

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS CASCAS DAS RAÍZES DE
***Tabernaemontana hystrix* (APOCYNACEAE)**

JUCIMAR JORGEANE DE SOUZA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

AGOSTO/2006

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS CASCAS DAS RAÍZES DE
Tabernaemontana hystrix (APOCYNACEAE)

JUCIMAR JORGEANE DE SOUZA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais”.

Aprovada em 17 de agosto de 2006.

Comissão Examinadora:

Prof^o Walter Luiz Brasil Medeiros (D. Sc. Química Orgânica) – CEFET-Campos

Prof^o Carlos Roberto Ribeiro Matos (D. Sc., Química Orgânica) – UENF

Prof^o Edmilson José Maria (D. Sc., Química Orgânica) – UENF

Prof^o Ivo José Curcino Vieira (D. Sc., Química Orgânica) – UENF

(Orientador)

Entrega o teu caminho ao Senhor, confia Nele, e Ele tudo fará.

(Salmos, 22:1)

Dedico este trabalho aos meus pais, Lúcia Maria e Antônio Jorge,
aos meus irmãos, Patrícia (*in memórian*), Marcio e Marcelo
e aos meus sobrinhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo que conquistei e tenho conquistado.

A minha querida mãe, pelo amor, carinho e incentivo de não desistir nunca de conquistar meus objetivos. Obrigada por acreditar em mim.

A minha madrinha, Maria José, por me ajudar e apoiar sempre.

A toda minha família pelo carinho e incentivo aos estudos.

As amigas Cássia, Renata, Tânia e Maristela que nas horas de desespero e tristeza me socorreram e me apoiaram, ensinando-me o que é ser amigo.

A amiga Lara

As companheiras e amigas da República Blush: Érica, Lidiane, Patrícia e Priscilla por estarem sempre me apoiando e me aturando, até nos momentos de mau-humor. Acima de tudo nos tornamos uma família.

As companheiras e amigas da república do Caju: Isabela (TANTO!), Luana e Rita por estarem sempre do meu lado e me apoiando em tudo.

Aos amigos da UENF: Débora, Marcelo e Vinicius, pelo companheirismo, pelos estudos em grupo e pelo apoio.

As companheiras de laboratório: Cecília, Elaine, Raquel e Vilma.

Ao professor Ivo José Curcino Vieira pela orientação e ensinamento durante este trabalho.

Aos professores do LCQUI, em especial a professora Leda Mathias e os professores Carlos Matos e Raimundo Braz-Filho.

A todos,
obrigada por tudo.

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCT / UENF

35/2006

Souza, Jucimar Jorgeane de

Constituintes químicos das cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix* (Apocynaceae) / Jucimar Jorgeane de Souza. – Campos dos Goytacazes, 2006.

2v. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) --Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências Químicas. Campos dos Goytacazes, 2006.

Orientador: Ivo José Curcino Vieira.

Área de concentração: Química de produtos naturais

Bibliografia: V. 1, f. 92-96

1. Alcalóides indólicos 2. *Tabernaemontana* 3. Apocynaceae l. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências

SUMÁRIO

Lista de Figuras	iii
Lista de Fluxogramas	iii
Lista de Tabelas	iv
Lista de Esquemas	vi
Lista de Abreviaturas	vii
Resumo	ix
Abstract	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1 – A Família Apocynaceae	6
3.2 – Alcalóides	7
3.3 – Taxonomia	11
3.4 – O Gênero <i>Tabernaemontana</i>	12
3.5 – A Espécie <i>Tabernaemontana hystrix</i>	13
3.6 – Considerações Farmacológicas	14
3.7 – Estudos Fitoquímicos	16
4. MATERIAIS E METODOLOGIA	19
4.1 – Materiais	19
4.1.1 – Reagentes e Solventes	19
4.1.2 – Equipamentos	19

4.2 – Metodologia	20
4.2.1 – Coleta do material vegetal e identificação botânica	20
4.2.2 – Secagem e moagem	20
4.2.3 – Isolamento e purificação das substâncias orgânicas por técnicas cromatográficas	20
4.2.4 – Análises espectrométricas	21
4.2.5 – Análises de espectrometria de massas	21
4.2.6 – Preparação dos extratos brutos	21
4.2.7 – Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos isolados	23
4.2.7.1 – Resumo dos constituintes químicos isolados do extrato em diclorometano	23
4.2.7.2 – Análises das frações obtidas do extrato em diclorometano das cascas das raízes de <i>Tabernaemontana hystrix</i>	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
5.1 – Substâncias Identificadas de <i>Tabernaemontana hystrix</i>	39
5.1.1 – Esteróides isolados	39
5.1.2 – Alcalóides isolados	39
5.1.3 – Alcalóides inéditos isolados	41
5.2 – Determinação Estrutural	41
5.2.1 – Esteróides	41
5.2.2 – Alcalóides Indólicos Monoterpênicos	44
6. CONCLUSÃO	91
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Esquema de formação da Estrictosidina

Figura 02: Rearranjos na cadeia terpenoídica do esqueleto alcaloídico

Figura 03: Esquema biossintético da coronaridina

Figura 04: Esqueletos básicos dos alcalóides indólicos monoterpênicos

Figura 05: Fotografia da espécie *Tabernaemontana hystrix* (galhos em floração)

Figura 06: Estrutura da vimblastina, vincristina, colchicina, reserpina e vincamina

Figura 07: Alcalóides indólicos isolados da *Tabernaemontana crassa*

Figura 08: Alcalóides indólicos isolados de *Peschiera fuchsiaefolia*

Figura 09: Alcalóides indólicos monoterpênicos isolados de *Tabernaemontana hystrix*

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 01: Estudo cromatográfico do extrato em diclorometano

Fluxograma 02: Estudo cromatográfico da fração BD5

Fluxograma 03: Estudo cromatográfico da fração BD8

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Quantidade de material vegetal colhido e suas respectivas extrações

Tabela 02: Estudo cromatográfico do extrato de diclorometano

Tabela 03: Estudo cromatográfico da fração BD4

Tabela 04: Estudo cromatográfico da fração BD4-5

Tabela 05: Estudo cromatográfico da fração BD5

Tabela 06: Estudo cromatográfico da fração BD5-1

Tabela 07: Estudo cromatográfico da fração BD5-4

Tabela 08: Estudo cromatográfico da fração BD5-5

Tabela 09: Estudo cromatográfico da fração BD5-8

Tabela 10: Estudo cromatográfico da fração BD7

Tabela 11: Estudo cromatográfico da fração BD7-3

Tabela 12: Estudo cromatográfico da fração BD7-3-4

Tabela 13: Estudo cromatográfico da fração BD7-3-4-4

Tabela 14: Estudo cromatográfico da fração BD8

Tabela 15: Estudo cromatográfico da fração BD8-2

Tabela 16: Estudo cromatográfico da fração BD8-2-2

Tabela 17: Estudo cromatográfico da fração BD8-2-2-3

Tabela 18: Estudo cromatográfico da fração BD8-3

Tabela 19: Estudo cromatográfico da fração BD8-3-5

Tabela 20: Estudo cromatográfico da fração BD10

Tabela 21: Dados de RMN ^{13}C (100 MHz) dos esteróides **44** e **45**

Tabela 22: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do alcalóide **17**

Tabela 23: Constantes de acoplamento observadas no mapa de correlação de HMBC do alcalóide coronaridina (**17**)

Tabela 24: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do alcalóide **43**

Tabela 25: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do alcalóide **46**

Tabela 26: Dados de ^1H - ^1H NOESY (500 MHz) do alcalóide **46**

Tabela 27: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do alcalóide **48**

Tabela 28: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) do alcalóide **48**

Tabela 29: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do alcalóide **47**

Tabela 30: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do alcalóide **21**

Tabela 31: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do alcalóide **49**

Tabela 32: Dados de ^1H - ^1H NOESY (500 MHz) em CDCl_3 do alcalóide **49**

Tabela 33: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do alcalóide **16**

Tabela 34. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do alcalóide **41**

Tabela 35: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do alcalóide **50**

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 01: Proposta mecanística dos principais fragmentos apresentados no espectro de massas do alcalóide 17 .	50
Esquema 02: Proposta dos principais fragmentos apresentados no espectro de massas do alcalóide 21	70
Esquema 03: Proposta mecanística dos principais fragmentos apresentados no espectro de massas do alcalóide 49 .	76
Esquema 04: Proposta mecanística dos principais fragmentos apresentados no espectro de massas do alcalóide 16	81
Esquema 05: Proposta mecanística dos principais fragmentos apresentados no espectro de massas do alcalóide 50	90

LISTA DE ABREVIATURAS

δ - deslocamento químico

AcOEt – acetato de etila

APT – “Attached Proton Test”

CC – cromatografia em coluna

CCDP – cromatografia em camada delgada preparativa

CDCl_3 – clorofórmio deuterado

CG/EM – cromatografia de gás acoplado a espectrometria de massas

CH_2Cl_2 – diclorometano

COSY – “Correlation Spectroscopy”

d – duplete

dd – duplo duplete

ddd – duplo, duplo duplete

dl – duplete largo

dt – duplo tripleto

ev - eletrovolts

Glu – glucose

Hex – hexano

HMBC – “Heteronuclear Multiple-Bond Connectivity”

HMQC – “Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence”

Hz – Hertz

IV – infravermelho

J – constante de acoplamento

m – multiplete

m/z – relação massa/carga

MeOH – metanol

MeOH- d_4 – metanol deuterado

MHz – Megahertz

ppm – parte por milhão

q – quadruplete

ql – quadruplete largo

RMN ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13

RMN ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

s – singleto

sl – singleto largo

SNC – Sistema Nervoso Central

t – tripleto

tl – tripleto largo

TMS – tetrametilsilano

u.m.a. – unidade de massa atômica

UV – ultravioleta

v/v – volume por volume

RESUMO

SOUZA, Jucimar Jorgeane de; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, agosto de 2006; Alcalóides indólicos de *Tabernaemontana hystrix*; Prof. Orientador: Ivo José Curcino Vieira.

A química do gênero *Tabernaemontana* é conhecida pela bioprodução de alcalóides indólicos, incluindo monoterpênicos, os quais apresentam diversas atividades biológicas, atuando no tratamento de tumores, arritmias cardíacas e antidepressivo. O isolamento das substâncias foi efetuado utilizando-se técnicas clássicas de cromatografia. Do extrato em diclorometano foram isolados dois esteróides: β -sitosterol (**44**) e estigmasterol (**45**) e 10 alcalóides indólicos monoterpênicos: coronaridina (**17**), 7-hidroxiindoleninacoronaridina (**43**), 5-oxocoronaridina (**46**), 7-hidroxiindolenina-3-oxocoronaridina (**47**), 3-oxocoronaridina (**48**), vobasina (**21**), 5,6-dioxocoronaridina (**49**), ibogamina (**16**), olivacina (**41**) e 12-metoxivoachalotina (**50**). Os alcalóides **49** e **50** são inéditos na literatura. A determinação estrutural dessas substâncias foi efetuada com base em dados espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C , incluindo experimentos bidimensionais (HMQC e HMBC) e a partir de informações obtidas dos espectros de massas e absorção na região do IV e UV.

ABSTRACT

SOUZA, Jucimar Jorgeane de; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, agosto de 2006; Alcalóides indólicos de *Tabernaemontana hystrix*; Prof. Orientador: Ivo José Curcino Vieira.

The *Tabernaemontana* genus chemistry is known by its indole alkaloid bioproduction, including monoterpenoids, which present several biological activities acting in tumor, heart arrhythmia and antidepressant treatments. It was collected in Varre-Sai city, Rio de Janeiro State. The compounds isolation were carried out using classical chromatography techniques. From dichloromethane extract, two steroids were isolated, sitosterol (**44**) and stigmasterol (**45**) and ten monoterpenoid indole alkaloids, coronaridine (**17**), 7-hydroxyindoleninecoronaridine (**43**), 5-oxocoronaridine (**46**), 7-hydroxyindolenine-3-oxocoronaridine (**47**), 3-oxocoronaridine (**48**), vobasine (**21**), 5,6-dioxocoronaridine (**49**), ibogamine (**16**), olivacine (**41**) e 12-methoxyvoachalotine (**50**). The alkaloids **49** and **50** are unpublished up to now. These structural compounds determinations were carried out based on spectral data of NMR ^1H and ^{13}C , including bidimensional experiments (HMQC and HMBC) and on information obtained from mass spectral and absorption in IR and UV data.

1. INTRODUÇÃO

A maioria das substâncias orgânicas conhecidas tem sido produzida pela natureza, onde o reino vegetal destaca-se com a bioprodução de substâncias úteis ao tratamento de doenças em seres humanos. Com o surgimento das plantas terrestres, estima-se que cerca de 500.000 espécies ocupam todo o planeta, onde 50% são constituídas pelas Angiospermas (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Centenas de espécies vegetais foram estudadas através da investigação da composição química das substâncias produzidas pelo seu metabolismo secundário, e mais de 100.000 substâncias naturais tiveram suas estruturas elucidadas. Estes importantes acervos científicos, resultantes de atividades de pesquisa desenvolvidas em instituições e empresas nacionais e estrangeiras, representam uma pequena percentagem do conhecimento sobre a química adotada pelos vegetais, quando avaliado em comparação com o número de espécies existentes na superfície terrestre e nos meios aquáticos (CHADWICK & MARSH, 1990; BUCKINGHMAN, 1993).

Todos os processos químicos da vida (nascimento, crescimento, reprodução, envelhecimento e morte) representam manifestações de biotransformações químicas. Os constituintes químicos bioproduzidos pelo metabolismo secundário de organismos vivos têm despertado interesse de instituições públicas e empresas privadas, principalmente as indústrias farmacêuticas, instaladas nos países desenvolvidos. Intensifica-se a procura de fontes de novos medicamentos para utilização direta bem como de matéria prima adequada para preparação semi-sintética de produtos úteis, e de novos modelos para síntese total de produtos com atividade biológica (BALADRIN & KINGHOM, 1993).

O desenvolvimento tecnológico tem contribuído decisivamente para este progresso, proporcionando a fabricação de equipamentos capazes de viabilizar a descoberta de moléculas encontradas em pequenas concentrações, que antes permaneceram praticamente desconhecidas, devido a limitações de técnicas e metodologias usadas (COLETAGE & MOLYNEUX, 1993).

Nas últimas três décadas, com o desenvolvimento de técnicas analíticas de separação e elucidação estrutural, pôde-se conhecer cerca de 50.000 metabólitos secundários isolados de Angiospermas, onde muitos não tiveram avaliação do seu potencial farmacológico. Com isto, os produtos naturais e seus derivados continuam sendo de grande importância para a sociedade moderna, mesmo com os produtos produzidos por síntese (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Com o avanço tecnológico na última década, as pesquisas de novos compostos biologicamente ativos sofreram grandes mudanças. Para propiciar o surgimento de novos medicamentos, a indústria farmacêutica teve um papel importante no desenvolvimento de novos métodos (TREVISAN & MACEDO, 2003).

O interesse da indústria farmacêutica pelos produtos de origem vegetal reacendeu devido aos fitofármacos como ginkgo, ginseng, etc, que se tornaram detentores de um mercado lucrativo (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Esse interesse foi motivado pela descoberta de quimioterápicos eficazes e principalmente pela busca de substâncias com estruturas moleculares complexas, praticamente impossíveis de serem obtidas por um processo sintético de baixo custo (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Apesar de saber que a pesquisa de novos fármacos é um mercado de alto risco, a indústria farmacêutica tem aplicado investimentos em pesquisa de bioprospecção (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Estimou-se, em torno de 1990, que cerca de 80% da população mundial tinha as plantas como sua principal fonte de medicamentos. Está comprovado que, principalmente, a população de países em desenvolvimento usa os medicamentos providos de plantas, em forma de extratos ou poções (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

O isolamento e a identificação de novas moléculas bioproduzidas pelo metabolismo secundário e a avaliação biológica das substâncias tem proporcionado a descoberta de produtos naturais bioativos (DEWICK, 1997).

A descoberta de substâncias abundantes merece também atenção especial, mesmo nos casos de produtos já descritos na literatura. Modificações estruturais seletivas de produtos abundantes através de reações químicas podem conduzir a substâncias biologicamente ativas e com outras propriedades práticas (DIXON & LAMB, 1990).

No desenvolvimento da química orgânica sintética moderna, os metabólitos secundários tiveram um papel fundamental. Este desenvolvimento ocorreu paralelamente ao estudo de plantas, a partir do século XIX, onde, com base científica, foram registrados os primeiros estudos sobre as plantas, já então conhecidas como medicinais. Com esses estudos foram obtidas algumas substâncias que se consagraram como princípios ativos eficazes que até hoje são usados no tratamento de determinadas doenças (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

O isolamento e a determinação estrutural de substâncias biorgânicas advindas do metabolismo secundário de organismos vivos assumem também importância fundamental para o desenvolvimento de outras atividades científicas e tecnológicas.

Na área de produtos naturais, uma das mais significantes mudanças, nos últimos anos, foi à avaliação biológica. O entendimento dos mecanismos de doenças, acompanhado do aumento de testes com receptores e enzimas disponíveis, permitiram o desenvolvimento de sistemas eficientes e rápidos de bioensaios, selecionando milhares de amostras em poucos dias (TREVISAN & MACEDO, 2003).

O conhecimento da composição química de espécies vegetais também tem papel fundamental no progresso de ciências correlatas, tais como a fisiologia, sistemática química, evolução química e ecologia química. Além disso, contribui para a implantação e o fortalecimento da interface entre a pesquisa básica e aplicada, permitindo a manipulação de rotas biogenéticas e a produção controlada de metabólitos secundários selecionados com base em critérios práticos, científicos e tecnológicos (biotecnologia) (CHADWICK & MARSH, 1990).

O isolamento e a elucidação estrutural de substâncias naturais representam a etapa inicial importante e decisiva para a descoberta de compostos bioativos, permitindo posteriormente o desenvolvimento de trabalhos sintéticos e tecnológicos para a produção de substâncias a nível comercial (TORSSEL, 1997; GEISSMAN & CROUT, 1969).

A busca pelo aprimoramento das estratégias de identificação, aplicação e bioprodução de metabólitos secundários estimulou o aparecimento de atividades transdisciplinares, envolvendo pesquisadores na área de Química de Produtos Naturais (Fitoquímica), Genética, Farmacologia e Biologia, promovendo pesquisas nos campos da sistemática química, evolução química, ecologia química, atividade biológica, biossíntese e mais recentemente, a biotecnologia.

No Brasil, a maioria das pesquisas com plantas ainda são feitas pelas Universidades e Institutos de Pesquisa, onde se desenvolve basicamente a fitoquímica tradicional. Apesar de muitos grupos nacionais já estarem envolvidos com a busca de princípios bioativos das plantas, essa pesquisa é fundamentalmente acadêmica (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Apesar da flora brasileira ser uma das principais fontes de recursos naturais, os estudos sobre a química de compostos secundários das espécies que a compõem ainda são insuficientes. A preocupação com a manutenção da biodiversidade no

planeta levou, nos últimos anos, as autoridades governamentais a voltar a sua atenção para a manutenção dos refúgios naturais que se encontram ameaçados.

Em decorrência da ação antrópica uma atenção especial tem sido destinada às áreas naturais em perigo de extinção. Entre elas a Mata Atlântica, reconhecida no cenário mundial como uma das principais fontes de diversidade genética a ser protegida, onde os recursos devem ser investigados, tendo como meta o equilíbrio entre a proteção à natureza e o desenvolvimento. A maior parte do estado do Rio de Janeiro é recoberta por este ecossistema, onde a vegetação remanescente é alvo de investigações em diferentes áreas da ciência.

Na região Norte e Noroeste Fluminense a vegetação da Mata Atlântica possui um dos principais refúgios de vida silvestre, abrigando espécies vegetais e animais em extinção. O conhecimento prévio de organismos e seu habitat é importante para adequação de métodos a serem utilizados em programas de manejo ecológico e de melhoramento.

A flora regional apresenta uma fonte de informações para a ciência e de recursos naturais de importância para a humanidade. Com isso, os estudos sobre a química de metabólitos secundários para a sua exploração racional constituem elemento importante para a geração de conhecimento.

A família Apocynaceae está entre as maiores famílias de Angiospermas e está bem representada na flora brasileira. E por fornecer alcalóides com utilização na medicina tradicional, os seus gêneros têm sido, cada vez mais, alvo para fonte de pesquisas.

No gênero *Tabernaemontana*, algumas espécies foram largamente estudadas tendo, assim, sua composição química bastante definida, além da realização de diversos testes biológicos (HESSE, 1981).

Porém, algumas espécies do gênero *Tabernaemontana*, principalmente as espécies nativas da Mata Atlântica, em especial a *Tabernaemontana hystrix* teve sua constituição química pouco estudada, tornando-se o principal objetivo deste trabalho.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O trabalho proposto tem por objetivo isolar, identificar e caracterizar compostos do metabolismo secundário, do extrato em diclorometano das cascas das raízes, da espécie *Tabernaemontana hystrix*, família Apocynaceae, coletada na Mata Atlântica localizada na região Norte e Noroeste Fluminense, através de métodos fitoquímicos clássicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aprendizado de técnicas cromatográficas clássicas (cromatografia em coluna, cromatografia em camada delgada preparativa e cromatografia em camada delgada analítica) no isolamento e purificação de substâncias orgânicas produzidas pelo metabolismo secundário de espécies vegetais.

Aprendizado de técnicas espectroscópicas (RMN ^1H e ^{13}C , uni e bi-dimensionais, espectrometria de massas) na identificação de compostos produzidos pelo metabolismo secundário de espécies vegetais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A Família Apocynaceae

A família Apocynaceae pertence à ordem Gentianiales, classe Dicotyledoneae, subclasse Asteridae, divisão Angiospermae (MABBERLEY, 1997). Ela está entre as dez maiores famílias de Angiospermas e esta representada em todos os continentes, exceto na Antártica. A maioria das espécies ocorre na região tropical. Crescem em vários ambientes, desde florestas úmidas até regiões semi-áridas. Ocorrem desde ao nível do mar até altas montanhas, principalmente em solos secos, mas também sobre rochas ou em áreas alagadas, raramente submersas na beira de rios (RAPINI, 2000).

A família Apocynaceae possui cerca de 250 a 550 gêneros, e entre 3700 a 5100 espécies. Sendo que aproximadamente um terço das espécies ocorre no Novo Mundo. As circunscrições genéricas são muito controversas, mas em torno de 100 gêneros são aceitos na América tropical (RAPINI, 2000).

No Brasil ocorrem cerca de 376 espécies subordinadas a 41 gêneros habitando diversas formações (MOREIRA et al., 2004). Ela é bem representada na flora brasileira e, particularmente, no Rio de Janeiro; segundo levantamento realizado por Novaes e Rapoport (1996) são encontradas cerca de 80 espécies. As Apocynaceae têm como características marcantes a presença de látex nos órgãos vegetativos e reprodutivos, e flores com prefloração contorta (MOREIRA et al., 2004).

A família Apocynaceae é conhecida por fornecer, principalmente, alcalóides, alguns deles com ampla utilização na medicina tradicional (NOGUEIRA et al., 2004).

Uma espécie desta família, *Hancornia speciosa* (mangabeira), ocorre abundantemente em toda região Nordeste, em especial no Estado de Sergipe. Os seus frutos são consumidos *in natura* ou usados como matéria-prima para doces, geléias, sorvetes e sucos. O suco leitoso do fruto e o látex desta espécie são usados como medicamento caseiro para tratamento de tuberculose e úlcera (NOGUEIRA et al., 2004).

Desde os tempos antigos, algumas espécies do gênero *Tabernaemontana*, têm sido utilizadas na África, como veneno de flechas, na medicina popular e em rituais mágico-religiosos, tais como a *Tabernaemontana crassa* e *Tabernanthe iboga* (NEUWINGER, 1998).

Na cultura indígena, *Apocynum cannabinum* é utilizada como fonte de fibras para cordas e fios utilizados em artesanato. Os ramos fortes e flexíveis de

Sarcostemma clausum são usados como vara de pescar, e de algumas espécies de *Matelea* são extraídos venenos para flechas de caça (RAPINI, 2000).

Algumas espécies arbóreas, em particular de *Aspidosperma* (peroba) fornecem madeira para construção civil e produção de móveis e ferramentas; os caules tabulares são especialmente utilizados como cabo de machado. Borracha e goma de mascar são produzidas a partir de látex de *Apocynum spp.* (RAPINI, 2000).

As Apocynaceae também são cultivadas como plantas ornamentais, e algumas espécies encontram-se naturalizadas em muitas regiões, por exemplo, *Nerium oleander*, com mais de 400 cultivares, dentre os quais 175 são comercializados; *Catharanthus roseus* de Madagascar; *Vinca major* e *Vinca minor*, espécies mediterrâneas; *Allamanda cathartica*, *Plumeria rubra* e *Thevetia peruviana*, espécies neotropicais cultivadas em jardins e ruas de cidades tropicais; e algumas plantas suculentas paleotropicais, como *Ceropegia* e *Hoya* (RAPINI, 2000).

3.2 Alcalóides

Os alcalóides são encontrados em mais de 4000 espécies de plantas, sendo mais freqüentes em Dicotiledôneas do que em Monocotiledôneas e Gimnospermas. Podem ocorrer em diferentes partes do vegetal, como raiz (*Symphitum spp.*), folhas (*Passiflora sp.*, *Agerantum conyzoides* e *Phyllanthus spp.*), casca do fruto (*Punica granatum*) e em sementes (*Lupinus albus*). O primeiro alcalóide isolado foi a morfina, em 1805, do ópio (*Papaver somniferum*) (NEUWINGER, 1998).

Em 1848, no Rio de Janeiro, o farmacêutico Ezequiel Correia dos Santos isolou o alcalóide pereirina, das cascas do pau-pereira (*Geissospermum laeve*). A pereirina foi um dos primeiros alcalóides, senão o primeiro, a ser isolado puro no Brasil (PINTO et al., 2002).

Outros alcalóides, bastante conhecidos, incluem a nicotina, presente em variedades de fumos (*Nicotiana tabacum*), cuja biossíntese se dá nas raízes da plantas, com armazenamento nas folhas para onde é translocado; a cocaína, presente em folhas de *Erythroxylon coca*; a cafeína, encontrada em sementes de café, folhas de chá, chocolate entre outros (NEUWINGER, 1998).

A maioria dos alcalóides é derivada do metabolismo dos aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina) e dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina). O triptofano é um aminoácido aromático que contém um sistema de anel indólico, tendo sua origem da rota do chiquimato via ácido antranílico. Os alcalóides indólicos são formados por

rearranjos dos precursores indólicos dando origem ao anel quinolínico, e esse sim é o precursor dos alcalóides indólicos.

