

UFG
IQ

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Estudo Fitoquímico das Folhas de
Psychotria hoffmannseggiana Roem. &
Schult (Rubiaceae)

R
A
Q
U
E
L

F
E
R
R
E
I
R
A

N
A
V
E
S

RAQUEL FERREIRA NAVES

ORIENTADORA: PROFA. DRA. LUCILIA KATO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

2014

GOIÂNIA- 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Estudo Fitoquímico das Folhas de *Psychotria
hoffmannseggiana* Roem. & Schult
(Rubiaceae)

RAQUEL FERREIRA NAVES

ORIENTADORA: PROFA. DRA. LUCILIA KATO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GOIÂNIA- 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Estudo Fitoquímico das Folhas de *Psychotria
hoffmannseggiana* Roem. & Schult
(Rubiaceae)

RAQUEL FERREIRA NAVES

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

Orientadora: Profa. Dra. Lucilia Kato

GOIÂNIA – 2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

N243e Naves, Raquel Ferreira.
Estudo fitoquímico das Folhas de *Psychotria
hoffmannseggiana* Roem. & Schult (Rubiaceae)
[manuscrito] / Raquel Ferreira Naves. - 2014.
xxiii, 212 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Lucilia Kato.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de
Goiás, Instituto de Química, 2014.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, tabelas, abreviaturas e símbolos.
Anexo.

1. Química. 2. Estudo fitoquímico. 3. *Psychotria
hoffmannseggiana*. 4. Alcaloide. I. Título

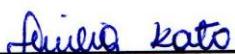
CDU: 547.94

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora de Dissertação de Mestrado em Química,
apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás pela
discente Raquel Ferreira Naves, em 11/04/2014.

Comissão Julgadora:



Prof. Dra. Lucília Kato – IQ/UFG



Prof. Dra. Maria Helena Sarragiotto – UEM



Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri- IQ/UFG

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e companheiros dessa jornada, Donizett e Maristela, pela presença, apoio, incentivo em minha busca pelo conhecimento e realização pessoal. *In memorium* dos meus avós, João Naves, Maria Canuto, Osvaldo e Maria Iza, por serem meus exemplos de vida, força, amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Deus em primeiro lugar, pelo dom da vida, saúde, força e proteção em todos os momentos.

À Profa. Dra. Lucilia Kato, pela orientação, disposição, paciência e compreensão.

Ao Prof. Dr. Piero Giuseppe Delprete pela identificação do material botânico utilizado na realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz pelas análises de massas e a disposição em me ajudar.

À Profa. Dra. Cecília M. A. de Oliveira pela disposição em colaborar com esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Luciano Morais Lião pelas contribuições realizadas durante a qualificação.

Ao Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri pela disposição em avaliar e corrigir o meu trabalho tanto na qualificação quanto na defesa da dissertação.

À Profa. Maria Helena Sarragiotto pelas correções e contribuições realizadas na defesa da dissertação.

À CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus pais, Donizett e Maristela, por serem tão especiais na minha vida, não apenas por serem meus pais, mas companheiros. De uma forma inesquecível, “abraçaram” o meu trabalho, colocaram a “mão na massa junto comigo”, seja desde a obtenção dos vidros de penicilina a uma coluna cromatográfica. Obrigada por acreditarem em mim e sonharem comigo. Amo vocês, esse trabalho é NOSSO.

As minhas irmãs, Déborah e Letícia, pela amizade e apoio durante toda essa jornada.

Aos meus tios e tias, pela constante presença. Em especial as minhas amadas: Tia Glória, Tia Fatinha, Madrinha Cida, Tia Márcia e Tia Ostélia. A todos os primos e parentes que acompanharam de forma direta ou indiretamente essa conquista.

As companheiras de longa data, Fernanda e Alessandra por todo o apoio e amizade.

À Ana Paula pela ajuda, conselhos e apoio indescritível durante essa jornada. Um simples obrigado é pouco para você. Finalmente, conseguimos.

Ao professor Dr. Fernando Schimidt, pelas análises de infravermelho e conselhos dados ao longo desse trabalho.

Ao colega e amigo Mábio, pela disposição em me ajudar nas análises de RMN.

Ao professor Flávio, pelas aulas de inglês e correções que contribuíram para o meu trabalho.

À Profa. Dra. Luciana Machado Ramos, pelos conselhos e correções.

Aos amigos do laboratório de produtos naturais que contribuíram no desenvolvimento desse trabalho, nos momentos de descontração e com palavras de apoio: Aline, Celice, Geralda, Ludmilla, Marcelo, Monique, Pollyanna e Vinícius.

À Isabela Teles, pela amizade e dedicação em me ajudar no NOSSO trabalho.

Aos colegas e amigos do IFG, Alessandro, Arthur, Luana, Maria Carolina e Nayara pelo apoio. Em especial, aos chefes de departamento, Éverton e Genialdo, por apoiarem e incentivarem a execução desse trabalho.

Finalmente, agradeço a todas as pessoas que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE ESPECTROS - ANEXO	vi
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE TABELAS - ANEXO	xvii
LISTA DE FLUXOGRAMAS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xx
RESUMO	xxii
ABSTRACT	xxiii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Família Rubiaceae	1
1.2. Gênero <i>Psychotria</i>	7
1.3. <i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	12
1.4. Biossíntese de Metabólitos Secundários	14
1.5. Biossíntese dos Alcaloides	16
1.6. Biossíntese das Cumarinas	18
2. OBJETIVOS	19
3. PARTE EXPERIMENTAL	20
3.1. Materiais e Métodos	20
3.2. Estudo Químico de <i>P. hoffmannseggiana</i>	22

3.2.1. Coleta e Preparo do Material Vegetal	22
3.2.2. Extração e Fracionamento do Extrato	23
3.2.3. Extrato Ácido Clorofórmico das Folhas (PHEA-C)	26
3.2.4. Extrato Básico Clorofórmico das Folhas (PHEB-C)	28
3.2.5. Extrato Básico Acetato de Etila das Folhas (PHEB-AcOEt)	30
3.2.6. Extrato Básico n-Butanólico das Folhas (PHEB-n-BuOH)	32
3.3. Atividade Antioxidante	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Compostos Isolados	35
4.2. Elucidação Estrutural	37
4.2.1. Composto PH-01	37
4.2.2. Composto PH-02	40
4.2.3. Composto PH-03	43
4.2.4. Composto PH-04	48
4.2.5. Composto PH-05	53
4.2.6. Composto PH-06	57
4.2.7. Composto PH-07	63
4.2.8. Composto PH-08	73
4.3. Biossíntese dos Compostos Isolados	76
4.4. Atividade Antioxidante	79
5. CONCLUSÃO	81
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXO	91

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Exemplos de alcaloides isolados da família Rubiaceae.	4
Figura 2.	Exemplos de metabólitos secundários isolados da família Rubiaceae.	6
Figura 3.	Exemplos de alcaloides isolados no gênero <i>Psychotria</i> L.	10
Figura 4.	Alcaloides isolados da espécie <i>Psychotria prunifolia</i> (Kunth) Steyerm.	11
Figura 5.	Proposta biossintética para os aminoácidos aromáticos, triptofano e cinamato (SANTOS, 2010).	15
Figura 6.	Proposta biossintética para os alcaloides indólicos monterpênicos (MARINHO, 2001; SANTOS, 2010).	17
Figura 7.	Rota biossintética das cumarinas (CZELUSNIAK, 2012).	18
Figura 8.	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i> .	22
Figura 9.	Compostos isolados das folhas de <i>P. hoffmannseggiana</i> .	36












Figura 10.	Principais correlações de HMBC () para o composto PH-01.	38
Figura 11.	Principais correlações de HMBC () e NOESY () para o composto PH-02.	41
Figura 12.	Principais correlações de HMBC () para o composto PH-03.	44
Figura 13.	Proposta de fragmentação do composto PH-03.	45
Figura 14.	Principais correlações de HMBC () para o composto PH-04.	49
Figura 15.	Proposta de fragmentação do composto PH-04 (FERREIRA, 1971; GRIBBLE & NELSON, 1974).	50
Figura 16.	Principais correlações de HMBC () para o composto PH-05.	54
Figura 17.	Principais correlações de HMBC () para o composto PH-06.	58
Figura 18.	Proposta de fragmentação do composto PH-06 (JANNIC <i>et al.</i> , 1999; HALL, 1960; CLAYTON, REED & WILSON, 1962).	60
Figura 19.	Composto PH-06, identificado como (+)-quimonantina.	61
Figura 20.	Principais correlações de HMBC () para o sistema tetrahydro-β-carbolina do composto PH-07.	64

Figura 21.	Principais correlações de HMBC () para o anel secologanina de PH-07.	65
Figura 22.	Configuração relativa do composto PH-07, ácido strictosidínico.	66
Figura 23.	Configuração relativa do ácido strictosidínico e do ácido 3-epi-strictosidínico.	67
Figura 24.	Composto PH-07, ácido strictosidínico.	67
Figura 25.	Proposta de fragmentação do composto PH-07 (BASTOS <i>et al.</i> , 2002).	69
Figura 26.	Principais correlações de HMBC () e COSY () para o composto PH-08.	74
Figura 27.	Proposta biossintética para os alcaloides isolados da <i>P. hoffmannseggiana</i> (DEWICK, 2002).	77
Figura 28.	Proposta biossintética para os compostos PH-01 e PH-02 isolados da <i>P. hoffmannseggiana</i> (TORSSELL, 1983).	78
Figura 29.	DPPH'	79

LISTA DE ESPECTOS – ANEXO

Espectro 1.	Espectro de RMN de ^1H do extrato neutro clorofórmico (PHEN-C) e extrato básico clorofórmico (PHEB-C).	101
Espectro 2.	Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de PH-01.	102
Espectro 3.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,8 à 6,0 ppm) de PH-01.	103
Espectro 4.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,0 à 3,8 ppm) de PH-01.	104
Espectro 5.	Mapa de correlação de HSQC de PH-01.	105
Espectro 6.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,8 à 6,1 ppm) de PH-01.	106
Espectro 7.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,0 à 3,7 ppm) de PH-01.	107
Espectro 8.	Mapa de correlação de HMBC de PH-01.	108
Espectro 9.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,7 à 6,2 ppm) de PH-01.	109
Espectro 10.	Expansão do mapa de correlação de HMBC	110

	(região 4,0 à 3,7 ppm) de PH-01.	
Espectro 11.	Espectro de ultravioleta (190 a 400 nm) de PH-01.	111
Espectro 12.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm ⁻¹) de PH-01.	112
Espectro 13.	Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de PH-02.	113
Espectro 14.	Expansão do espectro de RMN ¹ H (região 7,7 à 6,2 ppm) de PH-02.	114
Espectro 15.	Mapa de correlação de HSQC de PH-02.	115
Espectro 16.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,6 à 6,2 ppm) de PH-02.	116
Espectro 17.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,99 à 3,93 ppm) de PH-02.	117
Espectro 18.	Mapa de correlação de HMBC de PH-02.	118
Espectro 19.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,6 à 6,1 ppm) de PH-02.	119
Espectro 20.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 3,98 à 3,93 ppm) de PH-02.	120
Espectro 21.	Mapa de correlação espacial NOESY de PH-02.	121
Espectro 22.	Expansão do mapa de correlação espacial NOESY (região 7,7 à 6,3 ppm) de PH-02.	122
Espectro 23.	Expansão do mapa de correlação espacial NOESY (região 3,97 à 3,94 ppm) de PH-02.	123

Espectro 24.	Espectro de ultravioleta (190 a 400 nm) de PH-02.	124
Espectro 25.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm^{-1}) de PH-02.	125
Espectro 26.	Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de PH-03.	126
Espectro 27.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 8,7 à 8,0 ppm) de PH-03.	127
Espectro 28.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,8 à 7,2 ppm) para o PH-03.	128
Espectro 29.	Mapa de correlação de HSQC de PH-03.	129
Espectro 30.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 9,5 à 6,0 ppm) de PH-03.	130
Espectro 31.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 2,9 à 2,7 ppm) de PH-03.	131
Espectro 32.	Mapa de correlação de HMBC de PH-03.	132
Espectro 33.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 8,4 à 7,3 ppm) de PH-03.	133
Espectro 34.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 2,9 à 2,7 ppm) de PH-03.	134
Espectro 35.	Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-03.	135
Espectro 36.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm^{-1}) de PH-03.	136
Espectro 37.	Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-03.	137

Espectro 38.	Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon <i>m/z</i> 217.	138
Espectro 39.	Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon <i>m/z</i> 182.	139
Espectro 40.	Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ /MeOD, 500 MHz) de PH-04.	140
Espectro 41.	Expansão do espectro de RMN ¹ H (região 7,5 à 7,1 ppm) de PH-04.	141
Espectro 42.	Expansão do espectro de RMN ¹ H (região 4,5 à 4,2 ppm) de PH-04.	142
Espectro 43.	Expansão do espectro de RMN ¹ H (região 3,5 à 3,1 ppm) de PH-04.	143
Espectro 44.	Mapa de correlação de HSQC de PH-04.	144
Espectro 45.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,5 à 7,0 ppm) de PH-04.	145
Espectro 46.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,5 à 4,2 ppm) de PH-04.	146
Espectro 47.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,6 à 2,8 ppm) de PH-04.	147
Espectro 48.	Mapa de correlação de HMBC de PH-04.	148
Espectro 49.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,5 à 7,1 ppm) de PH-04.	149
Espectro 50.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,4 à 4,2 ppm) de PH-04.	150
Espectro 51.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 3,5 à 2,8 ppm) de PH-04.	151

Espectro 52.	Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-04.	152
Espectro 53.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm^{-1}) de PH-04.	153
Espectro 54.	Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-04.	154
Espectro 55.	Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 187.	155
Espectro 56.	Espectro de RMN ^1H (MeOD, 500 MHz) de PH-05.	156
Espectro 57.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,6 à 7,0 ppm) de PH-05.	157
Espectro 58.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,4 à 2,9 ppm) de PH-05.	158
Espectro 59.	Mapa de correlação de HSQC de PH-05.	159
Espectro 60.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,7 à 6,9 ppm) de PH-05.	160
Espectro 61.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,4 à 2,6 ppm) de PH-05.	161
Espectro 62.	Mapa de correlação de HMBC de PH-05.	162
Espectro 63.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,7 à 7,0 ppm) de PH-05.	163
Espectro 64.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 3,3 à 2,7 ppm) de PH-05.	164
Espectro 65.	Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-05.	165

Espectro 66.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm^{-1}) de PH-05.	166
Espectro 67.	Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 / MeOD, 500 MHz) de PH-06.	167
Espectro 68.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,2 à 6,7 ppm) de PH-06.	168
Espectro 69.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 5,8 à 5,2 ppm) de PH-06.	169
Espectro 70.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 2,7 à 2,0 ppm) de PH-06.	170
Espectro 71.	Mapa de correlação de HSQC de PH-06.	171
Espectro 72.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,3 à 6,6 ppm) de PH-06.	172
Espectro 73.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 5,7 à 5,4 ppm) de PH-06.	173
Espectro 74.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,4 à 2,0 ppm) de PH-06.	174
Espectro 75.	Mapa de correlação de HMBC de PH-06.	175
Espectro 76.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,2 à 6,6 ppm) de PH-06.	176
Espectro 77.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 2,7 à 1,8 ppm) de PH-06.	177
Espectro 78.	Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-06.	178
Espectro 79.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm^{-1}) de	179

	PH-06.	
Espectro 80.	Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-06.	180
Espectro 81.	Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 347.	181
Espectro 82.	Espectro de RMN ^1H (MeOD, 500 MHz) de PH-07.	182
Espectro 83.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,5 à 6,9 ppm) de PH-07.	183
Espectro 84.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 5,8 à 4,8 ppm) de PH-07.	184
Espectro 85.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,4 à 3,5 ppm) de PH-07.	185
Espectro 86.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,4 à 2,8 ppm) de PH-07.	186
Espectro 87.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 2,6 à 1,9 ppm) de PH-07.	187
Espectro 88.	Mapa de correlação de HSQC de PH-07.	188
Espectro 89.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,6 à 6,8 ppm) de PH-07.	189
Espectro 90.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 5,9 à 4,7 ppm) de PH-07.	190
Espectro 91.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,4 à 3,1 ppm) de PH-07.	191
Espectro 92.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,2 à 1,9 ppm) de PH-07.	192
Espectro 93.	Mapa de correlação de HMBC de PH-07.	193

Espectro 94.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,7 à 6,8 ppm) de PH-07.	194
Espectro 95.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 6,1 à 4,3 ppm) de PH-07.	195
Espectro 96.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,1 à 2,8 ppm) de PH-07.	196
Espectro 97.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 2,7 à 1,9 ppm) de PH-07.	197
Espectro 98.	Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de composto PH-07.	198
Espectro 99.	Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm^{-1}) de PH-07.	199
Espectro 100.	Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-07.	200
Espectro 101	Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 515.	201
Espectro 102.	Espectro de RMN ^1H (MeOD, 500 MHz) de PH-08.	202
Espectro 103.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,2 à 3,7 ppm) de PH-08.	203
Espectro 104.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,6 à 3,2 ppm) de PH-08.	204
Espectro 105.	Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,2 à 1,1 ppm) de PH-08.	205
Espectro 106.	Mapa de correlação de HSQC de PH-08.	206
Espectro 107.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,1 à 2,8 ppm) de PH-08.	207

Espectro 108.	Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 1,3 à 0,9 ppm) de PH-08.	208
Espectro 109.	Mapa de correlação de HMBC de PH-08.	209
Espectro 110.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,8 à 2,9 ppm) de PH-08.	210
Espectro 111.	Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 1,6 à 0,7 ppm) de PH-08.	211
Espectro 112.	Experimento COSY de PH-08.	212

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Exemplos de metabólitos secundários isolados da família Rubiaceae.	5
Tabela 2.	Exemplos de alcaloides isolados do gênero <i>Psychotria</i> L.	9
Tabela 3.	Taxonomia da espécie <i>Psychotria hoffmannseggiana</i> (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2014).	13
Tabela 4.	Massa (g) e rendimento dos extratos reunidos do fracionamento ácido-base do extrato bruto das folhas.	25
Tabela 5.	Subfrações obtidas da CCDP da F-43-51.	26
Tabela 6.	Subfrações obtidas da CCDP da F-64-74.	26
Tabela 7.	Subfrações obtidas da CCDP da F-20-23.	28
Tabela 8.	Compostos isolados das folhas de <i>P. hoffmannseggiana</i> .	35
Tabela 9.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-01 e sinapato de metila.	39

Tabela 10.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-02 e isoescopoletina.	42
Tabela 11.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-03 e harmano.	47
Tabela 12.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-04 e N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina.	52
Tabela 13.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-05 e N-metiltriptamina.	56
Tabela 14.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-06 e (+)-quimonantina.	62
Tabela 15.	Constante de Acoplamento dos hidrogênios, H-3, H-14, H-15, H-19, H-20 e H-21, H-19 e H-18.	66
Tabela 16.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) de PH-07.	71
Tabela 17.	Dados de RMN ^1H e ^{13}C do composto PH-07 e ácido strictosidínico.	72
Tabela 18.	Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-08 e β -Etilglicose.	75
Tabela 19.	Avaliação de atividade antioxidante dos extratos das folhas da <i>P. hoffmannseggiana</i> expressa em Cl_{50} .	79

LISTA DE TABELAS – ANEXO

Tabela A1.	Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEA-C.	92
Tabela A2.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEA-C.	93
Tabela A3.	Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-C.	94
Tabela A4.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-C.	94
Tabela A5.	Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-AcOEt.	95
Tabela A6.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-AcOEt.	95
Tabela A7.	Dados da coluna cromatográfica da fração F-62-103 do extrato PHEB-AcOEt.	96
Tabela A8.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica da fração F-62-103 do extrato PHEB-AcOEt.	96
Tabela A9.	Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.	97

Tabela A10.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.	97
Tabela A11.	Dados da coluna cromatográfica da fração F-27-62 do extrato PHEB-n-BuOH.	97
Tabela A12.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica da fração F-27-62 do extrato PHEB-n-BuOH.	98
Tabela A13.	Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.	98
Tabela A14.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.	99
Tabela A15.	Dados da coluna cromatográfica da fração F-71-76 do extrato PHEB-n-BuOH.	99
Tabela A16.	Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica da fração F-71-76 do extrato PHEB-n-BuOH.	100

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1.	Classificação da família Rubiaceae segundo ROBBRECHT & MANEN, 2006.	2
Fluxograma 2.	Classificação da família Rubiaceae (BREMER & ERIKSSON, 2009; DELPRETE & JARDIM, 2012).	2
Fluxograma 3.	Subgêneros de <i>Psychotria L.</i>	7
Fluxograma 4.	Fracionamento ácido-base do extrato bruto etanólico das folhas (PHEB-Et).	24
Fluxograma 5.	Fracionamento do extrato ácido clorofórmico das folhas (PHEA-C).	27
Fluxograma 6.	Fracionamento do extrato básico clorofórmico das folhas (PHEB-C).	29
Fluxograma 7.	Fracionamento do extrato básico acetato de etila das folhas (PHEB-AcOEt).	31
Fluxograma 8.	Fracionamento do extrato básico n-butanólico das folhas (PHEB-n-BuOH).	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CI ₅₀	Concentração inibitória
COSY	¹ H- ¹ H Correlation Spectroscopy
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
DMT	Dimetilriptamina
dq	Duplo quarteto
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
dt	Duplo tripleto
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
lit.	Literatura
m	Multipleteo
mult.	Multiplicidade
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
p.f.	Ponto de fusão
ppm	Parte por milhão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
td	Tripla dubleto
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico

RESUMO

Psychotria hoffmannseggiana (Wild. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. é um subarbusto da família Rubiaceae, pertencente ao gênero *Psychotria* L. e ao subgênero *Heteropsychotria*. Nesse gênero há uma diversidade de alcaloides indólicos, conhecidos pelas diferentes propriedades bioativas. Além disso, esses alcaloides são usados como marcadores quimiotaxonômicos na classificação e delimitação do gênero *Psychotria*. Até o presente momento, nenhum estudo fitoquímico foi descrito para a espécie *P. hoffmannseggiana*. Portanto, na busca contínua dos metabólitos secundários, o extrato bruto etanólico das folhas da *P. hoffmannseggiana* (PHEt-EB) foi submetido a um fracionamento ácido-base e as frações resultantes foram submetidas a coluna cromatográfica. No extrato ácido clorofórmico (PHFA-C), identificou-se o sinapato de metila (PH-01) e a isoescopoletina (PH-02). No extrato básico clorofórmico (PHFB-C), foram isolados e identificados três alcaloides indólicos: harmano (PH-03), N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina (PH-04), N-metilriptamina (PH-05) e um alcaloide polindólico, (+)-quimonantina (PH-06). Além desses, uma grande quantidade do alcaloide indólico monoterpênico, ácido strictosidínico (PH-07), foi isolado do extrato básico n-butanólico e acetato de etila, PHFB-n-BuOH e PHFB-AcOEt, respectivamente. A β -etilglicose (PH-08) foi isolada do extrato básico n-butanólico (PHFB-n-BuOH). A avaliação da atividade antioxidante dos extratos PHF-EB, PHFA-C, PHFB-C, PHFB-AcOEt e PHFB-n-BuOH mostrou a inibição de 50% do radical DPPH nas concentrações de $176,58 \pm 1,35$, $105,47 \pm 0,88$, $77,60 \pm 0,36$, $191,30 \pm 0,68$ e $271,96 \pm 0,57$ $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

ABSTRACT

Psychotria hoffmannseggiana (Wild. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. is a subshrub of the Rubiaceae family, which belongs to the genus *Psychotria* L. and to the subgenus *Heteropsychotria*. In this genus there is several indole alkaloids, recognized by their many bioactive properties. Furthermore, these alkaloids are used as chemotaxonomic markers in the classification and delimitation of the *Psychotria* genus. Up to this moment, no phytochemical study has been reported for the *P. hoffmannseggiana* species. Therefore, in the continuous searching for secondary metabolites, the crude ethanol extract (PHF-EB) from *P. hoffmannseggiana* leaves has been submitted to an acid-base fractionation, and the resultant fractions were subject to column chromatography. The methyl sinapate (PH-01) and the isoscapoletin (PH-02) were identified from the acid chloroform extract (PHFA-C). In the basic chloroform extract (PHFB-C), three indole alkaloids were isolated and identified: harman (PH-03), N-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (PH-04), N-methyltryptamine (PH-05); as well as one polyindolic alkaloid, (+)-chimonantine (PH-06). Besides, a great amount of monoterpene indole alkaloid, the strictosidinic acid (PH-07), was isolated from the basic n-butanol extract and ethyl acetate, PHFB-n-BuOH and PHFB-AcOEt, respectively. The β -ethylglucose (PH-08) was isolated from the basic n-butanol extract (PHFB-n-BuOH). The evaluation of the antioxidant activity of the extracts PHF-EB, PHFA-C, PHFB-C, PHFB-AcOEt and n-PHFB-n-BuOH showed a 50% inhibition of DPPH radical at concentrations of $176,58 \pm 1,35$, $105,47 \pm 0,88$, $77,60 \pm 0,36$, $191,30 \pm 0,68$ and $271,96 \pm 0,57$ $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively.

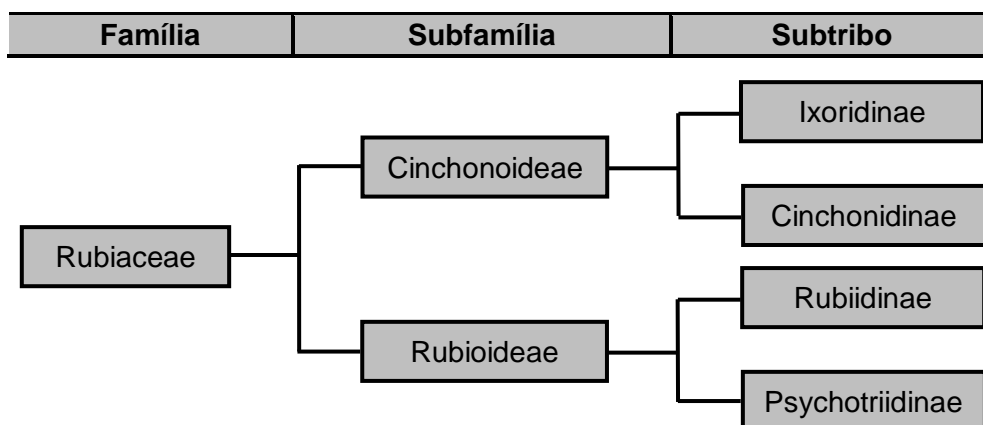
1. INTRODUÇÃO

1.1. Família Rubiaceae

A família Rubiaceae Juss. possui cerca de 650 gêneros e 13000 espécies no mundo, 112 gêneros e 1347 espécies no Brasil, sendo a quarta família em número de espécies entre as Angiospermas (DELPRETE & JARDIM, 2012).

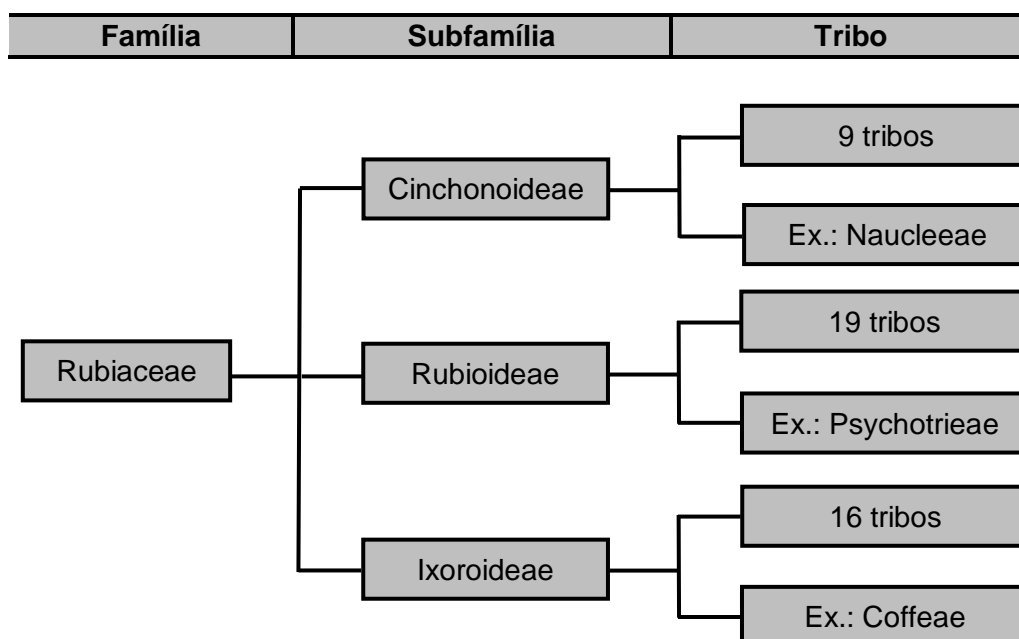
A divisão da família Rubiaceae apresenta controvérsias ao longo de décadas. Inicialmente, baseada em caracteres morfológicos, como a observação de cromossomos, estípulas, entre outros, a família foi dividida em três subfamílias: Rubioideae, Cinchonoideae e Guettardoideae e 28 tribos (VERDCOURT, 1958). Posteriormente foi reorganizada em quatro subfamílias, Ixoroideae, Cinchonoideae, Antirheoideae e Rubioideae e em 44 tribos (ROBBRECHT, 1988).

Um estudo baseado na construção de subtribos pela análise da sequência de quatro regiões de cloroplastos: *rbcL*, *rps16*, *trnL-trnF* e *atpB-rbcL* e confrontado com a morfologia e o conhecimento anatômico e biogeográfico, já conhecido, dividiu-se a família Rubiaceae em apenas duas subfamílias, Cinchonoideae e Rubioideae, quatro subtribos e um total de 40 tribos (Fluxograma 1) (ROBBRECHT & MANEN, 2006).



Fluxograma 1 – Classificação da família Rubiaceae segundo ROBBRECHT & MANEN, 2006.

Um estudo filogenético publicado em 2009 sugeriu a divisão da família Rubiaceae em três subfamílias: Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae, com mais de 44 tribos (Fluxograma 2) (BREMER & ERIKSSON, 2009). Essa última classificação foi utilizada por Delprete & Jardim (2012) como a principal estrutura para a discussão dos grupos taxonômicos de Rubiaceae Juss. no Brasil.



Fluxograma 2 – Classificação da família Rubiaceae (BREMER & ERIKSSON, 2009; DELPRETE & JARDIM, 2012).

Espécies da família Rubiaceae apresentam uma variedade de compostos químicos como: flavonoides, iridoides, alcaloides, terpenos, entre outros (SOUZA, MENDONÇA & SILVA, 2013).

Contudo, a presença de alcaloides é uma característica marcante na família Rubiaceae, sendo que estudos de 2001 revelaram o isolamento de cerca de 677 alcaloides de diferentes classes, nos quais se destacam os quinolínicos, com 70 compostos elucidados, isoquinolínicos, com 44 compostos, os piperidínicos, com 38 compostos, os piridínicos, com 12 compostos e com 391 compostos identificados, os indólicos monoterpênicos (CORDELL, QUINN-BEATTIE & FARNSWORTH, 2001).

Além do mais, os alcaloides isolados da família Rubiaceae apresentam diferentes propriedades, sejam elas farmacológicas ou biológicas. Nas raízes da espécie *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.) isolou-se dois alcaloides isoquinolínicos, emetina (1) e cefaelina (2) (Figura 1) os quais apresentaram atividade emética, antiamebocida e expectorante (FRANÇA, 2010). Na espécie *Cinchona ledgeriana* (Howard) Bern. Moens ex Trimen foram isolados os alcaloides quinolínicos diastereômeros, quinina (3) e quinidina (4), os quais apresentaram atividade antimalárica e antiarrítmico (CORDELL, QUINN-BEATTIE & FARNSWORTH, 2001).

Além disso, o alcaloide indólico iombina (5), isolado da espécie *Pausinystalia yohimbe* (K. Schum.) Pierre ex Bielle, um agente simpatolítico inibidor seletivo dos receptores α -2-adrenérgicos, apresentou uma ação sobre a musculatura lisa que determina um aumento no tônus do intestino (SCHRIPSEMA, DAGNINO & GOSMANN, 2010). A cafeína (6), 1,3,7-trimetilxantina, um alcaloide do tipo xantínico, foi isolado da espécie *Coffea arabica* L., a qual entra na composição de diversas especialidades analgésicas, antipiréticas e antigripais, associada com ácido acetilsalicílico, paracetamol, etc. (RATES, 2010). Nas espécies *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. e *Mitragyna ciliata* Aubrév. & Pellegr. foi isolado o alcaloide indólico mitraginina (7), o qual apresentou atividade analgésica, antiinflamatória (DONGMO *et al.*, 2003) e antinociceptiva, redução da percepção da dor por atuar no cérebro (MATSUMOTO *et al.*, 1996).

No grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, foram isolados vários alcaloides da família Rubiaceae, dentre os quais destacam-se alguns inéditos como os alcaloides GR₁ (8) e GR₂ (9) (Figura 1) da espécie *Galianthe ramosa* E. L. Cabral (FREITAS, 2011) e um alcaloide ciclopeptídico, Amaoiuina (10), isolado da espécie *Amaoioua guianensis* Aubl (OLIVEIRA, 2009).

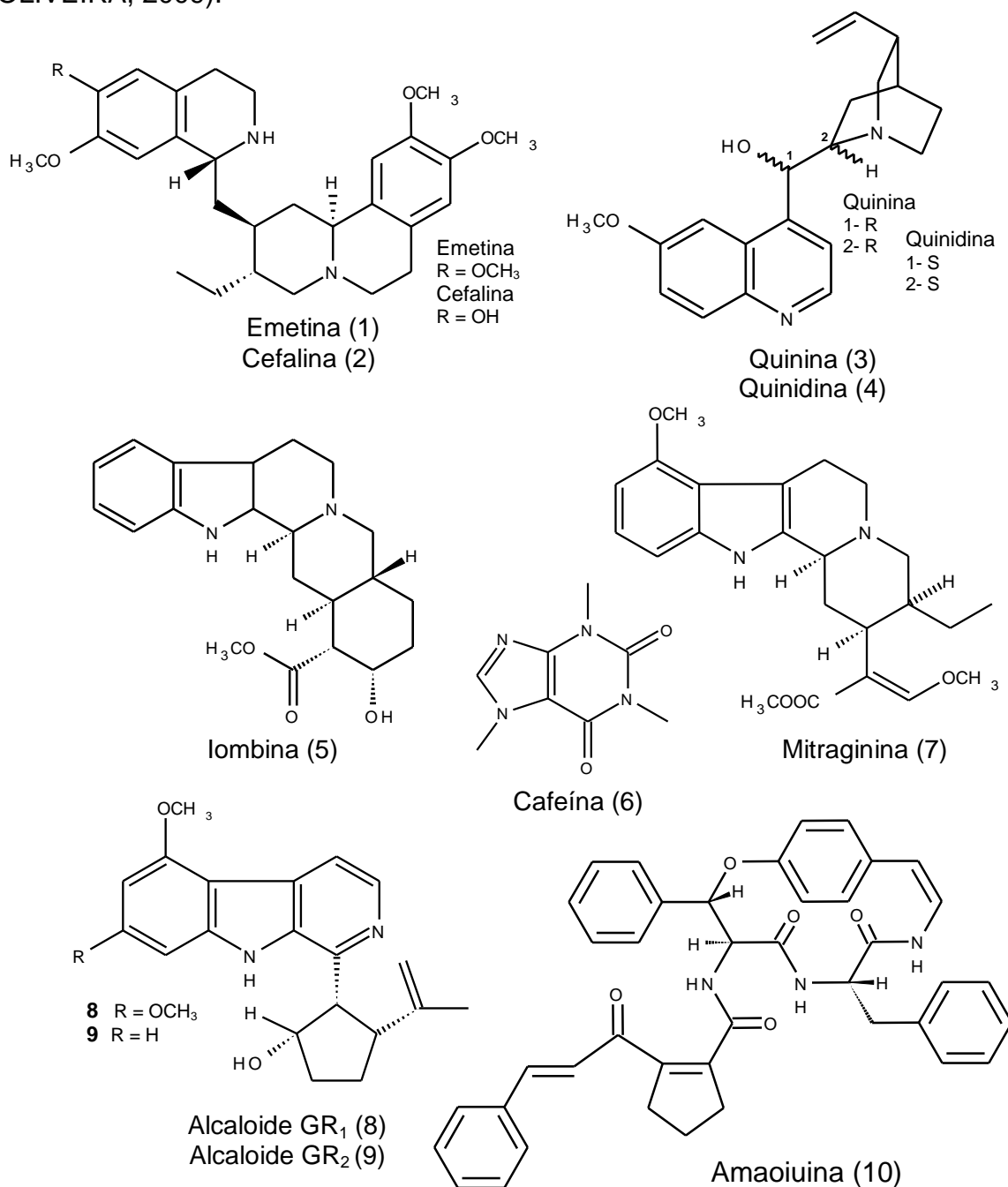
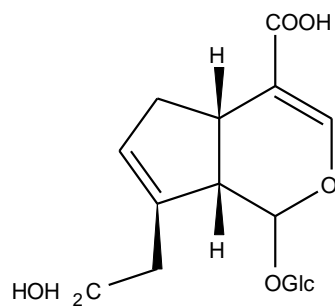


Figura 1 – Exemplos de alcaloides isolados da família Rubiaceae.

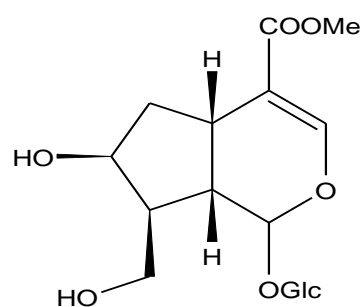
A família Rubiaceae também é representada por outros tipos de metabólitos secundários os quais apresentam uma ampla diversidade de propriedades biológicas destacando-se os iridoides, flavonoides, antraquinonas, terpenoides (triterpenos e diterpenos), entre outros (Tabela 1 e na Figura 2). Desses, os iridoides e as antraquinonas, juntamente com os alcaloides indólicos são considerados marcadores quimiotaxonômicos para as subfamílias da família Rubiaceae Juss. (BOLZANI *et al.*, 2001).

Tabela 1 – Exemplos de metabólitos secundários isolados da família Rubiaceae.

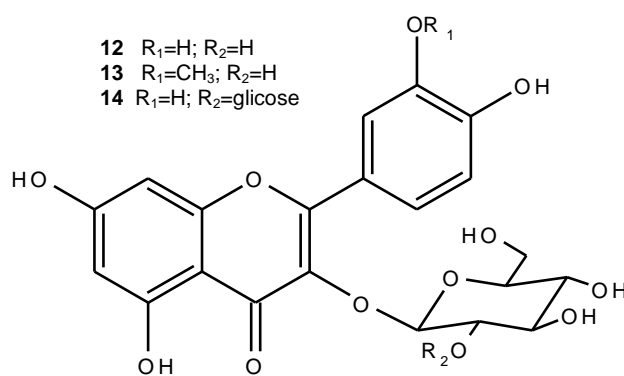
Espécies	Exemplos de Metabólitos Secundários	Atividade Biológica	Referência
<i>Galium melanantherum</i> Boiss.	<ul style="list-style-type: none"> Iridoides: Ácido Geniposídico (10) 10-hidroxiloganina (11) 	Atividade inseticida contra formigas <i>Kaloterme flavicollis</i> e cupins <i>Crematogaster scutellaris</i>	(TZAKOU <i>et al.</i> , 2007)
<i>Palicourea rigida</i> Kunth	<ul style="list-style-type: none"> Flavonoides: Quercetina 3-O-β-D-glicosídeo (12), Quercetina 3-O-soforosídeo (13) e Isoraminetina 3-glicosídeo (14) 	Atividade antioxidante	(ROSA <i>et al.</i> , 2010)
<i>Rennellia elliptica</i> Korth.	<ul style="list-style-type: none"> Antroquinona: Rubiadina (15) 	Atividade antiplasmodial	(OSMAN <i>et al.</i> , 2010)
<i>Uncaria macrophylla</i> Wall.	<ul style="list-style-type: none"> Triterpeno: Ácido Ursólico (16) 	Atividade antitumoral	(SUN <i>et al.</i> , 2012)
<i>Tocoyena brasiliensis</i> Mart.	<ul style="list-style-type: none"> Saponina: Ácido 28-O-β-D-glucopiranosídeo quinóvico (17) 	Atividade antifúngica contra o fungo fitopatogênico <i>C. cladosporioides</i> (fração clorofórmica das folhas)	(HAMERSKI <i>et al.</i> , 2005)



Ácido Geniposídico (10)



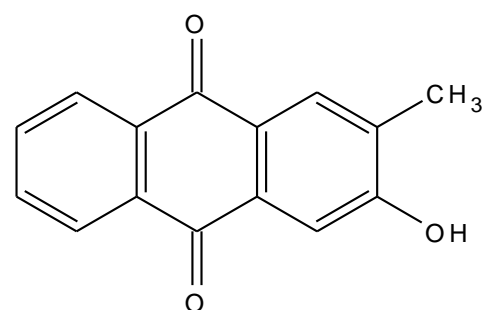
10-hidroxiloganina (11)



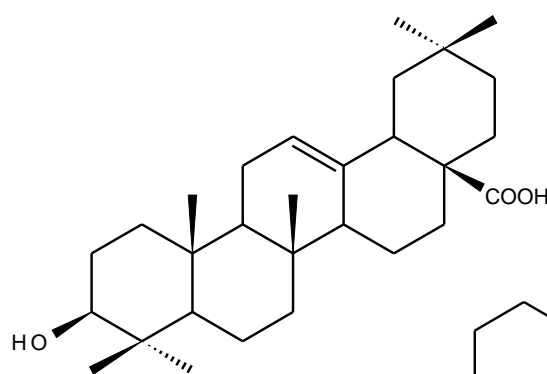
Quercetina 3-O- β -D-glicosídeo (12)

Quercetina 3-O-soforosídeo (13)

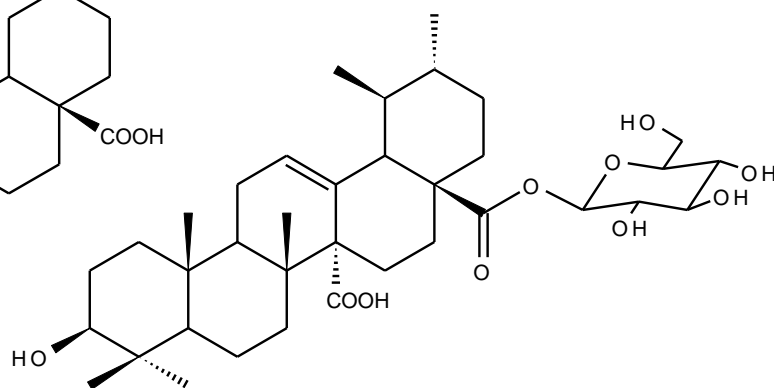
Isoraminetina 3-glicosídeo (14)



Rubiadina (15)



Ácido Ursólico (16)



Ácido 28-O- β -D-glucopiranosídeo quinóvico (17)

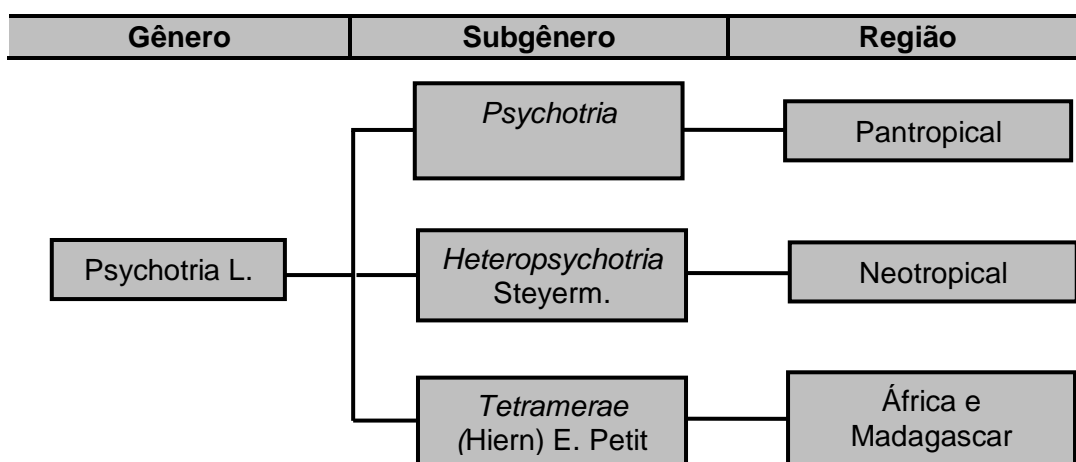
Figura 2 – Exemplos de metabólitos secundários isolados da família Rubiaceae.

1.2. Gênero *Psychotria*

Um levantamento bibliográfico realizado por Souza, Mendonça & Silva (2013), ressalta o estudo fitoquímico, etnobotânico e farmacológico de 104 espécies de plantas brasileiras distribuídas em 43 gêneros, publicados entre 1991 e 2010. Dessas, destaca-se o estudo de 35 espécies da família Rubiaceae Juss., cujo o gênero *Psychotria* L. é o mais estudado devido a sua diversidade farmacológica.

O gênero *Psychotria* L., um dos 50 gêneros da tribo Psychotrieae, pertencente à subfamília Rubiodeae (LOPES *et al.*, 2004), apresenta cerca de 1000-1650 espécies em todo o mundo. Além disso, possui uma taxonomia complexa, devido ao amplo número de espécies e a falta de características morfológicas para estabelecer seções botânicas (NEPOKROEFF, BREMER & SYTSMA, 1999).

Esse gênero é representado por três subgêneros: *Psychotria*, região pantropical, *Heteropsychotria* Steyerem., região neotropical e *Tetramerae* (Hiern) E. Petit, África e Madagascar. Essa divisão baseia-se nas suas características morfológicas e suas distribuições geográficas (Fluxograma 3) (PIMENTA *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2004).



Fluxograma 3 – Subgêneros de *Psychotria* L.

O gênero *Psychotria* L. está fortemente relacionado aos gêneros *Cephaelis* e *Palicourea*, onde as espécies do gênero *Cephaelis* foram recentemente transferidas para o gênero *Psychotria* L. Além disso, análises filogenéticas moleculares apontam para a hipótese de fusão do gênero *Palicourea* ao subgênero *Heteropsychotria* Steyerm. para a formação de um novo gênero, *Psychotrophum* P. Browne (KERBER *et al.*, 2001, 2008; LOPES *et al.*, 2004).

A base dessas hipóteses está bastante relacionada com a presença marcante dos alcaloides indólicos monoterpênicos glicosilados, distribuídos em diferentes estruturas, que são característicos de espécies do gênero *Palicourea*, como a *P. alpina* (Sw.) DC. e *P. adusta* Standl. e do subgênero *Heteropsychotria* Steyerm., como a *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltldl. e a *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (LOPES *et al.*, 2004; KERBER *et al.*, 2008).

Nas espécies de *Psychotria* L. foram isolados alcaloides indólicos monoterpênicos glicosilados inéditos para a suas classes, como N-β-D-glicopiranosilvincosamida (GPV) (26) (Figura 3) de *P. leiocarpa*, sendo o primeiro alcaloide N-glicosilado e O-glicosilado (HENRIQUES *et al.*, 2004) e a braquicerina (24) de *P. brachyceras*, com uma rota biossintética oriunda do terpeno epiloganina (KERBER *et al.*, 2001).

Por outro lado, os alcaloides polindólicos como a quadrigemina A (21) (Figura 3) e seus derivados, isolados da *Psychotria forsteriana* A. Gray, são característicos do subgênero *Psychotria*, da região pantropical (FARIAS *et al.*, 2009; PIMENTA *et al.*, 2010).

Desse modo, alguns autores acreditam que os alcaloides podem ser utilizados como marcadores quimiotaxonômicos para auxiliar na criação de novos limites para o gênero *Psychotria* L. (SANTOS *et al.*, 2001).

Como se pode observar na Tabela 2 e na Figura 3, das dez espécies de *Psychotria* L. sete são pertencentes ao subgênero *Heteropsychotria*, *P. colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg., *P. brachyceras* Müll. Arg., *P. stachyoides* Benth., *P. leiocarpa* Cham. & Schltldl., *P. umbellata* Vell., *P. myriantha* Müll. Arg. e *P. suterella* Müll. Arg, o qual a maioria apresenta alcaloides indólicos monoterpênicos glicosilados com exceção da *P.*

colorata, com a presença de alcaloides polindólicos (pirrolidinoindólicos). Além disso, *P. forsteriana* A. Gray e *P. henryi* H. Lév., pertencentes ao subgênero *Psychotria*, apresenta uma variedade de alcaloides polindólicos, enquanto na *P. viridis* Ruiz & Pav., usada no preparo da bebida ayahuasca, identificou-se um alcaloide indólico, conhecido como DMT (dimetiltriptamina).

Na Tabela 2 ainda observam-se as diversas propriedades biológicas já identificadas para os compostos de algumas espécies do gênero *Psychotria* L.

Tabela 2 – Exemplos de alcaloides isolados do gênero *Psychotria* L.

Espécies de Psychotria	Exemplos de Alcaloides Isolados	Atividade Biológica	Referência
<i>P. colorata</i> (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg.	Hodgkinsina (18) (-)-Calicantina (19)	Atividade analgésica	(ELISABETSKY <i>et al.</i> , 1995)
<i>Psychotria viridis</i> Ruiz & Pav.	N,N-dimetiltriptamina (20)	Ação alucinógena	(DE SOUZA, 2011).
<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Quadrígemina A (21) e seus derivados	Atividade citotóxica (hepatoma de ratos)	(ROTH <i>et al.</i> , 1986).
<i>P. henryi</i> H. Lév.	Alcaloide 1 (22) Alcaloide 2 (23)	_____	(LIU <i>et al.</i> , 2013)
<i>P. brachyceras</i> Müll. Arg.	Braquicerina (24)	Propriedades anti-inflamatórias	(NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2007)
<i>P. stachyoides</i> Benth.	Correantosídeo E (25a)	_____	(PIMENTA <i>et al.</i> , 2010)
<i>P. leiocarpa</i> Cham. & Schtdl.	N-β-D-Glicopiranosilvincosamida (26)	Atividade analgésica inespecífica (extrato)	(FRAGOSO, 2007)
<i>P. umbellata</i> Vell.	Psicolatina (27) e seus derivados	Atividades analgésica e antidepressiva	(BOTH <i>et al.</i> , 2005)
<i>P. myriantha</i> Müll. Arg.	Miariantosina A (28)	Efeito analgésico dose-dependente (extrato)	(FARIAS, 2006)
<i>P. suterella</i> Müll. Arg.	Lialosídeo (29)	Extrato das folhas altamente tóxico	(SANTOS <i>et al.</i> , 2001)

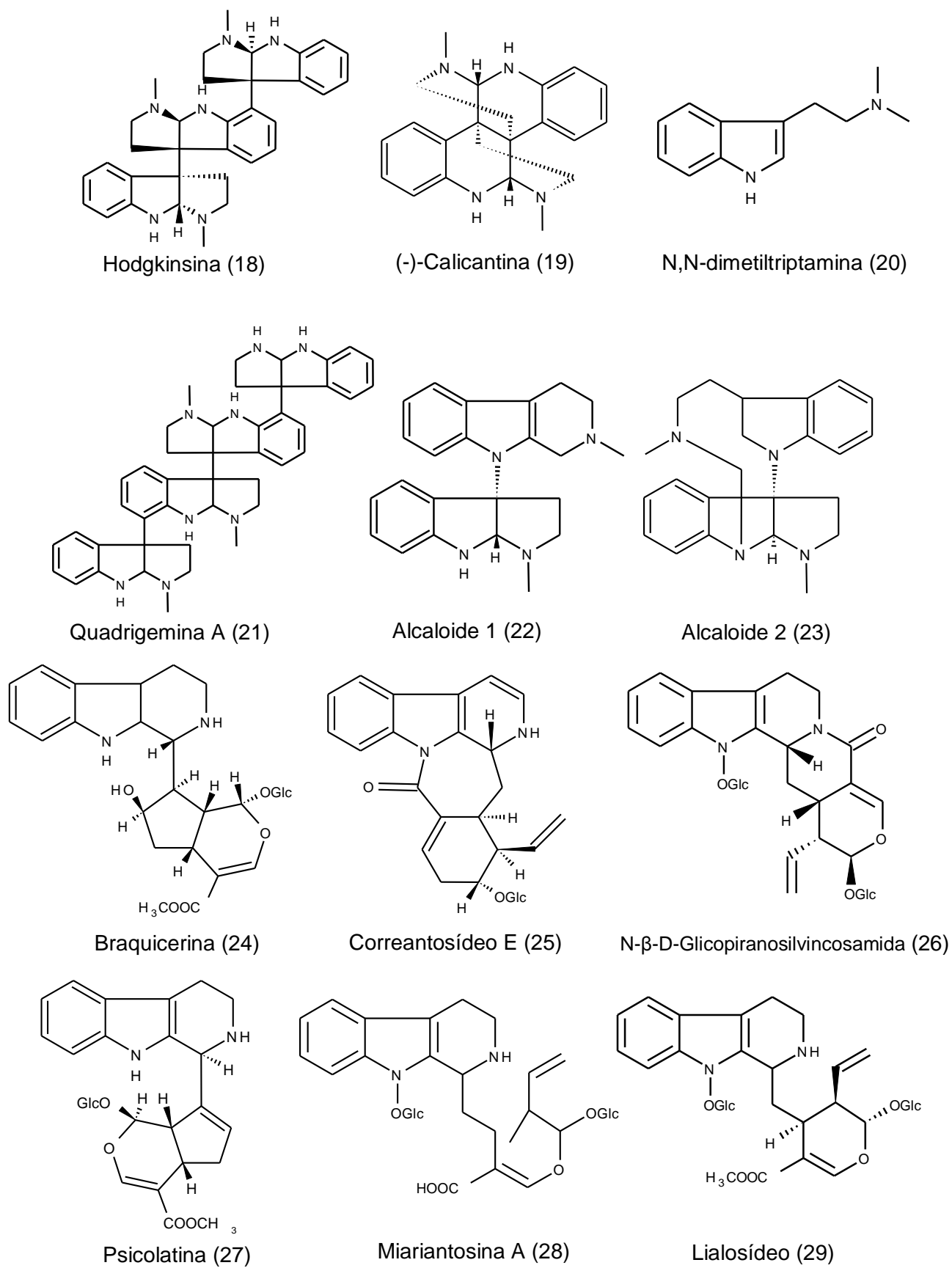


Figura 3 – Exemplos de alcaloides isolados do gênero *Psychotria* L.

Mais recentemente, o grupo de pesquisa de Produtos Naturais, IQ-UFG, publicou o isolamento de uma variedade de alcaloides inéditos, da espécie *P. prunifolia* (Figura 4), entre eles o 10-hidróxi-iso-deppeanol (30), 10-hidróxi-antirhina (31) e o N-óxido-10-hidróxi-antirhina (32) destacando-se os compostos 14-oxoprunifoleína (33) e a estrictosamida (34), os quais apresentaram atividade antileishmania (KATO *et al.*, 2012)

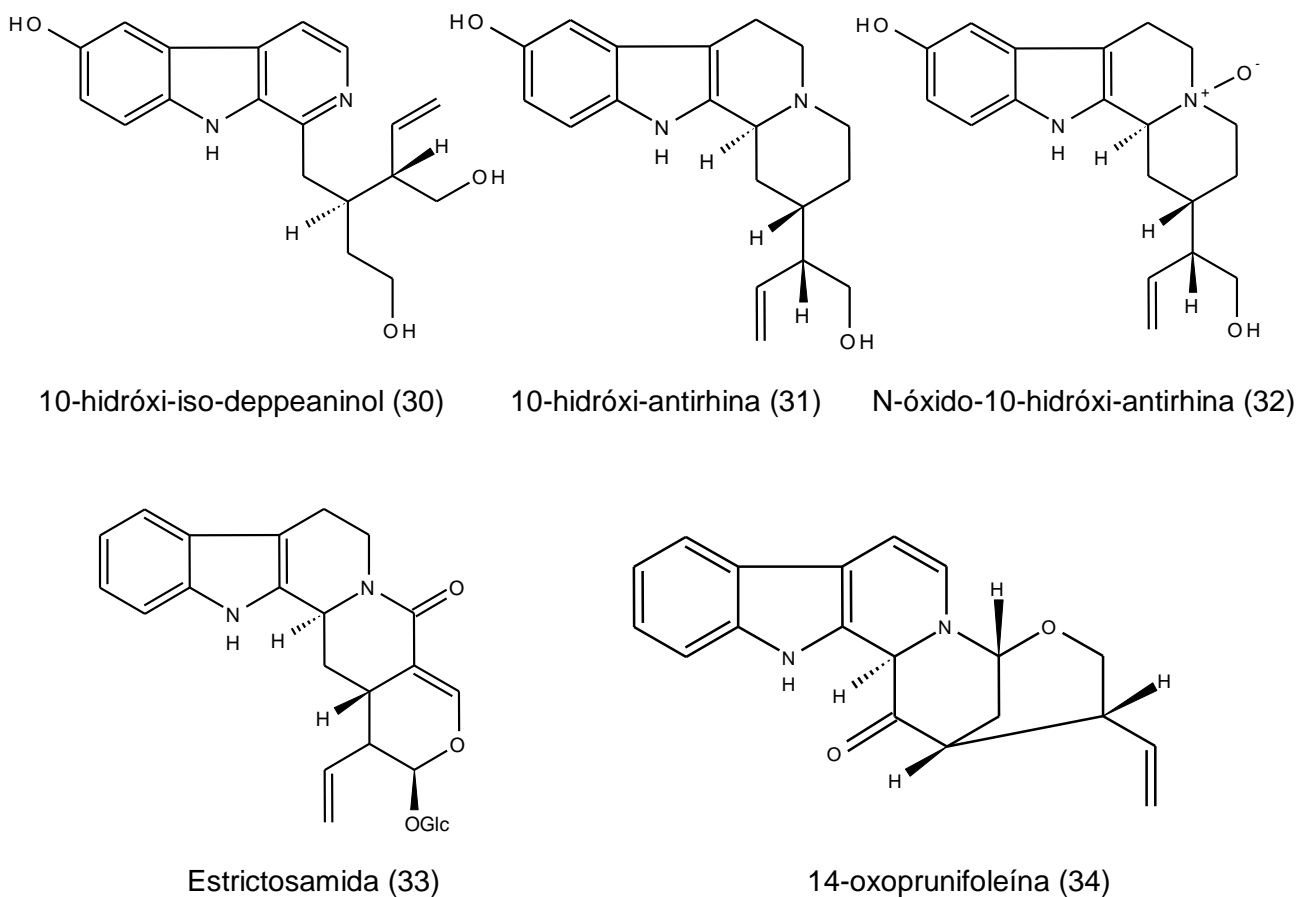


Figura 4 – Alcaloides isolados da espécie *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerm.

1.3. *Psychotria hoffmannseggiana*

Psychotria hoffmannseggiana (Wild. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., tem como sinônimas: *Cephaelis dichotoma* (Wild. ex Roem. & Schult.), *Cephaelis rubra* Hoffmanns. Roem. & Schult., *Psychotria microcephala* Miq. e *Psychotria erythrophylla* Muell. Arg. Essa espécie pertence ao subgênero *Heteropsychotria*, é um subarbusto de 0,2 a 1,0 metro de altura e está distribuída na América Central, Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Equador, Peru, Bolívia e Brasil (DELPRETE, 2010; MARGALHO, ROCHA & SECCO, 2009). No Brasil, está presente desde a Bacia Amazônica até o Centro-Oeste e Centro-Sul do país (DELPRETE, 2010).

Em relação ao ambiente, a espécie é encontrada em uma grande variedade de habitats, de 100 a 1.500 m de altitude, florescendo e frutificando o ano inteiro (MARGALHO, ROCHA & SECCO, 2009). No entanto, na região Centro-Oeste essa espécie floresce e frutifica de outubro a abril, com período predominante de novembro a março (DELPRETE, 2010).

Na Tabela 3 descrevemos a taxonomia de *P. hoffmannseggiana*.

Tabela 3 – Taxonomia da espécie *Psychotria hoffmannseggiana* (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2014).

Classificação	Espécie Vegetal
Reino	Plantae
Divisão	Spermatophyta
Subdivisão	Magnoliophytina
Classe	Equisetopsida C. Agardh
Subclasse	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superordem	Asteranae Takht.
Ordem	Gentianales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Família	Rubiaceae Juss.
Subfamília	Rubioideae
Tribo	Psychotrieae
Gênero	<i>Psychotria</i> L.
Subgênero	<i>Heteropsychotria</i> Steyerm.
Espécie	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i> (Wild. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg.

Até o presente momento, de acordo com a revisão bibliográfica, esse é o primeiro estudo químico para *P. hoffmannseggiana*.

1.4. Biossíntese de Metabólitos Secundários

Na rota biossintética de vários metabólitos secundários, principalmente dos alcaloides, temos o ácido chiquímico formado pela condensação aldólica de dois metabólitos da glicose: o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato. O ácido chiquímico pode ser metabolizado em ácido corísmico, sendo designado como chiquimato e corismato, devido ao pH predominante no meio (SANTOS, 2010).

O ácido corísmico resultante de uma molécula de ácido chiquímico e de um fosfoenolpiruvato, por sua vez originam os aminoácidos aromáticos, como o triptofano, precursor dos alcaloides indólicos e quinolínicos e a fenilalanina, o qual o cinamato, precursor dos fenilpropanóides, fornece os lignóides e cumarinas (Figura 5) (SANTOS, 2010).

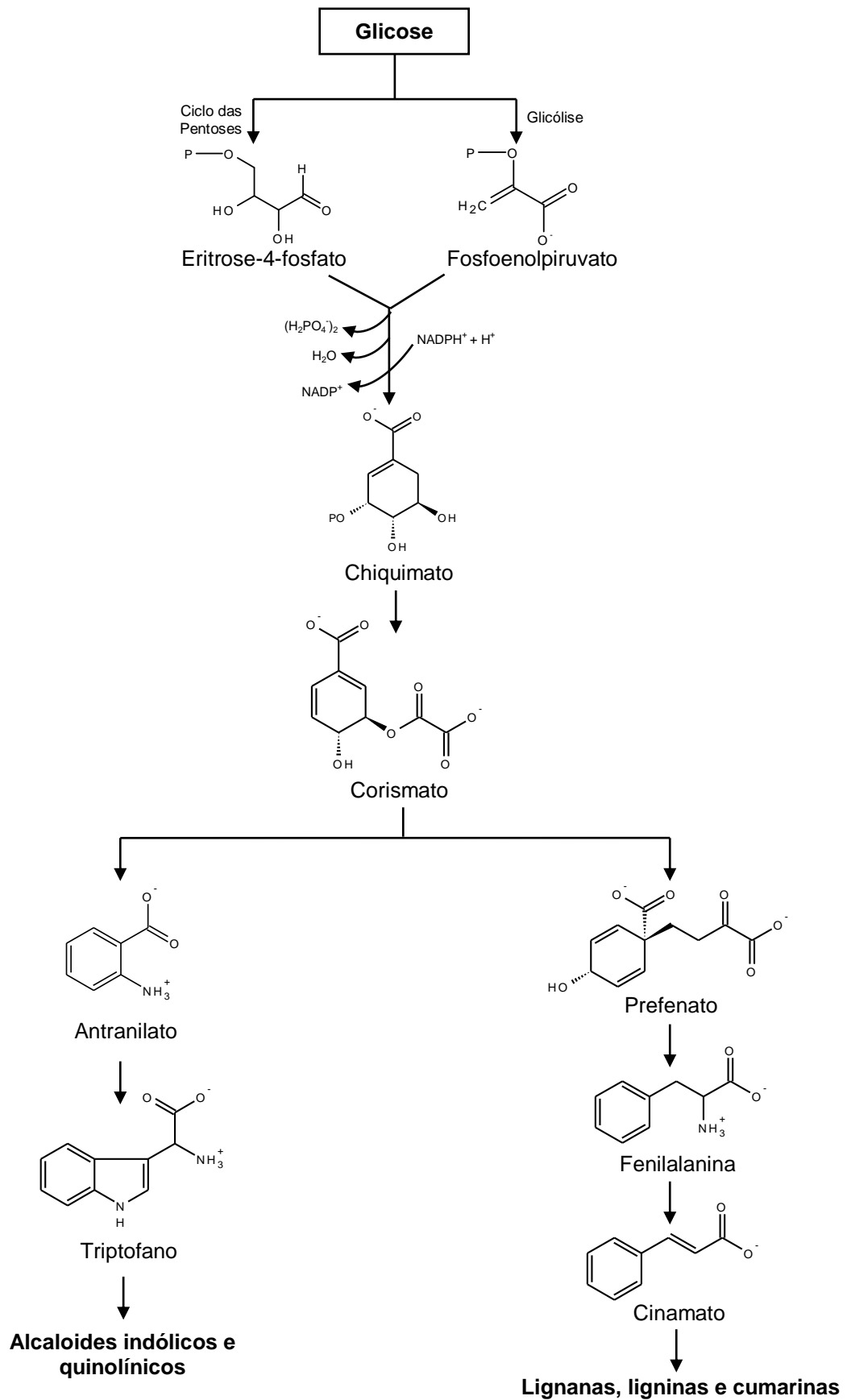


Figura 5 – Proposta biossintética para os aminoácidos aromáticos, triptofano e cinamato (SANTOS, 2010).

1.5. Biossíntese dos Alcaloides

Os alcaloides indólicos monoterpênicos característicos da família Rubiaceae e do gênero *Psychotria* L., contêm dois elementos estruturais: um anel indólico e uma unidade C9 ou C10 derivada da unidade secologanina (MARINHO, 2001; SANTOS, 2010).

Na rota biossintética desses alcaloides (Figura 6) o núcleo indólico é derivado do aminoácido triptofano, o qual é descarboxilado pela enzima citossólica triptofano descarboxilase (TDC), formando a triptamina. Enquanto isso na via de Rohmer, que ocorre no cloroplasto, (gliceraldeído/piruvato), o secoiridoide secologanina é formado a partir do geraniol, sendo primeiramente hidroxilado pela enzima geraniol 10-hidroxilase (G10H). Desse modo, a triptamina e a secologanina formadas na via do chiquimato e via de Rohmer, respectivamente, são condensadas pela enzima strictosidina sintase (STR) formando a strictosidina, um alcaloide glicosilado, considerado o precursor comum na biossíntese dos alcaloides indólicos monoterpênicos (MARINHO, 2001; FRAGOSO, 2007).

Além do mais, a strictosidina pode sofrer uma conversão através da strictosidina β -glicosidase (SGD), levando ao rearranjo de várias estruturas, sendo a strictosidina um intermediário central de pelo menos 3000 alcaloides (FRAGOSO, 2007).

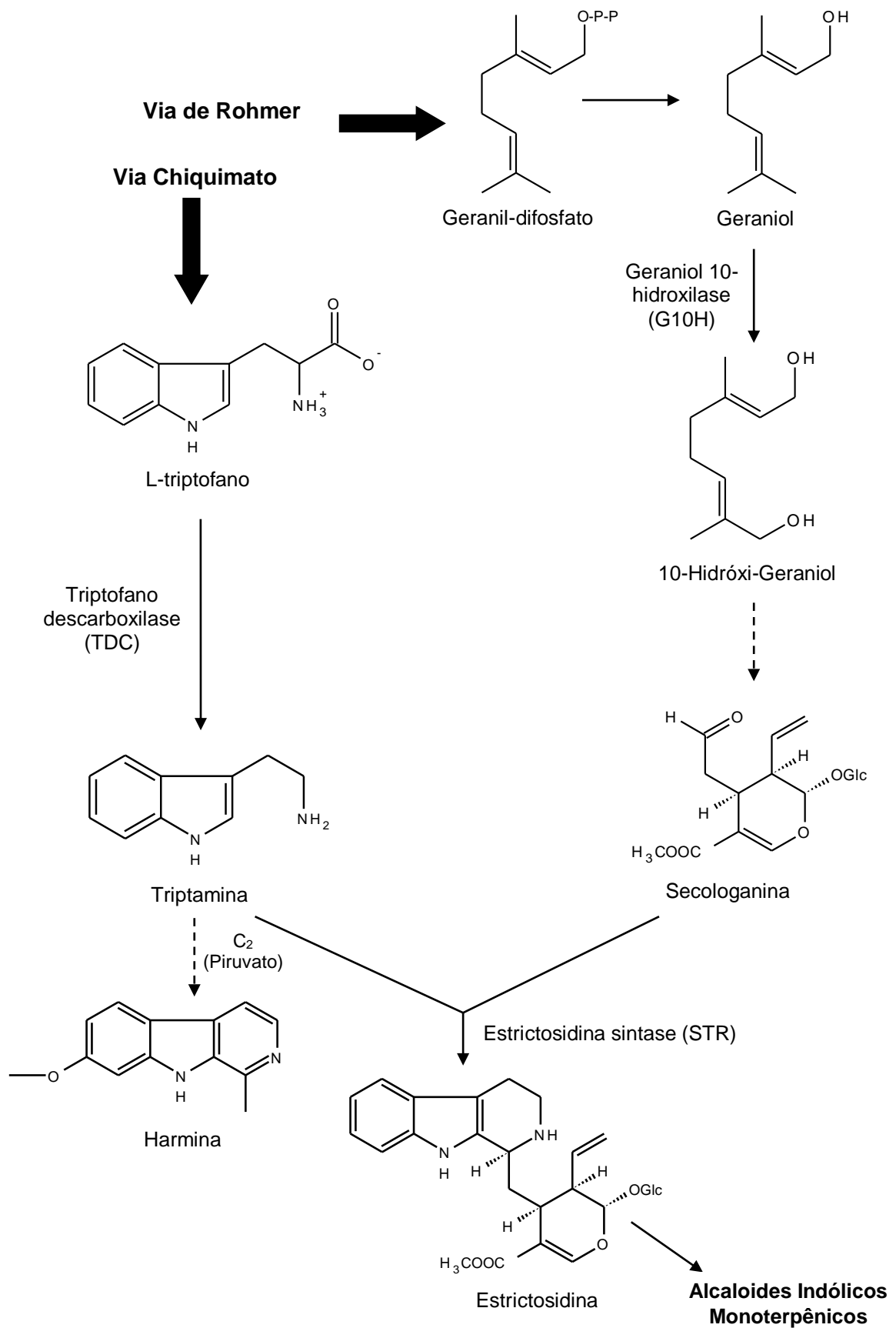


Figura 6 – Proposta biossintética para os alcaloides indólicos monoterpênicos (MARINHO, 2001; SANTOS, 2010).

1.6. Biossíntese das Cumarinas

As cumarinas são isoladas na família Rubiaceae e no gênero *Psychotria*. Elas são derivadas do metabolismo da fenilalanina, via do ácido chiquímico, em que o ácido (*E*)-cinâmico, por oxidação, resulta no ácido *o*-cumárico (Figura 6) (CZELUSNIAK, 2012).

O ácido *o*-cumárico sofre, em seguida, glicosilação, o qual a hidroxila fenólica condensa com uma unidade de glicose e isomerização (*Z*)/(*E*), o que é fundamental para o processo de lactonização e formação final da cumarina (Figura 6). A cumarina é liberada apenas após hidrólise enzimática e lactonização, processos que ocorrem na danificação dos tecidos vegetais durante extração e processamento (SANTOS, 2010).

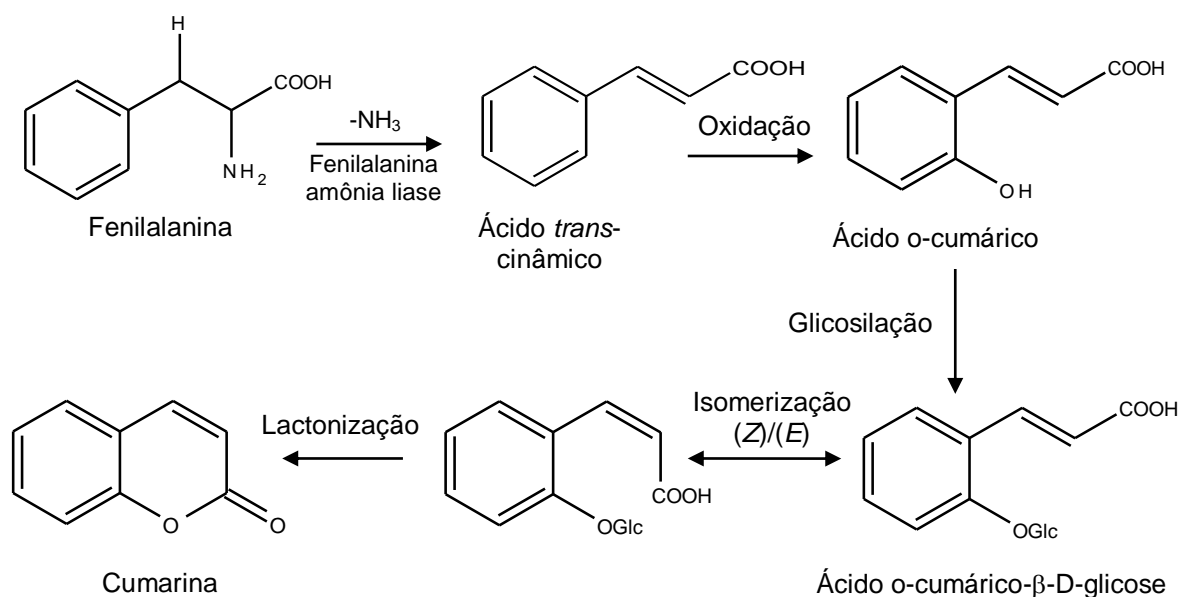


Figura 7 – Rota biossintética das cumarinas (CZELUSNIAK, 2012).

2. OBJETIVOS

Diante da riqueza de propriedades químicas, biológicas e farmacológicas tanto da família Rubiaceae quanto do gênero *Psychotria* L., selecionou-se a espécie *Psychotria hoffmannseggiana* para a contribuição do seu estudo químico.

Especificamente tem-se os seguintes objetivos:

- Estudo químico da *P. hoffmannseggiana* visando o isolamento, a elucidação estrutural e a identificação de metabólitos secundários, principalmente alcaloides, presentes nas suas folhas, através de técnicas espectroscópicas, como ressonância magnética nuclear, infravermelho, ultravioleta e espectrometria de massas.
- Avaliação da atividade antioxidante do extrato bruto das folhas, do extrato ácido clorofórmico e dos extratos básicos clorofórmico, acetato de etila e n-butanólico da *P. hoffmannseggiana*, utilizando-se o ensaio com o radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e Métodos

As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas em sílica gel 60 [0,063 – 0,200 mm (70 – 230 mesh ASTM, Merck)], sílica gel 60 (0,040 – 0,063 mm) (sob pressão atmosférica) e SEPHADEX LH-20, em colunas de vidro cujo diâmetro e altura variaram conforme a massa dos extratos.

Para as cromatografias em camada delgada (CCD) e camada delgada preparativa (CCDP) empregaram-se placas de alumínio (sílica gel 60 F₂₅₄; Merck) ou placas de vidro. As placas de vidro para CCD e CCDP foram confeccionadas com camada de sílica gel 60 PF₂₅₄₊₃₆₅ (Macherey-Nagel) de 0,25 mm e 1,00 mm de espessura, respectivamente. As dimensões das placas de CCD foram de 3 x 10 cm e 5 x 10 cm, e para as CCDP de 10 x 20 cm.

Os solventes utilizados nas CC, CCDP e CCD apresentavam grau de pureza PA ou foram tratados e destilados quando necessário.

Os agentes reveladores empregados nas CCD e / ou CCDP foram:

- Luz UV (254 e 365 nm);
- Reagente de Dragendorff – específico para alcaloides e compostos nitrogenados. Resposta positiva: Coloração Alaranjada;
- MeOH/H₂SO₄ (1:1 v/v) – seguido de aquecimento até carbonização;
- Anisaldeído/H₂SO₄ – reagente específico para terpenoides e açúcares. Reação positiva: Coloração roxa e outras;

Para a elucidação estrutural dos compostos foram empregadas as técnicas unidimensionais de RMN ^1H e bidimensionais COSY, NOESY, HSQC (correlação direta, $^1J_{\text{CH}}$) e HMBC (correlação à longa distância, $^{2,3}J_{\text{CH}}$), onde os deslocamentos químicos de RMN ^{13}C foram obtidos pelo mapa de correlação de hidrogênio para carbono, HSQC. Todos os espectros e mapas de correlação foram obtidos em espectrômetro (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C) Bruker Avance III 500 11,75 T, localizado no Instituto de Química da UFG. Os deslocamentos químicos foram obtidos em ppm, tendo como referência interna o TMS (tetrametilsilano, $\delta=0,0$ ppm) em CDCl_3 e/ou MeOD.

Os espectros de infravermelho foram obtidos no espectrômetro Frontier FT-IR (Perkin Elmer), com 32 varreduras na região do infravermelho médio, zona entre 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

A rotação óptica foi obtida do polarímetro ADP 440 (+) (Bellingham & Stanley) com tubo polarimétrico de 0,5 dm e temperatura de 20°C . O experimento foi realizado no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás.

Os espectros de massas foram obtidos no espectrômetro de massas LTQ FT Ultra (ThermoScientific, Bremen, Germany), pelo método de ESI em modo positivo. O experimento foi realizado no Centro de Pesquisas da Petrobrás (CENPES) no Rio de Janeiro.

Nos ensaios de atividade antioxidante utilizou-se o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, DPPH, (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). As leituras de absorvância foram obtidas em espectrofotômetro UV-Vis (GEHAKA, UV-380 G), no comprimento de onda de 515 nm. O ácido ascórbico, antioxidante comercial, foi utilizado como controle positivo.

A determinação do ponto de fusão foi realizada no fusômetro Karl Kolb, no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás.

3.2. Estudo Químico de *P. hoffmansegianna*

3.2.1. Coleta e Preparo do Material Vegetal

As folhas da espécie *P. hoffmansegianna* (Figura 8) foram coletadas em fevereiro de 2012, no período de floração, à sombra, no bosque *St. Hilaire* do Campus Samambaia da UFG, Goiânia-GO, sendo a sua identificação realizada pelo Prof. Dr. Piero Giuseppe Delprete, Herbier de Guyane (CAY), UMR AMAP, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Cayenne, Guiana Francesa (França). A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, Unidade de Conservação PRPPG, Campus II, Goiânia, GO, sob o número de registro 12014.



Figura 8 – *Psychotria hoffmannseggiana*

A secagem das folhas foi realizada em estufa (modelo 315 SE, Fanem) a 40°C e moídas em moinho de facas tipo Willey (MA 048, Marconi).

3.2.2. Extração e Fracionamento do Extrato

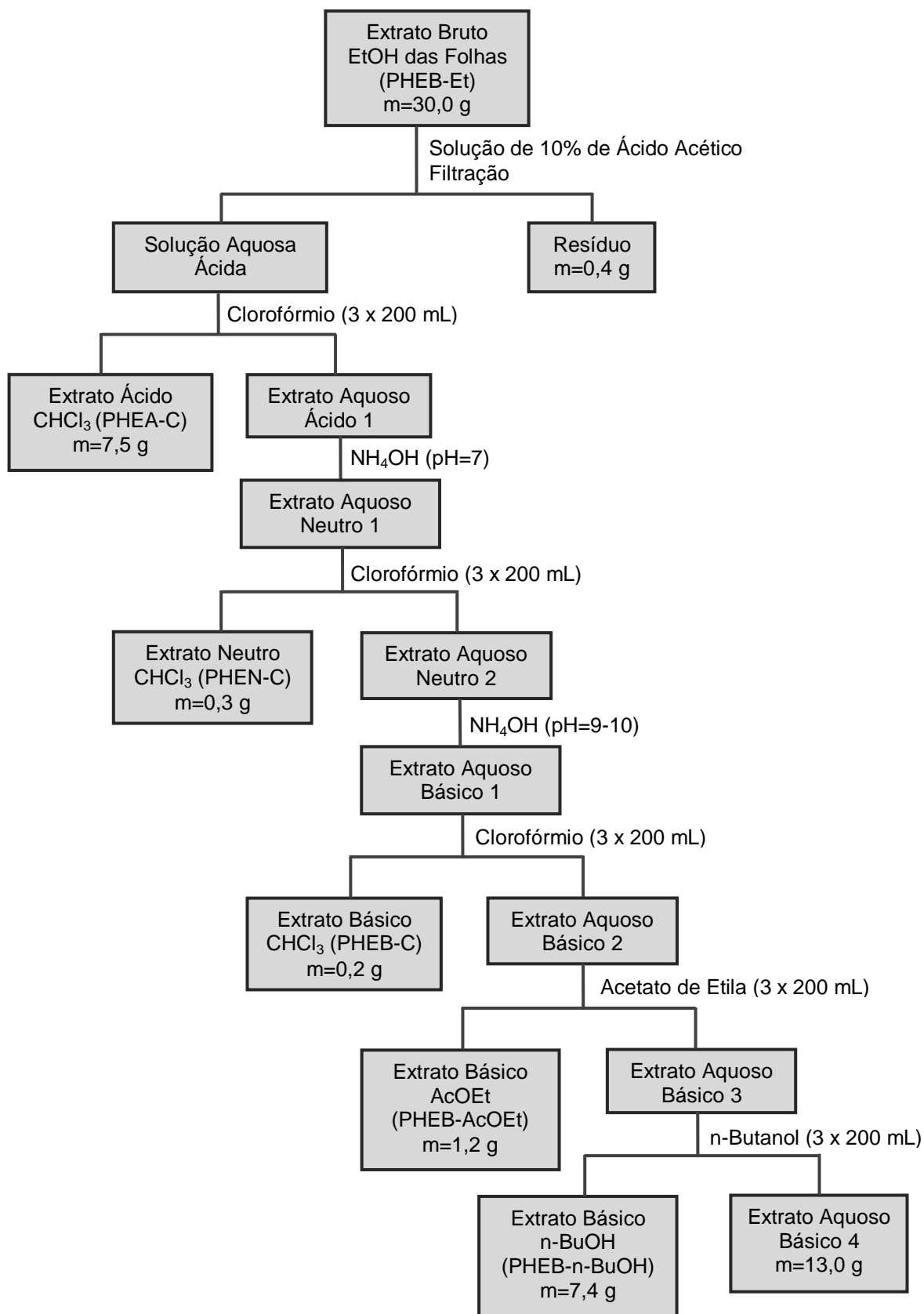
As folhas secas e trituradas (461 g) foram então submetidas à extração, à temperatura ambiente, em etanol 96%, durante o período de 7 dias. O solvente foi evaporado sob vácuo, em evaporador rotativo (MA 120, Marconi) resultando no extrato bruto etanólico das folhas, 40,5 g.

O extrato bruto etanólico (PHEB-Et) (30 g) foi submetido ao fracionamento ácido-base (Fluxograma 4), sendo solubilizado em 400 mL de solução aquosa de ácido acético 10% (v/v) e mantido sob agitação por 24h. A solução foi filtrada em funil de Büchner para a separação dos resíduos obtidos, fornecendo a solução aquosa ácida.

A solução aquosa ácida, 400 mL, foi extraída com clorofórmio, 3 x 200 mL, a qual foi seca sob Na_2SO_4 anidro. O solvente orgânico foi eliminado em evaporador rotativo, obtendo-se o extrato ácido clorofórmico (PHEA-C) e o extrato aquoso ácido 1.

O extrato aquoso ácido 1 foi neutralizado com hidróxido de amônio, pH 7,0, e em seguida, extraído com clorofórmio, 3 x 200 mL. A fase clorofórmica foi seca sob Na_2SO_4 anidro e o solvente orgânico foi eliminado em evaporador rotativo, obtendo-se o extrato neutro clorofórmico (PHEN-C) e o extrato aquoso neutro 2.

O extrato aquoso neutro 2 foi basificado com hidróxido de amônio, a um pH entre 9-10, sendo denominado extrato aquoso básico 1, o qual foi extraído com clorofórmio, 3 x 200 mL, acetato de etila, 3 x 200 mL e n-butanol, 3 x 200 mL. As fases orgânicas foram secas sob Na_2SO_4 anidro e os solventes orgânicos foram eliminados em evaporador rotativo, obtendo-se o extrato básico clorofórmico (PHEB-C), extrato básico acetato de etila (PHEB-AcOEt) e extrato básico n-butanólico (PHEB-n-BuOH), respectivamente.



Fluxograma 4 – Fracionamento ácido-base do extrato bruto etanólico das folhas (PHEB-Et).

