

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Aspidosperma illustre*
(APOCYNACEAE)**

LARA FONSECA BARBOSA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
Março – 2008**

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Aspidosperma illustre*
(APOCYNACEAE)**

LARA FONSECA BARBOSA

“Dissertação de Mestrado 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”.

Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira

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

Março – 2008

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Aspidosperma illustre*
(APOCYNACEAE)**

LARA FONSECA BARBOSA

Aprovada em 11 de março de 2008

Comissão Examinadora:

Profº Carlos Roberto Ribeiro Matos (D. Sc. Química de Produtos Naturais) - UENF

Profº Rodrigo Rodrigues de Oliveira (D. Sc. Química de Produtos Naturais) - UENF

Profº Walter Luiz Brasil Medeiros (D. SC. Química Orgânica) – CEFET-Campos

Profº Ivo José Curcino Vieira (D. SC. Química Orgânica) - UENF
(Orientador)

Dedico este trabalho,

aos meus pais Antônio Luiz e Maria Lúcia que sempre estiveram presentes em todos os momentos me ajudando e apoiando, fundamentais em minha vida e que tanto amo.

A minha irmã Nathália, que apesar da distância sempre me apoiou e incentivou, sendo a irmã maravilhosa de sempre e a minha sobrinha Gabriella que é um presente em nossas vidas com sua alegria e amor.

Ao meu namorado Flávio que sempre foi meu companheiro e amigo durante todo esse caminho me ajudando em todas as dificuldades.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me ajudado chegar até aqui.

Ao professor Ivo José Curcino Vieira, que sempre foi mais que um orientador, obrigada pela amizade, pelos ensinamentos e pela confiança.

Ao professor Carlos Matos por ter aceitado fazer parte da banca e por sempre ter estado disposto a ajudar.

Aos professores Rodrigo Rodrigues e Walter Medeiros por terem aceitado participar da banca.

Ao professor Raimundo Braz-Filho pela co-orientação e grande ajuda.

A professora Leda Mathias pela co-orientação.

Ao secretário Edson pela grande ajuda dada durante toda a etapa.

Aos meus colegas e amigos de laboratório Raquel, Marcelo, Vinicius, Elaine, Cecília, Virginia, Moema, Lanamar, Vilma, Graziela, Ildomar, Hádria, Vagner, Wagner e Milena por ter tornado esse momento mais prazeroso e pela amizade.

As amigas Débora, Jucimar e Priscilla que apesar da distância sempre estiveram presentes em todos os momentos.

As amigas Luciana e Luiza pela amizade, conversas e incentivo.

A minha família, em especial minha mãe, meu pai, minha irmã, minha sobrinha, minha avó Maria Zelima, meu namorado e todos que direta ou indiretamente estiveram presentes nessa etapa.

A todos os professores que foram fundamentais na minha formação.

A todos aqueles que de uma maneira ou outra colaboraram para conclusão de mais essa etapa.

obrigado.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	x
Lista de Fluxograma	xiii
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xiv
Resumo	xvi
Abstract	xvii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
3 REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 Família Apocynaceae	4
3.2 O Gênero <i>Aspidosperma</i>	7
3.2.1 Alcalóides do gênero <i>Aspidosperma</i>	9
3.3 Alcalóides	12
3.3.1 Alcalóides indólicos	17
3.4 Triterpenos	23
3.5 Atividade Antioxidante	25
4 PARTE EXPERIMENTAL	27
4.1 Materiais e Métodos	27
4.2 Escolha da Planta	28
4.3 Coleta da Planta	28
4.4 Preparação dos Extratos	28
4.5 Extração Ácido-Base	29
4.6 Partição	30
4.7 Análises das frações obtidas dos extratos de <i>Aspidosperma</i>	31
<i>illustre</i>	
4.7.1 Análise cromatográfica do extrato ACH	31
4.7.2 Análise cromatográfica do extrato AM	39
4.7.3 Análise cromatográfica do extrato AFC	46
4.7.4 Análise cromatográfica do extrato AMA	53
4.7.5 Análise cromatográfica do extrato AOB	56
4.8 Reação de Transterificação	61
4.9 Teste de Atividade Antioxidante	61
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
5.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos de	63
<i>Aspidosperma illustre</i>	
5.1.1 Determinação estrutural da substância I	65
5.1.2 Determinação estrutural da substância II	84
5.1.3 Determinação estrutural da substância III	95
5.1.4 Determinação estrutural da substância IV	110
5.1.5 Determinação estrutural das substâncias V e VI	119
5.1.6 Determinação estrutural da substância VII	130
5.1.7 Determinação estrutural da substância VIII	143

5.1.8 Determinação estrutural da substância IX	155
5.1.9 Determinação estrutural da substância X	166
5.2 Resultado do teste antioxidante	177
6 CONCLUSÕES	179
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	180

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Reação promovida pela enzima triptofano-descarboxilase.	19
Figura 2 Reação de condensação da triptamina e secologanina catalisada pela enzima strictosidina sintase.	19
Figura 3 Esqueletos básicos das oito sub-classes de alcalóides indólicos terpênicos.	21
Figura 4 Sistema de numeração aceito para os alcalóides indólicos.	23
Figura 5 Origem dos terpenos, formação do precursor de cada classe.	24
Figura 6 Procedimento experimental do teste antioxidante	62
Figura 7 Espectro de massas da substância I	68
Figura 8 Principais fragmentos de massas da substância I	69
Figura 9 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO da substância I	71
Figura 10 Ampliação da região de δ_{H} 1,0 – 4,0 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO da substância I	72
Figura 11 Ampliação da região de δ_{H} 6,9 – 7,4 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO da substância I	73
Figura 12 Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO da substância I	74
Figura 13 Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^\circ$, 125 MHz) em DMSO da substância I	75
Figura 14 Mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I	76
Figura 15 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I	77
Figura 16 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I	78
Figura 17 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I	79
Figura 18 Mapa de correlação do espectro de HMQC em DMSO da substância I	80
Figura 19 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em DMSO da substância I	81

Figura 20 Mapa de correlação ^1H - ^1H COSY em DMSO da substância I	82
Figura 21 Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H COSY em DMSO da substância I	83
Figura 22 Espectro de massas da substância II	85
Figura 23 Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância II	89
Figura 24 Espectro de RMN ^{13}C (APT; 100 MHz) em CDCl_3 da substância II	90
Figura 25 Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância II	91
Figura 26 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em DMSO da substância II	92
Figura 27 Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância II	93
Figura 28 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância II	94
Figura 29 Espectro de massas da substância III	96
Figura 30 Principal fragmento de massas da substância III	98
Figura 31 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância III	101
Figura 32 Ampliação da região de δ_{H} 0,75 – 2,0 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância III	102
Figura 33 Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância III	103
Figura 34 Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^\circ$ 125 MHz) em CDCl_3 da substância III	104
Figura 35 Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^\circ$ 125 MHz) em CDCl_3 da substância III	105
Figura 36 Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância III	106
Figura 37 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância III	107
Figura 38 Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância III	108
Figura 39 Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância III	109
Figura 40 Espectro de massas da substância IV	111
Figura 41 Principais fragmentos de massas da substância IV	113
Figura 42 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância IV	115
Figura 43 Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância IV	116
Figura 44 Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^\circ$ 125 MHz) em CDCl_3 da substância IV	117

substância IV	
Figura 45 Ampliação do Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^{\circ}$ 125 MHz) em CDCl_3	118
da substância IV	
Figura 46 Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 das substâncias V e VI	122
Figura 47 Ampliação da região de δ_{H} 0,75 – 2,5 do espectro de RMN ^1H (500	123
MHz) em CDCl_3 das substâncias V e VI	
Figura 48 Ampliação da região de δ_{H} 4,5 – 5,5 do espectro de RMN ^1H (500	124
MHz) em CDCl_3 das substâncias V e VI	
Figura 49 Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 das substâncias V e VI	125
Figura 50 Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^{\circ}$ 125 MHz) em CDCl_3 das	126
substâncias V e VI	
Figura 51 Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^{\circ}$ 125 MHz) em CDCl_3	127
das substâncias V e VI	
Figura 52 Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 das	128
substâncias V e VI	
Figura 53 Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das	129
substâncias V e VI	
Figura 54 Espectro de massas da substância VII	132
Figura 55 Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias VII	135
Figura 56 Espectro de RMN ^{13}C (APT 100 MHz) em CDCl_3 da substância VII	136
Figura 57 Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (APT 100 MHz) em CDCl_3 da	137
substância VII	
Figura 58 Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância	138
VII	
Figura 59 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3	139
da substância VII	
Figura 60 Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância	140
VII	
Figura 61 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3	141
da substância VII	
Figura 62 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3	142
da substância VII	
Figura 63 Espectro de massas da substância VIII	145
Figura 64 Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias VIII	148
Figura 65 Espectro de RMN ^{13}C (PENDANT 100 MHz) em CDCl_3 da substância	149

VIII		
Figura 66	Espectro de RMN ^{13}C (PENDANT 100 MHz) em CDCl_3 da substância	150
VIII		
Figura 67	Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância	151
VIII		
Figura 68	Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3	152
	da substância VIII	
Figura 69	Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância	153
VIII		
Figura 70	Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3	154
	da substância VIII	
Figura 71	Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias IX	159
Figura 72	Espectro de RMN ^{13}C (PENDANT 100 MHz) em CDCl_3 da substância	160
IX		
Figura 73	Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (PENDANT 100 MHz) em CDCl_3	161
	da substância IX	
Figura 74	Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância	162
IX		
Figura 75	Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3	163
	da substância IX	
Figura 76	Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância	164
IX		
Figura 77	Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3	165
	da substância IX	
Figura 78	Espectro de massas da substância X	167
Figura 79	Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias X	170
Figura 80	Espectro de RMN ^{13}C (APT 100 MHz) em CDCl_3 da substância X	171
Figura 81	Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância	172
X		
Figura 82	Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3	173
	da substância X	
Figura 83	Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância	174
X		
Figura 84	Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3	175

da substância X	
Figura 85 Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl ₃	176
da substância X	
Figura 86 Gráfico de % de atividade antioxidante	178

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação botânica da família Apocynaceae, segundo K. Schumann, M. Pichon e F. Margraf.	6
Tabela 2 Classificação dos alcalóides de acordo com o precursor biogenético.	13
Tabela 3 Quantidade de extratos obtidos.	29
Tabela 4 Estudo do extrato ACH.	32
Tabela 5 Estudo da fração ACH-1.	32
Tabela 6 Estudo da fração ACH1-1.	33
Tabela 7 Estudo da fração ACH11-1.	34
Tabela 8 Estudo da fração ACH-2.	34
Tabela 9 Estudo da fração ACH2-1.	35
Tabela 10 Estudo da fração ACH21-1.	35
Tabela 11 Estudo da fração ACH-4.	36
Tabela 12 Estudo da fração ACH-5.	37
Tabela 13 Estudo da fração ACH5-4.	37
Tabela 14 Estudo do extrato AM.	39
Tabela 15 Estudo da fração AM-0.	40
Tabela 16 Estudo da fração AM0-3.	41
Tabela 17 Estudo da fração AM-1.	41
Tabela 18 Estudo do extrato AM-3.	42
Tabela 19 Estudo da fração AM3-2.	42
Tabela 20 Estudo da fração AM32-2.	43
Tabela 21 Estudo da fração AM-4.	44
Tabela 22 Estudo do extrato AFC.	46
Tabela 23 Estudo da fração AFC-4.	47
Tabela 24 Estudo da fração AFC4-6.	48
Tabela 25 Estudo da fração AFC46-3.	48
Tabela 26 Estudo da fração AFC-5.	49
Tabela 27 Estudo da fração AFC5-2.	50
Tabela 28 Estudo da fração AFC5-3.	50
Tabela 29 Estudo da fração AFC-7.	51

Tabela 30 Estudo do extrato AMA .	53
Tabela 31 Estudo da fração AOB .	56
Tabela 32 Estudo da fração AOB-6 .	57
Tabela 33 Estudo da fração AOB-9 .	58
Tabela 34 Estudo da fração AOB9-6 .	59
Tabela 35 Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em DMSO e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância I , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1 e Mo-2 , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	70
Tabela 36 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância II , e comparação com valores de literatura para o modelo Mo-1 .	88
Tabela 37 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância II , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1 e Mo-2 os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	100
Tabela 38 Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da mistura III e IV , e comparação com valores de literatura para o modelo Mo-1	114
Tabela 39 Correlações observadas no espectro de HMBC das substâncias V e VI	120
Tabela 40 Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 das substâncias V e VI , e comparação com valores de literatura para o modelo Mo-1 , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	121
Tabela 41 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância VII , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1 e Mo-2 , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	134
Tabela 42 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância VIII , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1 e Mo-2 , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	147

Tabela 43 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância IX , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1 , os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.	158
Tabela 44 Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância X , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1	169
Tabela 45 Valores de EC_{50} e coeficiente de variação dos extratos de <i>A. illustre</i> e substância	177

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1 Extração ácido-base das cascas do caule de <i>Aspidosperma illustre</i> .	27
Fluxograma 2 Partição do extrato metanólico das folhas.	28
Fluxograma 3 Resumo do estudo cromatográfico do extrato ACH .	35
Fluxograma 4 Resumo do estudo cromatográfico do extrato AM .	41
Fluxograma 5 Resumo do estudo cromatográfico do extrato AFC .	48
Fluxograma 6 Resumo do estudo cromatográfico do extrato AMA .	51
Fluxograma 7 Resumo do estudo cromatográfico do extrato AOB .	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APT	Attached Proton test
CC	Cromatografia em coluna
CCDP	Cromatografia em camada delgada em escala preparativa
COSY	COReLation SpectroscopY
δ	Deslocamento químico em partes por milhão
d	duplete
dd	Duplo duplete
ddd	Duploduploduplete
EM	Espectro de massas
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento medida em Hertz
m	multiplete
MHz	Megahertz
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
s	Sinal Simples
sl	Sinal simples largo
t	Triplete
tl	Triplete largo

RESUMO

BARBOSA, Lara Fonseca; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Março de 2008: Constituintes químicos de *Aspidosperma illustre* (Apocynaceae); Orientador: Ivo José Curcino Vieira; Co-orientadores: Leda Mathias e Raimundo Braz-Filho.

A Família Apocynaceae é bioprodutora de alcalóides indólicos com diversas atividades biológicas. Dentro dessa família pode-se destacar o gênero *Aspidosperma* que é rico na produção desses alcalóides. O presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico da espécie *Aspidosperma illustre*, nunca estudada anteriormente, e testar a atividade antioxidante dos extratos e substâncias. A espécie foi coletada em Linhares-ES, na Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. O estudo fitoquímico da espécie permitiu o isolamento de dois alcalóides indólicos monoterpênicos: β -ioimbina (I) e 1,2-desidroaspidospermidina (II) e oito triterpenos: β -amirina (III), lupeol (IV), acetato de β -amirina (V), acetato de lupeol (VI), 3 β -tetradecanoato-28-hidroxiolean-12-eno (VII), ácido 3 β -hexadecanoato-olean-12-en-28-óico (VIII), ácido ursólico (IX) e 3 β -acetoxi-11 α -metoxiolean-12-eno (X). O teste antioxidante realizado com os extratos e a substância isolada ioimbina (I) não mostrou nenhuma atividade significativa.

A determinação estrutural das substâncias isoladas foi feita a partir de dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, dados de espectrometria de massas (EM) e comparação com dados existentes na literatura.

As substâncias VIII e X se mostram inéditas na literatura até o momento, sendo todas inéditas na espécie, que nunca foi estudada anteriormente.

ABSTRACT

BARBOSA, Lara Fonseca; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2008, March: Chemical constituents of *Aspidosperma illustre* (Apocynaceae); Advisor: Ivo José Curcino Vieira; Co-advisors: Leda Mathias e Raimundo Braz-Filho.

The Apocynaceae family is bioproducer of indole alkaloids with various biological activities. Within this family you can detach the genus *Aspidosperma* that is rich in the production of these alkaloids. This present work has objective the phytochemical study of the *Aspidosperma illustre*, never studied before, and test the antioxidant activity of the extracts and compound. This specie was collected in Linhares-ES, at Companhia Vale do Rio Doce Reserve. The phytochemical study of the *Aspidosperma illustre*, permitted the isolation of two monoterpene indole alkaloids: β -yohimbine (I) e 1,2-dehidrospidospermidine (II) and eight triterpenes: β -amyrin (III), lupeol (IV), β -amyrin acetate (V), lupeol acetate (VI), 3 β -tetradecanoate-28-hydroxyolean-12-ene (VII), 3 β -hexadecanoate-olean-12-en-28-óic acid (VIII), ursolic acid (IX) e 3 β -acetoxo-11 α -methoxyolean-12-en (X). The antioxidant test realized was not significative.

The structures were elucidated by spectrometric data, specially NMR ^1H and ^{13}C one and two dimensional, mass (MS) and comparison with literature data.

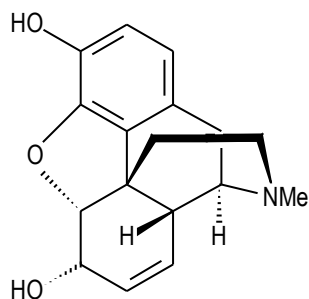
The substances VIII e X have not been previously registered yet in the literature and all are new in the genus.

1 INTRODUÇÃO

Durante séculos, a população vem utilizando espécies vegetais para vários fins, tais como, alucinógenos, venenos, drogas, estimulantes, especiarias, perfumes e pigmentos (STASI, 1996).

No final do século XVIII surgiu a fitoquímica, uma área da química de produtos naturais, com a finalidade de isolar e determinar a estrutura de metabólitos especiais (YUNES & FILHO, 2001). Acredita-se que esses metabólitos vem sendo produzidos pelas plantas a centenas de anos atrás, onde muitos desses tem atuado como defesa ao ataque de predadores (ROBERTS & WINK, 1998).

Várias substâncias foram isoladas no final do século XVIII, onde muitas dessas foram utilizadas como modelo para síntese ou semi-síntese de fármacos, os quais vêm sendo utilizados até os dias de hoje. Dentre estas substâncias, podemos citar o alcalóide morfina (1), que foi extraído em 1803 da espécie vegetal *Papaver somniferum*, utilizada para dores viscerais (YUNES & FILHO, 2001), e com atividade hipnoanalgésica (HENRIQUES *et al.* 1999).



1

Hoje em dia, 25% dos medicamentos utilizados nos países industrializados são fontes diretas ou indiretas de produtos naturais (YUNES & FILHO, 2001).

Existem cerca de 250 a 500 mil espécies de plantas em todo planeta, sendo que uma pequena parte, (aproximadamente 15%) foi estudada (YUNES & FILHO, 2001). As regiões equatoriais da América do Sul apresentam a maior biodiversidade, onde se destaca o Brasil que tem apenas 8% de suas espécies vegetais estudadas com seus princípios ativos isolados e aproximadamente, 1100 avaliados em suas propriedades medicinais (GUERRA & NODARI, 2000).

Essa biodiversidade está fortemente ameaçada devido à destruição de alguns ecossistemas (Floresta Amazônica, Mata Atlântica e Cerrado), e aos estresses ambientais causados pela poluição e mudanças climáticas. Se essa devastação continuar no ritmo atual é previsto que em 2010, uma grande parte das florestas tropicais seja eliminada.

Dentre as diversas famílias de espécies vegetais que bioproduzem substâncias com várias atividades biológicas, pode-se destacar a família Apocynaceae, a qual é caracterizada por ser bioprodutora de alcalóides indólicos dotados de diversas atividades biológicas (CANCELIERI, 2001).

Dentro dessa família podemos destacar os gêneros: *Tabernaemontana* que possui mais de 300 alcalóides indólicos isolados, alguns com propriedades farmacológicas como antiparasítico, alucinógeno e atividade antimicrobianas (FIGUEIREDO, 2005); o gênero *Rauvolfia* rico em alcalóides com propriedades hipotensoras, sedativas e hipnóticas (BARBOSA, 2005) e o gênero *Aspidosperma* rico na produção de alcalóides indólicos (BARBOSA *et al.*, 2003).

Sendo então, as espécies vegetais da família Apocynaceae bioprodutoras de substâncias que apresentam várias atividades biológicas, como citado acima, resolveu-

se investigar a constituição química da espécie vegetal *Aspidosperma illustre*, a qual não possui nenhum relato químico na literatura até o presente momento.

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo, isolar e identificar estruturalmente os constituintes químicos dos extratos em hexano e em metanol das cascas das raízes, e do extrato em metanol das folhas da espécie *Aspidosperma illustre*.

Realizar testes de atividade antioxidante com os extratos brutos e/ou substâncias isoladas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

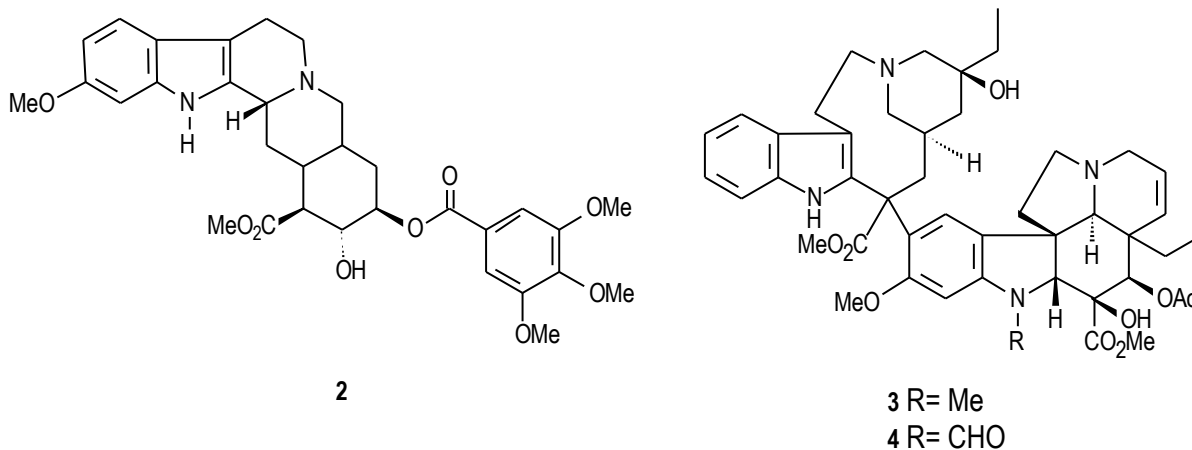
3.1 FAMÍLIA APOCYNACEAE

A família Apocynaceae é uma das dez maiores famílias de Angiospermas, possuindo cerca de 250 a 550 gêneros, e de 3700 a 5100 espécies (RAPINI, 2000), distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (JOLY, 2002) de todos os continentes (RAPINI, 2000). No Brasil, existem cerca de 41 gêneros que são representados por aproximadamente 376 espécies (BARROSO, 1991). Dessas, 65 espécies subordinadas a 19 gêneros podem ser encontrada no estado do Rio de Janeiro (QUINET, 2002).

As plantas dessa família são encontradas na forma de ervas, arbustos, árvores e trepadeiras, ocorrendo tanto nos campos como nas matas (JOLY, 2002), e exsudam um látex branco quando sofrem algum tipo de injúria mecânica (BARBOSA, 2005).

Essa família é caracterizada pela produção de diversas substâncias bioativas, tais como: iridóides e glicosídeos cardioativos, além dos alcalóides indólicos, pirrolizidínicos, esteroidais e piridínicos (RAPINI, 2000).

Muitas dessas plantas são tóxicas podendo causar a morte em animais ou em humanos quando ingeridas, outras são utilizadas com fins medicinais, como é o caso da espécie *Rauvolfia serpentina*, de onde foi extraído o alcalóide reserpina (**2**, pág. 5), utilizado como antidepressivo e tranqüilizante, e a *Catharantus roseus* de onde foram isolados os alcalóides vincristina (**3**, pág. 5) vimblastina (**4**, pág. 5) utilizados na medicina moderna como antitumoral (RAPINI, 2000).



Muitos gêneros são cultivados com fins ornamentais, como é o caso da *Tabernaemontana* e *Plumeria* (JOLY, 2002), já outras espécies são utilizadas pelo valor econômico, como é o caso da *Apocynum cannabinum* utilizada como fonte de fibras para cordas e fios para artesanato e da *Apocynum spp.* produtora de borracha e goma de mascar. Os ramos de *Sarcostemma clausum* são usados como vara de pescar, e algumas espécies de *Matelea* eram utilizadas como venenos para flechas, (RAPINI, 2000). A espécie *Hancornia speciosa*, conhecida como mangabeira é utilizada na alimentação e a espécie *Secodatia floribunda*, popularmente chamada de catuaba, é usada pela população como afrodisíaco (QUINET, 2002).

A família Apocynaceae está subdividida em três subfamílias:

I- Plumierioideae; II- Cerberioideae; III- Echitoideae. Encontra-se na **Tabela 1** (pág.6), uma classificação botânica resumida da família Apocynaceae (subfamílias, tribos e gêneros), constando à classe de alcalóides encontrados em alguns gêneros.

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

I – Plumeroideae (Subfamília)			
1. Carisseae (Tribo)			
Gêneros	<i>Couma</i>	<i>Melodinus</i> ^a	<i>Carissa</i>
<i>Lacmellea</i>	<i>Hancornia</i> ^a	<i>Landolphia</i>	<i>Dictyophleba</i>
<i>Pacouria</i>	<i>Jasminochyla</i>	<i>Vahadenia</i>	<i>Clitandra</i>
<i>Carpodinus</i> ^a	<i>Willughbeia</i>	<i>Urnularia</i>	<i>Bousigonia</i>
<i>Leuconotis</i> ^a	<i>Cyclocotyla</i>	<i>Picalima</i> ^a	<i>Parahancornia</i>
<i>Tetradoa</i>	<i>Hunteria</i> ^a	<i>Pleiocarpa</i> ^a	<i>Polyadoa</i> ^a
2. Chilocarpeae (Tribo)			
Gênero	<i>Chilocarpus</i>		
3. Ambelanieae (Tribo)			
Gêneros	<i>Ambelania</i>	<i>Rhigospira</i>	<i>Necocouma</i>
<i>Macoubea</i>	<i>Molongum</i>		
4. Tabernaemontaneae (Tribo)			
Gêneros	<i>Rejoua</i> ^a	<i>Ervatamia</i> ^a	<i>Pterotaberna</i>
<i>Pagiantha</i> ^a	<i>Muntafara</i>	<i>Pandacastrum</i>	<i>Callichilia</i> ^a
<i>Hazunta</i> ^a	<i>Hedranthera</i> ^a	<i>Tabernaemontana</i> ^a	<i>Peschiera</i> ^a
<i>Ephippiocarpa</i>	<i>Carvalhoa</i>	<i>Tabernanthe</i> ^a	<i>Schizozygia</i> ^a
<i>Daturicarpa</i>	<i>Crioceras</i> ^a	<i>Calocrater</i>	<i>Voacanga</i> ^a
<i>Stemmadenia</i> ^a	<i>Conopharyngia</i> ^a	<i>Pandaca</i> ^a	<i>Gabunia</i> ^a
<i>Capuronetta</i> ^a			
5. Alstoniae (Tribo)			
Gêneros	<i>Stephanostegia</i>	<i>Dyera</i>	<i>Kamettia</i>
<i>Gonioma</i> ^a	<i>Strempeleopsis</i>	<i>Plectaneia</i>	<i>Alstonia</i> ^a
<i>Tonduzia</i> ^a	<i>Winchia</i>	<i>Paladelphina</i>	<i>Bisquamaria</i>
<i>Blaberopus</i>	<i>Diplorrynchus</i> ^a	<i>Aspidosperma</i> ^a	<i>Geissospermu</i>
<i>Microplumeria</i>	<i>Rhazya</i> ^a	<i>Amsonia</i> ^a	<i>Lochenera</i> ^a
<i>Vinca</i> ^a	<i>Catharanthus</i> ^a	<i>Craspidospermum</i> ^a	<i>Plumeria</i>
<i>Himatanthus</i>	<i>Holarrhena</i> ^b	<i>Haplophyton</i> ^a	
6. Rauvofieae (Tribo)			
Gêneros	<i>Petchia</i>	<i>Rauvolfia</i> ^a	<i>Podochrosia</i>
<i>Alyxia</i>	<i>Lepinia</i>	<i>Lepiniopsis</i>	<i>Ochrosia</i> ^a
<i>Excavatia</i> ^a	<i>Vallesia</i> ^a	<i>Cabucala</i> ^a	<i>Rhipidia</i>
<i>Condylocarpon</i> ^a	<i>Anechites</i>	<i>Kopsia</i> ^a	
II – Cerberioideae (Subfamília)			
1. Skytantheae (Tribo)			

Gênero <i>Skytanthus^d</i>			
2. Thevetieae (Tribo)			
Gêneros	<i>Cameraria</i>	<i>Thevetia</i>	<i>Ahovai</i>
<i>Cerbera^c</i>	<i>Cerberiopsis</i>		
III – Echitoideae (Subfamília)			
1. Parsonsieae (Tribo)			
Gêneros	<i>Echites</i>	<i>Pachypodium</i>	<i>Parsonia</i>
<i>Prestonia</i>	<i>Chonemorpha^b</i>	<i>Rhynchodia</i>	<i>Trachelospermum</i>
<i>Urechites</i>	<i>Rhabdadenia</i>		
2. Nerieae (Tribo)			
Gêneros	<i>Beaumontia</i>	<i>Christya</i>	<i>Funtumia^b</i>
<i>Kibatalia^b</i>	<i>Kicksia^b</i>	<i>Paravallaris^b</i>	<i>Malouetia^b</i>
<i>Nerium</i>	<i>Pottsia</i>	<i>Adenium</i>	<i>Strophanthus</i>
<i>Vallaris</i>	<i>Wrightia^b</i>	<i>Roupellina</i>	
3. Ecdysanthereae (Tribo)			
Gêneros	<i>Apocynum</i>	<i>Anodendron</i>	<i>Cleghornia</i>
<i>Odontadenia</i>	<i>Urceola</i>	<i>Chavannesia</i>	
4. Ichonocarpeae (Tribo)			
Gêneros	<i>Forsteronia</i>	<i>Ichnocarpus</i>	<i>Mandevilla</i>
<i>Elytropus</i>	<i>Macrosiphonia</i>	<i>Parameria</i>	<i>Oncinotis^d</i>
<i>Dipladenia</i>			

^a Alcalóides Indólicos.

