



INSTITUTO DE QUÍMICA

ISOLAMENTO E ESTUDO DE RMN-¹³C DOS
ALCALÓIDES INDÓLICOS DE PESCHIERA

FUCHSIAEFOLIA (DC) MIERS:

RAQUEL MARQUES BRAGA

TESE DE MESTRADO

orientador: Prof. Dr. FRANCISCO DE ASSIS MACHADO REIS

Campinas

1980

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A meus pais,

Wilson e Maria Antonieta.

A meus irmãos.

Ao Cláudio, meu esposo e
companheiro de trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Machado Reis, orientador e amigo, sou profundamente grata, pela confiança em mim depositada e pela atenção que me dispensou, nunca negando críticas ou apoio, durante a realização deste trabalho.

Agradecimentos

O autor deseja expressar seu reconhecimento,

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de estudo concedidas durante a execução deste trabalho e pelo auxílio financeiro ao projeto.

À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelos auxílios concedidos.

Ao Prof. L.T. Nielsen pelos espectros de massa.

À Prof. Luzia K. Koike pelos espectros de RMN- ^{13}C .

Ao Prof. Dr. Hermógenes de F. Leitão Filho pela identificação da espécie Peschiera fuchsiaeifolia e por acompanhar-nos quando foi feita a coleta do material.

À Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company por ter enviado graciosamente amostra autêntica de perivina, bem como os espectros de IV e RMN- ^1H para comparação.

À Prof. Dra. Marilda M. de Oliveira e à bióloga Isabel Tomie Nakamura, do Instituto Biológico de São Paulo, pelos ensaios biológicos e pelo envio dos resultados preliminares obtidos.

À Prof. Dra. Eva Gonçalves Magalhães que me iniciou no estudo da Química dos Produtos Naturais e sempre me apoiou e incentivou.

À Maria Angélica C Purchio e Lourival D. Pimpim pela amizade e auxílio valioso durante o trabalho experimental.

Aos colegas de laboratório, Domingos, Luzia, Simone, Rosa, Cândida, Maria Helena, Angela, Lúcia e Carmem, cuja amizade e apoio sempre nos incentivaram.

INDICE GERAL

	pág.
Resumo	1
Introdução.....	2
Capítulo I	
Revisão Bibliográfica dos gêneros Tabernaemontana e Peschiera	6
Capítulo II	
Estudo fitoquímico de <u>Peschiera fuchsiaeefolia</u> (DC) Miers	23
1. Descrição da planta.....	23
2. Isolamento dos alcalóides	24
3. Determinação das estruturas dos alcalóides isolados.....	32
4. Modelos usados na determinação da estrutura dos sais.....	70
5. Ensaio Biológicos	73
Capítulo III	
Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 de alcalóides indólicos	75
1. Introdução	75
2. Modelos de alcalóides indólicos	78
2.a Alcalóides do tipo Iboga	78
2.b Alcalóides do tipo vobasina	83
2.c Alcalóides do tipo sarpagina	87
2.d Alcalóides bis-indólicos	92
3. RMN- ¹³ C dos alcalóides isolados de <u>Peschiera fuchsiaeefolia</u>	94
3.a Alcalóides bis-indólicos do tipo voacamina	95
3.b Alcalóide tipo vobasina	101
3.c Alcalóides tipo sarpagina	103
3.d Alcalóides quaternários	108
Capítulo IV	
Parte Experimental	118

1. Material e Métodos	118
2. Coleta do Material e Obtenção dos extratos.....	119
3. Isolamento e purificação dos alcalóides	122
4. Dados espectrais e constantes físicas	138
Conclusão	149
Bibliografia	150

Índice de Quadros, Esquemas, Tabelas e Figuras

Quadros	pág.
I	Alcalóides isolados de Tabernaemontana e Peshiera 18-22
II	Fragmentos da voacangina 34
III	Fragmentos da voacangina-hidroxiindolenina 36
IV	Fragmentação e pirólise da voacamina 40
V	Fragmentos de afinisina e voacalotina 49
VI	Fragmentos da perivina 54
VII	Fragmentos da 16-epiafinina 57
VIII	Espectros de UV de cromóforos indólicos com diferentes substituições 61
IX	Fragmentos de <u>XXVla</u> , <u>XXVib</u> e <u>XXVic</u> 63
X	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo Iboga 81
XI	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo Iboga 82
XII	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo vobasina 86
XIII	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo sarpagina 88
XIV	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo sarpagina 90
XV	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo tabernaeelegantinas 93
XVI	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo voacamina 97
XVII	RMN- ¹³ C de alcalóides do tipo voacamina 98
XVIII	RMN- ¹³ C de voacalotina, afinisina e normacusina-B 104
XIX	RMN- ¹³ C dos alcalóides quaternários 109
XX	RMN- ¹³ C de sistemas tipo isoquinolínicos e tetrahidroharmano 111
Esquemas	
I	Tratamento dos extratos para isolamento dos alcalóides 26
II	Proposição para origem do pico a m/e=172 53

Esquemas	pág.
III Inversão do N na voacamina	100
IV Tratamento dos extratos	120
Tabelas	pág.
I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera	9-17
II Comparação do conteúdo alcalóidico da casca, folhas, e madeira	25
III Quantidade de alcalóides da casca	27
IV Comparação dos deslocamentos químicos da metoxila em posição endo ou exo em relação ao núcleo indólico	67
V Quantidade de alcalóides da casca	121
VI Coluna do extrato A	122
VII Coluna da fração 8-20	124
VIII Primeira coluna de Sephadex	125
IX Coluna da fração 9-13	126
X Frações da coluna da fração 9-13	127
XI Coluna da fração 16-20	128
XII Reunião das frações da 2ª e 3ª colunas de Sephadex	129
XIII Primeira coluna do extrato C	130
XIV Frações da coluna do extrato C	131
XV Coluna do extrato F	132
XVI Frações da coluna do Extrato F	133
XVII Coluna do Extrato G	134
XVIII Coluna do Extrato I	136

Figuras		pág.
I	Espectro de UV da voacangina	160
II	Espectro de UV da voacangina-hidroxiindolenina	160
III	Espectro de RMN- ¹ H da voacangina	161
IV	Espectro de RMN- ¹ H da voacangina-hidroxiindolenina	161
V	Espectro de Massa da voacangina	162
VI	Espectro de massa da voacangina-hidroxiindolenina	162
VII	Espectro de UV da voacamina	163
VIII	Espectro de RMN- ¹ H da voacamina	164
IX	Espectro de RMN- ¹ H da desmetilvoacamina	164
X	Espectro de RMN- ¹ H da descarbometoxivoacamina	165
XI	Espectro de RMN- ¹ H da voacamidina	165
XII	Espectro de massa da voacamina	166
XIII	Espectro de massa da desmetilvoacamina	167
XIV	Espectro de massa da descarbometoxivoacamina	168
XV	Espectro de massa da voacamidina	169
XVI	Espectro de UV da afinisina	170
XVII	Espectro de UV da voacalotina	170
XVIII	Espectro de RMN- ¹ H da afinisina	171
XIX	Espectro de RMN- ¹ H da voacalotina	171
XX	Espectro de massa da afinisina	172
XXI	Espectro de massa da voacalotina	172
XXII	Espectro de UV da perivina	173
XXIII	Espectro de UV da 16-epiafinina	173
XXIV	Espectro de RMN- ¹ H (100 MHz) da perivina	174
XXV	Espectro de RMN- ¹ H da 16-epiafinina	175
XXVI	Espectro de massa da perivina	176
XXVII	Espectro de massa da 16-epiafinina	176
XXVIII	Espectro de RMN- ¹ H do sinapato de etila	177
XXIX	Espectro de massa do sinapato de etila	177
XXX	Espectro de RMN- ¹³ C do sinapato de etila	178

Figuras		pág.
XXXI	Espectro de UV de fuchsiafolina	179
XXXII	Espectro de UV de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	179
XXXIII	Espectro de UV do éster etílico de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	180
XXXIV	Espectro de UV do cloreto de N _b -metilafinisina	180
XXXV	Espectro de RMN- ¹ H da fuchsiafolina	181
XXXVI	Espectro de RMN- ¹ H de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	182
XXXVII	Espectro de RMN- ¹ H do éster etílico de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	183
XXXVIII	Espectro de massa da fuchsiafolina	184
XXXIV	Espectro de massa de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	184
XL	Espectro de massa do éster etílico de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	185
XLI	Espectro de massa do cloreto de N _b -metilafinisina	185
XLII	Espectro de RMN- ¹ H do cloreto de N _b -metilafinisina	186
XLIII	Espectro de RMN- ¹ H do cloreto de N _b -metilafinisina (irradiação à $\delta = 5,50$ ppm)	187
XLIV	Irradiação à $\delta = 1,60$ ppm do cloreto de N _b -metilafinisina	188
XLV	Irradiação do próton à $\delta = 4,28$ ppm	188
XLVI	Espectro de RMN- ¹³ C da voacamina	189
XLVII	Espectro de RMN- ¹³ C da 16-epiafinina	190
XLVIII	Espectro de RMN- ¹³ C da voacalotina	191
XLIX	Espectro de RMN- ¹³ C do cloreto de N _b -metilafinisina	192
L	Espectro de RMN- ¹³ C da fuchsiafolina	193
LI	Espectro de RMN- ¹³ C do 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	194
LII	Espectro de RMN- ¹³ C do éster metílico de 12-metoxi-N _b -metilvoacalotina	195
LIII	Espectro de RMN- ¹³ C do iodeto de N _b -metilvoacalotina	196

Resumo

Dos extratos etéreo e etanólico da casca do tronco de Peschiera fuchsiae (DC) Miers (sin. Tabernaemontana fuchsiae (DC) isolamos os alcalóides voacamina, voacangina, voacangina-hidroxiindolenina, desmetilvoacamina, descarbometoxivoacamina, voacamidina, afinisina, perivina, 16-epiafinina, voacalotina e três alcalóides quaternários novos.

As estruturas destes alcalóides foram determinadas pelos métodos espectroscópicos usuais e foi feito um estudo de ressonância magnética nuclear de carbono-13 ressaltando os efeitos dos substituintes sobre os deslocamentos químicos dos carbonos.

O uso de RMN- ^{13}C e de RMN- ^1H permitiu a determinação da configuração do C-16 dos alcalóides quaternários isolados.

Ensaio preliminares revelaram que um dos alcalóides isolado, a desmetilvoacamina, apresenta atividade contra leucemia linfocítica P-388.

Introdução

O Brasil, onde se calcula existir cerca de 120000 variedades¹ de plantas, é um verdadeiro império vegetal, oferecendo à química dos produtos naturais amplo campo de investigação, visto que a grande maioria das espécies ainda não foi estudada.

O tratamento de doenças com preparados farmacêuticos à base de substâncias vegetais, foi muito difundido até meados do século XIX². A partir desta época, usando-se como modelos as substâncias naturais ativas, foram sendo sintetizadas moléculas puras de ação farmacológica mais específica e as plantas medicinais foram sendo substituídas por substâncias sintéticas. Em alguns casos, as substâncias naturais sofrem tantas modificações e como são produzidas séries cada vez maiores de medicamentos sintéticos acaba sendo esquecido que este medicamento teve como origem um produto natural isolado de uma planta.

Embora o emprego das drogas vegetais tenha perdido terreno na medicina, o estudo das plantas é importante pela possibilidade de isolamento de princípios ativos que possam ser utilizados como modelos para síntese total ou ainda como matéria prima de transformação farmacêutica.

Atualmente percebe-se um grande movimento em favor do emprego de medicamentos de origem natural e consequentemente as plantas medicinais estão recebendo novo alento. Este interesse não é devido apenas aos componentes isolados destas plantas, mas também a droga vegetal. Entende-se por droga vegetal a parte da planta medicinal usada diretamente no preparo de remédios.

Para que o estudo das plantas medicinais, através da química dos produtos naturais seja proveitoso, é necessário que as investigações tenham objetivos bem definidos: achar substâncias

que possuam ações específicas.

A escolha das espécies a serem estudadas pode ser baseada nas informações obtidas da medicina popular ou no conhecimento do tipo de substância encontrada em determinada família de plantas.

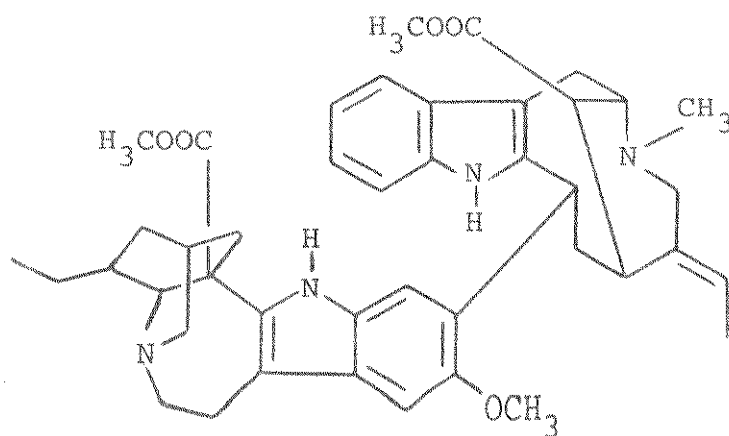
O trabalho de obtenção dos extratos e fracionamento deve ser acompanhado de ensaios biológicos contínuos das diversas frações até o isolamento da substância ativa. Este processo permitiu o isolamento de compostos ativos, que, de outro modo, passariam despercebidos devido a sua baixa concentração nas plantas. Um exemplo é o da vincristina, medicamento utilizado no tratamento de neoplasias e isolado de Catharanthus roseus G. Don..

A Vinca rosea L. (Catharanthus roseus G. Don.) é uma planta herbácea, pertencente à família Apocynaceae e, por ser utilizada como medicamento popular contra a diabete, levou o laboratório Eli Lilly³ a estudar os princípios ativos desta planta. Não foram confirmadas as propriedades hipoglicemiantes, mas foi observado que algumas preparações desta planta agiam especificamente sobre leucemia experimental P-1534 em camundongos³. Estudos sistemáticos resultaram no isolamento, entre outros alcalóides, de vincristina e vimblastina, que hoje são utilizados clinicamente contra leucemias³.

É de grande importância, portanto, que os processos de extração, fracionamento e isolamento final sejam acompanhados de ensaios biológicos e isto implica numa estreita colaboração entre químicos e biólogos⁴.

A família Apocynaceae, da qual os gêneros Tabernaemontana e Peschiera fazem parte, é uma fonte de alcalóides indólicos e algumas espécies destes gêneros têm fornecido substâncias com atividade biológica. Vobasina, afinisina e afinina, alcalóides indólicos isolados de Peschiera affinis⁵, causam depressão no sistema nervoso central, além de alguns outros efeitos farmacológicos.

Recentemente surgiram estudos sobre a atividade anticancerígena de alcalóides bis-indólicos do tipo voacamina Ia, isolados de várias espécies do gênero Tabernaemontana⁶.



Ia

Os alcalóides do tipo voacamina Ia são formados pela união de uma unidade tipo vobasina e uma unidade do tipo iboga. Os testes foram feitos para dois sistemas de células, leucemia linfocítica P-388 e carcinoma de Eagle da nasofaringe (KB). Os resultados demonstram que há uma estreita relação entre estrutura e atividade biológica e uma das conclusões é que os alcalóides bis-indólicos mostram maior atividade que os seus monômeros precursores⁶.

Os alcalóides são produtos naturais amplamente distribuídos nas plantas e quase todos apresentam efeitos fisiológicos marcantes. O nome alcalóide refere-se às suas propriedades básicas (alcalino) como solubilidade e formação de sal em solução aquosa ácida⁷. Esta propriedade é bastante útil para os ensaios pois na sua grande maioria são feitos em soluções aquosas.

Os alcalóides indólicos formam um grupo representativo dentro desta classe de substâncias e apresentam uma diversidade estrutural muito grande. Eles são derivados do triptofano e na sua

grande maioria, de uma unidade de 9 a 10 carbonos de origem monoterpênica.

A dificuldade apresentada pelos elaborados sistemas cíclicos, do ponto de vista de elucidação de estruturas, a sua fragilidade, associadas ao baixo rendimento com que são encontrados nas plantas, obriga a busca de métodos de análise mais rápidos que não exijam degradações químicas.

Neste sentido a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN- ^{13}C), devido a sua grande sensibilidade a efeitos espaciais, é um poderoso aliado na elucidação de estruturas de alcalóides sendo muito útil na resolução de problemas estereoquímicos destas moléculas.

A presença de voacamina Ia em Tabernaemontana fuchsiaefolia⁸ despertou nosso interesse devido a ausência de estudos de RMN- ^{13}C destes compostos.

No entanto, a atividade anticancerígena de voacamina Ia nos decidiu a realizar um estudo minucioso desta planta visando i solar outros alcalóides bis-indólicos do mesmo tipo, à fim de estudar a atividade biológica dos mesmos.

Com este objetivo Peschiera fuchsiaefolia (DC) Miers (sin. Tabernaemontana fuchsiaefolia DC.) , planta de grande dispersão no estado de São Paulo e facilmente encontrada nas proximidades da UNICAMP, foi coletada e seu estudo empreendido.

Este trabalho faz parte do Projeto A do Plano Integrado de Farmacologia e Química dos Produtos Naturais do CNPq, que visa estudar a atividade anticancerígena de espécies de Tabernaemontanoideae (Apocynaceae).

Capítulo I

Revisão Bibliográfica dos gêneros Tabernaemontana e Peschiera

A divisão Angiospermae é um dos maiores grupos de plantas e é o que hoje domina a flora terrestre do mundo⁹. São reconhecidos cerca de 344 famílias de Angiospermas, grupadas em duas classes, monocotiledôneas e dicotiledôneas, que compreendem mais de 200000 espécies⁹. As dicotiledôneas compreendem 48 ordens representadas por 291 famílias⁹.

A família Apocynaceae engloba cerca de 200 gêneros com mais de 2000 espécies de distribuição marcadamente tropical e sub-tropical em todo mundo⁹. São plantas de hábito variado, ervas, subarbustos, árvores e trepadeiras, vivem tanto nos campos como nas matas.

Dentro desta família alguns autores consideram Plumeroideae e Tabernaemontanoideae como sub-famílias distintas¹⁰ e outros classificam Tabernaemontaneae como uma tribo pertencente à sub-família Plumeroideae. Em seu trabalho¹⁰ Boiteau e Allorge estudaram 35 espécies vegetais e mostram as diferenças morfológicas e quimiotaxonômicas existentes entre as duas sub-famílias. A caracterização da sub-família Tabernaemontanoideae foi feita baseando-se na análise de 16 espécies (15 gêneros) vegetais.

Tabernaemontana e Peschiera são dois gêneros desta família e têm gerado controvérsias com respeito à sua classificação botânica¹¹.

No Brasil foram descritos¹², até o momento, quatro gêneros pertencentes à sub-família Tabernaemontanoideae: Anartia (10 espécies), Bonafusia (17 espécies), Peschiera (17 espécies) e Stenosolen (1 espécie).

Numa tentativa de relacionar o conteúdo alcalóidico com o gênero, fizemos uma revisão bibliográfica das espécies já estuda-

das dos gêneros Peschiera e Tabernaemontana (Tabela I). As estruturas dos alcalóides são apresentadas no Quadro I.

Existem alguns fatores em relação ao conteúdo alcalóidico das plantas, que podem dificultar a classificação das espécies com base nesta informação.

A elaboração de alcalóides, no início do crescimento, não é feita por órgãos específicos, mas sim por todos os órgãos (incluindo as sementes), porém com o desenvolvimento da planta os alcalóides se localizam em poucos órgãos e a casca parece conter maior quantidade destas bases¹³. Quando mais de um alcalóide é produzido, sua razão na planta não é a mesma em todas as etapas do crescimento. Em outros casos, a discrepância no conteúdo alcalóidico pode ser atribuída às variações geográficas¹³ na origem de determinada espécie. A produção de alcalóides é influenciada também por variações nas estações durante o ano¹⁴.

Apesar da existência destas variáveis, podemos notar que determinadas espécies apresentam maior concentração de alcalóides do tipo Iboga IV (Quadro I) e suas variações (V, VI, VII) (Quadro I) enquanto que outras contêm maior quantidade de alcalóides do tipo sarpagina II e vobasina III (Quadro I).

Algumas espécies apresentam alcalóides de estrutura bem diferente dos anteriores. Como por exemplo T. amygdalifolia, T. riedeli e T. padacaqui com bases do tipo aspidospermina XII, XIII e XXI (Quadro I) e T. rigida com alcalóides do tipo erubamina XIV e XV (Quadro I).

Deste levantamento podemos notar que de maneira geral as espécies pertencentes ao gênero Tabernaemontana contêm maior quantidade de alcalóides do tipo Iboga IV, enquanto que as do gênero Peschiera elaboram maior quantidade de alcalóides do tipo sarpagina II e vobasina III.

No entanto, analisando-se a Tabela I observamos que várias

espécies classificadas como pertencentes ao gênero Tabernaemontana forneceram alcalóides do tipo sarpagina II e espécies do gênero Peschiera alcalóides do tipo Iboga IV, e isto nos leva a supor que o conteúdo alcaloídico das espécies não possa ser usado como indicativo para a classificação dos gêneros. Certamente, uma classificação por critérios químicos não pode ser absoluta, mas sim ser utilizada como um auxílio aos critérios morfológicos. Por outro lado, em razão da grande controvérsia em torno da classificação primeiro de Apocynaceas e mais especificamente do gênero Tabernaemontana, uma classificação química necessitaria ser precedida de um extenso trabalho de revisão taxonômica. Assim, várias espécies aqui apresentadas como pertencentes ao gênero Tabernaemontana podem pertencer ao gênero Peschiera ou outro gênero da sub-família Tabernaemontanoideae.

É evidente que para chegarmos a conclusões mais seguras, o estudo químico deveria levar em conta as variáveis inicialmente apresentadas, idade da planta, órgão a ser estudado, origem geográfica e época de colheita do material.

Além disso, com o aparecimento de técnicas mais aperfeiçoadas de detecção, isolamento e identificação de quantidades cada vez menores de substâncias, deveria ser adotado um critério para a utilização dos alcalóides como padrão quimiotaxonômicos, como por exemplo, aqueles encontrados em maior quantidade.

GÊNERO : Tabernaemontana			
espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.accedens	voacamina	Ia	15
	voacamidina	Id	
	voacamina-N _B -óxido	Ib	
	desmetilvoacamina	Ic	
	accedinisina	XVIa	
	accedinina	XVib	
T.accedens	accedina	IIa	16
	N _a -metil-epi-afinina	IIIa	
T.accedens	N _a -desmetil-16epi-accedina	XVIII	17
T.alba	tabernosina-HCl	-	18
	coronaridina	IVa	
T.amygdalifolia	homocilindrocarpidina	XXIa	19
	17-demetoxicilindrocarpidina	XXIb	
T.amygdalifolia	o-desmetilpalosina	XIIIa	20
T.amygdalifolia	10-oxo-cilindrocarpidina	XIIIb	21
T.apoda (P.apoda)	voacangina-hidroxiindolenina	Vb	22
	voacristina	IVg	
	voacangina-pseudoindoxil	Vib	
Tabernaemontana sp.	coronaridina	IVa	23
	voacangina	IVf	
	voacangina-hidroxiindolenina	Vb	
	voacamina	Ia	
	olivacina		
T.apoda	coronaridina	IVa	24
	ibogamina	IVd	
	voacangina	IVf	

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.apoda	voacristina	IVg	25
	voacangina-hidroxiindolenina	Vb	
	voacristina-pseudoindoxil	VIa	
	voacristina-hidroxiindolenina	Vc	
T.apoda	coronaridina	IVa	26
	voacangina	IVf	
	isovoacangina	IVi	
	ibogamina	IVd	
T.apoda	coronaridina	IVa	27
	voacristina	IVg	
	voacristina-hidroxiindolenina	Vc	
T.arborea	voacangina	IVf	28
	voacamina	Ia	
	epivoacorina	II	
T.armeniaca	apodina	XIX	29
T.australis	voacangina	IVf	30
	voacamina	Ia	
T.brachyantha	nor-macusina-B	IIb	31
	voacorina	Ie	
	anidrovobasinedeol	Xa	
	1 isômero de voacorina	-	
T.chippii	conoflorina	XX	32
T.coronaria (Ervatamia coronaria)	coronaridina	IVa	30
	dregamina	IIIc	
	tabernaemontanina	IIId	
T.crassa	crassanina	VIIa	33
T.cumminsii	(-)-apparicina	IXa	34

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.cumminsii	jolianina	Va	35
	conofaringina	IVh	
	2-etil-3-(2-(3-etilpiperidino)etil indol	XI	36
T.divaricata (var. 1)	coronaridina	IVa	37
	voacangina	IVf	
	voafilina	XX	
	tabernaemontanina	IIId	
T.divaricata (var.2)	voafilina	XX	37
	lochnericina	XVII	
T.elegans	tabernaelegantina-A	VIIIa	38
	tabernaelegantina-B	VIIIb	
	tabernaelegantina-C	VIIIc	
	tabernaelegantina-D	VIIId	
	tabernaelegantinina-A	VIIIe	
	tabernaelegantinina-B	VIIIf	
T.elegans	dregamina	IIIc	39
	tabernaemontanina	IIId	
	conoduramina	If	
	tabernaelegantines A-E	VIIIa-d	
T.fuchsiaefolia	voacamina	Ia	8
	voacalotina	IIc	
	voacangina	IVf	
T.fuchsiaefolia	voacalotina	IIc	40
	afinisina	IIId	
T.heyneana	coronaridina	IVa	41
	voacangina	IVf	
	ibogamina	IVd	
	19-oxocoronaridina	IVb	
	voacangina-pseudoindoxil	Vib	

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.heyneana	heyneanina	IVc	42
	coronaridina	IVa	
T.heyneana	(-)-coronaridina	IVa	43
T.heyneana	heyneanina	IVc	44
T.heyneana	coronaridina	IVa	45
T.holstii	conoduramina	If	46
	conodurina	Ig	
	coronaridina	IVa	
	gabunina	Ih	
	19-oxocoronaridina	IVb	
	periciclivina	IIe	
	perivina	IIIg	
	vobasina	IIIIf	
	19-oxoconodurina	Ip	
	19-(2-oxopropil)conodurina	Iq	
T.holstii	vobasina	IIIIf	47
	perivina	IIIg	
	periciclivina	IIe	
	coronaridina	IVa	
	19-oxocoronaridina	IVb	
	conodurina	Ig	
	conoduramina	If	
	19-oxoconodurina	Ip	
	19-(2oxopropil)conodurina	Iq	
T.johnstonii	tabernamina	Ij	48

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.johnstonii	gabunamina	Ii	49
	tabernamina	Ij	
	19,20-epoxiconoduramina	Ik	
	conodurina	Ig	
	conoduramina	If	
	gabinina	Ih	
	isovoacangina	IVi	
	ibogamina	IVd	
	periciclivina	IIe	
	perivina	IIIg	
T.killipii	voacangina	IVf	50
	rupicolina	Vib	
T.laurifolia	-	-	51
T.laurifolia	isovoacristina	IVm	52
T.mucronata	coronaridina	IVa	53
	tabernaemontanina	IIId	
T.oppositifolia	ibogamina	IVd	30
	coronaridina	IVa	
	voacangina	IVf	
	voacamina	Ia	
T.pachysiphon var.cumminsii	conofaringina	IVh	54
	20-hidroxiconofaringina		
	conofaringina-pseudoindoxil	VIc	
T.pachysiphon var.cumminsii	conofaringina	IVh	55
T.pachsiphon	conofaringina	IVh	56
	afinina	IIIf	
	voacangina	IVf	
	pachisifina	XIIId	

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.padacaqui	(-)-lochneridina	XXII	57
T.pandacaqui	tabernaemontanina	IIId	58
	ervafolina	-	
	ervafolidina	-	
	isoervafolidina	-	
T.pandacaqui	coronaridina	IVa	59
T.psychotrifolia	taberpsichina	Xa()	60
	afinina	IIIb	
	ácido 16-epivobasínico	IIIe	
T.psychotrifolia	taberpsichina	Xa()	61
T.psychotrifolia	coronaridina	IVa	30
	voacangina	IVf	
	voacamina	Ia	
	olivacina	XXIII	
T. riedelli	(+)-8-oxominovincina	XIIb	62
	(+)-minovincina	XIIa	
	(±)-(-)-vincadiformina	XIIc	
T.rigida	(+)-vincamina	XIVa	62
	(+)-vincamina	XIVa	
	(+)-apovincamina	XV	
	(+)-(-)-14-epivincamina	XIVb	
T.rigida	-	-	63
T.rupicola	rupicolina	VIIb	64
	montanina	VIa	
T.sananho	coronaridina	IVa	65
	ibogamina	IVd	
	19-hidroxycoronaridina	IVj	
	voacangina	IVf	
	2o-hidroxycoronaridina		

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
T.sphaerocarpa (Ervatamia sphaerocarpa)	dregamina tabernaemontanina	IIIc IIId	14
T.sphaerocarpa	tabernaemontanina dregamina	IIId IIIc	66
T.undulata	coronaridina voafilina	IVa XX	67
T.undulata	-	-	30
T.wallichiana	voacangina coronaridina voacristina isovoacangina	IVf IVa IVg IVi	68
T.brachyantha	conofaringina	IVh	69
T.pachysiphon	voacangina	IVf	
T.contorta	coronaridina	IVa	
T.penduliflora	ibogaina	IVe	
T.englandulosa	voacangirina	IVe	
Tabernaemontana spp.	voacangina voacangina-pseudoindoxil ibogaina-hidroxiindolenina iboluteina alcalóides tipo aspidospermina	IVf VIb Ve VIe -	70

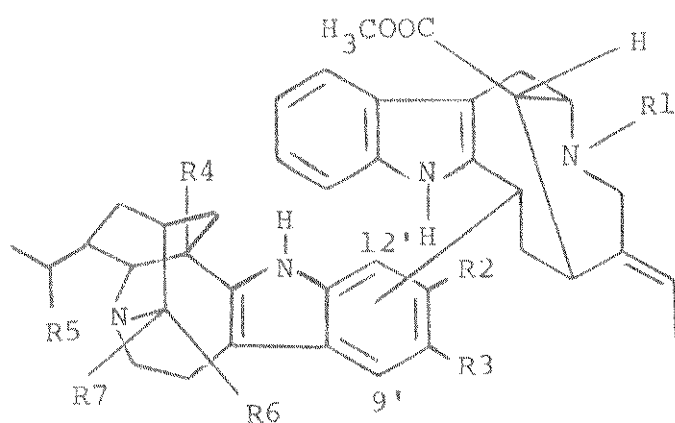
Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

GENERO: Peschiera			
espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
P.affinis	20-epiheyneanina	IVc(20epi)	71
	coronaridina	IVa	
	coronaridina-pseudoindoxil	VIId	
	afinisina	IIId	
	olivacina	XXIII	
P.affinis	afinina	IIIb	72
	afinisina	IIId	
P.affinis	vobasina	IIIIf	5
	afinina	IIIb	
	afinisina	IIId	
P.laeta	geissoschisol	XXIV	73
	afinina	IIIb	
	conoduramina	If	
	tombozina	IIb	
	voacamina	Ia	
	vobasina	IIIIf	
P.laeta	afinina	IIIb	74
	akuamidina	IIIf	
	conodurina	Ig	
	tombozina	IIb	
	voacamina	Ia	
	vobasina	IIIIf	
	geissoschisol	XXIV	
P.lundii	voacristina-pseudoindoxil	VIa	75
	iboxygaina-hidroxiindolenina	Ve	
	voacangina	IVf	
	coronaridina	IVa	
	voacristina	IVg	
	20-epivoacristina	IVg(20epi)	

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera

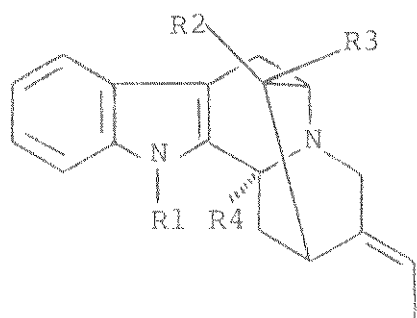
espécie	alcalóides isolados	estrutura	ref.
P.lundii	iboxigaina	IVk	75
	ibogaina	IVe	
	olivacina	XXIII	
	vobasina	IIIIf	

Tabela I Espécies estudadas de Tabernaemontana e Peschiera



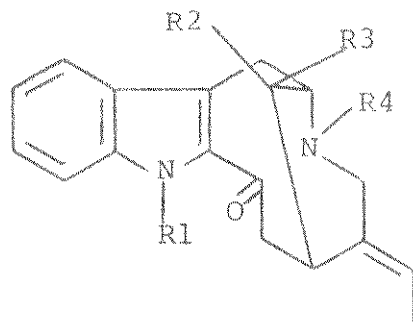
I

Ia	R1=Me	R3=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 11' R6=R7=H
Ib	R1=Me	R3=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 11' R6=R7=H Nb→O
Ic	R1=H	R3=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 11' R6=R7=H
Id	R1=Me	R3=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 9' R2=R6=R7=H
Ie	R1=Me	R3=OMe	R4=COOMe	R5=OH	ligação em 11' R6=R7=H
If	R1=Me	R2=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 10' R6=R7=H
Ig	R1=Me	R2=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 12' R3=R6=R7=H
Ih	R1=H	R2=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 12' R3=R6=R7=H
Ii	R1=H	R2=OMe	R4=COOMe	R5=H	ligação em 10' R6=R7=H
Ij	R1=H	R3=R4=R5=R6=R7=H			ligação em 11'
Ik	R1=Me	R2=OMe	R4=COOMe	R5=R6=R7=H	ligação em 10' 19,20 epoxi
Il	R1=Me	R3=OMe	R4=COOMe	R5=OH epi	ligação em 11' R6=R7=H
Ip	R1=Me	R2=OMe	R4=COOMe	R5=R3=H	ligação em 12' R6R7=O
Iq	R1=Me	R2=OMe	R4=COOMe	R5=R6=R3=H	ligação em 12' R7=CH ₂ COME



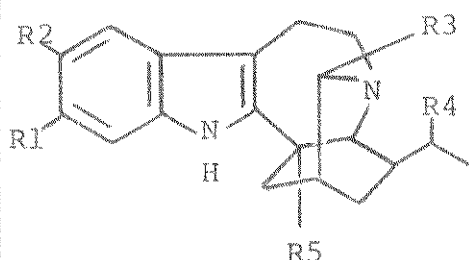
II

IIa	R1=Me	R2=H	R3=CH ₂ OH	R4=OH
IIb	R1=H	R2=H	R3=CH ₂ OH	R4=H
IIc	R1=Me	R2=CH ₂ OH	R3=COOMe	R4=H
IId	R1=Me	R2=H	R3=CH ₂ OH	R4=H
IIe	R1=R2=R4=H		R3=CH ₂ COOMe	
IIIf	R1=H	R2=COOMe	R3=CH ₂ OH	R4=H



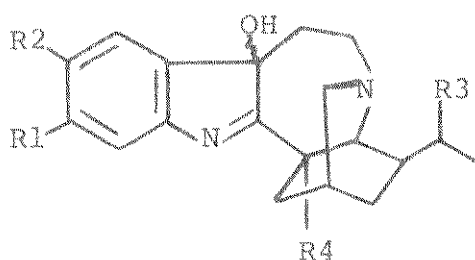
III

IIIa	R1=Me	R2=H	R3=CH ₂ OH	R4=Me
IIIb	R1=R3=H	R2=CH ₂ OH		R4=Me
IIIc	R1=R3=H	R2=COOMe	R4=Me	19,20 dihidro 20βH
IIId	R1=R3=H	R2=COOMe	R4=Me	19,20 dihidro 20αH
IIIe	R1=R2=H	R3=COOH	R4=Me	
IIIIf	R1=H	R2=COOMe	R3=H	R4=Me
IIIg	R1=H	R2=COOMe	R3=H	R4=H



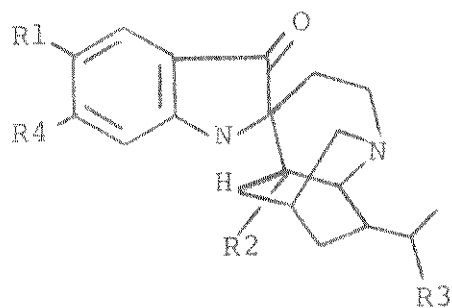
IV

- IVa R1=H R2=H R3=H R4=H R5=COOMe
 IVb R1=H R2=H R3=O R4=H R5=COOMe
 IVc R1=H R2=H R3=H R4=OH R5=COOMe
 IVd R1=H R2=H R3=H R4=H R5=H
 IVe R1=H R2=OMe R3=H R4=H R5=H
 IVf R1=H R2=OMe R3=H R4=H R5=COOMe
 IVg R1=H R2=OMe R3=H R4=OH R5=COOMe
 IVh R1=OMe R2=OMe R3=H R4=H R5=COOMe
 IVi R1=OMe R2=H R3=H R4=H R5=COOMe
 IVj R1=H R2=H R3=OH R4=H R5=COOMe
 IVk R1=H R2=OMe R3=H R4=OH R5=H
 IVl R1=H R2=OMe R3=H R4=OH R5=COOMe
 IVm R1=OMe R2=H R3=H R4=OH R5=COOMe



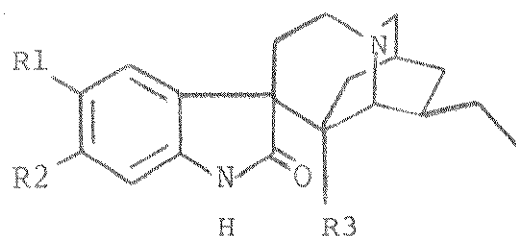
V

- Va R1=OMe R2=OMe R3=H R4=COOMe
 Vb R1=H R2=OMe R3=H R4=COOMe
 Vc R1=H R2=OMe R3=OH R4=COOMe
 Vd R1=H R2=OMe R3=OH R4=H
 Ve R1=H R2=OMe R3=H R4=H



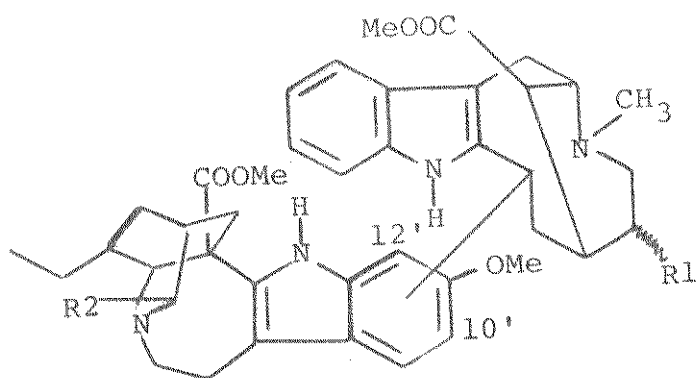
VI

- VIa R1=OMe R2=COOMe R3=OH R4=H
 VIb R1=OMe R2=COOMe R3=H R4=H
 VIc R1=OMe R2=COOMe R3=H R4=OMe
 VId R1=H R2=COOMe R3=H R4=H
 VIe R1=OMe R2=H R3=H R4=H



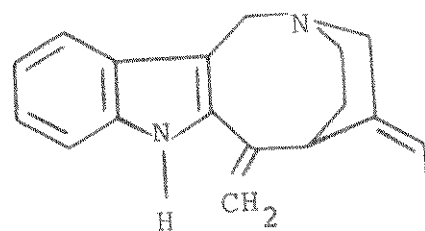
VII

- VIIa R1=OMe R2=OMe R3=COOMe

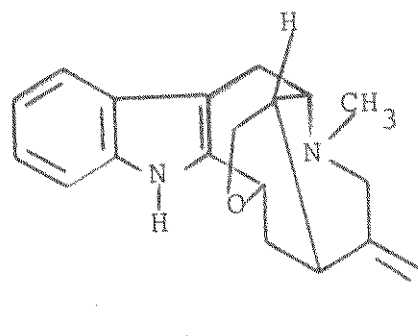


VIII

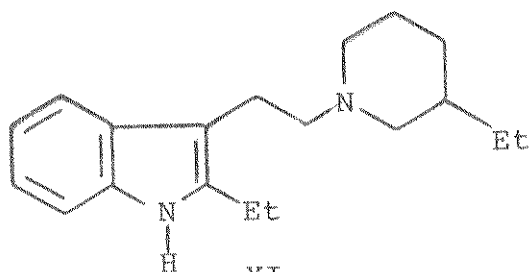
- VIIIa R1=Et R2=H ligação em 12'
 VIIIb R1=Et R2=H ligação em 10'
 VIIIc R1=Et R2=H ligação em 12'
 VIId R1=Et R2=H ligação em 10'
 VIIIE R1=Et R2=CH₂COME ligação em 12'
 VIIf R1=Et R2=CH₂COME ligação em 10'



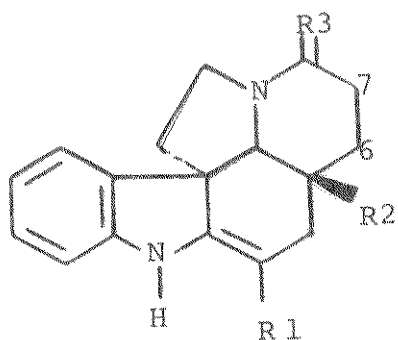
IXa



Xa

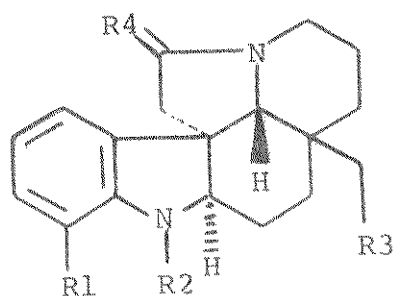


XI



XII

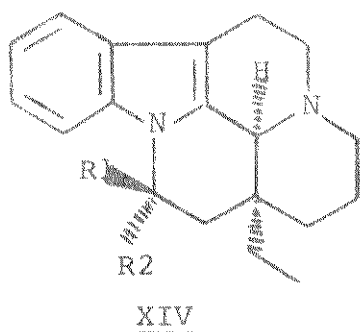
- XIIa R1=COOMe R2=COMe R3=H,H
 XIIb R1=COOMe R2=COMe R3=O
 XIIc R1=COOMe R2=CH₂CH₃ R3=H,H
 XIId R1=COOMe R2=CH₂CH₃ (epi), 6,7 epoxi



XIII

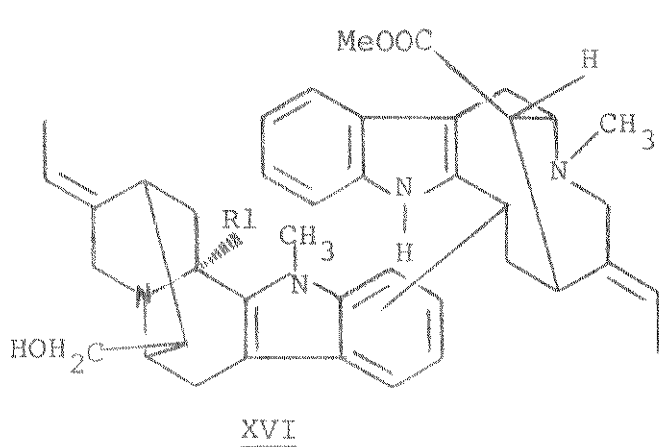
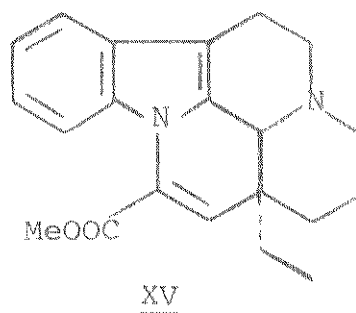
- XIIIa R1=OH R2=COC₂H₅ R3=CH₃ R4=H,H
 XIIIb R1=OMe R2=COCH₃ R3=COOCH₃ R4=O

Quadro I Alcalóides isolados de Tabernaemontana e Peschiera



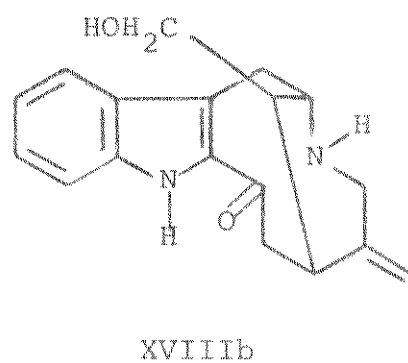
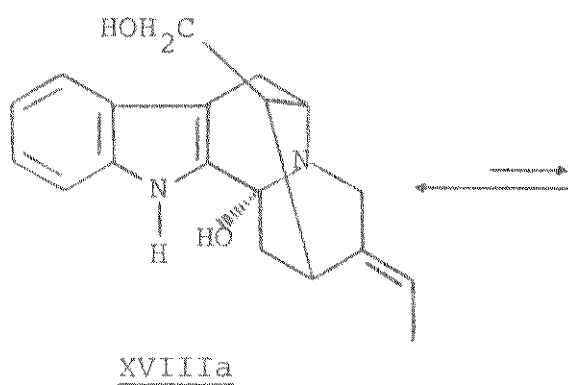
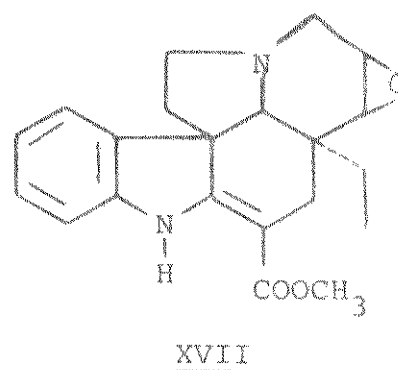
XIVa R1=OH R2=COOCH₃

XIVb R1=COOCH₃ R2=OH

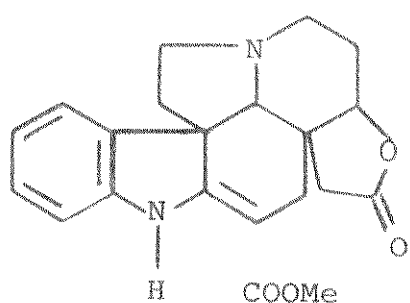


XVIa R1=H ligação em 10'

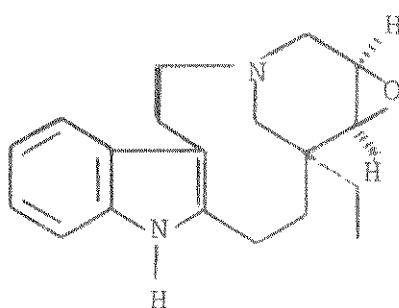
XVIb R1=OH ligação não determinada



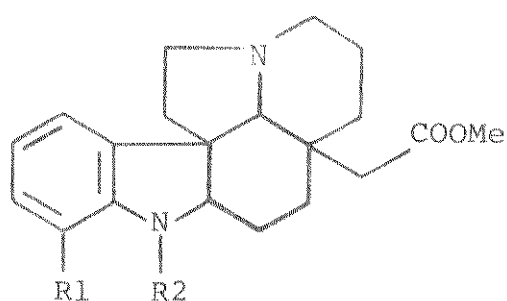
Quadro I Alcalóides isolados de Tabernaemontana e Peschiera



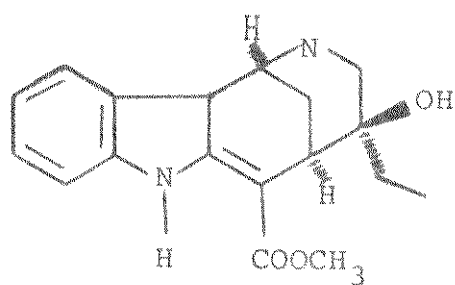
XIX



XX



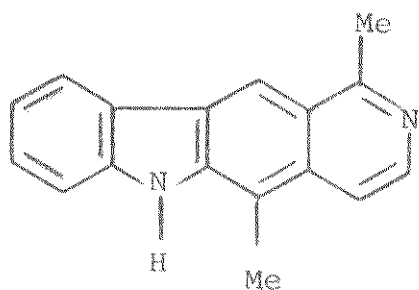
XXI



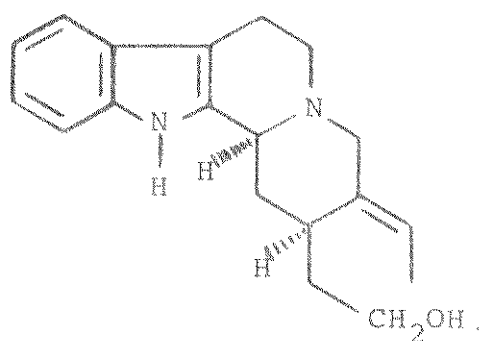
XXII

XXIa R1= OMe R2=COEt

XXIb R1=H R2=Ac



XXIII



XXIV

Quadro I Alcalóides isolados de Tabernaemontana e Peschiera

Capítulo II

Estudo fitoquímico de *Peschiera fuchsiaefolia* (DC) Miers

1. Descrição da planta

Classificação⁹

Divisão: Angiospermae

Classe: Dicotyledoneae

Ordem: Gentianales

Família: Apocynaceae

Sub-família: Tabernaemontanoideae

Gênero: *Peschiera*

Espécie: *Peschiera fuchsiaefolia* (DC) Miers (sin. *Tabernaemontana fuchsiaefolia* (DC))

denominação vulgar: leiteira, leiteiro

A espécie *Peschiera fuchsiaefolia* se distribui no Brasil, nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Mato-Grosso do Sul, Goiás e Paraná e pode ser facilmente encontrada nas proximidades da Cidade Universitária (UNICAMP).

É uma planta perene, arbustiva ou arbórea, com 2-4 m de altura e caule com numerosos ramos acinzentados. As folhas são simples com 4-12 cm de comprimento por 1,5-2,5 cm de largura, sendo escuras e reluzentes na face superior e mais claras e opacas na face inferior⁷⁶.

Inflorescência terminal, cimosa e multiflora. A corola é tubulosa, branca de 5 pétalas externamente glabras e internamente pilosa. O fruto é externamente verrucoso e duro e internamente carnosos⁷⁶.

Reproduz-se por sementes, floresce nos meses de agosto - dezembro e frutifica em dezembro-março. Dada sua rapidez de disseminação, dificuldade de erradicação e toxicidade, esta espécie

se coloca entre as mais sérias invasoras de pastagens. Tem preferência por solos arenosos não excessivamente ácidos⁷⁶.

2. Isolamento dos alcalóides

As referências anteriores^{8,40} sobre o conteúdo alcalóidico da espécie Tabernaemontana fuchsiaefolia revelaram a presença dos alcalóides indólicos monômeros, voacalotina IIC e afinisina IId e do alcalóide bis-indólico voacamina Ia. Além destes, foi detectado, através de C.C.D. de sílica-gel, o monômero voacangina⁸ IVf.

Como o nosso objetivo, além do isolamento de alcalóides que apresentem atividade biológica, é o estudo de RMN-¹³C de alcalóides indólicos, o método de tratamento do material foi sempre dirigido no sentido do isolamento destas substâncias.

Existem vários métodos que permitem a obtenção dos alcalóides contidos em uma planta. Estas substâncias podem ser removidas da planta por soluções aquosas ou alcoólicas ácidas que depois de concentradas e basificadas, são extraídas com um solvente orgânico.

Outro método consiste na extração do material com um solvente orgânico que é concentrado até a secura. O extrato é diluído em solução aquosa ácida, filtrado, a solução é basificada e as bases extraídas com solventes orgânicos⁷⁵.

O método que escolhemos nos permitiu o isolamento e a identificação de dez alcalóides terciários, tres quaternários e uma substância não alcalóidica.

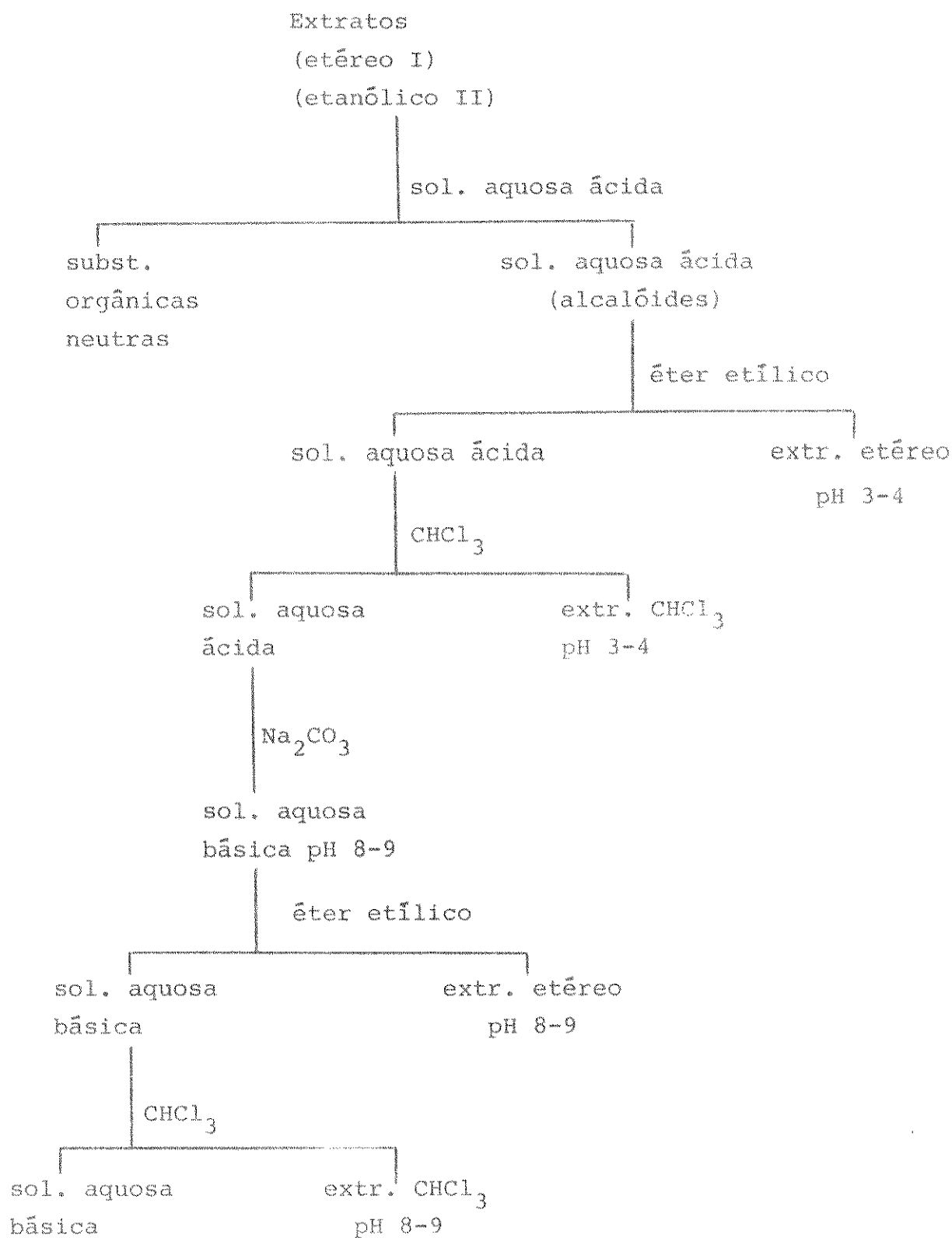
A casca, depois de seca e moída, foi umidificada com solução básica de NaHCO₃ e extraída primeiro com éter etílico (extr. etéreo I) e em seguida com etanol (extr. etanólico II). Os extratos foram tratados com uma solução aquosa ácida para obtenção dos

alcalóides totais, livres de substâncias orgânicas neutras. Baseados na diferença de basicidade dos alcalóides⁷⁷ e na diferença de solubilidade¹³ destes em éter etílico e clorofórmio, extraímos as bases com estes dois solventes a diferentes pH, segundo o Esquema I.

Em nosso trabalho estudamos os extratos obtidos a partir da casca da espécie Peschiera fuchsiaefolia, porém com o objetivo de compararmos a quantidade de alcalóides presentes na casca, folhas e madeira fizemos o mesmo tratamento para estas três partes da mesma planta. Na Tabela II apresentamos a soma das quantidades obtidas dos extrato etéreo e CHCl₃ a diferentes pH.

	casca	folhas	madeira
quantidade de material de partida (gr)	2924	2076	2645
Quantidade de alcalóides do extrato etéreo I (gr)	33,56	1,73	6,95
Quantidade de alcalóides do extrato etanólico II (gr)	17,34	16,50	1,85
Quantidade de alcalóides totais I + II (gr)	50,90	18,22	8,80
% de alcalóides do material de partida	1,7	0,9	0,4

Tabela II Comparação do conteúdo alcalóidico da casca, folhas e madeira



Esquema I Tratamento dos extratos para isolamento dos alcalóides

Na Tabela III apresentamos as quantidades obtidas pelo tratamento dos extratos etéreo I e etanólico II da casca segundo o Esquema I.

	pH	Extr. etéreo I		Extr. etanólico II	
		Nome	Quant. (gr)	Nome	Quant. (gr)
extr. etéreo	3-4	A	6,65	F	2,54
extr. CHCl ₃	3-4	B	18,14	G	11,81
extr. etéreo	8-9	C	8,52	H	0,14
extr. CHCl ₃	8-9	D	0,25	I	2,58
extr. CHCl ₃	14	-	-	J	0,27

Tabela III Quantidade de alcalóides da casca

Após o estudo detalhado de cada extrato, pudemos notar que houve uma separação prévia em grupos de alcalóides. Dos extratos obtidos a partir da solução aquosa ácida (A,B,F,G) isolamos alcalóides do tipo Iboga, do tipo voacamina e sarpagina, sendo que estes dois últimos tipos se concentraram nos extratos com CHCl₃ (B, G).

Do extrato obtido a pH básico (C) isolamos alcalóides do tipo vobasina. O isolamento de alcalóides bis-indólicos juntamente com alcalóides do tipo Iboga IV e do tipo vobasina III é muito interessante do ponto de vista bio-sintético pois estes alcalóides são considerados precursores na formação dos bis-indólicos⁷⁸. No nosso caso isolamos perivina IIIg que é um dos monômeros que formam a desmetilvoacamina Ic, alcalóide obtido em maior concentração nesta espécie.

Nos extratos obtidos a partir do extrato etanólico II observamos quase a mesma relação, sendo que destes extratos (G, I)

obtivemos três alcalóides quaternários, bastante polares.

Este tratamento, nos possibilitou o isolamento de mais 10 alcalóides, além dos já citados nesta espécie^{8,40}. A relação de concentração dos alcalóides isolados também foi diferente, visto que o alcalóide que isolamos em maior quantidade, desmetilvoacamina Ic, não foi mencionado nos estudos anteriores.

As diferenças encontradas no conteúdo alcalóidico desta espécie não pode somente ser atribuída às diferenças no tratamento do material, mas deve-se levar em conta as diferenças geográficas, idade das espécies, época de colheita e quantidade de material de partida.

Extrato A

Fizemos a separação dos alcalóides contidos neste extrato através de cromatografia em coluna de sílica-gel e isolamos três alcalóides: voacangina IVf, voacangina-hidroxiindolenina Vb e voacamina Ia em menor quantidade.

Como o derivado voacangina-hidroxiindolenina Vb pode ser preparado a partir de voacangina IVf com relativa facilidade⁷⁹, acreditamos que ele possa ter se formado pela oxidação deste último durante o processo de extração e isolamento.

Extrato B

Dos estudos anteriores sobre esta planta^{8,40} verificamos que ela contém alcalóides monoindólicos e alcalóides bis-indólicos. O termo bis-indólico é usado, em preferência a dímero, porque estes alcalóides são formados por duas unidades monômeras diferentes⁷⁷.

As massas moleculares variam de 300-400 para os monômeros e de 600-700 para os bis-indólicos.

Um espectro de massa do extrato B nos revelou que este era composto de alcalóides monômeros e bis-indólicos.

O método de separação destes dois grupos de alcalóides usando filtração através de Sephadex LH-20 já foi anteriormente citado⁷⁷ e o seu uso nos permitiu a obtenção dos dois grupos de alcalóides.

Desta maneira as primeiras frações eluídas continham maior concentração de alcalóides bis-indólicos e as frações posteriores eram mais ricas em alcalóides monômeros.

Os alcalóides bis-indólicos isolados foram: voacamina Ia, encontrada em várias espécies dos gêneros Tabernaemontana e Peschiera (Tabela I), N_b-desmetilvoacamina Ic, encontrado em maior concentração nesta espécie, descarbometoxivoacamina Im, pela primeira vez isolado deste gênero e voacamidina Id. Os três últimos alcalóides não foram descritos nos estudos anteriores desta planta^{8,40}.

Da fração com maior concentração de alcalóides monoindólicos isolamos dois alcalóides com esqueleto tipo sarpagina: afinisina IIId e voacalotina IIC

Extrato C

O extrato C foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel e isolamos dois alcalóides do tipo vobasina: perivina IIIg e 16-epiafinina IIIh.

Além destes isolamos dois alcalóides que já haviam sido encontrados nos outros extratos: afinisina IIId e descarbometoxivoacamina Im.

Extrato F

O extrato F foi submetido a cromatografia em coluna de sílica-gel e forneceu dois compostos: voacangina IVf e sinapato de etila XXVa.

A presença deste composto na fração alcalóidica do extrato etanólico da casca é estranha, visto que o tratamento foi feito visando a separação dos alcalóides.

A presença deste derivado do ácido sinápico XXVb, nesta planta, pode ser admitido pois já foi descrito⁸⁰ o isolamento deste ácido em espécies da sub-família Echitoideae (Apocynaceae).

Como a obtenção deste extrato foi feita atrevés do tratamento da casca com etanol, provavelmente este éster pode ser um artefato produzido durante o isolamento.

Extrato G

Através de cromatografia em coluna de sílica-gel isolamos deste extrato dois alcalóides quaternários: fuchsiafolina XXVIa e o éster etílico de 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIb, ainda não descritos na literatura.

Ésteres etílicos não são descritos como produtos naturais e possivelmente estes dois sais podem ser artefatos.

Através de cromatografia em camada delgada de sílica-gel pudemos comprovar neste extrato a presença dos mesmos alcalóides já isolados dos extratos anteriores.

Extrato I

Deste extrato isolamos dois alcalóides quaternários: o

éster etílico de 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIb, já isolado do extrato anterior e 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc outro alcalóide quaternário ainda não descrito na literatura.

Alcalóides quaternários não são frequentemente isolados de plantas e isto se deve principalmente ao fato de que são requeridos processos complexos para isolá-los no seu estado puro.

No nosso levantamento das espécies dos gêneros *Tabernaemontana* e *Peschiera*, não encontramos nenhum alcalóide quaternário isolado.

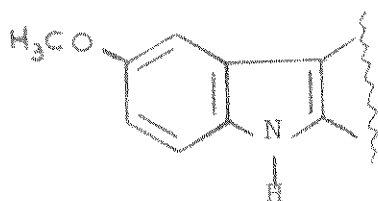
3. Determinação das estruturas dos alcalóides isolados

Extrato A

RB 14.2 voacangina IVf

Este alcalóide cristaliza de MeOH em forma de agulhas, apresentando $pf = 136-138^{\circ}C$ e rotação óptica $[\alpha]_D = -32,39$.

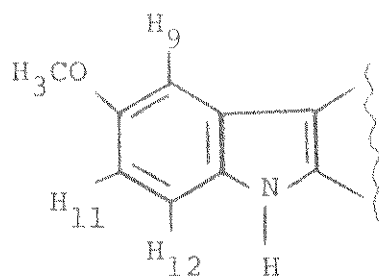
Seu espectro no UV (Figura I) é característico do cromóforo indólico XXVI⁸¹ apresentando máximos em 225 nm e 285 nm.



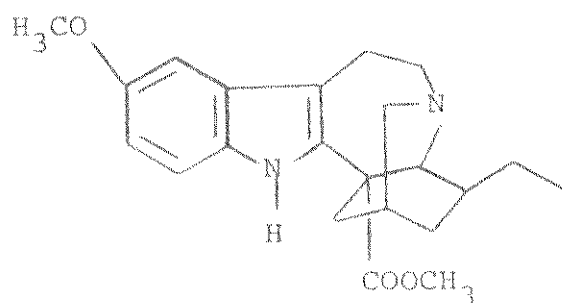
XXVI

O espectro na região do IV apresenta bandas características⁸² de NH (3440 cm^{-1}) e C=O (1720 cm^{-1}) de éster.