Dentre as várias classes de alcalóides indólicos, os monoterpênicos apresentam uma grande variedade estrutural. Uma característica interessante deste grupo de alcalóides é a origem biossintética comum (Figura 01, página 9): todos eles têm o mesmo precursor, a estrictosidina, que é um glicosídeo formado pela condensação de uma molécula de triptamina (advinda do triptofano por uma reação de descarboxilação) com um aldeído monoterpênico denominado secologanina (BRUNETON, 1995).

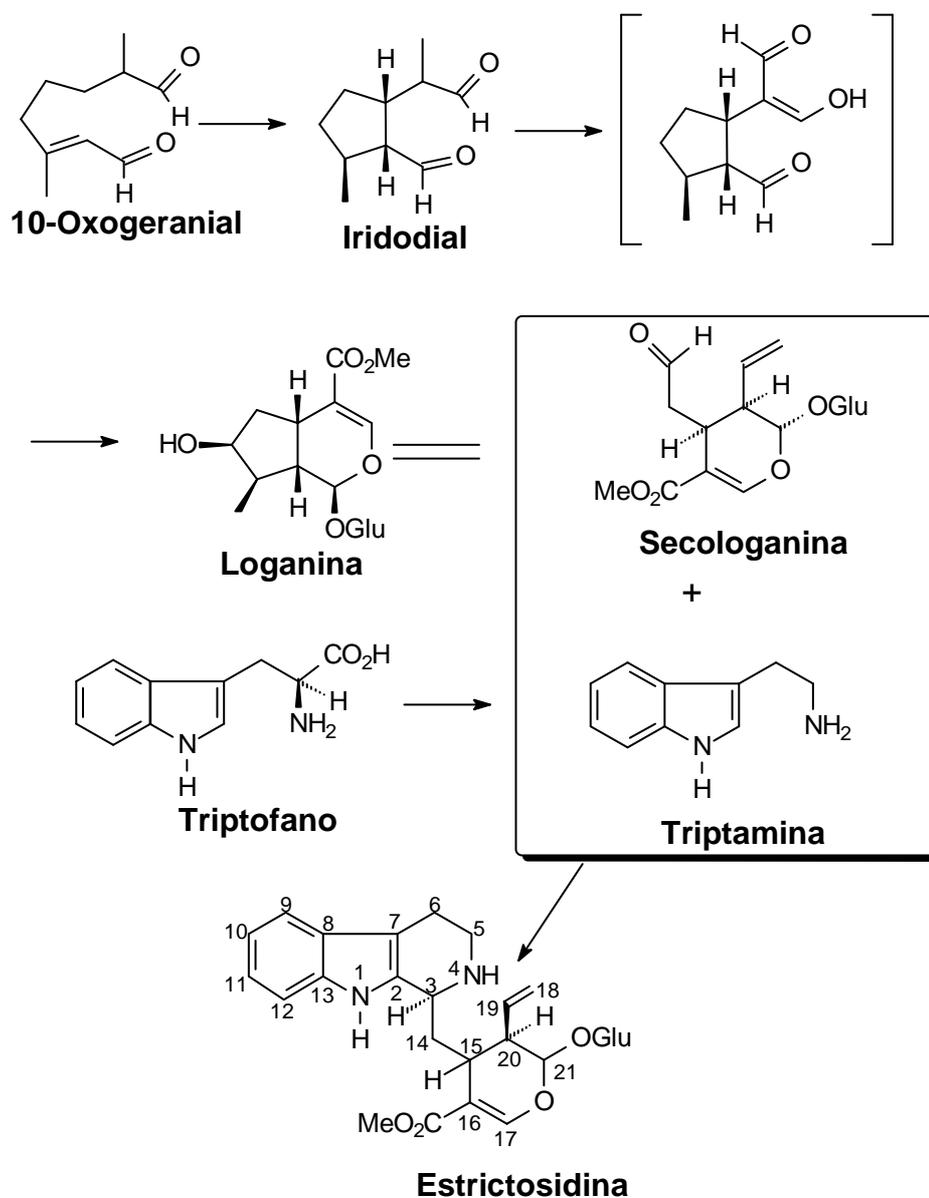


Figura 01: Esquema de formação da Estrictosidina

Rearranjos na parte terpenoídica da strictosidina leva a formação de diferentes classes, apresentados na Figura 02, página 10 (BRUNETON, 1995). Baseado na biogênese é possível classificar estes alcalóides em diferentes classes:

Classe I – Alcalóides em que a unidade monoterpênica não sofreu rearranjos (esqueletos corinanteano e estriquinano);

Classe II – Alcalóides com rearranjo nos carbonos C-17→ C-20 da unidade monoterpenoídica (esqueleto aspidoespermano);

Classe III – Alcalóides com rearranjo nos carbonos C-17→C-14 da unidade monoterpenoídica (esqueleto ibogano) (**Figura 03, página 11**).

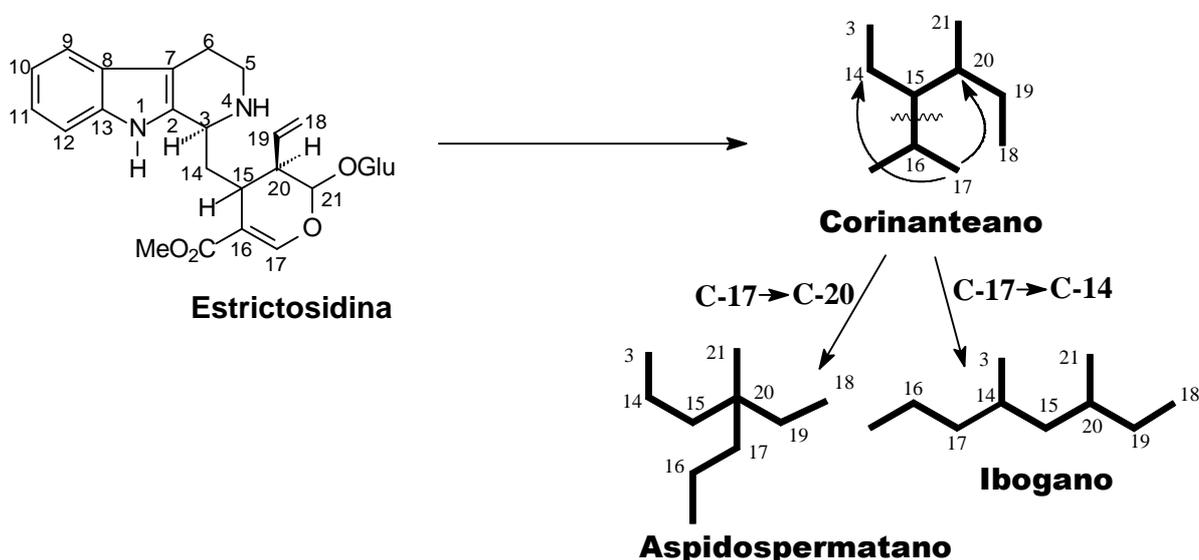


Figura 02: Rearranjos na cadeia terpenoídica

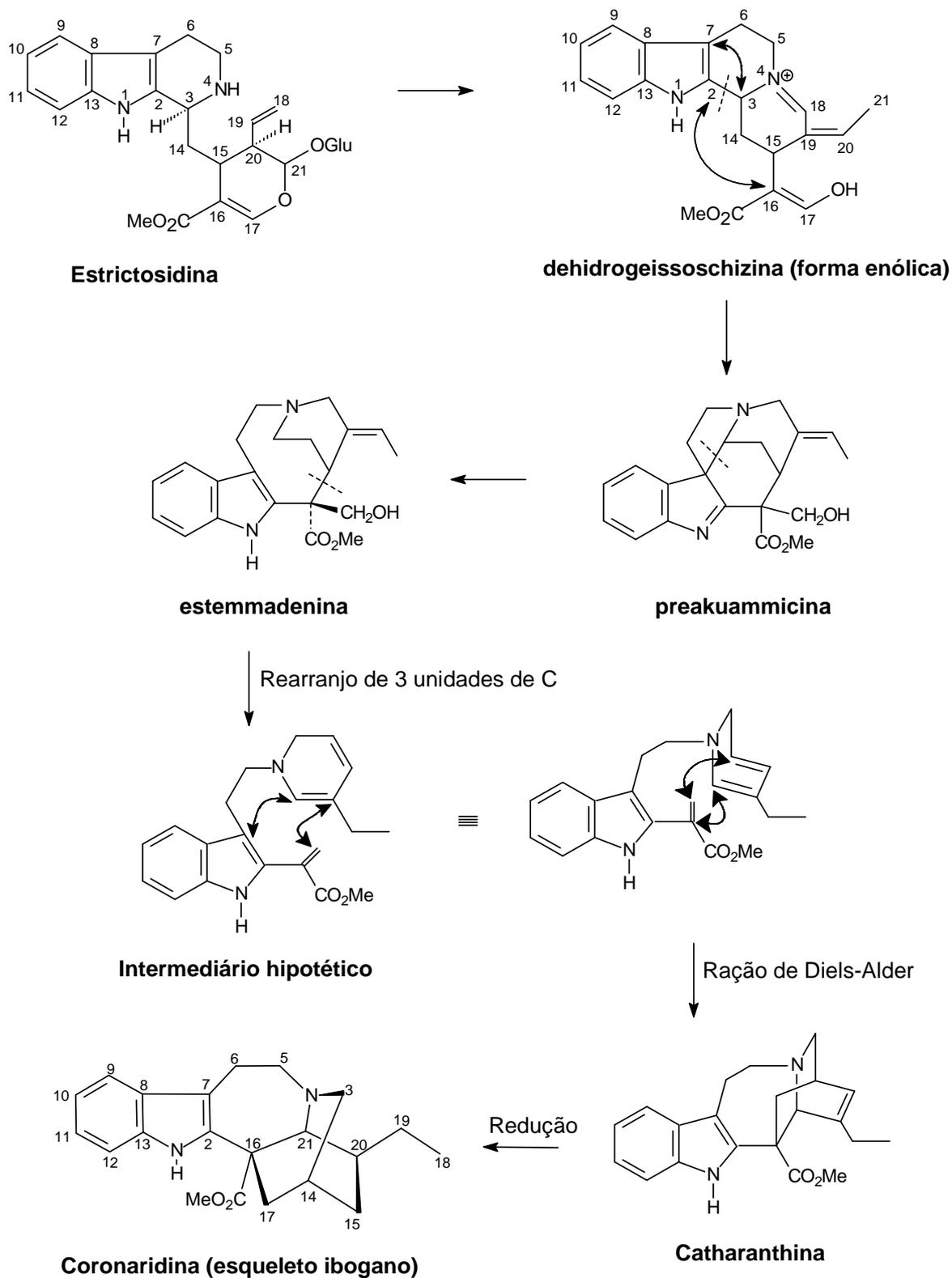


Figura 03: Esquema biossintético da coronaridina (esqueleto ibogano)

Estas classes são subdivididas em nove subclasses principais: vincosano (1), valesiacotamano (2), corinanteano (3), estriquinano (4), aspidospermatano (5), plumerano (6), eburnano (7), ibogano (8) e tacamano (9) (**Figura 04**), e suas

subclasses, dependendo das características de seus esqueletos. Muitas das etapas e mecanismos que levam a formação destes esqueletos são conhecidos (DANIELI & PALMISANO, 1986).

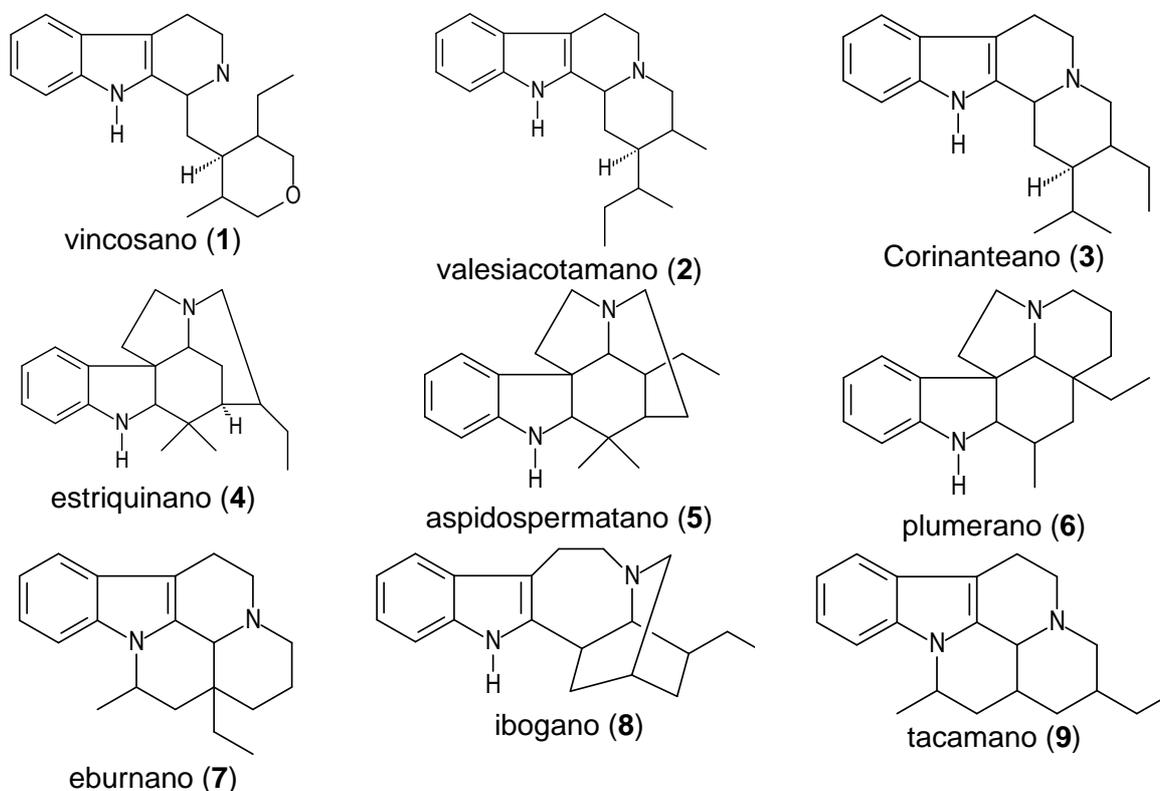


Figura 04: Esqueletos básicos dos alcalóides indólicos monoterpênicos.

3.3 – Taxonomia

A família Apocynaceae, juntamente com as famílias Rubiaceae e Loganiaceae, produz alcalóides indólicos monoterpênicos, sendo que a família Apocynaceae contém a maioria dos alcalóides isolados e comercializados (BRUNETON, 1995).

Os botânicos classificam a família Apocynaceae em três subfamílias: Plumerioidae, Cerberoidae e Echitoidae. Alcalóides têm sido isolados de espécies de todas essas subfamílias, mas alcalóides indólicos têm sido encontrados somente em Plumerioidae. Esta subfamília é dividida em sete tribos, e destas, quatro produzem alcalóides indólicos, são elas: Carisseae, Tabernaemontaneae, Alstonieae (Plumerieae) e Rauvolfieae. Todos os gêneros destas tribos produzem alcalóides da classe I, as Rauvolfieae produzem principalmente esqueletos do tipo corinanteano e seus derivados (heteroioimano, ioimano), aspidospermano (classe II) são

encontrados nas espécies das tribos Plumerieae, Carisseae e Tabernaemontaneae. O esqueleto ibogano (classe III), com poucas exceções (*Catharanthus*, entre outros), são encontrados na tribo Tabernaemontaneae (BRUNETON, 1995; DANIELI & PALMISANO, 1986).

Em termos evolutivos, das três famílias acima citadas, Apocynaceae é considerada a mais evoluída, sendo Loganiaceae o ancestral comum das outras duas, o que é corroborado pela complexidade dos alcalóides indólicos encontrados. Somente em Apocynaceae encontramos alcalóides indólicos monoterpênicos das classes II e III (BRUNETON, 1995).

As quatro tribos acima citadas são suficientemente diferenciadas morfológicamente, porém os limites de gênero e nomenclatura da tribo Tabernaemontaneae têm sido confusas, sendo objeto de discussões por mais de um século (DANIELI & PALMISANO, 1986).

3.4 – O Gênero *Tabernaemontana*

Com relação ao gênero *Tabernaemontana*, por muitos anos este nome tem sido restrito a espécies encontradas nas Antilhas, América Central e Noroeste da América do Sul, enquanto que espécies encontradas no Brasil são classificadas como pertencentes ao gênero *Peschiera* A. DC. Espécies do Sul da Ásia e Austrália são agrupadas como *Ervatamia* (DANIELI & PALMISANO, 1986).

Leeuwenberg, em 1994, reviu estes gêneros, e por características morfológicas reagrupou várias espécies do gênero *Peschiera* e *Ervatamia*, como *Tabernaemontana*, sendo usado aqui esta classificação. Com isso, totalizou 100 espécies, das quais 27 são encontradas no Brasil, e destas, 6 são endêmicas, incluindo uma nova espécie (*Tabernaemontana cumata* Leeuwenberg) (LEEUWENBERG, 1994).

O estudo fitoquímico de espécies destes gêneros tem contribuído para diferenciá-los, principalmente na composição química dos alcalóides encontrados nestas plantas (DANIELI & PALMISANO, 1986).

A presença de aproximadamente ¼ das espécies do gênero no Brasil, aliado a um número relativamente pequeno de estudos fitoquímicos, demonstra a necessidade de aprofundar os estudos fitoquímicos das espécies brasileiras deste gênero (DANIELI & PALMISANO, 1986).

Este gênero faz parte do estudo fitoquímico do grupo de trabalho do Setor de Química de Produtos Naturais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy

Ribeiro (UENF) coordenado pelo professor Ivo José Curcino Vieira com a colaboração dos professores Raimundo Braz-Filho e Leda Mathias. Este estudo em questão foi iniciado com a espécie *Tabernaemontana laeta* (*Peschiera laeta*) e *Tabernaemontana hystrix*, classificada e identificada pela botânica Professora Luíza Sumiko Kinoshita da Universidade de Campinas, Campinas-SP.

3.5 – A Espécie *Tabernaemontana hystrix* (Figura 05, página 15)

A espécie em questão é endêmica da região Sudeste do Brasil, e nas regiões Norte e Noroeste Fluminense é conhecida como “esperta”, sendo considerada uma planta venenosa para animais, segundo informações populares.

Apresenta-se sob a forma de arbusto ou árvore pequena de 1-7 m de altura. Ramos pálidos à marrom escuro, lenticelados; râmulos cilíndricos, glabros. Folhas pecioladas, com pecíolo glabro, de 2-10 mm de comprimento. Flores vistosas, abertas durante o dia. Sépalas verde pálido, conadas na base, ovada, oblongas. Corola branca ou amarela, com 11-16 mm de comprimento no botão maduro e formando uma cabeça ovóide pequena. Frutos com 2 mericarpos separados, mericarpos amarelos, obliquamente elipsóides, recurvados, arredondados no ápice; com paredes mais espessas. Sementes pretas ou marrons, obliquamente elipsóides, cerca de 8-10 x 4-5 x 3-3,5 mm (LEEJWENBERG, 1994).



Figura 05: Fotografia da espécie *Tabernaemontana hystrix* (galho em floração)

3.6 – Considerações farmacológicas

Na medicina moderna, substâncias extraídas de Apocynaceae são de uso corrente, citando a título de exemplo: a vimblastina (**10**) e vincristina (**11**) produzidos pela vinca (*Catharanthus roseus*), possuem acentuada ação antitumoral. A ação desses compostos se dá de forma semelhante à da colchicina (**12**), um alcalóide extraído do açafrão do prado (*Colchicum autumnale*). A exposição da célula a esses alcalóides causa o desaparecimento do fuso mitótico e, como o rompimento temporário dos microtúbulos do fuso, mata preferencialmente células que se dividem de forma anormal, essas drogas antimitóticas são amplamente utilizadas no tratamento do câncer (ALBERTS, 1997), incluindo a doença de Hodgkin e a leucemia aguda (RAPINI, 2000).

A reserpina (**13**) (*Rauvolfia serpentina*) é usada como droga anti-hipertensiva e tranqüilizante (SCHMELLER, 1998). Já a vincamina (**14**), extraída da *Vinca minor*, aumenta o fluxo sanguíneo no cérebro e é utilizada no tratamento de problemas cérebro-vasculares, especialmente em idosos (**Figura 06, página 16**) (RAPINI, 2000; PEREIRA et al., 2003).

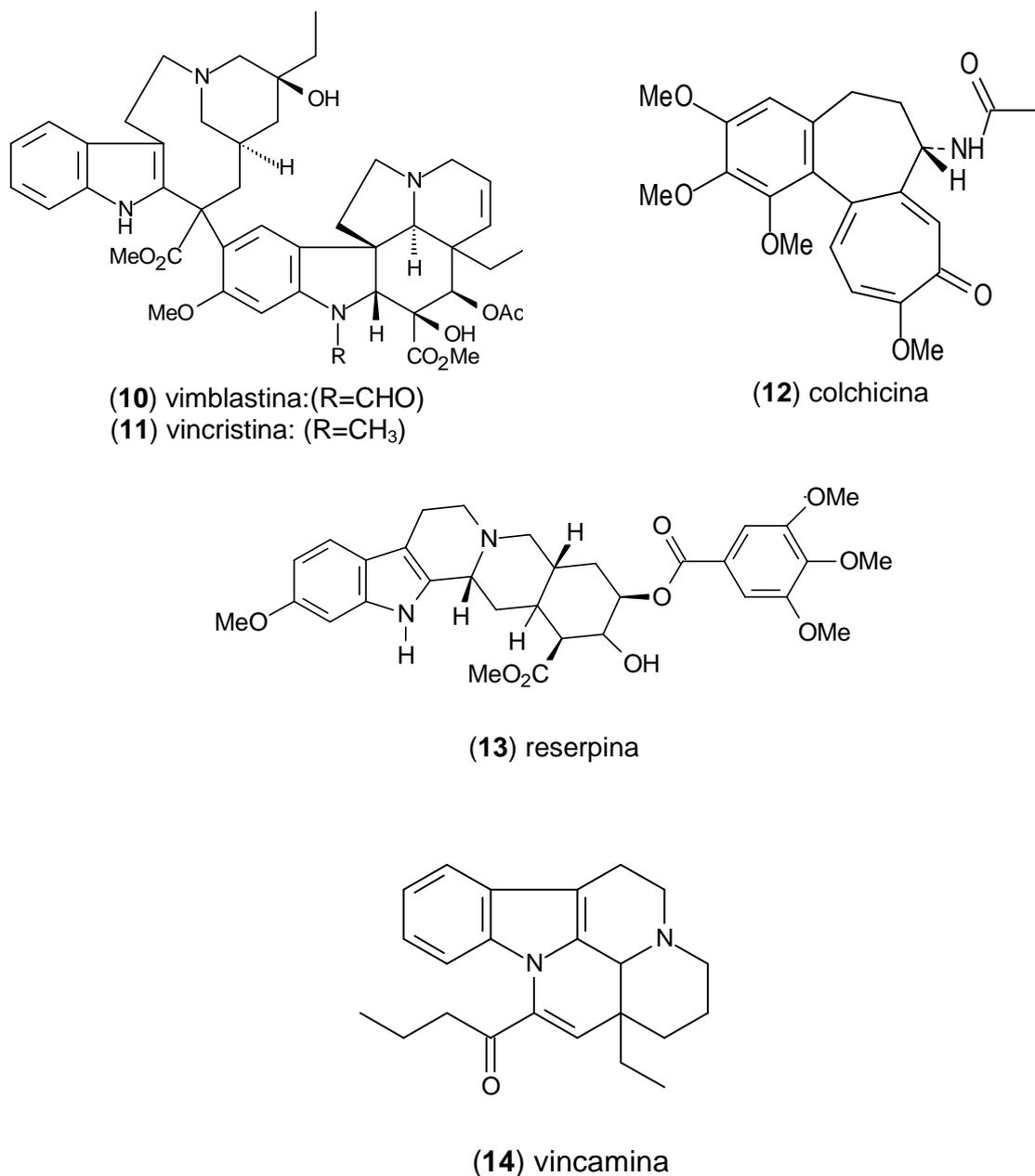


Figura 06: Estrutura da vimblastina, vincristina, colchicina, reserpina e vincamina.

O extrato do caule da *Tabernaemontana crassa* é usado na medicina tradicional para acalmar “ataques epiléticos e insanidade mentais” (NEUWINGER, 1998).

Vários alcalóides indólicos isolados desta espécie têm sido investigados farmacologicamente: ibogaina (15), ibogamina (16), coronaridina (17), voacangina (18), isovoacangina (19), voacristina (20) e vobasina (21) apresentam atividade estimulante do SNC. A decocção de folhas tem uso popular como anestésico local em procedimentos ortopédicos, sendo que dois destes alcalóides são os responsáveis por estes efeitos: a vobasina e perivina (22) (Figura 07), este possui uma atividade anestésica duas vezes maior que a cocaína (NEUWINGER, 1998).

As cascas e raízes de *Tabernaemontana carimbosa* têm sido usadas em veneno de flechas e de dardos na Tailândia e Malásia (NEUWINGER, 1998), e somente recentemente tem sido investigada fitoquimicamente e farmacologicamente pelo grupo Toh-Seok Kam (KAM et al., 2001).

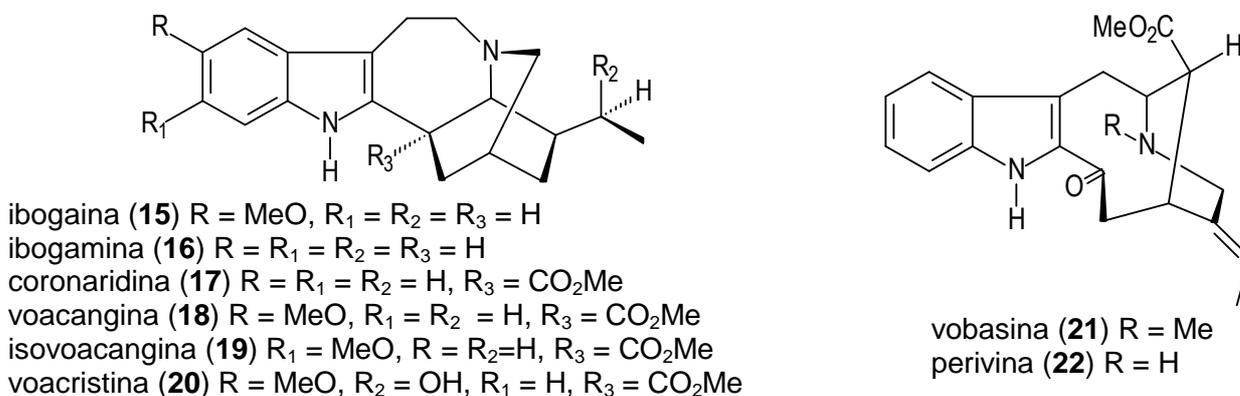


Figura 07: Alcalóides indólicos isolados da *Tabernaemontana crassa*.

