UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS OBTIDOS ATRAVÉS DO ESTUDO DAS RAÍZES DE *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerm (RUBIACEAE), TRANSFORMAÇÕES E ENSAIOS BIOLÓGICOS DE SEU EXTRATO.

LARYSSA CAMPOS RIBEIRO

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

Orientadora: Prof. Lucília Kato, Dr.

GOIÂNIA, 2010

Dedico este trabalho a meu marido Pedro Ivo, a meus pais Tereza Cristina e Greide Junior e a meus irmãos Greide Neto e Bruno.

“Tenha sempre em mente que a pele se enruga,
o cabelo embranquece,
os dias convertem-se em anos…
Mas o que é importante não muda…
A tua força e convicção não têm idade.
O teu espírito é como qualquer teia de aranha. Atrás de cada linha de chegada, há uma de partida. Atrás de cada conquista, vem um novo desafio.
Enquanto estiver vivo, sinta-se vivo.
Se sentir saudades do que fazia, volte a fazê-lo.
Não viva de fotografias amareladas…
Continue, quando todos esperam que desista.
Não deixe que enferruje o ferro que existe em você.
Faça com que, em vez de pena, tenham respeito por você.
Quando não conseguir correr através dos anos, trote.
Quando não conseguir trotar, caminhe.
Quando não conseguir caminhar, use uma bengala.
Mas nunca se detenha.
Lute sempre.”

Autor desconhecido.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao meu mentor espiritual.

Aos meus pais Greide Júnior e Tereza Cristina pelo amor, carinho e dedicação de todos estes anos, para que pudesse ter uma boa instrução e, conseqüentemente, a formação de um caráter digno.

Aos meus irmãos Greide Neto e Bruno pelo apoio, amor e companheirismo nesta nossa jornada.

Ao meu marido, Pedro Ivo, por seu amor, incentivo e paciência nesta nossa caminhada.

A minha segunda família: minha sogra Ledice, meu sogro Wilson, aos meus cunhados Mariana, João Victor, Katarina e Adriana; a sobrinha Sofia e a madrasta Celma Adriana agradeço o incentivo e carinho, como também, por fazerem parte da minha vida.

A todos meus amigos do laboratório de produtos naturais e do laboratório de RMN da Universidade Federal de Goiás (UFG), que contribuíram sejam no auxílio deste trabalho, nos momentos de descontração ou com uma palavra amiga. Aline, Alessandro, Brenda, Carla, Danielle, Deomar, Elenilson, Emiret, Eudécio, Igor, Lorena, Michele, Polyanna, Rafael e Ricardo esta conquista também é de vocês!

A todos os professores da UFG que contribuíram na minha formação profissional, como também, pessoal. Aos professores Luciano Lião e Gláucia Alcantra pelas análises imediatas de RMN e pelo referencial deixado a mim como verdadeiros educadores. Ao professor Tales Alexandre agradeço ao ‘’ponta pé’’ inicial e por ter acreditado em mim desde o primeiro instante.

A todos os professores e amigos do laboratório FitoSin da Universidade Estadual de Maringá (UEM) que fizeram meus dias por lá mais felizes e proveitosos.

A Universidade Federal de Goiás e ao Instituto de Química pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

A CAPES pela bolsa cedida e pelo incentivo ao desenvolvimento da pesquisa acadêmica.

Por fim, agradeço a uma pessoa ímpar, alegre, carismática, portadora de um imenso coração. Educadora, prestativa e paciente, Lucília Kato, minha orientadora, agradeço por todos os momentos que estive ao seu lado, trabalhando e lhe dando muito trabalho, é claro!

SUMÁRIO

Lista de figuras vii
Lista de fluxogramas xiii
Lista de tabelas xiv
Lista de Abreviaturas e Símbolos xv
Resumo xvii
Abstract xviii
1. Introdução 19
1.1 Plantas Medicinais 19
1.2 Metabólitos Secundários 20
1.3 Alcalóides 23
1.4 A família Rubiaceae 25
1.5 O Gênero *Psychotria* 27
1.6 A espécie *Psychotria prunifolia* 34
1.7 Atividade Biológica 37
1.7.1 Atividade Moluscicida 37
1.7.2 Atividade Antioxidante 37
2. Objetivos 39
3. Parte Experimental 40
3.1 Estudo fitoquímico de *Psychotria prunifolia* 40
3.1.1 Materiais e Métodos 40
3.1.2 Coleta e identificação do material botânico 41
3.1.3 Secagem e Moagem 41
3.1.4 Preparação do Extrato Bruto e Metodologias Utilizadas 41
3.1.4.1 Cromatografia em Coluna 42
3.1.4.2 Fracionamento ácido-base 49
3.2 Bioensaios 51
3.2.1 Ensaio Moluscicida 51
3.2.2 Ensaio Antioxidante 53
4. Resultados e Discussão 54
4.1 Estudo fitoquímico 54
4.2 Elucidação Estrutural dos compostos Isolados 56
4.2.1 O composto LCPP-1 56
4.2.2 O composto LCPP-2 56
4.2.3 O composto LCPP-3 59

4.2.4 O composto LCPP-4 65
4.2.5 O composto LCPP-5 68
4.2.6 O composto LCPP-6 72
4.3 Transformações dos Metabólitos Secundários 76
4.3.1 Transformação do Alcalóide LCPP-3 76
4.3.2 Transformação do alcalóide LCPP-4 81
4.3.3 Análises de RMN ^{1}H em DMSO. 82
4.4 Bioensaios 83
4.4.1 Ensaio Moluscicida.....83
4.4.2 Ensaio Antioxidante.....83
5. Conclusão.....85
5.1 Para o estudo fitoquímico 85
5.2 Para as Transformações das Estrututras.....85
5.3 Para as Atividades Biológicas.....85
5.3.1 Atividade Moluscicida.....85
5.3.2 Atividade Antioxidante.....86
Referências Bibliográficas 87
APÊNDICE – Espectros 98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-1 – Distribuição de substâncias naturais ativas de espécies lenhosas, nas classes químicas de compostos secundários (DI STASI, 1996). 23
Figura 1-2 – Exemplos de alcalóides pertencentes a diferentes classes, cujos núcleos encontram-se em vermelho.....24
Figura 1-3 – Alcalóides polindólicos.....29
Figura 1-4 - Alcalóides β-carbolínicos. 29
Figura1-5 - Acalóides isolados de *Palicourea coriacea*. Em vermelho, a estrutura monoterpênica.....30
Figura 1-6 – Alcalóide isolados de *Cephaelis ipecacuanha* (também denominada de *Psychotria ipecacuanha*). Em vermelho, a estrutura tetraidroisoquinolínica. 31
Figura 1-7 – Alcalóides isolados de *Psychotria bahiensis*.....32
Figura 1-8- *Psychotria prunifolia* 35
Figura 1-9 - Compostos já isolados das folhas de *P. prunifolia.* Em vermelho, os alcalóides β-carbolínicos e em preto, os alcalóides tetraidrobetacarbolínicos. ..36
Figura 3-1 - Criadouro dos caramujos *Biomphalaria glabrata* - Maringá (Pr). Em (a) e (b) são, respectivamente, parte externa e interna do criadouro. 51
Figura 4-1 - Substâncias isoladas de raízes de *P. prunifolia*. 55
Figura 4-2 - Sitosterol.....56
Figura 4-3 – O composto LCPP-2.....56
Figura 4-4 - ORTEP do composto LCPP-2. 58
Figura 4-5 - O alcalóide LCPP-3. 59
Figura 4-6 - Correlações em COSY (↷) da unidade β-carbolínica do composto LCPP-3. 60
Figura 4-7 - Correlações em COSY (↷) e HMBC (↷) do grupo vinílico do composto LCPP-3.....60
Figura 4-8 - Em (a), o composto ofiorina B. Em (b), As principais correlações observadas no espectro de HMBC - $^{2,3}J_{CH}$ (↷) e COSY (—), da unidade ofiorínica do composto LCPP-3. 61
Figura 4-9 – Configuração relativa entre os hidrogênios H-20/ H-21a e H-21b da região ofiorínica. 62
Figura 4-10 - Principais correlações observadas no espectro de HMBC - $^{2,3}J_{CH}$ (↷) do composto LCPP-3. 62

Figura 4-11 - O alcalóde LCPP-4. 65
Figura 4-12 - Proposta estrutural para o composto LCPP-4. 66
Figura 4-13 - O alcalóde LCPP-5. 68
Figura 4-14 - Estrutura proposta para o alcalóide LCPP-5, isolado das raízes de *P. prunifolia* e algumas das correlações observadas no espectro de HMBC ( ). 69
Figura 4-15 - O alcalóide LCPP-6, estrictosamida. 72
Figura 4-16 – Diferenças entre os alcalóides estrictosamida e vincosamida. 73
Figura 4-17 - Alcalóide LCPP-3. 76
Figura 4-18 - Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H dos hidrogênios H-6, H-5, H-9 nos tempos t_1, t_2 e t_3. Em t_3, os sinais para a LCPP-3 (t_1) desaparecem, ficando apenas os deslocamentos referentes às outras. 77
Figura 4-19 – Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H dos hidrogênios H-11, H-12 e H-10 da unidade β-carbolínica para o composto LCPP-3 nos tempos t_1, t_2 e seu desaparecimento, em t_3. 77
Figura 4-20 – Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H, em diferentes tempos, para o composto LCPP-3. 78
Figura 4-21 – Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H, em diferentes tempos, para o composto LCPP-3. Destaque para o sinal em δ_H 5,56 atribuído ao H-14' (LCPP-4). 78
Figura 4-22 – Sobreposição das expansões dos espectros de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$). Em azul (t_1) não se verifica a existência do carbono δ_C 193,3. Em vermelho (t_2), observa-se o surgimento do carbono em δ_C 193,3. 79
Figura 4-23 – Equilíbrio imino-enamina para a estrutura LCPP-3. 80
Figura 4-24 – Adição eletrofílica na forma imino do tautomerismo, com formação do composto LCPP-4 e LCPP-5. 80
Figura 4-25 - Alcalóide LCPP-4. 81
Figura 4-26 – Expansões dos espectros de RMN ^{1}H para o composto 81
Figura 4-27 – Espectro de RMN de ^{1}H com expansões para a estrutura LCPP-63 em diferentes tempos. Em azul (t_1), análise realizada logo após o isolamento. Em verde (t_2), espectro obtido após quinze dias da primeira análise. Em preto (t_3), espectro obtido após trinta e cinco dias da primeira análise. 82
Figura 4-28 - Gráfico representando o percentual de inibição do radical DPPH (eixo y) X concentração dos extratos em ppm (eixo x). 83

Figura A. 1 - Espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2. 98
Figura A. 2 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2. 99
Figura A. 3 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2. 100
Figura A. 4 – Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2. 101
Figura A. 5 – Expansões do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2. 102
Figura A. 6 - Primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3. ..103
Figura A. 7 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-3. 104
Figura A. 8 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-3. 105
Figura A. 9 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-3. 106
Figura A. 10 – Segundo espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3. 107
Figura A. 11 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 108
Figura A. 12 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 109
Figura A. 13 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 110
Figura A. 14 – Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 111
Figura A. 15 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 112
Figura A. 16 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 113
Figura A. 17 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 114
Figura A. 18 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3. 115
Figura A. 19 - Espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3. 116
Figura A. 20 – Expansão do espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3. 117
Figura A. 21 – Expansão do espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3. 118
Figura A. 22 – Expansão do espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3. 119

Figura A. 23 – Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.....120
Figura A. 24 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.....121
Figura A. 25 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.....122
Figura A. 26 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.....123
Figura A. 27 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.....124
Figura A. 28 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.....125
Figura A. 29 - Primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 126
Figura A. 30 – Expansões do primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.....127
Figura A. 31 – Expansões do primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.....128
Figura A. 32 – Expansão do primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.....129
Figura A. 33 – Segundo espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 130
Figura A. 34 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 131
Figura A. 35 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 132
Figura A. 36 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 133
Figura A. 37 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 134
Figura A. 38 - Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 135
Figura A. 39 - Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 136
Figura A. 40 - Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 137

Figura A. 41 - Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4. 138
Figura A. 42 - Espectro de COSY (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4. 139
Figura A. 43 – Expansão do espectro de COSY (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4. .140
Figura A. 44 – Expansão do espectro de COSY (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4. .141
Figura A. 45 – Primeiro espectro de RMN do ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4. 142
Figura A. 46 – Segundo espectro de RMN do ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4. 143
Figura A. 47 - Espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-5. 144
Figura A. 48 - Expansões do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-5. 145
Figura A. 49 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-5. 146
Figura A. 50 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 147
Figura A. 51 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 148
Figura A. 52 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 149
Figura A. 53 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 150
Figura A. 54 - Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 151
Figura A. 55 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 152
Figura A. 56 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 153
Figura A. 57 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5. 154
Figura A. 58 - Espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6. 155
Figura A. 59 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6. 156
Figura A. 60 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6. 157
Figura A. 61 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6. 158

Figura A. 62 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6. 159
Figura A. 63 - Expansões do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6. 160
Figura A. 64 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.....161
Figura A. 65 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.....162
Figura A. 66 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.....163
Figura A. 67 - Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6. 164
Figura A. 68 – A Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6. 165
Figura A. 69 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6. 166
Figura A. 70 - Espectro de IV de LCPP-5. 167
Figura A.71 - Cromatograma da fração LCPP-2-1. 168
Figura A.72 - Espectro de massa do RT= 18,61 para a fração LCPP-2-1 e de LCPP-2.....169

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1-1 – Ciclo biossintético dos metabólitos secundários. (SIMÕES *et al*,1999).....22
Fluxograma 1-2 – Subdivisão do gênero *Psychotria*.....28
Fluxograma 3 -1 – Estudo do extrato etanólico bruto das raízes de *P. prunifolia*. 42
Fluxograma 3-2 - Cromatografia em Coluna do extrato etanólico bruto das raízes de *P. prunifolia*.....42
Fluxograma 3-3 - CCDP da Fração F-1 e obtenção do composto LCPP-1. 44
Fluxograma 3-4 - CCDP da Fração F-2 e obtenção da fração LCPP-2-1 e do composto LCPP-2.....45
Fluxograma 3-5 - CCDP da Fração F-7 e obtenção do composto LCPP-3. 46
Fluxograma 3-6 - Sucessivas CCDP da Fração F-8 e obtenção dos compostos LCPP-4 e LCPP-5.....47
Fluxograma 3-7 - Fracionamento ácido-base das raízes *de P. prunifolia* e a obtenção do metabólito LCPP-6.....49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-1 – Metabólitos com potencial biológico isolados de espécies da família Rubiaceae.....26
Tabela 1-2 - Alcalóides isolados de espécies de *Psychotria* encontradas no estado do Rio Grande do Sul. 34
Tabela 3-1 - Frações da C.C. e das frações reunidas 43
Tabela 3-2 – CCDP da fração F-1.....44
Tabela 3-3 – CCDP da fração F-2.....45
Tabela 3-4 - CCDP da fração F-7. 46
Tabela 3-5 - CCDP da fração F-8. 47
Tabela 3-6 - CCDP da fração F-8A. 48
Tabela 3-7 – CCDP da fração Extrato Acetato de Etila. 50
Tabela 4-1 - Dados Cristalográficos obtidos para o composto LCPP-2. 58
Tabela 4-2 - Dados de RMN de ^{1}H [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] HSQC, HMBC e COSY de LCPP-3. 63
Tabela 4-3 - Dados de RMN ^{1}H e HSQC [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] de LCPP-3 e o Alcalóide 1 (75 e 300 MHz-$CDCl_3$/ MeOD).....64
Tabela 4-4 - Dados de RMN ^{1}H [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD], HSQC, HMBC e COSY de LCPP-4.....67
Tabela 4-5 - Dados de RMN [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD], HSQC e HMBC de LCPP-5.....70
Tabela 4-6 – Dados de RMN ^{1}H e ^{13}C [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] e Alcalóide 2 (300 MHz-$CDCl_3$/MeOD). 71
Tabela 4-7 - Dados de RMN ^{1}H e ^{13}C [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] e Estrictosamida (300 MHz-$CDCl_3$/ MeOD) 74

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CG/ EM	Cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas
COSY	^{1}H -^{1}H Correlation Spectroscopy
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
dl	Dupleto largo
dt	Duplo tripleto
DMSO d_6	Dimetil sulfóxido deuterado
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Simgle Quantum Correlation
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
LCPP	Sigla para compostos isolados
m	Multipleto
Metanol-d_4	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
m/z	Relação massa / carga
Ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
Rf	“Fator de retenção” (Retention factor)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RT	Tempo de Retenção
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
tl	Tripleto largo
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

δ	Deslocamento químico (em ppm)

RESUMO

Palavras Chaves: Rubiaceae, *Psychotria prunifolia*, alcalóides.

Psychotria prunifolia é um arbusto endêmico do cerrado goiano, pertencente à família Rubiaceae e à tribo Psychotrieae. Espécies do gênero *Psychotria* são conhecidas pelo potencial citotóxico de seus extratos e frações, como exemplo, em estudos para câncer, bem como pela presença de alcalóides indólicos não-monoterpênicos e iridóides. Os alcalóides são também usados como marcadores quimiotaxonômicos no auxilio da classificação das espécies deste gênero e nos subgêneros Psychotria e Heteropsychotria.

O presente trabalho visa ao estudo fitoquímico das raízes de *P. prunifolia*, ao estudo das transformações químicas de dois dos metabólitos obtidos e a avaliação das atividades antioxidante e moluscicida de extratos brutos de raízes, caules e folhas. O fracionamento por cromatografia em coluna do extrato bruto das raízes seguido de sucessivas cromatografias em camada preparativa levou ao isolamento de cinco compostos: o sitosterol (LCPP-1), um derivado benzidenona (LCPP-2) ainda não descrito para esta família, e três alcalóides do tipo β-carbolínico (LCPP-3, LCPP-4 e LCPP-5), dos quais um deles é inédito (LCPP-4). O fracionamento ácido-base permitiu o isolamento da estrictosamida (LCPP-6), alcalóide já isolado das folhas desta espécie e de outras espécies deste gênero.

Para dois dos alcalóides isolados (LCPP-3 e LCPP-4) foram observadas alterações nos seus espectros de RMN de ^{1}H, ^{13}C, HSQC e HMBC, ao longo do tempo, que sugerem a transformação química de LCPP-3 para LCPP-4 e LCPP-5.

Os extratos etanólicos da raiz, caule e folhas reagiram com o radical DPPH levando a uma perda de 50% na absorbância em concentrações de 145, 162,4 e 231,6 ppm, respectivamente. O ensaio moluscicida com o extrato da raiz apresentou uma concentração letal para 90% dos moluscos superior a 400 ppm , o que indica uma não atividade moluscicida.

ABSTRACT

Keywords: Rubiaceae, *Psychotria prunifolia*, alkaloids.

Psychotria prunifolia is an endemic shrub from the Goias “cerrado” that belongs to the Rubiaceae family and to the Psychotrieae tribe. Extracts and fractions from *Psychotria* genera species are known for its cytotoxic potentials, and a wide range of studies have reported anticancer activity as well as the presence of non-monoterpenic indole alkaloids and iridoids. Alkaloids are also used as chemotaxonomic indicators by means of classification of the species from such genera and the Psychotria and Heteropsychotria subgenera.

This study focuses on the phytochemical assay of the *P. prunifolia* roots, the chemical transformations of two of the metabolites obtained, and the evaluation of antioxidant and molluscicidal crude roots, stems and leaves extracts activity. Column chromatography fractioning of crude roots extract and submission to successive layer preparative chromatography led to the isolation of five compounds: sitosterol (LCPP-1), a benzidenone derivative (LCPP-2) not yet described for this family, and three β-carboline alkaloids (LCPP-3, LCPP-4 and LCPP-5). Alkaloid LCPP-4 is unpublished and the others have already been isolated from the leaves of this species. The acid-base fractionation allowed the isolation of strictosamide (LCPP-6), a well known alkaloid isolated from the leaves of this species and other species of this genus.

Chemical transformation of the alkaloid LCPP-3 to LCPP-4 have been observed through their ^{1}H, ^{13}C, HSQC, and HMBC NMR-spectra. Some suggestions for these transformations were proposed.

Crude extract from roots, branches and leaves were evaluated using the DPPH radical scavenging method, and a 50% loss in absorbance was observed in 145, 162.4, and 231.6 ppm concentrations, respectively. The molluscicidal assay with the crude roots extract of showed no activity.

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

1.1 Plantas Medicinais

O estudo das plantas medicinais está relacionado com a evolução do homem na terra. O homem pré-histórico observava o comportamento instintivo dos animais no momento de curar suas feridas e de tratar suas enfermidades. Isto permitiu verificar quais plantas teriam, ou não, efeito medicinal (ALONSO, 1937).

Com o passar dos anos, estas observações contribuíram para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, que muitas vezes, simbolizavam o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e das grandes cidades brasileiras, estas plantas são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais, tendo assim, relevante valor em nossa sociedade (MACIEL, 2002).

O conhecimento popular e a grande diversidade da flora brasileira, aliados à evolução das ciências instigaram ao estudo destas plantas por diversas áreas do conhecimento. Como por exemplo, temos a fitoquímica, que trabalha no isolamento, purificação e caracterização dos metabólitos secundários (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006), os quais são as substâncias responsáveis pela ação terapêutica destas plantas.

Atualmente, sabe-se que as plantas medicinais são ricas fontes para obtenção destes metabólitos secundários, que desempenham papéis importantes na área medicinal, tais como:

- Fitofármacos, principalmente daqueles compostos cuja síntese é difícil, senão impossível. Como exemplo, temos os glicosídeos cardiotônicos obtidos de espécies de *Digitalis*, usados no tratamento da insuficiência cardíaca (FLOGLIO, 2006);
- Protótipos ou modelos para fármacos sintéticos, que desempenham atividades farmacológicas semelhantes às originais, tais como a procaína e os anestésicos similares à cocaína;
- Derivatizados, modificados por métodos químicos ou biológicos a fim de produzir drogas potentes. Por exemplo, a modificação do estigmasterol, que ocorre em abundância no óleo de soja, permite a produção

em larga escala da hidrocortisona ou de corticosteróides afins, compostos estes que ocorrem em pequenas quantidades na natureza (ROBBERS, 1997).

As plantas medicinais, então, são objeto de estudo de diversos pesquisadores na busca por metabólitos secundários bioativos ou como protótipos no processo de descoberta de novos fármacos (YUNES; CALIXTO, 2001).

1.2 Metabólitos Secundários

Os metabólitos secundários são obtidos através do metabolismo animal ou vegetal. O metabolismo pode ser definido como o conjunto de reações químicas (designadas como anabólicas, catabólicas ou biotransformação) que continuamente estão ocorrendo em cada célula de um organismo. Estas reações visam, primeiramente, ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula: ATP (energia), NADPH (poder redutor) e biossíntese das substâncias essenciais a sua sobrevivência (macromoléculas celulares). Os compostos químicos formados, degradados ou transformados são denominados de metabólitos (SIMÕES *et al*, 1999). Estes são historicamente agrupados em duas grandes categorias: os metabólitos primários (ou princípios imediatos) e secundários (ou princípios ativos) (MUÑOZ, 1996).

Os metabólitos primários são aqueles considerados imprescindíveis à vida, ao crescimento, ao desenvolvimento e reprodução de um organismo. Entre eles estão os ácidos nucléicos, nucleotídeos, proteínas, aminoácidos, lipídios e carboidratos (OLIVEIRA; MARTINS,1998).

Os metabólitos secundários são aqueles não necessários para que o organismo vegetal possa nascer, crescer, desenvolver-se e reproduzir-se. Porém, são eles que participam e possibilitam a interação do organismo com o meio em que vivem. Grande parte destes metabólitos é produzida pelas plantas em resposta direta a um estímulo ambiental, servindo de proteção contra o agente causal (OLIVEIRA; MARTINS, 1998). Como por exemplo, esta proteção pode estar na defesa contra herbívoros, microorganismos e contra os raios UV (SIMÕES *et al*, 1999). Estas substâncias podem também ter outras funções, tais como: alelopatias e atrair agentes polinizadores ou animais dispersores de sementes.

A composição destes componentes secundários nas plantas medicinais é influenciada por três fatores principais: hereditários (composição genética), ontogênicos (estágio de desenvolvimento) e ambientais. Os efeitos genéticos, por exemplo,

são as plantas do mesmo gênero que, apesar de, se assemelharem fenotipicamente (em estrutura física), podem apresentar, quantitativamente, uma composição genética diferente. Exemplo disto são espécies de *Eucalyptus* que apresentam grandes variações no teor de eucaliptol (metabólito secundário) e nos componentes afins nos óleos voláteis (ROBBERS *et al*, 1997; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Em relação à ontogenia sabe-se que a concentração dos princípios ativos nas plantas aumenta com a idade desta e pode variar também de acordo com o seu estágio de desenvolvimento. Existem plantas em que o teor de compostos bioativos é alterado com o período da estação. Na *Papaver somniferum*, por exemplo, o teor de morfina é mais alto duas ou três semanas após a floração. Se for colhida antecipadamente, predominarão outros alcalóides, como a tebaína e a codeína; colhendo-se tardiamente, a morfina se decomporá (ROBBERS, *et al*, 1997).

Entretanto, são os fatores ambientais como o solo, o clima, a flora local, e os métodos de cultivo, os maiores responsáveis pela alteração da composição dos metabólitos secundários. Por exemplo, muitas plantas que contém alcalóides acumulam concentrações maiores desses componentes nas regiões úmidas do que nas regiões semi-áridas; isso, porém, pode estar relacionado com o solo, que em geral é pobre em nitrogênio nas regiões áridas, sendo necessárias boas fontes de nitrogênio para que haja boa produção de alcalóides (ROBBERS, *et al*, 1997).

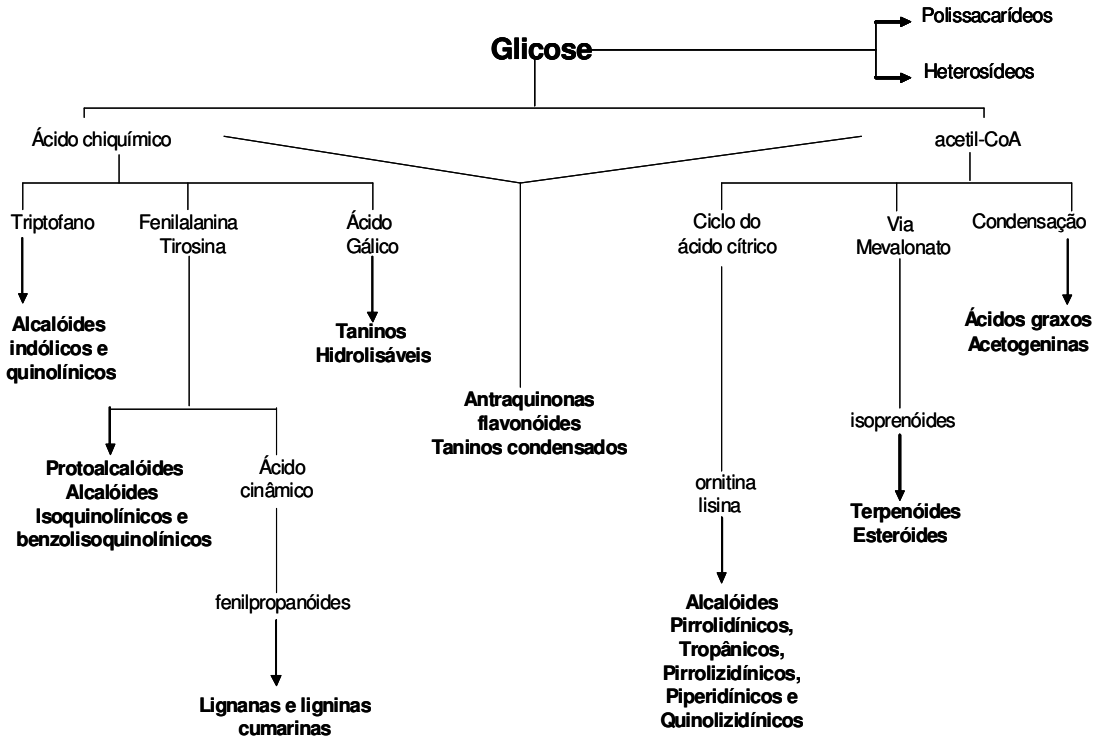
Ainda dentro dos fatores ambientais, a forma como o material vegetal é tratado, possibilita-o a uma menor ou maior riqueza de princípios ativos, bem como alterações moleculares destas estruturas (COSTA, 2002). Diniz (2006) relata em estudos que as técnicas usadas na coleta, secagem e armazenamento de plantas podem alterar os teores dos compostos bioativos, podendo promover rearranjos, oxidações e reduções destas moléculas.

Além destes fatores, os processos que envolvem a extração e isolamento dos metabólitos de uma planta também podem apresentar riscos de reações químicas, e consequentemente, formação de artefatos químicos. Di Stasi (1996) relata que o processo de extração por solvente, preferencialmente utilizado, deve ser a extração por percolação a frio. Apesar de este processo requerer um volume maior de solvente, ele apresenta menores riscos de transformações químicas, que em um sistema Soxhlet, por exemplo, onde a planta é submetida a temperaturas mais altas.

A importância de se obter estruturas químicas naturais oriundas do metabolismo das plantas, sem terem sofrido transformações no decorrer dos processos de sua obtenção, é muito grande. Quando se tem um produto natural de origem vege-

tal, este terá atividades importantes para a planta, e geralmente, poderá estar associado a atividades terapêuticas nos seres humanos. Um exemplo disto, já citado anteriormente, são os glicosídios cardiotônicos, que devido à dificuldade de síntese, são obtidos diretamente de espécies de *Digitalis*. Portanto, ao conhecer os metabólitos secundários e as suas possíveis rotas biossintéticas, é possível ao homem interferir racionalmente sobre o organismo produtor, de forma a direcionar a sua produção (SIMÕES *et al*, 1999).

Por fim, os produtos naturais oriundos do metabolismo secundário podem ser distinguidos em cinco classes principais, com base na sua origem biossintética (Fluxograma 1-1): terpenóides (diterpenos, triterpenos e carotenóides), esteróides, compostos fenólicos (taninos condensados e hidrolisáveis, fenil propanóides, flavonoides, lignanas, etc.), policetídeos (ácidos graxos e acetogeninas) e alcalóides (OLIVEIRA; MARTINS, 1998; ALMEIDA, 1993; SOUSA *et al*, 2007).



Fluxograma 1-1 – Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.
(SIMÕES *et al*,1999).

Dentre os metabólitos secundários, é na classe de alcalóides que se encontra a maior distribuição de compostos naturais ativos (DI STASI, 1996). Correspondendo a cerca de 20% das substâncias naturais descritas e possuindo uma variedade estrutural comparável a dos terpenóides, os alcalóides são, consequentemente, o

maior grupo de metabólitos secundários de interesse de pesquisadores e de indústrias farmacêuticas (BOTH, 2005) (Figura 1-1).

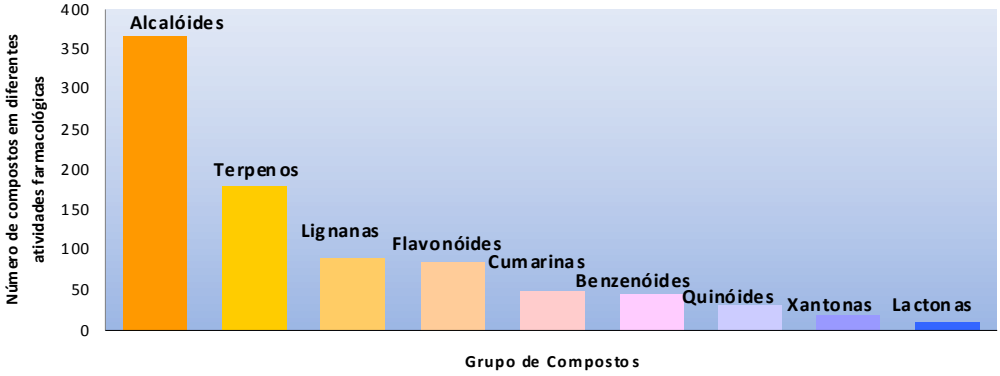


Figura 1-1 – Distribuição de substâncias naturais ativas de espécies lenhosas, nas classes químicas de compostos secundários (DI STASI, 1996).

1.3 Alcalóides

O termo alcalóide é linguisticamente derivado da palavra árabe "*al-quali",* denominação vulgar de uma planta, da qual a soda (que possui propriedades alcalinas) foi originariamente obtida. Estes compostos são nitrogenados, farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente nas angiospermas. Na sua grande maioria, possuem caráter alcalino, exceto nas colchicinas, piperinas, oximas e alguns sais quaternários como o cloridrato de laurifolina (SIMÕES, *et al*, 2001).

Os alcalóides são divididos em vários grupos de acordo com a sua estrutura química e rota biossintética (Fluxograma 1-1). Breitmaier (1990) divide os alcalóides em: Piperidínicos (1), piridínicos (2), pirrolidínicos (3), tropânico (4), izidínicos (5), quinolizidínicos (6), indólicos (7), quinolínicos (8), isoquinolínicos (9), imidazólicos (10), alcalóides esteroidais (11), alcalóides desprovidos do elemento químico nitrogênio como heteroátomo, contido num ciclo (12) (Figura 1-2).

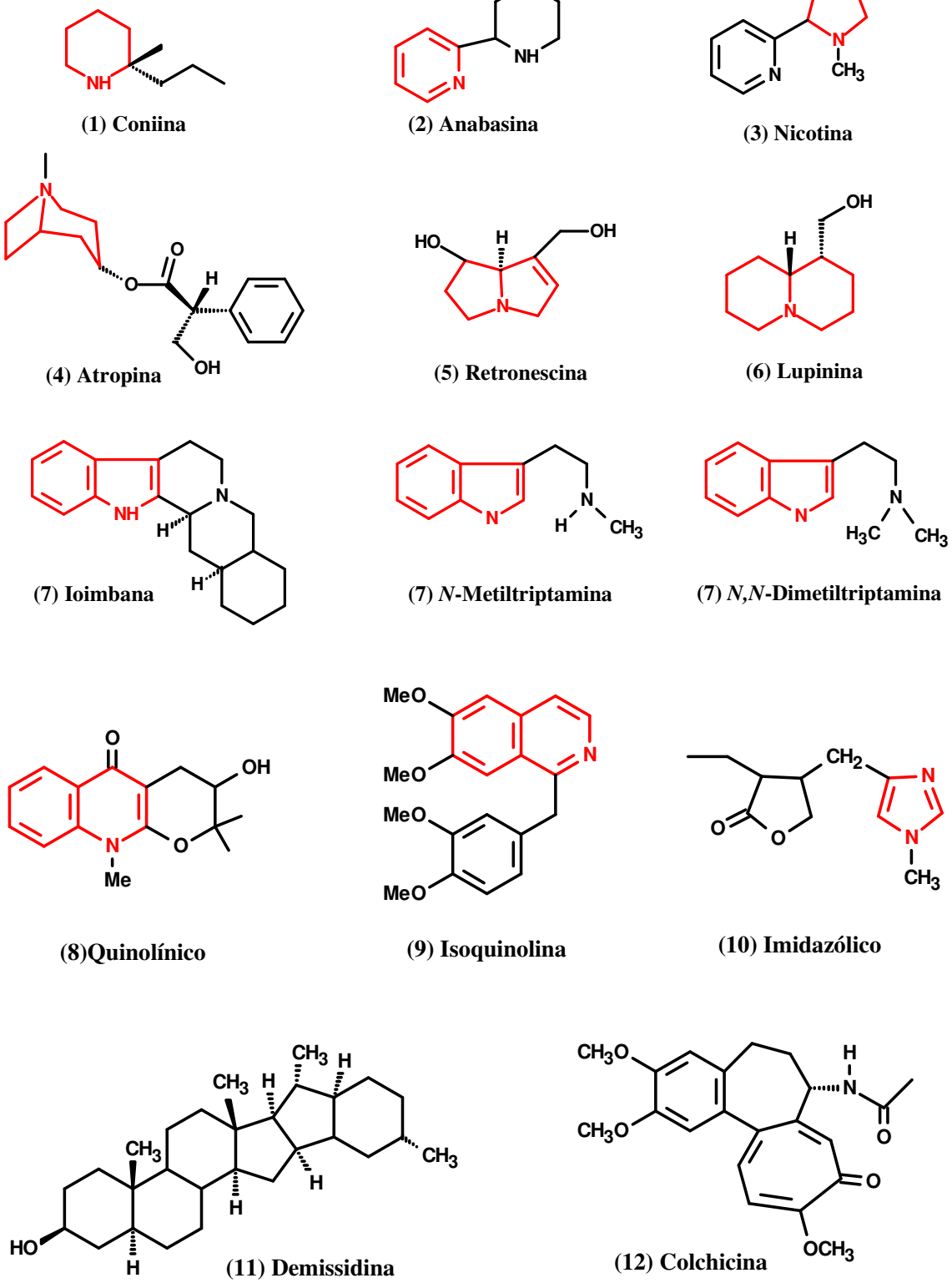


Figura 1-2 – Exemplos de alcalóides pertencentes a diferentes classes, cujos núcleos encontram-se em vermelho.

No reino vegetal, os alcalóides encontram-se distribuídos em diversas famílias, destacando-se Apocinaceae, Solanaceae, Papaveraceae, Loganiaceae e Rubiaceae. Esta ultima se caracteriza pela produção de alcalóides indólicos, quinolínicos e isoquinolínicos (PELLETIER, 1970).

1.4 A família Rubiaceae

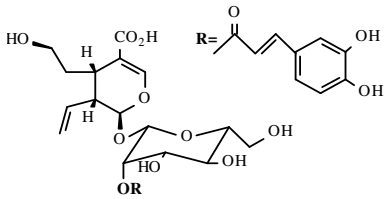
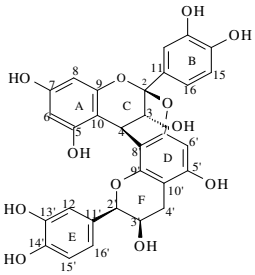
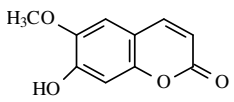
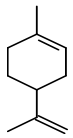
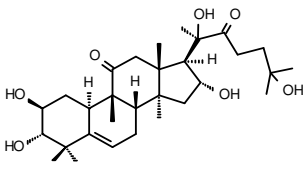
A família Rubiaceae é a quarta maior das dicotiledônias, após Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae, com aproximadamente 650 gêneros e 13.000 espécies (DELPRETE, 2004). Segundo Bremer *et al* (1995) e Rova *et al* (2002), a Rubiaceae se subdivide em três subfamílias: Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae. Esta última se distribuiu em 15 tribos, sendo a tribo Psychotrieae pertencente a esta subfamília (Fluxograma 1-2) (LIBOT *et al*., 1987).

Representada por árvores, arbustos e ervas, a família Rubiaceae encontra-se distribuída, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo, concentrando-se em 30% na América do Sul (DELPRETE, 2004; NASCIMENTO, 2005).

No Brasil, a família Rubiaceae possui aproximadamente 2.000 espécies divididas em 110 gêneros, amplamente distribuídos nos ecossistemas do Cerrado, Floresta Amazônica, Floresta Atlântica, Caatingas e Restingas (DELPRETE, 1998; SILVA *et al*., 2006; NASCIMENTO, 2005).

A família é conhecida devido à importância econômica e terapêutica de suas espécies, sendo utilizadas para diversos fins medicinais em todo mundo (CARDOSO *et al*., 2004; SILVA *et al*., 2006). Estudos de espécies desta família revelaram a presença de uma grande diversidade de metabólitos secundários (CARDOSO *et al*., 2004), tais como iridóides (MOURA *et al*., 2006), alcalóides (HENRIQUES *et al*., 2004), antraquinonas (LING *et al*., 2002), flavonóides, derivados fenólicos, triterpenos, diterpenos, cumarinas (LUCIANO *et al*., 2004), sendo que todos eles apresentam alto potencial biológico (Tabela 1-1) (CARDOSO *et al*, 2004). As atividades biológicas dos alcalóides de Rubiaceae, incluindo os do gênero *Psychotria*, são apresentadas na Tabela 1-2.

Tabela 1-1 – Metabólitos com potencial biológico isolados de espécies da família Rubiaceae.

Metabólitos	Atividades	Espécies	Referências
Classe: Seco-iridóide  Ex: Albosídeo IV	Antifúngico Antitumoral	*Chiococca alba*	MOURA, e*t al*, 2006
Classe: Flavonóide  Ex: Proantocianidinas	Antioxidante Extrato Acetato de Etila apresentou atividade Moluscicida	*Amaioua guianensis*	OLIVEIRA, 2009
Classe: Cumarina  Ex: Escopoletina	Antioxidante Antileucêmico Inibidor da acetilcolinesterase	*Palicourea rigida*	SIANI, *et a*l, 2008 VANIOLLI, *et al*, 2008
Classe: Terpenos  Ex (1): Limoneno	(1) Atividade Larvicida	(1) *Genipa americana*	(1) JUNIOR, et al, 2008; (1) BARBOSA, 2008.
 Ex (2): Diidrocucurbitacina	(2) Atividades: Antitumoral, Antiinflamatória, Citotóxica, Hepatoprotetora, Antimicrobiana	*(2) Richardia brasiliensis* Gomes	(2) SOUZA, 2009; (2) VALENTE, 2004.

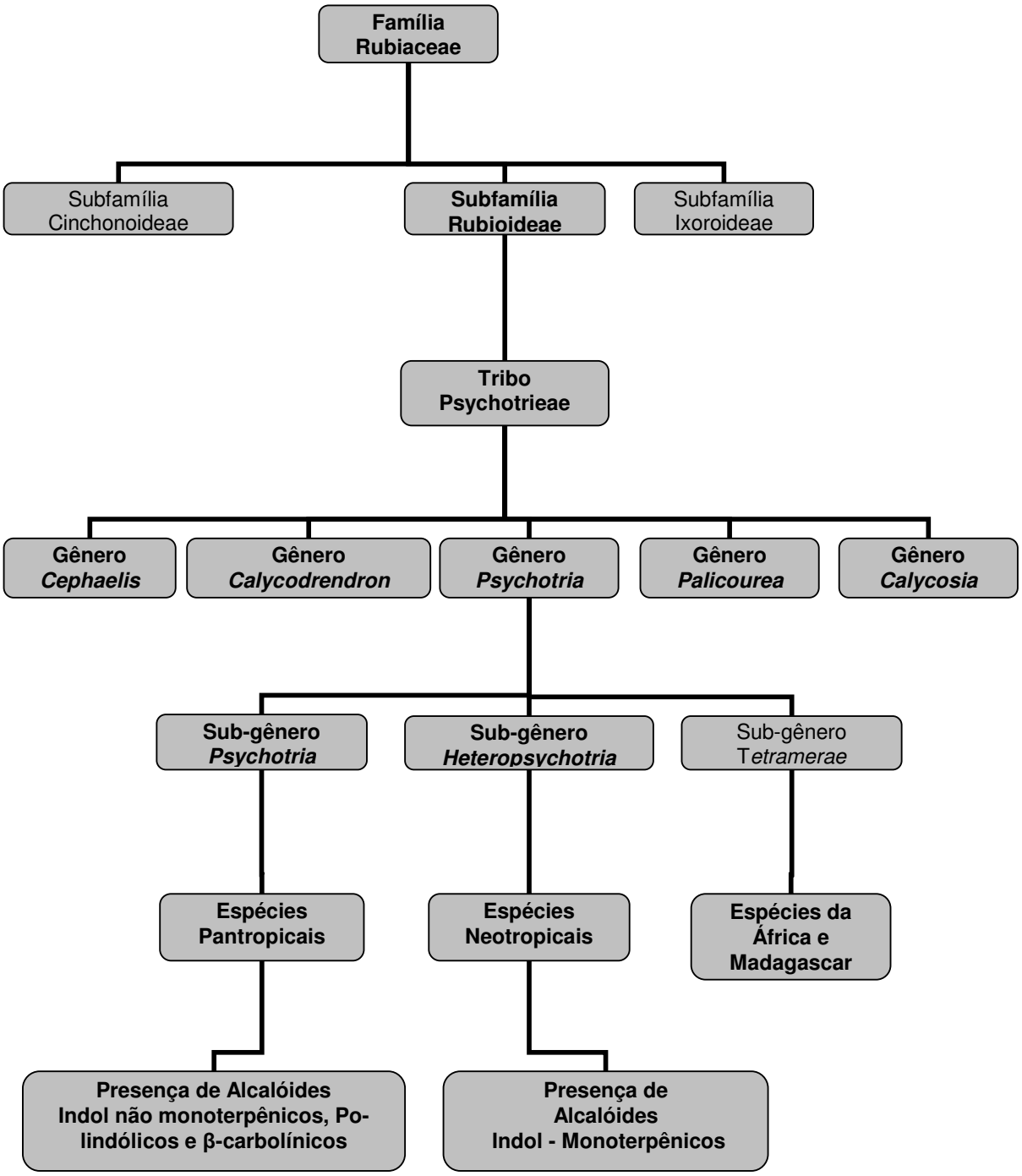
1.5 O Gênero *Psychotria*

Dentre os 50 gêneros pertencentes à tribo Psychotrieae, *Psychotria* é um dos maiores gêneros presentes nas angiospermas, compreendendo cerca de 1000 a 1650 espécies em todo o mundo (LOPES, *et al*, 2004; NEPOKROEEFF *et al*, 1999 e KERBER *et al*, 2000).

Espécies de *Psychotria* são encontradas predominantemente na forma de arbustos em florestas tropicais e, menos frequente na forma de árvores, lianas, erva e epífitas. Este gênero e os demais da tribo Psychotrieae são caracterizados por pequenas flores esbranquiçadas que podem ser polinizadas por diversos agentes polinizadores, o que resultaria em várias linhagens neotropicais. Isto seria uns dos fatores para a grande diversidade e complexa taxonomia que envolve espécies do gênero e desta tribo (NEPOKROEEFF *et al*, 1999).

Devido à dificuldade de delimitações de suas fronteiras somada a esta complexa taxonomia, a classificação do gênero *Psychotria* se torna bastante complicada. Petit (1964, 1966) e Steyermark (1972) dividem este gênero em três subgêneros: *Psychotria*, *Heteropsychotria* e *Tetramerae* (Fluxograma 1-2). Esta divisão é baseada nas características morfológicas e na distribuição geográfica das espécies (TAYLOR, 1989, 1996 e LOPES *et al*, 2004)

O gênero *Psychotria* é conhecido pela presença de alcalóides cujo aminoácido de origem é o triptofano, sendo na sua maior parte, indol não-iridóidicos (não-monoterpênico), com destaque para o grupo dos triptamínicos (*N, N*-dimetiltriptamina, *N*-metiltriptamina) (Figura 1-2), polindólicos (ou derivados metiltriptamínicos) (Figura 1-3) e β-carbolinas (tetraidro-β-carbolina) (Figura 1-4) (RIVIER; LINDGREN, 1972; HEMINGWAY; PHILIPSON, 1980; VEROTTA *et al*, 1998 e 2002; JANNIC *et al*, 1999). Estas classes de alcalóides são comumente distribuídas no subgênero *Psychotria*. Entretanto, alcalóides indol-iridóides (indol-monoterpênicos) glicosilados ou não, podem ser também relatados, principalmente, no subgênero *Heteropsychotria.* Logo, a classe de alcalóides mostra-se útil também, como marcadores quimiotaxônomicos para o auxílio na definição de espécies deste gênero (LOPES *et al*, 2004).



Fluxograma 1-2 – Subdivisão do gênero *Psychotria*.

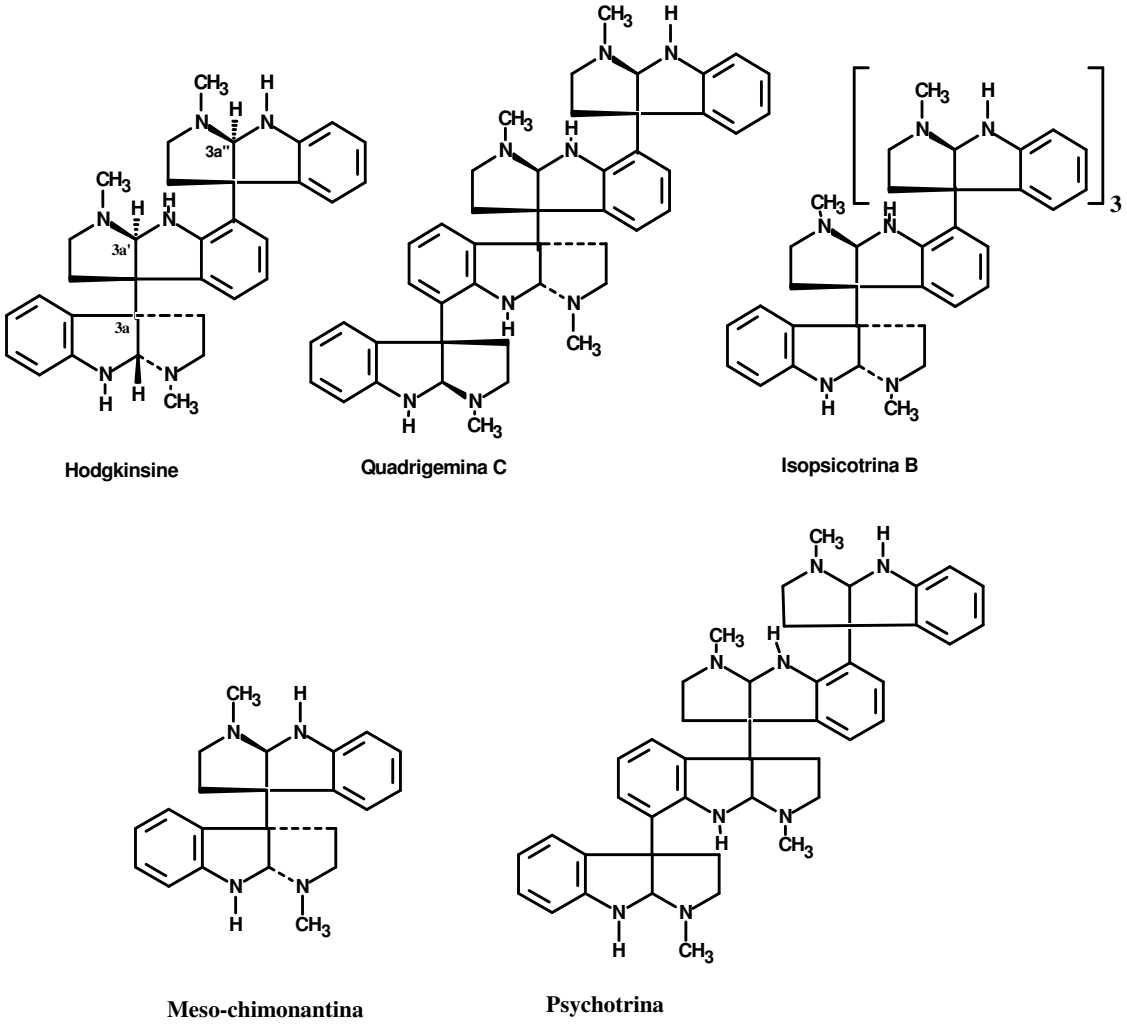


Figura 1-3 – Alcalóides polindólicos.

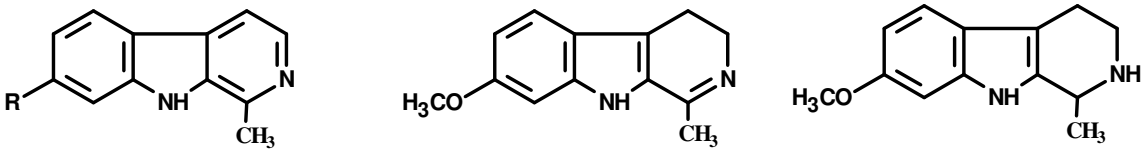
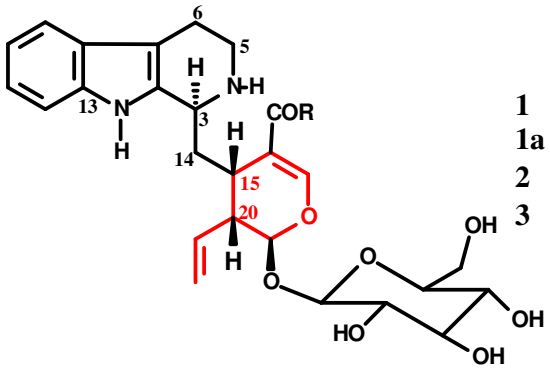


Figura 1-4 - Alcalóides β-carbolínicos.

O gênero *Psychotria* está estreitamente relacionado aos gêneros: *Palicourea* (NASCIMENTO, 2005), *Calycodrendron, Calycosia* (LOPES, 1998) e *Cephaelis* (BOTH, 2005) (Fluxograma 1-2).

Estudo químico de espécies de *Palicourea* apresentaram a ocorrência de alcalóides polindólicos (isolados de *P. fendleri*), indol-monoterpênicos (isolados de *P. domingensis* e *P. alpina*) (KERBER, 1999; BOTH, 2005), polipirrolidinoindólicos e derivados da estrictosidina (isolados de *P. marcgravii* Muell. Arg. e *P. alpina* Sw) (VENCATO, et al., 2004; LIÃO, et al., 2006; SANTOS, 1999).

Derivados da Estrictosidina



1 R=OH; ácido 3 *epi*-estrictosidinico
1a R=OCH_3; éster metil estrictosidínico
2 R=CH_3; cetona estrictosidínico
3 R=OH; ácido estrictosidínico

Figura1-5 - Acalóides isolados de *Palicourea coriacea*. Em vermelho, a estrutura monoterpênica.

Em relação ao gênero *Cephaelis* relata-se a presença de alcalóides tetraidroisoquinolino-monoterpênicos, sendo o único gênero pertencente à tribo *Psychotrieae* capaz de sintetizar este tipo de alcalóide cuja origem é o aminoácido tirosina. Autores como Robbrecht (1998) separam este gênero do *Psychotria*, enquanto que outros como Taylor (1997) não encontram evidências suficientes para considerar *Cephaelis* como gênero distinto (BOTH, 2005).

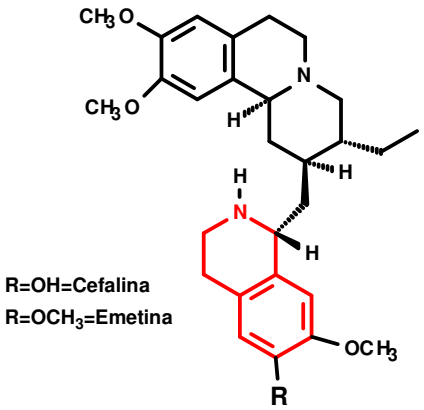
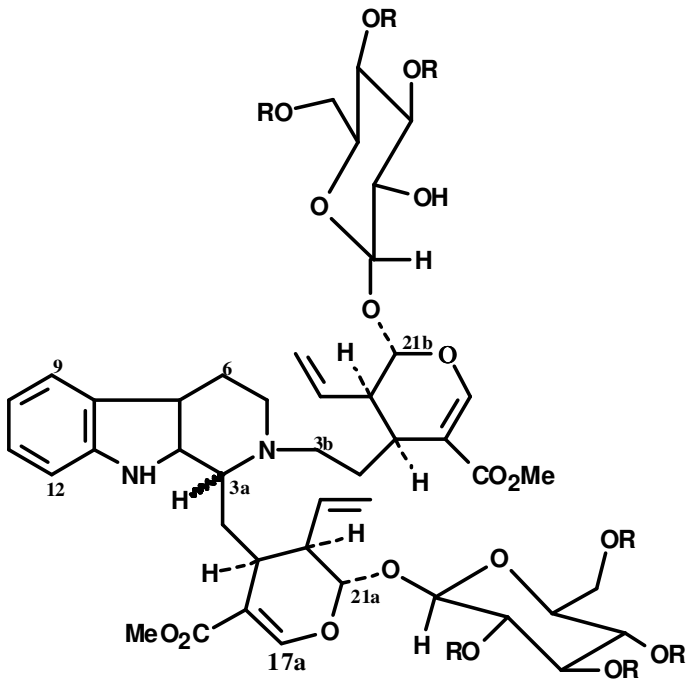


Figura 1-6 – Alcalóide isolados de *Cephaelis ipecacuanha* (também denominada de *Psychotria ipecacuanha*). Em vermelho, a estrutura tetraidroisoquinolínica.

A presença de alcalóides e outras substâncias bioativas em conjunto ao uso terapêutico de espécies do gênero *Psychotria* têm despertado interesse de pesquisadores em todo o mundo.

No Brasil, estudos relatam a presença de espécies de *Psychotria* no cerrado, florestas tropicais e subtropicais, tais como, a *Psychotria bahiensis, P. colorata, P. virids, P. ipecacuanha* e *P. prunifolia,* entre outras.

De *P. bahiensis*, arbusto amplamente distribuído em florestas tropicais e subtropicais (SMITH *et al*, 1956), foram isolados dois novos alcalóides com anel indol-monoterpênico, a bahienosida A, bahienosida B (Figura 1-7) (PAUL, *et al*, 2003). Compostos já conhecidos como: angustina, estrictosamida, 5 α-carboxystrictosidina, (E) e (Z)-vallesiachotamina também já foram isolados desta espécie (PAUL, *et al*, 2003).



Bahienoside A **H-3aβ** **R=H**
Bahienoside B **H-3aα** **R=H**

Figura 1-7 – Alcalóides isolados de *Psychotria bahiensis*.

Em relação a *P. colorata* sabe-se que é tradicionalmente utilizada por cablocos da Amazônia para o tratamento de dor abdominal e dor de ouvido (VEROTTA *et al* , 1998). Os extratos alcaloídicos das folhas e flores desta espécie apresentaram atividade analgésica (ELISABETSKY *et al*, 1995). Investigações fitoquímicas realizadas a partir da fração alcalóidica levaram à identificação dos alcalóides hodgkinsina, quadrigemina C, psychotridina, psychotridina C, quimonantina, isocalicantina, calicantina e 3a (R), 3a' (R)-dideidroisocalicantina (Figura 1-3) (ELISABETSKY *et al*, 1997; VEROTTA *et al*, 1998; AMADOR *et al*, 2000). Estudos feitos, *in vivo* e *in vitro*, com os três primeiros compostos comprovaram a atividade analgésica destes alcalóides (AMADOR *et al*, 2000; LEBSOCK *et al*, 2002; AMADOR *et al*, 2001).

Outra espécie bastante conhecida por sua propriedade alucinógena é a *P. viridis* (CARLINI, 2003; BARBANOJ, *et al*, 2008). Pequenas tribos indígenas localizadas a sudeste do rio Amazonas usam esta espécie de *Psychotria* associada a raízes de outra planta do gênero *Banisteriopsis* (SANTOS *et al,* 2007; TEPPER, 2008), a fim de produzirem uma bebida comumente utilizada em rituais, denominada no Peru de ayahuasca (RIVIER; LINDGREN, 1972). Esta bebida tem sido usada em rituais religiosos no Brasil, conhecidos como "A união do vegetal" e o "Santo Daime"

(TUPPER, 2008). Santos (2007) e River; Lindgren (1972) relatam que estudos fitoquímicos realizados a partir da ayahuasca levaram a identificação dos alcalóides β-carbolínicos: harmina (22 – 62% presente na mistura), harmol, harmalina, tetraidroharmina, como também dos alcalóides indólicos: *N,N*-dimetiltriptamina (20 - 41% presente na mistura) e *N*-metiltriptamina (FREEDLAND; MANSBACH, 1999) (Figura 1-2 e Figura 1-4) .

A espécie *P. ipecacuanha*, encontrada em florestas tropicais brasileiras, é bastante utilizada por brasileiros como expectorante, amebicida e emético (provocador de vômito) (GARCIA *et al*, 2005; OLIVEIRA e MARTINS,1998). Desta *Psychotria* foram isolados os alcalóides emetina e cefalina (Figura 1-6) (NOMURA *et al*,), que foram a base para novas fórmulas farmacêuticas.

A pesquisa fitoquímica de espécies deste gênero, no estado do Rio Grande do Sul, levou a identificação de vários alcalóides bioativos, principalmente os do tipo indólico (Tabela 1-2). Fragoso (2007) identificou a presença de dez espécies do gênero *Psychotria* nesta região: *P. birotula, P. brachyceras, P. brachypoda* (cujo binômio válido atualmente é *P. umbellata*)*, P. carthagenensis, P. kleinni, P. leiocarpa, P. myriantha, P. nitidula, P. suterella* e *P. teneior* (Tabela 1-2).