Seu espectro de RMN-¹H (Figura III) apresenta um pico triplo a $\delta = 0,93\text{ ppm}$, dois picos simples a $3,75\text{ ppm}$ e $3,88\text{ ppm}$ atribuídos a um CH_3 de cadeia etila, metoxila de éster e metoxila ligada a um anel benzênico, respectivamente. O padrão dos prótons aromáticos é característico de indol substituído na posição 10⁸³. Nesta região o espectro apresenta um d x d centrado em $6,80\text{ ppm}$ com $J = 2\text{ Hz}$ (acoplamento meta) e $J = 8\text{ Hz}$ (acoplamento orto), atribuído ao H-11. Apresenta um pico duplo com $J = 2\text{ Hz}$ atribuído ao próton ligado ao carbono 9, centrado em $6,90\text{ ppm}$. O pico duplo ($J = 8\text{ Hz}$) centrado em $7,1\text{ ppm}$ foi atribuído ao próton ligado ao carbono 12.



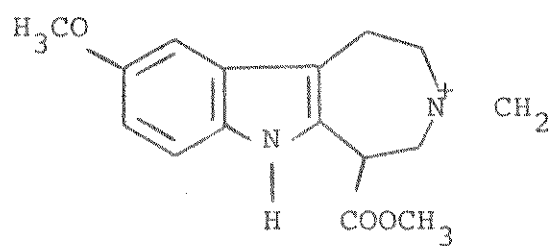
O espectro de massa (Figura V) apresenta pico molecular à $m/e = 368$ e fragmentos em $m/e = 353$ ($M-15$) e $m/e = 309$ ($M-59$) representando perda de metila e COOCH_3 , respectivamente. Os demais fragmentos (Quadro II) são característicos de alcalóides do tipo Iboga⁸⁴ e estes dados são compatíveis com a estrutura da voacangina IVf, o que é confirmado pela comparação com os dados físicos da literatura (Parte experimental).



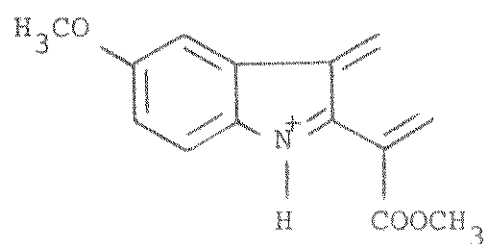
IVf

RB 14.3 voacangina-hidroxiindolenina Vb

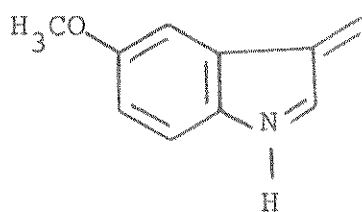
O espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (Figura IV) deste composto apresenta um pico triplo em 0,87 ppm e dois picos simples em 3,73 e 3,87 ppm, atribuídos a uma metila ligada a cadeia etila e duas metoxilas. O padrão dos prótons aromáticos é semelhante ao da voacangina, sugerindo a mesma substituição no anel aromático. Porém, neste composto o pico duplo com $J = 8$ Hz (acoplamento orto) está cen



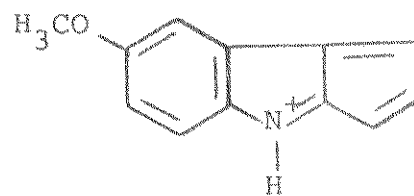
m/e = 283



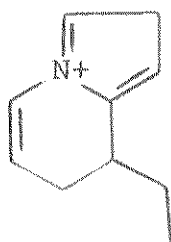
m/e = 244



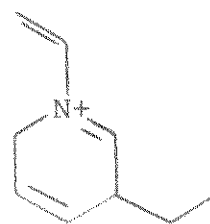
m/e = 160



m/e = 284



m/e = 148

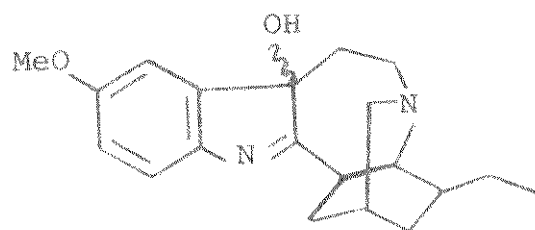


m/e = 136

Quadro II Fragmentos da voacangina IVf ⁸⁴

trado em 7,45 ppm, 0,3 ppm mais desprotegido que o mesmo próton na voacangina. Este fato, e a falta do sinal relativo ao próton indólico nos levou a supor que o cromóforo deste composto era diferente do da voacangina.

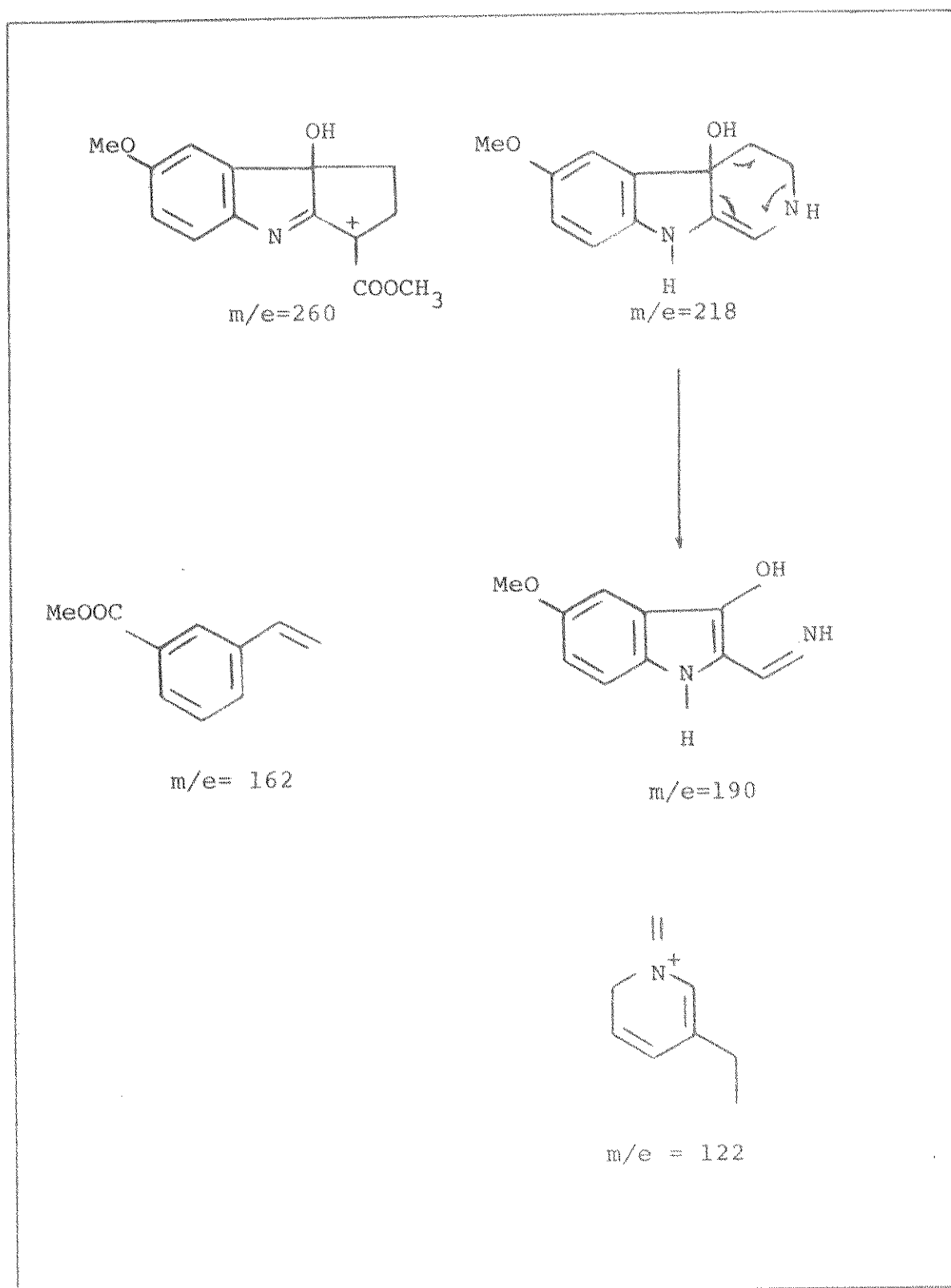
Uma confirmação deste fato nos foi dada pelo espectro de UV de RB 14.3 (Figura II) que tem forma bem diferente do da voacangina IVf (Figura I). A análise detalhada do UV de RB14.3 (Figura II) nos levou a propor uma estrutura parcial do tipo indolenina, o que foi confirmado por comparação com os dados do UV da ibogaina-hidroxiindolenina Ve⁸⁵.



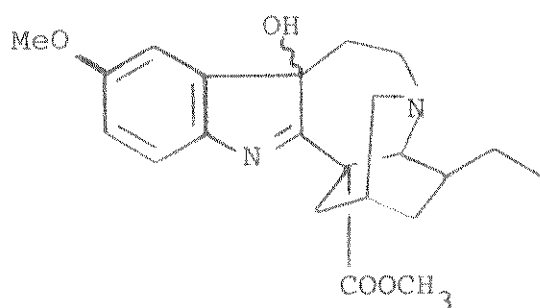
Ve

O espectro de massa (Figura VI) desta substância apresenta pico molecular em $m/e = 386$ e fragmentos característicos de perda de CH_3 , OH , CH_2CH_3 e COOCH_3 a $m/e = 369$, 367 , 355 e 325 , respectivamente.

Com os dados obtidos do espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$, UV e os dados de espectrometria de massa, sugerimos que o composto RB14.3 tem a estrutura Vb da voacangina-hidroxiindolenina, o que é compatível com os demais fragmentos do espectro de massa (Figura VI) (Quadro III) e com as constantes físicas da literatura⁷⁹.



Quadro III Fragmentos de voacangina-hidroxiindolenina⁷⁹ Vb



Vb

Extrato B

RB 14.1 voacamina Ia

Este alcalóide cristaliza de MeOH em forma de agulhas e se decompõe a 215° (os pontos de fusão de voacamina e de muitos alcalóides relacionados são na realidade decomposição e não constituem critério de pureza ou identidade⁷⁸).

Seu espectro de UV (Figura VII) é característico de indóis, apresentando máximos a 225 nm, 286 nm e 293 nm.

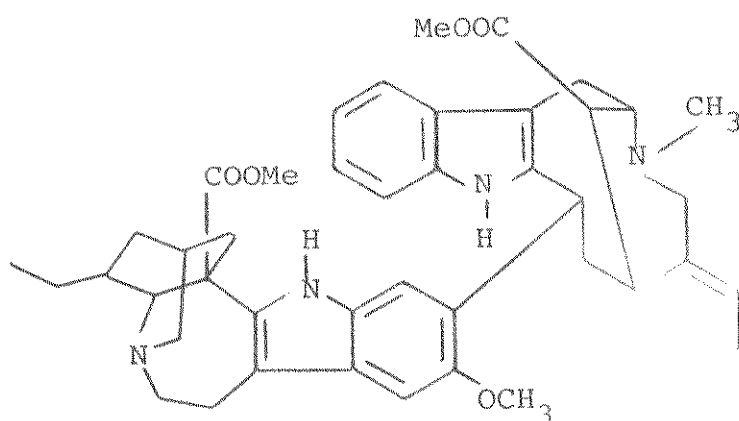
O espectro na região do infravermelho apresenta absorções máximas características de NH (3450cm^{-1}) e carbonila de éster (1710cm^{-1}).

Seu espectro de massa (Figura XII) com massa máxima igual a 718 nos indicou a natureza bis-indólica deste composto. Como o pico seguinte é em $m/e = 704$, e perda de 14 unidades de massa não é muito observada⁹⁰ propuzemos que o íon em 718 era devido a um homólogo superior ou uma impureza na amostra.

O espectro de RMN- ^1H (Figura VIII) apresenta dois sinais em campo baixo, 7,50 e 7,70 ppm, que desaparecem após a adi-

ção de D_2O , sugerindo a presença de dois núcleos indólicos. A presença de um pico duplo em 1,67 acoplado com um pico múltiplo em 5,20 ppm nos indicou a presença de um etilideno e o pico triplo em 0,87 ppm sugere uma cadeia etila. Este espectro apresenta ainda quatro picos simples em 2,47 ppm, 2,60 ppm, 3,63 ppm e 3,97 ppm, que integram para três prótons.

Estes fatos aliados ao conhecimento prévio do isolamento de voacamina desta planta nos levaram a sugerir que este composto é idêntico à voacamina Ia.



Ia

Os picos simples do espectro de RMN- 1H puderam assim ser atribuídos à metoxila (2,47 ppm) da parte vobasina, ao metila (2,60 ppm) ligado ao nitrogênio da vobasina, ao metoxila da parte $COOCH_3$ (3,63 ppm) da porção Iboga e ao metoxila aromático (3,97 ppm).

Comparando-se o espectro de massa (Figura XII) com um espectro de massa da voacamina apresentado na literatura⁸⁶, verificamos que estes dois compostos apresentam os mesmos picos, na região acima de 500. Notamos nesta comparação que há uma diferença nas intensidades relativas destes picos. Estas diferenças podem

ser explicadas porque estes picos são derivados de reações térmicas e não de fragmentação elétron-induzida⁸⁶. Nesta publicação⁸⁶, Biemann e Thomas sugerem uma série de reações térmicas para explicar a origem do pico a $m/e = 718(M+14)$ bem como os demais picos do espectro na região acima de 500 u.m. (Quadro IV).

De acordo com esta hipótese uma transferência de metila ocorre para produzir duas novas espécies cada uma delas podendo sofrer reações térmicas posteriores, eliminação de Hofmann e descarboxilação, respectivamente (Quadro IV).

Várias observações sugerem que a principal fonte de transferência do grupo metila pode ser o grupo carbometoxila pertencente à metade voacangina. Esta conclusão é reforçada pelo fato de que descarbometoxivoacamina mostra somente um pequeno pico em $M + 14$.

Outra conclusão foi que a transmetilação ocorre por transferência de um metila para a parte vobasina⁸⁶.

Os demais picos do nosso espectro são concordantes com os da literatura.

Hidrogenação da voacamina leva a dihidrovoacamina que cristaliza de metanol e apresenta decomposição em 210-212°.

Seu espectro de RMN-¹H é idêntico ao da voacamina, exceto pelo desaparecimento do pico duplo em 1,67 ppm e do pico múltiplo em 5,20 ppm.

Seu espectro de massa apresenta aumento de duas unidades de massa em relação ao da voacamina.

RB 24.4 desmetilvoacamina Ic

Este alcalóide cristaliza de metanol, decompondo-se a 223°C.

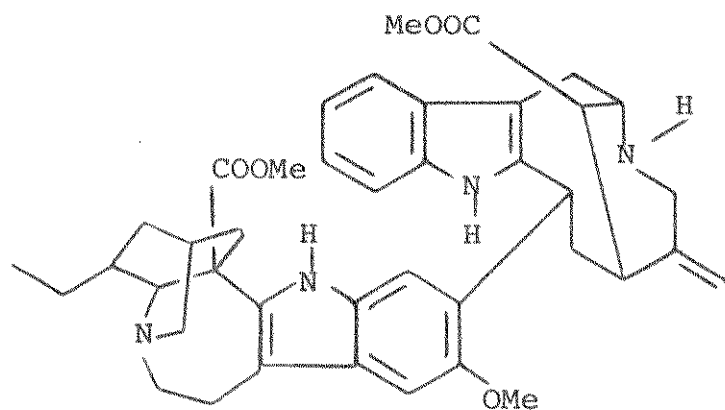
Seu espectro de UV é muito semelhante ao da voacamina de mostrando possuir o mesmo cromóforo.

Seu espectro no infravermelho apresenta absorções características de NH (3450 cm^{-1}) e C=O (1750 cm^{-1}).

O espectro de massa deste composto (Figura XIII) apresenta massa máxima à 718 u.m. sugerindo um alcalóide bis-indólico. A perda de 14 u.m. para o pico à $m/e = 704$ e deste para $m/e = 690$, perda de mais 14 u.m., nos sugeriu que o pico molecular deste composto é de 690 e que a exemplo da voacamina ocorre transferência, não de um, mas de dois grupos metila.

Comparando-se o espectro de RMN- ^1H (Figura IX) vemos que ele é idêntico ao da voacamina Ia, exceto pela falta do sinal em 2,60 ppm relativo ao grupo N-CH₃. Além disso, este espectro tem um pico largo em 2,20 ppm que desaparece com a adição de D₂O e que pode ser atribuído a um hidrogênio ligado ao N_b.

Estes fatos nos levaram a propor que este alcalóide é idêntico à desmetilvoacamina Ic, e que foi confirmado pela comparação com os dados da literatura (Parte experimental).



Ic

RB 28.5 descarbometoxivoacamina Im

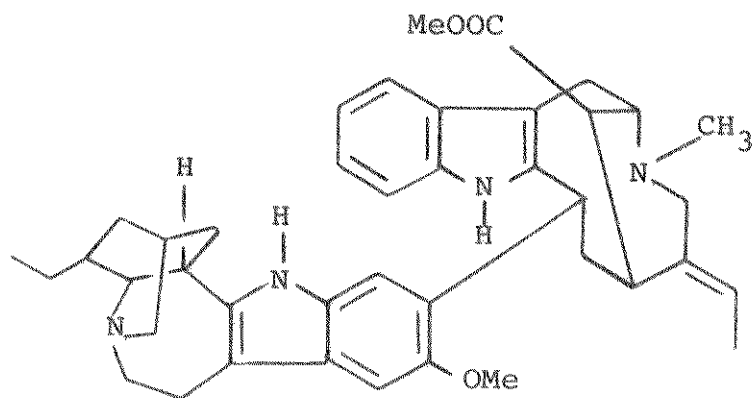
Este composto apresenta UV e IV semelhantes aos da voacamina.

O espectro de massa (Figura XIV) indica massa máxima em 646.

O espectro de RMN-¹H (Figura X) apresenta o mesmo padrão da voacamina, faltando o pico simples relativo à carbometoxila da parte voacangina.

Este fato e a diferença de 59 u.m. deste composto para a voacamina nos levou a sugerir que se trata da descarbometoxivoacamina Im.

A exemplo da literatura⁸⁶ o nosso EM também não apresenta massas maiores que 646, confirmando a hipótese de que o grupo carbometoxila da unidade voacangina é o responsável pela transferência do grupo metila⁸⁶.



Im

RB 36.7 voacamidina Id

Este composto apresenta espectros de UV e IV muito semelhantes aos da voacamina Ia.

Seu espectro de massa (Figura XV) apresenta igualmente um pico em $m/e = 718$ que perde 14 u.m. para fornecer o pico a $m/e = 704$. Os demais picos do espectro são iguais aos da voacamina Ia, diferindo apenas nas intensidades relativas.

O espectro de $RMN-^1H$ (Figura XI) deste composto apresenta o mesmo padrão da voacamina Ia (Figura VIII), sendo que os picos relativos aos metilas são encontrados em 2,45 ppm, 2,67 ppm, 3,08 ppm e 3,76 ppm. Este espectro apresenta ainda dois picos relativos a grupo N-H indólico em 7,5 ppm e 7,70 ppm.

Este alcalóide apresenta em C.C.D. um r_f menor que o da voacamina Ia, nos indicando que não se trata do mesmo composto.

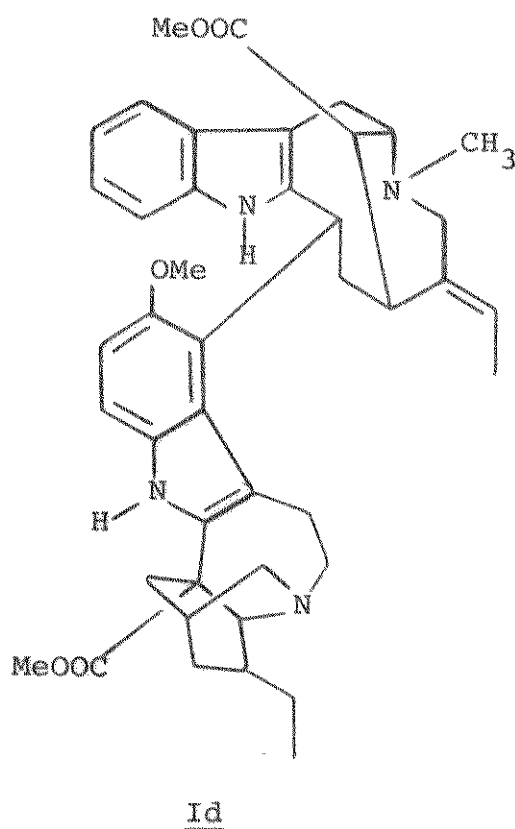
O fato de que o pico molecular possivelmente fosse o mesmo da voacamina Ia ($m/e = 704$) e de que o espectro de $RMN-^1H$ apresentasse também quatro picos simples relativos a três prótons, nos levou a supor que se tratasse de um isômero da voacamina Ia.

Examinando com mais cuidado os dados do espectro de $RMN-^1H$ para os metilas, verificamos que em comparação com a voacamina Ia, os grupos metoxila e N_b-CH_3 da unidade vobasina encontram-se na mesma posição (2,45 ppm e 2,67 ppm). Os dois picos correspondentes aos metoxilas da unidade voacangina IVf estão deslocados se compararmos com o espectro da voacamina Ia (Figura VIII) em que estes picos têm $\delta = 3,63$ ppm ($COOCH_3$) e $\delta = 3,97$ ppm (OCH_3 indólico).

No espectro do alcalóide RB 36.7 (Figura XI) estes picos encontram-se em $\delta = 3,08$ ppm e 3,76 ppm.

Pensando nas várias possibilidades, encontramos a voaca-

midina Id e verificamos que neste composto⁷⁸ o metoxila do núcleo indólico está em 3,08 ppm e o do grupo carbometoxila da unidade voacangina IVf em 3,80 ppm. Estes dados são compatíveis com os nossos e atribuímos a este composto a estrutura Id da voacamidina.



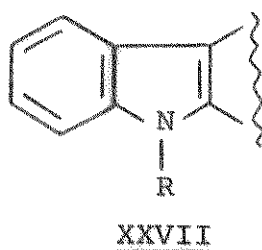
Esta proposição foi também confirmada pelos dados de RMN de ^{13}C , através da análise dos deslocamentos químicos dos carbonos do núcleo aromático da porção voacangina IVf, nesta molécula.

RB 32.6 afinisina IIId

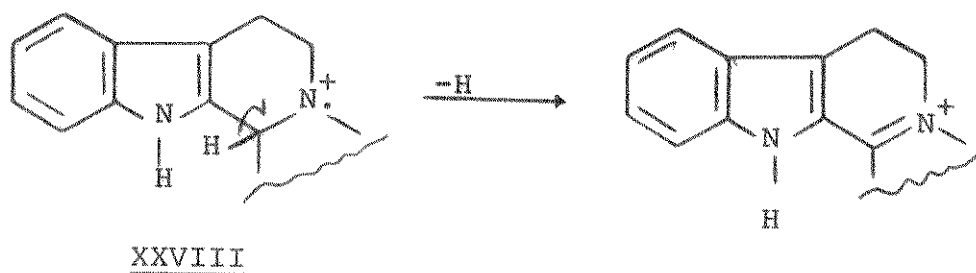
Este alcalóide cristaliza de acetona em forma de agulhas com $pf = 196-198^{\circ}C$ e rotação óptica = $+ 33,5^{\circ}$ ($CHCl_3$).

O espectro na região do infravermelho apresenta uma banda em 3550 cm^{-1} correspondente a uma função OH.

O espectro na região do UV (Figura XVI) é característico para o cromóforo indólico⁸¹ XXVII, apresentando máximos à 228 nm e 283 nm e ombros à 276 e 291 nm.



O espectro de massa (Figura XX) apresenta um pico pronunciado à $m/e = 307$, correspondente à perda de uma unidade de massa ($M-1$). Este pico ($M-1$) é característico do esqueleto tetrahydro β -carbolina XXVIII e é atribuído à perda do próton ligado ao C-3.

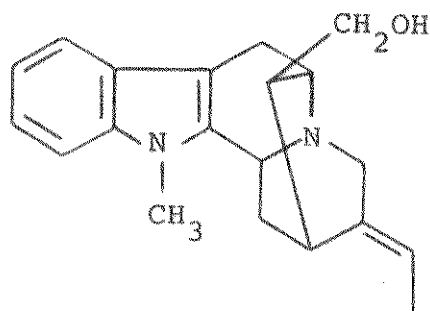


Em alcalóides do tipo sarpagina este pico é também bastante pronunciado, ainda que não esteja estabelecida sua origem. A participação do próton ligado ao C-3 é dificultada devido a problemas estéricos⁸⁴.

Outro pico característico de esqueletos tipo sarpagina é a perda do C-16, com seus substituintes, mais um hidrogênio. Este pico torna-se mais pronunciado quando o C-16 é dissubstituído⁸⁴. (Comparar os espectros de massa da afinisina IIId (Figura XX) e da voacalotina IIc (Figura XXI)).

O espectro de RMN-¹H (Figura XVIII) apresenta um pico duplo em 1,57 ppm (3H) acoplado com um próton vinílico à 5,30 ppm, atribuído a um grupo etilideno (C=CH-CH₃). O padrão dos prótons aromáticos (Figura XVII) indica que o núcleo benzênico do anel indólico não está substituído. A presença do sinal simples em 3,57 ppm (3H) e a falta do sinal correspondente ao próton indólico, sugere a presença de um grupo metila ligado ao nitrogênio indólico. A presença do grupo OH foi confirmada pelo desaparecimento do sinal à 2,50 ppm com a adição de D₂O.

Estes dados e os demais fragmentos do EM (Quadro V) nos levaram a propor a estrutura da afinisina IIId para o composto RB 32.6, que foi confirmado por comparação com os dados da literatura (Parte experimental).



IIId

RB 119.14 voacalotina IIc

Este alcalóide cristaliza de benzeno em forma de agulhas finas com pf = 219-220 °C e rotação óptica de -6° (CHCl₃).

O espectro na região do infravermelho indica a presença de carbonila com uma forte absorção em 1730 cm⁻¹.

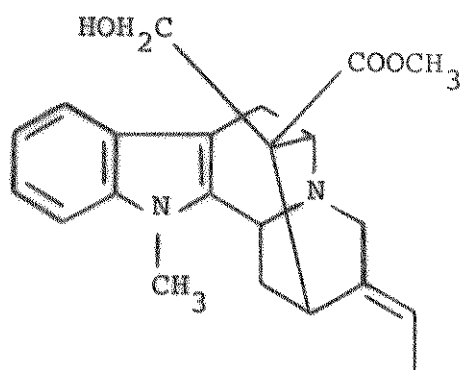
Seu espectro na região do UV (Figura XVII) tem máximos à 229 nm e 284 nm e ombros à 277 e 293 nm e é muito semelhante ao da afinisina IIId (Figura XVI), demonstrando possuir o mesmo cromóforo.

O espectro de RMN-¹H (Figura XIX) apresenta o mesmo padrão da afinisina IIId (Figura XVIII), com um pico adicional em 3,77 ppm, atribuído à metoxila do éster.

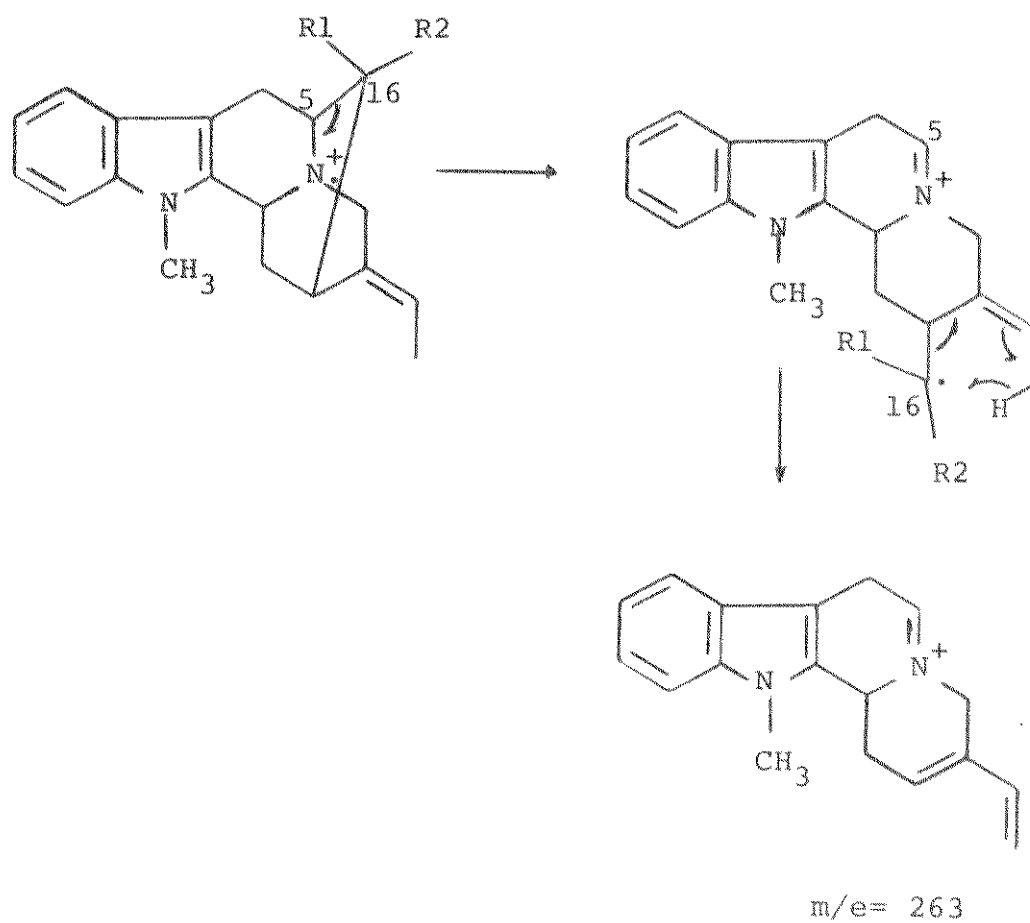
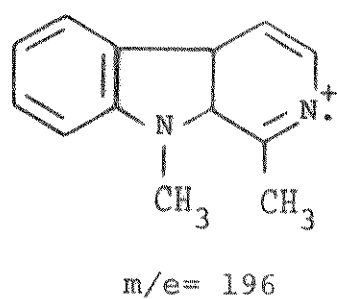
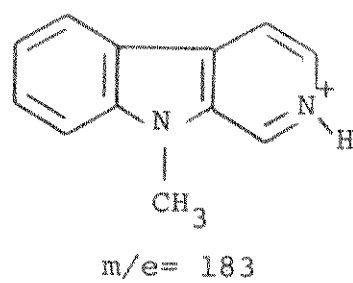
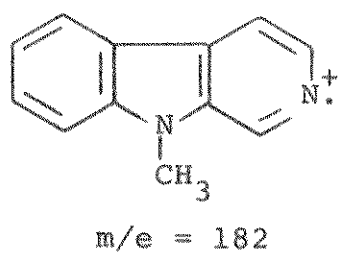
O espectro de massa (Figura XXI) apresenta os picos (M-1) e m/e = 263 (perda do C-16 e substituintes⁸⁴) característicos de esqueleto do tipo sarpagina (Quadro V). A presença dos picos à m/e = 349, m/e = 335 e m/e = 307 confirmam a existência dos grupos OH (M-17), CH₂OH (M-31) e COOCH₃ (M-59), respectivamente. O fato do núcleo indólico destes dois compostos (afinisina IIId e voacalotina IIc) estar substituído por um grupo metila, impede que a perda de 17 unidades de massa seja diagnóstico para a estereoquímica do C-16^{84,87}. Quando o grupo CH₂OH está em relação ao a nel indólico de compostos não substituídos, ocorre perda de H₂O, com a participação do hidrogênio indólico⁸⁴. Em nossos dois compostos IIId e IIc, ocorre perda de 17 unidades de massa, apesar de terem estereoquímica contrária.

A determinação da estereoquímica do C-16 é um problema a traente e através do estudo de RMN-¹³C destes compostos procuramos encontrar maiores informações sobre a determinação da configuração deste centro quiral. (Capítulo RMN-¹³C).

Com estes dados propuzemos que o composto RB 119.14 é idêntico à voacalotina IIC e comparação com as constantes físicas desta substância confirmam esta suposição (Parte experimental).



IIC



Quadro V Fragmentos de afinisina IIId $R_1=H$ $R_2=CH_2OH$
 voacalotina IIc $R_1=CH_2OH$ $R_2=COOCH_3$

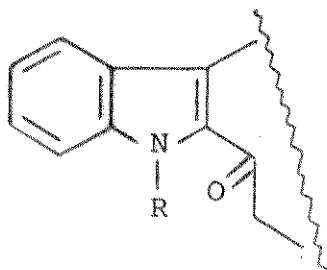
Extrato C

RB 56.8 perivina IIIg

Este alcalóide cristaliza de metanol e apresenta uma faixa de fusão de 175-180 °C e rotação óptica = -109°.

O espectro na região do infravermelho indica a presença de função NH (3450 cm^{-1}) e duas carbonilas distintas. Uma forte absorção em 1740 cm^{-1} característica de carbonila de éster e outra em 1650 cm^{-1} atribuída a uma carbonila conjugada.

O espectro de UV (Figura XXII) com máximos em 227,9 nm, 240,2nm e 315,5 nm é característico de alcalóides 2-acylindólicos⁸¹ XXIX.



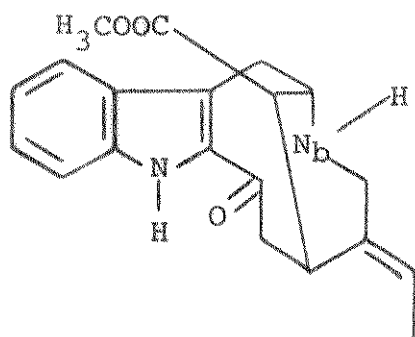
XXIX

O espectro de massa deste composto (Figura XXVI) apresenta pico molecular em 338 e um pico a $m/e = 279$, demonstrando perda de 59 u.m. correspondente a um grupo COOCH_3 .

O espectro de RMN- ^1H a 100 MHz (Figura XXIV) apresenta um pico duplo em 1,64 ppm e um pico múltiplo em 5,32 ppm atribuído a um etilideno, e um pico simples em 2,68 ppm que foi atribuído ao metoxila da função éster, que deve estar em uma posição em que sofra forte proteção. Este espectro apresenta ainda dois picos simples em 2,92 ppm e 9,54 ppm. Com a adição de D_2O o primeiro

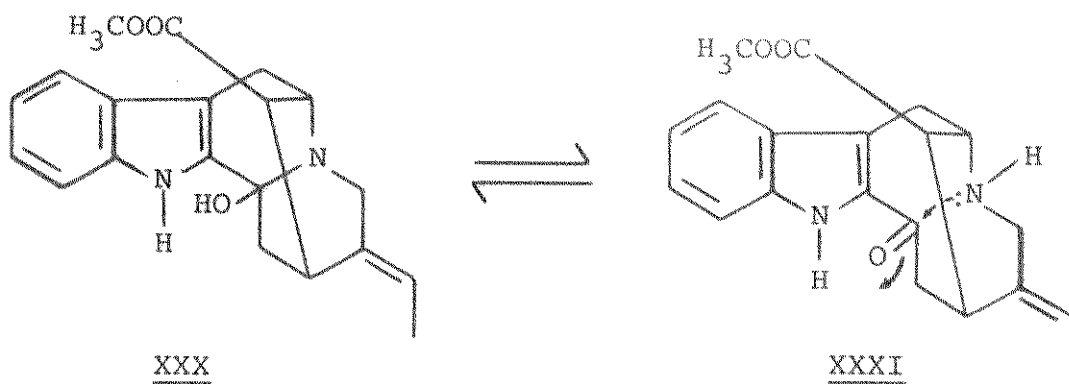
pico desaparece parcialmente e o segundo totalmente sendo atribuídos a prótons ligados ao nitrogênio, sendo que um deles é indólico (9,54 ppm).

Em função da discussão acima sugerimos a estrutura IIIg para o composto RB 56.8, correspondente à perivina IIIg.



IIIg

Observando a estrutura da perivina verificamos a existência de uma amina secundária N_b e uma carbonila em situação extremamente favorável a um equilíbrio conforme o esquema abaixo:



Gorman e Sweeny citam⁸⁸ que o espectro de RMN-¹H da perivina IIIg, em vários solventes, não apresenta boa resolução. Em nosso caso, obtivemos um espectro que permite a análise acima, embora ele se altere com a adição de D_2O .

Outros alcalóides 2-acylindólicos apresentam idêntica di

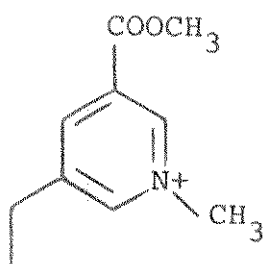
ficuldade na interpretação do espectro de RMN-¹H, como por exemplo a voacarpina⁸⁹, sendo que a justificativa para estas observações é o equilíbrio acima proposto.

No caso específico da perivina IIIg, admite-se que este equilíbrio seja predominante no sentido da estrutura XXXI (cetamina), devido à forte absorção em 315 nm no espectro de UV, característico de compostos 2-acylindólicos.

Uma análise cuidadosa do EM (Figura XXVI) dá maiores informações sobre a estrutura proposta para este composto, inclusive do equilíbrio.

A fragmentação proposta para a perivina IIIg, seguindo a fragmentação da vobasina com modelo⁸⁴, encontra-se no Quadro VI.

Assim, os fragmentos à m/e = 166, 108 e 180 são característicos de 2-acylindóis. O íon à m/e = 166 está defazado de 14 unidades de massa do íon correspondente à m/e = 180 no espectro da vobasina⁸⁴, devido à presença do grupo metila ligado ao N_b, neste último composto.

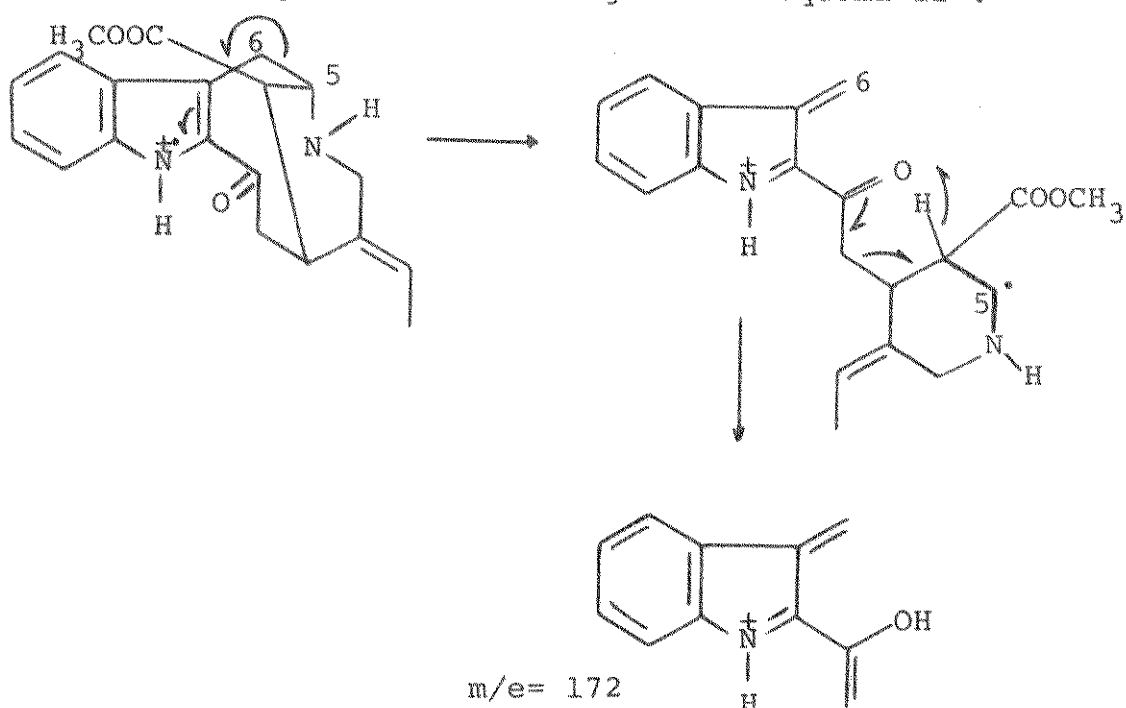


m/e = 180

O íon à m/e = 108 origina-se da perda da função carbometoxi (com rearranjo de hidrogênio) a partir do íon à m/e = 166⁸⁴.

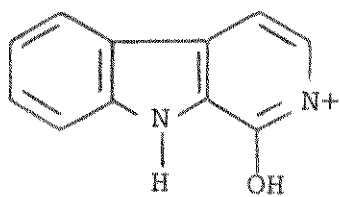
Ressaltamos a presença de um fragmento à m/e = 172 (32%) que pode ser gerado através da fragmentação no Esquema II. Se a carga positiva ficar no nitrogênio indólico, a quebra da ligação

5-6 pode dar origem a este íon segundo o Esquema II .

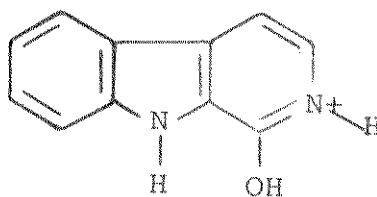


Esquema II: Proposição para origem do pico à $m/e = 172$

Além destes, outros fragmentos ($m/e = 184$, 185 e 321) são tão presentes no EM da perivina e procuramos comparar com os fragmentos da voacarpina⁹⁰. Estes fragmentos (184 e 185) são característicos do espectro deste composto e têm as seguintes estruturas.

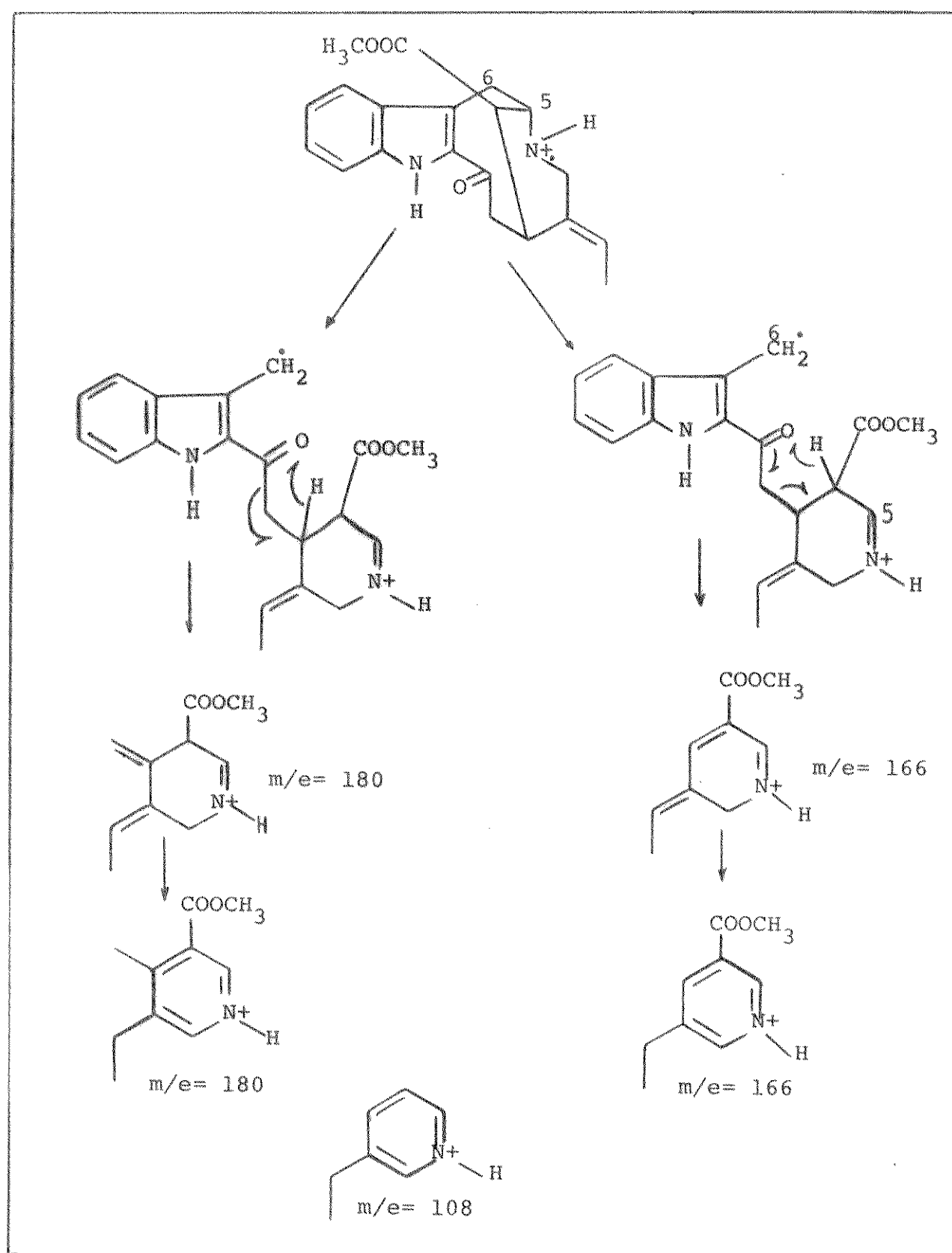


$m/e = 184$



$m/e = 185$

O pico à $m/e = 321$ (M-17) pode confirmar a presença da hidroxila. Estes três últimos picos no espectro de massa da perivina IIIg reforçam a hipótese do equilíbrio carbinolamina $\rightleftharpoons$ cetoamina proposto.



Quadro VI: Fragmentos da perivina IIIg

Comparação com amostra autêntica de perivina IIIg confirma a atribuição da estrutura do nosso composto.

RB 56.9 16- epiafinina IIIh

Este alcalóide isolado do Extrato C apresenta rotação óptica de -180° e não foi possível obtê-lo na forma cristalina.

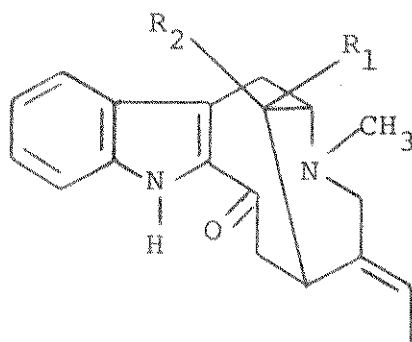
O espectro na região do ultra-violeta (Figura XXIII) é característico de 2-acylindóis, com absorções máximas em 236,3 e 318,2 nm

O espectro na região do infravermelho indica a presença das funções NH (3440 cm^{-1}), OH (3300 cm^{-1}) e carbonila conjugada (1640 cm^{-1}).

Com estes dados verificamos que esta base possui um sistema acylindólico e não possui função éster.

Os dados de RMN- ^1H (Figura XXV) indicam a presença de um etilideno com um pico duplo em 1,66 ppm ($J=6\text{Hz}$) e um pico quádruplo largo em 5,5 ppm ($J=6\text{Hz}$). Os picos em 9,57 ppm e 3,43 ppm, que desaparecem com a adição de D_2O , são atribuídos ao NH indólico e à hidroxila, respectivamente. O sinal simples à 2,55 ppm (3H) é atribuído a um grupo N- CH_3 .

O espectro de massa (Figura XXVIII) apresenta pico molecular à $m/e = 324$ e com estes dados podemos propor duas estruturas para este composto: afinina IIIb ou 16-epiafinina IIIh.



IIIb $\text{R}_1 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{CH}_2\text{OH}$

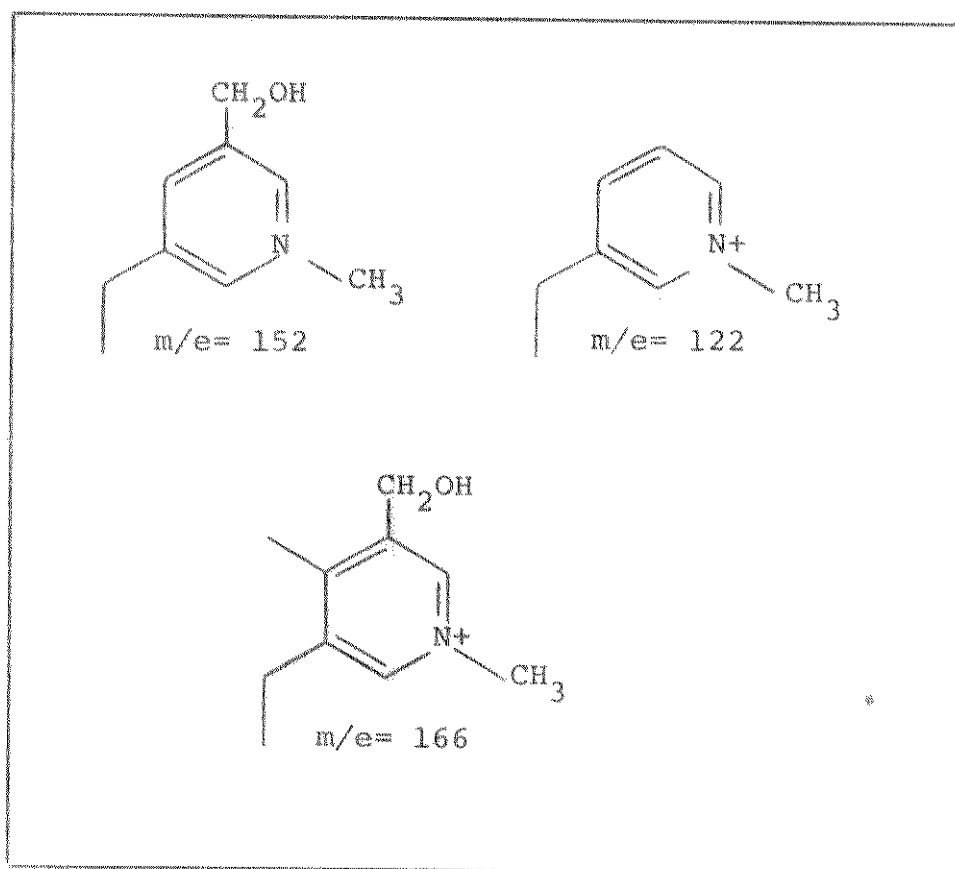
IIIh $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{OH}; \text{R}_2 = \text{H}$

Comparação dos espectros de massa destes compostos com o daquele por nós isolado, nos levou à conclusão que se trata de 16-epiafinina IIIh.

A fragmentação dos espectros de massa destes dois compostos varia conforme a configuração do C-16.

Assim, a afinina⁹¹ IIIb apresenta picos à $m/e = 324$ (M), 293 (M-CH₂OH), 158, 152, 122 e 108. A 16-epiafinina⁸⁸ IIIh apresenta picos à $m/e = 324$ (M), 306 (M-18), 263, 172, 166, 152 e 122.

Em virtude do EM (Figura XXVII) do nosso composto apresentar fragmentação igual à da 16-epiafinina IIIh atribuímos a ele esta estrutura. Os fragmentos podem ser derivados como os da perivina e são apresentados no Quadro VII.



Quadro VII: Fragmentos da 16-epiafinina

Extrato F

RB 64.11 sinapato de etila XXVa

Este composto dá teste negativo com reagente de Dragendorff e Mayer indicando que não é alcalóide.

Cristalização de etanol forneceu agulhas com ponto de fusão igual à 76-78 °C.

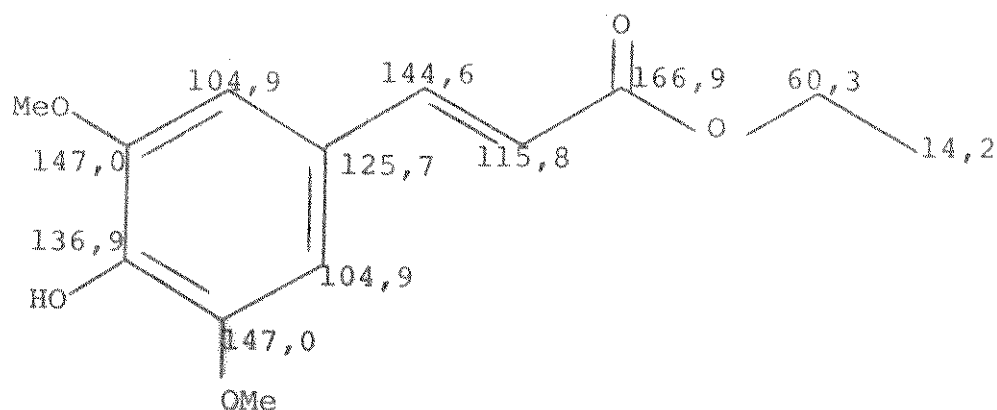
O espectro na região do IV apresenta absorção máxima em 3530 cm^{-1} atribuída a OH, e carbonila em 1700 cm^{-1} .

O espectro no UV apresenta máximos em 238,6 nm e 329,5nm.

O espectro de RMN- ^1H (Figura XXVIII) apresenta um pico triplo em 1,27 ppm (3H, J=6Hz) acoplado com um pico quádruplo em 4,10 ppm (2H, J=6Hz) atribuído a um grupo etoxila (OCH_2CH_3). Apresenta um pico simples em 3,70 ppm (6H) atribuído a metoxila (OMe). Apresenta um pico simples em 6,4 ppm (2H) aromáticos e dois picos duplos em 5,9 ppm (1H, J=16Hz) e em 7,2 ppm (1H, J=16Hz) atribuídos aos prótons de uma dupla ligação trans⁹².

O espectro de massa (Figura XXIX) apresenta pico molecular a m/e= 252.

Com estes dados sugerimos a estrutura XXVa para este composto.



XXVa

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos no espectro de RMN- ^{13}C (Figura XXX) encontra-se na estrutura XXVa.

Os carbonos sp^3 são facilmente atribuídos pela multiplicidade de spin e diferença no campo. Assim, as duas metoxilas devem estar desprotegidas e no SFORD aparecem como um pico quádruplo em 56,2 ppm. A outra metila do éster aparece em campo alto como um pico quádruplo em 14,2 ppm. O único pico triplo na região de sp^3 aparece em 60,3 ppm e foi atribuído ao CH_2 do éster. Na região de campo baixo o pico simples em 166,9 é característico de carbonila. Comparação com os dados da literatura para o ácido sinápico⁹³ permitem a atribuição dos outros carbonos.

Extrato G

RB 124.15 fuchsiafolina XXVIa

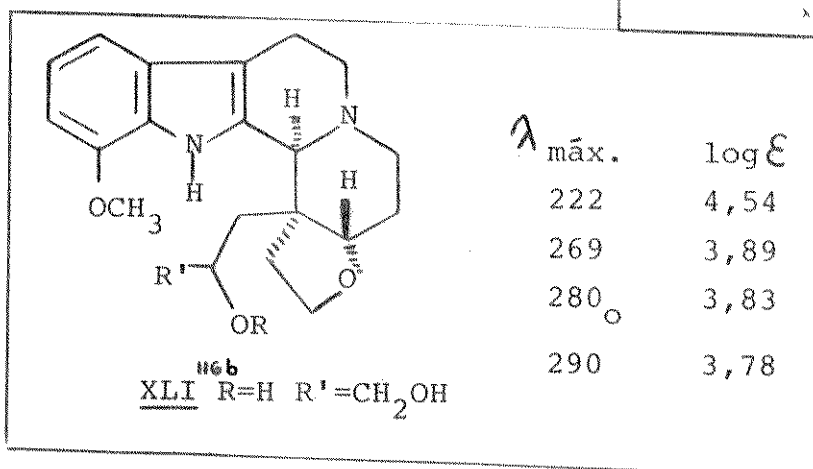
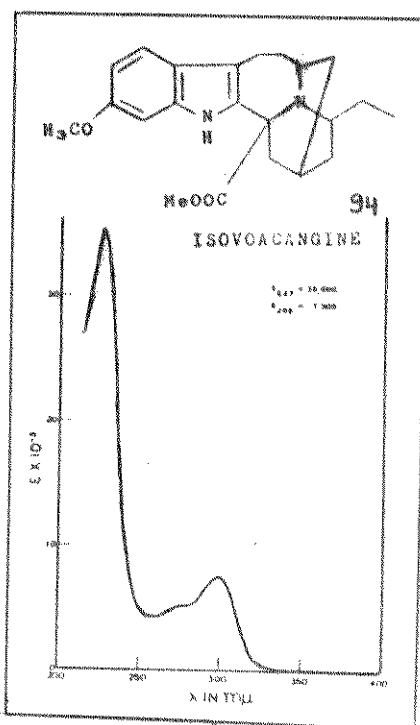
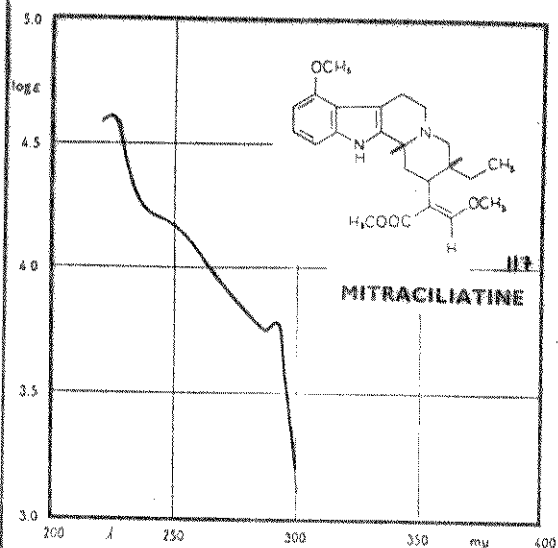
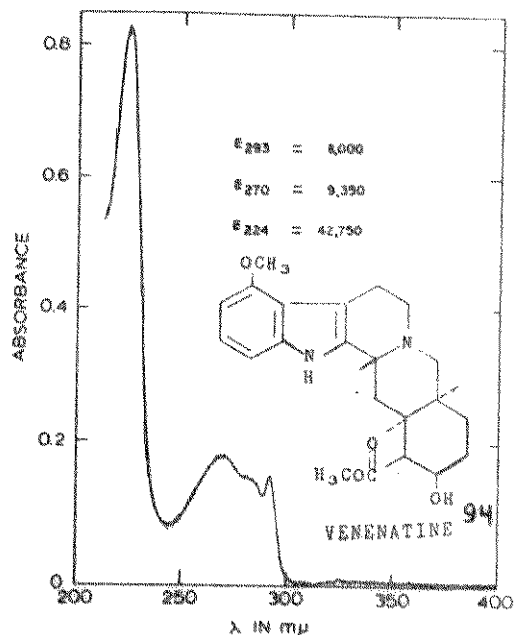
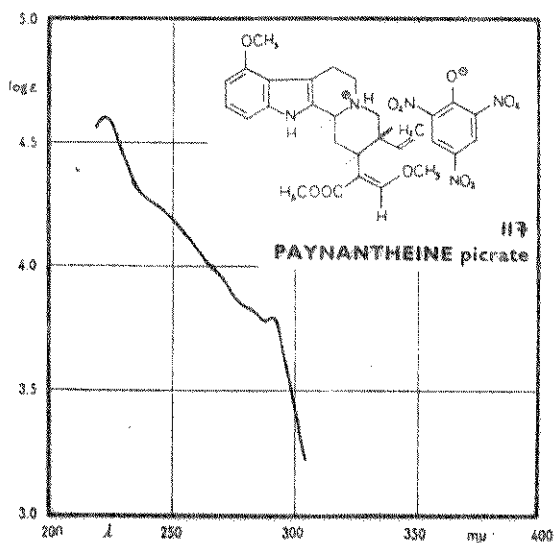
O espectro na região do infra-vermelho deste composto, a apresenta uma absorção em 1720 cm^{-1} , característica de carbonila de éster.

O espectro na região do UV (Figura XXXI) com máximos em 225,5 (4,66); 269,4(3,90); 283,5(3,80) e 293,5(3,73) apresenta uma curva de forma diferente dos outros compostos isolados dos extratos anteriores. Isto nos sugere que o cromóforo indólico é metoxi-substituído em posição diferente da dos alcalóides já isolados.

No Quadro VIII, selecionamos alguns exemplos da literatura com cromóforos indólicos com diferentes substituições. Como a forma da curva do espectro de UV da fuchsiafolina XXVIa é bem diferente das curvas dos compostos 9-metoxi-substituídos e 11-metoxi-substituídos, excluimos estas duas possibilidades.

Comparando-se os nossos valores de $\lambda_{\text{máx.}} (\log \epsilon)$ de fuchsiafolina, com aqueles apresentados pelo composto ^{116b}XLI (Quadro VIII), verificamos que eles estão próximos e por isso, sugerimos que a metoxila esteja na posição 12.

A comparação dos deslocamentos de RMN-¹³C dos carbonos da porção indólica com os deslocamentos de compostos 12-metoxi-substituídos, confirmou a nossa sugestão (Capítulo RMN-¹³C).



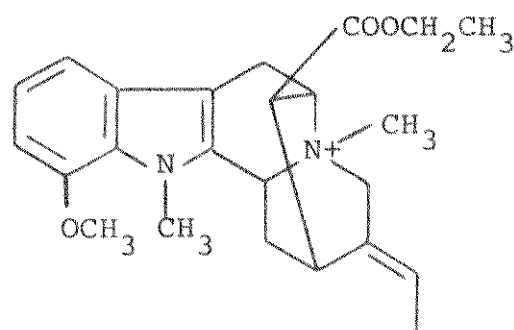
$\lambda_{\text{m\acute{a}x.}$	$\log \epsilon$
222	4,54
269	3,89
280	3,83
290	3,78

Quadro VIII Espectros de UV de cromóforos indólicos com diferentes substituições

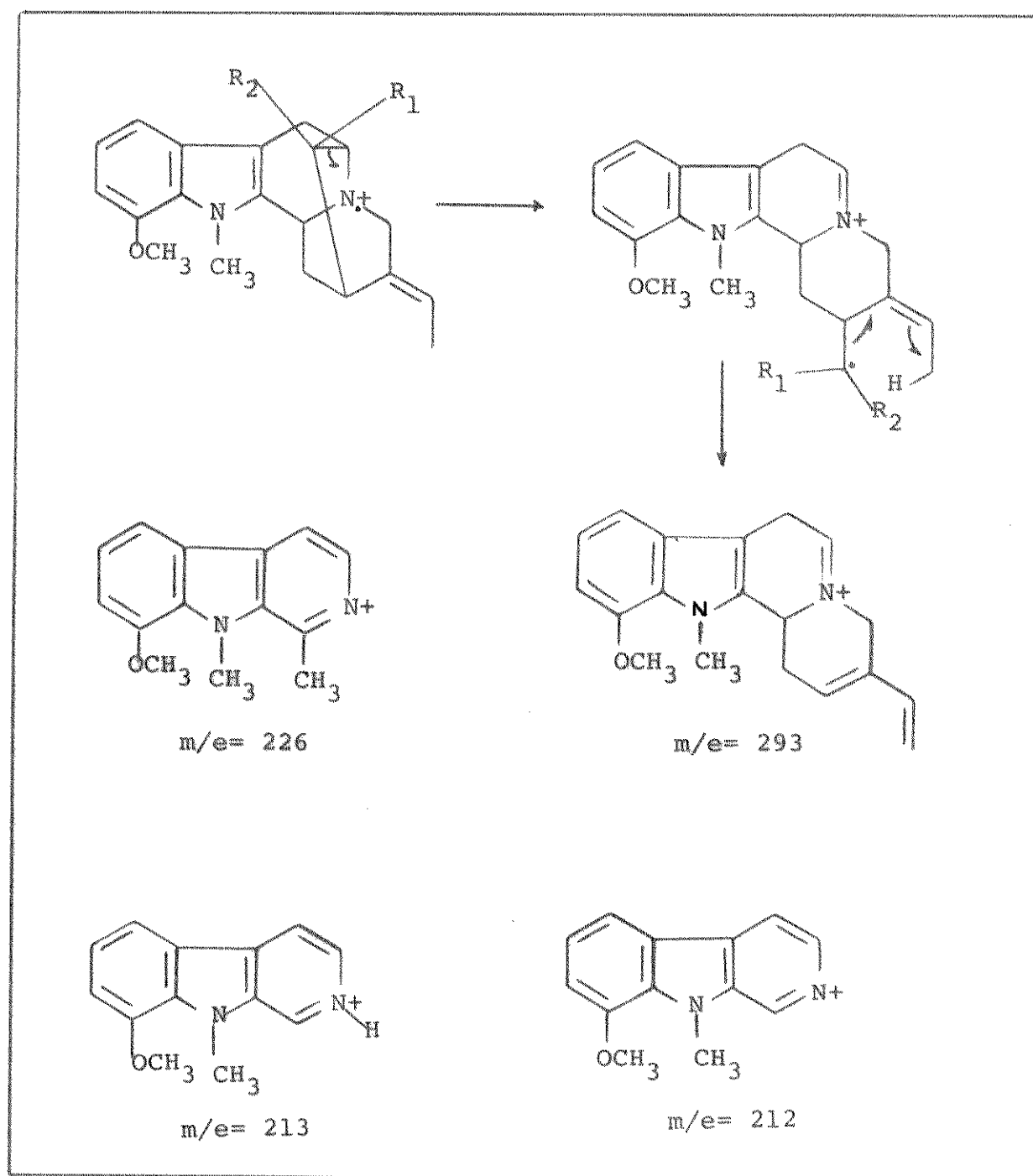
A presença no espectro de RMN- ^{13}C de sinais correspondentes a uma metila em 46,9 ppm, dois metinos em 62,3 ppm e 55,4 ppm e um metileno em 64,9 ppm, característicos de carbonos sp^3 bastante desprotegidos, nos sugeriu que se tratava de um sal quaternário.

