ao meu professor, orientador, Ivo José Curcino Vieira, por ter acreditado em mim e me apoiado, me ajudando a crescer cada vez mais. Pela amizade, confiança e os momentos de brincadeiras.

A professora Leda Mathias pela amizade, pela colaboração e por ter aceitado fazer parte da banca.

Ao professor Carlos Matos pela amizade.

Ao professor Raimundo Braz-Filho pela ajuda durante toda essa etapa.

Aos demais professores que foram fundamentais na minha formação.

A todos colegas de turma pelos momentos que passamos juntos.

A todos aqueles que de uma maneira ou outra colaboraram comigo

A todos, muito  
obrigado.

## SUMÁRIO

<b>Lista de figuras</b>	iii
<b>Lista de tabelas</b>	vi
<b>Abreviaturas e Símbolos utilizados</b>	vii
<b>Resumo</b>	ix
<b>Abstract</b>	x
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. OBJETIVO</b>	3
2.1- Objetivo geral	3
2.2- Objetivos específicos	3
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	4
3.1- A Família Apocynaceae	4
3.1.1- Aspectos gerais	4
3.1.2-Aspectos quimiotaxonômicos	4
3.2- O gênero <i>Rauvolfia</i>	7
3.3- Alcalóides	8
3.3.1- Alcalóides Indólicos (derivados do L-triptofano)	10
3.3.2- Alcalóides de <i>Rauvolfia</i>	13
<b>4. Materiais e Métodos</b>	16
4.1- Parte Experimental	16
4.1.1- Coleta da planta	16
4.1.2- Preparação dos extratos	16



4.1.3- Descrição do isolamento e purificação dos constituintes químicos isolados	17
<b>5. Resultados obtidos</b>	24
<b>6. Conclusão</b>	59
<b>7. Revisão bibliográfica</b>	60



**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1:</b> Reação promovida pela enzima triptofano - descarboxilase	10
<b>Figura 2:</b> Reação de condensação da triptamina e secologamina catalisada pela enzima strictosidina sintase	10
<b>Figura 3:</b> Esqueletos básicos de oito sub-classes de alcalóides indólicos terpênicos	12
<b>Figura 4:</b> Preparação dos extratos brutos das cascas de <i>Rauvolfia grandiflora</i>	19
<b>Figura 5:</b> Fluxograma do fracionamento do extrato metanólico	20
<b>Figura 6:</b> Fluxograma do fracionamento da fração <b>RGM-2</b> do extrato metanólico	21
<b>Figura 7:</b> Fluxograma do fracionamento da fração <b>RGM-3</b> do extrato metanólico	22
<b>Figura 8:</b> Fluxograma do fracionamento da fração <b>RGM-6</b> e <b>RGM-7</b> do extrato metanólico	23
<b>Figura 9:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) em CDCl <sub>3</sub> da fração RGM2-0-8-9-P	25
<b>Figura 10:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 1,2-1,9 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) em CDCl <sub>3</sub> da fração RGM2-0-8-9-P	26
<b>Figura 11:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 2,4 – 2,8 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) em CDCl <sub>3</sub> da fração RGM2-0-8-9-P	27
<b>Figura 12:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 2,9 - 3,3 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) em CDCl <sub>3</sub> da fração RGM2-0-8-9-P	28
<b>Figura 13:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 3,7 – 4,6 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) em CDCl <sub>3</sub> da fração RGM2-0-8-9-P	29

<b>Figura 14:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 6,7 – 7,8 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-8-9-P	30
<b>Figura 15:</b> Espectro de RMN $^{13}C$ (100 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-8-9-P	31
<b>Figura 16:</b> Ampliação da região de $\delta_C$ 20 – 70 do espectro de RMN $^{13}C$ (100 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-8-9-P	32
<b>Figura 17:</b> Espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-11-3	34
<b>Figura 18:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 0,8 – 3,2 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-11-3	35
<b>Figura 19:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 3,5 – 5,5 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-11-3	36
<b>Figura 20:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 6,8 – 8,1 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-11-3	37
<b>Figura 21:</b> Espectro de RMN $^{13}C$ (100 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-11-3	38
<b>Figura 22:</b> Ampliação da região de $\delta_C$ 20 – 60 do espectro de RMN $^{13}C$ (100 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM2-0-11-3	39
<b>Figura 23:</b> Principais NOEs observados no espectro $^1H$ - $^1H$ -NOESY	41
<b>Figura 24:</b> Espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM6-2-0-B	42
<b>Figura 25:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 1,5 – 2,2 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM6-2-0-B	43
<b>Figura 26:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 2,6 – 3,2 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM6-2-0-B	44
<b>Figura 27:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 3,1 – 3,9 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM6-2-0-B	45
<b>Figura 28:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 7,1 – 7,9 do espectro de RMN $^1H$ (400 MHz) em $CDCl_3$ da fração RGM6-2-0-B	46



<b>Figura 29:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100MHz) em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	47
<b>Figura 30:</b> Ampliação da região de $\delta_c$ 20 – 74 do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	48
<b>Figura 31:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (APT; 100 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	49
<b>Figura 32:</b> Mapa de correlação do espectro de HMBC em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	50
<b>Figura 33:</b> Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	51
<b>Figura 34:</b> Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	52
<b>Figura 35:</b> Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	53
<b>Figura 36:</b> Mapa de correlação do espectro de HMQC em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	54
<b>Figura 37:</b> Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	55
<b>Figura 38:</b> Mapa de correlação $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	56
<b>Figura 39:</b> Ampliação do mapa de correlação $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ da fração RGM6-2-0-B	57
<b>Figura 40:</b> Mapa de interação $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY da fração RGM6-2-0-B	58



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Classificação botânica da família Apocynaceae	5
<b>Tabela 2:</b> Atividade biológica de alguns Alcalóides	9
<b>Tabela 3:</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) e <sup>13</sup> C (100 MHz) em CDCl <sub>3</sub> para RGM-2-0-8-9-P comparado com os valores de literatura da Isoreserpilina	24
<b>Tabela 4:</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) e <sup>13</sup> C (100 MHz) em CDCl <sub>3</sub> para RGM-2-1-0-0-3 comparado com os valores de literatura da Darcyribeirina	33
<b>Tabela 5:</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) e <sup>13</sup> C (100 MHz) em CDCl <sub>3</sub> para RGM-6-2-0-B comparados com os valores de literatura da β-loimbina e da loimbina	40
<b>Tabela 6:</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) e <sup>13</sup> C (100 MHz) em CDCl <sub>3</sub> para RGM-6-2-0-B comparados com os valores de literatura da Corinantina, Alloioimbina, α-loimbina, 3-epi-α-loimbina e Pseudoioimbina	41

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E NOMENCLATURA

HMBC – “heteronuclear multiple-bond connectivity”

HMQC – “heteronuclear multiple-quantum coherence”

MHz – Megahertz

RMN <sup>1</sup>H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN <sup>13</sup>C – ressonância magnética nuclear de carbono-13

*J* – constante de acoplamento medida em Hertz

sl – simpleto largo

t – tripleto

m – multiplete

d – duplete

Hz – Hertz

q – quadruplete

ddd – duplo duplo duplete

dl – duplete largo

dt – duplo tripleto

s – simpleto

dd – duplo duplete

$\delta$  - deslocamento químico em partes por milhão

CC – cromatografia em coluna

CCDA – cromatografia em camada delgada analítica

CCDP – cromatografia em camada delgada em escala preparativa

dq – duplo quadruplete

dddd – duplo, duplo, duplo duplete

~ NOESY – Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy

APT – “attached proton test”

COSY – “correlation spectroscopy”



## RESUMO

BARBOSA, Lara Fonseca: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, setembro de 2005: Alcalóides indólicos do extrato metanólico das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae); Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira; Co-orientadores: Prof<sup>a</sup> Leda Mathias e Prof. Raimundo Braz-Filho.

A química do gênero *Rauvolfia* é conhecida pela bioprodução de alcalóides indólicos, incluindo monoterpênicos, os quais apresentam diversas atividades biológicas, atuando no tratamento de tumores, arritmias cardíacas, febre, antidepressivo. Este trabalho teve como objetivo analisar a composição química do extrato metanólico das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora*, coletada no município de Bom Jesus do Itabapoana - RJ. O isolamento das substâncias foi efetuado utilizando-se técnicas clássicas de cromatografia. Do extrato metanólico foram isolados e identificados três alcalóides indólicos monoterpênicos: Darcyribeirina, Isoreserpilina e  $\beta$ -loimbina. A determinação estrutural dessas substâncias foi efetuada com base em dados espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , incluindo experimentos bidimensionais (COSY, NOESY, HMQC e HMBC) e a partir de informações obtidas dos dados de literatura.

## ABSTRACT

BARBOSA, Lara Fonseca: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, September of 2005: Alcalóides indólicos do extrato metanólico das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae); Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira; Co-orientadores Prof<sup>a</sup> Leda Mathias e Prof. Raimundo Braz-Filho.

The *Rauvolfia* genus is known by its alkaloid bioproduction, including monoterpenoids which present several biological activities acting in tumor, heart arrhythmia, fever and antidepressant treatments. Analyze the chemical components the methanol extract of the Root bark of *Rauvolfia grandiflora*, collected in Bom Jesus do Itabapoana city, was the aim of this study. The compounds isolation was carried out using classical chromatography techniques. From methanol extract, three monoterpenoid indole alkaloids were isolated and identified: darcyrine, isoreserpiline and  $\beta$ -Yohimbine. These structural compounds determinations were carried out based on spectral data of NMR  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , including bidimensional experiments (COSY, NOESY, HMQC and HMBC) and on information obtained from literature data.

## ABSTRACT

BARBOSA, Lara Fonseca: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, September of 2005: Alcalóides indólicos do extrato metanólico das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae); Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira; Co-orientadores Prof<sup>a</sup> Leda Mathias e Prof. Raimundo Braz-Filho.

The *Rauvolfia* genus is known by its alkaloid bioproduction, including monoterpenoids which present several biological activities acting in tumor, heart arrhythmia, fever and antidepressant treatments. Analyze the chemical components the methanol extract of the Root bark of *Rauvolfia grandiflora*, collected in Bom Jesus do Itabapoana city, was the aim of this study. The compounds isolation was carried out using classical chromatography techniques. From methanol extract, three monoterpenoid indole alkaloids were isolated and identified: darcyrine, isoreserpiline and  $\beta$ -Yohimbine. These structural compounds determinations were carried out based on spectral data of NMR  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , including bidimensional experiments (COSY, NOESY, HMQC and HMBC) and on information obtained from literature data.



## 1. INTRODUÇÃO

A Química de Produtos Naturais compreende-se num dos ramos da Química Orgânica de considerável importância, pois, permite entre outras a classificação quimiosistemática de vegetais, através do isolamento e da identificação estrutural de substâncias e, ainda a determinação de rotas biossintéticas dos metabólitos secundários.

Muitas das substâncias produzidas pelo metabolismo secundário desses vegetais apresentam atividades biológicas, contribuindo assim com a humanidade. O estudo fitoquímico de plantas possui grande importância, uma vez que, as substâncias isoladas do metabolismo secundário de vegetais possibilitam uma interdisciplinaridade da química de produtos naturais com outras áreas como botânica, biologia molecular, farmacologia, medicina humana e veterinária, entomologia e ecologia (BRAZ-FILHO, 1994).

Devido a grande biodiversidade das florestas brasileiras, a atenção do mundo de uma maneira geral está voltada especialmente para a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica. A região da Mata Atlântica é formada por uma densa floresta de espécies variadas que ocupam cerca de 500.000 Km<sup>2</sup>, formando uma faixa verde paralela à costa brasileira, desde o Estado do Rio Grande do Sul até a Paraíba. Muitas vezes, a mesma espécie botânica ocorre em diferentes regiões e sua composição química pode também apresentar diferenças (MATOS, 1997).

Dentre as diversas famílias de plantas, tem merecido destaque à família Apocynaceae, onde se podem encontrar várias espécies que em sua maioria produzem uma gama enorme de substâncias nitrogenadas, dotadas de diversas atividades biológicas, denominadas de **alcalóides** (SCHMELLER e WINK, 1998).

**Alcalóides** são substâncias que possuem grupamento amina e ou amida, por isso são dotados de caráter básico, com algumas exceções. Compreendem-se em uma importante classe de substâncias, por apresentarem grande variedade de atividade biológica, por exemplo, ação como depressor cardíaco, diurético e contra diversos tipos de tumores (BRUNETON, 1995).

No gênero *Rauvolfia*, família Apocynaceae, algumas espécies, tais como, *R. vomitoria* e *R. serpentina*, foram largamente estudadas, por isso possuem sua composição química bastante definida, além da realização de diversos testes biológicos (ZENK, 1980b). O mesmo não tem acontecido com outras espécies, principalmente as espécies brasileiras, nativas da Mata Atlântica, como por exemplo, *Rauvolfia grandiflora* (BIANCO et al., 1994), que possui poucos estudos a respeito de sua constituição química.

Estes fatos, aliado a grande importância farmacológica dos alcalóides isolados de espécies do gênero *Rauvolfia*, faz com que o estudo químico de *Rauvolfia grandiflora* venha ser bastante promissor. Diante desses fatos, esta sendo dada continuidade ao trabalho iniciado por CANCELIRI et al, 2001 sendo que agora foi iniciada a análise da composição química do extrato metanólico.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Isolar e identificar estruturalmente os alcalóides indólicos do extrato metanólico das cascas das raízes *Rauvolfia grandiflora*.

### 2.2 Objetivos específicos

Aprendizado de técnicas cromatográficas utilizadas em separações de metabólitos secundários produzidos por espécie vegetal.

Aprendizado de técnicas espectroscópicas clássicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  na identificação de substâncias produzidas por espécies vegetais.

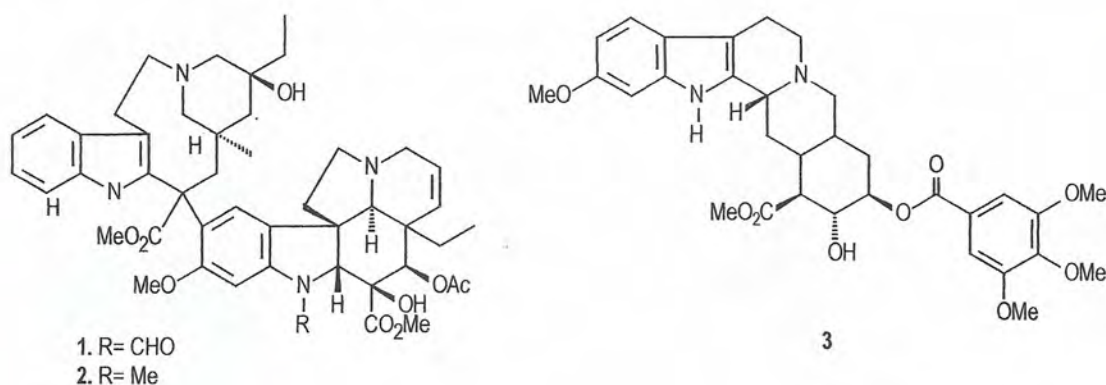


### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A família Apocynaceae

##### 3.1.1 Aspectos gerais

A família Apocynaceae é constituída de 163 gêneros e de aproximadamente 1850 espécies, que se apresentam como árvores, arbustos ou trepadeiras e geralmente exsudam um látex branco quando sofrem algum tipo de injúria mecânica. Estas espécies estão distribuídas ao longo dos trópicos, muitas delas são encontradas no Brasil e se caracterizam por serem bioprodutoras de alcalóides tóxicos e/ou medicinais (CANCELIERI, 2001).



Muitas plantas dessa família são utilizadas na medicina popular e também em rituais religiosos e de magia desde os tempos remotos. Atualmente, a medicina moderna emprega substâncias extraídas de Apocynaceae para vários tipos de tratamento, como, por exemplo, à quimioterapia neoplásica, que emprega a vimblastina (1) e a vincristina (2) (alcalóides indólicos monoterpênicos extraídos de *Cantharanthus roseus*) e também drogas antidepressivas e tranqüilizantes como a reserpina (3), que é um alcalóide indólico monoterpênico extraído da *Rauvolfia serpentina* (SCHMELLER e WINK, 1998).

##### 3.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos

A família Apocynaceae está subdividida em três subfamílias: I - Plumierioideae ; II - Cerberioideae; III - Echitoideae. Encontra-se na Tabela 1, uma classificação botânica resumida da

família Apocynaceae (subfamílias, tribos e gêneros), constando à classe de alcalóides encontrados em alguns gêneros.

**Tabela 1:** Classificação botânica da família Apocynaceae, segundo K. Schumann, M. Pichon e F. Margraf. (HESSE, 1981).

<b>I – Plumierioideae</b>			
<b>1. Carisseae</b>			
<i>Parahancornia</i>	<i>Couma</i>	<i>Melodinus</i> <sup>a,b</sup>	<i>Carissa</i>
<i>Lacmellea</i>	<i>Hancornia</i> <sup>b</sup>	<i>Landolphia</i>	<i>Dictyophleba</i>
<i>Pacouria</i>	<i>Jasminochyla</i>	<i>Vahadenia</i>	<i>Clitandra</i>
<i>Carpodinus</i> <sup>b</sup>	<i>Willughbeia</i>	<i>Urnularia</i>	<i>Bousignonia</i>
<i>Leuconotis</i> <sup>b</sup>	<i>Cyclocotyla</i>	<i>Picalima</i> <sup>b</sup>	<i>Polyadoa</i> <sup>b</sup>
<i>Tetradoa</i>	<i>Hunteria</i> <sup>a,b</sup>	<i>Pleiocarpa</i> <sup>a,b</sup>	
<b>2. Chilocarpeae</b>			
<i>Chilocarpus</i>			
<b>3. Ambelanieae</b>			
<i>Ambelania</i>	<i>Molongum</i>	<i>Rhigospira</i>	<i>Necocouma</i>
<i>Macoubea</i>			
<b>4. Tabernaemontaneae</b>			
<i>Pagiantha</i> <sup>b</sup>	<i>Rejoua</i> <sup>a,b</sup>	<i>Ervatamia</i> <sup>a,b</sup>	<i>Pterotaberna</i>
<i>Hazunta</i> <sup>a,b</sup>	<i>Muntafara</i>	<i>Pandacastrum</i>	<i>Callichilia</i> <sup>a,b</sup>
<i>Ephippiocarpa</i>	<i>Hedranthera</i> <sup>a,b</sup>	<i>Tabernaemontana</i> <sup>a,b</sup>	<i>Peschiera</i> <sup>b</sup>
<i>Daturicarpa</i>	<i>Carvalhoa</i>	<i>Tabernanthe</i> <sup>a,b</sup>	<i>Schizogygia</i> <sup>b</sup>
<i>Stemmadenia</i> <sup>a,b</sup>	<i>Crioceras</i> <sup>a,b</sup>	<i>Calocrater</i>	<i>Voacanga</i> <sup>a,b</sup>
<i>Capuronetta</i> <sup>a,b</sup>	<i>Conopharyngia</i> <sup>a,b</sup>	<i>Pandaca</i> <sup>a,b</sup>	<i>Gabunia</i> <sup>b</sup>
<b>5. Alstoniae</b>			
<i>Craspidospermum</i> <sup>a,b</sup>	<i>Stephanostegia</i>	<i>Dyera</i>	<i>Kamettia</i>
<i>Gonioma</i> <sup>a,b</sup>	<i>Strempeleopsis</i>	<i>Plectaneia</i>	<i>Alstonia</i> <sup>a,b</sup>
<i>Tonduzia</i> <sup>b</sup>	<i>Winchia</i>	<i>Paladelpha</i>	<i>Bisquamaria</i>
<i>Blaberopus</i>	<i>Diplorrynchus</i> <sup>b</sup>	<i>Aspidosperma</i> <sup>a,b</sup>	<i>Geissospermum</i> <sup>b</sup>
<i>Microplumeria</i>	<i>Rhazya</i> <sup>a,b</sup>	<i>Amsonia</i> <sup>a,b</sup>	<i>Lochenera</i> <sup>b</sup>
<i>Vinca</i> <sup>a,b</sup>	<i>Catharanthus</i> <sup>a,b</sup>	<i>Haplophyton</i> <sup>a,b</sup>	<i>Plumeria</i>
<i>Himatanthus</i>	<i>Holarrhena</i> <sup>c</sup>		
<b>6. Rauvofieae</b>			



<i>Cabucala</i> <sup>a,b</sup>	<i>Petchia</i>	<i>Rauvolfia</i> <sup>b</sup>	<i>Podochrosia</i>
<i>Alyxia</i>	<i>Lepinia</i>	<i>Lepiniopsis</i>	<i>Ochrosia</i> <sup>b</sup>
<i>Excavatia</i> <sup>b</sup>	<i>Vallesia</i> <sup>a,b</sup>	<i>Kopsia</i> <sup>a</sup>	<i>Rhipidia</i>
<i>Condylocarpon</i> <sup>b</sup>	<i>Anechites</i>		
<b>II – Cerberoideae</b>			
<b>1. Skytantheae</b>			
<i>Skytanthus</i> <sup>d</sup>			
<b>2. Thevetieae</b>			
<i>Cameraria</i>	<i>Cerberiopsis</i>	<i>Thevetia</i>	<i>Ahovai</i>
<i>Cerbera</i> <sup>d</sup>			
<b>III – Echitoideae</b>			
<b>1. Parsonsieae</b>			
<i>Chonemorpha</i> <sup>c</sup>	<i>Echites</i>	<i>Pachypodium</i>	<i>Parsonia</i>
<i>Prestonia</i>	<i>Rhabdadenia</i>	<i>Rhynchodia</i>	<i>Trachelospermum</i>
<i>Urechites</i>			
<b>2. Nerieae</b>			
<i>Adenium</i>	<i>Beaumontia</i>	<i>Christya</i>	<i>Funtumia</i> <sup>c</sup>
<i>Kibatalia</i> <sup>c</sup>	<i>Kicksia</i> <sup>c</sup>	<i>Paravallaris</i> <sup>c</sup>	<i>Malouetia</i> <sup>c</sup>
<i>Nerium</i>	<i>Pottsia</i>	<i>Roupellina</i>	<i>Strophanthus</i>
<i>Vallaris</i>	<i>Wrightia</i> <sup>c</sup>		
<b>3. Ecdysanthereae</b>			
<i>Anodendron</i>	<i>Apocynum</i>	<i>Chavannesia</i>	<i>Cleghornia</i>
<i>Odontadenia</i>	<i>Urceola</i>		
<b>4. Ichonocarpeae</b>			
<i>Elytropus</i>	<i>Forsteronia</i>	<i>Ichnocarpus</i>	<i>Mandevilla</i>
<i>Dipladenia</i>	<i>Macrosiphonia</i>	<i>Parameria</i>	<i>Oncinotis</i> <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Alcalóides Plumerano.

<sup>b</sup> Alcalóides indólicos são basicamente relatados, exceto do tipo plumerano.

<sup>c</sup> Alcalóides Esteroidais.

<sup>d</sup> Alcalóides Piperidínicos.

<sup>e</sup> Alcalóides Espermidínicos.

Através da **Tabela 1**, é possível observar que no gênero *Rauvolfia* contém alcalóides.



### 3.2 O gênero *Rauvolfia*

Conhece-se cerca de 130 a 140 espécies no gênero *Rauvolfia*, Apocynaceae-Plumierioidea espontâneas na zona tropical da América (México, Antilhas, América do Sul), África, e, sobretudo na Ásia (Índia, Malásia, Indonésia) até à Austrália. Apresentam-se como arbustos ou árvores com cascas muito amargas, contendo alcalóides com propriedades hipotensoras, sedativas e hipnóticas (COSTA, 1906).

Durante séculos nativos do Himalaia usaram as raízes de *Rauvolfia* para cura de insanidade. Este antigo remédio ficou conhecido na Europa em 1563 devido ao livro de Garcia da Orta, "*Colloquios dos simples e drogas e cousas medicinaes de Índia*", e foi supostamente usado para o controle de hipertensão, epilepsia, insônia, febre, cólera, tonteira e dores de cabeça. Não obstante, estudos realizados por químicos, farmacêuticos e clínicos entre os anos de 1930 a 1940, indicaram claramente a presença de substâncias com interesse biológico, algumas com provável valor terapêutico. Estas pesquisas culminaram na descoberta da reserpina (3) (ZENK, 1980b).

O isolamento da reserpina (3) em 1952 de *Rauvolfia serpentina* Benth., coletada na Índia conduziu por volta de 1960, a publicação de aproximadamente 1300 artigos, incluindo várias revisões nas áreas de química, farmacologia e aspectos clínicos sobre a reserpina e outros alcalóides de *Rauvolfia*, bem como, por exemplo, a respeito da botânica deste gênero (ZENK, 1980b).

*Rauvolfia serpentina* apresenta-se como um pequeno arbusto encontrado na Índia, Paquistão, Burma e Tailândia. Outras espécies utilizadas comercialmente incluem *R. vomitoria* proveniente da África, uma pequena árvore cuja ingestão de uma pequena quantidade causa fortes vômitos, e *R. canencens* (*Rauvolfia tetraphylla*) originária da Índia e Caribe. A maior parte das espécies do gênero *Rauvolfia* utilizadas na medicina popular tem sido coletadas em florestas (DEWICK, 2002).

*Rauvolfia grandiflora* é conhecida vulgarmente na região Norte do Estado do Rio de Janeiro como "saco de gambá" devido às formas do fruto. Apresenta-se como um pequeno arbusto (2 a 5 m), encontrado no Brasil na região de Mata Atlântica. Suas flores são hermafroditas. O tubo da corola é branco e os cinco lóbulos da coloração de cor violeta. A percentagem de frutos em condições naturais é

geralmente baixa. Foram encontrados polinizadores de apenas uma espécie de abelha (LOPES e MACHADO, 1999).

### 3.3 Alcalóides

Alcalóides (do árabe *al-quali*, nome vulgar da planta da qual a soda foi originalmente extraída) como o próprio nome sugere são substâncias que possuem caráter básico, uma vez que apresentam em seu esqueleto um ou mais átomos de nitrogênio.

Relatos históricos demonstram o uso de extratos vegetais contendo alcalóides altamente tóxicos, usados como venenos, medicamentos ou como alucinógenos, desde tempos antigos. Podemos citar, por exemplo, a execução do filósofo Sócrates pela ingestão de uma bebida proveniente do extrato de *Conium maculatum*, que continha o alcalóide coniina. Supostamente a estes fatos, no século XIX surgiram vários trabalhos científicos, com a finalidade de obterem-se substâncias com importância farmacológica. Atualmente existem inúmeros trabalhos relatando isolamento e caracterização de tais substâncias (HENRIQUES et al., 1999).

Os alcalóides possuem grande significado na indústria farmacêutica, por apresentarem diversas atividades biológicas (**Tabela 2**).



