

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS INSTITUTO DE QUÍMICA

Alcaloides de *Psychotria capitata* Ruiz & Pav. (Rubiaceae): determinação estrutural e atividade biológica

VINÍCIUS GALVÃO WAKUI

ORIENTADORA: PROFA. DRA. LUCILIA KATO CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. CECÍLIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GOIÂNIA- 2015





TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: [X] Dissertação [] Tese

Auton /	Ne Minister Calue Att			
Autor (a): vinicius Galvao Wa	Vinicius Galvao Wakui		
E-mail:	E-mail: vgwakui@gmail.com			
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? [X]Sim [] Não				
Vínculo	Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:		Coordenação de Aperfeiçoamento Sigla: CAPES de Pessoa! de Nível Superior		
País:	Brasil	UF: GO CNPJ:		
Título:	Título: Alcaloides de <i>Psychotria capitata</i> Ruiz & Pav. (Rubiaceae): determinação estru- tural e atividade biológica			
Palavras-chave:1. Produtos naturais. 2. Psychotria capitata. 3. Alcaloides indólicos.4. Monoamina oxidase				
Título em outra língua:Alkaloids from Psychotria capitata Ruiz & Pav. (Rubiaceae): structural determination and biological activity				
Palavras-chave em outra língua:1. Natural products.2. Psychotria capitata.3. Indol alkaloids.alkaloids.4. Monoamineoxidases				
Área de concentração: Ouímica				
Data de	Data defesa: (dd/mm/aaaa) 09/10/2014			
Programa de Pós-Graduação:		Programa de Pós-Graduação em Química		
Orientador (a): Profa. Dra. Lucília Kato				
E-mail: luciliakato@gmail.com				
Co-orientador a): Profa. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira				
E-mail:	E-mail: oliveiracec@gmail.com			

2. Identificação da Tese ou Dissertação

3. Informações de acesso ao documento:

[]NÃO Concorda com a liberação total do documento [x] SIM

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Vinitius Galiao Waltur Assingtura do (a) autor (a)

Data: 09 / 03 / 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS INSTITUTO DE QUÍMICA

Alcaloides de *Psychotria capitata* Ruiz & Pav. (Rubiaceae): determinação estrutural e atividade biológica

VINÍCIUS GALVÃO WAKUI

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como exigência parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

ORIENTADORA: PROFA. DRA. LUCILIA KATO CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. CECÍLIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora de Dissertação de Mestrado em Química, apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, em 09/10/2014 pelo discente Vinícius Galvão Wakui.

Comissão Julgadora:

Prof. Dra. Lucifa Kato - orientadora IQ/UFG

Open har Olun

Prof. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira - co-orientadora IQ/UFG

PINPAI

Prof. Dr. Richele Priscila Severino – UFG-Catalão

In KALALA

Prof. Dr. Suzana da Costa Santos – IQ/UFG

Dedicatória

Aos meus pais Jorge e Maria Imaculada.

Agradecimentos

À professora Lucília Kato, pela paciência e disposição, e por ter me orientado ao longo deste trabalho.

À professora Cecília Maria Alves de Oliveira pela co-orientação e consequentes contribuições neste trabalho.

Ao professor Boniek Gontijo Vaz pelas análises de Espectrometria de Massas e interpretação dos dados.

À professora Suzana da Costa Santos pela sua participação na banca examinadora do exame de qualificação, na defesa da dissertação e contribuições dadas.

À professora Amélia T. Henriques pela supervisão dos ensaios de inibição de MAO-A e MAO-B no Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

À professora Richele Priscila Severino pela sua participação na banca examinadora da defesa de dissertação e contribuições dadas.

Aos professores Dr. Piero Giuseppe Delprete e Dr. Hélder Nagai Consolaro pela identificação da planta no Bosque Saint Hillaire.

Aos meus colegas de laboratório Aline, Raquel, Geralda, Igor, Monique, Carlos, Celice, Marcelo, Guilherme, Steffani e Mariana, pelos momentos de descontração e apoio. Ao Igor por me ajudar neste trabalho como aluno de iniciação científica. À Geralda por ter me ensinado a usar o CLAE.

À todos os meus amigos e familiares que me acompanharam e torceram por mim.

À Universidade Federal de Goiás, ao Instituto de Química e seus professores, pela minha formação em química.

À Coordenação de Pós-graduação em Química da UFG por sempre terem me recebido e atendido quando necessário.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Deus pela vida, força e oportunidade de trilhar o caminho que escolhi para mim.

Aos meus pais, Jorge e Imaculada, pelo apoio e assistência durante todo o período deste estudo.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE ESPECTROS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 Introdução	1
1.1 Familia Rubiaceae Juss	2
1.2 A espécie <i>Psychotria capitata</i> Ruiz & Pav	12
2 Objetivos	13
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivo específico	14
3 Parte experimental	15
3.1 Materiais e métodos	16
3.2 Estudo químico das folhas de <i>P. capitata</i> (Rubiaceae)	17
3.2.1 Coleta do material vegetal	17
3.2.2 Preparo e fracionamento do extrato bruto etanólico das folhas	17
3.2.3 Fração CHCl₃ Ácida (FCA)	20
3.2.4 Fração AcOEt Básica (FAB)	21
3.2.5 Fração n-BuOH Básica (FBB)	23
3.2.6 Fração MeOH/H₂O (20%)	25

4 Resultados e discussão	29
4.1 Compostos isolados de <i>P. capitata</i>	30
4.2 Ensaios de inibição enzimática de monoamina oxidases	32
4.3 Elucidação estrutural dos compostos isolados	34
4.3.1 Composto I	
4.3.2 Composto II	37
4.3.3 Composto III	41
4.3.4 Composto IV e V	44
5 Conclusão	49
Referências bibliográficas	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Exemplos de metabólitos secundários identificados em espécies de
	Rubiaceae
Figura 2.	Alcaloides identificados nas espécies <i>B. caapi</i> e <i>P. viridis</i> 5
Figura 3.	Desaminação oxidativa da DMT promovida pelas enzimas MAO e
pelo aldeío	do desidrogenase 6
Figura 4. 2009)	Proposta de biossíntese para os alcaloides triptamínicos (Dewick, 7
Figura 5.	Prosposta de rota biosintética para a estrictosidina
Figura 6.	Biossíntese dos alcaloides braquicerina e psicolatina9
Figura 7.	Exemplos de alcaloides polindólicos9
Figura 8.	Exemplos de alcaloides isolados da <i>P. prunifolia</i>
Figura 9.	Alcaloides isolados de <i>P. myriantha</i> 11
Figura 10.	Fluxograma do fracionamento ácido-base
Figura 11.	Fluxograma da partição do extrato bruto etanólico
Figura 12.	Estrutura química dos compostos isolados de P. capitata. (I) Iso-
escopoleti	na; (II) Bufotenina; (III) N-óxido de bufotenina; (IV) 6-hidroxi-2-metil-
1,2,3,4-tet	raidro- β -carbolínico; (V) 7-carboxil-2-metil-3,4-dilidro- β -carbolinium.
Figura 13.	Espectro de RMN de ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) do composto I
Figura 14.	Estrutura química da iso-escopolatina e principais correlações
Figura 15	Espectro de RMN de 13 C (CD ₂ OD 125.03 MHz) de fração AcOEt
rigula 10.	com os dados espectroscópicos de 13 C do composto II 37
Figura 16	Espectro de RMN de ¹ H (CD ₃ OD 500 MHz) do composto II
Figura 17.	Estrutura química do composto 5-hidroxi-N.N-dimetiltriptamina e as
	principais correlações observadas no HMBC
Figura 18.	Espectro de RMN de ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) do composto III 42
Figura 19.	Estrutura química do N-óxido-5-hidroxi-N-N-dimetiltriptamina e
-	principais correlações no HMBC 43

Figura 21. Estrutura da 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-	
carbolínico	45
Figura 22. Estrutura química proposta para o composto, 7-carboxil-2-met	il-3,4-
diidro-β-carbolínium	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Fracionamento ácido-base do extrato bruto das folhas de
	P. capitata
Tabela 2.	Frações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FCA 20
Tabela 3.	Frações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FAB 21
Tabela 4.	Frações reunidas a partir cromatográfica em coluna da
	fração 71-74 22
Tabela 5.	Frações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FBB 23
Tabela 6.	Partição do extrato etanólico obtido das folhas de P. capitata 24
Tabela 7.	Frações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FHM 25
Tabela 8.	Frações reunidas a partir da cromatografia em coluna da
	subfração 52 - 61 26
Tabela 9.	Subfrações obtidas na CCDP da fração 62-74 27
Tabela 10.	Subfrações obtidas na CCDP da fração 62-74 27
Tabela 11.	Subfrações obtidas na CCDP da fração 75-87 28
Tabela 12.	Subfrações obtidas na CCDP da fração 88-97 28
Tabela 13.	Compostos isolados de <i>P.capitata</i>
Tabela 14.	Resultados dos ensaios de inibição de monoamina oxidases com
	os extratos obtidos no fracionamento ácido-base e na partição 33
Tabela 15.	Resultados dos ensaios de inibição de colinesterases e monoamina
	oxidases para a bufotenina 33
Tabela 16.	Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C e HMBC (CD ₃ OD, 500 MHz) do composto
	I e comparação com a literatura 36
Tabela 17.	Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C, COSY e HMBC (CD ₃ OD, 500 MHz) do
	composto II e comparação com a literatura 40
Tabela 18.	Comparação dos dados de $\delta_{ extsf{H}}$ (ppm) e $\delta_{ extsf{C}}$ (ppm) da cadeia lateral

dos compostos II e III 42
a 19. Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C e HMBC (CD ₃ OD, 500 MHz) do composto
III comparação com a literatura 43
a 20. Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C e HMBC (CD ₃ OH, 500 MHz) do composto
IV e comparação com a literatura 46
a 21. Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C e HMBC (CD ₃ OH, 500 MHz) do composto
V e comparação com a literatura48

LISTA DE ESPECTROS – ANEXO

Espectro 1. Espectro da região do ultravioleta (CH ₃ OH) da	
iso-escopoletina (I)	56
Espectro 2. Espectro na região do infravermelho (KBr) da	
iso-escopoletina (I)	57
Espectro 3. Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) da iso-escopoletina	(I). 58
Espectro 4. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) da	
escopolatina (I), na região de 8,0 - 3,5 ppm	59
Espectro 5. Mapa de correlação de HSQC da iso-escopoletina (I)	60
Espectro 6. Mapa de correlação de HMBC da iso-escopoletina (I)	61
Espectro 7. Mapa de correlação de NOESY (2D) da iso-escopoletina (I)	62
Espectro 8. Expansão do Mapa de correlação de NOESY (2D) da	
iso-escopoletina (I)	63
Espectro 9. Espectro da região do ultravioleta (CH ₃ OH) da bufotenina (II)	64
Espectro 10. Espectro da região do infravermelho (KBr) da bufotenina (II)) 65
Espectro 11. Espectro de Massas de Alta Resolução da bufotenina (II)	66
Espectro 12. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125,03 MHz) da fração AcOE	t, com
os dados espectroscópicos de ¹³ C da bufotenina (II)	67
Espectro 13. Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) da bufotenina (II)	68
Espectro 14. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) da	
bufotenina (II), na região de 7,20 – 6,45 ppm	69
Espectro 15. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) da	
bufotenina (II), região de 2,95 – 2,20 ppm	70
Espectro 16. Mapa de correlação de HSQC da bufotenina (II)	71
Espectro 17. Mapa de correlação de HMBC da bufotenina (II)	72
Espectro 18. Mapa de correlação homonuclear ¹ H- ¹ H COSY da	
bufotenina (II)	73
Espectro 19. Espectro da região do ultravioleta (CH ₃ OH) do N-óxido de	
bufotenina (III)	74

Espectro 20.	Espectro da região do infravermelho (KBr) do N-óxido de
	bufotenina (III)
Espectro 21.	Espectro de Massas de Alta Resolução do N-óxido de
	bufotenina (III)
Espectro 22.	Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) do N-óxido de
	bufotenina (III)
Espectro 23.	Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) do N-óxido
	de bufotenina (III), na região de 7,5 – 6,4 ppm
Espectro 24.	Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 500 MHz) do N-óxido
	de bufotenina (III), na região de 3,8 - 2,6 ppm 79
Espectro 25.	Mapa de correlação de HSQC do N-óxido de bufotenina (III) 80
Espectro 26.	Mapa de correlação de HMBC do N-óxido de bufotenina (III) 81
Espectro 27.	Espectro de infravermelho da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-
	metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-
	diidro- β -carbolínium (V)
Espectro 28.	Espectro de RMN 1H (CD ₃ OD, 500 MHz) da mistura dos
	compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolínico (IV) e 7-
	carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolínium (V)83
Espectro 29.	Expansão do Espectro de RMN 1H (CD₃OD, 500 MHz) da
	mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-
	carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium (V),
	na região de 8,5 – 6,0 ppm84
Espectro 30.	Expansão do Espectro de RMN 1H (CD ₃ OD, 500 MHz) da mistura
	dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-
	carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium (V),
	na região de 4,5 - 2,0 ppm85
Espectro 31.	Mapa de correlação de HSQC da mistura dos compostos 6-hidroxi-
	2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-
	diidro- β -carbolínium (V)86
Espectro 32.	Expansão do mapa de correlação de HSQC da mistura dos
	compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-
	carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium (V),
	na região de 9,00-5,00 ppm87
Espectro 33.	Expansão do mapa de correlação de HSQC da mistura dos

	compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-	
	carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium (V),	
	na região de 4,00-2,00 ppm88	}
Espectro 34.	Mapa de correlação de HMBC da mistura dos compostos 6-hidroxi	-
	2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-	
	diidro-β-carbolínium (V)89)
Espectro 35.	Expansão do mapa de correlação de HMBC da mistura dos	
	compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-	
	carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium (V),	
	na região de 8,5-6,0 ppm90)
Espectro 36.	Expansão do mapa de correlação de HMBC da mistura dos	
	compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-	
	carbolínico (IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium	
	(V)	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