O espectro de massa deste composto (Figura XXXVIII) é característico de cátions N_b -metilsarpagina, em que o pico de massa máxima perde 14 unidades de massa para fornecer o pico molecular do composto neutro ($M=380$). A partir desta massa, os fragmentos a $m/e = 351$ ($M-29$), $m/e = 335$ ($M-45$) e $m/e=307$ ($M-73$) demonstrando perda de CH_2CH_3 , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}$ respectivamente, sugerem a presença de um grupo éster etílico. O fragmento a $m/e=293$ pode ser atribuído à perda do C-16 com seus substituintes, mais um hidrogênio e é análogo ao da afinisina IId (Quadro V) ($m/e=263$), diferindo deste último de 30 unidades de massa, devido à presença do substituinte metoxila no núcleo indólico. Os demais fragmentos (Quadro IX) são análogos aos da afinisina IId (Quadro V).

Com estes dados podemos propor a estrutura XXVIa para este composto.



XXVIa



Quadro IX: Fragmentos de : XXVIa $\text{R}_1 = \text{COOCH}_2\text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{H}$
XXVIb $\text{R}_1 = \text{COOCH}_2\text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{OH}$
XXVIc $\text{R}_1 = \text{COOCH}_3$ $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{OH}$

Com estas informações não poderíamos determinar a estereoquímica do C-16 e isto foi deduzido a partir dos deslocamentos químicos dos C-6 e C-14 no espectro de RMN-¹³C deste composto.

O espectro de RMN-¹H (Figura XXXV) apresenta 5 picos que integram para tres prótons. UM pico triplo em 1,27 ppm (J=7Hz) atribuído ao metila ligado à dupla ligação, um pico simples em 3,47 ppm atribuído ao grupo N_b⁺-CH₃, um pico simples em 3,95 ppm atribuído ao metila indólico e outro pico simples em 4,07 ppm atribuído ao metoxila do núcleo benzênico.

O próton vinílico aparece como um pico múltiplo de 5,33-5,73 ppm e o padrão dos prótons aromáticos sugere que a substituição da metoxila é diferente da posição 10. A atribuição da metoxila na posição 12 e a determinação da estereoquímica do C-16 foi confirmada por RMN-¹³C e estes dados estão no capítulo correspondente.

Extrato I

RB 133.18 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc

O espectro na região do infravermelho deste composto apresenta absorções características dos grupos OH e C=O.

Seu espectro na região do UV (Figura XXXII) é semelhante ao do sal RB124.15, sugerindo um cromóforo indólico 12-metoxisubstituído.

A presença no espectro de RMN-¹³C de sinais para carbonos bastante desprotegidos, semelhantes àqueles apresentados pelo sal isolado anteriormente, sugeriu que se tratava de um alcalóide quaternário.

Seu espectro de massa (Figura XXXIX) é característico de cátions N_b-metilsarpagina com massa máxima que perde 14 unidades de massa para fornecer um pico em m/e = 396 que perde 31 e 59 unidades de massa, sugerindo tratar-se de um éster metílico. O outro fragmento à m/e = 293, mais intenso que no sal XXVIA sugere que o C-16 é disubstituído. Os demais fragmentos do espectro são semelhantes aos do sal já discutido (Quadro IX).

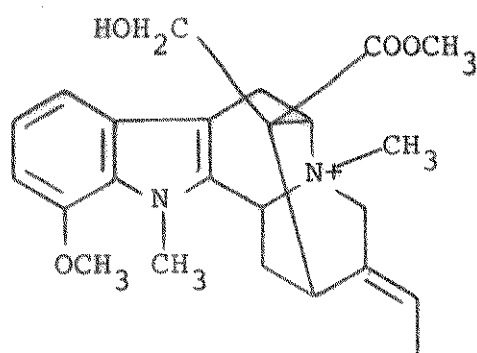
Os dados de RMN-¹H (Figura XXXVI) com um pico em 3,75ppm que integra para três prótons, sugere que o grupo carbometoxila está em posição exo em relação ao núcleo indólico.

O uso deste dado para a determinação da estereoquímica do C-16 foi feito comparando-se os dados da literatura para compostos do tipo sarpagina com carbometoxila endo ou exo em relação ao núcleo indólico (Tabela IV). Como podemos notar nesta tabela, nos compostos em que o COOCH₃ está endo em relação ao núcleo indólico, o deslocamento da metoxila varia de 2,7-3,1 ppm, mais protegido que nos casos em que este grupo está exo, que varia de 3,6-

3,68ppm. (O nosso dado para voacalotina é 3,77 ppm, bastante desprotegido).

Aos outros grupos metila foram atribuidos os deslocamentos de 3,13 para $N_b^+-CH_3$ e 3,92 ppm para N_a-CH_3 e OCH_3 .

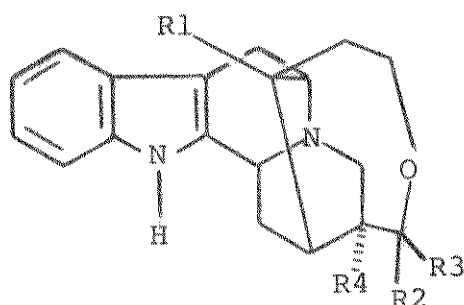
O estudo do espectro de RMN- ^{13}C nos confirmou a estrutura proposta XXVIc quando fizemos a comparação com os outros sais isolados e os sais preparados a partir de afinisina IIId e voacalotina IIc.



XXVIc

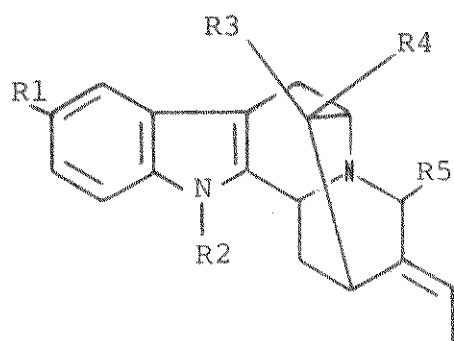
estr.	Composto	δ do grupo COOCH_3 (ppm)	conf.	Ref.
IIr	voacarpina	2,75	endo	95
IIs	N_a -metil-10metoxi-akuamidina	2,97	endo	96
IIIt	voacolina	3,00	endo	95
IIu	erbunafilina	3,08	endo	97
IIe	periciclivina	3,13	endo	95
IIv	desidroximetilvoacalotina	3,63	exo	98
IIh	o-acetilvoacalotina	3,65	exo	98
IIc	voacalotina	3,66	exo	95
IIx	21(?)hidroxivoacalotina	3,68	exo	99

Tabela IV - Comparação dos deslocamentos químicos da metoxila em posição exo ou endo em relação ao indol



IIIt $\text{R1}=\text{COOCH}_3$ $\text{R2}=\text{CH}_3$ $\text{R3}=\text{OH}$ $\text{R4}=\text{H}$

IIu $\text{R1}=\text{COOCH}_3$ $\text{R2}=\text{R3}=\text{H}$ $\text{R4}=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOCH}_3$



IIc $\text{R1}=\text{R5}=\text{H}$ $\text{R2}=\text{CH}_3$ $\text{R3}=\text{CH}_2\text{OH}$ $\text{R4}=\text{COOCH}_3$

IIe $\text{R1}=\text{R2}=\text{R4}=\text{R5}=\text{H}$ $\text{R3}=\text{COOCH}_3$

IIh $\text{R1}=\text{R5}=\text{H}$ $\text{R2}=\text{CH}_3$ $\text{R3}=\text{CH}_2\text{OOCCH}_3$ $\text{R4}=\text{COOMe}$

IIr $\text{R1}=\text{R2}=\text{R5}=\text{H}$ $\text{R3}=\text{COOCH}_3$ $\text{R4}=\text{CH}_2\text{OH}$

IIs $\text{R1}=\text{OCH}_3$ $\text{R2}=\text{CH}_3$ $\text{R3}=\text{COOCH}_3$ $\text{R4}=\text{CH}_2\text{OH}$

$\text{R5}=\text{H}$

IIv $\text{R1}=\text{R3}=\text{R5}=\text{H}$ $\text{R2}=\text{CH}_3$ $\text{R4}=\text{COOCH}_3$

IIx $\text{R1}=\text{H}$ $\text{R2}=\text{CH}_3$ $\text{R3}=\text{CH}_2\text{OH}$ $\text{R4}=\text{COOCH}_3$ $\text{R5}=\text{OH}$

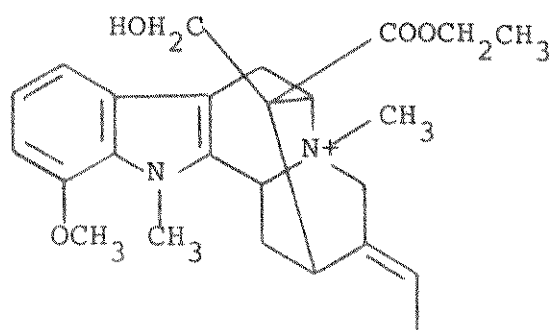
RB 124.16 éster etílico de 12-metóxi-N_b-metilvoacalotina XXVIb

Seu espectro na região do infra-vermelho apresenta uma banda larga característica de OH (3300 cm^{-1}) e em 1720 cm^{-1} absorção característica de carbonila de éster.

O espectro na região do ultra-violeta (Figura XXXIII) é muito semelhante ao do composto RB 124.15 e RB 133.18, sugerindo tratar-se de um indol 12-metoxisubstituído.

O espectro de massa (Figura XL) apresenta massa máxima igual a 424, que perde 14 unidades de massa para dar o pico base a $m/e=410$, que a exemplo dos compostos anteriores é o pico correspondente ao alcalóide terciário. Os fragmentos a $m/e = 379$ (M-31), 365 (M-45) e 337 (M-73) correspondem à perda dos grupos CH_2OH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ e $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, respectivamente. O pico intenso a 293 nos leva à conclusão que este composto é disubstituído no C-16. Este fragmento e os demais a $m/e = 212$ e 213 são idênticos aos dos outros sais isolados (Quadro IX).

Estes dados nos levam a estrutura XXVIb para este composto.



XXVIb

O espectro de RMN- ^1H (Figura XXXVII) confirma a presença da metila pertencente ao éster etílico, com um pico triplo em 1,3 ppm. A presença do etilideno é confirmada com um pico múltiplo em 5,0-5,6 ppm correspondente ao próton vinílico.

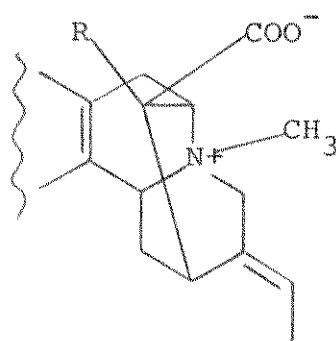
Os picos simples em 3,2 ppm (3H) e em 4 ppm (6H) são atribuídos ao N_b^+-CH_3 , N_a-CH_3 e OMe, respectivamente.

Esta estrutura é confirmada por RMN- ^{13}C através da comparação com os outros sais isolados e é discutido no capítulo correspondente.

Não é comum o isolamento de ésteres etílicos como produtos naturais e sugerimos que estes sais possam ser artefatos produzidos durante o isolamento.

Como ésteres metílicos são comuns, poderíamos supor que estes sais são produtos de transesterificação, pois foi usado etanol durante o tratamento.

Outra suposição é que poderia se tratar de uma betaina (estrutura abaixo) e que dependendo do solvente poderia levar à formação do éster etílico ou metílico.



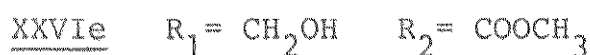
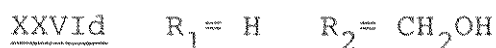
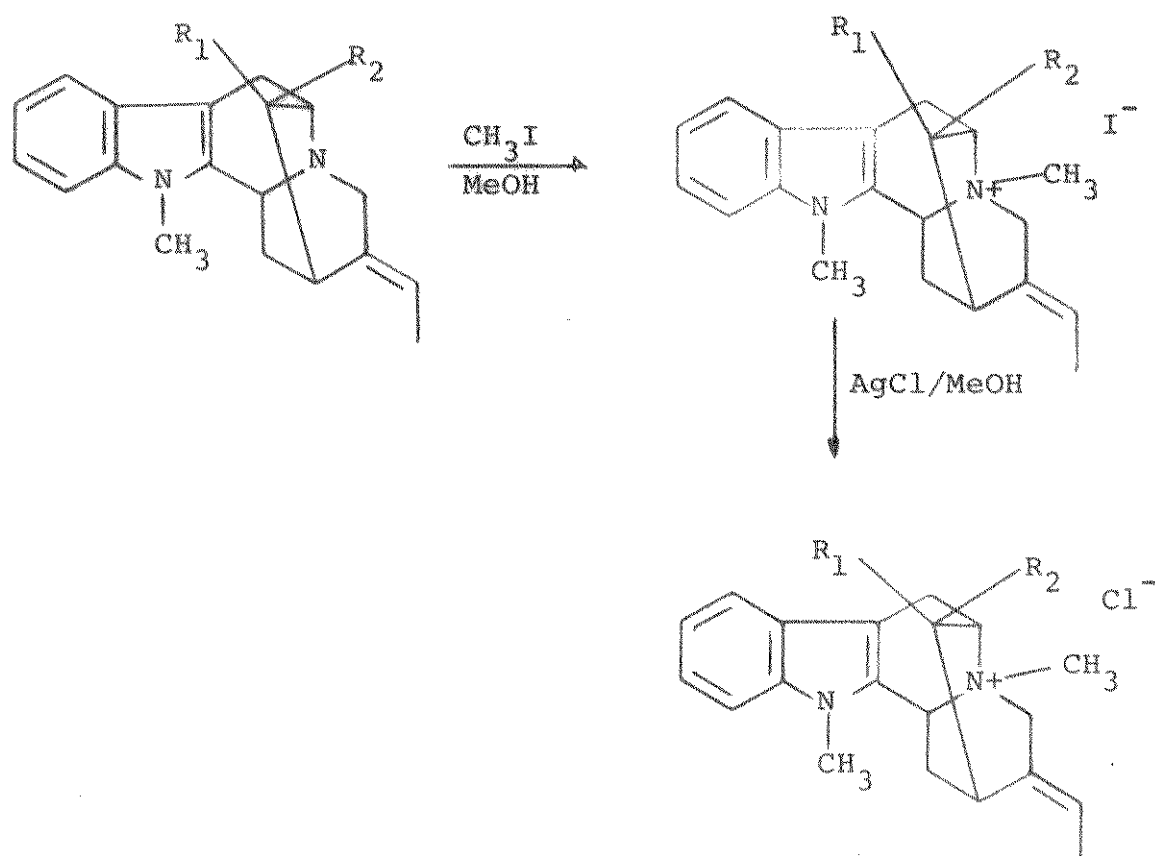
Betaina

Utilizando os dados de UV, EM e RMN- ^1H sugerimos a estrutura destes sais, e através da análise dos dados de RMN- ^{13}C e usando modelos, estabelecemos a estrutura e a estereoquímica do C-16 destes compostos.

4. Modelos usados na determinação da estrutura dos sais

O isolamento de três alcalóides quaternários do tipo sar pagina nos levou a sintetizar o cloreto de N_b-metilafinisina XXVIId e o iodeto de N_b-metilvoacalotina XXVIe, para usa-los como modelos na determinação da estrutura dos sais naturais, através da comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos no espectro de RMN-¹³C.

Os sais foram preparados a partir das bases correspondentes, segundo o esquema abaixo:



O espectro no infravermelho apresenta uma banda larga em 3370 cm^{-1} , correspondente ao grupo OH.

Seu espectro na região do UV (Figura XXXIV) é semelhante ao da afinisinina, com máximos à $222,3\text{ nm}$, $274,5\text{ nm}$, $281,8\text{ nm}$ e $290,5\text{ nm}$.

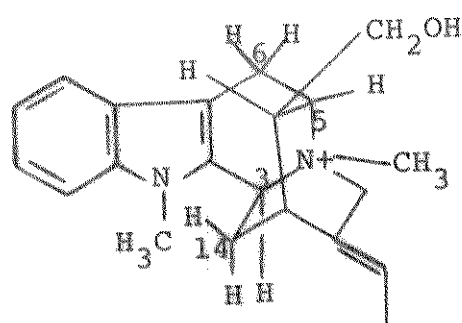
Seu espectro de massa (Figura XLI) é característico de cátions tipo sarpagina¹⁰⁰, apresentando um pico máximo à $m/e = 322$ e picos em 308 e 307, estes dois últimos correspondentes à afinisinina IId. Este espectro apresenta ainda os picos característicos de alcalóides tipo sarpagina à $m/e = 183$ e $m/e = 182$.

O espectro de RMN-¹H à 100 MHz (Figura XLII) apresenta um pico múltiplo em $7,07\text{--}7,53\text{ ppm}$ (4H) e dois picos simples em $3,20\text{ ppm}$ (3H) e $3,71\text{ ppm}$ (3H), que foram atribuídos aos prótons aromáticos; ao metila do grupo N_b⁺-CH₃ e ao metila do núcleo indólico, respectivamente.

A $\delta = 1,60\text{ ppm}$, o espectro apresenta um pico duplo largo, que integra para 3H e que pela irradiação dos prótons na região de $5,40\text{--}5,62\text{ ppm}$ (2H) se transforma em um pico simples (Figura XLIII). Este pico ($1,60\text{ ppm}$) foi atribuído ao metila do grupo e tilideno.

Irradiação na frequência correspondente à δ igual a $1,6\text{ ppm}$ (Figura XLIV) simplifica o pico múltiplo, na região de $5,40\text{--}5,62\text{ ppm}$, transformando-o em um pico simples e um pico duplo com J igual a 10 Hz . O pico simples é atribuído ao próton vinílico do C-19.

O pico duplo com J igual a 10 Hz e que integra para um próton pode ser atribuído ao próton do C-5 ou C-3.



Utilizando modelos moleculares Dreiding, calculamos os ângulos diedro entre os prótons vicinais do C-3 e C-14 e os ângulos formados são de 110° e 10° , que apresentam uma constante de a coplamente teórica⁹² de aproximadamente 1 Hz e 8Hz respectivamente.

O próton do C-5 forma ângulos com os prótons vicinais de: 90° (H-16), 35° (H-6) e 120° (H'-6), cujas constantes de acoplamento⁹² são menor que zero, 5,1 e 2,1 Hz, respectivamente.

A partir destes dados concluímos que o outro próton da região de 5,40-5,62 ppm é o próton do C-3, visto que a constante de acoplamento medida (10Hz) está mais próxima da constante teórica (8Hz e 1Hz) que este próton deveria apresentar.

Os dois picos largos em 4,68 ppm ($J=8\text{Hz}$, 1H) e 4,28 ppm ($J=8\text{Hz}$, 1H) (Figura XLII) são atribuídos aos prótons do C-21. Irradiação na frequência destes prótons (Figura XLV) afina o sinal duplo relativo aos prótons do C-18, demonstrando que existe uma interação entre os prótons do C-21 e os prótons do C-18.

5. Ensaio biológicos

Enviamos amostras de desmetilvoacamina (RB24.4), do Extrato C e do Extrato G, sob a forma de lactatos, à Dra Marilda M. de Oliveira do Instituto Biológico de São Paulo, para serem submetidos a testes de atividade anticancerígena.

Os trabalhos experimentais foram realizados pela bióloga Isabel Tomie Nakamura e os resultados aqui apresentados são preliminares.

Para os ensaios foram usados camundongos DBA/2, pesando de 15 a 18 gr. O tratamento foi feito por nove dias consecutivos, através da inoculação intraperitoneal da droga. A avaliação dos resultados foi feita marcando-se diariamente o número de animais mortos e calculando-se ao término da experiência o tempo médio de sobrevivência do controle (C) e dos tratados (T). Valores de T/C maiores que 125 % indicam atividade significativa.

Os resultados dos testes até agora realizados são:

Subst.	Dose mg/Kg	T/C %	avaliação
Extr.C	50	121	não ativo
Extr.C	70	257	ativo
Extr.C	70	116,6	não ativo
Extr.C	70	92	não ativo
Extr.G	47,5	125	ativo
Extr.G	60	138	ativo
Extr.G	75	146	ativo
RB24.4	32	85	tóxico
RB24.4	16	183	ativo
RB24.4	16	111	não ativo

A análise dos resultados obtidos até agora são:

Extr. C inativo

Extr.G ativo

RB24.4 demonstra ter atividade, porém em vista dos resultados não concordantes, deveria ser submetido a novos testes.

Estes resultados demonstram o interesse no estudo de Peschiera fuchsiaefolia, justificando novos ensaios biológicos e um trabalho de "screening" mais rigoroso desta planta, o que está dentro dos nossos objetivos.

Capítulo III

Ressonância magnética nuclear de Carbono-13 de alcalóides indólicos

1. Introdução

A aplicação de RMN- ^{13}C teve um avanço vagaroso e a utilização desta técnica como um auxílio na determinação estrutural de produtos naturais foi mais intensa a partir do aparecimento de instrumentos mais sensíveis e do uso de técnicas como frequência de Desacoplamento em Faixa Larga (DFL) (do inglês 'Broad Band Decoupling, BB), Frequência de Desacoplamento Fora da Faixa (FDFP), (do inglês "Single Frequency off-Resonance", SFORD) e Transformada de Fourier.

Paralelamente ao desenvolvimento destas técnicas experimentais, houve um considerável progresso na compreensão dos parâmetros espectrais, principalmente no que diz respeito à estereoquímica de produtos naturais¹⁰¹.

Os numerosos dados encontrados na literatura para compostos estruturalmente conhecidos, permitem aos químicos a determinação de estruturas de moléculas desconhecidas¹⁰¹.

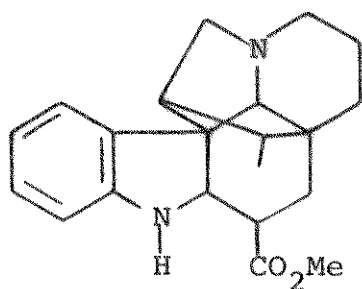
Devido à sensibilidade da RMN- ^{13}C aos efeitos espaciais, o método é ideal para a detecção de estereoisômeros ou outras estruturas relacionadas.

A RMN- ^{13}C tem sido empregada como um poderoso método na elucidação de várias estruturas e tem sido utilizada também, na reinvestigação da estrutura de algumas substâncias^{102,103,104}.

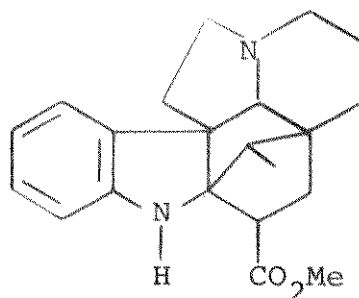
Um exemplo é a reinvestigação da estrutura da vindolinina¹⁰², pelo uso dos dados de RMN- ^{13}C de alcalóides indólicos tipo aspodospermina. A vindolinina é um alcalóide isolado de uma espécie pertencente ao gênero Catharanthus, para o qual foi atribuída

a estrutura XXXII, principalmente com base na análise do espectro de massa¹⁰².

Utilizando as técnicas usuais de RMN-¹³C Wenkert e colaboradores observaram no espectro da vindolinina¹⁰² a existência de um carbono alifático totalmente substituído em lugar de um carbono alifático trissubstituído. O deslocamento químico de 81,4ppm deste carbono é compatível para um carbono ligado a um heteroátomo (O ou N). Consequentemente a estrutura XXXIII foi proposta como alternativa para a anterior. A análise dos espectros de RMN¹³C de derivados da vindolinina e comparação dos seus deslocamentos com os de alcalóides estruturalmente relacionados, confirmou a nova estrutura XXXIII.



XXXII



XXXIII

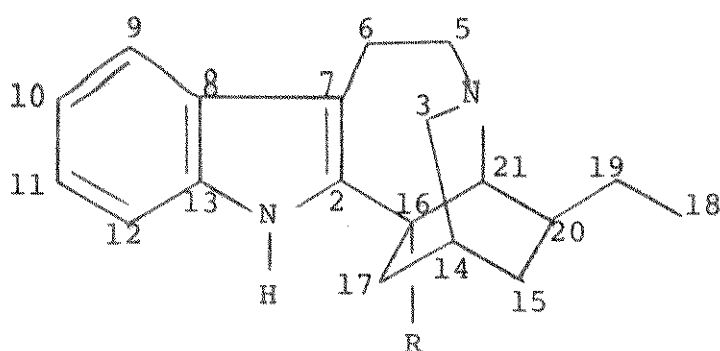
Para que a espectrometria de RMN-¹³C seja um poderoso auxiliar na determinação estrutural, é importante o uso de compostos modelos que tenham seus deslocamentos químicos bem determinados. A utilização destes dados e o conhecimento dos efeitos provocados por grupos funcionais sobre os carbonos vizinhos, pode permitir uma atribuição direta dos sinais de ¹³C no espectro de compostos estruturalmente relacionados com os modelos. Nesta introdução bibliográfica, selecionamos da literatura alcalóides indólí

cos (Ítens 2a-2d), que nos foram úteis na atribuição dos deslocamentos químicos dos compostos isolados de Peschiera fuchsiaefolia.

2. Modelos de alcalóides indólicos

2.a Alcalóides do tipo Iboga

O estudo de RMN- ^{13}C dos alcalóides do tipo Iboga¹⁰⁵ IV (Quadro X) possibilita uma análise de aspectos conformacionais destes compostos, principalmente na parte isoquinuclidina.



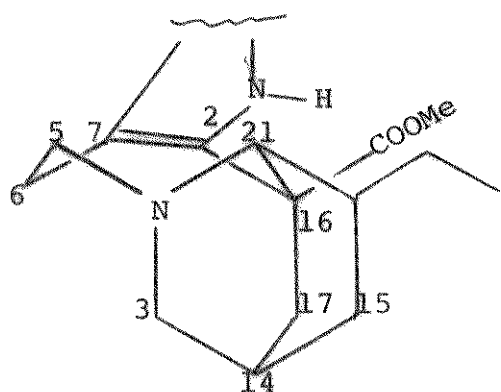
IV

A presença da carbometoxila no C-16 provoca uma proteção de 2,7 ppm no C-20 quando comparamos voacangina IVf e coronaridina IVa com ibogaina IVe e uma proteção de 4,5 ppm quando comparamos os compostos dihidrocatarantina IVn e epiibogamina IVo (Quadro X).

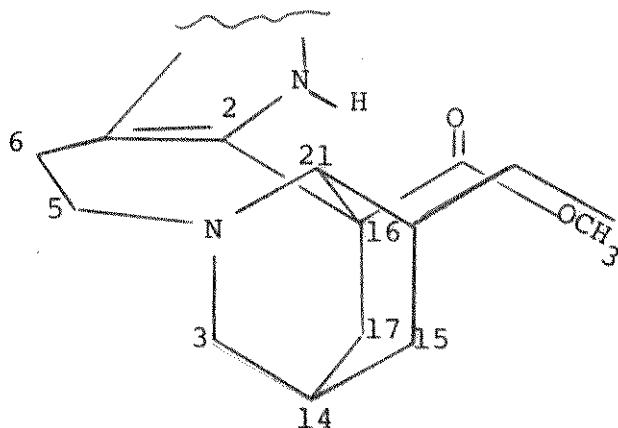
A inversão do C-20 da ibogaina IVe para epiibogaina IVo protege o C-16, neste último composto, de 7,5 ppm, mas o deslocamento químico do C-19 permanece inváriavel em consequência da troca do efeito γ produzido pelo N_b por um de igual intensidade produzido pelo C-16 em epiibogamina IVo.

O esqueleto Iboga IV possui uma quantidade limitada de flexibilidade conformacional, isto é, a parte isoquinuclidina pode ter duas formas "twist" levemente oscilantes e o anel tetrahi-

droazepina pode assumir duas conformações diferentes¹⁰⁵ XXXIVa e XXXIVb.



XXXIVa



XXXIVb

A existência destas duas conformações implica que se o anel de sete membros assume a forma XXXIVa coloca os C-6 e C-3 em uma interação não ligante do tipo butano-gauche, levando a efeitos γ entre eles, enquanto que a forma XXXIVb força o C-6 em uma interação eclipsada com o C-21.

Estes fatos podem explicar as diferenças existentes nos deslocamentos químicos dos C-6 e C-21 dos compostos do Quadro X.

Assim, na dihidrocatarantina IVn os C-6 e C-21 estão mais protegidos que os carbonos correspondentes dos outros compostos, sugerindo que este alcalóide assume a conformação XXXIVb. Na voacangina IVf e coronaridina IVo os C-6 e C-21 estão em campo mais baixo, sugerindo a conformação XXXIVa para estes compostos. Na ibogaina IVe e epiibogaina IVo o C-6 tem um deslocamento médio nos levando a supor que eles assumam uma conformação intermediária.

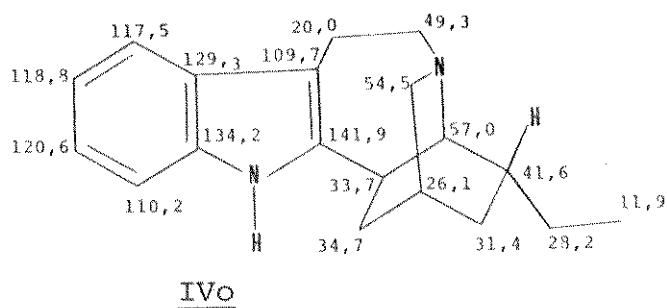
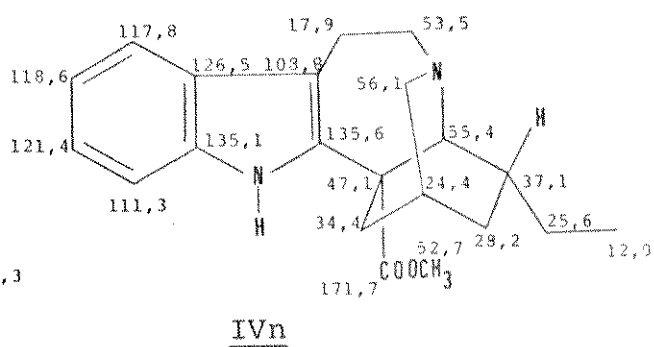
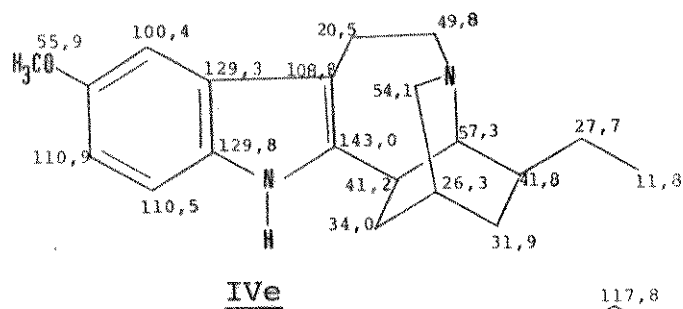
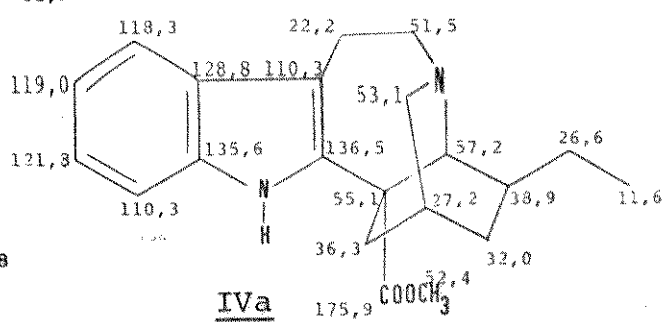
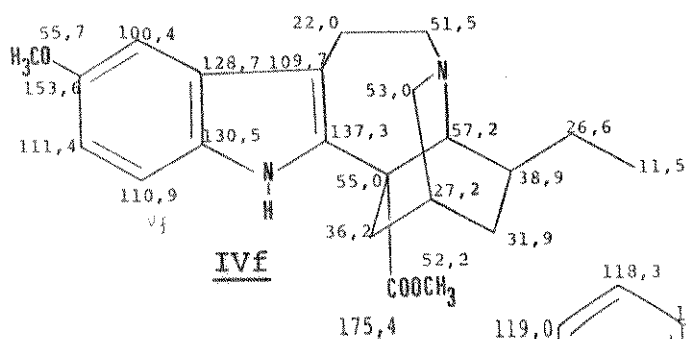
A desproteção do C-3 na dihidrocatarantina IVn reforça a suposição da conformação XXXIVb para este composto, pois este car

bono , nesta conformação, não sofre nenhuma interação.

Com a proposição da conformação XXXIVa para a voacangina IVf e coronaridina IVo seria de se esperar que o C-3 estivesse mais protegido em relação ao mesmo carbono na dihidrocatarantina IVn, porém, não deveria ocorrer nenhuma alteração no C-5 devido a esta mudança de conformação.

Se compararmos os deslocamentos atribuídos por Damak ¹⁰⁶ (Quadro XI) para estes dois carbonos vemos que o C-3 (51 ppm) está mais protegido que o C-5 (53 ppm). Sugerimos que estes deslocamentos estariam mais coerentes com a proposição da existência das duas conformações, visto que uma proteção de 5 ppm para o C-3 (de IVn para IVf e IVa) é coerente com uma interação metileno-metilenogaucho ¹⁰⁵ entre os C-6 e C-3, e assim o C-5 não sofreria nenhuma alteração.

A presença da metoxila no anel indólico desprotege o C- α ($\Delta\delta$ = +35 ppm), protege os C-o ($\Delta\delta$ = -10 e -17 ppm), quase não modifica o C-m e protege o C-p ($\Delta\delta$ = -5 ppm).



Quadro X Alcalóides do tipo IBOGA¹⁰⁵

IVd

IVe

Chemical structure diagram showing a complex molecule with numerical labels for atoms and bonds. The structure includes a benzene ring, a five-membered ring, and a six-membered ring, all connected by a bridge. The labels are as follows:

- 55,7 (top left)
- 100,7 (top left)
- 129,1 (top center)
- 110,0 (top center)
- 22,2 (top center)
- 53,1 (top right)
- 154,0 (middle left)
- 111,9 (middle left)
- 130,6 (middle center)
- 137,3 (middle center)
- 51,7 (middle right)
- 57,6 (middle right)
- 26,7 (middle right)
- 11,7 (middle right)
- 111,1 (bottom left)
- 55,0 (bottom center)
- 36,5 (bottom center)
- 52,7 (bottom center)
- 32,0 (bottom center)
- 39,1 (bottom center)
- 175,6 (bottom center)

IVi

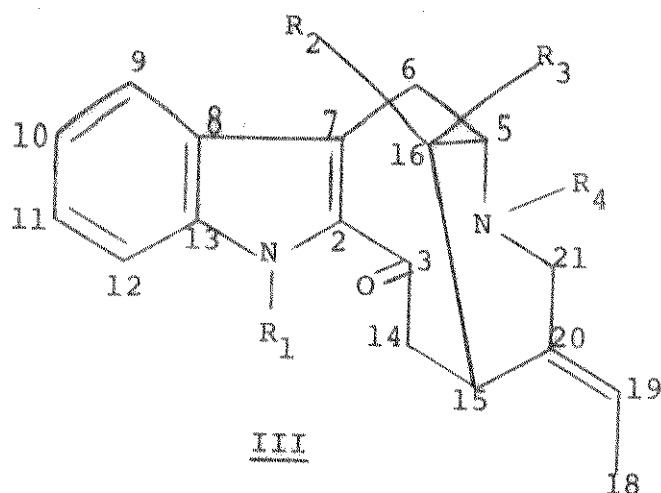
IVp

IVp

Quadro XI RMN-¹³C de alcalóides do tipo iboga¹⁰⁶

2b. Alcalóides do tipo Vobasina

A análise de RMN- ^{13}C de alcalóides α -acylindólicos III ressaltam alguns efeitos surpreendentes, como por exemplo o efeito anisotrópico do indol sobre a carbonila¹⁰⁷ do grupo éster (Quadro XII)



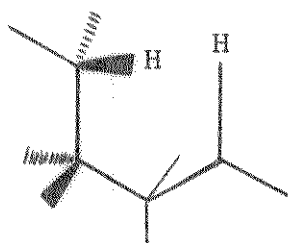
A atribuição dos carbonos para este tipo de alcalóide é facilitada pela grande diferença entre os deslocamentos químicos e multiplicidade de spin, em alguns casos foi utilizada também a deuteração de carbonos específicos¹⁰⁷.

No Quadro XII encontram-se os deslocamentos químicos dos carbonos da dregamina IIIc, tabernaemontanina IIId, vobasina IIIe, ocropamina IIIo, 16-epidregamina IIIi, vobasinol IIIj, dregaminol³⁸ IIIk e tabernaemontaninol³⁸ IIIl.

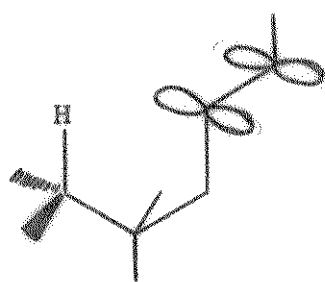
A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos na dregamina IIIc e 16-epidregamina IIIi indicam que a mudança do grupo COOCH_3 da posição equatorial para axial tem uma pequena influência nos deslocamentos dos C-6 e C-14 ($\Delta\delta = 1,1$ ppm) em comparação com a variação observada no C-20 que foi protegido de

5,2 ppm. Esta proteção pode ser explicada admitindo-se uma interação γ -gauche entre a carbonila deste grupo e o C-20.

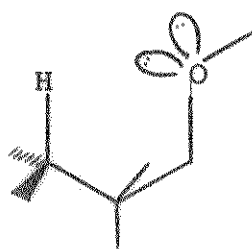
O efeito de proteção de dois carbonos em relação γ -gauche XXXVa é comumente explicado como consequência de interações não ligantes hidrogênio-hidrogênio, entre os hidrogênios ligados a estes carbonos¹⁰⁸.



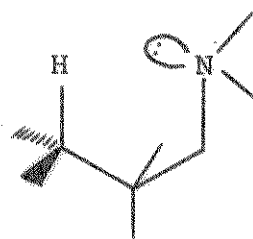
Apesar disso, existem exemplos de efeitos de proteção γ -gauche a partir de interações hidrogênio-ligação π XXXVb e hidrogênio-par isolado XXXVc e XXXVd¹⁰⁹.



XXXVb



XXXVc



XXXVd

Porém, nesta mudança de posição, o carbono da carbonila ligado ao C-16 sofre uma desproteção ($\Delta\delta = -3$ ppm), o mesmo acontecendo com a metoxila ($\Delta\delta = -1,7$ ppm). Estas perturbações refletem a proximidade do grupo carbometoxila nos compostos IIIc, IIId, IIIe e IIIo com o núcleo acylindólico.

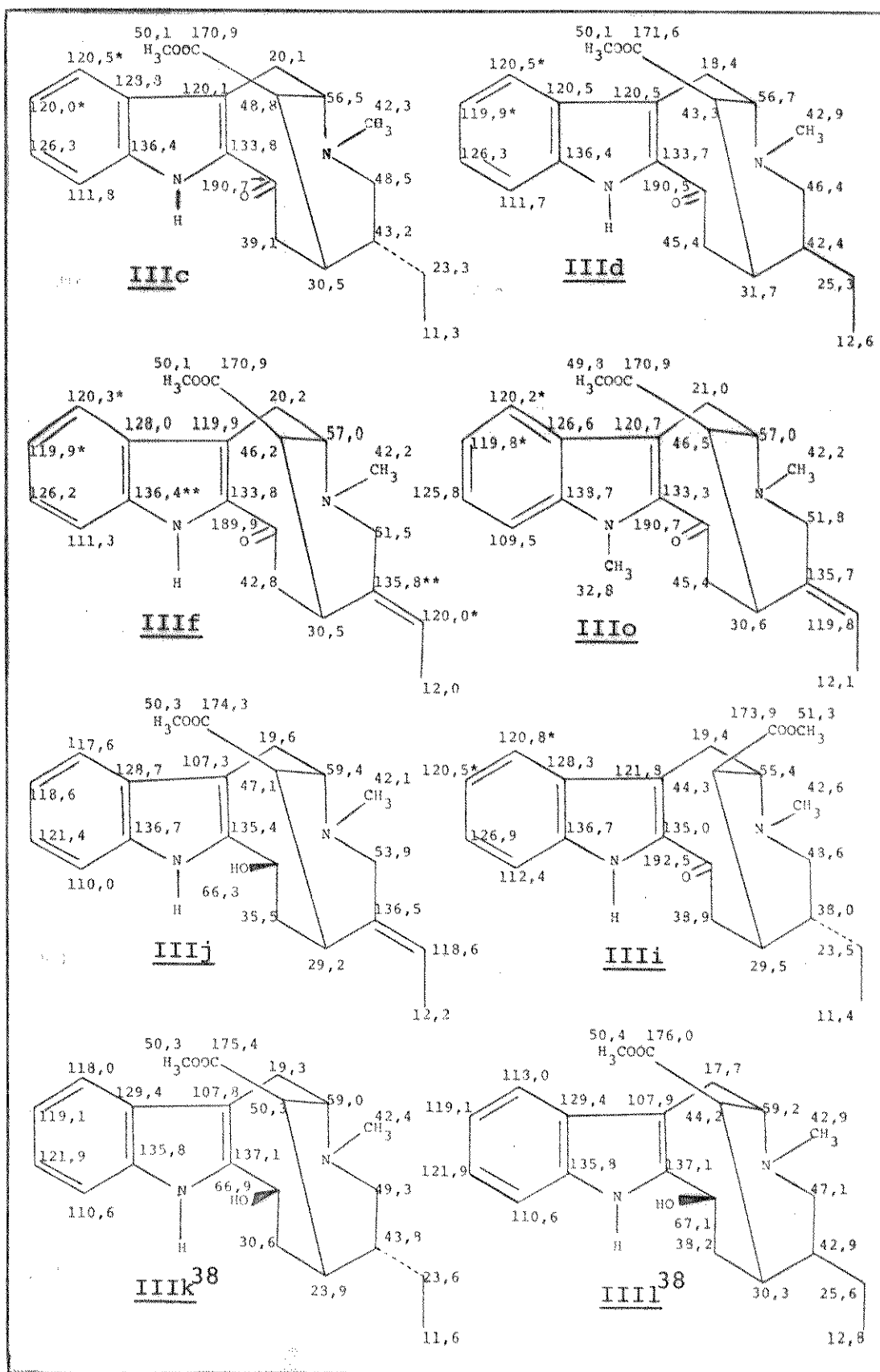
A passagem de vobasina IIIIf para vobasinol IIIj desprotege a carbonila do grupo COOCH_3 da mesma intensidade que a passagem deste grupo de equatorial para axial, indicando que a C=O do C-3 influe no deslocamento da C=O do grupo COOCH_3 , nestes compostos.

Na passagem de dregamina IIIc para dregaminol³⁸ IIIk e tabernaemontanina IIId para tabernaemontaninol³⁸ IIIl também ocorre desproteção da C=O do grupo COOCH_3 de 4,5 e 4,4 ppm, respectivamente. Notamos que o deslocamento da metoxila não se altera com a redução da carbonila do C-3.

Comparação entre dregamina IIIc e tabernaemontanina IIId mostra que a posição da cadeia lateral no C-20 influencia os deslocamentos dos C-14 e C-16. A mudança de estereoquímica no C-20 da dregamina IIIc para tabernaemontanina IIId faz com que o C-14 sofra uma desproteção de 6,3 ppm enquanto que o C-16 é protegido de 5,5 ppm. Este efeito pode ser atribuído à relação δ -gauche do C-19 em relação ao C-14 e em relação ao C-16, respectivamente.

Quando a cadeia lateral é insaturada os deslocamentos dos C-14 e C-16 permanecem em uma posição intermediária em relação aos compostos dregamina IIIc e tabernaemontanina IIId.

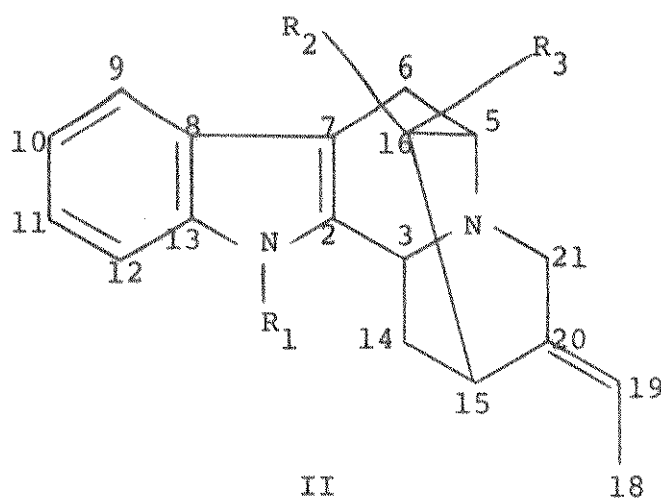
A conjugação da carbonila com o anel indólico causa uma alteração no sistema aromático. A forte desproteção do C-7 (119,9 ppm) normalmente em campo mais alto (107,0 ppm) e do C-12 (121,4 para 126,0 ppm) é especialmente característica da união α -acylin¹⁰⁷ dólica.



Quadro XII RMN- ^{13}C de alcalóides do tipo vobasina¹⁰⁷

2c. Alcalóides do tipo sarpagina

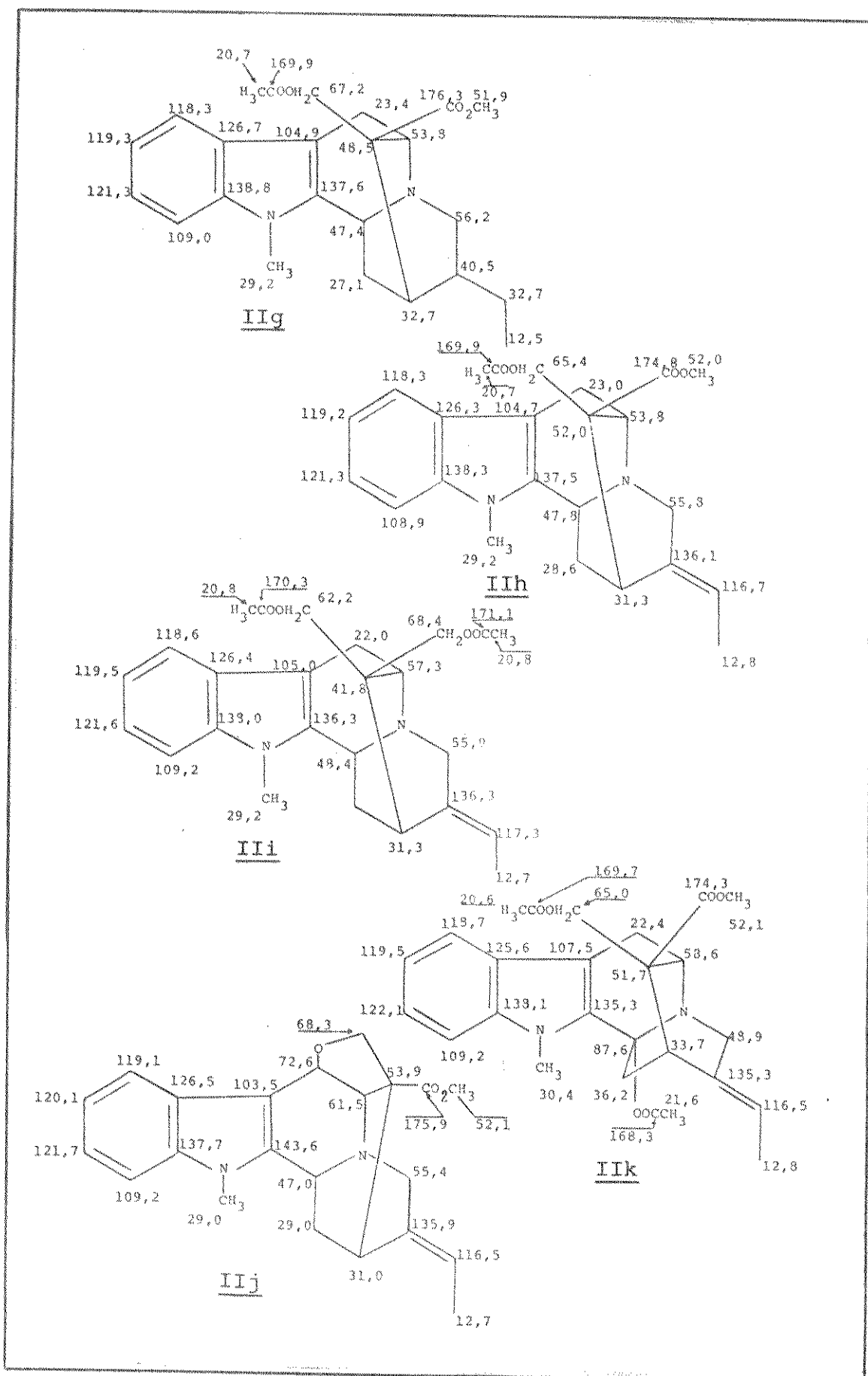
Os compostos do tipo sarpagina II se caracterizam por possuírem associado ao núcleo indólico, um sistema quinúclidina que confere uma certa rigidez estrutural à molécula, permitindo uma análise mais clara dos diferentes efeitos espaciais presentes nestes compostos.



A determinação da estereoquímica do C-20 de 17-o-acetil-dihidrovoacalotina IIg (Quadro XIII), um alcalóide novo isolado de Voacanga chalotiana, foi feita com base na RMN-¹³C e pela comparação com outros compostos contendo o esqueleto voacalotina ¹¹⁰ (Quadro XIII).

Os carbonos aromáticos foram atribuídos por comparação com os valores do sistema indoloquinolizidina¹¹¹. Os C-15, C-16, C-17, C-18, C-21 e os grupos OCOMe, N-Me e COOMe devido à sua multiplicidade e deslocamento químico são facilmente atribuídos.

A atribuição dos C-5 e C-3, que têm a mesma multiplicidade e estão α em relação ao N_b, é facilitada pela comparação entre os compostos IIg, IIh e IIIi com o composto IIj. Neste último, a formação de um éter com o C-6 introduz um efeito β do O no C-5,



Quadro XIII RMN- ^{13}C de alcalóides do tipo sarpagina¹¹⁰

que mostra uma desproteção ($\Delta\delta = +4,2$ IIIi e $\Delta\delta = +7,7$ IIg e IIh) enquanto que o C-3 praticamente não se altera.

Os C-6 e C-14 foram atribuídos a 23,0 ppm e 28,6 ppm, respectivamente, fazendo-se uma comparação entre os compostos IIj e IIk. A formação do éster no composto IIj desprotege o C-6 deixando o C-14 quase inalterado (IIg, IIh e IIIi), enquanto que a união do grupo acetil no C-2 do composto IIk introduz um efeito β de desproteção no C-14 ($\Delta\delta = +8$ ppm).

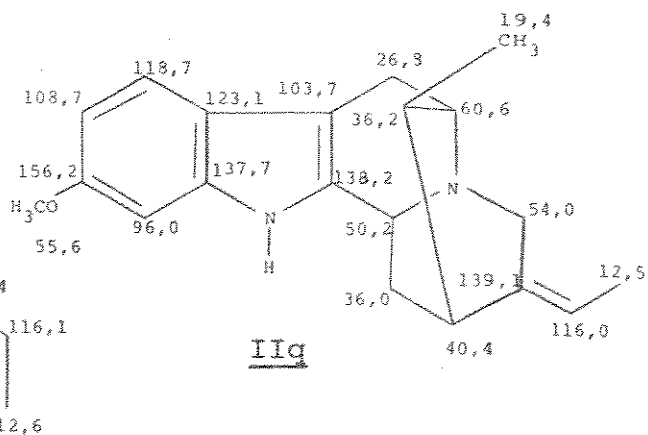
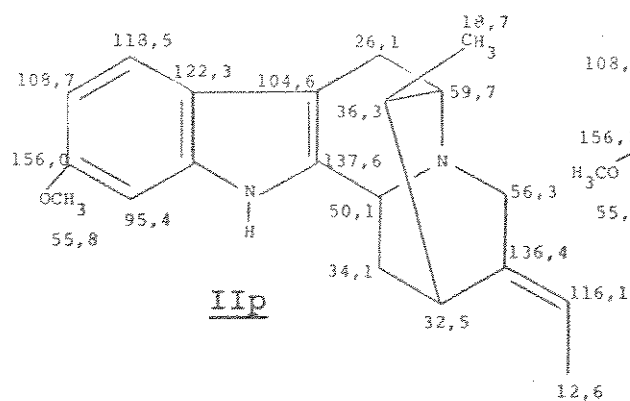
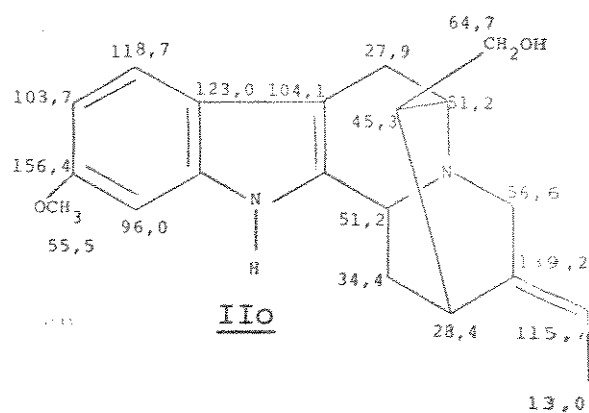
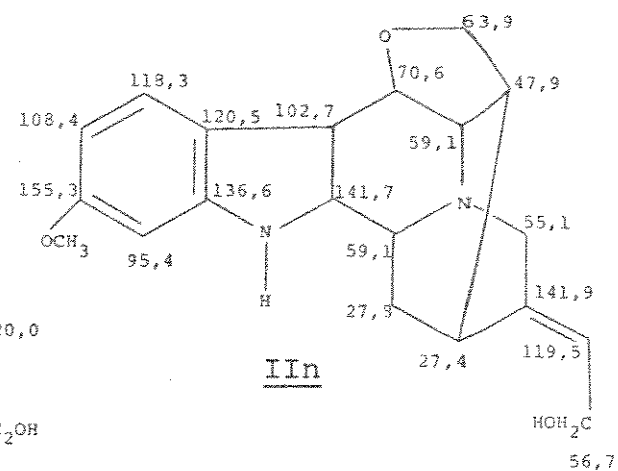
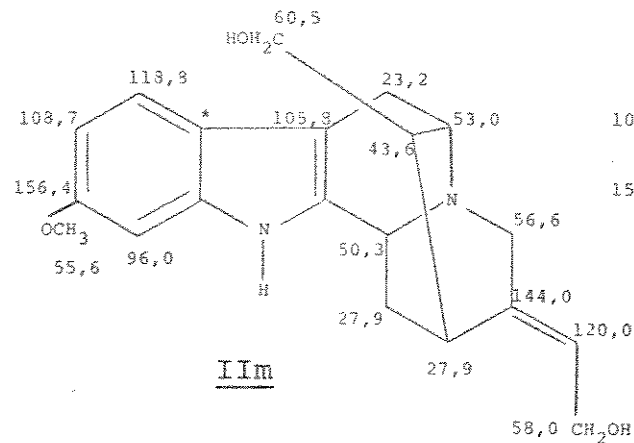
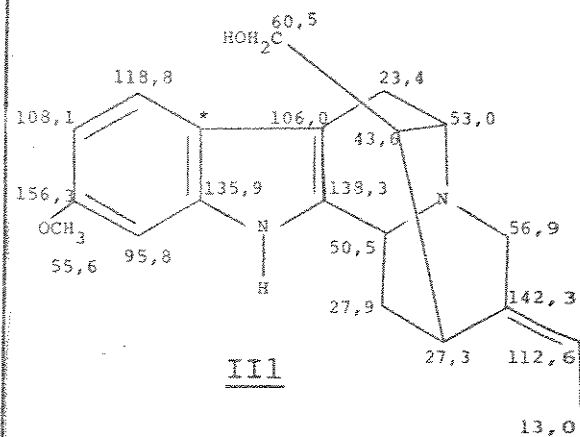
Nos compostos IIj e IIk a dupla ligação C-2=C-7 tem o mesmo padrão de substituição, com um grupo alkoxi no C-6 e C-3 (posição alílica) e isto faz com que os C- β sejam protegidos e o C- δ seja desprotegido.

Uma comparação dos compostos IIg e IIh mostra que a saturação da ligação 19-20 leva a uma proteção do C-16 de 3 ppm e uma pequena proteção do C-14 ($\Delta\delta = -1,5$ ppm).

No composto IIIi o C-16 apresenta dois substituintes iguais. O substituinte endo em relação ao núcleo indólico está mais protegido (62,2 ppm) em comparação com seu equivalente exo (68,8 ppm). Esta diferença pode ser útil na determinação da configuração do C-16 nestes compostos.

Outro grupo de alcalóides tipo sarpagina encontrados na literatura são aqueles isolados de Gardneria mutans¹¹² (Quadro XIV). No estudo destes alcalóides a espectroscopia de RMN-¹³C foi utilizada para elucidação da geometria da cadeia lateral. As atribuições foram feitas com base nos valores dos deslocamentos e multiplicidade de sinais.

A partir destes dados se pode notar que nos compostos gardnerina IIIi e IIo a estereoquímica do C-16 influencia os deslocamentos químicos dos C-6, C-14 e C-17, desprotegendo estes carbonos de 4,5 ppm, 6,5 ppm e 4,2 ppm quando o substituinte está exo



Quadro XIV RMN-¹³C de alcalóides do tipo sarpagina ¹¹²

em relação ao núcleo indólico, como no composto Ilo

Comparando-se os deslocamentos dos C-15 e C-21 nos compostos Iip e Iiq (Quadro XIV) nota-se que a estereoquímica da cadeia lateral influencia sensivelmente nos deslocamentos destes carbonos. Quando a configuração da cadeia lateral é E (composto Iip) (Quadro XIV) o C-15 está mais protegido de 7,9 ppm em relação ao mesmo carbono quando a configuração é Z (composto Iiq). No C-21 temos a situação inversa, porém o efeito é somente de 2,3ppm.

2d. Alcalóides bis-indólicos do tipo Tabernaeelegantinas

A atribuição dos deslocamentos químicos de alcalóides bis-indólicos é facilitada quando são usados como modelos os alcalóides monômeros que os compõem.

Para a atribuição dos deslocamentos químicos das tabernaeelegantinas A-D VIIIa- VIIIId (Quadro XV), alcalóides novos isolados de Tabernaemontana elegans³⁸, foram usados como modelos dregaminol³⁸ IIIk e tabernaemontaninol³⁸ IIIl (Quadro XII) e voacangina IVf (Quadro X), embora este último não seja o melhor modelo para comparação em razão da substituição no indol (10 metoxi) ser diversa da substituição no alcalóide bis-indólico (11 metoxi).

Os sinais aromáticos correspondentes à parte dregamina ou tabernaemontanina e alifáticos da voacangina permanecem quase inalterados.

A posição de união, entre as duas unidades, no C-10 ou C-12 do anel indólico da voacangina pode ser facilmente deduzida. No caso da união ser no C-10 o espectro apresenta um pico duplo em campo alto $\delta = 93$ ppm característico de C-12-H de indol metoxi substituído no C-11 (ver compostos IVi e IVp no Quadro XI), enquanto que o pico simples $\delta = 127$ ppm deve ser atribuído ao C-10, que foi desprotegido devido à união.

Quando a união é no C-12 (da porção isovoacangina) o espectro SFORD apresenta um pico duplo relativo ao C-10-H em 105ppm característico de indol 11-metoxisubstituído (compostos IVi e IVp no Quadro XI) e um pico simples em $\delta = 115$ ppm atribuído ao C-12.

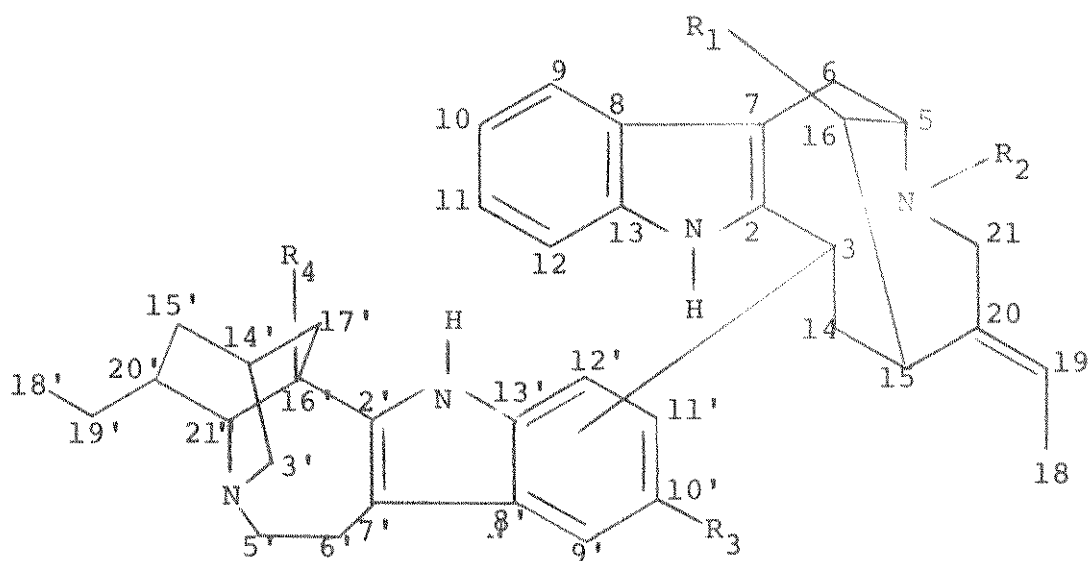
3. RMN-¹³C dos alcalóides isolados de *Peschiera fuchsiae* folia

O isolamento de outros alcalóides bis-indólicos estruturalmente relacionados com a voacamina Ia, em *Peschiera fuchsiae* folia, adquiriu um interesse especial porque permitiu uma correlação dos dados de RMN-¹³C na análise destes compostos. O interesse destes está ligado à sua atividade anticancerígena e consequentemente a sistematização de métodos rápidos de determinação estrutural se justifica, principalmente se não forem degradativos.

Além dos alcalóides bi-indólicos do tipo voacamina, isolamos e estudamos por RMN-¹³C outros compostos como voacalotina IIc, afinisina IId, 16-epiafinina IIIh. Também empregamos a RMN-¹³C para a determinação estrutural de três alcalóides indólicos novos. Sendo estes três últimos alcalóides quaternários, foi necessária a preparação dos modelos cloreto de N_b-metilafinisina XXVIId e iodeto de N_b-metilvoacalotina XXVIe, que também foram estudados.

3a. Alcalóides bis-indólicos do tipo voacamina

Os alcalóides bis-indólicos do tipo voacamina Ia são formados pela união de uma unidade do tipo vobasina III com uma unidade do tipo Iboga IV.



I

O grande número de carbonos nestes compostos (42C) dificulta a análise dos espectros totalmente desacoplados (BB) (Figura XLVI) devido à proximidade dos deslocamentos químicos dos carbonos, que muitas vezes faz com que os picos se superponham. A determinação da multiplicidade dos picos com o auxílio do espectro obtido em frequência fora da faixa (SFORD) é complexa pois o desdobramento dos picos acarreta numa maior superposição dos sinais.