Os alcalóides acima citados são do tipo indólicos monoterpênicos, e são estes os responsáveis pelas atividades farmacológicas das plantas desta família. Pela sua importância, estes alcalóides e as plantas que os contém, têm sido objeto de estudos fitoquímicos, biossintéticos, etnofarmacológicos, farmacológicos, farmacognósticos, quimiotaxonômicos e biotecnológicos, além de servirem como modelo para síntese de compostos biologicamente ativos. Dada a relevância destes alcalóides, considerações sobre alguns dos aspectos citados são feitas, dando ênfase a fitoquímica do gênero *Tabernaemontana*, principalmente das espécies brasileiras (DANIELI & PALMISANO, 1986).

3.7 – Estudos Fitoquímicos

Pelas razões expostas acima, o gênero *Tabernaemontana* tem sido alvo de estudos fitoquímicos em todo o mundo com revisões da sua química, taxonomia, etnobotânica e farmacologia do gênero, sendo descritos até o ano de 1984 mais de 250 alcalóides (DANIELI & PALMISANO, 1986).

A investigação fitoquímica das cascas do caule da espécie *Tabernaemontana hystrix* com a sinonímia *Peschiera fuchsiaefolia* apresentou a identificação de 14 alcalóides: (BRAGA et al., 1984; BRAGA & REIS, 1987) 12-metoxi-4-metilvoachalotina (**23**), 12-metoxi-4-metilvoachalotina etil éster (**24**), fuchsiaefolina (**25**), normacusina

(26), affinisina (27), voachalotina (28), 4-metilaffinisina (29), 4-metilvoachalotina (30), voacangina (18, **Figura 07, página 16**), ibogaina (15, **Figura 07, página 16**), vobasinol (31), perivina (22, **Figura 07, página 16**), 16-epiaffinisina (32), voacanginahidroxiindolenina (33), e 6 alcalóides *bis*-indólicos: voacamina (34), decarbometoxivoacamina (35), demetilvoacamina (36), voacamidina (37), diidrovoacamina (38) e demetildihidrovoacamina (39) (**Figura 08, página 17**).

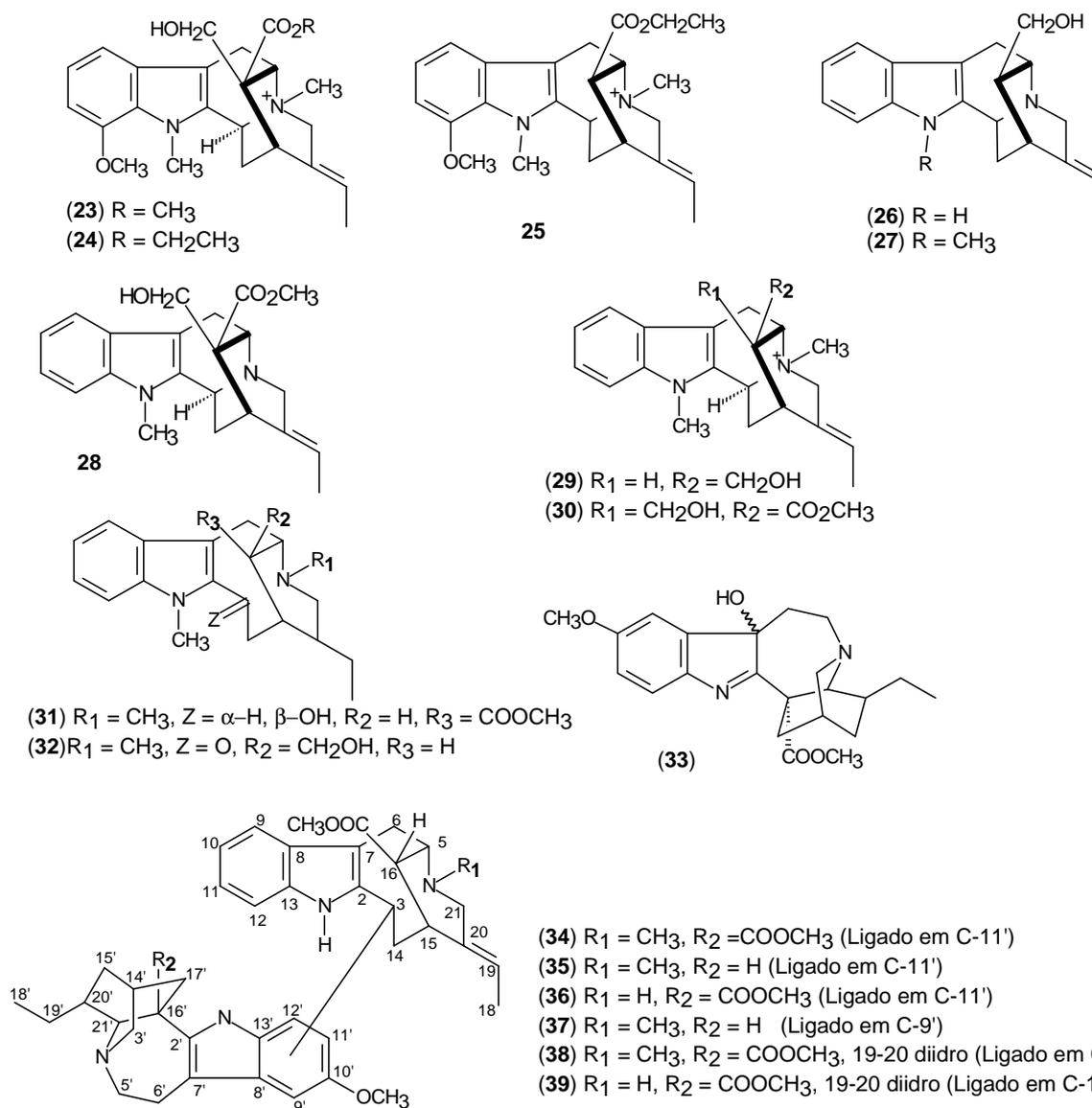


Figura 08: Alcalóides indólicos isolados de *Psychotria fuchsiaefolia*

O estudo fitoquímico do extrato em metanol das cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix*, investigado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Química de Produtos Naturais da UENF, identificou a presença de seis alcalóides

indólicos monoterpênicos: affinina (**40**), olivacina (**41**), affinisina (**27**, **Figura 08**), N_b-metilaffinisina (**29**, **Figura 08**), ibogamina (**16**, **Figura 07**, página 16) e histrixnina (**42**, **Figura 09**, página 20) (MONNERAT, 2005).

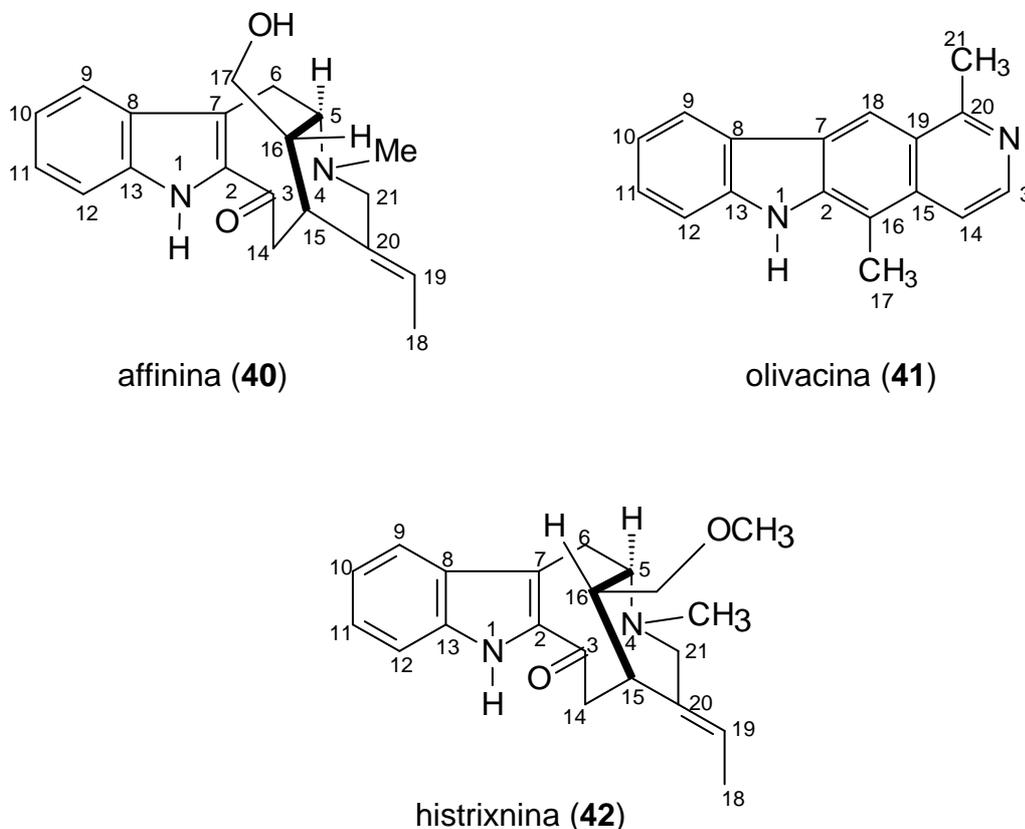


Figura 09: Alcalóides indólicos monoterpênicos isolados de *Tabernaemontana hystrix*

Dos nove tipos de esqueletos básicos dos alcalóides indólicos monoterpênicos, nenhum alcalóide do tipo vincosano (**1**) foi encontrado em *Tabernaemontana*, poucas substâncias dos tipos valesiacotamano (**2**), estriquinano (**4**), aspidospermatano (**5**), eburnano (**7**) e tacamano (**9**) têm sido isoladas. A maioria dos compostos isolados pertence aos esqueletos plumerano (**6**), corinanteano (**3**) e ibogano (**8**) (**Figura 04**, página 11), este último é encontrado em todas as espécies de *Tabernaemontana*, sendo característicos deste gênero (DANIELE & PALMISANO 1986).

4. MATERIAIS E METODOLOGIA

4.1 – Materiais

4.1.1 – Reagentes e Solventes

- Acetato de etila P.A.
- Alumina Neutra
- Clorofórmio deuterado
- Cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60 F₂₅₄
- Diclorometano P.A.
- Hexano P.A.
- Metanol deuterado
- Metanol P.A.
- Sílica gel Merck Darmstadt 60 (0,063–0,200 mm)
- Solução de nitrato básico de bismuto II em ácido acético diluído com iodeto de potássio (Reagente de Dragendorff) (MERCK, 1972)
- Solução de Vanilina a 2% em ácido sulfúrico concentrado

4.1.2 – Equipamentos

- Colunas cromatográficas de vidro de tamanhos variados
- Espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo gasoso do modelo CG/EM–QP–5050, marca SHIMADZU, utilizando impacto de elétrons a 70 eV.
- Espectrômetro de Ressonância Magnética da marca Brüker, modelo DRX-500 (500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C)
- Espectrômetro de Ressonância Magnética da marca Jeol, modelo Elipse (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C)
- Evaporador rotativo Büchi modelo R-114
- Frascos de vidro
- Lâmpada ultravioleta (Aldrich) a 254 nm e 365 nm
- Moinho de martelos, da marca Tecnal

4.2 – Metodologia

A escolha da planta pode ser desenvolvida a partir dos objetivos do pesquisador, como por exemplo, a seleção pode ser feita através da verificação da ocorrência de uma determinada classe de constituinte químico (Alcalóides, Flavonóides, entre outros), ou de um conjunto de constituintes de interesse para o estudo a ser desenvolvido.

Um aspecto importante para a escolha da planta refere-se à informação popular sobre o uso da planta quando se tem interesse em sua aplicação na medicina.

4.2.1 – Coleta do material vegetal e identificação botânica

As cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix* foram coletadas em março de 2002, no município de Varre e Sai (RJ). A identificação botânica foi realizada pela botânica Professora Luíza Sumiko Kinoshita da Universidade de Campinas, Campinas-SP. A exsicata do espécime encontra-se depositada no herbário da Universidade de Campinas-UNICAMP.

4.2.2 – Secagem e moagem

A secagem do material foi feita ao ar livre logo após a coleta, para evitar a presença de fungos. Após secagem, o material foi convertido em pó usando moinho de martelos.

4.2.3 – Isolamento e purificação das substâncias orgânicas por técnicas cromatográficas

Foram utilizadas técnicas de cromatografia em coluna a pressão normal e cromatografia em camada delgada preparativa (COLLINS, 1990; HARBORNE, 1998; IKAN, 1991; PATITUCCI et al., 1995; POOLE, 1984).

Nas análises de cromatografia em coluna foram utilizadas sílica gel Merck Darmstadt 60 (0,063–0,200 mm) e Alumina neutra.

As análises de cromatografia em camada delgada analítica foram realizadas em cromatofolhas de Alumínio com sílica gel 60 F₂₅₄ Merck. As substâncias foram visualizadas por irradiação com lâmpada ultravioleta (Aldrich) a 254 nm e 365 nm e/ou pulverizadas com os seguintes reagentes cromogênicos:

- Dragendorff (solução de nitrato básico de bismuto II em ácido acético diluído com iodeto de potássio).
- H₂SO₄ conc./Vanilina, seguido de aquecimento.

4.2.4 – Análises espectrométricas

As análises espectrométricas foram realizadas em aparelhos do Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro e na Universidade Federal do Ceará.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono-13 (RMN ¹³C) foram obtidos num espectrômetro Jeol (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C) e num Brüker (500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C). Os solventes utilizados foram clorofórmio deuterado (CDCl₃) e metanol deuterado (MeOH-*d*₄), usando como padrão interno o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos (δ) foram obtidos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

4.2.5 – Análises de espectrometria de massas

Os espectros de massas (EM) foram obtidos por CG/EM e por inserção direta em um aparelho CG/EM–QP–5050 A SHIMADZU, utilizando impacto de elétrons (70 eV).

4.2.6 – Preparação dos Extratos Brutos

Os extratos brutos foram preparados a frio (maceração) por extrações sucessivas com solventes orgânicos (hexano, diclorometano e metanol) em ordem crescente de polaridade. As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo, fornecendo os extratos brutos.

A quantidade de material colhido e suas respectivas extrações estão descritas na Tabela 01.

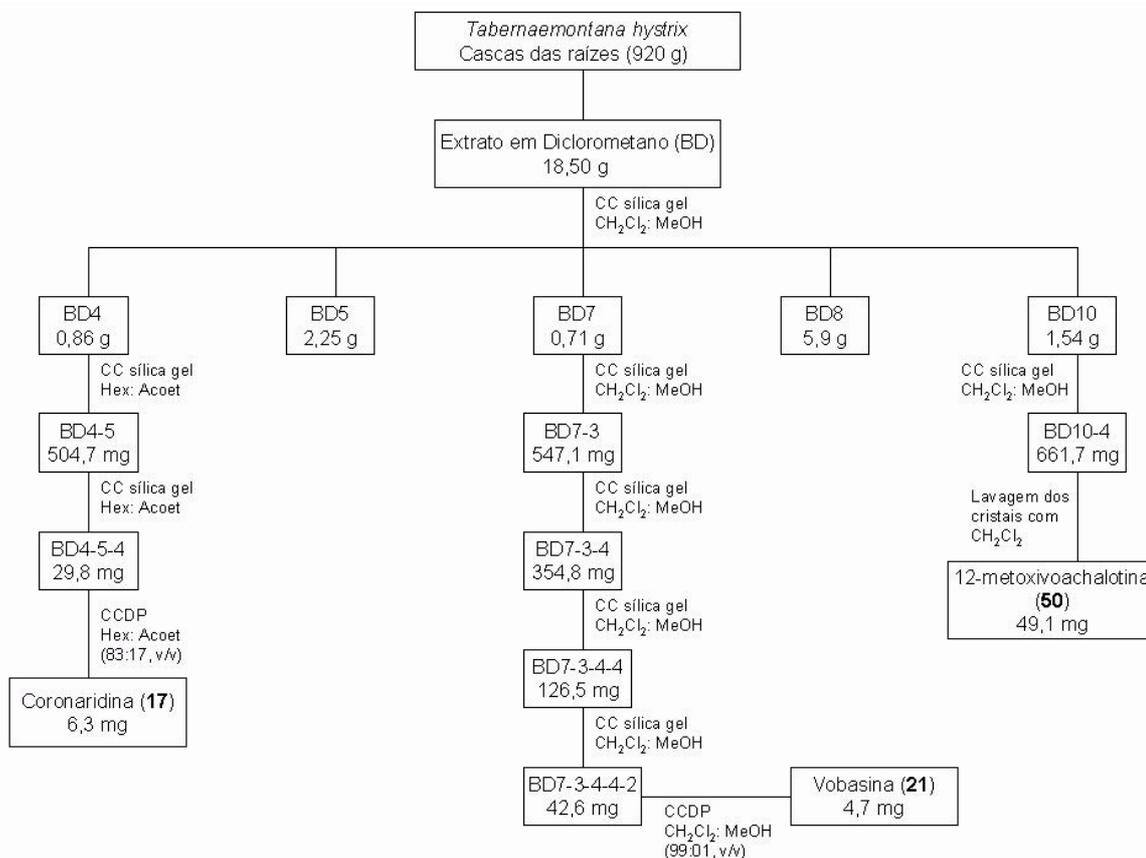
Tabela 01: Quantidade de extratos brutos (g) obtidos das cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix*:

Espécie Botânica	Parte Botânica	Peso do Material (g)	Solventes	Peso de Extratos (g)
<i>Tabernaemontana</i>	Cascas das	920,0	a	17,4
<i>Hystrix</i>	raízes		b	17,8
			c	43,6

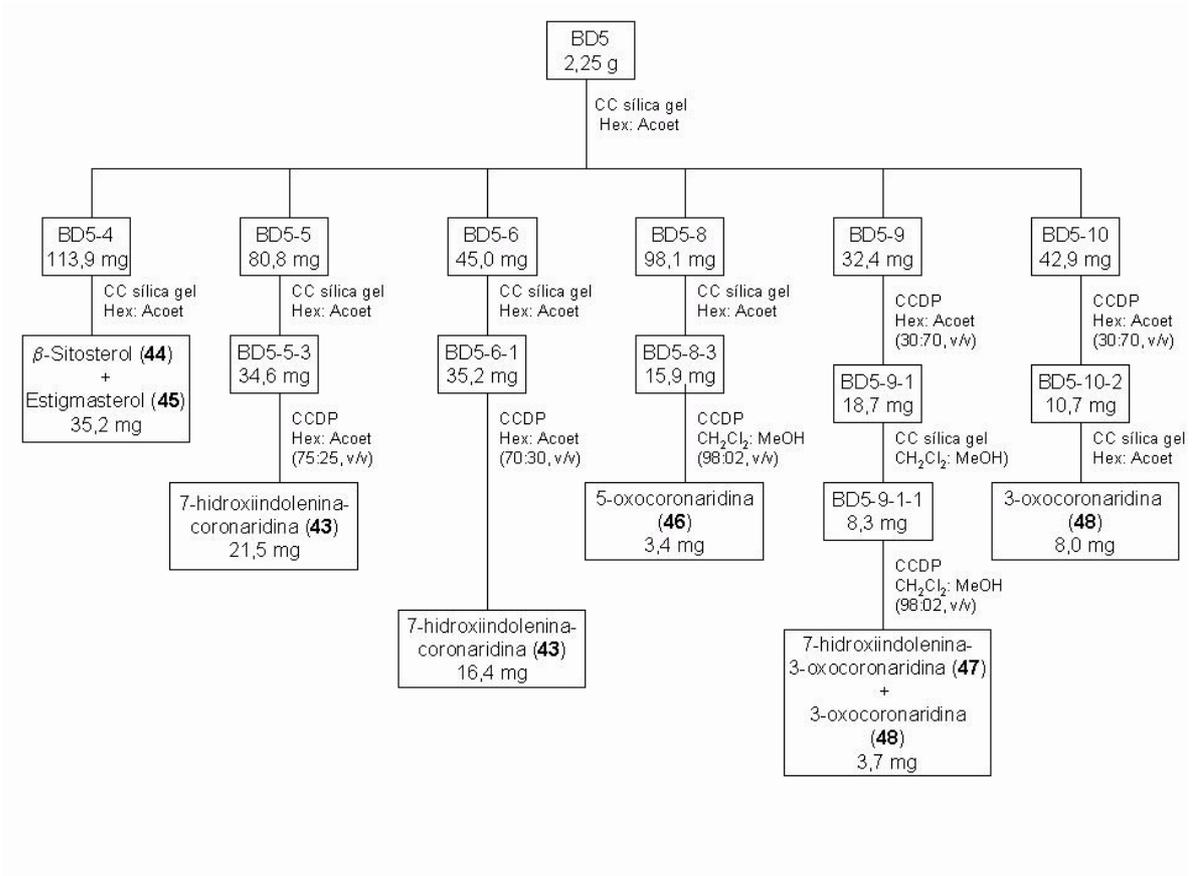
a - Hexano
b - Diclorometano
c - Metanol

4.2.7 – Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos isolados

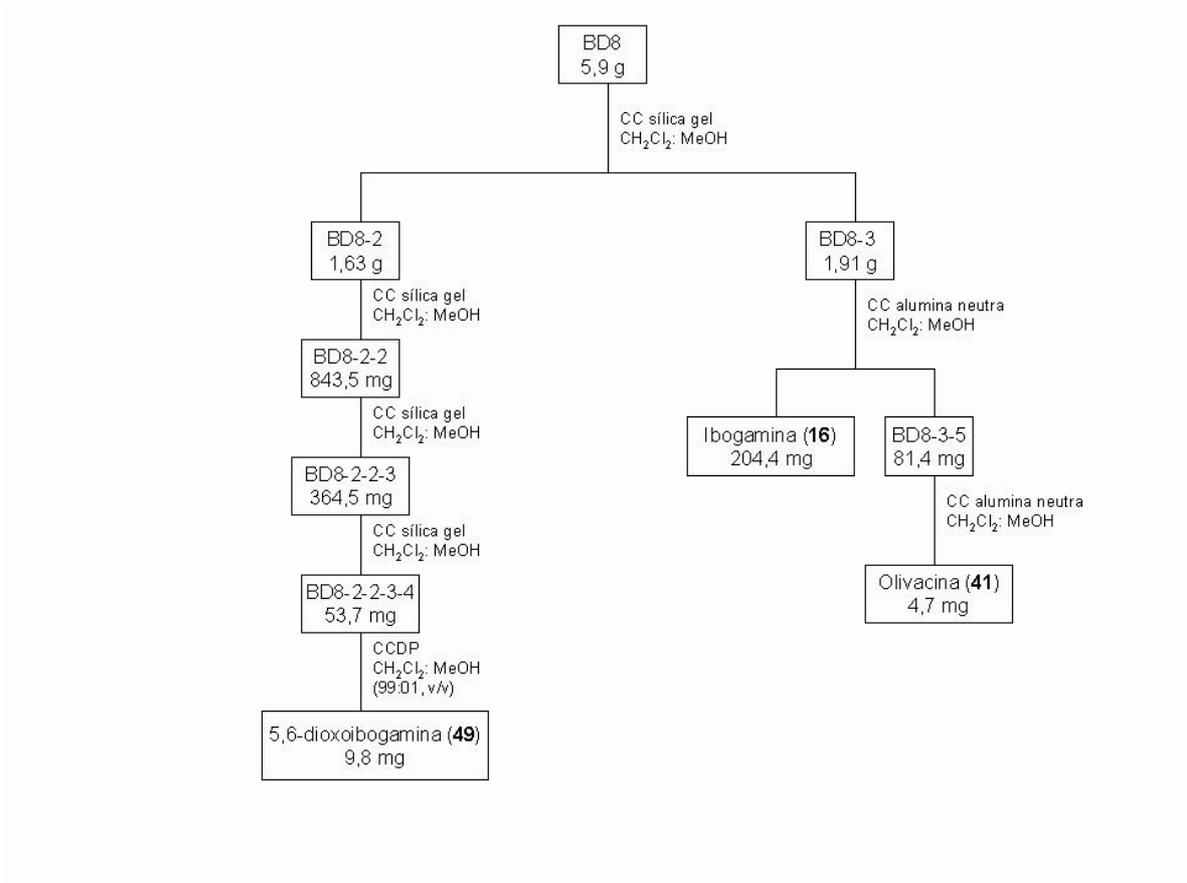
4.2.7.1 – Resumo dos constituintes químicos isolados do Extrato em Diclorometano das cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix* (18,50 g)



Fluxograma 01: Estudo cromatográfico do extrato em diclorometano



Fluxograma 02: Estudo cromatográfico da fração BD5



Fluxograma 03: Estudo cromatográfico da fração BD8

4.2.7.2 – Análises das frações obtidas do Extrato em Diclorometano (18,50 g) das cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix*

Inicialmente o extrato em diclorometano foi submetido a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, usando como eluente diclorometano puro, com gradiente de eluição até metanol puro, sendo coletadas 45 frações, que posteriormente foram reunidas em 10 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações está na **Tabela 02**.

Tabela 02: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (g)	
1	BD1	1,06	*
2-3	BD2	4,16	*
4-5	BD3	0,17	*
6-9	BD4	0,86	
10-15	BD5	2,25	
16-17	BD6	1,51	*
18-20	BD7	0,71	
21	BD8	5,90	
22-36	BD9	0,11	*
37-45	BD10	1,54	

* frações não estudadas por serem semelhantes as que foram estudadas

Análise da fração BD4 (0,86 g)

A fração BD4 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, utilizando como solvente hexano puro, com gradiente de eluição até hexano:acetato de etila (7:3, v/v), sendo coletadas 28 frações, que posteriormente foram reunidas em 07 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. A **Tabela 03** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 03: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1	BD4-1	39,6	*
2	BD4-2	7,8	*
3-4	BD4-3	27,5	*
5-8	BD4-4	171,7	*
9-18	BD4-5	504,7	
19-20	BD4-6	9,9	*
21-28	BD4-7	62,9	*

* frações não estudadas por estarem semelhantes à fração BD4-5

Análise da fração BD4-5 (504,7 mg)

Inicialmente a fração BD4-5 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, usando como eluente hexano puro, com gradiente de eluição até acetato de etila puro, onde foram coletadas 43 frações que posteriormente, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 04 novas frações. O estudo cromatográfico das frações está na **Tabela 04**.

Tabela 04: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1-12	BD4-5-1	8,9	*
13-14	BD4-5-2	15,6	*
15-38	BD4-5-3	361,9	*
39-43	BD4-5-4	29,8	

* frações não estudadas por não apresentarem teste positivo para alcalóides

Análise da fração BD4-5-4 (29,8 mg)

A fração BD4-5-4 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1mm de espessura), para ser purificada, sendo usado como eluente hexano:acetato de etila (83:17, v/v), onde foi coletada a fração BD4-5-4-2 com 6,3 mg [coronaridina (17)].