δ	Deslocamento químico
Ø,h	Diâmetro e altura da coluna
¹ H	Hidrogênio-1
¹³ C	Carbono-13
5-HT	5-hidroxitriptamina (Serotonina)
5-HO-DMT	5-hidroxi-N,N-dimetiltriptamina
	(Bufotenina)
5-MeO-DMT	5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina
AChE	Acetilcolinesterase
ACN	Acetonitrila
AcOEt	Acetato de etila
BChE	Butirilcolinesterase
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada
	Analítica
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada
	Preparativa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta
	Eficiência
COSY	¹ H- ¹ H Correlation Spectroscopy
DMT	Dimetiltriptamina
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
EMAR	Espectrometria de Massas de Alta
	Resolução
h	Altura

НМВС	Heteronuclear Multiple Bond
	Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum
	Coherence
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentração requerida para inibição
	de 50% da população
IV	Infravermelho
J	Constante de Acoplamento
т	Multipleto
MAO	Monoamina oxidase
MAO-A	Monoamina oxidase A
MAO-B	Monoamina oxidase B
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
m/z	Razão massa/carga
n-BuOH	n-butanol
ppm	Partes por milhão

RESUMO

Tendo em vista que espécies do gênero Psychotria são descritas como fontes de alcalóides, principalmente do tipo β-carbolínicos, com potencial atividade biológica, focamos neste trabalho o estudo fitoquímico das folhas de *Psychotria capitata* Ruiz & Pav. (Rubiaceae) de vasta ocorrência no Cerrado goiano.

O estudo desta espécie levou ao isolamento e elucidação estrutural dos alcaloides: bufotenina e N-óxido de bufotenina e da cumarina iso-escopoletina. Esses alcaloides foram encontrados majoritariamente em todas as frações estudadas. Além disso, foi identificado em mistura, dois alcaloides: o 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolínico e o 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolínium. Este último inédito, contudo ainda em fase de elucidação estrutural. Adicionalmente, considerando o grande potencial bioativo dos alcaloides indólicos, particularmente os isolados de *Psychotria* no que diz respeito à atividade biológica no sistema nervoso central, submetemos as frações e compostos isolados de *P. capitata* à avaliação *in vitro* tendo como alvo biológico as isoenzimas monoaminoxidases MAO-A e MAO-B.

Essa avaliação foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisas da FF/UFRGS que desenvolve estudos na busca de inibidores das enzimas envolvidas em doenças neurodegenerativas tais como doença de Parkinson e de Alzheimer, sendo que a busca de compostos que possam interagir com as enzimas colinesterase (AChE e BChE) e monoaminooxidases (MAO-A e MAO-B) são consideradas importantes para a compreensão das bases neuroquímicas dessas doenças.

As frações alcaloídica de *P. capitata* (10 µg/mL) apresentaram taxas de inibição entre 60 e 89%, mostrando o potencial destas frações. A bufotenina (86 µM), apresentou inibição para MAO-A, sendo seletiva para a mesma, enquanto que o N-óxido de bufotenina não apresentou inibição para essas enzimas.

Dessa forma contribui-se para o estudo de espécies da família Rubiaceae, confirmando o grande potencial da mesma como fonte de alcaloides indólicos com núcleo β-carbolinicos com atividade biológica de grande interesse.

ABSTRACT

Regarding that *Psychotria* species are described as sources of alkaloids, mainly β-carboline type with potential biological activity, this work focused on the phytochemical study of *Psychotria capitata* Ruiz & Pav. (Rubiaceae) leaves with widely occurrence on Cerrado Biome.

The study of this specie led to the isolation and structural elucidation of the alkaloids: bufotenine and bufotenine-N-oxide and coumarin iso-scopelletin.

These alkaloids were found mostly in all studied fractions. Furthermore, two alkaloids were identified in misture: 6-hydroxide-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline and 7-carboxyl-2-methyl-dihydro-β-carbolinium. Last one is novel alkaloid which however still in structural elucidation.

Additionally, considering the great bioactive potential of indol alkaloids, particularly those found in *Psychotria* species regarding to central nervous system biological activity, we have submitted fractions and isolated compounds of *P. capitata* to *in vitro* evaluation with monoamineoxidases MAO-A and MAO-B as bio targets.

These biological essays was realized in collaboration with research group of FF/UFRGS that develops studies searching for enzymatic inhibitors involved in neurodegenerative disease such as Parkinson's disease and Alzheimer. Thus, search of compounds that interact with cholinesterase (AChE and BCHE) and monoamineoxidases (MAO-A and MAO-B) enzymes are important to the comprehension of neurochemical bases of these diseases.

The alkaloidal fractions of *P. capitata* (10 mg/mL) showed inhibition rates between 60 and 89 %, which demonstrate the potential of these fractions. Bufotenine showed selective inhibiton (89 μ M) to MAO-A, while bufotenine-N-oxide didn't showed inhibition to none of the enzymes.

Therefore, this work contributes to the study of the species of Rubiaceae family, confirming the great potential of this family as source of indol alkaloids with a β -carboline nucleous, which show biological activity of great interest.

1. Introdução

1.1 Família Rubiaceae Juss

Dentre as Angiospermas, a família Rubiaceae é considerada a quarta maior família, logo após Orchidaceae, Asteraceae e Leguminosae, com um número estimado de 650 gêneros e 13.000 espécies (Delprete & Jardins, 2012).

Recentemente evidências filogenéticas baseadas em estudos moleculares tem mostrado que a família Rubiaceae pode ser dividida em três subfamílias: Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae (Motley *et al*, 2005). As espécies de Rubiaceae são encontradas em todos os continentes com predominância nas regiões tropicais e subtropicais com aproximadamente 5.000 espécies ocorrendo na região Neotropical, como arbustos, lianas, ervas e árvores (Delprete & Jardins, 2012).

Uma importante característica das espécies de Rubiaceae presentes na América do Sul é a adaptação aos mais diferentes biomas, sendo encontradas na Bacia Amazônica, na Mata Atlântica brasileira, no Cerrado, na caatinga e nas restingas (Delprete & Jardins, 2012).

Além disso, as Rubiaceae têm despertado o interesse de pesquisadores devido à grande importância econômica de suas espécies, como por exemplo, as espécies *Coffea arabica* L. (café) e *Genipa america* L. (jenipapo), usados pela indústria alimentícia e *Ixora spp., Mussaenda spp., Gardenia spp.*, utilizadas para fins ornamentais (Coelho *et al*, 2006). Outro exemplo é a espécie *Uncaria tomentosa,* conhecida popularmente como unha-de-gato, usada há muito tempo na medicina tradicional no tratamento de câncer, feridas e artrite. Devido às suas propriedades anti-inflamatória, citotóxica, antioxidante, e principalmente, imunoestimulante, esta espécie possui alto valor comercial no Brasil e no mundo, sendo comercializada *in natura* ou como fitoterápico na forma de cápsulas e comprimidos (Valente *et al*, 2006).

Os estudos fitoquímicos de espécies de Rubiaceae tem levado ao isolamento de diversas classes de metabólitos secundários, como alcaloides (Valente *et al*, 2006), ciclotídeos (Picchi *et al*, 2009), iridóides (Zhou *et al*, 2012), cumarinas (Luciano *et al*, 2004), lignanas (Silva *et al*, 2006), esteróides (Tomaz *et al*, 2008), triterpenos, flavonóides e antraquinonas (Ferreira Júnior *et al*, 2012), aos quais foram atribuídas importantes atividades biológicas (Figura 1).

2



Figura 1 – Exemplos de metabólitos secundários identificados em espécies de Rubiaceae.

O gênero *Psychotria* L. pertence à subfamília Rubioideae e à tribo Psychotrieae, sendo considerado o maior gênero da família Rubiaceae, com 1834 espécies distribuídas mundialmente em regiões tropicais e subtropicais (Davis *et al*, 2009).

Muitas espécies do gênero *Psychotria* são conhecidas popularmente por suas propriedades medicinais, dentre as quais podemos citar como exemplo, a *P. ipecacuanha* também chamada de ipeca ou poaia que é usada no tratamento de diarreias, amebíase, como expectorante e anti-inflamatório (Teixeira *et al*, 2012).

O estudo fitoquímico desta espécie mostrou que sua propriedade emética está associada a presença de dois alcaloides isoquinolínicos: a cefaelina e a emetina (Figura 1), sendo que esta também mostrou-se efetiva no tratamento de amebíase (Porto *et al*, 2009).

Dentre as várias propriedades farmacológicas descritas na literatura para o gênero *Psychotria*, destaca-se ainda, sua ação sobre o sistema nervoso central, onde podemos citar como exemplo: o uso das folhas da *P. viridis*, juntamente com o tronco ou cipó da *Banisteriopsis caapi* (Malpighiaceae), no preparo da bebida psicoativa Ayahuasca, utilizada nos rituais de religiões como o Santo Daime e União do Vegetal (Riba *et al*, 2004).

A *P. viridis* possui como composto majoritário a N,N-dimetiltriptamina (DMT) (1), o qual é considerado um potente agente alucinógeno. A DMT (1) está estruturalmente relacionada ao neurotransmissor serotonina e possui alta afinidade pelos receptores 5-HT_{2A} do sistema nervoso central, onde atua como agonista (Moura *et al*, 2010).

Por sua vez, a espécie *B. caapi* produz grandes quantidades de alcaloides β-carbolínicos, principalmente tetrahidroharmino (**2**) e harmano (**3**), e em menor quantidade harmalina (**4**), harmol (**5**) e harmalol (**6**). Estes alcaloides são potentes inibidores reversíveis da isoenzima monoamina oxidase (MAO) intestinal e hepática (McKenna *et al*, 1984) (Figura 2).

Do ponto de visto farmacológico a combinação dos alcaloides βcarbolínicos com a DMT(1) na bebida Ayahuasca é muito importante para a sua ação psicotrópica. A DMT (1) quando ingerida oralmente possui baixa psicoatividade, devido a sua metabolização pela MAO (Riba *et al*, 2012). Assim a presença de outros alcaloides, principalmente o harmano e a harmalina, previnem que ocorra a desaminação oxidativa da DTM (1), a qual produz o ácido indol-3-acético (7) (Figura 3), permitindo que esta atinja a circulação sistêmica e o sistema nervoso central de forma inalterada (Santillo *et al*, 2014).

Assim, o uso destas duas espécies no preparo da bebida, permite uma ação sinérgica desses alcaloides, os quais juntos provocam efeitos alucinógenos. (De Souza, 2011).



Figura 2 – Alcaloides identificados nas espécies *B. caapi* e *P. viridis*.

Os alcaloides triptamínicos são compostos que possuem sua origem no aminoácido L-triptofano (8), o qual através da ação da enzima triptofano descarboxilase forma a triptamina (9). Uma série de reações de metilação e hidroxilação da triptamina, levam a formação de compostos que desempenham importantes funções nas plantas e animais, tais como a serotonina (5-hidroxitriptamina) (10), o qual é um importante neurotransmissor, e a melatonina

(N-acetil-5-metoxitriptamina) (11), que possui ação hormonal (Dewick, 2009) (Figura 4).



Figura 3 – Desaminação oxidativa da DMT promovida pelas enzimas MAO e pelo aldeído desidrogenase.

Além disso, a metilação no grupo amina (NH₂) da serotonina (**10**), assim como a substituição na posição 5 do anel aromático formam derivados N,N-dimetiltriptamínicos com propriedades psicotrópicas, como é caso dos compostos 5-hidroxi-N,N-dimetiltriptamina (bufotenina) (**12**) e 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT) (**13**) (Barker *et al*, 2012).

Apesar dos alcaloides DMT (1), bufotenina (12) e 5-MeO-DMT (13) serem bem conhecidos na literatura, seus mecanismos de ação sobre Sistema Nervoso Central (SNC) ainda não são bem compreendidos. Destaca-se nos estudos a relação estrutural entre os derivados triptamínicos e o neurotransmissor serotonina (5-HT). Estes estudos demonstram que os alcaloides triptamínicos possuem atividade em vários receptores deste neurotransmissor, conhecidos como receptores 5-HT, atuando inclusive nos transportadores da serotonina (10), os quais estão envolvidos no processo de receptação da serotonina na fenda sináptica (Moreira, 2011).

Shen *et al* (2010) realizaram o estudo da farmacocinética e metabolismo da 5-MeO-DMT (**13**) *in vitro* e *in vivo*, avaliando sua afinidade pelos receptores 5-HT e comparando estes resultados com seu percursor, a bufotenina (**12**). Os pesquisadores observaram que ambos os alcaloides possuem alta afinidade pelos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A}. Neste estudo foi observado que a bufotenina possui uma afinidade 10 vezes maior pelo receptor 5-HT_{2A} que a 5-MeO-DMT.

