

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Química

Contribuição ao Estudo Químico  
do Gênero *Aspidosperma*:  
*Aspidosperma pruinatum* Markgraf

Domingos Sávio Nunes  
Tese de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Machado Reis

Campinas

1980

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

"... enquanto minha função for criar  
extensões abstratas para Ti"...

À Manga, meu poço de teimosia e paciência.

Aos meus pais: Abilio, Elvira, Vevino, Alda,  
Longino e Lidia

Aos meus irmãos.

## AGRADECIMENTOS

À Direção do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas por facilitar a realização desta pesquisa.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que financiou esta pesquisa e concedeu bolsa por um ano.

À Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por conceder bolsa por dois anos.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Machado Reis pela orientação segura que me proporcionou em todos os assuntos que se referiram à minha formação e pela amizade.

À Connie, ao Nielsen e ao Roberto pelos espectros de massa.

Ao Fred pelos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a 100 MHz.

À Luzia pelo tempo dispendido na obtenção dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e pela coragem e paciência que me inspirou.

Ao Nelson Frigheto pelas análises elementares.

À Angélica e ao Pimpim por tudo o que fizeram para facilitar o meu trabalho.

Ao Sr. William e à Marilza pelo trabalho datilográfico.

A todos os colegas do Instituto de Química pela convivência em clima de amizade e desapego.

## ÍNDICE

	Página
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
1. Introdução.....	3
2. Biossíntese de Alcaloides Indólicos.....	4
2.1. A porção triptamínica.....	4
2.2. A porção mono-terpênica.....	7
2.3. Glicosídeos nitrogenados sintéticos e naturais.....	12
2.4. Estudos de plantas germinantes.....	15
2.5. Considerações biossintéticas sobre os alcaloides de <u>Aspidosperma pruinsum</u> .....	20
3. Capítulo I	
Estudo dos alcaloides de <u>Aspidosperma pruinsum</u> ..	27
I.1. Fracionamento do extrato bruto l.....	29
I.1.1. Extrato l b.....	29
Yohimbina.....	29
$\beta$ -yohimbina.....	33
I.1.2. Extrato l c.....	35
10-metoxi-dihidrocorinanteol.....	35
10-metoxigeissoschizol.....	38
Pruinosina.....	41
Redução de pruinosa com $\text{NaBH}_4$ e $\text{NaBD}_4$ .....	46

	Página
I.1.3. Extrato 1 d.....	53
I.2. Fracionamento do extrato bruto 2.....	53
I.2.1. Extrato 2 b.....	54
10-metoxi-yohimbina.....	54
Normacusina-B.....	57
Compactinervina.....	60
I.3. Fracionamento do extrato bruto 5.....	63
Pruinosidina.....	63
I.4. Conclusão.....	66
4. Capítulo II	
Estudo de RMN de <sup>13</sup> C dos alcaloides de <u>Aspidos-</u> <u>perma pruinosa</u> .....	70
II.1. Análise dos compostos do tipo yohimbina....	71
II.1.1. Yohimbina e β-yohimbina.....	71
II.1.2. 10-metoxi-yohimbina.....	74
II.2. Compostos do tipo corinanteina.....	76
II.2.1. 10-metoxi-diidrocorinanteol e 10-me- toxi-geissoschizol.....	77
II.2.2. Pruinosina e seus derivados.....	81
II.2.3. Pruinosidina - Efeitos da quaterna- rização de alcaloides indólicos....	89
II.3. Normacusina-B.....	96
II.4. Conclusão.....	99
5. Capítulo III	
Parte experimental.....	100
III.1. Materiais e métodos.....	100

	Página
III.2. Extrações e isolamentos.....	102
III.2.1. Extrato bruto 1.....	102
III.3. Novas extrações e isolamentos.....	106
III.3.1. Extrato bruto 2.....	107
III.3.2. Extrato bruto 5.....	111
III.4. Propriedades físicas e espectros dos alcaloi- des isolados.....	113
III.4.1. Yohimbina.....	113
III.4.2. $\beta$ -yohimbina.....	114
III.4.3. 10-metoxi-geissoschizol.....	115
III.4.4. 10-metoxi-diidrocorinanteol.....	117
III.4.5. Normacusina-B.....	118
III.4.6. Compactinervina.....	119
III.4.7. 10-metoxi-yohimbina.....	119
III.4.8. Pruinosidina.....	120
III.4.9. Pruinosina.....	121
III.5. Modificação de estruturas de alcaloides iso- lados.....	122
III.5.1. Iodeto de N <sub>b</sub> -metil-10-metoxigeissos- chizol.....	122
III.5.2. Cloreto de N <sub>b</sub> -metil-10-metoxi-geis- soschizol.....	123
III.5.3. Sitsirikina.....	123
III.5.4. 3,5,6,-trideuterio-sitsirikina.....	125
III.5.5. Acetato de sitsirikina.....	125
III.5.6. Didrositsirikina.....	127
III.5.7. Acetato de didrositsirikina.....	128

	página
III.6. Síntese de moléculas-modelo para RMN de $^{13}\text{C}$ ...	129
III.6.1. Harmano.....	129
III.6.2. Cloreto de $\text{N}_b$ -metil-harmano.....	130
III.6.3. $\text{N}_b$ -metil-tetraidro-harmano.....	131
III.6.4. Iodeto de $\text{N}_b, \text{N}_b$ -dimetil-tetrahidro- harmano.....	132
6. Conclusão.....	134
7. Espectros.....	135
8. Referencias Bibliográficas .....	161



## ÍNDICE DE ESPECTROS

Figura		Página
1.	Espectros de U.V. de pruinósina <u>19</u> em meio neutro, ácido e básico.....	136
2.	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de pruinósina <u>19</u> .....	136
3.	Espectro de I.V. de pruinósina <u>19</u> .....	137
4.	Espectro de massa de pruinósina <u>19</u> .....	138
5.	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de pruinósina <u>19</u> .....	138
6.	Espectro de massa de 3,5,6-trideuterio-tetra- idro-pruinósina <u>23</u> .....	139
7.	Espectro de U.V. de sítirikina <u>24</u> .....	140
8.	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de sítirikina <u>24</u> .....	140
9.	Espectro de I.V. de sítirikina <u>24</u> .....	141
10.	Espectro de massa de sítirikina <u>24</u> .....	142
11.	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de Sítirikina <u>24</u> .....	142
12.	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de diidrosítirikina <u>26</u> ..	143
13.	Espectro de massa de diidrosítirikina <u>26</u> .....	143
14.	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de diidrosítirikina. <u>26</u> .	144
15.	Espectro de I.V. do acetato de sítirikina <u>25</u> ..	145
16.	Espectro de massa do acetato de sítirikina <u>25</u>	146
17.	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do acetato de sítiriki- na <u>25</u> .....	146
18.	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do acetato de sítiriki- na <u>25</u> .....	147
19.	Espectro de massa do acetato de diidrosítiri- kina <u>27</u> .....	148
20.	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do acetato de diidrosi- tsirikina <u>27</u> .....	148

Figura	Página
21. Espectro de I.V. do acetato de diidrositsi- rikina <u>27</u> .....	149
22. Espectro de U.V. de pruinósídina <u>35</u> .....	150
23. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de pruinósídina <u>35</u> .....	150
24. Espectro de I.V. de pruinósídina <u>35</u> .....	151
25. Espectro de massa de pruinósídina <u>35</u> .....	152
26. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do iodeto de $\text{N}_b$ -metil- 10-metoxi-geissoschizol <u>34</u> e de pruinósídina <u>35</u>	152
27. Espectro de U.V. de 10-metoxi-yohimbina <u>28</u> ....	153
28. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de 10-metoxi-yohimbina	153
29. Espectro de I.V. de 10-metoxi-yohimbina <u>28</u> ...	154
30. Espectro de massa de 10-metoxi-yohimbina <u>28</u> ...	155
31. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de 10-metoxi-yohimbina	155
32. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de normacúsina-B <u>30</u> ....	156
33. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de 10-metoxi-diidroco- rinanteol <u>9</u> .....	156
34. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de yohimbina <u>5</u> .....	157
35. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de $\beta$ -yohimbina <u>6</u> .....	157
36. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de 10-metoxi-geissosch chizol <u>13</u> .....	158
37. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de harmano <u>37</u> .....	158
38. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do cloreto de $\text{N}_b$ -metil- harmano <u>39</u> .....	159
39. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do $\text{N}_b$ -metil-tetraidro- harmano <u>40</u> .....	159
40. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do iodeto de $\text{N}_b, \text{N}_b$ -di- metil-tetraidro-harmano <u>41</u> .....	160

## INTRODUÇÃO

O gênero *Aspidosperma*, da família Apocinaceae, possui muitas espécies no Brasil espalhadas pelos mais variados climas e regiões, como o cerrado, a amazônia, a caatinga, a floresta atlântica e o litoral.

Trinta e tres espécies foram estudadas no Brasil por Gilbert e colaboradores<sup>1</sup>, resultando no isolamento de mais de cem alcaloides diferentes.

Uma classificação arbitrária dos alcaloides encontrados no gênero *Aspidosperma*<sup>2</sup>, permitiu dividi-los em tres grupos distintos ( ver pág.67-69). Com base nesta classificação, verificou-se<sup>2</sup> que poderia ser feito um paralelo entre os estudos químicos e botânicos. Dos sete grupos diferenciados quimicamente<sup>2</sup>, cinco corresponderam exatamente a series taxonômicas naturais ( pág.69 ).

A diferença entre as classificações taxonômica e química ocorre<sup>2</sup> no caso da serie *Polyneura* que, com base nos alcaloides encontrados, pode ser dividida em *Polyneura I* e *Polyneura II*. As espécies classificadas quimicamente como *Polyneura II* possuem alcaloides semelhantes aos encontrados nas series *Pyricolla* e *Tomentosa*.

Um caso semelhante ocorre na série *Nitida*, à qual pertencem botanicamente a *Aspidosperma discolor*, *A. compactinervium* e *A. pruinatum*, todas extra-amazônicas. Destas tres, a *A. discolor* foi classificada também quimicamente<sup>2</sup> como *Nitida*, embora contivesse alcaloides estranhos ao grupo, enquanto que a *A. compactinervium* apresentou somente alcaloides diferentes dos encontrados nas espécies desta serie.

Com o estudo químico da terceira espécie extra-amazônica, A. pruinatum, esperamos poder verificar se o seu conteúdo alcaloidal corresponde ao encontrado na maioria das espécies da série Nitida ( alcaloides do grupo II, pág. 67 ) ou se ele se constitui numa exceção como a A. compactinervium.

Além da importância quimiotaxonômica que nos atraiu para o estudo desta planta, há o aspecto farmacológico que dota as Apocinaceas em geral de uma relevância incontestável.

A título ilustrativo, citamos como exemplos algumas substâncias isoladas desta família botânica que são usadas clinicamente: a reserpina ( da Rauwolfia serpentina ), hipotensor e sedativo; a vimblastina e a vincristina ( da Vinca rosea ) que são antileucêmicos.

Outro objetivo deste trabalho, portanto, é procurar encontrar substâncias com atividade biológica.

Finalmente, esperamos contribuir para o estudo químico propriamente dito dos alcaloides do gênero Aspidosperma, através do isolamento e determinação de estruturas por métodos espectrométricos e pela obtenção de derivados.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Biossíntese de Alcaloides Indólicos

#### I. Introdução

A família dos alcaloides derivados do triptofano ou da triptamina já ultrapassou <sup>3,4,5,6,7</sup> o número de mil membros, o que representa pelo menos 10% de todos os produtos naturais conhecidos.

É particularmente apropriado aplicar os princípios de análise biogênética em sínteses que imitem as etapas biogênicas neste grupo de alcaloides, muitos dos quais de grande interesse biológico e terapêutico.

Para este fim, muitos laboratórios têm dedicado, nos últimos anos, considerável esforço para sintetizar alcaloides derivados do triptofano com base em reações reconhecidamente ou supostamente biomiméticas.

Os produtos naturais, também chamados produtos metabólicos secundários<sup>9</sup>, expressam a individualidade das espécies botânicas em termos químicos, daí a sua importância quimiotaxonômica. Os metabólitos secundários são os produtos finais das transformações biológicas e sua função, pelo menos no caso das plantas, é muito pouco conhecida. A produção dos alcaloides nas plantas pode não ser uma atividade constante, razão porque certos compostos são encontrados em determinadas partes do vegetal e podem variar em quantidade e qualidade conforme a época do ano. Nas plantas de regiões tropicais, expostas a longos períodos de umidade e calor, ocorrem estruturas rearranjadas, dimerizadas e racemizadas, sem que para isto haja necessidade de controle enzimático<sup>8</sup>.

Assim como são detectadas estruturas básicas de uma determinada classe de compostos como os alcaloides indólicos, devem ser identificados os intermediários, normalmente muito reativos, que causam a grande diversidade dos produtos. É o caso dos intermediários, propostos ou realmente isolados, que

devem existir entre cada uma das principais famílias indólicas:

corinante → stricnos → aspidosperma → iboga.

Atualmente é reconhecido<sup>10,11</sup> o isovincosídeo (H-C<sub>3</sub>α) como elo de união entre o triptofano + unidade C<sub>10</sub> e os alcaloides corinante. Entre corinante e stricnos, a preakuamicina pode ser o intermediário, capaz também de produzir um ester acrílico com a estrutura da secodina que seria o ponto de ligação entre aspidosperma e iboga<sup>4</sup>.

Existe consenso, entre os autores, de que pelo menos grosseiramente os principais passos biossintéticos que levam aos alcaloides indólicos das quatro principais classes são conhecidos.

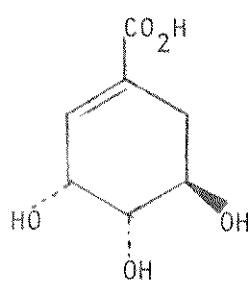
Somente o advento de técnicas enzimáticas mais refinadas para a síntese de alcaloides poderia levar ao esclarecimento dos caminhos biossintéticos que definem a grande variedade de estereoquímicas encontradas.

## 2. Biossíntese de Alcaloides Indólicos

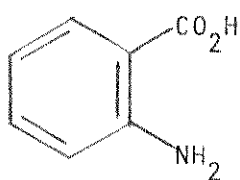
### 2.1. A porção triptamínica

Vários experimentos<sup>12</sup> demonstraram que os ácidos xiquímico I e antránílico II são intermediários na rota biossintética do triptofano III. O ácido xiquímico-<sup>14</sup>C I marcou intensamente a catarantina IV e a vindolina V em C. roseus<sup>13</sup>, enquanto que III aumentou sensivelmente a quantidade de alcaloides da V. minor<sup>14</sup>.

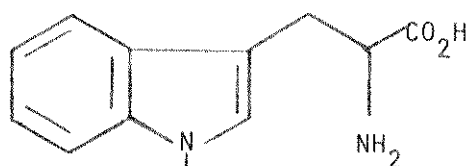
O triptofano III marcado com <sup>15</sup>N, <sup>14</sup>C ou <sup>3</sup>H foi incorporado aos alcaloides indólicos: ajmalina<sup>15,17</sup> VI, serpentina<sup>15</sup> VII, reserpina<sup>15</sup> VIII, vindolina<sup>18</sup> V, catarantina<sup>12</sup> IV, ajmalicina<sup>16</sup> IX, stemadenina<sup>19</sup> X, tabersonina<sup>19</sup> XI, vindolinina<sup>20</sup> XII e stricnina<sup>21</sup> XIII, utilizando-se nestas pesquisas Rauwolfia serpentina<sup>15,17</sup>, C. roseus<sup>12,16,18,20</sup>, S. nux vomica<sup>21</sup> e V. minor<sup>22</sup>.



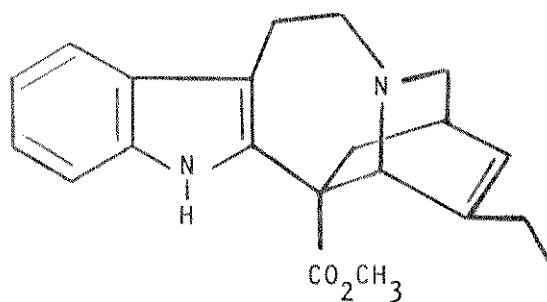
I



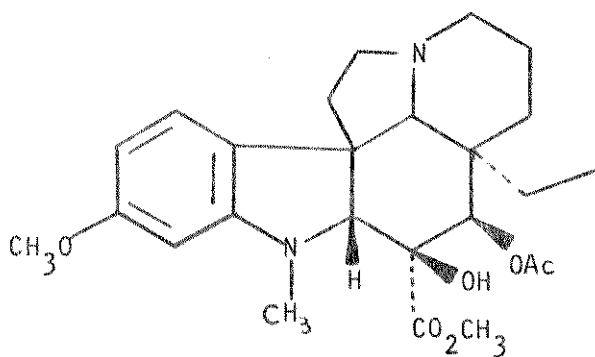
II



III



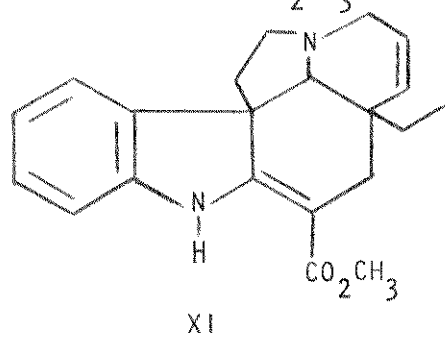
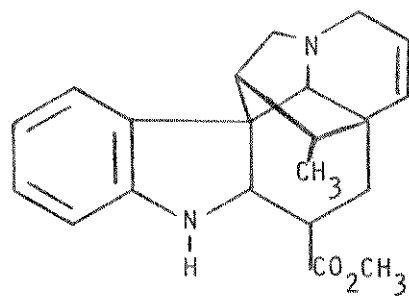
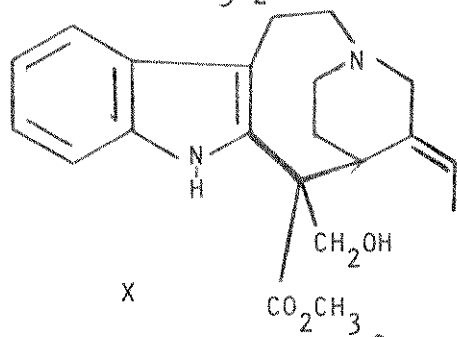
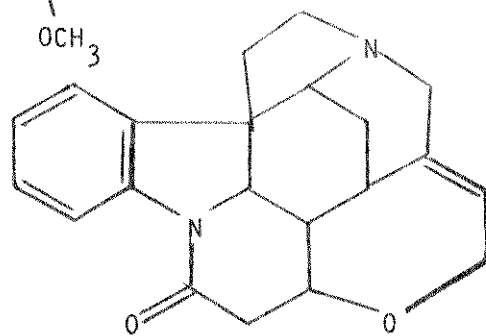
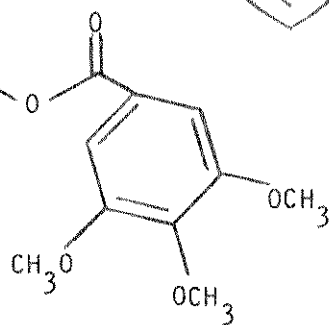
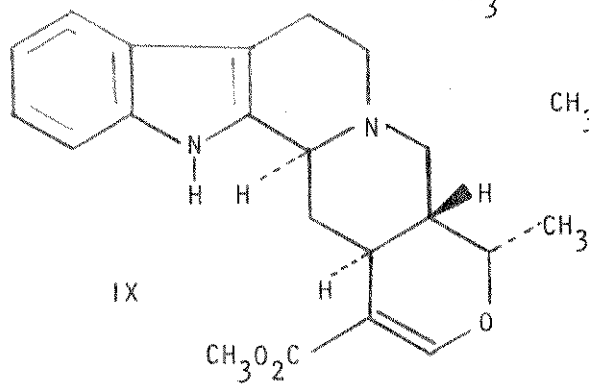
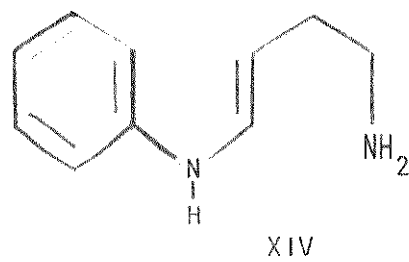
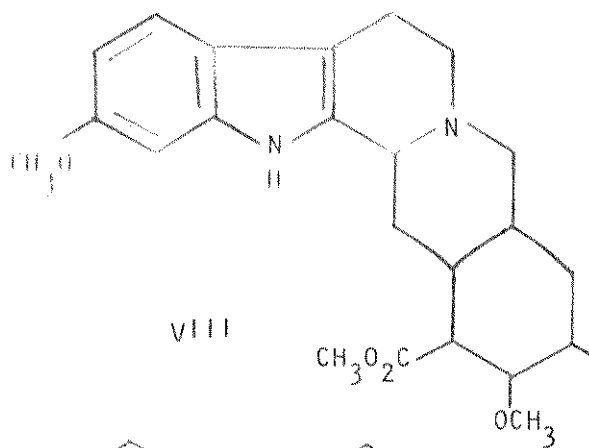
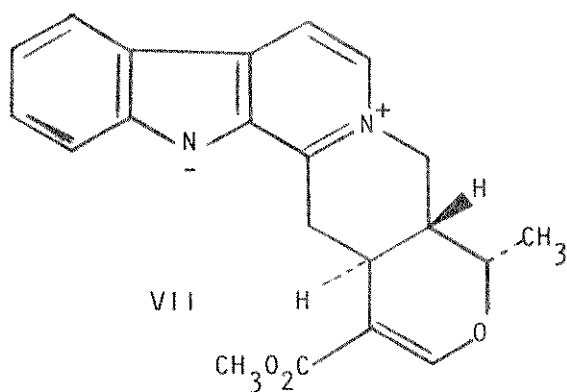
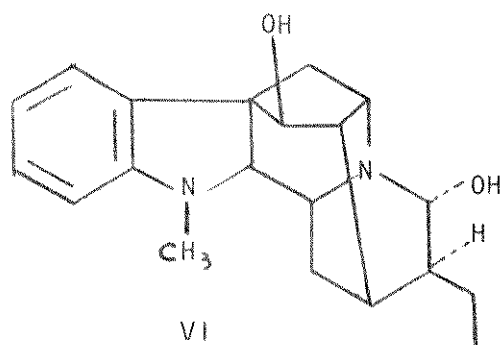
IV



V

Observou-se<sup>16</sup> que a triptamina XIV, nas mesmas condições, é menos eficiente em incorporar do que o triptofano III, mesmo assim há casos<sup>21, 22</sup> de incorporação, já tendo sido observado o aumento da quantidade de alcaloides da V. minor após sua administração.

Todas estas pesquisas mostraram que a parte indólica dos alcaloides é formada pelo triptofano III ou pela triptamina XIV, e que estes tem origem nos ácidos químico I e antranílico II.

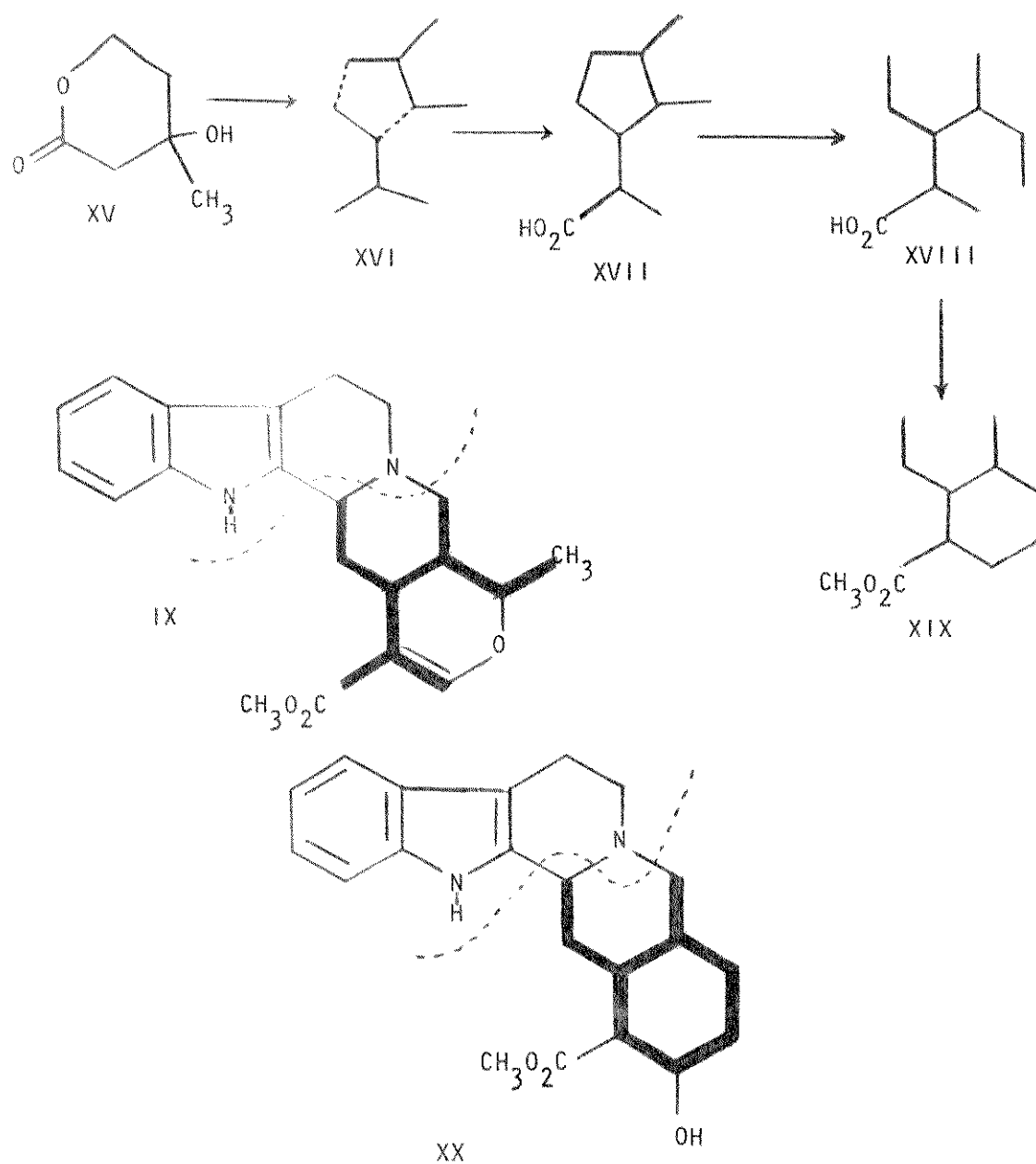




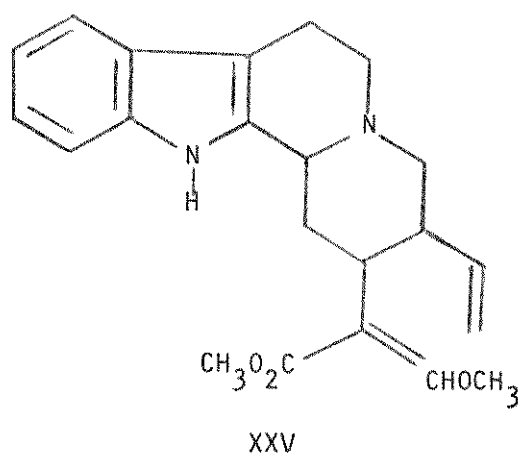
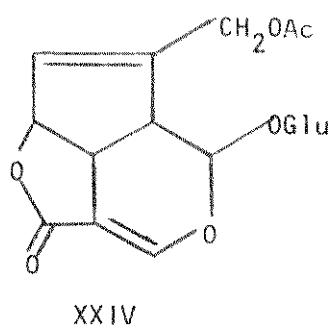
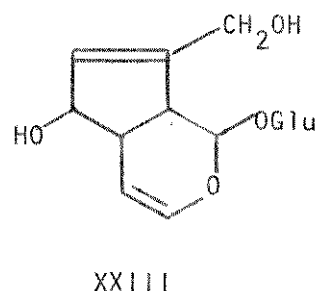
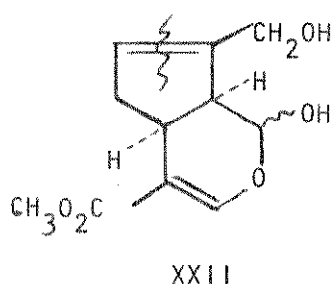
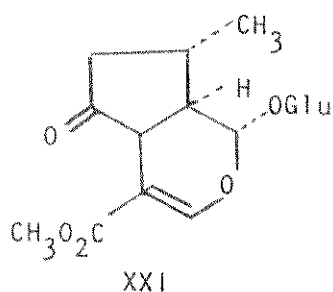
## 2.2. A porção mono-terpênica

Em 1961 Thomas<sup>23</sup> sugeriu que duas moléculas de mevalonato XV, passando por um monoterpene ciclopentanoide XVI e XVII, levaria à formação das unidades C<sub>10</sub> XVIII e XIX (Esquema 1), e observou que estas unidades C<sub>10</sub> estão presentes em alcaloides indólicos como a ajmalicina IX e a yohimbina XX ligadas à porção triptamínica.

ESQUEMA 1

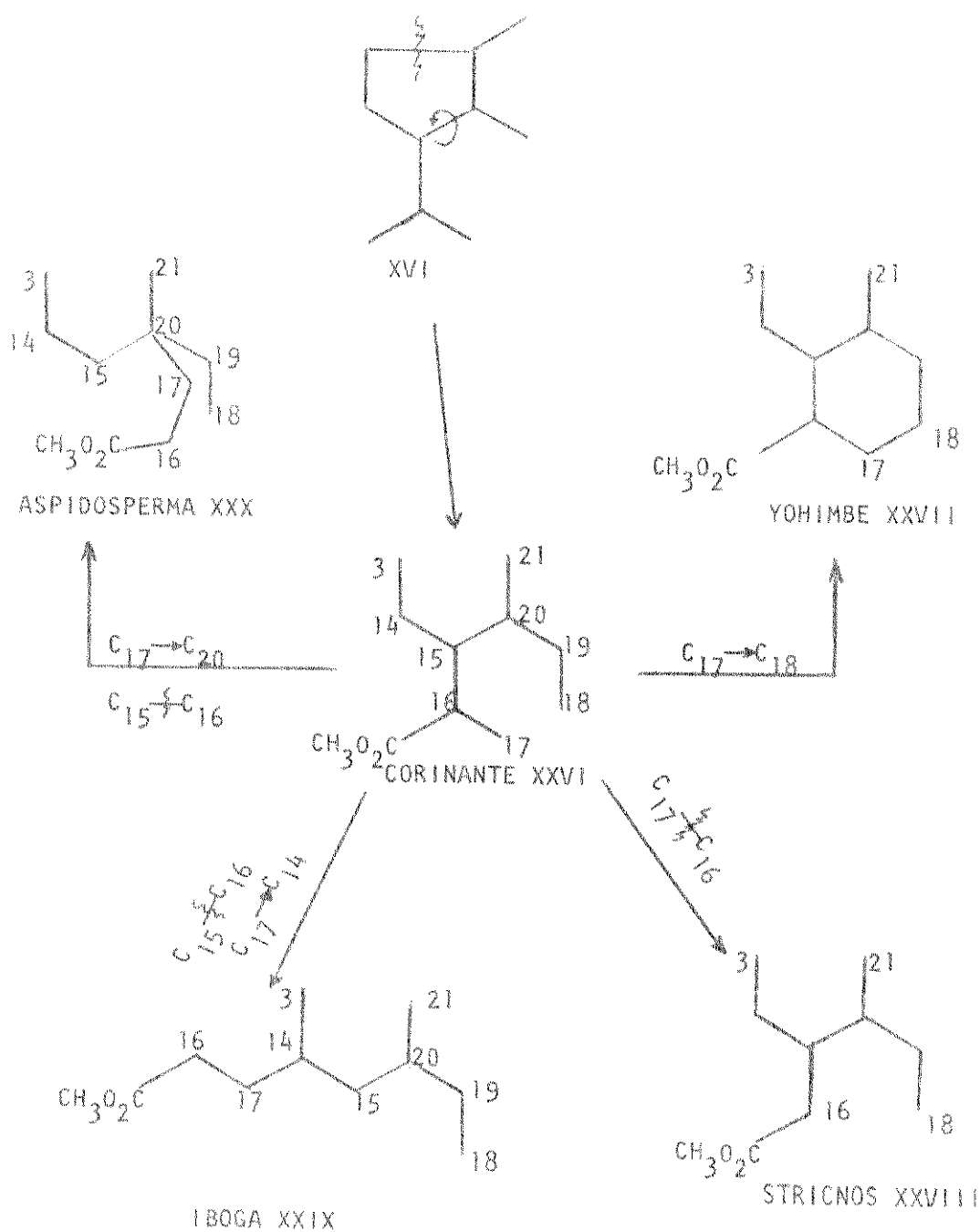


Na mesma época, Wenkert<sup>24</sup> observou a semelhança das estruturas da verbenalina XXI, genipina XXII, aucubina XXIII e asperulosideo XXIV com a estrutura do monoterpene XVI. Ao mesmo tempo foi notada a semelhança destas unidades  $C_{10}$  com parte do esqueleto carbônico de muitos alcaloides indólicos, conservando-se a mesma configuração absoluta do carbono  $C_7$  de XXI e XXII na maioria deles. A yohimbina XX, a corinanteina XXV e a stricnina XIII seriam a consequência biossintética de combinações da triptamina XIV com uma unidade adequada monoterpênica após a abertura do anel de cinco membros como mostrado em XXII.

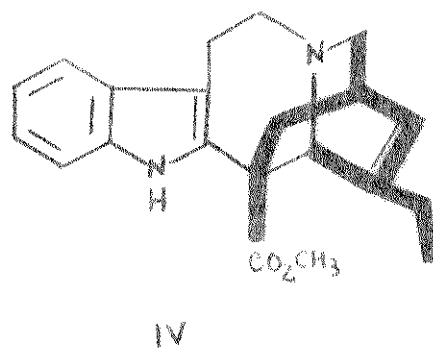
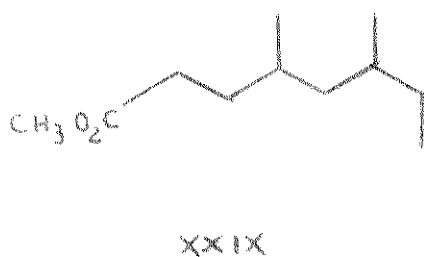
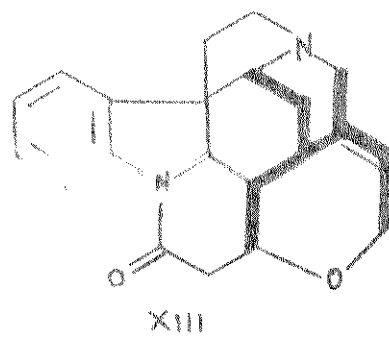
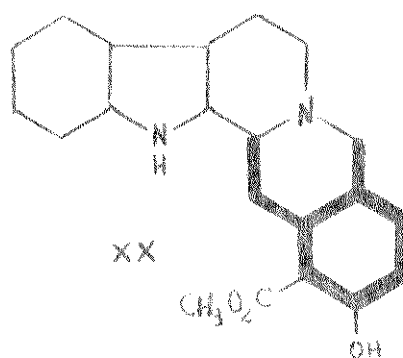
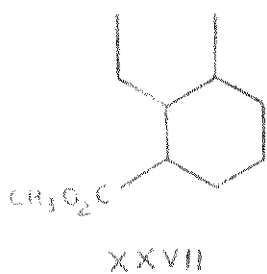
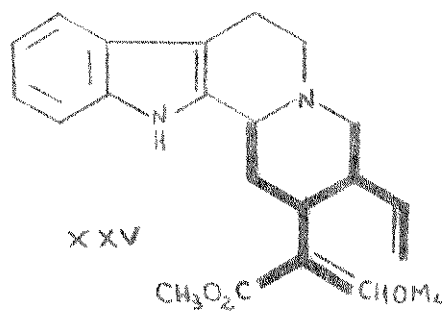
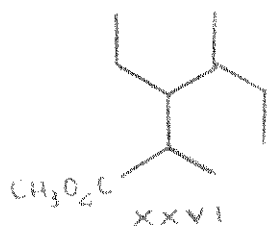


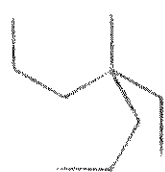
Wenkert<sup>24</sup> propôs ainda que pequenas modificações químicas poderiam o correr no esqueleto carbônico de XVIII dando origem a diferentes unidades C<sub>9</sub> ou C<sub>10</sub> (Esquema 2) que formariam todas as classes de alcaloides indólicos por combinação com a triptamina XIV.

ESQUEMA 2

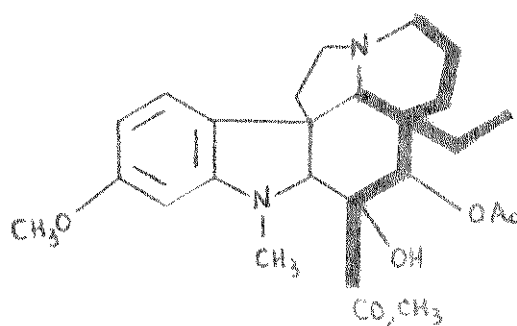


Abaixo são dados exemplos de alcaloides corinante XXVI, yohimbe XXVII, stricnos XXVIII, iboga XXIX e aspidosperma XXX.





XXX



V

A loganina XXXII foi estabelecida<sup>27, 28</sup> como precursor da seco-loganina<sup>29</sup> XXXIII e este aldeído foi convertido in vivo nas principais classes de alcaloides indólicos<sup>22</sup>.

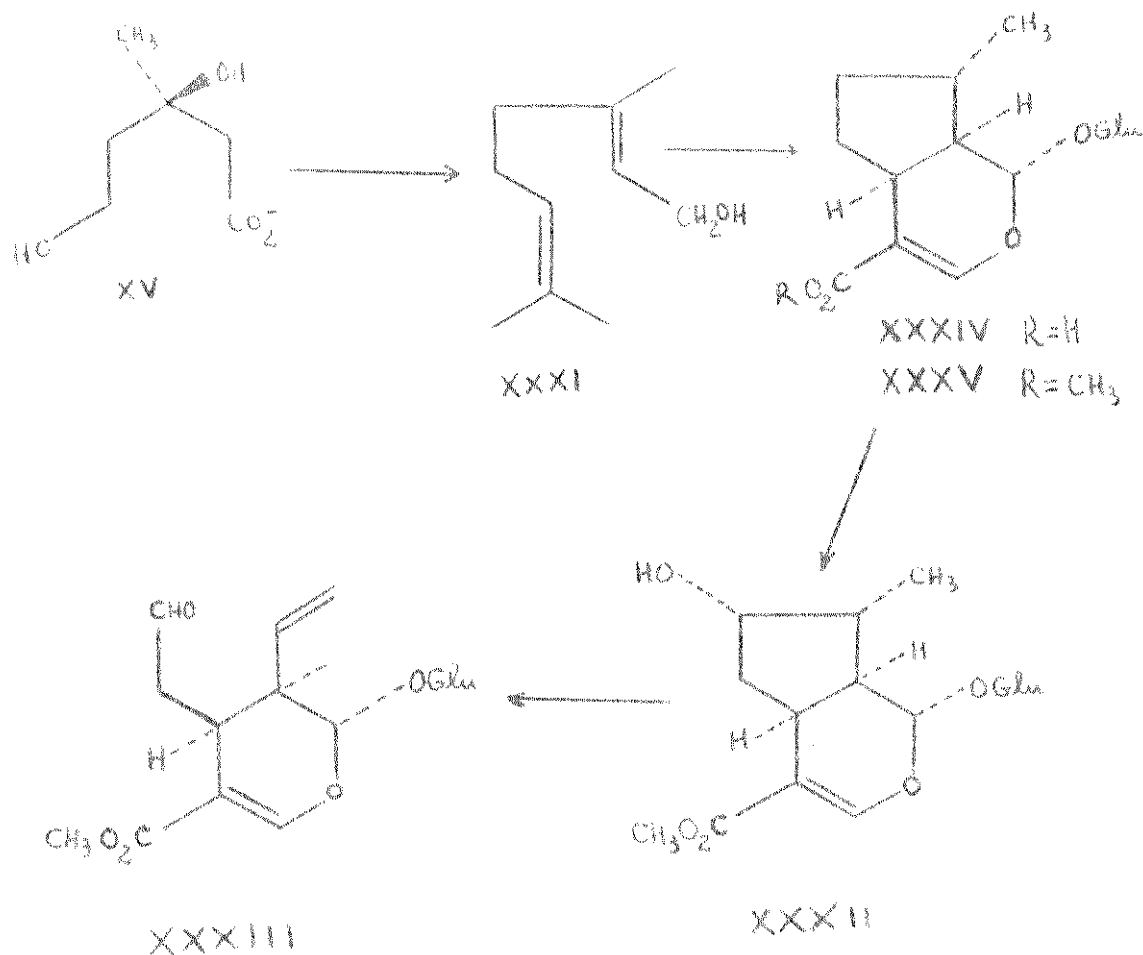
A parte mono-terpênica dos alcaloides indólicos corinante XXVI, aspí dosperma XXX e iboga XXIX tem origem no mevalonato XV e o geraniol XXXI atua como precursor específico destas três principais famílias conforme foi demonstrado por inúmeros experimentos<sup>26</sup>. O geraniol XXXI marcado foi administrado<sup>27</sup> a Menyanthes trifoliata obtendo-se loganina XXXII radioativa que foi então administrada a Vinca rosea isolando-se alcaloides radioativos das três famílias XXVI, XXX e XXIX (Esquema 2). Estes resultados foram confirmados separadamente por Arigoni<sup>28</sup>. Em outro trabalho<sup>25</sup> foi demonstrado que a loganina XXXII é transformada em seco-loganina XXXIII na Vinca rosea e a administração de XXXIII marcada a esta planta levou ao isolamento de alcaloides marcados da mesma maneira que com o uso de XXXII. Finalmente, o ácido desoxilogânico XXXIV marcado foi incorporado<sup>29</sup> à loganina XXXII na planta Lonicera japonica, enquanto que a desoxiloganina XXXV marcada<sup>25</sup> foi administrada a Vinca rosea e observou-se radioatividade na loganina XXXII e nos alcaloides das três principais famílias indólicas.