Tabela 1-2 - Alcalóides isolados de espécies de *Psychotria* encontradas no estado do Rio Grande do Sul.

Espécies de *Psychotria*	Alcalóides isolados	Atividades	Referências
P. umbellata (antigamente denominada de Rudgea brachypoda, Psychotria brachypoda e Palicourea brachypoda	Psicolatina (composto majortário e inédito) 3,4-deidro-18,19-β-epoxi-15,20-epi-umbelatina; N-[1-(2-α-hidroxipropil)]-umbelatina; N-[1-(2-β-hidroxipropil)]-umbelatina;	Ansiolítica Antidepressiva Analgésica Antidepressiva	BOTH; 2005/ 2006 KERBER *et al*, 1999 FRAGOSO *et al*, 2008
P. birotula	Ác. Estrictosidínico Meso-Chimonantina Chimonantina	Analgésica	PIRES *et al*,2006 RICARDO *et al*, 2008 VEROTTA *et al*, 2002
P. brachyceras	Brachicerina	_____	KERBER (2001)
P. leiocarpa	Emetina N;β-D-glicopiranosilvincosamida	Extrato bruto com potencial alelopático	LOPES (1998) CORRÊA (2008) HENRIQUES (2003)
P. myriantha	Ác. Estrictosidínico Estrictosamida Miriantosina (inédito)	Extrato alcalóidico apresentou atividade analgésica, antiinflamatória, inibidora da acetilcolinesterase	FARIAS (2009) FARIAS (2006) SIMÕES-PIRES 2007
P. suterella	Lialosida Naucletina Estrictosamida	_____	VAN DE SANTOS L. *et al*, 2002

1.6 A espécie *Psychotria prunifolia*

P. prunifolia (Figura 1-8) é definida como arbusto de 1-1,5 m, dicotomicamente ramificado, com folhas cartáceas discolores e brácteas verdes claras (Exsicata depositada no Herbário da UFG sob nº 40.478). Ela é encontrada nos estados de Goiás e Tocantins, em estratos vegetais do tipo cerradão, sendo sua taxonomia descrita abaixo (FARIA, 2009; LOPES et al, 2004; GEMTCHÚJNICOV, 1976):

Reino: Plantae

Divisão: Spermatophyta

Sub-divisão: Magnoliophytina

Classe: Magnoliatae

Subclasse: Asteridae

Ordem: Rubiales

Família: Rubiaceae

Subfamília: Rubioideae

Tribo: Psychotrieae

Gênero: *Psychotria*

Espécie: *Psychotria prunifolia*

Figura 1-8- *Psychotria prunifolia*

O estudo anterior realizado a partir do extrato etanólico bruto das folhas de *P. prunifolia* levou ao isolamento, purificação e elucidação estrutural de cinco alcalóides (Figura 1-9), sendo quatro deles inéditos, apresentando estruturas β-carbolínica e tetraidro-β-carbolínica. Testes *in vitro* do extrato etanólico das folhas mostraram promissoras atividades citotóxica e antitumoral. Nos testes de atividade antibacteriana e antioxidante o extrato foi considerado pouco ativo, enquanto que no teste de atividade antifúngica apresentou atividade moderada. (FARIA, 2009).

Não há relatos na literatura sobre o estudo fitoquímico das raízes desta espécie.

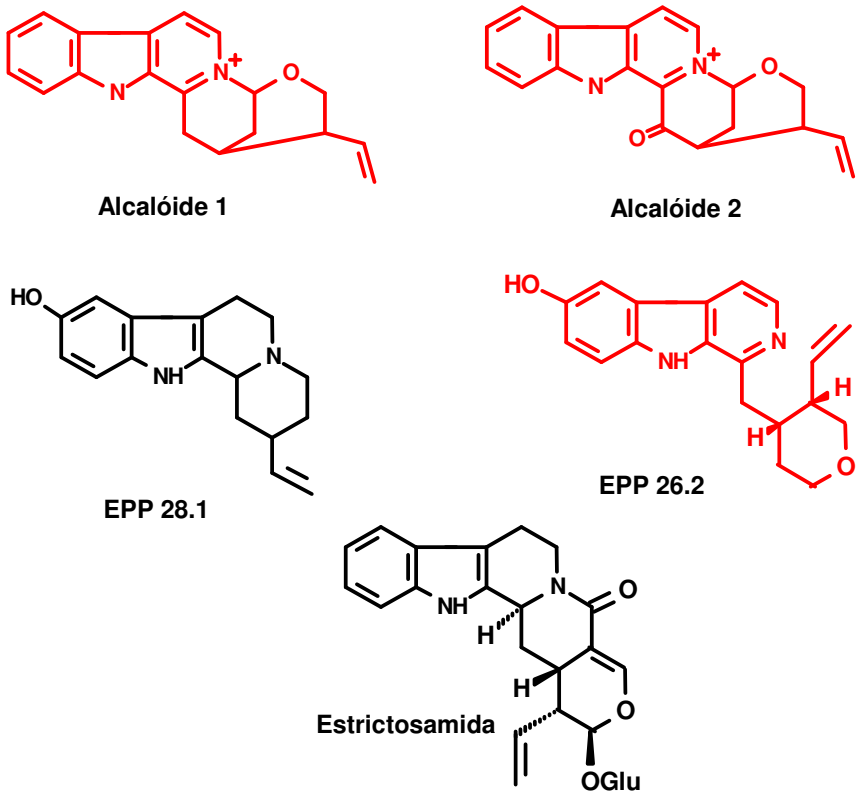


Figura 1-9 - Compostos já isolados das folhas de *P. prunifolia.* Em vermelho, os alcalóides β-carbolínicos e em preto, os alcalóides tetraidrobetacarbolínicos.

1.7 Atividade Biológica

1.7.1 Atividade Moluscicida

A esquistossomose é uma doença parasitária em contínuo crescimento (BILIA *et al*, 2000), endêmica, afetando mais de 200 milhões de pessoas em mais de 70 países da África, América do Sul e Oriente Médio (MARSTON e HOSTETTMANN, 1985).

No Brasil, os hospedeiros intermediários do helminto parasito *Schistosoma mansoni*, vetores da doença esquistossomose (barriga d' água), são moluscos do gênero *Biomphalaria*. O *B. glabrata* é a mais importante das espécies brasileiras deste hospedeiro, em decorrência de sua extensa distribuição geográfica, altos índices de infecção e eficiência na transmissão da esquistossomose (SILVA, 2008).

Extratos de plantas são usados para controlar a população de caramujos, com a vantagem de serem menos tóxicos ao meio ambiente que os derivados sintéticos, que se degradam mais lentamente possibilitando a indução de resistência dos caramujos, além de possuírem maior custo e de serem tóxicos a outros organismos vivos (OLIVEIRA, 2009).

Estudos de Bilia *et al* (2000) apontam que extratos de plantas contendo, principalmente, componentes pertencentes à classe de flavonóides, catequinas, triterpenos e derivados de taninos apresentaram atividade moluscicida. Sabendo da presença destas classes na família Rubiaceae (OLIVEIRA, 2009), o ensaio moluscicida para a espécie *B. glabrata* foi realizado a partir do extrato etanólico das raízes de *Psychotria prunifolia.*

1.7.2 Atividade Antioxidante

Os antioxidantes são compostos que atuam estabilizando e/ou desativando os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes (OLIVEIRA, 2009). Estes são espécies instáveis, visto que possuem um número incompleto de elétrons na camada de valência, sendo, portanto, bastante reativos. Sousa *et al* (2007) e Saha *et al* (2004) relatam serem estas espécies reativas os grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como o câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema

imune, diabetes, artrites e disfunções cerebrais. Estudos relatam que compostos fenólicos de plantas (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos condensados, lignanas, ligninas) agem no sequestro destes radicais livres, impedindo a propagação do processo oxidativo (SOUSA *et al* , 2007). Vários métodos são ultilizados para determinar a atividade antioxidante de extratos e substâncias isoladas. No presente trabalho foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos etanólicos das raízes, caules e folhas através da inibição do radical DPPH, visto a presença de substâncias antioxidantes em espécies da família Rubiaceae (OLIVEIRA, 2009).

CAPÍTULO 2
OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo dar continuidade à avaliação da composição química de *Psychotria prunifolia*, através do estudo químico das raízes desta espécie, direcionado ao isolamento, identificação e elucidação estrutural destes compostos. Além disso, realizaremos a avaliação da atividade antioxidante e moluscicida do extrato etanólico das raízes de *P. prunifolia* e comparação da atividade antioxidante do extrato etanólico das raízes, caules e folhas.

CAPÍTULO 3
PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Estudo fitoquímico de *Psychotria prunifolia*

3.1.1 Materiais e Métodos

O material botânico foi seco em estufa de secagem e esterilização Fanem, modelo 315 SE e pulverizado em moinho de facas Marconi.

Para a eliminação do solvente utilizou-se evaporador rotativo, modelo MA 120 da marca Marconi.

A cromatografia em coluna (CC) foi realizada com sílica em gel 60 [0,063 – 0,200 mm (70 – 230 mesh ASTM)] da Merck, em coluna de vidro cujo diâmetro e altura da sílica foram respectivamente 3 cm e 19 cm.

Para as cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) e camada delgada preparativa (CCDP) empregaram-se placas de alumínio (sílica gel 60 F_{254} - Merck), ou placas de vidro. As dimensões das placas de CCDA foram de 3 x 10 cm e 5 x 10 cm, e para as CCDP de 10 x 20 cm. As placas de vidro para CCD e CCDP foram confeccionadas com camada de sílica gel 60 PF $_{254+365}$ da marca Macherey-Nagel, de 0,25mm e 1,00 mm de espessura, respectivamente.

Os solventes utilizados nas CC, CCDP e CCD apresentavam grau de pureza P.A..

Os agentes reveladores empregados nas CCD foram:

▪Luz UV (254 e 365 nm);

▪Reagente de Dragendorff – (LOCK de UGAZ, 1988);

▪MeOH/H_2SO_4 -(FARIA *et al*, 2009);

▪Anisaldeído/ H_2SO_4 – (LOCK de UGAZ, 1988).

Para a elucidação estrutural das substâncias obtidas foram empregadas as seguintes técnicas unidimensionais RMN ^{1}H, RMN ^{13}C e DEPT, e as técnicas bidimensionais COSY, HSQC ($^1J_{CH}$), HMBC ($^{2,3}J_{CH}$). Todos os espectros foram obtidos em espectrômetro (500 MHz para ^{1}H e 125 MHz para ^{13}C) Bruker Avance III 500, localizado no Instituto de Química da UFG. Os deslocamentos químicos foram obti-

dos em ppm, tendo como padrão de referência interna o TMS (tetrametilsilano, δ= 0,0 ppm) em $CDCl_3$ e/ou MeOD.

O espectro de absorção na região do infravermelho foi registrado em espectrofotômetro FTIR da marca Bomem, modelo MB-100, na região de 400 a 4000 cm^{-1}, em pastilha de KBr.

Os dados cristalográficos foram coletados no difratômetro GEMINI, da Oxford Diffraction Ltd. (U.S.A.), utilizando o detector de área Atlas e fonte de raios X convencional Cu-kα monocromatizada por espelho de multi camadas. As análises foram obtidas pelo professor Dr. Ricardo Sabino.

3.1.2 Coleta e identificação do material botânico

A espécie *P. prunifolia* foi coletada no bosque St. Hilaire, UFG Campus samambaia, Goiânia - Go.

A coleta e a identificação do material vegetal foram realizadas sob supervisão do botânico Dr. Piero G. Delprete no dia 7 de dezembro de 2004.

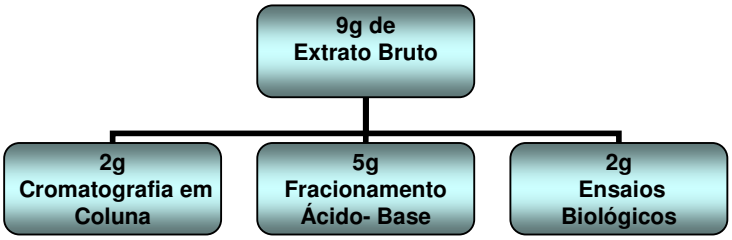
A exsicata encontra-se depositada no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da UFG, sob o número 40.478.

3.1.3 Secagem e Moagem

As raízes de *P. prunifolia* foram secas a 40 ^{o}C em estufa de ventilação forçada e, em seguida, foram pulverizadas em moinho de facas, obtendo-se 150 g de raiz. As etapas de coleta, secagem, moagem e preparo do extrato etanólico foram desenvolvidas pela mestra Emiret Ottoni de Faria (IQ-UFG), que realizou o estudo fitoquímico das folhas de *P. prunifolia*.

3.1.4 Preparação do Extrato Bruto e Metodologias Utilizadas

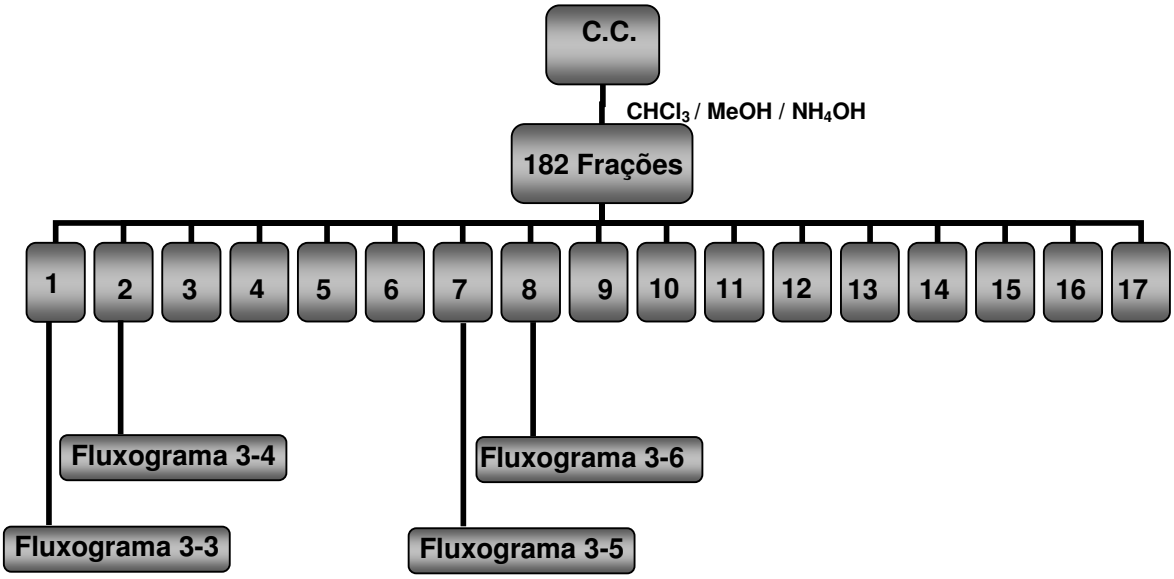
As raízes secas (150g) e pulverizadas foram submetidas à percolação em etanol à temperatura ambiente. A evaporação do etanol foi realizada em evaporador rotativo, resultando em 9g de extrato etanólico bruto, que foi direcionado ao estudo fitoquímico e a ensaios biológicos (Fluxograma 3 -1).



Fluxograma 3 -1 – Estudo do extrato etanólico bruto das raízes de *P. prunifolia*.

3.1.4.1 Cromatografia em Coluna

O extrato etanólico bruto das raízes (2g) de *P. prunifolia* foi submetido a uma separação por coluna cromatográfica (C.C.) em sílica gel 60, usando como sistema eluente $CHCl_3$: MeOH: NH_4OH, em ordem crescente de polaridade. Desta coluna foram obtidas 182 frações (Tabela 3-1), as quais foram reunidas por semelhanças em cromatografia em camada delgada (CCD), resultando em 17 frações reunidas, em ordem crescente de polaridade (Fluxograma 3-2). A partir desta coluna foram obtidos os compostos LCPP-1, LCPP-2, LCPP-3, LCPP-4 e LCPP-5.



Fluxograma 3-2 - Cromatografia em Coluna do extrato etanólico bruto das raízes de *P. prunifolia.*

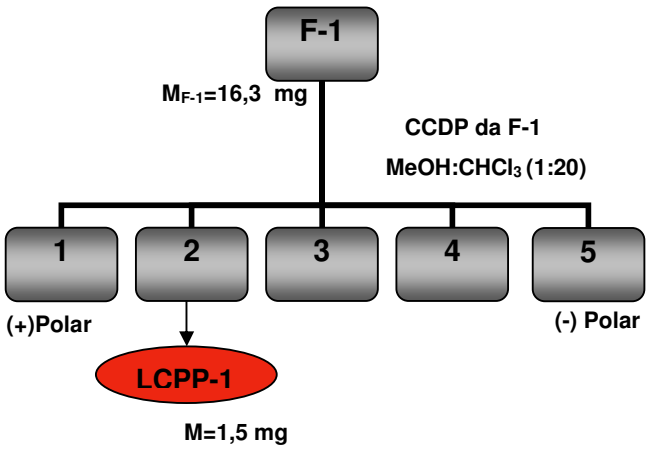
Tabela 3-1 - Frações da C.C. e das frações reunidas

Frações Reunidas	**Frações Correspondentes á C.C.**	**Eluentes**	**Volume Médio(mL)**	**Massas (mg)**
F-1*	1 à 33	Até 3% MeOH / $CHCl_3$	30,1	16,3
F-2*	34 à 38	4% MeOH / $CHCl_3$	28,6	67,5
F-3	39 à 43	4 à 5% MeOH / $CHCl_3$	31,4	8,4
F-4	44 à 62	5 % MeOH / $CHCl_3$	33,3	8,3
F-5	63 à 72	6 à 8% MeOH / $CHCl_3$	29,5	9,4
F-6	73 à 88	8 à 11%MeOH / $CHCl_3$	26,7	35,9
F-7*	89 à 96	11% MeOH / $CHCl_3$	21,1	63,8
F-8*	97 à 110	12 à14%MeOH / $CHCl_3$	28,6	86,6
F-9	111 à 116	14% MeOH / $CHCl_3$	28,6	81,6
F-10	117 à 138	15 à17% MeOH / $CHCl_3$	28,6	305,6
F-11	139 à 142	18% MeOH / $CHCl_3$	28,6	50,2
F-12	143 à 150	18 e 19% MeOH / $CHCl_3$	32,1	63,3
F-13	151 à 159	20 à 24% MeOH / $CHCl_3$	50,0	147,1
F-14	160 à 165	24 à 26% MeOH / $CHCl_3$	45,0	442,4
F-15	166 à 177	26 à 30% MeOH /até 3% NH_4OH / $CHCl_3$	55,5	26,8
F-16	178 à 180	30%MeOH / 3 à 5% NH_4OH / $CHCl_3$	116,6	26,8
F-17	181 e 182	30%MeOH / 5% NH_4OH / $CHCl_3$	150,0	327,2
			Total:	1.725,6

* Frações estudadas

- Estudo da Fração F-1:

A fração F-1, obtida da C.C. (Fluxograma 3-2), foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP), fornecendo cinco frações em ordem decrescente de polaridade, sob sistema MeOH : $CHCl_3$ (1:20). A segunda fração desta CCDP foi denominada de LCPP-1 (Fluxograma 3-3).



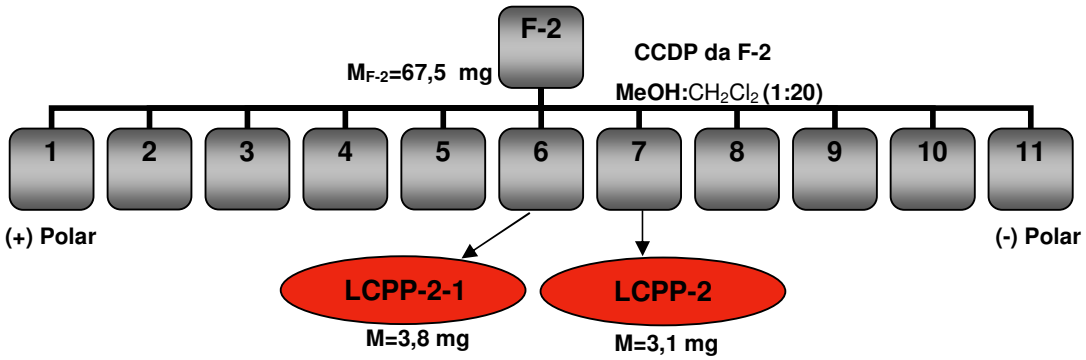
Fluxograma 3-3 - CCDP da Fração F-1 e obtenção do composto LCPP-1.

Tabela 3-2 – CCDP da fração F-1.

Frações Obtidas	Massas	
1	1,2	
2	1,5	**LCPP-1**
3	1,8	
4	1,5	
5	5,2	
	Total: 11,2	

- Estudo da Fração F-2:

Da CCDP da fração F-2, obtida a partir da C.C. (Fluxograma 3-2), obteve-se onze frações. As frações 6 e 7 foram denominadas, respectivamente, de LCPP-2-1 e LCPP-2 (Fluxograma 3-4).



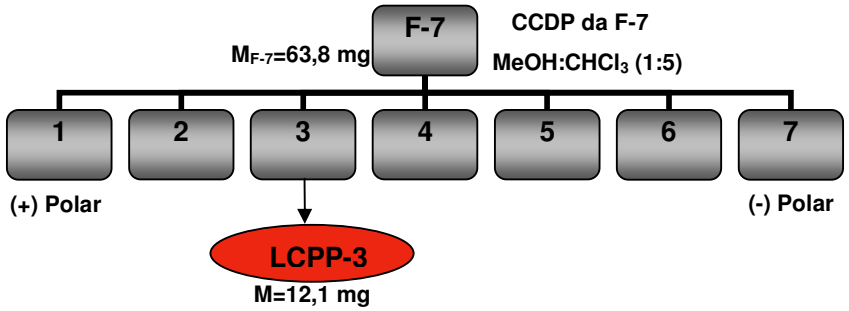
Fluxograma 3-4 - CCDP da Fração F-2 e obtenção da fração LCPP-2-1 e do composto LCPP-2.

Tabela 3-3 – CCDP da fração F-2.

Frações Obtidas	Massas	
1	11,7	
2	3,8	
3	12,8	
4	4,4	
5	3,6	
6	3,8	
7	3,1	**LCPP-2**
8	5,8	
9	3,1	
10	6,9	
11	7,4	
	Total: 66,4	

- Estudo da Fração F-7:

A CCDP da fração F-7, obtida da C.C. (Fluxograma 3-2), resultou em sete frações (Fluxograma 3-5). A fração 3 foi denominada de composto LCPP-3.



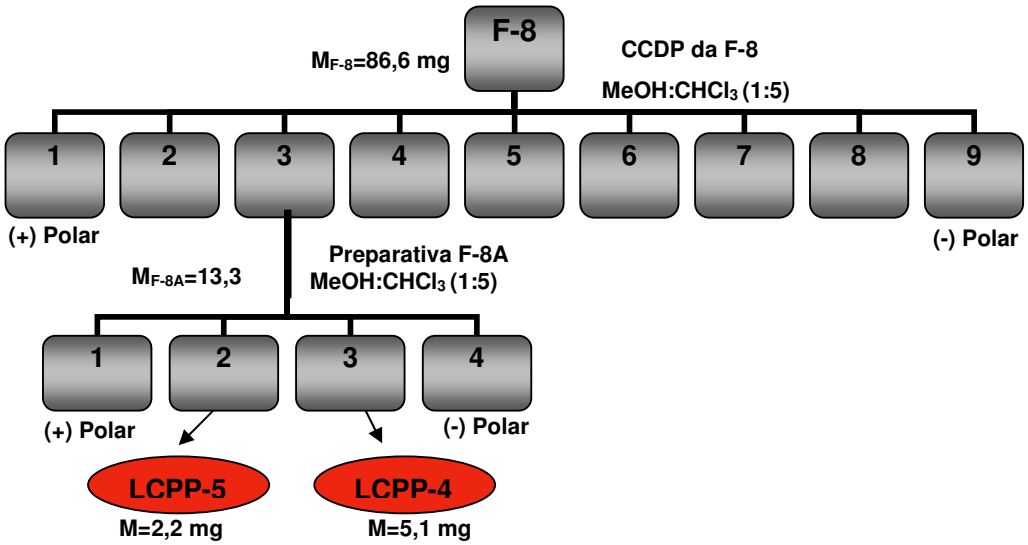
Fluxograma 3-5 - CCDP da Fração F-7 e obtenção do composto LCPP-3.

Tabela 3-4 - CCDP da fração F-7.

Frações Obtidas	Massas (mg)	
1	12,2	
2	3,6	
3	12,1	**LCPP-3**
4	3,9	
5	3,5	
6	4,3	
7	7,6	
	Total: 47,2	

- Estudo da Fração F-8:

Da CCDP da fração F-8, obtida da C.C. (Fluxograma 3-2), obteve-se nove frações (Fluxograma 3-6). Outra CCDP realizada a partir de terceira destas frações levou ao isolamento de quatro frações. A segunda e terceira destas frações foram denominadas, respectivamente de LCPP-5 e LCPP-4 (Fluxograma 3-6).



Fluxograma 3-6 - Sucessivas CCDP da Fração F-8 e obtenção dos compostos LCPP-4 e LCPP-5.

Tabela 3-5 - CCDP da fração F-8.

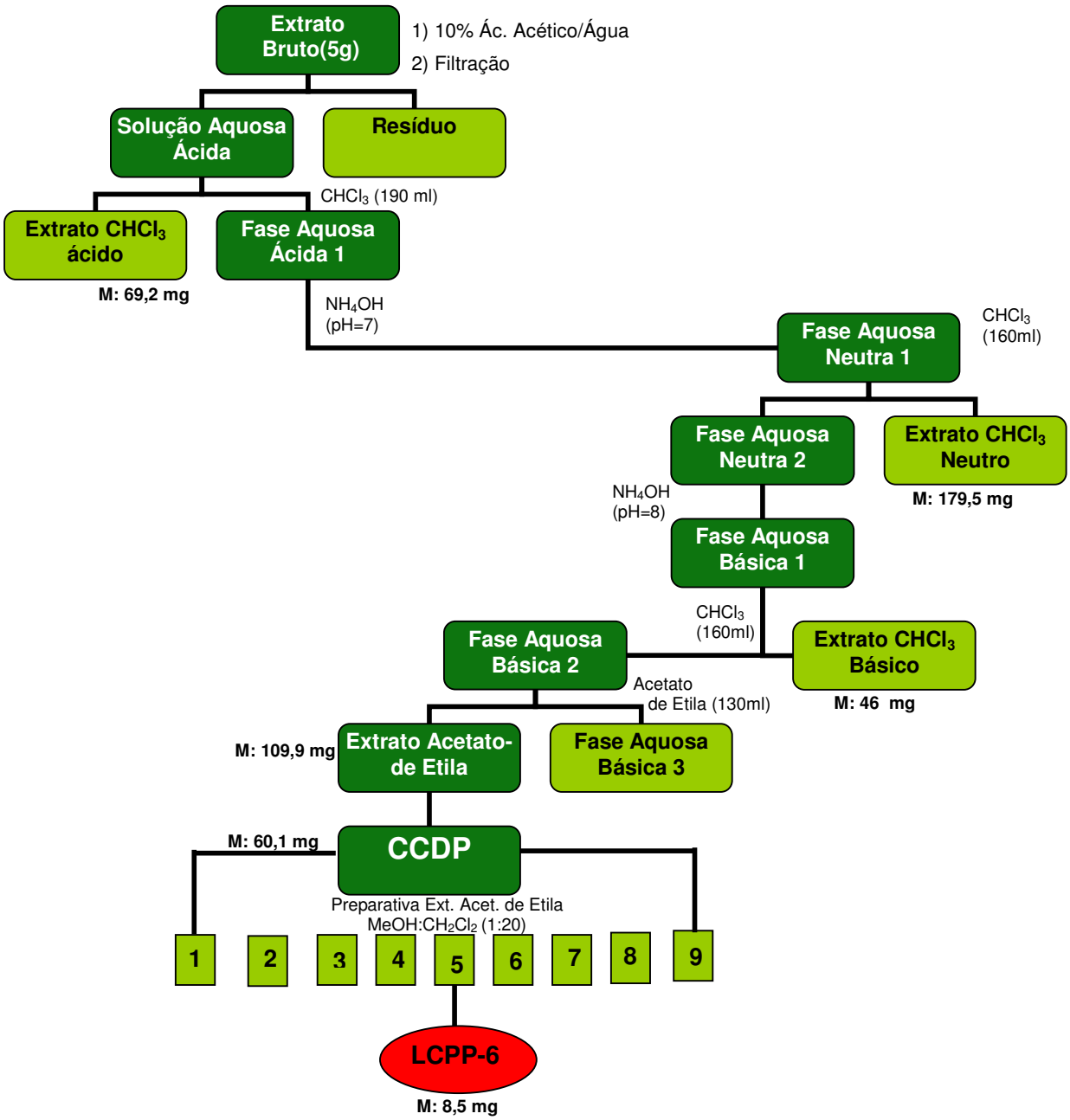
Frações Obtidas	Massas
1	7,2
2	5,2
3	13,3
4	13,4
5	7,3
6	13,2
7	2,6
8	1,3
9	1,7
	Total: 65,2

Tabela 3-6 - CCDP da fração F-8A.

Frações Obtidas	Massas	
1	2,2	
2	2,2	**LCPP-5**
3	5,1	**LCPP-4**
4	3,0	
	Total: 12,5	

3.1.4.2 Fracionamento ácido-base

O fracionamento ácido-base do extrato etanólico bruto (5 g) foi realizado conforme a metodologia apresentada abaixo (Fluxograma 3-7).



Fluxograma 3-7 - Fracionamento ácido-base das raízes *de P. prunifolia* e a obtenção do metabólito LCPP-6.

Tabela 3-7 – CCDP da fração Extrato Acetato de Etila.

Frações Obtidas	Massas	
1	7,0	
2	5,8	
3	1,7	
4	1,0	
5	8,5	**LCPP-6**
6	1,2	
7	1,3	
8	1,3	
9	24,6	
	Total: 52,4	

3.2 Bioensaios

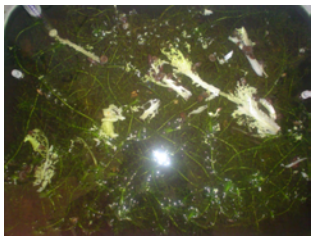
3.2.1 Ensaio Moluscicida

A atividade moluscicida foi realizada no Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá-PR, sob supervisão das professoras Dras. Maria Lucília M. Zamuner e Cleuza Conceição da Silva e auxílio do mestrando em química Rafael Arruda.

Os caramujos utilizados no ensaio são espécies de *Biomphalaria glabrata,* adaptados a temperatura de 23-25 ^{o}C e regime de iluminação natural, em caixa de polietileno, arejada por meio de bombas de ar. Para compor um ambiente de aquário, utilizaram-se ramos da plantas aquáticas *Elodia canadensis* e peixes lebistes da espécie *Poecilia ticulata* (Figura 3-1).

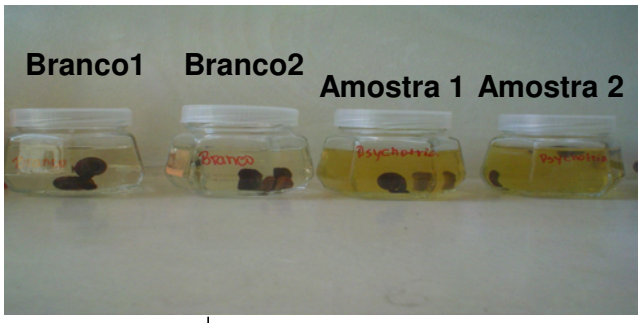
Figura 3-1 - Criadouro dos caramujos *Biomphalaria glabrata* - Maringá (Pr). Em (a) e (b) são, respectivamente, parte externa e interna do criadouro.

O ensaio moluscicida do extrato bruto etanólico das raízes foi realizado em duplicata e determinado segundo a metodologia abaixo (SILVA *et al*,2008).



Início

- **Adicionou-se 100 ml de água do reservatório em cada pote de vidro com tampa furada.**
- **Acrescentou-se 2 caramujos, medindo entre 10 á 15 mm, em cada pote.**
- **Nos potes denominados "branco", adicionou-se 200 µl DMSO.**
- **Nos potes denominados "amostra", adicionou-se 40 mg de ext. etanólico bruto das raízes, diluídos em 200 µl de DMSO.**
- **Aguardou-se 24 horas para a leitura dos batimentos cardíacos.**



Após 24 Hrs

- **Verificam-se os batimentos cardíacos dos caramujos, com o auxílio de um microscópio.**
- **As águas de todos os potes foram trocadas. Adiciona-se somente 100 ml de água do criadouro, em cada pote de vidro.**

Após 24 Hrs

Após 48 Hrs

- **Verificam-se os batimentos cardíacos e a letalidade dos caramujos, com o auxílio de um microscópio.**

Após 48 Hrs

3.2.2 Ensaio Antioxidante

O extrato etanólico das raízes, caules e folhas tiveram sua atividade antioxidante avaliadas pelo método do DPPH. Este método consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila ($DPPH^{\cdot}$), de coloração púrpura (λ=515nm), através de sua redução ao radical difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela. O grau deste descoloramento indica habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (SOUSA *et al* , 2007) .

A atividade antioxidante foi feita utilizando-se a metodologia proposta por Roesler e colaboradores (2006). A análise fotocolorimétrica foi feita em duplicata com o radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) na concentração de 40 ppm em metanol, denominada de solução trabalho.

O espectrofotômetro foi calibrado por uma cubeta vazia.

A solução controle foi preparada a partir de 2700 µL da solução trabalho em 300 µL de metanol e leu-se a absorbância da mesma (A_{DPPH}) a 515 nm.

Para as amostras, retirou-se 50 a 300 µL dos extratos de uma concentração inicial de 180 ppm, para o extrato das raízes, e 300 ppm para o extrato das folhas e caules. Colocou-os em tubos de ensaio e adicionou-se 2700 µL da solução trabalho. O intervalo de preparo para cada amostra foi de 5 minutos. A medida da absorbância foi realizada após 30 min da primeira amostra ter reagido com o DPPH, sob um λ= 515 nm. A capacidade de sequestrar o radical livre foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical conforme fórmula abaixo:

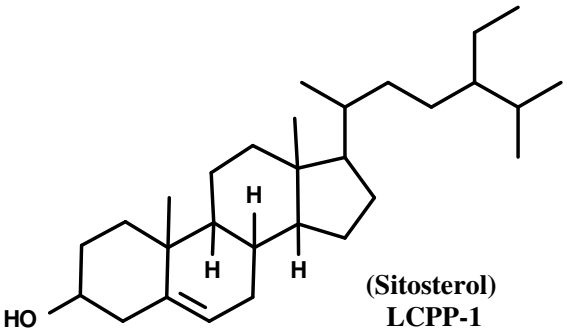
$$\% \text{ Inibição} = ((A_{DPPH} - A_{DPPH + amostra})/ A_{DPPH}) \times 100 \text{ (UV/Visível) (SAHA, 2004)}$$

CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÃO

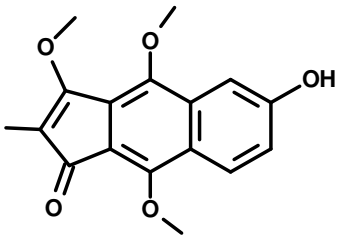
4.1 Estudo fitoquímico

Do fracionamento em coluna cromatográfica (C.C.) do extrato etanólico das raízes de *P. prunifolia* obteve-se: um esteróide sitosterol, LCPP-1 (Fluxograma 3-3); o composto LCPP-2 (Fluxograma 3-4); três alcalóides β-carbolínico: LCPP-3, LCPP-4, LCPP-5 (Fluxograma 3-5 e Fluxograma 3-6) (Figura 4-1).

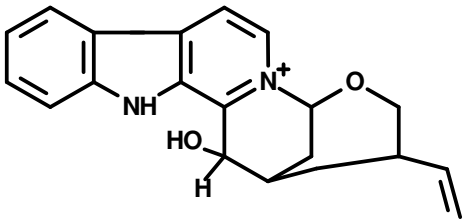
Visto à presença majoritária de alcalóides no extrato, direcionamos o estudo fitoquímico para a obtenção dos mesmos, através de um fracionamento ácido-base, devido ao caráter básico dos alcalóides. Este fracionamento levou a obtenção do alcalóide indólico-monoterpênico, o LCPP-6 (Fluxograma 3-7) (Figura 4-1).



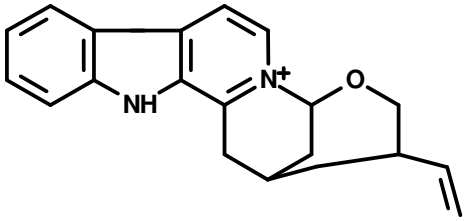
(Sitosterol)
LCPP-1



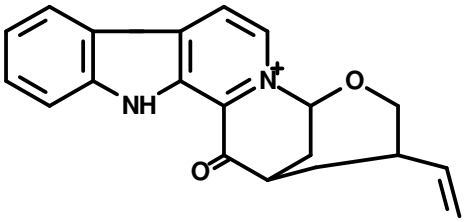
LCPP-2



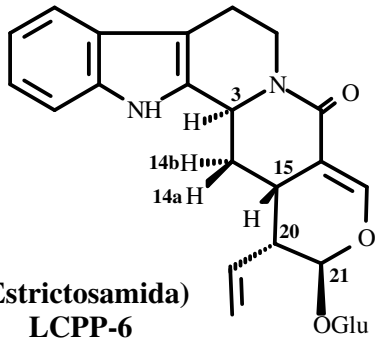
LCPP-3



LCPP-4



LCPP-5



(Estrictosamida)
LCPP-6

Figura 4-1 - Substâncias isoladas de raízes de *P. prunifolia*.

4.2 Elucidação Estrutural dos compostos Isolados

4.2.1 O composto LCPP-1

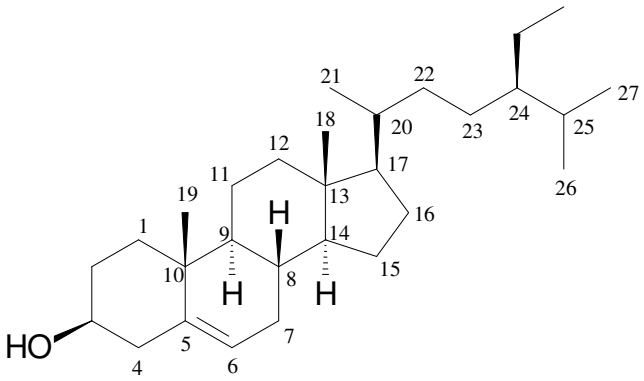


Figura 4-2 - Sitosterol.

O composto LCPP-1 (Fluxograma 3-3) (Figura 4-2) foi isolado como um sólido branco, não apresentando absorção sob luz ultravioleta (λ= 360 e 254 nm) e apresentando coloração roxa, observada frente ao reagente anisaldeído.

A identificação do composto LCPP-1 foi realizada em comparação por CCD com o padrão, apresentando um Rf de 0,5, sob o sistema eluente $CHCl_3$/MeOH (20:1), confirmando ser o composto já conhecido na literatura, o sitosterol.

4.2.2 O composto LCPP-2

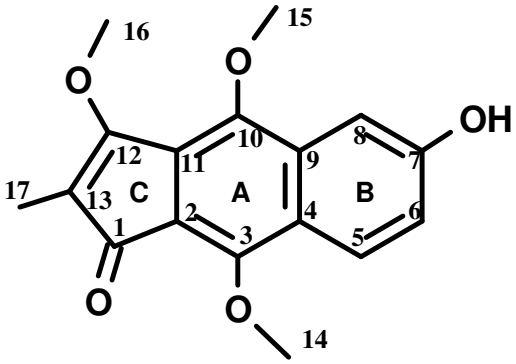


Figura 4-3 – O composto LCPP-2.

O composto LCPP-2 (Fluxograma 3-4) foi obtido na forma de um cristal monoclínico, apresentando fluorescência sob luz ultravioleta (λ= 360 nm: cor azul e λ=

254 nm: cor preta). Ele apresentou coloração roxa pouco intensa frente ao reagente anisaldeído e coloração laranja, também pouco intensa em relação ao Reagente Dragendorff.

A elucidação estrutural para este composto foi realizada a partir das análises de RMN de ^{1}H, dados de raios X, e espectrometria de massas.

O espectro de RMN de ^{1}H (Figura A. 1 a Figura A. 3) apresentou três sinais de hidrogênios aromáticos em: δ_H 7,05 (s, H-8; 1H), δ_H 8,1 (dl; *J*= 9,0 Hz; H-6; 1H) e δ_H 7,37 (dl; *J*= 2,7 Hz; H-5; 1H), referentes ao anel tri-substituído, B. Também foram observados sinais em δ_H 4,27 (s; H-14; 3H), δ_H 4,19 (s; H-15; 3H) e δ_H 3,91 (s; H-16; 3H), condizentes com os hidrogênios das metoxilas presentes na estrutura. O sinal observado em δ_H 2,07 (s; H-17; 3H) indica a presença do grupo metil atribuído ao anel C (Figura 4-3).

O espectro de HSQC ($^1J_{CH}$) (Figura A. 4 e Figura A.5) apresentou correlações de carbonos CH do tipo sp^2 em δc 117,9 (C-8); δc 127,4 (C-6); δc 107,1 (C-5) como também, sinais de carbonos metoxílicos em δc 62,9 (C-15); δc 63,0 (C-16) e δc 59,7 (C-14) e um carbono metílico em δc 21,2 (C-17).

A análise de (CG/EM) da fração LCPP-2-1 (Figura A. 71) cujo Rf é equivalente ao da fração LCPP-2 (Fluxograma 3-4) mostrou vários picos. O pico com o RT: 18,61 (Figura A-24) apresentou espectro de massas (Figura A. 72) com os fragmentos em m/z 55 (23%), m/z 87 (69%), m/z 97 (7%), m/z 143 (20%), m/z 199 (7%), m/z 255 (8%), m/z 298 (6%), como também, o pico base em m/z 74 (100%). Estes dados são concordantes com a estrutura molecular proposta pela análise de difração de raios X, onde ORTEP obtida para o composto LCPP-2 pode ser observada na Figura 4-4.

Os dados cristalográficos obtidos pelo cristalógrafo professor Dr. José Ricardo Sabino do Instituto de Física da UFG (Tabela 4-1) indicaram a presença de um sistema cristalino monoclínico, cujo peso molecular de 300,3 é condizente com uma fórmula empírica de C_{17} $H_{16}O_5$. Outros dados obtidos para a obtenção da ORTEP deste composto estão dispostos na Tabela 4-1.

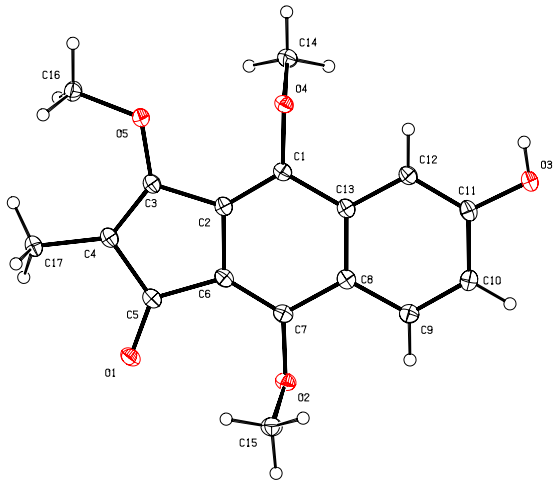


Figura 4-4 - ORTEP do composto LCPP-2.

Tabela 4-1 - Dados Cristalográficos obtidos para o composto LCPP-2.

Fórmula empírica	$C_{17}H_{16}O_5$
Peso Molecular	300,3
Temperatura	293 (2) K
Radiação	154184 Å
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo Espacial	P 1_{21}
Dimensão da Célula Unitária	a = 97355 (2) Å b = 7.3271 (2) Å c = 19.6875 (2) Å
Volume	1370.14 (6) $Å^3$
Z	4
Densidade (calculada)	1.456 Mg/ m^3
Coeficiente de absorção	0,893 mm^1
Reflexões Coletadas	16063
Reflexões Independentes	2447 [R(int) = 0.0384
Goodness-of-fit(Chi quadrado)	1046
Final R índices [I>2σ(I)]	R1 = 0.0344, wR2 = 0.0952
R índices (todos)	R1 = 0.0417, wR2 = 0.1001

As análises de RMN de ^{1}H, HSQC e difração de raios X permitiram a elucidação e identificação do composto LCPP-2, como um derivado metil-trimetoxilado da Benz(f)inde-1-ona (GRECA *et al*, 1991) (Figura 4-3). Essa classe de compostos já foi descrita em compostos naturais, contudo não há relatos do isolamento desta classe de compostos em espécies da família Rubiaceae.

4.2.3 O composto LCPP-3

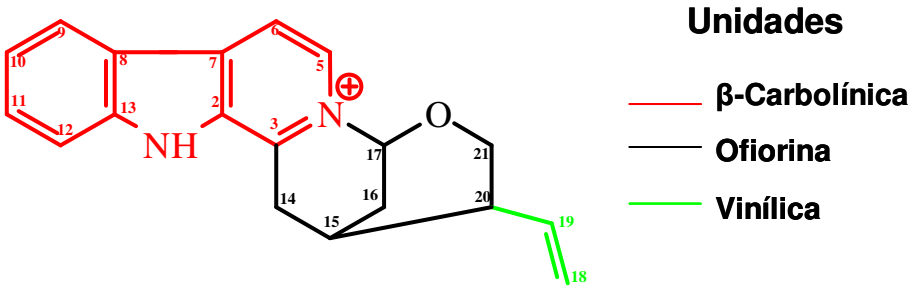


Figura 4-5 - O alcalóide LCPP-3.

O alcalóide LCPP-03 (Fluxograma 3 -1) obtido na forma de um sólido amarelo, apresentando fluorescência azul claro sob luz ultravioleta (λ= 360 e 254 nm) e reação positiva frente ao reagente Dragendorff.

O espectro de RMN de ^{1}H (Figura A. 6 a Figura A. 9) apresentou deslocamentos característicos de hidrogênios aromáticos em, δ_H 8,42 (d; *J*= 7,8 Hz; H-9; 1H); δ_H 7,87-7,79 (m; H-11 e H-12; 2H), e em δ_H 7,50 (tl; *J*= 7,8 Hz; H-10; 1H). Outros dois hidrogênios observados em campo mais baixo com valores de deslocamentos em δ_H 8,60 (d; *J* = 6,4 Hz; H-6; 1H), δ_H 8,49 (d; *J*= 6,4 Hz; H-5; 1H) (Tabela 4-2).

O espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (Figura A. 11 a Figura A.13) mostra os sinais de interação dos prótons aromáticos δ_H 8,60 (H-6); δ_H 8,49 (H-5); δ_H 8,42 (H-9); δ_H 7,50 (H-10); δ_H 7,87-7,79 (H-11 e H-12), correlacionando aos seus respectivos carbonos sp^2 em δc 117,5 (C-6); δc 134,5 (C-5); δc 124,6 (C-9); δc 123,5 (C-10); δc 133,5 (C-11); δc 114,1 (C-12), sugerindo uma unidade β-carbolínica não substituída (BRANDT *et al*, 1999).

O espectro de HMBC (Figura A. 14 a Figura A.18) apresentou sinais de carbonos quaternários do tipo sp^2 em δc 135,5 (C-13); δc 121,6 (C-8); δc 133,8 (C-7); 141,6 (C-3); δc 146,0 (C-2) todos eles concordantes à unidade β-carbolínica.

Correlações do espectro de COSY (Figura A. 19 a Figura A. 22) confirma os hidrogênios em δ_H 8,60 (H-6) e δ_H 8,49 (H-5) vicinais em uma mesma estrutura piridínica (PAVIA *et al*, 2001) , enquanto que o hidrogênio em δ_H 7,50 (H-10) com os hidrogênios em δ_H 8,42 (H-9) e outros dois hidrogênios no multipleto em δ_H 7,88-

7,79 (H-11 e H-12), corroboram a presença do sistema aromático, observado na Figura 4-6.

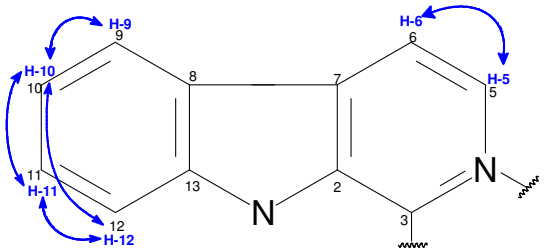


Figura 4-6 - Correlações em COSY ( ) da unidade β-carbolínica do composto LCPP-3.

Deslocamentos referentes aos três hidrogênios em δ_H 5,16 (dl; *J* = 17,6 Hz; H-18a – trans, 1H); δ_H 5,29 (dl; *J* = 11,0 Hz; H-18b – cis; 1H) e δ_H 5,88 (ddd; *J* = 17,6; 11,0; 6,1 Hz; H-19; 1H), apresentando correlações em COSY entre si, podem ser observados na Figura 4-7, juntamente com as correlações observadas no espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) entre o hidrogênio metínico: δ_H 3,08-2,99 (m; H-20; 1H) aos carbonos metínico em δc 137,3 (C-19) e metilênico em δc 118,3 (C-18), sugerem a presença de um grupo vinílico terminal (BASTOS, 2002).

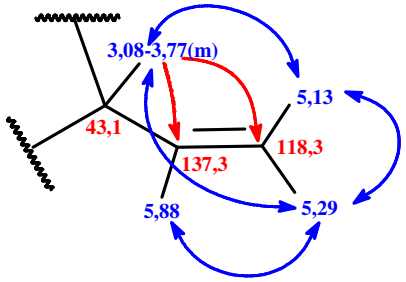


Figura 4-7 - Correlações em COSY ( ) e HMBC ( ) do grupo vinílico do composto LCPP-3.

O sinal de hidrogênio em δ_H 6,42 (sl; H-17) correlacionado no espectro de HSQC ($^1J_{CH}$) a um carbono em δc 88,3 (CH, C-17), em campo baixo, sugere a presença da ligação nitrogênio-carbono-oxigênio. Outros sinais no espectro de HSQC ($^1J_{CH}$) como: um carbono metilênico em δc 30,9 (C-16), com hidrogênios diasterotópicos em δ_H 2,64 (dl; *J*=14,4 Hz; H-16b; 1H) e δ_H 2,53 (dl; *J*= 14,4; H-16a; 1H); um carbono metínico em δc 27,4 (C-15) correlacionado a um hidrogênio em δ_H 2,82-2,77 (m; H-15; 1H); aos carbonos metínicos: um em δc 43,1 (C-20) com hidrogênio em δ_H 3,08-2,99 (m; H-20; 1H) e o outro em δc 26,2 (C-14) correlacionado a dois

hidrogênios em δ_H 3,80-3,77 (m; H-14; 2H); o carbono em δc 63,2 (C-21) correlacionado aos hidrogênios carbinólicos em δ_H 3,91 (dd; 12,4; 5,3; H-21b; 1H) e δ_H 3,12 (dd; 12,6; 12,4; H-21a; 1H), exibem sinais semelhantes ao da ofiorina (Figura 4-8) (BASTOS *et al*, 2002).

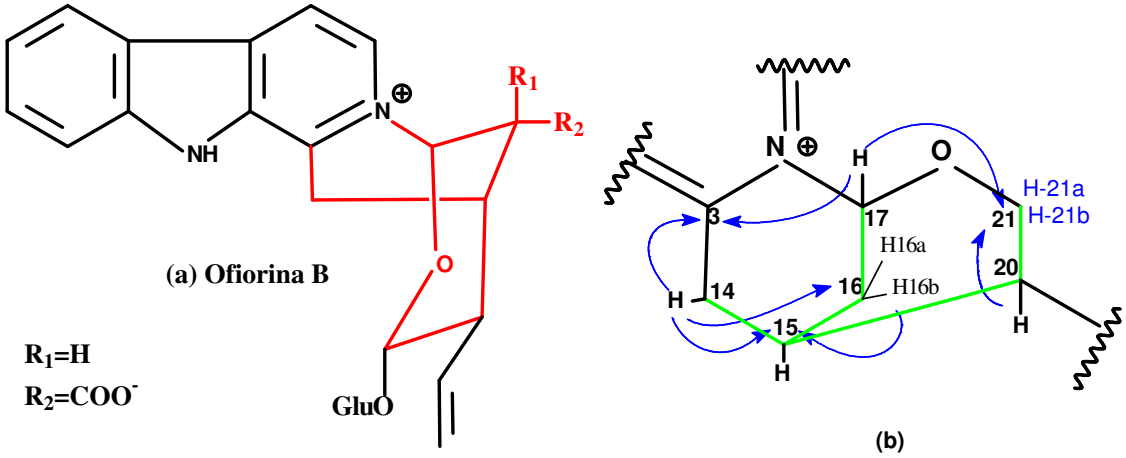


Figura 4-8 - Em (a), o composto ofiorina B. Em (b), As principais correlações observadas no espectro de HMBC - $^{2,3}J_{CH}$ ( ) e COSY ( ), da unidade ofiorínica do composto LCPP-3.

Além do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$), correlações do espectro de COSY entre os hidrogênios H-14/ H-15/ H-16a/ H16b/ H-17 e H-15/ H-20/ H-21 como também, correlações do espectro HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) entre H-14 e C-3, C-16, C-15; H-16b e C-15; H-17 e C-21, C-3; H-20 e C-21 foram observadas para esta unidade ofiorínica (Figura 4-8).

Em relação à configuração relativa para este composto, as multiplicidades dos sinais de hidrogênios para a unidade ofiorínica não se mostraram desdobradas o suficiente para esta determinação. Porém as multiplicidades e constantes de acoplamento entre os hidrogênios H-20/ H-21a e H-21b permitiram a configuração relativa entre eles (Figura 4-9).

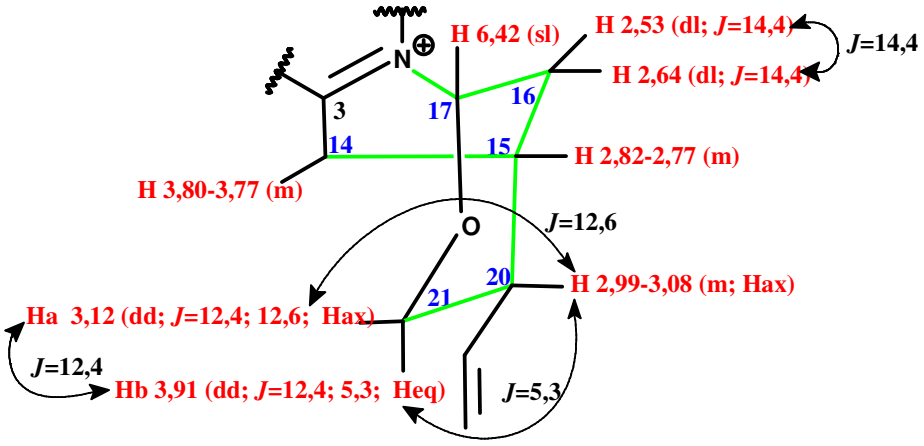


Figura 4-9 – Configuração relativa entre os hidrogênios H-20/ H-21a e H-21b da região ofiorínica.

As correlações do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) entre H-5 e C-3, C-17; H-19 e C-20 unem as unidades β-carbolínica, ofiorínica e grupo vinílico (Figura 4-10).

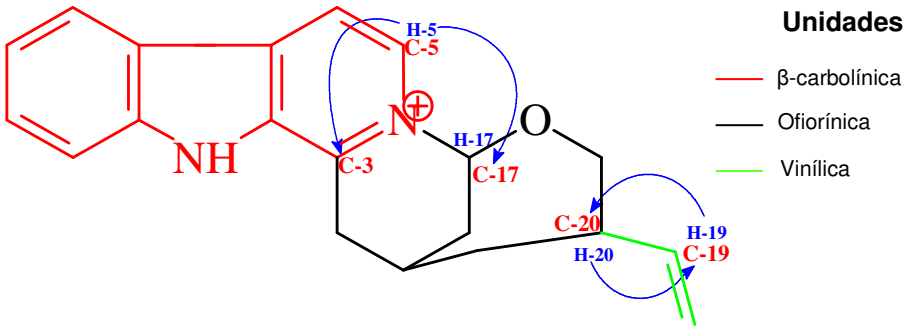


Figura 4-10 - Principais correlações observadas no espectro de HMBC - $^{2,3}J_{CH}$ ( ) do composto LCPP-3.

As atribuições já citadas, bem como, a comparação com os dados da literatura (FARIA *et al*, 2010) confirmam o composto LCPP-3 como sendo o alcalóide 1 (Tabela 4-3), composto já isolado das folhas de *P. prunifolia*.

Tabela 4-2 - Dados de RMN de ^{1}H [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] HSQC, HMBC e COSY de LCPP-3.

LCPP-3				
Nº	**HSQC**	**δ^{1}H(multiplicidade, *J* Hz)**	**HMBC**	**COSY**
2	146,0	–	–	–
3	141,6	–	–	–
5	134,5	8,49 (d; 6,4) 1H	C-17 / C-7/ C-6/C-3	H-6
6	117,5	8,60 (d; 6,4) 1H	C-8/ C-5/ C-3	H-5
7	133,8	–	–	–
8	121,6	–	–	–
9	124,6	8,42 (d; 7,8) 1H	C-11 / C-6/ C-2	H-10
10	123,5	7,50 (tl; 7,8)1H	C-12 / C-8	H-12/ H-11/ H-9
11	133,5	7,87-7,79 (m) 2H	C-10/ C-8/ C-2	H-10
12	114,1	7,87-7,79 (m) 2H	C-8/ C-10	H-10
13	135,5	–	–	–
14	26,2	3,80-3,77(m) 2H	C-20/C-16/C-15/C-5/C-3	H-16b
15	27,4	2,82-2,77 (m) 1H	C-20/ C-17/ C-3	H-17/ H-16a/ H-14
16	30,9	a 2,53 (dl;14,4) 1H b 2,64 (dl;14,4) 1H	C-20/ C-15 C-14	H-17/ H-14 H-17
17	88,3	6,42 (sl) 1H	C-21/ C-15/ C-5/ C-3	H-16a/ H-16b/ H-15
18	118,3	a 5,16 (dl; 17,6)1H b 5,29 (dl; 11,0)1H	C-20/ C-19 C-20	H-20/ H-18b/ H-19 H-19
19	137,3	5,88 (ddd; 17,6; 11,0; 6,1) 1H	C-21/ C-20	H-20/ H-18a/ H-18b
20	43,1	3,08-2,99 (m) 1H	–	H-21a/ H-21b/ H-19/ H-18a
21	63,2	a 3,12 (dd; 12,6; 12,4) 1H b 3,91 (dd; 12,4; 5,3) 1H	C-15/ C-20/ C-17 C-20/ C-17/ C-15	H-21b/ H-20 H-21a/ H-20

Tabela 4-3 - Dados de RMN ^{1}H e HSQC [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] de LCPP-3 e o Alcalóide 1 (75 e 300 MHz-$CDCl_3$/ MeOD).