Nos últimos anos os receptores 5-HT tem sido alvo de várias pesquisas, uma vez que muitos fármacos eficazes no tratamento contra depressão e ansiedade possuem ação sobre este neuromodulador, atuando tanto na forma de inibidores da receptação da serotonina, como agonistas ou antagonistas de seus receptores.



Figura 4 – Proposta de biossíntese para os alcaloides triptamínicos (Dewick, 2009).

Dentre várias classes de compostos que têm sido avaliados para a melhor compreensão do reconhecimento molecular pelos receptores 5-HT estão as indolalquilaminas, como a bufotenina (**12**) (Romeiro *et al*, 2003).

No gênero *Psychotria* é observada também a presença de alcaloides do tipo indol monoterpênicos, principalmente nas espécies neotropicais (Porto *et al*, 2009), do subgênero *Heteropsychotria*, os quais apresentam importantes atividades sobre o sistema nervoso central.

Os alcaloides indol monoterpênicos possuem sua origem biossintética na estrictosidina (**15**), a qual é considerada a precursora de cerca de 3000 alcaloides desta classe (Klein-Júnior *et al*, 2014). A estrictosidina (**15**) é formada pela condensação de uma molécula de triptamina (**9**) com outra de secologanina (**14**) através de uma reação do tipo Mannich (Figura 5) (Dewick, 2009).



Figura 5 – Prosposta de rota biosintética para a estrictosidina.

Apesar disso, variações nas rotas biossintéticas já foram relatadas na literatura, com a condensação de uma molécula de triptamina (9) com um percursor iridóide, como o derivado da 1-epi-loganina (16) ou geniposídeo (18), levando a formação dos alcaloides braquicerina (17) e psicolatina (19), respectivamente (Kerber *et al*, 2001, 2008) (Figura 6).

Por outro lado, as espécies de *Psychotria* posicionadas no subgênero *Psychotria*, de ocorrência pantropical, tem apresentado na composição química

de folhas, galhos e raízes alcaloides do tipo polindólicos, os quais são formados pela condensação de duas ou mais unidades de N-metiltriptamina, como por exemplo os alcaloides (+)-quimonantina (**20**) e (-)-calicantina (**21**) (Figura 7) (Klein-Júnior *et al*, 2014; Porto *et al*, 2009).



psicolatina (19)

Figura 6 – Biossíntese dos alcaloides braquicerina e psicolatina.



Figura 7 – Exemplos de alcaloides polindólicos.

O grupo de pesquisa em Produtos Naturais do IQ/UFG vem estudando espécies de *Psychotria* presentes no bioma Cerrado, principalmente do cerrado goiano. O estudo da espécie *P. prunifolia* levou ao isolamento da prunifoleina (**22**) e 14-oxoprunifoleina (**23**), os quais apresentaram inibição para colinesterases (AChE e BChE) e monoamina oxidase A (MAO-A), enzimas relacionadas as doenças degenerativas como mal de Parkinson e Alzheimer (Passos *et al*, 2013) (Figura 8).



Figura 8 – Exemplos de alcaloides isolados da *P. prunifolia*.

Neste contexto, entre outras espécies estudadas por outros grupos no país, destacam-se as espécies *P. umbellata* e *P. myriantha*, encontradas na região Sul do Brasil. No estudo da *P. umbellata* foi isolada o alcaloide indol monoterpênico psicolatina (**24**), o qual apresentou várias atividades farmacológicas relacionadas ao SNC, tais como ansiolítica, anticonvulsante, antidepressiva, amnésica e antipsicótica. Estas atividades estão relacionadas a modulação dos receptores serotosinérgicos 5-HT_{2A/C} e ao bloqueio de receptores NMDA (Both, 2005). Já na *P. myriantha*, foi isolado o ácido estrictosídinico (**25**), cujo estudo mostrou que este age sobre o sistema 5-HT de hipocampo de ratos promovendo uma diminuição nos níveis de serotonina, provavelmente devido a inibição da MAO-A (Farias *et al*, 2012) (Figura 9).

O potencial de ação dos alcaloides presentes no gênero *Psychotria* sobre o sistema nervoso central parece ser devido ao núcleo indólico, que inibe as MAO, colinesterases, bem como a interação com receptores serotosinérgicos, alvos de grande interesse no SNC para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento de distúrbios psicológicos. Essa ação é atribuída sobretudo a semelhanças estruturais com neurotransmissores do SNC, tais como serotonina e dopamina.



Figura 9 – Alcaloides isolados da *P. myriantha*.

A MAO desempenha um importante papel no metabolismo de monoaminas, tais como serotonina, histamina, dopamina, noradrenalina e adrenalina, através da reação de desaminação oxidativa. São conhecidas duas isoformas desta enzima, MAO-A e MAO-B, as quais possuem diferentes substratos e inibidores, podendo ser encontradas em vários tecidos humanos. (Saura *et al*, 1996; Shih *et al*, 1999). Além disso a função metabólica destas enzimas está relacionada à doenças neurodegenerativas, como mal de Parkison, mal de Alzheimer e depressão (Passos *et al*, 2013; Santillo *et al*, 2014).

Uma vez que vários sintomas dessas doenças estão relacionados ao baixo nível de neurotransmissores, tais como a dopamina, a inibição da MAO evita que estes sejam metabolizados, auxiliando no tratamento da doença (Santillo *et al*, 2014).

1.2 – A espécie Psychotria capitata Ruiz & Pav.

A espécie *Psychotria capitata* Ruiz & Pav. (Rubiaceae) consiste em um arbusto de 0,3 - 3,0 m de altura, que possui inflorescências de cor branca e frutos pretos, encontrada desde a região Centro-Oeste à Norte do Brasil (Delprete, 2010). Sua fase de floração ocorre entre os meses de setembro e janeiro (Consolaro, 2008).

Na literatura há relatos do uso do uso *P. capitata* na medicina popular por tribos da América do Sul. Segundo Schultes (1985) na Colômbia, a tribo dos Karapanás do Rio Apaporís, um largo rio da floresta Amazônica colombiana, já utilizou a decocção das folhas da *P. capitata*, servida quente para o tratamento de congestões em gripes.

No Suriname a tribo dos Saramaccan, uma das maiores e mais antigas tribos dos Marrons, utilizam a decocção das folhas, galhos e raízes da espécie *P. capitata*, conhecida pela tribo como Daanda uwii, para estimular a criança a começar a andar (Ruysschaert, 2009).

Recentemente, um estudo mostrou que os extratos da *P. capitata* apresentam atividades anti-inflamatória e antibacterial, e os mesmos extratos estão sendo investigados para o tratamento de turbeculose. Nesse estudo foi também detectado a presença de alcaloides 5,6-diidro- β -carbolínicos, através da análise por cromatografia líquida de alta eficiência do extrato etanólico bruto das folhas (Moraes *et al*, 2011).

Em outro estudo os extratos de *P. capitata* apresentou toxicidade à espécie de besouro *Sitophilus zeamais*, também conhecido como gorgulho-demilho, o qual é uma das principais pragas do milho. Este estudo mostrou que o extrato de *P. capitata* possui potencial para a sua utilização em esquemas integrado de controle de pragas (Tavares *et al*, 2013).

2. Objetivo

2.1 Objetivo geral

O principal objetivo deste trabalho foi contribuir para o conhecimento químico e biológico da espécie *Psychotria capitata* Ruiz & Pav. (Rubiaceae), presente no bioma Cerrado goiano.

2.2 Objetivo específico

- Isolamento e elucidação estrutural dos alcaloides presentes nas folhas desta espécie;
- Avaliação da atividade inibitória dos extratos e alcaloides isolados frente as isoenzimas MAO-A e MAO-B.

3. Parte experimental
3.1 Materiais e métodos

A análise cromatográfica em coluna (CC) foi realizada com sílica gel 60 da Merck PF 230-400 mesh e SEPHADEX LH-20, sendo que o diâmetro e altura das colunas variou conforme a quantidade de amostra a ser separada. As subfrações obtidas das colunas cromatográficas foram analisadas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), com o auxílio de placas de alumínio da Merck PF₂₅₄₊₃₆₆ ou vidro, preparadas com sílica gel para cromatografia em camada fina com UV₂₅₄ da Macherey-Nagel. As análises de Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) foram feitas utilizandose sílica gel 60 PF₂₅₄₊₃₆₆ CCP da Merck, preparadas em placas de vidro. As placas preparadas em laboratório possuíam dimensões de 11,0 cm x 6,5 cm (CCDA) e de 22,5 cm x 11,0 cm (CCDP).

Os solventes utilizados nas técnicas cromatográficas apresentavam grau P.A. ou foram previamente destilados. Na CCDA e CCDP foram utilizados os seguintes agentes reveladores:

- Luz ultravioleta (254 nm e 365 nm);
- Reagente de Draggendorff para identificação de alcaloides e outros compostos nitrogenados;
- Anisaldeído/H₂SO₄ para identificação de terpenoides, esteroides, açucares;
- CH₃OH/H₂SO₄ (1:1 v/v) revelador universal;

Os compostos isolados foram analisados por técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C uni- e bidimensionais, realizadas no espectrômetro Bruker Avance III (500,13 MHz para ¹H e 125,03 para ¹³C, com campo aplicado de 11,74 Tesla). Os solventes utilizados foram CDCl₃ e CD₃OD, e os deslocamentos químicos foram obtidos em ppm, utilizando-se como padrão de referência interna o TMS (δ = 0,0).

As análises por Espectrometria de Massas foram realizadas pelo prof. Dr. Boniek Vaz Gontijo do IQ/UFG, no espectrômetro de massas LTQ FT Ultra (Thermo Scientific, Bremen, Germany) no Centro de Pesquisas e Desenvolvimento da Petrobrás (CENPES). Os espectros de Ultravioleta foram adquiridos no espectrofotômetro Lambda 45 da PerkinElmer, e os de Infravermelho no espectrômetro PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR/FT-FIR.

Os ensaios de inibição com as enzimas acetilcolinesterase (AChE), butirilcolinesterase (BChE), monoamina oxidase A (MAO-A) e monoamina oxidase B (MAO-B), foram realizados sob a supervisão da profa. Dra. Amélia T. Henriques do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3.2 Estudo químico das folhas de *Psychotria capitata* (Rubiaceae)

3.2.1 Coleta do material vegetal

As partes aéreas da *P. capitata* (Rubiaceae) foram coletadas no bosque Saint-Hillaire da Universidade Federal de Goiás, em março de 2012 e em outubro de 2013, sob supervisão dos botânicos Dr. Piero Giuseppe Delprete e Dr. Hélder Nagai Consolaro, respectivamente. A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, Unidade de Conservação, PRPPG, situado no Campus II, Goiânia, Goiás, sob o número de registro 30.633.

3.2.2 Preparo e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas

As folhas de *P. capitata* coletadas em março de 2012 foram secas (167,6 g) à temperatura ambiente, moídas em moinho de facas e posteriormente submetidas à maceração, em etanol absoluto (500 mL), sob agitação por 24 horas. Após a evaporação do solvente em evaporador rotativo, obteve-se 12,4 g de extrato bruto etanólico. O mesmo foi submetido ao fracionamento ácido-base, para o isolamento de alcaloides (Figura 10). O extrato bruto etanólico foi solubilizado em uma solução de ácido acético 10% e deixado sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas e, em seguida foi filtrado a vácuo obtendo-se a solução aquosa ácida 1 (SAA 1). A SSA 1 foi extraída com 3 x 200 mL de CHCl₃, que após o processo de secagem com Na₂SO₄ anidro e evaporação do

solvente no rotaevaporador, forneceu 313,9 mg da fração clorofórmica ácida (FCA) e a solução aquosa ácida 2 (SSA 2).

A SAA 2, foi neutralizada com NH₄OH, pH 7,0, extraída com 3 x 200 mL de CHCl₃, e seca com Na₂SO₄ anidro. Após a evaporação do solvente, foram obtidos 88,5 mg da fração clorofórmico neutro (FCN) e a solução aquosa neutra 2 (SAN 2). Em seguida a SAN 2, foi basificada com NH₄OH, pH = 8,0, e extraída com 3 x 200 mL de CHCl₃. A secagem com Na₂SO₄ anidro e a evaporação do solvente, forneceu 94,3 mg da fração clorofórmica básica (FCB) e a solução aquosa básica 1 (SAB 1).

Por fim a SAB 1 foi extraída com 3 x 200 mL de AcOEt, e em seguida com 3 x 200 mL de n-BuOH. Os solventes orgânicos foram secos com Na₂SO₄ anidro, e evaporados, fornecendo 187,3 mg da fração acetato etílica básica (FAB) e 1,3932 g da fração n-BuOH básica (FBB). A Tabela 1 resume os extratos obtidos e seus rendimentos após o fracionamento ácido-base do extrato etanólico bruto, sendo o fluxograma representado na Figura 10.

Material	Sigla	Massa (g)	Rendimento (%)
Fração CHCl₃ Ácida	FCA	0,3139	2,53
Fração CHCl₃ Neutra	FCN	0,0885	0,71
Fração CHCl ₃ Básica	FCB	0,0943	0,76
Fração AcOEt Básica	FAB	0,1873	1,51
Fração n-BuOH Básica	FBB	1,3932	11,23
Total		2,0772	16,74
Fração Aquosa Básico 4	FAB	8,3948	67,7
Resíduos		1,93	15,56
Total		12,4	100

Tabela 1. Fracionamento ácido-base do extrato bruto das folhas de P. capitata.