Estas experiências demonstraram claramente todos os passos biossintéticos da formação da parte mono-terpênica dos alcaloides indólicos, concordando com as idéias iniciais de Thomas<sup>23</sup> e Wenkert<sup>24</sup>.

A seqüência biossintética da porção mono-terpênica é apresentada no

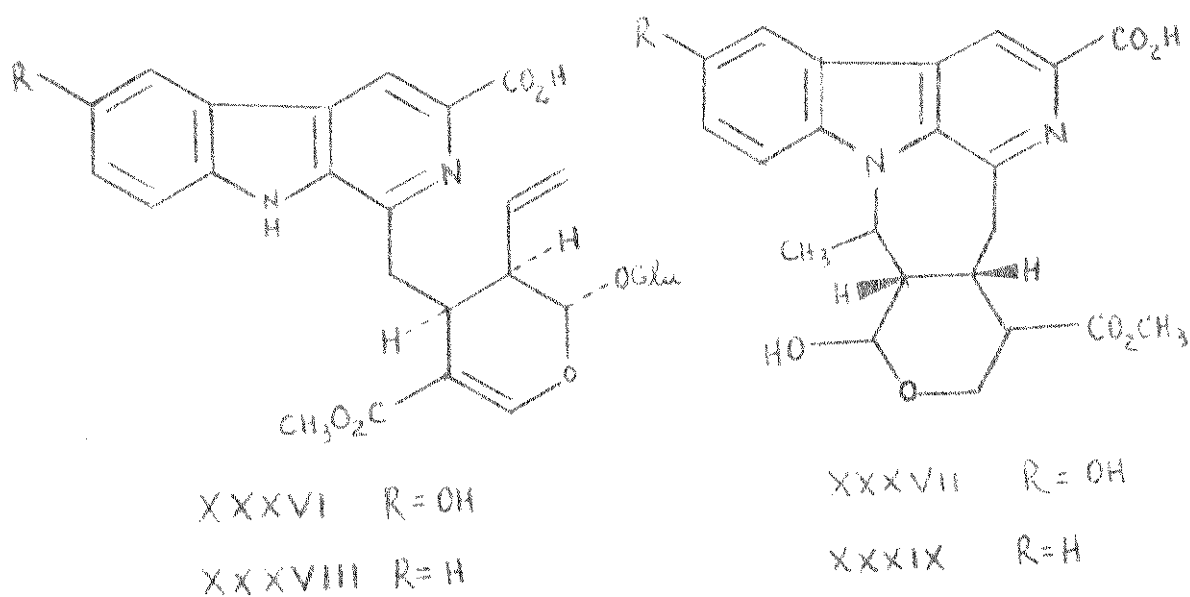
Esquema 3 a seguir:

ESQUEMA 3



2.3. Glicosídeos nitrogenados sintéticos e naturais

Os primeiros exemplos<sup>12</sup> da combinação do triptofano III com a porção secoiridoide foram encontrados na determinação estrutural da cordifolina XXXVI, adifolina XXXVII e seus respectivos derivados sem a substituição no anel indólico XXXVIII e XXXIX, todos isolados de Adina cordifolia<sup>30</sup>.



A strictosidina XL foi isolada de Rhazya stricta<sup>31</sup>, Rhazya orientalis<sup>31</sup> e C. Roseus<sup>32</sup> mas a estereoquímica do C<sub>3</sub> só foi estabelecida mais tarde<sup>33, 34</sup>.

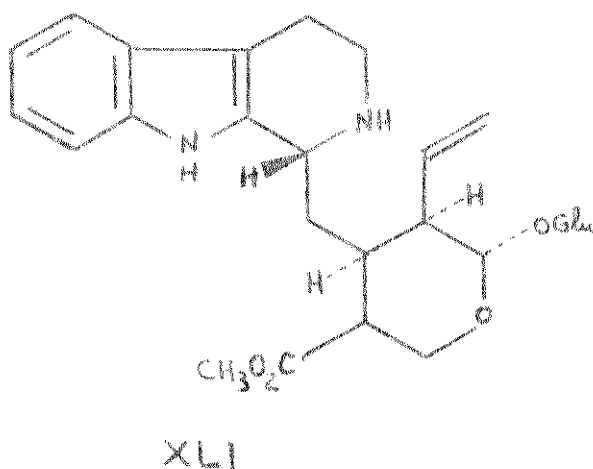
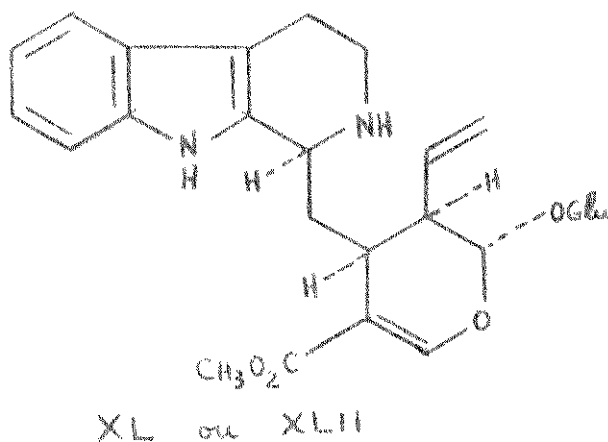
A partir de estudos biossintéticos dos alcaloides indólicos foi proposto<sup>35</sup> que o precursor exclusivo dos alcaloides com H-C<sub>3</sub> α das classes XXVI, XXIX e XXX (Esquema 2) era o vincosideo XLI que tem H-C<sub>3</sub> β, e que a inversão ocorria com retenção do hidrogênio<sup>34</sup>.

Inicialmente aceitou-se<sup>36</sup> que o vincosideo XLI tinha a estereoquímica 3α, mas depois foi trocada<sup>34</sup> para 3β, e seu epímero XLII foi confirmado<sup>33</sup> como 3α.

Um estudo<sup>34</sup> com o uso de análise de raios-X confirmou a estereoquímica H-C<sub>3</sub> β para o vincosideo XLI. O papel de XLI como precursor dos alcaloides indólicos na Vinca rosea<sup>36</sup> foi deduzido da administração de XLI marcado. No mesmo experimento<sup>36</sup> foi excluída a possibilidade de o isovincosideo XLII (= strictosidina XL) ser o precursor pois não foi convertido em alcaloide nestas condições.

Experimentos mais recentes<sup>10</sup> tem utilizado a técnica de culturas em suspensão com triptamina XIV e seco-loganina XXXIII como substratos, tendo sido isolado isovincosideo XLII, confirmado como o verdadeiro precursor dos alcaloides indólicos.

A repetição<sup>10</sup> dos experimentos de Battersby<sup>36</sup>, utilizando desta vez ambos os glucosídeos XLI e XLII marcados, em concentrações maiores que as usadas anteriormente<sup>36</sup>, demonstrou que o epímero H-C<sub>3</sub> α (isovincosideo XLII) é o verdadeiro precursor. A explicação encontrada<sup>10</sup> foi de que em baixas concentrações o composto XLII é degradado enzimaticamente, enquanto que em altas concentrações provavelmente a capacidade de degradação do tecido é saturada e alguma quantidade do glucosideo XLII é transformada nos alcaloides indólicos.





#### 2.4. Estudo de plantas germinantes

O estudo da sequência de produção dos alcaloides nas plantas poderia esclarecer os possíveis mecanismos das transformações biossintéticas entre as classes corinante XXVI, yohimbe XXVII, stricnos XXVIII, iboga XXIX e aspídosperma XXX (Esquema 2). O conhecimento destes mecanismos biossintéticos poderia abrir caminho para sínteses laboratoriais mais baratas e mais rápidas.

A Vinca rosea foi uma das plantas escolhidas para este tipo de estudo por conter alcaloides de quase todas as famílias indólicas e por ser facilmente adaptável às condições de experiência. Em aproximadamente 200 hs de germinação, as plantas Vinca rosea germinantes produzem toda a gama de alcaloides indólicos<sup>19</sup>, com exceção da classe yohimbe XXVII.

Observou-se<sup>19</sup> que as sementes secas de Vinca rosea não contêm nenhum alcaloide. Vários lotes de sementes esterilizadas foram umedecidas com água destilada e germinadas em luz artificial a 32°C. A aplicação de cromatografia de placas preparativas e métodos espectroscópicos, principalmente espectro de massa, revelou que o início da formação de alcaloides reconhecíveis se dá após 24 a 26 hs de germinação. Contudo, uma pequena quantidade de um glucosídeo foi isolado<sup>37</sup> como penta-acetato nas frações 24-26 hs. Este glucosídeo<sup>37</sup> (C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub>N<sub>2</sub>) é, provavelmente, o isovincosídeo XLII sob a forma de penta-acetato.

Nas frações seguintes foram isolados, sequencialmente, alcaloides corinante XXVI, stricnos XXVIII, aspídosperma XXX e iboga XXIX (Esquema 2).

Entre 40 e 50 hs de germinação foram isolados alguns alcaloides que são melhor classificados como "corinante-stricnos" pois representam o passo intermediário da transformação para as séries Aspídosperma XXX e iboga XXIX.

A tabela abaixo mostra a sequência de produção dos alcaloides na Vinca rosea<sup>19, 37, 38</sup>.

Tempo de germinação	Alcaloides isolados	Classe
0 hs	nenhum	
26 hs	Isovincosídeo XLII	Corinante
	Ajmalicina IX	Corinante
	Corinanteina XLIII	Corinante
28-40 hs	Aldeído da	
	Corinanteina XLIV	Corinante
	Geissoschizina XLV	Corinante
	" $\beta$ -hidroxiindolenina" XLVI	Corinante
	"Diol" XLVII	Corinante
	Geissoschizina Oxindol XLVIII	Corinante
40-50 hs	Preakuamicina XLIX	"Corinante-Stricnos"
	Akuamicina L	Stricnos
	Stemadenina X	"Corinante-Stricnos"
	Tabersonina XI	Aspidosperma
72 hs	11-metoxi-tabersonina LI	Aspidosperma
100-160 hs	Catarantina IV	Iboga
	Coronaridina LII	Iboga
200 hs	Vindolina V	Aspidosperma

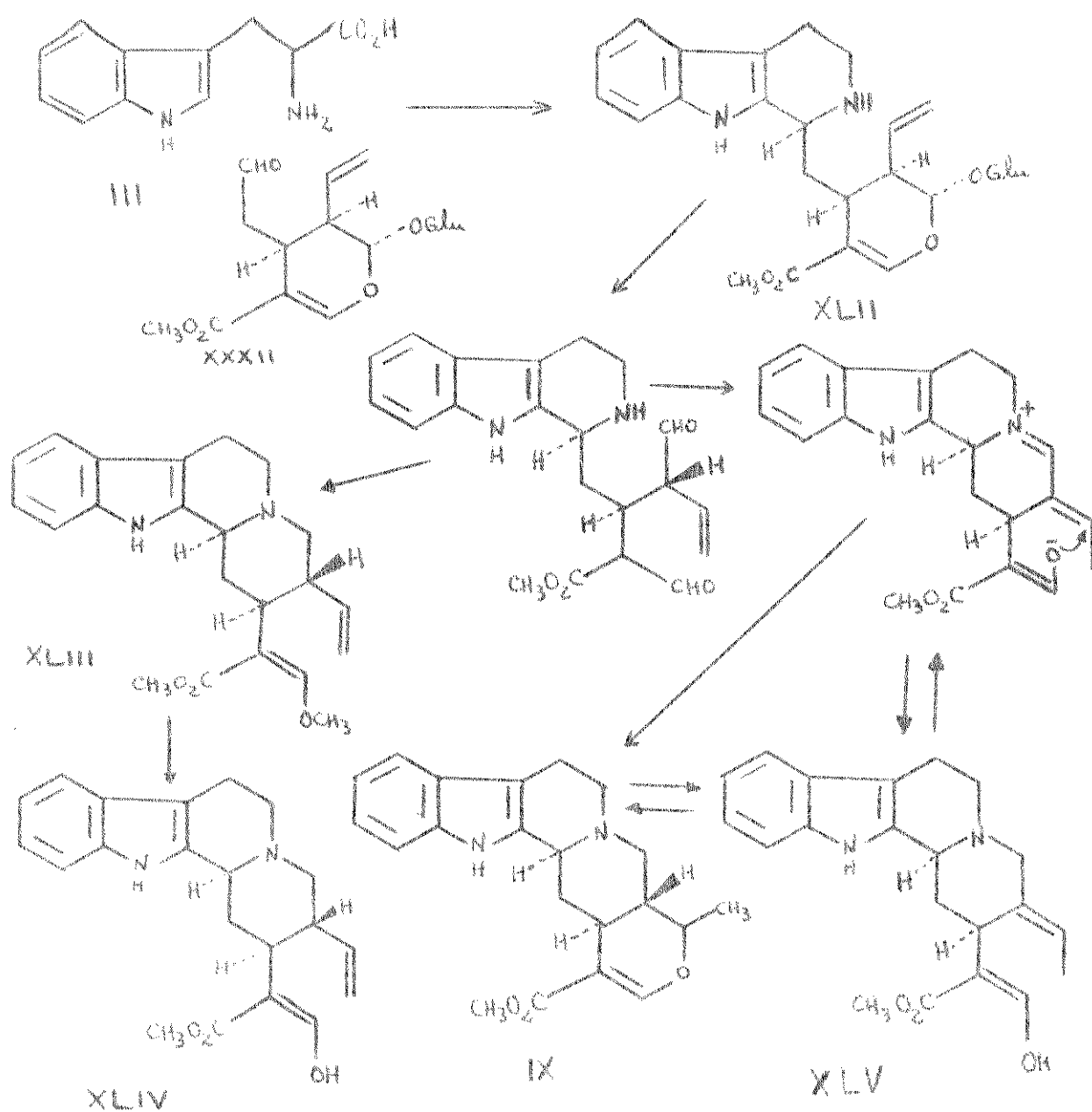
Em cada caso a identidade do alcaloide foi confirmada por espectrometria de massa e por comparação com amostra autêntica.

Significativamente, com exceção ajmalicina IX, nenhum alcaloide dos que foram isolados até 72 hs de germinação havia sido descrito antes como constituinte da Vinca rosea adulta.

Isto levou à proposição de que a ajmalicina IX constituía<sup>19</sup> um desvio no caminho para os alcaloides do tipo Aspidosperma XXX e Iboga XXIX, como mostra o esquema 4.

Na mesma época o grupo de Battersby<sup>38</sup> observou que a administração de loganina XXXII marcada com trítio no C<sub>2</sub> não levava à ajmalicina IX marcada no C<sub>20</sub>, concordando com a ideia de que IX não é produto direto da condensação de XXXII com triptofano III.

ESQUEMA 4



Dentre os compostos isolados nas frações 28-40 hs, o alcaloide geissoschizina XLV e o aldeído XLIV pareceram<sup>37</sup> ser os que possuíam reatividade mais favorável para dar sequência à biossíntese das séries *Aspidosperma* XXX e *Iboga* XXIX.

O isolamento em sequência (esquema 5) da geissoschizina XLV, " $\beta$ -hidroxiindolenina" XLVI, "diol" XLVII, geissoschizina oxíndol XLVIII e preakuamicina XLIX sugeriu<sup>37</sup> fortemente que a via biossintética que interliga a classe Corinante XXVI e a classe Stricnos XXVIII é esta. Este mecanismo envolve o oxíndol XLVIII, até então desconhecido, o qual é produzido diretamente por um rearranjo de XLVI ou via XLVII.

No entanto, houve necessidade de sugerir<sup>39</sup> o intermediário XLVIIIa, dotado da reatividade necessária para formar a preakuamicina XLIX.

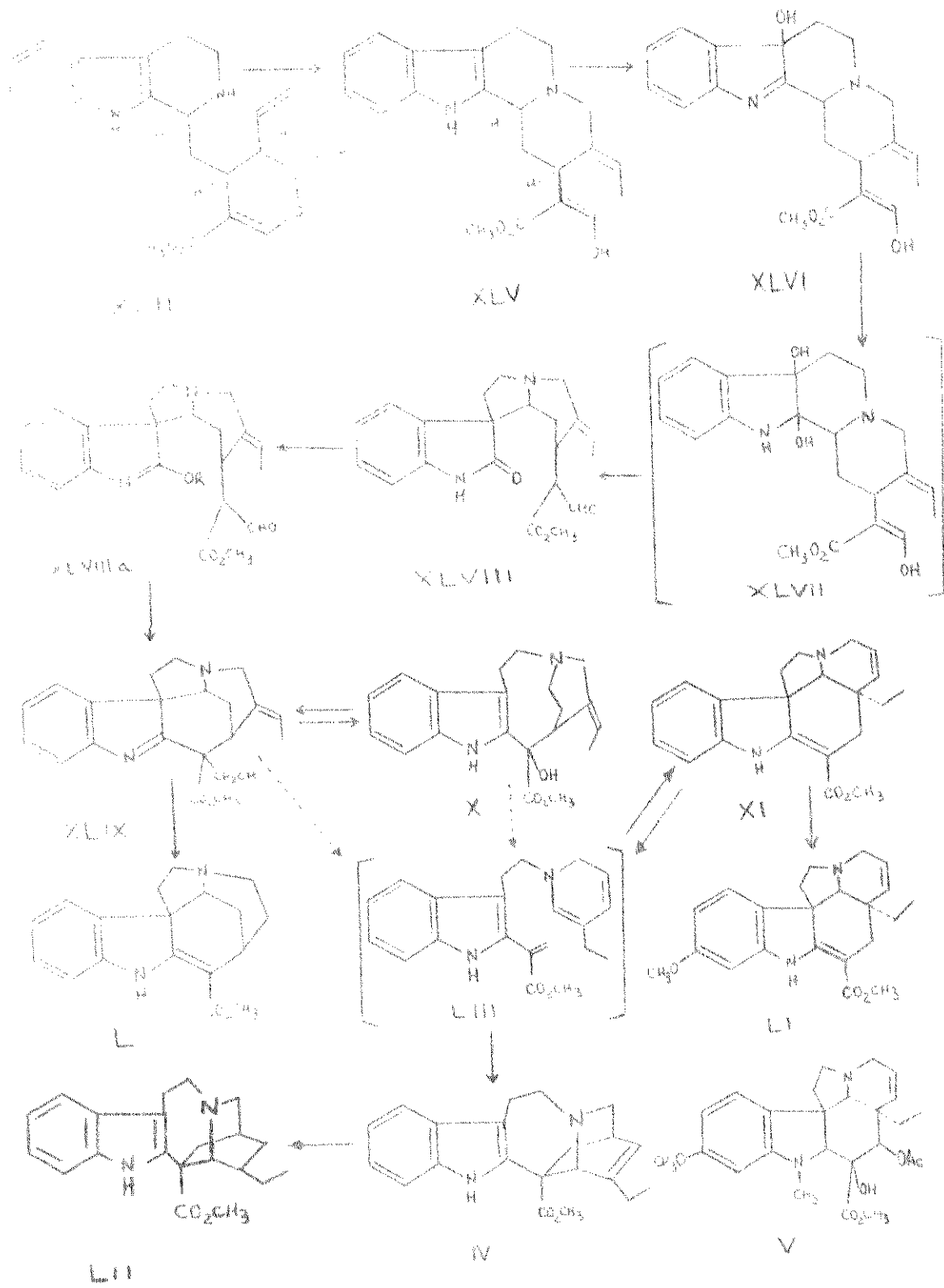
A preakuamicina XLIX foi isolada em pequena quantidade<sup>39</sup> (8mg/1kg de planta) e a solução contendo este alcaloide, na temperatura ambiente, deu origem a akuamicina L, também isolada nas frações 40-50 hs de germinação. Além dos alcaloides XLIX e L, estas frações produziram stemadenina X e tabersonina XI.

A catarantina IV, apesar de ser um isômero da tabersonina XI, só apareceu a partir de 100 hs de germinação.

A fim de explicar a ligação entre o alcaloide "Corinante-Stricnos" stemadenina X, a tabersonina XI, que é do tipo *Aspidosperma* XXX, e os alcaloides do tipo *Iboga* XXIX catarantina IV e coronaridina LII, foi proposto<sup>40, 41</sup> o ester acrílico como intermediário.

Esta teoria colocou<sup>37</sup> a stemadenina X como intermediário entre Stricnos XXVIII e as outras famílias de alcaloides não são na *V. rosea*, mas talvez em todas as espécies.

## ESQUEMA 5



A coronaridina LII é provavelmente <sup>37</sup> formada a partir da catarantina IV, enquanto que a 11-metoxi-tabersonina LI e a vindolina V representam <sup>35</sup> os possíveis produtos da oxigenação da tabersonina XI.

O esquema 5 mostra as transformações biossintéticas que levam à formação dos alcaloides indólicos na Vinca rosea.

Muitas experiências <sup>19, 37, 42</sup>, usando administração de moléculas marcadas à V. rosea e outras plantas, foram levadas a efeito vindo a confirmar a sequência de formação dos alcaloides indólicos.

Dentre estas se destaca a pesquisa feita por Scott e colaboradores <sup>42</sup> na qual foi usado triptofano III marcado.

Desta forma ficou comprovado <sup>42</sup>, de uma maneira geral, todo o caminho biossintético estabelecido anteriormente <sup>37</sup> com pequenas modificações. A principal novidade trazida por esta experiência <sup>42</sup> diz respeito à stemadenina X que poderia não estar diretamente ligada à produção da tabersonina XI através do intermediário ester acrílico LIII, mas sim também poderia haver um equilíbrio entre X e Preakuamicina XLIX sendo este último alcaloide encarregado de dar continuidade ao processo biossintético pela sua transformação no ester acrílico LIII (esquema 5).

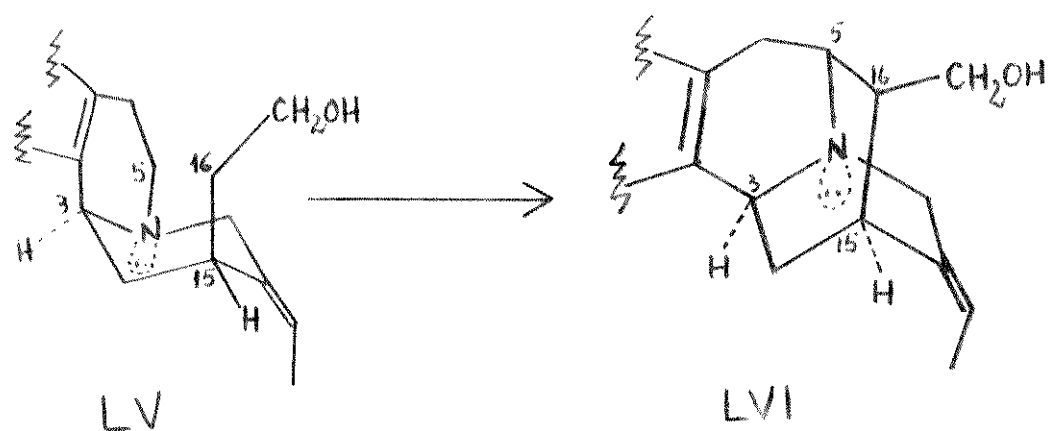
#### 2.5. Considerações biossintéticas sobre os alcaloides de Aspidosperma pruinosa\*\*

Com exceção da compactinervina LIV, que pertence à classe Stricnos XXVIII, os demais alcaloides isolados de A. pruinosa são Corinante XXVI e Yohimbe XXVII (esquema 2).

O fato de termos isolado da mesma planta os alcaloides 10-metoxi-geissoschizol LV e normacusina-B LVI chamou-nos a a-

tenção principalmente por termos demonstrado que LV tem a junção dos anéis C/D cis, facilitando a aproximação dos carbonos  $C_5$  e  $C_{16}$  para uma possível formação de ligação. Além disto, nós observamos que a estereoquímica no  $C_{15}$  de LV também favorece a aproximação de  $C_5$  e  $C_{16}$  (esquema 6).

ESQUEMA 6



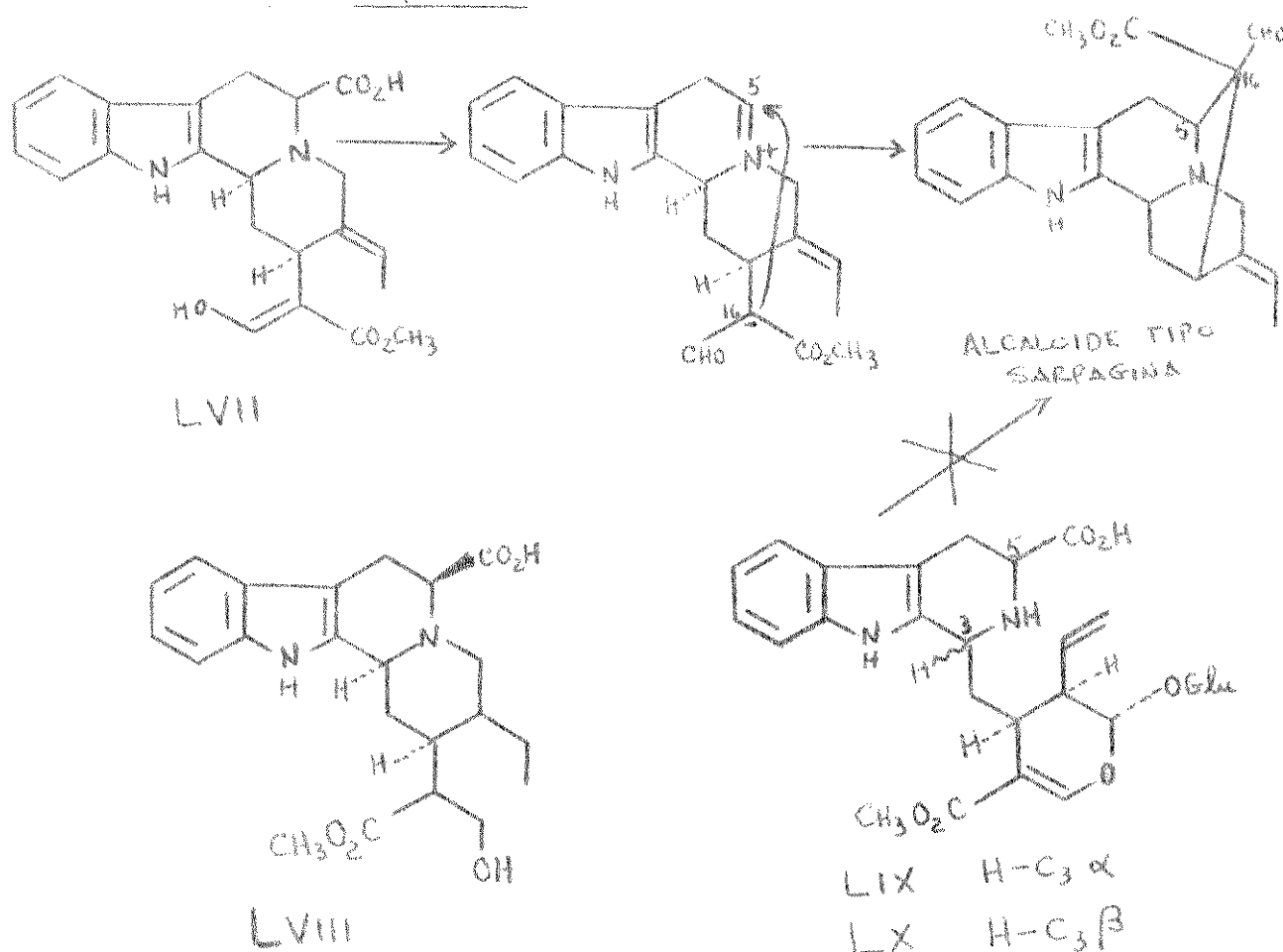
Van Tamelen<sup>43</sup> propôs que os alcaloides do grupo sarpagina, ao qual pertence a normacusina-B LVI seriam formados pelo ataque do  $C_{16}$  a uma imina eletrofílica no  $C_5$  formada por descarboxilação oxidativa de um alcaloide como a 5-carboxigeissoschizina LVII. O isolamento<sup>44</sup> da adirubina LVIII parecia reafirmar

---

**\*\*NOTA:** A numeração em algarismos romanos dos alcaloides isolados de A. pruinosum utilizada nesta parte não corresponde à numeração arábica do restante do trabalho: LIV = 32, LV = 13, LVI = 30, LXI = 35, LXIV = 5, LXV = 6, LXVI = 28, LXIX = 19, e LXXI = 24.

esta suposição, mas em pesquisa recente Stockigt<sup>45</sup> demonstrou que a 5-carboxigeissoschizina LIX e o 5-carboxivincosídeo LX não são precursores biossintéticos dos alcaloides sarpagina, pelo menos na Rauwolfia vomitoria, na Vallesia glabra, na Voa-canga africana e na Gelsemium sempervirens. O problema, no entanto, continua sem solução principalmente por causa da existência de diferentes condições biológica entre as várias espécies botânicas, sem contar as diferenças climáticas que podem concorrer para facilitar ou dificultar uma etapa de reação in vivo (esquema 7).

ESQUEMA 7

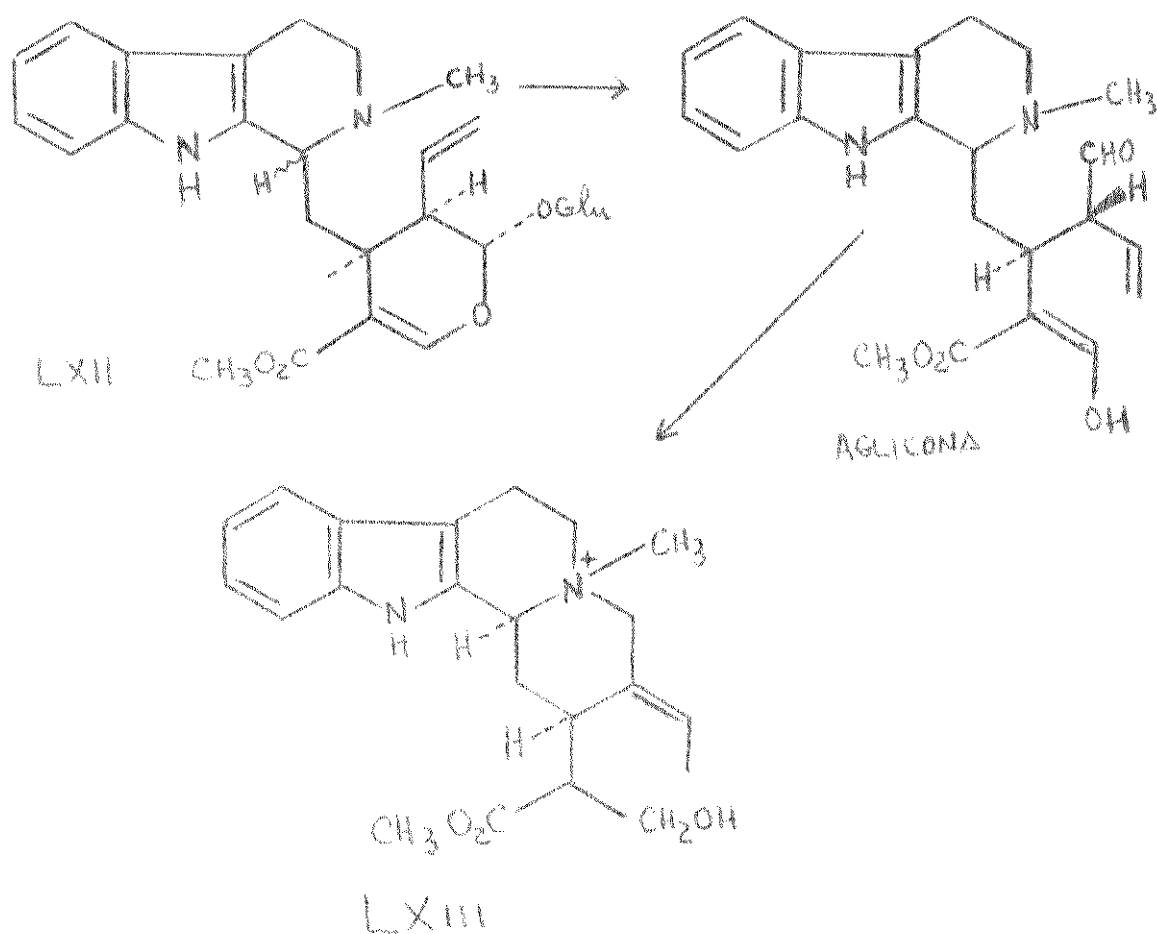




Ainda não foram publicados trabalhos sobre a biossíntese de alcaloides quaternários como a pruinósida LXI, isolado pela primeira vez como produto natural de A. prunosum.

Recentemente<sup>46</sup> foram isolados de Strycnos gossweileri o isodolichantosídeo LXII e a 16-epidiplocelina LXIII, e há probabilidade de que LXII esteja no caminho biossintético para o alcaloide LXIII. Os primeiros resultados da hidrólise de LXII com  $\alpha$ -glucosidase indicaram apenas que a reação formou glucose e uma aglicona instável que poderia originar LXIII, como mostra o esquema 8.

ESQUEMA 8



Além da yohimbina LXIV e da  $\beta$ -yohimbina LXV, que são alcaloides conhecidos há muitas décadas, isolamos 10-metoxi-yohimbina LXVI que tem a mesma estereoquímica que LXIV em todos os centros quirais e vem a aumentar o número dos alcaloides do tipo Yohimbe XXVII conhecidos.

Apesar de serem conhecidos há tanto tempo, não existe estudo biossintético a seu respeito. A sugestão de Woodward<sup>47</sup> de que os alcaloides da classe Yohimbe XXVII dariam origem aos Corinante XXVI e Stricnos XXVIII parece hoje desacreditada à luz dos estudos realizados com a V. rosea<sup>37</sup>.

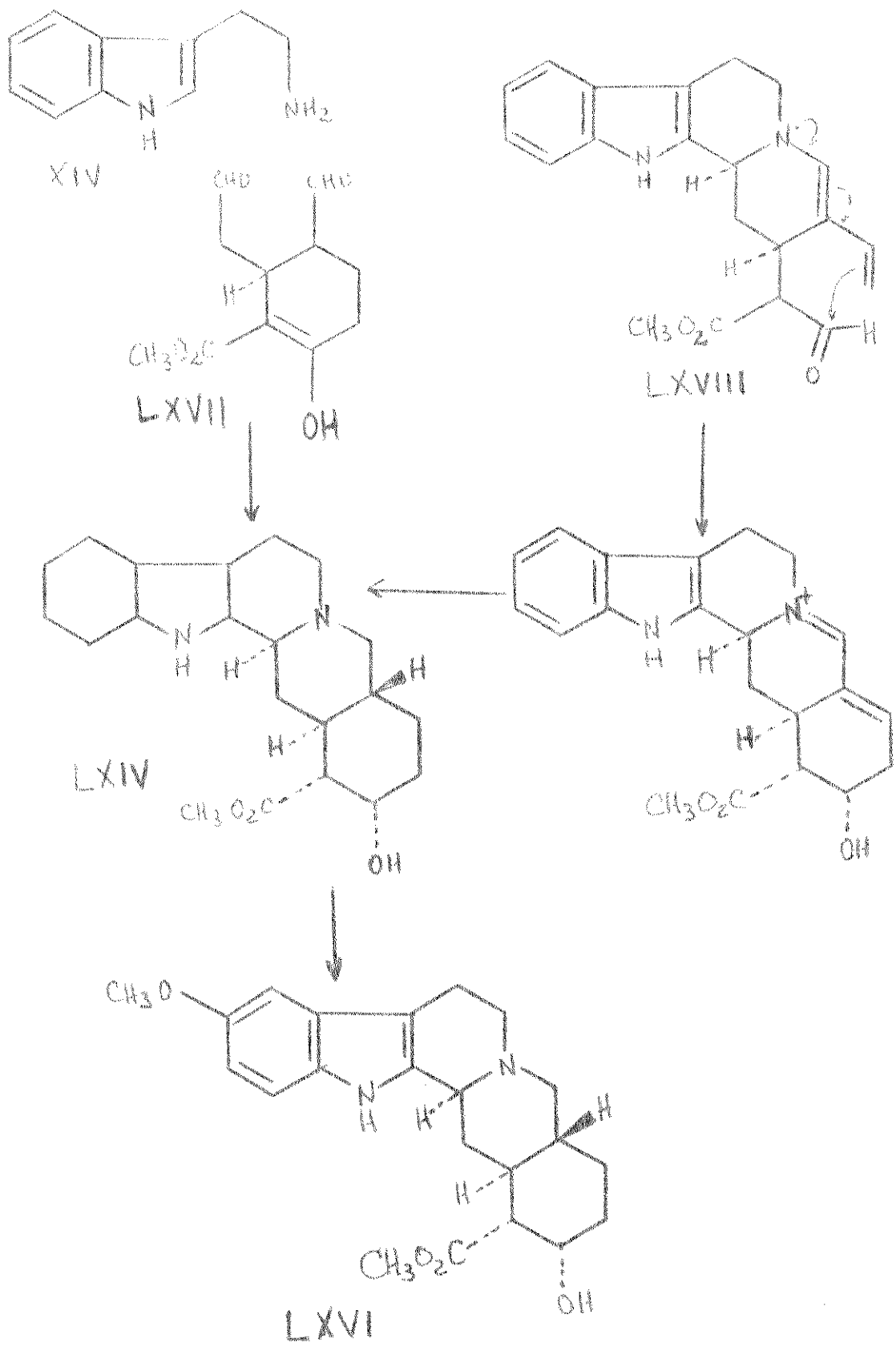
Inouye<sup>48</sup> sugeriu que possivelmente seco-iridoides do tipo LXVII seriam condensados com triptamina XIV resultando os alcaloides do tipo Yohimbe XXVII.

Cordell<sup>42</sup> aventou a possibilidade de o aparecimento destes alcaloides dar-se pela formação da ligação C<sub>17</sub>—C<sub>18</sub> na dienamina LXVIII.

Como no caso da 11-metoxi-tabersonina LI, que só aparece bem depois da tabersonina XI na V. rosea<sup>37</sup>, podemos sugerir que a 10-metoxi-yohimbina LXVI complete uma das sequências, ou a de Inouye<sup>48</sup> ou a de Cordell<sup>42</sup> (esquema 9).

Alcaloides de <u>A. pruinosum</u>	%
Yohimbina	0,100
$\beta$ -yohimbina	0,030
10-metoxi-yohimbina	0,015
Pruinosina	0,110
10-metoxi-geissoschizol	0,040
normacusina-B	0,005
Compactinervina	0,002
10-metoxi-diidrocorinanteol	0,020

## ESQUEMA 9

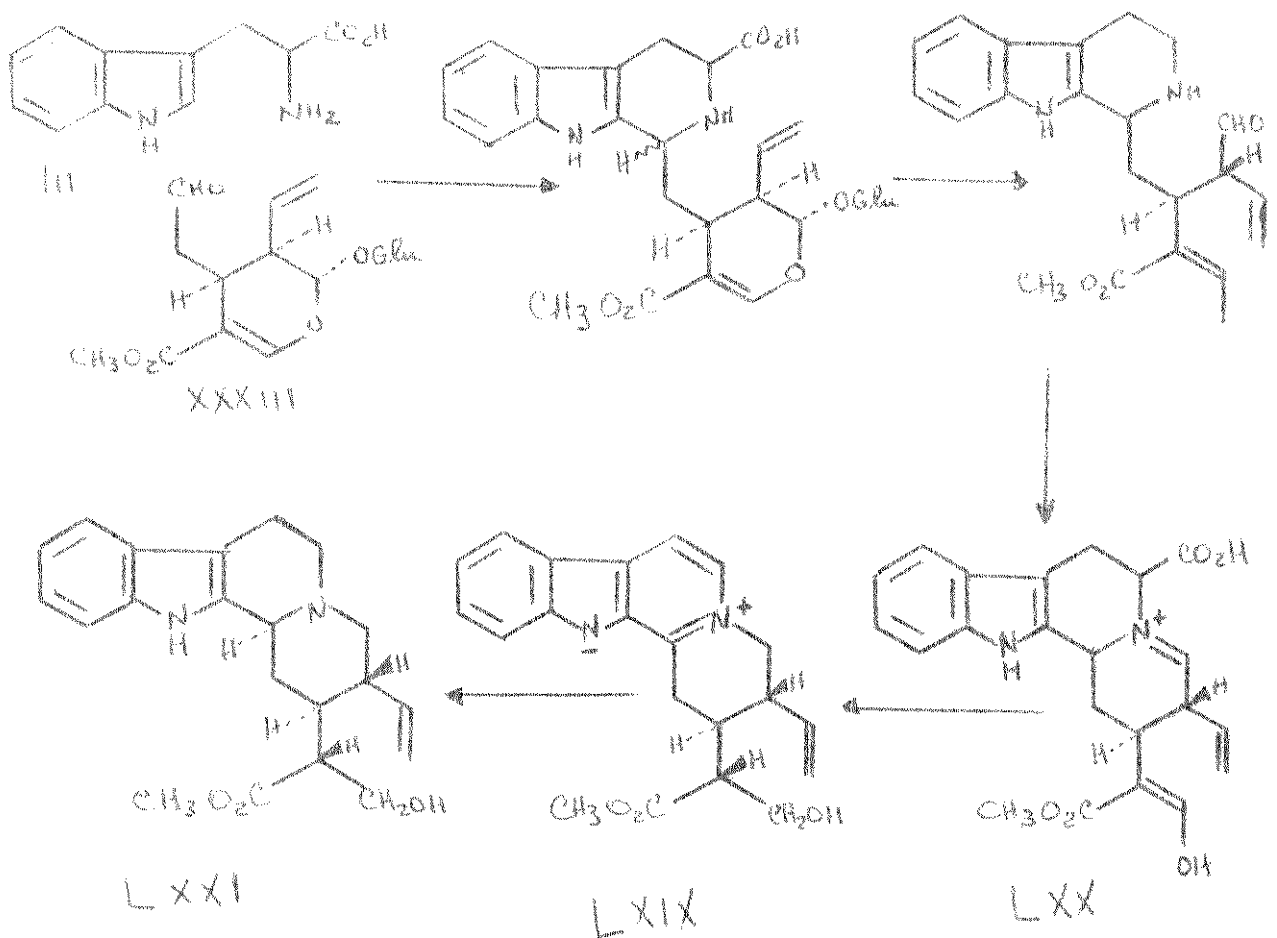


Não existe na literatura nenhum trabalho sobre a biossíntese dos alcaloides  $\beta$ -carbolínicos como a pruinósina LXIX.