^b Alcalóides Esteroidais.

^c Alcalóides Piperidínicos.

^d Alcalóides Espermidínicos.

3.2 O GÊNERO *ASPIDOSPERMA*

O gênero *Aspidosperma* possui cerca de 80 espécies arbóreas (ISAIAS *et al.*, 2000) que podem ser encontradas desde o México até a Argentina (BARBOSA *et al.*, 2003). No Brasil, é representado por 32 espécies que podem ser encontradas principalmente em florestas pluviais, assim como, em cerrados, caatingas, campos de altitude, restinga e chaco. Nove dessas espécies podem ser encontradas no estado do Rio de Janeiro (QUINET, 2002)

Essas espécies vêm despertando grande interesse econômico e medicinal (ISAIAS *et al.*, 2000) fornecendo madeira que é utilizada na construção civil, na

produção de móveis e ferramentas, onde seus caules são utilizados para confecção de cabo de machado (RAPINI, 2000), além de serem grandes produtoras de alcalóides indólicos (BARBOSA *et al.*, 2003) com diversas atividades biológicas, destacando o potencial desses, no tratamento de vários tipos de câncer (GOMES & CAVALCANTI, 2001).

Cascas de plantas desse gênero são muito utilizadas popularmente para o tratamento da malária, febre (BARBOSA *et al.*, 2003) e reumatismo (WENIGER *et al.*, 2001).

As cascas de *Aspidosperma subincanum* Mart., conhecida como guatambu, vêm sendo utilizada pela população de Goiânia e cidades vizinhas para o tratamento de *Diabetes mellitus* e da hipercolesterolemia (SOUZA *et al.*, 2005).

Um estudo realizado com extrato da casca de *Aspidosperma ramiflorum*, mostrou atividade contra bactérias gram-positivas (TANAKA, 2006).

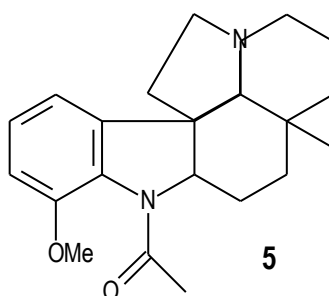
O extrato etanólico das cascas da raiz de *Aspidosperma macrocarpon* apresenta atividade contra *Plasmodium falciparum* (MESQUITA *et al.*, 2007).

As espécies *A. excelsum* (cascas), *A. desmanthum* (folhas), *A. marcgravianum* (madeira e cascas), *A. nitidum* (madeira, cascas e látex), *A. schultesii* (cascas), *A. vargasii* e *A. gomezianum* vêm sendo utilizadas pela população local do estado do Pará e Roraima e pelos índios Yanomani e Ingaricó para o tratamento da malária, na forma de chá (MESQUITA *et al.*, 2007).

As cascas de *Aspidosperma auriculatum*, conhecida no Pará como carapanaúba, é utilizada para o tratamento de bronquite, febre, icterícia, hepatopatias, diabetes e infecções renais (BARBOSA *et al.*, 2003).

Esse gênero apresenta uma das maiores quantidades de alcalóides isolados (GNECCO *et al.*, 2003), onde até o momento foram isolados e identificados 247 alcalóides, com uma grande diversidade estrutural (PEREIRA *et al.*, 2007), onde a

maioria apresenta o esqueleto aspidospermano (**5**) (GNECCO *et. al.*, 2003).



A espécie em estudo, *Aspidosperma illustre*, conhecida popularmente no estado do Espírito Santo como “Tambu-Pequiá” não apresenta nenhum estudo sob a sua constituição química.

3.2.1 ALCALÓIDES DO GÊNERO *ASPIDOSPERMA*

Estudos realizados com as cascas de *Aspidosperma megalocarpon* mostraram atividade antibacteriana contra o *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, e a parte aérea possui atividade antiviral. Foram isolados três alcalóides de suas cascas, fendlerina (**6**), aspidoalbina (**7**) e aspidolimidina (**8**), dos quais apresentaram atividade antimalária *in vitro* (WENIGER *et al.*, 2001).

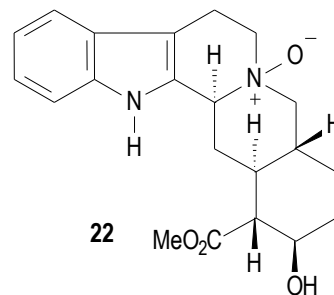
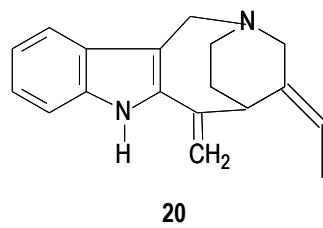
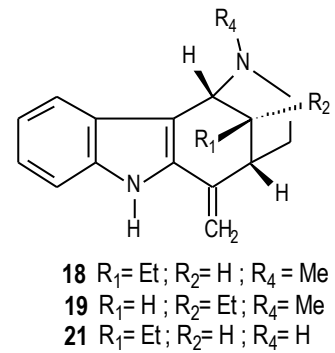
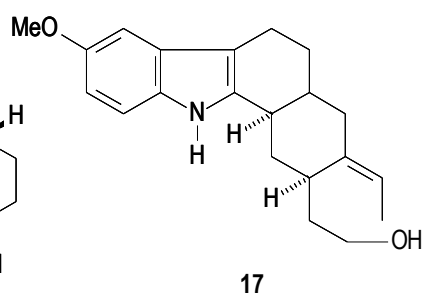
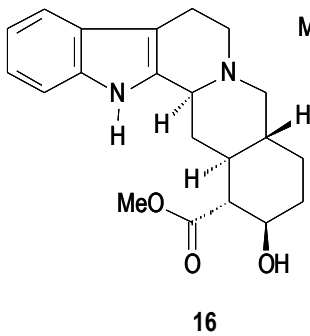
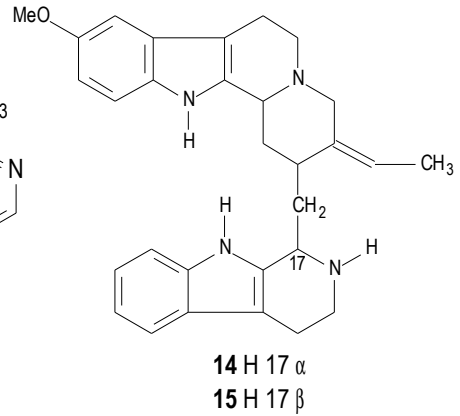
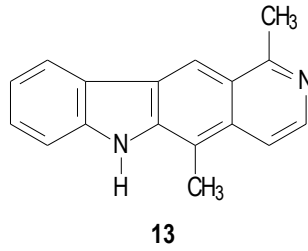
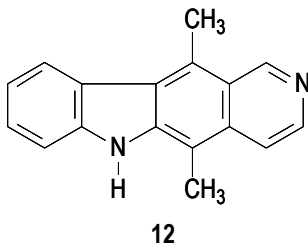
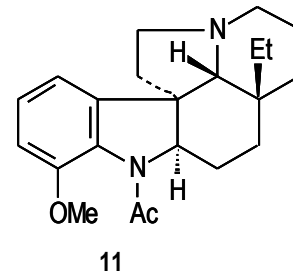
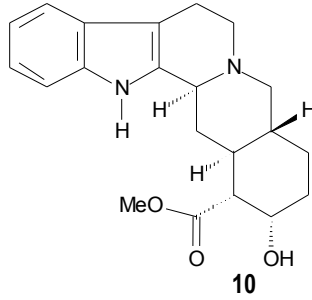
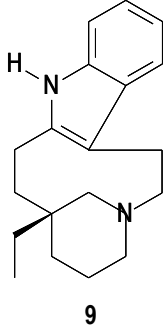
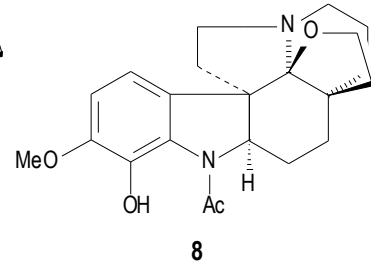
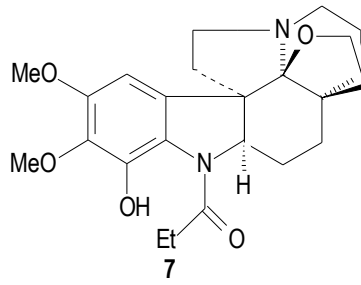
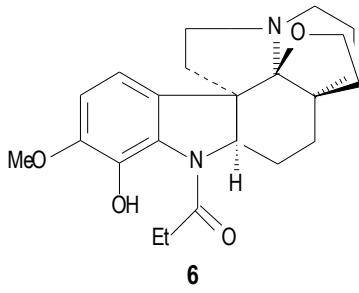
De *Aspidosperma quebracho-blanco*, foram isolados os alcalóides quebracamina (**9**), ioimbina (**10**) e aspidospermina (**11**), os quais são utilizados como bloqueadores adrenérgicos. A elipticina (**12**) isolada de *Aspidosperma welliamsii*, apresenta alta atividade antitumoral e citotóxica (BARBOSA *et al.*, 2003).

Da espécie *Aspidosperma olivaceum* foi isolado o alcalóide olivacina (**13**) (BARBOSA *et al.*, 2003), e de *Aspidosperma ramiflorum* foram isolados os alcalóides, ramiflorina A (**14**), ramiflorina B (**15**), β -ioimbina (**16**) e 10-metoxigeissorchezol (**17**) (MARQUES *et al.*, 1996), os alcalóides (**14**) e (**15**) apresentam atividades anti-leishmanica (FERREIRA *et al.*, 2004), e da espécie

Aspidosperma parcifolium, a uleína (18), epiuleína (19), aparicina (20), desmetiluleína (21), descritos pela primeira vez na espécie (JÁCOME *et. al.*, 2004).

O alcalóide ioimbina (10) foi isolado das espécies *A. discolor*, *A. excelsum*, *A. eburneum*, *A. marcgravianum*, *A. oblongum*, *A. peroba*, *A. polyneuron*, *A. pruinsum*, *A. pyricollum* e *A. quebracho-blanco*. A β -ioimbina (16) foi isolada de *A. discolor*, *A. eburneum*, *A. marcgravianum*, *A. oblongum*, *A. pruinsum*, *A. pyricollum*, *A. quebracho-blanco* e *A. ramiflorum*, e o N-óxido β -ioimbina (22) de *A. marcgravianum* (PEREIRA *et. al.*, 2007).

Em muitos países, o extrato de *A. quebracho-blanco* é usado como prescrição no tratamento da disfunção eretil e o principio ativo está relacionado a presença do alcalóide ioimbina (10). Esse alcalóide tem atividade α_2 - adrenérgico bloqueadora, que vem sendo usada durante séculos, causando estímulo sexual. Estudos mostram a eficácia dessa substância sozinha ou combinada a outros medicamentos (CAMPOS *et. al.*, 2006).

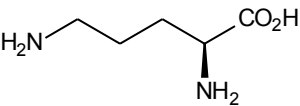
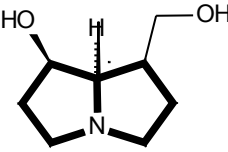
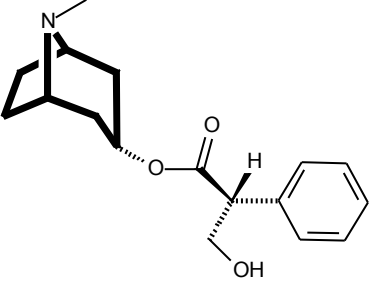
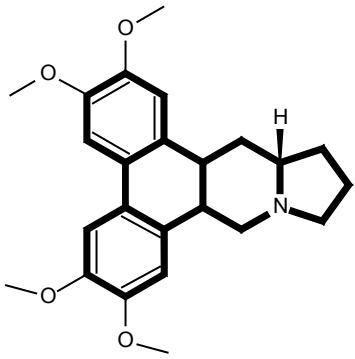
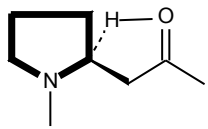
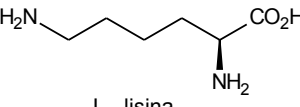
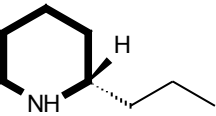
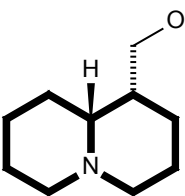
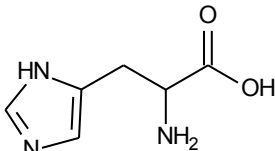
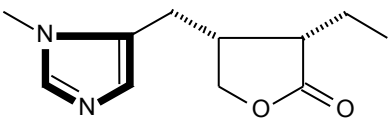


3.3 ALCALÓIDES

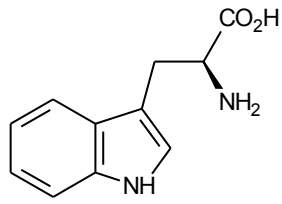
Alcalóides são substâncias nitrogenadas (HENRIQUES *et. al.*, 2000) formados a partir dos aminoácidos (SANTOS, 2000), que em sua maioria possuem atividades farmacológicas e caráter básico que geralmente são solúveis em soluções aquosas ácidas, e insolúveis em soluções básicas, apresentando cerca de 20% das substâncias naturais descritas (HENRIQUES *et. al.*,2000).

A classificação dos alcalóides é feita de acordo com os sistemas de anéis que compõem a parte principal da estrutura (em negrito nas estruturas) como mostra a **Tabela 2** (pág.13) (SANTOS, 2000).

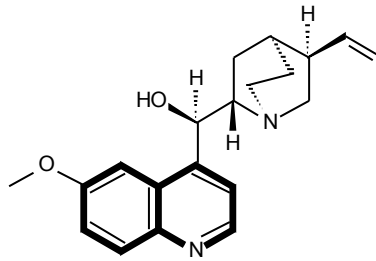
Tabela 2: Classificação dos alcalóides de acordo com o precursor biogenético (HENRIQUES, *et. al.*, 2000).

Precursor biogenético	Exemplos	
 <p data-bbox="300 577 416 607">L - ornitina</p>	 <p data-bbox="644 757 900 808">retronecina (<i>Senecio</i> spp.) pirrolizidínico</p>	 <p data-bbox="1054 846 1358 898">atropina (<i>Atropa belladonna</i> L.) tropânico</p>
	 <p data-bbox="608 1211 1050 1267">tiloforina (<i>Tylophora asthmatica</i> Wight et Arn.) fenantroindolizidínico</p>	 <p data-bbox="1123 1160 1378 1211">higrina (<i>Erythroxylum</i> spp) pirrolidínico</p>
 <p data-bbox="325 1487 416 1509">L - lisina</p>	 <p data-bbox="651 1599 986 1659">coniina (<i>Conium maculatum</i> L.) piperidínico</p>	 <p data-bbox="1075 1608 1362 1666">lupinina (<i>Lupinus luteus</i> L.) quinolizidínico</p>
 <p data-bbox="336 1912 464 1939">L - histidina</p>	 <p data-bbox="847 1944 1150 2002">pilocarpina (<i>Pilocarpus</i> spp) imidazólico</p>	

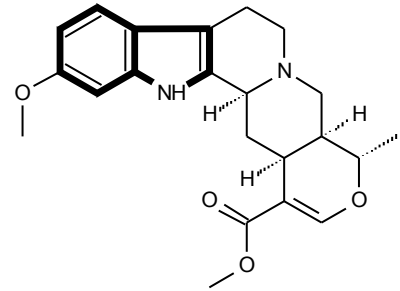
Continuação da Tabela 2:



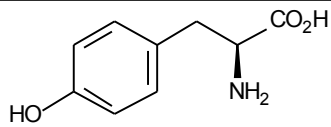
L - triptofano



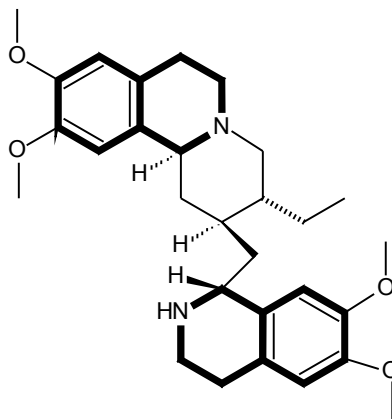
quinina (*Cinchona* spp.)
quinolínico



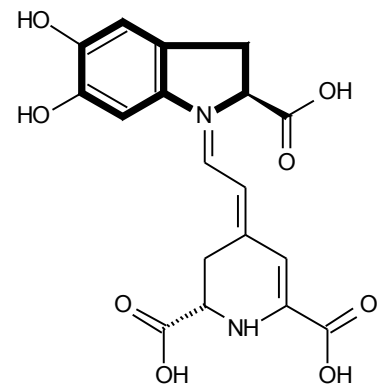
reserpinina (*Rauvolfia* spp.)
indólico



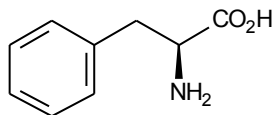
L - tirosina



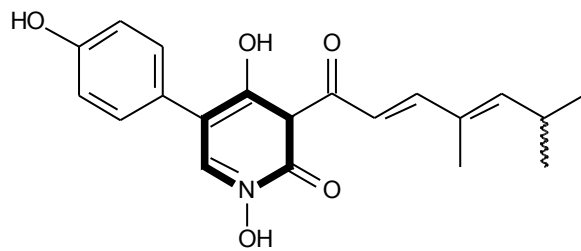
emetina (*Cephaelis* spp.)
isoquinolínico



betanidina (*Beta vulgaris* L.)
diidroindólico

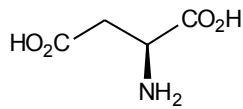


L - fenilalanina

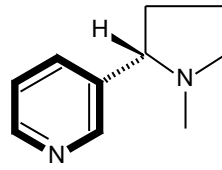
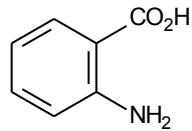


tenelina (*Beauveria tenella*)
piridínico

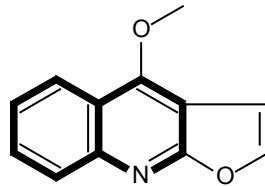
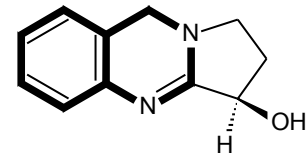
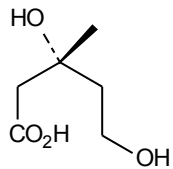
Continuação da Tabela 2:



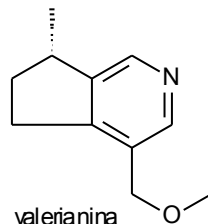
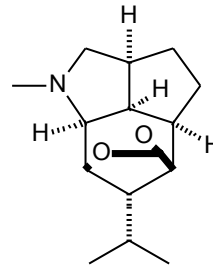
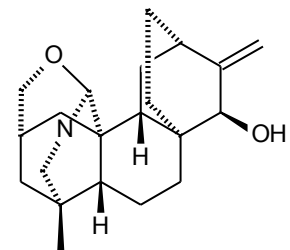
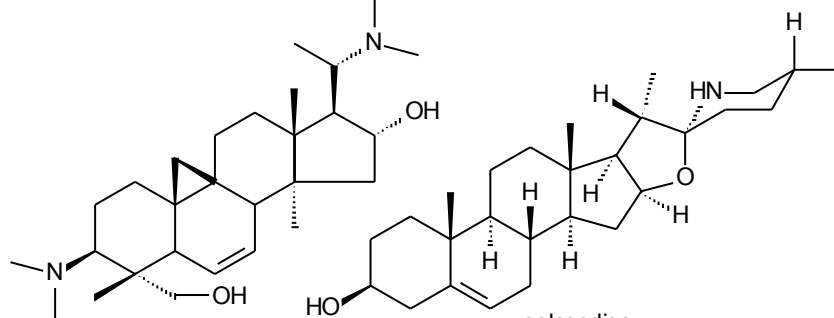
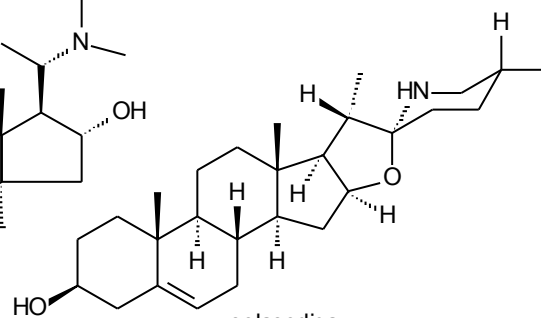
Ácido L-aspártico

nicotina (*Nicotiana* spp.)
piridínico

Ácido antranílico

distamina (*Dictamnus albus* L.)
quinolínicopeganina (*Peganum harmala* L.)
quinazolinico

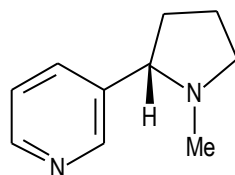
Ácido mevalônico

valerianina
(*Valeriana officinalis* L.)
monoterpênicodendrobina
(*Dendrobium nobile* Lindl.)
sesquiterpênicoatisina
(*Aconitum* spp.)
diterpênicociclomicrofilina A
(*Buxus* spp.)
triterpênicosolasodina
(*Solanum* spp.)
esteróidico

Em 1803 o primeiro alcalóide, a morfina (1, pág.1), foi isolado do ópio, *Papaver somniferum*, por Sertürner e vem sendo utilizado até os dias de hoje como analgésico e com propriedades narcóticas (ROBERTS & WINK, 1998).

Os alcalóides exercem um papel importante como substâncias de defesas

contra insetos herbívoros (GUERRA & NODARI, 2000), o que pode estar associado a sua toxicidade. Eles podem ser encontrados em todas as partes da planta sendo que haverá um acúmulo preferencial em um ou mais órgãos. Eles são sintetizados em um local e armazenado em outro, não aparecendo em células jovens. A nicotina (**23**), por exemplo, é formada nas raízes das plantas de tabaco e translocada para as folhas onde é armazenada (HENRIQUES *et al.*, 2000).

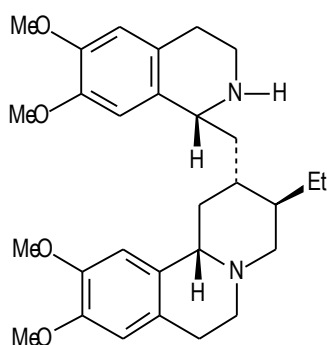


23

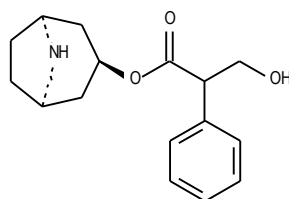
As rotas metabólicas de muitos alcalóides ainda não foram completamente delineadas, porque muitas enzimas envolvidas nas reações ainda não foram isoladas e caracterizadas (HENRIQUES *et al.*, 2000).

Dados indicam que até o ano de 1978, foram isolados um total de 3302 alcalóides (CANCELIERI, 2001).

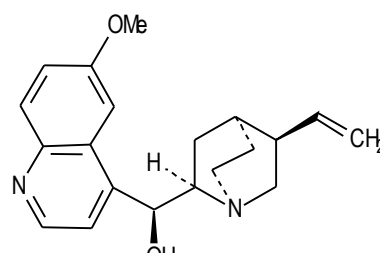
Os alcalóides apresentam uma grande importância farmacológica, como por exemplo, a emetina (**24**) utilizada como amebicida e emético, a atropina (**25**) utilizada como anticolinérgico, a reserpina (**2**, pág. 5) utilizada como anti-hipertensivo, a quinidina (**26**) utilizada como depressor cardíaco, a cafeína (**27**) utilizada como estimulante do SNC, a colchicina (**28**) utilizada para o tratamento da gota e a teofilina (**29**) utilizada como diurético (HENRIQUES *et al.*, 2000).



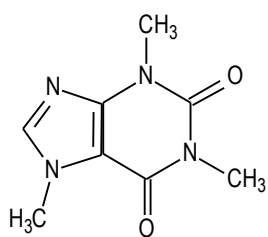
24



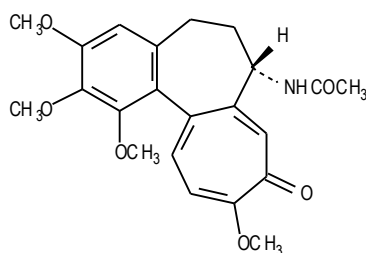
25



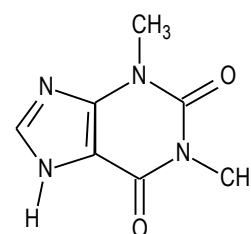
26



27



28



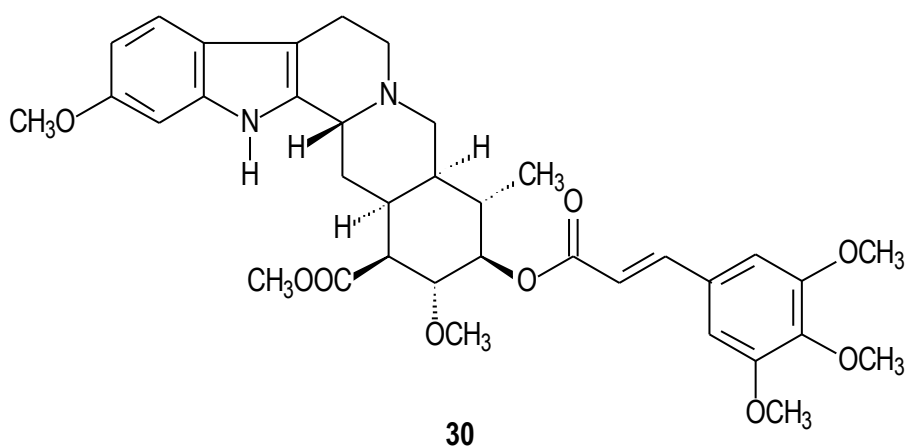
29

3.3.1 ALCALÓIDES INDÓLICOS

Existem cerca de 2000 alcalóides indólicos que podem ser divididos em alcalóides indólicos monoterpênicos, que são derivados da condensação da triptamina com a secologanina, e os demais (SCHRIPEMA *et al.*, 2000).