Com a análise por CCD e dos espectros de RMN de ^1H dos extratos neutro (PHEN-C) e básico clorofórmico (PHEB-C) (Espectro 1) observou-se que ambos apresentavam o mesmo perfil. Portanto, reuniu-se os mesmos em um único extrato, sendo denominado extrato básico clorofórmico (PHEB-C).

Desse modo, as massas e o rendimento dos extratos reunidos do fracionamento ácido-base estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Massa (g) e rendimento dos extratos reunidos do fracionamento ácido-base do extrato bruto das folhas.

Extratos	Código	Massa (g)	Rendimento (%)
Ácido Clorofórmico	PHEA-C	7,5	25
Básico Clorofórmico	PHEB-C	0,5	2
Básico Acetato de Etila	PHEB-AcOEt	1,2	4
Básico n-Butanólico	PHEB-n-BuOH	7,4	25
Total=		16,6	56
Extrato Aquoso Básico 4		13,0	43
Resíduo		0,4	1
Total=		30	100

3.2.3. Extrato Ácido Clorofórmico das Folhas (PHEA-C)

Uma alíquota do extrato ácido clorofórmico das folhas (3,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 60 Merck, ($\phi=3,0$ cm e $h=20$ cm), sistema flash, utilizando como eluentes clorofórmio e gradientes crescentes de clorofórmio/metanol até metanol 100%, a qual forneceu 420 frações (Fluxograma 5), de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A1).

As frações após serem analisadas por CCD foram reunidas em 55 novas frações, segundo as semelhanças no perfil cromatográfico (Tabela A2).

A fração reunida F-43-51 (30,5 mg), foi submetida a uma cromatografia de camada delgada preparativa, CCDP, utilizando como eluente clorofórmio / metanol (98:2). Ao final da CCDP, obteve-se 4 subfrações (Tabela 5), a subfração Sub-F2 mostrou-se pura nas análises por CCD, sendo denominada como composto PH-01 (2,5 mg).

Tabela 5 – Subfrações obtidas da CCDP da F-43-51.

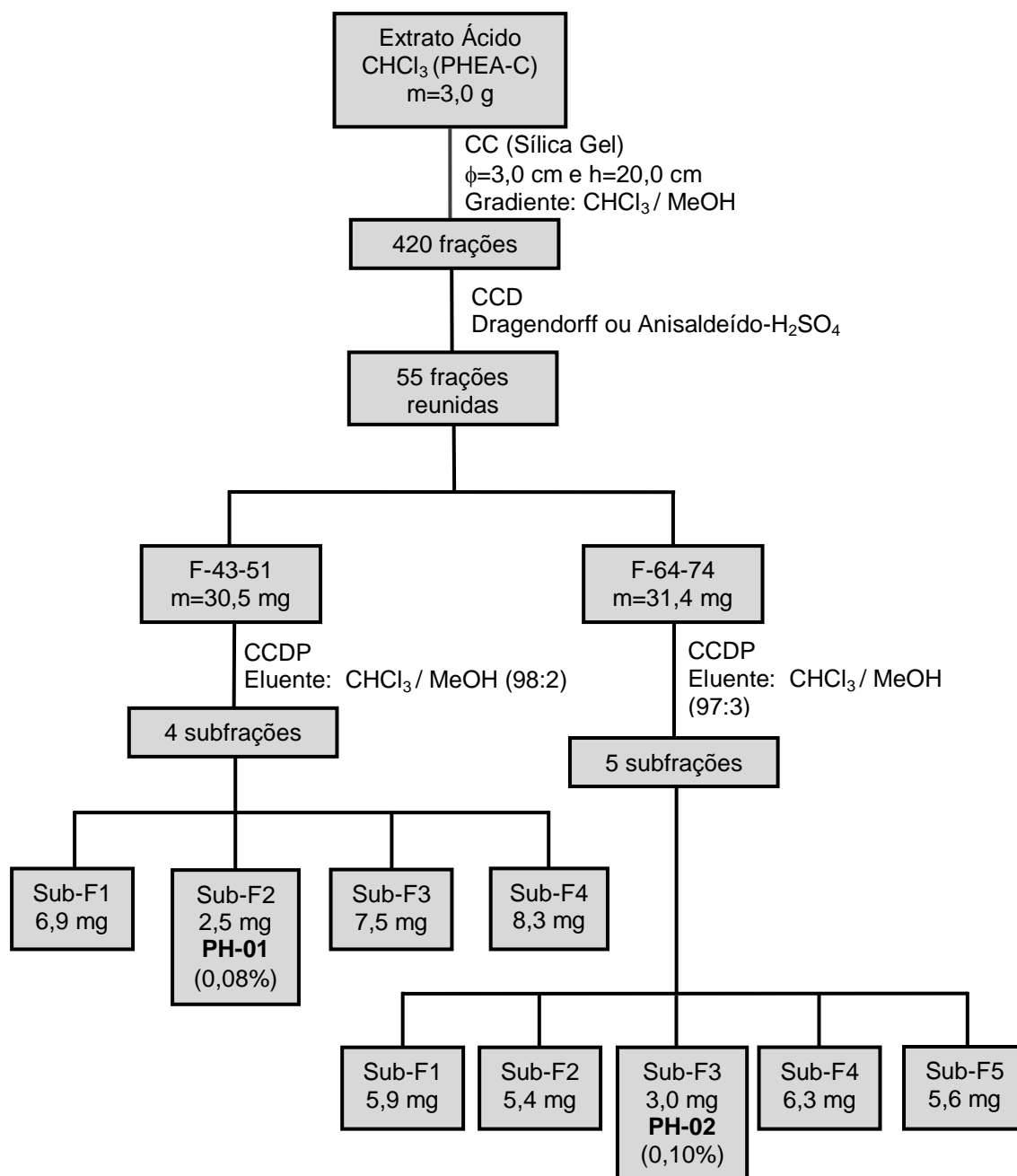
Subfração (Sub-F)	Massa (mg)
1	6,9
2	2,5 PH-01 (0,08%)
3	7,5
4	8,3

A fração F-64-74 (31,4 mg), foi purificada por CCDP, utilizando como eluente clorofórmio / metanol (97:3). Ao final da CCDP, obteve-se 5 subfrações (Tabela 6), o qual a subfração Sub-F3 mostrou-se pura nas análises de CCD, sendo denominada como composto PH-02 (3,0 mg).

Tabela 6 – Subfrações obtidas da CCDP da F-64-74.

Subfração (Sub-F)	Massa (mg)
1	5,9
2	5,4
3	3,0 PH-02 (0,10%)
4	6,3
5	5,6

Nas demais frações analisadas, não obteve-se o isolamento de nenhum outro composto.



Fluxograma 5 – Fracionamento do extrato ácido clorofórmico das folhas (PHEA-C).

3.2.4. Extrato Básico Clorofórmico das Folhas (PHEB-C)

Uma alíquota do extrato básico clorofórmico das folhas (0,4 g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 60 Merck, sistema flash, ($\phi=2,0$ cm e $h=15,0$ cm), utilizando como eluentes acetato de etila e gradientes crescentes de acetato de etila/metanol até metanol 100%, fornecendo-se 50 frações (Fluxograma 6), de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A3).

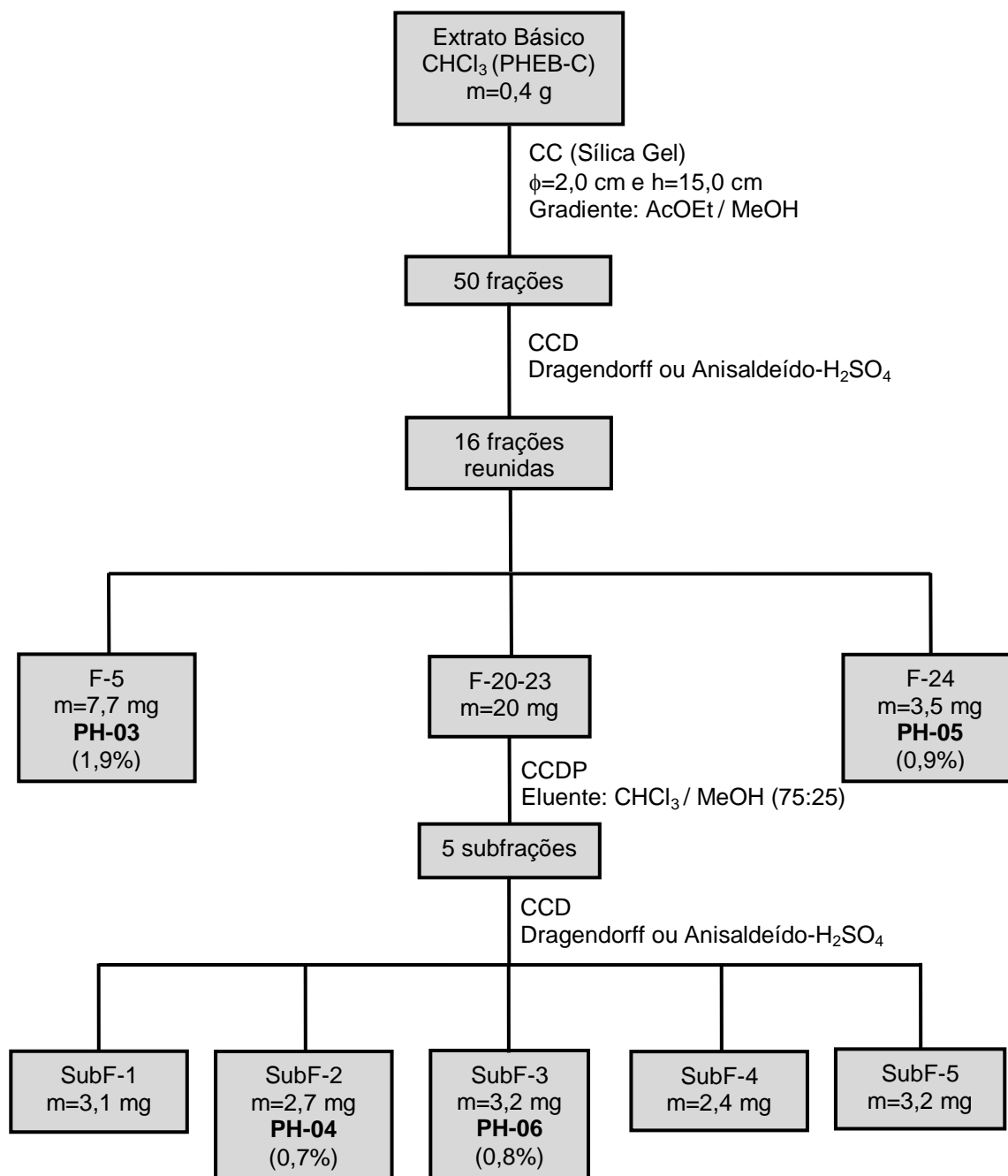
Através das análises por CCD de todas as frações verificou-se que as frações F-5 e F-24 encontravam-se puras, além de apresentarem resposta positiva para o reagente Dragendorff, sendo denominadas como PH-03 (7,7 mg) e PH-05 (3,5 mg), respectivamente.

As demais frações também foram analisadas por CCD e reunidas em 16 novas frações, segundo as semelhanças no perfil cromatográfico (Tabela A4).

A fração F-20-23 (20,0 mg) foi purificada por CCDP, utilizando como eluente clorofórmio / metanol (75:25). Ao final da CCDP, obteve-se 5 subfrações (Tabela 7), as subfrações Sub-F2 e Sub-F3 mostraram-se puras nas análises de CCD e apresentaram resposta positiva para o reagente Dragendorff, sendo denominadas como composto PH-04 (2,7 mg) e PH-06 (3,2 mg), respectivamente.

Tabela 7 – Subfrações obtidas da CCDP da F-20-23.

Subfração (Sub-F)	Massa (mg)	
1	3,1	
2	2,7	PH-04 (0,7%)
3	3,2	PH-06 (0,8%)
4	2,4	
5	3,2	



Fluxograma 6 – Fracionamento do extrato básico clorofórmico das folhas (PHEB-C).

3.2.5. Extrato Básico Acetato de Etila das Folhas (PHEB-AcOEt)

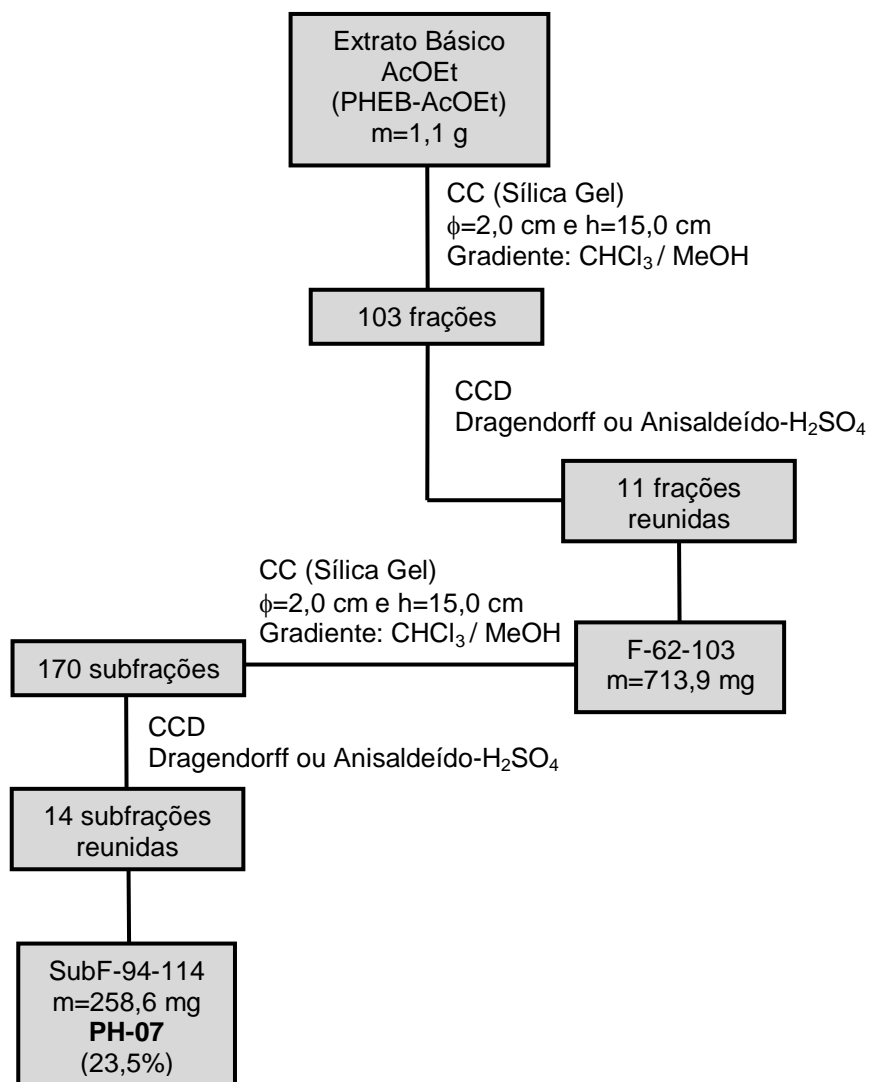
Uma alíquota do extrato básico acetato de etila das folhas (1,1 g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 60 Merck, ($\phi=2,0$ cm e $h=15$ cm), utilizando como eluentes clorofórmio e gradientes crescentes de clorofórmio/metanol até metanol 100%, fornecendo 103 frações (Fluxograma 7), de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A5).

As frações após serem analisadas por CCD foram reunidas em 11 novas frações, segundo as semelhanças no perfil cromatográfico (Tabela A6).

A fração reunida F-62-103 (713,9 mg), foi submetida a uma nova coluna cromatográfica em sílica gel 60 Merck, sistema flash, ($\phi=2,0$ cm e $h=15$ cm), utilizando como eluentes clorofórmio e gradientes crescentes de clorofórmio/metanol até metanol 100%, obtendo-se 170 subfrações, de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A7).

Através da análise de todas as subfrações por CCD, as mesmas foram reunidas em 14 novas subfrações, segundo semelhanças no perfil cromatográfico (Tabela A8). Desse modo, verificou-se que a subfração SubF-94-114, apresentou-se pura e com resposta positiva para o reagente Dragendorff, sendo denominada como PH-07 (258,6 mg).

Nas demais frações não foi possível o isolamento de nenhum outro composto devido à diversidade e complexidade das misturas.



Fluxograma 7 – Fracionamento do extrato básico acetato de etila das folhas (PHEB-AcOEt).

3.2.6. Extrato Básico n-Butanólico das Folhas (PHEB-n-BuOH)

Uma alíquota do extrato básico n-butanólico das folhas (2,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna, SEPHADEX LH-20, ($\phi=3,0$ cm e $h=30$ cm), utilizando como eluente clorofórmio / metanol (90:10), em um sistema isocrático, fornecendo-se 80 frações (Fluxograma 8), de aproximadamente 10 mL cada (Tabela A9).

As frações após serem analisadas por CCD foram reunidas em 11 novas frações, segundo as semelhanças no perfil cromatográfico (Tabela A10). A fração reunida F-27-62 (457,5 mg), foi resubmetida a uma nova coluna cromatográfica em coluna de sílica gel 60 Merck, sistema flash, ($\phi=2,0$ cm e $h=20,0$ cm), utilizando como eluentes clorofórmio/metanol até metanol 100%, fornecendo-se 62 subfrações, de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A11).

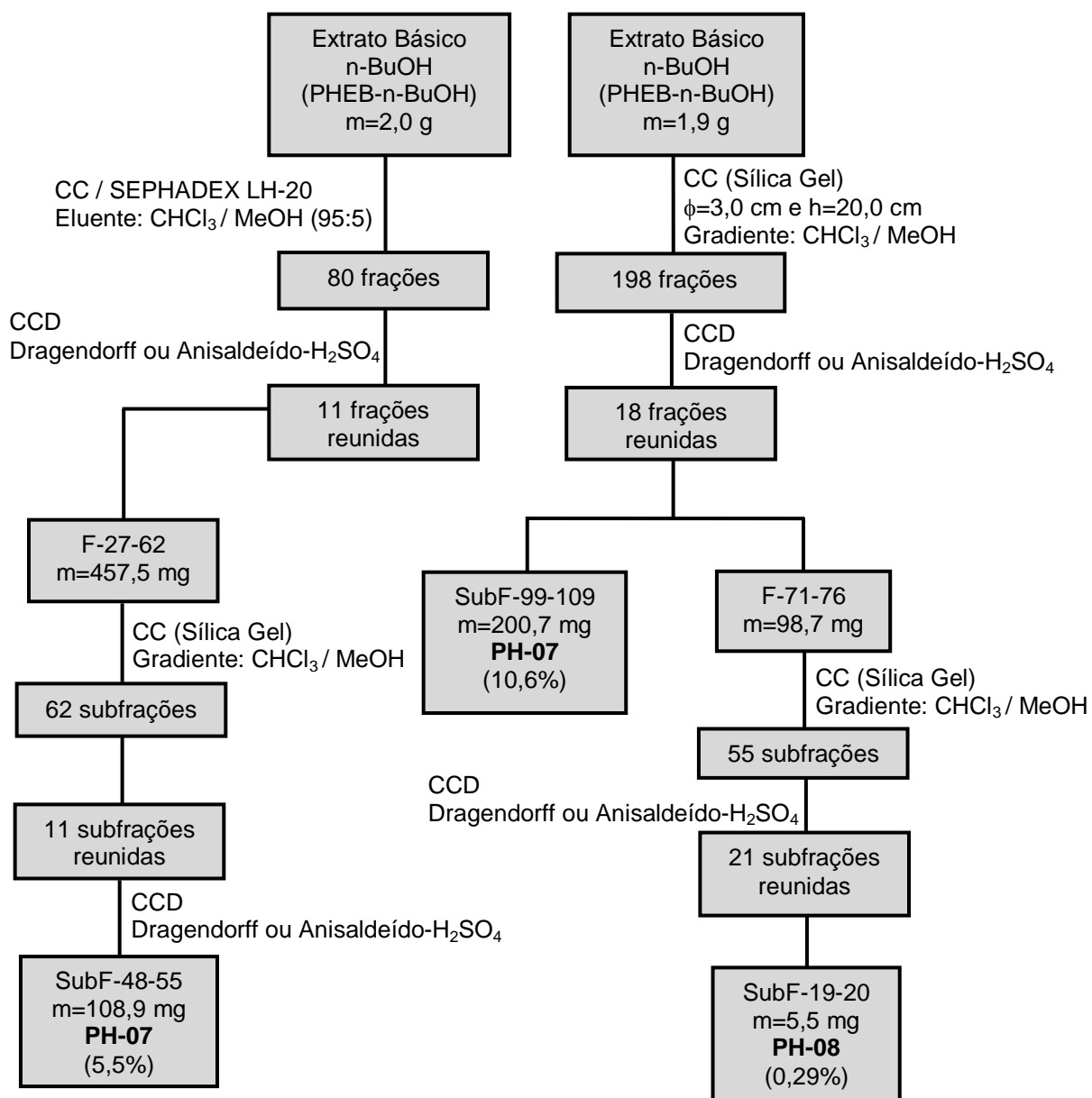
Após as análises por CCD de todas as subfrações, essas foram reunidas segundo as semelhanças no perfil cromatográfico, obtendo 11 novas subfrações (Tabela A12). A subfração SubF-48-55 forneceu cristais incolores, sendo denominada como composto PH-07 (108,9 mg), apresentando resposta positiva frente ao reagente Dragendorff.

Uma nova alíquota do extrato básico n-butanólico das folhas (1,9 g), foi submetida à cromatografia em coluna, em sílica gel 60 Merck, ($\phi=3,0$ cm e $h=20,0$ cm) utilizando-se como eluentes gradientes crescentes de clorofórmio/metanol até metanol 100%, fornecendo-se 198 subfrações, de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A13).

Após as análises por CCD de todas as frações, essas foram reunidas segundo as semelhanças no perfil cromatográfico, obtendo-se 18 novas subfrações (Tabela A14). A subfração SubF-99-109 apresentou resposta positiva frente ao reagente Dragendorff, fornecendo cristais incolores, denominada como composto PH-07 (200,7 mg).

Por outro lado, a fração reunida F-71-76 (98,7 mg) foi submetida a uma nova coluna cromatográfica de sílica gel 60 Merck, sistema flash ($\phi=2,0$ cm e $h=15,0$ cm) utilizando-se como eluentes clorofórmio e gradientes crescentes de clorofórmio/metanol até metanol 100%, fornecendo 55

subfrações, de aproximadamente 15 mL cada (Tabela A15). Após as análises por CCD de todas as subfrações, essas foram reunidas segundo as semelhanças no perfil cromatográfico, obtendo 21 novas subfrações (Tabela A16). A subfração Sub-F-19-20 forneceu um sólido amarelo, o qual foi denominado como composto PH-08 (5,5 mg).



Fluxograma 8 – Fracionamento do extrato básico n-butanólico das folhas (PHEB-n-BuOH).

3.3. Atividade Antioxidante

O método utilizado para a avaliação da atividade antioxidante do extrato bruto etanólico das folhas, do extrato ácido clorofórmico e dos extratos básicos clorofórmico, acetato de etila e n-butanólico foi a reação desses com um radical estável, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), em uma solução de metanol.

Todas as leituras foram realizadas em triplicatas, com soluções de diferentes concentrações dos extratos e do padrão, ácido ascórbico, preparados em metanol.

Alíquotas (0,3 mL) de diferentes concentrações variando de 10 a 300 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram adicionadas a 2,7 mL da solução de DPPH (40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ em metanol) nos tubos de ensaio. O controle foi preparado a partir de 2,7 mL da solução de DPPH em 300 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de metanol, sem adição de extrato. Todas as amostras foram deixadas em repouso, à temperatura ambiente e no escuro, por 30 minutos. Após o tempo de espera, a descoloração do radical DPPH foi registrada através das absorbâncias das amostras em espectrofotômetro de UV-Vis em comprimento de onda de 515 nm.

A capacidade de sequestrar o radical livre foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme fórmula abaixo:

$\% \text{ Inibição} = ((\text{Abs}_{\text{controle}} - (\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}})) / \text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100$, onde:
 $\text{Abs}_{\text{controle}}$ = absorbância da solução de DPPH;
 $\text{Abs}_{\text{amostra}}$ = absorbância da amostra em solução de DPPH (ROESLER *et al.*, 2007);

O valor de concentração inibitória, CI_{50} (concentração necessária para inibir 50% do DPPH), foi obtido através da análise de regressão linear pelo programa Origin Pro 8, por meio de um gráfico com a percentagem de inibição na abscissa, versus a concentração das amostras em diferentes concentrações na ordenada, obtendo assim uma reta (ROESLER *et al.*, 2007). Desse modo, permitiu-se definir a concentração da amostra em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ necessária para inibir 50% dos radicais DPPH.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

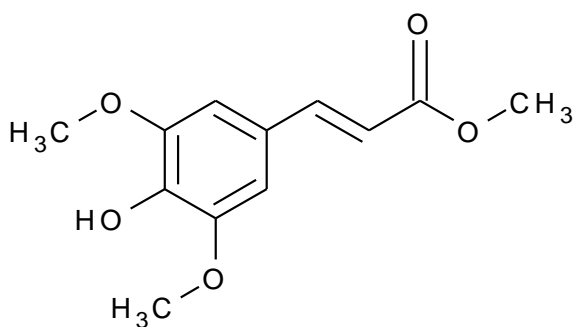
4.1. Compostos Isolados

O estudo fitoquímico das folhas de *P. hoffmannseggiana* resultou no isolamento e identificação estrutural dos compostos descritos na Tabela 8 e na Figura 9.

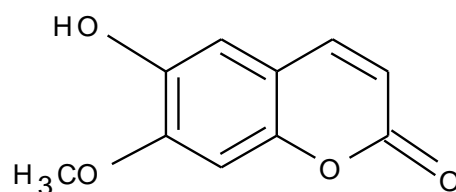
Tabela 8 – Compostos isolados das folhas de *P. hoffmannseggiana*.

Extrato	Código (massa)	Teor de composto no extrato (%)	Compostos Isolados	Referências
Ácido CHCl ₃	PH-01 (2,5 mg)	0,08	Sinapato de metila	(DALL'ACQUA <i>et al.</i> , 2002)
Ácido CHCl ₃	PH-02 (3,0 mg)	0,10	Isoescopoletina	(ZHANG, DAI & LIAO, 2011)
Básico CHCl ₃	PH-03 (7,7 mg)	1,9	Harmano	(SEKI, HASHIMOTO & HINO, 1993)
Básico CHCl ₃	PH-04 (2,7 mg)	0,7	N-Metil-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolina	(EI-SHAZLY & WINK, 2003)
Básico CHCl ₃	PH-05 (3,5 mg)	0,9	N-Metilriptamina	(BUCHANAN <i>et al.</i> , 2007)
Básico CHCl ₃	PH-06 (3,2 mg)	0,8	(+)-Quimonantina	(VEROTTA <i>et al.</i> , 2002)
Básico n-BuOH e Básico AcOEt	PH-07 (568,2 mg)	11,4 e 23,5	Ácido strictosidínico	(HAMZAH <i>et al.</i> , 1994)
Básico n-BuOH	PH-08 (5,5 mg)	0,29	β-Etilglicose	(OLIVEIRA, 2009)

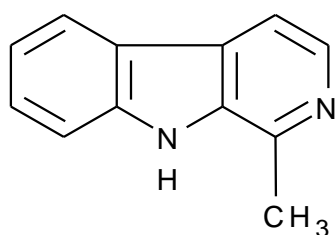
A elucidação estrutural dos compostos isolados foi baseada nos dados de espectroscopia de infravermelho (IV), ultravioleta (UV), ressonância magnética nuclear [^1H e ^{13}C] uni e bidimensional, e corroborados pelos dados da literatura.



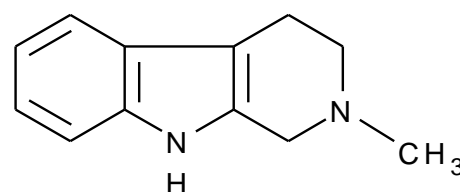
PH-01 – Sinapato de metila



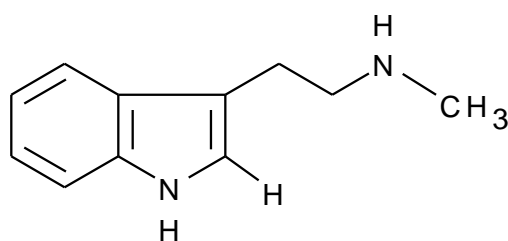
PH-02 – Isoescopoletina



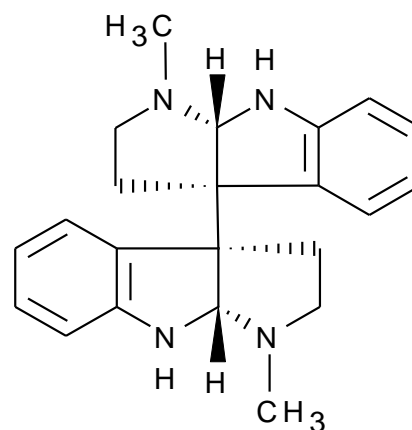
PH-03 – Harmano



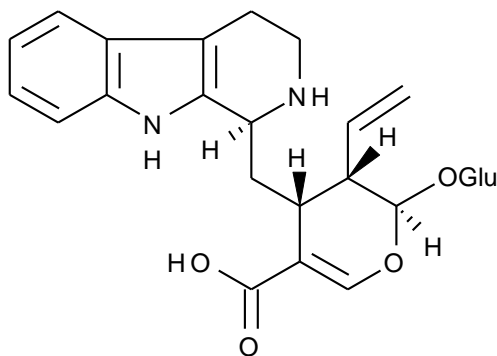
PH-04 – N-Metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina



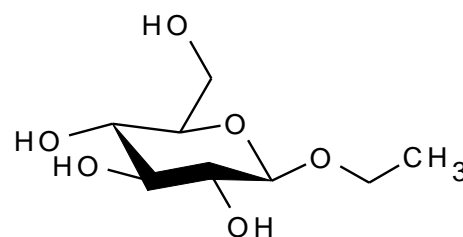
PH-05 – N-Metilriptamina



PH-06 – (+)-Quimonantina



PH-07 – Ácido strictosidínico



PH-08 – β -Etilglicose

Figura 9 – Compostos isolados das folhas de *P. hoffmannseggiana*.

4.2. Elucidação Estrutural

4.2.1 Composto PH-01

O composto PH-01 (Figura 10) foi isolado do extrato ácido clorofórmico, na forma de um sólido amarelo, p.f. 99-102°C (lit. p.f. 92-93°C, SANZ e MAKU, 1990), apresentando no espectro de ultravioleta absorção em 200 nm, 240 nm e 300 nm (Espectro 11).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou absorções referentes à deformação axial de O-H em 3411 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=O de um éster α,β -insaturado em 1701 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=C aromática em 1456 cm^{-1} e 1505 cm^{-1} e uma deformação axial da ligação C-O-C de éter arílico, simétrica, em 1262 cm^{-1} e assimétrica em 1109 cm^{-1} (Espectro 12).

Através dos dados do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm) (Espectro 2) foram observados dois sinais de hidrogênios vicinais olefínicos, como um dubleto em δ_{H} 6,31 (H-8, 1H) e um duplo tripleto em δ_{H} 7,61 (H-7, 1H) (Espectro 3). O hidrogênio H-7 apresenta um acoplamento vicinal de configuração *E* com o hidrogênio H-8 com $J=15,9$ Hz e um outro acoplamento ($J=0,5$ Hz) com os hidrogênios aromáticos simétricos, H-2 e H-6 em δ_{H} 6,78 (d, 2H), característicos de um anel aromático tetrassubstituído. Além disso, identificou-se dois grupos metoxilas ligadas ao anel aromático em: δ_{H} 3,93 (s, H-11 e H-12, 6H), e um outro singlete, mais blindado, em δ_{H} 3,81 (s, H-10, 3H), referente a metoxila do grupo éster (Espectro 4).

O mapa de correlação de HSQC (Espectro 5) forneceu as correlações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, observando-se quatro carbonos CH do tipo sp^2 em: δ_{C} 104,9 (C-2 e C-6), δ_{C} 115,4 (C-8) e δ_{C} 145,0 (C-7), e três carbonos de metoxilas em: δ_{C} 56,1 (C-11 e C-12) e δ_{C} 51,5 (C-10) (Espectro 6 e 7).

Pelo mapa de correlação de HMBC (Espectro 8) observou-se a substituição do anel aromático pelas correlações dos hidrogênios olefínicos, H-7 e H-8 com o carbono quaternário C-1 (δ_{C} 126,0) e dos hidrogênios

aromáticos H-2 e H-6 com os carbonos quaternários C-1 (δ_c 126,0), C-4 (δ_c 137,3) e C-3 / C-5 (δ_c 147,4), confirmando-se a presença do anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído. A substituição em C-3 e C-5 são sugeridas pelas correlações com os hidrogênios metoxílicos H-11 e H-12, respectivamente (Espectro 9 e 10).

E por fim, observam-se as correlações do carbono carbonílico de éster em C-9 (δ_c 167,2) com o hidrogênio metoxílico, H-10 e com os hidrogênios olefínicos ligados ao anel aromático, H-7 e H-8, o qual também correlacionam-se entre si (Espectro 9 e 10).

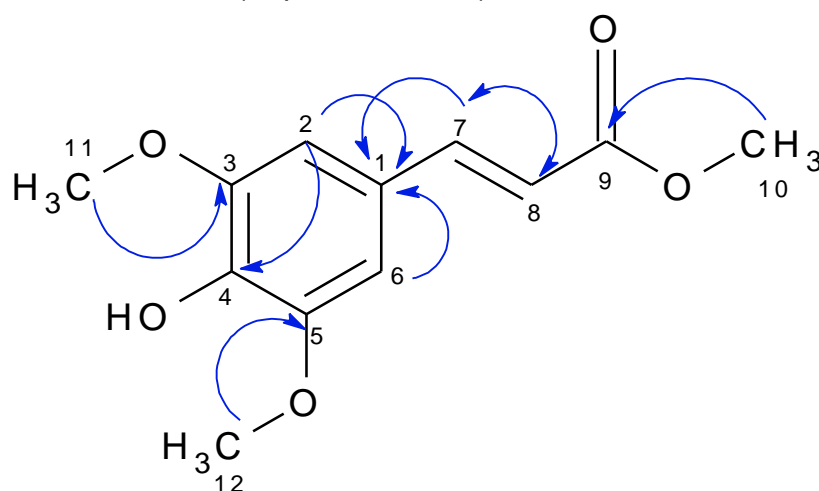



Figura 10 – Principais correlações de HMBC () para o composto PH-01.

Dessa forma o composto PH-01 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 9) e corroborado pelos dados da literatura (DALL'ACQUA *et al.*, 2002), como sendo o (*E*)-4-hidróxi-3,5-dimetóxicinamato de metila, conhecido como sinapato de metila, um derivado do ácido cinâmico.

O composto sinapato de metila já foi isolado da espécie *Raphanus sativus* L., família Cruciferae (DUAN *et al.*, 2006) e da família Rubiaceae já foi isolado da espécie *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. (SILVA, CARVALHO & ALVES, 2008).

Tabela 9 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-01 e sinapato de metila.

Posição	PH-01			Sinapato de metila *	
	HSQC	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)
1	126,0	----	----	126,1	----
2	104,9	6,78; d; 0,5	C-1 / C-3 / C-4 / C-6 / C-7	106,0	6,8; s
3	147,4	----	----	148,1	----
4	137,3	----	----	138,4	----
5	147,4	----	----	148,1	----
6	104,9	6,78; d; 0,5	C-1 / C-2 / C-4 / C-5 / C-7	106,0	6,8; s
7	145,0	7,61; dt; 0,5 e 15,9	C-1 / C-2 / C-6 / C-8 / C-9	145,0	7,61; d; 15,95
8	115,4	6,31; d; 15,9	C-1 / C-7 / C-9	116,0	6,35; d; 15,95
9	167,2	----	----	168,0	----
10 - OCH_3	51,5	3,81; s	C-9	51,0	3,84; s
11 - OCH_3	56,1	3,93; s	C-3	56,1	3,90; s
12 - OCH_3	56,1	3,93; s	C-5	56,1	3,90; s

* ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm)

4.2.2 Composto PH-02

O composto PH-02 (Figura 11) foi isolado do extrato ácido clorofórmico, na forma de um sólido amarelo, p.f. 180-184°C (lit. p.f. 182-184°C, ZHANG, DAI & LIAO, 2011), apresentando no espectro de ultravioleta absorção em 220 nm, 260 nm e 310 nm (Espectro 24).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou absorções referentes à deformação axial de O-H em 3409 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=O de um éster α,β -insaturado cíclico em 1709 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=C aromática em 1453 cm^{-1} e 1508 cm^{-1} , e uma deformação axial da ligação C-O-C de éter arílico, simétrica, em 1264 cm^{-1} e assimétrica em 1139 cm^{-1} (Espectro 25).

Os dados do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm), (Espectro 13) indicaram a presença de dois sinais característicos de hidrogênios vicinais olefínicos, como um dubleto em δ_{H} 6,27 (d, H-3, 1H) e um duplo dubleto em δ_{H} 7,60 (dd, H-4, 1H) (Espectro 14). O sinal de H-4 ($J=9,4$ Hz) apresenta um acoplamento vicinal de configuração *cis* com o hidrogênio H-3 e um outro acoplamento ($J=0,9$ Hz) com o hidrogênio aromático H-5 (δ_{H} 6,92, d, H-5, 1H). Os hidrogênios H-3 e H-4, são característicos de um anel lactônico de uma cumarina, correlacionando com os carbonos no mapa de correlação de HSQC em: δ_{C} 113,3 e δ_{C} 143,1, o qual, H-5 ainda correlaciona-se com o carbono em δ_{C} 103,1 (Espectro 16). Além disso, observa-se outro sinal característico de hidrogênio aromático em: δ_{H} 6,85 (s, H-8) (Espectro 14) e de um grupo metoxila em δ_{H} 3,96 (s, OCH_3) (Espectro 13) os quais correlacionam com os carbonos (HSQC) em: δ_{C} 107,3 e δ_{C} 56,1, respectivamente (Espectro 16 e 17).

A partir dos dados obtidos pelo mapa de correlação de HMBC (Espectro 18) observou-se as correlações dos hidrogênios aromáticos, H-5 com os carbonos quaternários C-6 (δ_{C} 149,4), C-7 (δ_{C} 144,6) e C-10 (δ_{C} 111,7) e de H-8 com os carbonos C-6 (δ_{C} 149,4) e C-9 (δ_{C} 150,7), identificando-se a presença de um anel aromático 6,7,9,10-tetrassubstituído (Espectro 19). Além disso, as correlações dos hidrogênios olefínicos α,β -insaturados, H-3 e

H-4, com a carbonila de éster em C-2 (δ_c 161,1), de H-4 com o carbono CH do tipo sp^2 , C-8 (δ_c 107,3) e H-3 com o carbono quaternário, C-10 (δ_c 111,7), confirma-se a presença de um anel lactônico ligado ao anel aromático em C-9 e C-10 (Espectro 19). Além do mais, observou-se a posição da metoxila no anel aromático pela correlação dessa com o carbono quaternário C-7 (δ_c 144,6) (Espectro 20).

Desse modo, através do mapa de correlação espacial NOESY (Espectro 21) identificou-se as seguintes correlações: H-4 / H-3, H-8 / OCH₃, H-3 / H-4 e OCH₃ / H-8, os quais permitiram confirmar a presença da metoxila na posição C-7 e a hidroxila em C-6 no anel aromático (Espectro 22 e 23).

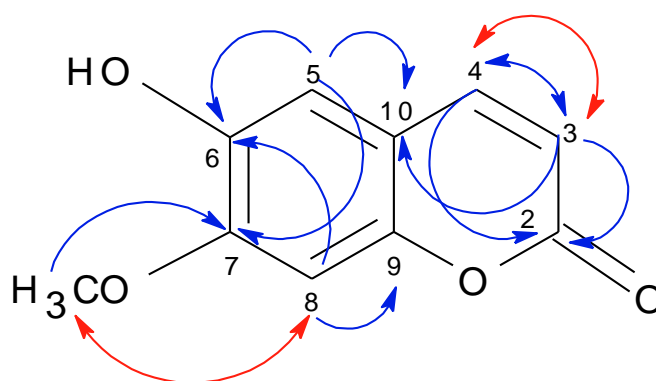




Figura 11 – Principais correlações de HMBC () e NOESY () para o composto PH-02.

Dessa forma o composto PH-02 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 10) e corroborado pelos dados da literatura (ZHANG, DAI & LIAO, 2011), como sendo o 6-hidróxi-7-metoxicumarina, conhecido como isoescopoletina.

O composto isoescopoletina já foi isolado da espécie *Saussurea eopygmae* Hand.-Mazz., família Compositae (ZHANG, DAI & LIAO, 2011) e da família Rubiaceae já foi isolado da espécie *Palicourea demissa* Standl. (EL SEEDI, 1999).

Tabela 10 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-02 e isoescopoletina.

Posição	PH-02			Isoescopoletina* (ZHANG, DAI & LIAO, 2011)	
	HSQC	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)
2	161,1	-----	-----	161,3	----
3	113,3	6,27; d; 9,4	C-2 / C-10	113,4	6,21; d; 9,5
4	143,1	7,60; dd; 0,9 e 9,4	C-2 / C-9	143,2	7,83; d; 9,5
5	103,1	6,92; d; 0,9	C-6 / C-7 / C-9 / C-10	103,1	7,05; s
6	149,4	-----	-----	149,6	-----
7	144,6	-----	-----	143,9	-----
8	107,3	6,85; s	C-4 / C-6 / C-7 / C-9	107,5	6,94; s
9	150,7	-----	-----	150,2	-----
10	111,7	-----	-----	111,5	----
OCH₃	56,1	3,96; s	C-7	56,4	3,97; s

* ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm)

4.2.3 Composto PH-03

O composto PH-03 (Figura 12) foi isolado na forma de um sólido amarelo, p.f. 230-233°C (lit. p.f. 234-237°C, HAMZAH *et al.*, 1994), do extrato básico clorofórmico, apresentando no espectro de ultravioleta absorções em 230 nm e 320 nm (Espectro 35).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou absorções referentes à deformação axial de N-H de uma amina secundária, em 3364 cm^{-1} , deformação axial da ligação C-H do tipo sp^2 em 2968 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=C de aromático em 1443 cm^{-1} e 1537 cm^{-1} , deformação angular de N-H em 1634 cm^{-1} e a deformação axial da ligação C-N (amina aromática) em 1370 cm^{-1} (Espectro 36).

Através dos dados do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm) (Espectro 26) observou-se sinais característicos de um anel aromático *orto*-dissubstituído em δ_{H} 8,11 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,1 Hz e 8,0 Hz, H-9, 1H), δ_{H} 7,29 (ddd, $J=2,2$ Hz e 6,0 Hz e 8,0 Hz, H-10, 1H) e δ_{H} 7,51-7,58 (m, H-11 e H-12, 2H) (Espectro 27 e 28), correlacionados com os carbonos em: δ_{C} 121,9, δ_{C} 120,4, δ_{C} 128,5 e δ_{C} 111,8 no mapa de correlação de HSQC, respectivamente (Espectro 30). Os dois dubletos atribuídos em δ_{H} 8,34 (d, H-5, 1H) e δ_{H} 7,82 (d, H-6, 1H) (Espectro 27 e 28), cuja constante de acoplamento é de 5,2 Hz, refere-se ao acoplamento vicinal entre os hidrogênios H-5 e H-6 da unidade pirdínica, os quais correlacionam com os carbonos δ_{C} 138,7 e δ_{C} 113,2, no mapa de correlação de HSQC, respectivamente (Espectro 30). O sinal mais desblindado em δ_{H} 8,66 (sl, H-1, 1H) (Espectro 27) é característico do hidrogênio de uma ligação N-H de anéis indólicos, enquanto um singlete em δ_{H} 2,83 (s, H-3', 3H), sinal mais blindado do espectro, é referente à metila ligada a um anel aromático, correlacionando-se com o carbono δ_{C} 20,4 no mapa de correlação de HSQC (Espectro 31).

A partir dos dados de HMBC (Espectro 32) observou-se as correlações dos hidrogênios aromáticos, H-9 com os carbonos quaternários do anel indólico C-8 (δ_{C} 122,1) e C-13 (δ_{C} 140,3), H-10 com os carbonos CH

do tipo sp^2 , C-8 (δ_c 122,1) e C-12 (δ_c 111,8) e de H-11 e H-12 com os carbonos, C-9 (δ_c 121,9) e C-10 (δ_c 120,4), respectivamente e ambos com o carbono quaternário C-13 (δ_c 140,3), confirmando-se a ausência de substituintes nas posições C-9, C-10, C-11 e C-12 (Espectro 33).

Por outro lado, o hidrogênio aromático, H-5 correlaciona-se com o carbono CH do tipo sp^2 C-6 (δ_c 113,2) e com o carbono quaternário C-3 (δ_c 141,8), identificando-se a presença de um anel piridínico. Além disso, H-6 correlaciona-se com os carbonos quaternários C-7 (δ_c 128,6), C-8 (δ_c 122,1) e C-2 (δ_c 134,7), confirmando-se a ligação do anel piridínico aos carbonos quaternários, C-7 e C-2, do anel indólico (Espectro 33). E por fim, ainda observa-se a correlação dos hidrogênios da metila com os carbonos quaternários C-3 (δ_c 141,8) e C-2 (δ_c 134,7), sugerindo a ligação da metila ao anel piridínico em C-3 (Espectro 34).

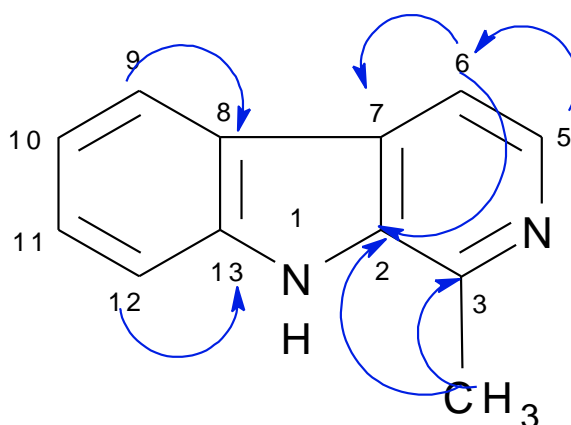


Figura 12 – Principais correlações de HMBC () para o composto PH-03.

No espectro de ESI(+) FT-ICR MS (Espectro 37) do composto PH-03, nota-se o íon m/z 217.0513 detectado no espectro como $[M+Cl]^+$ correspondente a fórmula molecular $[C_{12}H_{10}N_2 + Cl]^+$. Esse íon é identificado na forma protonada, no anel piridínico, com a presença de um íon cloreto.

Os espectros de ESI(+) MS/MS dos íons m/z 217.05 e m/z 182.08 (Espectro 38 e 39) ilustram perdas características que corroboram para a proposição do composto PH-03. Desse modo, identifica-se o íon m/z 182.0827 detectado no espectro como $[M]^+$ (Espectro 38) correspondente a fórmula molecular $[C_{12}H_{10}N_2]^+$ (massa molecular calculada: m/z 182.0833 e com erro de 3,2 ppm), referente ao composto 1-metil- β -carbolínico.

Na Figura 13 observa-se a proposta de fragmentação para o íon m/z 182.08 referente à perda do átomo de cloro do íon m/z 217.05, por uma clivagem homolítica. Desse modo, ainda propõe-se um rearranjo no anel piridínico do íon m/z 182.08 seguido por clivagens homolíticas, o qual observa-se a perda do fragmento HCN e a formação do íon m/z 155.08.

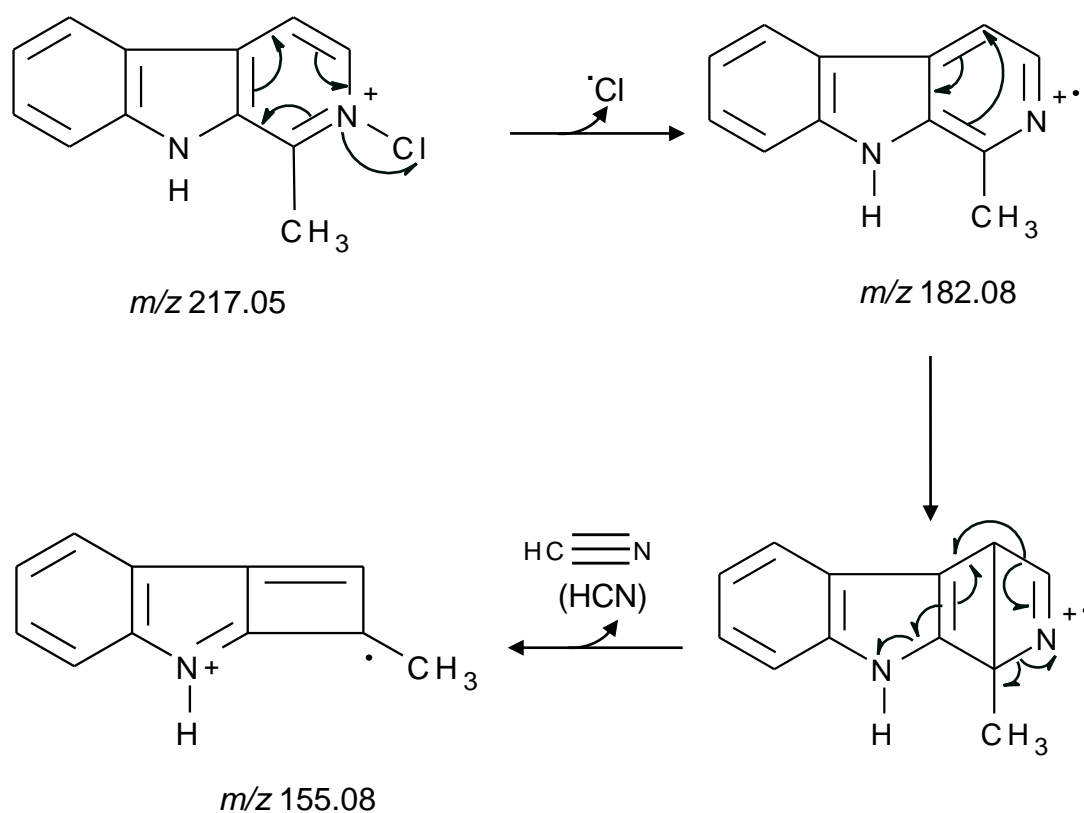


Figura 13 – Proposta de fragmentação do composto PH-03.

Dessa forma o composto PH-03 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 11) e corroborado pelos dados da literatura (SEKI, HASHIMOTO & HINO, 1993), como sendo o alcaloide 1-metil- β -carbolínico, conhecido como harmano.

O alcaloide harmano já foi isolado na família Passifloraceae, nas espécies *Passiflora alba* Link & Otto, *P. incarnata* L. e entre outras, na família Rubiaceae, nas espécies: *Nauclea diderrichii* (De Wild.) Merr., *Ophiorrhiza japonica* Blume, *Uncaria attenuata* Korth. No gênero *Psychotria* já foi isolado da espécie *P. dewevrei* De Wild. e *P. viridiflora* Zoll. ex Miq. (ALLEN & HOLMSTEDT, 1980).

Tabela 11 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-03 e harmano.

Posição	PH-03			Harmano* (SEKI, HASHIMOTO & HINO, 1993)	
	HSQC	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)
1	----	8,66; sl	----	----	8,62; s
2	134,7	----	----	134,6	----
3	141,8	----	----	141,8	----
5	138,7	8,34; d; 5,2	C-3 / C-6 / C-7	138,8	8,37; d; 5,2
6	113,2	7,82; d; 5,2	C-2 / C-5 / C-7 / C-8	112,9	7,83; d; 5,5
7	128,6	----	----	128,3	----
8	122,1	----	----	122,1	----
9	121,9	8,11; ddd; 0,9 e 1,1 e 8,0	C-8 / C-11 / C-13	121,8	8,12; d; 8,0
10	120,4	7,29; ddd; 2,2 e 6,0 e 8,0	C-8 / C-12	120,2	7,29; td; 6,9 e 2,2
11	128,5	7,51 - 7,58; m	C-9 / C-10 / C-13	128,2	7,54; m
12	111,8	7,51 - 7,58; m	C-10 / C-13	111,5	7,54; m
13	140,3	----	----	140,1	----
CH ₃	20,4	2,83; s	C-2 / C-3	20,3	2,84; s

* ^1H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm)

4.2.4. Composto PH-04

O composto PH-04 (Figura 14) foi isolado do extrato básico clorofórmico, na forma de um sólido amarelo, p.f. 218-220°C (lit. p.f. 216-218°C, KHUZHAEV, 2004), apresentando no espectro de ultravioleta absorção em 220 nm (Espectro 52).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou absorções referentes à deformação axial de N-H de uma amina secundária em 3229 cm^{-1} , deformação axial da ligação C-H do tipo sp^2 e sp^3 em 2937 cm^{-1} e 2859 cm^{-1} , respectivamente, deformação axial da ligação C=C de aromático em 1454 cm^{-1} , deformação axial da ligação C-N de amina aromática em 1381 cm^{-1} e a deformação axial da ligação C-N de amina alicíclica em 1169 cm^{-1} (Espectro 53).

Os dados do espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$, 500 MHz, δ ppm) (Espectro 40) apresentaram quatro sinais atribuídos a hidrogênios aromáticos em: δ_{H} 7,48 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,2 Hz e 8,0 Hz, H-9, 1H), δ_{H} 7,12 (ddd, $J=1,2$ Hz e 7,0 Hz e 8,0 Hz, H-10, 1H), δ_{H} 7,21 (ddd, $J=1,2$ Hz e 7,0 Hz e 8,0 Hz, H-11, 1H), e δ_{H} 7,38 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,2 Hz e 8,0 Hz, H-12, 1H), característicos de um anel aromático 1,2-dissubstituído (Espectro 41). Por outro lado, foram observados um singlete largo em δ_{H} 4,37 (H-3, 2H) (Espectro 42) referente a uma unidade metilênica ligada a heteroátomo e dois tripletos em δ_{H} 3,47 (H-5, 2H) e δ_{H} 3,13 (H-6, 2H), cuja constante de acoplamento de 6,1 Hz refere-se ao acoplamento vicinal dos hidrogênios metilênicos H-5 e H-6 de um anel piperidínico. Além desses sinais, ainda verificou-se a presença de um singlete em δ_{H} 2,94 (s, N- CH_3 , 3H), característico de uma metila ligada diretamente a um heteroátomo (Espectro 43).

Os dados do espectro de RMN de ^1H sugeriram a presença um anel indólico sem substituintes em C-9, C-10, C-11 e C-12, o qual foi argumentado pelas correlações de HMBC (Espectro 48) dos hidrogênios: H-9 com os carbonos C-7 (δ_{C} 105,0), C-11 (δ_{C} 122,5) e C-13 (δ_{C} 137,5), H-11 com o carbono CH do tipo sp^2 C-9 (δ_{C} 117,9) e com o carbono quaternário C-

13 (δ_c 137,5) e de H-10 e H-12, ambos, com o carbono quaternário C-8 (δ_c 126,6) e com os carbonos CH do tipo sp^2 C-12 (δ_c 111,4) e C-10 (δ_c 119,7), respectivamente (Espectro 49).

Por outro lado, o anel piperidínico também foi construído pelas correlações (HMBC) do hidrogênio H-3 com o carbono quaternário C-2 (δ_c 125,3) (Espectro 50), de H-5 com os carbonos metilênicos C-3 (δ_c 50,7) e C-6 (δ_c 18,5) e de H-6 com os carbonos quaternários C-7 (δ_c 105,0) e C-2 (δ_c 125,3), confirmando-se a ligação do anel piperidínico ao anel indólico, em C-7 e C-2, ou seja, a presença de um sistema tetrahydro- β -carbolina. Além disso, foi possível identificar a correlação (HMBC) de H-5 com o carbono N-CH₃ (δ_c 41,7) e dos hidrogênios metílicos com o carbono metilênico C-3 (δ_c 50,7), sugerindo a ligação da metila ao nitrogênio no anel piperidínico do sistema tetrahydro- β -carbolina (Espectro 51).

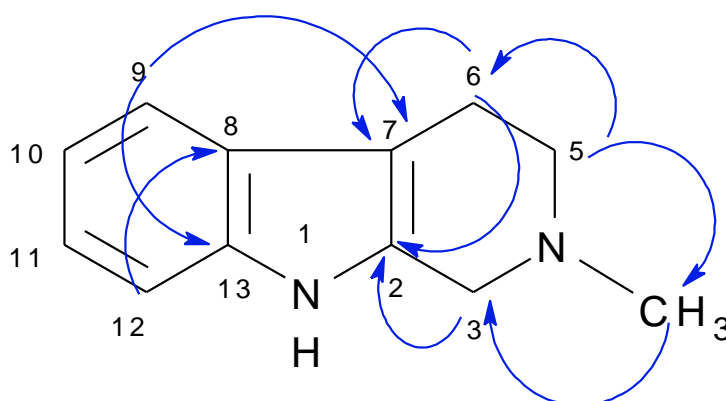


Figura 14 – Principais correlações de HMBC () para o composto PH-04.

No espectro de ESI(+) FT-ICR MS (Espectro 54) do composto PH-04, nota-se o íon de m/z 187.1230 detectado no espectro como $[M+H]^+$, correspondente a fórmula molecular $[C_{12}H_{14}N_2 + H]^+$ (massa molecular calculada: m/z 187.1229 e com erro de 0,53 ppm).

O composto PH-04 é identificado na forma protonada no anel piperidínico. Desse modo, o espectro de ESI(+) MS/MS do íon m/z 187.12 (Espectro 55) ilustra perdas características que corroboram para a proposição do composto N-metil-1,2,3,4-tetrahidro- β -carbolina.

Na Figura 15 é mostrada a proposta de fragmentação para os principais íons, m/z 158.08 e m/z 144.08, referentes à perda dos fragmentos CH_3N e C_2H_5N , respectivamente, obtidos, em certos casos, pela migração de hidrogênio e pela ruptura das ligações (FERREIRA, 1971; GRIBBLE & NELSON, 1974)

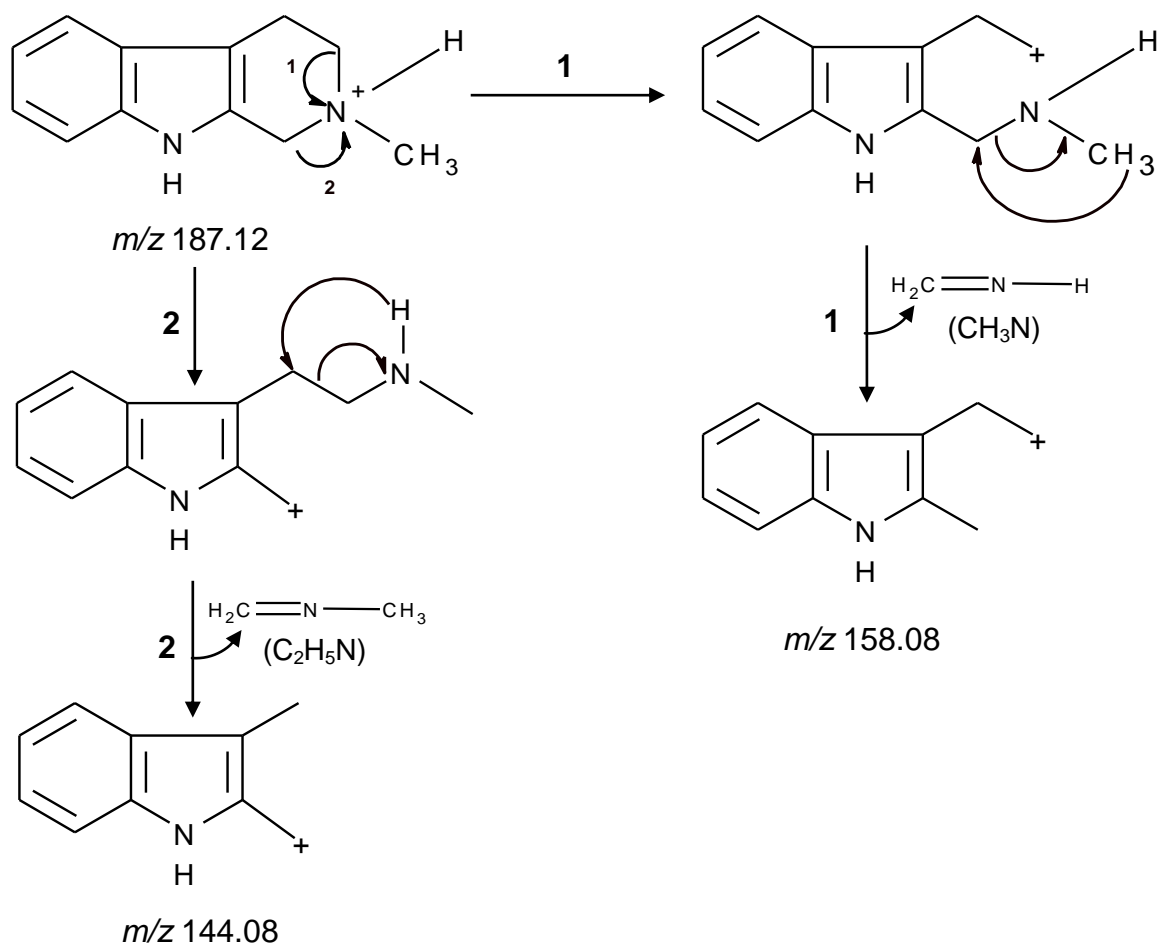


Figura 15 – Proposta de fragmentação do composto PH-04 (FERREIRA, 1971; GRIBBLE & NELSON, 1974).

Dessa forma o composto PH-04 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 12) e corroborado pelos dados da literatura (EI-SHAZLY & WINK, 2003), como sendo o alcaloide N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina.

O alcaloide N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina foi isolado da espécie *Haloxylon articulatum* Bunge, família Chenopodiaceae (EI-SHAZLY & WINK, 2003). No gênero *Psychotria*, os estudos das folhas de *P. viridis* Ruiz & Pav. e *P. carthaginensis* Jacq. mostraram traços desse alcaloide (RIVIER & LINDGREN, 1972).

Tabela 12 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-04 e N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina.

Posição	PH-04			N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina* (EI-SHAZLY & WINK, 2003)		
	HSQC	δ_{H} : (ppm) multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} : (ppm) multiplicidade; J (Hz)	
2	125,3	-----	-----	132,3	-----	
3	50,7	4,37; sl	C-2	54,1	2,84; s	
5	51,3	3,47; t; 6,1	C-3 / C-6 / C-7 / N-CH ₃	53,2	3,66; m	
6	18,5	3,13; t; 6,1	C-2 / C-5 / C-7	22,2	2,84; m	
7	105,0	-----	-----	107,6	-----	
8	126,6	-----	-----	128,2	-----	
9	117,9	7,48; ddd; 0,9 e 1,2 e 8,0	C-7 / C-11 / C-13	118,5	7,37; m	
10	119,7	7,12; ddd; 1,2 e 7,0 e 8,0	C-8 / C-12	119,7	6,96; d; 7,6	
11	122,5	7,21; ddd; 1,2 e 7,0 e 8,0	C-9 / C-13	122,0	7,03; m	
12	111,4	7,38; ddd; 0,9 e 1,2 e 8,0	C-8 / C-10	111,8	7,25; d; 7,9	
13	137,5	-----	-----	138,0	-----	
N-CH₃	41,7	2,94; s	C-3 / C-5	45,6	2,51; s	

* ^1H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm)

4.2.5. Composto PH-05

No extrato básico clorofórmico foi isolado o composto PH-05 (Figura 16) na forma de um sólido amarelo, p.f. 89-91°C (lit. p.f. 86-87°C, FITZGERALD & SIOUMIS, 1965), apresentando no espectro de ultravioleta absorções em 240 nm e 310 nm (Espectro 65).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou absorções referentes à deformação axial de N-H de uma amina secundária em 3228 cm^{-1} , deformação axial da ligação C-H do tipo sp^2 e sp^3 em 2927 cm^{-1} e 2863 cm^{-1} , respectivamente, e a deformação angular de N-H em 1621 cm^{-1} (Espectro 66).

De acordo com os dados do espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$, 500 MHz, δ ppm) (Espectro 56) foram observados quatro sinais atribuídos a hidrogênios aromáticos em: δ_{H} 7,58 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,1 Hz e 8,0 Hz, H-4, 1H), δ_{H} 7,05 (ddd, $J=1,1$ Hz, 7,1 Hz e 8,0 Hz, H-5, 1H), δ_{H} 7,13 (ddd, $J=1,1$ Hz, 7,1 Hz e 8,0 Hz, H-6, 1H), δ_{H} 7,37 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,1 Hz e 8,0 Hz, H-7, 1H), característicos de um anel aromático *orto*-dissubstituído. Além desses sinais, observou-se um singlete também na região aromática em δ_{H} 7,19 (s, H-2, 1H), referente ao restante do anel indólico (Espectro 57). Por outro lado, ainda identificaram-se sinais de hidrogênios ligados a heteroátomos como um singlete referente a uma metila em δ_{H} 2,69 (N- CH_3 , 3H) e dois grupos metilênicos em: δ_{H} 3,28-3,34 (m, H-2', 2H) e δ_{H} 3,15 (t, $J=7,1$ Hz, H-1', 2H), com $J=7,1$ Hz, de um acoplamento vicinal com H-2' (Espectro 58).

O mapa de correlação de HSQC (Espectro 59) mostrou as correlações dos hidrogênios com os seus respectivos carbonos, onde observou-se a presença de cinco carbonos CH do tipo sp^2 em: δ_{C} 117,9 (C-4), δ_{C} 118,0 (C-5), δ_{C} 121,8 (C-6), δ_{C} 111,4 (C-7), δ_{C} 122,6 (C-2) (Espectro 60), dois carbonos metilênicos, δ_{C} 22,5 (C-1'), δ_{C} 49,5 (C-2') e um carbono metílico, δ_{C} 32,5 (N- CH_3) (Espectro 61).

A partir dos dados obtidos pelo mapa de correlação de HMBC (Espectro 62) identificou-se a presença de três carbonos quaternários pelas correlações dos hidrogênios: H-4 com os carbonos quaternários do anel

indólico, C-3a (δ_c 126,8), C-3 (δ_c 108,1) e C-7a (δ_c 137,2) e de H-5, H-6 e H-7 com os carbonos CH do tipo sp^2 C-7 (δ_c 111,4), C-4 (δ_c 117,9) e C-5 (δ_c 118,0), respectivamente (Espectro 63). Além do mais, o hidrogênio aromático H-2, correlaciona-se com os três carbonos quaternários do anel indólico, C-3 (δ_c 108,1), C-3a (δ_c 126,8) e C-7a (δ_c 137,2), comprovando assim a presença de um anel indólico monossubstituído (Espectro 63).

Desse modo, com as correlações (HMBC) dos hidrogênios, H-2' com o carbono metilênico C-1', de H-1' com o carbono metínico C-2 e de H-1' e H-2', com os carbonos quaternários C-3 (δ_c 108,1) e C-3a (δ_c 126,8), identifica-se a substituição do anel indólico na posição C-3. Além do mais, ainda observa-se a correlação dos hidrogênios metílicos com o carbono metilênico C-2' (δ_c 49,5), sugerindo a presença da metila ligada ao átomo de nitrogênio (Espectro 64).

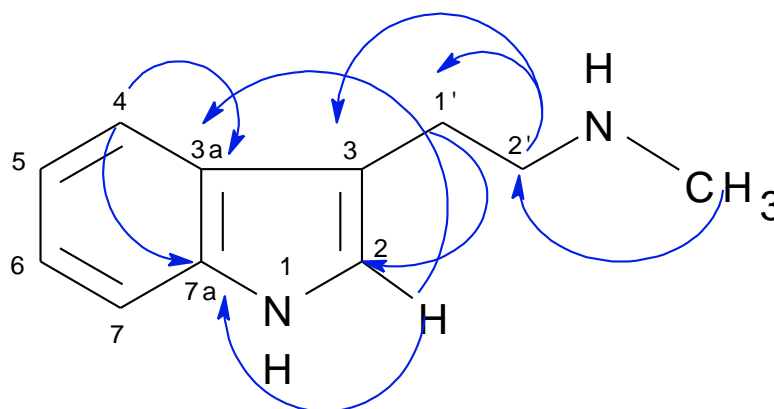


Figura 16 – Principais correlações de HMBC () para o composto PH-05.

Dessa forma o composto PH-05 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 13) e corroborado pelos dados da literatura (BUCHANAN *et al.*, 2007), como sendo o alcaloide N-metiltriptamina.

O alcaloide N-metiltriptamina foi isolado das espécies *Mimosa scabrella* Benth. (MORAES, ALVARENGA & FERREIRA, 1990) e *M. somnians* Humb. & Bonpl. ex Willd. (GUPTA & ARIAS, 1979), família Leguminosae. No gênero *Psychotria*, os estudos das folhas de *P. viridis* Ruiz & Pav. e *P. carthaginensis* Jacq mostraram traços desse alcaloide (RIVIER & LINDGREN, 1972).

Tabela 13 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-05 e N-metiltriptamina.

Posição	PH-05			N-metiltriptamina* (BUCHANAN <i>et al.</i> , 2007)	
	HSQC	δ_{H} (ppm); multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} ; (ppm) multiplicidade; J (Hz)
2	122,6	7,19; s	C-3 / C-3a / C-7a	123,3	7,23; d; 2,4
3	108,1	-----	-----	109,1	-----
3a	126,8	-----	-----	126,7	-----
4	117,9	7,58; ddd; 0,9 e 1,1 e 8,0	C-3 / C-3a / C-6 / C-7a	118,1	7,57; d; 8,0
5	118,0	7,05; ddd; 0,9 e 7,1 e 8,0	C-3a / C-7	118,4	7,01; dt; 1,0 e 8,0
6	121,8	7,13; ddd; 0,9 e 7,1 e 8,0	C-4 / C-7a	121,2	7,10; dt; 1,0 e 8,0
7	111,4	7,37; ddd; 0,9 e 1,1 e 8,0	C-3a / C-5	111,5	7,37; d; 8,0
7a	137,2	-----	-----	136,3	-----
1'	22,5	3,15; t; 7,1	C-2 / C-3 / C-3a / C-2'	21,6	3,03; m
2'	49,5	3,28-3,34; m	C-3 / C-1' / N-CH ₃	48,6	3,18; m
N-CH₃	32,5	2,69; s	C-2'	32,5	2,61; d; 5,5

* ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz, δ ppm)

4.2.6. Composto PH-06

O composto PH-06 (Figura 17) foi isolado do extrato básico clorofórmico na forma de um sólido amarelo, p.f. 162-165°C (lit. p.f. 168-170°C, VEROTTA *et al.*, 2002), apresentando no espectro de ultravioleta absorções em 220 nm e 310 nm (Espectro 78).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou absorções referentes à deformação axial de N-H de uma amina secundária em 3358 cm^{-1} e deformação axial da ligação C-H do tipo sp^2 e sp^3 , respectivamente, em 2916 cm^{-1} e 2846 cm^{-1} (Espectro 79).

Os dados do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 / MeOD, 500 MHz, δ ppm) (Espectro 67) indicaram a presença de quatro sinais atribuídos a hidrogênios aromáticos em: δ_{H} 7,23 (dd, $J=1,3$ Hz e 7,6 Hz, H-4, 1H), δ_{H} 6,75 (td, $J=1,1$ Hz, 7,6 Hz, H-5, 1H), δ_{H} 7,18 (td, $J=1,3$ Hz, 7,6 Hz, H-6, 1H) e δ_{H} 6,67 (dd, $J=1,1$ Hz e 7,6 Hz, H-7 e H-7', 1H), característicos de um anel aromático *orto*-dissubstituído (Espectro 68), correlacionado no mapa de correlação de HSQC com os carbonos em: δ_{C} 124,9, δ_{C} 119,8, δ_{C} 129,9 e δ_{C} 110,5, respectivamente (Espectro 72).

Além desses, no espectro de RMN de ^1H observou-se sinais de hidrogênios diastereotópicos, vizinhos ao estereocentro C-3a, atribuídos aos hidrogênios de H-2, em δ_{H} 2,43-2,53 (m, 1H) e δ_{H} 3,15-3,22 (m, 1H) e aos hidrogênios de H-3, em δ_{H} 2,01-2,03 (m, 1H) e δ_{H} 2,43-2,53 (m, 1H) (Espectro 70). Além do mais, ainda identificou-se sinais de hidrogênios ligados a heteroátomos, como um singlete em δ_{H} 5,52 (s, 2H) referentes ao hidrogênio metínico H-8a e um singlete em δ 2,60 (H-1, 3H) atribuído a uma metila (Espectro 69 e 70).

O mapa de correlação de HSQC (Espectro 71) mostrou as correlações de H-2 e H-3, com os carbonos metilênicos em: δ_{C} 52,4 (C-2) e δ_{C} 33,2 (C-3), respectivamente, além de H-8a com o carbono metínico, em: δ_{C} 84,6 (C-8a) e de H-1 com o carbono metílico em: δ_{C} 33,8 (C-1) (Espectro 73 e 74).

Desse modo, a partir dos dados obtidos pelo mapa de correlação de

HMBC (Espectro 75) pode-se observar a presença de três carbonos quaternários e a ausência de substituintes no anel aromático, pelas correlações dos hidrogênios: H-4 com os carbonos quaternários do anel indólico, C-3a (δ_c 63,6) e C-7a (δ_c 150,5), de H-5 com o carbono quaternário C-3b (δ_c 128,3) e com o carbono CH do tipo sp^2 C-7 (δ_c 110,5) e de H-6 e H-7 com os carbonos CH do tipo sp^2 C-4 (δ_c 124,9) e C-5 (δ_c 119,8), respectivamente (Espectro 76).

Os hidrogênios metilênicos, H-2 e H-3, correlacionam-se com os carbonos C-3 e C-8a, respectivamente, além de ambos, ainda correlacionarem-se com os carbonos quaternários C-3a e C-3b, comprovando-se assim um anel pirrolidínico ligado ao anel indólico, em C-3a e C-8a, ou seja, a presença de um esqueleto pirrolidinoindólicos. Além do mais, os hidrogênios metílicos (δ_H 2,59) correlacionam com o carbono C-2 (δ_c 52,4) do anel pirrolidínico e com C-8a (δ_c 84,6) do anel indólico, sugerindo a presença da metila ligada ao átomo de nitrogênio no anel pirrolidínico (Espectro 77).

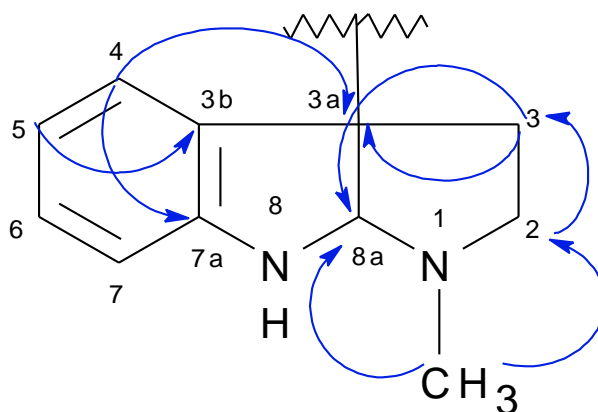


Figura 17 – Principais correlações de HMBC () para o composto PH-06.

No espectro ESI(+) FT-ICR MS (Espectro 80) identificou-se o íon m/z 347.2232 detectado no espectro como $[M+H]^+$, correspondente a fórmula molecular $[C_{22}H_{26}N_4 + H]^+$ (massa molecular calculada: m/z 347.2230 e com o erro de 0,57 ppm), o qual sugere a estrutura de um dímero.

Além disso, no espectro de ESI(+) MS/MS do íon m/z 347.2232 (Espectro 81) observou-se a presença do íon, m/z 173.08 referente à perda do fragmento $C_{11}H_{14}N_2$, devido a clivagem simétrica na ligação entre os dois carbonos quaternários, C-3a e C-3a', o qual confirma-se a presença de um dímero simétrico.

Desse modo, o espectro de ESI(+) MS/MS do íon m/z 347.22 (Espectro 81) também ilustra outras perdas características que corroboram para a proposição do composto quimonantina.

Na Figura 18 observa-se a proposta de fragmentação para os principais íons, m/z 316.17, m/z 173.08, m/z 144.08 e m/z 130.08, referentes à perda dos fragmentos CH_5N , $C_{11}H_{14}N_2$, $C_{12}H_{17}N_3$ e $C_{13}H_{19}N_3$, respectivamente, obtidos, em certos casos, pela migração de hidrogênio e pela ruptura das ligações (JANNIC *et al.*, 1999; HALL, 1960; CLAYTON, REED & WILSON, 1962).

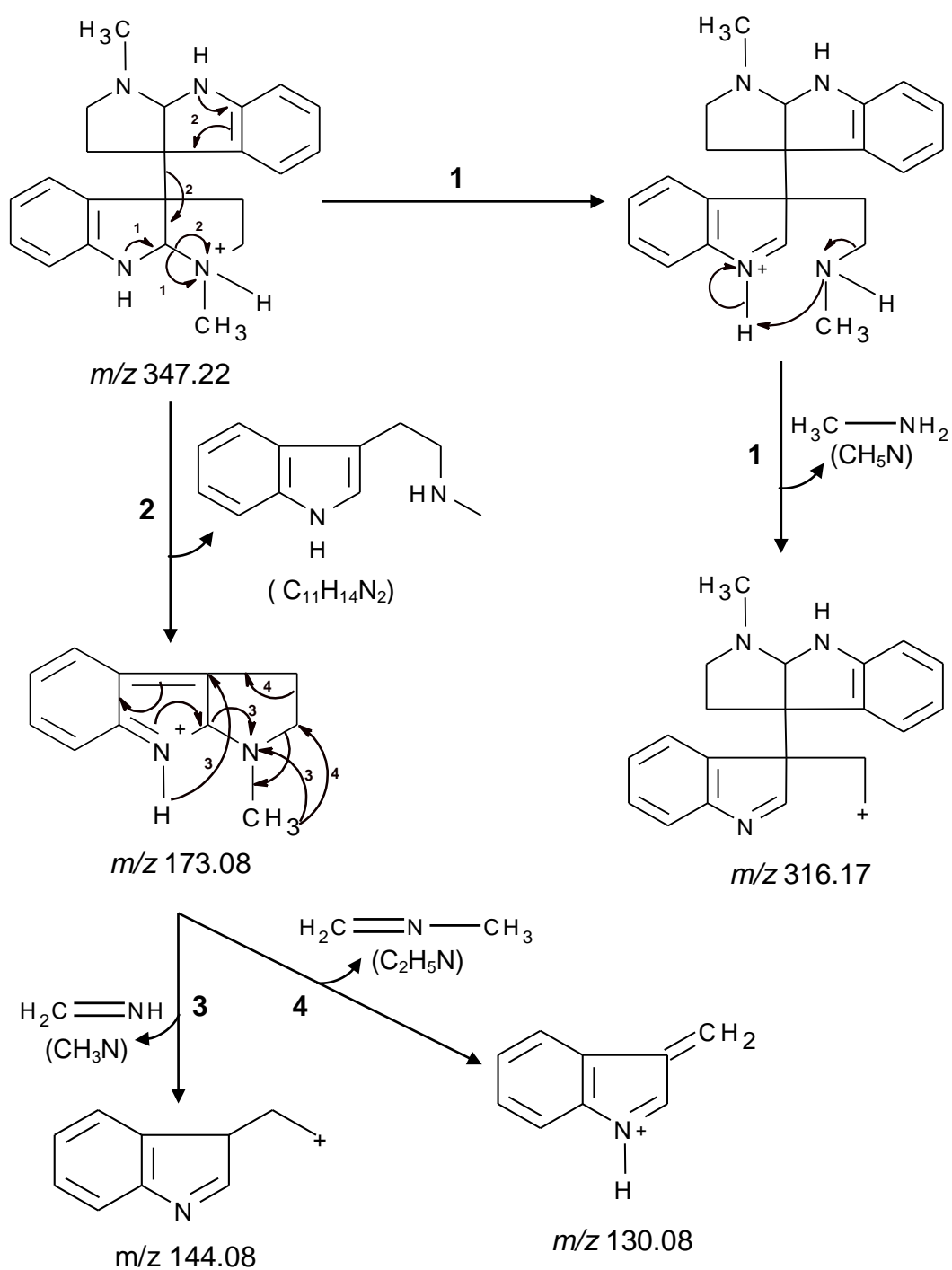


Figura 18 – Proposta de fragmentação do composto PH-06 (JANNIC *et al.*, 1999; HALL, 1960; CLAYTON, REED & WILSON, 1962).

Dessa forma os dados de RMN (Tabela 14) e de ESI-MS do composto PH-06 foram corroborados com os dados da literatura (VEROTTA *et al.*, 2002), sendo identificado como um alcaloide dímérico pirrolindólico, conhecido como quimonantina (Figura 19).

A rotação óptica do alcaloide PH-05 foi: $[\alpha]^{22,2}_D$ 106,79° (c=0.125, EtOH), sendo portanto, o enantiômero, (+)-quimonantina (Figura 19) o qual os dados foram comparados com a literatura em: $[\alpha]^{20}_D$ +264,5° (c=1, EtOH) (VEROTTA *et al.*, 1998).

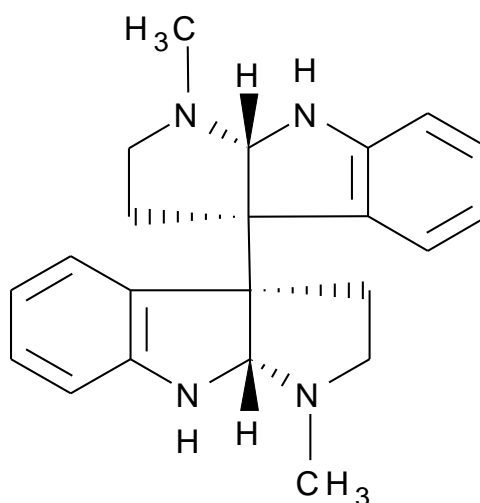


Figura 19 – Composto PH-06, identificado como (+)-quimonantina.

O alcaloide (+)-quimonantina foi isolado da espécie *Chimonanthus praecox* (L.) Link, família Calycanthacea (WANG *et al.*, 2011). No gênero *Psychotria*, já foi isolado das espécies *P. colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. (VEROTTA *et al.*, 1999), *P. forsteriana* A. Gray. (ADJIBADE *et al.*, 1992) e *P. rostrata* (LAJIS, MAHMUD & TOIA, 1993).

Tabela 14 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-06 e (+)-quimonantina.

Posição	PH-06			(+)- quimonantina* (VEROTTA <i>et al.</i> , 2002)	
	HSQC	δ_{H} ; (ppm) multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} ; (ppm) multiplicidade; J (Hz)
2 e 2'	52,4	2,43-2,53; m 3,15-3,22; m	C-3 e C-3' / C-3a e C-3a' -----	53,0	2,59; m
3 e 3'	33,2	2,01-2,03; m 2,43-2,53; m	C-3a e C-3a' / C-8a e C-8a' / C-3b e C-3b' C-2 e C-2' / C-3a e C-3a' / C-3b e C-3b'	35,9	2,12; dt; 12,0 e 6,4 2,58; m
3a e 3a'	63,6	-----	-----	63,7	-----
3b e 3b'	128,3	-----	-----	133,2	-----
4 e 4'	124,9	7,23; dd; 1,3 e 7,6	C-3a e C-3a' / C-6 e C-6' / C-7a e C-7a'	124,9	7,23; d; 7,5
5 e 5'	119,8	6,75; td; 1,1; 7,6 e 7,6	C-7 e C-7' / C-3b e C-3b'	119,1	6,71; t; 7,5
6 e 6'	129,9	7,18; td; 1,3; 7,6 e 7,6	C-4 e C-4' / C-7a e C-7a'	128,5	7,04; t; 7,5
7 e 7'	110,5	6,67; dd; 1,1 e 7,6	C-5 e C-5' / C-3b e C-3b'	109,8	6,59; d; 7,5
7a e 7a'	150,5	-----	-----	150,8	-----
8a e 8a'	84,6	5,52; sl	-----	85,6	4,48; sl
N-CH₃ e N'-CH₃'	33,8	2,60; s	C-2 e C-2' / C-8a e C-8a'	37,4	2,37; s

* ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm)

4.2.7. Composto PH-07

O composto PH-07 (Figura 24) foi isolado na forma de cristais, p.f. 234-237°C (lit. p.f. 238-241°C, HAMZAH *et al.*, 1994), do extrato básico n-butanólico e básico acetato de etila, apresentando no espectro de ultravioleta absorções em 230 nm, 320 nm e 380 nm (Espectro 98).