Figura 10 - Fluxograma do fracionamento ácido-base.

3.2.3 Fração CHCI₃ Ácida (FCA)

A fração clorofórmica ácida (208,7 mg) foi submetido a coluna cromatográfica de sílica gel 60 (\emptyset = 2,0 cm e h = 15,0 cm), usando-se CHCl₃ e gradiente de CHCl₃/MeOH, sendo que as subfrações foram agrupadas de acordo com a similaridade do perfil cromatográfica em CCDA (Tabela 2).

Fração	Massa	Sistema eluente	Fração	Massa (mg)	Sistema
	(mg)				eluente
1-7	13,3	CHCl₃ (100 %)	76-77	5,1	CHCl ₃ /MeOH
					(96:4)
8-11	3,1	CHCl ₃ (100 %)	78-80	3,9	CHCl ₃ /MeOH
					(96:4)
12-15	0,4	CHCl₃ (100 %)	81-83	1,5	CHCl ₃ /MeOH
					(96:4)
16-19	2,3	CHCl ₃ (100 %)	84-87	5,5	CHCl ₃ /MeOH
					(94:6)
20-21	0,4	CHCl ₃ (100 %)	88-91	7,1	CHCl ₃ /MeOH
					(94:6)
22-36	10,1	CHCl ₃ /MeOH	92-100	25,7	CHCl ₃ /MeOH
		(99:1)			(94:6)
37-41	3,5	CHCl ₃ /MeOH	101-112	10,2	CHCl ₃ /MeOH
		(99:1)			(92:8)
42-46	4,4	CHCl ₃ /MeOH	113-126	5,6	CHCl ₃ /MeOH
		(99:1)			(90:10)
47-51	2,9	CHCl ₃ /MeOH	127-138	7,7	CHCl ₃ /MeOH
		(98:2)			(85:15)
52-58	5,3	CHCl ₃ /MeOH	139-152	7,4	CHCl ₃ /MeOH
		(98:2)			(80:20)
59-64	4,0	CHCl ₃ /MeOH	153-164	6,0	CHCl ₃ /MeOH
		(98:2)			(70:20)
65-69	2,5	CHCl ₃ /MeOH	165-176	5,9	CHCl ₃ /MeOH
		(98:2)			(60:40)
70-75	9,7	CHCl ₃ /MeOH	177	7,8	CHCl ₃ /MeOH
		(96:4)			(50:50)

Tabela 2. Subfrações reunidas da coluna cromatográfica do FCA.

Massa total das subfrações = 161,3 mg; Volume médio coletado = 10,0 mL

A subfração reunida 16-19, eluída em CHCl₃ (100%), resultou no isolamento do composto **I**.

3.2.4 Fração AcOEt Básica (EAB)

A fração AcOEt básica (187,3 mg) foi submetido a uma coluna cromatográfica de sílica gel 60 (\emptyset = 1,0 cm e h = 15,0 cm), usando-se CHCl₃ e gradiente de CHCl₃/MeOH e CHCl₃/MeOH/NH₄OH, coletando-se 107 subfrações, as quais foram reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em CCDA (Tabela 3).

Subfração	Massa	Sistema eluente	Subfração	Massa	Sistema
	(mg)			(mg)	Eluente
1-8	2,5	CHCI ₃	63-65	11,3	CHCl₃/MeOH/NH₄OH (85:15: 1 gota)
9-12	3,2	CHCl ₃ /MeOH (99:1)	66-70	3,6	CHCl₃/MeOH/NH₄OH (85:15: 1 gota)
13-26	2,7	CHCl ₃ /MeOH (98:2)	71-74	31,5	CHCl₃/MeOH/NH₄OH (80:18: 2)
27-30	10,1	CHCl ₃ /MeOH (97:3)	75-78	1,4	CHCl₃/MeOH/NH₄OH (80:18: 2)
31-33	7,3	CHCl ₃ /MeOH (95:5)	79-81	2,5	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH (70:28: 2)
34-38	15,4	CHCl ₃ /MeOH (95:5)	82-84	3,0	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH (70:28: 2)
39-43	6,5	CHCl₃/MeOH/ NH₄OH (95:5:1 gota)	85-86	1,4	CHCl₃/MeOH/NH₄OH (70:28: 2)
44-49	4,2	CHCl₃/MeOH /NH₄OH (93:7:1 gota)	87-95	3,8	CHCl₃/MeOH/NH₄OH (60:38: 2)
50-54	2,1	CHCl₃/MeOH/ NH₄OH (91:9: 1 gota)	96-101	7,1	CHCl ₃ /MeOH/NH₄OH (50:48: 2)
55-60	13,1	CHCl₃/MeOH/ NH₄OH (89:11: 1 gota)	102-107	6,0	CHCl ₃ /MeOH/NH₄OH (40:58: 2)
61-62	1,8	CHCl ₃ /MeOH/ NH ₄ OH (89:11: 1 gota)			

Tabela 3. Subfrações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FAB.

Massa total das subfrações = 140,5 mg; Volume médio coletado = 10,0 mL

A análise por CCDA da subfração 44-49, revelou a presença de dois compostos, os quais foram analisados por técnicas de RMN, resultando no isolamento de uma mistura dos compostos **IV** e **V**.

Da mesma forma a análise por CCDA e por técnicas espectroscópicas de RMN das subfrações 50-54 e 55-60, permitiu a identificação dos compostos II e III, respectivamente.

A subfração 71-74, eluída em CHCl₃/MeOH/NH₄OH (80:18:2), foi submetida a uma nova coluna cromatográfica de siliga gel 60 (\emptyset = 1,0 cm e h = 8,5 cm), usando-se CH₂Cl₂ e gradiente de CH₂Cl₂/MeOH e CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, coletando-se 49 subfrações (Tabela 4).

Tabela 4. Subfrações reunidas a partir da cromatografia em coluna da subfração 71-74.

Subfração	Massa	Sistema eluente	Subfração	Massa	Sistema eluente
	(mg)			(mg)	
1-3	6,4	CH ₂ Cl ₂	18-19	2,1	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH
					(70:28:2)
4-7	1,9	CH ₂ Cl ₂ /MeOH	20-27	1,5	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH
		(95:5)			(65:33:2)
8-12	2,6	CH ₂ Cl ₂ /MeOH	28-35	0,9	CH2Cl2/MeOH/NH4OH
		(90:10)			(50:48:2)
13-14	2,8	CH ₂ Cl ₂ /MeOH	36-43	1,5	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH
		(80:20)			(30:68:2)
15-17	5,0	CH ₂ Cl ₂ /MeOH	44-49	3,8	MeOH/NH4OH
		(75:25)			(98:2)

Massa total das frações = 28,5 mg

A subfração reunida 15-17, que mostrou-se pura na análise por CCDA, foi submetida a análise espectroscópica de RMN, sendo identificada como o composto III.

3.2.5 Fração n-BuOH Básica (FBB)

A fração n-BuOH básica (365,80 mg) foi submetida a uma coluna de Sephadex LH-20 (\emptyset = 3,0 cm e h = 30,0 cm), tendo como eluente CHCl₃ e gradiente de CHCl₃/MeOH. As 140 subfrações coletadas foram reunidas conforme o perfil cromatográfico em CCDA (Tabela 5).

Subfração	Massa (mg)	Sistema eluente	Subfração	Massa (mg)	Sistema
					eluente
0	6,0	CHCl₃ (100 %)	61-74	39,7	CHCl ₃ /MeOH
					(80:20)
1-8	3,1	CHCl ₃ /MeOH	75-76	6,7	CHCl ₃ /MeOH
		(98:2)			(70:30)
9-13	9,1	CHCl ₃ /MeOH	77-79	6,3	CHCl ₃ /MeOH
		(93:7)			(70:30)
14	1,8	CHCl ₃ /MeOH	80-85	16,2	CHCl ₃ /MeOH
		(93:7)			(70:30)
15-16	3,3	CHCl ₃ /MeOH	86-88	15,2	CHCl ₃ /MeOH
		(93:7)			(70:30)
17-20	7,6	CHCl ₃ /MeOH	89-90	11,9	CHCl ₃ /MeOH
		(93:7)			(70:30)
21-22	5,8	CHCl ₃ /MeOH	91	1,7	CHCl ₃ /MeOH
		(93:7)			(70:30)
23-27	15,8	CHCl ₃ /MeOH	92-109	49,1	CHCl ₃ /MeOH
		(93:7)			(65:35)
28-45	39,8	CHCl ₃ /MeOH	110-116	9,9	CHCl ₃ /MeOH
		(85:15)			(65:35)
46-48	7,1	CHCl ₃ /MeOH	117	2,1	CHCl ₃ /MeOH
		(80:20)			(55:45)
49-58	21,2	CHCl ₃ /MeOH	118-130	21,5	CHCl ₃ /MeOH
		(80:20)			(55:45)
59-60	3,8	CHCl ₃ /MeOH	131-140	6,0	MeOH
		(80:20)			(100 %)

Tabela 5. Subfrações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FBB.

Massa total das subfrações = 310,7 mg; Volume médio coletado = 10 mL

A subfração reunida 23-27, foi analisada por técnicas espectroscópicas de RMN, identificando este composto como o composto II.

As folhas de *P. capitata* coletadas em outubro de 2013 foram secas (46,3 g) a temperatura ambiente, moídas em moinho de facas e submetidas à maceração com etanol absoluto (500 mL), sob agitação por 24 horas.

A evaporação do solvente em rotaevaporador forneceu 6,05 g de extrato etanólico bruto, o qual foi solubilizado em uma solução de MeOH/H₂O (20 %) (300 mL). A solução hidrometanóica foi particionada com os solventes hexano (500 ml) e acetado de etila (250 mL) (Tabela 6; Figura 15).

Tabela 6. Partição do extrato bruto etanólico obtido das folhas de P. capitata.

Material	Massa (g)	Rendimento (%)
Fração hexânica	2,4130	40,02
Fração AcOEt	0,5277	8,75
Fração MeOH/H₂O (20%)	3,0893	51,23
Total	6,03	100



Figura 11 - Fluxograma da partição do extrato bruto etanólico.

3.2.6 Fração MeOH/H₂O (20 %) (FHM)

A fração hidrometanólica (755,0 mg) foi submetida a uma cromatografia em coluna de sílica gel 60 (\emptyset = 2,0 cm e h = 25 cm), tendo como eluente um gradiente de CHCl₃, CHCl₃/MeOH e CHCl₃/MeOH /NH₄OH, em um total de 178 subfrações coletadas. Estas subfrações foram agrupadas de acordo com seu perfil cromatográfica em CCDA (Tabela 7).

Subfração	Massa	Sistema eluente	Subfração	Massa	Sistema
	(mg)			(mg)	Eluente
1-2	3,1	CHCl₃ (100 %)	47-51	47,5	CHCl ₃ /MeOH
					(80:20)
3-8	7,2	CHCl ₃ /MeOH	52-61	99,5	CHCl ₃ /MeOH
		(95:5)			(75:25)
9-11	10,1	CHCl ₃ /MeOH	62-74	59,6	CHCl ₃ /MeOH
		(90:10)			(75:25)
12-14	5,6	CHCl ₃ /MeOH	75-87	37,8	CHCl ₃ /MeOH
		(90:10)			(75:25)
15-18	5,1	CHCl ₃ /MeOH	88-97	33,1	CHCl ₃ /MeOH
		(90:10)			(70:30)
19-22	2,3	CHCl ₃ /MeOH	98-99	5,2	CHCl ₃ /MeOH
		(90:10)			(70:30)
23-25	3,4	CHCl ₃ /MeOH	99-111	27,7	CHCl ₃ /MeOH
		(85:15)			(70:30)
26-31	9,1	CHCl ₃ /MeOH	112-123	12,4	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH
		(85:15)			(70:29:1)
32	1,5	CHCl ₃ /MeOH	124-134	15,8	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH
		(80:20)			(65:33:2)
33-39	21,4	CHCl ₃ /MeOH	135-148	55,8	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH
		(80:20)			(60:37:3)
40-44	26,3	CHCl ₃ /MeOH	149-171	57,9	CHCl ₃ /MeOH/NH ₄ OH
		(80:20)			(55:42:3)
45-46	17,5	CHCl ₃ /MeOH	172-199	36,1	MeOH (100 %)
		(80:20)			

Tabela 7. Subfrações reunidas a partir da coluna cromatográfica do FHM.

Massa total das subfrações = 610,6 mg; Volume médio coletado = 10,0 mL

A subfração reunida 52-61 (99,5 mg) foi submetida a uma nova coluna cromatográfica de sílica gel 60 (\emptyset = 1,0 cm e h = 15,0 cm), usando-se um gradiente de CH₂Cl₂, MeOH e NH₄OH, coletando-se 47 subfrações e reunidas de acordo com a similaridade cromatográfica em CCDA (tabela 8).

Subfração	Massa (mg)	Sistema Eluente	Subfração	Massa (mg)	Sistema Eluente
1-3	0,5	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (98:2)	25-26	10,4	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (65:33:2)
4-9	1,5	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (90:10)	27-29	7,3	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (65:33:2)
10-12	6,3	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (88:10:2)	30-32	6,1	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (60:38:2)
13-16	0,9	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (85:13:2)	33-35	5,3	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (60:38:2)
17-19	9,1	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (75:24:1)	36-38	4,7	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (55:43:2)
20-24	6,4	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (70:28:2)	39-47	15,8	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/NH ₄ OH (50:48:2)

Tabela 8. Subfrações reunidas a partir da cromatografia em coluna da subfração 52-61.

