

UFG  
IQ

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE QUÍMICA

ALCALOIDES INDÓLICOS DAS PARTES AÉREAS DE  
*Psychotria sp.* (RUBIACEAE) E SÍNTESE  
DE TIOHIDANTOÍNAS E TIOUREIAS DERIVADAS  
DE AMINOÁCIDOS E DO R-(+)-LIMONENO

A  
L  
I  
N  
E

P  
E  
R  
E  
I  
R  
A

M  
O  
R  
A  
E  
S

ALINE PEREIRA MORAES

ORIENTADORA: PROFA. DRA. CECÍLIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GOIÂNIA- 2013

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**ALCALOIDES INDÓLICOS DAS PARTES AÉREAS DE *PSYCHOTRIA*  
*SP.*(RUBIACEAE) E SÍNTESE DE TIOHIDANTOÍNAS E TIOUREIAS  
DERIVADAS DE AMINOÁCIDOS E DO R-(+)-LIMONENO**

Aline Pereira Moraes

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

Orientadora: Profa. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira

Goiânia  
2013

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

M827a Moraes, Aline Pereira.  
Alcaloides indólicos das partes aéreas de *Psychotria sp.* (Rubiaceae) e síntese de tiohidantoínas e tioureias derivadas de aminoácidos e do R-(+)-limoneno [manuscrito] / Aline Pereira Moraes. - 2013.  
xv, 169 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cecília Maria Alves de Oliveira

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química, 2013.

Bibliografia.  
Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.  
Apêndices.

1. Produtos naturais – Fitoquímica. 2. *Psychotria sp.* (RUBIACEAE) - Alcaloides indolicos – Síntese. 3. Ação Antifúngica. 4. Fármaco. I. Título.

CDU: 547.9:582.936.1

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora de Dissertação de Mestrado em Química, apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, em 03/05/2013.

Comissão Julgadora:



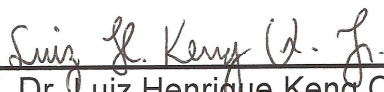
---

Profa. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira – IQ/UFG



---

Prof. Dr. Angelo de Fátima – IQ/UFG



---

Prof. Dr. Luiz Henrique Keng Queiroz Júnior – IQ/UFG

Aos meus pais, Maria Terezinha e Luís, e ao meu grande amor, Jorge

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e persistência, e especialmente, a oportunidade de trilhar o árduo caminho de busca do conhecimento.

Aos meus pais e minha irmã Carla, pelo amor, apoio incondicional e paciência nos dias difíceis. Ao meu namorado Jorge, por todo seu amor e companheirismo que fazem minha vida mais feliz.

Aos meus amigos de laboratório, que contribuíram para um clima leve e descontraído com sua amizade. Aos meus alunos de IC e amigos, Matheus e Jair, que realizaram parte dos resultados experimentais com presteza e perseverança. Agradeço em especial a Pollyanna, por todo empenho e atenção em me ensinar os princípios da fitoquímica logo que entrei no laboratório ainda como aluna de iniciação científica em 2008. A Geralda, pelo interesse e paciência em me ensinar a operar o HPLC.

À professora Lucília, pelo apoio e constante disposição para contribuir com o desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores Aparecido e Patrícia, meus orientadores de estágio docência, com os quais eu aprendi muito sobre a arte de ensinar.

Ao professor Luiz Keng, pela contribuição no estudo da estereoquímica relativa dos alcaloides através dos cálculos teóricos. Às professoras Cleuza e Silvana, pela hospitalidade e atenção durante os dias de trabalho na Universidade Estadual de Maringá.

Agradeço, em especial, à minha orientadora Cecília, que muito contribuiu e contribui para a minha formação acadêmica, me propondo desafios que inicialmente pensava não conseguir realizar. É uma imensa honra e orgulho tê-la como orientadora por todos esses anos.

A CNPq pela bolsa concedida.

A UFG pela oportunidade de realizar o sonho de me tornar aprendiz de cientista.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE ESQUEMAS .....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	vii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT.....	x
CAPÍTULO I	
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Família Rubiaceae .....	2
1.2. Gênero <i>Psychotria</i> L. ....	2
1.2.1. <i>Psychotria</i> : metabólitos secundários .....	3
1.3. Atividade biológica de extratos e compostos isolados de <i>Psychotria</i> ....	7
1.4. Atividade antioxidante.....	8
1.5. Atividade inibitória das enzimas relacionadas a doenças neurogenerativas	10
2. OBJETIVOS.....	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
3.1. Estudo fitoquímico.....	14
3.1.1. Bahienosida A .....	15
3.1.2. Desoxicordifolina .....	20
3.1.2.1. Estudo da estereoquímica relativa da unidade secologanina do composto <b>7</b> .....	23
3.1.3. Ácido desoxicordifolínico .....	25
3.1.4. $\beta$ -Sitosterol e estigmasterol glicosilados.....	29

## CAPÍTULO II

### 4. INTRODUÇÃO

4.1. Produtos naturais e a síntese orgânica.....	31
4.2. Tiohidantoínas e tioureias.....	32
4.2.1. Hidantoínas e tiohidantoínas.....	32
4.2.2. Tioureias.....	35
4.2.3. Núcleo indólico.....	36
5. OBJETIVOS.....	38
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6.1. Síntese da hidantoína ( <b>20</b> ).....	42
6.2. Síntese da tiohidantoína ( <b>21</b> ).....	43
6.3. Síntese da tiohidantoína ( <b>14</b> ).....	45
6.4. Síntese das tioureias ( <b>22a-c</b> ).....	48
6.4.1. Esterificação dos aminoácidos <i>L</i> -tirosina e <i>L</i> -fenilalanina.....	49
6.4.2. Preparação do isotiocianato de <i>R</i> -(+)-limoneno ( <b>26</b> ).....	50
6.4.3. Síntese das tioureias ( <b>22a-c</b> ).....	52
6.4.4. Testes de ciclização da tiourea ( <b>22a</b> ).....	60

## CAPÍTULO III

7. Atividades biológicas.....	61
7.1. Atividade antioxidante.....	62
7.2. Atividade inibitória das enzimas monoaminoxidases, relacionadas a doenças neurodegenerativas.....	64
8. MATERIAIS E MÉTODOS	
8.1. Instrumentação e procedimentos gerais.....	66
8.2. Extração dos constituintes químicos.....	67
8.2.1. Fração acetato de etila das folhas (FAFo).....	68
8.2.2. Fração butanólica das folhas (FBFo).....	70
8.2.3. Fração diclorometano das folhas (FDFo).....	71
8.2.4. Fração diclorometano e acetato de etila dos galhos (FDAG).....	73
8.2.5. Fração diclorometano dos frutos (FDFr).....	75
8.3. Sínteses.....	83
8.3.1. Preparação da hidantoína ( <b>20</b> ).....	76
8.3.2. Preparação da 5-indolmetil-tiohidantoína ( <b>21</b> ).....	77



8.3.3. Esterificação dos aminoácidos <i>L</i> -triptofano ( <b>23a</b> ), <i>L</i> -tirosina ( <b>23b</b> ) e <i>L</i> -fenilalanina ( <b>23c</b> ).....	78
8.3.4. Preparação da tiohidantoína ( <b>14</b> ).....	79
8.3.5. Preparação do ácido isotiocianico e síntese do isotiocianato ( <b>26</b> ) e do tiocianato ( <b>27</b> ) do <i>R</i> -(+)-limoneno.....	79
8.3.6. Preparação das tioureias.....	80
8.4. Atividade antioxidante.....	81
8.4.1. Método DPPH.....	81
8.4.2. Análise estatística.....	81
8.5. Atividade inibitória das enzimas monoaminoxidases, relacionadas a doenças neurodegenerativas.....	82
9. CONCLUSÕES.....	83
REFERÊNCIAS .....	85
ANEXO A.....	97
ANEXO B.....	114
APÊNDICE.....	143

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Números de compostos isolados de <i>Psychotria</i> distribuídos em classes de metabólitos secundários em 1974-2012.....	4
Figura 2	Classes de metabólitos secundários isolados de <i>Psychotria</i> em 1974-2012 em porcentagem.....	4
Figura 3	Distribuição relativa de alcaloides isolados de espécies do gênero <i>Psychotria</i> .....	5
Figura 4	Rota biossintética geral dos alcaloides indólicos monoterpênicos.....	6
Figura 5	Biossíntese da secologanina a partir do geranyl-difosfato.....	6
Figura 6	Alcaloides indólicos bioativos isolados de espécies de Rubiaceae.....	8
Figura 7	Estrutura química do radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).....	9
Figura 8	Bioensaios que podem ser correlacionados com a atividade antioxidante.....	9
Figura 9	Metabólitos secundários isolados de <i>Psychotria sp.</i> .....	15
Figura 10	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) do composto (6).....	16
Figura 11	Principais correlações observadas no espectro de HMBC do composto (6).....	18
Figura 12	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) do composto (7).....	21
Figura 13	Principais correlações observadas no espectro de HMBC do composto (7).....	22
Figura 14	Espectro de diferença de ROE com irradiação no sinal de H-21 (256 scans).....	24
Figura 15	Espectro de diferença de ROE com irradiação no sinal de H-20 (512 scans).....	24
Figura 16	Expansão na região de aromáticos dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) dos compostos: a) 7 e b) 8.....	26
Figura 17	Expansão da região entre 3,0-6,0 ppm dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) dos compostos: a) 7 e b) 8.....	27

Figura 18	Terpenos abundantes com propriedades farmacológicas.....	32
Figura 19	Sistema de numeração em anéis hidantoínicos e 2-tiohidantoínicos.....	32
Figura 20	Tiohidantoínas e hidantoínas bioativas.....	35
Figura 21	Tioureia metilada derivada do limoneno, ativa contra células leucêmicas do tipo K-562.....	36
Figura 22	Ditiocarbamato indólico ( <b>19</b> ) com ação antifúngica.....	36
Figura 23	Grupos farmacofóricos com potencial atividade antifúngica e antitumoral.....	37
Figura 24	Mecanismo de formação de tiohidantoínas.....	47
Figura 25	Proposta mecanística de formação do isotiocianato e tiocianato de <i>R</i> -(+)-limoneno.....	51
Figura 26	Atividade antioxidante do extrato bruto e frações das folhas e galhos de <i>Psychotria sp.</i> .....	62
Figura 27	Possíveis espécies formadas na reação dos alcaloides indólicos com radicais livres que explicam a atividade antioxidante dessa classe.....	64
Figura 28	<i>Psychotria sp.</i> .....	67
Figura 29	Espectro de infravermelho e de ultravioleta (MeOH) do composto ( <b>6</b> ). ..	98
Figura 30	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (MeOD, 500 MHz) do composto ( <b>6</b> ).....	99
Figura 31	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (MeOD, 125 MHz) do composto ( <b>6</b> ).....	100
Figura 32	Mapa de correlação de COSY do composto ( <b>6</b> ).....	101
Figura 33	Mapa de correlação de HSQC do composto ( <b>6</b> ).....	102
Figura 34	Mapa de correlação de HMBC do composto ( <b>6</b> ).....	103
Figura 35	Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (MeOH) do composto ( <b>7</b> ).....	104
Figura 36	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto ( <b>7</b> ).....	105
Figura 37	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do composto ( <b>7</b> ).....	106
Figura 38	Mapa de correlação de HSQC do composto ( <b>7</b> ).....	107
Figura 39	Mapa de correlação de HMBC do composto ( <b>7</b> ).....	108
Figura 40	Espectro de ultravioleta (MeOH) do composto ( <b>3</b> ).....	109
Figura 41	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto ( <b>8</b> ).....	110
Figura 42	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do composto ( <b>8</b> ).....	111
Figura 43	Mapa de correlação de HSQC do composto ( <b>8</b> ).....	112
Figura 44	Mapa de correlação de HMBC do composto ( <b>8</b> ).....	113
Figura 45	Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (MeOH/DMSO) da hidantoína ( <b>20</b> ).....	115
Figura 46	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) da hidantoína ( <b>20</b> )... ..	116
Figura 47	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (MeOD, 500 MHz) do composto ( <b>24</b> ).....	117
Figura 48	Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (MeOH) da tiohidantoína ( <b>21</b> ).....	118
Figura 49	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (MeOD, 500 MHz) da tiohidantoína ( <b>21</b> ). ..	119

Figura 50	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (acetona- $d_6$ , 500 MHz) da tiohidantoína (21).....	120
Figura 51	Espectro de infravermelho (KBr) do éster de triptofano (25a).....	121
Figura 52	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (MeOD, 500 MHz) do éster de triptofano (25a).....	122
Figura 53	Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta ( $\text{CHCl}_3$ ) da tiohidantoína (14).....	123
Figura 54	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da tiohidantoína (14)....	124
Figura 55	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da tiohidantoína (14)....	125
Figura 56	Espectro de infravermelho (KBr) do éster da tirosina (25b).....	126
Figura 57	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do éster da tirosina (25b).....	127
Figura 58	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ , 500 MHz) do éster da tirosina (25b).....	128
Figura 59	Espectro de infravermelho (KBr) do isotiocianato do limoneno (26).	129
Figura 60	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do isotiocianato do limoneno (26).....	130
Figura 61	Mapa de correlação de HSQC do isotiocianato do limoneno (26).....	131
Figura 62	Mapa de correlação de HMBC do isotiocianato do limoneno (26).....	132
Figura 63	Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta ( $\text{CHCl}_3$ ) da tioureia do triptofano (22a).....	133
Figura 64	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da tioureia do triptofano (22a).....	134
Figura 65	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da tioureia do triptofano (22a).....	135
Figura 66	Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta ( $\text{CHCl}_3$ ) da tioureia de tirosina (22b).....	136
Figura 67	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da tioureia de tirosina (22b).....	137
Figura 68	Mapa de correlação de HSQC da tioureia de tirosina (22b).....	138
Figura 69	Mapa de correlação de HMBC da tioureia de tirosina (22b).....	139
Figura 70	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da tioureia da fenilalanina (22c).....	140
Figura 71	Mapa de correlação de HSQC da tioureia da fenilalanina (22c).....	141
Figura 72	Mapa de correlação de HMBC da tioureia da fenilalanina (22c).....	142

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Rota sintética de tiohidantoínas derivadas de aminoácidos a partir de KSCN em anidrido acético.....	33
Esquema 2	Metodologia de síntese de hidantoínas e tiohidantoínas totalmente substituídas.....	34
Esquema 3	Rota sintética de tiohidantoínas e tioureias derivadas de aminoácidos (rendimento em porcentagem).....	41
Esquema 4	Rota de síntese da hidantoína ( <b>20</b> ).....	42
Esquema 5	Rota de síntese da tiohidantoína ( <b>21</b> ).....	43
Esquema 6	Rota de síntese da tiohidantoína ( <b>14</b> ).....	45
Esquema 7	Proposta de síntese de tiohidantoínas derivadas de aminoácidos e <i>R</i> -(+)-limoneno. ....	49
Esquema 8	Sínteses do isotiocianato ( <b>26</b> ) e tiocianato ( <b>27</b> ) do <i>R</i> -(+)-limoneno.....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados espectrais de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e HMBC do composto ( <b>6</b> ) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500MHz e 125MHz, ppm).....	19
Tabela 2	Dados espectrais de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e HMBC do composto ( <b>7</b> ) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500MHz e 125MHz, ppm) e comparação com a literatura.....	22
Tabela 3	Dados espectrais de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e HMBC do composto ( <b>8</b> ) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125MHz e 500MHz, ppm) e comparação com a literatura ( $\text{DMSO}-d_6$ , 20,1 MHz e 300 MHz, ppm).....	28
Tabela 4	Atividade antimalárica de derivados endoperóxidos sulfonados do <i>R</i> -(+)-limoneno contra <i>P. falciparum</i> (NF 54) <i>in vitro</i> .....	32
Tabela 5	Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto ( <b>11</b> ) ( $\text{MeOD}$ , 500 e 125 MHz).....	45
Tabela 6	Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto ( <b>4</b> ) ( $\text{CDCl}_3$ , 500 e 125 MHz).....	48
Tabela 7	Dados espectrais de RMN de $^1\text{H}$ , HSQC e HMBC do composto ( <b>16</b> ).....	52
Tabela 8	Bandas de absorção observadas no espectro de IV referentes aos movimentos vibracionais do grupo tioureia na região de 1600-700 $\text{cm}^{-1}$ .....	54
Tabela 9	Dados espectrais de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e HMBC dos compostos ( <b>22a-c</b> ) ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz e 125MHz, ppm).....	58
Tabela 10	Atividade antioxidante do extrato bruto e frações das folhas e galhos de <i>Psychotria sp.</i> .....	62
Tabela 11	Porcentagem de inibição das enzimas monoaminoxidase A (MAO A) e monoaminoxidase B (MAO B).....	64
Tabela 12	Rendimento das extrações por percolação das partes aéreas de	68

	<i>Psychotria sp.</i> .....	
Tabela 13	Partição dos extratos brutos etanólicos das folhas, galhos e frutos.....	68
Tabela 14	Coluna cromatográfica da fração acetato de etila das folhas (FAFo)..	69
Tabela 15	Coluna cromatográfica da fração 26-36 de FAFo.....	69
Tabela 16	Frações coletadas da fração 37-43 de FAFo.....	70
Tabela 17	Coluna cromatográfica da fração 37-43 de FAFo.....	70
Tabela 18	Coluna cromatográfica da fração butanólica das folhas (FBFo).....	71
Tabela 19	Coluna cromatográfica da fração diclorometano das folhas (FDFo)...	71
Tabela 20	Coluna cromatográfica da fração 6-7 (FDFo).....	72
Tabela 21	Coluna cromatográfica da fração 69-112 (6-7 FDFo).....	72
Tabela 22	Coluna cromatográfica da fração FDAG.....	73
Tabela 23	Frações coletadas da fração 60-69 (FAFo).....	74
Tabela 24	Coluna cromatográfica da fração 60-69 (FDAG).....	74
Tabela 25	Coluna cromatográfica da fração 61-74 (69-112) (6-7 FDFo).....	75
Tabela 26	Coluna cromatográfica da fração diclorometano dos frutos.....	75
Tabela 27	Coluna cromatográfica da fração 4 da FDFr.....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$[\alpha]_D^{25}$	Medida de desvio da luz plano-polarizada a 25 °C
$\delta$	Deslocamento químico (em ppm)
$^1\text{H}$	Hidrogênio-1
$^{13}\text{C}$	Carbono-13
AcOEt	Acetato de etila
BHT	hidroxitolueno butilado
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	Diclorometano
$\text{CDCl}_3$	Clorofórmio deuterado
<i>c</i>	Concentração
$\text{CI}_{50}$	Concentração inibitória de 50% do patógeno ou reagente
COSY	Correlation Spectroscopy ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ )
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dubleto
DMSO	Dimetilssulfóxido
FAFo	Fração acetato de etila das folhas
FBFo	Fração butanólica das folhas
FDFo	Fração diclorometano das folhas
FDAG	Fração diclorometano/acetato de etila dos galhos
FDFr	Fração diclorometano dos frutos
GIAO	Gauge Independent Atomic Orbital
Hz	Hertz
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
MAO	Enzima monoaminoxidase



MHz	Megahertz
NOE	Nuclear Overhauser Effect
IV	Espectroscopia no Infravermelho
IC <sub>50</sub>	Concentração da droga requerida para inibição do crescimento de 50% da população
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
ppm	Partes por milhão
<i>q</i>	Quarteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROE	Rotating-frame Overhauser Enhancement
SE <sub>2</sub>	Substituição Eletrofílica Bimolecular
<i>t</i>	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente

## RESUMO

O uso de produtos naturais e seus derivados sintéticos tem sido uma relevante estratégia no desenvolvimento de novos medicamentos. Estudos fitoquímicos e derivatização de produtos naturais são fundamentais na busca por protótipos de fármacos. Estudos fitoquímicos anteriores do gênero *Psychotria* (Rubiaceae) resultaram na identificação de alcaloides indólicos monoterpênicos e pirroloindólicos. Essas classes de compostos são associadas a um amplo espectro de atividades biológicas, tais como antifúngica e de inibição de enzimas monoaminoxidases A e B (MAOs) relacionadas a doenças neurodegenerativas. Assim, esse trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das partes aéreas de *Psychotria sp.*, presente no cerrado goiano. O fracionamento do extrato bruto por cromatografia em coluna em sílica gel e Sephadex resultou no isolamento de três alcaloides indólicos conhecidos: bahienosida A, desoxicordifolina e ácido desoxicordifolínico. Neste trabalho, tiohidantoínas e tioureias derivadas do *R*-(+)-limoneno e de aminoácidos, tais como o triptofano, foram sintetizadas, com o intuito de avaliar o efeito cooperativo do núcleo indólico combinado com as unidades terpênic, tioureia e tiohidantoína na ação antifúngica e de inibição das enzimas MAOs. Testes preliminares mostraram que desoxicordifolina, hidantoína (**20**) e tiohidantoína necrostatina-1 (**14**) inibem a enzima MAO-A acima de 80% nas concentrações de 175  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 386  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Ainda, os extratos polares das folhas de *Psychotria sp* mostraram atividade antioxidante com  $\text{CI}_{50} < 50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  pelo método de captura dos radicais DPPH.

## ABSTRACT

The use of natural products and their synthetic derivatives has been a relevant strategy in the development of novel medicines. Phytochemical studies and synthesis of natural-product-based libraries are primordial in the search for therapeutic agents. Previous phytochemical studies of genus *Psychotria* (Rubiaceae) have resulted in the identification of polypyrrolidine indole and monoterpene indole alkaloids, which present a broad range of biological activities, such as antifungal and inhibition of monoamine oxidases (MAOs) A e B, that are related to neurodegenerative diseases. This study aims to evaluate the phytochemical composition of the aerial parts of *Psychotria sp.* collected in Brazilian Cerrado. Fractionation of the crude extract by column chromatography on silica gel and Sephadex led to isolation of three known indole alkaloids: bahienoside A, desoxycordifoline and desoxycordifolinic acid. Additionally, thiohydantoin and thioureas were synthesized from amino acids and *R*-(+)-limonene, in order to assess the cooperative effect of indole nucleus combined with terpene, thiourea and thiohydantoin units. Preliminary tests showed that desoxycordifoline, hydantoin (**20**) and thiohydantoin necrostatin-1 (**14**) inhibit the enzyme MAO-A higher than 80% at concentrations of 175  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 386  $\mu\text{M}$ , respectively. Also, the polar extracts of the leaves of *Psychotria sp.* showed antioxidant activity with  $\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  measured by DPPH free radical scavenging assay.

# Capítulo 1

## 1. Introdução

## 1.1. Família Rubiaceae

A família Rubiaceae é a quarta maior família das dicotiledôneas, após Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae, possuindo, aproximadamente 650 gêneros e cerca de 13.000 espécies. A mesma é representada por árvores, arbustos e ervas (DELPRETE, 2004). Segundo recentes estudos filogenéticos, a família subdivide-se em três subfamílias: Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae, correspondentes a cerca de 50 tribos (BREMER, 1995; ROVA, 2002).

Estudos fitoquímicos de Rubiaceae revelaram uma grande diversidade de metabólitos secundários, tais como iridoides (MOURA, 2006), alcaloides (HENRIQUES *et al.*, 2004), antraquinonas (LING *et al.*, 2002), lignanas (SILVA *et al.*, 2006), flavonoides, derivados fenólicos, triterpenos, diterpenos, cumarinas (LUCIANO *et al.*, 2004), etc., sendo que os mesmos possuem alto potencial biológico. Como consequência, as espécies dessa família são amplamente utilizadas na medicina popular e na fabricação de fitoterápicos. Um exemplo é a unha de gato, fitoterápico formulado à base da raiz de *Uncaria tomentosa* e indicado no tratamento de reumatismo e artrite.

## 1.2. Gênero *Psychotria* L.

*Psychotria*, pertencente à subfamília Rubioideae e tribo Psychotrieae, é um dos maiores gêneros da família Rubiaceae com cerca de 1000-1650

espécies (NEPOKROEFF *et al.*, 1999), que se encontram amplamente distribuídas nos estratos arbustivos de matas tropicais (LOPES *et al.*, 2004).

Baseado em caracteres morfológicos e na distribuição geográfica, as espécies do gênero estão divididas em três subgêneros: *Psychotria* (espécies pantropicais), *Tetramera* (espécies da África e Madagascar) e *Heteropsychotria* (espécies restantes de *Psychotria* neotropical) (LOPES *et al.*, 2004). Além dessa complexidade dentro do próprio gênero, *Psychotria* tem sido estreitamente relacionado a outros gêneros como *Palicourea*, *Cephaelis* (TAYLOR, 1996), *Calycodendron* e *Calycosia* (LIBOT *et al.*, 1987). No entanto, devido ao grande número de espécies e à falta de caracteres morfológicos para estabelecer claras delimitações, não há uma classificação precisa desse gênero considerado taxonomicamente complexo (NEPOKROEFF *et al.*, 1999; TAYLOR, 1996).

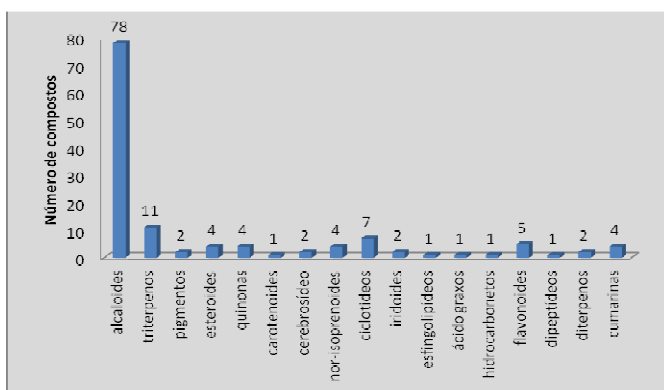
Uma importante ferramenta usada na diferenciação de espécies é a quimiotaxonomia, área de estudo baseada nas classes de constituintes químicos presentes nas espécies similares. Estudos fitoquímicos de espécies de *Psychotria* reportados da literatura tem mostrado que as classes de alcaloides são características de certos subgêneros, tais como os alcaloides poli-indólicos, que são isolados de espécies do subgênero *Psychotria*, e os alcaloides indol-monoterpênicos, isolados principalmente do subgênero *Heteropsychotria*. Estudos de filogenética molecular (NEPOKROEFF *et al.*, 1999) evidenciaram a semelhança entre *Palicourea* com o subgênero *Heteropsychotria* e a fusão de ambos em um único gênero foi proposta. Assim, o estudo sistemático que alie quimiotaxonomia às características morfológicas dessas espécies pode contribuir para uma melhor classificação taxonômica desse e de outros gêneros relacionados.

### **1.2.1. *Psychotria*: metabólitos secundários**

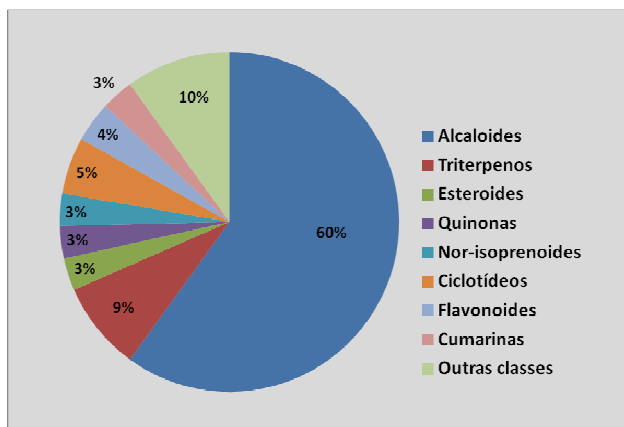
Um levantamento bibliográfico sobre os metabólitos secundários isolados de *Psychotria* foi realizado no portal de pesquisa *Chemical Abstract* (SciFinder Scholar), no portal da CAPES (<http://periodicos.capes.gov.br>) e Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>) utilizando como palavra-chave “psychotria” no período de 1974-2012.

Desde o levantamento bibliográfico realizado por Pimenta (2009) no período de 1974-2008, houve um aumento significativo de 25 para 40 no número de espécies de *Psychotria* estudadas do ponto de vista fitoquímico, o que representa um aumento de 60% em apenas quatro anos. No entanto, esse número ainda é considerado baixo, levando-se em conta a quantidade de 1500 espécies de *Psychotria* existentes e a vasta presença de alcaloides farmacologicamente ativos nestas espécies.

Este estudo revelou também um aumento de 87 para 130 no número de compostos isolados de *Psychotria* e caracterizados estruturalmente, o que representa um aumento de 49% desde 2008. Considerados como marcadores taxonômicos, os alcaloides são a principal classe de metabólitos secundários (60%) isolados de espécies de *Psychotria*, sendo que 40% são relacionados a outras classes como triterpenos, ciclótídeos e flavonoides (**Figuras 1 e 2**).



**Figura 1.** Números de compostos isolados de *Psychotria* distribuídos em classes de metabólitos secundários em 1974-2012.

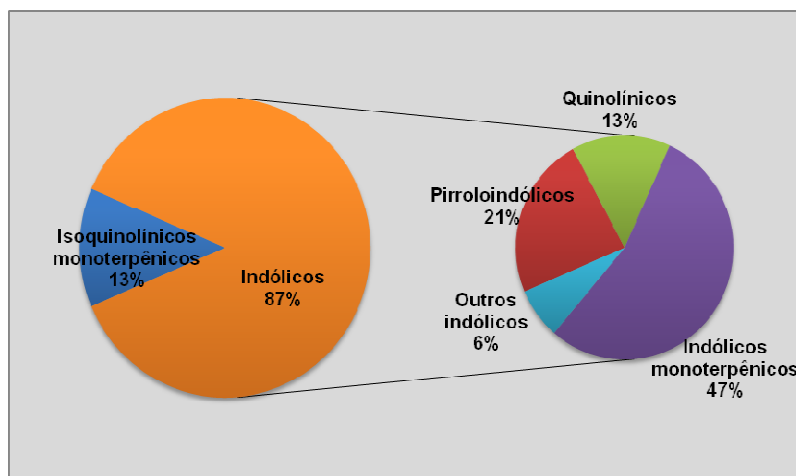


**Figura 2.** Classes de metabólitos secundários isolados de *Psychotria* em 1974-2012 em porcentagem.

Dentro das classes de alcaloides isolados de *Psychotria* no período de 1974-2012, foi relatada uma maior incidência de alcaloides indólicos (87%) (**Figura 3**) em relação aos isoquinolínicos (13%). A figura 3 mostra ainda o percentual relativo dos tipos de alcaloides indólicos, dos quais destacam-se os indólicos monoterpênicos (47%) e os pirroloindólicos (21%).

Nos últimos quatro anos, a literatura também relata principalmente o isolamento e a identificação de alcaloides do tipo indólicos monoterpênicos. Do total de 37 alcaloides isolados de *Psychotria* pertencentes a essa classe no período de 2008-2012, 21 foram relatados no gênero pela primeira vez.

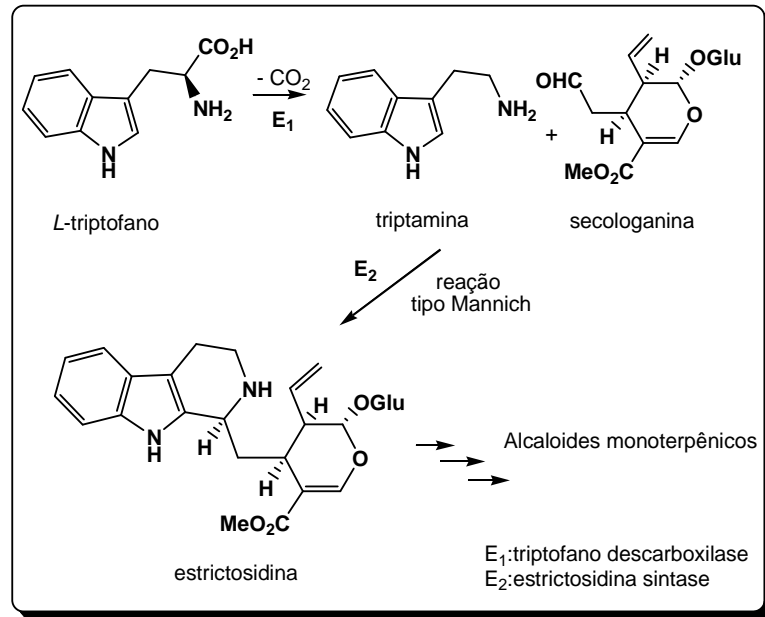
De acordo com o levantamento bibliográfico realizado, os alcaloides isolados de *Psychotria* estão listados e as respectivas estruturas químicas estão apresentadas no Apêndice (p. 143).



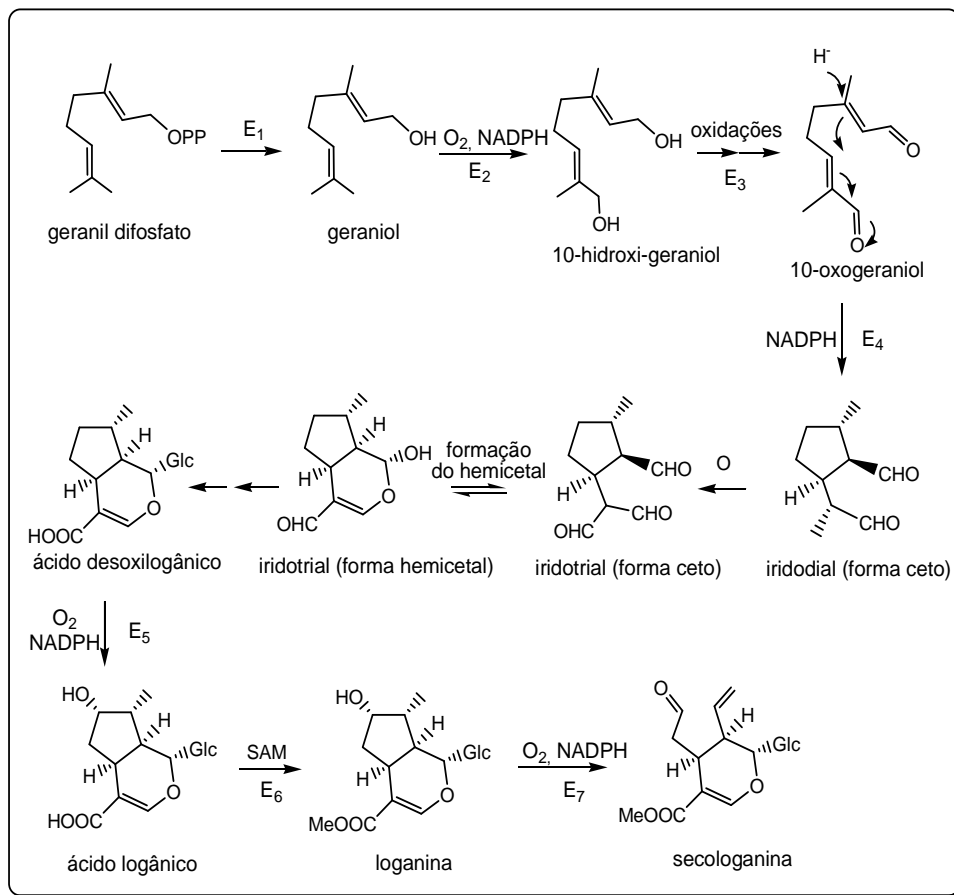
**Figura 3.** Distribuição relativa de alcaloides isolados de espécies do gênero *Psychotria*.

Os alcaloides indólicos monoterpênicos possuem como principal característica a origem biossintética comum. A maioria dos compostos conhecidos provém de um precursor único: a strictosidina, produzida pela condensação da triptamina com a secologanina (**Figura 4**) (DEWICK, 2009), esta última elaborada via geraniol a partir do ácido mevalônico (DEWICK, 2009) (**Figura 5**).





**Figura 4.** Rota biossintética geral dos alcaloides indólicos monoterpênicos.



**Figura 5.** Biossíntese da secologanina a partir do geranyl-difosfato. Enzimas E<sub>1</sub>: geraniol sintase; E<sub>2</sub>: geraniol 10-hidroxilase; E<sub>3</sub>: 10-hidroxigeraniol óxido-reductase; E<sub>4</sub>: monoterpene ciclase; E<sub>5</sub>: 7-desoxiloganina 7-hidroxilase; E<sub>6</sub>: ácido logânico metiltransferase; E<sub>7</sub>: secologanina sintase.

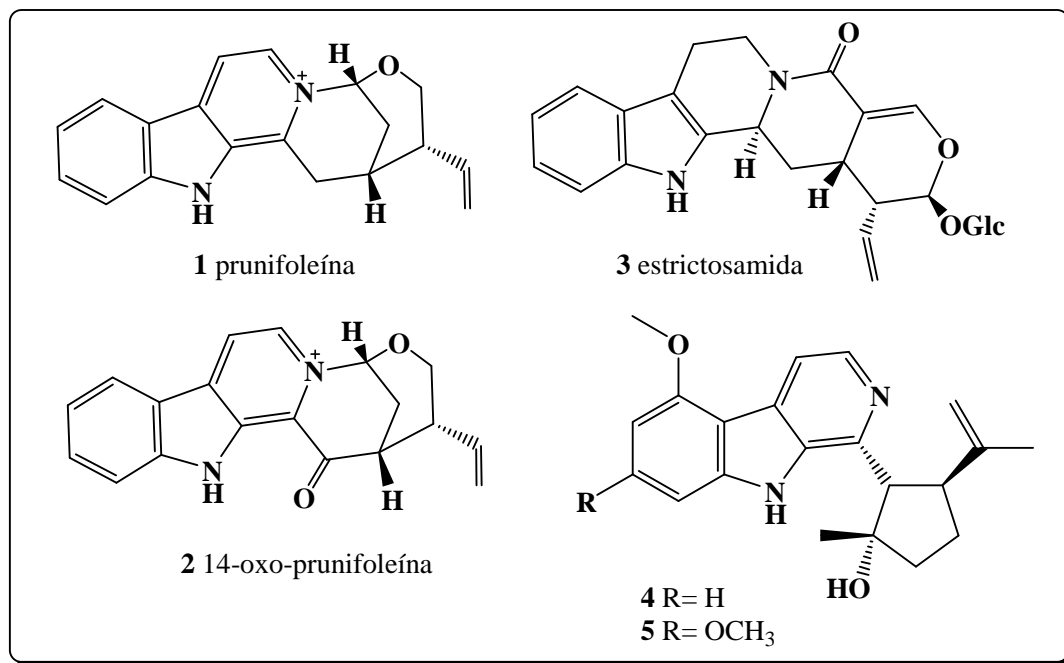
### 1.3. Atividade biológica de extratos e compostos isolados de *Psychotria*

O gênero *Psychotria* possui uma longa história de uso indígena como componente da bebida alucinógena *ayahuasca*, mais conhecida como “chá de Santo Daime”, e também na medicina tradicional no tratamento de infecções microbianas, doenças inflamatórias e complicações da gravidez (KATO *et al.*, 2012).

Estudos farmacológicos de espécies de *Psychotria* mostraram que seus extratos brutos e compostos isolados apresentam propriedades analgésicas, alelopáticas (CORREA *et al.*, 2008), antifúngicas (SILVA NETO *et al.*, 2012), citotóxicas (GERLACH *et al.*, 2010) bem como depressão do sistema nervoso central e diminuição da ação anti-inflamatória da ciclo-oxigenase (GERLACH *et al.*, 2010).

Estudos realizados de *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerem (FARIAS *et al.*, 2009; 2012) resultaram no isolamento de vários alcaloides indólicos monoterpênicos, dentre os quais se destacam **1** e **2** (**Figura 6**), por apresentarem efeito inibitório das enzimas acetilcolinesterase, butirilcolinesterase e monoamina oxidases A e B, relacionadas a doenças neurodegenerativas, tais como Alzheimer e Parkinson (PASSOS *et al.*, 2013). Os alcaloides 14-oxoprunicoleína (**2**) e strictosamida (**3**) (**Figura 6**) inibiram as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, com valores de  $CI_{50}$  de 16,0 e 40,7  $\mu\text{g per mL}$ , respectivamente (KATO *et al.*, 2012).

Resultados recentes da literatura (SILVA NETO *et al.*, 2012) mostram ainda que os alcaloides do tipo indólicos apresentam também atividade antifúngica, tais como os alcaloides  $\beta$ -carbolínicos (**4**) e (**5**) (**Figura 6**), que apresentaram potencial efeito inibitório da enzima malato sintase do fungo *Paracoccidioides lutzii*.



**Figura 6.** Alcaloides indólicos bioativos isolados de espécies de Rubiaceae: **1**, **2** e **3**: *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerm.; **4** e **5**, *Galianthe ramosa* E. L. Cabral.

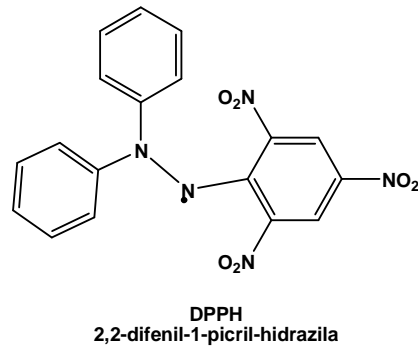
#### 1.4. Atividade antioxidante

Radicais livres (RLs) e espécies reativas de oxigênio (EROs) desempenham papel fundamental no metabolismo celular, tais como nos processos de sinalização celular, na homeostase e na defesa contra patógenos (DEVASAGAYAM *et al.*, 2004). No entanto, o desequilíbrio entre a manifestação sistêmica de EROs e a habilidade do sistema biológico de rapidamente detoxificar os intermediários reativos, processo conhecido como estresse oxidativo, pode levar a doenças como câncer, infarto, doenças degenerativas e sanguíneas (DRÖGE, 2002). A literatura apresenta diversos produtos naturais, principalmente, oriundos de plantas, que possuem a habilidade de reduzir o estresse oxidativo agindo como antioxidantes, tais como a rutina (BOYLE *et al.*, 2000) e o ácido ascórbico (ARRIGONI e TULLIO, 2002).

A capacidade antioxidante de matrizes vegetais é um importante indicativo na investigação de outras atividades biológicas (**Figura 8**) como diabetes, capacidade anti-inflamatória, antitumoral, entre outras. A capacidade antioxidante pode ser atribuída a essas doenças através de vários mecanismos, tais como a captura de radicais livres, complexadores de metais

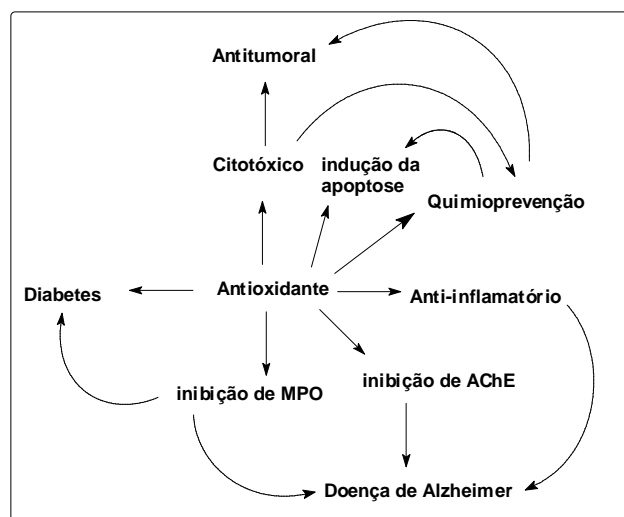
pro-oxidantes, retiradores de oxigênio singlete e estimulantes de atividades de enzimas de defesa antioxidativa (BENHAMMOU *et al.*, 2009).

O método do radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH, **figura 7**) tem sido amplamente utilizado como parâmetro rápido, confiável e reprodutível para pesquisar a atividade antioxidante *in vitro* de compostos puros, assim como extratos de plantas (KOLEVA *et al.*, 2002).



**Figura 7.** Estrutura química do radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).

Dada à importância da atividade antioxidante no tratamento e prevenção de várias doenças, um campo crescente de investigação científica tem sido em busca de antioxidantes de origem natural que possam ser eficientes como auxiliares no tratamento destas patologias.



**Figura 8.** Bioensaios que podem ser correlacionados com a atividade antioxidante. MPO: enzima mieloperoxidase; AChE: enzima acetilcolinesterase.

### **1.5. Atividade inibitória das enzimas relacionadas a doenças neurodegenerativas**

As monoaminoxidases A e B (MAOs) são enzimas responsáveis pelo metabolismo de aminas ingeridas na dieta, hormônios e neurotransmissores. Elas exercem funções importantes no cérebro, entre elas, a degradação rápida de aminas, que é um processo essencial para o funcionamento adequado da neurotransmissão sináptica. Além disso, elas participam dos mecanismos modulares do humor, das emoções e controle das funções motoras e cognitivas (BORTOLATO *et al.*, 2008). No entanto, os subprodutos das reações mediadas por MAOs são potencialmente neurotóxicos, tais como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e amônia. Especula-se que a alta atividade dessas enzimas possa provocar doenças neurodegenerativas, tais como Alzheimer e Parkinson.

As enzimas monoaminoxidases A e B possuem seletividade de substrato e sua inibição está associada com diferentes tipos de doenças neurodegenerativas. A enzima MAO A é responsável pelo metabolismo da noradrenalina e serotonina, e os seus inibidores são usados no tratamento de ansiedade e depressão. Já a MAO B metaboliza principalmente dopamina e sua inibição é usada clinicamente no tratamento da doença de Parkinson. (YOU DIM e WEINSTOCK, 2004; YOU DIM e BAKHLE, 2006). No entanto, evidências mostram que a inibição de MAO A também afeta os níveis de dopamina no cérebro. A inibição reversível dual MAO A/B ou a inibição irreversível seletiva pode ser uma interessante característica no tratamento da doença de Parkinson, diminuindo os efeitos cardiovasculares causados pela tiramina, resultado da *cheese reaction* (YOU DIM e BAKHLE, 2006). Por esse motivo, a busca por fármacos naturais ou sintéticos que interajam com as enzimas MAO, de forma seletiva ou não, é uma importante área de estudo para o tratamento das doenças associadas ao sistema nervoso central (PASSOS *et al.*, 2013).

## 2. *Objetivos*

## 2. OBJETIVOS

O estudo de *Psychotria sp.* visa contribuir para o conhecimento químico e biológico dessa espécie presente no Cerrado goiano e, em especial, na busca de metabólitos secundários bioativos. Os objetivos específicos desse trabalho são:

- Realizar o estudo fitoquímico das folhas, dos galhos e dos frutos de *Psychotria sp.* visando o isolamento e a identificação dos metabólitos secundários presentes nessa espécie;
- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos e frações das folhas e galhos de *Psychotria sp.*

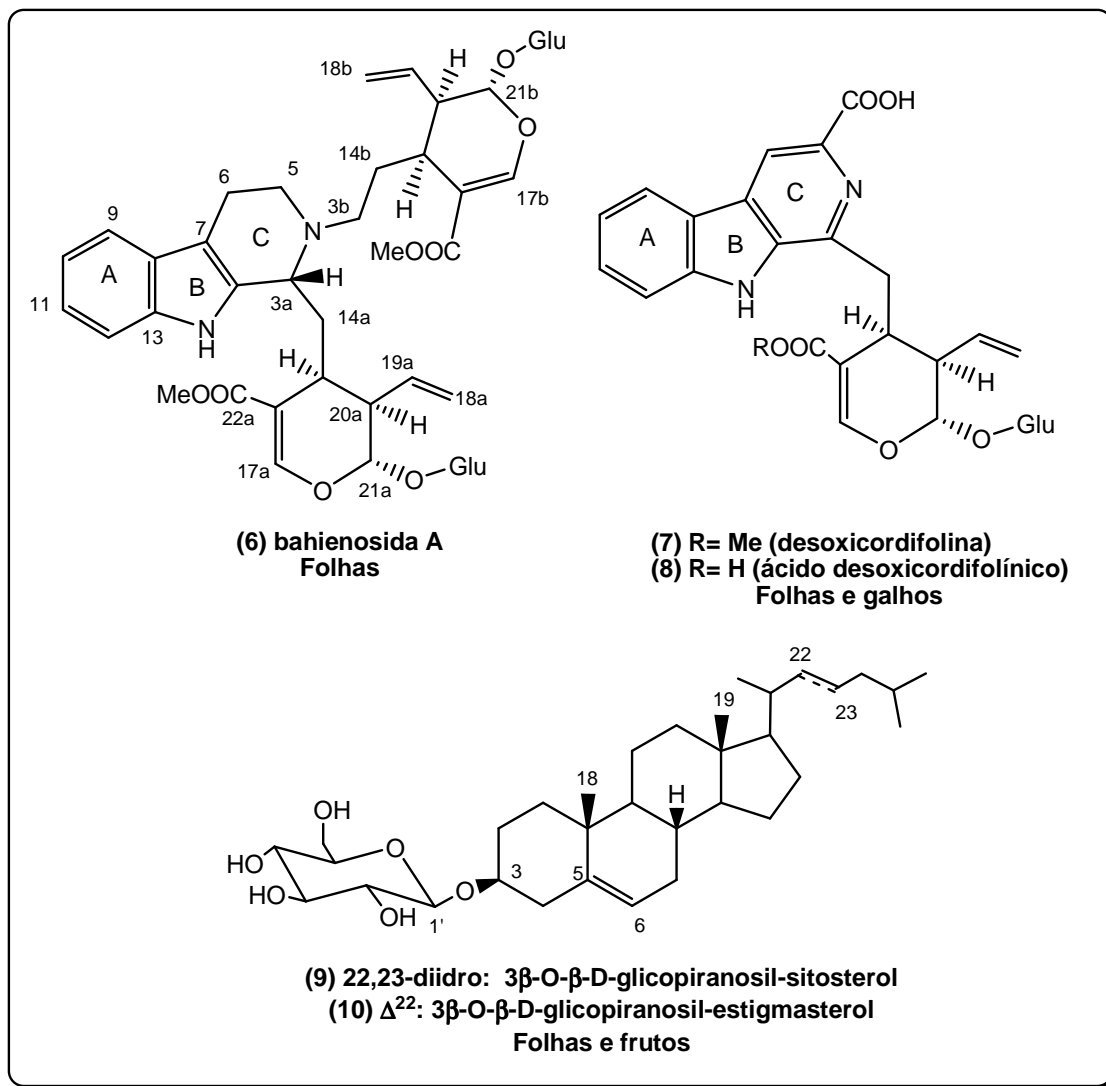
### 3. Resultados e discussão



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Estudo fitoquímico

O estudo fitoquímico das folhas, dos galhos e dos frutos de *Psychotria* sp. resultou até o momento no isolamento e identificação dos alcaloides indólicos bahienosida A (**6**), desoxicordifolina (**7**) e ácido desoxicordifolínico (**8**) e da mistura de esteroides 3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-glucopiranosil-sitosterol (**9**) e 3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-glucopiranosil-estigmasterol (**10**) (**Figura 9**). Os compostos foram caracterizados por análise dos espectros de absorção na região do infravermelho (IV), de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) uni e bidimensionais (apresentados no Anexo A, p. 97) e dados de rotação específica.



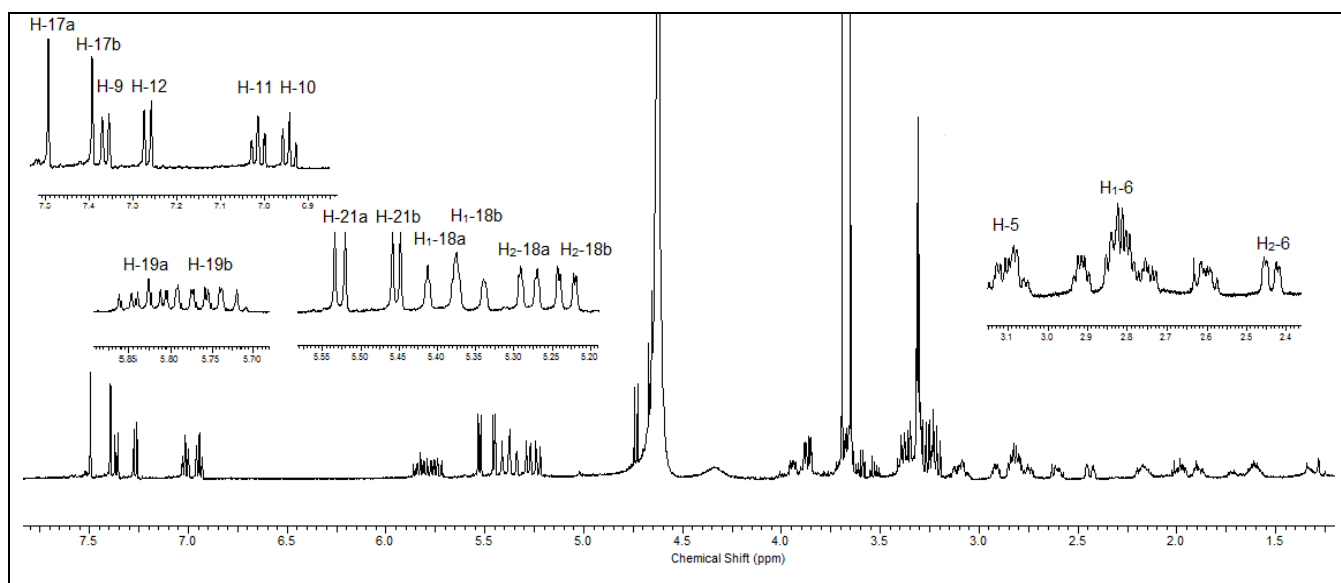
**Figura 9.** Metabólitos secundários isolados de *Psychotria* sp.