O espectro de absorção na região do infravermelho mostrou bandas de absorção referentes à: deformação axial de N-H/O-H em 3214 cm^{-1} , deformação axial da ligação C-H do tipo sp^2 e sp^3 em 2927 cm^{-1} e 2847 cm^{-1} , respectivamente, deformação axial da ligação C=O de um ácido carboxílico α,β -insaturado em 1690 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=C do grupo vinil terminal em 1622 cm^{-1} , deformação axial da ligação C=C de aromático em 1454 cm^{-1} e 1543 cm^{-1} e a deformação axial da ligação C-O em 1038 cm^{-1} (Espectro 99).

Nos dados do espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz, δ ppm) (Espectro 82) foram observados quatro sinais atribuídos a hidrogênios aromáticos em: δ_{H} 7,34 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,1 Hz e 8,0 Hz, H-9, 1H), δ_{H} 6,9 (ddd, $J=1,1$ Hz, 7,1 Hz e 8,0 Hz, H-10, 1H), δ_{H} 7,02 (ddd, $J=1,1$ Hz, 7,1 Hz e 8,0 Hz, H-11, 1H) e δ_{H} 7,21 (ddd, $J=0,9$ Hz, 1,1 Hz e 8,0 Hz, H-12, 1H), característicos de um anel aromático orto-dissubstituído de um anel indólico (Espectro 83). Além disso, observou-se sinais de hidrogênios diastereotópicos, vizinhos ao estereocentro N-4, referentes aos hidrogênios, H-5a e H-5b, em δ_{H} 3,61 (dd, $J=2,0$ Hz e 5,4 Hz, 1H) e δ_{H} 3,09 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), e aos hidrogênios, H-6a e H-6b, em δ_{H} 2,93 (ddd, $J=2,0$ Hz e 5,4 Hz e 7,6 Hz, 1H) e δ_{H} 2,84-2,92 (m, 1H) (Espectro 85 e 86), correlacionando no mapa de correlação de HSQC com os carbonos em: δ_{C} 41,7 e δ_{C} 18,3, respectivamente (Espectro 91 e 92). Contudo, ainda observou-se a presença de um duplo dubleto em δ_{H} 4,32 ($J=3,4$ Hz e 12,3 Hz, 1H, H-3) (Espectro 85) correlacionando (HSQC) com o carbono em δ_{C} 50,9, identificando-se um anel piperidínico (Espectro 91).

Desse modo, com as correlações de HMBC caracterizou-se um sistema tetrahydro- β -carbolina (Figura 20) pelas correlações do hidrogênio aromático, H-9 com os carbonos quaternários do anel indólico, C-7 (δ_c 105,7), C-8 (δ_c 126,0) e C-13 (δ_c 136,6) (Espectro 94), além da correlação do hidrogênio metínico H-3 com o carbono quaternário C-2 (δ_c 128,9) (Espectro 95) e dos hidrogênios metilênicos H-5 e H-6, com o carbono quaternário C-7 (δ_c 105,7) e o carbono metínico C-3 (δ_c 50,9), respectivamente (Espectro 96).

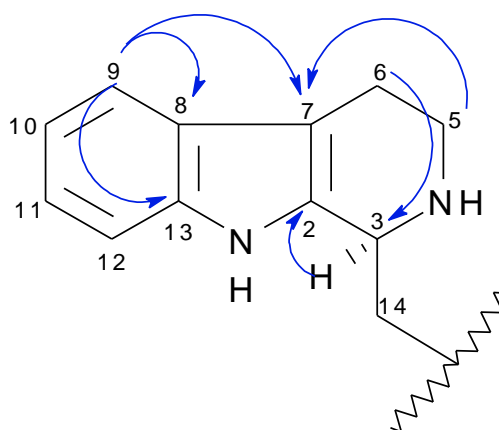



Figura 20 – Principais correlações de HMBC () para o sistema tetrahydro- β -carbolina do composto PH-07.

Por outro lado, o espectro de RMN de ^1H mostrou um singlete na região olefínica em δ_H 7,47 (s, H-17, 1H) (Espectro 83) correlacionando, no mapa de correlação de HSQC com um carbono em δ_c 152,0 (Espectro 89), e com um carbono carbonílico de ácido, em δ_c 174,5 (C-22), no mapa de correlação de HMBC (Espectro 94). Tais dados são característicos de uma unidade secologanina o qual pode ser confirmada a partir das correlações (HMBC) (Figura 21) dos hidrogênios diastereotópicos do grupo vinílico terminal H-18a (δ_H 5,21, ddd, $J=0,9$ Hz, 1,6 Hz e 17,4 Hz, trans, 1H) e H-18b (δ_H 5,1, ddd, $J=0,9$ Hz, 1,6 Hz e 10,7 Hz, cis, 1H), com os carbonos metínicos, C-19 (δ_c 134,9) e C-20 (δ_c 44,3), além do hidrogênio olefínico H-19, em δ_H 5,75 (ddd, $J=8,0$ Hz e 10,7 Hz e 17,4, 1H) com o carbono metínico C-21 (δ_c 95,1) e dos hidrogênios metínicos, H-21 (δ_H 5,72, d, $J=9,4$ Hz, 1H), H-20 (δ_H 2,60, ddd, $J=4,7$ Hz e 8,0 Hz e 9,4 Hz, 1H) e H-15 (δ_H 2,88, ddd, $J=4,3$ Hz, 4,7 Hz e 12,7 Hz, 1H) com os carbonos C-15 (δ_c 32,9), C-18 (δ_c

117,7) e C-16 (δ_c 112,0), respectivamente (Espectro 95, 96 e 97).

A posição da unidade secologanina se dá pela correlação (HMBC) dos hidrogênios diastereotópicos, H-14a (δ_H 2,26, ddd, $J=3,4$ Hz, 12,7 Hz e 14,0 Hz, 1H) e H-14b (δ_H 2,02, ddd, $J=4,3$ Hz, 12,3 Hz e 14,0 Hz, 1H), com o carbono metínico C-3 (δ_c 50,9) do anel tetrahydro- β -carbolina (Espectro 97).

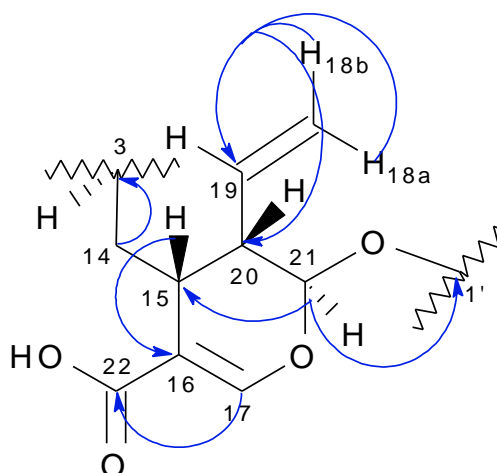



Figura 21 – Principais correlações de HMBC () para o anel secologanina de PH-07.

Além do mais, observou-se um hidrogênio anomérico em δ_H 4,73 (d, $J=7,8$ Hz, H-1', 1H) (Espectro 84) característico de uma unidade de açúcar, o qual correlaciona com o carbono em δ_c 99,0 (Espectro 90), no mapa de correlação de HSQC e com um carbono em C-21 (δ_c 95,1) do anel secologanina, no mapa de correlação de HMBC (Espectro 95), confirmando a posição da unidade glicosídica.

Além desses, foram observados sinais de hidrogênios diastereotópicos, H-6a' e H-6b', em δ_H 3,91 (dd, $J=2,2$ Hz e 11,8 Hz, H-6', 1H) e δ_H 3,58 (dd, $J=6,8$ Hz e 11,8 Hz, H-6', 1H) e quatro sinais de hidrogênios metínicos em: δ_H 3,13 (dd, $J=7,8$ Hz e 9,0 Hz, H-2', 1H), δ_H 3,33 (t, $J=9,0$ Hz, H-3', 1H), δ_H 3,15 (dd, $J=9,0$ Hz e 9,6 Hz, H-4', 1H) e δ_H 3,30 (td, $J=6,8$ Hz e 9,6 Hz, H-5', 1H) (Espectro 85 e 86), correlacionando (HSQC) com os carbonos em: δ_c 61,7, δ_c 73,4, δ_c 76,8, δ_c 70,2 e δ_c 77,3, respectivamente, o qual caracterizam uma unidade de glicose (Espectro 90 e 91).

Desse modo, a configuração relativa do composto PH-07 (Figura 22) foi estabelecida a partir dos valores das constantes de acoplamento dos hidrogênios relacionados na Tabela 15.

Tabela 15 – Constante de Acoplamento dos hidrogênios, H-3, H-14, H-15, H-19, H-20 e H-21, H-19 e H-18.

Hidrogênios	Valor da Constante de Acoplamento (J)	Tipo de Acoplamento (Pseudo)
H-3 / H-14b	12,3 Hz	Axial-Axial
H-3 / H-14a	3,4 Hz	Axial-Equatorial
H-15 / H-14b	4,3 Hz	Axial-Equatorial
H-15 / H-20	4,7 Hz	Axial-Equatorial
H-20 / H-21	9,4 Hz	Axial-Axial
H-19 / H-18b	10,7 Hz	<i>Cis</i>
H-19 / H-18a	17,4 Hz	<i>Trans</i>
H-1' / H-2'	7,8 Hz	Axial-Axial
H-2' / H-3'	9,0 Hz	Axial-Axial
H-3' / H-4'	9,0 Hz	Axial-Axial
H-4' / H-5'	9,6 Hz	Axial-Axial

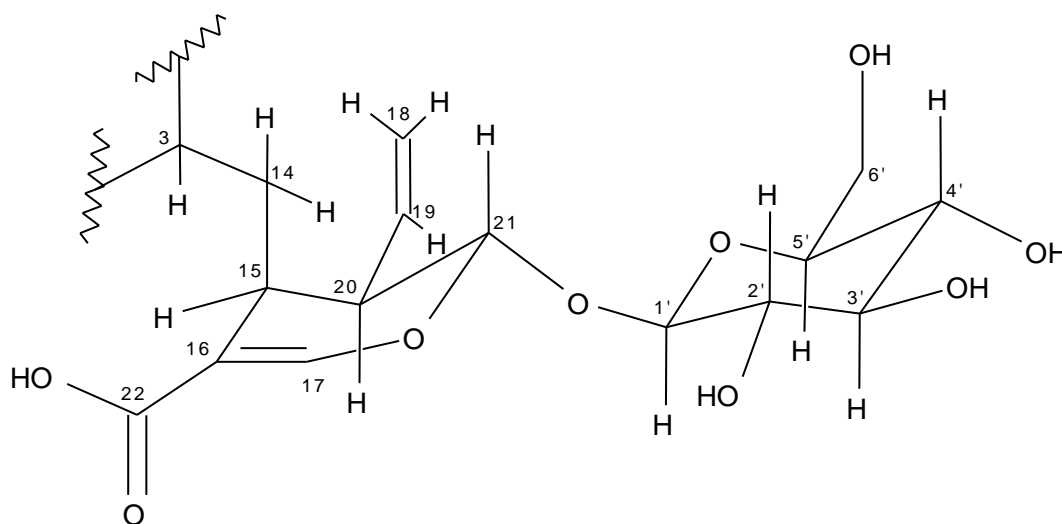


Figura 22 – Configuração relativa do composto PH-07, ácido strictosidínico.

Os hidrogênios H-1' e H-2' apresentam constante de acoplamento de 7,8 Hz, o qual evidencia a configuração axial-axial desses hidrogênios, confirmando a presença de uma β -glicose ligada ao anel secologanina.

Os acoplamentos dos hidrogênios H-3 e H-14b, axial-axial e de H-3 e H-14a, axial-equatorial, diferenciam o composto PH-07, ácido strictosidínico, de seu epímero, o ácido 3-epi-strictosidínico (Figura 23).

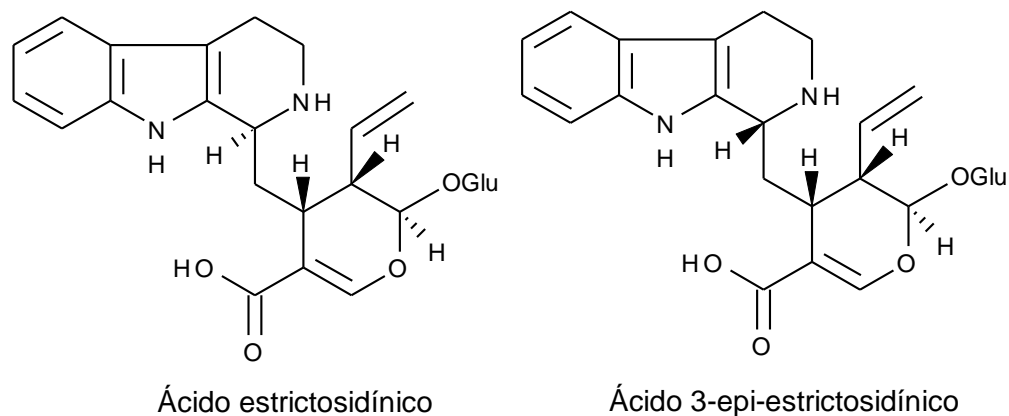


Figura 23 – Configuração relativa do ácido strictosidínico e do ácido 3-epi-strictosidínico.

Além do mais, os dados de rotação óptica para o alcaloide PH-07 foi: $[\alpha]^{20,9}_D -136,23^\circ$ ($c=0.1$, MeOH), comparado com o dado da literatura em: $[\alpha]^{25}_D -143,14^\circ$ ($c=0.1$, MeOH) (FARIAS, 2006), confirmando o isômero ácido strictosidínico (Figura 24).

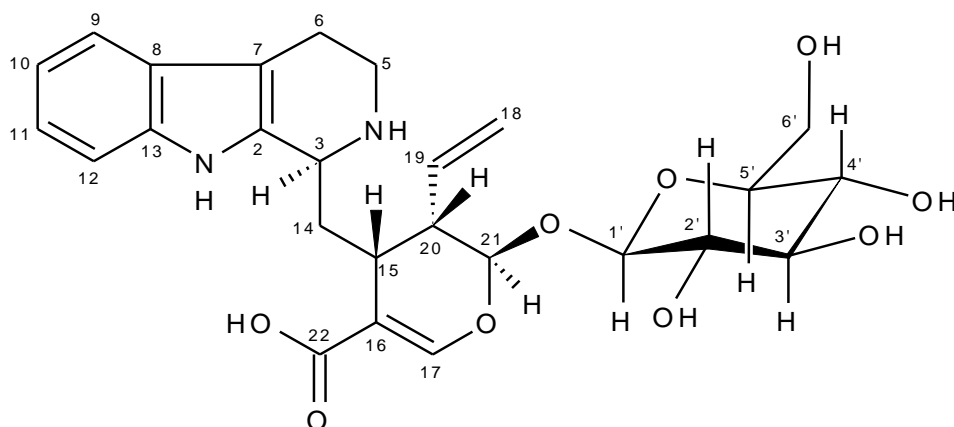


Figura 24 – Composto PH-07, ácido strictosidínico.

No espectro de ESI(+) FT-ICR MS (Espectro 100) do composto PH-07, nota-se o íon de m/z 515.2023 detectado no espectro como $[M-H]^-$, correspondente a fórmula molecular $[C_{26}H_{32}N_2O_9 - H]^-$ (massa molecular calculada: m/z 515.2035 e com erro de 2,32 ppm).

O composto PH-07 é identificado na forma desprotonada na carbonila do anel secologanina. Desse modo, o espectro de ESI(+) MS/MS do íon m/z 515.20 (Espectro 101) ilustra perdas características que corroboram para a proposição do composto ácido strictosidínico.

Na Figura 25 é mostrada a proposta de fragmentação para os principais íons, m/z 471.25, m/z 353.17, m/z 309.17, m/z 265.08 e m/z 185.08, referentes à perda dos fragmentos CO_2 , $C_6H_{10}O_5$ (glicose), CO_2 e $C_{14}H_{18}O_9$, respectivamente, obtidos, em certos casos, pela migração de hidrogênio e pela ruptura das ligações (BASTOS *et al.*, 2002).

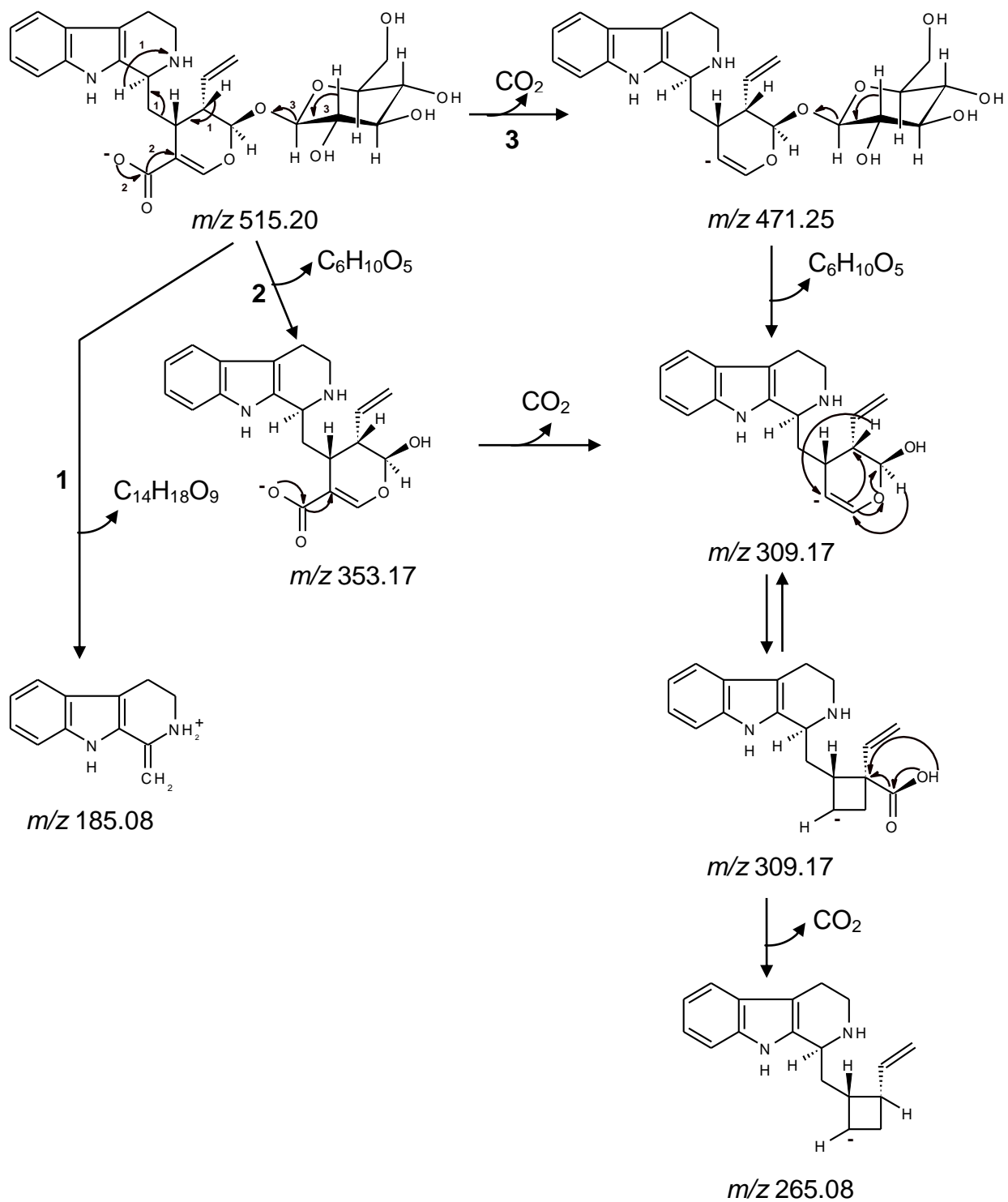


Figura 25 – Proposta de fragmentação do composto PH-07 (BASTOS *et al.*, 2002).

Dessa forma o composto PH-07 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 16 e 17) e corroborado pelos dados da literatura (ARBAIN, PUTRA & SARGENT, 1993), como sendo um alcaloide indólico monoterpênico glicosilado, conhecido como ácido strictosidínico.

O ácido strictosidínico já foi isolado na família Rubiaceae, no gênero *Ophiorrhiza*, nas espécies *O. communis* Ridl., *O. tomentosa* Jack ex Roxb (HAMZAH *et al.*, 1994) e *O. filistipula* Miq. (ARBAIN, PUTRA & SARGENT, 1993), no gênero *Chimarrhis*, na espécie *C. turbinata* DC. (CARDOSO *et al.*, 2004) e no gênero *Psychotria*, na espécie *P. myriantha* Müll. Arg. (FARIAS, 2006).

Tabela 16 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) de PH-07.

Posição	PH-07		
	HSQC	δ_{H} ; (ppm) multiplicidade; J (Hz)	HMBC
2	128,9	----	----
3	50,9	4,32; dd; 3,4 e 12,3	C-2 / C-7 / C-14
5a	41,7	3,61; dd; 2,0 e 5,4	C-3 / C-6 / C-7
5b		3,09; d; 5,4	
6a	18,3	2,93; ddd; 2,0; 5,4 e 7,6	C-2 / C-5 / C-7
6b		2,84-2,92; m	
7	105,7	----	----
8	126,0	----	----
9	117,6	7,34; ddd; 0,9, 1,1 e 8,0	C-7 / C-11 / C-13 / C-8
10	119,1	6,9; ddd; 1,1; 7,1; 8,0	C-12 / C-8
11	122,0	7,02; ddd; 1,1; 7,1 e 8,0	C-12 / C-9 / C-13
12	110,9	7,21; ddd; 0,9, 1,1 e 8,0	C-10 / C-8
13	136,6	----	----
14a	33,7	2,26; ddd; 3,4; 12,7 e 14,0	C-3 / C-15
14b		2,02; ddd; 4,3; 12,3 e 14,0	
15	32,9	2,88; ddd; 4,3; 4,7 e 12,7	C-14 / C-16 / C-17 / C-21 / C-20 / C-22
16	112,0	----	----
17	152,0	7,47; s	C-15 / C-16 / C-21 / C-22
18a	117,7	5,21; ddd; 0,9, 1,6 e 17,4	C-19 / C-20
18b		5,1; ddd; 0,9, 1,6 e 10,7	
19	134,9	5,75; ddd; 8,0; 10,7 e 17,4	C-15 / C-20 / C-21
20	44,3	2,60; ddd; 4,7; 8,0 e 9,4	C-14 / C-18 / C-19 / C-21
21	95,1	5,72; d; 9,4	C-15 / C-19 / C-20 / C-1'
22	174,5	----	----
1'	99,0	4,73; d; 7,8	C-21 / C-3'
2'	73,4	3,13; dd; 7,8 e 9,0	C-3' / C-1'
3'	76,8	3,33; t; 9,0	C-2' / C-4' / C-5'
4'	70,2	3,15; dd; 9,0 e 9,6	C-3' e C-6'
5'	77,3	3,30; ddd; 2,2; 6,8 e 9,6	C-1' / C-6'
6a'	61,7	3,91; dd; 2,2 e 11,8	C-4'
6b'		3,58; dd; 6,8 e 11,8	

Tabela 17 – Dados de RMN ¹H e ¹³C do composto PH-07 e ácido strictosidínico.

Posição	PH-07		Ácido strictosidínico* (ARBAIN, PUTRA & SARGENT, 1993)	
	δ _C	δ _H : (ppm) multiplicidade; J (Hz)	δ _C	δ _H : (ppm) multiplicidade; J (Hz)
2	128,9	----	130,54	----
3	50,9	4,32; dd; 3,4 e 12,3	52,28	4,41; d, 11,8
5a	41,7	3,61; dd; 2,0 e 5,4	43,02	----
5b		3,09; d; 5,4		
6a	18,3	2,93; ddd; 2,0; 5,4 e 7,6	19,63	----
6b		2,84-2,92; m		
7	105,7	----	107,30	----
8	126,0	----	127,55	----
9	117,6	7,34; ddd; 0,9, 1,1 e 8,0	119,05	7,44; d; 7,6
10	119,1	6,9; ddd; 1,1; 7,1; 8,0	120,51	7,02; dd; 7,6; 7,2
11	122,0	7,02; ddd; 1,1; 7,1 e 8,0	123,31	7,12; dd; 8,1; 7,2
12	110,9	7,21; ddd; 0,9, 1,1 e 8,0	112,20	7,30; d; 8,1
13	136,6	----	138,19	----
14a	33,7	2,02; ddd; 4,3; 12,3 e 14,0	35,15	2,11; ddd; 4,5; 11,8 e 13
14b		2,26; ddd; 3,4; 12,7 e 14,0		2,36; ddd; 3,3; 13 e 13
15	32,9	2,88; ddd; 4,3; 4,7 e 12,7	34,07	2,97; m
16	112,0	----	113,68	----
17	152,0	7,47; s	153,17	7,55; s
18a	117,7	5,1; ddd; 0,9, 1,6 e 10,7	118,68	5,17; ddd; 1,0; 1,5 e 10,7
18b		5,21; ddd; 0,9, 1,6 e 17,4		5,30; ddd; 1,0; 1,5 e 17,4
19	134,9	5,75; ddd; 8,0; 10,7 e 17,4	136,25	5,85; ddd; 7,3; 10,7 e 17,4
20	44,3	2,60; ddd; 4,7; 8,0 e 9,4	45,72	2,69; ddd; 4,5; 7,3 e 9,5
21	95,1	5,72; d; 9,4	96,57	5,82; d; 9,5
22	174,5	----	175,98	----
1'	99,0	4,73; d; 7,8	100,35	4,81; d; 7,9
2'	73,4	3,13; dd; 7,8 e 9,0	74,74	3,21; dd; 7,9 e 9,1
3'	76,8	3,33; t; 9,0	77,99	3,42; dd; 8,9 e 9,1
4'	70,2	3,15; dd; 9,0 e 9,6	71,81	3,22; dd; 8,9 e 10,5
5'	77,3	3,30; ddd; 2,2; 6,8 e 9,6	78,72	3,40; ddd; 2,0; 6,9 e 10,5
6a'	61,7	3,58; dd; 6,8 e 11,8	63,11	3,67; dd; 6,9 e 11,7
6b'		3,91; dd; 2,2 e 11,8		4,0; dd; 2,0 e 11,7

* ¹H (CD₃OD, 300 MHz, δ ppm)

4.2.8. Composto PH-08

O composto PH-08 (Figura 26) foi isolado do extrato básico n-butanólico das folhas da *P. hoffmannseggiana*, solúvel em metanol.

Nos dados do espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz, δ ppm) (Espectro 102) foi observado um sinal característico de hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,16 (d, $J=7,8$ Hz, H-1, 1H) (Espectro 103) correlacionando com o carbono em δ_{C} 101,4, no mapa de correlação de HSQC, característico de uma unidade de açúcar (Espectro 107).

Além disso, foram identificados sinais de hidrogênios diastereotópicos, H-6a e H-6b, vizinhos ao estereocentro C-5, em δ_{H} 3,76 (dd, $J=1,8$ Hz e $J=12,0$ Hz, H-6a, 1H) e δ_{H} 3,56 (dd, $J=5,4$ Hz e $J=12,0$ Hz, H-6b, 1H) e quatro sinais de hidrogênios metínicos em: δ_{H} 3,06 (dd, $J=7,8$ Hz e $J=9,0$ Hz, H-2, 1H), δ_{H} 3,25 (t, $J=9,0$ Hz, H-3) e δ_{H} 3,16-3,18 (m, H-4 e H-5, 2H) (Espectro 103, 104 e 105), correlacionando com os carbonos carbinólicos, em: δ_{C} 60,1, δ_{C} 72,5, δ_{C} 75,5, δ_{C} 69,1 e δ_{C} 75,4, respectivamente, correspondentes a uma unidade de glicose (Espectro 107).

Por outro lado, outros sinais foram observados no espectro de RMN de ^1H , sendo: um tripleto em δ_{H} 1,15 (t, H-1', 3H) com constante de acoplamento de 7,2 Hz, referente aos acoplamentos vicinais com os hidrogênios diastereotópicos, H-2a' e H-2b', em δ_{H} 3,86 (dq, $J=7,2$ Hz e $J=9,6$ Hz, H-2a', 1H) e δ_{H} 3,51 (dq, $J=7,2$ Hz e $J=9,6$ Hz, H-2b', 1H) (Espectro 104 e 105), correlacionando com os carbonos em: δ_{C} 12,9 e δ_{C} 63,6, no mapa de correlação de HSQC (Espectro 107 e 108).

Pelo espectro de COSY observou-se a correlação entre os hidrogênios H-1 / H-2, H-2 / H-3, H-3 / H-4, H-5 com os hidrogênios diastereotópicos, H-6a e H-6b e de H-1' com os hidrogênios diastereotópicos, H-2a' e 2b' (Espectro 112).

Além do mais, os hidrogênios metilênicos, H-2a' e H-2b', correlacionam, no mapa de correlação de HMBC, com o carbono anomérico C-1 (δ_{C} 101,4), confirmando a ligação do grupo etila com a unidade glicosídica (Espectro 111).

Além disso, a correlação observada a partir dos valores das constantes de acoplamento entre H-1 e H-2, $J_{H_1-H_2}=7,8$ Hz, evidencia a configuração axial-axial desses hidrogênios, o qual confirma a presença de uma β -glicose.

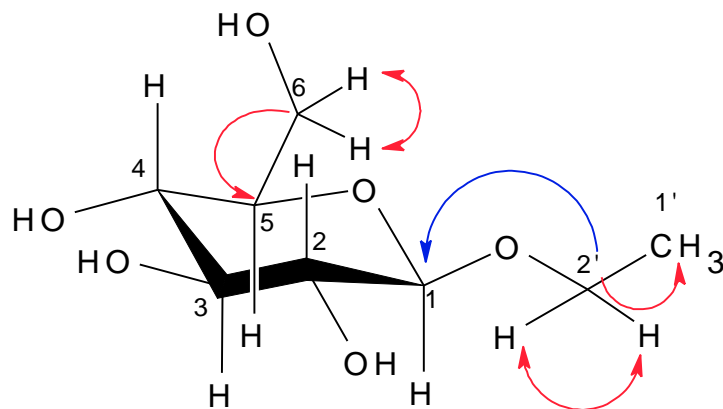




Figura 26 – Principais correlações de HMBC () e COSY () para o composto PH-08.

Dessa forma o composto PH-08 foi identificado através da análise dos dados espectroscópicos (Tabela 18) e corroborado pelos dados da literatura (OLIVEIRA, 2009), sendo identificado como a β -etilglicose.

A β -etilglicose já foi isolada na família Rubiaceae, na espécie *Amaioua guianensis* Aub. (OLIVEIRA, 2009).

Tabela 18 – Dados de RMN ^1H , HSQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) do composto PH-08 e β -etilglicose.

Posição	PH-08				β -Etilglicose* (OLIVEIRA, 2009)	
	δ_{C}	δ_{H} ; (ppm) multiplicidade; J (Hz)	COSY	HMBC	δ_{C}	δ_{H} ; (ppm) multiplicidade; J (Hz)
1	101,4	4,16; d; 7,8	H-2	C-2' / C-5	104,1	4,25; d; 7,8
2	72,5	3,06; dd; 7,8 e 9,0	H-1 e H-3	C-1 / C-3	75,9	3,15; t; 8,1
3	75,5	3,25; t; 9,0	H-2 e H-4	C-4	77,5	3,34; t; 9,0
4	69,1	3,16-3,18; m	H-3	C-6 / C-3 / C-5	71,3	3,24 -3,27; m
5	75,4	3,16-3,18; m	H-6a e H-6b	C-6 / C-3 / C-4	77,4	3,24 – 3,27; m
6a	60,1	3,76; dd; 1,8 e 12,0	H-6b e H-5	C-4	62,8	3,85; dd; 1,8 e 12,0
6b		3,56; dd; 5,4 e 12,0	H-5 e H-6a	C-4 / C-5		3,61; dd; 5,4 e 12,0
1'	12,9	1,15; t; 7,2	H-2a' e H-2b'	C-2'	15,4	1,22; t; 7,2
2a'	63,6	3,86; dq; 7,2 e 9,6	H-1' e H-2b'	C-1' / C-1	66,2	3,95; dq; 9,6 e 7,2
2b'		3,51; dq; 7,2 e 9,6	H-1' e H-2a'	C-1' / C-1		3,59; dq; 9,6 e 7,2

* ^1H (CD_3OD , 300 MHz, δ ppm)

4.3. Biossíntese dos Compostos Isolados

Na Figura 27 é mostrada a proposta biossintética para os alcaloides isolados e identificados como harmano (PH-03), N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina (PH-04), N-metiltriptamina (PH-05), (+)-quimonantina (PH-06) e ácido strictosidínico (PH-08).

Na biossíntese desses compostos observou-se a formação do sistema β -carbolina a partir da cadeia lateral etilamina da triptamina, obtendo-se um anel heterocíclico de seis membros. A posição C-2 do núcleo indólico é nucleofílico, devido ao nitrogênio adjacente, podendo participar de uma reação do tipo Mannich/Pictet-Spengler, atacando uma imina gerada a partir da triptamina e de um aldeído. Desse modo, a aromaticidade é restaurada pela subsequente perda do próton na posição C-2 (DEWICK, 2002).

No alcaloide pirrolidinoindólicos, quimonantina, as posições C-2 e C-3 do anel indólico são consideradas como nucleofílicas. Desse modo, na obtenção do dímero simétrico, o ponto de acoplamento ocorre na posição C-3 do anel indólico proposta por uma reação radicalar (DEWICK, 2002).

Além do mais, o alcaloide indólico monterpênico, ácido strictosidínico, é obtido pela condensação da secologanina com a triptamina em uma reação do tipo Mannich, obtendo-se o sistema tetrahydro- β -carbolina e conseqüentemente a strictosidina (DEWICK, 2002).

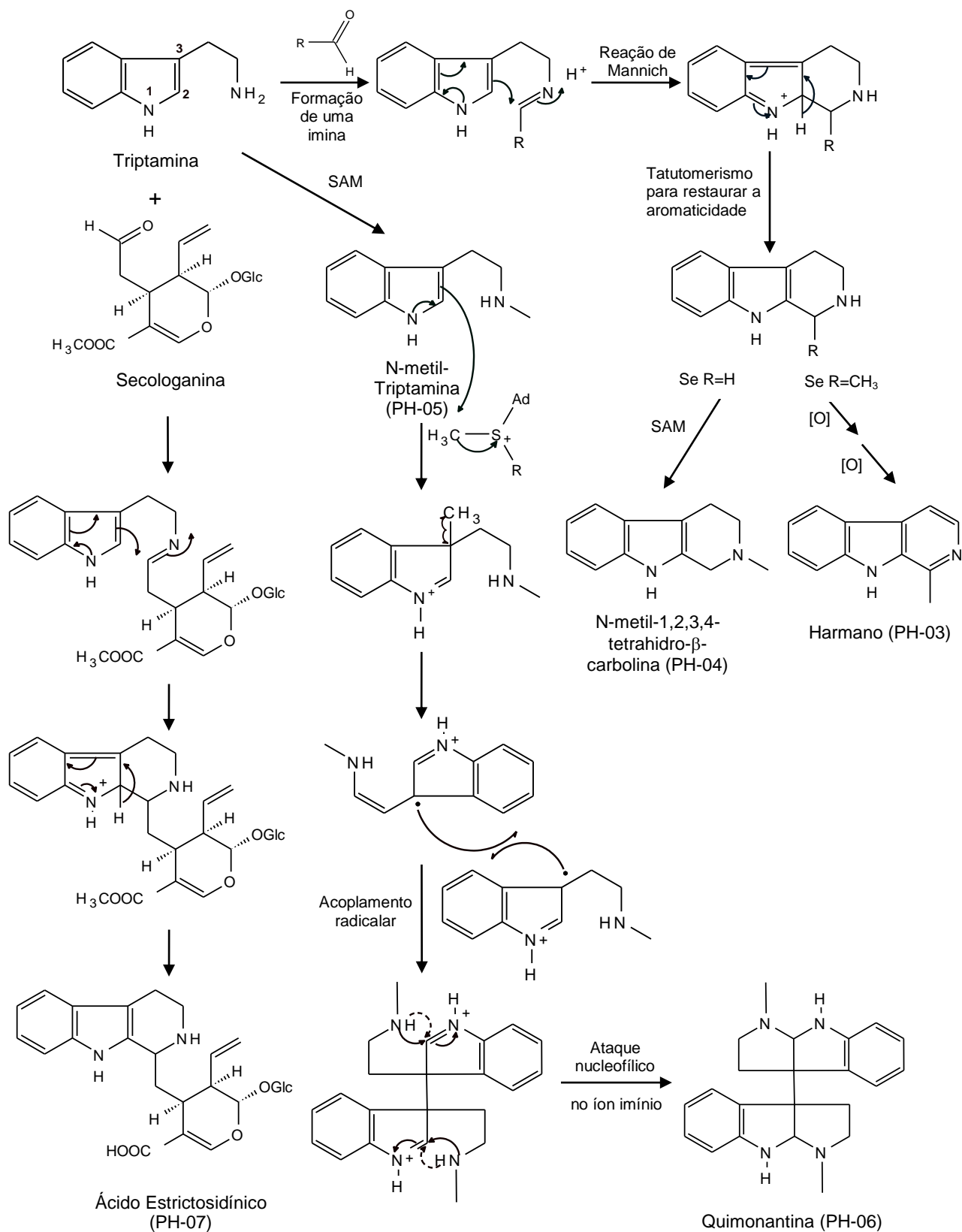


Figura 27 – Proposta biossintética para os alcaloides isolados da *P. hoffmannseggiana* (DEWICK, 2002).

Na Figura 28 é mostrada a proposta biossintética para os compostos PH-01 e PH-02, sinapato de metila e isoescopoletina, respectivamente, o qual apresentam a biossíntese oriunda do ácido p-cumárico, derivado do ácido cinâmico, seguidas por oxidações, metilações, glicosilação e isomerização (TORSSELL, 1983).

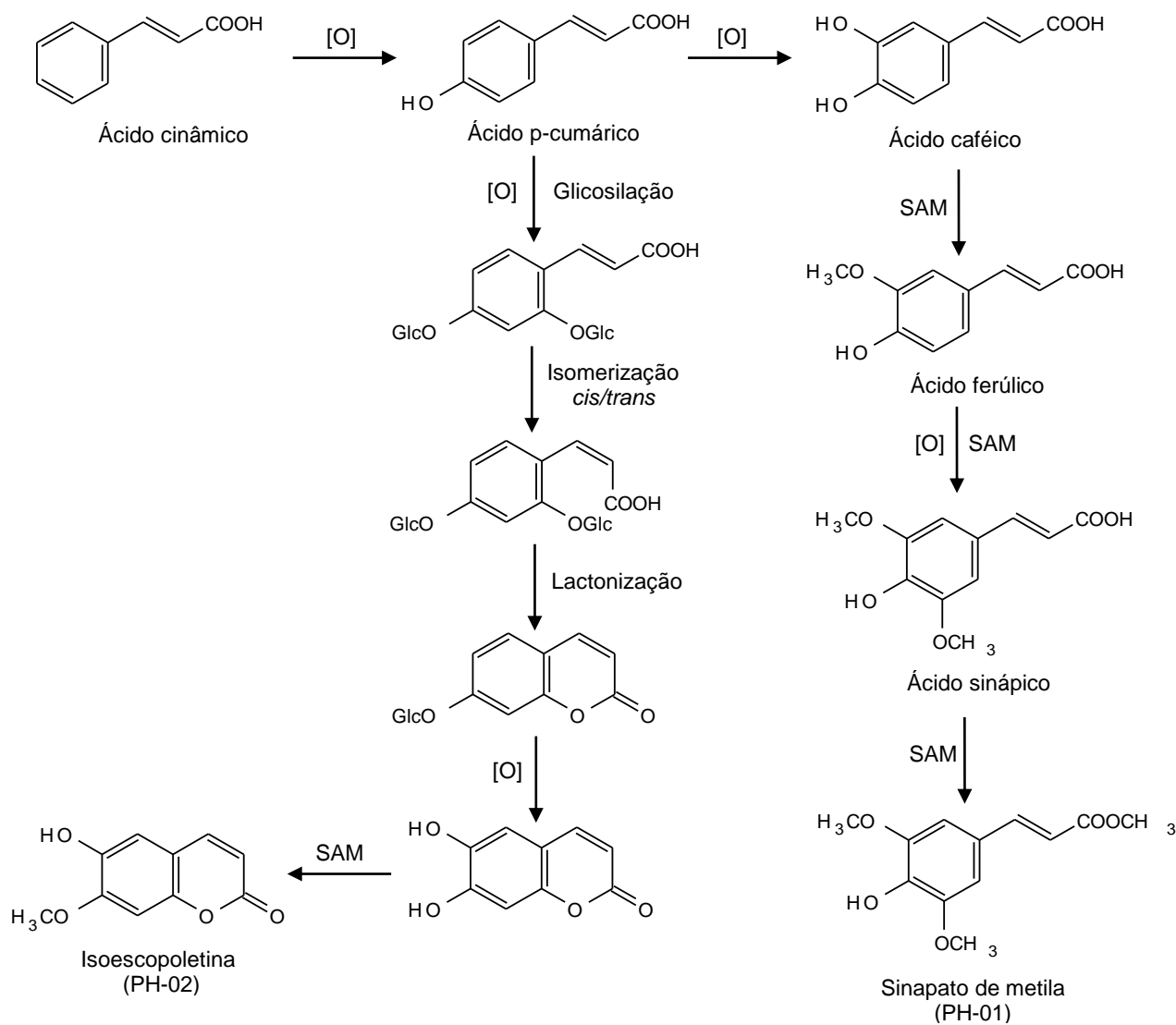


Figura 28 – Proposta biossintética para os compostos PH-01 e PH-02 isolados da *P. hoffmannseggiana* (TORSSELL, 1983).

4.4. Atividade Antioxidante

A reação para avaliar a atividade antioxidante provoca o descoloramento da solução de DPPH, coloração roxa intensa, reduzindo-a ao 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (Figura 29) de coloração amarela. Essa redução é seguida pelo monitoramento da diminuição em sua absorvância em um comprimento de onda característico, 515 nm (WILLIAMS, CUVELIER & BERSET, 1995).

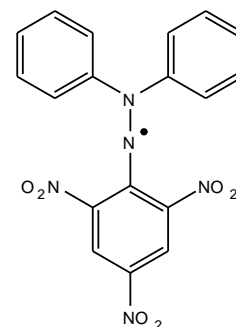


Figura 29 – DPPH[•]

Desse modo, os resultados na Tabela 19 mostraram que as concentrações de $176,58 \pm 1,35$, $105,47 \pm 0,88$, $77,60 \pm 0,36$, $191,30 \pm 0,68$ e $271,96 \pm 0,57$ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dos extratos PHEB-Et, PHEA-C, PHEB-C, PHEB-AcOEt e PHEB-n-BuOH, respectivamente, permitiram reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%.

Tabela 19 - Avaliação de atividade antioxidante dos extratos das folhas da *P. hoffmannseggiana* expressa em Cl_{50} .

Extrato	Cl_{50} ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
PHEB-Et	$176,58 \pm 1,35$
PHEA-C	$105,47 \pm 0,88$
PHEB-C	$77,60 \pm 0,36$
PHEB-AcOEt	$191,30 \pm 0,68$
PHEB-n-BuOH	$271,96 \pm 0,57$
Ácido Ascórbico*	$6,06 \pm 0,41$

Na avaliação de atividades antioxidantes observou-se que valores de Cl_{50} ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) menor que 50 ppm é considerado um resultado muito ativo, de 50-100 ppm é moderadamente ativo, de 100-200 é um pouco ativo e um valor acima de 200 ppm é considerado um resultado inativo (REYNERTSON, BASILE & KENNELLY, 2005). Desse modo, o extrato básico clorofórmico (PHEB-C) é moderadamente ativo, os extratos: bruto etanólico (PHEB-Et), ácido clorofórmico (PHFA-C) e básico acetato de etila (PHEB-AcOEt) são poucos ativos e o extrato básico n-butanólico (PHEB-n-BuOH) é inativo em relação a capacidade antioxidante.

No extrato básico clorofórmico, foi identificado uma variedade de alcaloides indólicos, derivados do triptofano e triptamina, o qual são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante, possivelmente, por uma ação de detoxificação de espécies reativas de oxigênio (MOURA, 2006). No extrato ácido, identificou-se compostos fenólicos, como o sinapato de metila e a isoescopoletina, o qual apresentam propriedades redutoras devido ao importante papel na neutralização ou sequestro de radicais livres, obtendo-se intermediários que são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático presente em suas estruturas (SOUSA *et al.*, 2007).

Além disso, o valor elevado de CI_{50} obtido para o extrato básico n-butanólico, o qual apresenta como composto majoritário o ácido strictosidínico, é contraditório em relação ao valor de CI_{50} de 27.68 μ M relatado para o composto isolado. Apesar dessa estrutura não ser referida como um composto fenólico, essa apresenta uma potente atividade antioxidante (REANMONGKOL, SUBHADHIRASAKUL & PANICHAYUPAKARANANT, 2003).

5. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico de *P. hoffmannseggiana* proporcionou o isolamento e a elucidação estrutural de cinco alcaloides, sendo três alcaloides indólicos (harmano, N-metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolínico e N-metiltryptamina), um alcaloide polindólico, ((+)-quimonantina) e um alcaloide indólico monoterpênico, (ácido strictosidínico). Além desses, ainda foram isolados um derivado do ácido cinâmico, o sinapato de metila, uma cumarina, (isoescopoletina) e um açúcar (β -etilglicose). Todos os compostos já foram identificados em outras espécies da família Rubiaceae e/ou do gênero *Psychotria*. No entanto, esses metabólitos foram descritos pela primeira vez na espécie *P. hoffmannseggiana*.

O potencial antioxidante dos extratos PHEB-Et, PHEA-C, PHEB-C, PHEB-AcOEt e PHEB-n-BuOH foi quantificado utilizando-se a reação com o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Os valores necessários para a redução em 50% da concentração inicial do radical ocorreram em $176,58 \pm 1,35$, $105,47 \pm 0,88$, $77,60 \pm 0,36$, $191,30 \pm 0,68$ e $271,96 \pm 0,57 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e mostraram-se promissores para os extratos ácido e básico clorofórmico, PHEA-C e PHEB-C, respectivamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJIBADE, Y.; WENIGER, B.; QUIRION, J.C.; KUBALLA, B.; CABALION, P.; ANTON, R. Dimeric alkaloids from *Psychotria forsteriana*. **Phytochemistry**, v.31, n.1, p. 317-320, 1992.

ALLEN, J. R. F.; HOLMSTEDT, B. R. The simple β -carboline alkaloids. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1573-1582, 1980.

ARBAIN, D.; PUTRA, D. P.; SARGENT, M. V. The alkaloids of *Ophiorrhiza filistipula*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 46, p. 977-985, 1993.

BASTOS, A. B. F. D' O.; CARVALHO, M. G. de; VELANDIA, J. R.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos isolados de *Simira glaziovii* (K. Schum.) Steyerf. e a atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio do alcaloide ofiorina e seus derivados. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 241-245, 2002.

BREMER, B.; ERIKSSON, T. Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating the family, subfamilies, and tribes. **International Journal of Plant Sciences**, v.170, n.6, p.766-793, 2009.

BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; SILVA, D.H.S.; LOPES, M. N. Secondary metabolites from Brazilian Rubiaceae plant species: chemotaxonomical and biological significance. **Recent Research Developments in Phytochemistry**, v.5, p.19-31, 2001.

BOTH, F. L.; MENEGHINI, L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A. T.; ELISABETSKY, E. Psychopharmacological profile of the alkaloid Psychollatine as a 5HT_{2A/C} serotonin modulator. **Journal of Natural Products**, v.68, p. 374-380, 2005.

BUCHANAN, M. S.; CARROLL, A. R.; PASS, D.; QUINN, R. J. NMR spectral assignments of a new chlorotryptamine alkaloid and its analogues from *Acacia confusa*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 45, p. 359-361, 2007.

CARDOSO, C. L.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; FURLAN, M.; EPIFANIO, R. de A.; PINTO, A. da C.; REZENDE, C. M. de; LIMA, J. A.; BOLZANI, V. da S. Indole Glucoalkaloids from *Chimarrhis turbinata* and Their Evaluation as Antioxidant Agents and Acetylcholinesterase Inhibitors. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 11, p. 1882-1885, 2004.

CLAYTON, E., REED, R. I., WILSON, J. M. Electron impact and molecular dissociation – VII: The calycanthus alkaloids. **Tetrahedron**, v. 18, n. 12, p. 1495-1501, 1962.

CORDELL, G. A.; QUINN-BEATTIE, M. L.; FARNSWORTH, N. R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 183-205, 2001.

CZELUSNIAK, K. E. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.

DALL'ACQUA, S.; INNOCENTI, G.; VIOLA, G.; PIOVAN, A.; CANIATO, R.; CAPPELLETTI, E. M. Cytotoxic compounds from *Polygala vulgaris*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.50, n.11, p.1499-1501, 2002.

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

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

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

DEWICK, P. M. The Alkaloids. In: **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2^a edition. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2002. p. 292-403.

DONGMO A. B.; SALAH, M.; KAMANYI, A.; DZIKOUK, G.; Tan, P.V.; BOPELET, M.; VIERTLING, W.; WAGNER, H. Anti-inflammatory and analgesic properties of the stem bark extract of *Mitragyna ciliata* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 17-21, 2003.

DUAN, L. X.; BAO-MIN FENGA, B.M.; WANG, W.; CHEN, F.; CAI, G. M.; PEI, Y. H.; WANG, Y. Q. Thioglucosides from the seeds of *Raphanus sativus* L. **Helvetica Chimica Acta**, v.89, p. 2953-2956, 2006.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C. T. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, v.48, n.2, p. 77-83, 1995.

EL SEEDI, H. R. Coumarins, benzoic acids and terpenoids from *Palicourea demissa*. **Revista Latinoamericana de Química**, v.27, n.1, p.13-16, 1999.

EL-SHAZLY, A.; WINK, M. Tetrahydroisoquinoline and β -carboline alkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae). **Zeitschrift für Naturforschung**, v.58c, p. 477-480, 2003.

FARIAS, F. M. *Psychotria myriantha* Müll Arg. (Rubiaceae): caracterização dos alcaloides e avaliação das atividades anti-quimiotáxica e sobre o sistema nervoso central. **Tese (Doutorado)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

FARIAS, F. M.; KONRATH, E. L.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Strictosamide from *Psychotria nuda* (Cham. et Schltdl) Wawra (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p. 919-920, 2009.

FITZGERALD, J. S. e SIOUMIS, A. A. Alkaloids of the Australian Leguminosae. V. The occurrence of methylated tryptamines in *Acacia maidenii* F. Muell. **Australian Journal of Chemistry**, v.18, n. 3, p. 433 – 434, 1965.

FERREIRA, M. A. Contribuição para o conhecimento dos alcaloides indólicos de *Burkea africana* Hook. **Tese (Doutorado)** – Universidade do Porto, Portugal, 1971.

FRAGOSO, V. Alcaloides de *Psychotria*: fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicas. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

FRANÇA, S. C. Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O., *et al.* (orgs). **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 6ª edição. Porto Alegre: UFRS, Florianópolis, 2010. p. 123-146.

FREITAS, C. S. de. Estudo fitoquímico de *Galianthe ramosa* E. L. Cabral (RUBIACEAE). **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

GRIBBLE, G. W.; NELSON, R. B. Mass spectroscopy of indolo [2,3- α] quinolizidines. I. Fragmentation Patterns of C-3, C-4, C-6, C-7 and C-12b deuterated derivatives. **Journal Organic Chemistry**, v. 39, n. 13, p. 1845-1850, 1974.

GUPTA, M. P.; ARIAS, G. M. The occurrence of tryptamine and N-methyltryptamine in *Mimosa somnias*. **Journal of Natural Products**, v.42, n.2, p. 234-236, 1979.

HALL, E. S. Synthesis and Biosynthesis of Indole Alkaloids. **Tese (Doutorado)** – University of British Columbia, Vancouver, Canadá, 1960.

HAMERSKI, L.; CARBONEZI, C. A.; CAVALHEIRO, A. J; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M. Saponinas triterpênicas de *Tocoyena brasiliensis* Mart. (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 28, n.4, p. 601-604, 2005.

HAMZAH, A. S.; ARBAIN, D., MUHYIDDIN; LAJIS, H. N.; SARGENT, M. V. Alkaloids from *Ophiorrhiza communis* and *Ophiorrhiza tomentosa*. **Pertanika Journal of Science & Technology**, v.2 n.1, p. 33-38, 1994.

HENRIQUES, A. T.; LOPES, S.; PARANHOS, J. T.; GREGIANINI, T. S.; POSER, G. V.; FETT-NETO, A. G.; SCHRIPSEMA, J. N- β -D-glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from shoots of *Psychotria leiocarpa*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 4, p. 449-454, 2004.

JANNIC, V.; GUÉRITTE, F.; LAPRÉVOTE, O.; SERANI, L.; MARTIN, M-T.; SÉVENET, T.; POTIER, P. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria oleoides* and *Psychotria lyciiflora*. **Journal Natural Products**, v. 62, n.6, p. 838-843, 1999.

KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; FARIA, E. O.; RIBEIRO, L. C.; CARVALHO, B. G.; SILVA, C. C.; SCHUQUEL, I. T. A.; SANTIN, S. M. O.; NAKAMURA, C. V.; BRITTA, E. A.; MIRANDA, N.; INGLESIAS, A. H.; DELPRETE, P. G. Antiprotozoal alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth)

Steyerm. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 2, p. 355-360, 2012.

KERBER, V. A.; GREGIANINI, T. S.; PARANHOS, J. T.; SCHWAMBACH, J.; FARIAS, F.; FETT, J. P.; FETT-NETO, A. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; QUIRION, J. C.; ELIZABETSKY, E. Brachycerine, a novel monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 5, p. 677-679, 2001.

KERBER, V. A.; PASSOS, H. V.; FETT-NETO, A. G.; QUIRION, J. P.; HENRIQUES, A.T. Psychollatine, a glucosidic monoterpene indole alkaloid from *Psychotria umbellata*. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 697-700, 2008.

KHUZHAEV, V. U. Alkaloids of the Flora of Uzbekistan, *Arundo donax*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n. 2, p. 160-162, 2004.

LAJIS, N. H.; MAHMUD, Z.; TOIA, R. F. **Planta Medica**, v. 59, p. 383-384, 1993.

LIU, Y.; WANG, J. S.; WANG, X. B.; KONG, L. Y. Two novel dimeric indole alkaloids from the leaves and twigs of *Psychotria henryi*. **Fitoterapia**, v. 86, p. 178-182, 2013.

LOPES, S. O.; VON POSER, G. L.; KERBER, V. A.; FARIAS, F. M.; KONRATH, E. L.; MORENO, P.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J. A.; HENRIQUES, A. T. Taxonomic significance on alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 1187-1195, 2004.

MARGALHO, L. F.; ROCHA, A. E. S. de; SECCO, R. S. Rubiaceae Juss. da restinga da APA de Algodóal/Maiandeuá, Maracanã, Pará, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, v. 4, n. 3, p. 303-339, 2009.

MARINHO, S. R. M. Função dos Alcaloides indólicos monoterpénoides de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Dissertação (Mestrado)** – Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências do Porto, Porto, 2001.

MATSUMOTO, K.; MIZOWAKI, M.; SUCHITRA, T.; TAKAYAMA, H.; SAKAI, S.; AIMI, N.; WATANABE, H. Antinociceptive action of mitragynine in mice: evidence for the involvement of supraspinal opioid receptors. **Life Sciences**, v. 59, n. 14, p. 1149-1155, 1996.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/27904261>. Acesso em: 10 de março de 2014.

MORAES, E. H. F.; ALVARENGA, M. A.; FERREIRA, Z. M. G. S. As bases nitrogenadas de *Mimosa scabrella* Benth. **Química Nova**, v. 13, n. 4, 1990.

MOURA, D. J. Estudo dos alcaloides β -carbolínicos em diferentes modelos biológicos. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

NASCIMENTO, N.; FRAGOSO, V.; MOURA, D. J.; SILVA, A. C. R.; FETTNETO, A. G.; SAFFI, J. Antioxidant and antimutagenic effects of the crude foliar extract and the alkaloid brachycerine of *Psychotria brachyceras*. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v.48, p. 728-734, 2007.

NEPOKROEFF, M.; BREMER, B.; SYTSMA, K. J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbc L sequence data. **Systematic Botany**, v.24, p.5-27, 1999.

OLIVEIRA, P. L. de. Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: Fitoquímica da espécie *Amuaioua guianensis* Aub. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

OSMAN, C. P.; ISMAIL, N. H.; AHMAD, R.; AHMAT, N.; AWANG, K.; JAAFAR, F. M., Anthraquinones with antiplasmodial activity from the roots of *Rennelia elliptica* Korth. (Rubiaceae). **Molecules**, v. 15, p.7218-7226, 2010.

PIMENTA, A. A. T.; BRAZ-FILHO, R.; DELPRETE, P. G.; SOUZA, E. B.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Unusual monoterpene indole alkaloids from *Psychotria stachyoides* Benth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 846-849, 2010.

RATES, S. M. K. Metilxantinas. In: SIMÕES, C. M. O., *et al.* (orgs). **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 6ª edição. Porto Alegre: UFRS, Florianópolis, 2010. p. 885-901.

REANMONGKOL, W.; SUBHADHIRASAKUL, S.; PANICHAYUPAKARANANT, P.; KIM, K.-M. Anti-allergic and antioxidative activities of some compounds from thai medicinal plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 8, p. 592-597, 2003.

REYNERTSON, K. A., BASILE, M. J., KENNELLY, E. J. Antioxidant potential of seven *Myrtaceous fruits*. **Etnobotany Research & Applications**, v. 3, p. 25-36, 2005.

RIVIER, L. e LINDGREN, J. Ayahuasca, the south american hallucinogenic drink: an ethnobotanical and chemical investigation. **Economic Botany**, v. 26, p. 101-129, 1972.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae: characteristic features and progressions. Contributions to a new subfamilial classification. **Opera Botanica Belgica**, v. 1 p.1–271, 1988.

ROBBRECHT, E., MANEN, J-F. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on rbcL, rps16, trnL-trnF and atpB-rbcL data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae". **Systematic Geography of Plants**, v. 76, p. 85–146, 2006.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do Cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.1, p. 53-60, 2007.

ROSA, E. A.; SILVA B. C.; SILVA F. M.; TANAKA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; FERREIRA, H. D.; SILVA, C. C. Flavonoides e atividade antioxidante in *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 484-488, 2010.

ROTH, A.; KUBALLA, B.; BOUNTHANH, C.; CABALION, P.; SEVENET, T.; BECK, J. P.; ANTON, R. Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae):(1). **Planta Medica**, v. 6, p. 450-453, 1986.

SANTOS, L.V.; FETT-NETO, A. G.; KERBER, V. A.; ELISABETSKY, E.; QUIRION, J. C.; HENRIQUES, T. Indole monoterpene alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* Mull. Arg. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 1185-1187, 2001.

SANTOS, R. I. de, Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O., *et al.* (orgs). **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 6ª edição. Porto Alegre: UFRS, Florianópolis, 2010. p. 403-434.

SANZ, J. F. e MAKO, J. A. Synthesis of sinapyl alcohol diisovalerate a new phenylpropanoid from *Artemisia assoana*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 4, p. 1034-1035, 1990.

SCHRIPSEMA, J.; DAGNINO, D.; GOSMANN, G. Alcaloides Indólicos. In: SIMÕES, C. M. O., *et al.* (orgs). **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 6ª edição. Porto Alegre: UFRS, Florianópolis, 2010. p. 819-846.

SEKI, H.; HASHIMOTO, A.; HINO, T. The ¹H- and ¹³C-nuclear magnetic resonance spectra of Harman. Reinvestigation of the assignments by one- and two-dimensional methods. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, p. 1169–1172, 1993.

SILVA, V. G.; CARVALHO, M. G. de; ALVES, A. N. Chemical constituents from leaves of *Palicourea coriacea* (Rubiaceae). **Journal of Natural Medicines**, v. 62, p. 356-357, 2008.

SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H. R.; VEIRA-JR, G. M.; CHARLLYTON, M. C. C. A.; COSTA, L. S. da; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, R. K. D. S.; MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos de espécies de Rubiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n.1, p. 140-156, 2013.

SUN, G.; ZHANG, X.; XU, X.; YANG, J., ZHONG, M.; YUAN, J., A new triterpene from the plant of *Uncaria Macrophylla*. **Molecules**, v. 17, p. 504-510, 2012.

TZAKOU, O.; MYLONAS, P.; VAGIAS, C.; PETRAKIS, P. V., Iridoid glucosides with insecticidal activity from *Galium melanantherum*. **Zeitschrift für Naturforschung C.**, v. 62 n.7-8, p. 597-602, 2007.

TORSSELL, K. B. G. The shikimic acid pathway. In: **Natural Product Chemistry: a mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism**. 2ª edition. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd., 1983. p.117-173.

VERDCOURT, B. Remarks on the classification of the Rubiaceae. **Bulletin du Jardin Botanique de l'État à Bruxelles**. v. 28, p. 211–290, 1958.

VEROTTA, L.; PILATI, T.; TATÒ, M.; ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; NUNES, D. S. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata*. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 392-396, 1998.

VEROTTA, L.; PETERLONGO, F.; ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; NUNES, D.S. High-performance liquid chromatography–diode array detection–tandem mass spectrometry analyses of the alkaloid extracts of Amazon *Psychotria* species. **Journal of Chromatography A**, v. 841, p. 165-176, 1999.

VEROTTA, L.; ORSINI, F.; SBACCHI, M.; SCHEILDLER, M. A.; AMADOR, T. A.; ELISABETSKY, E. Synthesis and antinociceptive activity of chimonanthines and pyrrolidinoindoline-type alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.10, n.7, p. 2133-2142, 2002.

WANG, W. X.; CAO, L.; XIONG, J.; XIA, G.; HU, J. F. Constituents from *Chimonanthus praecox* (wintersweet). **Phytochemistry Letters**, v.4 p. 271-274, 2011.

WILLIAMS, W. B.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

ZHANG, B.-B., DAI, Y., LIAO, Z.-X. Chemical constituents of *Saussurea eopygmaea*. **Chinese Journal Natural Medicines**, v. 9, n. 1, p. 33-37, 2011.

ANEXO

Tabela A1 – Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEA-C.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 41	Clorofórmio (100%)	630
42 – 115	Clorofórmio (99%) e Metanol (1%)	1100
116 – 129	Clorofórmio (98%) e Metanol (2%)	200
130 – 133	Clorofórmio (96%) e Metanol (4%)	60
134 – 137	Clorofórmio (94%) e Metanol (6%)	60
138 – 146	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	130
147 – 179	Clorofórmio (88%) e Metanol (12%)	500
180 – 189	Clorofórmio (86%) e Metanol (14%)	130
190 – 198	Clorofórmio (84%) e Metanol (16%)	160
199 – 207	Clorofórmio (82%) e Metanol (18%)	140
208 – 226	Clorofórmio (80%) e Metanol (20%)	280
227 – 243	Clorofórmio (77%) e Metanol (23%)	250
244 – 269	Clorofórmio (74%) e Metanol (26%)	370
270 – 287	Clorofórmio (70%) e Metanol (30%)	260
288 – 304	Clorofórmio (65%) e Metanol (35%)	260
305 – 322	Clorofórmio (60%) e Metanol (40%)	260
323 – 339	Clorofórmio (55%) e Metanol (45%)	240
340 – 359	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	290
360 – 368	Clorofórmio (40%) e Metanol (60%)	120
369 – 377	Clorofórmio (30%) e Metanol (70%)	125
378 – 420	Metanol (100%)	650

Tabela A2 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEA-C.

Frações reunidas	Massa (mg)	Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 10	15,7	196 – 200	18,8
11 – 19	13,6	201 – 207	209,6
20 – 30	41,4	208 – 212	10,2
31 – 38	42,4	213 – 217	30,8
39 – 42	37,8	218 – 221	19,9
43 – 51	30,5	222 – 225	35,7
52 – 54	19,7	226 – 236	95,9
55 – 63	126,8	237 – 247	86,3
64 – 74	31,4	248 – 251	34,7
75 – 77	46,6	252 – 254	31,6
78 – 79	48,5	255 – 259	30,7
80 – 87	96,7	260 – 263	28,0
88 – 90	24,3	264 – 268	22,5
91 – 93	23,0	269 – 271	21,1
94 – 107	93,3	272 – 276	27,8
108 – 111	16,4	277 – 286	95,6
112 – 123	32,6	287 – 290	20,6
124 – 127	12,4	291 – 298	60,5
128 – 137	40,1	299 – 300	15,3
138 – 140	15,6	301 – 304	13,3
141 – 144	18,6	305 – 315	29,3
145 – 150	21,8	316 – 322	21,5
151 – 157	95,6	323 – 335	33,1
158 – 165	93,6	336 – 341	19,3
166 – 174	93,1	342 – 347	19,2
175 – 181	42,0	348 – 370	128,8
182 – 188	45,7	371 – 382	21,4
189 – 195	22,0		

Tabela A3 – Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-C.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 2	Acetato de Etila (100%)	35
3 – 5	Acetato de Etila (99%) e Metanol (1%)	40
6 – 7	Acetato de Etila (98%) e Metanol (2%)	25
8 – 9	Acetato de Etila (95%) e Metanol (5%)	30
10	Acetato de Etila (93%) e Metanol (7%)	10
11 – 12	Acetato de Etila (90%) e Metanol (10%)	30
13 – 14	Acetato de Etila (85%) e Metanol (15%)	35
15 – 17	Acetato de Etila (80%) e Metanol (20%)	40
18 – 20	Acetato de Etila (75%) e Metanol (25%)	45
21 – 24	Acetato de Etila (70%) e Metanol (30%)	60
25 – 27	Acetato de Etila (65%) e Metanol (45%)	50
28 – 30	Acetato de Etila (50%) e Metanol (50%)	45
31 – 32	Acetato de Etila (45%) e Metanol (55%)	30
33 – 34	Acetato de Etila (40%) e Metanol (60%)	25
35 – 38	Acetato de Etila (35%) e Metanol (65%)	65
39 – 40	Acetato de Etila (25%) e Metanol (75%)	30
41 – 42	Acetato de Etila (20%) e Metanol (70%)	35
43	Acetato de Etila (15%) e Metanol (85%)	10
44 – 46	Acetato de Etila (10%) e Metanol (90%)	50
47 – 49	Acetato de Etila (5%) e Metanol (95%)	45
50	Metanol (100%)	10

Tabela A4 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-C.

Frações reunidas	Massa (mg)	Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 3	10	18 – 19	18,6
4	6,8	20 – 23	20,0
5	5,0 PH-03	24	2,2 PH-06
6	7,2	25 – 28	29,6
7 – 9	12,5	29 – 34	35,8
10 – 12	24,8	35 – 39	39,9
13 – 15	26,6	40 – 46	37,6
16 – 17	22,7	47 – 50	38,6

Tabela A5 – Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-AcOEt.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 4	Clorofórmio (100%)	70
5 – 10	Clorofórmio (99%) e Metanol (1%)	80
11 – 15	Clorofórmio (95%) e Metanol (5%)	80
16 – 26	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	160
27 – 33	Clorofórmio (85%) e Metanol (15%)	100
34 – 39	Clorofórmio (80%) e Metanol (20%)	90
40 – 50	Clorofórmio (70%) e Metanol (30%)	170
51 – 56	Clorofórmio (60%) e Metanol (40%)	80
57 – 72	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	250
73 – 75	Clorofórmio (40%) e Metanol (60%)	40
76 – 78	Clorofórmio (30%) e Metanol (70%)	50
79 – 103	Metanol (100%)	390

Tabela A6 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-AcOEt.

Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 6	7,6
7 – 10	2,0
11 – 18	19,8
19 – 23	14,6
24 – 28	20,1
29 – 36	29,1
37 – 41	16,2
42 – 48	11,0
49 – 55	4,8
56 – 61	68,0
62 – 103	713,9

Tabela A7 – Dados da coluna cromatográfica da fração F-62-103 do extrato PHEB-AcOEt.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 3	Clorofórmio (100%)	50
4 – 6	Clorofórmio (98%) e Metanol (2%)	50
7 – 11	Clorofórmio (97%) e Metanol (3%)	70
12 – 22	Clorofórmio (95%) e Metanol (5%)	160
23 – 27	Clorofórmio (93%) e Metanol (7%)	80
28 – 33	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	80
34 – 49	Clorofórmio (85%) e Metanol (15%)	250
50 – 54	Clorofórmio (80%) e Metanol (20%)	70
55 – 61	Clorofórmio (75%) e Metanol (25%)	100
62 – 87	Clorofórmio (70%) e Metanol (30%)	400
88 – 100	Clorofórmio (65%) e Metanol (35%)	190
101 – 110	Clorofórmio (60%) e Metanol (40%)	160
111 – 118	Clorofórmio (55%) e Metanol (45%)	110
119 – 125	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	110
126 – 131	Clorofórmio (45%) e Metanol (55%)	90
132 – 138	Clorofórmio (40%) e Metanol (60%)	110
139 – 145	Clorofórmio (35%) e Metanol (65%)	100
146 – 153	Clorofórmio (30%) e Metanol (70%)	110
154 – 159	Clorofórmio (20%) e Metanol (80%)	90
160 – 170	Metanol (100%)	170

Tabela A8 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica da fração F-62-103 do extrato PHEB-AcOEt.

Frações reunidas	Massa (mg)	Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 17	6,4	54 – 64	15,7
18 – 20	2,4	65 – 80	107,0
21 – 29	11,3	81 – 93	106,4
30 – 37	12,4	94 – 114	258,6
38 – 41	8,3	115 – 122	16,7
42 – 48	10,8	123 – 141	40,0
49 – 53	3,4	142 – 170	42,7

Tabela A9 – Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 64	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	700
65 – 80	Metanol (100%)	180

Tabela A10 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 2	2,4
3 – 9	40,6
10 – 11	45,7
12 – 18	456,9
19 – 23	280,9
24 – 26	62,8
27 – 62	457,5
63 – 67	25,1
68 – 73	32,1
74 – 75	68,5
76 – 80	39,5

Tabela A11 – Dados da coluna cromatográfica da fração F-27-62 do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 5	Clorofórmio (100%)	80
6 – 14	Clorofórmio (95%) e Metanol (5%)	130
15 – 21	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	100
22 – 30	Clorofórmio (85%) e Metanol (15%)	140
31 – 36	Clorofórmio (80%) e Metanol (20%)	80
37 – 41	Clorofórmio (75%) e Metanol (25%)	70
42 – 49	Clorofórmio (65%) e Metanol (35%)	120
50 – 53	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	50
54 – 58	Clorofórmio (30%) e Metanol (70%)	80
59 – 62	Metanol (100%)	70

Tabela A12 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica da fração F-27-62 do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações reunidas	Massa (mg)	Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 4	16,9	44 – 47	15,7
5 – 13	20,9	48 – 55	108,9
14 – 17	13,5	56 – 57	13,1
18 – 26	34,3	58 – 59	14,3
27 – 34	37,5	60 – 62	11,8
35 – 43	46,7		

Tabela A13 – Dados da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 4	Clorofórmio (100%)	70
5 – 18	Clorofórmio (95%) e Metanol (5%)	200
19 – 23	Clorofórmio (92%) e Metanol (7%)	80
24 – 36	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	190
37 – 45	Clorofórmio (85%) e Metanol (15%)	130
46 – 55	Clorofórmio (80%) e Metanol (20%)	160
56 – 64	Clorofórmio (75%) e Metanol (25%)	140
65 – 80	Clorofórmio (70%) e Metanol (30%)	230
81 – 89	Clorofórmio (65%) e Metanol (35%)	130
90 – 98	Clorofórmio (60%) e Metanol (40%)	140
99 – 107	Clorofórmio (55%) e Metanol (45%)	120
108 – 116	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	130
117 – 130	Clorofórmio (40%) e Metanol (60%)	220
131 – 144	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	200
145 – 154	Clorofórmio (30%) e Metanol (70%)	140
155 – 163	Clorofórmio (20%) e Metanol (80%)	120
164 – 186	Clorofórmio (10%) e Metanol (90%)	330
187 – 198	Metanol (100%)	200

Tabela A14 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações reunidas	Massa (mg)	Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 19	24,4	83 – 89	121,7
20 – 31	20,1	90 – 98	79,6
32 – 44	82,6	99 – 109	200,7
45 – 50	21,1	110 – 128	225,9
51 – 56	19,2	129 – 145	75,4
57 – 66	40,4	146 – 157	41,3
67 – 70	31,9	158 – 179	70,6
71 – 76	98,7	180 – 184	35,8
77 – 82	84,3	185 – 198	85,4

PH-07

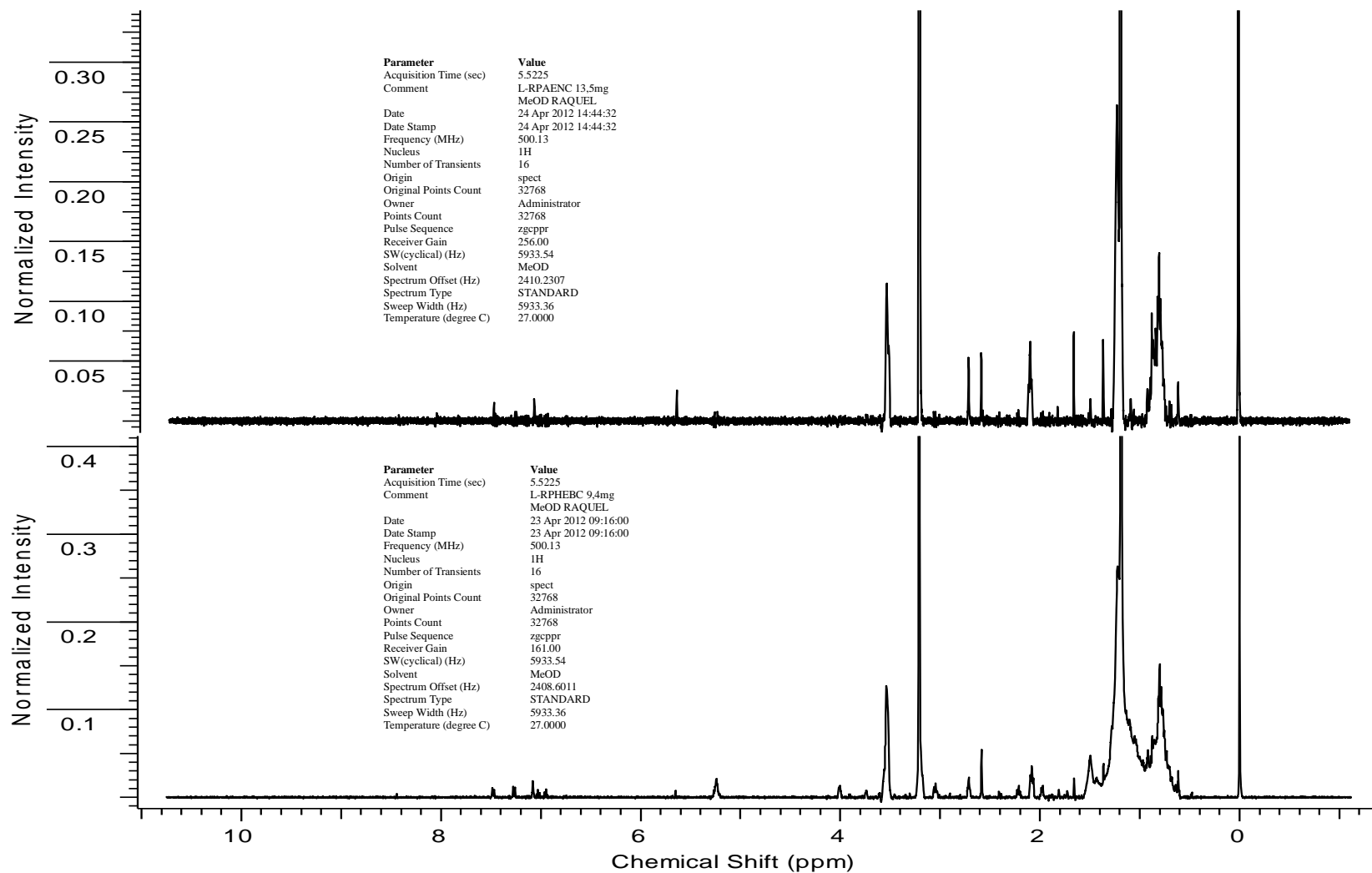
Tabela A15 – Dados da coluna cromatográfica da fração F-71-76 do extrato PHEB-n-BuOH.

Frações	Eluente	Volume (mL)
1 – 3	Clorofórmio (100%)	50
4 – 6	Clorofórmio (96%) e Metanol (4%)	40
7 – 9	Clorofórmio (95%) e Metanol (5%)	50
10	Clorofórmio (94%) e Metanol (6%)	20
11	Clorofórmio (93%) e Metanol (7%)	10
12	Clorofórmio (92%) e Metanol (8%)	20
13 – 19	Clorofórmio (91%) e Metanol (9%)	110
20 – 21	Clorofórmio (90%) e Metanol (10%)	30
22 – 23	Clorofórmio (89%) e Metanol (11%)	20
24 – 34	Clorofórmio (88%) e Metanol (12%)	170
35 – 37	Clorofórmio (87%) e Metanol (13%)	40
38 – 43	Clorofórmio (86%) e Metanol (14%)	90
44 – 45	Clorofórmio (85%) e Metanol (15%)	30
46	Clorofórmio (80%) e Metanol (20%)	10
47 – 50	Clorofórmio (75%) e Metanol (25%)	50
51	Clorofórmio (70%) e Metanol (30%)	20
52	Clorofórmio (60%) e Metanol (40%)	10
53	Clorofórmio (50%) e Metanol (50%)	10
54 – 55	Metanol (100%)	40

Tabela A16 – Massa das frações reunidas da coluna cromatográfica da fração F-71-76 do extrato PHEB-n-BuOH.

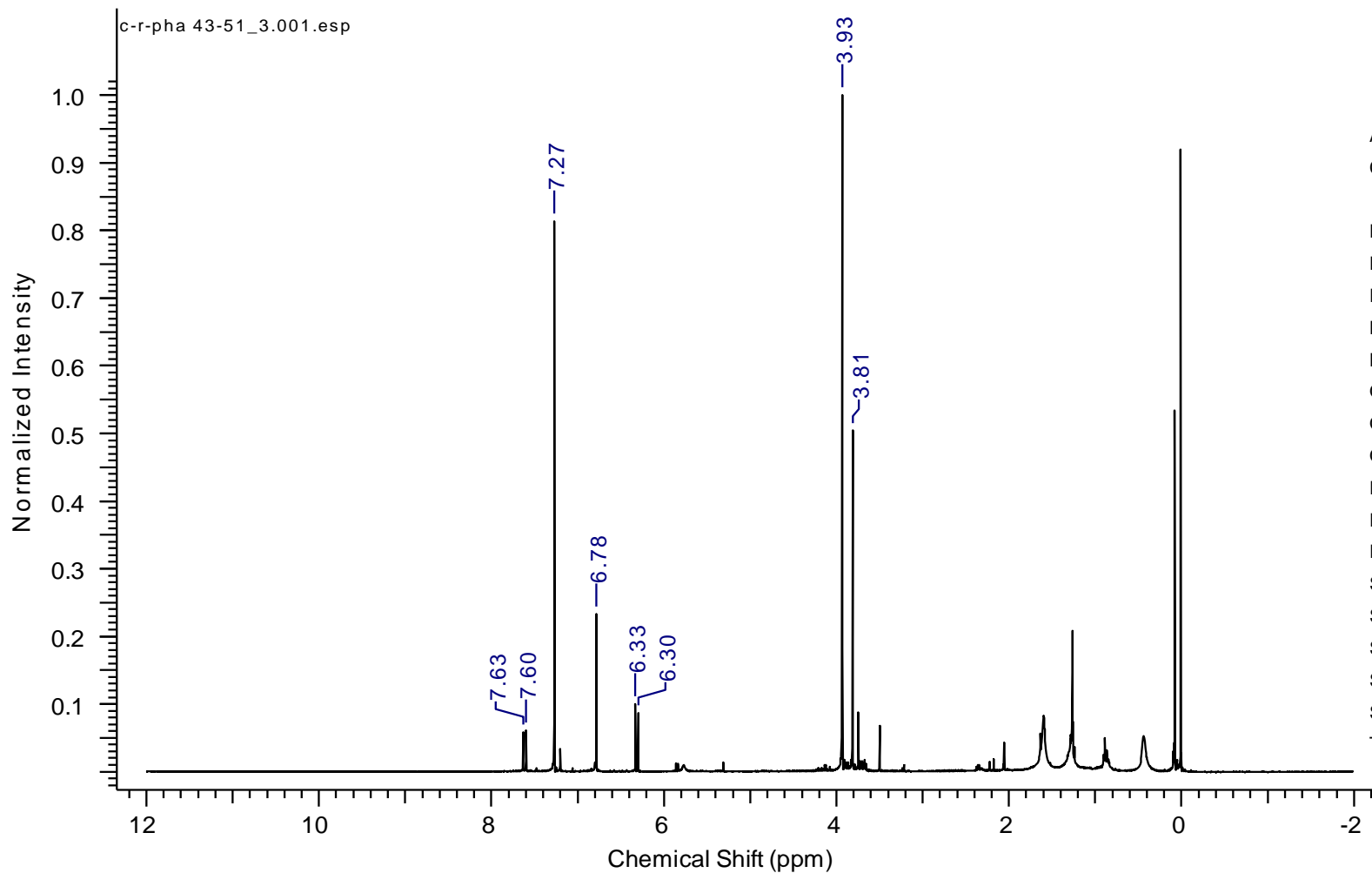
Frações reunidas	Massa (mg)		Frações reunidas	Massa (mg)
1 – 2	2,4		30 – 32	3,1
3	3,0		33 – 38	3,7
4 – 9	3,9		39 – 40	4,4
10 – 13	2,6		41 – 42	2,6
14 – 16	2,1		43 – 44	4,7
17 – 18	3,6		45 – 46	3,5
19 – 20	5,5	PH-08	47 – 48	2,3
21 – 22	3,2		49 – 50	3,6
23	3,5		51 – 53	2,5
24 – 25	2,0		54 – 55	3,7
26 – 29	2,3			

Anexo



Espectro 1 – Espectro de RMN de ¹H do extrato neutro clorofórmico (PHEN-C) e extrato básico clorofórmico (PHEB-C).