É possível que o sistema conjugado dos anéis "A", "B" e "C" tenha origem por descarboxilação oxidativa do imônio LXX, formado pela condensação do triptofano III com a seco-loganina XXXIII (esquema 10). Uma redução subsequente de LXIX levaria aos alcaloides do tipo da sítirikina LXXI.

A pruinósina LXIX existe em grande quantidade na *A. pruinosa* (ver tabela duas páginas atrás) em comparação com os demais alcaloides. Isto sugere que não se trata de um intermediário mas sim do produto de uma variante biossintética.

ESQUEMA 10



CAPÍTULO I

Estudo dos Alcaloides de *Aspidosperma pruinatum*

*Aspidosperma pruinatum* foi descrita por Markgraf em 1940, e sua classificação botânica é a seguinte:

Divisão: Angiospermae

Classe: Dicotyledoneae

Ordem: Gentianales

Família: Apocinaceae

Gênero: *Aspidosperma*

Espécie: *Aspidosperma pruinatum*

É uma árvore de 12 a 30 metros que ocorre naturalmente na região de Paracatu, noroeste de Minas Gerais, indo reaparecer desde os arredores de Brasília até bem além de Inhumas em direção à Goiás Velha<sup>49</sup>.

O gênero *Aspidosperma* é encontrado principalmente na região Amazônica, e a espécie *A. pruinatum* é uma das poucas espécies extra-amazônicas deste gênero.

O material utilizado por nós neste estudo foi coletado em Goiânia-GO, nos arredores da Universidade Federal de Goiás.

O procedimento utilizado para o isolamento dos constituintes foi dirigido no sentido da obtenção de compostos alcalóidicos.

Três processos distintos de extração das cascas foram levados a efeito:

I.1. Processo A: Extração das cascas diretamente com etanol a quente.

I.2. Processo B: Basificação preliminar das cascas seguida de extração com éter etílico e posteriormente com etanol.

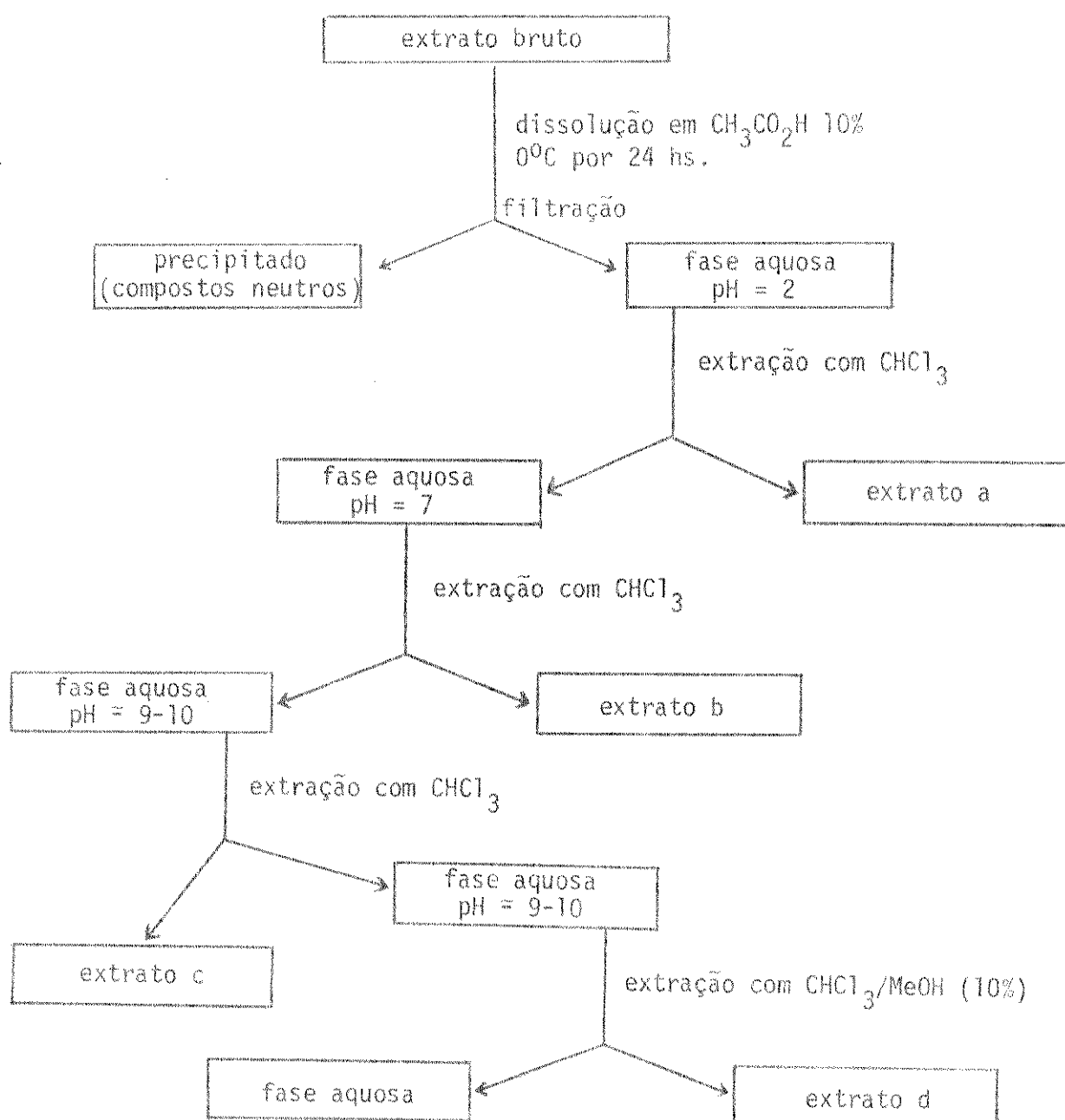
I.3. Processo C: Extração das cascas diretamente com etanol a frio.

Os extratos brutos obtidos pelos processos A e B foram submetidos se-

paradamente a tratamento ácido-base conforme o Esquema Geral 11 abaixo (Parte Experimental, pág. 102).

O extrato bruto feito com etanol a frio (Processo C) não sofreu o tratamento ácido-base, sendo diretamente fracionado por cromatografia em coluna (Parte Experimental, pág. 111).

### ESQUEMA GERAL 11



## I.1. Fracionamento do Extrato Bruto 1, obtido pelo Processo A

O extrato bruto 1, obtido pelo processo A, foi fracionado conforme o Esquema Geral II, e estudados os extratos 1b, 1c e 1d (Parte Experimental, pág. 404).

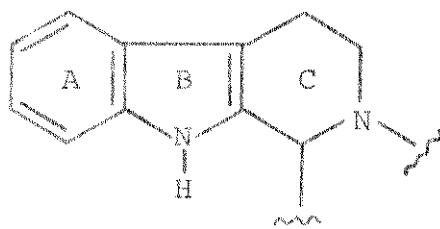
### I.1.1. Extrato 1b

Deste extrato foram isolados dois alcaloides, yohimbina 5 e  $\beta$ -yohimbi na 6, por precipitação sob a forma de cloridratos, seguida de liberação das bases e separação por cromatografia de placas preparativas.

#### - Yohimbina 5

A base livre foi cristalizada em metanol apresentando ponto de fusão  $221,0^{\circ}$ - $221,8^{\circ}$ C.

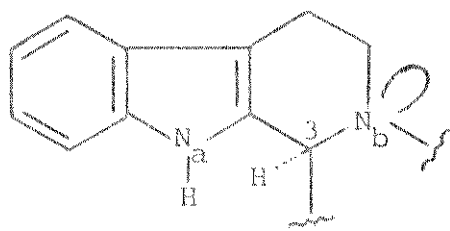
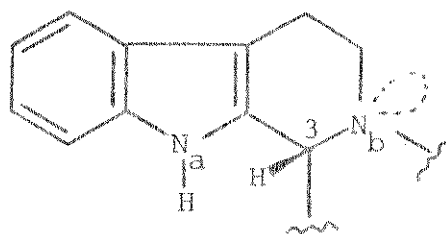
Seu espectro na região de ultravioleta apresentou absorções características dos alcaloides indólicos sem substituição<sup>3</sup> no anel "A", sendo responsável por estas absorções, o cromóforo do tipo 1:



1

No infravermelho, tirado em  $\text{CHCl}_3$ , foi possível identificar as bandas correspondentes a:  $-\text{OH}$  ( $3600 \text{ cm}^{-1}$ );  $>\text{NH}$  ( $3470 \text{ cm}^{-1}$ ); bandas de Bohlmann<sup>50</sup> ( $2850$ ,  $2800$ ,  $2750 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $>\text{C}=\text{O}$  ( $1720 \text{ cm}^{-1}$ ).

As bandas de Bohlmann<sup>50</sup> foram indicativas de sistemas do tipo trans-quinolizidina: somente alcaloides indólicos com o hidrogênio do C<sub>3</sub> trans em relação ao par de elétrons livre do N<sub>b</sub> apresentam tais bandas<sup>51</sup>, como em 2 e 3.

23

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H confirmou a presença do NH indólico (s, 7,94 ppm, 1 H, desapareceu com a adição de D<sub>2</sub>O), a inexistência de substituintes no anel aromático (m, 7,70-7,10 ppm, 4H) e mostrou a existência de um grupo -CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (s, 3,90 ppm, 3H).

A fragmentação do espectro de massa do composto mostrou picos característicos de yohimbina e de todos os seus estereoisômeros<sup>52</sup> 4, não podendo ser de ajuda para a diferenciação entre eles: m/e 354 (M<sup>+</sup>, 100%), 353 (M-1, 99%); 323 (M-CH<sub>3</sub>O, 10,5%); 295 (M-CH<sub>3</sub>OCO, 12%); 184 (fragmento a, 23,5%), 170 (fragmento b, 28%), 169 (fragmento c, 38%), 156 (fragmento d, 20,5%). No Quadro 1 são apresentados os fragmentos a, b, c e d; a grande intensidade do m/e 353 é devida em parte à perda do hidrogênio C<sub>3</sub>, conforme foi demonstrado utilizando-se compostos deuterados na posição 3. O fragmento d, m/e 156, também foi confirmado por experimentos com moléculas marcadas com deutério<sup>52</sup>, e sugeriu-se<sup>52, 53</sup> que há uma quebra do anel "C" via mecanismo retro-Diels-Alder seguida de cisão homolítica da ligação C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub>.

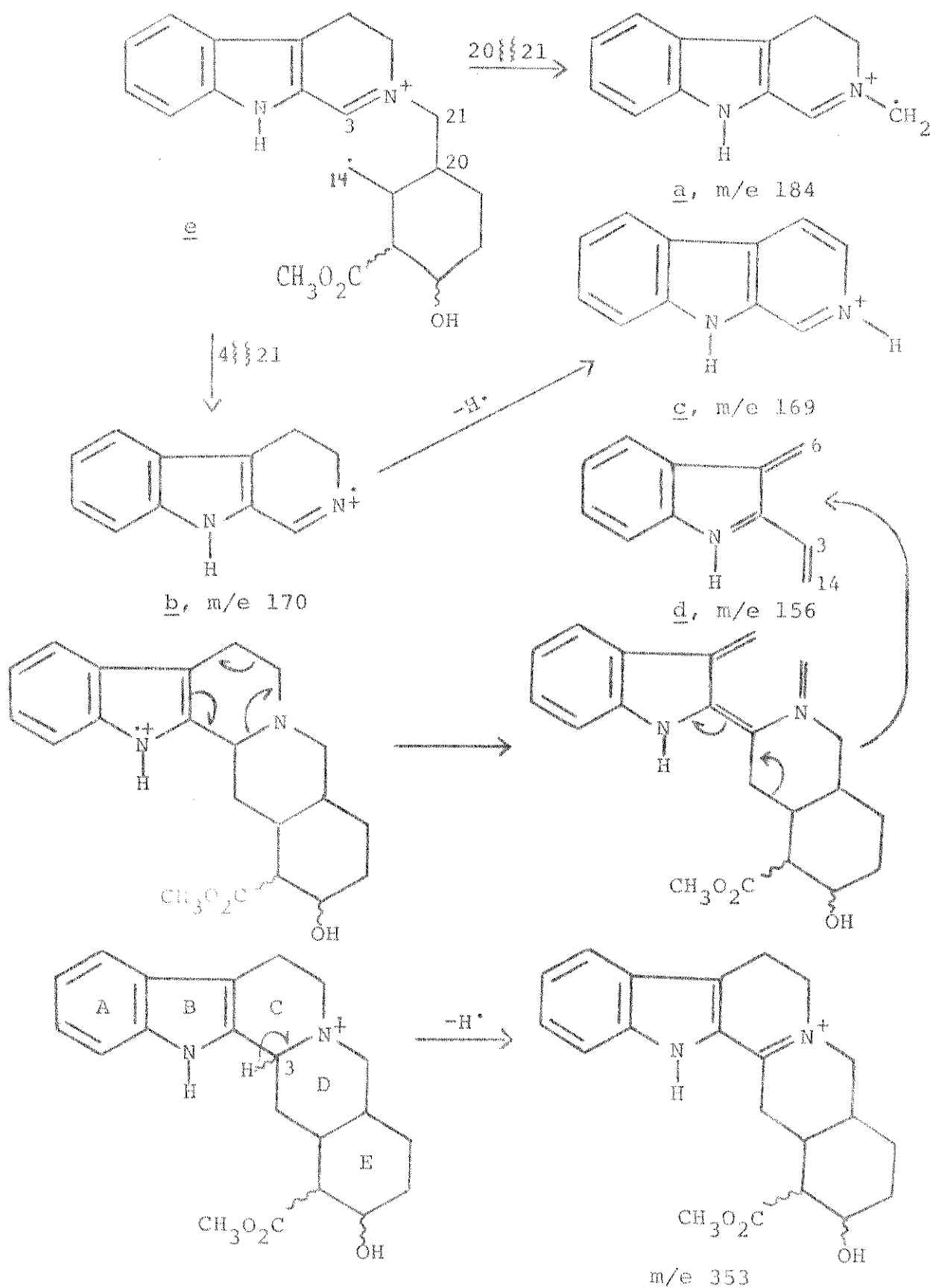
A partir do fragmento m/e 353, uma homólise da ligação C<sub>3</sub>-C<sub>14</sub> leva ao

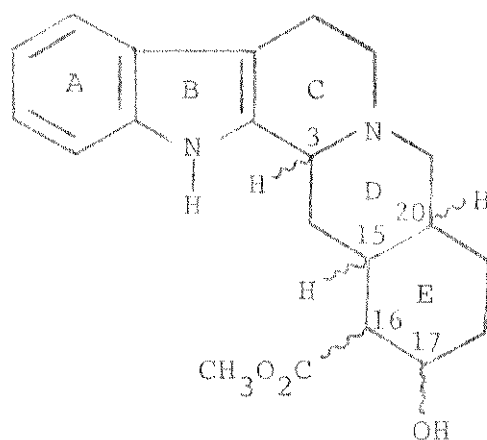


intermediário e que dá origem aos fragmentos a, b e c.

QUADRO 1

Fragmentação comum aos estereoisômeros de yohimbina 4





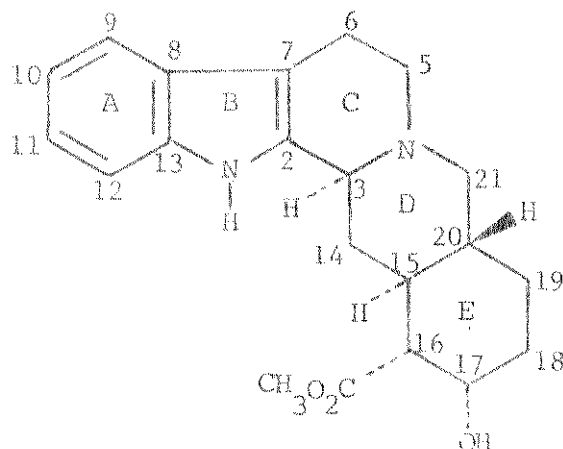
4

Com os dados analisados até agora, chegou-se à conclusão de que se tratava de um estereoisômero de yohimbina 4.

A medida da rotação óptica específica,  $[\alpha]_D^{20} = +46,5^\circ$  (etanol), foi praticamente a mesma apresentada pelo alcaloide yohimbina 5 no mesmo solvente<sup>54</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +47^\circ$ .

Numa análise mais acurada do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , o multiplete a 4,34 ppm correspondendo a 1 H foi atribuído<sup>55</sup> ao próton do  $\text{C}_{17}$  colocado em posição equatorial em relação ao anel "E" da yohimbina 5, enquanto que o sinal do -OH ligado ao  $\text{C}_{17}$  não foi observado<sup>55</sup>.

A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  permitiu esclarecer definitivamente a estereoquímica de toda a molécula, comparando-se com dados da literatura<sup>56</sup>, em favor de yohimbina 5 (Capítulo II).



5 yohimbina

-  $\beta$ -Yohimbina 6

Este alcaloide, cristalizado em metanol, fundiu a  $230,3^{\circ}$ - $230,9^{\circ}\text{C}$  e mostrou uma semelhança muito grande com yohimbina 5 em seus espectros de ultravioleta, infravermelho e de massa.

O mesmo cromóforo<sup>3</sup> 1, responsável pelas absorções da yohimbina 5, foi encontrado neste composto em seu espectro de ultravioleta:

$\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH}}$  225 nm (log  $\epsilon$  4,54), 281 nm (log  $\epsilon$  3,87), 289 nm (log  $\epsilon$  3,79).

As bandas de absorção observadas no espectro de infravermelho mostraram os mesmos grupos funcionais presentes na molécula da yohimbina 5, inclusive destacadas bandas de Bohlmann<sup>50</sup> que garantiram ser trans a disposição espacial para o hidrogênio do  $\text{C}_3$  em relação à nuvem eletrônica do  $\text{N}_6$  como em 2 ou em 3:  $-\text{OH}$  ( $4590\text{ cm}^{-1}$ );  $-\text{NH}$  ( $3460\text{ cm}^{-1}$ ); bandas de Bohlmann<sup>50</sup> ( $2850$ ,  $2800$  e  $2750\text{ cm}^{-1}$ );  $-\text{C}=\text{O}$  ( $1730\text{ cm}^{-1}$ ).

O espectro de massa permitiu concluir definitivamente que se tratava de um isômero<sup>54</sup> da yohimbina 5 pois a fragmentação era idêntica para ambos os

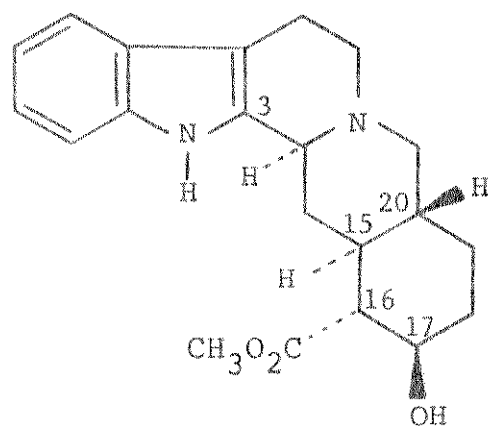
alcaloides, diferindo apenas nas intensidades<sup>52</sup> dos fragmentos que são os mes-  
mos mostrados no Quadro 1: m/e 354 ( $M^+$ , 100%), 353 ( $M-1$ , 97%), 323 ( $M-CH_3O$ ,  
7,6%), 295 ( $M-CH_3O_2C-$ , 34%), 184 (fragmento a, 55%), 170 (fragmento b, 61%),  
169 (fragmento c, 68%), 156 (fragmento d, 46%).

O espectro de RMN de  $^1H$  confirmou a presença na molécula do  $NH$  indô-  
lico (s<sub>1</sub>, 8,05 ppm, 1H) e a ausência de substituintes no anel aromático (m,  
7,50-6,82 ppm, 4H). Com adição de gotas de  $D_2O$  à solução comprovou-se mais  
uma vez o  $NH$  indólico e observou-se o desaparecimento de um pico a 2,25 ppm  
correspondente ao hidrogênio do grupo  $-OH$ .

O sinal do hidrogênio ligado ao  $C_{17}$  foi observado juntamente com o pi-  
co do grupo  $CH_3O_2C-$  (s de base alargada, 3,78 ppm, 4H). Esta observação sugere  
riu que o hidrogênio ligado ao  $C_{17}$  era axial e restringiu a escolha, entre os  
isômeros da yohimbina, aos que possuíssem  $-OH$  com orientação  $\beta$  em  $C_{17}$ .

Entre os estereoisômeros da yohimbina que obedeciam a esta restrição  
( $-OH \beta$ ) estava a  $\beta$ -yohimbina 6, cuja rotação óptica específica<sup>3, 57</sup> ( $[\alpha]_D =$   
 $-18^\circ$ , em etanol) estava de acordo com  $[\alpha]_D^{20} = -18,3^\circ$  do nosso alcaloide no mes-  
mo solvente.

Com a análise do espectro de RMN de  $^{13}C$  toda a estereoquímica da mo-  
lécula foi confirmada em comparação com a literatura<sup>56</sup> (Capítulo II), mostran-  
do-se o alcaloide idêntico a  $\beta$ -yohimbina 6.



### I.1.2. Extrato 1c

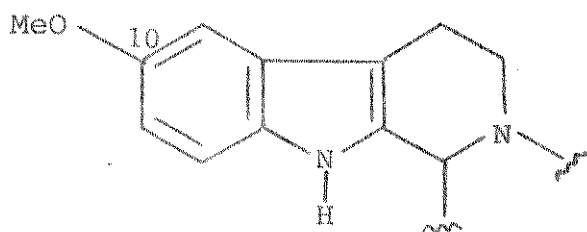
Este extrato foi submetido a cromatografia em coluna (Parte Experimental, pág. 102) isolando-se os alcaloides: yohimbina 5, 10-metoxi-diidrocorinanteol 9, 10-metoxi-geissoschizol 13 e pruinósina 19.

#### - 10-Metoxi-diidrocorinanteol 9

O espectro de ultravioleta deste alcaloide mostrou absorções típicas dos alcaloides indólicos possuindo uma metoxila como substituinte<sup>3</sup> na posição 10:

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$  225 nm (log  $\epsilon$  4,43), 279 nm (log  $\epsilon$  3,91), 295 nm (log  $\epsilon$  3,82).

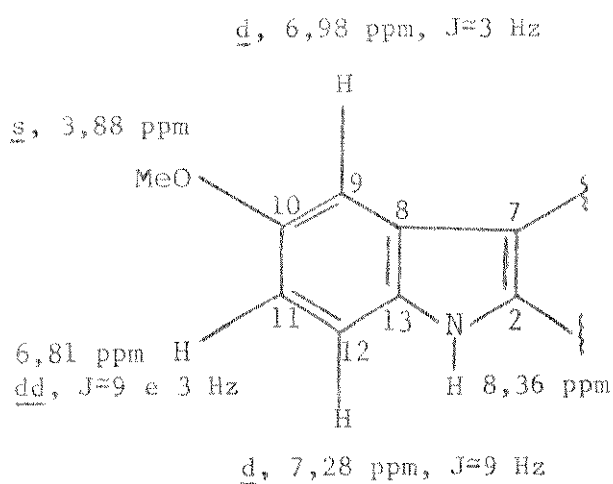
A partir deste dado supusemos que o composto tinha o cromóforo 7.



7

Do espectro de infravermelho deduziu-se a presença na molécula de :  
-OH ( $3490 \text{ cm}^{-1}$ );  $\text{>NH}$  ( $3300 \text{ cm}^{-1}$ ); e bandas de Bohlmann<sup>50</sup> ( $2850, 2820, 2780 \text{ cm}^{-1}$ ) mostrando que o hidrogênio do  $\text{C}_3$  era trans em relação ao par de eletrons do  $\text{N}_b$ , como em 2 e 3.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  confirmou o  $\text{NH}$  indólico (s, 8,26 ppm, 1 H), os grupos  $\text{CH}_3\text{O}$  (s, 3,88 ppm, 3 H) e  $-\text{OH}$  (s, 2,75 ppm, desaparece com  $\text{D}_2\text{O}$ ). Além disto, os deslocamentos químicos na região aromática mostraram que existia a substituição na posição 10 ou 11.



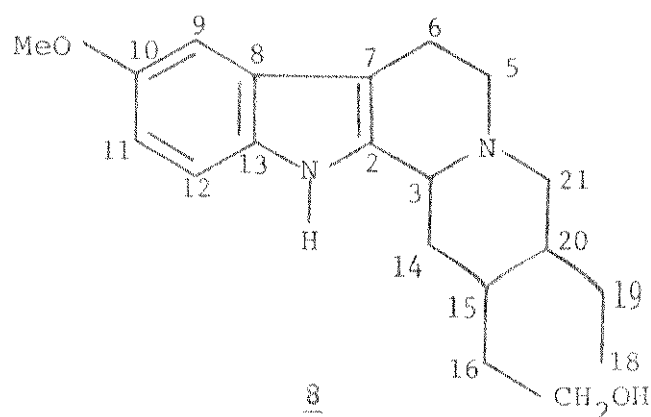
O sinal de 1,0-0,70 ppm foi interpretado como devido a um  $\text{CH}_3$ - de etila terminal (3H, pico largo mal resolvido).

A fragmentação observada no espectro de massa permitiu detectar a existência de  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  e  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ :  $m/e$  328 ( $\text{M}^+$ , 98%), 327 ( $\text{M}-1$ , 100%), 313 ( $\text{M}-\text{CH}_3$ , 23%), 299 ( $\text{M}-\text{CH}_3\text{CH}_2^-$ , 29%), 297 ( $\text{M}-\text{HOCH}_2^-$ , 23%), 283 ( $\text{M}-\text{HOCH}_2\text{CH}_2^-$ , 50%). Os fragmentos  $m/e$  214 (33%), 200 (69%), 199 (63%) e 186 (52%) pertencem aos fragmentos a, b, c e d equivalentes aos do Quadro 1 (pág. 31) com o grupo  $\text{MeO}-$  como substituinte do anel indólico<sup>53</sup>.

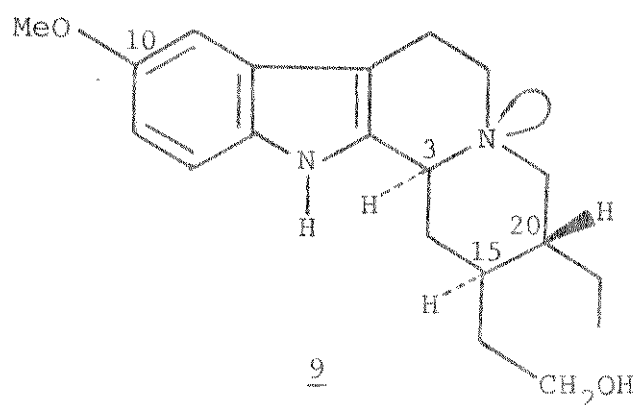
Os dados analisados até agora, principalmente o E.M., eram coerentes com a estrutura de um alcaloide 10-metoxi-indólico tendo o anel "E" aberto tal como a estrutura 8.

O composto teve ponto de fusão  $158,2^{\circ}\text{C}$ - $159,6^{\circ}\text{C}$  (cristalizado em benzeno)<sup>4</sup> e  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -17^{\circ}$  (piridina)<sup>58</sup>, dados condizentes com o alcaloide 10-metoxi-di

hidrocorinanteol 9 que funde a 153-156°C (benzeno)<sup>1</sup> e tem  $[\alpha]_D^{20} = -16,3^{\circ}$  (piridina)<sup>58</sup>. No espectro<sup>58</sup> de RMN de  $^1\text{H}$  de 9 o multiplete a 3,65 ppm é atribuído aos dois hidrogênios  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ ; um sinal semelhante apareceu no RMN de  $^1\text{H}$  do nosso composto a 3,75 ppm como multiplete, correspondendo a dois hidrogênios.



Finalmente, a estrutura 9 do 10-metoxi-dihidro-corinanteol para o alcaloide foi confirmada pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Capítulo II) bem como a estereoquímica de toda a molécula.



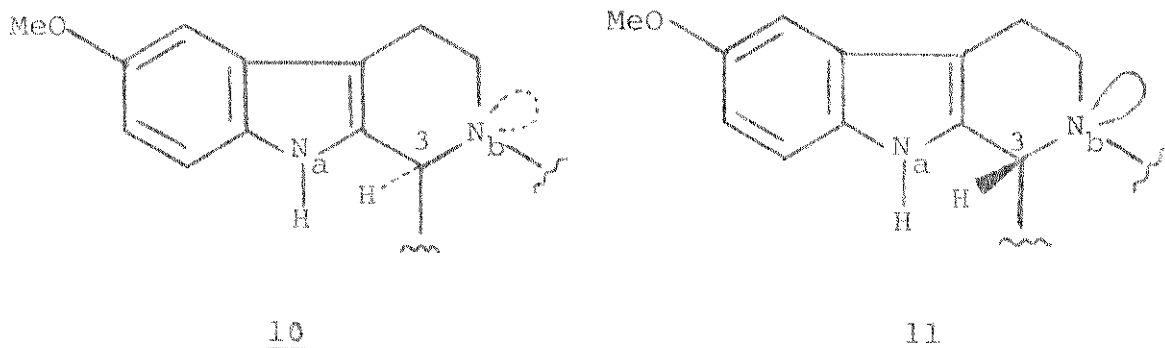
- 10-Metoxi-geissoschizol 13

Chamou a atenção a semelhança entre este composto e 10-metoxi-diidro-corinanteol 9 no que dizia respeito a seus espectros de ultravioleta.

Pelo ultravioleta observou-se que 13 devia apresentar o mesmo cromóforo que 9:

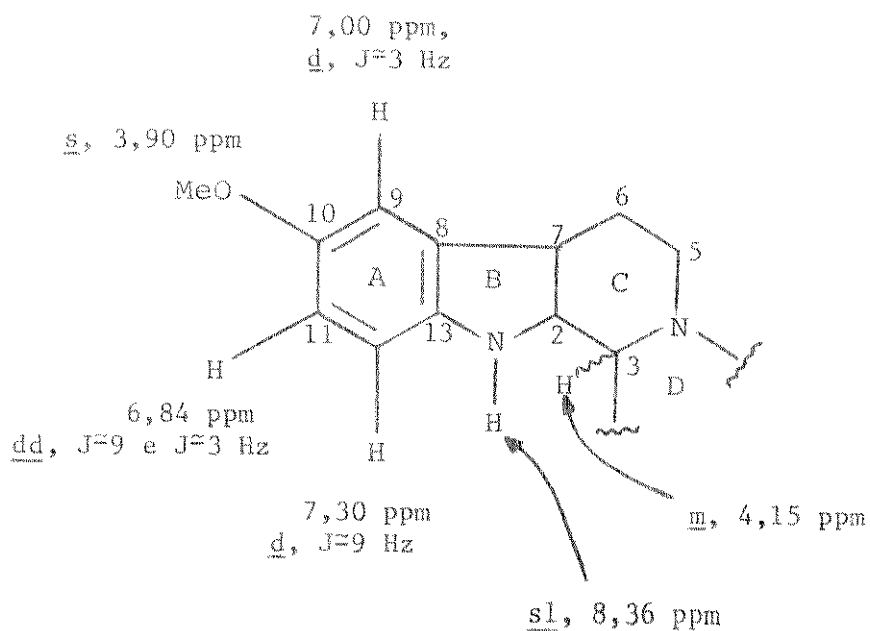
$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$  225 nm (log  $\epsilon$  4,44), 280 nm (log  $\epsilon$  3,95), -296 nm (log  $\epsilon$  3,85).

A mesma semelhança foi observada nas bandas de absorção na região do infravermelho dos dois compostos: -OH ( $3600 \text{ cm}^{-1}$ );  $\geq\text{NH}$  ( $3450 \text{ cm}^{-1}$ ). No entanto, uma diferença notável foi registrada: a ausência das bandas de Bohlmann<sup>50</sup> levou à conclusão de que o hidrogênio do C<sub>3</sub> neste caso estava colocado em posição cis em relação à nuvem eletrônica do N<sub>b</sub> como em 10 ou em 11.

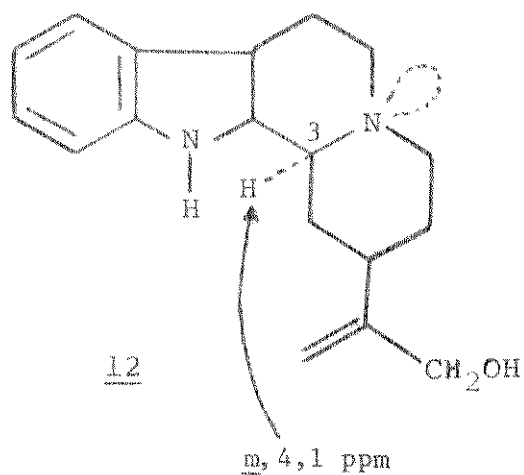


O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 13 em  $\text{CDCl}_3$  mostrou 3H aromáticos e a disposição dos picos era condizente com a substituição em C<sub>10</sub> sugerida pelo espectro de ultravioleta. O NH indólico foi confirmado (s, 1H, 8,36 ppm) e observou-se o sinal do grupo  $\text{CH}_3\text{O}$ - (s, 3H, 3,90 ppm). O hidrogênio ligado ao C<sub>3</sub> também foi confirmado ser cis em relação aos elétrons livres do N<sub>b</sub> por RMN de  $^1\text{H}$  (M, 1H, 4,15 ppm). Assim, foram obtidos os deslocamentos químicos da maior parte dos hidrogênios da estrutura parcial 10 ou 11, como representa dos a seguir:





O deslocamento químico atribuído ao hidrogênio do C<sub>3</sub> foi característico dos alcaloides indólicos com junção C/D cis e encontrou-se análogos na literatura<sup>66,67</sup> como a anthirina<sup>67</sup> 12.



Os fragmentos do E.M. de 13 foram semelhantes aos do composto 9 menos duas unidades de massa: m/e 326 ( $M^+$ , 100%), 325 ( $M-1$ , 98%), 311 ( $M-CH_3^-$ , 25%), 295 ( $M-HOCH_2^-$ , 50%), 281 ( $M-HOCH_2CH_2^-$ , 82%), 267 (42%), 253 (37%), 214 (25%), 200 (80%), 199 (82%), 186 (80%).

Como para o composto 9, os fragmentos do Quadro 1 apareceram no E.M. de 13 com 30 unidades de massa a mais. A presença de somente um grupo MeO- em 13, como foi mostrado pelo seu espectro de RMN de  $^1H$ , tornou claro que o fragmento m/e 295 ( $M-31$ ) se devia à perda de  $-CH_2OH$ . O fragmento m/e 281 (82%) do E.M. de 13, comparado com o m/e 283 (50%) de 9 sugeriu fortemente a existência do grupo  $-CH_2CH_2OH$  ligado ao  $C_{15}$ .

Um exame mais detalhado do espectro de RMN de  $^1H$  de 13 mostrou a existência de um grupo  $=CH-$  (q, 1H,  $J = 7$  Hz) acoplado a um  $CH_3-$  (d, 3H,  $J = 7$  Hz), sugerindo que um grupo  $=CH-CH_3$  poderia estar ligado ao  $C_{20}$ .

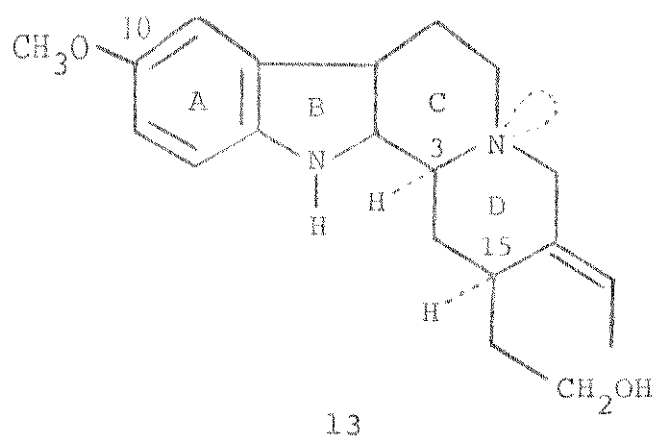
Relacionando todos os dados obtidos nos espectros de U.V., I.V., RMN de  $^1H$  e E.M., propusemos a estrutura do 10-metoxi-geissoschizol 13 para o alcaloide.

O espectro de RMN de  $^1H$  de 10-metoxi-geissoschizol 13 feito em  $CDCl_3/CF_3CO_2H$  mostrou bom acordo com os dados publicados<sup>58</sup> para este alcaloide. Observamos coincidência nos deslocamentos químicos NH indólico (s, 1H, 10,6 ppm);  $C_{12}-H$  (d, 1H,  $J = 9$  Hz, 7,27 ppm);  $C_{11}-H$  (d, 1H,  $J = 3$  Hz, 6,87 ppm), H do  $C_9$  (s, 1H, 6,70 ppm),  $C_{19}-H$  (q, 1H,  $J = 7$  Hz, 5,64 ppm);  $CH_3O-$  (s, 3H, 3,82 ppm);  $C_{18}-H_3$  (d, 3H,  $J = 7$  Hz, 1,45 ppm).

O composto 13 foi cristalizado em etanol, fundindo a  $89,8^{\circ}-91,0^{\circ}C$  e apresentando  $[\alpha]_D^{20} = -37,5^{\circ}$  (piridina).

10-Metoxi-geissoschizol 13 isolado de *Aspidosperma oblongum*<sup>4</sup> e cristalizado em etanol teve ponto de fusão  $181^{\circ}-182,5^{\circ}C$  e  $[\alpha]_D^{20} = -42^{\circ}$  (piridina). O mesmo composto, isolado de *Aspidosperma discolor*<sup>58</sup> foi cristalizado em acetona/pentano ou metanol/éter e fundiu a  $184^{\circ}-185^{\circ}C$ , apresentando  $[\alpha]_D^{20} = -64,5^{\circ}$  (piridina).

Apesar da diferença observada no ponto de fusão do composto 13 isolado por nós e aquele apresentado pelo alcaloide isolado de A. oblongum<sup>4</sup> e A. discolor<sup>58</sup>, o espectro de RMN de <sup>1</sup>H feito em CDCl<sub>3</sub>/CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H concordou com os dados publicados, da mesma forma que o U.V., I.V. e E.M.. Além disso, a análise do espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Capítulo II) confirmou o esqueleto carbônico, a junção C/D cis e os hidrogênios do C<sub>3</sub> e C<sub>15</sub> como α, levando-nos a concluir pela estrutura do 10-metoxi-geissoschizol 13 para este alcaloide.



#### - Pruinosina 19

O quarto alcaloide isolado do extrato IC era um composto muito polar, em comparação com os demais isolados, apresentando um Rf de 0,3 em CHCl<sub>3</sub>/MeOH (20%) (placa de sílica HF) sob atmosfera de NH<sub>3</sub> e Rf 0,47 em CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O 52:25:3 (placa de sílica GF). Todas as tentativas de cristalização foram infrutíferas.

O espectro de absorção na região do ultravioleta (Fig. 1) mostrou bandas muito complexas com modificações em meio ácido e básico:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} \quad 253 \text{ nm (log } \epsilon \text{ 4,29), } 260 \text{ nm (log } \epsilon \text{ 4,28), } 283 \text{ nm (log } \epsilon \text{ 4,00),}$$

307 nm (log  $\epsilon$  4,10), 329 nm (log  $\epsilon$  3,55).

$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}^{\text{EtOH} + \text{HCl}}$  216 nm (log  $\epsilon$  4,17), 252 nm (log  $\epsilon$  4,31), 307 nm  
(log  $\epsilon$  4,18).

$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$  250 nm (log  $\epsilon$  4,05), 283 nm (log  $\epsilon$  4,48), 330 nm  
(log  $\epsilon$  3,93).

No infravermelho (Fig. 3), a banda a  $1720 \text{ cm}^{-1}$  indicou a presença de uma carbonila; a  $1630 \text{ cm}^{-1}$  apareceu a absorção típica de duplas ligações.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 2), significativamente, não apresentou o sinal característico do  $>\text{NH}$  indólico; por outro lado, observou-se o sinal de 6H aromáticos entre 8,2-7,0 ppm como multiplete, 3H olefínicos do tipo  $\text{CH}_2=\text{CH}-$  terminal entre 6,1-5,1 ppm como multiplete, e 3H de um grupo  $\text{CH}_3\text{O}-$  a 3,62 ppm (pico intenso).