Análise da fração BD5 (2,25 g)

Inicialmente a fração BD5 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, onde foi usado como eluente hexano puro, com gradiente de eluição até acetato de etila puro, sendo coletadas 26 frações, que posteriormente foram reunidas em 10 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico destas frações está descrito na **Tabela 05**.

Tabela 05: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1-5	BD5-1	991,0	
6-8	BD5-2	254,7	*
9-10	BD5-3	171,4	*
11-13	BD5-4	113,9	
14-15	BD5-5	80,8	
16-17	BD5-6	45,0	
18-20	BD5-7	236,5	*
21-23	BD5-8	98,1	
24-25	BD5-9	32,4	
26	BD5-10	42,9	

* frações não estudadas por estarem semelhantes às frações estudadas

Análise da fração BD5-1 (991,0 mg)

A fração BD5-1 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo usado como eluente hexano:acetato de etila (85:15, v/v), com gradiente de eluição até Acetato de etila puro, sendo coletadas 32 frações que através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica foram reunidas em 06 novas frações. A **Tabela 06** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 06: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1-2	BD5-1-1	346,8	
3-10	BD5-1-2	228,0	*
11-16	BD5-1-3	8,2	*
17-27	BD5-1-4	25,5	
28-32	BD5-1-5	82,5	*

* frações não estudadas por não apresentarem teste positivo para alcalóides

Análise da fração BD5-1-1 (346,8 mg)

Foram retiradas da fração BD5-1-1 54,6 mg que foi purificada através de cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1 mm de espessura), utilizando como eluente hexano:acetato de etila (8:2, v/v), sendo coletada a fração BD5-1-1-4 com 25,9 mg [coronaridina (**17**)].

Análise da fração BD5-1-4 (25,5 mg)

A fração BD5-1-4 foi purificada em uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1 mm de espessura), utilizando como eluente hexano:acetato de etila (8:2, v/v), sendo coletada a fração BD5-1-4-1 com 13,4 mg [7-hidroxiindolenina-coraridina (**43**)].

Análise da fração BD5-4 (113,9 mg)

A fração BD5-4 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo usado como eluente hexano:acetato de etila (85:15, v/v), com gradiente de eluição até acetato de etila puro, sendo coletadas 29 frações que através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica foram reunidas em 06 novas frações. A **Tabela 07** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 07: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1-2	BD5-4-1	4,9	•
3	BD5-4-2	8,7	•
4	BD5-4-3	46,0	•
5-7	BD5-4-4	35,2	β -sitosterol (44) estigmasterol (45)
8-12	BD5-4-5	9,0	*
13-29	BD5-4-6	5,6	•

* fração não estudada por ser semelhante à fração BD5-4-4

• foi feita uma comparação por cromatografia em camada delgada analítica com um padrão do esteróide β -Sitosterol, e constatou-se a similaridade, sendo então, estas reunidas em uma nova fração (BD5-4).

Análise da fração BD5-5 (80,8 mg)

A fração BD5-5 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo usado como eluente hexano:acetato de etila (95:5, v/v), com gradiente de eluição até acetato de etila puro, onde foram coletadas 16 frações, que posteriormente foram reunidas em 03 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. A **Tabela 08** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 08: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1-2	BD5-5-1	11,3	*
3	BD5-5-2	13,1	*
4-5	BD5-5-3	34,6	

* frações não estudadas por não apresentarem testes positivos para alcalóides

Análise da fração BD5-5-3 (34,6 mg)

A fração BD5-5-3 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1mm de espessura), sendo usado como eluente hexano:acetato de etila (75:25, v/v), onde foi coletada a fração BD5-5-3-2 com 21,5 mg [7-hidroxiindolenina-coronaridina (**43**)].

Análise da fração BD5-6 (45,0 mg)

A fração BD5-6 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1mm de espessura) eluída com hexano:acetato de etila (7:3, v/v) onde foi coletada a fração BD5-6-1-2 com 16,4 mg [7-hidroxiindolenina-coronaridina (**43**)].

Análise da fração BD5-8 (98,1 mg)

A fração BD5-8 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo usado como eluente hexano puro, com gradiente de eluição até hexano:acetato de etila (3:7, v/v), sendo coletadas 25 frações que através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica foram reunidas em 03 novas frações. A **Tabela 09** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 09: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Códigos	Quantidade (mg)	
1-3	BD5-8-1	6,5	*
4-15	BD5-8-2	65,2	*
16-25	BD5-8-3	15,9	

* frações não estudadas por não apresentarem teste positivo para alcalóides

Análise da fração BD5-8-3 (15,9 mg)

A fração BD5-8-3 foi purificada em uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1 mm de espessura), utilizando como eluente diclorometano:metanol (98:2, v/v), sendo coletada duas frações BD5-8-3-1 e BD5-8-3-4, que foram reunidas, ficando com 3,4 mg [5-oxocoronaridina (**46**)].

Análise da fração BD5-9 (32,4 mg)

A fração BD5-9 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1mm de espessura), para purificação, onde foi usado como eluente diclorometano:metanol (98:2, v/v), sendo coletada a fração BD5-9-1-1-1 com 3,7 mg [7-hidroxiindolenina-3-oxocoronaridina (**47**) e 3-oxocoronaridina (**48**)].

Análise da fração BD5-10 (42,9 mg)

A fração BD5-10 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, eluída com hexano:acetato de etila (7:3, v/v), com gradiente de eluição até hexano:acetato de etila (4:6, v/v), onde foi coletada a fração BD5-10-2-2 com 8,0 mg [3-oxocoronaridina (**48**)].

Análise da fração BD7 (710,0 mg)

Inicialmente a fração BD7 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano com gradiente de eluição até metanol puro, onde foram coletadas 51 frações que, através de

comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 04 novas frações. A **Tabela 10** descreve o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 10: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1-8	BD7-1	28,1	*
9-17	BD7-2	78,5	*
18-27	BD7-3	547,1	
28-51	BD7-4	40,1	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD7-3

Análise da fração BD7-3 (482,1 mg)

A fração BD7-3 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, utilizando como eluente diclorometano com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (8:2, v/v), sendo coletadas 50 frações que foram reunidas em 06 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações coletadas está descrito na **Tabela 11**.

Tabela 11: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1	BD7-3-1	2,2	*
2-11	BD7-3-2	20,9	*
12-17	BD7-3-3	7,0	*
18-30	BD7-3-4	354,8	
31-33	BD7-3-5	53,1	*
34-50	BD7-3-6	19,2	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD7-3-4

Análise da fração BD7-3-4 (354,8 mg)

A fração BD7-3-4 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, utilizando como eluente diclorometano com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (8:2, v/v), sendo coletadas 47 frações que foram reunidas em 04 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações coletadas está descrito na **Tabela 12**.

Tabela 12: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
0	BD7-3-4-1	8,2	*
1-14	BD7-3-4-2	225,7	*
15-21	BD7-3-4-3	146,5	*
22-24	BD7-3-4-4	18,0	
25-45	BD7-3-4-5	25,5	*

* frações não estudadas por não apresentarem teste positivo para alcalóides

Análise da fração BD7-3-4-4 (146,5 mg)

Inicialmente a fração BD7-3-4-4 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (1:1, v/v), onde foram coletadas 21 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 04 novas frações. A **Tabela 13** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 13: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
0	BD7-3-4-4-1	10,8	*
1-2	BD7-3-4--4-2	42,6	
3-20	BD7-3-4--4-3	17,5	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD7-3-4--4-2

Análise da fração BD7-3-4-4-2 (42,6 mg)

A fração BD7-3-4-4-2 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1mm de espessura), para ser purificada, sendo utilizado como eluente diclorometano:metanol (99:1, v/v), onde foi coletada a fração BD7-3-4-4-2-2 com 4,7 mg [vobasina (21)].

Análise da fração BD8 (5,9 g)

Inicialmente a fração BD8 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até metanol puro, onde foram coletadas 47 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 06 novas frações. A **Tabela 14** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 14: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (g)	
1-11	BD8-1	0,076	*
12-20	BD8-2	1,63	
21-35	BD8-3	1,91	
36-40	BD8-4	0,67	*
41-44	BD8-5	0,83	*
45-47	BD8-6	0,17	*

* frações não estudadas por não apresentarem teste positivo para alcalóides

Análise da fração BD8-2 (1,6314 g)

Inicialmente a fração BD8-2 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (4:1, v/v), onde foram coletadas 22 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 04 novas frações. A **Tabela 15** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 15: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1-2	BD8-2-1	12,9	*
3-10	BD8-2-2	843,5	
11-19	BD8-2-3	645,6	*
20-22	BD8-2-4	23,5	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD8-2-2

Análise da fração BD8-2-2 (843,5 mg)

A fração BD8-2-2 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, utilizando como eluente diclorometano com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (1:1, v/v), sendo coletadas 24 frações que foram reunidas em 04 novas frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações está descrito na **Tabela 16**.

Tabela 16: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
0-6	BD8-2-2-1	25,7	*
7-13	BD8-2-2-2	8,2	*
14-18	BD8-2-2-3	364,5	
19-23	BD8-2-2-4	199,9	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD8-2-2-3

Análise da fração BD8-2-2-3 (364,5 mg)

A fração BD8-2-2-3 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (9:1, v/v), onde foram coletadas 27 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 05 novas frações. A **Tabela 17** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 17: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1-5	BD8-2-2-3-1	14,1	*
6-17	BD8-2-2-3-2	65,1	*
18-23	BD8-2-2-3-3	107,2	*
18-23	BD8-2-2-3-4	53,7	
24-27	BD8-2-2-3-5	78,1	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD8-2-2-3-4 e por se apresentarem em misturas complexas

Análise da fração BD8-2-2-3-4 (53,7 mg)

A fração BD8-2-2-3-4 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa (placa de 1mm de espessura), para ser purificada, sendo utilizado como eluente diclorometano:metanol (99:1, v/v), onde foi coletada a fração BD8-2-2-3-4-4 com 9,8 mg [5,6-dioxoibogamina (**49**)].

Análise da fração BD8-3 (1,91 g)

Inicialmente a fração BD8-3 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (1:1, v/v), onde foram coletadas 73 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 06 novas frações. A **Tabela 18** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 18: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1	BD8-3-1	204,4	Ibogamina (16)
2	BD8-3-2	22,6	*
3-29	BD8-3-3	894,2	*
30-32	BD8-3-4	21,4	*
33-38	BD8-3-5	81,4	
39-73	BD8-3-6	221,8	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD8-3-5 e por se apresentarem em misturas mais complexas

Análise da fração BD8-3-5 (81,4 mg)

Inicialmente a fração BD8-3-5 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com alumina neutra, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até diclorometano:metanol (7:3, v/v), onde foram coletadas 21 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 03 novas frações. A **Tabela 19** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 19: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1-2	BD8-3-5-1	4,7	Olivacina (41)
3	BD8-3-5-2	12,8	*
12-21	BD8-3-5-3	49,4	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD8-3-5-1

Análise da fração BD10 (1,5 g)

Inicialmente a fração BD10 foi submetida a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, sendo utilizado como eluente diclorometano puro com gradiente de eluição até metanol puro, onde foram coletadas 58 frações que, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica, foram reunidas em 05 novas frações, como mostra a **Tabela 20**.

Tabela 20: Estudo cromatográfico das frações coletadas:

Frações Reunidas	Código	Quantidade (mg)	
1-21	BD10-1	62,7	*
22-31	BD10-2	57,0	*
32-36	BD10-3	26,2	*
37-50	BD10-4	661,7	
51-58	BD10-5	603,8	*

* frações não estudadas por serem semelhantes à fração BD10-4

Análise da fração BD10-4 (661,7 mg)

A fração BD10-4 cristalizada foi submetida a várias lavagens com diclorometano, onde foi coletada uma fração BD10-4-1 com 49,1 mg [12-metoxivoachalotina (**50**)].

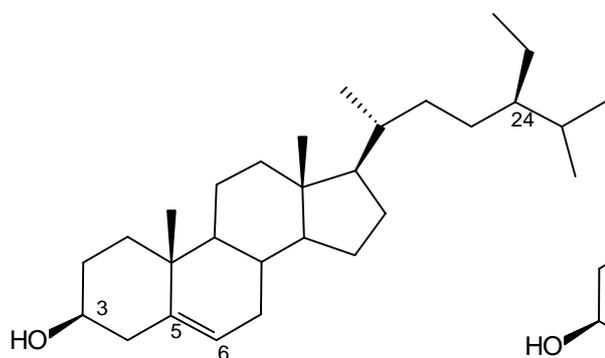
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 – Substâncias identificadas de *Tabernaemontana hystrix*

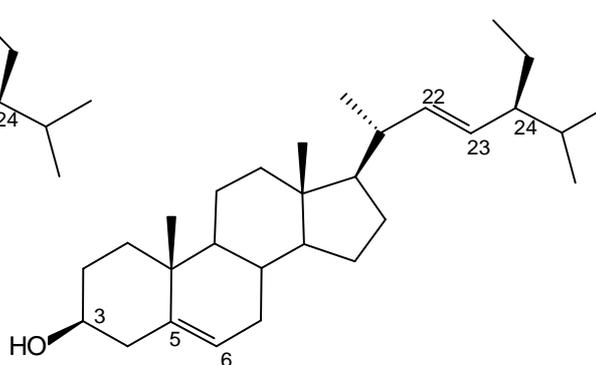
O estudo fitoquímico do extrato em diclorometano das cascas das raízes de *Tabernaemontana hystrix* permitiu o isolamento e a identificação de 12 substâncias: 2 esteróides e 10 alcalóides, sendo 2 inéditos na literatura até o presente momento.

Todos os alcalóides isolados deram teste positivo com o reagente de Dragendorff (MERCK, 1972).

5.1.1 – Esteróides isolados

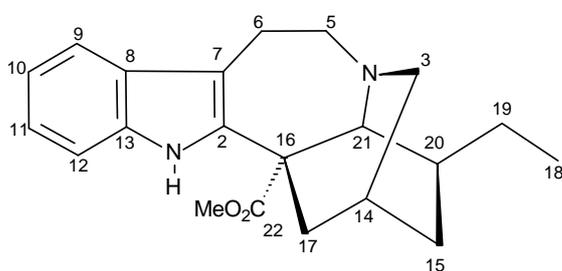


44

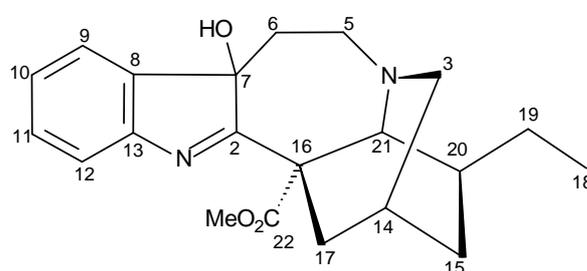


45

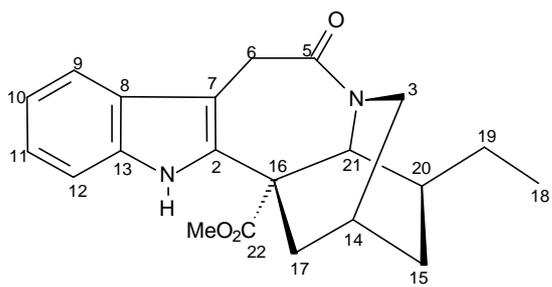
5.1.2 – Alcalóides isolados



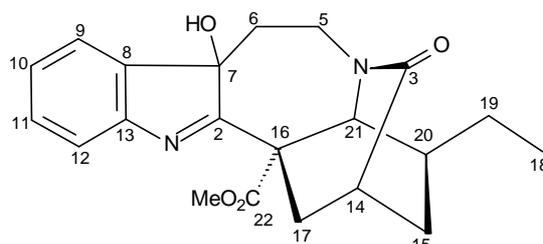
17



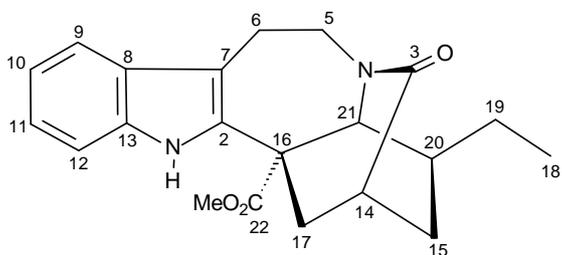
43



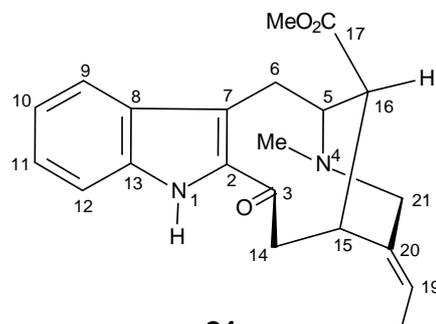
46



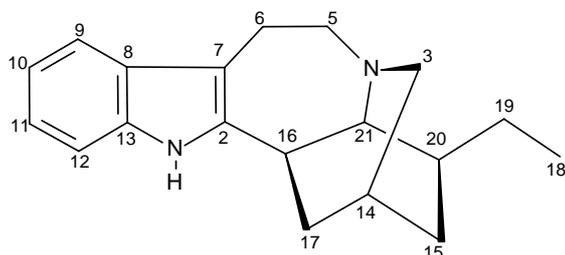
47



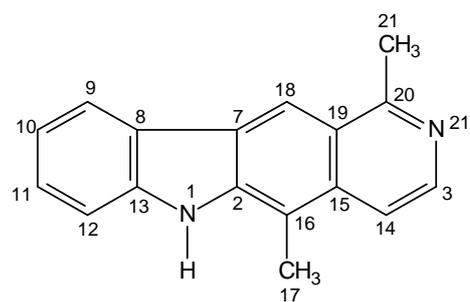
48



21

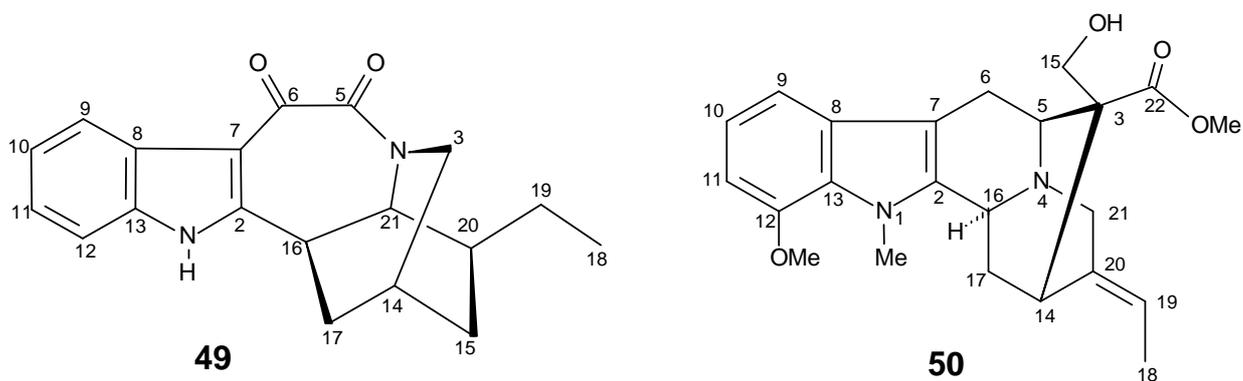


16



41

5.1.3 – Alcalóides inéditos isolados



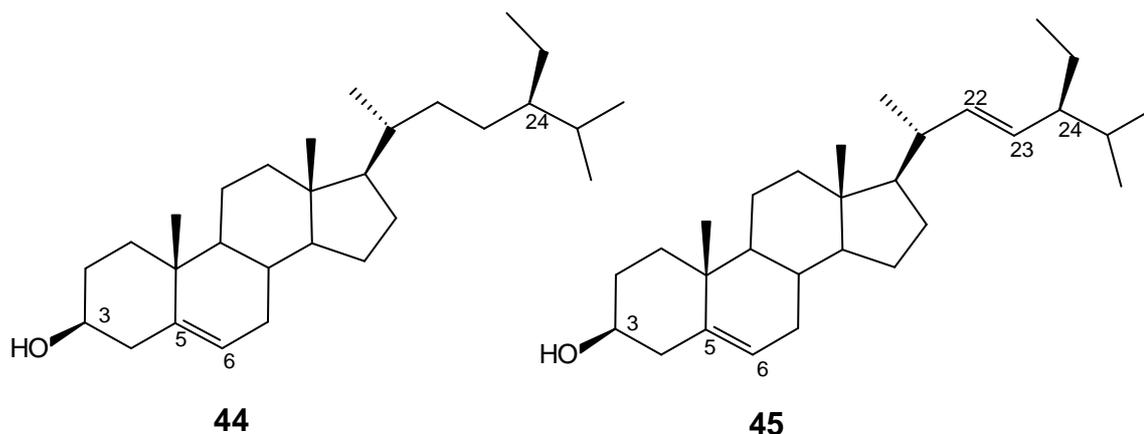
5.2 – Determinação Estrutural

5.2.1 – Esteróides

Os esteróides são freqüentemente encontrados no reino vegetal, sendo que os mais comuns desta classe de compostos são o β -sitosterol (**44**) e o estigmasterol (**45**).

No entanto, quase sempre estes compostos ocorrem em misturas devido às suas semelhanças estruturais dificultando suas separações, por isso, na maioria das vezes, suas identificações são feitas em misturas, através de RMN ^{13}C .

Esteróides 44 e 45 (Mistura)



A análise dos espectros de RMN ^1H (**Espectro 47 a 50, volume 2, páginas 109 a 112**) mostra uma mistura dos esteróides β -sitosterol (**44**) e o estigmasterol (**45**), o qual apresentou um duplete de linhas largas em δ_{H} 5,35, relativo ao hidrogênio H-6; um multiplete em δ_{H} 3,52 relativo ao hidrogênio H-3 e ainda um grande acúmulo de sinais intensos na região de δ_{H} 2,28 a 0,68 do espectro, relativos aos vários grupos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos do esqueleto esteroidal do β -sitosterol (**44**).

Através da análise do espectro de RMN ^1H da mistura, pôde-se ainda confirmar a presença do estigmasterol (**45**) notado pelas absorções dos hidrogênios vinílicos da cadeia lateral em δ_{H} 5,03 (dd, $J = 8,8$ e $15,4$ Hz, H-22) e 5,14 (dd, $J = 8,8$ e $15,2$ Hz, H-23).

A distinção entre o β -sitosterol (**44**) (SEO et al., 1988) e o estigmasterol (**45**), pode ainda ser confirmada pelos sinais no espectro de RMN ^{13}C em δ_{C} 121,78 e 140,83 (C-6 e C-5) de ambas estruturas e δ_{C} 129,35 e 138,39 (C-23 e C-22), presente apenas no estigmasterol (**45**) (**Espectro 51 a 56, volume 2, páginas 109 a 118**).

Os dados fornecidos pelos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C (**Espectros 47 a 56, volume 2, páginas 109 a 118**), permitiram uma completa atribuição dos sinais de cada esteróide com bastante coerência, além de comparação com os dados relatados na literatura para os dois esteróides (BREITEMEIER et al., 1987) o que colaborou para a confirmação das propostas estruturais apresentadas.

Tabela 24: Dados espectrais de RMN ^{13}C (100 MHz) dos esteróides β -sitosterol (**44**) e estigmasterol (**45**), em CDCl_3 . Os valores dos deslocamentos químicos δ estão em ppm.

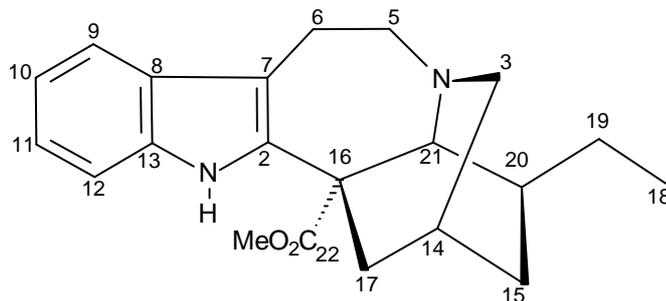
C	Sitosterol (44)	Estigmasterol (45)
1	37,29	37,29
2	31,94	31,94
3	71,83	71,83
4	42,35	42,35
5	140,80	140,80
6	121,70	121,70
7	34,00	34,00
8	31,94	31,94
9	50,20	50,20
10	36,54	36,16
11	21,10	21,10
12	39,82	39,82
13	42,35	42,35
14	56,81	56,81
15	24,32	24,32
16	28,9	28,9
17	56,12	56,12
18	11,99	11,99
19	19,39	19,39
20	39,82	39,82
21	18,79	19,06
22	31,94	138,29
23	26,19	129,30
24	45,90	50,20
25	29,68	31,70
26	19,80	21,2
27	19,80	19,80
28	23,12	25,4
29	11,87	11,99

5.2.2 – Alcalóides Indólicos Monoterpênicos

Na determinação estrutural dos alcalóides indólicos presentes no gênero *Tabernaemontana* levou-se em consideração informações sobre a quimiosistemática sobre esta classe de substâncias que nos forneceram indícios sobre os esqueletos carbônicos das substâncias isoladas neste gênero.

Como dito anteriormente os alcalóides indólicos monoterpênicos são derivados da strictosidina e grande parte destes apresentam um grupo carbometoxi. Outro dado importante que se pode observar é que a maioria dos alcalóides isolados no gênero *Tabernaemontana* pertence aos esqueletos do tipo plumerano, corinanteano (principalmente do sub-tipo vobasina), ibogano (principalmente do sub-tipo coronaridina) sendo este majoritário e característico do gênero, informações estas que são de grande valia na determinação estrutural dos alcalóides isolados na espécie *Tabernaemontana hystrix*.

Alcalóide 17



O alcalóide (17) foi isolado como um óleo amarelo claro.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (APT, **Espectro 18, volume 2, página ; Tabela 21, página 62**) do alcalóide (17) permitiu reconhecer a presença de vinte e um (21) átomos de carbono, sendo dois carbonos metílicos (um ligado a heteroátomo), seis carbonos metilênicos (todos sp^3 , e dois ligados a heteroátomo), sete carbonos metínicos (quatro sp^2 aromáticos, e três sp^3 , sendo um ligado a heteroátomo) e seis carbonos quaternários (um sp^3 e cinco sp^2 , dos quais um carbonílico) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 27, volume 2, página 82; Esquema 01, página 61**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z = 338$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$ para o alcalóide (17).