	LCPP-3 (raíz)		Alcalóide 1 (folhas)	
Nº	**HSQC**	**$\delta^{1}H$(multiplicidade, *J* Hz)**	**$\delta^{13}C$**	**$\delta^{1}H$(multiplicidade, *J* Hz)**
2	146,0	–	132,2	–
3	141,6	–	139,5	–
5	134,5	8,49 (d; 6,4) 1H	132,5	8,33 (1H;d; 6,6)
6	117,5	8,60 (d; 6,4) 1H	116	8,41 (1H;d; 6,6)
7	133,8	–	132,9	–
8	121,6	–	119,7	–
9	124,6	8,42 (d; 7,8) 1H	122,8	8,28 (1H;d; 8,1)
10	123,5	7,50 (tl; 7,8)1H	122,3	7,48(1H;dl; 7,82)
11	133,5	7,87-7,79 (m) 2H	132,3	7,91-7,76 (2H;m)
12	114,1	7,87-7,79 (m) 2H	113,2	7,91-7,76 (2H;m)
13	135,5	–	144,6	–
14	26,2	3,80-3,77(m) 2H	24,8	3,93-3,80(2H;m)
15	27,4	2,82-2,77 (m) 1H	25,6	2,82(1H; m)
16	30,9	a 2,53 (dl;14,4) 1H b 2,64 (dl;14,4) 1H	29,7	a 2,51 (1H;d;14,1) b 2,62 (1H;d;14,1)
17	88,3	6,42 (sl) 1H	86,7	6,33 (1H; sl)
18	118,3	a 5,16 (dl; 17,6)1H b 5,29 (dl; 11,0)1H	117,8	a 5,09 (1H;d; 17,4) b 5,28 (1H;d; 10,8)
19	137,3	5,88 (ddd; 17,6; 11,0; 6,1) 1H	134,9	5,79 (1H;ddd; 17,4; 10,8; 5)
20	43,1	3,08-2,99 (m) 1H	41,2	b 3,05-2,84 (2H; m)
21	63,2	a 3,12 (dd; 12,6; 12,4) 1H b 3,91 (dd; 12,4; 5,3) 1H	61,9	a 3,75-3,84 (1H; m) b 3,05-2,84 (2H; m)

4.2.4 O composto LCPP-4

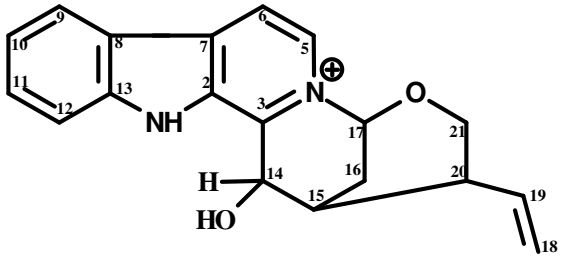


Figura 4-11 - O alcalóde LCPP-4.

A substância LCPP-4 (Figura 4-11) foi obtida como um sólido amarelo (Fluxograma 3-5), mostrando fluorescência verde sob luz ultravioleta (λ= 360 e 254 nm) e reação positiva frente ao reagente Dragendorff.

Os espectros de RMN de ^{1}H (Figura A. 29 a Figura A. 32) e ^{13}C (Figura A. 45 e Figura A. 46) mostraram semelhança com os dados obtidos de LCPP-3 (Tabela 4-2). Para a LCPP-4 foram observados sinais de hidrogênios piridínicos em δ_H 8,48 (d; *J*=6,5 Hz; H-5); δ_H 8,64 (d; *J*=6,5 Hz; H-6), correlacionados respectivamente aos carbonos CH do tipo sp^2, observados no espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (Figura A. 34 a A.37), em δc 133,2 (C-5) e δc 118,2 (C-6). Ao passo que, os hidrogênios do anel dissubstituído para o restante da unidade β-carbolínica, em δ_H 8,38 (dl; *J*= 8,2 Hz; H-9); δ_H 7,50 (ddd; *J*= 8,2; 5,4; 2,6 Hz; H-10) e um multipleto integrando para dois prótons em δ_H 7,85-7,82 (m; H-11; H-12) apresentaram-se correlacionados, respectivamente, aos carbonos também CH do tipo sp^2 em HSQC ($^{1}J_{CH}$) em δc 123,6; δc 122,6; δc 133,6; δc 113,8 (Tabela 4-3).

Em relação à unidade ofiorina tem-se valores para carbono oximetínico em δc: 88,2 [δ_H: 6,40 (sl; H-17)]; oximetilênico em: δc 63,0 [δ_H: 3,90 (dd; *J*=12,6; 5,7 Hz; H-21b) e δ_H: 2,89 (dd; *J*=12,6; 12,6 Hz; H-21a)]; metilênico em δc 27,2 [δ_H: 2,51 (dl; *J*=14,2 Hz; H-16a) e δ_H 2,80; (dl; *J*=14,2 Hz; H-16b)] e dois carbonos metínicos em δc 35,6 (δ_H 2,75-2,71; m; H-15) e δc 39,8 (δ_H 3,06-3,01; m; H-20).

O grupo vinila foi atribuído a molécula pela presença dos sinais dos átomos de carbono: CH_2 [δc 118,2; δ_H: 5,14 (dl; *J*=17,6 Hz; H-18a; trans) e δ_H: 5,30 (dl; *J*=11,0 Hz; H-18b; cis)] e CH [δc 136,4; δ_H: 5,90 (ddd; *J*=17,6; 11,0; 5,7 Hz; H-19)].

Ao serem comparados os espectros de HSQC de LCPP-4 e LCPP-3, não foi observado no espectro do primeiro, o sinal relativo ao carbono metilênico C-14 de LCPP-3. Ao invés disso, o espectro mostrou um sinal atribuído a um carbono carbinólico em δc 62,2. Foi também observada uma desproteção de C-15 e uma prote-

ção de C-16 e C-20, os quais foram observados a δc 35,6; 27,2 e 39,8, respectivamente. Estes dados foram compatíveis com a presença de um grupo hidroxila em C-14. No espectro de RMN de ^{1}H de LCPP-4, a presença de um simpleto largo em δ_H: 5,58 (sl; H-14), que apresenta correlações no espectro de COSY com os sinais dos hidrogênios a δ_H 2,75-2,71 (m; H-15) e δ_H 2,51 (dl; 14,2; H-16a; acoplamento tipo W), reforçou esta proposta.

Entretanto, o deslocamento em δc 62,2 para carbono CH ligado a hidroxila, próximo a um centro aromático e a um nitrogênio, como no composto LCPP-4, nos chama a atenção, pois esperar-se-ia um valor em campo mais baixo. No alcalóide LCPP-4 isto pode ser explicado, de acordo com Breitmaier (1989), que para compostos nitrogenados, observa-se que o carbono α (C-3) vizinho ao átomo de nitrogênio sofre uma grande desproteção, enquanto que o carbono localizado na posição β, no caso o carbono C-14, sofre uma maior proteção, que o desloca para um campo mais alto, ou seja, é observado seu deslocamento mais a direita do espectro.

A estrutura para o alcalóide LCPP-4 foi baseada a partir dos espectros de RMN de ^{1}H e HSQC ($^{1}J_{CH}$), bem como, suas correlações observadas no espectro de COSY (Figura A. 42 a Figura A. 44) e HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (Figura A. 38 a Figura A. 41). Não há relatos deste alcalóide na literatura.

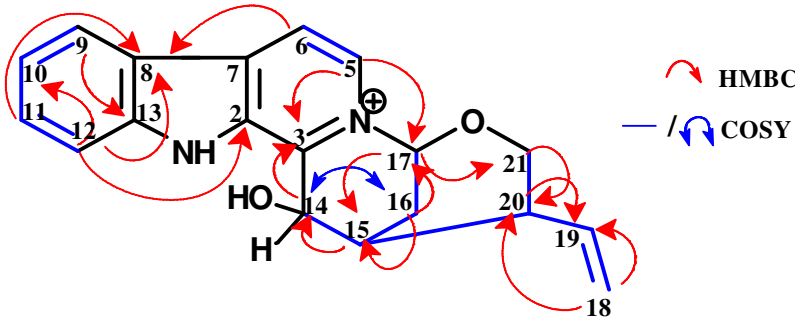


Figura 4-12 - Proposta estrutural para o composto LCPP-4.

Tabela 4-4 - Dados de RMN ^{1}H [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD], HSQC, HMBC e COSY de LCPP-4.

LCPP- 4				
Carb	**HSQC**	**^{1}H(multiplicidade, *J* Hz)**	**HMBC**	**COSY**
2	145,4	-	-	-
3	139,7	-	-	-
5	133,2	8,48 (d; 6,5) 1H	C-17/ C-13/ C-6/ C-3	H-6
6	118,2	8,64 (d; 6,5) 1H	C-8/ C-5/ C-3	H-5
7	-	-	-	-
8	119,4	-	-	-
9	123,6	8,38 (dt; 8,2) 1H	C-13/ C-5/ C-2	H-10
10	122,6	7,50 (ddd; 8,2; 5,4; 2,6) 1H	C-13/ C-12/ C-8/ C-2	H-11/ H-9
11	133,6	7,85 - 7,82 (m) 2H	C-10/ C-8/ C-2	H-11
12	113,8	7,85 - 7,82 (m) 2H	C-10/ C-8/ C-2	H-12/ H-10
13	135,1	-	-	-
14	62,2	5,58(sl) 1H	C-3/ C-5/ C-16/ C-20	H-16a/ H-15
15	35,6	2,75-2,71 (m) 1H	-	H-20/ H-17/ H-16a/ H-14
16	27,2	a 2,51 (dl; 14,2) 1H b 2,80 (dl; 14,2) 1H	- -	H-17/ H-16b/ H-15/ H-14 H-17/ H-16a
17	88,2	6,40 (sl) 1H	C-3/ C-5/ C-16/ C-21	H-16a/ H-16b
18	118,2	a 5,14 (dl; 17,6) 1H trans b 5,30 (dl; 11,0) 1H cis	C-20/ C-19 C-20	H-20/ H-19 H-20
19	136,4	5,90 (ddd; 17,6; 11,0; 5,7) 1H	C-20	H-21a/ H-21b/ H-20
20	39,8	3,06-3,01 (m) 1H	-	H-21a/ H-21b/ H-19
21	63,0	2,89 (dd; 12,6; 12,6) 1H 3,90 (dd; 12,6 ; 5,7) 1H	C-20 C-15/ C-17/ C-20	- H-20

4.2.5 O composto LCPP-5

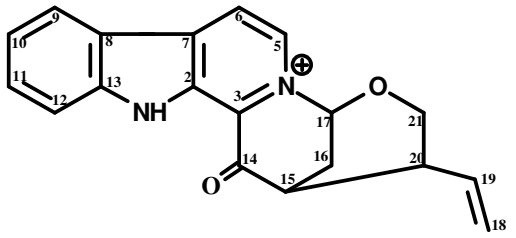


Figura 4-13 - O alcalóde LCPP-5.

A substância LCPP-5 (Fluxograma 3-6) foi obtida como um sólido amarelo escuro e apresentou coloração laranja quando exposto ao reativo de Dragendorff.

A elucidação estrutural deste alcalóide foi realizada a partir dos espectros de RMN ^{1}H (Figura A. 47 a Figura A. 49), HSQC ($^{1}J_{CH}$) (Figura A. 50 a Figura A. 53), HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (Figura A. 54 a Figura A.57) e espectro de infravermelho (IV) (Figura A.70), como também, em comparação com os dados da literatura (FARIAS, 2010).

O espectro de IV apresenta bandas de absorção referentes: a deformação angular da ligação N-H em 1640 cm^{-1}, deformação axial C-H de alqueno em 3010 cm^{-1}, deformação axial de C=C de aromáticos em 1472 e 1574 cm^{-1}, deformação axial da ligação C-O de éter de cadeia cíclica 1073 cm^{-1} e em 1750 $cm^{-1,}$ a deformação axial C=O para cetonas (SILVERSTEIN, 1991).

Para a unidade β-carbolínica, o espectro de RMN de ^{1}H mostrou dois sinais de hidrogênios do anel piridínico: em δ_H 8,85 (d; *J*=6,2 Hz; H-5; 1H) e δ_H 9,02 (d; *J*=6,2 Hz; H-6; 1H) e quatro sinais de hidrogênios referentes ao anel dissubstituído em δ_H 8,52 (dl; *J*=8,2 Hz; H-9; 1H); δ_H 7,57 (ddd; *J*= 8,2; 6,4; 1,5 Hz; H-10; 1H); δ_H 7,95-7,92 (m; H-11; H-12; 2H). Estes hidrogênios apresentaram-se correlacionados, respectivamente, pelo espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) a carbonos CH do tipo sp^2 [δc: 135,2 (C-5); 122,2 (C-6); 124,4 (C-9); 123,3 (C-10); 135,0 (C-11); 114,9 (C-12)]. O espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) permitiu a identificação de quatro carbonos C não-protonados do tipo sp^2 [δc 126,6 (C-13); 121,0 (C-8); δc 141,1 (C-3); 148,4 (C-2)] correlacionados aos hidrogênios acima descritos, condizentes para uma estrutura semelhante à LCPP-3 e LCPP-4 (Tabela 4-5).

A unidade vinila também foi atribuída à molécula pelos sinais dos átomos de carbono: CH_2 [δc 119,1 (C-18); δ_H: 5,21(dl; *J*=11,0 Hz; H-18a, cis) e δ_H: 5,26 (dl; *J*=17,5; H-18b, trans)] e CH [δ_H: 5,70 (ddd; *J*= 17,5; 11,0; 7,2 Hz; H-19)].

A unidade ofiorínica foi caracterizada pelas presenças de carbono: oximetínico em δc: 89,6 (C-17) [δ_H: 6,66 (sl, H-17, 1H)]; oximetilênico em: δc 64,5 (C-21) [δ_H: 3,97 (dd; *J*=12,7; 5,3; H-21b) e δ_H: 3,33-3,31 (m; H-21a; 1H)]; metilênico em δc 31,0 (C-16) [δ_H: 3,00 (dl; 14,4; H-16b; 1H) e δ_H 2,81(dt;14,4; 2,9; H-16a; 1H)] e dois carbonos metínicos em δc 43,5 (C-15) [δ_H 3,29-3,24 (m; H-15; 2H)] e δc 44,5 (C-20) [δ_H 3,29-3,24 (m; H-20; 2H).

Correlações observadas no espectro de HMBC entre o hidrogênio piridínico em δ_H 8,85 (H-5) com o carbono em δ_c 89,6 (C-17); o hidrogênio em δ_H 6,66 (H-17) com δ_c 64,5 (C-21) e o hidrogênio δ_H 3,97 (H-21b) com δ_c 44,5 (C-20) caracterizam a ligação entre os anéis β-carbolínico, ofiorínico e vinílica. (Figura 4-14).

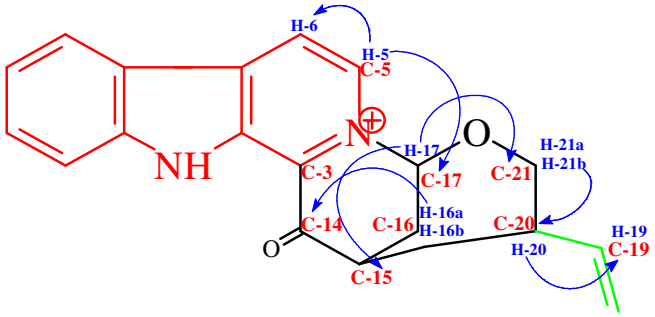


Figura 4-14 - Estrutura proposta para o alcalóide LCPP-5, isolado das raízes de *P. prunifolia* e algumas das correlações observadas no espectro de HMBC ( ).

No espectro de RMN de ^{1}H verifica-se o mesmo perfil para o alcalóide LCPP-5 quando comparado ao LCPP-3. Entretanto, deslocamentos atribuídos aos hidrogênios aromáticos (principalmente H-5, H-6, H-9) foram observados em campo mais baixo para este composto (Tabela 4-5 e Tabela 4-2). Nota-se também, uma desproteção dos carbonos C-14, C-15, C-16, C-17, e respectivos hidrogênios da região ofiorínica. Além disso, observa-se a presença de um carbono quaternário em δc: 193,3 que foi atribuída a uma carbonila do tipo α-β-insaturada (BASTOS, 2002). Adicionalmente, a correlação em HMBC (^{3}*J*CH) desta carbonila ao hidrogênio δH: 2,81 (H-16a) sugere carbonila em C-14 na estrutura de LCPP-5.

Análises por CCD entre LCPP-5 e o alcalóide 2, composto já isolado das folhas de *P. prunifolia* (Tabela 4-6), confirmam a estrutura LCPP-5 .

Tabela 4-5 - Dados de RMN [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD], HSQC e HMBC de LCPP-5.

		LCPP- 05	
Nº	**HSQC**	**^{1}H (multiplicidade, *J* Hz) Integral**	**HMBC**
2	148,4	-	-
3	141,1	-	-
5	135,2	8,85 (d; 6,2) 1H	C-17 / C-13 /C-6 / C-3
6	122,2	9,02 (d; 6,2) 1H	C-5
7	-	-	-
8	121,1	-	-
9	124,4	8,52 (dl; 8,2) 1H	C-5/ C-3/ C-2
10	123,3	7,57 (ddd; 8,2; 6,4; 1,5)	C-12
11	135,0	7,95-7,92 (m) 2H	C-9
12	114,9	7,95-7,92 (m) 2H	C-9
13	126,6	-	-
14	193,3	-	-
15	43,5	3,29-3,24 (m) 2H	-
16	31,0	a 2,81 (dt; 14,4 ; 2,9) 1H b 3,00 (dl; 14,4) 1H	C-14
17	89,6	6,66 (sl) 1H	C-21/ C-20/ C-2
18	119,1	a 5,21 (dl; 11,0) 1H b 5,26 (dl; 17,5) 1H	C-15 C-15
19	-	5,70 (ddd; 17,5; 11,0; 7,2) 1H	-
20	44,5	3,29 – 3,24 (m) 2H	C-15
21	64,5	a 3,33- 3,31 (m) 1H b 3,97(dd; 12,7; 5,3) 1H	C-15 C-20/ C-17

Tabela 4-6 – Dados de RMN ^{1}H e ^{13}C [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] e Alcalóide 2 (300 MHz-$CDCl_3$/MeOD).

	LCPP-5 (raíz)		Alcalóide 2 (folhas)	
Nº	**HSQC**	**δ^{1}H(multiplicidade, *J* Hz)**	**δ^{13}C**	**δ1H(multiplicidade, J Hz)**
2	148,4	-	134,4	–
3	141,1	-	139,5	–
5	135,2	8,85 (d; 6,2) 1H	134,1	8,89 (1H; d; 6)
6	122,2	9,02 (d; 6,2) 1H	120,9	8,92 (1H; d; 6)
7	-	-	124,6	–
8	121,1	-	118,9	–
9	124,4	8,52 (dl; 8,2) 1H	123,6	8,43 (1H; d; 8)
10	123,3	7,57 (ddd; 8,2; 6,4; 1,5)	123,4	7,57(1H; ddd;3,6,8)
11	135,0	7,95-7,92 (m) 2H	137,2	7,94-7,88 (2H; m)
12	114,9	7,95-7,92 (m) 2H	113,7	7,94-7,88 (2H; m)
13	126,6	-	146,9	–
14	193,3	-	191,6	-
15	43,5	3,29-3,24 (m) 2H	42,8	3,36 (1H; sl)
16	31,0	a 2,81 (dt; 14,4 ; 2,9) 1H b 3,00 (dl; 14,4) 1H	29,7	a 2,82 (1H;d;14) b 3,05 (1H;d;14)
17	89,6	6,66 (sl) 1H	87,9	6,76(1H; s)
18	119,1	a 5,21 (dl; 11,0) 1H b 5,26 (dl; 17,5) 1H	118,9	a 5,22 (1H;d; 17) b 5,25 (1H;d; 10)
19	-	5,70 (ddd; 17,5; 11,0; 7,2) 1H	132,8	5,65 (1H;ddd; 6,6; 10; 17)
20	44,5	3,29 – 3,24 (m) 2H	42,03	3,20 (1H;d; 7,8)
21	64,5	a 3,33- 3,31 (m) 1H b 3,97(dd; 12,7; 5,3) 1H	63,4	a 3,22 (1H;d; 1,8) b 4,01 (1H;d; 7,5)

4.2.6 O composto LCPP-6

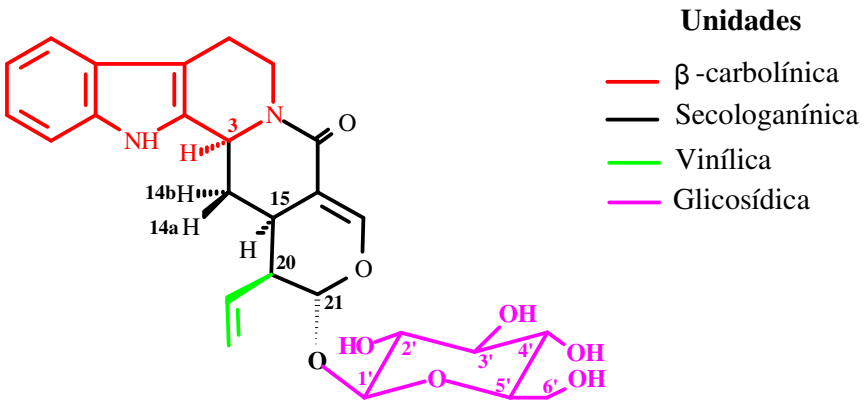


Figura 4-15 - O alcalóide LCPP-6, estrictosamida.

O composto LCPP-6 (Fluxograma 3-7) foi isolado como um óleo amarelo, apresentando coloração laranja frente ao reagente Dragendorff.

No espectro de RMN ^{1}H (Figura A. 58 a Figura A. 63) foram observados quatro deslocamentos de hidrogênios aromáticos em δ_H 7,38-7,37 (m; H-9; 1H); 7,00 (ddd; *J*=8,1; 6,9; 1,0 Hz; H-10; 1H); 7,07 (ddd; *J*=8,1; 6,9; 1,0 Hz; H-11; 1H); 7,32 (dl; *J*=8,1 Hz; H-12; 1H), correlacionados no HSQC ($^{1}J_{CH}$) (Figura A. 64 a Figura A.66) com seus respectivos carbonos CH do tipo sp^2 em δc 117,2 (C-9); 118,6 (C-10); 120,9 (C-11); 110,8 (C-12), cujas multiplicidades são características de um anel dissubstituído. Quatro carbonos C do tipo sp^2 não protonados em δc 141,7(C-2); 120,9 (C-7); 129,5 (C-8); 138,6 (C-13), observados no espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (Figura A.67 a Figura A.69); dois carbonos metilênicos em δc 43,2 [(C-5), δ_H 3,09 (ddd; *J*=14,0; 12,3; 4,6 Hz; H-5b; 1H); 2,71-2,65 (m; H-5a; 2H)]; e em δc 20,6 [(C-6), δ_H 2,96-2,90 (m; H-6b; 1H); 2,71-2,65 (m; H-6a; 2H)]; e um carbono metínico δc 53,6 [(C-3) δ_H 5,08-5,04 (m; H-3; 1H)], são deslocamentos característicos de uma unidade tetraidro-β-carbolínica (PAUL *et al*, 2003).

A presença de um grupo vinílico foi atribuída com base nos sinais dos átomos de carbono: CH_2 [δc 118,9 (C-18); δ_H: 5,31 (dd; *J*=10,2; 1,8 Hz; H-18a; 1H/ cis) e δ_H: 5,36 (dd; *J*=17,2; 1,8 Hz; H-18b; 1H/ trans)] e CH [δc 132,9 (C-19); δ_H: 5,64 (ddd; *J*= 17,2; 10,2; 10,2 Hz; H-19; 1H)].

O sinal em δc 167,8 (C-22), indicando uma carbonila de amida (SILVERSTEIN, 1991); o deslocamento de carbono em δc 147,6 [(C-17), δ_H 7,39 (sl; H-17; 1H)] e um deslocamento de carbono acetálico em δc 96,6 [(C-21), δ_H 5,40 (d;

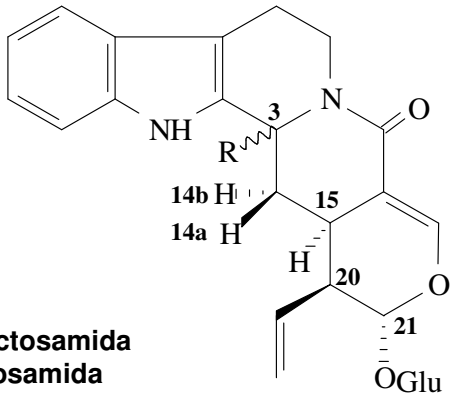
J=1,8 Hz; H-21; 1H)] foram observados para esta estrutura. Os valores de deslocamentos de hidrogênios entre δ_H 3,0 a δ_H 4,0, como valores de deslocamentos para carbonos entre δc 60,0 a δc 77,0 e um carbono anomérico em δc 99,0 [(C-1'), δ_H 4,57 (d; *J*= 8,0 Hz; H-1'; 1H)] sugerem a presença da β–glicose.

O valor da rotação óptica obtido para LCPP-6 de $[\alpha]_D$= -57,2° (MeOD-d_6) é concordante com o valor de $[\alpha]_D$= -56,3° (MeOD-d_6) observado para a estrictosamida (ZHANG *et al*, 2001), confirmando então a substância LCPP-6 como a estrictosamida, alcalóide já isolado das folhas de *P. prunifolia* (Tabela 4-7).

Este composto se distingue de seu epímero β, a vincosamida, quanto à posição do hidrogênio H-3 (Figura 4-16). Devido a isto, em geral, quando comparados os dados de RMN de ^{13}C, os carbonos C-5 e C-14 de ambos os compostos apresentam diferentes deslocamentos químicos, variando de Δδ -3,2 ppm entre os carbonos C-5 e de Δδ +5,6 ppm entre os carbonos C-14 (ZHANG *et al*, 2001). O que também foi observado para este alcalóide (Figura 4-16) (Tabela 4-7).

	Vincosamida	**Estrictosamida**
C-5	39,3*	42,5*
C-14	31,3*	25,7*

*Em DMSO-d_6



R = αH = Estrictosamida
R = βH = Vincosamida

Figura 4-16 – Diferenças entre os alcalóides estrictosamida e vincosamida.

Tabela 4-7 - Dados de RMN ^{1}H e ^{13}C [(125 MHz - ^{13}C) e (500 MHz - ^{1}H) / MeOD] e Estrictosamida (300 MHz-$CDCl_3$/ MeOD)

	LCPP-7 (raiz)		Estrictosamida (folhas)	
Nº	**HSQC**	**δ^{1}H (multiplicidade, *J* Hz) Integ.**	**δ^{13}C**	**δ1H(Integ., multiplicidade, J Hz)**
2	141,7	-	134,8	–
3	53,6	5,08 - 5,04 (m) 1H	55,1	5,06 (1H;dl; 4,5)
5	43,2	a 2,71-2,65 (m) 2H b 3,09 (ddd; 14,0; 12,3; 4,6) 1H	44,8	a 2,64-2,69 (2H; m) b 3,10 (2H; m)
6	20,6	a 2,71-2,65 (m) 2H b 2,96-2,90 (m) 1H	22,1	a 2,64-2,69 (2H; m) b 2,88-2,96(2H; m)
7	120,9	-	110,3	-
8	129,5	-	128,7	-
9	117,2	7,38-7,37 (m) 1H	118,7	7,38(1H; d; 6,6)
10	118,6	7,00 (ddd; 8,1; 6,9; 1,0) 1H	120,2	6,98 (1H; ddd; 7,8; 6,6; 1)
11	120,9	7,07 (ddd; 8,1; 6,9; 1,0) 1H	122,5	7,07 (1H; ddd;7,8; 6,6; 1)
12	110,8	7,32 (dl; 8,1) 1H	112,3	7,31 (1H; d; 7,8)
13	138,6	-	137,8	-
14	25,9	a 2,02 (td; 14,0; 14,0; 6,0) 1H b 2,46(ddd; 14,0; 4,6; 2,0) 1H	27,3	a 2,02 (1H; ddd;13,5; 13,0; 5,6) b 2,45 (1H; ddd; 13,5; 4,5; 1,8)
15	23,3	2,82-2,76(m) 1H	24,9	2,74-2,80 (1H;m)
16	110,5	-	109,2	-
17	147,6	7,39 (sl) 1H	149,2	7,37(1H; d; 2,4)
18	118,9	a 5,31 (dd; 10,2; 1,8) 1H b 5,36 (dd; 17,2; 1,8) 1H	120,5	a 5,31 (1H; dd; 1,8; 10,2) b 5,36 (1H; dd; 1,8; 17,7)
19	132,9	5,64 (ddd; 17,2; 10,2; 10,2) 1H	133,4	5,64 (1H; ddd; 17,7; 10,2; 10)
20	43,3	4,92 (m) 1H	44,7	4,9 (1H; dd; 11; 5,4)
21	96,6	5,40 (d; 1,8) 1H	98,1	5,40 (1H; d; 1,80)
22	167,8	-	167,1	-
1'	99,0	4,57 (d; 8,1)1H	100,5	4,56 (1H; d; 8,05)

2'	72,8	2,96 (dd; 9,3; 8,0)1H	74,3	2,88-2,96(2H; m)
3'	76,6	3,27- 3,22 (m)1H	77,9	3,24-3,17(2H; m)
4'	69,8	3,27- 3,22 (m)1H	71,3	3,10 (2H; m)
5'	76,6	3,17 (dd; 10,2; 9,3)1H	78,2	3,24-3,17(2H; m)
6'	61,1	a 3,62 (dd; 12,0; 6,0) 1H b 3,85 (dd; 12,0; 2,0) 1H	62,6	a 3,60 (1H; dd; 9,1; 7,3) b 3,84(1H; dd;11,7; 1,8)

4.3 Transformações dos Metabólitos Secundários

4.3.1 Transformação do Alcalóide LCPP-3

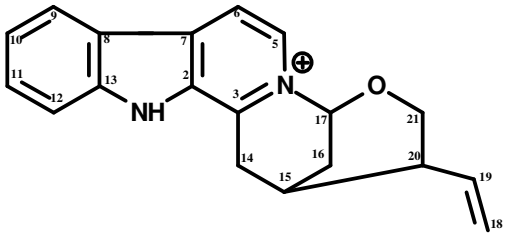


Figura 4-17 - Alcalóide LCPP-3.

Análises do espectro de RMN de ^{1}H de LCPP-3 mostraram, ao longo de 8 meses, alterações que sugerem a modificação estrutural do mesmo.

Inicialmente, observam-se no espectro de RMN de ^{1}H os sinais correspondentes dos hidrogênios aromáticos (H-5; H-6; H-9; H-10; H-11; H-12), representadas em azul (t_1) nas Figura 4-18 e Figura 4-19, referentes ao alcalóide LCPP-3. Posteriormente, representados respectivamente em verde (t_2) (uma semana após a primeira análise) e preto (t_3) (oito meses após a primeira análise), novos sinais surgem, ao passo que, os sinais dos hidrogênios atribuídos para a estrutura LCPP-3, em t_2, diminuem, até não mais existir, como é mostrado em t_3 (Figura 4-18 e Figura 4-19).

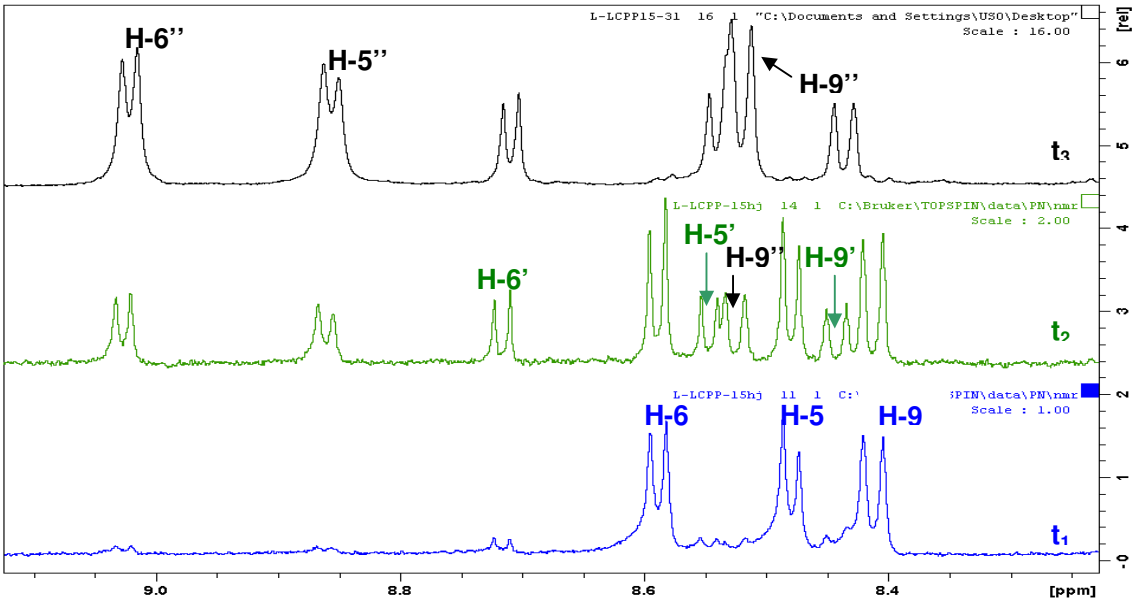


Figura 4-18 - Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H dos hidrogênios H-6, H-5, H-9 nos tempos t_1, t_2 e t_3. Em t_3, os sinais para a LCPP-3 (t_1) desaparecem, ficando apenas os deslocamentos referentes às outras.

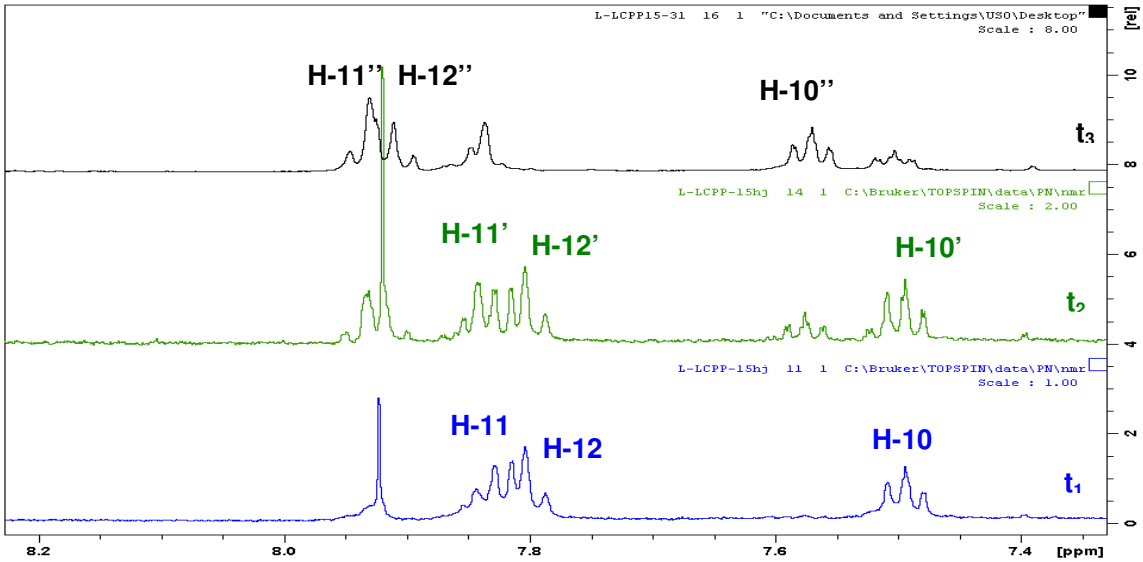


Figura 4-19 – Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H dos hidrogênios H-11, H-12 e H-10 da unidade β-carbolínica para o composto LCPP-3 nos tempos t_1, t_2 e seu desaparecimento, em t_3.

Adicionalmente, observa-se o desaparecimento do sinal de hidrogênio δ 3,80 -3,77 (m), atribuído ao H-14 (t_1 -Figura 4-20) e o surgimento de um simpleto largo com deslocamento em δ_H 5,58 (t_2 - Figura 4-21), correlacionado a um carbono CH

em δ_C 62,2 (HSQC - $^1J_{CH}$). Esse sinal apresenta correlação no espectro de COSY com os sinais em δ_H 2,75 – 2,71 (H-15') e δ_H 2,80 (H-16b'), presentes na unidade ofiorínica, sugerindo assim, a presença da estrutura LCPP-4.

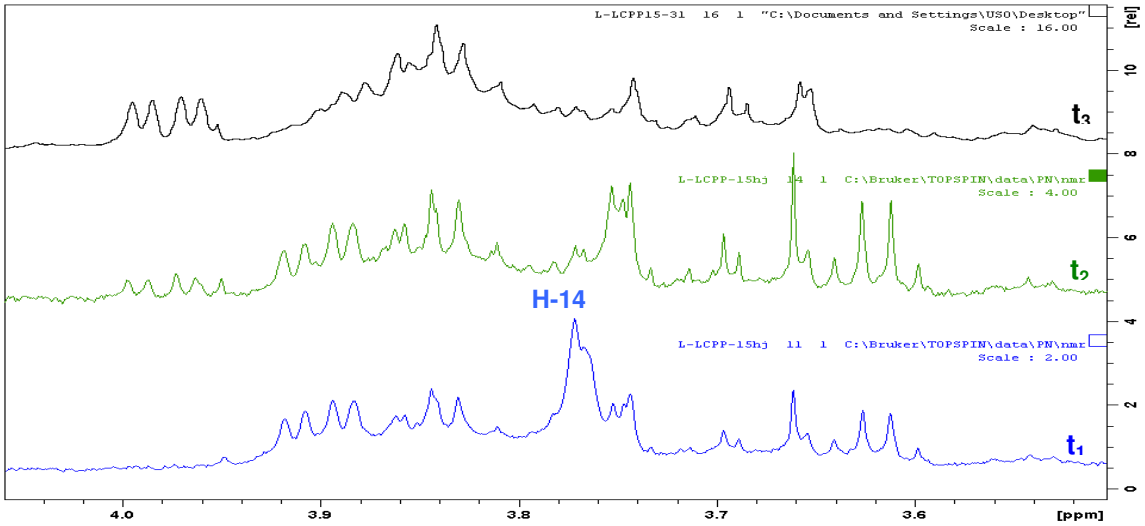


Figura 4-20 – Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H, em diferentes tempos, para o composto LCPP-3.

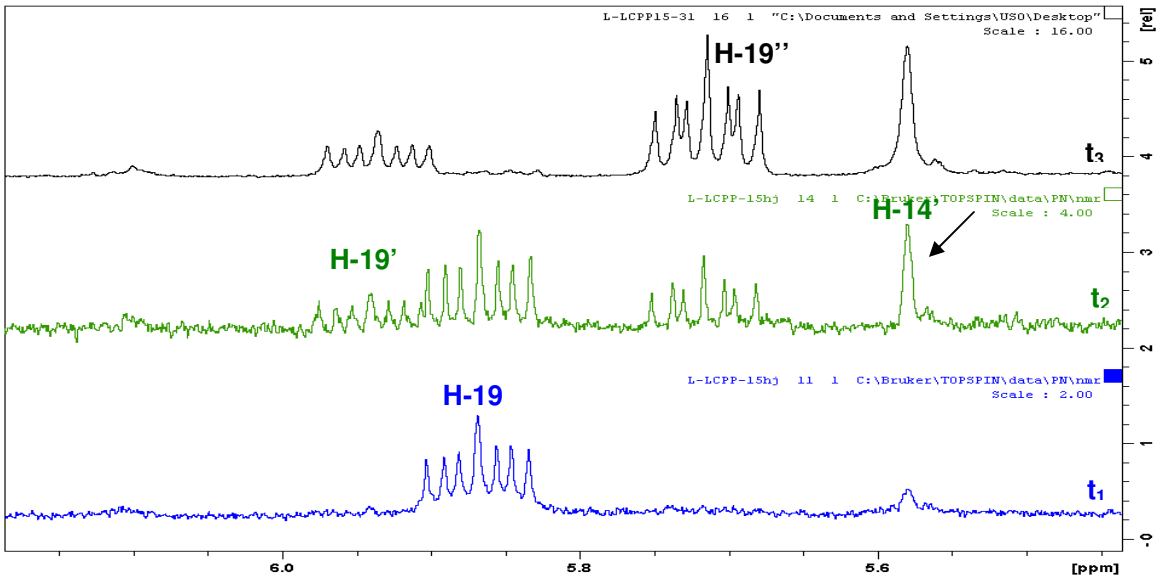


Figura 4-21 – Expansões dos espectros de RMN de ^{1}H, em diferentes tempos, para o composto LCPP-3. Destaque para o sinal em δ_H 5,56 atribuído ao H-14' (LCPP-4).

No espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (Figura 4-22), em azul (t_1), a correlação de H-16a com o carbono δc 193,3 não é observada, e posteriormente, nota-se o apareci-

mento deste sinal a δc 193,3, em vermelho (t_2), confirmando então, o aparecimento de uma terceira substância, a LCPP-5.

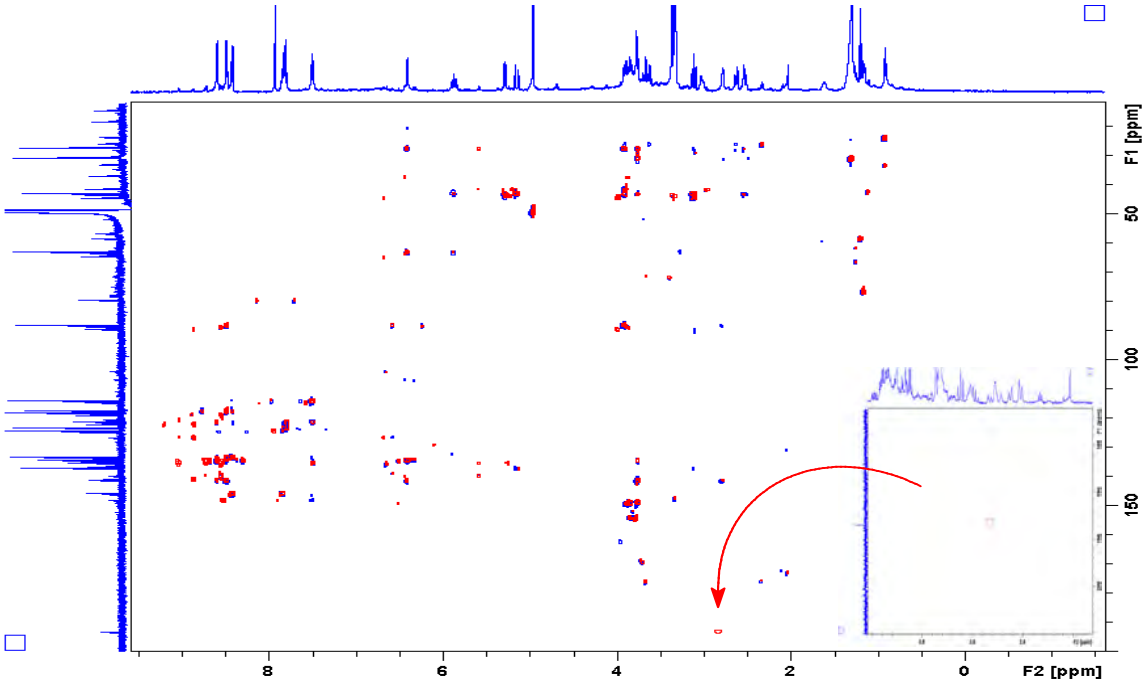


Figura 4-22 – Sobreposição das expansões dos espectros de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$). Em azul (t_1) não se verifica a existência do carbono δ_C 193,3. Em vermelho (t_2), observa-se o surgimento do carbono em δ_C 193,3.

Então, o desaparecimento dos sinais em δ_H 3,80-3,77 (m; H-14) e δ_C 26,2 (C-14; CH_2), referentes ao composto LCPP-3, somados ao aparecimento de um simpleto largo em δ_H 5,58 (H-14') com carbono em δ_C 62,2 (C-14'; CH), e o sinal de carbono em δ_C 193,3 (C-14''; C), bem como, o fato dos hidrogênios nos espectros de RMN de ^{1}H apresentarem-se em campo mais baixo para a segunda e terceira estrutura, sugerem a transformação do composto LCPP-3 para LCPP-4, e em seguida, para LCPP-5.

Para isto, propõe-se o tautomerismo imino-enamina (SCHENATO *et al*, 2003) para o composto LCPP-3, após formação de ligação dupla entre as posições C-3 e C-14, devido ao prototropismo do hidrogênio H-14 para o nitrogênio N-1 (Figura 4-23).

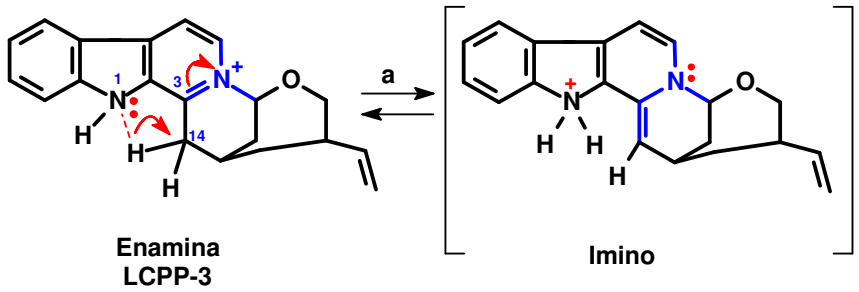


Figura 4-23 – Equilíbrio imino-enamina para a estrutura LCPP-3.

Posteriormente, propõe-se uma adição eletrofílica da água em uma das formas tautoméricas imino, com a entrada de um hidrogênio em C-3 e de uma hidroxila na posição do carbono C-14 (Figura 4-24). Não há evidências nos espectros de RMN da presença deste intermediário.

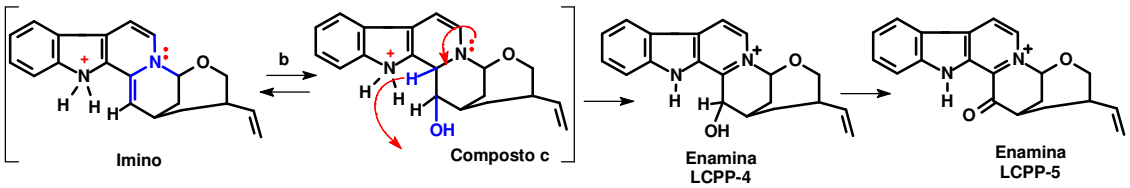


Figura 4-24 – Adição eletrofílica na forma imino do tautomerismo, com formação do composto LCPP-4 e LCPP-5.

A formação do composto LCPP-4, com subseqüente oxidação do mesmo à LCPP-5, pode ser proposta a partir da perda do hidrogênio H-3 (composto c) (Figura 4-24) e restauração da aromaticidade β-carbolínica, cujas evidências são observadas no espectro de RMN de ^{1}H, pela diminuição da intensidade do sinal de hidrogênio em δ 3,8-3,77 (m, H-14, LCPP-3) (Figura 4-20) (CLARAMUNT *et al*, 2006), e o aparecimento de um simpleto largo em δ_H 5,58 (H-14', LCPP-4). No espectro de HMBC é observado o aparecimento do sinal de carbono em δ_C 193,3 (C-14''; LCPP-5).

4.3.2 Transformação do alcalóide LCPP-4

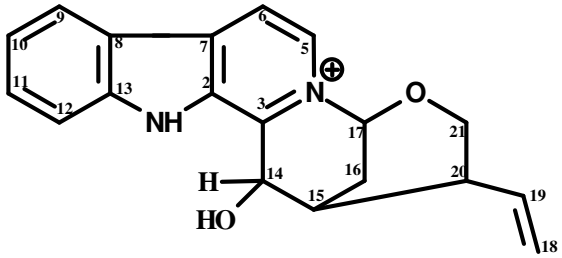


Figura 4-25 - Alcalóide LCPP-4.

Da mesma maneira que para a LCPP-3, no espectro de RMN de ^{1}H de LCPP-4 foram observadas alterações ao longo do tempo (Figura 4-26).

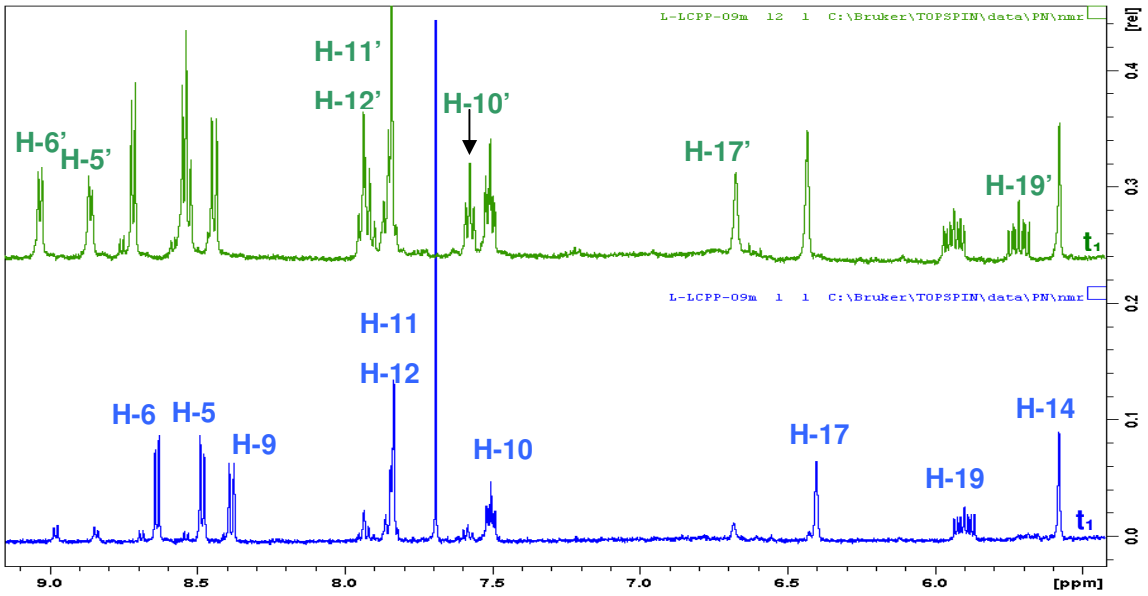


Figura 4-26 – Expansões dos espectros de RMN ^{1}H para o composto LCPP-04. Em azul (t_1), espectro inicial, em verde (t_2), espectro obtido após seis meses de análise do primeiro.

Nota-se a formação de novos picos atribuídos aos hidrogênios aromáticos em H-6; H-5; H-9; H-10; H-11; H-12, assim como, novos deslocamentos para os hidrogênios em H-17 e H-19, condizentes aos hidrogênios das unidades ofiorínica e vinílica, respectivamente (Figura 4-26).

As modificações ocorridas ao longo do espectro de hidrogênio, bem como, o aparecimento de um sinal de carbono com deslocamento em δc 193,3, observado

no segundo espectro de carbono (Figura A. 45 e Figura A. 46) sugerem a transformação da substância LCPP-4 em LCPP-5.

4.3.3 Análises de RMN ^{1}H em DMSO.

Buscando o entendimento do mecanismo de adição, o alcalóide LCPP-3 foi novamente isolado e analisado em um solvente polar aprótico, o DMSO d_6.

O espectro de RMN de ^{1}H apresentou picos e integrais referentes, somente, a estrutura LCPP-3 (Figura 4-27). Esta amostra, mantida a baixa temperatura e ao abrigo da luz, foi analisada após quinze dias, mostrando a proporção de 1 : 0,3 : 0:3 referentes a transformação do composto LCPP-3 em LCPP-4 e LCPP-5. Após trinta e cinco dias, a amostra apresentou integrais na proporção 1,0: 0,2 : 1,0, ou seja, de fato há transformação de LCPP-3 para LCPP-4, com velocidade menor em solvente polar aprótico.

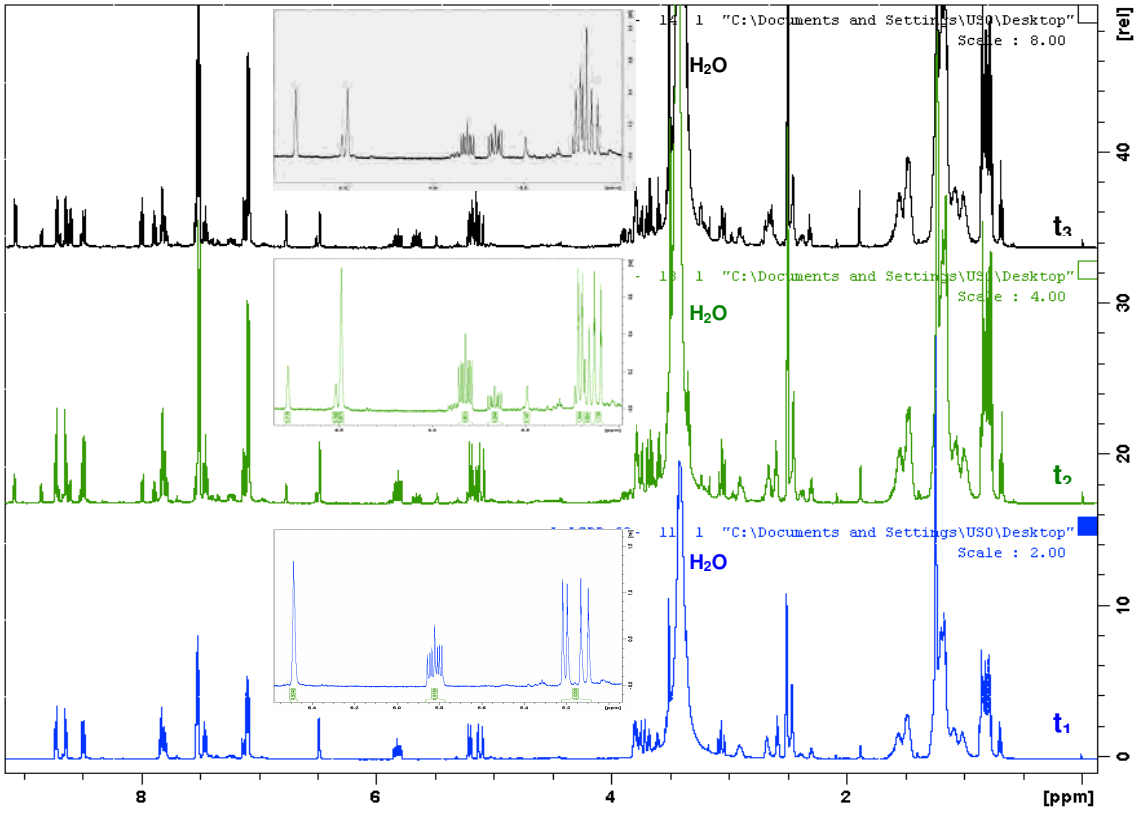


Figura 4-27 – Espectro de RMN de ^{1}H com expansões para a estrutura LCPP-63 em diferentes tempos. Em azul (t_1), análise realizada logo após o isolamento. Em verde (t_2), espectro obtido após quinze dias da primeira análise. Em preto (t_3), espectro obtido após trinta e cinco dias da primeira análise.

4.4 Bioensaios

4.4.1 Ensaio Moluscicida

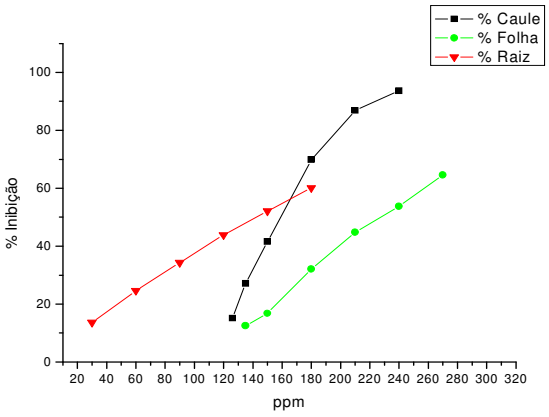
O extrato bruto das raízes de *P. prunifolia* foi dissolvido em água do próprio reservatório em que eram mantidos os caramujos da espécie *B. glabrata* a uma concentração de 400 ppm.

Segundo Hostettmann *et al* (1982), os extratos são considerados bioativos quando CL_{90} (concentração letal a 90% da população estudada) for inferior a 400 ppm, porém, segundo a OMS, a atividade é considerada significante quando CL_{90} for inferior a 100 ppm (WHO, 1965 e 1983). Como nenhuma mortalidade durante o ensaio foi registrada, considera-se que o extrato de *P. prunifolia* não apresenta atividade moluscicida.

4.4.2 Ensaio Antioxidante

O percentual de inibição de oxidação do DPPH frente às diferentes concentrações de extratos foi obtido através do gráfico abaixo (Figura 4-28). Os valores de CE_{50} (concentração equivalente a 50%), representados na tabela, representam as concentrações dos extratos necessárias para reduzir em 50% a quantidade de DPPH.

CE_{50} para Raiz	**CE_{50} para Caule**	**CE_{50} para Folhas**	**CE_{50} para padrão (BHT)**
145,0 ppm	162,4 ppm	231,6 ppm	25 ppm



Extratos	**Equação da reta**
Raiz	y = 6,03 + 0,30 x
Caule	y = -88,79 + 0,85 x
Folhas	y = -37,93 + 0,38 x

Figura 4-28 - Gráfico representando o percentual de inibição do radical DPPH (eixo y) X concentração dos extratos em ppm (eixo x).

As tabelas ao lado do gráfico mostram valores de CE_{50} para os respectivos extratos, bem como, a equação da reta dos mesmos.

Observa-se que para um mesmo percentual de inibição do radical DPPH (CE_{50}), o extrato das raízes apresentou uma menor concentração em ppm, sugerindo assim, uma maior concentração de compostos antioxidantes nesta parte da planta.

CAPÍTULO 5
CONCLUSÃO

5.1 Para o estudo fitoquímico

O estudo fitoquímico das raízes de *P. prunifolia* permitiu, até o momento, o isolamento, a elucidação estrutural e identificação dos seguintes compostos:

- O esteróide LCPP-1 (OLIVEIRA, 2009) e o alcalóide LCPP-4, sendo este último inédito e todos os dois isolados apenas das raízes de *P. prunifolia.*
- O composto LCPP-2, pertencente a uma classe de compostos ainda não descrita em espécies da família Rubiaceae e isolado apenas das raízes de *P. prunifolia.*
- Os alcalóides LCPP-3, LCPP-5 e LCPP-6 também isolados do extrato etanólico bruto das folhas de *P. prunifolia*.

5.2 Para as Transformações das Estrututras

O presente estudo apresenta as transformações ocorridas ao longo do tempo para as substâncias LCPP-3 e LCPP-4, visualizadas nos espectros de RMN de ^{1}H, ^{13}C, HSQC, HMBC. Relata também, que a mudança de solvente polar prótico por aprótico não altera as transformações, porém diminui a velocidade das mesmas. O mecanismo para as transformações ainda encontra-se em estudo.

5.3 Para as Atividades Biológicas

5.3.1 Atividade Moluscicida

O bioensaio para a atividade moluscicida apresentou uma CL_{90} superior a 400 ppm, revelando um resultado negativo para o extrato etanólico das raízes de *P. prunifolia*, apesar de haver relatos na literatura sobre esta atividade para plantas da família Rubiaceae. (SOUSA *et al*, 2007).

5.3.2 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante do extrato etanólico das raízes de *P. prunifolia,* verificada frente ao padrão DPPH, mostrou-se bastante promissora em relação às demais partes da planta. Com uma CE_{50} de 145 ppm , o extrato das raízes apresentou um potencial antioxidante 60% maior do que o extrato bruto das folhas e 12% maior do que o extrato bruto do caule, sugerindo assim, uma maior concentração de antioxidantes nestas partes da planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidade e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** V.16, p. 678-689, 2006.

ALMEIDA, E.R. Plantas Medicinais Brasileiras: conhecimentos populares e científicos. São Paulo – SP, Editora Hemus, 1993, 341 p.

ALONSO, J. R. Tratado de Fitomedicina – bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires, Editora ISIS, 1937.

AMADOR, T. A., *et al.*Antinociceptive profile of hodgkinsine. **Planta medica**, v. 66, p. 770-772, 2000.

AMADOR, T. A., *et al.* Involviement of NMDA receptors in the analgesic properties of psychotridine. **Phytomedicine**, v. 8, p. 202-206, 2001.

BARBANOJ, M. J.; *et al*. Daytime Ayahuasca administration modulares REM and slow-wave sleep in healthy volunteers. **Phytopharmacology**, v.196, p.315-326, 2008.

BARBOSA, D. A. Avaliação Fitoquímica e Farmacológica de *Genipa americana L*. (RUBIACEAE). Rio de Janeiro, 2008. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

BASTOS, A. B. F. D. O., *et al.* Constituintes químicos isolados de *Simira glaziovii* (K. Schum) Steyerm e a atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio do alcalóide ofiorina e seus derivados. **Química Nova**, v. 25, p. 241-245, 2002.

BILIA, A. R., *et al.* Molluscicidal and piscicidal activities of venezuelan Chrysobalanaceae plants. **Plant Toxicity on Snails and Fish,** v. 66, n. 4, 2000.

BOTH, F. L. Avaliação do perfil psicofarmacológico da psicolatina isolada de *Psychotria umbellata* (Rubiaceae). Porto Alegre, 2005. Tese de Doutorado-Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRG).