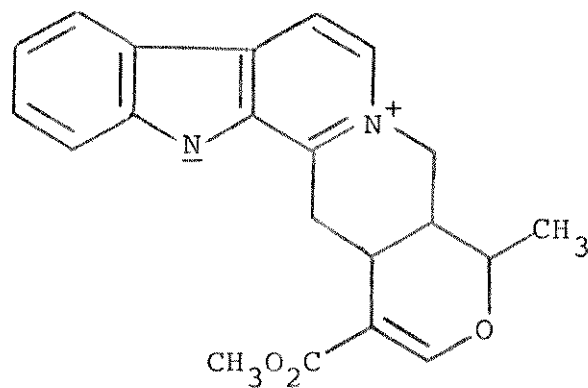
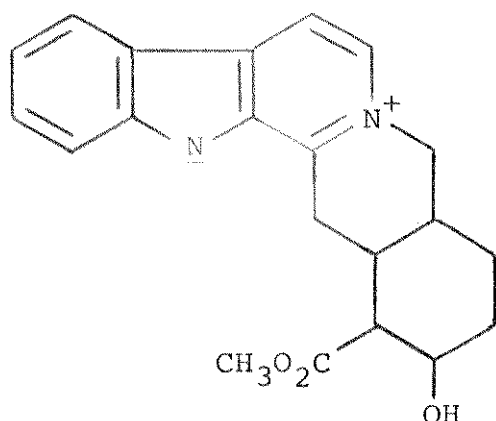
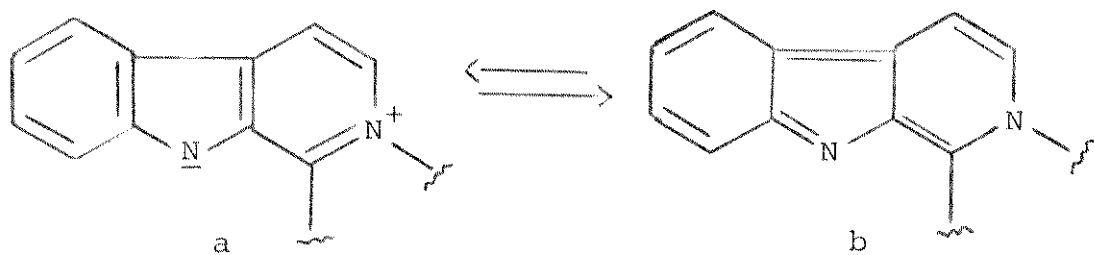
No E.M. de 19 (Fig. 4) observamos: o pico molecular a m/e 350 (8%); a perda de uma molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  a m/e 332 (8%); o pico a m/e 291 (M-59, 4%) correspondendo à perda de  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}-$  e o fragmento a m/e 247 (M-103, 100%). Estes eram os dados mais importantes do E.M. e serão discutidos mais adiante.

Os dados de U.V., I.V. e RMN de  $^1\text{H}$  eram coerentes com a estrutura parcial 14.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 5) indicou a presença de 13 carbonos do tipo  $\text{sp}^2$ . A observação do espectro totalmente acoplado evidenciou, entre estes, 5  $\text{sp}^2$  quaternários, 7  $\text{sp}^2$  ligados a 1H e 1  $\text{sp}^2$  ligado a 2H. Estas informações corroboram a estrutura parcial 14 que foi também apoiada pela comparação dos espectros de U.V. da pruinósina 19 com os dados da literatura<sup>61,62</sup> de tetradeidroyohimbina 15 e alstonina 16.

A estrutura parcial 14 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2$ ) estava desta forma bem estabelecida, faltando determinar o restante da molécula, ou seja, a estrutura para  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_3$ .

Os dois carbonos  $\text{sp}^2$  restantes (um  $=\text{CH}-$  e um  $=\text{CH}_2$ ) podiam corresponder a  $\text{C}_{18}$  e  $\text{C}_{19}$  na forma de uma ligação dupla mono-substituída:  $\text{R}-\text{CH}=\text{CH}_2$ .



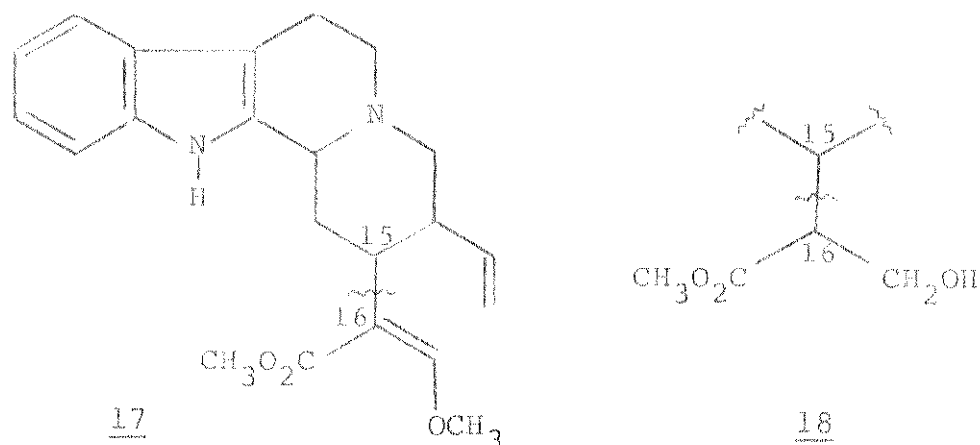
Ainda no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  destacou-se a ausência de qualquer grupo  $\text{CH}_3$  além daquele que constituía a função ester metílico  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$ -, confirmado pela presença da carbonila, e finalmente a presença de um  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

O fragmento a m/e 247 (M-103) foi o pico base do E.M., correspondendo à perda de  $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_3$  para o que propomos a estrutura 18.

É bem conhecido<sup>53</sup> que compostos do tipo corinanteína 17 sofrem quebra entre as ligações  $\text{C}_{15}-\text{C}_{16}$  originando fragmentação semelhante.

A perda de 103 unidades de massa ocorreu também na sitsirikina 24 e

isto foi explicado<sup>63</sup> pela perda da estrutura 18.



Associando os dados de E.M. e RMN de <sup>13</sup>C, obtivemos a confirmação da estrutura parcial 18 como pertencente à molécula, restando somente atribuir C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>.

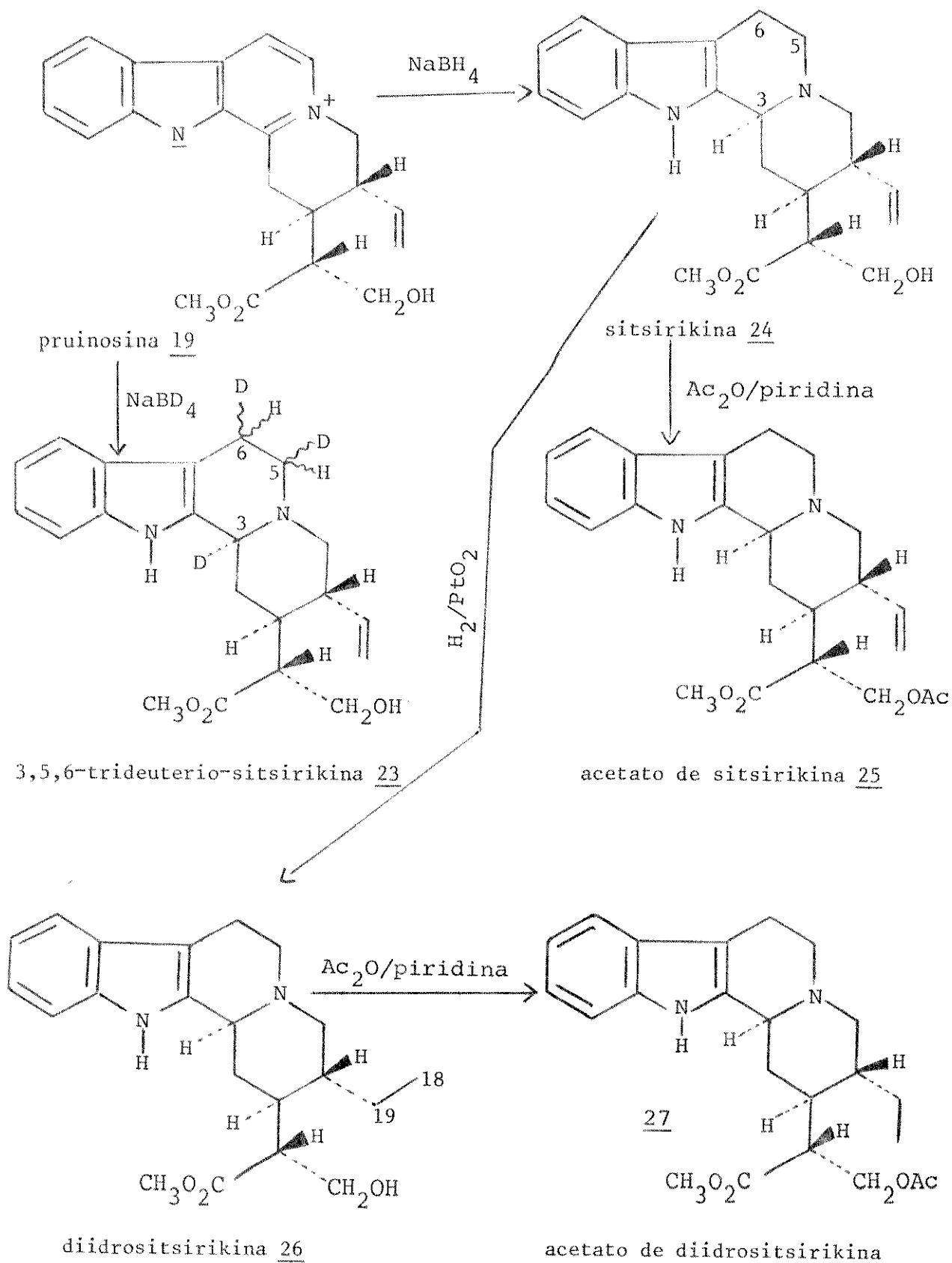
O multiplete a 6,1-5,1 ppm, 3H, na RMN de <sup>1</sup>H foi atribuído a uma ligação dupla mono-substituída R-CH=CH<sub>2</sub> correspondendo aos C<sub>18</sub> e C<sub>19</sub>, concordando com os dados de RMN de <sup>13</sup>C.

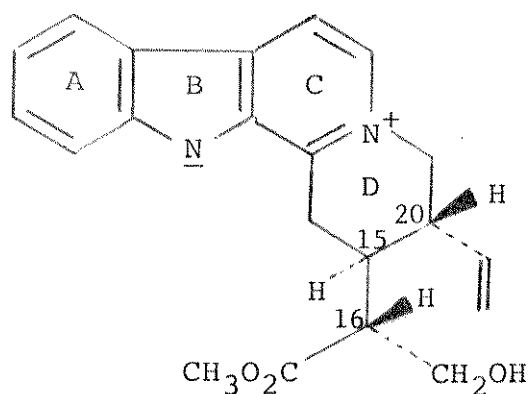
Baseados nos dados acima discutidos, propusemos a estrutura 19 para este alcaloide indólico novo.

A confirmação da estrutura 19 bem como a determinação da estereoquímica dos três centros quirais foi feita através de reações químicas (Quadro 2) e comparação dos derivados com dados da literatura<sup>63</sup>.

## QUADRO 2

## Derivados da pruinósina 19





19

Redução de prunosina 19 com  $\text{NaBH}_4$  e  $\text{NaBD}_4$

A ação do  $\text{NaBH}_4$  sobre sais de piridinium leva a diidropiridinas. A redução de alstonina<sup>62</sup> 16 e de tetradeidroiohimbina<sup>61</sup> 15 são exemplos deste tipo de reação em alcaloides indólicos possuindo o cromóforo 14.

Esta reação com a prunosina 19 forneceu um só produto 20 com bom rendimento.

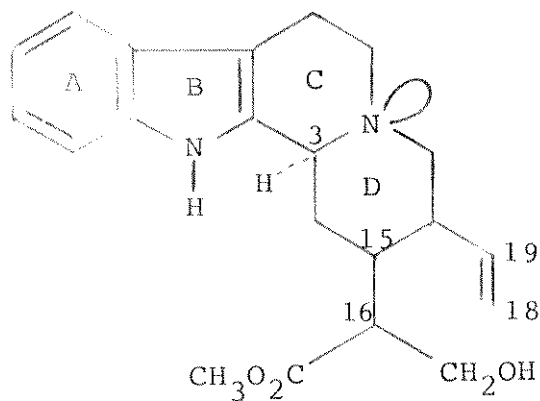
A observação do espectro de U.V. do produto reduzido 20 evidenciou o cromóforo do tipo indol clássico, que não se alterou com variação de pH (Fig.

7):

$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}^{\text{EtOH}}$  224 nm (log  $\epsilon$  4,56), 282 nm (log  $\epsilon$  3,87), 289 nm (log  $\epsilon$  3,80).

O espectro de I.V. de 20 (Fig. 9) indicou a presença de  $\text{>NH}$  a  $3360 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{-OH}$  a  $3460 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{>C=O}$  a  $1710 \text{ cm}^{-1}$  e principalmente a presença de bandas de Bohlmann<sup>50</sup> a 2840, 2800 e  $2750 \text{ cm}^{-1}$  indicando que o H do  $\text{C}_3$  era trans em relação à nuvem eletrônica do  $\text{N}_b$  e portanto que a junção C/D era do tipo trans-quinolizidina<sup>51</sup>.





20

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 8) foi confirmada a presença de  $\text{NH}$  indólico por um pico largo a 8,20 ppm e o número de prótons aromáticos foi reduzido para apenas 4 (m, 4H, 7,65-7,00 ppm). Ainda permaneceram, na molécula reduzida 20, os 3H do grupo  $\text{CH}_2=\text{CH}-$  (m, 3H, 5,6-5,2 ppm). Entre 4,08-3,70 ppm apareceu o sinal do  $-\text{CH}_2\text{OH}$  (m, 2H) e a 3,68 ppm (s, 3H) o grupo  $\text{CH}_3\text{O}-$ .

No espectro de massa do produto 20 (Fig. 10) o pico molecular a  $m/e$  354 (100%) indicou 4 unidades de massa a mais do que na pruinósina 19. Os picos  $m/e$  353 (M-1, 63%), 184 (44%), 170 (75%), 169 (35%) e 156 (56%), foram indicações seguras de uma estrutura tetraidro- $\beta$ -carbolina<sup>52,53</sup>.

Novamente encontramos o pico M-59 a  $m/e$  295 (perda de  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}-$ ) e M-103 a  $m/e$  251 (60%) que corresponderam à quebra da ligação  $\text{C}_{15}-\text{C}_{16}$  com a perda da estrutura parcial 18, da mesma forma que na pruinósina 19.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 20 (Fig. 11) indicou a redução do número de carbonos  $\text{sp}^2$  de 13 na pruinósina 19 para 10 no derivado tetraidro 20.

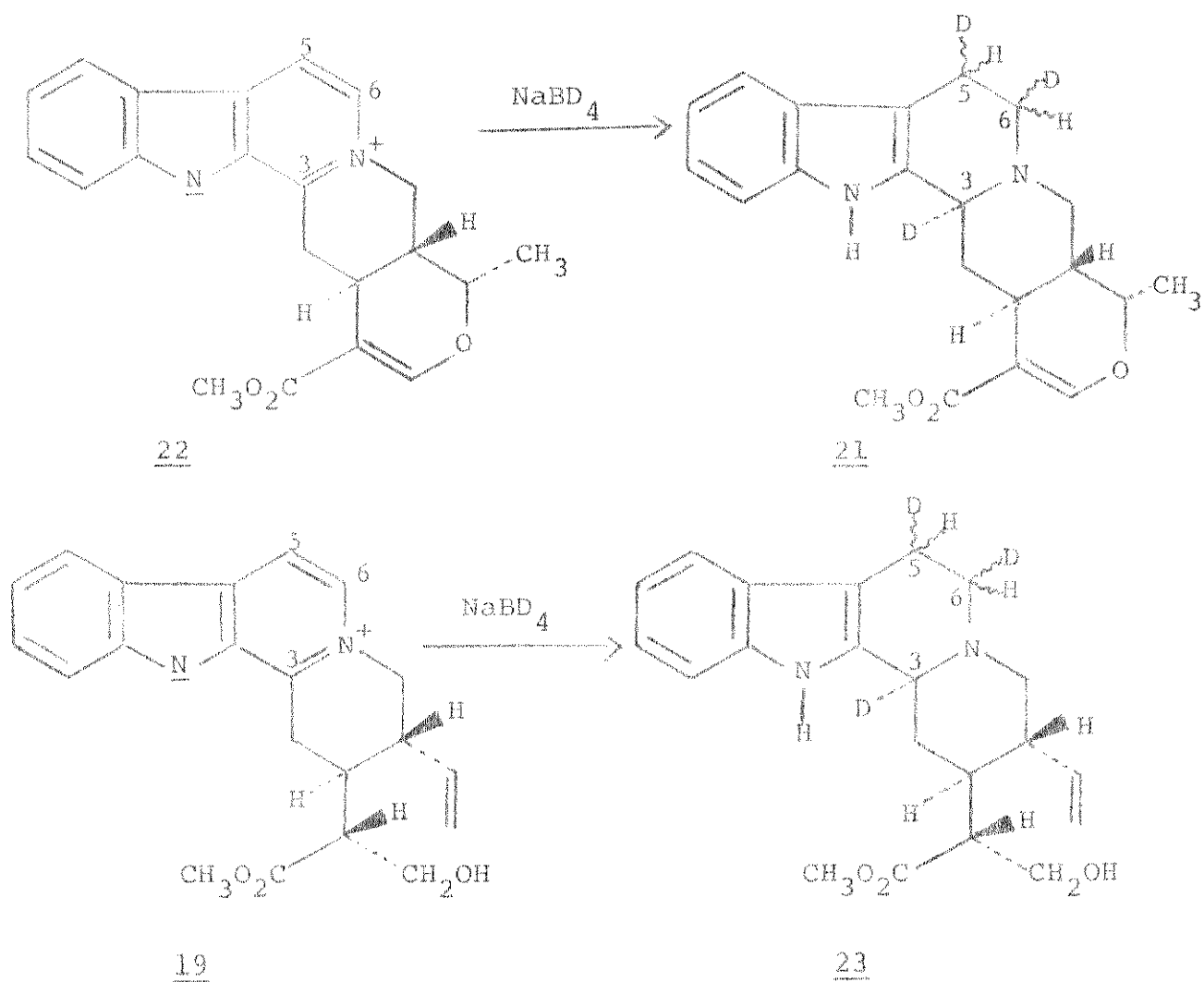
A fim de comprovar a localização das duplas ligações no anel "C" da pruinósina 19, foi efetuada a redução com  $\text{NaBD}_4$ .

Foram isolados dois compostos deuterados por placas preparativas, a-

presentando idêntico espectro de massa:  $m/e$  357 ( $M^+$ ), 356 ( $M-1$ ), 355 ( $M-2$ ), 326 ( $M-CH_2OH$ ), 254 ( $M - CH_3O_2C-CH-CH_2OH$ ), 226, 187, 173, 172, 171, 158 (Fig. 6).

Como se pode observar, a fragmentação do espectro de massa do produto deuterado apresentou ion molecular a  $m/e$  357, com 3 unidades de massa a mais do que a tetraidro-pruinosina 20.

O espectro de massa de 3,5,6-trideuterio-ajmalicina 21, obtida por redução<sup>52</sup> com  $NaBD_4$  da serpentina 22, foi comparado com o espectro de massa de 3,5,6-trideuterio-tetraidro-pruinosina 23, obtido por redução com  $NaBD_4$  da pruinosa 19.

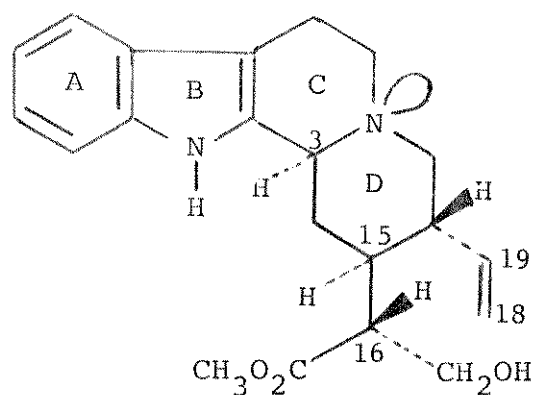


Os fragmentos m/e 326, 254 e 226 de 23 correspondem aos m/e 323, 251 e 223 de 20 respectivamente.

Tanto na 3,5,6-trideuterio-tetraidro-pruinosina 23 como na 3,5,6-trideuterio-ajmalicina 21 ocorriam os fragmentos m/e 187, 173, 172, 171 e 158.

No Quadro 3 a seguir, é mostrada a origem destes últimos cinco fragmentos na 3,5,6-trideuterio-tetraidro-pruinosina 23, comprovando-se a redução do anel "C" de 19.

Baseados nas evidências fornecidas pelos espectros de U.V., I.V., RMN de  $^1\text{H}$  e E.M., além das constantes físicas P.F.  $206,3^{\circ}$ - $207,0^{\circ}\text{C}$  (MeOH/H<sub>2</sub>O) e  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -58,7^{\circ}$  (MeOH), concluímos que o produto da redução da pruinosa 19 com  $\text{NaBH}_4$  era o alcaloide sitsirikina 24, todos os dados concordando com os da literatura<sup>63</sup>.



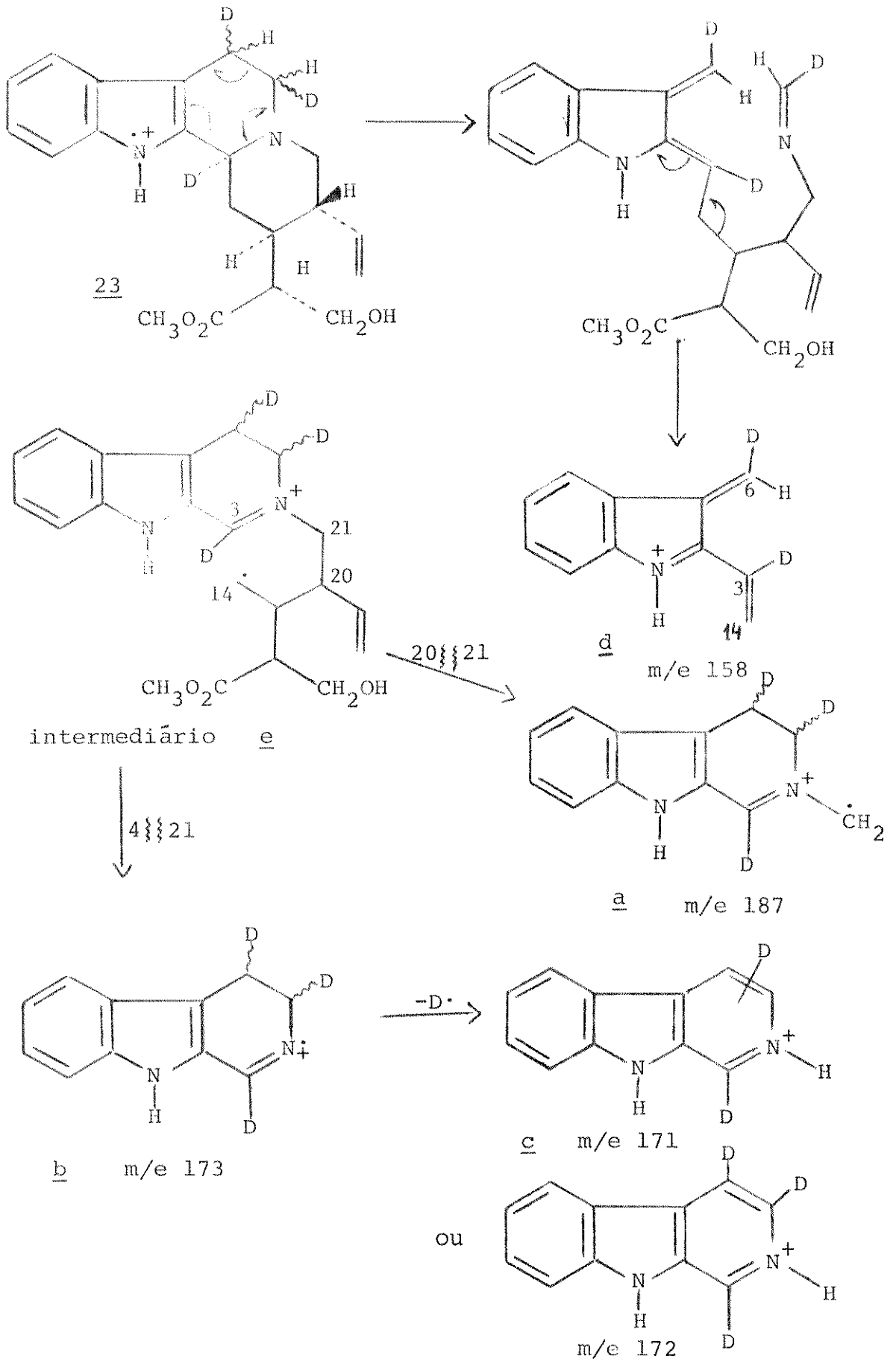
24

Sitsirikina 24 foi acetilada comprovando quimicamente a existência do álcool primário  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

O acetato 25 obtido foi cristalizado em MeOH/H<sub>2</sub>O com P.F.  $197,7^{\circ}$ - $198,5^{\circ}\text{C}$  e rotação óptica específica  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -25,9^{\circ}$  (MeOH).

No espectro de infravermelho (Fig. 15) foram observadas duas absor-

## QUADRO 3

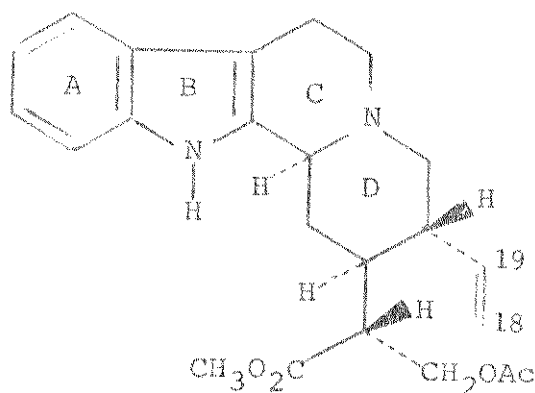


ções de carbonilas a  $1730\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3\text{COO}-$ ) e  $1700\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3\text{OCO}-$ ), bem como a banda a  $1260\text{ cm}^{-1}$  (C-OAc).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 17) observou-se os sinais de  $\text{CH}_3\text{COO}$  a 2,10 ppm (s, 3H), e de  $-\text{CH}_2-\text{OAc}$  a 4,4 ppm (m, 2H) que no produto 24 aparecia a 3,9 ppm (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ).

O E.M. (Fig. 16) mostrou o pico do ion molecular a m/e 396 (100%) confirmando a acetilação, bem como os demais fragmentos relacionados aos do composto 24.

Com base nas constantes físicas e nos espectros de U.V., I.V., RMN de  $^1\text{H}$  e E.M. concluímos que o produto da acetilação do composto 24 é o acetato de sitsirikina 25, estando todos os dados de acordo com a literatura<sup>23</sup>. Com o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 18) obteve-se nova confirmação da estrutura 25 (Capítulo II).



25

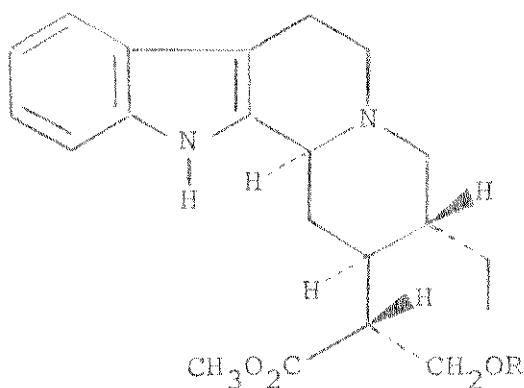
A sitsirikina 24 foi ainda reduzida com  $\text{H}_2/\text{PtO}_2$  comprovando-se quimicamente a existência da ligação dupla  $\text{C}_{18}=\text{C}_{19}$ . O produto desta redução foi a diidrositsirikina 26, cristalizada em acetona: P.F.  $178,9^{\circ}-180,3^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{20} = -34^{\circ}$  (MeOH).

O E.M. de 26 (Fig. 13) mostrou o ion molecular a m/e 356 (100%), duas

unidades de massa a mais que a sitsirikina 24. Os demais picos estavam em ple no acordo com o esperado e com os dados da literatura<sup>63</sup>.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 12), em comparação com o de 24, mostrou o desaparecimento do sinal a 5,6-5,2 ppm devido ao grupo  $\text{CH}_2=\text{CH}-$ , e observou-se o aparecimento do pico largo mal resolvido a 0,92 ppm, 3H de um grupo  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-$ .

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 14) confirmou a redução nas posições 18 e 19 mostrando a existência de um grupo  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-$  na diidrositsirikina 26 não observado em 24.



26 R=H

27 R=Ac

Finalmente, a diidrositsirikina 26, obtida a partir de 24, foi acetilada produzindo-se acetato de diidrositsirikina 27.

O acetato 27 foi cristalizado em MeOH, apresentando P.F. 186,1<sup>o</sup>-186,8<sup>o</sup>C e  $[\alpha]_D^{20} = -30,6^{\circ}$  (MeOH), concordando com os dados da literatura<sup>63</sup>.

Os espectros de I.V., RMN de  $^1\text{H}$  e E.M. também estavam de acordo com a formação do monoacetato. No infravermelho (Fig. 21) observou-se apenas uma banda de absorção de carbonila a 1720  $\text{cm}^{-1}$ , mas a banda a 1260  $\text{cm}^{-1}$  confirmou a acetilação.

Além disso no RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 20) observou-se o sinal a 4,65-4,10 ppm,

m, 2H, do grupo  $-\text{CH}_2-\text{OAc}$ . Confirmou-se também a acetilação a 2,10 ppm (s, 3H) corresponde ao grupo  $\text{CH}_3\text{COO}$ .

No E.M. (Fig. 19) o ion molecular foi observado a m/e 398 (100%), 42 unidades de massa a mais que na diidrositsirikina 26, além dos demais fragmentos relacionados.

### 1.1.3. Extrato 1d

Do extrato 1d, obtido pelo processo "A" e fracionado segundo o Esquema Geral II (pág. 25), foram isolados os alcaloides  $\beta$ -yohimbina 6, 10-metoxidiidrocorinanteol 9, 10-metoxi-geissoschizol 13 e pruinósina 19. Foi também observada a presença de yohimbina 5 por cromatografia de camada delgada (Parte Experimental, pág. 106).

Estes compostos já haviam sido isolados dos dois extratos anteriores e sua descrição já foi apresentada.

O alcaloide que recebeu o código DN-27, também isolado do extrato 1d, era muito instável e polar não sendo possível obtê-lo em estado puro apesar das inúmeras tentativas.

## 1.2. Fracionamento dos Extratos Brutos obtidos pelo Processo B

As cascas moídas e secas de Aspidosperma pruinsum, basificadas com  $\text{NH}_4\text{OH}$  (Parte Experimental, pág. 107), serviram para a obtenção de três extratos brutos:

- extrato bruto 2 (éter etílico a frio)
- extrato bruto 3 (álcool etílico a frio)
- extrato bruto 4 (álcool etílico a quente).

O extrato bruto 2, feito em éter etílico, foi fracionado conforme o Esquema Geral II (pág. 25), produzindo os extratos 2a, 2b, 2c e 2d. Destes, apenas o extrato 2b teve fracionamento em coluna, o que permitiu isolar todos os alcaloides encontrados anteriormente, com exceção de pruinósina 19, além

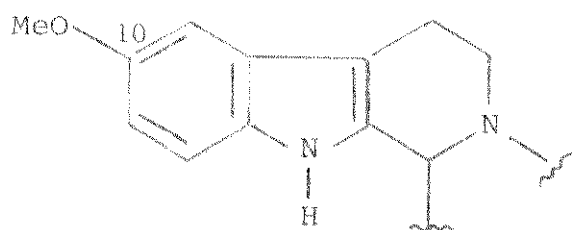
de três diferentes: 10-metoxi-yohimbina 28, compactinervina 32 e normacusi-  
na-B 30.

### I.2.1. Extrato 2b

#### - 10-Metoxi-yohimbina 28

O espectro de U.V. de 28 (Fig. 27) permitiu atribuir a este composto o cromóforo 10-metoxi-indol 7:

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$  225 nm (log  $\epsilon$  4,46), 279 nm (log  $\epsilon$  3,92), -294 nm (log  $\epsilon$  3,87).



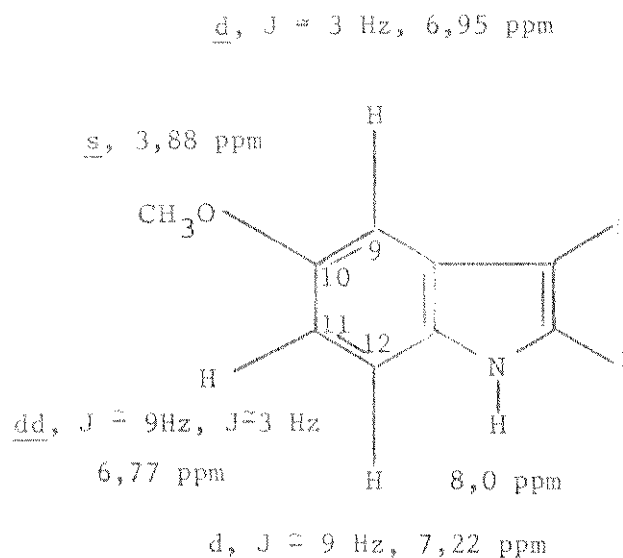
7

O I.V. (Fig. 29) mostrou: -OH ( $3500 \text{ cm}^{-1}$ ), =NH ( $3400 \text{ cm}^{-1}$ ), bandas de Bohlmann<sup>50</sup> ( $2880$ ,  $2830$  e  $2780 \text{ cm}^{-1}$ ), e C=O ( $1710 \text{ cm}^{-1}$ ).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 28) foram observados os sinais dos grupos: NH indólico (s1, 1H, 8,0 ppm),  $\text{CH}_3\text{O}$ - ligado ao anel indólico (s, 3H, 3,88 ppm) e 3H aromáticos com acoplamentos e deslocamentos químicos compatíveis com a estrutura parcial 7.

Os protons da região indólica foram atribuídos como mostrado a seguir:





O E.M. (Fig. 30) apresentou todos os picos característicos dos alcaloides do tipo yohimbina<sup>52,53</sup> acrescidos das 30 unidades de massa correspondentes do grupo MeO-: m/e 384 (M<sup>+</sup>, 100%), 383 (M-1, 93%), 354 (28%), 353 (M-31, 33%), 325 (M-59, 8%), 214 (33%), 200 (40%), 199 (50%), 192 (20%), 186 (32%), 174 (26%), 173 (21%).

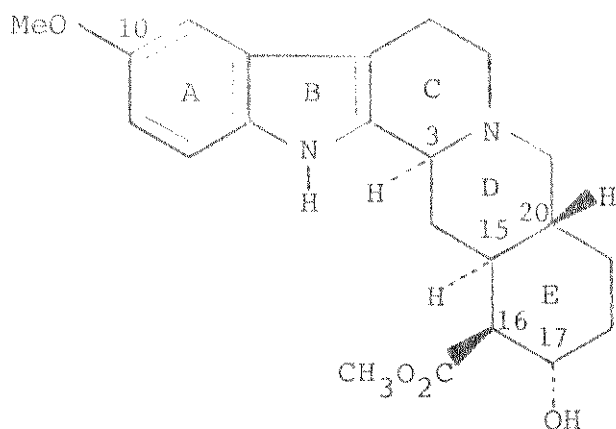
Observou-se que os fragmentos m/e 214, 200, 199 e 186 eram equivalentes a a, b, c e d mostrados no Quadro I (pag. 31), e a grande intensidade do m/e 383 (M-1, 93%) que é uma característica destes alcaloides.

A ausência no E.M. de fragmento devido à quebra da ligação C<sub>15</sub>-C<sub>16</sub> levou a supor que 28 tinha o anel "E" fechado.

A comparação do E.M. de 28 com o de excelsinina<sup>65</sup> 29 sugeriu fortemente que o nosso alcaloide poderia ser um isômero de 10-metoxi-yohimbina.

A excelsinina 29 foi citada<sup>65</sup> como muito pouco solúvel em CHCl<sub>3</sub> e seu espectro de RMN de <sup>1</sup>H foi feito em CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub>, solvente em que também apresenta baixa solubilidade. O composto 28 é muito solúvel em CHCl<sub>3</sub> e seu espectro de RMN de <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub> mostrou um multiplete a 4,15 ppm, 1H, atribuível ao hidrogênio ligado ao C<sub>17</sub> em posição equatorial. Este sinal, na excelsinina 29, a-

pareceu<sup>65</sup> a 4,02 ppm.



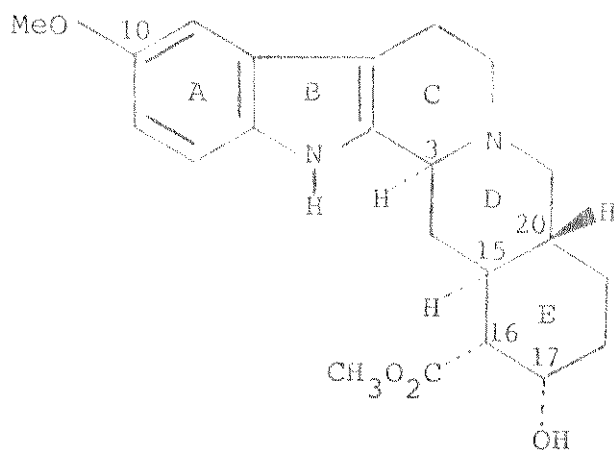
29

O alcaloide 28, amorfo, apresentou  $[\alpha]_D^{20} = +56,6^{\circ}$  (etanol). A excelsinina 29 foi cristalizada em MeOH: P.F.  $199^{\circ}$ - $201^{\circ}$ C (decomposição) e  $[\alpha]_D^{20} = -63,4^{\circ}$  (piridina)<sup>65</sup>.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 28 observou-se também o sinal do grupo  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$ - (s, 3H, 3,80 ppm), confirmado no E.M. pelo fragmento m/e 325 (M-59).

Com o estudo de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 34) de 28 (Capítulo II) não restou dúvida sobre a estrutura do composto. Foi esclarecida a estereoquímica dos centros quirais em  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_{15}$ ,  $\text{C}_{16}$  e  $\text{C}_{20}$ , e foi confirmado o hidrogênio do  $\text{C}_{17}$  como  $\beta$ .

Assim, ficou estabelecida a estrutura deste alcaloide novo como 10-me toxi-yohimbina 28 que possui a mesma estereoquímica da yohimbina 5.



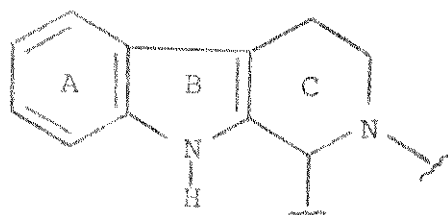
28

- Normacusina-B 30

Este alcaloide foi cristalizado em  $\text{CHCl}_3$  apresentando P.F.  $239,6^\circ - 240,3^\circ\text{C}$  e  $[\alpha]_D^{20} = -38^\circ$  (MeOH).

Seu espectro de U.V. mostrou bandas características dos alcaloides indólicos sem substituição no anel aromático, possuindo o cromóforo 1.

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  225 nm (log  $\epsilon$  4,50), 278 nm (log  $\epsilon$  3,82), 289 nm (log  $\epsilon$  3,73).



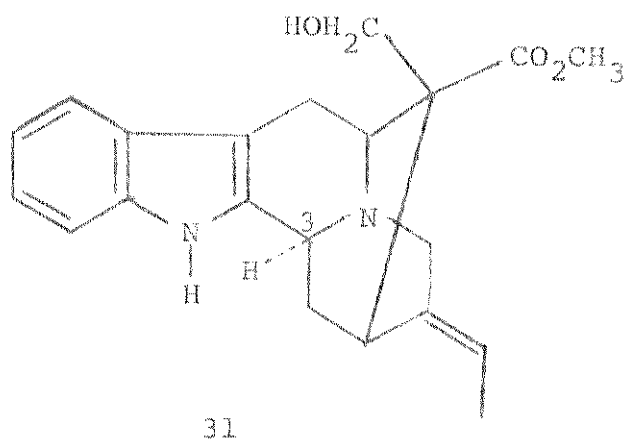
1

No I.V. (KBr) observou-se a presença de -OH ( $3370\text{ cm}^{-1}$ ) e NH ( $3220\text{ cm}^{-1}$ ) e a ausência das bandas de Bohlmann<sup>50</sup>, indicando uma junção C/D cis.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , feito a 100 MHz em  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , indicou a presença de 4H aromáticos como multiplete entre 7,55-7,05 ppm e um grupo  $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$  a 5,46 ppm (q, 1H,  $J = 6,5\text{ Hz}$ ,  $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$ ) e a 1,65 ppm (d, 3H,  $J = 6,5\text{ Hz}$ ,  $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$ ).

No espectro de massa observou-se o ion molecular m/e 294 (100%), além dos fragmentos: m/e 293 (M-1), 279 (M- $\text{CH}_3$ , 13%), 277 (M-HO-, 12%), 263 (M- $\text{CH}_3\text{O}$ -, 46%), 249 (10%), 182 (16%), 169 (84%), 168 (69%).

Esta fragmentação do E.M. sugeriu uma estrutura do tipo tetraidro- $\beta$ -carbolina<sup>52,53</sup>, e a presença dos picos intensos a m/e 169 e m/e 168 deu indicação de um composto do tipo polineuridina 31.



A estrutura deste tipo de alcaloide é rígida, obrigando à junção dos anéis C/D cis, confirmada pela presença dos fragmentos m/e 169 e m/e 168 no E.M. e pela ausência das bandas de Bohlmann<sup>50</sup> no I.V..