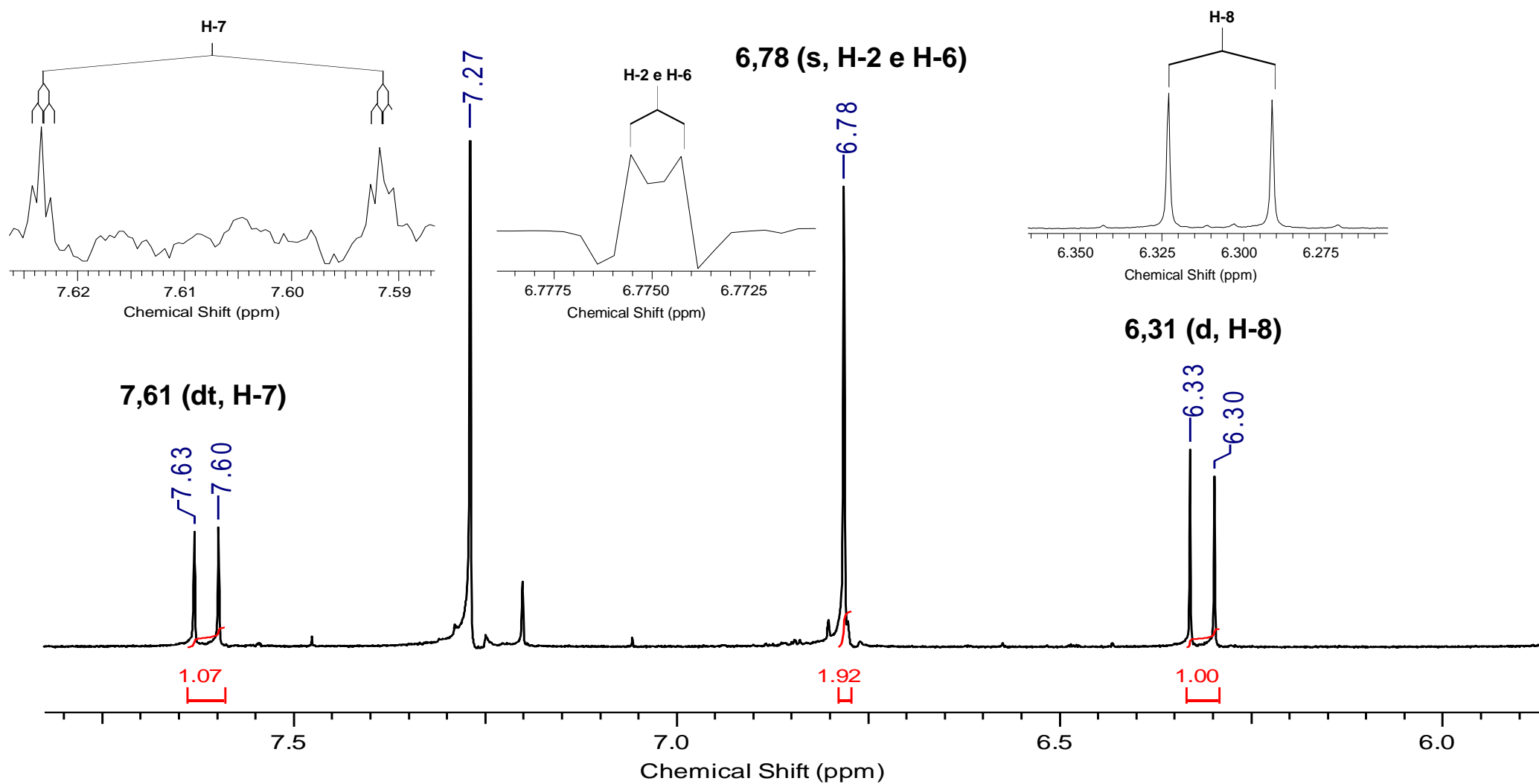
Anexo



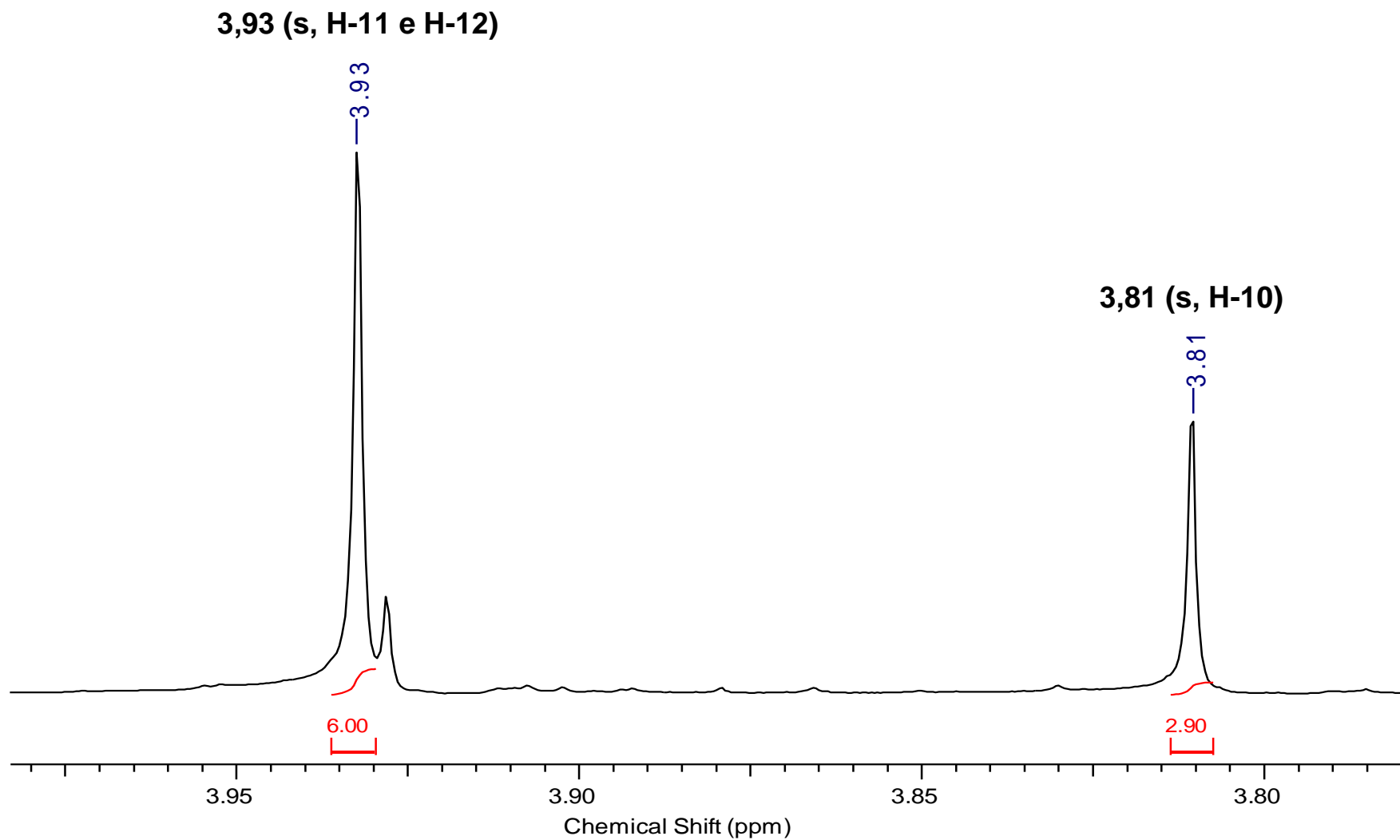
Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	4.6836
Comment	c-r-pha-43-51_3 CDCl ₃ 1,5mg Raquel 25/07/13
Date	31 Jul 2013 19:36:32
Date Stamp	31 Jul 2013 19:36:32
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	1H
Number of Transients	16
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	nmrsu
Points Count	32768
Pulse Sequence	zg30
Receiver Gain	256.00
SW(cyclical) (Hz)	6996.27
Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	2499.6587
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	6996.06
Temperature (degree C)	25.160

Espectro 2 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de PH-01.

Anexo

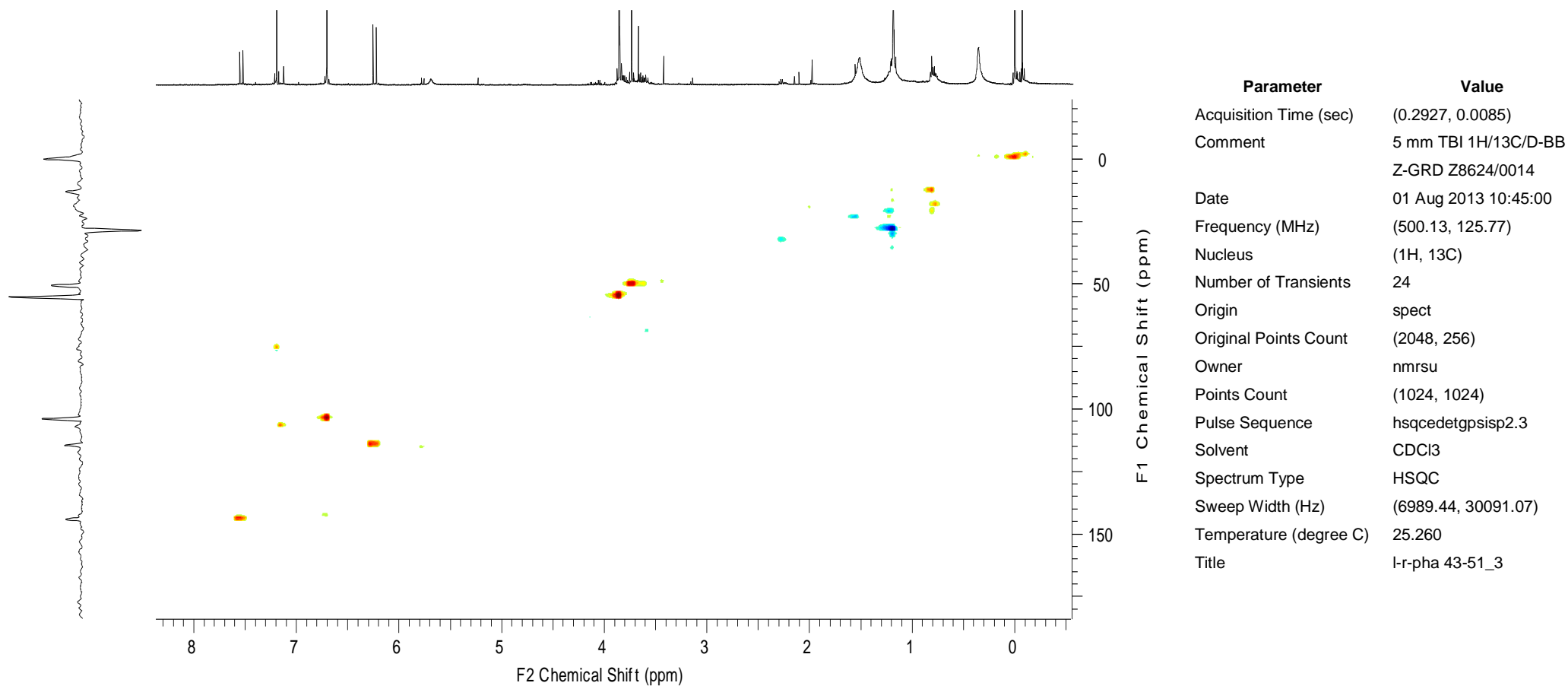


Espectro 3 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,8 à 6,0 ppm) de PH-01.

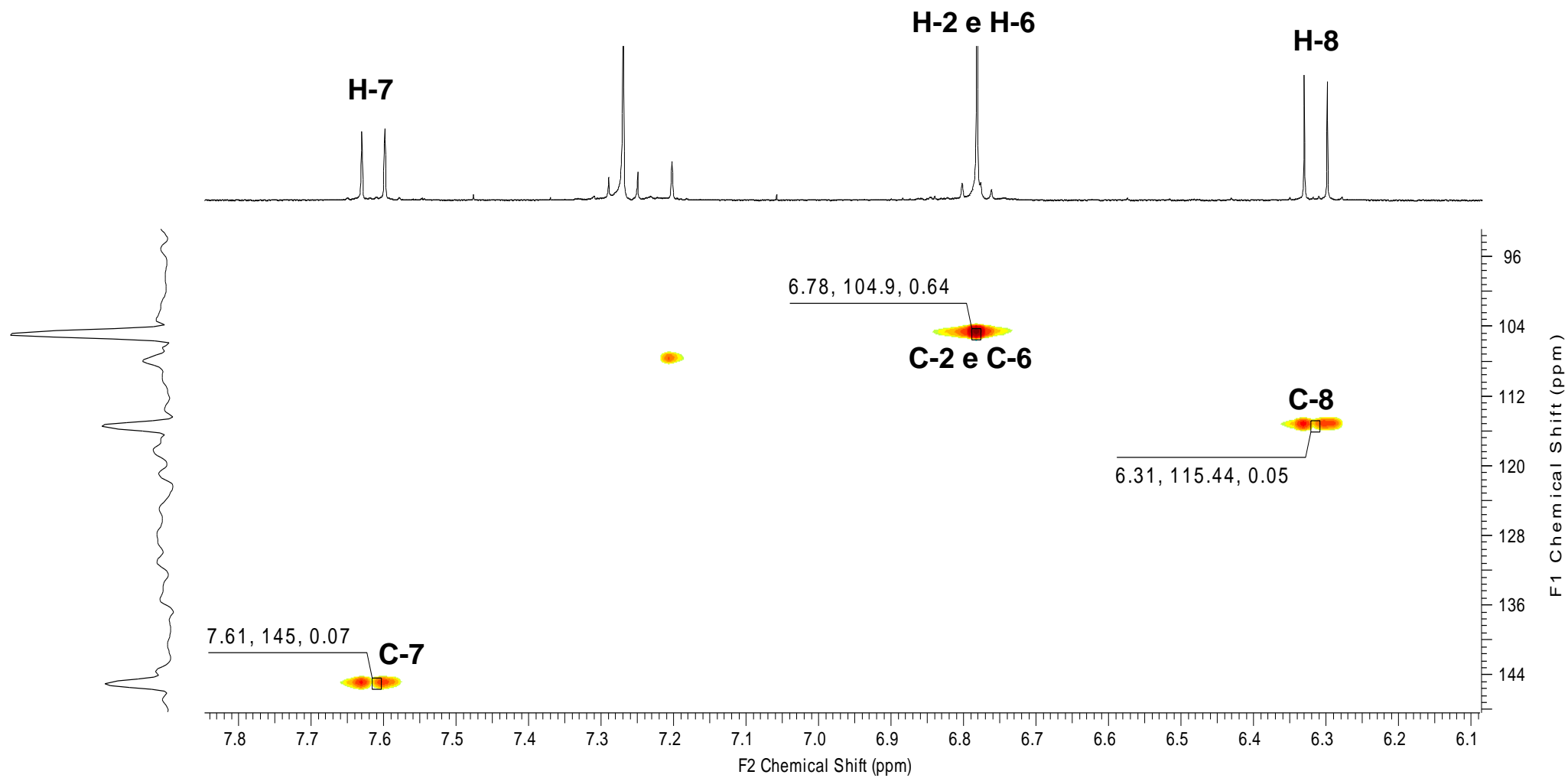


Espectro 4 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,0 à 3,8 ppm) de PH-01.

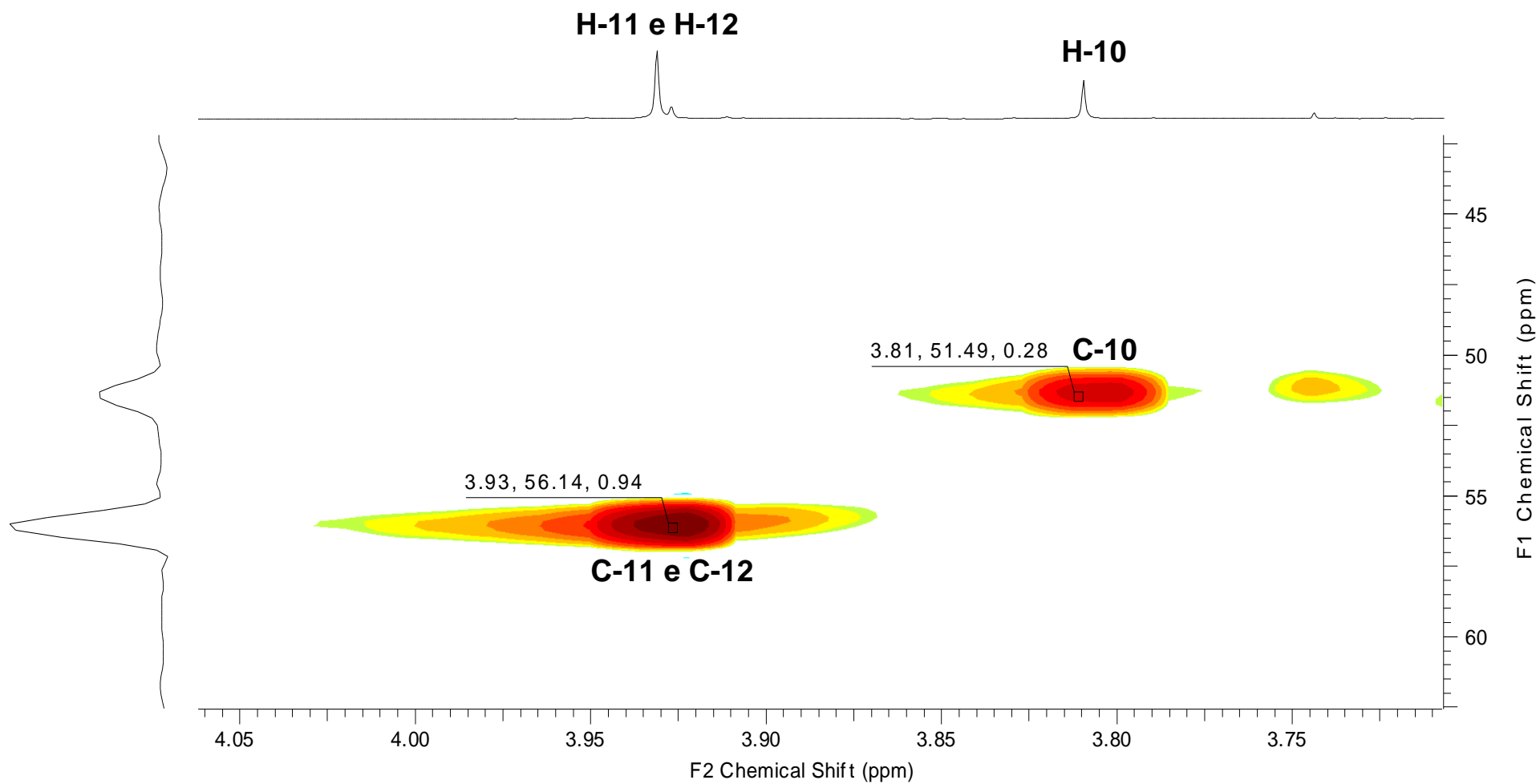
Anexo



Espectro 5 – Mapa de correlação de HSQC de PH-01.

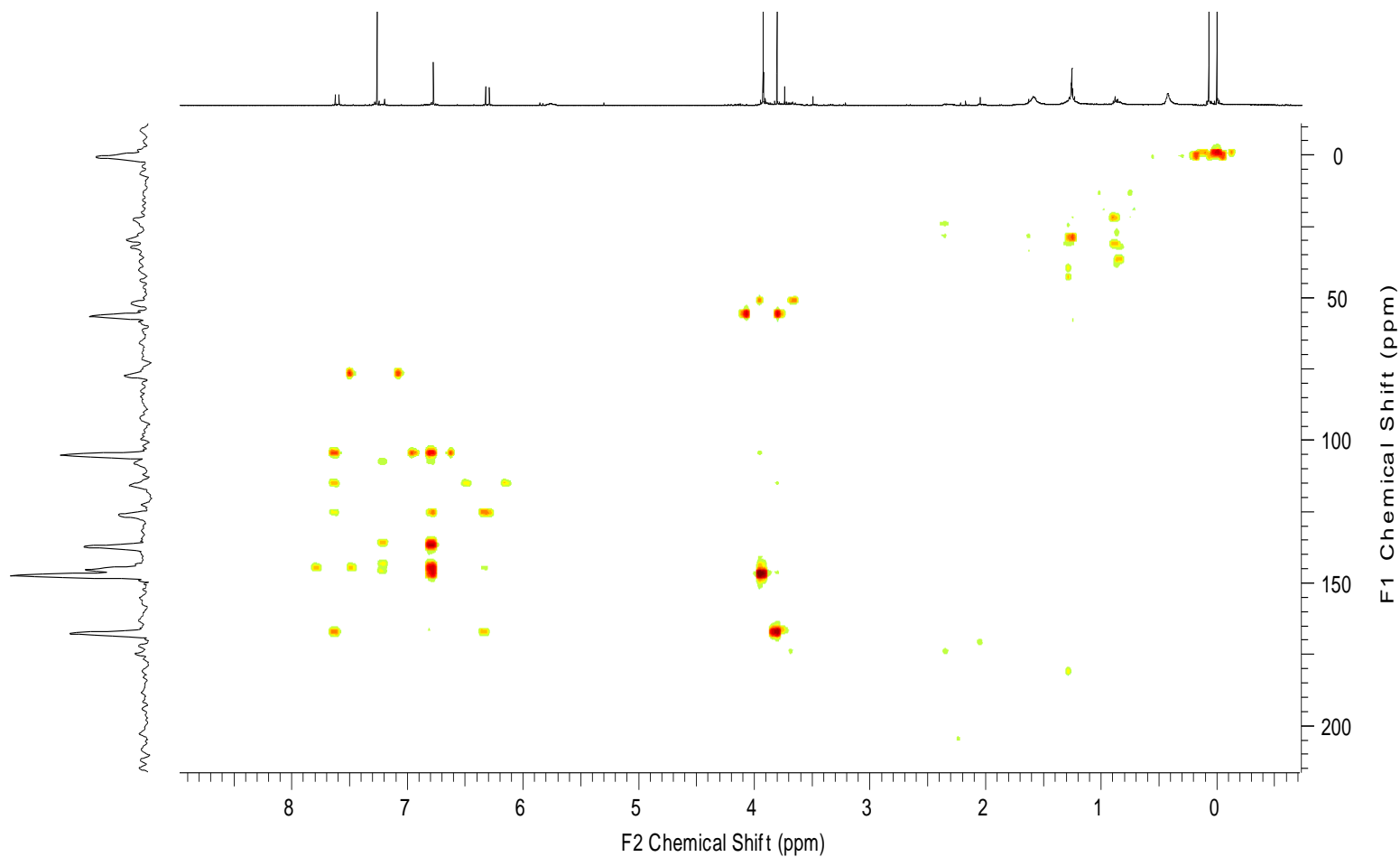


Espectro 6 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,8 à 6,1 ppm) de PH-01.



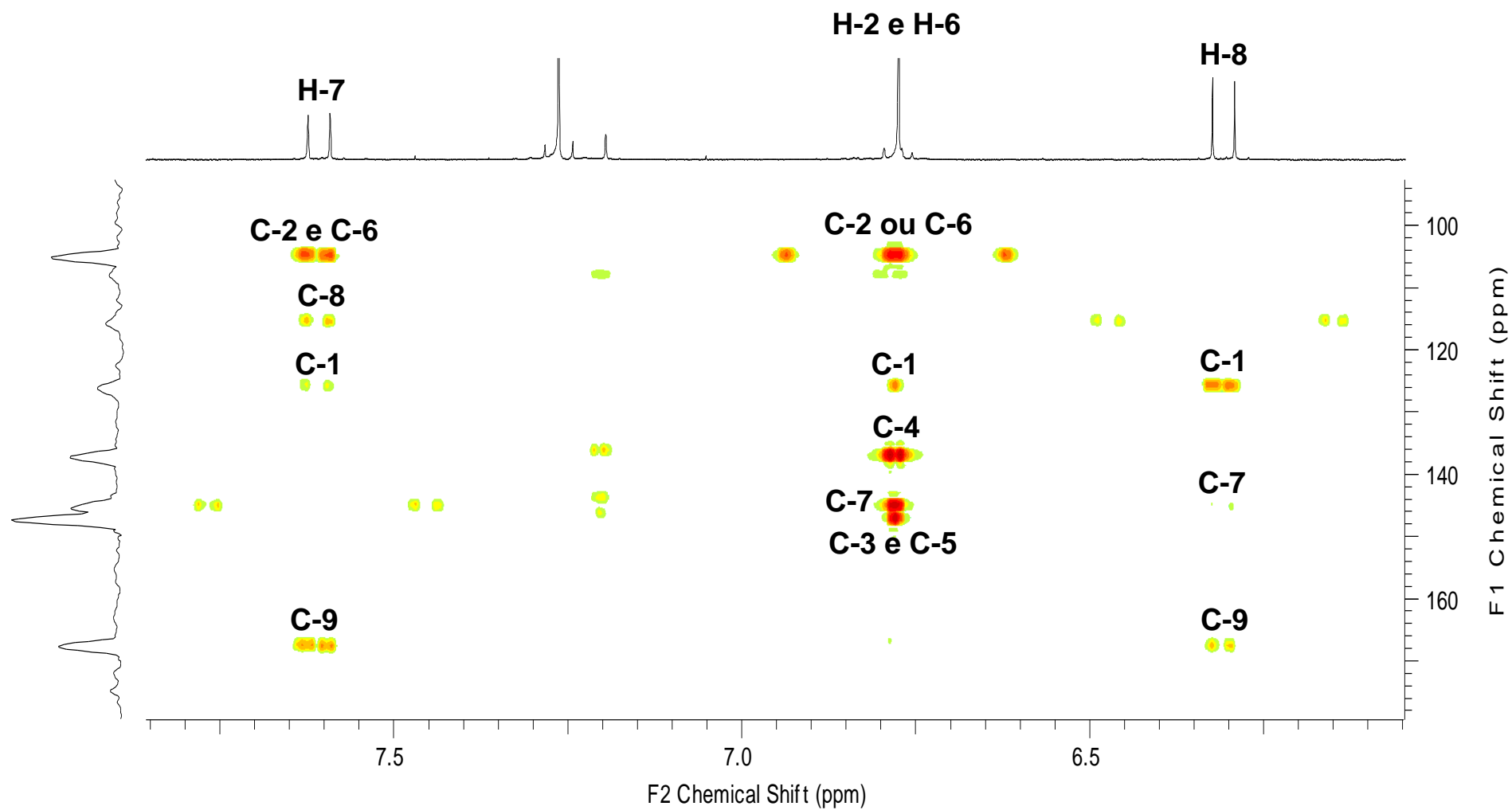
Espectro 7 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,0 à 3,7 ppm) de PH-01.

Anexo

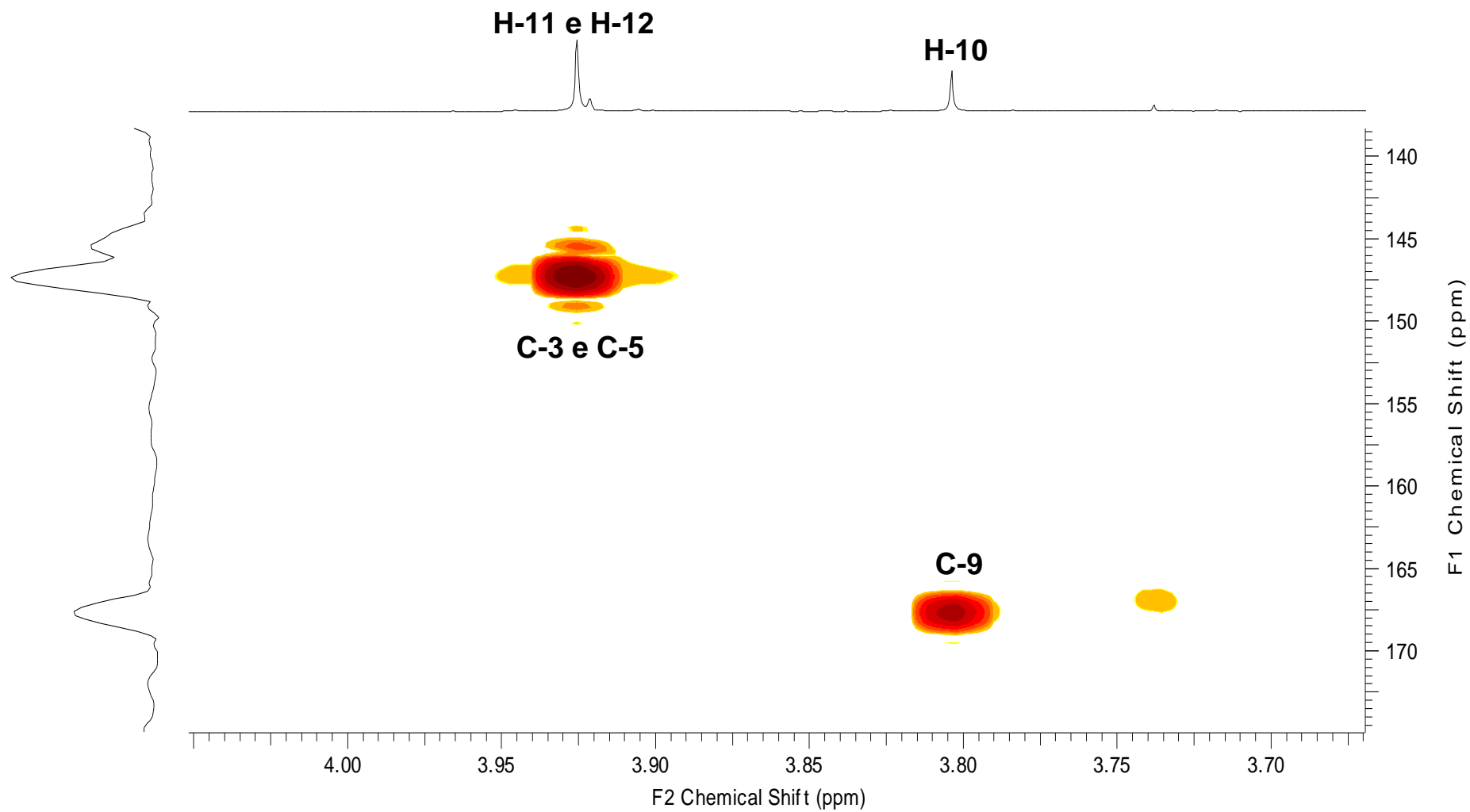


Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	(0.2927, 0.0081)
Comment	5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD Z8624/0014
Date	01 Aug 2013 06:14:00
Frequency (MHz)	(500.13, 125.77)
Nucleus	(1H, 13C)
Number of Transients	80
Origin	spect
Original Points Count	(2048, 256)
Owner	nmrsu
Points Count	(2048, 1024)
Pulse Sequence	hmbcgp1pndqf
Solvent	CDCl3
Spectrum Type	HMBC
Sweep Width (Hz)	(6992.85, 31415.83)
Temperature (degree C)	25.160

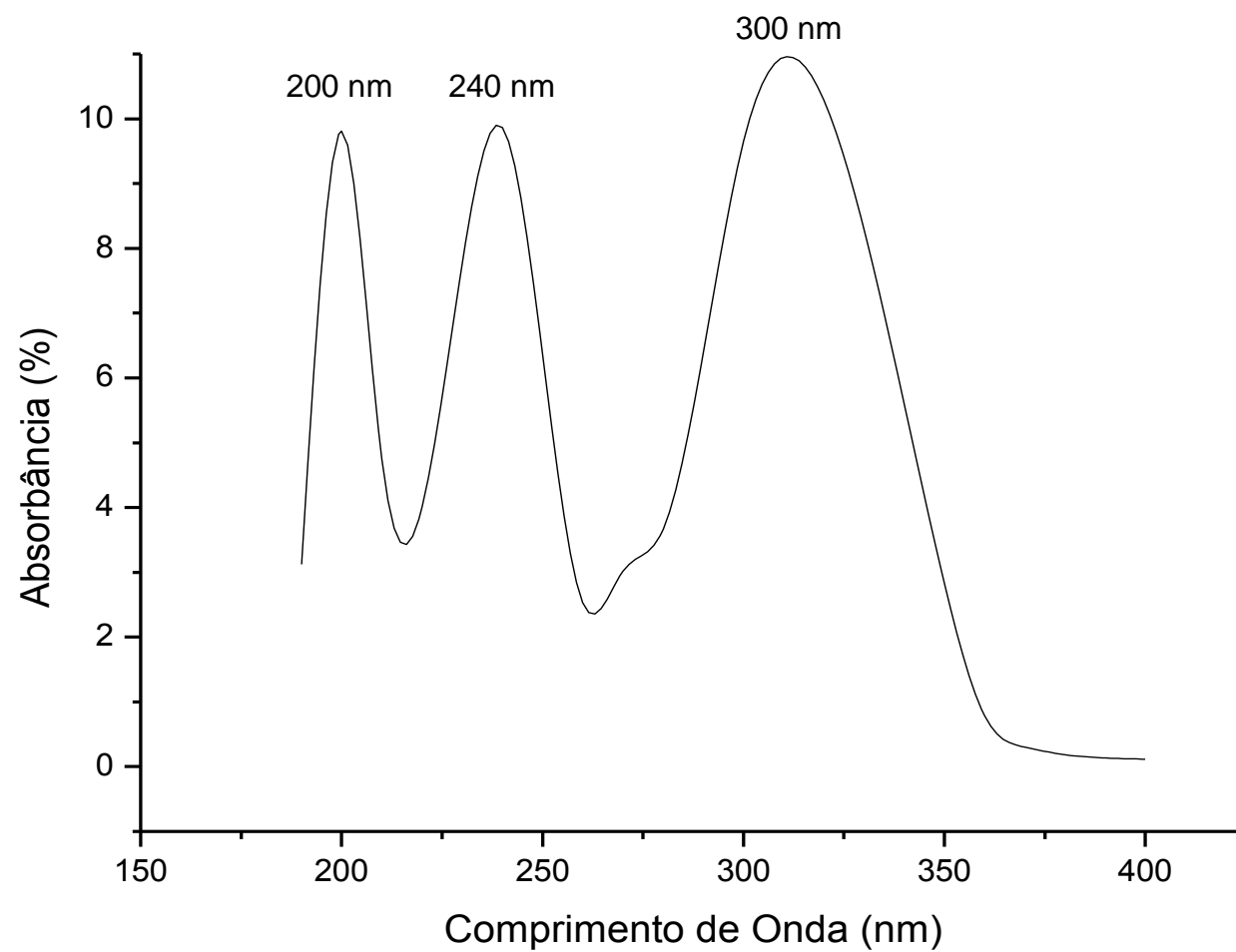
Espectro 8 – Mapa de correlação de HMBC de PH-01.



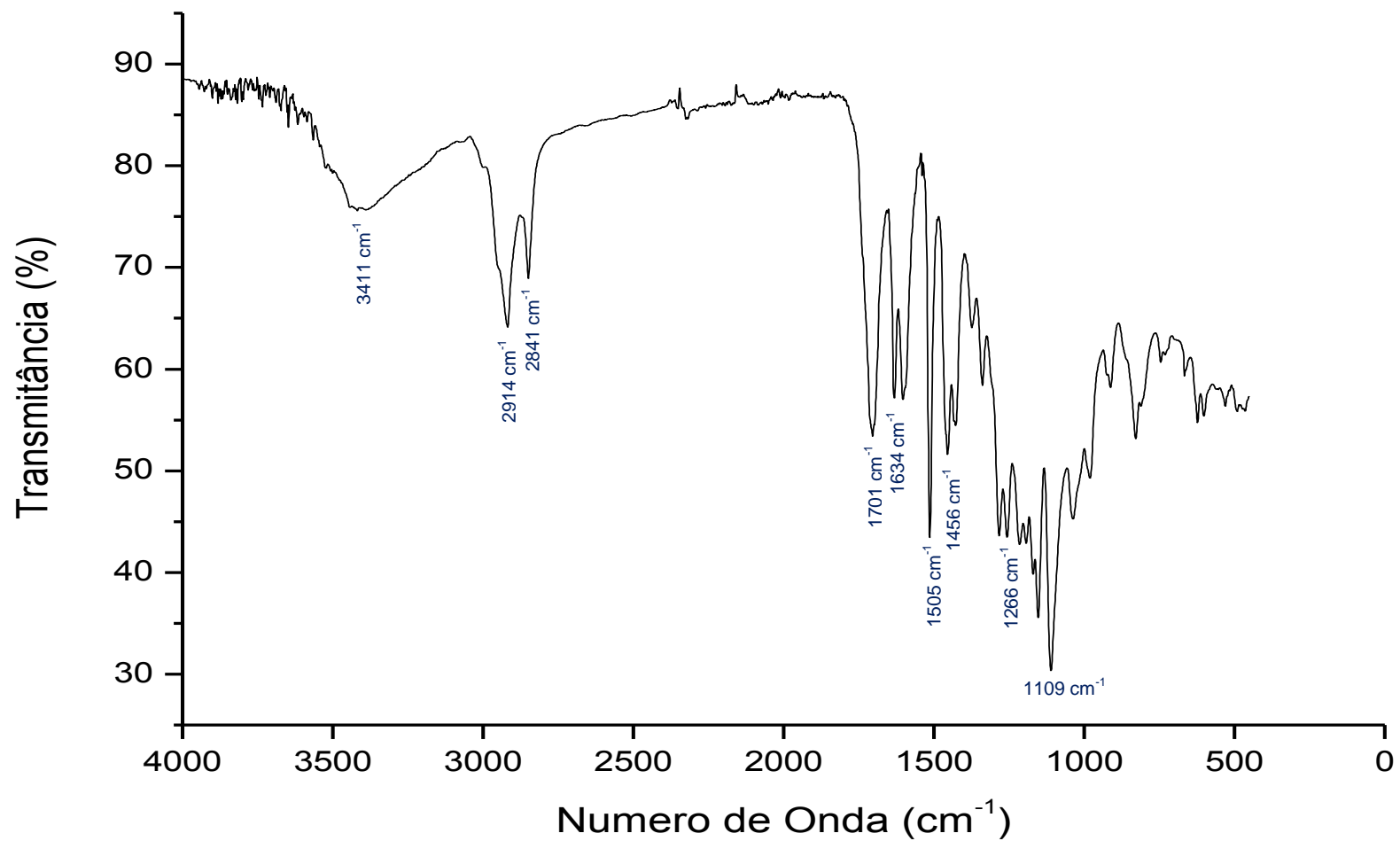
Espectro 9 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,7 à 6,2 ppm) de PH-01.



Espectro 10 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,0 à 3,7 ppm) de PH-01.

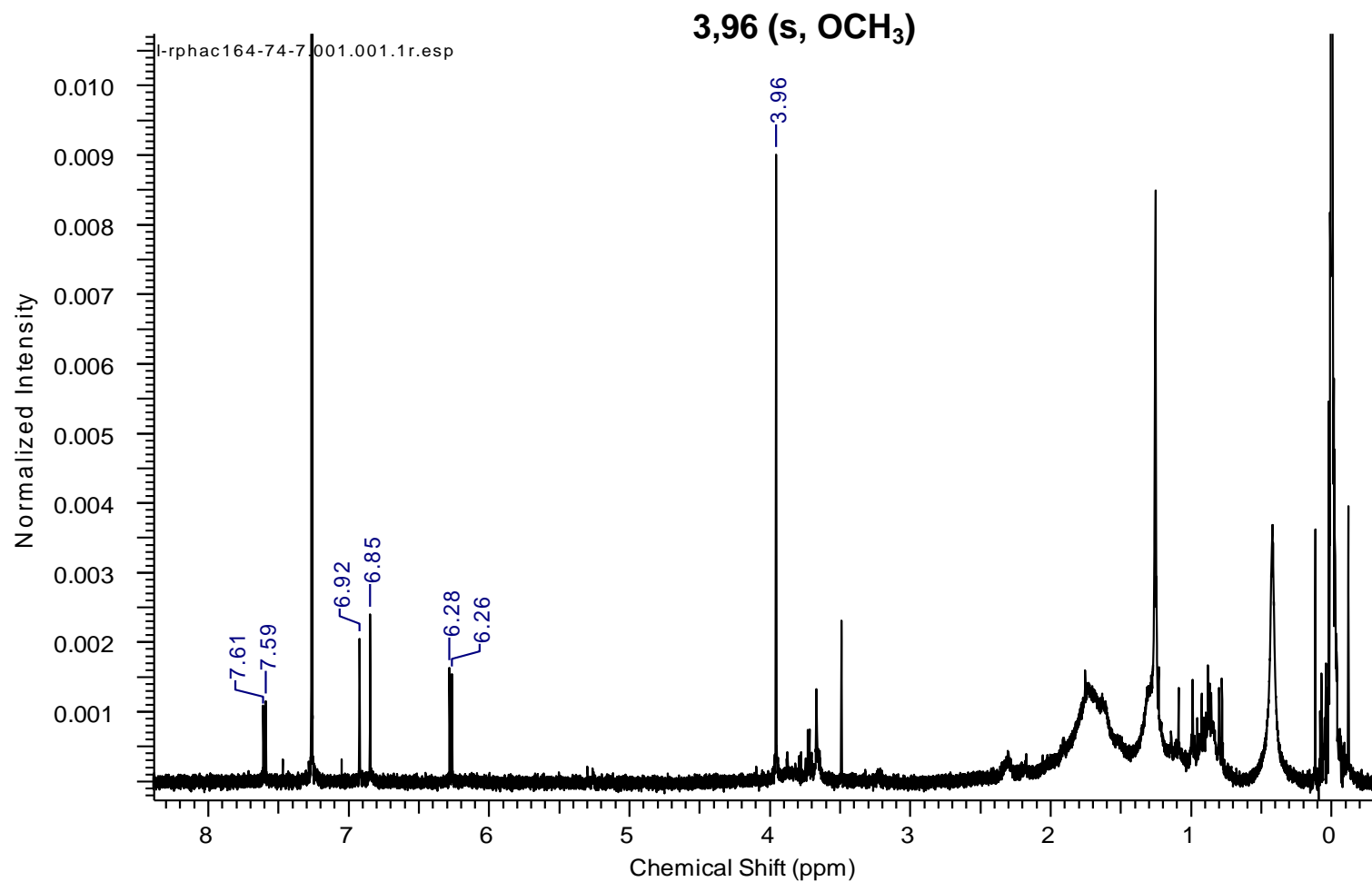


Espectro 11 – Espectro de ultravioleta (190 a 400 nm) de PH-01.



Espectro 12 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-01.

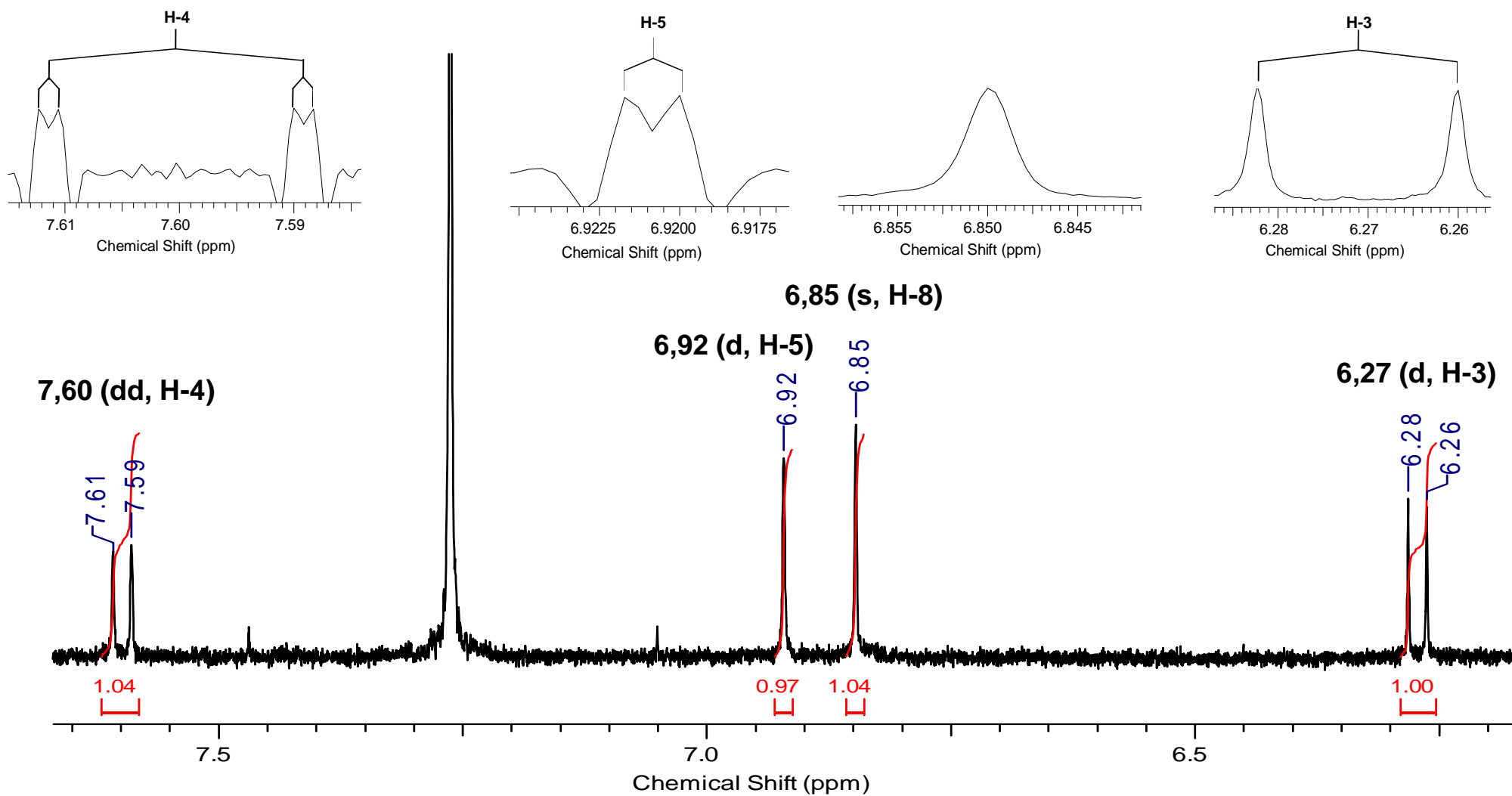
Anexo



Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	4.6662
Comment	I-rphac164-74-7 3mg CDCl ₃ RAQUEL
Date	07 Nov 2013 14:33:52
Date Stamp	07 Nov 2013 14:33:52
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	¹ H
Number of Transients	16
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	nmrsu
Points Count	65536
Pulse Sequence	zg30
Receiver Gain	144.00
SW(cyclical) (Hz)	7022.47
Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	2172.8965
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	7022.36
Temperature (degree C)	28.260

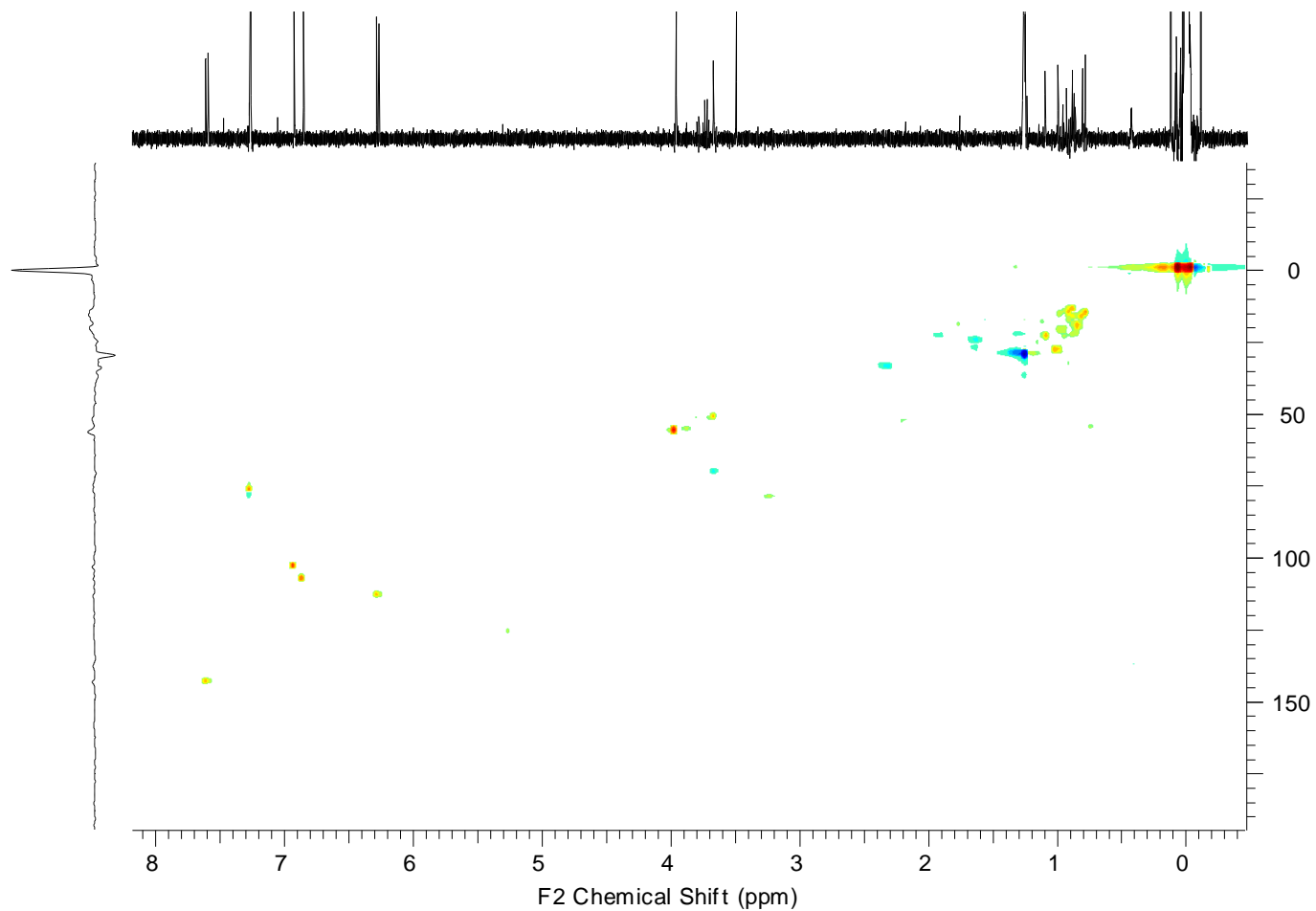
Espectro 13 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de PH-02.

Anexo



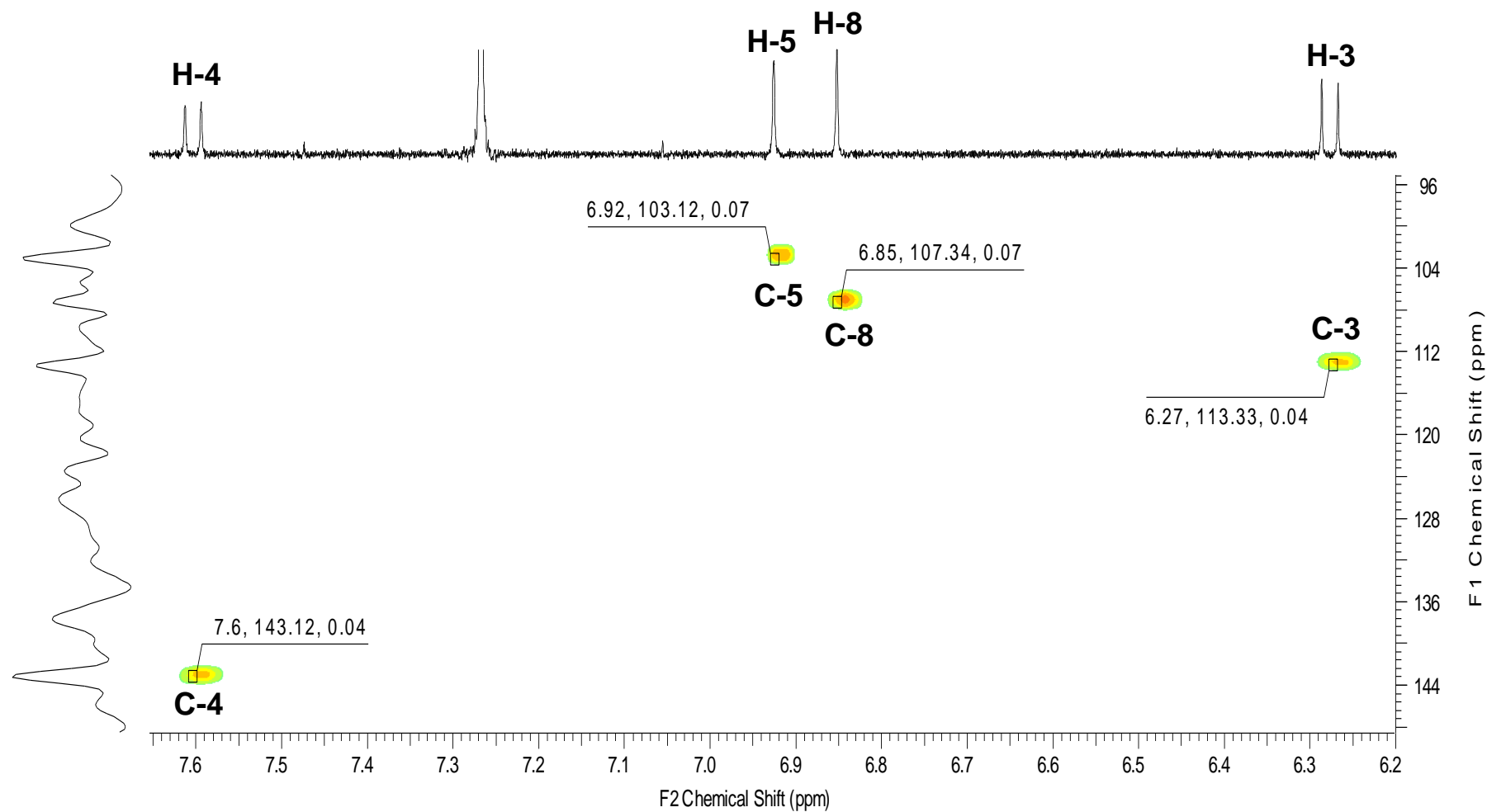
Espectro 14 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,7 à 6,2 ppm) de PH-02.

Anexo

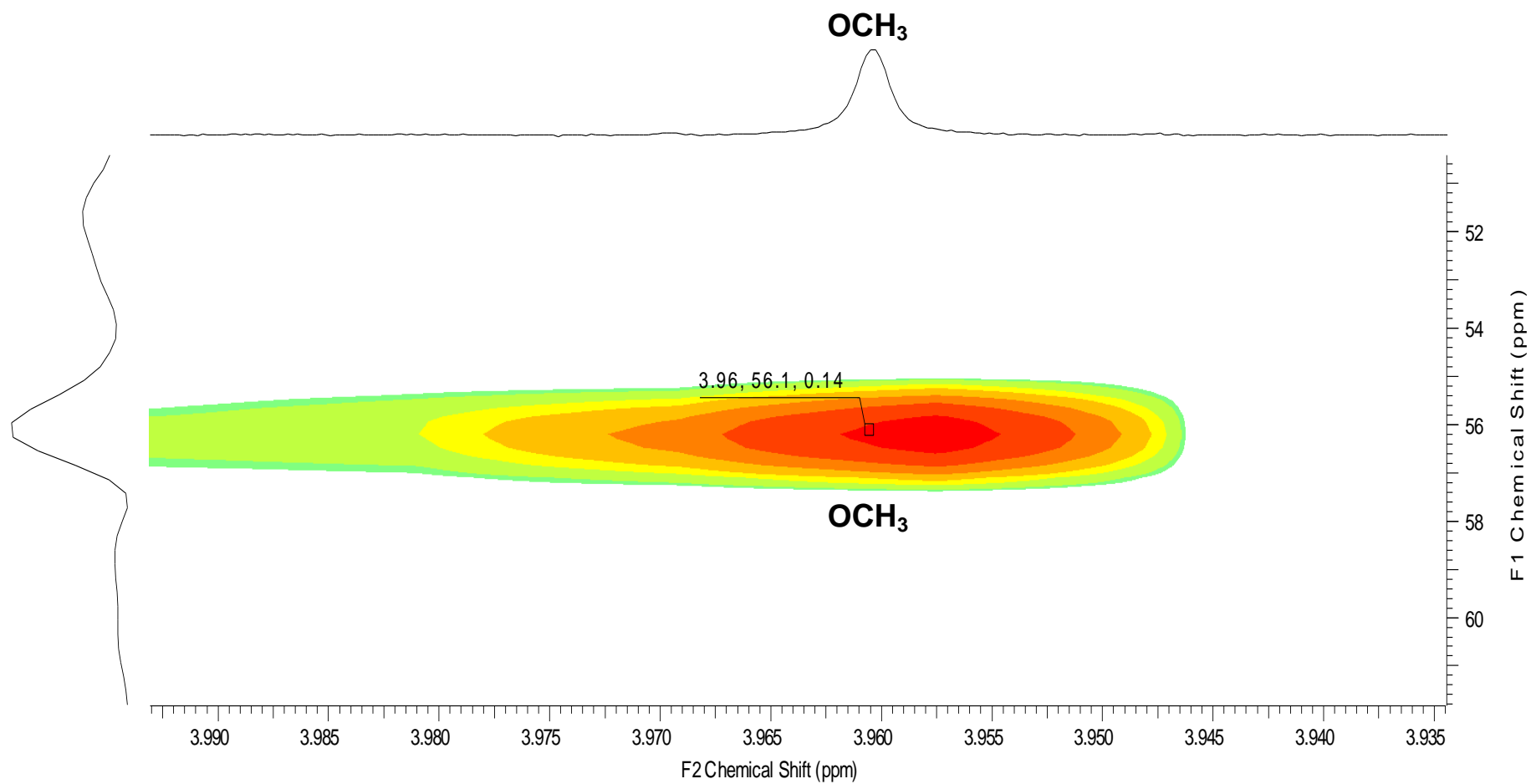


Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	(0.3408, 0.0068)
Comment	5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD Z8624/0014
Date	19 Nov 2013 18:06:00
Frequency (MHz)	(500.13, 125.77)
Nucleus	(1H, 13C)
Number of Transients	24
Origin	spect
Original Points Count	(2048, 256)
Owner	nmr-su
Points Count	(1024, 1024)
Pulse Sequence	hsqcetdgpsisp2.3
Solvent	CDCl3
Spectrum Type	HSQC
Sweep Width (Hz)	(6003.75, 37557.27)
Temperature (degree C)	25.260
Title	l-rphac164-74-7 3mg CDCl3 RAQUEL

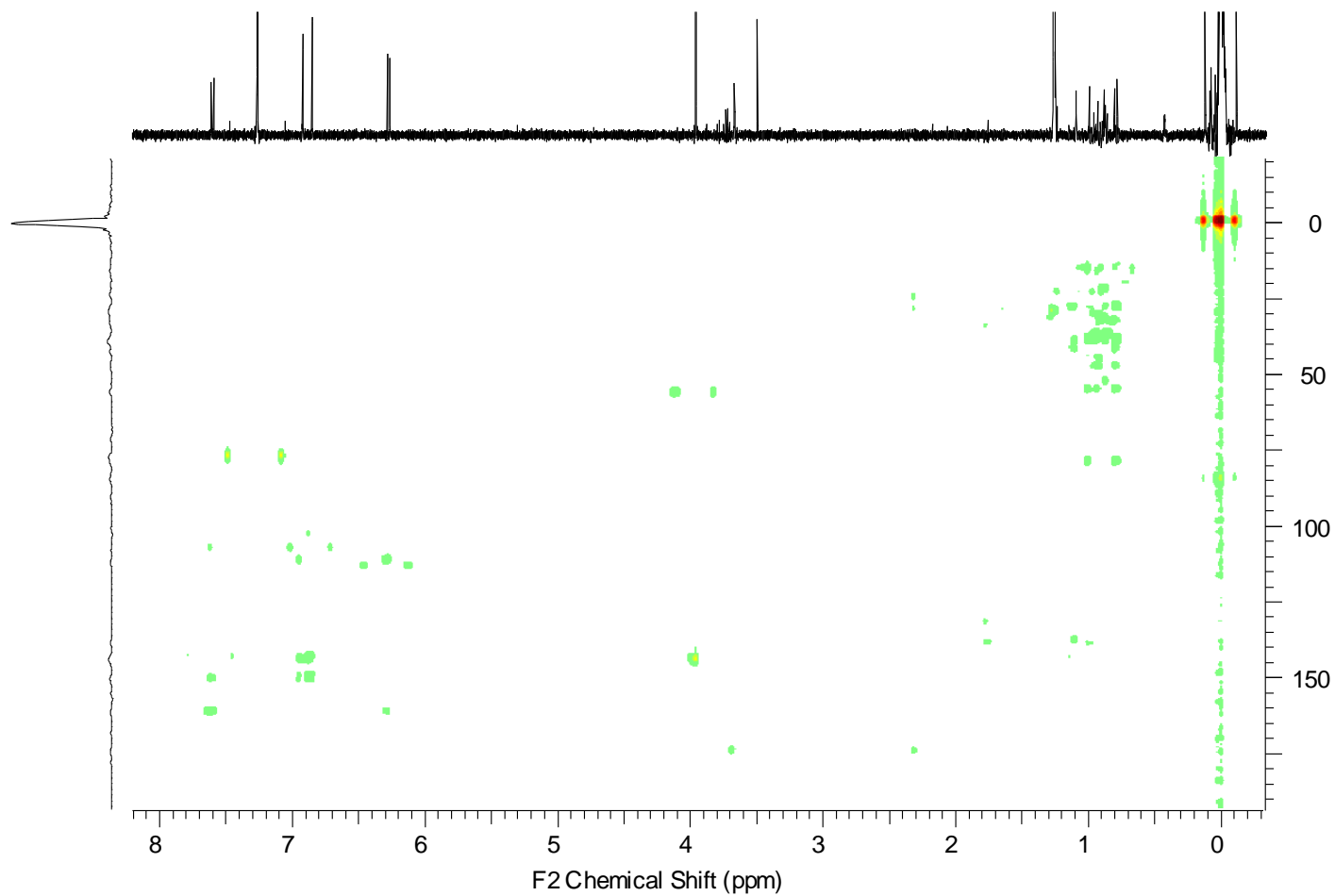
Espectro 15 – Mapa de correlação de HSQC de PH-02.



Espectro 16 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,6 à 6,2 ppm) de PH-02.

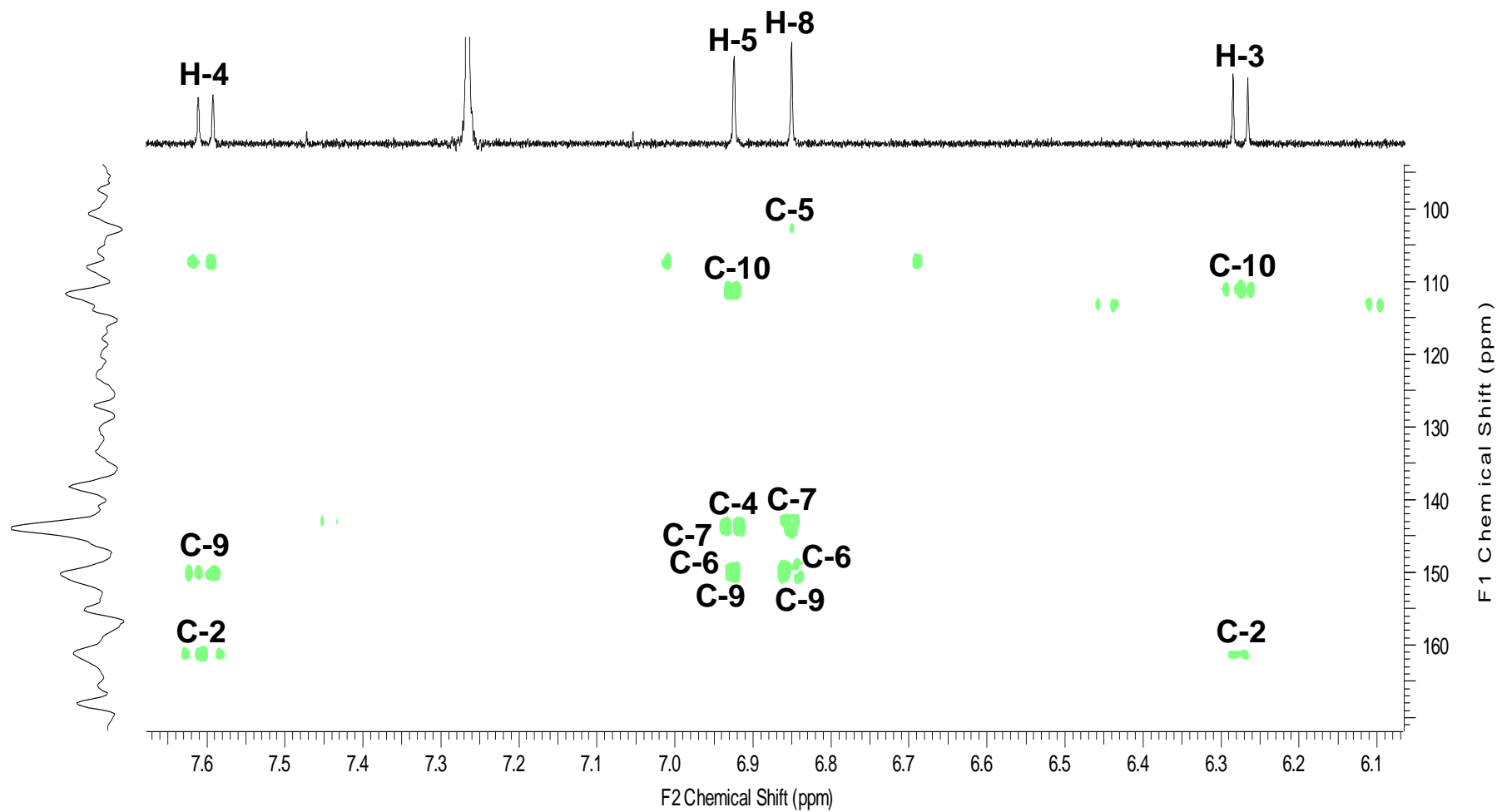


Espectro 17 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,99 à 3,93 ppm) de PH-02.

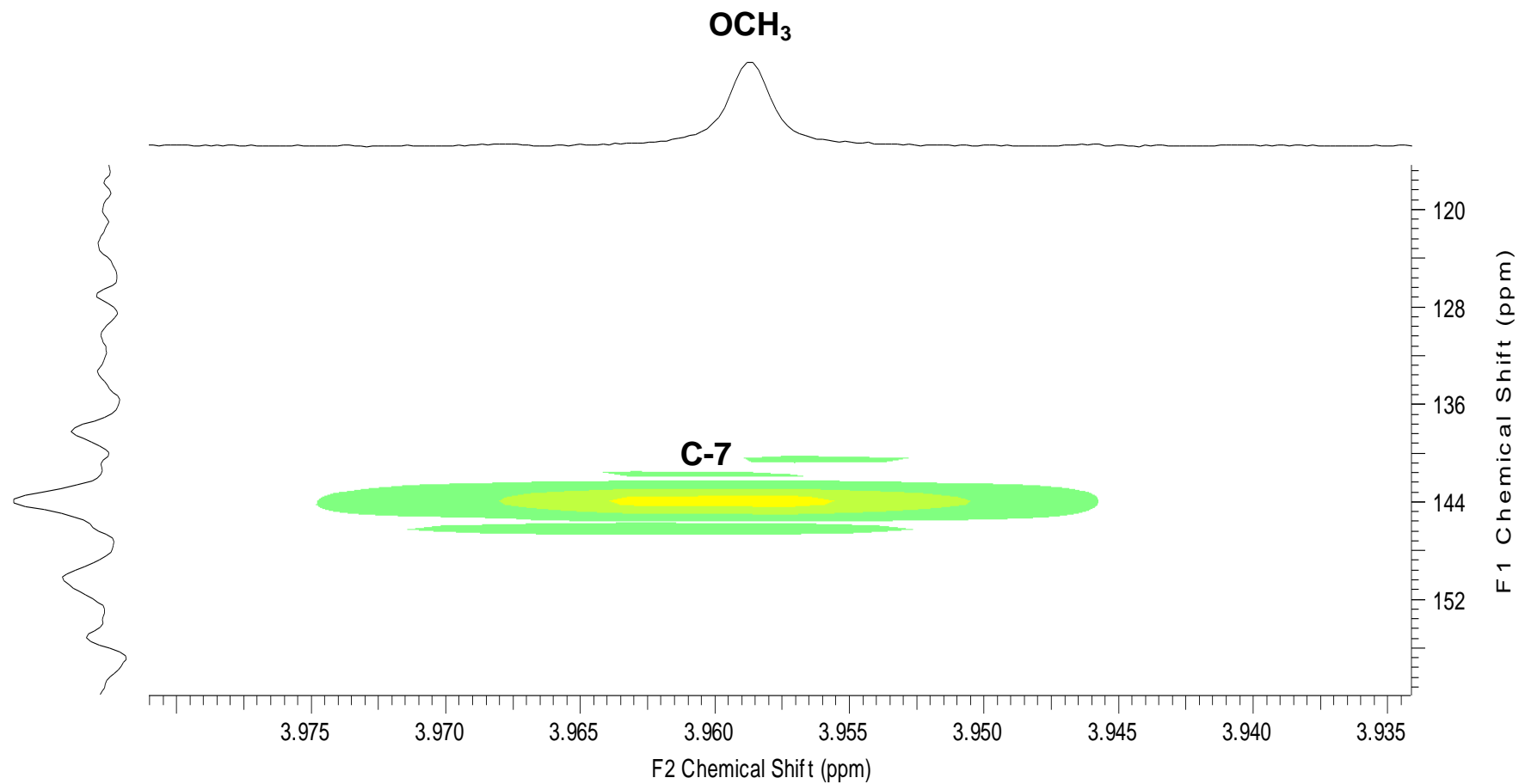


Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	(0.3408, 0.0068)
Comment	5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD Z8624/0014
Date	19 Nov 2013 14:03:00
Frequency (MHz)	(500.13, 125.77)
Nucleus	(1H, 13C)
Number of Transients	40
Origin	spect
Original Points Count	(2048, 256)
Owner	nmrsu
Points Count	(2048, 1024)
Pulse Sequence	hmbcgp1pndqf
Solvent	CDCl3
Spectrum Type	HMBC
Sweep Width (Hz)	(6006.68, 37557.27)
Temperature (degree C)	25.160

Espectro 18 – Mapa de correlação de HMBC de PH-02.

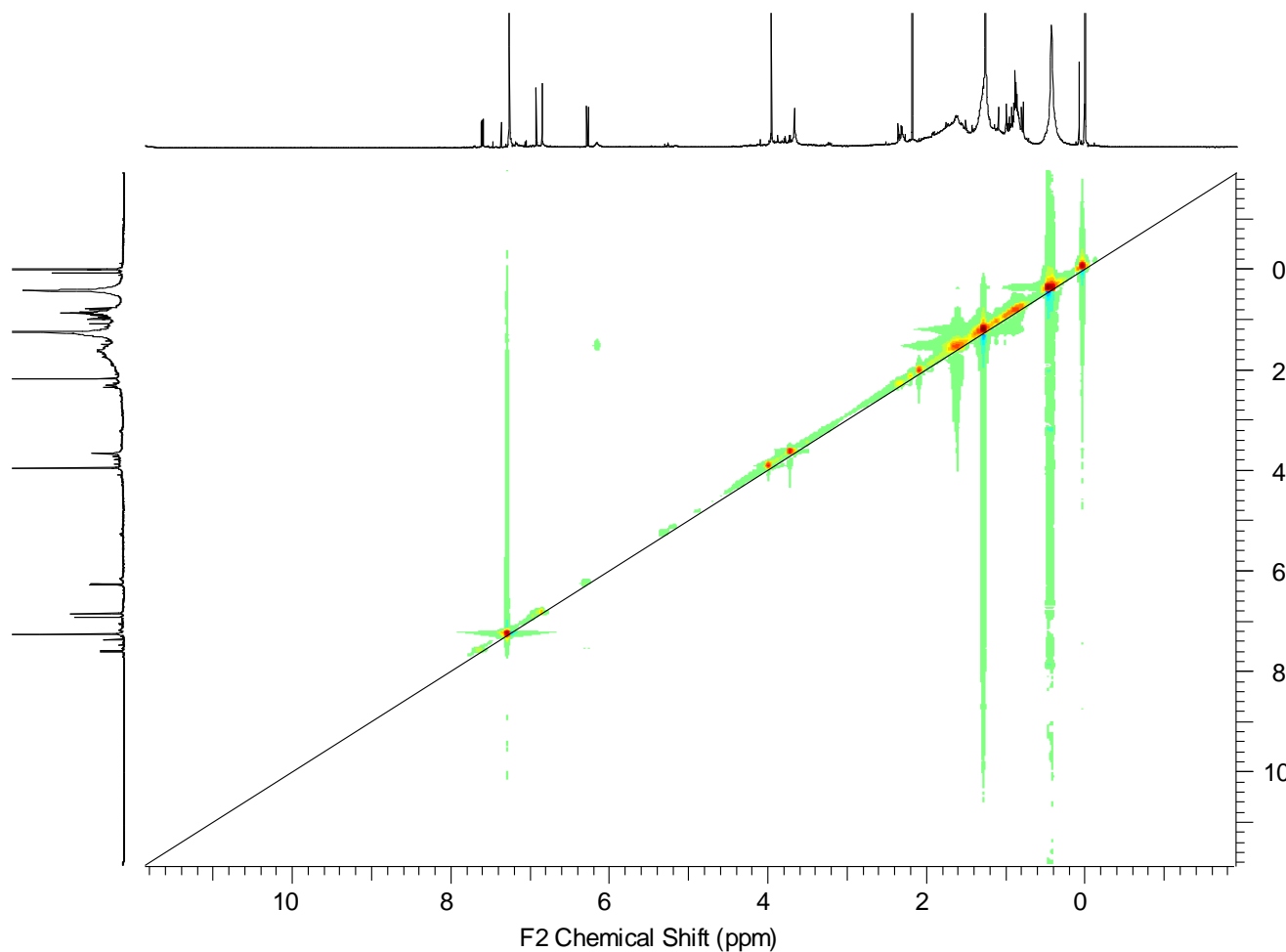


Espectro 19 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,6 à 6,1 ppm) de PH-02.



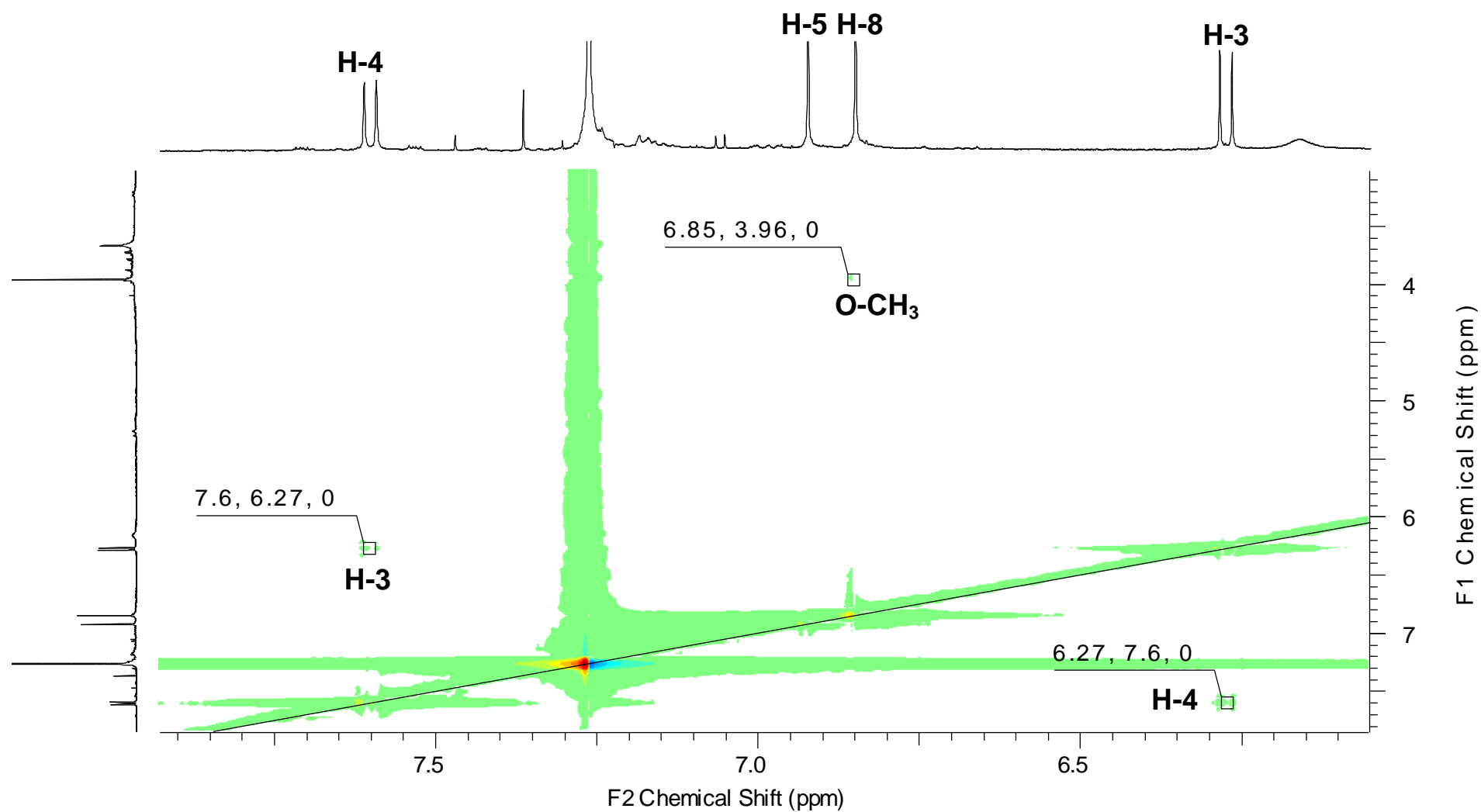
Espectro 20 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 3,98 à 3,93 ppm) de PH-02.

Anexo

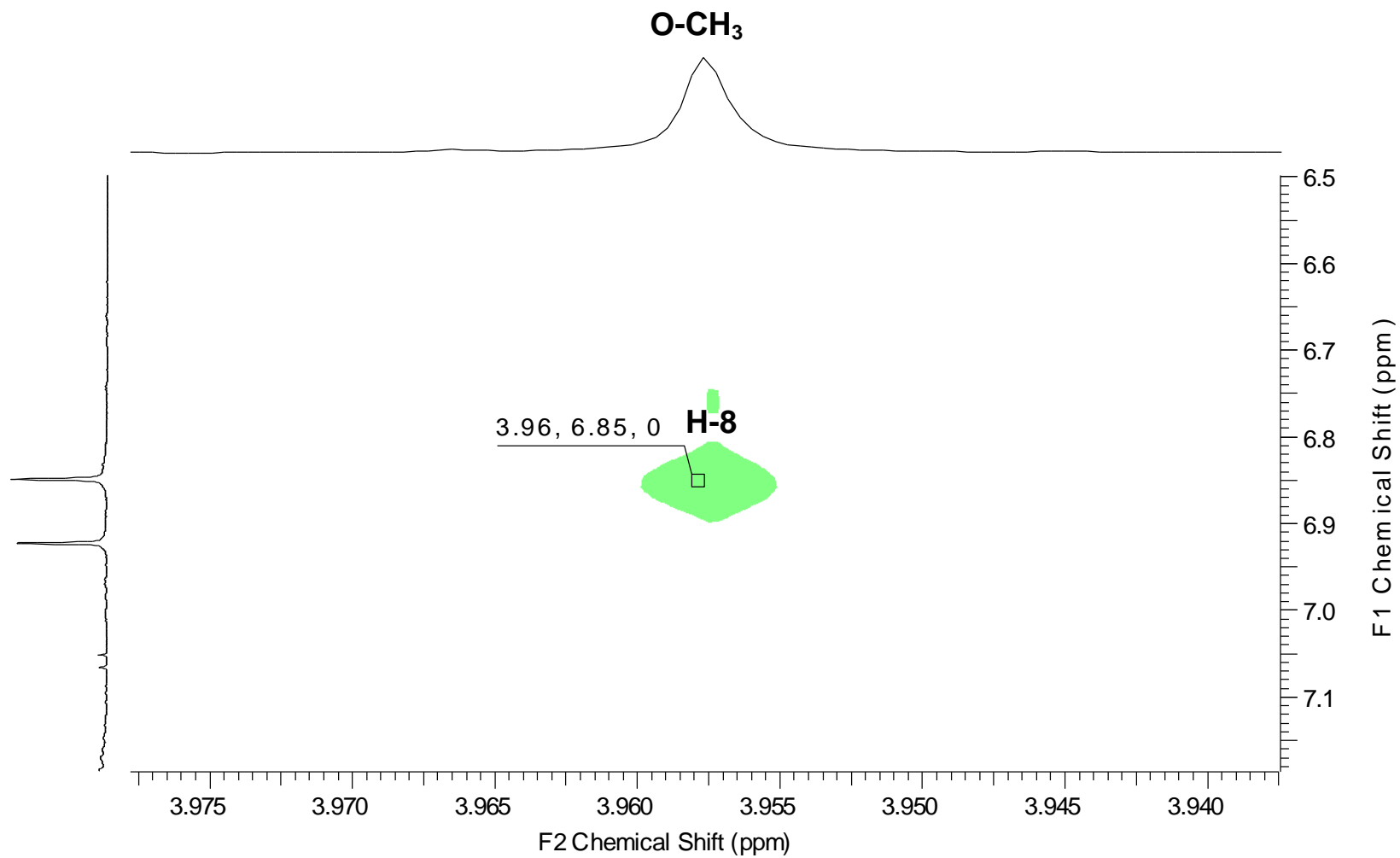


Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	(0.2971, 0.0740)
Comment	5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD Z8624/14
Date	15 May 2014 19:48:00
Frequency (MHz)	(500.13, 500.13)
Nucleus	(1H, 1H)
Number of Transients	52
Origin	spect
Original Points Count	(2048, 510)
Owner	nmsu
Points Count	(2048, 1024)
Pulse Sequence	noesygpqhpp
Solvent	CDCl ₃
Spectrum Type	NOESY
Sweep Width (Hz)	(6890.02, 6889.82)
Temperature (degree C)	25.160
Title	l-rphac164-74-7 Raquel_PN2 2mg cdcl3

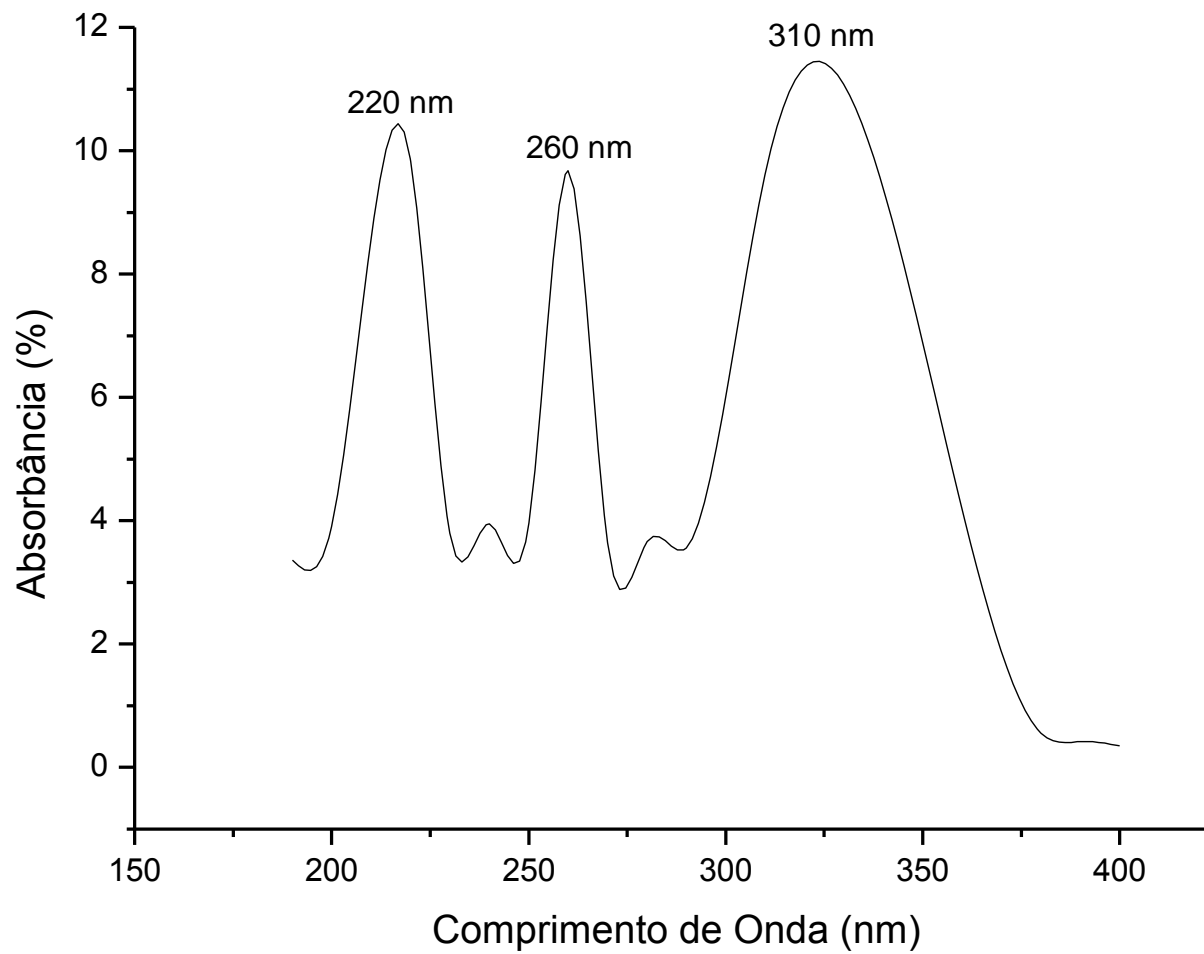
Espectro 21 – Mapa de correlação espacial NOESY de PH-02.