Esses alcalóides foram uma das primeiras classes de substâncias isoladas de plantas que por apresentar estruturas complexas, fez com que a determinação estrutural fosse demorada (HENRIQUES *et al.*, 2000).

Os alcalóides indólicos tem uma grande importância econômica devido as suas atividades farmacológicas, como exemplo, a ioimbina (**10**, pág. 11) extraída da *Rauvolfia vomitoria*, utilizada para impotência e como afrodisíaco, a rescinnamina (**30**) isolada da *Rauvolfia serpentina*, utilizada como hipertensivo (ROBERTS & WINK, 1998).



Esses são empregados como hipotensor arterial, simpatolítico, diurético, vasoconstrictor periférico, estimulante respiratório, anestésico, agente bloqueador adrenérgico, espasmogênico intestinal, sedativo e relaxante do músculo esquelético. Ainda são responsáveis pelo efeito alucinógeno do tabaco e de bebidas e pelo efeito sedativo do maracujá (PEREIRA *et al.*, 2007)

Os alcalóides indólicos podem ser classificados pelas características de seus esqueletos que estão relacionados a sua biogênese (HENRIQUES *et al.*, 2000).

A rota biossintética que leva a formação dos alcalóides indólicos envolvem enzimas, sendo que poucas foram isoladas e caracterizadas. Poucas substâncias como a vincristina (**3**, pág. 5) e a vimblastina (**4**, pág. 5) possuem as últimas etapas de sua biossíntese definidas (SCHRIPSEMA *et. al.*, 2000).

Podemos dizer que os alcalóides indólicos monoterpênicos têm como precursor o triptofano. O L-triptofano é descarboxilado pela enzima triptofano-descarboxilase (TDC) para formar a triptamina, que dá origem ao sistema indólico (**Figura 1**, pág. 19) (SCHRIPSEMA *et. al.*, 2000).

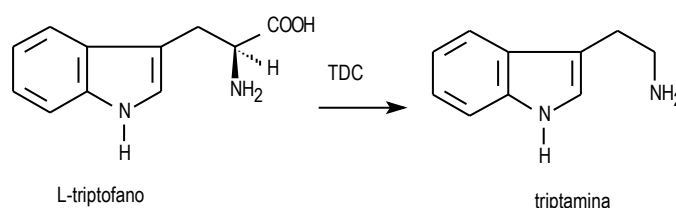


Figura 1: Reação promovida pela enzima triptofano-descarboxilase (SCHRIPSEMA *et. al.*, 2000)

Os alcalóides indólicos monoterpênicos são formados pela condensação da triptamina com a secologanina, essa condensação é catalisada pela enzima strictosidina sintase formando a strictosidina, que é o esqueleto básico dos alcalóides indólicos monoterpênicos (**Figura 2**).

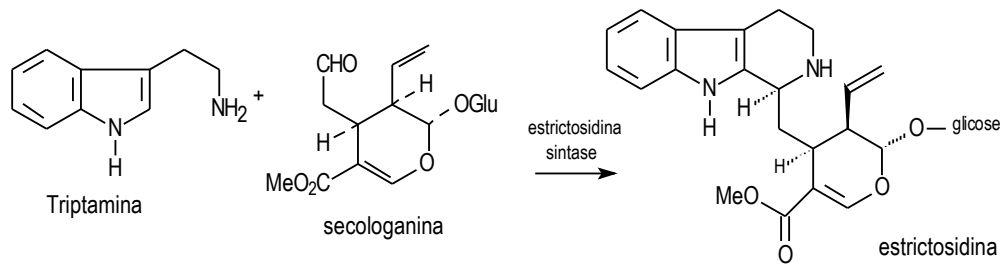


Figura 2: Reação de condensação da triptamina e secologanina catalisada pela enzima strictosidina sintase (ROBERTS & WINK, 1998).

Os alcalóides derivados desse esqueleto básico podem ser classificados em 11 classes que podem ser subdivididas de acordo com variações menores no esqueleto básico. Cada classe possui as seguintes características (SCHRIPISEMA *et. al.*, 2004) como pode ser visto na **figura 3** (pág. 21):

Corinanteano ou tipo C – unidade C-2, C-3, C-14 e ligações entre N-4 e C-21 ou unidade C-7, C-3, C-14, ligação entre N-4 e C-21, e a função c-2 oxo.

Vincosano ou tipo D - unidade C-2, C-3, C-14. HN-4 livre ou ligação entre N-4 e C-19 ou entre N-4 e C-18.

Valesiachotamano ou tipo V - unidade C-2, C-3, C-14, ligação entre N-4 e C-17 ou entre N-4 e C-22.

Estricnano ou tipo S - unidade C-2, C-16, C-15, ligação entre C-3 e C-7.

Aspidospermatano ou tipo A - unidade C-2, C-16, C-15 sem ligação entre C-3 e C-7.

Eburnano ou tipo E - unidade N-1, C-16, C-17, C-20.

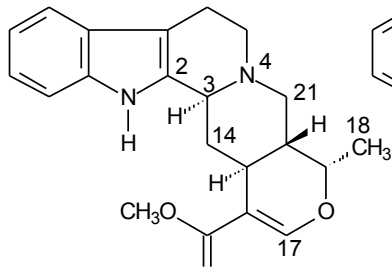
Plumerano ou tipo P - unidade C-2, C-16, C-17, C-20.

Ibogano ou tipo I - unidade C-2, C-16, C-17, C-14 ou C-7, C-16, C-17, C-14 e a função C-2-oxo.

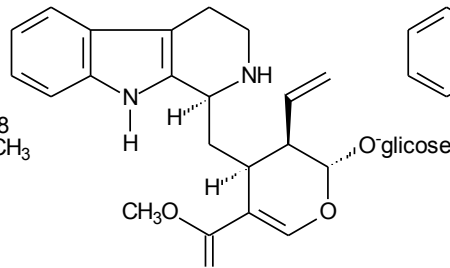
T-tacamano ou tipo T - unidade N-1, C-16, C-17, C-14.

bis-indol

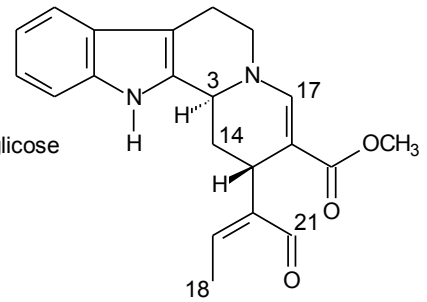
Diversos



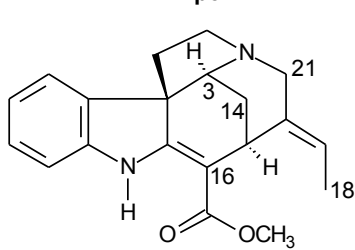
ajmalicina
Tipo C



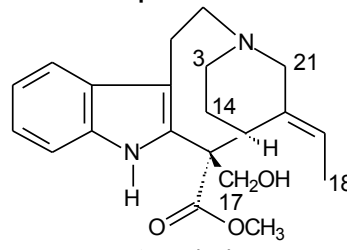
estricosidina
Tipo D



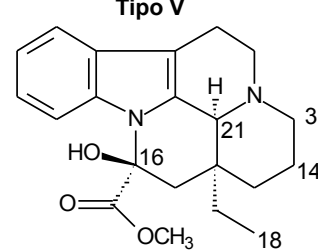
valesiachotamina
Tipo V



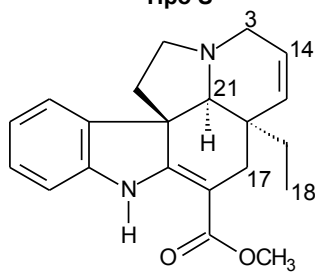
aquamicina
Tipo S



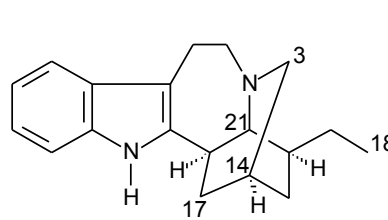
estemadenina
Tipo A



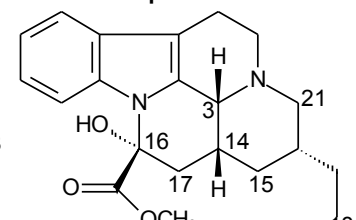
vincamina
Tipo E



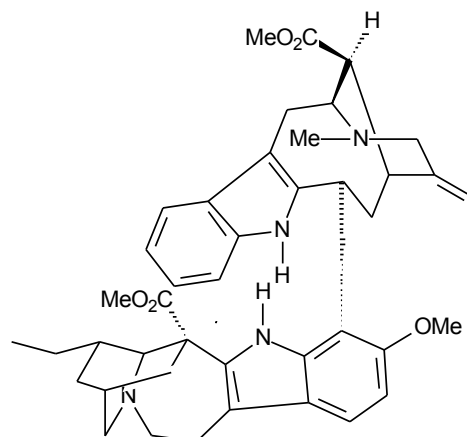
tabersonina
Tipo P



ibogaína
Tipo I



tacamina
Tipo T



conodurina
bis-indol

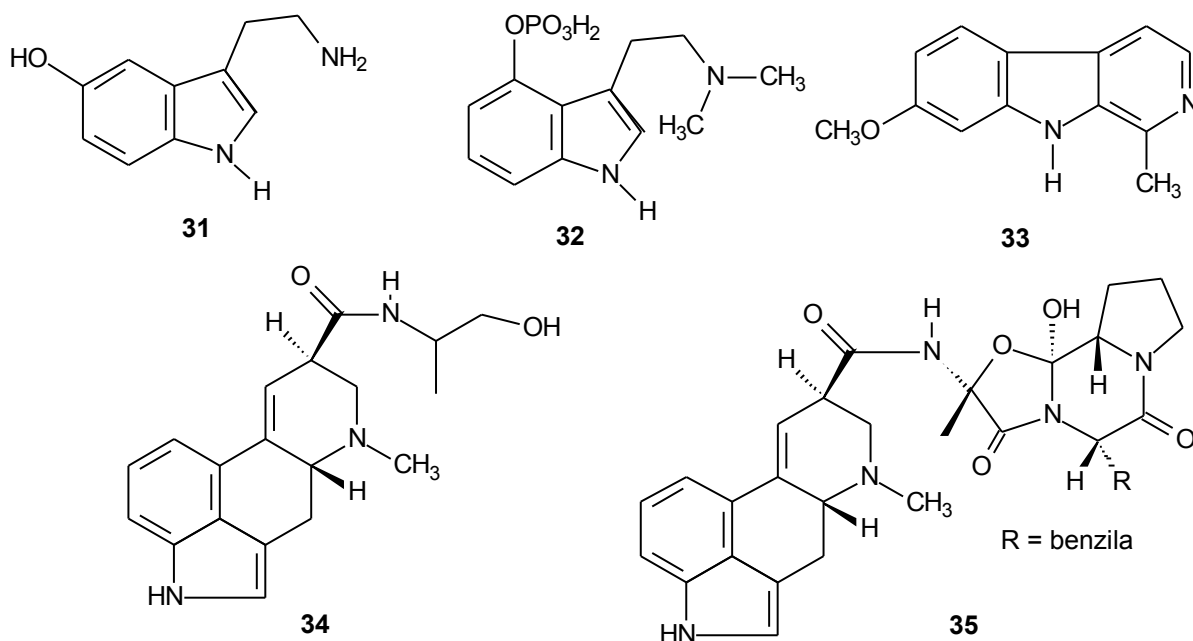
Figura 3: Estruturas representando as nove classes de alcalóides indólicos monoterpênicos (SCHRIPEMA *et. al.*, 2004).

A maior parte dos outros alcalóides indólicos pode ser representada nas seguintes classes:

- base simples – são derivados simples do triptofano, produtos da sua desaminação, descarboxilação, metilação e/ou hidroxilação. Ex: triptamina (**figura 2**, pag.19), serotonina (**31**) e psilocibina (**32**).

- β -carbolinas – apresentam um anel de seis membros a mais, também conhecidos como alcalóides do tipo harmano. Ex: harmina (**33**).

- alcalóides do esporão-do-centeio – apresentam um sistema de anéis denominados de ergolínicos. Ex: ergometrina (**34**) e ergotamina (**35**) (SCHRIPEMA *et. al.*, 2004).



Le Men e Taylor *apud* SCHRIPEMA *et al.* 2000, em 1965 propôs um sistema

de numeração para os alcalóides indólicos que é baseado na estrutura da ioimbina (**Figura 4**), o qual é aceito até hoje.

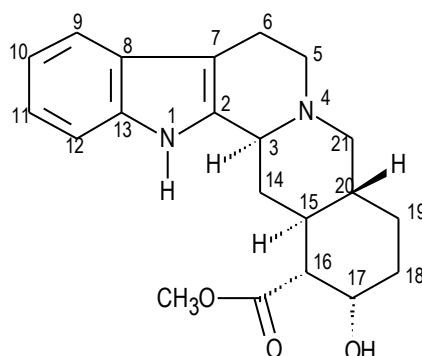


Figura 4: Sistema de numeração aceito para os alcalóides indólicos.

Os alcalóides indólicos, em especial os monoterpênicos, são encontrados em três famílias, Rubiaceae, Loganiaceae e Apocynaceae, sendo que na família Apocynaceae são encontradas todas as classes de alcalóides (SCHRIPSEMA *et al.*, 2000).

3.4 TRITERPENOS

Os terpenos constituem um grande grupo de metabólicos encontrados em plantas e são formados pela união de unidades C₅ de isoprenos. Cada classe de terpenos é formado pela condensação cabeça-cauda de variados números de isoprenos, como mostra a **figura 5** (pág.24) (BRUNETON, 1995).

Dentro dos terpenos temos os triterpenos que são compostos formados por 30 átomos de carbono tendo como precursor o esqualeno (BRUNETON, 1995), que foi isolado do óleo do fígado de tubarão (DEWICK, 1997). Apresentando aproximadamente 4000 compostos com 40 esqueletos diferentes (BRUNETON, 1995).

Em Apocynaceae é comum encontrar essa classe de substâncias. Estudos realizados com extratos das folhas de *Plumeria obtusa* levou ao isolamento de vários triterpenóides da série ursano, em extratos menos polares de casca e látex de *Parahancornia amapa* foram isolados triterpenos pentacíclicos (VELLOSO, 1998) e em *Tabernaemontana laeta* foram isolados triterpenos da série damarano, lupano e triterpenos pentacíclicos da série ursano, friedoursano e oleanano (MEDEIROS, 2003)

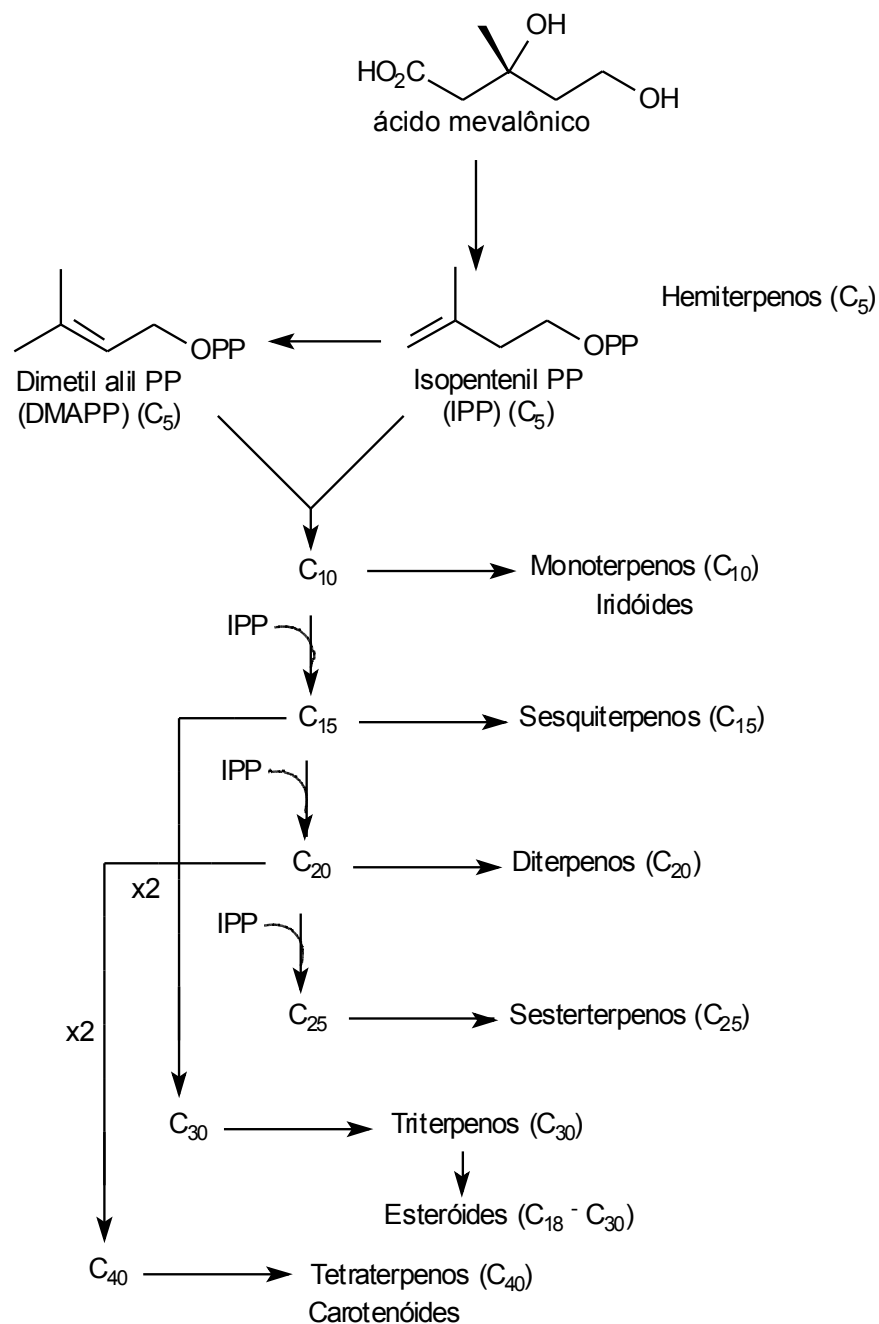


Figura 5: Origem dos terpenos, formação do precursor de cada classe (BRUNETON, 1995).

3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

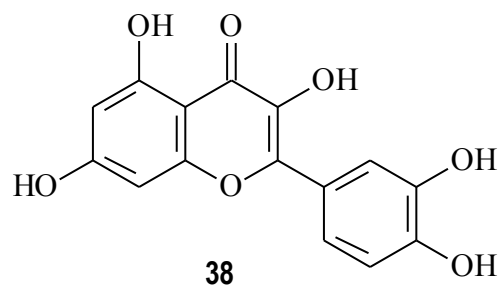
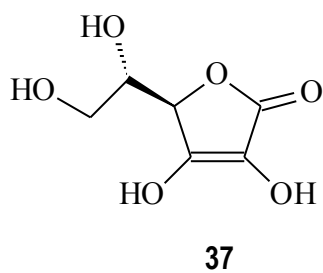
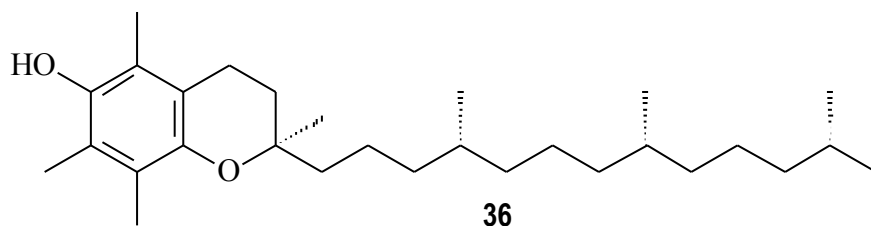
O oxigênio se encontra em 53,8% da crosta terrestre, e constitui cerca de 21% da composição do ar, sendo indispensável para a produção de energia tanto nos animais quanto nas plantas. A exposição excessiva desse elemento pode causar danos reversíveis ou até irreversíveis, devido ao fato de serem ou gerarem radicais livres.

Radicais livres são definidos como qualquer espécies químicas que contenha um ou mais elétrons desemparelhados, principalmente nos átomos de oxigênio e nitrogênio sendo classificados pelas siglas ERO (Espécies Reativas de Oxigênio) e ERN (Espécies Reativas de Nitrogênio) (BARREIROS *et al.*, 2006), sendo altamente reativos e capazes de atacar qualquer biomolécula, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons (SHAMI & MOREIRA, 2004).

Como a oxidação é fundamental na vida aeróbica e do nosso metabolismo, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. A produção excessiva desses radicais livres, chamada de estresse oxidativo, causa dano à estrutura das biomoléculas de DNA, lipídios, carboidratos e proteínas, e estão relacionada com várias patologias, tais como, artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunção cognitivas, câncer e SIDA (HALLIWELL, 1992).

O excesso de radicais livres pode ser combatidos por antioxidantes que são substâncias que retardam ou inibem a oxidação de outras substâncias, evitando o início ou propagação das reações em cadeia (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ,

2004). Esses antioxidantes podem ser produzidos pelo corpo ou podem ser provenientes de alimentos como o α -tocoferol (**36**) (vitamina E), que é encontrado em óleos de grãos vegetais, o ácido ascórbico (**37**) (vitamina C), que está presente nas frutas cítricas e nos vegetais, e a quercetina (**38**) que pode ser encontrada no tomate.



4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

As separações cromatográficas em coluna foram realizadas utilizando gel de sílica 60G (0,063-0,200 mm) e/ou alumina.

As análises comparativas, para determinar a composição de cada fração, foi feita em cromatografia de camada delgada (CCD), utilizando cromatofolha de gel de sílica 60 F₂₅₄, e/ou alumina, que foram reveladas através da irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimento de onda 254 e 365 nm e/ou com reveladores cromogênicos:

- Dragendorff (solução de nitrato de bismuto básico II em ácido acético diluído com iodeto de potássio) (MERCK, 1972);

- H₂SO₄ conc./Vanilina, seguido de aquecimento.

As análises em cromatografia em camada delgada, em escala preparativa foram realizadas utilizando-se placas de vidros com gel de sílica 60 GF₂₅₄. Para obtenção dessas placas, diluiu-se 20 g de gel de sílica em 70 mL de água destilada, essa suspensão foi distribuída manualmente em placas de vidro 20 X 20 cm.

Os espectros de massas foram registrados em espectrômetro de massas, aparelho Shimadzu QP5050A, operando em 70 eV. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker DRX-500 (¹H-500 MHz e ¹³C-125 MHz) e em espectrômetro Jeol (¹H-400 MHz e ¹³C-100 MHz), utilizando DMSO e CDCl₃ como solventes e TMS como padrão interno. Os pontos de fusão foram obtidos em aparelho tipo Kofler marca Microquímica modelo MQRPF-301.

4.2 ESCOLHA DA PLANTA

A espécie *Aspidosperma illustre* foi escolhida por pertencer ao gênero *Aspidosperma*, o qual é rico em alcalóides indólicos, sendo que muitos desses apresentam diversas atividades biológicas, aliado ao fato dessa espécie não apresentar estudos químicos prévios.

4.3 COLETA DA PLANTA

O material vegetal, que é constituído por cascas do caule e folhas da espécie *Aspidosperma illustre*, foi coletado na Rodovia BR 101, próximo a Reserva da Companhia Vale do Rio Doce em Linhares-ES, no dia 13 de novembro de 2004, e sua exsicata encontra-se depositada no herbário da Companhia Vale do Rio Doce com o código CVRD 338.

Uma nova coleta, constituída de cascas do caule, foi realizada em 10 de novembro de 2007 com o mesmo espécime.

4.4 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

O material vegetal foi seco ao ar livre logo após a coleta, e moído em moinhos de martelo. A extração dos componentes fixos foi feita a frio por maceração, usando solventes em ordem crescente de polaridade, hexano e metanol.

As soluções obtidas foram concentradas a pressão reduzida em evaporador rotativo fornecendo os extratos brutos como mostra a **Tabela 3**.

Tabela 3: Quantidades de extratos obtidos:

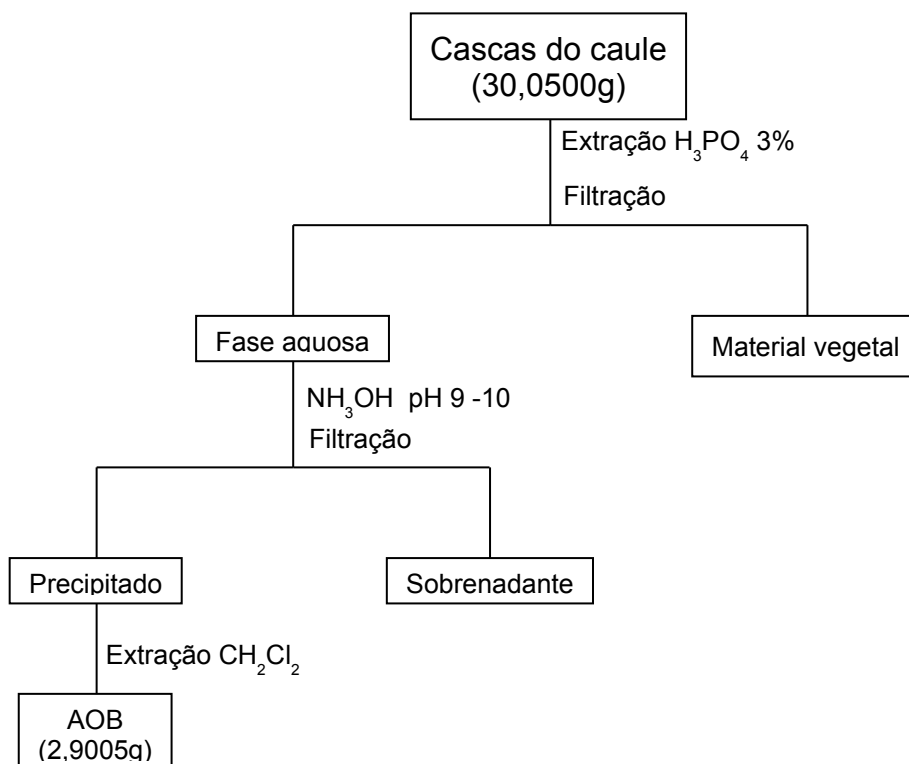
Espécie Botânica	Parte Botânica	Peso do material (Kg)	Solventes	Peso dos extratos	Código
------------------	----------------	-----------------------	-----------	-------------------	--------

(g)					
<i>Aspidosperm</i>	Casca do	3,8000	a	10,1011	ACH
<i>a illustre</i>	caule		b	343,6379	AM
	Folhas	1,8652	b	159,5111	AF

a- hexano
b- metanol

4.5 EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE

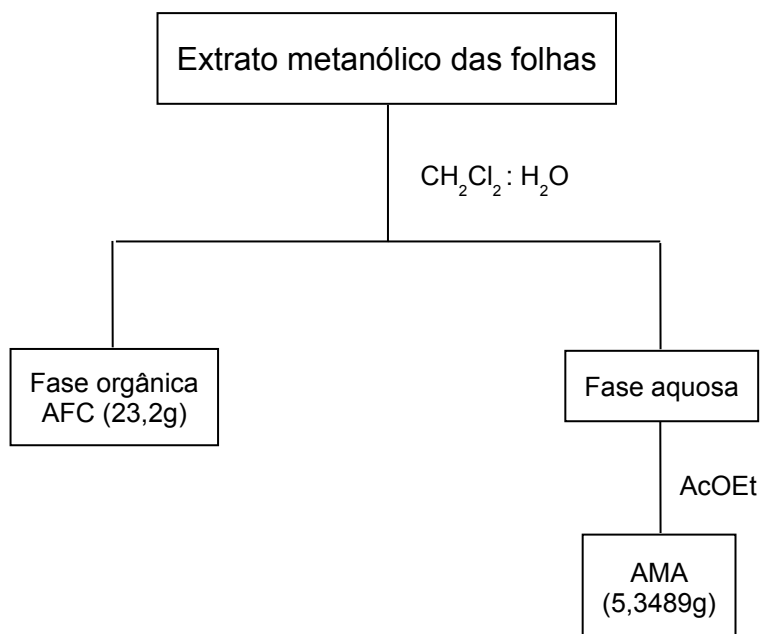
O material vegetal, casca do caule, coletado em novembro de 2007 foi submetido a uma extração ácido-base a fim de separar os alcalóides. Foi feita uma extração com ácido fosfórico 3%, 3 vezes consecutivas, obtendo uma fase aquosa acidificada. Esta foi alcalinizada com hidróxido de amônio. A alcalinização da fase aquosa deve ter pH entre 9 e 10. Uma segunda extração foi realizada com diclorometano após a alcalinização da fase aquosa obtida (HARBORNE, 1984) como mostra o **Fluxograma 1**.