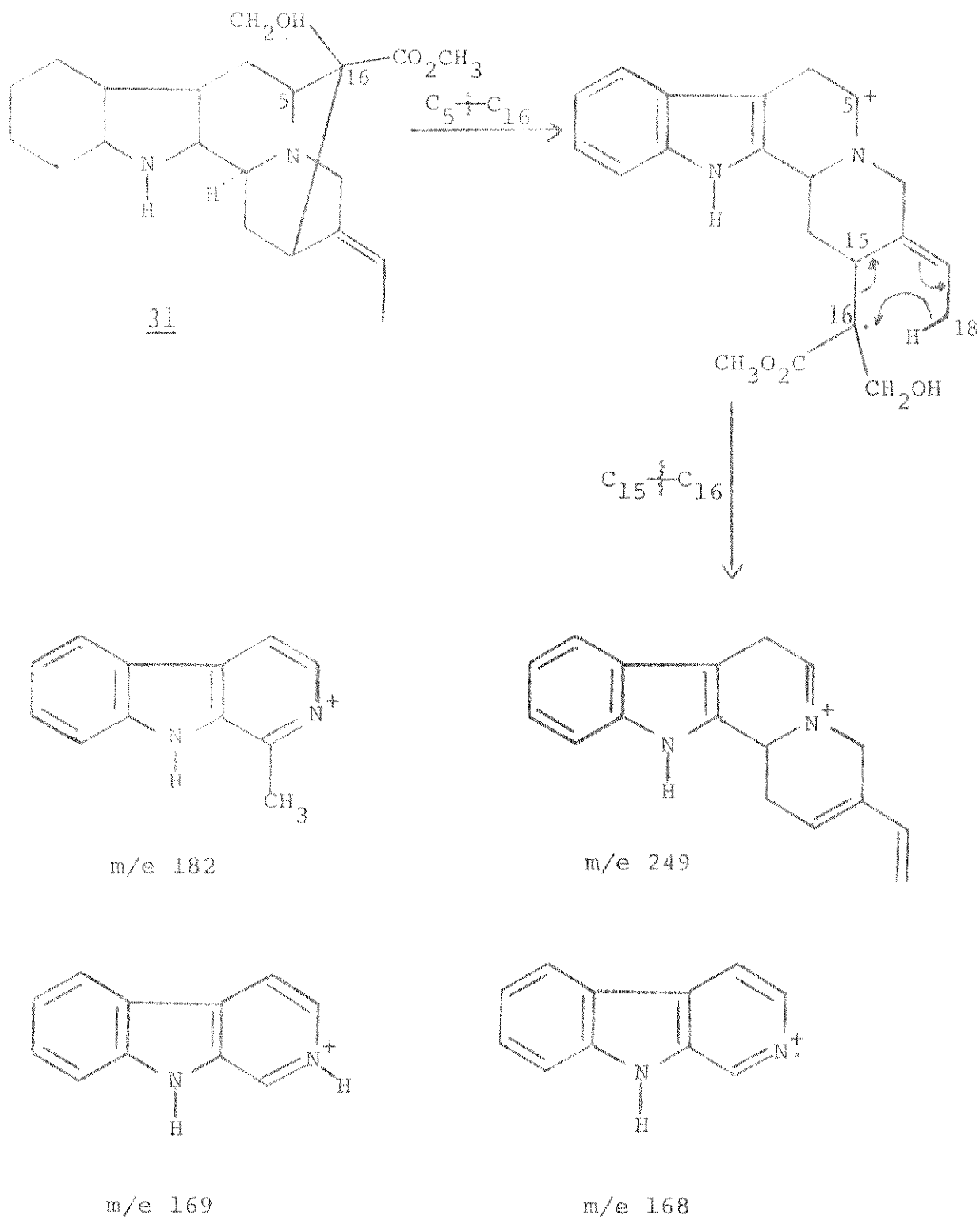
Um único grupo  $\text{CH}_3$ - foi observado em 30 por seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e depois confirmado no RMN de  $^{13}\text{C}$ , sugerindo que o fragmento m/e 263 (M-31) se devia à perda de um  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

Antonaccio e colaboradores<sup>52</sup> fizeram um estudo da fragmentação do E.M. de compostos do tipo 31, e o Quadro 4 a seguir mostra a possível gênese dos

principais fragmentos.

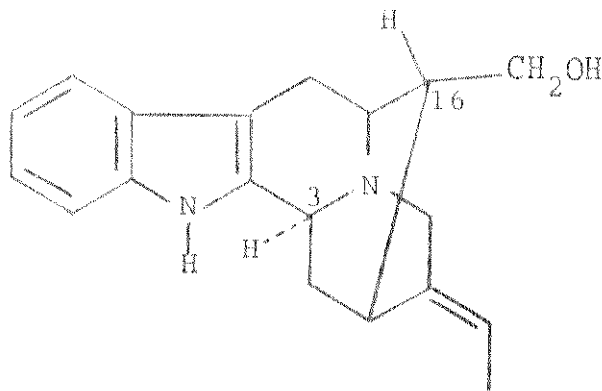
QUADRO 4

Principais fragmentos do E.M. de alcaloides do tipo polineuridina 31.



As informações fornecidas pelas constantes físicas e pelos espectros de U.V., I.V., E.M. e RMN de  $^1\text{H}$  foram correlacionadas e concluiu-se que a estrutura do alcaloide 30 era a da normacuscina-B, restando dúvida sobre a estereoquímica de  $\text{C}_{16}$ .

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 32) confirmou totalmente a estrutura da normacuscina-B 30, inclusive esclarecendo a estereoquímica do centro quiral em  $\text{C}_{16}$  que é exo (Capítulo II).



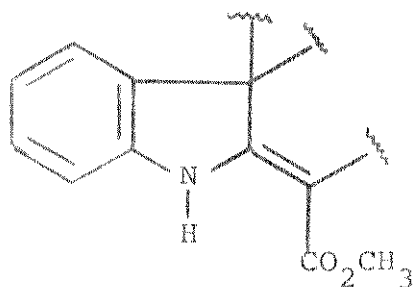
30

- Compactinervina 32

Este alcaloide, isolado em pequena quantidade de A. pruinosum, apresentou rotação óptica específica  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -508^{\circ}$  (etanol).

Em seu espectro de U.V. observou-se bandas de absorção características dos alcaloides  $\alpha$ -metilen-indolenina contendo o cromóforo 33:

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$  225 nm (log  $\epsilon$  4,06), 293 nm (log  $\epsilon$  3,82), 330 nm (log  $\epsilon$  4,00).



33

O I.V. mostrou bandas de  $-OH$  ( $3530\text{ cm}^{-1}$ ),  $\geq NH$  ( $3420\text{ cm}^{-1}$ ),  $1730\text{ cm}^{-1}$  ( $C=O$ ) e a  $1600\text{ cm}^{-1}$  uma forte absorção que poderia ser causada pelo estiramento das duplas ligações conjugadas da estrutura parcial 33.

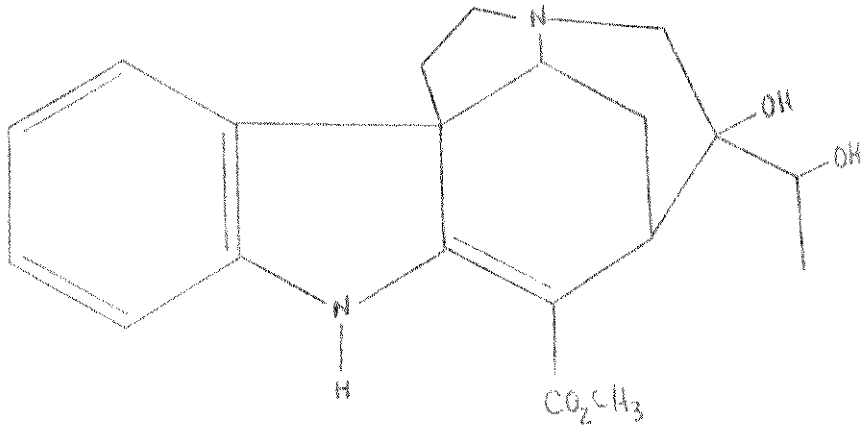
O espectro de RMN de  $^1H$  de 32 confirmou o  $NH$  indólico (s, 1H, 8,54 ppm), os 4H aromáticos (m, 4H, 7,34-6,80 ppm) e o grupo  $CH_3O_2C$  que apresentou um pico simples de base alargada integrado para 4H (3,95 ppm) levando a supor a presença de outro hidrogênio com o mesmo deslocamento.

Ainda no RMN de  $^1H$  observou-se um grupo  $-CH-$  (q, J = 6 Hz, 1H, 3,50 ppm) acoplado a um  $CH_3-$  (d, J = 6 Hz, 3H, 1,12 ppm), pertencentes a um grupo  $CH_3-CH-$ , e o sinal de  $-OH$  (m, 3,35 ppm) que desapareceu com adição de  $D_2O$  à solução.

Os dados acima indicaram a estrutura da compactinervina 32 para o nosso alcaloide, o que foi corroborado pelo E.M. que apresentou a mesma fragmentação apesar de grande diferença nas intensidades dos picos:  $m/e$  356 ( $M^+$ , 100%), 283 (69%), 268 (54%), 257 (43%), 226 (94%), 225 (87%), 209 (43%), 194 (36%), 180 (29%), 167 (40%), 154 (22%).

Uma comparação por cromatografia de camada delgada com amostra original <sup>1</sup> em vários sistemas eluentes confirmou a identidade dos compostos.

Com base nestes dados sugerimos a estrutura da compactinervina 32 para este alcaloide.



32



### I.3. Fracionamento do Extrato Bruto 5 obtido pelo Processo C

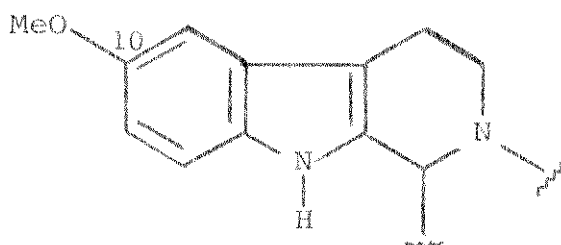
O extrato bruto 5, não sofreu tratamento ácido-base, e foi cromatografado em coluna, sendo isolados os alcaloides pruinósina 19, já descrito anteriormente, e o sal quaternário denominado pruinósidina 35.

#### - Pruinosidina 35

Este composto 35 foi isolado pela primeira vez como produto natural neste trabalho com Aspidosperma prunosum.

Seu espectro de U.V. (Fig. 22) indicou claramente que se tratava de um alcaloide indólico com um grupo MeO- como substituinte no C<sub>10</sub>, possuindo o cromóforo 7:

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ : ~220 nm (log  $\epsilon$  4,27), 271 nm (log  $\epsilon$  3,76), 295 nm (log  $\epsilon$  3,52),  
307 nm (log  $\epsilon$  3,45).

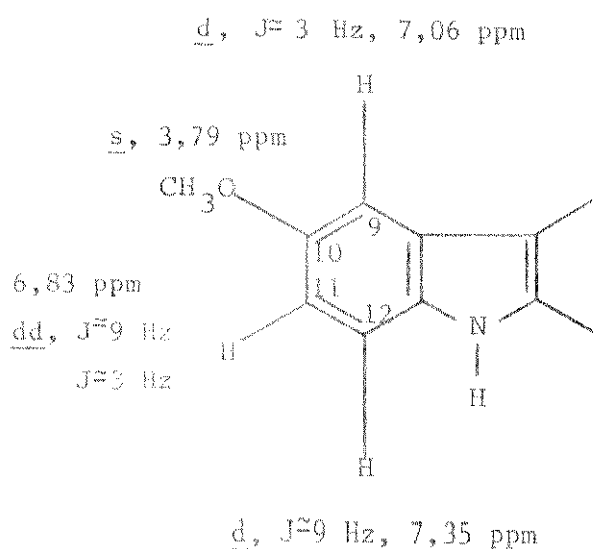


7

No espectro de I.V. (Fig. 24) feito em KBr observou-se -OH ( $3370 \text{ cm}^{-1}$ ) e >NH ( $3220 \text{ cm}^{-1}$ ).

Em virtude da grande polaridade deste composto 35 o seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 23) foi feito em  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , mostrando os hidrogênios dos carbonos C<sub>9</sub>, C<sub>11</sub> e C<sub>12</sub> como apresentados abaixo, mas não sendo possível observar o NH indólico. O grupo CH<sub>3</sub>- foi registrado a 3,79 ppm (s, 3H). Ainda foi pos

sível observar um grupo =CH- a 5,88 ppm (q, J = 7 Hz) acoplado a um CH<sub>3</sub>- a 1,74 ppm (d, J = 7 Hz) pertencentes a um CH<sub>3</sub>-CH=C .



Seu E.M. (Fig. 25) indicou o ion molecular com pouca intensidade (m/e 341, M<sup>+</sup>, 4%) e o fragmento m/e 340 (M-1, 16%). A restante fragmentação do E.M. de 35 mostrou-se extremamente semelhante à observada para o 10-metoxi-geissoschizol 13: m/e 326 (M-CH<sub>3</sub>, 100%), 325 (97%), 311 (12%), 295 (25%), 281 (46%), 267 (14%), 253 (12%), 215 (28%), 214 (9%), 200 (24%), 199 (39%) e 186 (33%).

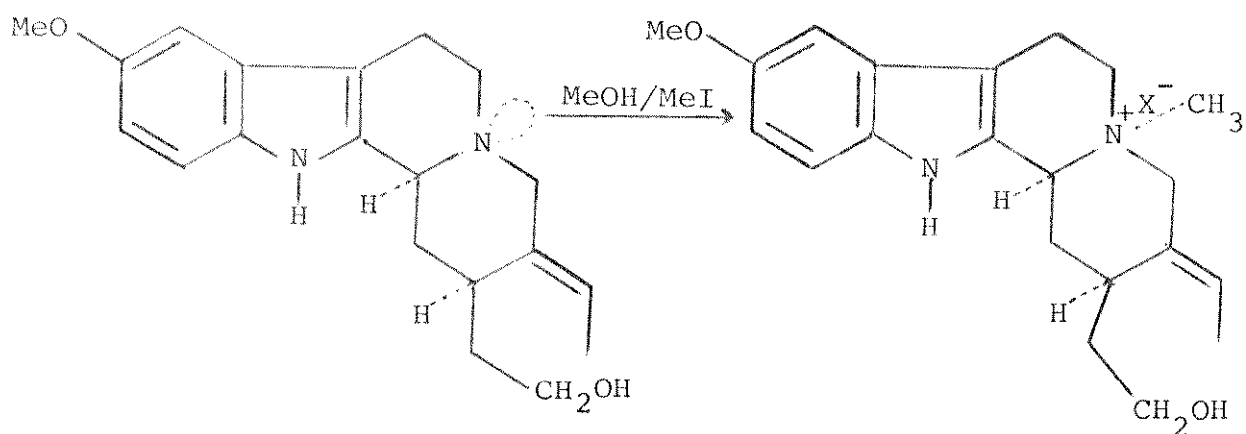
Este espectro de massa apresentando 15 unidades a mais que o de 13 no ion molecular, e a grande polaridade de 35, nos alertou para a possibilidade de se tratar de um sal quaternário metilado no N<sub>b</sub> com a estrutura de 13.

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C mostrou um grupo CH<sub>3</sub>- a -48 ppm, coerente com o deslocamento de um CH<sub>3</sub>-N<sup>+</sup>. A presença do sinal a 3,16 ppm, s, 3H no RMN de <sup>1</sup>H confirmou esta idéia.

Para comprovar a estrutura deste produto, decidimos fazer sua síntese partindo de 10-metoxi-geissoschizol 13 segundo o esquema da página seguinte.

O composto 34 foi idêntico a pruinósina 35 por I.V., RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C. Transformado em cloreto, 34 apresentou o mesmo R<sub>f</sub> que 35 em vários sistemas de solventes.

Pruinosina 35 não pode ser cristalizado, não havendo análise elementar para definir o ânion associado à molécula.

1334 X = I<sup>-</sup> ou Cl<sup>-</sup>35

Com todas as evidências fornecidas pelos espectros de U.V., I.V., RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e E.M., e auxiliados pelas comparações com os dados de 13 e 34, principalmente seus espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , conseguimos esclarecer a estrutura e a estereoquímica deste alcaloide novo N<sub>b</sub>-metil-10-metoxi-geissoschizol que passamos a chamar pruinósidina 35.

#### I.4. Conclusão

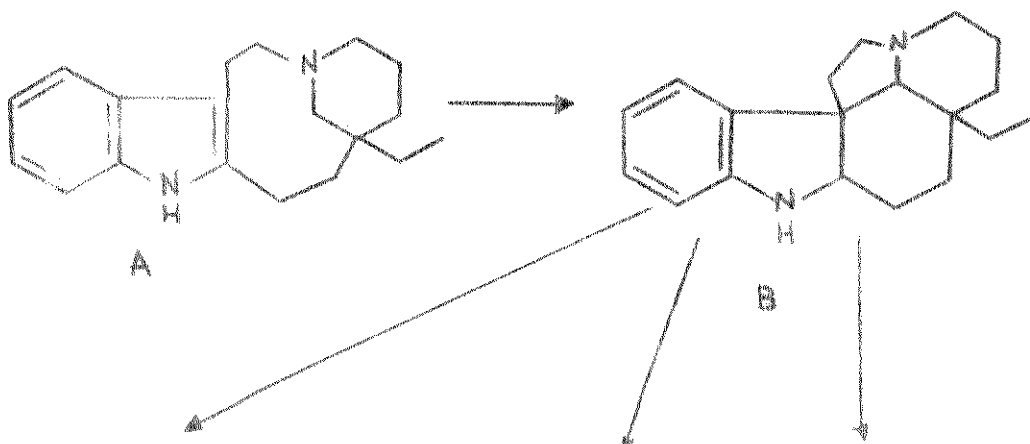
Foram isolados e identificados nove alcaloides indólicos: Yohimbina 5,  $\beta$ -yohimbina 6, 10-metoxi-yohimbina 28, 10-metoxi-geissoschizol 13, 10-metoxi-diidrocorinanteol 9, normacusina-B 30, compactinervina 32, pruinossina 19 e pruinossidina 35.

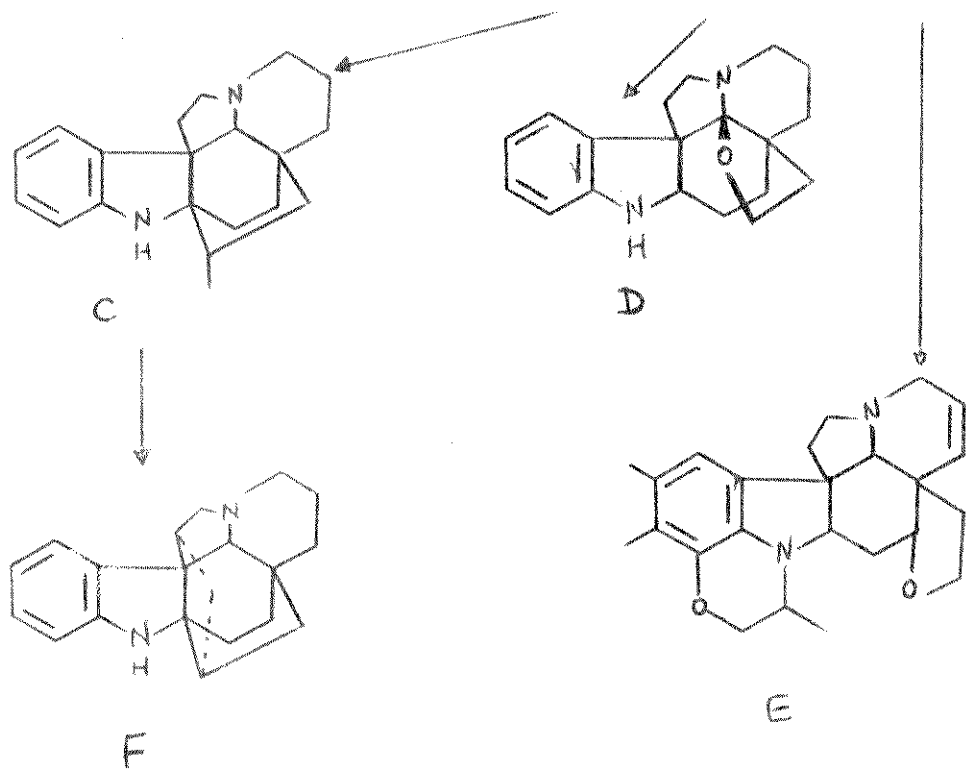
As estruturas destes alcaloides pertencem todas ao grupo II (Quadro 6) da classificação feita por Gilbert<sup>2</sup>, com exceção da compactinervina 32 que pertence ao grupo III e foi isolada em pequena quantidade.

A A. pruinossum foi classificada botanicamente como pertencente à série Nitida. Com o conhecimento de seu conteúdo alcaloidal podemos classificá-la quimicamente como Nitida pelos mesmos critérios usados anteriormente.

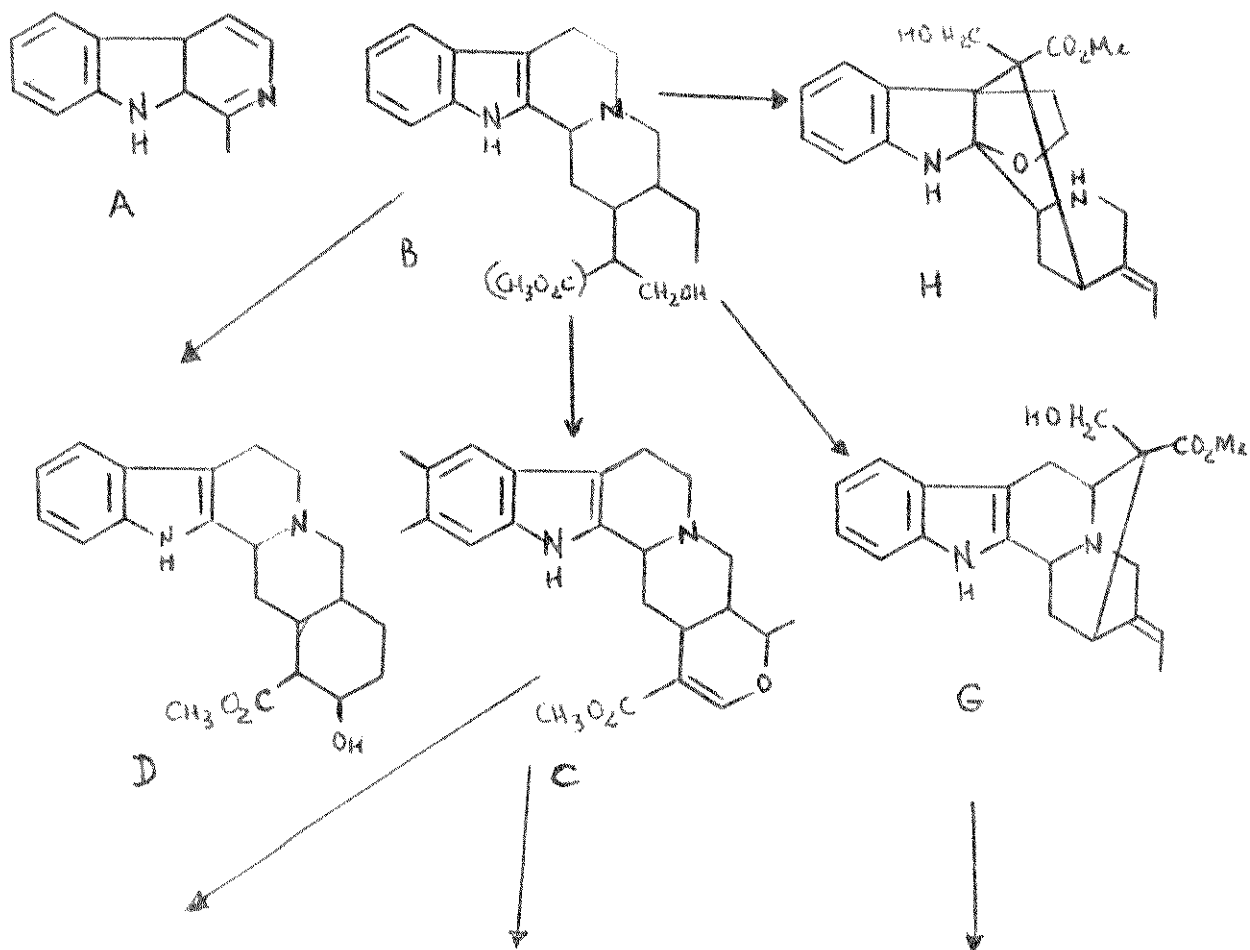
Abaixo apresentamos os grupos I, II e III dos alcaloides indólicos e a classificação química das espécies Aspidosperma, incluindo A. pruinossum.

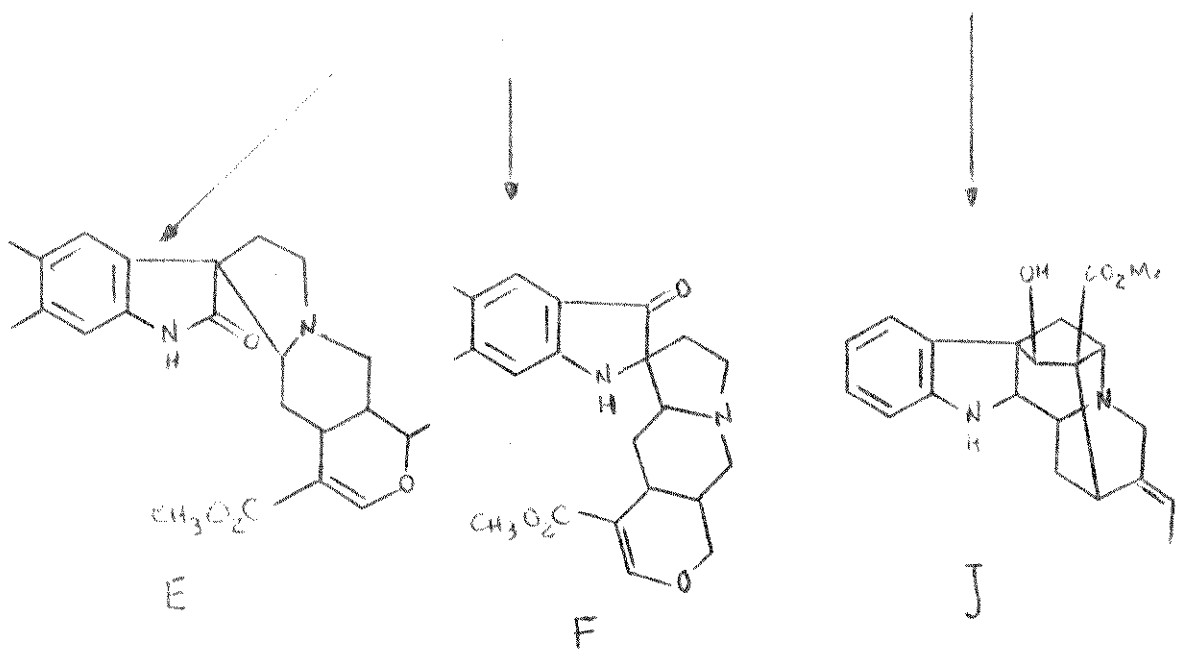
#### CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ALCALOIDES, GRUPO I<sup>2</sup>



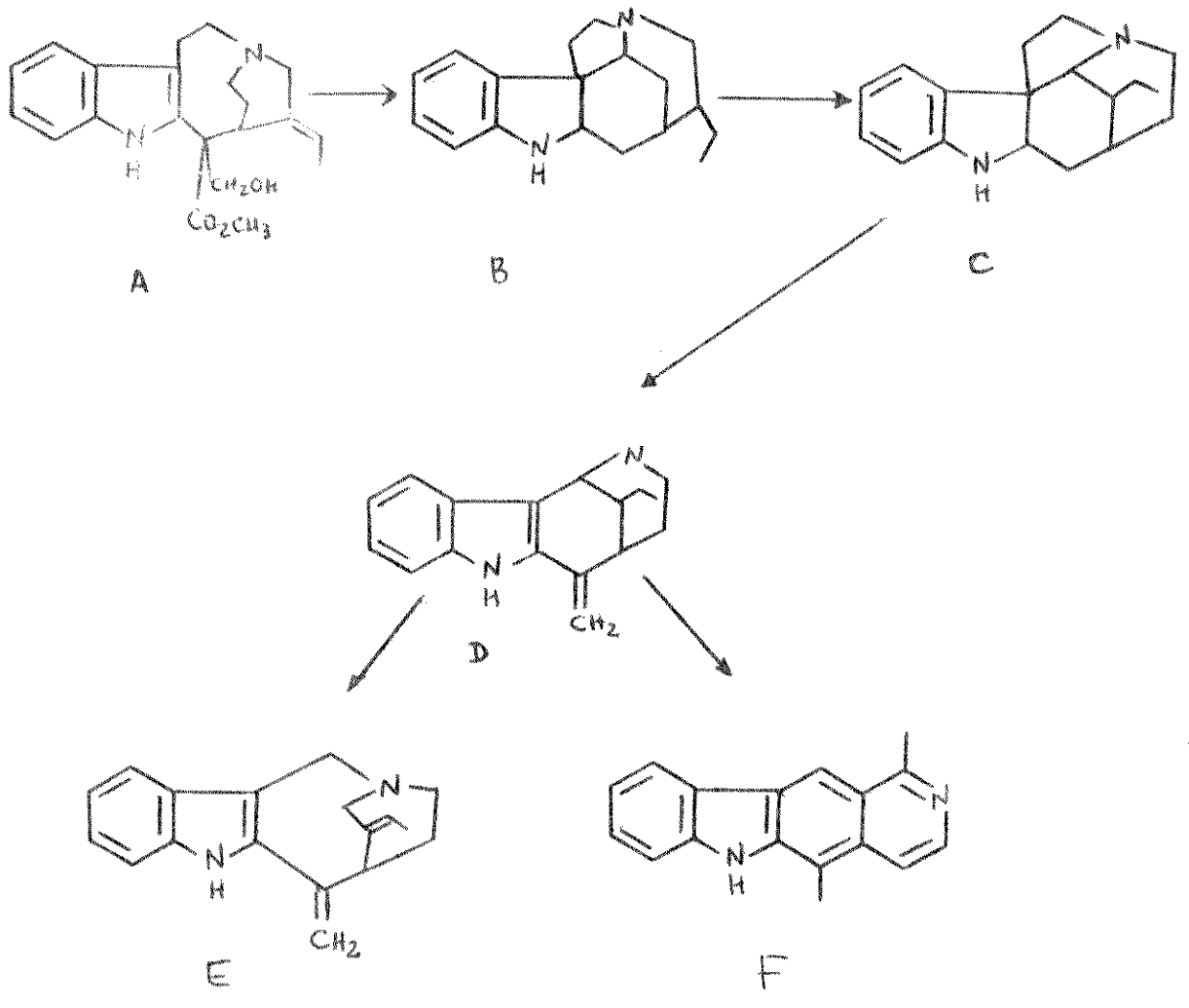


CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ALCALOIDES, GRUPO II<sup>2</sup>





CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ALCALOIDES, GRUPO III<sup>2</sup>



CLASSIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES ASPIDOSPERMA COM BASE EM SEU CONTEÚDO ALCALOÍDICO<sup>2</sup>

Séries	Espécies	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Polyneura	I quebracho-blanco polyneuron cylindrocarpon chakensis	A B G A B B A B	J A G	C
Polyneura	II eburneum olivaceum nigricans	B B		D E F D E F F
Pyricolla	ulei pyricollum gomezianum multiflorum australe parvifolium	B C	D	D F A D D E D E E F F
Tomentosa	subincanum dasycarpon tomentosum		G H	D F D E F C D
Macrocarpa	macrocarpon verbascifolium ducke	F F F		
Macroloba	pyrifolium refractum populifolium	B C C C		C
Nobiles	album spruceanum obscurinervium neblinae limae fendleri sandwithianum megalocarpon exaltum	A D D B E E B D B D A D B E D		
Nitida	marcgravianum auriculatum oblongum discolor rigidum carapanauba pruinatum		B C B C B D C F E E B D G	B
	compactinervium			B C

## CAPÍTULO II

### Estudo de RMN de $^{13}\text{C}$ dos Alcaloides Indólicos de Aspidosperma pruinsum

A importância da Ressonância Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  é inegável não somente por permitir a determinação das estruturas carbônicas básicas, mas também por se tratar de um método muito eficaz nas determinações estereoquímicas e conformacionais das moléculas orgânicas.

Este método que depois de raio-X é, sem dúvida, a arma mais eficiente que dispomos para elucidar estruturas, tem um emprego amplo na Química dos Produtos Naturais.

Vários grupos se dedicaram a analisar famílias de produtos naturais e entre estas os alcaloides indólicos, em vista do seu grande interesse biológico, foram intensamente estudados <sup>4, 59, 60</sup>.

Neste capítulo utilizamos a RMN de  $^{13}\text{C}$  para:

- Confirmar estruturas de alcaloides isolados de A. pruinsum por comparação com análises feitas na literatura.
- Analisar compostos já conhecidos na literatura mas que não tinham sido examinados por este método.
- Determinar a estrutura de compostos novos isolados desta planta.
- Estudar efeitos eletrônicos ou espaciais nas estruturas dos alcaloides indólicos não observados anteriormente, apelando em alguns casos à síntese de moléculas-modelo.

Para a atribuição dos deslocamentos químicos dos  $^{13}\text{C}$  utilizamos as seguintes técnicas na obtenção dos espectros:

- Desacoplamento em faixa larga (DFL) (do inglês, "Broad Band Decoupling").
- Frequência de desacoplamento fora de faixa (FDFF) ("Single Frequency Off-Resonance Decoupling-SFORD").



- Desacoplamento alternado (DA) ("Gated Decoupling") ou espectro totalmente acoplado.

Foi de grande utilidade para o estudo destes alcaloides o uso das correlações empíricas conhecidas como efeitos  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ .

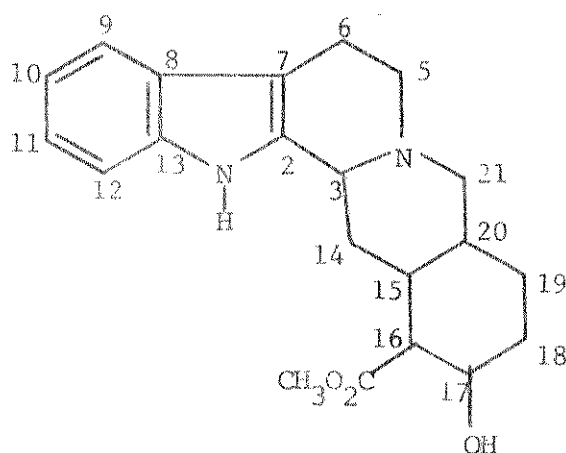
Os alcaloides de A. pruinosum, sobre os quais foi feito o estudo de RMN de  $^{13}\text{C}$ , podem ser reunidos em três grupos distintos:

II.1. Compostos do tipo yohimbina 4, grupo ao qual pertence a yohimbina 5,  $\beta$ -yohimbina 6, e 10-metoxi-yohimbina 28.

II.2. Compostos do tipo corinanteína 17, grupo formado por 10-metoxi-diidrocorinanteol 9, 10-metoxi-geissoschizol 13, pruinósídina 35, pruinósina 19 e seus derivados sítirikina 24, acetato de sítirikina 25 e diidrosítirikina 26.

II.3. Normacusina-B 30.

II.1. Análise dos Compostos do Tipo Yohimbina 4

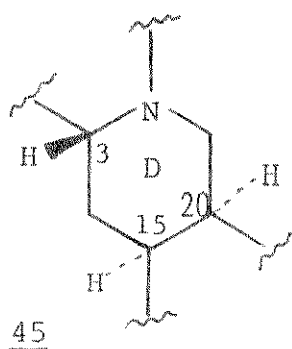
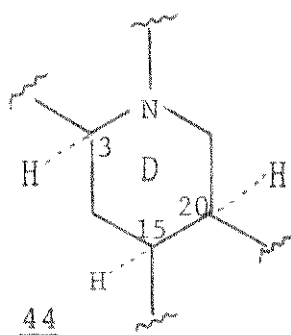
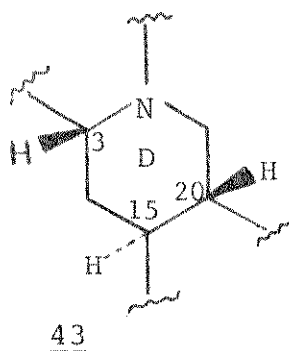
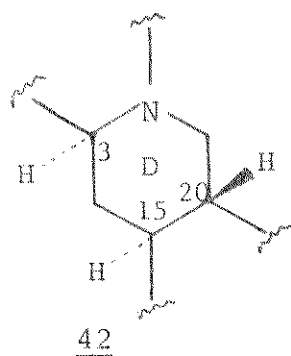


4

II.1.1. Yohimbina 5 e  $\beta$ -yohimbina 6

Os alcaloides indólicos do tipo yohimbina 4 são classificados segundo a estereoquímica do anel "D" que pode ter as seguintes configurações: normal

42, pseudo 43, alo 44 e epialo 45.

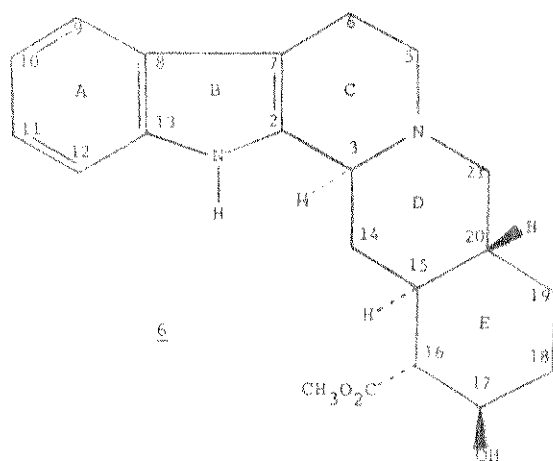
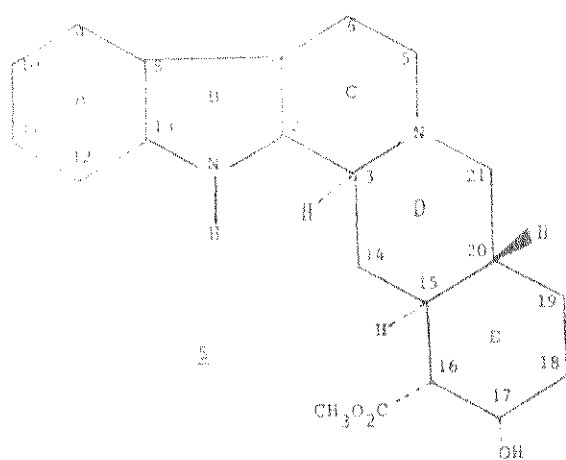
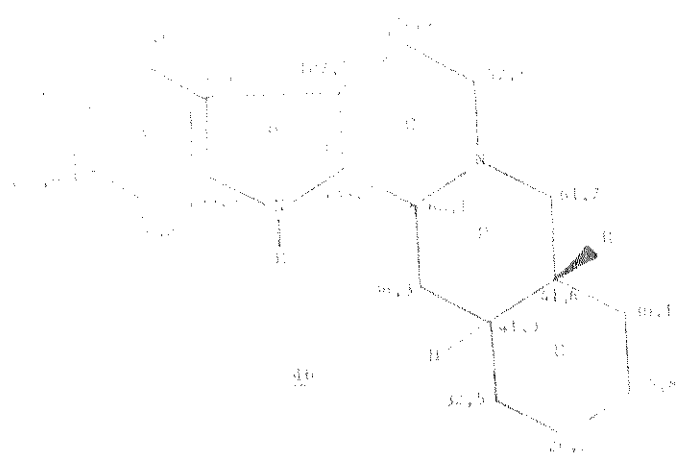


Estas quatro séries de compostos foram diferenciadas de maneira inequívoca por Wenkert e colaboradores<sup>56</sup> com base unicamente nos deslocamentos químicos apresentados pelos  $^{13}\text{C}$ . Este trabalho facilitou consideravelmente a determinação da estereoquímica dos compostos com o esqueleto do yohimbano 46.

Com o isolamento em *A. pruinosum* de dois compostos do tipo yohimbano 46, e não dispondo de padrões, decidimos fazer os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos mesmos e comparar com os dados da literatura, com o objetivo de estabelecer definitivamente as suas identidades por outro critério além dos métodos tradicionais.

A análise se baseou<sup>56</sup> nos efeitos observados nos deslocamentos químicos dos carbonos do yohimbano 46 pela introdução de um grupo  $\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}$ - equatorial no  $\text{C}_{16}$  e um grupo  $-\text{OH}$  equatorial 6 ou axial 5 no  $\text{C}_{17}$ .

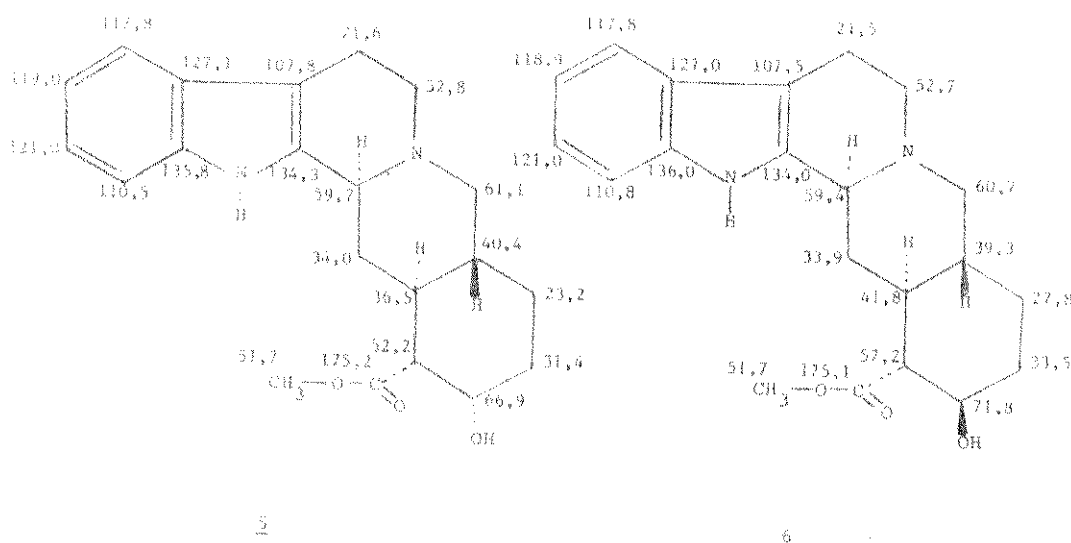
Observou-se<sup>56</sup> que a introdução dos grupos carbometoxila e hidroxila em 46 afetava somente os deslocamentos químicos dos carbonos do anel "E" dos compostos 5 e 6.