O espectro de RMN ^1H do alcalóide (17) (**Espectros 9 a 14, volume 2, páginas 64 a 69; Tabela 21, página 62**) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de grupos metila, metoxila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos e ainda a presença de um hidrogênio referente a grupamento amina (FRIEBOLIM, 1993). Apresentou também quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,47 (1H, d, $J = 7,7$ Hz; H-9); 7,14 (1H, td, $J = 7,0$ e 1,1 Hz; H-11); 7,09 (1H, td, $J = 7,0$ e 1,1 Hz; H-10); 7,23 (1H, d, $J = 7,7$ Hz; H-12) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986), confirmado através das correlações heteronucleares dos átomos de carbono metínicos (HMQC, **Espectro 21, volume 2, página**) através das correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 118,41)/H-9 (δ_{H} 7,47), CH-10 (δ_{C} 119,18)/H-10 (δ_{H} 7,09), CH-11 (δ_{C} 121,89)/H-11 (δ_{H} 7,14), CH-12 (δ_{C} 110,31)/H-12 (δ_{H} 7,23), juntamente com a presença de um sinal singlete largo a δ_{H} 7,86 referente a um hidrogênio de um

grupo H-N, confirmando a presença de um núcleo indólico livre de substituintes (AZOUG et al., 1995).

A presença do núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância (HMBC, **Espectro 25, volume 2, página 80**) através das correlações a entre CH-9 (δ_C 118,41)/H-11 (δ_H 7,14), CH-10 (δ_C 119,18)/H-12 (δ_H 7,23), CH-11 (δ_C 121,89)/H-9 (δ_H 7,47)/H-12 (δ_H 7,23), CH-12 (δ_C 110,31)/H-10 (δ_H 7,09)/ HN-1 (δ_H 7,86), C-2 (δ_C 136,54)/HN-1 (δ_H 7,86) e C-13 (δ_C 135,54)/H-9 (δ_H 7,47)/H-11 (δ_H 7,14) as demais correlações estão descritas na **Tabela 22, página 63**.

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 comum no esqueleto para alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), foi confirmada pela presença de um sinal singlete integrando para três hidrogênios em δ_H 3,71, relativo ao grupo OCH₃-22 (δ_C 52,54), juntamente com um sinal referente a um carbono carbonílico em δ_C 175,73. A localização deste grupo foi apoiada nos aspectos biossintéticos para os alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), e também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância (HMBC, **Espectro 23, volume 2, página 78**) através das correlações entre C-22 (δ_C 175,73)/OMe-22 (δ_H 3,71)/H-21 (δ_H 3,56)/H-17b (δ_H 2,57).

A presença de quatro sinais multipletos relativos aos dois grupos metilênicos acoplado entre si, 2H-5 [(δ_H 3,40, m, H-5b) e (δ_H 3,20, m, H-5a)] α ao átomo de nitrogênio, com 2H-6 [(δ_H 3,17, m, H-6b) e (δ_H 3,02, H-6a)], juntamente com os fragmentos com $m/z=$ 253 e $m/z=$ 214 (**Esquema 01, página 61**) corroboram na confirmação da proposta de um núcleo indólico livre de substituintes e com um grupo carbometoxi ligado ao átomo de carbono C-16.

A presença de dois sinais duplo dupletos largos foi inferida aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono C-3 ligado ao átomo de nitrogênio [comum no esqueleto para alcalóides do tipo ibogano (ZENK, 1980)] em δ_H 2,90 (H-3b) e 2,80 (H-3a) com $J \sim$ 8,4 e 3,7 Hz, juntamente com um sinal tripleto integrando para três hidrogênios em δ_H 0,90 com $J=$ 7,3 Hz relativo a um grupo metila apresentado no espectro de RMN ¹H (**Espectro 14, volume 2, página 69**), corroborado ainda pelo fragmento $m/z=$ 323 no espectro de massas (**Espectro 27, volume 2, página 82**), indicando a perda de 15 u.m.a., confirmando a presença deste grupo (**Esquema 01, página 61**).

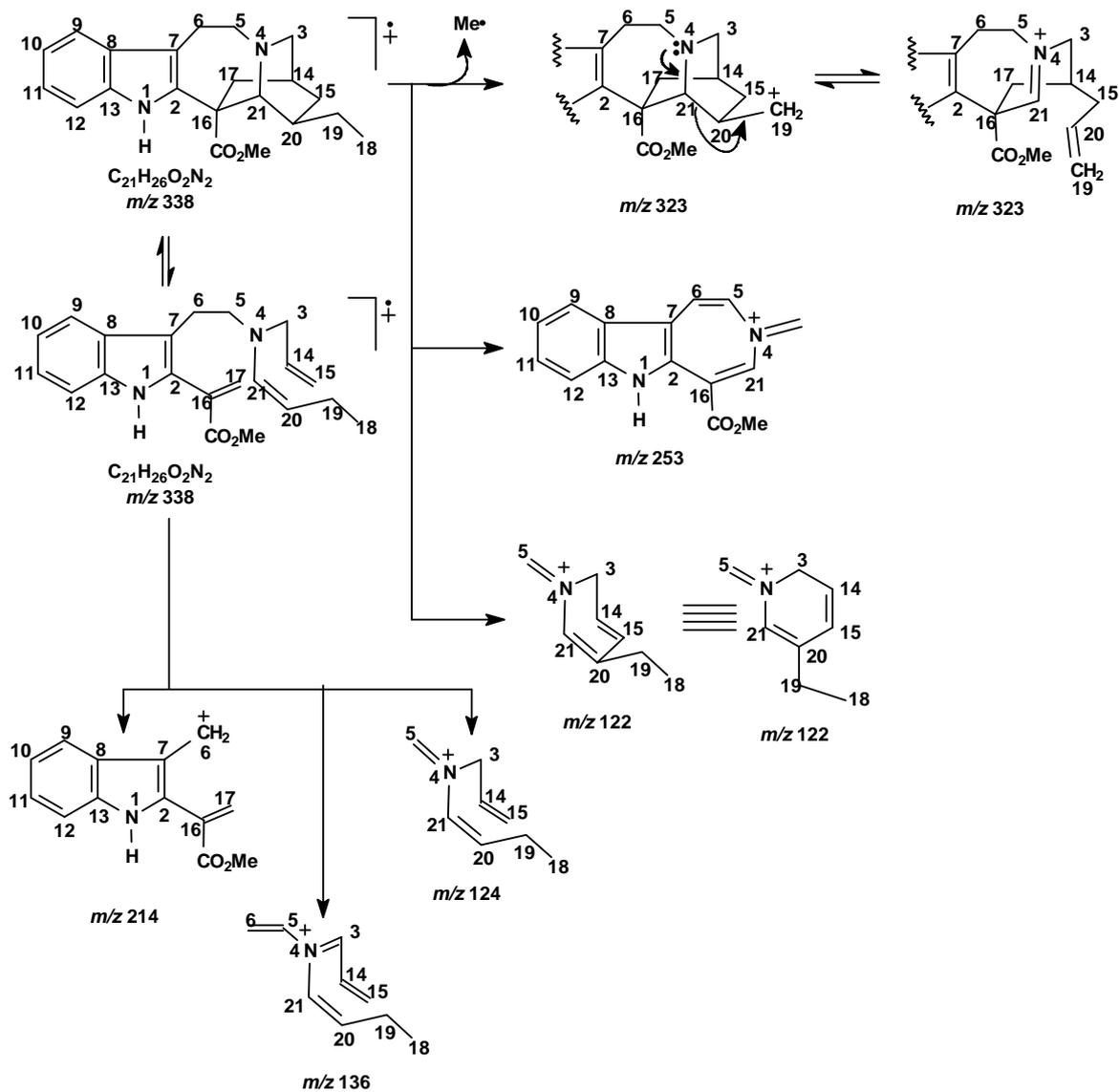
O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto ibogano e propor a estrutura **17** para o alcalóide isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C (APT) com dados da literatura para o alcalóide coronaridina (LOUNASMAA, 1986; MEDEIROS, 2003; SHAMMA, 1979).

Tabela 21: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) para o alcalóide (**17**) e comparação com os dados de literatura da coronaridina (LOUNASMAA, 1986; MEDEIROS, 2003; SHAMMA, 1979), em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz.

	17		Coronaridina
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
C			
2	135,54	-	136,5
7	110,26	-	110,3
8	128,77	-	128,8
13	136,54	-	135,6
16	55,06	-	55,1
22	175,73	-	175,9
CH			
9	118,41	7,47 (d, 7,7)	118,3
10	119,18	7,09 (dt, 7,0 e 1,1)	119,0
11	121,89	7,14 (dt, 7,0 e 1,1)	121,8
12	110,31	7,23 (d, 7,7)	110,3
14	27,33	1,88 (m)	27,2
20	39,10	1,33 (m)	38,9
21	57,45	3,56 (sl)	57,2
CH₂			
3	51,55	2,90 (dd, 8,4 e 3,7; H-3b) 2,80 (dd, 8,4 e 3,7; H-3a)	53,1
5	53,11	3,40 (m, H-5b); 3,20 (m, H-5a)	51,5
6	22,07	3,17 (m, H-6b); 3,02 (m, H-6a)	22,2
15	32,01	1,73 (m, H-15b); 1,13 (m, H-15a)	32,0
17	36,47	2,57 (d, 11,4; H-17b) 1,91 (m, H-17a)	36,3
19	26,71	1,57(dq, 7,0 e 7,0; H-19b) 1,45 (dq, 7,0 e 7,0; H-19a)	26,6
CH₃			
18	11,63	0,90 (t, 7,3)	11,6
MeO-22	52,54	3,71 (s)	52,4
HN-1	-	7,86 (s)	-

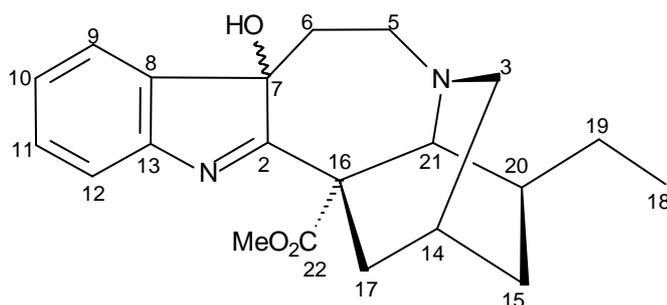
Tabela 22: Constantes de acoplamento a longa distância dos átomos de hidrogênio e carbono observados no espectro de HMBC do alcalóide coronaridina (**17**), em CDCl₃. Os deslocamentos químicos (δ) estão ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz.

17			
	δ_C	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C			
2	136,54	HN-1	H-21, 2H-6, 2H-17
7	110,26	2H-6	2H-5, H-9, HN-1
8	128,77	H-9	H-12, H-10, HN-1, 2H-6
13	135,54	-	H-11, H-9
16	55,06	H-21, 2H-17	H-20
22	175,73	-	H-21, OMe-22, H-17b
CH			
9	118,41	H-10	H-11
10	119,18	H-9	H-12
11	121,89	H-10, H-12	H-9
12	110,31	-	H-10, HN-1
14	27,33	2H-3, H-17b, 2H-15	-
20	39,10	H-21, 2H-19	Me-18
21	57,45	-	2H-19, 2H-5, H-3b
CH₂			
3	51,55	-	H-17b, 2H-15, 2H-5
5	53,11	2H-6	2H-3
6	22,07	2H-5	-
15	32,01	H-3a, H-20	2H-19, 2H-17, H-21
17	36,47	-	H-15a, 2H-3, H-21
19	26,71	Me-18, H-20	2H-15, H-21
CH₃			
18	11,63	2H-19	H-20
MeO-11	52,54		
MeO-22	-		



Esquema 01: Proposta mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 17.

Alcalóide 43



O alcalóide (**43**) apresentou-se como um sólido amorfo de cor castanha.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (APT, **Espectro 37, volume 2, página 96; Tabela 23, página 86**) do alcalóide (**43**) permitiu reconhecer a presença de vinte e um (21) átomos de carbono, sendo dois carbonos metílicos (um ligado a heteroátomo), seis carbonos metilênicos (todos sp^3 , e dois ligados a heteroátomo), sete carbonos metínicos (quatro sp^2 aromáticos, e três sp^3 , sendo um ligado a heteroátomo) e seis carbonos quaternários (dois sp^3 e quatro sp^2 , dos quais um carbonílico e um carbinólico) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 46, volume 2, página 105**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z= 354$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ para o alcalóide (**43**).

Os dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C do alcalóide **43** (**Espectros 28 a 36, volume 2, páginas 87 a 95 ; Tabela 23, p. 86**), quando comparado com o alcalóide (**17**) coronaridina, revelou que suas estruturas eram bastante semelhantes mostrando diferenças nos carbonos relativos ao núcleo indólico (anel B).

Em relação a coronaridina (**17**), notou-se no espectro de RMN ^1H (**Espectros 28 e 29, volume 2, páginas 87 e 88; Tabela 23, página 86**) a ausência do sinal singlete, relativo ao grupo HN-1 no alcalóide **43**.

No espectro de massas, onde o fragmento de $m/z= 337$ $[\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{N}_2]^+$ é obtido através da eliminação de um fragmento de 17 u.m.a. (HO^\bullet) (**Espectro 46, volume 2, página 105**) vem corroborar com a proposta da presença de um grupo hidroxila ligado a um átomo de carbono no núcleo indólico no anel B.

A localização deste grupo hidroxila na posição C-7 deve-se ao fato de que o sinal relativo ao carbono C-7 localizado em $\delta_{\text{C}} 110,26$ (sp^2) para o alcalóide (**17**), agora se encontra em $\delta_{\text{C}} 88,32$ (sp^3) no alcalóide (**43**) no espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 34,**

volume 2, página 93; Tabela 23, página 86), valor característico para átomos de carbono quaternário carbinólico (NIELSEN et al., 1994; AZOUG et al., 1995).

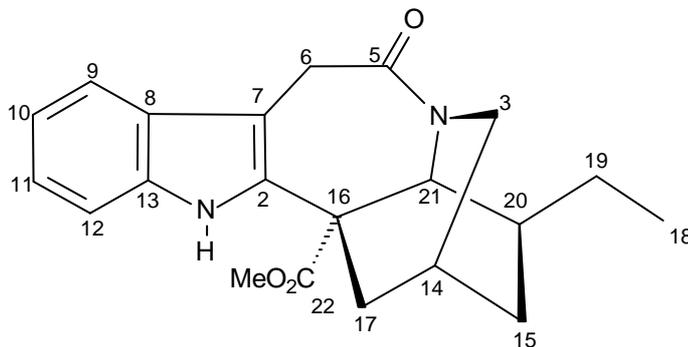
A localização da hidroxila foi apoiada nas correlações à longa distância do carbono C-7 (δ_C 88,32) com os hidrogênios H-6a (δ_H 1,86, 2J), H-9 (δ_H 7,34, 3J) e H-5b (δ_H 3,51, 3J), observadas no espectro de HMBC (**Tabela 23, página 86; Espectro 40, volume 2, página 99**). As demais correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela 23, página 86**.

Portanto, o conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto ibogano e propor a estrutura **43** para o alcalóide isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN 1H e ^{13}C (**Tabela 23, página 86; Espectros 28 e 34, volume 2, páginas 87 e 93**) com dados da literatura para o alcalóide 7-hidroxiindolenina-coronaridina (NIELSEN et al., 1994; AZOUG et al., 1995).

Tabela 23: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) para o alcalóide (**43**) e comparação com os dados de literatura para a 7-hidroxiindolenina-coronaridina (*) (NIELSEN et al., 1994; AZOUG et al., 1995), em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz.

	HMQC		HMBC		*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
C					
2	189,25	-		H-6a; 2H-17; H-21	189,7
7	88,32	-		H-5b; H-6a; H-9	88,8
8	142,63	-		H-10; H-12	143,1
13	151,28	-		H-9; H-11	151,8
16	58,70	-	H-17a; H-21		59,0
22	173,68	-		H-17a; H-21; MeO-22	-
CH					
9	121,41	7,34 (d, 7,7)		H-11	121,3
10	126,77	7,23 (tl, 7,0)		H-12	127,3
11	129,15	7,31 (dt, 7,7 e 1,6)		H-9	129,9
12	120,81	7,46 (d, 7,7)		H-10	121,7
14	26,98	1,95 (m)	2H-3; H-17a	H-20	27,5
20	37,54	1,40 (m)	H-15b; 2H-19; H-21	3H-18	38,0
21	58,36	3,81		H-5b; 2H-17, 2H-19	58,9
CH₂					
3	48,67	2,74 (m)		H-17a; H-21	49,2
5	49,04	3,51 (dt, 14,6, 2,9) 2,97 (dd, 14,6, 3,3)	H-6b	2H-3; H-21	49,5
6	33,84	2,00 (ddd) 1,86 (ddd)	H-5a		34,3
15	32,00	1,78 (m) 1,10 (m)	H-20	2H-3; 2H-17; 2H-19	32,5
17	34,76	2,75 (m) 2,48 (ddd, 11,4, 4,4 e 2,0)		2H-3; H-15b; H-21	35,3
19	26,49	1,45 (m) 1,40 (m)	3H-18	H-21	27,0
CH₃					
18	11,53	0,87 (d, 7,0)	2H-19		12,1
MeO-22	53,18	3,70 (s)			53,7

Alcalóide 46



O alcalóide **46** foi isolado como um óleo amarelo claro.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , **Espectro 63, volume 2, página 132; Tabela 25, páginas 124**) do alcalóide **46** permitiu reconhecer a presença de vinte e um (21) átomos de carbono, sendo dois carbonos metílicos (um ligado a heteroátomo), cinco carbonos metilênicos (todos sp^3 , e um ligado a heteroátomo), sete carbonos metínicos (quatro sp^2 aromáticos, e três sp^3 , sendo um ligado a heteroátomo) e sete carbonos quaternários (um sp^3 e cinco sp^2 , dos quais dois carbonílicos) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 86, volume 2, páginas 154**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z = 352$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ para o alcalóide **46**.

O espectro de RMN ^1H do alcalóide **46** (**Espectros 61 a 64, volume 2, páginas 130 a 133; Tabela 25, página 130**) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de grupos metila, metoxila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos, e ainda a presença de um hidrogênio referente a grupamento amina (FRIEBOLIM, 1993; SILVERSTEIN, 1998).

O espectro de RMN ^1H (**Espectro 61, volume 2, página 130; Tabela 25, página 124**) e de ^1H - ^1H -COSY (**Espectro 79, volume 2, página 148**) do alcalóide **46** apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos acoplando entre si a δ_{H} 7,60 (1H, dl, $J = 7,8$ Hz; H-9); 7,22 (1H, dd, $J = 7,8$ e $7,6$ Hz; H-11); 7,18 (1H, tl, $J = 7,8$ Hz; H-10); 7,31 (1H, dl, $J = 7,6$ Hz; H-12) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986), confirmado através das correlações heteronucleares dos átomos de carbono metínicos através das correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 119,09)/H-9 (δ_{H} 7,60), CH-10 (δ_{C} 120,48)/H-10 (δ_{H}

7,18), CH-11 (δ_C 122,83)/H-11 (δ_H 7,22), CH-12 (δ_C 111,15)/H-12 (δ_H 7,31), apresentadas no espectro de HMQC (**Espectro 65, volume 2, página 134; Tabela 25, página 124**), juntamente com a presença de um sinal singleto largo a δ_H 9,16 presente no espectro de RMN 1H (**Espectro 57, volume 2, página 126; Tabela 25, página 124**), referente a um hidrogênio de um grupo HN-1, confirmando a presença de um núcleo indólico livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986).

A presença do núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 70, volume 2, página 139; Tabela 25, página 124**) através das correlações a entre CH-9 (δ_C 119,09)/H-11 (δ_H 7,22), CH-10 (δ_C 120,48)/H-12 (δ_H 7,31), CH-11 (δ_C 122,83)/H-9 (δ_H 7,60), C-12 (δ_C 111,15)/H-10 (δ_H 7,18), C-7 (δ_C 104,15)/HN-1 (δ_H 9,16)/H-9 (δ_H 7,60), e C-13 (δ_C 135,58)/H-9 (δ_H 7,60)/H-11 (δ_H 7,22) as demais correlações estão descritas na **Tabela 25, página 124**.

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 comum no esqueleto para alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), foi confirmada pela presença de um sinal singleto integrando para três hidrogênios em δ_H 3,76, relativo ao grupo OCH₃-22 (δ_C 53,29), juntamente com um sinal referente a um carbono carbonílico em δ_C 174,51. A localização deste grupo foi apoiada nos aspectos biossintéticos para os alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), e também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 76, volume 2, página 145; Tabela 25, página 124**) através das correlações a entre C-22 (δ_C 174,51)/OMe-22 (δ_H 3,76).

Análise dos espectros de RMN ^{13}C (**Espectro 61, volume 2, página 130; Tabela 25, página 124**) permitiu reconhecer a presença de um sinal em δ_C 175,83 que é coerente com o deslocamento químico de um grupo carbonila de éster (posteriormente observado tratar-se de uma lactama).

A ausência de quatro sinais multipletos relativos aos dois grupos metilênicos acoplado entre si, 2H-5 [(H-5b) e (H-5a)] α ao átomo de nitrogênio, com 2H-6 [(H-6b) e (H-6a)] presente nos alcalóides **17** e **43**, descritos anteriormente, sugere da proposta de um núcleo indólico livre de substituintes, mas com a presença de uma grupo carbonila ligado ao átomo de carbono C-5.

A posição da carbonila em δ_C 175,73 ligada ao átomo de carbono C-5, formando uma lactama com N-4, foi confirmada pela suas correlações a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 70, volume 2, página 138; Tabela 25,**

página 124) com os hidrogênios H-6a (δ_H 3,82)/H-6b (δ_H 4,15) e com H-21 (δ_H 4,59), e também principalmente pela correlação a três ligações (3J) entre o átomo de carbono quaternário C-8 (δ_C 128,01) com os dois hidrogênios 2H-6 [H-6a (δ_H 3,82) e H-6b (δ_H 4,15)].

A presença de dois sinais dupletos largos foi inferida aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono C-3 ligado ao átomo de nitrogênio [comum no esqueleto para alcalóides do tipo ibogano (ZENK, 1980)] em δ_H 3,67 (H-3b) e 3,19 (H-3a) com $J \sim 11,9$ Hz, confirmando que a posição C-3 está livre de substituintes.

A presença de um sinal tripleto integrando para três hidrogênios em δ_H 1,04 com $J = 7,3$ Hz relativo a um grupo metila na parte alifática da molécula, apresentado no espectro de RMN 1H (**Tabela 25, página 124; Espectro 60, volume 2, página 129**) corroborado ainda pelo fragmento $m/z = 337$ no espectro de massas (**Espectro 86, volume 2, página 155**) indicando a perda de 15 u.m.a., confirmando a presença deste grupo livre de oxidação.

Outros sinais referentes à cadeia alifática foram confirmados pelos espectros de correlação heteronuclear citados na **Tabela 25, página 124**, e por comparação com os dados observados para coronaridina (**17**).

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto ibogano e propor a estrutura (**46**) para o alcalóide isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN 1H e ^{13}C (DEPT 135°) com dados da literatura (RASTOGI, 1980) para o alcalóide 5-oxocoronaridina.

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para (**46**) foi feita com base em dados biogênicos, visto que todos os alcalóides com esqueleto do tipo ibogano isolados de espécies do gênero *Tabernaemontana* apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em (**46**) (DANIELI & PALMISANO, 1986), e confirmadas pelo espectro de 1H - 1H -NOESY (**Espectro 83, volume 2, página 152; Tabela 26, página 124**).

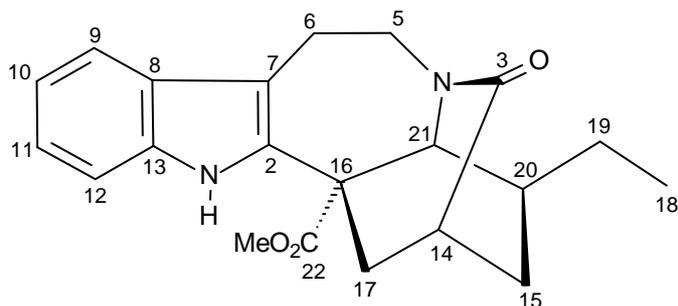
Tabela 25: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância **46**, em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm, constantes de acoplamento (J) entre parênteses.

HMQC			HMBC	
C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	136,78	-		2H-6; H-21
5	175,83	-	2H-6	
7	104,15	-	2H-6	HN-1; H-9
8	128,01	-		2H-6
13	135,58	-		H-9; H-11
16	50,75	-	H-21	
22	174,51	-		MeO-22
CH				
9	119,09	7,60 (dl, 7,8)		H-11
10	120,48	7,18 (tl, 7,8)		H-12
11	122,83	7,22 (dd, 7,8 e 7,6)		H-9
12	111,15	7,31 (dl, 7,6)		H-10
14	28,29	2,22 (sl)		
20	35,85	1,85 (m)	2H-19	3H-18
21	53,46	4,59 (sl)		
CH₂				
3	48,63	3,67 (td, 11,9) 3,19 (dl, 11,9)		H-21
6	32,90	4,15 (d, 15,4) 3,82 (d, 15,4)		
15	30,27	1,87 (m) 1,40 (dl, 11,9)		H-19a; H-21
17	34,81	2,96 (dl, 13,8) 1,72 (m)		H-3b; H-21
19	28,94	1,64 (m) 1,55 (m)	3H-18	
CH₃				
18	12,43	1,04 (t, 7,3)		
MeO-22	53,29	3,76 (s)		
HN-1	-	9,16 (sl)		

Tabela 26: Dados de ^1H - ^1H NOESY (500 MHz), em CDCl_3 , do alcalóide **46**. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

H-3a	H-14 H-17b
H-3b	H-14 H-15b H-19a H-19b
H-15	H-14 3H-18
H-17a	H-14 H-15a
H-21	3H-18 H-20 H-19a H-15a
3H-18	H-19a H-19b

Alcalóide 48



O alcalóide **48** foi isolado do como um óleo castanho claro.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (APT, **Espectro 116, volume 2, página 192; Tabela 29, página 183**) do alcalóide **48** permitiu reconhecer a presença de vinte e um (21) átomos de carbono, sendo dois carbonos metílicos (um ligado a heteroátomo), cinco carbonos metilênicos (todos sp^3 , e um ligado a heteroátomo), sete carbonos metínicos (quatro sp^2 aromáticos, e três sp^3 , sendo um ligado a heteroátomo) e sete carbonos quaternários (um sp^3 e cinco sp^2 , dos quais dois carbonílicos) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 127, volume 2, página 203**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z=352$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ para o alcalóide **48**.

O espectro de RMN ^1H do alcalóide **48** (**Espectros 108 a 112, volume 2, páginas 184 a 188; Tabela 29, página 183**) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de grupos metila, metoxila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos, e ainda a presença de um hidrogênio referente a grupamento amina (FRIEBOLIM, 1993; SILVERSTEIN, 1998).