**Tabela 2.** Atividade biológica de alguns Alcalóides (HENRIQUES et al., 1999).

<b>Alcalóide</b>	<b>Atividade Biológica</b>
Emetina	Amebicida e Emético
Atropina	Anticolinérgico
Histocianina	Anticolinérgico
Escopolamina	Anticolinérgico
Reserpina	Anti-hipertensivo
Protoveratina A	Anti-hipertensivo
Quinina	Antimalárico
Camptotecina	Anti-tumoral
Vimblastina	Anti-tumoral
Vincristina	Anti-tumoral
Codeína	Antitussígeno
Noscapina	Antitussígeno
Morfina	Hipnoanalgésico
Quinidina	Depressor Cardíaco
Cafeína	Estimulante do SNC
Teotrobina	Diurético
Teofilina	Diurético
Conchicina	Tratamento da gota
Tubocurarina	Miorrelaxante
Efedrina	Simpatomimético
Castanospermina	Antiviral

Como já visto quimiotaxonômicamente, no gênero *Rauvolfia* podemos encontrar basicamente alcalóides indólicos. Assim sendo, serão abordados alguns aspectos a respeito desta subclasse de alcalóides.



**Tabela 2.** Atividade biológica de alguns Alcalóides (HENRIQUES et al., 1999).

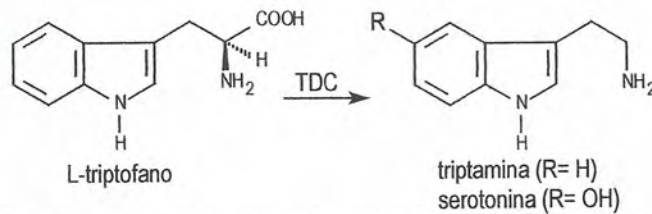
<b>Alcalóide</b>	<b>Atividade Biológica</b>
Emetina	Amebicida e Emético
Atropina	Anticolinérgico
Histocianina	Anticolinérgico
Escopolamina	Anticolinérgico
Reserpina	Anti-hipertensivo
Protoveratina A	Anti-hipertensivo
Quinina	Antimalárico
Camptotecina	Anti-tumoral
Vimblastina	Anti-tumoral
Vincristina	Anti-tumoral
Codeína	Antitussígeno
Noscapina	Antitussígeno
Morfina	Hipnoanalgésico
Quinidina	Depressor Cardíaco
Cafeína	Estimulante do SNC
Teotrobina	Diurético
Teofilina	Diurético
Conchicina	Tratamento da gota
Tubocurarina	Miorrelaxante
Efedrina	Simpatomimético
Castanospermina	Antiviral

Como já visto quimiotaxonômicamente, no gênero *Rauvolfia* podemos encontrar basicamente alcalóides indólicos. Assim sendo, serão abordados alguns aspectos a respeito desta subclasse de alcalóides.

### 3.3.1 Alcalóides Indólicos (derivados do L-triptofano)

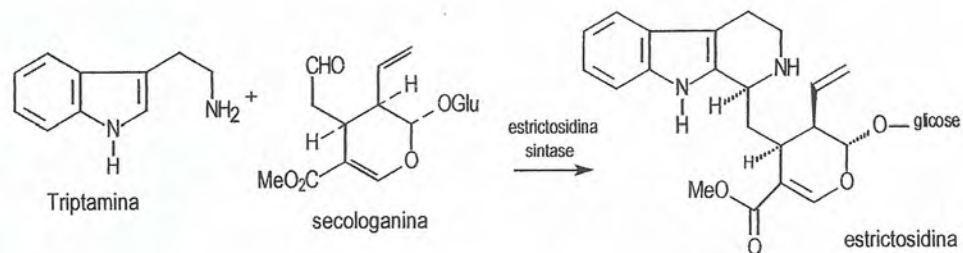
Podem ser divididos em dois grupos:

a) Alcalóides indólicos simples: são alcalóides formados por modificações simples do L-triptofano, como descarboxilações, hidroxilações e metilações, formando a triptamina e serotonina (**Figura 1**).



**Figura 1:** Reação promovida pela enzima triptofano-descarboxilase (DEWICK, 2002).

b) Alcalóides indólicos monoterpênicos: são alcalóides formados pela reação de condensação (catalisada pela enzima estrictosidina sintase) entre a triptamina formada através da descarboxilação do L-triptofano (**Figura 1**) e o iridóide secologanina originando a estrictosidina (**Figura 2**).



**Figura 2:** Reação de condensação da triptamina e secologanina catalisada pela enzima estrictosidina sintase (DEWICK, 2002).

A biossíntese a partir do intermediário estrictosidina ainda não está esclarecida, pois muitas das enzimas envolvidas ainda não foram isoladas e caracterizadas. Apenas substâncias com grande importância farmacológica como a vincristina (1) e vimblastina (2) (pág.4) possuem as últimas etapas de sua biossíntese definidas (SCHRIPSEMA et al., 1999).



Os alcalóides indólicos derivados da condensação da triptamina e secologanina podem ser classificados em 8 sub-classes ou tipos de alcalóides de acordo com a variação das características estruturais de seus esqueletos (**Figura 3**) (pág.12). São elas (ZENK, 1981) :

**Corinanteano ou tipo C** (Ex: sarpagina, ioimbina, ajmalicina, picranila). Esta sub-classe de alcalóides tem demonstrado 46 variações no seu esqueleto e 1718 substâncias já foram isoladas, segundo consta na literatura.

**Vincosano ou tipo D** (Ex: vincosidina, talbotina) 47 substâncias foram isoladas e estão distribuídas dentro de 11 diferentes variações no esqueleto.

**Valesiachotamano ou tipo V** (Ex: valesiachotamina) 2 variações no esqueleto e 83 alcalóides isolados.

**Estricnano ou tipo S** (Ex: vomicina, akuamicina) 11 variações no esqueleto e 421 substâncias isoladas.

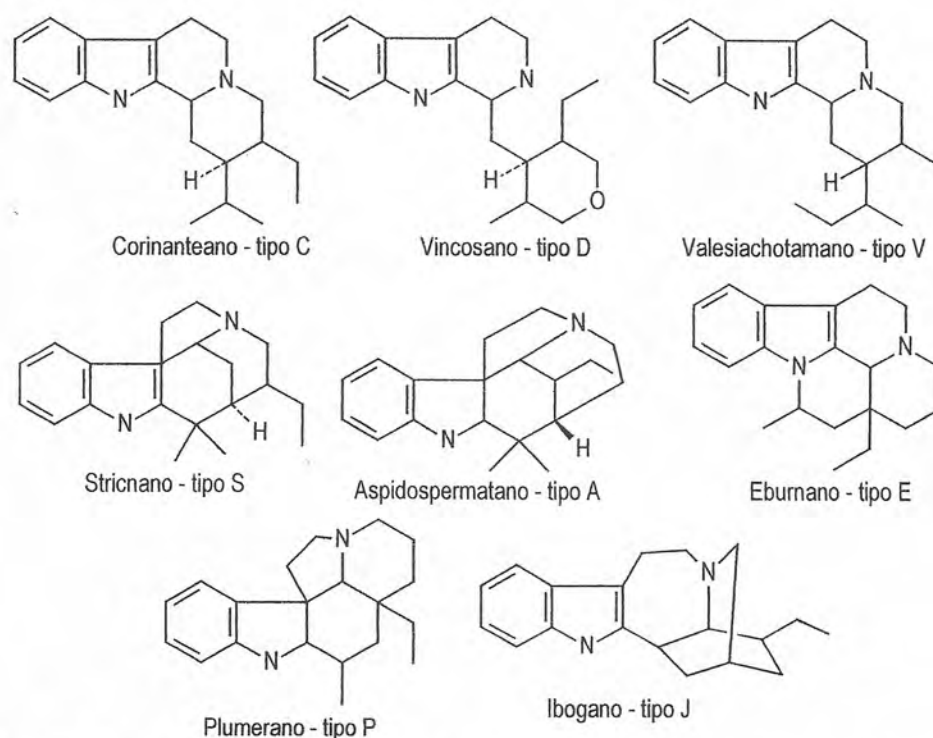
**Aspidospermatano ou tipo A** (Ex: condilocarpina, aspidospermatina) 6 variações no esqueleto e 53 substâncias isoladas.

**Eburnano ou tipo E** (Ex: vincamina, dicotina) 5 variações no esqueleto e 77 substâncias isoladas.

**Plumerano ou tipo P** (Ex: Kopsina, aspidospermidina, tabersonina) 11 variações no esqueleto e 606 substâncias isoladas.

**Ibogano ou tipo J** (Ex: voaluteina, ibogaina, pseudoaspidospermina, catarantina) 11 variações no esqueleto e 297 substâncias isoladas.





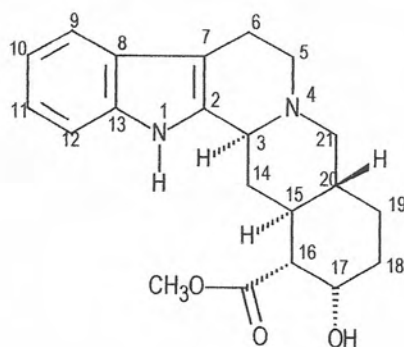
**Figura 3:** Esqueletos básicos das oito sub-classes de alcalóides indólicos terpênicos.

O número total desses alcalóides isolados soma 3302. Essa quantidade mencionada, segundo consta na literatura, foi isolada até o fim de 1978 (ZENK, 1980a).

A respeito dessa classificação foram adicionados mais três sub-classes, T-tacamano enquadrando os novos arranjos de esqueletos, *bis*-indólicos para alcalóides diméricos e a subclasse diversos. Mais tarde distinguiram 46 tipos estruturais nessas 11 subclasses já existentes (SCHRIPSEMA et al., 1999).

Os alcalóides indólicos monoterpênicos compreendem-se em um dos maiores grupos de alcalóides em plantas, podendo ser encontrados em oito famílias, das quais merecem destaque as famílias Apocynaceae, Loganiaceae e Rubiaceae.

O sistema de numeração aceito para os alcalóides indólicos monoterpênicos, está relacionado com sua biogênese, no qual tem-se como base a ioimbina (SCHRIPSEMA et al., 1999).

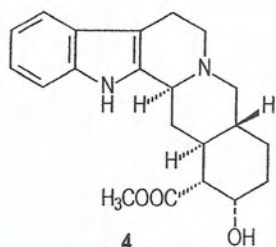


loimbina (4)

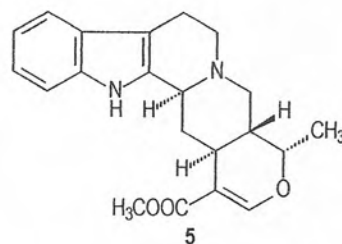
Os alcalóides indólicos monoterpênicos são de grande interesse econômico, pois a eles são atribuídas diversas atividades biológicas, e são amplamente encontrados nas espécies do gênero *Rauvolfia* (ZENK, 1981).

### 3.3.2 Alcalóides de *Rauvolfia*

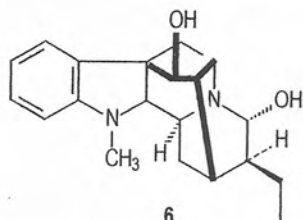
Basicamente os sistemas de anéis de quase todos os alcalóides encontrados no gênero *Rauvolfia* são representados pelos seguintes compostos: ioimbina (4), ajmalicina (5), ajmalina (6) e sarpagina (7) (ZENK, 1980b).



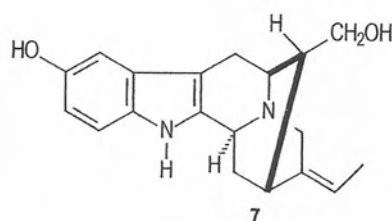
4



5



6



7

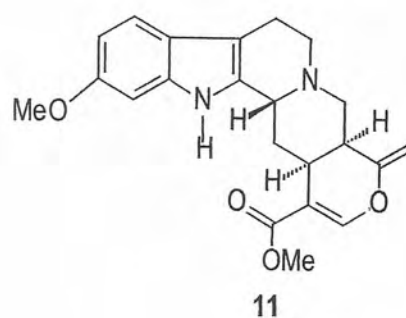
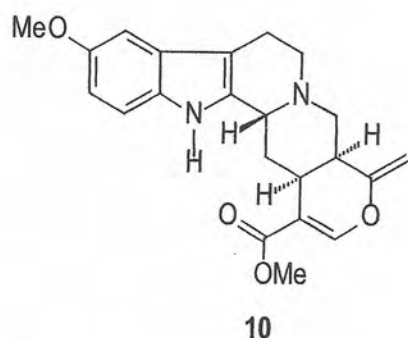
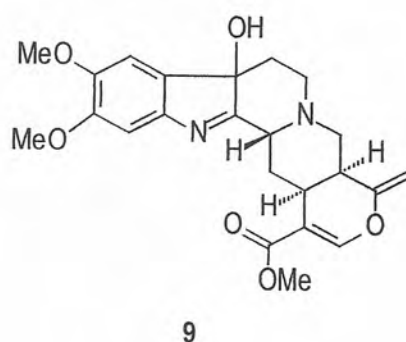
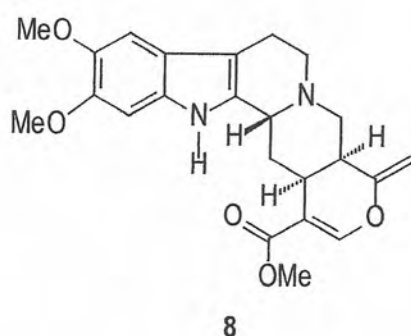
No Brasil existem 17 espécies de *Rauvolfia*, segundo o último trabalho de revisão taxonômica realizado por Rao (1956) e citado por Kato et al. (2000), mas somente quatro, *R. ligustrina* (Muller,

1957) *R. sellowii* (Batista et al., 1996), *R. mattfeldiana* (Vieira et al., 1998) e *R. grandiflora* (Cancelieri, 2001), serviram como fonte de investigação de alcalóides.

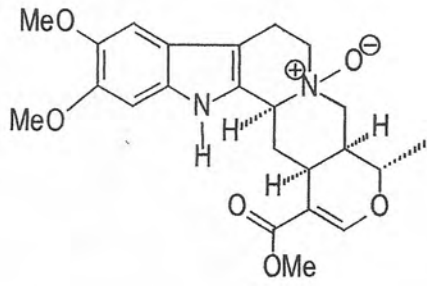
Cancelieri et al. (2002), estudando o extrato em diclorometano das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora*, conhecida como "saco de gambá", caracterizou seis novos alcalóides indólicos monoterpênicos denominados darcyibeirina (8), darcyibeirina B (9), 11-demetoxidarcyibeirina (10), 10-demetoxidarcyibeirina (11), seguido dos já conhecidos, N-óxido-isoreserpilina (12), N-óxido-7-hidroxiindolenina-isoreserpilina (13) isoreserpilina (14) e a isoreserpina (15).

Kato et al. (2000) e (2002) descreveram três novos alcalóides: 12-metoxi-*N*<sub>a</sub>-metil-vellosimina (16), demetoxipurpelina (17) e 12-metoxiaffinisina (18) e isolaram outros 30 das folhas e casca de *R. bahiensis*.

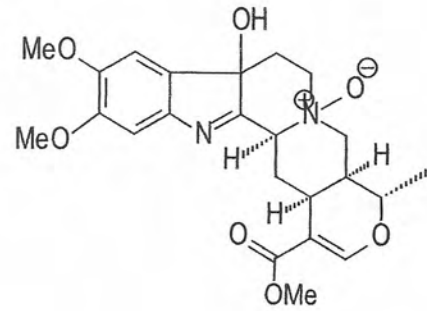
Vieira et al. (1998) isolaram do extrato hexânico da casca do caule de *Rauvolfia mattfeldiana* triterpenos, esteróides e um novo depsídeo: 1,4'-*O*-metilartornioato de metila (19).



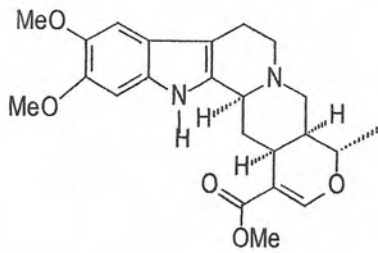




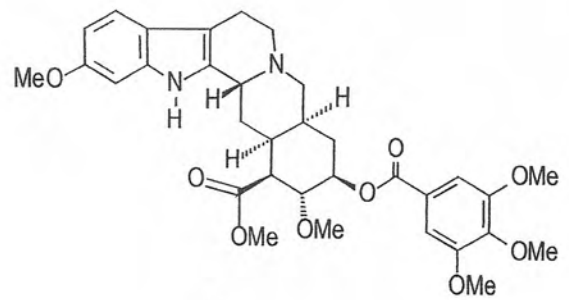
12



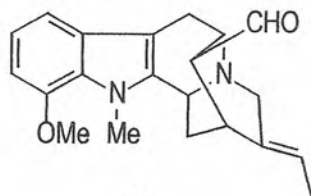
13



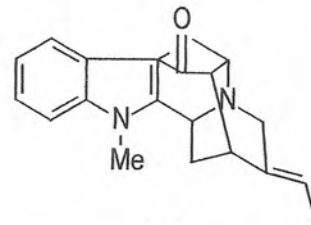
14



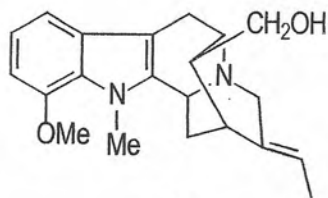
15



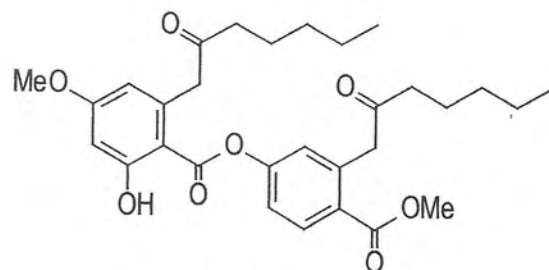
16



17



18



19

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Nas separações cromatográficas em coluna, foram utilizadas, sílica gel 60G (0,063-0,200 mm) da MERCK.

Nas análises comparativas através de cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se cromatofolha de sílica gel 60 F<sub>254</sub>.

As cromatoplasmas foram reveladas através de irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimento de onda 254 e 365 nm e/ou com revelador cromatogênico (Dragendorff).

A obtenção dos extratos brutos foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo da Buchi B-480 e Fisatom 802.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em um espectrômetro marca Jeol modelo Eclipse, operando a uma frequência de 400 MHz para <sup>1</sup>H e 100 MHz para <sup>13</sup>C. O solvente utilizado foi CDCl<sub>3</sub>.

### 4.1. Parte Experimental

#### 4.1.1. Coleta da planta

O material vegetal de estudo constitui-se da cascas das raízes de um espécime de *Rauvolfia grandiflora*, coletado em Bom Jesus do Itabapoana, Rio de Janeiro, em meados de agosto de 2002, identificado pelo Dr. Leuwemberg, Holanda, onde sua exsicata encontra-se depositada sobre o código WAG.

#### 4.1.2. Preparação dos extratos

As cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora* foram secas ao ar livre logo após a coleta, e depois moídas em moinho de martelos, fornecendo 1,7 Kg de material seco.

A extração dos componentes fixos foi feita a frio usando-se sucessivamente em ordem crescente de polaridade, os seguintes solventes orgânicos: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH. As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo fornecendo os extratos brutos.



#### 4.1.3 Descrição do isolamento e purificação dos constituintes químicos isolados do extrato metanólico (36,3520 g) das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora*.

O extrato em metanol (36,3520 g) foi submetido à cromatografia em coluna utilizando os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 30 frações que após análise por CCDA foram reunidas em 8 novas frações.

A fração RGM-2 (6,4794 g) foi fracionada em coluna de sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 32 frações. As frações que apresentaram o mesmo Rf quando analisadas por CCDA foram reunidas.

A subfração obtida RGM2-0 (324,8 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 90 frações. As frações que apresentaram o mesmo Rf quando analisadas por CCDA foram reunidas.

A subfração obtida RGM20-8 (17,1 mg) foi submetida a processo de purificação em CCDP utilizando como eluente diclorometano e metanol (96:4) resultando no isolamento da **Isoreserpilina**. A subfração RGM20-11 (141,5 mg) foi fracionada em coluna com sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade resultando no isolamento da **Darcyibeirina** e de um **alcalóide não identificado**.

As frações RGM-3, RGM-4 e RGM-5 foram reunidas (2,8131 g) e foram fracionadas em coluna de sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 34 frações. As frações que apresentaram o mesmo Rf quando analisadas por CCDA foram reunidas, resultando no isolamento da **Isoreserpilina**.

A subfração obtida RGM3-3 (21,3 mg) foi submetida a processo de purificação em CCDP utilizando como eluente diclorometano e metanol (96:4) resultando no isolamento da **Isoreserpilina**. A subfração RGM3-6 (418,6 mg) foi submetida a sucessivas colunas de sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade resultando no isolamento de um **alcalóide não identificado**. A subfração RGM3-9 (655,0 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel e

submetida a processo de purificação em CCDP utilizando como eluente diclorometano e metanol resultando no isolamento da  **$\beta$ -loimbina**.

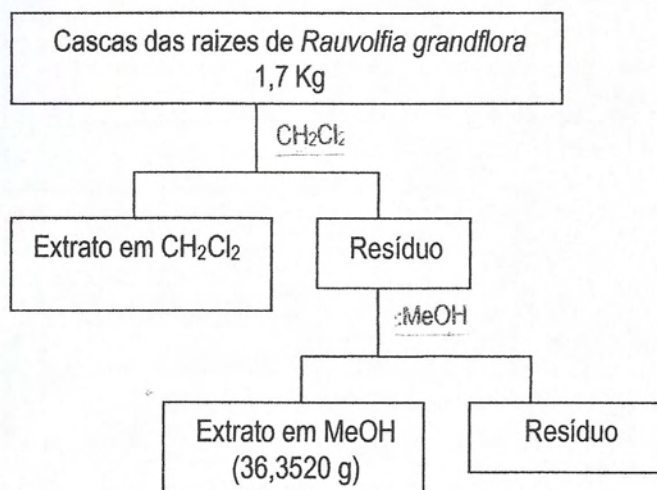
A fração RGM-6 (1,2706 g) foi fracionada em coluna de sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 24 frações. As frações que apresentaram o mesmo Rf quando analisadas por CCDA foram reunidas.

A subfração RGM6-0 (41,0 mg) foi fracionada em coluna com sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade resultando no isolamento da  **$\beta$ -loimbina**. A subfração RGM6-2 (262,0 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel e submetida a processo de purificação em CCDP utilizando como eluente diclorometano e metanol resultando no isolamento da  **$\beta$ -loimbina**.

A fração RGM-7 (8,8825 g) foi fracionada em coluna de sílica gel com os solventes diclorometano e metanol em gradiente crescente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 21 frações. As frações que apresentaram o mesmo Rf quando analisadas por CCDA foram reunidas.

A subfração RGM7-1 (21,0 mg) foi submetida a processo de purificação em CCDP utilizando como eluente diclorometano e metanol (96:4) resultando no isolamento de um **alcalóide não identificado**.





**Figura 4:** Preparação dos extratos brutos das cascas de *Rauvolfia grandiflora*

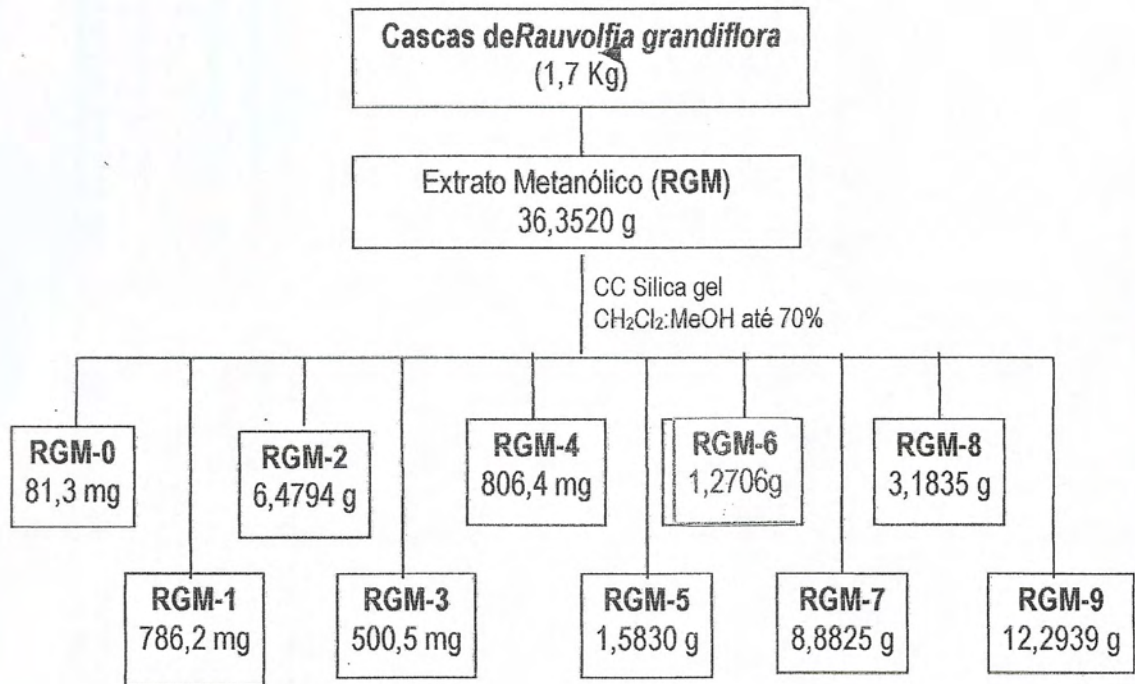


Figura 5: Fluxograma do fracionamento do extrato metanólico.



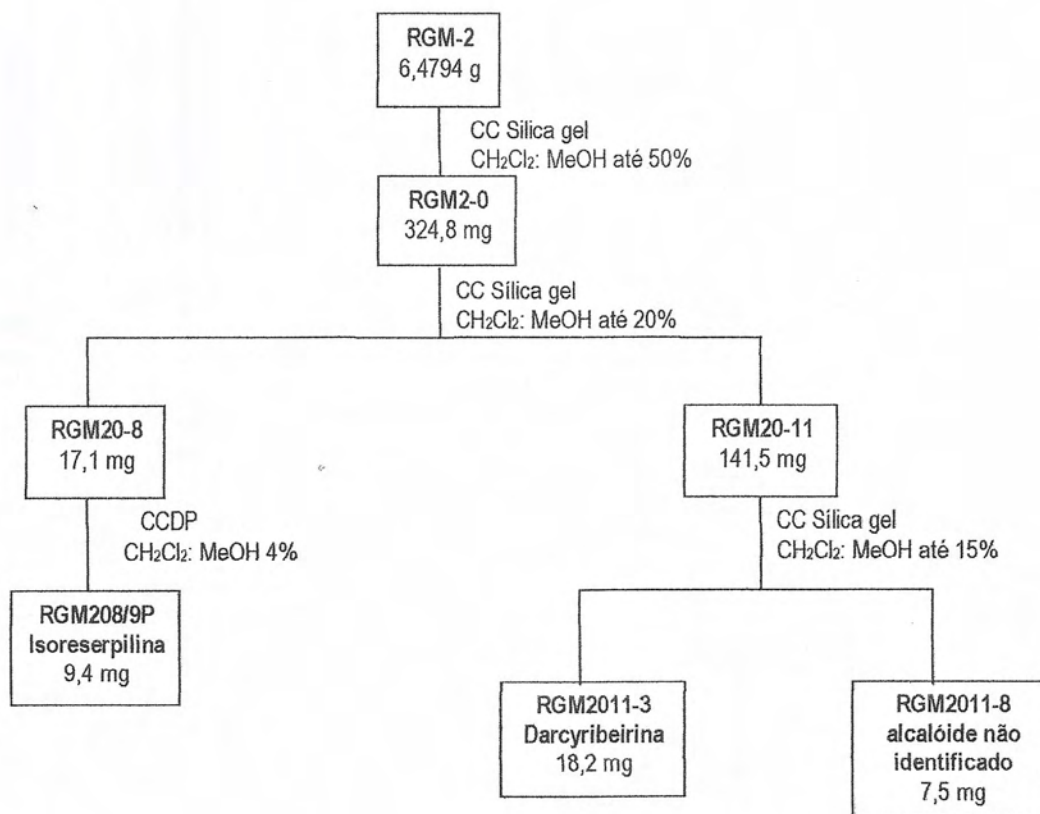


Figura 6: Fluxograma do fracionamento da fração RGM-2 do extrato metanólico.