Um efeito  $\gamma$ -anti-periplanar de  $-2$  ppm foi observado no  $C_{19}$  de 6, produzido pelo grupo  $-OH$  equatorial em  $C_{17}$ . O mesmo efeito deveria ser observado no  $C_{15}$  se não houvesse um efeito  $\beta$  de  $-2$  ppm causado pelo grupo carbometo-xila equatorial em  $C_{16}$ . Na yohimbina 5, observou-se que o grupo  $-OH$  axial exerceu efeito  $\gamma$  gauche de  $-7$  ppm sobre  $C_{15}$  e  $C_{19}$ , e a diferença de  $\sim + 2$  ppm no deslocamento de  $C_{15}$  é atribuída ao efeito  $\beta$  do substituinte em  $C_{16}$ .

Independentemente da configuração do grupo carbometoxila ligada ao  $C_{16}$ , ocorreu proteção do  $C_{14}$  em 5 e 6.

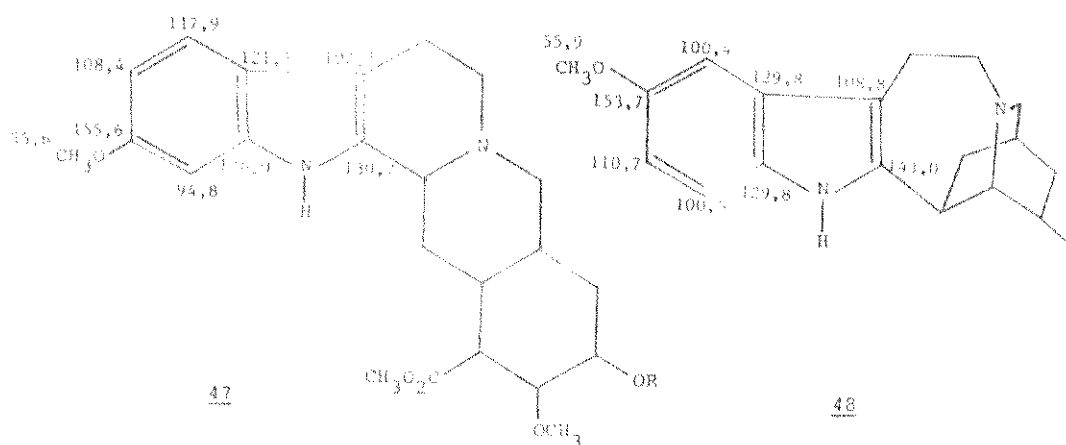
Assim, os deslocamentos químicos dos carbonos de 5 e 6 foram facilmente atribuídos em comparação direta com os dados da literatura<sup>56</sup>. Uma única pequena diferença foi observada no espectro da yohimbina 5 em comparação com os dados publicados : em vista da multiplicidade registrada no espectro FDF de 5, atribuímos os deslocamentos de 52,8 ppm ao invés de 52,1 ppm para  $C_5$  e 52,2 ppm ao invés de 52,6 ppm para  $C_{16}$ .



### II.1.2. 10-Metoxi-yohimbina 28

O alcaloide 10-metoxi-yohimbina 28 foi isolado pela primeira vez neste estudo de A. pruinosum e foi demonstrado que se tratava de um composto do tipo yohimbina 4 com um grupo  $CH_3O-$  como substituinte no  $C_{10}$  por seus espectros de U.V., I.V., RMN de  $^1H$  e E.M..

São bem conhecidas as diferenças dos deslocamentos químicos dos carbonos aromáticos dos alcaloides indólicos substituídos em  $C_{10}$  e  $C_{11}$  por  $MeO-$ . Como exemplo citamos a reserpina<sup>60,69</sup> 47 e a ibogaina<sup>64</sup> 48.



A presença de uma metoxila num sistema aromático induz modificações nos deslocamentos químicos que podem ser usadas como diagnóstico numa atribuição. As posições orto e para são protegidas, o carbono portador da metoxila é desprotegido e as posições meta não se alteram.

No indol ocorre o mesmo e observamos que a presença de MeO- causa estes efeitos permitindo uma determinação correta para a posição deste substituinte.

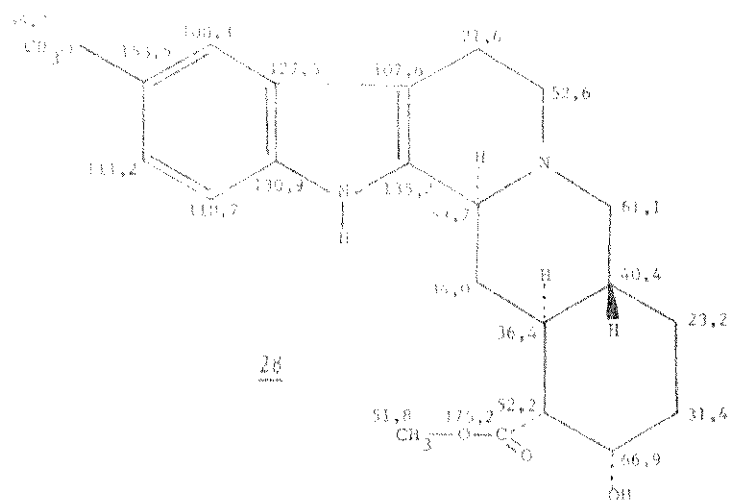
Na passagem de alcaloides sem substituinte no anel indólico para alcaloides substituídos na posição 10 por MeO- observou-se<sup>64</sup> as seguintes mudanças:

- proteção de ~5 ppm no C<sub>13</sub> (posição para);
- proteção de ~17 ppm no C<sub>9</sub> e ~10 ppm no C<sub>11</sub> (posições orto);
- desproteção de ~34 ppm no C<sub>10</sub> (posição substituída).

A comparação das atribuições da yohimbina 5 ou β-yohimbina 6 com os deslocamentos químicos dos carbonos sp<sup>2</sup> do composto 28 permitiu uma atribuição fácil da região indólica.

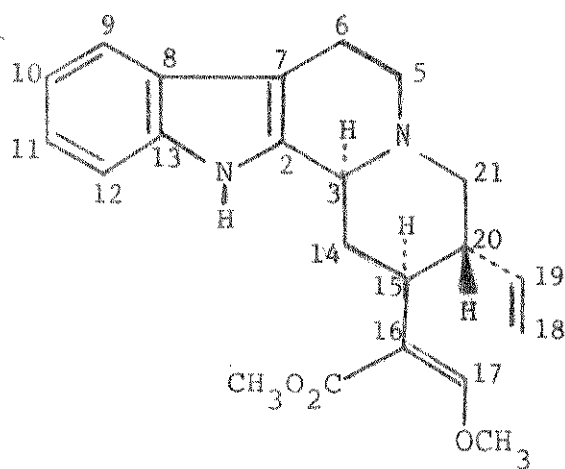
A região dos carbonos sp<sup>3</sup> de 28 mostrou identidade completa com yohim

bina 5, já atribuída anteriormente, levando à conclusão sobre toda a estereoquímica da molécula.



O alcaloide 10-metoxi-yohimbina 28 apresentou, portanto, a junção dos anéis C/D do tipo trans-quinolizidina e a junção D/E trans que caracterizavam os alcaloides da série normal 42 como yohimbina 5 e  $\beta$ -yohimbina 6.

## II.2. Compostos do Tipo Corinanteina 17

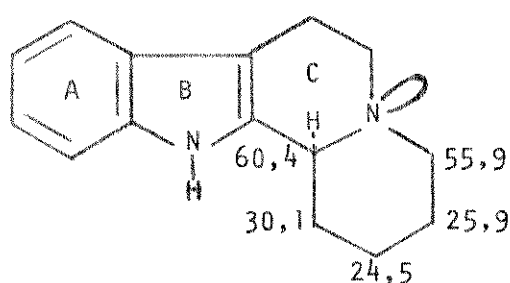


### II.2.1. 10-Metoxi-diidrocorinanteol 9 e 10-Metoxi-geissoschizol 13

O 10-metoxi-diidrocorinanteol 9 tem uma estereoquímica muito bem estabelecida<sup>4,53</sup> possuindo a configuração normal 42 no anel "D" da mesma forma que 5, 6 e 28.

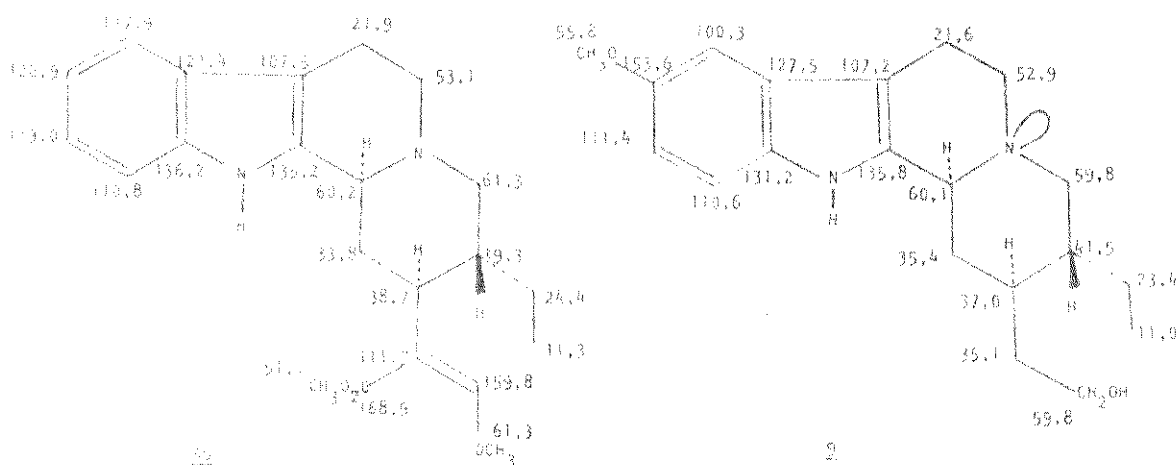
O composto 9 possui o mesmo substituinte no C<sub>10</sub> e a mesma estereoquímica no anel "D", sendo portanto muito parecido com a 10-metoxi-yohimbina 28 já atribuída anteriormente. A comparação dos espectros de RMN de <sup>13</sup>C dos dois compostos facilitou grandemente a atribuição dos deslocamentos dos carbonos que compunham os anéis "A", "B", "C" e "D" de 9.

Wenkert e colaboradores<sup>59</sup> estudaram alguns compostos do tipo corinanteína 17, entre os quais a diidrocorinanteína 50, com base nas variações dos deslocamentos químicos no anel "D" do composto tetracíclico 49 causadas pela introdução de substituintes equatoriais nos C<sub>15</sub> e C<sub>20</sub>.



49

Apesar de possuírem substituintes diferentes em C<sub>15</sub>, tanto a diidrocorinanteína 50 como 10-metoxi-diidrocorinanteol 9, apresentaram basicamente os mesmos deslocamentos para os carbonos C<sub>14</sub>, C<sub>15</sub>, C<sub>20</sub> e C<sub>21</sub> do anel "D", com diferença de -1,5 ppm em todos estes carbonos em 9.



Além disso, o deslocamento de  $C_{18}$  e  $C_{19}$  foi praticamente idêntico nos dois compostos.

Em 9, tanto  $C_{17}$  como  $C_{21}$  foram observados a 59,8 ppm, e podem ser invertidos os deslocamentos atribuídos ao  $C_{14}$  e  $C_{16}$ .

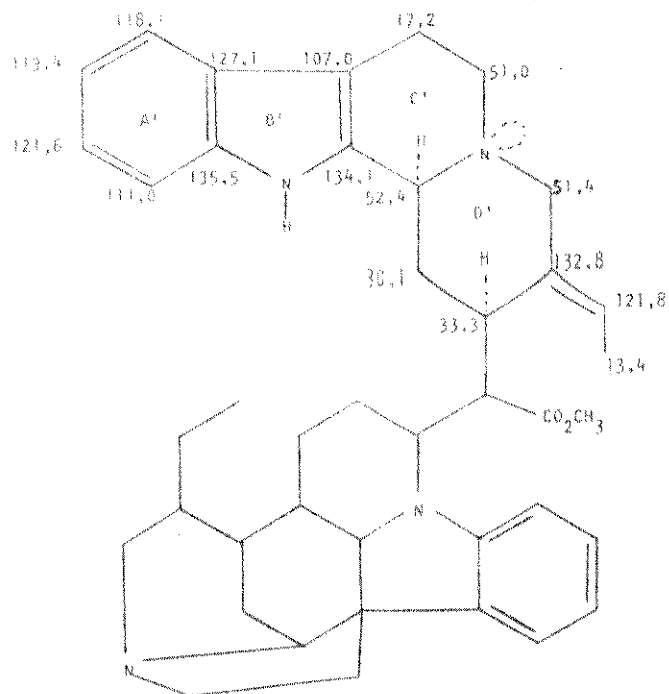
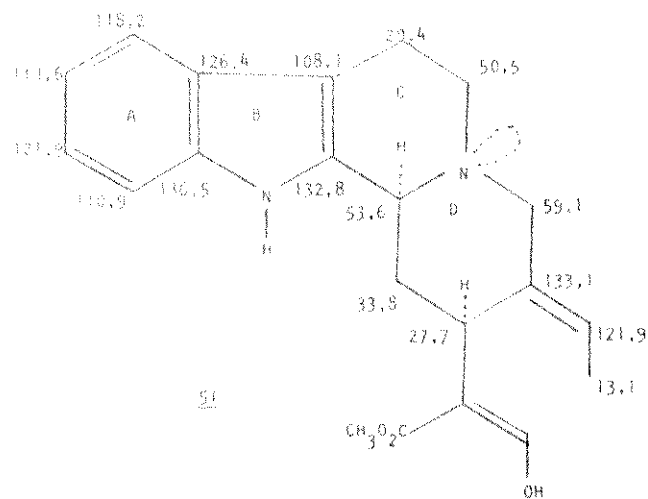
O 10-metoxi-geissoschizol 13 teve seu estudo de RMN de  $^{13}C$  feito pela primeira vez neste trabalho e foi demonstrado por I.V. e RMN de  $^1H$  que tem a junção dos anéis C/D do tipo cis-quinolizidina. São poucas as substâncias com junção C/D cis o que ressaltou o interesse desta análise.

Como modelo para as atribuições dos deslocamentos químicos de 13 usamos geissoschizina <sup>60,68</sup> 51 e o alcaloide bis-indólico geissospermina <sup>68</sup> 52.

A geissoschizina 51 possui <sup>60,68</sup> a junção C/D do tipo cis-quinolizidina. Parte de geissospermina 52 é composta por 51, mostrando <sup>60,68</sup> a mesma relação C/D cis.

O estudo de RMN de  $^{13}C$  de geissoschizina 51 foi feito independentemente por Wenkert <sup>60</sup> e Ahond <sup>60</sup> e seus respectivos colaboradores. Idêntica atribuição dos deslocamentos químicos de 51 foi apresentada por ambos os grupos.



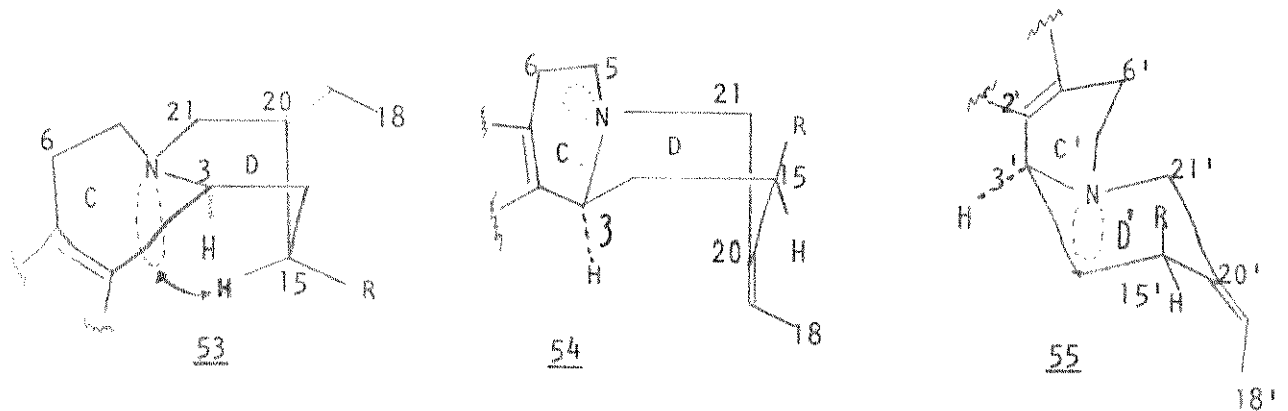


Houve concordância<sup>60, 68</sup> quanto à forma cis-quinolizidina baseados no deslocamento do C<sub>3</sub> a 53,6 ppm, embora o deslocamento do C<sub>6</sub> a 20,4 ppm não estivesse coerente com isto. A explicação, segundo o grupo de Ahond<sup>60</sup>, para este deslocamento anormal do C<sub>6</sub> foi dada em termos de uma conformação barco 53 para o anel "C", o que afastaria C<sub>6</sub> e C<sub>21</sub> eliminando o efeito  $\gamma$  gauche recíproco entre estes carbonos, normalmente observado com os deslocamentos de C<sub>6</sub> a -16,5 ppm e C<sub>21</sub> a -50 ppm.

Também Ahond<sup>60</sup> sugeriu uma conformação barco 53 para o anel "D" em função do deslocamento químico do C<sub>15</sub> a 27,7 ppm ao invés de 36,3 ppm. Esta conformação levaria a uma interação espacial entre o H<sub>α</sub> do C<sub>15</sub> e o par de elétrons do N<sub>b</sub>.

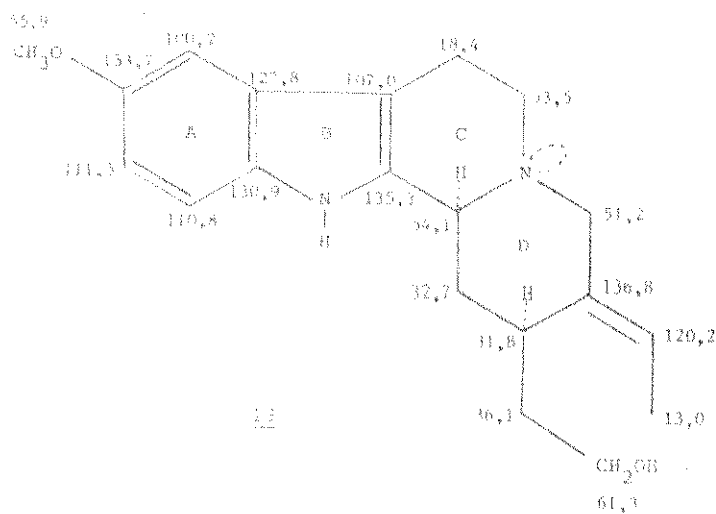
O grupo de Wenkert<sup>68</sup> aceitou o sistema cis-quinolizidina para 51, to-

mando o  $C_3$  como diagnóstico, mas ressaltou que os deslocamentos dos  $C_6$  e  $C_{21}$  eram mais coerentes com um sistema trans-quinolizidina. Este aparente paradoxo foi explicado admitindo uma forma barco 54 para o anel "D" na qual o etileno forçaria o grupo R- ligado ao  $C_{15}$  a ficar em posição axial, ocasionando alterações nos deslocamentos químicos do sistema cis-quinolizidina.



Os dados de RMN de  $^{13}C$  da geissospermina 52 foram interpretados<sup>68</sup> em termos de uma conformação cadeira 55 para o anel "D'" na qual  $C_{2'}$  e  $C_{16'}$  seriam orientados axialmente. Os deslocamentos de  $C_3$ , (52,4 ppm),  $C_6$ , (17,2 ppm) e  $C_{21}$ , (51,4 ppm) indicaram claramente um sistema cis-quinolizidina.

O 10-metoxi-geissoschizol 13, isolado de *A. prunosum*, apresentou na porção indólica os efeitos já esperados pela introdução de uma metoxila em  $C_{10}$ .



A região dos carbonos alifáticos no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 13 confirmou que se tratava de um composto do tipo *cis*-quinolizidina, apresentando deslocamentos de 18,4 ppm, 51,2 ppm e 54,1 ppm para os carbonos  $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_{21}$  e  $\text{C}_3$  respectivamente.

Os deslocamentos químicos dos carbonos do anel indólico de 13, quando comparados aos dados obtidos <sup>60,68</sup> para 51 e 52, sofreram os efeitos esperados pela presença da metoxila no  $\text{C}_{10}$ : desproteção de -34 ppm no  $\text{C}_{10}$ , e proteções de - 18 ppm no  $\text{C}_9$ , - 10 ppm no  $\text{C}_{11}$  e - 5 ppm no  $\text{C}_{13}$ . Os demais carbonos aromáticos permaneceram praticamente inalterados, observando-se que o valor de 135,3 ppm atribuído ao  $\text{C}_2$  é mais semelhante ao encontrado para o  $\text{C}_2$  da geissospermina 52. Os carbonos  $\text{C}_{19}$  e  $\text{C}_{20}$  eram os últimos do tipo  $\text{sp}^2$  a serem atribuídos, sendo a metina do  $\text{C}_{19}$  a 120,2 ppm e o carbono totalmente substituído ( $\text{C}_{20}$ ) a 136,8 ppm com um  $\Delta\delta = -4$  ppm em comparação com o deslocamento químico deste carbono em 51 e 52.

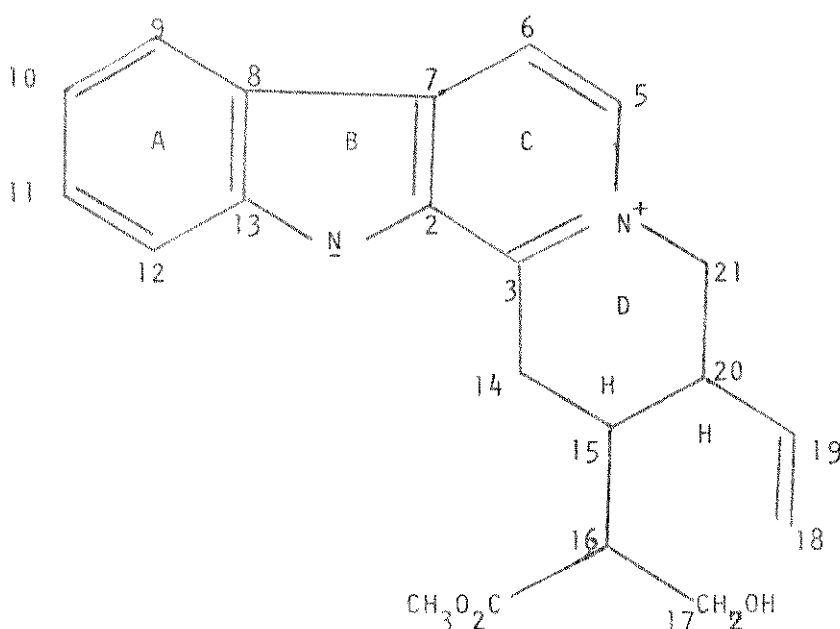
Em virtude dos deslocamentos químicos de 13 serem semelhantes aos da geissoschizina 52 no que se refere aos carbonos  $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_{21}$ , concluímos que este composto tinha a conformação cadeira 55 no anel "D" com  $\text{C}_2$  e  $\text{C}_{16}$  orientados axialmente. Como se sabe, os grupos volumosos em posições axiais são termodinamicamente desfavorecidos, mas no caso da geissospermina <sup>68</sup> 52, em que este problema é crucial, a análise em estado sólido por raios-X <sup>70</sup> confirmou as proposições feitas com base no RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Os restantes carbonos alifáticos de 13 foram atribuídos com base em suas multiplicidades no SFORD e por comparação com os dados <sup>60</sup> da geissospermina 52. As pequenas diferenças observadas nos valores de  $\text{C}_{14}$  ( $\Delta\delta = 2,6$  ppm) e ( $\Delta\delta = -2$  ppm) seriam provavelmente devidas aos diferentes substituintes ligados ao  $\text{C}_{15}$  nos dois compostos.

### II.2.2. Pruinosina 19 e seus derivados 24, 25 e 26

A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  da pruinosa 19 e de seus deri

vados teve importância fundamental na determinação da estrutura deste produto natural novo.

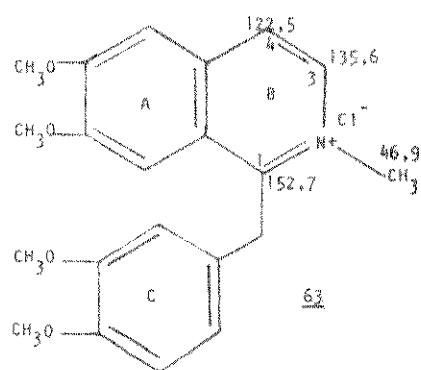
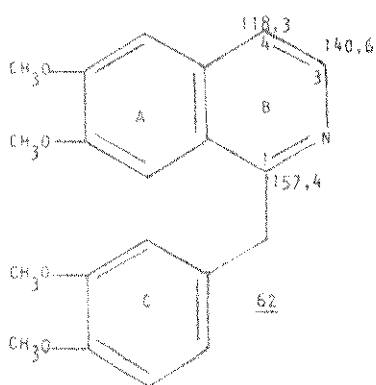
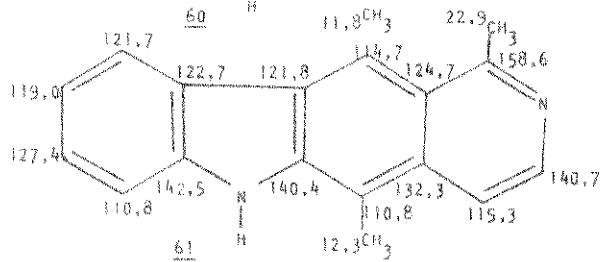
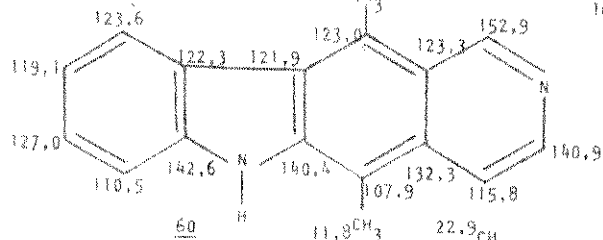
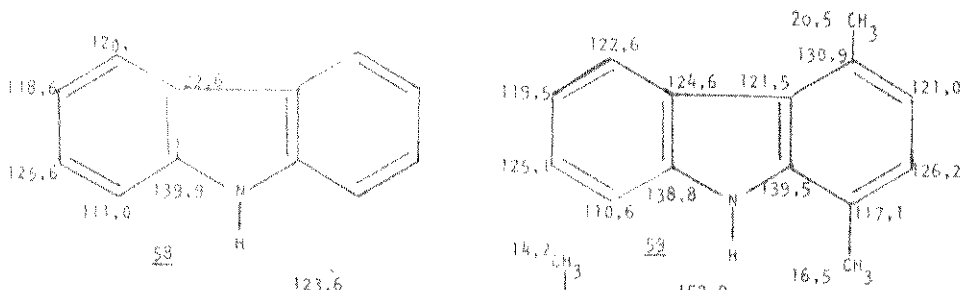
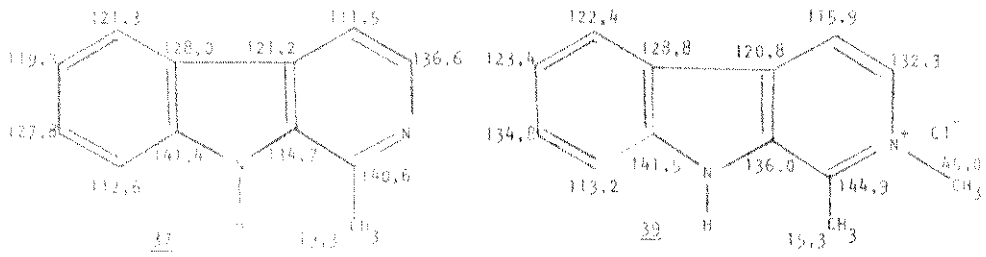


Neste estudo necessitamos de diferentes tipos de espectros (FDL, FDFF e D.A.) além da síntese e análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  de moléculas-modelo em virtude da ausência de dados na literatura.

### Harmano 37 e N<sub>b</sub>-metil-harmano 39

O primeiro composto modelo analisado foi o harmano 37 e a atribuição dos deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  foi baseada em comparações com os sistemas conjugados de compostos tipo carbazol 58 e 59, e com os alcaloides ellipticina 60 e olivacina 61. Observamos que os deslocamentos químicos dos anéis "A" e "B" eram semelhantes nestes diferentes produtos.<sup>78</sup>

Dos cinco carbonos totalmente substituídos de 37 atribuímos os deslocamentos 141,4, 134,7, 128,0 e 121,5 ppm aos carbonos C<sub>13</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>8</sub> e C<sub>7</sub> respectivamente que apresentaram deslocamentos semelhantes aos carbonos correspondentes nos compostos 58 a 61, exceto o C<sub>8</sub> que em 37 estava mais desprotegido. Ao C<sub>3</sub> foi atribuído o valor 140,6 ppm, embora pudesse haver inversão deste com

o de C<sub>13</sub>.

Na atribuição das metinas de 37, comparamos com os compostos 58 a 61 e com os dados do anel "B" da papaverina 62.

Os valores a 127,8, 121,3 e 119,3 ppm foram atribuídos aos  $C_{11}$ ,  $C_9$  e  $C_{10}$  respectivamente. Os dos  $C_6$  e  $C_{12}$  podiam ser interconvertidos. Neste caso tentamos usar os valores de  $J$  a longa distancia para diferenciar os dois carbonos, já que  $C_6$  não possuía  $^3J$ , mas isto não foi possível porque o  $C_{12}$  (112,6 ppm) apresentou  $^1J_{(C_{12}-H)} = 163,5$  Hz e  $^3J_{(C_{12}-C_{11}-C_{10}-H)} = 7,6$  Hz podendo ser confundido com o  $C_6$  (111,5 ppm) que teve  $^1J_{(C_6-H)} = 162,1$  ppm e  $^2J_{(C_6-C_5-H)} = 7,8$  Hz.

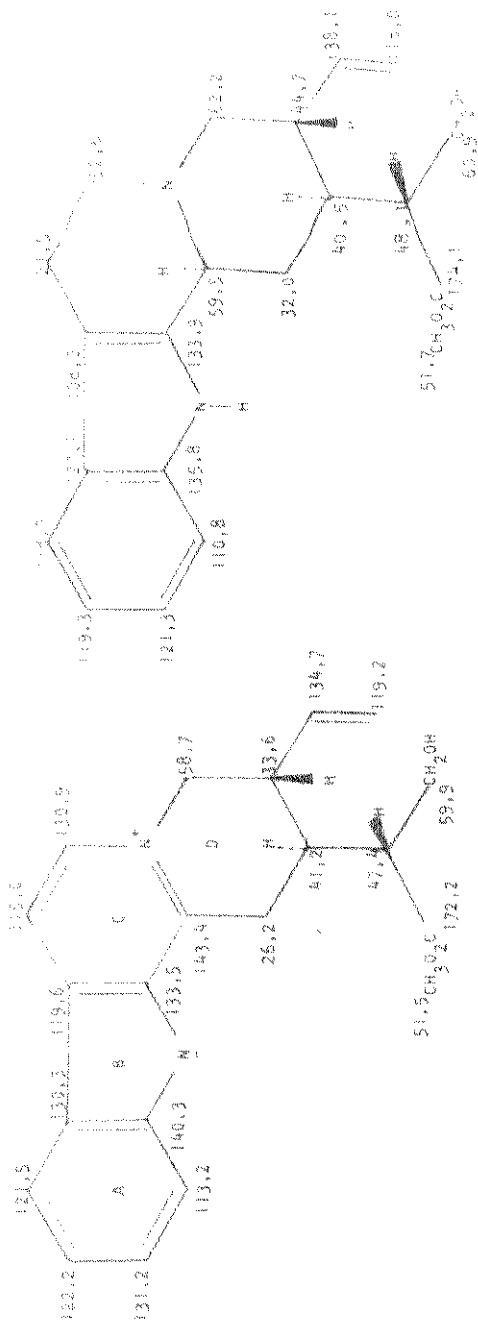
Normalmente os valores de  $^2J$  são da ordem de  $\approx 3$  Hz, facilmente diferenciados do  $^3J = 8$  Hz, mas em anéis isoquinolínicos<sup>79</sup> foi observado um valor de  $^2J$  semelhante a  $^3J$ , fato que se repetiu no anel "C" do harmano 37.

Para o  $C_5$  foi atribuído o valor a 136,6 ppm por comparação com 62 e pela sua multiplicidade,  $^1J_{(C_5-H)} = 178,3$  Hz e  $^2J_{(C_5-C_6-H)} = 2$  Hz.

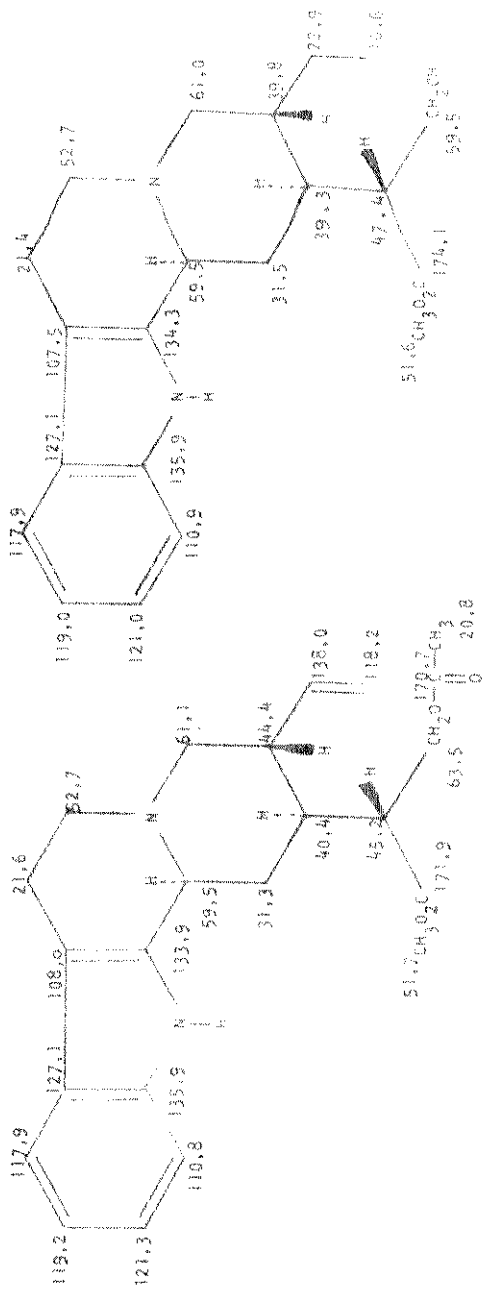
Passando de 37 para 39, observamos modificações nos deslocamentos químicos de todos os carbonos, o que já era esperado por se tratar de um sistema totalmente conjugado. Assim,  $C_3$ ,  $C_6$  e  $C_{10}$  foram desprotegidos de -4 ppm e  $C_{11}$  de 7 ppm, enquanto que  $C_5$  e  $C_{14}$  foram protegidos de -4 ppm. Nos demais carbonos as variações foram em menor escala.

A proteção do  $C_5$  e a desproteção do  $C_6$  observadas em 39 foram efeitos semelhantes aos que ocorreram<sup>79</sup> na passagem da papaverina 62 para o cloreto de N-metil papaverina 63 onde o  $C_4$  sofreu desproteção de 4,2 ppm e  $C_3$  e  $C_1$  foram protegidos de -5 ppm.

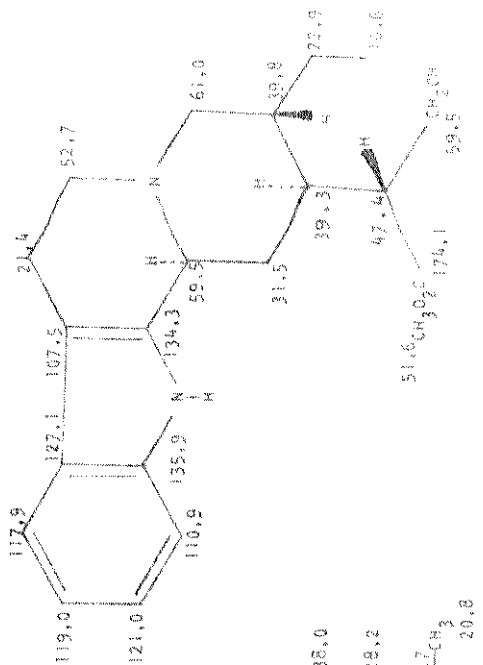
Surpreendentemente, não observamos o efeito de proteção no  $C_3$  do composto 39, como ocorreu no  $C_1$  de 63, mas decidimos manter a nossa atribuição por coerência com o espectro de  $^{13}C$  da pruinósina 19. Na verdade os compostos 39 e 19 possuíam um sistema de conjugação envolvendo dois átomos de nitrogênio, sendo portanto diferentes das isoquinolinas e podendo apresentar efeitos eletrônicos distintos.



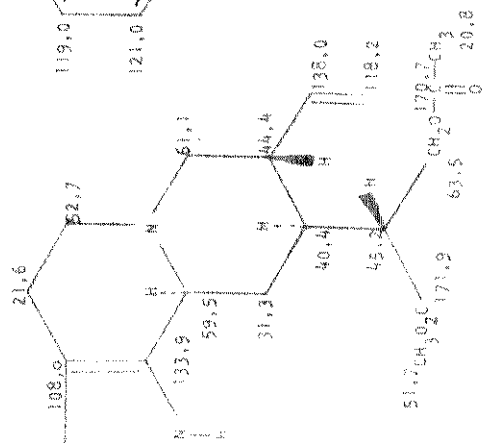
19



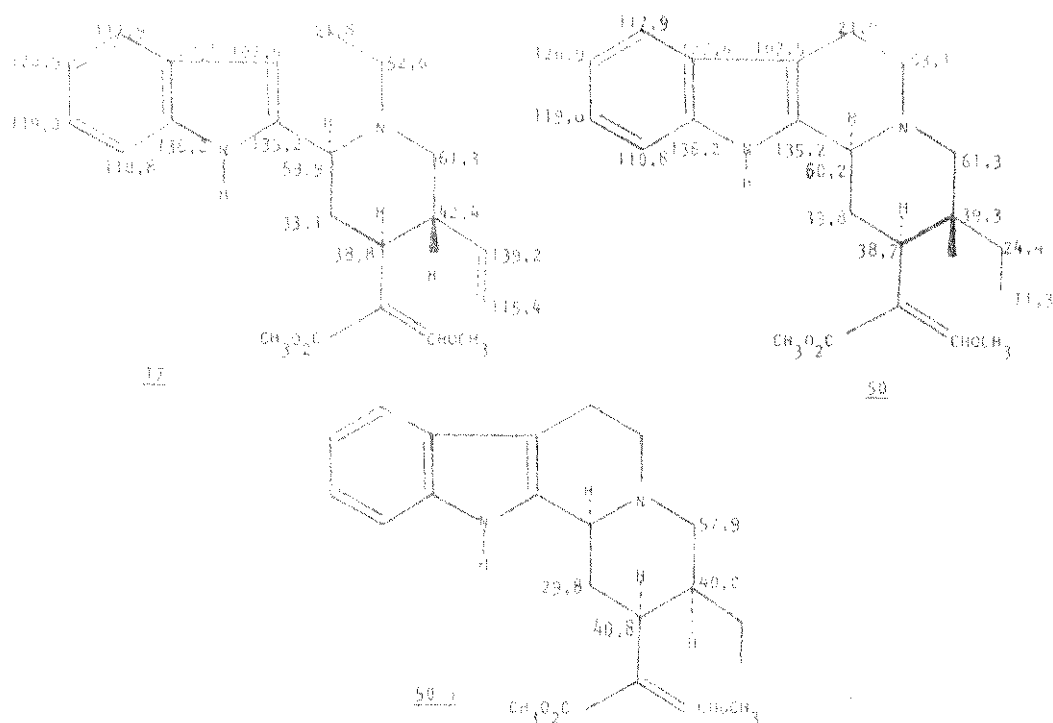
24



25



26

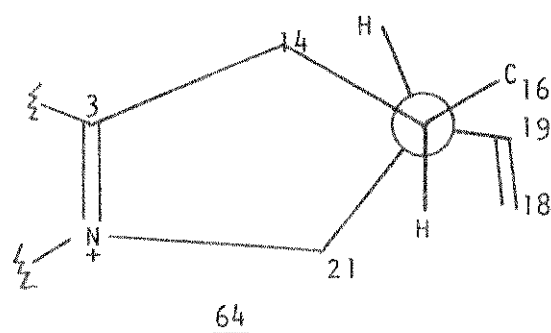
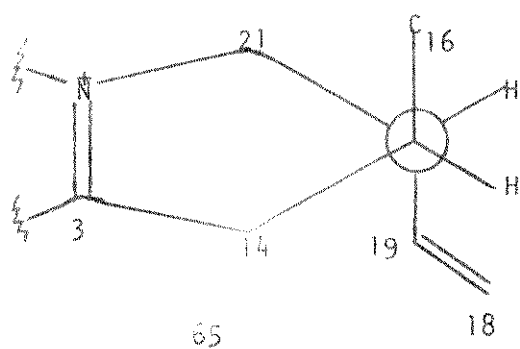


### Pruinosina 19

Nos anéis "A", "B" e "C" da pruinósina 19 encontramos deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  semelhantes aos atribuídos no composto 39 tomado como modelo, e a atribuição está feita diretamente na fórmula 19. Alguns dados, no entanto, precisam ser comentados. O valor de 134,7 ppm, atribuído ao  $\text{C}_{19}$ , se fosse atribuído ao  $\text{C}_{11}$ , ficaria mais próximo da atribuição do composto modelo 39. Neste caso, optamos pelo  $\text{C}_{19}$  em virtude de uma maior proximidade com o dado encontrado para o mesmo sistema na corinanteína 17 em que tínhamos  $\text{C}_{19}$  a 139,2 ppm. Também nos derivados da pruinósina 19, a sítirikina 24 e a acetil-sítirikina 25, encontramos  $\text{C}_{19}$  a -138,0 ppm.