O espectro de RMN ^1H (**Espectro 109, volume 2, página 185; Tabela 29, página 183**) e de ^1H - ^1H -COSY (**Espectro 125, volume 2, página 201**) do alcalóide **48** apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos acoplando entre si a δ_{H} 7,47 (1H, d, $J=8,0$ Hz; H-9); 7,15 (1H, t, $J=8,0$ Hz; H-11); 7,09 (1H, t, $J=8,0$ Hz; H-10); 7,24 (1H, d, $J=8,0$ Hz; H-12) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986), confirmado através das correlações heteronucleares dos átomos de carbono metínicos através das correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 118,37)/H-9 (δ_{H} 7,47), CH-10 (δ_{C} 119,61)/H-10 (δ_{H} 7,09), CH-11 (δ_{C} 122,39)/H-11 (δ_{H} 7,15), CH-12 (δ_{C} 110,57)/H-12 (δ_{H} 7,24), apresentadas no espectro de HMQC (**Tabela 29, página 183; Espectro 119, volume 2, página 195**), juntamente com a presença de um sinal singlete largo a δ_{H} 8,00

presente no espectro de RMN ^1H (**Espectro 109, volume 2, página 185; Tabela 29, página 183**), referente a um hidrogênio de um grupo HN-1, confirmando a presença de um núcleo indólico livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986).

A presença do núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Tabela 29, página 183; Espectro 122, volume 2, página 198**) através das correlações a entre CH-9 (δ_{C} 118,37)/H-11 (δ_{H} 7,15), CH-10 (δ_{C} 119,61)/H-12 (δ_{H} 7,24), CH-11 (δ_{C} 122,39)/H-9 (δ_{H} 7,47), C-12 (δ_{C} 110,57)/H-10 (δ_{H} 7,09), C-7 (δ_{C} 109,40)/HN-1 (δ_{H} 8,00) e C-13 (δ_{C} 135,68)/H-9 (δ_{H} 7,47)/H-11 (δ_{H} 7,15) as demais correlações estão descritas na **Tabela 29, página 183**.

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 comum no esqueleto para alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), foi confirmada pela presença de um sinal singleto integrando para três hidrogênios em δ_{H} 3,73, relativo ao grupo OCH_3 -22 (δ_{C} 53,01), juntamente com um sinal referente a um carbono carbonílico em δ_{C} 173,05. A localização deste grupo foi apoiada nos aspectos biossintéticos para os alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), e também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Tabela 29, página 183; Espectro 124, volume 2, página 200**) através das correlações entre C-22 (δ_{C} 173,05)/OMe-22 (δ_{H} 3,73).

Análise do espectro de RMN ^{13}C (**Tabela 29, página 183; Espectro 114, volume 2, página 190**) permitiu reconhecer a presença de um sinal em δ_{C} 175,76 coerente com deslocamento químico de um grupo carbonila de éster (posteriormente observado tratar-se de uma lactama).

O desaparecimento do sinal relativo aos dois hidrogênios ligados ao átomo de carbono C-3, e a modificação no deslocamento químico do hidrogênio H-14, em relação ao alcalóide coronaridina (**17**), juntamente com os dados obtidos do espectro de massas (**Espectro 127, volume 2, página 203**), bem como a análise dos espectros de RMN ^{13}C (APT, **Espectro 116, volume 2, página 192; Tabela 29, página 183**), HMQC (**Espectro 118, volume 2, página 194; Tabela 29, página 183**) e HMBC (**Espectro 121, volume 2, página 197; Tabela 29, página 183**) (*vide infra*) levou à proposta estrutural do alcalóide isolado, como **48**.

A posição da carbonila a δ_{C} 175,76 no carbono C-3, formando uma lactama com N-4, foi confirmada pela suas correlações a $^3J_{\text{CH}}$ no espectro de HMBC (**Espectro 124, volume 2, página 200; Tabela 29, página 183**) com o hidrogênio H-21 (δ_{H} 4,52).

Outros sinais referentes à cadeia alifática e ao grupamento éster metílico foram confirmados pelos espectros de correlação heteronuclear citados (**Tabela 29, página 183**), e comparação com os dados observados para coronaridina (**17**), e também com os da literatura para 3-oxoisovoacangina (MEDEIROS, 2003).

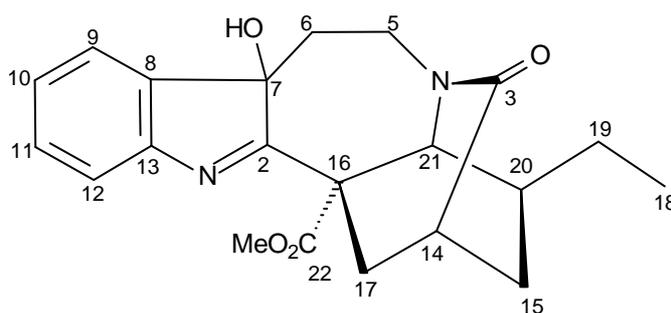
O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto ibogano e propor a estrutura **48** para o alcalóide isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C com dados da literatura (LOUNASMAA, 1986; FENG, 1982) para o alcalóide 3-oxocoronaridina (**48**).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para (**48**) foi feita com base em dados biogênicos, visto que todos os alcalóides com esqueleto do tipo ibogano isolados de espécies do gênero *Tabernaemontana* apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em (**46**) (DANIELI & PALMISANO, 1986).

Tabela 29: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) da substância **48**, em CDCl_3 , e comparação com dados de RMN ^{13}C para o alcalóide 3-oxoisovoacangina (*) (MEDEIROS, 2003). Os deslocamentos químicos (δ) em ppm, constantes de acoplamento (J) entre parênteses.

	HMQC		HMBC		*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}
C					
2	133,83	-		H-6a, H-17a	132,44
3	175,76	-		H-21	175,74
7	109,40	-		HN-1	109,13
8	127,82	-		HN-1; H-10; H-12	122,17
13	135,68	-		H-9; H-11	136,43
16	55,53	-			55,47
22	173,05	-		H-17a; MeO-22	173,07
11	-	-			156,67
CH					
9	118,37	7,47 (d, 8,0)		H-11	118,91
10	119,61	7,09 (t, 8,0)		H-12	109,44
11	122,39	7,15 (t, 8,0)		H-9	-
12	110,57	7,24 (d, 8,0)		H-10	94,31
14	38,18	2,63	H-17a		38,17
20	35,47	1,75		3H-18	35,44
21	56,10	4,52 (s)		H-5a	56,19
CH₂					
5	42,68	4,48 (m) 3,21 (m)		H-21	42,70
6	21,04	3,25 – 3,19 (m)			21,11
15	30,98	2,00 (m) 1,40 (m)		H-17a; 3H-19; H-21	30,98
17	35,89	2,66 (m)			35,71
19	27,61	2,32 (dd, 12,4 e 3,0) 1,55 – 1,37	3H-18	H-21	27,57
CH₃					
18	11,35	0,98 (t, 7,3)	2H-19		11,27
MeO-22	53,01	3,73 (s)			52,85
HN-1	-	8,00			-

Alcalóide 47



O alcalóide **47** foi isolado em mistura como um óleo castanho claro.

Os dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (**Espectros 87 a 91, volume 2, páginas 159 a 163; Tabelas 27 e 28, páginas 158 e 159**) do alcalóide **47** quando comparado com o alcalóide 3-oxocoronaridina (**48**) revelaram que suas estruturas eram bastantes semelhantes, mostrando diferenças nos carbonos relativos ao núcleo indólico (anel B).

Em relação ao alcalóide (**47**), notou-se no espectro de RMN ^1H (**Espectro 87, volume 2, página 159; Tabela 27, página 158**) de um dos alcalóides presente na mistura, a ausência do sinal singlete, relativo ao grupo HN-1 no alcalóide **47**, semelhante ao alcalóide 7-hidroxiindoleninacoronaridina (**43**), onde se observou a presença de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono C-7.

A localização deste grupo hidroxila na posição C-7, em dos componentes da mistura, deve-se ao fato de que o sinal relativo ao carbono C-7 localizado em δ_{C} 109,42 (sp^2) para o alcalóide (**48**), agora se encontra em δ_{C} 88,41 (sp^3) no alcalóide (**47**), valor característico para átomos de carbono quaternário carbinólico (SUBHADHIRASAKUL et al., 1994).

A localização da hidroxila foi apoiada nas correlações à longa distância do carbono C-7 (δ_{C} 88,41) com os hidrogênios H-6a (δ_{H} 1,73, ^2J) e H-5a (δ_{H} 3,35, ^3J), observadas no espectro de HMBC (**Espectro 96, volume 2, página 168; Tabela 27, página 158**). As demais correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela 27, página 158**.

Observou-se através dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H -COSY, HMQC e HMBC (**Tabelas 27 e 28, páginas 158 e 159; Espectros 87 a 107, volume 2, páginas 159 a 179**) que o alcalóide **47** encontra-se em mistura com o alcalóide **48**.

Portanto, a estrutura do alcalóide (**47**) foi estabelecida como a 7-hidroxiindolenina-3-oxocoronaridina (**47**) em mistura com a 3-oxocoronaridina (**48**).

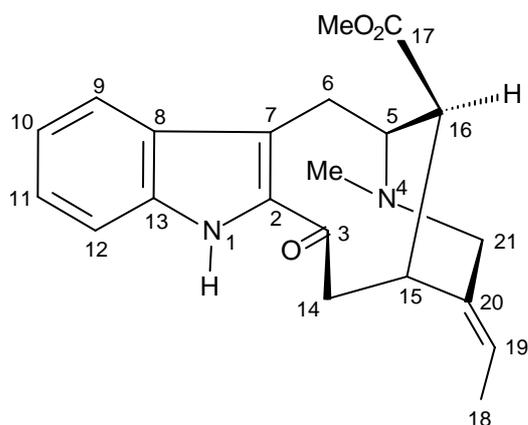
Tabela 27: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) para o alcalóide **47**, em mistura em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) em ppm, constantes de acoplamento (J) entre parênteses.

	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	186,68	-		H-6a; H-17a; H-21
3	175,70	-		H-15a; 2H-17; H-21
7	88,41	-	H-6a	H-5a
8	141,24	-		H-10; H-12
13	151,00	-		H-9; H-11
16	59,56	-	2H-17; H-21	
22	171,84	-		H-17a; MeO-22
CH				
9	121,72	7,40 (m)		H-11
10	127,23	7,31 (t, 7,6)		H-12
11	129,77	7,35 (t, 7,6)		H-9
12	121,20	7,51 (m)		H-10
14	38,17	2,60 (m)		
20	34,81	1,70 (m)		3H-18
21	61,31	4,77 (s)		H-5a
CH₂				
5	43,67	4,37 (dd, 13,5 e 5,1) 3,35 (dd, 13,5 e 2,8)		H-21
6	37,57	2,30 (td, 13,4) 1,73 (m)		
15	30,54	2,06 (m) 1,40 (m)		H-17a; 2H-19; H-21
17	35,12	3,00 (d, 13,5) 2,60 (m)		H-21
19	27,62	1,50 – 1,39 (m)	3H-18	H-21
CH₃				
18	11,35	1,03 (t, 7,4)	2H-19	
MeO-22	52,60	3,81 (s)		
HN-1		-		

Tabela 28: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) para o alcalóide **48**, em mistura em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) em ppm, constantes de acoplamento (J) entre parênteses.

	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	133,81	-		H-6a, H-17a
3	175,77	-		H-21
7	109,42	-		HN-1
8	127,82	-		HN-1; H-10; H-12
13	135,66	-		H-9; H-11
16	55,53	-		
22	173,04	-		H-17a; MeO-22
CH				
9	118,37	7,53 (m)		H-11
10	119,62	7,14 (t, 7,6)		H-12
11	122,40	7,20 (t, 7,6)		H-9
12	110,37	7,30 (m)		H-10
14	38,19	2,66 (m)	H-17a	
20	35,47	1,76 (m)		3H-18
21	56,10	4,57 (s)		H-5a
CH₂				
5	42,69	4,54 (m) 3,28 (m)		H-21
6	21,04	3,30 – 3,20 (m)		
15	30,98	2,06 (m) 1,40 (m)		H-17a; 3H-19; H-21
17	35,90	2,70 (m) 2,35 (d, 12,9)		
19	27,42	1,50 – 1,39 (m)	3H-18	H-21
CH₃				
18	11,29	0,98 (t, 7,3)	2H-19	
MeO-22	53,02	3,78 (s)		
HN-1	-	8,03 (s)		

Alcalóide 21



O alcalóide **21** foi isolado, na forma de cristais incolores apresentando ponto de fusão 109-110 °C.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (APT, **Espectros 139 a 141, volume 2, páginas 221 a 223; Tabela 30, página 208**) do alcalóide (**21**) permitiu reconhecer a presença de vinte e um (21) átomos de carbono, sendo três carbonos metílicos (dois ligados a heteroátomos e um alílico), três carbonos metilênicos (todos sp^3 , um ligado a heteroátomo), oito carbonos metínicos (cinco sp^2 e três sp^3 , sendo um ligado a heteroátomo) e sete carbonos quaternários (todos sp^2 , dos quais dois carbonílicos) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 151, volume 2, página 232; Esquema 02, página 209**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z= 352$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ para o alcalóide (**21**).

O espectro de RMN ^1H do alcalóide (**21**) (**Espectros 128 a 133, volume 2, páginas 210 a 215; Tabela 30, página 208**) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de grupos metila, metoxila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos, e ainda a presença de um hidrogênio referente a grupamento amina (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

O espectro de massas (**Espectro 151, volume 2, página 232; Esquema 02, página 209**) se apresenta relativamente com poucos picos intensos além do íon molecular e alguns fragmentos significativos são observados a $m/z= 337$ [M-15], 293 [M-59], 194, e 122. Este espectro de massas é característico para alcalóides indólicos do tipo vobasina (**21**) e derivados (BUDZIKIEWICZ, 1964), cujos dados são idênticos

ao alcalóide **21** isolado, e coerentemente com esta proposta a formação de fragmentação descrita no **Esquema 02, página 209**.

Na análise do espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 134, volume 2, página 216; Tabela 30, página 208**), observou-se sinais a δ_{C} 134,16; 136,38 128,54; 126,77; 120,91; 120,47; 120,14 e 111,74, sugerindo a presença de um núcleo indólico, onde o anel A encontra-se livre de substituintes (MEDEIROS, 2003; SHAMMA, 1979). Os dados de RMN ^{13}C são resumidos na **Tabela 30, página 208**.

O espectro de RMN ^1H do alcalóide **21** (**Espectro 129, volume 2, página 211; Tabela 30, página 208**) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,71 (1H, d, $J = 8,0$ Hz; H-9); 7,33 (1H, m; H-12); 7,34 (1H, m; H-11); 7,16 (1H, m; H-10) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986), confirmado através das correlações heteronucleares dos átomos de carbono metínicos apresentadas no espectro de HMQC (**Espectro 143, volume 2, página 225**) através das correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 120,47)/H-9 (δ_{H} 7,71), CH-10 (δ_{C} 120,91)/H-10 (δ_{H} 7,16), CH-11 (δ_{C} 126,77)/H-11 (δ_{H} 7,34), CH-12 (δ_{C} 111,74)/H-12 (δ_{H} 7,33), juntamente com a presença de um sinal singlete largo a δ_{H} 8,96 referente a um hidrogênio de um grupo H-N, confirmando a presença de um núcleo indólico livre de substituintes (AZOUG et al., 1995).

A presença do núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 146, volume 2, página 228; Tabela 30, página 208**) através das correlações a entre CH-9 (δ_{C} 120,47)/H-11 (δ_{H} 7,34), CH-10 (δ_{C} 120,91)/H-12 (δ_{H} 7,16), CH-11 (δ_{C} 126,77)/H-9 (δ_{H} 7,71), C-12 (δ_{C} 111,74)/H-10 (δ_{H} 7,16) e C-13 (δ_{C} 136,38)/H-9 (δ_{H} 7,71)/H-11 (δ_{H} 7,34) as demais correlações estão descritas na **Tabela 30, página 208**.

A presença de dois singletos integrando para três hidrogênios cada, no espectro de RMN ^1H (**Espectro 133, volume 2, página 215; Tabela 30, página 208**), a δ_{H} 2,61 e δ_{H} 2,65 são referentes aos grupos MeN-4 da cadeia alifática, e um OMe-17 do grupamento carbometoxi, respectivamente, confirmados pelos sinais apresentados no espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 137, volume 2, página 219; Tabela 30, página 208**), a δ_{C} 42,27 (MeN-4) e 50,40 (MeO-17) (MEDEIROS, 2003; AZOUG et al., 1995; SHAMMA, 1979).

A presença do grupamento etileno ligado ao C- sp^2 pode ser reconhecido pelo sinal a δ_{H} 1,72 (3H, dd, $J = 6,6$ e 1,8 Hz) que se acopla ao quadrupeto largo a δ_{H} 5,48

(^1H , $J = 6,6$ Hz). O espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 134, volume 2, página 216; Tabela 30, página 208**) confirma esta análise, sendo observado sinais à δ_{C} 136,38 e 121,13 referentes aos átomos de carbono sp^2 do grupo etileno, corroborado pela correlação heteronuclear a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 148, volume 2, página 230; Tabela 30, página 208**) através da correlação entre C-20 (δ_{C} 136,38)/Me-18 (δ_{H} 1,72) e CH-19 (δ_{C} 121,13)/Me-18 (δ_{H} 1,72).

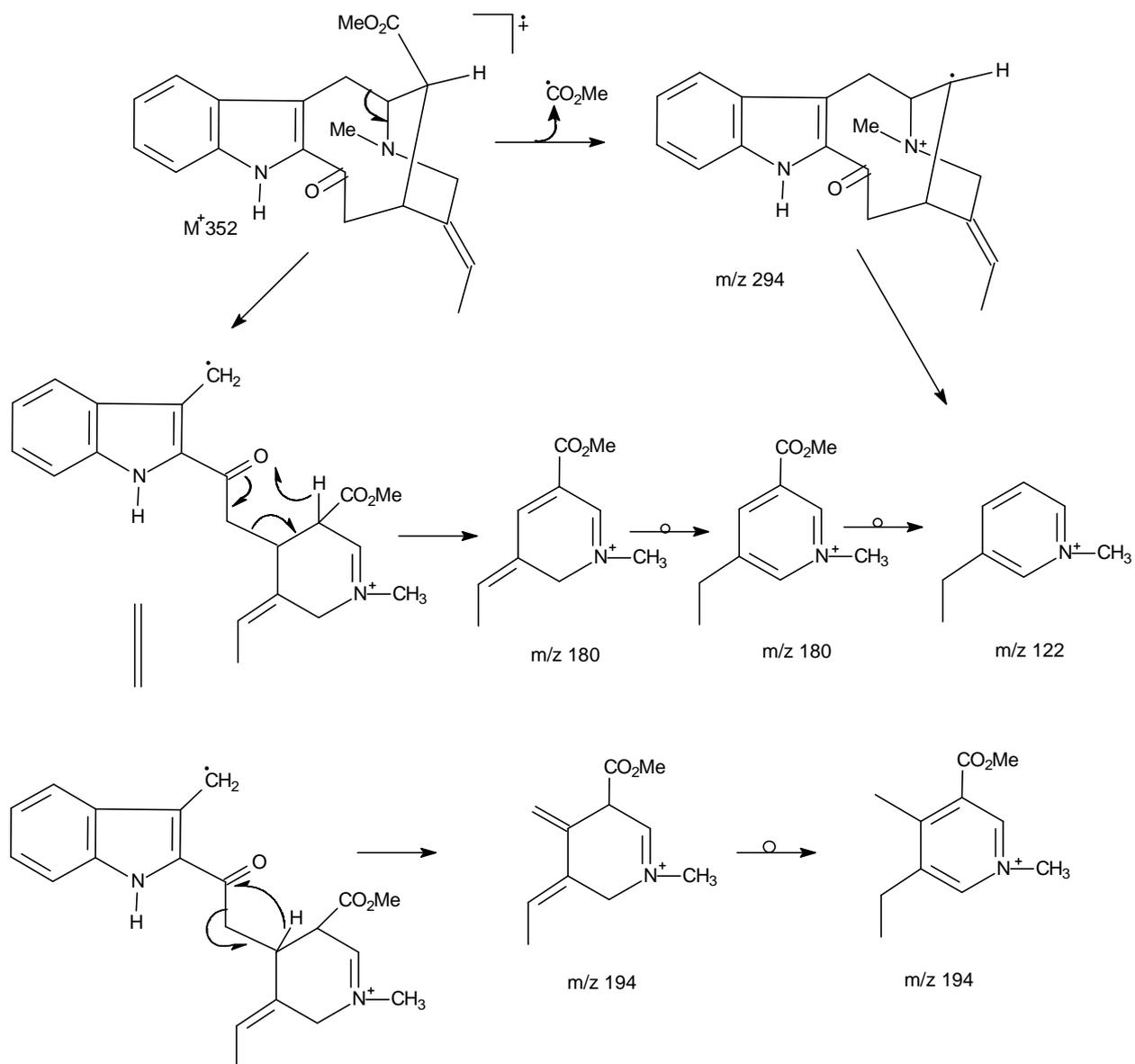
Além destes são observados sinais de grupos, carbonila conjugada em C-3 (δ_{C} 190,08), e de carbonila de éster em C-17 (δ_{C} 171,23). As atribuições dos sinais restantes da cadeia alifática apresentados nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C estão descritos na **Tabela 30, página 208** foram feitas com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono, e comparação com dados da literatura para vobasina (**21**) (MEDEIROS, 2003; AZOUG et al., 1995; SHAMMA, 1979).

A estereoquímica *S* do C-16 foi definida com base nos deslocamentos químicos dos carbonos do grupamento carbometoxi ligado a este carbono, presente no espectro de RMN ^{13}C . Quando este grupo encontra-se na posição equatorial, há uma proximidade dos átomos de carbono deste, com o núcleo indólico, causando uma proteção de aproximadamente 3 ppm ($\text{CH}_3\text{-O}$) e 1,7 ppm (C=O), devido ao efeito anisotrópico do anel aromático, em comparação com a posição axial deste grupo (CLIVIO et al., 1990; MEDEIROS, 2003), que não possui esta proximidade (**Tabela 30, página 208**), corroborada ainda, por uma proteção anisotrópica de aproximadamente 0,86 ppm dos hidrogênios da MeO-22, apresentada no espectro de RMN ^1H (**Espectro 128, volume 2, página 210; Tabela 30, página 208**).

A prova final da estrutura proposta **21** adveio das correlações heteronucleares observadas nos experimentos de HMQC e HMBC (**Espectros 142 e 145, volume 2, páginas 224 e 227; Tabela 30, página 208**), e comparação dos dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C com os relatados na literatura para vobasina (**21**) e seu epímero no átomo de carbono CH-16 (MEDEIROS, 2003; AZOUG et al., 1995; SHAMMA, 1979; CLIVIO et al., 1990).

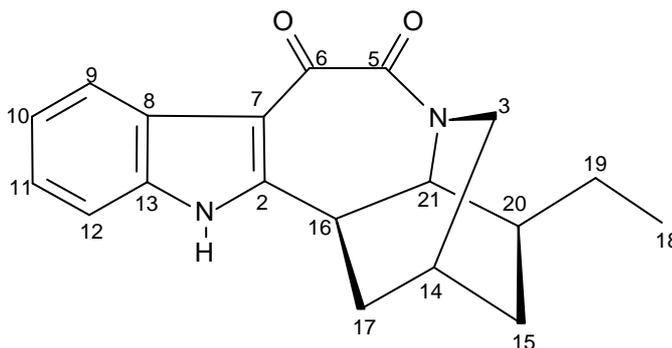
Tabela 30: Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) para o alcalóide **21**, em CDCl_3 e comparação com dados de literatura para o alcalóide vobasina (MEDEIROS, 2003). Os deslocamentos químicos estão em δ (δ_{H} e δ_{C} , ppm) e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz.

	HMQC		HMBC		Vobasina δ_{C}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
C					
2	134,16	-		2H-6; H-14b	134,16
3	190,08	-	2H-14		190,10
7	120,14	-	2H-6		120,17
8	128,54	-		2H-6	128,49
13	136,38	-		H-9; H-11	136,52
17	171,23	-		MeO-17	171,20
20	135,66	-	H-21b	H-14a; 3H-18	135,70
CH					
5	57,31	3,99 (dt, 10,6 e 2,9)	2H-6	MeN-1; H-21b	57,28
9	120,47	7,71 (d, 8,0)		H-11	120,83
10	120,91	7,16 (m)		H-12	120,39
11	126,77	7,34 (m)		H-9	126,70
12	111,74	7,33 (m)		H-10	111,84
15	30,50	3,87 (m)	2H-14	H-19; H-21b	30,47
16	46,51	2,84 (t, 3,3)		H-6b; H-14b	46,46
19	121,13	5,48 (q, 6,6)	3H-18	H-21b	121,07
CH₂					
6	20,53	3,54 (dd, 14,7 e 1,3) 3,44 (dd, 14,7 e 8,1)			20,52
14	43,07	3,32 (dd, 13,2 e 11,7) 2,73 (dd, 13,2 e 7,0)			43,06
21	51,81	3,86 (dl, 14,3) 3,00 (d, 14,3)		MeN-1; H-19	51,78
CH₃					
18	12,35	1,72 (dd, 6,6 e 1,8)	H-19		12,28
MeN-4	42,27	2,61 (s)			42,22
MeO-17	50,40	2,65 (s)			50,37
HN-1	-	8,95 (s)			-



Esquema 02: Proposta dos principais fragmentos apresentados no espectro de massas do alcalóide **21**, em comparação com dados de literatura do espectro de massas para o alcalóide vobasina (BUDZIKIEWICZ, 1964).

Alcalóide 49



O alcalóide **49** foi isolado como um óleo amarelo claro.

No espectro da região do infravermelho do alcalóide **49** (**Espectro 174, volume 2, página 262**) pode se reconhecer absorções características de N-H (3217 cm^{-1}), de dois grupos carbonila (1636 e 1612 cm^{-1}) e de anel benzênico (1219 , 1177 , 750 cm^{-1}) (SILVERSTEIN, 1998).

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 155, volume 2, página 243; Tabela 31, página 237**) do alcalóide **49** permitiu reconhecer a presença de dezenove (19) átomos de carbono, sendo um carbono metílico, quatro carbonos metilênicos (todos sp^3 , e um ligado a heteroátomo), oito carbonos metínicos (quatro sp^2 aromáticos, e quatro sp^3 , sendo um ligado a heteroátomo) e seis carbonos quaternários (todos sp^2 , dos quais dois são carbonílicos) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 173, volume 2, página 261; Esquema 03, página 239**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z= 308$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ para o alcalóide **49**.