BOTH, F. L., *et al*. Role of glutamate and dopamine receptors in the psychopharmacological profile of the indole alkaloid psychollatine. **Journal of Natural Products**, v-69, p. 342-345, 2006.

BRANDT, V.; *et al.* β-Carboline glucoalkaloids from *Strychnos mellodora.* **Phytochemistry**, v.51, p. 1171-1176, 1999.

BREMER, B.; ANDREASEN, K.; OLSSON, D. Subfamilial and tribal relationships in the Rubiaceae based on rbcL sequence data. **Annals of the Missouri Botanic Garden***,* v. *82*, p. 383-397, 1995.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. Carbon-13 NMR spectroscopy: high resolution methods and applications in organic chemistry and biochemistry. New York: VCH, 3 ed., 1990, p. 376.

BURGER, W. C.; TAYLOR, C. M. Flora costaricensis. **Fieldiana**, v. 33, p. 333, 1993.

CARDOSO, C. L. *et al.* Indole glucoalkaloids from *Chimarrhis turbinate* and their evaluation as antioxidant agents acetylcholinesterase inhibitors. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1882 – 1885, 2004.

CARDOSO, C. L. *et al.* Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinate* DC Prodr.: a contribution to the chematoxonomic studies of the Rubiaceae family. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, p. 26-29, 2008.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Advanced Organic Chemistry. Charlottesville, Virginia, Editora Springer, 5 ed, 2007. p. 1212.

CARLINI, E. A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.75, p.501 – 512, 2003.

CARVALHO, F.G, *et al*. Determinação de dimetiltriptamina em 'chá do Santo Daime' por Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^{1}H). 31^{a} Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química-SBQ. Águas de Lindóia-SP, 2008. T-1506-1.

CLARAMUNT, R. M., *et al.* The use of NMR spectroscopy to study tautomerism. **Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy,** v. 49, p. 169-206, 2006.

CORRÊA, L. R.; SOARES, G. L. G.; FETT-NETO, A. G. Allelopathic potencial of Psychotria leiocarpa, a dominant understorey species of subtropical forests. **South American Journal of Botany**, 2008.

COSTA, A. F. Farmacognosia. Fundação Calouste Gulbenkian. Editora Lisboa, 2002, v. 1, p. 4-7, 2002.

DELPRETE, P.G., *et al*. Rubiaceae, Flowering Plant Families of the American Tropics. Ed. Princeton University Press. New York Botanical Garden Press. 2004.

DELPRETE, P. G., SMITH, L. B., KLEIN, R. M. Rubiáceaes, Vol. I – Gêneros de A-G: 1. Alseis até 19. Galium. In: A. Reis. (Ed), Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí-SC, 2004, p. 344.

DELPRETE, P.G. Sinopse dos gêneros de Rubiaceae do Brasil. 49° Congresso Nacional de Botânica (26 Julho - 1 Agosto), Resumos, Salvador- Ba, p. 85-86, 1998.

Di STASI, L. C. Plantas Medicinais: Arte e Ciência. Fundação Unifesp. São Paulo-SP, 1996, p. 230.

DINIZ, A. C. B. Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento. **Acta Botanica Brasilica**, v.21, p. 443-450, 2007.

ELISABETSKY, E. *et al*. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. Alkaloids. **Journal of ethnopharmacology**, v. 48, p. 77-83, 1995.

FARIA, E. O. Estudo fitoquímico e avaliação biológica das folhas de *P. prunifolia*. Goiânia, 2009. Dissertação de mestrado. Instituto de Química - Universidade Federal de Goiás (UFG).

FARIA, E. O. Quaternary β-carboline alkaloids from Psychotria prunifolia (Kunth) Steyerm. **Phytochemistry letters**, v. 132, 2010.

FARIAS, F. M.; *et al*. Monoamine levels in rats triatum after a cut e intraperitoneal injection of strictosidinic acid isolated from *Psychotria myriantha* Mull. Arg (Rubiaceae). **Phytomedicine**, v. 17, p. 289-291, 2010.

FARIAS, F. M. *Psychotria myriantha* Mull Arg. (Rubiaceae): caracterização dos alcalóides e avaliação das atividades antiquimiotáxica e sobre o sistema nervoso central. Porto Alegre, 2006. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS).

FOGLIE, M. A.; *et al.* Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: Um modelo multidiciplinar. **Multiciência**. Unicamp, 2006.

FRAGOSO, V. Alcalóides de *Psycotria*: Fotorregulação e Propriedades Antioxidantes e Antimutagênicas. Porto Alegre, 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS).

FRAGOSO, V. *et al*. Antioxidant and antimutagenic properties of the monoterpene indole alkaloid psychollatine and the crude foliar extract of *Psychotria umbellata* Vell. **Toxicology in vitro**, v. 22, p. 559-566, 2008.

FREEDLAND, C. S.; MANSBACH, R. S. Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 54, p.183-194, 1999.

GARCIA, R. M. A., *et al.* Variation in emetine and cephaeline contents in roots of wild Ipecac (*Psychotria ipecacuanha*). **Biochemical systematics and ecology** , v. 33, p. 233-243, 2005.

GEMTCHÚJNICOV, I. D. Manual de Taxonomia Vegetal: Plantas de Interesse Econômico, Agrícolas, Ornamentais e Medicinais. Editora Agronômica Ceres. São Paulo- SP, 1976, p. 368.

GOMES, R.S.D.L. Estudo comparativo da *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes – Rubiaceae - do Bioma Amazônia obtida na mata nativa e do cultivo in vitro submetido a diferentes tratamentos de interceptação. Belo Horizonte, 2007. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

GRECA, M. D., *et al*. A bioactive benzoindenone from *Eichhornia crassipes* solms. **Bioorganic e medicinal chemistry letters**, v. 1, p. 599-600, 1991.

HENRIQUES, A. T., *et al*. N, β-D-Glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa* . **Phytochemistry**, v. 65, p. 449-454, 2004.

HOSTETTMANN, K.; KIZU, H.; TOMIMORI, T. Molluscicidal properties of various saponins. **Planta Medica,** v. 44, p.34-35, 1982.

JANNIC, V. et al**.** Pyrrolidinoindoline Alkaloids from *Psychotria oleides* and *Psychotria lyciiflora***. Journal of Natural Products**, v. 62, p. 838-843, 1999.

JUNIOR, K. A. L. R., *et al*. Atividade Larvicida de Terpenóides e Fenilpropanóides frente às larvas de *Aedes Aegypti* L. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Fortaleza-Ce, 2009.

KERBER, V.A. Análise dos Alcalóides de *Psychotria brachyceras* Mull. Arg. e *P. umbellata* Vel. e o estabelecimento e caracterização de culturas de células de *P. umbellata* Vel. Porto Alegre, 1999. Tese de Doutorado. Faculdade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

KERBER, V. A.; *et al*. Brachycerine, a novel monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 677-679, 2001**.**

KERBER, V. A. *et al*. Psychollatine, a glucosidic monoterpene indole alkaloid from *Psychotria umbellata*. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 697-700, 2008.

LEAL, M. B.; ELIZABETSKY, E.. Opioid-like activity of *P. brachypoda*. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 34, n.4, p. 267-272, 1996.

LEBSACK, A.D.; *et al*. Enantioselective total synthesis of quadrigemine C and psycholeine. **Journal of American Chemical Society,** v. 124, n 31, p. 9008-9009, 2002.

LING, S-K; *et al.* Iridoids and Anthraquinones from the Malaysian Medicinal Plant, *Saprosma scortechinii* (Rubiaceae). **Chemical Pharmacology,** V.50, n.8, p.1035-1040, 2002.

LOCK de UGAZ, O. **Investigacíon fitoquímica:** métodos en el estudio de productos naturales. Lima : Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú, 1988.

LOPES, S.;*et al*. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. *32*, p. 1187-1195, 2004.

LUCIANO, J. H. S. ; *et al.* Chemical constituints of *Alibertia myciifolia* Spruce ex K. Schum. **Biochemical systematics and ecology**, v. 32, p.1227-1229, 2004.

MACIEL, M.A. M.; et al. Plantas Medicinais : A necessidade de estudos multidiciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MOURA, V. M, *et al*. Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae). **Química Nova**, v.29, n.3, p. 452-455, 2006.

MUHAMMAD, I. et al. Antiparasitic alkaloids from *Psychotria klugii*. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 962-967, 2003.

MUÑOZ ; F. Plantas Medicinales y Aromaticas : Estudio, Cultivo y Procesado. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid - Barcelona - México, 1996.

NAGAKURA, N. ; ITOH, A. ; TANAHASHI, T. Four tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides from *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry**, v. 32, p. 761-765, 1993.

NASCIMENTO, C. A. Estudo Fitoquímico e Avaliação da atividade antibacteriana de *Palicourea coriaceae* (RUBIACEAE). Goiânia, 2005. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Goiás (UFG).

NASCIMENTO, C. A., et al. Alkaloids from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. **Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung, Tubingen**, v. 61b, p. 1443-1446, 2006.

NEPOKROEFF, M.; *et al*. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) Inferred from ITS and rbcL Dequence Data. **Systematic Botany**, V. 24, p. 5-27, 1999.

NOMURA, T.; *et al*. The New β-D-Glucosidase in Terpenoid-Isoquinoline Alkaloid Biosynthesis in *Psychotria ipecacuanha**. **Journal of Biological Chemistry,** v. 283, p. 34650-34659, 2008.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. São Paulo- Rio de Janeiro- Belo Horizonte, Atheneu, 1995, p. 1-2, 67-68.

OLIVEIRA, l. O.; MARTINS, E.R. O desafio das Planta Medicinais Brasileiras: I-Caso da poaia (*Cephaelis ipecacuanha*). Editora: Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF. Rio de Janeiro-RJ; p.72,1998.

OLIVEIRA, P. L.. Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: espécie *Amaioua guianensis Aulb.* Goiânia, 2009. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Goiás (UFG).

PASQUALI, G. PORTO, D. D.; FETT-NETO, A. G. Metabolic engineering of cell cultures versus whole plant complexity in production of bioactive monoterpene indole alkaloids: Recent progress related to old dilemma. **Journal Bioscience and Bioengineering**, v. 101, p. 287-296, 2006.

PAUL, J. H. A. *et al*. Novel Bis(monoterpenoid) Indole Alkaloids from Psychotria bahiensis. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 752-754, 2003.

PAVIA, D. L.; *et al.* Introduction to Spectroscopy: A guide for students of organic chemistry. 3rd ed. Thomson Learning, 2001.

PELLETIER, S. W. Chemistry of the alkaloids. New York: Van Nostrand Reinhold, p.795, 1970.

PIRES, C. A. S.; *et al*. Indole monoterpenes with antichemotactic activity from *Psychotria myriantha*: Chemotaxonomic Significance. **Natural Product Communications**, v-1, p. 1101- 1106, 2006.

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia**, v.4, p.1-7, 1999.

POMILIO, A. B. *et al.* Ayahoasca: an experimental psychosis that mirrors the transmethylation hypothesis of schizophrenia. **Journal of ethnopharmacology**, v. 65, p. 29-51, 1999.

RICARDO, *et al*. Alcalóides da espécie *Psychotria birotula* (Rubiaceae). 16ª Encontro de Química da Região Sul. Furb -13 à 15 de novembro de 2008.

RIVIER, L.; LINDEGREN, J., E. "AYAHUASCA" The South American halucinogenic drink: an ethobotanical and chemical investigation. **Economic Botany**, v. 26, p.101-129.

ROBBERS, J. E. *et al.* Farmacognosia e Farmacobiotecnologia. São Paulo-SP, Editorial Premier, 1997. p.372.

ROTH, A.; et al. Preliminary-estudy of the alkaloids of *Psychotria forsteriana*. **Planta medica**, v. 51, p. 289, 1985.

ROVA, J. H. E.; *et al*. A *trn*L-F cpDNA sequence study of the Condamineeae-Rondeletieae-Sipaneeae complex with implications on the phylogeny of the

Rubiaceae. **American Journal of Botany**. v. *89*, p. 145-159, 2002.

SAHA, K.; *et al*. Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. **Journal of ethnopharmacology**, v. 92, p. 263-267, 2004.

SANTOS, R.G.; *et al*. Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members. **Journal of ethnopharmacology**, v. 112, p. 507-513, 2007.

SHENATO, R. A.; *et al*. Aspectos regio- e estereoquímicos da adição de Michael assimétrica via iminas quirais com centros estereogênicos pré-existentes. **Química Nova**, v. 26, p. 717-725, 2003.

SEVERSON, R. F. *et al*. Gas chromatographic quantation of polynuclear aromatic hydrocarbons in tobacco smoke. **Analytical chemistry**, v. 48, p. 1866-1872, 1976.

SIANI, P. *et al*. Cumarina de *Palicourea rigida* (Rubiaceae). 16ª Encontro de Química da Região Sul. Furb -13 à 15 de novembro de 2008.

SILVA, V. C. *et al*. Isolation of lignans glycosides from *Alibertia sensilis* (Vell) k. Schum. (Rubiaceae) by preparative high-performance liquid chromatography. **Eclética Química**, v. *31*, p. 55-58, 2006.

SILVA, N. F. S.; et al. Bioensaio de atividade moluscicida adaptado para avaliação de extratos de plantas medicinais. **Arquivos de Ciênias Veterinárias e Zoologia.** Unipar, Umuarama, v.11, n. 2, p. 179-181, 2008.

SILVERTEIN, R. M.; *et al*. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 5th ed. John Wiley e Sons, 1991.

SIMÕES, C. M. O.; *et al.* Farmacognosia - da planta ao medicamento. Florianópolis, SC. Editora da UFSC, 1999.

SIMÕES-PIRES, C. A.; et al. Indole monoterpenes with antichemotactic activity from *Psychotria myriantha* : Chemotaxonomic Significance. **Natural Product Communications**, v. 1, p.1101-1106, 2006.

SEPICO, R. L.; *et al.* Ayahasca: Revisão teórica e considerações botânicas sobre as espécies *Banisteriopsis caapi* Morton, 1931 e *Psychotria viridis* Ruiz e Pavon, 1779. Guarulhos, 2006. Trabalho de conclusão de curso. Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas. Universidade de Guarulhos.

SOLIS, P. N.; *et al*. Alkaloids from *Cephaelis dichroa*. **Phytochemistry**, v. 33, p. 1117-1119, 1993.

SOUSA, C. M. de M.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUZA, F.H.T. Estudo Fitoquímico e Farmacobotânico de *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). João Pessoa-PE, 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Química Nova**, v. 27, p. 944-948, 2004.

VANIOLLI, R.. *et al*. Isolamento e quantificação de escopoletina a partir das folhas de *Litchi chinensis.* 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Fortaleza-Ce, 2009.

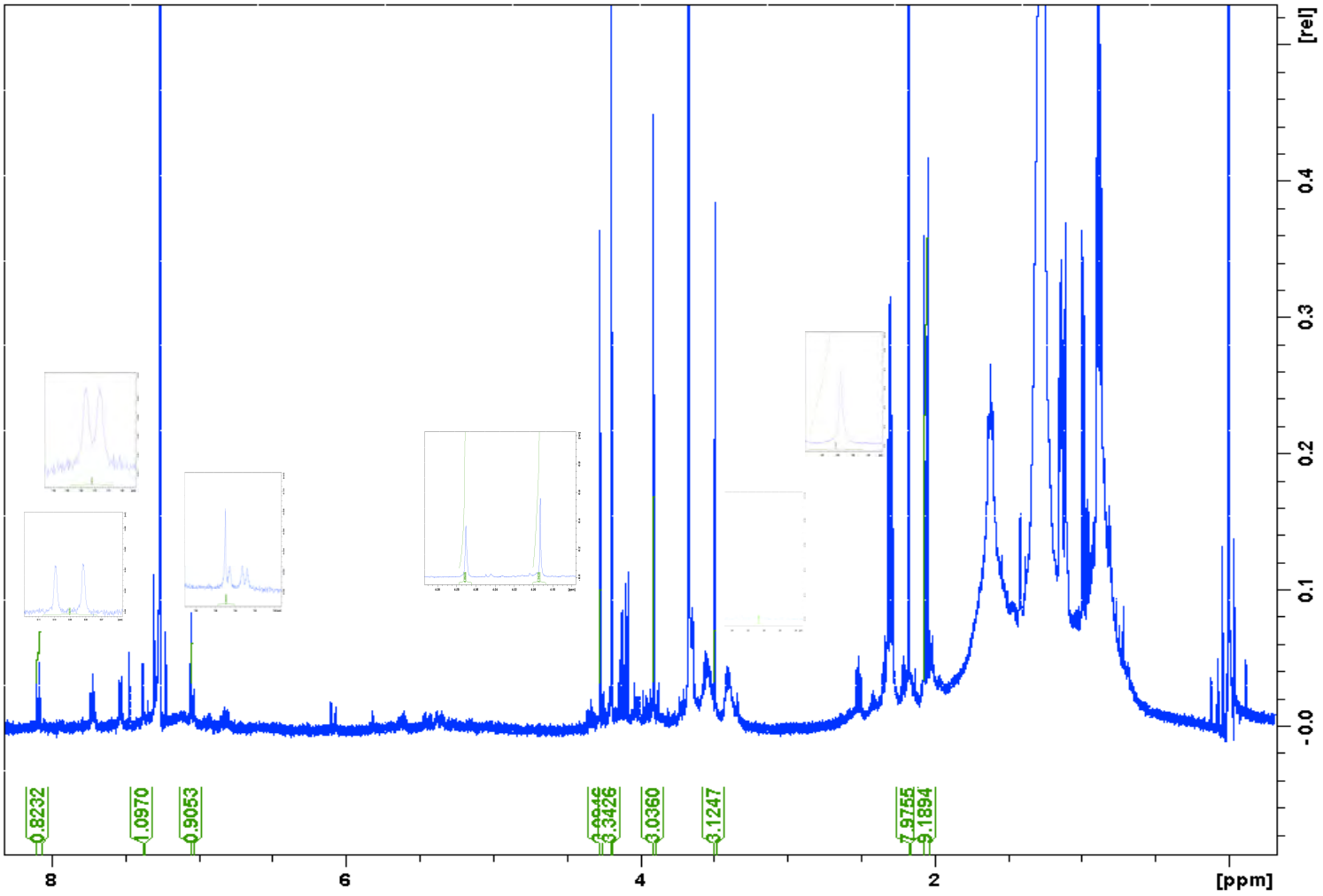
VAN DE SANTOS, L..; *et al* . Indole monoterpenes alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* Mull. Arg. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and ecology**. v. 29, p. 1185- 1187, 2001.

VEROTTA, L. *et al***.** Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata***. Journal Natural Products**, v. 61, p. 392-396, 1998.

VEROTTA, L. *et al*. Synthesis and antinociceptive activity of chimonanthines and pyrrolidinoindoline - type alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 2133-2142, 2002.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas Medicinais sob a ótica da Química medicinal Moderna. Chapecó – SC, Argos – Editora Universitária, 2001.

ZHANG, Z. et al. New indole alkaloids from the bark of *Nauclea orientalis*. **Journal Natural Products**, v. 64, p. 1001-1005, 2001.




```
Current Data Parameters
NAME            L-LCPP-20
EXPNO                  11
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20100415
Time                11.37
INSTRUM             spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG              zg30
TD                  65536
SOLVENT             CDCl3
NS                     16
DS                      0
SWH              8064.516 Hz
FIDRES           0.123055 Hz
AQ               4.0632820 sec
RG                    256
DW                 62.000 usec
DE                  6.50 usec
TE                 301.2 K
D1            1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                   1H
P1                  9.90 usec
PL1                 4.80 dB
PL1W         -1.#IND0000 W
SFO1         500.1333775 MHz

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF           500.1300132 MHz
WDW                    EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.00
```

Figura A. 1 - Espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2.

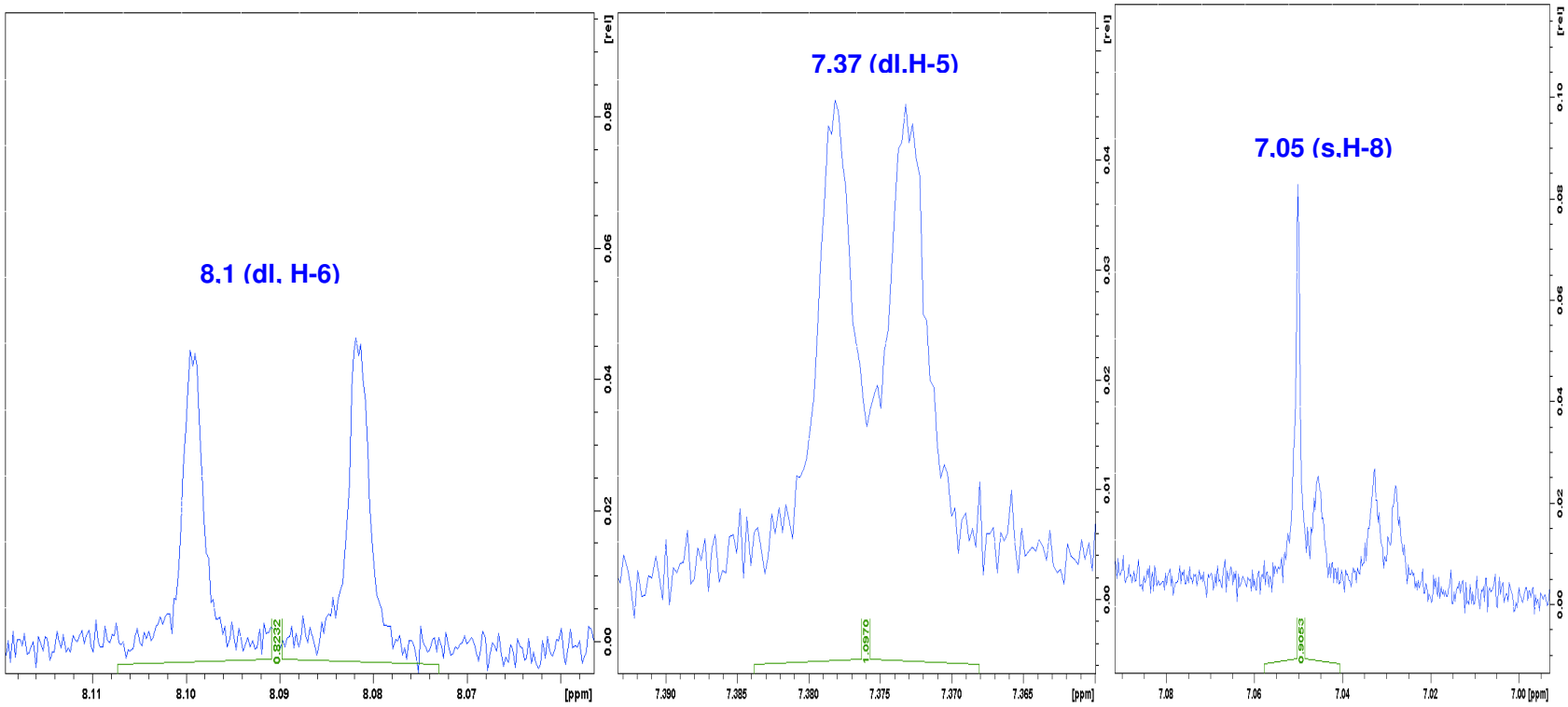


Figura A. 2 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2.

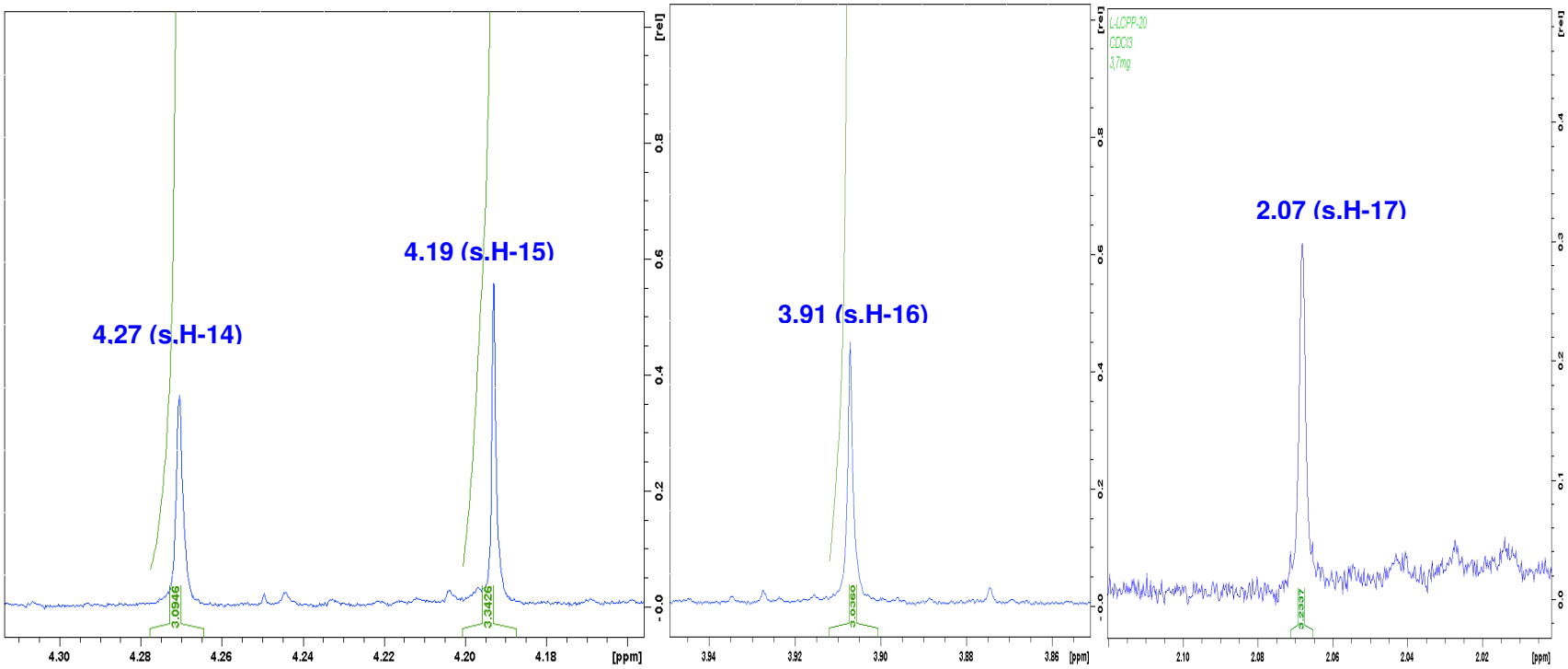
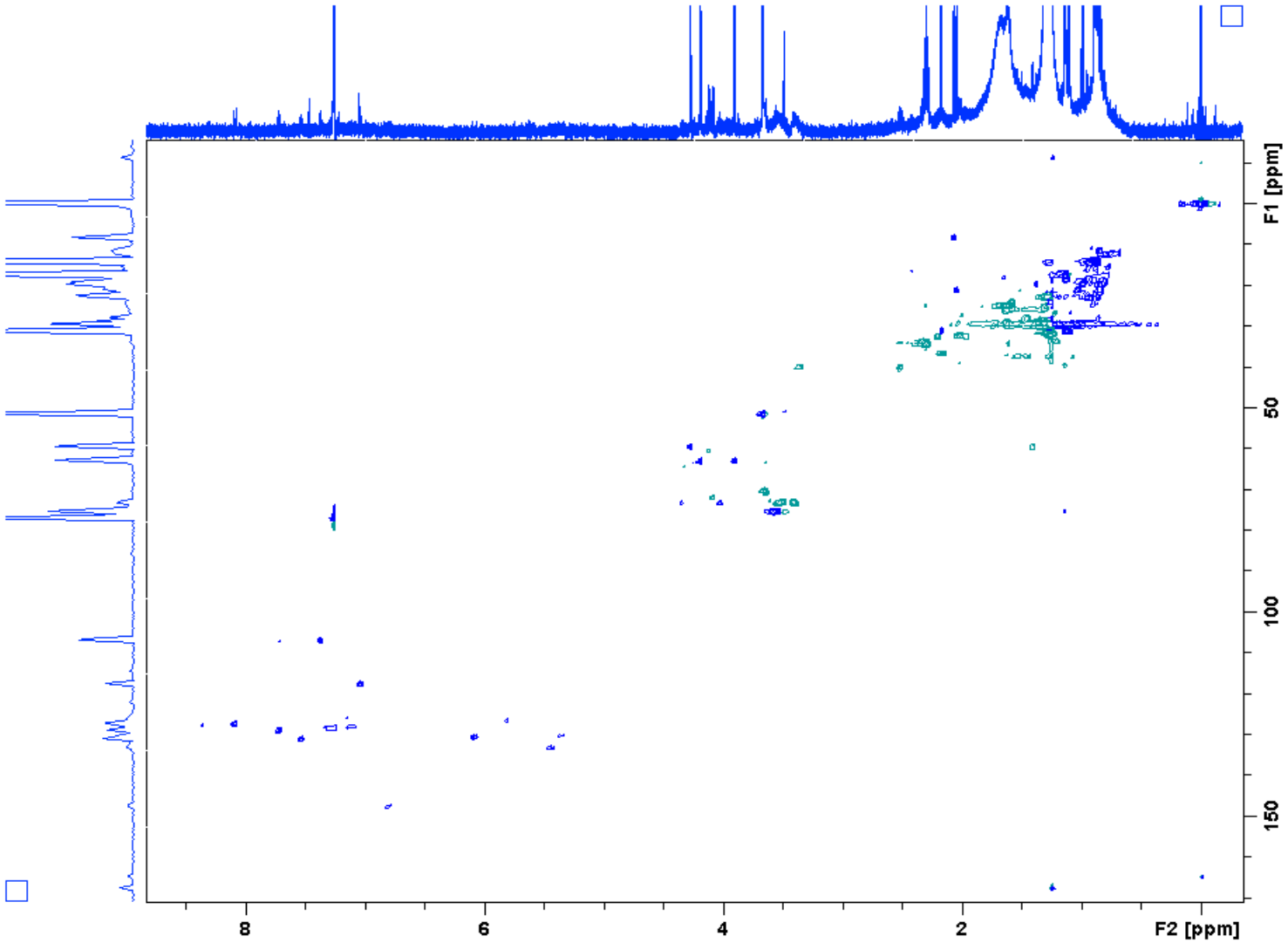


Figura A. 3 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2.




```
Current Data Parameters
NAME                  L-LCPP-20
EXPNO                       200
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20100506
Time                    16.15
INSTRUM                 spect
PROBHD    5 mm TBI 1H/13
PULPROG   hsqcedetgpsisp2.3
TD                        4096
SOLVENT                 CDCl3
NS                          80
DS                          16
SWH                  8064.516 Hz
FIDRES               1.968876 Hz
AQ                   0.2540020 sec
RG                          912
DW                     62.000 usec
DE                     10.00 usec
TE                     298.2 K
CNST2               145.0000000
CNST17               -0.5000000
D0                   0.00000300 sec
D1                   1.00000000 sec
D4                   0.00172414 sec
D11                  0.03000000 sec
D16                  0.00010000 sec
D21                  0.00344828 sec
D24                  0.00086207 sec
IN0                  0.00001990 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                       7.40 usec
P2                      14.80 usec
P28                   1000.00 usec
PL1                      1.00 dB
PL1W            -1.#IND0000 W
SFO1             500.1333775 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                  garp
NUC2                      13C
P3                      13.40 usec
P14                    500.00 usec
P24                   2000.00 usec
P31                   1900.00 usec
PCPD2                   70.00 usec
PL0                    120.00 dB
PL2          0 dB
PL12                    14.36 dB
PL0W            -1.#IND0000 W
PL2W            -1.#IND0000 W
PL12W           -1.#IND0000 W
SFO2             125.7675981 MHz
SP3                      5.62 dB
SP7                      5.62 dB
SP18                    11.82 dB
SPNAM3       Crp60,0.5,20.1
SPNAM7         Crp60comp.4
SPNAM18      Crp60_xfilt.2
SPOAL3                  0.500
SPOAL7                  0.500
SPOAL18                 0.500
SPOFFS3      0 Hz
SPOFFS7      0 Hz
SPOFFS18     0 Hz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1              SINE.100
GPNAM2              SINE.100
GPNAM3              SINE.100
GPNAM4              SINE.100
GPZ1                    80.00 %
GPZ2                    20.12 %
GPZ3                    11.00 %
GPZ4                    -5.00 %
P16                   1000.00 usec
P19                    600.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                        256
SFO1             125.7676 MHz
FIDRES            98.255936 Hz
SW                  200.000 ppm
FnMODE      Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI                       1024
SF               500.1300087 MHz
WDW                     QSINE
SSB                         2
LB           0 Hz
GB           0
PC                      1.00

F1 - Processing parameters
SI                       1024
MC2             echo-antiecho
SF                125.7577612 MHz
WDW
SSB                         2
LB           0 Hz
GB           0
```

Figura A. 4 – Espectro de HSQC ($^1J_{CH}$) ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2.

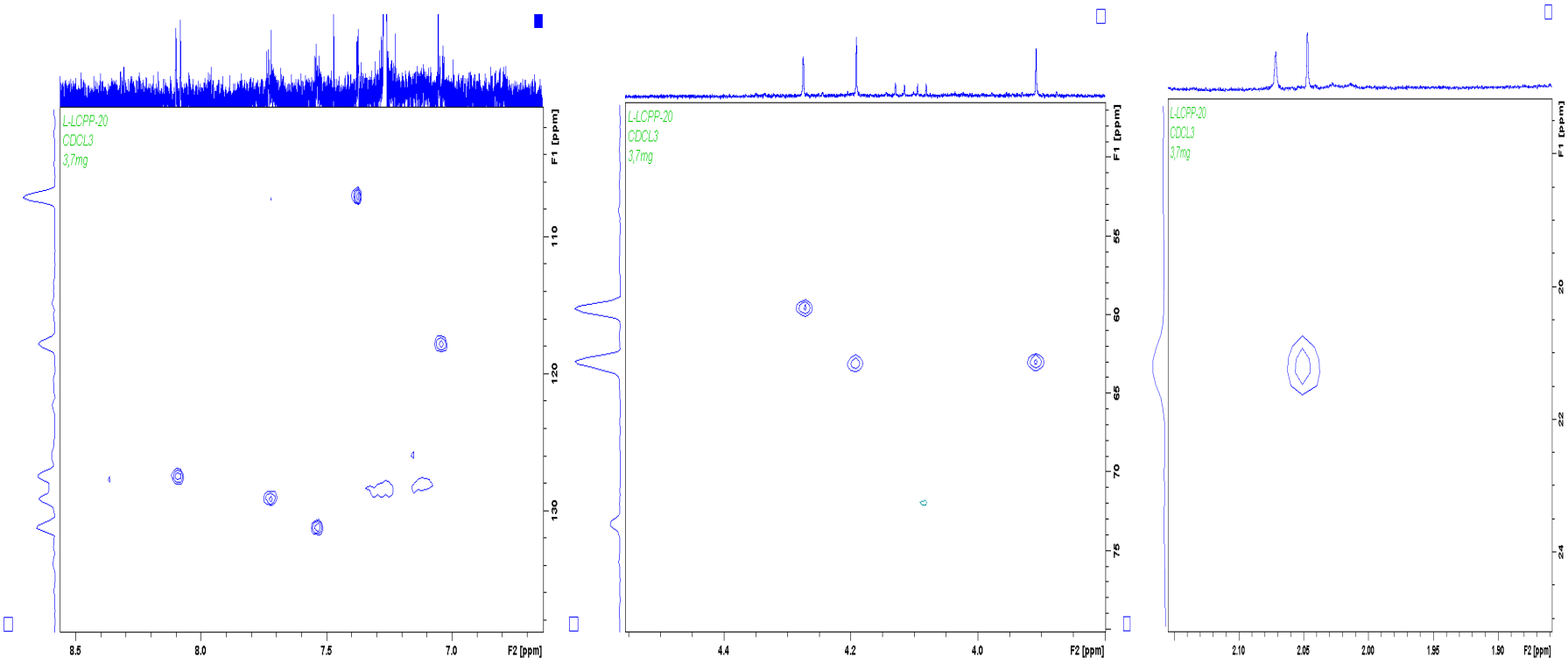
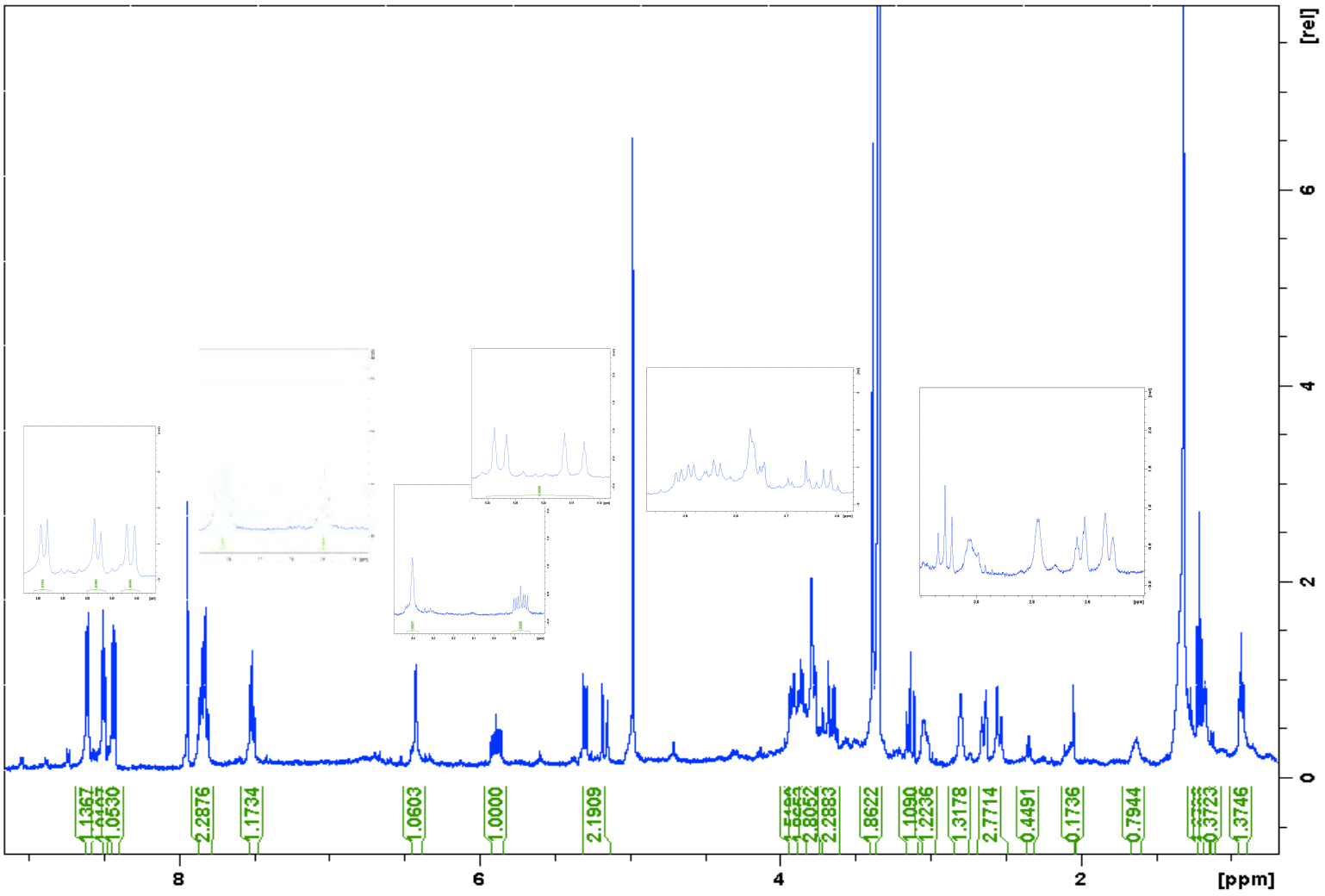


Figura A. 5 – Expansões do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-2.



Current Data Parameters
NAME L-LCPP-15hj
EXPNO 11
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20090128
Time 15.52
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm TBI 1H/13
PULPROG zgppr
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 32
DS 0
SWH 10000.000 Hz
FIDRES 0.152588 Hz
AQ 3.2768500 sec
RG 1290
DW 50.000 usec
DE 6.50 usec
TE 291.7 K
D1 1.00000000 sec
D12 0.00002000 sec
TD0 1

====== CHANNEL f1 ======
NUC1 1H
P1 9.90 usec
PL1 4.80 dB
PL9 57.00 dB
PL1W -1.#IND0000 W
PL9W -1.#IND0000 W
SFO1 500.1324855 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 500.1300046 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Figura A. 6 - Primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3.

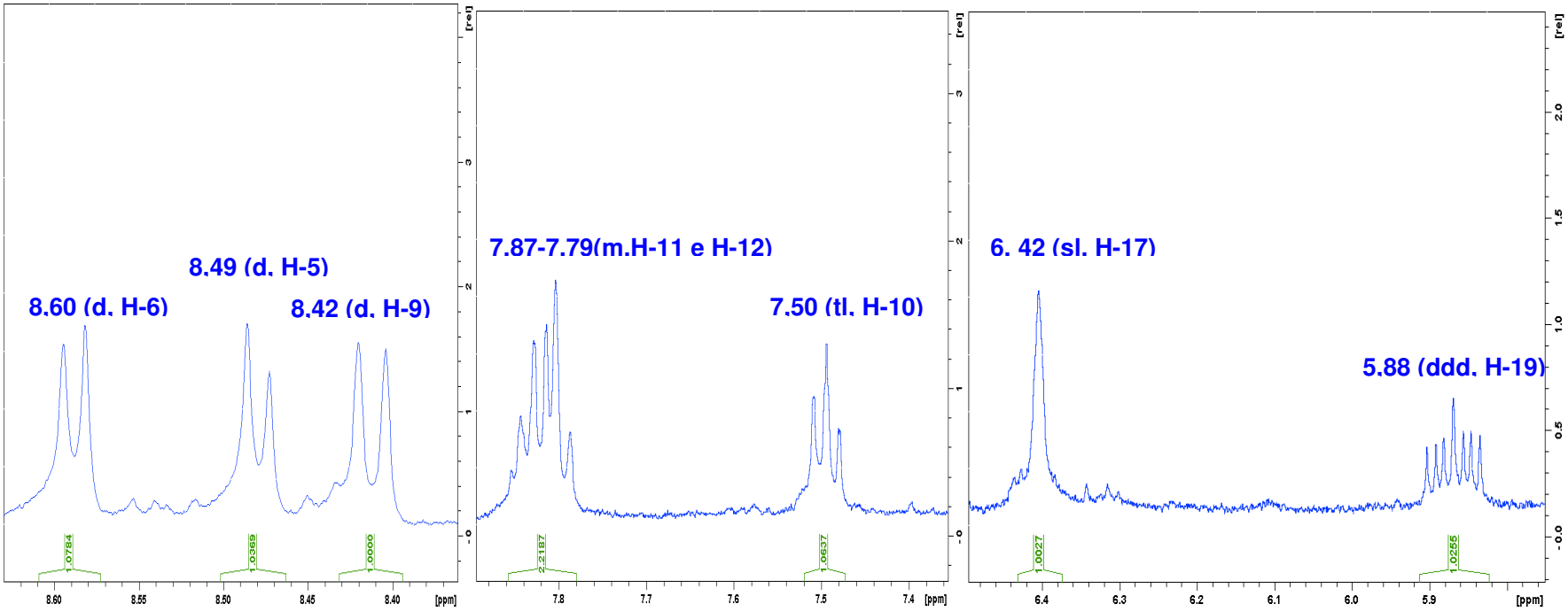


Figura A. 7 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-3.

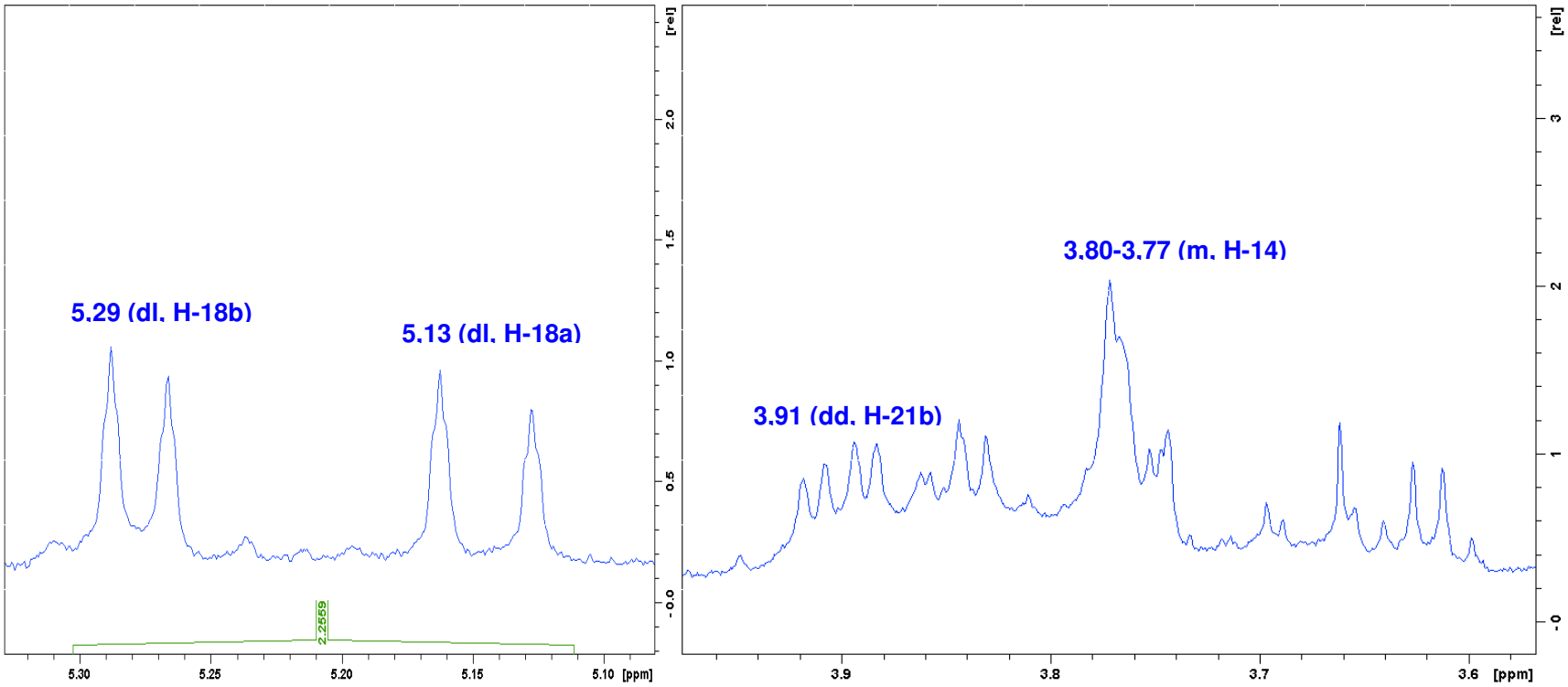


Figura A. 8 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-3.

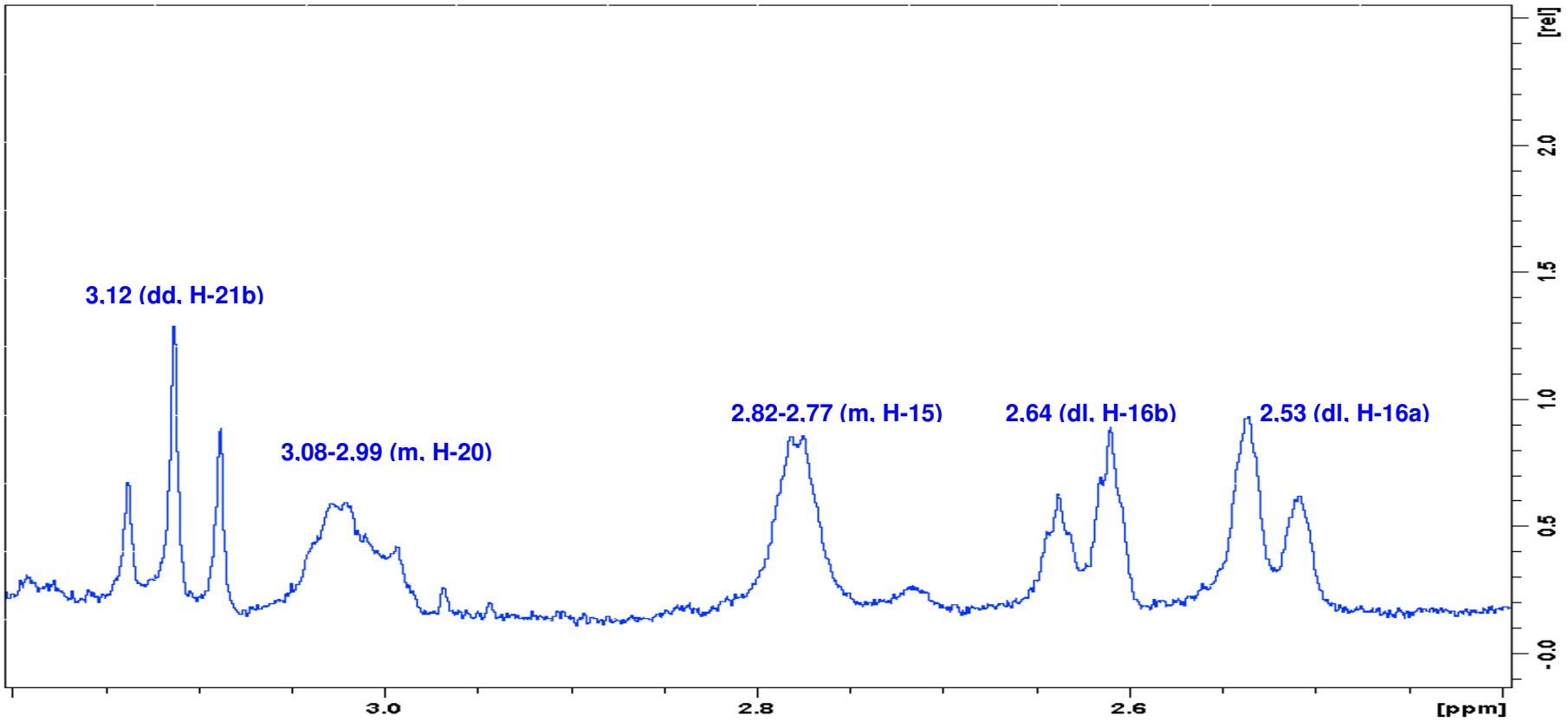
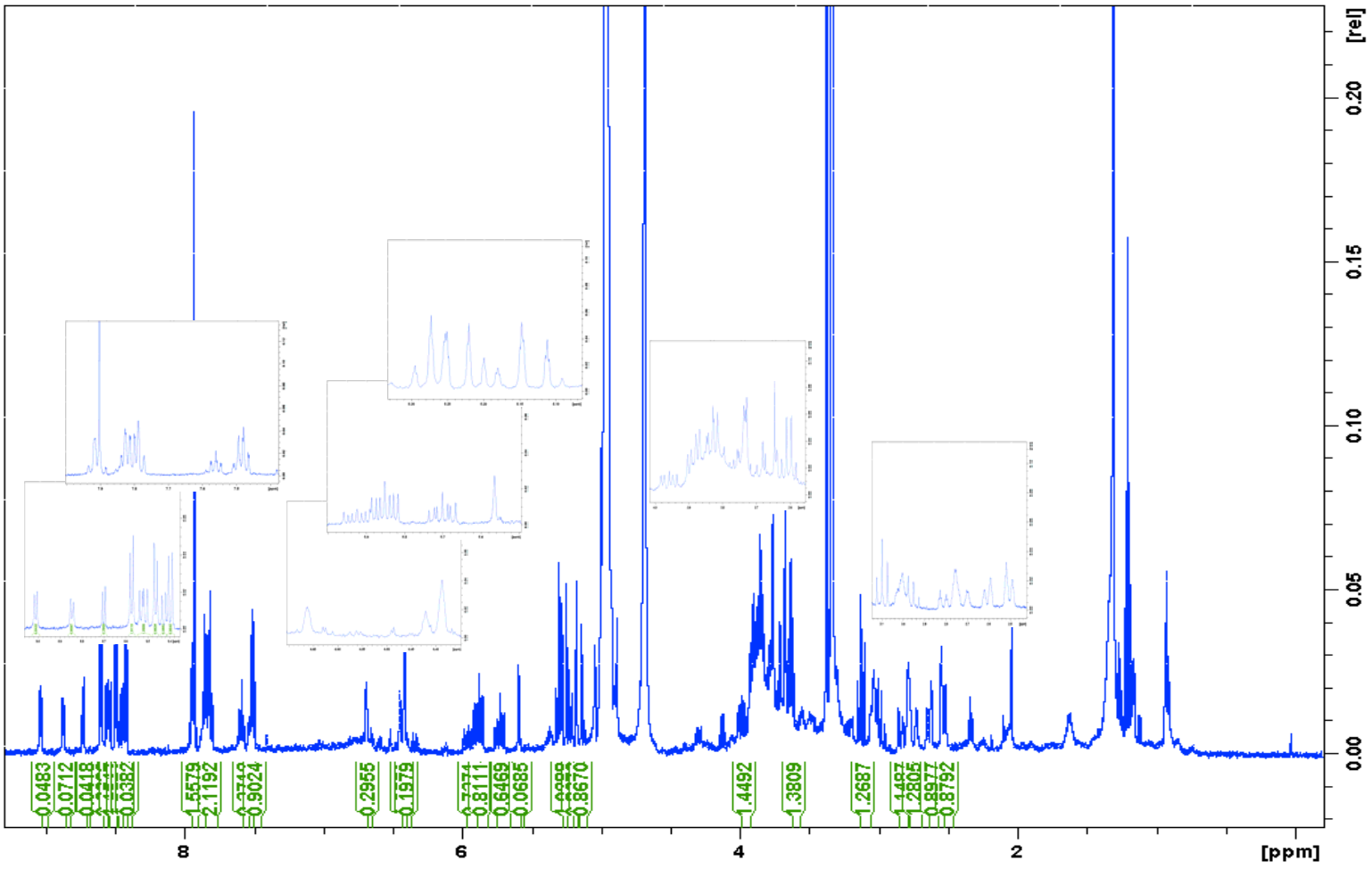


Figura A. 9 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H ($CHCl_3$ - 500 MHz) de LCPP-3.