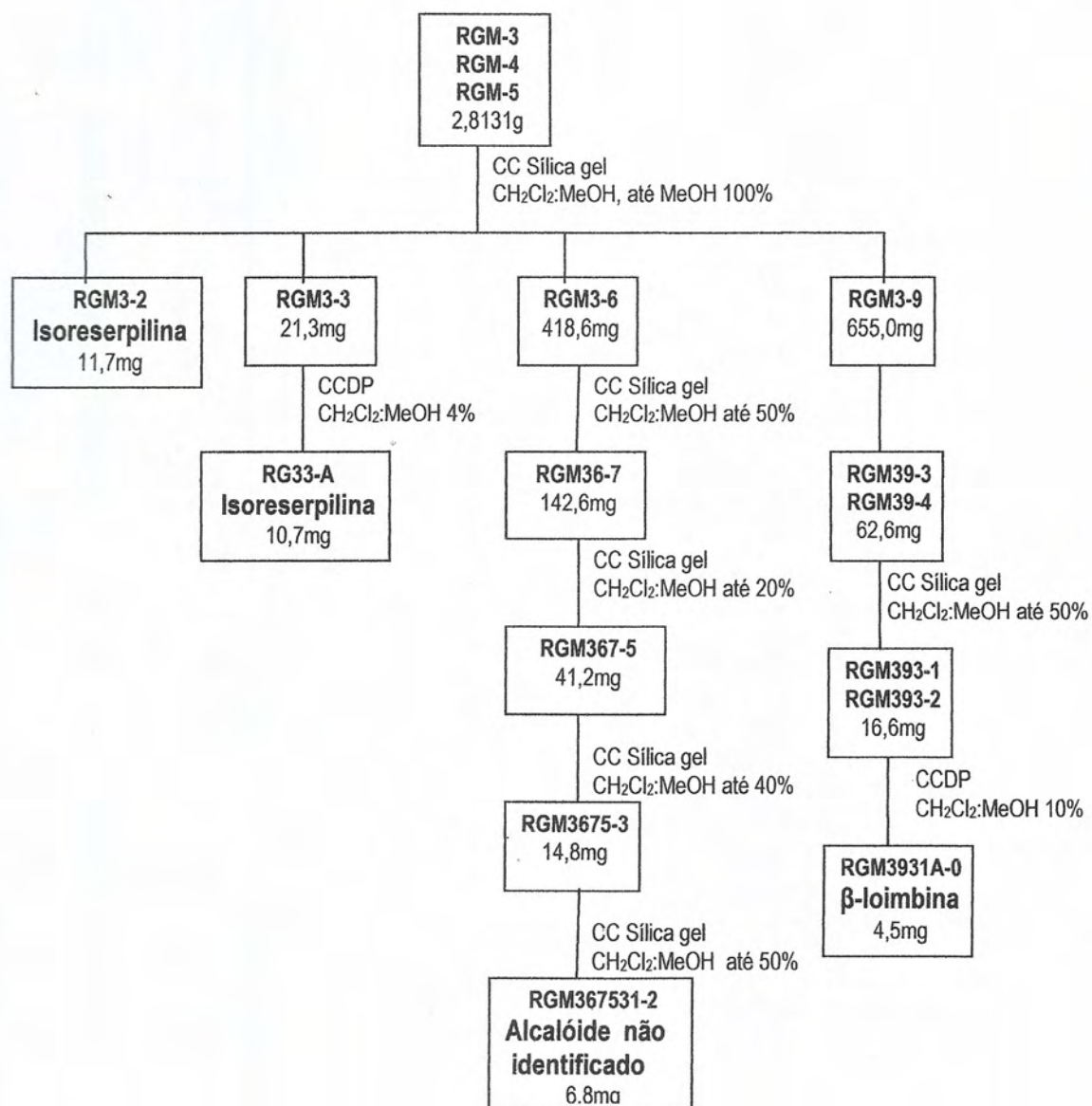


Figura 7: Fluxograma do fracionamento da fração RGM-3 do extrato metanólico.

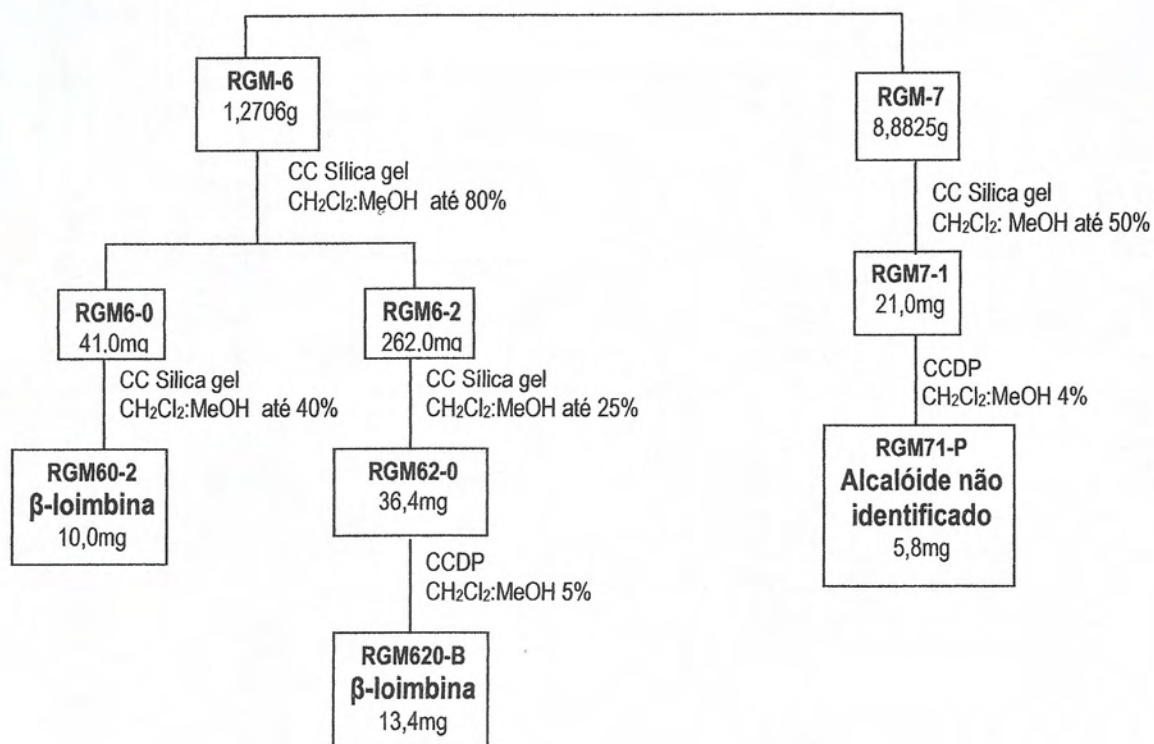
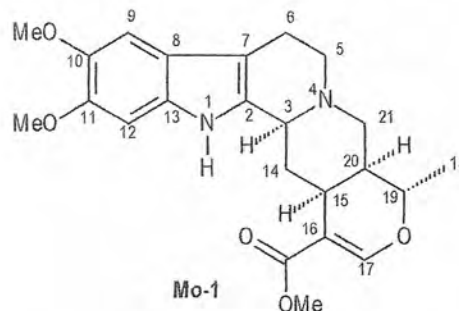
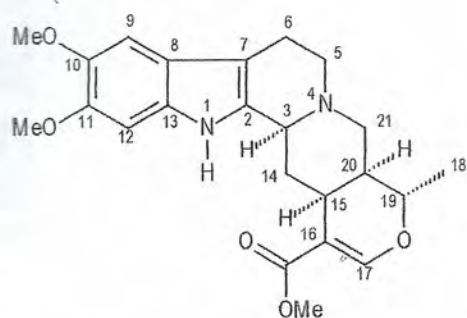


Figura 8: Fluxograma do fracionamento das frações RGM-6 e RGM-7 do extrato metanólico.



## 5. RESULTADOS OBTIDOS

## RGM2-0-8-9-P



**Tabela 3:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  para **RGM2089-P** comparado com os valores de literatura da Isoreserpilina (**Mo-1**, CANCELIERI, 2001). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão em ppm e as constantes de acoplamentos ( $J$ , entre parênteses) estão em Hz.

	RGM2-0-8-9-P		Mo-1- Isoreserpilina	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>C</b>				
2	133,17	-	133,14	-
7	107,85	-	107,82	-
8	119,97	-	119,94	-
10	144,82	-	144,78	-
11	146,45	-	146,41	-
13	130,16	-	130,13	-
16	109,52	-	109,49	-
22	168,00	-	168,03	-
<b>CH</b>				
3	59,91	3,32 (dl, 11,4)	59,91	3,32 (m)
9	100,40	6,81 (s)	100,35	6,89 (s)
12	94,87	6,89 (s)	94,82	6,81 (s)
15	31,30	2,75 (dt)	31,29	2,75 (dt, 4,6; 11,9)
17	155,72	7,56 (s)	155,75	7,56 (s)
19	72,42	4,49 (dq, 10,5; 6,2)	72,47	4,49 (dq, 6,2; 10,4)
20	38,43	1,69 (m)	38,41	1,69 (m)
<b>CH<sub>2</sub></b>				
5	53,57	2,95 (m) 2,54 (m)	53,67	2,95 (dd, 5,9; 9,9) 2,54 (dt, 9,9; 5,3)
6	21,84	2,88 (m) 2,64 (m)	21,82	2,88 (m) 2,64 (m)
14	34,30	2,47 (m) 1,51 (q, 12,1)	34,26	2,48 (ddd, 3,2; 4,0; 11,9) 1,55 (q, 11,9)
21	56,22	3,09 (dd, 12,5; 1,8) 2,72 (dd, 12,5; 3,7)	56,25	3,09 (dd, 12,3; 2,0) 2,72 (dd, 12,3; 3,5)
<b>CH<sub>3</sub></b>				
18	18,48	1,40 (d, 6,2)	18,49	1,40 (d, 6,2)
MeO-10	56,28	3,89 (s)	56,25	3,89 (s)
MeO-11	56,44	3,90 (s)	56,41	3,91 (s)
MeO-22	51,58	3,74 (s)	51,10	3,74 (s)
HN-1	-	7,69 (sl)		7,72 (s)

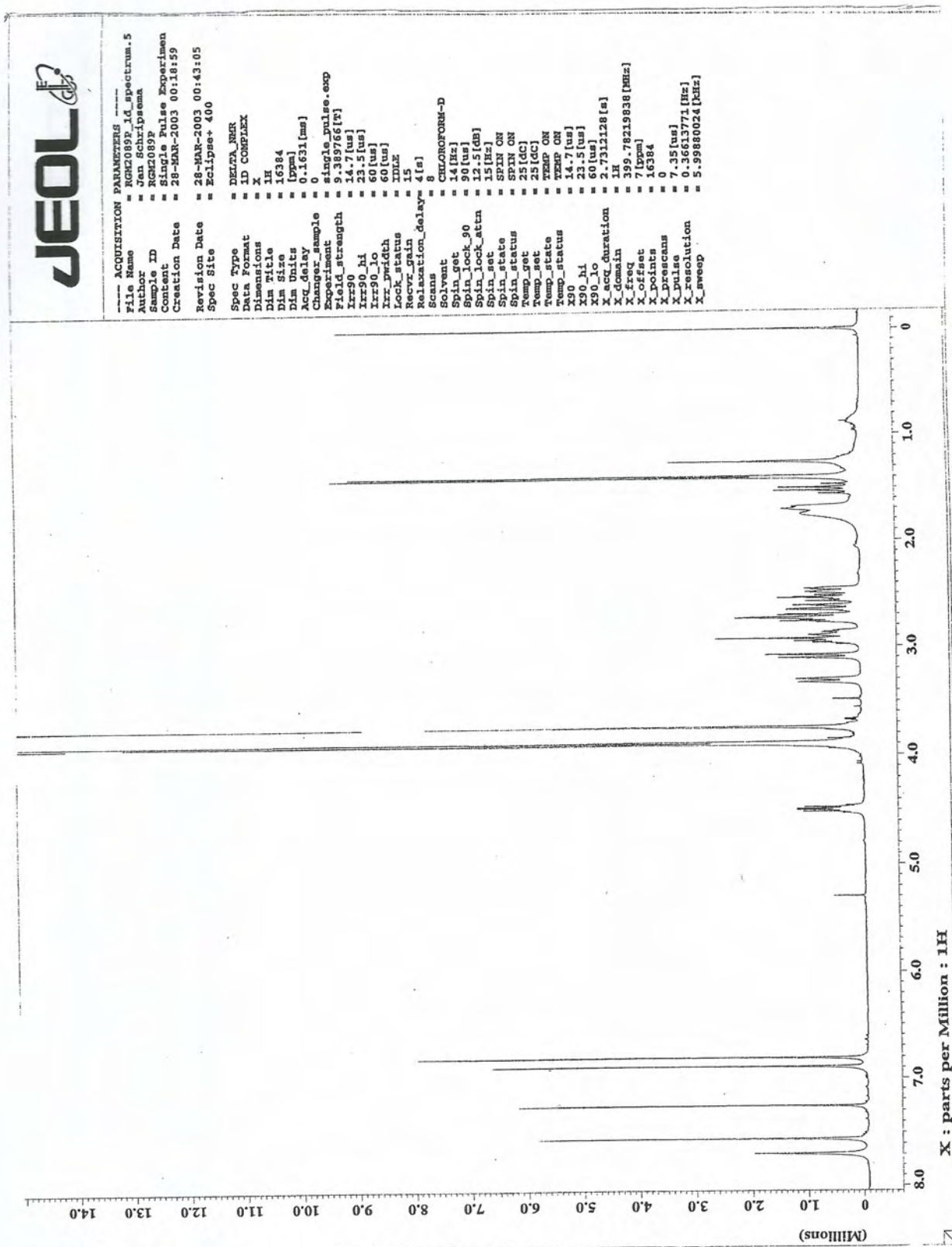


Figura 9: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM2-0-8-9-P

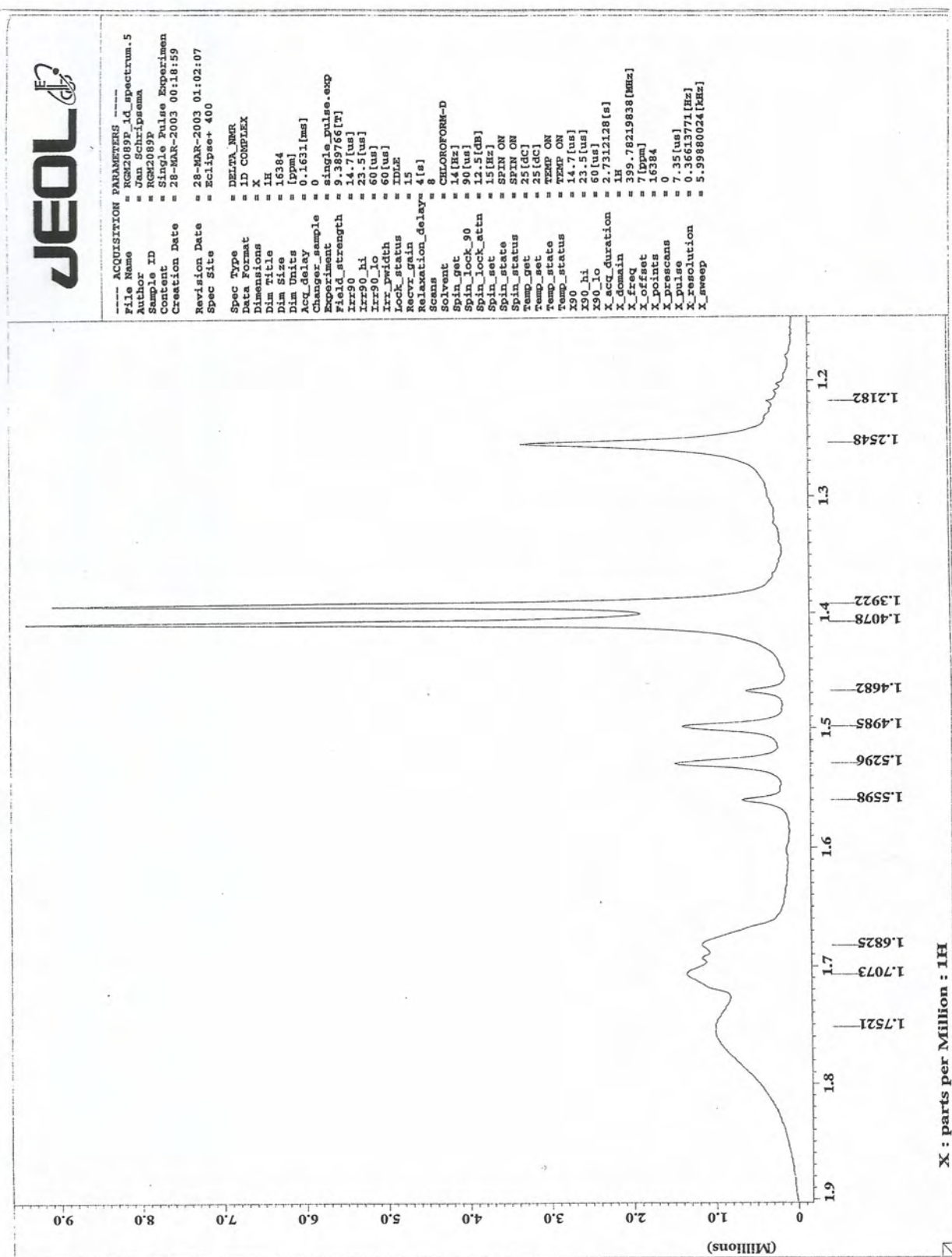


Figura 10: Ampliação da região de  $\delta_H$  1,2-1,9 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-8-9-P



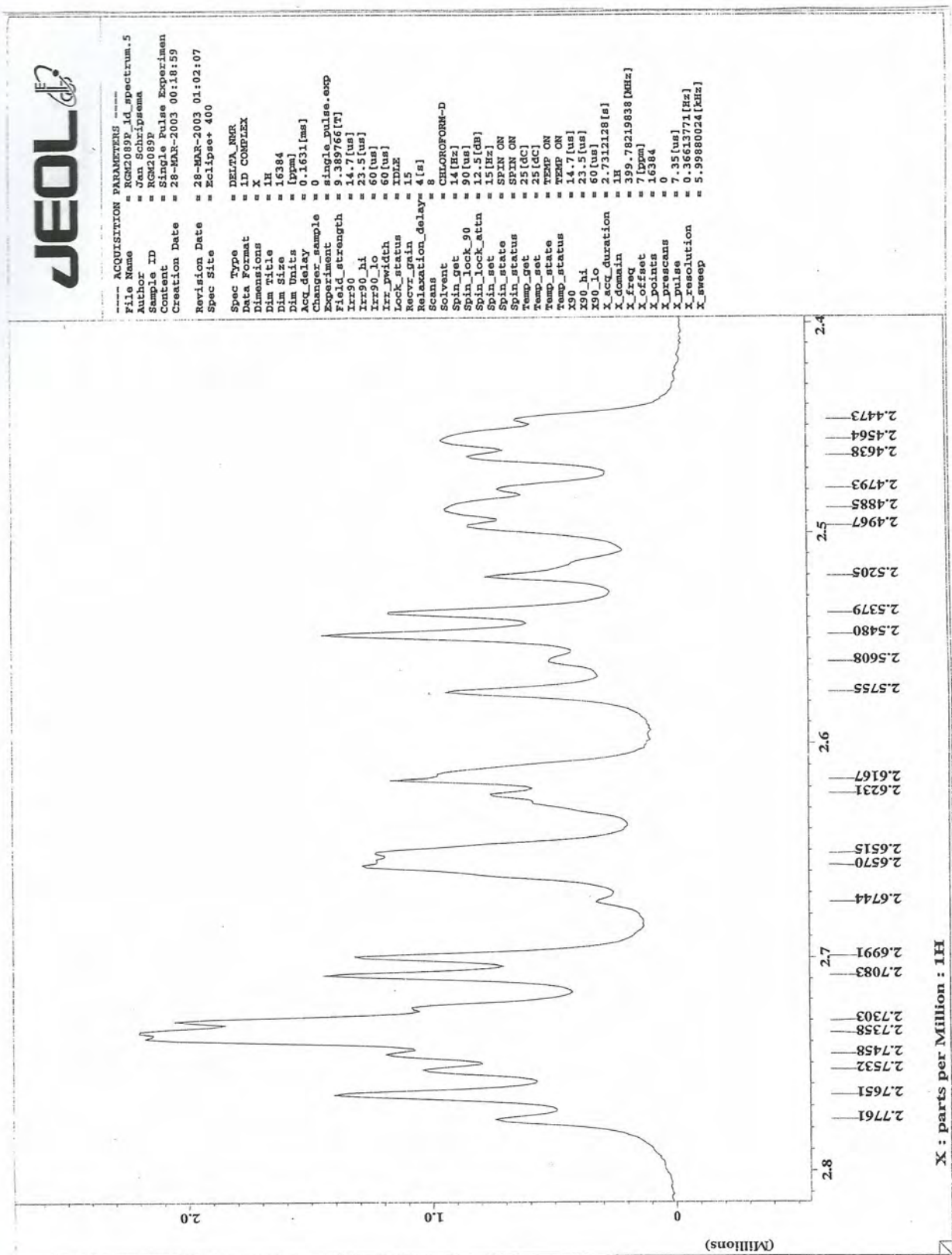


Figura 11: Ampliação da região de  $\delta_H$  2,4 – 2,8 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-8-9-P

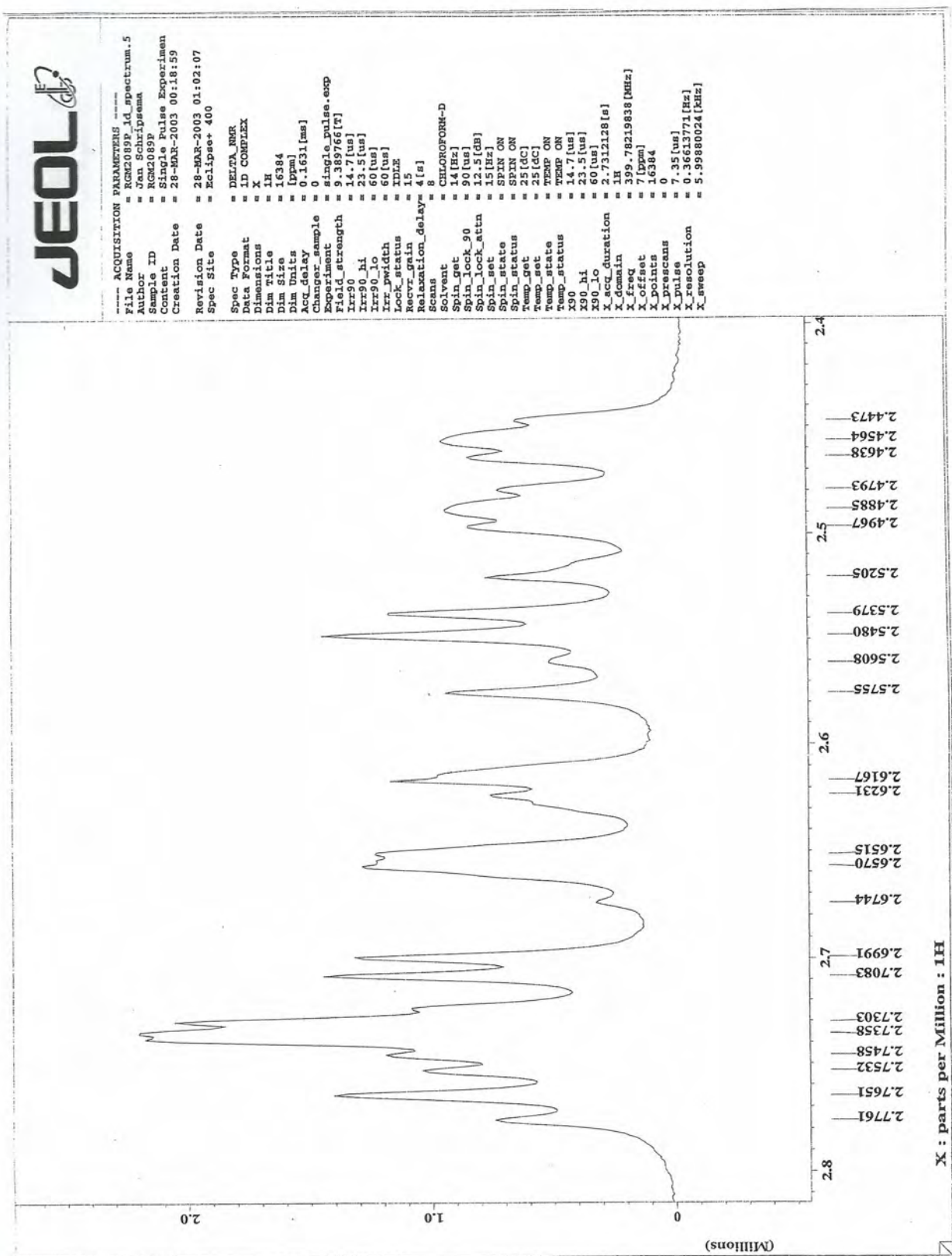


Figura 11: Ampliação da região de  $\delta_H$  2,4 – 2,8 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-8-9-P