### 3.1.1. Bahienosida A

O composto **6** ( $[\alpha]_D -113^\circ$ ,  $c$  0,5, MeOH), solúvel em metanol, isolado na forma de um sólido marrom, da fração diclorometano e acetato de etila das folhas apresentou coloração escura sob luz UV (254 nm) e reação positiva frente ao reagente de Dragendorff. O espectro de ultravioleta apresentou duas bandas de absorção em 230 e 280 nm, consistentes com a presença das unidades tetrahydro- $\beta$ -carbolinica e  $\beta$ -alcóxi-acrilato. No espectro de infravermelho foram observadas bandas de absorção típicas de deformação axial de ligação O-H e N-H ( $3484$ ,  $3416$   $\text{cm}^{-1}$ ), de deformação axial de ligação C-H ( $2930$ ,  $2871$   $\text{cm}^{-1}$ ), de estiramento de ligação C=O ( $1696$   $\text{cm}^{-1}$ ) e de deformação angular de ligação C-O ( $1302$   $\text{cm}^{-1}$ ).

A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz), HSQC e HMBC permitiu a identificação de 44 carbonos, os quais foram atribuídos a oito carbonos quaternários, incluindo dois carbonos carbonílicos de éster em  $\delta$  169,8, quatro carbonos aromáticos em  $\delta$  107,7, 128,7, 136,8 e 138,0 e dois olefínicos em  $\delta$  112,5 e 113,6; 25 carbonos metínicos, incluindo quatro carbonos olefínicos em  $\delta$  153,1, 153,8, 136,3 e 136,0 e dez carbonos oximetínicos atribuídos a duas moléculas de glicose; nove carbonos metilênicos, com dois carbonos olefínicos terminais em  $\delta$  119,8 e quatro carbonos saturados em  $\delta$  51,5, 43,6, 36,9, 17,9; e por fim, dois sinais de carbonos metoxílicos em  $\delta$  52,0. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) (**Figura 10**) mostrou três regiões típicas de sinais de hidrogênios aromáticos, olefínicos e saturados.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , na região de hidrogênios aromáticos, foram observados sinais característicos de anel indólico não-substituído em  $\delta$  7,01 (*ddd*,  $J= 8,0, 7,1, 1,0$  Hz, H-11),  $\delta$  6,94 (*ddd*,  $J= 7,8, 7,1, 0,9$  Hz, H-10),  $\delta$  7,36 (*dt*,  $J= 7,8, 1,0$  Hz, H-9) e em  $\delta$  7,26 (*dt*,  $J= 8,0, 0,9$  Hz, H-12). Os sinais de grupos metilênicos em  $\delta$  3,08 (H-5) e em  $\delta$  2,81 e  $\delta$  2,44 (H-6) correlacionados pelo espectro de HSQC aos carbonos em  $\delta$  43,6 e  $\delta$  17,9, respectivamente, são indicativos da unidade tetrahydro- $\beta$ -carbolínica.



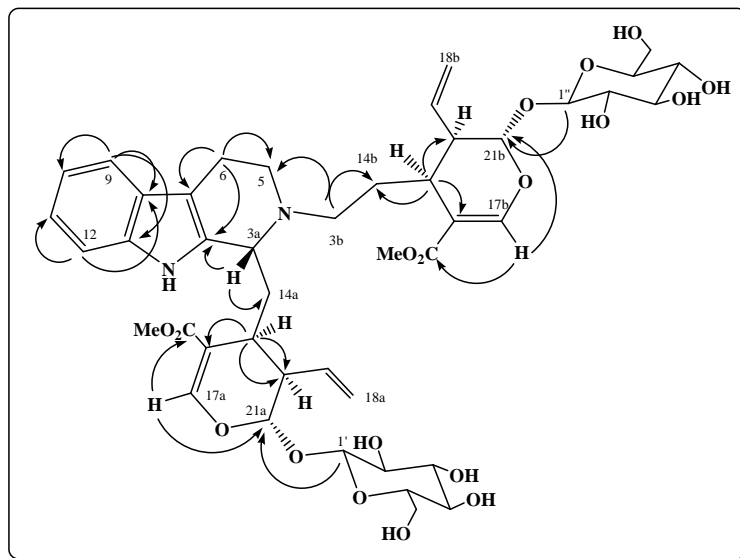
**Figura 10.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) do composto (6).

A presença de duas unidades secologaninas foi evidenciada pelos sinais de hidrogênios olefínicos em  $\delta$  7,49 (*s*, H-17a) e em  $\delta$  7,39 (*d*,  $J= 1,2$  Hz,

H-17b) correlacionados aos carbonos  $\delta$  153,7 e  $\delta$  153,1, respectivamente, pelo espectro de HSQC. Outros sinais indicativos de duas unidades secologaninas, atribuídos aos respectivos grupos vinílicos terminais H-18, foram observados em  $\delta$  5,39 (*dd*,  $J= 17,9, 1,3$  Hz, 1H, H18a) e  $\delta$  5,28 (*dd*,  $J= 10,6, 1,3$  Hz, 1H, H18a), correlacionados ao sinal de carbono em  $\delta$  119,8 pelo espectro de HSQC, e em  $\delta$  5,36 (*dd*,  $J= 16,5, 1,1$  Hz, 1H, H18b) e  $\delta$  5,23 (*dd*,  $J= 10,0, 1,1$  Hz, 1H, H18b) correlacionados ao carbono em  $\delta$  119,8.

Os sinais de hidrogênios anoméricos em  $\delta$  4,73 (*d*,  $J= 8,0$  Hz, H-1') e  $\delta$  4,66 (*d*,  $J= 8,0$  Hz, H-1'') indicaram a presença de duas unidades glicosídicas. As constantes de acoplamento com valor de 8,0 Hz indicaram a configuração  $\beta$  para os dois açúcares. A posição das unidades glicosídicas na molécula foi determinada pelo espectro de HMBC, que apresentou a correlação entre o hidrogênio anomérico H-1' em  $\delta$  4,46 (*d*,  $J= 7,8$  Hz) e o carbono  $\delta$  98,6 (C-21a) e entre H-1'' ( $\delta$  4,74, *d*,  $J= 7,8$  Hz, 1H) e o carbono  $\delta$  98,8 (C-21b) (**Figura 11**).

A conexão das unidades secologaninas à unidade tetrahydro- $\beta$ -carbolínica foi determinada com base na análise dos espectros de COSY e HMBC. A correlação observada no espectro de COSY entre os sinais de hidrogênio metínico em  $\delta$  3,94 (*dd*,  $J= 9,2, 5,5$  Hz, 1H, H-3a) e de hidrogênios metilênicos em  $\delta$  1,95-2,03 (*m*, 1H, H-14a) indica que uma das unidades secologanina foi incorporada de maneira comum aos alcaloides indólicos monoterpênicos (pelo carbono C-3). Já a conexão da segunda unidade com o anel tetrahydro- $\beta$ -carbolínico foi estabelecida com base no espectro de HMBC, que mostrou a correlação de um dos hidrogênios 3b, em  $\delta$  2,72-2,77 (*m*, 1H), com os carbonos em  $\delta$  43,6 (C-5) e  $\delta$  28,8 (C-14b) indicando que a segunda unidade secologanina está ligada ao anel tetrahydro- $\beta$ -carbolínico pelo N-4. Essas e outras correlações estão apresentadas na Figura 11. Os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  e HMBC estão apresentados na tabela 1.



**Figura 11.** Principais correlações observadas no espectro de HMBC do composto **6**.

A estereoquímica relativa do carbono 3a foi atribuída como 3a $\beta$ , com base nos dados de rotação específica ( $[\alpha]_D -113^\circ$ , c 0,5, MeOH), cujo sinal está de acordo com os dados da literatura ( $[\alpha]_D -128^\circ$ , c 0,003, MeOH) (PAUL *et al.*, 2003).

Assim, através de análise dos dados de RMN uni e bidimensionais e comparação com a literatura (PAUL *et al.*, 2003), o composto **6** foi identificado como bahienosida A.

**Tabela 1.** Dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC do composto **6** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500MHz e 125MHz, ppm).

Alcaloide 1				Bahienosida A (PAUL <i>et al.</i> , 2003) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz, 100 MHz, ppm)	
N <sup>o</sup>	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	HMBC	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
2	136,8	-	H3a, H14a, H6	135,0	-
3a	58,8	3,94 ( <i>dd</i> , $J=9,2, 5,5$ Hz, 1H)	H3b, H15a, H5, H14a	58,8	3,95 ( <i>sl</i> , 1H)
3b	51,5	2,57-2,64 ( <i>m</i> , 1H) 2,72-2,77 ( <i>m</i> , 1H)	H3a, H5	52,0	2,65 ( <i>m</i> , 1H) 2,75 ( <i>m</i> , 1H)
5	43,6	3,04-3,16 ( <i>m</i> , 2H)	H3a, H3b, H6	44,8	3,13 ( <i>m</i> , 2H)
6	17,9	2,41-2,47 ( <i>m</i> , 1H) 2,78-2,81 ( <i>m</i> , 1H)		17,6	2,45 ( <i>d</i> , $J=14,5$ Hz, 1H) 2,80 ( <i>m</i> , 1H)
7	107,7	-	H5, H9, H3a, H6	107,3	-
8	128,7	-	H9, H12, H10	128,4	-
9	118,6	7,36 ( <i>dt</i> , $J=7,8, 1,0$ , 1H)	H11	120,6	7,35 ( <i>d</i> , $J=8,0$ Hz, 1H)
10	119,8	6,94 ( <i>ddd</i> , $J=7,8, 7,1, 0,9$ Hz, 1H)	H12, H6	119,7	6,95 ( <i>t</i> , $J=8,0$ Hz, 1H)
11	122,0	7,01 ( <i>ddd</i> , $J=8,0, 7,1, 1,0$ Hz, 1H)	H9, H10	122,0	7,05 ( <i>t</i> , $J=8,0$ Hz, 1H)
12	112,5	7,26 ( <i>dt</i> , $J=8,0, 0,9$ Hz, 1H)	H10	112,0	7,25 ( <i>d</i> , $J=8,0$ Hz, 1H)
13	138,0	-	H9, H11	137,8	-
14a	36,9	1,86-1,92 ( <i>m</i> , 1H) 1,95-2,03 ( <i>m</i> , 1H)	H3a, H15a, H20a	36,9	1,85 ( <i>sl</i> , 1H) 2,05 ( <i>sl</i> , 1H)
15a	31,6	3,23-3,28 ( <i>m</i> , 1H)	H3a, H20a, H14a, H21a, H19a, H17a	31,5	3,25 ( <i>m</i> , 1H)
16a	113,6	-	H17a, H23a, H15a, H20a, H14a	112,1	-
17a	153,1	7,49 ( <i>sl</i> , 1H)	H21a, H15a	154,0	7,55 ( <i>s</i> , 1H)
18a	119,8	5,39 ( <i>dd</i> , $J=17,9, 1,3$ Hz, 1H) 5,28 ( <i>dd</i> , $J=10,6, 1,3$ Hz, 1H)		119,8	5,41 ( <i>d</i> , $J=18,0$ Hz, 1H) 5,29 ( <i>d</i> , $J=10,0$ Hz, 1H)
19a	136,3	5,82 ( <i>ddd</i> , $J=17,9, 10,6, 7,4$ Hz, 1H)	H21a, H18a, H15a, H20a	136,2	5,82 ( <i>ddd</i> , $J=18,0, 10,0, 2,0$ Hz, 1H)
20a	45,9	2,82-2,86 ( <i>m</i> , 1H)	H18a, H19a, H15a, H14a	45,5	2,85 ( <i>m</i> , 1H)
21a	98,6	5,53 ( <i>d</i> , $J=6,9$ Hz, 1H)	H17a, H19a, H18a, H1', H15a, H20a	98,2	5,55 ( <i>d</i> , $J=7,1$ Hz, 1H)
22a	169,8	-	H17a, H23a	169,7	-
23a	52,0	3,69 ( <i>s</i> , 3H)		52,1	3,71 ( <i>s</i> , 3H)
1'	100,6	4,66 ( <i>d</i> , $J=7,8$ Hz, 1H)	H21a	100,4	4,65 ( <i>d</i> , $J=8,6$ Hz, 1H)
2'	74,9	3,17-3,29 ( <i>m</i> )		74,6	3,20 ( <i>m</i> , 1H)
3'	78,3	3,27-3,42 ( <i>m</i> )		78,0	3,25 ( <i>m</i> , 1H)
4'	71,9	3,25-3,34 ( <i>m</i> )		71,6	3,31 ( <i>m</i> , 1H)
5'	78,5	3,27-3,42 ( <i>m</i> )		78,4	3,40 ( <i>m</i> , 1H)
6'	63,1	3,87 ( <i>dd</i> , $J=12,0, 6,5$ Hz, 1H) 3,66-3,69 ( <i>m</i> , 1H)		62,9	3,90 ( <i>m</i> , 1H) 3,70 ( <i>m</i> , 1H)
14b	28,8	1,56-1,65 ( <i>m</i> , 1H) 2,13-2,21 ( <i>m</i> , 1H)	H3b, H15b	28,0	1,55 ( <i>m</i> , 1H) 2,25 ( <i>m</i> , 1H)
15b	31,0	2,89-2,94 ( <i>dt</i> , $J=9,5, 4,2$ Hz, 1H)	H17b, H21b	30,3	2,95 ( <i>m</i> , 1H)
16b	112,5	-	H15b, H17b, H23a	112,0	-
17b	153,7	7,39 ( <i>d</i> , $J=1,1$ Hz, 1H)	H21b	153,2	7,40 ( <i>s</i> , 1H)
18b	119,8	5,36 ( <i>dd</i> , $J=16,5, 1,1$ Hz, 1H) 5,23 ( <i>dd</i> , $J=10,0, 1,1$ Hz, 1H)		120,1	5,38 ( <i>d</i> , $J=18,0$ Hz, 1H) 5,22 ( <i>d</i> , $J=10,0$ Hz, 1H)
19b	136,0	5,76 ( <i>ddd</i> , $J=16,5, 10,0, 7,8$ Hz, 1H)	H21b	135,7	5,70 ( <i>dd</i> , $J=18,0, 10,0$ Hz, 1H)

20b	45,2	2,82-2,86 ( <i>m</i> , 1H)	H18b, H19b, H15b	44,8	2,80 ( <i>m</i> , 1H)
21b	98,8	5,45 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 5,1 Hz, 1H)	H17b, H19b, H18b, H1''	98,5	5,45 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)
22b	169,8	-	H17a, H23b	169,5	-
23b	52,0	3,65 ( <i>s</i> , 3H)		52,1	3,65 ( <i>s</i> , 3H)
1''	100,5	4,74 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H)	H21b	100,3	4,75 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 7,1 Hz, 1H)
2''	74,9	3,17-3,29 ( <i>m</i> )	H1''	74,8	3,25 ( <i>m</i> , 1H)
3''	78,3	3,27-3,42 ( <i>m</i> )		78,1	3,30 ( <i>m</i> , 1H)
4''	71,9	3,25-3,34 ( <i>m</i> )		71,6	3,35 ( <i>m</i> , 1H)
5''	78,5	3,27-3,42 ( <i>m</i> )		78,3	3,45 ( <i>m</i> , 1H)
6''	63,1	3,87 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0, 6,5 Hz, 1H)		62,8	3,90 ( <i>m</i> , 1H)
		3,66-3,69 ( <i>m</i> , 1H)			3,68 ( <i>m</i> , 1H)

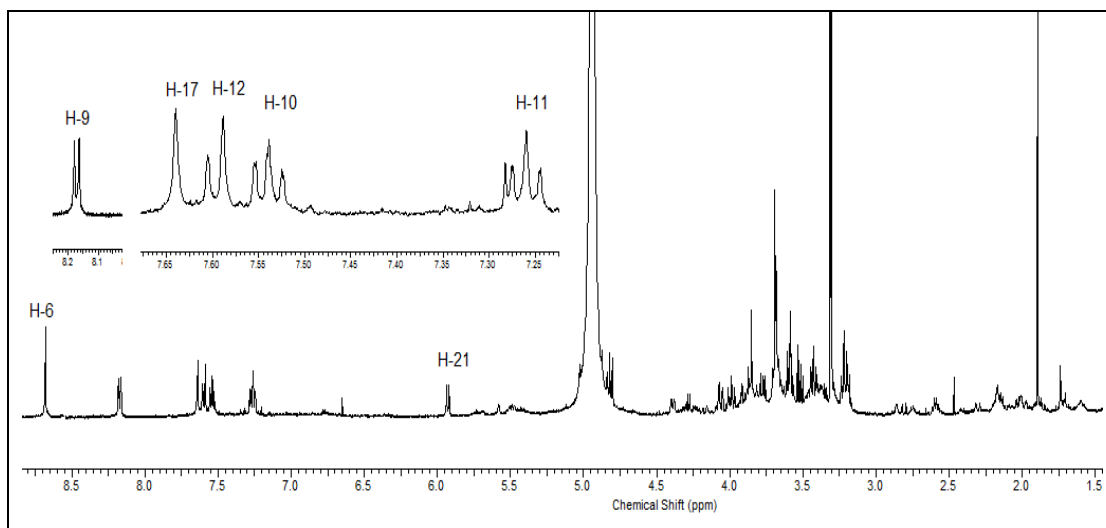
O alcaloide bahienosida A, também conhecido como neonaucleosida A, foi isolado pela primeira vez de *Neonauclea sessilifolia* (ITOH *et al.*, 2003) e *Psychotria bahiensis* (PAUL *et al.*, 2003) e posteriormente, de *Uncaria hirsuta* (XIN *et al.*, 2011). A atividade citotóxica *in vitro* do alcaloide bahienosida A foi testada por Xin e colaboradores (2011) contra linhas de células tumorais humanas de mama, de fígado, do cólon e pulmão e o composto foi inativo na dose de 10 µg/mL.

### 3.1.2. Desoxicordifolina

O composto **7** foi isolado da fração acetato de etila das folhas e da fração diclorometano dos galhos. Isolado na forma de um sólido marrom, este composto apresentou coloração azul intensa sob luz UV (254 nm), reação positiva frente ao reagente de Dragendorff e  $[\alpha]_D^{25} = -36,5^\circ$  (c 0,755; MeOH). O espectro de ultravioleta evidenciou a presença da unidade β-carbolínica pelas bandas de absorção máxima em 236, 266, 331 e 346 nm. No espectro de infravermelho, foram observadas bandas de absorção típicas de estiramento de ligação O-H e N-H (3484, 3434 e 3224 cm<sup>-1</sup>) e de C-H (2930, 2855 cm<sup>-1</sup>), de estiramento de ligação C=O (1705 cm<sup>-1</sup>) e deformação angular de ligação C-O (1386 cm<sup>-1</sup>).

No espectro de RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) do composto **7** (**Figura 12**), foram observados sinais muito semelhantes aos sinais de hidrogênios do composto **6** na região de aromáticos, característicos de anel indólico não-substituído em δ 7,54 (*ddd*, *J*= 7,9, 7,0, 1,0 Hz, H-11), δ 7,26 (*ddd*, *J*= 7,9, 7,0, 1,1Hz, H-10), δ 8,17 (*d*, *J*= 7,9 Hz, H-9) e em δ 7,59 (*d*, *J*= 8,2, 0,9 Hz, H-12). No entanto, a ausência dos sinais de grupos metilênicos em δ 3,08 (H-5) e em

$\delta$  2,81 e  $\delta$  2,44 (H-6) do composto **6**, característico da unidade tetrahydro- $\beta$ -carbolínica, e um sinal adicional observado em  $\delta$  8,68 (s, H-6), correlacionado com um sinal de carbono em  $\delta$  172,8 (C-24) pelo espectro de HMBC, evidenciaram a presença da unidade  $\beta$ -carbolínica substituída no carbono C-5 pelo grupo carboxila.



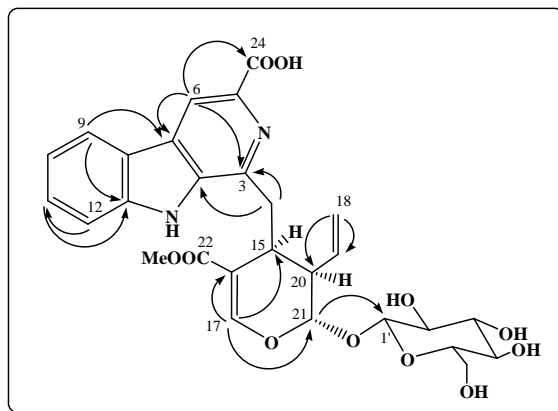
**Figura 12.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) do composto (**7**).

Outra diferença observada foi a presença de apenas uma unidade secologanina, cujo sinal característico é um sinal de hidrogênio olefínico em  $\delta$  7,64 (s, H-17) correlacionado ao carbono  $\delta$  153,1, no espectro de HSQC. Outros sinais indicativos da unidade secologanina, atribuídos ao grupo vinílico terminal, são um par de duplos dubletos em  $\delta$  4,88 (dd,  $J= 17,2, 2,0$  Hz) e  $\delta$  4,47 (dd,  $J= 10,2, 2,0$  Hz), correlacionados ao carbono em  $\delta$  117,2 pelo espectro de HSQC.

O sinal de hidrogênio anomérico em  $\delta$  4,81 (d,  $J= 8$  Hz, H-1') indicou a presença de uma unidade glicosídica e o valor da constante de acoplamento é indicativo da configuração  $\beta$  para o açúcar. A posição da unidade glicosídica na molécula foi determinada pelo espectro de HMBC, que apresentou a correlação entre o hidrogênio anomérico H-1' e o carbono  $\delta$  98,6 (C-21a) (**Figura 13**).

A conexão da unidade secologanina à unidade  $\beta$ -carbolínica foi determinada com base na análise do espectro de HMBC, que mostrou a correlação entre os hidrogênios metilênicos H-14 em  $\delta$  3,43 (m) e  $\delta$  3,23 (m) e o carbono C-3 em  $\delta$  142,9 (**Figura 13**). Os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  e HMBC estão apresentados na tabela 2.





**Figura 13.** Principais correlações observadas no espectro de HMBC do composto **7**.

**Tabela 2.** Dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC do composto **7** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500MHz e 125MHz, ppm) e comparação com a literatura.

Alcaloide 2					Desoxicordifolina (BRANDT <i>et al.</i> , 1999) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz, ppm)	
Nº	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	HMBC	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	
2	136,7	-	H14	135,6	-	
3	144,4	-	H6, H14, H15	142,9	-	
5	136,7	-	H6	135,6	-	
6	115,4	8,68 (s, 1H)	-	114,2	8,69 (s, 1H)	
7	129,8	-	H6, H9	128,4	-	
8	123,1	-	H6, H9, H10, H12	121,7	-	
9	122,5	8,17 (d, $J=7,9$ Hz, 1H)	-	121,4	8,19 (d, $J=7,8$ Hz, 1H)	
10	120,8	7,26 (ddd, $J=7,9, 7,0, 1,1$ Hz, 1H)	H12	119,9	7,28 (t, $J=7,8, 7,3$ Hz, 1H)	
11	129,1	7,54 (ddd, $J=8,2, 7,0, 1,1$ Hz, 1H)	H9, H10	128,4	7,56 (t, $J=7,7, 7,3$ Hz, 1H)	
12	112,8	7,59 (d, $J=8,2$ Hz, 1H)	H11	111,6	7,59 (d, $J=7,7$ Hz, 1H)	
13	142,4	-	H9, H11	141,6	-	
14	35,9	3,39-3,46 (m, 1H) 3,18-3,25 (m, 1H)	-	34,0	3,43 (m, 1H) 3,27 (m, 1H)	
15	36,9	3,65-3,72 (m, 1H)	H17	34,5	3,67 (m, 1H)	
16	111,0	-	H17, H15	108,7	-	
17	154,5	7,64 (sl, 1H)	-	153,2	7,59 (s, 1H)	
18	118,7	4,47 (dd, $J=10,2, 2,0$ Hz, 1H) 4,88 (dd, $J=17,2, 2,0$ Hz, 1H)	-	117,6	4,67 (d, $J=17,3$ Hz, 1H) 4,93 (d, $J=10,7$ Hz, 1H)	
19	134,6	5,55 (ddd, $J=17,2, 10,2, 8,5$ Hz, 1H)	H18	133,8	5,67 (ddd, $J=17,3, 10,7, 7,2$ Hz, 1H)	
20	45,7	2,59 (ddd, $J=13,4, 8,0, 5,3$ Hz, 1H)	H 18	44,4	2,62 (dd, $J=7,3, 7,2$ Hz, 1H)	
21	97,4	5,93 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)	H17, H1'	96,1	5,86 (d, $J=7,3$ Hz, 1H)	
22	170,0	-	H 17, H23	171,3	-	
23	52,3	3,69 (s, 3H)	-	50,6	3,54 (s, 3H)	
24	174,2	-	H6	168,4	11,5 (s, 1H) <sup>a</sup>	
1'	100,2	4,81 (d, $J=8,0$ Hz, 1H)	H21	99,0	4,78 (d, $J=7,8$ Hz, 1H)	
2'	74,3	3,20-3,33 (m, 1H)	-	73,2	3,19 (d, $J=7,8$ Hz, 1H)	
3'	77,7	3,37-3,58 (m, 1H)	-	76,6	3,39 (m, 1H)	
4'	71,6	3,28-3,40 (m, 1H)	-	70,4	3,22 (m, 1H)	
5'	77,7	3,37-3,58 (m, 1H)	-	76,6	3,39 (m, 1H)	

6'	63,0	3,60-3,65 ( <i>m</i> , 1H) 4,04 ( <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7, 1,9 Hz, 1H)	61,8	3,67 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,7 Hz, 1H) 3,99 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,7 Hz, 1H)
----	------	---	------	--

<sup>a</sup>Observado em DMSO-*d*<sub>6</sub>.

Com base na análise dos dados dos dados de RMN uni e bidimensionais e comparação com a literatura (BRANDT *et al.*, 1999), o composto **7** foi identificado como desoxicordifolina, relatado pela primeira vez no gênero *Psychotria*.

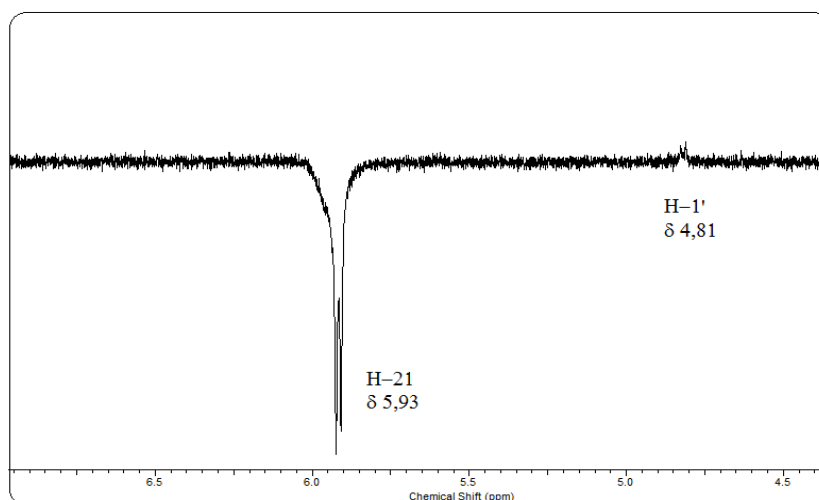
A desoxicordifolina já foi isolada de outras espécies da família Rubiaceae, tais como *Uncaria glabrata* DC (ARBAIN *et al.*, 1993) e *Chimarrhis turbinata* (BOLZANI *et al.*, 2008) e foi isolada pela primeira vez de espécies do gênero *Adina* (BROWN e WARAMBWA, 1978) da família Naucleaceae. Recentemente, esse composto foi isolado de *Palicourea acuminata* (BERGER *et al.*, 2012), juntamente com outros alcaloides indólicos, entre eles, o raro bahienosida B (epímero em C-3 de bahienosida A). Esses resultados comparados com os compostos isolados neste trabalho confirmam a semelhança entre os gêneros *Palicourea* e *Psychotria* e sua possível fusão.

Ensaio biológico anteriores realizados com a desoxicordifolina mostraram que o alcaloide é um moderado inibidor da enzima acetilcolinesterase (relacionada à doença de Alzheimer) na concentração de 1,0 μM pelo método de rastreamento preliminar em cromatografia de camada delgada (BOLZANI *et al.*, 2004).

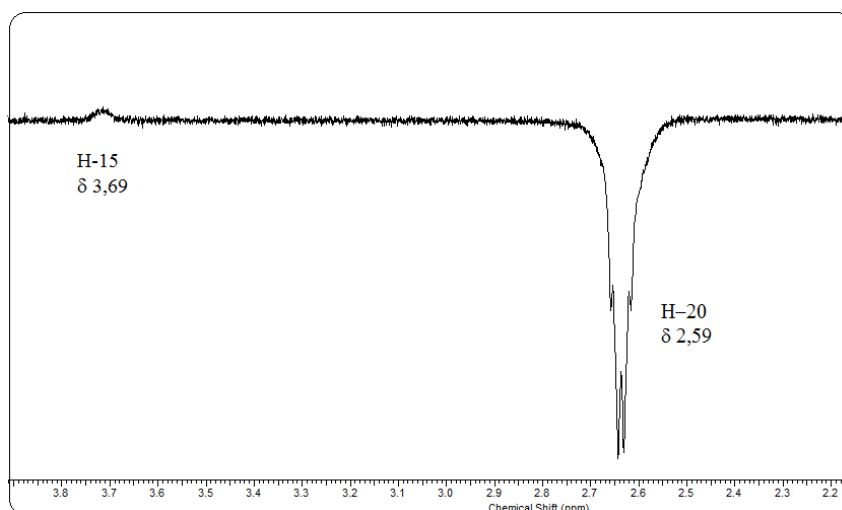
#### 3.1.2.1. Estudo da estereoquímica relativa da unidade secologanina do composto **7**.

No estudo da estereoquímica relativa do composto **7** foi inicialmente utilizada a técnica de NOE com irradiação nos sinais de H-15, H-20 e H-21, com intuito de estabelecer uma provável relação espacial entre eles. No entanto, nos espectros obtidos não foi observado nenhum acoplamento espacial, o que pode ser consequência do composto **7** ser uma molécula relativamente grande (possui mais de 30 carbonos). Nesse caso, uma técnica mais adequada de RMN para análise da estereoquímica relativa é o ROE (Rotating frame Overhauser Enhancement), a qual foi realizada com irradiação também nos sinais de H-15, H-20 e H-21. O espectro de diferença de ROE com irradiação no sinal de H-21 (**Figura 14**) mostrou um fraco acoplamento espacial

entre H-21 ( $\delta$  5,93) e H-1' ( $\delta$  4,81). O espectro de ROE com irradiação no sinal em  $\delta$  3,69 mostrou acoplamento espacial com os sinais dos hidrogênios da glicose em  $\delta$  4,04 e  $\delta$  3,52-3,59. Esse acoplamento provavelmente refere-se a um dos hidrogênios H-6' da glicose e não ao sinal de H-15, uma vez que ambos possuem mesmo deslocamento químico.



**Figura 14.** Espectro de diferença de ROE com irradiação no sinal de H-21 (256 scans).



**Figura 15.** Espectro de diferença de ROE com irradiação no sinal de H-20 (512 scans).

O espectro de diferença de ROE com irradiação em H-20 ( $\delta$  2,59) (**Figura 15**) mostrou um fraco acoplamento espacial com o sinal de H-15 ( $\delta$  3,69), observado com 256 e 512 scans.

Esse resultado sugere que a estereoquímica relativa do composto **7** é *cis* para os hidrogênios H-15 e H-20, uma vez que foi observado o acoplamento

espacial entre eles. Além disso, propõe-se que ambos estejam em configuração *trans* ao H-21, já que não foi observado correlação desse hidrogênio com H-15 e H-20. Essa proposta confirma a configuração descrita na literatura.

Uma vez que os acoplamentos apresentaram baixa intensidade e a presença dos mesmos não exclui a possibilidade de outra configuração relativa, é necessário o uso de outras ferramentas para confirmar essa hipótese, tais como a comparação de deslocamentos químicos experimentais como teóricos de diferentes configurações. Assim, posteriormente serão realizados em colaboração com o professor Luiz Keng os cálculos teóricos das possíveis configurações do alcaloide **7** para correta atribuição da sua estereoquímica relativa.

É importante destacar que não há relato na literatura de estudo da estereoquímica relativa da unidade secologanina em alcaloides indólicos. A configuração *cis* entre H-15 e H-20 foi atribuída inicialmente considerando a formação biossintética de apenas um estereoisômero. A correta atribuição da estereoquímica relativa dos compostos é de fundamental importância principalmente na busca de protótipos de fármacos, uma vez que a mudança na estereoquímica pode mudar também a forma de ação biológica do medicamento.

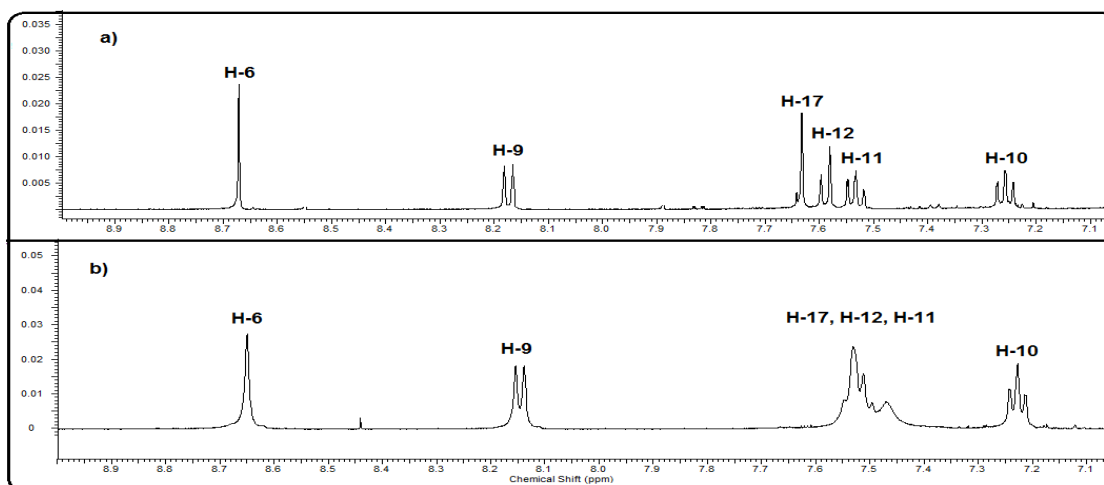
### 3.1.3. Ácido desoxicordifolínico

O composto **8**, isolado da fração diclorometano das folhas como um sólido incolor, apresentou coloração azul intensa sob luz UV (254 nm), reação positiva frente ao reagente de Dragendorff e  $[\alpha]_D^{25} - 83,0^\circ$  (*c* 0,265; MeOH)  $\{[\alpha]_D -45,7^\circ$  (MeOH, *c* 0,126) (ADEOYE; WAIGH, 1983)}. O espectro de ultravioleta evidenciou a presença da unidade  $\beta$ -carbolínica pelas bandas de absorção em 247, 295, 350 e 378 nm.

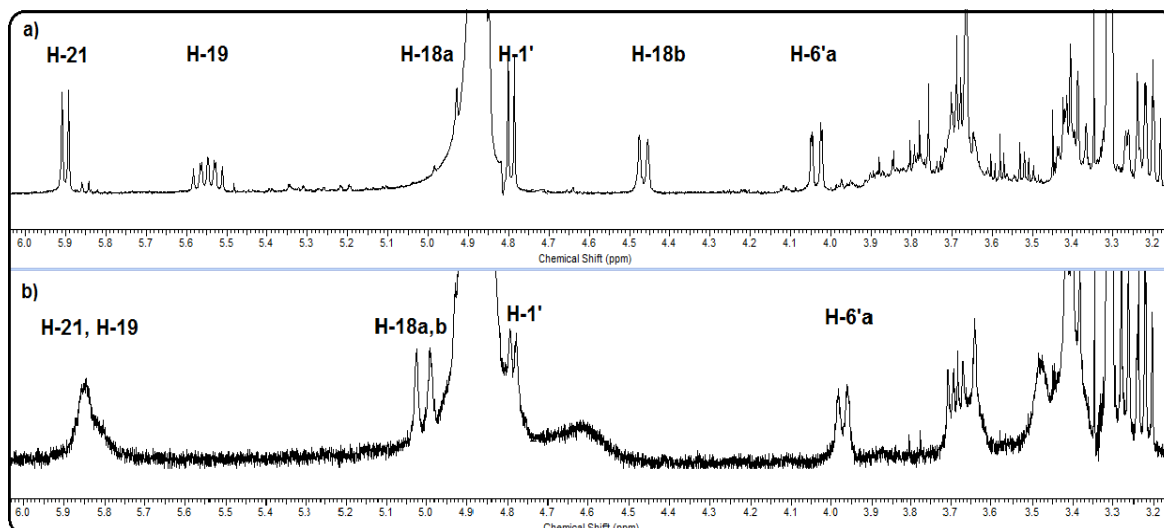
A análise dos dados de RMN  $^1\text{H}$ , HSQC e HMBC mostrou a presença das unidades  $\beta$ -carbolínica, secologanínica e glicosídica, com deslocamentos químicos semelhantes aos observados para o composto **8**. O sinal de singlete em  $\delta$  8,65 (1H) (**Figura 16**), correlacionado ao sinal de carbono carbonílico em

$\delta$  170,0 foi indicativo da presença do anel C substituído em C-5 da unidade  $\beta$ -carbolínica. Os sinais atribuídos aos hidrogênios aromáticos H-9 a H-12 (**Tabela 3**) mostram que o anel A da unidade  $\beta$ -carbolínica está não substituído. A unidade secologanina foi identificada pela presença do singlete em  $\delta$  7,53 (1H) (**Figura 16**), atribuído ao hidrogênio olefínico H-17, correlacionado com o carbono em  $\delta$  154,9 pelo espectro de HSQC. A unidade glicosídica foi identificada pelo sinal em  $\delta$  4,78 (*d*,  $J = 7,4$  Hz, 1H), cuja constante é indicativo da configuração  $\beta$  para o açúcar, além do complexo conjunto de sinais entre  $\delta$  3,0-4,0, referentes aos hidrogênios oximetínicos.

No entanto, algumas diferenças entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de **2** e **3** foram observadas, tais como a ausência do sinal de metila em  $\delta$  3,69, sugerindo que o composto **8** é o derivado ácido do alcaloide desoxicordifolina. Outras diferenças observadas foram os deslocamentos químicos dos sinais dos hidrogênios aromáticos do anel A (**Figura 16**), e dos hidrogênios olefínicos H-18 e H-19 (**Figura 17**).



**Figura 16.** Expansão na região de aromáticos dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) dos compostos: a) **7** e b) **8**.



**Figura 17.** Expansão da região entre 3,0-6,0 ppm dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) dos compostos: a) **7** e b) **8**.

**Tabela 3.** Dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC do composto **8** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125MHz e 500MHz, ppm) e comparação com a literatura (DMSO- $d_6$ , 20,1 MHz e 300 MHz, ppm).

Alcaloide 3				Ácido desoxicordifolínico (ADEOYE; WAIGH, 1983).	
Nº	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	HMBC	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1				-	11,93 (s, 1H, NH)
2	135,6	-	H6	136,0	-
3	143,6	-	H6	143,4	-
5	135,6	-	H6	135,7	-
6	116,2	8,65 (s, 1H)		114,8	8,77 (s, 1H)
7	128,7	-	H9	127,0	-
8	121,9	-	H6, H9, H10, H12	121,0	-
9	123,3	8,15 (d, $J=8,6\text{Hz}$ , 1H)	H10	121,7	8,36 (d, $J=8\text{ Hz}$ , 1H)
10	120,1	7,22 (t, $J=7,6$ , 1H)		119,8	7,30 (t, $J=7\text{ Hz}$ , 1H)
11	130,6	7,42-7,57 (m, 1H)	H6, H9, H10	128,0	7,58 (m, 1H)
12	113,5	7,42-7,57 (m, 1H)	H10	112,0	7,62 (m, 1H)
13	143,6	-	H9, H12	140,4	-
14	35,4	3,36-3,42 (m, 2H)		32,8	3,07-3,25 (m, 2H)
15	35,6	3,52-3,56 (m, 1H)		30,4	3,45 (m, 1H)
16	110,9	-		110,1	-
17	154,9	7,53 (s, 1H)		151,1	7,50 (s, 1H)
18	119,6	5,01 (d, $J=16,8\text{ Hz}$ , 1H) 4,90-4,94 (m, 1H)		118,2	4,90 (d, $J=10\text{ Hz}$ , 1H) 4,79 (d, $J=17\text{ Hz}$ , 1H)
19	135,6	5,67-5,79 (m, 1H)		134,1	5,7 (dt, $J=17, 10\text{ Hz}$ , 1H)
20	46,5	2,52-2,61 (m, 1H)	H18	43,3	2,64 (m, 1H)
21	97,7	5,75 (d, $J=6,7\text{ Hz}$ , 1H)	H1', H20	95,4	5,56 (d, $J=5\text{ Hz}$ , 1H)
22	170,0	-	H6	167,6	-
23	170,0	-		167,6	-
1'	100,6	4,78 (d, $J=7,4\text{ Hz}$ , 1H)	H21	98,3	4,59 (d, $J=8\text{ Hz}$ , 1H)
2'	74,8	3,13 (dd, $J=9,2, 7,9\text{ Hz}$ , 1H)	H1'	72,9	3,07-3,25 (m, 1H)
3'	79,0	3,17 (dd, $J=18,7, 9,6\text{ Hz}$ , 1H)	H4'	76,5	3,07-3,25 (m, 1H)
4'	72,0	3,17 (dd, $J=18,7, 9,6\text{ Hz}$ , 1H)	H6'	69,0	3,07-3,25 (m, 1H)
5'	78,3	3,26-3,35 (m, 1H)	H2'	77,1	3,07-3,25 (m, 1H)
6'	63,3	3,59 (dd, $J=12,0, 6,1\text{ Hz}$ , 1H) 3,90 (d, $J=11,5\text{ Hz}$ , 1H)	H4' ou H3'	60,9	3,69 (m, 2H)

A comparação dos dados de RMN uni e bidimensionais do composto **8** com a literatura (ADEOYE; WAIGH, 1983) permitiu a identificação do composto **8** como o alcaloide ácido desoxicordifolínico, que foi isolado de *Nauclea*

*diderrichi* (Rubiaceae) em 1983 e é relatado pela primeira vez no gênero *Psychotria*.

#### 3.1.4. $\beta$ -Sitosterol e estigmasterol glicosilados

A mistura de compostos **9** e **10**, isolada da fração diclorometano das folhas, galhos e frutos, apresentou-se como um sólido incolor amorfo solúvel em diclorometano/metanol. O espectro de infravermelho exibiu uma banda larga de absorção em  $3417\text{ cm}^{-1}$ , característica de estiramento O-H, e em  $2958$ ,  $2928$ ,  $2846\text{ cm}^{-1}$ , características de deformação axial de C-H. O estiramento relativo à ligação C=C é responsável pela banda de absorção em  $1645\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 500MHz) apresentou sinais característicos de esqueleto esteroidal em  $\delta$  5,38 (*d*,  $J= 5,2\text{ Hz}$ , H-6) de hidrogênio olefínico, um hidrogênio hidroximetínico (H-3) em  $\delta$  3,53 (*m*, H-3) e de grupos metílicos em  $\delta$  0,61-1,10. A presença da unidade glicosídica foi evidenciada pelos sinais em  $\delta$  4,41 (*d*,  $J=7.8\text{ Hz}$ , H-1') do hidrogênio anomérico da glicose e em  $\delta$  3,00-4,00 (*m*), referentes aos hidrogênios da glicose e do hidrogênio carbinólico (H-3). A configuração  $\beta$  de H-1' da porção glicosídica foi estabelecida através da constante de acoplamento diaxial ( $J= 7,8\text{ Hz}$ ) observada entre H-1' e H-2', de acordo com a literatura (CORREIA *et al.*, 2003). A presença de dois duplos dubletos em  $\delta$  5,15 ( $J = 15,3, 8,7\text{ Hz}$ ) e  $\delta$  5,02 ( $J = 15,3, 8,7\text{ Hz}$ ), atribuídos aos hidrogênios vinílicos H-22 e H-23, respectivamente, permitiram identificar a presença de estigmasterol, cuja ligação dupla da cadeia alquílica possui isomeria trans pelas constantes de acoplamento de  $15.3\text{ Hz}$ . A integração dos sinais  $\delta$  5,38 (H-6) e os dois duplos dubletos em  $\delta$  5,15 (H-22) e  $\delta$  5,02 (H-23) apresentou uma razão de 3:1:1, o que significa uma razão entre  $\beta$ -sitosterol (**4**) e estigmasterol (**5**) de 2:1. Por comparação dos dados espectrais de IV e de RMN uni e bidimensionais com dados da literatura (SUBHADHIRASAKUL *et al.*, 2005; FALCÃO, 2003; PAULO *et al.*, 2000; CORREIA *et al.*, 2003) e perfil cromatográfico em CCDA com padrão de referência, a mistura de compostos **9** e **10** foi identificada como  $3\beta$ -O- $\beta$ -D-glicopiranosil-sitosterol e  $3\beta$ -O- $\beta$ -D-glicopiranosil-estigmasterol, respectivamente.



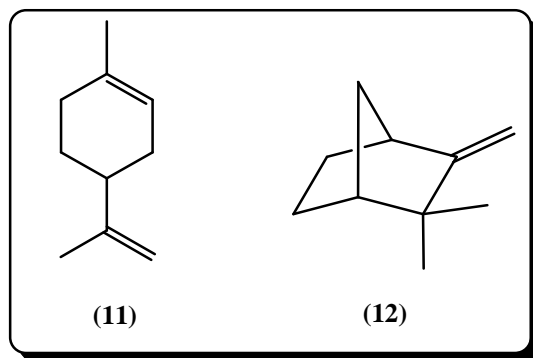
# Capítulo 2

## 4. Introdução

## 4. INTRODUÇÃO

### 4.1. Produtos naturais e a síntese orgânica

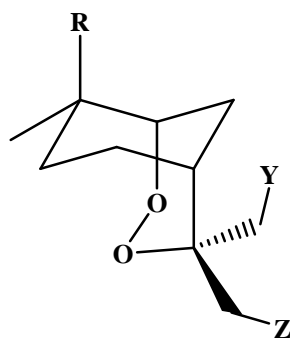
Moléculas de origem natural é uma importante fonte de fármacos ou protótipos de fármacos no desenvolvimento de novos medicamentos (NEWMAN; CRAGG, 2012; WILSON; DANISHEFSKY, 2006). O sucesso desta estratégia reside na especialização inerente à evolução bioquímica dos metabólitos secundários, resultado de um longo processo de seleção natural para fins biológicos (KOEHN; CARTER, 2005). Assim, características como potência, seletividade e farmacocinética, entre outros, colocam os produtos naturais e seus derivados em posição de vantagem na síntese de agentes terapêuticos (WILSON; DANISHEFSKY, 2006). Entretanto, para que um fármaco derivado de bioproduto seja inserido no mercado, o produto natural deve ser facilmente extraído ou preparado. Neste contexto, os terpenos, tais como o limoneno (**11**) e o canfeno (**12**) (**Figura 18**), assumem papel de destaque devido à disponibilidade no mercado nacional. Além disso, eles são conhecidos por apresentarem diversos tipos de atividade biológica. Por exemplo, o *R*-(+)-limoneno possui atividades quimioterápica e quimiopreventiva (CROWELL *et al.*, 1991) e antimalárica (MOURA *et al.*, 2001) e o (-)-canfeno possui relevante atividade inseticida (VIEGAS JÚNIOR, 2003).



**Figura 18.** Terpenos abundantes com propriedades farmacológicas.

Devido aos seus grupos funcionais, esses terpenos são utilizados como auxiliares quirais em síntese assimétrica ou como “blocos construtores” na busca de novas substâncias biologicamente ativas (FERRARINI *et al.*, 2008). Por exemplo, derivados sintéticos do *R*(+)-limoneno, tais como endoperóxidos sulfonados (13), apresentaram relevante atividade antimalárica (**Tabela 4**). Estas substâncias exibiram atividade antimalárica *in vitro* comparável à droga comercial utilizada artemisinina (BACHI *et al.*, 1998).

**Tabela 4.** Atividade antimalárica de derivados endoperóxidos sulfonados do *R*(+)-limoneno contra *P. falciparum* (NF 54) *in vitro*.



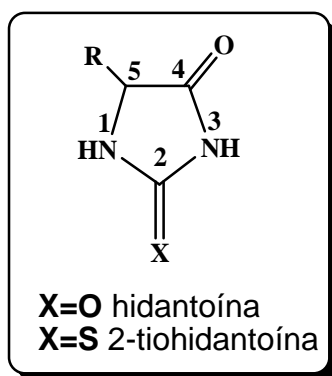
(13)

	R	Y	Z	IC <sub>50</sub> (nM)
<b>13a</b>	OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> OMe- <i>p</i>	PhSO <sub>2</sub>	H	14
<b>13b</b>	OAc	PhSO <sub>2</sub>	H	17
<b>13c</b>	OAc	H	PhSO <sub>2</sub>	17
<b>13d</b>	OC(O)C(O)NBn <sub>2</sub>	PhSO <sub>2</sub>	H	21
	<b>artemisina</b>			9,3

## 4.2. Tiohidantoínas e tioureias

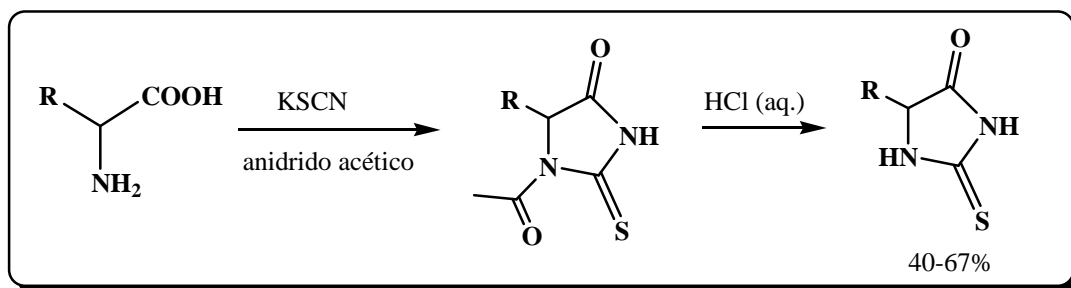
### 4.2.1. Hidantoínas e tiohidantoínas

Dentro do grupo dos anéis heretocíclicos sintéticos, as hidantoínas, ou imidazolidina-2,4-dionas, e seus análogos de enxofre em C-2 (**Figura 19**) são uma classe de compostos de especial interesse devido ao seu potencial como protótipos de fármacos. Além disso, este pequeno e rígido heterociclo ilustra um interessante esqueleto em química combinatória, uma vez que ele possui uma estrutura que permite a substituição em três pontos do anel (C-5, N-1 e N-3) (LAMOTHE *et al.*, 2002).



**Figura 19.** Sistema de numeração em anéis hidantóicos e 2-tiohidantóicos.

Uma das primeiras metodologias de síntese de tiohidantoínas, substituídas em C-5, foi desenvolvida por Johnson e Nicolet (1911). Segundo essa metodologia, as tiohidantoínas são sintetizadas a partir de aminoácidos e KSCN em anidrido acético, sob refluxo, seguida de hidrólise em solução de HCl diluído (**Esquema 1**).