Neste ponto poderíamos tentar tirar conclusões sobre a conformação do anel "D" da pruinósina 19, para o qual encontramos duas semi-cadeiras possíveis 64 e 65.



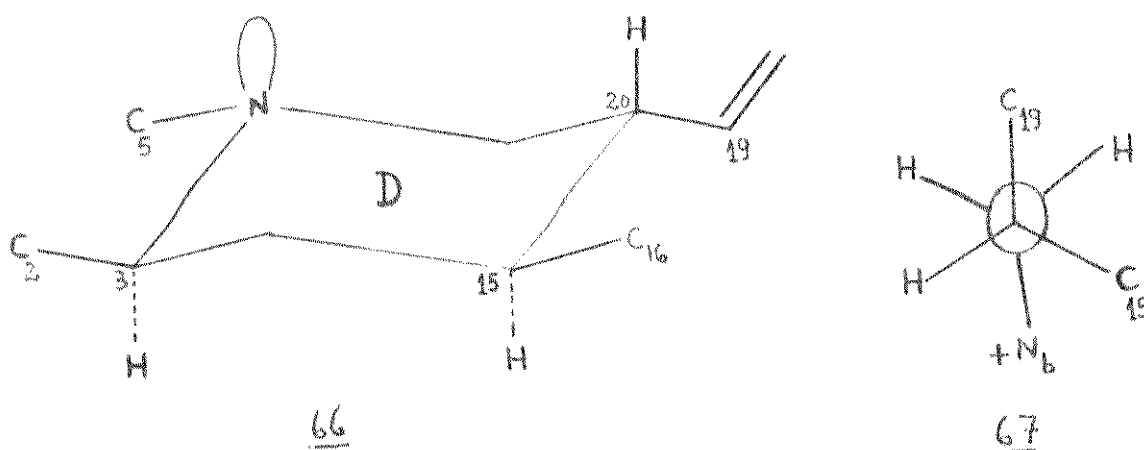


Em ambas as possibilidades existiam problemas espaciais consideráveis. Em 64 os grupos do  $C_{16}$  e do  $C_{19}$ , em relação gauche, criavam fortes tensões na molécula em consequência de seus grandes volumes. Na estrutura 65 o  $C_{16}$  e o  $C_{19}$  estariam em relação anti, mas ambos ocupariam posição axial, sendo termodinamicamente desfavorável.

Analisando a desproteção observada no  $C_{19}$ , 134,7 ppm  $\rightarrow$  138,1 ppm ( $\Delta\delta = 3,4$  ppm), e no  $C_{14}$ , 26,2 ppm  $\rightarrow$  32,0 ppm ( $\Delta\delta = 5,8$  ppm), na passagem de 19 para 24 poderíamos sugerir que a conformação seria como em 65 para a pruinosa 19, ocasionando uma  $\gamma$  gauche recíproca entre  $C_{14}$  e  $C_{19}$ . Ao reduzirmos o composto, teríamos no anel "D" de 24 uma cadeira 66 com os substituintes em  $C_{15}$  e  $C_{20}$  equatoriais, perdendo o  $C_{14}$  a  $\gamma$  gauche com o  $C_{19}$  e consequentemente ocasionando a desproteção observada de 5,8 ppm. Contra esta possibilidade estão o fato de o  $C_{19}$  ter sido desprotegido e o deslocamento do  $C_{16}$  ter mantido quase que o mesmo valor. Com o uso de modelos percebemos que se  $C_{16}$  e  $C_{19}$  estiverem em posições equatoriais existirá entre ambos uma  $\gamma$  gauche com consequente proteção recíproca observável no espectro de  $^{13}\text{C}$ , contra balanceando a perda da interação que havia entre  $C_{19}$  e  $C_{14}$  na semi-cadeira 65 do composto 19.

Pelas razões acima expostas concluímos pela inviabilidade da semi-cadeira 65, admitindo que o anel "D" da pruinósina 19 tenha a conformação de uma semi-cadeira 64 com  $C_{16}$  e  $C_{19}$  equatoriais.

A desproteção de 3,4 ppm do  $C_{19}$  pode ser atribuída a uma interação  $\gamma$  anti-periplanar causada pelo  $N_b$  (fórmula 67).



Outra variação surpreendente no deslocamento químico de  $^{13}C$  na passagem da pruinósina 19 para a sítirikina 24 foi o valor atribuído ao  $C_{20}$ . No composto 19 tínhamos  $C_{20}$  a 33,6 ppm e em 24,  $C_{20}$  a 44,7 ppm ( $\Delta\delta = 11,1$  ppm). Esta desproteção fora do comum pode ser atribuída a um efeito  $\beta$  causado pelo  $N_b^+$ , sendo esta a mesma razão para a desproteção do  $C_{14}$  (26,2 ppm  $\rightarrow$  32,0 ppm,  $\Delta\delta = 5,8$  ppm).

Uma explicação categórica se tornou difícil, pois para tanto necessitaríamos outros modelos para fundamentar nossos argumentos. O que se pode dizer com certa segurança é que os substituintes nas posições  $C_{15}$  e  $C_{20}$  são muito volumosos, com interações espaciais muito grandes. Em consequência disto, pequenas modificações no anel "D", ocasionadas pela redução do anel "C" de 19 podem modificar profundamente o arranjo espacial dos carbonos envolvidos causando modificação nos deslocamentos químicos dos  $^{13}C$ .

Os carbonos dos anéis "A" e "B" dos compostos 24, 25 e 26 apresentaram deslocamentos químicos característicos dos alcaloides indólicos sem subs

tituição no anel aromático. A atribuição destes carbonos nos três derivados da pruinósina 19 foi feita facilmente por comparação com os dados obtidos<sup>59</sup> para compostos como a corinanteína 17 e a diidrocorinanteína 50.

Os valores dos deslocamentos químicos dos carbonos  $C_3$ ,  $C_6$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{20}$  e  $C_{21}$  dos compostos 24, 25 e 26 serviram de diagnóstico para o esclarecimento da estereoquímica nos centros quirais  $C_3$ ,  $C_{15}$  e  $C_{20}$ .

Encontramos os valores em torno de -59,5 ppm, -61,0 ppm e 21,5 ppm para  $C_3$ ,  $C_{21}$  e  $C_6$ , respectivamente, tanto nos compostos 24, 25 e 26, como em 17 e 50 estudados por Wenkert<sup>59</sup>, indicando uma junção C/D trans.

Os  $C_{14}$  de 24, 25 e 26, da mesma forma que em 17 e 50, tiveram deslocamentos químicos de -32,0 ppm, e os  $C_5$  de -52,5 ppm.

Atribuímos os valores a -44,5 ppm e -40,5 ppm ao  $C_{20}$  e  $C_{15}$ , respectivamente, nos compostos 24 e 25 por comparação com os dados destes carbonos em 17. Os carbonos  $C_{20}$  e  $C_{15}$  de 26 apresentaram deslocamentos comparáveis aos de 50.

Observamos semelhança nos deslocamentos químicos do  $C_{16}$  (-48 ppm) e  $C_{17}$  (-60 ppm) em 19, 24 e 26. Na passagem de 24 para 25 o  $C_{17}$  foi desprotegido em -2,5 ppm e o  $C_{16}$  foi protegido em -3 ppm, efeitos que já eram esperados pela acetilação do álcool primário de 24.

Os dados obtidos para os carbonos  $C_{14}$  e  $C_{21}$  dos compostos 24, 25 e 26, indicaram que os substituintes em  $C_{15}$  e  $C_{20}$  são equatoriais como na estrutura 66 em comparação com os mesmos carbonos dos compostos 17, 50 e 50a.

### II.2.3. Pruinosidina 35 - Efeitos da quaternarização de alcaloides indólicos

O isolamento da pruinósina 35, um alcaloide quaternário novo, despertou nosso interesse em estudar os efeitos em RMN de  $^{13}C$  da transformação de amins em sais nos alcaloides indólicos, a exemplo do que já foi estudado em compostos isoquinolínicos<sup>79</sup>.

O  $N_b$ -metil-tetraidro-harmano 40 e o iodeto de  $N_b, N_b$ -dimetil-tetraidro-harmano 41 foram sintetizados e seus espectros de RMN de  $^{13}C$  analisados. A atribuição dos deslocamentos químicos se encontra nas respectivas formulas.

$N_b$ -metil-tetraidro-harmano 40 e iodeto de  
 $N_b, N_b$ -dimetil-tetraidro-harmano 41

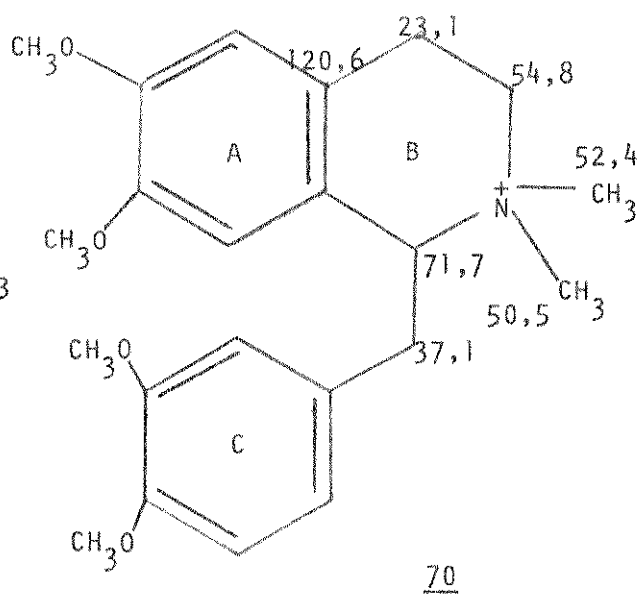
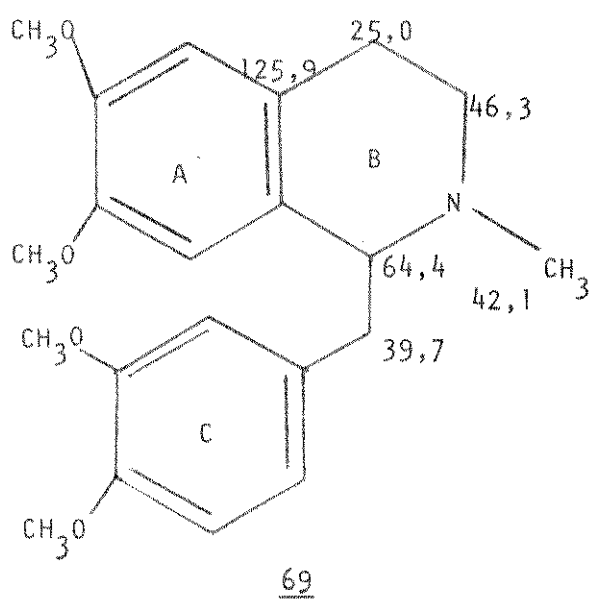
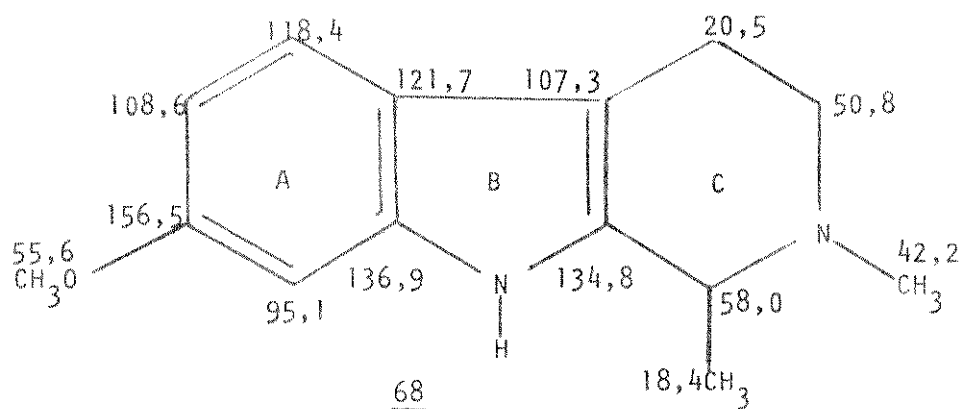
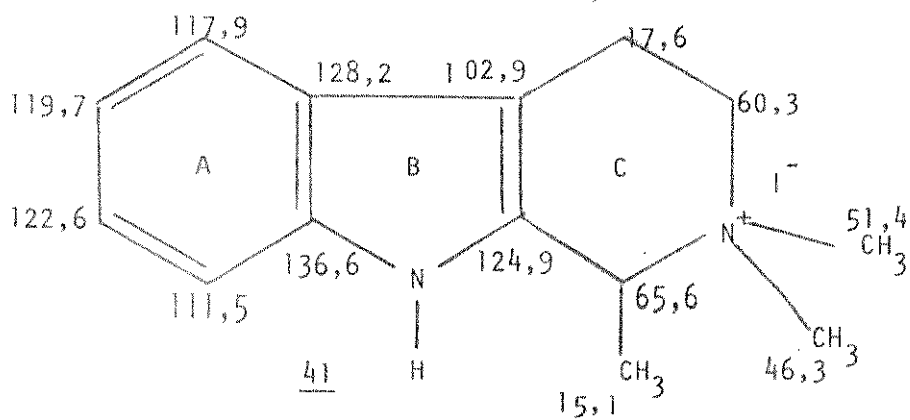
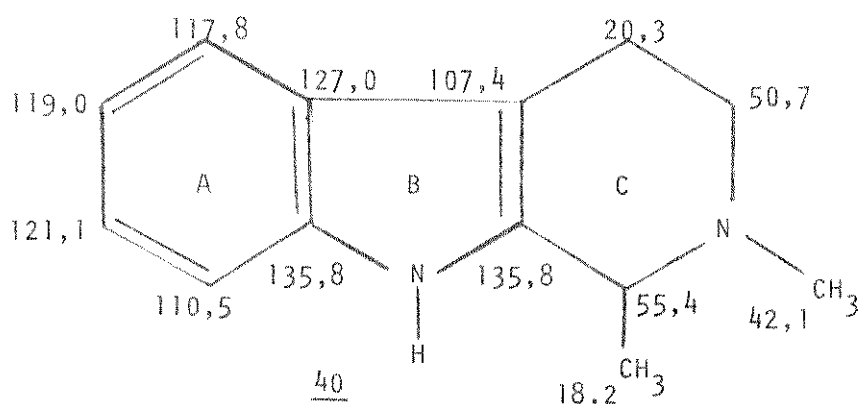
Os carbonos  $sp^2$  do composto 40 tiveram deslocamentos químicos característicos dos alcaloides indólicos sem substituição no anel "A". A atribuição dos carbonos  $sp^3$  de 40 foi feita por comparação com os dados observados na  $N_b$ -metil-tetraidro-harmina 68. Os deslocamentos químicos dos dois compostos foram praticamente idênticos, exceto para o  $C_3$  que apresentou uma diferença surpreendente de 2,6 ppm.

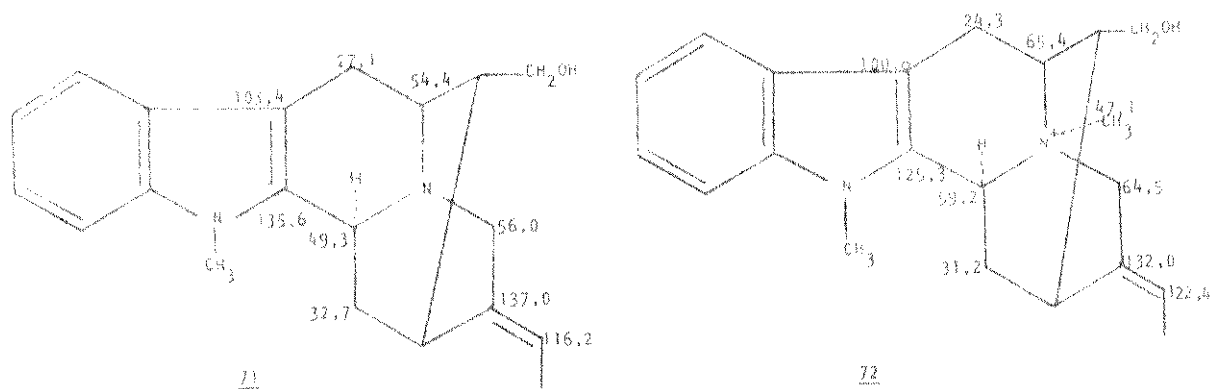
A transformação de 40 para 41 produziu alterações no anel "C" semelhantes às observadas no anel "B" dos alcaloides benzil-tetraidro-isoquinolínicos 69 e 70.

Assim, os carbonos situados em posição  $\beta$  em relação ao novo  $CH_3$ -introduzido foram desprotegidos de -10 ppm:  $C_3$  a 65,6 ppm ( $\Delta\delta = 10,2$  ppm),  $C_5$  a 60,3 ( $\Delta\delta = 9,6$  ppm) e  $CH_3$  a 51,4 ppm ( $\Delta\delta = 9,3$  ppm). Os carbonos  $\gamma$  foram protegidos:  $C_6$  a 17,6 ppm ( $\Delta\delta = -2,7$  ppm),  $C_3-CH_3$  a 15,1 ppm ( $\Delta\delta = -3,1$  ppm) e  $C_2$  a 124,9 ppm ( $\Delta\delta = -9,1$  ppm).

A proteção de -9,1 ppm do  $C_2$  seria demasiadamente grande para ser causada somente por uma interação  $\gamma$ . Também foi observada a proteção do  $C_7$  a 102,9 ppm ( $\Delta\delta = 4,5$  ppm). Possivelmente a proteção do  $C_7$  e parte da proteção do  $C_2$  seriam efeitos eletrônicos devidos à existência da carga positiva sobre o  $N_b$ . Um efeito semelhante foi observado nos carbonos correspondentes dos alcaloides benzil-tetraidro-isoquinolínicos 69 e 70.

Estes mesmos efeitos foram observados na transformação da affinisina 71 para  $N_b$ -metil-affinisina 72.





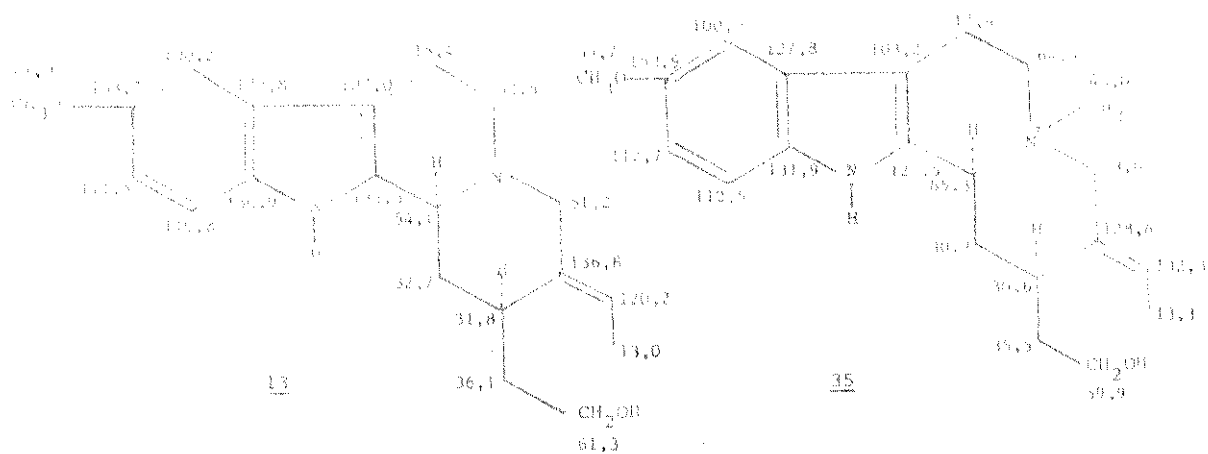
### Pruinosidina 35

Conhecendo os efeitos da quaternarização do  $N_b$  dos alcaloides indólicos, empreendemos a análise da RMN de  $^{13}C$  da pruinósidina 35. Este alcaloide apresentou a mesma estrutura do 10-metoxi-geissoschizol 13 metilado no  $N_b$  o que foi comprovado pela síntese.

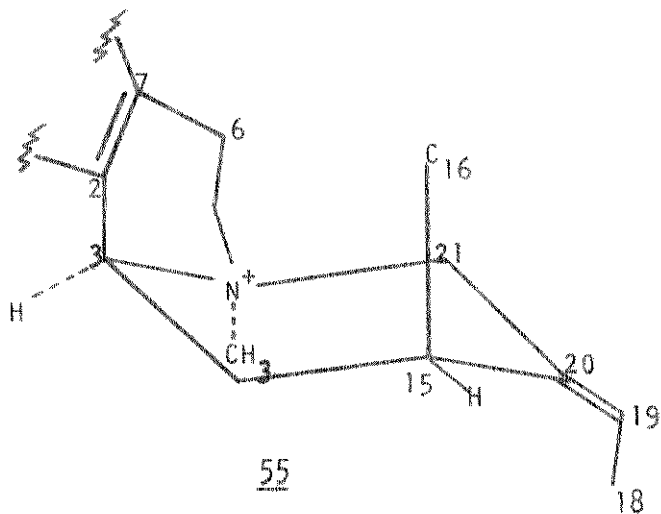
Os mesmos efeitos  $\beta$  e da carga positiva no  $N_b$  que foram observados nos compostos-modelo 41, 70 e 72 também ocorreram na pruinósidina 35.

Assim, em 35 o  $C_3$  65,3 ppm e o  $C_5$  64,5 ppm foram desprotegidos de -11 ppm, enquanto que o  $C_{21}$  59,0 ppm sofreu desproteção de 7,8 ppm. Os carbonos  $C_7$  103,2 ppm e  $C_2$  125,5 ppm foram protegidos de 3,8 ppm e 9,8 ppm, respectivamente.

Na análise dos esperados efeitos  $\gamma$  produzidos pela introdução do  $CH_3$ - no  $N_b$ , consideramos as várias conformações possíveis para os anéis "C" e "D" da seguinte maneira:

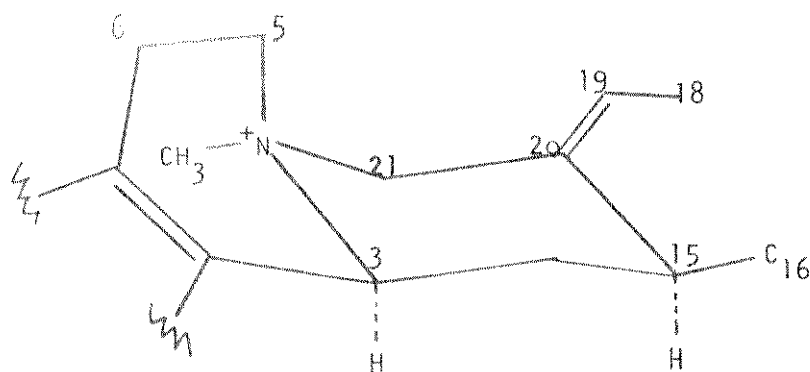


19) Se admitíssemos que a prunosidina 35, ou o sal quaternário sintético 34, mantivesse a mesma conformação 55 do 10-metoxi-geissoschizol 13, estariam facilmente explicados os efeitos  $\beta$  no  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  e  $\text{C}_{21}$ . Nesta hipótese seríamos obrigados a aceitar todo o efeito de proteção observado no  $\text{C}_2$  como sendo consequência da carga sobre o  $\text{N}_b$ , contrariando as observações feitas para 41, 70 e 72.



A conformação 55 para 35 também manteria a interação  $\gamma$  entre  $C_6$  e  $C_{21}$ , criando-se nova  $\gamma$  entre  $\text{CH}_3\text{-N}_b$  e  $C_{14}$  (30,9 ppm,  $\Delta\delta = -1,9$  ppm).

29) Admitindo-se que de 13 para 35 houvesse mudança da conformação 55 para 73, estaria melhor explicado o problema da proteção do  $C_2$ . O  $C_6$  perderia a interação  $\gamma$  com  $C_{21}$  e ganharia nova interação  $\gamma$  com o  $\text{CH}_3\text{-N}_b$ , mas os grupos ligados a  $C_{15}$  e  $C_{20}$  estariam com grande interação entre si, em posições termodinamicamente desfavoráveis.

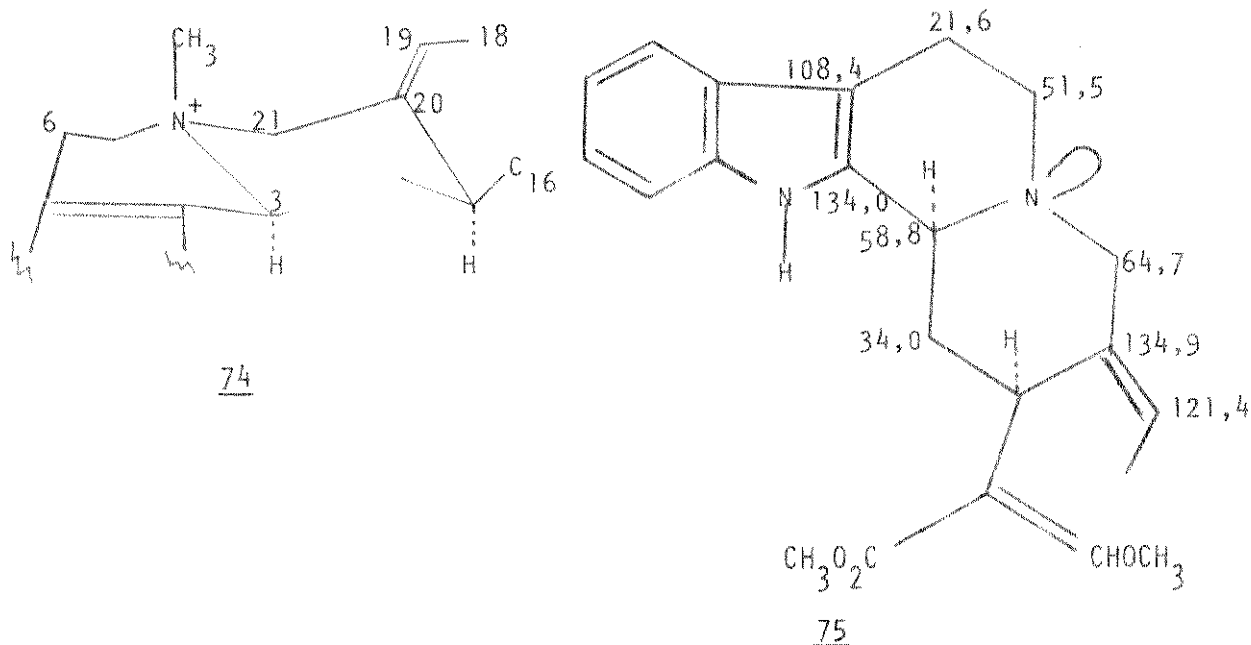


73

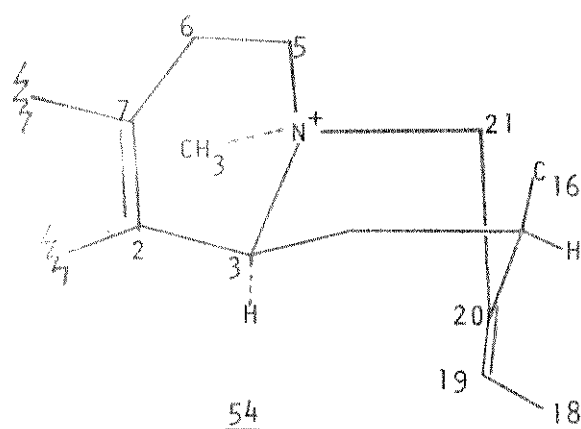
30) Haveria ainda a suposição de que a junção dos anéis "C" e "D" da pruinósina 35 fosse trans, com a conformação 74. Neste caso, não poderíamos mais comparar a atribuição do 10-metoxi-geissoschizol 13 com os deslocamentos químicos de 35. Tal comparação deveria ser feita, por exemplo, entre a o-metil-geissoschizina 75 e 35. O cálculo teórico dos deslocamentos químicos esperados para  $C_3$ ,  $C_5$  e  $C_{21}$  resultou em  $\sim 68,8$  ppm,  $\sim 61,5$  ppm e  $\sim 72,5$  ppm respectivamente. Estes valores são muito elevados em comparação com os obtidos: 65,3 ppm, 64,5 ppm e 59,0 ppm.

No entanto, não podemos descartar a possibilidade da conformação 74 para a pruinósina 35, para tanto seria necessário metilar o  $N_b$  de um composto trans-quinolizidínico como 75 e observar a intensidade dos efeitos.





Concluimos admitindo a conformação 54 para a pruinósida 35, a qual permite explicar de maneira mais satisfatória tanto os efeitos  $\beta$  causados pelo  $\text{CH}_3\text{-N}_b$  sobre  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  e  $\text{C}_{21}$ , e as interações  $\gamma$  do  $\text{CH}_3\text{-N}_b$  com  $\text{C}_2$  e  $\text{C}_6$ .



Na passagem de 13 para 35 observamos o  $\text{C}_{20}$  a 128,6 ppm ( $\Delta\delta = -8,2$  ppm) e o  $\text{C}_{19}$  a 132,3 ppm ( $\Delta\delta = +12,1$  ppm). Entretanto, se a comparação dos deslocamentos químicos destes carbonos fosse feita entre a geissoschizina 51 (que teria<sup>68</sup> a mesma conformação 54) e a pruinósida 35, os valores de  $\Delta\delta$

seriam diminuídos para -4,5 ppm no  $C_{20}$  e +10,4 ppm no  $C_{19}$ , valores mais próximos dos obtidos para affinisina 71 e  $N_b$ -metil-affinisina 72 que foram de -6,2 no  $C_{20}$  e +5 ppm no  $C_{19}$ .

Este efeito de proteção do  $C_{20}$  e desproteção do  $C_{19}$ , possivelmente seria devido a atração dos elétrons da ligação  $C_{19}=C_{20}$  pela carga do  $N_b$  através do  $C_{21}$  que levaria também a uma menor intensidade na desproteção deste pelo efeito  $\beta$  do  $\underline{CH}_3-N_b$ .

### II.3. Normacusina-B 30

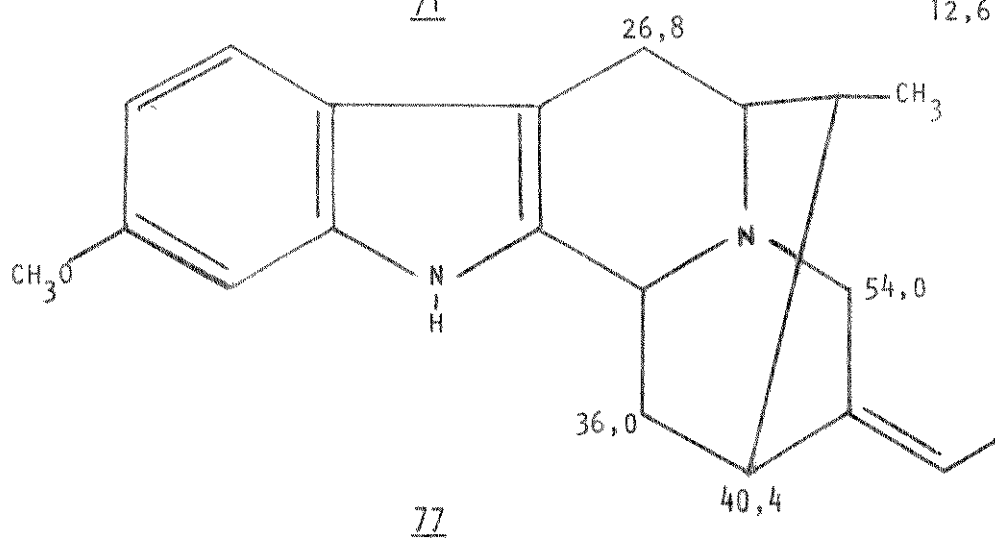
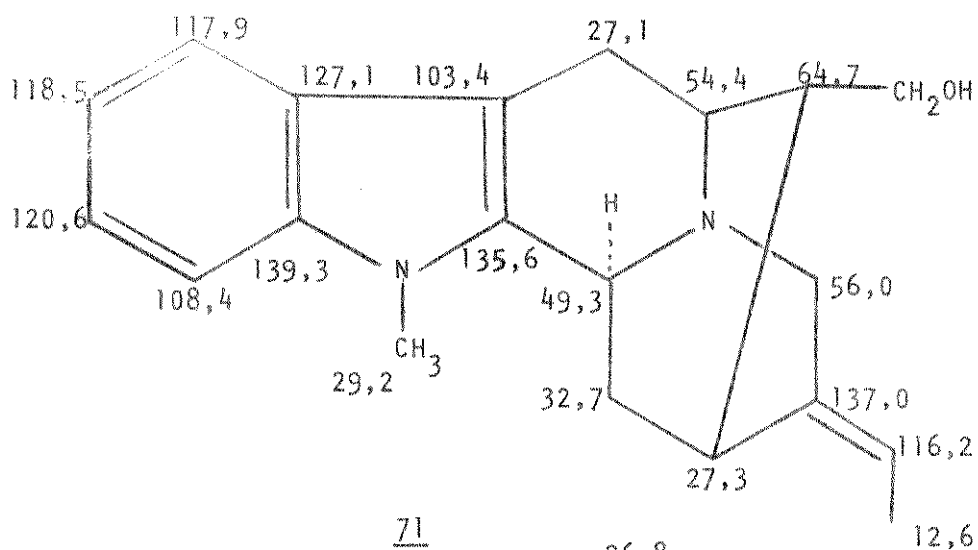
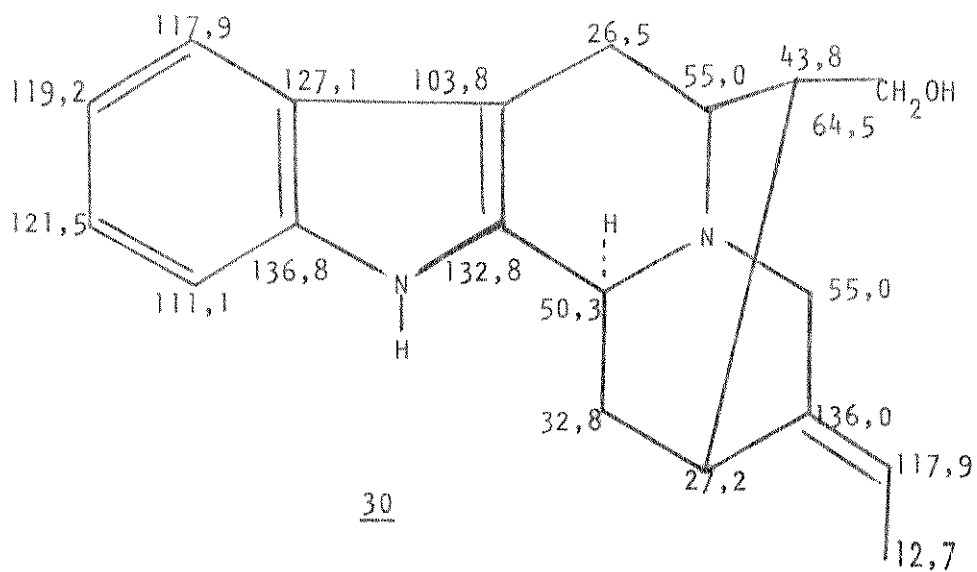
A normacusina-B 30 teve seu espectro de RMN de  $^{13}C$  estudado pela primeira vez neste trabalho comprovando-se a estereoquímica do  $C_{16}$ .

Os deslocamentos químicos dos carbonos da região aromática estavam coerentes com a inexistência de substituinte, e a atribuição foi feita com base nas multiplicidades e comparação com dados da literatura<sup>59</sup>. Os carbonos  $C_{19}$  e  $C_{20}$ , que formam a dupla ligação do grupo etilideno, foram atribuídos por comparação com a 16-epi-gardnerina<sup>80</sup> 76.

O mesmo composto 76 foi utilizado como modelo na atribuição dos carbonos do tipo  $sp^3$  da normacusina-B 30. Os deslocamentos do  $C_{15}$  27,2 ppm e  $C_{21}$  55,0 ppm de 30 foram indicativos de uma configuração E para a dupla ligação do etilideno de acordo com uma comparação com os dados destes carbonos em 76 e 77.

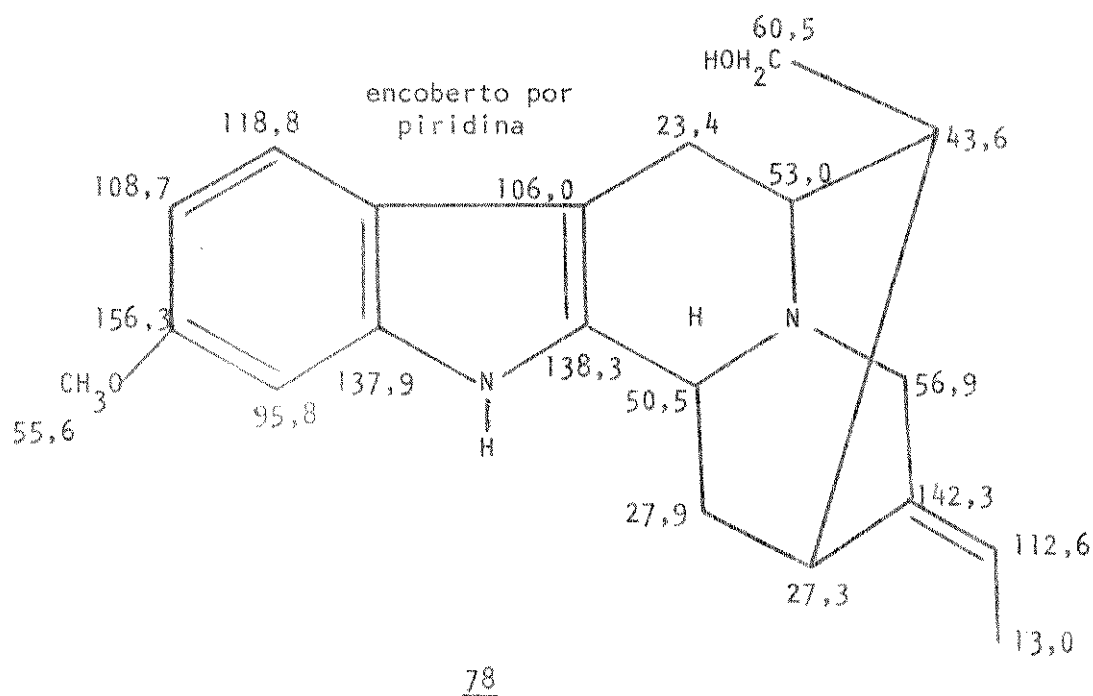
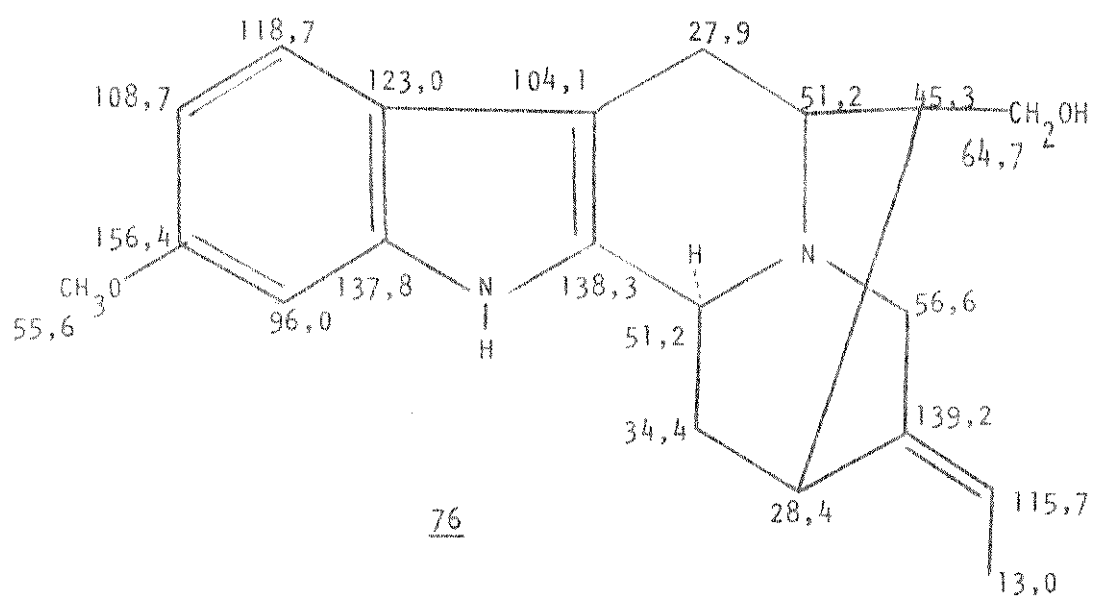
Os compostos gardnerina 78 e 16-epi-gardnerina 76 apresentam as duas estereoquímicas possíveis no  $C_{16}$  deste tipo de alcaloide e o uso de modelos moleculares mostrou que 78 tem um efeito  $\gamma$  gauche entre  $C_{17}$  e os carbonos  $C_6$  e  $C_{14}$  de -4,5 ppm e -6,5 ppm respectivamente. Esta proteção em  $C_6$  e  $C_{14}$  não poderia ocorrer nos compostos deste tipo possuindo a ligação  $C_{16}-C_{17}$  exo, como em 76, 77, 71 e 30.