Massa total das subfrações = 74,3 mg

Na subfração reunida 10-12, a qual apresentou-se pura na análise por CCDA, foi analisada por técnicas espectroscópicas de RMN, onde foi identificado novamente o composto **II**.

Duas alíquotas de 25 mg cada da subfração 62-74 foram submetidas a duas CCDP, usando-se como fase móvel CHCl₃, MeOH e NH₄OH na proporção de 75:23:2, obtendo-se 7 subfrações (tabelas 9 e 10).

Subfração	Massa (mg)
1	4,0
2	5,1
3	2,7
4	1,6
5	1,0
6	2,5
7	0,5

Tabela 9. Subfrações obtidas na CCDP da fração 62-74.

Massa total das subfrações = 17,4 mg

Tabela 10. Subfra	ções obtidas da	CCDP da fração 62-74.
-------------------	-----------------	-----------------------

Subfração	Massa (mg)
1	2,7
2	8,0
3	2,1
4	1,0
5	3,5
6	3,0
7	0,4

Massa total das subfrações = 20,7 mg

As subfrações 6 obtidas nas duas CCDP foram reunidas por apresentarem o mesmo perfil cromatográfico em CCDA e analisada por técnicas espectroscópicas e identificando-a como o composto **II**.

A subfração reunida 75-87 (34,0 mg) também foi submetida a uma CCDP, usando-se como fase móvel CHCI₃, MeOH e NH₄OH na proporção de 80:18:2, levando a obtenção de 4 subfrações (Tabela 11).

A subfração 3 foi analisada por CCDA, apresentando-se pura, e em seguida analisada por técnicas espectroscópicas. Baseado nisso este composto foi identificado como o composto **II**.

A subfração reunida 88-97 foi submetida a uma CCDP, usando-se a mistura CHCl₃/MeOH/NH₄OH (80:18:2) como fase móvel, onde foram obtidas 8 subfrações (tabela 12).

Subfração	Massa (mg)
1	15,3
2	8,2
3	4,4
	0,3
4	

Tabela 11. Subfrações obtidas na CCDP da fração 75-87.

Massa total das subfrações = 28,2 mg

Tabela 12. Subfrações obtidas da CCDP da fração 88-97.

Subfração	Massa (mg)
1	4,0
2	2,1
3	1,2
4	2,3
5	5,5
6	0,5
7	1,7
8	3,5

Massa total das subfrações = 20,8 mg

A subfração 5 mostrou-se pura na análise por CCDA, e foi analisada por técnicas espectroscópicas, identificando-se este composto como o composto **II**.

4. Resultados e discussão

4.1 Compostos isolados de Psychotria capitata

Neste trabalho foi realizado o estudo fitoquímico dos extratos das folhas da espécie de *P. capitata*, visando o isolamento e identificação principalmente dos alcaloides. O fracionamento ácido-base do material vegetal da primeira coleta, levou à obtenção das frações CHCl₃ ácida, CHCl₃ neutra, CHCl₃ básica, AcOEt básica e n-BuOH básica. O fracionamento cromatográfico da fração CHCl₃ ácida permitiu o isolamento da cumarina iso-escopolatina (I), não sendo possível o isolamento de nenhum outro composto nesta fração. Por outro lado, a cromatografia em coluna da fração AcOEt básica levou ao isolamento dos alcaloides bufotenina (II) e N-óxido de bufotenina (III) mesmos compostos presentes nas frações CHCl₃ neutra e CHCl₃ básica, além de uma mistura do 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e do composto (V), o qual parece ser um derivado da N-metil-6-hidroxi-3,4-diidro-β-carbolínico. A fração n-BuOH básica foi fracionada utilizando-se Sephadex LH-20 levando novamente ao isolamento do alcaloide bufotenina (II).

O material vegetal obtido na segunda coleta foi, solubilizado em uma solução de MeOH/H₂O (20 %), e em seguida foi feita a partição com os solventes hexano e acetato de etila, onde foram removidos os compostos de baixa polaridade. Ao final desse procedimento foi obtido a fração MeOH/H₂O (20 %), cuja análise por CCDA mostrou a presença de compostos com absorção em λ = 254 nm. O fracionamento desta fração por cromatografia em coluna e a purificação das subfrações obtidas por coluna cromatográfica e CCDP permitiu o reisolamento do alcaloide bufotenina (**II**). A tabela 16 resume as frações e os compostos isolados no estudo de *P. capitata*.

A determinação estrutural dos compostos isolados foi feita com base na análise dos dados espectroscópicos de Ressonância Magnética Nuclear uni- e bidimensionais, Infravermelho e Espectrometria de Massas (Figura 12).

			Teor do composto na
Fração	Composto	Massa (mg)	fração (%)
CHCl₃ Ácida	Iso-escopolatina (I)	2,3	1,10
	Bufotenina (II)	2,4	1,30
	N-óxido de	5,0	2,67
AcOEt Básica	bufotenina (III)		
	2-metil-6-hidroxi-		2,24
	1,2,3,4-tetraidro-β-		
	carbolínico (IV) e	4,2	
	7-carboxil-2-metil-		
	3,4-diidro-β-		
	carbolinium (V)		
n-BuOH Básica	Bufotenina (I)	15,8	4,32
MeOH/H ₂ O (20 %)	Bufotenina (I)	26,7	3,53

Tabela 13. Compostos isolados de *P. capitata*.



Figura 12 – Estrutura química dos compostos isolados de *P. capitata*. (I) isoescopoletina; (II) bufotenina; (III) N-óxido de bufotenina; (IV) 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico; (V) 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolinium.

4.2 Ensaios de inibição enzimática de monoamina oxidases

As frações CHCl₃ básica, AcOEt básica e n-BuOH básica obtidas no fracionamento ácido-base e MeOH/H₂O (20%), proveniente da partição do extrato etanólico bruto das folhas, foram submetidos a uma análise preliminar de ação inibitória das isoenzimas MAO-A e MAO-B, através do método fluorimétrico usando-se a kinuramina como substrato, segundo a metodologia descrita por Passos *et al* (2013) (tabela 14). Os ensaios preliminares demonstraram que as frações possuem atividade inibitória seletiva para a MAO-A, na concentração mínima de 10 µg, não apresentando inibição para MAO-B.

A fração CHCl₃ básica apresentou-se como a mais ativa, com taxas de inibição de 89% e 98% nas concentrações de 10 μ g/mL e 100 μ g/mL, respectivamente. Para a fração AcOEt básica as taxas de inibição foram de 60% e 69% nas concentrações de 10 μ g/mL e 100 μ g/mL, respectivamente. A fração MeOH/H₂O (20%), mostrou tendência semelhante à anterior, apresentando inibição de 73% na concentração de 10 μ g/mL e 87% na concentração de 100 μ g/mL.

A fração n-BuOH mostrou inibição a MAO-A, com taxas de inibição de 62% e 89% nas concentrações de 10 μg/mL e 100 μg/mL, respectivamente, enquanto que a fração AcOEt, obtido na partição, apresentou taxas de inibição de 62% e 92%, na concentração de 10 μg/mL e 100 μg/mL.

Além disso, foram realizados os ensaios de inibição de monoamina oxidases e também colinesterases, com a bufotenina (**II**), e de monoamina oxidases com o N-óxido de bufotenina (**III**). A bufotenina (**II**) apresentou inibição seletiva para a MAO-A com um valor de IC₅₀ 86 μ M, não apresentando inibição para a MAO-B (Klein *et al*, 2014). Já o N-óxido de bufotenina (**III**) apresentou inibição das MAO-A e MAO-B, em concentrações maiores que 100 μ M, não possuindo assim inibição para estas isoenzimas. A clorgilina (IC₅₀ = 0,004 μ M) foi utilizada como controle positivo neste ensaio por tratar-se de um conhecido inibidor da MAO-A utilizado clinicamente no tratamento de depressão. O ensaio de inibição com os compostos isolados permite dizer que a bufotenina (**II**)

entanto devido ao seu alto valor de IC₅₀, a atividade de inibição pode estar relacionada a presença de outros compostos.

Origem do	Fração	Concentração	MAO – A	MAO – B	
extrato		(µg/mL)	(% de inibição)	(% de inibição)	
	CHCl ₃ básico	100	98	N. I.	
		10	89	N.I.	
Ácido-base	AcOEt básico	100	69	N.I.	
		10	60	N.I.	
	n-BuOH	100	89	N.I.	
	básico	10	62	N.I.	
	AcOEt	100	92	N.I.	
Partição		10	62	N.I.	
	MeOH/H ₂ O	100	87	N.I	
	(20%)	10	73	N.I.	

Tabela 14. Resultados dos ensaios de inibição de monoamina oxidases com as frações obtidas no fracionamento ácido-base e na partição.

N.I.: não houve inibição.

Tabela 15. Resultados dos ensaios de inibição de colinesterases e monoamina oxidases para a bufotenina (II) (Klein-Júnior *et al*, 2014).

	Concentração (µg/mL)	IC ₅₀ μΜ			
		AChE	BChE	MAO-A	MAO-B
Bufotenina	100	N.I.	N.I.	86	N.I.
Clorgilina	100	-	-	0,004	11

N.I.: Não houve inibição (IC₅₀ > 100 µM).

4.3 Elucidação estrutural dos compostos isolados

4.3.1 Composto I

O composto I foi isolado como um sólido amarelo da fração CHCl₃ ácida, apresentando coloração azul clara com absorção no espectro de UV em 285 nm e 342 nm (Espectro 1; pág. 56). O espectro de infravermelho apresentou bandas da deformação axial da ligação de O-H (3431 cm⁻¹) em ligação de hidrogênio intermolecular, do estiramento da ligação C-H de alcano (2925 cm⁻¹), da ligação C=C de anel aromático (1612; 1461 cm⁻¹), da C=O (1709 cm⁻¹) e da ligação C-O (1290 cm⁻¹) (Espectro 2; pág. 57).

A análise do espectro de ¹H RMN mostrou sinais para hidrogênios olefínicos em δ 7,87 (1H, *d*, H-4) e δ 6,21 (1H, *d*, H-3), ambos com constante de acoplamento *J* = 9,3 Hz, indicando um acoplamento vicinal de configuração *cis*.

Além disso, foram observados sinais para dois hidrogênios aromáticos em δ 7,12 (1H, s, H-5) e δ 6,78 (1H, s, H-8) (Espectro 4; pág. 59).



Figura 13 - Espectro de RMN de ¹H (CD₃OD, 500 MHz) do composto I.

Os dados espectroscópicos de ¹³C foram obtidos a partir do mapa de correlação de HSQC (Espectro 5; pág. 60), onde é possível observar que os

hidrogênios em δ 7,12 (1H, s, H-5) e δ 6,78 (1H, s, H-8) estão correlacionados com os sinais dos carbonos em δ 108,8 (C-5) e δ 102,7 (C-8) e o simpleto em δ 3,91 (H-9) com carbono em δ 55,5 (C-9). Os sinais dos hidrogênios olefínicos em δ 6,21 (H-3) e δ 7,87 (H-4) apresentam correlação com carbonos em δ 111,6 (C-3) e δ 144,5 (C-4).

No mapa de correlação no espectro HMBC (Espectro 6; pág. 61), observase que os sinais dos hidrogênios H-3 e H-4 apresentam correlações de J^2 e J^3 , respectivamente com o carbono quaternário em δ 162,8 (C-2), o que pode indicar a presença de um grupamento α carbonílico insaturado.

O mesmo mapa de correlação mostra também que os hidrogênios metílicos em δ 3,91 (H-9) apresentam-se correlacionados ao sinal do carbono em δ 145,6 (C-6), indicando a presença de um grupo metoxila ligado ao anel aromático. Além disso, correlações dos hidrogênios H-3 e H-8, com o carbono quaternário em δ 111,2 (C-4a), e dos hidrogênios em δ 7,87 (H-4) e δ 7,12 (H-5) com o carbono em δ 102,7 (C-8a) podem ser observados no mapa de correlação.

No mapa de correlação de NOESY 2D (Espectro 8; pág. 63) foram observadas as correlações do hidrogênio H-8 em δ 6,78 (s, 1H) com os hidrogênios do grupo metoxila em δ 3,91 (s, 1H), confirmando que este grupo encontra-se ligado ao anel aromático através do carbono C-7.

O conjunto dos dados espectroscópicos e comparação com a literatura caracterizam a estrutura do composto I como relativa a cumarina 6,7dioxigenada iso-escopoletina. Este composto já foi isolado em espécies, como por exemplo, *Psychotria hoffmansegiana* (Naves, 2014), e *Angelica purpuraefolia* (Min, 2006).

35



Figura 14 - Estrutura química da iso-escopolatina e principais correlações no HMBC.

Tabela 16. Dados de RMN de ¹H, ¹³C e HMBC do composto I (CD₃OH, 500 MHz) e comparação com a literatura.