**Esquema 1.** Rota sintética de tiohidantoínas derivadas de aminoácidos a partir de KSCN em anidrido acético.

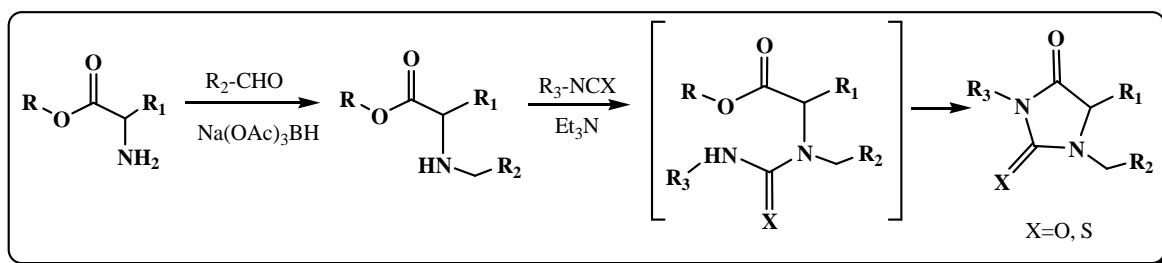
Posteriormente, variações da metodologia de Johnson e Nicolet foram descritas na literatura usando outros sais de tiocianato, tais como de amônio (CROMWELL e STARK, 1969) e de sódio (SWAN\*, 1951 e YAMASHITA\*, 1971

\* Swan, J. M. Nature, v. 169, p. 826–828, 1951.

\* Yamashita, S. Biochim. Biophys. Acta, v. 229, n. 2, p. 301–309, 1971.

apud MO *et al.*, 1997). A baixa solubilidade de alguns aminoácidos, a reatividade da cadeia lateral e a natureza relativamente instável do anel tiohidantoínico são limitações de uma síntese satisfatória dos 20 aminoácidos existentes segundo essa metodologia. Mo e colaboradores (1997) propuseram um novo método de síntese de tiohidantoínas derivadas de aminoácidos a partir de cloreto de acetila como reagente ativador da carboxila e isotiocianato de trimetilsilano (TMS-NCS).

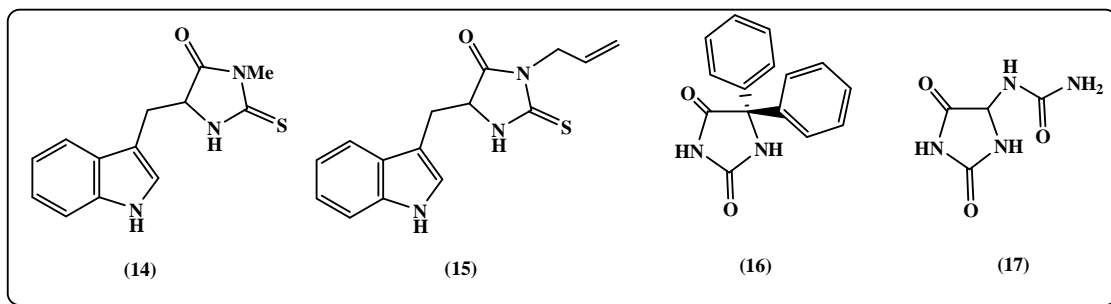
Nesse mesmo ano, Sim e Ganesan relataram uma metodologia *one-pot* de síntese de tiohidantoínas totalmente substituídas (**Esquema 2**) por meio da reação de ésteres de aminoácidos, aldeídos aromáticos e isotiocianatos na presença de  $\text{NaBH}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_3$  (agente redutor) (SIM e GANESAN, 1997).



**Esquema 2.** Metodologia de síntese de hidantoínas e tiohidantoínas totalmente substituídas.

Posteriormente, metodologias de reações com irradiação em micro-ondas foram testadas na síntese de tiohidantoínas (LIN e SUN, 2003). Aminoácidos protegidos com o grupo fluorenilmetiloxicarbonila (Fmoc) foram acoplados ao polímero polietilenoglicol (PEG) e depois desprotegidos, reagindo com isotiocianatos. A ligação dos compostos de tioureia e PEG passou pelo passo de ciclização/clivagem mediada por base em aquecimento com irradiação em micro-ondas resultando nos produtos em solução em alta pureza e bons rendimentos.

Metodologias de síntese de hidantoínas e tiohidantoínas em suporte sólido também foram relatadas na literatura (DREESMAN *et al.*, 1996; WU e JANUSZ, 2000) e apresentaram bons rendimentos e fácil purificação. Segundo essa metodologia, é possível sintetizar hidantoínas e tiohidantoínas (LAMOTHE *et al.*, 2002) totalmente substituídas.

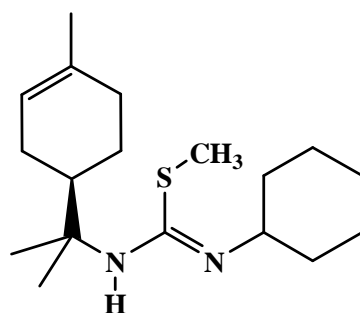


**Figura 20.** Tiohidantoínas e hidantoínas bioativas.

A literatura apresenta para as hidantoínas e tiohidantoínas um largo espectro de atividades biológicas, tais como ação antifúngica (MARTON *et al.*, 1993), antiviral (EL-BARBARY *et al.*, 1994), antibacteriana (FROELICH *et al.*, 1954), anticonvulsiva (CORTES *et al.*, 1985) e antitumoral (AL-OBAID *et al.*, 1996). Dentro do grupo de compostos hidantoinicos ainda em estudo, destacam-se as tiohidantoínas derivadas do triptofano, tais como necrostatina-1 (14) e (15) (Figura 20), que apresentaram atividades antinecrótica e antimutagênica, respectivamente (TENG *et al.*, 2005; TAKAHASHI *et al.*, 1998). De fato, o núcleo hidantoinico tem causado um grande impacto na indústria farmacêutica, visto que vários fármacos contendo esse anel heterocíclico são utilizados na clínica. Alguns exemplos são a fenitoína (16) (Figura 20) (Dilantin® EUA) amplamente utilizado no mundo como anticonvulsivo no tratamento de crises epilépticas, e a alantoína ou 5-ureído-hidantoína (17) (Figura 20), que possui atividade cicatrizante (nomes comerciais: Alantan® e Septalan® Polônia; Egopsoryl® Austrália) (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

#### 4.2.2. Tioureias

Outra classe de compostos sintéticos, importante em química medicinal e precursora sintética de tiohidantoínas, são as tioureias, que se destacam principalmente pelas atividades antifúngica (RAMADAS *et al.*, 1998) e antitumoral (MANJULA *et al.*, 2009). Derivados do *R*-(+)-limoneno contendo uma unidade tioureia apresentaram atividades antiproliferativa frente a nove linhagens de células tumorais, com valores de  $GI_{50}$  na faixa de 0,41 a 3,0  $\mu\text{molL}^{-1}$ , sendo que o composto (18) (Figura 21) mostrou-se mais ativo ( $GI_{50}$  0,41  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) para células do tipo K-562 (FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

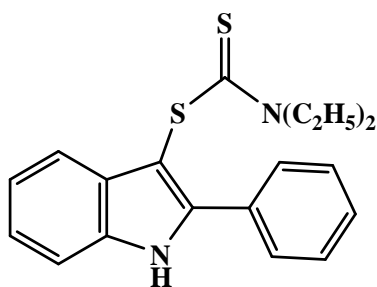


(18)

**Figura 21.** Tiourea metilada derivada do limoneno, ativa contra células leucêmicas do tipo K-562.

#### 4.2.3. Núcleo indólico

Como descrito em recente revisão (SHARMA *et al.*, 2010), o núcleo indólico é um importante grupo farmacofórico em química medicinal e também apresenta um largo espectro de atividades biológicas. Entre elas, destacam-se as atividades antifúngica, anti-inflamatória, analgésica e anticancerígena. Dentre os compostos indólicos com ação antifúngica, destaca-se o composto (19) (**Figura 22**) e derivados com diferentes grupos substituintes nos anéis aromáticos (PRZHEVAL'SKII *et al.*, 1997).



(19)

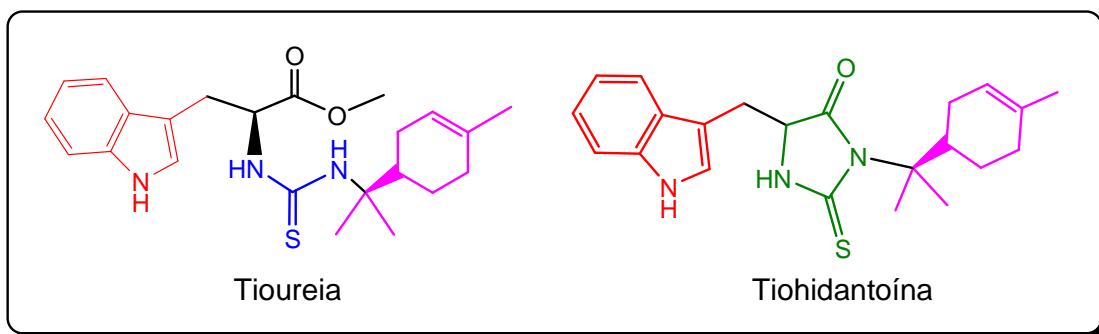
**Figura 22.** Ditiocarbamato indólico (19) com ação antifúngica.

A fonte natural do núcleo indólico é o aminoácido triptofano, que é o principal precursor de derivados naturais tais como os alcaloides. Como mencionado na introdução do capítulo anterior, estudos realizados no grupo de pesquisa em Química de Produtos Naturais em colaboração com o grupo de Biologia Molecular do ICB/UFG mostraram que alcaloides do tipo indólicos

apresentam atividade antifúngica (SILVA NETO *et al.*, 2012) e são inibidores de enzimas relacionadas a doenças neurodegenerativas (PASSOS *et al.*, 2013).

Assim, em função do reconhecido potencial antifúngico e antitumoral das tiohidantoínas, das tioureias e do núcleo indólico, este estudo prevê a associação destes importantes grupos com o monoterpene bioativo *R*-(+)-limoneno (**Figura 23**) com o objetivo de estudar o efeito cooperativo destes farmacóforos na atividade antifúngica frente à *Paracoccidioides brasiliensis* e suas enzimas patógeno-específicas. Com intuito de ampliar o estudo, utilizaram-se também outros aminoácidos, tais como a tirosina, a fenilalanina, como reagente de partida das tioureias e tiohidantoínas terpênicas.

A ação antifúngica dos compostos gerados neste estudo será avaliada dentro da colaboração do IQ/UFG com o Departamento de Biologia Molecular do ICB/UFG.



**Figura 23.** Grupos farmacofóricos com potencial atividade antifúngica e antitumoral.



## 5. *Objetivos*

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo Geral**

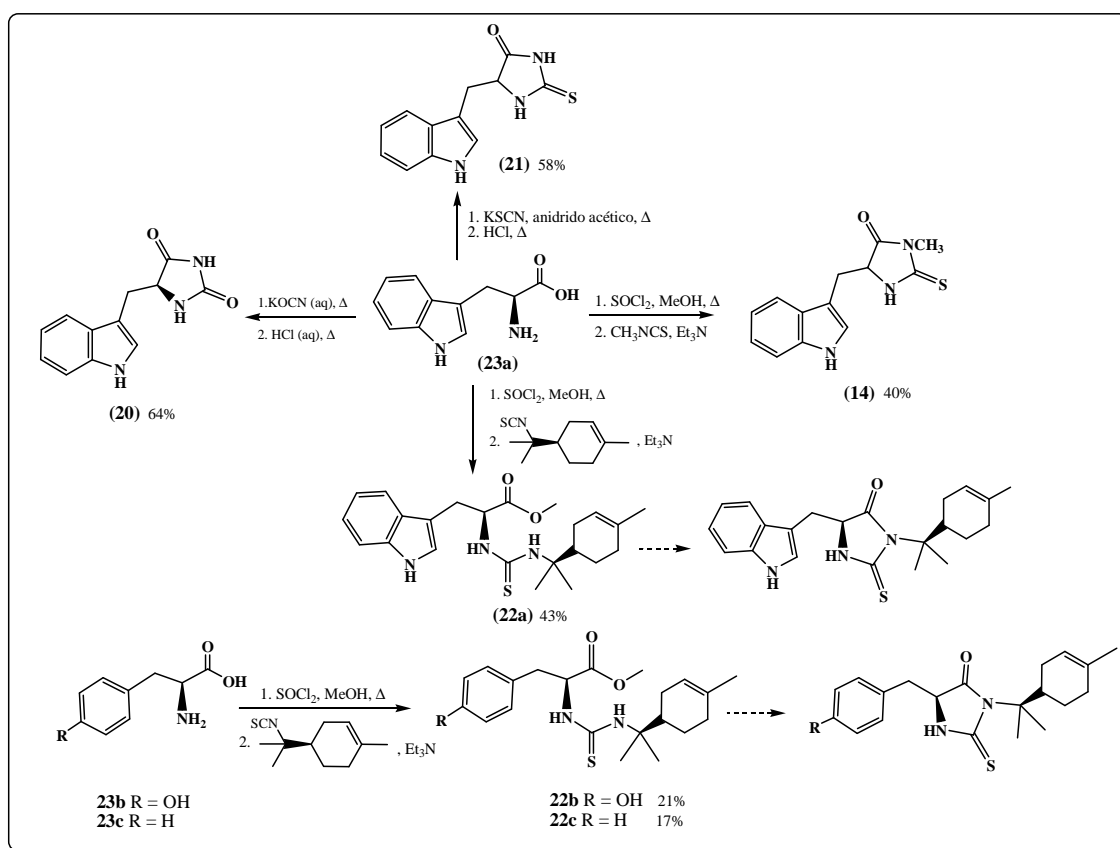
Este trabalho tem como objetivo geral sintetizar tiohidantoínas e tioureias derivadas de aminoácidos e do *R*-(+)-limoneno, com potencial atividade antifúngica e antitumoral.

### **5.2. Objetivos Específicos**

- Sintetizar a hidantoína derivada do triptofano;
- Sintetizar tiohidantoínas com diferentes grupos substituintes em N-3;
- Sintetizar as tioureias derivadas de aminoácidos e do *R*-(+)-limoneno.

## 6. Resultados e discussão

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO



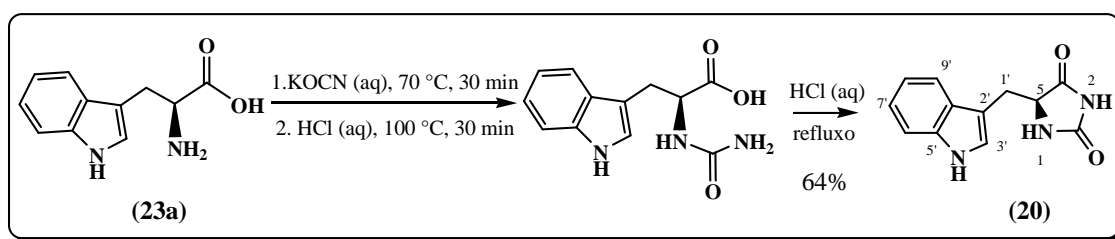
**Esquema 3.** Rota sintética de tioridantóinas e tioureias derivadas de aminoácidos (rendimento em porcentagem).

No desenvolvimento desse trabalho, inicialmente foram sintetizadas a hidantoína (20) e as tioridantóinas (21) e (14), derivadas do triptofano (Esquema 3), segundo as metodologias de Patching (2011) (Esquema 4), Johnson e Nicolet (1911) (Esquema 5) e de Teng e colaboradores (2005) (Esquema 6), respectivamente, com o intuito da avaliação da atividade

antifúngica e antiproliferativa dos compostos em colaboração com o Departamento de Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás, bem como da avaliação da inibição de enzimas relacionadas a desordens neurodegenerativas.

Posteriormente, foi realizada a síntese das novas tioureias (**22a-c**), precursoras das tiohidantoínas terpênicas derivadas dos aminoácidos triptofano, tirosina e fenilalanina, respectivamente, por meio da metodologia de Teng e colaboradores, usada na síntese da tiohidantoína (**14**) (**Esquema 7**). Para isso, o isotiocianato do limoneno (**26**) foi sintetizado segundo a metodologia descrita na literatura por Silva e colaboradores (**Esquema 8**) (SILVA *et al.*, 2010). Os compostos sintetizados foram caracterizados por análise dos espectros de absorção na região do infravermelho (IV), de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (apresentados no Anexo B, p. 114) e dados de rotação específica.

### 6.1. Síntese da hidantoína (**20**).



**Esquema 4.** Rota de síntese da hidantoína (**20**).

A síntese da 5-indolmetil-*L*-hidantoína (*L*-IMH) (**20**) foi baseada na metodologia de Patching (2011). O *L*-triptofano (**23a**) foi aquecido com um excesso de tiocianato de potássio. A solução então foi acidificada para dar um precipitado fino incolor de *N*-carbamoil-*L*-triptofano. O refluxo do precipitado em HCl seguido de resfriamento produziu cristais incolores de *L*-IMH. Os cristais foram lavados até pH neutro para remoção de resíduo de *N*-carbamoil-*L*-triptofano. Após esse tratamento foi obtido o sólido cristalino incolor ( $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -72,0^\circ$  (c 1,0, MeOH/DMSO), p.f. 240-242 °C) com 64% de rendimento.

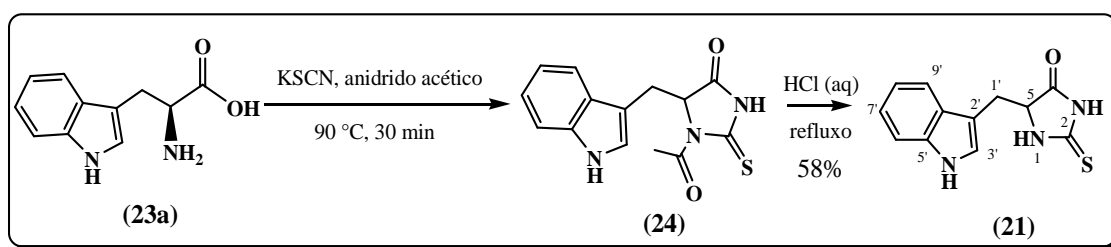
Na etapa de remoção do intermediário *N*-carbamoil-*L*-triptofano, o pH foi mantido entre 7-8, para evitar a racemização de hidantoínas derivadas de aminoácidos, que ocorre em  $\text{pH} \geq 9$ , segundo descrito por Patching (2011).

A caracterização estrutural da hidantoína (**20**) foi realizada por meio das técnicas de Espectroscopia no Infravermelho (IV) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ .

O espectro de infravermelho apresentou duas bandas de absorção em 1772 e 1713  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento simétrico e assimétrico das carbonilas *quasi*-simétricas, respectivamente (KLEINPETER *et al.*, 2003), sendo a primeira banda duas vezes menos intensa que a segunda, característico de esqueleto hidantoínico. As bandas observadas em 3401, 3317, 3216  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento das ligações N-H.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da hidantoína (**20**) apresentou os sinais atribuídos aos hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,54 (*dl*,  $J=7,9$  Hz, H-6'),  $\delta$  7,32 (*dt*,  $J=7,9, 1,0$  Hz, H-9'),  $\delta$  7,05 (*ddd*,  $J=7,9, 7,0, 0,8$  Hz, H-8') e  $\delta$  6,95 (*ddd*,  $J=7,9, 7,0, 1,0$  Hz, H-7'), característicos da unidade indólica. Os sinais em  $\delta$  4,30 (*tl*,  $J=4,9$  Hz, 1H) e  $\delta$  3,06 (*d*,  $J=4,9$  Hz, 2H) foram atribuídos ao hidrogênio H-5 do anel hidantoínico e aos hidrogênios metilênicos H-1', respectivamente. Além disso, são observados singletos atribuídos aos hidrogênios ligados a nitrogênio em  $\delta$  7,89 (NH-4'), 10,89 (NH-3) e 10,36 (NH-1). Por comparação com dados da literatura (Patching, 2011), o conjunto de sinais apresentados é compatível com a 5-indolmetil-L-hidantoína (**20**).

## 6.2. Síntese da tiohidantoína (**21**).



**Esquema 5.** Rota de síntese da tiohidantoína (**21**).

A síntese da 5-indolmetil-tiohidantoína (**21**) foi realizada com base na metodologia em duas etapas de Johnson e Nicolet (1911). Segundo essa metodologia, o triptofano (**23a**) é inicialmente macerado com KSCN e em seguida, colocado sob refluxo com anidrido acético por 30 minutos, gerando o intermediário (**24**) com 62% de rendimento.

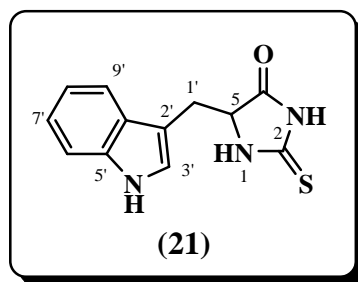
O intermediário 1-acetil-5-indolmetil-tiohidantoína (**24**) foi caracterizado por espectro de RMN  $^1\text{H}$  sem prévia purificação. No espectro, foram

observados os sinais dos hidrogênios aromáticos característicos de anel indólico em  $\delta$  7,42 (*d*,  $J= 8,0$  Hz), 7,29 (*d*,  $J= 8,0$  Hz), 7,05 (*t*,  $J= 8,0$  Hz) e 6,97 (*t*,  $J= 8,0$  Hz). O sinal observado em  $\delta$  6,92 (*s*, 1H) foi atribuído ao hidrogênio H-3' do anel indólico. O sinal do hidrogênio H-5 do hidantoínico foi observado em  $\delta$  4,87 (*dd*,  $J= 5,7, 2,3$  Hz) e dos hidrogênios diastereotópicos H-1' foram observados em  $\delta$  3,69 (*dd*,  $J= 15,0, 5,7$  Hz) e em  $\delta$  3,38 (*dd*,  $J= 15,0, 2,3$  Hz). A metila do grupo acetil foi observada em  $\delta$  2,63 (*s*, 3H). Esse conjunto de sinais observados é compatível com o intermediário 1-acetil-5-indolmetil-tiohidantoína (**26**).

O intermediário foi submetido à etapa de hidrólise em HCl sob refluxo. A purificação da reação por cromatografia em coluna de sílica gel resultou no isolamento de um sólido amorfo marrom alaranjado, com rendimento total de 58%.

O espectro de infravermelho do composto (**21**) apresentou bandas de absorção em  $3601-3210\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento de ligação N-H; em  $1748\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento da ligação C=O do anel tiohidantoínico; em  $1525\text{ cm}^{-1}$ , atribuída, provavelmente, ao estiramento da ligação N-C=S; e em  $744\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à deformação angular fora do plano de C-H de anel aromático *orto*-substituído.

Por comparação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da tiohidantoína (**21**) com o espectro do intermediário, observou-se o desaparecimento do sinal em  $\delta$  2,63, correspondente ao grupo acetil ligado à hidantoína. Destacam-se os sinais em  $\delta$  4,47 (*dd*,  $J= 5,7, 4,6$  Hz, H-5), atribuído ao hidrogênio H-5 do anel tiohidantoínico, e em  $\delta$  3,28 (*ddd*,  $J= 15,0, 4,6, 0,8$  Hz, H-1'a) e  $\delta$  3,22 (*ddd*,  $J= 15,0, 5,7, 0,5$  Hz, H-1'b) atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram observados 12 sinais de carbono, dentre os quais se destacam os sinais atribuídos à carbonila C-4 em  $\delta$  176,3 e à tiocarbonila C-2 em  $\delta$  184,0. Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  encontram-se na tabela 5.



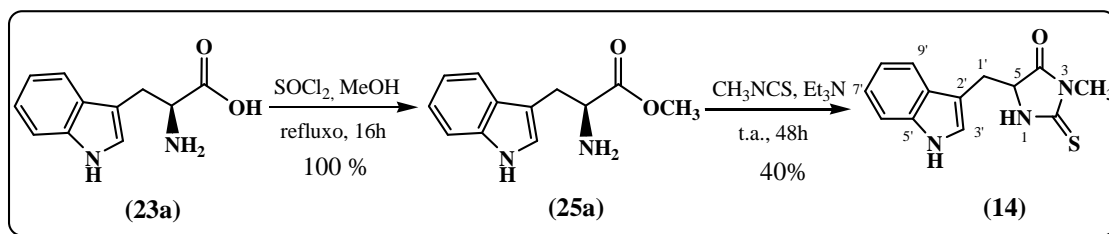
**Tabela 5.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto **21** (MeOD, 500 e 125 MHz).

Nº	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	-	n.o.
2	184,0	-
3	-	n.o.
4	176,3	-
5	62,9	4,47 (dd, $J=5,7, 4,6$ Hz, 1H)
1'	27,5	3,28 (ddd, $J=15,0, 4,6, 0,8$ Hz, 1H) 3,22 (ddd, $J=15,0, 5,7, 0,5$ Hz, 1H)
2'	109,3	-
3'	125,0	7,11 (s, 1H)
4'	-	n.o.
5'	137,5	-
6'	112,2	7,31 (dt, $J=8,0, 1,0$ Hz, 1H)
7'	122,2	7,08 (ddd, $J=8,0, 7,0, 1,0$ Hz, 1H)
8'	119,8	7,00 (ddd, $J=7,7, 7,0, 1,0$ Hz, 1H)
9'	119,4	7,57 (dt, $J=7,7, 1,0$ Hz, 1H)
10'	128,6	-
CH <sub>3</sub>		

n.o.: não observado.

O valor de rotação específica de  $[\alpha]_D^{24} = 0^\circ$  (c 0,51, MeOH) é indicativo da racemização em C-5 segundo a metodologia utilizada. Um estudo cinético recente de tiohidantóinas (CABORDERY *et al.*, 2011) mostrou que a racemização provavelmente ocorre através do tautomerismo ceto-enólico via mecanismo de substituição eletrofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{E}2}$ ).

### 6.3. Síntese da tiohidantóina (14).



**Esquema 6.** Rota de síntese da tiohidantóina (14).

A síntese da tiohidantóina (14) foi realizada com base na metodologia de Teng e colabores (2005). De acordo com essa metodologia, inicialmente foi feita a esterificação do *L*-triptofano (23a), com o intuito de aumentar a



reatividade do grupo carbonila e assim favorecer a ciclização do anel hidantoínico pela amina do grupo tioureia na segunda etapa. Para isso, uma metodologia clássica de esterificação que utiliza H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH sob refluxo por 24 horas foi testada. No entanto, após tratamento da reação com solução de bicarbonato de sódio saturada para consumir excesso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e extração com acetato de etila, não foi observada a recuperação do produto. Após análises por RMN da fração aquosa da reação, observou-se que o produto (**25a**) foi formado com baixos rendimentos.

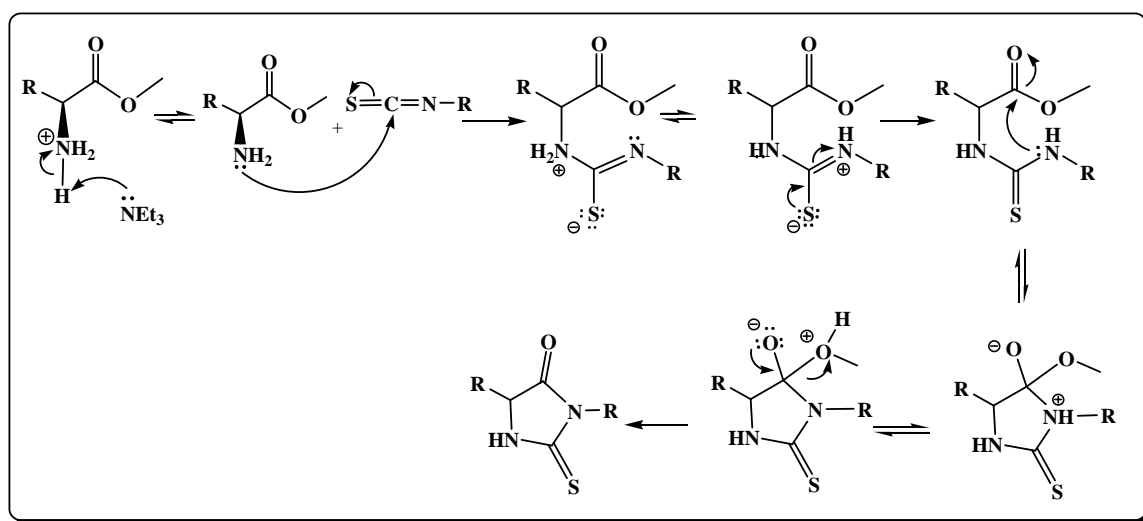
Assim, a metodologia adaptada de Tang e colaboradores (2008), que utiliza SOCl<sub>2</sub> recém-destilado em MeOH seco, foi utilizada para obtenção do aminoácido esterificado. A reação foi mantida sob refluxo por 16 horas e a mistura de reação foi lavada com éter etílico. O produto (**25a**) foi obtido na forma de um sólido amorfo em excelente rendimento (99%) e rotação específica de  $[\alpha]_D^{24} +11,8^\circ$  (c 2,0, MeOH)  $\{[\alpha]_D^{20} +18,0^\circ$  (c 3,0, MeOH) GROŠELJ *et al.*, 2004}.

Segundo essa metodologia, o SOCl<sub>2</sub> reage com o grupo ácido do triptofano, formando o cloreto de acila correspondente ao aminoácido *in situ*, que prontamente reage com MeOH para formação do éster.

O espectro de infravermelho do produto (**25a**) apresentou bandas de absorção em 3292 e 3265 cm<sup>-1</sup>, referentes aos estiramentos da ligação N-H e uma banda em 1750 cm<sup>-1</sup>, característico de estiramento da ligação C=O de cloridrato de éster de aminoácido. Além disso, foi observada também uma banda larga de 3130-2550 cm<sup>-1</sup>, resultado da sobreposição de bandas referentes aos estiramentos de ligação NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, C-H de aromático, CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>. No espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto (**25a**) destaca-se a presença do sinal em  $\delta$  3,79 (s, 3H), atribuído ao grupo metoxila do éster.

Após a identificação do intermediário (**25a**), foi realizada a síntese da tiohidantoína (**14**) através da reação de (**25a**) com isotiocianato de metila em diclorometano e Et<sub>3</sub>N por 48h em temperatura ambiente. Após purificação por cromatografia em coluna e recristalização com hexano:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH, o produto (**14**) foi obtido na forma de cristais alaranjados {p.f. 155-157°C; lit.(MORODER, 2010): 152-154°C} e rendimento de 40%.

A trietilamina foi adicionada com o intuito de tornar o nitrogênio do grupo amino mais nucleofílico para ataque no carbono do grupo isotiocianato do  $\text{CH}_3\text{NCS}$ . Segundo o mecanismo proposto para essa reação (**Figura 24**), o grupo amino do aminoácido ataca o carbono eletrofílico do grupo isotiocianato, gerando um intermediário imínico, que após trocas protônicas, forma a unidade de tioureia. Em seguida, ocorre o ataque do nitrogênio N-3 à carbonila do éster por uma adição-eliminação nucleofílica, formando um intermediário tetraédrico. Após a regeneração da carbonila e liberação de metanol obtém-se o anel tiohidantoínico.

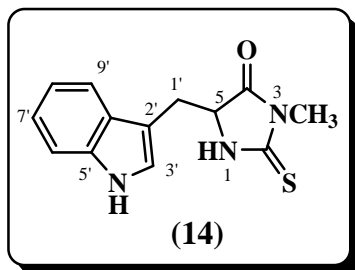


**Figura 24.** Mecanismo de formação de tiohidantoínas.

O espectro de infravermelho da tiohidantoína (**14**) apresentou bandas de absorção na região de  $3387\text{-}3220\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento das ligações N-H; em  $1729\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento da ligação C=O do anel tiohidantoínico; em  $1515\text{ cm}^{-1}$ , atribuído ao estiramento da ligação C=S; e em  $1281$  e  $1232\text{ cm}^{-1}$ , provavelmente atribuído ao acoplamento vibracional de bandas de deformação axial da ligação N-C=S.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da tiohidantoína (**14**), destacam-se os sinais em  $\delta$  3,20 (s, 3H) atribuído à metila ligada ao nitrogênio N-3 e em  $\delta$  4,35 (*ddd*,  $J = 9,9, 3,8, 1,3\text{ Hz}$ , 1H) atribuído ao hidrogênio metínico  $\alpha$ -carbonílico H-5. Os sinais dos hidrogênios diastereotópicos H-1' foram observados em  $\delta$  3,49 (*ddd*,  $J = 14,7, 3,8, 0,8\text{ Hz}$ , 1H) e  $\delta$  2,98 (*ddd*,  $J = 14,7, 9,9, 0,4\text{ Hz}$ , 1H). O espectro apresenta ainda os sinais característicos da unidade indólica em  $\delta$  7,58 (H-9'),  $\delta$  7,15 (H-8'),  $\delta$  7,22 (H-7'),  $\delta$  7,38 (H-6') e  $\delta$  7,08 (H-3'). No espectro de RMN

de  $^{13}\text{C}$ , destacam-se os sinais em  $\delta$  27,1, atribuído à metila ligada a nitrogênio N-3, e os sinais da carbonila (C-4) em  $\delta$  174,6 e da tiocarbonila (C-2) em  $\delta$  183,7. Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  encontram-se na tabela 6.



**Tabela 6.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto **14** ( $\text{CDCl}_3$ , 500 e 125 MHz).

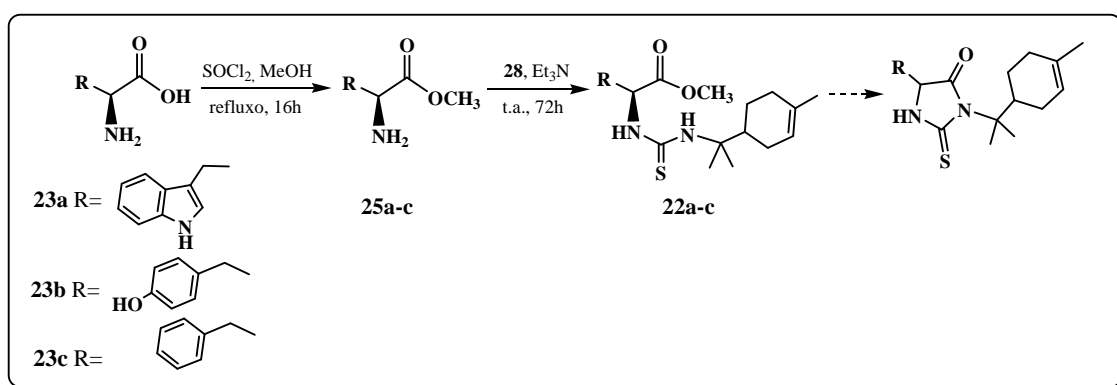
$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
-	3,46 (sl, 1H)
183,7	-
-	-
174,6	-
60,0	4,35 (ddd, $J=9,9, 3,8, 1,3$ Hz, 1H)
27,1	3,49 (ddd, $J=14,7, 3,8, 0,8$ Hz, 1H)
	3,22 (ddd, $J=14,7, 9,9, 0,4$ Hz, 1H)
107,7	-
123,4	7,08 (d, $J=2,4$ Hz, 1H)
-	8,15 (sl, 1H)
136,1	-
111,1	7,38 (dt, $J=8,0, 1,1$ Hz, 1H)
121,5	7,22 (ddd, $J=8,0, 7,1, 0,8$ Hz, 1H)
118,9	7,15 (ddd, $J=7,9, 7,1, 1,1$ Hz, 1H)
117,8	7,58 (dt, $J=7,9, 0,8$ Hz, 1H)
126,6	-
26,7	3,20 (s, 3H)

Os dados de rotação específica do composto (**14**) de  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = 0^\circ$  (c 1,74,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) é indicativo da racemização em C-5, de acordo com a literatura (EDMAN, 1950).

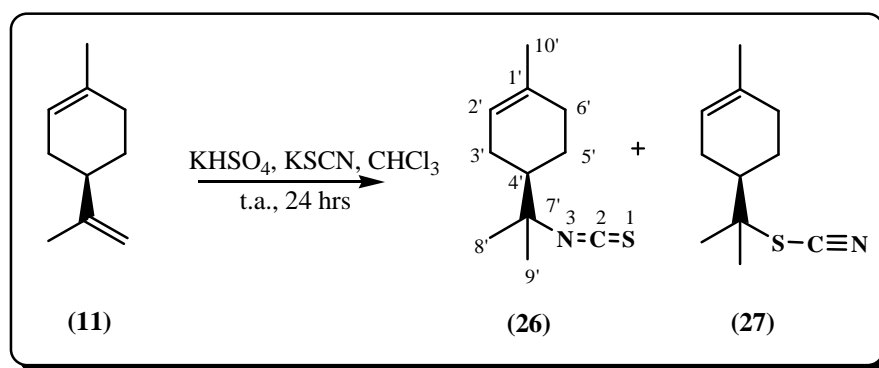
#### 6.4. Síntese das tioureias (22a-c).

Na síntese de tioureias derivadas de aminoácidos e do terpeno *R*-(+)-limoneno, utilizou-se a metodologia de Teng e colaboradores (2005). Os ésteres dos aminoácidos *L*-tirosina e *L*-triptofano foram preparados segundo a metodologia adaptada de Tang e colaboradores (2008) (**Esquema 7**, etapa 1) e o isotiocianato de *R*-(+)-limoneno (**26**) foi preparado segundo a metodologia de Silva e colaboradores (2010) (**Esquema 8**).

A literatura apresenta diversas metodologias de síntese das tiohidantoínas com a introdução de diferentes grupos substituintes nas posições N-1, N-3 e C-5. Dentre as que se referem à introdução de substituintes em N-3, destaca-se a de Teng e colaboradores (2005), devido ao pequeno número de etapas, à fácil disponibilidade dos reagentes e principalmente, à formação de tioureias como precursores sintéticos. Segundo essa metodologia, as tioureias e, em seguida, as tiohidantoínas são geradas através da reação de ésteres de aminoácidos com diferentes isotiocianatos em presença de trietilamina a temperatura ambiente (**Esquema 7**, etapa 2).



**Esquema 7.** Proposta de síntese de tiohidantoínas derivadas de aminoácidos e *R*-(+)-limoneno.



**Esquema 8:** Sínteses do isotiocianato (26) e tiocianato (27) do *R*-(+)-limoneno.

#### 6.4.1. Esterificação dos aminoácidos *L*-tirosina e *L*-fenilalanina.

O aminoácido *L*-tirosina (23b) foi esterificado utilizando as metodologias de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH e de SOCl<sub>2</sub>/MeOH. Ao contrário do *L*-triptofano (23a), ambas as metodologias resultaram na esterificação do aminoácido *L*-tirosina, em baixo (25%) e moderado (58%) rendimentos, respectivamente.

Segundo a metodologia de SOCl<sub>2</sub>/MeOH, o aminoácido *L*-tirosina foi suspenso em 30 mL de MeOH seco e 1,6 mL de SOCl<sub>2</sub> previamente

destilado foi adicionado gota a gota. O sistema foi mantido sob refluxo por 16h. Após solubilização da mistura com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e extração com acetato de etila, o produto foi obtido na forma de cristais incolores com ponto de fusão de 133-135°C {134-135 °C (Yamada *et al.*, 2007)} e rotação específica de  $[\alpha]_D^{24} +23,0^\circ$  (c 2,0, MeOH)  $\{[\alpha]_{578}^{20} +30,1^\circ$  (c 3,1, MeOH) Ganbaatar *et al.*, 2002}.

O espectro no infravermelho do produto (**25b**) apresentou bandas de absorção em 3445 cm<sup>-1</sup>, característica de deformação axial de ligação N-H de aminas; 1745 cm<sup>-1</sup>, característica do estiramento da ligação C=O de éster; em 1389 e 1448 cm<sup>-1</sup>, correspondentes às deformações angulares simétrica e assimétrica da ligação C-H do grupo metila; em 1180 cm<sup>-1</sup>, característica do estiramento da ligação C-O de éster.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/MeOD, 500 MHz) do produto (**25b**) destaca-se a presença de um sinal de metila em  $\delta$  3,75 (s, 3H) correlacionado ao sinal de carbono em  $\delta$  51,4 pelo espectro de HSQC. Outros sinais observados no espectro foram um par de sinais em  $\delta$  6,69 (*m*, 2H) e 6,95 (*m*, 2H) com um padrão de acoplamento AA'BB' de anel aromático *para*-substituído; em  $\delta$  2,92 (*dd*, *J*=13,7; 5,5 Hz, 1H) e 2,74 (*dd*, *J*=13,7; 7,4 Hz, 1H), atribuídos ao grupo de hidrogênios diastereotópicos; e, por fim, o sinal em  $\delta$  3,60 (*dd*, *J*=7,4; 5,5 Hz, 1H), atribuído ao hidrogênio metínico  $\alpha$ -carbonílico.

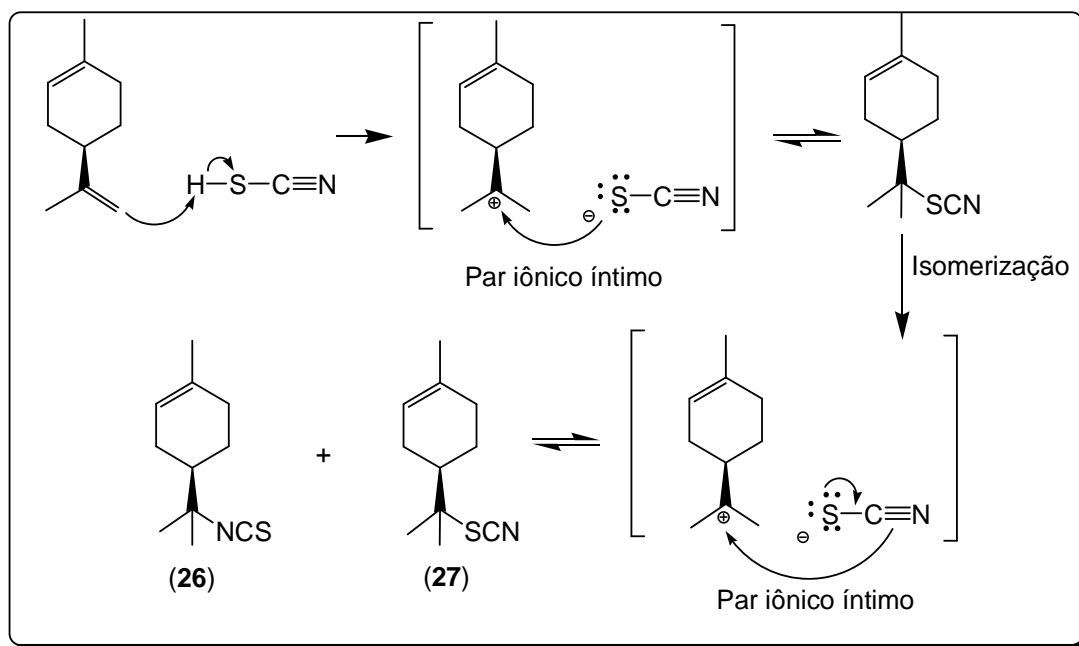
O aminoácido *L*-fenilalanina também foi esterificado utilizando a metodologia de SOCl<sub>2</sub>/MeOH nas mesmas condições da esterificação da *L*-tirosina e o produto (**25c**) foi obtido na forma de cloridrato, com rendimento de 50%.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, 500 MHz) do composto (**25c**) destaca-se a presença de um sinal de metila em  $\delta$  3,85 (s, 3H) correlacionado ao sinal de carbono carbonílico em  $\delta$  169,8 pelo espectro de HMBC. Outros sinais observados foram os sinais dos hidrogênios diastereotópicos em  $\delta$  3,25 (*dd*, *J*=14,7, 7,8 Hz, 1H) e  $\delta$  3,34 (*dd*, *J*=14,7, 5,5 Hz, 1H), do hidrogênio metínico  $\alpha$ -carbonílico em  $\delta$  4,32 (*dd*, *J*=7,8, 5,5 Hz, 1H) e os hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,29-7,37 (*m*, 4H) e  $\delta$  7,38-7,41 (*m*, 1H).

#### 6.4.2. Preparação do isotiocianato de *R*-(+)-limoneno (**26**).

Para a síntese do isotiocianato (**26**), o monoterpene foi submetido a uma reação com o ácido isotiocianico em  $\text{CHCl}_3$  a temperatura ambiente, para gerar o isotiocianato (**26**), produto majoritário (70%), e o tiocianato (30%) (**27**) (**Esquema 8**).

A proposta mecanística para essa reação está apresentada na figura 25. Inicialmente ocorre a protonação da dupla ligação levando ao carbocátion terciário. O solvente da reação é pouco polar e aprótico e, desta forma, a reação ocorre por formação de par iônico íntimo. Em seguida, o nucleófilo ambidentado ( $\text{SCN}$ ), considerado um grupo mole, ataca o carbocátion terciário, formando o tiocianato como produto cinético da reação. A partir de uma reação de isomerização que ocorre provavelmente através de par iônico íntimo, há a formação, como produtos finais o isotiocianato (**26**) (produto majoritário por ser termodinamicamente mais estável) e o tiocianato (**27**) (produto minoritário).

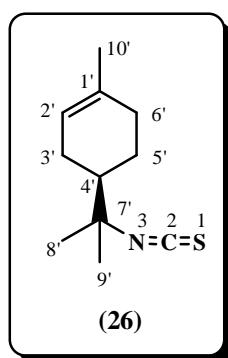


**Figura 25.** Proposta mecanística de formação do isotiocianato e tiocianato de R-(+)-limoneno.

No espectro de infravermelho do composto (**26**) foi observada uma banda intensa entre  $1957\text{-}2301\text{ cm}^{-1}$  referente às deformações axiais do grupo NCS, uma banda na região de  $2802\text{-}3054\text{ cm}^{-1}$  referente às deformações do grupo C-H ( $\text{C1}'$  e  $\text{C4}'$ ) e em  $1463\text{ cm}^{-1}$  referente às deformações angulares assimétricas dos grupos metilas ( $\text{C8}'$ ,  $\text{C9}'$  e  $\text{C10}'$ ).

Os espectros de HSQC e HMBC evidenciaram sinais para dez carbonos, sendo três metilênicos ( $\delta$  24,5; 26,8 e 30,8), dois metínicos ( $\delta$  120,0 e 44,6), três metílicos ( $\delta$  26,4; 27,4 e 23,0) e um carbono quaternário  $sp^3$  ( $\delta$  64,2). O sinal do carbono C2 não foi observado no espectro, provavelmente, devido ao seu alto tempo de relaxação.

O surgimento de um sinal de metila em  $\delta$  23,0 e de um sinal de carbono quaternário ligado a heteroátomo em  $\delta$  64,2 evidenciou a substituição do grupo vinílico pelo grupo isotiocianato. Outros sinais que evidenciaram a adição à dupla exocíclica são o desaparecimento do sinal dos hidrogênios olefínicos terminais em  $\delta$  4,68-4,71 (*m*, 2H) e o surgimento de um sinal de metila em  $\delta$  1,65 (*s*, 3H) no espectro de RMN de  $^1H$  do composto (**26**). Os dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  encontram-se na tabela 7.



**Tabela 7.** Dados espectrais de RMN de  $^1H$ , HSQC e HMBC do composto **26**.

N°	HSQC	$^1H$	HMBC
2	n.o.	-	
1'	134,1	-	H10', H5'
2'	120,0	5,35-5,38 ( <i>m</i> , 1H)	H10'
3'	24,5	1,30-1,37 ( <i>m</i> , 1H) 1,86-1,93 ( <i>m</i> , 1H)	H2'
4'	44,6	1,62-1,65 ( <i>m</i> , 1H)	H8', H9', H2'
5'	26,8	1,79-1,88 ( <i>m</i> , 1H) 2,06-2,13 ( <i>m</i> , 1H)	H4', H5'
6'	30,8	2,00-2,06 ( <i>m</i> , 2H)	H2'
7'	64,2	-	H8', H9'
8'	26,4	1,37 ( <i>s</i> , 3H)	H9'
9'	27,4	1,40 ( <i>s</i> , 3H)	H8'
10'	23,0	1,65 ( <i>s</i> , 3H)	H2'

#### 6.4.3. Síntese das tioureias (22a-c).

Na síntese das tioureias terpênicas, foi utilizada a metodologia de síntese da tihidantoína (**14**) (TENG *et al.*, 2005). Seguindo o procedimento

apresentado, o isotiocianato de *R*-(+)-limoneno foi adicionado a uma suspensão de éster de cada aminoácido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e a mistura foi agitada por 72 h. Após purificação por cromatografia em coluna, os produtos (**22a-c**) foram obtidos na forma de um sólido amarelo com um rendimento de 43%, 21% e 17%, respectivamente. As rotações específicas dos compostos (**22a**) e (**22b**) foram, respectivamente,  $[\alpha]_D^{20} +235,8^\circ$  (*c* 0,4, CHCl<sub>3</sub>) e  $[\alpha]_D^{20} +52,0^\circ$  (*c* 0,8, CHCl<sub>3</sub>).

Por análise dos espectros na região do Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear uni (<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C) e bidimensionais (HSQC e HMBC), os compostos obtidos foram caracterizados como as tioureias (**22a-c**) (**Esquema 7**). A proposta de mecanismo passa pelos passos iniciais do mecanismo de formação da tiohidantoína (**14**), como apresentado na figura 24, parando antes da formação do anel tiohidantoínico.

Os espectros no infravermelho dos compostos (**22a**) e (**22b**) apresentaram grande semelhança. As principais bandas observadas foram na região de 3400-3200 cm<sup>-1</sup> atribuída aos estiramentos de ligação N-H; em 1734 e 1735 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao estiramento da ligação C=O de éster dos compostos (**22a**) e (**22b**), respectivamente; e em 1207 e 1215 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao estiramento da ligação C-O dos compostos (**22a**) e (**22b**), respectivamente. Os movimentos vibracionais das ligações do grupo tioureia (NCSN) dão origem a quatro bandas com contribuição de  $\nu(\text{C-N}) + \delta(\text{NH})$  (I),  $\nu(\text{C-N}) + \nu(\text{C=S})$  (II e III) e  $\nu(\text{C=S})$  (IV), em que  $\nu$  = estiramento e  $\delta$  = deformação angular (ESTEVEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2005). Uma vez que essas bandas são observadas em uma região com absorções características de outros grupos (tais como estiramentos das ligações C=C de anel aromático e C-O), é difícil a identificação do grupo tioureia. No entanto, uma provável atribuição das quatro bandas de absorção dos compostos (**22a**) e (**22b**) relacionadas ao grupo tioureia está apresentada na Tabela 8.



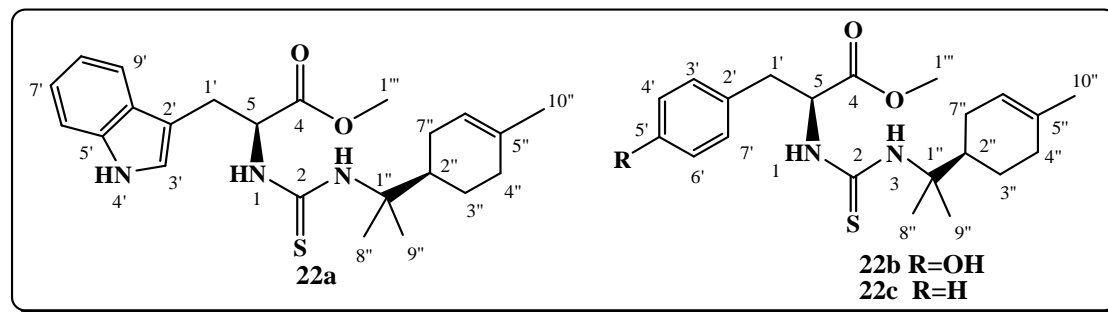
**Tabela 8.** Bandas de absorção observadas no espectro de IV referentes aos movimentos vibracionais do grupo tioureia na região de 1600-700  $\text{cm}^{-1}$ .

Compostos	Bandas de absorção			
	I	II	III	IV
<b>22a</b>	1534 (F)	1373 (m)	1178 (m)	744 (m)
<b>22b</b>	1515 (F)	1370 (m)	1179 (m)	733 (f)

Intensidade: (F): forte; (m): média; (f): fraco.

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos (**22a-c**) apresentaram grande semelhança nos sinais referentes à unidade terpênica e a unidade formadora do anel tiohidantoínico, diferenciando-se apenas nos sinais referentes à unidade derivada de aminoácido. Em relação à unidade terpênica, em ambos os espectros foi observado um sinal em  $\delta$  5,30-5,40 (*m*, 1H) referente ao hidrogênio olefínico da dupla endocíclica. Outros sinais característicos dessa unidade são os sinais de metila H8'', H9'' e H10'' (**Tabela 9**).