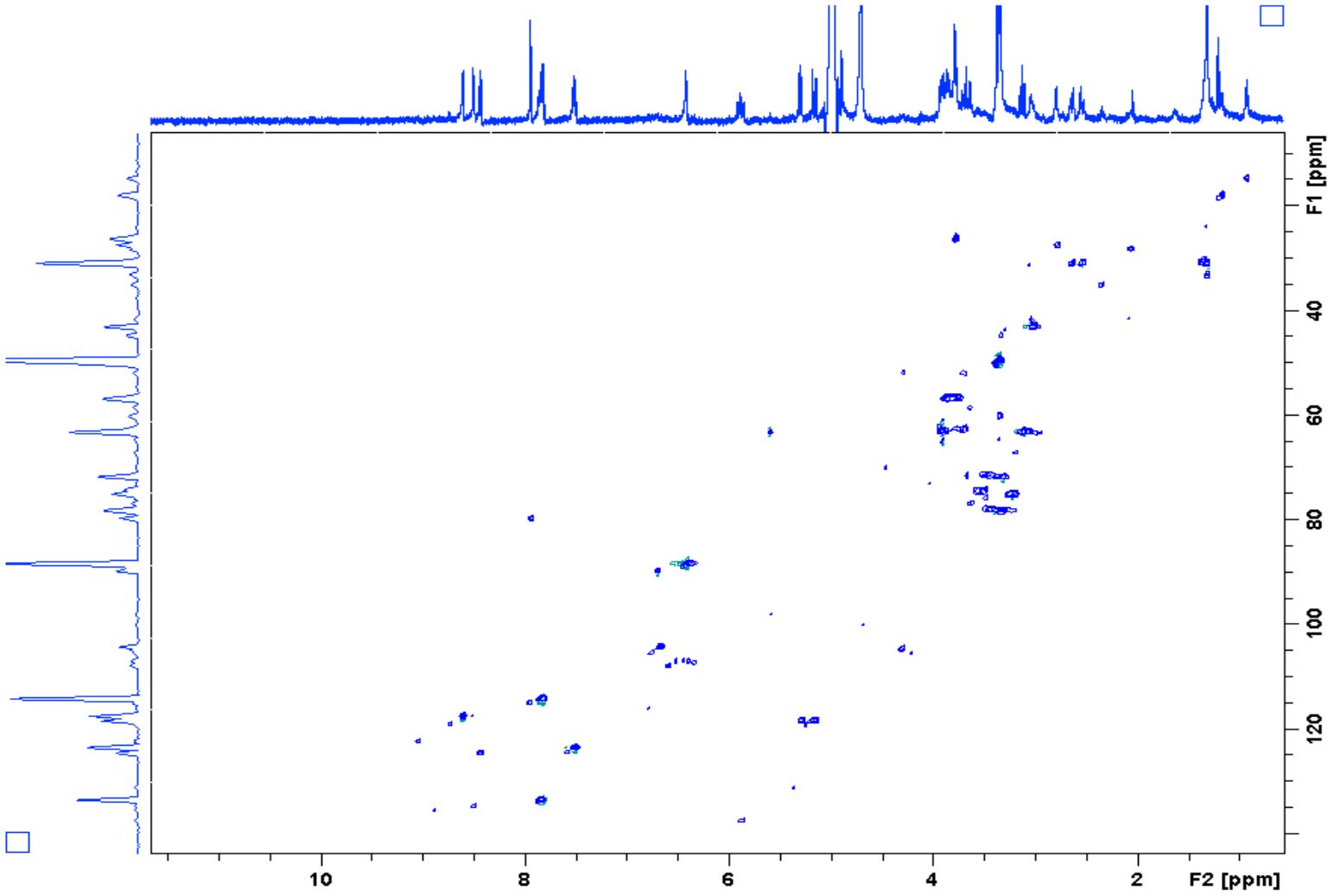

```
Current Data Parameters
NAME         L-LCPP-15hj
EXPNO                 13
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090203
Time               14.06
INSTRUM            spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG             zg30
TD                 65536
SOLVENT             MeOD
NS                    16
DS                     0
SWH           10000.000 Hz
FIDRES         0.152588 Hz
AQ            3.2768500 sec
RG                   362
DW                50.000 usec
DE                 6.50 usec
TE                311.4 K
D1           1.00000000 sec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  1H
P1                 9.90 usec
PL1                4.80 dB
PL1W        -1.#IND0000 W
SFO1        500.1324839 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF          500.1300118 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 0.30 Hz
GB        0
PC                 1.00
```

Figura A. 10 – Segundo espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3.




```
Current Data Parameters
NAME         L-LCPP-15hj
EXPNO                200
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090128
Time               16.06
INSTRUM            spect
PROBHD    5 mm TBI 1H/13
PULPROG         hsqcetgp
TD                 2048
SOLVENT             MeOD
NS                    64
DS                    16
SWH           10000.000 Hz
FIDRES         4.882813 Hz
AQ            0.1024500 sec
RG                 1620
DW               50.000 usec
DE                6.50 usec
TE                292.3 K
CNST2        145.0000000
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D4            0.00172414 sec
D11           0.03000000 sec
D13           0.00000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00002400 sec
ZGOPTNS

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                 1H
P1                 9.90 usec
P2                19.80 usec
P28             1000.00 usec
PL1                4.80 dB
PL1W        -1.#IND0000 W
SFO1        500.1324855 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2             garp
NUC2                13C
P3                20.50 usec
P4                41.00 usec
PCPD2             70.00 usec
PL2                3.70 dB
PL12              14.50 dB
PL2W        -1.#IND0000 W
PL12W       -1.#IND0000 W
SFO2        125.7671682 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1          SINE.100
GPNAM2          SINE.100
GPZ1              80.00 %
GPZ2              20.12 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1          125.7672 MHz
FIDRES        81.374924 Hz
SW              165.639 ppm
FnMODE    Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI                  1024
SF          500.1299916 MHz
WDW                QSINE
SSB                    2
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.00

F1 - Processing parameters
SI                  1024
MC2       echo-antiecho
SF          125.7575828 MHz
WDW
SSB                    2
LB        0 Hz
GB        0
```

Figura A. 11 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

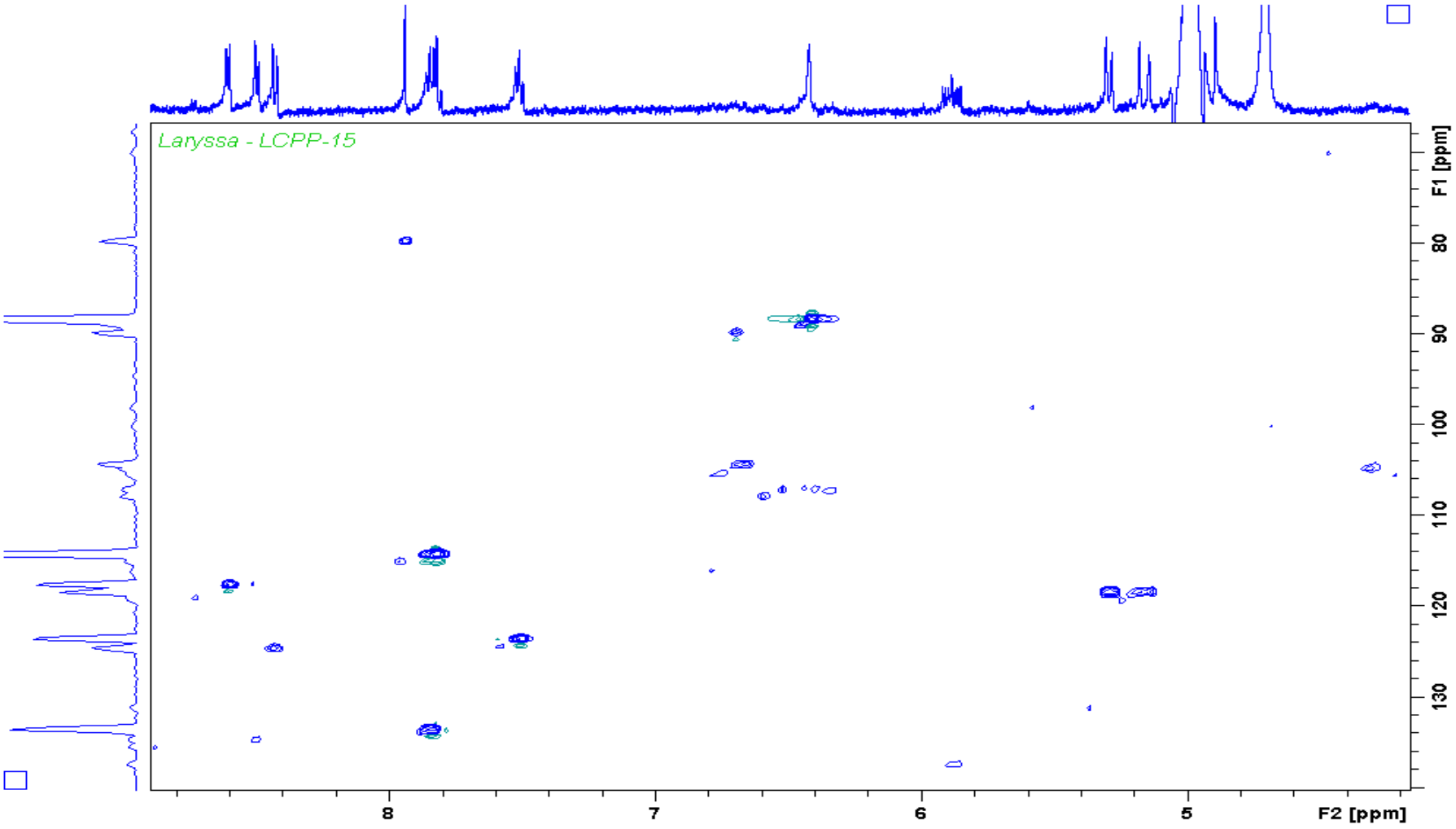


Figura A. 12 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

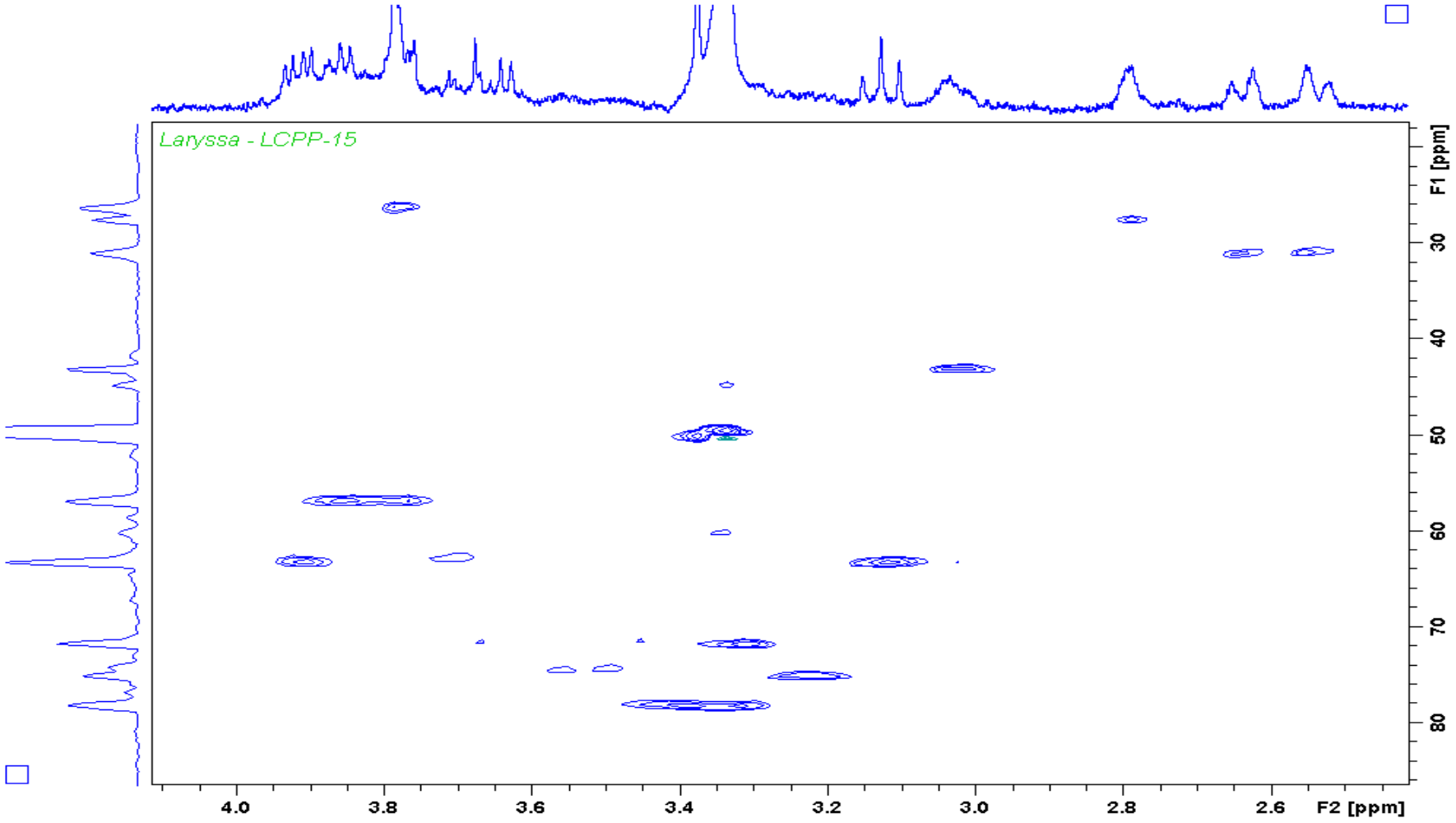
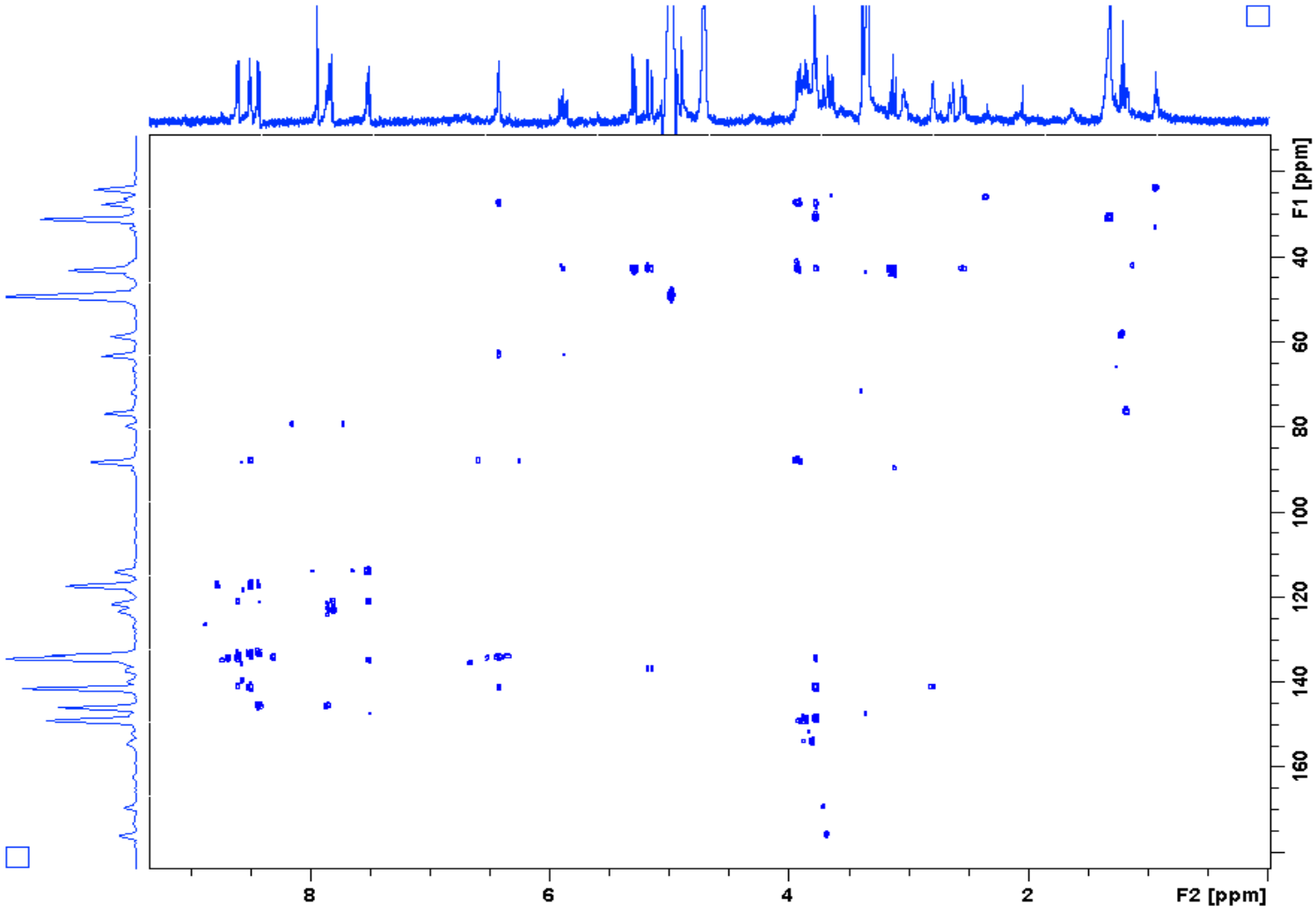


Figura A. 13 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.




```
Current Data Parameters
NAME         L-LCPP-15hj
EXPNO                300
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090128
Time               21.13
INSTRUM            spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG   hmbcgplpndqf
TD                 4096
SOLVENT            MeOD
NS                  100
DS                   16
SWH          10000.000 Hz
FIDRES        2.441406 Hz
AQ            0.2048500 sec
RG                 1620
DW               50.000 usec
DE                6.50 usec
TE               292.6 K
CNST2       145.0000000
CNST13       10.0000000
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D6            0.05000000 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00001790 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                 1H
P1                 9.90 usec
P2                19.80 usec
PL1                4.80 dB
PL1W        -1.#IND0000 W
SFO1        500.1324855 MHz

======== CHANNEL f2 ========
NUC2                13C
P3                20.50 usec
PL2                3.70 dB
PL2W        -1.#IND0000 W
SFO2        125.7703443 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1          SINE.100
GPNAM2          SINE.100
GPNAM3          SINE.100
GPZ1               60.00 %
GPZ2               20.00 %
GPZ3               60.12 %
P16              1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  246
SFO1            125.7703 MHz
FIDRES        113.548668 Hz
SW               222.095 ppm
FnMODE                QF

F2 - Processing parameters
SI                 2048
SF          500.1299948 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                 1.00

F1 - Processing parameters
SI                 1024
MC2                  QF
SF          125.7575909 MHz
WDW
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

Figura A. 14 – Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

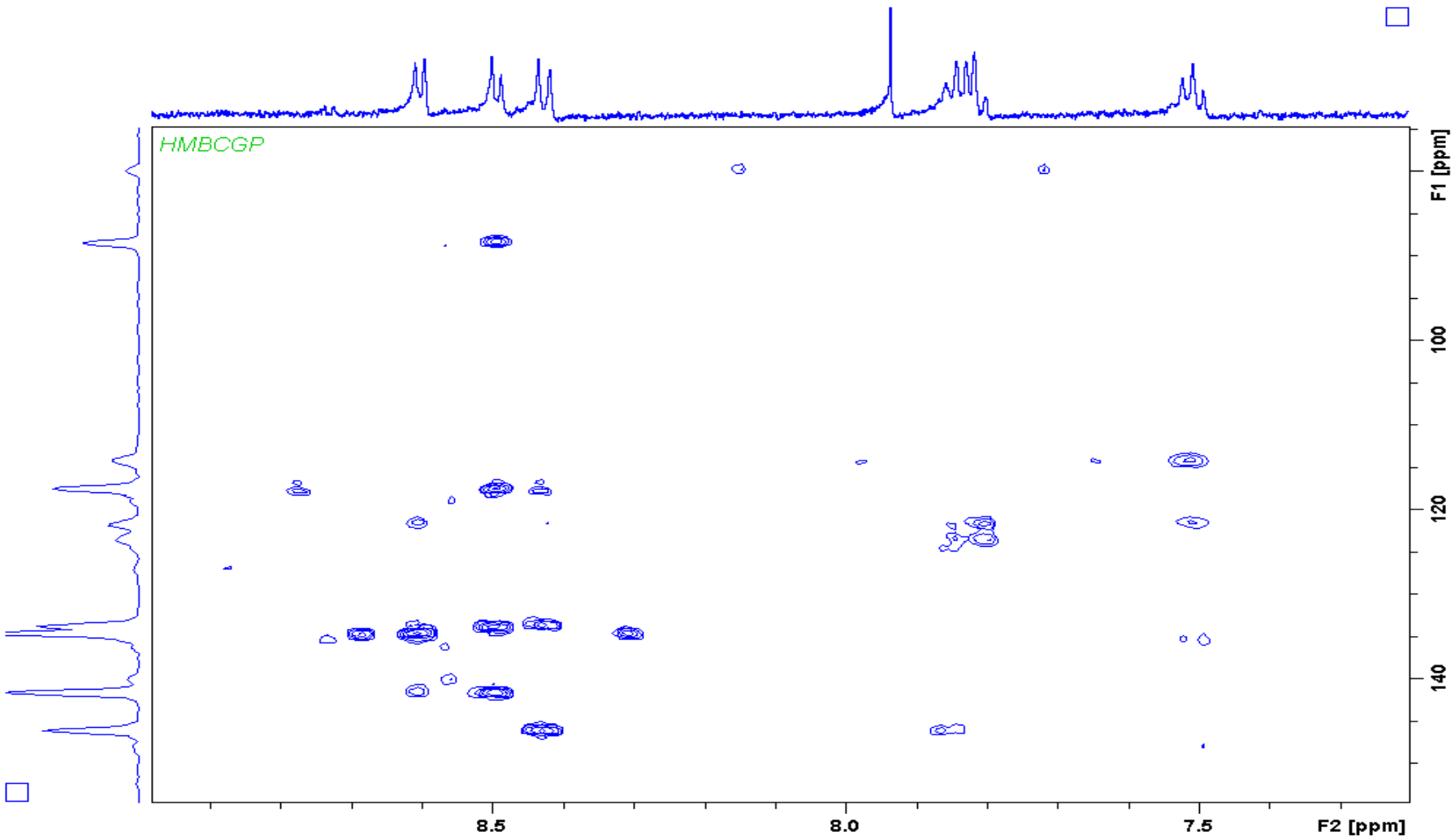


Figura A. 15 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

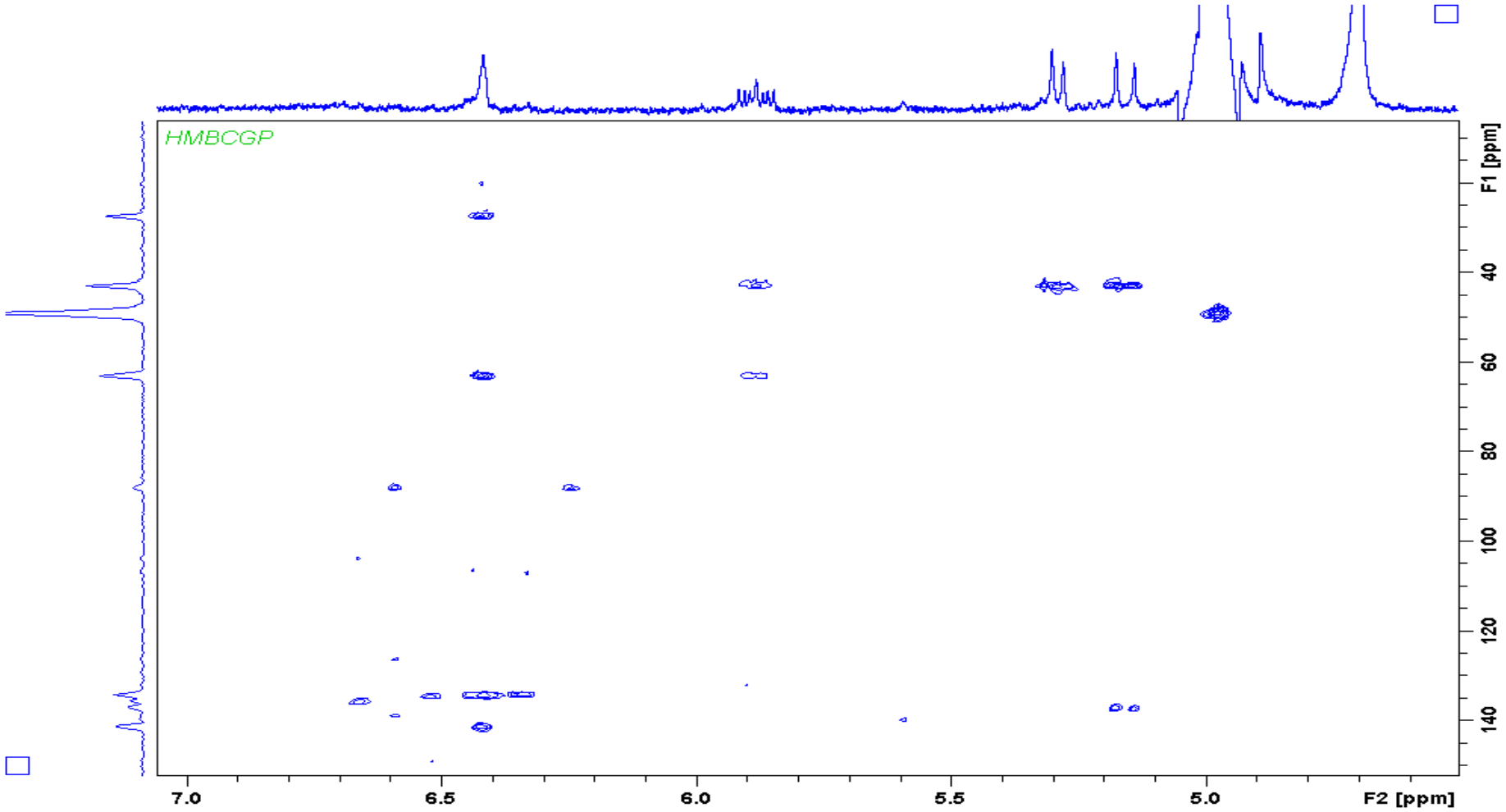


Figura A. 16 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

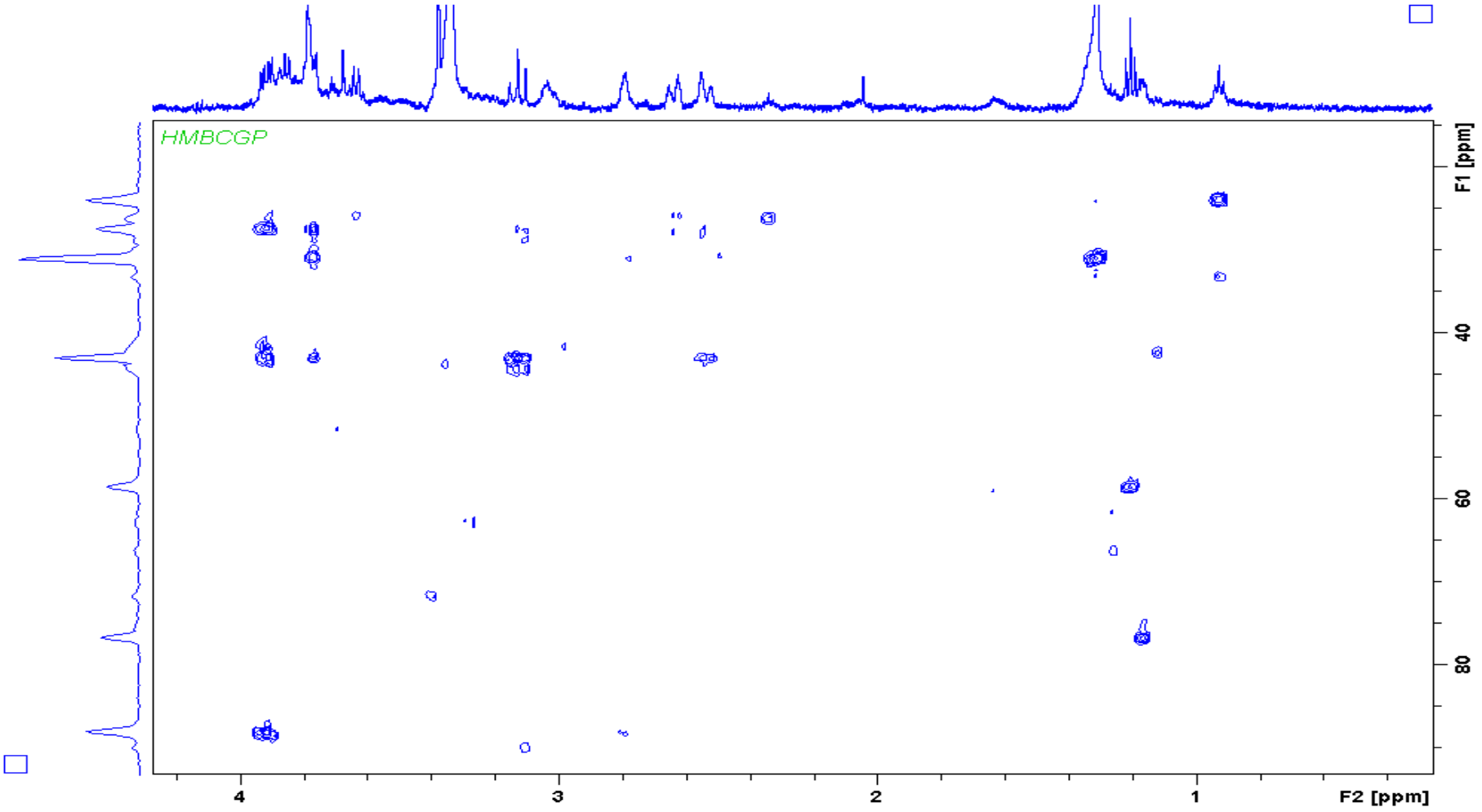


Figura A. 17 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

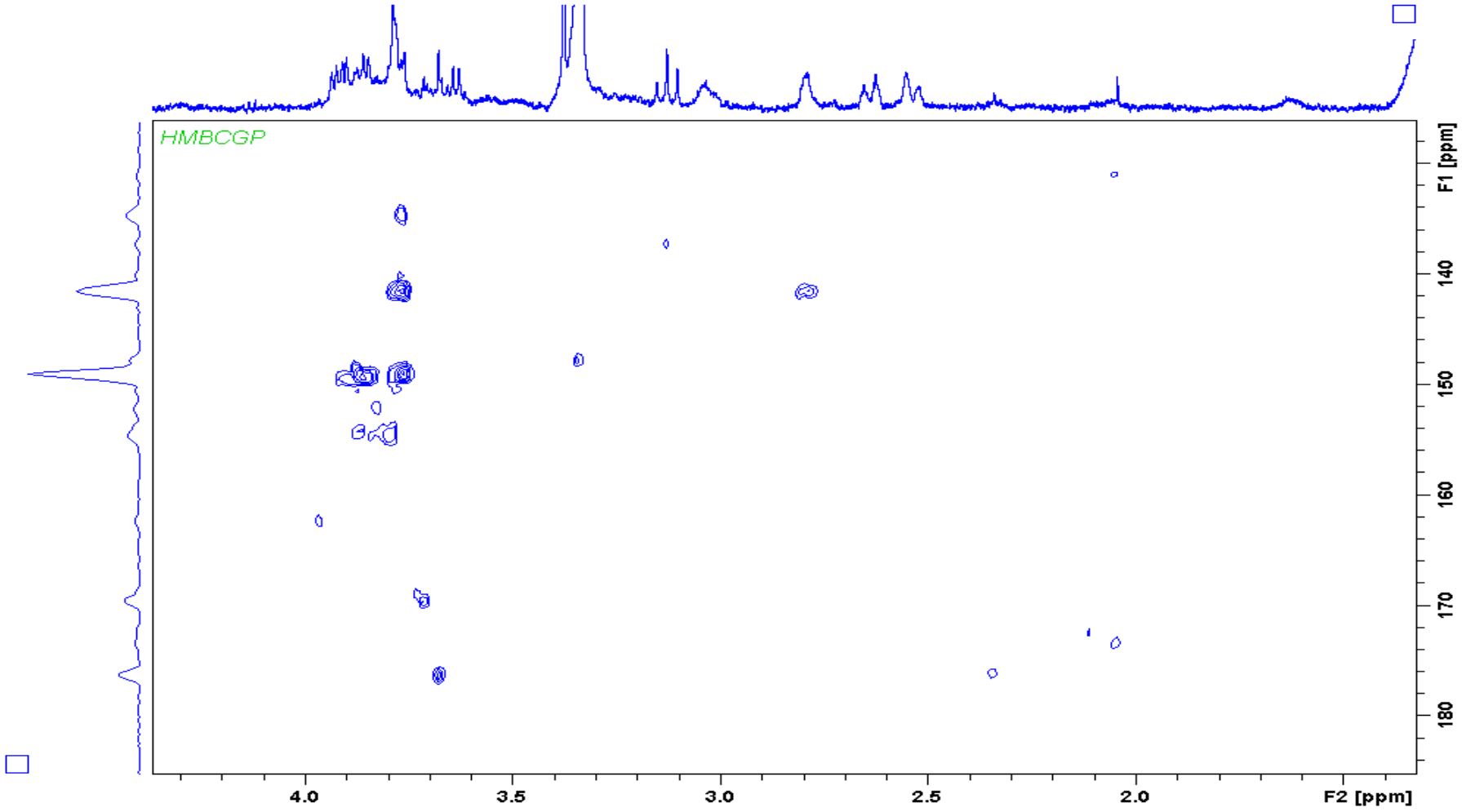
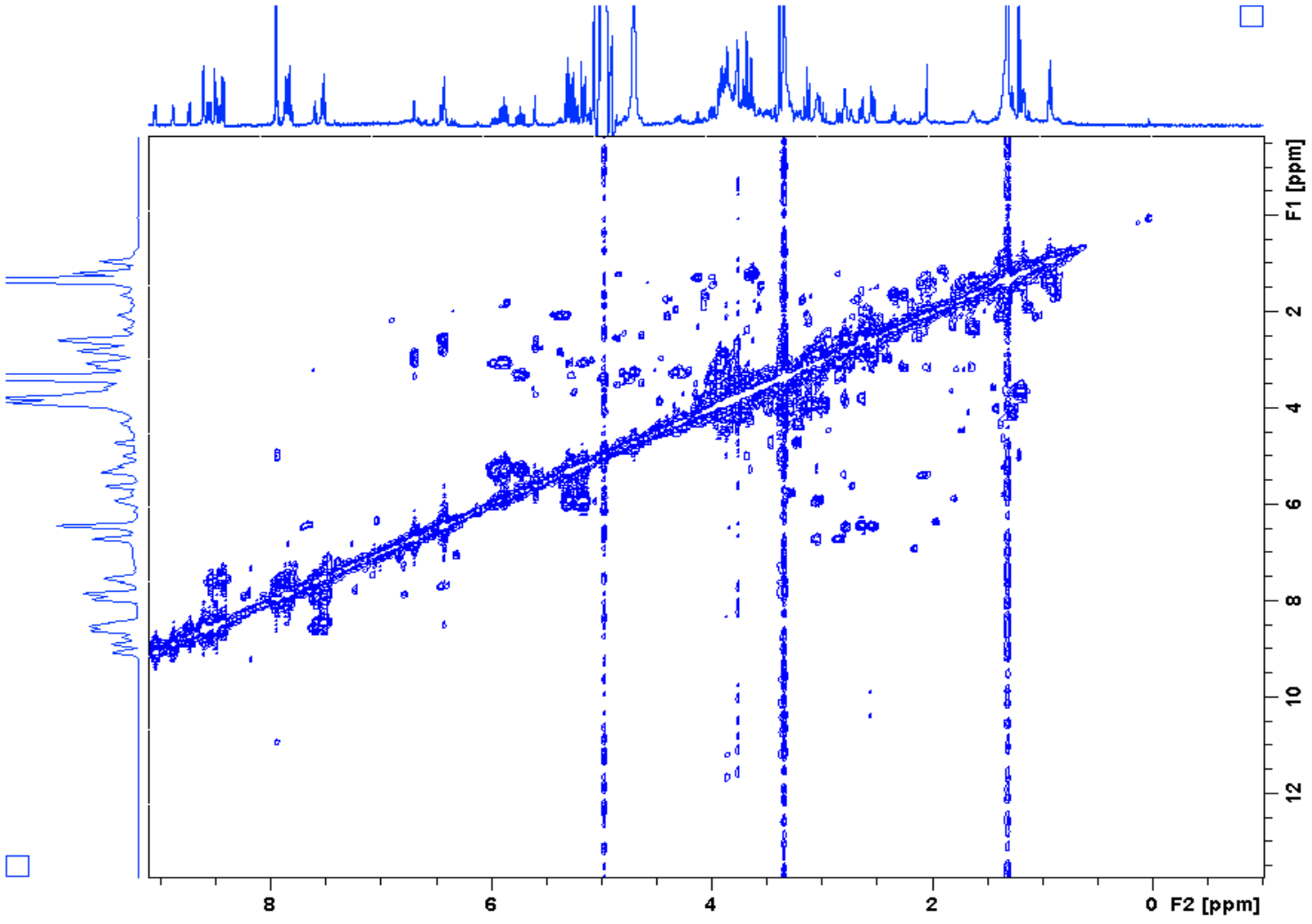


Figura A. 18 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.




```
Current Data Parameters
NAME         L-LCPP-15hj
EXPNO                100
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090202
Time                6.29
INSTRUM            spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG      cosygpprqf
TD                 4096
SOLVENT            MeOD
NS                   40
DS                    8
SWH           10000.000 Hz
FIDRES            2.441406 Hz
AQ                0.2048500 sec
RG                  812
DW                50.000 usec
DE                 6.50 usec
TE                310.6 K
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D11            0.03000000 sec
D12            0.00002000 sec
D16            0.00020000 sec
IN0            0.00010000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  1H
P0                 9.90 usec
P1                 9.90 usec
PL1                4.80 dB
PL9               58.87 dB
PL1W         -1.#IND0000 W
PL9W         -1.#IND0000 W
SFO1          500.1324839 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1          SINE.100
GPZ1              10.00 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  202
SFO1          500.1325 MHz
FIDRES         49.504906 Hz
SW               19.995 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                 1024
SF          500.1299906 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                 1.00

F1 - Processing parameters
SI                 1024
MC2                QF
SF          500.1299905 MHz
WDW
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

Figura A. 19 - Espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3.

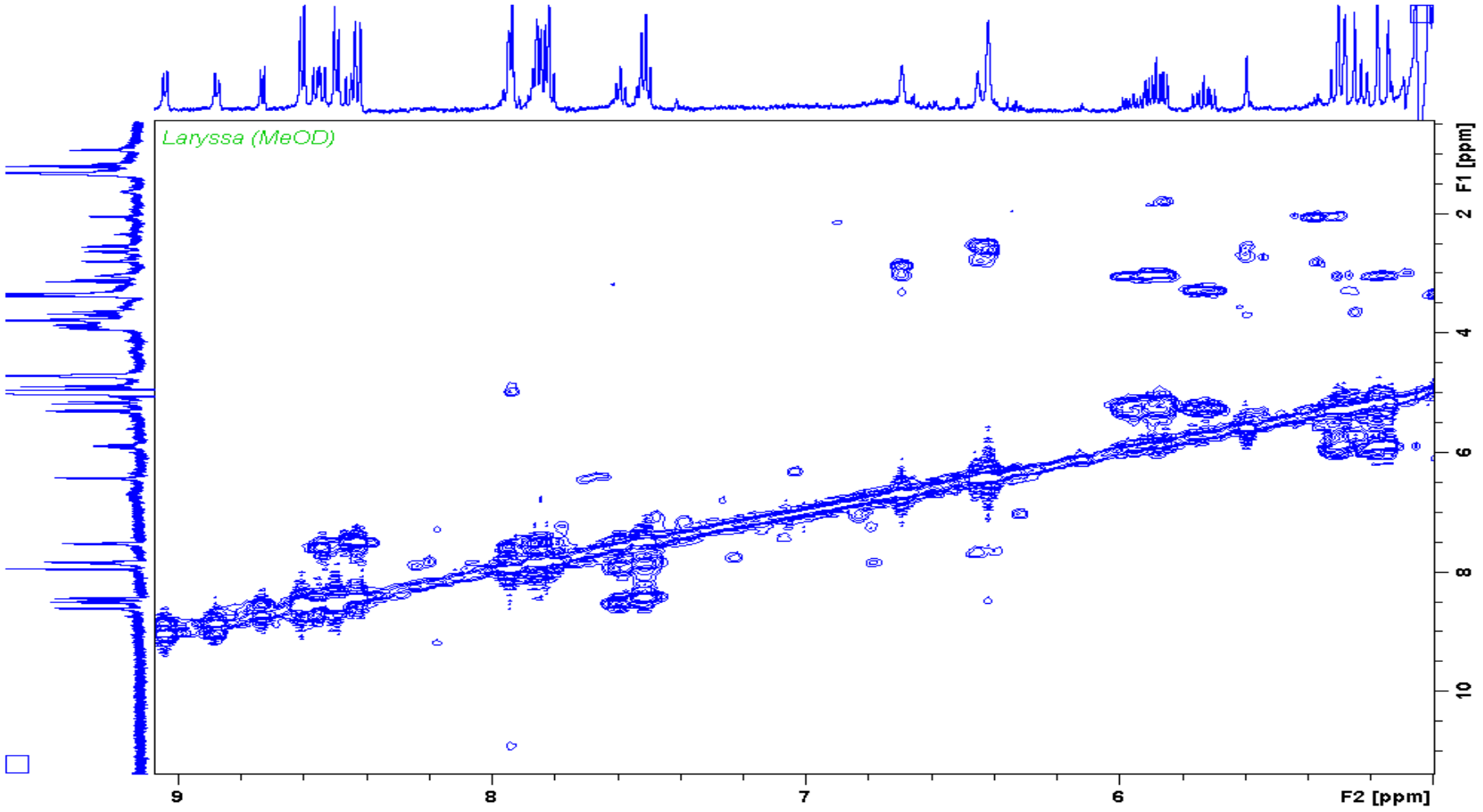


Figura A. 20 – Expansão do espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3.

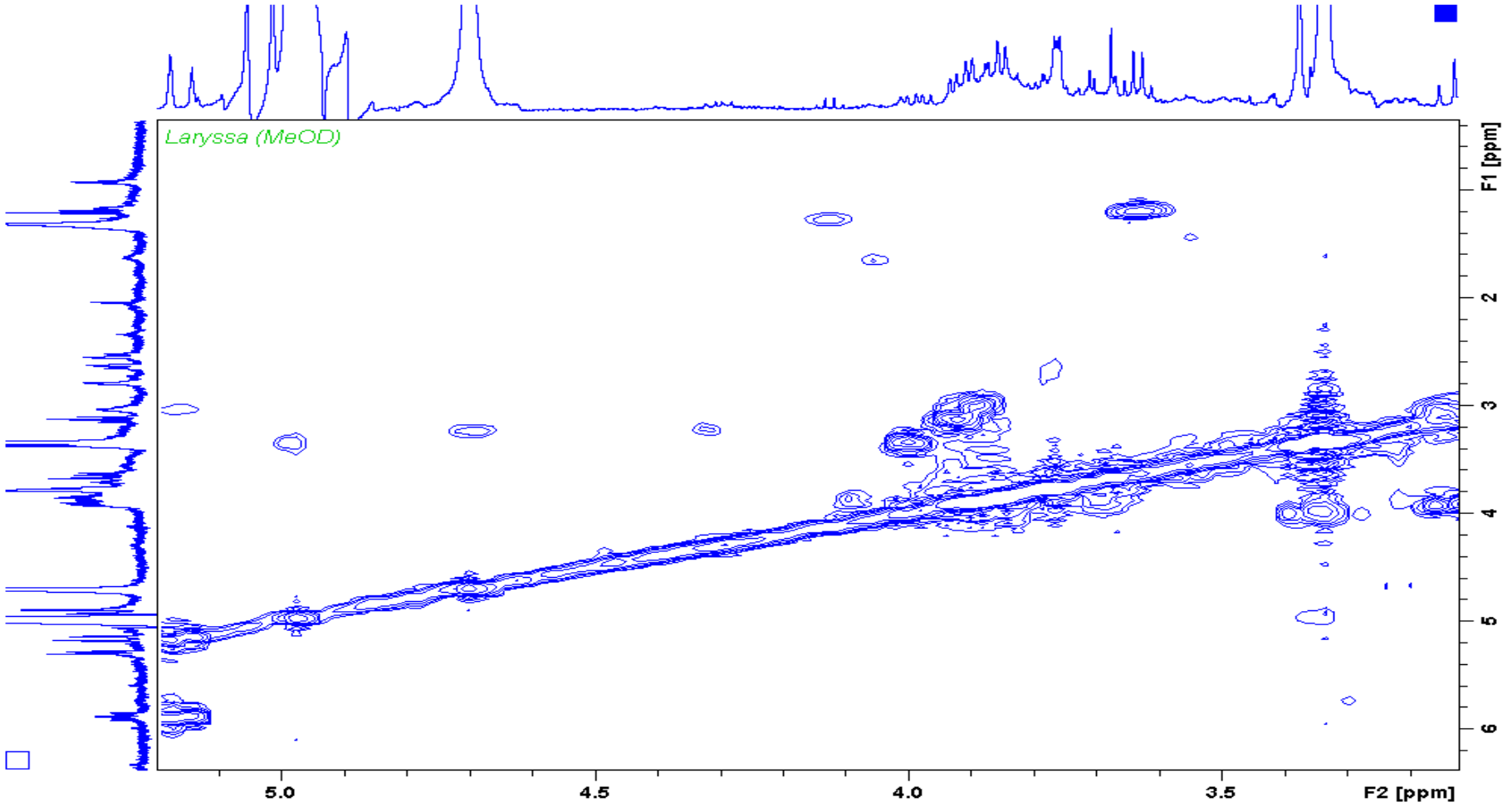


Figura A. 21 – Expansão do espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3.

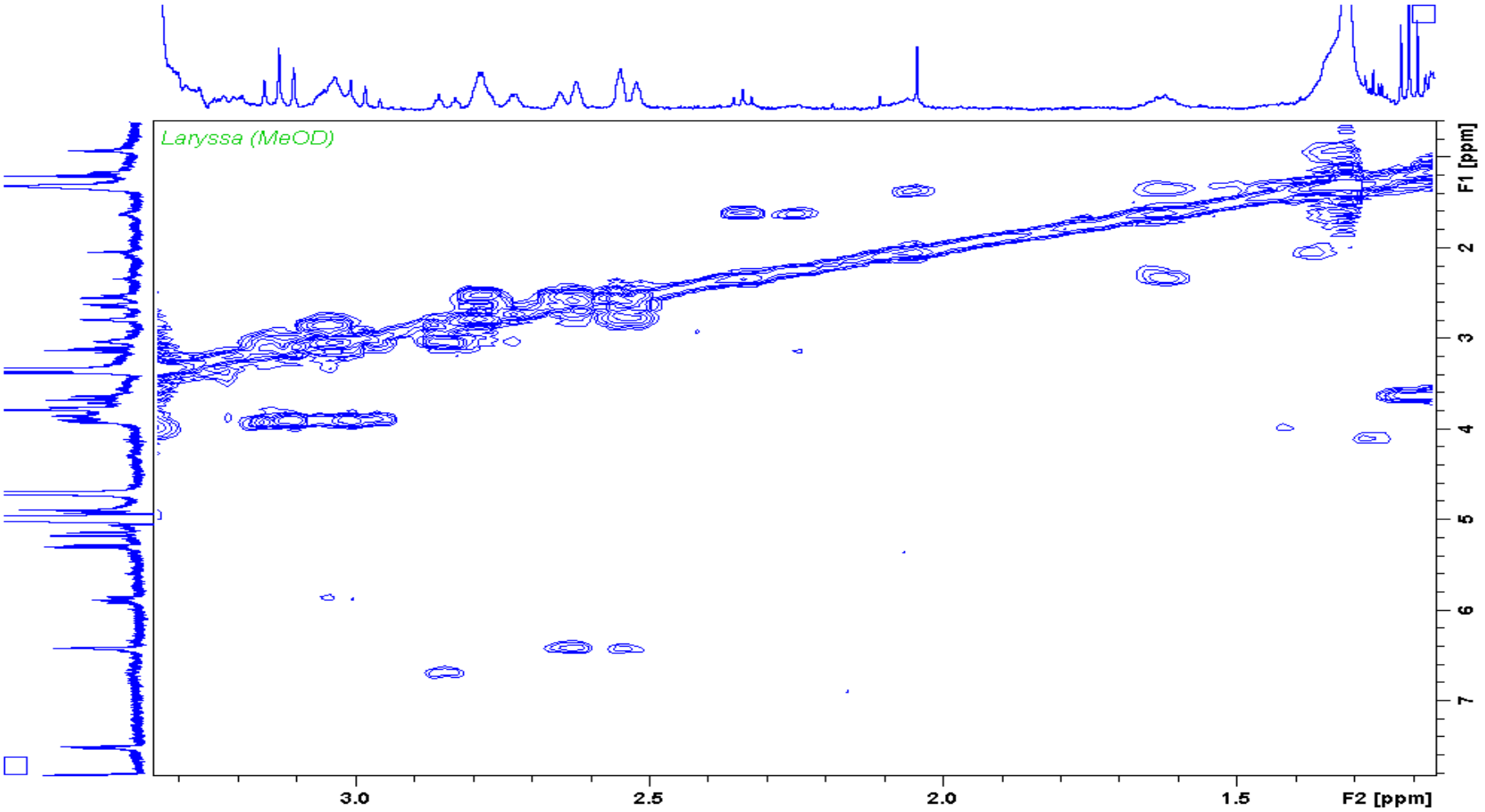


Figura A. 22 – Expansão do espectro de COSY (MeOD - 500 MHz) de LCPP-3.

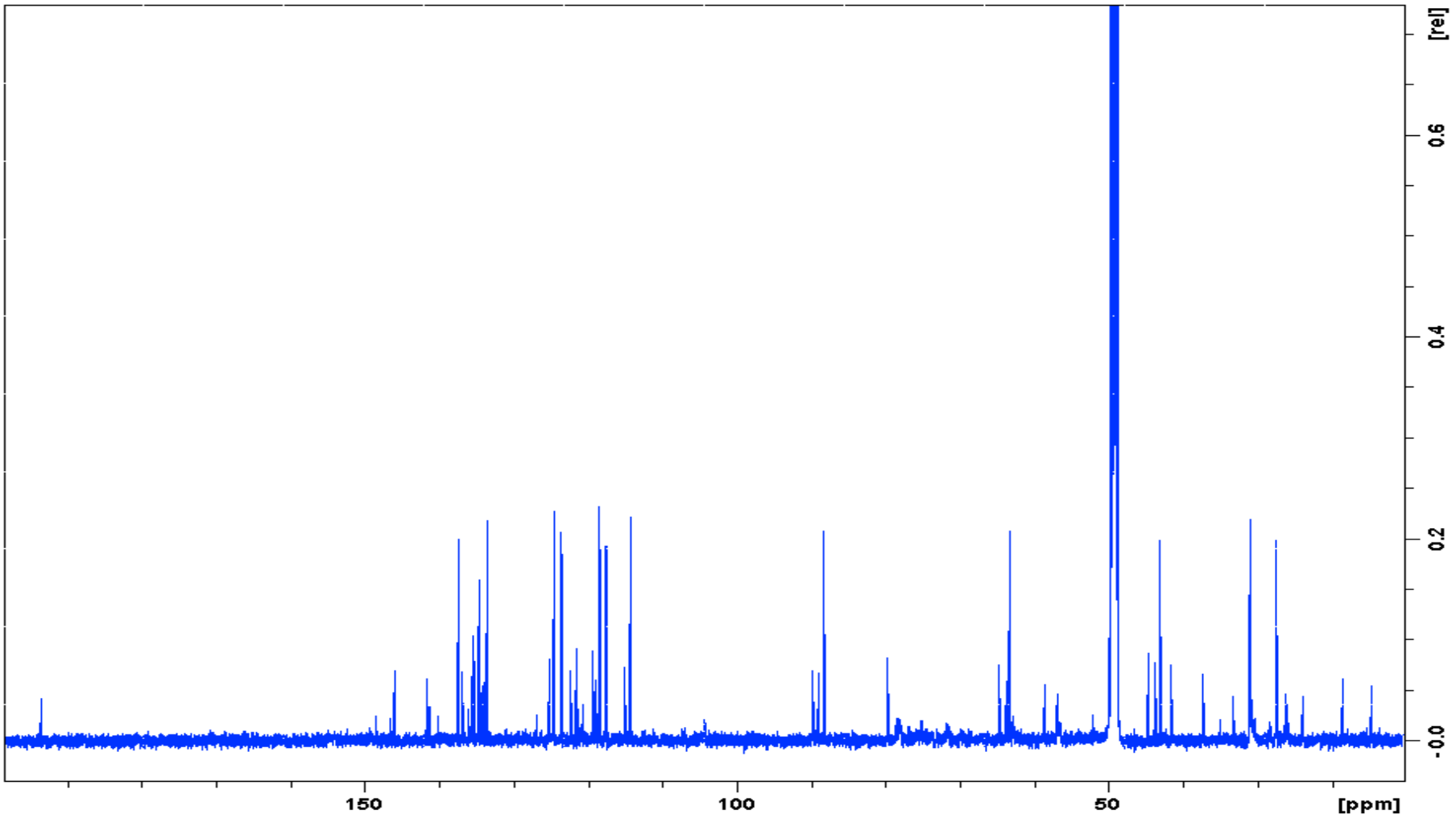


Figura A. 23 – Espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

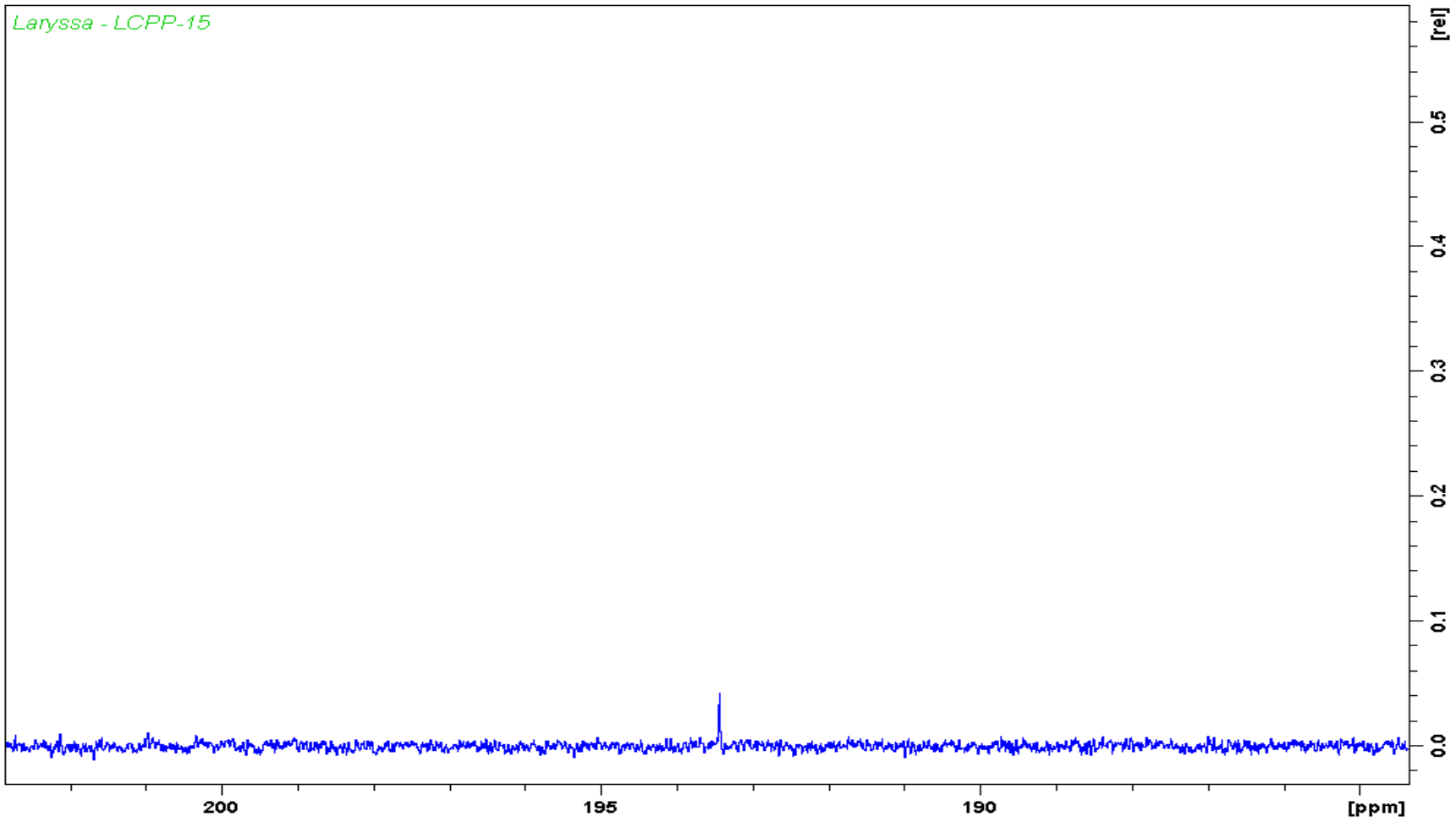


Figura A. 24 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

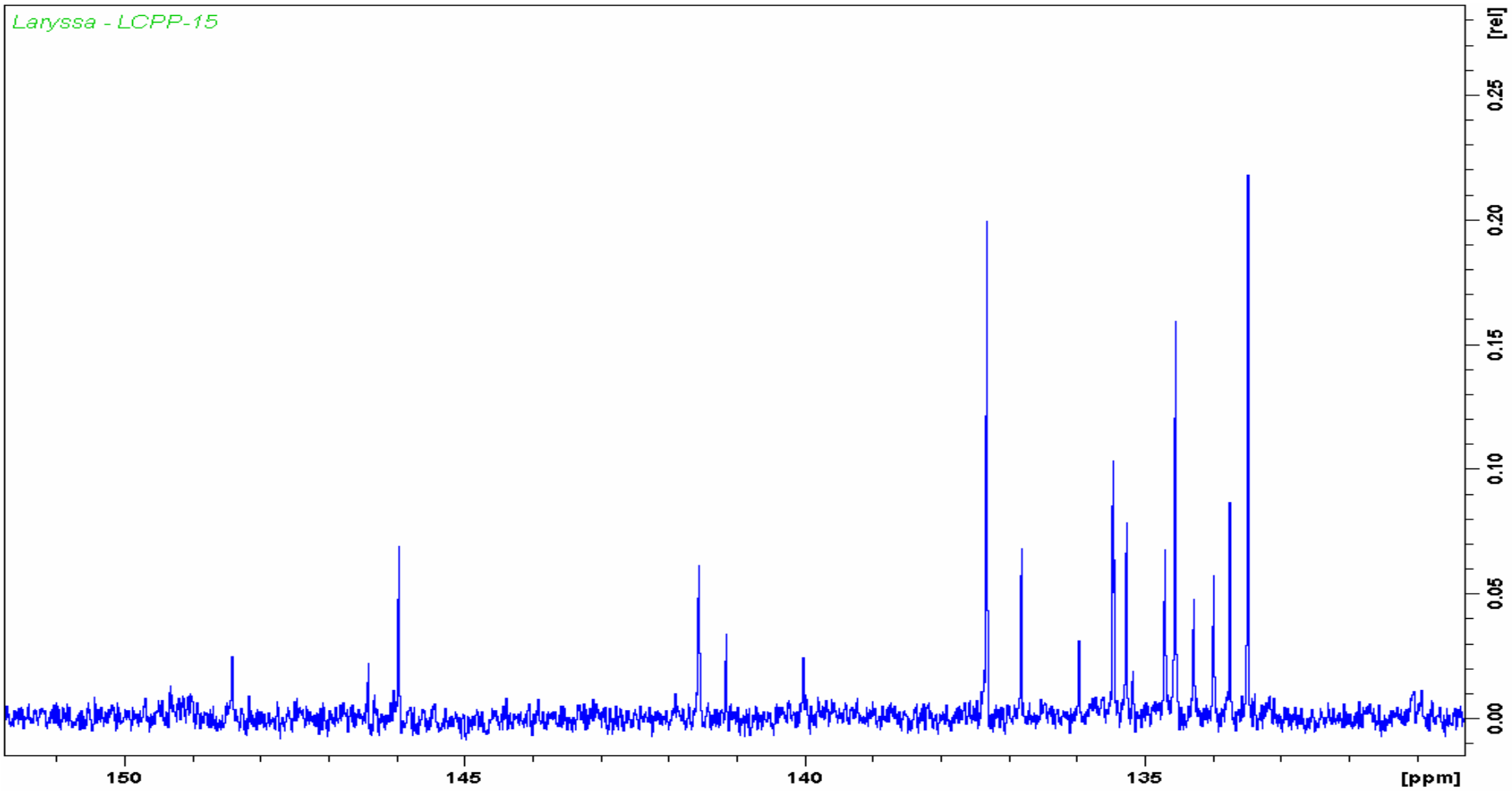


Figura A. 25 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

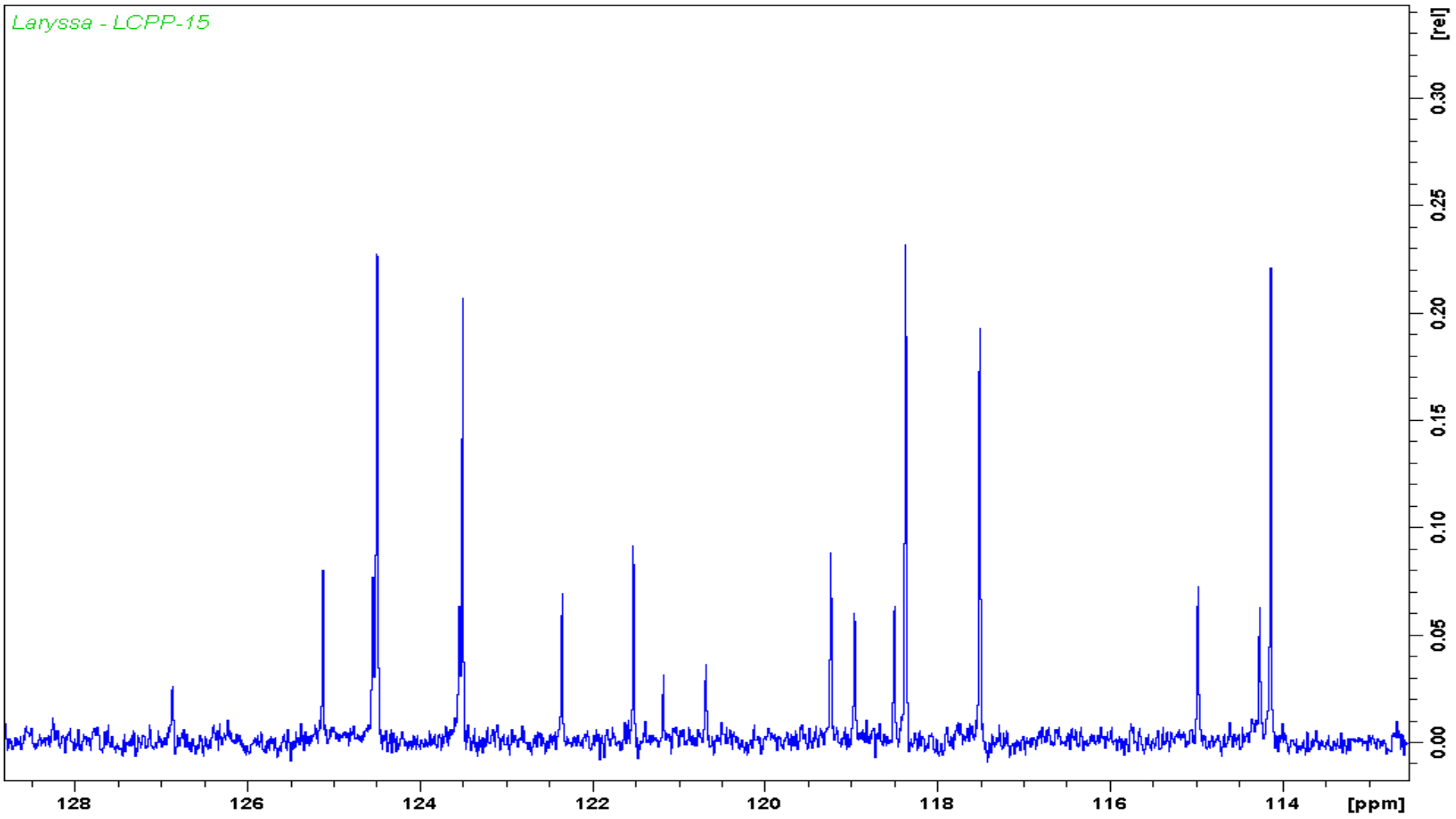


Figura A. 26 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

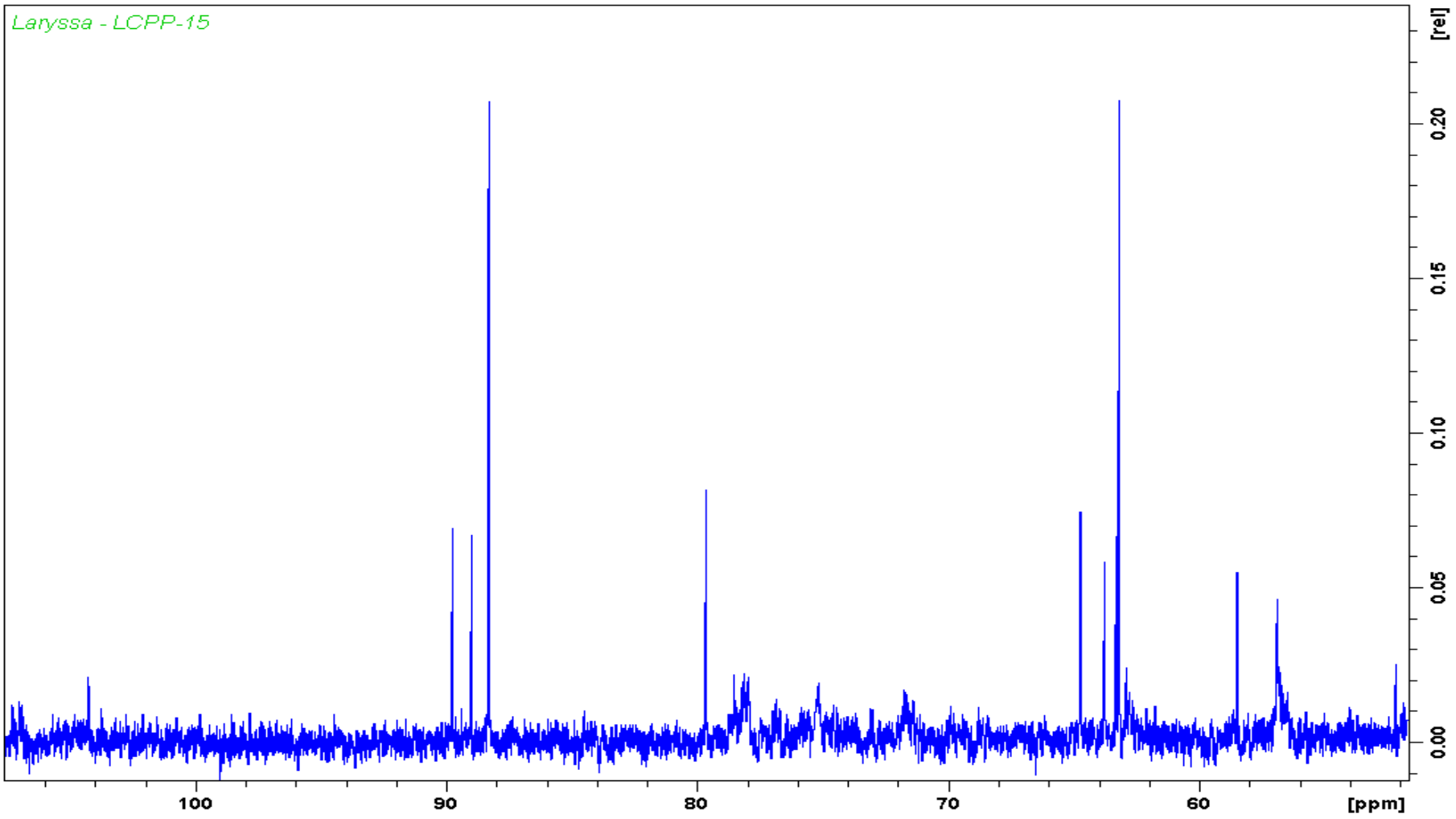


Figura A. 27 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.