O espectro de RMN ^1H do alcalóide **49** (**Espectro 152, volume 2, página 240; Tabela 31, página 237**) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de grupos metila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos, e ainda a presença de um hidrogênio referente a grupamento amina (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

O espectro de RMN ^1H (**Espectro 153, volume 2, página 241; Tabela 31, página 237**) e de ^1H - ^1H -COSY (**Espectro 166, volume 2, página 254**) do alcalóide **49** apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 8,19 (1H, m; H-9); 7,24 (1H, m; H-10); 7,24 (1H, m; H-11); 7,51 (1H, m; H-12) característicos de um núcleo

indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (LOUNASMAA, 1986), confirmado através das correlações heteronucleares dos átomos de carbono metínicos apresentadas no espectro de HMQC (**Espectro 161, volume 2, página 249; Tabela 31, página 237**) através das correlações a $^1J_{CH}$ entre CH-9 (δ_C 121,03)/H-9 (δ_H 8,19), CH-10 (δ_C 123,02)/H-10 (δ_H 7,24), CH-11 (δ_C 124,06)/H-11 (δ_H 7,24), CH-12 (δ_C 112,28)/H-12 (δ_H 7,51), juntamente com a presença de um sinal singleto largo a δ_H 11,05 referente a um hidrogênio de um grupo H-N, confirmando a presença de um núcleo indólico livre de substituintes (AZOUG et al., 1995).

A presença do núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 165, volume 2, página 253; Tabela 31, página 237**), através das correlações a entre CH-9 (δ_C 121,03)/H-11 (δ_H 7,24), CH-10 (δ_C 123,02)/H-12 (δ_H 7,51), CH-11 (δ_C 124,06)/H-9 (δ_H 8,19), C-12 (δ_C 112,28)/H-10 (δ_H 7,24), C-7 (δ_C 110,83)/HN-1 (δ_H 11,05), C-8 (δ_C 126,68)/H-12 (δ_H 7,51)/HN-1 (δ_H 11,05) e C-13 (δ_C 136,13)/H-9 (δ_H 8,19)/HN-1 (δ_H 11,05) as demais correlações estão descritas na **Tabela 31, página 237**.

No alcalóide (**49**) nota-se a ausência de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 comum no esqueleto para alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980), semelhante ao alcalóide ibogamina (**43**).

Análise do espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 155, volume 2, página 243; Tabela 31, página 237**) permitiu reconhecer a presença de um sinal em δ_C 169,82, o qual é coerente com o deslocamento químico de um grupo carbonila de uma lactama, semelhante ao alcalóide **46**, e ainda a presença de mais um sinal referente a um carbono carbonílico em δ_C 184,91.

A ausência dos sinais relativos aos dois grupos metilênicos acoplado entre si, 2H-5 [(H-5b) e (H-5a)] α ao átomo de nitrogênio, com 2H-6 [(H-6b) e (H-6a)] presente nos alcalóides **17**, **43**, **48** e **47**, descritos anteriormente, sugere da proposta de um núcleo indólico livre de substituintes, mas com a presença de dois grupos carbonila ligados aos átomos de carbono C-5 e C-6, respectivamente.

A posição da carbonila a δ_C 169,82 ligada ao átomo de carbono C-5, formando uma lactama com N-4, foi confirmada pela correlação 3J a longa distância apresentada no espectro de HMBC (**Espectro 162, volume 2, página 250; Tabela 31, página 237**) entre C-5 (δ_C 169,82), com um sinal duplete largo em δ_H 4,09, referente ao hidrogênio H-21. A ausência dos sinais dupletos referentes aos dois hidrogênios 2H-6 presentes no alcalóide **46**, juntamente com a presença do sinal em δ_C 184,91 apresentado no

espectro de RMN ^{13}C (**Tabela 31, página 237; Espectro 155, volume 2, página 243**), confirmam a presença de um outro grupo carbonila ligado ao átomo de carbono C-6.

A presença de dois sinais dupletos largos foi inferida aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono C-3 ligado ao átomo de nitrogênio [comum no esqueleto para alcalóides do tipo ibogano (ZENK, 1980)] em δ_{H} 3,92 (H-3b) e 3,36 (H-3a) com $J \sim 10,9$ Hz, confirmando que a posição C-3 está livre de substituintes.

A presença de um sinal tripleto integrando para três hidrogênios em δ_{H} 0,99 com $J = 7,3$ Hz, relativo a um grupo metila na parte alifática da molécula, apresentado no espectro de RMN ^1H (**Tabela 31, página 237; Espectro 154, volume 2, página 242**) confirmando a presença de um grupo etila ligado ao átomo de carbono C-20.

Outros sinais referentes à cadeia alifática foram confirmados pelos espectros de correlação heteronuclear citados na **Tabela 31, página 237**, e por comparação com os dados observados para ibogamina (**43**), a 5-oxocoronaridina (**46**), e com a 5-hidroxi-6-oxocoronaridina (RASTOGI, 1980), onde o conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto ibogano, e propor a estrutura **49** para o alcalóide isolado.

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para (**49**) foi feita com base em dados biogénéticos, visto que todos os alcalóides com esqueleto do tipo ibogano isolados de espécies do gênero *Tabernaemontana* apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em (**49**) (DANIELI & PALMISANO, 1986), e confirmadas pelo espectro de ^1H - ^1H -NOESY (**Tabela 32, página 238; Espectro 168, volume 2, página 256**).

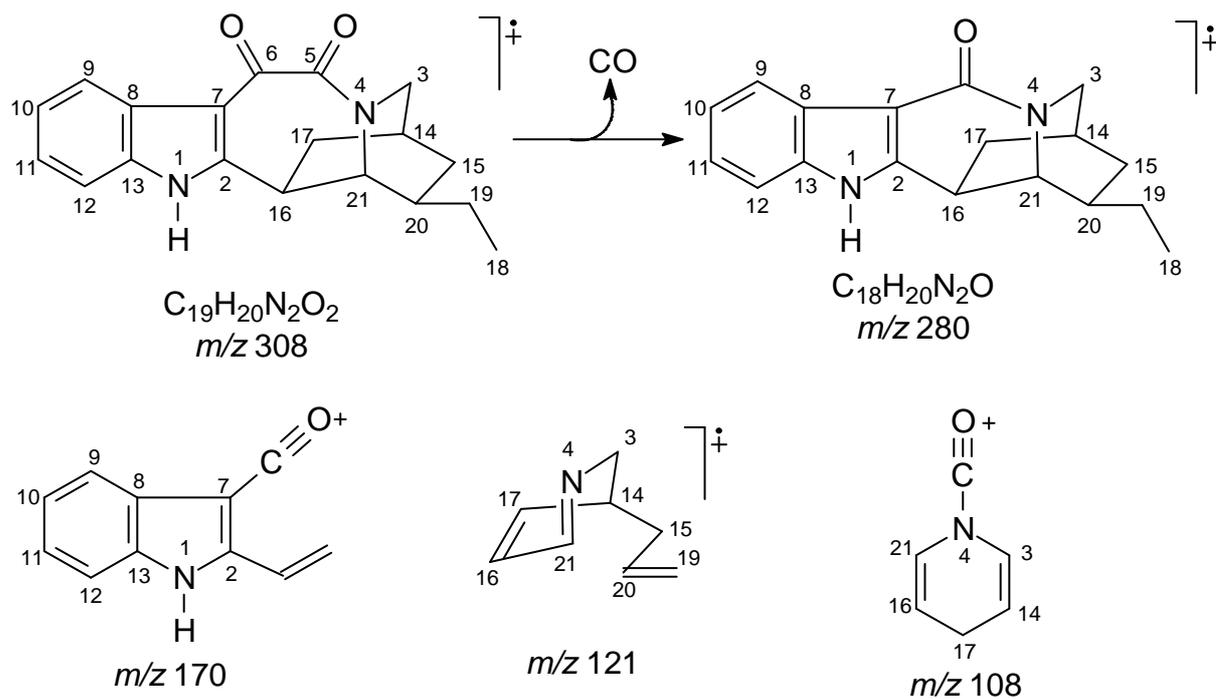
Pelo melhor do nosso conhecimento, o conjunto de dados acima permitiu propor a estrutura para este novo alcalóide como a 5,6-dioxoibogamina (**49**).

Tabela 31: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância **49**, em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm, constantes de acoplamento (J) entre parênteses.

	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	155,20	-	HN-1; H-16	H-17b; H-21
5	169,58	-		H-3a; H-21
6	184,73	-		
7	110,66	-		HN-1; H-16
8	126,46	-		HN-1; H-10; H-12
13	135,87	-	HN-1; H-12	H-9; H-11
CH				
9	121,04	8,15 (m)		H-11
10	122,79	7,18 (m)		H-12
11	123,84	7,20 (m)		H-9
12	111,99	7,45 (m)		H-10
14	28,64	2,19 (m)		
16	37,68	3,30 (m)	H-17b	
20	38,79	1,93	H-15a; 2H-19; H-21	H-16; 3H-18
21	55,36	4,04 (d, 2,2)		2H-3, H-15a; 2H-19
CH₂				
3	49,65	3,89 (dl, 9,9) 3,29		2H-17; H-21
15	29,76	1,96 (m) 1,45 (m)		2H-3; 2H-19; H-21
17	31,07	2,39 (tl, 11,0) 1,71 (dd, 11,0 e 6.7)		H-15b
19	28,31	1,57 (m) 1,47 (m)	3H-18	
CH₃				
18	11,93	0,95 (t, 7,3)	2H-19	
HN-1	-	10,85 (s)		

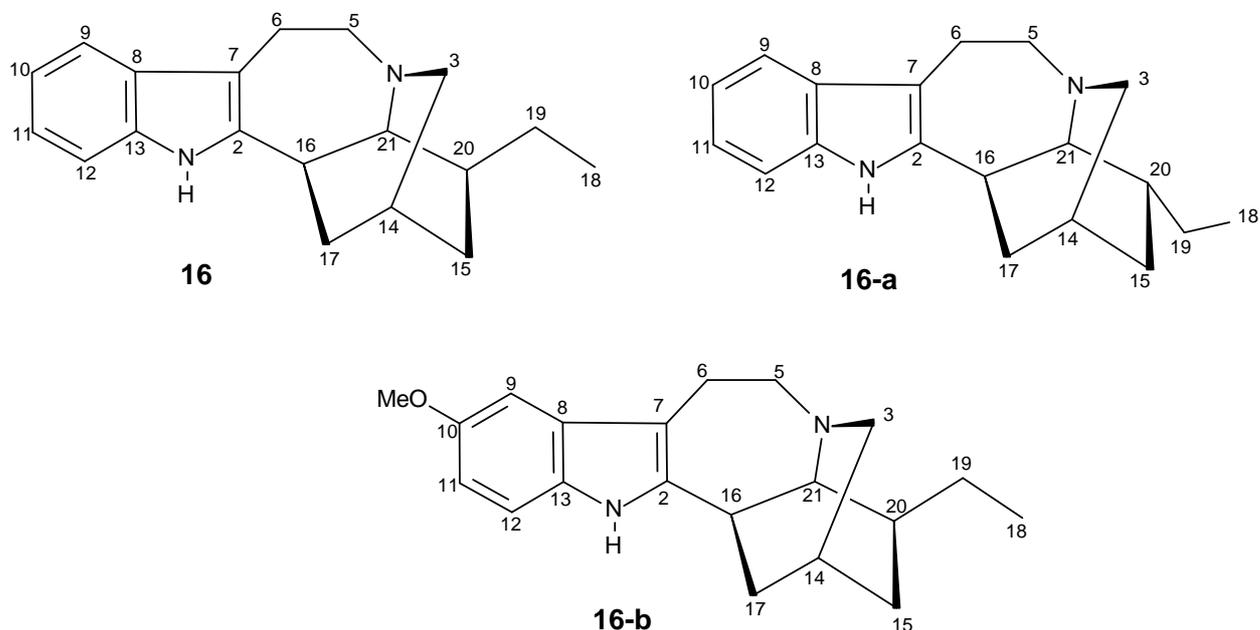
Tabela 32: Dados de ¹H-¹H NOESY (500 MHz) em CDCl₃ do alcalóide **49**. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

H-N1	H-17a
H-3 ^a	H-17a
	H-14
	H-15b
H-3b	H-15b
	H-19b
	H-14
H-15 ^a	H-15b
H-16	H-20
	H-14
	H-17a
H-17 ^a	H-17b
H-21	H-15b
	H-20



Esquema 03: Proposta mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 49.

Alcalóide 16



O alcalóide (16) foi isolado como um sólido amorfo, apresentando ponto de fusão 165°C (HENRY, 1996).

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 181, volume 2, página 274; Tabela 33, página 267**) do alcalóide (16) permitiu reconhecer a presença de dezenove (19) átomos de carbono, sendo um metílico, seis metilênicos (todos sp^3 , e dois ligados a um heteroátomo), oito metínicos (quatro sp^2 aromáticos, e quatro sp^3 , sendo dois ligados a um heteroátomo) e quatro quaternários (todos sp^2) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993; LOUNASMAA, 1986; SHAMMA, 1979).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 182, volume 2, página 275**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z=280$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2$ para o alcalóide (16).

O espectro de RMN ^1H do alcalóide (16) (**Espectros 175 a 180, volume 2, páginas 268 a 273; Tabela 33, página 267**) apresentou sinais (δ_{H}) correspondentes a grupo metila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993; LOUNASMAA, 1986; SHAMMA, 1979).

O espectro de RMN ^1H do alcalóide (**16**) (**Espectro 175, volume 2, página 268; Tabela 33, página 267**) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,46 (dd, $J= 8,4$ e $1,5$ Hz; H-9); 7,09 (dt; $J= 8,4$ e $1,5$ Hz, H-10); 7,10 (dt; $J= 8,4$ e $1,5$ Hz, H-11); 7,24 (dd, $J= 8,4$ e $2,2$ Hz; H-12) característicos do anel A (benzênico) de um núcleo indólico livre de substituintes (AZOUG et al., 1995; LOUNASMAA, 1986), confirmado pelos sinais observados no espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 181, volume 2, página 274; Tabela 33, página 267**) em δ_{C} 117,89 (CH-9); δ_{C} 119,08 (CH-10); δ_{C} 120,92 (CH-11) e δ_{C} 110,06 (CH-12).

A presença do núcleo indólico livre de substituintes foi também corroborado pela presença dos fragmentos $m/z= 168$ e 156 u.m.a. apresentado no espectro de massas (**Espectro 182, volume 2, página 275; Esquema 04, página 266**).

No alcalóide (**16**) nota-se a ausência de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 comum no esqueleto para alcalóides indólicos monoterpênicos (ZENK, 1980).

A presença de três sinais multipletos relativos aos dois grupos metilênicos do núcleo indólico, 2H-5 [(δ_{H} 3,39, m, H-5b) e (δ_{H} 3,17, m, H-5a)] α ao átomo de nitrogênio, com 2H-6 [(δ_{H} 3,17, m, H-6b) e (δ_{H} 2,69, H-6a)], juntamente com os fragmentos com $m/z= 168$ (**Espectro 182, volume 2, página 275; Esquema 04, página 266**) corroboram na confirmação da proposta de um núcleo indólico livre de substituintes.

A presença de um sinal tripleto integrando para três hidrogênios em δ_{H} 0,90 com $J= 7,0$ Hz relativo a um grupo metila apresentado no espectro de RMN ^1H (**Espectro 180, volume 2, página 273; Tabela 33, página 267**), sugere a presença de um grupo etila livre de oxidação na cadeia lateral da porção terpênicica do alcalóide (**16**) (LOUNASMAA, 1986; SHAMMA, 1979).

O conjunto desses dados permite classificar o alcalóide (**16**) com um esqueleto pertencente da classe ibogano, definindo o alcalóide (**16**) como sendo proposta a estrutura semelhante a *epi-ibogamina* (**16-a**). A prova final desta proposta adveio da comparação dos dados espectroscópicos do alcalóide (**16**) com os dados de literatura para a *epi-ibogamina* (**16-a**) e a *ibogamina* (**16-b**) (LOUNASMAA, 1986; SHAMMA, 1979).

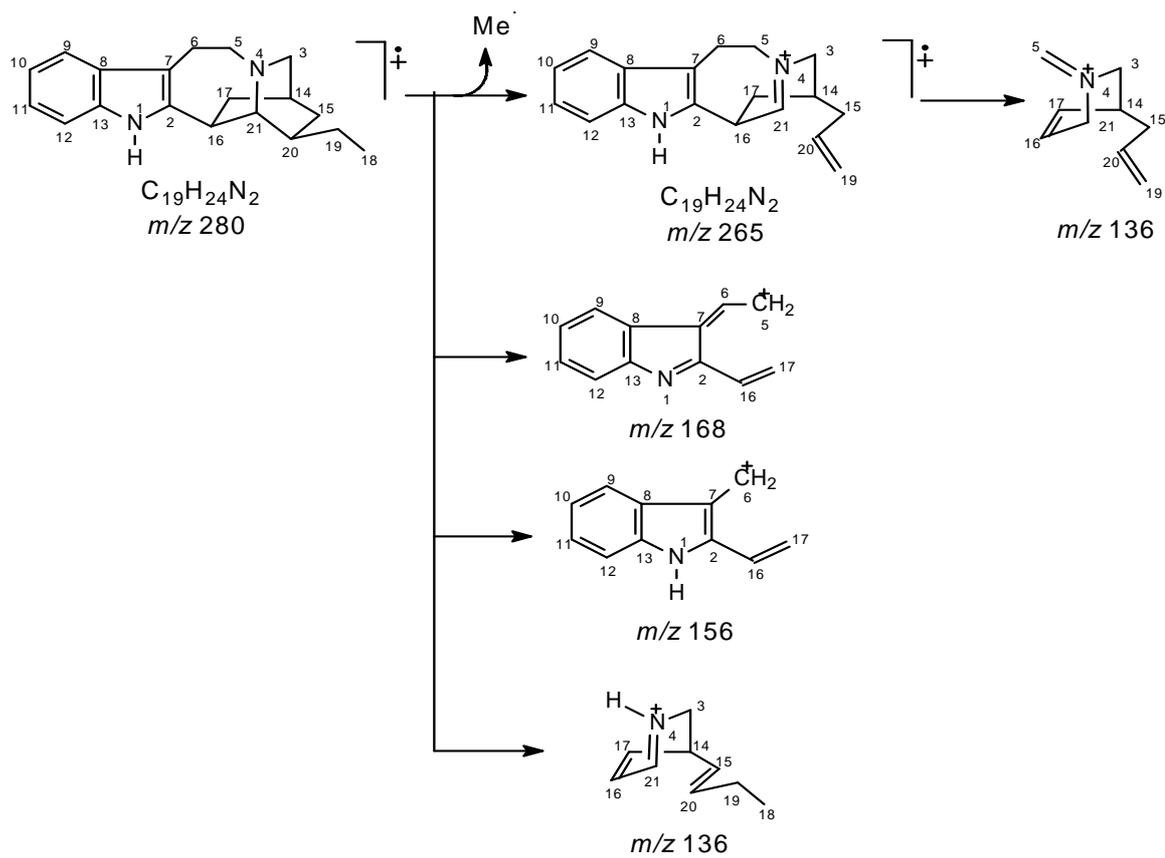
A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para (**16**) foi feita com base em dados biogênicos, visto que todos os alcalóides com esqueleto do tipo ibogano isolados de espécies do gênero *Tabernaemontana*

apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **(16)** (DANIELI & PALMISANO, 1986).

Em relação à configuração do grupo etila ligado ao átomo de carbono C-20, sabe-se através de dados de literatura que o alcalóide ibogamina (**16-a**) apresenta ponto de fusão 129-132 °C, e seu epímero a *epi*-ibogamina (**16-b**) de 193-197 °C (HENRY, 1996), enquanto que o alcalóide **16** apresentou ponto de fusão de 163-165 °C, onde não se pode chegar a uma conclusão sobre a configuração do grupo etila.

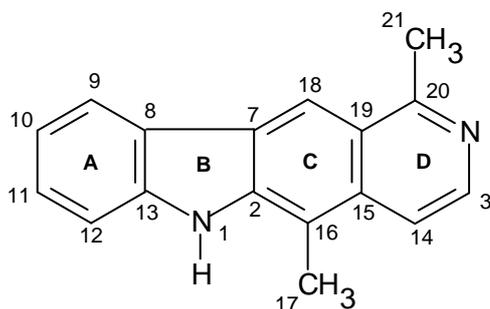
Tabela 33: Dados de RMN ^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz) do alcalóide (**16**), em CDCl_3 em comparação com dados de literatura (SHAMMA, 1979) para a *epi*-ibogamina (**16-a**) e ibogamina (**16-b**) em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e a constantes de acoplamento (J) estão em Hz.

	Alcalóide 16		<i>Epi</i> -ibogamina		<i>Ibogamina</i>
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}	
C					
2	141,83	-	141,9		
7	109,22	-	109,7		
8	129,73	-	129,8		
13	134,65	-	134,2		
CH					
9	117,89	7,46 (dd, 8,4 e 1,5)	117,5		
10	119,08	7,09 (dt, 8,4 e 1,5)	118,8		
11	120,92	7,10 (dt, 8,4 e 1,5)	120,6		
12	110,06	7,24 (dd, 8,4 e 2,2)	110,2		
14	26,52	1,83 (m)	26,9		26,3
16	41,49	2,91 (m)	33,7		41,2
20	41,97	1,54 (m)	41,6		41,8
21	57,55	2,92 (sl)	57,0		57,3
CH₂					
3	54,15	3,12 (m); 3,01 (m)	54,5		54,1
5	49,93	3,39 (m); 3,17 (m)	49,3		49,8
6	20,65	3,17 (m); 2,69 (m)	20,0		20,5
15	32,13	1,83 (m); 1,21 (m)	31,4		31,9
17	34,19	2,03 (m); 1,57 (m)	34,7		34,0
19	27,83	2,02 (m); 1,60 (m)	28,2		27,7
CH₃					
18	11,90	0,90 (t, 7,0)	11,9		11,8
HN-1	-	7,61 (s)			

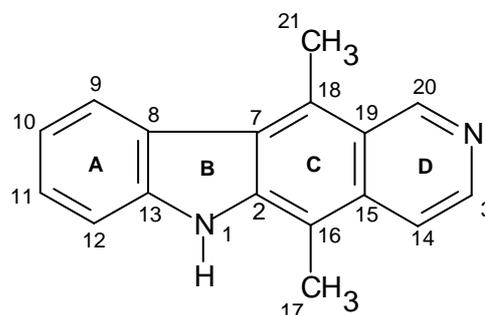


Esquema 04: Proposta mecânica dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide **16**

Alcalóide 41



41



41-a

O alcalóide 41 foi isolado como cristais amarelos claro, com ponto de fusão 243-246 °C (decomposição).

A análise dos dados de RMN ^{13}C (**Espectro 185, volume 2, página 282; Tabela 34, página 279**) mostrou que o alcalóide **41** apresenta dezessete (17) átomos de carbono, sendo dois metílicos ligados a carbonos sp^2 , sete metínicos (todos sp^2) e oito átomos de carbono quaternário (todos sp^2) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 195, volume 2, página 292**), o qual apresentou o pico do íon molecular em $m/z= 246$ Dalton, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2$ para o alcalóide **41**.

O espectro de RMN ^1H (**Espectro 184, volume 2, página 281; Tabela 34, página 279**) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios do núcleo benzênico acoplado entre si, mostrado no espectro de ^1H - ^1H -COSY (**Espectro 194, volume 2, página 291**) em δ_{H} 8,29 (1H, d, $J= 7,7$ Hz; H-9), δ_{H} 7,28 (m; H-10), δ_{H} 7,54 (m; H-11), δ_{H} 7,54 (m; H-12), característico de um núcleo indólico livre de substituintes no anel A (AZOUG et al., 1995) confirmado pelas correlações heteronucleares apresentadas no espectro de HSQC (**Espectro 189, volume 2, página 286; Tabela 34, página 279**) onde se observam às correlações $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 122,48)/H-9 (δ_{H} 8,29), CH-10 (δ_{C} 121,23)/H-10 (δ_{H} 7,28), CH-11 (δ_{C} 129,62)/H-11 (δ_{H} 7,54) e CH-12 (δ_{C} 112,28)/H-12 (δ_{H} 7,54).

A presença do núcleo indólico livre de substituintes foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 192, volume 2, página 289; Tabela 34, página 279**) onde se observam as

correlações $^3J_{CH}$ entre CH-11 (δ_C 129,62)/H-9 (δ_H 8,29); CH-12 (δ_C 112,28)/H-10 (δ_H 7,28); C-2 (δ_C 144,08)/H-18 (δ_H 8,92)/3H-17 (δ_H 2,84); C-7 (δ_C 128,23)/H-9 (δ_H 8,29) e C-8 (δ_C 124,11)/H-18 (δ_H 8,92).

A presença de dois singletos integrando para três hidrogênios cada um, apresentados no espectro de RMN 1H (**Espectro 183, volume 2, página 280; Tabela 34, página 279**), em δ_H 2,84 e δ_H 3,13 foi inferida aos hidrogênios de dois grupos metila, apresentando correlações no espectro de HSQC (**Espectro 189, volume 2, página 286; Tabela 34, página 279**) $^1J_{CH}$ CH₃-21 (δ_C 21.14)/H-21 (δ_H 3,13) e CH₃-17 (δ_C 12,60)/H-17 (δ_H 2,84).

A presença dos dois grupos metila e suas localizações na molécula foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 190, volume 2, página 257; Tabela 34, página 279**) entre os carbonos quaternários, a $^2J_{CH}$ entre C-16 (δ_C 113,18)/3H-17 (δ_H 2,84); C-20 (δ_C 159,49)/3H-21 (δ_H 3,13) e a $^3J_{CH}$ entre C-2 (δ_C 144,08)/3H-17 (δ_H 2,84); C-15 (δ_C 134,66)/3H-17 (δ_H 2,84) e C-19 (δ_C 122,83)/3H-21 (δ_H 3,13).

A presença de dois sinais dupletos no anel D do alcalóide **41**, apresentados no espectro de RMN 1H (**Espectro 184, volume 2, página 281; Tabela 34, página 279**) acoplando entre si, relativos aos hidrogênios H-3 em δ_H 8,14 e H-14 em δ_H 8,00, ambos com $J= 6,5$ Hz confirmados no espectro de 1H - 1H -COSY (**Espectro 194, volume 2, página 291**), juntamente com um sinal simples relativo a um hidrogênio em δ_H 8,92 no anel C, confirmam o restante da molécula (AZOUG et al., 1995). As demais correlações estão listadas na **Tabela 34, página 279**.

O conjunto de dados do alcalóide **41** em questão permitiu definir um esqueleto semelhante ao alcalóide ellipticina (**41-a**) (LOUNASMAA, 1986).