Com o estabelecimento da multiplicidade dos carbonos e determinação dos respectivos deslocamentos, a atribuição dos deslocamentos químicos em cada carbono foi feita por comparação com os compostos modelo voacangina IVf (Quadro X) e vobasinol IIIj (Quadro XII).

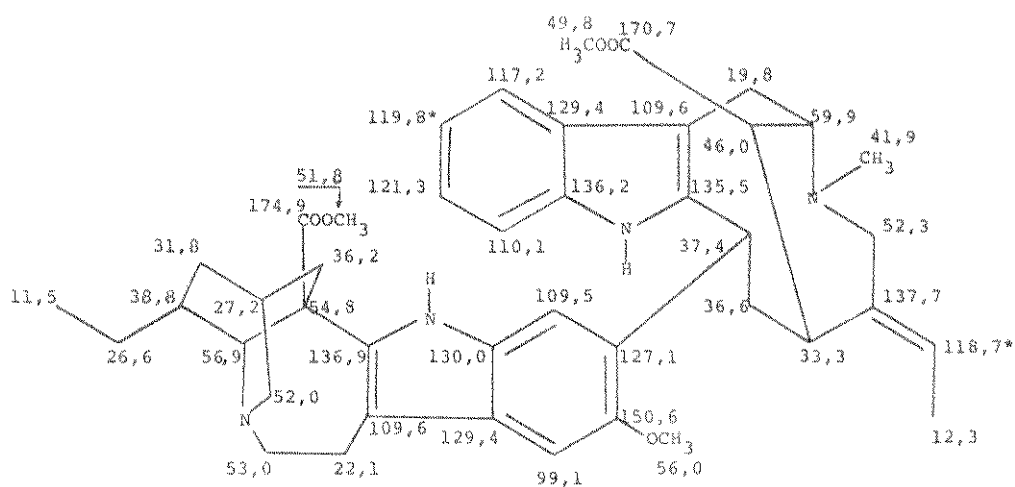
Os sinais dos carbonos aromáticos correspondentes à unidade vobasina permanecem quase inalterados, bem como os alifáticos da porção voacangina. Nos carbonos aromáticos desta última unidade, o carbono que sofrerá maior alteração deve ser aquele em que a unidade vobasina se une para formar o bis-indol (Quadro XVI e Quadro XVII).

Assim, na voacamina Ia (Quadro XVI) permanecem quase inalterados os valores dos C-9' e C-12' (99,1 ppm e 109,5 ppm), comparando-se com voacangina IVf. Isto nos levou a atribuir o deslocamento de 127,1 ppm ao C-11'. Para os outros compostos, desmetil voacamina Ic (Quadro XVII), descarbometoxivoacamina Im (Quadro XVI), dihidrovoacamina In (Quadro XVI) e dihidrodesmetilvoacamina Io (Quadro XVII) é a mesma situação e os deslocamentos dos C-9', C-10', C-11' e C-12' são praticamente idênticos aos da voacamina Ia (Quadro XVI).

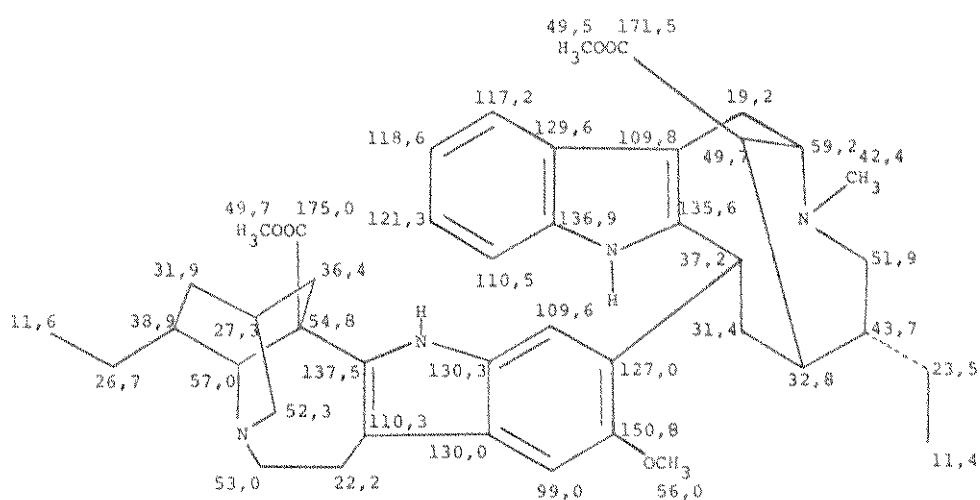
Na voacamidina Id (Quadro XVII) o padrão muda e nós temos no SFORD dois picos duplos à 109,4 e 112,4 ppm e dois picos simples em $\delta = 126,4$ e 152,4 ppm.

Comparando-se estes valores com os valores atribuídos para os C-9, C-10, C-11 e C-12 da voacangina IVf (Quadro X), e com os deslocamentos atribuídos para estes carbonos na voacamina Ia, vemos que falta o pico duplo em campo alto em $\delta = 100$ ppm, característico do C-9 em indol 10-metoxisubstituído. Além disso, os picos duplos em 109,4 e 112,4 ppm estão muito próximos dos deslocamentos dos C-11 e C-12 na voacangina IVf (Quadro X). O pico simples à 126,4 ppm pode assim ser atribuído ao C-9' confirmando que a união das duas unidades se faz através deste carbono.

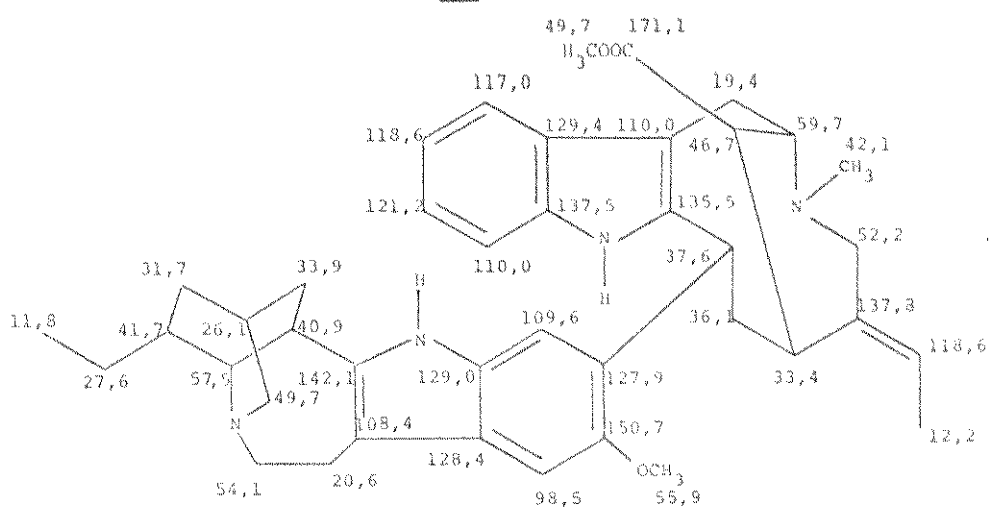
Nos carbonos saturados da unidade vobasina ocorre uma variação somente nos deslocamentos dos C-3, C-14 e C-15. Assim, a troca do grupo hidroxila do C-3 do vobasinol pela unidade voacan-



Ia

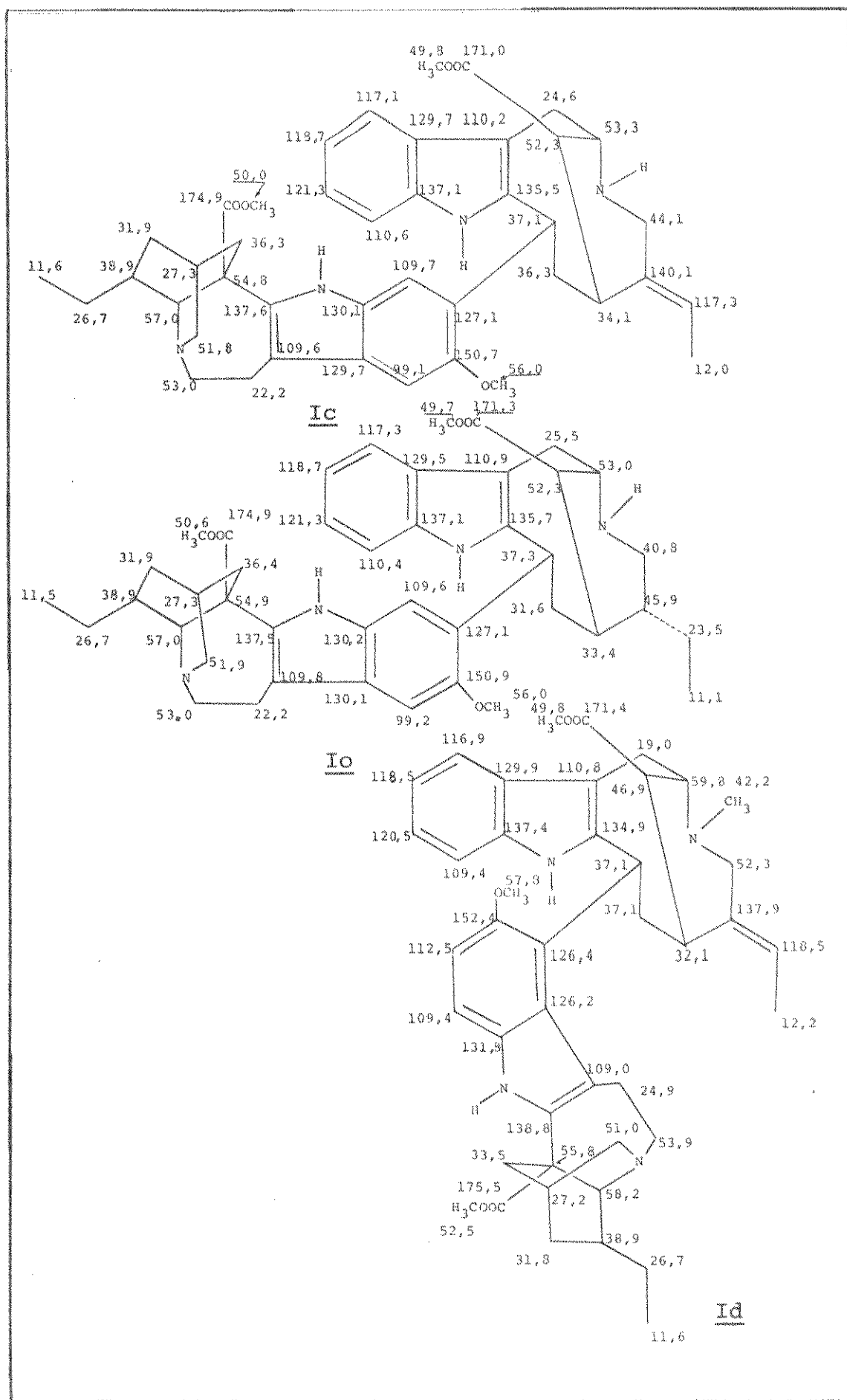


In



Im

Quadro XVI RMN- ^{13}C de alcalóides do tipo voacamina



Quadro XVII RMN- ^{13}C de alcalóides do tipo voacamina

gina, protege o C-3 de aproximadamente 30 ppm. O C-14 sofre pouca variação e o C-15 sofre uma desproteção pela retirada do grupo OH.

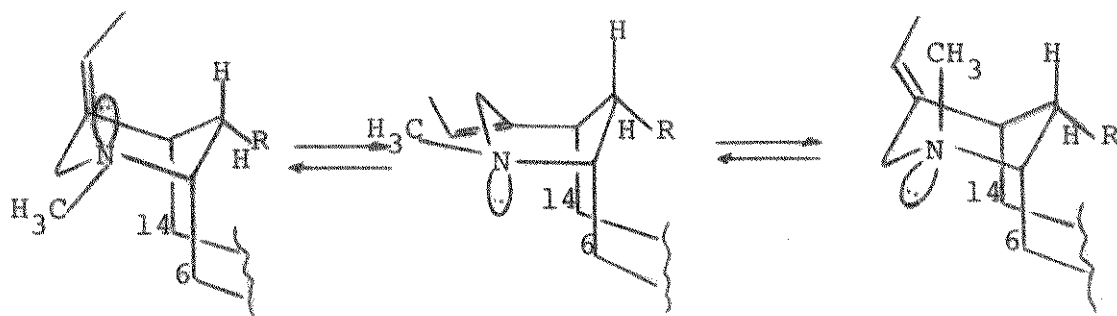
Os outros carbonos podem ser atribuídos pela multiplicidade de spin e comparação com os compostos modelo.

Na hidrogenação da voacamina Ia (Quadro XVI) e da desmetilvoacamina Ic (Quadro XVII), podemos deduzir facilmente a estereoquímica da cadeia lateral através da comparação dos deslocamentos químicos dos C-14 e C-16.

Assim, nos dois compostos ocorre uma proteção do C-14 de aproximadamente 5 ppm. O C-16 da voacamina Ia foi desprotegido de 3,7 ppm, enquanto que o C-16 na desmetilvoacamina permanece inalterado.

Quando comparamos os compostos desmetilvoacamina Ic (Quadro XVII) e voacamina Ia (Quadro XVI), vemos que do primeiro para o segundo a entrada do grupo metila, provoca mudanças no deslocamento químico dos C-5, C-6, C-16, C-20 e C-21. Os C-5 e C-21 são deslocados para campo mais baixo de 6,6 e 8,2 ppm, enquanto que os C-6, C-16 e C-20 sofrem proteção de 4,8 ppm, 6,3 ppm e 2,4 ppm. Este efeito de proteção simultâneo nestes três carbonos pode ser explicado se lembrarmos do movimento de inversão do N, que deixaria o grupo metila ora em posição axial, ora em posição equatorial.

Em posição axial o metila terá uma interação γ - gauche com os C-16 e C-20 e em posição equatorial terá uma relação γ - gauche com o C-5, conforme se observa no Esquema III. Pela magnitude do $\Delta\delta$ vemos que esta interação é mais pronunciada nos C-6 e C-16, talvez porque a interação se faça através de uma interação não ligante hidrogênio-hidrogênio. No C-20 a interação se dá entre hidrogênio-nuvem π .

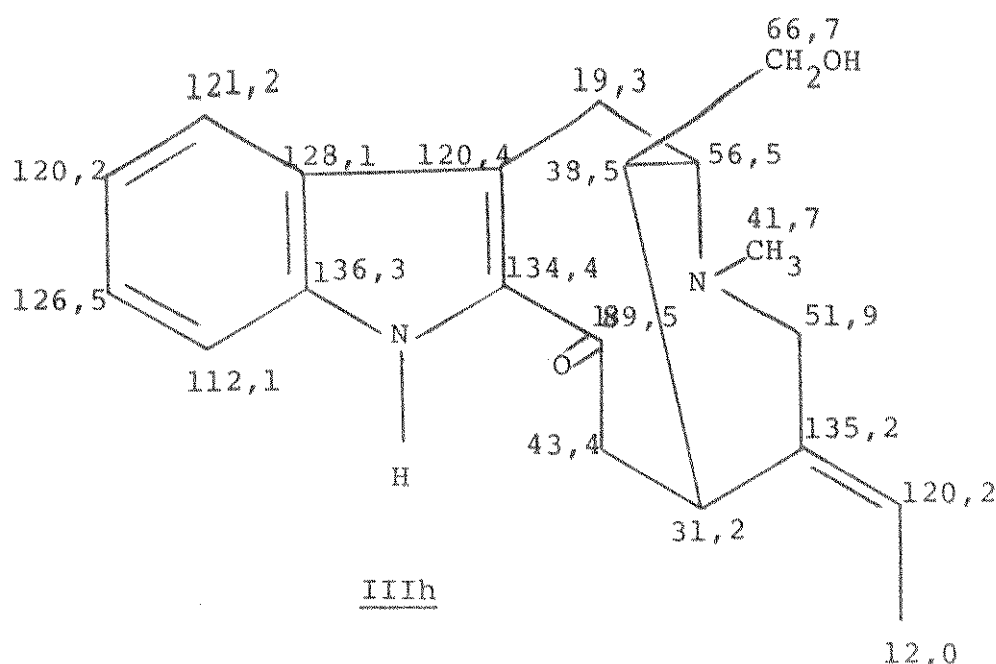


Esquema III: Inversão do N na voacamina

No composto descarbometoxivoacamina Im (QuadroXVI) a retirada do grupo carbometoxila provoca variações no deslocamento dos C-2', C-5', C-6' e C-17'.

3b. Alcalóide tipo vobasina : 16-epiafinina IIIh

A interpretação do espectro de RMN- ^{13}C da 16-epiafinina IIIh foi feita tomando-se por base o espectro totalmente acoplado (BB) (Figura XLVII) e o espectro obtido em frequência fora de faixa (SFORD), estando a atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos na estrutura IIIh.



Apesar da posição no campo e multiplicidade de cada carbono facilitarem a atribuição, utilizamos vobasina IIIIf e ocropamina IIIIo (Quadro XII) como modelos.

Comparando-se os três compostos podemos notar que o substituinte no C-16 não tem influência sobre os carbonos do núcleo indólico.

Os dois picos correspondentes aos grupos metila são bastante diferenciados e aquele ligado ao N_b deve estar em campo mais baixo (41,7 ppm).

A 16-epiafinina IIIh tem três metilenos (CH_2), um em

$\delta = 66,7$ ppm característico de carbono ligado a oxigênio e foi atribuído ao grupo CH_2OH . Comparação dos deslocamentos químicos dos C-14 e C-21 na vobasina IIIIf e ocropamina IIIo indicam que o C-21 α ao N está mais desprotegido e a ele atribuímos o valor de 51,9 ppm e ao C-14 43,4 ppm. Restando apenas um sinal relativo a CH_2 foi atribuído ao C-6 o valor de 19,3 ppm.

Comparação dos C-5 e C-15 da vobasina IIIIf e ocropamina IIIo nos levam à atribuição de $\delta = 56,5$ ppm e 31,2 ppm respectivamente para estes carbonos da 16-epiafinina IIIh. Portanto, o valor de 38,5 ppm deve ser atribuído ao C-16.

Para estabelecermos se os deslocamentos químicos dos C-16 e C-17 (CH_2OH) são indicativos da estereoquímica do C-16 seria necessário comparação dos deslocamentos químicos destes carbonos com o epímero de 16-epiafinina IIIh ou seja o álcool primário da vobasina IIIIf.

Modificações estruturais no composto 16-epiafinina IIIh não foram feitas devido a pouca quantidade isolada deste composto.

3c. Alcalóides tipo sarpagina

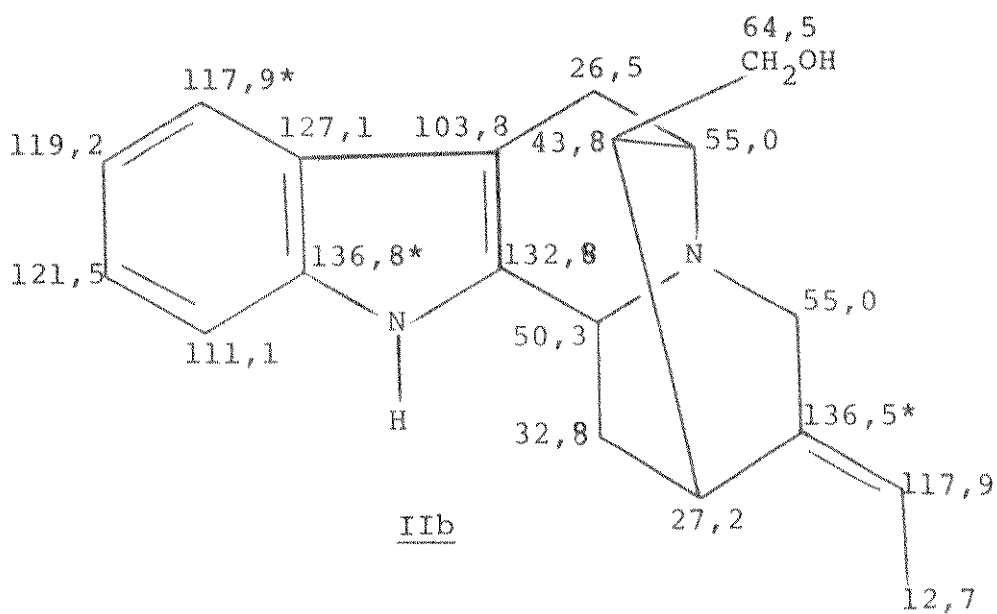
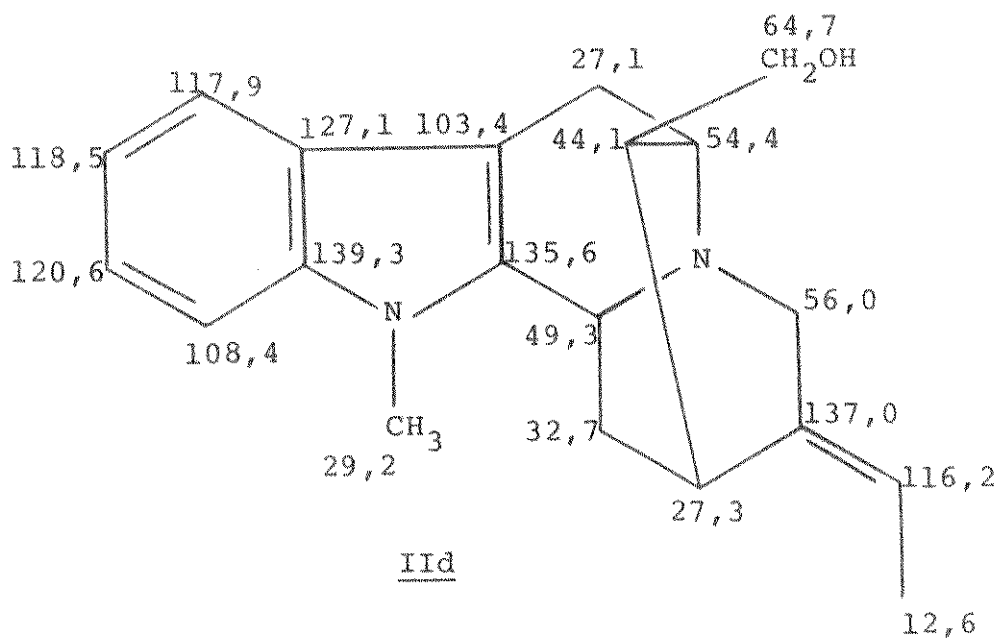
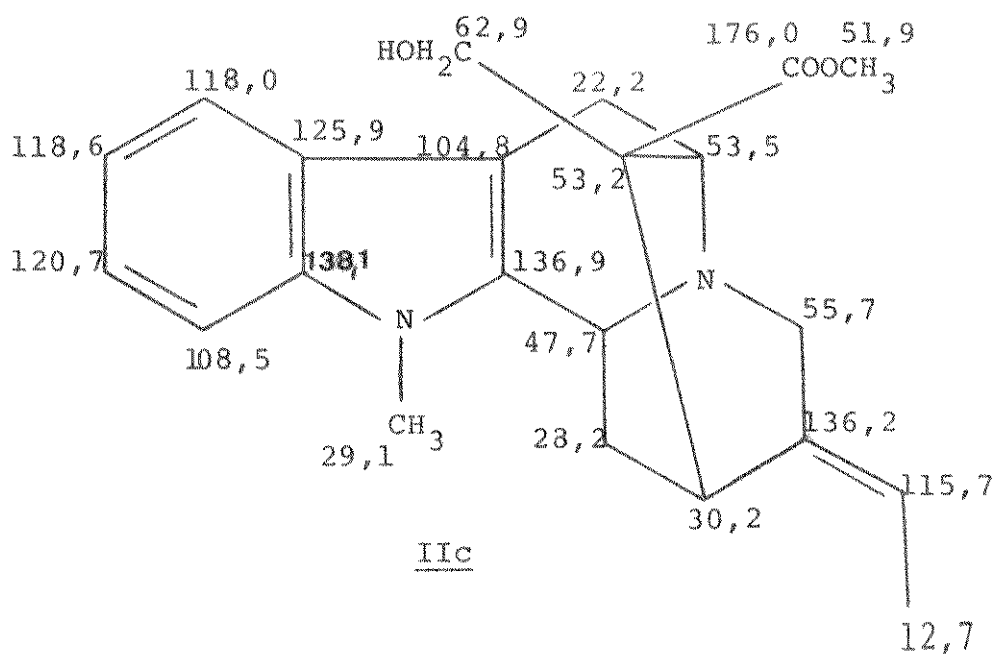
Voacalotina IIc, afinisina IID e macralstonidina XXXVIa

A atribuição dos deslocamentos químicos da voacalotina IIc (Quadro XVIII) foi feita baseando-se na multiplicidade dos sinais dos espectros total e parcialmente desacoplados (Figura XLVIII) e por comparação com os compostos estruturalmente relacionados: acetilvoacalotina IIh e diacetilvoacalotina IIIi (Quadro XIII).

As variações observadas são pequenas, exceto que a troca de substituinte (CH_2Ac) do C-16 na diacetilvoacalotina IIIi para COOMe na voacalotina IIc e mesmo na acetilvoacalotina IIh desprotege este carbono de 11 ppm aproximadamente.

Os deslocamentos químicos da afinisina IId encontram-se no Quadro XVIII e foram usados como modelos os compostos : acetilvoacalotina IIh, diacetilvoacalotina IIIi (Quadro XIII), voacalotina IIc (Quadro XVIII) e normacusina-B¹¹³ IIb (Quadro XVIII).

Os C-7, C-8, C-9, C-10, C-11 e C-12 da afinisina IId, praticamente não sofrem nenhuma variação em relação a estes compostos. Na região dos carbonos sp^2 os deslocamentos foram atribuídos da seguinte maneira: comparação com normacusina-B IIb (Quadro XVIII) leva à atribuição do valor de 137,0 ppm ao C-20, pois nestes dois alcalóides este carbono está no mesmo ambiente. Comparação dos C-13 e C-2 da acetilvoacalotina IIh e diacetilvoacalotina IIIi (Quadro XIII) levou à atribuição do valor de 139,3 ppm ao C-13 e o valor de 135,6 ppm ao C-2. Comparando estes dois valores com a normacusina-B IIb (Quadro XVIII) notamos que a introdução do grupo metila no N_a indólico desprotege os C-13 e C-2 de 2,5 e 2,8 ppm, respectivamente.



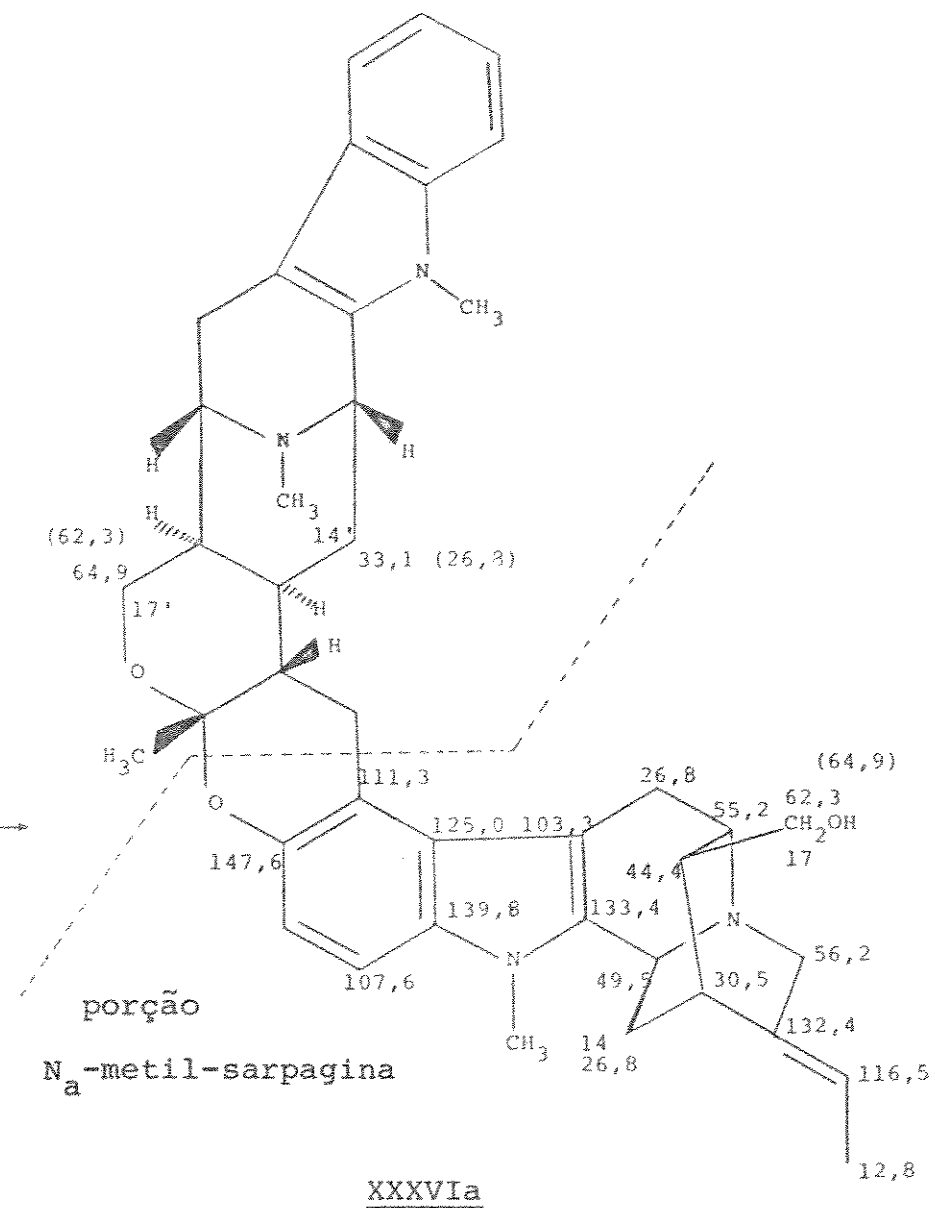
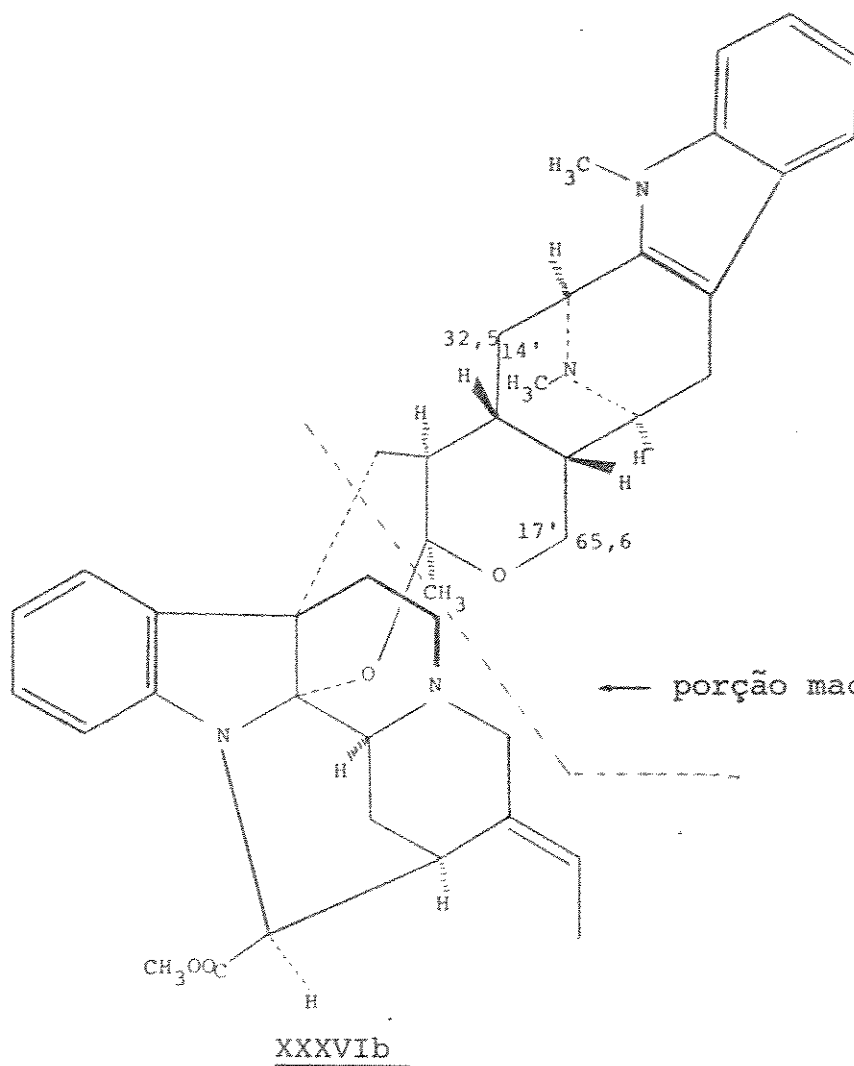
Quadro XVIII- RMN- ^{13}C de voacalotina IIc, afinisina IIId e normacusina-B IIb

Os deslocamentos químicos dos grupos CH_2 (64,7 ppm) ligado ao C-16 e dos C-6 (27,1 ppm) e C-14 (32,7 ppm) da afinisina IIId estão em campo mais baixo, que os mesmos carbonos na voacalotina IIc. Isto pode ser explicado se verificarmos que se o grupo ligado ao C-16 estiver em posição endo em relação ao anel indólico, ele terá uma interação não ligante hidrogênio-hidrogênio com o C-14 do tipo γ gauche e estará eclipsado com o C-6, o que leva à proteção destes grupos. Este efeito também é observado nos compostos isolados de Gardneria mutans¹¹² (Quadro XIV). A mudança da posição do grupo CH_2OH ligado ao C-16, de endo para exo em relação ao núcleo indólico, quando vamos da gardnerina III (Quadro XIV) para 16-epigardnerina IIO (Quadro XIV), provoca desproteção dos C-16, C-14 e CH_2OH de 4,5 ppm, 6,5 ppm e 4,2 ppm, respectivamente.

Em nossa revisão bibliográfica encontramos um alcalóide bis-indólico, a macralstonidina¹¹⁴ XXXVIa que é formada por uma porção do tipo sarpagina e uma porção macrolina. Neste alcalóide, o substituinte do C-16 da metade sarpagina está em posição exo em relação ao núcleo indólico e no entanto os deslocamentos químicos atribuídos aos C-14 (26,8 ppm) e C-17 (62,3 ppm) não estão coerentes com a estereoquímica apresentada. De acordo com as tendências observadas para os nossos compostos (Quadro XVIII) e para aqueles isolados de Gardneria mutans¹¹² (Quadro XIV) estes deslocamentos são característicos dos C-14 e C-17, quando o grupo CH_2OH está em do em relação ao núcleo indólico. Porém, o deslocamento do C-6 (26,8 ppm) na macralstonidina XXXVIa é compatível com a posição exo do substituinte do C-16.

Estas discrepâncias nos levaram a um exame cuidadoso de toda a estrutura da macralstonidina XXXVIa.

Através de modelos moleculares Dreiding, verificamos que



a porção macrolina ligada aos C-9 e C-10 da metade sarpagina fica distante dos C-14 e C-16 e estes não deveriam ter seus deslocamentos químicos afetados, quando passamos do monômero para o dímero.

Observando os deslocamentos químicos dos C-17' (64,9ppm) e C-14' (33,1 ppm) verificamos que estes estariam mais coerentes com a estereoquímica proposta para o C-16, se estes deslocamentos fossem atribuídos aos C-17 e C-14, respectivamente, na porção sarpagina.

As atribuições feitas para a macralstonidina XXXVIa foram utilizadas como modelo para a atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos da porção macrolina do alcalóide bis-indólico denominado villalstonina XXXVIb e nesta molécula os deslocamentos químicos dos C-17' e C-14' são 65,6 ppm e 32,5 ppm, respectivamente.

Certamente as atribuições dos carbonos na macralstonidina XXXVIa foram feitas de modo a concordarem com os da villalstonina XXXVIb, porém, neste último alcalóide a porção macrolina tem maior interação com a porção 2,7-dihidropleiocarpina e poderíamos esperar variações nos deslocamentos químicos da porção macrolina, quando comparamos os dois compostos.

Na macralstonidina XXXVIa a ligação é feita nos carbonos 9 e 10 do núcleo indólico, o que deixa a porção macrolina afastada dos carbonos alifáticos da porção sarpagina.

Por isso, sugerimos a atribuição de 64,9 ppm para o C-17 e 33,1 ppm para o C-14, em vista dos deslocamentos químicos encontrados na literatura¹¹² (Quadro XIV) e dos nossos próprios (Quadro XVIII) para compostos tipo sarpagina.

3d. Alcalóides quaternários

Cloreto de N_b-metilafinisina XXVIId

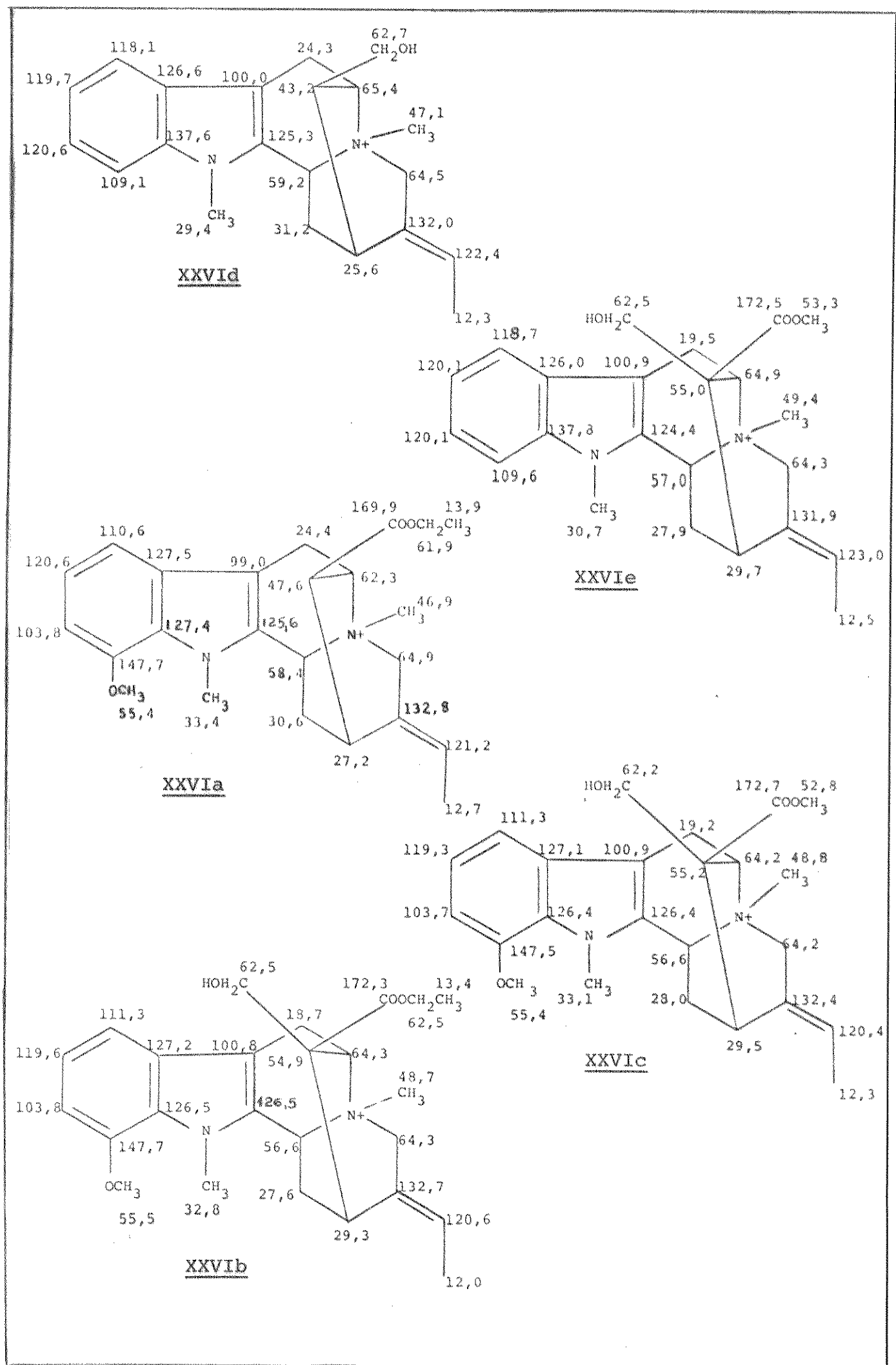
A síntese do derivado quaternário da afinisina IIId foi realizada para que pudessemos usá-lo como padrão na atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos, dos sais naturais, isolados de Peschiera fuchsiaeefolia.

Na região dos carbonos sp^2 o espectro (Figura XLIX) (Quadro XIX) apresenta cinco picos correspondentes a C-quaternários e cinco picos correspondentes a CH. Os deslocamentos dos C-8, C-9, C-10, C-11, C-12 e C-13 não devem sofrer muita variação com a formação do sal e a eles foram atribuídos deslocamentos próximos aos da afinisina IIId (Quadro XVIII).

Os outros carbonos dessa região (Quadro XIX) sofrem maiores alterações, que foram atribuídas à formação do sal. O C-7 sofre uma pequena proteção de 3,4 ppm. Atribuindo-se o valor de 125,3 ppm ao C-2 e 132,0 ppm ao C-20, notamos que estes dois carbonos sofrem proteção de 10,3 ppm e 5 ppm, respectivamente. Como eles estão em mesma posição em relação ao nitrogênio positivo (separados por duas ligações), achamos que deveriam sofrer os mesmos efeitos com a formação do sal. A proteção adicional de 5 ppm para o C-2 pode ser explicada porque este carbono tem uma relação γ_{gau} com o metila adicional ($N_b^+-CH_3$), levando a interações não ligantes do tipo hidrogênio- ligação π .

Ao C-19 foi atribuído o valor de 122,4 ppm ou seja uma desproteção de 6,2 ppm (Quadro XIX).

Na região dos carbonos não aromáticos temos 4 CH, 4 CH₂ e 3 CH₃. Comparando-se com a afinisina IIId (Quadro XVIII), a atribuição dos metilas é facilitada por que o metila adicional apare-



Quadro XIX RMN-¹³C dos alcalóides quaternários

ce em 47,1 ppm e foi atribuído ao $N_b^+-CH_3$. Os outros dois metilas não sofrem grandes variações, com o C-18 em 12,3 ppm e o N_a-CH_3 em 29,4 ppm (Quadro XIX). Os metinos aparecem em regiões bastante distintas, com os C-15 e C-16 em regiões mais protegidas que os C-3 e C-5. Ao C-15 atribuímos o valor de 25,6 ppm ($\Delta\delta = -1,7$ ppm) e ao C-16 43,2 ppm ($\Delta\delta = -0,9$ ppm) (Quadro XIX).

Os C-3, C-5 e C-21 estão ligados ao N_b^+ e mantêm a mesma relação com o CH_3 adicional e seria de se esperar que sofressem os mesmos efeitos de desproteção. Assim, ao C-5 atribuímos o valor de 65,4 ppm ($\Delta\delta = +11$ ppm) ao C-3 59,2 ppm ($\Delta\delta = +10$ ppm) e o C-21 64,5 ppm ($\Delta\delta = +8,5$ ppm).

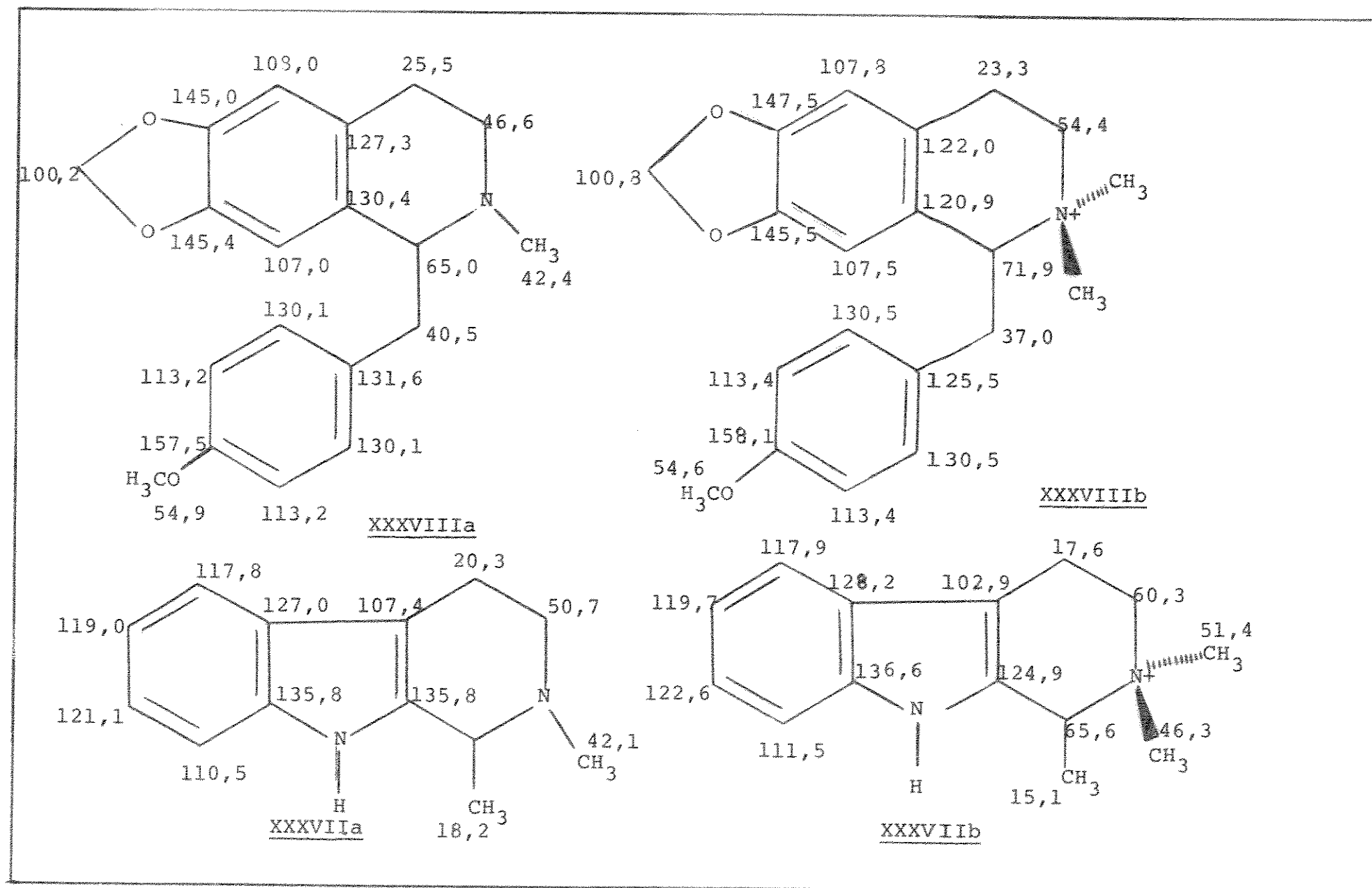
Com estas atribuições resta o valor de 62,7 ppm para o CH_2 ligado ao C-16. Neste carbono houve uma proteção de 2 ppm em relação ao mesmo carbono na afinisina IId. Não há motivo aparente para que a formação do sal influencie no deslocamento deste carbono e poderíamos pensar que os deslocamentos dos C-21 e CH_2OH poderiam ser invertidos.

Com a análise dos sais naturais isolados e do iodeto de N_b -metilvoacalotina XXVIe ficou claro que o C-21 tem deslocamento de 64,5 ppm e o CH_2OH tem deslocamento de 62,7 ppm.

Faltando atribuir os C-6 e C-14 notamos que o metila adicional fica em relação γ -gauche com o C-6 e em relação antiperiplanar com o C-14. Atribuímos portanto o valor de 24,3 ppm ao C-6 ($\Delta\delta = -2,8$ ppm) enquanto que o C-14 com um valor de 31,2 ppm varia de apenas 1,5 ppm.

Os efeitos observados para os C-2, C-3, C-5, C-6 e C-7 foram igualmente notados para os carbonos correspondentes em sistemas do tipo isoquinolínicos XXXVIII e tetrahydroharmano XXXVII.

Quando comparamos 1(p-metoxibenzil)-6,7-metilenodioxitetrahydroisoquinolina¹¹⁵ XXXVIIIa e seu sal XXXVIIIb (Quadro XX)



Quadro XX RMN- ^{13}C de sistemas do tipo isoquinolínicos e tetrahidroharmano

vemos que os C-4, C-4a e C-8a foram protegidos de 2,2 ppm, 5,0 ppm e 9,5 ppm enquanto que os C-1 e C-3 foram desprotegidos de 6,9 ppm e 7,8 ppm, respectivamente.

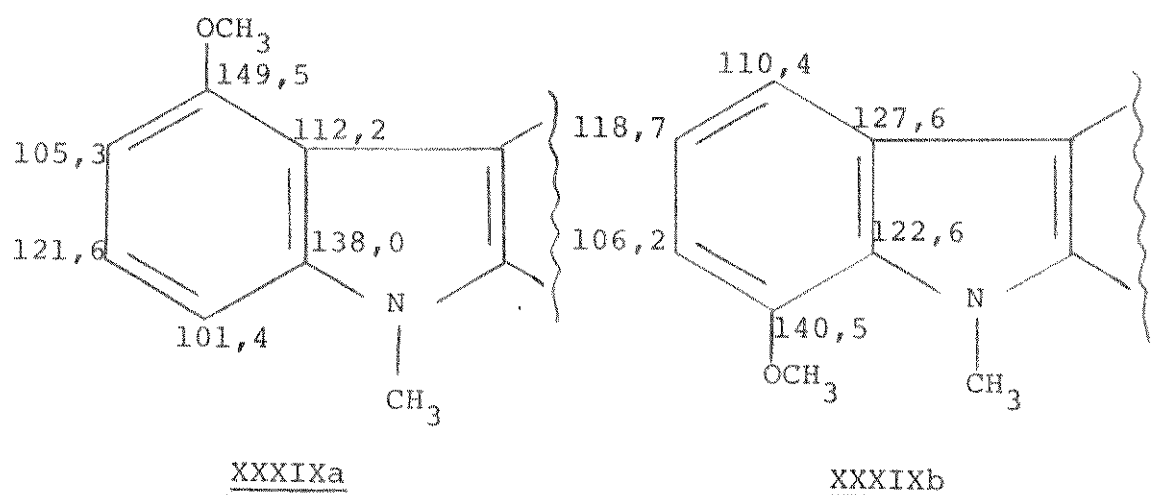
No tetrahidroharmano XXXVIIa e seu sal ¹¹³XXXVIIb (Quadro XX) vemos efeitos semelhantes nos C-7, C-2, C-3, C-5 e C-6.

Fuchsiafolina XXVIA (Figura L) (Quadro XIX)

A atribuição dos carbonos do cloreto de N_b-metilafinisi-
na XXVID (Quadro XIX) foi de grande utilidade na interpretação
dos deslocamentos químicos dos sais naturais isolados de Peschie-
ra fuchsiaefolia.

Os três alcalóides quaternários isolados são indóis subs-
tituídos por metoxilas. O espectro de UV indicou a posição 12 pa-
ra a metoxila e isto foi confirmado por RMN-¹³C. Para utilizar es-
ta técnica para confirmar a posição da metoxila, utilizamos o fa-
to de que na região dos aromáticos a determinação da posição da
metoxila, pode ser feita com o uso de parâmetros de substituição
de um grupo metoxila¹¹⁶ no indol: C-α=+31,4 ppm, C-o=-14,4 ppm ,
C-m=+1,0 ppm, C-p=-7,7 ppm.

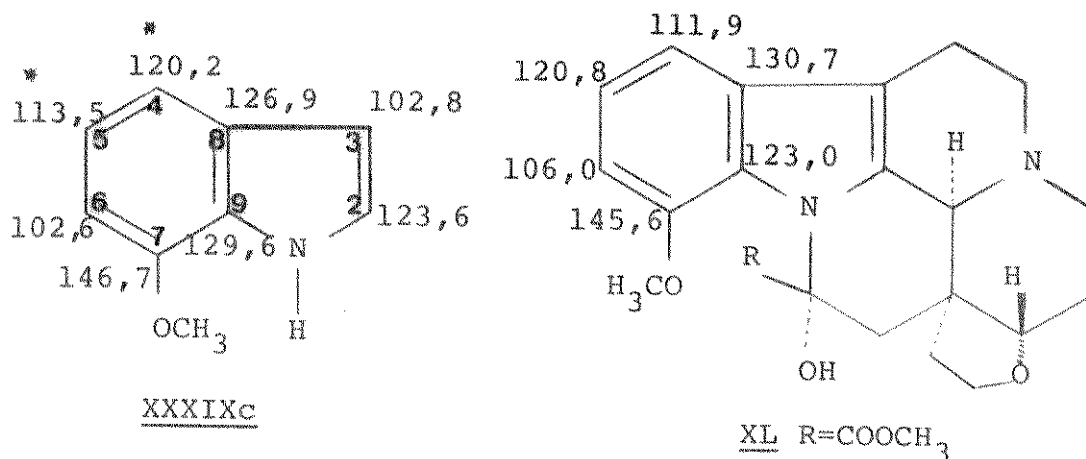
Usando o sal da afinisina XXVID (Quadro XIX) como modelo,
calculamos todas as possibilidades teóricas e as duas substituições
que mais se encaixam com os nossos dados são a 9-metoxisubstituída
XXXIXa ou 12- metoxi-substituída XXXIXb.



Dentre estas duas a que mais se aproxima de nossos dados
é a estrutura XXXIXb , pois a estrutura XXXIXa pode ser despreza-
da pela falta do sinal de carbono quaternário à 112 e 138 ppm dos

C-8 e C-13, além da falta de CH próximo à 101 ppm. Apesar dos sinais nos C-12 e C-13 na estrutura escolhida serem discrepantes de aproximadamente 7 ppm na fuchsiafolina, devemos lembrar que a proximidade dos grupos metoxila e metila nesta estrutura podem alterar os valores experimentais e estes se afastarem do teórico.

Além disso, comparamos os deslocamentos químicos observados na porção indólica da fuchsiafolina XXVIa (Quadro XIX) com os valores apresentados para o 7-metoxiindol XXXIXc^{116a} e para a parte indólica da cuazina XL^{116b} e verificamos que a nossa atribuição está coerente com estes dados*.



A estereoquímica do C-16 foi determinada como sendo exo, baseando-se nos deslocamentos dos C-6 e C-14 com valores de 24,4 ppm e 30,6 ppm, respectivamente, coerentes com os do sal da afinisina XXVIa (Quadro XIX).

12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc (Figura LI)

Êster etílico de 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIb (Figura LII)

Iodeto de N_b-metilvoacalotina XXVIe (Figura LIII)

A região indólica dos sais naturais 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc e êster metílico de 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIb (Quadro XIX) é muito semelhante ao sal discutido anteriormente a fuchsiafolina XXVIA (Quadro XIX) e os deslocamentos químicos foram atribuídos por comparação, bem como a posição da metoxila em 12 (Quadro XIX).

A diferença básica entre estes dois compostos XXVIc e XXVIb e o sal XXVIA é que neste último o C-16 é monossustituído e nos dois primeiros é dissustituído.

A dissustituição dos sais naturais pode ser claramente constatada por espectroscopia de massa e é confirmada pelos deslocamentos químicos dos C-6 e C-14 que estão protegidos de 5,7 ppm e 3,0 ppm em relação ao sal monossustituído XXVIA (Quadro XIX), variações coerentes com interações eclipsada e gauche que o grupo adicional introduz nestes carbonos.

Nosso objetivo ao estudar a RMN-¹³C destes compostos foi o de confirmar a configuração do C-16, que havia sido proposta pelo deslocamento químico da metoxila em RMN-¹H para o 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc. A configuração do C-16 no composto XXVIb foi proposta em analogia ao 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc, pois acreditamos que o primeiro sal é um artefato do último

Este objetivo foi alcançado, através da comparação direta dos deslocamentos químicos dos carbonos destes sais, com os do iodeto de N_b-metilvoacalotina XXVIe obtido a partir de voacalotina.

De fato, quando comparamos os deslocamentos do CH₂OH e

e da carbonila (Quadro XIX) nos dois sais naturais XXVib e XXVic com os do sal da voacalotina XXVie, verificamos que a atribuição da estereoquímica dos sais naturais está coerente.

O fato da carbonila ser protegida de 3,5 ppm quando passamos da voacalotina para seu sal, nos dá mais uma evidência para que a atribuição dos carbonos no sal da afinisina esteja correta, isto é, que o grupo CH_2OH neste último composto seja protegido de 2 ppm (Quadro XIX).

Desta forma e por esta técnica pudemos estabelecer definitivamente a estrutura dos três alcalóides indólicos novos, tendo inclusive determinado toda a sua estereoquímica.

Capítulo IV

Parte Experimental

1. Material e métodos

Os pontos de fusão foram obtidos em placa de aquecimento segundo Kofler, instalada em um microscópio modelo Thermopan (C. Reichert Optische Werke A.G.).

Os espectros na região do infra-vermelho foram feitos num espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo 337, em celas de KBr para líquidos, usando-se CHCl_3 como solvente.

Os espectros de RMN- ^1H foram obtidos em um espectrômetro Varian modelo T-60. Os deslocamentos são dados em ppm, usando-se TMS como referência interna a $\delta=0$ e CDCl_3 como solvente.

Os espectros de RMN- ^{13}C foram obtidos no espectrômetro da Varian XL-100-1S-FT (25,2 MHz) com Transformada de Fourier. O solvente usado foi CDCl_3 e TMS como referência interna.

Os espectros de massa foram obtidos no espectrômetro MAT 311 a 70 eV.

Os valores de rotação óptica foram medidos em um polarímetro Carl Zeiss, com lâmpada de Na (raia D) usando-se CHCl_3 como solvente.

Usamos um espectrofotômetro DMR-21 para obtenção dos espectros na região do UV e etanol como solvente.

Para cromatografia em camada delgada de sílica, usamos sílica-gel $\text{HF}_{254,366}$ da Merck (0,25 mm) ou alumina neutra (A. I).

A visualização dos alcalóides foi feita através de absorção em luz UV (250 e 350 nm), pulverização com reagente de Dragendorff (coloração alaranjada para alcalóides) e solução de H_2SO_4 : MeOH (1:1) seguida de aquecimento da placa.

Para cromatografia em camada preparativa de sílica-gel usamos sílica-gel 60PF_{254,366} da Merck, com espessura de 1mm.

2. Coleta do Material e obtenção dos extratos

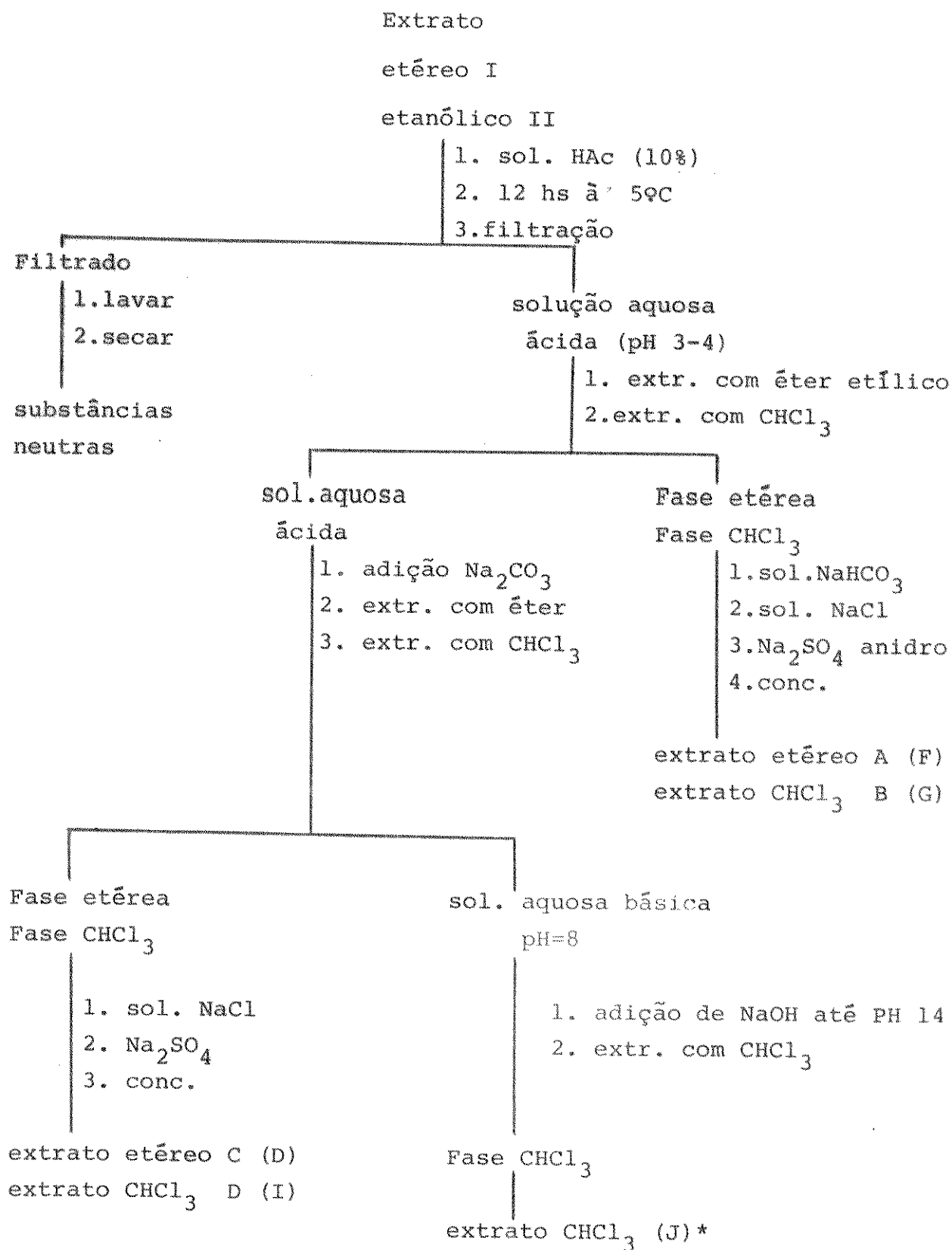
Amostras da espécie Peschiera fuchsiae foram coletadas próximo à Cidade Universitária da UNICAMP e a casca depois de separada da madeira, foi deixada ao ar livre para secar. O material foi moído e tratado com solução saturada de NaHCO_3 (pH=8) e extraído em extrator Soxhlet com éter etílico e em seguida com etanol.

As soluções etérea e etanólica assim obtidas foram concentradas e os extratos etéreo I e etanólico II foram tratados segundo o Esquema IV.

As extrações foram feitas até que o teste de Mayer desse negativo.

As quantidades obtidas a partir de 2924 gramas de casca estão resumidas na Tabela V.

Foram estudados os extratos com maior quantidade de material.



* as letras entre parenteses referem-se ao extrato etanólico II

Esquema IV Tratamento dos extratos

Extrato etéreo da casca				
	pH	Nome	Quantidade (gr)	%
extr. etéreo	3-4	A	6,65	0,23
extr. CHCl ₃	3-4	B	18,14	0,62
extr. etéreo	8-9	C	8,52	0,29
extr. CHCl ₃	8-9	D	0,25	0,01
Extrato etanólico da casca				
	pH	Nome	Quantidade	%
extr. etéreo	3-4	F	2,54	0,08
extr. CHCl ₃	3-4	G	11,82	0,40
extr. etéreo	8-9	H	0,14	-
extr. CHCl ₃	8-9	I	2,58	0,09
extr. CHCl ₃	14	J	0,27	0,01

Tabela V - Quantidade de alcalóides da casca

3. Isolamento e purificação dos alcalóides

Extrato A

Submetemos 2,96 gr deste extrato à cromatografia em coluna ($\phi_1=3,7$ cm) de sílica-gel (151,4 gr; $O = 0,05-0,20$ mm), iniciando a eluição com CHCl_3 e aumentando a polaridade com MeOH. Recolhemos 37 frações de 100 ml que foram reunidas conforme se apresentaram em C.C.D. de sílica-gel e estão resumidas na Tabela VI.