Fluxograma 1: Extração ácido-base das cascas do caule de *Aspidosperma illustre*.

4.6 PARTIÇÃO

Parte do extrato metanólico das folhas foi submetido a uma partição líquido-líquido com CH_2Cl_2 e H_2O , resultando em uma fase orgânica **AFC** e uma fase aquosa que posteriormente, foi extraída com AcOEt resultando no extrato **AMA**, como mostra o **Fluxograma 2**.



Fluxograma 2: Partição do extrato metanólico das folhas.

4.7 ANÁLISES DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE *Aspidosperma illustre*

4.7.1 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO ACH (8,1011 g)

Inicialmente o extrato **ACH** foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 1 a 100%, inicialmente foram obtidas 73 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 6 frações. A **Tabela 04** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 04: Análise do extrato **ACH**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
1-18	ACH-0	265,5
19-23	ACH-1	1827,3
24-27	ACH-2	1001,5
28-34	ACH-3	3263,6
35-41	ACH-4	682,4
42-73	ACH-5	848,7

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH-1 (1,8273 g)

Inicialmente a fração **ACH-1** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 0,5 a 10%, inicialmente foram obtidas 44 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 8 frações. A **Tabela 05** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 05: Análise da fração **ACH-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
1-14	ACH1-0	241,8
15-32	ACH1-1	857,0
33-35	ACH1-2	69,8
36	ACH1-3	33,6
37	ACH1-4	144,1
38-39	ACH1-5	349,5
40-43	ACH1-6	59,9
44-45	ACH1-7	51,2

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH1-1 (857,0 mg)

Inicialmente a fração **ACH1-1** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 0,5 a 10%, inicialmente foram obtidas 60 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 06** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 06: Análise da fração **ACH1-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
---------	--------	------------------

0-28	ACH11-0	19,2
29-32	ACH11-1	52,9
33-49	ACH11-2	693,5
50-52	ACH11-3	35,1
53-60	ACH11-4	16,4

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH11-1 (52,9 mg)

Inicialmente a fração **ACH11-1** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente até 15%, inicialmente foram obtidas 75 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 frações. A **Tabela 07** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 07: Análise da fração **ACH11-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-13	ACH111-0	10,5	
14-18	ACH111-1	15,2	Mistura de V e VI
19-29	ACH111-2	12,4	
30-38	ACH111-3	10,8	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH-2 (1,0015 g)

Inicialmente a fração **ACH-2** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 20%, inicialmente foram obtidas 85 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 frações. A **Tabela 08** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 08: Análise da fração **ACH-2**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-5	ACH2-0	48,6
6-25	ACH2-1	384,3
26-31	ACH2-2	118,6
32-37	ACH2-3	374,2

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH2-1 (384,3 mg)

Inicialmente a fração **ACH2-1** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 50%, inicialmente foram obtidas 58 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 frações. A **Tabela 09** mostra a análise cromatográfica da fração

Tabela 09: Análise da fração **ACH2-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-9	ACH21 – 0	272,8
10-46	ACH21 – 1	31,0
47-57	ACH21 – 2	62,4

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH21-1 (31,0 mg)

A fração **ACH21-1** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente até 15%, inicialmente foram obtidas 75 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 frações. A **Tabela 10** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 10: Análise da fração **ACH21-1**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-59	ACH211-0	1,5
60-68	ACH211-1	27,8
69-75	ACH211-2	1,0

ANÁLISE DA FRAÇÃO ACH-3 (3,2636 g)

A fração **ACH-3** foi submetida à sucessivas lavagens com Hexano e com CH_2Cl_2 obtendo a fração **ACH3 - 3**. Essa fração após as lavagens forneceu um pó branco que foi catalogado de **ACH33-1** com 85,7mg (Substância III).

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH-4 (682,4 mg)

Inicialmente a fração **ACH-4** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 2 a 50%, inicialmente foram obtidas 54 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 8 frações. A **Tabela 11** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 11: Análise da fração **ACH-4**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-6	ACH4-0	46,6	
7-13	ACH4-1	63,6	
14-17	ACH4-2	6,9	Substância X
18-23	ACH4-3	37,7	
24-28	ACH4-4	47,1	
29	ACH4-5	61,6	
30-44	ACH4-6	282,4	
45-54	ACH4-7	101,7	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH-5 (848,7 mg)

Inicialmente a fração **ACH-5** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 1 a 100% de AcOEt, inicialmente foram obtidas 71 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 9 frações. A **Tabela 12** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 12: Análise da fração **ACH-5**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
----------------	---------------	-------------------------

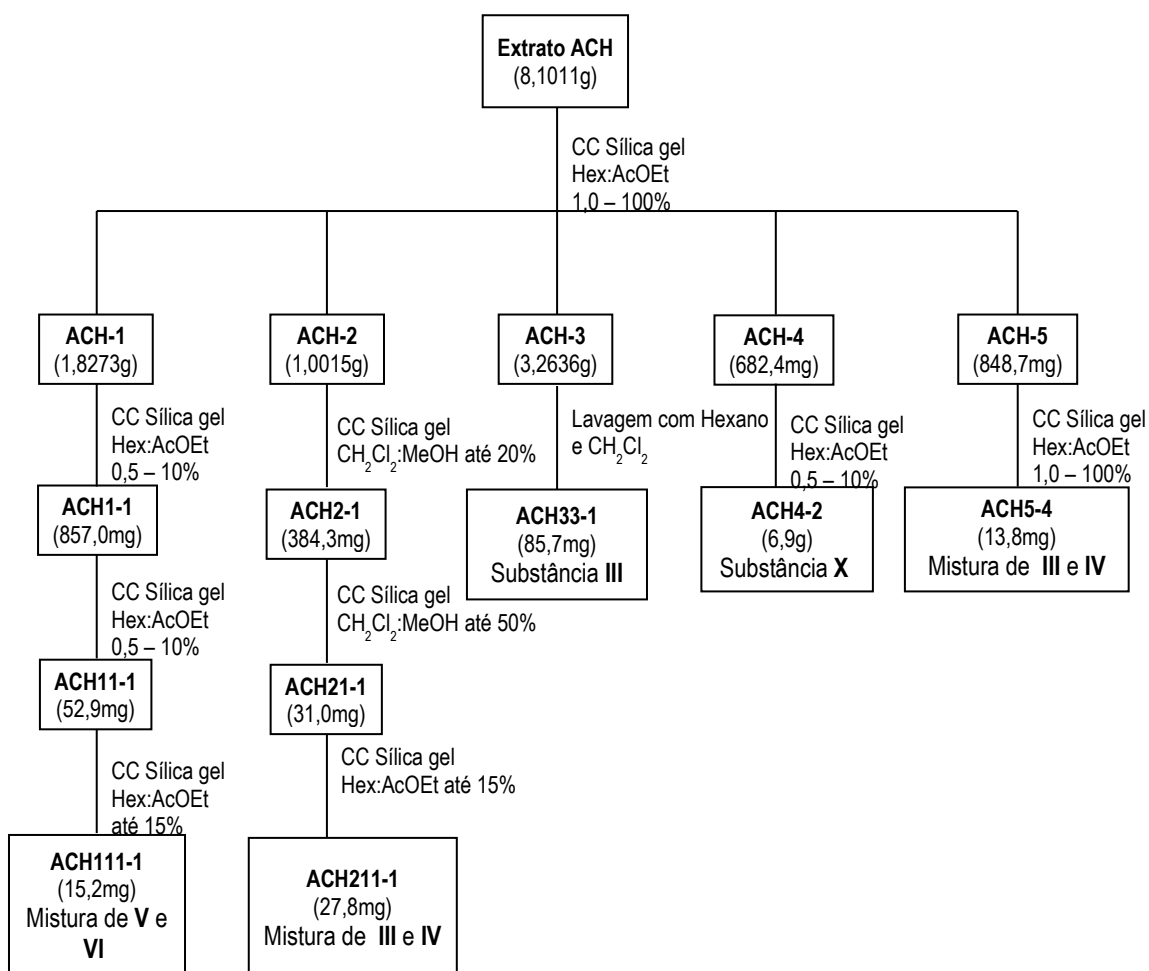
0-16	ACH5-0	116,3
17-19	ACH5-1	53,0
20-25	ACH5-2	65,6
26-35	ACH5-3	99,5
36-40	ACH5-4	13,8
41-44	ACH5-5	85,6
45-48	ACH5-6	41,8
49-62	ACH5-7	52,9
63-71	ACH5-8	315,8

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO ACH5-4 (13,8 mg)

Inicialmente a fração **ACH5-4** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente até 20%, inicialmente foram obtidas 27 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 2 frações. A **Tabela 13** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 13: Análise da fração **ACH5-4**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-24	ACH54-0	4,1	Mistura de III e IV
25-27	ACH54-1	4,8	



Fluxograma 3: Resumo da análise cromatográfica do extrato **ACH**.

4.7.2 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO AM (16,5432 g)

Inicialmente o extrato **AM** foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de 0,5 a 50%, inicialmente foram obtidas 31 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 8 frações. A **Tabela 14** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 14: Análise do extrato **AM**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-6	AM-0	589,0
7-12	AM-1	126,8
13-17	AM-2	196,3
18-19	AM-3	360,1
20-21	AM-4	125,7
22	AM-5	117,1
23-29	AM-6	9746,5
30-31	AM-7	4531,9

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM-0 (589,0 mg)

Inicialmente a fração **AM-0** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 2%, inicialmente foram obtidas 78 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 15** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 15: Análise da fração **AM-0**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	AM0-0	58,4
1-3	AM0-1	98,2
4-17	AM0-2	50,1
18-44	AM0-3	160,8
45-78	AM0-4	176,9

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM0-2 (50,1 mg)

Inicialmente a fração AM0-22 foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hexano:AcOEt 4%. Fornecendo a fração **AMO-2A** com 9,3mg (Substância **VII**)

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM0-3 (160,8 mg)

Inicialmente a fração **AM0-3** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 1 a 15%, inicialmente foram obtidas 54 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 16** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 16: Análise da fração **AM0-3**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-13	AM03-0	1,2	
14-20	AM03-1	4,0	
21-23	AM03-2	12,8	Mistura de III e IV
24-40	AM03-3	138,9	
41-54	AM03-4	1,7	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM-1 (126,8 mg)

Inicialmente a fração **AM-1** foi submetida à cromatografia em coluna com gel

de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 3 a 50%, inicialmente foram obtidas 52 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 frações. A **Tabela 17** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 17: Análise da fração **AM-1**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-13	AM1-0	3,5	
14-24	AM1-1	40,6	Mistura III e IV
25-39	AM1-2	22,5	
40-52	AM1-3	51,3	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM-3 (360,1 mg)

Inicialmente a fração **AM-3** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de 2 a 20%, inicialmente foram obtidas 59 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 18** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 18: Análise da fração **AM-3**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-13	AM3-0	14,8
14	AM3-1	9,5
15-22	AM3-2	248,0
23-45	AM3-3	67,9
46-59	AM3-4	18,2

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM3-2 (248,0 mg)

Inicialmente a fração **AM3-2** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de 5 a 15%, inicialmente foram obtidas 40 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 frações. A **Tabela 19** mostra a análise cromatográfica da

fração.

Tabela 19: Análise da fração **AM3-2:**

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-19	AM32-0	10,5	
20-34	AM32-1	159,5	Substância I
35-40	AM32-2	67,6	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM32-2 (67,6 mg)

Inicialmente a fração **AM32-2** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH_2Cl_2 :MeOH em concentração crescente de 6 a 15%, inicialmente foram obtidas 24 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 20** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 20: Análise da fração **AM32-2:**

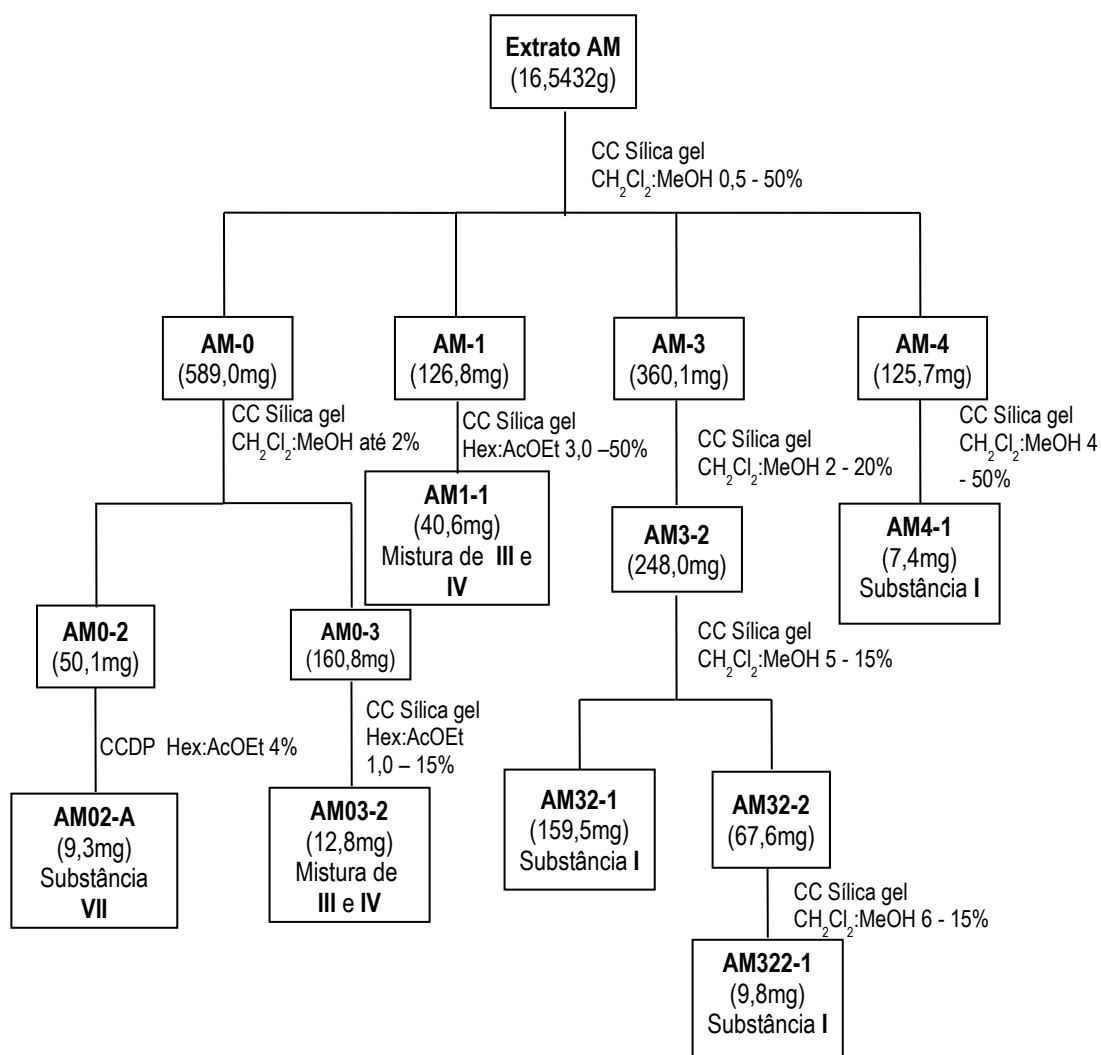
Frações	Código	Quantidades (mg)	
0	AM322-0	0,8	
1-5	AM322-1	9,8	Substância I
6-11	AM322-2	25,4	
12-15	AM322-3	12,9	
16-24	AM322-4	11,9	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AM-4 (125,7 mg)

Inicialmente a fração **AM-4** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com CH_2Cl_2 :MeOH em concentração crescente de 4 a 50%, inicialmente foram obtidas 35 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 4 frações. A **Tabela 21** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 21: Análise da fração **AM-4**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-12	AM4-0	19,8	
13-17	AM4-1	7,4	Substância I
18-22	AM4-2	19,7	
23-35	AM4-3	62,3	



Fluxograma 4: Resumo da análise cromatográfica do extrato AM.

4.7.3 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO AFC (23,2 g)

Inicialmente o extrato **AFC** foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 100%, inicialmente foram obtidas 32 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 13 frações. A **Tabela 22** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 22: Análise do extrato **AFC**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0	AFC-0	366,4
1	AFC-1	369,7
2	AFC-2	82,4
3-6	AFC-3	445,0
7-11	AFC-4	603,3
12-13	AFC-5	4103,1
14-19	AFC-6	4509,1
20-21	AFC-7	963,7
22-26	AFC-8	4517,0
27	AFC-9	2105,3
28-30	AFC-10	3589,1
31	AFC-11	295,7
32	AFC-12	253,2

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC-4 (603,3 mg)

Inicialmente a fração **AFC-4** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 2 à 30%, inicialmente foram obtidas 72 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 10 frações. A **Tabela 23** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 23: Análise da fração **AFC-4**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-15	AFC4-0	6,4
16-33	AFC4-1	11,6
34-42	AFC4-2	9,3
43-45	AFC4-3	6,0
46-49	AFC4-4	74,0
50-58	AFC4-5	342,9
59-65	AFC4-6	75,1
66-69	AFC4-7	5,1
70-71	AFC4-8	5,5
72	AFC4-9	28,9

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC4-6 (75,1 mg)

Inicialmente a fração **AFC4-6** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 8 à 20%, inicialmente foram obtidas 69 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 5 frações. A **Tabela 24** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 24: Análise da fração **AFC4-6**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-5	AFC46-0	12,6
6-20	AFC46-1	24,8
21-28	AFC46-2	7,4
29-66	AFC46-3	18,7
67-69	AFC46-4	8,4

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC 46-3 (18,7 mg)

Inicialmente a fração **AFC46-3** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 1 à 10%, inicialmente foram obtidas 60 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 3 frações. A **Tabela 25** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 25: Análise da fração **AFC46-3**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-50	AFC463-0	5,6	
51-55	AFC463-1	3,5	Substância VIII
56-60	AFC463-2	8,4	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC-5 (4,1031 g)

Inicialmente a fração **AFC-5** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 5 à 100%, inicialmente foram obtidas 59 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 13 frações. A **Tabela 26** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 26: Análise da fração **AFC-5**.

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-1	AFC5-0	18,7
2-8	AFC5-1	130,5
9-13	AFC5-2	193,0
14-23	AFC5-3	636,6
24-36	AFC5-4	537,6
37-39	AFC5-5	87,4
40-42	AFC5-6	158,7
43	AFC5-7	62,8
44	AFC5-8	55,0
45-47	AFC5-9	481,0
48-50	AFC5-10	410,3
51-54	AFC5-11	188,8
55-59	AFC5-12	1056,3

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC5-2 (193,0 mg)

Inicialmente a fração **AFC5-2** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 3 à 50%, inicialmente foram obtidas 62 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 6 frações. A **Tabela 27** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 27: Análise da fração **AFC5-2**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-37	AFC52-0	3,8	
38-52	AFC52-1	15,2	
53-59	AFC52-2	11,8	
60	AFC52-3	109,9	Substância VIII
61	AFC52-4	36,9	
62	AFC52-5	12,7	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC5-3 (636,6 mg)

Inicialmente a fração **AFC5-3** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com Hexano:AcOEt em concentração crescente de 6 à 15%, inicialmente foram obtidas 58 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 7 frações. A **Tabela 28** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 28: Análise da fração **AFC5-3**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-2	AFC53-0	21,4	
3	AFC53-1	17,2	
4-6	AFC53-2	25,0	Substância VIII
7-9	AFC53-3	24,1	
10-34	AFC53-4	288,9	
35-54	AFC53-5	143,2	
5-58	AFC53-6	108,7	

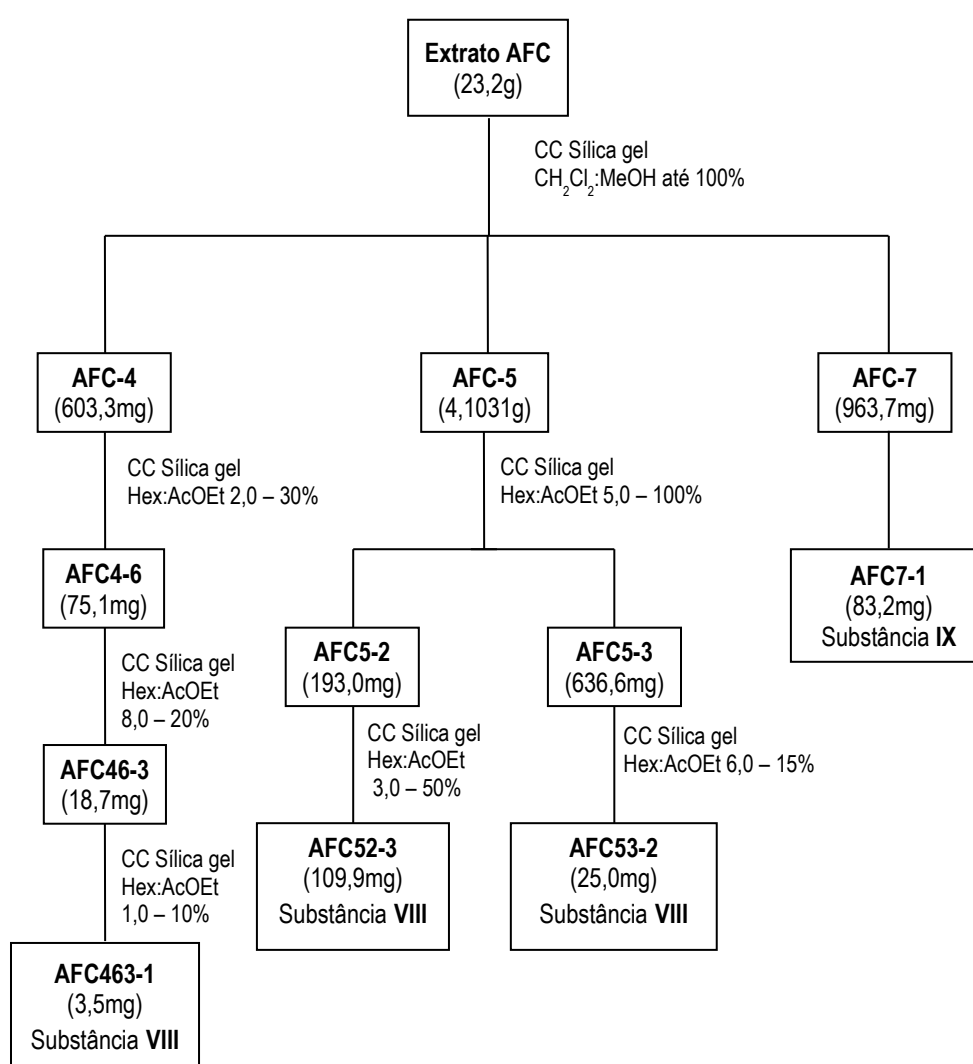
ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AFC-7 (963,7 mg)

Inicialmente a fração **AFC-7** foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de 2 à 50%, inicialmente foram obtidas 39 frações que após análise cromatográfica de camada

frases foram agrupadas em 7 frações. A **Tabela 29** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 29: Análise da fração **AFC-7**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-8	AFC7-0	255,0	
9-10	AFC7-1	83,2	Substância IX
11-13	AFC7-2	53,6	
14-17	AFC7-3	47,5	
18-23	AFC7-4	141,0	
24-32	AFC7-5	324,0	
33-39	AFC7-6	52,1	



Fluxograma 5: Resumo da análise cromatográfica do extrato **AFC**.

4.7.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO AMA (5,3489 g)

Inicialmente o extrato **AMA** foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de 0,5 a 100%, inicialmente foram obtidas 61 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 14 frações. A **Tabela 30** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 30: Análise do extrato **AMA**.

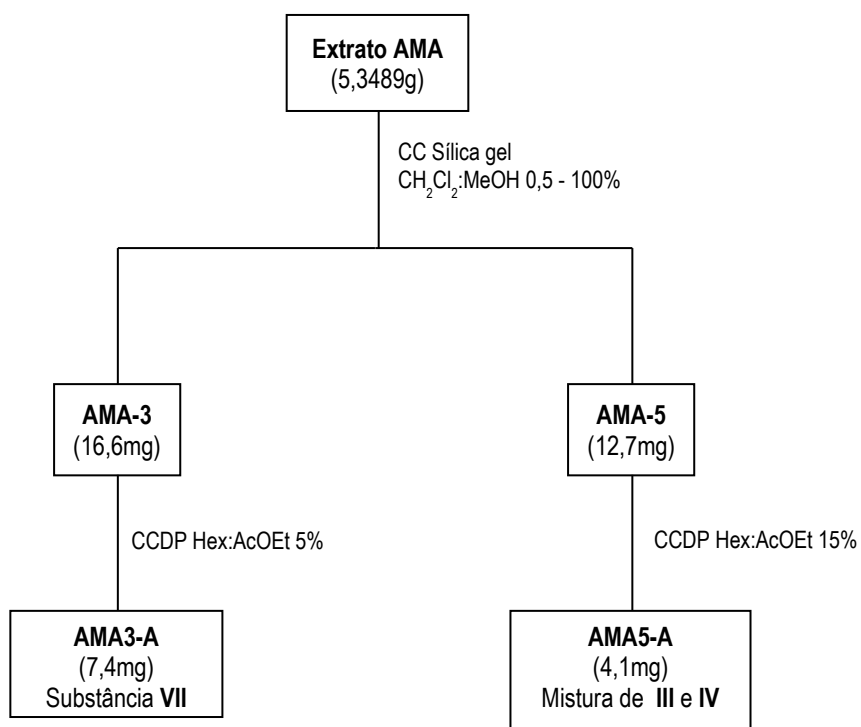
Frações	Código	Quantidades (mg)
0	AMA-0	18,9
1-2	AMA-1	34,8
3-4	AMA-2	16,9
5-7	AMA-3	16,6
8-10	AMA-4	120,3
11-12	AMA-5	12,7
13-16	AMA-6	80,5
17-23	AMA-7	99,1
24-27	AMA-8	423,5
28-30	AMA-9	153,6
31-35	AMA-10	203,3
36-50	AMA-11	985,6
51-57	AMA-12	1072,6
58-60	AMA-13	1784,3

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AMA-3 (16,6 mg)

Inicialmente a fração **AMA-3** foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hexano:AcOEt 5%. Fornecendo a fração **AMA-3A** com 7,4mg (Substância **VII**)

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AMA-5 (12,7 mg)

Inicialmente a fração **AMA-5** foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hex:AcOEt 15%. Fornecendo a fração **AMA-5A** com 4,1mg (Mistura **III** e **IV**)



Fluxograma 6: Resumo da análise cromatográfica do extrato **AMA**.