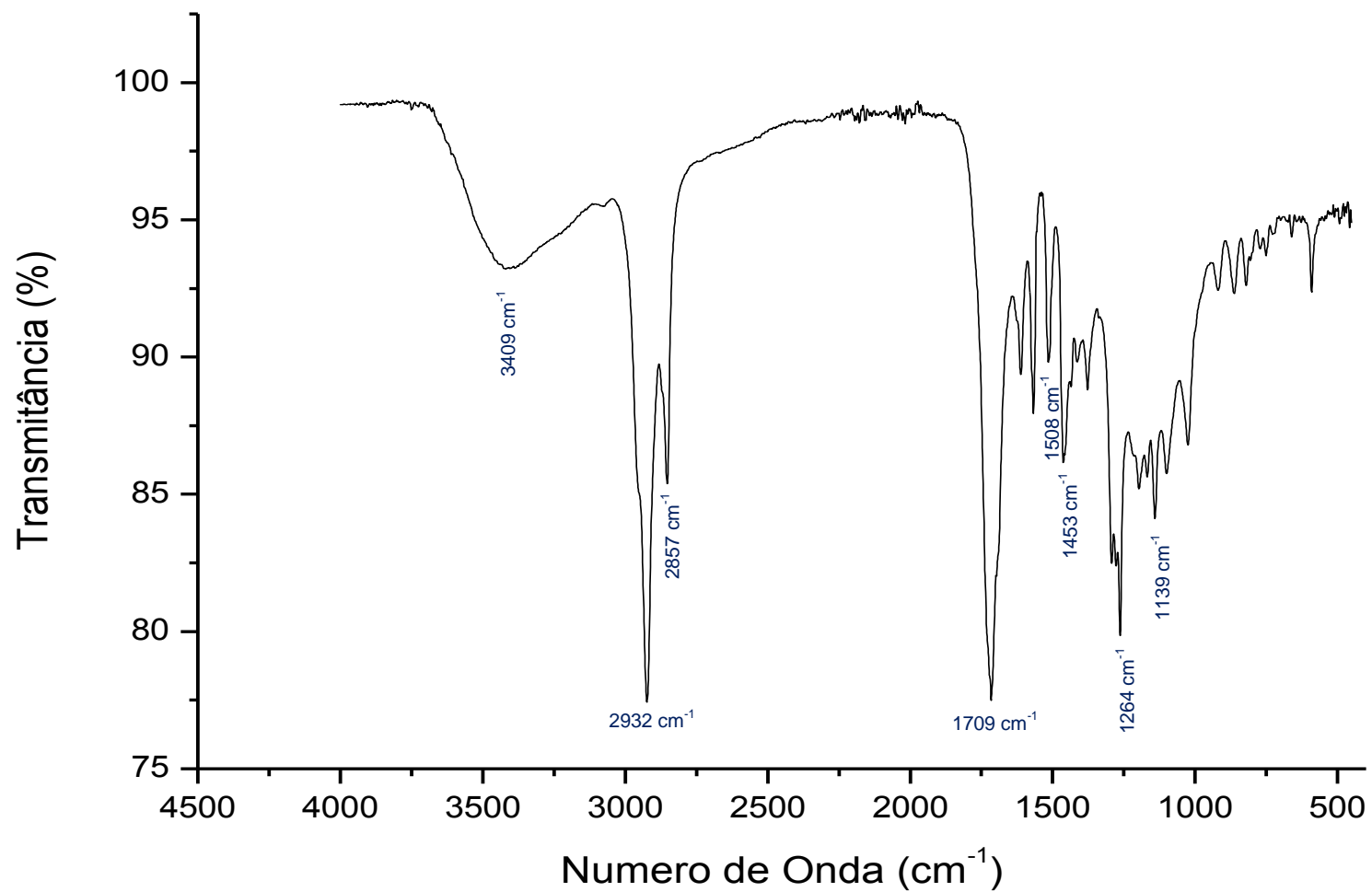
Espectro 22 – Expansão do mapa de correlação espacial NOESY (região 7,7 à 6,3 ppm) de PH-02.



Espectro 23 – Expansão do mapa de correlação espacial NOESY (região 3,97 à 3,94 ppm) de PH-02.

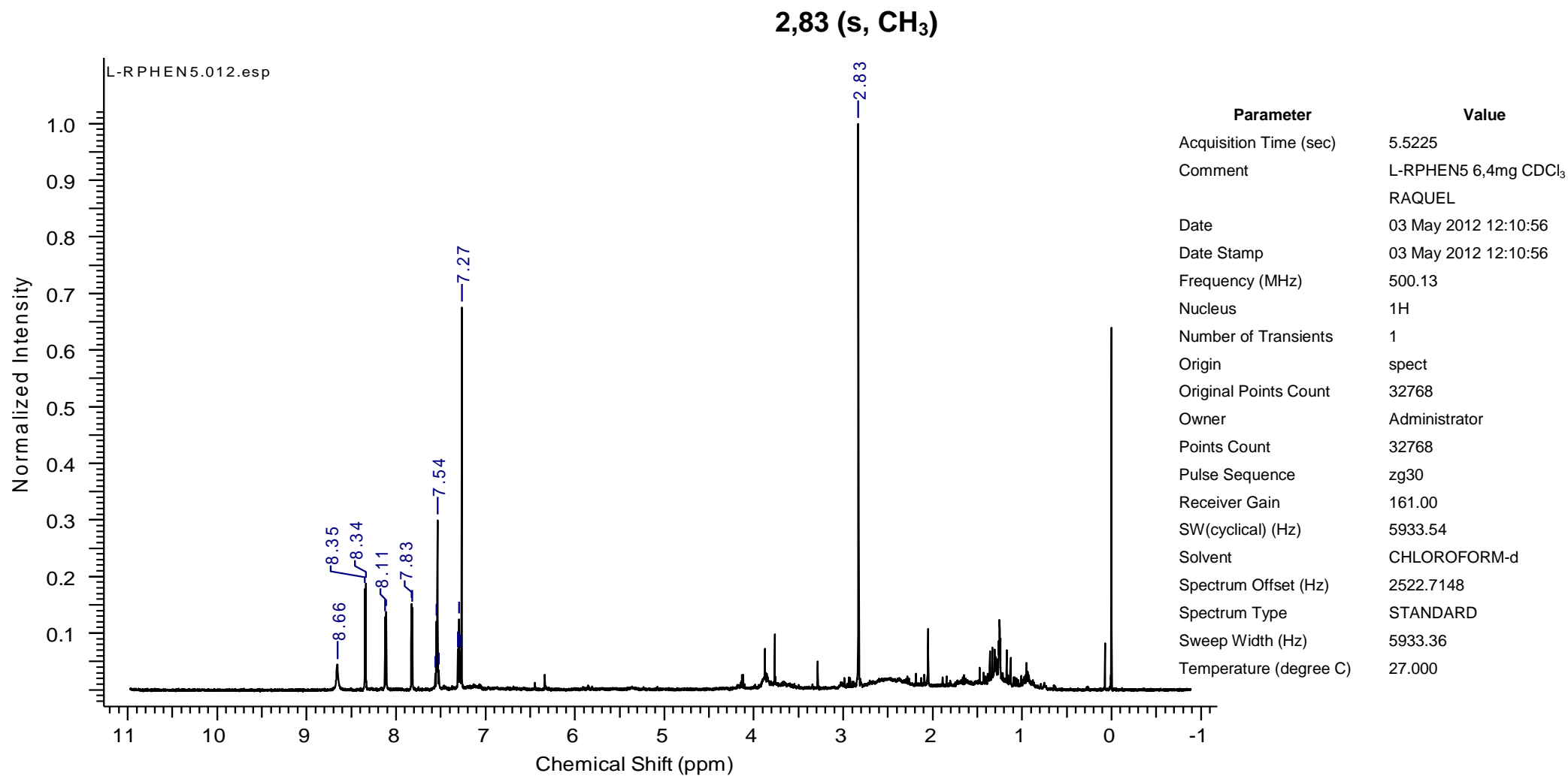


Espectro 24 – Espectro de ultravioleta (190 a 400 nm) de PH-02.



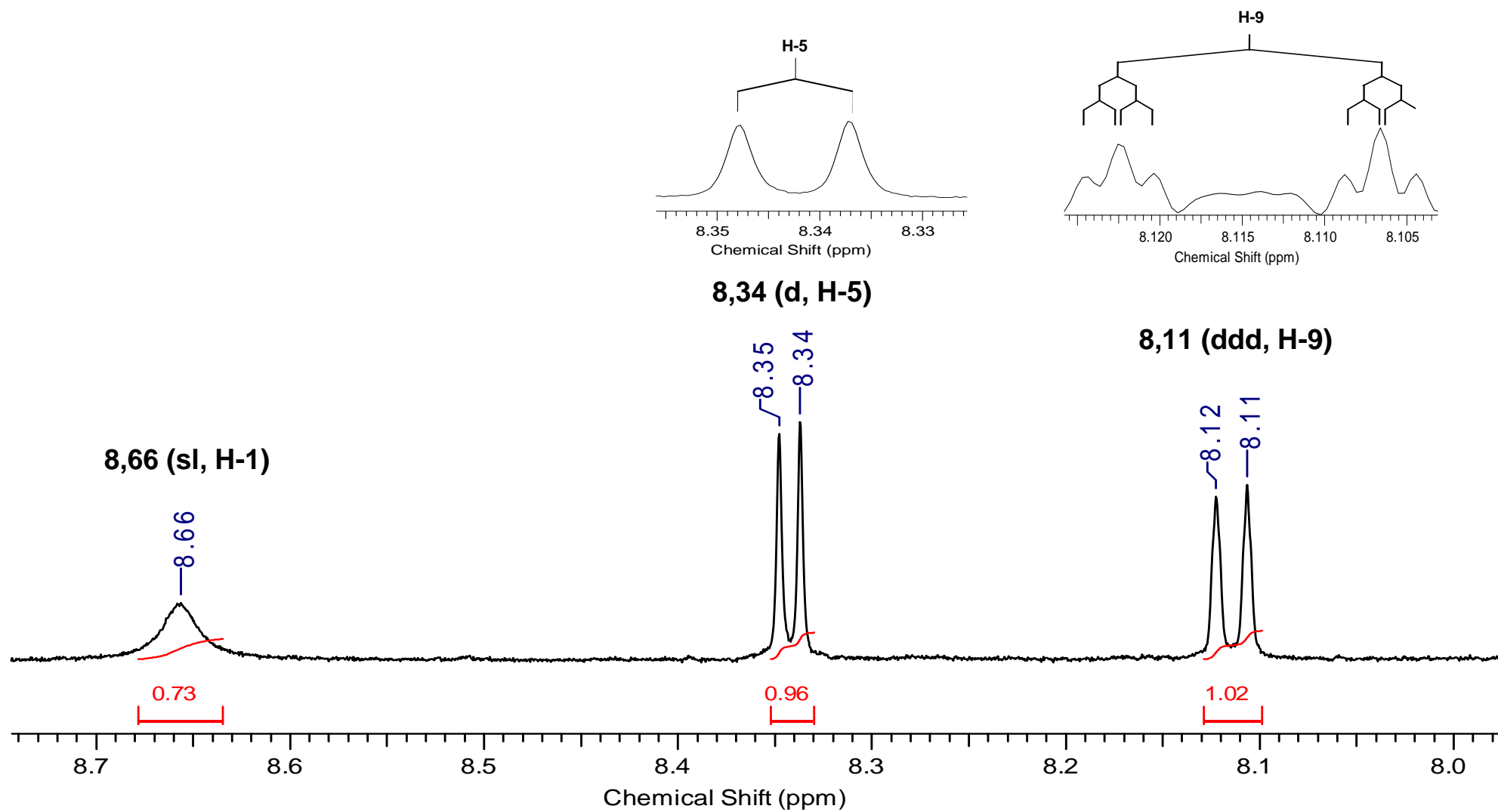
Espectro 25 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-02.

Anexo



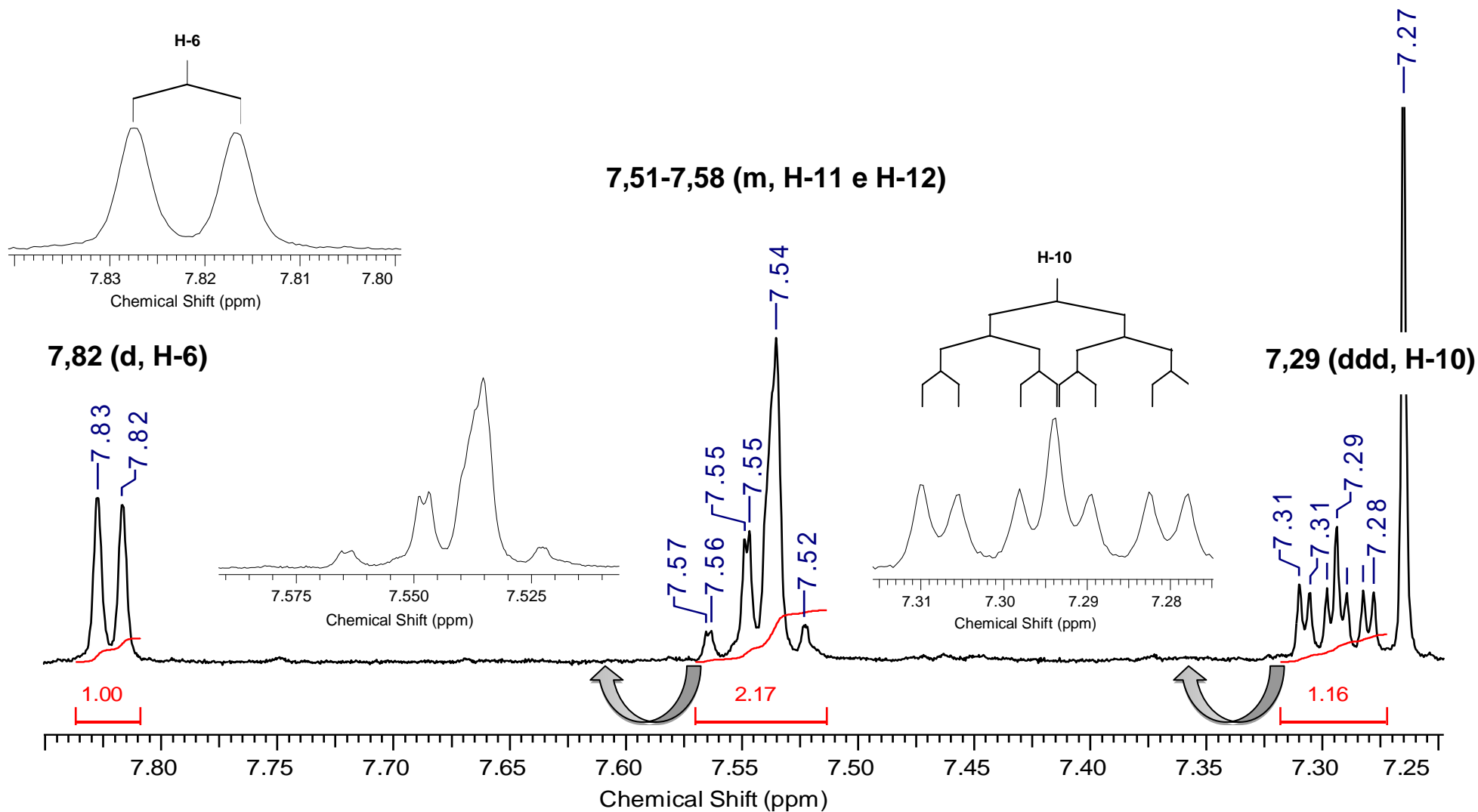
Espectro 26 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de PH-03.

Anexo



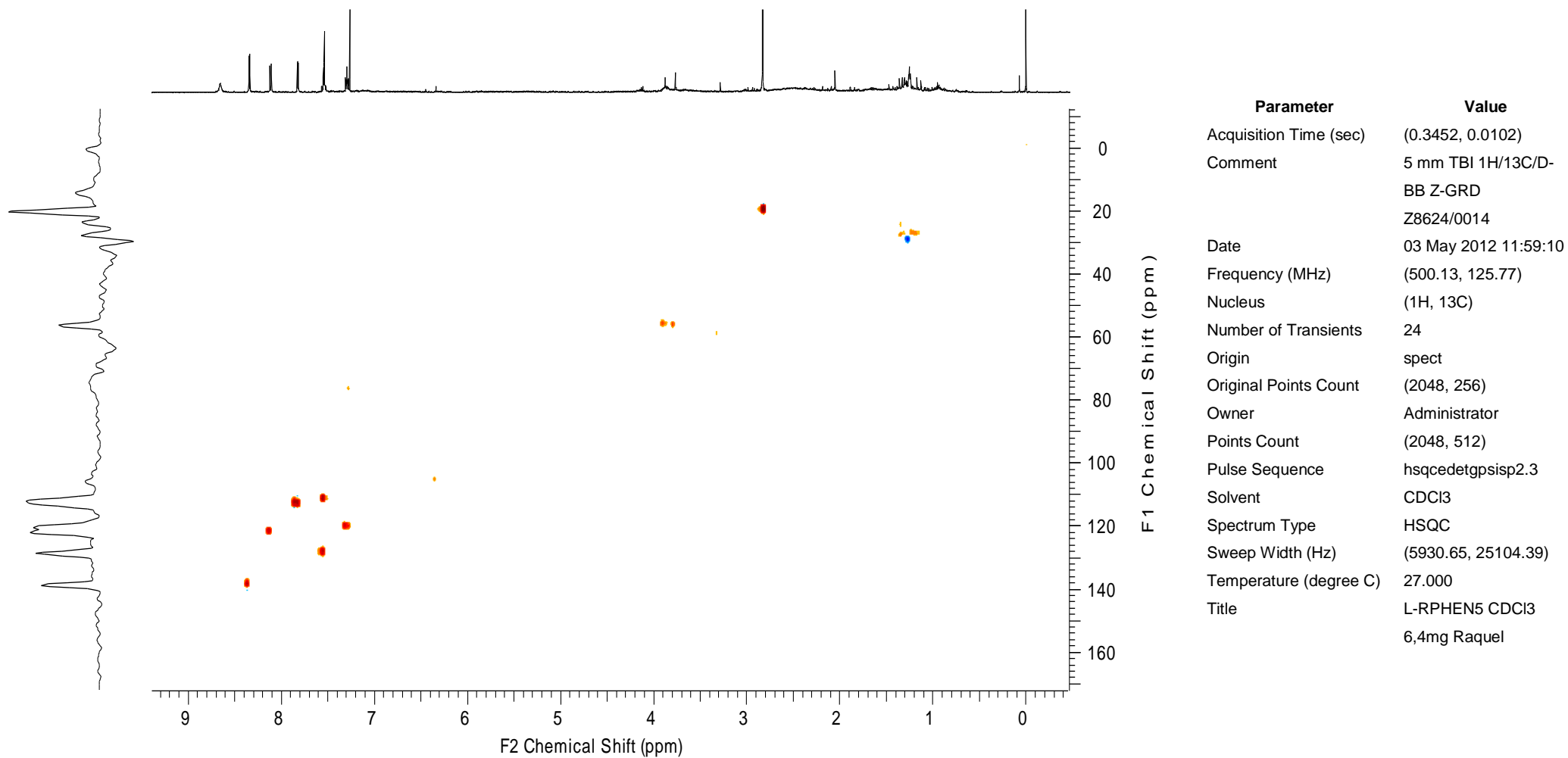
Espectro 27 – Expansão do espectro de RMN ¹H (região 8,7 à 8,0 ppm) de PH-03.

Anexo

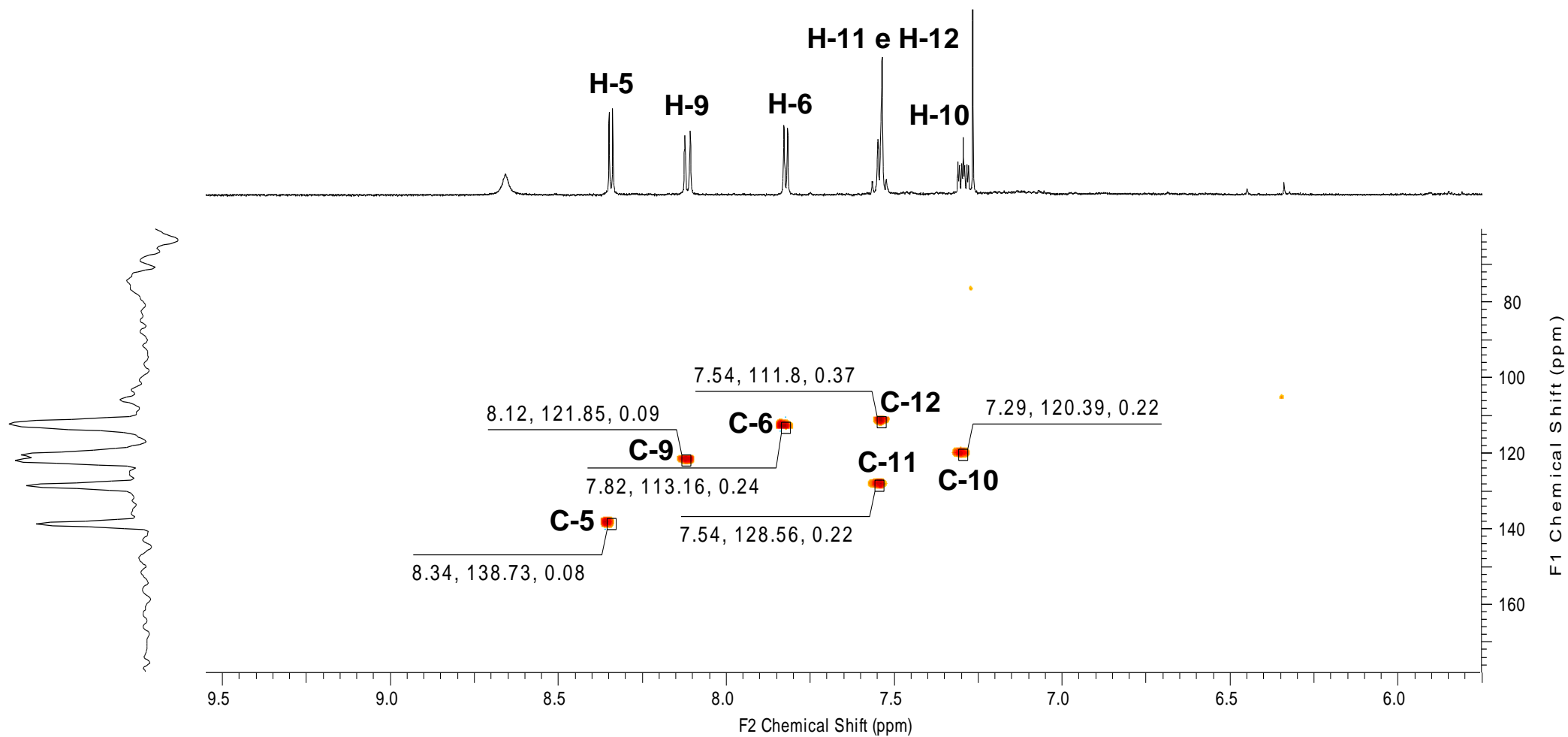


Espectro 28 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,8 à 7,2 ppm) de PH-03.

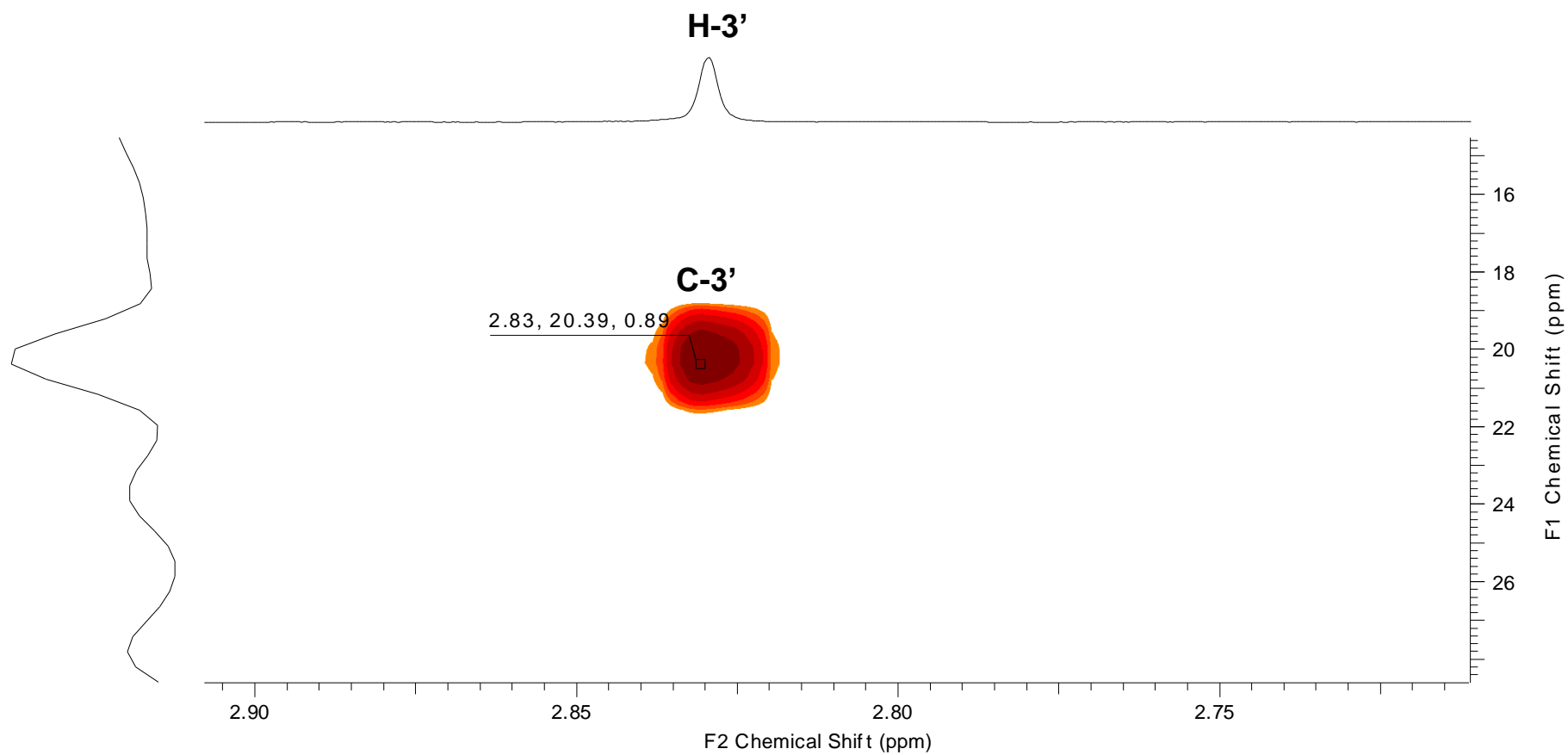
Anexo



Espectro 29 – Mapa de correlação de HSQC de PH-03.

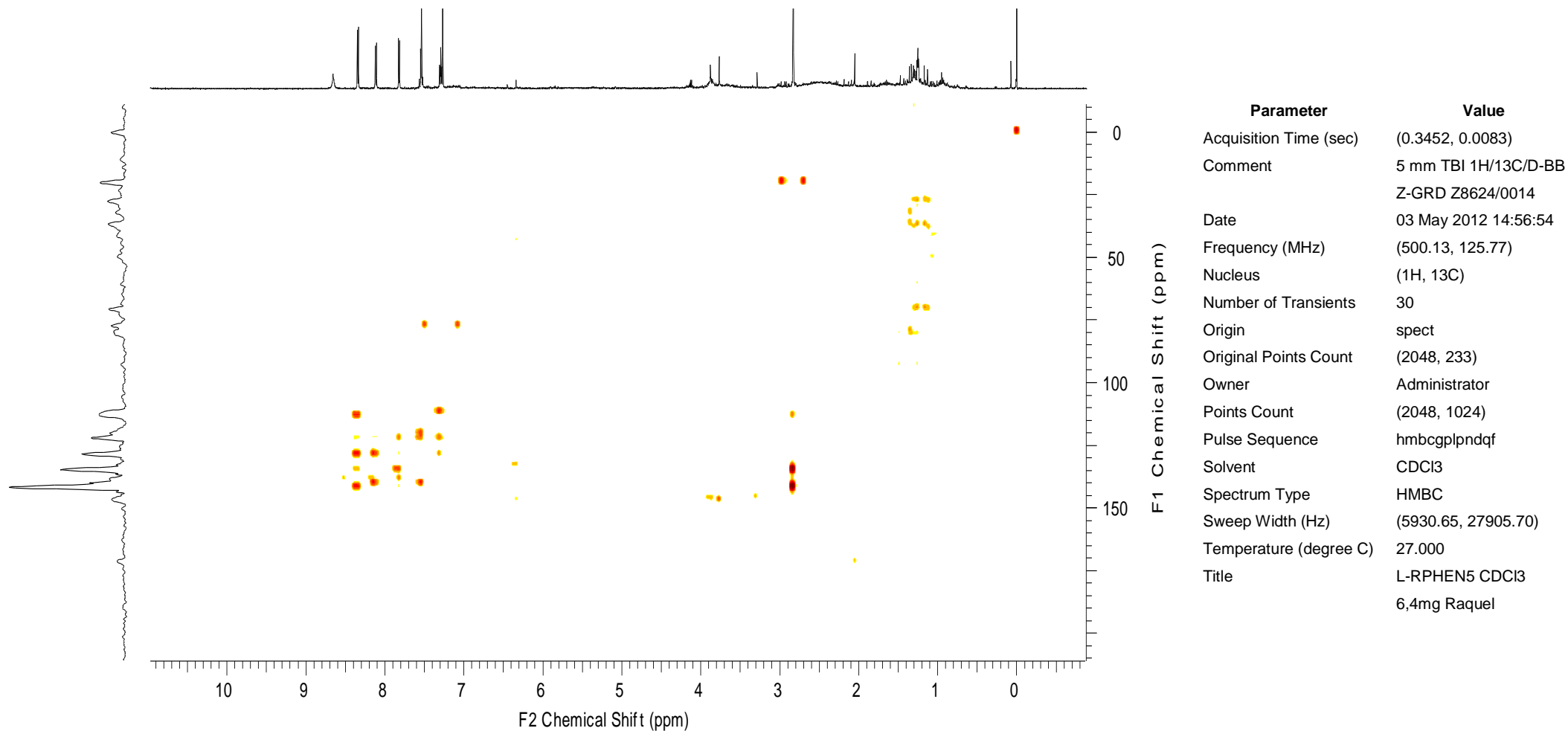


Espectro 30 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 9,5 à 6,0 ppm) de PH-03.

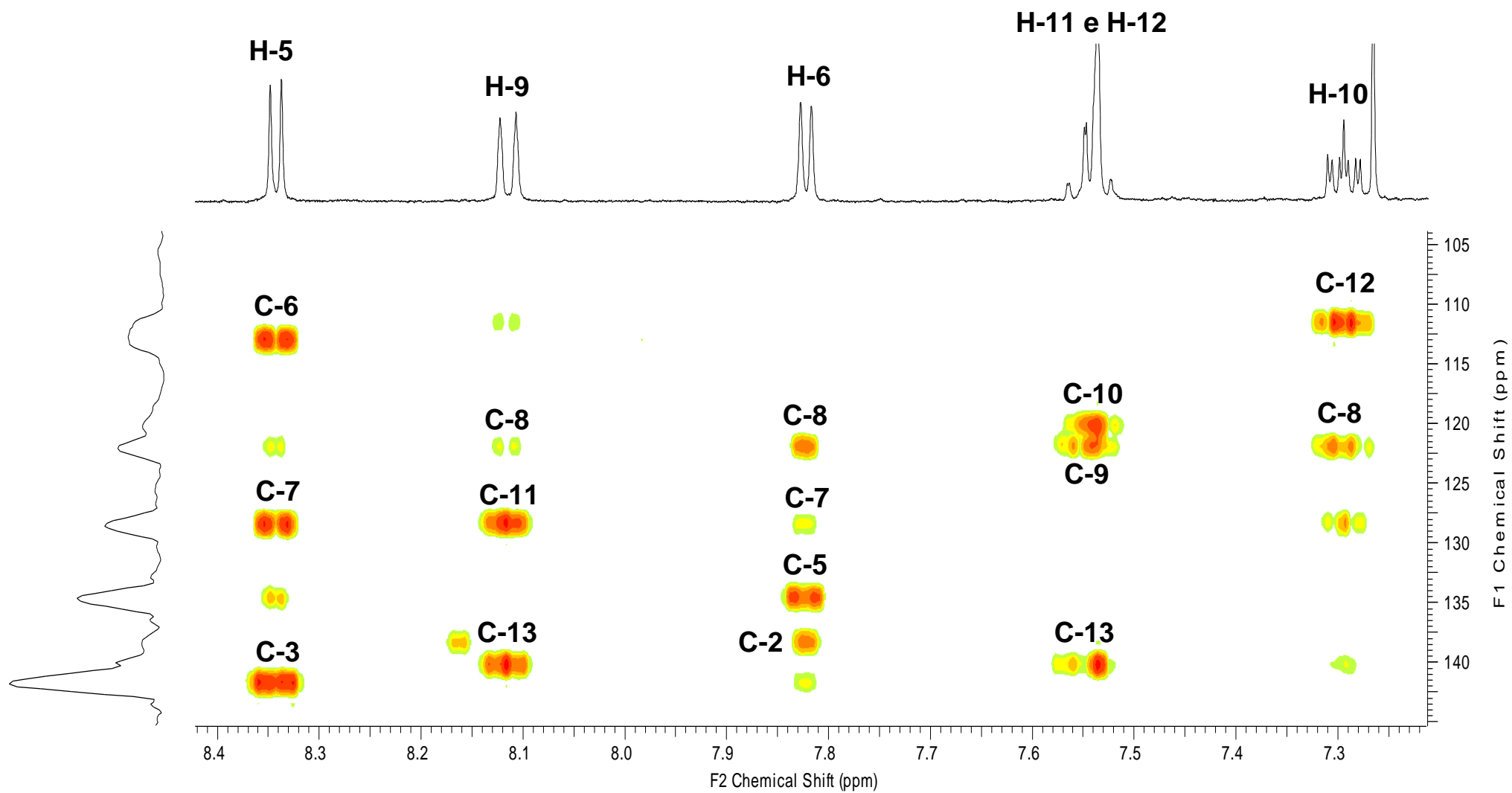


Espectro 31 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 2,9 à 2,7 ppm) de PH-03.

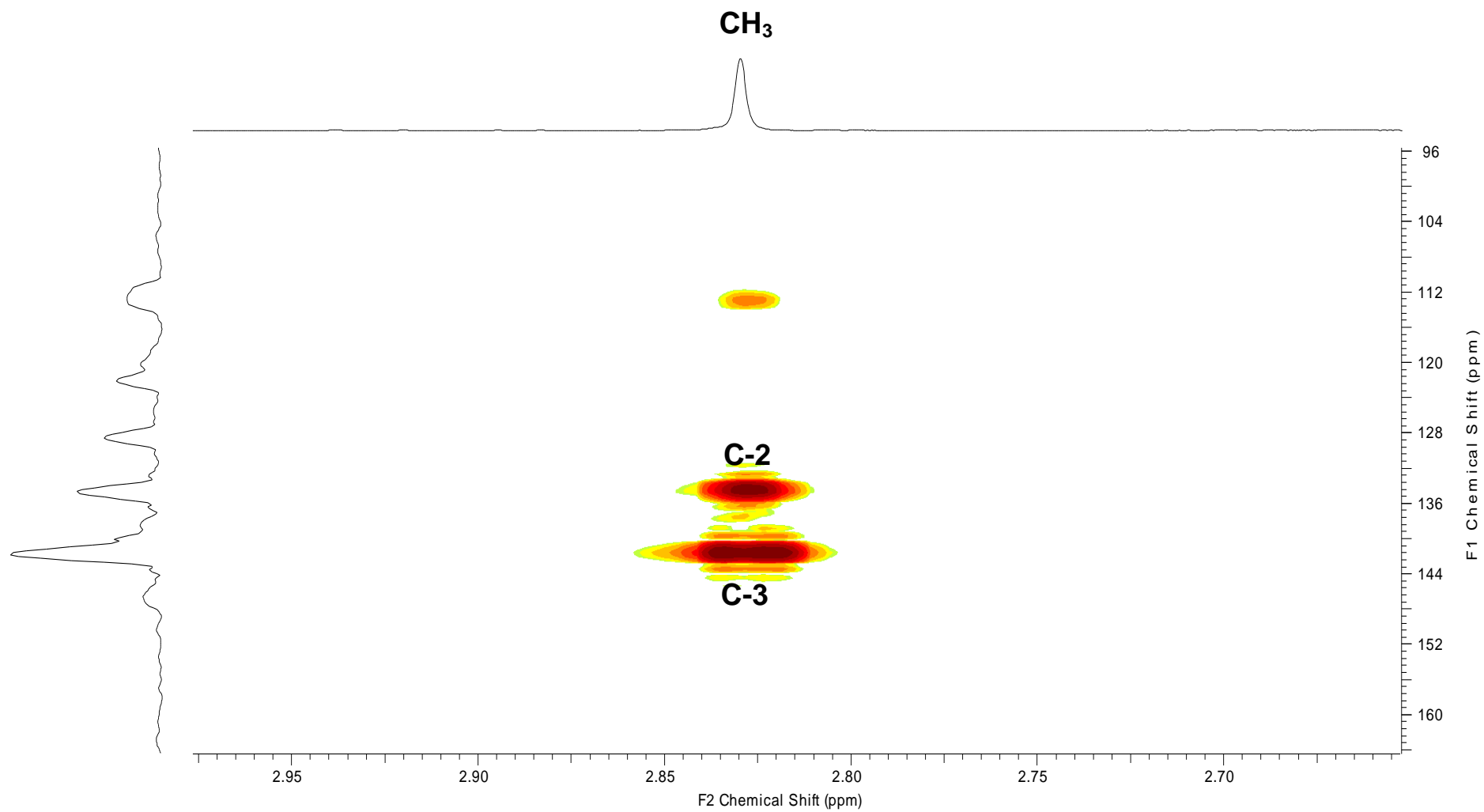
Anexo



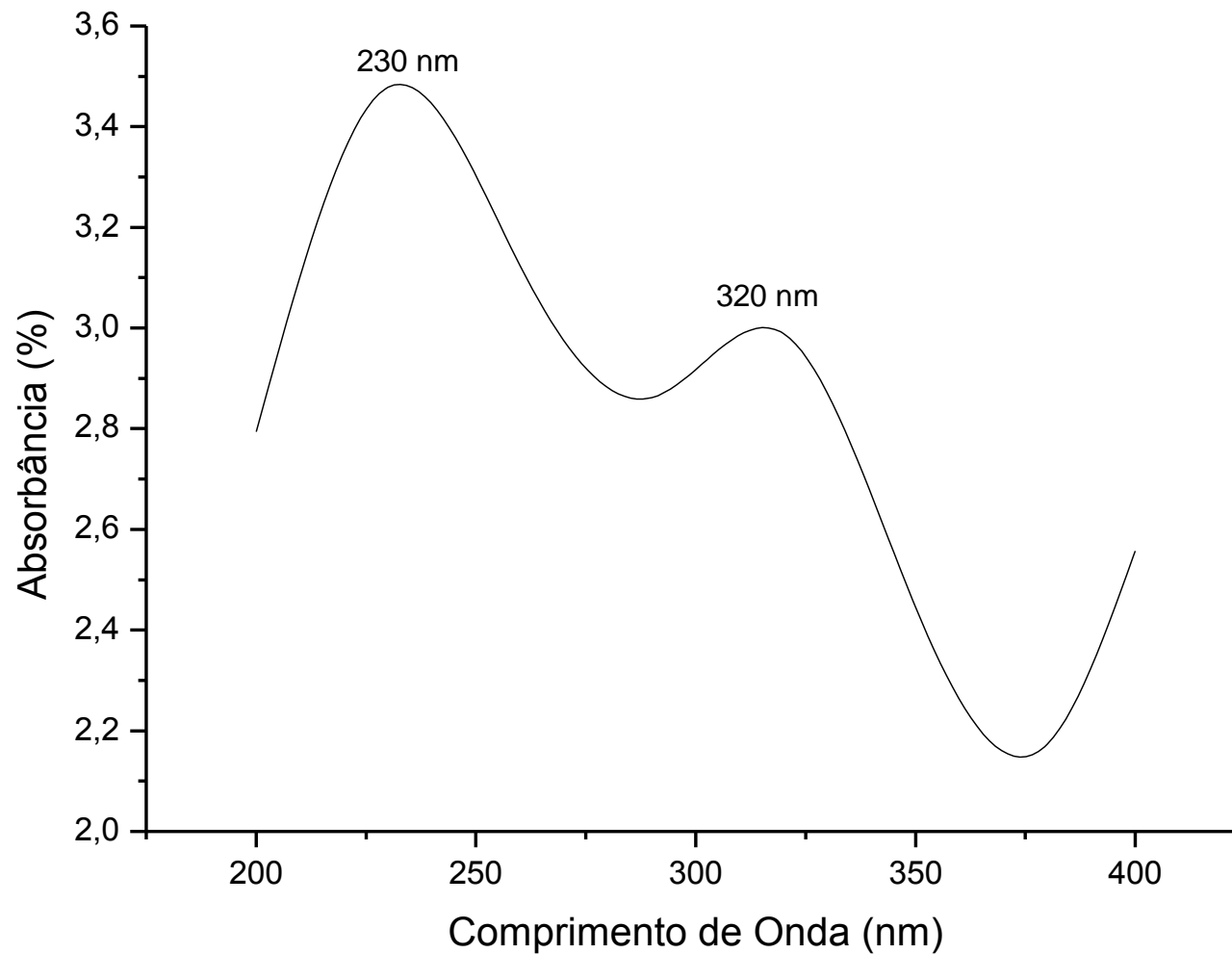
Espectro 32 – Mapa de correlação de HMBC de PH-03.



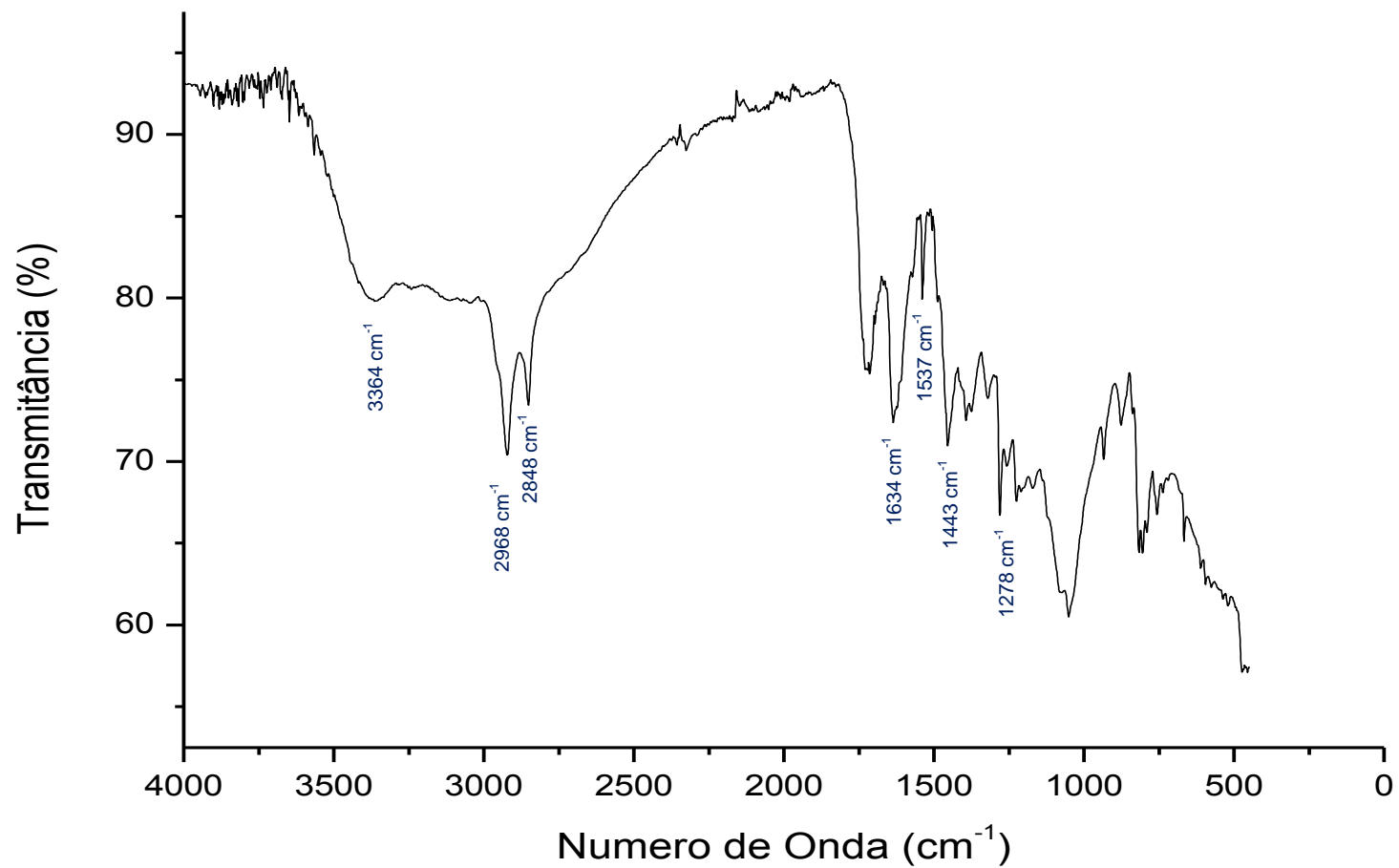
Espectro 33 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 8,4 à 7,3 ppm) de PH-03.



Espectro 34 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 2,9 à 2,7 ppm) de PH-03.

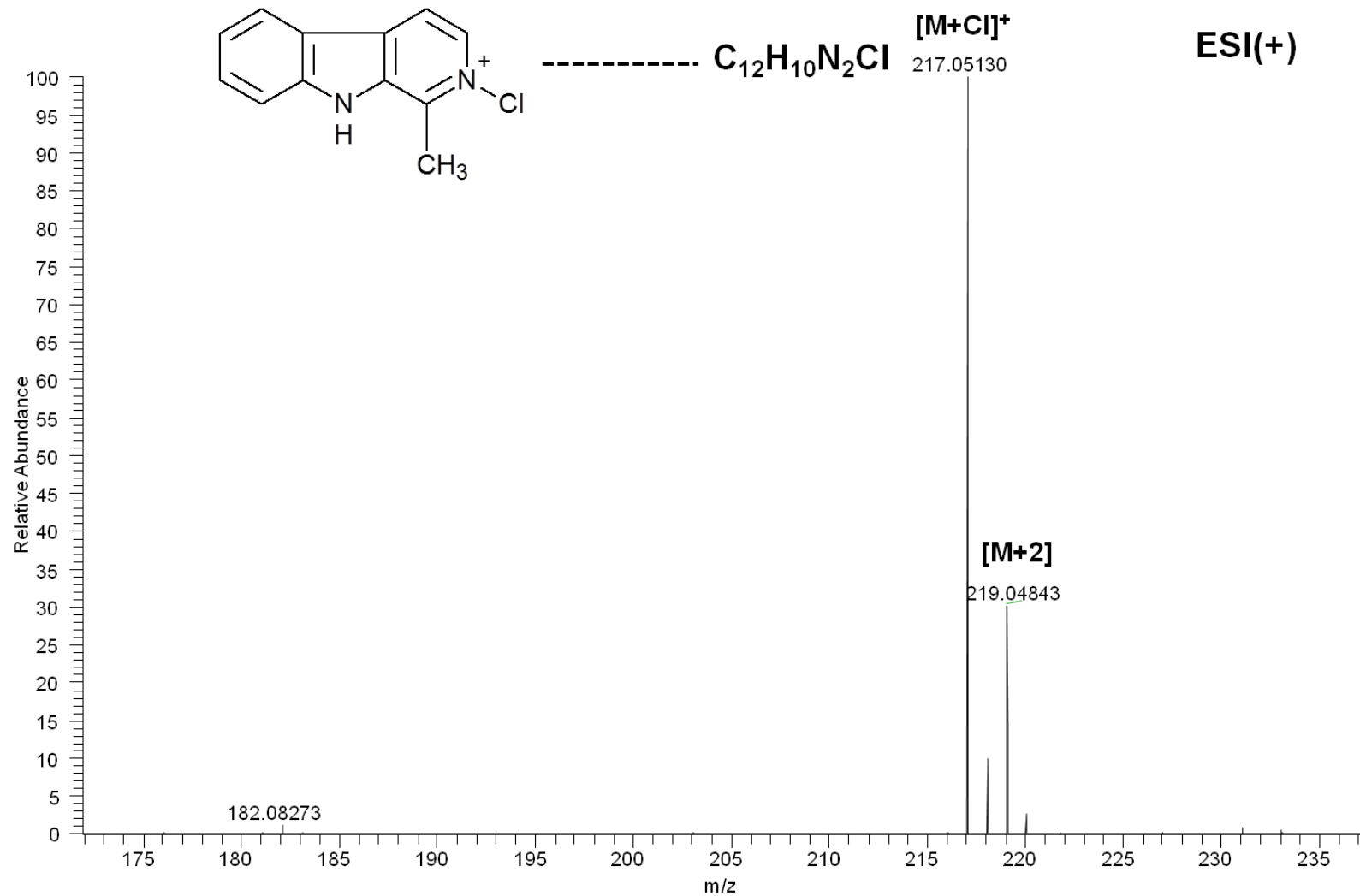


Espectro 35 – Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-03.

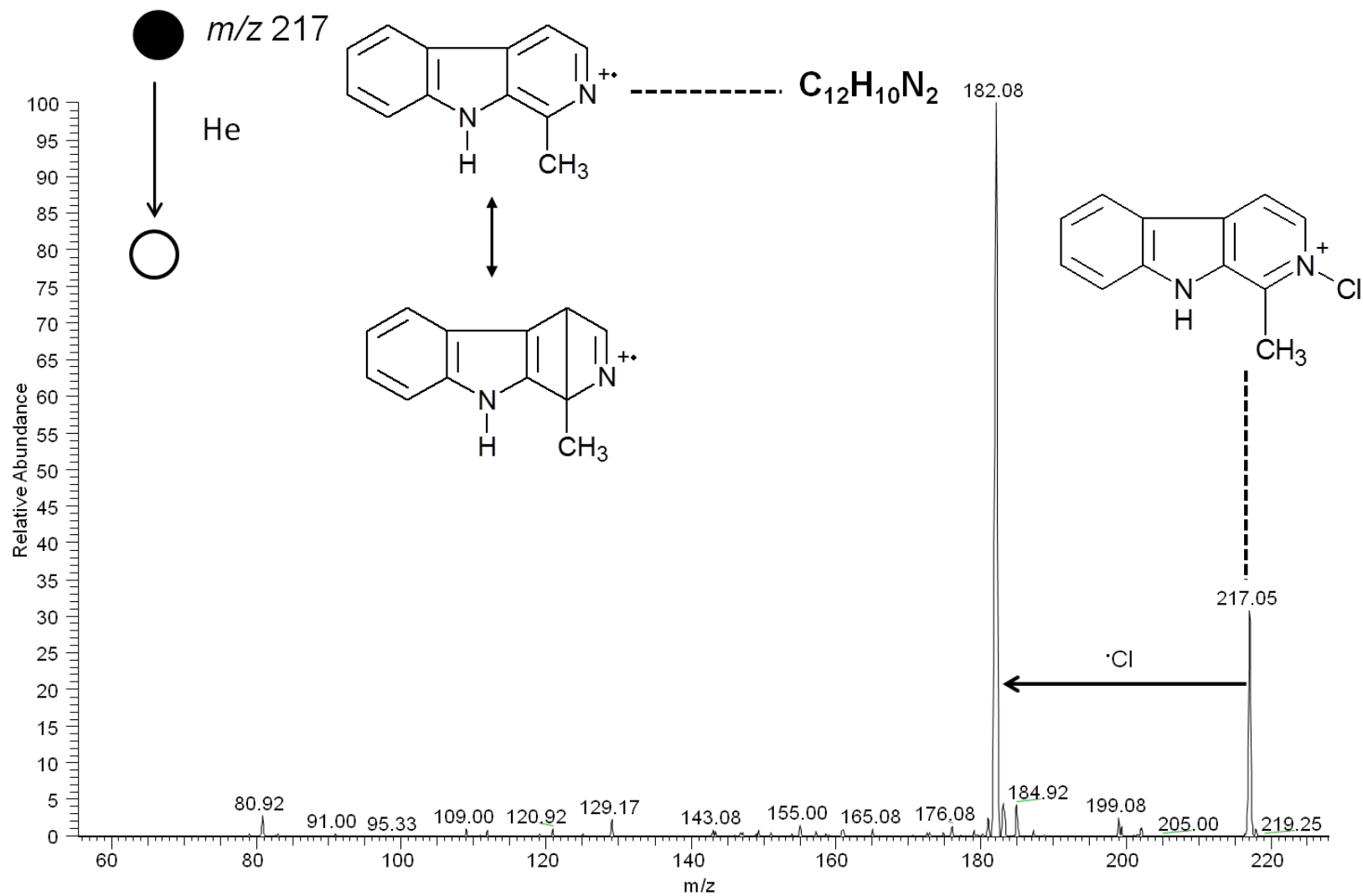


Espectro 36 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-03.

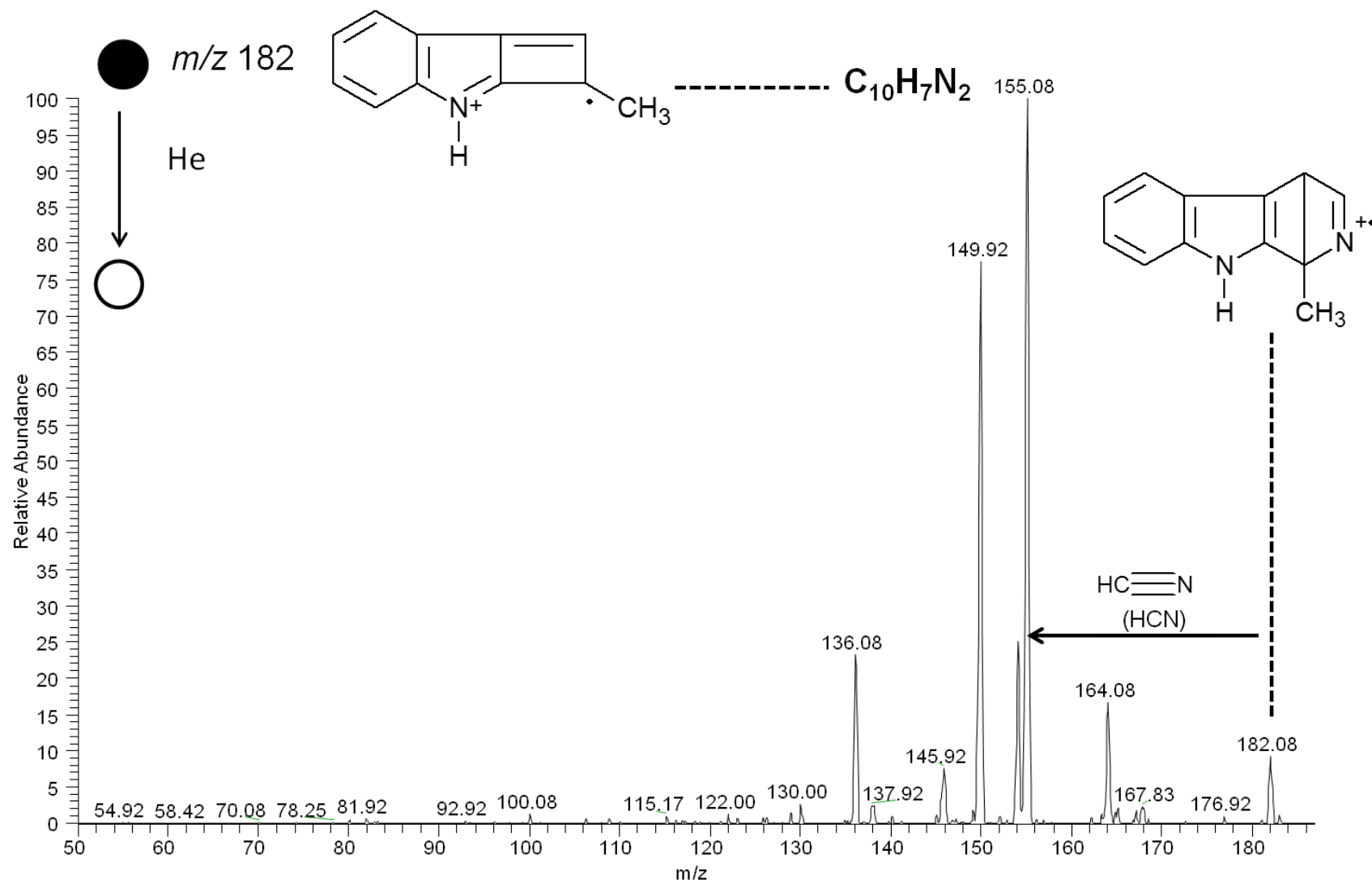
Anexo



Espectro 37 – Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-03.

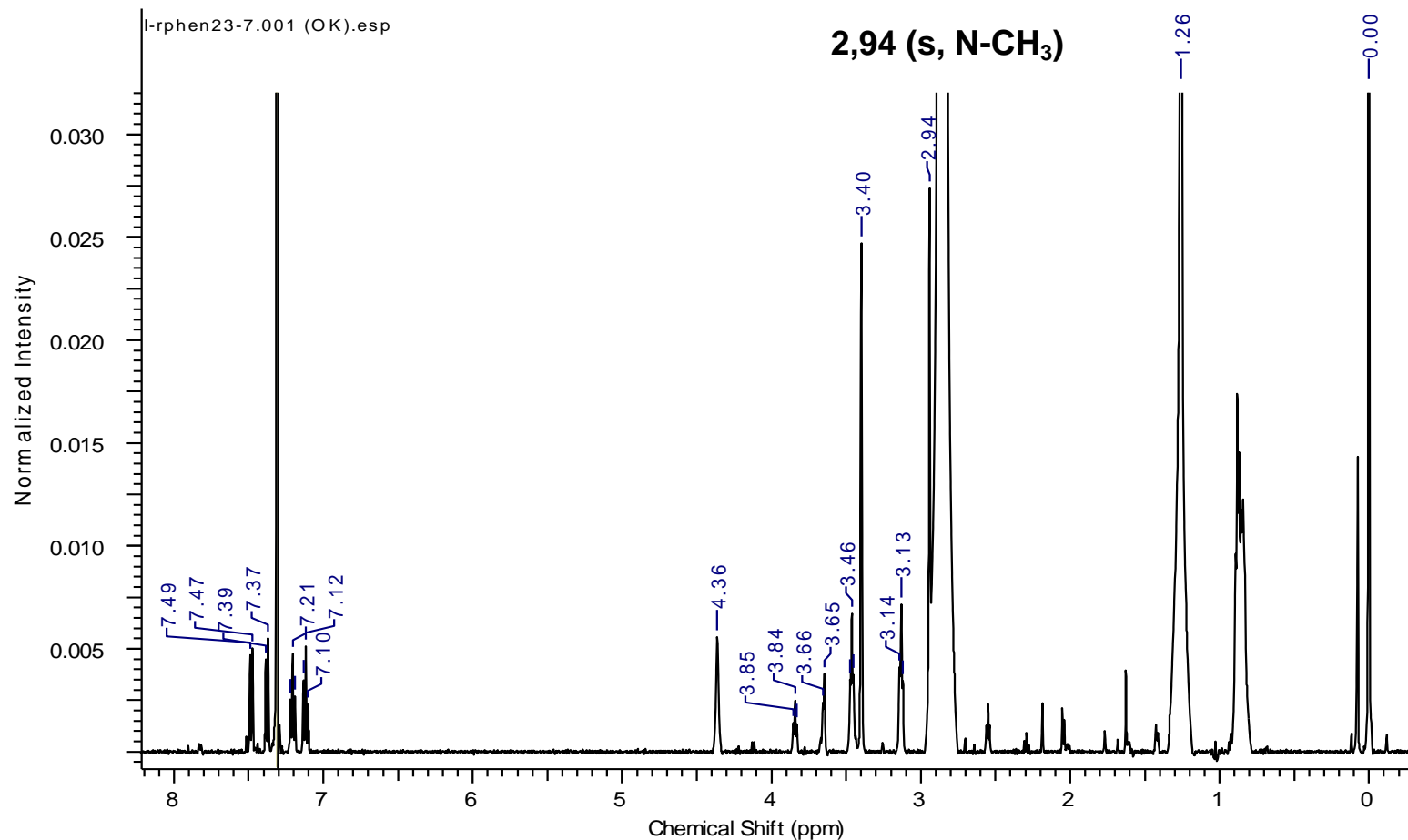


Espectro 38 – Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 217.



Espectro 39 – Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 182.

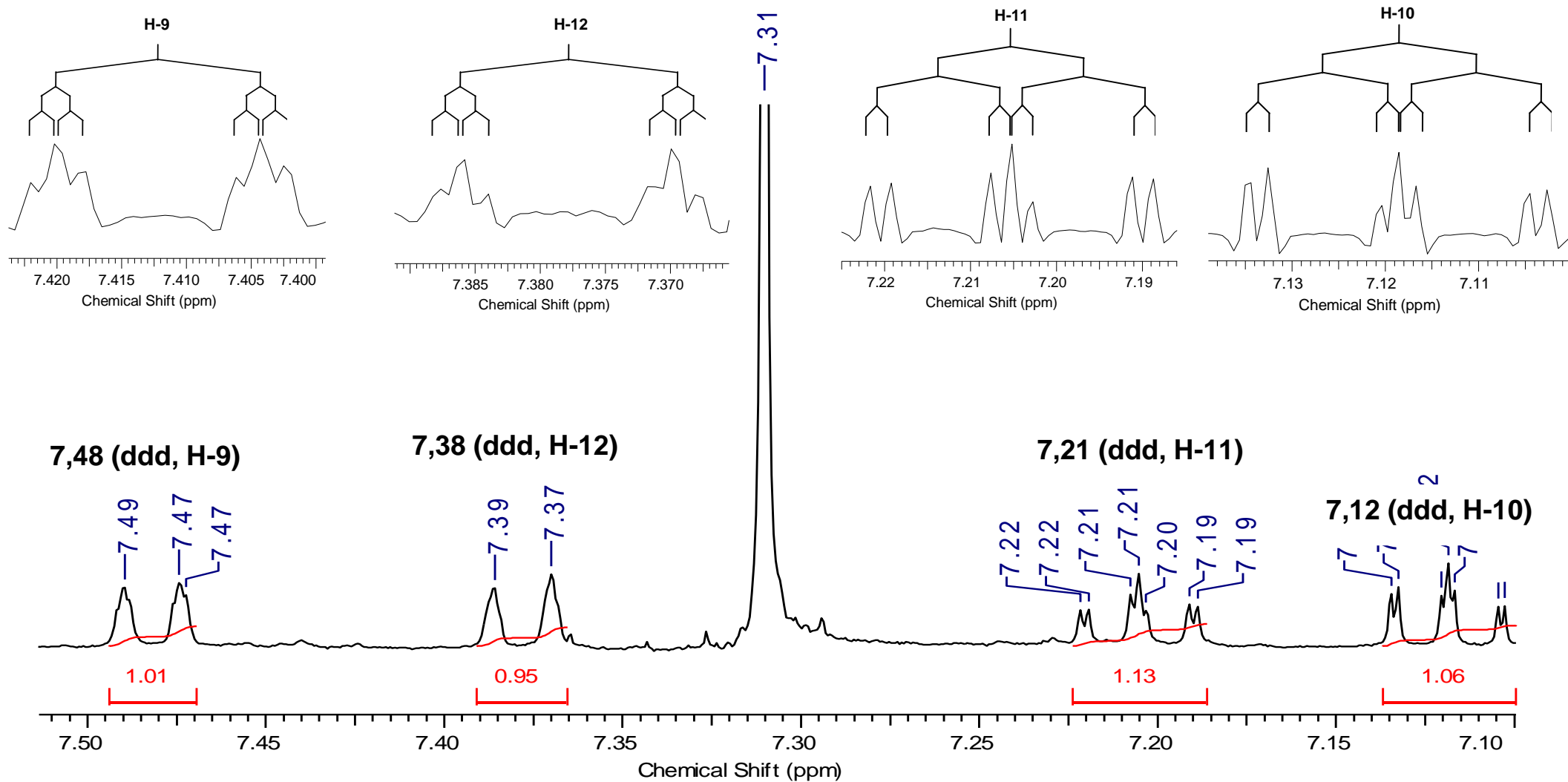
Anexo



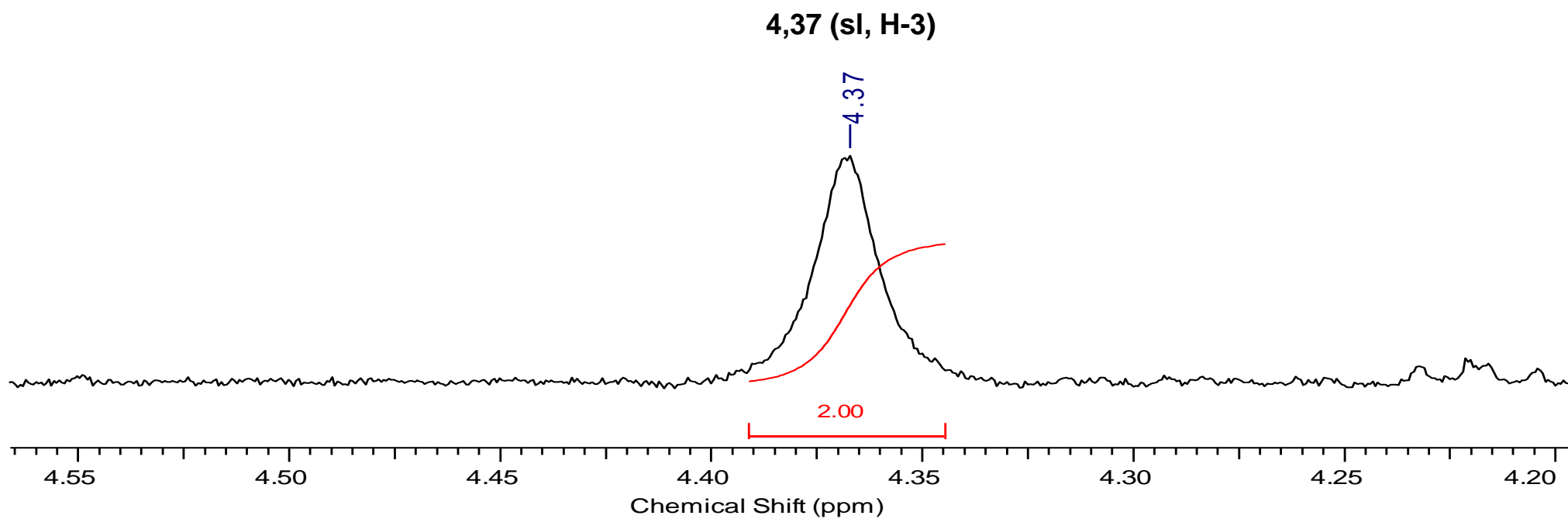
Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	4.6662
Comment	l-rphen23-7 1,2mg cdcl3/meod RAQUEL
Date	02 May 2013 10:19:44
Date Stamp	02 May 2013 10:19:44
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	¹ H
Number of Transients	20
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	nmrsu
Points Count	32768
Pulse Sequence	zg30
Receiver Gain	287.00
SW(cyclical) (Hz)	7022.47
Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	2531.5229
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	7022.26
Temperature (degree C)	25.160

Espectro 40 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃/MeOD, 500 MHz) de PH-04.

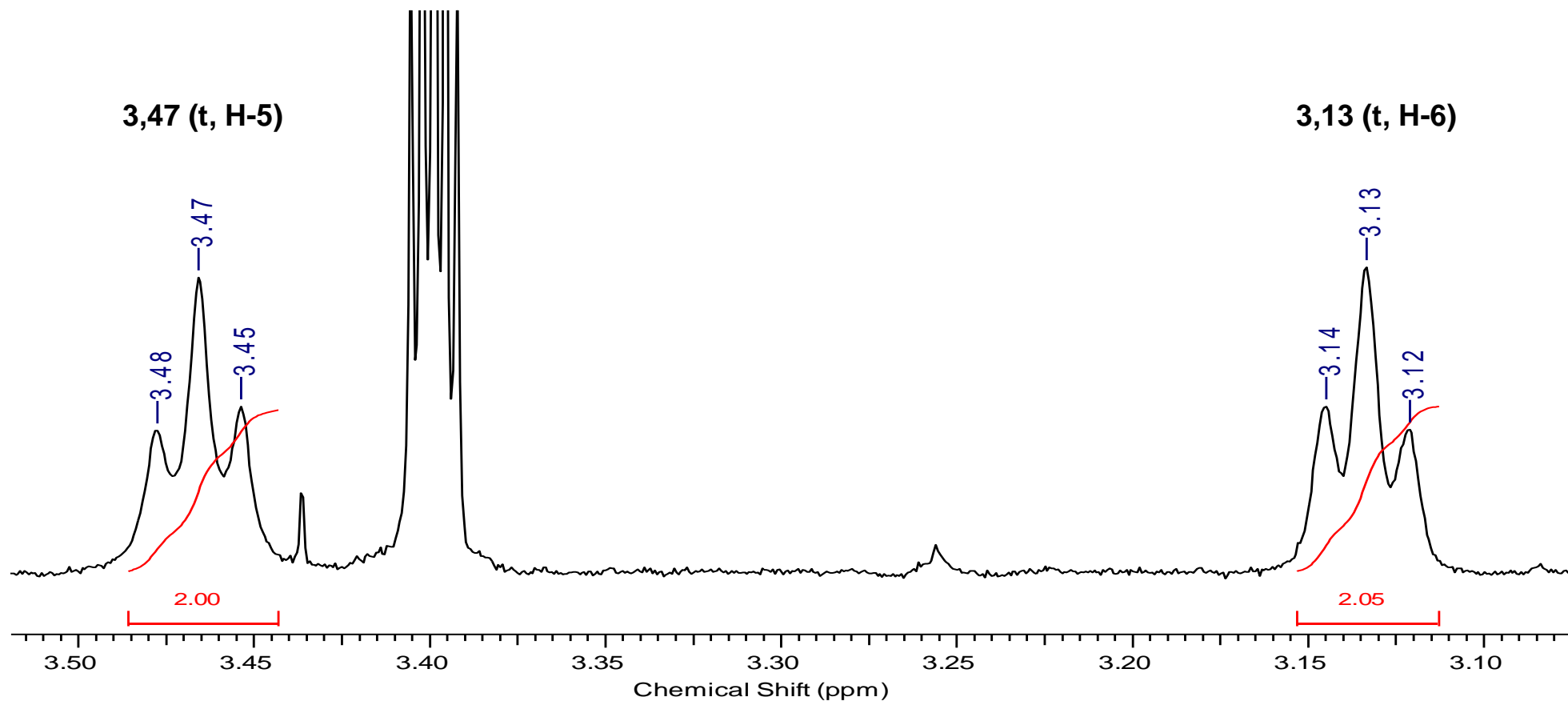
Anexo



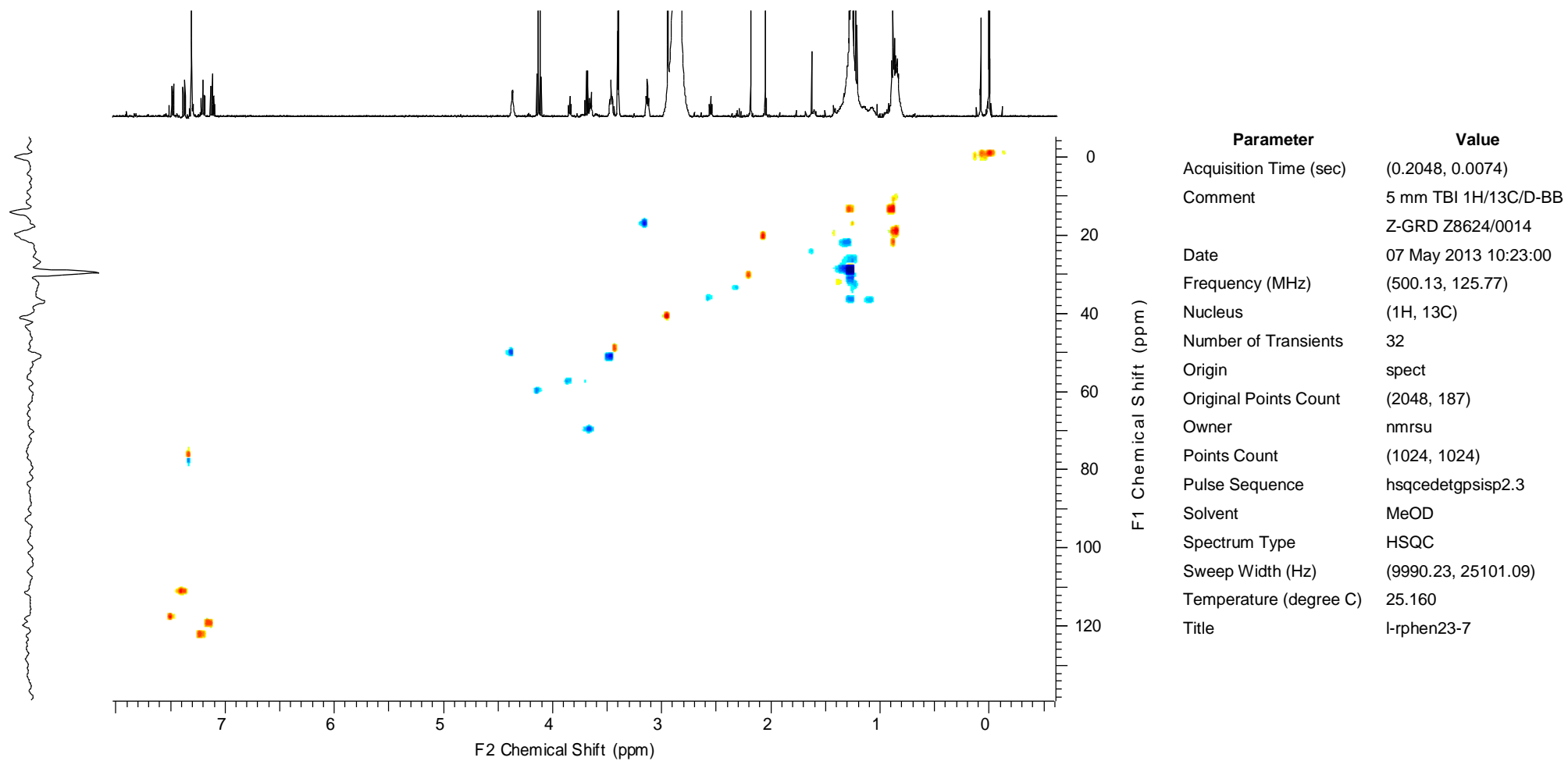
Espectro 41 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,5 à 7,1 ppm) de PH-04.



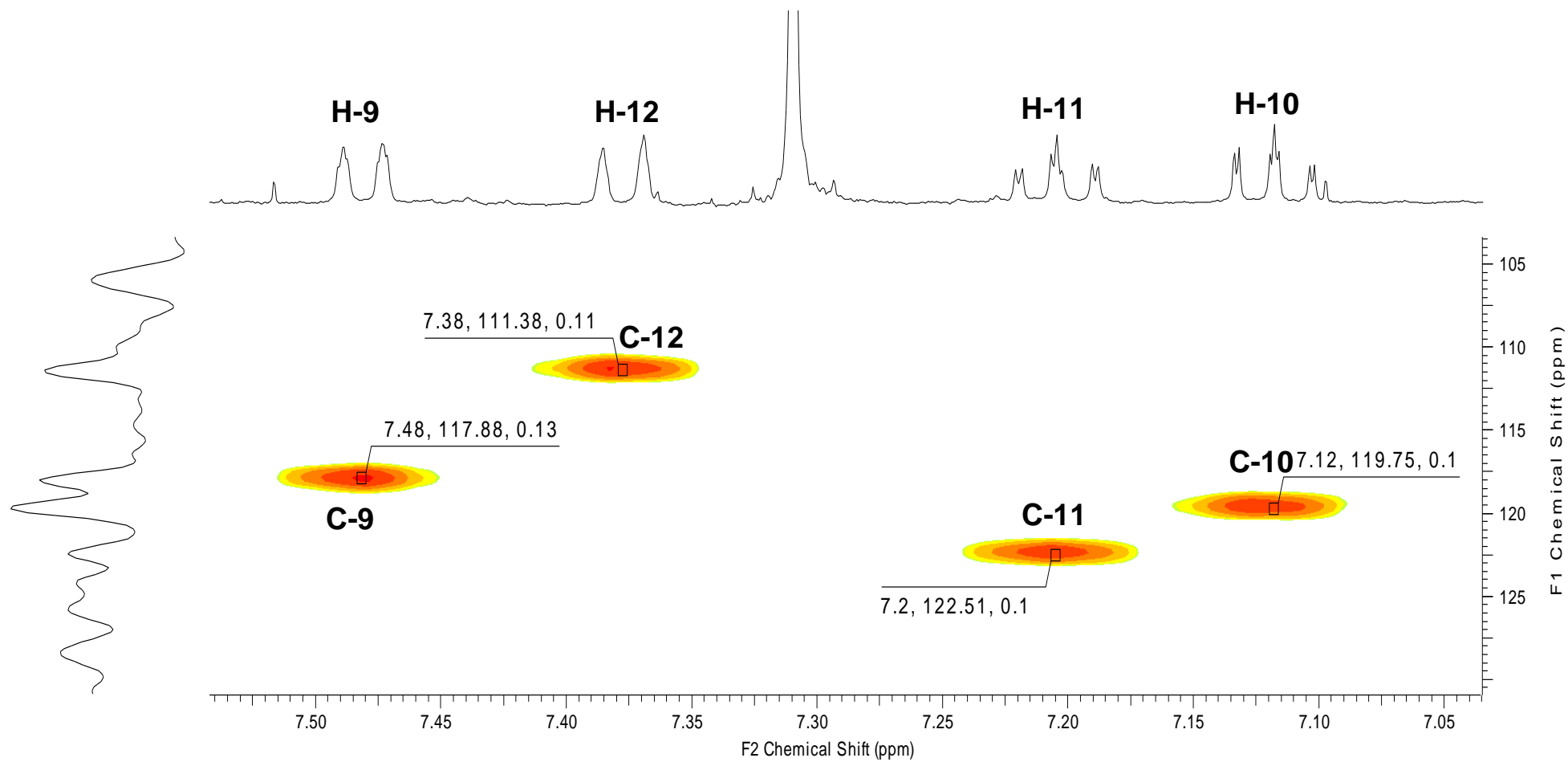
Espectro 42 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,5 à 4,2 ppm) de PH-04.



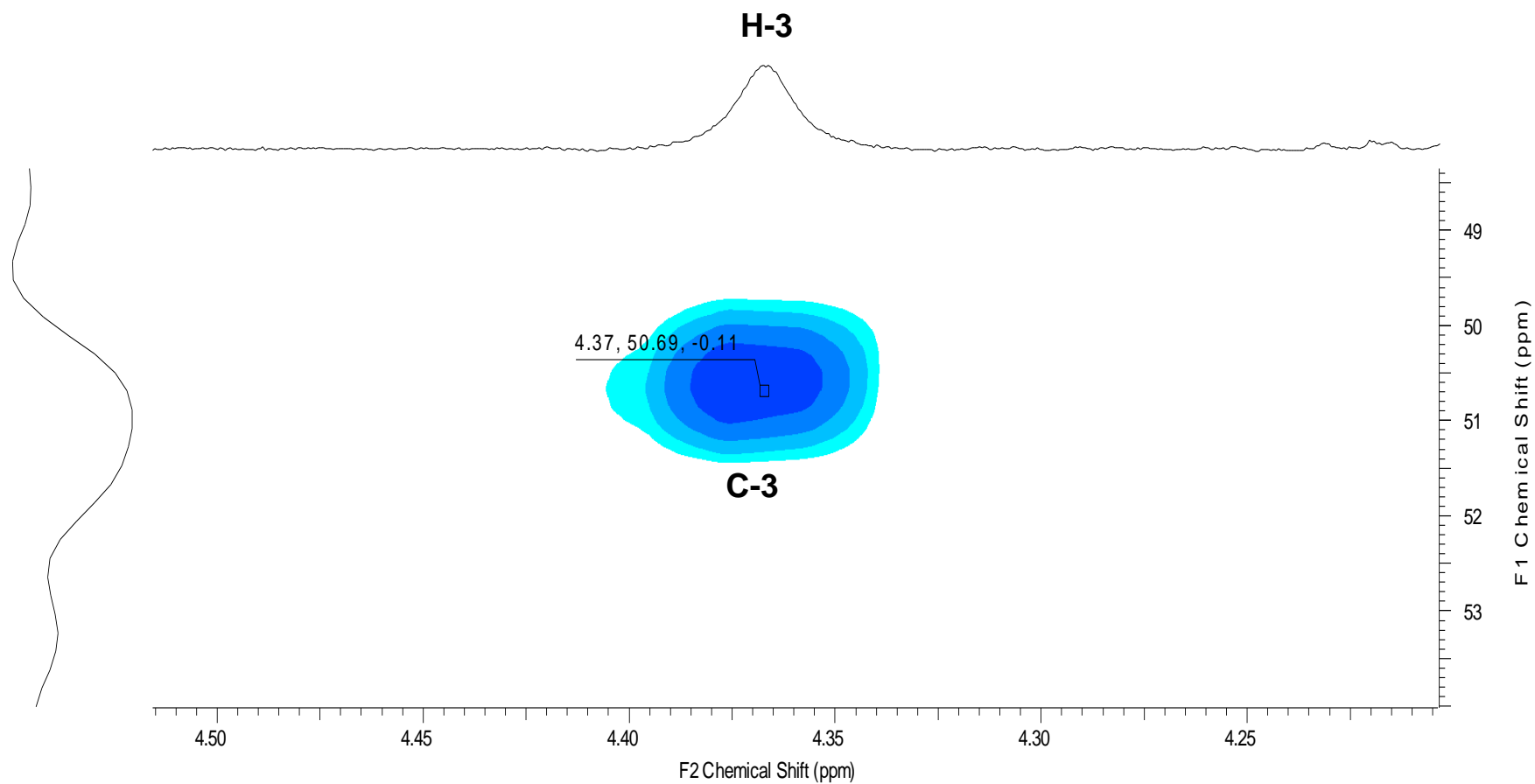
Espectro 43 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,5 à 3,1 ppm) de PH-04.



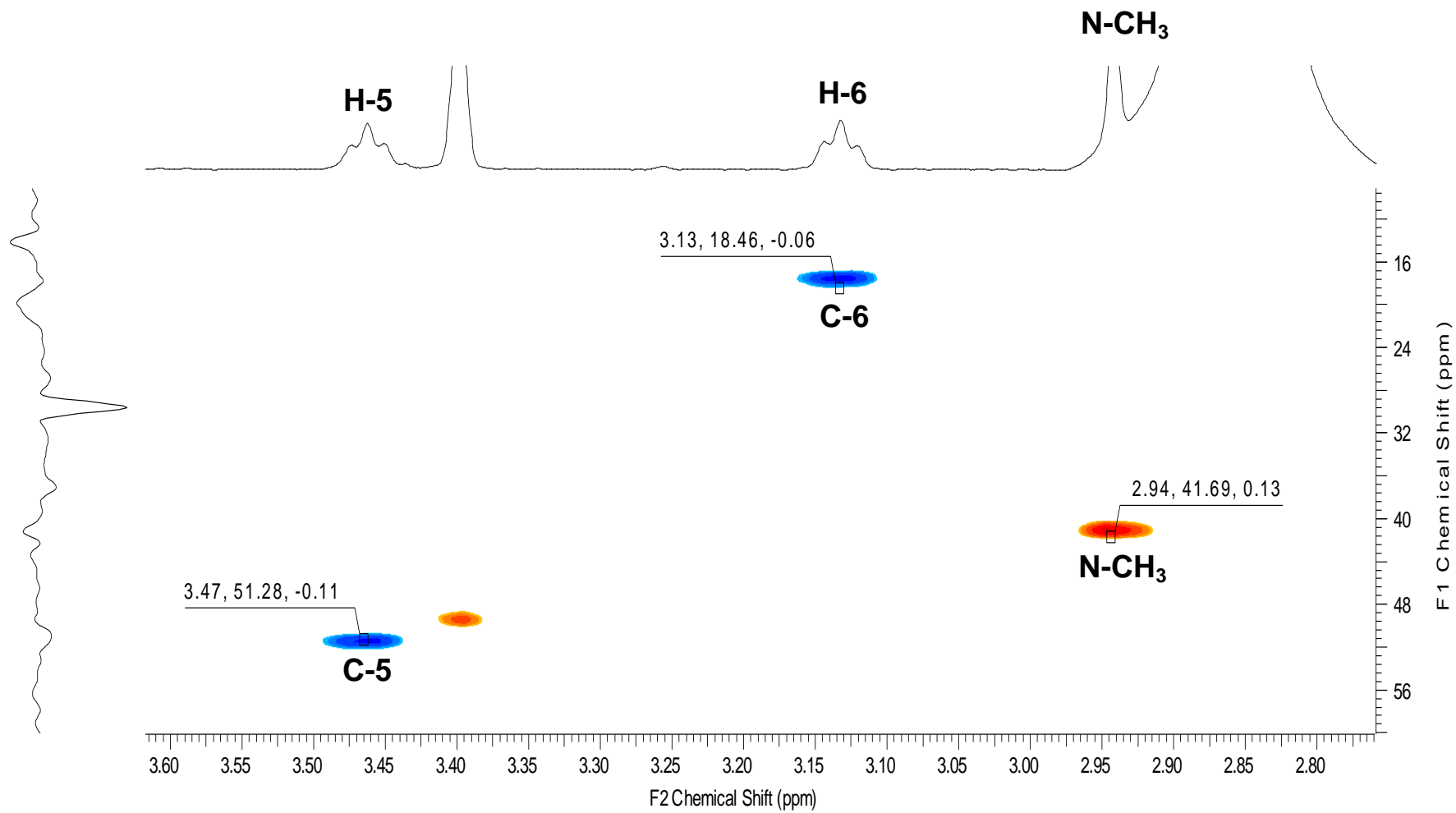
Espectro 44 – Mapa de correlação de HSQC de PH-04.