Frações	Solvente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1-17	100: 0	1- 4	0,0198	-
		5	0,2030	RB14.2
		7	0,4538	RB14.2 +RB14.3
		6-12	1,4177	RB14.2 +RB14.3
		13-15	0,1295	RB14.1
18-19	95: 5	16-17	0,1377	RB14.1 +RB24.4
		20-22	0,3719	RB14.1
		23-27	0,2037	RB24.4 +RB32.6
30-33	90: 10	30-33	0,0222	-
			2,9593	

Tabela VI- Coluna do Extrato A

Desta cromatografia estudamos as frações 5, 7, 6-12 e 20-22. As demais frações foram comparadas por C.C.D. com os compostos posteriormente isolados, à fim de determinarmos seus componentes.

Frações 5 e 7

As frações 5 e 7 foram purificadas através de C.C.E. de sílica-gel (1 mm), usando-se como solventes CHCl_3 :Hex.(1:1; atm. NH_3) e CHCl_3 , respectivamente. Desta maneira, isolamos 0,1530 gr do composto codificado como RB14.2 que cristalizado de MeOH forneceu cristais em forma de agulhas e identificado como voacangina IVf. Da fração 7 isolamos ainda 0,0490 gr de outro composto denominado RB14.3 e identificado como voacngina-hidroxiindolenina Vb.

Fração 20-22

A fração 20-22 através de cristalização forneceu 0,0736 gr de cristais em forma de agulhas do composto RB14.1, identificado como voacamina Ia.

Fração 6-12

A fração 6-12 foi recromatografada em coluna de sílica - gel eluindo-se com benzeno e aumentando-se a polaridade com MeOH. Isolamos 0,1 gr de RB14.2 e a fração principal denominada 8-20 (0,7449 gr; duas substâncias) foi purificada utilizando-se uma coluna de alumina neutra (70 gr; A.I) e os resultados estão resumidos na Tabela VII.

Frações	Solvente Bz:CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1- 5	100: 0: 0			
6- 11	99: 1: 0			
12- 15	98: 2: 0			
16- 20	95: 5: 0	1- 31	0,0127	-
22- 29	90: 10: 0			
30- 37	80: 20: 0	32- 49	0,2022	RB14.2 +RB14.3
38- 63	70: 30: 0			
64- 76	60: 40: 0	50- 69	0,1870	RB14.2 +RB14.3
77- 90	50: 50: 0			
91-101	25: 75: 0	70-112	0,1054	RB14.3
102-110	0:100: 0			
111-118	0: 95: 5	113-119	0,1798	-
119	0: 90: 10			
			0,6871	

Tabela VII- Coluna da Fração 8-20

Frações 32-49 e 50-69

Estas frações forneceram, após cromatografia em camada preparativa de sílica-gel utilizando-se como solvente Bz: CHCl₃ (30:70; atm de NH₃) para a fração 32-49 e Bz:CHCl₃ (1:1;atm. NH₃) para a fração 50-69, 0,1574 gr de RB 14.2 e 0,0673 gr de RB14.3.

Fração 70-112

Esta fração foi aplicada em duas placas preparativas de sílica-gel, que foram eluidas sucessivamente, primeiro com BZ:CHCl₃ (1:1; atm. NH₃; 2x) e em seguida com Bz:CHCl₃ (40:60; atm. NH₃). Isolamos desta fração 0,0225 gr de RB14.3.

Extrato B

O espectro de massa do extrato B revelou que este continha alcalóides bis-indólicos (PM 650-720) e alcalóides monômeros (PM 300-400).

Fizemos uma separação prévia destes dois grupos de alcalóides, utilizando filtração em gel de Sephadex LH-20.

Preparamos a coluna ($\phi_i = 4$ cm) da maneira usual como uma coluna de sílica-gel usando 200 gr de Sephadex LH-20 e CHCl_3 - MeOH (90:10) como solvente. A coluna foi compactada 24 horas antes de ser utilizada.

O extrato B foi dividido em três porções de aproximadamente 5 gr cada uma e estas foram adicionadas na coluna, em forma de solução, usando-se como solvente a mesma mistura eluente (CHCl_3 :MeOH; 90:10).

Recolhemos frações de 20 ml que foram reunidas conforme se apresentaram em cromatografia de camada delgada de sílica-gel e os resultados da 1ª coluna de Sephadex são apresentados na Tabela VIII.

Frações reunidas	Quantidade (gr)	composição
1- 4	0,0202	-
5- 8	0,1123	-
10	0,4325	RB14.1+RB24.4
9-13	1,6090	RB14.1+RB24.4+RB28.5
14-15	0,9768	RB14.1+RB24.4
16-20	1,6832	RB119.14+RB32.6
21-23	0,4245	RB32.6
24-28	0,0639	-
29-36	0,5833	-
	5,9057	

Tabela VIII- Primeira coluna de Sephadex

Desta coluna foram estudadas as frações 10, 9-13, 16-20 e 21-23. As demais frações foram comparadas por cromatografia em camada delgada de sílica-gel, com os compostos posteriormente isolados.

Fração 10

Esta fração (0,3399 gr) foi submetida a C.C.E. de sílica-gel (solv. CHCl_3 :MeOH;98:2; atm. NH_3) tendo sido isolado 0,1337gr de RB14.1 (voacamina Ia) e 0,0841 gr de RB24.4, identificado como desmetilvoacamina.

Fração 9-13

Esta fração, mais o restante da fração 10 (total= 1,7016 gr) foi recromatografada em coluna de sílica-gel (86,8 gr) usando-se benzeno como solvente inicial e aumentando-se a polaridade com CHCl_3 e depois com MeOH. Recolhemos 80 frações de 100 ml que foram reunidas conforme se apresentaram em C.C.D. de sílica-gel. Os resultados estão resumidos na Tabela IX.

Frações	Solvente Bz:CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1- 6	100: 0: 0	1-43	-	-
7-11	90: 10: 0	44-48	0,3899	RB14.1
12-17	80: 20: 0	49-53	0,1386	RB14.1
18-22	50: 50: 0	54-55	0,0770	-
23-29	0:100: 0	57-61	0,3008	RB24.4
30-37	0:99,5:0,5	62-65	0,2880	RB24.4+RB28.5
38-49	0: 99: 1	66-78	0,2450	-
50-61	0: 98: 2	79	0,1005	-
62-71	0: 95: 5	80	0,1748	-
72-79	0: 90: 10			
80	0: 50: 50			
			1,7146	

Tabela IX- Coluna da fração 9-13

Desta coluna foram estudadas as frações 44-48, 49-53 e 62-65 e o método utilizado, bem como as substâncias isoladas são mostrados na Tabela X.

Fração	Método de purificação	Solvente	Composto isolado	Quant. (gr)
44-48	cristalização	MeOH	RB14.1	-
49-53	C.C.E.	CHCl ₃ (atm. NH ₃)	RB14.1	0,0626
62-65	C.C.E.	CHCl ₃ :MeOH (97:3)	RB28.5	0,0780
			RB24.4	0,1485

Tabela X - Frações da coluna da fração 9-13

A fração 57-61 (da Tabela IX) através de C.C.D.de sílica-gel e RMN-¹H demonstrou ser idêntica ao composto RB24.4 (desmetilvoacamina).

Fração 16-20

A fração 16-20 (da Tabela VIII) foi submetida a cromatografia em coluna ($\phi_1 = 2,7$ cm) de sílica-gel (85,0 gr). Recolhemos 99 frações de 100 ml que foram reunidas conforme se apresentaram em cromatografia de camada delgada de sílica-gel. Os resultados estão resumidos na Tabela XI.

Frações	Solvente Bz:CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1- 5	100: 0: 0	1-15	0,0355	-
6-13	90: 10: 0	16-26	0,0614	-
14-20	80: 20: 0	27-43	0,0101	-
21-28	50: 50: 0	44-46	0,1111	-
29-35	0:100: 0	47-50	0,1264	-
36-51	0:99,5:0,5	51-53	0,1708	RB119.14
52-63	0: 99: 1	54-57	0,1289	RB119.14
64-74	0: 98: 2	58-61	0,0284	-
75-82	0: 95: 5	62-66	0,0581	-
83-92	0: 90: 10	67-69	0,1084	-
93-97	0: 80: 20	71-77	0,2979	RB32.6
98-99	0: 50: 50	78-80	0,1330	-
		81-99	0,1708	-
			1,5955	

Tabela XI Coluna da fração 16-20

As frações 51-53 e 54-57 foram purificadas através de C.C.E. de sílica-gel e forneceram 0,129 gr e 0,09240 gr de um composto denominado RB119.14 que após cristalização de benzeno forneceu cristais que foram identificados como voacalotina.

Após C.C.E. da fração 71-77 obtivemos 0,1653gr de RB32.6 que cristalizado de acetona foi identificado como afinisina.

Fração 21-23

Esta fração (da Tabela VIII), após sucessivas cromatografias em placa preparativa de sílica-gel (solv. CHCl₃:MeOH; 97:3; atm. NH₃), forneceu 0,1641 gr de um sólido amarelado que após cristalização de acetona demonstrou ser afinisina.

Para obtenção de maior quantidade de material, submetemos o restante do extrato B a uma filtração em gel de Sephadex e os

resultados estão resumidos na Tabela XII . Fizemos em duas etapas e depois as frações foram comparadas por C.C.D. de sílica-gel e reunidas.

Frações reunidas	Quantidade (gr)	Compostos isolados
B-1	0,0933	-
B-(2.3)	5,5570	RB14.1; RB36.7; RB24.4; RB28.5
B-4	3,0283	RB14.1; RB24.4; RB119.14
B-5	1,2976	-
B-6	0,0895	-
B-7	0,0504	-
B-8	1,8708	-
B-9	0,0499	-
	12,0368	

Tabela XII- Reunião das frações da 2ª e 3ª colunas de Sephadex

A fração B(2.3) foi cromatografada em coluna de sílica-gel iniciando a eluição com benzeno e aumentando a polaridade com CHCl_3 e depois com MeOH. Desta fração isolamos os alcalóides bis-indólicos que já haviam sido isolados (RB14.1, Rb24.4, Rb28.5) e outro que ainda não havia sido detectado (RB36.7). Este alcalóide foi eluido da coluna com mistura de CHCl_3 :MeOH (99:1) em uma fração contendo 0,420 gr de material. A fração foi recromatografada por C.C.E. de sílica-gel utilizando Hex: AcOEt (55:45) como solvente, tendo se recuperado 0,2062 gr do composto RB 36,7, como um sólido amorfo.

A fração B-4 foi também submetida a cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando CHCl_3 como solvente inicial e aumentando-se a polaridade com MeOH. As frações obtidas foram recromatografadas por C.C.E. de sílica-gel tendo sido isolados RB14.1, RB24.4 e RB119.14.

Extrato C

3,0050 gr deste extrato foram cromatografadas em coluna ($\phi_1 = 2,7$ cm) de sílica-gel (184,4 gr) e o resultado está resumido na Tabela XII.

Frações	Solvente CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1-11	100: 0	1- 4	0,0334	-
		37-38	0,0306	-
		39-41	0,1884	RB56.8
12-19	99,5:0,5	42-45	0,3018	RB56.8;RB56.9
		46-47	0,0700	RB56.9
		50-52	0,2917	RB32.6
20-30	99: 1	53-56	0,3188	RB28.5
		57-63	0,1942	RB28.5
		64-69	0,1908	RB28.5
31-48	98: 2	70-74	0,1972	-
		75-76	0.0840	-
49-61	95: 5	77-78	0,0966	-
		79-84	0,1898	-
62-	92: 8	85-88	0,0790	-
		89-92	0,1333	-
			2,3996	

Tabela XIII- Primeira coluna do Extrato C

Desta coluna foram estudadas as frações 39-41, 42-45 , 46-47, 50-52. 53-56, 57-63 e 64-69.

Estas frações foram recromatografadas por cromatografia em camada espessa de sílica-gel, utilizando CHCl₃:MeOH (95:5) como solvente e forneceram as substâncias indicadas na Tabela XIV.

Frações	Compostos isolados	Quantidade (gr)
39-41	RB56.8 perivina	0,1009
42-45	RB56.8 perivina	0,0390
	RB56.9 16-epiafinina	0,1608
46-47	RB56.9 16-epiafinina	0,0435
50-52	RB32.6 afinisina	0,2167
53-56	RB28.5 descarbometo- voacamina	0,0633
57-63	RB28.5 "	0,0531
64-69	RB28.5 "	0,0161

Tabela XIV - Frações da Coluna do Extrato C

Para obtenção de maior quantidade de perivina e 16-epiafinina submetemos 4,54 gr do extrato C a cromatografia em coluna de sílica-gel.

Extrato F

2,3331 gr do Extrato F foram cromatografadas em coluna ($\phi_1 = 3,5$ cm) de sílica-gel (150 gr) e retiramos 87 frações de 150 ml que foram reunidas conforme se apresentaram em C.C.D. de sílica-gel (Tabela XV)

Frações	Solvente CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1-22	100: 0	1- 5	0,0993	-
		6	0,1155	RB14.2
		7-12	0,7887	RB14.2;RB64.11
		13	0,0488	-
23-35	99,5:0,5	14-19	0,0886	-
		20-33	0,0211	-
		34-35	0,0550	RB14.2
36-51	99: 1	36-46	0,3098	RB14.2
		47-49	0,0353	-
52-61	98: 2	50-61	0,1735	-
		62-64	0,0241	-
62-71	95: 5	65-70	0,1185	-
72-79	90: 10	71-74	0,0343	-
80-86	80: 20	75-87	0,2559	-
87	75: 25			
			2,1684	

Tabela XV- Coluna do Extrato F

As frações 6, 7-12, 34-35 e 36-46 foram purificadas por cromatografia em placa preparativa de sílica-gel e os solventes u tilizados, bem como os compostos isolados encontram-se na Tabela XVI.

Fração	Solvente CHCl ₃ :MeOH	Composto isolado	Quantidade (gr)
6	100:0 (atm. NH ₃)	RB14.2	0,0500
7-12	99:1 (atm. NH ₃) 2x	RB14.2	0,6559
		RB64.11	0,1215
34-35	98:2 (atm. NH ₃)	RB14.2	0,0345
36-46	98:2	RB14.2	0,1016

Tabela XVI Frações da coluna do extrato F

Extrato G

O objetivo do estudo deste extrato, foi isolar os compostos de grande polaridade que foram detectados por cromatografia em camada delgada de sílica-gel e que não haviam sido observados nos outros extratos.

Dessa maneira foram isolados e caracterizados dois alcalóides quaternários. Os demais compostos foram identificados por comparação em cromatografia de camada delgada de sílica-gel, tendo em vista, que já haviam sido isolados dos outros extratos.

Assim, uma parte deste extrato (4,97 gr) foi submetida a cromatografia em coluna ($\phi_1=4,5$ cm) de sílica-gel (300 gr) e foram recolhidas 89 frações de 250 ml e os resultados estão resumidos na Tabela XVII.

As frações deste extrato estudadas foram: 27, 28, 59-60, 61-63, 64 e 65-69.

Frações	Solvente CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1- 5	100: 0	1-23	0,0444	-
6-13	99,5:0,5	24-25	0,0794	-
		26	0,1311	-
		27	0,2424	RB14.1
14-20	99: 1	28	0,2691	RB14.1
		29-32	0,4623	RB14.1;RB36.7
21-37	98: 2	33-34	0,0870	RB36.7
		35-40	0,1535	RB36.7
38-54	96: 4	41	0,3431	RB24.4;RB32.6
		42	0,3210	RB24.4;RB32.6
55-75	92: 8	43-46	0,3089	RB24.4;RB28.5
		47-58	0,3032	RB28.5
76-88	84: 16	59-60	0,1802	RB28.5;RB124.15
		61-63	0,4576	RB28.5;RB124.16
		64	0,0847	RB124.16
89	75: 25	65:69	0,4740	RB124.16
		70-72	0,1532	-
		73-77	0,1601	-
		78-79	0,1578	-
		80-88	0,3409	-
		89	0,1135	-
			4,8674	

Tabela XVII Coluna do Extrato G

Frações 27 e 28

Estas duas frações forneceram após cristalização de MeOH cristais incolores em forma de agulhas identificados como RB14.1 (voacamina).

Frações 59-60 e 61-63

Estas duas frações foram reunidas e submetidas à cromatografia em camada espessa de sílica-gel utilizando-se como solvente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (78:20:2) e aplicando-se aproximadamente 70 mg por placa. Desta forma isolamos 0,1174 gr do sal quaternário denominado RB124.15 e 0,1110 gr do sal RB124.16.

Fração 65-69

A fração 65-69 foi cromatografada em placa preparativa de sílica-gel usando como solvente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (78:20:2) tendo sido isolado 0,1603 gr de RB124.16.

Extrato I

Fizemos uma coluna ($\phi_1 = 3$ cm) de sílica-gel (100 gr) com 1,9327 gr do Extrato I. Recolhemos 120 frações de 100 ml que foram reunidas conforme se apresentaram em cromatografia de camada delgada de sílica-gel e os resultados estão resumidos na Tabela XVIII.

Frações	Solvente CHCl ₃ :MeOH	Frações reunidas	Quantidade (gr)	Composto isolado
1- 3	100: 0	1- 17	0,0456	-
4- 14	98: 2	18- 32	0,0543	-
15- 24	96: 4	33- 34	0,0420	-
25- 35	94: 6	35- 38	0,2863	RB124.16;RB133.18
		39- 41	0,3129	RB133.18
36- 45	92: 8	42- 50	0,2433	RB133.18
		51- 56	0,1288	-
46- 64	90:10	57- 59	0,0524	-
		60- 65	0,0692	-
65- 78	88:12	66- 70	0,0644	-
		71- 74	0,0420	-
79- 98	85:15	75- 90	0,1424	-
		91- 93	0,0200	-
99-111	80:20	94- 98	0,0325	-
		99-108	0,0901	-
112-115	70:30	109-114	0,0674	-
116-120	50:50	115-120	0,0808	-
			1,7751	

Tabela XVIII Coluna do Extrato I

As frações 35-38 e 39-41 foram purificadas através de cromatografia em camada preparativa de sílica-gel tendo sido isolados RB124.16 e RB133.18. Tentativa de purificação da fração 51-56 através de cromatografia em coluna de celulose resultou infrutífera.

Fração 35-38

Purificação desta fração através de C.C.E. de sílica-gel utilizando CHCl₃:BuOH:H₂O (100:100:3) e aplicando-se 60 mg por placa forneceu 0,0461 gr de RB124.16 e 0,1225 gr de RB133.18.

Fração 39-41

Esta fração foi purificada de maneira idêntica à anterior obtendo-se 0,2273 gr de RB 133.18.

A fração 42-50 por comparação com RB133.18 demonstrou conter esta substância com algumas impurezas.

4. Dados espectrais e constantes físicas

RB 14.1 voacamina Ia

pf=215 °C (decomp.) (crist. de MeOH) (lit⁷⁴=223 °C)

$[\alpha]_D^{25} = -52,8^\circ$ (0,0116 gr/ml; CHCl₃) (lit⁷⁴ = -50°)

UV: $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{etanol}}$ (log ϵ) : 225,4 (4,77); 286,5 (4,30); 293,8 (4,31)

IV: $\nu_{\text{máx.}}$ (cm⁻¹): 3450 (NH), 1710 (C=O)

RMN-¹H: (CDCl₃) δ ppm : 0,87 (3H,t,J=6Hz); 1,67 (d,J=6Hz); 2,47 (3H,s); 2,60 (3H,s); 3,63 (3H,s); 3,97 (3H,s); 4,97-5,37 (m); 7,50 (1H,s,l); 7,70 (1H,s,l).

EM: m/e(%): 718(32); 704(M,25); 673(14); 660(27); 646(18); 615(10); 351(9); 194(19); 182(32); 181(100); 180(82); 149(8); 148(8); 136(61); 135(19); 124(16); 122(82).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 11,5 (CH₃); 12,3 (CH₃); 19,8 (CH₂); 22,1 (CH₂); 26,6 (CH₂); 27,2 (CH); 31,8 (CH₂); 33,3 (CH); 36,2 (CH₂); 36,6 (CH₂); 37,4 (CH); 38,8 (CH); 41,9 (CH₃); 46,0 (CH); 49,8 (CH₃); 51,8 (CH₃); 52,0 (CH₂); 52,3 (CH₂); 53,0 (CH₂); 54,8 (C); 56,0 (CH₃); 56,9 (CH); 59,9 (CH); 99,1 (CH); 109,5 (CH); 109,6 (C); 109,6 (C); 110,1 (CH); 117,2 (CH); 118,7 (CH); 119,8 (CH); 121,3 (CH); 127,1 (C); 129,4 (C); 129,4 (C); 130,0 (C); 135,5 (C); 136,2 (C); 136,9 (C); 137,7 (C); 150,6 (C); 170,7 (C); 174,9 (C).

RB 14.1-H₂ dihidrovoacamina In

Dissolvemos 0,2063 gr de RB14.1 em aproximadamente 30 ml de etanol e adicionamos 32 mg de PtO₂. A pressão inicial de hidrogênio (44psi) após meia hora caiu para 40 psi e se manteve constante até o final da reação (6hs). O catalizador foi removido por filtração sobre celite, e a solução concentrada em evaporador rotativo, forneceu 0,1985 gr de um composto denominado RB14.1-H₂, que cristalizado de MeOH foi identificado como dihidrovoacamina.

pf = 210-212 °C (decomp, crist. de MeOH) (lit⁷⁸=213-215 °C)

$[\alpha]_D = +40,9^\circ$ (0,0104 gr/ml, CHCl₃) (lit⁷⁸ = +44°)

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}^{\text{etanol}}}$ (log ϵ): 226,2(4,75); 286,2(4,28); 293,7(4,28).

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm⁻¹): 3450 (NH); 1710 (C=O).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,93 (m), 2,47 (3H,s); 2,60 (3H,s); 3,63 (3H,s); 3,93 (3H,s); 7,48 (1H,s); 7,60 (1H,s).

EM:m/e (%): 720 (55); 706 (31); 675 (11); 662 (59); 648 (19); 619 (9); 617 (5); 604 (19); 524 (94); 511 (100); 466 (43); 453 (47); 393 (23); 196 (25); 182 (44); 136 (82); 135 (26); 124 (24); 122 (36).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 11,4 (CH₃); 11,6 (CH₃); 19,2 (CH₂); 22,2 (CH₂); 23,5 (CH₂); 26,7 (CH₂); 27,3 (CH); 31,4 (CH₂); 31,9 (CH₂); 32,8 (CH); 36,4 (CH₂); 37,2 (CH); 38,9 (CH); 42,4 (CH₃); 43,7 (CH); 49,5 (CH₃); 49,7 (CH₃); 49,7 (CH); 51,9 (CH₂); 52,3 (CH₂); 54,8 (C); 56,0 (CH₃); 57,0 (CH); 59,2 (CH); 99,0 (CH); 109,6 (CH); 109,8 (C); 110,3 (C); 110,5 (CH); 117,2 (CH); 118,6 (CH); 121,3 (CH); 127,0 (C); 129,6 (C); 130,0 (C); 130,3 (C); 135,6 (C); 136,9 (C); 137,5 (C); 150,8 (C); 171,5 (C); 175,0 (C); 53,0 (C).

RB 14.2 voacangina IVf

pf=136-138 °C (crist. de MeOH) (lit¹¹⁷=137-138 °C)

$[\alpha]_D = -32,3^\circ$ (0,0122 gr/ml; CHCl₃) (lit¹¹⁷ = -42°)

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}^{\text{etanol}}}$ (log ϵ): 225,4(4,57); 285,0(4,09)

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm⁻¹): 3440 (NH), 1720 (C=O)

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,93 (3H,t, J=6Hz); 3,75 (3H,s); 3,88 (3H,s); 6,81 (1H,dd; J_m=2Hz; J_o=8Hz); 6,93 (d, J=2Hz); 7,2 (1H,d, J_o=8Hz); 7,83 (1H, s, 1).

EM: m/e (%): 368 (M, 100); 353 (27); 339 (6); 309 (8); 283 (21); 244 (38); 184 (47); 160 (35); 136 (93); 124 (53); 122 (44).

RB 14.3 voacangina-hidroxiindolenina Vb

pf= 129-131 °C (crist. evaporação vagarosa de éter etílico) (lit⁷⁹
= 135-137 °C)

UV: $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{etanol}}$ (log ϵ): 223(4,22); 256(3,83); 292(3,81); 314(3,72)

IV: $\nu_{\text{máx.}}$ (cm⁻¹): 3420 (OH), 1740 (C=O).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,87(3H,t,J=6Hz); 3,73(3H,s); 3,87(3H,s);
6,87(dd,J_O=8Hz,J_m=2Hz); 7,00(d,J_m=2Hz); 7,43(d,J_O=8Hz).

EM:m/e(%): 384(M,100); 367(58); 325(10); 260(12); 218(17); 190(16); 176
(26); 162(20); 122(20).

RB24.4 desmetilvoacamina Ic

pf=223°C(decomp.) (crist. MeOH) (lit¹⁵=227°C)

$[\alpha]_D = -69,29$ (0,0108 gr/ml; CHCl₃) (lit¹⁵= -67°)

UV: $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{etanol}}$ (log ϵ): 226,9(4,78); 285,5(4,27); 293,3(4,26)

IV: $\nu_{\text{máx.}}$ (cm⁻¹): 3450(NH); 1730(C=O)

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,87(t,J=6Hz); 1,63(d,J=6Hz); 2,20(s,1 NH);
2,47(s,3H); 3,65(s,3H); 3,93(s,3H); 5,00-5,37(m); 7,53(s,NH); 7,73(s,
NH).

EM:m/e(%): 718(9); 704(22); 690(11); 672(16); 660(23); 646(49); 632(20);
615(47); 614(54); 600(40); 225(25); 194(30); 180(74); 149(51); 136(88);
135(91); 122(100) (acima de 600 a intensidade está multiplicada por
20).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 11,6(CH₃); 12,0(CH₃); 22,2(CH₂); 24,6(CH₂); 26,7
(CH₂); 27,3(CH); 31,9(CH₂); 34,1(CH); 36,3(CH₂); 36,3(CH₂); 37,1(CH);
38,9(CH); 44,1(CH₂); 49,8(CH₃); 50,0(CH₃); 51,8(CH₂); 52,3(CH); 53,0(CH₂);
53,3(CH); 54,8(C); 56,0(CH₃); 57,0(CH); 99,1(CH); 109,6(C); 109,7(CH);
110,2(C); 110,6(CH); 117,1(CH); 117,3(CH); 118,7(CH); 121,3(CH); 127,1
(C); 129,7(C); 129,7(C); 130,1(C); 135,5(C); 137,1(C); 137,6(C); 137,6(C);
140,1(C); 150,7(C); 171,0(C); 174,9(C);

RB 24.4H₂-dihidrodesmetilvoacamina Io

Desmetilvoacamina (0,2028 gr), em etanol(30ml), foi hidrogenada sobre óxido de platina (30 mg) à temperatura ambiente, e pressão inicial de H₂ de 22 psi. Após meia hora a pressão caiu a 19,5 psi e se manteve constante até o final da reação (4hs). O catalizador foi removido por filtração sobre celite, e a solução, concentrada em evaporador rotativo forneceu 0,2077 gr de um sólido amarelado. A mistura foi purificada através de cromatografia em placa preparativa de sílica-gel (sol: CHCl₃:MeOH (96:4), atm. NH₃) rendendo 0,1490 gr de RB24.4H₂, dihidrodesmetilvoacamina. pf=210 °C (decomp.) (crist. de MeOH)

UV: $\lambda_{\text{máx.}}$ (log ϵ): 226,8(4,68); 285,0(4,23); 293,0(4,22).

IV: $\nu_{\text{máx.}}$ (cm⁻¹): 3460 (NH); 1720 (C=O).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,93(t), 2,47(3H,s); 3,67(3H,s); 3,97(3H,s).

EM: m/e(%): 720(62); 706(44); 692(8); 690(12); 674(88); 661(36); 647(19); 646(19); 616(39); 604(35); 524(15); 511(14); 466(96); 453(94); 335(27); 196(10); 182(23); 148(48); 136(100); 122(27). (acima de 670 está multiplicado por 20).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 11,1(CH₃); 11,5(CH₃); 22,2(CH₂); 23,5(CH₂); 25,5(CH₂); 26,7(CH₂); 27,3(CH); 31,6(CH₂); 31,9(CH₂); 33,4(CH); 36,4(CH₂); 37,3(CH); 38,9(CH); 40,8(CH₂); 45,9(CH); 49,7(CH₃); 50,6(CH₃); 51,9(CH₂); 52,3(CH); 53,0(CH); 53,0(CH₂); 54,9(C); 56,0(CH₃); 99,2(CH); 109,6(CH); 109,8(C); 110,4(CH); 110,9(C); 117,3(CH); 118,7(CH); 121,3(CH); 127,1(C); 129,5(C); 130,1(C); 130,2(C); 135,7(C); 137,1(C); 137,5(C); 150,9(C); 171,3(C); 174,9(C).

RB 28.5 descarbometoxivoacamina Im

pf= 219 °C (decomp)

$[\alpha]_D = -69,19$ (CHCl₃, 0,00585 gr/ml)

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}$ (log ϵ): 228,4 (4,67); 286 (4,23); 293 (4,23).

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm⁻¹): 3450 (NH); 1720 (C=O).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,83 (t); 1,67 (d, J=6Hz); 2,47 (3H, s); 2,58 (3H, s); 3,93 (3H, s); 5,23 (m); 7,67 (s, 1).

EM: m/e (%): 660 (3); 646 (22); 279 (17); 225 (30); 194 (26); 182 (42); 180 (52); 167 (37); 149 (100); 136 (44); 122 (37); 111 (43).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm : 11,8 (CH₃); 12,2 (CH₃); 19,4 (CH₂); 20,6 (CH₂); 26,1 (CH); 27,6 (CH₂); 31,7 (CH₂); 33,4 (CH); 33,9 (CH₂); 336,1 (CH₂); 37,6 (CH); 40,0 (CH); 41,7 (CH); 42,1 (CH₃); 46,7 (CH); 49,7 (CH₃); 49,7 (CH₂); 52,2 (CH₂); 54,1 (CH₂); 55,9 (CH₃); 59,7 (CH); 98,5 (CH); 108,4 (C); 109,6 (CH); 110,0 (C); 110,0 (CH); 117,0 (CH); 118,6 (CH); 118,6 (CH); 121,2 (CH); 127,9 (C); 128,0 (C); 129,0 (C); 129,4 (C); 135,5 (C); 137,5 (C); 137,8 (C); 142,1 (C); 150,7 (C); 171,1 (C).

RB 32.6 afinisina IIId

pf=196-198 °C (crist. de acetona) (lit⁹⁴ = 193-194)

$[\alpha]_D = +33,59$ (CHCl₃; 0,0102 gr/ml) (lit=+32,7)⁹⁴

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}}$ (log ϵ): 228,4 (4,57); 276,8 (ombro, 3,76); 283,8 (3,84); 291,4 (ombro, 3,75).

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm⁻¹): 3550 (OH).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 1,57 (d, 3H, J=6Hz); 2,50 (s, OH); 3,57 (s, 3H); 5,30 (q, 1H, J=6Hz); 6,93-7,43 (m, aromático).

EM: m/e (%): 308 (M, 61); 277 (25); 263 (7); 196 (12); 183 (100); 182 (95).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 12,6 (CH₃); 27,1 (CH₂); 27,3 (CH); 29,2 (CH₃); 32,7 (CH₂); 44,1 (CH); 49,3 (CH); 54,4 (CH); 56,0 (CH₂); 64,7 (CH₂); 103,4 (C); 108,4 (CH); 116,2 (CH); 117,9 (CH); 118,5 (CH); 120,6 (CH); 127,1 (C); 135,6 (C); 137,0 (C); 139,3 (C).

RB127.17 cloreto de N_b-metilafinisinina XXVIId

Reação de N_b-metilação de afinisinina

Preparação do iodeto de N_b-metilafinisinina

Uma mistura de 0,1066 gr de RB32.6, 10ml de MeOH e 1ml de CH₃I, foram deixados sob agitação à temperatura ambiente durante 3 horas. A solução foi concentrada em evaporador rotativo até secar, rendendo 0,1502 gr de um sólido amorfo.

Preparação do cloreto de N_b-metilafinisinina

Deixou-se sob agitação durante 5 horas 0,1502 gr do sal obtido anteriormente com 0,0998 gr de AgCl em MeOH. Após este tempo o AgI foi filtrado. Evaporação da solução rendeu 0,1210 gr de um sólido denominado RB 127.17.

UV: $\lambda_{\text{máx.}}$ (log ϵ) (com relação ao cátion): 222,3(4,53); 274,5(3,79); 281,8(3,79); 290,5(3,69)

IV: $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹) : 3350 (OH);

RMN-¹H (100 MHz) (CDCl₃) δ ppm: 1,65 (3H,d,J=6Hz); 3,20(s), 3,71(3H,s); 4,31(1H,d,J=16Hz); 4,70(1H,d,J=16Hz); 5,42-5,64(m,2H); 7,07-7,54(m).

EM: m/e(%): 332(8); 308(72); 307(100); 293(7); 291(7); 277(17); 183(35); 182(47).

RMN-¹³C (CDCl₃+MeOH) δ ppm: 12,3(CH₃); 24,3(CH₂); 25,6(CH); 29,4(CH₃); 31,2(CH₂); 43,2(CH); 47,1(CH₃); 59,2(CH); 62,7(CH₂); 64,5(CH₂); 65,4(CH); 100,0(C); 109,1(CH); 118,1(CH); 119,7(CH); 120,6(CH); 122,4(CH); 125,3(C); 126,6(C); 132,0(C); 137,6(C).

RB 36.7 voacamidina Id

pf= 219°C (decomp.)

$[\alpha]_D = -112,8^\circ$ (CHCl₃; 0,0102 gr/ml) (lit¹⁵=-168°)

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}$ (log ϵ): 229,0(476); (287(4,29); 294,0(4,29)

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm⁻¹): 3450 (NH); 1720 (C=O).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 0,90(t); 1,65(d, J=6Hz); 2,45(3H,s); 2,67(3H,s); 3,08(3H,s); 3,76(3H,s); 5,35(1H,q); 7,57(NH); 7,85(NH).

EM:m/e(%): 718(10); 704(12); 673(3); 660(4); 646(4); 524(10); 511(5); 393(5); 379(4); 309(6); 194(16); 180(82); 136(45); 122(100).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 11,6(CH₃); 12,2(CH₃); 19,0(CH₂); 24,9(CH₂); 26,7(CH₂); 27,2(CH); 31,8(CH₂); 32,1(CH); 33,5(CH₂); 37,1(CH); 37,1(CH₂); 38,9(CH); 42,2(CH₃); 46,9(CH); 49,8(CH₃); 51,0(CH₂); 52,3(CH₂); 52,5(CH₃); 53,9(CH₂); 55,8(C); 57,8(CH₃); 58,2(CH); 59,8(CH); 109,0(C); 109,4(CH); 109,4(CH); 110,8(C); 112,5(CH); 116,9(CH); 118,5(CH); 118,5(CH); 120,5(CH); 126,2(C); 126,4(C); 129,9(C); 131,8(C); 134,9(C); 137,4(C); 137,9(C); 138,8(C); 152,2(C); 171,4(C); 175,5(C).

RB 56.8 Perivina IIIg

pf= 175-180°C (crist. de MeOH) (lit⁷⁸=178-180)

$[\alpha]_D = -109$ (CHCl₃, 0,0133gr/ml) (lit¹¹⁷= -121,4).

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}}$ (log ϵ) : 227,9(4,16); 315,5(4,15);

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm⁻¹) : 3450 (NH); 1720 (C=O), 1650 (C=O).

RMN-¹H (100 MHz) (CDCl₃): 1,64(d), 2,68(s); 2,92(s, diminui com D₂O) 5,32(m); 9,54(s, l, desaparece com D₂O).

EM: m/e(%): 338(31); 321(9); 279(7); 265(4); 237(6); 184(25); 172(31); 166(100).

RB 56.9 16-epiafinina IIIh

$[\alpha]_D = -180^\circ$ (CHCl_3 , 0,0097 gr/ml) (lit⁹¹ = -190°)

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}$ ($\log \epsilon$): 229,0 (4,13); 236,3 (4,16); 318,2 (4,22).

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm^{-1}): 3440 (NH); 3300 (OH); 1640 (C=O).

RMN- ^1H (CHCl_3) δ ppm: 1,66 (d, J=6Hz); 2,55 (s); 3,43 (s, OH); 5,5 (q, J=6Hz) 6,97-7,45 (m, arom\`atico), 9,57 (s, NH).

EM: m/e (%): 324 (3); 306 (41); 263 (6); 172 (4); 166 (3); 152 (100).

RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 12,0 (CH_3); 19,3 (CH_2); 31,2 (CH); 38,2 (CH); 41,7 (CH_3); 43,3 (CH_2); 51,9 (CH_2); 56,5 (CH); 66,7 (CH_2); 112,1 (CH); 120,2 (CH); 120,2 (CH); 120,4 (C); 121,2 (CH); 126,5 (CH); 128,1 (C); 134,4 (C); 135,2 (C); 136,3 (C); 189,5 (C).

RB 64.11 sinapato de etila XXVa

pf=76-78 $^\circ\text{C}$ (crist. etanol) (lit = 80-81 $^\circ\text{C}$)

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}}$ ($\log \epsilon$): 224,4 (4,83); 238,6 (4,83); 329,5 (4,84).

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm^{-1}): 3450 (OH), 1700 (C=O).

RMN- ^1H (CDCl_3) δ ppm: 1,27 (3H, t, J=6Hz); 3,70 (6H, s); 4,10 (2H, q, J=6Hz) 5,93 (1H, d, J=16Hz); 6,4 (2H, s); 7,2 (1H, d, J=16Hz).

EM: m/e (%): 252 (100); 226 (31); 222 (19); 212 (61); 181 (34); 180 (37); 151 (15).

RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 14,2 (CH_3); 56,2 (CH_3); 56,2 (CH_3); 60,3 (CH_2); 104,9 (CH); 104,9 (CH); 115,8 (CH); 125,7 (C); 136,9 (C); 144,6 (CH); 147,0 (C); 166,9 (C).

RB 119.14 voacalotina IIc

pf= 219-220 °C (crist. de Bz) (lit⁴⁰ = 219-220 °C)

$[\alpha]_D = -69$ (CHCl₃) (lit¹¹⁷ = -39)

UV: $\lambda_{\text{máx.}}$ (log ϵ): 277 (3,85); 284 (3,87); 293 (3,83).

IV: $\nu_{\text{máx.}}$ (cm⁻¹): 1720 (C=O).

RMN-¹H (CDCl₃) δ ppm: 1,62 (d, J=6Hz); 2,25 (s, OH); 3,63 (s, 3H); 3,77 (s, 3H); 5,38 (m); 7,8 (m, aromático).

EM: m/e (%): 366 (100); 335 (41); 307 (17); 263 (56); 183 (54); 182 (42).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 12,7 (CH₃); 22,2 (CH₂); 28,2 (CH₂); 29,1 (CH₃); 30,2 (CH); 47,7 (CH); 51,9 (CH₃); 53,2 (C); 53,5 (CH); 55,7 (CH₂); 62,9 (CH₂); 104,8 (C); 108,5 (CH); 115,7 (CH); 118,0 (CH); 118,6 (CH); 120,7 (CH); 125,9 (C); 136,0 (C); 136,9 (C); 138,1 (C); 176,0 (C).

Reação de N_b-metilação de voacalotina

RB137.19 Iodeto de N_b-metilvoacalotina XXVIe

Deixamos sob agitação 0,1001 gr de voacalotina em 8 ml de MeOH e 1,5 ml de CH₃I. A reação foi acompanhada por C.C.D. de sílica-gel, até desaparecimento completo do produto de partida. Após duas horas, concentramos a solução até a secura, obtendo-se 0,1548 gr do sal iodeto de N_b-metilvoacalotina (RB137.19).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ ppm: 12,5 (CH₃); 19,5 (CH₂); 27,9 (CH₂); 29,7 (CH); 30,7 (CH₃); 49,4 (CH₃); 53,3 (CH₃); 55,0 (C); 57,0 (CH); 62,5 (CH₂); 64,3 (CH₂); 64,9 (CH); 100,9 (C); 109,6 (CH); 118,7 (CH); 120,1 (CH); 120,1 (CH); 123,0 (CH); 124,4 (C); 126,0 (C); 131,9 (C); 137,8 (C); 172,5 (C).

RB 124.15 fuchsiafolina XXVIa

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}}$ ($\log \epsilon$): 225,6 (4,66); 269,4 (3,90); 283,5 (3,80); 293,5 (3,73) (em relaçaõ ao PM do c\^a tion)

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm^{-1}): 3400 (OH), 1720 (C=O).

RMN- ^1H (CDCl_3) δ ppm: 1,26 (3H, t, J=6Hz); 1,65 (3H, d, J=6Hz); 3,45 (3H, s); 3,97 (3H, s); 4,07 (3H, s).

EM: m/e (%): 395 (3); 394 (10); 381 (86); 380 (100); 379 (92); 366 (61); 365 (72); 351 (55); 335 (31); 307 (82); 293 (37); 280 (18); 279 (19); 226 (19); 213 (87); 212 (97); 197 (59).

RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 12,7 (CH_3); 13,9 (CH_3); 24,4 (CH_2); 27,2 (CH); 30,6 (CH_2); 33,4 (CH_3); 46,9 (CH_3); 47,6 (CH); 55,9 (CH_3); 58,4 (CH); 61,9 (CH_2); 62,3 (CH); 64,9 (CH_2); 99,0 (CH_2); 103,8 (CH); 110,6 (CH); 120,6 (CH); 121,2 (CH); 125,6 (C); 127,4 (C); 127,5 (C); 132,8 (C); 147,8 (C); 169,6 (C).

RB 124.16 \^e ster et\^i lico de 12-metoxi-N_D-metilvoacalotina XXVIb

UV: $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}}$ ($\log \epsilon$): 225,4 (4,65); 270,5 (3,82); 284,5 (3,75); 294,0 (3,67)

IV: $\nu_{\text{m\acute{a}x.}}$ (cm^{-1}): 3300 (OH), 1720 (C=O)

RMN- ^1H (CDCl_3) δ ppm: 1,32 (3H, t, J=6Hz); 1,57 (d, J=6Hz); 3,10 (3H, s, 1) 4,00 (6H, s).

EM: m/e (%): 424 (3); 410 (100); 409 (45); 379 (49); 365 (14); 337 (25); 293 (65); 280 (15); 213 (35); 212 (47).

RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 12,0 (CH_3); 13,4 (CH_3); 18,7 (CH_2); 27,6 (CH_2); 29,3 (CH); 32,8 (CH_3); 48,7 (CH_3); 54,9 (C); 55,5 (CH_3); 56,3 (CH); 62,5 (CH_2); 62,5 (CH_2); 64,3 (CH_2); 64,3 (CH); 100,8 (C); 103,8 (CH); 111,3 (CH); 119,6 (CH); 120,6 (CH); 126,5 (C); 126,5 (C); 127,2 (C); 132,7 (C); 147,7 (C); 172,3 (C).

RB 133.18 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina XXVIc

UV: $\lambda_{\text{m\ddot{a}x.}}$ ($\log \epsilon$): 224,0 (4,64); 268,5 (3,78); 283,5 (3,67); 293,0 (3,60).

IV: $\nu_{\text{m\ddot{a}x.}}$ (cm^{-1}): 3300 (OH); 1720 (C=O).

RMN- ^1H (100 MHz) (CDCl_3) δ ppm: 1,55 (3H, d, $J=6\text{Hz}$); 3,13 (3H, s, 1); 3,75 (3H, s); 3,92 (6H, s); 4,69 (1H, d); 5,14-5,41 (2H, m).

EM: m/e (%): 410 (4); 396 (100); 395 (51); 381 (22); 379 (15); 365 (60); 337 (20); 293 (60); 213 (35); 212 (43).

RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 12,3 (CH_3), 19,2 (CH_2); 28,0 (CH_2); 29,5 (CH); 33,1 (CH_3); 48,8 (CH_3); 52,8 (CH_3); 55,2 (C); 55,4 (CH_3); 56,6 (CH); 62,2 (CH_2); 64,2 (CH_2); 64,2 (CH); 100,9 (C); 103,7 (CH); 111,3 (CH); 119,3 (CH); 120,4 (CH); 126,4 (C); 126,4 (C); 127,1 (C); 132,4 (C); 147,5 (C); 172,7 (C).

Conclusão

O método por nós utilizado para extração e isolamento dos alcalóides da casca de Peschiera fuchsiaefolia (DC) Miers permitiu a obtenção de extratos parciais que continham maior concentração de determinados tipos de alcalóides.

O estudo destes extratos, resultou no isolamento de 13 alcalóides, sendo que três deles não estão descritos na literatura.

O isolamento de cinco alcalóides do tipo sarpagina, vem reforçar as tendências observadas no levantamento bibliográfico de que no gênero Peschiera é encontrado maior quantidade de compostos deste tipo.

Juntamente com a desmetilvoacamina, encontrado em maior concentração nesta planta, isolamos perivina, um monômero do tipo vobasina, que juntamente com a voacangina, podem ser considerados como precursores daquele alcalóide bis-indólico.

O estudo de RMN-¹³C permitiu determinar os deslocamentos químicos de moléculas complexas como os bis-indólicos, que serão úteis em trabalhos futuros, bem como na determinação estrutural de novas substâncias deste tipo.

Observamos alguns efeitos interessantes, como no caso da proteção simultânea dos C-6 e C-16 da voacamina, produzida pelo N_b-CH₃.

O uso de dois modelos de alcalóides quaternários obtidos a partir de afinisina e voacalotina, permitiu assegurar através de RMN-¹³C a estrutura dos alcalóides quaternários novos, bem como a determinação da estereoquímica do C-16 destes mesmos compostos.

Finalmente, os resultados preliminares sobre a atividade da desmetilvoacamina e do extrato G contra leucemia linfocítica P388 "in vivo" são bastante encorajadores no sentido de continuarmos com o estudo de plantas da família Apocynaceae em busca de substâncias biologicamente ativas.

Bibliografia

1. "A floresta brasileira: fabulosa reserva fitoquímica"; Gottlieb, O. R.; Mors, W. B.; O Correio da UNESCO, (1979), ano 7, nº 9, 35-38
2. "As plantas medicinais voltam a florescer"; Atisso, M. A. ; O Correio da UNESCO, (1979), ano 7, nº 9, 6-8.
3. "Química Farmacêutica"; Mingoa, Q.; Edições Melhoramentos , (1967), 709.
4. "O laboratório vegetal africano"; Ekong, D. E. U.; O Correio da UNESCO, (1979), ano 7, nº 9, 17-19.
5. "Alkaloids of Peschiera affinis"; Weisbach, J. A.; Raffauf , R. F.; Ribeiro, O.; Macko, E.; Douglas, B.; J. Pharm. Sci. , (1963), 52(4), 350-353.
6. "Plant anticancer agents VII: structural effects on cytotoxicity of bisindole alkaloids of voacamine type"; Kingston, D. G. I.; J. Pharm. Sci., (1978), 67(2), 272-274.
7. "Organic Chemistry"; Hendrickson, J. B.; Cram, D. J.; Hammond, G. S.; Edição Internacional para Estudantes, (1970), 1075.
8. "Alcaloides de Tabernaemontana fuchsiaefolia D. C." Fernandez M. E.; Albonico, S. M.; Ruveda, E. A.; Anales Asoc. Quim. Argentina, (1967), 55, 239-243.
9. "Introdução a Taxonomia Vegetal"; Joly, A. B.; Editora Nacional, 4ª ed., (1977), 219.
10. "Morphologie et biologie florales des Apocynacées: I. Différences essentielles entre les Plumérioidées et les Tabernaemontanoïdées"; Boiteau, P.; Allorge, L.; Andanson, (1978), ser. 2, 17(3), 305-326.
11. "The alkaloids of Tabernaemontana riedelli and T. rigida" ; Cava, M. P.; Tjoa, S. S.; Ahmed, Q. A.; Da Rocha, A. I.; J. Org. Chem., (1968), 33, 1055-1059.
12. Allorge, L.; comunicação pessoal.
13. "Sources of alkaloids and their isolation"; Manske, R. H. F. ; in "The Alkaloids: Chemistry and Physiology"; Academic Press. Inc., Publishers New York, (1950), vol. I, 1-14.
14. "Studies on the alkaloids of Apocynaceous plants: III. Ervatamia sphaerocarpa (Bl) Burke (Tabernaemontana sphaerocarpa Bl) "; Biswas, R. C.; Sci. Cult., (1973), 39(6), 259-262.

15. "Alkaloide in Tabernaemontana Arten, VII, Über einige bisin -
dolalkaloide aus Tabernaemontana accedens"; Achenbach, H. ;
Schaller, E.; Chem. Ber., (1976), 109, 3527-3536.
16. "Alkaloide in Tabernaemontana-Arten, V, Accedin und N_(a)-Me -
thyl-epi-affinin, zwei neue alkaloide aus Tabernaemontana a-
ccedens"; Achenbach, H.; Schaller, E.; Chem. Ber., (1975) ,
108, 3842-3854.
17. "N-demethyl-16-epi-accedin, ein neues alkaloid aus Tabernaemon-
tana accedens"; Achenbach, H.; Schaller, E.; Tetrahedron Le-
tters, (1976), nº 5, 351-352.
18. "Alkaloids from stemmadenia species II."; Collera, O.; Walls,
F.; Sandoval, A.; Garcia, F.; Herran, J.; Perezamador, M. C.;
Bol. Inst. Quim. Univ. Nacl. Auton. Mex., (1962), 14, 3-18 .
(C. A.: 59: 1957g)
19. "Mass spectrometric investigations of natural products V. Ho-
mocylindrocarpidine and 17-demethoxycylindrocarpidine, two
new alkaloids from Tabernaemontana amygdalifolia"; Achenbach,
H.; Z. Naturforsch, (1967), B 22(9), 955-957. (CA: 68: 22118a)
20. "O-demethylpalosin, ein neues alkaloid aus Tabernaemontana a-
mygdalifolia"; Achenbach, H.; Tetrahedron Letters, (1966) ,
nº 41, 5027-5030.
21. "10-oxo-cylindrocarpidin, ein neues alkaloid aus Tabernaemon-
tana amygdalifolia"; Achenbach, H.; Tetrahedron Letters ,
(1967), nº 19, 1793-1797.
22. "Alkaloids from the root bark of Tabernaemontana apoda wr .
ex. Sauv (Peschiera apoda Markgraf)"; Sierra, P.; Iglesias ,
R.; Perez, I.; Rev. CENIC, Cienc. Fis. (1977), 8(2), 47-52 .
(C.A.: 90: 100129a)
23. "Alkaloids from the roots of Tabernaemontana sp. Part I" ;
Iglesias, R. L.; Rev. CENIC, Cienc. Fis., (1977), 8(2), 53 -
60 (C. A.: 90: 100130u).
24. "Alkaloids from the fruits of Tabernaemontana apoda wr. ex.
Sauv. Part I."; Lagunas, A.; Iglesias, R.; Rev. CENIC, Cienc.
Fis., (1977), 8(2), 61-65 (C. A.: 90: 100131v).
25. "Alkaloids from the fruits of Tabernaemontana apoda wr. ex.
Sauv. Part II."; Laguna, A.; Iglesias, R.; Rev. CENIC, Cienc.
Fis., (1977), 8(2), 67-73 (C. A.: 90: 100132w).
26. "Major alkaloids of the root bark of Tabernaemontana apoda wr.
ex. Sauv. (Peschiera apoda Markgraf)"; Sierra, P.; Iglesias ,
R.; Rev. CENIC, Cienc. Fis., (1975), 6(2), 199-206.
(C. A.: 89: 56444c)

27. "Principal alkaloids from the leaves of Tabernaemontana apoda wr. ex. Sauv."; Perez, I.; Iglesias, R.; Rev. CENIC, Cienc. Fis., (1976), 7(2), 365-371 (C. A.: 89: 103716e).
28. "Plant anticancer agents VI: isolation of voacangine, voacamine, and epivoacordine from Tabernaemontana arborea sap."; Kingston, D. G.; J. Pharm. Sci., (1978), 67(2), 271-272.
29. "Apodine, a new alkaloid of Tabernaemontana species"; Iglesias, R.; Diatta, L.; Rev. CENIC, Cienc. Fis., (1975), 6(1), 141-146. (C. A.: 84: 44503e).
30. "Alkaloids from Apocynaceae III. Alkaloids of Tabernaemontana and Ervatamia. The structure of coronaridine, a new alkaloid related to ibogamine"; Gorman, M.; Neuss, N.; Cone, N. J. ; Deyrup, J. A.; J. Amer. Chem. Soc., (1960), 82, 1142-1145.
31. "Alcaloides de Tabernaemontana brachyantha"; Patel, M. B. ; Thompson, L.; Miet, C.; Poisson, J.; Phytochemistry, (1973) , 12, 451-456
32. "The isolation and identification of conoflorin from Tabernaemontana chippii"; Robinson, B.; Wilson, J. M.; Starmer, G.A.; Thomas, J.; J. Pharm. Pharmacol., (1967), 19(10), 694 (C. A.: 68: 6134x)
33. "The alkaloids of Tabernaemontana crassa. Crassanine, a new oxindole alkaloid"; Cava, M. P.; Watanabe, Y.; Bessho, K. ; Weibach, L. A.; Douglas, B.; J. Org. Chem., (1968), 33(8) , 3350-3352.
34. "Isolation and identification of (-)-apparicine from Tabernaemontana cumminsii"; Crooks, P. A.; Robinson, B.; J. Pharm. Pharmacol., (1970), 22(10), 799-800 (C. A.: 74: 10334d).
35. "Isolation and identification of jollyanine from Tabernaemontana cumminsii"; Crooks, P. A.; Robinson, B.; J. Pharm. Pharmacol., (1970), 22(6), 471-472 (C. A.: 73: 38482d).
36. "Isolation and structure of an indole alkaloid of biogenetic interest from Tabernaemontana cumminsii"; Crooks, P. A.; Robinson, B.; Smith, G. F.; J. Chem. Soc., Chem. Comm, (1968) , 20, 1210
37. "Alkaloids of Tabernaemontana divaricata"; Raj, K.; Shoeb, A.; Kapil, R. S.; Popli, P. S.; Phytochemistry, (1974), 13(8) , 1621-1622.
38. "Structures of Tabernaemontana elegans A-D and Tabernaemontana elegans A and B, new indole alkaloids from Tabernaemontana elegans"; Bombardelli, E.; Bonati, A.; Gabeta, B.; Martinelli ,

- E. M.; Mustich, G.; Danieli, B.; J. Chem. Soc. Perkin Trans I (1976), 13, 1432-1438.
39. "Plants of Mozambique VIII. Alkaloids of Tabernaemontana elegans"; Gabetta, B.; Martinelli, E. M.; Mustich, G.; Fitoterapia, (1975), 46(5), 195-198 (C. A.: 84: 135908g).
 40. "Voachalotin und affinisin, nebenaalkaloide in Tabernaemontana fuchsiaefolia"; Achenbach, H.; Tetrahedron Letters, (1966) 37, 4405-4407.
 41. "Alkaloid studies VIII. Isolation and characterization of alkaloids of Tabernaemontana heyneana and antifertility properties of coronaridine"; Mayer, E. W.; Coppola, J. A.; Goldman, L.; J. Pharm. Sci., (1973), 62(7), 1199-1201
 42. "Alkaloids from the fruits of Tabernaemontana heyneana"; Saradamma, P.; Ramiah, N.; Krishnaswamy, P.; J. Inst. Chem. Calcutta (1971), 43 (Pt2), 69-70 (C. A.: 75: 45609v).
 43. "Alkaloids from Tabernaemontana heyneana"; Verkey, E. T.; Pillay, P. P.; Bose, A. K.; Das, K. G.; Indian J. Chem., (1966), 4(7), 332-334.
 44. "The structure of Heyneanine"; Govindachari, T. R.; Joshi, B. S.; Saksena, A. K.; Sathe, S. S.; Viswanathan, N.; Tetrahedron Letters, (1965), 43, 3873-3878.
 45. "Isolation of coronaridine from Tabernaemontana heyneana wall" Ramiah, N.; Mohandas, J.; Indian J. Chem., (1966), 4(2) 99-100
 46. "Plant anticancer agents III: Isolation of indole and bisindole alkaloids from Tabernaemontana holstii Roots"; Kingston, D. G. I.; Li, B. T.; Ionescu, F.; J. Pharm. Sci., (1977), 66(8), 1135-1138
 47. "Isolation and identification of alkaloids from Tabernaemontana holstii"; Li, B. T.; Diss. Abstr. Int. B, (1976), 36(11), 5593
 48. "Isolation, structural elucidation, and synthesis of Tabernamine, a new cytotoxic bis-indole alkaloid from Tabernaemontana johnstonii"; Kingston, D. G. I.; Gerhart, B. B.; Ionescu, F.; Tetrahedron Letters, (1976), 9, 649-652.
 49. "Plant anticancer agents V: new bisindole alkaloids from Tabernaemontana johnstonii Stem Bark"; Kingston, D. G. I.; Gerhart, B. B.; Ionescu, F.; Mangino, M. M.; Sami, S. M.; J. Pharm. Sci.; (1978), 67(2), 249-251.

50. "A phytochemical study of Brunfelsia grandiflora (Solanaceae), couroupita amazonica (Lecythidaceae), Petiveria alliacea (Phytolaccaceae) and Tabernaemontana Killipii (apocynaceae)"; Segelman, F. H. P.; Diss. Abstr. Int. B, (1975), 35(8), 3842.
51. "The alkaloids of Tabernaemontana laurifolia. The glycosides of Ornithogalum umbellatum"; Mowdood, S. K.; Diss. Abstr. Int. B, (1966), 27(5), 1423-1424 (CA: 66: 65690g).
52. "Isovoacristine-new iboga-type alkaloid from Tabernaemontana laurifolia"; (1965), 51, 2064 (CA: 64: 9781e).
53. "Alkaloids of Tabernaemontana mucronata. Isolation of tabernamontanine"; Santos, A. C.; Santos, G. A.; Tibayan, L. L.; Anales Real Acad. Farm. (Madrid), (1965), 31(1-2), 3-7 (CA: 63: 7252d)
54. "Conopharyngine pseudo indoxyl, a new alkaloid from Tabernaemontana pachysiphon var. cumminsii"; Crooks, P. A.; Robinson, B.; J. Pharm. Pharmacol., (1973), 25(10), 820-823 (CA: 80: 45606v)
55. "Isolation and identification of the major alkaloid present in Tabernaemontana pachysiphon var. cumminsii"; Thomas, J.; Starmer, G. A.; J. Pharm. Pharmacol., (1963), 15(7), 487 (CA: 59: 7852c)
56. "Alcaloides du Tabernaemontana (conopharyngia) pachysiphon Stapf"; Patel, M. B.; Poisson, J.; Bull. Soc. Chim. France, (1966), 1, 427-428.
57. "Alkaloids from Tabernaemontana padacaqui"; Lathvilliere, P.; Oliver, L.; Levy, J.; LeMen, J.; Ann. Pharm. Fr., (1966), 24(7-8), 547-549.
58. "Alkaloids of Tabernaemontana pandacaqui"; Lathuilliere, P.; Oliver, L.; Levy, J.; LeMen, J.; Ann. Pharm. Fr., (1970), 28(1), 57-62 (CA: 73: 59247w)
59. "Alkaloids of Tabernaemontana pandacaqui"; Aguilar-Santos, G.; Santos, A. C.; Joson, L. M.; J. Philippine Pharm. Assoc., (1964) 50(8), 321-323, 333 (CA: 63: 3312e)
60. "Alkaloids of Tabernaemontana psychotrifolia H. B. K."; Burnell, R. H.; Medina, J. D.; Canadian J. Chem., (1971), 49, 307-316
61. "The structure of Taberpsychine"; Benoin, P. R.; Burnell, R. H.; Medina, J. D.; Tetrahedron Letters, (1968), 7, 807-809.
62. Igual a referência 11.

63. "The reactions of 2-oximincholesta-4,6-dien-3-one. The alkaloidal constituents of Tabernaemontana rigida"; Ahmen, Q. A.; Diss. Abstr. B, (1967), 27(9), 3028-3029 (CA: 67: 73746r)
64. "The isolation of Rupicoline and Montanine, two pseudo indoxyl alkaloids of Tabernaemontana Benth"; Niemann, C.; Kessel, J. W.; J. Org. Chem., (1966), 31(7), 2265-2266
65. "Alkaloids of Tabernaemontana sananho R&P"; Monache, N. G. D. ; Matta, S. M.; DelleMonache, F.; Marini-Bettolo, G. B.; Atti. Acad. Naz. Lincei, Cl. Sci., Fis., Mat., Nat. Rend, (1977) , 62(2), 221-226 (CA: 89: 126109y)
66. "Occurrence of Tabernaemontanine & Dregamine in Tabernaemontana sphaerocarpa Bl."; Chatterjee, A.; Banerjee, A.; Majumder, P.L.; Indian J. Chem., (1968), 6(9), 545-546.
67. "Tabernaemontana undulata (Apocynaceae) seeds"; Cave, A.; Bruneton, J.; Plant. Med. Phytother., (1972), 6(3), 228-231 (CA: 78: 26480s)
68. "Alkaloids of Tabernaemontana wallichiana"; Talapatra, S. K. ; Sen Gupta, S.; Bhatlacharya, M.; Talapatra, B.; Indian J. Chem, (1976), 14B, 385-387
69. "Alkaloids from some African Tabernaemontana"; Patel, M. B. ; Miet, C.; Poisson, J.; Ann. Pharm. Fr., (1967), 25(5), 379-384 (CA: 67: 105944x)
70. "Alkaloids from fruits of Tabernaemontana species"; Iglesias , R.; Rev. CENIC, Cienc. Fis., (1976), 7(2), 373-378 (CA: 89: 103717f)
71. "20-epiheyneanine, an iboga alkaloid from Peschiera affinis" ; Matos, F. J. A.; Braz Fq, R.; Gottlieb, O. R.; Welbancide, F.; Madruga, M. I. L. M.; Phytochemistry, (1976), 15(4), 551-553
72. "Structures of affinine and affinisine, alkaloids of Peschiera affinis (Tabernaemontana affinis)"; Cava, M. P.; Talapatra, S. K.; Weisbach, J. A.; Douglas, B.; Raffauf, R. F.; Ribeiro, O. ; Chem. Ind., (1964), 26, 1193-1194 (CA: 61: 7064h)
73. "Geissoschizol in Peschiera laeta"; Jahodar, L.; Voticky, Z. ; Cava, M. P.; Phytochemistry, (1974), 13, 2880-2881
74. "Alkaloids from Peschiera laeta Mart."; Voticky, Z.; Jahodar , L.; Cava, M. P.; Collection Czechoslov. Chem. Commun., (1977) , 42, 1403-1406
75. "The alkaloids of Peschiera lundii (D. C.) Miers. Isolation and structure elucidation of voacristine pseudoindoxyl and iboxygaine hydroxyindolenine"; Hwang, B.; Weisbach, J. A.; Douglas, B.;

- Raffauf, R.; Cava, M. P.; Bessho, K.; J. Org. Chem., (1969) , 34(2), 412-415
76. "Plantas invasoras de culturas no Estado de São Paulo"; Leitão Fº, H. F.; Aranha, C.; Bachi, O.; HUCITEC-Agiplan, (1975) , vol. II, 301.
77. "Etude chimique d'alcaloides de Catharanthus longifolius Pich (apocynacée malgache)"; Rasoanaivo, P.; Tese de doutorado apresentada a L'Universite de Paris-sud centre D'ORSAY.
78. "Voacamine and voacordine"; Buchi, G.; Manning, R. E.; Monti, S. A.; J. Amer. Chem. Soc., (1964), 86, 4631-4641
79. "The hydroxyindolenine derivate of voacangine, a new indole alkaloid from Voacanga africana"; Thomas, D. W.; Biemann, K.; Tetrahedron, (1968), 24, 4223-4231
80. "Chemotaxonomical studies on Apocynaceae"; Daniel, M.; Sabinis, S. D.; Indian J. Exp. Biol., (1978), 16(4), 512-513 (CA: 89: 20340b)
81. "Interpretation of the ultra-violet spectra of natural products"; Scott, A. I.; Pergamon Press, (1964)
82. "Infrared Absorption Spectroscopy-Practical"; Nakanishi, K. ; Holden-Day, Inc., (1962).
83. "Etude physico-chimique de modeles d'alcaloides indoliques.II . Etude par resonance magnetique nucleaire (RMN) de derives methoxyles du tetrahydrocarbazole.(1)"; Binst, G. V.; Danheux, C. ; Hootele, C.; Pecher, J.; Martin, R. H.; Tetrahedron Letters , (1964), 973-981
84. "Structure elucidation of natural products by mass spectrometry" Djerassi, C.; Holden-Day, Inc., (1964), vol. I.
85. "Indolalkaloide in Tabellen"; Hesse, M.; Springer-Verlab , (1964), vol. I; (1968), vol II.
86. "Thermal methyl transfer. The mass spectrum of voacamine-d₃" ; Thomas, D. W.; Biemann, K.; J. Amer. Chem. Soc., (1965), 87 , 5447-5452
87. "Mass spectrometry in structural and stereochemical problems - XXXVI- Alkaloids of Periwinkles-27; the mass spectra of stereoisomers of the sarpagine-akuammidine group "; Ohashi, M.; Budzikiewicz, H.; Wilson, J. M.; Djerassi, C.; Lévy, J.; Gosset, J.; LeMen, J.; Janot, M. M.; Tetrahedron, (1963), 19, 2241-2246
88. "Perivine"; Gorman, M.; Sweeny, J.; Tetrahedron Letters, (1964), 3105-3111

89. "Indole Alkaloids XII: The temperature dependence of 2-acylindole alkaloids NMR spectra"; Ottinger, R.; Braekman, J. C.; Pecher, J.; Martin, R. H.; Tetrahedron Letters, (1966), 4889-4893
90. "Alcaloides indoliques V. Structure de la voacarpine"; Denayer-Tournay, M.; Pecher, J.; Martin, R. H.; Friedmann-Spiteller, M.; Spiteller, G.; Bull. Soc. Chim. Belges, (1965), 74, 170-186
91. "Über die indolalkaloide von Pleiocarpa talbotii Wernham"; Naranjo, J.; Pinar, M.; Hesse, M.; Schmid, H.; Helv. Chim. Acta, (1972), 55, 752-771
92. "Aplicações da espectroscopia de absorção aos compostos orgânicos"; Dyer, J. R.; Ed. USP, (1965)
93. "Carbon-13 NMR studies of Flavonoids-I. Flavones and Flavonols" Ternai, B.; Markham, K. R.; Tetrahedron, (1976), 32, 565-569
94. "Physical data of indole and dihydroindole alkaloids"; Lilly Research Laboratories
95. "Alcaloides indoliques VII. Structure de la voacoline"; Lhoest, G.; DeNeys, R.; Defay, N.; Seibl, J.; Pecher, J.; Martin, R. H.; Bull. Soc. Chim. Belges, (1965), 74, 534-550.
96. "Alcaloides D'Alstonia lanceolifera"; Lewin, G.; Kunesch, N.; Cave, A.; Sevenet, T.; Poisson, J.; Phytochemistry, (1975), 14, 2067-2071
97. "Alcaloides indoliques: structure de l'érburnaphylline, alcaloïde principal des feuilles de l'Hunteria erbunea Pichon (apocynacées)"; Morfaux, A. M.; Oliver, L.; LeMen, J.; Bull. Soc. Chim. France, (1971), 11, 3967-3873
98. "Alcaloides indoliques VI. Réactivité de la fonction alcoolique primaire de la voachalotine et de l'affinisine"; Braekman, J.C.; Dubois, J.; Balidkdjian, M.; Kaisin, M.; Pecher, J.; Martin, R. H.; Bull. Soc. Chim. Belges, (1965), 74, 253-269
99. "Indole alkaloids XX. Isolation and structural elucidation of four minor alkaloids from Voacanga chaltiana Pierre Ex Stapf"; Braekman, J. C.; Tirions-Lampe, M.; Pecher, J.; Bull. Soc. Chim. Belges, (1969), 78, 523-538
100. "210. Quartare alkaloide aus Pleiocarpa mutica Benth. 2. Mitlei - lung (1) über das massenspektrometrische verhalten quartarer stickstoffverbindungen"; Khan, Z. M.; Hesse, M.; Schmid, H.; Helv. Chim. Acta, (1965), 48(8), 1957-1965.
101. "The use of carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy in natural products chemistry"; Wehrli, F. W.; Nishida, T.; in Progress in the chemistry of organic natural products, (1979), 36, 1-229.