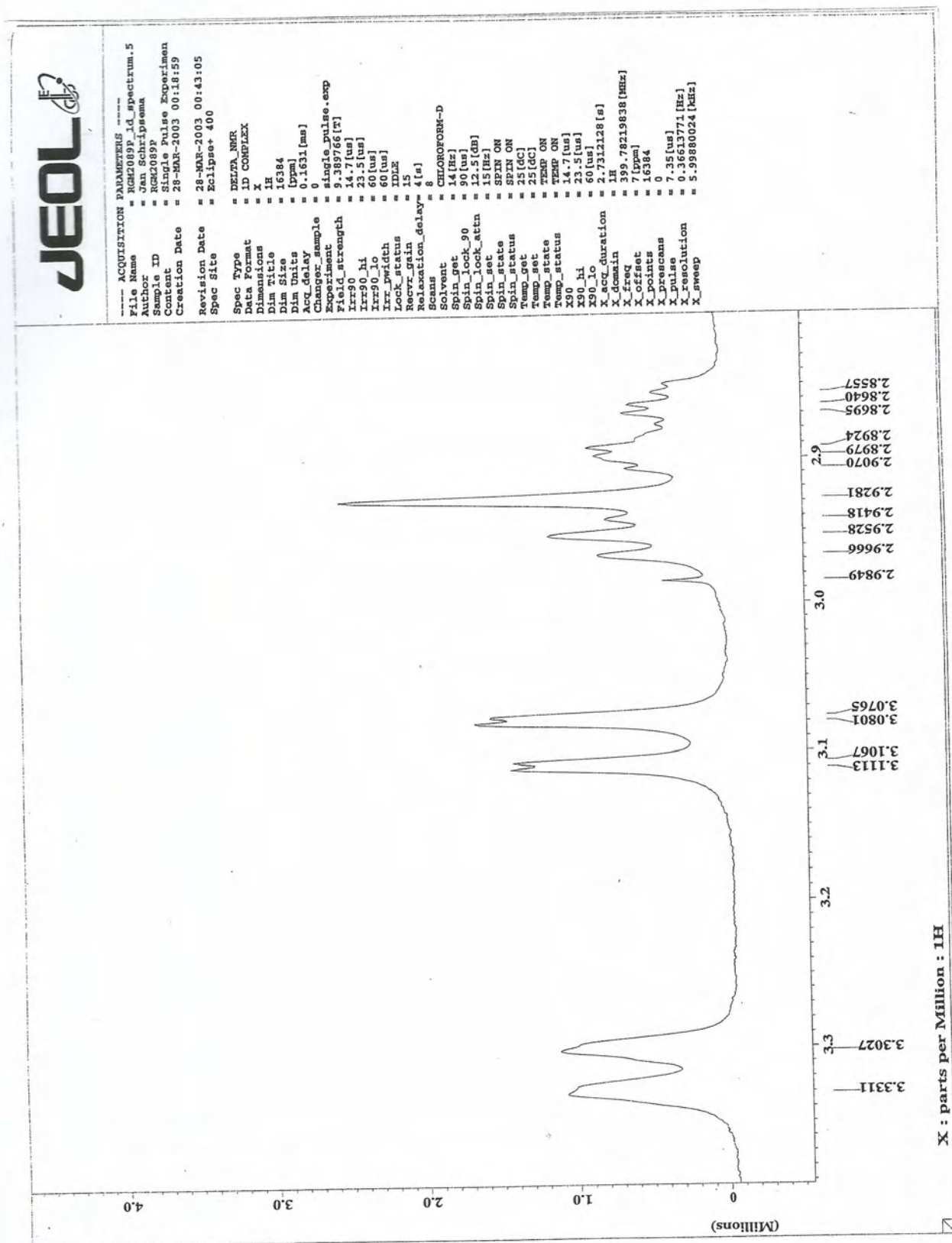


Figura 12: Ampliação da região de  $\delta_H$  2,9 - 3,3 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-8-9-P



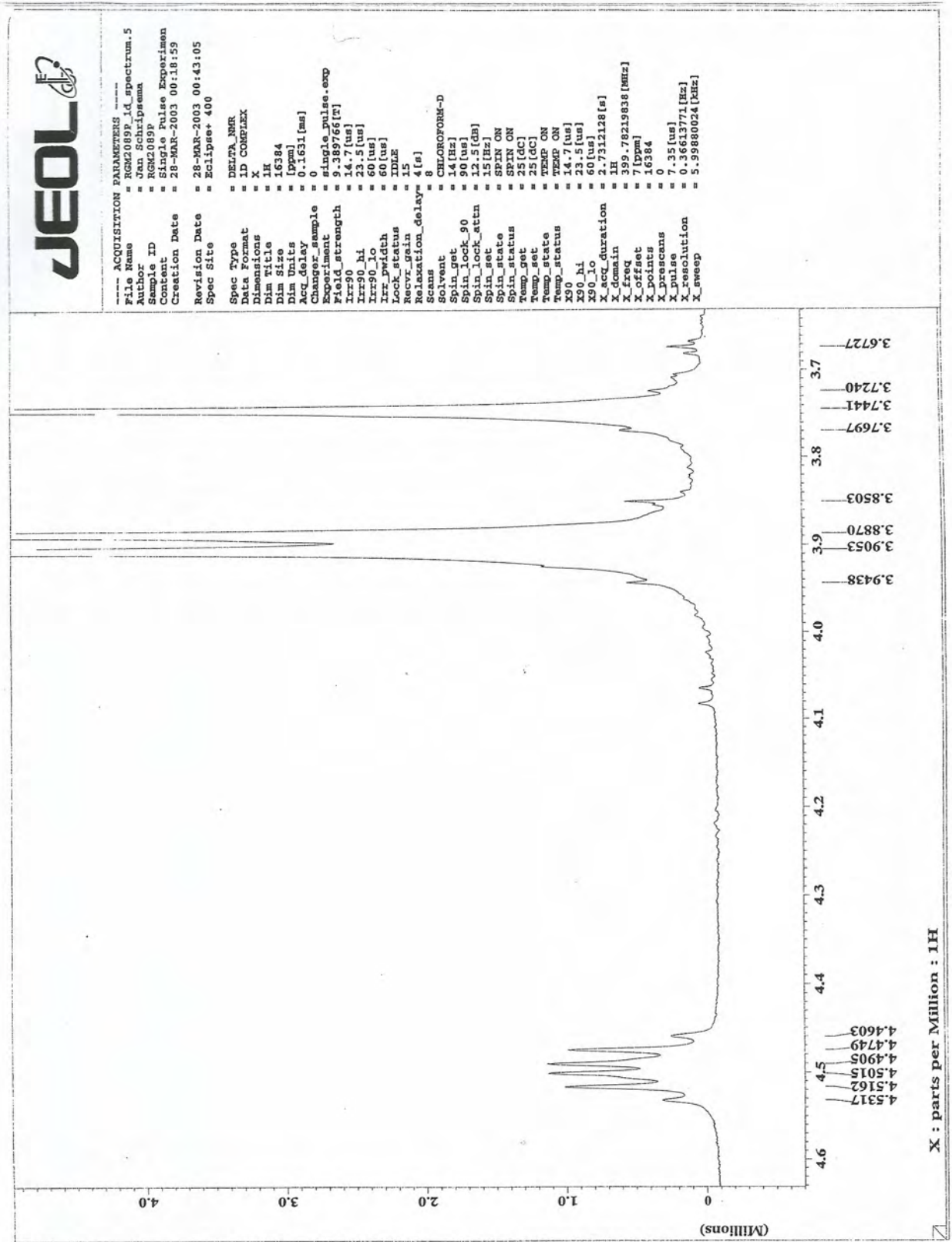


Figura 13: Ampliação da região de  $\delta_H$  3,7 – 4,6 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-8-9-P

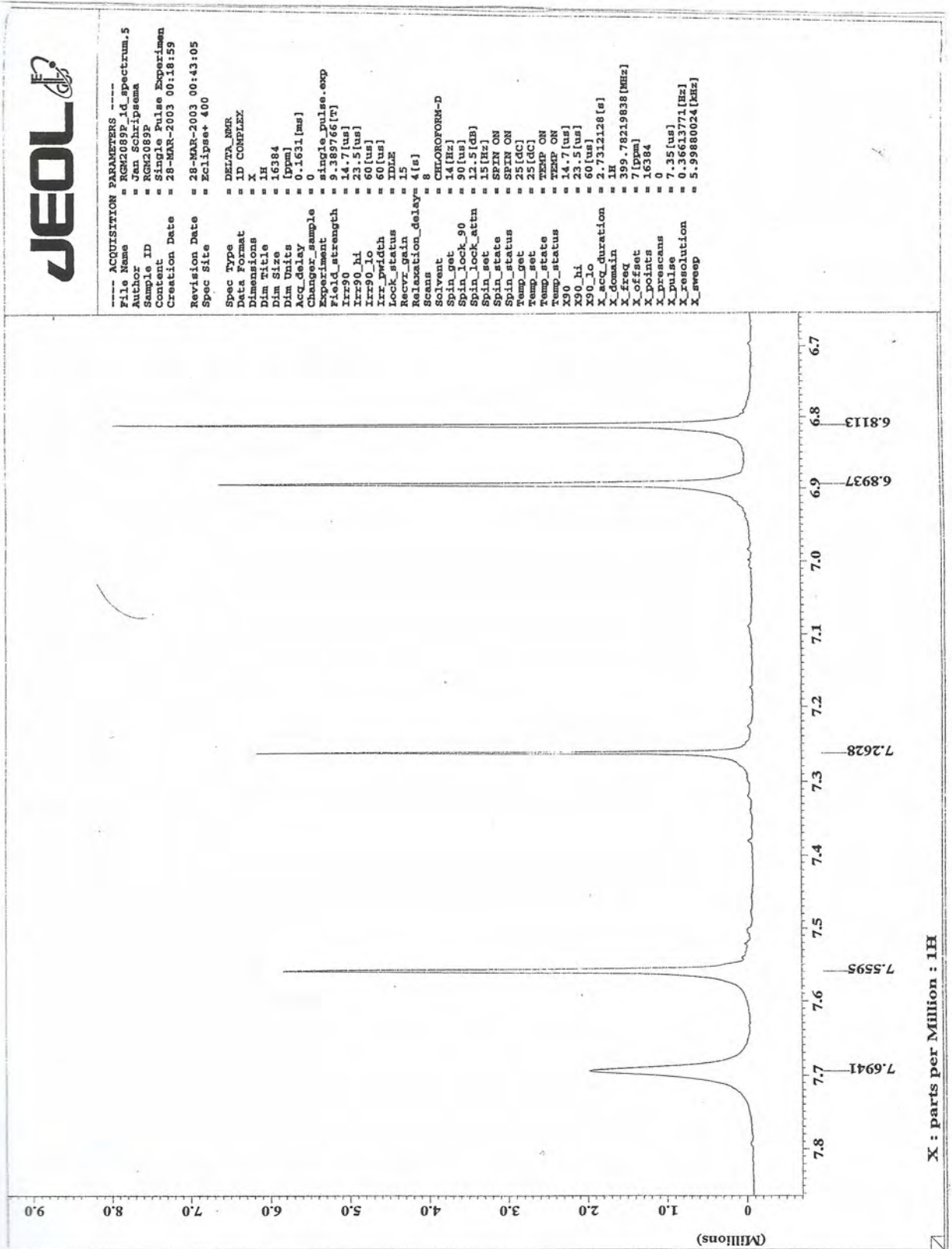


Figura 14: Ampliação da região de  $\delta_H$  6,7 – 7,8 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-8-9-P



```

---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name      = RGM2089P_id_13c_spectr
Author        = Jan Schripsema
Sample ID     = RGM2089P
Content       = Single Pulse with Bros
Creation Date = 28-MAR-2003 00:40:09

Revision Date = 28-MAR-2003 01:09:01
Spec Site     = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_NMR
Data Format    = ID COMPLEX
Dimensions    = 1D
Dim Size     = 32768
Dim Units    = [Hz]
Acq Delay     = 39.2[us]
Changeor sample
Experiment    = single_pulse_dec
Field strength
Irr90_hi     = 9.389766[Hz]
Irr90_lo     = 14.7[us]
Irr90_lo     = 23.5[us]
Irr90_lo     = 60[us]
Irr_domain   = 1H
Irr_width    = 60[us]
Lock_status  = IDLE
Recvr_gain   = 15
Relaxation_delay_1[s]
Scans        = 502.0
Solvent      = CHLOROFORM-D
Spin_get     = 0[Hz]
Spin_lock_90
Spin_lock_atn
Spin_lock_atn = 12.5[dB]
Spin_status  = SPIN OFF
Spin_status  = SPIN OFF
Temp_get     = 25[dc]
Temp_set     = 25[dc]
Temp_status  = TEMP ON
Temp_status  = TEMP ON
X90_hi       = 10[us]
X90_lo       = 9.5[us]
X90_lo       = 35[us]
X_acq_duration
X_domain     = 1.3008896[s]
X_freq       = 100.52530333[MHz]
X_offset     = 120[ppm]
X_points     = 32768
X_prescans   = 4
X_pulse      = 3.3333333[us]
X_resolution = 0.76870474[Hz]
X_sweep      = 25.18691688[Hz]

```

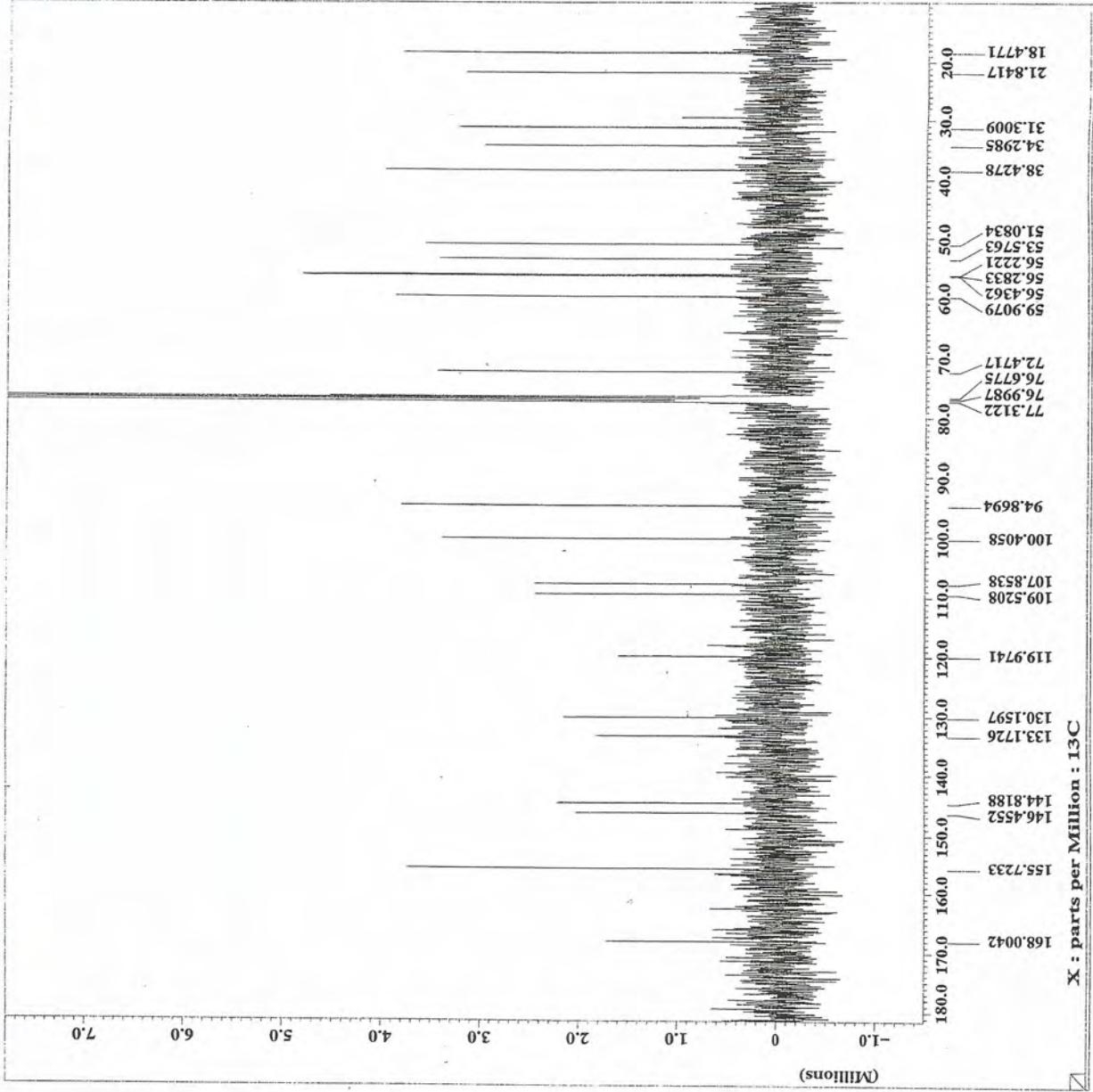


Figura 15: Espectro de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM2-0-8-9-P



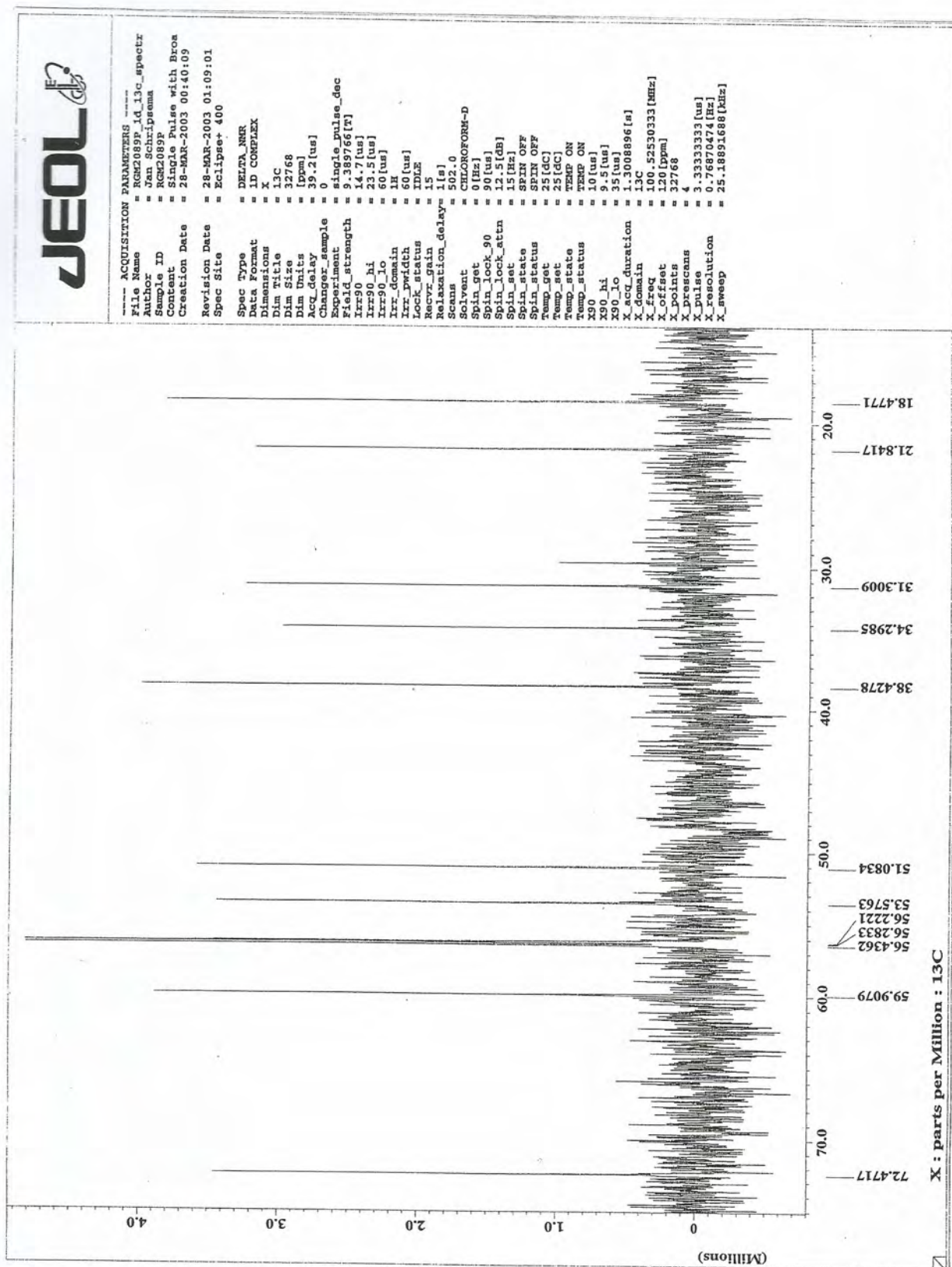
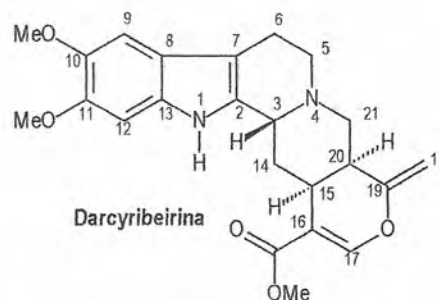
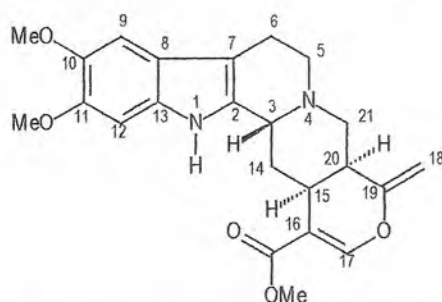


Figura 16: Ampliação da região de  $\delta_c$  20 – 70 do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM2-0-8-9-P

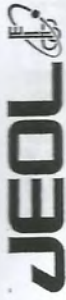
## RGM2-0-11-3



**Tabela 4:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  para RGM2011-3 comparado com os valores de literatura da Darcyribeirina (**Mo-1**, CANCELIERI, 2001). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão em ppm e as constantes de acoplamentos ( $J$ , entre parênteses) estão em Hz.

C	RGM2-0-11-3		Mo-1 Darcyribeirina	
	$\delta_c$	$\delta_H$	$\delta_c$	$\delta_H$
2	132,00	-	132,73	-
7	107,81	-	106,22	-
8	120,11	-	119,98	-
10	144,78	-	144,28	-
11	146,46	-	145,94	-
13	130,10	-	130,57	-
16	107,81	-	108,44	-
19	155,57	-	155,61	-
22	167,09	-	165,70	-
<b>CH</b>				
3	54,73	3,15- 2,58	54,18	3,36 (dddd, 9,4; 3,1; 2,4; 1,5)
9	100,24	6,89 (s)	101,59	6,88 (s)
12	95,01	6,91 (s)	96,64	6,94 (s)
15	28,73	3,15- 2,58	28,42	2,80 (ddd, 5,1; 4,5; 4,3)
17	152,88	7,50 (s)	151,03	7,44 (s)
20	36,48	3,15- 2,58 (m)	35,95	2,90 (ddd, 8,9; 4,6; 4,5)
<b>CH<sub>2</sub></b>				
5	52,18	3,15- 2,58 (m)	51,47	3,02 (ddd, 11,6;5,8; 1,5) 2,61 (ddd, 11,6; 11,2; 4,5)
6	19,78	3,15- 2,58 (m)	19,82	2,80 (dddd, 14,8;11,2; 5,8; 2,4) 2,51 (dddd, 14,8; 4,5; 1,5; 1,5)
14	30,22	3,15- 2,58(m) 1,98 (m)	29,52	2,69 (ddd, 13,6; 5,1; 3,1) 1,77 (ddd, 13,6; 9,4; 4,3)
18	94,37	4,79 (sl) 4,54 (sl)	93,19	4,69 (d, 1,5) 4,56 (d, 1,5)
21	51,31	3,15- 2,58 (m)	51,71	2,84 (dd, 11,4; 4,6) 2,62 (dd, 11,4; 8,9)
<b>CH<sub>3</sub></b>				
MeO-10	56,27	3,92 (s)	56,41	3,77 (s)
MeO-11	56,39	3,89 (s)	56,10	3,76 (s)
MeO-22	51,31	3,75 (s)	50,56	3,74 (s)
HN-1	-	8,03 (sl)		10,12 (s)





```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = RGM20113_1d_spectrum_4
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = RGM20113
Content        = Single Pulse Experiment
Creation Date  = 26-MAR-2003 20:24:56
Revision Date  = 28-MAR-2003 00:11:28
Spec Site      = Eclipse+ 400

Spec Type      = DELTA_NMR
Data Format     = 1D COMPLEX
Dimensions     = X
Dim Title      = 1H
Dim Size       = 16384
Dim Units      = [ppm]
Acq_delay      = 0.1631[ms]
Changer_sample = 0
Experiment      = single_pulse.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90          = 14.7[us]
Irr90_lo       = 23.5[us]
Irr90_hi       = 60[us]
Lock_status    = 60[us]
Lock_width     = 15.2K
Recvr_gain     = 15
Relaxation_delay = 4[s]
Scans          = 8
Sweep          = CHELCPFORM-D
Spin_lock      = 16[Hz]
Spin_lock_90   = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[db]
Spin_set       = 15[Hz]
Spin_status    = SPIN ON
Temp_get       = 25[dc]
Temp_set       = 25[dc]
Temp_status    = TEMP ON
X90            = 14.7[us]
X90_lo        = 23.5[us]
X90_hi        = 60[us]
X_acq_duration = 17.512128[s]
X_domain       = 399.78219838[MHz]
X_freq         = 71ppm
X_offset       = 16384
X_preamplifier = 0
X_preamplifier_gain = 0
X_pulse        = 7.35[us]
X_resolution   = 0.36613771[Hz]
X_sweep        = 5.99880024[kHz]