				Iso-escopoletina*	
		Composto I			(Min, 2006)
N°	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)	HMBC	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)
2	162,8	-	-	161,4	
3	111,6	6,21 (1H, d, <i>J</i> = 9,3)	C-2/C-3/	111,5	6,27 (d, J = 9,6)
4				4 40 7	7 50 (4 4 0 0)
4	144,5	7,87 (1H, d, $J = 9,3$)	C-2/C-5/	149,7	7,59 (d, J = 9,6)
			C-8ª		
4a	111,2	-	-	113,5	
5	108,8	7,12 (1H, s)	C-4/C-8a	107,5	6,92 (1H, s)
6	145,6	-	-	143,2	
7	150,4	-	-	150,3	
8	102,7	6,78 (1H, s)	C-4a/C-6/ C-7	103,2	6,85 (1H, s)
8a	150,3	-	-	144,0	
9	55,5	3,91 (3H, s)	C-6	56,4	3,96 (3H, s)

*CDCl₃ e 400 MHz para ¹H.

4.3.2 Composto II

O composto **II** foi obtido na forma de um sólido amorfo marrom, isolado nas frações AcOEt Básica, n-BuOH Básica e MeOH/H₂O (20 %). O composto apresentou coloração escura sob luz ultravioleta (λ = 254 nm) e reação positiva frente ao reagente de Dragendorff. O espectro de UV apresentou absorções em 275 nm e 304 nm (Espectro 9; pág. 66) e a análise do espectro de infravermelho (Espectro 10; pág. 66) mostraram bandas de deformação axial da ligação de O-H (3999 cm⁻¹) em ligação de hidrogênio intermolecular, do estiramento da ligação C-H de alcanos (2924 cm⁻¹) e da ligação C-O (1128 cm⁻¹). Além disso, há também bandas de absorção das ligações C=C de anel aromático (1630; 1465 cm⁻¹) e C-N de aminas (1053 cm⁻¹).

O EMAR (Espectro 11; pág. 66) (mostra um íon protonado de m/z = 205,13342, correspondendo a fórmula molecular $C_{12}H_{17}N_2O$ (massa calculada = 205,13421; erro relativo de 3,9 ppm).

Os dados espectroscópicos de RMN ¹³C (Espectro 12; pág. 67) da fração AcOEt, onde o composto II é majoritário, permitiram a atribuição dos sinais de carbonos deste composto.



Figura 15 – Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD, 125,03 MHz) da fração AcOEt, com os dados espectroscópicos de ¹³C do composto **II**.

A análise dos espectros de RMN ¹³C (CDCl₃, 500 MHz), HSQC e HMBC, permitiram a identificação de doze carbonos, os quais foram atribuídos a oito carbonos com hibridização sp², incluindo quatro carbonos quaternários com sinais em δ 110,5 (C-2), δ 127,6 (C-3), δ 149,9 (C-5) e δ 131,5 (C-8), quatro carbonos olefínicos com sinais em δ 122,1 (C-1), δ 102,5 (C-4), δ 111,4 (C-6) e δ 111,1 (C-7), dois carbonos metilênicos em δ 23,1 (C-9) e δ 59,9 (C-10), e dois carbonos metílicos em δ 44,0 (C-11).

Na região dos hidrogênios aromáticos no espectro de RMN ¹H (Espectro 13; pág. 68), foram observados sinais característicos de um anel indólico trissubstituído, em δ 7,07 (1H, *dd*, *J* = 8,6 e 0,5 Hz, H-7), δ 6,81 (1H, *dd*, *J* = 2,3 e 0,5 Hz, H-4), δ 6,56 (1H, *dd*, *J* = 8,6 e 2,3, H-6) e δ 6,90 (1H, s, H-1). Os valores das constantes de acoplamento (*J*) dos hidrogênios aromáticos mostram um acoplamento do tipo *orto* entre os hidrogênios H-6 e H-7 (Tabela 17), e outro do tipo *meta* entre os hidrogênios H-4 e H-6 (Tabela 17). A análise do espectro de RMN ¹H ainda mostra sinais de hidrogênios metilênicos em δ 2,80-2,77 (2H, *m*, H-9) e δ 2,60-2,57 (2H, *m*, H-10), além de um simpleto em δ 2,28 (1H, *s*, H-11), atribuído a seis hidrogênios metílicos, caracterizando um grupo alquilamina (Espectro 15; pág. 70).



Figura 16 – Espectro de RMN de ¹H (CD₃OH, 500 MHz) do composto II.

A análise do mapa de correlação de HSQC (Espectro 16; pág. 71) mostrou as correlações dos hidrogênios em δ 7,05 (H-7), δ 6,81 (H-4), δ 6,56 (H-6) e δ 6,90 (H-1), com os carbonos em δ 111,1 (C-7), δ 102,5 (C-4), δ 111,4 (C-6) e δ 122,1 (C-1). A comparação destes dados com a literatura (Bretemeier & Volter, 1990; Morales-Ríos *et al*, 1987), sugeriu a presença de um anel indólico substituído característico de alcaloide triptamínico.

A análise do mapa de correlação homonuclear ¹H-¹H COSY (Espectro 18; pág. 73) apresenta as correlações dos hidrogênios em δ 6,56 (H-6) e δ 7,05 (H-7), confirmando o acoplamento do tipo *orto* com J = 8,6 Hz. Além disso observam-se as correlações homonucleares entre os hidrogênios metilênicos em 2,80-2,77 (H-9) e δ 2,60-2,57 (H-10).

As multiplicidades apresentadas no espectro de RMN ¹H para os hidrogênios aromáticos e a observação no mapa de correlação de HMBC (Espectro 17; pág. 72) que as correlações dos hidrogênios H-4, H-6 e H-7 com um carbono em δ 149,9 (C-5), indicam que substituinte no anel aromático é um grupo hidroxila.

Observa-se também as correlações dos hidrogênios metilênicos em δ 2,80-2,77 e δ 2,60-2,57 com o carbono em δ 44,0 (C-11) e com carbono quaternário em δ 110,5 (C-2), o que indica que o grupamento alquilamina ligase ao anel indólico através deste carbono.

Os dados obtidos para o composto **II** foram comparados com a literatura (Wang & Chen, 2007), levando a identificação deste mesmo como a 5-hidroxi-N,N-dimetiltriptamina, também conhecida como bufotenina (**II**). Este composto já foi isolado nas folhas das espécies *Brosimum acutifolium* (Valadeaua *et al*, 2010), e nas sementes de *Anadenanthera sp* (Ramos, 2008), *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera macrocarpa* (Fish *et al*, 1955).



Figura 17 - Estrutura química da bufotenina (II) e as correlações principais observadas no HMBC.

Tabela 17. Dados de RMN de ¹H, ¹³C, COSY e HMBC (CD₃OH, 500 MHz) do composto **II** e comparação com a literatura.

Composto II						Bufotenina * (Wang e Chen, 2007)	
N°	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)	COSY	COSY HMBC		δ H (<i>J</i> Hz)	
1	122,1	6,90 (1H, <i>s</i>)	-	C-3/C-7/C-8/C-9	121,9	6,90 (1H, <i>s</i>)	
2	110,5	-	-	-	110,6	-	
3	127,6	-	-	-	127,3	-	
4	102,5	6,81 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2,3 e 0,5)	-	C-5/C-7/C-8	101,4	6,82 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	
5	149,9	-	-	-	149,1	-	
6	111,4	6,56 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,6 e 2,3)	H-7	C-4/C-5/C-8	110,7	6,58 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,6 e 2,3)	
7	111,1	7,07 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,6 e 0,5)	H-6	-	110,3	7,07 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,6)	
8	131,5	-	-	-	131,1	-	
9	23,1	2,80-277 (2H, <i>m</i>)	H-10	C-1/C-2/C-3/C- 10	22,2	-	
10	59,9	2,60-2,57 (2H, <i>m</i>)	H-9	C-2/C-10/C-11	60,6	-	
11	44,0	2,28 (6H, s)	-	C-10	43,2	2,27 (6H, s)	

* CDCl₃, 400 MHz para ¹H e 100,6 MHz para ¹³C.

4.3.3 Composto III

O composto **III** foi isolado da fração AcOEt básica, como um sólido de cor marrom apresentando coloração escura sob luz UV (λ = 254 nm), e reação positiva ao reagente de Dragendorff. O espectro de UV apresentou absorções em 276 nm e 302 nm (Espectro 19; pág. 74) e no espectro de infravermelho foram observadas bandas típicas da deformação axial da ligação de O-H (3407 cm⁻¹) em ligação de hidrogênio intermolecular, do estiramento da ligação de C-H alifático (2920 cm⁻¹) e da ligação C-O (1067 cm⁻¹) (Espectro 20; pág. 75).

O Espectro de Massas de Alta Resolução (EMAR) (Espectro 21; pág. 76) do composto **III** apresentou o sinal do íon protonado m/z = 221,12840, consistente com a formula molecular [C₁₂H₁₇N₂O₂] (massa calculada = 221,1286 - erro relativo da análise foi de 0,9 ppm). Em relação a bufotenina, há uma diferença de 16 unidades (m/z = 205,13342), sugerindo a presença de um átomo de oxigênio a mais na estrutura do composto **III** quando comparado ao composto **II**.

A análise do espectro de RMN de ¹H (Espectro 22; pág. 77) mostra que o composto **III** apresenta sinais semelhantes aos do composto **II**, com os hidrogênios aromáticos, em δ 7,17 (1H, *dd*, *J* = 8,7 Hz e 0,5 Hz, H-7), δ 7,08 (1H, *s*, H-1), δ 6,96 (1H, *dd*, *J* = 2,3 Hz e 0,5 Hz, H-4) e δ 6,67 (1H, *ddd*, *J* = 8,7 Hz e 2,3 Hz) os quais caracterizam um anel indólico trissubstituído.

De forma semelhante à bufotenina (**II**), o composto apresenta um grupo alquilamina com sinais de hidrogênios metilênicos em δ 3,25-3,22 (H-9) e δ 3,58-3,55 (H-10), e um singleto em δ 3,26 (s, 6H) com integral para seis, atribuído a duas metilas (Espectro 23; pág. 78).

A análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC juntamente com o espectro de RMN H¹, permitiu a identificação de doze carbonos nesta estrutura.

A análise conjunta do mapa de correlação de HSQC (Espectro 25; pág. 80) com o espectro de RMN ¹H mostrou diferenças nos deslocamentos químicos de carbono e hidrogênio para o grupo alquilamina, em relação aos do composto **II** (bufotenina), sugerindo a presença de um grupo ligado ao nitrogênio. A tabela 18 resume a diferença dos valores de δ_H e δ_c entre o grupo alquilamina da bufotenina **II** e do composto **III**.

Tabela 18. Comparação dos dados de δ_H (ppm) e δ_C (ppm) da cadeia lateral dos compostos II e III.



Figura 18 – Espectro de RMN de ¹H (CD₃OD, 500 MHz) do composto III.

No mapa de correlação de HMBC (Espectro 26; pág. 81) foram observadas correlações dos hidrogênios aromáticos em δ 6,96 (H-4), δ 6,67 (H-6) e δ 7,17 (H-7) com o carbono quaternário em δ 149,8 (C-5), característico de um carbono ligado a um grupo OH, assim como observado no composto II.

As correlações observadas dos hidrogênios metilênicos δ 3,25-3,22 (H-9) e δ 3,58-3,55 (H-10) com o carbono C-2 (δ 108,2) indicam que o grupamento alquilamina se liga ao anel indólico através deste carbono.

O EMAR e a comparação destes dados com a literatura (Qu *et al*, 2011) permitiu identificar este composto como o N-óxido-5-hidroxi-N,Ndimetiltriptamina, conhecido como N-óxido de bufotenina, que já foi isolado nas raízes da espécie *Evodia fargesii* (Rutaceae) (Qu *et al*, 2006) e nas sementes da *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera macrocarpa* (Fish et al, 1955).



Figura 19. Estrutura química do N-óxido-5-hidroxi-N-N-dimetiltriptamina e principais correlações no HMBC.

Tabela 19. Dados de RMN de ¹H, ¹³C e HMBC (CD₃OH, 500 MHz) do composto **III** e comparação com a literatura.

N-óxido de bufote					
		(Qu	u <i>et al</i> , 2011)		
N°	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)	HMBC	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)
1	122,9	7,08 (1H, s)	C-2/C-3/C-8	127,3	7,11 (1H, <i>s</i>)
2	108,2	-	-	114,4	-
3	127,2	-	-	129,7	-
4	101,1	6,96 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2,3 e	C-2/C-5/C-8	105,0	6,93 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =
		0,5)			2,4)
5	149,8		-	151,4	-
6	111,3	6,67 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,7 e	C-4/C-5/C-8	111,3	6,68 (1H, <i>dd</i> ,
		2,3)			<i>J</i> = 8,5 e 2,4)
7	110,8	7,17 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,7 e	C-4/C-3/C-5	115,4	7,18 (1H, <i>d</i> ,
		0,5)			<i>J</i> = 8,5)
8	131,8	-	-	134,0	-
9	19,3	3,25-3,22 (2H, <i>m</i>)	C-2/C-3	21,6	3,20 (2H, <i>m</i>)
10	69,6	3,58-3,55 (2H, <i>m</i>)	C-2/C-9	72,5	3,53 (2H, <i>m</i>)
11	56,4	3,26 (6H, <i>s</i>)	C-2/C-3	59,8	3,26 (6H, <i>s</i>)

* D₂O, 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C.

4.3.4 Compostos IV e V

Os compostos IV e V foram obtidos em mistura a partir da fração AcOEt básica, que por sua vez foi obtido do ácido-base das folhas. A análise por infravermelho apresentou bandas de absorção da ligação de hidrogênio de OH (3432 cm⁻¹), da ligação C-H de alcanos (2975 cm⁻¹), de C=C de aromático (1469 cm⁻¹) e C=N (1636 cm⁻¹) (Espectro 27; pág. 82).