4.7.5 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO AOB (2,9005 g)

Inicialmente o extrato **AOB** foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 100%, inicialmente foram obtidas 44 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 11 frações. A **Tabela 31** mostra a análise cromatográfica do extrato.

Tabela 31: Análise do extrato **AOB**.

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0	AOB-0	36,6	
1	AOB-1	5,5	
2	AOB-2	9,5	Substância II
3-5	AOB-3	39,8	
6-8	AOB-4	45,5	
9-10	AOB-5	84,6	
11-17	AOB-6	1045,6	
18	AOB-7	30,8	
19	AOB-8	44,1	
20-43	AOB-9	1402,9	
44	AOB-10	78,7	

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AOB-6 (1,0456 g)

Inicialmente o extrato **AOB-6** foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente de 0,5 à 100%, inicialmente foram obtidas 43 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 8 frações. A **Tabela 32** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 32: Análise da fração **AOB-6**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-8	AOB6-0	10,9
9-11	AOB6-1	13,9
12-16	AOB6-2	97,7
17-30	AOB6-3	721,9
31-34	AOB6-4	51,1
35-38	AOB6-5	38,0
39-40	AOB6-6	25,8

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AOB6-4 (51,1 mg)

Inicialmente a fração AOB6-4 foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com CH₂Cl₂:MeOH 8%. Fornecendo a fração **AOB64-B** com 24,6mg (Mistura de alcalóides)

ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AOB-9 (1,4029 g)

Inicialmente o extrato **AOB-9** foi submetido à cromatografia em coluna com alumina, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 100%, inicialmente foram obtidas 43 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 9 frações. A **Tabela 33** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 33: Análise da fração **AOB-9**:

Frações	Código	Quantidades (mg)
0-11	AOB9-0	19,5
12-14	AOB9-1	8,7
15-16	AOB9-2	113,7
17-19	AOB9-3	44,4
20	AOB9-4	10,2
21-23	AOB9-5	44,8
24-31	AOB9-6	715,0
32-33	AOB9-7	131,5
34-43	AOB9-10	210,4

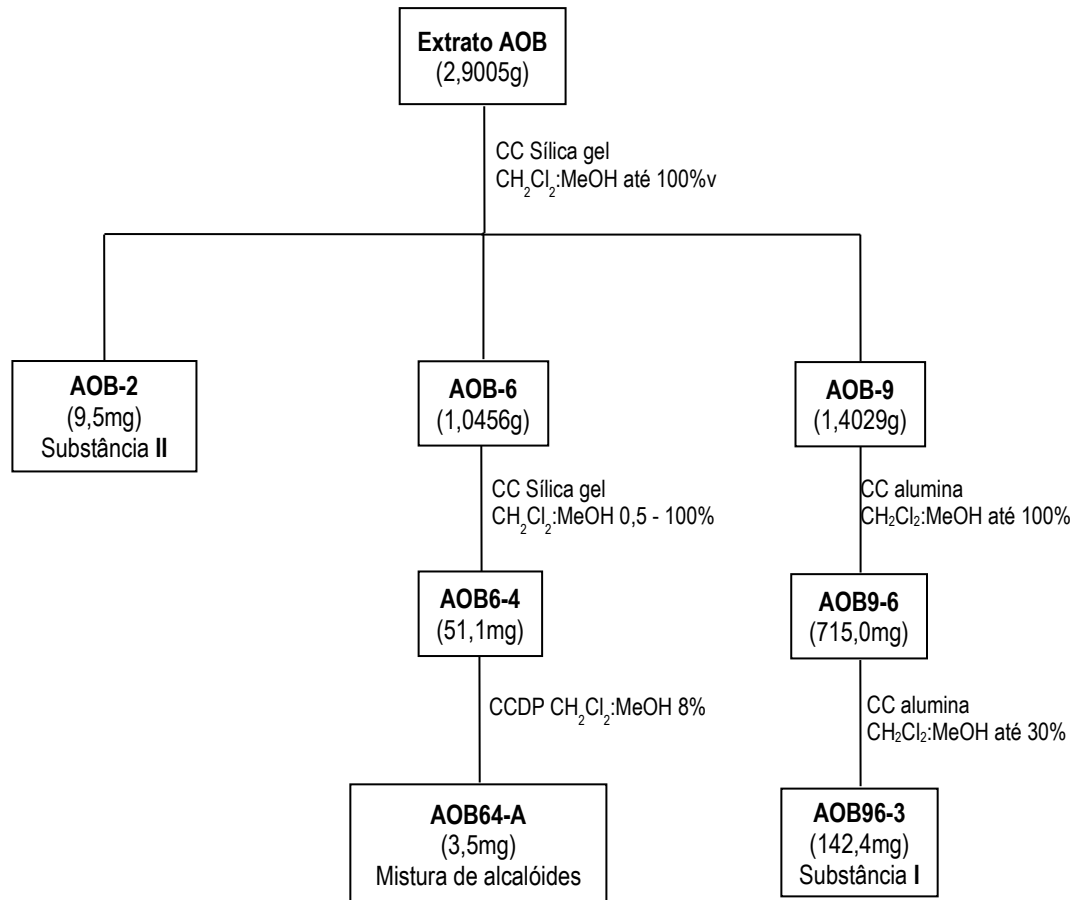
ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA FRAÇÃO AOB9-6 (715,0 mg)

Inicialmente a fração **AOB9-6** foi submetido à cromatografia em coluna com alumina, e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em concentração crescente até 30%,

inicialmente foram obtidas 42 frações que após análise cromatográfica de camada fina foram agrupadas em 8 frações. A **Tabela 34** mostra a análise cromatográfica da fração.

Tabela 34: Análise da fração **AOB9-6**:

Frações	Código	Quantidades (mg)	
0-13	AOB96-0	36,4	
14	AOB96-1	411,1	
15	AOB96-2	11,1	
16-20	AOB96-3	142,4	Substância I
21	AOB96-4	31,2	
22-26	AOB96-5	92,1	
27-41	AOB96-6	144,5	
42	AOB96-7	113,0	



Fluxograma 7: Resumo da análise cromatográfica do extrato **AOB**.

4.8 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Foram adicionados 5 mL de BF₃-MeOH em 20 mg da fração **AFC532**. A solução foi mantida sob refluxo durante 10 horas, então foi vertido 10 mL de H₂O ao sistema reacional e extraído por duas vezes consecutivas com hexano e uma vez em AcOEt. A fase hexânica foi concentrada obtendo-se um éster e a fase AcOET resultou em um álcool.

4.9 TESTE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Foi feita uma solução estoque de concentração 1,00 mg/mL, preparada com 10,0 mg de amostra em 10,0 mL de etanol, a qual foi submetida a uma série de diluições de: 25,0; 50,0; 125 e 250 µg/mL. A análise foi realizada reagindo-se 1,00 mL de uma solução etanólica 0,30 mM de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) com 2,50 mL de cada concentração das amostras em triplicata. Após 30 minutos, fez-se a leitura em um espectrofotômetro de luz ultravioleta a 518 mn (**Figura 6** pág. 62).

Os valores das absorbâncias foram convertidos para porcentagem de Atividade Antioxidante (AA%) usando a seguinte fórmula:

$$AA\% = 100 - \{ [(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100] / Abs_{controle} \}$$

AA% = porcentagem de atividade antioxidante

Abs_{amostra} = absorbância de cada amostra

Abs_{branco} = absorbância do branco

Abs_{controle} = absorbância do controle negativo

O valor da concentração efetiva necessária para se obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado em 100% (EC_{50}) foi calculado através de uma regressão linear para cada extrato onde a abscissa representa as concentrações da amostra, e a ordenada à porcentagem de Atividade Antioxidante (AA%).

Como controle positivo foi utilizado o flavonóide rutina Merck®, utilizando o mesmo procedimento feito para as amostras. Esse controle foi utilizado para comparação dos valores de (EC_{50}) das amostras analisadas, onde valores menores ou próximos que o controle indica que as amostras são ativas.

Como controle negativo foi utilizado 1 mL de solução de DPPH e 2,5 mL de etanol. A leitura do branco foi feita com 2,5 mL de solução das concentrações das amostras mais 1 mL de etanol (Mensor *et al.*, 2001; Argolo *et al.*, 2004).

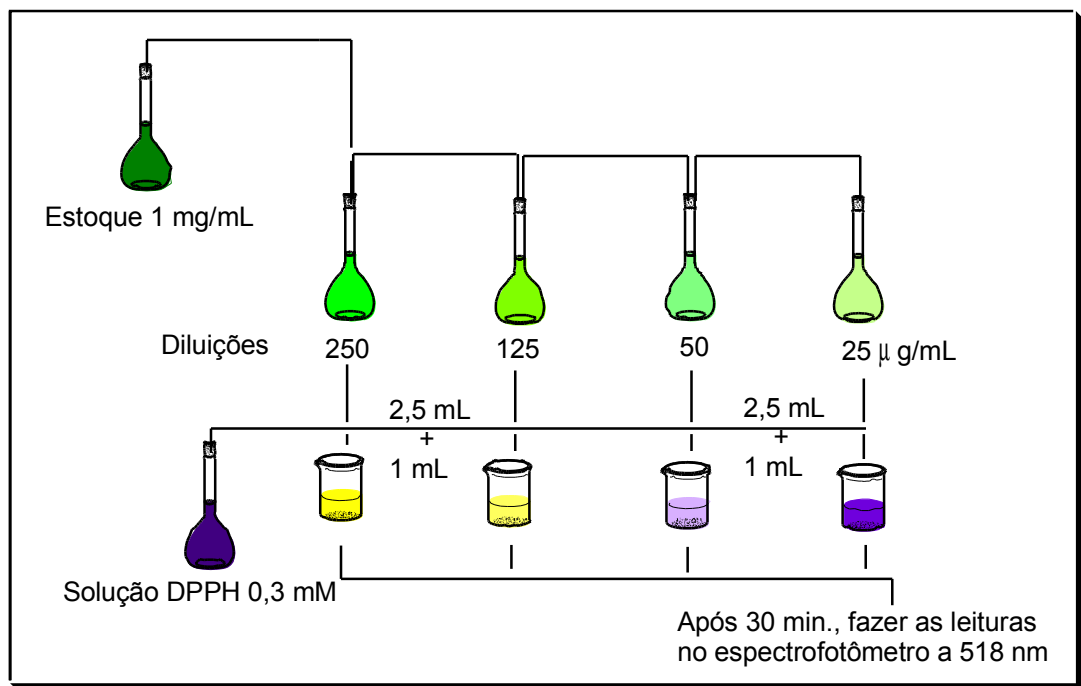


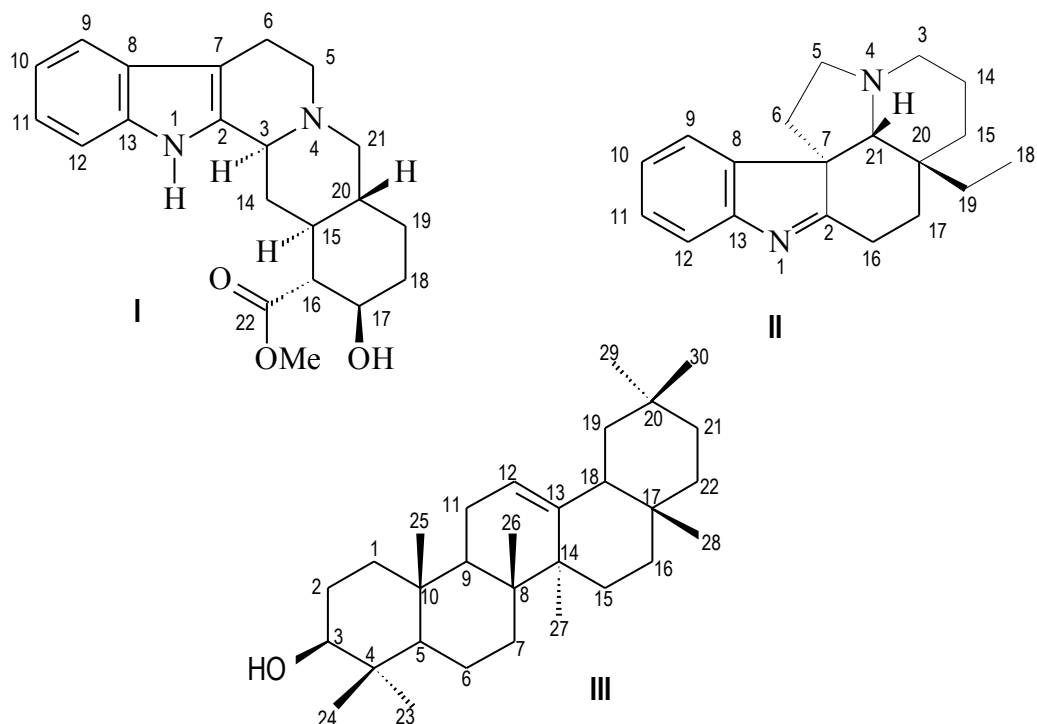
Figura 6 - Procedimento experimental do teste antioxidante.

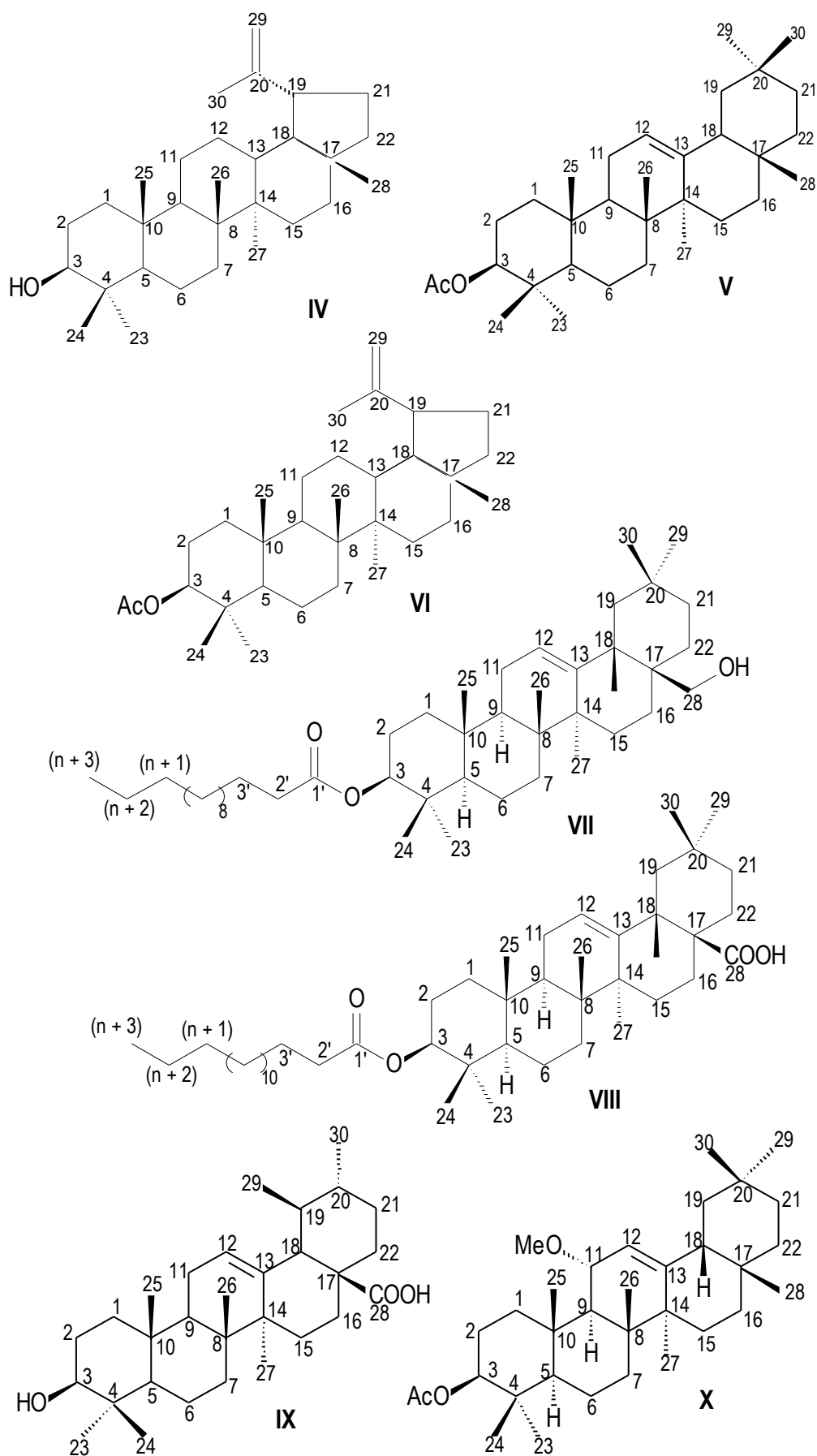
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Aspidosperma Illustrre*

O estudo fitoquímico de *Aspidosperma Illustrre*, resultou no isolamento de dois alcalóides indólicos monoterpênicos: β -ioimbina (I) e 1,2-desidroaspidospermidina (II) e oito triterpenos: β -amirina (III), lupeol (IV), acetato de β -amirina (V), acetato de lupeol (VI), 3β -tetradecanoato-28-hidroiolean-12-eno(VII), ácido 3β -hexadecanoato-olean-12-en-28-óico (VIII), ácido ursólico (IX) e 3β -acetoxi-11 α -metoxiolean-12-eno (X).

O ácido 3β -hexadecanoato-olean-12-en-28-óico (VIII) e 3β -acetoxi-11 α -metoxiolean-12-eno (X) são inéditas na literatura, sendo todas as substâncias isoladas inéditas na espécie que nunca foi estudada anteriormente.

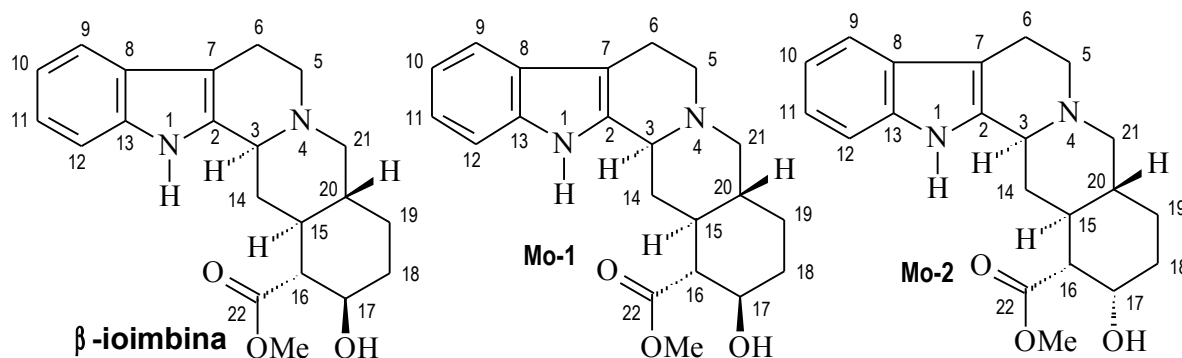




A determinação estrutural das substâncias isoladas foi realizada com a

utilização de técnicas de RMN uni- ^1H e ^{13}C e bidimensionais ^1H - ^1H -COSY, HMQC, HMBC e utilização de dados espectrais de massas, e por comparação com dados espectrais existentes na literatura.

5.1.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA I



A substância apresentou-se como um sólido de cor amarelo clara, sugerindo a presença de um alcalóide através do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN ^1H (**Figuras 9-11**, págs. 71-73, **Tabela 35**, pág. 70) apresentou sinais (δ_{H}) correspondentes ao grupo metoxila de grupo carbometoxi, hidrogênios aromáticos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina, e no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 12**, pág. 74, **Tabela 35**, pág. 70) observou-se sinais (δ_{C}) para 21 átomos de carbono.

O espectro de RMN ^1H (**Figuras 9-11**, págs. 71-73, **Tabela 35**, pág. 70) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 6,95 (1H, tI, $J= 7,7$ Hz), 7,02 (1H, tI, $J= 7,7$ Hz), 7,29 (1H, dI, $J= 7,7$ Hz) e 7,35 (1H, dI, $J= 7,7$ Hz) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (AZOUG, *et. al.*, 1995), confirmado através das correlações heteronuclear (HMQC) (**Figuras 18 e 19**, págs.80 e 81) onde se observam as correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 117,47)/H-9 (δ_{H} 7,35), CH-10 (δ_{C} 118,29)/H-10 (δ_{H} 6,95), CH-11 (δ_{C} 120,36)/H-11 (δ_{H} 7,02), CH-12 (δ_{C} 110,90)/H-12 (δ_{H} 7,29).

Um sinal simples integrando para um hidrogênio em δ_{H} 10,78, observado no

espectro de RMN ^1H foi atribuído a um hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio do núcleo indólico, confirmado ainda pelas correlações a longa distância entre HN-1 (δ_{H} 10,78, $^3J_{\text{CH}}$) com C-7 (δ_{C} 106,27) e C-8 (δ_{C} 126,67) e HN-1 (δ_{H} 10,78, $^2J_{\text{CH}}$) com C-2 (δ_{C} 135,34) e C-13 (δ_{C} 135,95), observadas no espectro de HMBC (**Figuras 14-17**, págs. 76-79, **Tabela 35**, pág. 70).

A presença do núcleo indólico livre de substituintes foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Figuras 14-17**, págs. 76 e 79, **Tabela 35**, pág. 70) através das correlações entre CH-9 (δ_{C} 117,47)/H-11 (δ_{H} 7,02), CH-10 (δ_{C} 118,29)/H-12 (δ_{H} 7,29), CH-11 (δ_{C} 120,36)/H-9 (δ_{H} 7,35), CH-12 (δ_{C} 110,90)/H-10 (δ_{H} 6,95), C-7 (δ_{C} 106,27)/HN-1 (δ_{H} 10,78) e C-13 (δ_{C} 135,95)/H-9 (δ_{H} 7,35)/H-11 (δ_{H} 7,02) as demais correlações estão descritas na **Tabela 35**, pág. 70.

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 [comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano] (ZENK, 1980) foi apoiada pela correlação, OCH₃-22 (δ_{C} 51,30) com um sinal simples integrando para três hidrogênios em δ_{H} 3,74, $^1J_{\text{CH}}$, apresentadas no espectro de HMQC. A localização deste grupo foi confirmada através das correlações entre C-22 (δ_{C} 174,47) com [δ_{H} 3,74, OCH₃-22, $^3J_{\text{CH}}$], com um sinal tripleto relativo ao hidrogênio H-17 carbinólico em δ_{H} 3,61, $^3J_{\text{CH}}$, apresentadas no espectro de HMBC (**Figuras 14-17**, págs. 76-79, **Tabela 35**, pág. 70).

Nota-se agora no espectro de HMQC (**figuras 18 e 19**, págs. 80 e 81) a presença de um sinal tripleto relativo ao hidrogênio carbinólico H-17 em δ_{H} 3,61, correlacionando com carbono C-17 em δ_{C} 70,92, característico do esqueleto tipo ioimbina (BREITMAIER & VOELTER, 1987; SHAMMA, 1979).

Outras correlações a longa distância dos demais átomos de carbono encontram-se sumarizadas na **Tabela 35**, pág. 70.

A estereoquímica relativa do grupo hidroxila ligada ao carbono C-17 (δ_c 70,92) da substância **I**, foi definida por comparação com os valores de δ_c registrados na literatura para os alcalóides β -ioimbina (δ_c 71,6, **Mo-1**) e ioimbina (δ_c 66,9, **Mo-2**), confirmando assim a estrutura da substância **I** (BREITMAIER & VOELTER, 1987; SHAMMA, 1979).

As estereoquímicas relativas dos hidrogênios H-3, H-15 e H-20 do anel D, e dos hidrogênios H-16 e do H-17 no anel E, foram estabelecidas por comparação com dados de literatura para o alcalóide β -ioimbina (BREITMAIER & VOELTER, 1987; SHAMMA, 1979), e confirmadas por experimentos de ^1H - ^1H -COSY (**Figuras 20 e 21**, págs. 82 e 83).

No espectro de massas (**Figura 7**, pág. 68), observou-se o sinal do íon molecular $[\text{M}]^+$ 354 compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_2$, onde os fragmentos de m/z 353 e m/z 169 (**Figura 8**, pág. 69) são característicos de esqueletos do tipo ioimbina (MALIK *et al.*, 1981).

Figura 7: Espectro de massas da substância I

Os dados descritos acima para a substância I estão em acordo com os dados descritos em literatura (BREITMAIER & VOELTER, 1987; SHAMMA, 1979) para o alcalóide β -ioimbina, comprovando assim a proposta estrutural para a substância I.