```

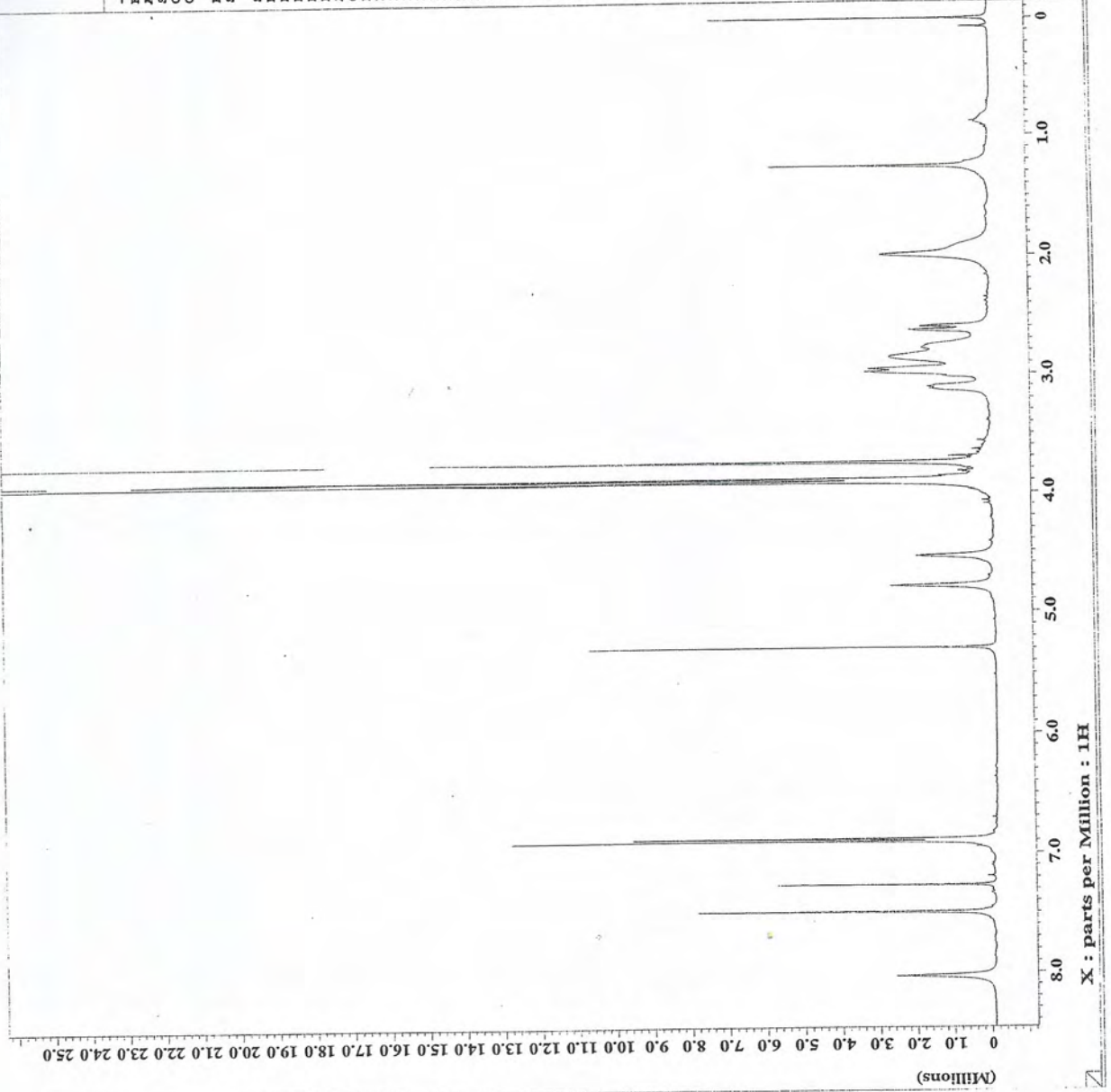


Figura 17: Espectro de RMN 1H (400 MHz) em CDCl3 da fração RGM2-0-11-3



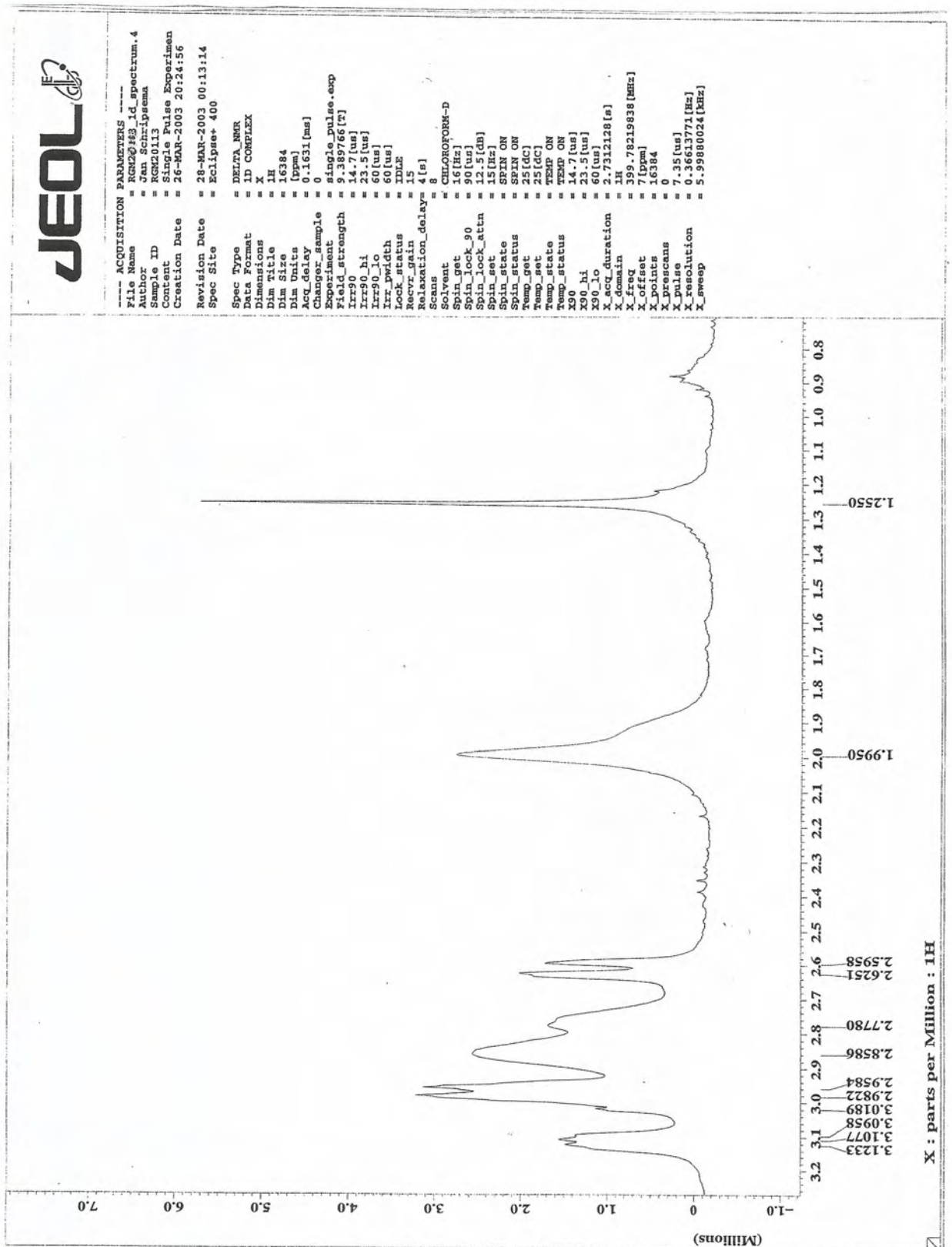


Figura 18: Ampliação da região de  $\delta_H$  0,8 – 3,2 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-11-3

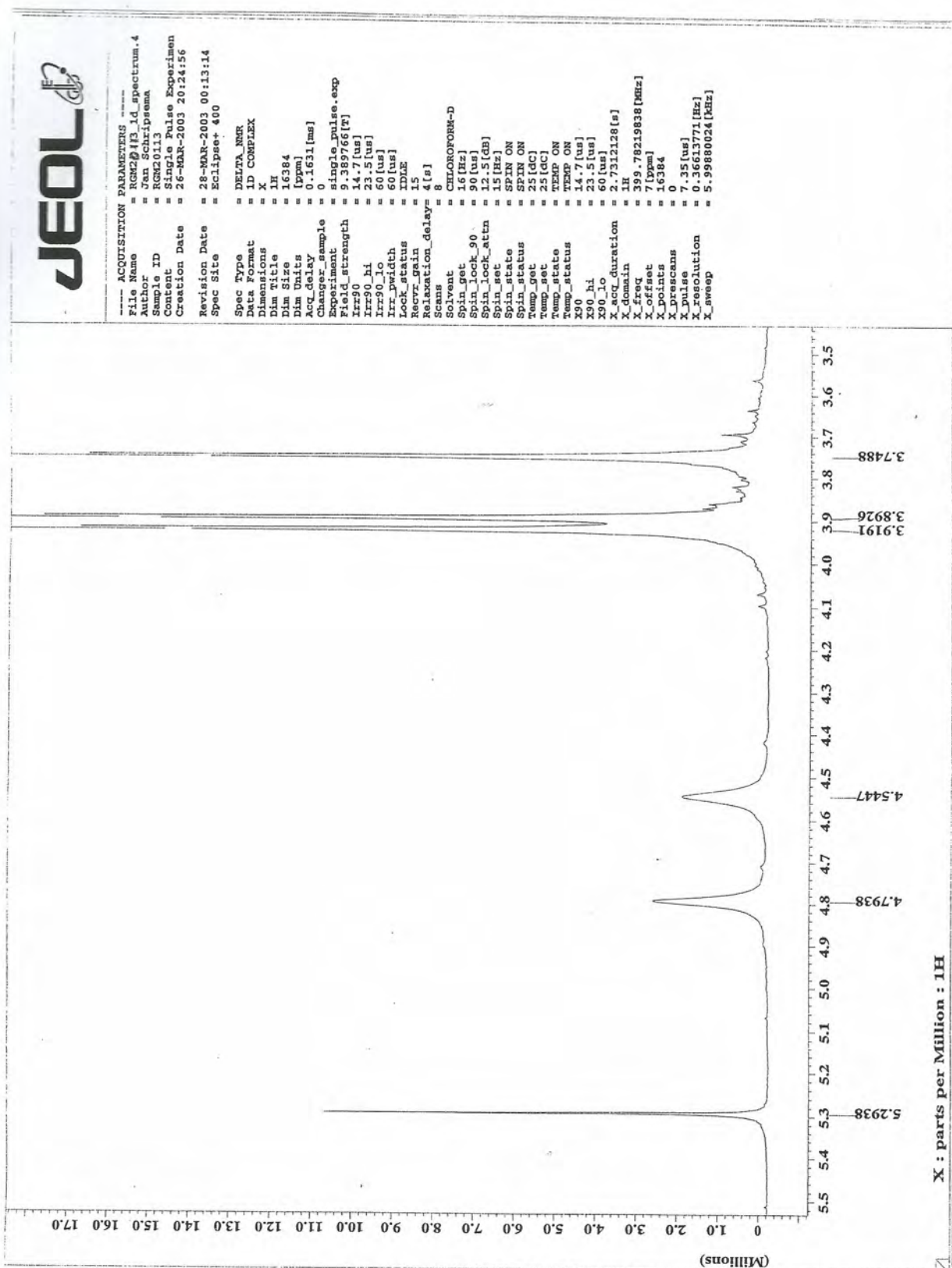


Figura 19: Ampliação da região de  $\delta_H$  3,5 – 5,5 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-11-3

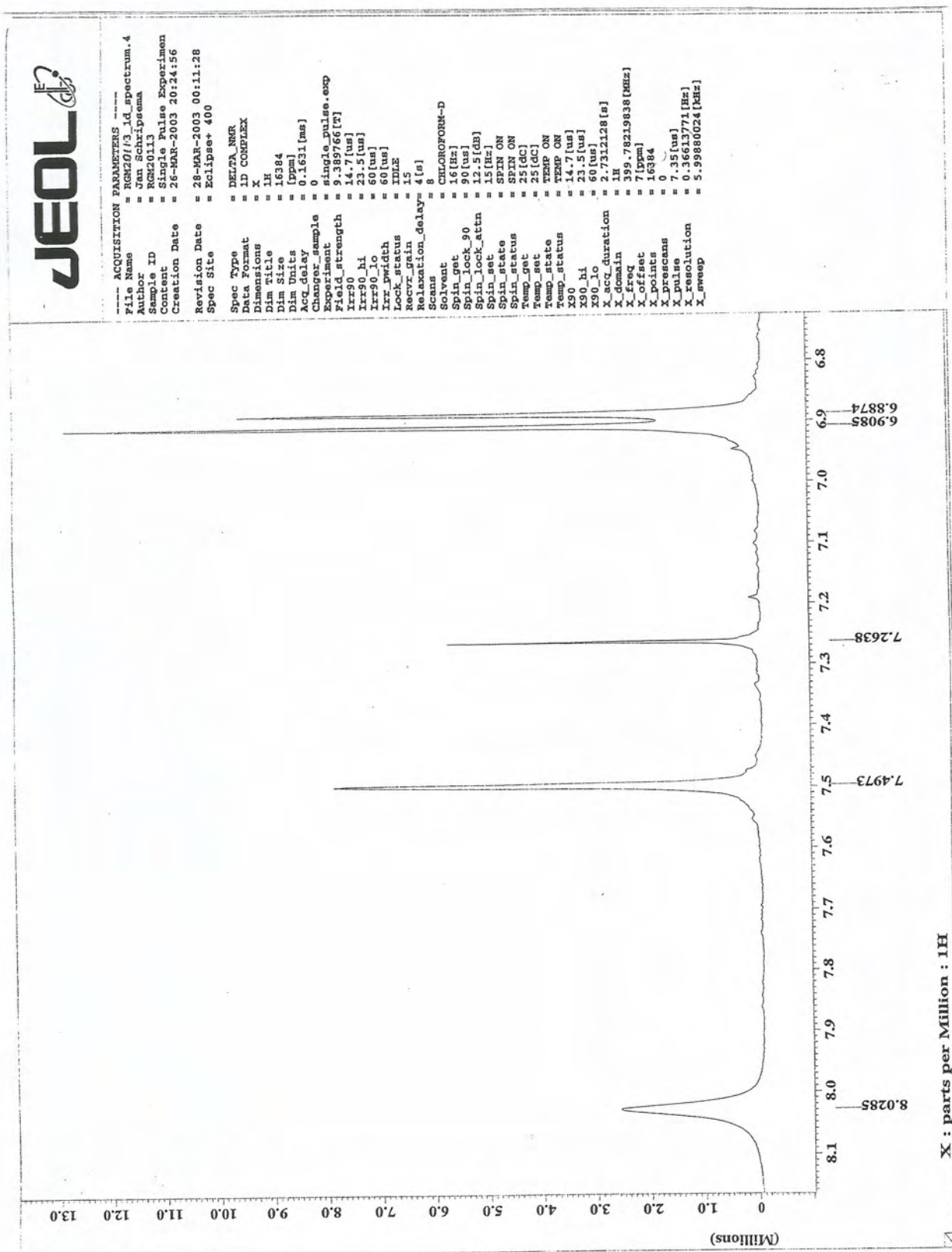


Figura 20: Ampliação da região de  $\delta_H$  6,8 – 8,1 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM2-0-11-3





```

---- ACQUISITION PARAMETERS
File Name      = RGM20113_1d_13c_spectr
Author        = Jan Schripsema
Sample ID     = RGM20113
Content       = Single Pulse with Broa
Creation Date = 26-MAR-2003 21:34:56
Revision Date = 28-MAR-2003 00:14:47
Spec Site    = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_NMR
Data Format    = 1D COMPLEX
Dimensions    = 13C
Dim Title     = 32768
Dim Size      = [ppm]
Dim Units     = 39.2[us]
Acq_delay     = 0
Changer_sample = single_pulse_desc
Experiment    = 9.389766[F]
Field_strength = 14.7[us]
Irr90         = 23.5[us]
Irr90_lo     = 60[us]
Irr90_hi     = 60[us]
Irr_domain   = 1H
Irr_width    = 60[us]
Lock_status  = IDLE
Nuc1         = 13
Nuc2         = 13
Relaxation_delay = 15.6
Solvent      = CHLOROFORM-D
Spin_get     = 13[Hz]
Spin_lock_90 = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[db]
Spin_set     = 15[Hz]
Spin_status  = SPIN ON
Spin_status  = SPIN ON
Temp_get     = 25[dc]
Temp_set     = 25[dc]
Temp_status  = TEMP ON
Temp_status  = TEMP ON
X90         = 10[us]
X90_lo      = 9.5[us]
X90_hi      = 35[us]
X_acq_duration = 1.3008896[s]
X_domain    = 13C
X_freq      = 100.52530333[MHz]
X_offset    = 22768
X_pulses    = 3.33333333[us]
X_pulse     = 0.76870474[Hz]
X_resolution = 25.18891688[kHz]
X_sweep

```

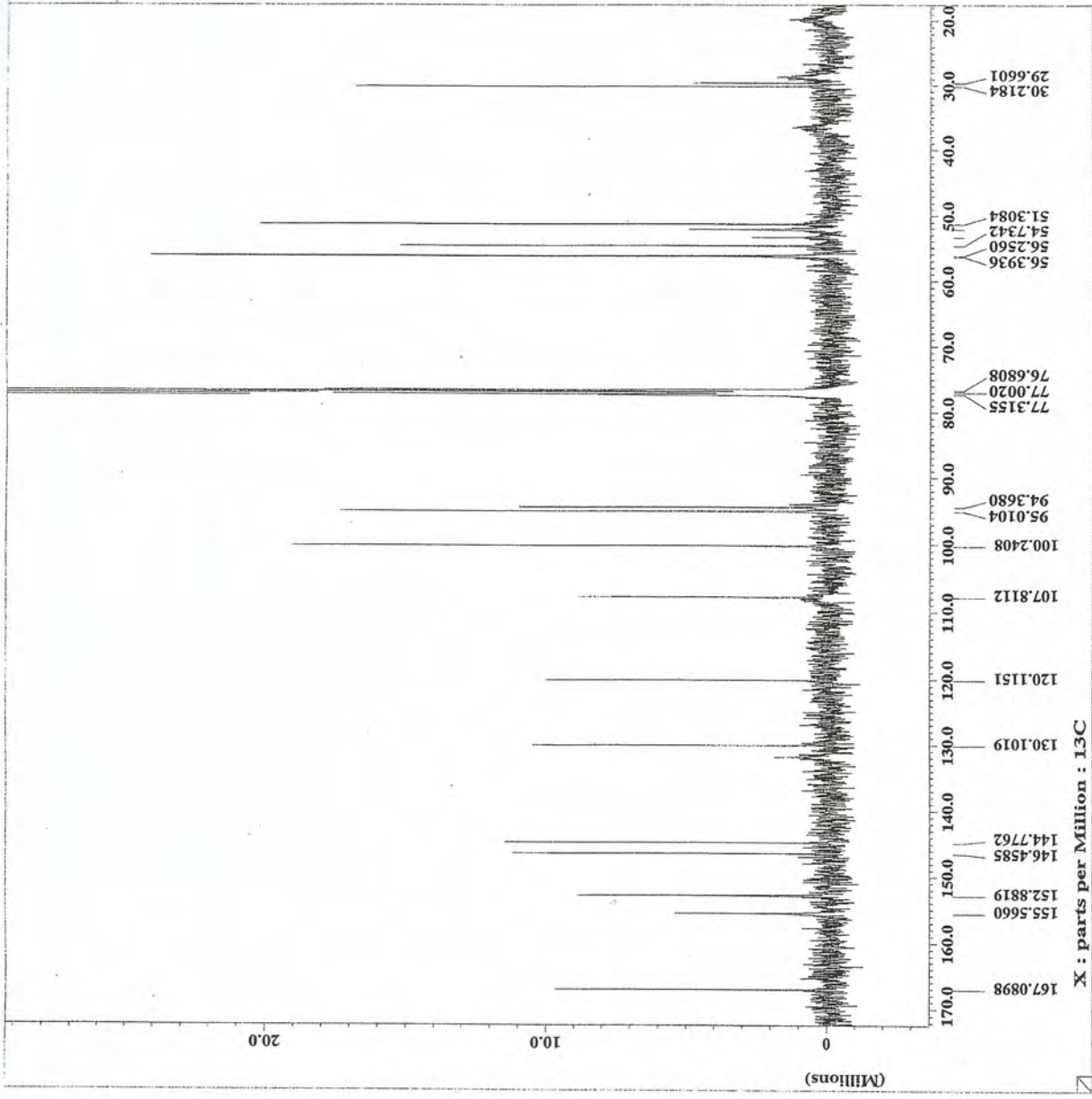


Figura 21: Espectro de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM2-0-11-3



```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = RGM20113_1d_13c_spectr
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = RGM20113
Content        = Single Pulse with Broa
Creation Date   = 26-MAR-2003 21:34:56
Revision Date  = 28-MAR-2003 00:16:16
Spec Site      = Eclipse+ 400
Spec Type      = DELTA_NMR
Data Format     = LD COMPLEX
Dimensions     = 1
Dim Title      = 13C
Dim Size       = 32768
Dim Units      = [ppm]
Acq_delay       = 39.2 [us]
Experiment      = single_pulse_dec
Field_strength = 9.389766 [T]
Irr90          = 14.7 [us]
Irr90_hi       = 23.5 [us]
Irr90_lo       = 60 [us]
Irr_domain     = 1H
Irr_dwidth     = 60 [us]
Lock_status    = IDLE
Recvr_gain     = 15
Relaxation_delay = 1 [s]
Scans          = 1516
Solvent        = CHLOROFORM-D
Spin_get       = 13 [Hz]
Spin_lock_90   = 10 [us]
Spin_lock_atn  = 15 [dB]
Spin_set       = 15 [Hz]
Spin_status    = SPIN ON
Temp_set       = 25 [DC]
Temp_status    = TEMP ON
X90_hi         = 10 [us]
X90_lo         = 9.5 [us]
X_acq_duration = 35 [us]
X_domain       = 1.3008896 [s]
X_freq         = 100.52530333 [MHz]
X_offset       = 120 [ppm]
X_points       = 32768
X_prescans     = 4
X_pulse        = 3.3233333 [us]
X_resolution   = 5.187074 [Hz]
X_sweep        = 25.18691688 [kHz]
  
```

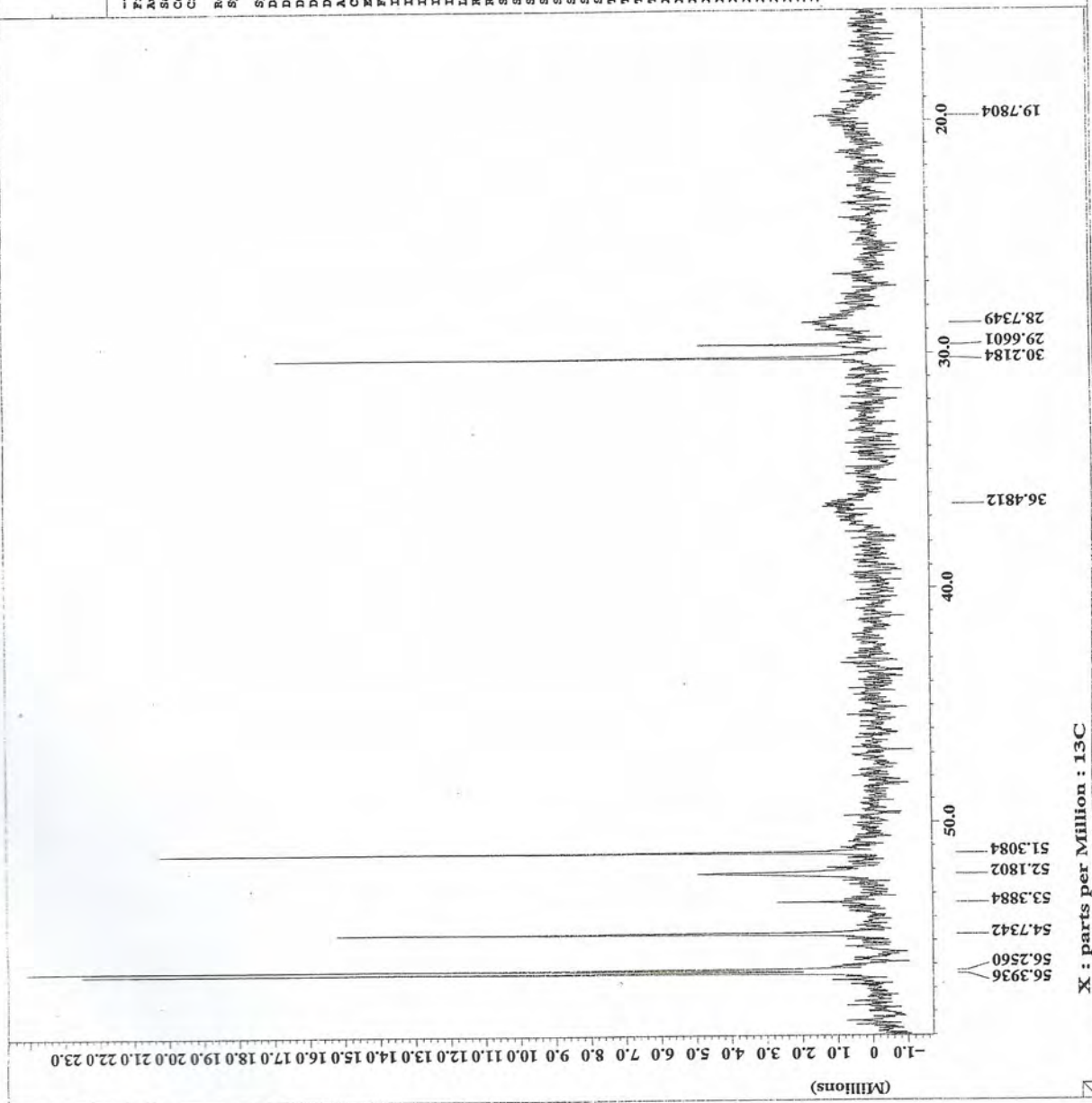
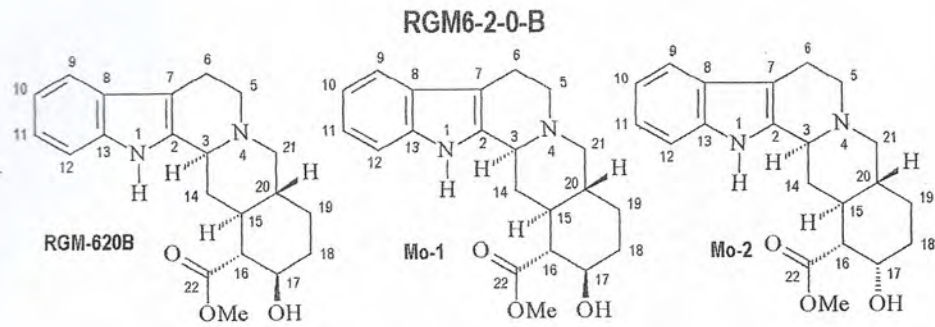


Figura 22: Ampliação da região de  $\delta_c$  20 – 60 do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM2-0-11-3





**Tabela 5:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  observados para a **RGM6-2-0-B** comparados com os valores de literatura da **Mo-1**  $\beta$ -loimbina e da **Mo-2** loimbina (BREITMAIER e VOELTER, 1987). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão em ppm e as constantes de acoplamentos ( $J$ , entre parênteses) estão em Hz.

C	HMQC		HMBC		Mo-1	Mo-2
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\beta$ -loimbina $\delta_{\text{C}}$	loimbina $\delta_{\text{C}}$
2	134,12	-	HN-1; H-3		134,0	134,3
7	108,26	-	2H-6	HN-1; H-5a; H-9	107,4	107,5
8	127,31	-		HN-1; H-10; H-12	126,9	127,0
13	136,02	-		H-9; H-11	135,8	135,8
22	174,85	-	H-16	MeO-22	175,0	175,2
<b>CH</b>						
3	59,45	3,24 (dd, 11,0; 1,8)	2H-14	2H-5; H-21a	59,0	59,8
9	118,12	7,45 (d, 7,7)		H-11	117,2	117,7
10	119,41	7,07 (dt, 7,7)		H-12	118,8	118,8
11	121,44	7,13 (dt, 7,7; 1,4)		H-9	120,9	120,8
12	110,79	7,30 (d, 7,7)		H-10	110,7	110,6
15	41,85	1,52	H-14; H-16; H-20	H-18b; H-21a	41,6	36,4
16	57,30	2,18 (t, 9,9)			57,1	52,6
17	72,19	3,83 (dd, 10,2; 4,0)	H-16; H-18b	H-19a	71,6	66,9
20	39,83	1,52		H-14a; H-18a	39,1	40,2
<b>CH<sub>2</sub></b>						
5	52,91	3,08 (dd, 11,0; 5,1) 2,60 (dd, 11,0; 4,8)	H-6b		52,3	52,1
6	21,65	2,90 (m), 2,71 (m)	H-5a		21,3	21,5
14	34,06	1,96 (m), 1,44 (m)	H-15		33,8	33,8
18	34,11	2,10 (m), 1,40 (m)		H-20	33,5	31,4
19	27,85	1,69 (qd, 13,2; 3,0) 1,18 (m)			27,5	23,1
21	60,99	2,98; 2,09			60,5	61,0
<b>CH<sub>3</sub></b>						
MeO-22	51,94	3,83 (s)			51,6	51,7
HN-1	-	7,89 (sl)			-	-



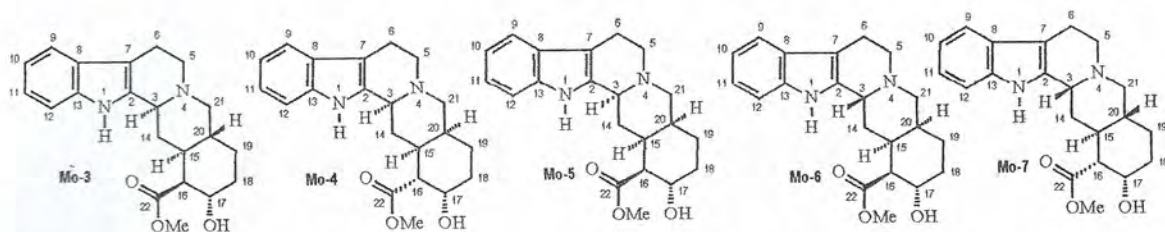


Tabela 6: Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  observados para a **RGM6-2-0-B** comparados com os valores de literatura da [(**Mo-3**, Corinantina), (**Mo-4** Alloioimbina), (**Mo-5**,  $\alpha$ -loimbina), (**Mo-6**, 3-epi- $\alpha$ -loimbina) e da (**Mo-7**, Pseudoioimbina) (BREITMAIER and VOELTER, 1987)]. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão em ppm.