Espectro 45 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,5 à 7,0 ppm) de PH-04.

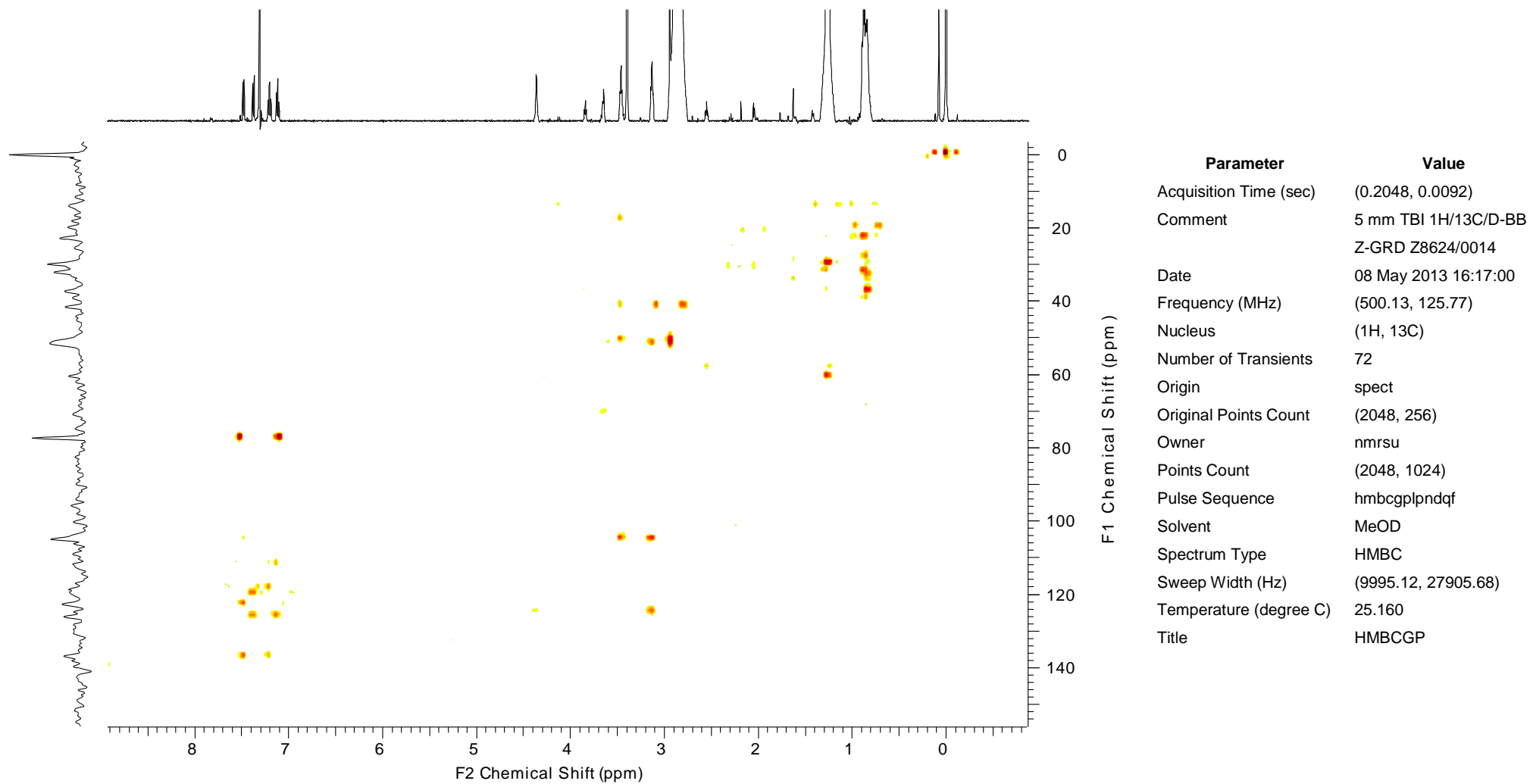


Espectro 46 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,5 à 4,2 ppm) de PH-04.

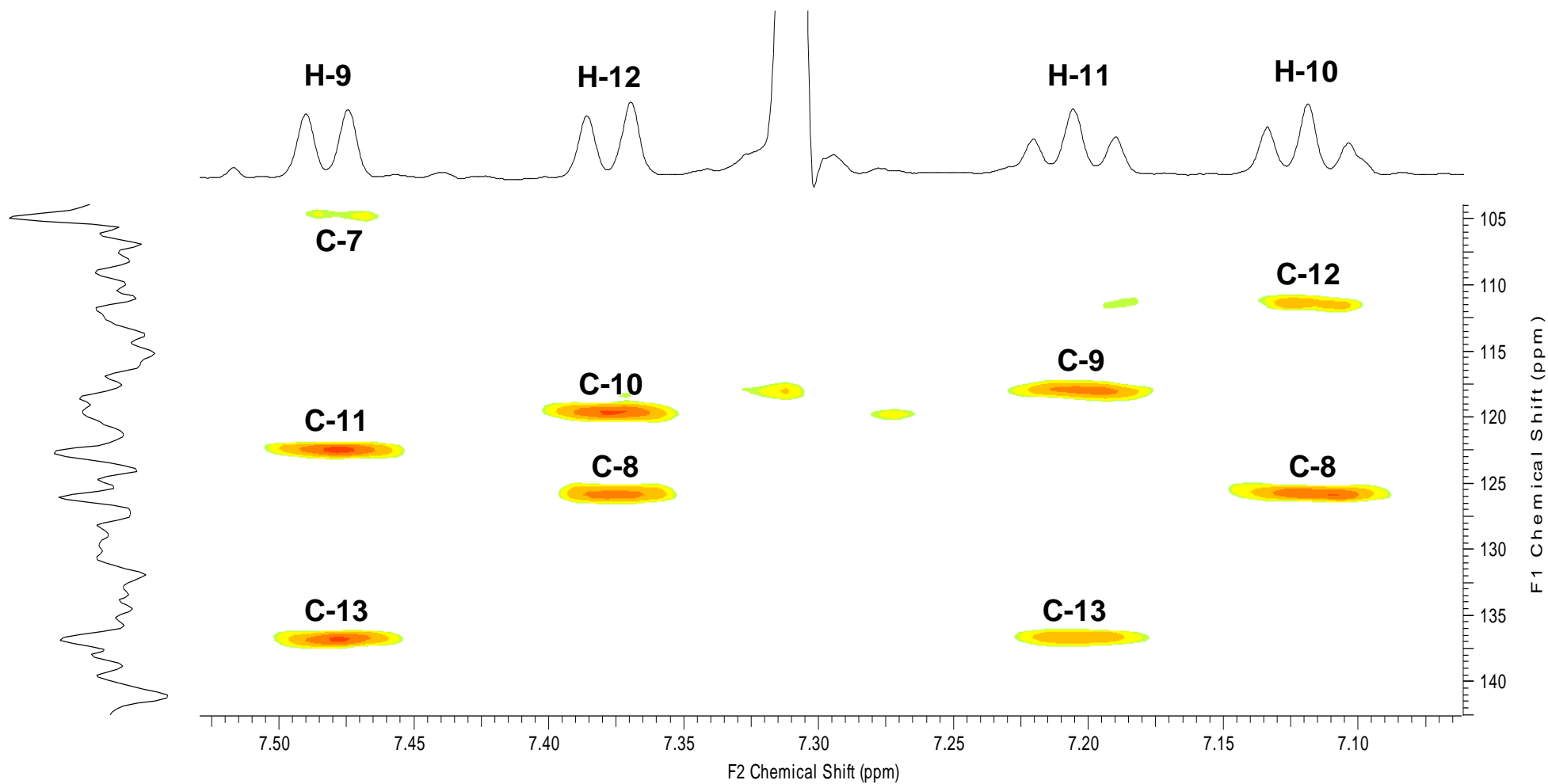


Espectro 47 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,6 à 2,8 ppm) de PH-04.

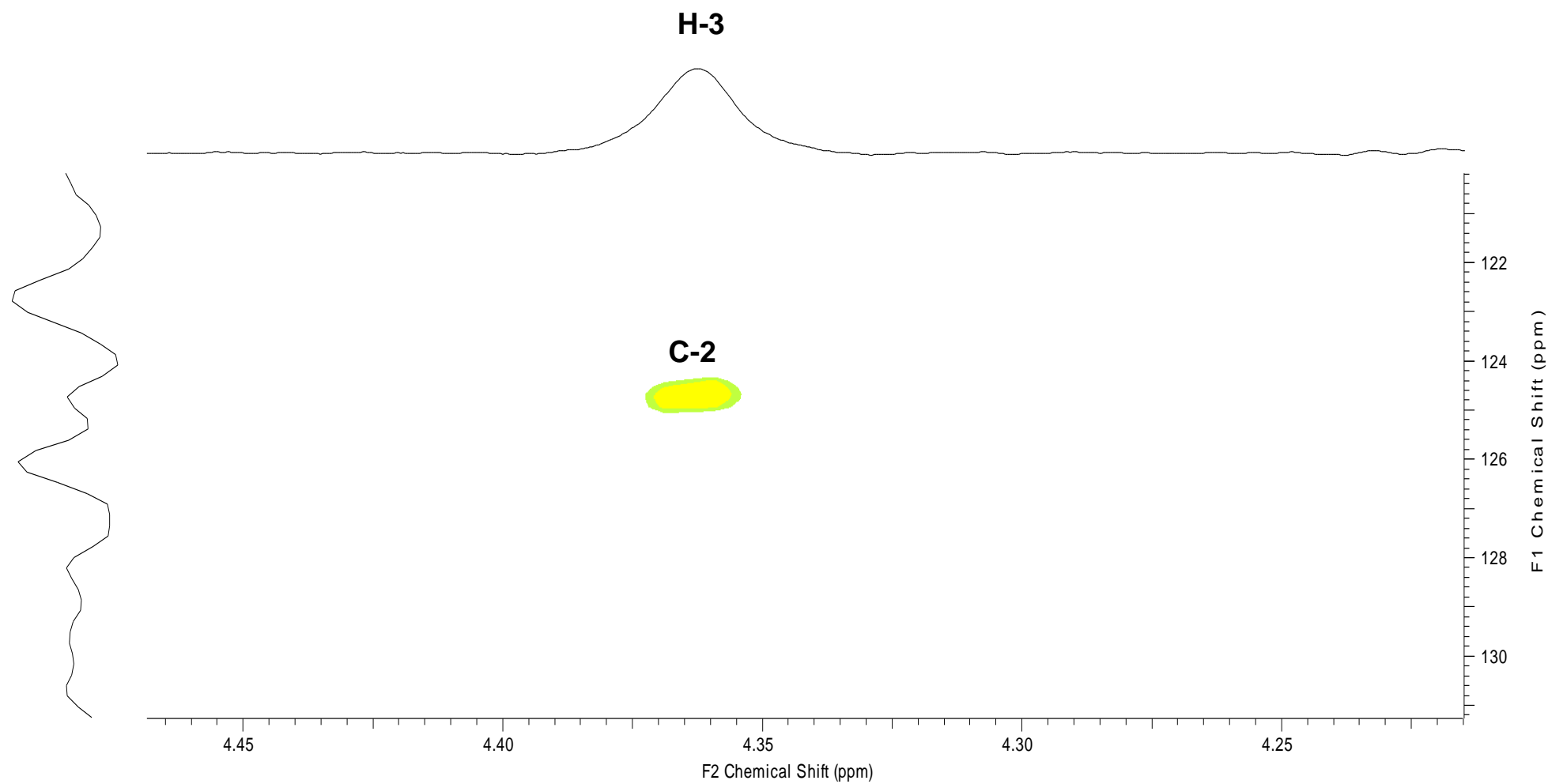
Anexo



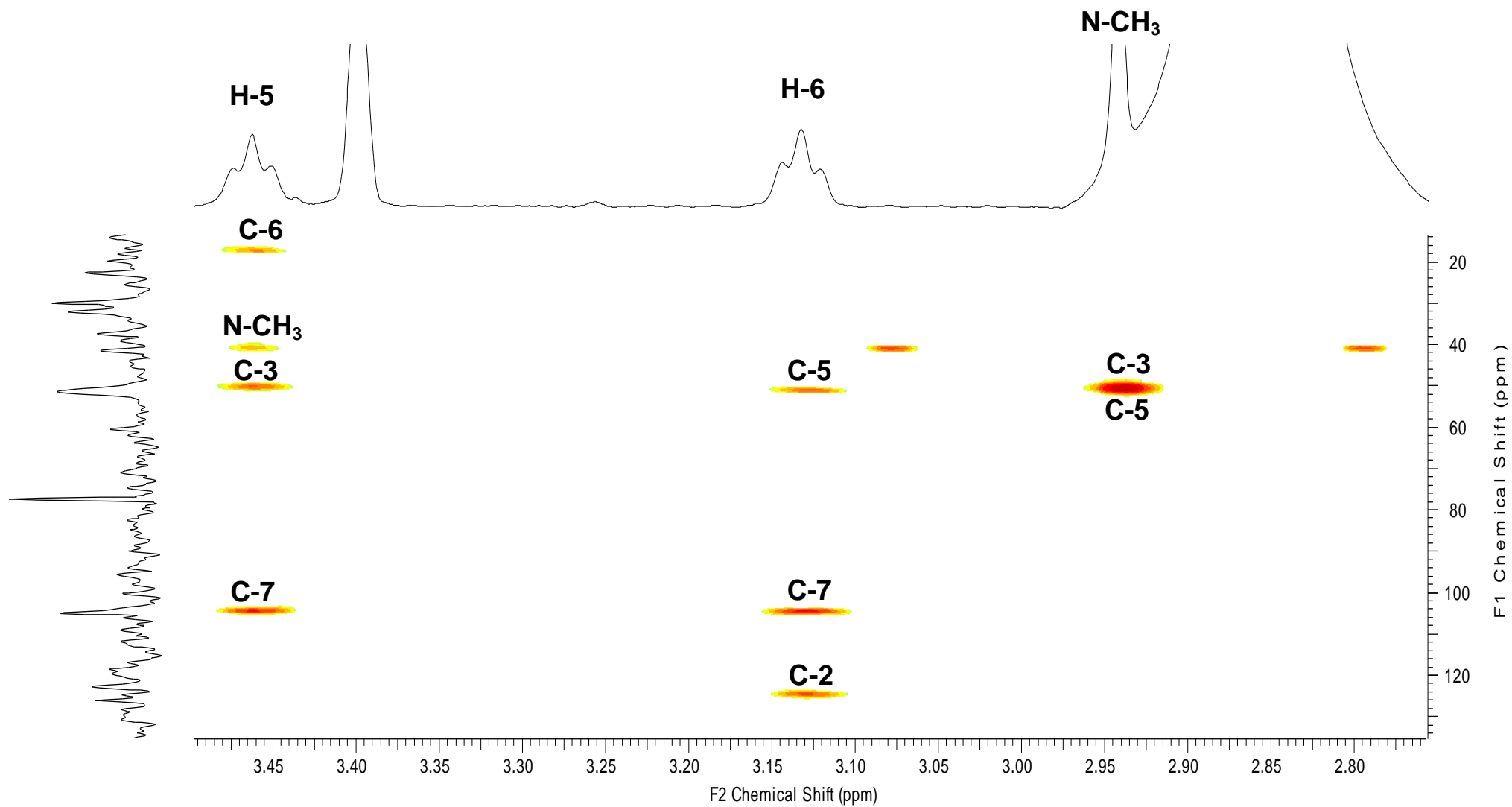
Espectro 48 – Mapa de correlação de HMBC de PH-04.



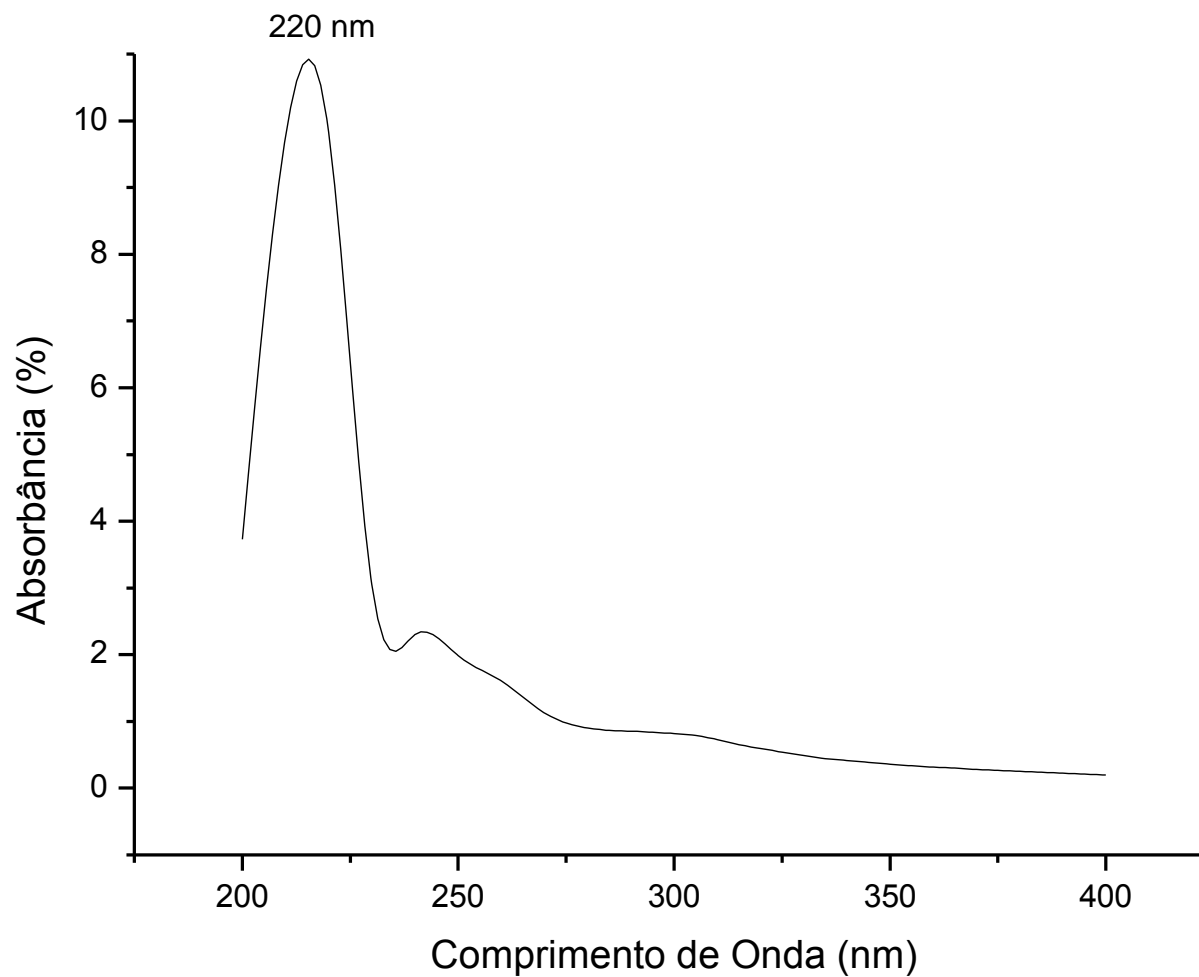
Espectro 49 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,5 à 7,1 ppm) de PH-04.



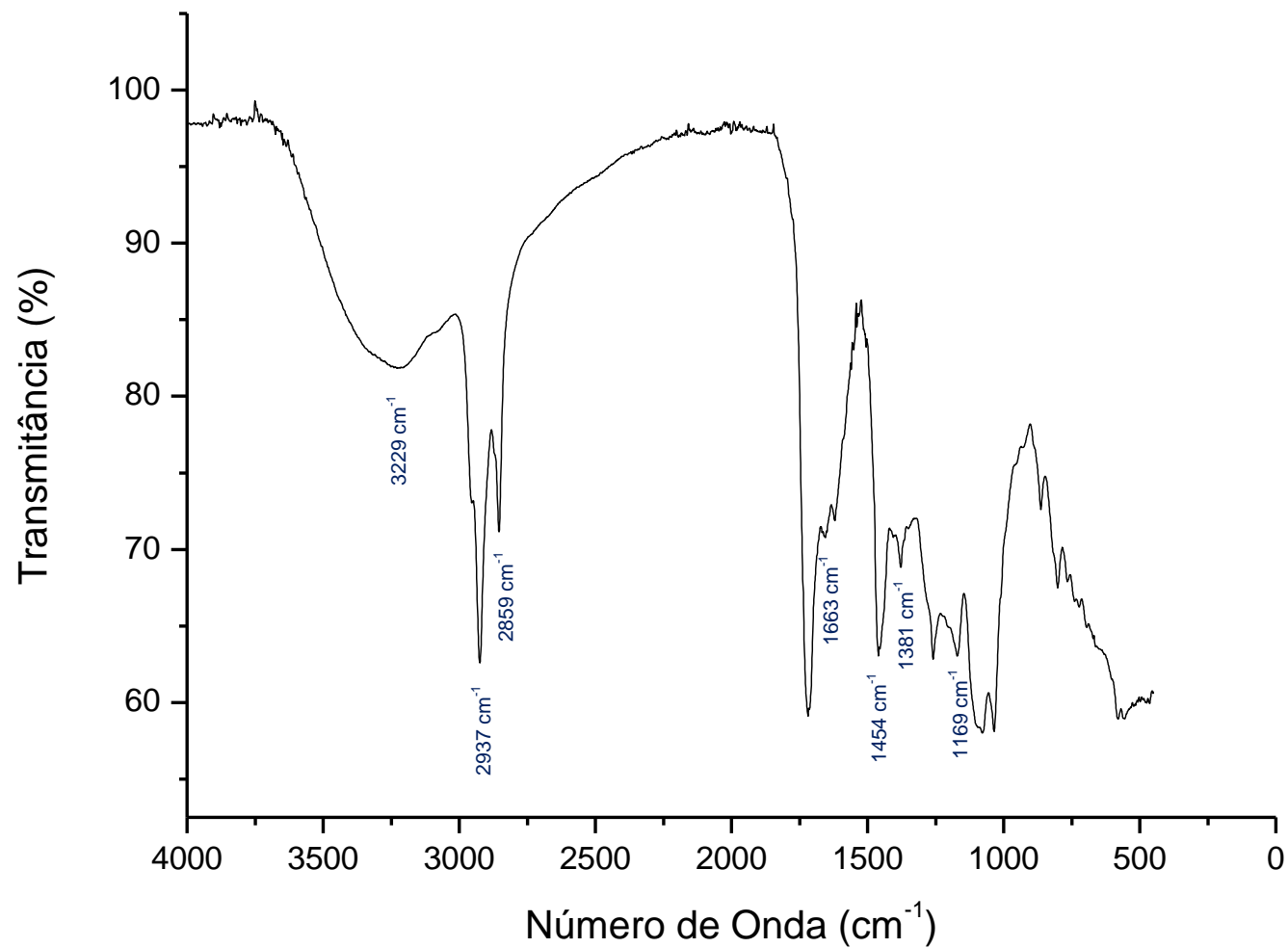
Espectro 50 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,4 à 4,2 ppm) de PH-04.



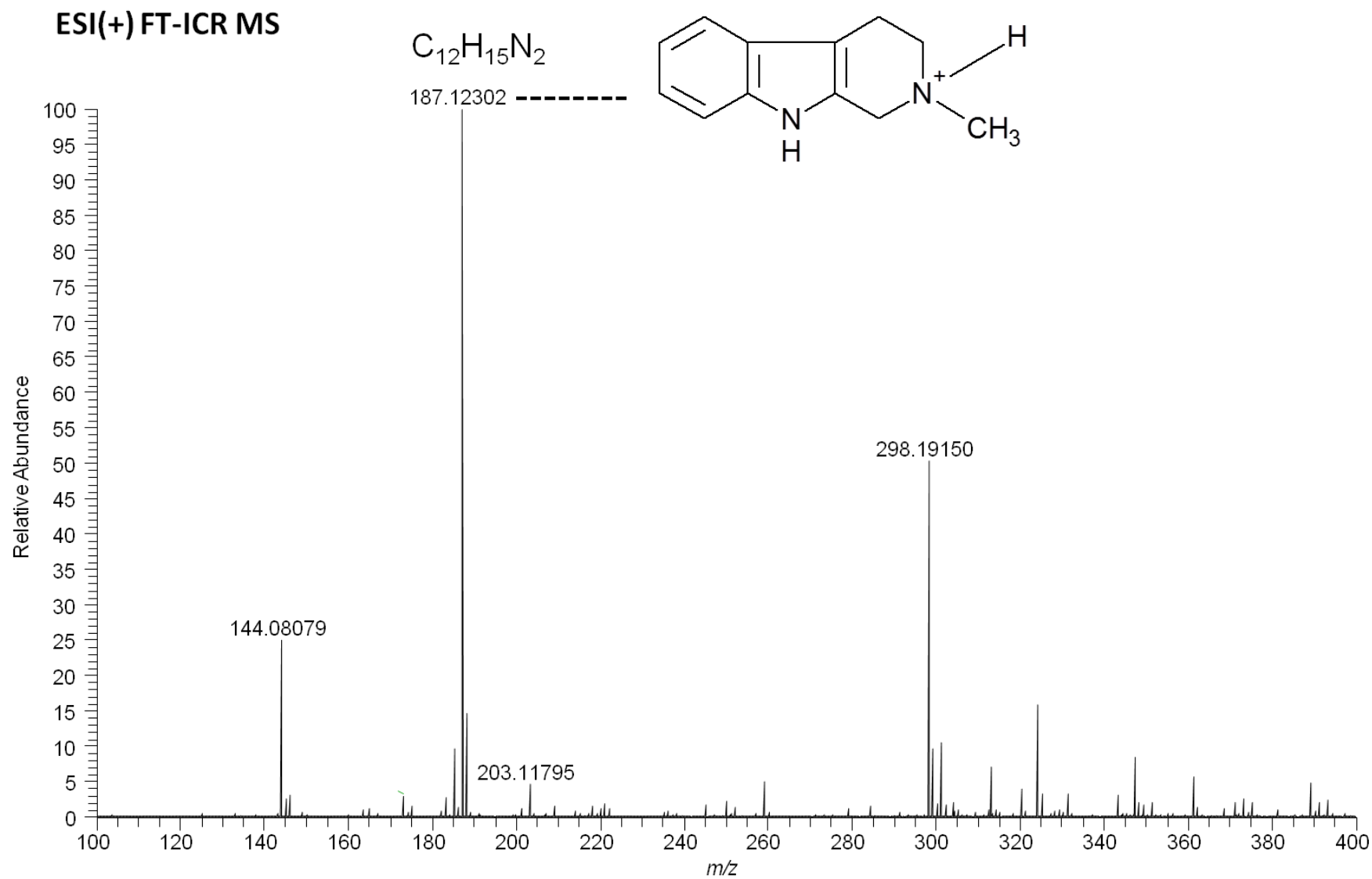
Espectro 51 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 3,5 à 2,8 ppm) de PH-04.



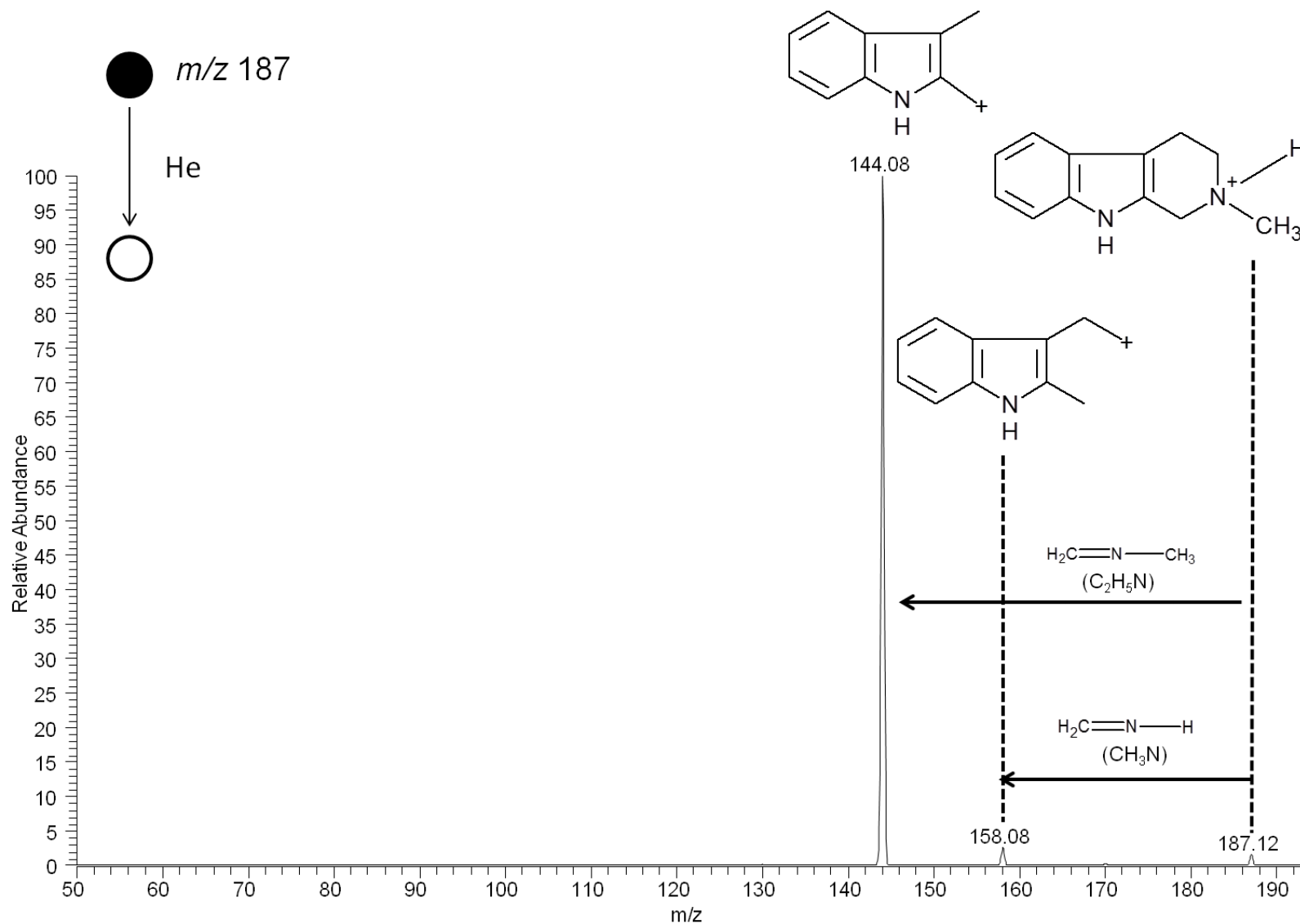
Espectro 52 – Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-04.



Espectro 53 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-04.

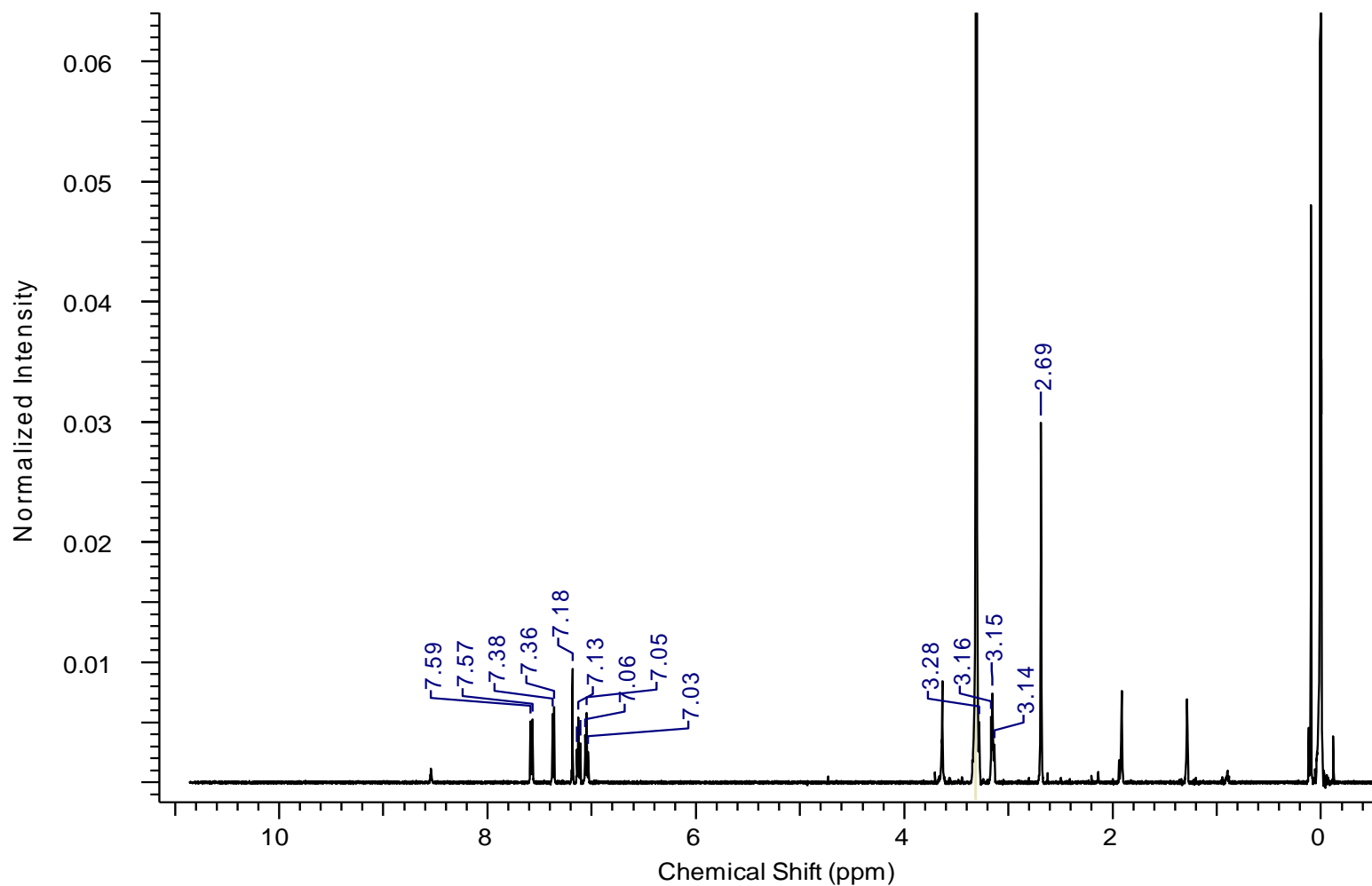


Espectro 54 – Espectro de ESI(+)-FT-ICR MS de PH-04.



Espectro 55 – Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 187.

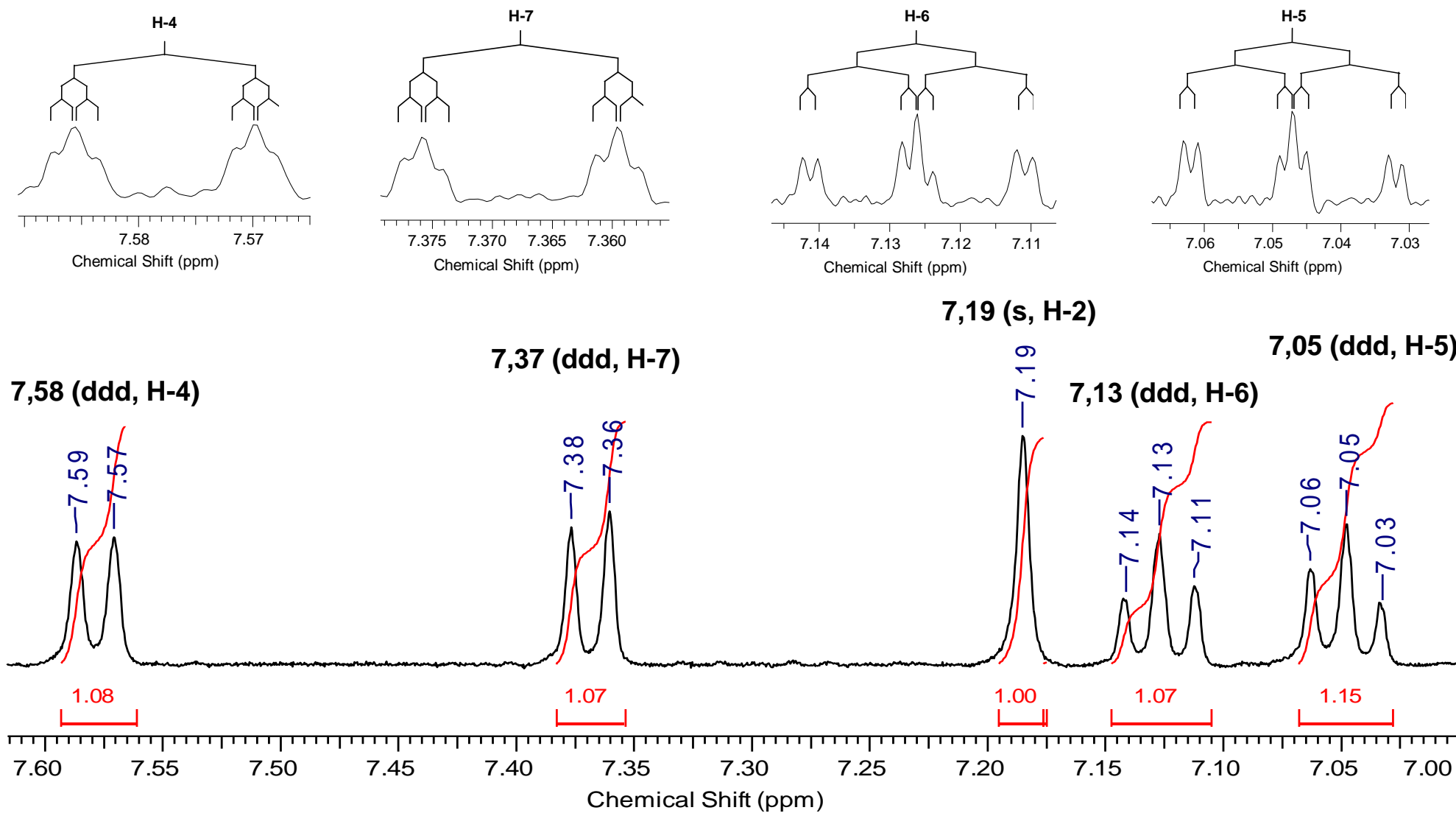
Anexo



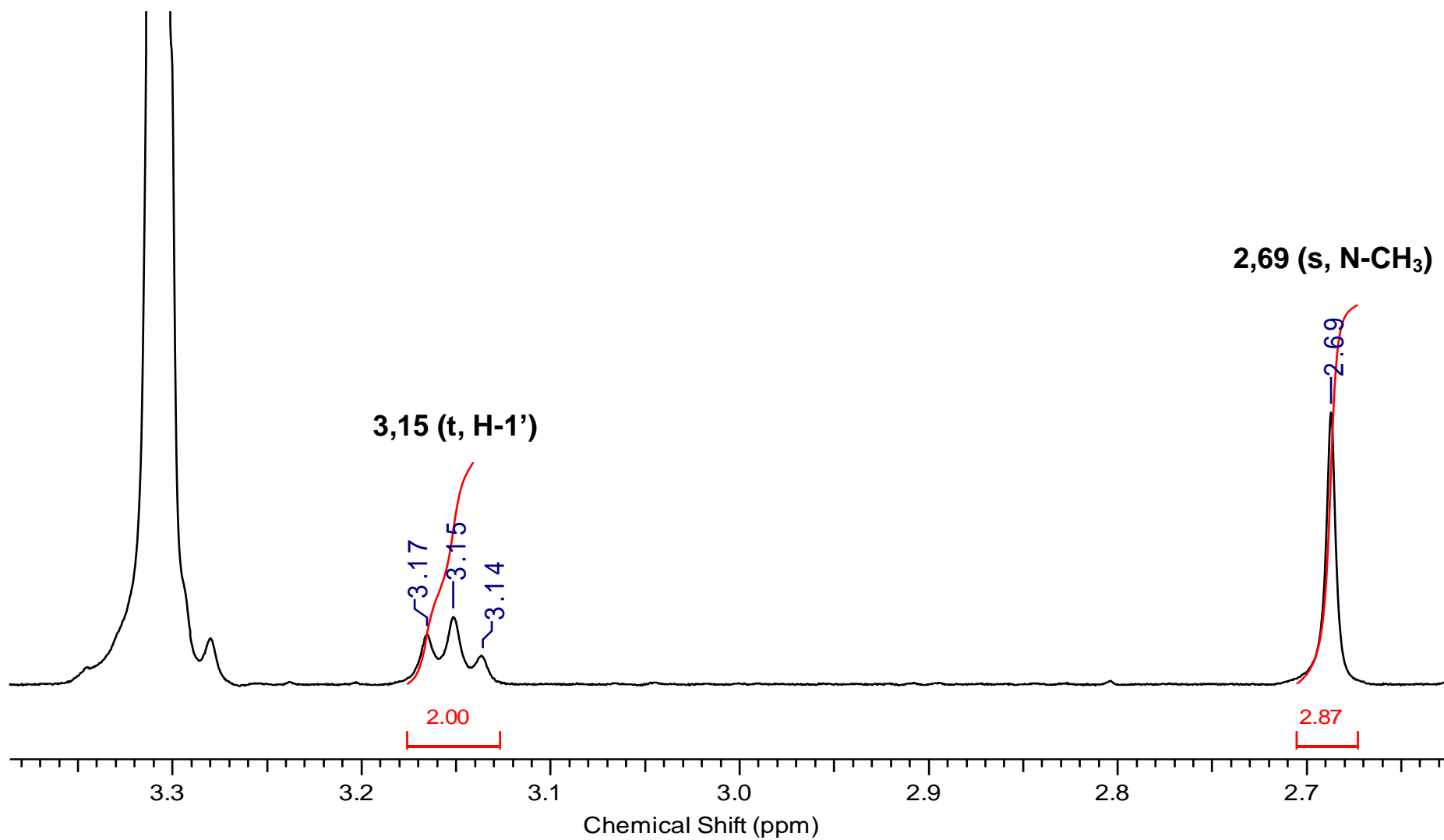
Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	5.5225
Comment	L-RPHEN24 1,2mg MeOD RAQUEL
Date	03 May 2012 16:24:48
Date Stamp	03 May 2012 16:24:48
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	1H
Number of Transients	16
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	Administrator
Points Count	32768
Pulse Sequence	zgcppr
Receiver Gain	114.00
SW(cyclical) (Hz)	5933.54
Solvent	METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz)	2465.2988
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	5933.36
Temperature (degree C)	27.000

Espectro 56 – Espectro de RMN ¹H (MeOD, 500 MHz) de PH-05.

Anexo

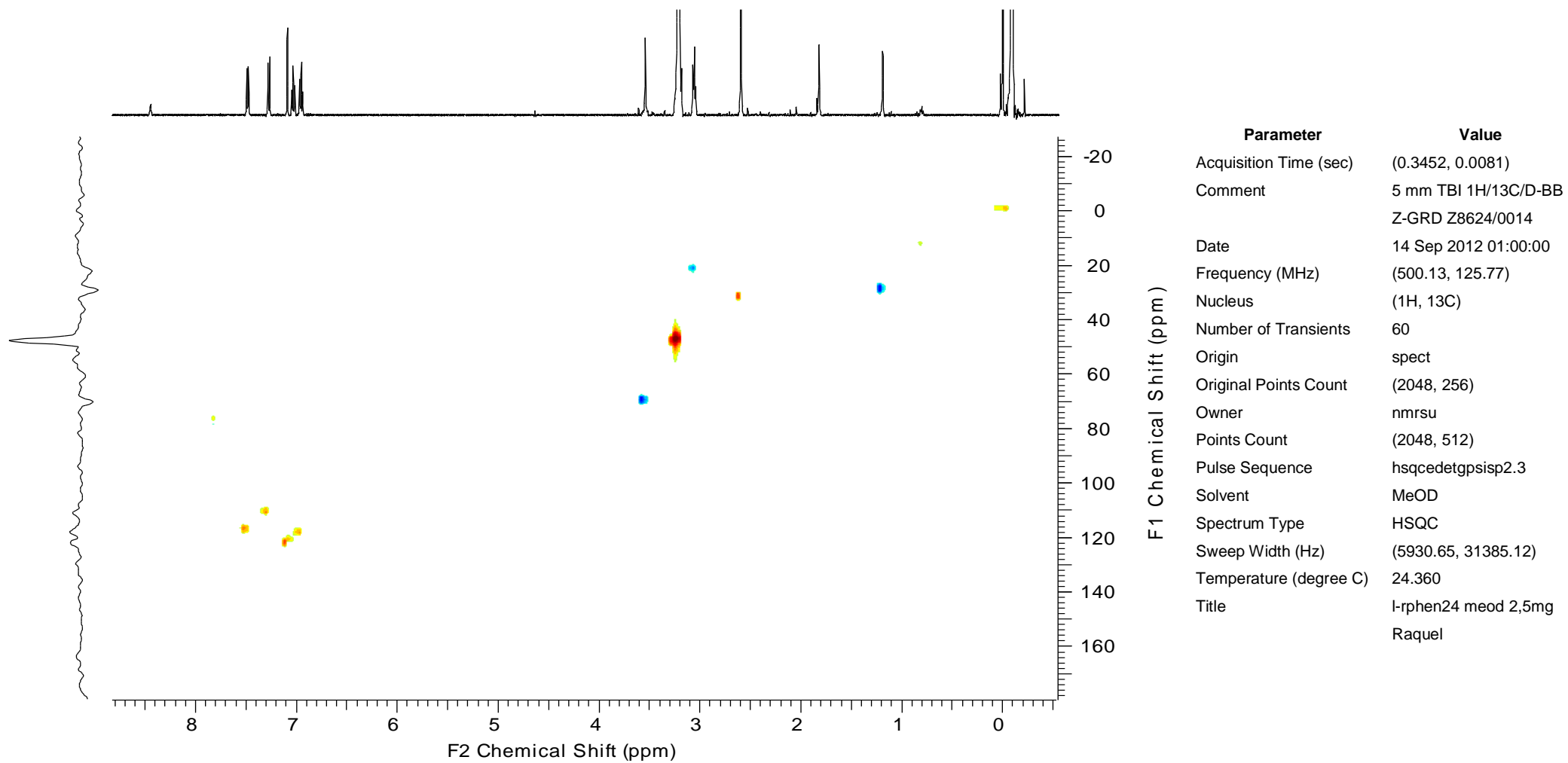


Espectro 57 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,6 à 7,0 ppm) de PH-05.

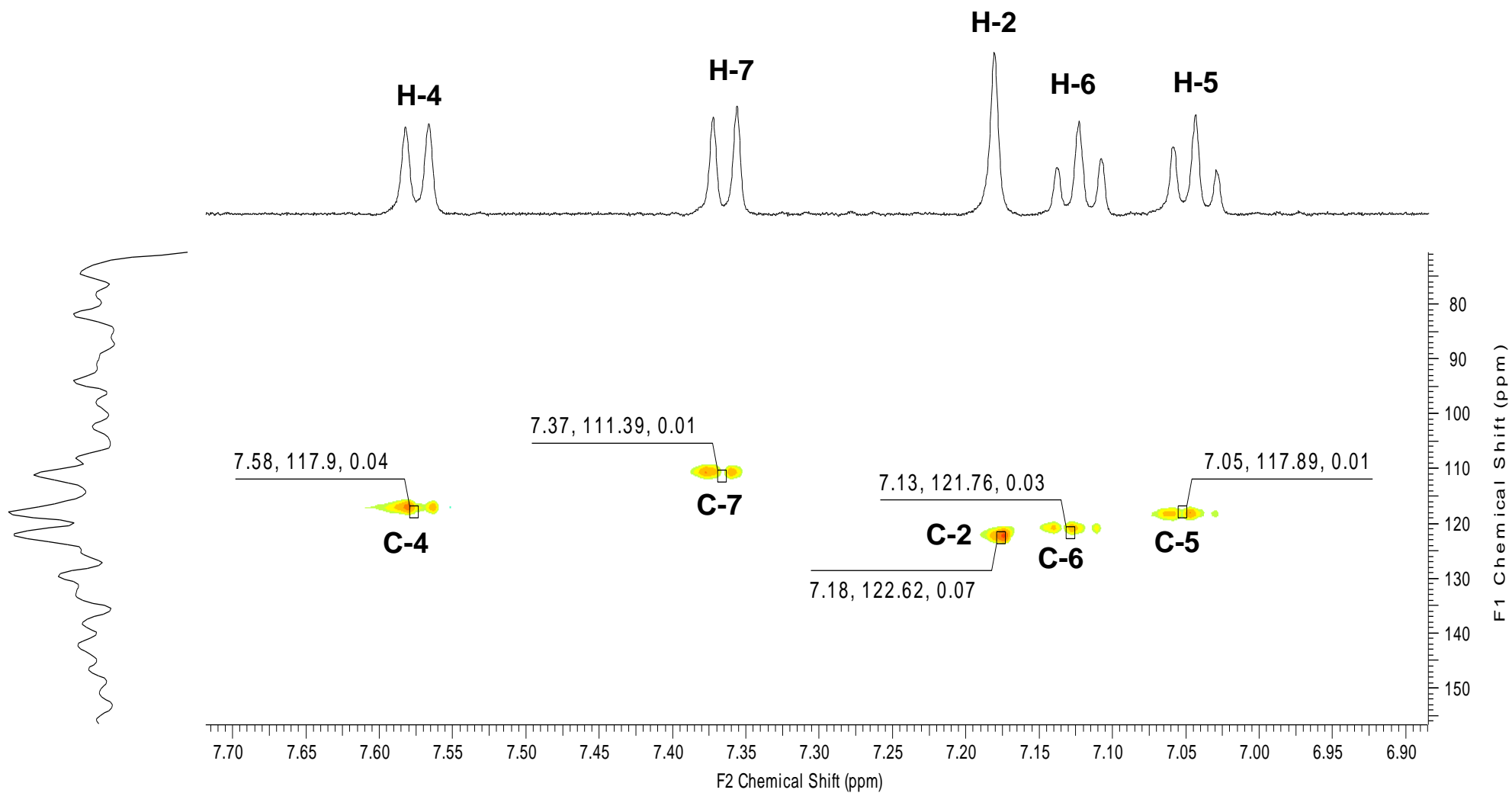


Espectro 58 – Expansão do espectro de RMN ¹H (região 3,4 à 2,9 ppm) de PH-05.

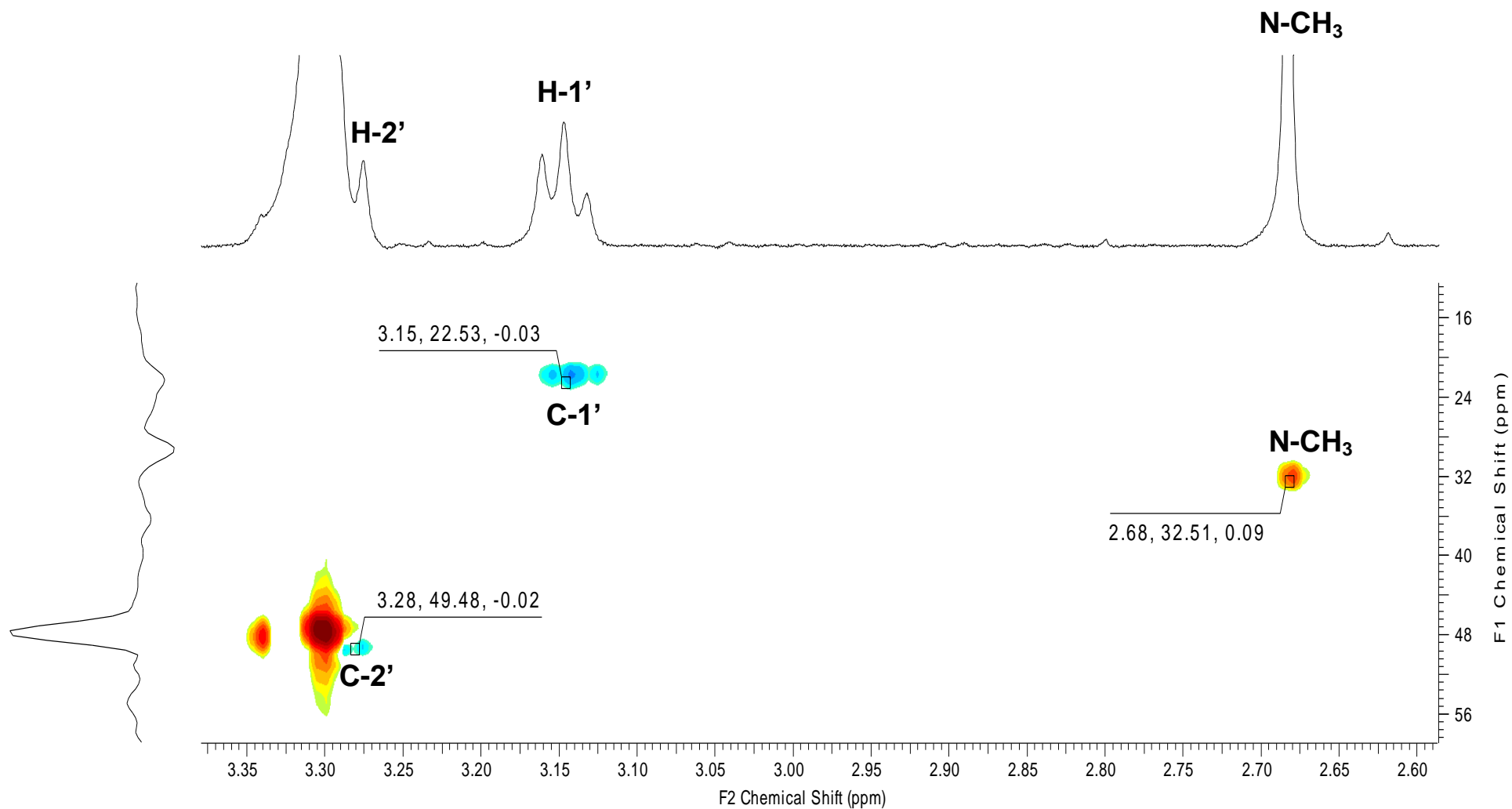
Anexo



Espectro 59 – Mapa de correlação de HSQC de PH-05.

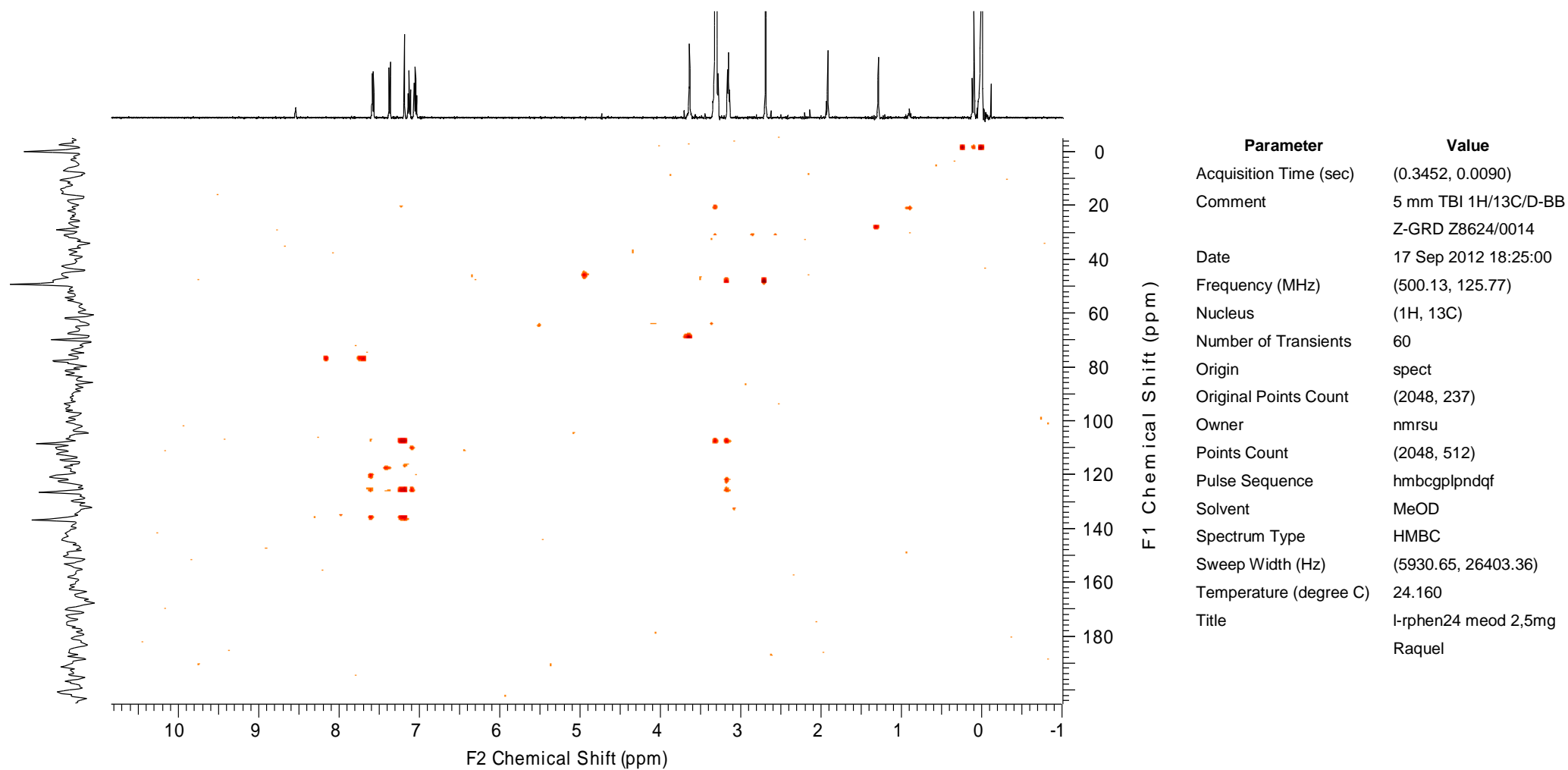


Espectro 60 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,7 à 6,9 ppm) de PH-05.

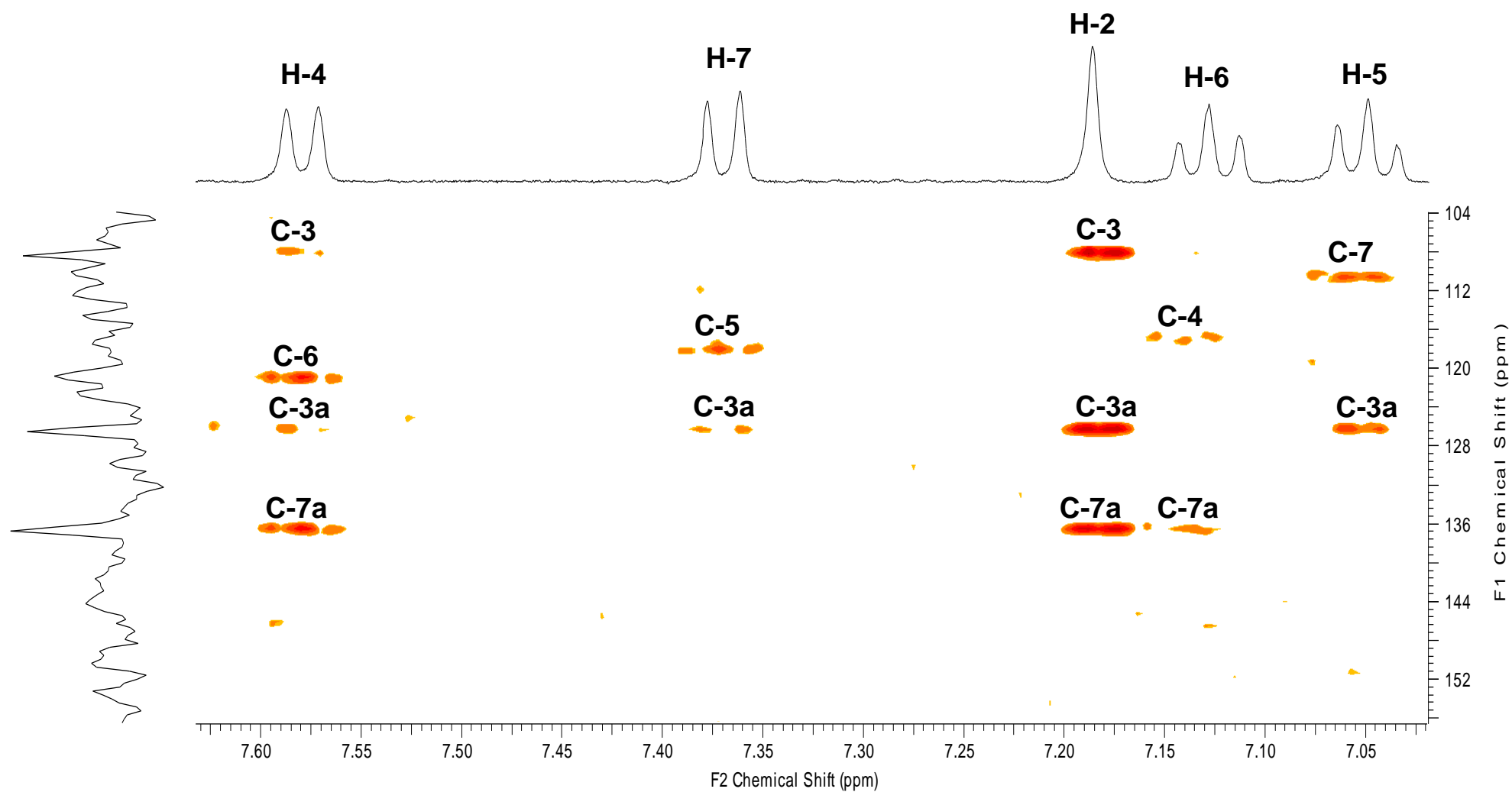


Espectro 61 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,4 à 2,6 ppm) de PH-05.

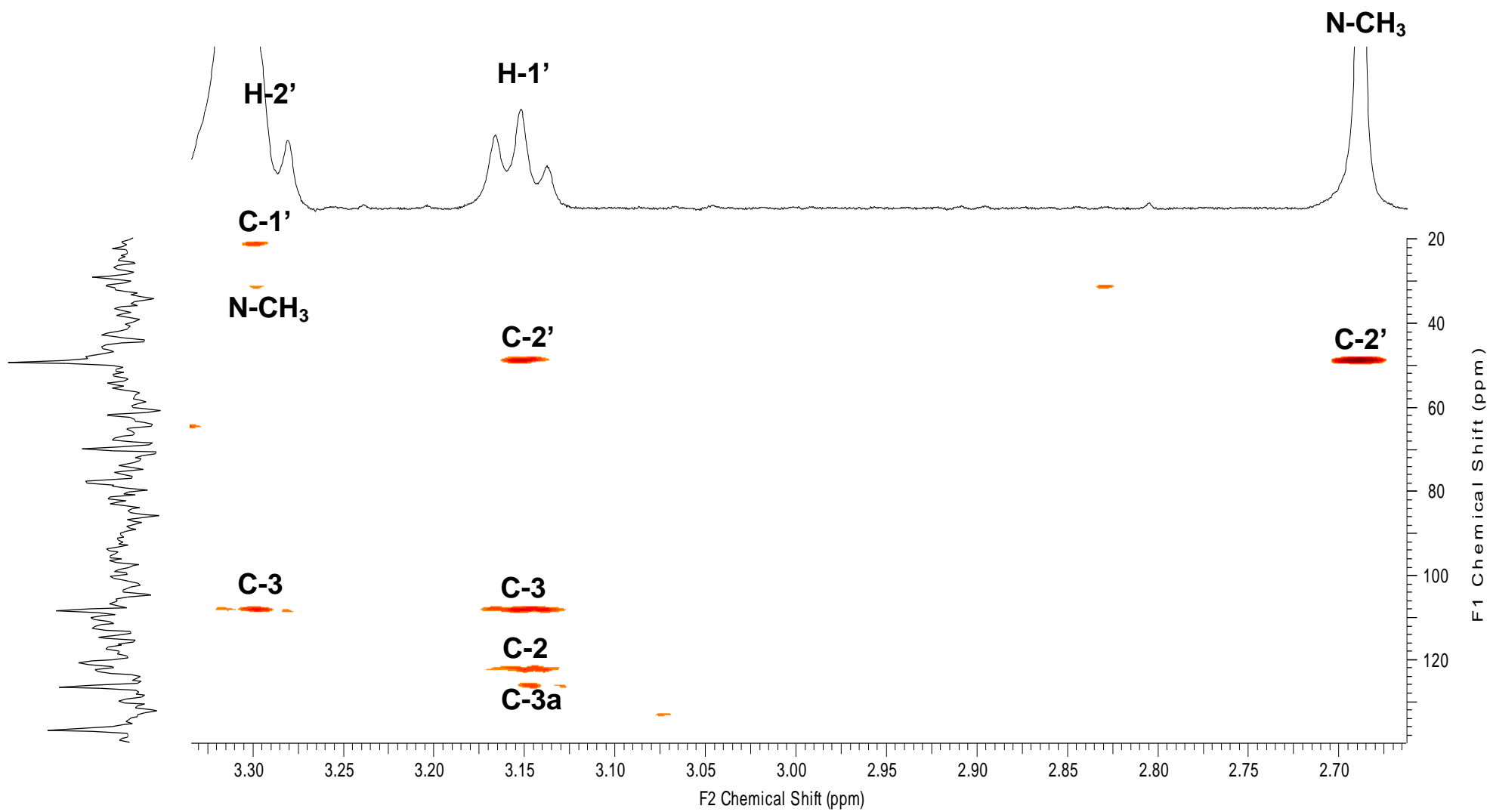
Anexo



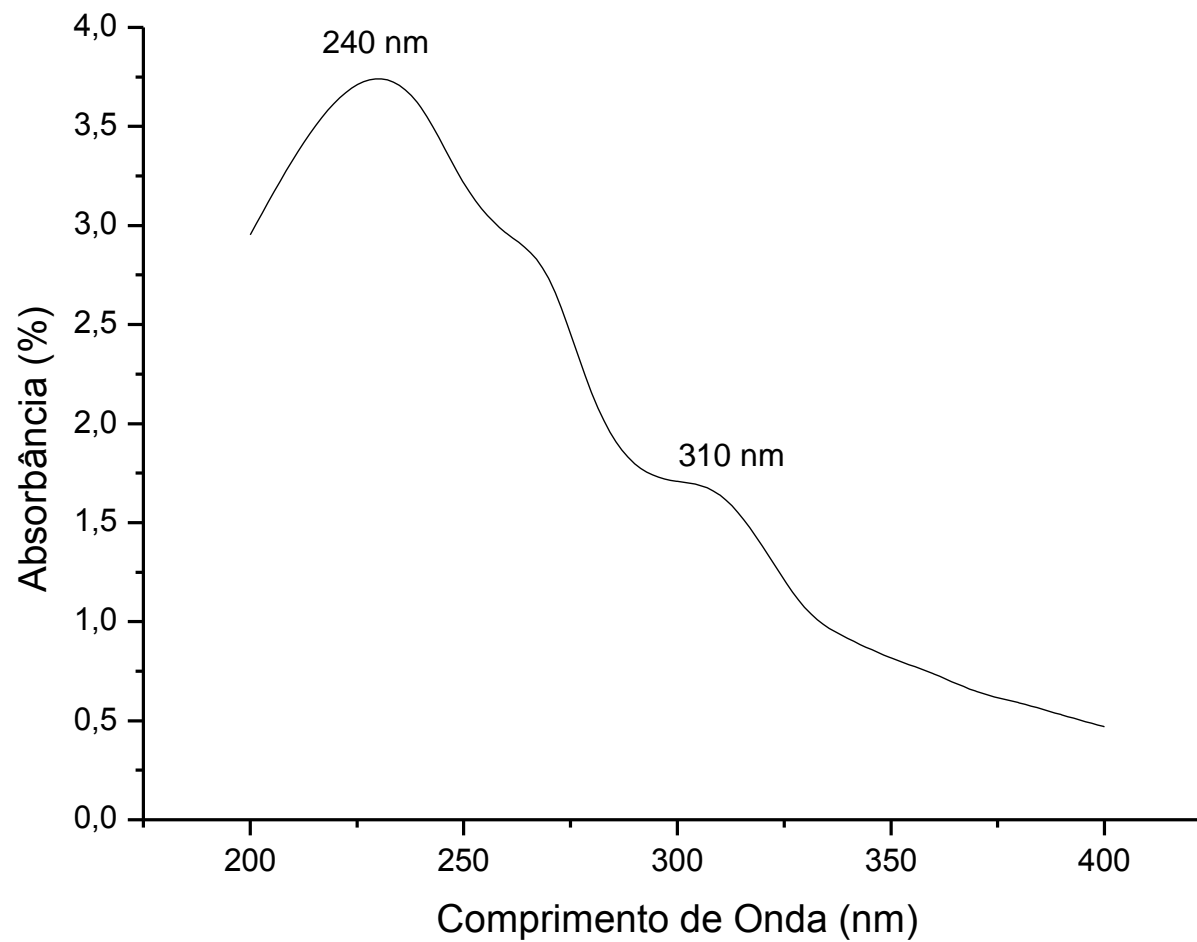
Espectro 62 – Mapa de correlação de HMBC de PH-05.



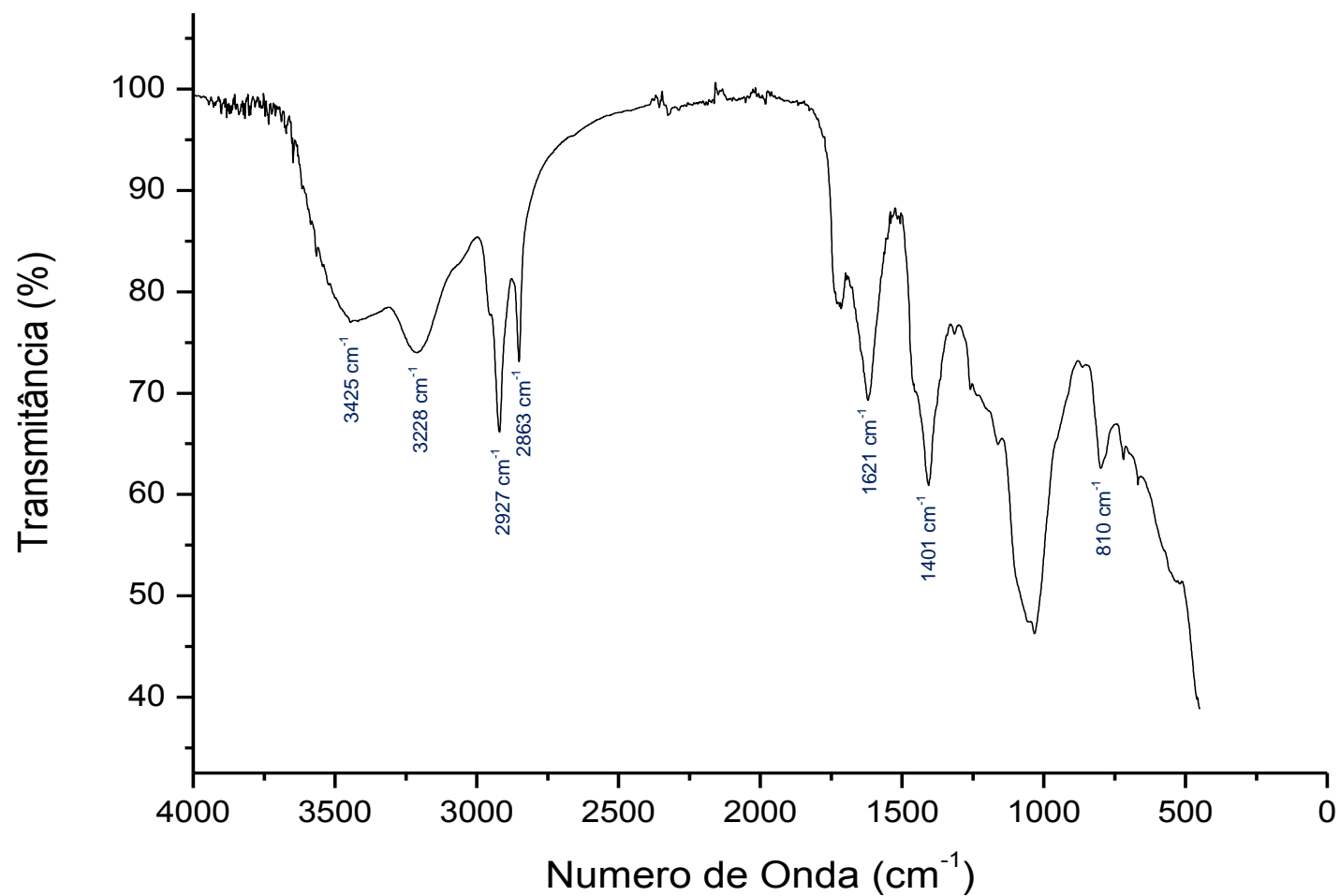
Espectro 63 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,7 à 7,0 ppm) de PH-05.



Espectro 64 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 3,3 à 2,7 ppm) de PH-05.

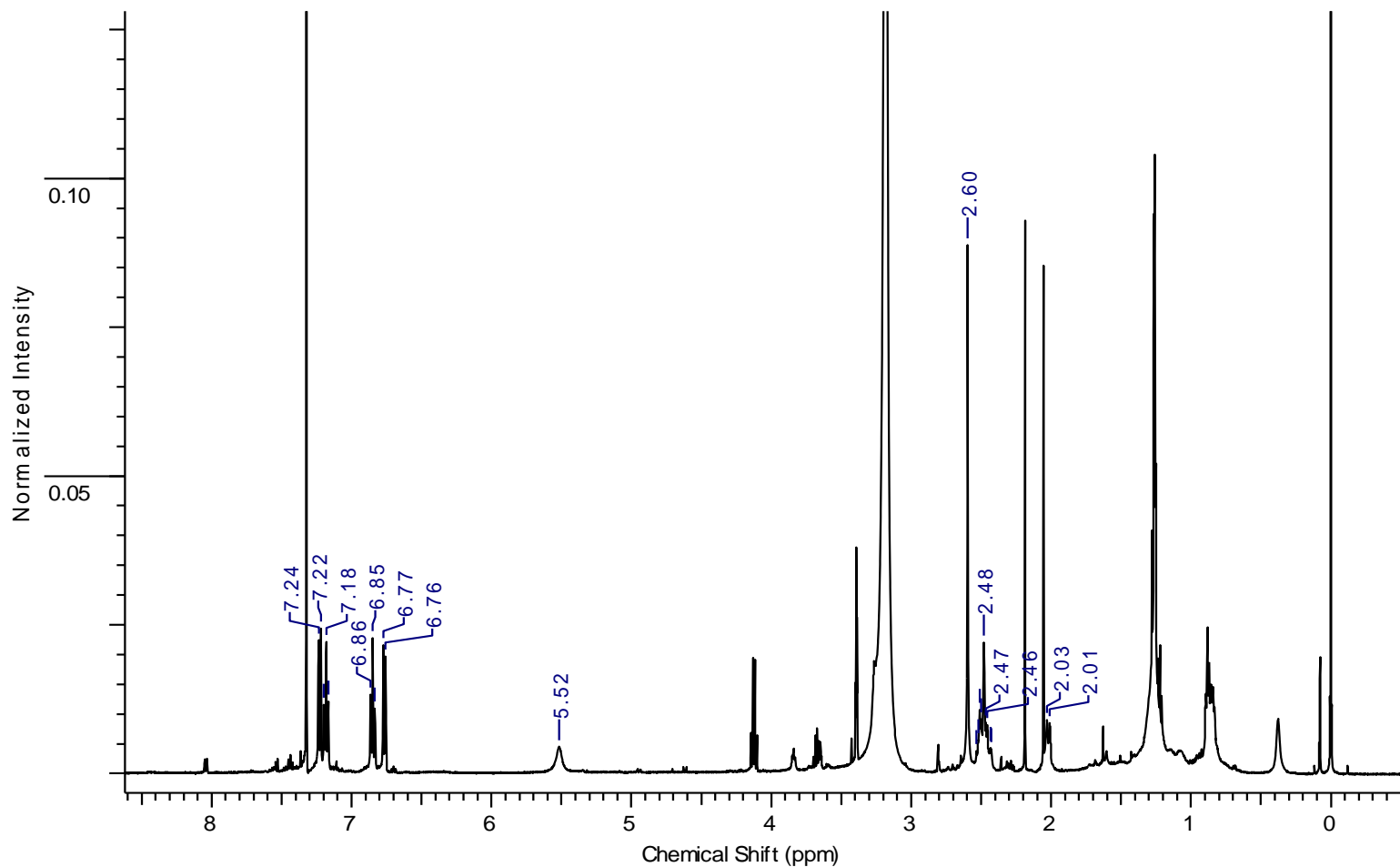


Espectro 65 – Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-05.



Espectro 66 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-05.

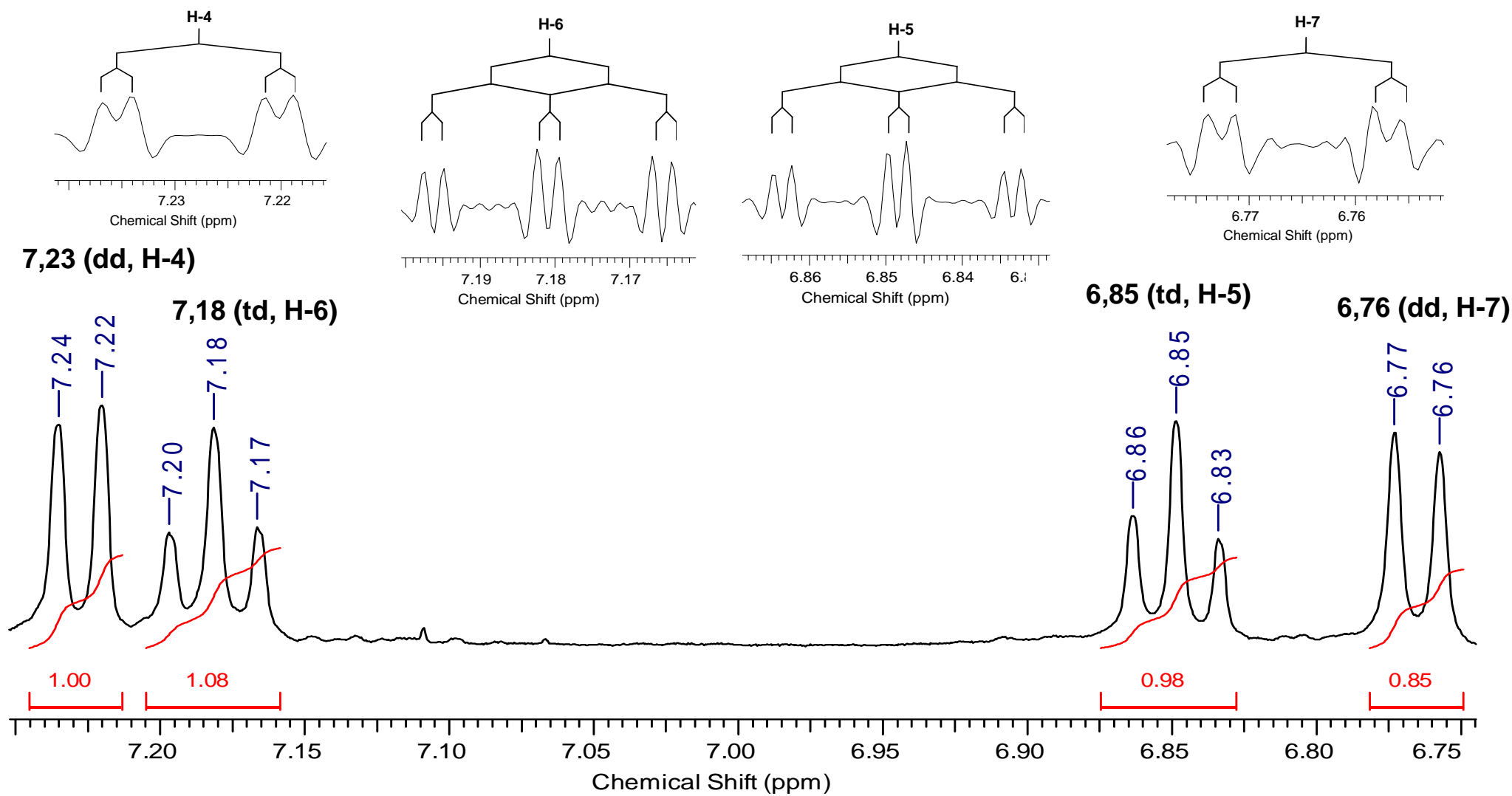
Anexo



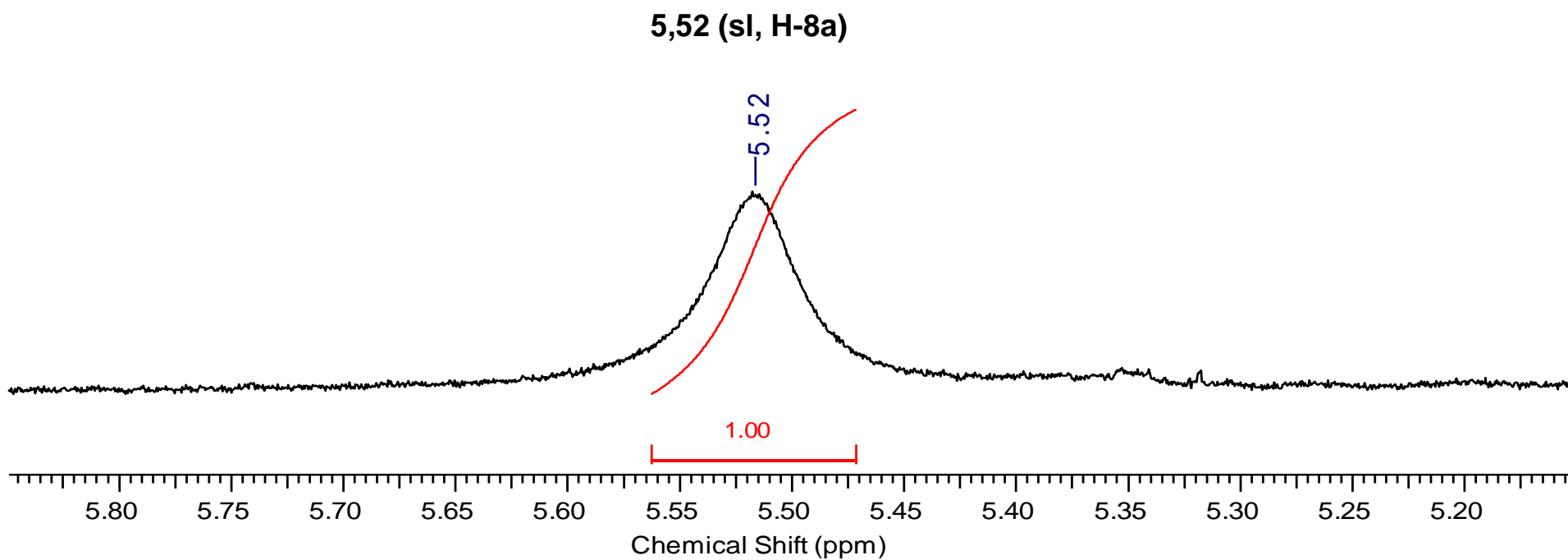
Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	4.6662
Comment	l-rphen23-9 1,6mg cdcl3/meod RAQUEL
Date	16 May 2013 18:02:40
Date Stamp	16 May 2013 18:02:40
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	1H
Number of Transients	64
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	nmrsu
Points Count	32768
Pulse Sequence	zg30
Receiver Gain	144.00
SW(cyclical) (Hz)	7022.47
Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	2537.2063
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	7022.26
Temperature (degree C)	25.160

Espectro 67 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃ / MeOD, 500 MHz) de PH-06.