A presença do sinal de metila em torno de  $\delta$  3,70 (s, 3H) correlacionado ao sinal de carbono carbonílico em  $\delta$  172,6 pelo espectro de HMBC evidenciou o não fechamento do anel tiohidantoínico. A formação da unidade tioureia foi evidenciada pela presença do sinal de carbono carbonílico em torno de  $\delta$  180 no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  dos compostos. Outra evidência da formação dessa unidade são as correlações de HMBC entre os sinais de hidrogênio *NH*-1 com os carbonos carbonílico de éster em  $\delta$  172 e da tioureia em  $\delta$  180, além da correlação do sinal de *NH*-3 e o carbono quaternário C-1'' e a metila C-9''.



**Tabela 9.** Dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC dos compostos (**22a-c**) ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz e 125MHz, ppm).

	<b>22a</b>				<b>22b</b>				<b>22c</b>	
	Nº	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	HMBC	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	HMBC	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	HMBC
	1	-	6,17 ( <i>d</i> , $J=7,2$ Hz, 1H)		-	6,10 ( <i>d</i> , $J=7,4$ Hz, 1H)		-	6,15 ( <i>d</i> , $J=7,2$ Hz, 1H)	
	2	180,4	-	H5	180,0	-		179,8	-	H5
	3	-	6,06 ( <i>s</i> , 1H)		-	6,09 ( <i>s</i> , 1H)		-	6,19 ( <i>s</i> , 1H)	
	4	172,8	-	H5, H1', H1''	172,6	-	H5, H1', H1'', H1	172,3	-	H1, H1', H1'', H5
	5	58,7	5,41 ( <i>m</i> , 1H)	H1''	59,0	5,40-5,42 ( <i>m</i> , 1H)		59,2	5,50 ( <i>ddd</i> , $J=7,3, 5,8, 4,3$ Hz, 1H)	H1, H1'', H1'
	1'''	52,4	3,74 ( <i>s</i> , 3H)		52,7	3,78 ( <i>s</i> , 3H)		52,3	3,82 ( <i>s</i> , 3H)	
<b>Unidade terpênic</b>	1''	58,4	-	H8'', H9''	58,2	-	H8'', H9'', H3	58,5	-	H3, H8'', H9''
	2''	42,4	1,61-1,80 ( <i>m</i> , 2H)	H3'', H6'', H8'', H9''	42,6	1,76-1,82 ( <i>m</i> , 1H)	H8'', H9''	42,3	1,79-1,83 ( <i>m</i> , 1H)	H6'', H8'', H9''
	3''	23,2	1,14-1,21 ( <i>m</i> , 1H)	H6''	26,5	1,76-1,82 ( <i>m</i> , 1H) 1,93-1,98 ( <i>m</i> , 1H)		26,7	1,83-1,90 ( <i>m</i> , 1H) 2,00-2,07 ( <i>m</i> , 1H)	H6''
	4''	30,8	1,81-1,94 ( <i>m</i> , 3H)	H6'', H3'', H10''	30,7	1,93-1,98 ( <i>m</i> , 2H)		31,0	1,95-2,00 ( <i>m</i> , 2H)	H6'', H10''
	5''	134,0	-	H10''	134,2	-	H6''	133,5	-	H10''
	6''	119,9	5,30-5,32 ( <i>m</i> , 1H)	H10''	120,2	5,36-5,39 ( <i>m</i> , 1H)		119,9	5,42 ( <i>m</i> , 1H)	H10''
	7''	26,5	1,61-1,80 ( <i>m</i> , 2H) 1,81-1,94 ( <i>m</i> , 3H)	H6''	24,0	1,24-1,26 ( <i>m</i> , 2H)		24,0	1,25-1,31 ( <i>m</i> , 1H)	
	8''	24,6	1,07 ( <i>s</i> , 3H)		25,2	1,19 ( <i>s</i> , 3H)		25,0	1,23 ( <i>s</i> , 3H)	H3, H9''
	9''	24,7	1,13 ( <i>s</i> , 3H)		24,9	1,29 ( <i>s</i> , 3H)	H3	25,0	1,33 ( <i>s</i> , 3H)	H3, H8''
	10''	23,2	1,66 ( <i>s</i> , 3H)		23,0	1,68 ( <i>s</i> , 3H)	H6''	23,3	1,73 ( <i>s</i> , 3H)	H6''
<b>Unidade derivada da amina</b>	1'	27,2	3,62 ( <i>dd</i> , $J=14,9, 5,5$ Hz, 1H) 3,39 ( <i>dd</i> , $J=14,9, 4,2$ Hz, 1H)		36,9	3,36 ( <i>dd</i> , $J=14,1, 5,7$ Hz, 1H) 3,16 ( <i>dd</i> , $J=14,1, 4,2$ Hz, 1H)	H5, H3'	37,6	3,42 ( <i>dd</i> , $J=13,9, 5,8$ Hz, 1H) 3,16 ( <i>dd</i> , $J=13,9, 4,3$ Hz, 1H)	H3', H7', H5
	2'	109,8	-		127,0	-	H5	135,9	-	H4', H6', H5, H1'
	3'	122,9	6,95 ( <i>d</i> , $J=2,3$ Hz, 1H)		130,5	6,69-6,72 ( <i>m</i> , 2H)				
	4'	-	n.o.		115,8	6,91-6,95 ( <i>m</i> , 2H);				
	5'	136,6	-		155,1	-	H3', H4'			

---

6'	111,1	7,33 ( <i>dt</i> , $J= 8,0, 0,9$ Hz, 1H)	-	-	-
7'	122,2	7,17 ( <i>ddd</i> , $J= 8,0, 7,0, 0,9$ Hz, 1H)	-	-	-
8'	119,7	7,09 ( <i>ddd</i> , $J= 8,0, 7,0, 0,9$ Hz, 1H)	-	-	-
9'	118,8	7,54 ( <i>dt</i> , $J= 8,0, 0,9$ Hz, 1H)	-	-	-
10'	127,6	-	-	-	-

---

#### 6.4.4. Testes de ciclização da tioureia (22a)

Os testes iniciais de formação do anel tiohidantoínico foram feitos utilizando a tioureia derivada do triptofano (**22a**), avaliando-se a condição de reação de temperatura. Assim, inicialmente, a reação de formação da tioureia foi repetida nas condições experimentais anteriores, que são temperatura ambiente, trietilamina como catalisador e diclorometano como solvente para pré-formação da tioureia. Após 72h de reação em temperatura ambiente, o sistema foi mantido sob refluxo a 40-50°C por 10h, sendo acompanhada por CCDA. Após separação dos produtos por cromatografia de coluna em sílica gel e caracterização dos produtos isolados, não foi verificada a formação da tiohidantoína; apenas a tioureia (**22a**) foi formada, com maior rendimento (aumentou de 36 para 43%). Assim, é necessário um estudo da metodologia de formação da tiohidantoína, variando condições como temperatura (testar temperaturas mais altas), tempo de reação, solvente e meio ácido usando ácido trifluoracético (SIM e GANESAN, 1997).

Uma provável explicação para a não-ciclização do anel tiohidantoínico na síntese dos derivados terpênicos é o impedimento estérico no carbono terciário ligado ao nitrogênio N-3, dificultando o ataque à carbonila do éster e aumentando a energia do estado de transição de formação do anel tiohidantoínico. Trabalhos relatados na literatura (SIM e GANESAN, 1997; ELOKDAH *et al.*, 2004) mostram que provavelmente há uma correlação entre padrão de substituição e ciclização da tioureia, uma vez que a ciclização de tioureias a tiohidantoínas com grupos volumosos em N-3 apresentou baixos rendimentos ou não foram formadas.

# Capítulo 3

## 7. Actividades biológicas

## 7. Atividades biológicas

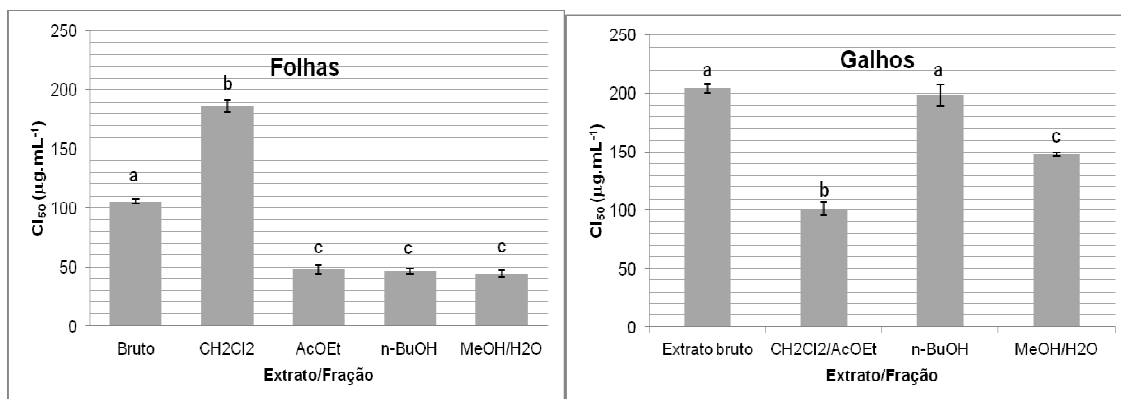
### 7.1. Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante do extrato bruto e das frações das folhas de *Psychotria sp.* foi avaliada através da percentagem de redução inicial do radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) pelas amostras em diferentes concentrações. Na presença de um antioxidante que possa doar um elétron para o DPPH, a cor roxa típica do radical estável muda para cor amarela e a mudança de absorbância a 515 nm é monitorada por espectrofotometria. Os valores de  $CI_{50}$  (concentração da amostra necessária para diminuir 50% de radicais livres) das amostras analisadas (**Tabela 10**) foram obtidos a partir da análise de regressão linear e mostraram bons valores de correlação ( $r > 0.99$ ). Quanto menor o valor de  $CI_{50}$ , maior a capacidade antioxidante da amostra.

**Tabela 10.** Atividade antioxidante do extrato bruto e frações das folhas e galhos de *Psychotria sp.*

Extrato/Fração	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	
	Folhas	Galhos
Bruto	105,42 $\pm$ 2,43a	204,17 $\pm$ 3,74a
F. $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	186,50 $\pm$ 5,23b	101,44 $\pm$ 5,67*b
F. AcOEt	47,99 $\pm$ 3,59c	-
F. <i>n</i> -BuOH	46,25 $\pm$ 2,18c	198,37 $\pm$ 8,83a
F. MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$	44,29 $\pm$ 2,88c	148,02 $\pm$ 2,07c
Ácido ascórbico <sup>b</sup>	1,70 $\pm$ 0,01d	
BHT <sup>b</sup>	7,40 $\pm$ 0,23e	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey-Kramer. <sup>a</sup> Média  $\pm$  desvio-padrão ( $n=3$ ). <sup>b</sup>Controle positivo; dados de  $IC_{50}$  reportados de Staden e colaboradores (2011); \* valor referente à mistura das frações  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e AcOEt.

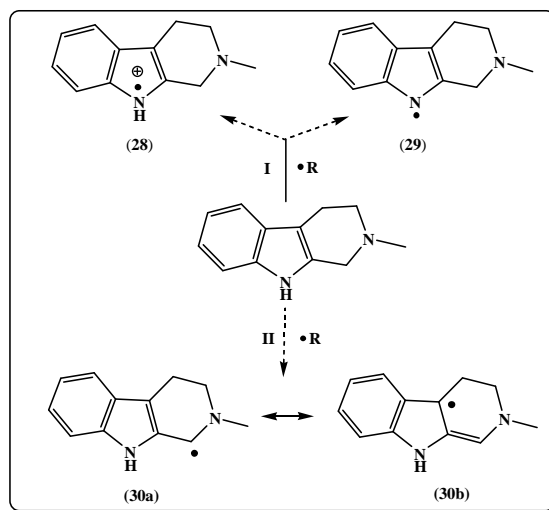


**Figura 26.** Atividade antioxidante do extrato bruto e frações das folhas e galhos de *Psychotria sp.* Colunas seguidas pela mesma letra não diferem a nível de 5% pelo teste de Tukey-Kramer.

O extrato bruto e a fração diclorometano das folhas e todas as frações dos galhos de *Psychotria sp.* apresentaram fraca atividade antioxidante ( $>100 \mu\text{g/mL}$ ), cujos valores de  $\text{CI}_{50}$  foram estatisticamente superiores ( $p \leq 0,05$ ) aos das frações acetato de etila, butanólica e hidrometanólica das folhas, que apresentaram moderada atividade antioxidante (em torno de  $40 \mu\text{g/mL}$ ). A moderada atividade antioxidante das frações mais polares das folhas pode ser atribuída a presença majoritária dos alcaloides indólicos monoterpênicos, cuja atividade sequestradora moderada de radicais livres foi reportada em literatura (BOLZANI *et al.*, 2004).

Na literatura, há duas propostas de mecanismo radicalar que explicam a ação antioxidante dos alcaloides indólicos. Segundo Herraiz e Galisteo (2003), um possível mecanismo da ação antioxidante dos alcaloides indólicos envolve a formação do cátion indolil (**28**) ou do radical neutro (**29**) (Figura 27, mecanismo I) por meio da transferência de um elétron para o radical livre como um primeiro passo em sua ação como antioxidantes. Outra proposta de mecanismo envolve a formação do radical intermediário (**30**) (Figura 27, mecanismo II) estabilizado pela delocalização do elétron desemparelhado (**30a-30b**) (BOOTH *et al.*, 1989). Esta proposta é consistente com observações de que a ligação dupla alílica é necessária para atividade de substratos cuja ação ocorre através de mecanismos radicalares, tais como frente a enzima monoaminaoxidase B (BOOTH *et al.*, 1989) e que somente a posição alílica

sofre ataque oxidativo.



**Figura 27.** Possíveis espécies formadas na reação dos alcaloides indólicos com radicais livres que explicam a atividade antioxidante dessa classe.

## 7.2. Atividade inibitória das enzimas monoaminoxidases, relacionadas a doenças neurodegenerativas

Os alcaloides indólicos de *Psychotria sp.* **6** e **7** e a hidantoína **20** e a tiohidantoína **14** foram submetidos a uma triagem preliminar para avaliação de seu efeito sobre as enzimas monoaminoxidase A (MAO A) e B (MAO B). Os resultados (**Tabela 11**) mostram que dentre os compostos avaliados, a hidantoína (**20**) apresentou maior inibição da MAO A na concentração de 100  $\mu\text{M}$ . Levando em consideração que o grupamento comum a esses compostos é o indólico, esses dados sugerem que essa unidade contribui para a resposta de inibição das enzimas MAO. Ensaio complementares para determinação do  $\text{CI}_{50}$  dos compostos estão sendo realizados.

**Tabela 11.** Porcentagem de inibição das enzimas monoaminoxidase A (MAO A) e monoaminoxidase B (MAO B).

	MAO-A (% Inibição)	MAO-B (% Inibição)
Bahienosida A ( <b>6</b> ) (110 $\mu\text{M}$ )	56,93 $\pm$ 1,82	N.I.
Desoxicordifolina ( <b>7</b> ) (175 $\mu\text{M}$ )	85,99 $\pm$ 0,83	68,04 $\pm$ 2,43
Hidantoína ( <b>20</b> ) (100 $\mu\text{M}$ )	98,35 $\pm$ 2,15	N.I.
Tiohidantoína ( <b>14</b> ) (386 $\mu\text{M}$ )	98,35 $\pm$ 1,13	46,72 $\pm$ 16,48

N.I.: *No inhibition* (inibição menor que 10%).



## 8. *Materiais e métodos*

## 8. MATERIAIS E MÉTODOS

### 8.1. Instrumentação e procedimentos gerais

O material vegetal coletado foi pulverizado em moinho de facas Marconi. Para concentrar as soluções utilizou-se evaporador rotatório, modelo MA 120 da marca MARCONI®.

As reações foram realizadas em solventes destilados e reagentes das marcas Synth, Fluka, Aldrich, Vetec, Acros Organic e Merck. O metanol utilizado como solvente nas reações foi seco segundo a metodologia de Friedman e colaboradores (1961).

As colunas cromatográficas (CC) foram realizadas em coluna de vidro, utilizando sílica gel 60 (0,063 – 0,200 mm) Merck. O diâmetro interno e a altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material a ser cromatografado. Os eluentes foram ajustados de acordo com cada amostra. As análises de cromatografia de camada delgada analítica (CCDA) foram feitas em placas de sílica gel 60 GF<sub>254</sub> suportada em placa de vidro. Os métodos de revelação utilizados em procedimentos de CCDA foram os de irradiação com luz UV (254 e 366 nm), exposição a vapores de iodo e/ou ácido sulfúrico seguido de aquecimento. Os agentes reveladores empregados na detecção das amostras em CCDA e CCDP foram luz UV (254 e 365 nm), reagente de Dragendorff (específico para detecção de compostos nitrogenados), anisaldeído e solução de ácido sulfúrico (MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:1 v/v, seguido de aquecimento).

Os espectros de RMN unidimensionais e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance III-500 (500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do IQ/UFG. Os deslocamentos químicos foram dados em ppm, tendo como padrão de referência interna o tetrametilsilano (TMS) ou o próprio solvente deuterado. Os solventes utilizados para diluição das amostras foram  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{DMSO-}d_6$  e acetona- $d_6$  (Cambridge Laboratories Isotopes).

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrofômetro PerkinElmer, modelo Spectrum 400, na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  em pastilhas de KBr. Os espectros na região do ultravioleta foram no espectrofotômetro Lambda 45 da PerkinElmer entre 200-500 nm.

Os pontos de fusão (PF) foram determinados em aparelho Karl Kolb, da Scientific Technical Supplies. As medidas de desvio da luz plano-polarizada foram obtidas no polarímetro ADP 440 Polarimeter BS em um tubo de comprimento de 0,5 dm.

## 8.2. Extração dos constituintes químicos

Partes aéreas de *Psychotria sp.* (**Figura 28**) foram coletadas em abril de 2011 na fazenda de vida silvestre Vaga Fogo, Pirenópolis-GO. O gênero foi identificado pelo Prof. Dr. Piero Giuseppe Delprete e a identificação da espécie ainda está sob investigação.



**Figura 28.** *Psychotria sp.*

As partes aéreas coletadas foram separadas em três grupos: frutos, galhos e folhas, os quais foram secos ao ar livre, moídos em moinho de facas e submetidos à extração a frio com etanol 95% por percolação. A evaporação do

solvente em evaporador rotatório resultou no extrato bruto etanólico. A tabela 12 mostra o rendimento percentual de extração do material vegetal.

**Tabela 12.** Rendimento das extrações por percolação das partes aéreas de *Psychotria sp.*

	Material vegetal seco e moído (g)	Extrato (g)	Rendimento (%)
<b>Folhas</b>	405,76	29,83	7,4
<b>Galhos</b>	522,66	9,06	1,7
<b>Frutos</b>	165,91	9,94	6,0

Na partição líquido-líquido dos extratos etanólicos das partes aéreas, cada extrato foi solubilizado em uma mistura de MeOH/H<sub>2</sub>O (3:1). A solução resultante foi transferida para um funil de separação e, em seguida, extraída com hexano (3 x 200 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 200 mL), acetato de etila (3 x 200 mL) e *n*-butanol (3 x 200 mL). Devido a menor massa do extrato etanólico dos frutos, este foi particionado apenas em hexano e diclorometano. As respectivas frações orgânicas foram secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentradas em evaporador rotatório. A tabela 13 apresenta o valor das massas das frações obtidas na partição de todos os extratos.

**Tabela 13.** Partição dos extratos brutos etanólicos das folhas, galhos e frutos.

	Folhas	Galhos	Frutos
<b>Frações</b>	Massa (g)	Massa (g)	Massa (g)
<b>Hexânica</b>	11,2	5,3	1,3
<b>DCM</b>	3,0	2,2	2,0
<b>AcOEt</b>	4,4	1,1	-
<b><i>n</i>-BuOH</b>	3,3	7,1	-
<b>Hidrometanólica</b>	4,1	-	1,0
<b>Total</b>	26,0	15,7	4,3

### 8.2.1. Fração acetato de etila das folhas (FAFo)

A fração acetato de etila (2,6 g) das folhas (FAFo) foi submetida à cromatografia em coluna de Diaion HP-20 (Ø = 4,0 cm e h = 26,5 cm) e eluída em H<sub>2</sub>O, gradientes de MeOH:H<sub>2</sub>O (70, 40 e 20%) e MeOH, obtendo-se 43 frações, de aproximadamente 20 mL cada. As frações após analisadas por CCDA foram reunidas em 10 novas frações de acordo com os perfis

cromatográficos apresentados (**Tabela 14**).

**Tabela 14.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração acetato de etila das folhas (FAFo).

Frações reunidas	Massa (mg)	Eluente
1-4	73,5	H <sub>2</sub> O, MeOH: H <sub>2</sub> O 70%
5-7	174,2	MeOH: H <sub>2</sub> O 40%
8	57,8	MeOH: H <sub>2</sub> O 40%
9-11	124,8	MeOH: H <sub>2</sub> O 40%
12-21	157,4	MeOH: H <sub>2</sub> O 40%
22-25	189,5	MeOH: H <sub>2</sub> O 20%
26-36	1160,2	MeOH: H <sub>2</sub> O 20%
37-43	381,3	MeOH: H <sub>2</sub> O 20%

Massa total: 2,3 g

A fração 26-36 de FAFo (1,16 g) foi submetida à cromatografia em coluna de florisil eluída em gradiente de diclorometano: metanol (80-100%), obtendo-se 60 frações (**Tabela 15**), reunidas de acordo com perfil cromatográfico observado em CCDA.

**Tabela 15.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 26-36 de FAFo.

Frações reunidas	Massa (mg)	Eluente
1-2	73,5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 80%
3-5	174,2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 80%
6-44	57,8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 80% e 90%
45-48	124,8	MeOH 100%
49-60	157,4	MeOH 100%

Massa total: 587,7 mg

A fração 49-60 foi submetida à filtração com metanol e a parte solúvel foi identificada como o alcaloide **desoxicordifolina** (10 mg).

A fração 37-43 de FAFo (360 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de florisil ( $\varnothing = 2,0$  cm e  $h = 11,5$  cm) e eluída em diclorometano e metanol em ordem crescente de polaridade. Um total de 77 frações foi coletado (**Tabela 16**) e as frações foram reunidas de acordo com perfil cromatográfico (**Tabela 17**).

**Tabela 16.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 37-43 de FAFo.

Frações	Eluente	Frações	Eluente
1-8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 4%	44-47	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 36%
9-16	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 10%	48-52	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 40%
17-21	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 14%	53-59	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 46%
22-25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 18%	60-64	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 50%
26-30	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 22%	65-67	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 60%
31-39	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 28%	68-75	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 70%
40-43	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 32%	76-77	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 86%

**Tabela 17.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 37-43 de FAFo.

Frações reunidas	Massa (mg)
1-10	73,5
11-44	174,2
45-77	57,8

Massa total: 305,5 mg

A fração 11-44 (174 mg) foi identificada como o alcaloide **bahienosida**

**A.**

#### 8.2.2. Fração butanólica das folhas (FBFo)

A fração butanólica das folhas (2,6 g) também foi submetida à cromatografia em coluna de Diaion HP-20 ( $\varnothing = 4,0$  cm e  $h = 26,5$  cm) e eluída em MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) e MeOH, obtendo-se 31 frações, de aproximadamente 20 mL cada. As frações após analisadas por CCDA foram reunidas em 7 novas frações de acordo com os perfis cromatográficos apresentados (**Tabela 18**).

**Tabela 18.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração butanólica das folhas (FBFo).

Frações	Massa (mg)	Eluente
1-10	219,4	MeOH: H <sub>2</sub> O 50%
11-12	54,3	MeOH: H <sub>2</sub> O 50%
13-20	54,3	MeOH: H <sub>2</sub> O 50%
21-22	653,4	MeOH
23-24	293,6	MeOH
25-31	12,5	MeOH

Massa total: 1,3 g

A fração 25-31(12,5 mg), eluída em MeOH 100%, foi identificada como o alcaloide **bahienosida A**.

### 8.2.3. Fração diclorometano das folhas (FDFo)

A fração diclorometano das folhas (2,66 g) foi submetida à cromatografia líquida sob vácuo ( $\varnothing = 5,0$  cm e  $h = 4,0$  cm) usando como fase estacionária sílica gel 60 para CCDA, eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 10 frações reunidas de acordo com perfil cromatográfico (**Tabela 19**).

**Tabela 19.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração diclorometano das folhas (FDFo).

Frações	Massa (mg)	Eluente
1	57,3	Hexano: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%
2	7,6	Hexano: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 70%
3-5	316,7	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 20%
6-7	1258,6	AcOEt:MeOH 10 e 20%
8	273,6	AcOEt:MeOH 40%
9	53,9	AcOEt:MeOH 60%
10	43,6	AcOEt:MeOH 80%

Massa total: 2,0 g

A fração 6-7 da FDFo (1,2 g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 60 ( $\varnothing = 2,5$  cm e  $h = 16,5$  cm), utilizando acetato de etila e gradiente de acetato de etila/metanol. Um total de 112 frações foi coletado e

monitorado por CCDA de acordo com o perfil cromatográfico (**Tabela 20**).

**Tabela 20.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 6-7 (FDFo).

Frações	Massa (mg)	Eluente
1-5	26,7	AcOEt
6-10	31,5	AcOEt
11-51	166,9	AcOEt
52-68	635,1	AcOEt: MeOH 5, 10, 20%
69-112	252,3	AcOEt: MeOH 30, 40, 50, 65, 80%
Massa total: 1,1 g		

A fração 6-51, eluída em acetato de etila: metanol 1-3%, foi lavada com etanol fornecendo um sólido branco identificado como **sitosterol glicosilado** (6 mg).

A fração 69-112 (6-7 FDFo) foi submetida a uma nova coluna cromatográfica de sílica gel 60 ( $\varnothing = 1,5$  cm e  $h = 13$  cm), utilizando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e gradiente de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /metanol. As frações foram reunidas de acordo com perfil cromatográfico por CCDA (**Tabela 21**).

**Tabela 21.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 69-112 (6-7 FDFo).

Frações	Massa (mg)	Eluente
1-14	10,1	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 1%
15-26	4,6	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 5%
27-29	1,5	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 10%
30-34	1,4	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 15%
35-45	5,0	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 15%
46-52	7,2	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (85:14:1)
53-60	23,8	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (85:14:1)
61-74	39,4	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (80:19:1)
75-92	17,4	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (70:28:2)
93-99	9,8	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (60:37:3)
100-102	7,3	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (60:37:3)
103-110	8,1	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ (50:46:4)
Massa total: 135,6 mg		

A fração 61-74 (61-112) (6-7 FDFo) foi submetida a uma nova coluna



cromatográfica de sílica gel 60 ( $\varnothing = 0,75$  cm e  $h = 12,5$  cm), utilizando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e gradiente de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /metanol (**Tabela 22**). As frações foram reunidas de acordo com perfil cromatográfico por CDDA.

**Tabela 22.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 61-74 (69-112) (6-7 FDFo).

Frações	Massa (mg)	Eluente
1-14	7,8	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 5, 10%
15-18	4,7	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 20%
19-22	4,1	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 25%
23-36	6,0	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 30, 40, 50, 60%
37-46	2,8	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 60, 70, 80, 90%
47	6,3	MeOH

Massa total: 31,7 mg

A fração 23-36 (6,0 mg) foi identificada como o **ácido desoxicordifolínico**.

#### 8.2.4. Fração diclorometano e acetato de etila dos galhos (FDAG)

As frações diclorometano e acetato de etila dos galhos (2,1 g) foram reunidas antes de serem cromatografadas por apresentarem o mesmo perfil cromatográfico em cromatografia em camada delgada (eluída em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 15%). A fração reunida foi submetida a uma coluna de Sephadex ( $\varnothing = 4$  cm e  $h = 40$  cm), usando gradiente em ordem crescente de polaridade de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH, resultando em um total de 80 frações (**Tabela 23**).

**Tabela 23.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração FDAG.

Frações	Massa (mg)	Eluente	Frações	Massa (mg)	Eluente
1-8	379,9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	39	2,2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 10%
9-10	402,7	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40-47	12,0	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 10%
11-13	255,0	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	48-59	390,4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 10%
14-18	66,4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	60-69	88,6	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 20%
19-21	63,6	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	70-72	58,9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 50%
22-34	48,3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	73-80	151,2	MeOH
35-38	5,4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 10%	81	67,7	MeOH

Massa total: 2,0 g

A fração 10-23, eluída em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%, foi lavado com etanol e identificada como a mistura de esteroides **sitosterol e estigmasterol glicosilados** (5,6 mg).

A fração 60-69 foi submetida à cromatografia em coluna de florisil usando gradiente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH (**Tabela 24**) e as frações coletadas foram reunidas de acordo com perfil cromatográfico (**Tabela 25**).

**Tabela 24.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 60-69 (FAFo).

Frações	Eluente	Frações	Eluente
1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 2%	18-19	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 30%
2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 4%	20-24	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 34%
3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 8%	25-28	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 40%
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 10%	29-33	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 50%
5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 12%	34-37	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 60%
6	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 16%	38-42	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 70%
7	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 18%	43-45	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 80%
8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 20%	46-50	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 90%
9-17	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 26%		

**Tabela 25.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 60-69 (FDAG).

Frações	Massa (mg)
1-5	8,8
6-11	12,7
12-18	5,2
19-23	3,7
24-38	27,8
39-45	10,0
46-50	11,0

Massa total: 78,2 mg

A fração 46-50, que se mostrou pura por CDDA, foi submetida a análises espectroscópicas e identificada como o alcaloide **desoxicordifolina**.

#### 8.2.5. Fração diclorometano dos frutos (FDFr)

A fração diclorometano dos frutos (1,3 g) foi submetida à cromatografia líquida sob vácuo, eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 5 frações (**Tabela 26**).

**Tabela 26.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração diclorometano dos frutos.

Frações	Massa (mg)	Eluente
1	111,5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
2	497,2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 50%
3	90,4	AcOEt
4	823,1	AcOEt:MeOH 50%
5	37,3	AcOEt:MeOH 80%

Massa total: 1,6 g

A fração 4 (0,82 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna de florisil, eluída com diclorometano, acetato de etila e metanol, coletando um total de 60 frações (**Tabela 27**).

**Tabela 27.** Frações coletadas a partir da cromatografia em coluna da fração 4 da FDFr.

Frações	Massa (mg)	Eluente
1-4	7,9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
5-14	19,7	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 5%
15-16	9,8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 5%
17-26	44,8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 15%
27-39	73,1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 30%
40-55	90,5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 50%
56-70	88,5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 80%

Massa total: 334,3 mg

A fração 5-14 foi lavada com etanol e identificada como a mistura de esteroides **sitosterol e estigmasterol glicosilados**.

### 8.3. Sínteses

#### 8.3.1. Preparação da hidantoína (20).

Em um balão de 25 mL, uma mistura de *L*-triptofano (204,2 mg, 1,0 mmol) e KOCN (97,3 mg, 1,2 mmol) em água (5 mL) foi mantida sob agitação a 70 °C por 30 min. Após a solução ter sido resfriada à temperatura ambiente, HCl concentrado (12 M, 1,0 mL) (concentração final = 2 M) foi adicionado à solução e a mesma foi mantida sob agitação por mais 30 min. Ao *N*-carbamoil-*L*-triptofano obtido, foi adicionado 5 mL de HCl 2 M, e o precipitado foi coletado e lavado duas vezes com HCl 2 M (20 mL) por centrifugação. Após a lavagem, o precipitado foi ressuspensionado em HCl 2 M (20 mL) e mantido sob agitação a 100 °C por 30 min. Em seguida, a mistura foi mantida em banho de gelo por 12h para completa cristalização. Os cristais foram coletados por centrifugação e lavados com água gelada e em seguida suspensos cuidadosamente em uma solução de NaOH (2 M seguida de 0,5 M) mantendo-se o pH = 7. Os cristais insolúveis foram coletados por centrifugação e lavados com água (50 mL). Os cristais na forma de agulha incolores foram purificados por recristalização com água para obter a hidantoína (20) (146 mg, 0,64 mmol, 64% de rendimento).

**Hidantoína (20)** (Rendimento: 64%). p.f. 240-242 °C;  $[\alpha]_D^{22} = -72,0^\circ$  (c 1,0, MeOH/DMSO); RMN <sup>1</sup>H: (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz, ppm): 10,89 (s, 1H), 10,36 (s,

1H), 7,89 (s, 1H), 7,54 (*d*, *J*= 7,9 Hz, 1H), 7,32 (*dt*, *J*= 7,9; 1,0 Hz, 1H), 7,12 (*d*, *J*= 2,0 Hz), 7,05 (*ddd*, *J*= 7,9; 7,0; 0,8 Hz, 1H), 6,96 (*ddd*, *J*= 7,9; 7,0; 1,0 Hz, 1H), 4,30 (*tl*, *J*= 4,9 Hz, 1H), 3,06 (*d*, *J*= 4,9 Hz, 2H). IV (KBr): 3401, 3317, 1772, 1713, 1419, 756 cm<sup>-1</sup>.

### 8.3.2. Preparação da 5-indolmetil-tiohidantoína (21).

#### 8.3.2.1. Preparação da 1-acetil-5-indolmetil-tiohidantoína (24).

*L*-triptofano (204 mg, 1 mmol) e KSCN (98,6 mg, 1 mmol) foram macerados em um almofariz e transferidos para um balão, no qual foi adicionado anidrido acético (0,4 mL). A mistura foi aquecida a 90 °C por 30 min, resultando em uma solução amarelo-clara. Após o aquecimento, a mistura foi lavada com NaHCO<sub>3</sub> 5%, e extraída com acetato de etila. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório, resultando no produto na forma de um sólido marrom.

**1-acetil-5-indolmetil-tiohidantoína (24).** (Rendimento: 62%). RMN <sup>1</sup>H: (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz, ppm): 7,42 (*d*, *J*=8,0 Hz, 1H), 7,29 (*d*, *J*=8,0 Hz, 1H), 7,05 (*t*, *J*=8,0 Hz, 1H), 6,97 (*t*, *J*=8,0 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 4,87 (*dd*, *J*=5,7; 2,3 Hz, 1H), 3,69 (*dd*, *J*=15,0; 5,7 Hz, 1H), 3,38 (*dd*, *J*=15,0; 2,3 Hz), 2,63 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>).

#### 8.3.2.2. Hidrólise da 1-acetil-5-indolmetil-tiohidantoína

1-acetil-5-indolmetil-tiohidantoína (179 mg, 0,6 mmol) e HCl 2M (2 mL) em 2 mL de etanol foram aquecidos à temperatura de refluxo e mantidos à esta temperatura por 5 h. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada. Após o aquecimento, a mistura foi lavada com NaHCO<sub>3</sub> 5%, e extraída com acetato de etila. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório, resultando no produto na forma de um sólido marrom.

**5-indolmetil-tiohidantoína (21)** (Rendimento: 58%). RMN <sup>1</sup>H: (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz, ppm): 7,57 (*dt*, *J*=7,7; 1,0 Hz, 1H), 7,31 (*ddd*, *J*=7,7; 7,0; 1,0 Hz, 1H), 7,11

(s, 1H), 7,08 (*ddd*,  $J=8,0; 7,0; 1,0$  Hz, 1H), 7,00 (*ddd*,  $J=7,7; 7,0; 1,0$  Hz, 1H), 4,47 (*dd*,  $J=5,7; 4,6$  Hz, 1H), 3,28 (*ddd*,  $J=15,0; 4,6; 0,8$  Hz, 1H), 3,22 (*ddd*,  $J=15,0; 5,7; 0,5$  Hz). IV (KBr): 3393, 3210, 2922, 1748, 1525, 1307, 1161, 744  $\text{cm}^{-1}$ .

### 8.3.3. Esterificação dos aminoácidos *L*-triptofano (23a), *L*-tirosina (23b) e *L*-fenilalanina (23c)

#### 8.3.3.1. Método de esterificação utilizando $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$

O aminoácido (2,0 g) foi suspenso em 20 mL de MeOH e gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  foram adicionadas até completa dissolução do aminoácido. Após 24 horas sob refluxo, a mistura foi concentrada em evaporador rotatório e neutralizada com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e o produto extraído com acetato de etila. A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. A tirosina foi obtida na forma de um sólido cristalino incolor com um rendimento de 25%. Para a reação com o triptofano, não se observou a formação do produto esperado.

**Éster da tirosina (25b).** (Rendimento: 25%). p.f. 133-135°C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +23,0^\circ$  (c 2,0, MeOH); RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ , 500 MHz, ppm): 6,95 (*ddd*,  $J=8,4; 2,6; 1,9$  Hz, 2H), 6,69 (*ddd*,  $J=8,4; 2,6; 1,9$  Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,60 (*dd*,  $J=7,4; 5,5$  Hz, 1H), 2,92 (*dd*,  $J=13,7; 5,5$  Hz, 1H), 2,74 (*dd*,  $J=13,7; 7,4$  Hz, 1 H). RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ , 125 MHz, ppm): 175,2; 155,8; 130,8; 129,6; 127,3; 116,1; 114,9; 55,8; 51,4; 39,7. IV (KBr): 3443, 3336, 2932, 2610, 1745, 1598, 1516, 1258, 1179, 1020, 840  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 8.3.3.2. Método de esterificação utilizando $\text{SOCl}_2$

A uma suspensão de aminoácido (2,0 g) em 30 mL de MeOH seco em banho de gelo, 1,6 mL de  $\text{SOCl}_2$  recém destilado foi adicionado gota a gota. O sistema de reação foi mantido sob refluxo por 16h.

**Tratamento para obtenção do éster do *L*-tirosina.** A mistura reacional foi concentrada em evaporador rotatório e neutralizada com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e o produto extraído com acetato de etila. A fase orgânica foi seca

com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório. O produto foi obtido na forma de um sólido cristalino incolor com um rendimento de 58%.

**Tratamento para obtenção do cloridrato do éster do L-triptofano.** A mistura foi concentrada em evaporador rotatório e o sólido foi lavado com éter etílico e filtrado para obtenção do produto como um sólido incolor.

**Cloridrato do éster metílico do triptofano (25a)** (Rendimento: 99%).  $[\alpha]_D^{24} +11,8^\circ$  (c 2,0, MeOH); RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz, ppm): 7,54 (*dl*, *J*=7,8 Hz, 1H), 7,40 (*dl*, *J*=8,0 Hz, 1H), 7,21 (*s*, 1H), 7,14 (*ddd*, *J*=8,0; 7,2; 1,0 Hz, 1H), 7,07 (*ddd*, *J*=7,8; 7,2; 1,0 Hz, 1H), 4,33 (*dd*, *J*=7,0; 5,6 Hz, 1H), 3,79 (*s*, 3H), 3,46 (*dd*, *J*=15,1; 5,6 Hz, 1H), 3,37 (*dd*, *J*=15,1; 7,0 Hz, 1H). IV (KBr): 3291, 3264, 3000, 2870, 1749, 1579, 1503, 1437, 1228, 1110, 731 cm<sup>-1</sup>.

#### 8.3.4. Preparação da tihidantoína (14)

A uma suspensão de cloridrato de éster metílico do triptofano (508 mg, 2 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) foi adicionado Et<sub>3</sub>N (0,2 mL). Após agitação por 10 min, foi adicionado MeNCS (148 mg, 2 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 48h. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, eluído em hexano: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 80%, e obtido na forma de cristais de cor laranja.

**Tihidantoína (14)** (p.f. 155-158 °C; rendimento: 40%). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, ppm): 8,15 (*s*, 1H, NH), 7,58 (*dt*, *J*=7,9; 0,8 Hz, 1H), 7,38 (*dt*, *J*=8,0; 1,1 Hz, 1H), 7,22 (*ddd*, *J*= 8,0; 7,1; 0,8 Hz, 1H), 7,15 (*ddd*, *J*=7,9; 7,1; 1,1 Hz, 1H), 7,08 (*d*, *J*= 2,4 Hz, 1H), 7,02 (*s*, 1H), 4,35 (*ddd*, *J*=9,9; 3,8; 1,3 Hz), 3,49 (*ddd*, *J*=14,7; 3,8; 0,8 Hz, 1H), 3,20 (*s*, 3H), 2,98 (*ddd*, *J*= 14,7; 9,9; 0,4 Hz, 1H). RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz, ppm): 187,9; 178,8; 140,3; 130,8; 127,6; 125,7; 123,1; 122,0; 115,3; 111,9; 64,3; 31,3; 30,9. IV (KBr): 3387, 3303, 3223, 1729, 1646, 1515, 1444, 1331, 1281, 1232, 1122, 755 cm<sup>-1</sup>.

#### 8.3.5. Preparação do ácido isotiocianico e síntese do isotiocianato (26) e do tiocianato (27) do R-(+)-limoneno.

Para a reação de formação do isotiocianato, KSCN (0,55 mol, 53,4 g) e KHSO<sub>4</sub> (0,55 mol, 74,8 g) foram triturados em um almofariz e, em seguida o ácido isotiocianico (HSCN) formado *in situ* foi extraído com 25 mL de clorofórmio. A solução de HSCN em CHCl<sub>3</sub> foi filtrada sobre algodão e adicionada ao balão contendo *R*-(+)-limoneno (0,11 mol). A reação foi mantida na ausência de luz e umidade durante 24 horas sob agitação e a temperatura ambiente. O progresso da síntese foi acompanhado por CCDA usando hexano:acetato de etila 30% como eluente e iodo ressublimado como revelador. Após o término da reação, o produto foi lavado com solução de bicarbonato de sódio 5%, filtrado e concentrado em evaporador rotatório para fornecer as misturas de **(26)** e **(27)**. O produto bruto da reação foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel utilizando hexano como eluente, resultando no isotiocianato **(26)** na forma de óleo incolor.

Isotiocianato **(26)** (Rendimento: 70%). RMN <sup>1</sup>H: (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, ppm): 5,35-5,38 (*m*, 1H); 2,06-2,13 (*m*, 2H); 2,00-2,06 (*m*, 2H); 1,86-1,93 (*m*, 2H); 1,66 (*s*, 3H); 1,62-1,65 (*m*, 1H); 1,40 (*s*, 3H); 1,38 (*s*, 3H). RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz, ppm): 134,1; 119,8; 64,2; 44,6; 30,7; 27,2; 26,9; 26,6; 24,3; 23,4. IV (KBr): 2922, 2850, 2088, 1447, 1371, 1162 cm<sup>-1</sup>.

### 8.3.6. Preparação das tioureias a partir do isotiocianato de limoneno e o éster dos aminoácidos

A uma suspensão de 0,5 mmol do éster do aminoácido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL), foi adicionado Et<sub>3</sub>N (0,2 mL) seguido de isotiocianato de limoneno (100 mg, 0,5 mmol). A mistura foi agitada a temperatura ambiente por 72h. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel e obtido na forma de óleo amarelo.

**Tioureia (22a)** (Rendimento:). Eluente da coluna: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +52,0° (c 0,8, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, ppm) e RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz, ppm): vide tabela 9. IV (KBr): 3405, 3360, 2927, 1734, 1534, 1457, 1373, 1207, 744 cm<sup>-1</sup>.

**Tioureia (22b)** (Rendimento: 21%). Eluente da coluna: Hexano: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 90%. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +235,8° (c 0,4, CHCl<sub>3</sub>). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, ppm) e RMN <sup>13</sup>C



(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz, ppm): vide tabela 9. IV (KBr): 3414, 3363, 2927, 1735, 1615, 1515, 1441, 1266, 1215 cm<sup>-1</sup>.

**Tiourea (22c)** (Rendimento: 17%). Eluente da coluna: Hexano: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 80%. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, ppm) e RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz, ppm): vide tabela 9.

#### 8.4. Atividade antioxidante

##### 8.4.1. Método DPPH

A atividade antioxidante foi feita adaptando-se a metodologia proposta por Roesler e colaboradores (2006). A análise fotocolorimétrica foi feita em triplicata com o radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) na concentração inicial de 40 ppm em metanol (solução trabalho). Retirou-se 2700 µL da solução trabalho de DPPH e completou-se o volume a 3000 µL com diferentes concentrações das amostras a serem analisadas. Preparou-se uma solução controle utilizando-se 300 µL de metanol e 2700 µL da solução trabalho, além de um branco utilizando-se 300 µL de amostra e 2700 µL de metanol. O BHT (hidroxitolueno butilado) e o ácido ascórbico foram introduzidos como controles positivos. A mistura foi deixada por 30 min no escuro a temperatura ambiente. A medida de absorbância foi realizada a 515 nm no espectro de luz UV. A atividade sequestrante do radical DPPH (%) foi calculada segundo a equação:

$$\text{Atividade Sequestrante (\%)} = [(A_{\text{Controle}} - A_{\text{Amostra}}) / A_{\text{Controle}}] \times 100$$

A concentração das amostras necessária para seqüestrar 50 % dos radicais livres de DPPH (IC<sub>50</sub>) foi determinada através de análise de regressão linear da atividade sequestrante (%) em função da concentração da amostra utilizando o programa Origin 7.0.

##### 8.4.2. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foram considerados estatisticamente diferentes os resultados de atividade antioxidante que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5% (p<0,05) aplicando-se ANOVA, seguida de comparações múltiplas pelo

teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software GraphPad InStat 3.

### **8.5. Atividade inibitória das enzimas monoaminoxidases, relacionadas a doenças neurodegenerativas**

Os ensaios de *screening* da atividade inibitória das enzimas monoaminoxidases (MAO) A e B pelos compostos isolados de *Psychotria sp.* bem como os sintetizados foram realizados por método fluorimétrico baseado em leitura de ponto final, utilizando o substrato kinuramina segundo metodologia descrita por Novaroli e colaboradores (2006). Os testes foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob supervisão da professora Amélia T. Henriques.

## 9. Conclusões

## 9. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Psychotria sp.* resultou no isolamento dos alcaloides indólicos bahienosida A, desoxicordifolina e ácido desoxicordifolínico, além dos esteroides sitosterol e estigmasterol glicosilados. Esse resultado contribui para os estudos taxonômicos do gênero e confirma a estreita relação entre os gêneros *Palicourea* e *Psychotria*.

Neste trabalho também foi apresentada a utilização do monoterpeneo *R*-(+)-limoneno como substrato para a obtenção de novas tioureias derivadas de produtos naturais e de aminoácidos na intenção de observar o efeito cooperativo na atividade biológica dessas unidades bioativas individualmente. As condições de reação utilizadas permitiram o isolamento das tioureias (**22a-c**) como intermediários de tiohidantoína. Estudos de metodologia serão realizados para aumentar o rendimento da síntese de tioureias e gerar as tiohidantoínas. Neste trabalho, também foi apresentada a síntese das conhecidas hidantoína (**20**) e das tiohidantoínas (**21**) e (**14**), com moderados a bons rendimentos, com o intuito da avaliação de atividade antifúngica e antitumoral e inibição de enzimas monoaminoxidases.

Em testes preliminares, o alcaloide desoxicordifolina, a hidantoína (**20**) e a tiohidantoína (**14**) inibiram as monoaminoxidases, como seletividade para a MAO-A, sugerindo que a unidade indólica contribui para a resposta de inibição das enzimas.

## *Referências*

## REFERÊNCIAS

ACHENBACH, H.; LOTTES, M.; WAIBEL, R.; KARIKAS, G. A.; CORREA, M. D.; GUPTA, M. P. Alkaloids and other compounds from *Psychotria correae*. *Phytochemistry*, v. 38, n. 6, p. 1537-1545, 1995.

ADEOYE, A. O.; WAIGH, R. D. Desoxycordifolinic acid from *Nauclea diderrichii*. *Phytochemistry*, v. 22, n. 9, p. 2097-2098, 1983.

ADJIBADE, Y.; WENIGER, B.; QUIRION, J. C.; KUBALLA, B.; CABALION, P.; ANTON, R. Dimeric alkaloids from *Psychotria forsteriana*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 1, p. 317-319, 1992.

AL-OBAID, A. M.; EL-SUBBAGH, H. I.; KHODAIR, A. I.; ELMAZAR, M. M. A. 5-substituted-2-thiohydantoin analogues as a novel class of antitumor agents. *Anti-Cancer Drugs*, v. 7, p. 873-880, 1996.

ARBAIN, D.; PUTRI, M. M.; SARGENT, M. V.; SYARIF, M. The alkaloids of *Uncaria glabrata*. *Australian Journal of Chemistry*, v. 46, n.6, p. 863 – 872, 1993.

ARRIGONI, O.; TULLIO, M. C. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1569, n. 1-3, p. 1-9, 2002.

BACHI, M. P.; KORSHIN, E. E.; PLOYPRADITH, P.; CUMMING, J. N.; XIE, S.; SHAPIRO, T. A.; POSNER, G. H. Synthesis and in vitro antimalarial activity of sulfone endoperoxides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 8, p. 903-908, 1998.

BERETZ, A.; ROTH-GEORGER, A.; CORRE, G.; KUBALLA, B.; ANTON, R.; CAZENAVE, J. Polyindolinic alkaloids from *Psychotria forsteriana*. Potent inhibitors of the aggregation of human platelets. *Planta Medica*, v. 4, p. 300-303, 1985.

BERGER, A.; FASSHUBER, H.; SCHINNERL, J.; BRECKER, L.; GREGER, H. Various types of tryptamine-iridoid alkaloids from *Palicourea acuminata* (= *Psychotria acuminata*, Rubiaceae). *Phytochemistry Letters*, v. 5, p. 558-562, 2012.

BENHAMMOU, N.; BEKKARA, F. A.; PANOVSKA, T. K. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, v.12, p. 1259–1266, 2009.

BERNHARD, M.; FASSHUBER, H.; ROBIEN, W.; BRECKER, L.; GREGER, H. Dopamine-iridoid alkaloids in *Carapichea affinis* (= *Psychotria borucana*) confirm close relationship to the vomiting root Ipecac. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 39, p. 232–235, 2011.

BOLZANI, V. S.; CARDOSO, C. L.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; FURLAN, M.; EPIFANIO, R. A.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M.; LIMA, J. A.

Indole glucoalkaloids from *Chimarrhis turbinata* and their evaluation as antioxidant agents and acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Natural Products*, v.67, p. 1882-1885, 2004.

BOLZANI, V.S.; CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H. S.; YOUNG, M. C. M.; CASTRO-GAMBOA, I. Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinata* DC Prodr.: a contribution to the chemotaxonomic studies of the Rubiaceae family. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.1, p. 26-29, 2008.

BOOTH, R. G.; TREVOR, A.; SINGER, T. P.; CASTAGNOLI JÚNIOR, N. Studies on semirigid tricyclic analogues of the nigrostriatal toxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 32, p. 473-477, 1989.

BORTOLATO, M.; CHENA, K.; SHIH, J. C. Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 60, 1527–1533, 2008.

BOTH, F.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A. T.; ELYZABETSKY, E. Analgesic properties of umbellatine from *Psychotria umbellata*. *Pharmaceutical Biology*, v. 40, n. 5, p. 336-341, 2002.

BOYLE, S. P.; DOBSON, V.L.; DUTHIE, S.J.; HINSELWOOD, D. C.; KYLE, J. A. COLLINS, A. R. Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 54, n. 10, p. 774-782, 2000.

BRANDT, V.; TITS, M.; GEERLINGS A.; FRÉDÉRICH, M.; PENELLE, J.; DELAUDE, C.; VERPOORTE, R.; ANGENOT, L.  $\beta$ -Carboline glucoalkaloids from *Strychnos mellodora*. *Phytochemistry*. v. 51, p. 1171-1176, 1999.

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

BROWN R.T.; WARAMBWA, B.F.M. *Adina* alkaloids: isolation of desoxycordifoline. *Phytochemistry*, v. 17, p. 1686-1687, 1978.

CABORDERY, A.-C.; TOUSSAINT, M.; AZAROUAL, N.; BONTE, J.-P.; MELNYK, P.; VACCHER, C.; FOULON, C. Kinetics and mechanism of racemization of Tic-hydantoins, potent sigma-1 agonists. *Tetrahedron: asymmetry*, v. 22, n. 2, p. 125-133, 2011.

CALLAWAY, J. C., BRITO, G. S.; NEVES, E. S. Phytochemical analyses of *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. *Journal of Psychoactive Drugs*, v. 37, n. 2, p. 145-150, 2005.