	RGM-6-2-0B	Mo-3 Corinantina	Mo-4 Alloioimbina	Mo-5 $\alpha$ -loimbina	Mo-6 3-epi- $\alpha$ -loimbina	Mo-7 Pseudoioimbina
	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$
<b>C</b>						
2	134,12	135,8	134,4	134,3	131,7	134,0
7	108,26	106,3	107,1	108,1	107,3	105,9
8	127,31	127,0	126,8	127,1	127,2	127,2
13	136,02	136,1	134,4	135,7	135,6	135,5
22	174,85	172,7	174,0	174,4	174,7	172,9
<b>CH</b>						
3	59,45	60,5	60,1	60,1	53,7	53,7
9	118,12	117,5	117,5	117,9	117,6	117,2
10	119,41	118,4	118,6	119,1	118,9	118,1
11	121,44	120,4	120,5	121,1	121,0	120,1
12	110,79	111,1	110,6	110,6	110,8	111,1
15	41,85	34,7	37,4	37,9	32,5	32,4
16	57,30	51,1	50,6	54,6	54,1	52,4
17	72,19	65,9	66,7	66,0	65,7	66,6
20	39,83	36,5	32,0	36,4	35,6	39,5
<b>CH<sub>2</sub></b>						
5	52,91	52,6	52,6	53,2	50,8	50,7
6	21,65	21,6	21,3	21,7	16,5	16,4
14	34,06	33,6	31,0	27,6	23,6	32,6
18	34,11	28,2	30,2	33,2	33,5	30,9
19	27,85	23,5	24,8	24,3	23,9	23,0
21	60,99	62,0	59,6	60,4	49,4	51,5
<b>CH<sub>3</sub></b>						
MeO-22	51,94	51,1	51,5	51,8	51,7	51,2

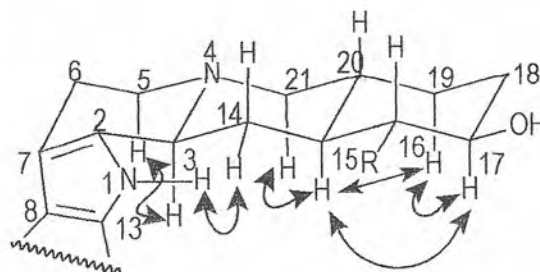


Figura 23: Principais NOEs observados no espectro 2D NOESY

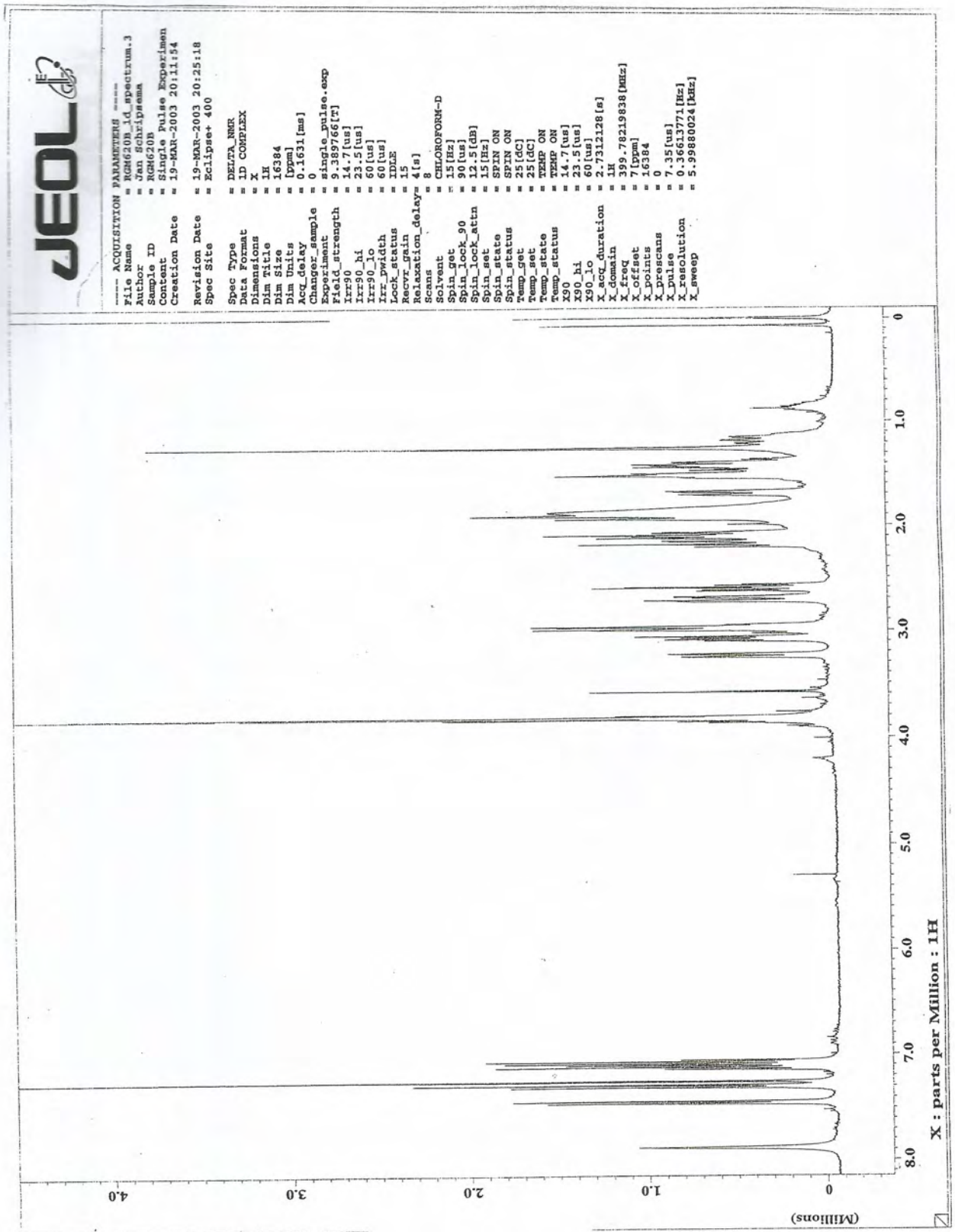


Figura 24: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM6-2-0-B



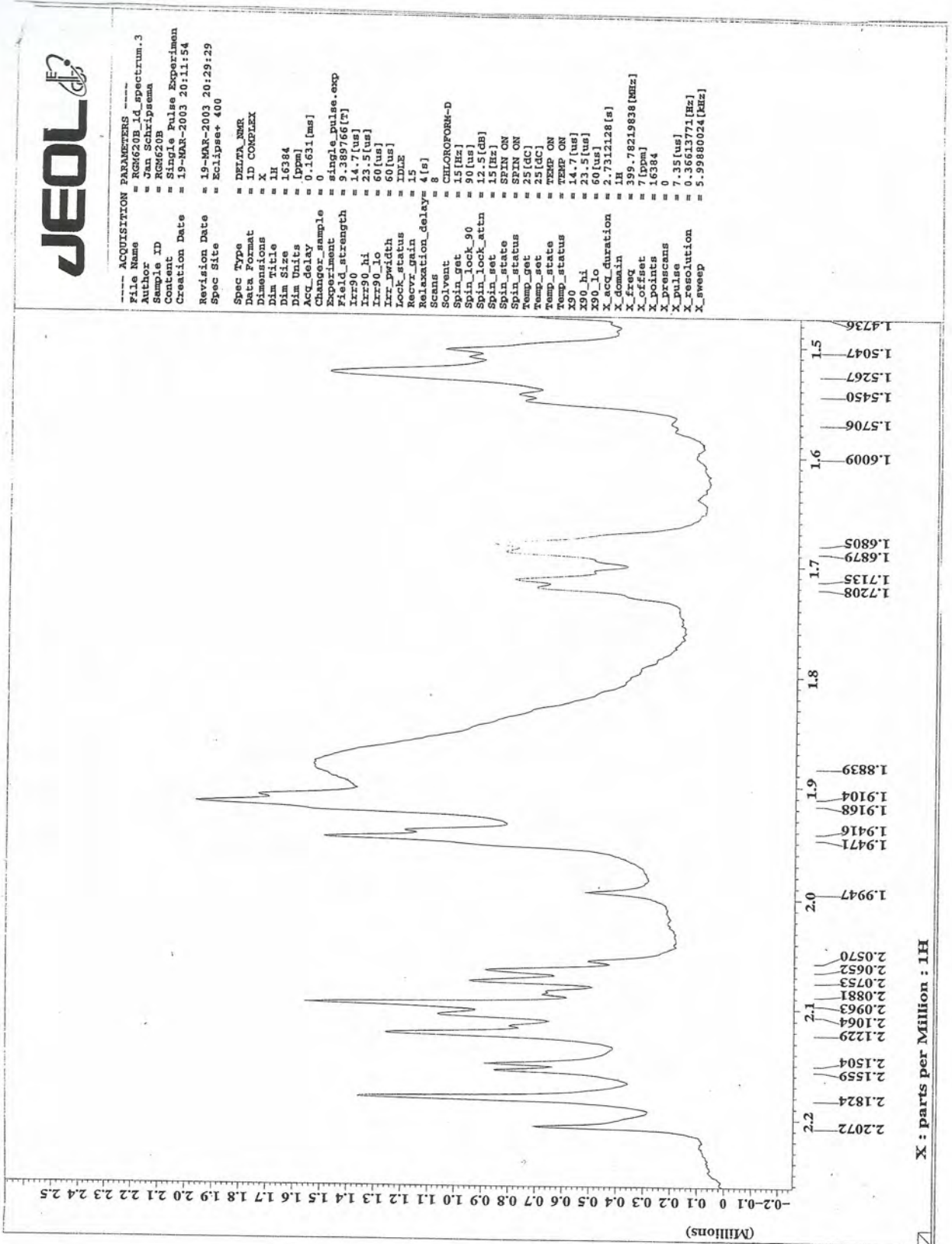


Figura 25: Ampliação da região de  $\delta_H$  1,5 – 2,2 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM6-2-0-B



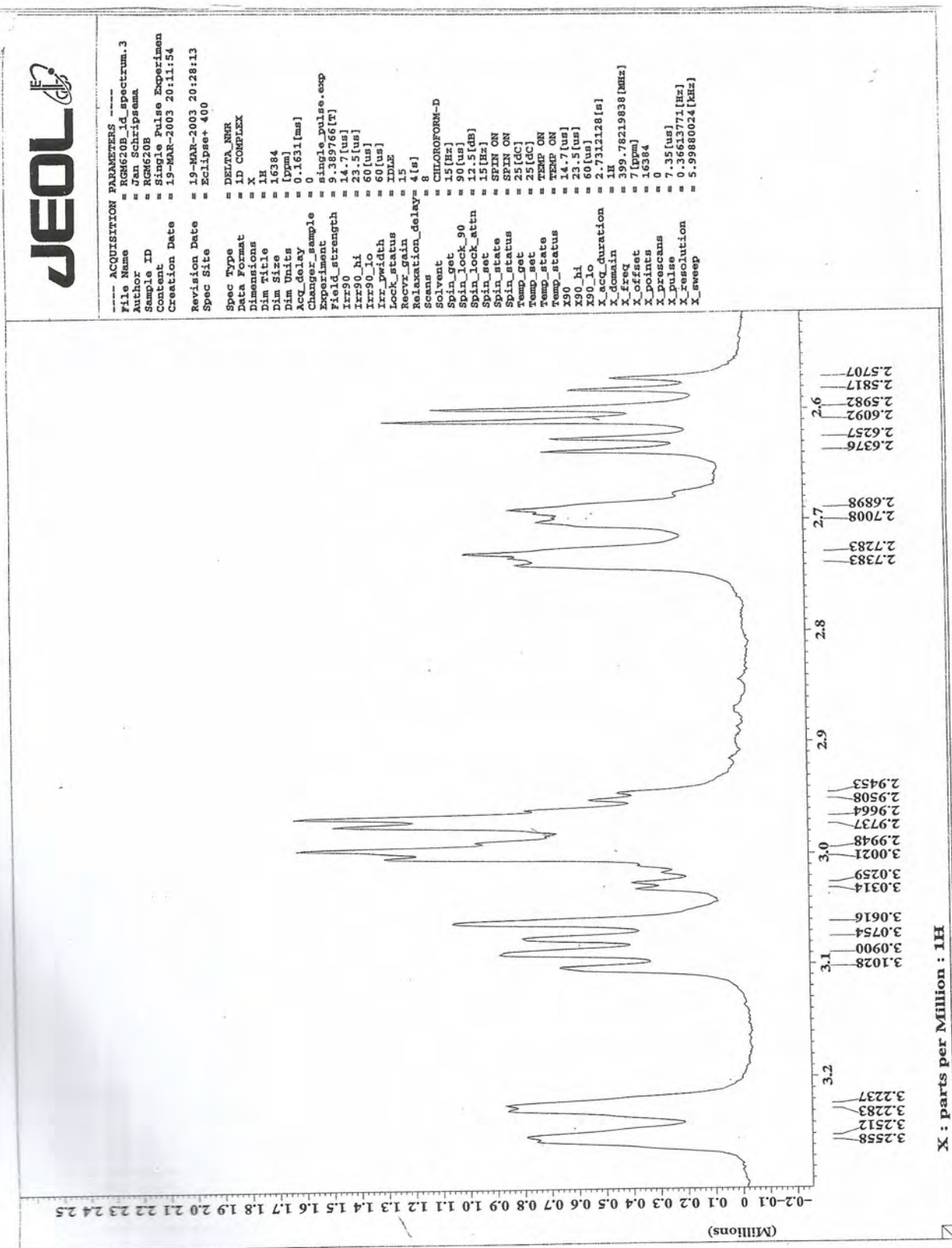


Figura 26: Ampliação da região de  $\delta_H$  2,6 – 3,2 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM6-2-0-B



```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = RGM620B_id_spectrum.3
Author         = Jean Schripsema
Sample ID      = RGM620B Pulse Experimen
Content        = 19-MAR-2003 20:11:54
Creation Date  = 19-MAR-2003 20:11:54
Revision Date  = 19-MAR-2003 20:28:13
Spec Site     = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_NMR
Data Format    = ID COMPLEX
Dimensions    = X
Dim Title     = 1H
Dim Size      = 16384
Dim Units     = [ppm]
Acq_delay     = 0.1631[ms]
Changer_sample = 0
Experiment    = single_pulse_exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90_hi     = 14.7[us]
Irr90_lo     = 23.5[us]
Irr90_wdth   = 60[us]
Lock_status   = 0[Hz]
Nucvr_gain    = 15
Relaxation_delay = 4[s]
Solve        = 8
Solvnt       = CHLOROFORM-D
Spin_lock_90 = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set     = 15[Hz]
Spin_status  = SPIN ON
Temp_get     = 25[degC]
Temp_set     = 25[degC]
Temp_status  = TEMP ON
X90          = 14.7[us]
X90_lo       = 23.5[us]
X90_hi       = 60[us]
X_acq_duration = 1.7312128[s]
X_domain     = 389.78219838[MHz]
X_freq       = 7[ppm]
X_offset     = 16384
X_points     = 0
X_pulseprog =
X_resolution = 0.36613771[Hz]
X_sweep      = 5.99880024[KHz]

```

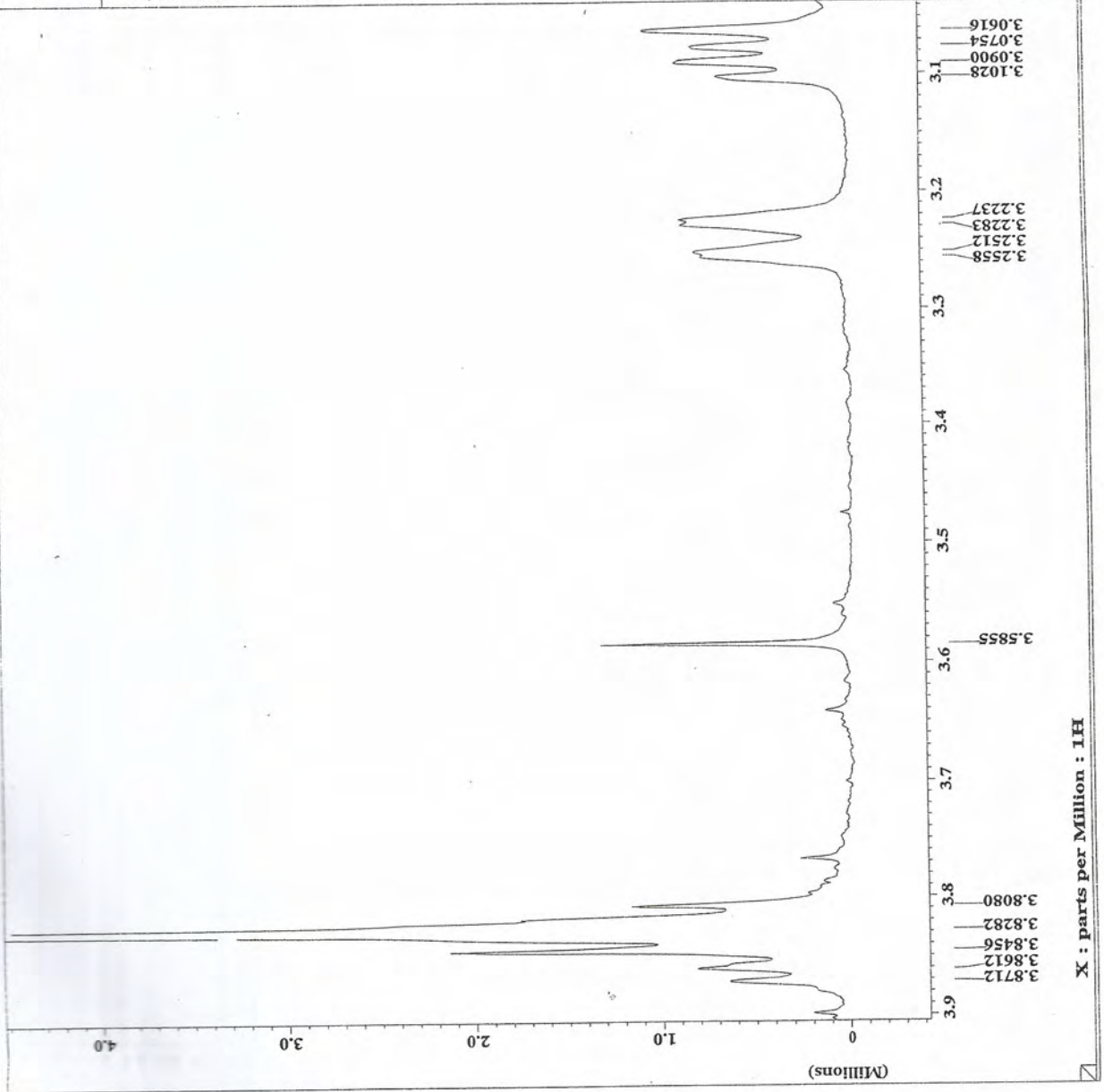


Figura 27: Ampliação da região de  $\delta_H$  3,1 – 3,9 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM6-2-0-B

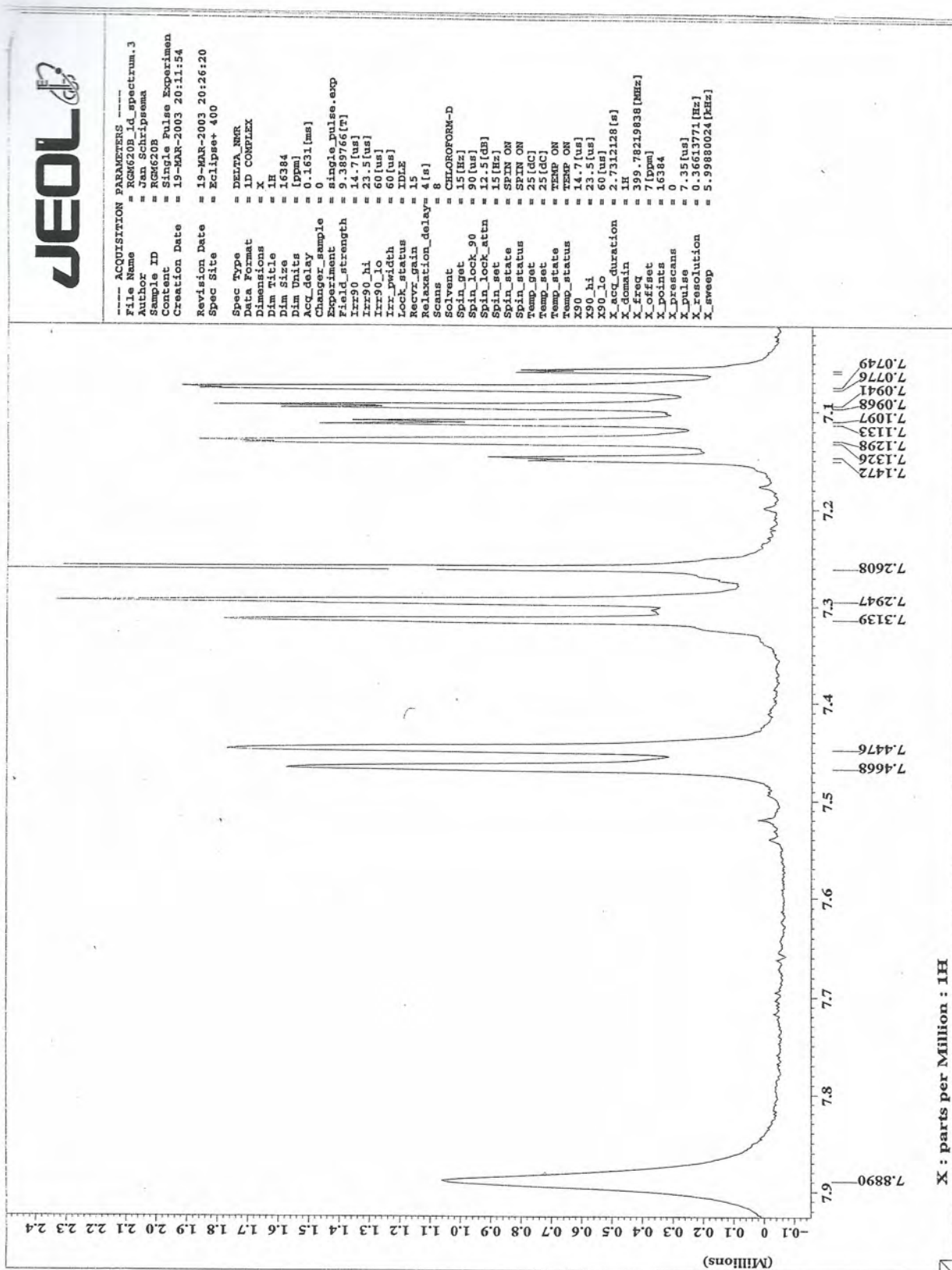


Figura 28: Ampliação da região de  $\delta_H$  7,1 – 7,9 do espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM6-2-0-B



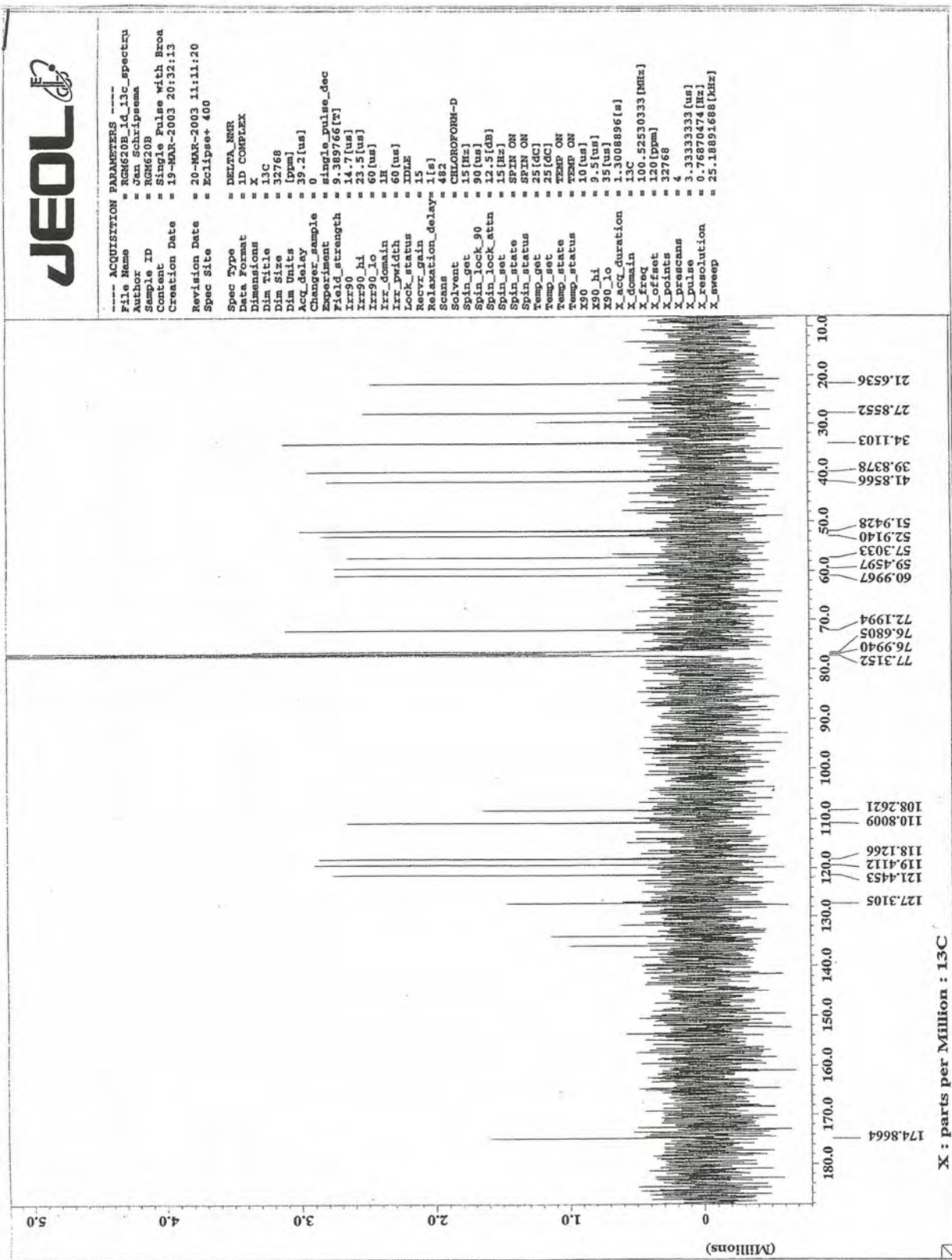


Figura 29: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM6-2-0-B



```

---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name      = RGM620B_1d_13c_spectru
Author        = Jan Schripsema
Sample ID     = RGM620B
Content       = Single Pulse with Bron
Creation Date = 19-MAR-2003 20:32:13
Revision Date = 20-MAR-2003 11:12:42
Spec Site    = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_RMR
Data Format    = ID COMPLEX
Dimensions    = X
Dim Title     = 13C
Dim Size      = 32768
Dim Units     = [ppm]
Acq_Delay     = 39.2[us]
Changer_sample =
Experiment    = Single_pulse_dec
F1d_strength  = 9.388766[F]
F1d_lo       = 14.7[us]
F1d_hi       = 23.5[us]
F2d_lo       = 60[us]
F2d_hi       = 1K
F2d_domain   =
F2d_width    = 60[us]
Lock_status  = IDLE
Recvr_gain   = 15
Relaxation_delay = 1[s]
Scans        = 482
Solvent      = CHLOROFORM-D
Spin_get     = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[db]
Spin_set    = 15[Hz]
Spin_status = SPIN ON
Temp_get    = 25[degC]
Temp_set   = 25[degC]
Temp_status = TEMP ON
X90         = 10[us]
X90_lo     = 9.5[us]
X90_hi     = 35[us]
X_acq_duration = 1.3008896[s]
X_domain   = 13C
X_freq     = 100.5253033[MHz]
X_offset   = 120[ppm]
X_points   = 32768
X_prescans = 4
X_pulse    = 3.3333333[us]
X_resolution = 0.76870474[Hz]
X_sweep    = 25.18891688[kHz]
    
```