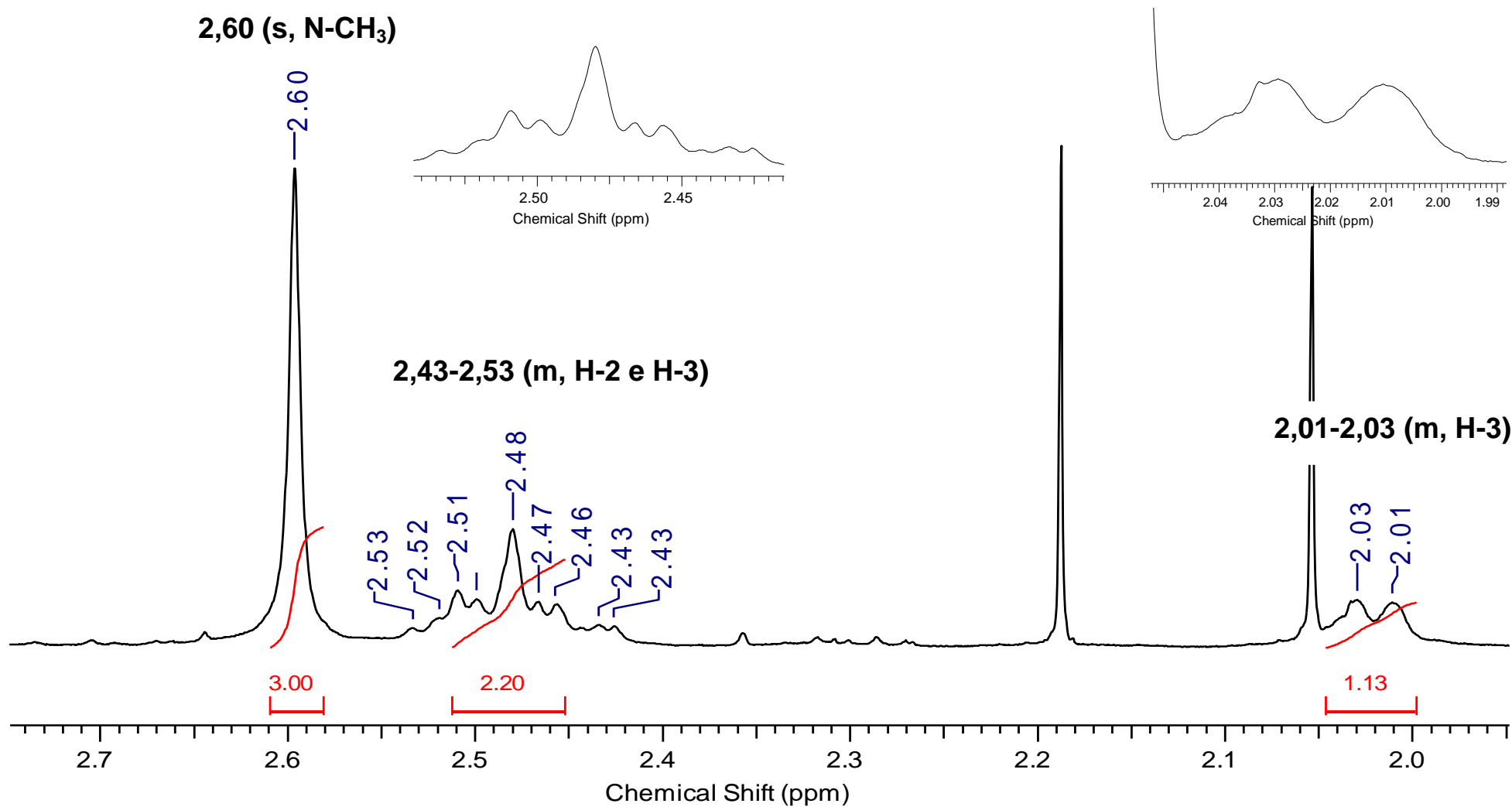
Anexo



Espectro 68 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,2 à 6,7 ppm) de PH-06.

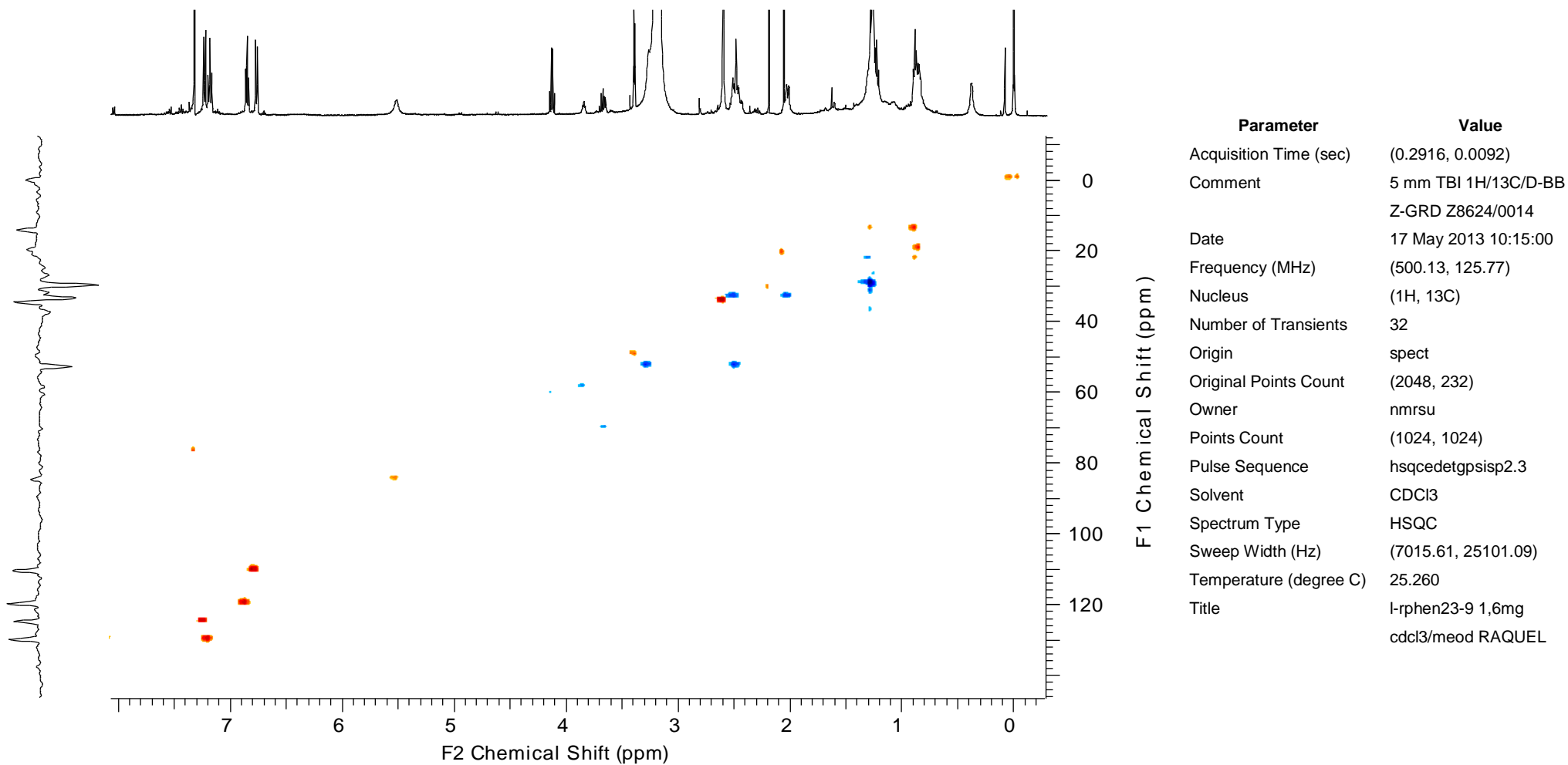


Espectro 69 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 5,8 à 5,2 ppm) de PH-06.

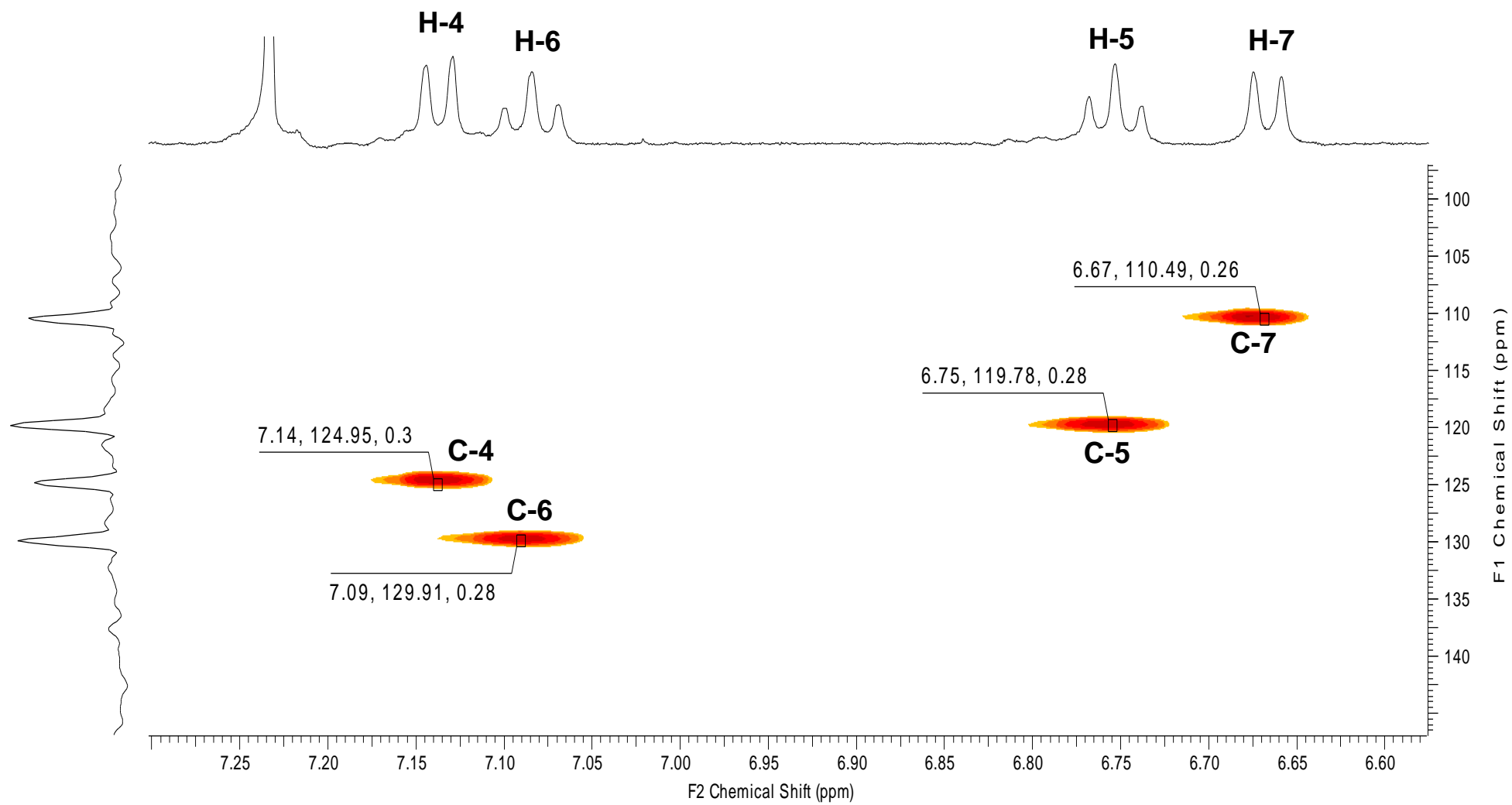


Espectro 70 – Expansão do espectro de RMN ¹H (região 2,7 à 2,0 ppm) de PH-06.

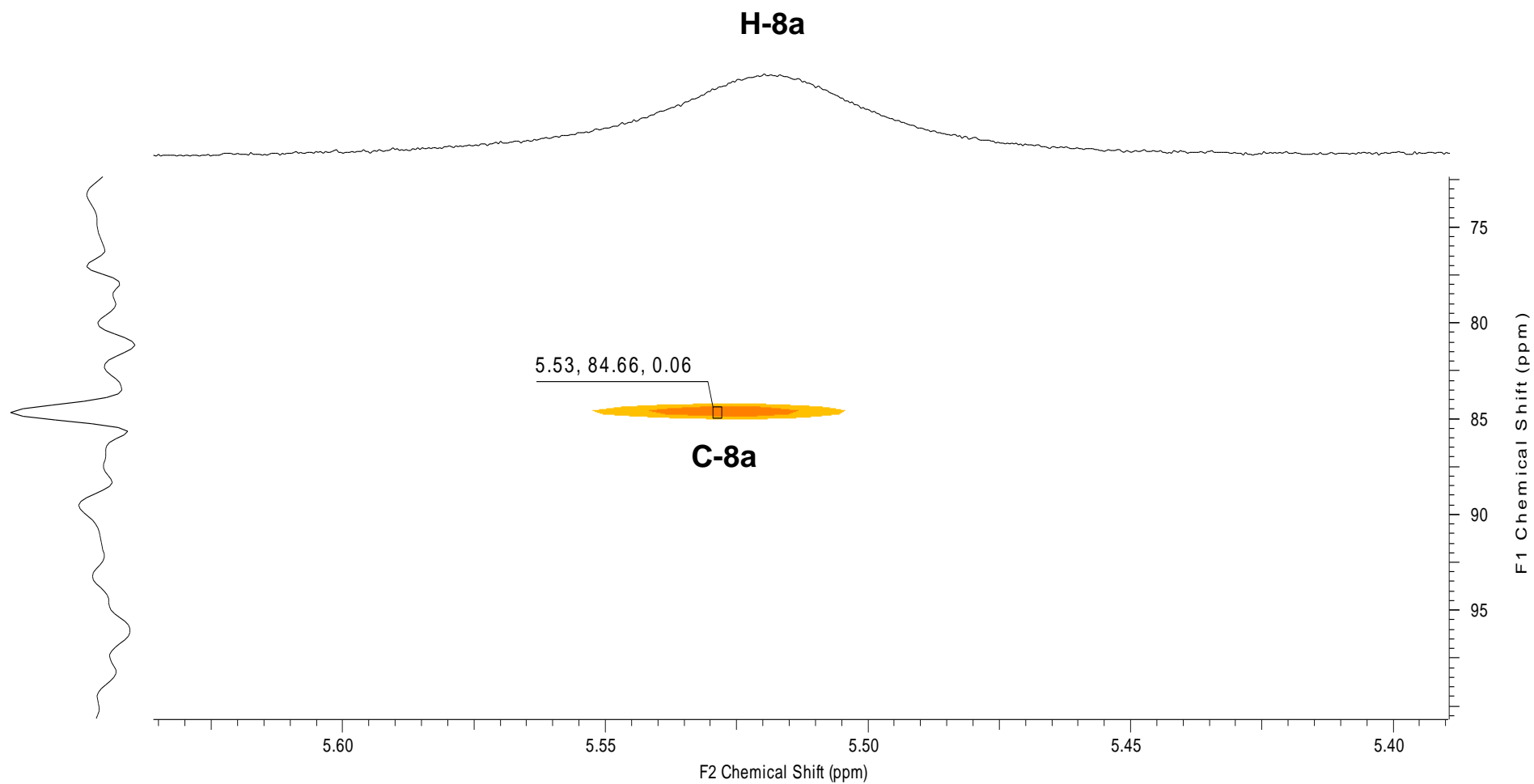
Anexo



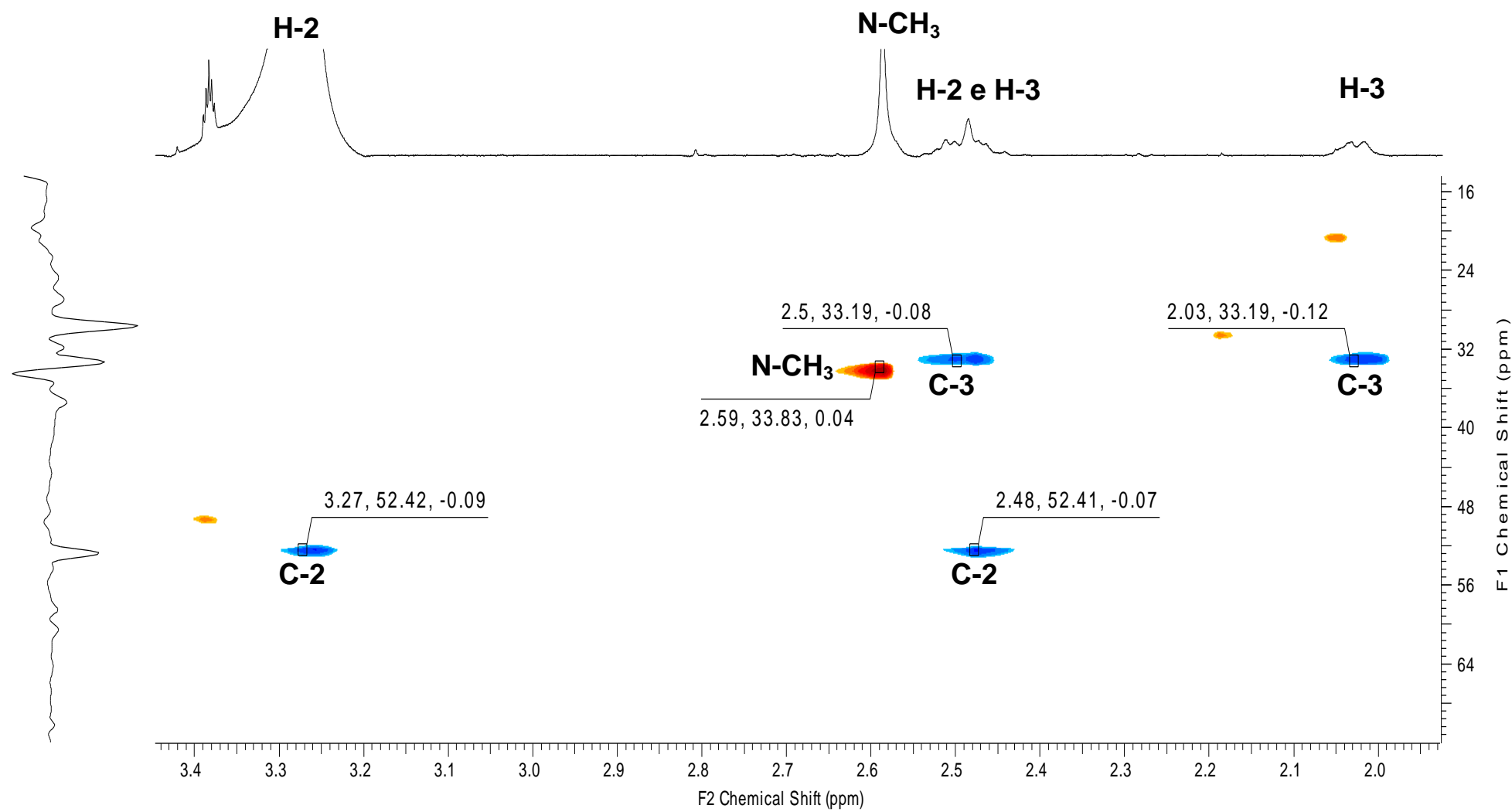
Espectro 71 – Mapa de correlação de HSQC de PH-06.



Espectro 72 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,3 à 6,6 ppm) de PH-06.

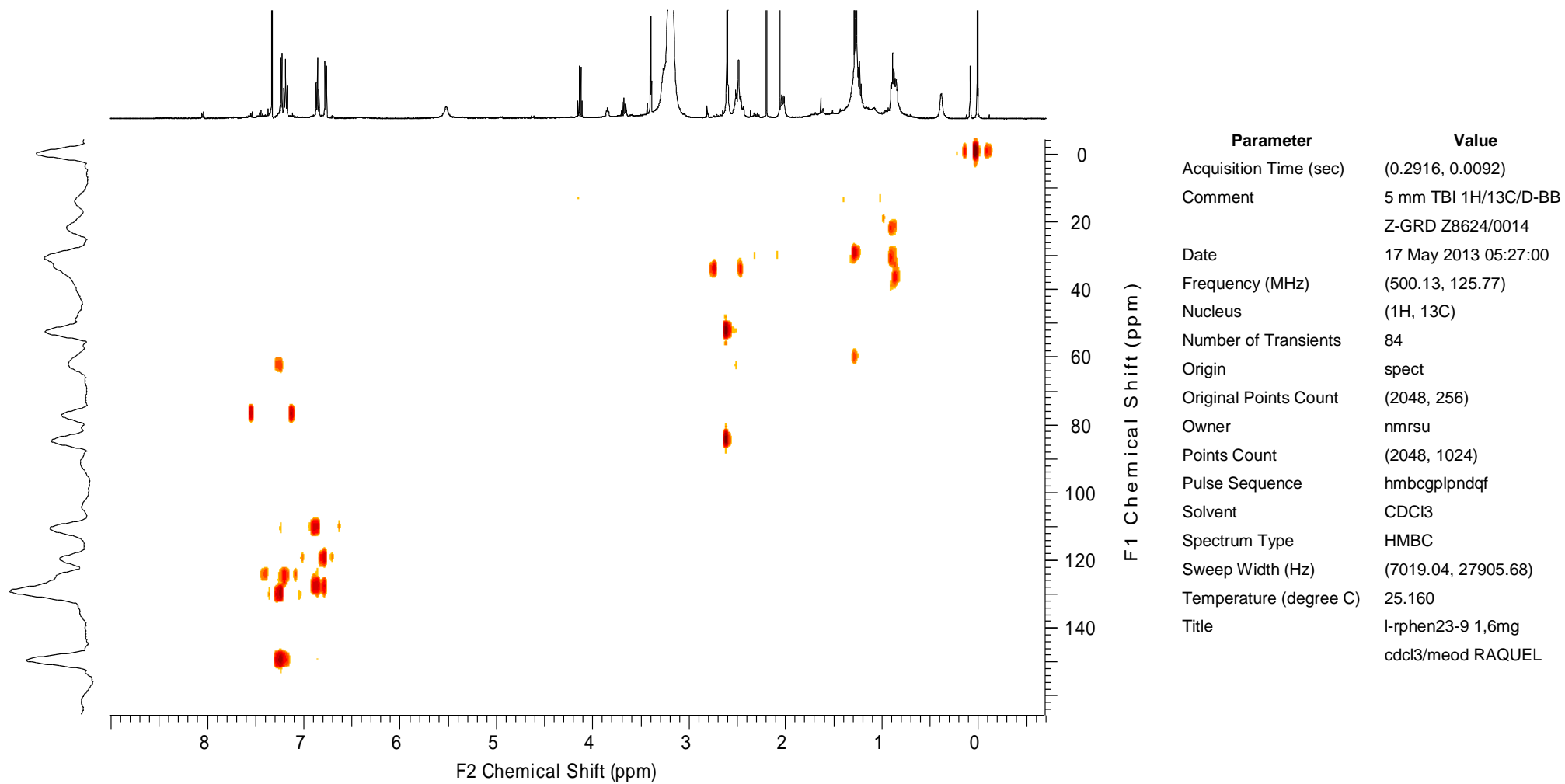


Espectro 73 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 5,7 à 5,4 ppm) de PH-06.

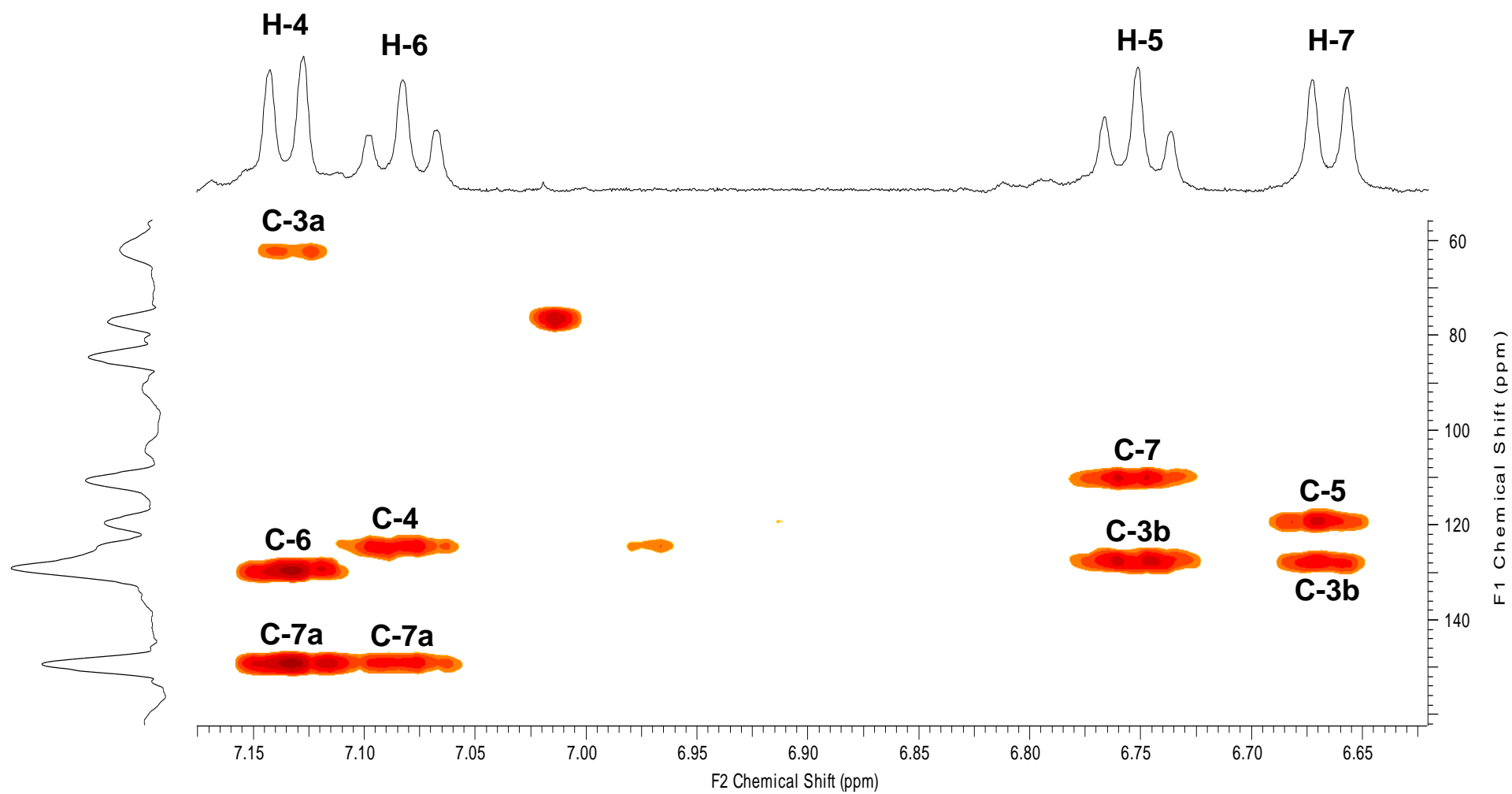


Espectro 74 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,4 à 2,0 ppm) de PH-06.

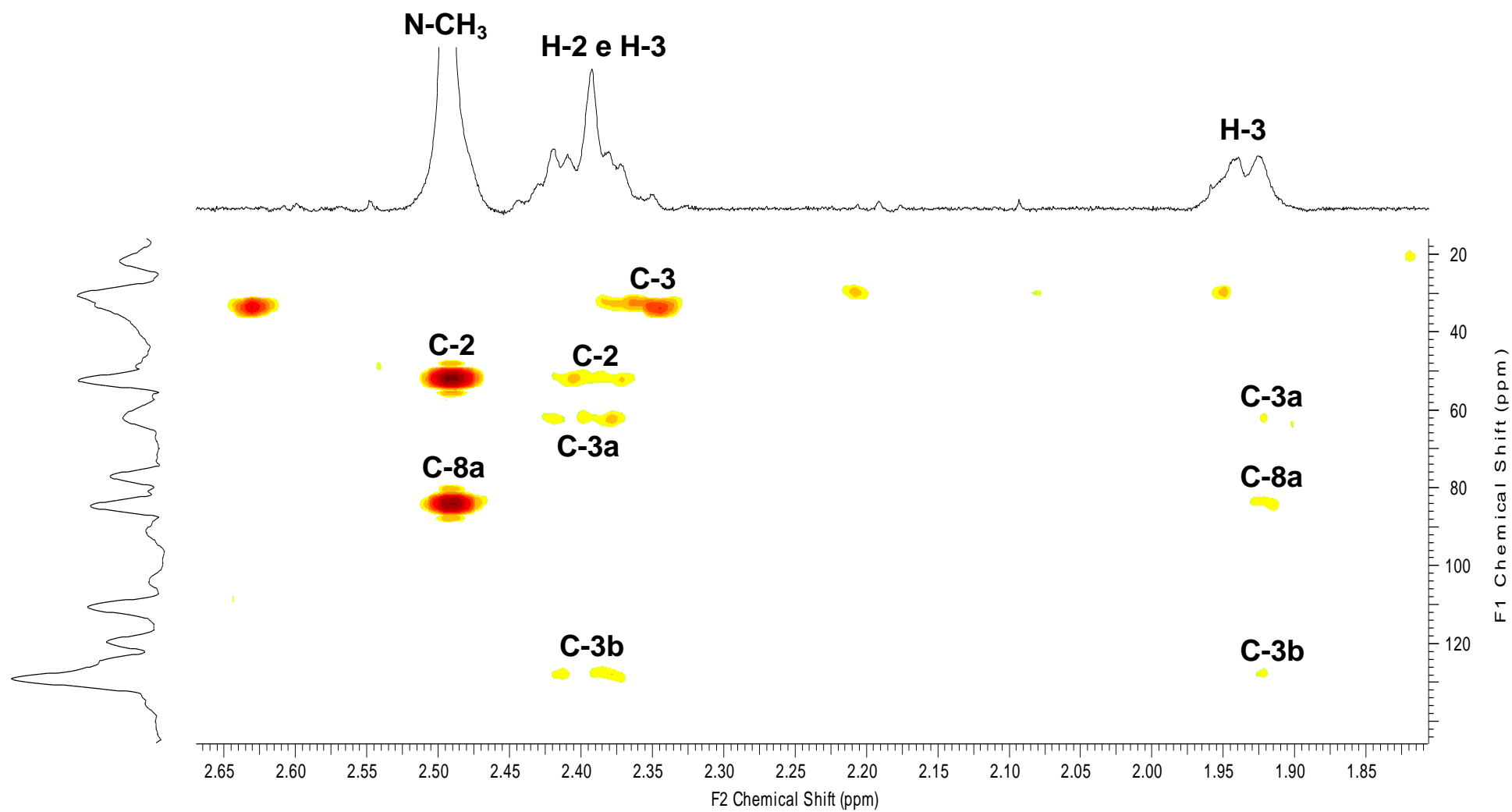
Anexo



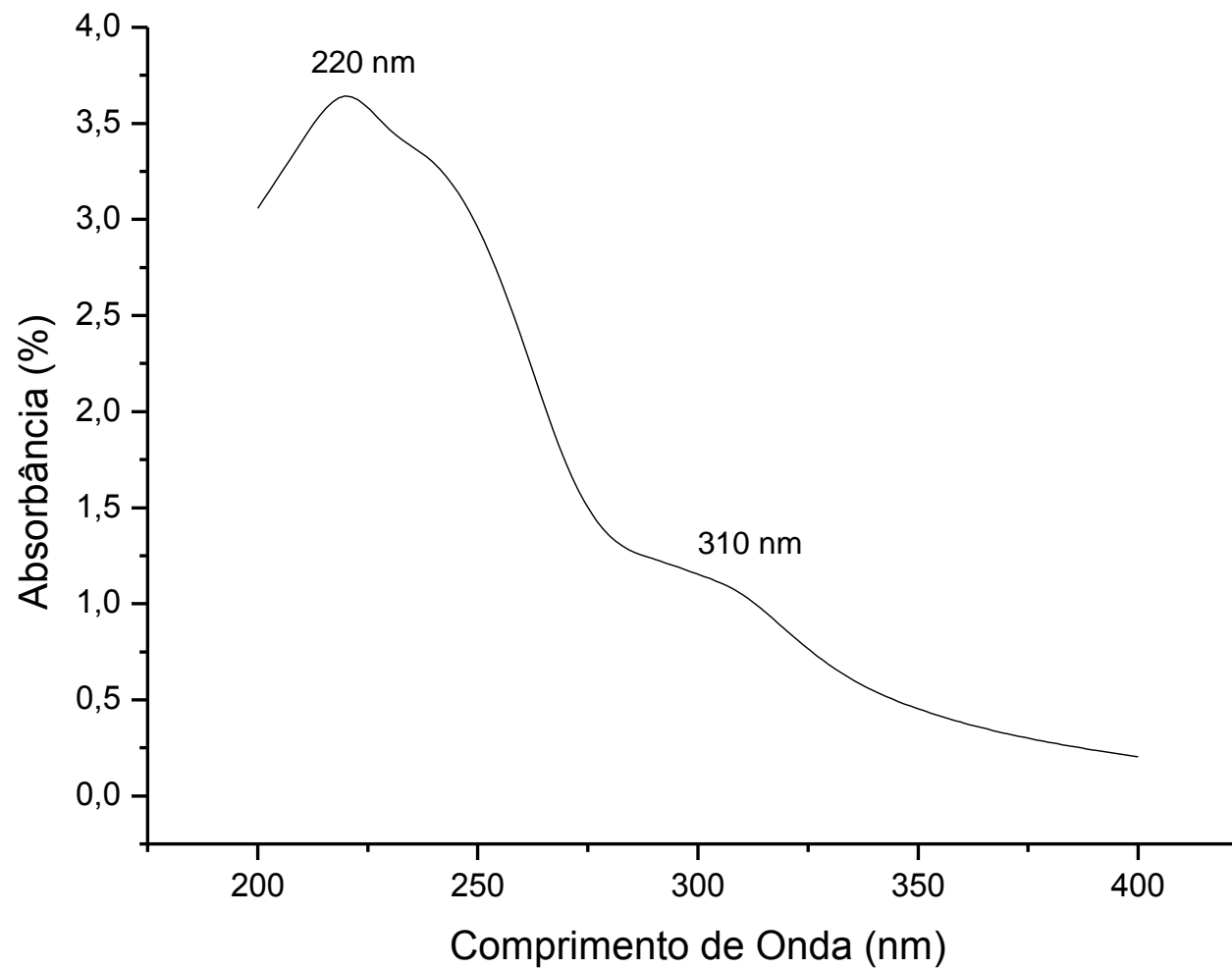
Espectro 75 – Mapa de correlação de HMBC de PH-06.



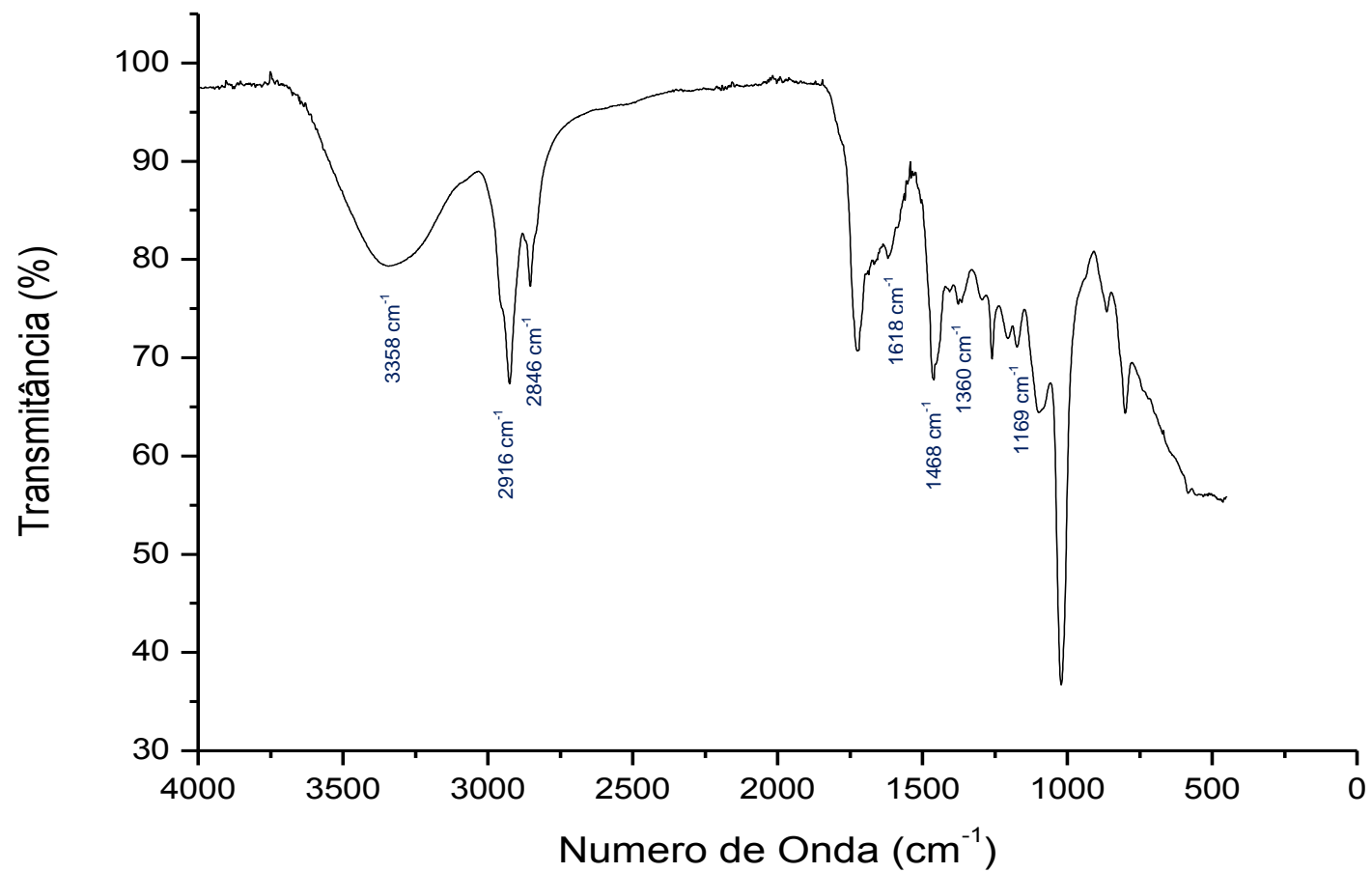
Espectro 76 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,2 à 6,6 ppm) de PH-06.



Espectro 77 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 2,7 à 1,8 ppm) de PH-06.

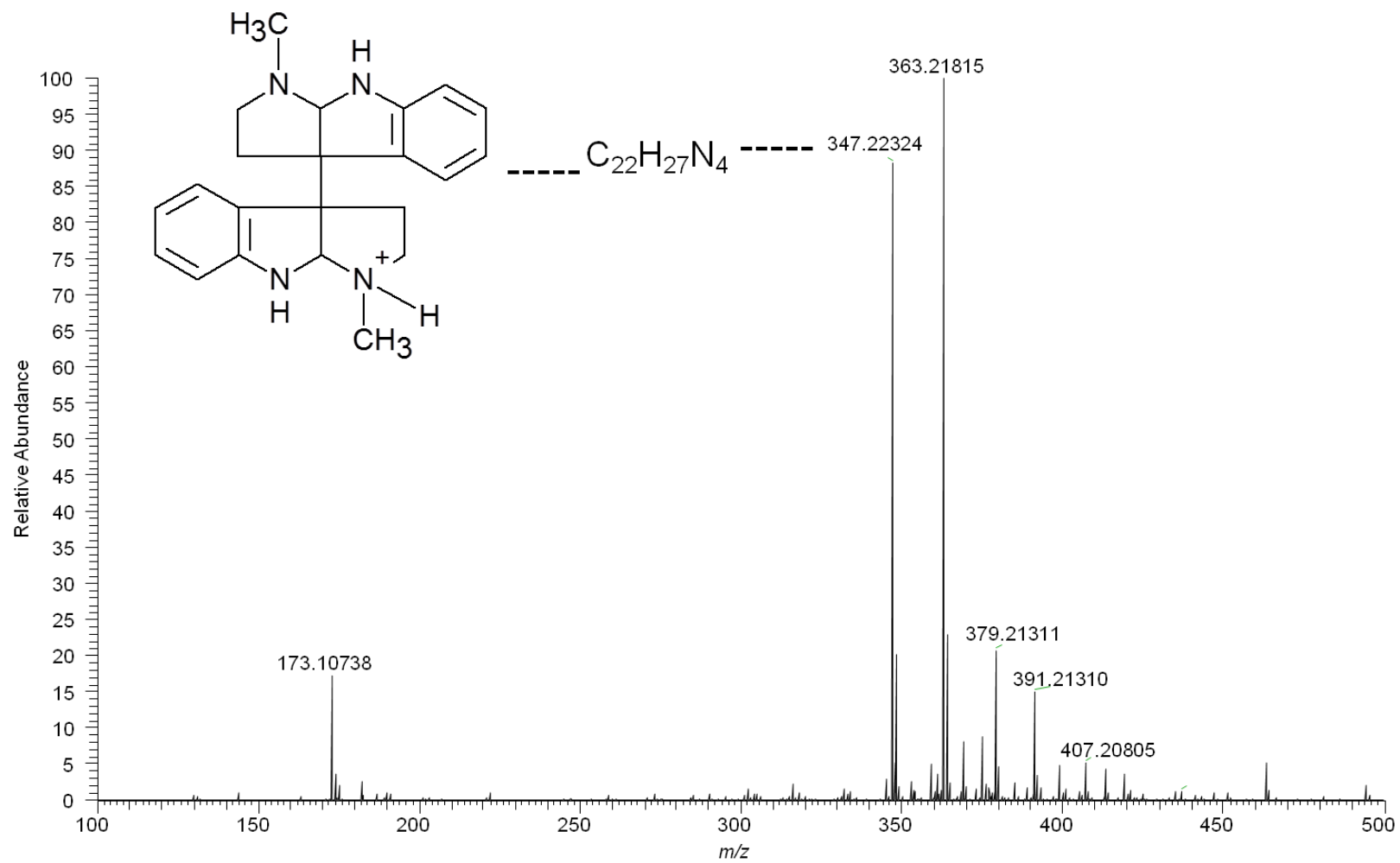


Espectro 78 – Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-06.

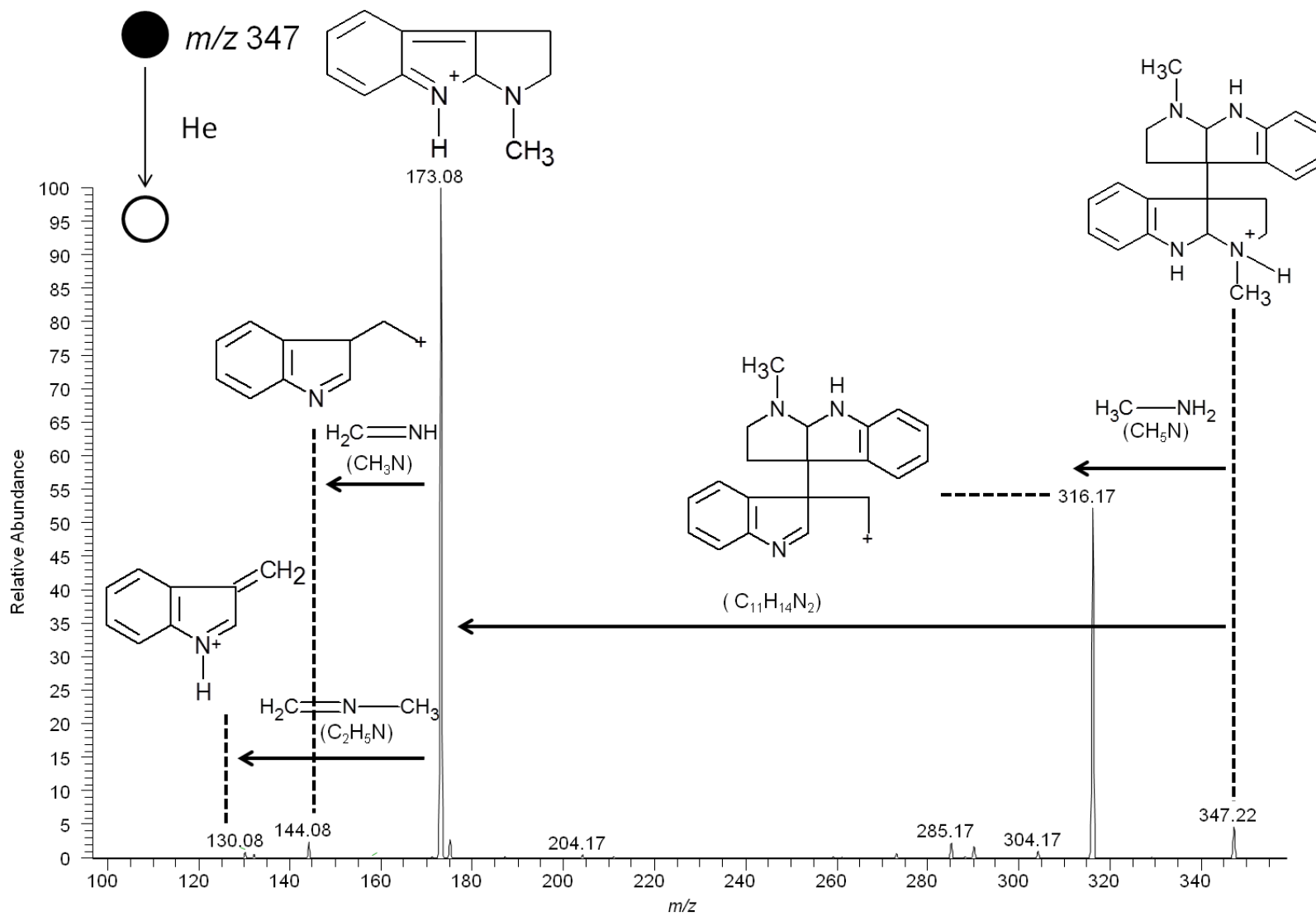


Espectro 79 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-06.

ESI(+) FT-ICR MS

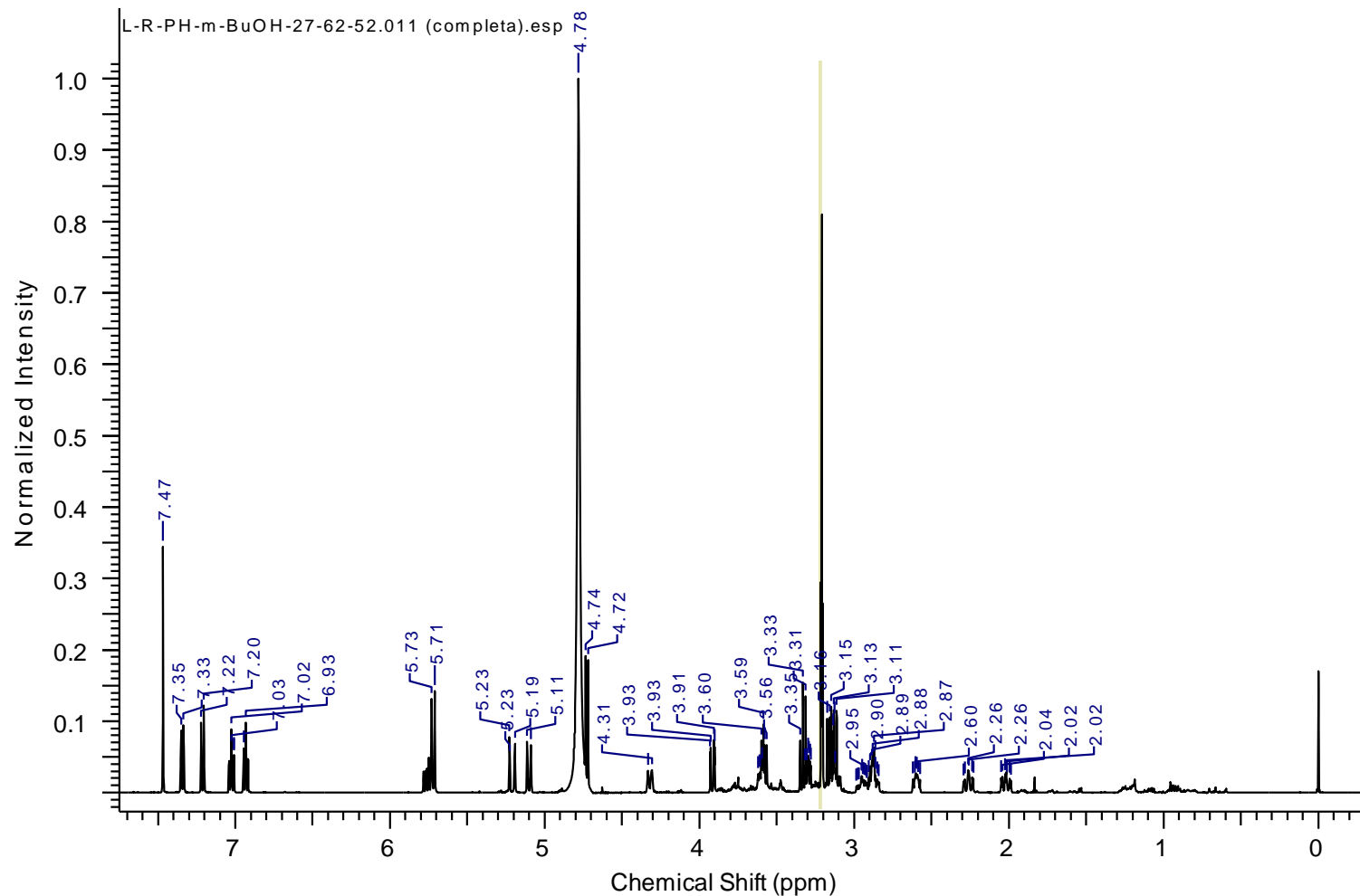


Espectro 80 – Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-06.



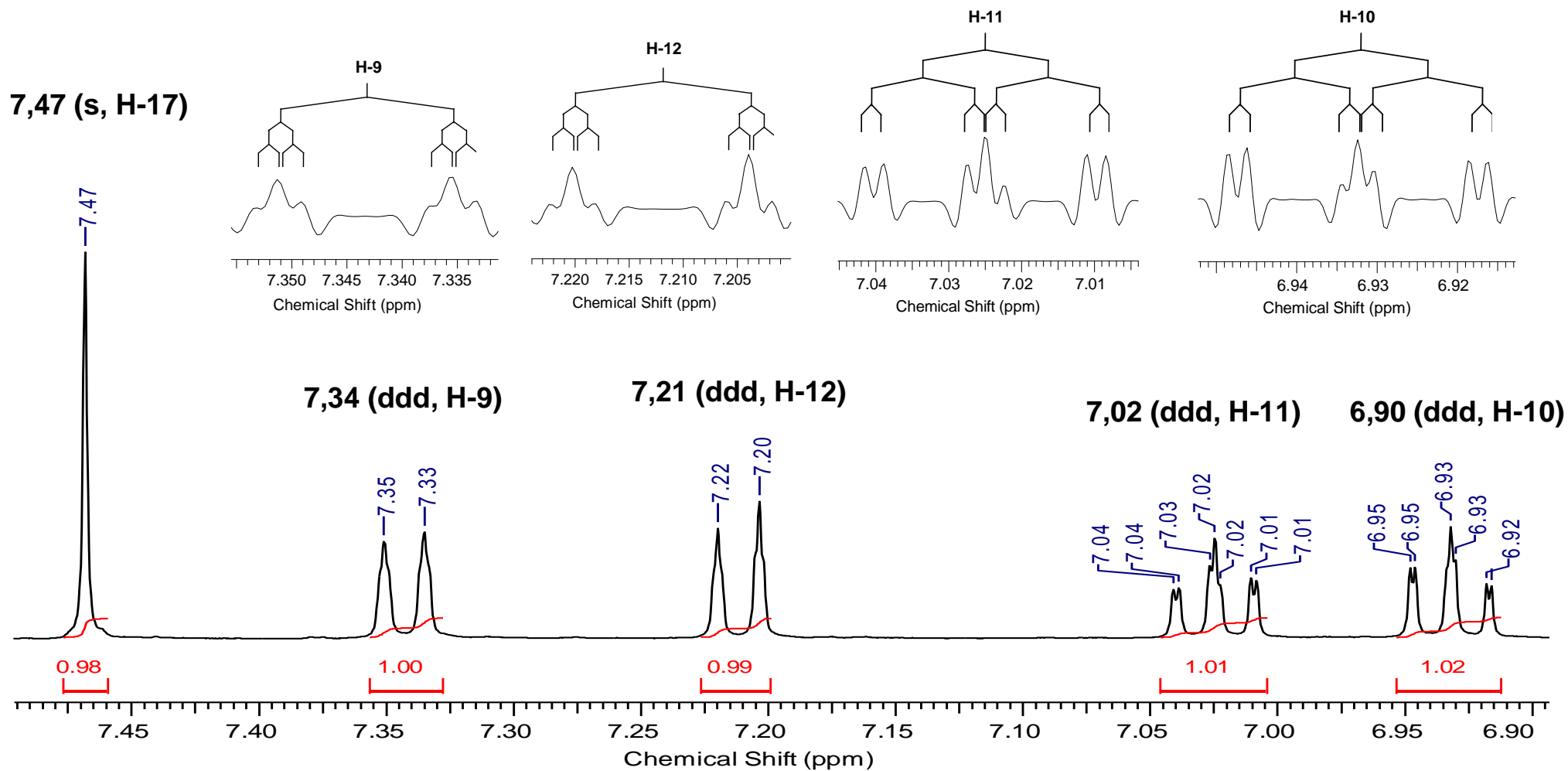
Espectro 81 – Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 347.

Anexo



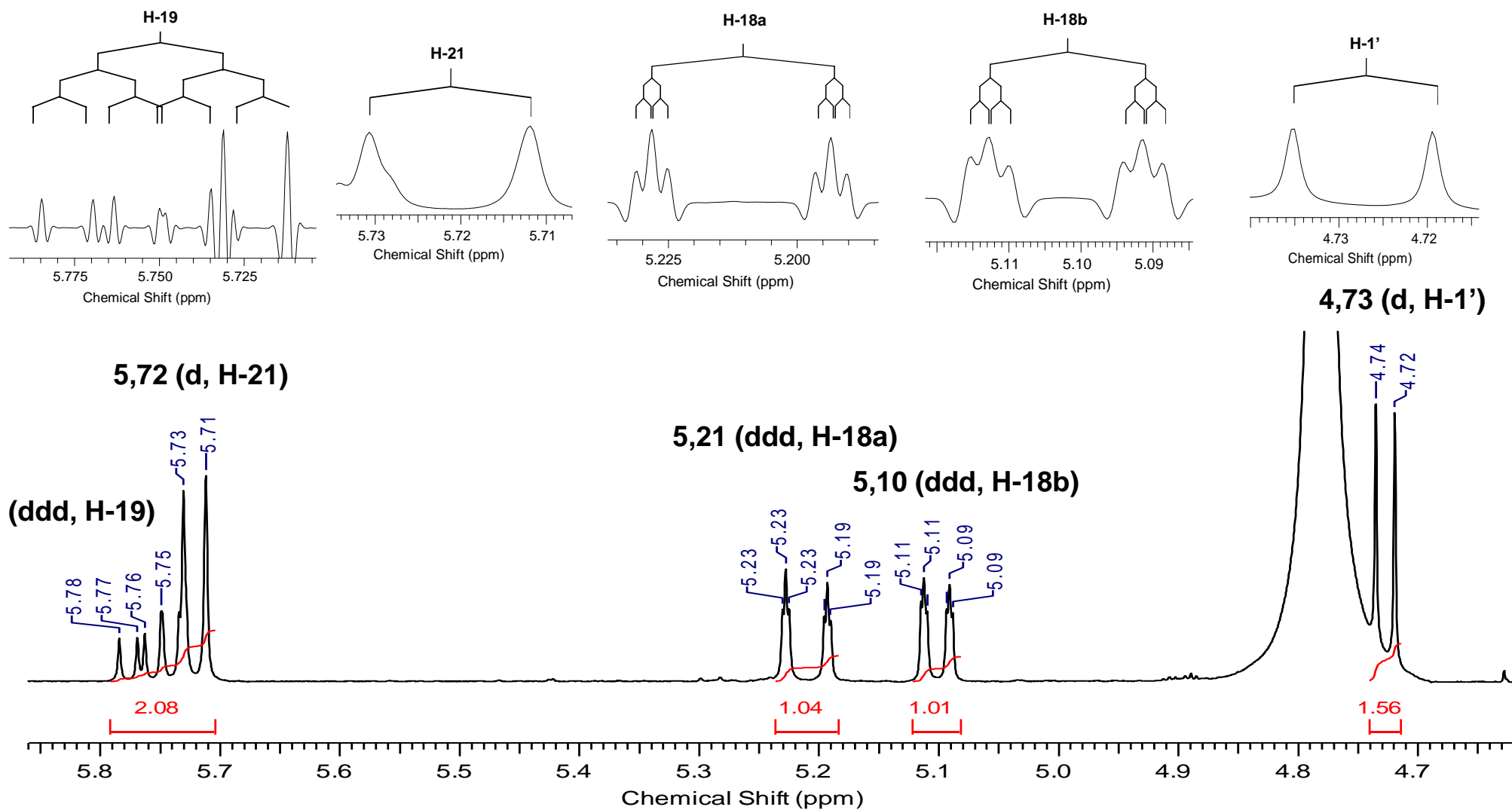
Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	5.5225
Comment	L-R-PH-m-BuOH-27-62-52
	9,8 mg MeOD RAQUEL
Date	09 Aug 2012 14:22:56
Date Stamp	09 Aug 2012 14:22:56
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	1H
Number of Transients	16
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	nmrsu
Points Count	32768
Pulse Sequence	zgcprr
Receiver Gain	161.00
SW(cyclical) (Hz)	5933.54
Solvent	METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz)	2391.2178
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	5933.36
Temperature (degree C)	25.000

Espectro 82 – Espectro de RMN ¹H (MeOD, 500 MHz) de PH-07.



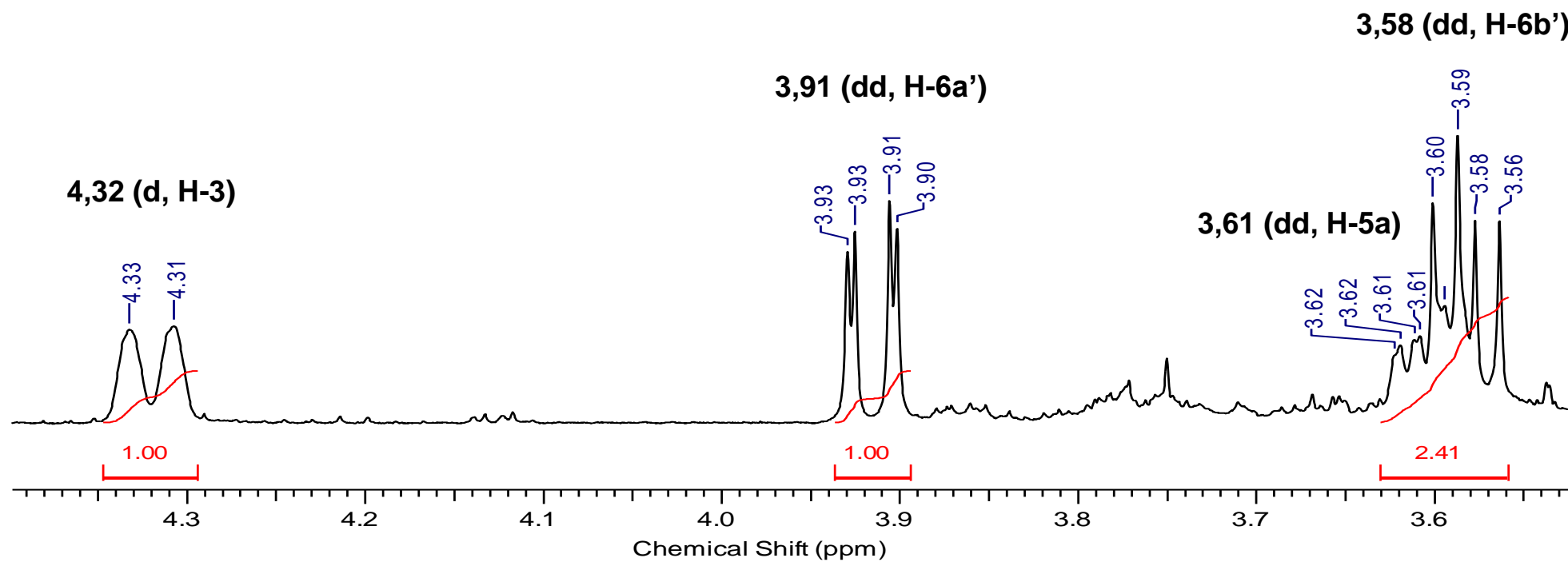
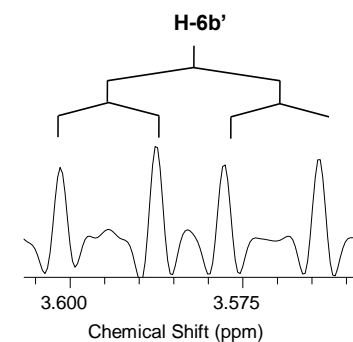
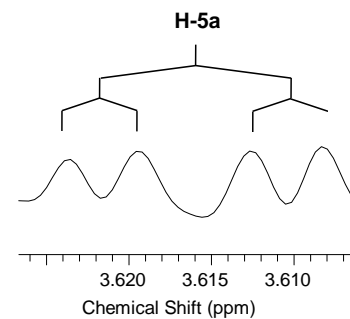
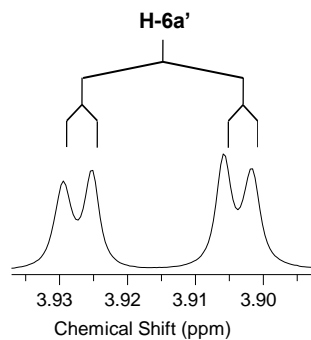
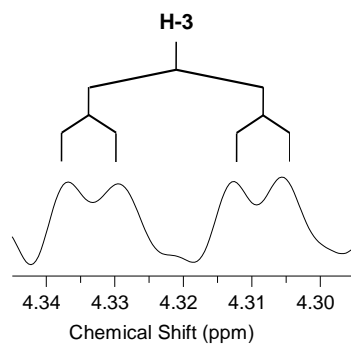
Espectro 83 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 7,5 à 6,9 ppm) de PH-07.

Anexo



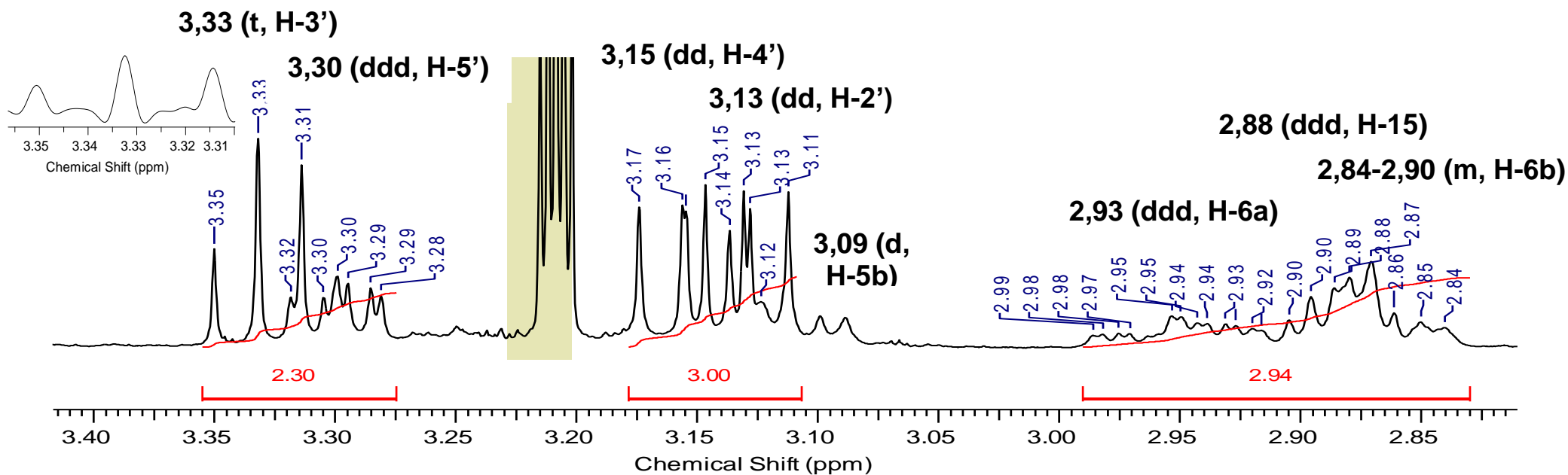
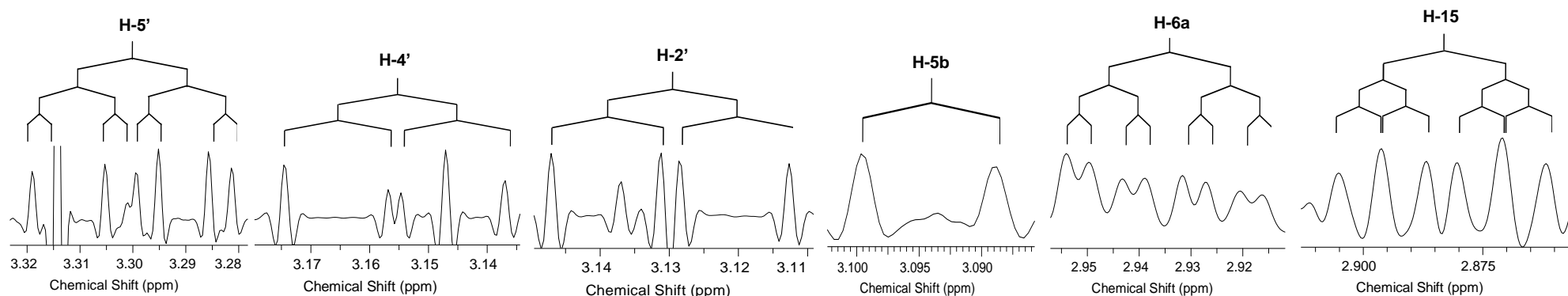
Espectro 84 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 5,8 à 4,8 ppm) de PH-07.

Anexo



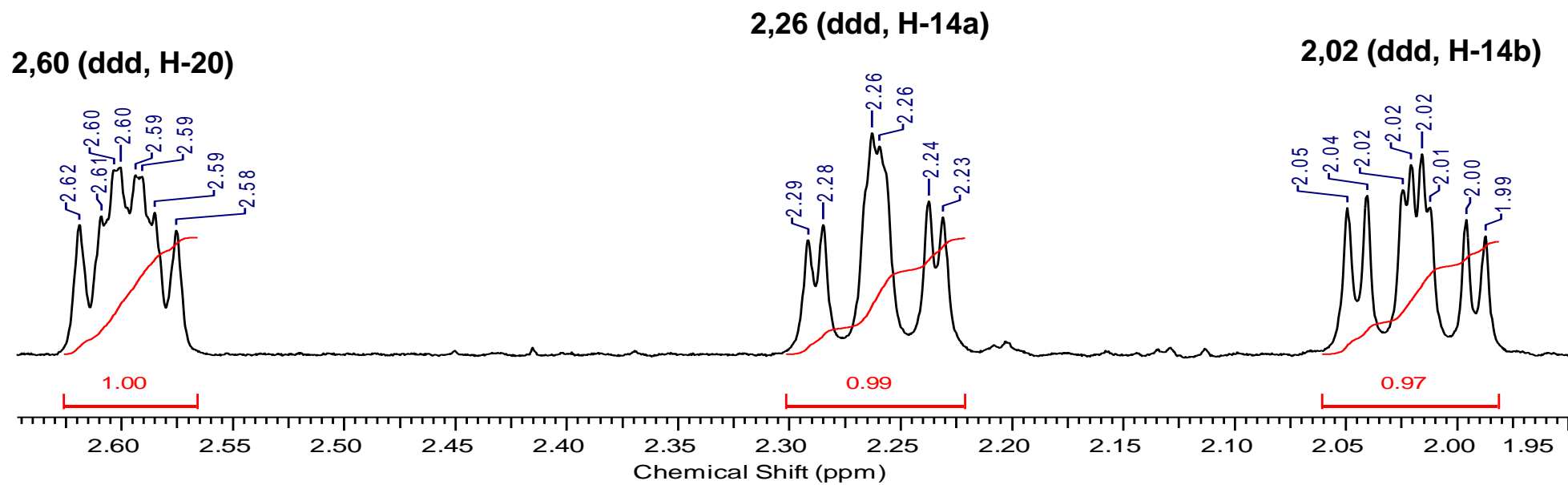
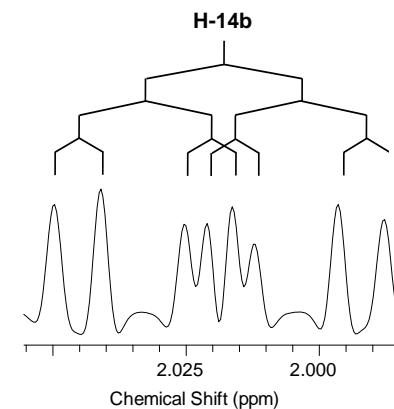
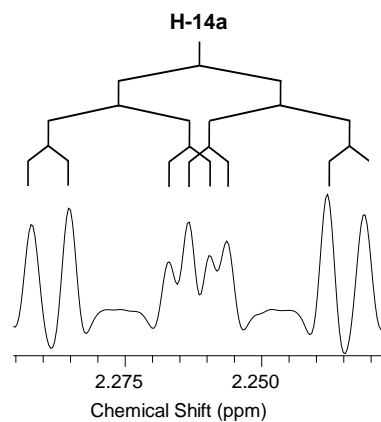
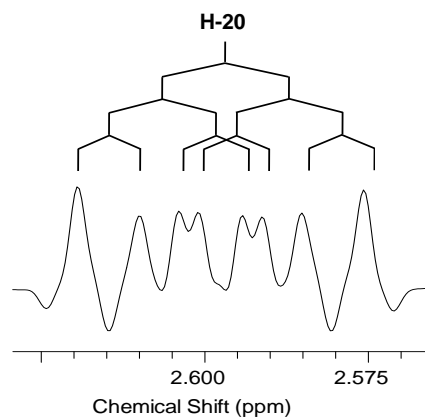
Espectro 85 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,4 à 3,5 ppm) de PH-07.

Anexo



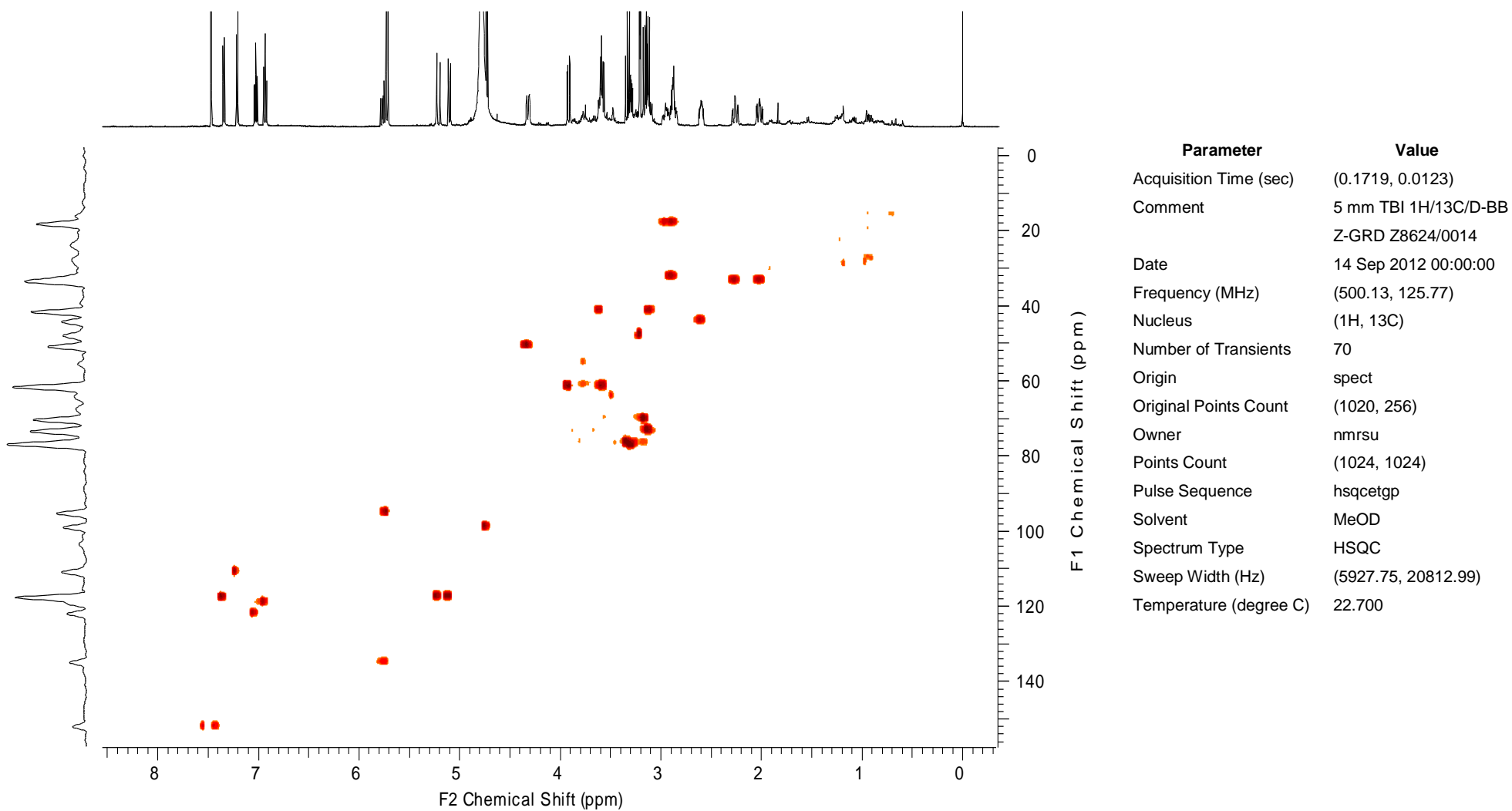
Espectro 86 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,4 à 2,8 ppm) de PH-07.

Anexo

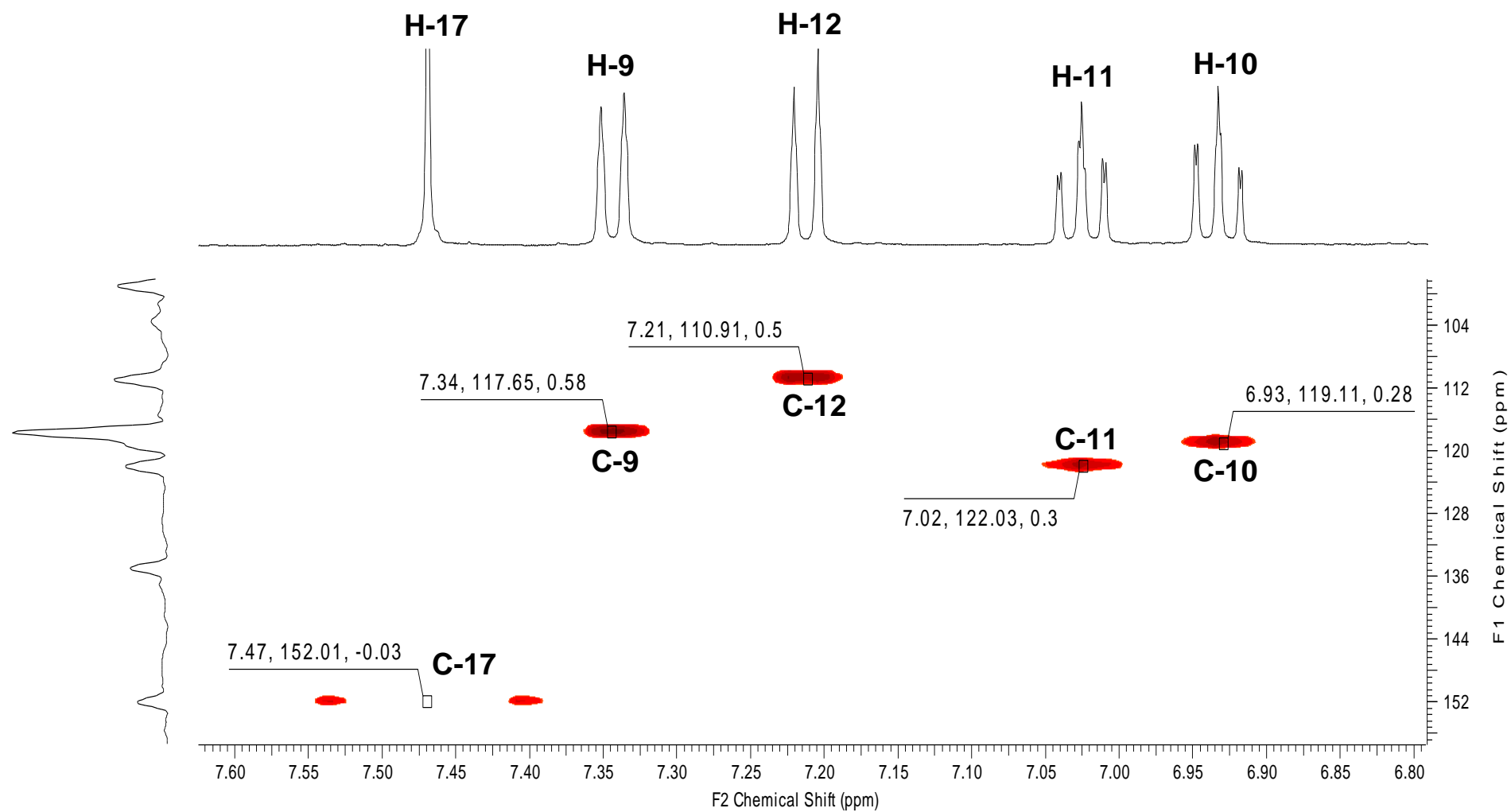


Espectro 87 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 2,6 à 1,9 ppm) de PH-07.

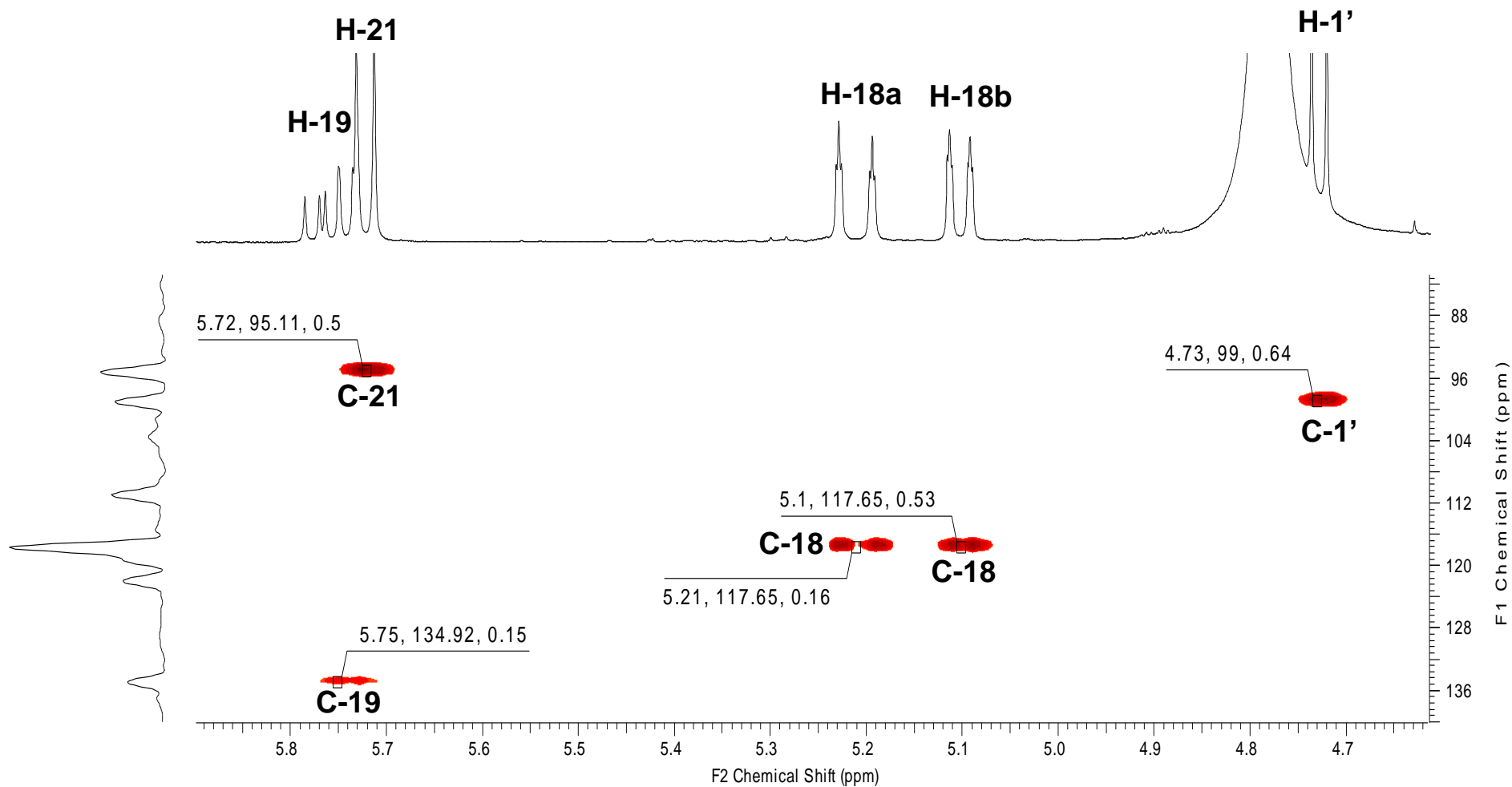
Anexo



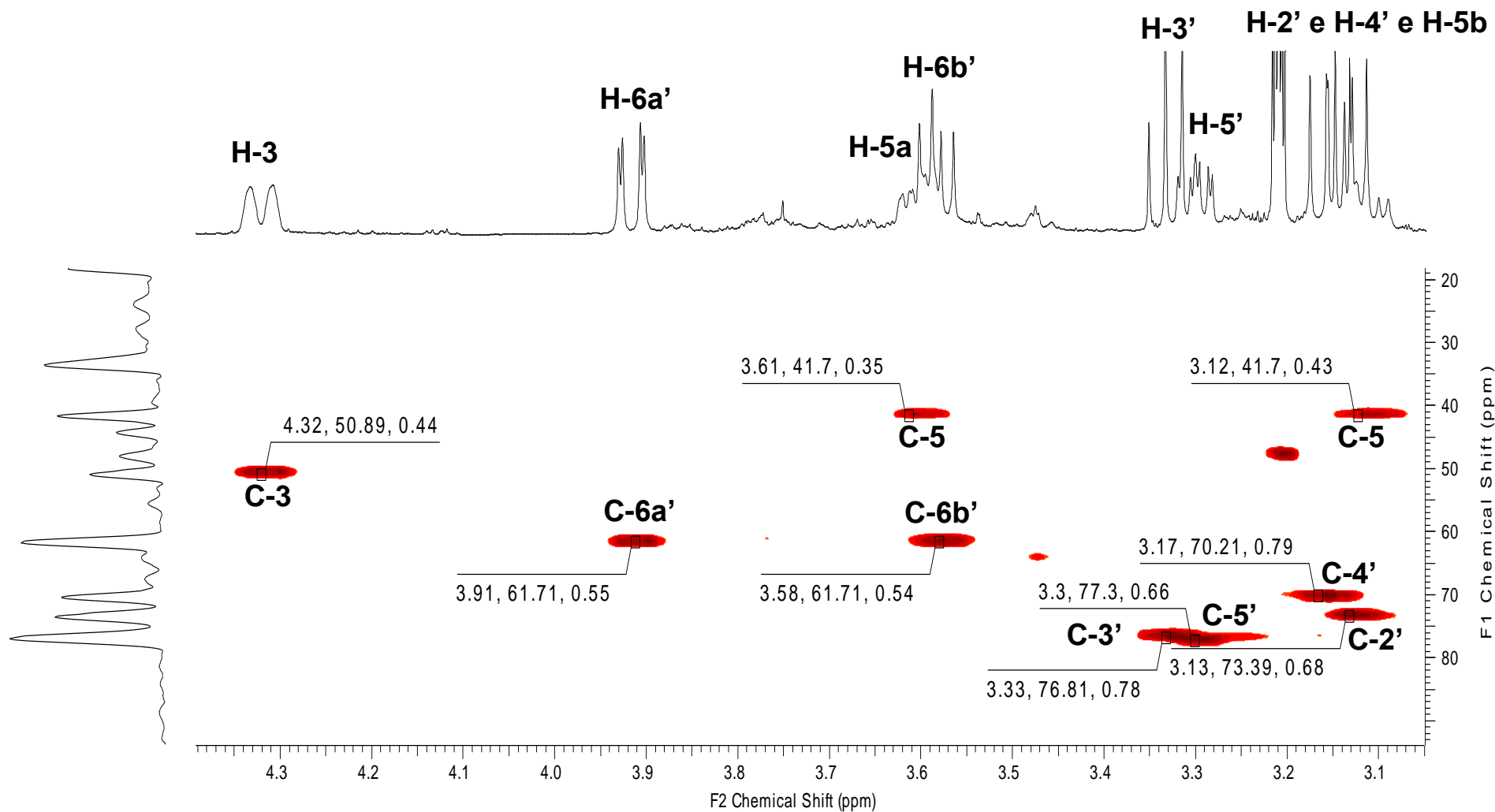
Espectro 88 – Mapa de correlação de HSQC de PH-07.