CORRÊA, L.R.; SOARES, G.L.G., FETT-NETO, A.G. Allelopathic potential of *Psychotria leiocarpa*, a dominant understorey species of subtropical forests. *South African Journal of Botany*, v.74, p. 583–59, 2008.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M.. Constituintes das cascas de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae). *Química Nova*, v. 26, p. 36-38, 2003.

CORTES, S.; LIAO, Z.-K.; WATSON, D.; KOHN, H. Effect of structural modification of the hydantoin ring on anticonvulsant activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 28, p. 601-606, 1985.

CROMWELL, L. D.; STARK, G. R. Determination of the carboxyl termini of proteins with ammonium thiocyanate and acetic anhydride, with direct identification of the thiohydantoin. *Biochemistry*, v. 8, n. 12, p. 4735-4740, 1969.

CROWELL, P.L.; CHANG, R. R.; REN, Z.; ELSON, C. E.; GOULD, M. N. Selective inhibition of isoprenylation of 21-26-kDa proteins by the anticarcinogen *D*-Limonene and its metabolites. *Journal of Biological Chemistry*, v. 226, p. 17679-17685, 1991.

DELPRETE, P.G. Rubiaceae. In: Smith, N.P. *et al.*. Flowering Plant Families of the American Tropics. Ed. Princeton University Press/ New York Botanical Garden Press, p. 328-333, 2004.

DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S., GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *Journal of Association of Physicians of India*, v. 52, p. 796-804, 2004.

DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 3<sup>a</sup> ed. Reino Unido, John Wiley & Sons, 2009.

DRESSMAN, B.A.; SPANGLE, L.A.; KALDOR, S.W. Solid phase synthesis of hydantoins using a carbamate linker and a novel cyclization/cleavage step. *Tetrahedron Letters*, v. 37, p. 937, 1996.

DRÖGE, W. Free Radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, v. 82, p. 47-95, 2002.

EDMAN, PEHR. Preparation of phenyl thiohydantoins from some natural amino acids. *Acta Chemica Scandinavica*, v. 4, p. 277-282, 1950.

EL-BARBARY, A. A.; KHODAIR, A. I.; PEDERSEN, E. B.; NIELSEN, C. S-Glucosylated hydantoins as new antiviral agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 37, p. 73-77, 1994.

ELOKDAH, H.; SULKOWSKI, T. S.; ABOU-GHARBIA, M.; BUTERA, J. A.; CHAI, S.; MCFARLANE, G. R.; MCKEAN, M.; BABIAK, J. L.; ADELMAN, S. J.; QUINET, E. M. Design, synthesis and biological evaluation of thio-containing compounds with serum HDL-cholesterol-elevating properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 47, p. 681-695, 2004.

ESTEVEZ-HERNÁNDEZ, O.; OTAZO-SANCHEZ, E.; CISNEROS J.L.H.; NARANJO-RODRÍGUEZ, I.; REGUERA, E. A Raman and infrared study of 1-



furoyl-3-monosubstituted and 3,3-disubstituted thioureas. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 62, p. 964–971, 2005.

FALCÃO, D. Q. Estudo Químico e Farmacológico de Quatro Espécies de *Hypis* do Estado do Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro, 2003. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

FARIA, E. O.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; CARVALHO, B. G.; SILVA, C. C.; SALES, L. S. B, SCHUQUEL, I. T. A.; SILVEIRA-LACERDA, E.P.; DELPRETE, P. G. Quaternary b-carboline alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerf. *Phytochemistry Letters*, v. 3, p. 113–116, 2010.

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.

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

FATTORUSSO, E. E TAGLIALATELA-SCAFATI, O. *Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology*. Weinheim, Wiley-VCH, 2008. 665p.

FERRARINI, S. R.; GRAEBIN, C. S.; LIMBERGER, J.; CANTO, R. F. S.; DIAS, D. O.; ROSA, R. G.; MADEIRA, M. F.; EIFLER-LIMA, V. L. Synthesis of limonene  $\beta$ -amino alcohol derivatives in support of new antileishmanial therapies. *Memória Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, p. 773-777, 2008.

FIGUEIREDO, I. M.; SANTOS, L. V.; COSTA, W. F.; CARVALHO, J. E.; SILVA, C. C.; SACOMAN, J. L.; KOHN, L. K.; SARRAGIOTTO, M. H. Synthesis and antiproliferative activity of novel limonene derivatives with a substituted thiourea moiety. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, v. 17, p. 954-960, 2006.

FREDERICH, M., TITS, M.; ANGENOT, L. Potential antimalarial activity of indole alkaloids. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 102, p. 11-19, 2008.

FRIEDMAN, E.; GILL, T. J.; DOTY, P. Studies on synthetic polypeptide antigens. III. The synthesis and physico-chemical properties of a group of linear-chain antigens. *Journal of American Chemical Society*, v. 83, p. 4050-4053, 1961.

FROELICH, E.; FRUEHAN, A.; JACKMAN, M.; KIRCHNER, F. K.; ALEXANDER, E. J.; ARCHER, S. 5-heptyl-2-thiohydantoin, a new antitubercular agent. *Journal of American Chemical Society*, v. 76, p. 3099-3100, 1954.

GANBAATAR, J., OSADCHII, S. A.; SHULTS, E. E.; TOLSTIKOV, G. A. Study of alkaloids of the siberian and altai flora 9. Synthesis of amino derivatives of elatidine. *Russian Chemical Bulletin*, v. 51, n. 12, pp. 2290-2294, 2002.

GARCIA, R. M. A.; OLIVEIRA, L. O.; MOREIRA, M. A.; BARROS, W. S. Variation in emetine and cephaeline contents in roots of wild Ipecac (*Psychotria ipecacuanha*). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 33, p. 233-243, 2005.

GASPARI, P.; BANERJEE, T.; MALACHOWSKI, W. P.; MULLER, A. J.; PRENDERGAST, G. C.; DUHADAWAY, J.; BENNETT, S.; DONOVAN, A. M. Structure-activity study of brassinin derivatives as indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p. 684-692, 2006.

GERLACH, S. L.; BURMAN, R.; BOHLIN, L.; MONDAL, D.; GÖRANSSON, U. Isolation, characterization and bioactivity of cyclotides from the Micronesian Plant *Psychotria leptothyrsa*. *Journal of Natural Products*, v. 73, p. 1207–1213, 2010.

GUÉRITTE-VOEGELEIN, F., SÉVENET, T.; PUSSET, J.; ADELIN, M.; GILLET, B.; BELOEIL, J.; GUÉNARD, B.; POTIER, P. Alkaloids from *Psychotria oleoides* with activity on growth hormone release. *Journal of Natural Products*, v. 55, n. 7, p. 923-930, 1992.

GROŠELJ, U.; BEVK, D.; JAKŠE, R.; MEDEN, A.; PIRC, S.; REČNIK, S.; STANOVNIK, B.; SVETE, J. Synthesis and properties of *N*-substituted (1*R*,5*S*)-4-aminomethylidene-1,8,8-trimethyl-2-oxabicyclo[3.2.1]octan-2-ones. *Tetrahedron: Asymmetry*, v.15, p. 2367–2383, 2004.

HART, N.; JOHNS, S.; LAMBERTON, J.; SUMMONS, R. Psychotridine, a C<sub>55</sub>H<sub>62</sub>N<sub>10</sub> Alkaloid From *Psychotria beccarioides* (Rubiaceae). *Australian Journal of Chemistry*, v. 27, n. 3, p. 639-646, 1974.

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

HERRAIZ, T.; GALISTEO, J. Tetrahydro-β-carboline alkaloids occur in fruits and fruit juices. Activity as Antioxidants and Radical Scavengers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 7156–716, 2003.

ITOH, A.; TANAHASHI, T.; NAKAGURA, N.; NISHI, T. Two chromone-secoiridoid glycosides and three indole alkaloid glycosides from *Neonauclea sessilifolia*. *Phytochemistry*, v. 62, p. 359-369, 2003.

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

JOHNSON, T. B.; NICOLET, B. H. Hydantoins: the synthesis of 2-thiohydantoin. *Journal of American Chemical Society*, v. 33, n.12, p. 1973–1978, 1911.

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.; IGLESIAS, A. H.; DELPRETE, P. G. Antiprotozoal Alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerem. Journal of 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.; ELIZABETSKY, E.; HENRIQUES, A.T. Brachycerine, a novel monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. Journal of Natural Products, v. 64, p. 677-679, 2001.

KERBER, V. A.; PASSOS, C. S., VERLI, H., FETT-NETO, A. G.; 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.

KLEINPETER, E.; KLOD, S.; PERJÉSSY, A.; SĀMALIKOVÁ, M.; SYNDERLATA, K.; SĀUSTEKOVÁ, Z. Correlation analysis of characteristic infrared spectral data of hydantoin derivatives: evidence for vibrational coupling. Journal of Molecular Structure, v. 645, p. 17–27, 2003.

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. Nature Reviews Drug Discovery, v. 4, p. 206-220, 2005.

KOLEVA, I.I.; van BEEK, T.; LINSSEN, J. P.; de GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis, v.13, p. 8-17, 2002.

LAJIS, N. H.; MAHMUD, Z.; TOIA, R. F. The alkaloids of *Psychotria rostrata*. Planta Medica, v. 59, n. 4, p. 383-4, 1993.

LAMOTHE, M.; LANNUZEL, M.; PEREZ, M. Solid-Phase Preparation of Hydantoins through a New Cyclization/Cleavage Step. Journal of Combinatorial Chemistry, v.4, p. 73-78, 2002.

LI, X.-N.; ZHANG, Y.; CAI, X.-H.; FENG, T.; LIU, Y.-P.; LI, Y. REN, J.; ZHU, H.-J.; LUO, X.-D. Psychotripine: a new trimeric pyrroloindoline derivative from *Psychotria pilifera*. Organic Letters, v. 13, n. 21, p. 5896–5899, 2011.

LIBOT, F.; MIET, C.; KUNESCH, N.; POISSON, J. E. Rubiacées d'Océanie: alcaloïdes de *Psychotria oleoides* de Nouvelle-Calédonie et de *Calicodendron milnei* du Vanuatu (Nouvelles-Hébrides). Journal of Natural Products, v. 50, n.3, p. 468-473, 1987.

LIN, M.-J.; SUN, C.-M. Microwave-assisted traceless synthesis of thiohydantoin. Tetrahedron Letters, v. 44, p. 8739–8742, 2003.

LING, S-K.; LOMORITA, A.; TANAKA, T.; FUJIOKA, T.; MIHASHI, K.; KOUNO, I. Iridoids and Anthraquinones from the Malaysian Medicinal Plant, *Saprosma scortechinii* (Rubiaceae). Chem. Pharm. Bull., v. 50, n. 8, p. 1035-1040, 2002.

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

LUO, X.; ZHANG, H.; LI, Y.; LI, X.; CAI, X. Indole alkaloid compound quadrigemine extracted from *Psychotria pilifera* Hutch, and its salts and analogs for cancer treatment. Faming Zhuanli Shenqing, Patente industrial n. CN20121012859 16.01.2012.

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

MANJULA, S.N.; NOOLVI, N. M.; PARIHAR, K. V.; REDDY, S.A. M.; RAMANI, V.; GADAD, A. K.; SINGH, G.; KUTTY, N. G.; RAO, C. M. Synthesis and antitumor activity of optically active thiourea and their 2-aminobenzothiazole derivatives: a novel class of anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 44, p. 2923–2929, 2009.

MARTON, J.; ENISZ, J.; HOSZTAFI, S.; TIMÁR, T. Preparation and fungicidal activity of 5-substituted hydantoins and their 2-thio analogues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 41, p. 148-152, 1993.

MO, B.; LI, J.; LIANG, S. A method for preparation of amino acid thiohydantoins from free amino acids activated by acetyl chloride for development of protein C-terminal sequencing. *Analytical Biochemistry*, v. 249, p. 207–211, 1997.

MORODER, Susanne. Synthesis of indole derivatives as novel indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors. Wien, 2010. 77 p. Dissertação (Mestrado)-Universität Wien.

MOURA, I. C.; WUNDERLICH, G.; UHRIG, M. L.; COUTO, A. S.; PERES, V. J.; KATZIN, A. M.; KIMURA, A. E. Limonene arrests parasite development and inhibits isoprenylation of proteins in *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v. 45, p. 2553-2558, 2001.

MOURA, V. M.; SANTOS, D. P.; SANTIN, S. M. O. Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae). *Química Nova*, v. 29, n. 3, p. 452-455, 2006.

MUHAMMAD, I.; DUNBAR, D. C.; KHAN, S. I.; TEKWANI, B. L.; BEDIR, E.; TAKAMATSU, S.; FERREIRA, D.; WALKER, L. A. Antiparasitic Alkaloids from *Psychotria klugii*. *Journal of Natural Products*, v. 66, p. 962-967, 2003.

MURILLO, R.; CASTRO, V. Isolation of the alkaloid harmine from *Psychotria suerrensis*. *Ingeniería y Ciencia Química*, v. 18, n. 2, p. 61-62, 1998.

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

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, v. 75, p. 311-335, 2012.

NOVAROLI, L.; DAINA, A.; FAVRE, E.; BRAVO, J.; CAROTTI, A.; LEONETTI, F.; CATTO, M.; CARRUPT, P.A.; REIST, M. Impact of species-dependent differences on screening, design and development of MAO-B inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p. 6264–6272, 2006.

OLIVEIRA, S. M. de; SILVA, J. B. P. da; HERNANDES, M. Z.; LIMA, M. DO C. A. de; GALDINO, S. L.; PITTA, I. da R. Estrutura, reatividade e propriedades biológicas de hidantoínas. *Química Nova*, v.31, n.3, p. 614-622, 2008.

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

PATCHING, S. G. Efficient synthesis of <sup>13</sup>C- and <sup>14</sup>C-labelled 5-benzyl and 5-indolylmethyl *L*-hydantoins. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, v.54, p. 110-114, 2011.

PAUL, J. H. A.; MAXWELL, A. R.; REYNOLDS, W. F. Novel bis(monoterpenoid) indole alkaloids from *Psychotria bahiensis*. *Journal of Natural Products*, v. 66, p. 752-754, 2003.

PAULO, A.; JIMENOB, M. L.; GOMES, E. T.; HOUGHTONC, P. J. Steroidal alkaloids from *Cryptolepis obtusa*. *Phytochemistry*, v. 53, p. 417–422, 2000.

PIMENTA, A. T. A.; BRAZ-FILHO, R.; DELPRETE, P. G.; SOUZA, E. B.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Structure elucidation and NMR assignments of two unusual monoterpene indole alkaloids from *Psychotria stachyoides*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 48, p. 734–737, 2010.

PIMENTA, A. T. A.; 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.

PIMENTA, A. T. A.; UCHÔA, D. E. A.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Alkaloid and other Chemical Constituents from *Psychotria stachyoides* Benth. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 11, p. 2216-2219, 2011.

PRZHEVAL'SKII, N. M.; MAGEDOV, I. V.; DROZD, V. N. New derivatives of indole. Synthesis of s-(indolyl-3) diethyl dithiocarbamates. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, v. 33, n. 12, p. 1475-1476, 1997.

RAMADAS, K.; SURESH, G.; JANARTHANAN, N.; MASILAMANI, S. Antifungal activity of 1,3-disubstituted symmetrical and unsymmetrical thioureas. *Pesticide Science*, v. 52, p. 145-151, 1998.

ROVA, J. H. E.; DELPRETE, P. G.; ANDERSSON, L.; ALBERT, V. A. A *trnL-F* cpDNA sequence study of the Condamineae-Rondeletieae-Sipaneeae complex with implications on the phylogeny of the Rubiaceae. *American Journal of Botany*, v. 89, p.145-159, 2002.

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

SHARMA, V.; KUMAR, P.; PATHAK, D. Biological importance of the indole nucleus in recent years: A comprehensive review. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, v. 47, n. 3, p. 491–502, 2010.

SILVA, A. P.; MARTINI, M. V.; OLIVEIRA, C. A. M.; CUNHA, S.; CARVALHO, J.; RUIZ, A. L. T. G.; SILVA, C. C. Antitumor activity of (–)- $\alpha$ -bisabolol-based thiosemicarbazones against human tumor cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 2987-2993, 2010.

SILVA NETO, B. R.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; SILVA, R. A.; SILVA, J. F.; MENDES-GIANNINI, M. J. S.; SOARES, C. M. A.; PEREIRA, M. Indol alkaloids with potential inhibitory effect of the enzyme Malate Synthase of *Paracoccidioides lutzii*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 58. Foz do Iguaçu, 2012. Resumos. Paraná, Sociedade Brasileira de Genética, 2012, p.44.

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

SIM, M. M.; GANESAN, A. Solution-phase synthesis of a combinatorial thiohydantoin library. *Journal of Organic Chemistry*, v. 62, p. 3230-3235, 1997.

SIMÕES-PIRES, C. A.; FARIAS, F. M.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F.; CHAVES, C. G.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Indole monoterpenes with antichemotactic activity from *Psychotria myriantha*: chemotaxonomic significance. *Natural Product Communications*, v. 1, n. 12, p. 1101-1106, 2006.

SOLIS, P. N.; RAVELO, A. G.; PALENZUELA, J. A.; GUPTA, M. P.; GONZÁLEZ, A.; PHILLIPSON, J. D. Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. *Phytochemistry*, v. 44, n. 5, p. 963-969, 1997.

SOLIS P. N.; LANG'AT, C.; GUPTA, M. P.; KIRBY, G. C.; WARHURST, D. C.; PHILLIPSON, J. D. Bio-active compounds from *Psychotria camponutans*. *Planta Medica*, v. 61, n.1, p.62-65, 1995.

STADEN, J. V.; AREMU, A. O.; AMOO, S. O.; NADHLALA, A. R.; FINNIE, J. F. Antioxidant activity, acetylcholinesterase inhibition, iridoid content and mutagenic evaluation of *Leucosidea sericea*. *Food and Chemical Toxicology*. v. 49, 1122-1128, 2011.

STEYERMARK, J. A. The botany of the Guayana Highland part IX. Rubiaceae. *Mem. New York Bot. Gard.* v. 23, p. 227-832, 1972.

SUBHADHIRASAKUL, S.; PECHPONGS, P. A terpenoid and two steroids from the flowers of *Mammea siamensis*. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, v. 27, n. suppl. 2, p. 555-561, 2005.

TAKAHASHI, A.; MATSUOKA, H.; OZAWA, Y.; UDA, Y. Antimutagenic properties of 3,5-disubstituted 2-thiohydantoin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 46, p. 5037-5042, 1998.

TAKAYAMA, H.; MORI, I.; KITAJIMA, M.; AIMI, N.; LAJIS, N. H. New Type of Trimeric and Pentameric Indole Alkaloids from *Psychotria rostrata*. *Organic Letters*, v. 6, n. 17, p. 2945-2948, 2004.

TANG, J.; WANG, Y.; WANG, R.; DONG, Z.; YANG, L.; ZHENG, Y.; LIU, J. Synthesis of analogues of flazin, in particular, flazinamide, as promising anti-HIV agents. *Chemistry and Biodiversity*, v. 5, p. 447-460, 2008.

TAYLOR, C. M. Overview of Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. *Opera Botanica Belgica*, v. 7, p. 261-270, 1996.

TENG, X.; DEGTEREV, A.; JAGTAP, P.; XING, X.; CHOI, S.; DENU, R.; YUAN, J.; CUNY, G. D. Structure-activity relationship study of novel necroptosis inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 15, p. 5039-5044, 2005.

VEROTTA, L.; PILATI, T.; TATO, 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.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, v. 26, p. 390-400, 2003.

WILSON, R. M.; DANISHEFSKY, S. J. Small molecule natural products in the discovery of therapeutic agents: the synthesis connection. *Journal of Organic Chemistry*, v. 71, p. 8329-8351, 2006.

WU, S.; JANUSZ, J. M. Solid-phase synthesis of 3-aminohydantoin, dihydrouracil, thiohydantoin and dihydrothiouracil derivatives. *Tetrahedron Letters*, v. 41, p. 1165–1169, 2000.

XIN, W.; CHOU, G.; WANG, Z. Bis(monoterpenoid) indole alkaloid glucosides from *Uncaria hirsuta*. *Phytochemistry Letters*, v.4, p. 380-382, 2011.

YAMADA, T.; LUKAC, P. J.; YU, T.; WEISS, R. G. Reversible, room-temperature, chiral ionic liquids. Amidinium carbamates derived from amidines and amino-acid esters with carbon dioxide. *Chemistry of Materials*, v. 19, p. 4761-4768, 2007.

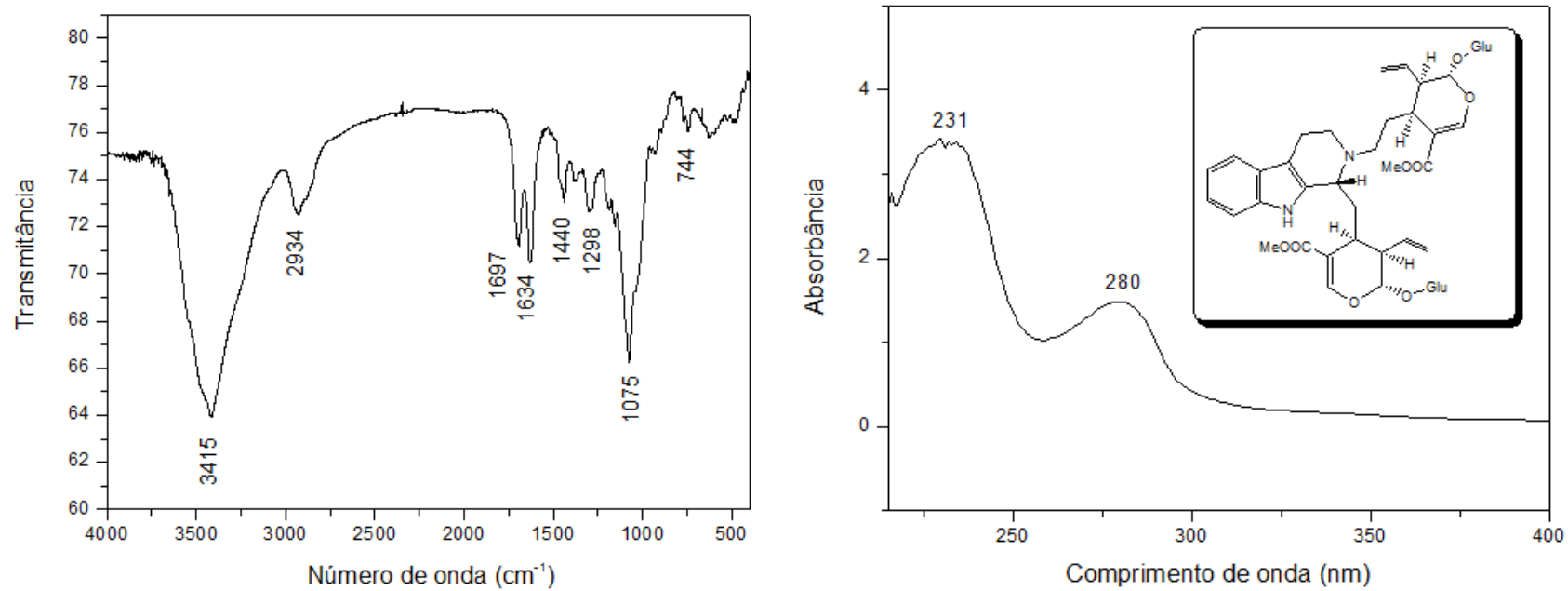
YOUDIM, MB.; WEINSTOCK, M. Therapeutic applications of selective and non-selective inhibitors of monoamine oxidase A and B that do not cause significant tyramine potentiation. *Neurotoxicology*, v. 25, n.1-2, p. 243–50, 2004.

YOUDIM, M.B.H., BAKHLE, Y.S. Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease. *British Journal of Pharmacology*, v. 147, p. S287–S296, 2006.

ZHOUA, H.; HEB, H.-P.; WANG, Y.-H.; HAO, X.-J. A new dimeric alkaloid from the leaf of *Psychotria calocarpa*. *Helvetica Chimica Acta*, v. 93, p. 1650-1652, 2010.



# **ANEXO A**



**Figura 29.** Espectro na região de infravermelho e de ultravioleta (MeOH) do composto (6).

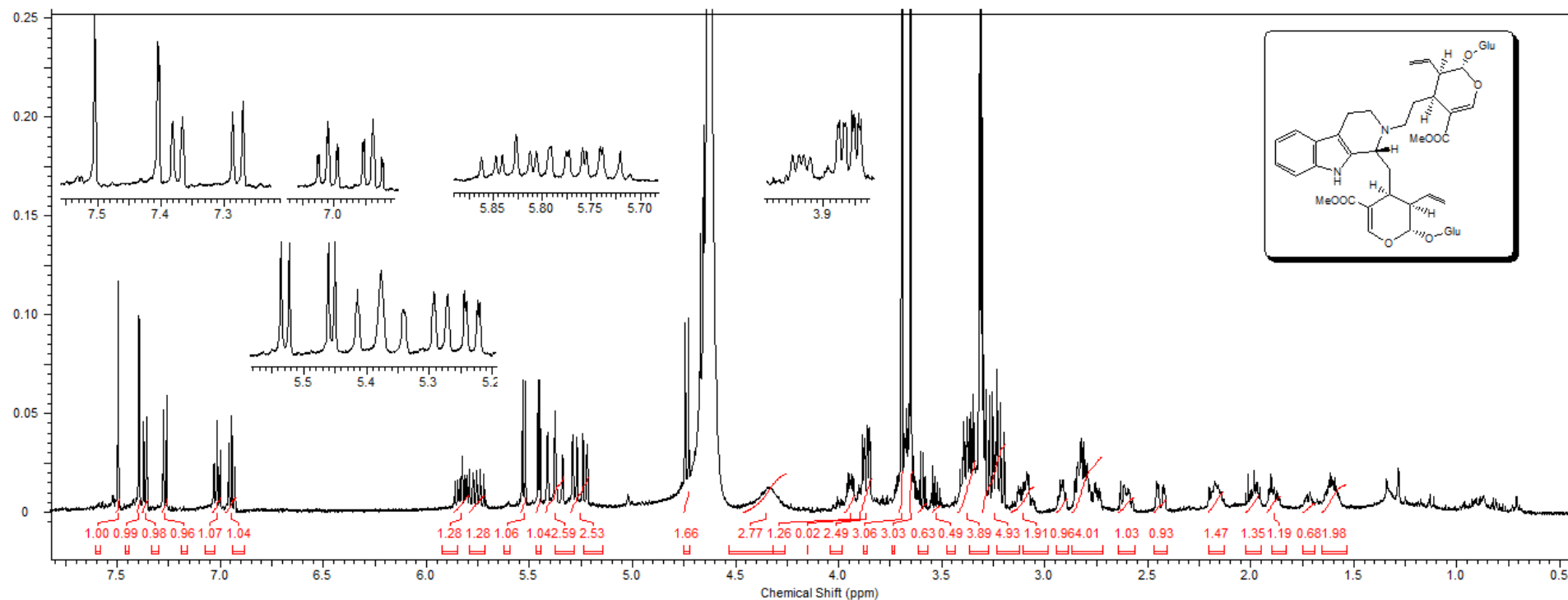
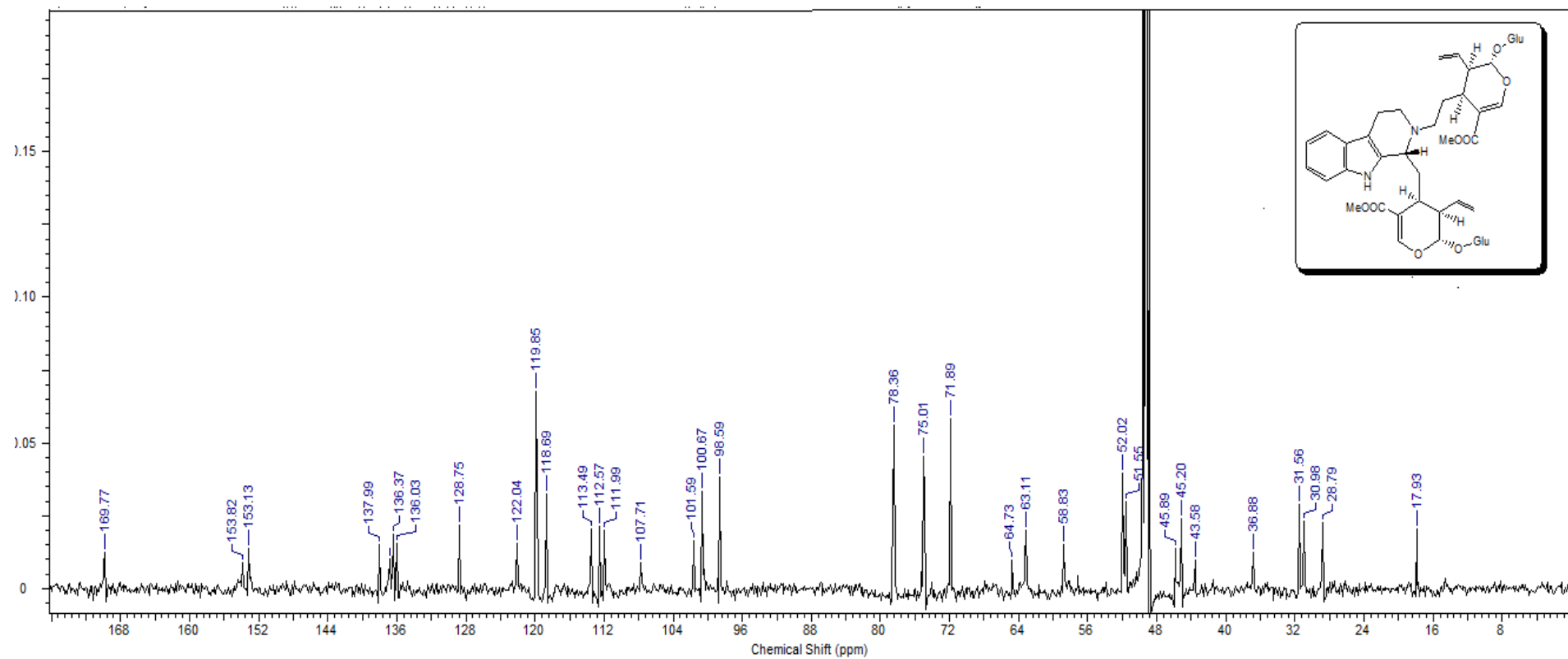
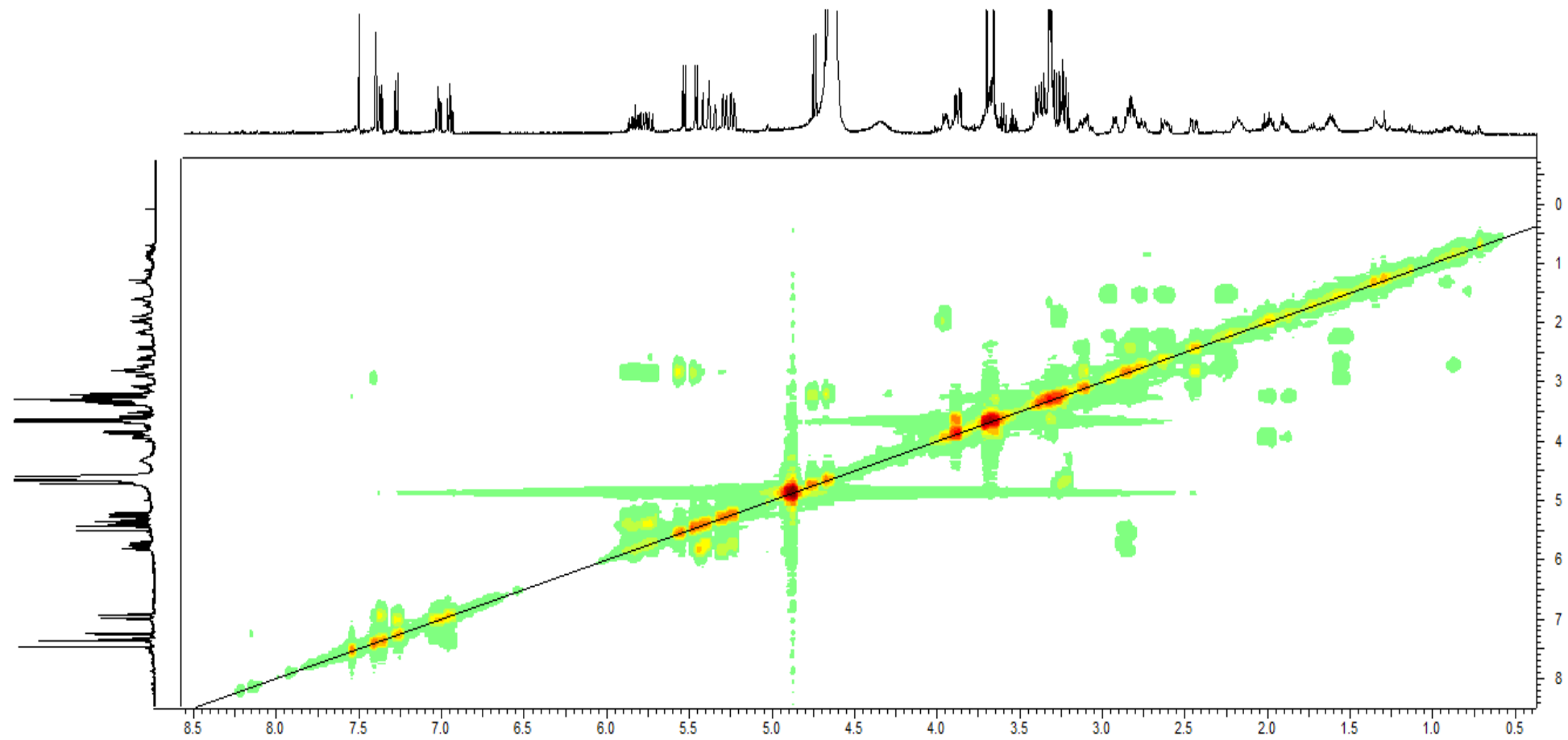


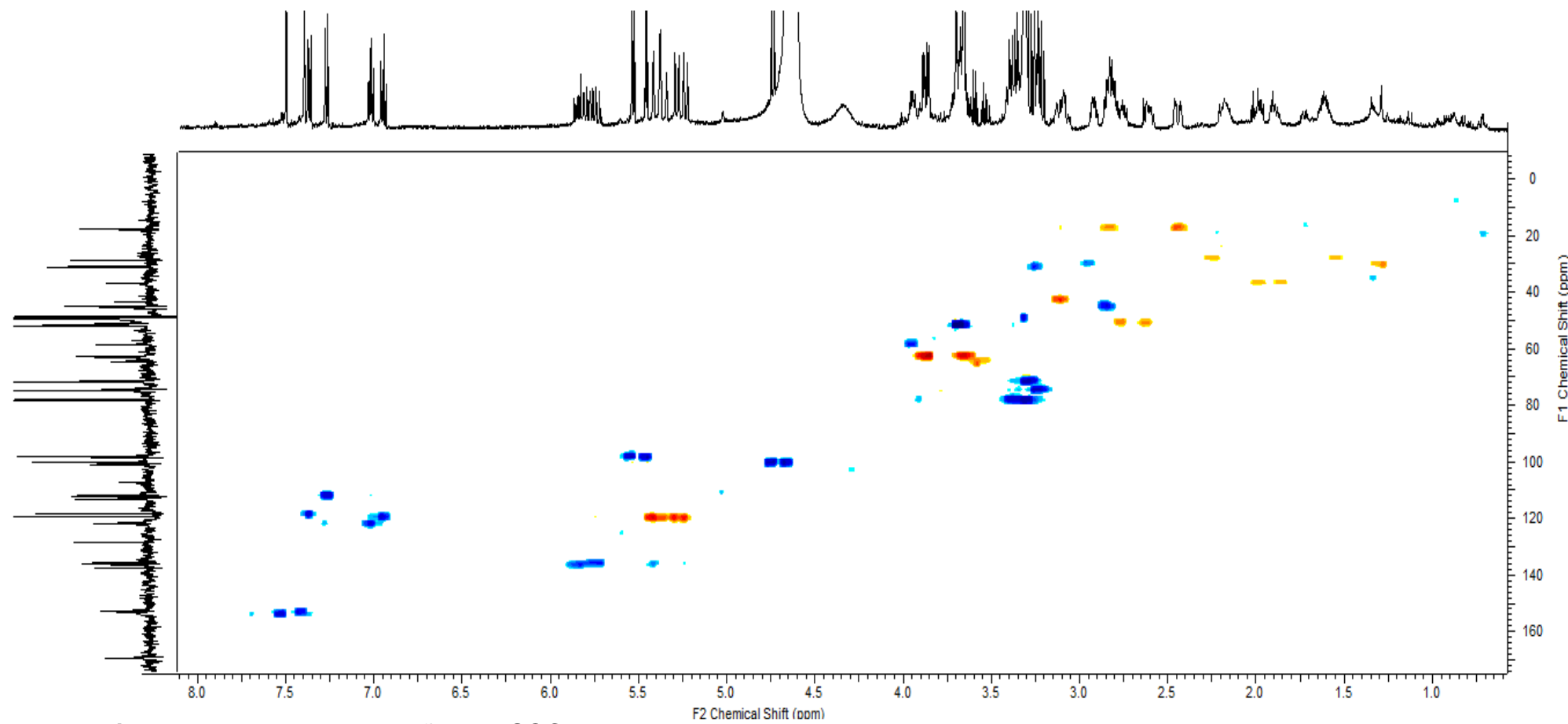
Figura 30. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD, 500 MHz) do composto 6.



**Figura 31.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (MeOD, 125 MHz) do composto **6**.



**Figura 32.** Mapa de correlação de COSY do composto **6**.



**Figura 33.** Mapa de correlação de HSQC do composto **6**.

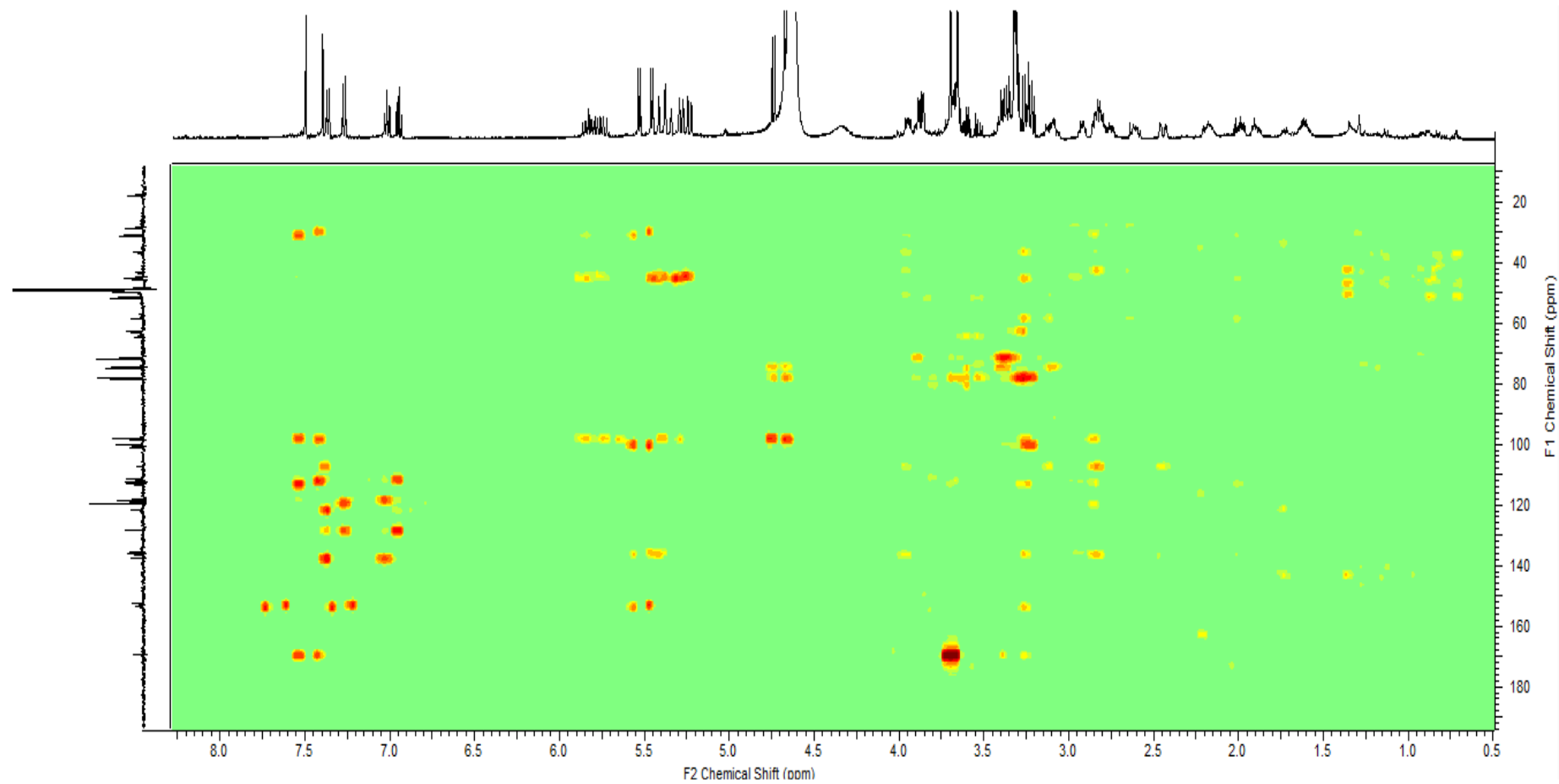
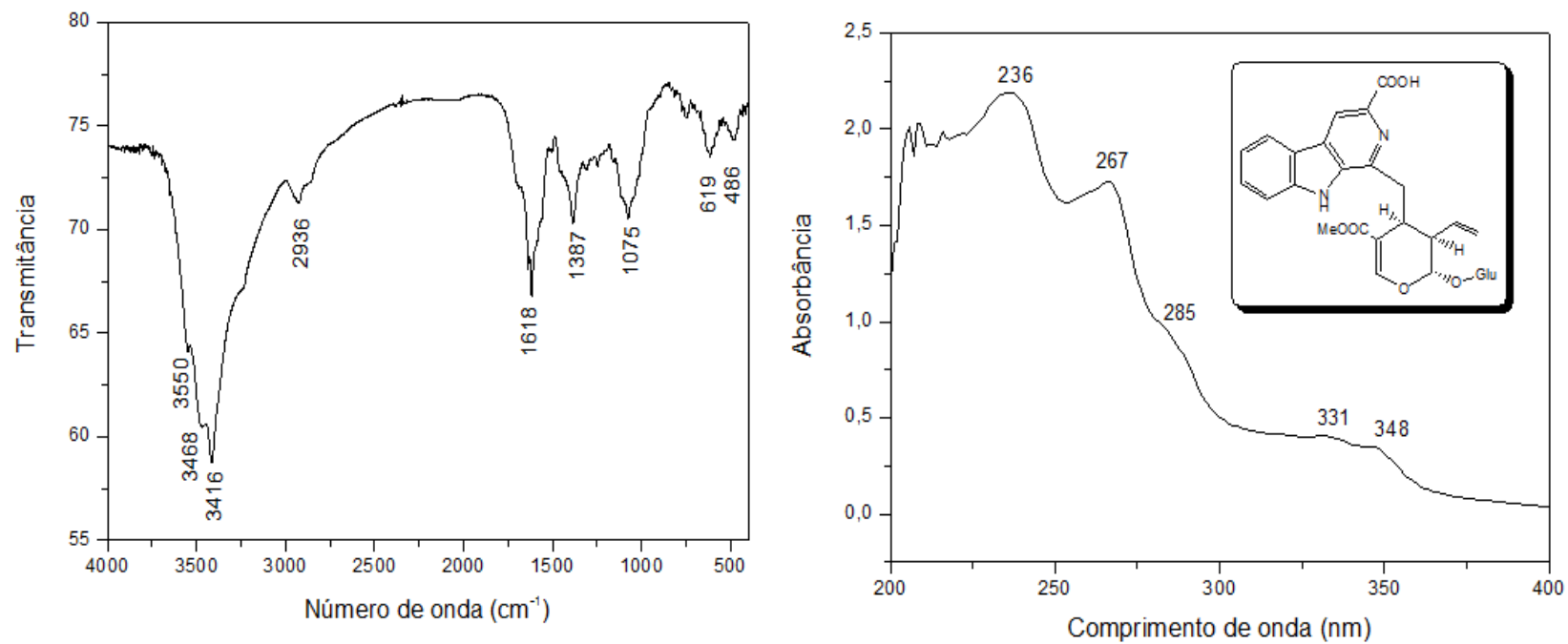


Figura 34. Mapa de correlação de HMBC do composto **6**.



**Figura 35.** Espectro na região de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (MeOH) do composto 7.



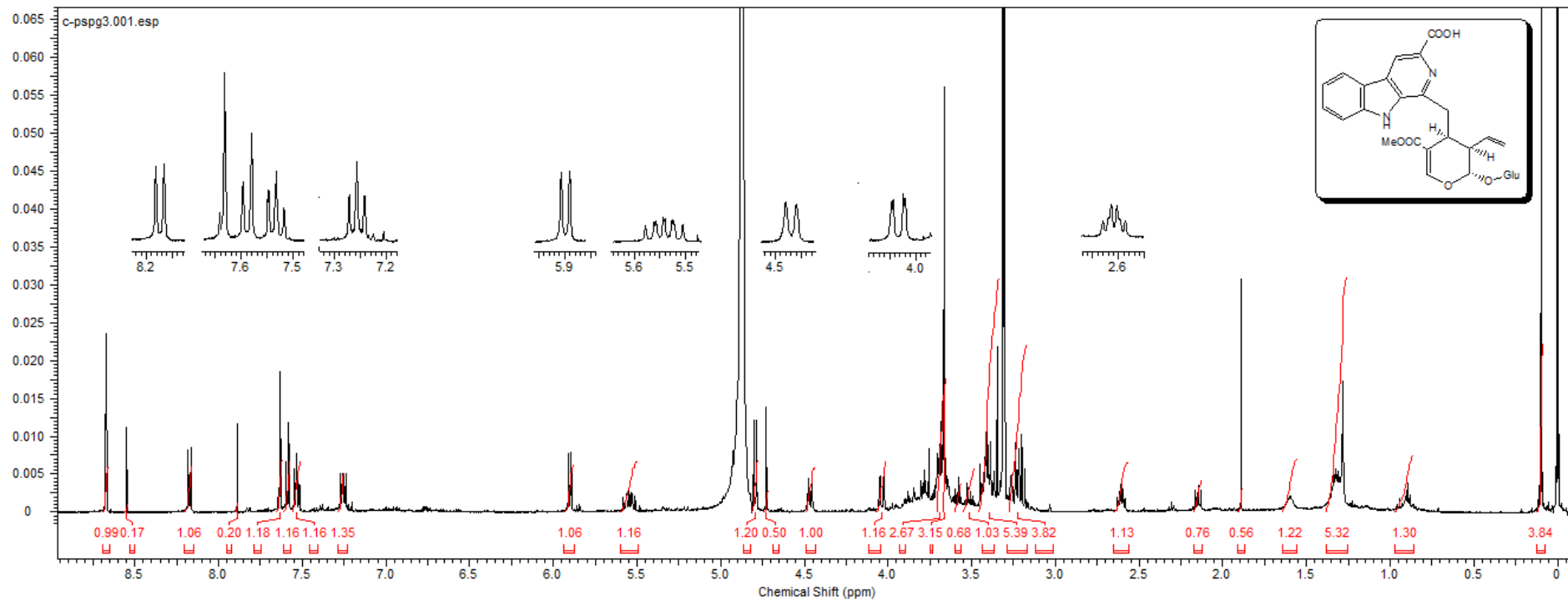


Figura 36. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 7.

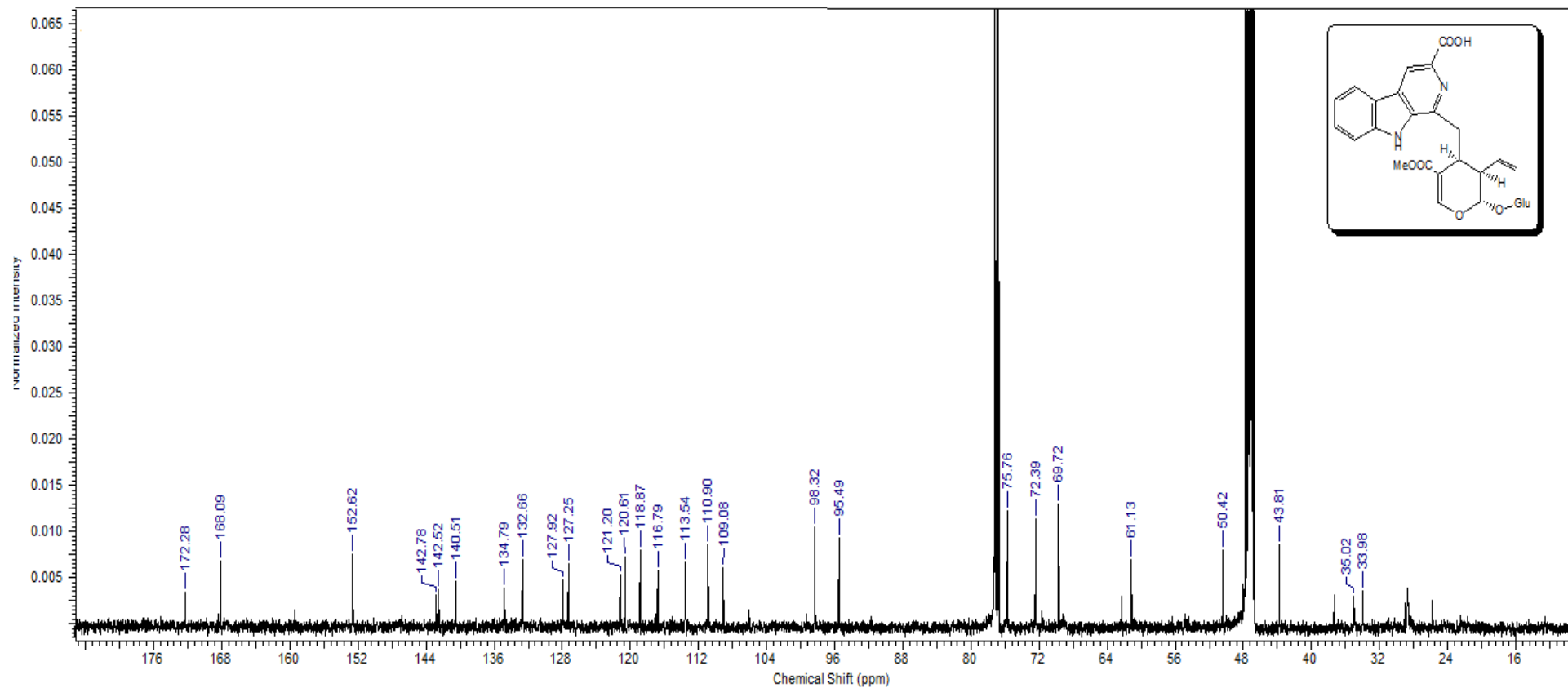
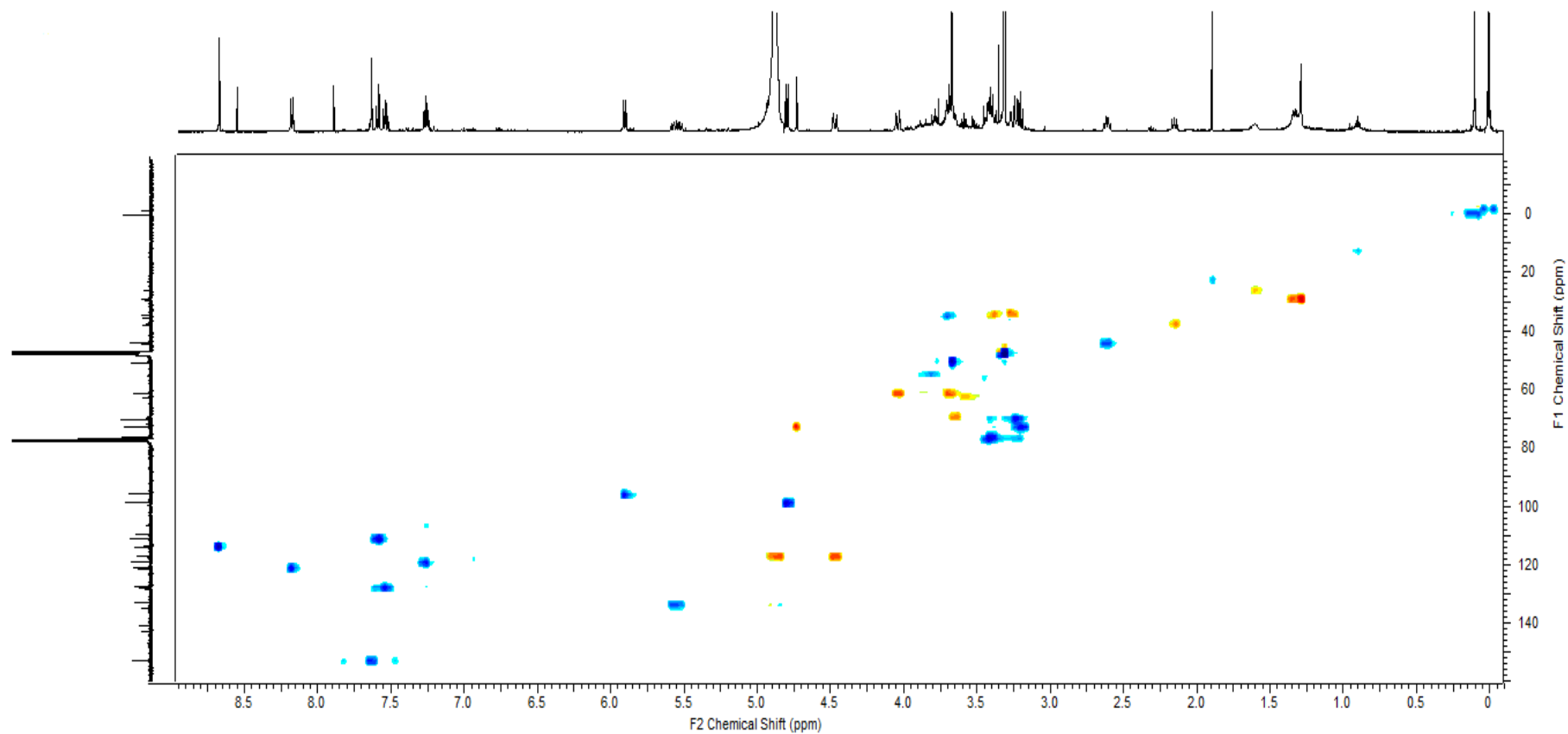


Figura 37. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 7.