A análise do espectro de RMN H¹ (Espectro 28; pág. 83) da amostra mostra que as integrais relativas dos dois compostos estão na proporção de 2:1, com sinais de maior intensidade para o composto **V**.



Figura 20 – Espectro de RMN de ¹H da mistura dos compostos IV e V.

Os sinais atribuídos ao composto **IV** no espectro de RMN H¹ (Espectro 28; pág. 83) em δ 7,00 (1H, *dd*, *J* = 8,5 e 0,6 Hz, H-8), δ 6,68 (1H, *dd*, *J* = 2,3 e 0,6 Hz, H-5) e δ 6,52 (1H, *dd*, *J* = 8,5 e 2,3 Hz, H-7) são característicos de um anel aromático trissubstituído. Além dos sinais acima, os sinais de hidrogênios metilênicos em δ 2,86-2,83 (H-3) e δ 2,73-2,69 (H-4) (figura 19), e de um simpleto em δ 3,66 (s, 2H) sugerem a presença de um núcleo carbolínico na estrutura.

Um simpleto em δ 2,50 é característico da presença de um grupo metila ligado ao nitrogênio.

Os dados de ¹³C foram obtidos pelos mapas de correlação de HSQC e HMBC (tabela 20). No mapa de correlação de HMBC (Espectro 34; pág. 89) foram observadas as correlações dos hidrogênios metilênicos H-3 com os carbonos em δ 20,3 (C-4), δ 105,3 (C-4a), δ 52,2 (C-1), e também as correlações dos hidrogênios metílênicos (H-9) com o carbono em δ 52,6 (C-3).

A multiplicidade dos sinais dos hidrogênios aromáticos H-5 (*dd*, J = 2,3 e 0,6 Hz), H-7 (*dd*, J = 8,5 e 2,3 Hz) e H-8 (*dd*, J = 8,5 e 0,6 Hz), indicaram uma substituição *orto* no anel aromático. O mapa de correlação de HMBC mostrou correlação do hidrogênio H-7 com o carbono quaternário em δ 149,9 (C-6), indicando a presença de um grupo hidroxila ligada a este carbono. A análise do conjunto de dados, mais a correlação entre o grupamento metila e os hidrogênios H-3 confirmaram a estrutura do composto **IV** como sendo do 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolínico (Wen *et al*, 2006; tabela 20) já isolado das espécies *Evodia fargesii* (Rutaceae) (Wen *et al*, 2006) e *Cimicifuga racemosa L.* (Ranunculaceae) (Nikolic *et al*, 2012).



Figura 21 - Estrutura da 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV).

Tabela 20. Dados de RMN de ¹H, ¹³C e HMBC (CD₃OH, 500 MHz) do composto **IV** e comparação com a literatura.

	Comp	2–metil–6–hidroxi- 1,2,3,4- tetraidro-β-carbolínico* (Wen <i>et al</i> , 2006)			
N°	δ _H (<i>J</i> Hz)	δc	HMBC	δ _н (<i>J</i> Hz)	δc
1	3,66 (s, 1H)	52,2	H-1/C-8b/C- 4a/C-3	2,47(s, 2H)	52,2
3	2,86-2,83 (m, 2H)	52,6	H-3/C-4/C- 4a/C-3/C-1	2,64 (d, <i>J</i> = 4,8, 2H)	52,7
4	2,73-2,69 (m, 2H)	20,3	H-4/C-3/C- 4/C-4a/C-1/C- 8b	2,60 (d, <i>J</i> = 4,8 Hz, 2H)	21,3
4a		105,3			105,2
4b					127,4
5	6,68(dd, <i>J</i> = 2,3 e 0,6, 1H)	101,3	H-5/C-8a	6,66 (d, <i>J</i> = 1,9, 1H)	101,8
6		149,9			150,2
7	6,52 (dd, <i>J</i> = 8,5 e 2,3, 1H)	110,1	H-7/C-8a	6,51 (dd, <i>J</i> = 8,5 e 1,9, 1H)	110,2
8	7,00 (dd, <i>J</i> = 8,5 e 0,6, 1H)	110,3	H-8/C-6	7.04 (d, <i>J</i> = 8,5, 1H)	111,0
8a		131,2			130,3
8b		130,6			133,3
9	2,50 (s, 3H)	43,6	H-9/C-3	2,39 (s, 3H)	45.4

* DMSO-d₆, 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C.

No espectro de RMN H¹ da mistura (Espectro 28; pág. 84), os sinais de hidrogênios aromáticos para um anel trissubstituído com padrão de acoplamento do tipo *orto* em δ 7,38 (1H, d, *J* = 9,1 Hz, H-6), δ 6,92 (1H, s, H-8) e δ 6,33 (1H, d, *J* = 9,1 Hz, H-5); sinais de hidrogênios metilênicos em δ 3,74-3,72 (2H, m, H-9) e 3,04-3,02 (2H, m, H-10); um simpleto em δ 3,51 (3H, s), e um simpleto em δ 8,54 (H-1) foram atribuídos ao composto **V**.

Através da análise conjunta do mapa de correlação de HSQC (Espectro 31; pág. 87) com o espectro de RMN ¹H foram observadas as correlações dos hidrogênios em δ 8,54 (H-1), δ 6,33 (H-5), δ 7,38 (H-6) e δ 6,93 (H-8), com os carbonos em δ 159,7 (C-1), δ 115,6 (C-5), δ 126,1 (C-6) e δ 6,93 (C-8), respectivamente. Também foram observadas correlações entre os hidrogênios metilênicos em δ 3,74-3,72 (2H, m, H-3) e δ 3,04-3,02 (2H, m, H-4) com os carbonos em δ 55,7 (C-3) e δ 26,3 (C-4). Além disso, os hidrogênios metílicos em δ 3,50 (3H, s, H-9) apresentam correlação com o carbono em δ 48,2 (C-9).

No mapa de correlação de HMBC (Espectro 34; pág. 90) observou-se as seguintes correlações: hidrogênio aromático em δ 6,93 (H-8) com os carbonos em δ 126,1 (C-6), δ 115,6 (C-5) e δ 124,4 (C-4b); hidrogênio em δ 7,38 (H-6) com um carbono carbonílico em δ 173,9 (C-10); hidrogênios metílicos em δ 3,50 (3H, s, H-11) com os carbonos em δ 159,4 (C-1) e δ 55,7(C-3).

A comparação dos dados de RMN ¹H e RMN ¹³C com uma estrutura similar da literatura (Eagon *et al*, 2014; tabela 21) sugeriu, para o composto **V**, a estrutura de um esqueleto diidro-β-carbolinium com um grupamento carboxílico na posição 7 do anel aromático. Assim, o composto **V** seria derivado do composto **IV**. A purificação da amostra para a obtenção dos dados de massas de alta resolução deverá ser feita para confirmação da proposta estrutural.



Figura 22 – Estrutura química proposta para o composto, 7-carboxil-2-metil-3,4diidro-β-carbolinium.

Tabela 21. Dados de RMN de ¹H, ¹³C e HMBC (CD₃OH, 500 MHz) do composto **V** e comparação com a literatura.

					de 4,9-diidro-3H-β-
		Composto V	carbolin	-2-il* (Eagon <i>et al</i> ,	
				2014)	
N°	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)	HMBC	δC	δ Η (<i>J</i> Hz)
1	159,4	8,54 (s, 1H)	H-1/C-9/C-4/C-4a	157,3	9,10 (s, 1H)
3	55,7	3,74-3,72 (<i>m</i> , 2H)	H-3/C-9/C-1	50,2	4,13 (<i>t</i> , <i>J</i> = 8,8, 2H)
4	26,9	3,04-3,02 (<i>m</i> , 2H)	H-4/C-4b	19,3	3,36 (<i>t</i> , <i>J</i> = 9, 2H)
4a	107,4				
4b	124,4			124,4	
5	115,6	6,33 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9,1, 1H)	H-5/C-5/C-4a	113,7	7,79 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,2, 1H)
6	126,1	7,38 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9,1, 1H)	H-6/C-4b/C-10	125,5	7,58 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,5, 1H)
7				121,8	7,49 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,5, 1H)
8	121,7	6,93 (s, 1H)	H-8/C-6/C-4a	122,2	7,22 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,3, 1H)
8a				142,0	
8b	121,9			123,6	
9	48,7	3,51 (s, 3H)	H-9/C-1	59,1	4,91 (<i>s</i> , 2H)
10	173,9			168,0	-

*DMSO-d₆, 500 MHz para ¹H e 125,7 MHz para ¹³C.

5. Conclusão

Neste trabalho o estudo das frações alcaloidicas da espécie de *Psychotria capitata* permitiu o isolamento e elucidação estrutural de cinco compostos, sendo quatro alcaloides e uma cumarina. A partir da análise fitoquímica das frações alcaloidicas pode-se inferir que os alcaloides bufotenina e N-óxido de bufotenina são os principais compostos presentes nas folhas desta espécie.

Os ensaios de inibição enzimática com as isoenzimas monoamina oxidases mostraram que as frações mais promissoras para a inibição seletiva de MAO-A, foram a CHCl₃ básica e MeOH/H₂O (20%), o que foi inicialmente atribuído a presença da bufotenina. No entanto, o ensaio de inibição para a MAO-A com este alcaloide apresentou valor de IC₅₀ superior à da fração, o que sugere que a atividade de inibição das frações possa estar relacionada a presença de outros compostos.

Apesar dos estudos das espécies do subgênero *Heteropsychotria* mostrarem que estas caracterizam-se pela presença de alcaloides do tipo indol monoterpênicos, neste estudo, as folhas de *Psychotria capitata* apresentaram majoritariamente alcaloides triptamínicos em sua composição química, de forma semelhante a espécie *Psychotria viridis*.

As folhas de *P. capitata*, ricas em bufotenina e seu óxido, podem ser consideradas para futuros estudos de atividade biológicas relacionadas às doenças degenerativas cerebrais *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARKER, S. A.; MCLLHENNY, E. H.; STRASSMAN, R. A critical review of reports of endogenous psychedelic N, N-dimethyltryptamines in humans: 1955–2010 Drug Testing Analysis. 2012.

BOTH, F. L.; MENEGHINI, L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES A. T.; ELISABETSKY, E. Psychopharmacological Profile of the Alkaloid Psychollatine as a 5HT2A/C Serotonin Modulator. Journal of Natural Products, v. 68, p. 374-380, 2005.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. Carbon 13C NMR Spectroscopy. 3th Edition. VCH. Weinhein; New York. 1990.

COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena Formosa* (Cham. & Schltdl.) K.Schum. (Rubiaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 170-177, 2006.

CONSOLARO, H. N. A Distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado. Tese de Doutorado. UnB. 2008.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D.; RUHSAM, M.; MOAT, J. BRUMMITT, N. A. A Global Assessment of Distribution, Diversity, Endemism, and Taxonomic Effort in the Rubiaceae. Annals of the Missouri Botanical Garden, v. 96, p. 68-78. 2009.

DELPRETE, P. G. Flora dos estados de Goiás e Tocantins, Rubiaceae, Volume 40 - Parte 2: Gênero I-R. Coleção Rizzo. Goiânia, 2010.

DELPRETE, P. G; JARDINS, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. Rodriguésia, v. 63, n. 1, p. 101-128, 2012.

DE SOUZA, P. A. Alcaloides e o chá de ayahuasca: uma correlação dos "estados alterados da consciência" induzido por alucinógenos. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.13, n.3, p.349-358, 2011.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach. 3rd Edition. John Wiley & Sons Ltd 2009.

EAGON, S; ANDERSON, M. O. Microwave-Assisted Synthesis of Tetrahydro- β -carbolines and β -Carbolines. European Journal of Organic Chemistry, p. 1653-1665, 2014.

FARIAS, F. M.; PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; BARROS, D. M.; GOTTFRIED, C.; STEFEN, V. M.; HENRIQUES, A. T. Strictosidinic acid, isolated from Psychotria myriantha Mull. Arg. (Rubiaceae), decreases serotonin levels in rat hippocampus. Fitoterapia, v. 83, p. 1138–1143, 2012.

FERREIRA JÚNIOR, J. C.; LEMOS, R. P. L.; CONSERVA, L. M. Chemical constituents from Spermacoce verticillata (Rubiaceae). Biochemical Systematics and Ecology, v. 44, p. 208–211, 2012.

FISH, M. S.; JOHNSON, N. M.; HORNING, E. C. Piptadenia Alkaloids. Indole Bases of P. peregrine (L.) Benth. and Related Species. Journal of American Chemical Society, v. 77, p. 5892-5895, 1955.

KERBER, V. A.; GREGIANINI, T. S.; PARANHOS, J. T.; SCHWAMBACH, J.; FARIAS, F.; FETT, J. P.; FETT-NETO, A. G.; ZUANAZZI, A. S.; QUIRION, J.; ELIZABETSKY, E.; HENRIQUES, A. T. Brachycerine, a Novel Monoterpene Indole Alkaloid from Psychotria brachyceras. Journal of Natural Products, v. 64, p. 677-679, 2001.