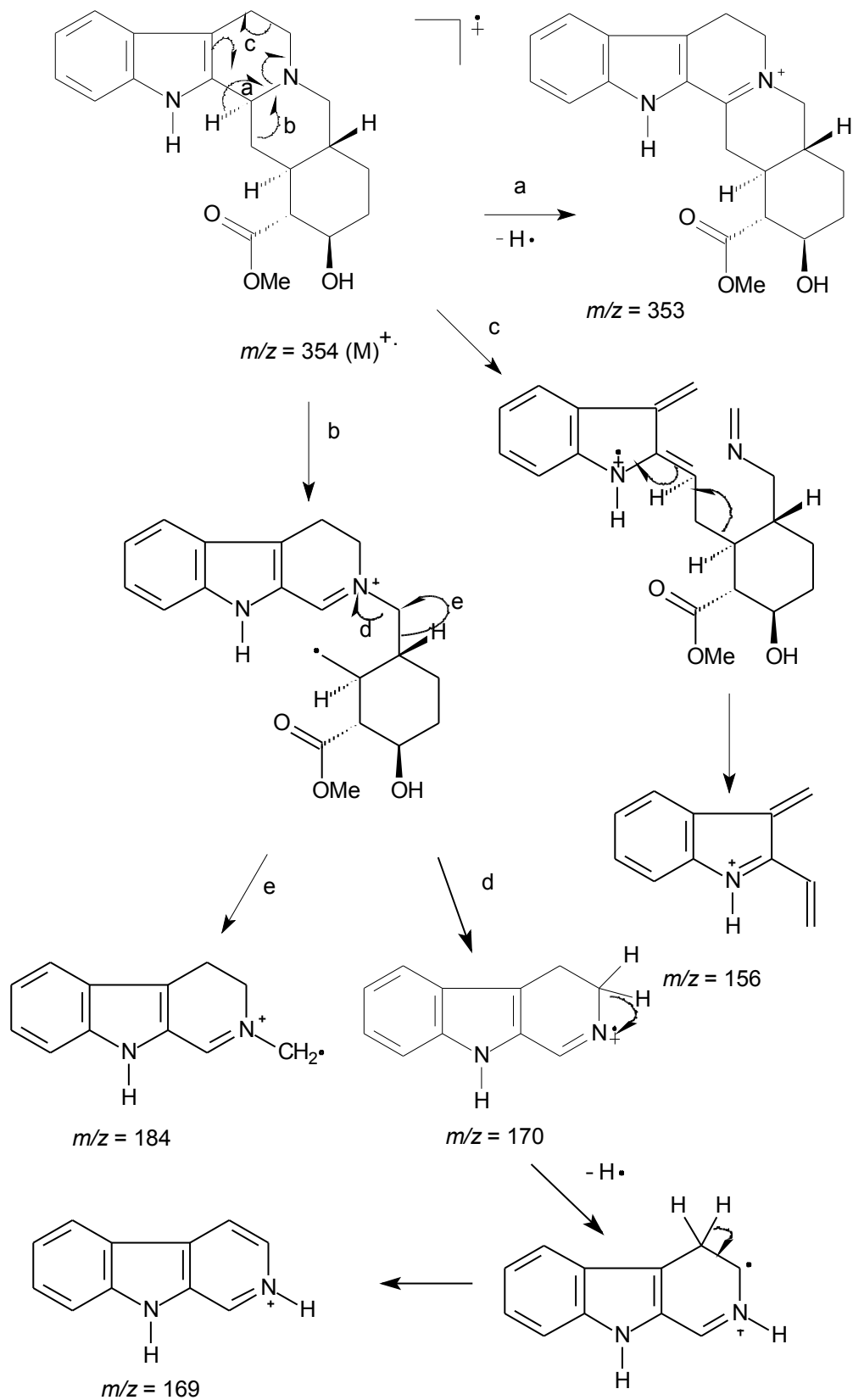


Figura 8: Principais fragmentos de massas da substância I

Tabela 35: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em DMSO e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **I**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

	HMQC		HMBC		Mo-1*	Mo-2*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$ e $^4J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{C}
C						
2	135,34	-	HN-1	2H-6; 2H-14	134,0	134,3
7	106,27	-	2H-6	HN-1; 2H-5; H-9	107,4	107,5
8	126,67	-	H-9	HN-1; H-6b; H-10; H-11; H-12	126,9	127,0
13	135,95	-	HN-1	H-9; H-10; H-11	135,8	135,8
22	174,47	-	H-16	H-15; H-18a: MeO-22	175,0	175,2
CH						
3	59,84	3,16 (dl, 10,9)	2H-14	2H-5; 2H-21	59,0	59,8
9	117,47	7,35 (dl, 7,7)	H-10	H-11	117,2	117,7
10	118,29	6,95 (tl, 7,7)		H-12	118,8	118,8
11	120,36	7,02 (tl, 7,7)	H-10	H-9	120,9	120,8
12	110,90	7,29 (dl, 7,7)	H-11	H-9; H-10	110,7	110,6
15	42,11	1,39 (dt, 10,6; 2,8)	2H-14	2H-19; 2H-21	41,6	36,4
16	57,72	2,08 (dd, 10,6; 3,3)	H-15	2H-14; 2H-18; H-20	57,1	52,6
17	70,92	3,61 (tl, 10,6)	H-16; 2H-18	H-15	71,6	66,9
20	39,98	1,33 (m)	H-15; 2H-18; 2H-21	2H-14; 2H-19	39,1	40,2
CH₂						
5	52,38	2,99 (dd, 10,9; 5,3) 2,48 (dd, 10,9; 3,9)	2H-6	2H-21	52,3	52,1
6	21,53	2,76 (m) 2,59 (dl, 14,2)	2H-5		21,3	21,5
14	33,74	2,10 (m) 1,13 (dl, 11,8)	H-15	H-16	33,8	33,8
18	34,15	1,89 (dd, 12,4; 3,5) 1,27 (m)		H-16	33,5	31,4
19	27,63	1,56 (dd, 13,0; 2,7) 1,09 (t, 13,0)	2H-18	2H-21	27,5	23,1
21	60,61	2,88 (dd, 11,3; 3,1) 2,05 (dd, 11,3; 2,6)		H-5a	60,5	61,0
MeO-22	51,30	3,74 (s)			51,6	51,7
HN-1	-	10,78 (s)			-	-

* BREITMAIER & VOELTER, 1987

Figura 9: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO da substância I

Figura 10: Ampliação da região de δ_{H} 1,0 – 4,0 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO da substância I

Figura 11: Ampliação da região de δ_{H} 6,9 – 7,4 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO da substância I

Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO da substância I

Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em DMSO da substância I

Figura 14: Mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I

Figura 15: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I

Figura 16: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I

Figura 17: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em DMSO da substância I

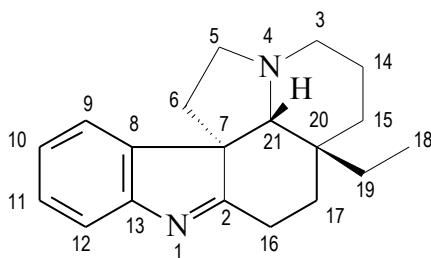
Figura 18: Mapa de correlação do espectro de HMQC em DMSO da substância I

Figura 19: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em DMSO da substância I

Figura 20: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em DMSO da substância **I**

Figura 21: Ampliação do mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em DMSO da substância I

5.1.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA II



1,2-desidroaspidospermidina

A substância apresentou-se como um óleo de cor amarelo clara, revelando ser um alcalóide através do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN ^1H (**Figura 23**, pág. 89, **Tabela 36**, pág. 88) apresentou sinais (δ_{H}) correspondentes a hidrogênios aromáticos e no espectro de RMN ^{13}C -APT (**Figura 24**, pág. 90, **Tabela 36**, pág. 88) observou-se sinais (δ_{C}) para 19 átomos de carbono.

O espectro de massas (**Figura 22**, pág. 85) mostrou o sinal do íon molecular a m/z 280, juntamente com o espectro de RMN ^{13}C -APT (**Figura 24**, pág. 90), correspondendo a uma fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2$.

A presença dos íon m/z 251 [$\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_5$], indicando a perda de um grupamento etila, e ainda a presença dos íons m/z 210 e m/z 125, sugerem a estrutura do alcalóide 1,2-desidroaspidospermidina para a substância II. Esta substância já foi isolada de *Aspidosperma quebracho-blanco*, mas apresenta poucos dados de RMN descritos (HUGEL *et. al.*, 1991).

Figura 22: Espectro de massas da substância II

O espectro de RMN ^1H (**Figura 23**, pág. 89) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,15 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, H-10), 7,28 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, H-11), 7,30 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-9) e 7,52 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-12) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (AZOUG, *et. al.* 1995), confirmado através das correlações heteronuclear (HMQC)

(**Figuras 25 e 26**, págs. 91 e 92, **Tabela 36**, pág. 88) onde se observam as correlações a $^1J_{CH}$ entre CH-9 (δ_C 120,99)/H-9 (δ_H 7,30), CH-10 (δ_C 125,23)/H-10 (δ_H 7,15), CH-11 (δ_C 127,45)/H-11 (δ_H 7,28), CH-12 (δ_C 120,12)/H-12 (δ_H 7,52).

A presença do núcleo indólico livre de substituintes foi também corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância apresentadas no espectro de HMBC (**Figuras 27 e 28**, págs. 93 e 94, **Tabela 36**, pág. 88) através das correlações entre CH-9 (δ_C 120,99)/H-11 (δ_H 7,28), CH-10 (δ_C 125,23)/H-12 (δ_H 7,52), CH-11 (δ_C 127,45)/H-9 (δ_H 7,30), CH-12 (δ_C 120,12)/H-10 (δ_H 7,15), e C-13 (δ_C 154,54)/H-9 (δ_H 7,30)/H-11 (δ_H 7,28) as demais correlações estão descritas na **Tabela 36**, pág. 88.

A presença de um sinal de um carbono quaternário no espectro de RMN ^{13}C -APT (**Figura 24**, pág. 90, **Tabela 36**, pág. 88) em δ_C em 192,37, atribuído ao átomo de carbono C-2, que está ligado por uma ligação dupla ao nitrogênio do anel indólico (N=C-2), caracteriza um sistema do tipo indolenina, e está coerente com valores citados na literatura para o alcalóide 1,2-desidroaspidospermidina. (HUGEL *et. al.*, 1991).

O sinal em δ_C em 61,31, relativo a um átomo de carbono quaternário, presente no espectro de RMN ^{13}C -APT (**Figura 24**, pág. 90, **Tabela 36**, p. 88) foi atribuído a átomo de carbono C-7 do sistema indolenina. A presença deste sinal foi confirmada ainda pelas correlações a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figuras 27 e 28**, págs. 93 e 94, **Tabela 36**, pág. 88) a $^2J_{CH}$ com sinal simples, relativo ao hidrogênio H-21 em δ_H 2,40, e a $^3J_{CH}$ com o hidrogênio aromático H-9 em δ_H 7,30, e com o hidrogênio H-5a ligado a um átomo de nitrogênio em δ_H 2,60, confirmando assim parte do esqueleto aspidospermatano (HUGEL *et. al.*, 1991).

A presença de um grupo etila ligado ao átomo de carbono C-20, comum nos esqueletos do tipo aspidospermatano já confirmada pelo espectro de massas, foi

ainda confirmada pela presença de um sinal triplo em δ_H 0,49 com $J= 7,6$ Hz, apresentado no espectro de RMN 1H (**Figura 23**, pág. 89, **Tabela 36**, pág.88)

Os dados descritos acima para o alcalóide **II** estão em acordo com os dados descritos em literatura (**Mo 1**) (HUGEL *et. al.*, 1991) para o alcalóide 1,2-desidroaspidospermidina, comprovando assim a proposta estrutural.

Tabela 36: Dados de RMN 1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em $CDCl_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **II**, e comparação com valores de literatura para o modelo **Mo-1**.

HMQC	HMBC	Mo 1*
------	------	--------------

	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	δ_C
C					
2	192,37	-	H-16a	H-6a; H-21	191,95
7	61,31	-	H-21	H-5a; H-9	60,99
8	147,14	-		2H-6; H-10; H-12; H-21	146,60
13	154,54	-		H-9; H-11	154,18
20	36,31	-			36,20
CH					
9	120,99	7,30 (d, $J = 7,0$ Hz)		H-11	120,70
10	125,23	7,15 (t, $J = 7,0$ Hz)		H-12	124,80
11	127,45	7,28 (t, $J = 7,0$ Hz))		H-9	127,14
12	120,12	7,52 (d, $J = 7,6$ Hz)		H-10	119,78
21	79,00	2,40 (s)		2H-3; 2H-5; 2H-19	78,59
CH₂					
3	51,70	3,14 (m), 2,80 (m)		H-21	51,68
5	54,58	3,16 (m), 2,60 (m)		H-21	54,24
6	35,17	2,16 (m), 1,60 (m)			34,84
14	22,04	1,85 (m), 1,56 (m)			21,73
15	33,22	1,40 (m), 1,05 (m)			32,93
16	23,41	3,10 (m) 2,75 (ddd, $J = 3,5$; 10,5 e 7,0 Hz; H-16a)			31,97
17	27,24	2,50 (m), 1,60 (m)			27,00
19	29,35	0,70 – 0,60 (m)			29,43
CH₃					
18	7,00	0,49 (t, $J = 7,6$ Hz)			7,02

* HUGEL *et. al.*, 1991

Figura 23: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância II

Figura 24: Espectro de RMN ^{13}C (APT, 100 MHz) em CDCl_3 da substância II

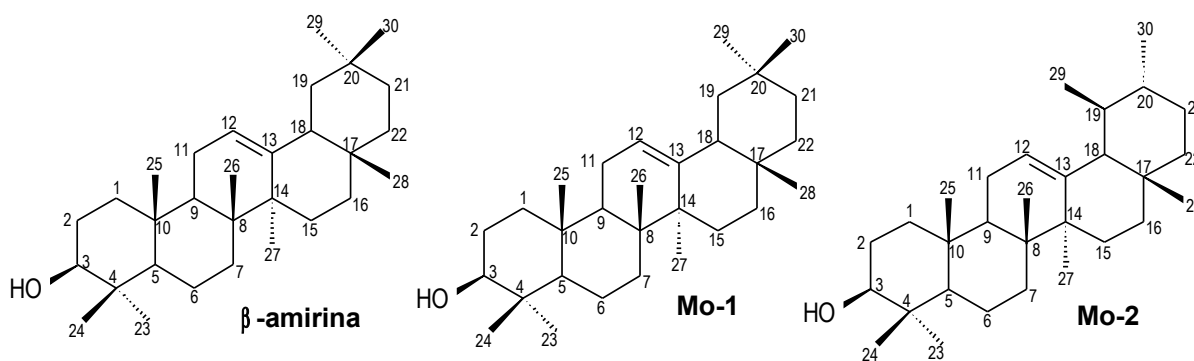
Figura 25: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância II

Figura 26: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância II

Figura 27: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância II

Figura 28: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância II

5.1.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA III



A substância **III** foi isolada como um sólido de cor branca apresentando ponto de fusão 197^o.

A análise do espectro de RMN ¹³C (DEPT 135^o, **Figuras 34 e 35**, págs. 104 e 105, **Tabela 37**, pág. 100) da substância **III** permitiu reconhecer a presença de trinta (30) átomos de carbono, sendo oito carbonos metílicos, dez carbonos metilênicos, cinco carbonos metínicos (um sp², quatro sp³ e um ligado a um heteroátomo) e sete carbonos quaternários (seis sp³ e um sp²) (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 29**, pág. 96), o qual apresentou o sinal do íon molecular em *m/z* 426 daltons, permitiram propor a fórmula molecular C₃₀H₅₀O para a substância **III**, sugerindo a presença de um triterpeno.

Figura 29: Espectro de massas da substância III

O espectro de RMN ^1H da substância III (**Figuras 31 e 32**, págs. 101 e 102 , **Tabela 37**, pág. 100) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de vários grupos metila e metilênicos, e ainda a presença de hidrogênio referente à ligação dupla e hidrogênio ligado a um átomo de carbono carbinólico (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^1H (**Figuras 31 e 32**, págs. 101 e 102, **Tabela 37**, pág.

100) apresentou um sinal triplo em δ_H 5,19 ($J= 3,5$ Hz) correspondentes a um hidrogênio olefínico. A presença deste hidrogênio olefínico pôde ser comprovada pela correlação $^1J_{CH}$ entre δ_H 5,19 (t, $J= 3,5$ Hz; H-12) e δ_C 121,93 (CH-12), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras 36 e 37**, págs. 106 e 107, **Tabela 37**, pág. 100).

A presença de uma ligação dupla nos átomos de carbono C12 e C-13 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 33**, pág. 103, **Tabela 37**, pág. 100), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_C 121,93 (CH-12) e 145,37 (C-13), compatíveis com triterpenos pentacíclicos da série oleanano (AHMAD & RAHMAN, 1994).

A localização da ligação dupla nos átomos de carbono CH-12 e C-13 pode ser confirmada através das correlações a longa distância $^2J_{CH}$ entre o átomo de carbono CH-12 com δ_H 1,87 relativos aos hidrogênios 2H-11, e ainda pela correlação a $^3J_{CH}$ com um hidrogênio metínico em δ_H 1,95 (H-18).

O espectro de massas da substância **III** (**Figura 29**, pág. 96) apresentou um fragmento em m/z 218 (**Figura 30**, pág. 98), característico de fragmentação envolvendo uma reação do tipo retro-Diels-Alder em triterpenos pentacíclicos que apresentam esqueleto do tipo oleanano (BUDZIKIEWICZ, 1964), confirmando ainda mais a presença deste tipo de esqueleto, e a posição da ligação dupla na substância **III**.

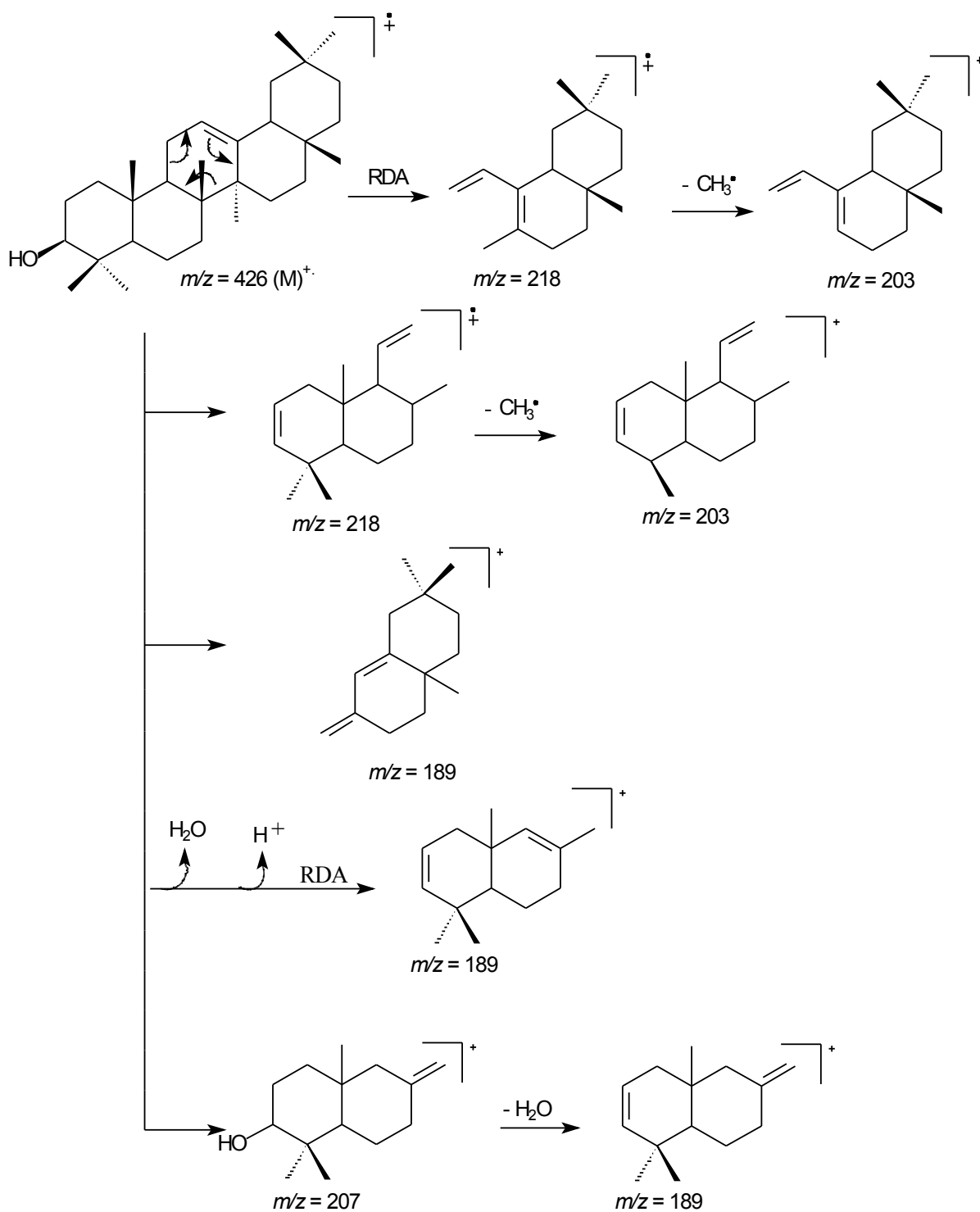


Figura 30: Principais fragmentos de massas da substância III

A presença de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-3, pôde ser observada no espectro de RMN 1H (Figuras 31 e 32, pág. 101 e 102, Tabela 37, pág. 100), através de um sinal duploduplete em δ_H 3,22 ($J = 11,0$ e $4,4$ Hz), característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; BREITMAIER & VOELTER, 1987). A localização do grupo

hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-3 foi confirmada pela correlação $^1J_{CH}$ entre δ_H 3,22 (dd, $J= 11,0$ e $4,4$ Hz; H-12) com δ_C 79,22 (CH-3), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras 36 e 37**, págs. 106 e 107, **Tabela 37**, pág. 100).

A localização do grupo hidroxila no átomo de carbono CH-3 pode ainda ser confirmada através das correlações a longa distância $^3J_{CH}$ entre o átomo de carbono CH-3 com hidrogênios em δ_H 1,50 e 0,79 relativos aos hidrogênios dos grupos metila Me-23 e Me-24, apresentadas no espectro de HMBC (**Figura 38**, pág. 108, **Tabela 37**, pág. 100).

O valor de δ_C 79,22 apresentado para o átomo de carbono CH-3, confirma a estereoquímica β -equatorial, pois, para valores de δ_C $76,1 \pm 0,5$, o grupo hidroxila encontra-se em conformação axial (ABREU, 2002).

As demais correlações a longa distância encontram-se descritas na **Tabela 37**, pág. 100.

O espectro de 1H - 1H -COSY (**Figura 39**, pág. 109) em conjunto com o espectro de RMN 1H (**Figuras 31 e 32**, págs. 101 e 102, **Tabela 37**, pág. 100) permitiu confirmar as constantes de acoplamento dos átomos de hidrogênio.

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano, e propor a estrutura **III** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN 1H e ^{13}C com dados da literatura (AHMAD & RAHMAN, 1994) para o triterpeno β -amirina (**III**).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para (**III**) foi feita com base em dados biogenéticos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo oleanano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em (**III**) (DEWICK, 1997).

Tabela 37: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC do triterpeno **III**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

	HSQC		HMBC		Mo-1*	Mo-2*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{C}
C						
4	38,97	-	H-3; H-5; 3H-23; 3H-24		38,8	38,7
8	39,99	-	H-9; 3H-26	2H-11; H-15a; 3H-27	38,8	40,0
10	37,15	-	H-5; H-9; 3H-25	H-2a	37,6	36,9
13	145,37	-	H-18	2H-11; H-19a; 3H-27	145,1	139,3
14	41,91	-	H-15a; 3H-27	H-9; H-12; H-16a; 3H-26	41,8	42,0
17	32,68	-	2H-16; 3H-28		32,5	
20	31,28	-	H-19a; H-21a; 3H-29; 3H-30	2H-22	31,1	-
CH						
3	79,22	3,22 (dd, 11,0; 4,4)		H-1a; 3H-23; 3H-24	79,0	78,2
5	55,38	0,74 (dd, 10,5; 1,4)	2H-6	2H-7; H-9; 3H-23; 3H-24; 3H-25	55,3	55,2
9	47,83	1,54	2H-11	H-5; H-12; H-7b; 3H-25; 3H-26	47,7	47,7
12	121,93	5,19 (t, 3,5)	2H-11	H-18	121,8	124,3
13	-	-	-	-	-	-
18	47,43	1,95	2H-19	H-12; H-22b; 3H-28	47,4	58,9
19	-	-	-	-	-	39,6
20	-	-	-	-	-	39,6
CH₂						
1	38,80	1,63; 1,10	H-2a	H-9; 3H-25	38,7	38,7
2	27,41	1,60; 0,82	H-1a		27,3	27,2
6	18,58	1,67; 1,42	H-5; 2H-7		18,5	18,3
7	32,86	1,50; 1,45		3H-26	32,8	32,9
11	23,75	1,87	H-9; H-12		23,6	23,3
12	-	-	-	-	-	-
15	26,36	1,77; 1,09	H-16a		26,2	28,7
16	27,15	1,96; 1,40	H-15a	2H-22; 3H-28	27,0	26,6
19	47,03	1,67; 1,02		H-21b; 3H-29; 3H-30	46,9	-
21	34,94	1,33; 1,10	2H-22	3H-29; 3H-30	34,8	31,2
22	37,35	1,42; 1,22		3H-28	37,2	41,5
29	-	-	-	-	-	-
CH₃						
23	28,30	1,50 (s)		H-3; H-5; 3H-24	28,2	28,1
24	15,70	0,79 (s)		H-3; H-5; 3H-23	15,5	15,6
25	15,80	0,94 (s)		2H-1; H-5	15,6	15,6
26	17,01	0,97 (s)		2H-7	16,9	16,8
27	26,20	1,14 (s)			26,0	23,3
28	28,60	0,83 (s)		2H-16	28,4	28,1
29	33,55	0,87 (s)		H-19a; H-21a	33,3	17,4
30	23,90	0,87 (s)		H-19a; H-21a	23,7	21,3

* AHMAD & RAHMAN, 1994

Mo-1 = β -Amirina

Mo-2 = α -Amirina

Figura 31: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância III

Figura 32: Ampliação da região de δ_{H} 0,75 – 2,0 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância III

Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância III

Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em CDCl_3 da substância III

Figura 35: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em CDCl_3 da substância **III**

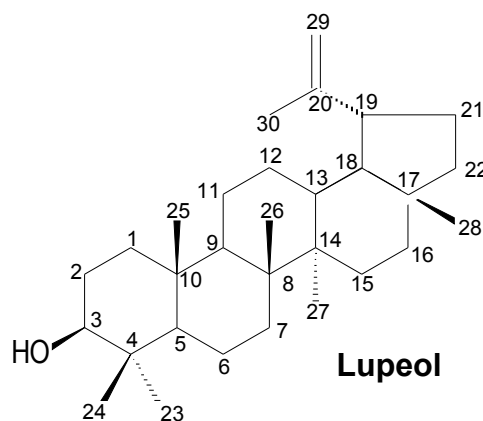
Figura 36: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância III

Figura 37: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância III

Figura 38: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância III

Figura 39: Mapa de correlação ^1H - ^1H -COSY em CDCl_3 da substância III

5.1.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA IV



A substância **IV** foi isolada em mistura, juntamente com a β -amirina (**III**), apresentando-se como um sólido de cor branca com ponto de fusão 178,2^o.

A análise do espectro de RMN ¹³C (DEPT 135^o, **Figuras 44 e 45**, págs. 117 e 118, **Tabela 38**, pág. 114) da substância **IV** permitiu reconhecer a presença de trinta (30) átomos de carbono, sendo sete carbonos metílicos, onze carbonos metilênicos (um sp² e dez sp³), seis carbonos metínicos (cinco sp³ e um ligado a um heteroátomo) e seis carbonos quaternários (um sp² e cinco sp³) (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 40**, pág. 111), o qual apresentou o sinal do íon molecular em m/z 426 daltons, permitiram propor a fórmula molecular C₃₀H₅₀O para a substância **IV**, sugerindo a presença do triterpeno lupeol.

Figura 40: Espectro de massas da substância **IV**

O espectro de RMN ^1H da substância **IV** (**Figura 42**, pág. 115) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de vários grupos metila e metilênicos, e ainda a presença de hidrogênio referente à ligação dupla e hidrogênio ligado a um átomo de carbono carbinólico (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^1H (**Figura 42**, pág. 115, **Tabela 38**, pág. 114) apresentou um sinal duplo em δ_{H} 4,69 ($J= 4,57$ Hz) correspondentes a um hidrogênio olefínico.

A presença de uma ligação dupla nos átomos de carbono C-20 e C-29 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 43**, pág. 116, **Tabela 38**, p. 114), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_c 151,26 (CH-20) e 109,53 (C-29), compatíveis com triterpenos da série lupano (AHMAD & RAHMAN, 1994). O espectro de massas da substância **IV** (**Figura 40**, pág. 111)apresentou fragmentos em m/z 218, 203, 190, 189, característico dessa substância (**Figura 41**, pág.113) (ABREU, 2002).

O valor de δ_c 79,23 apresentado para o átomo de carbono CH-3, confirma a estereoquímica β -equatorial (ABREU, 2002).

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto lupano, e propor a estrutura **IV** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C com dados da literatura (AHMAD & RAHMAN, 1994) para o triterpeno lupeol (**IV**).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para (**IV**) foi feita com base em dados biogenéticos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo lupano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **IV** (DEWICK, 1997).

A presença da substância **III** na mistura, pode ser confirmada pela presença dos sinais característicos que se encontra na **tabela 38**, pág. 114.