**Figura 38.** Mapa de correlação de HSQC do composto 7.

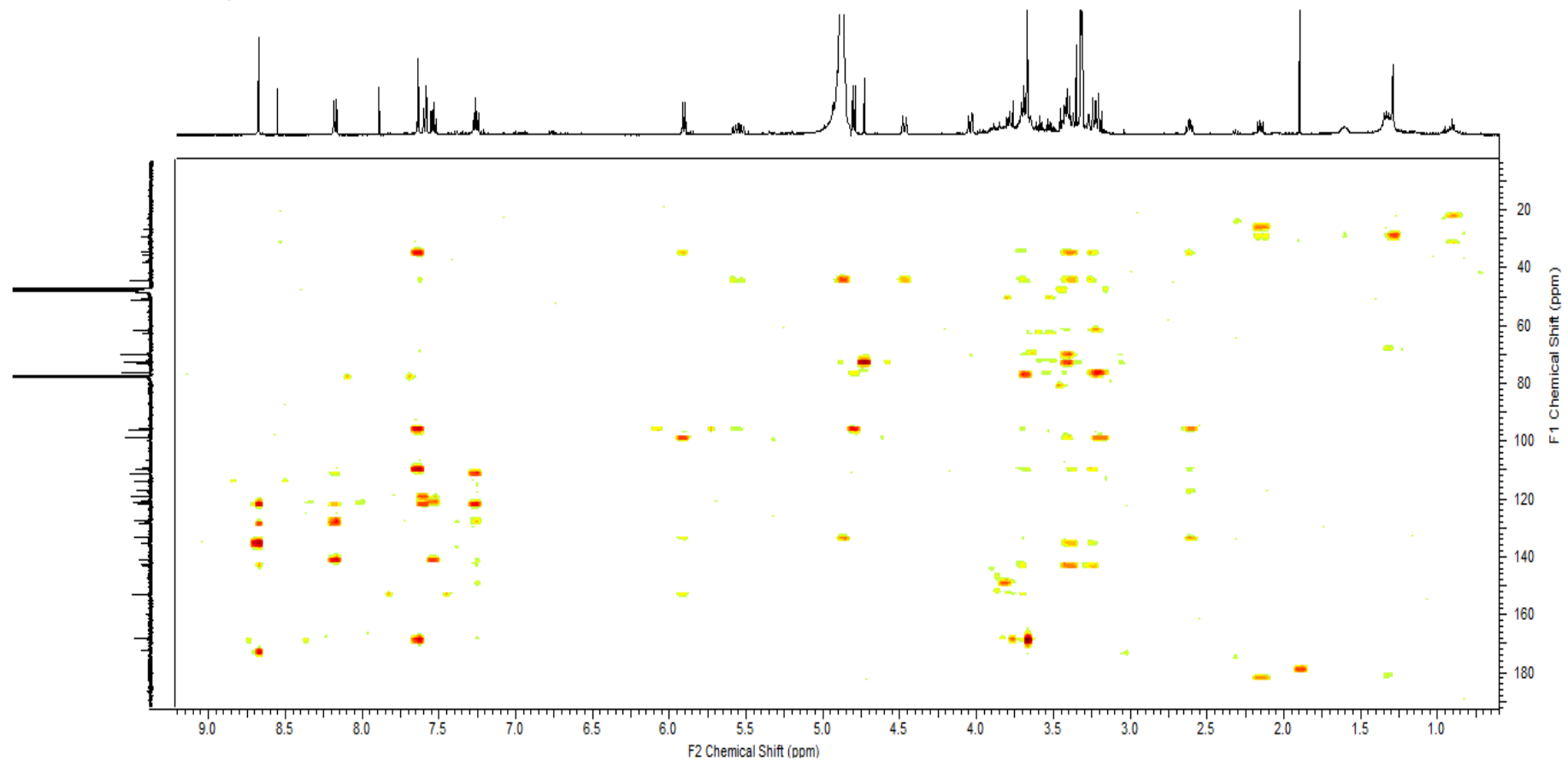
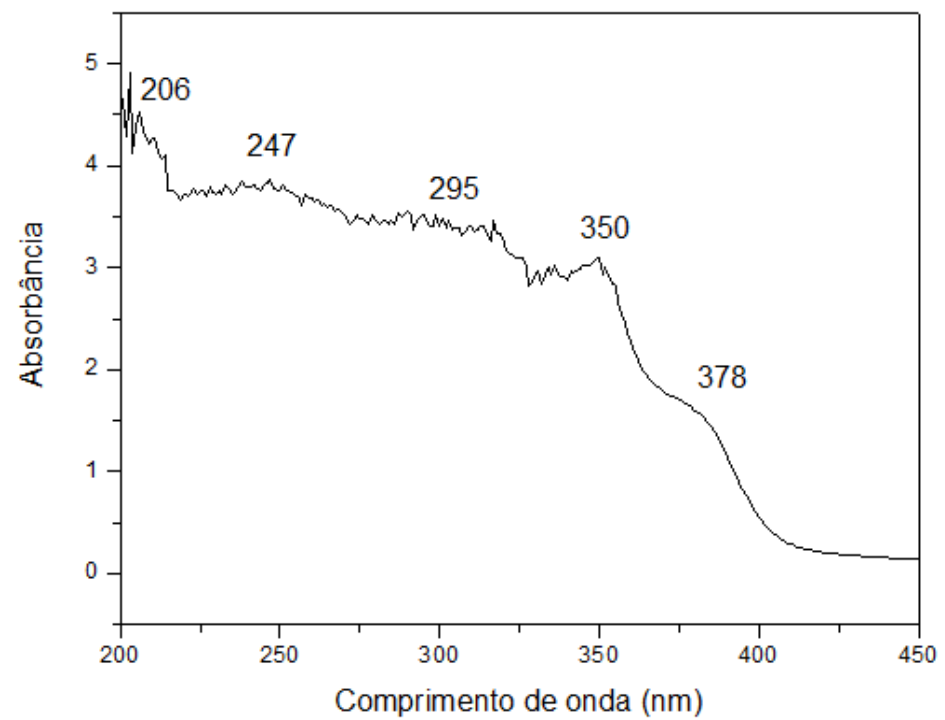


Figura 39. Mapa de correlação de HMBC do composto 7.



**Figura 40.** Espectro na região de ultravioleta (MeOH) do composto **8**.

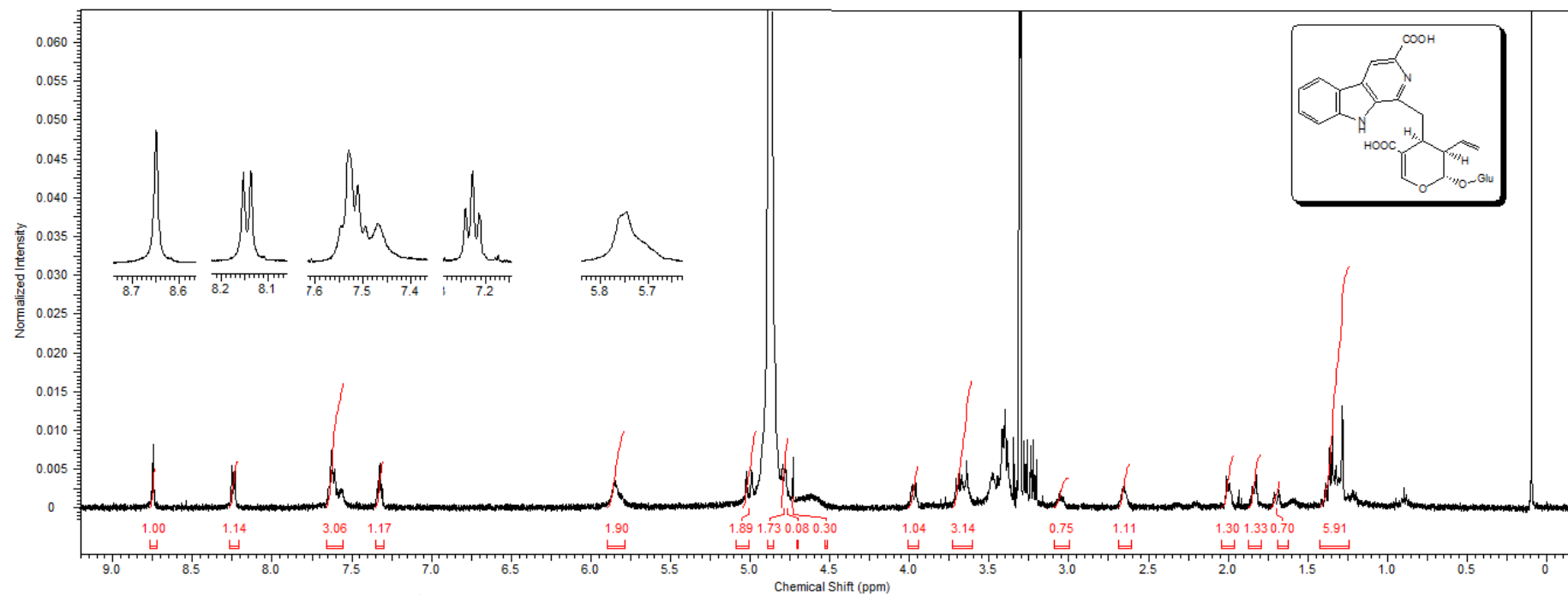


Figura 41. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 8.

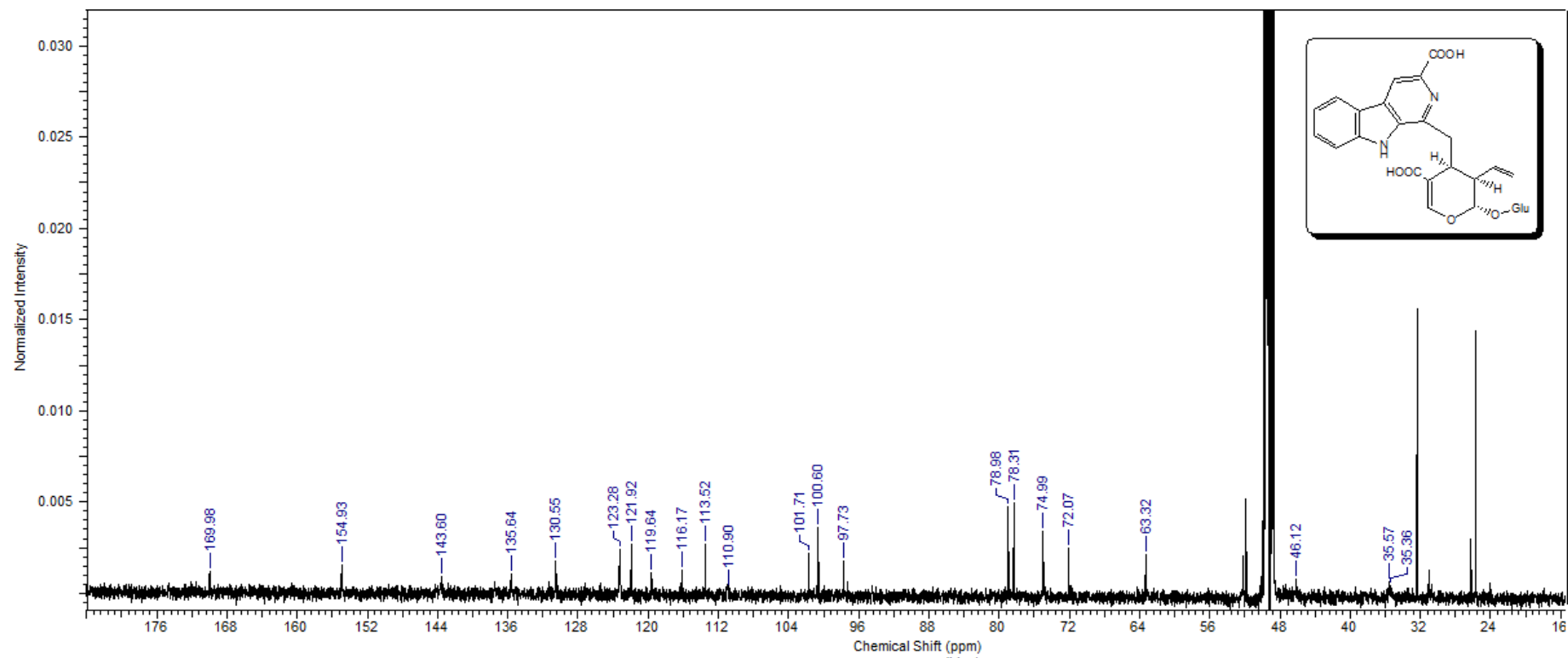
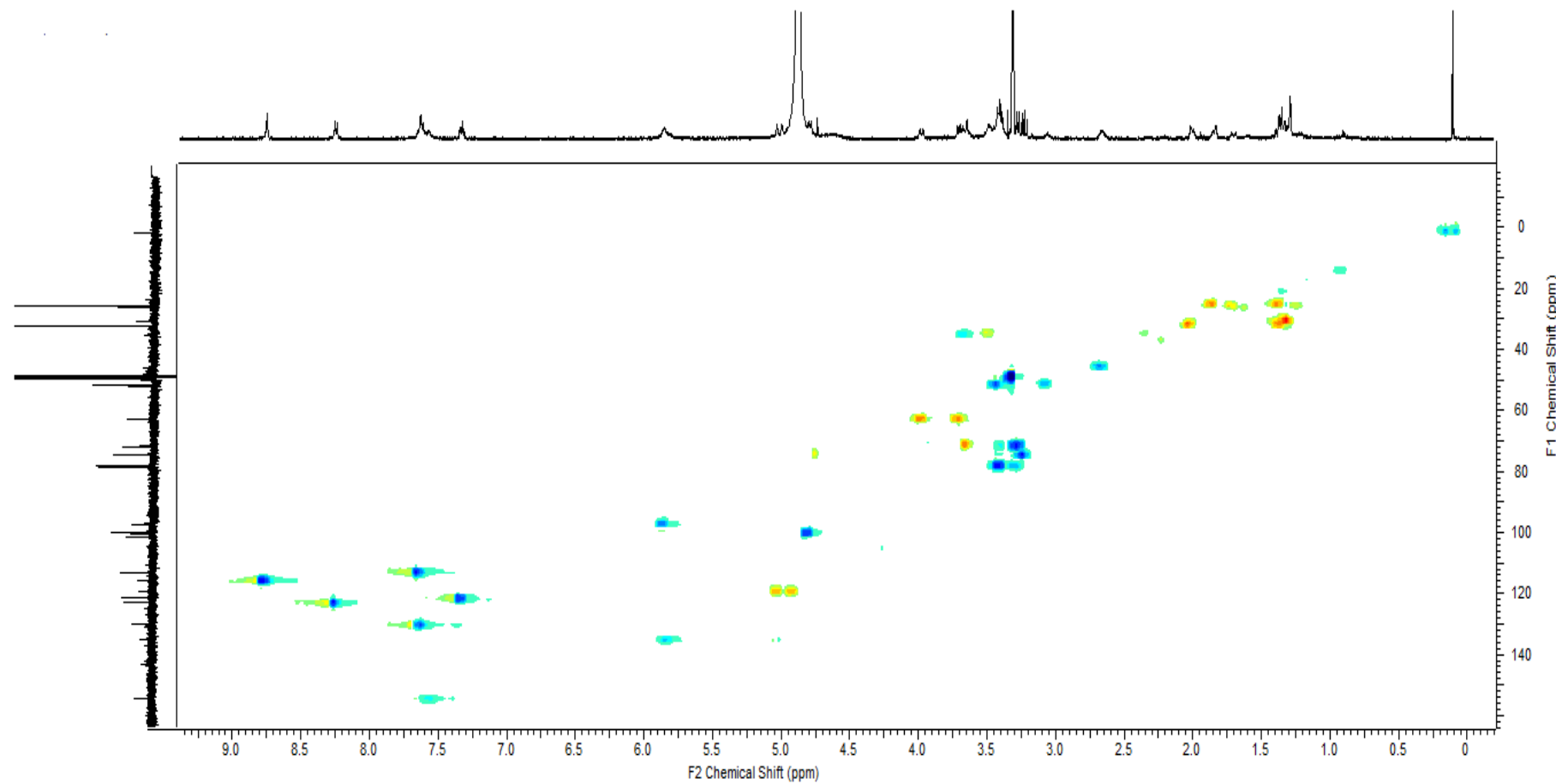
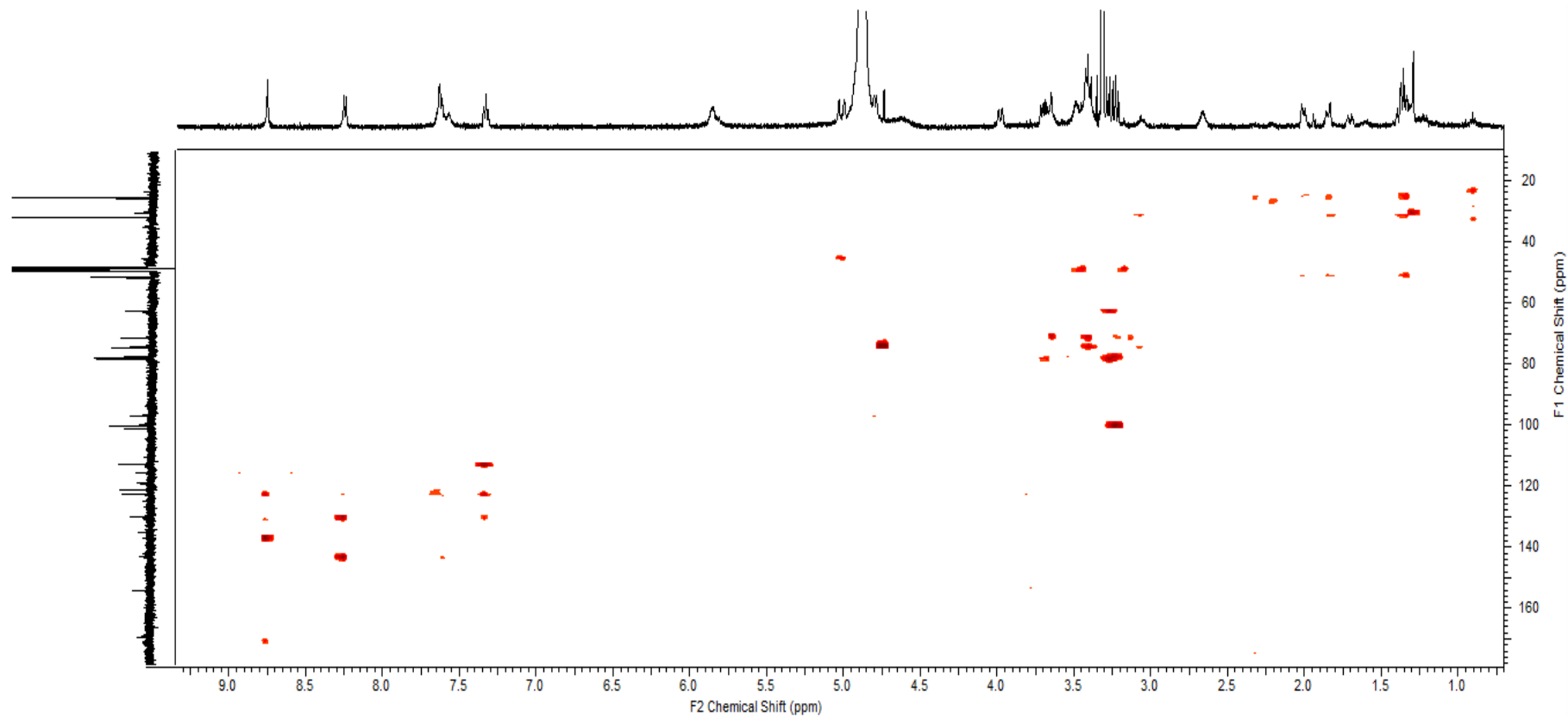


Figura 42. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 8.



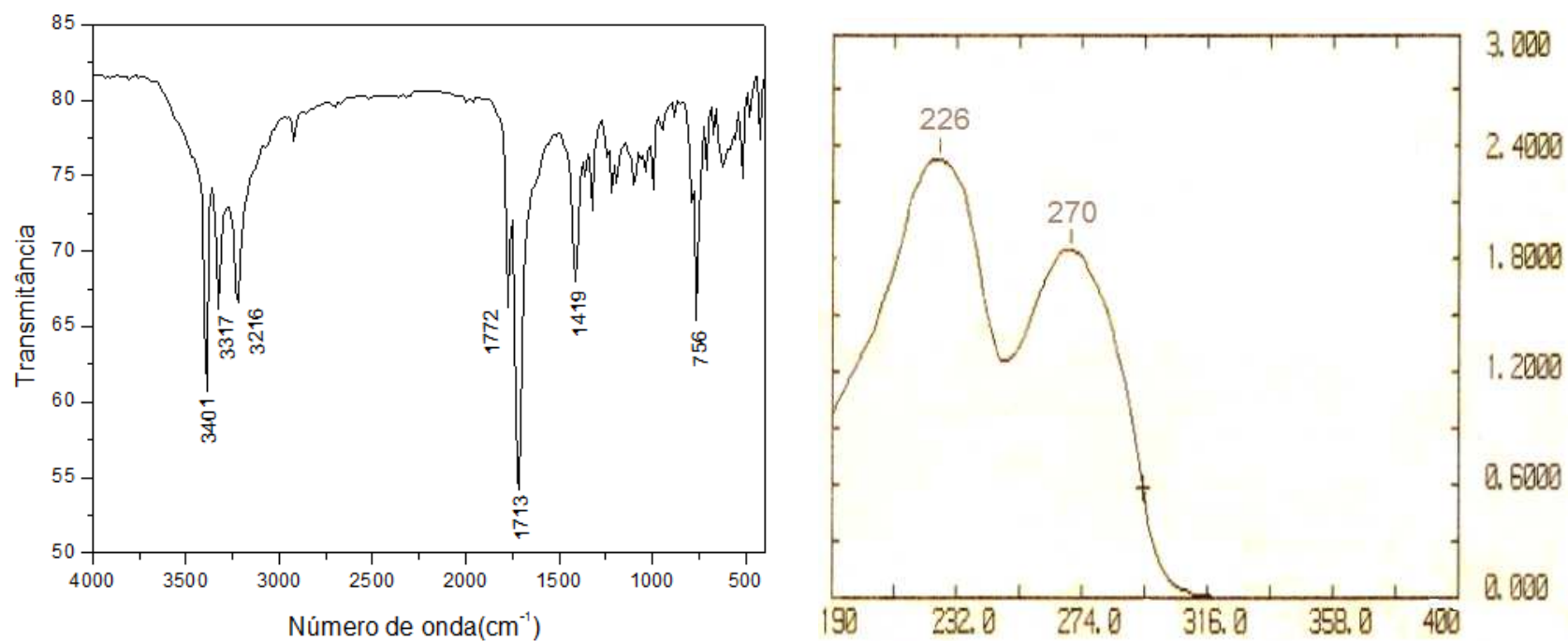
**Figura 43.** Mapa de correlação de HSQC do composto **8**.





**Figura 44.** Mapa de correlação de HMBC do composto **8**.

## **Anexo B**



**Figura 45.** Espectro na região de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (MeOH/DMSO) da hidantoína (**20**).

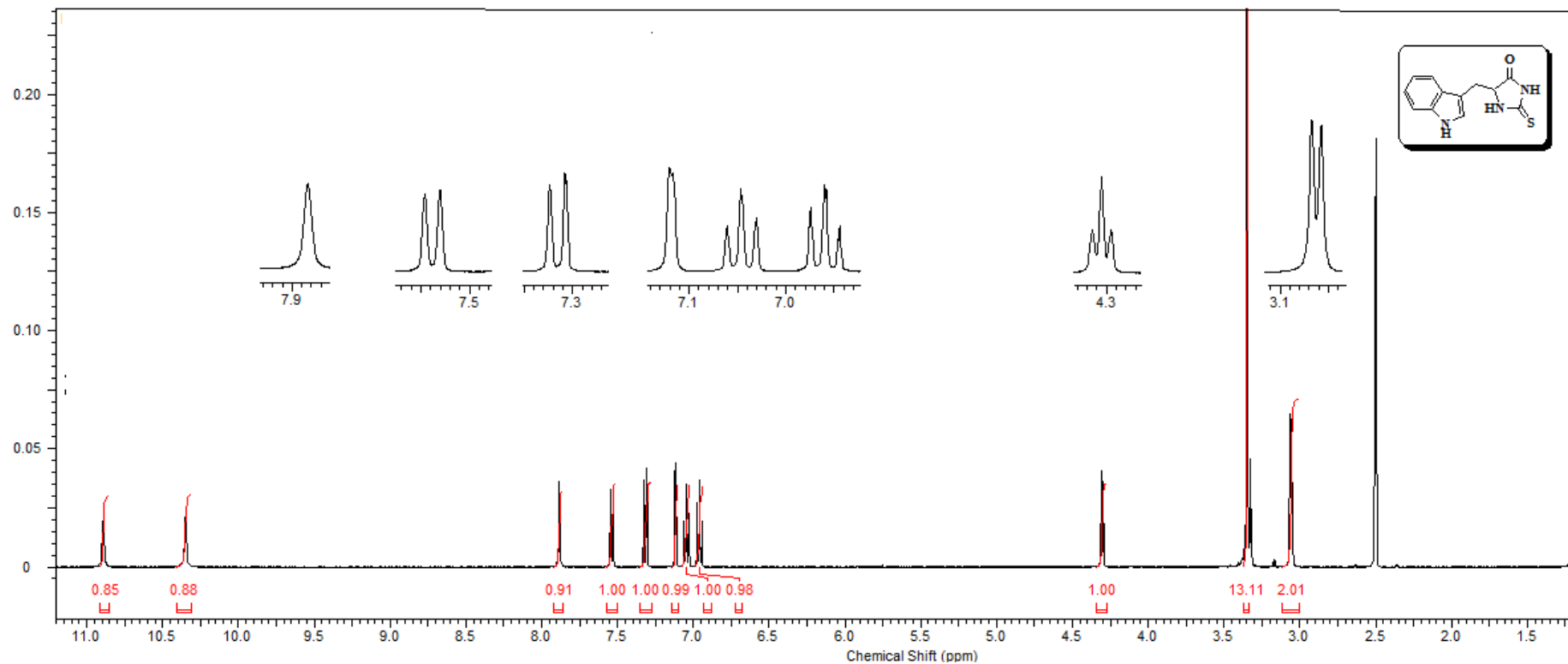
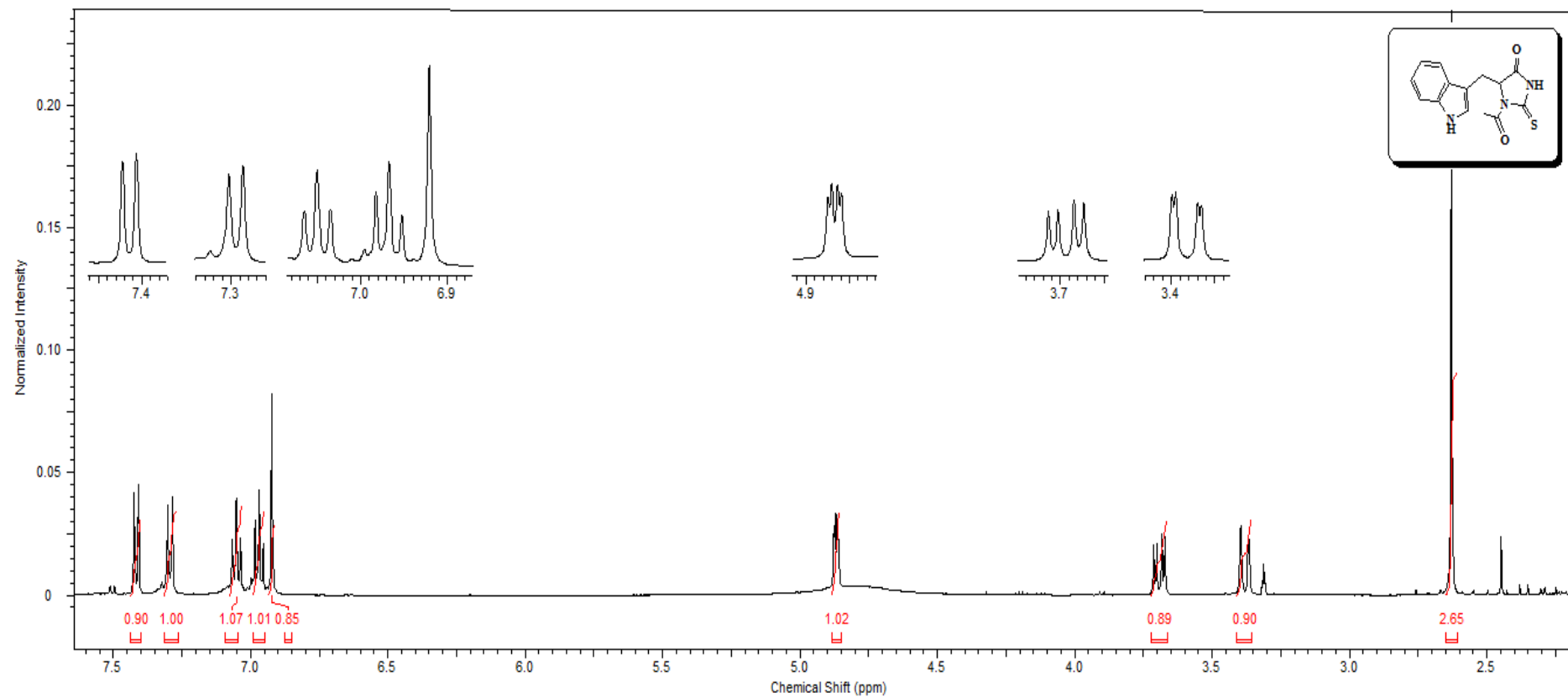
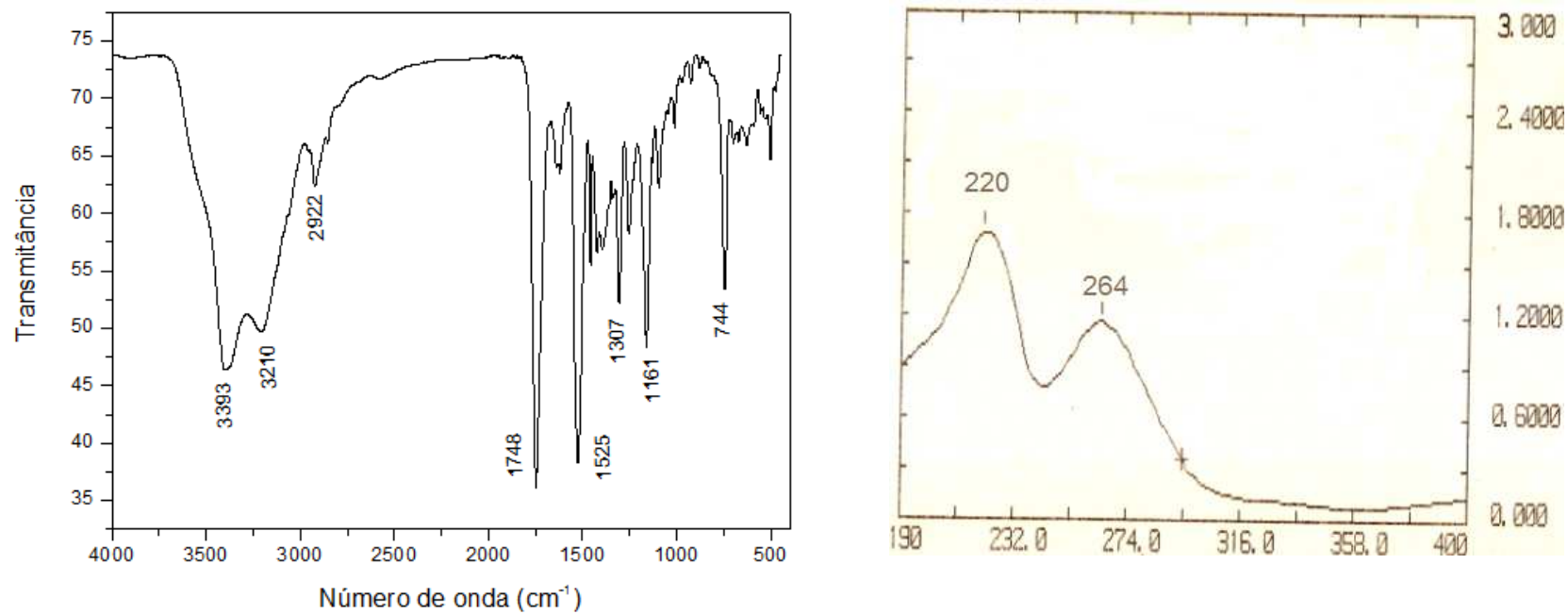


Figura 46. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) da hidantoína (20).



**Figura 47.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{MeOD}$ , 500 MHz) do composto **(24)**.



**Figura 48.** Espectro na região de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (MeOH) da tiohidantoína (**21**).

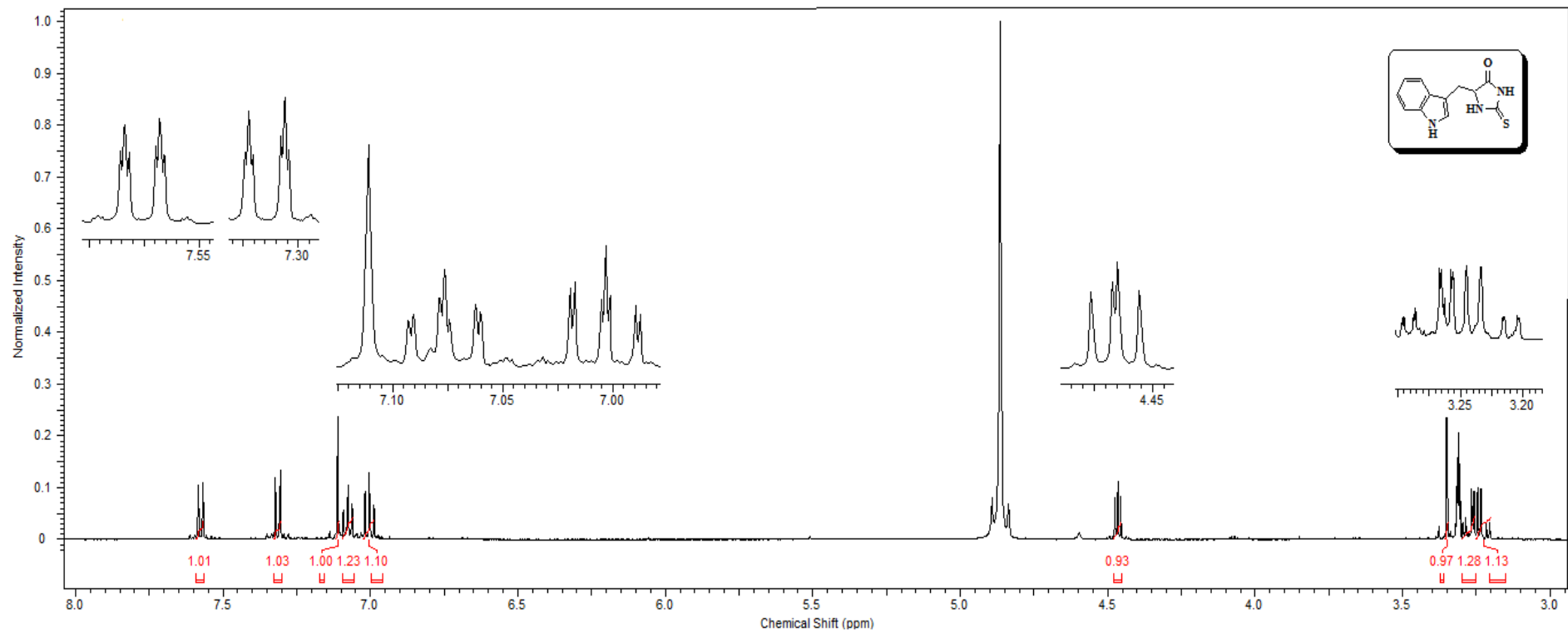


Figura 49. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD, 500 MHz) da tiohidantoína (21).

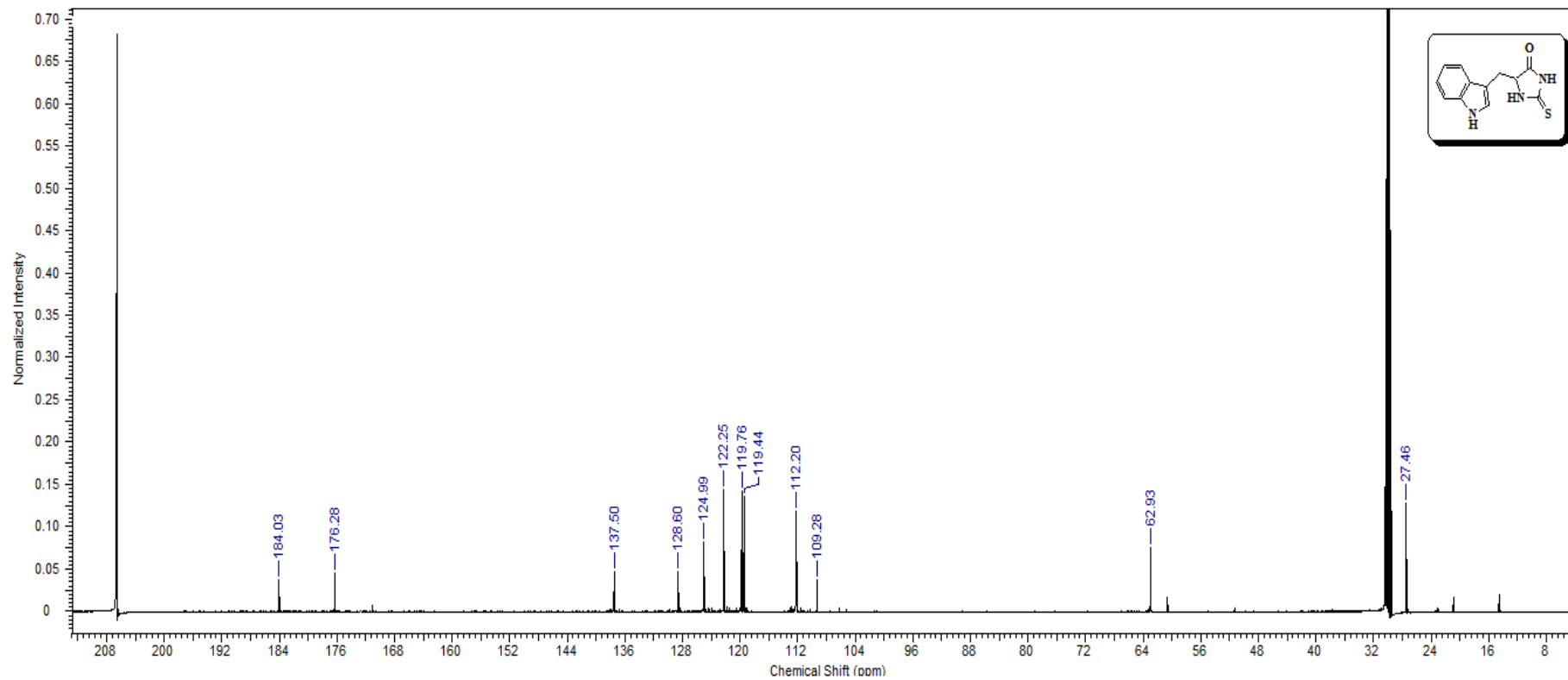


Figura 50. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (acetona- $d_6$ , 500 MHz) da tiohidantoína (21).



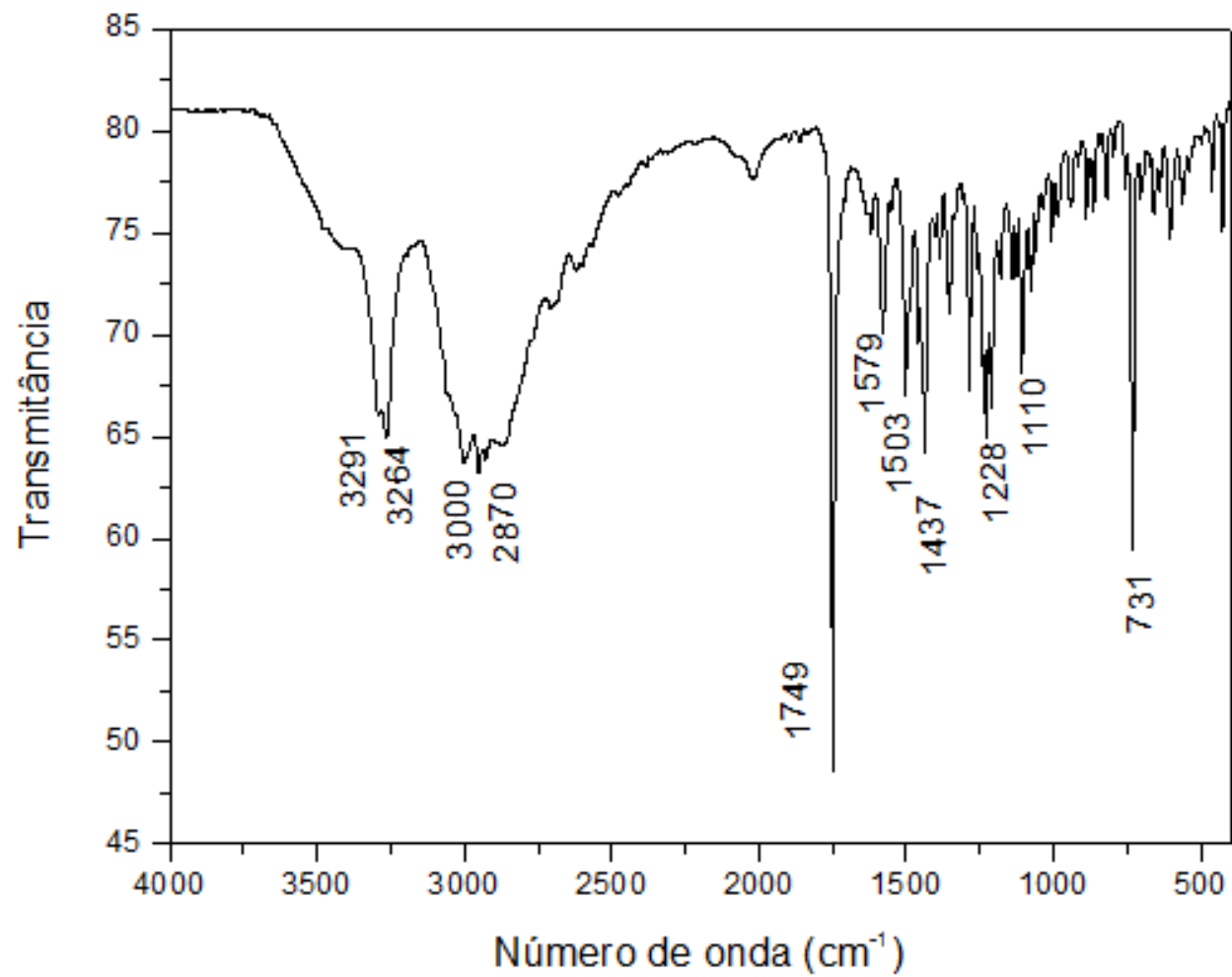


Figura 51. Espectro de infravermelho (KBr) do éster de triptofano (25a).

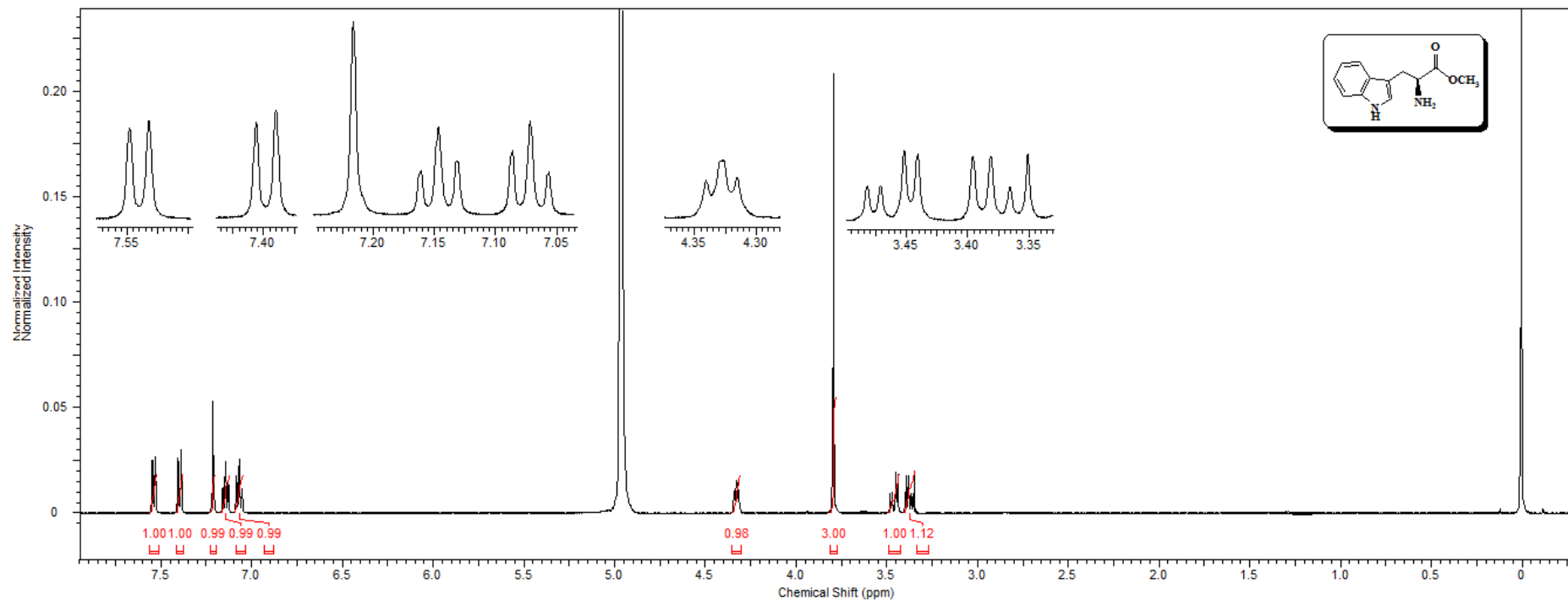
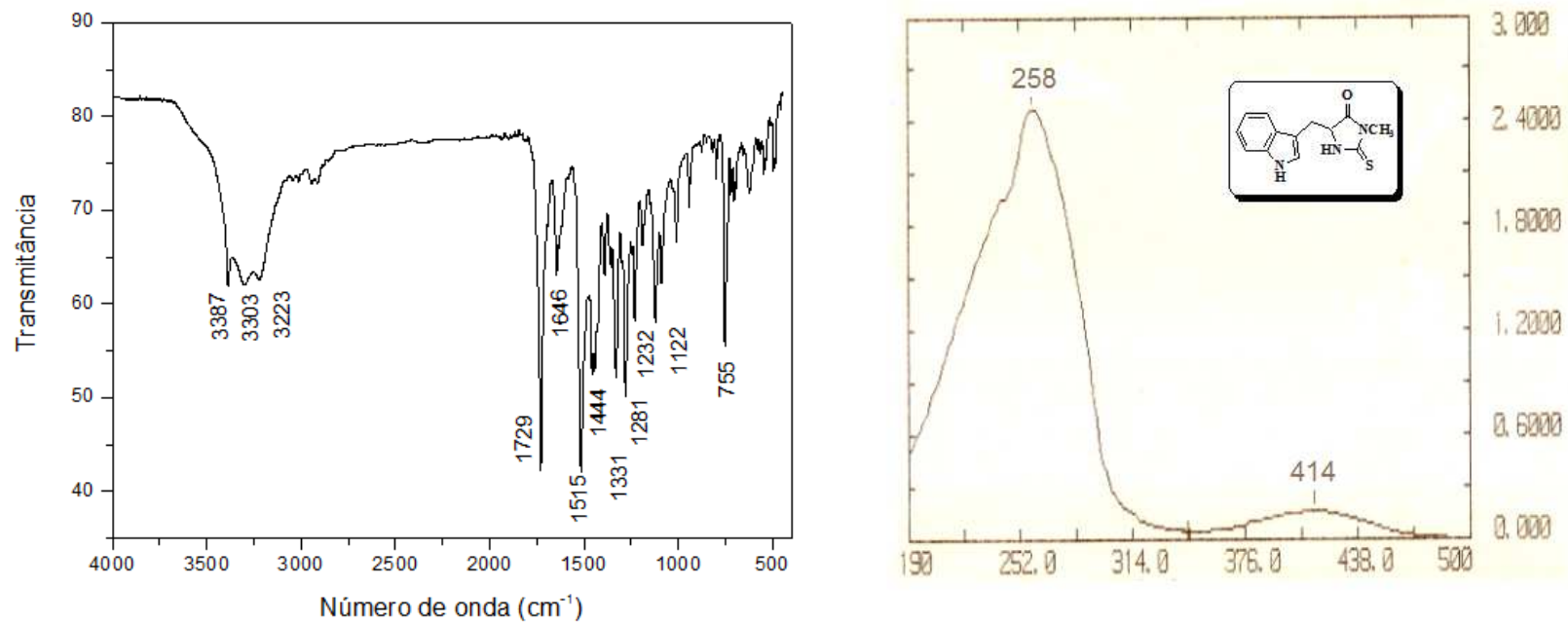


Figura 52. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD, 500 MHz) do éster de triptofano (25a).



**Figura 53.** Espectro de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (CHCl<sub>3</sub>) da tiohidantoína (**14**).