102. "On the structure of vindolinine"; Ahond, A.; Janot, M. M.; Lukacs, N. L. G.; Potier, P.; Rasoanaivo, P.; Sangaré, M.; Neuss N.; Plat, M.; LeMen, J.; Hagaman, E. W.; Wenkert, E.; J. Amer. Chem. Soc., (1974), 96(2), 633-634
103. "Révision de la structure de la mélobaline"; Damak, M.; Ahond, A.; Potier, P.; Tetrahedron Letters, (1976), 167
104. "Revision of the structure of the bisindole alkaloid 14',15'-dihydropynanthine. A carbon-13 nuclear magnetic resonance study"; Rasoanaivo, P.; Lukacs, G.; J. Org. Chem., (1976), 41, 376
105. "262. ¹³CNMR spectroscopy of naturally occurring substances . XLV. Iboga alkaloids"; Wenkert, E.; Cochran, D. W.; Gottlieb, H. E.; Hagaman, E. W.; Braz F9, R.; Matos, F. J. A.; Madruga, M. I. L. M.; Helv. Chim. Acta, (1976), 59(7), 2437-2442
106. "Bis(hydroxy-11coronaridinyl)-12, nouvel alcaloïde dimère de type ibogane: élucidation de la structure par RM¹³C"; Damak, M.; Poupat, C.; Ahond, A.; Tetrahedron Letters, (1976) 3531-3534
107. "Carbon-13 nuclear magnetic resonance analysis of vobasine-like indole alkaloids"; Ahond, A.; Bui, A. M.; Potier, P.; Hagaman, E. W.; Wenkert, E.; J. Org. Chem., (1976), 41(10), 1878-1879
108. "Interpretation of carbon-13 NMR spectra"; Werli, F. W.; Wirthlin, T.; Heyden, (1976), 29
109. "General methods of synthesis of indole alkaloids. 14. Short routes of construction of yohimboid and ajmalicinoid alkaloid systems and their ¹³C nuclear magnetic resonance spectral analysis"; Wenkert, E.; Chang, C. J.; Chawla, H. P. S.; Cochran, D. W.; Hagaman, E. W.; King, J. C.; Orito, K.; J. Amer. Chem. Soc., (1976), 98(12), 3645-3655
110. "17 o-acetyl-19,20-dihydrovoachalotine, a new alkaloid from Voacanga chalongiana"; Bombardelli, E.; Bonati, A.; Gabetta, B.; Martinelli, E.; Mustich, G.; Danieli, B.; Phytochemistry, (1976), 15, 2021-2022
111. "Carbon-13 Fourier transform nuclear magnetic resonance spectroscopy of indole (2,3-a) quinolizidines. Specific deuteration and relaxation methods in structure assignments"; Gribble, G. W.; Nelson, R. B.; Johnson, J. L.; Levy, G. C.; J. Org. Chem., (1975), 40, 3720-3725

112. "Gardneria alkaloids.XII. Carbon magnetic resonance spectra of Gardneria alkaloids. A study on the configuration of the side chain double bonds of indolealkaloids"; Aimi, N.; Yamaguchi, K.; Sakai, S. I.; Haginiwa, J.; Kubo, A.; Chem. Pharm. Bull., (1978), 26(11), 3444-3449
113. "Contribuição ao estudo químico do gênero Aspidosperma: Aspidosperma pruinsum"; Nunes, D. S.; Tese de Mestrado, UNICAMP (1980)
114. "Structural analysis by ^{13}C NMR spectroscopy of pleiocorine, a new bisindole alkaloid from Alstonia Deplanchei van Heurck et Muell. Arg.^{1,2}."; Das, B. C.; Cosson, J. P., Lukacs, G.; Potier, P.; Tetrahedron Letters, (1974), 4299-4302
115. " ^{13}C NMR spectral analysis of some isoquinoline alkaloids"; Marsaioli, A. J.; Ruveda, E. A.; Reis, F. A. M.; Phytochemistry, (1978), 17, 1655-1658
116. a) " ^{15}N -Nuclear magnetic resonance spectroscopy. Natural abundance ^{15}N NMR of monosubstituted indoles"; Rosenberg, E.; Williamson, K. L.; Roberts, J. D.; Organic Magnetic Resonance, (1976), 8, 117-119
b) "The structure of cuazine"; Bombardelli, E.; Bonati, A.; Gabetta, B.; Martinelli, E. M. R.; Mustich, G.; Tetrahedron, (1974), 30, 4141-4146
117. "Spectral data and physical constants of alkaloids"; Holubek, J.; Strouf, O.; Heyden & Son Limited.