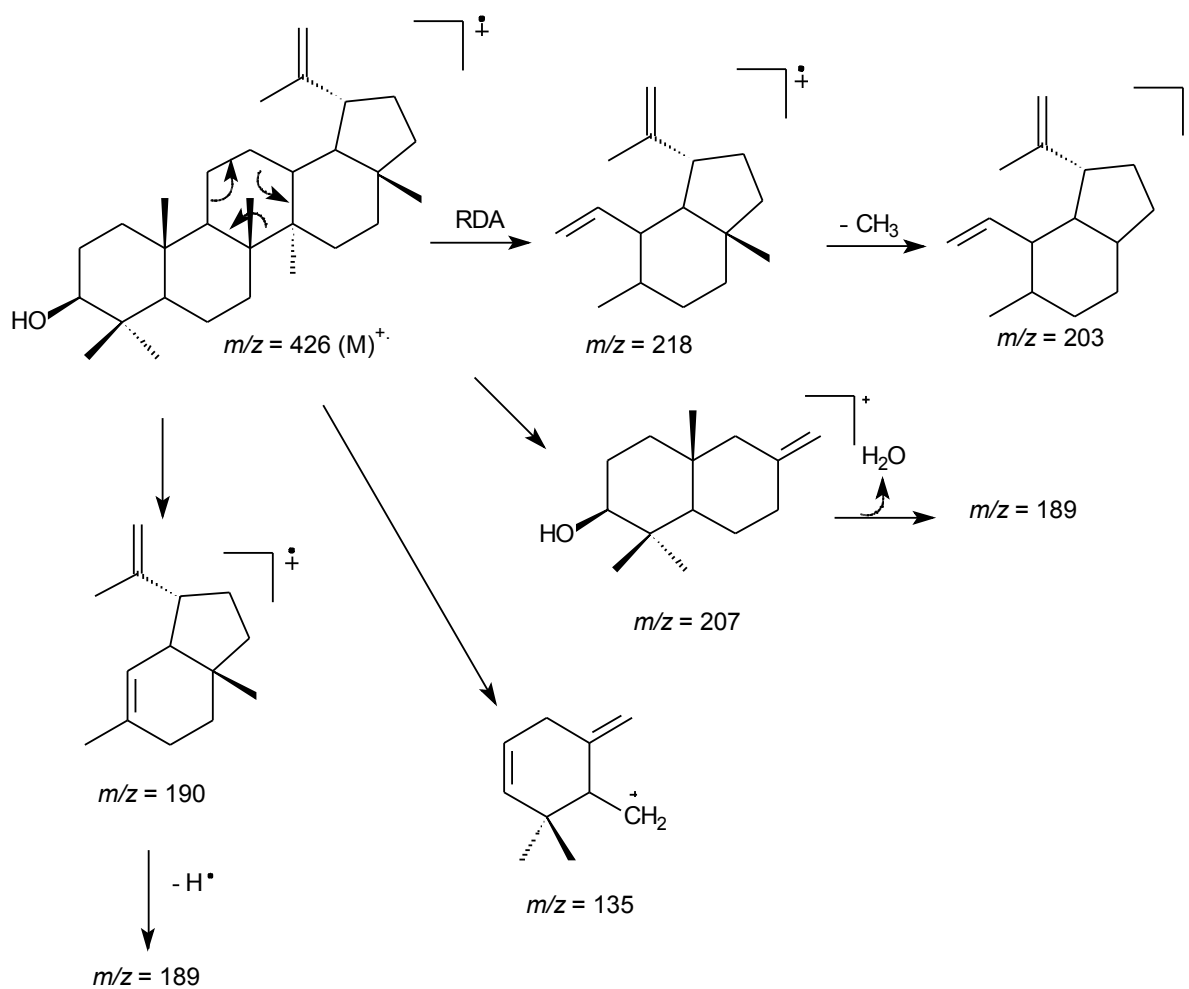


Figura 41: Principais fragmentos de massas da substância IV

Tabela 38: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da mistura **III** e **IV**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1**.

	III		IV		Mo-1*
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
C					
4	38,98	-	39,07	-	38,3
8	38,28	-	41,93	-	40,9
10	37,16	-	37,36	-	37,1
13	145,40	-	-	-	-
14	40,22	-	43,20	-	42,8
17	32,70	-	43,22	-	42,9
20	31,29	-	151,26	-	150,6
CH					
3	79,23		79,23		78,8
5	55,40		55,52		55,2
9	47,85		50,66		50,3
12	121,94	5,19 (t)	-	-	-
13	-	-			38,0
18	47,45		48,53		48,2
19	-		48,20		47,9
CH₂					
1	38,81		38,92		38,7
2	27,43		27,43		27,4
6	18,59		18,50		18,3
7	32,87		34,50		34,2
11	23,75		21,15		20,9
12	-	-	25,36		25,1
15	26,37		27,61		27,4
16	27,16		35,80		35,5
19	47,04		-	-	-
21	34,95		30,07		29,8
22	37,36		40,22		39,9
29	-	-	109,53	4,69 (d, 4,57)	109,2
CH₃					
23	28,31		28,20		28,0
24	15,70		15,58		15,4
25	15,80		16,33		16,1
26	17,02		16,20		15,9
27	26,20		14,76		14,5
28	28,61		18,21		18,0
29	33,55		-		-
30	23,91		19,40	1,69 (t)	19,3

*AHMAD & RAHMAN, 1994

Mo-1 = Lupeol

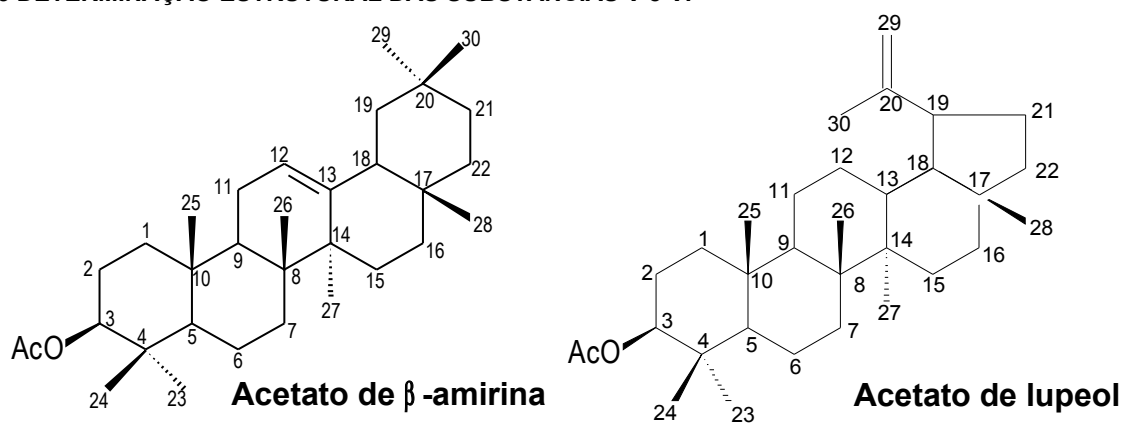
Figura 42: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

Figura 45: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em CDCl_3 da substância **IV**

5.1.5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS V e VI



As substâncias **V** e **VI** foram isoladas em mistura, que se apresentava como única mancha em CCF utilizando vários eluentes. Apresentando-se como um sólido de cor branca.

Análise dos espectros de RMN ^1H (**Figuras 46-48**, págs. 122-124, **Tabela 40**, p. 121) e RMN ^{13}C (DEPT 135° , **Figuras 50 e 51**, págs. 126 e 127) juntamente com a comparação dos dados de RMN ^{13}C (**Figura 49**, pág. 125, **Tabela 40**, pág. 121)

com os da literatura, permitiram identificar os constituintes da mistura como acetato de β -amirina (**V**) e acetato de lupeol (**VI**).

O espectro de RMN ^1H , revela vários sinais protegidos entre δ_{H} 0,8 e 1,69 correspondentes a grupos metílicos. Os simpletos em δ_{H} 2,04(**V**) e 2,01(**VI**) (corresponde a grupos metilas de acetato), o duplo duplete a δ_{H} 4,48(**V**) e 4,51(**VI**) corresponde ao hidrogênio H-3, sugerindo que os grupamentos acetatos da mistura estejam ligados aos C-3 na posição β (coerentes com o sinal a δ_{C} 81,18(**V**) e 81,21(**VI**) no espectro de RMN ^{13}C , comum aos triterpenos da mistura), que pode ser confirmada pela correlação a $^3J_{\text{CH}}$ do C do AcO com o H-3 para as duas substâncias. O tripleto largo a δ_{H} 5,19 corresponde ao hidrogênio olefínico H-12 (**V**),

Os espectros de RMN ^{13}C DEPT (**Figuras 50 e 51**, págs. 126 e 127, **Tabela 40**, p. 121) revelaram a presença de sinais olefínicos metínicos atribuídos ao CH-12 (δ_{C} 121,87 em **V**) que correlaciona a $^2J_{\text{CH}}$ com os 2H-11 e a $^3J_{\text{CH}}$ com o H-18 (δ_{H} 1,95) como mostra o espectro de HMBC (**Figura 53**, pág. 129, **Tabela 39**, pág. 120) e um sinal olefínico metilênico atribuído à C-29 (δ_{C} 109,58 em **VI**), que correlaciona a $^3J_{\text{CH}}$ com o H-19 (δ_{H} 2,37) e os 3H-30 (δ_{H} 1,69) pelo espectro de HMBC (**Figura 53**, pág. 129, **Tabela 39**, pág. 120). Bem como sinais de carbono quaternários atribuídos ao C-13 (δ_{C} 145,43 em **V**) correlacionando a $^2J_{\text{CH}}$ com o H-18 (δ_{H} 1,95) e a $^3J_{\text{CH}}$ com H-11, H-19a e 3H-27(δ_{H} 1,14) e ao C-20 (δ_{C} 151,18 em **VI**) correlacionando a $^2J_{\text{CH}}$ com o H-19 (δ_{H} 2,37) e 3H-30 (δ_{H} 2,37).

O sinal a δ_{C} 171,23 foi atribuído à carbonila das substâncias da mistura e os sinais δ_{C} 21,53 (**V**) e 21,18(**VI**) foram atribuídos, respectivamente, ao CH_3 do grupamento acetato, e os sinais a δ_{C} 81,18(**V**) e 81,21(**VI**) foram atribuídos ao carbono metínico CH-3 em que o grupamento acetato se encontra ligado.

As demais correlações podem ser encontradas na **tabela 39** (pág,120), para as substâncias **V** e **VI**.

Estas atribuições, feitas juntamente com a comparação com os dados de RMN ^{13}C para as substâncias já conhecidas, permitiram confirmar as estruturas dos triterpenos **V** e **VI** que são comumente encontrados em plantas.

Tabela 39: Correlações observadas no espectro de HMBC das substâncias **V** e **VI**.

C	V		VI	
	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
4	H-3	-	H-3	-
13	H-18	H-11; H-19a; 3H-27	-	-
14	-	H-12	-	-
20	-	-	-	H-19; 3H-30; H-21a
AcO	-	H-3	-	H-3
CH				
3	-	3H-23; 3H-24; H-1a	-	3H-23; 3H-24; H-1a
12	2H-11	H-18	-	-
13	-	-	-	H-19
18	-	H-18	H-19	-
19	-	-	-	H-29a; 3H-30; H-13
CH₂				
2	H-3	-	H-3	-
11	H-12	-	-	-
21	-	-	H-19	-
29	-	-	-	H-19; 3H-30
CH₃				
23	-	H-3	-	H-3
24	-	H-3	-	H-3
30	-	-	-	H-29a; H-19

Tabela 40: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

C	V		VI		Mo-1'
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
4	38,03	-	40,04	-	37,7
8	37,95	-	41,09	-	40,8
10	37,31	-	37,07	-	36,9
13	145,43	-	-	-	-
14	41,95	-	43,06	-	42,7
17	32,71	-	43,29	-	42,8
20	31,30	-	151,18	-	150,4
AcO	171,23	-	171,23	-	170,4
CH					
3	81,18	4,48(dd, 10,3; 5,8)	81,21	4,51	80,7
5	55,62	0,78	55,48	0,87	55,3
9	48,52	1,35	50,58	1,30	50,3
12	121,87	5,19 (t, 3,3)	-	-	-
13	-	-	38,28	1,62	37,9
18	47,47	1,95	47,78	1,57	48,2
19	-	-	48,23	2,37 (ddd, 10,9; 5,7; 5,7)	47,9
CH₂					
1	38,62	1,62; 0,99	38,49	1,62; 1,08	38,6
2	23,96	-	23,77	-	23,6
6	18,49	-	18,43	-	17,9
7	32,82	1,52; 2,33	34,96	1,34; 1,10	34,2
11	23,80	-	21,18	-	20,6
12	-	-	25,33	1,12; 1,04	26,5
15	26,37	1,00; 0,94	27,16	0,84; 0,76	27,4

16	27,67	1,04; 0,97	35,80	1,48; 1,39	35,5
19	47,01	1,64; 1,00	-	-	-
21	34,44	1,40	30,06	1,31; 1,25	29,8
22	37,38	1,43; 1,23	40,23	1,39; 1,20	39,9
29	-	-	109,58	4,69; 4,56	109,3
CH₃					
23	28,26	0,87 (s)	28,17		28,0
24	16,21		15,78		15,9
25	16,41		16,92		16,1
26	17,04		16,72	1,04(s)	16,5
27	26,17	1,14 (s)	14,73		14,5
28	28,62	0,84(s)	18,23	0,79(s)	17,5
29	33,56	0,88 (s)	-	-	-
30	23,80		19,53	1,69(s)	19,2
AcO	21,53	2,04(s)	21,18	2,01(s)	21,2

* VELLOSO, 1998

Mo-1 = Acetato de lupeol

Figura 46: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

Figura 47 Ampliação da região de δ_{H} 0,75 – 2,5 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

Figura 48 Ampliação da região de δ_{H} 4,5 – 5,5 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

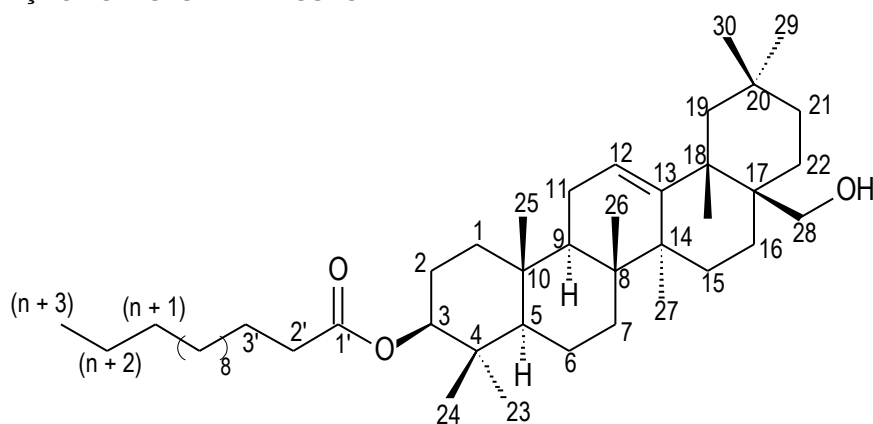
Figura 50: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135 $^{\circ}$, 125 MHz) em CDCl_3 das substâncias V e VI

Figura 51: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (DEPT 135° , 125 MHz) em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

Figura 52: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

Figura 53: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **V** e **VI**

5.1.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA **VII**



3 β -tetradecanoato-28-hidroxiolan-12-eno

A substância **VII** foi isolada como um sólido de cor branca.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Figuras 56 e 57**, págs. 136 e 137, **Tabela 41**, pág. 134) da substância **VII** permitiu reconhecer a presença de trinta (37) átomos de carbono, sendo oito carbonos metílicos, dezesseis carbonos metilênicos, cinco carbonos metínicos (um sp^2 , três sp^3 e um ligado a um heteroátomo) e oito carbonos quaternários (seis sp^3 e dois sp^2) (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM,

1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^1H da substância **VII** (**Figura 55**, pág. 135, **Tabela 41**, pág. 134) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de vários grupos metila e metilênico, e ainda a presença de hidrogênio referente à ligação dupla (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^1H (**Figura 55**, pág. 135, **Tabela 41**, pág. 134) apresentou um sinal triplo em δ_{H} 5,19 ($J = 3,5$ Hz) correspondentes a um hidrogênio olefínico. O sinal em δ_{H} 4,50 (dd, $J = 8,2; 7,6$) corresponde ao hidrogênios do carbono metínico (H-3) que pôde ser comprovado pela correlação a longa distância $^3J_{\text{CH}}$ entre o átomo de carbono CH-3 com hidrogênios em δ_{H} 0,88 e 0,85 relativos aos hidrogênios dos grupos metila Me-23 e Me-24, apresentadas no espectro de HMBC (**Figuras 60-62**, págs. 140-142, **Tabela 41**, pág. 134)

O sinal em δ_{H} 2,29 (t, $J = 7,6$, $-\text{H}_2\text{C}-\text{CO}_2$) representa um grupo acila ligado ao carbono metínico oxigenado (CH-3), que pode ser confirmado pela correlação a longa distância $^2J_{\text{CH}}$ entre este átomo de carbono com o hidrogênio em δ_{H} 1,62 (2H-CH₂-3') e a correlação a $^3J_{\text{CH}}$ com o hidrogênio na região δ_{H} 29,71-29,19 (2H-CH₂-4'-n) Esses dados permitem identificar a presença de um grupo éster com cadeia alifática ligada ao triterpeno contendo uma dupla ligação.

A presença de uma ligação dupla nos átomos de carbono C12 e C-13 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figuras 56 e 57**, págs. 136 e 137, **Tabela 41**, págs. 134), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_{C} 122,30 (CH-12) e δ_{C} 144,23 (C-13), que pode ser confirmada pela correlação $^3J_{\text{CH}}$ do C-13 com os 2H-27 como mostra o espectro de HMBC, compatíveis com triterpenos pertencentes à série dos oleananos (AHMAD & RAHMAN, 1994)

O sinal em δ_{C} 80,10 confirma o carbono carbinólico (CH-3) com um grupo

éster. Esse grupo é confirmado pelo sinal de carbonila em δ_c 173,72 e sinais adicionais de CH_3 e CH_2 de cadeia carbônica saturada na região de δ_c 34,88-14,13.

O espectro de RMN ^{13}C , mostra um sinal em δ_c 69,74, que corresponde ao C-28 que sofreu oxidação à álcool, de acordo com dados da literatura (AHMAD & RAHMAN, 1994).

O tamanho da cadeia alifática ligada ao triterpeno não foi possível ser determinado pelos espectros de RMN, esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 54**, pág. 132), que apresentou ausência do sinal do íon molecular, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{44}\text{H}_{76}\text{O}_3$ para a substância **VII**, apresentando um alto índice de similaridade com o triterpeno com a fórmula estrutural acima, com fragmento em m/z 203.

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano, e propor a estrutura **VII** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C com dados da literatura.

Figura 54: Espectro de massas da substância **VII**

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para **VII** foi feita com base em dados biogénéticos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo oleanano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **VII** (DEWICK, 1997).

Tabela 41: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **VII**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

C	HMQC		HMBC		Mo-1*	Mo-2*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{C}
C						
4	37,77	-	3H-23; 3H-24		38,8	38,8
8	39,81	-	3H-26	3H-27	38,8	39,8
10	36,83	-	H-9		37,6	36,9
13	144,23	-		3H-27	145,1	144,2
14	41,73	-	3H-27	H-12; H-18; 3H-26	41,8	41,7
17	36,96	-			32,5	36,9
20	30,96	-	H-19a		31,1	31,0
C-1	173,72	-	2H-2'	H-3; 2H-3'	-	-
CH						
3	80,10	4,50 (dd, 8,2; 7,6)		3H-23; 3H-24	79,0	79,0
5	55,25	0,86	2H-6	H-9; 3H-23; 3H-24; 3H-25	55,3	55,2
9	47,51	1,60		H-12; 3H-25; 3H-26	47,7	47,6
12	122,30	5,19 (t, 3,5)			121,8	122,3
18	42,35	1,98 (dd, 14,1; 3,8)	H-19a	H-28a	47,4	42,3
CH₂						
1	38,27			H-3; 3H-25	38,7	38,6
2	23,60		H-3		27,3	27,2
6	18,25				18,5	18,4
7	32,52			3H-26	32,8	32,6
11	23,54		H-9; H-12		23,6	23,6
15	25,54			3H-27	26,2	25,6
16	22,01	1,86; 1,60		H-28b	27,0	22,0
19	46,43	1,72 (t, 13,5); 1,05		3H-29; 3H-30	46,9	46,5
21	34,10				34,8	34,1
22	31,04			2H-28	37,2	31,0

28	69,74	3,54 (d, 11,1); 3,21 (d, 11,1)			-	69,7
2'	34,88	2,29 (t, 7,6)	2H-3'	2H-4'	-	-
3'	25,19	1,62			-	-
4' - n	29,71 -29,19				-	-
n + 1	31,94				-	-
n+ 2	22,70				-	-
CH₃						
23	28,05	0,88 (s)		H-3; 3H-24	28,2	28,1
24	15,57	0,85 (s)		H-3; 3H-23	15,5	15,5
25	16,70	0,96 (s)		H-9	15,6	15,5
26	16,78	0,94 (s)		H-9	16,9	16,7
27	25,91	1,16 (s)			26,0	25,9
28	-	-	-	-	28,4	-
29	33,19	0,89 (s)		H-19a	33,3	33,2
30	23,59	0,87 (s)		H-19a; 3H-29	23,7	23,6
n + 3	14,13				-	-

*AHMAD & RAHMAN, 1994

Mo-1 = β -Amirina

Mo-2 = Erythrodiol

Figura 55: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C (APT, 100 MHz) em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 57: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (APT, 100 MHz) em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 58: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 das substâncias **VII**

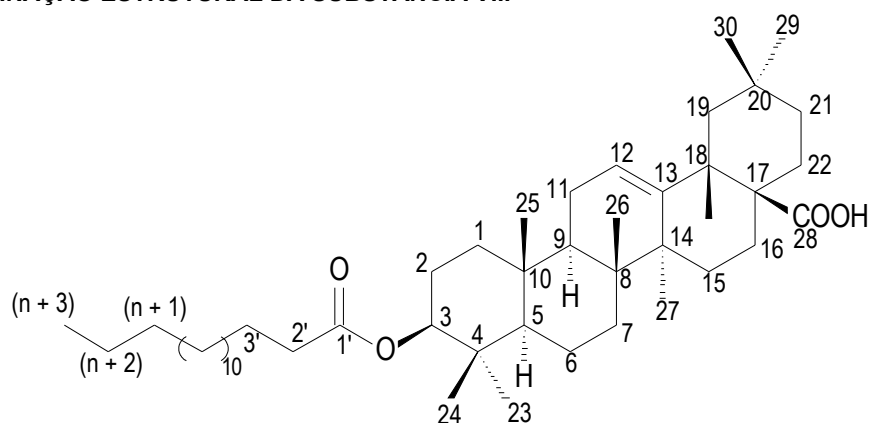
Figura 59: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 60: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 61: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 62: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **VII**

5.1.7 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA VIII



Ácido 3 β -hexadecanoato-olean-12-en-28-óico

A substância **VIII** foi isolada como um sólido de cor branca apresentando ponto de fusão 62,9 $^{\circ}$.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (PENDANT, **Figuras 65 e 66**, págs. 149 e 150, **Tabela 42**, pág. 147) da substância **VIII** permitiu reconhecer a presença de trinta (37) átomos de carbono, sendo oito carbonos metílicos, quinze carbonos metilênicos, cinco carbonos metínicos (um sp^2 , três sp^3 e um ligado a um heteroátomo) e nove carbonos quaternários (seis sp^3 e três sp^2) (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

Os dados dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C são semelhantes com os dados da substância **VII**.

O espectro de RMN ^{13}C da substância **VIII** (**Figuras 65 e 66**, págs. 149 e 150, **Tabela 42**, pág. 147) apresentou um sinal em δ_{C} 182,68, o que justifica a presença de um grupo carboxílico na posição 28, podendo ser confirmado pelo espectro de HMQC que mostra a ausência de correlação $^1J_{\text{CH}}$ nessa posição.

A oxidação da Me-28 a ácido carboxílico provoca mudanças nos deslocamentos químicos dos átomos de carbono C-17 (46,49), CH_2 -16 (23,32), CH_2 -22 (32,51) e C-18 (41,00) quando comparados com os deslocamentos químicos da substância **VII**.

O espectro de RMN ^1H (**Figura 64**, pág. 148, **Tabela 42**, pág. 147) apresentou um sinal simples largo em δ_{H} 5,28, correspondente a um hidrogênio olefínico. A presença deste hidrogênio olefínico pôde ser comprovada pela correlação $^1J_{\text{CH}}$ entre δ_{H} 5,28 e δ_{C} 121,59 (CH-12), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras 67 e 68**, págs. 151 e 152, **Tabela 42**, pág. 147).

A presença de uma ligação dupla nos átomos de carbono CH-12 e C-13 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figuras 65 e 66**, págs. 149 e 150, **Tabela 42**, pág. 147), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_{C} 121,59 (CH-12) e 142,02 (C-13), compatíveis com triterpenos pentacíclicos da série oleanano (AHMAD & RAHMAN, 1994).

A presença de um grupo éster ligado ao átomo de carbono CH-3, pôde ser observada no espectro de RMN ^1H (**Figura 64**, pág. 148, **Tabela 42**, pág. 147), através de um sinal duploduplete em δ_{H} 4,49 ($J = 8,2$ e $7,6$ Hz), característico de hidrogênio ligado a carbono esterificado (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

A localização do grupo éster ligado ao átomo de carbono CH-3 foi confirmada pela correlação $^3J_{CH}$ entre δ_H 4,49 (dd, $J= 8,2$ e $7,6$ Hz; H-3) com um carbono carbonílico de grupo éster em δ_C 173,69 (C-1'), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figuras 69 e 70**, págs. 153 e 154, **Tabela 42**, pág. 147).

A localização do grupo éster no átomo de carbono CH-3 pode ainda ser confirmada através das correlações a longa distância entre o átomo de carbono C-1' em δ_C 173,69, com hidrogênios em δ_H 2,29 (t, $J= 7,6$ Hz; H-2') e 0,79 (H-3') apresentadas no espectro de HMBC (**Figuras 69 e 70**, págs. 153 e 154, **Tabela 42**, pág. 147).

O tamanho da cadeia alifática ligada ao átomo de carbono CH-3 no triterpeno não foi possível ser determinada pelos espectros de RMN e nem foi detectada no espectro de massas. Para obter essa informação, foi feita uma hidrólise ácida com $BF_3/MeOH$, que depois foi analisada pelo espectro de massas.

O espectro de massas (**Figura 63**, págs. 145), do éster após a hidrólise, verificou a presença do éster do ácido hexadecanóico, permitindo propor a fórmula molecular $C_{17}H_{34}O_2$ para o éster, confirmando a presença de um triterpeno esterificado com o ácido hexadecanóico na posição CH-3.

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano para o triterpeno **VIII**, com oxidação da metila Me-28, e esterificação no átomo de carbono CH-3 com o ácido hexadecanóico, inédito na literatura até o presente momento.

Figura 63: Espectro de massas do éster após a hidrólise.

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para **VIII** foi feita com base em dados biogênicos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo oleanano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **VIII** (DEWICK, 1997).