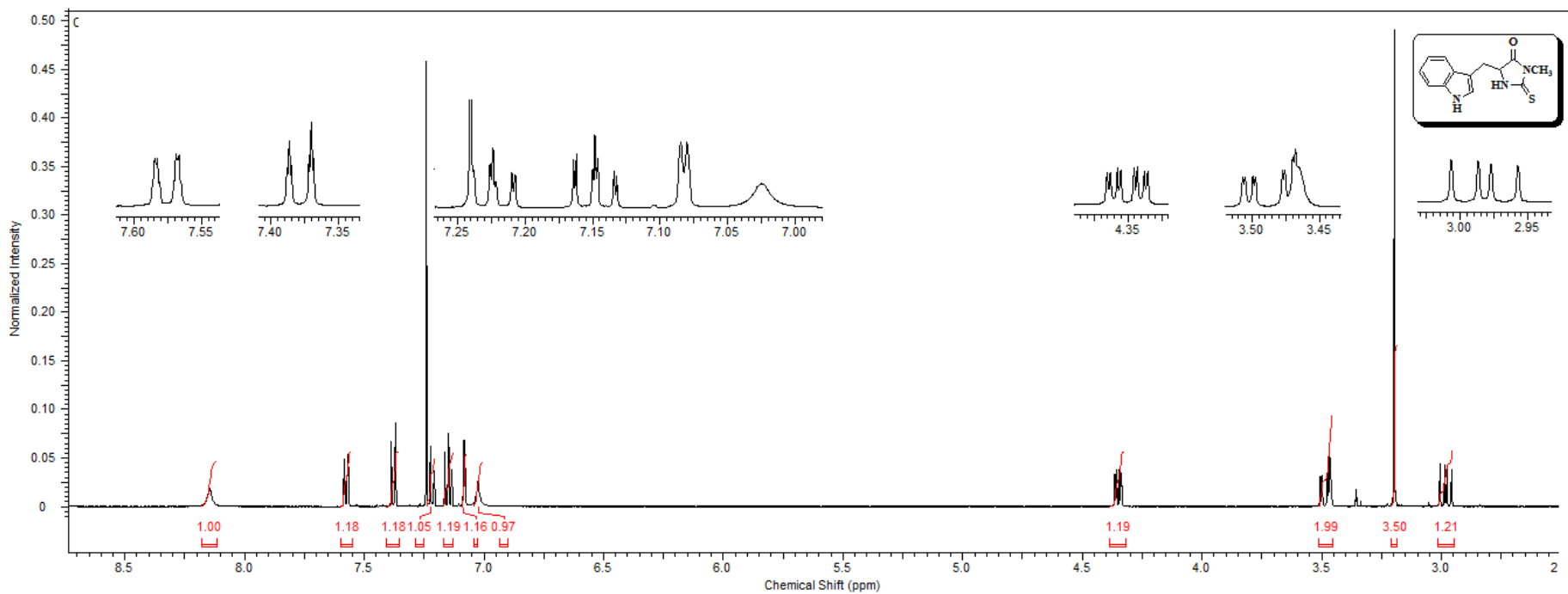


Figura 54. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) da tiohidantoína (14).

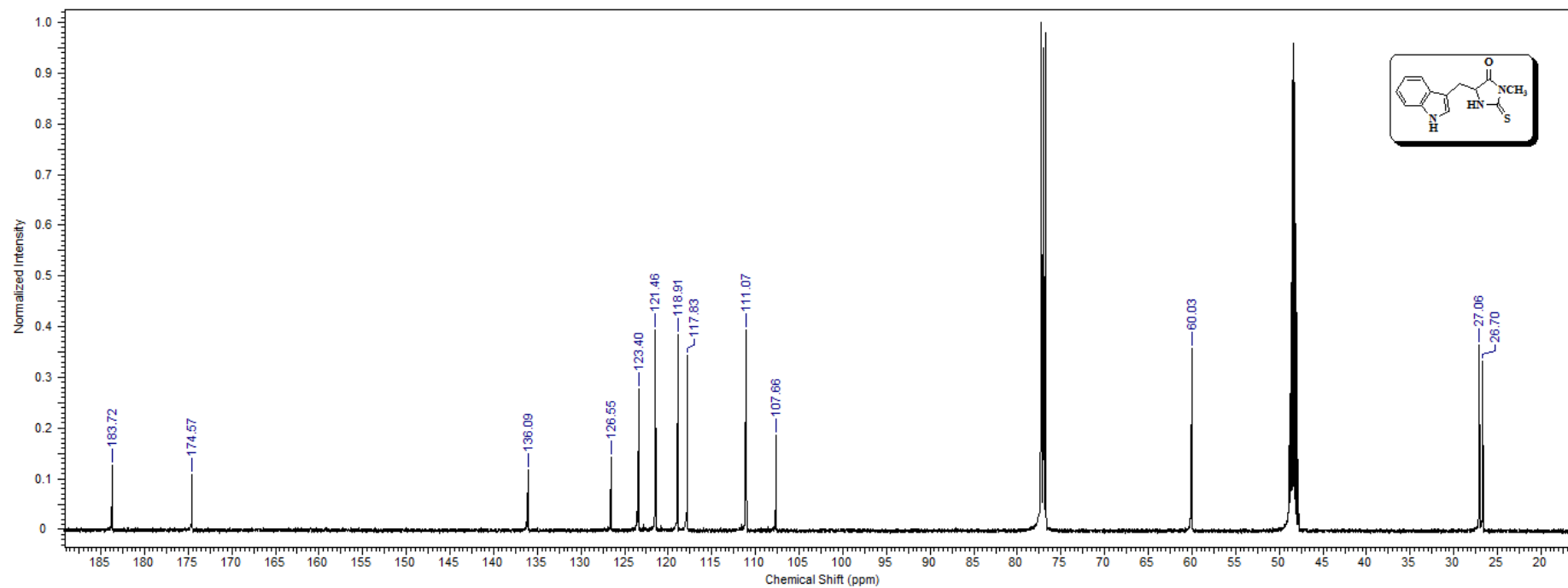
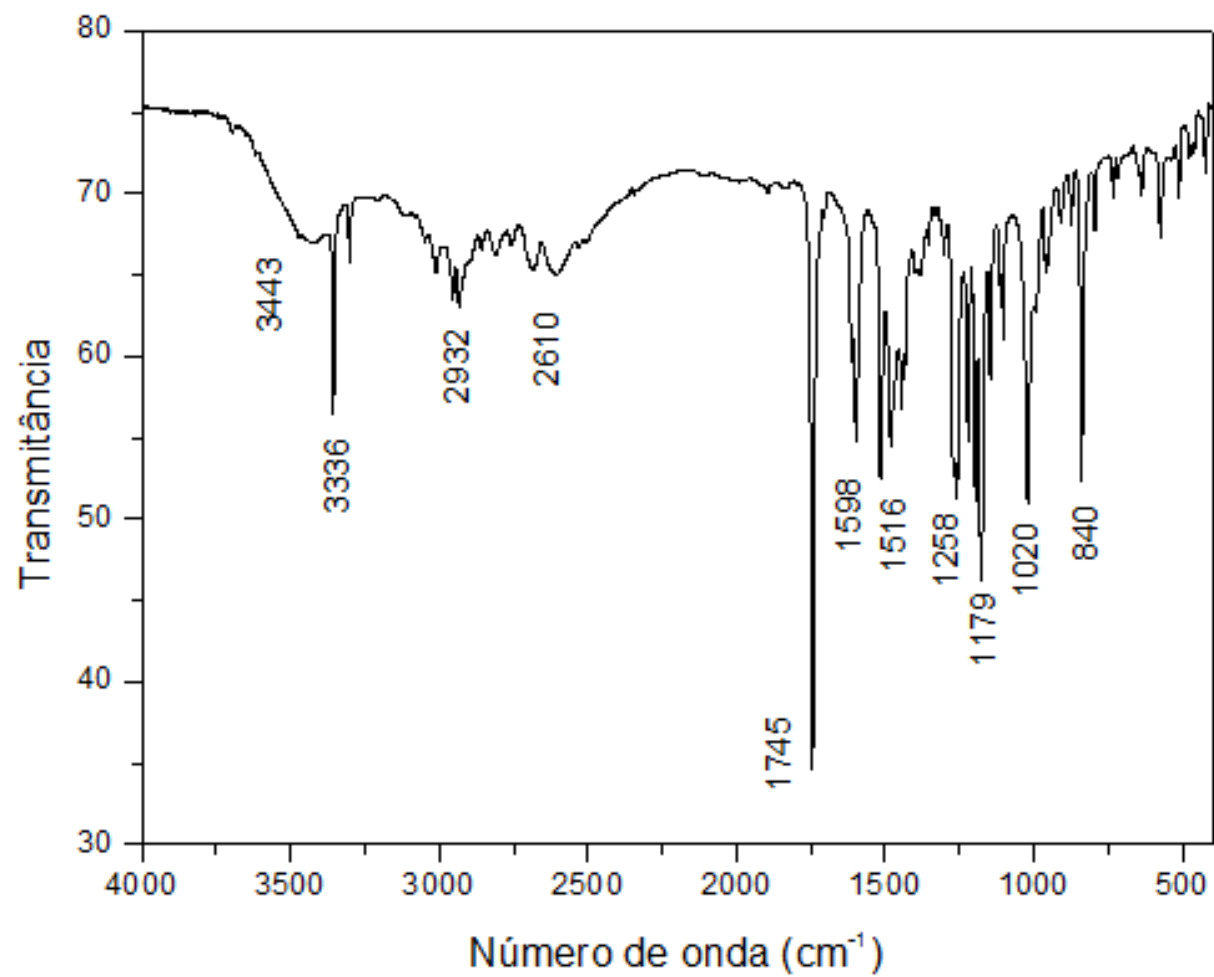
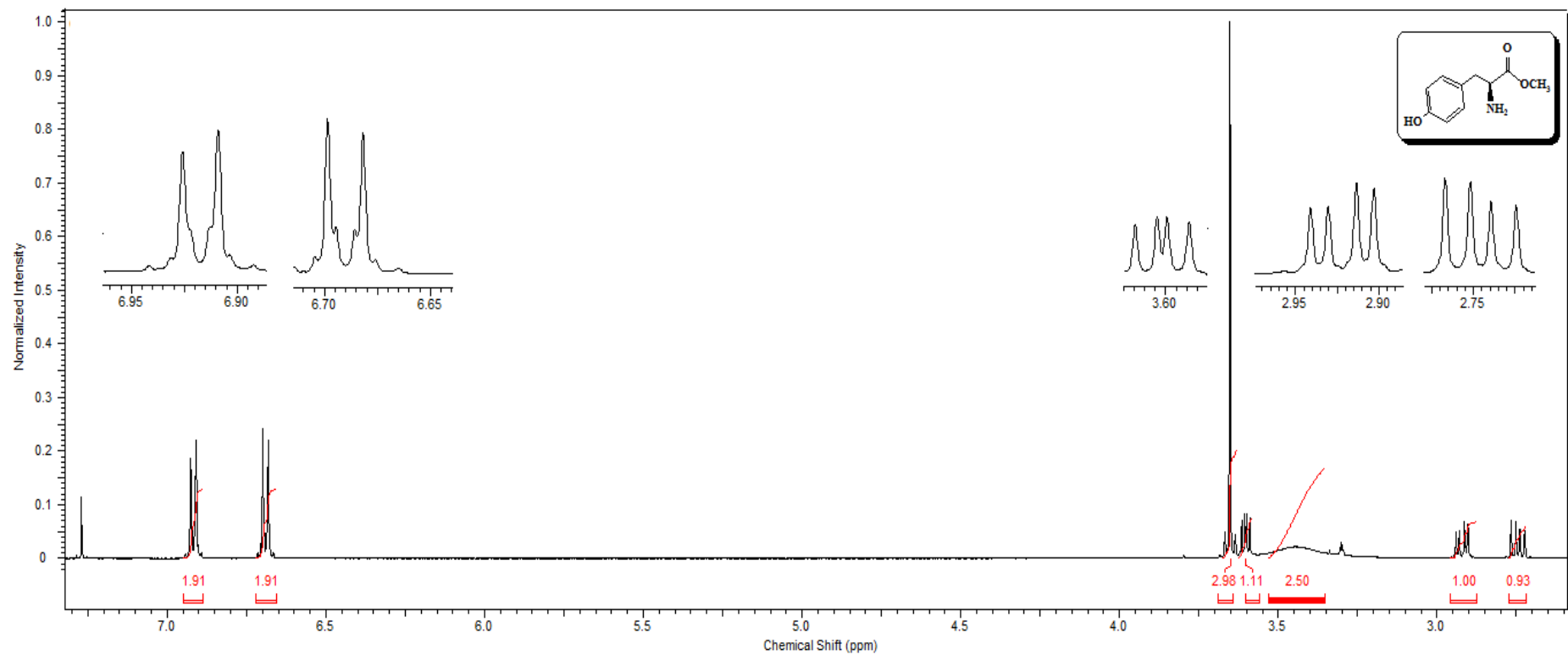


Figura 55. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da tihidantoína (14).



**Figura 56.** Espectro na região de infravermelho (KBr) do éster da tirosina (**25b**).



**Figura 57.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do éster da tirosina (**25b**).

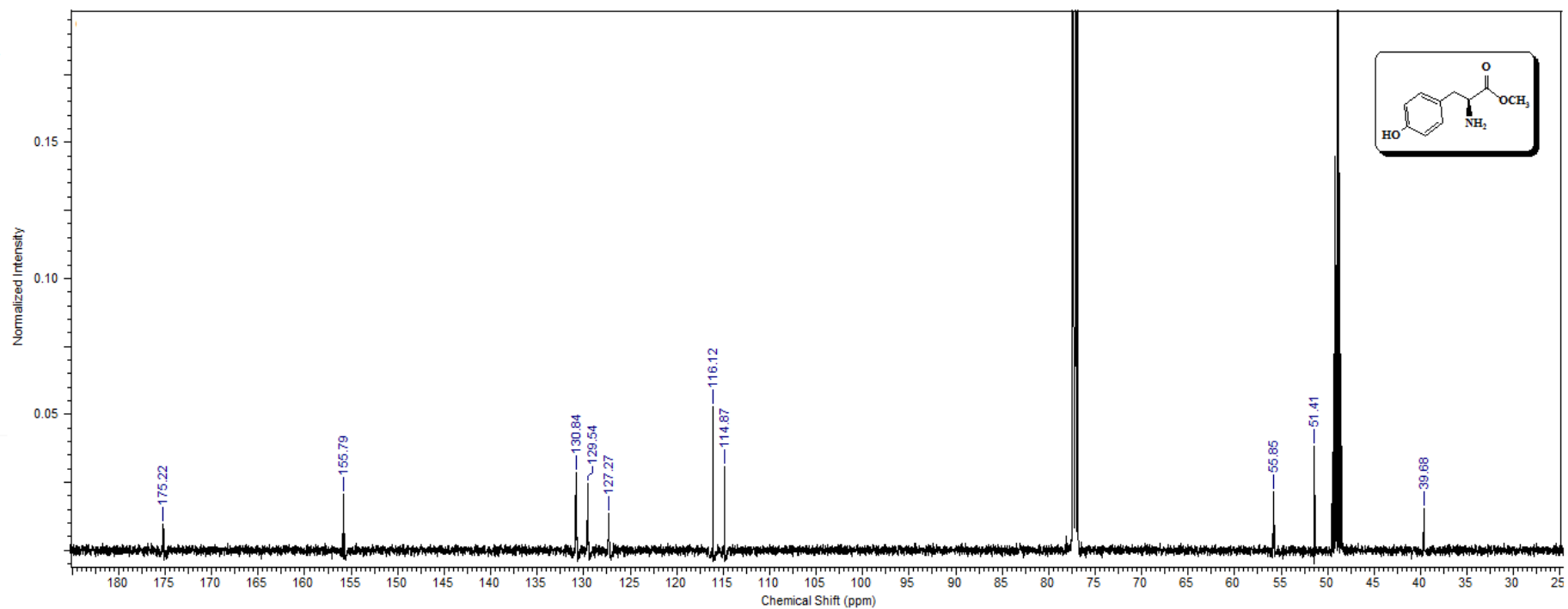
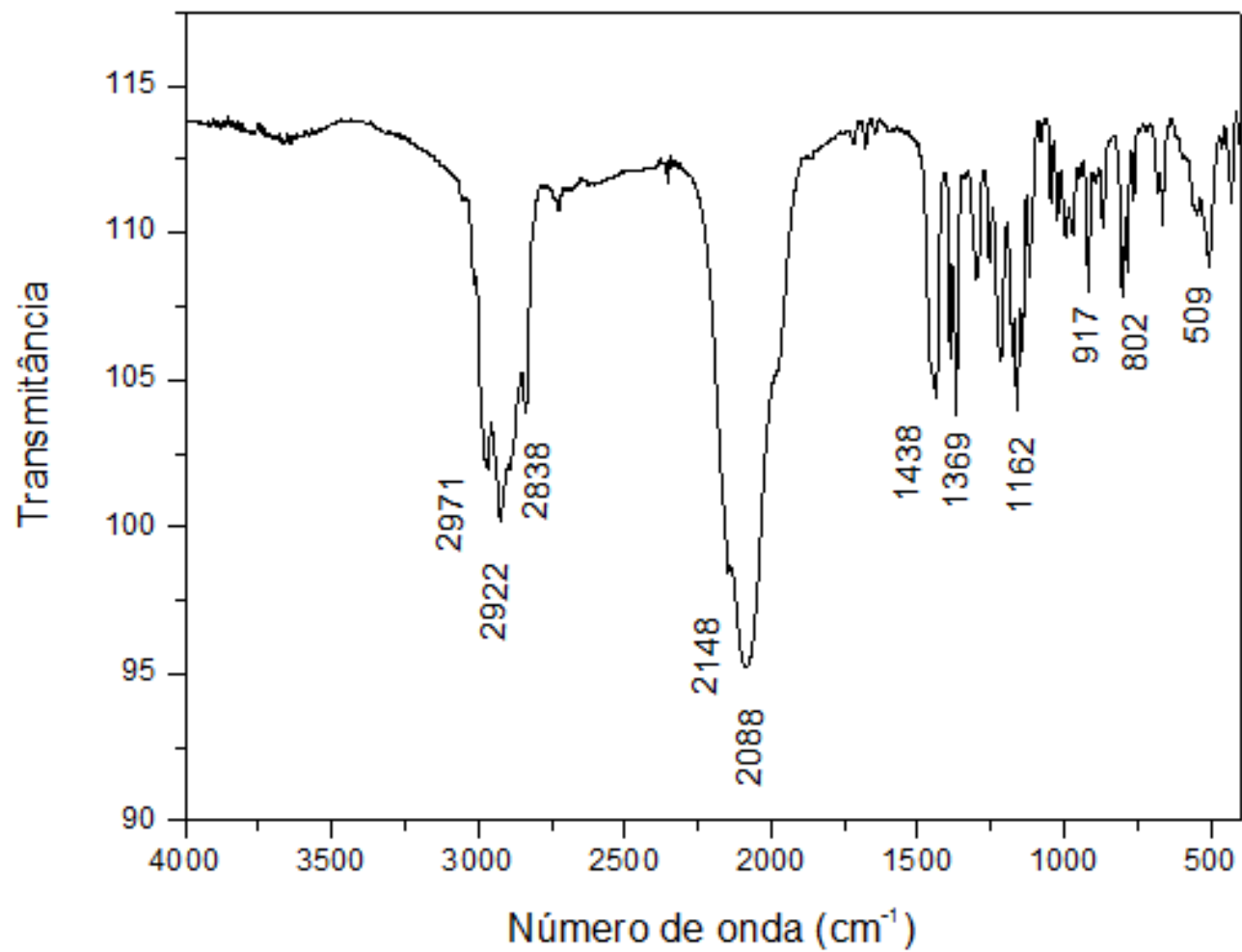


Figura 58. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ , 500 MHz) do éster da tirosina (25b).





**Figura 59.** Espectro na região de infravermelho (KBr) do isotiocianato do limoneno (**26**).

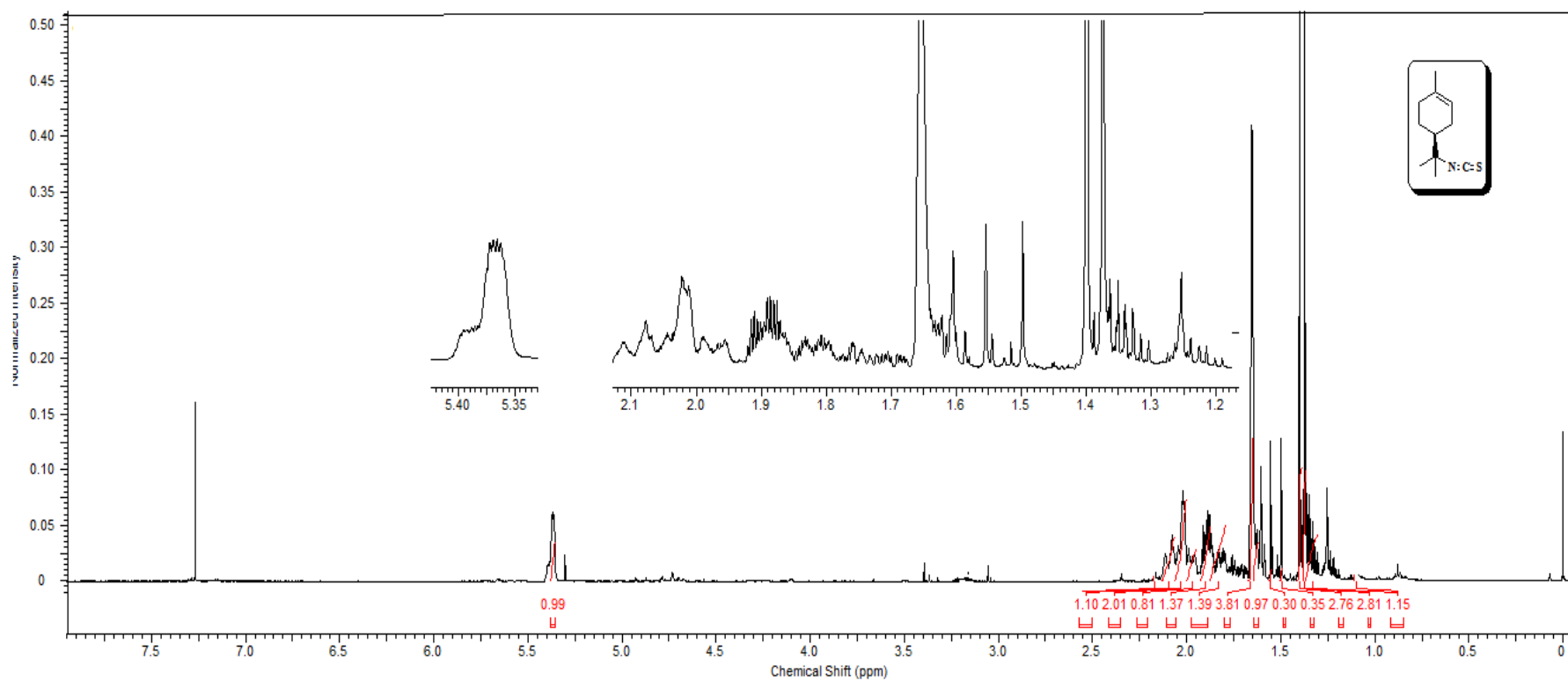
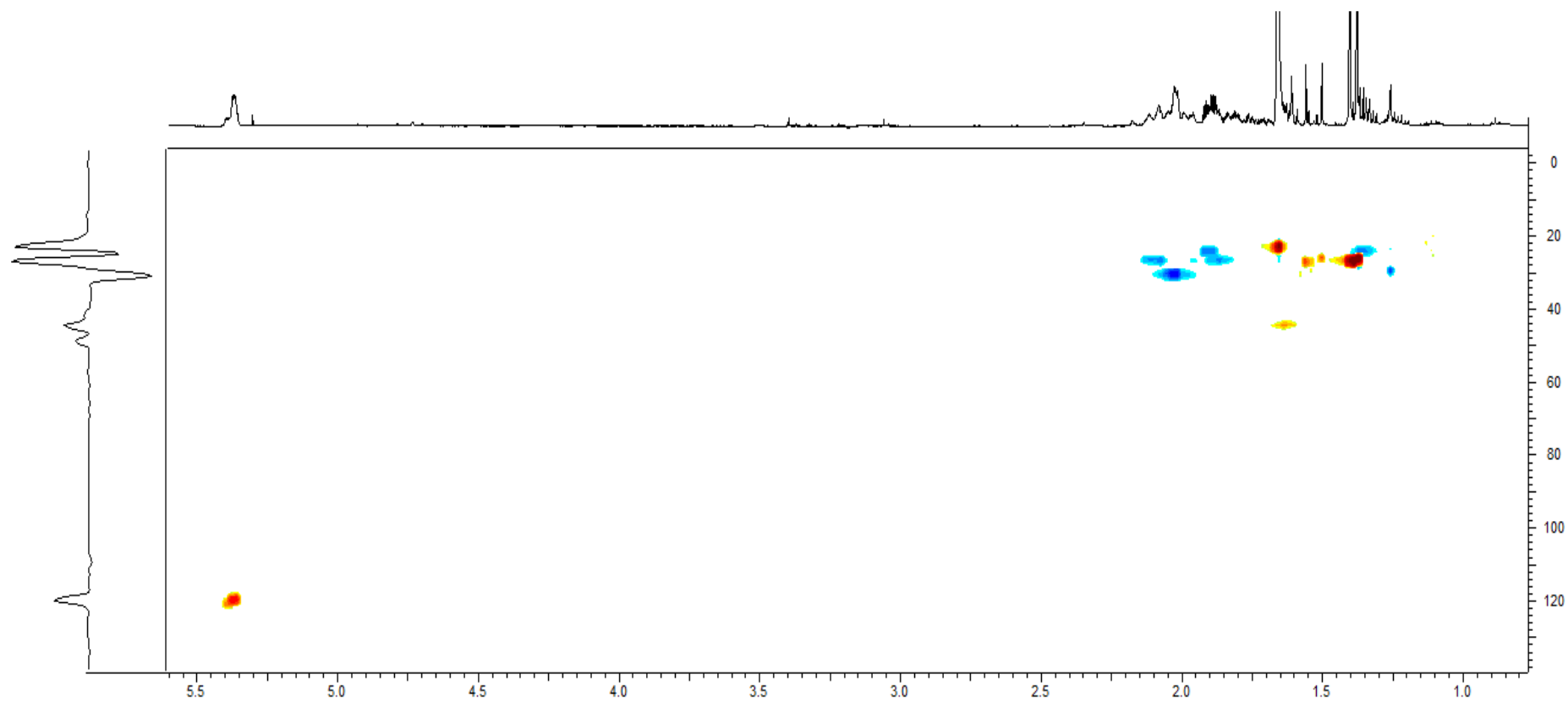


Figura 60. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do isotiocianato do limoneno (**26**).



**Figura 61.** Mapa de correlação de HSQC do isotiocianato do limoneno (**26**).

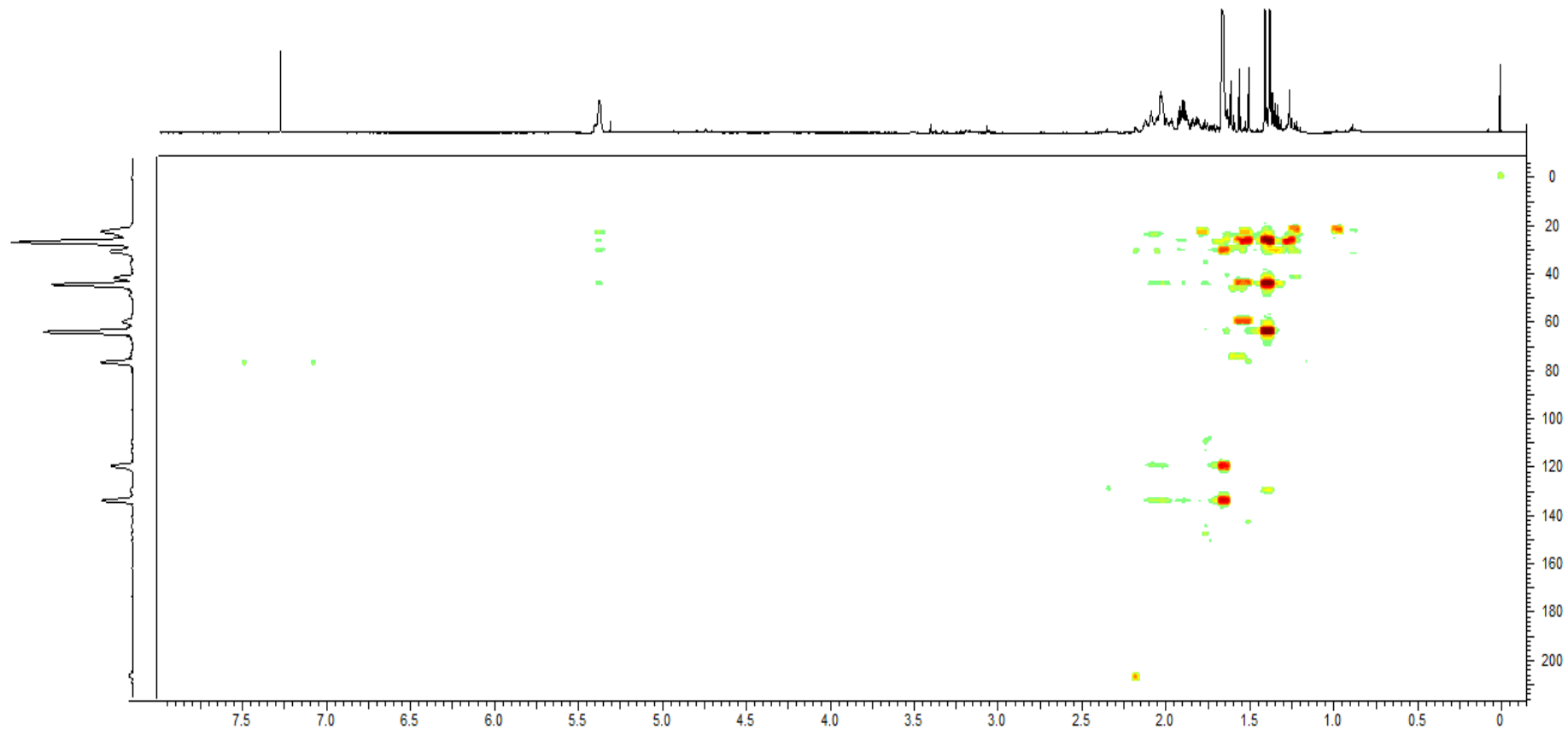
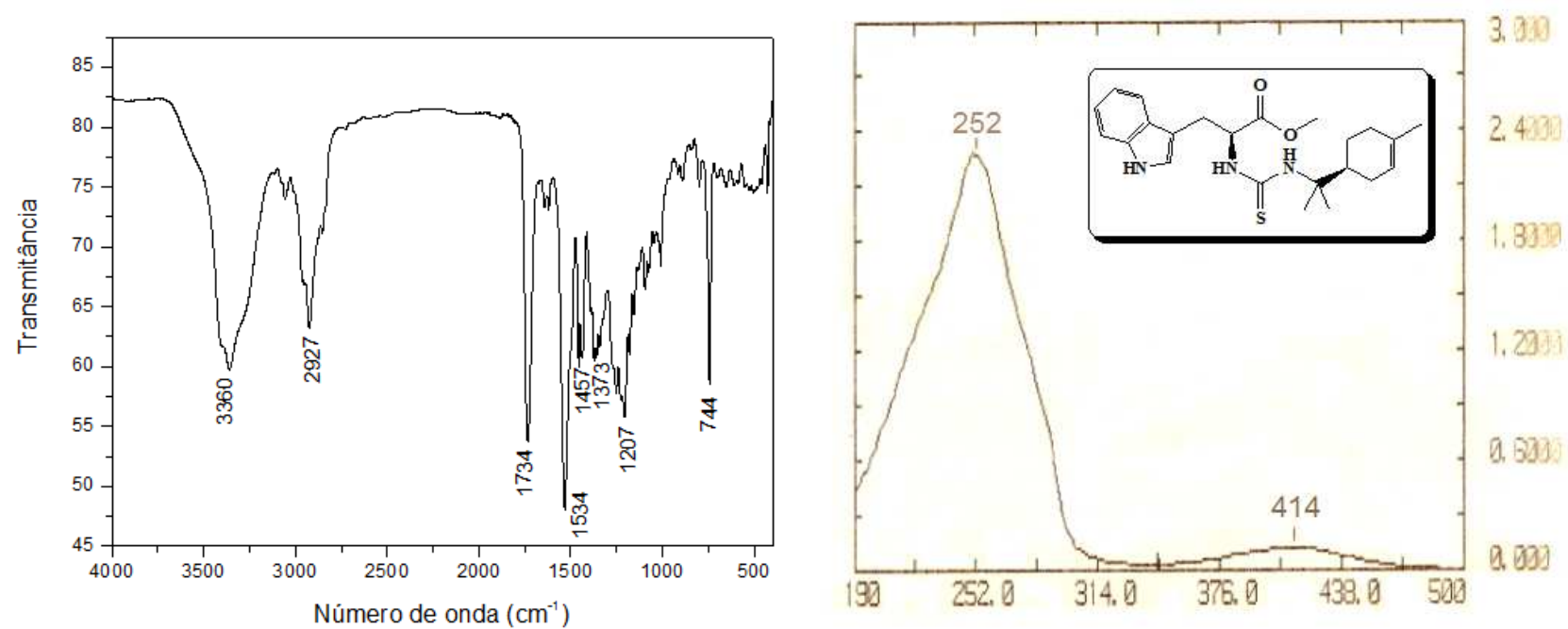


Figura 62. Mapa de correlação de HMBC do isotiocianato do limoneno (26).



**Figura 63.** Espectro na região de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (CHCl<sub>3</sub>) da tiourea do triptofano (**22a**).

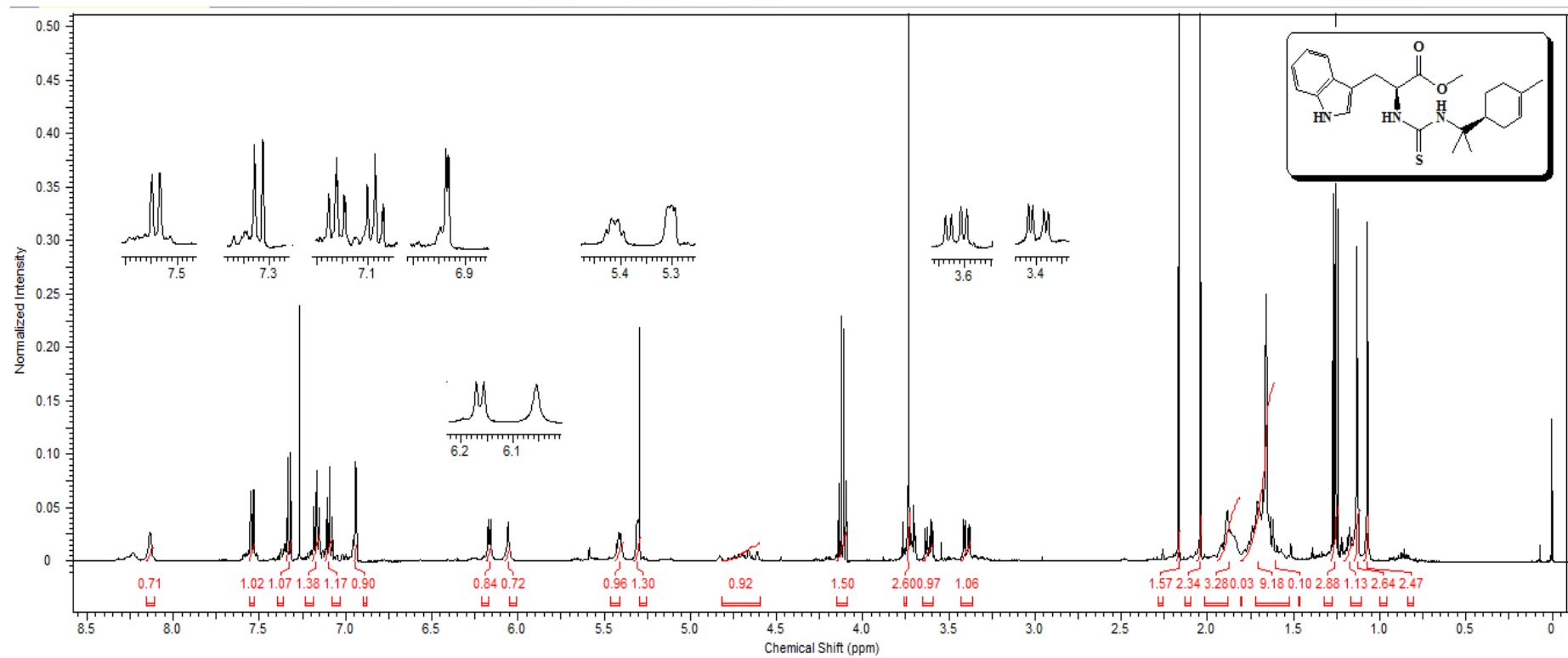


Figura 64. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da tioureia do triptofano (22a).

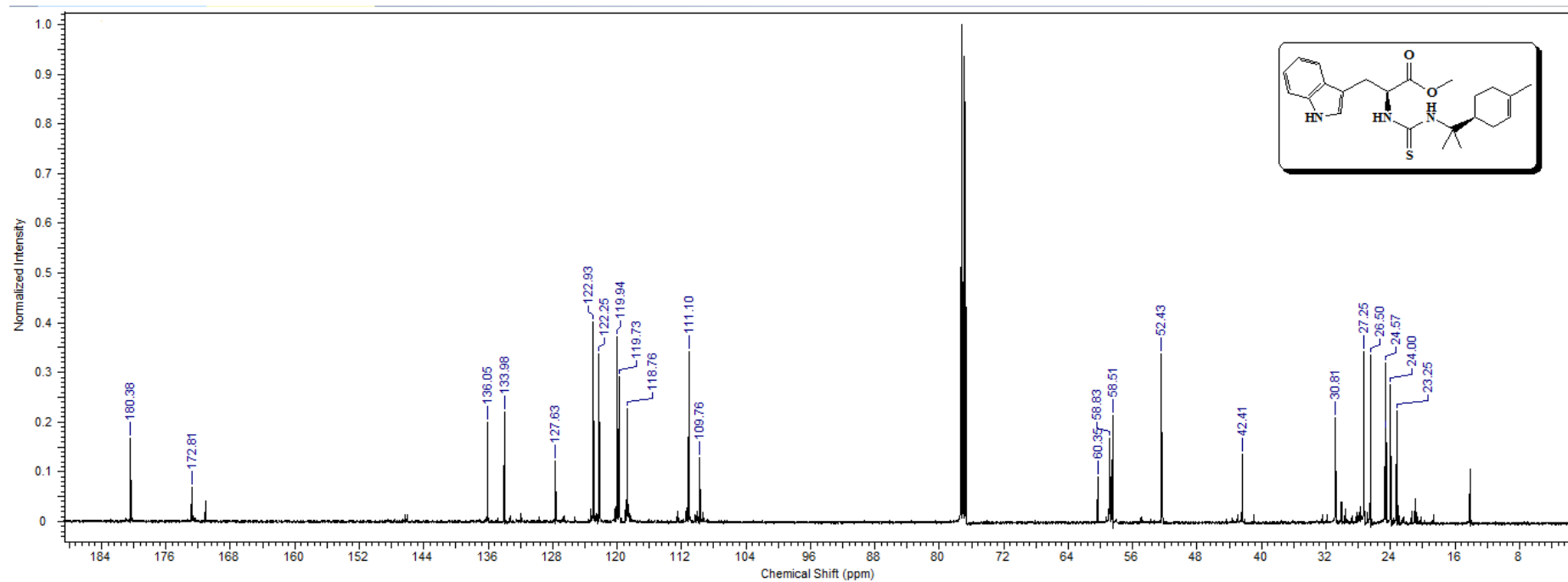
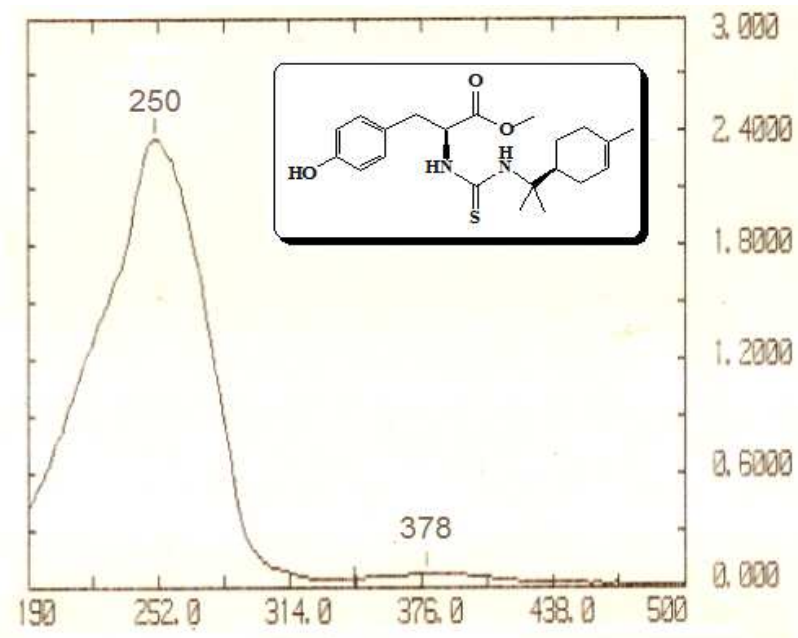
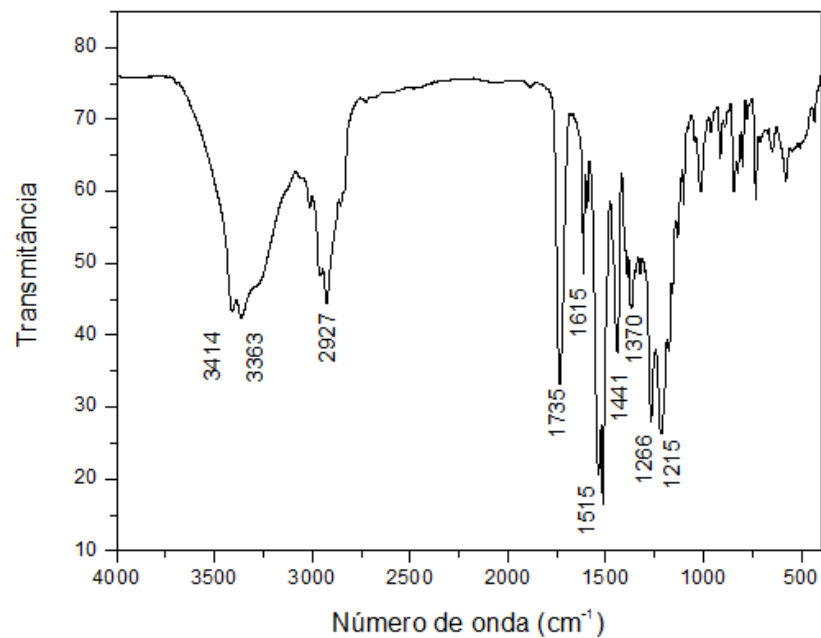


Figura 65. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da tiourea do triptofano (**22a**).



**Figura 66.** Espectro na região de infravermelho (KBr) e de ultravioleta (CHCl<sub>3</sub>) da tiourea de tirosina (**22b**).



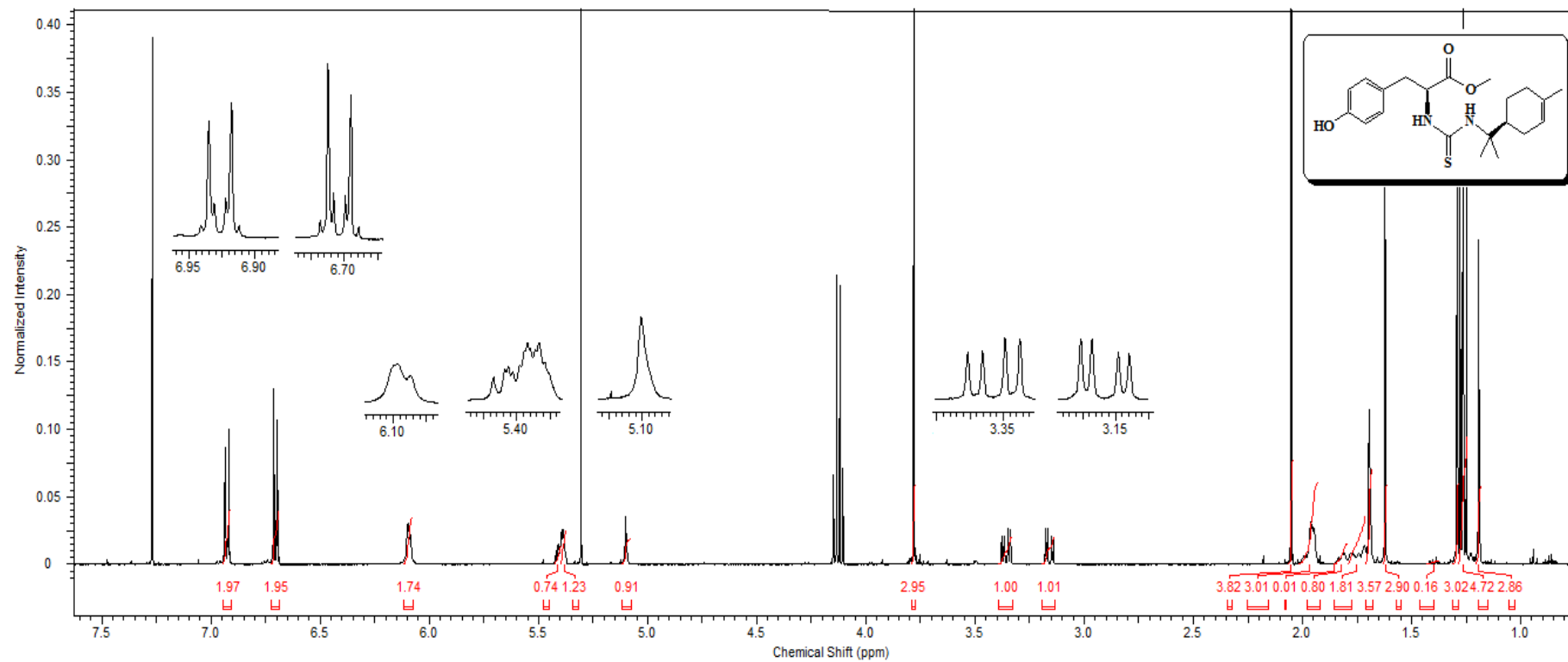
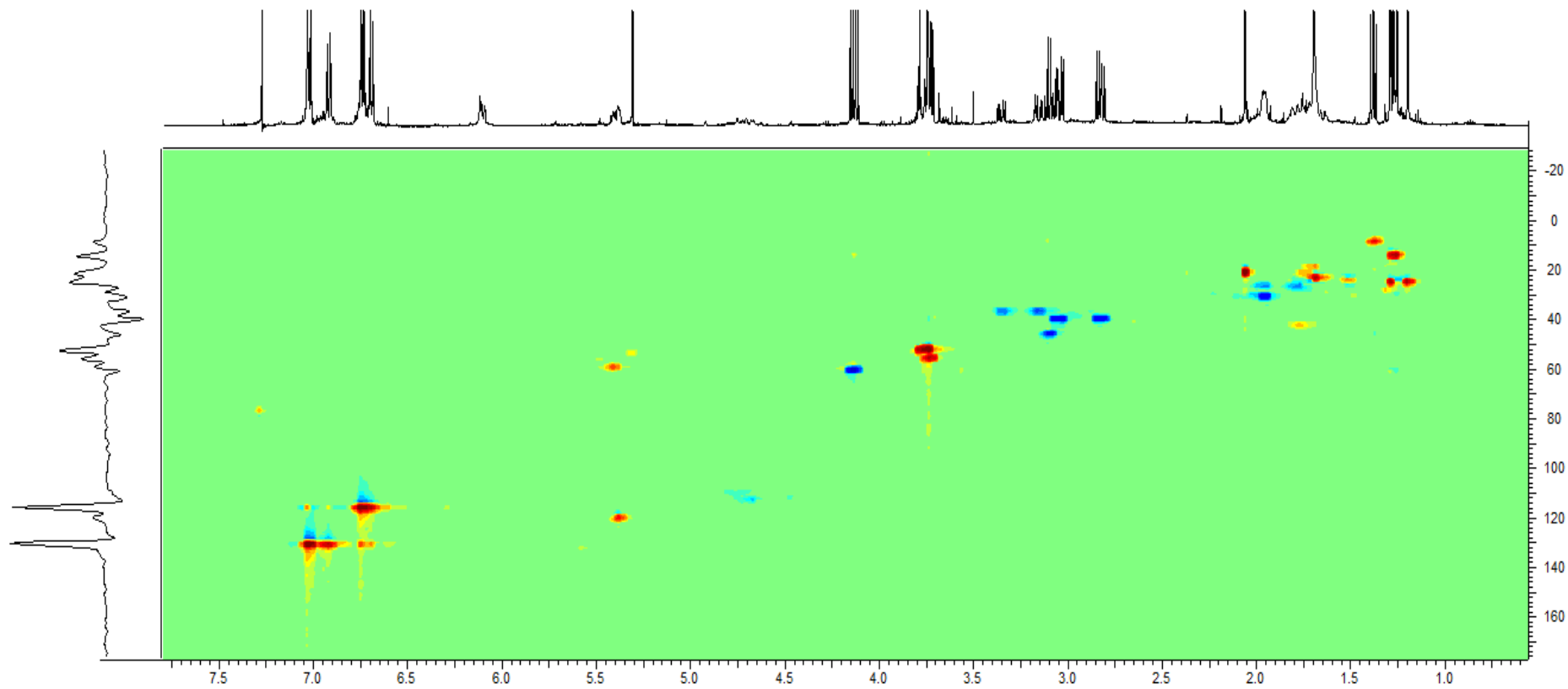


Figura 67. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da tiourea de tirosina (**22b**).



**Figura 68.** Mapa de correlação de HSQC da tiourea de tirosina (**22b**).

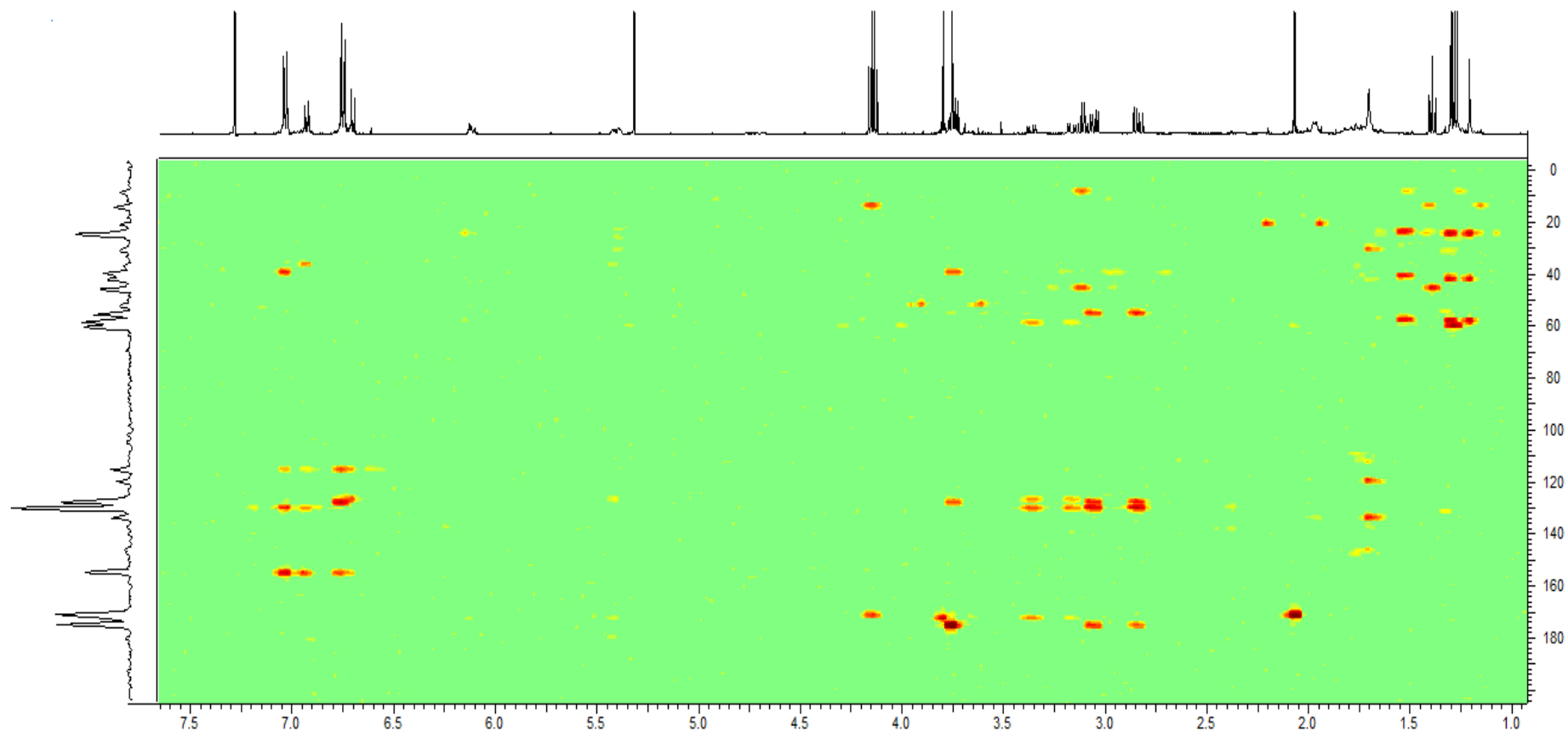


Figura 69. Mapa de correlação de HMBC da tiourea de tirosina (22b).