A confirmação da estrutura do alcalóide (**41**) como sendo a olivacina (**41**) (Me-21 ligada no C-20) e não a ellipticina (**41-a**) (Me-21 ligada no C-18) foi feita com base no valor do deslocamento químico do sinal simples referente ao H-18 em δ_H 8,92 (**41**), enquanto que na ellipticina (**41-a**) o H-20 encontra-se em δ_H 9,62 (LOUNASMAA, 1986; AZOUG et al., 1995).

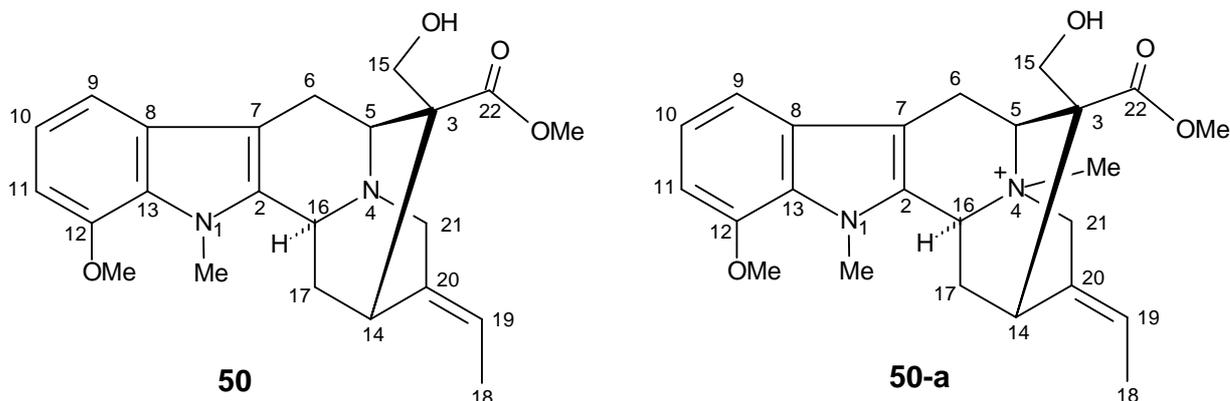
As correlações a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 190, volume 2, página 257; Tabela 34, página 279**) como já mostrado anteriormente confirmam a posição dos dois grupos metila, e a prova final adveio da comparação dos dados espectroscópicos com dados de literatura para o alcalóide olivacina (**41**), isolado

do extrato das cascas das raízes em metanol de *Tabernaemontana hystrix* por Monnerat (2005).

Tabela 34. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) para olivacina (**41**) e ellipticina (**41-a**) (LOUNASMAA, 1986; AZOUG et al., 1995) em $\text{MeOH-}d_4$, e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC da olivacina (**41**). Os deslocamentos químicos (δ) estão ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz.

		41		41a	
		HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{H}
C					
2	144,08	-		H-18; 3H-17	
7	128,23	-		H-9	
8	124,11	-		H-18	
13	144,42	-		H-9; H-11	
15	134,66	-		H-3; H-18; 3H-17	
16	113,18	-	3H-17	H-14	
19	122,83	-		H-14; 3H-21	
20	159,49	-	3H-21	H-3; H-18	
CH					
3	134,69	8,14 (d, 6,5)			8,18 (d, 7,6)
9	122,48	8,29 (d, 7,7)		H-11	8,22 (d, 7,6)
10	121,23	7,28 (dt, 7,7 e 1,4)		H-12	7,30 (ddd, 7,6; 5,1 e 3,2)
11	129,62	7,54 (m)		H-9	7,52(m)
12	112,28	7,54 (m)		H-10	7,52 (m)
14	117,83	8,00 (d, 6,5)	H-3		7,80 (d, 6,3)
18	117,27	8,92 (s)			8,70 (s)
CH₃					
17	12,60	2,84 (s)			3,20 (s)
21	21,14	3,13 (s)			2,90 (s)

Alcalóide 50



O alcalóide (**50**) foi isolado como um cristal incolor com ponto de fusão de 251-260°C (decomposição).

O espectro na região do infravermelho do alcalóide (**50**) (**Espectro 221, volume 2, página 324**) apresenta absorções importantes a 3300 (OH), 2955 (N-CH₃), 1738 (C=O), e 1618, 1572 e 731 (C-H de anel benzênico).

A análise do espectro de RMN ¹³C (APT, **Espectros 208 a 210, volume 2, páginas 311 a 313; Tabela 35, página 297**) do alcalóide (**50**) permitiu reconhecer a presença de vinte e um (21) átomos de carbono, sendo quatro carbonos metílicos (três ligados a heteroátomos e um alílico), quatro carbonos metilênicos (todos sp³, dois ligados a heteroátomo), sete carbonos metínicos (quatro sp² e três sp³, sendo dois ligados a heteroátomo) e oito carbonos quaternários (sete sp², um sp³, dos quais um carbonílico) (SILVERSTEIN, 1998; FRIEBOLIM, 1993).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Espectro 320, volume 2, página 323; Esquema 05, página 298**), o qual apresentou o pico do íon molecular em *m/z*= 396 Dalton, permitiram propor a fórmula molecular C₂₃H₂₈N₂O₄ para o alcalóide (**50**).

O espectro de RMN ¹H do alcalóide **50** (**Espectros 196 a 203, volume 2, páginas 299 a 306; Tabela 35, página 297**) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_H) característicos de grupos metila, metoxila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos e ainda a presença de um grupo metila, referente a grupamento amina (FRIEBOLIM, 1993; SILVERSTEIN, 1998).

O espectro de RMN ^1H (**Espectro 197, volume 2, página 300; Tabela 35, página 297**) e de ^1H - ^1H -COSY (**Espectro 219, volume 2, página 322**) do alcalóide **50** apresenta três sinais relativos a hidrogênios aromáticos acoplando entre si a δ_{H} 7,10 (1H, d, $J = 7,8$ Hz; H-9); 7,01 (1H, t, $J = 7,8$ Hz; H-10); 6,75 (1H, d, $J = 7,8$ Hz; H-11), característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se substituído (BRAGA, 1987; LOUNASMAA, 1986), confirmado através das correlações heteronucleares dos átomos de carbono metínicos através das correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 112,61)/H-9 (δ_{H} 7,10), CH-10 (δ_{C} 121,85)/H-10 (δ_{H} 7,01), CH-11 (δ_{C} 105,26)/H-11 (δ_{H} 6,75), apresentadas no espectro de HMQC (**Tabela 35, página 297; Espectro 217, volume 2, página 320**), juntamente com a presença de um sinal singlete a δ_{H} 3,93 presente no espectro de RMN ^1H (**Espectro 200, volume 2, página 303; Tabela 35, página 297**), referente a três hidrogênios de um grupo OMe, característico de OMe ligado a anel benzênico, correspondente ao sinal em δ_{C} 56,03 no espectro de RMN ^{13}C (**Tabela 35, página 297; Espectro 206, volume 2, página 309**), confirmando a presença deste grupo ligado ao anel A do núcleo indólico (BRAGA, 1987; LOUNASMAA, 1986).

A presença de um sinal simples integrando para três hidrogênios em δ_{H} 3,95 no espectro de RMN ^1H (**Espectro 200, volume 2, página 303; Tabela 35, página 297**) foi inferida a um grupo metila ligado ao átomo de nitrogênio N-1 do núcleo indólico, correspondente ao sinal em δ_{C} 33,14 no espectro de RMN ^{13}C (**Tabela 35, página 297; Espectro 207, volume 2, página 310**) (BRAGA, 1987).

A presença do núcleo indólico com um grupo MeN-1, substituído com um grupo metoxila, e a localização deste no átomo de carbono C-12 foi corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Tabela 35, página 297; Espectros 216 e 217, volume 2, páginas 319 e 320**) através das correlações a entre CH-9 (δ_{C} 112,61)/H-11 (δ_{H} 6,75), CH-10 (δ_{C} 120,48)/H-12 (δ_{H} 7,31), C-7 (δ_{C} 103,25)/H-9 (δ_{H} 7,10), C-13 (δ_{C} 128,59)/H-9 (δ_{H} 7,10)/H-11 (δ_{H} 6,75)/MeN-1 (δ_{H} 3,95), C-2 (δ_{C} 133,25)/MeN-1 (δ_{H} 3,95) e C-12 (δ_{C} 149,29)/H-11 (δ_{H} 6,75)/H-10 (δ_{H} 7,01)/MeO-12 (δ_{H} 3,93), as demais correlações estão descritas na **Tabela 35, página 297**.

A presença de um grupo metila ligado a um átomo de carbono sp^2 apresentada no espectro de RMN ^1H (**Espectro 203, volume 2, página 306; Tabela 35, página 297**) pode ser reconhecida pelo sinal duplete a δ_{H} 1,68, relativo a três hidrogênios com $J = 7,0$ Hz e pelo quadruplete a δ_{H} 5,49 relativo a um hidrogênio com $J = 7,0$ Hz,

referentes aos hidrogênios 3H-18 e H-19, respectivamente. A confirmação da dupla ligação e do grupo metila a ela ligada foi corroborada ainda pela presença das correlações a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Espectro 216, volume 2, página 319; Tabela 35, página 297**) onde se observam às correlações $^2J_{CH}$ entre CH-19 (δ_C 120,96)/3H-18 (δ_H 1,68), e pelas correlações a $^3J_{CH}$ entre C-20 (δ_C 128,22)/3H-18 (δ_H 1,68) (BRAGA, 1987).

A presença de um sinal em δ_C 63,91 apresentado no espectro de RMN ^{13}C (APT, **Espectro 210, volume 2, página 313; Tabela 35, página 297**), característico de carbono carbinólico (BRAGA, 1987) e de dois dupletos integrando para um hidrogênio cada, em δ_H 3,71 e δ_H 3,59 com $J= 10,8$ Hz apresentado no espectro de RMN 1H (**Espectro 200, volume 2, página 303; Tabela 35, página 297**), confirmam a presença de um carbono metilênico carbinólico CH₂-17.

Análise do espectro de correlação heteronuclear, HMBC (**Espectro 216, volume 2, página 319; Tabela 35, página 297**), permitiu ainda o reconhecimento de uma função carbometoxi, característica em vários esqueletos de alcalóides indólicos monoterpênicos, como dito anteriormente (ZENK, 1980), através das correlações de um carbono carbonílico C-22 (δ_C 174,21) com MeO-22 (δ_H 3,75) e os dois hidrogênios carbinólicos 2H-17 (δ_H 3,71 e 3,59).

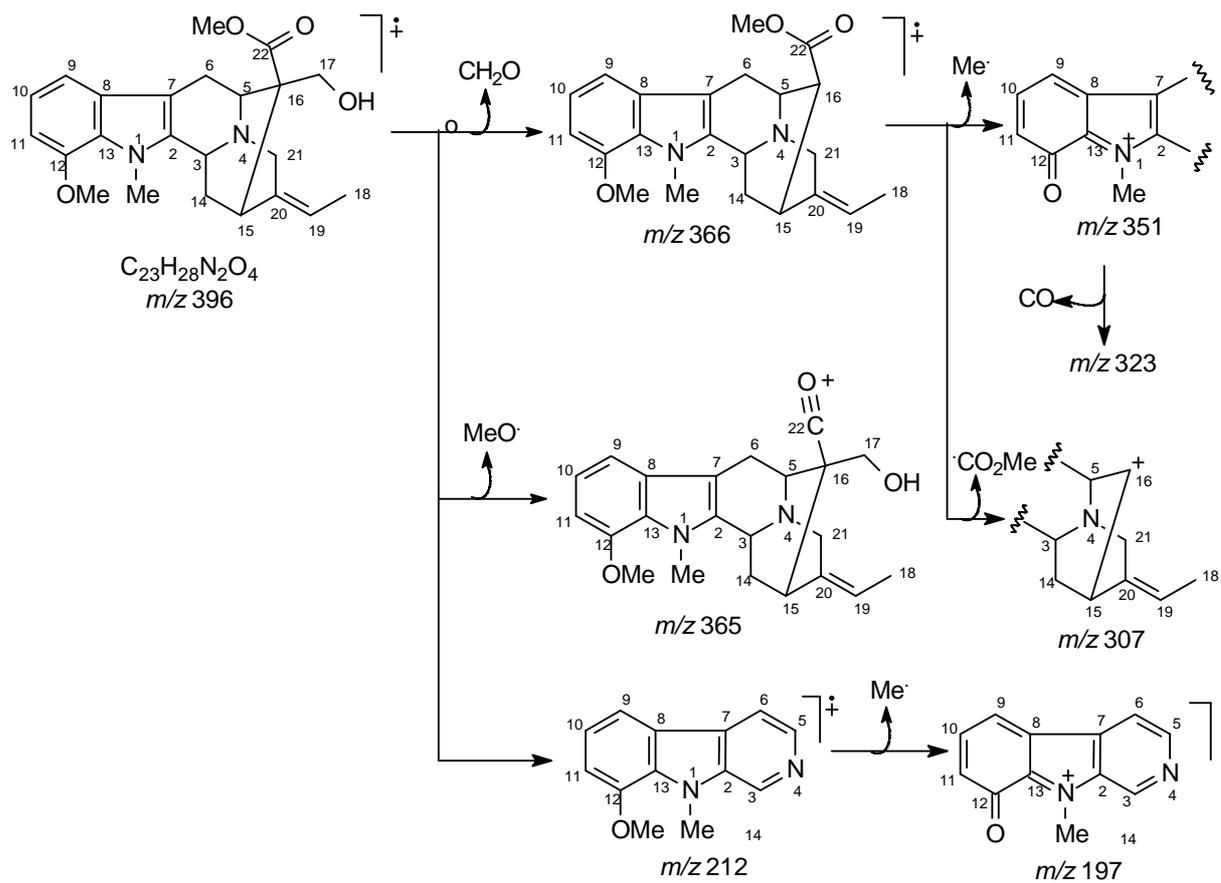
A presença dos fragmentos em $m/z= 366$ e 365 no espectro de massas (**Espectro 320, volume 2, página 323; Esquema 05, página 298**), corroboram na confirmação da existência da função carbometoxi e de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH₂-17.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos e metínicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 35, página 297**), foi feita com base nos dados obtidos na literatura para alcalóides com esqueletos semelhantes (BRAGA, 1987; LOUNASMAA, 1986, SHAMMA, 1979) e com o alcalóide 12-metoxi-4-metilvoachalotina (**50-a**), isolado de *Peschiera fuchsiaefolia* (BRAGA, 1987), sinonímia de *Tabernaemontana hystrix* e em combinação com análise completa dos espectros de correlações homo e heteronucleares nos experimentos de 1H - 1H COSY (**Espectro 219, volume 2, página 322**), HMQC (**Espectro 212, volume 2, página 315**) e HMBC (**Espectro 214, volume 2, página 317**), apresentados na **Tabela 35, página 297**.

Pelo melhor do nosso conhecimento, o conjunto de dados acima permitiu propor a estrutura para este novo alcalóide como a 12-metoxivoachalotina (**50**).

Tabela 35: Dados espectrais de RMN¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) para o alcalóide **50**, em MeOH-d₃ e TMS como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
2	133,25	-	H-3	2H-6; MeN-1
7	103,25	-	2H-6	H-5, H-9
8	129,02	-		H-6a; H-10
12	149,29	-	H-11	H-10; MeO-12
13	128,59	-		H-9, H-11, MeN-1
16	56,56	-		2H-6; H-14a
20	128,22		2H-21	3H-18
22	174,21			H-5; 2H-17; MeO-22
CH				
3	59,42	5,05 (d, 10,0)		H-5; 2H-21
5	65,87	4,99 (d, 6,2)		H-3; 2H-17
9	112,61	7,10 (d, 7,8)		H-11
10	121,85	7,01 (t, 7,8)		
11	105,26	6,75 (d, 7,8)		
15	31,09	3,36 (sl)		H-19
19	120,96	5,49 (q, 7,0)	3H-18	
CH₂				
6	20,13	3,79 (d, 18,3) 3,29 (dd, 18,3 e 6,7)		
14	29,34	2,49 (d, 13,7) 2,06 (dd, 13,7)		
17	63,91	3,71 (d, 10,8) 3,59 (d, 10,8)		
21	65,80	4,41 (m) 3,59 (m)		H-19
CH₃				
18	12,79	1,68 (d, 7,0)		
MeN-1	33,14	3,95 (s)		
MeO-12	56,03	3,93 (s)		
MeO-22	53,24	3,75 (s)		



Esquema 05: Proposta mecânica dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide **50**

6. CONCLUSÃO

Este trabalho com o extrato em diclorometano da casca da raiz de *Tabernaemontana hystrix*, resultou no isolamento de dois esteróides: β -sitosterol (**44**) e estigmasterol (**45**) e 10 alcalóides indólicos monoterpênicos: coronaridina (**17**), 7-hidroxiindolenina-coronaridina (**43**), 5-oxocoronaridina (**46**), 3-oxocoronaridina (**48**), 7-hidroxiindolenina-3-oxocoronaridina (**47**), vobasina (**21**), 5,6-dioxocoronaridina (**49**), ibogamina (**16**), olivacina (**41**) e 12-metoxivoachalotina (**50**). Os alcalóides **49** e **50** se apresentaram inéditos na literatura.

Os alcalóides indólicos monoterpênicos isolados são promissores, pois estes se apresentam estruturalmente muito semelhantes a outros já descritos em literatura com atividades biológicas já definidas. A análise de dados espectrais, bem como o uso de técnicas modernas de RMN em termos de elucidação estrutural dos metabólitos secundários isolados, fornecerão dados que facilitarão futuramente a determinação estrutural de substâncias afins.

Vários alcalóides de plantas têm sido testados contra a doença de Alzheimer, no qual seu tratamento farmacológico é baseado com o uso de inibidores da enzima acetilcolinesterase. Diante disto, alguns testes preliminares, com o extrato de diclorometano das cascas da raiz de *Tabernaemontana hystrix* serão realizados visando a inibição desta enzima.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. (1997) *Biologia molecular da célula*. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, p. 1294.

AZOUG, M. et al. (1995) *Alkaloids from stem bark and leaves of *Peschiera buchtieni**. *Phytochemistry*, 39, p.1223.

BALANDRIN, M.F.; KINGHORN D.A. (1993) *Plant-Derived Natural Products in Drug Discovery and Development in Human Medicinal Agents from Plants* (A.D. Kinghorn e M.F. Balandrin, editors), American Chemical Society-ACS Symposium Series 534, Washington-DC, p 2-12.

BRAGA, R.M.; LEITÃO FILHO, H.F.; REIS, F. de A.M. (1984) ^{13}C *Analysis of Alkaloids from *Peschiera Fuchsiaefolia**. *Phytochemistry*, 23, p. 175.

BRAGA, R.M.; REIS, F. de A.M. (1987) *Quaternary Alkaloids from *Peschiera Fuchsiaefolia**. *Phytochemistry*, 26, p. 833.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. (1987) *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*. 3 ed. VCH, verlagsgesellschaft – Germany, p. 363-364.

BRUNETON, J. (1995) *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, intercept Limited, England, p. 815-861.

BUCKINGHAM, J. (Ed.) (1993) *Dictionary of Natural Products*. London: Chapman & Hall.

BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C. & WILLIAMS, D. (1964) *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, v. 1: Alkaloids. Holden-Day, inc., San Francisco – USA.

CHADWICK, D. and MARSH, J. (Ed.) (1990) *Bioactive compounds from plants*, New York: John Wiley.

CLIVIO, P.; RICHARD, B.; HADI, H.A.; DAVID, B.; SEVENET, T.; ZECHES, M. and LE MEN-OLIVIER, L. (1990) *Alkaloids from leaves and stem bark of *Ervatamia polyneura**. *Phytochemistry*, 29, p. 3007.

COLEGATE, S.M. and MOLYNEUX, R.J. (1993) *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structural Determination*, London: CRC Press.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. (Coordenadores) (1990). *Introdução e Métodos Cromatográficos*. 4 ed. Editora da UNICAMP, Campinas – SP.

DANIELI, B.; PALMISANO, G. (1986) *Alkaloids from *Tabernaemontana**. In: BROSSI, A. (edit) *The Alkaloids*, vol. 27, New York, Academic Press. p. 1-130.

DEWICK, P.M., (1997) *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*, Paul M. Dewick . Ed. Wiley, 2 ed. p. 5-6.

DIXON R.A. and LAMB, C.J. (1990) *Secondary Products from Tissue Culture* (V.V. Charlowood, M.J.C. Rhodes, editors). Oxford: Oxford Science Publications.

FENG, X. Z.; KAN, C.; POTIER, P.; KAN, S.K. and LOUNASMAA, M. (1982) *Monomeric indole alkaloids from *Ervatamia hainanensis**. *Planta medica*, 44, p. 212.

FRIEBOLIN, H. (1993) *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*. 2 ed. VCH, verlagsgesellschaft – Germany, Translated by Jack K. Becconsall, p. 146-159.

HARBORNE, J.B. (1998) *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3 ed. Chapman and Hall, London, p. 301.

GEISSMAN, T.A. and CROUT, D.H.G. (1969) *Organic Chemistry of secondary Plant Metabolism*, San Francisco: Freeman, Cooper & Company.

HENRY Jr, K.J.; GRIECO, P.A. and DUBAY, W.J. (1996) *A novel approach to iboga alkaloids: total synthesis of (\pm)-ibogamine and (\pm)-epi-ibogamine*. *Tetrahedron Letters*, 37, p. 8289.

HESSE, M. (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.

IKAN, R. (1991) *Natural Products - A Laboratory Guide*. 2 ed. Academic Press New York.

KAM, T.S.; SIM, K.M.; LIM, T.M.(2001) *Vostrictine, a novel pentacyclic quinolinic alkaloid from Tabernaemontana*. *Tetrahedron Letters*, vol. 42, p. 4721.

LAVAUD, C.; MASSIOT, G.; VERCAUTEREN, J.; LE MEN-OLIVIER (1982) *Alkaloids of Hunteria zeylanica*. *Phytochemistry*, 21, p. 445.

LEEUWENBERG, A.J.M. (1994) *A Revision of Tabernaemontana*. Vol. 2 The New Word Species and *Stemmadenia*. UK, Royal Botanic Garden Kew.

LOUNASMAA, M. and TOLVANEN, A. (1986), *¹H-NMR data of monoterpenoid indole alkaloids*. *Heterocycles*, 24, p.3229.

MABBERLEY, D.J. (1997) *The plant-book – a portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge University Press – UK. 2 Ed, p. 771.

MEDEIROS, W.B.L. (2003) *Constituintes Químicos de Tabernaemontana laeta Mart. (Apocynaceae)*. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

MERCK, E. (1972) *Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y en papel*. Darmstadt Alemania.

MONNERAT, C.S. (2005) *Alcalóides Indólicos de Tabernaemontana hystrix (Apocynaceae)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

MONTANARI, C.A.; BOLZANI, V. da S. (2001) *Planejamento racional de fármacos baseados em produtos naturais*. *Quimica Nova*, 24, 105.

MOREIRA, F. de F.; MENDONÇA, C.B.F.; PEREIRA, J.F.; ESTEVES, V.G. (2004) *Polianotaxonomia de espécies de Apocynaceae ocorrentes na Restinga de Carapebus, Carapebus, RJ, Brasil*. *Acta Botânica Brasileira*, 18.

NEUWINGER, H.D. (1998) *Alkaloids in arrow poisons*. In: ROBERTS, M. F. & WINK, M. (edit) *Alkaloids: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications*. New York, Plenum Press.

NIELSEN, H.B.; HAZELL, A.; HAZELL, R.; GHIA F. and TORSSELL, K.B.G. (1994) *Indole Alkaloids and Terpenoids from Tabernaemontana markgrafiana*. *Phytochemistry*, 37, p.1729.

NOGUEIRA, P.C.L.; ANDRADE, M. dos S.; SAMPAIO, T.S.; RIBEIRO, A.S.; MORAES, V.R.S.; MACHADO, S.M.F.; ALVES, P.B.; OLIVA, G.; THIEMANN, (2004) *Estudo fitoquímico e avaliação farmacológica de plantas da família Apocynaceae e Guttiferae do estado do Sergipe*. II Seminário de Pesquisa FAP – SE. Aracajú, p. 1-3.

NOVAES, J.R.C.; RAPOPORTE, B. (1996) In: M.C.M. Marques (ed.) *Espécies coletadas no Estado do Rio de Janeiro depositadas no Herbário RB*. Rio de Janeiro.

PATITUCCI, M.L.; VEIGA, V.F.; PINTO, A.C.; ZOGHBI, M. das G.B.; SILVA, J.R. de A. (1995) *Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais*. *Quimica Nova*, 18, p. 262.

PEREIRA, C.; AGOSTINHO, P.; MOREIRA, P.I.; DUARTE, A.I.; SANTOS, M.S.; OLIVEIRA, C.R. (2003) *Estratégias de Neuroproteção – Efeito da Vimprocetina em Modelos in vitro de Stresse Oxidativo*. *Acta Medica Portuguesa*, 16, 401-406.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V. da S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R. de A. (2002) *Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas*. *Quimica Nova*, 25, p. 45.

POOLE, C.F.; SCHUTTE, S.A. (1984) *Contemporary practice of chromatography*. Elsevier, Amsterdam.

RAPINI, A. (2000) *Sistemática: Estudos em Asclepiadoideae (Apocynaceae) da cadeia do espinhaço de Minas Gerais*. Tese de Doutorado. São Paulo –SP, Universidade de São Paulo – USP. p. 29-31.

RASTOGI, K.; KAPIL, R.S. and POPLI, S.P. (1980) *New Alkaloids from Tabernaemontana divaricata*. *Phytochemistry*, 19, p. 1209.

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.

SEO, S.; UOMORI, A.; YOSHIMURA, Y.; TAKEDA, K.; SETO, H.; EBIZUKA, Y.; NOGUCHI, H. and SANKAWA, V. (1998) *Biosyntheses of sitosterol, cycloartenol, na 24-methylene cycloartenol in tissue cultures of higher and of ergosterol in yeast from [1,2-13CH3] acetate and [5-13CH2] M. V. A.. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I., p. 2407.*

SHAMMA, M. and HINDENLANG, D.M. (1979), *Carbon-13 NMR Shift Assignments of Amines and Alkaloids*, Plenum Press, New York, 303p.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. (1998) *Identificação Espectrométrica de Compostos orgânicos*. 6 ed. Ed. LTC, Rio de Janeiro.

SUBHADHIRASAKUL, S.; TAKAYAMA, H.; AIMI, N.; PONGLUX, D.; SAKAI, S. (1994) *Novel indole alkaloids from the leaves of R. Sumatrana Jock. In Thailand. Chemical Pharmaceutical Bulletin 42 (7), p. 1427-1431.*

TORSSELL, K.B.G. (1997) *Natural Products Chemistry: A mechanistic, biosynthetic and ecological approach*. 2 ed. Sweden: Kristianstads Boktryckeri AB.

TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V. (2003) *Seleção de plantas com atividades anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. Quimica Nova, 26, p. 301.*

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