Tabela 42: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC do triterpeno **VIII**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

C	HMQC		HMBC		Mo-1*	Mo-2*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{C}
4	38,05	-	3H-23; 3H-24		38,8	42,9
8	39,26	-	H-9; 3H-26	3H-27	38,8	39,8
10	36,95	-	H-9		37,6	37,3
13	142,02	-		3H-27	145,1	145,0
14	41,58	-	3H-27	3H-26	41,8	42,2
17	46,49	-			32,5	46,7
20	30,08	-	3H-29; 3H-30		31,1	31,0
28	182,68	-			-	180,4
1'	173,69	-	2H-2'	H-3; 2H-3'	-	-
CH						
3	80,52	4,49 (dd, 8,2; 7,6)			79,0	73,7
5	55,27	0,86		3H-23; 3H-24; 3H-25	55,3	48,8
9	47,50	1,60		3H-25; 3H-26	47,7	48,2
12	121,59	5,28 (sl)			121,8	122,7
18	41,00	2,28 (dd)			47,4	42,0
CH₂						
1	37,71			3H-25	38,7	38,9
2	23,52				27,3	27,6
6	18,16				18,5	18,7
7	32,40			3H-26	32,8	33,6
11	22,91				23,6	23,8
15	27,64			3H-27	26,2	28,4
16	23,32				27,0	23,8
19	45,81	1,62; 1,16		3H-29; 3H-30	46,9	46,5
21	33,78			3H-29; 3H-30	34,8	34,3
22	32,51				37,2	33,3
2'	34,83	2,29 (t, 7,6)			-	-
3'	25,83		2H-2'		-	-
4'-n	29,67-				-	-

	29,24					
n+1	31,90				-	-
n+2	22,80		3H-(n+3)		-	-
CH₃						
23	20,04	0,86 (s)		H-3; 3H-24	28,2	-
24	16,71	0,85 (s)		H-3; 3H-23	15,5	13,1
25	15,34	0,94 (s)		H-9	15,6	16,0
26	17,09	0,76 (s)		H-9	16,9	17,5
27	25,87	1,13 (s)			26,0	26,2
29	33,03	0,90 (s)		3H-30	33,3	33,3
30	22,91	0,93 (s)		3H-29	23,7	23,8
CH ₂ -(n+3)	14,13				-	-

*AHMAD & RAHMAN, 1994

Mo-1 = β-Amirina

Mo-2 = Hederagenina

Figura 64: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância **VIII**

Figura 65: Espectro de RMN ^{13}C (PENDANT, 100 MHz) em CDCl_3 da substância **VIII**

Figura 66: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (PENDANT, 100 MHz) em CDCl_3 da substância **VIII**

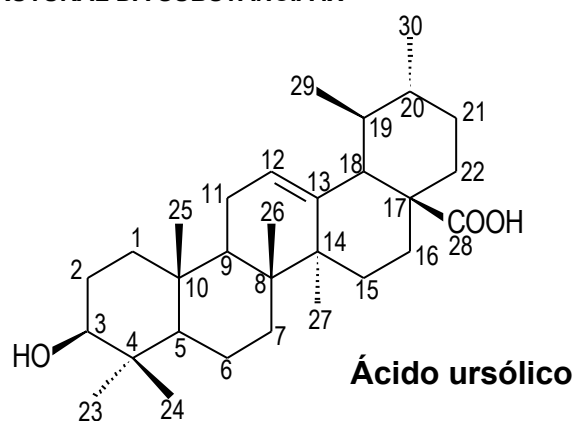
Figura 67: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **VIII**

Figura 68:Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **VIII**

Figura 69: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **VII**

Figura 70: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **VIII**

5.1.8 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA IX



A substância **IX** foi isolada como um sólido de cor branca apresentando ponto de fusão $252,2^{\circ}$.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Figuras 72 e 73**, págs. 160 e 161, **Tabela 43**, pág. 158) da substância **IX** permitiu reconhecer a presença de trinta (30) átomos de carbono, sendo sete carbonos metílicos, nove carbonos metilênicos, sete carbonos metínicos (um sp^2 , cinco sp^3 e um ligado a um heteroátomo) e sete carbonos quaternários (cinco sp^3 e dois sp^2) (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^1H da substância **IX** (**Figura 71**, pág. 159, **Tabela 43**, pág. 158) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de

vários grupos metila e metilênicos, e ainda a presença de hidrogênio referente à ligação dupla e hidrogênio ligado a um átomo de carbono carbinólico (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^1H (**Figura 71**, pág. 159, **Tabela 43**, pág. 158) apresentou um sinal simples em δ_{H} 5,05 correspondentes a um hidrogênio olefínico.

A presença de uma ligação dupla nos átomos de carbono CH-12 e C-13 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figuras 72 e 73**, págs. 160 e 161, **Tabela 43**, pág. 158), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_{C} 125,21 (CH-12) e 137,87 (C-13), compatíveis com triterpenos pentacíclicos da série oleanano (AHMAD & RAHMAN, 1994).

A localização da ligação dupla nos átomos de carbono CH-12 e C-13 pode ser confirmada pelo espectro de HMBC através da correlação a $^3J_{\text{CH}}$ com um hidrogênio metínico H-18 (**Figuras 76 e 77**, págs. 164 e 165, **Tabela 43**, pág. 158).

O espectro de RMN ^{13}C da substância **IX** (**Figuras 72 e 73**, págs. 160 e 161, **Tabela 43**, pág. 158) apresentou um sinal em δ_{C} 180,4, o que justifica a presença de um grupo carboxílico nessa posição, podendo ser confirmado pelo espectro de HMQC que mostra a ausência de correlação $^1J_{\text{CH}}$ nessa posição.

A oxidação da Me-28 a ácido carboxílico provoca mudanças nos deslocamentos químicos dos átomos de carbono vizinhos como apresentada na substância **VIII**.

A presença de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-3, pôde ser observada no espectro de RMN ^1H (**Figura 71**, pág. 159, **Tabela 43**, pág. 158), através de um sinal tripleto em δ_{H} 3,00 característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

A localização do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-3 foi confirmada pela correlação $^1J_{\text{CH}}$ entre δ_{H} 3,00 (t; H-3) com δ_{C} 77,34 (CH-3),

apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMQC (**Figuras 74 e 75**, págs. 162 e 163, **Tabela 43**, pág. 158).

A localização do grupo hidroxila no átomo de carbono CH-3 pode ainda ser confirmada através das correlações a longa distância ${}^3J_{CH}$ entre o átomo de carbono CH-3 com hidrogênios em δ_H 0,79 e 0,58 relativos aos hidrogênios dos grupos metila Me-23 e Me-24, apresentadas no espectro de HMBC (**Figuras 76 e 77**, págs. 164 e 165, **Tabela 43**, pág. 158).

As demais correlações a longa distância encontram-se descritas na **Tabela 43**, pág. 158.

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano, e propor a estrutura **IX** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN 1H e ${}^{13}C$ com dados da literatura (AHMAD & RAHMAN, 1994) para o Ácido ursólico (**IX**).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para **IX** foi feita com base em dados biogenéticos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo oleanano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **IX** (DEWICK, 1997).

Tabela 43: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **IX**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1**, os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hertz.

	HSQC		HMBC		Mo-1*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}
C					
4	38,38	-			39,1
8	39,13	-	H-9	3H-27	38,8
10	36,58	-	H-9		36,7
13	137,87	-	H-18	3H-27	138,0
14	41,72	-	3H-27	H-9; 3H-26	42,0
17	47,72	-			47,9
28	180,4	-			176,0
CH					
3	77,31	3,00 (t)		3H-23; 3H-24	79,0
5	54,96	0,56		H-9; 3H-23; 3H-24; 3H-25	52,7
9	47,24	1,36		3H-25; 3H-26	47,6
12	125,21	5,05 (s)		H-18	125,8
18	52,54	2,01 (d)		3H-29	55,3
19	38,60				30,6
20	38,60				30,4
CH₂					
1	38,40				38,7
2	26,37				23,5
6	17,91				18,3
7	32,62			3H-26	33,0
11	22,92				23,7
15	27,50			3H-27	29,4
16	23,87				23,3
21	30,33			3H-30	27,3
22	36,50				37,0
CH₃					
23	27,51	0,79 (s)		3H-24	23,4
24	14,98	0,58 (s)		3H-23	17,0
25	15,20	0,74 (s)		H-9	17,0
26	16,48	0,63 (s)			15,5
27	23,11	0,9 (s)			24,2
29	16,59	0,67 (d, 6,4)			21,1
30	20,68	0,76 (d, 5,9)			23,4
OH	-	3,16			-

* AHMAD & RAHMAN, 1994

Mo-1 = Ácido Ursólico

Figura 71: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias **IX**

Figura 72: Espectro de RMN ^{13}C (PENDANT, 100 MHz) em CDCl_3 das substâncias IX

Figura 73: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (PENDANT, 100 MHz) em CDCl_3 das substâncias **IX**

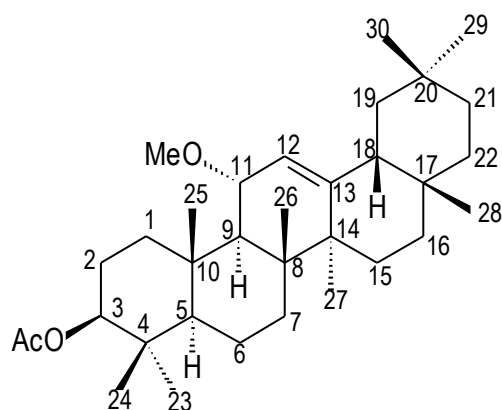
Figura 74: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 das substâncias **IX**

Figura 75: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 das substâncias **IX**

Figura 76: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **IX**

Figura 77: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 das substâncias **IX**

5.1.9 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA X



3 β -acetoxi-11 α -metoxiolean-12-eno

A substância **X** foi isolada como um sólido de cor branca.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (**Figura 80**, pág. 171, **Tabela 44**, pág. 169) da substância **X** permitiu reconhecer a presença de trinta (33) átomos de carbono, sendo dez carbonos metílicos, nove carbonos metilênicos, seis carbonos metínicos (um sp^2 , quatro sp^3 e um ligado a um heteroátomo) e oito carbonos quaternários (seis sp^3 e dois sp^2) (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; FRIEBOLIM, 1993; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

O espectro de RMN ^{13}C da substância **X** (**Figura 80**, pág. 171, **Tabela 44**, pág. 169) apresentou um sinal em δ_{C} 75,74, o que justifica a presença de um grupo metoxila. A presença de uma ligação dupla nos átomos de carbono CH-12 e C-13 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 80**, pág. 171, **Tabela 44**, pág.

169), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_c 121,77 (CH-12) e 142,74 (C-13), compatíveis com triterpenos pentacíclicos da série oleanano (AHMAD & RAHMAN, 1994).

O espectro de RMN ^1H (**Figuras 79**, pág. 170, **Tabela 44**, pág. 169) apresentou um sinal simples largo em δ_H 5,30, correspondente a um hidrogênio olefínico. O sinal em δ_H 3,21 é correspondente ao grupo MeO.

A presença de um grupo acetato ligado ao átomo de carbono CH-3, pôde ser observada no espectro de RMN ^1H (**Figura 79**, pág. 170, **Tabela 44**, pág. 169), através de um sinal triplo em δ_H 4,51 característico de hidrogênio ligado a carbono com substituinte acetato (SILVERSTEIN & WENSTER, 1998; BREITMAIER & VOELTER, 1987).

Os dados de RMN em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 78**), que apresentou ausência do sinal do íon molecular, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{O}_3$ para a substância **X**, sugerindo a presença de um triterpeno com a fórmula estrutural acima, com fragmentos em m/z : 466 (M - MeOH); 451 (M - MeOH - Me); 391 (M - MeOH - Me - AcOH) e 255; 253, característicos para essa substância (MATHIAS *et. Al.*, 2000).

Figura 78: Espectro de massas da substância **X**

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano, e propor a estrutura **X** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C com dados da literatura (MATHIAS *et. Al.*, 2000).

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano para o triterpeno **X**, com um substituinte acetato no átomo de carbono CH-3, inédito na literatura até o presente momento como substância natural, uma vez que esse já foi obtido a partir de acetilação (MATHIAS *et. Al.*, 2000).

Tabela 44: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **X**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1**

	HMQC		HMBC		Mo-1*
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}
C					
4	38,03	-			39,00
8	43,07	-			43,05
10	37,95	-			38,12
13	149,74	-			149,67
14	41,70	-	3H-27	3H-26	41,70
17	32,31	-			32,30
20	31,08	-			31,07
CH					
3	80,78	4,51 (t)		3H-23; 3H-24	78,61
5	55,31			3H-23; 3H-24; 3H-25	55,02
9	51,00				51,56
11	75,74	3,88 (dd)			75,85
12	121,77	5,30 (s)			121,51
18	46,94				46,76
CH₂					
1	39,05				39,26
2	26,70				27,30
6	18,27				18,24
7	33,24				33,08
15	26,55			3H-27	26,13
16	26,74				26,60
19	46,49			3H-29; 3H-30	46,36
21	34,65				34,51
22	36,97				36,84
CH₃					
23	28,15	1,21 (s)			28,03
24	16,71				15,44
25	18,15	1,07 (s)			18,04
26	16,85	1,00(s)			16,76
27	21,12	0,88 (s)			25,07
28	28,48	0,88 (s)			28,35
29	33,24	0,88 (s)		3H-30	33,11
30	23,65	0,83 (s)			23,52
MeO-11	53,35	3,21 (s)			53,67
2'	21,36	2,05 (s)			-
C=O	171,02	-			-

* MATHIAS *et. Al.*, 2000

Mo-1 = 3β -Hidroxi-11 α -metoxiolean-12-eno

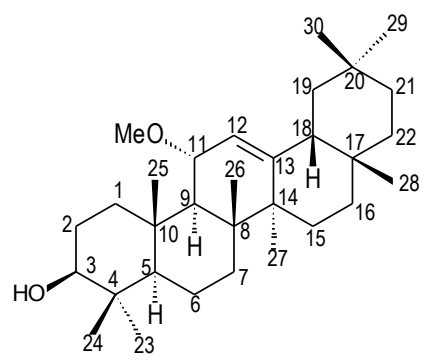
**Mo-1**

Figura 79: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 das substâncias **X**

Figura 80: Espectro de RMN ^{13}C (APT, 100 MHz) em CDCl_3 da substância **X**

Figura 81: Mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **X**

Figura 82: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMQC em CDCl_3 da substância **X**

Figura 83: Mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **X**

Figura 84: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **X**

Figura 85: Ampliação do mapa de correlação do espectro de HMBC em CDCl_3 da substância **X**

5.2 RESULTADOS DO TESTE ANTIOXIDANTE

Os dados da **Tabela 45** mostram os resultados obtidos na análise. Podemos observar que nenhuma das amostras testadas apresentou um bom resultado quando comparadas com o padrão, a rutina. Uma vez que para se obter um resultado satisfatório é necessário que os valores do EC_{50} das amostras testadas seja próximos ao valor do padrão.

A partir das substâncias isoladas, é possível observar a não atividade dos extratos pela ausência de compostos fenólicos. Dos extratos testados, os de folhas apresentaram uma maior atividade o que pode estar associado a presença de clorofila.

Tabela 45 - Valores de EC_{50} dos extratos de *A. illustre* e substância.

Extratos/Substância	EC_{50}
ACH (1)	-
AM (2)	142,16
AFC (3)	65,12
AMA (4)	65,79
IOIMBINA (5)	-
RUTINA (6)	11,82

- não ativo

O gráfico (**figura 85**) mostra a % de absorvância de acordo com as concentrações testadas para os extratos e/ou substâncias de 1 a 6. Podemos observar que a medida que a concentração diminui ocorre um decrescimento da

atividade antioxidante. Os extratos 3 e 4 com concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$ mostrou uma melhor atividade, comparados com a rutina.

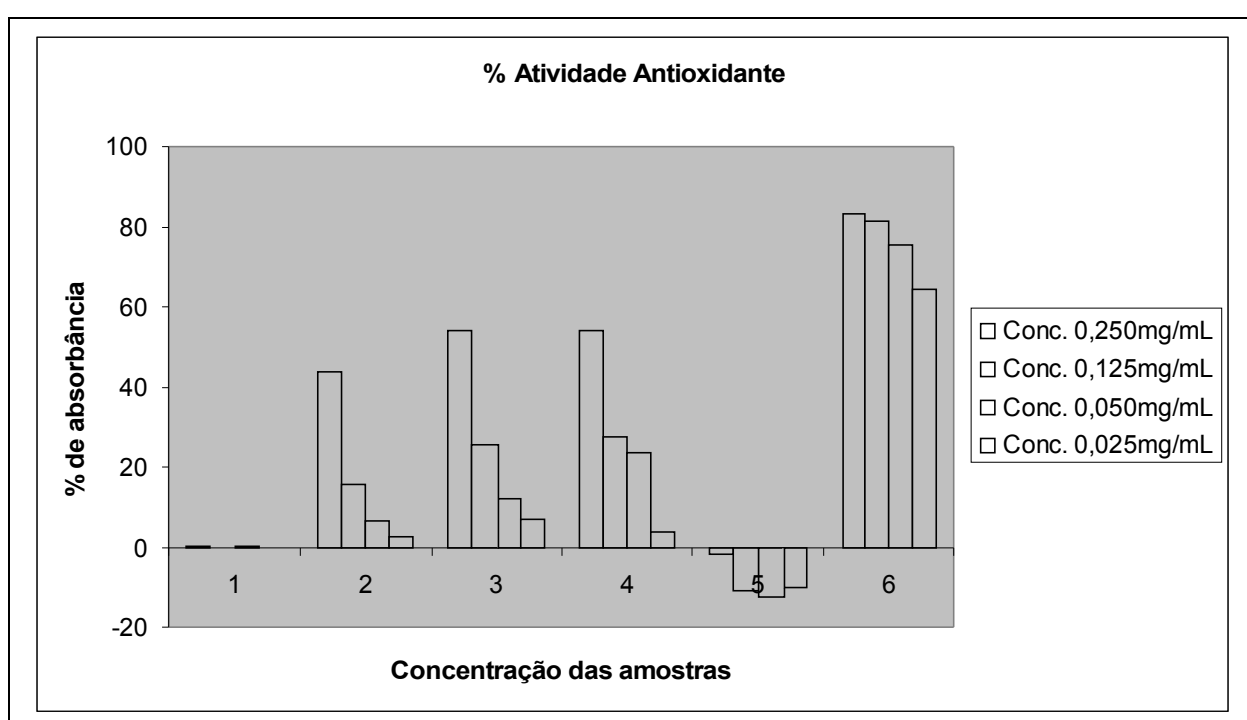


Figura 86: Gráfico de % de atividade antioxidante

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico da espécie *Aspidosperma illustre* é inédito, e permitiu o isolamento e a identificação de dois alcalóides: β -ioimbina e 1,2-desidroaspidospermidina e oito triterpenos: β -amirina, lupeol, acetato β -amirina, acetato de lupeol, 3β -tetradecanoato-28-hidroxiolean-12-eno, ácido 3β -hexadecanoato-olean-12-en-28-óico, ácido ursólico e 3β -acetoxi- 11α -metoxiolean-12-eno.

Sendo as substâncias, o ácido 3β -hexadecanoato-olean-12-en-28-óico e o 3β -acetoxi- 11α -metoxiolean-12-eno, inéditas na literatura até o momento.

O teste da atividade antioxidante não foi satisfatório para nenhuma amostra testada.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.F. (2002). Estudo Fitoquímico de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. Allem. (Fabaceae). *Tese de Mestrado*. Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 216 p.

AHMAD, V.U.; RAHMAN, A.U. (1994). Handbook of Natural Products Data, Pentacyclic Triterpenoids, Vol. 2, Ed. Elsevier, 1556p.

ARGOLO, A.C.C.; SANT'ANA, A.E.G.; PLETSCH, M.; COELHO, L.C.B.B. (2004). Antioxidant activity of leaves from *Bauhinia monandra*. *Bioresource Technology*, 95: p. 229-233.

AZOUG, M.; LOUCACI, A.; RICHARD, B.; NUZILLARD, J.; MORETI, C.; HANROT, Z.; MEN-OLIVER, L. (1995). Alkaloids from steam bark and leaves of *Peschiera buchtieni*. *Phytochemistry*, 39; p.1223-1228.

BARBOSA, L.F. (2005). Alcalóides indólicos do extrato metanólico das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae), *Monografia*, Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense- Darcy Ribeiro, 66p.

BARBOSA, W.L.R.; TAVARES, I.C.C.; SOARES, D.C. (2003). Alcalóides de *Aspidosperma auriculatum* Standl., *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13; p.6-8.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G., GUIMARÃES, E. T. (1991). Sistemática de Angiospermas do Brasil. Viçosa, UFV, vol. 2, p.15-97.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. (2006). Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29(1); p.113-123.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. (1987). Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry, 3^o ed., Weinheim: VCH, p.465.

BRUNETON, J. (1995). Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, Lavoisier Publishing Inc., Paris, p. 915.

BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D.H. (1964). Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, vol. II, Holden-Day, INC - San Francisco, p.306.

CAMPOS, A.R.; LIMA JR., R.C.P.; UCHOA, D.E.A.; SILVEIRA, E.R.; SAMTOS, F. A.; RAO, V.S.N. (2006). Pro-erectile effects of an alkaloidal rich fraction from *Aspidosperma ulei* root bark in mice, *Journal of Ethnopharmacology* 104; p. 240-244.

CANCELIERI, N.M. (2001). Alcalóides indólicos de *Rauvolfia grandiflora* Mart. *Tese de Mestrado*. Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 204 p.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos, *Visão Acadêmica*, 5(1); p. 33-40.

DEWICK, P.M. (1997). Medicinal natural products – a biosynthetic approach. England: John Willey & Sons Ltd., p.119-129

FERREIRA, I.C.P.; LONARDONI, M.V.C.; MACHADO, G.MC; LEON, L.L; FILHO, L.G.; PINTO, L.H.B.; OLIVEIRA, A.J.B. (2004). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 99(3); p.325-327.

FIGUEIREDO, E.R. (2005). Alcalóides indólicos de *Tabernaemontana salzmannii* (Apocynaceae). *Tese de Mestrado*. Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 218 p.

FRIEBOLIN, H. (1993). Indirect Spin-Spin Coupling. In: FRIEBOLIN, H. (org.) *Basic One and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*, 2^o ed., Weinheim, Basel (Switzerland), Cambridge, new York: VCH, p.335.

GNECCO, D.; VÁZQUEZ, E.; GALINDO, A.; TERÁN, J.L.; OREA, L.; BERNÈS, S.; ENRÍQUEZ, R.G. (2003). Synthesis of an *Aspidosperma* alkaloid precursor: synthesis of (+)-aspidospermidine, *Arkivoc*, p185-192

GOMES, S.M.; CAVALCANTE, T.B.(2001). Morfologia floral de *Aspidosperma* mart. & zucc. (Apocynaceae), *Acta Botânica Brasileira*, 15(1); São Paulo.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. (2000). Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira, et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 2^a Ed. Editora da UFSC, p.11-24.

HALLIWELL, B.; (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system.

Journal Nerochem, 59; p.1609-1623.

HARBORNE, J.B. (1984). *Phytochemical Methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman and Hall, 301p.

HENRIQUES, A.T.; KERBER, V. A.; MORENO, P.R.H. (2000). Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. *In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira, et al. Farmacognosia da planta ao medicamento*. 2ª Ed. Editora da UFSC, p. 641-656.

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

HUGEL, G.; ROYER, D.; SIGAUT, F.; LEVY, J. (1991). Flow Thermolyses Rearrangements in the Indole Alkaloid Series: 1,2-Dehydroaspidospermidine, *Journal of Organic Chemistry*, 56; p.4631-4636.

ISAIAS, R.M.S.; SOUZA, G.L.G.; CHRISTIANA, J.C.S.; GONÇALVES, S.J.M.R. (2000). Análise comparativa entre as defesas mecânicas e químicas de *Aspidosperma australe* e *Aspidosperma cylindrocarpon* contra herbivoria, *Floresta e Ambiente*, 7(1); p.19-30.

JÁCOME, R.L.R.P.; OLIVEIRA, A.B.; RASLAN, D.S.; WAGNER, H. (2004). Estudo químico e perfil cromatográfico das cascas de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. (PAU-PEREIRA), *Quimica nova*, 27(6); p.897-900.

JOLY, A. B. (2002). Botânica: introdução à taxonomia vegetal. Biblioteca universitária, p. 560-566.

MALIK, A.; AFZA, N.; SIDDIQUI. (1981). Structure and absolute configuration of serpenticine, a new anhidronium base from *Rauvolfia volmitoria afzuelia*. *Heterocycles*, 16(10); p. 1727-1733.

MARQUES, M.F.S.; KATO, L.; FILHO, H.F.L.; REIS, F.A. (1996). Indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*, *Phytochemistry*, 41(3); p.963-967.

MATHIAS, L.; VIEIRA, I.J.C.; BRAZ-FILHO, R.; FILHO, E.R. (2000). A New Triterpene Isolated from *Myroxylon balsamum* (syn. *Myroxylon peruiferum*). *Journal Brazilian Chemistry Society*, 11(2); p.195-198.

MEDEIROS, W.L.B. (2003). Estudo fitoquímico de *Tabernaemontana laeta* Mart.(Apocynaceae), vol.1. *Tese de Doutorado*. Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 139p.

MENSOR, L.L.; MENEZES, S.F.; LEITÃO, G.G.; REIS, S.A.; DOS SANTOS, C.T.; COUBE, S.C.; LETÃO, G.S. (2001). Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytherapy Research*, 15; p.127.

MESQUITA, M.L.; GRELLIER, P.; MANBU, L.; PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S. (2007). In vitro antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies, *Journal of Ethnopharmacology*, 110; p.165-170.

MERCK, E. (1972). Reactivos de coloración para cromatografía em capa fina y em papel. Darmstadt Alemanha, p.130.

PEREIRA, M.M.; JÁCOME, R.L.; ALCÂNTARA, A.F.C.; ALVES, R.B.; RASLAN, D.S. (2007). Alcalóides Indólicos Isolados de Espécies do Gênero *Aspidosperma* (APOCYNACEAE), *Química Nova*, 30(4); p. 970-983.

QUINET, C.G.P. (2002). Apocynaceae Juss. Na Reserva Rio das Pedras, Município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. Tese de Mestrado, Rio de Janeiro – RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro, p. 1-5, 42.

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

ROBERTS, M.F.; WINK, M. (1998). Alkaloids: biochemistry, ecology and medicinal applications, p.1-7.

SANTOS, R.I. (2000). Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira, et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 2ª Ed. Editora da UFSC, p.323-354.

SCHRIPSEMA, J.; DAGNINO, D.; GOSMANN, G. (2000). Alcalóides Indólicos In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira, et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 2ª Ed. Editora da UFSC, p. 679-706.

SCHRIPSEMA, J.; DAGNINO, D.; GOSMANN, G. (2004). Alcalóides Indólicos *In*: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira, et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5ª Ed. Editora da UFSC, p. 819-832.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M. (2004). Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, 17(2); p. 227-236.

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

SILVERSTEIN, R.M.; WENSTER, F.X. (1998). Identificação espectrométrica de compostos orgânicos, 6^o ed., Ed. LTC, Rio de Janeiro, 460p.

SOUZA, L.G.; ALVES, N.M.; PAULA, J.R.; VALADARES, M.C.; BARA, M.T.F.; CUNHA, L.C.; GARROTE, C.F.D. (2005). ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE *Aspidosperma subincanum* Mart. Apocynaceae. *Revista Eletrônica de Farmácia*, Suplemento 2(2); p. 210-213.

STASI, L.C. (1996). Arte, ciência e magia *In*: STASI, Luiz Claudio et al. *Plantas medicinais: Arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. 1ª Ed. Editora da Universidade Estadual Paulista, p.15-21.

TANAKA, J.C.A.; SILVA, C.C. da; OLIVEIRA, A.I.B. de; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. (2006). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39; p.387-391.

VELLOSO, C.R.X.. (1998). Triterpenos idolados de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) e Diterpenos isolados de *Pinus carabaea var.bahamensis* Barr et Golf. *Tese de Mestrado*. Seropédica- RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 163 p.

WENIGER, B.; ROBLEDO, S.; ARANGO, G.J.; DEHARO, E.; ARAGÓN, R.; MUÑOZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R. (2001). Antiprotozoal activities of Colombia plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 78; p.193-200.

YUNES, R.A.; FILHO, V.C. (2001). Breve história da Química de Plantas Medicinais: Sua Importância na Atual Concepção de Fármacos Segundo os Paradigmas Ocidental e Oriental. *In*: YUNES, Rosendo Augusto e CALIXTO, João Batista. *Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna*. Editora Universitária, p.18-44.

ZENK, P. (1980). The spectrum of biological activities of indole alkaloids. *In*: NEUSS, N. (org) *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*. Nova Iorque: Academic Press, 298p.