KERBER, V. A.; PASSOS, C. S.; VERLI, H.; FETT-NETO, A. G.; QUIRON, J. P.; HENRIQUES, A. T. Psychollatine, a Glucosidic Monoterpene Indole Alkaloid from Psychotria umbellata. Journal of Natural Products, v. 71, 697–700, 2008.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; PASSOS, C. S.; MORAES, A. P.; WAKUI, V. G.; KONRATH, E. L.; NURISSO, A.; CARRUPT, P.; OLIVEIRA, C. M. A. de; KATO, L.; HENRIQUES, A. T. Indole Alkaloids and Semisynthetic Indole Derivatives as Multifunctional Scaffolds Aiming the Inhibition of Enzymes Related to Neurodegenerative Diseases – A Focus on Psychotria L. Genus Current Topics in Medicinal Chemistry, v. 14, p. 1056-1075, 2014.

LUCIANO J. H. S.; LIMA, M. A. S.; SOUZA, E. B. de; SILVEIRA, E. R. Chemical constituents of Alibertia myrciifolia Spruce ex K. Schum. Biochemical Systematics and Ecology, v. 32, p. 1227–1229, 2004.

MCKENNA, D. J.; TOWERS, G. H. N.; ABBOT, F. Monoamine oxidase inhibitors in south American hallucinogenic plants: tryptamine and β -carboline constituents of Ayhuasca. Journal of Ethnopharmocology, v. 10, p. 195-223, 1984.

MIN, B. –S. Coumarins and polyacetylene from Angelica purpureaefolia. Natural Products Science, v. 12, p. 129-133, 2006.

MORAES, T. M. S.; ARAÚJO, M. H.; BERNADES, N. R.; OLIVEIRA, D. B. LASUNSKAIA, E. B.; MUZITANO, M. F.; CUNHA, M. Antimycobacterial Activity and Alkaloid Prospection of Psychotria Species (Rubiaceae) from the Brazilian Atlantic Rainforest. Planta Medica, v. 77, p. 964-970, 2011.

MORALES-RÍOS, M. S.; ESPIÑEIRA, J.; JOSEPF-NATHAN, P. ¹³C NMR Spectroscopy of Indole Derivatives. Magnetic Ressonance in Chemistry, v. 25, p. 377-395, 1987.

MOREIRA, L. A. Estudos visando à utilização da bufotenina obtida de sementes de *Anadenanthera* (Fabaceae: Mimosideae) na síntese de derivados triptamínicos. Dissertação de Mestrado. UnB. 2011.
MOTLEY, T. J.; WURDACK, K. J.; DELPRETE, P. G. Molecular systematics of the Catesbaeeaae-chiococceae complex (Rubiaceae): Flower and fruit evolution and biogeographic implications. American Journal of Botany, v. 92, n. 2, p. 316–329, 2005.

MOURA, S.; CARVALHO, F. G.; OLIVEIRA, C. D. R.; PINTO, E.; YONAMINE, M. qNMR: An applicable method for the determination of dimethyltryptamine in ayahuasca, a psychoactive plant preparation. Phytochemistry Letters, v. 3, p. 79–83, 2010.

NAVES, R. F. Estudo Fitoquímico das Folhas de *Psychotria hoffmannseggiana* (Wild. Ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae). Dissertação de mestrado. UFG. 2014.

NIKOLIC, D.; GODECKE, T.; CHEN, S.; WHITE, J.; LANKIN, D. C.; PAULI, G. F.; BREEMEN, R. B. Mass spectrometric dereplication of nitrogen-containing constituents of black cohosh (Cimicifuga racemosa L.). Fitoterapia, v. 83, p. 441-460, 2012.

PICCHI, D. G.; ALTEI, W. F.; SAITO, M. S.; BOLZANI, V. S.; CILLI, E. M. Peptideos cíclicos de biomassa vegetal: características, diversidade, biossíntese e atividades biológicas. Quimica Nova, v. 32, n. 5, p. 1262-1277, 2009.

PASSOS, C. S.; SIMÕES-PIRES, C. A.; NURISSO, A.; SOLDI, T. C.; KATO, L.; OLIVEIRIA, C. M. A. de; FARIA, E. O.; MARCOURT, L.; GOTTFRIED, C.; CARRUPT, P.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids of Psychotria as multifunctional cholinesterases and monoamine oxidases inhibitors. Phytochemistry, v. 86, p. 8–20, 2013.

PORTO, D. D.; HENRIQUES, A. T.; FETT-NETO, A. G. Bioactive Alkaloids from South American Psychotria and Related Species. The Open Bioactive Compounds Journal, v. 2, p. 29-36, 2009.

QU, S.-J; LIU, Q.-W; TAN, C.-H; JIANG, S.-H; ZHU, D.-Y. New Indole N-oxide Alkaloids from *Evodia fargesii*. Planta Med., v. 72, p.264-266, 2006.

Qu, S.-J; WANG, G.-F.; DUAN, W.-H; YAO, S.-Y; ZUO, J.-P; TAN, C.-H; ZHUO, D.-Y. Tryptamine derivatives as non-nucleosidic inhibitors against hepatites B vírus. Bioorg. Med. Chem., v. 19, p. 3120-3127, 2011.

RAMOS, L. M. Obtenção do alcaloide indólico bufotenina das sementes de *Anadenanthera sp* (Fabaceae: Mimosideae) do bioma Cerrado e sua utilização para a síntese para substâncias bioativas. Dissertação de Mestrado. UnB. 2008.

RIBA, J.; ANDERER, P.; JANÉ, F. SALETU, B; BARBANO, M. J. Effects of the South American Psychoactive Beverage Ayahuasca on Regional Brain Electrical Activity in Humans: A Functional Neuroimaging Study Using Low-Resolution Electromagnetic Tomography Neuropsychobiology, v. 50, p. 89–101, 2004. RIBA, J.; MCLLENNY, E. H.; VALLE, M.; BOUSO, J. C.; BARKER, S. A. Metabolism and disposition of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. Drug Testing Analysis. 2012.

ROMEIRO, L. A. S.; FRAGA, C. A. M.; BARREIO, E. J. Novas estratégias terapêuticas para o tratamento da depressão: uma visão da química medicinal. Quim. Nova, v. 26, n. 3, p. 347-358, 2003.

RUYSSCHAERT, S.; ANDEL, T. V.; PUTTE, K. V.; DAMME, P. V. Bathe the baby to make it strong and healthy: Plant use and child care among Saramaccan Maroons in Suriname. Journal of Ethnopharmacology, v. 121, p. 148-170, 2009.

SANTILLO, M. F.; LIU, Y.; FERGUSON, M.; VOHRA, S. N.; WIESINFELD, P. L. Inhibition of monoamine oxidase (MAO) by b-carbolines and their interactions in live neuronal (PC12) and liver (HuH-7 and MH1C1) cells. Toxicology in Vitro, v. 28 p. 403–410, 2014.

SAURA, J.; NADAL, E.; VIL, B. B.; BOMBI, J. A.; MAHY, N. Localization of monoamine oxidases in human peripheral tissues. Life Sciences, vol. 59, p. 1341-1349, 1996.

SCHULTES, R. E. De plantis toxicariis e mundo novo tropicale commentationes XXXIV: biodynamic rubiaceous plants of northwest amazon. Journal of Ethnopharmacology, v. 14, p. 105-124, 1985.

SHIH, J. C.; CHEN, K.; RIDD, M.J. Monoamine oxidase: from genes to behavior. Annual Review Neuroscience, v. 22, p. 197-217, 1999.

SILVA, V. C.; SILVA, G. H.; BOLZANI, V. S.; LOPES, M. N. Isolation of lignans glycosides from *Alibertia sessilis* (Vell.) K.Schum. (Rubiaceae) by preparative high-performance liquid Chromatography. Eclética Química, v. 31, p. 55-58, 2006.

SHEN, H.; WU, C.; JIANG, X.; YU, A; Effects of monoamine oxidase inhibitor and cytochrome P450 2D6 status on 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine metabolism and pharmacokinetics. Biochemical Pharmacology, v. 80, p. 122–128, 2010.

TAVARES, W. S.; GRAZZIOTTI, G. H.; SOUZA JÚNIOR, A. A.; FREITAS, S. S.; CONSOLARO, H. N.; RIBEIRO, P. E. A.; ZANUNCIO, J. C. Screening of Extracts of Leaves and Stems of Psychotria spp. (Rubiaceae) against Sitophilus zeamais (Coleoptera:Curculionidae) and Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) for Maize Protection. Journal of Food Protection, v. 76, p. 1892-1901, 2013.

TEIXEIRA, V. A.; COELHO, M. F. B.; MING, L. C. Poaia [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stoves]: aspectos da memória cultural dospoaieiros de Cáceres - Mato Grosso, Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.14, n.2, p.335-343, 2012.

TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. de; Da-CUNHA, E. V. L. Chemical constiuents from *Richardia grandifl ora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae). Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.18, n. 1, p. 47-52, 2008.

VALADEAUA, C.; CASTILLO, J. A.; SAUVAIAN, M.; LORES, A. F.; BOURDY, G. The rainbow hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. Journal of Ethnopharmacology, v. 127, p. 175–192, 2010.

VALENTE, L. M. M.; ALVES, F. F; BEZERRA, G. M.; ALMEIDA, M. B. S.; ROSARIO, S. L.; MAZZEI, J. L.; D'ÁVILA, L. A.; SIANI, A. C. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcaloides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 216-223, 2006.

WANG, Y.-Y.; CHEN, C. Synthesis of a deuterium labeled standard of bufotenine (5-HO-DMT). Journal of Labelled Compounds and. Radiopharmaceuticals, v. 50, p. 1262-1265, 2007.

WEN, L. Q.; HENG, T. C.; JIN, Q. S.; XIAO, F.; YUAN, Z. D. Chemical Constituents of *Evodia f argesii* Dode. Chinese journal of Natural Medicines, v. 14, p. 25-29, 2006.

ZHOU, L.; LIU, M.; CHEN, Z.; HU, C. Analgesic effect of iridoid glycosides from Paederia scandens (LOUR.) MERRILL (Rubiaceae) on spared nerve injury rat model of neuropathic pain. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, v. 102, p. 465–470, 2012.

ANEXOS



Espectro 1 – Espectro da região do ultravioleta (CH₃OH) da iso-escopoletina (I).



Espectro 2 – Espectro na região do infravermelho (KBr) da iso-escopoletina (I).



Espectro 3 – Espectro de RMN ¹H da iso-escopoletina (I).



Espectro 4 – Expansão do espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) da iso-escopoletina (I), na região de 8,0 - 3,5 ppm.



Espectro 5 – Mapa de correlação de HSQC da iso-escopoletina (I).



Espectro 6 – Mapa de correlação de HMBC da iso-escolopetina (I).





Espectro 8 – Expansão do mapa de correlação de NOESY da iso-escopoletina.



Espectro 9 – Espectro da região do ultravioleta (CH₃OH) da bufotenina (II).



Espectro 10 – Espectro da região do infravermelho (KBr) da bufotenina (II).



Espectro 11 – Espectro de Massas de Alta Resolução da bufotenina (II).



Espectro 12 – Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 125,03 MHz) da fração AcOEt, com os dados espctroscópicos de ¹³C da bufotenina (II).



Espectro 13 – Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) da bufotenina (II).



Espectro 14 – Expansão do espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) da bufotenina (II), na região de 7,20 – 6,45 ppm.



Espectro 15 – Expansão do espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) da bufotenina (**II**), região de 2,95 – 2,20 ppm.



Espectro 16 – Mapa de correlação de HSQC da bufotenina (II).

71



Espectro 17 – Mapa de correlação de HMBC da bufotenina (II).

72



Espectro 18 – Mapa de correlação homonuclear ¹H-¹H COSY da bufotenina (II).



Espectro 19 – Espectro da região do ultravioleta (CH₃OH) do N-óxido de bufotenina (III).



Espectro 20 – Espectro da região do infravermelho (KBr) do N-óxido de bufotenina (III).





Espectro 22– Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) do N-óxido de bufotenina.



Espectro 23 – Expansão do espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) do N-óxido de bufotenina (**III**), na região de 7,5 – 6,4 ppm.



Espectro 24 – Expansão do espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) do N-óxido de bufotenina (**III**), na região de 3,8 – 2,6 ppm.



Espectro 25 – Mapa de correlação de HSQC do N-óxido de bufotenina (III).



Espectro 26 – Mapa de correlação de HMBC do N-óxido de bufotenina (III).



Espectro 27 – Espectro de infravermelho da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbonílico (**IV**) e 7-carboxil-2-metil-3,4diidro- β -carbolinium (**V**).



Espectro 28 - Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolínico (**IV**) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolinium (**V**).



Espectro 29 – Expansão do Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolínico (**IV**) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolinium (**V**).



(IV) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro- β -carbolinium (V).



Espectro 31 - Mapa de correlação de HSQC da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (**IV**) e 7-carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolinium (**V**).



Espectro 32 – Expansão do mapa de correlação de HSQC da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e 7carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolinium (V).


Espectro 33 - Expansão do mapa de correlação de HSQC da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e 7carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolinium (V).



3,4-diidro- β -carbolinium (**V**).



Espectro 35 - Expansão do mapa de correlação de HMBC da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e 7carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolinium (V).



Espectro 36 - Expansão do mapa de correlação de HMBC da mistura dos compostos 6-hidroxi-2-metil-1,2,3,4-tetraidro-β-carbolínico (IV) e 7carboxil-2-metil-3,4-diidro-β-carbolinium (V).