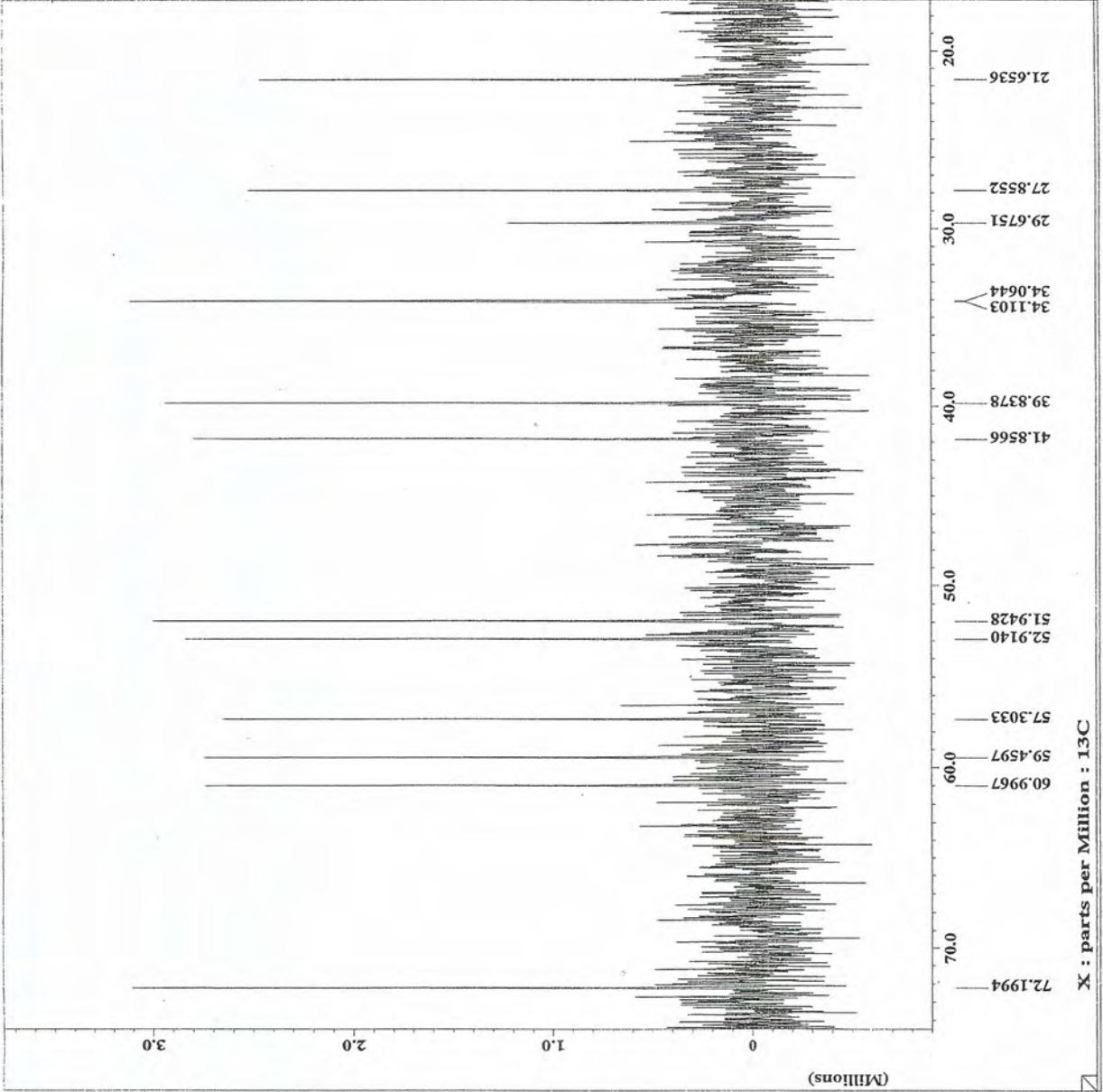


Figura 30: Ampliação da região de  $\delta_c$  20 – 74 do espectro de RMN  $^{13}C$  (100 MHz) em  $CDCl_3$  da fração RGM6-2-0-B





----- ACQUISITION PARAMETERS -----  
 File Name = RGM620B\_spt.2  
 Author = Jan Schripsema  
 Sample ID = RGM620B  
 Content = APT Experiment  
 Creation Date = 20-MAR-2003 11:06:24  
 Revision Date = 20-MAR-2003 11:16:09  
 Spec Site = Eclipse+ 400

Spec Type = DELTA NMR  
 Data Format = ID COMPLEX  
 Dimensions = X  
 Dim title = 13C  
 Dim Size = 32768  
 Dim Units = [ppm]  
 Acq\_delay = 44.8 [us]  
 Changer\_sample = 0  
 Experiment = spt.exp  
 Field\_strength = 9.389766 [T]  
 Irr90 = 14.7 [us]  
 Irr90\_lo = 23.5 [us]  
 Irr90\_hi = 60 [us]  
 Irr\_domain = IR  
 Irr\_width = 60 [us]  
 J\_constant = 140 [Hz]  
 Lock\_status = LCK  
 Recvr\_gain = 15  
 Recvr\_gain\_delay = 1 [us]  
 Scans = 3006  
 Solvent = CHLOROFORM-D  
 Spin\_get = 16 [Hz]  
 Spin\_lock\_90 = 90 [us]  
 Spin\_lock\_attn = 12.5 [dB]  
 Spin\_set = 15 [Hz]  
 Spin\_status = SFIN OFF  
 Spin\_on = SFIN ON  
 Temp\_get = 24.9 [dC]  
 Temp\_set = 25 [dC]  
 Temp\_status = TEMP ON  
 X90 = 10 [us]  
 X90\_lo = 9.5 [us]  
 X90\_hi = 35 [us]  
 X\_acq\_duration = 17.489264 [s]  
 X\_domain = 13C  
 X\_freq = 100.52530333 [MHz]  
 X\_points = 100 [ppm]  
 X\_pulses = 32768  
 X\_prescans = 4  
 X\_pulse = 5 [us]  
 X\_resolution = 0.64519193 [Hz]  
 X\_sweep = 21.14164505 [kHz]

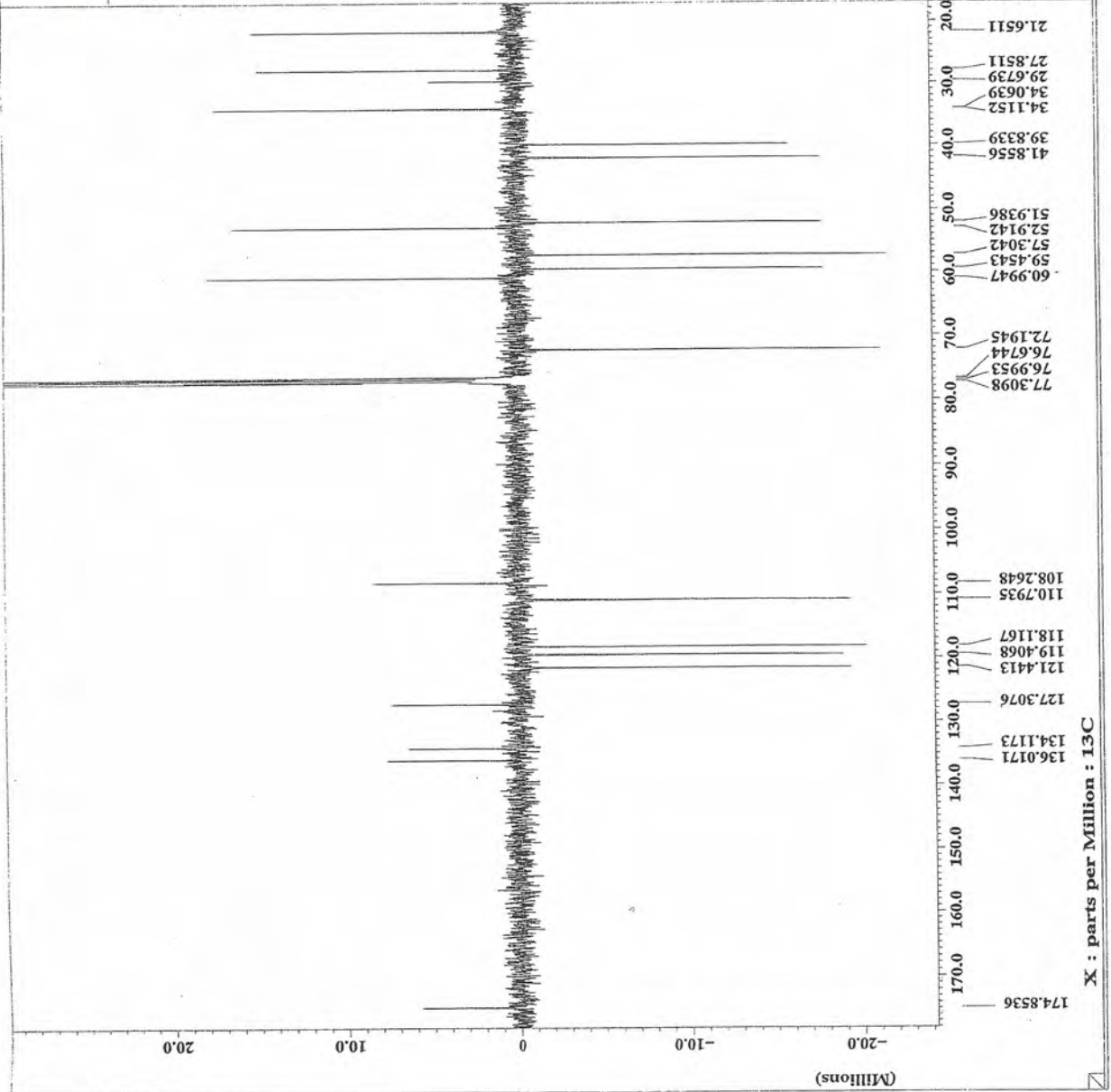


Figura 31: Espectro de RMN <sup>13</sup>C (APT; 100 MHz) em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM6-2-0-B