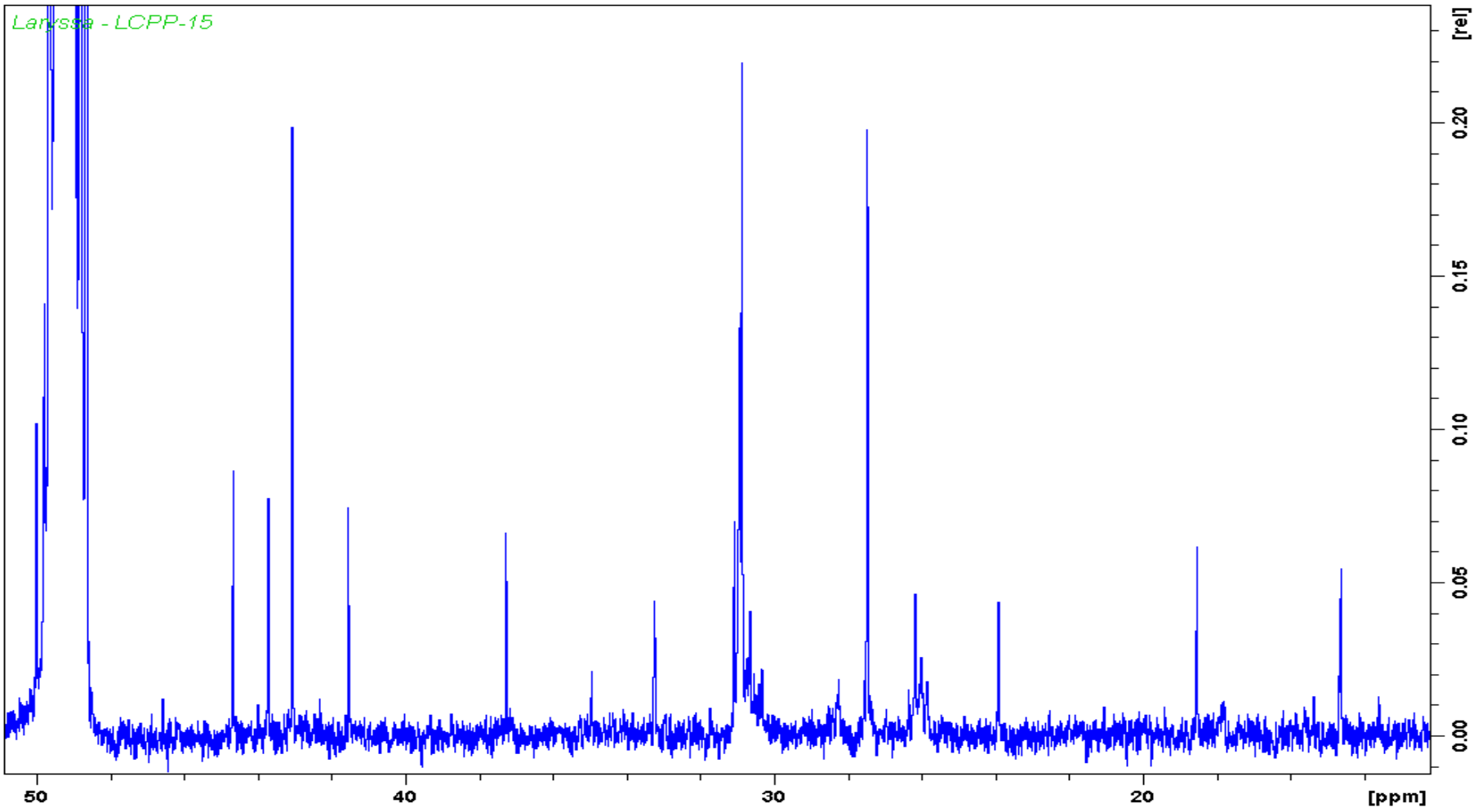
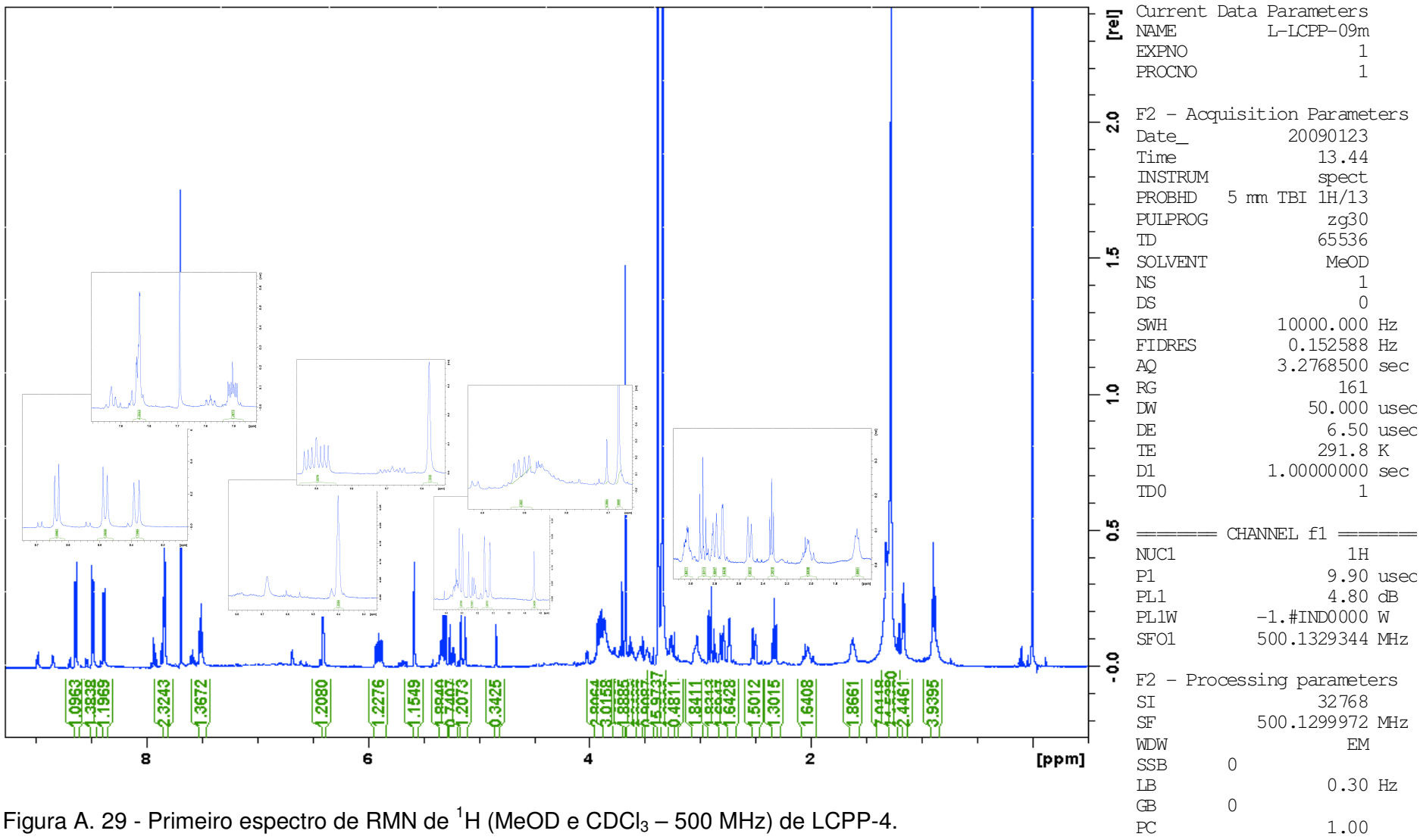


Figura A. 28 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-3.



Current Data Parameters
NAME L-LCPP-09m
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20090123
Time 13.44
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm TBI 1H/13
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 1
DS 0
SWH 10000.000 Hz
FIDRES 0.152588 Hz
AQ 3.2768500 sec
RG 161
DW 50.000 usec
DE 6.50 usec
TE 291.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

====== CHANNEL f1 ======
NUC1 1H
P1 9.90 usec
PL1 4.80 dB
PL1W -1.#IND0000 W
SFO1 500.1329344 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 500.1299972 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

Figura A. 29 - Primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

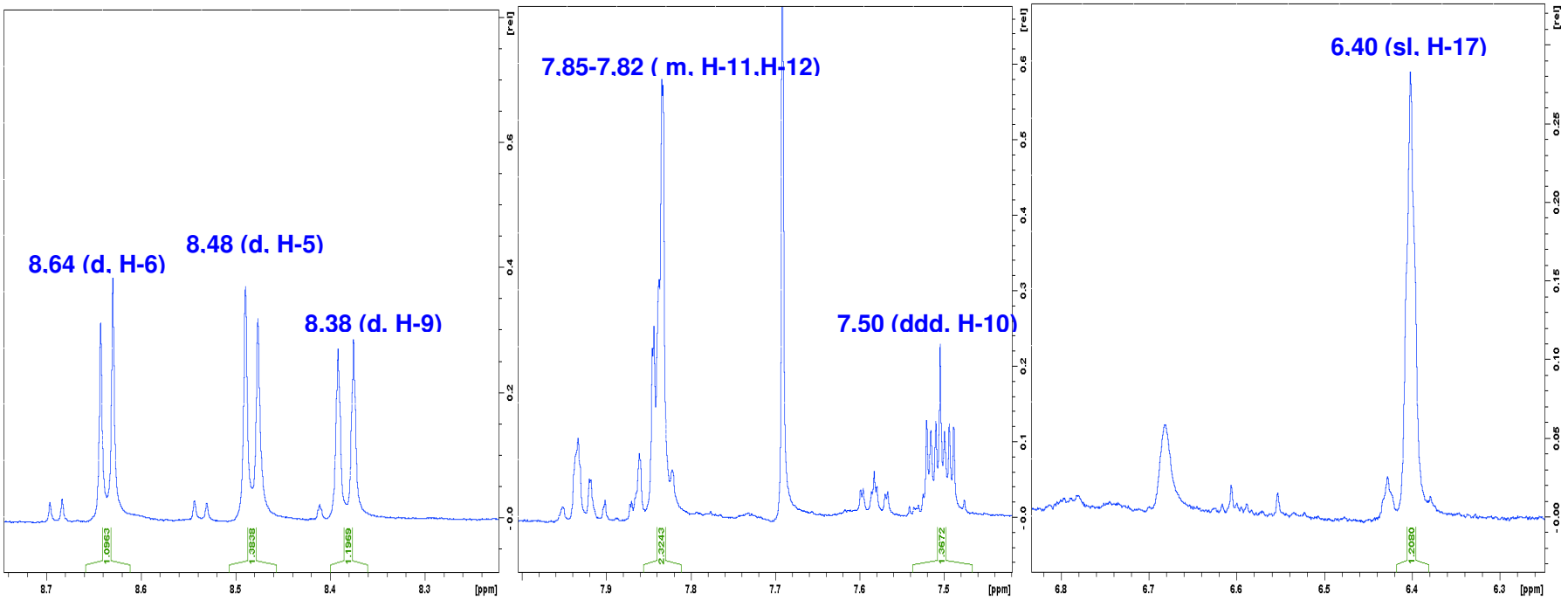


Figura A. 30 – Expansões do primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

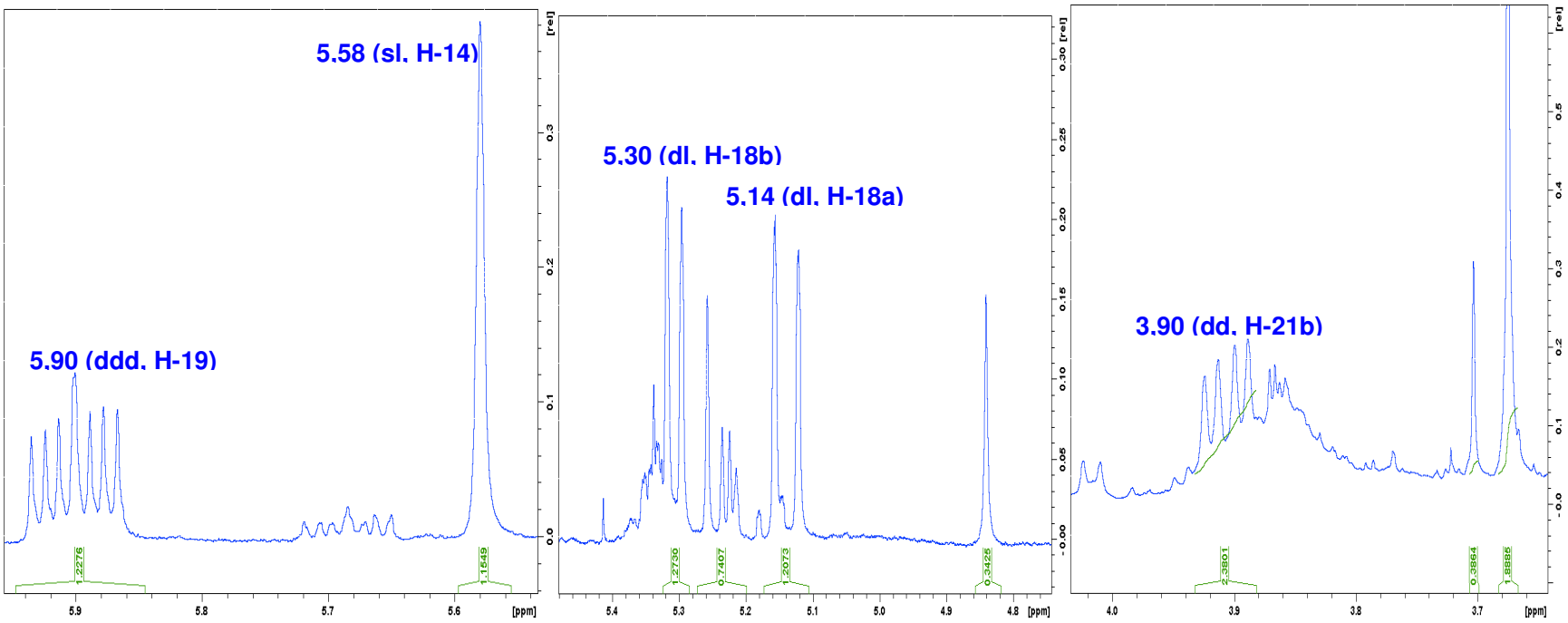


Figura A. 31 – Expansões do primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

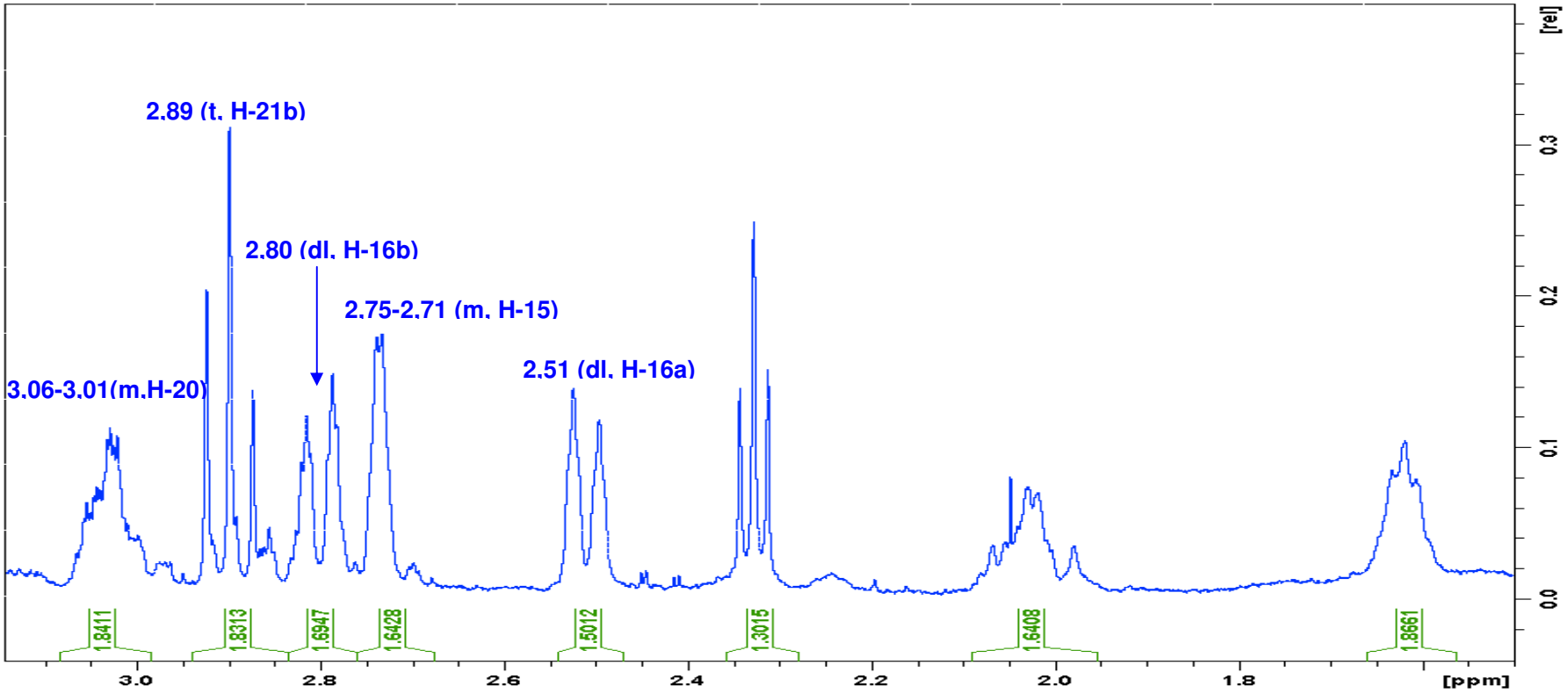


Figura A. 32 – Expansão do primeiro espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

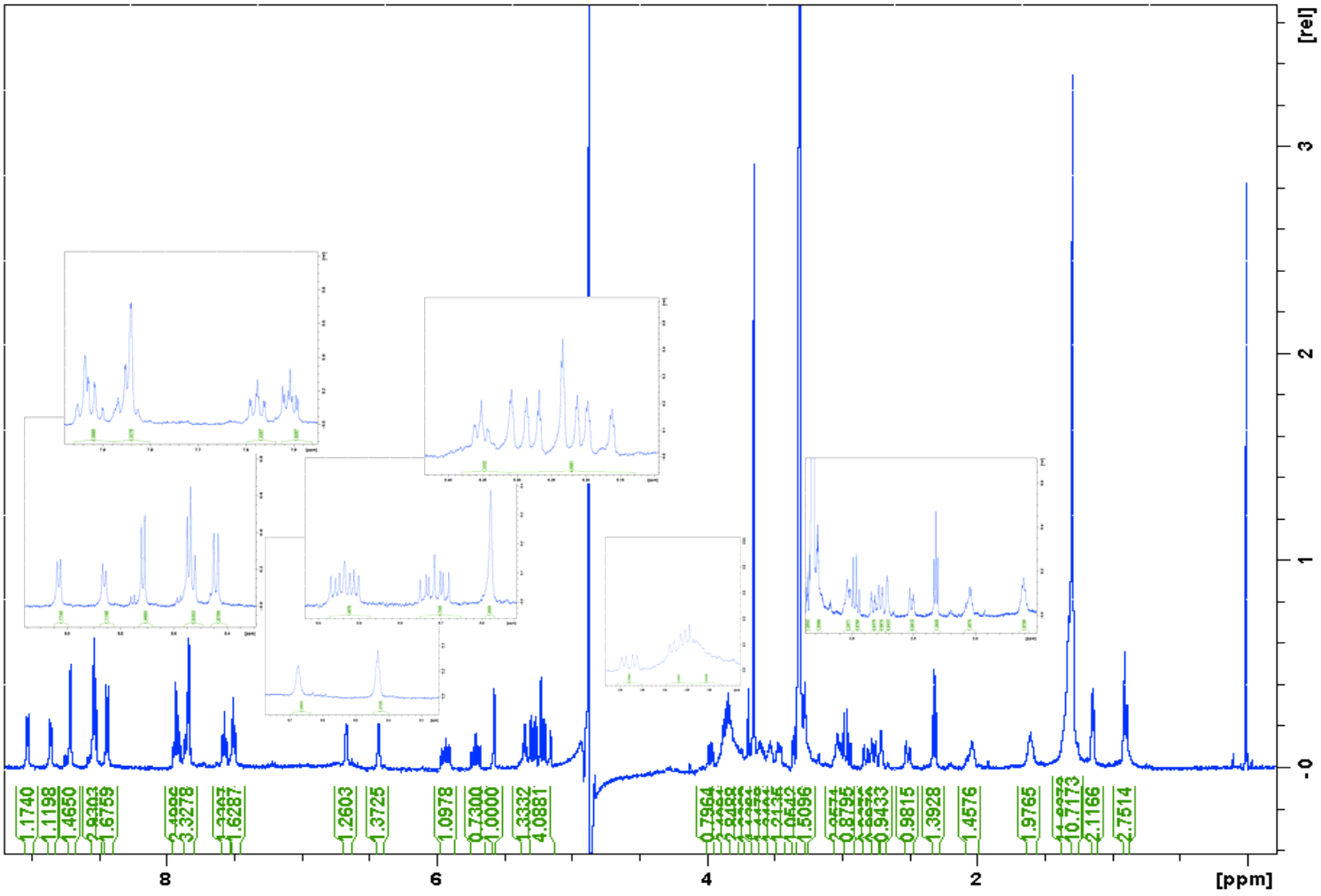


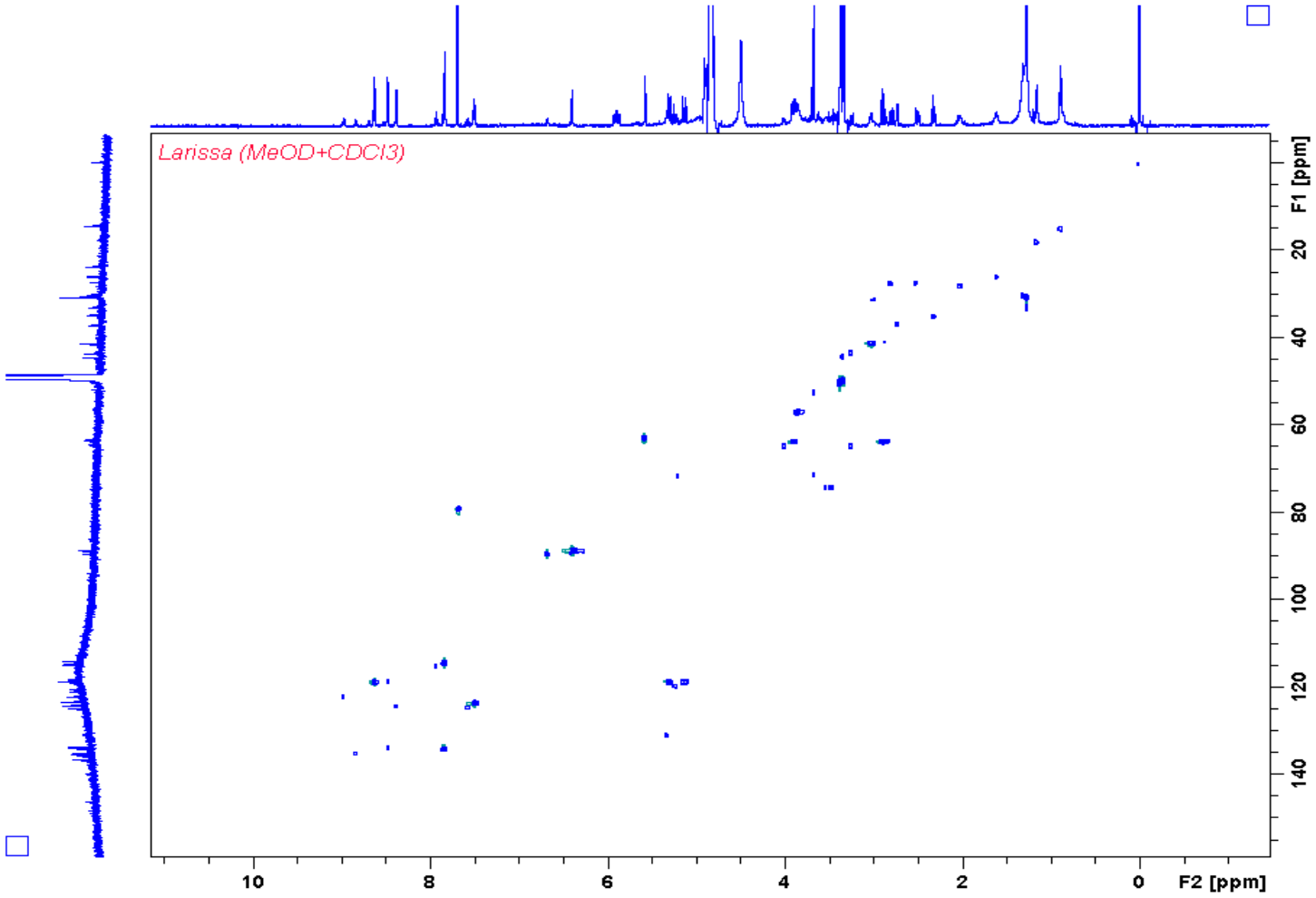
Figura A. 33 – Segundo espectro de RMN de ^{1}H (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

```
Current Data Parameters
NAME                  L-LCPP-09m
EXPNO                         12
PROCNO                         1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                   20090306
Time                       18.25
INSTRUM                     spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG                   zgcppr
TD                         65536
SOLVENT                     MeOD
NS                             1
DS                             0
SWH                   6270.903 Hz
FIDRES                0.095686 Hz
AQ                    5.2254539 sec
RG                           287
DW                     79.733 usec
DE                      6.50 usec
TE                      300.0 K
D1                    1.00000000 sec
D12                   0.00002000 sec
TD0                            1

====== CHANNEL f1 ======
NUC1                          1H
P1                      9.90 usec
PL1                     4.80 dB
PL9                    59.50 dB
PL1W                -1.#IND0000 W
PL9W                -1.#IND0000 W
SFO1                500.1324454 MHz

F2 - Processing parameters
SI                         32768
SF                  500.1300068 MHz
WDW                           EM
SSB                    0
LB                      0.30 Hz
GB                     0
PC                             1.00
```




```
Current Data Parameters
NAME                  L-LCPP-09m
EXPNO                        200
PROCNO                         1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20090123
Time                     14.03
INSTRUM                  spect
PROBHD     5 mm  TBI  1H/13
PULPROG                hsqcetgp
TD                         4096
SOLVENT                    MeOD
NS                           70
DS                           16
SWH                  6313.131  Hz
FIDRES               1.541292  Hz
AQ                   0.3244532  sec
RG                        1440
DW                      79.200  usec
DE                       6.50  usec
TE                      293.4  K
CNST2               145.0000000
D0                   0.000000300  sec
D1                   1.000000000  sec
D4                   0.001724140  sec
D11                  0.030000000  sec
D13                  0.000000400  sec
D16                  0.000020000  sec
IN0                  0.000002400  sec
ZGOPTNS

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                          1H
P1                         9.90  usec
P2                        19.80  usec
P28                     1000.00  usec
PL1                        4.80  dB
PL1W                -1.#IND0000  W
SFO1                500.1324180  MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                    garp
NUC2                         13C
P3                        20.50  usec
P4                        41.00  usec
PCPD2                     70.00  usec
PL2                        3.70  dB
PL12                      14.50  dB
PL2W                -1.#IND0000  W
PL12W               -1.#IND0000  W
SFO2                125.7671682  MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1                 SINE.100
GPNAM2                 SINE.100
GPZ1                      80.00  %
GPZ2                      20.12  %
P16                     1000.00  usec

F1 - Acquisition parameters
TD                           256
SFO1                125.7672  MHz
FIDRES               81.374924  Hz
SW                      165.639  ppm
FnMODE          Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI                          1024
SF                  500.1299933  MHz
WDW                        QSINE
SSB                            2
LB                0 Hz
GB                0
PC                          1.00

F1 - Processing parameters
SI                          1024
MC2               echo-antiecho
SF                  125.7575881  MHz
WDW
SSB                            2
LB                0 Hz
GB                0
```

Figura A. 34 - Espectro de HSQC ($^1J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

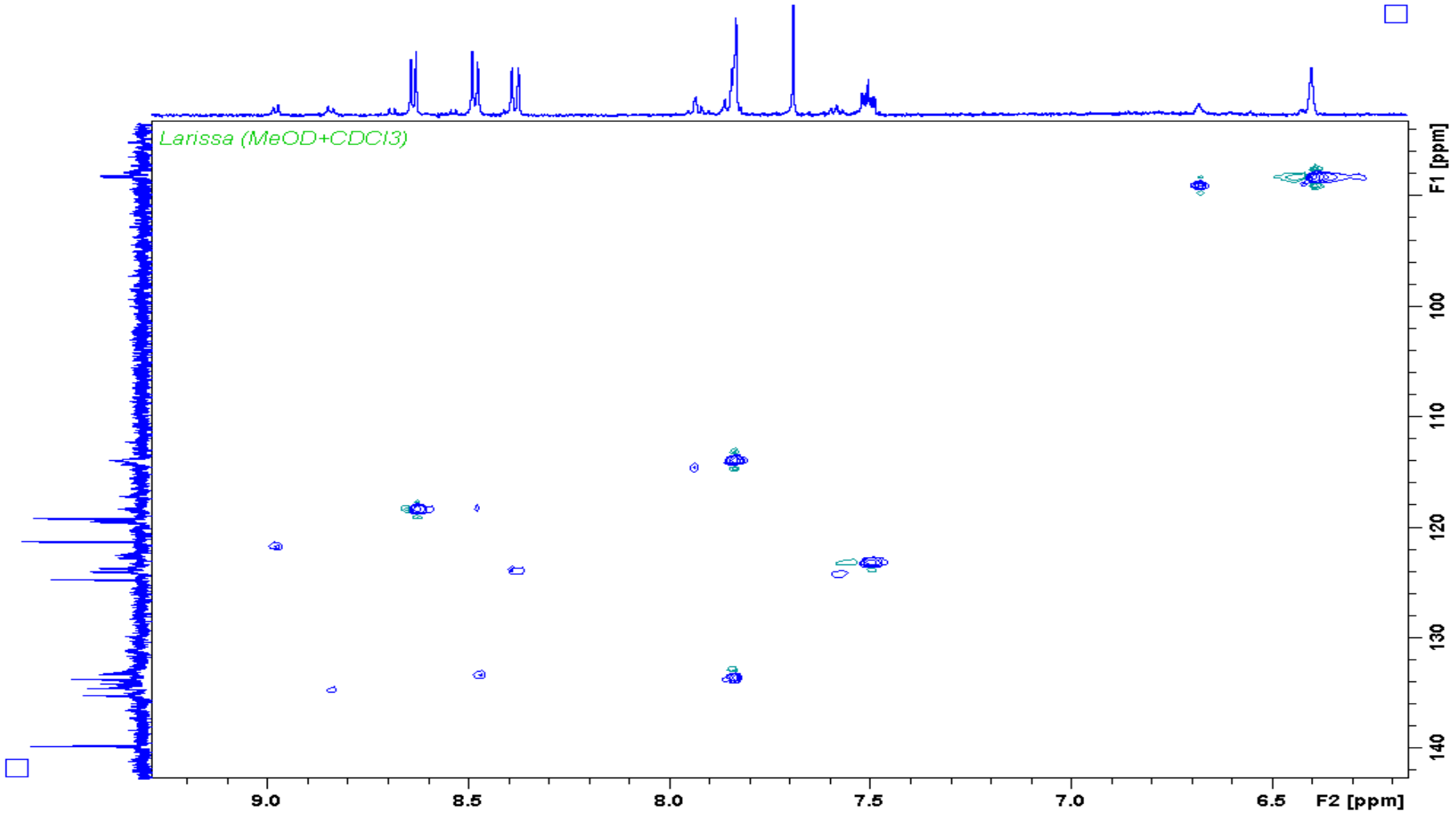


Figura A. 35 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

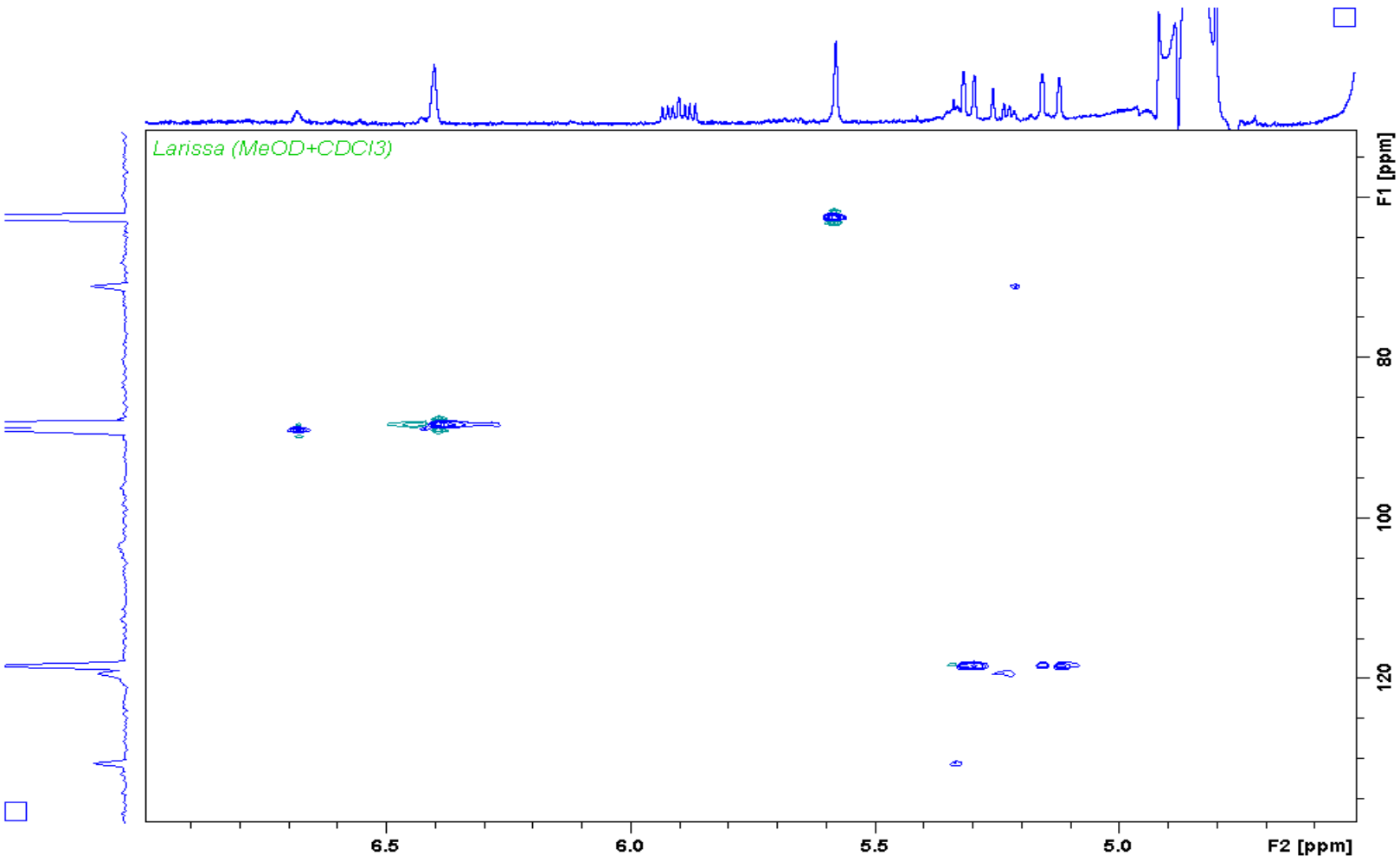


Figura A. 36 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

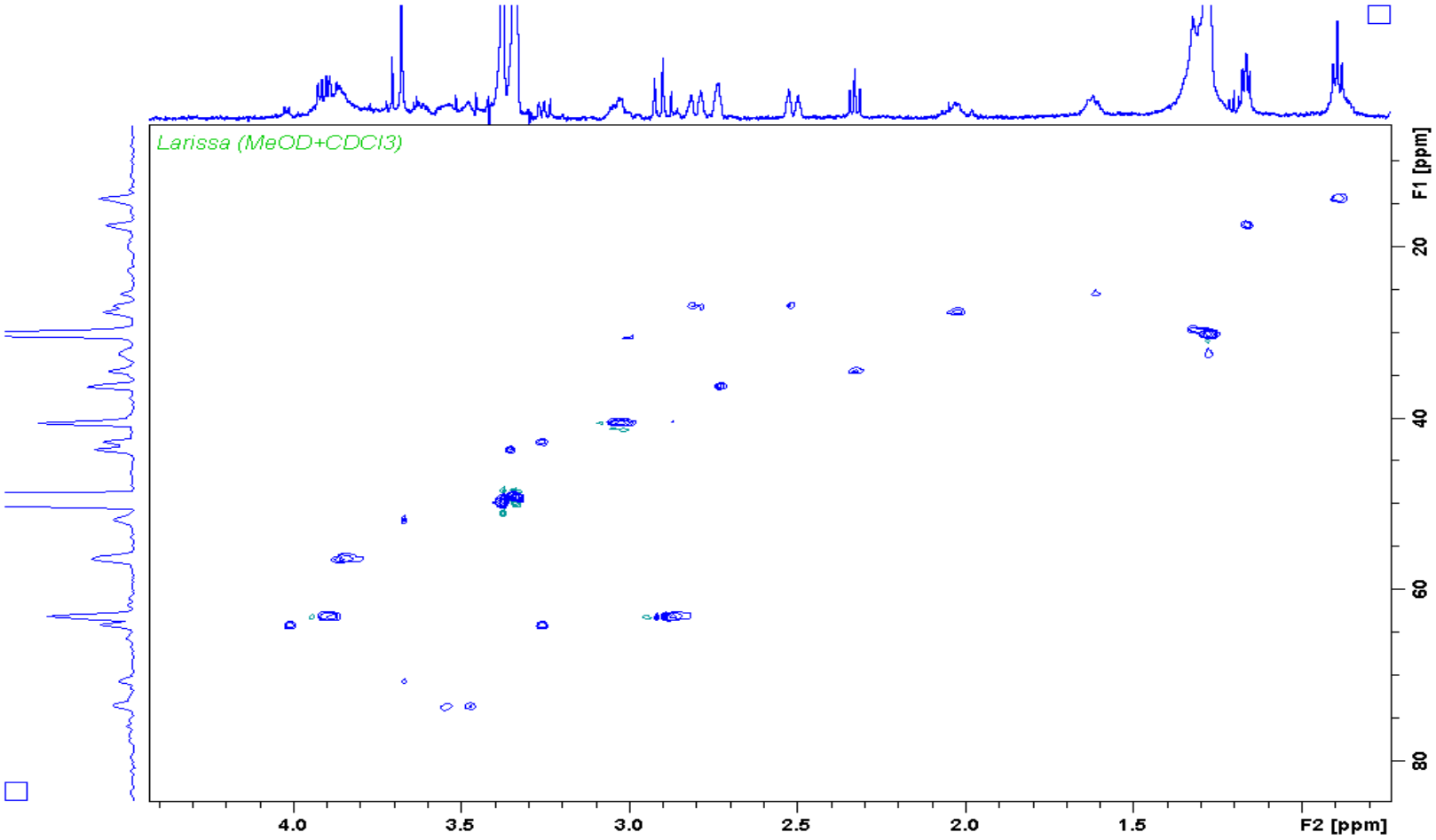
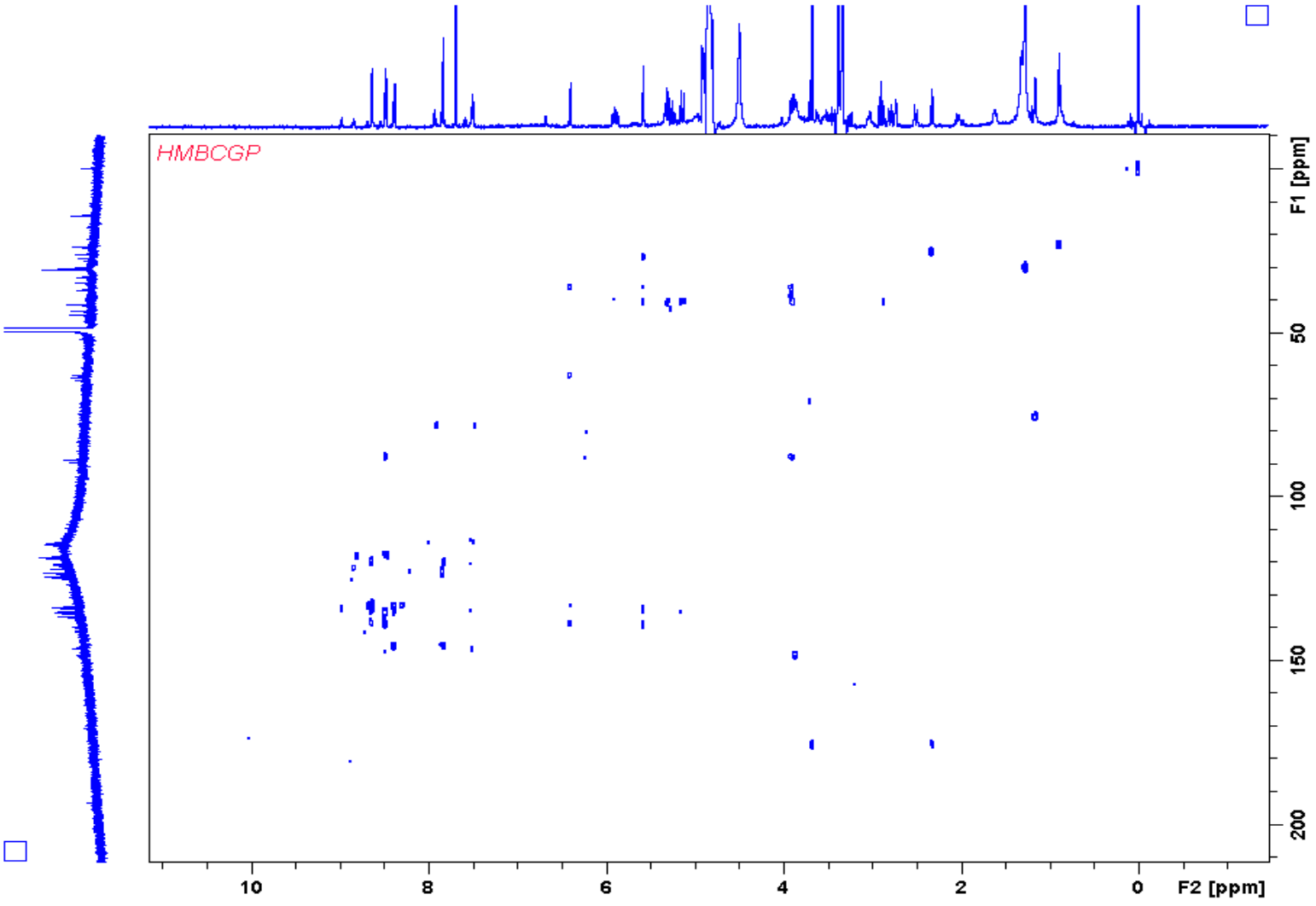


Figura A. 37 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.




```
Current Data Parameters
NAME          L-LCPP-09m
EXPNO                300
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090123
Time               20.46
INSTRUM            spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD                 4096
SOLVENT            MeOD
NS                  144
DS                   16
SWH            6313.131 Hz
FIDRES         1.541292 Hz
AQ            0.3244532 sec
RG                 1440
DW               79.200 usec
DE                6.50 usec
TE               293.5 K
CNST2        145.0000000
CNST13        10.0000000
D0           0.00000300 sec
D1           1.00000000 sec
D2           0.00344828 sec
D6           0.05000000 sec
D16          0.00020000 sec
IN0          0.00001790 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                1H
P1                9.90 usec
P2               19.80 usec
PL1               4.80 dB
PL1W        -1.#IND0000 W
SFO1        500.1324180 MHz

======== CHANNEL f2 ========
NUC2               13C
P3               20.50 usec
PL2               3.70 dB
PL2W        -1.#IND0000 W
SFO2        125.7703443 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1         SINE.100
GPNAM2         SINE.100
GPNAM3         SINE.100
GPZ1              60.00 %
GPZ2              20.00 %
GPZ3              60.12 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  160
SFO1        125.7703 MHz
FIDRES      174.581070 Hz
SW             222.095 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                 2048
SF          500.1299951 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.00

F1 - Processing parameters
SI                 1024
MC2                QF
SF          125.7576884 MHz
WDW
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

Figura A. 38 - Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

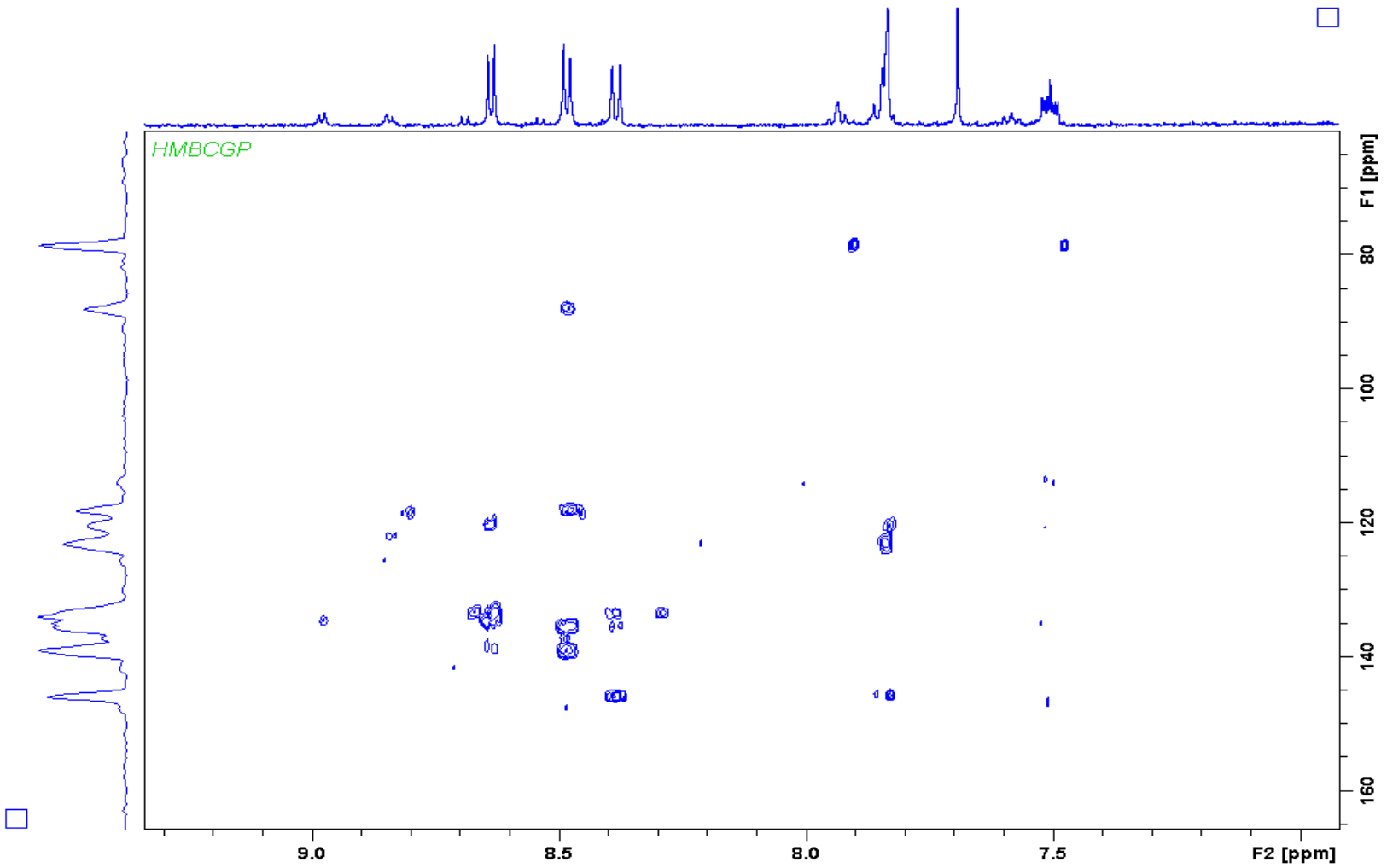


Figura A. 39 - Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

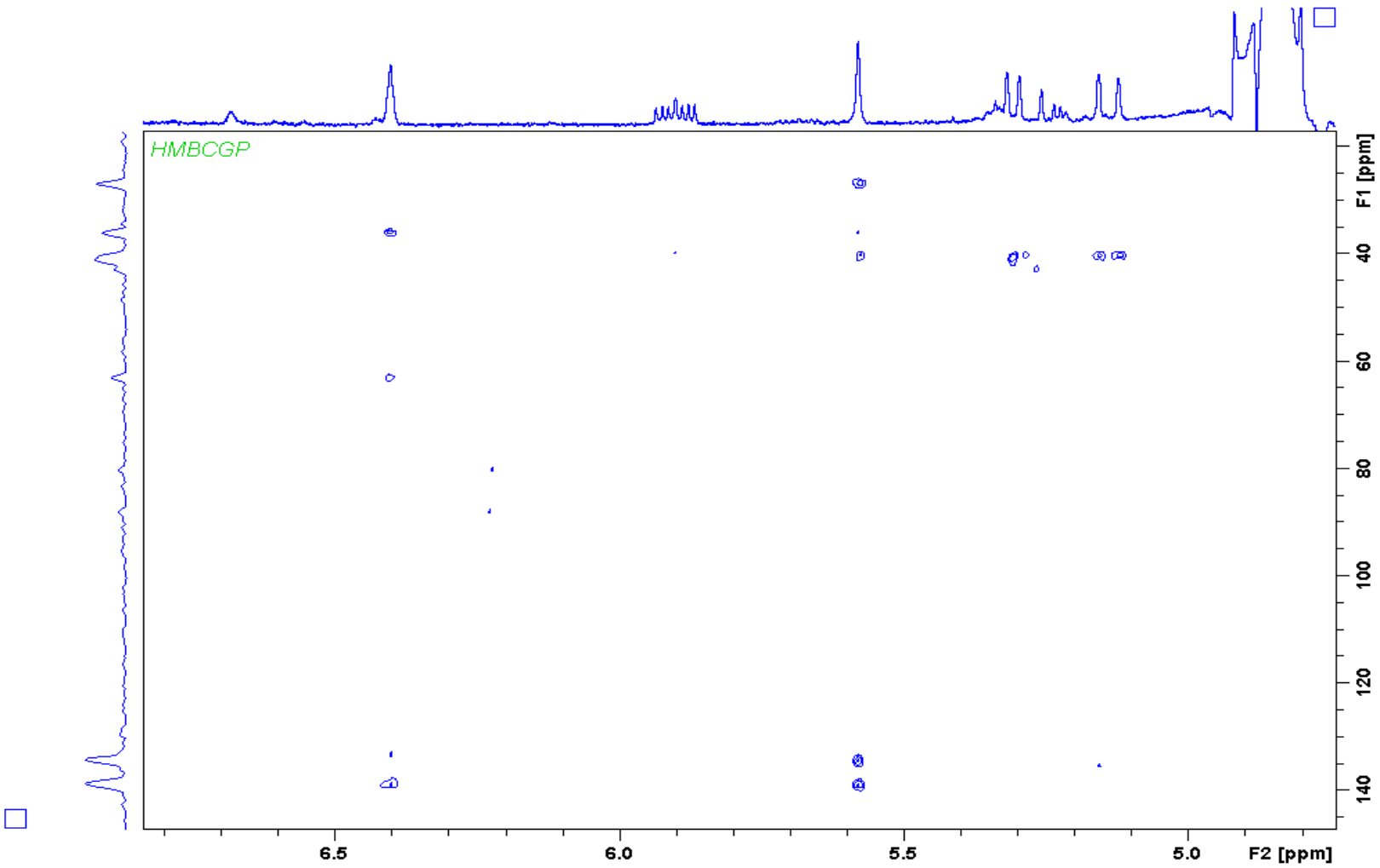


Figura A. 40 - Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.

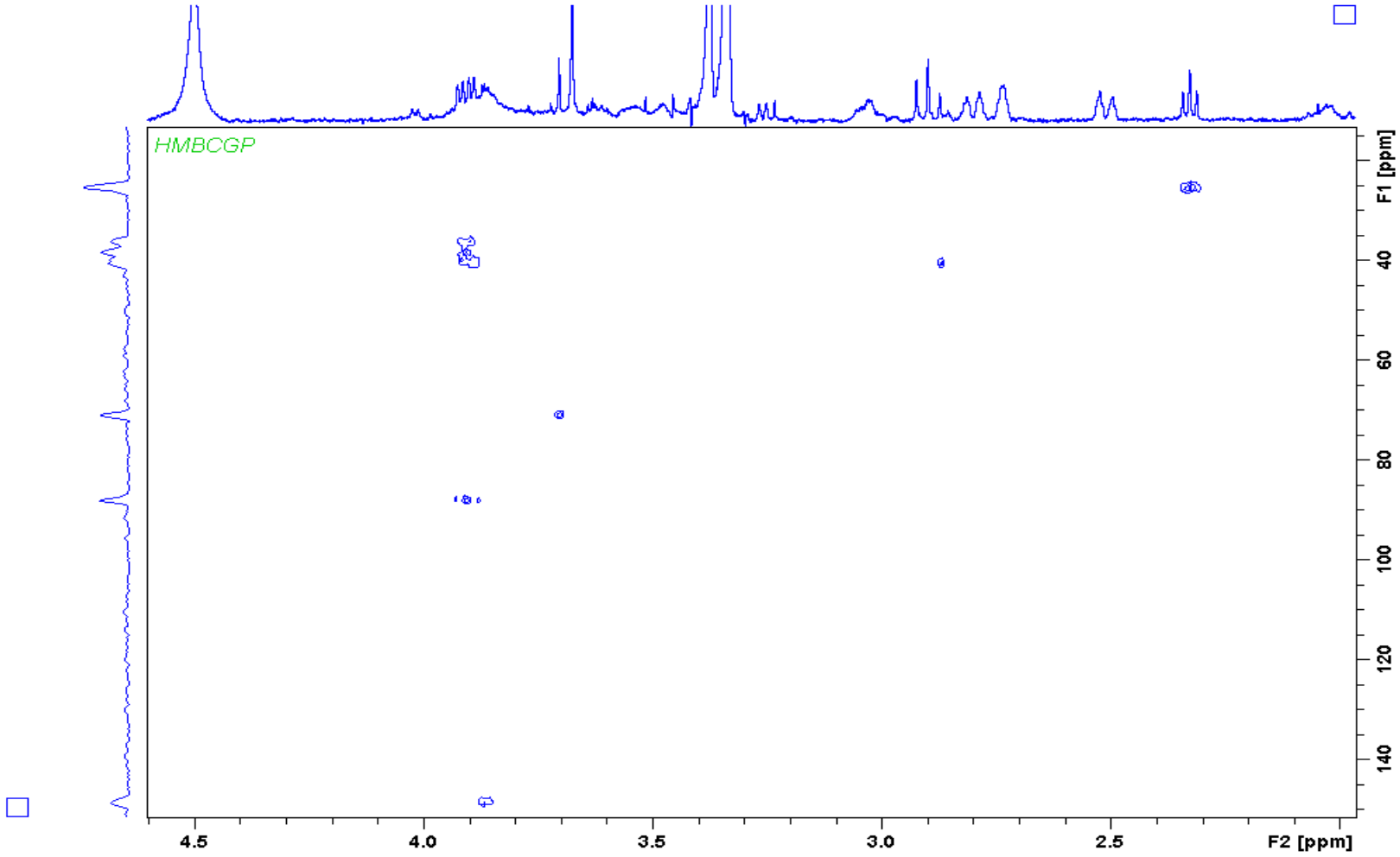
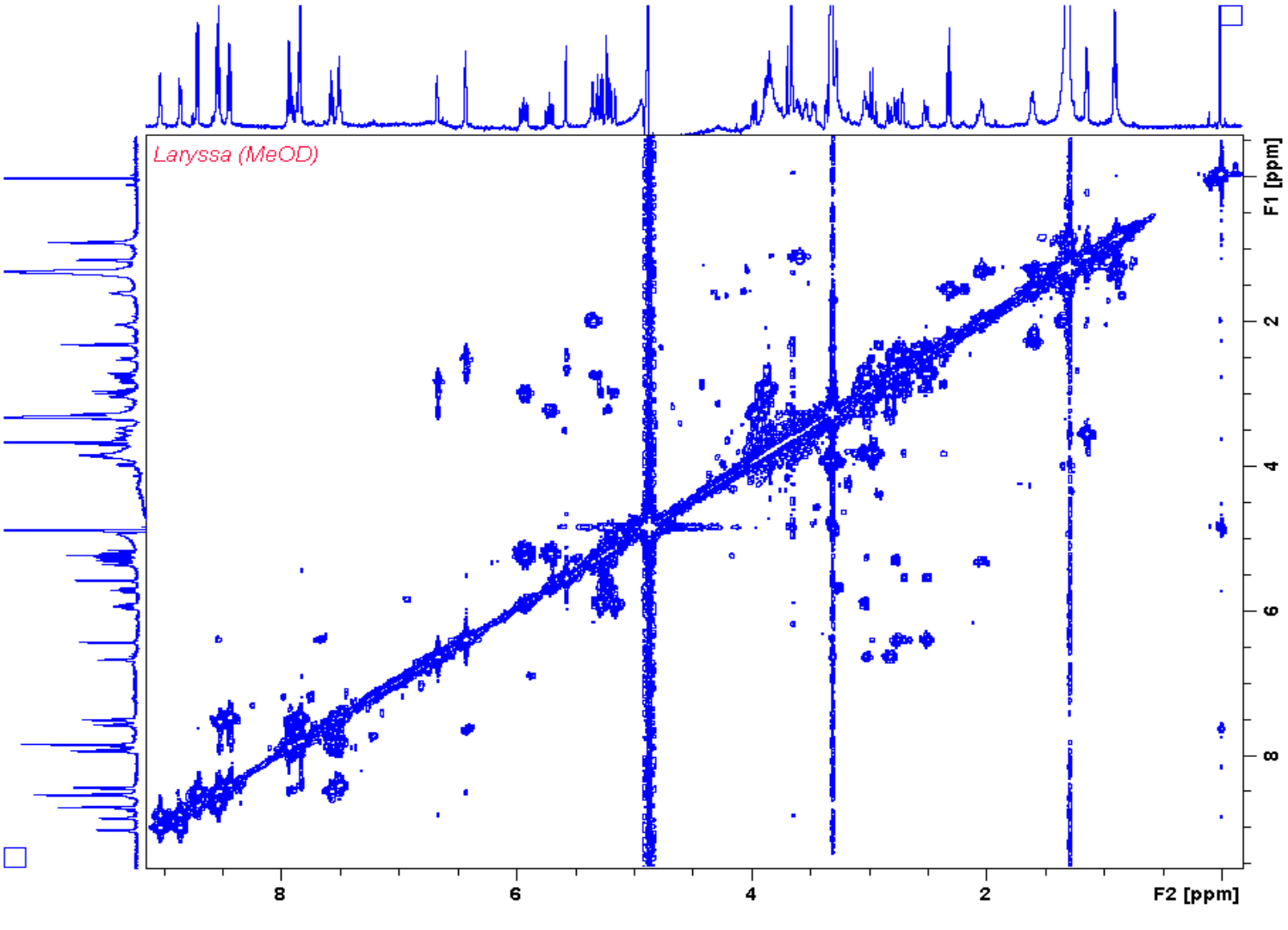


Figura A. 41 - Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD e $CDCl_3$ – 500 MHz) de LCPP-4.