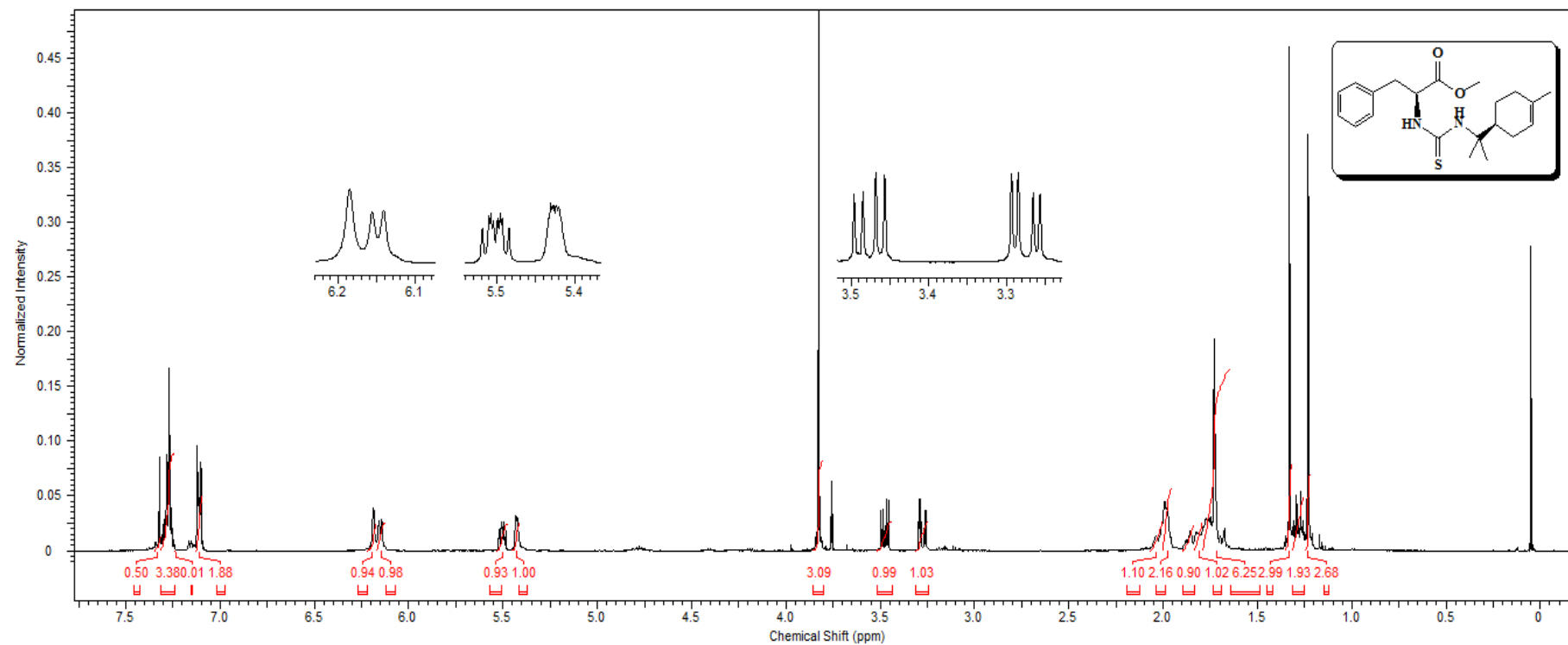
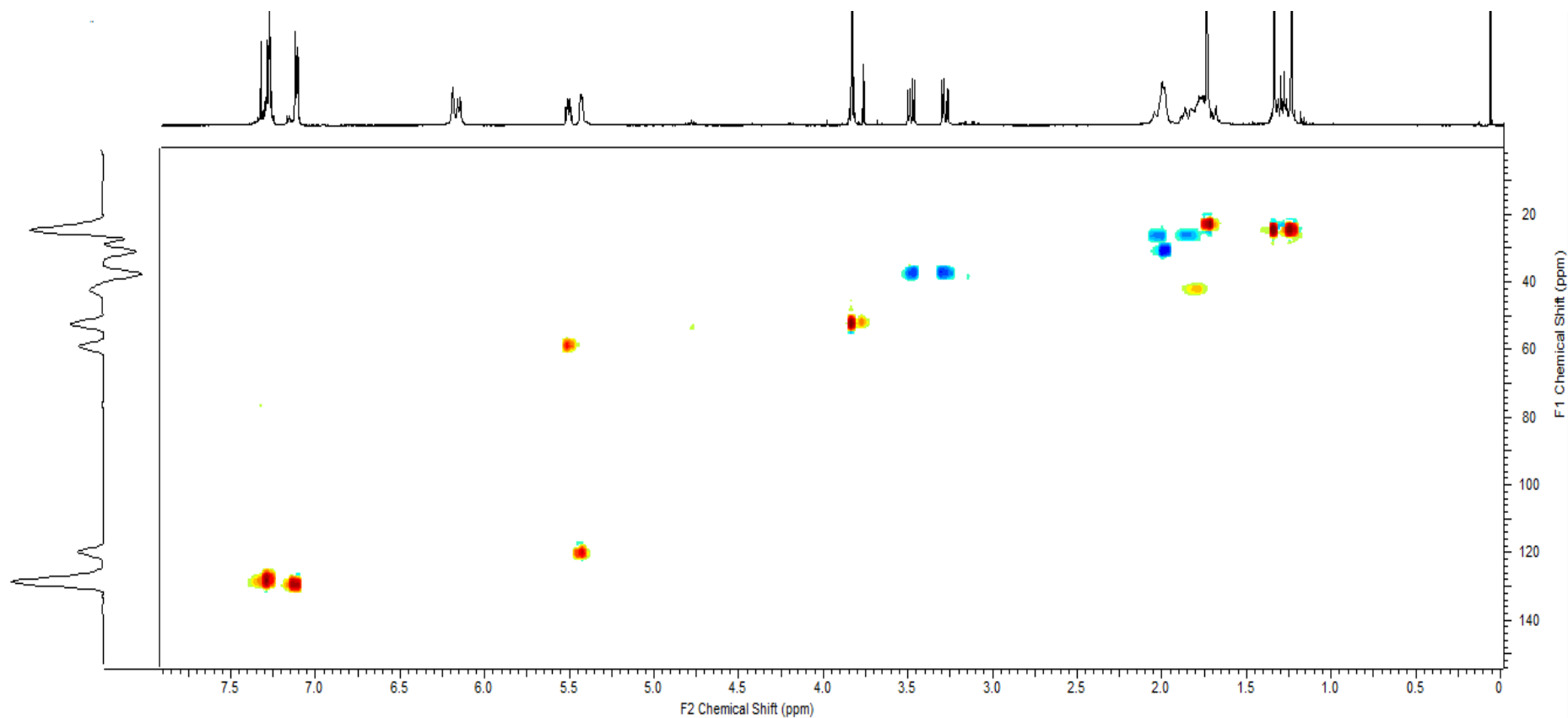


Figura 70. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) da tiourea da fenilalanina (**22c**).



**Figura 71.** Mapa de correlação de HSQC da tiourea da fenilalanina (**22c**).

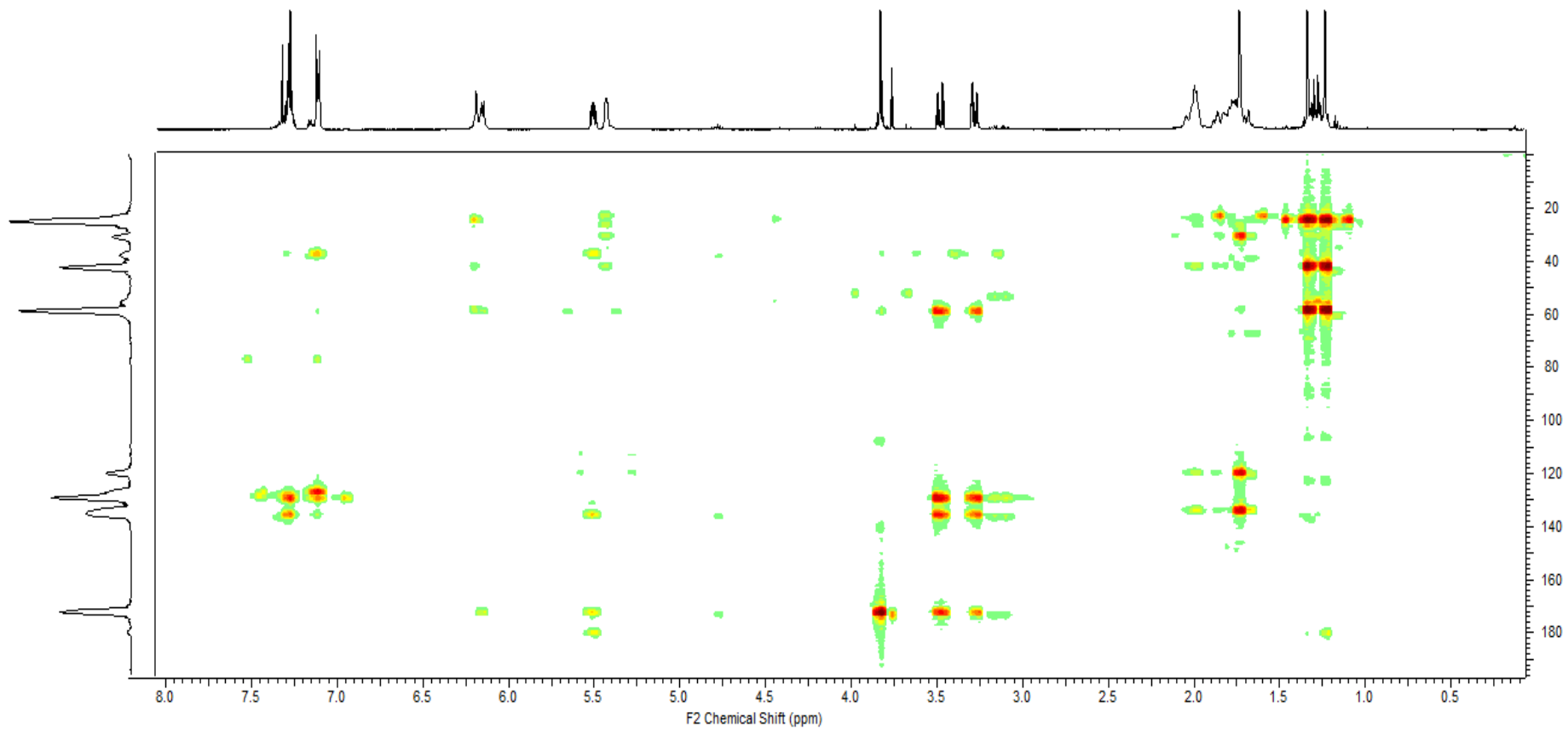


Figura 72. Mapa de correlação de HMBC da tiourea da fenilalanina (**22c**).

# Apêndice

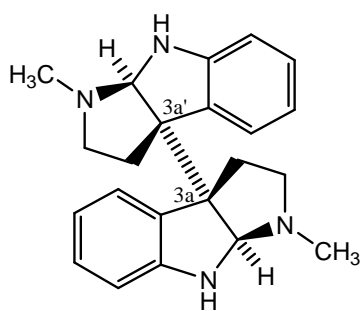
## Alcaloides isolados de espécies de *Psychotria*

<b>Pirroloindólicos</b>		
Alcaloides	Espécie	Referência
(+)-quimonantina (1)	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998.
	<i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
	<i>P. muscosa</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
meso-quimonantina (2)	<i>P. forsteriana</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992.
	<i>P. lyciiflora</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. muscosa</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
Nb-desmetil-meso-quimonantina (3)	<i>P. lyciiflora</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
hodgkinsina (4)	<i>P. oleoides</i>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987; GUÉRITTE-VOEGELEIN <i>et al.</i> , 1992; JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. forsteriana</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992.
	<i>P. rostrata</i>	LAJIS <i>et al.</i> , 1993; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004..
	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998.
	<i>P. lyciiflora</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. muscosa</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
psicotrimina (5)	<i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
quadrigemina A (6)	<i>P. forsteriana</i>	BERETZ <i>et al.</i> , 1985.
quadrigemina B (7)	<i>P. forsteriana</i>	BERETZ <i>et al.</i> , 1985.
	<i>P. rostrata</i>	LAJIS <i>et al.</i> , 1993; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
quadrigemina C (8)	<i>P. oleoides</i>	GUÉRITTE-VOEGELEIN <i>et al.</i> , 1992; JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998.
quadrigemina I (9)	<i>P. oleoides</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. pilifera</i>	LUO <i>et al.</i> , 2012
psicotridina (10)	<i>P. oleoides</i>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987; JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
	<i>P. forsteriana</i>	BERETZ <i>et al.</i> , 1985; ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992.
	<i>P. beccarioides</i>	HART <i>et al.</i> , 1974.
	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
isopsicotridina A (11)	<i>P. oleoides</i>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987.
isopsicotridina B (12)	<i>P. oleoides</i>	LIBOT <i>et al.</i> , 1987; JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
isopsicotridina C (13)	<i>P. forsteriana</i>	BERETZ <i>et al.</i> , 1985.
psicopentamina (14)	<i>P. rostrata</i>	TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
oleoidina (15)	<i>P. oleoides</i>	JANNIC <i>et al.</i> , 1999.
caledonina (16)		
<b>Quinolínicos</b>		
(+)-calicantina (17)	<i>P. forsteriana</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992.
	<i>P. rostrata</i>	LAJIS <i>et al.</i> , 1993.
(-)-calicantina (18)	<i>P. forsteriana</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992.
	<i>P. rostrata</i>	LAJIS <i>et al.</i> , 1993; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998.
	<i>P. muscosa</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
iso-calicantina (19)	<i>P. forsteriana</i>	ADJIBADE <i>et al.</i> , 1992.
	<i>P. colorata</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998.

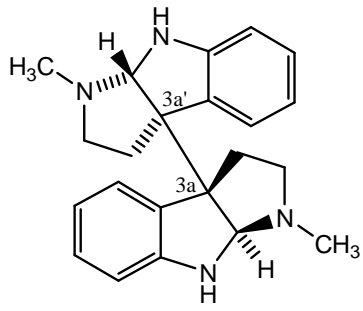


(8-8a),(8'-8'a)- tetradesidroisocalicantina 3a(R), 3'a(R) (20)	<i>P. colorata</i> <i>P. muscosa</i>	VEROTTA <i>et al.</i> , 1998. VEROTTA <i>et al.</i> , 1999.
glomerulatina A (21) glomerulatina B (22) glomerulatina C (23)	<i>P.</i> <i>glomerulata</i>	SOLIS <i>et al.</i> , 1997.
calicosidina (24)	<i>P. rostrata</i>	LAJIS <i>et al.</i> , 1993; TAKAYAMA <i>et al.</i> , 2004.
psicoleína (25)	<i>P. oleoides</i>	GUÉRITTE-VOEGELEIN <i>et al.</i> , 1992.
psicotripina (26)	<i>P. pilifera</i>	LI <i>et al.</i> , 2011.
<b>Indólicos monoterpênicos</b>		
correantina A (27) correantina B (28) 20- <i>epi</i> -correantina B (29) correantina C (30) correantosídeo (31) 10-hidroxicorreantosídeo (32) isodolicantosídeo (33)	<i>P. correae</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1995.
N-desmetilcorreantosídeo (34)	<i>P.</i>	PIMENTA <i>et al.</i> , 2011.
estaquiosídeo (35)	<i>stachyoides</i>	PIMENTA <i>et al.</i> , 2010.
<i>nor</i> -metil-23-oxo-correantosídeo (36)		
correantosina E(37)		
correantosina F(38)		
braquicerina (39)	<i>P.</i> <i>brachyceras</i>	KERBER <i>et al.</i> , 2001.
umbelatina ou psicolatina (40)	<i>P. umbellata</i>	BOTH <i>et al.</i> , 2002; KERBER <i>et al.</i> , 2008.
lialosídeo (41) naucletina (42)	<i>P. suterella</i>	SANTOS <i>et al.</i> , 2001.
estrictosamida (43)	<i>P. nuda</i> <i>P. prunifolia</i> <i>P. bahiensis</i>	FARIAS <i>et al.</i> , 2009. FARIA <i>et al.</i> , 2010. PAUL <i>et al.</i> , 2003.
N,β-D-glicopiranosil-vincosamida (44)	<i>P. leiocarpa</i>	HENRIQUES <i>et al.</i> , 2004.
angustina (45) (E)- valesiacotamina (46) (Z)-valesiacotamina (47)	<i>P. bahiensis</i>	PAUL <i>et al.</i> , 2003.
5α-carboxiestrictosidina (48)	<i>P. bahiensis</i> <i>P. acuminata</i>	PAUL <i>et al.</i> , 2003. BERGER <i>et al.</i> , 2012.
bahienosida A (49)	<i>P. bahiensis</i>	PAUL <i>et al.</i> , 2003.
bahienosida B (50)	<i>P. bahiensis</i> <i>P. acuminata</i>	PAUL <i>et al.</i> , 2003. BERGER <i>et al.</i> , 2012.
miriantosina A (51) miriantosina B (52)	<i>P. myriantha</i>	LOPES <i>et al.</i> , 2004; SIMÕES-PIRES <i>et al.</i> , 2006.
ácido estrictosidínico (53)	<i>P. myriantha</i> <i>P. acuminata</i>	SIMÕES-PIRES <i>et al.</i> , 2006; FARIAS <i>et al.</i> , 2012. BERGER <i>et al.</i> , 2012.
estrictosidina (54) palicosídeo (55) desoxicordifolina (56) lagambosídeo (57) (E/Z) valesiacotamina (58)	<i>P. acuminata</i>	BERGER <i>et al.</i> , 2012.
prunifoleína (59) 14-oxo-prunifoleína (60)	<i>P. prunifolia</i>	FARIA <i>et al.</i> , 2010.
10-hidróxi-iso-deppeaninol (61) 10-hidróxi-antirrina (62)	<i>P. prunifolia</i>	KATO <i>et al.</i> , 2012.

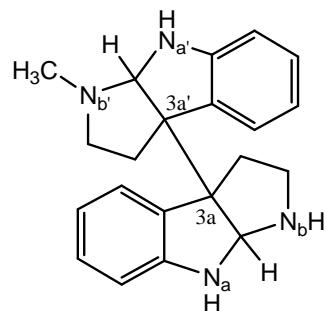
N-óxido-10-hidróxi-antirrina (63)		
<b>Outros indólicos</b>		
<i>N,N</i> -dimetilriptamina (64)	<i>P. suerrensis</i>	MURILLO e CASTRO, 2008.
<i>N</i> -metilriptamina (65)		
metil-tetrahidro- $\beta$ -carbolina (66)		
harmano (67)	<i>P. viridis</i>	CALLAWAY <i>et al.</i> , 2003.
psicotriasina (68)	<i>P. calocarpa</i>	ZHOUA <i>et al.</i> , 2010.
<b>Isoquinolínicos monoterpênicos</b>		
klugina (69)	<i>P. kluggi</i>	MUHAMMAD <i>et al.</i> , 2003.
isocefaelina (70)		
7'- <i>O</i> -desmetilisocefaelina (71)		
7- <i>O</i> -metilipecosídeo (72)		
cefaelina (73)	<i>P. kluggi</i> <i>P.</i> <i>ipecacuanha</i> <i>P. borucana</i>	MUHAMMAD <i>et al.</i> , 2003; GARCIA <i>et al.</i> , 2005. BERNHARD <i>et al.</i> , 2011.
ipecosídeo (74)	<i>P. borucana</i>	BERNHARD <i>et al.</i> , 2011.
6- <i>O</i> -metil-ipecosídeo (75)		
6- <i>O</i> -metil-transcefaelosídeo (76)		
borucosídeo (77)		
emetina (78)	<i>P.</i> <i>ipecacuanha</i> <i>P. borucana</i>	GARCIA <i>et al.</i> , 2005. BERNHARD <i>et al.</i> , 2011.



(+)-quimonantina  
**1**

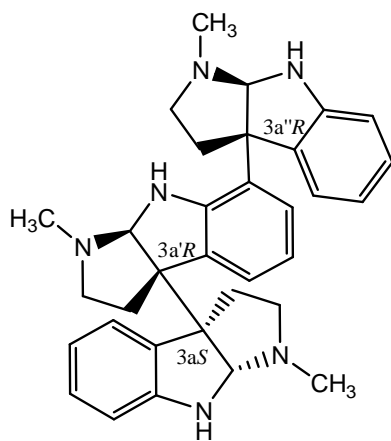


*meso*-quimonantina  
**2**

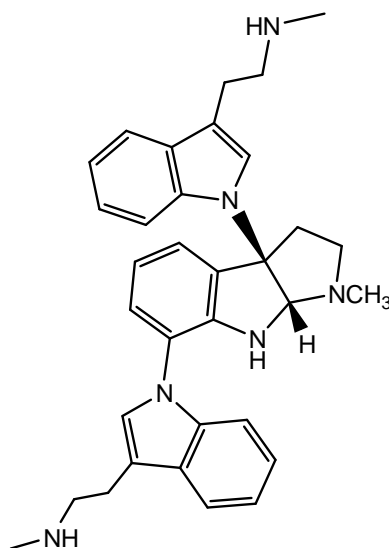


(3a $\underline{S}$ , 3a' $\overline{R}$  ou 3a $\overline{R}$ , 3a' $\underline{S}$ )

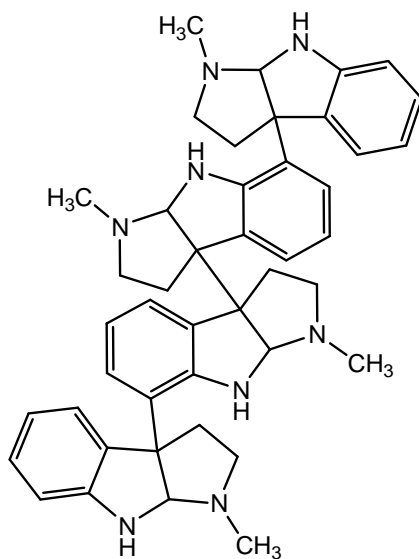
*N<sub>b</sub>*-desmetil-*meso*-quimonantina  
**3**



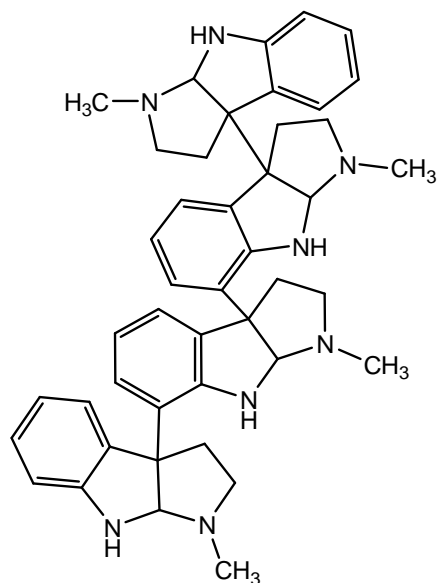
hodgkinsina  
**4**



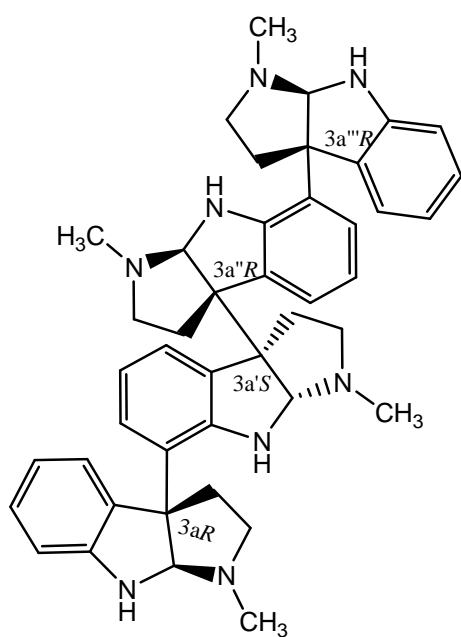
psicotrimina  
**5**



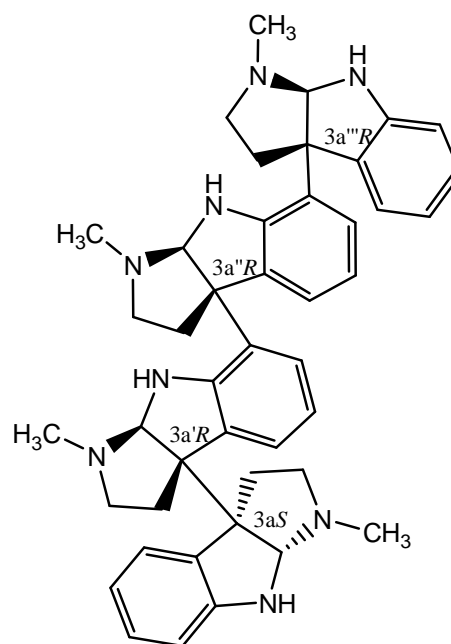
quadrigemina A  
**6**



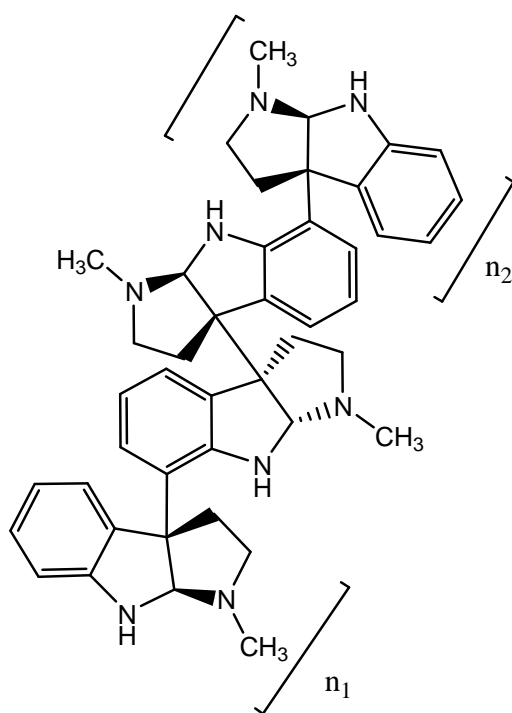
quadrigemina B  
**7**



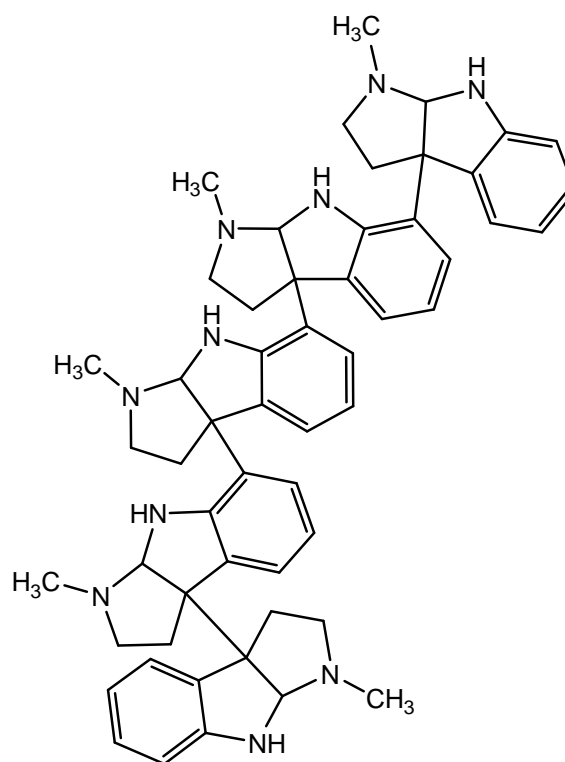
quadrigemina C  
**8**



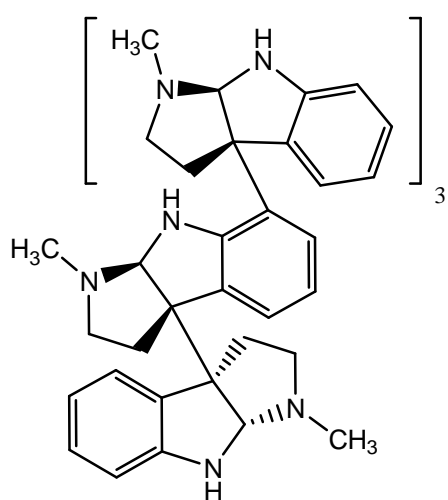
quadrigemina I  
**9**



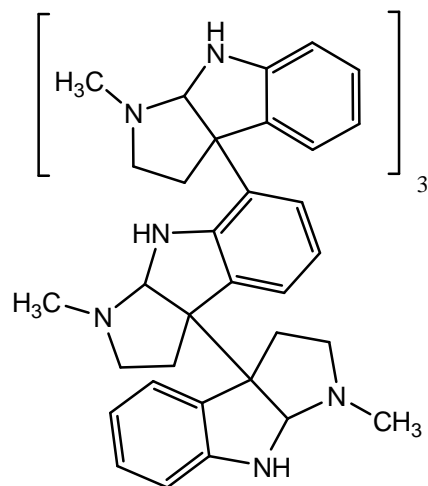
( $n_1=1, n_2=2$  ou  $n_1=2, n_2=1$ )  
psicotridina  
**10**



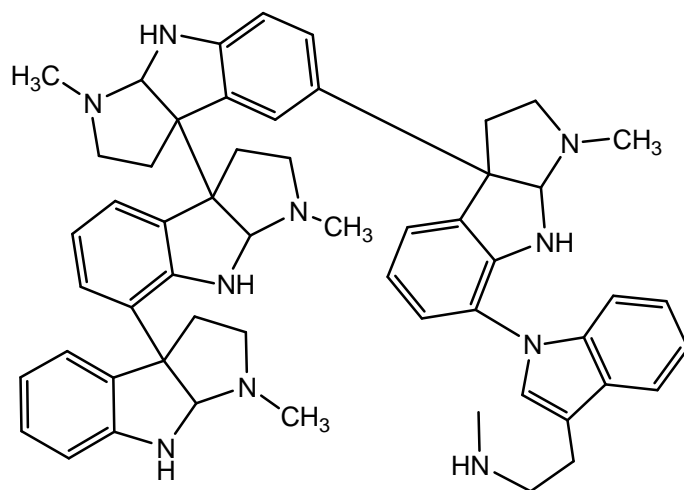
isopsicotridina A  
**11**



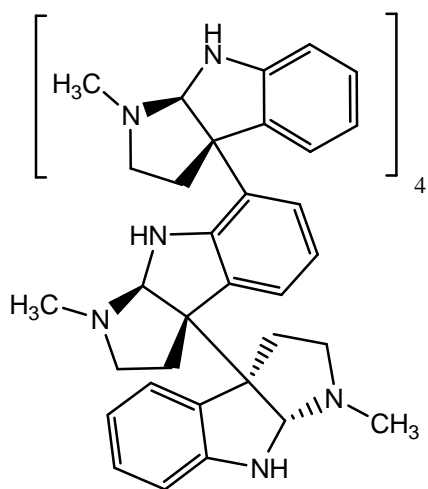
isopicotridina B  
**12**



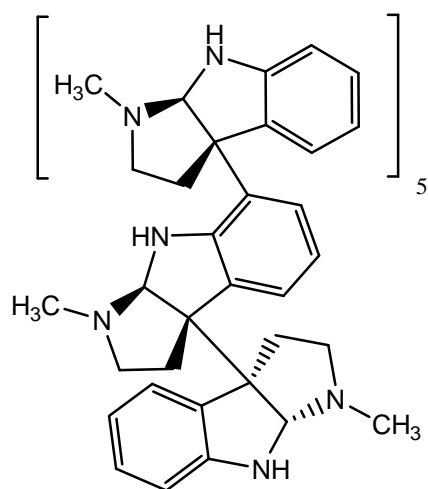
isopicotridina C  
**13**



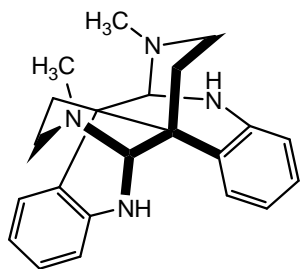
psicopentamina  
**14**



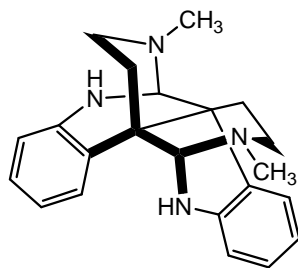
oleoidina  
**15**



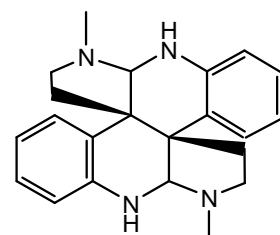
caledonina  
**16**



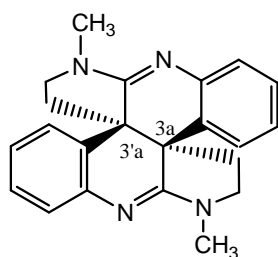
(+)-calicantina  
**17**



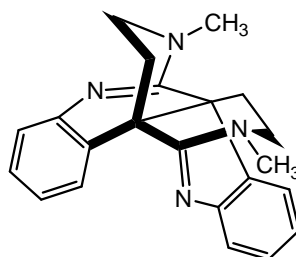
(-)-calicantina  
**18**



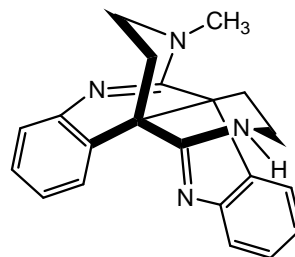
*iso*-calicantina  
**19**



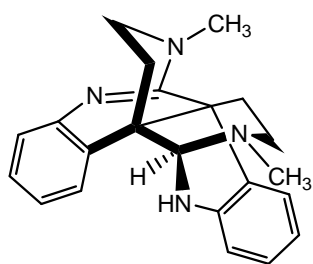
(8-8a),(8'-8'a)-tetraesidro-*iso*-calicantina  
3a(*R*), 3'a(*R*)  
**20**



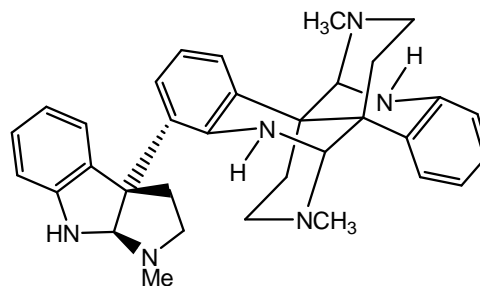
glomerulatina A  
**21**



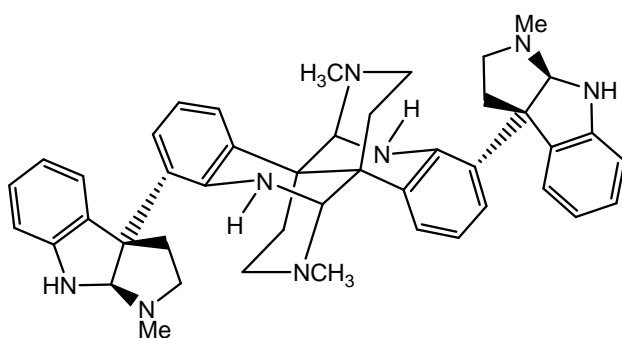
glomerulatina B  
**22**



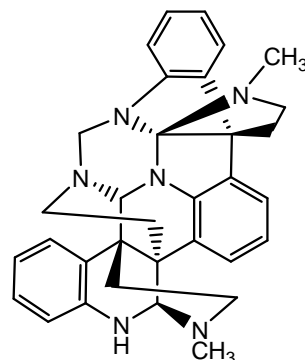
glomerulatina C  
**23**



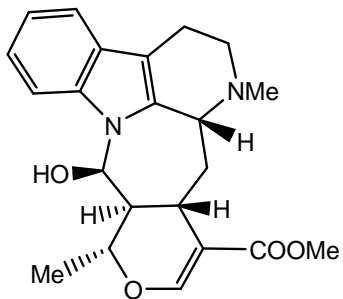
calicosidina  
**24**



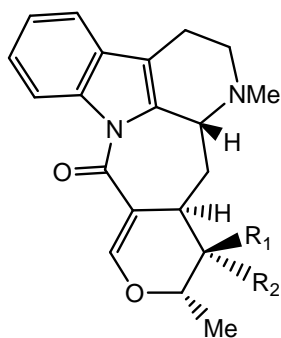
psicolefina  
**25**



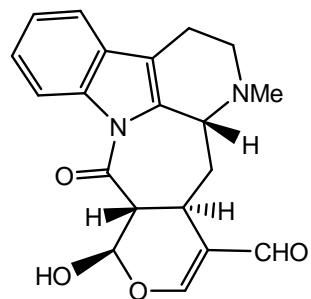
psicotripina  
**26**



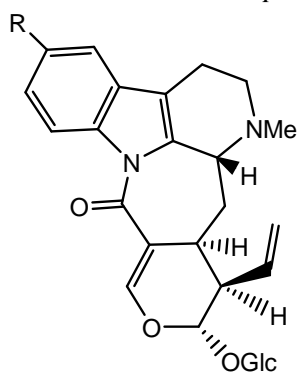
correantina A  
**27**



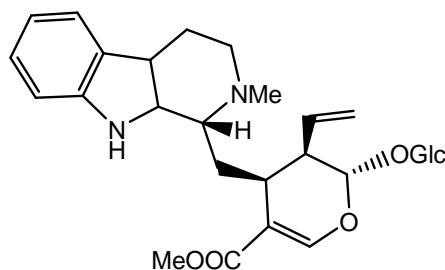
correantina B **28**  $R_1 = H$ ;  $R_2 = CHO$   
20-*epi*-correantina **29**  $R_1 = CHO$ ;  $R_2 = H$



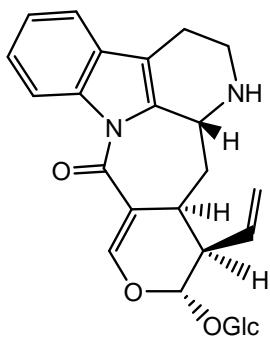
correantina C  
**30**



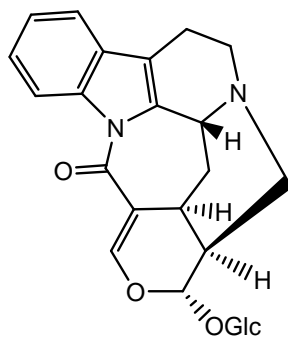
correantosídeo **31**  $R = H$   
10-hidroxi-correantosídeo **32**  $R = OH$



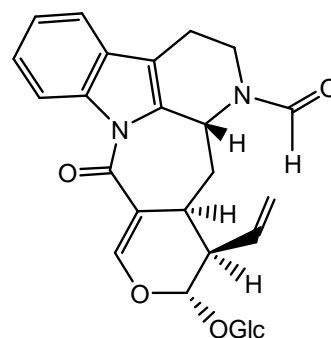
isodolicantosídeo **33**



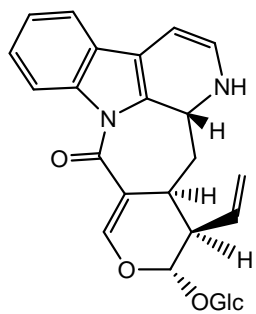
N-desmetilcorreantosídeo  
**34**



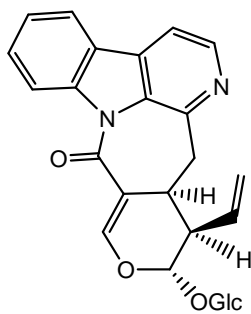
estaquiosídeo  
**35**



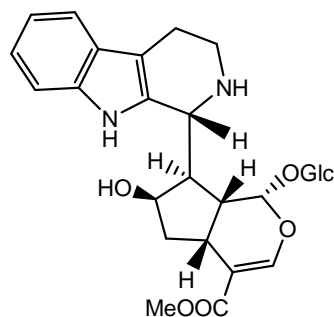
nor-metil-23-oxo-correantosídeo  
**36**



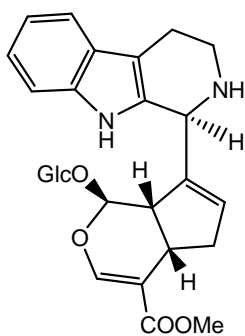
correantosina E  
37



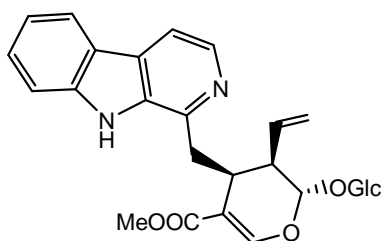
correantosina F  
38



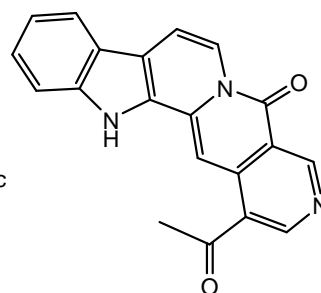
braquicerina  
39



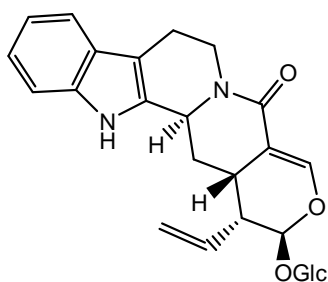
psicolatina  
40



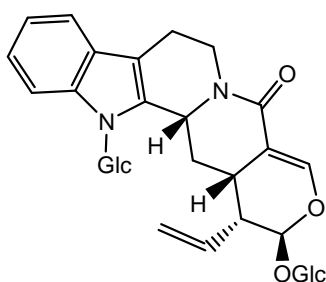
lialosídeo  
41



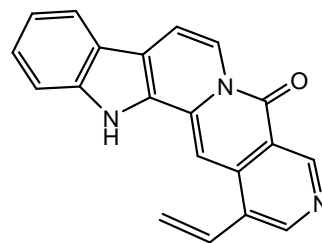
naucletina  
42



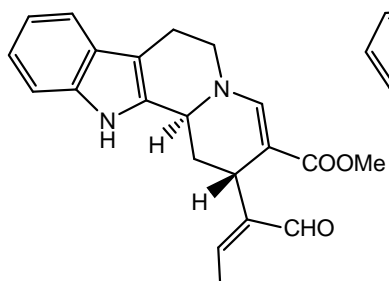
estricosamida  
43



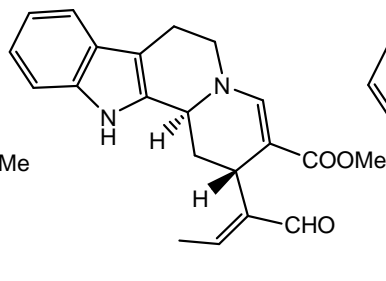
*N*,β-D-glicopiranosil vincosamida  
44



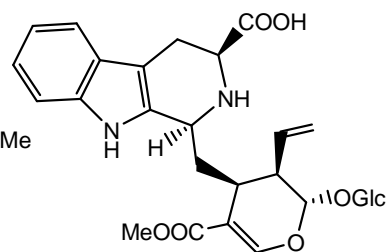
angustina  
45



(*E*)-valesiacotamina  
46

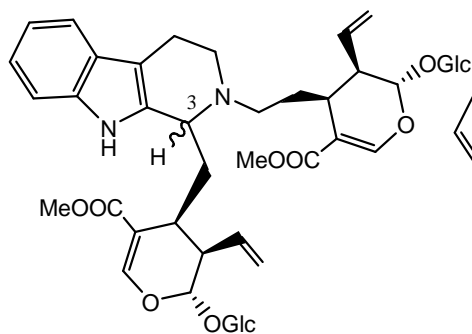


(*Z*)-valesiacotamina  
47

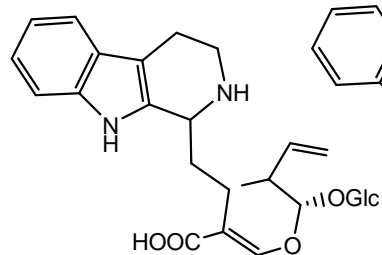


5-carboxiestricosidina  
48

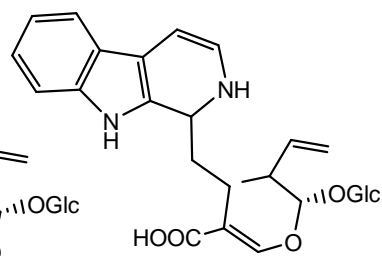




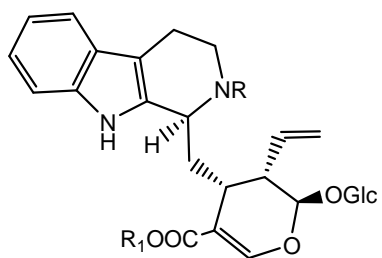
bahienosida A **49** H-3a $\beta$   
bahienosida B **50** H-3a $\alpha$



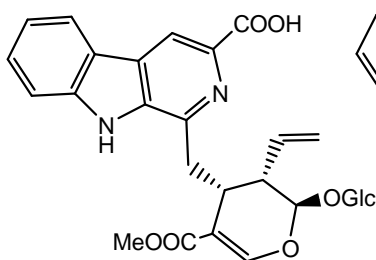
miriantosina A  
**51**



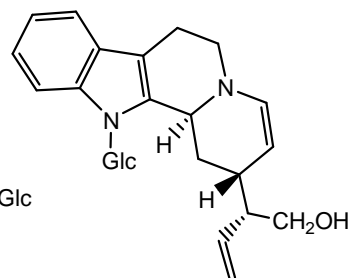
miriantosina B  
**52**



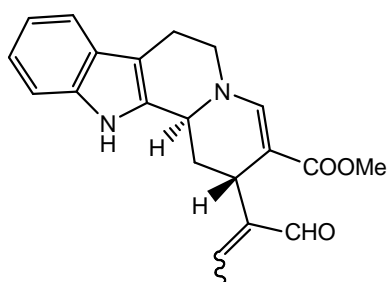
ácido estrictosidínico **53** R,R<sub>1</sub>=H  
estrictosidina **54** R=H, R<sub>1</sub>=Me  
palicosídeo **55** R=Me, R<sub>1</sub>=H



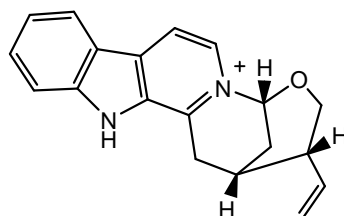
desoxicordifolina  
**56**



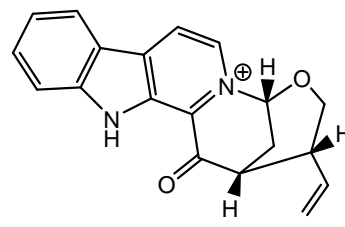
lagambosídeo  
**57**



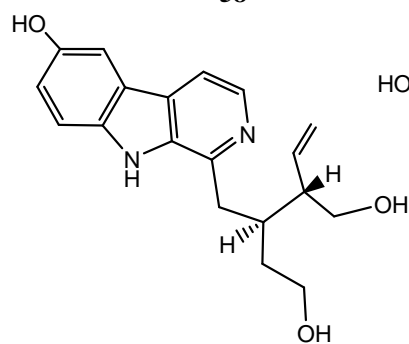
(E/Z)-valesiacotamina  
**58**



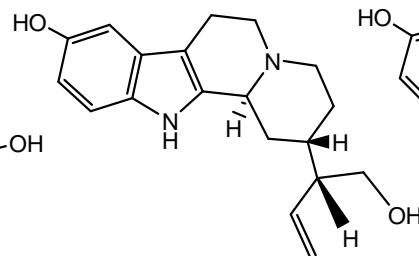
prunifoleína  
**59**



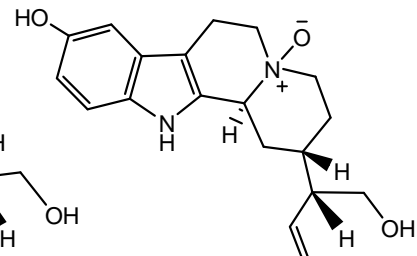
14-oxo-prunifoleína  
**60**



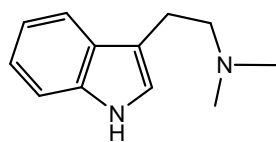
10-hidróxi-iso-deppeanol  
**61**



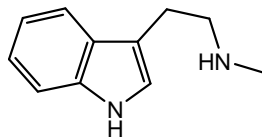
10-hidróxi-antirrina  
**62**



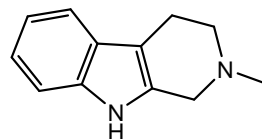
N-óxido-10-hidróxi-antirrina  
**63**



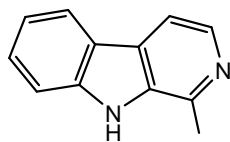
*N,N*-dimetil-triptamina  
**64**



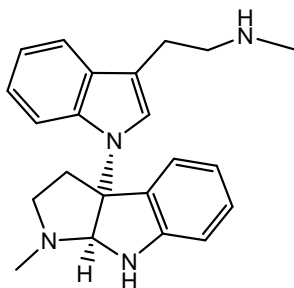
*N*-metil-triptamina  
**65**



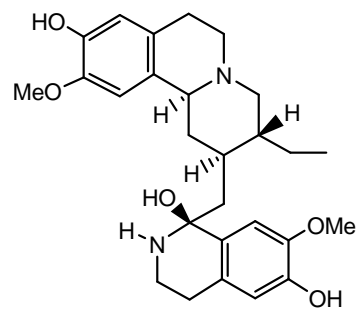
metil-tetrahidro-β-carbolina  
**66**



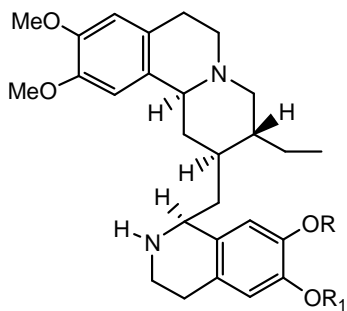
harmano  
**67**



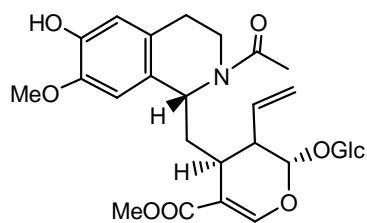
psicotriasina  
**68**



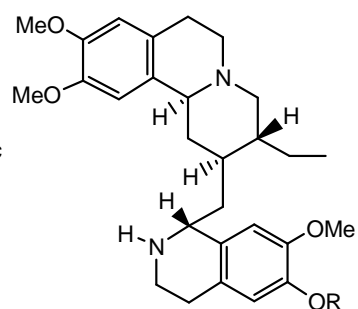
klugina  
**69**



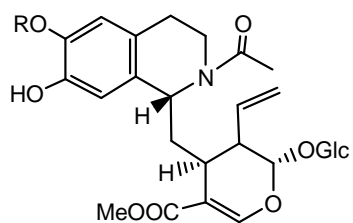
isocefaelina **70** R=Me, R<sub>1</sub>=H  
7'-*O*-desmetilisocefaelina **71** R= R<sub>1</sub>=H



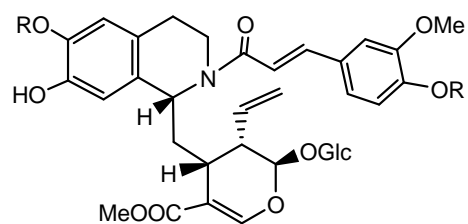
7'-*O*-metilipecosídeo  
**72**



cefaelina **73** R=H  
emetina **78** R=Me



ipecosídeo **74** R=H  
6-*O*-metilipecosídeo **75** R=Me



6-*O*-metil-trans-cefaelosídeo **76** R=H  
borucosídeo **77** R=Me