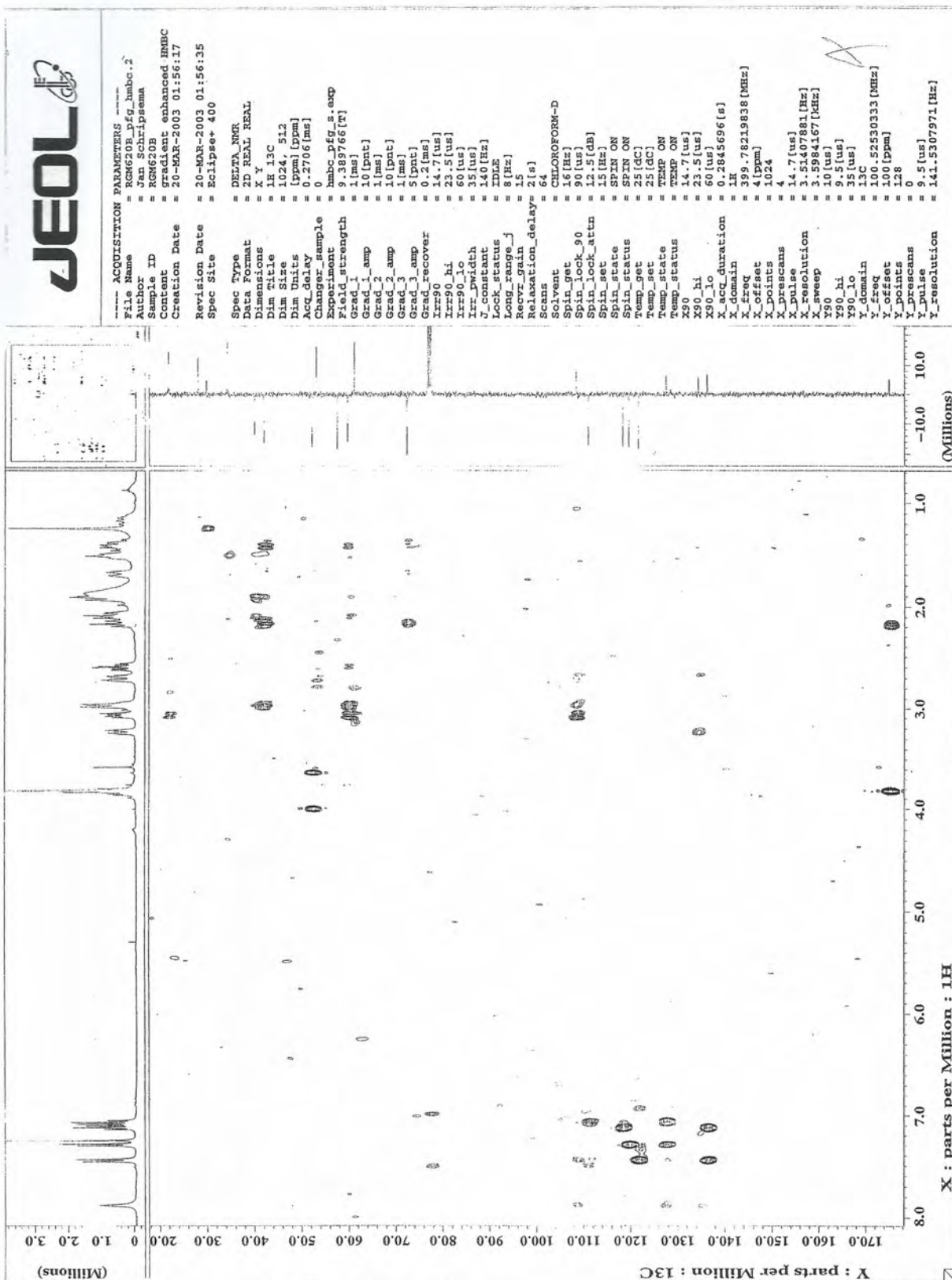


Figura 32: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM6-2-0-B

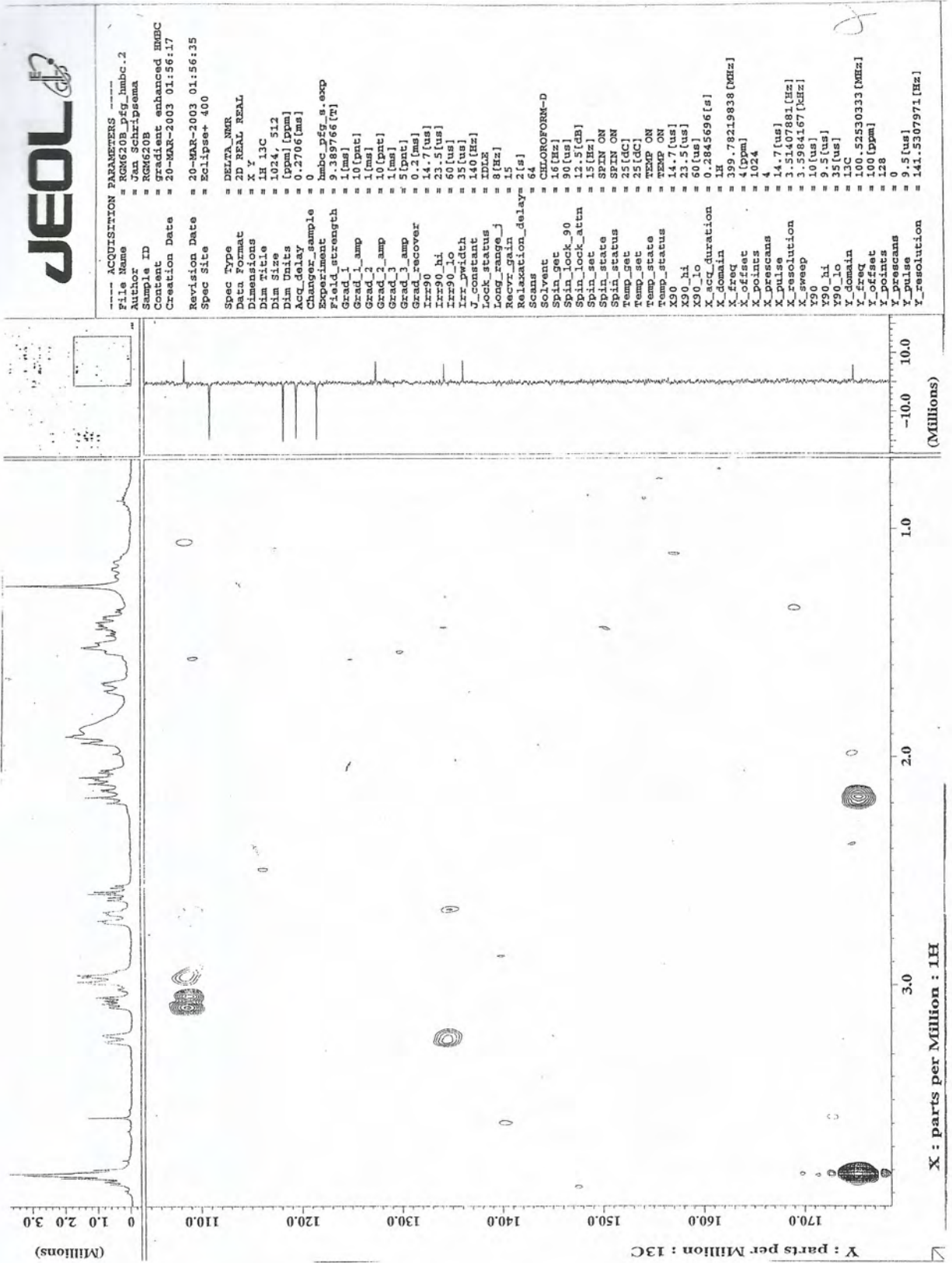


Figura 33: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM6-2-0-B

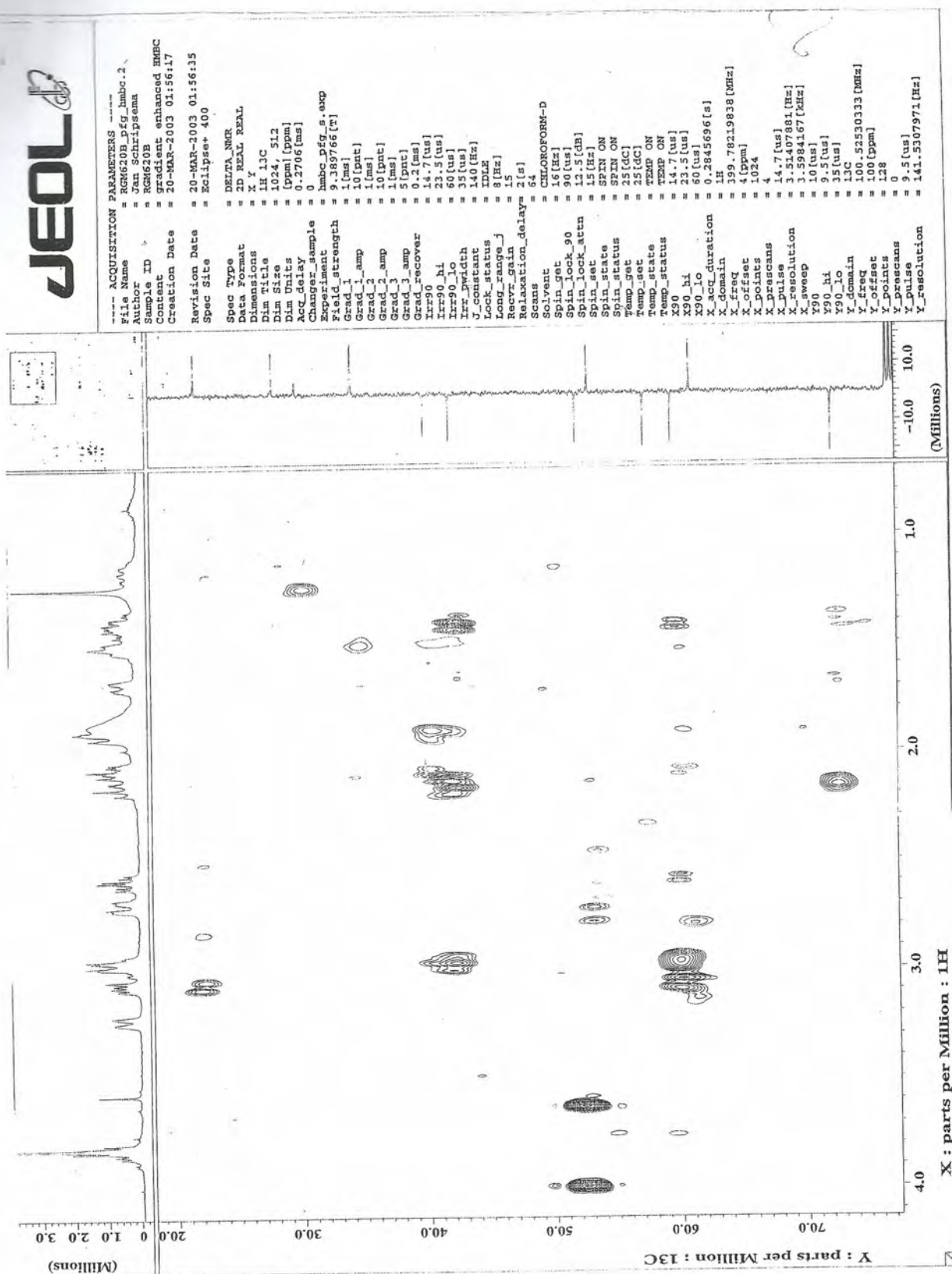


Figura 34: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM6-2-0-B



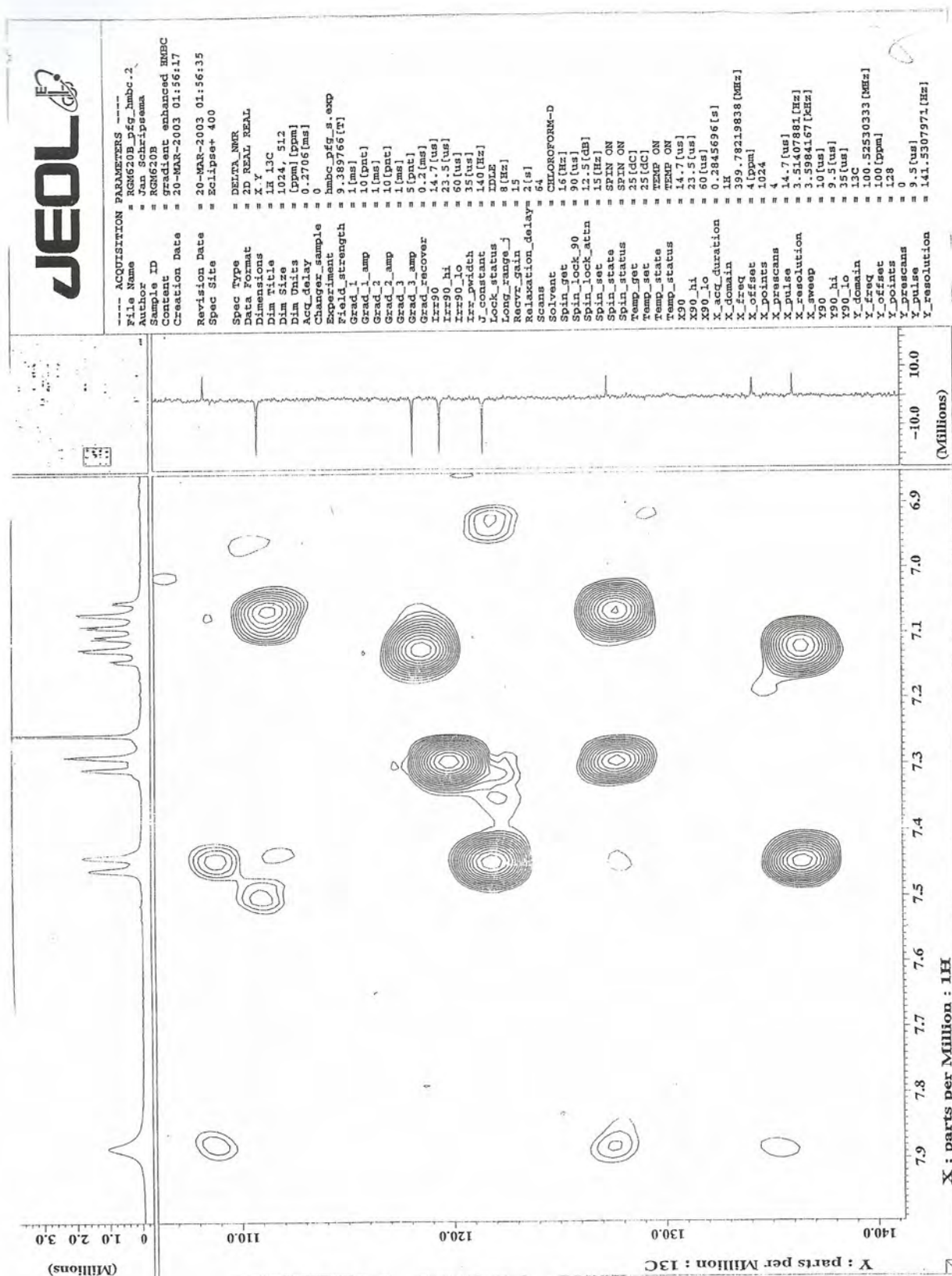


Figura 35: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM6-2-0-B

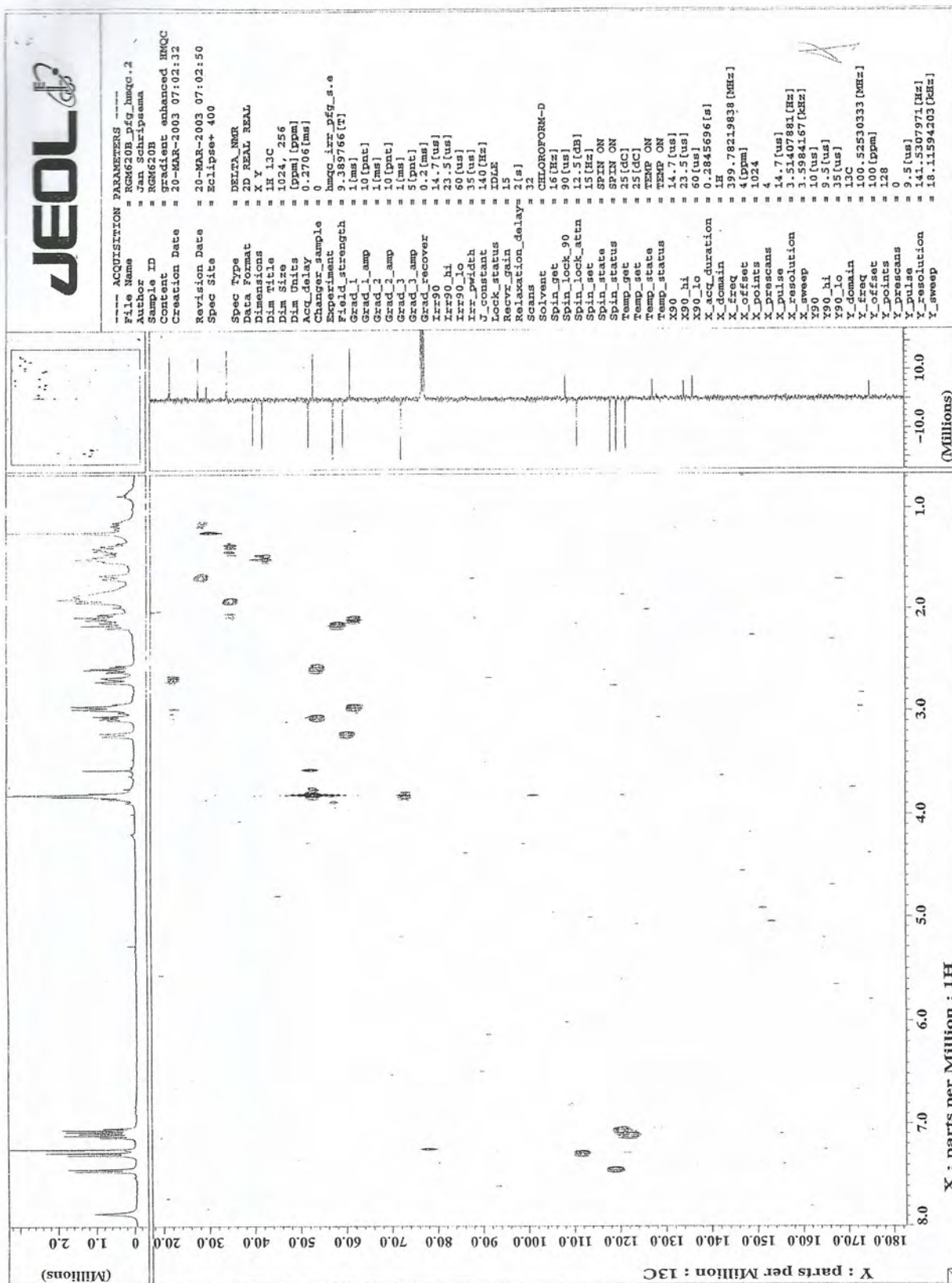


Figura 36: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM6-2-0-B

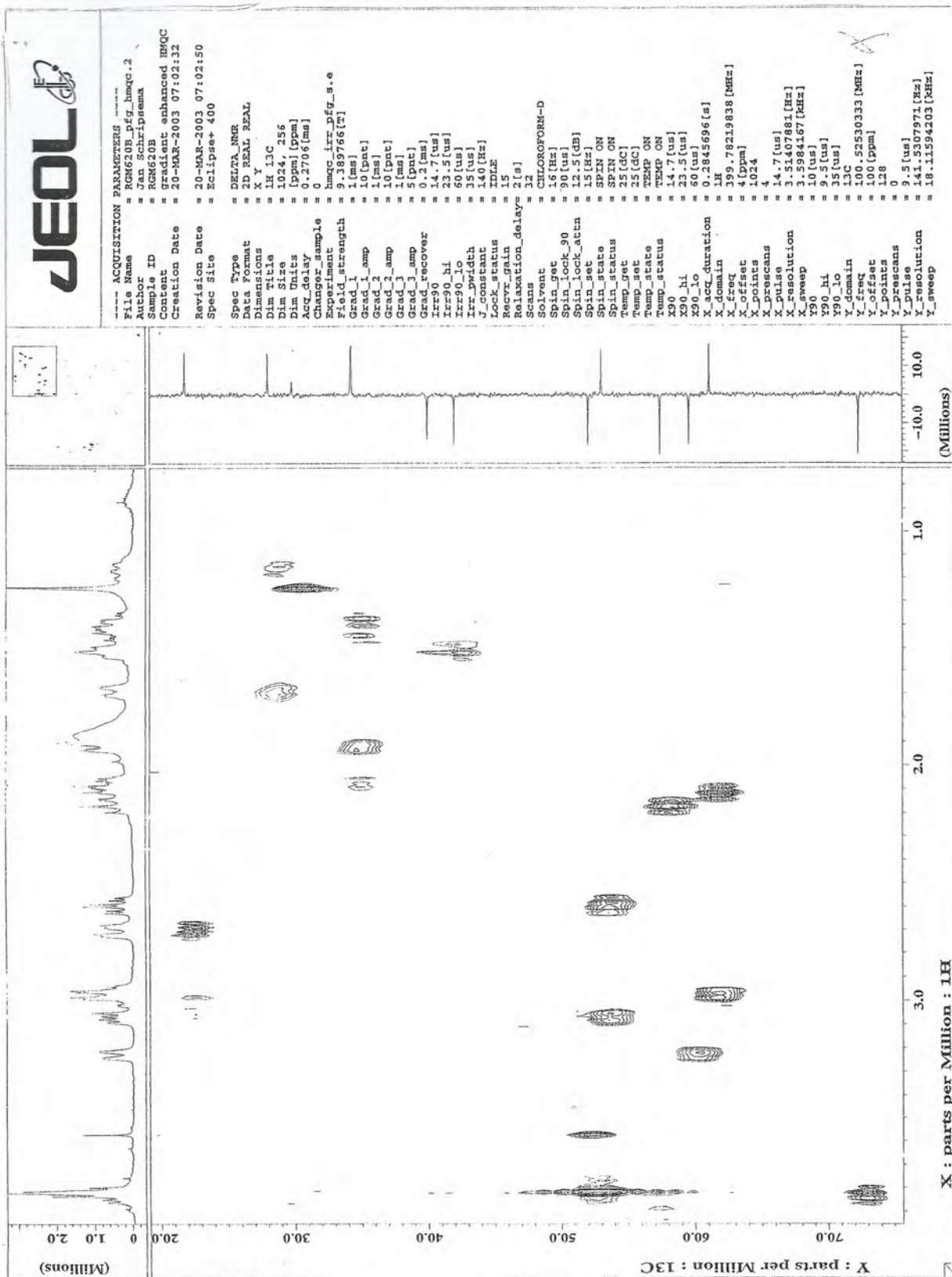


Figura 37: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM6-2-0-B



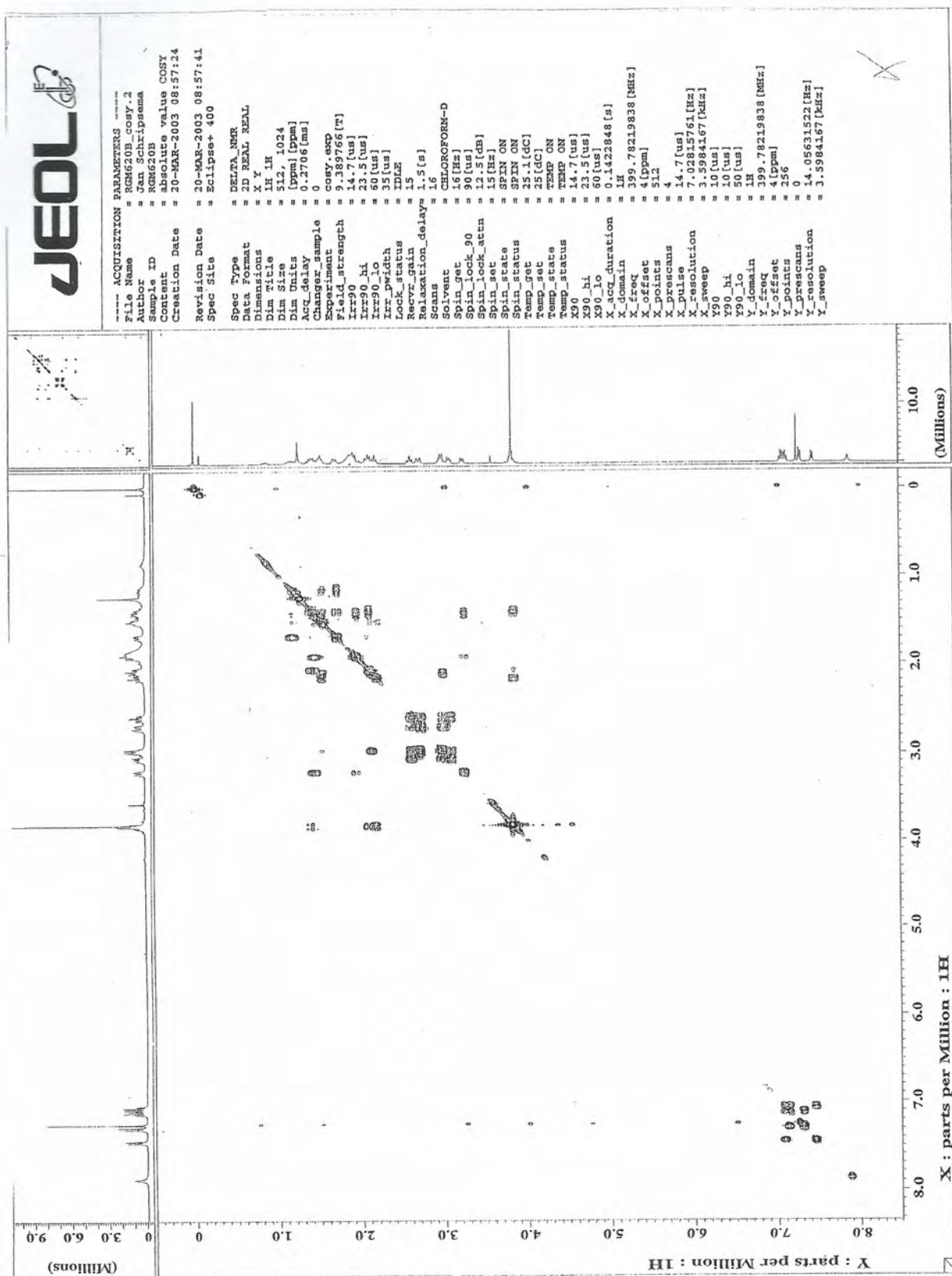


Figura 38: Mapa de correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  da fração RGM6-2-0-B



```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = RGM620B_cosy.2
Author        = Jan Schripama
Sample ID     = RGM620B
Content       = absolute value COSY
Creation Date  = 20-MAR-2003 08:57:24
Revision Date  = 20-MAR-2003 08:57:41
Spec Site     = Eclipse 400

Spec Type     = DELTA NMR
Data Format    = 2D REAL REAL
Dimensions    = X Y
Dim Size     = 1K 1K
Dia Units    = 512, 1024
Dia Units    = [ppm] [ppm]
Acq Delay    = 0.2706 [ms]
Changer Sample = 0
Experiment    = cosy.exp
Field Strength = 9.389766 [T]
Irr90_hi     = 14.7 [us]
Irr90_lo     = 23.5 [us]
Irr_pwidth   = 60 [us]
Lock Status  = 35 [us]
Lock Gain    = 15
Recvr Gain   = 15
Relaxation_delay = 1.5 [s]
Scans        = 16
Solvent      = CDCl3
Spin Get     = 45 [Hz]
Spin Lock_90 = 30 [us]
Spin Lock_attn = 12.5 [dB]
Spin Status  = 15 [Hz]
Spin Status  = SPIN ON
Spin Status  = SPIN ON
Temp Set     = 25.1 [dC]
Temp Status  = TEMP ON
Temp Status  = TEMP ON
X90_hi       = 14.7 [us]
X90_lo       = 23.5 [us]
X_acq_duration = 0.1422848 [s]
X_domain     = 1K
X_freq       = 399.78219838 [MHz]
X_offset     = 4 [ppm]
X_points     = 212
X_pulse      = 14.7 [us]
X_resolution = 7.02815761 [Hz]
X_sweep      = 3.5984167 [kHz]
Y_domain     = 10 [us]
Y_lo         = 10 [us]
Y_hi         = 50 [us]
Y_offset     = 1K
Y_freq       = 399.78219838 [MHz]
Y_offset     = 4 [ppm]
Y_points     = 256
Y_resolution = 14.05631522 [Hz]
Y_sweep      = 3.5984167 [kHz]

```

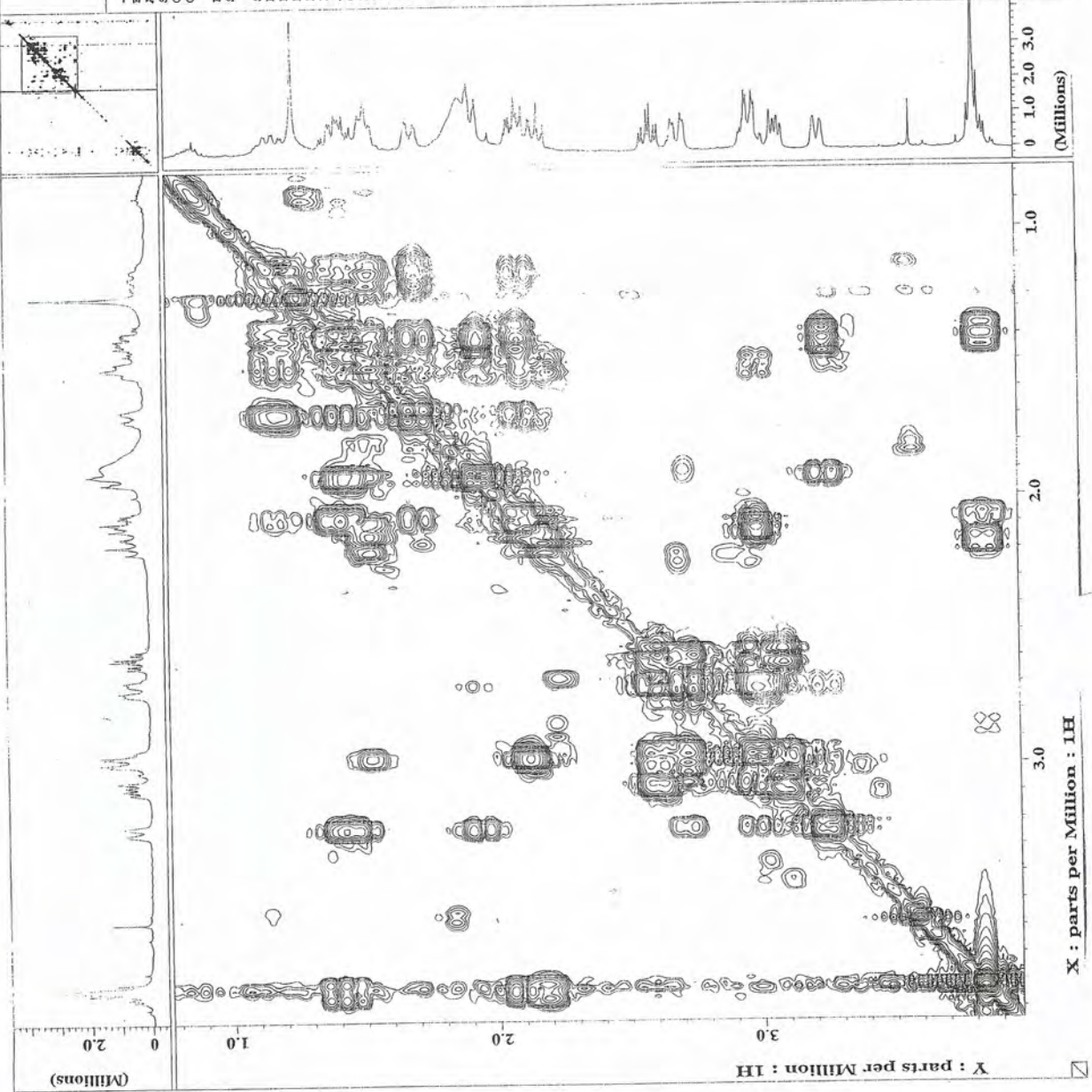


Figura 39: Ampliação do mapa de correlação <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY em CDCl<sub>3</sub> da fração RGM6-2-0-B



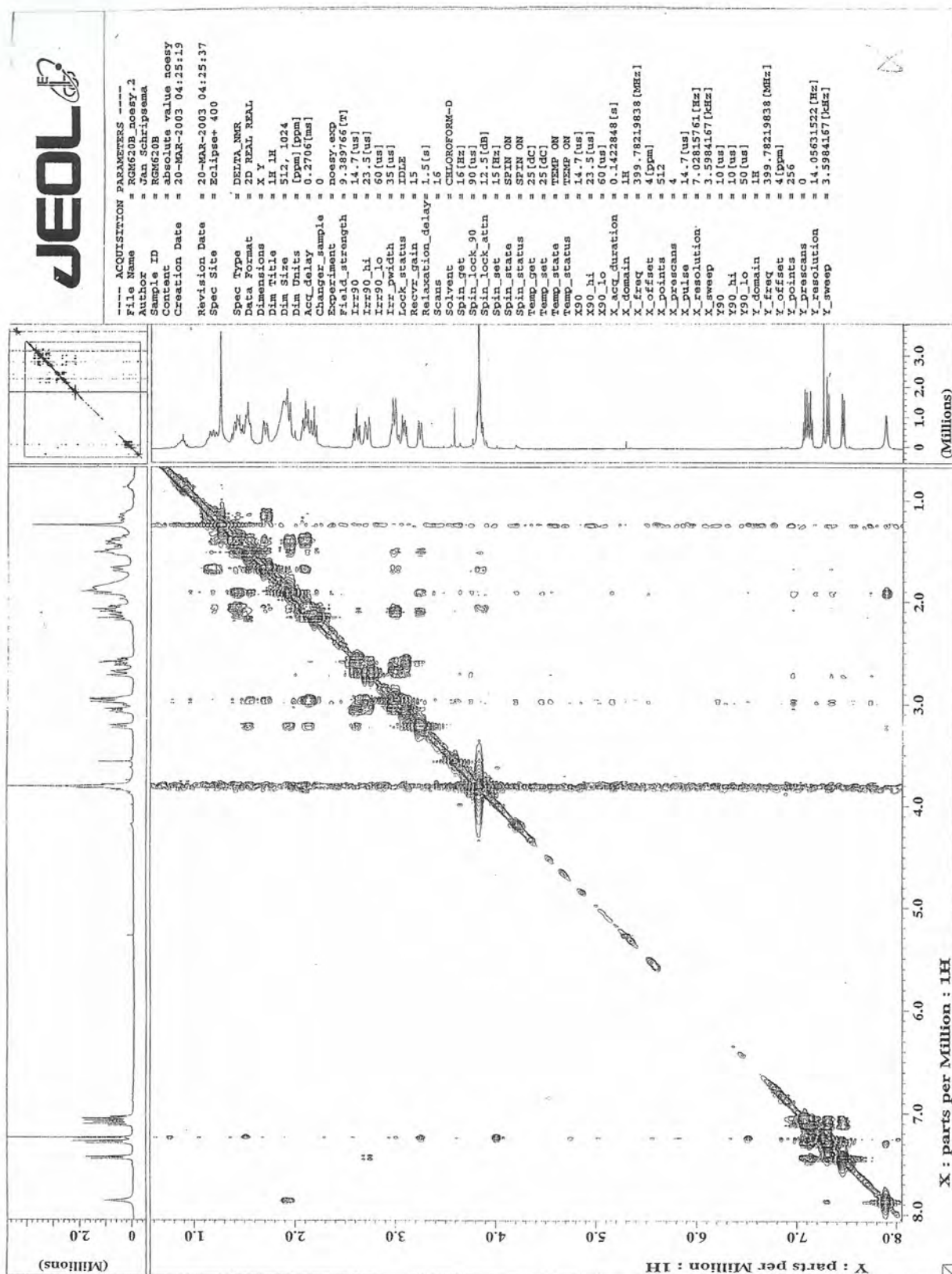


Figura 40: Mapa de interação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY da fração RGM6-2-0-B



## 6. CONCLUSÃO

A partir desse estudo foi possível determinar grande parte da composição química dos alcalóides do extrato metanólico, com a utilização de técnicas cromatográficas clássicas e identificar três alcalóides isolados a partir de técnicas espectroscópicas.

Pôde-se observar que o extrato metanólico é basicamente composto, na sua maior parte, pelos alcalóides darcyribeirina e isoreserpilina, que também foram encontrados em grande quantidade no extrato em diclorometano e ainda o alcalóide  $\beta$ -loimbina.

No presente trabalho foram isolados outros alcalóides ainda não identificados, devido à insuficiência de dados espectroscópicos.

Portanto, pode-se concluir que a composição química do extrato em metanol é praticamente idêntica ao extrato em diclorometano.

No momento pretende-se coletar as folhas desta espécie, com objetivo também de investigar sua composição química.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, C.V.F.; SCHRIPEMA, J.; VERPOORTE, R.; RECH, S.B. and HENRIQUES, A.T. (1996), Indole alkaloids from *Rauvolfia sellowii*. *Phytochemistry*, 41(3), p.969-973.
- BIANCO, A.; LUCA, A.; MAZZEI, R. A.; NICOLETTI, M.; PASSACANTILLI, P. and LIMA, R.A. (1994), *Phytochemistry*, 35(6), p.1485-1487.
- BRAZ-FILHO, R. (1994), Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. *Quimica Nova*, 17, p.405-445.
- BREITMAIER, E. and VOELTER W. (1987), Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry 3ª Ed. VCH, Weinheim, p. 465.
- BRUNETON, J. (1995), Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. London, Lavoisier, p. 815-861.
- CANCELIERI, N.M. (2001), Alcalóides indólicos de *Rauvolfia grandiflora* Mart. *Tese de Mestrado*. Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 204 p.
- CANCELIERI, N.M.; VIEIRA I.J.C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R. (2002), Darcyribeirine, a novel pentacyclic indole alkaloid from *Rauvolfia grandiflora* Mart. *Tetrahedron Letters*. 43, p. 1783-1787.
- COSTA, A. F. (1906), Fármacos com alcalóides. *Farmacognosia, volume II*. Fundação Caloust Gulbenkian: Lisboa, p. 594.

DEWICK, P.M. (2002), *Medicinal natural products: A Biosynthetic Approach*, Paul M. Dewick, 2<sup>nd</sup> ed. p. 507.

HENRIQUES, A.T.; KERBER, V. A.; MORENO, P.R.H. (1999), Alcalóides: Generalidades e aspectos básicos. In: OLIVEIRA, Cláudia Maria, et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 1<sup>a</sup> Ed. Editora da UFSC, p. 641-656.

HESSE, M. (1981), Aspects of chemotaxonomy. *Alkaloid Chemistry*. Translated from the German Edition by I. Ralph C. University of Tasmania. A Wiley-Interscience publication, 83, p. 90-94.

KATO, L.; BRAGA, R. M.; KOHN, L.K.; ANTÔNIO, M. A.; CARVALHO, J.E. (2000), Alcalóides Indólicos de Apocynaceae - estudo de espécies brasileiras de *Rauvolfia*. Livro de Resumos da 23<sup>a</sup> Reunião anual da SBQ.

KATO, L.; BRAGA, M.; KOCH, I.; KINOSHITA, L.S. (2002), Indole alkaloids from *Rauvolfia bahiensis* A.DC. (Apocynaceae), *Phytochemistry* 6, p.315-320.

LOPES, A.V.; and MACHADO, I.C. (1999), Pollination and Reproductive Biology of *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae): Secondary Pollen Presentation, Herkogamy and Self-Incompatibility. *Plant biology*, 1(5).

MATOS, F.J.A. (1997), Roteiro geral para o estudo químico das plantas: Introdução a fitoquímica experimental. Ceará, Fortaleza:UFC, 142p.

Muller, J.M. (1957), Ubre diealcaloid von *Rauvolfia ligustrina* R e S Raugustin, ein neues reserpinahnliches alkaloid. *Experientia*, 13, p.479-481.



SCHMELLER, T.; WINK, M. (1998), Utilization of alkaloids in modern medicine. In: Roberts, M.F., Wink, M. (edit) *Alkaloids: Biochemistry, ecology, and medicinal applications*. New York: Plenum Press.

SCHRIPSEMA, J.; DAGNINO, D.; GOSMANN, G. (1999), Alcalóides Indólicos *In: OLIVEIRA, Cláudia Maria, et al. Farmacognosia da planta do medicamento*. 1ª Ed. Editora da UFSC, p. 679-706.

VIEIRA, I.J.C.; CECCHI, C.M.P.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; RODRIGUES-FILHO, E. (1998), A new depside isolated from the bark of *Rauvolfia mattfeldiana*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 9, p. 91-95.

ZENK, P. (1980a), The Biosynthesis of Heteroimino-type Alkaloids. In: Stockigt, J. *Indole and Biogenetically Related Alkaloids Academic Press-London New York Toronto Sydney San Francisco*, p.115-141.

ZENK, P. (1981), The taxonomic position of some genera in the Loganiaceae, Apocynaceae and Rubiaceae, related families which contain indole alkaloids. *Alkaloid Chemistry*. Translated from the German Edition by I. Ralph C. University of Tasmania. A Wiley-Interscience publication, p.1-26.

ZENK, P. (1980b), The spectrum of biological activities of indole alkaloids. *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*. Academic Press-London New York Toronto Sydney San Francisco, p. 298 e p.1-10.