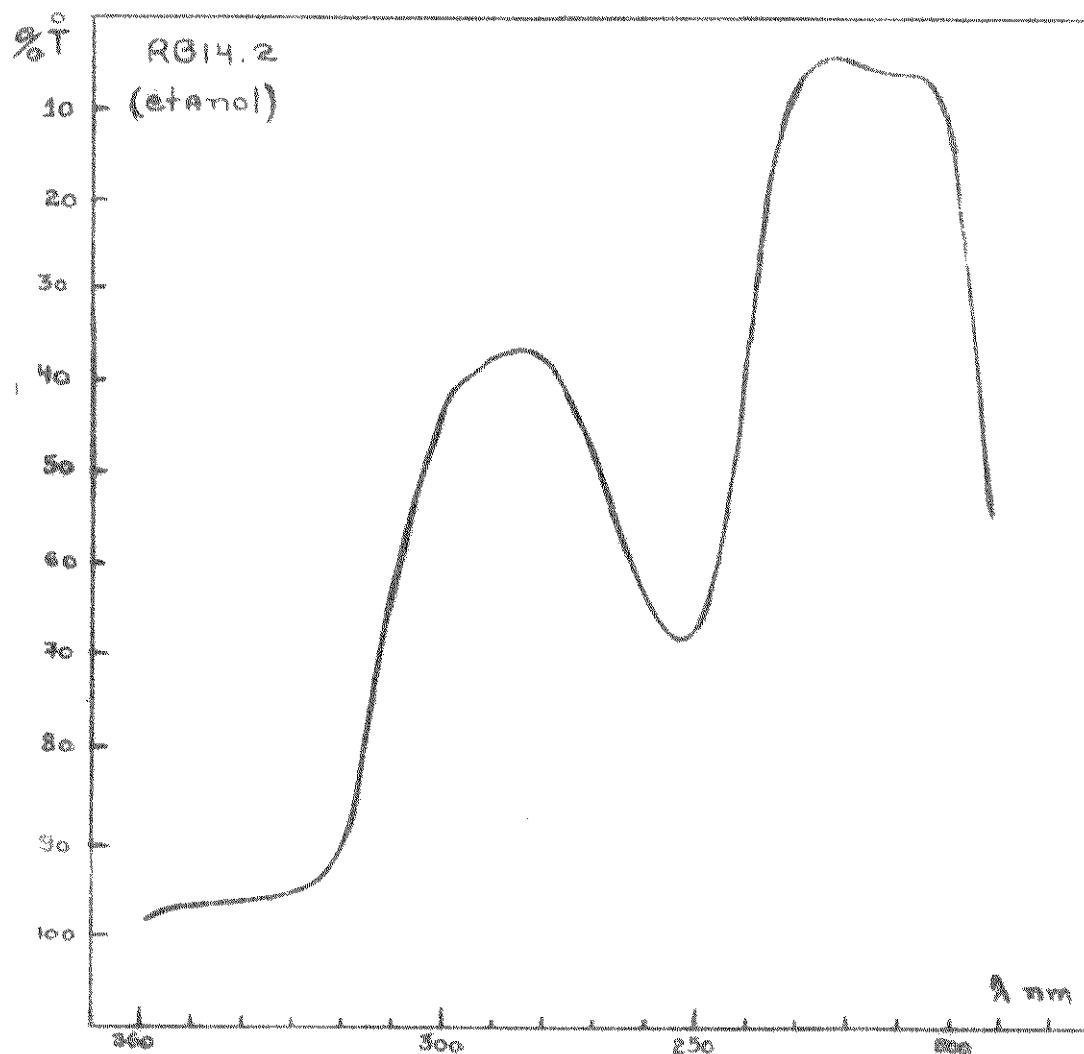


Figura I UV da voacangina IVf

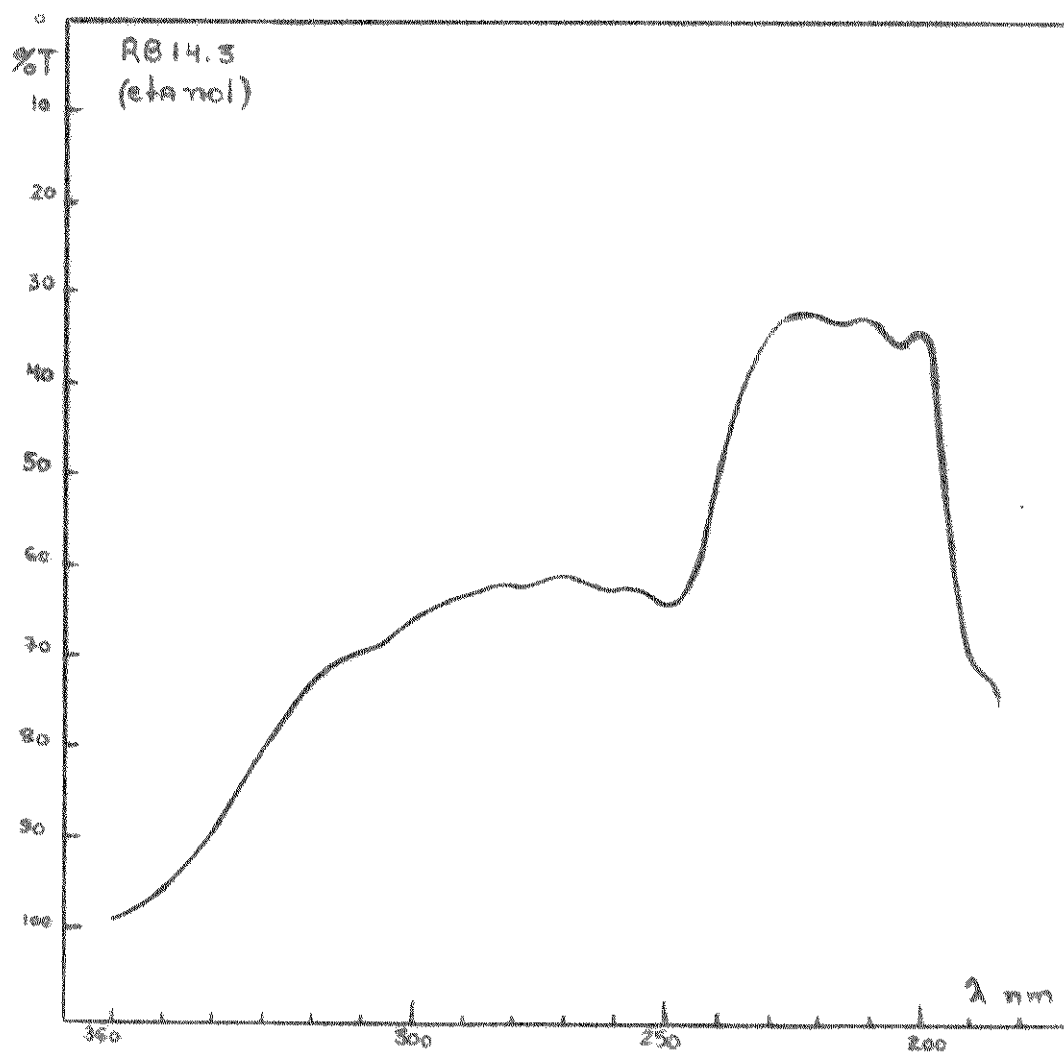


Figura II- UV da voacangina-hidroxiindolenina Vb

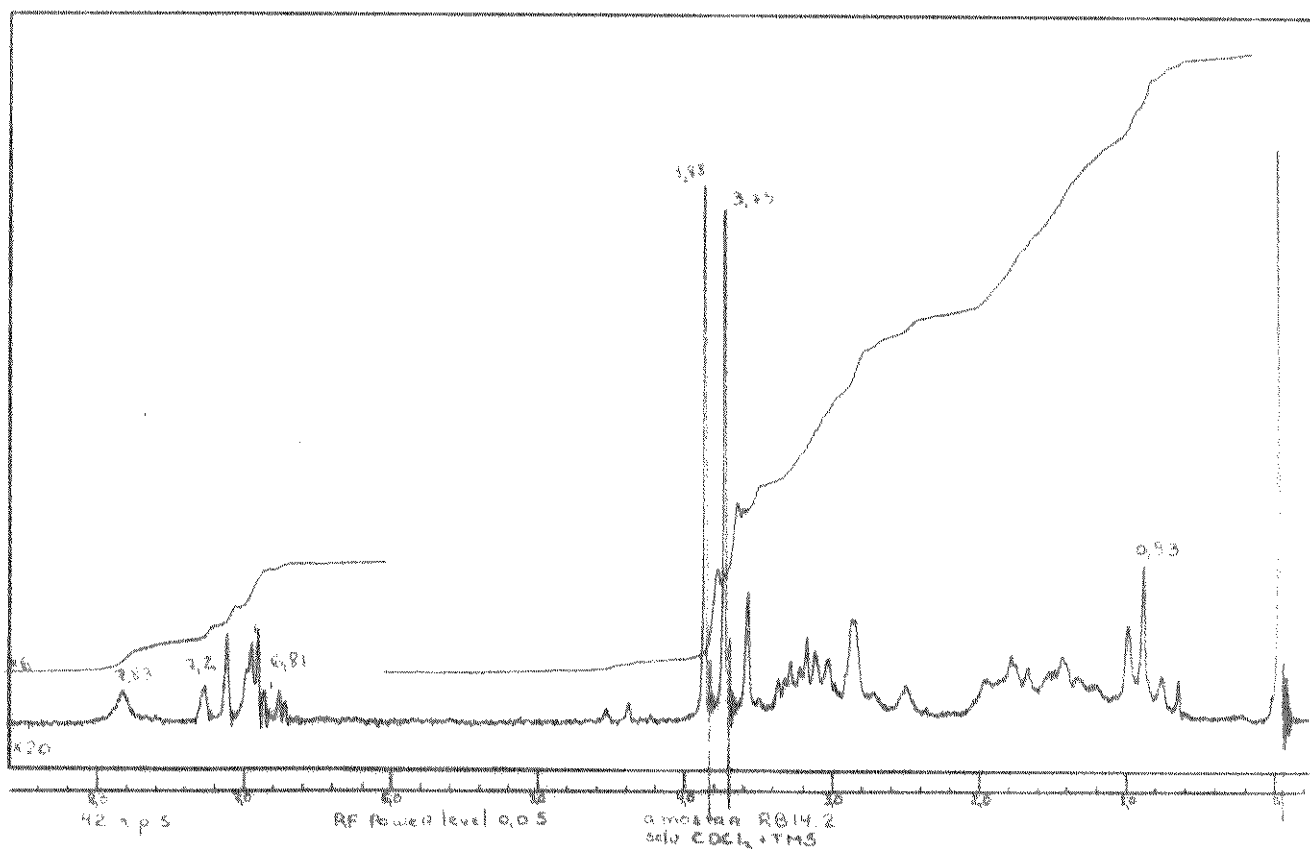


Figura III- Espectro de RMN-¹H da voacangina IVf

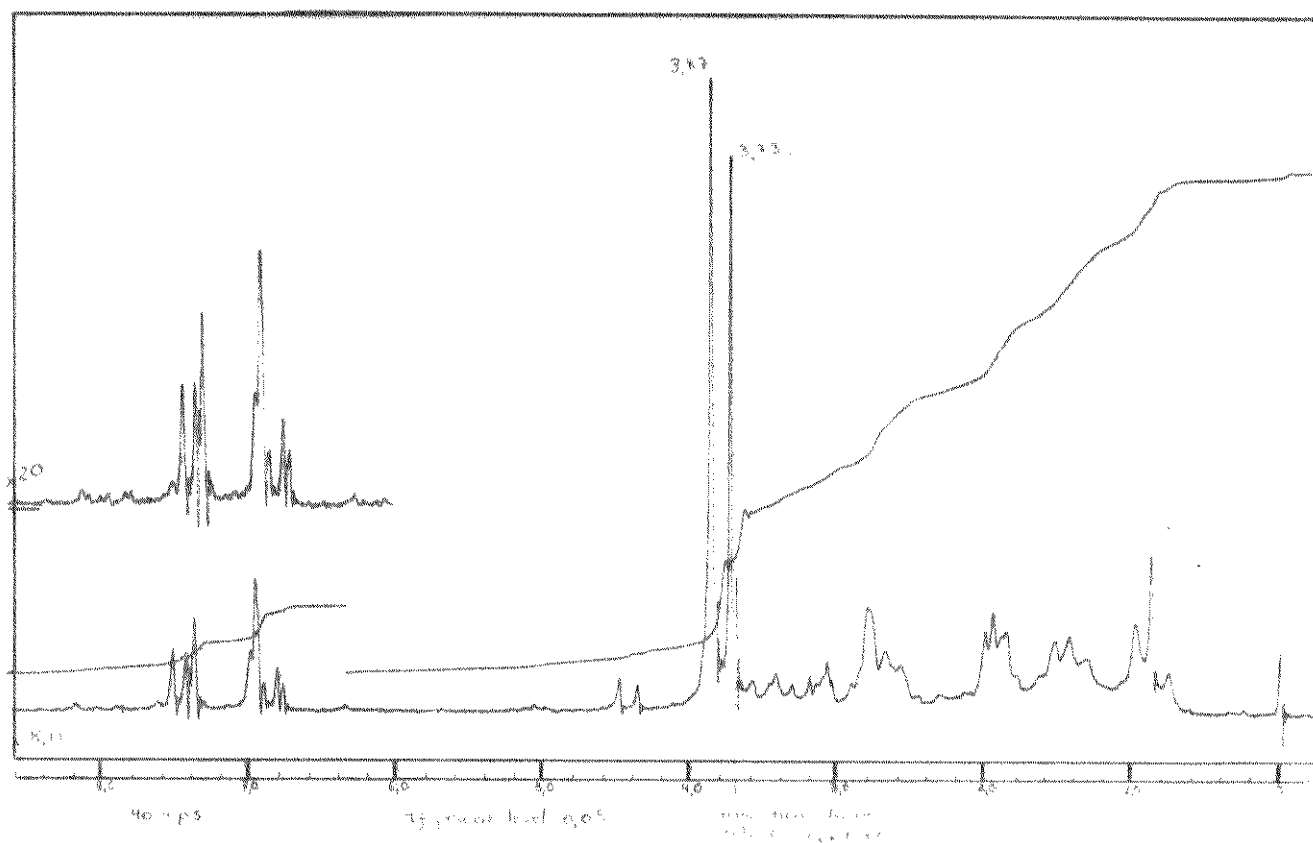


Figura IV- Espectro de RMN-¹H da voacangina-hidroxiindolenina Vb

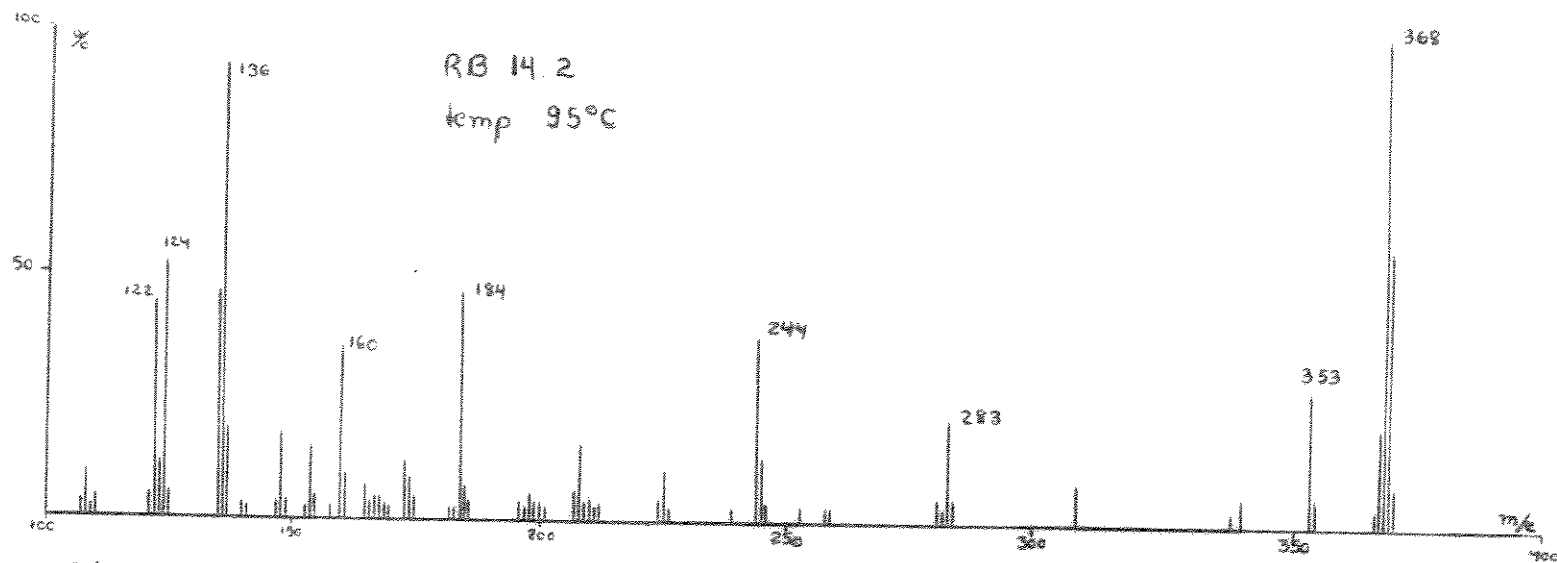


Figura V Espectro de Massa da voacangina IVf

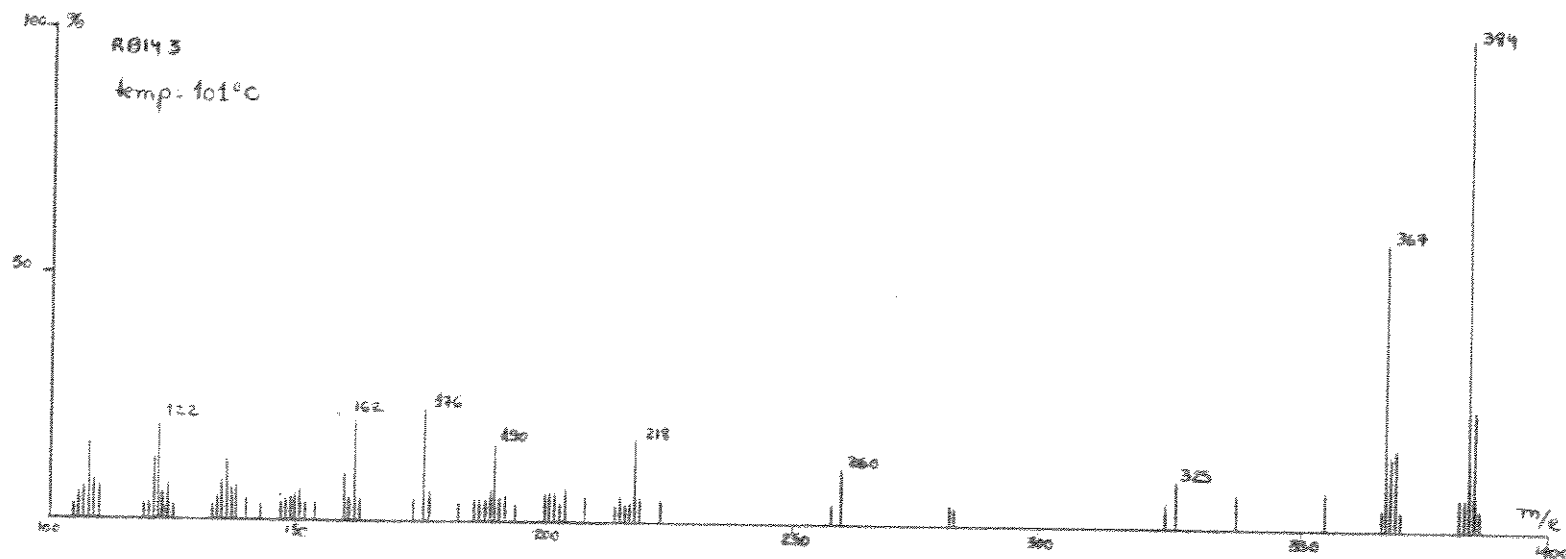


Figura VI Espectro de massa da voacangina-hidroxiindolenina Vb

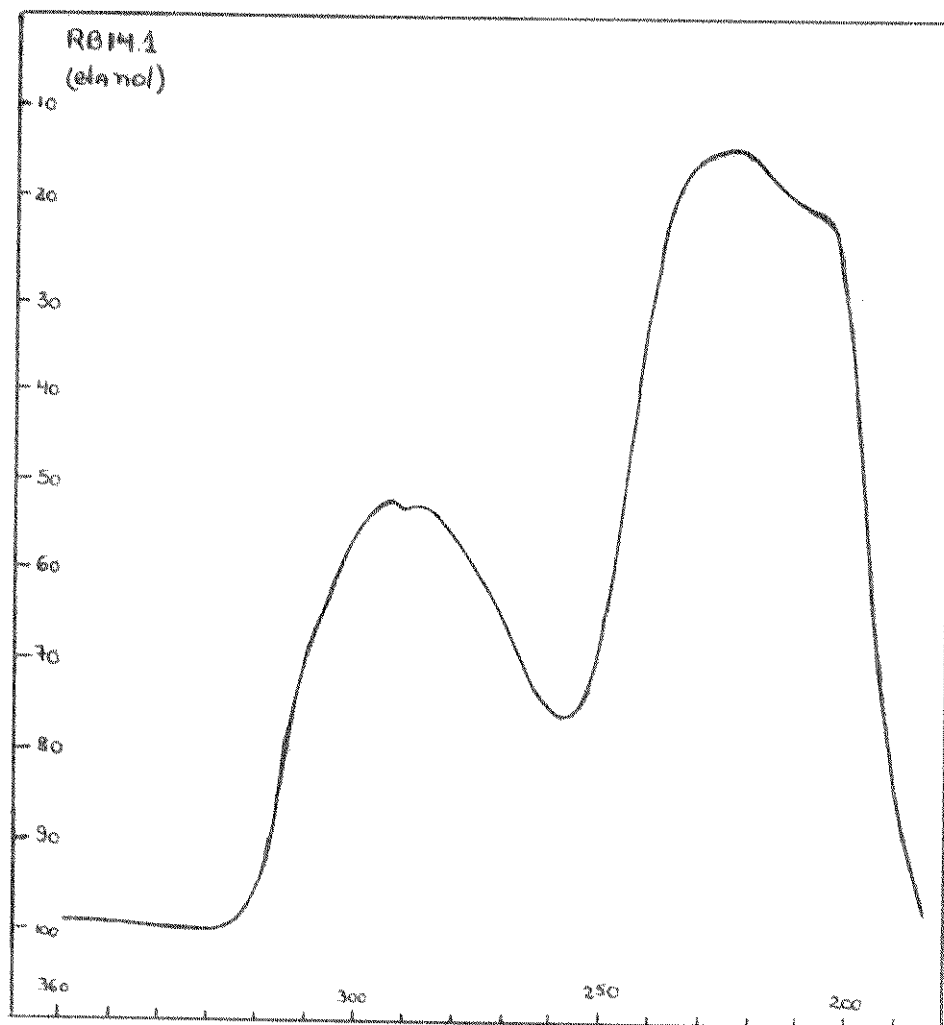


Figura VII Espectro de UV da voacamina

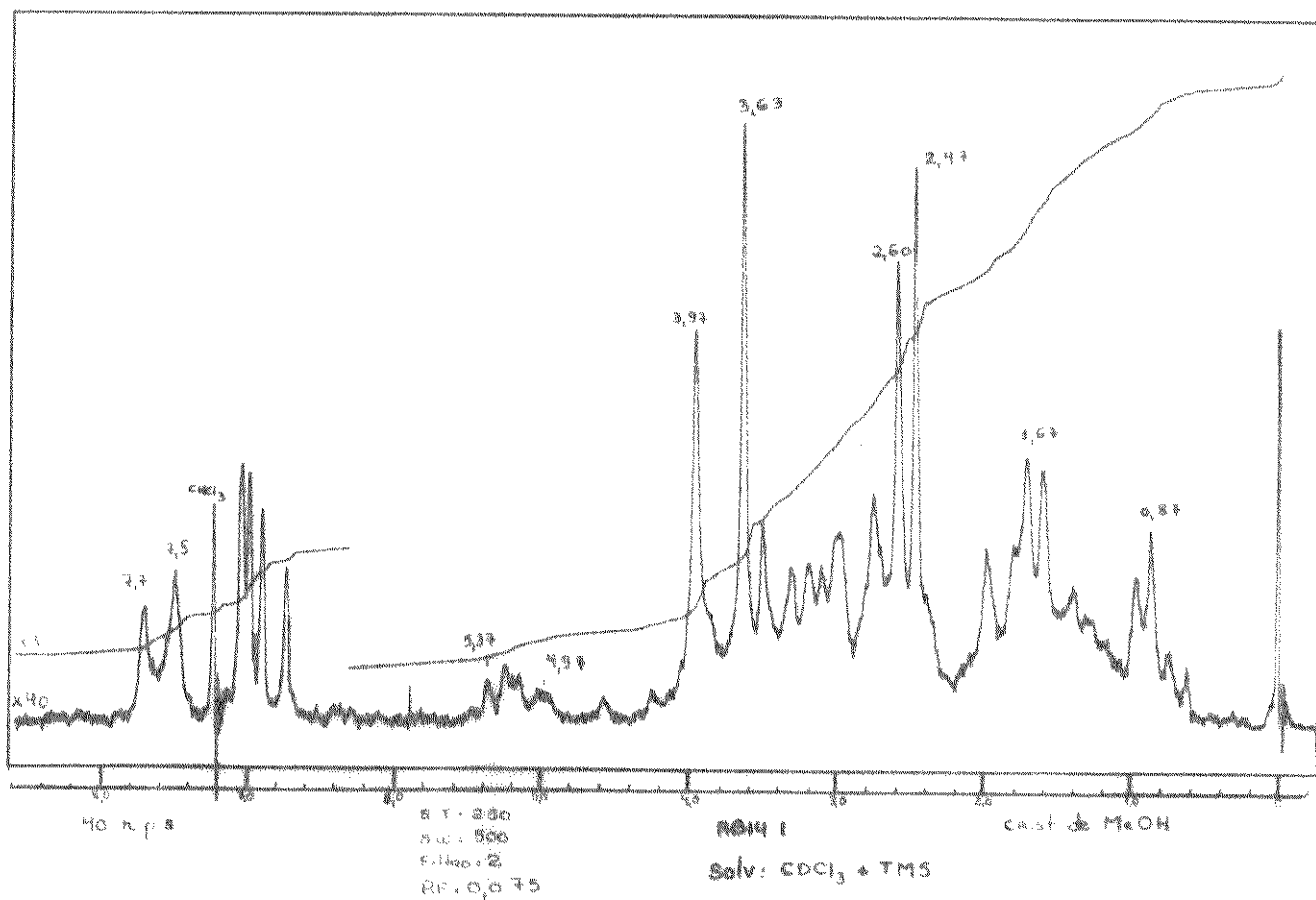


Figura VIII Espectro de RMN- ^1H da voacamina Ia

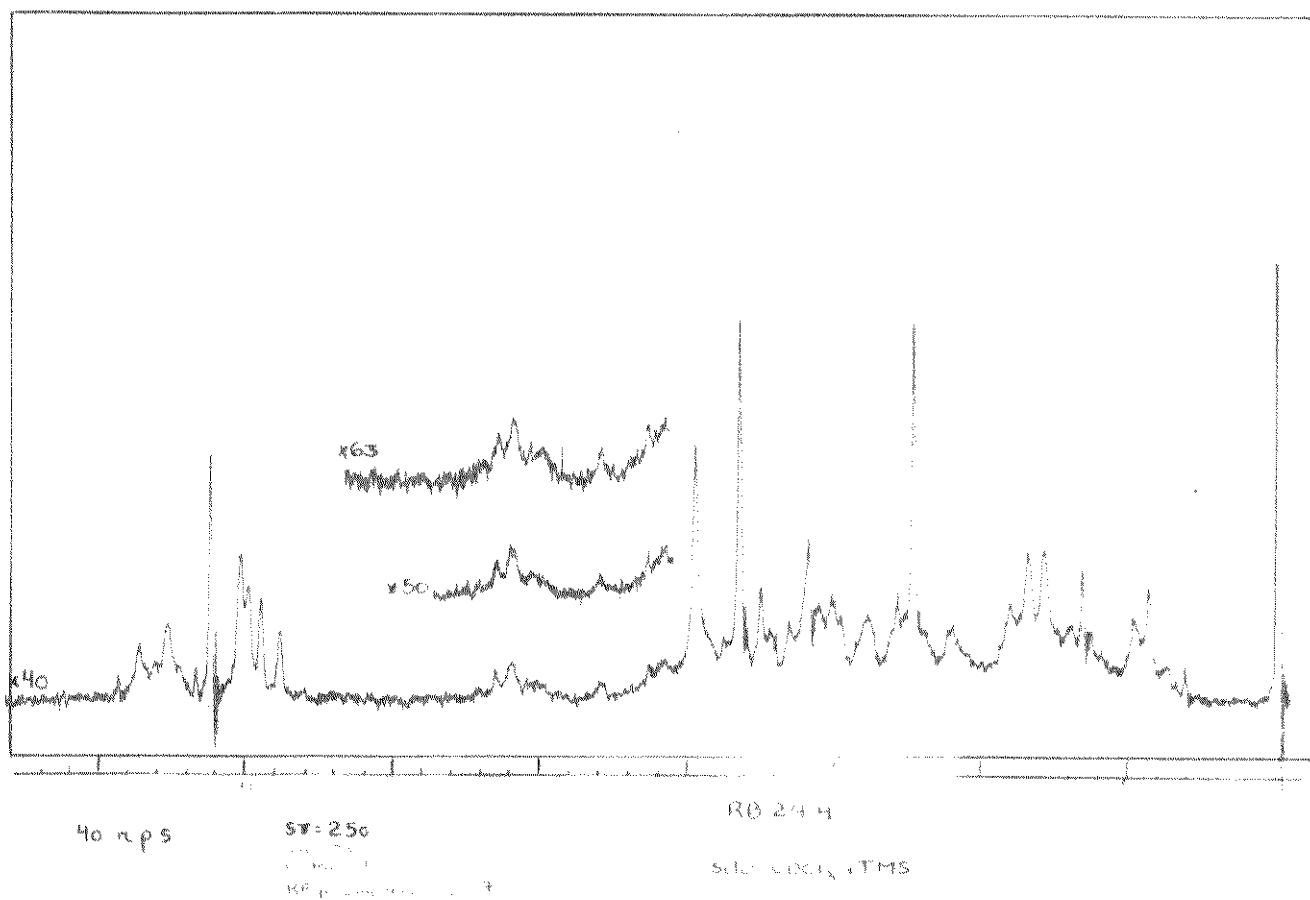


Figura IX Espectro de RMN- ^1H da desmetilvoacamina

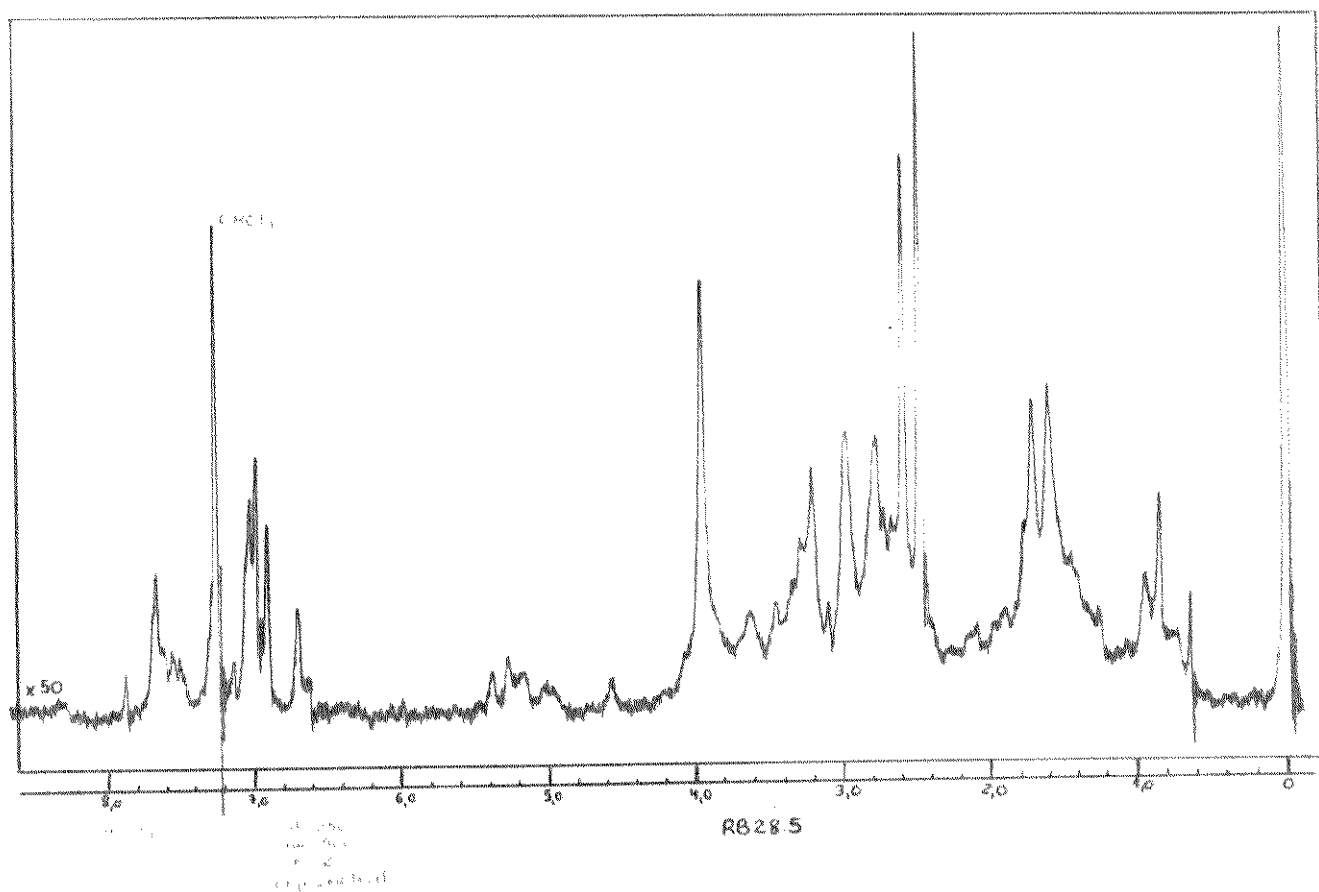


Figura X Espectro de RMN-¹H da descarbometoxivoacamina

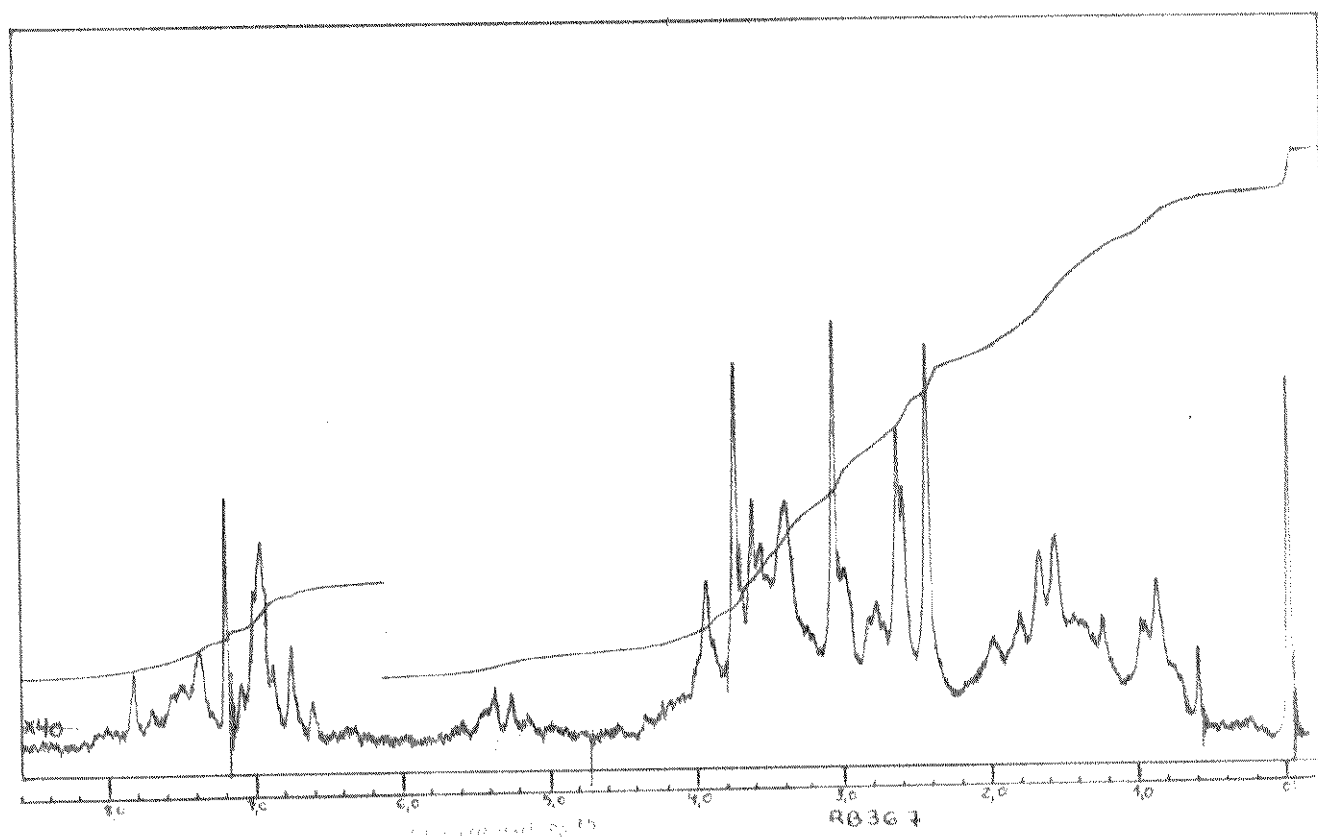


Figura XI Espectro de RMN-¹H da voacamidina

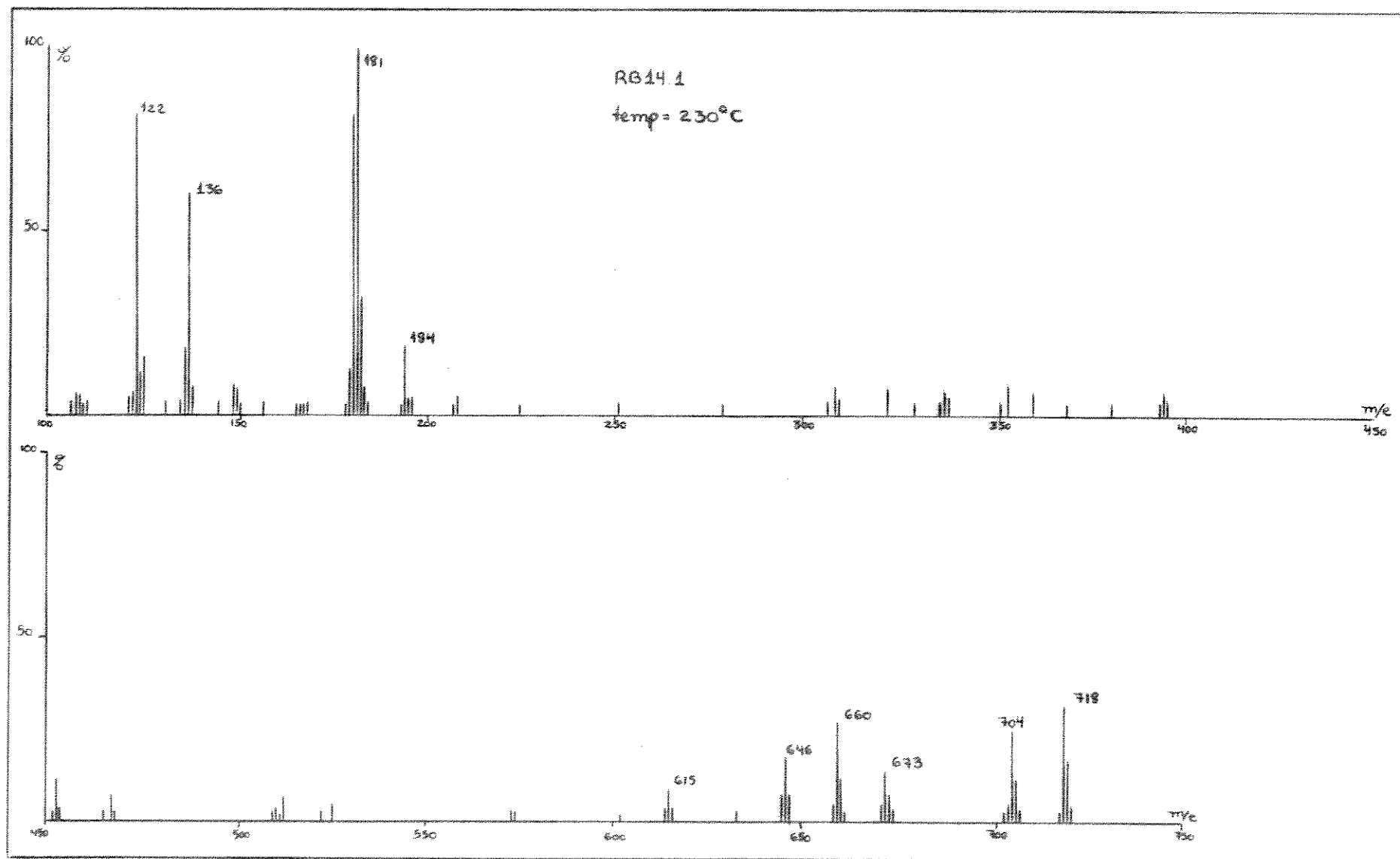


Figura XII Espectro de massa da voacamina

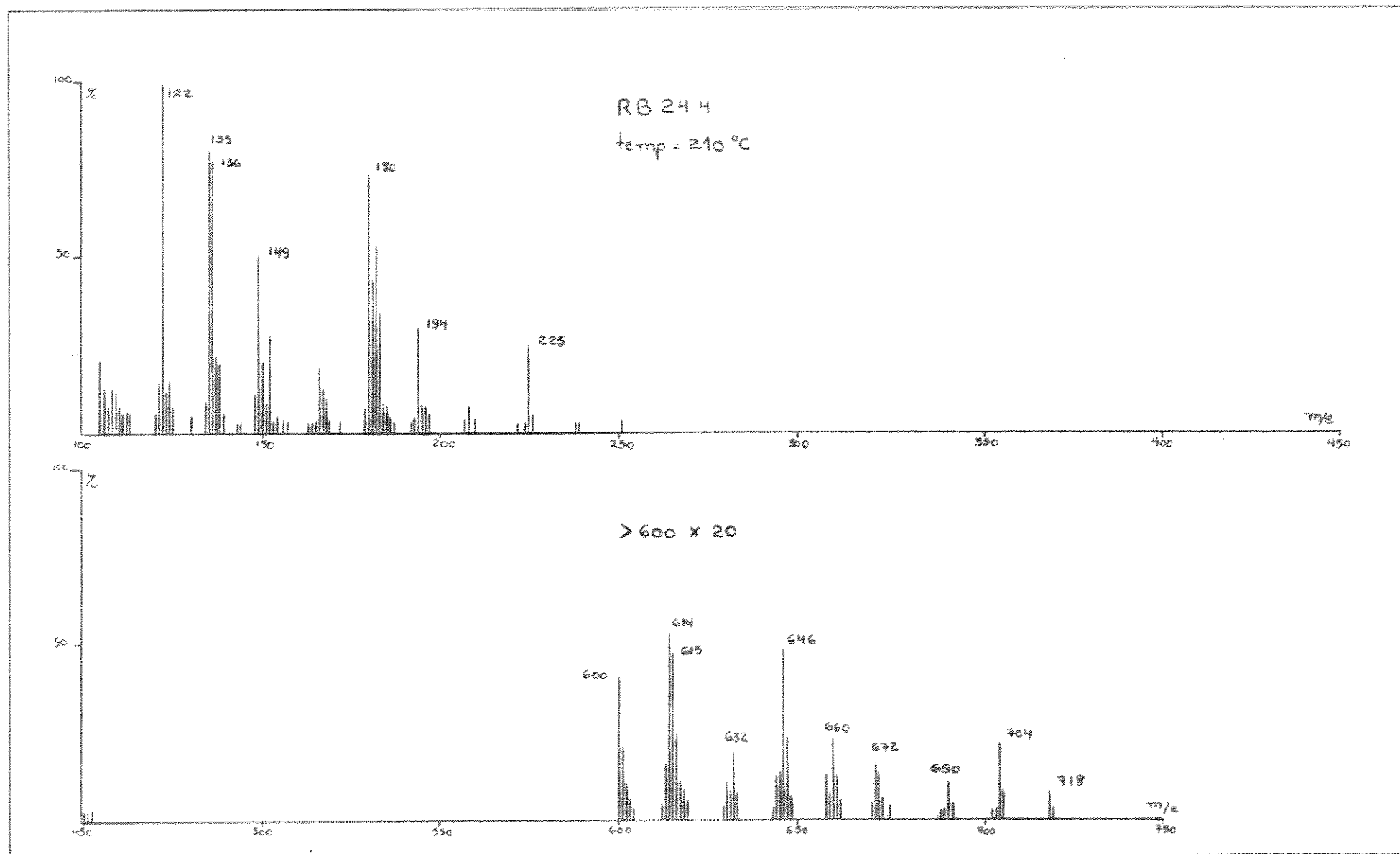


Figura XIII Espectro de massa da desmetilvoacamina

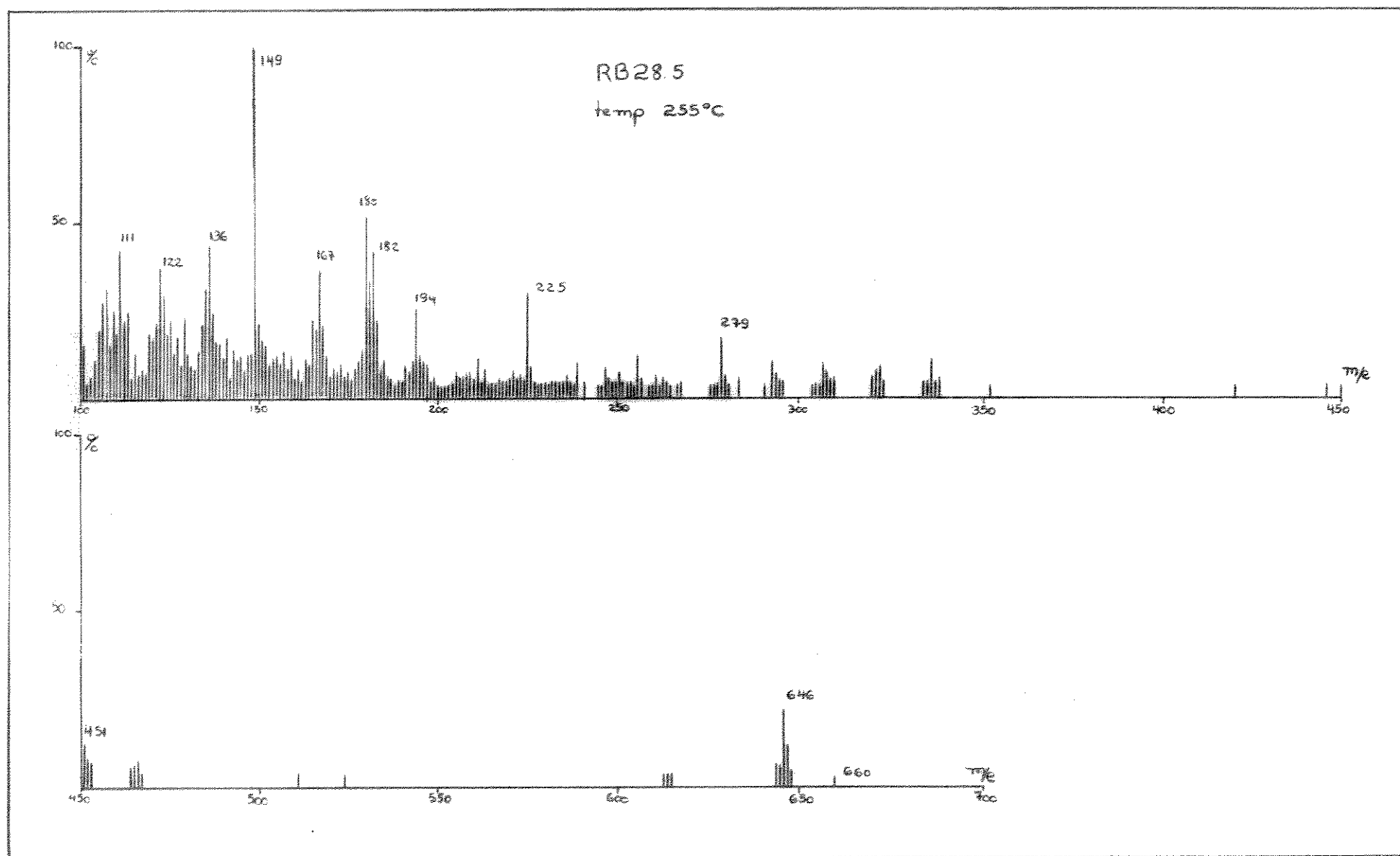


Figura XIV Espectro de massa da descarbometoxivoacamina

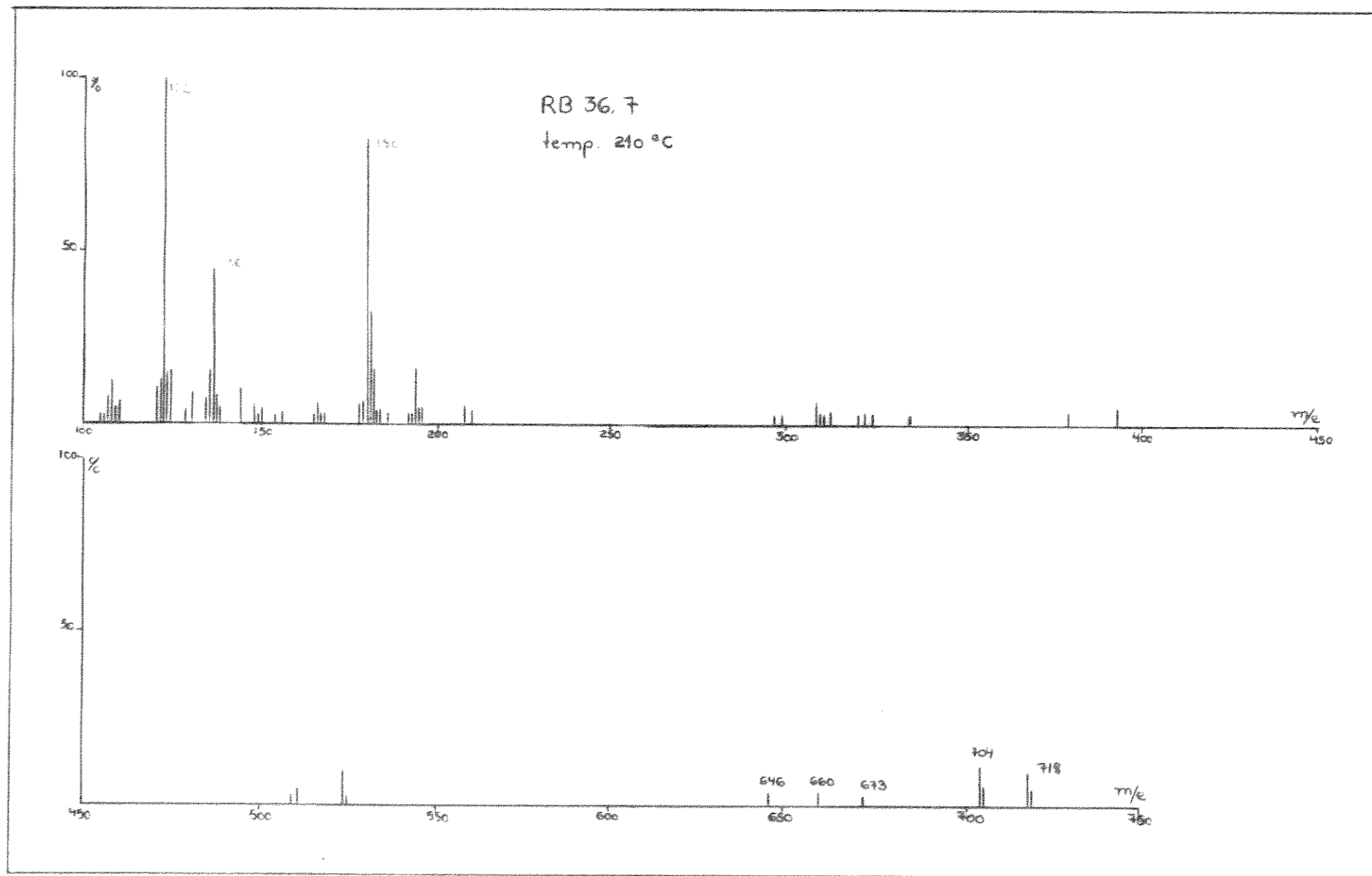


Figura XV Espectro de massa da voacamidina

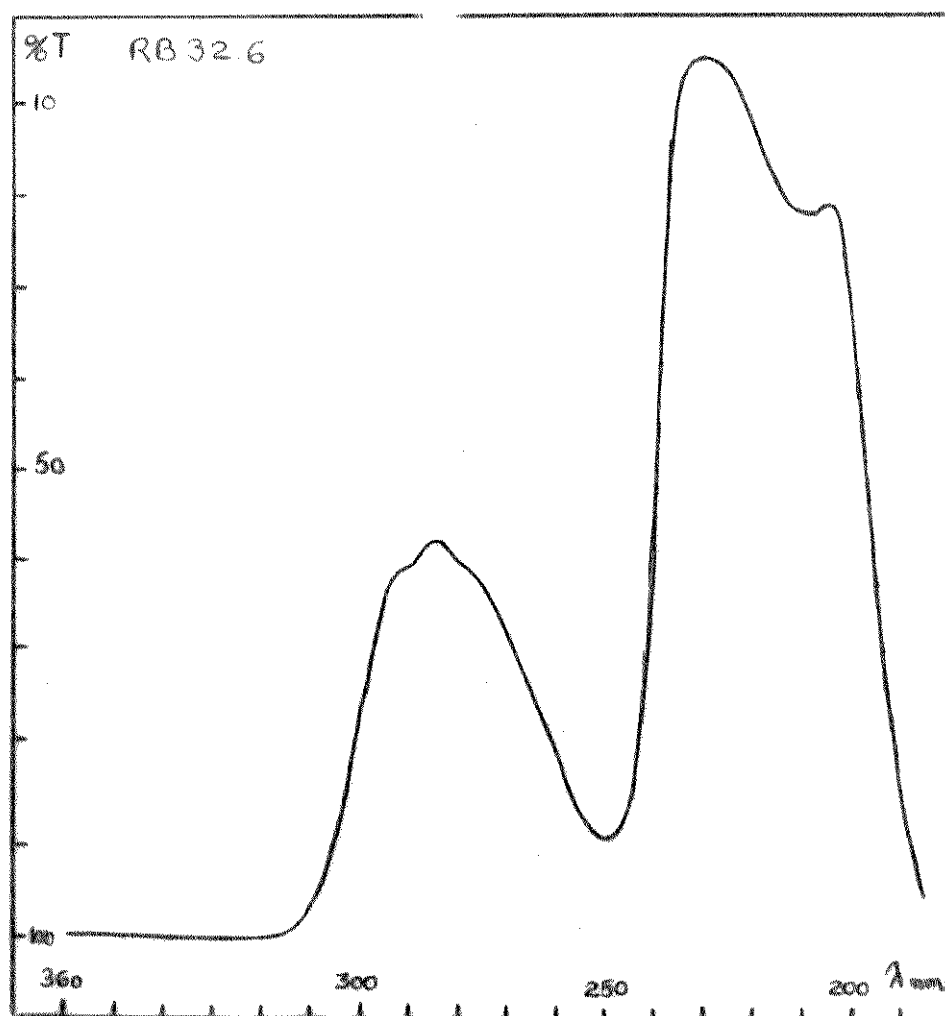


Figura XVI Espectro de UV da afinisina

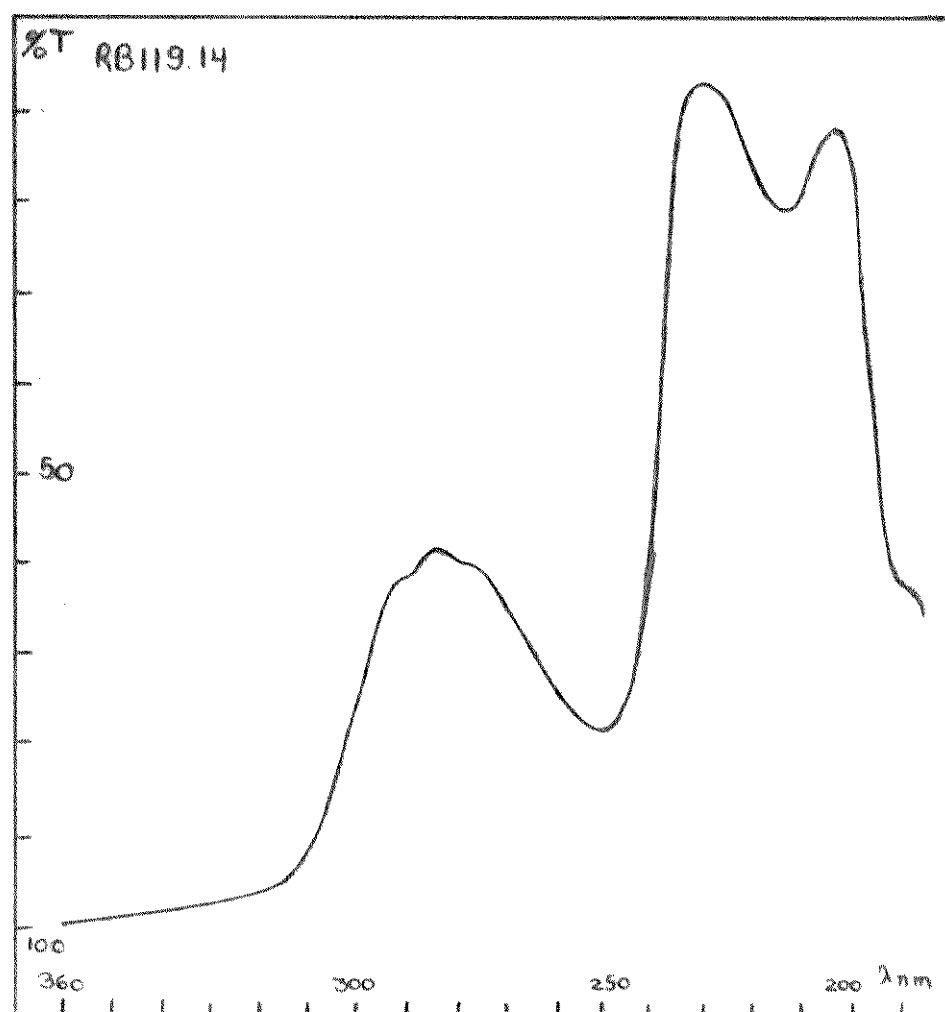


Figura XVII Espectro de UV da voacalotina

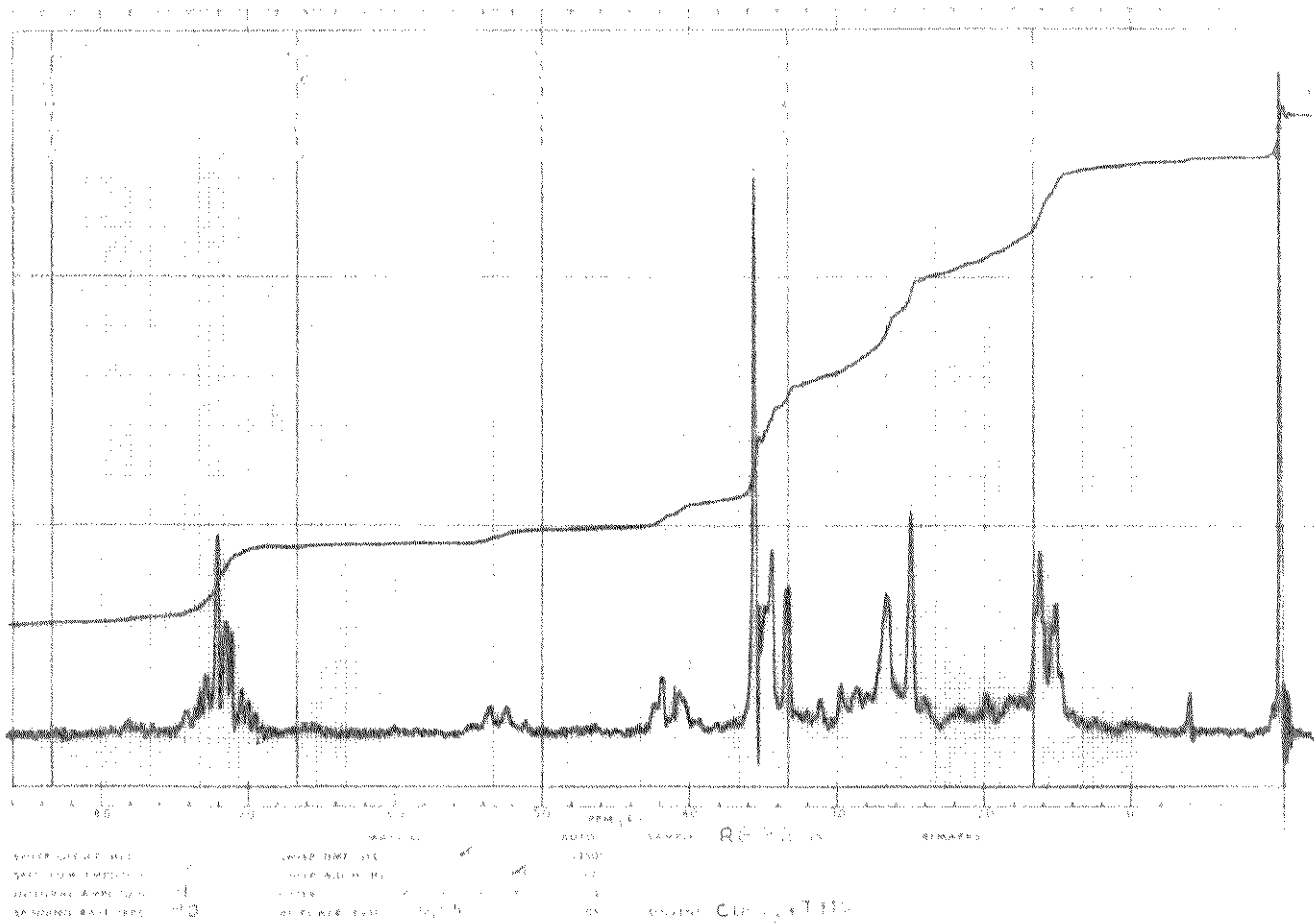


Figura XVIII Espectro de RMN-¹H da afinisina

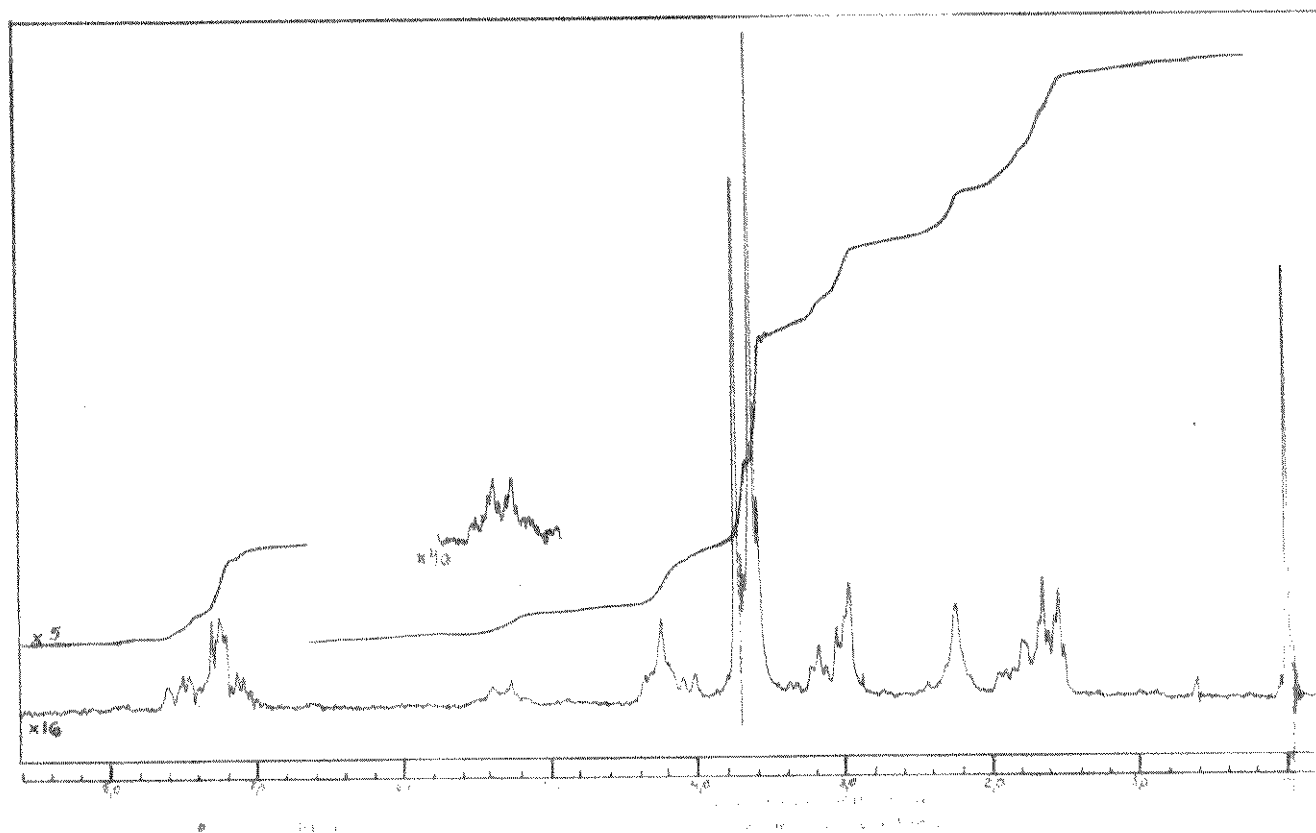


Figura XIX Espectro de RMN-¹H da voacalotina

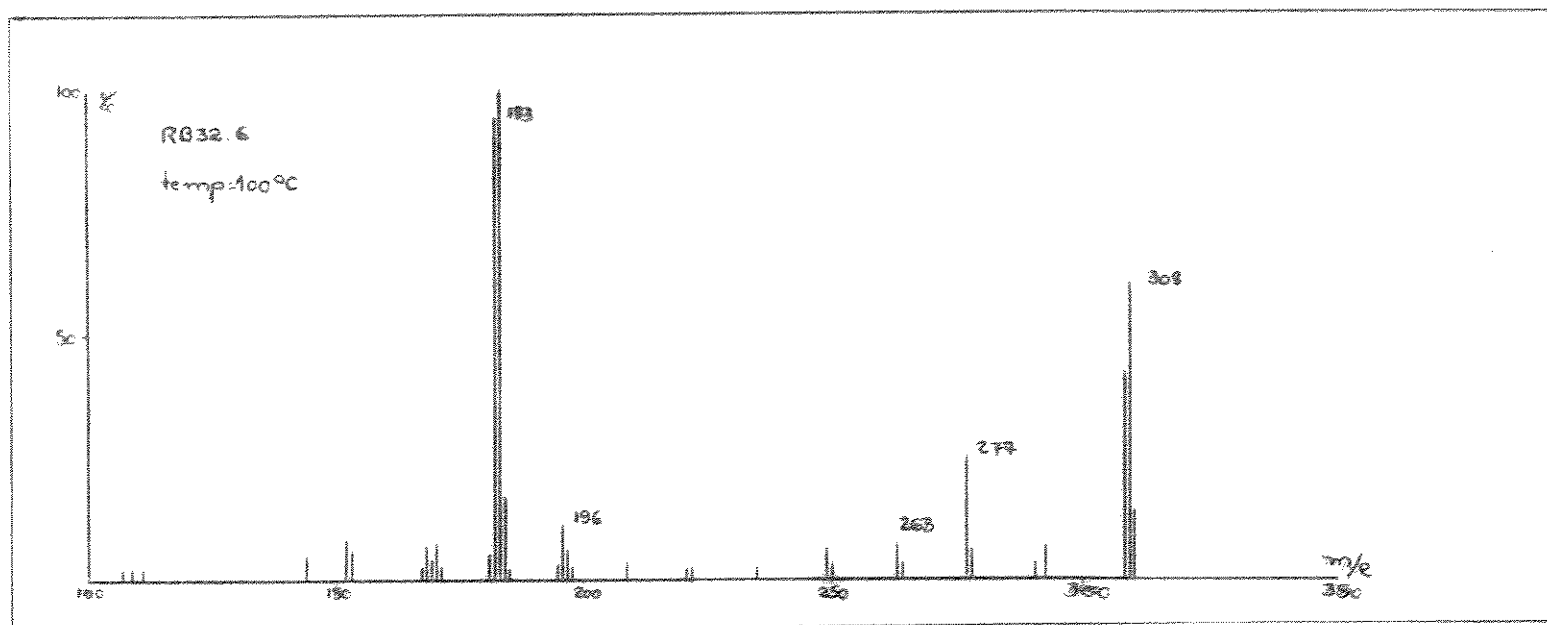


Figura XX Espectro de massa da afinisina

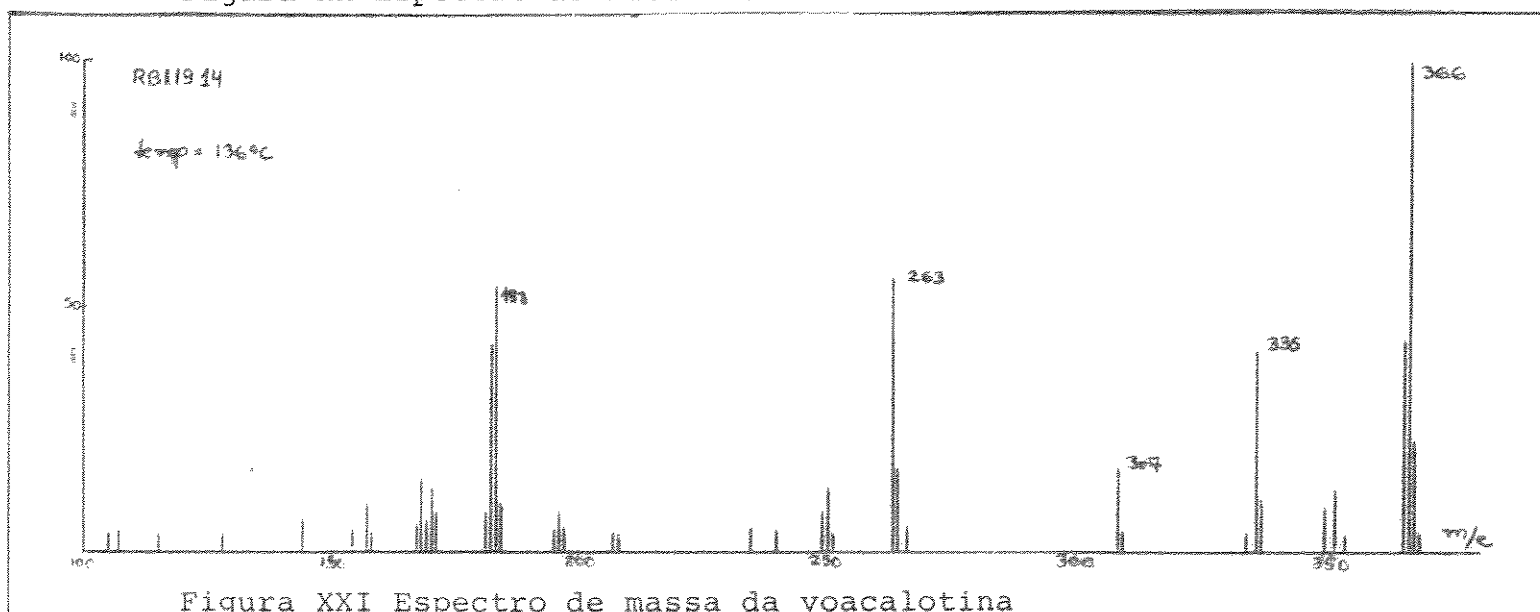


Figura XXI Espectro de massa da voacalotina

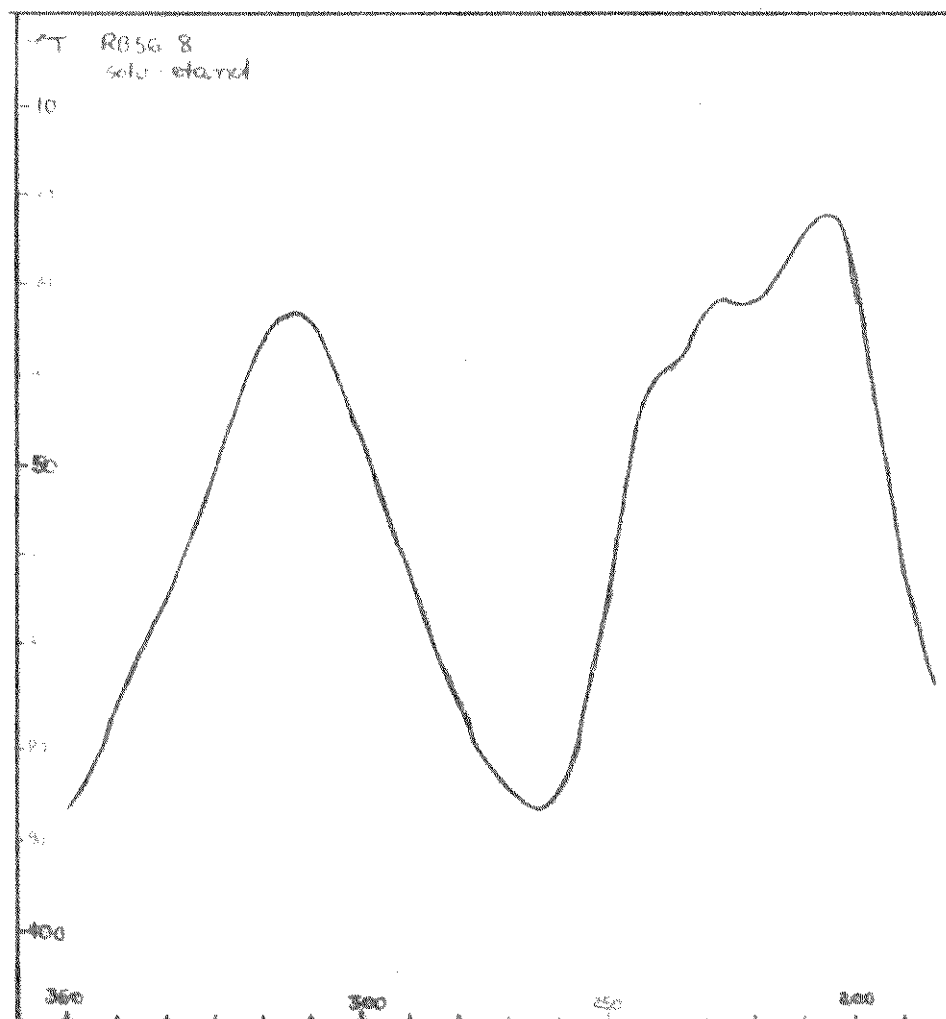


Figura XXII Espectro de UV da perivina

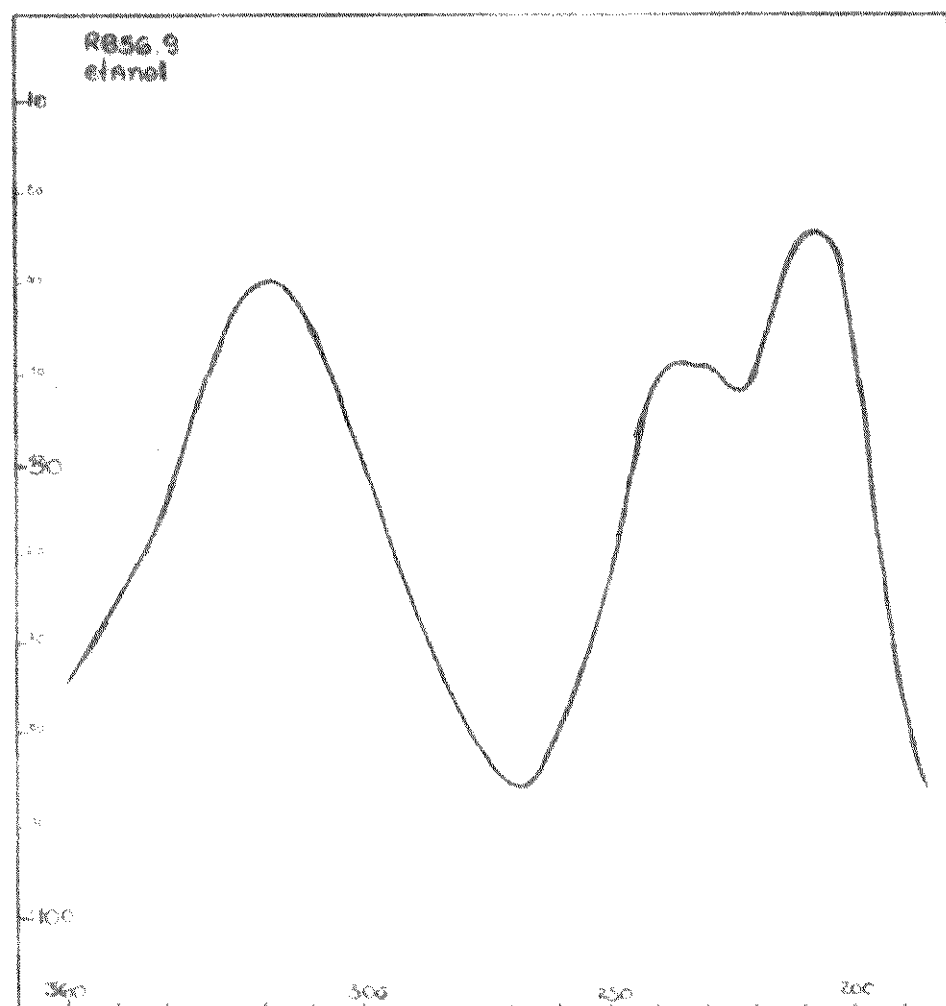


Figura XXIII Espectro de UV da 16-epiafinina

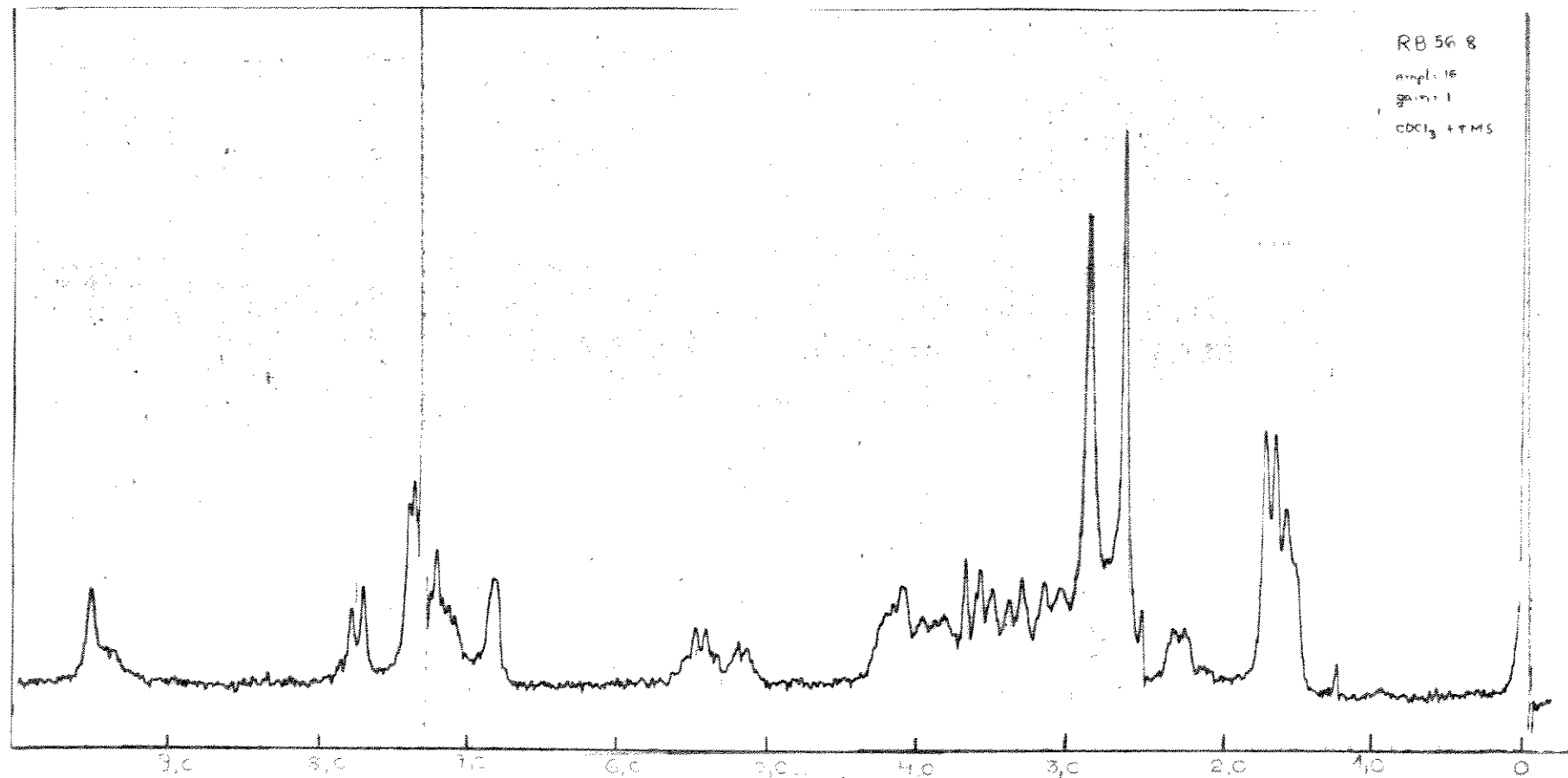


Figura XXIV Espectro de RMN-¹H (100 MHz) da perivina

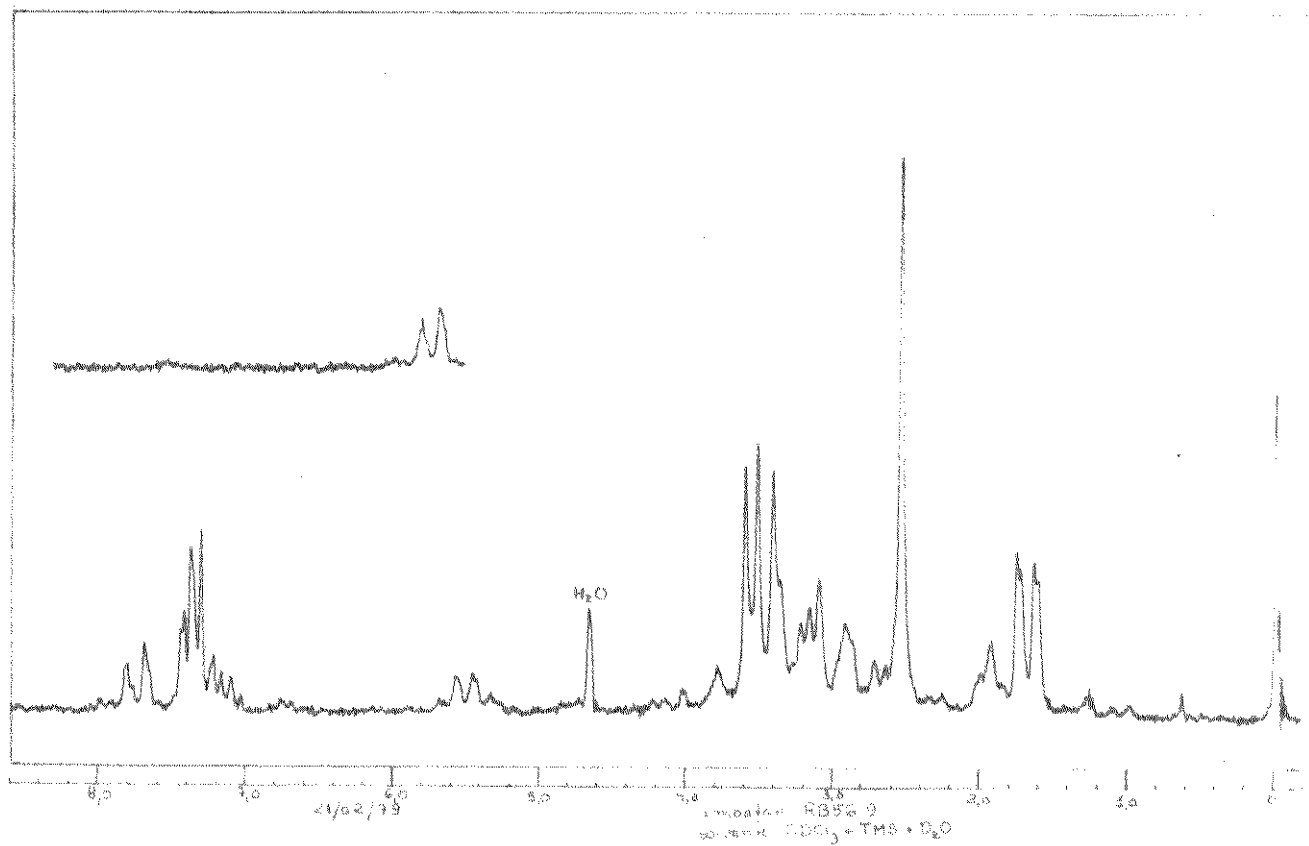
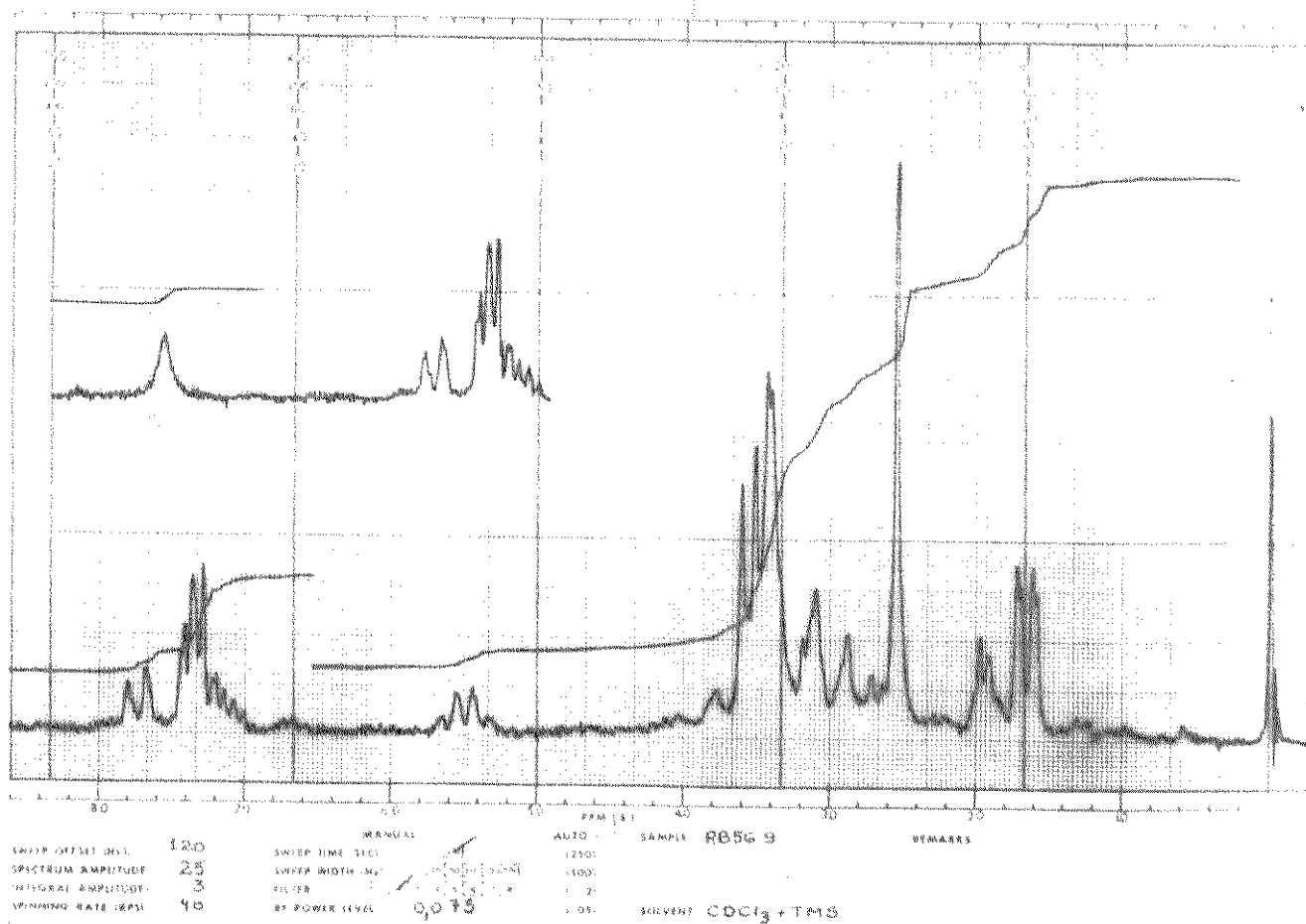


Figura XXV Espectro de RMN-¹H da 16-epiafinina

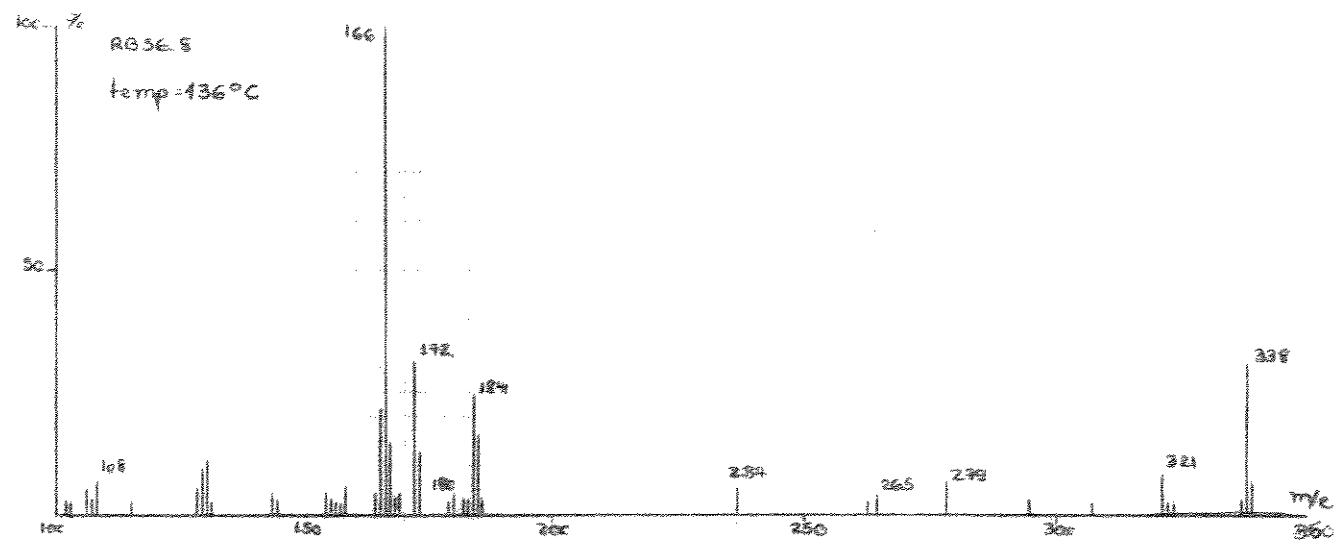


Figura XXVI Espectro de massa da perivina

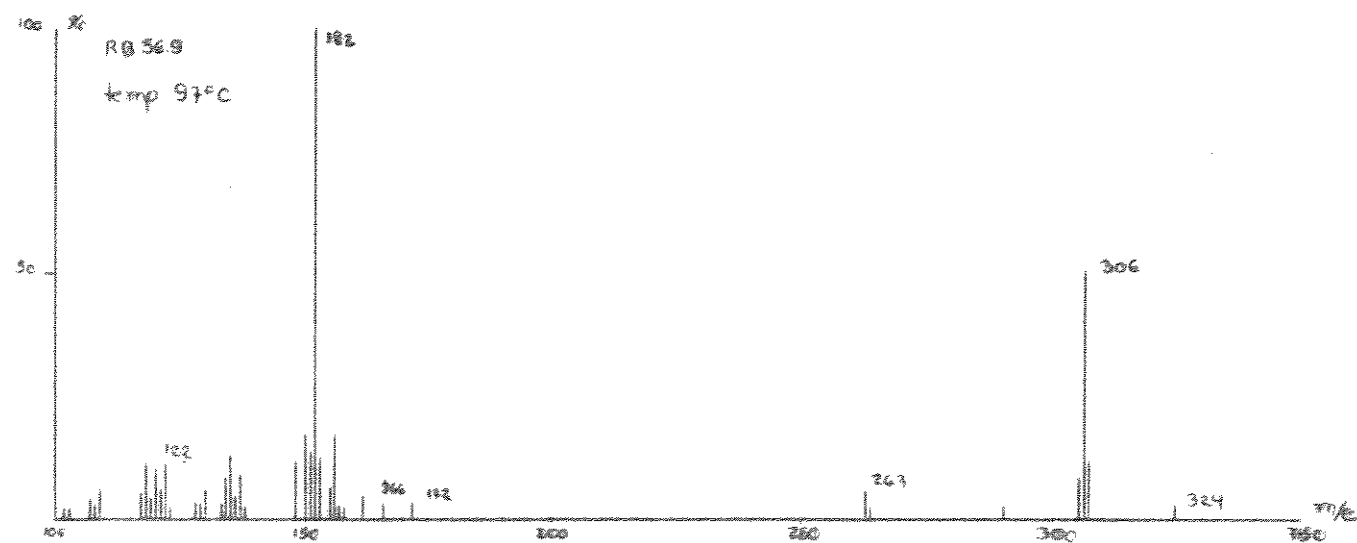


Figura XXVII Espectro de massa da 16-epiafinina

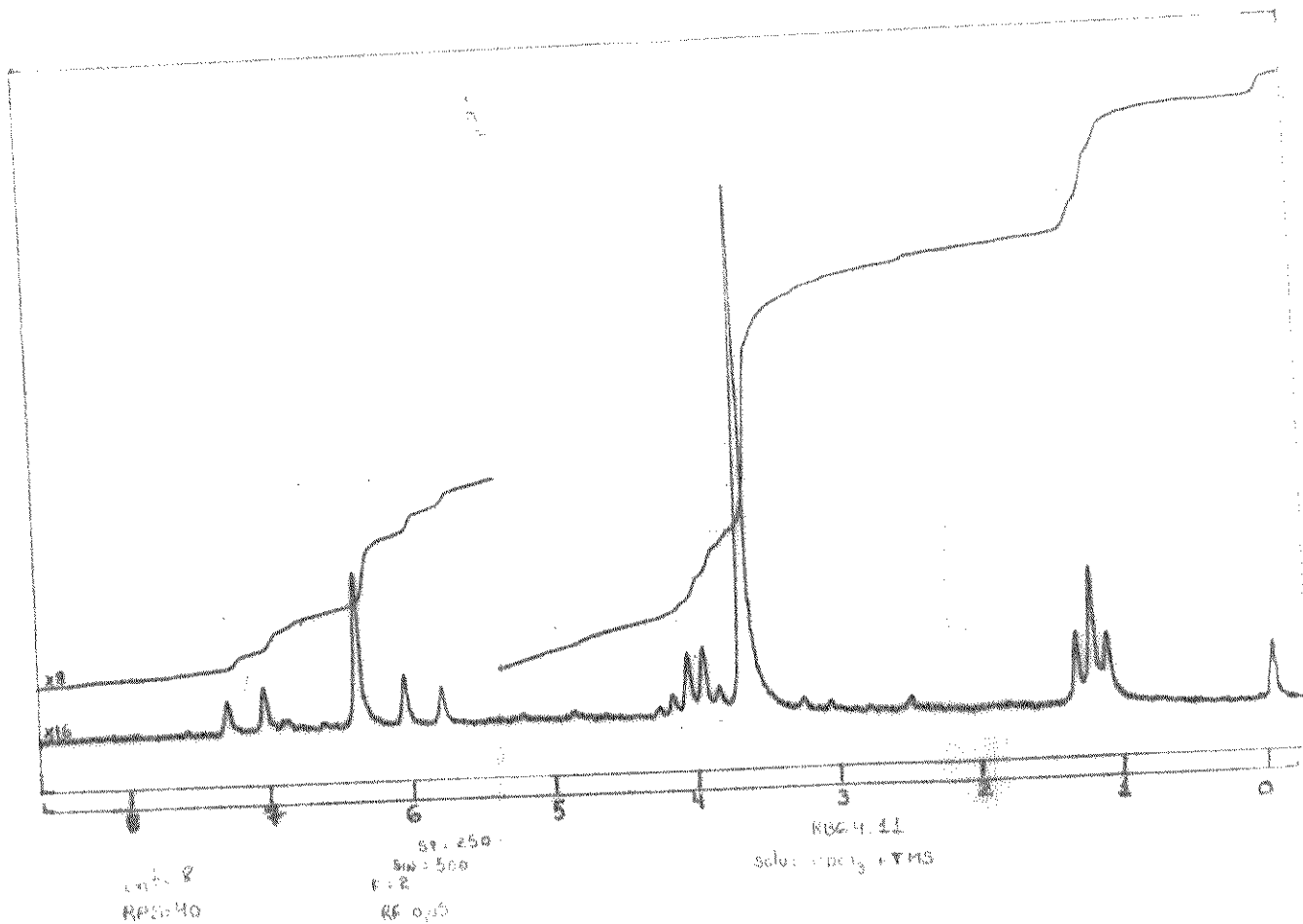


Figura XXVIII Espectro de RMN-¹H do sinapato de etila

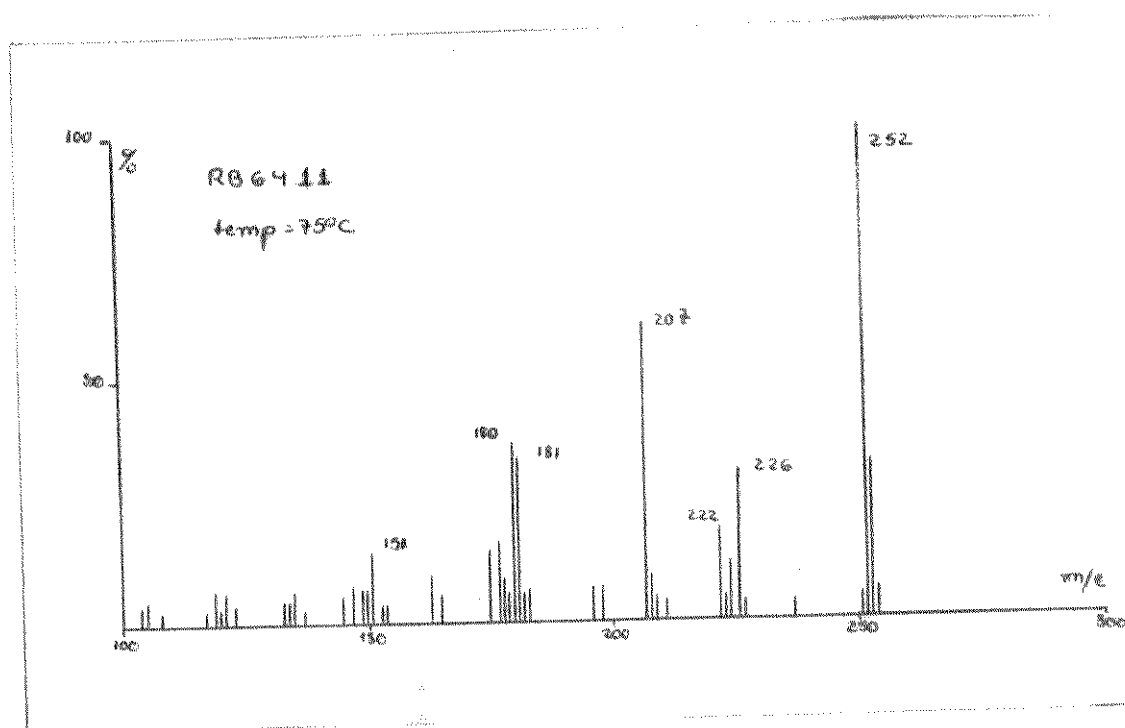


Figura XXIX Espectro de massa do sinapato de etila

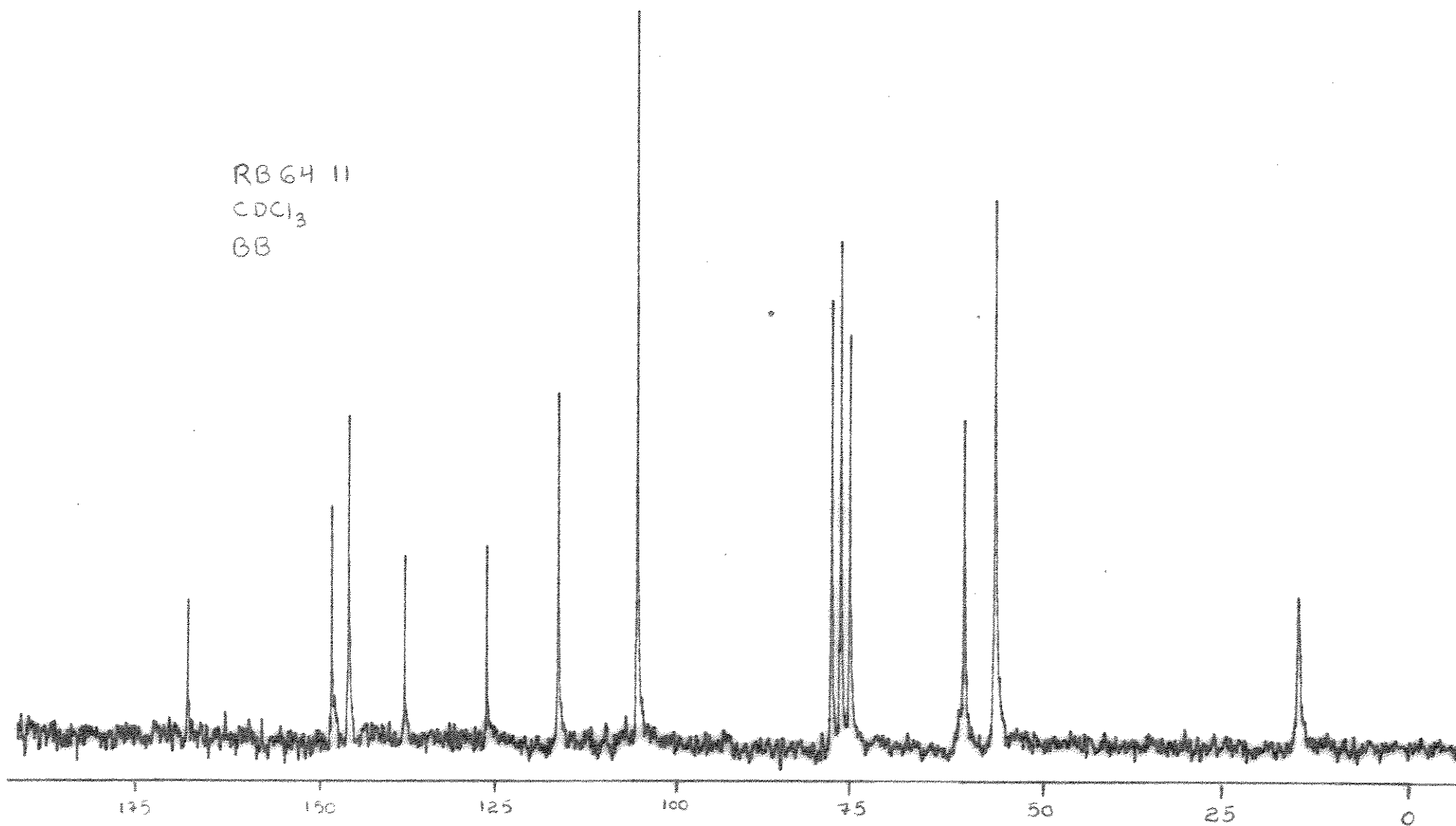


Figura XXX Espectro de RMN-¹³C do sinapato de etila

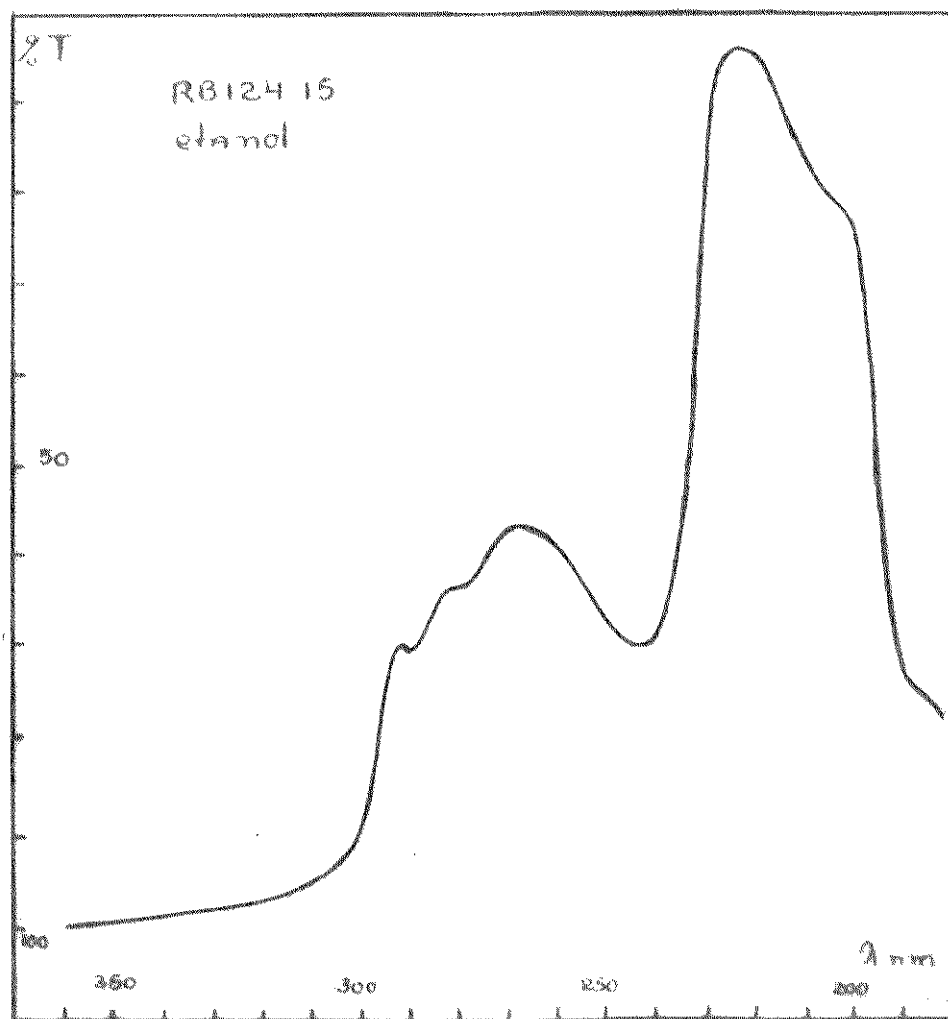


Figura XXXI Espectro de UV da fuchsiafolina

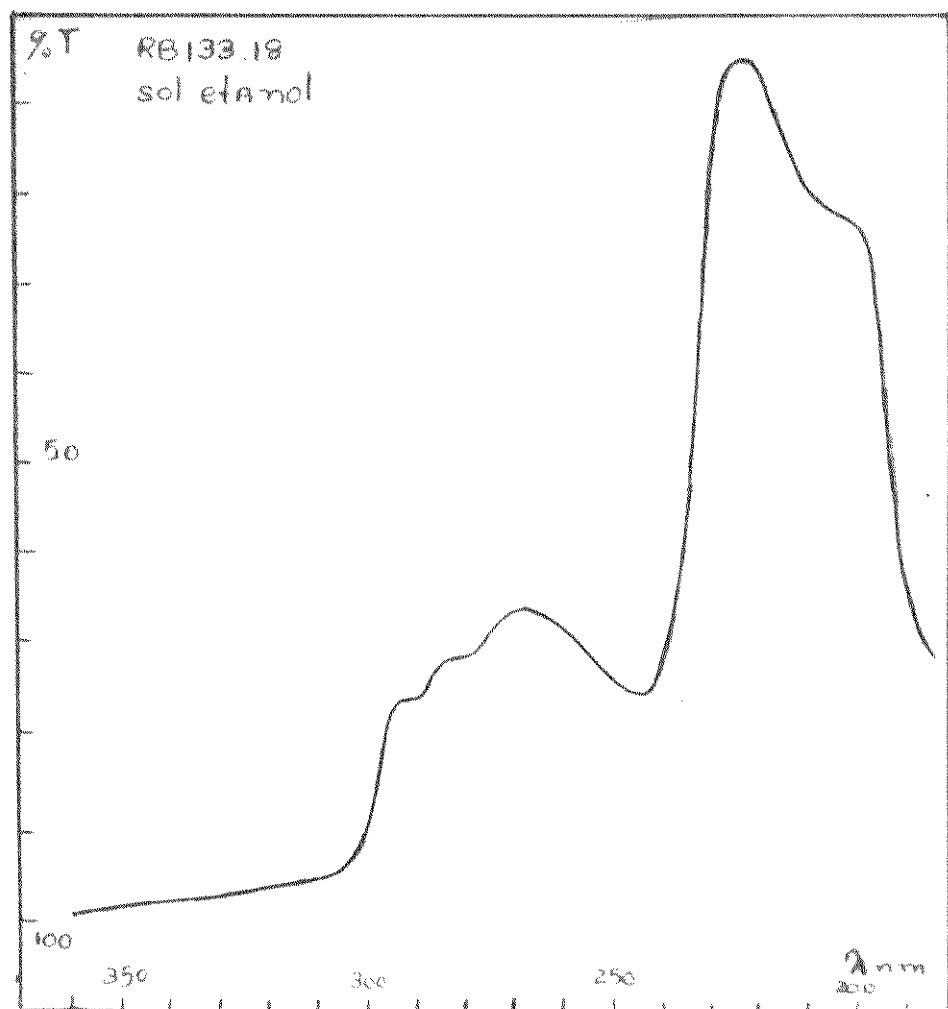


Figura XXXII Espectro de UV de 12-metoxi-N_b-
metilvoacalotina

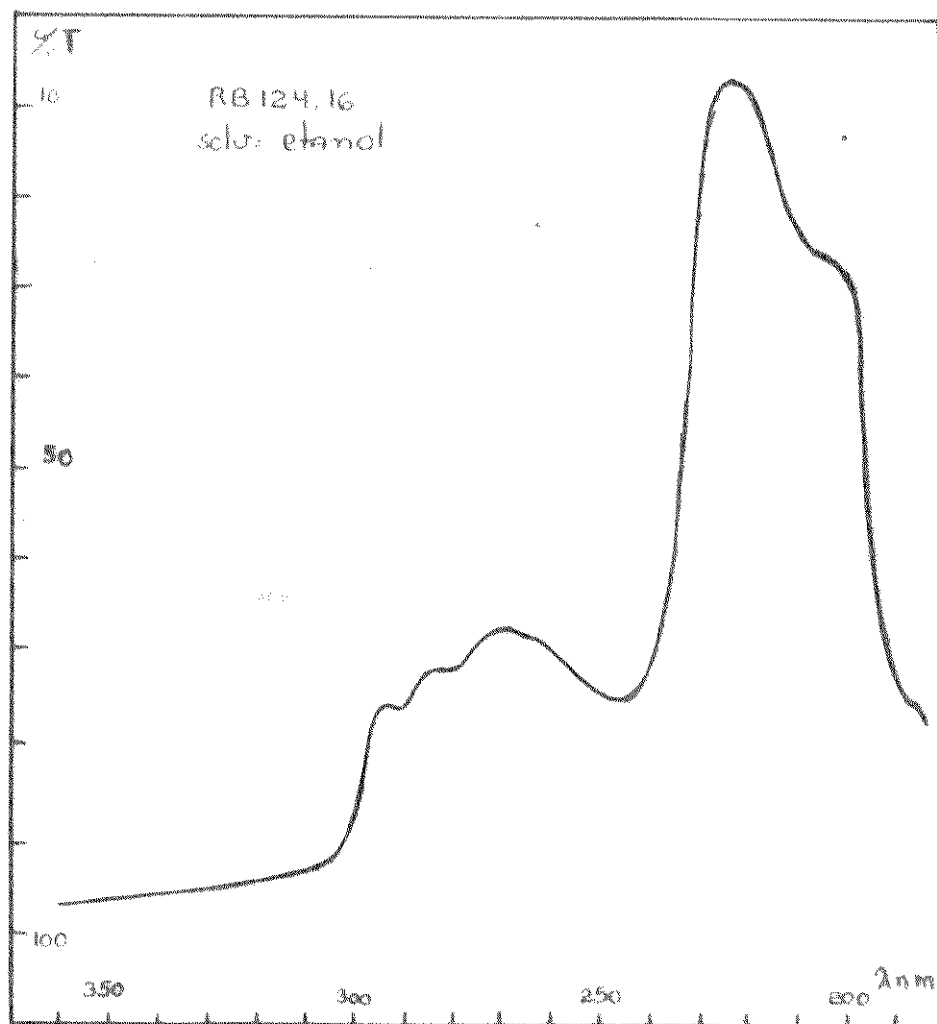


Figura XXXIII Espectro de UV do éster etílico de 12-metoxi-Nb-metilvoacalotina

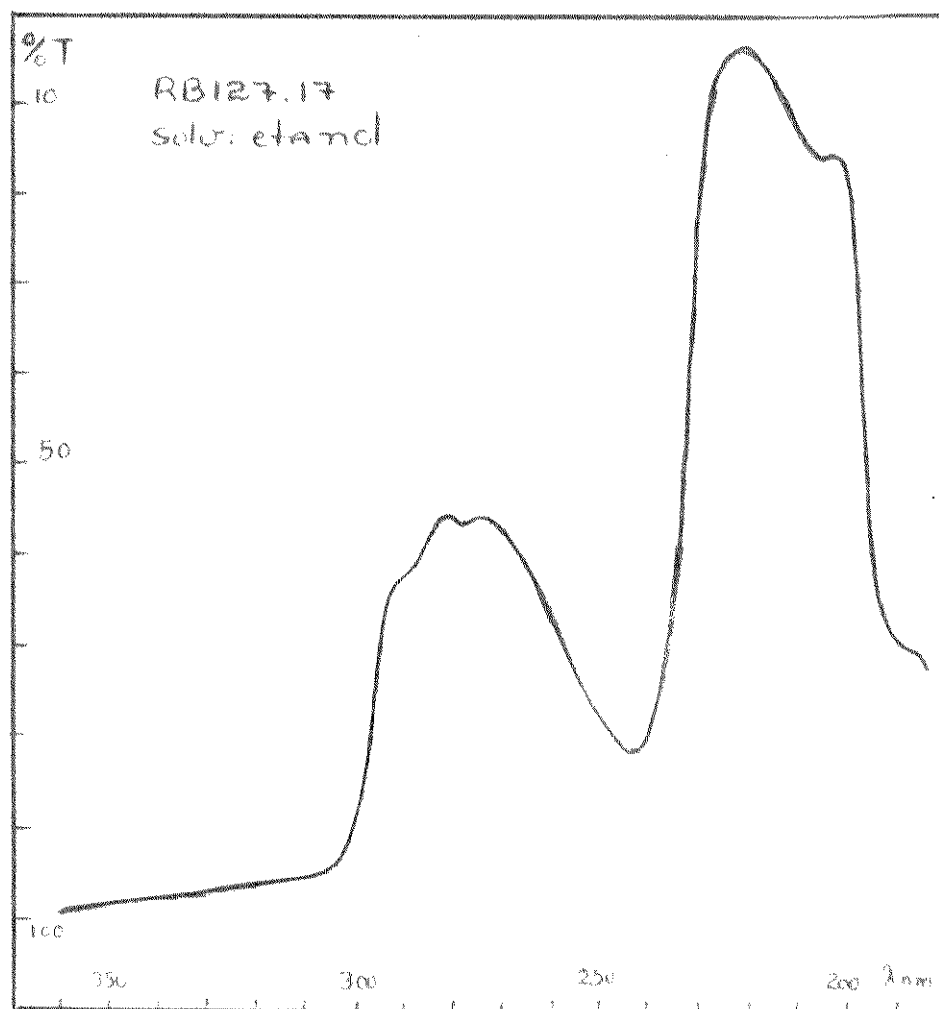


Figura XXXIV Espectro de UV do cloreto de N_b-metil afinisina

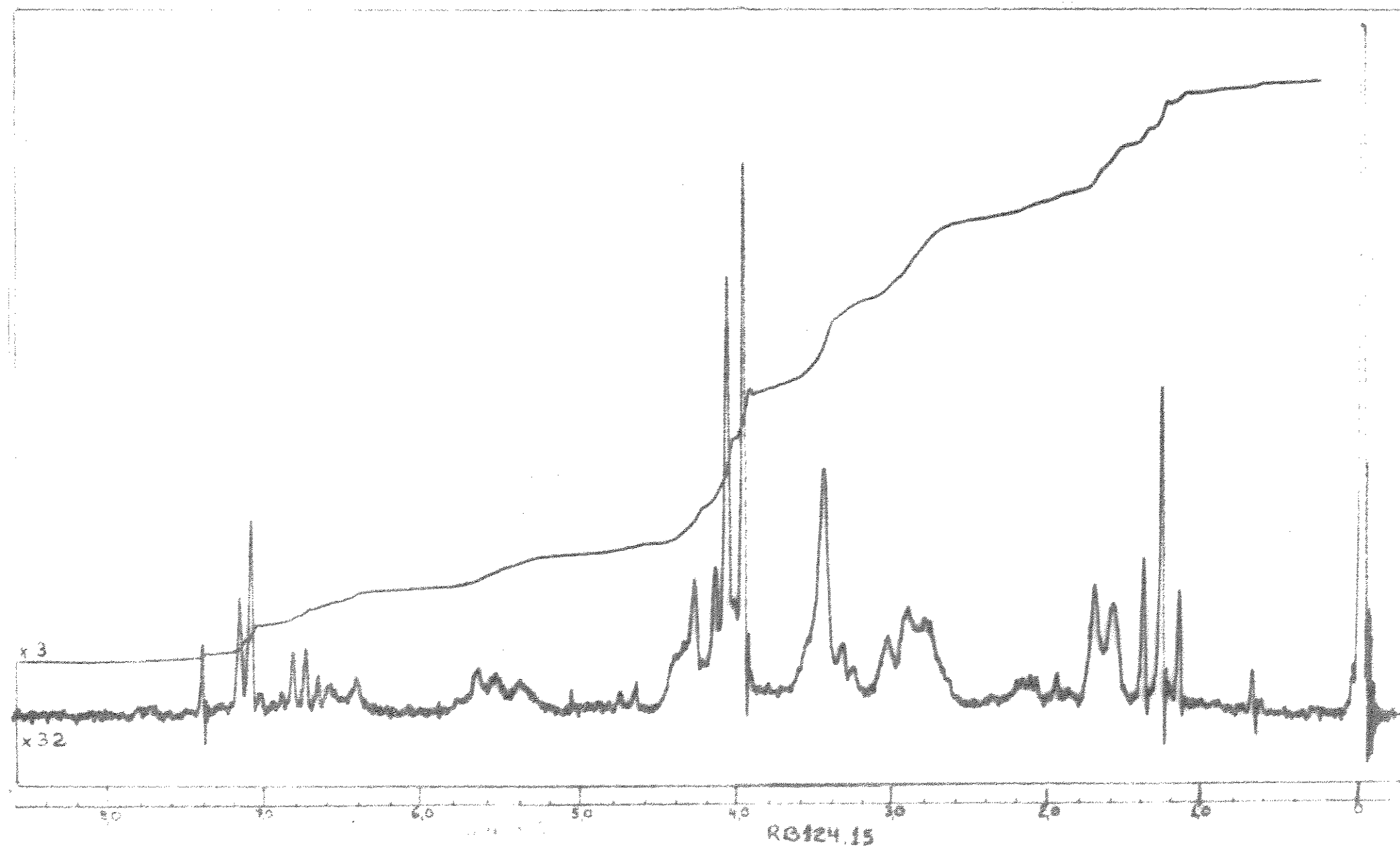


Figura XXXV Espectro de RMN- ^1H de fuchsiafolina

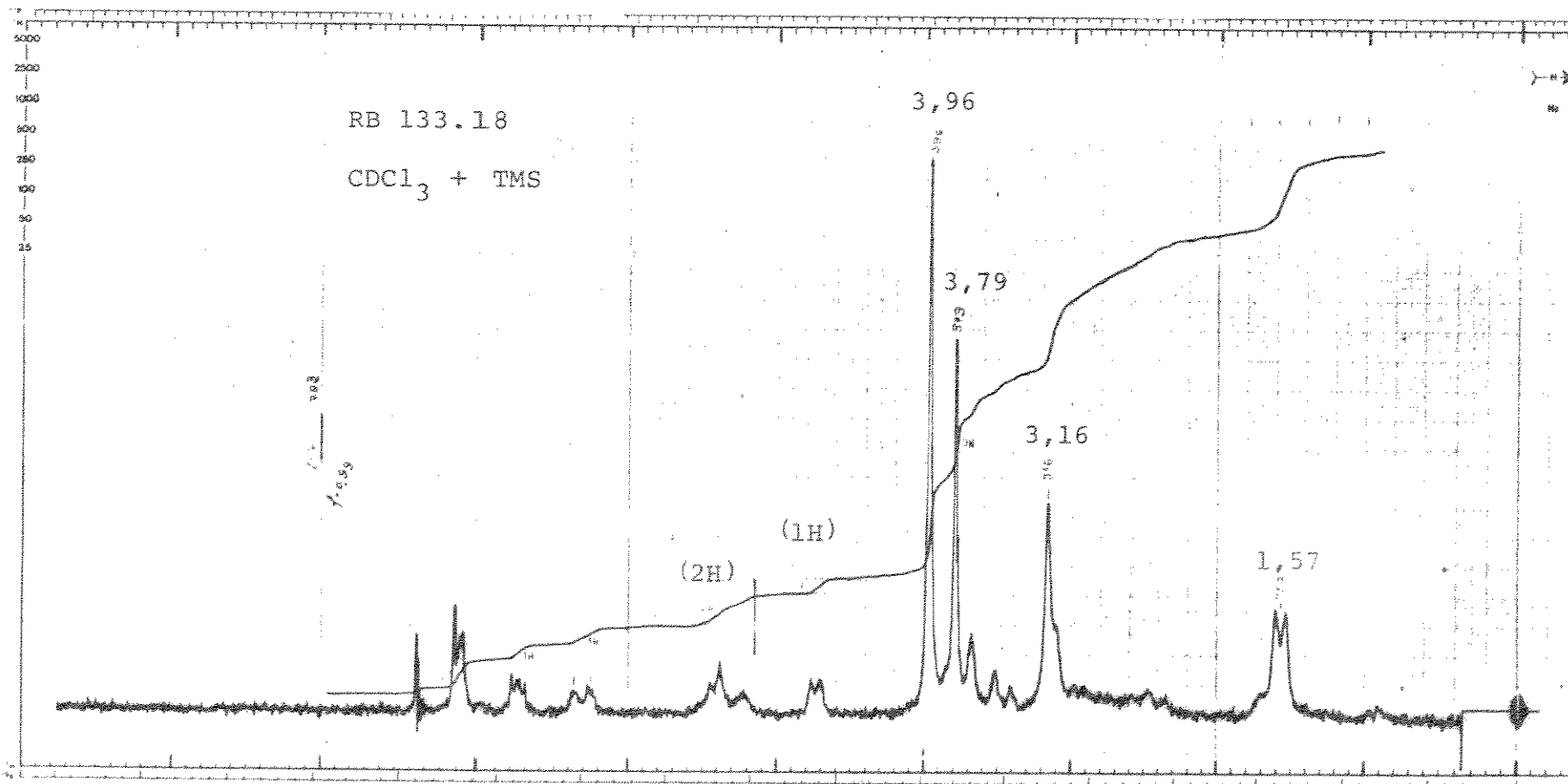


Figura XXXVI Espectro de RMN-¹H de 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina