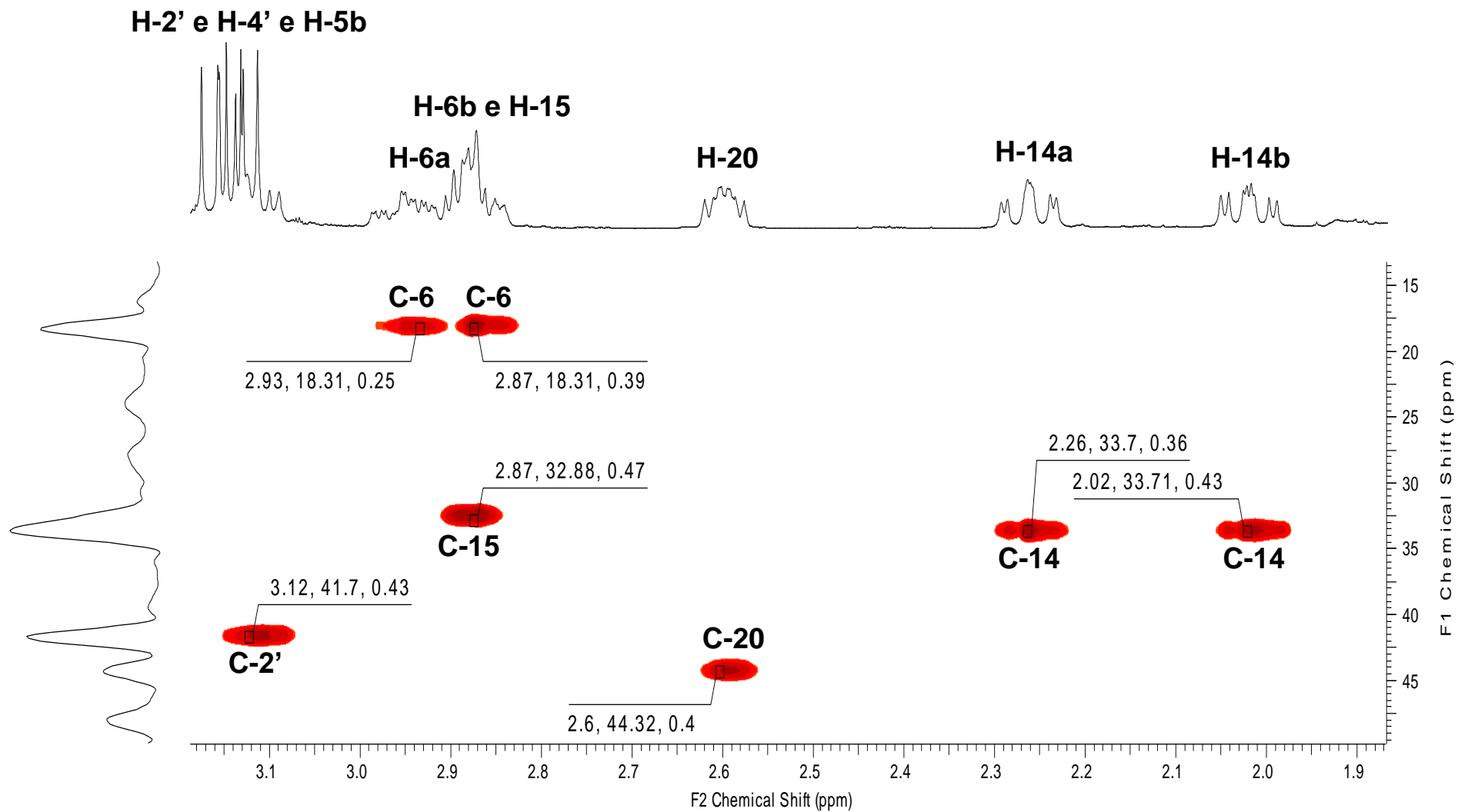
Espectro 89 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 7,6 à 6,8 ppm) de PH-07.



Espectro 90 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 5,9 à 4,7 ppm) de PH-07.

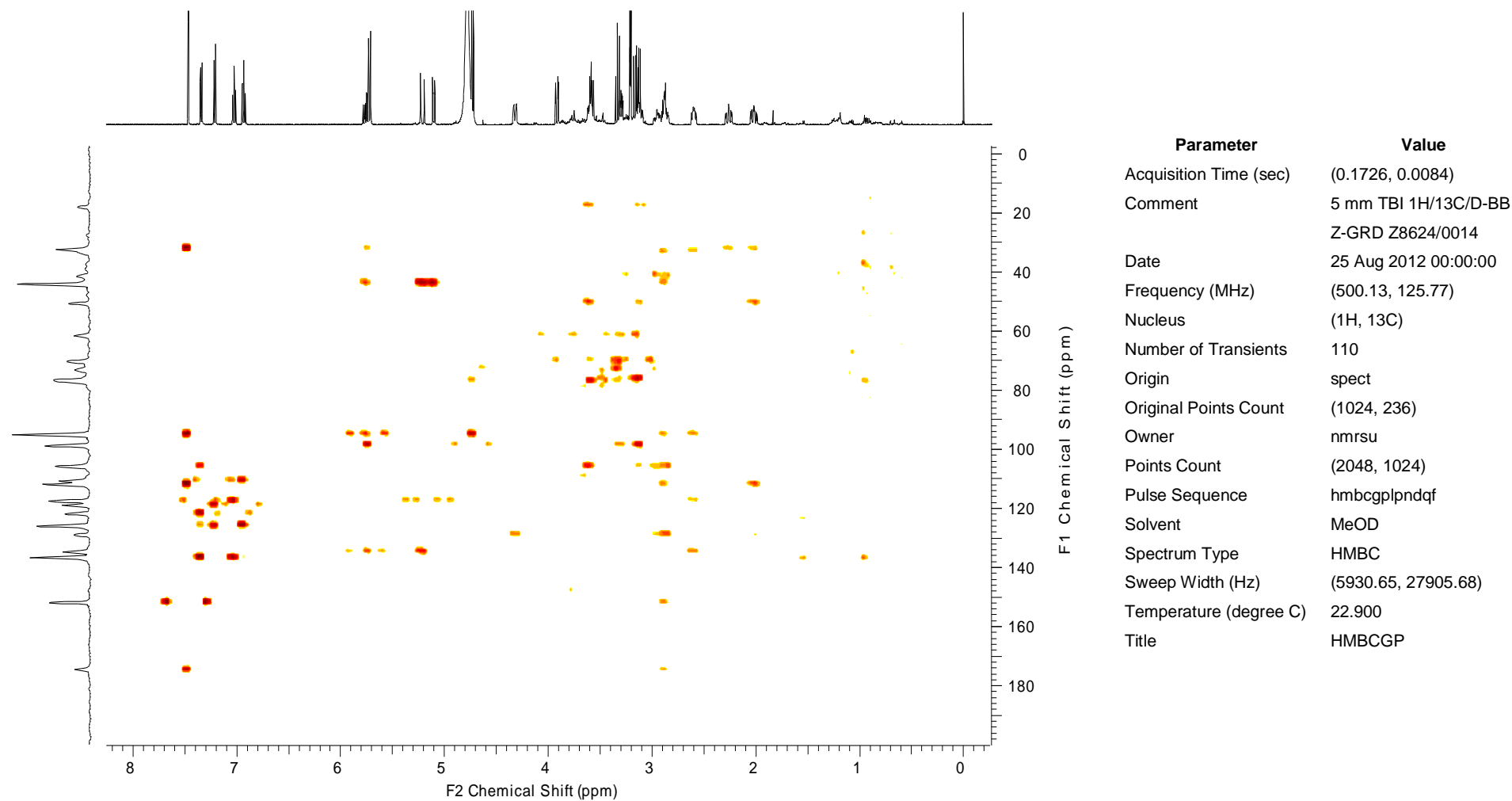


Espectro 91 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,4 à 3,1 ppm) de PH-07.

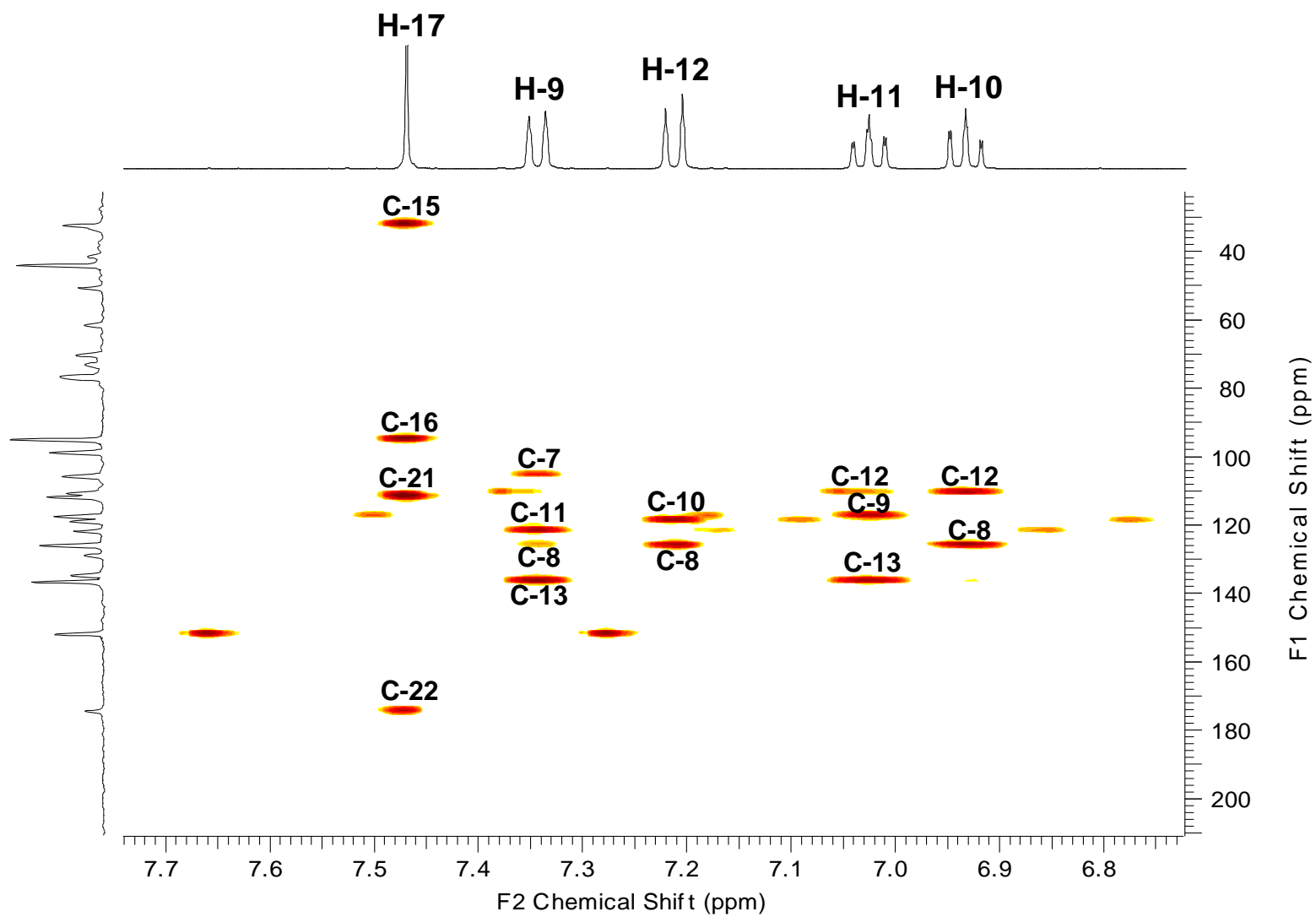


Espectro 92 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 3,2 à 1,9 ppm) de PH-07.

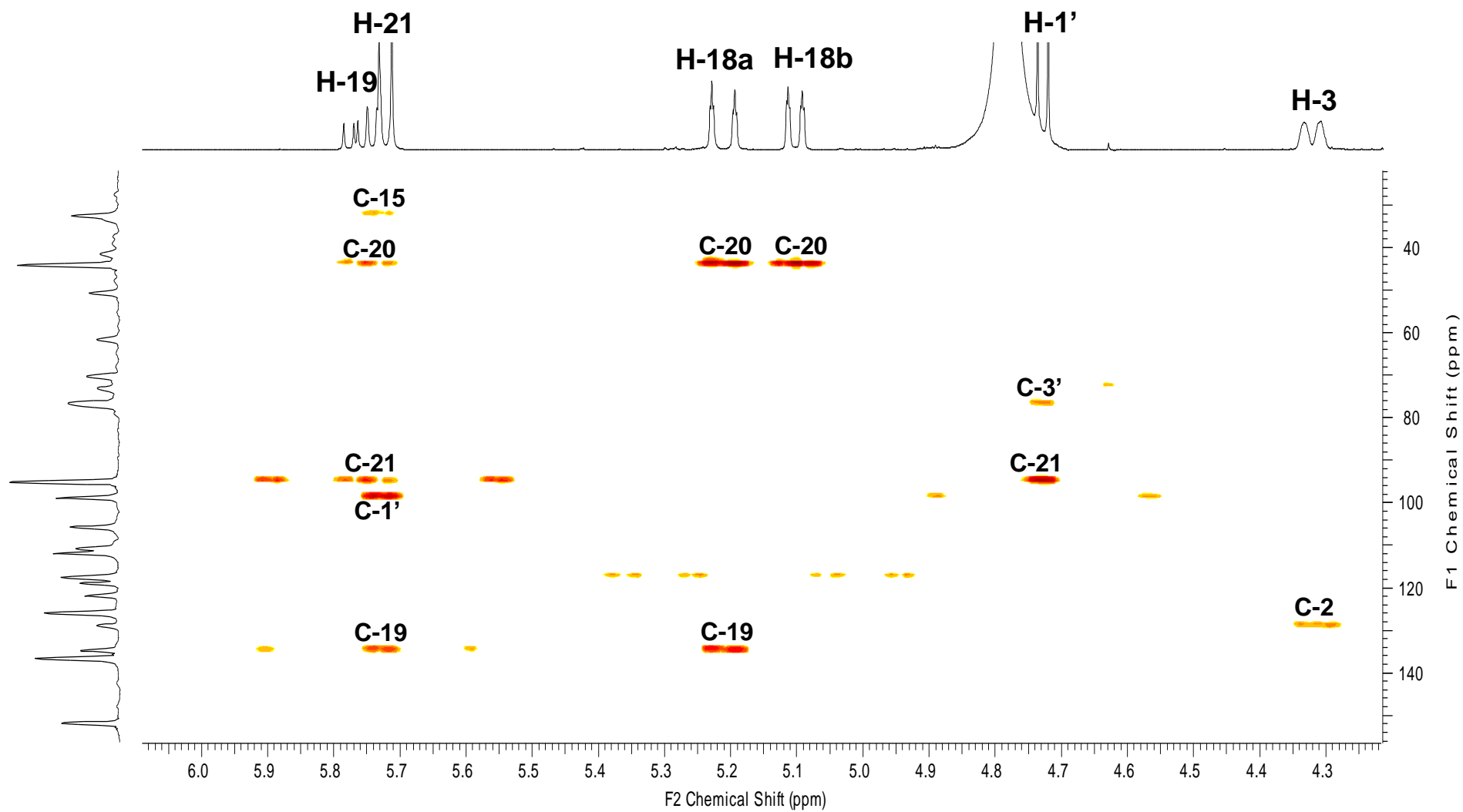
Anexo



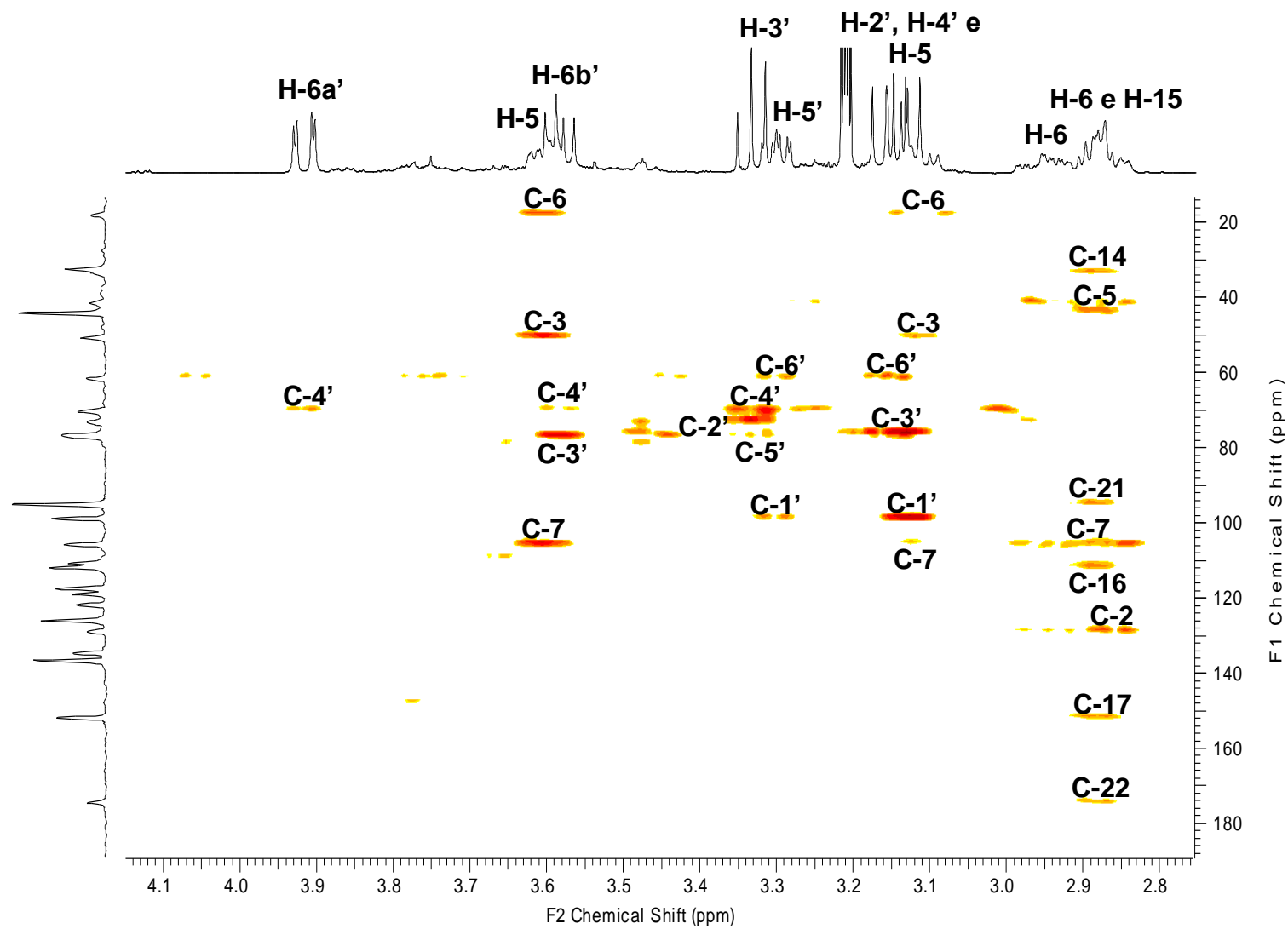
Espectro 93 – Mapa de correlação de HMBC de PH-07.



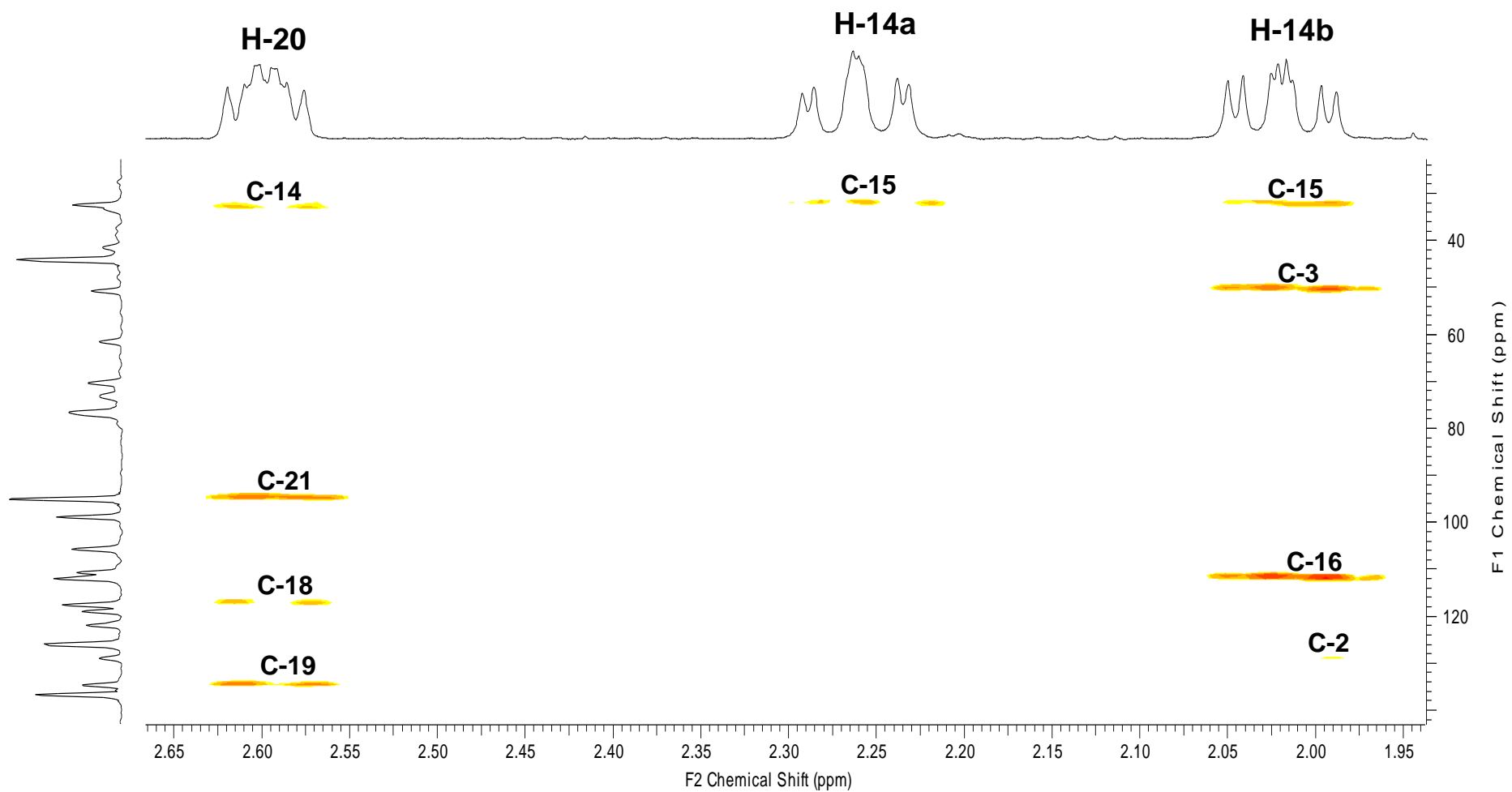
Espectro 94 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 7,7 à 6,8 ppm) de PH-07.



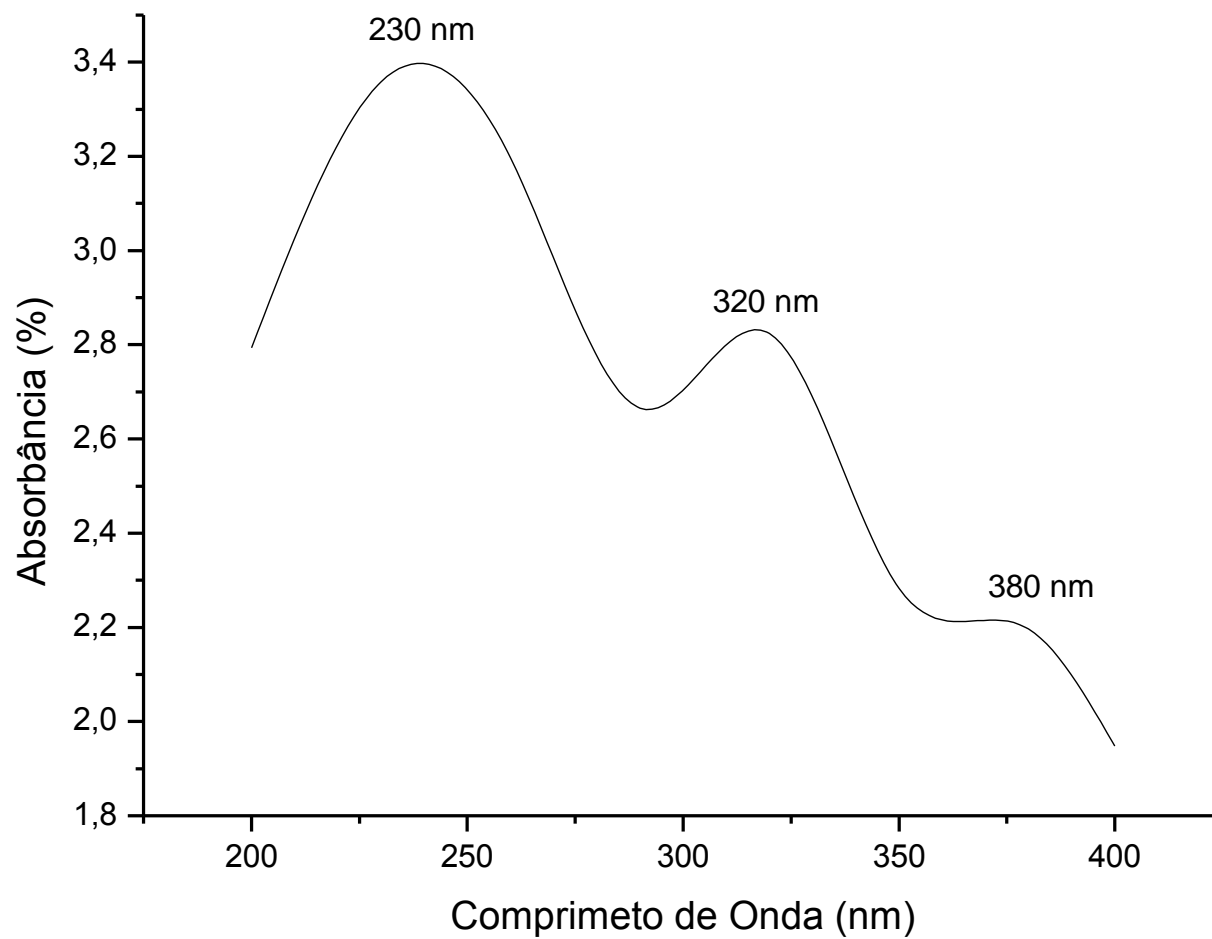
Espectro 95 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 6,1 à 4,3 ppm) de PH-07.



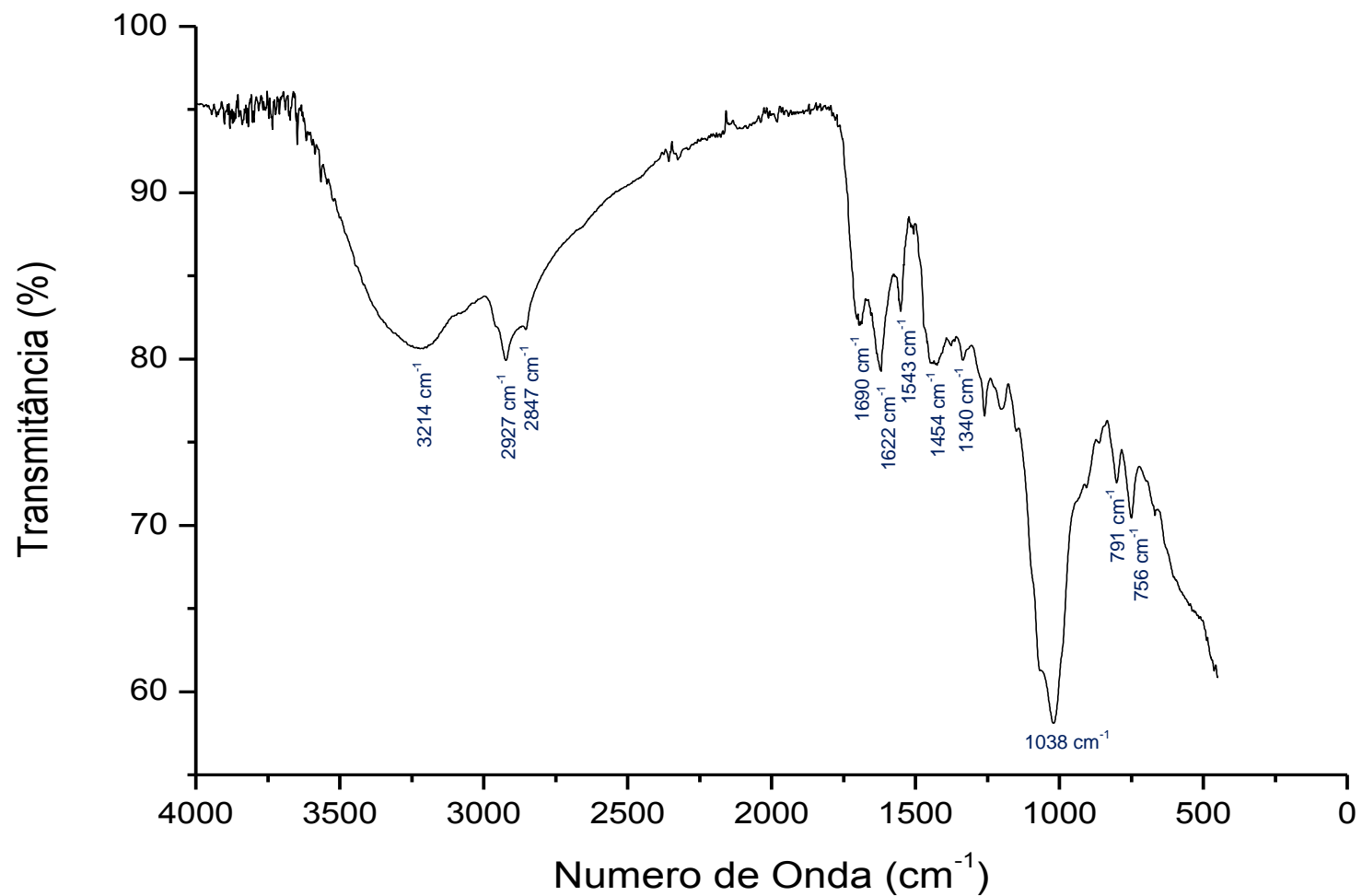
Espectro 96 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,1 à 2,8 ppm) de PH-07.



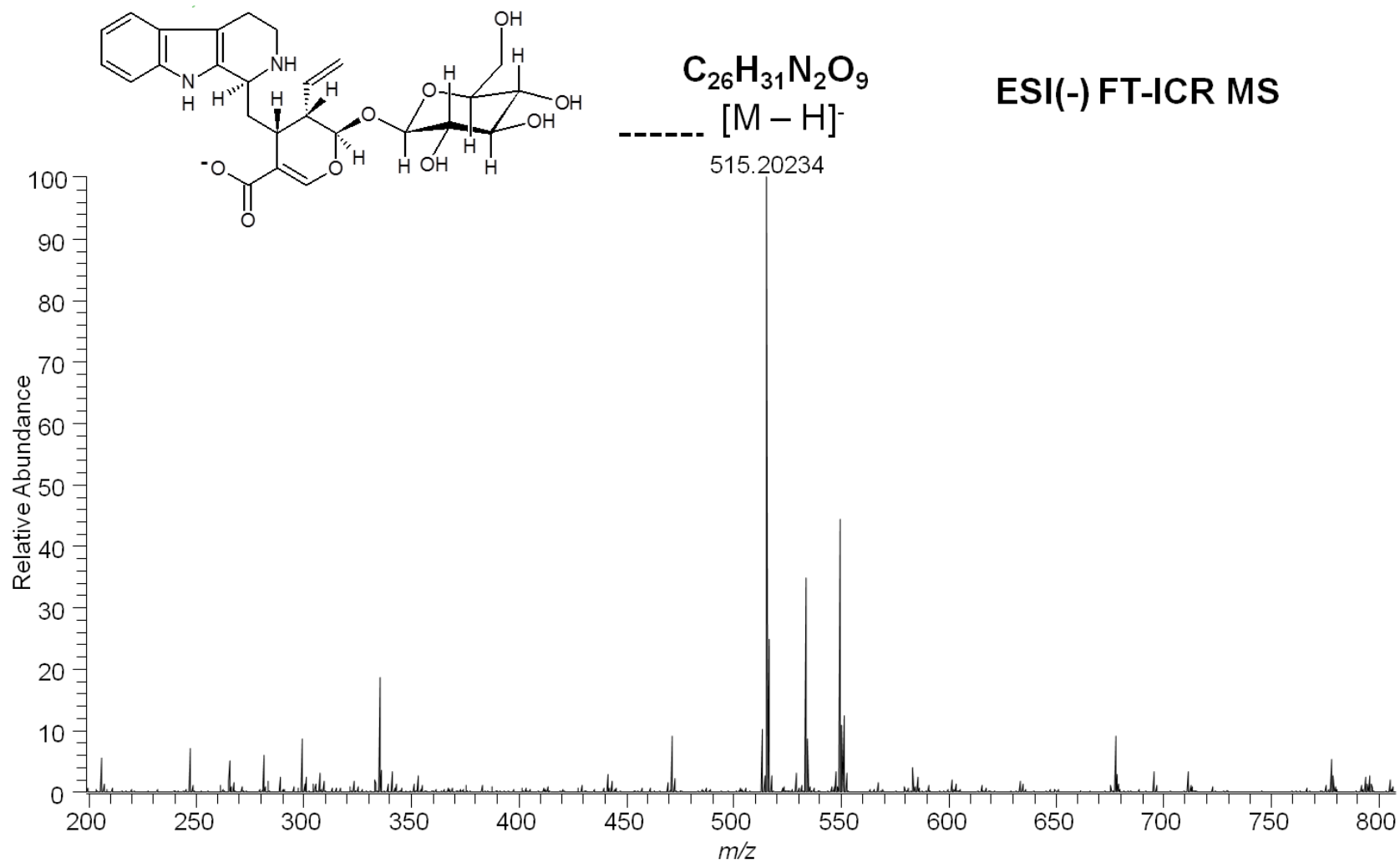
Espectro 97 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 2,7 à 1,9 ppm) de PH-07.



Espectro 98 – Espectro de ultravioleta (200 a 400 nm) de PH-07.

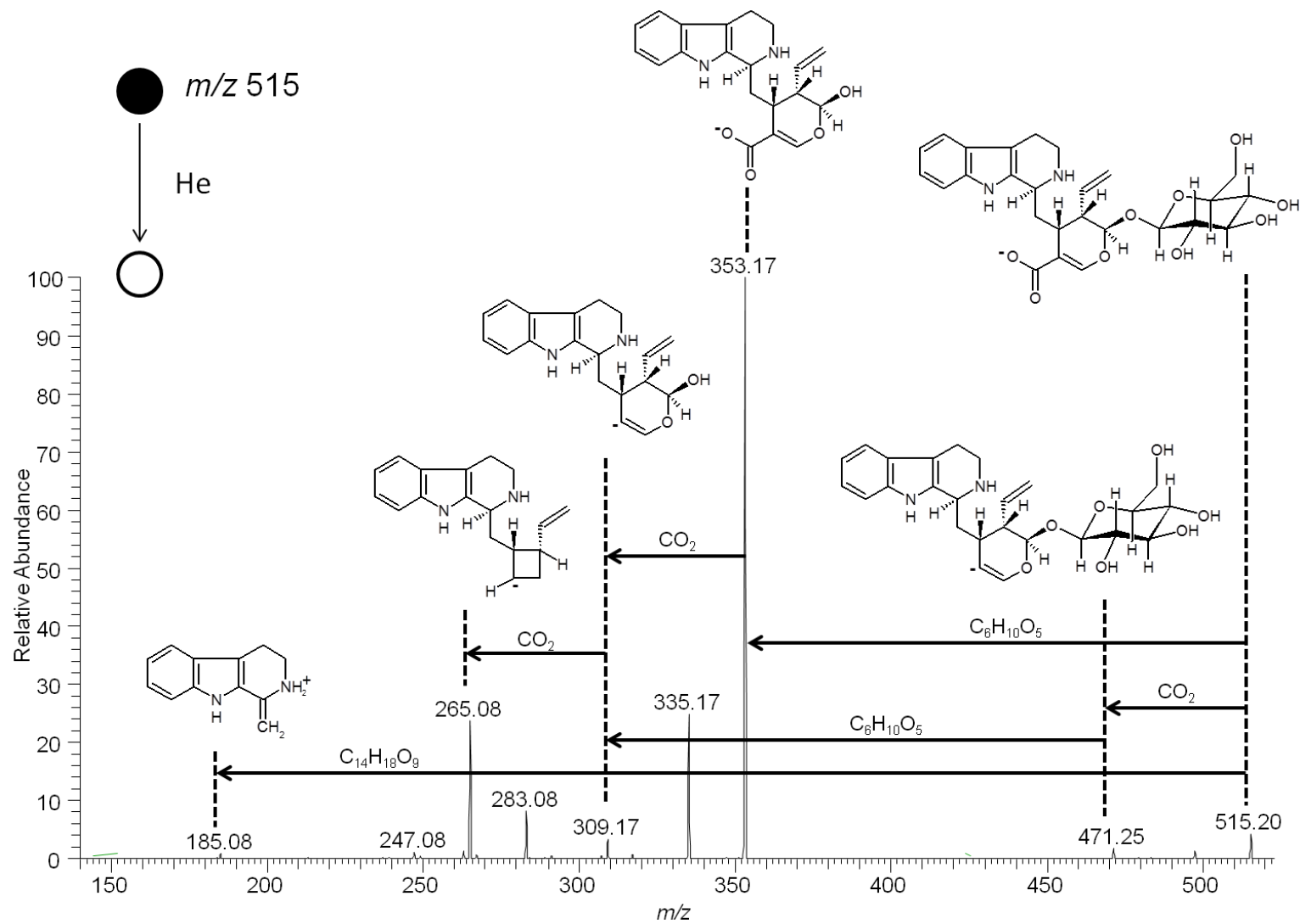


Espectro 99 – Espectro de infravermelho (400 a 4000 cm⁻¹) de PH-07.



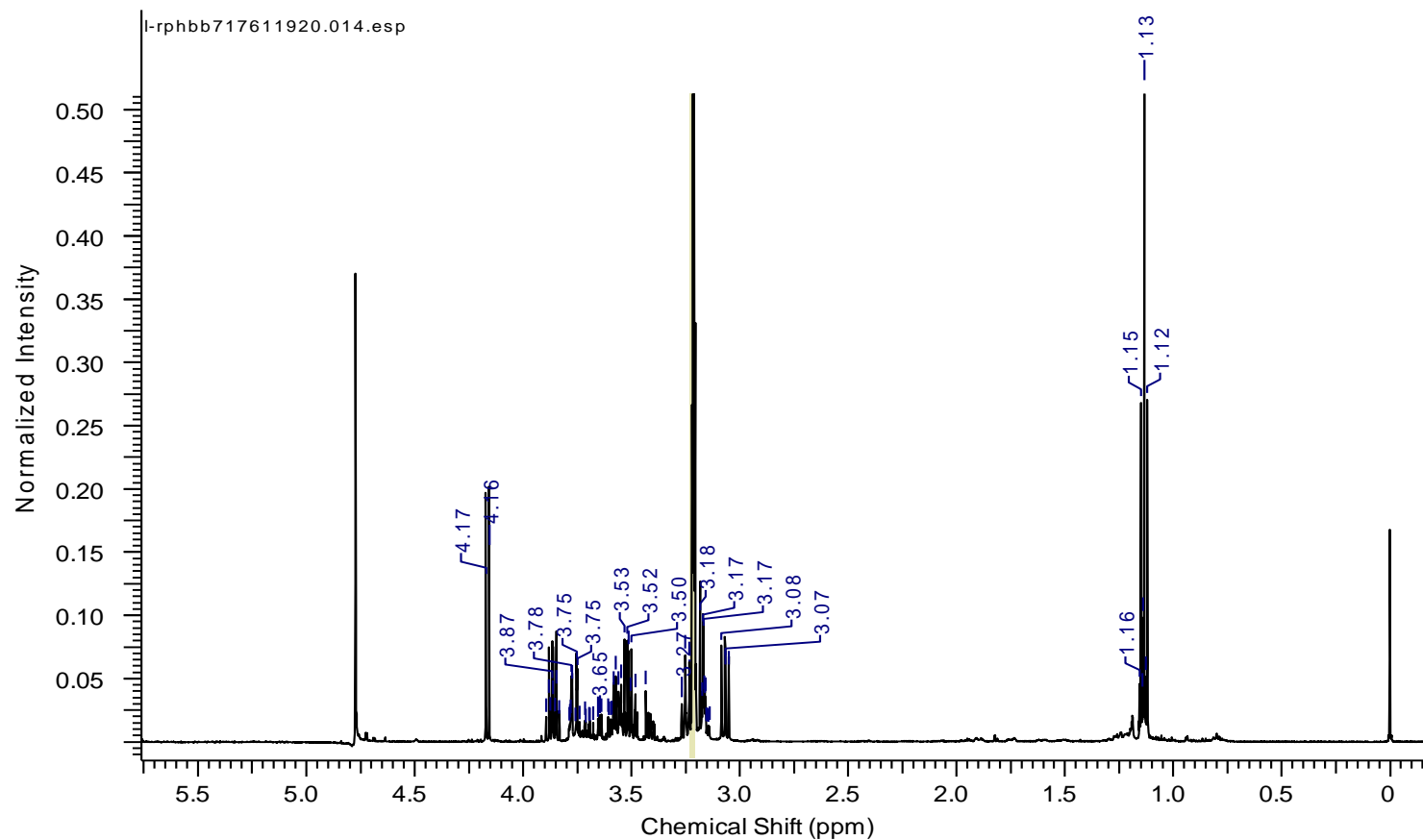
Espectro 100 – Espectro de ESI(+) FT-ICR MS de PH-07.

Anexo



Espectro 101 – Espectro de ESI(+)-MS/MS do íon m/z 515.

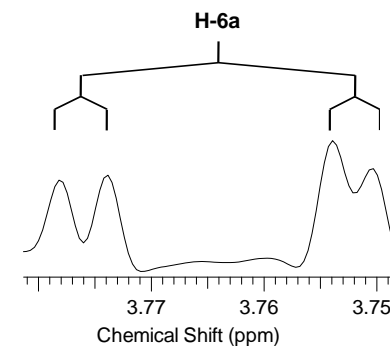
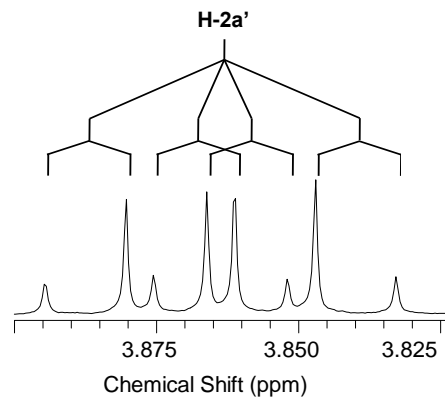
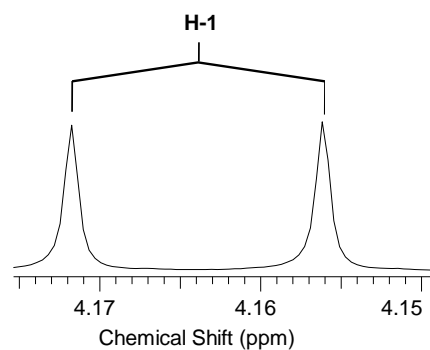
Anexo



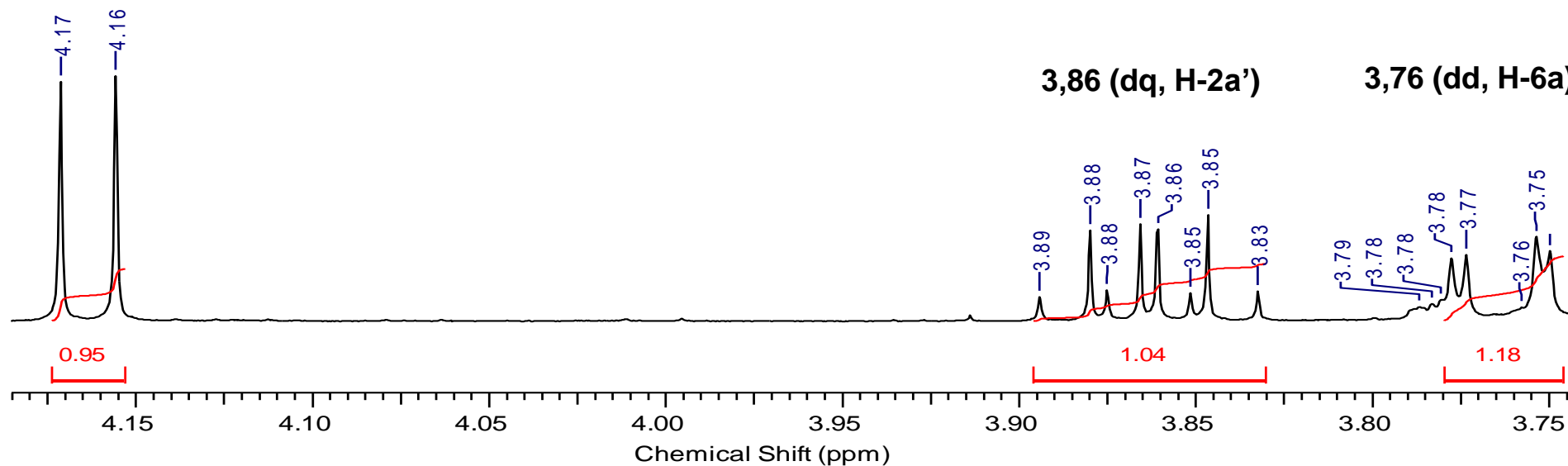
Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	5.5225
Comment	l-rphbb717611920 4mg meod RAQUEL
Date	23 Jan 2013 17:07:28
Date Stamp	23 Jan 2013 17:07:28
Frequency (MHz)	500.13
Nucleus	¹ H
Number of Transients	16
Origin	spect
Original Points Count	32768
Owner	nmrsu
Points Count	32768
Pulse Sequence	zgcprr
Receiver Gain	161.00
SW(cyclical) (Hz)	5933.54
Solvent	METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz)	2390.3557
Spectrum Type	STANDARD
Sweep Width (Hz)	5933.36
Temperature (degree C)	25.160

Espectro 102 – Espectro de RMN ¹H (MeOD, 500 MHz) de PH-08.

Anexo

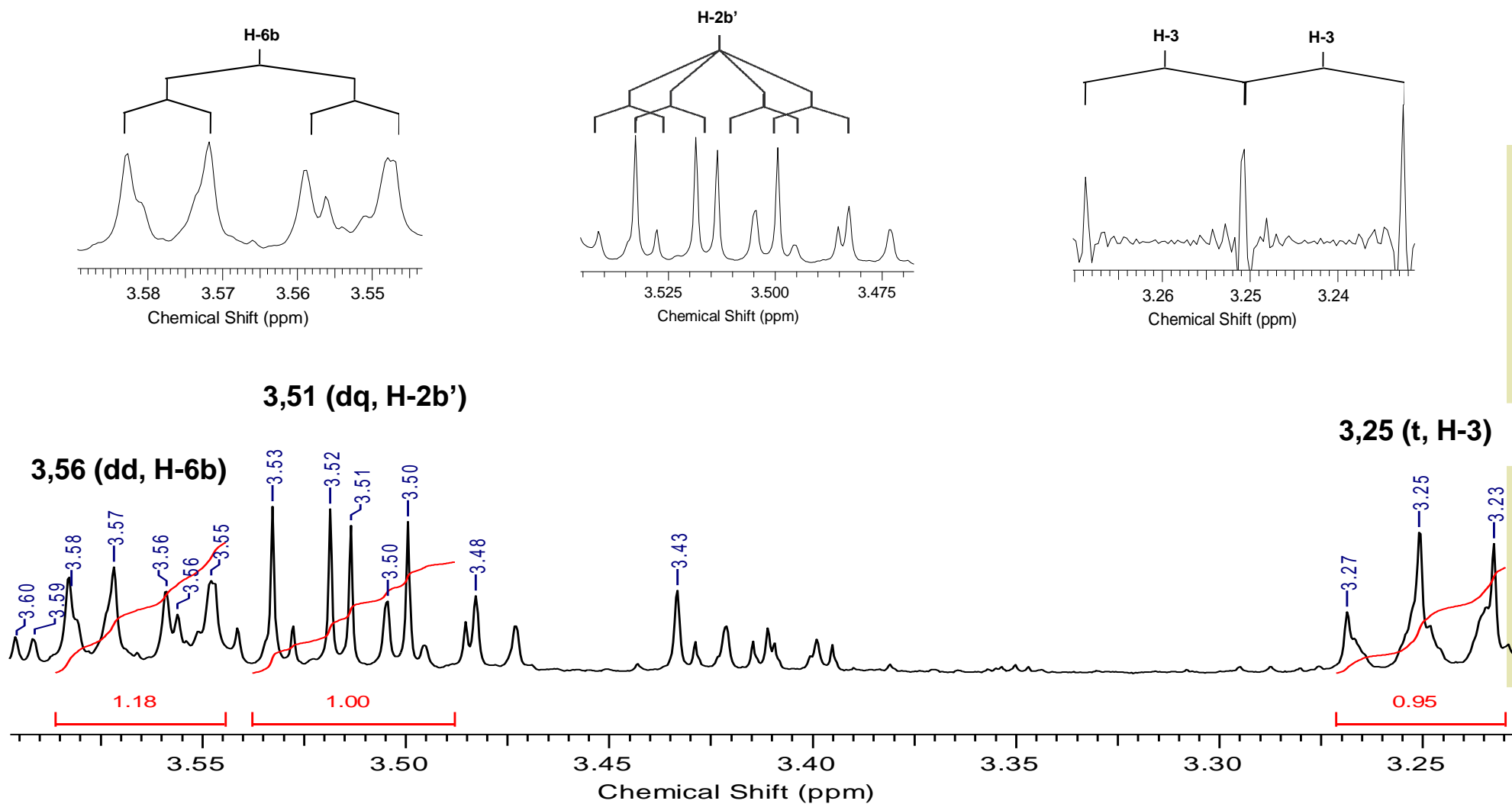


4,16 (d, H-1)



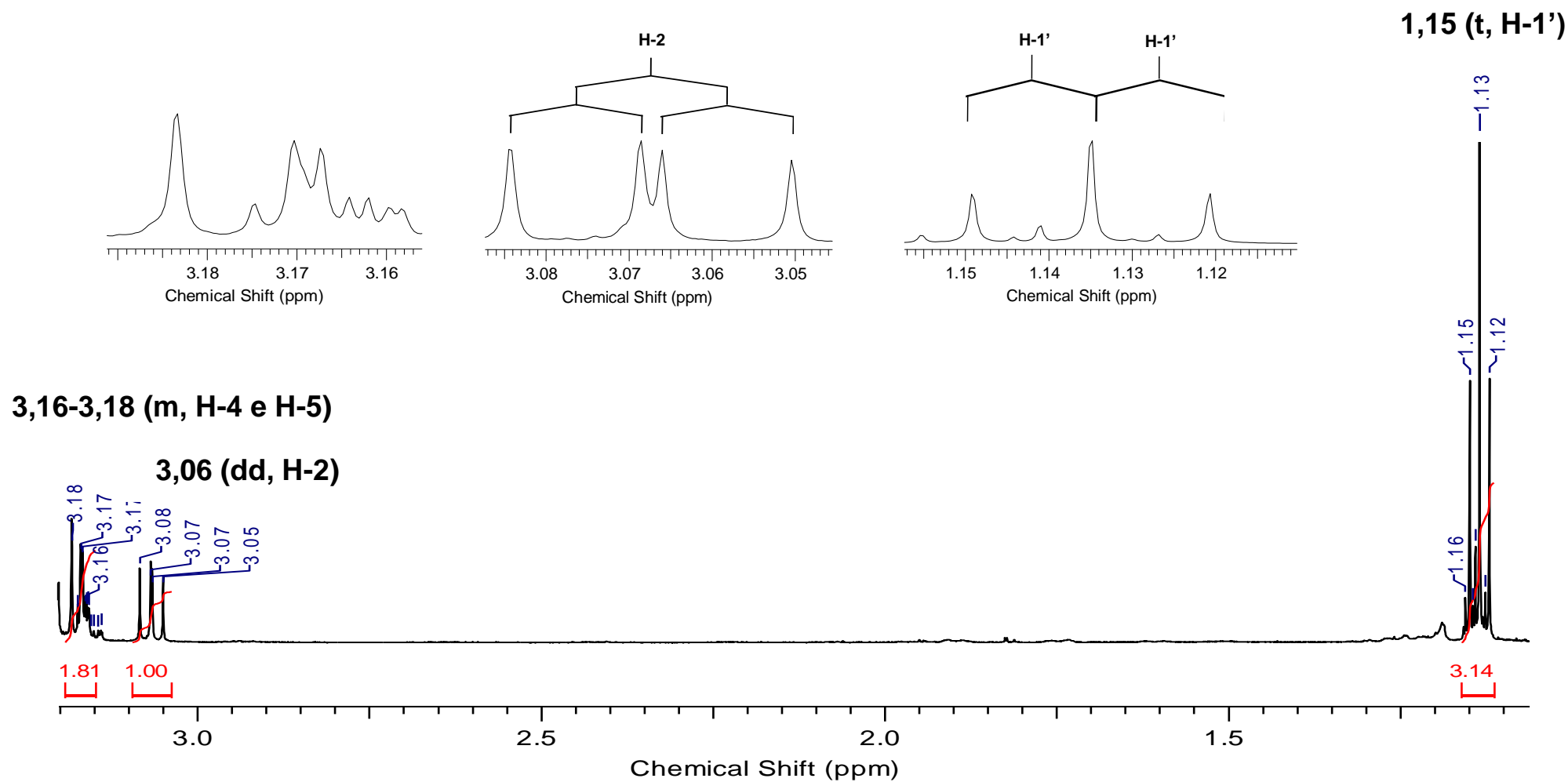
Espectro 103 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 4,2 à 3,7 ppm) de PH-08.

Anexo



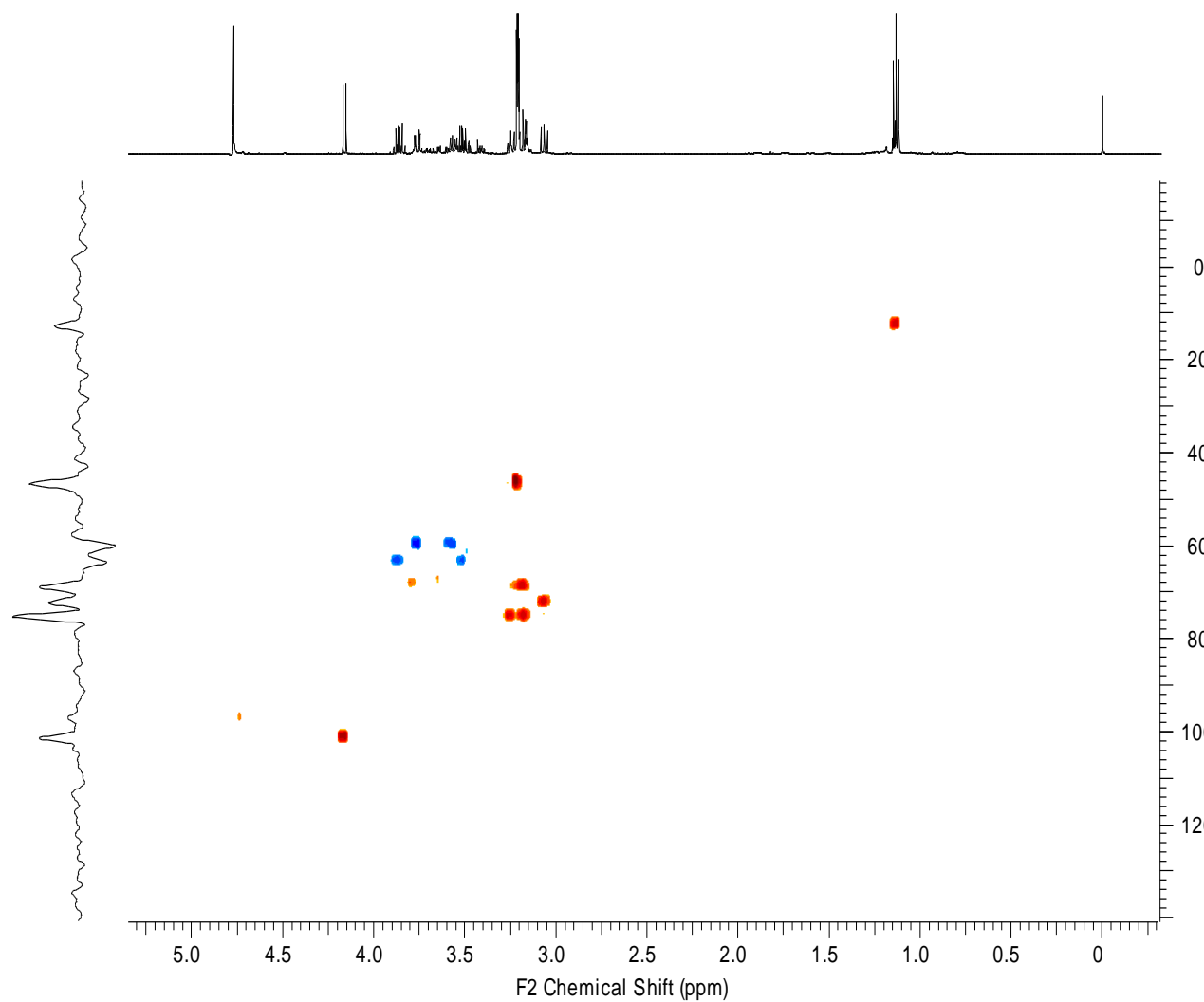
Espectro 104 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,6 à 3,2 ppm) de PH-08.

Anexo



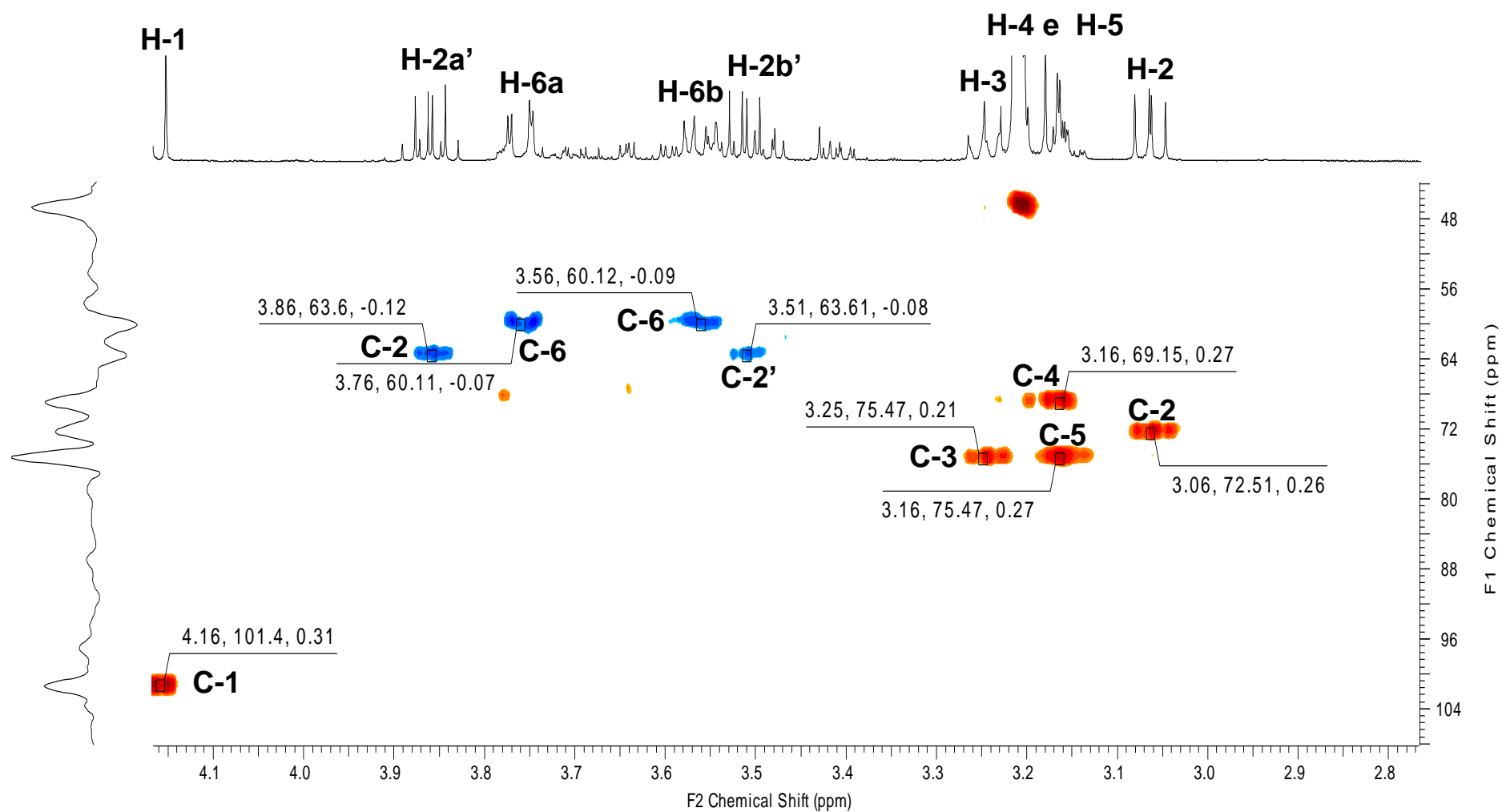
Espectro 105 – Expansão do espectro de RMN ^1H (região 3,2 à 1,1 ppm) de PH-08.

Anexo

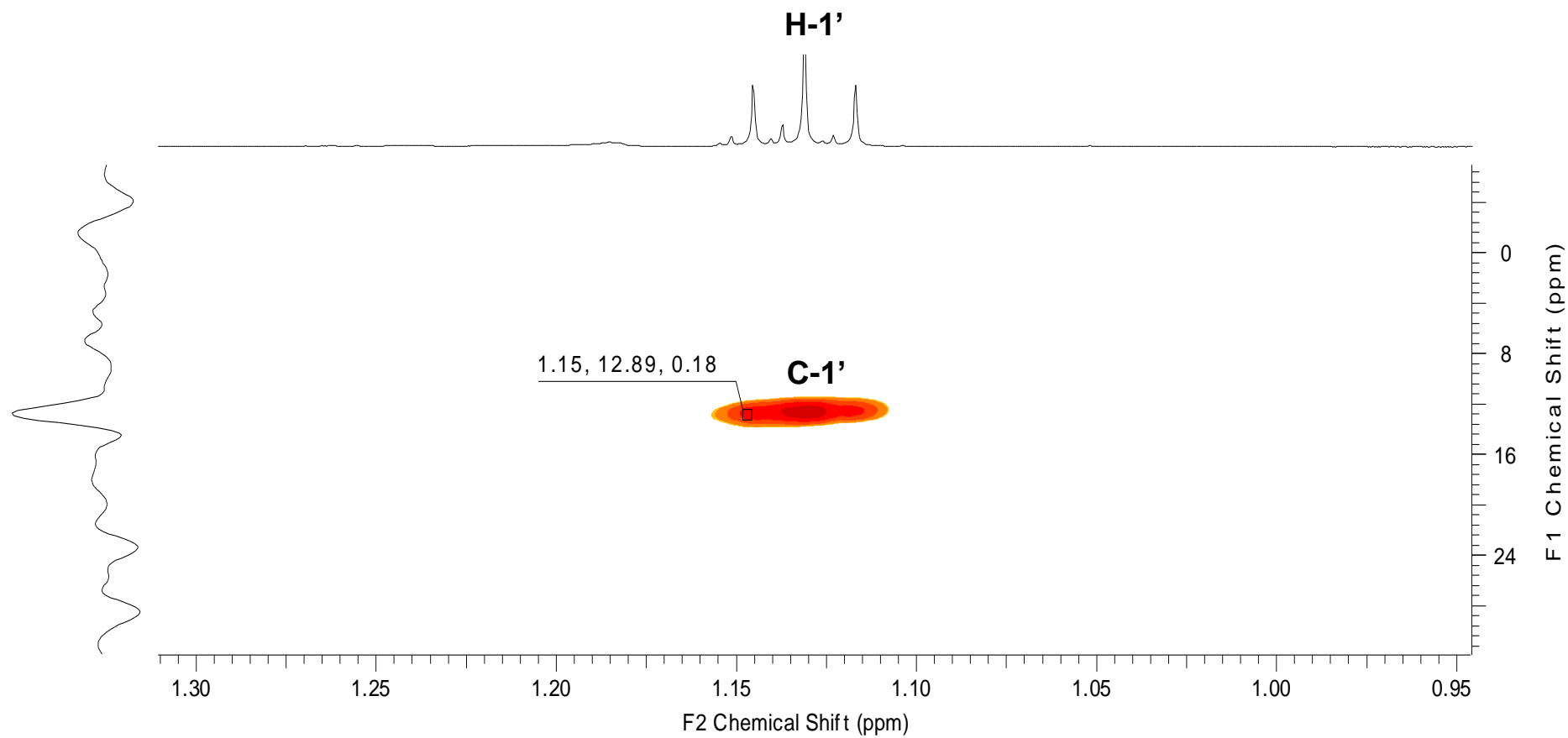


Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	(0.3452, 0.0102)
Comment	5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD Z8624/0014
Date	25 Jan 2013 19:17:00
Frequency (MHz)	(500.13, 125.77)
Nucleus	(1H, 13C)
Number of Transients	20
Origin	spect
Original Points Count	(2048, 256)
Owner	nmrsu
Points Count	(2048, 1024)
Pulse Sequence	hsqcedetgpsisp2.3
Solvent	MeOD
Spectrum Type	HSQC
Sweep Width (Hz)	(5930.65, 25101.09)
Temperature (degree C)	25.060
Title	l-rphbb717611920 4mg meod RAQUEL

Espectro 106 – Mapa de correlação de HSQC de PH-08.

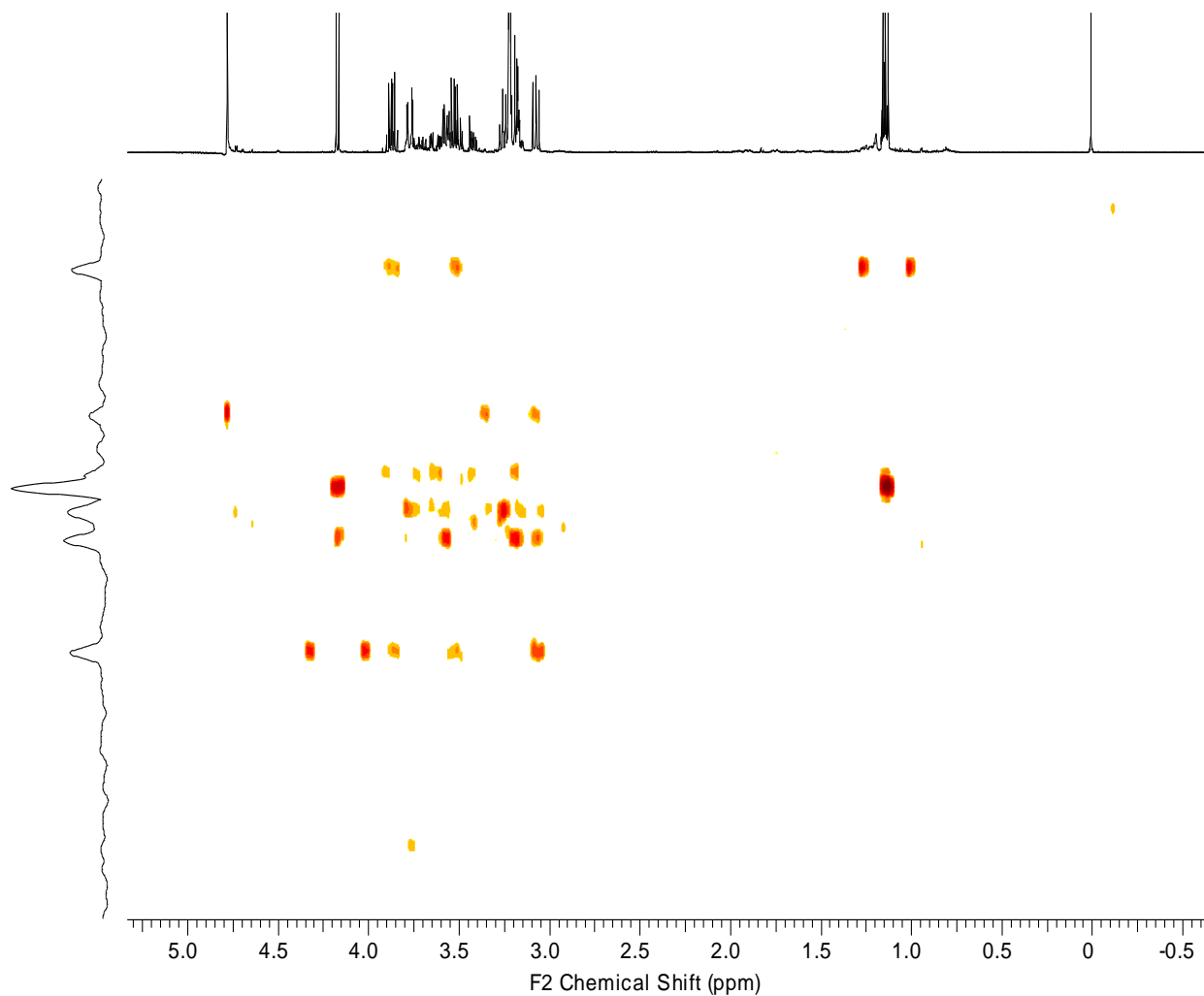


Espectro 107 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 4,1 à 2,8 ppm) de PH-08.



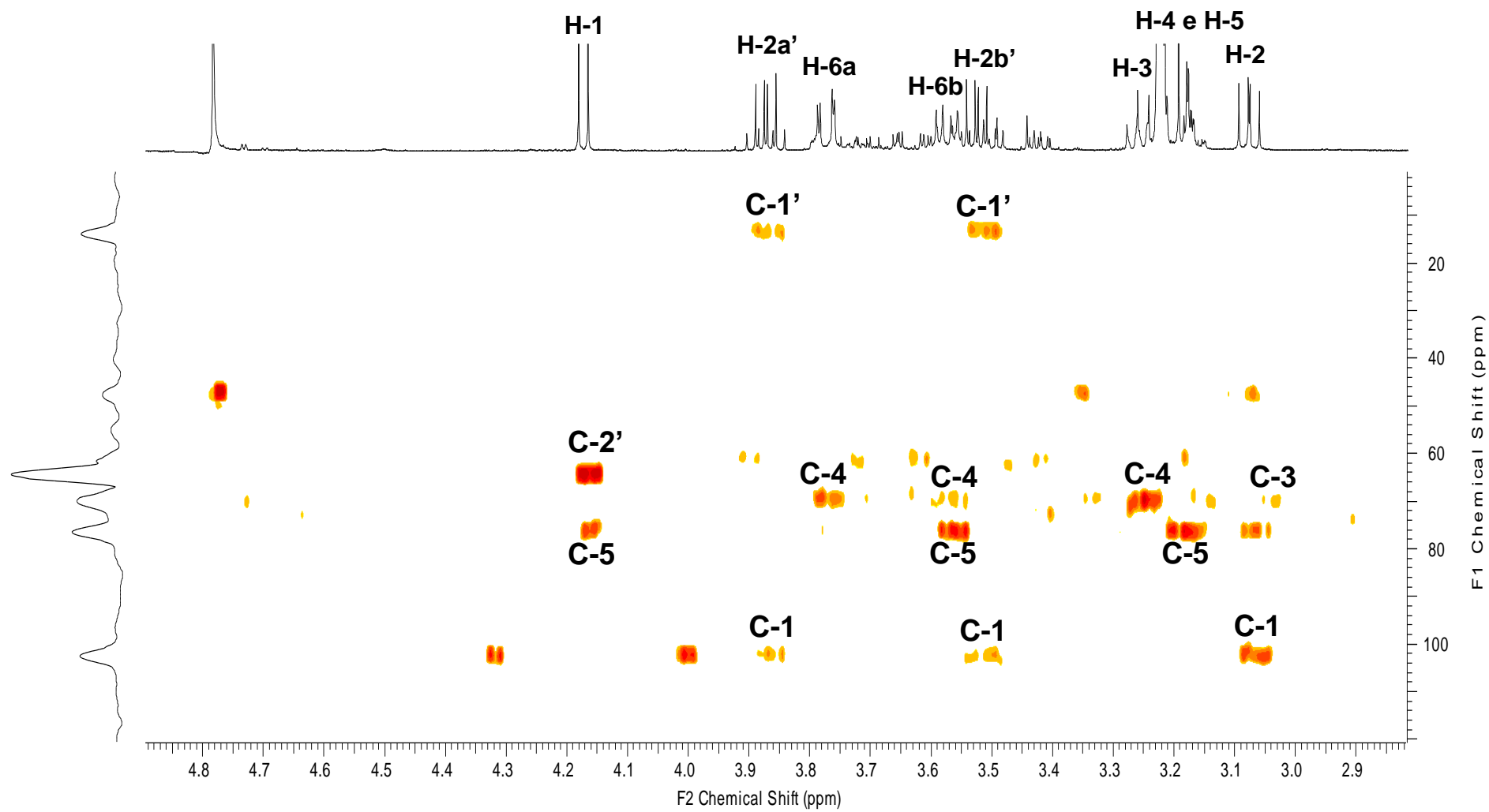
Espectro 108 – Expansão do mapa de correlação de HSQC (região 1,3 à 0,9 ppm) de PH-08.

Anexo

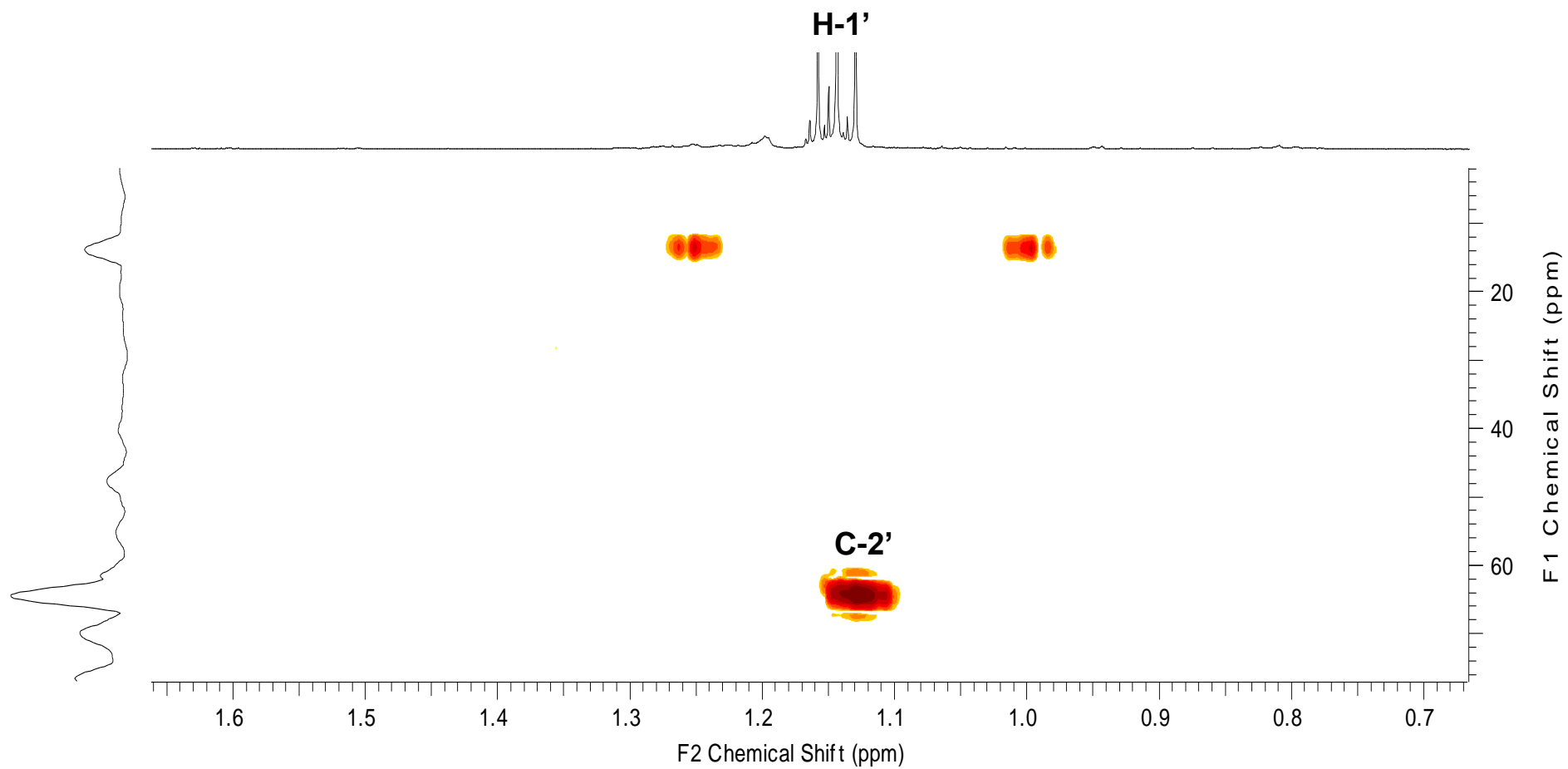


Parameter	Value
Acquisition Time (sec)	(0.3452, 0.0092)
Comment	5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD Z8624/0014
Date	24 Jan 2013 01:46:00
Frequency (MHz)	(500.13, 125.77)
Nucleus	(1H, 13C)
Number of Transients	76
Origin	spect
Original Points Count	(2048, 256)
Owner	nmrsu
Points Count	(2048, 1024)
Pulse Sequence	hmbcgp1pndqf
Solvent	MeOD
Spectrum Type	HMBC
Sweep Width (Hz)	(5930.65, 27905.68)
Temperature (degree C)	25.160
Title	l-rphbb717611920 4mg meod RAQUEL

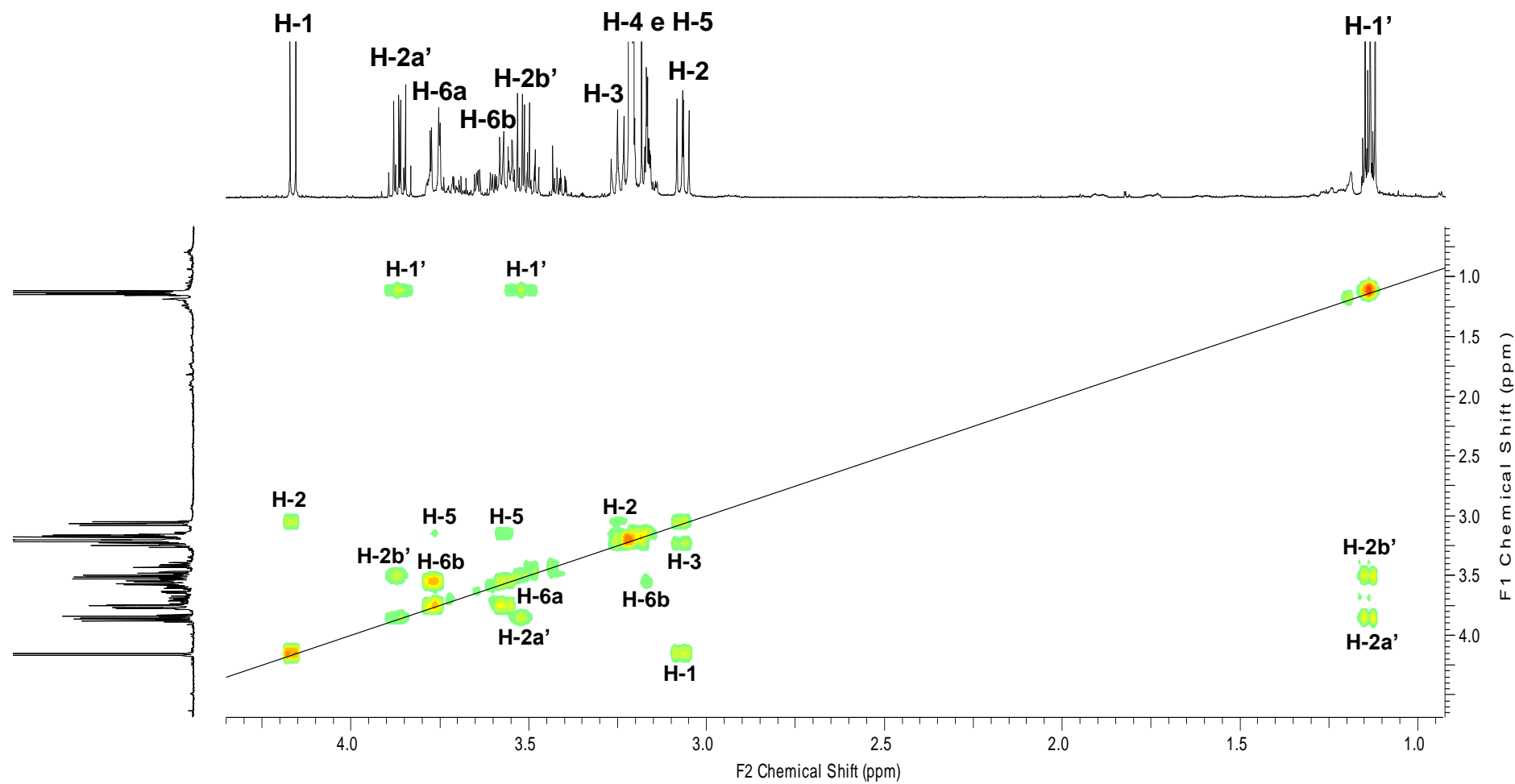
Espectro 109 – Mapa de correlação de HMBC de PH-08.



Espectro 110 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 4,8 à 2,9 ppm) de PH-08.



Espectro 111 – Expansão do mapa de correlação de HMBC (região 1,6 à 0,7 ppm) de PH-08.



Espectro 112 – Experimento COSY de PH-08.