```
Current Data Parameters
NAME          L-LCPP-09m
EXPNO                100
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090306
Time               18.30
INSTRUM            spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG         cosygpqf
TD                 4096
SOLVENT             MeOD
NS                    42
DS                     8
SWH            6270.903 Hz
FIDRES         1.530982 Hz
AQ             0.3266377 sec
RG                   912
DW                79.733 usec
DE                 6.50 usec
TE                300.0 K
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D13            0.00000400 sec
D16            0.00020000 sec
IN0            0.00015960 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  1H
P0                 9.90 usec
P1                 9.90 usec
PL1                4.80 dB
PL1W        -1.#IND0000 W
SFO1        500.1324454 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1          SINE.100
GPZ1               10.00 %
P16              1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1          500.1324 MHz
FIDRES        24.475250 Hz
SW               12.528 ppm
FnMODE                QF

F2 - Processing parameters
SI                   1024
SF          500.1300221 MHz
WDW                  SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                   1.00

F1 - Processing parameters
SI                   1024
MC2                    QF
SF          500.1300087 MHz
WDW
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

Figura A. 42 - Espectro de COSY (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4.

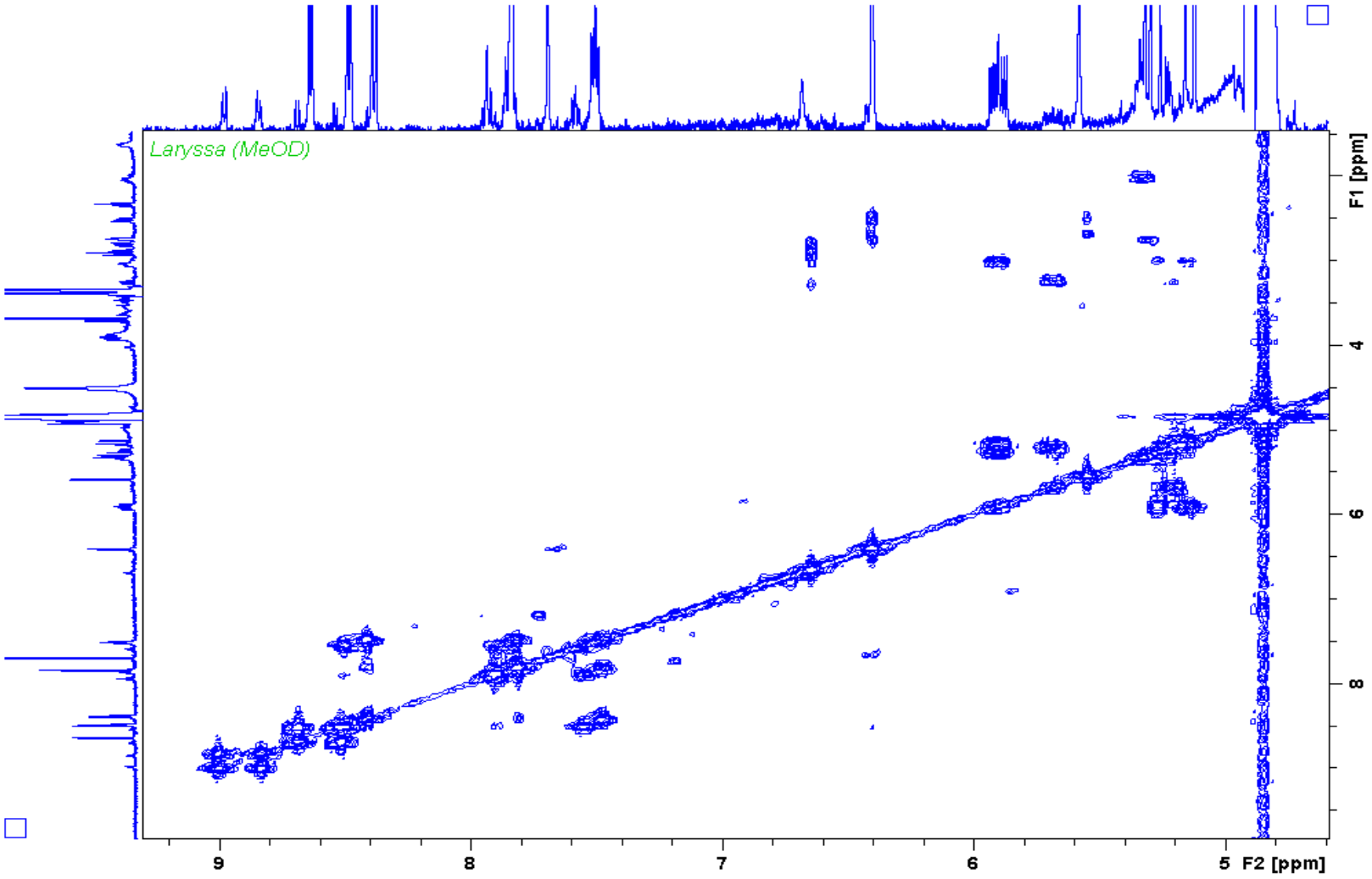


Figura A. 43 – Expansão do espectro de COSY (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4.

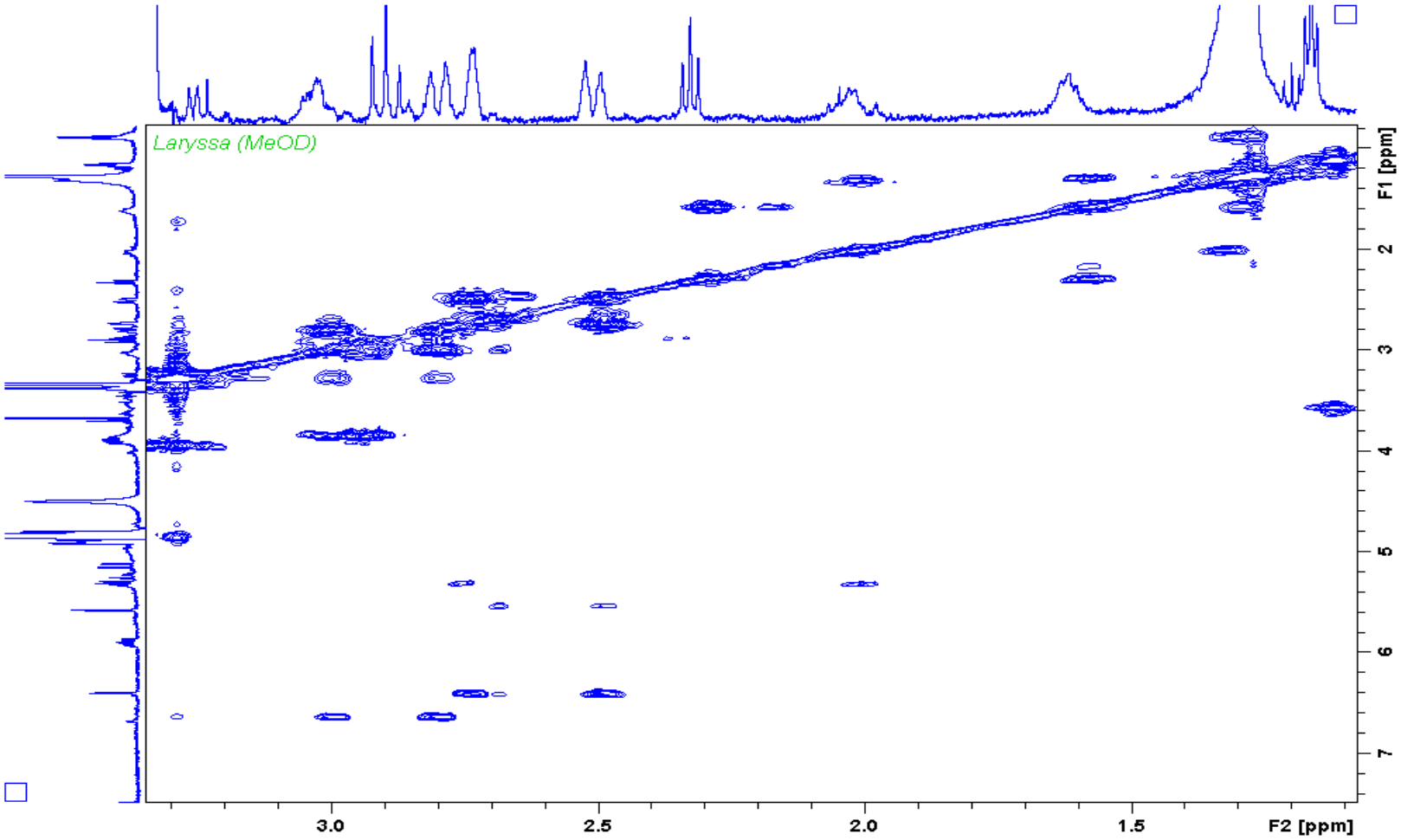


Figura A. 44 – Expansão do espectro de COSY (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4.

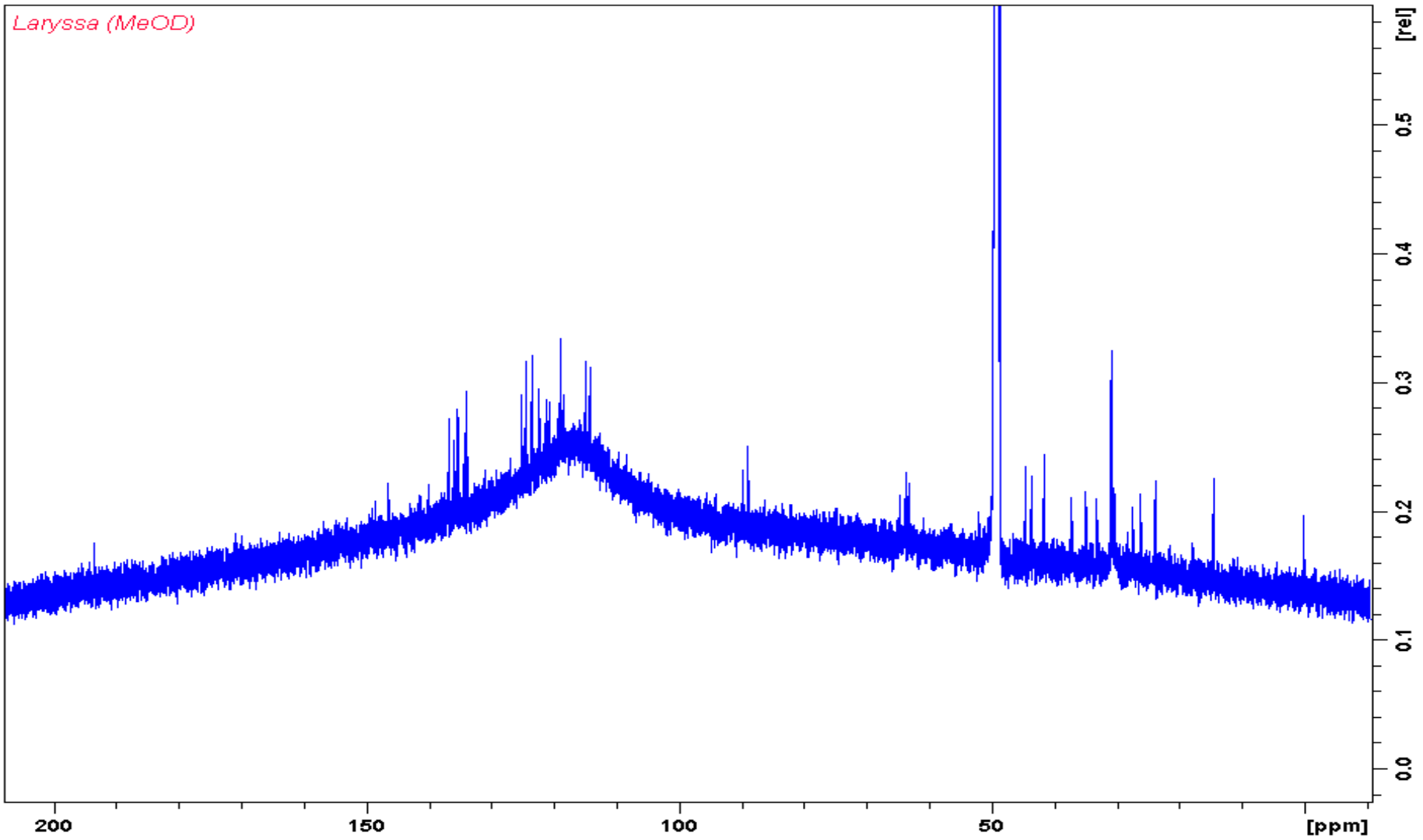


Figura A. 45 – Primeiro espectro de RMN do ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4.

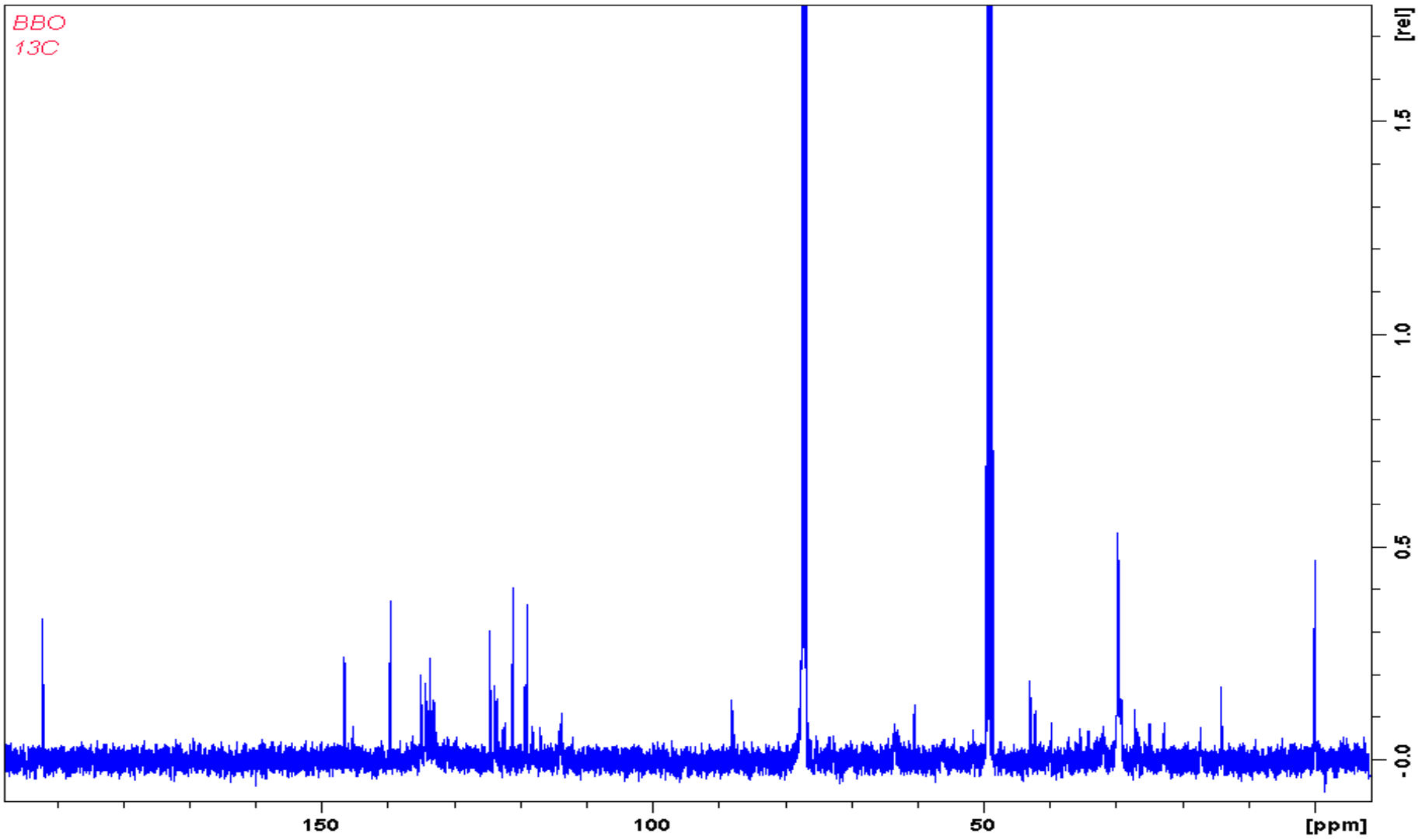


Figura A. 46 – Segundo espectro de RMN do ^{13}C (MeOD – 500 MHz) de LCPP-4.

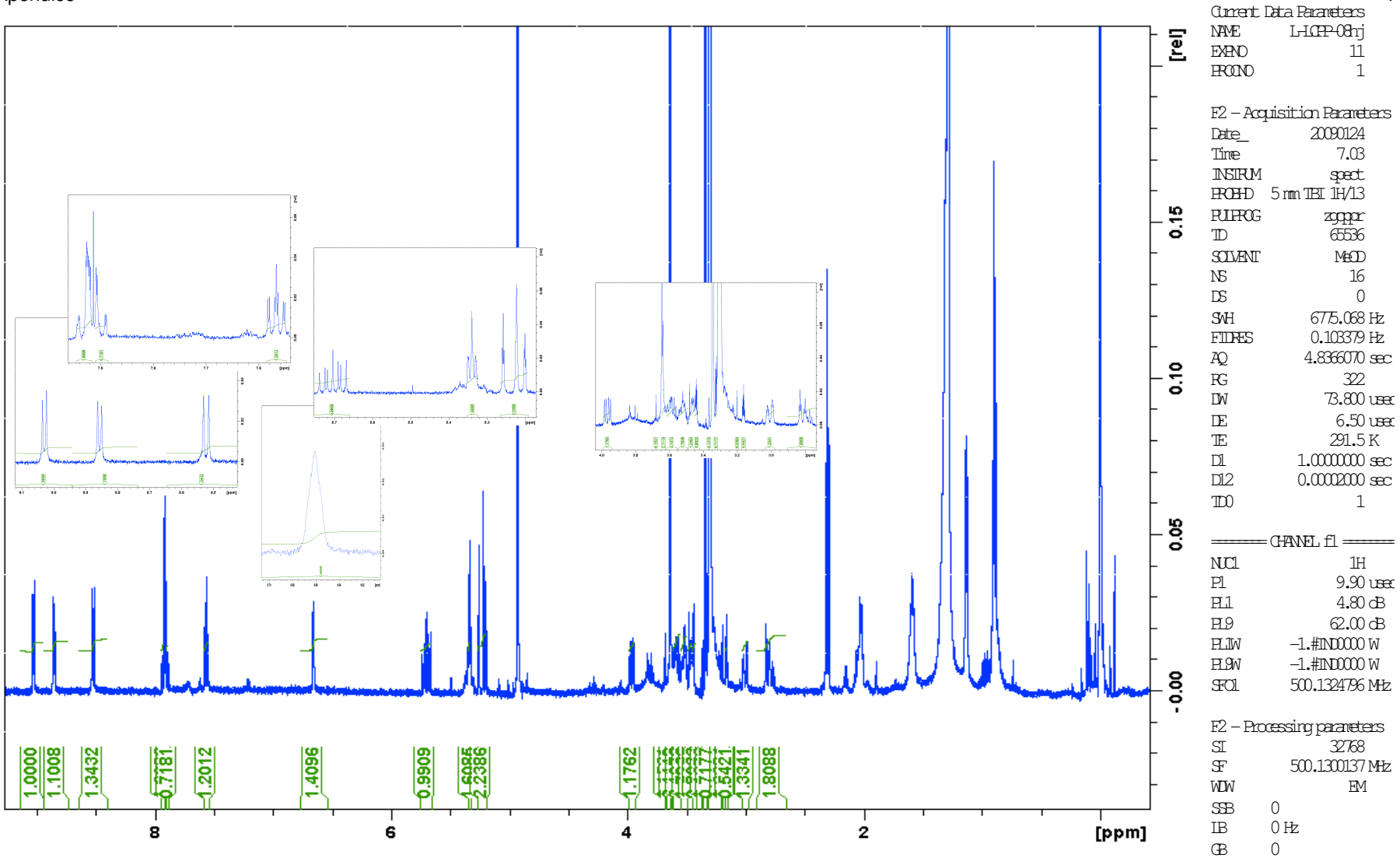


Figura A. 47 - Espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-5.

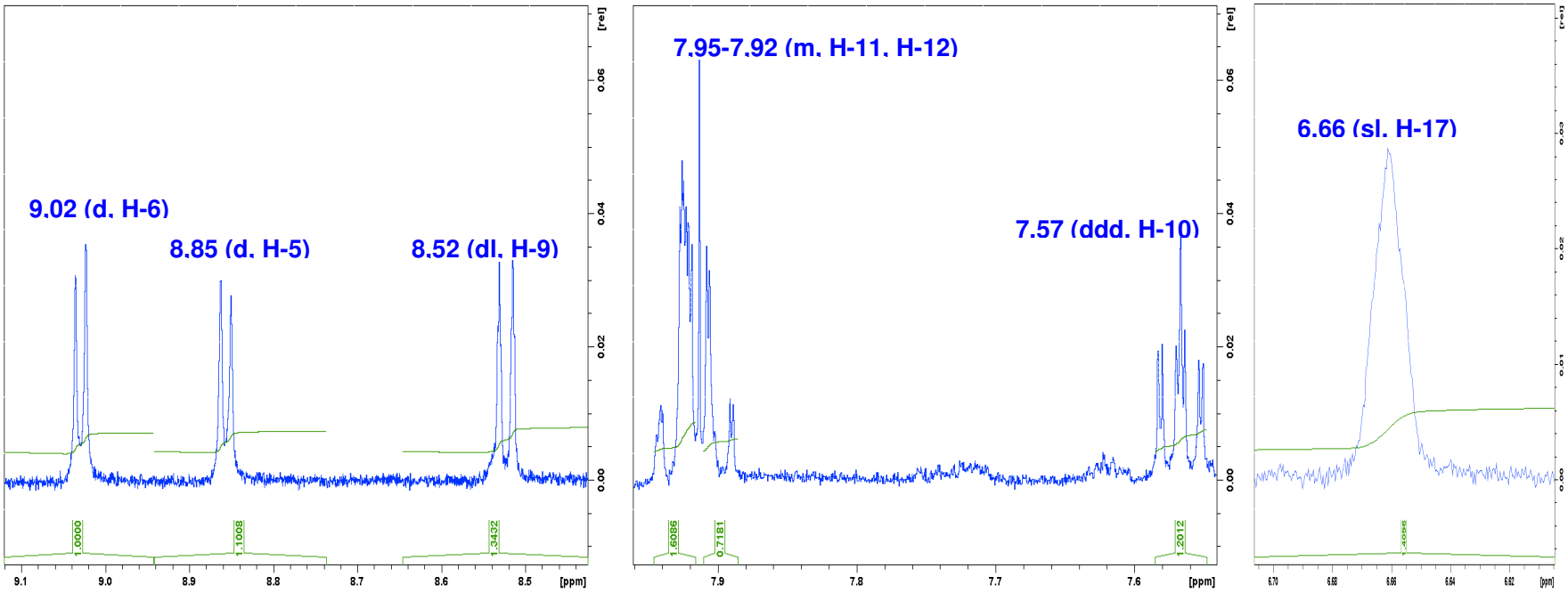


Figura A. 48 - Expansões do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-5.

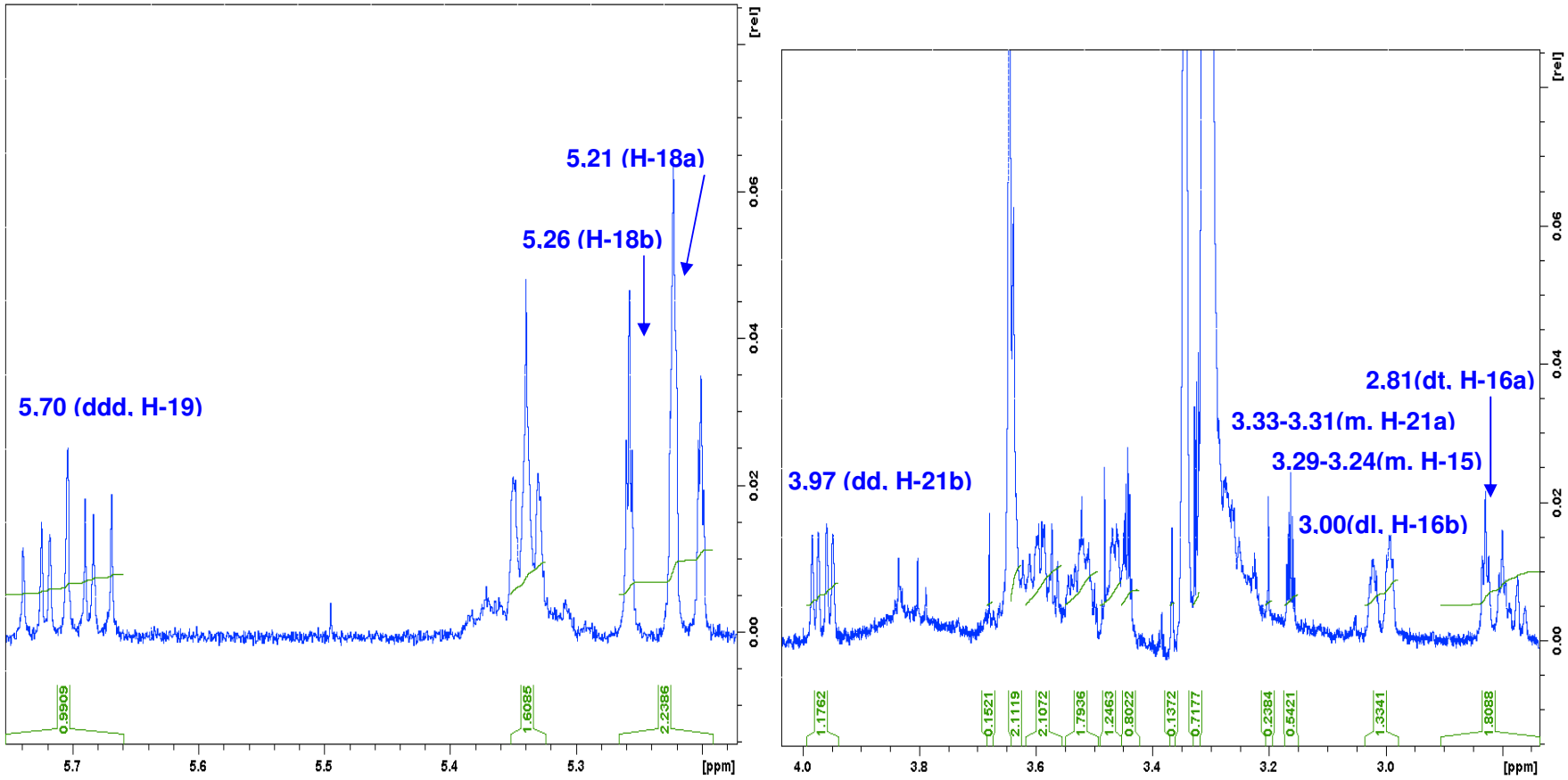


Figura A. 49 – Expansões do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-5.

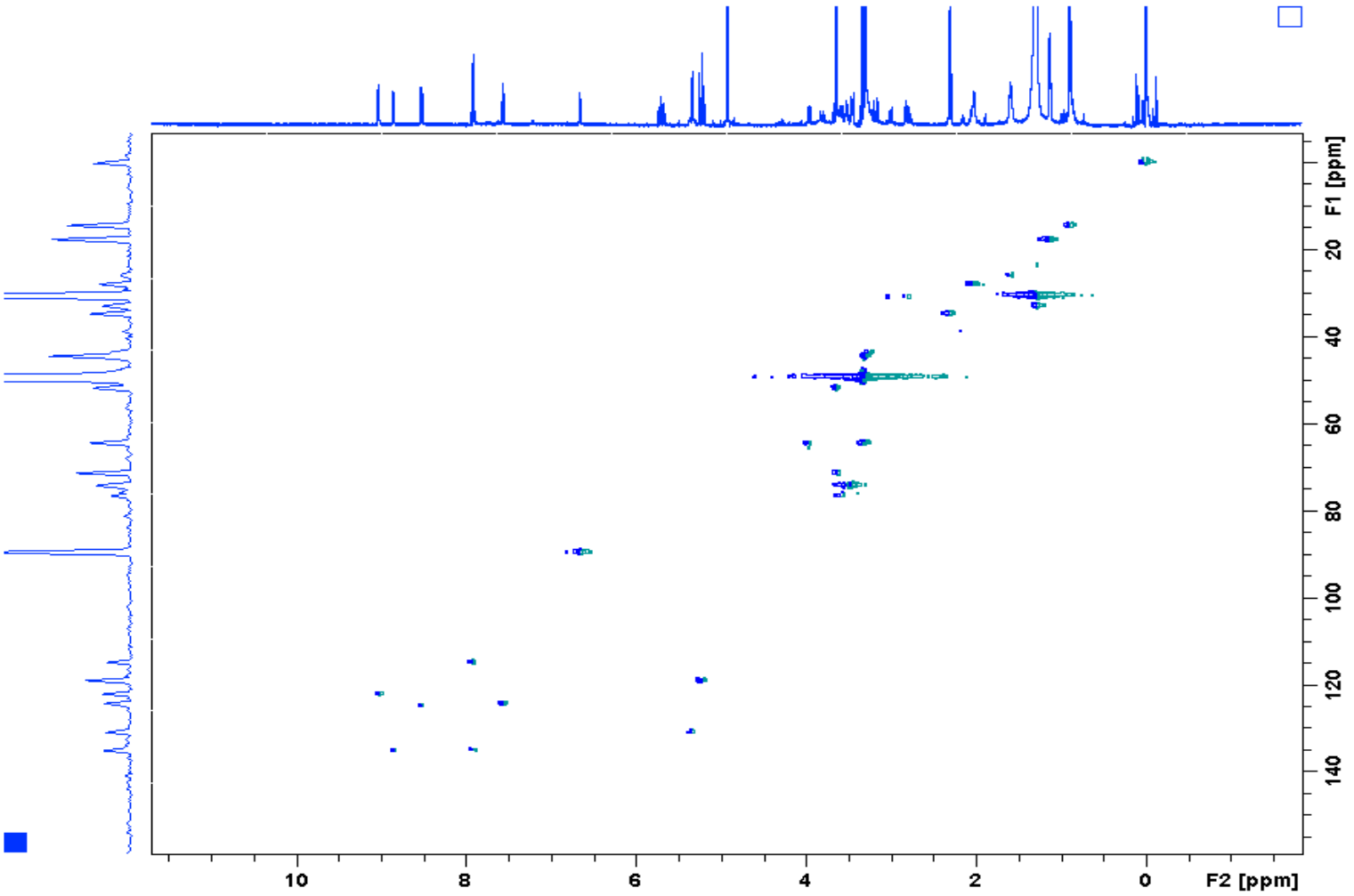


Figura A. 50 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

```
Current Data Parameters
NAME         L-LCPP-08hj
EXPNO                200
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090124
Time                7.07
INSTRUM            spect
PROBHD    5 mm TBI 1H/13
PULPROG        hsqcetgp
TD                 4096
SOLVENT            MeOD
NS                  120
DS                   16
SWH            6775.068 Hz
FIDRES         1.654069 Hz
AQ             0.3023348 sec
RG                 1620
DW                73.800 usec
DE                 6.50 usec
TE                293.3 K
CNST2          145.0000000
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D4             0.00172414 sec
D11            0.03000000 sec
D13            0.00000400 sec
D16            0.00020000 sec
IN0            0.00002400 sec
ZGOPTNS

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                 1H
P1                 9.90 usec
P2                19.80 usec
P28             1000.00 usec
PL1                4.80 dB
PL1W         -1.#IND0000 W
SFO1          500.1324796 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2             garp
NUC2                13C
P3                20.50 usec
P4                41.00 usec
PCPD2             70.00 usec
PL2                3.70 dB
PL12              14.50 dB
PL2W         -1.#IND0000 W
PL12W        -1.#IND0000 W
SFO2          125.7671682 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1          SINE.100
GPNAM2          SINE.100
GPZ1               80.00 %
GPZ2               20.12 %
P16              1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  256
SFO1          125.7672 MHz
FIDRES         81.374924 Hz
SW               165.639 ppm
FnMODE     Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI                 1024
SF          500.1300094 MHz
WDW               QSINE
SSB                   2
LB         0 Hz
GB         0
PC                 1.00

F1 - Processing parameters
SI                 1024
MC2        echo-antiecho
SF          125.7576092 MHz
WDW
SSB                   2
LB         0 Hz
GB         0
```

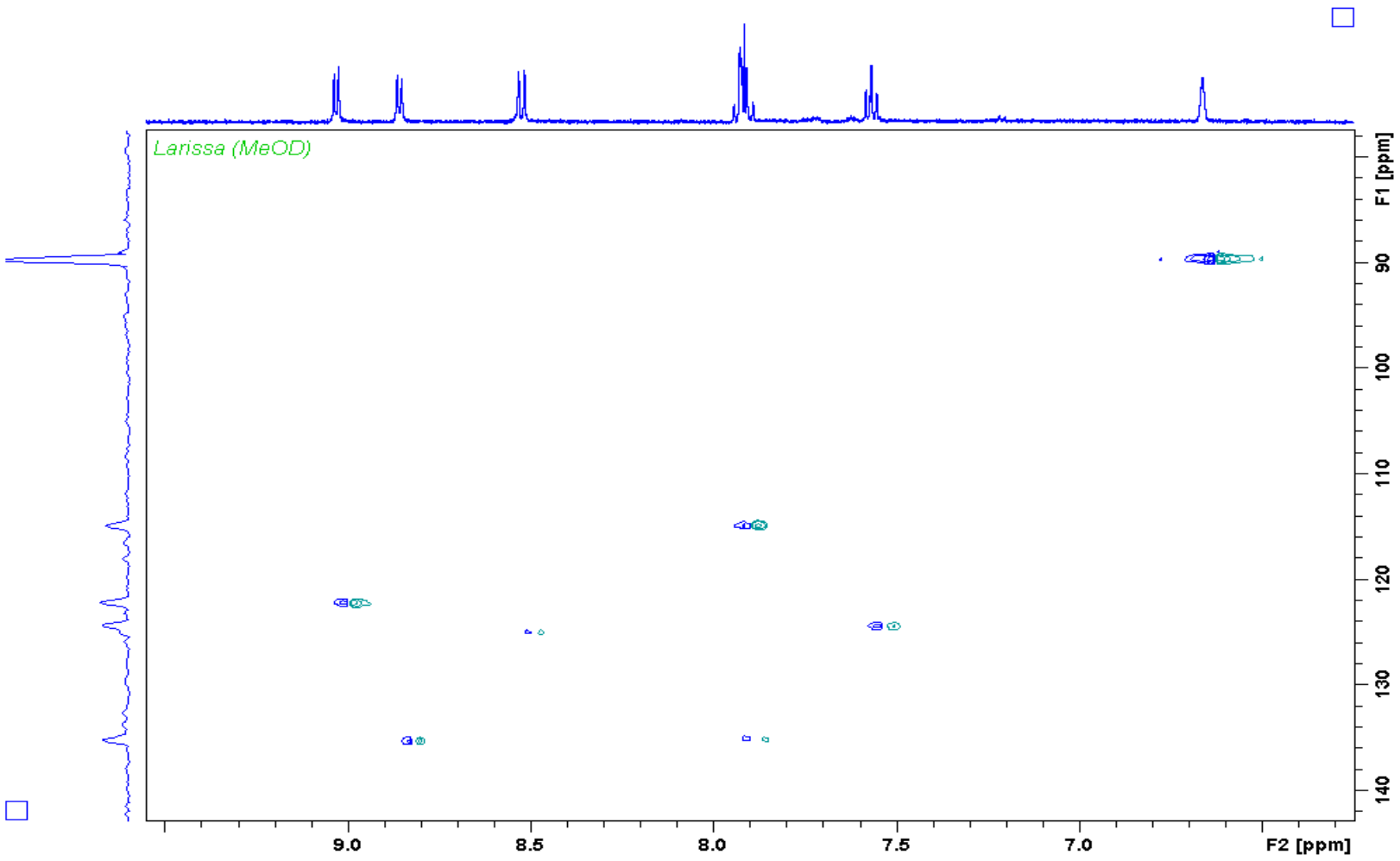


Figura A. 51 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

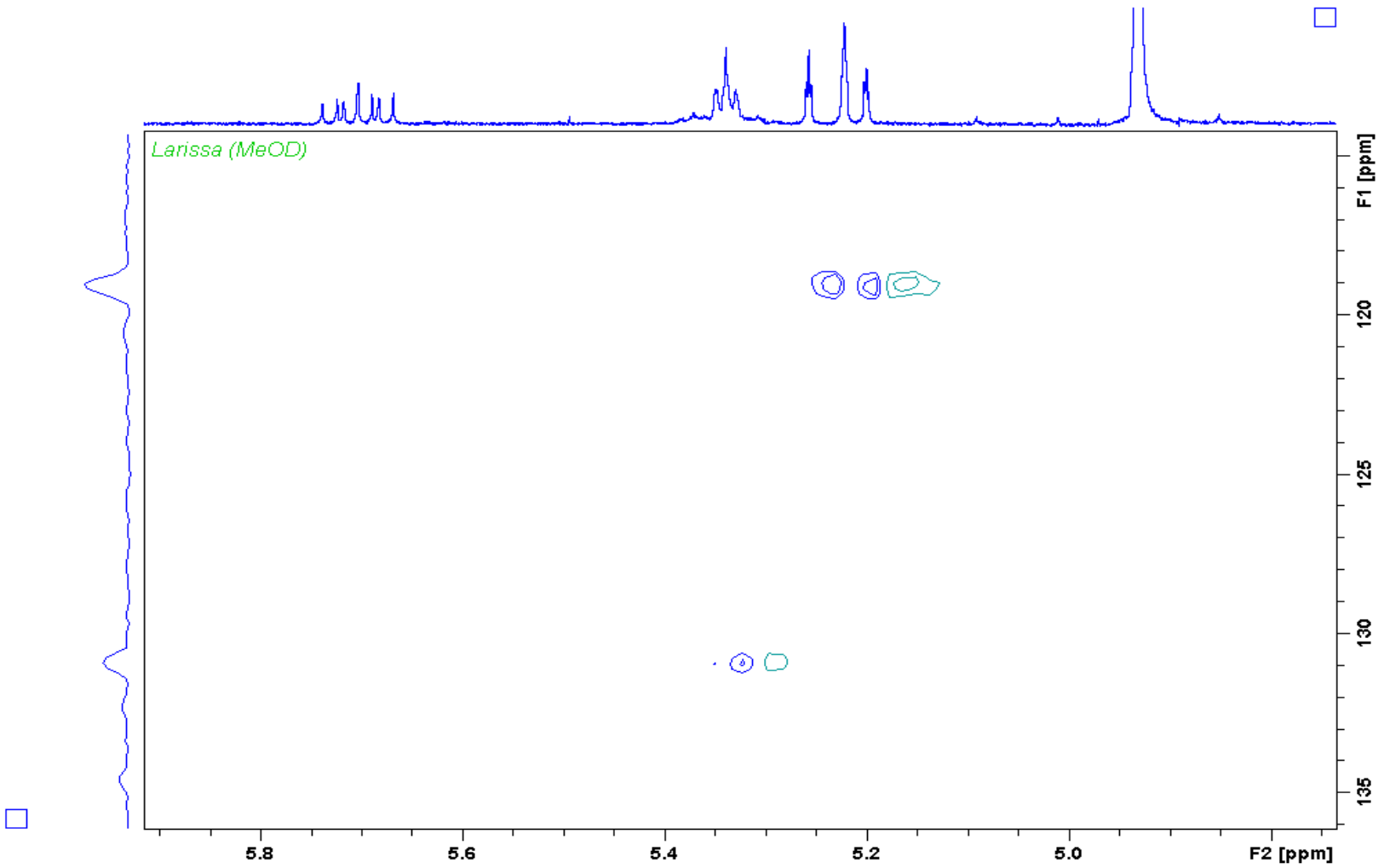


Figura A. 52 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

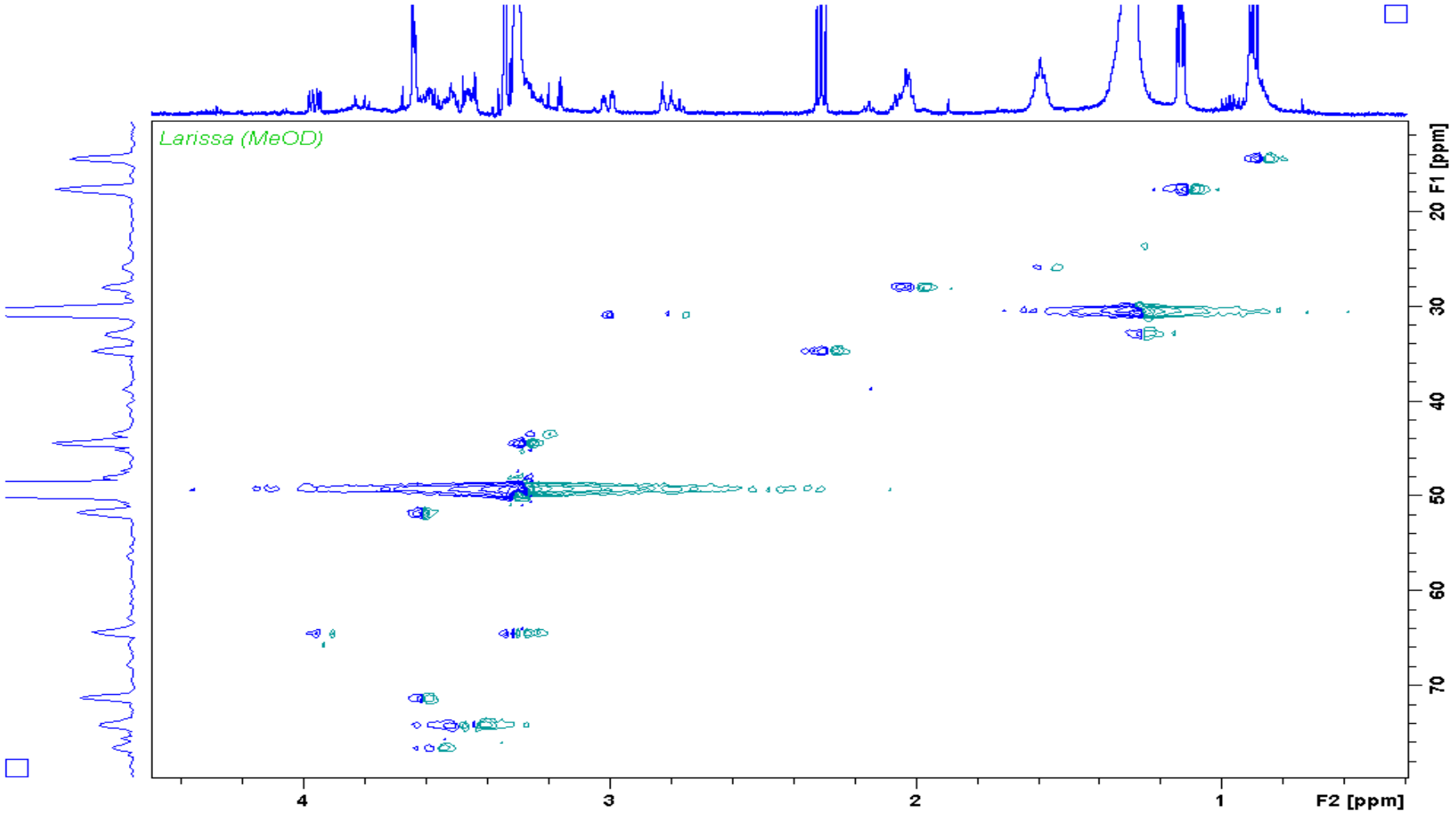


Figura A. 53 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

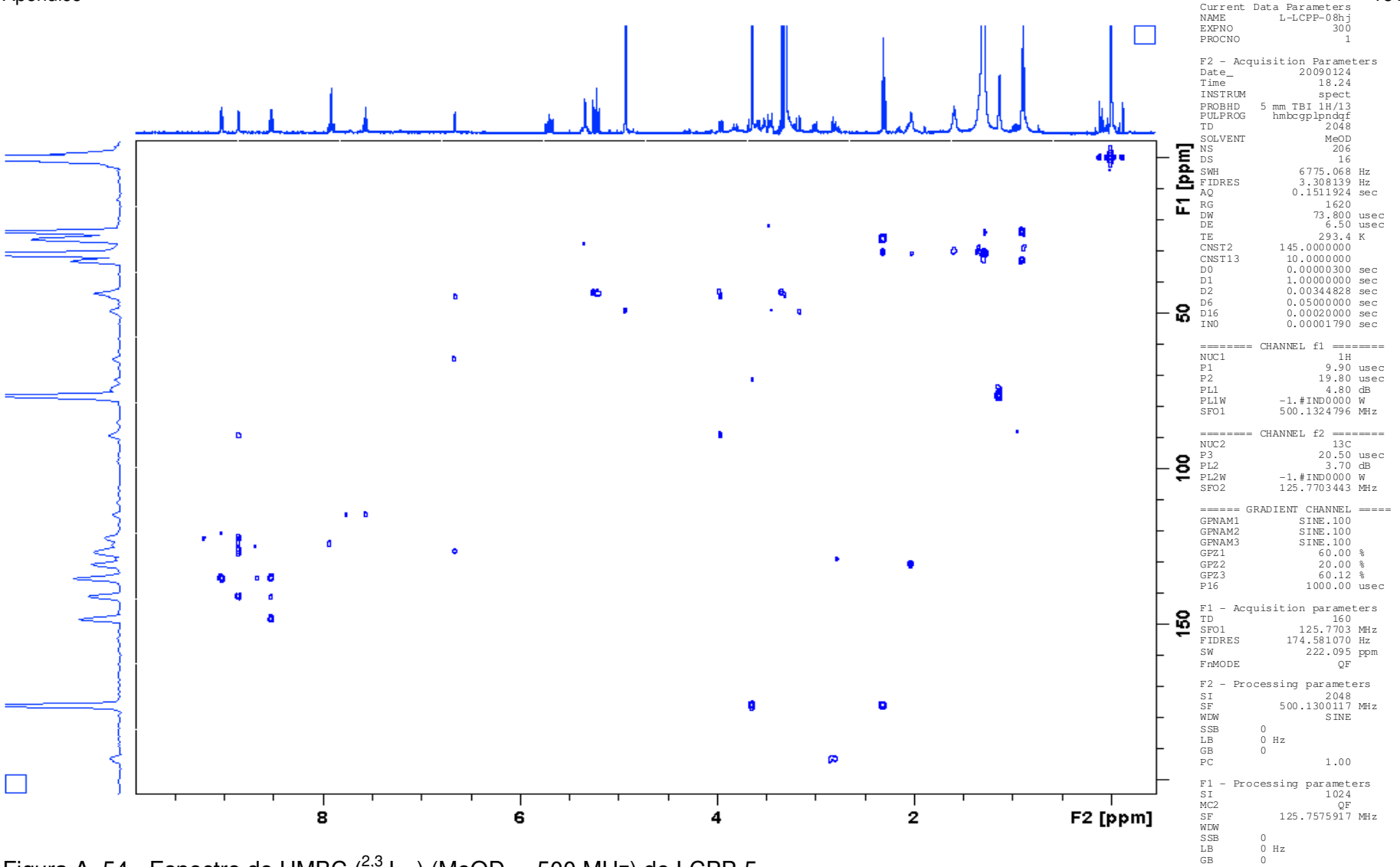


Figura A. 54 - Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

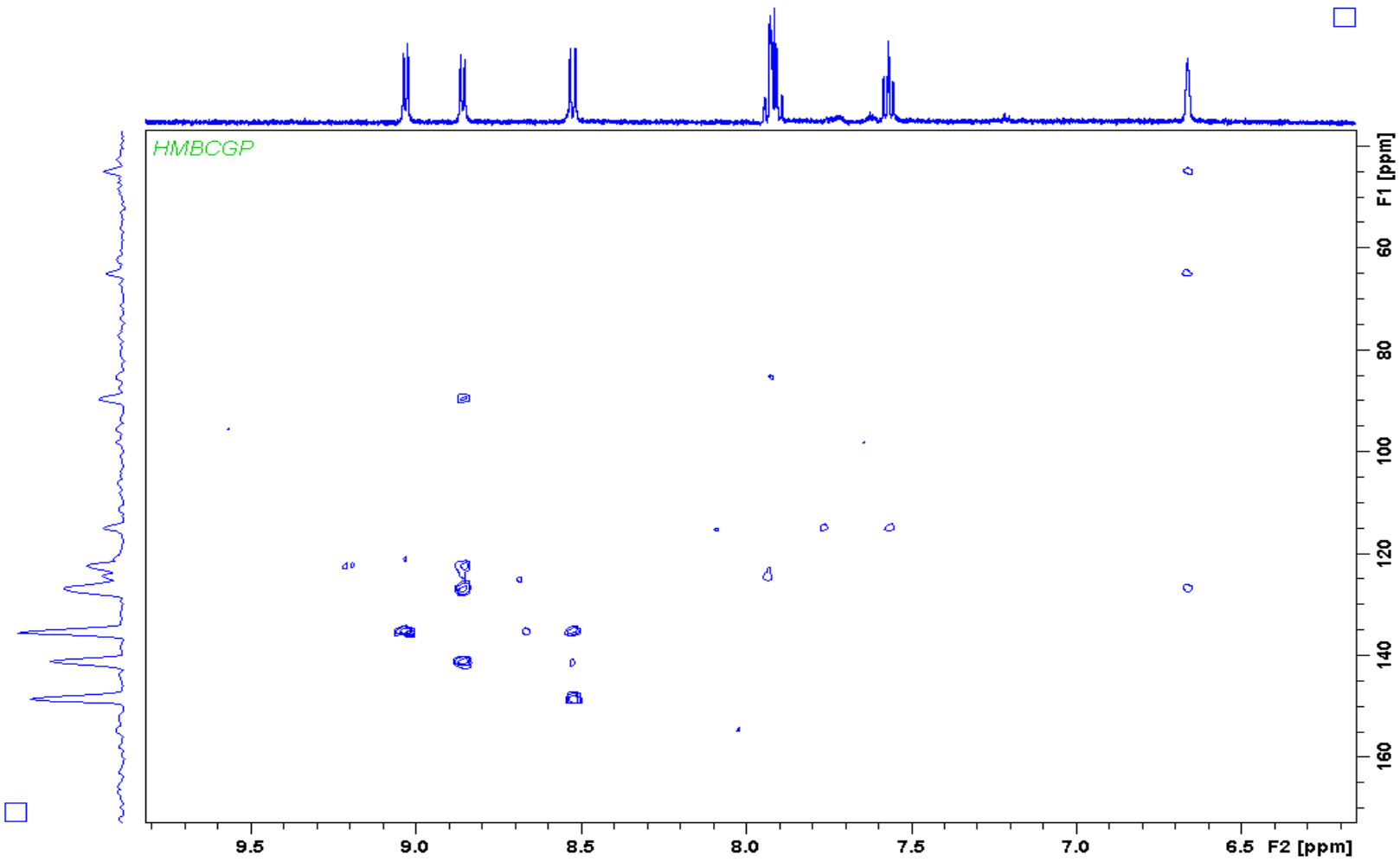


Figura A. 55 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

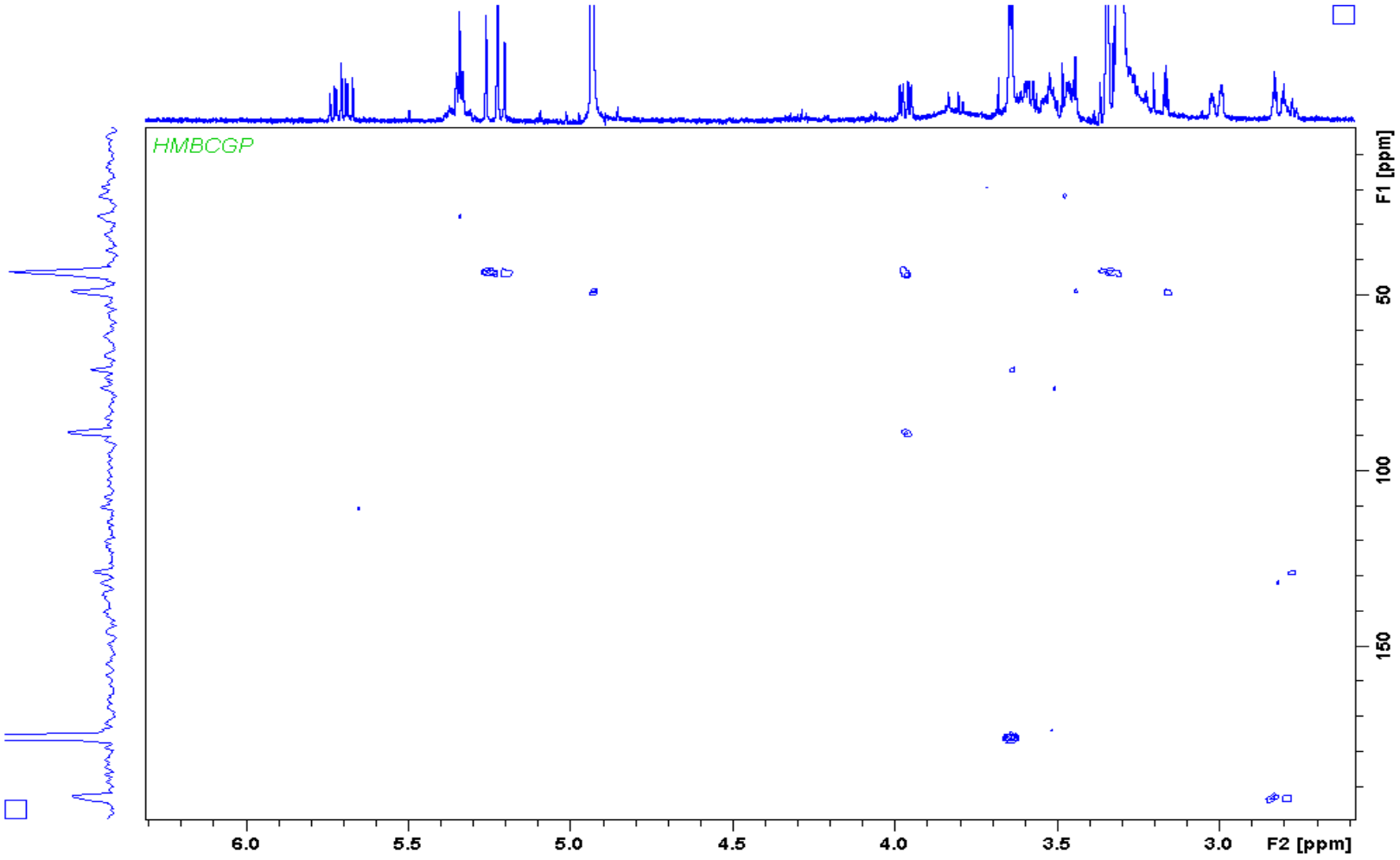


Figura A. 56 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

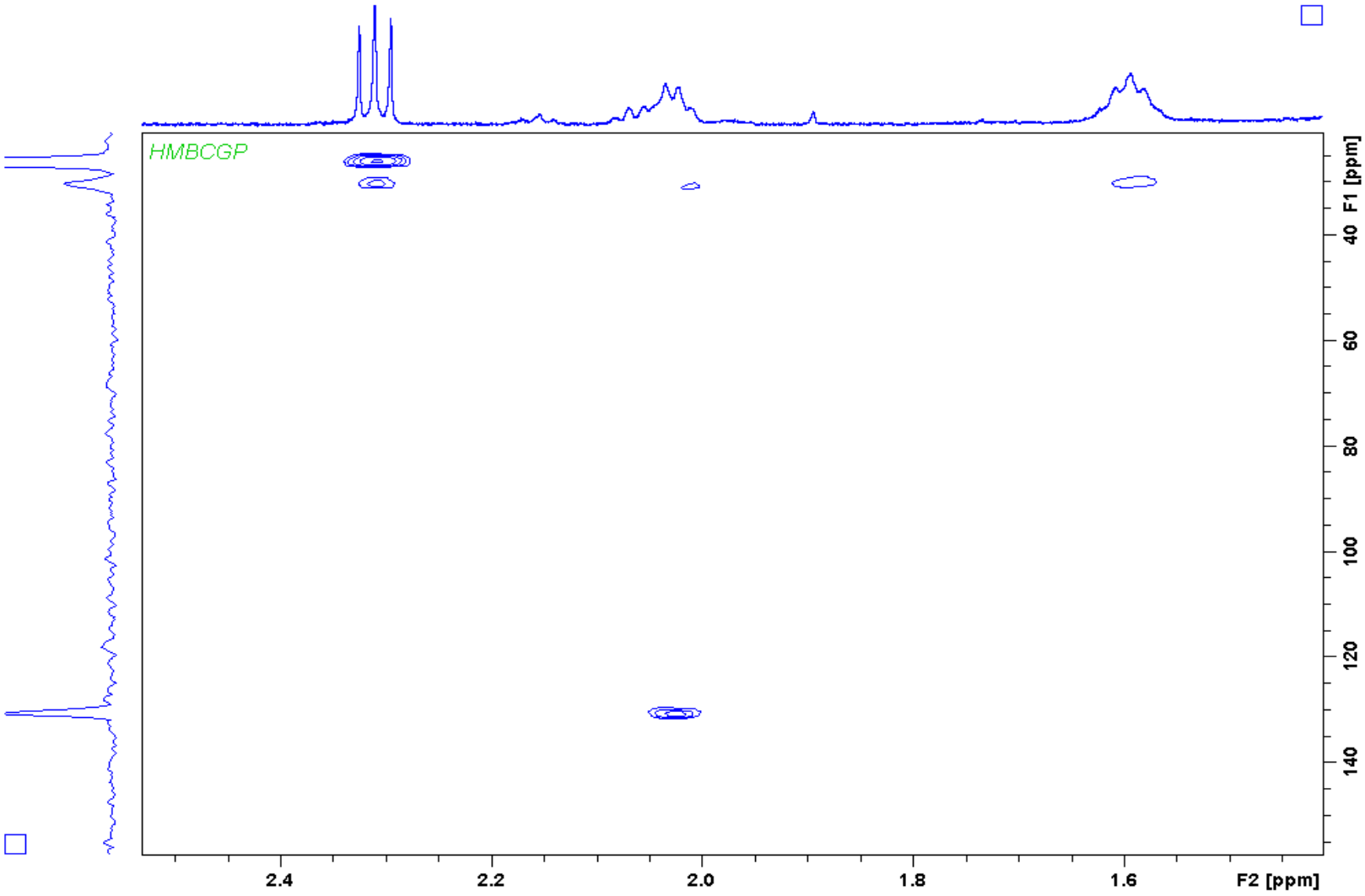


Figura A. 57 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-5.