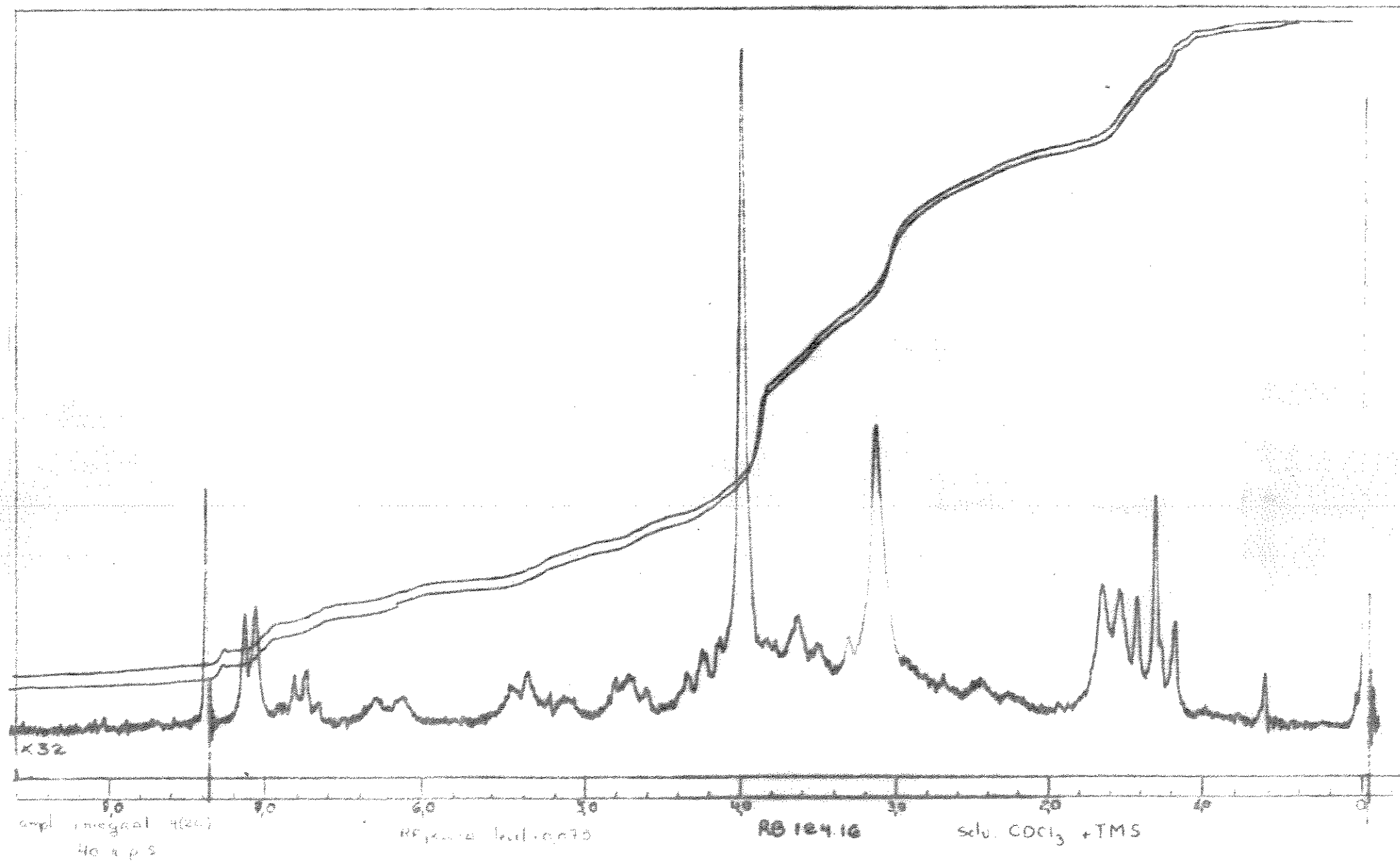


Figura XXXVII Espectro de RMN- ^1H do éster metílico de 12-metoxi- N_D -metilvoacalotina

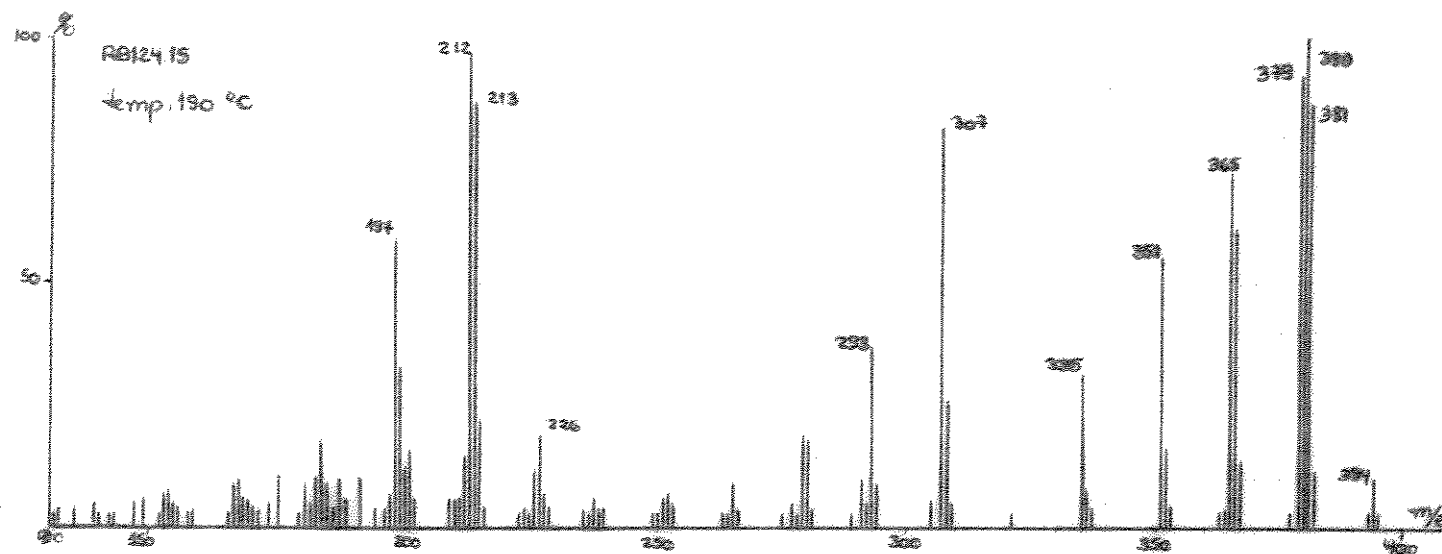


Figura XXXVIII Espectro de massa da fuchsiafolina

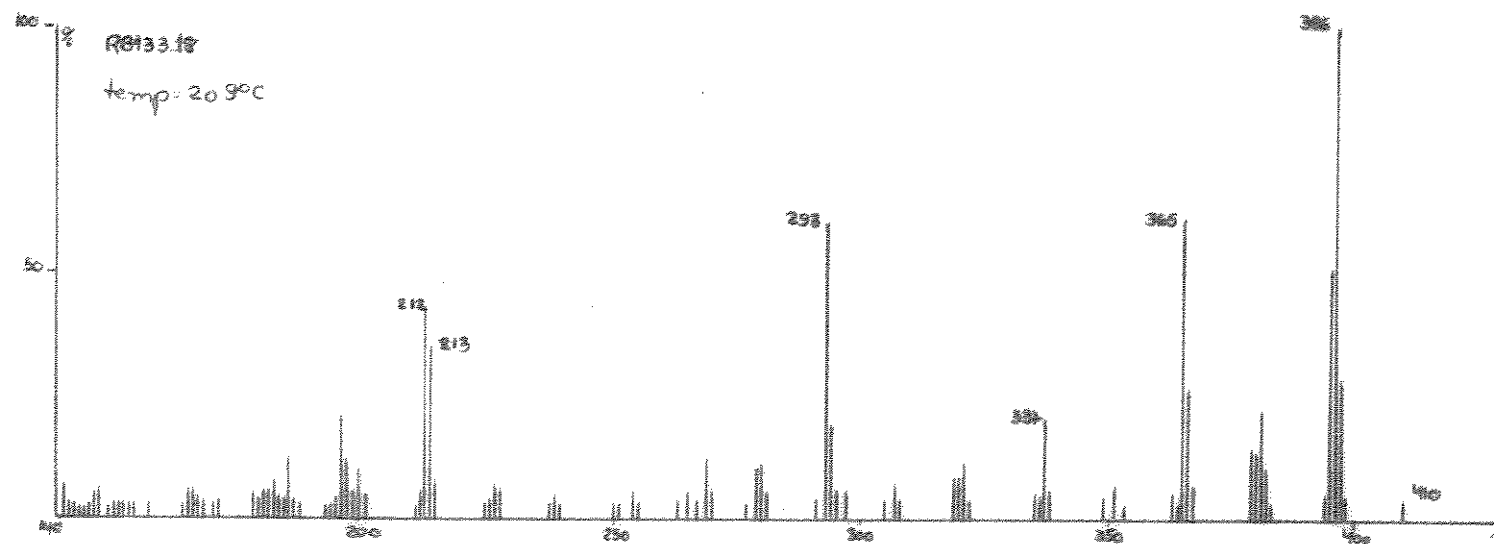


Figura XXXIX Espectro de massa de 12-metoxi-N-metilvoacalotina

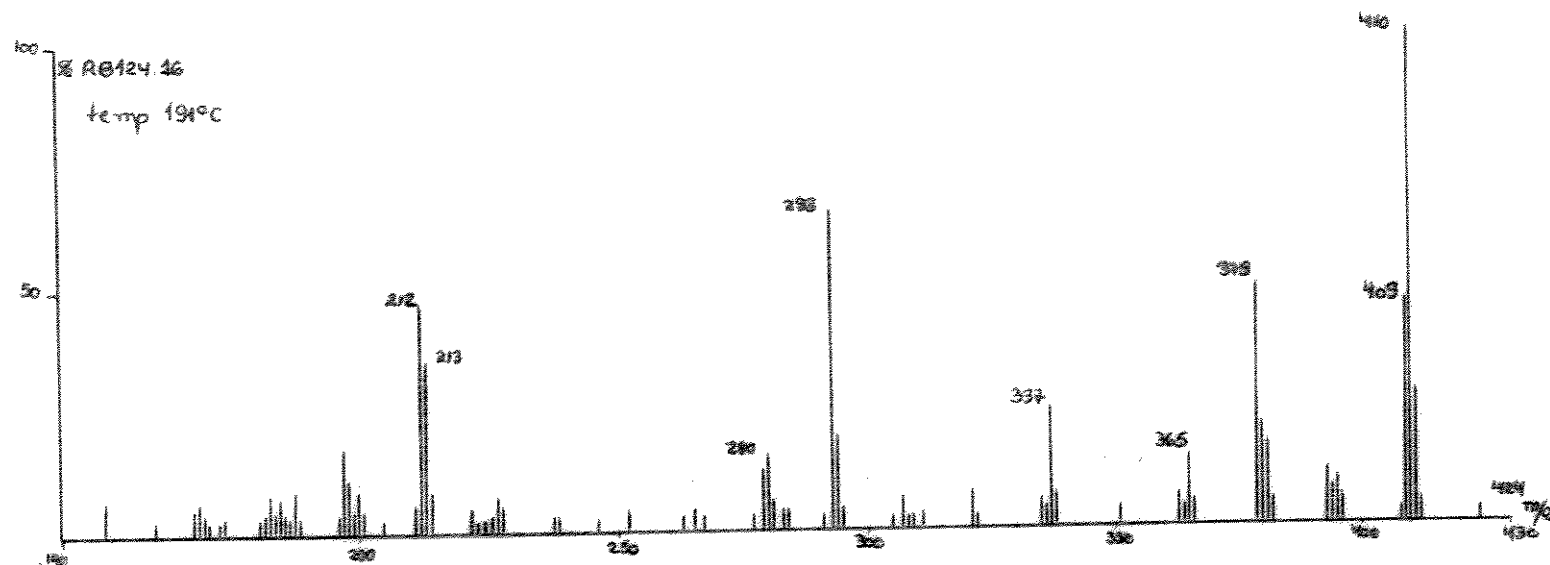


Figura XL Espectro de massa do éster etílico de 12-metoxi- N_6 -metilvoacalotina

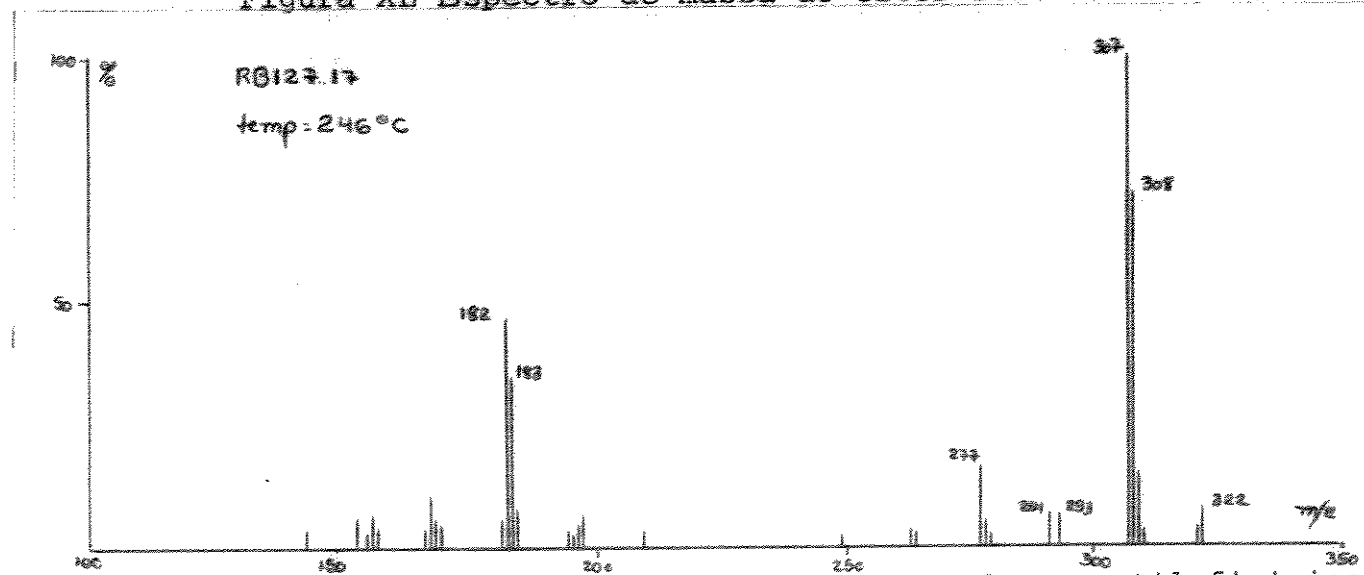


Figura XLI Espectro de massa do cloreto de N_6 -metilafinisina

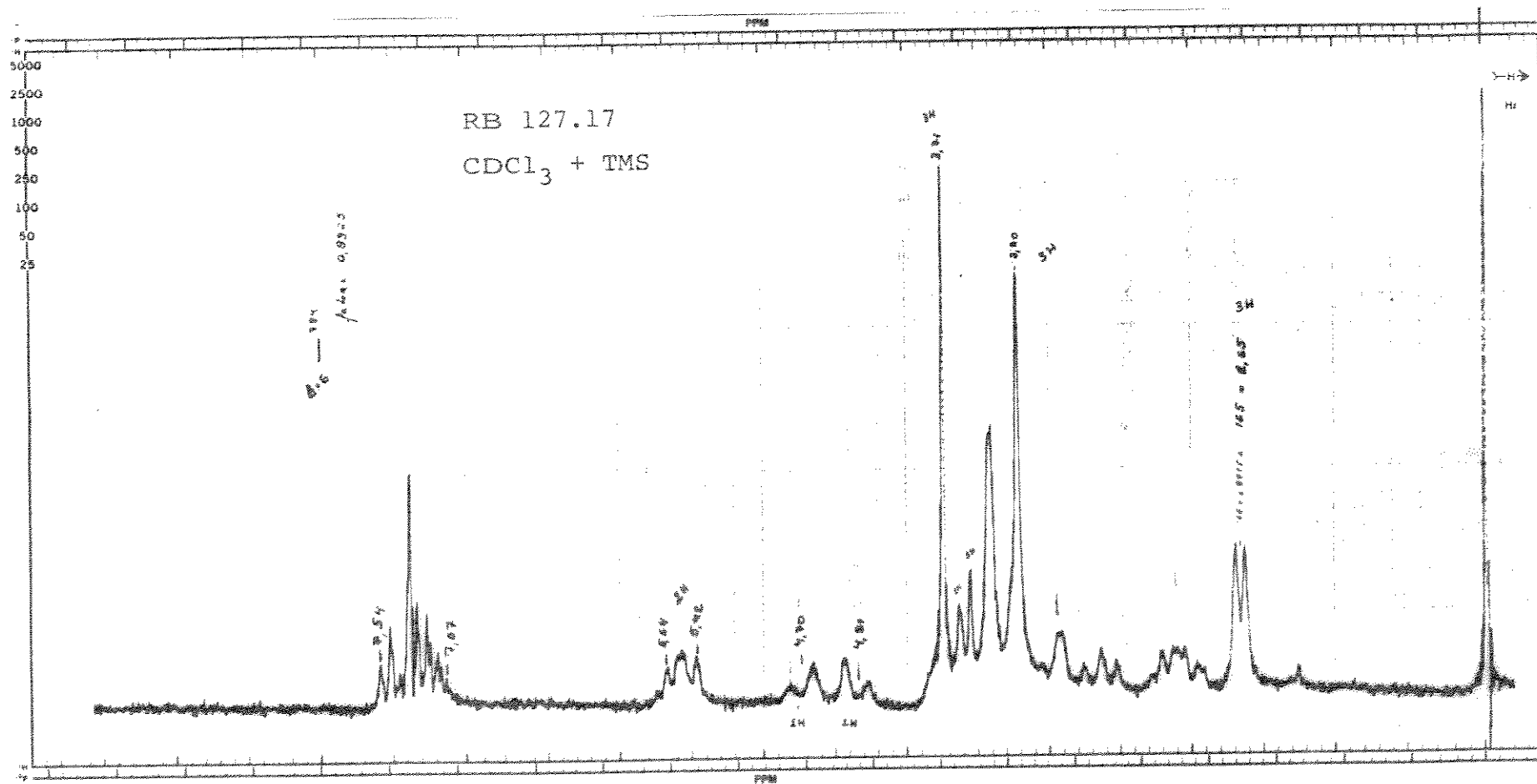


Figura XLII Espectro de RMN-¹H do cloreto de N_b-metilafinisina

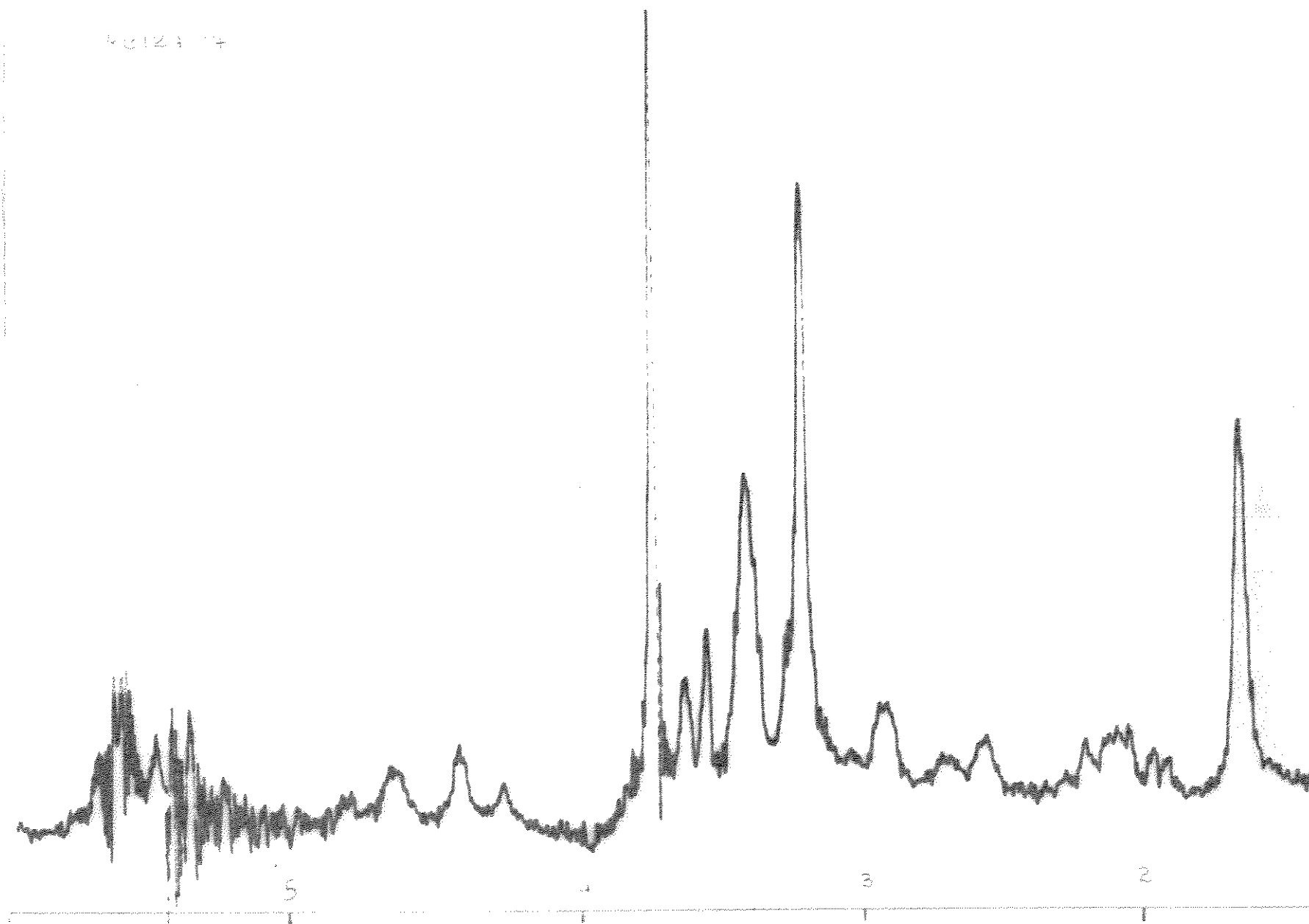


Figura XLIII Espectro de RMN- ^1H do cloreto de N₅-metilafinisina (irradiação à $\delta = 5,50 \text{ ppm}$)

RB127 17

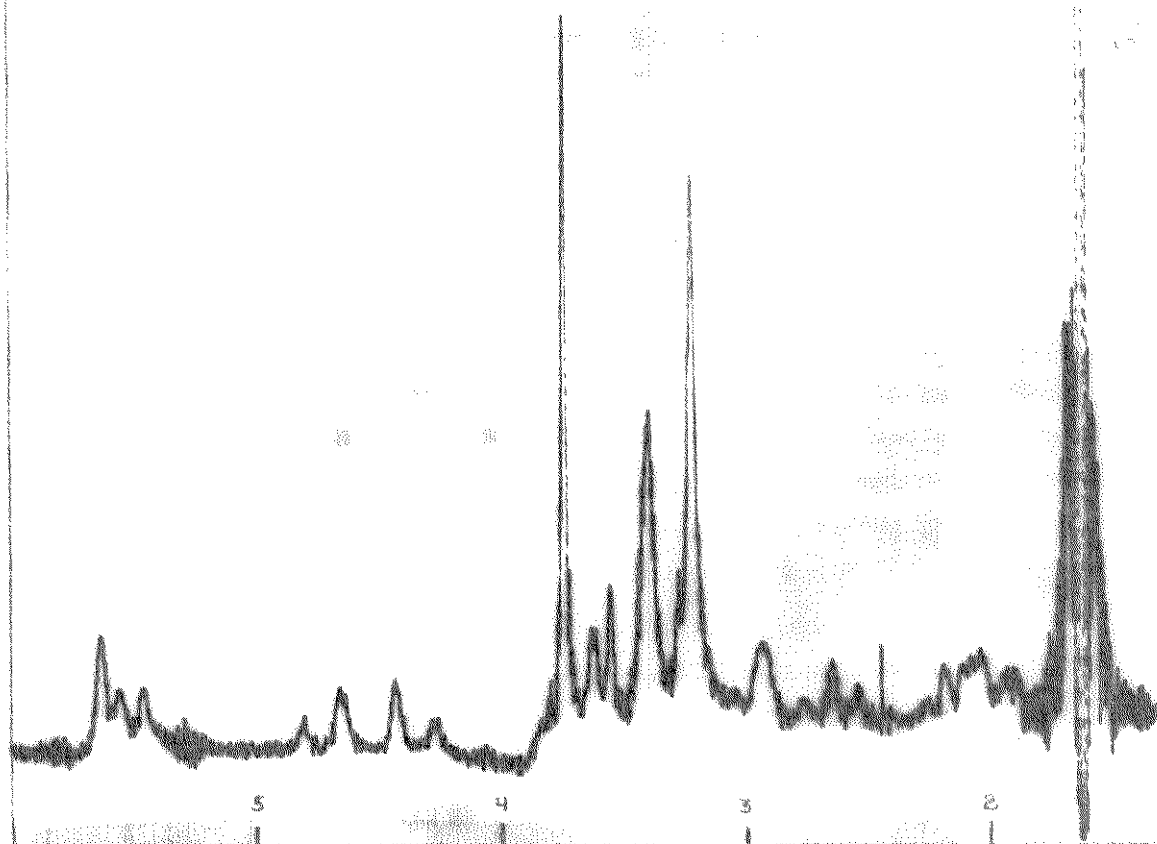


Figura XLIV Irradiação a $\delta = 1,6$ do cloreto de N_b-metilafinisina

RB127 17

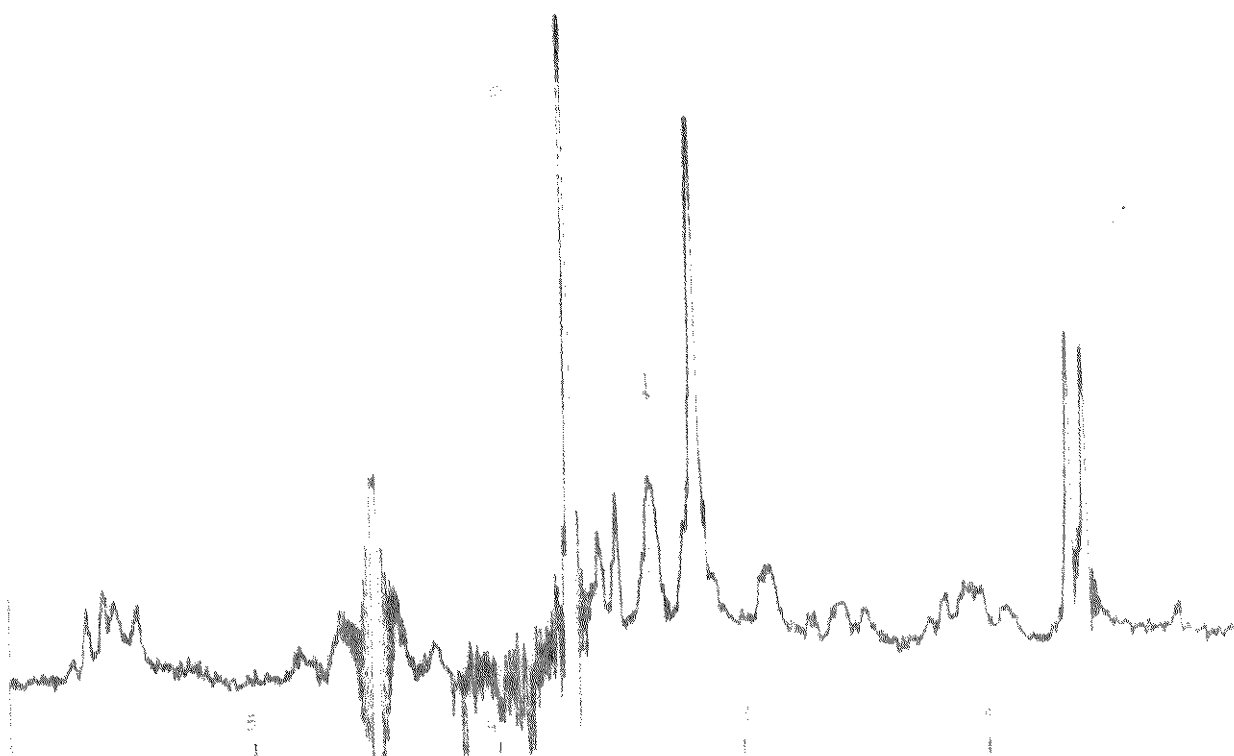


Figura XLV Irradiação do próton a $\delta = 4,28$ ppm

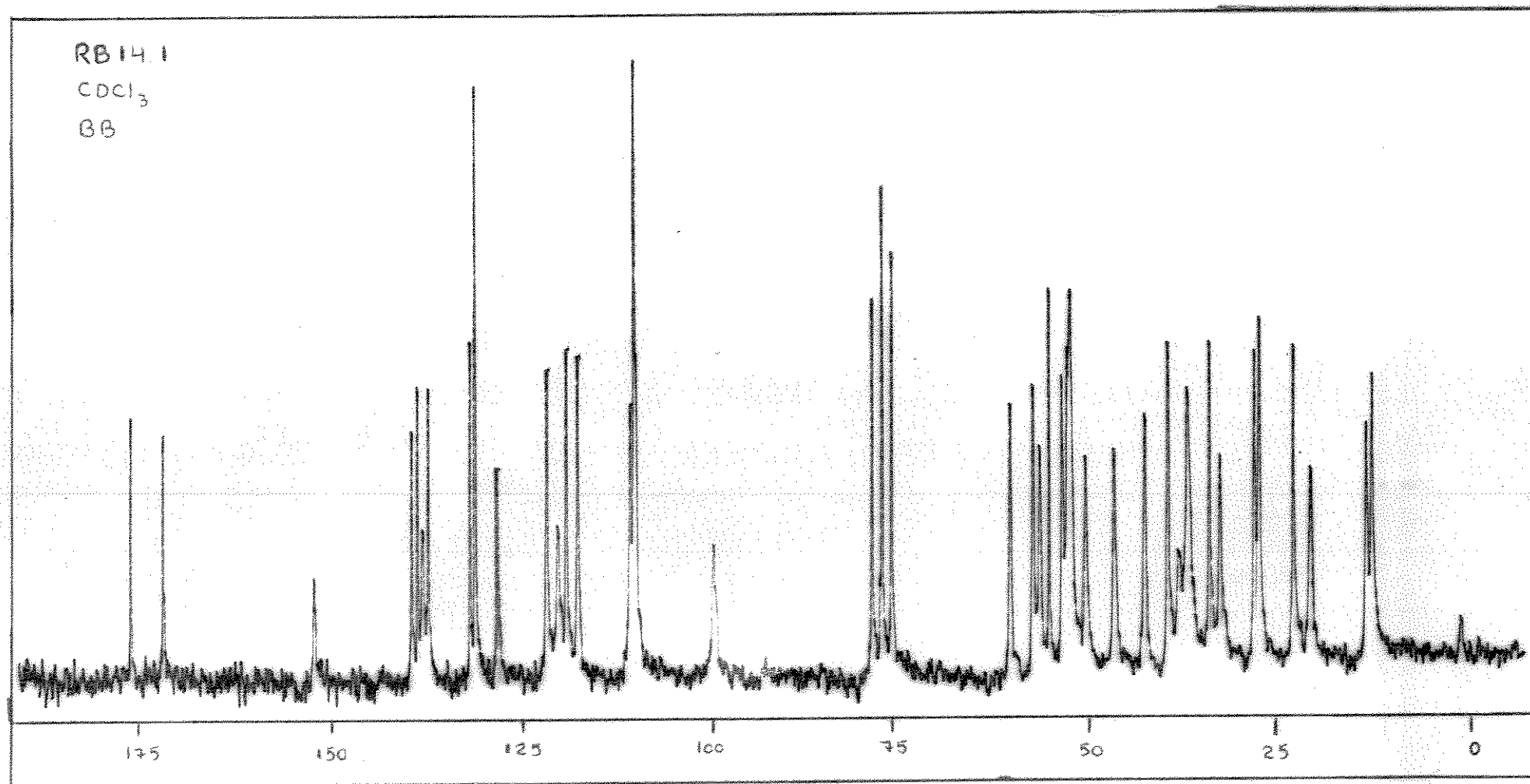


Figura XLVI Espectro de RMN-¹³C da voacamina

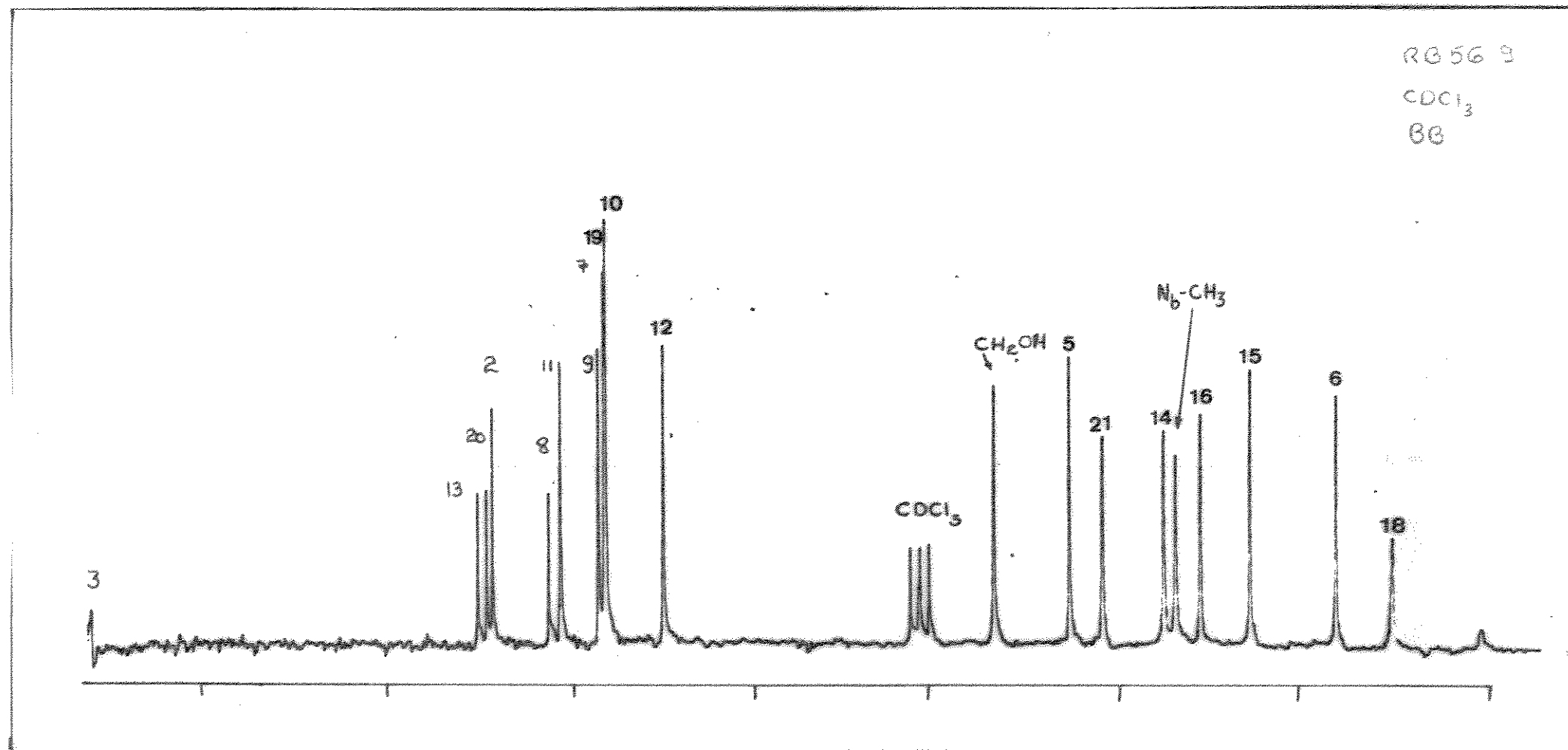


Figura XLVII Espectro de RMN-¹³C da 16-epiafinina

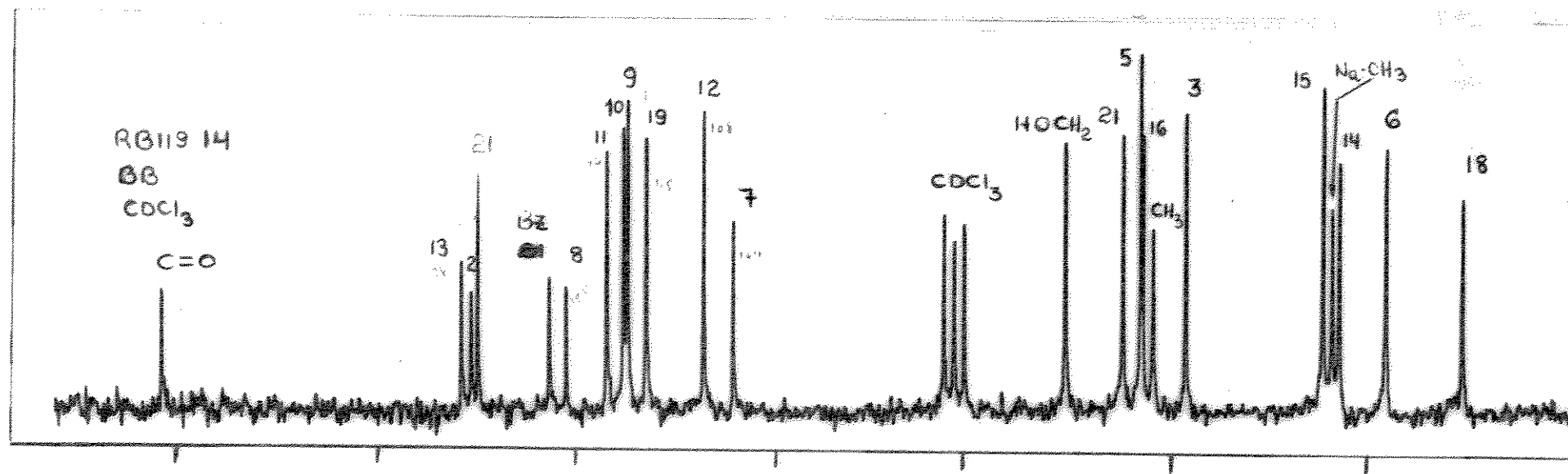
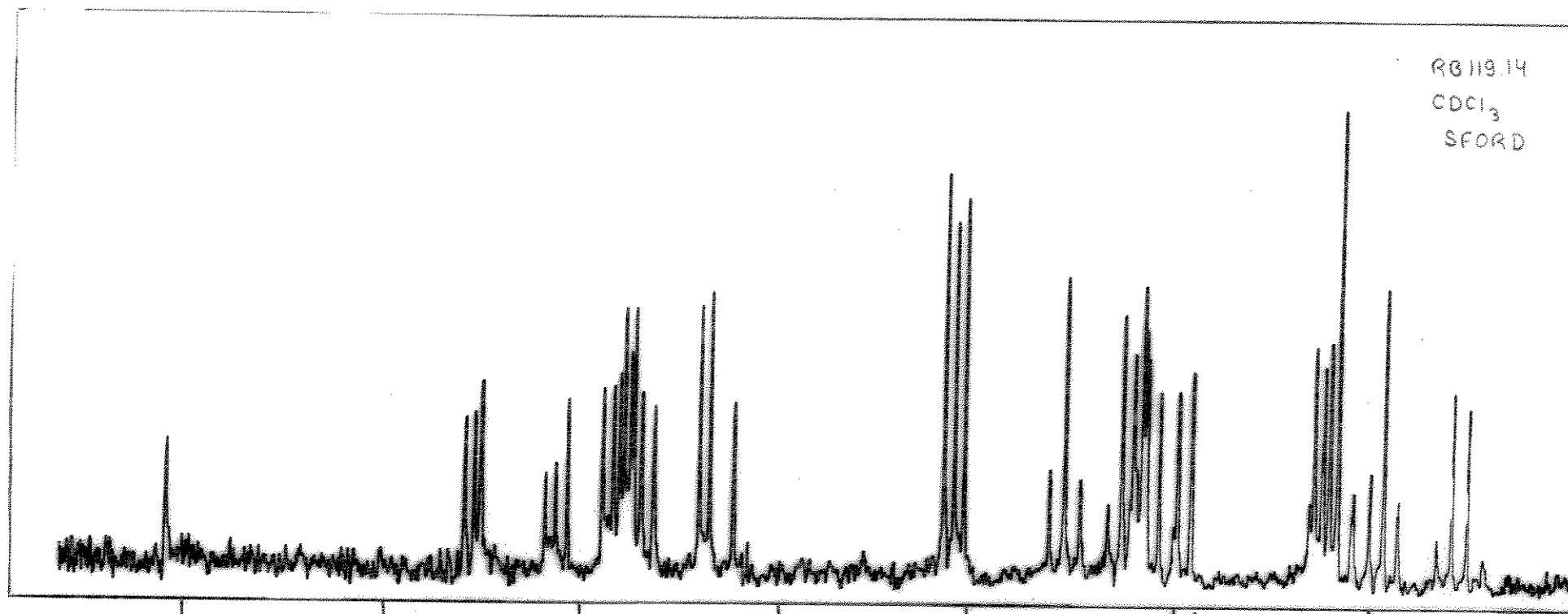


Figura XLVIII Espectro de RMN-¹³C da voacalotina

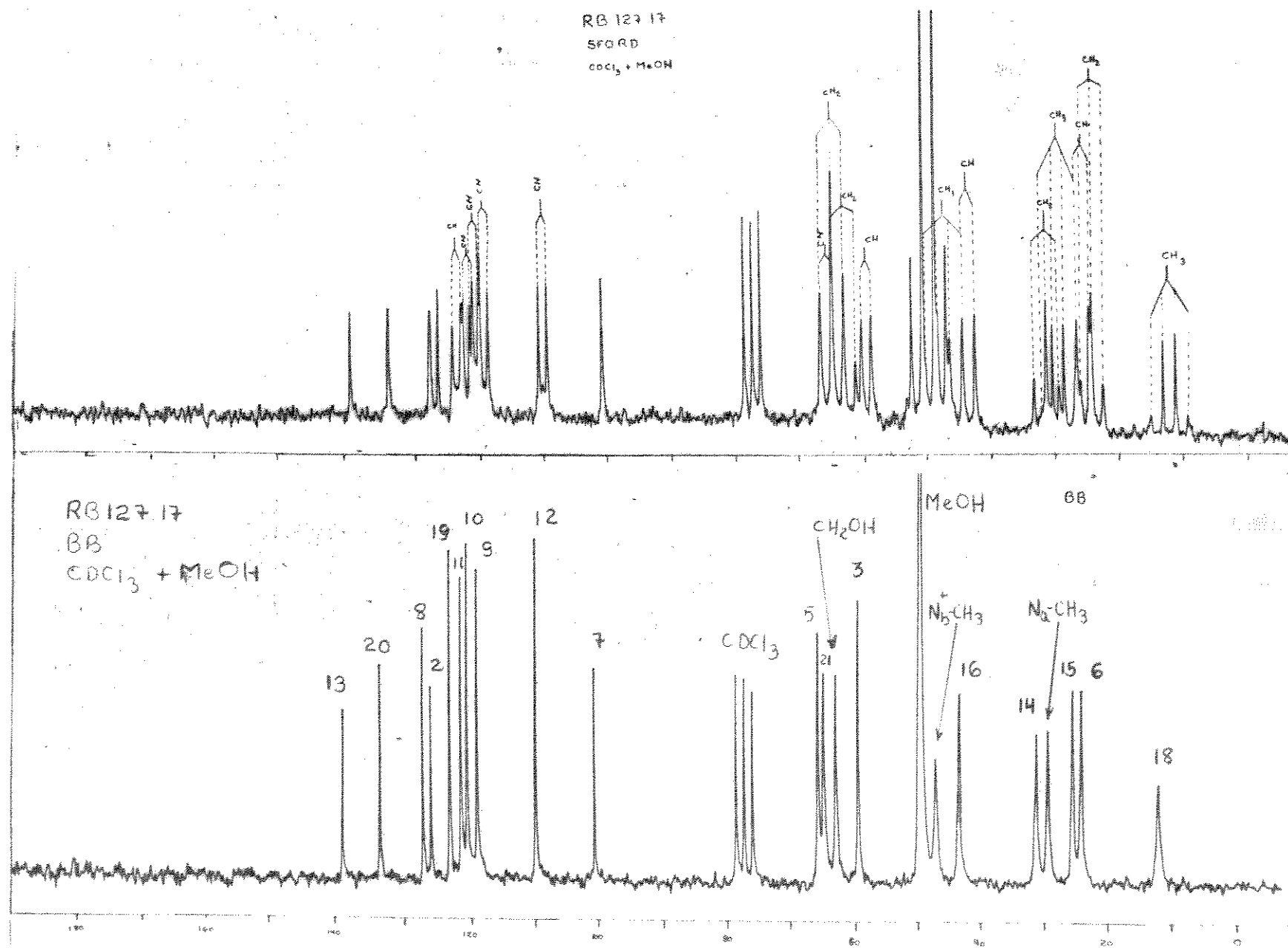


Figura XLIX Espectro de RMN- C do cloreto de N_H -metilafinisina

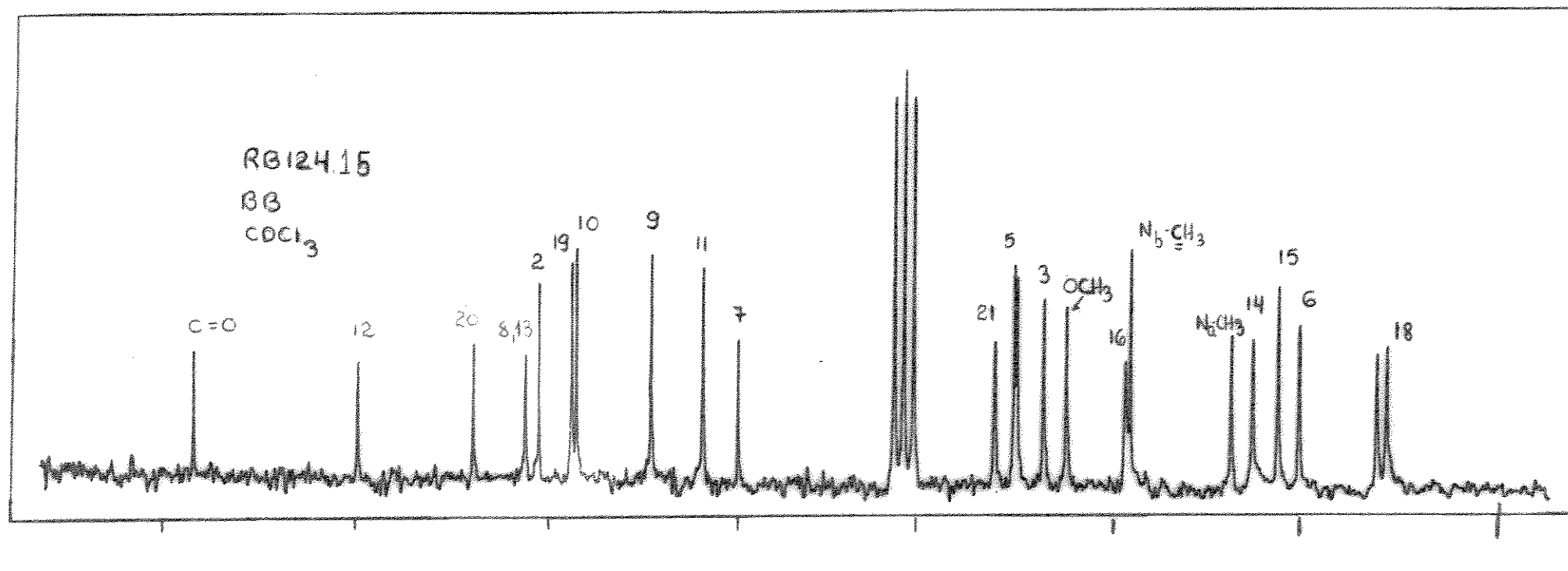
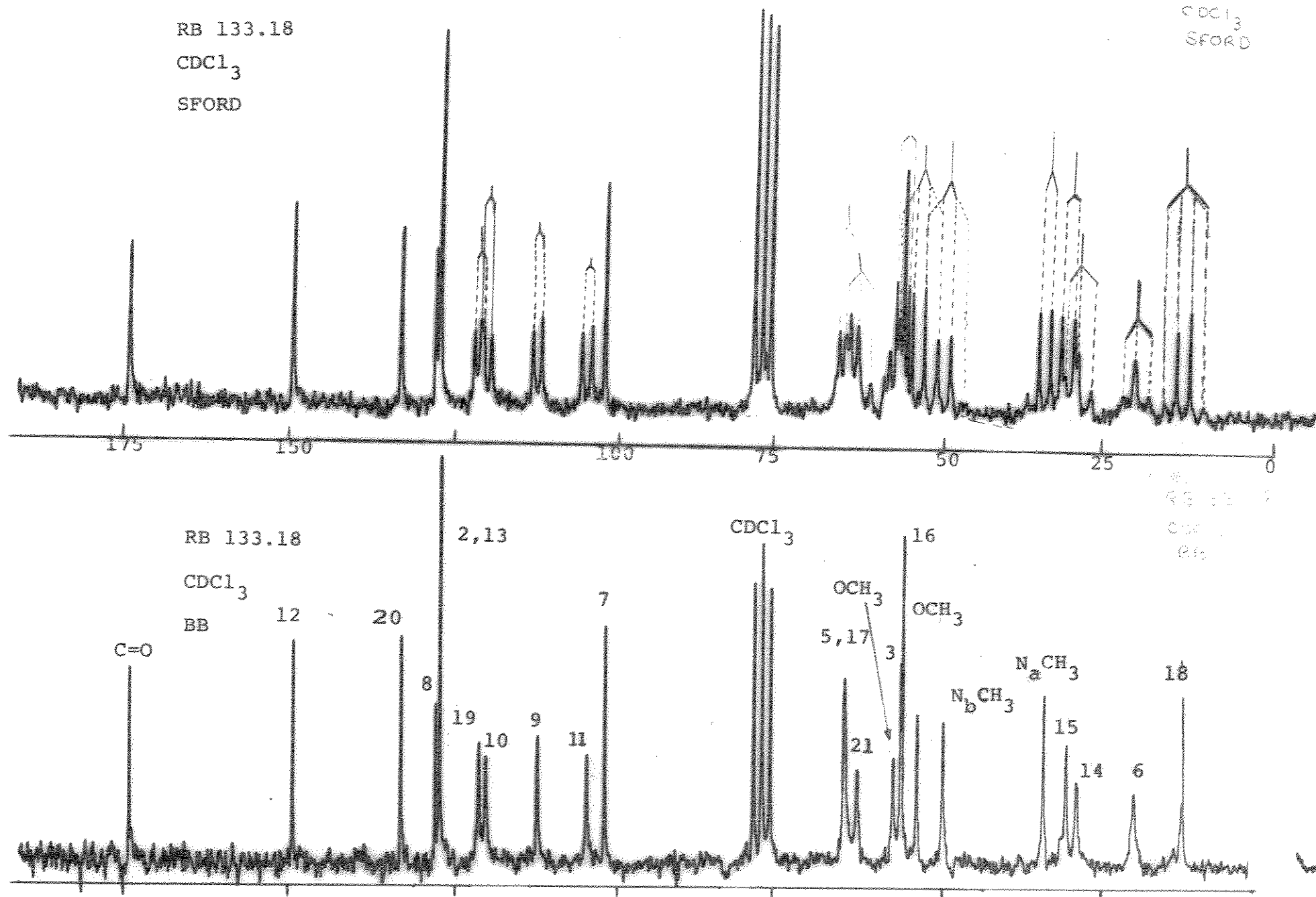


Figura L Espectro de RMN- ^{13}C da fuchsiafolina

Figura 11 Espectro de RMN- ^{13}C do 12-metoxi- N_b -metilvoacalotina



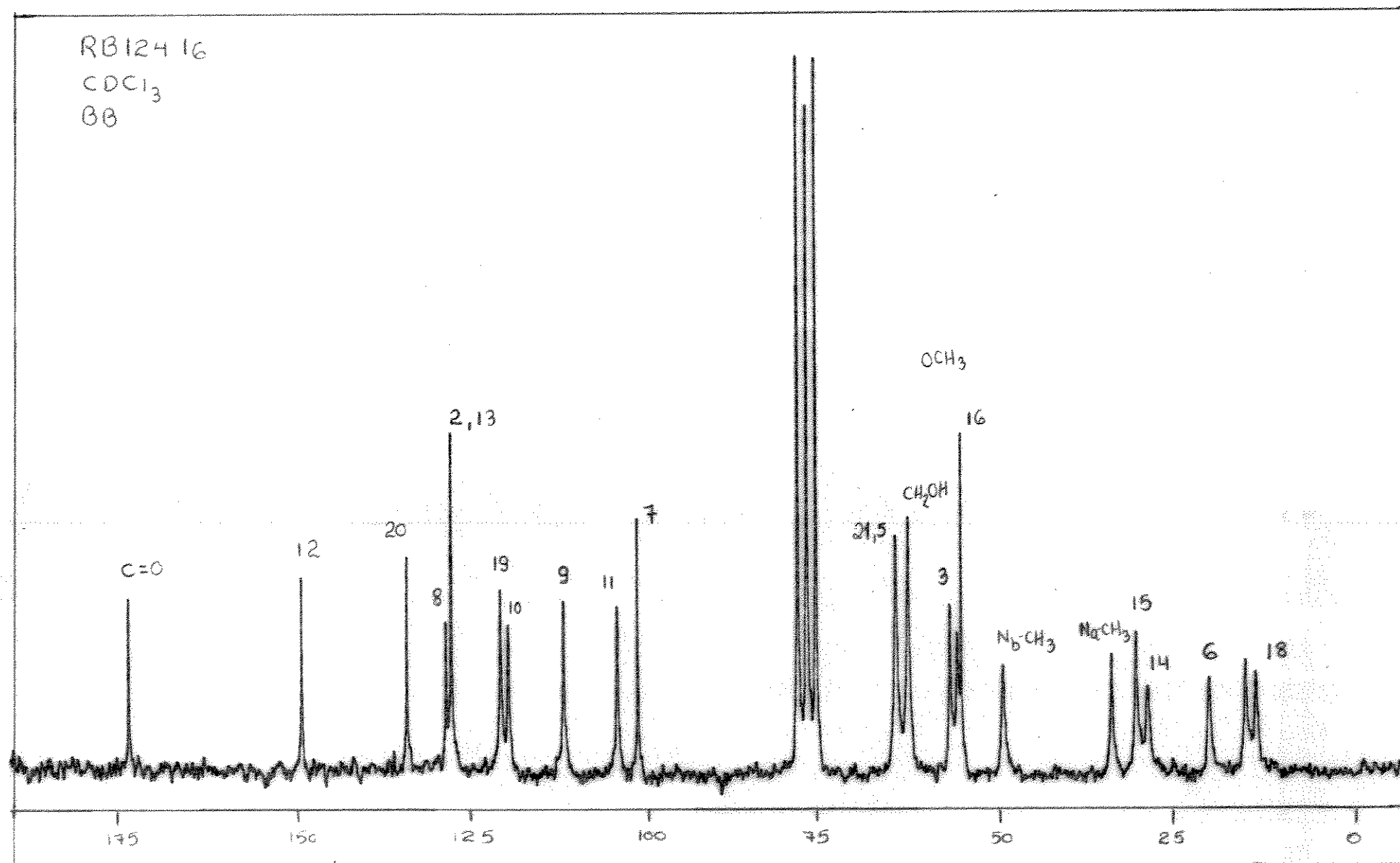
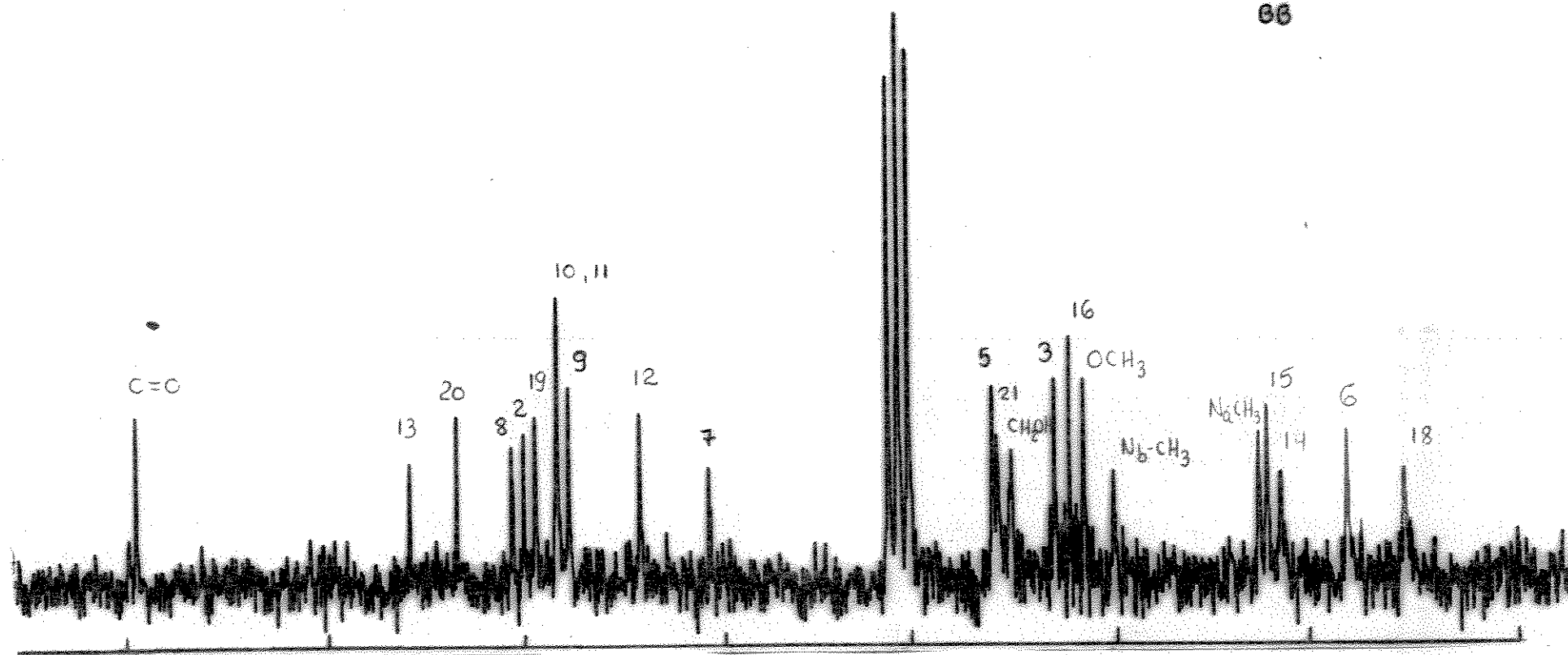


Figura LII Espectro de RMN-¹³C do éster etílico de 12-metoxi-N_b-metilvoacalotina

COCl_2

66



10, 11

2008

4

15

3

0

Chemical structure of compound 10, a substituted benzimidazole derivative.

 OCH_3

W. C. C.

1000

44-38861-1

5

Figura LIII Espectro de RMN- ^{13}C do iodeto de N_b-metilvoacalotina