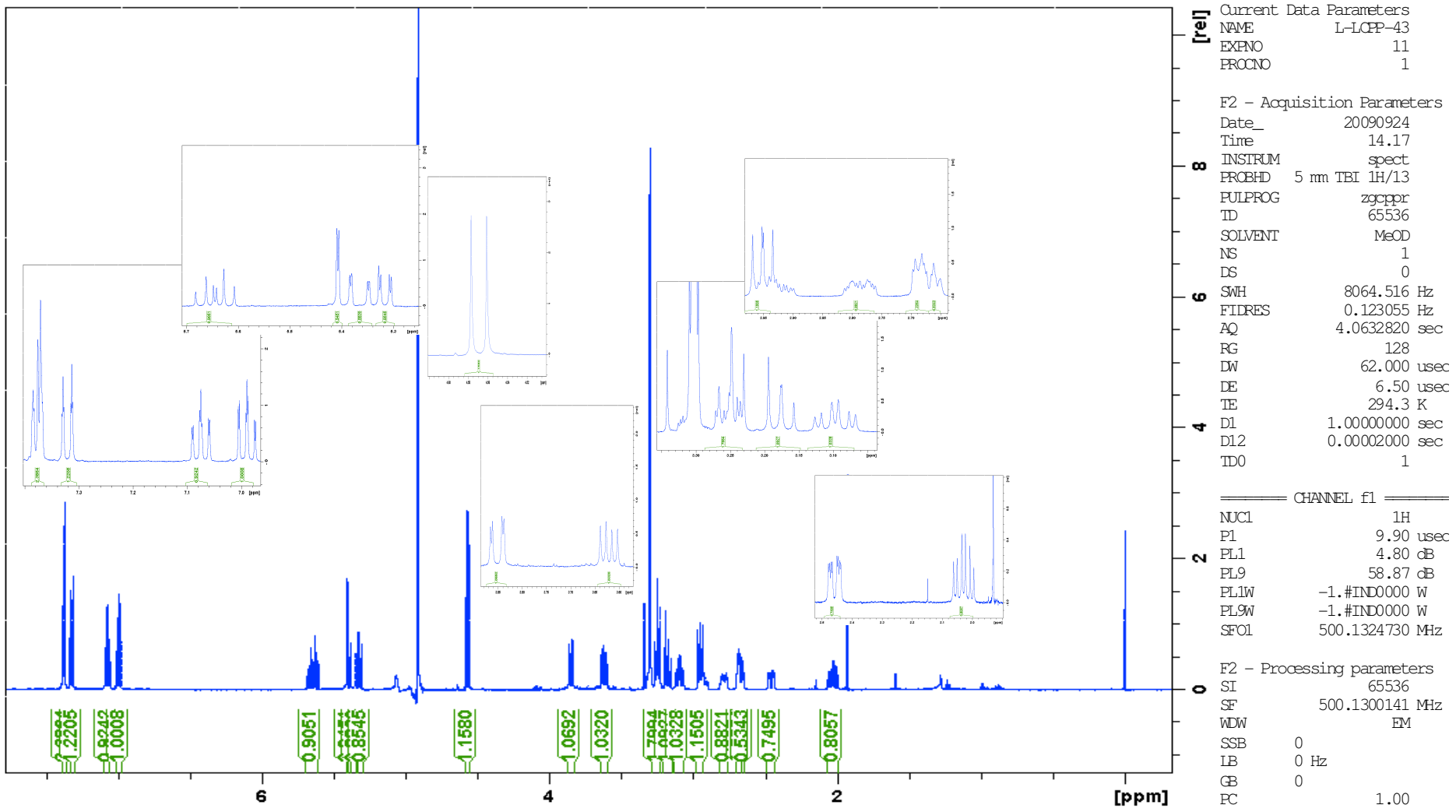


Figura A. 58 - Espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6.

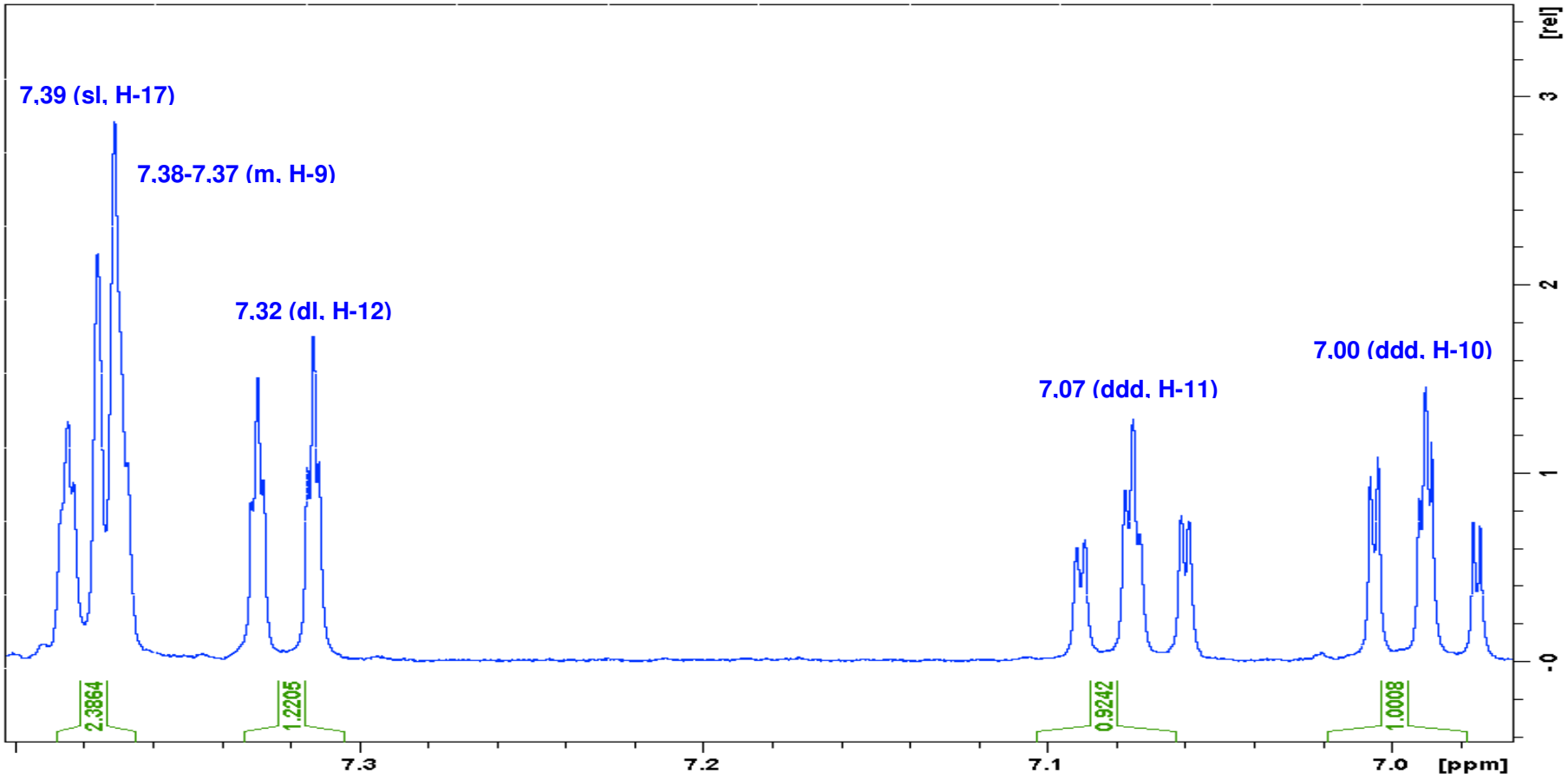


Figura A. 59 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6.

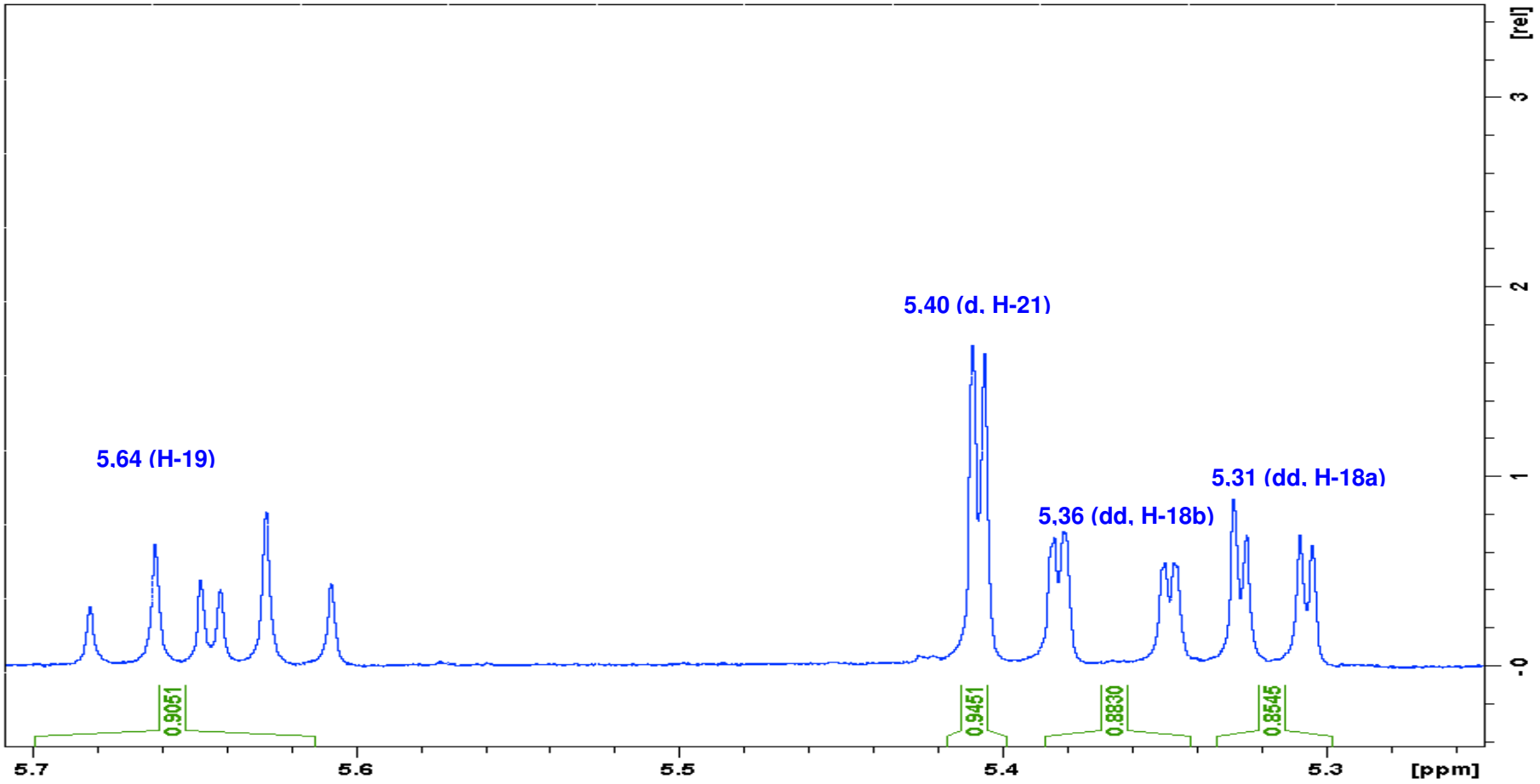


Figura A. 60 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6.

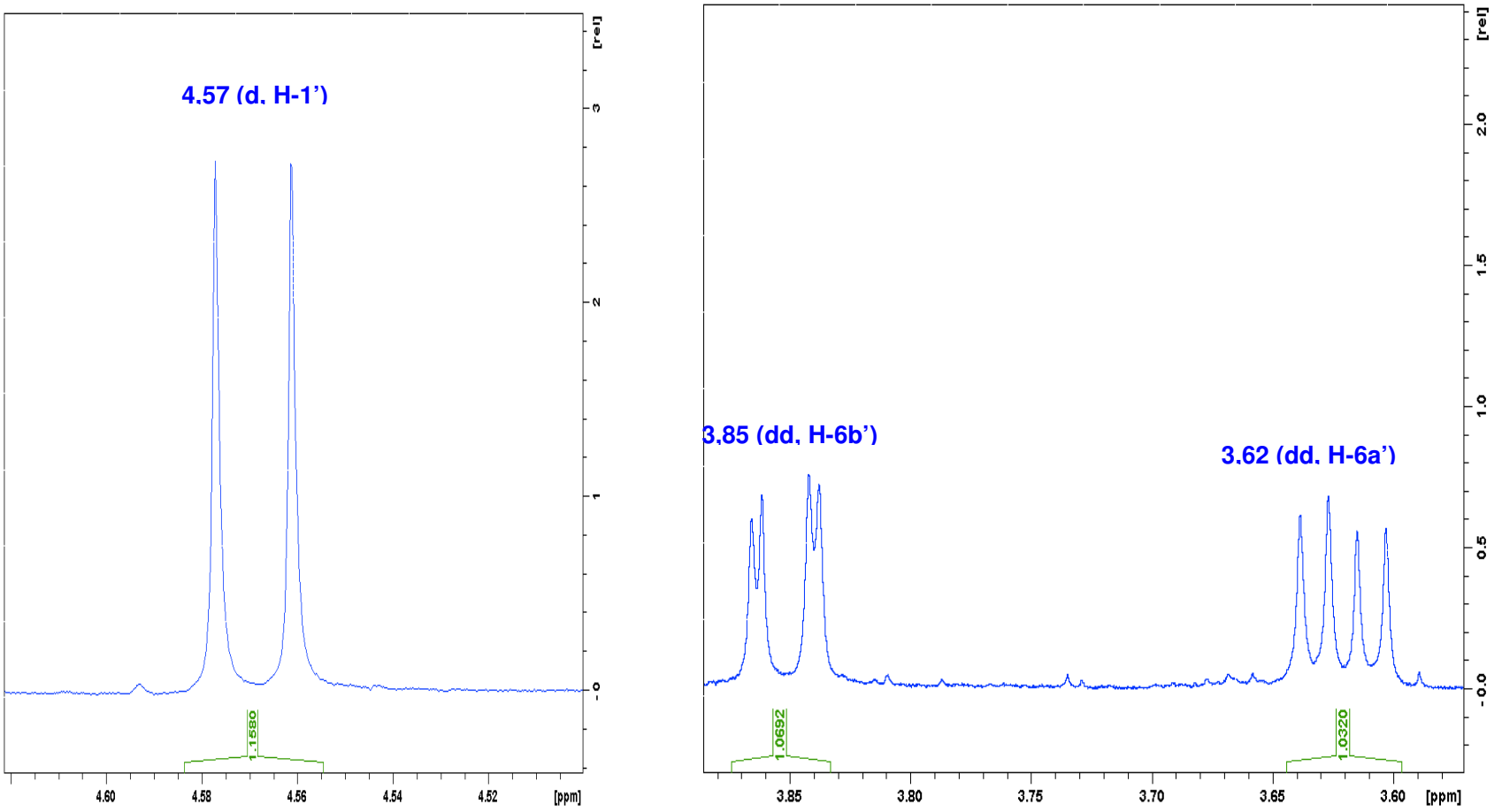


Figura A. 61 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6.

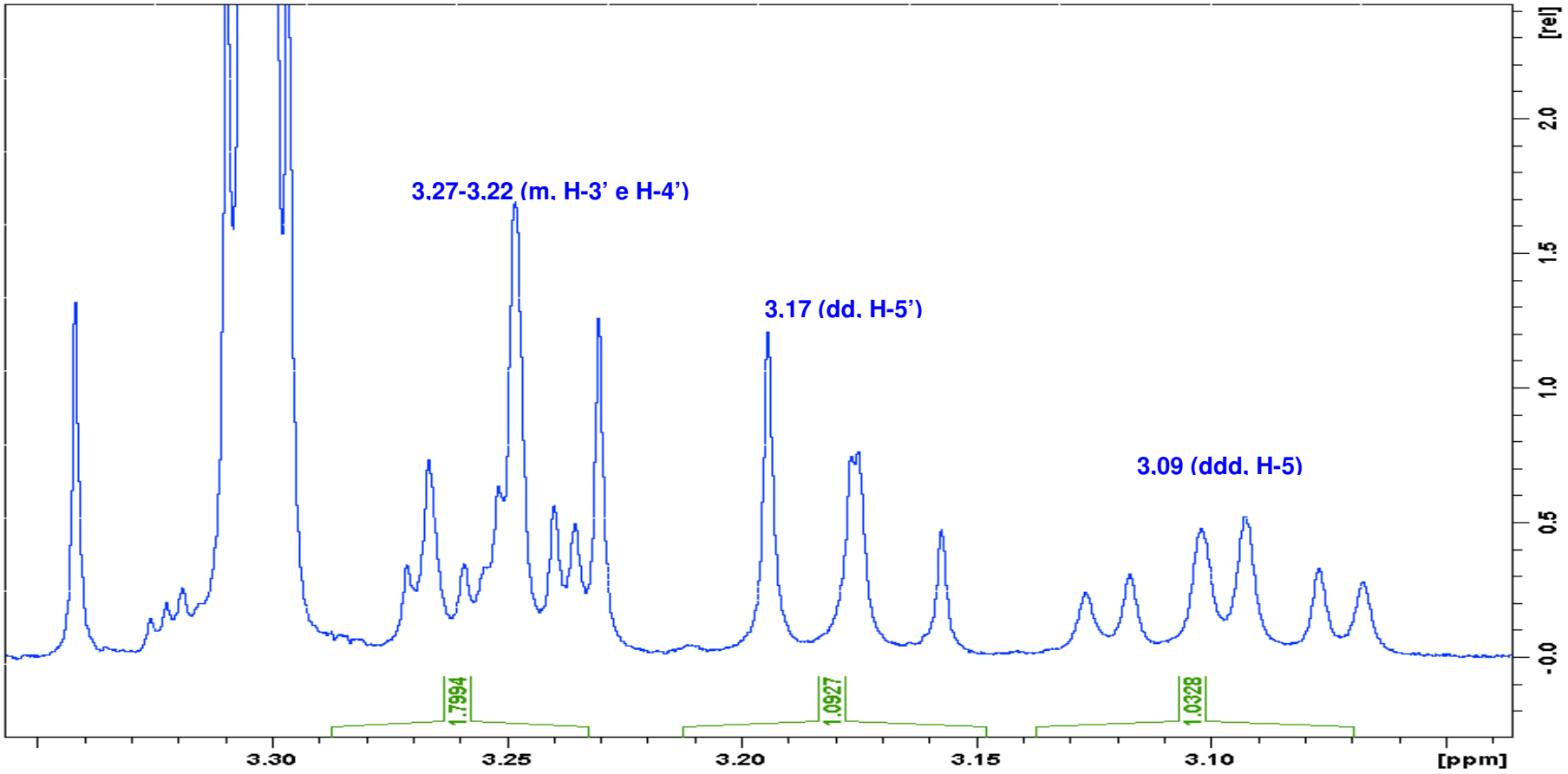


Figura A. 62 – Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6.

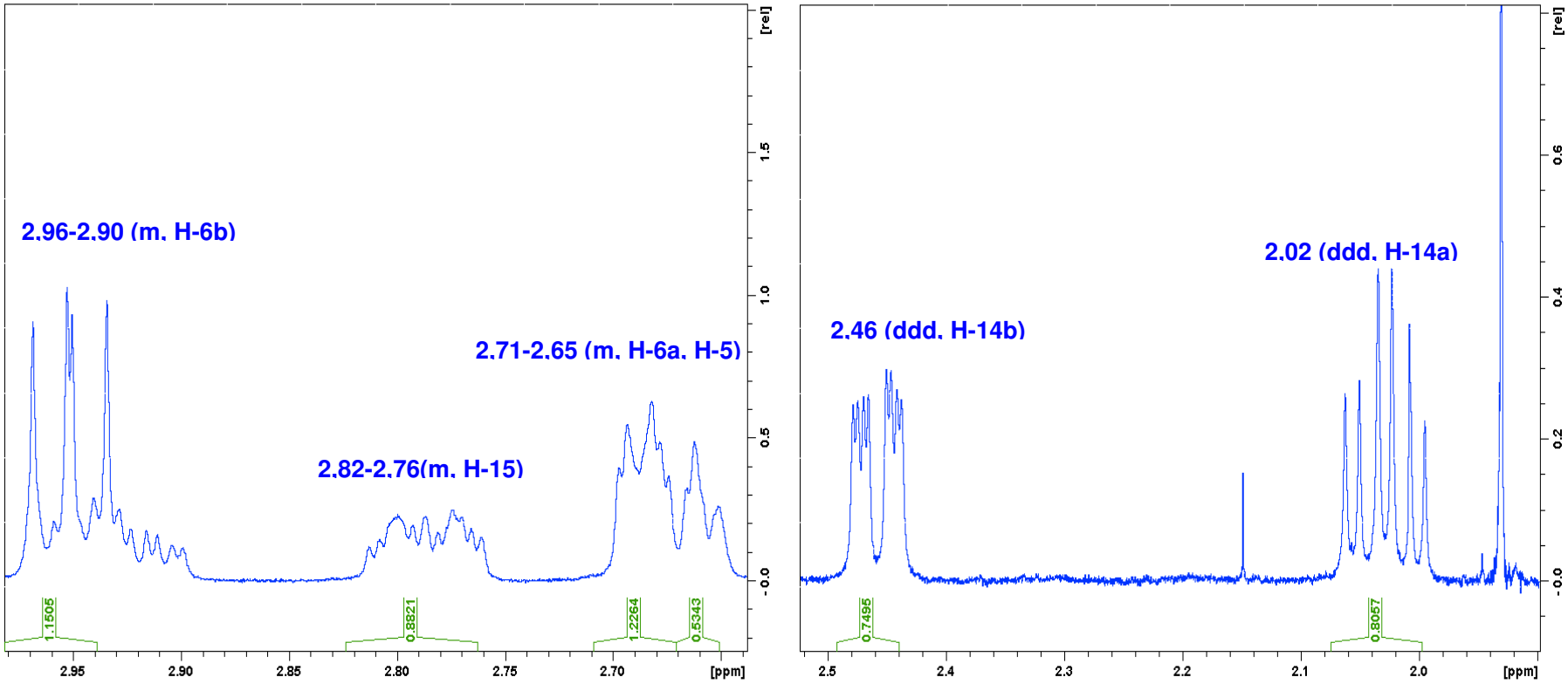


Figura A. 63 - Expansões do espectro de RMN de ^{1}H (MeOD - 500 MHz) de LCPP-6.

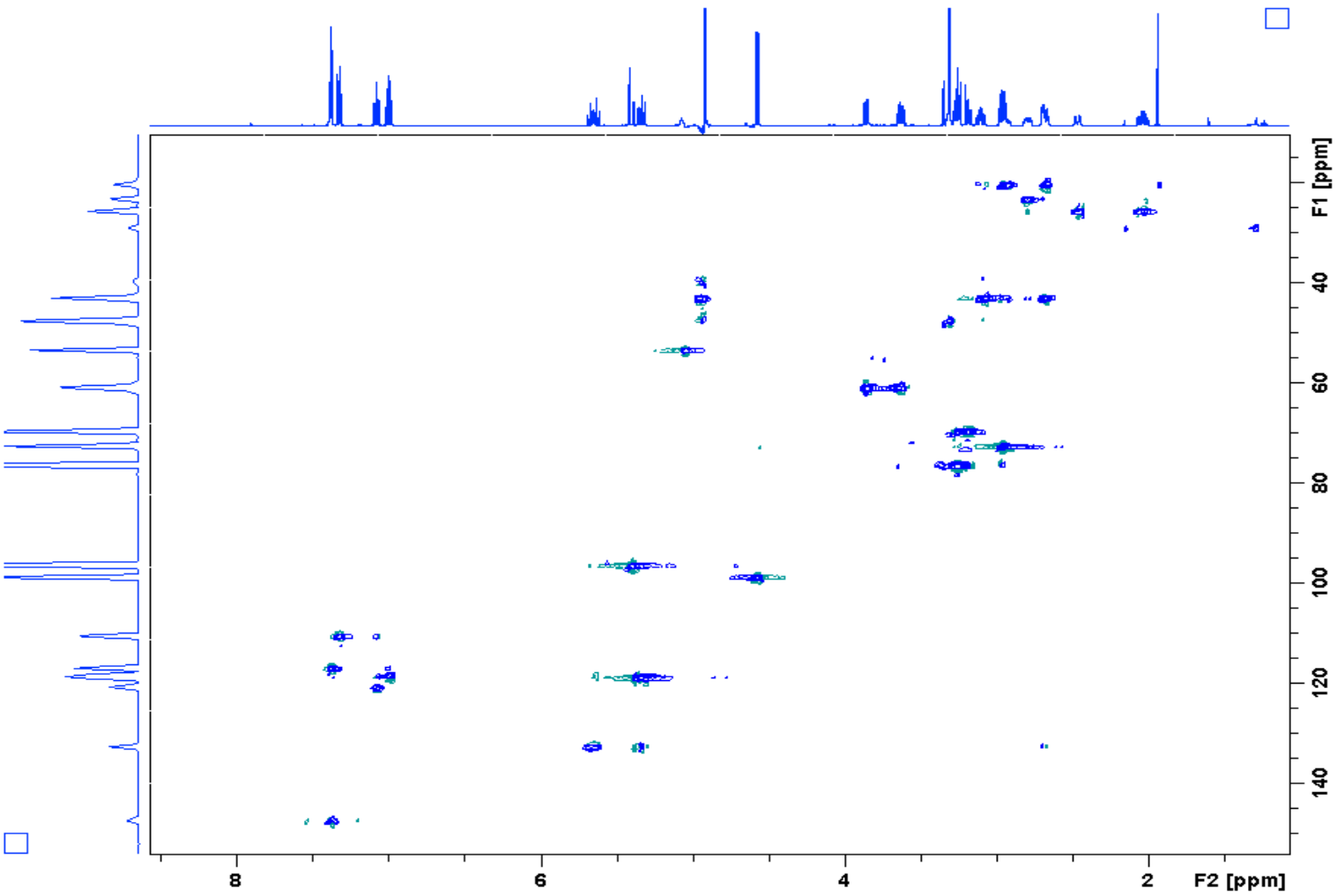


Figura A. 64 - Espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.

```
Current Data Parameters
NAME                  L-LCPP-43
EXPNO                       200
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                  20090924
Time                      16.51
INSTRUM                   spect
PROBHD    5 mm TBI 1H/13
PULPROG                hsqcetgp
TD                          4096
SOLVENT                   MeOD
NS                            64
DS                            16
SWH                     8064.516 Hz
FIDRES                  1.968876 Hz
AQ                      0.2540020 sec
RG                            912
DW                       62.000 usec
DE                        6.50 usec
TE                       300.7 K
CNST2                145.0000000
D0                    0.00000300 sec
D1                    1.00000000 sec
D4                    0.00172414 sec
D11                   0.03000000 sec
D13                   0.00000400 sec
D16                   0.00020000 sec
IN0                   0.00002400 sec
ZGOPTNS

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                         9.90 usec
P2                        19.80 usec
P28                     1000.00 usec
PL1                        4.80 dB
PL1W                -1.#IND0000 W
SFO1                500.1324712 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                    garp
NUC2                        13C
P3                        20.50 usec
P4                        41.00 usec
PCPD2                     70.00 usec
PL2                        3.70 dB
PL12                      14.50 dB
PL2W                -1.#IND0000 W
PL12W               -1.#IND0000 W
SFO2                125.7671682 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1                SINE.100
GPNAM2                SINE.100
GPZ1                      80.00 %
GPZ2                      20.12 %
P16                     1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                          256
SFO1                125.7672 MHz
FIDRES               81.374924 Hz
SW                      165.639 ppm
FnMODE     Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI                         1024
SF                  500.1300072 MHz
WDW                       QSINE
SSB                           2
LB                0 Hz
GB                0
PC                        1.00

F1 - Processing parameters
SI                         1024
MC2                echo-antiecho
SF                  125.7577906 MHz
WDW
SSB                           2
LB                0 Hz
GB                0
```

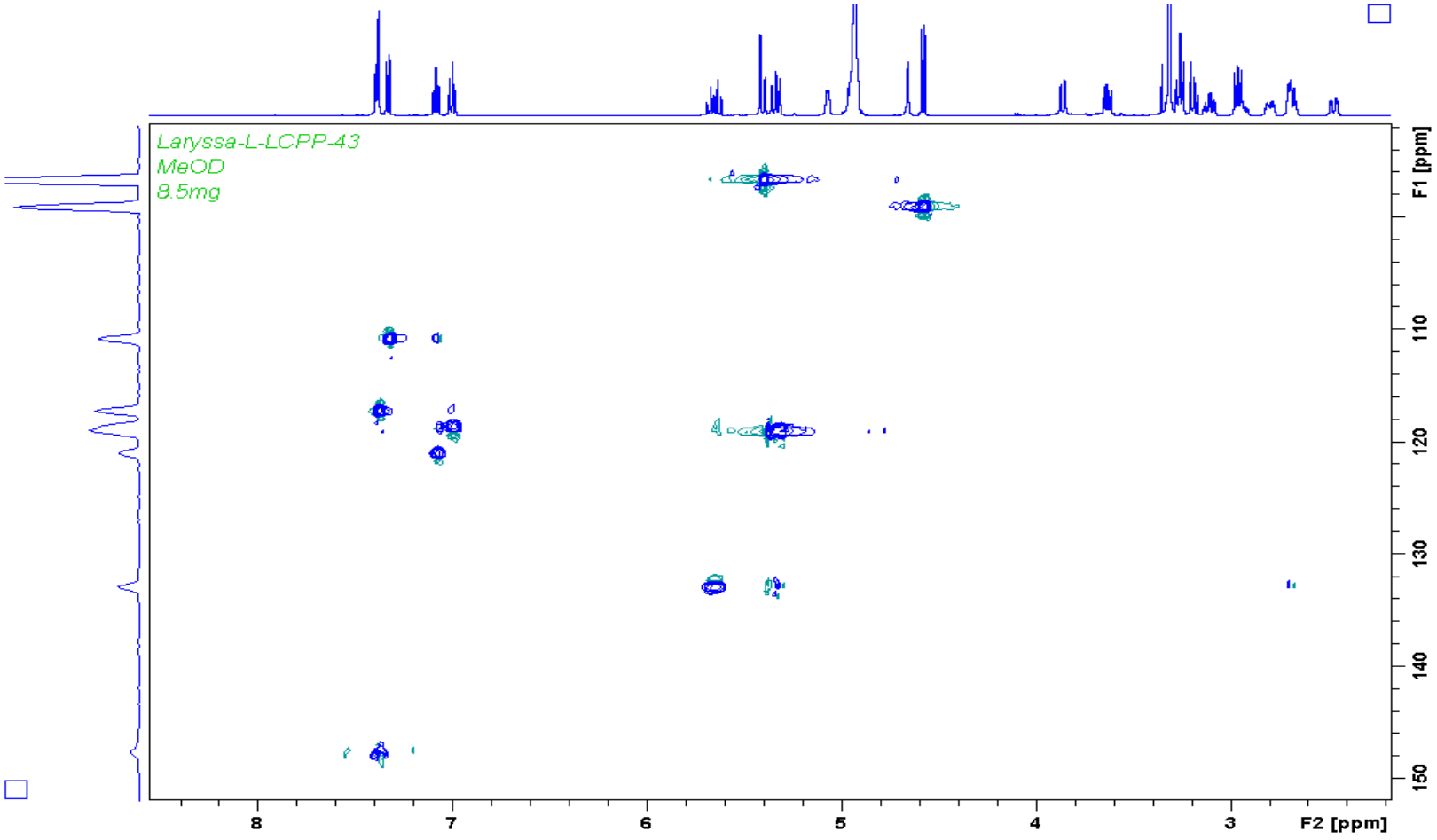


Figura A. 65 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.

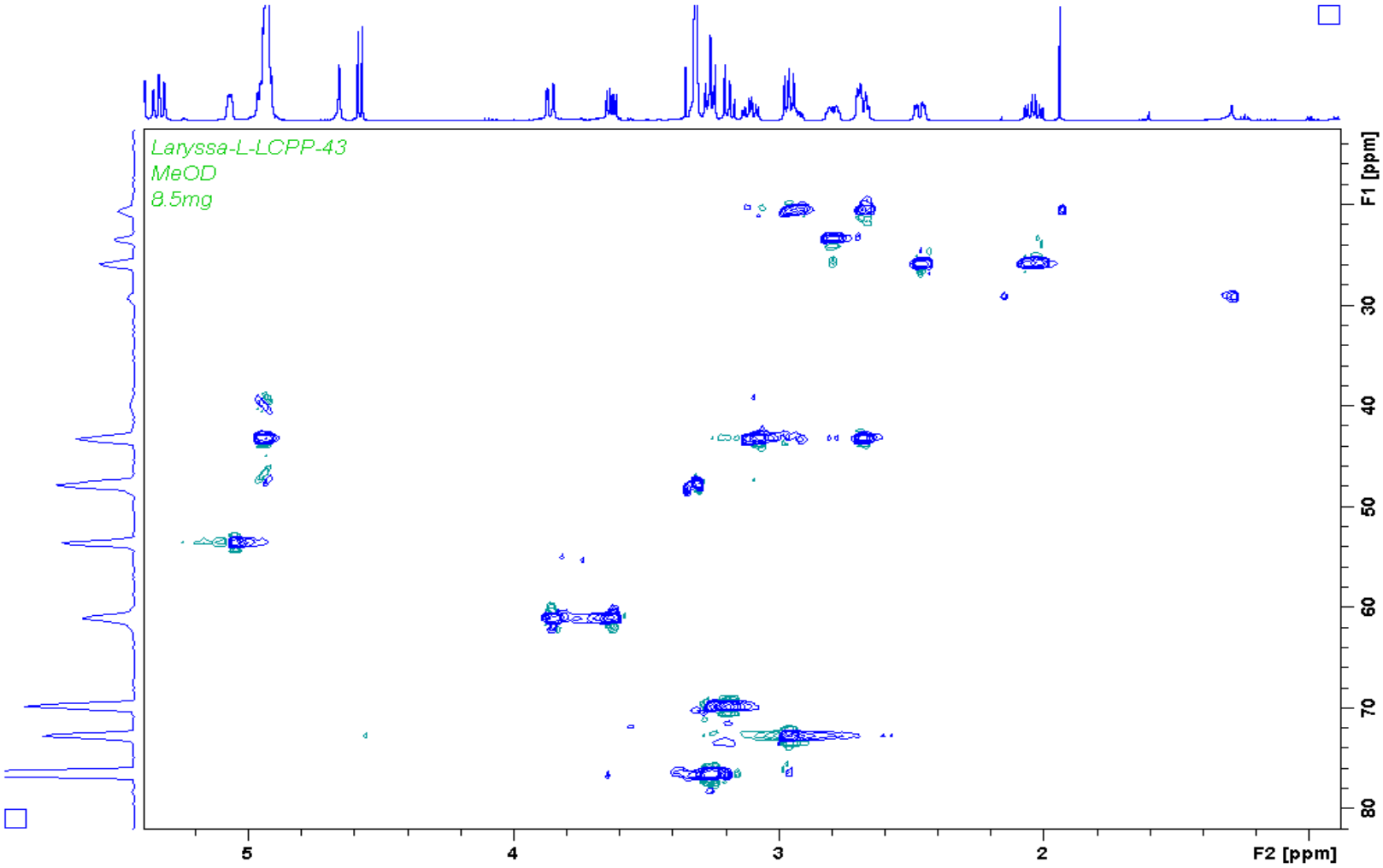


Figura A. 66 – Expansão do espectro de HSQC ($^{1}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.

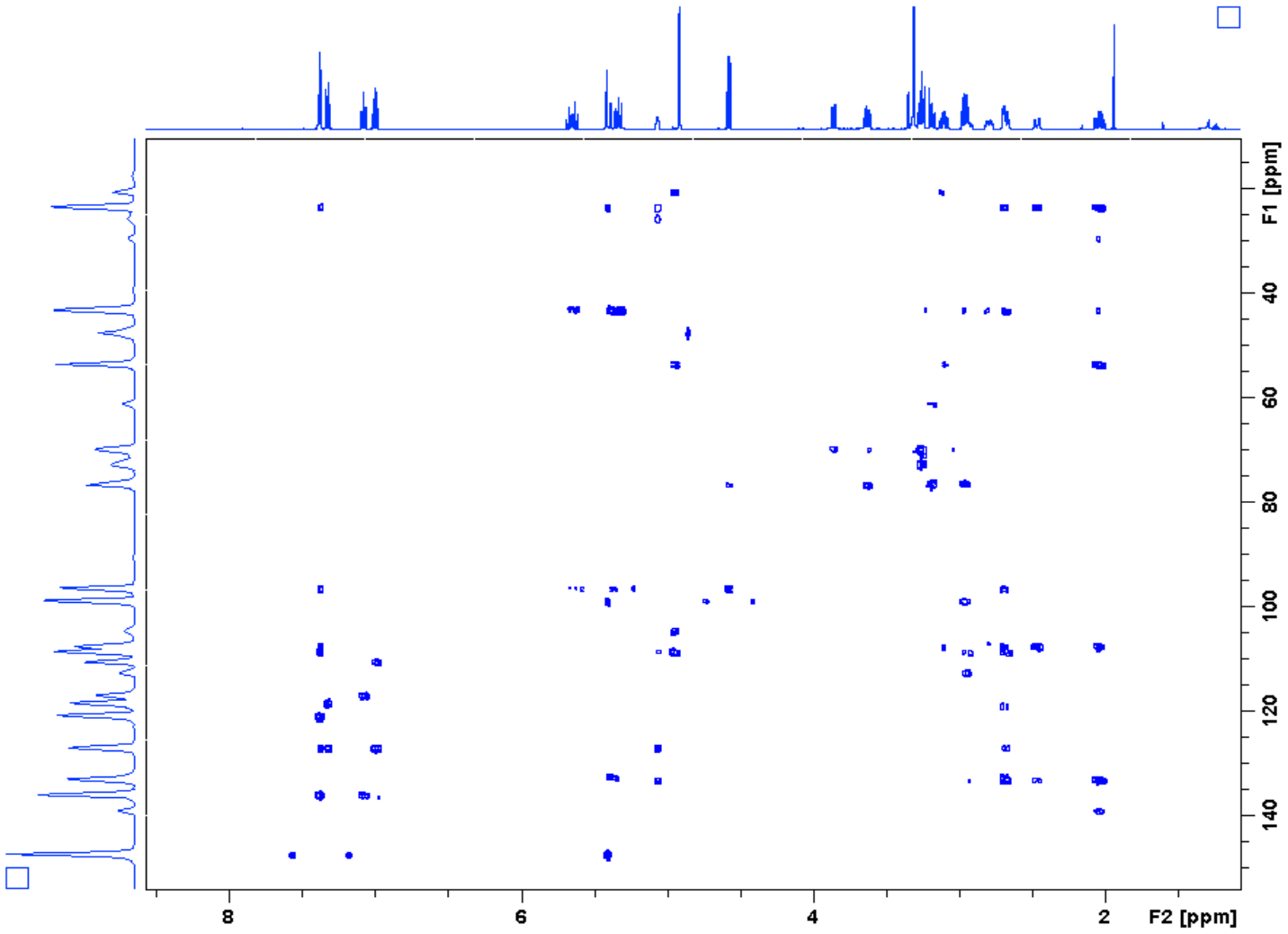


Figura A. 67 - Espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.

```
Current Data Parameters
NAME          L-LCPP-43
EXPNO               300
PROCNO                1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20090924
Time              22.39
INSTRUM           spect
PROBHD   5 mm TBI 1H/13
PULPROG   hmbcgplpndqf
TD                4096
SOLVENT           MeOD
NS                  96
DS                  16
SWH           8064.516 Hz
FIDRES        1.968876 Hz
AQ            0.2540020 sec
RG                912
DW             62.000 usec
DE              6.50 usec
TE             300.4 K
CNST2       145.0000000
CNST13       10.0000000
D0          0.00000300 sec
D1          1.00000000 sec
D2          0.00344828 sec
D6          0.05000000 sec
D16         0.00020000 sec
IN0         0.00001790 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                1H
P1               9.90 usec
P2              19.80 usec
PL1              4.80 dB
PL1W       -1.#IND0000 W
SFO1       500.1324712 MHz

======== CHANNEL f2 ========
NUC2               13C
P3              20.50 usec
PL2              3.70 dB
PL2W       -1.#IND0000 W
SFO2       125.7703443 MHz

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1         SINE.100
GPNAM2         SINE.100
GPNAM3         SINE.100
GPZ1             60.00 %
GPZ2             20.00 %
GPZ3             60.12 %
P16            1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                 254
SFO1          125.7703 MHz
FIDRES       109.972328 Hz
SW             222.095 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                2048
SF          500.1300081 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.00

F1 - Processing parameters
SI                1024
MC2                 QF
SF          125.7577815 MHz
WDW
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

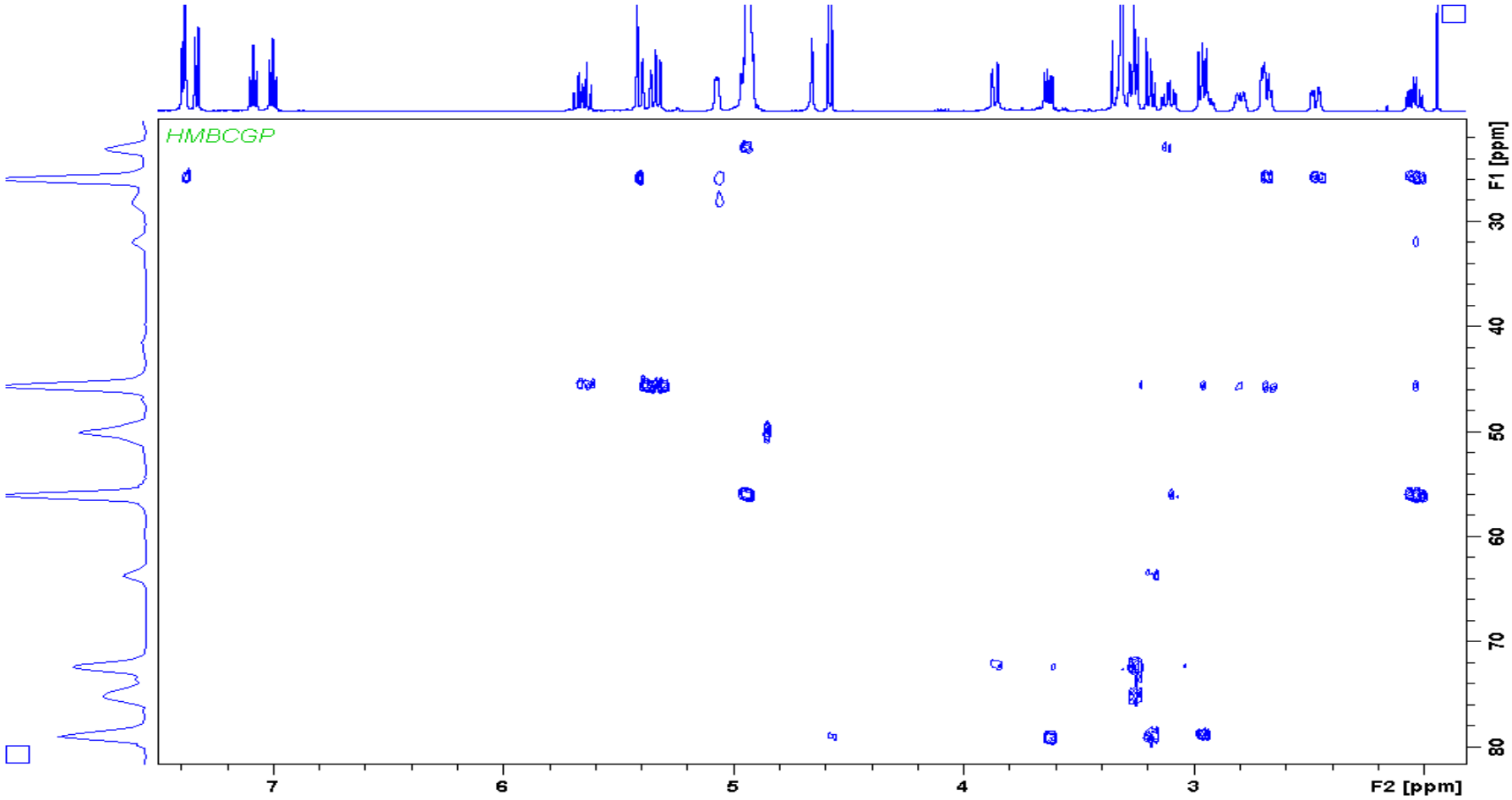


Figura A. 68 – A Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.

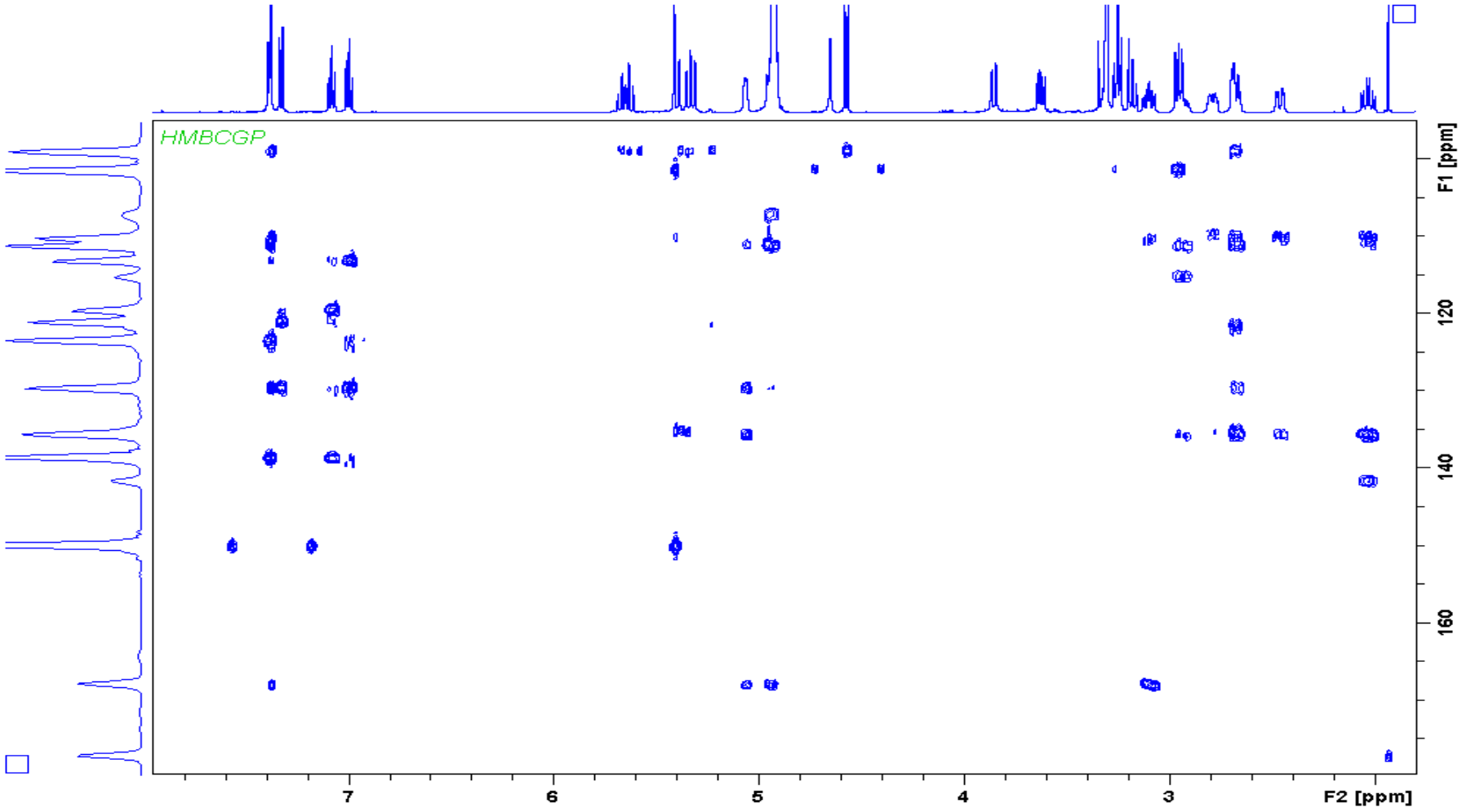


Figura A. 69 – Expansão do espectro de HMBC ($^{2,3}J_{CH}$) (MeOD – 500 MHz) de LCPP-6.

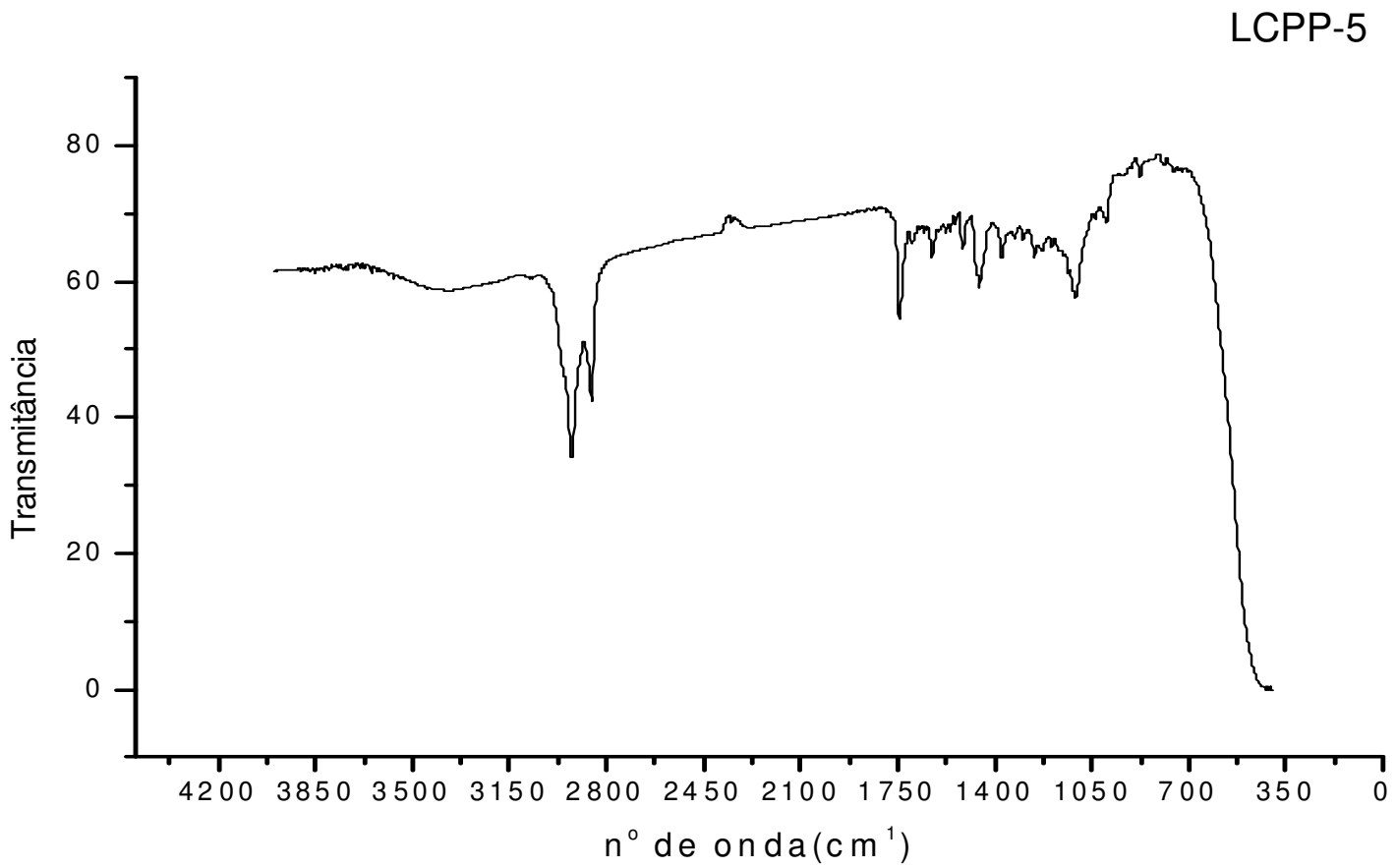


Figura A. 70 - Espectro de IV de LCPP-5.

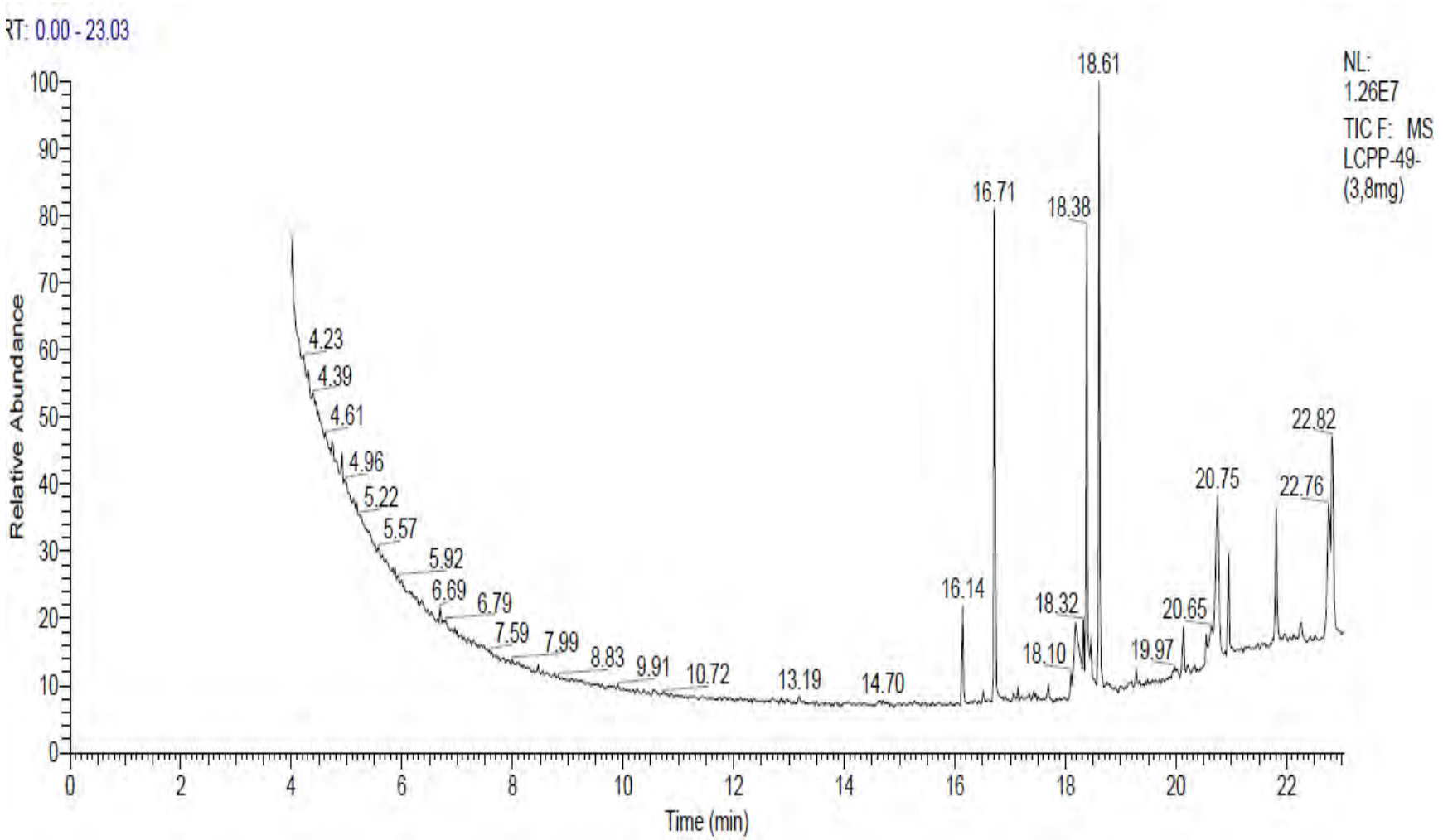


Figura A.71 - Cromatograma da fração LCPP-2-1.

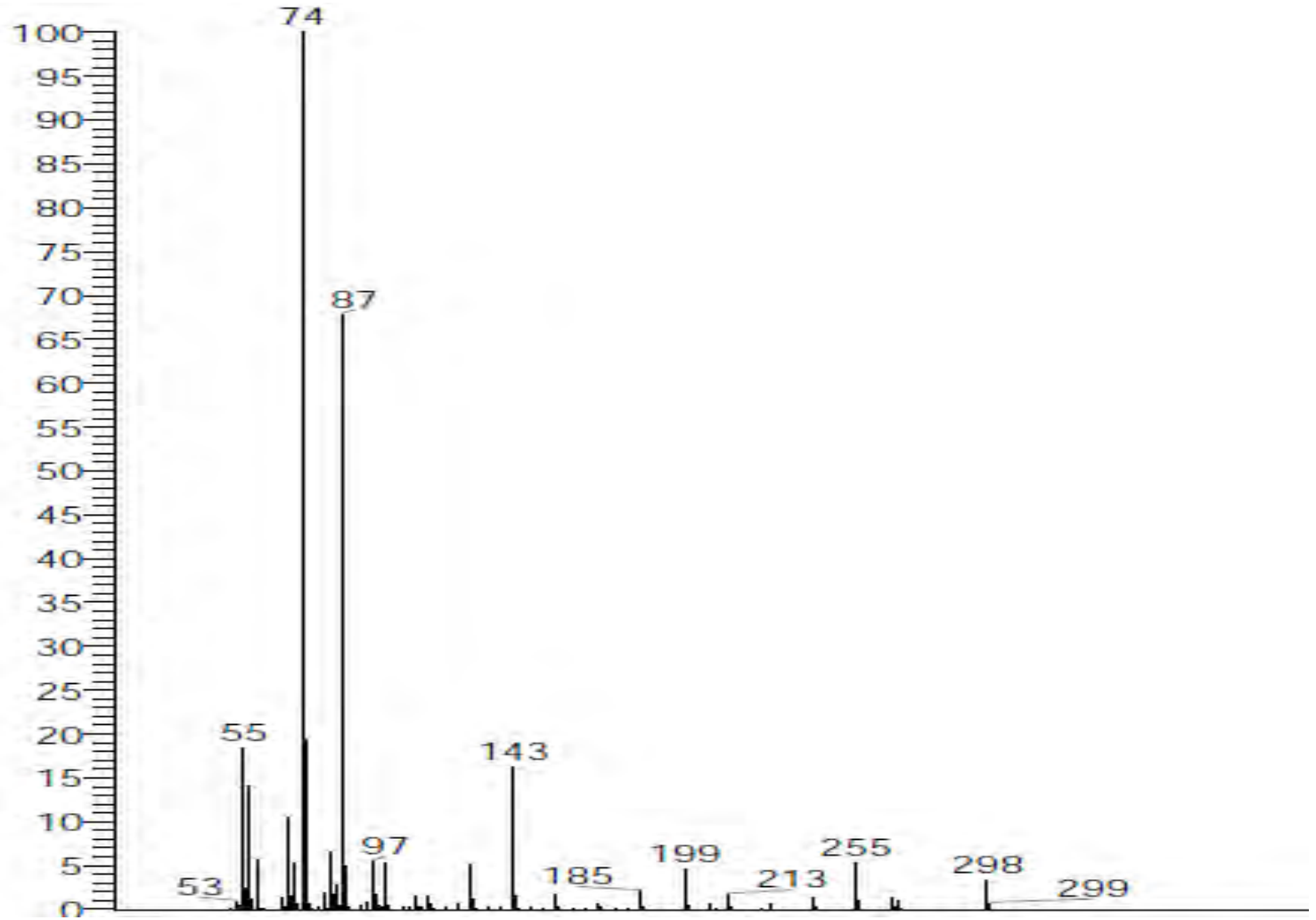


Figura A.72 - Espectro de massa do RT= 18,61 para a fração LCPP-2-1 e de LCPP-2.