Entre os deslocamentos químicos de  $^{13}C$  de 76 e 78 comparados com os da normacusina-B 30 foram observadas pequenas diferenças atribuídas a efei-



tos de solvente; os espectros de 76 e 78 foram feitos<sup>80</sup> em piridina deutera-  
da enquanto que o de 30 foi feito em  $\text{CDCl}_3$ .

Jã os espectros da affinisina 71 e da normacusina-B 30 são, de maneir  
ra geral, muito semelhantes, tendo sido feitos ambos em  $\text{CDCl}_3$ . Os maiores  
 $\Delta\delta$  encontrados na comparação dos deslocamentos químicos destes dois compos-  
tos foram os causados pelo  $\text{CH}_3^-$  ligado ao  $\text{N}_a$  em 71.



#### II.4. Conclusão

Através deste estudo de RMN de  $^{13}\text{C}$  pudemos confirmar a estrutura dos compostos isolados de A. pruisonum bem como determinar as suas estereoquímicas e sugerir conformações para alguns deles.

Apresentamos uma análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos alcaloides conhecidos com o objetivo de contribuir para uma mais fácil identificação destes compostos por este método.

O isolamento do alcaloide quaternário pruinósida 35, levou-nos a estudar os efeitos da quaternarização dos alcaloides indólicos. A repetição em 35 dos efeitos observados por nós no  $\text{N}_b, \text{N}_b$ -dimetil-tetraidro-harmano 41 permitiu uma melhor compreensão dos efeitos na passagem dos alcaloides terciários para os quaternários.

Este estudo permitiu ainda esclarecer a estereoquímica de todos os centros quirais da 10-metoxi-yohimbina 28, por comparação com os deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  da yohimbina 5. Este é um exemplo da força deste método na elucidação da estereoquímica de compostos novos.

A pruinósina 19, um sal interno novo, teve a determinação de sua estrutura carbônica grandemente auxiliada pela RMN de  $^{13}\text{C}$ . Houve necessidade, no entanto, de um estudo prévio do harmano 37 e do  $\text{N}_b$ -metil-harmano 39 para que se pudesse fazer a atribuição correta para 19.

Com este trabalho esperamos haver contribuído para a compreensão de alguns pontos controvertidos bem como ter fornecido subsídios para análises futuras dos alcaloides indólicos ou ainda para a determinação de novas estruturas por este método rápido e eficaz que é RMN de  $^{13}\text{C}$ .

## CAPÍTULO III

### Parte Experimental

#### III.1. Materiais e Métodos

Os solventes e reagentes utilizados, purificados em nosso laboratório, eram das marcas: Merck, Carlo Erba, Fisher, Baker e Fluka AG.

As cromatografias em camada delgada foram feitas utilizando sílica gel HF 254 ou alúmina F 254, suspensas em água destilada e distribuídas sobre placas de vidro de 5 x 20 cm, 10 x 20 cm e 20 x 20 cm numa espessura de 0,25 mm. Estas placas foram preparadas com o uso de um aparelho espalhador Quickfit.

O desenvolvimento dos cromatogramas foi levado a efeito com solventes apropriados a cada caso, utilizando-se cubas com atmosfera saturada por vapores do eluente. Atmosfera amoniacal se fez necessária ao desenvolvimento desejado de vários cromatogramas.

Para a revelação das placas cromatográficas foram utilizados os seguintes métodos:

1. Cuba saturada com vapores de iodo ressublimado;
2. Lâmpada ultravioleta 254-350 nm;
3. Reativo de Dragendorff isoladamente ou seguido de  $H_2SO_4:MeOH$  (1:1) e aquecimento sobre placa ou sob lâmpada de 300 W.

Para as cromatografias em coluna utilizou-se sílica gel com grãos de diâmetro de 0,05-0,2 mm ou sílica H, no último caso sob pressão de  $N_2$ . Como eluente foi usada principalmente a sequência  $CHCl_3$ ,  $CHCl_3/MeOH$  em polaridade crescente.

Para acompanhar o desenvolvimento das colunas usou-se cromatografia de camada delgada e pesagem de cada fração recolhida após a retirada de todo o solvente em rotavapor (banho termostaticado a 45-50°C e pressão reduzida). As frações que mostravam ter aproximadamente os mesmos constituintes eram en-

tão reunidas.

Os alcaloides foram isolados e purificados por cromatografias em placas preparativas de 1 mm de espessura, até que mostrassem uma única mancha em cromatograma de camada delgada, e então cristalizados.

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Metler FP 52 - Carl Zeiss.

As rotações ópticas específicas  $[\alpha]_D$  foram medidas num polarímetro fotoelétrico Carl Zeiss de precisão 0,005<sup>o</sup> em solventes idênticos aos da literatura no caso de compostos conhecidos e em etanol no caso de compostos novos.

Os espectros de absorção no ultravioleta (U.V.) foram feitos num aparelho DMR-21 - Carl Zeiss, usando-se em todos os casos etanol como solvente. Os espectros de U.V. foram corridos em meio neutro (etanol), meio ácido (etanol/HCl) e meio alcalino (etanol/NaOH).

Os espectros de absorção no infravermelho (I.V.) foram obtidos em solução de  $\text{CHCl}_3$  ou em pastilha de KBr, num aparelho Perkin Elmer modelo 337; como referências usou-se as absorções de um filme de poliestireno a 1601 e 1028  $\text{cm}^{-1}$ .

Os espectros de ressonância magnética de proton (RMN de  $^1\text{H}$ ) foram obtidos em um espectrômetro Varian T-60 (60 MHz) ou em um espectrômetro XL-100 A-15 (100 MHz), usando-se  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ,  $\text{CDCl}_3/\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  e  $\text{D}_2\text{O}$  como solventes e tetrametilsilano (TMS) como referência interna.

Os espectros de ressonância magnética de carbono-13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos num espectrômetro Varian XL-100 A-15 FT (25,2 MHz) usando-se como solvente  $\text{CDCl}_3$ ,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$  e tetrametilsilano (TMS) como referência interna.

Os espectros de massa (E.M.) foram feitos num aparelho Finnigan 1015/SL e num Varian MAT-311 A; utilizou-se em todos os casos uma energia de 70 eV.

### III.2. Extrações e Isolamentos

#### III.2.1. Extrato bruto 1

O extrato bruto 1 (226 g), feito em etanol, nos foi fornecido pelo Prof. Benjamin Gilbert do Instituto de Pesquisas da Marinha no Rio de Janeiro.

A partir do extrato bruto 1 foram feitas novas extrações em vários pH conforme o Esquema 12 da página seguinte.

Após cada extração a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl e em seguida com água destilada por duas vezes, secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente eliminado completamente num rotavapor.

O trabalho teve prosseguimento com o estudo dos extratos 1b, 1c e 1d obtidos a partir do extrato bruto 1 conforme o Esquema 12.

Não foram estudados os extratos 1a e 1e por apresentarem muita mistura e pouca quantidade.

#### - Extrato 1b (pH = 7, CHCl<sub>3</sub>)

As 7,75 g deste extrato foram dissolvidas em MeOH e aciduladas com HCl 37% até pH = 2 e os cristais obtidos foram filtrados e lavados com MeOH gelado. A mistura de cloridratos assim obtida (1,17 g) foi novamente dissolvida em MeOH, e a solução, levemente alcalinizada com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, foi extraída com CHCl<sub>3</sub>, lavada com água destilada, secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente retirado em rotavapor resultando 0,88 g.

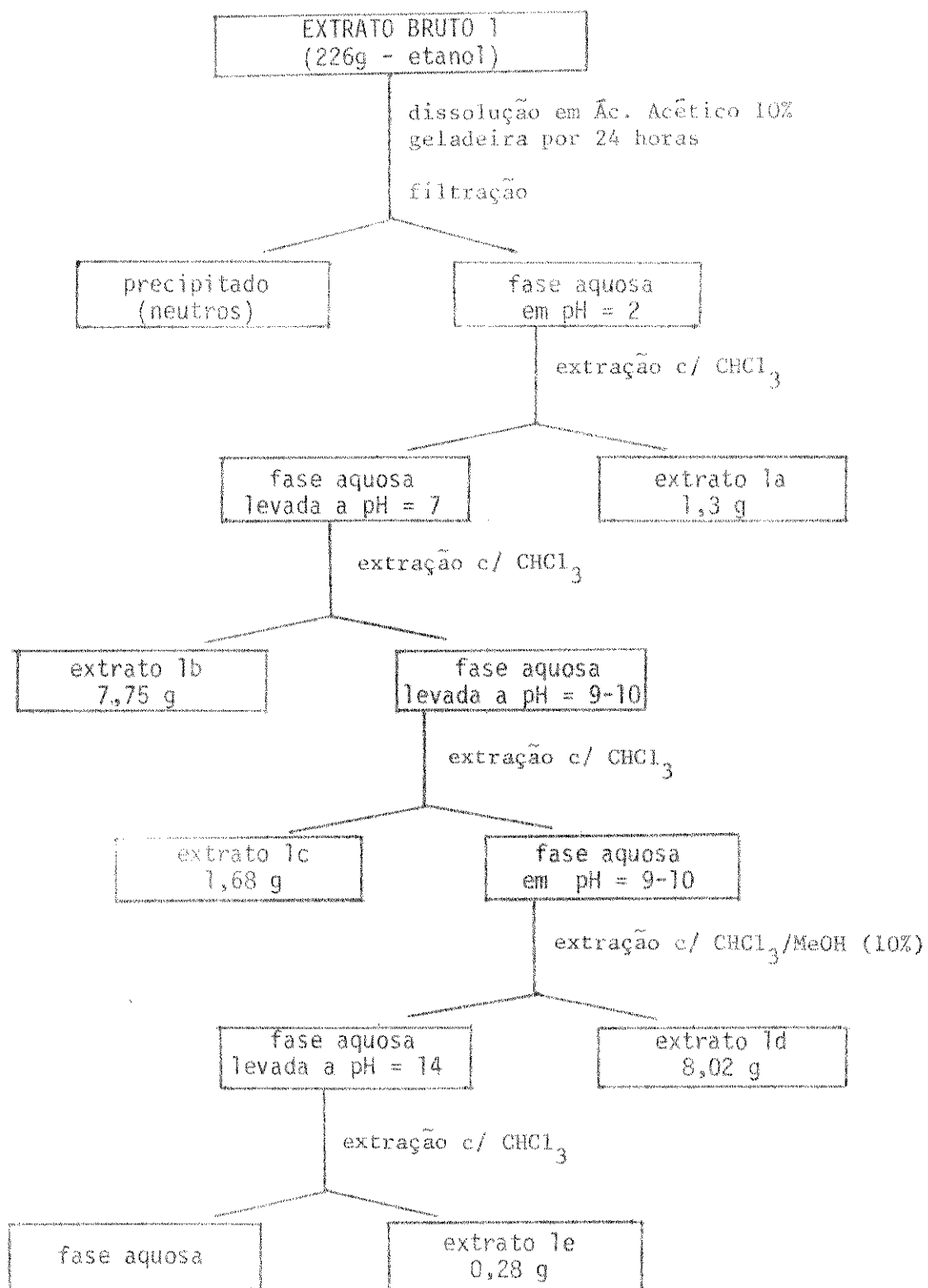
0,50 g das bases livres foram cromatografadas em placas preparativas PF (hexano:acetato de etila 1:1), isolando-se dois alcaloides: 0,177 g de yohimbina 5 e 0,095 g de β-yohimbina 6.

#### - Extrato 1c (pH = 9-10, CHCl<sub>3</sub>)

Usando-se 85 g de sílica H como suporte, foram cromatografadas as 1,68 g do extrato 1c em coluna de vidro. A vazão do eluente foi auxiliada pelo u-



## ESQUEMA 12



so de pressão de  $N_2$  e as frações foram recolhidas num volume aproximado de 50 ml.

Conforme está especificado na Tabela 1, o sistema eluente foi composto por  $CHCl_3$ ,  $CHCl_3/MeOH$  (% crescente de MeOH) e MeOH.

Foram coletadas 260 frações, sendo comparadas por cromatografia de camada delgada e reunidas conforme a semelhança de seus constituintes em Rf. Após a retirada do solvente em rotavapor, as frações reunidas foram pesadas totalizando 1,67 g (99,5% do material inicial). Os sistemas eluentes utilizados para a comparação entre as frações coletadas foram os seguintes:

- Benzeno:éter (1:1)/EtOH (6%) - alúmina, para as frações 1 a 58;
- Benzeno:éter (1:1)/EtOH (12%) - alúmina, para as frações 59 a 93;
- $CHCl_3/MeOH$  (15%), atmosfera de  $NH_3$  - sílica HF, para as frações 94 a 260.

TABELA 1

Eluente	Frações coletadas	Frações reunidas	Peso (g)	Alcaloides presentes	Alcaloides isolados
$CHCl_3$	1/24	1/36	0,0420	-	-
$CHCl_3/MeOH$ (3%)	25/74	37/49	0,2770	<u>5</u>	<u>5</u>
		50/58	0,0250	<u>5 e 6</u>	-
		59/62	0,0163	<u>6 e 9</u>	-
		63/70	0,0326	<u>6 e 9</u>	-
		71/73	0,0225	<u>6 e 9</u>	-
$CHCl_3/MeOH$ (6%)	75/191	74/89	0,1403	<u>9</u>	<u>9</u>
		90/93	0,0403	<u>9</u>	-
		94/143	0,5930	<u>13 e 19</u>	<u>13 e 19</u>
		144/191	0,1450	<u>19</u>	<u>19</u>
$CHCl_3/MeOH$ (12%)	192/223	192/222	0,2840	<u>19</u>	<u>19</u>
$CHCl_3/MeOH$ (20%)	224/239	223/241	0,0201	-	-
$CHCl_3/MeOH$ (50%)	240/250	242/260	0,0331	-	-
MeOH	251/260				

A fração 37/49 foi purificada por placas preparativas PF usando-se  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (10%) e atmosfera de  $\text{NH}_3$  como eluente, rendendo 0,130 g de yohimbina 5.

Da fração 74/89, usando-se placas preparativas PF com o sistema  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (12%) e atmosfera de  $\text{NH}_3$ , foram obtidas 0,105 g de 10-metoxi-diidrocorinanteol 9.

A fração 94/143, após duas aplicações consecutivas em placas PF corridas em  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (15%) e atmosfera de  $\text{NH}_3$ , permitiu o isolamento de dois alcaloides: 0,100 g de 10-metoxi-geissoschizol 13 e 0,146 g de pruinosina 19.

Das frações 144/191 e 192/222 foram isoladas 0,090 g de pruinosina 19 depois de duas aplicações em placas PF corridas em  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (15%) e atmosfera de  $\text{NH}_3$ .

- Extrato 1d (pH = 9-10,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (10%))

As 8,02 g deste extrato foram cromatografadas em coluna de vidro contendo 400 g de sílica gel para cromatografia ( $\phi = 0,05-0,2$  mm), usando-se como eluente  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (% crescente de MeOH), como especificado na Tabela 2.

Foram coletadas 260 frações, sendo reunidas as semelhantes por camada delgada. O total das frações reunidas foi de 6,017 g (75% do material inicial).

Os eluentes utilizados para a comparação entre as frações em cromatografias de camada delgada foram os seguintes:

- $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (7%) e atmosfera amoniacal - sílica HF, para as frações 1 a 143;
- $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (20%) e atmosfera amoniacal - sílica HF, para as frações 144/260.

As frações 73/82 e 83/100 foram aplicadas separadamente em placas PF e corridas em Benzeno:Acetato de etila (6:4), isolando-se 0,150 g de  $\beta$ -yohim-

bina 6 e 0,060 g de 10-metoxi-diidrocorinanteol 9.

TABELA 2

Eluente	Frações coletadas	Frações reunidas	Peso (g)	Alcaloides presentes	Alcaloides isolados
CHCl <sub>3</sub>	1/24	1/57	0,0970	-	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 1%	25/46				
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 2%	47/57				
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 3%	58/86	58/68	0,3943	<u>5</u>	-
		69/72	0,0930	<u>5 e 6</u>	-
		73/82	0,1663	<u>6 e 9</u>	<u>6 e 9</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 4%	87/105	83/100	0,1000	<u>6 e 9</u>	<u>6 e 9</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 5%	106/126	101/142	0,2895	<u>13</u>	<u>13</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 6%	127/165	143/179	1,3251	<u>13 e 19</u>	<u>19</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 8%	166/205	180/227	2,2845	DN-27	DN-27
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 10%	206/228				
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 20%	229/242	228/245	1,0950	DN-27	DN-27
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 50%	243/260	246/260	0,0540	-	-

A fração 101/142 aplicada em placas PF, corrida em CHCl<sub>3</sub>/MeOH (7%) e atmosfera de NH<sub>3</sub>, permitiu o isolamento de 0,080 g de 10-metoxi-geissoschizol 13.

Após duas purificações por placas PF corridas em CHCl<sub>3</sub>/MeOH (20%) e atmosfera de NH<sub>3</sub>, a fração 143/179 produziu 0,300 g de pruinosa 19.

Uma pequena quantidade (0,154 g) ainda impura de um alcaloide não identificado e denominado DN-27, foi isolada da fração 180/245 por placas preparativas PF com o sistema CHCl<sub>3</sub>/MeOH (30%) e atmosfera amoniacal.

### III.3. Novas Extrações e Isolamentos

Com o objetivo de conseguir maiores quantidades dos alcaloides isolados e para isolar os compostos mais polares da casca de Aspidosperma pruno-

sum, decidimos fazer extratos brutos em nosso próprio laboratório.

As cascas de A. prunosum foram colhidas em Goiânia - GO pelo Prof. J. J. Taveira do Departamento de Química da Universidade Federal de Goiás em setembro de 1978.

O material, que depois de seco e moído finamente em moinho de Wiley pesou 6,56 kg, foi dividido em duas partes: a primeira delas (3,00 kg) sofreu, antes das extrações que se seguiram, basificação por  $\text{NH}_4\text{OH}$ , e a quantidade restante (3,56 kg) foi separada para extração por etanol a frio sem a prévia basificação.

Esta divisão em extratos de casca basificada e não-basificada se mostrou extremamente útil.

Das cascas basificadas foram feitos três extratos brutos consecutivos:

- a) extrato bruto 2 (24,7 g, éter etílico) contendo somente alcaloides terciários;
- b) extrato bruto 3 (182 g, etanol a frio) contendo alcaloides quaternários;
- c) extrato bruto 4 (57 g, etanol a quente) também contendo alcaloides quaternários.

A parte não-basificada das cascas (3,56 kg) foi extraída diretamente por etanol a frio, resultando o denominado extrato bruto 5 (123 g) contendo tanto alcaloides terciários como quaternários.

Destes quatro novos extratos brutos, estudamos somente os extratos brutos 2 e 5, reservando os outros dois, que contêm somente alcaloides quaternários, para estudar posteriormente.

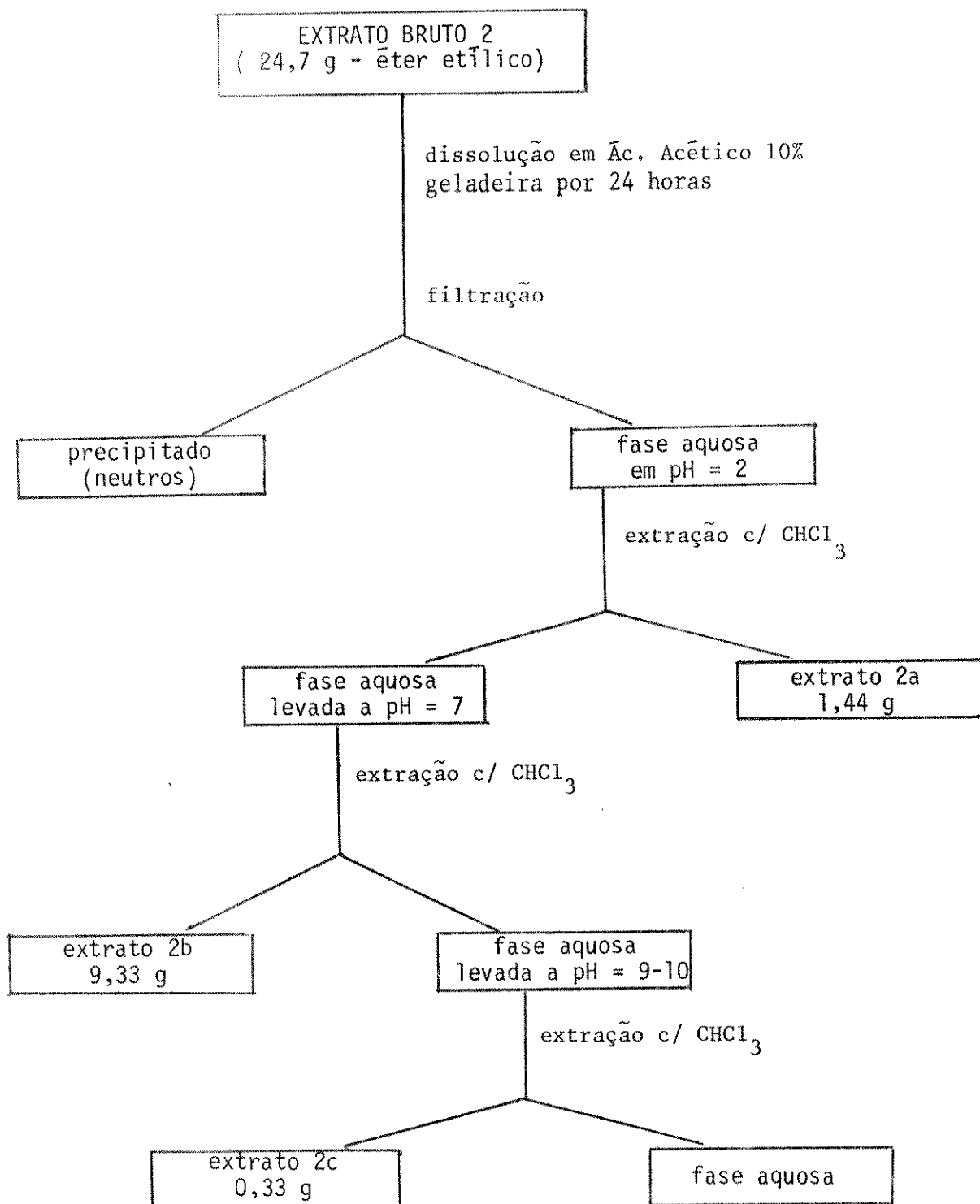
### III.3.1. Extrato bruto 2

Este extrato foi feito partindo-se de 3,0 kg de casca de Aspidosperma prunosum. As cascas, depois de secadas em estufa a  $40^\circ\text{C}$  por vários dias, foram moídas finamente em moinho Wiley, basificadas com  $\text{NH}_4\text{OH}$  e extraídas em um aparelho Soxhlet, por 4 dias contínuos com éter etílico livre de peróxidos.

Evaporado o solvente, restou 24,7 g de uma massa escura contendo os alcaloides terciários da casca da planta e que foi denominada extrato bruto 2.

Em seguida o extrato bruto 2 sofreu três extrações consecutivas em pH ácido, neutro e básico conforme o Esquema 13.

ESQUEMA 13



De todos os extratos feitos a partir do extrato bruto 2 conforme o Esquema 13 estudamos apenas o extrato 2b feito com  $\text{CHCl}_3$  em  $\text{pH} = 7$  porque além de apresentar os mesmos alcaloides dos extratos 2a e 2c, a quantidade (9,33 g) parecia ser suficiente para o estudo completo das bases terciárias.

- Extrato 2b ( $\text{pH} = 7$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

As 9,33 g do extrato 2b foram dissolvidas no mínimo volume de  $\text{CHCl}_3$  e a solução foi levada a uma coluna de vidro contendo 400 g de sílica gel para cromatografia em coluna. O empacotamento foi feito no mesmo solvente.

Como eluente foi usado  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (% crescente de MeOH de 1% a 13%) e as frações recolhidas eram de 250 ml.

O desenvolvimento da coluna foi acompanhado por pesagem de cada fração coletada, depois de retirado todo o solvente em rotavapor, e por cromatografia de camada delgada; as frações semelhantes eram então reunidas, seu total perfazendo 7,261 g (78% do material inicial).

Na tabela 3 estão apresentados os dados principais desta coluna de fracionamento.

Os cromatogramas usados para comparação entre as frações coletadas foram eluidos usando-se os seguintes sistemas:

- $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (10%) e atmosfera amoniacal (sílica HF),
- Benzeno:éter (1:1) e atmosfera amoniacal/etanol (12%) (sílica HF);
- Benzeno:éter (1:1)/etanol (6%) (alúmina GF);
- Benzeno:acetato de etila (6:4) (alúmina GF).

A fração 12 estava quase completamente pura e foi cristalizada em MeOH obtendo-se 0,135 g de cristais em forma de agulhas incolores do alcaloide yohimbina 5.

Na fração 15/18 (0,656 g) estavam presentes dois compostos que foram separados por placas PF com o sistema benzeno:acetato de etila (6:4) sendo necessárias duas corridas para a separação de 0,135 g de yohimbina 5 puro e

0,335 g de uma mistura de yohimbina 5 e 10-metoxi-yohimbina 28. Novas placas preparativas no mesmo sistema separou a mistura dos dois compostos, resultan- do 0,080 g de yohimbina 5 e 0,200 g de 10-metoxi-yohimbina 28 puros.

TABELA 3

Eluente	Frações coletadas	Frações reunidas	Peso (g)	Alcaloides presentes	Alcaloides isolados
CHCl <sub>3</sub>	1/10	-	-	-	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 1%	11	1/11	0,070	-	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 2%	12/27	12	1,150	<u>5</u>	<u>5</u>
		13	1,240	<u>5</u>	-
		14	0,675	<u>5</u> e <u>28</u>	-
		15/18	0,656	<u>5</u> e <u>28</u>	<u>5</u> e <u>28</u>
		19/21	0,222	<u>5</u> e <u>28</u>	-
		22/23	0,109	<u>5</u> e <u>28</u>	-
		24/27	0,581	<u>6</u> e <u>9</u>	<u>6</u> e <u>9</u>
		28/31	0,672	<u>6</u> , <u>9</u> e <u>32</u>	<u>6</u> , <u>9</u> e <u>32</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 7%	32/56	32	0,443	<u>6</u> , <u>30</u> , <u>9</u> e <u>32</u>	<u>9</u> e <u>32</u>
		33/34	0,417	<u>6</u> , <u>30</u> , <u>9</u> e <u>32</u>	<u>9</u> e <u>32</u>
		35/36	0,100	<u>6</u> , <u>30</u> e <u>9</u>	-
		37/38	0,073	<u>30</u> e <u>9</u>	<u>30</u> e <u>9</u>
		39/40	0,090	<u>30</u>	<u>30</u>
		41	0,045	<u>30</u> e <u>13</u>	<u>30</u> e <u>13</u>
		42/44	0,376	<u>13</u>	<u>13</u>
		45/46	0,178	<u>13</u>	<u>13</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 10%	57/71	47/56	0,630	<u>13</u>	<u>13</u>
		57/66	0,200	<u>13</u>	-
		67/71	0,140	<u>13</u>	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 13%	72/84	72/80	0,060	-	-
		81/84	0,073	-	-

A fração 24/27 foi aplicada em placas PF produzindo 0,060 g de 10-me- toxi-diidrocorinanteol 9 e 0,330 g de  $\beta$ -yohimbina 6 usando-se o siste- ma benzeno:éter (1:1)/etanol (12%), e atmosfera amoniacal.



No mesmo sistema eluente foram corridas as placas PF da fração 28/31, resultando 0,099 g de 10-metoxi-diidrocorinanteol 9, 0,253 g de  $\beta$ -yohimbina 6 e 0,018 g de compactinervina 32.

Ainda com o mesmo sistema eluente, isolou-se das frações 32 e 33/34 (0,860 g) por placas PF, 0,260 g de 10-metoxi-diidrocorinanteol 9, 0,065 g de compactinervina 32 e 0,355 g de uma mistura de  $\beta$ -yohimbina 6 e normacusina-B 30.

As frações 37/38, 39/40 e 41 foram purificadas separadamente por placas PF com o sistema  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (15%) permitindo a obtenção de 0,065 g de normacusina-B 30.

Das frações 42/44, 45/46 e 47/56 (1,184 g) isolou-se somente 0,426 g de 10-metoxi-geissoschizol 13 devido à grande fragilidade do composto.

### III.3.2. Extrato bruto 5

Os restantes 3,56 kg de cascas de Aspidosperma pruinatum, já secas e moídas finamente, foram extraídos com 3 x 4 litros de etanol.

Evaporado o solvente em rotavapor, obteve-se 123 g de uma massa escura que foi denominada extrato bruto 5.

Uma coluna de 8 cm de diâmetro interno foi empacotada com 1000 g de sílica gel para cromatografia em coluna, usando-se  $\text{CHCl}_3$  como solvente.

29,3 g do extrato bruto 5 foram dissolvidas em  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (50%) formando-se um precipitado branco (3,8 g). Após filtração, às restantes 25,5 g que permaneceram em solução, foram adicionadas 25 g de sílica; depois de bem agitada a mistura, o solvente foi cuidadosamente evaporado em rotavapor. Esta mistura sílica-extrato, totalmente livre de solvente, foi adicionada à coluna.

Tendo em vista o objetivo principal desta coluna de fracionamento, que era o de isolar maior quantidade do alcaloide pruinósina 19, o eluente usado teve sua polaridade aumentada rapidamente, chegando-se assim em me-

nos tempo às frações mais polares onde se encontram os alcaloides quaternários.

Foram recolhidas 238 frações de 250 ml, totalizando 22,602 g (90% do material inicial).

Por causa do aumento rápido da polaridade do eluente, quase todos os alcaloides terciários saíram misturados nas primeiras 70 frações.

Da fração 1 até a fração 22 não se observou aparecimento de alcaloide por cromatografia de camada delgada revelada com reativo de Dragendorff. Na Tabela 4 são apresentados os principais dados da coluna feita com o extrato bruto 5.

TABELA 4

Eluente	Frações coletadas	Frações reunidas	Peso (g)	Alcaloides presentes	Alcaloides isolados
CHCl <sub>3</sub>	1/10				
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 6%	11/50	1/22	1,236	-	-
		23/30	5,345	<u>5, 6, 9,</u> <u>28, 30, 32</u>	-
		31/46	0,656	idem	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 9%	51/74	47/66	1,655	<u>13</u>	-
		67/73	0,300	<u>13</u>	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 12%	75/102	74/78	0,350	<u>13 e 19</u>	-
		79/109	3,767	<u>19</u>	<u>19</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 15%	103/135	110/118	0,950	<u>19 e 35</u>	-
		119/135	1,641	<u>19 e 35</u>	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 20%	136/157	136/157	2,990	<u>19 e 35</u>	<u>35</u>
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 30%	158/185	158/181	1,950	<u>19 e 35</u>	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 40%	186/201	182/185	1,700	<u>19 e 35</u>	-
CHCl <sub>3</sub> /MeOH 50%	202/225	202/225	0,050	-	-
n-Butanol	226/238	226/238	0,030	-	-

Para o isolamento do composto pruinósina 19, usou-se placas preparativas PF eluidas em  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (25%) e atmosfera de  $\text{NH}_3$ . Desta maneira, para cada 0,450 g da fração 79/109 isolou-se 0,120 g de pruinósina 19 totalizando-se aproximadamente 1 g do composto.

O composto pruinósidina 35 foi isolado, inicialmente, por placas PF no sistema  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (40:20:2), resultando 0,040 g do composto para cada 0,400 g da fração 136/157.

A pruinósidina 35 também foi isolada da mesma fração 136/157 com maior rendimento da seguinte maneira: 1,0 g da fração foi dissolvida em ácido acético 10% e a solução deixada em repouso por uma noite em geladeira; em seguida o precipitado foi filtrado e feitas extrações em pH = 2, 7, e 9-10 com  $\text{CHCl}_3$ ; novamente o pH foi levado a 7, efetuando-se extração com n-butanol resultando 0,400 g de uma mistura de compostos contendo um único alcaloide; purificação por placas PF no sistema  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (40:20:2) desta mistura, resultou 0,160 g de pruinósidina 35.

#### III.4. Propriedades Físicas e Espectros dos Alcaloides Isolados

Todos os compostos isolados de Aspidosperma pruinósum são alcaloides indólicos.

A seguir são apresentadas as propriedades físicas e os dados dos espectros de ultravioleta (U.V.), infravermelho (I.V.), ressonância magnética de próton (RMN de  $^1\text{H}$ ), ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) e espectro de massa (E.M.) dos compostos isolados.

##### III.4.1. Yohimbina 5

P.F. 221,0 - 221,8°C (MeOH) - literatura<sup>75</sup> : 235°-236°C

$|\alpha|_D^{20} = +46,5^{\circ}$  (etanol) - literatura<sup>54</sup> :  $|\alpha|_D^{20} = +47^{\circ}$  (etanol)

U.V. (etanol)

$\lambda$  max - neutro: 225 nm (log  $\epsilon$  4,56), 281 nm (log  $\epsilon$  3,88),

289 nm ( $\log \epsilon$  3,81).

I.V. ( $\text{CHCl}_3$ )

$3600 \text{ cm}^{-1}$  (OH),  $3470 \text{ cm}^{-1}$  (NH), 2850, 2800 e  $2750 \text{ cm}^{-1}$  (bandas de Bohlmann),  $1720 \text{ cm}^{-1}$  (C=O).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

7,94 ppm	1H	<u>s</u>	NH indólico
7,70-7,10 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
4,34 ppm	1H	<u>m</u>	H do $\text{C}_{17}$
3,90 ppm	3H	<u>s</u>	<u><math>\text{CH}_3\text{OCO}</math></u>

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 175,2, 135,8, 134,3, 127,1,

107,8 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^2$ : 121,0, 119,0, 117,8, 110,5 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2$   $\text{sp}^3$ : 61,1, 52,8, 34,0, 31,4, 23,2, 21,6 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^3$ : 66,9, 59,7, 52,2, 40,4, 36,5 ppm

carbono do tipo  $\text{CH}_3$ : 51,7 ppm

E.M.

m/e: 354 ( $\text{M}^+$ , 100%), 353 (99%), 323 (10,5%), 295 (12%), 184 (23,5%),  
170 (28%), 169 (38%), 156 (20,5%).

Análise Elementar:  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$

Calculado	Encontrado
% C = 71,16	% C = 71,52
% H = 7,39	% H = 7,41
% N = 7,90	% N = 7,89

III.4.2.  $\beta$ -Yohimbina 6

P.F.  $230,3^{\circ}$ - $230,9^{\circ}\text{C}$  (MeOH) - literatura <sup>76</sup>:  $236^{\circ}$ - $237^{\circ}\text{C}$ .

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -18,3^{\circ}$  (etanol) - literatura <sup>57</sup>:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -18^{\circ}$  (etanol)

U.V. (etanol)

$\lambda$   $\bar{m}$ ax - neutro: 225 nm (log  $\epsilon$  4,54), 281 nm (log  $\epsilon$  3,87),  
289 nm (log  $\epsilon$  3,79).

I.V. (CHCl<sub>3</sub>)

3590 cm<sup>-1</sup> (OH), 3460 cm<sup>-1</sup> (NH), 2850, 2800 e 2750 cm<sup>-1</sup> (bandas de Bohlmann), 1730 cm<sup>-1</sup> (C=O).

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,05 ppm	1H	<u>s</u> l	NH ind $\bar{o}$ lico
7,50-6,82 ppm	4H	<u>m</u>	H arom $\bar{a}$ ticos
3,78 ppm	4H	<u>s</u> com base larga	CH <sub>3</sub> OCO + H do C <sub>17</sub>
2,25 ppm	1H	<u>s</u>	OH

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)

carbonos totalmente substituidos sp<sup>2</sup>: 175,1, 136,0, 134,0, 127,0,  
107,5 ppm  
carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 121,0, 118,9, 117,8, 110,8 ppm  
carbonos do tipo CH<sub>2</sub> sp<sup>3</sup>: 60,7, 52,7, 33,9, 33,5, 27,8, 21,5 ppm  
carbonos do tipo CH sp<sup>3</sup>: 71,8, 59,4, 57,2, 41,8, 39,3 ppm  
carbono do tipo CH<sub>3</sub>: 51,7 ppm

E.M.

m/e: 354 (M<sup>+</sup>, 100%), 353 (97%), 323 (7,6%), 295 (34%), 184 (55%),  
170 (61%), 169 (68%), 156 (46%).

III.4.3. 10-metoxi-geissoschizol 13

P.F. 89,8<sup>o</sup>-91,0<sup>o</sup>C (etanol) - literatura<sup>L</sup>: 181<sup>o</sup>-182,5<sup>o</sup>C (etanol)  
| $\alpha$ |<sub>D</sub><sup>20</sup> = -37,4<sup>o</sup> (piridina) - literatura<sup>L</sup>: | $\alpha$ |<sub>D</sub><sup>20</sup> = -42<sup>o</sup> (piridina)

U.V. (etanol)

$\lambda$   $\bar{m}$ ax - neutro: 225 nm (log  $\epsilon$  4,44), 280 nm (log  $\epsilon$  3,95),  
296 nm (log  $\epsilon$  3,85).

I.V. (CHCl<sub>3</sub>)

3600 cm<sup>-1</sup> (OH), 3450 cm<sup>-1</sup> (NH)

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,36 ppm	1H	<u>s</u> l	NH indólico
7,30 ppm	1H	<u>d</u> , J = 9Hz	H do C <sub>12</sub>
6,84 ppm	1H	<u>dd</u> , J = 9Hz J = 3Hz	H do C <sub>11</sub>
7,00 ppm	1H	<u>d</u> , J = 3Hz	H do C <sub>9</sub>
5,52 ppm	1H	<u>q</u> , J = 7Hz	H do C <sub>19</sub>
4,15 ppm	1H	<u>m</u>	H do C <sub>3</sub>
3,90 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> OCO
2,50 ppm	1H	<u>s</u>	OH
1,65 ppm	3H	<u>d</u> , J = 7Hz	3H do C <sub>18</sub>

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + gotas de CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)

10,6 ppm	1H	<u>s</u> l	NH indólico
7,27 ppm	1H	<u>d</u> , J = 9 Hz	H do C <sub>12</sub>
6,87 ppm	1H	<u>d</u> , J = 3 Hz	H do C <sub>11</sub>
6,70 ppm	1H	<u>s</u>	H do C <sub>9</sub>
5,64 ppm	1H	<u>q</u> , J = 7 Hz	H do C <sub>19</sub>
3,82 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> O-
1,45 ppm	3H	<u>d</u> , J = 7 Hz	3H do C <sub>18</sub>

E.M.

m/e: 326 (M<sup>+</sup>, 100%), 325 (98%), 311 (25%), 296 (50%), 281 (82%), 267 (42%), 253 (37%), 212 (25%), 200 (80%), 199 (82%), 186 (80%).

RMN de <sup>13</sup>C

carbonos totalmente substituídos sp<sup>2</sup>: 153,7, 136,8, 135,3, 130,9,  
127,8, 107,0 ppm

carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 120,2, 111,5, 110,8, 100,2 ppm

carbonos do tipo CH<sub>2</sub> sp<sup>3</sup>: 61,3, 53,5, 51,2, 36,1, 32,7, 18,4 ppm

carbonos do tipo CH sp<sup>3</sup>: 54,1, 31,8 ppm

carbonos do tipo CH<sub>3</sub>: 55,9, 13,0 ppm.

#### III.4.4. 10-metoxi-diidrocorinanteol 9

P.F. 158,2<sup>o</sup>-159,6<sup>o</sup>C (benzeno) - literatura<sup>1</sup>: 153<sup>o</sup>-156<sup>o</sup>C (benzeno)

$[\alpha]_D^{20} = -17,0^{\circ}$  (piridina) - literatura<sup>58</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -16,3^{\circ}$  (piridina)

U.V. (etanol)

$\lambda$  m $\bar{a}$ x - neutro: 225 nm (log  $\epsilon$  4,43), 279 nm (log  $\epsilon$  3,91),  $\approx$  295 nm  
(log  $\epsilon$  3,82)

I.V. (CHCl<sub>3</sub>)

3490 cm<sup>-1</sup> (OH), 3300 cm<sup>-1</sup> (NH), 2850, 2820 e 2780 cm<sup>-1</sup> (bandas de  
Bohlmann)

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,36 ppm	1H	<u>s</u> <u>l</u>	NH ind $\bar{o}$ lico
7,28 ppm	1H	<u>d</u> , J = 9Hz	H do C <sub>12</sub>
6,98 ppm	1H	<u>d</u> , J = 3Hz	H do C <sub>9</sub>
6,81 ppm	1H	<u>dd</u> , J = 9Hz J = 3Hz	H do C <sub>11</sub>
3,88 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> O-
3,75 ppm	2H	<u>m</u>	2H do C <sub>17</sub>
2,75 ppm	1H	<u>s</u>	OH
1,00-0,75 ppm	3H	<u>s</u> <u>l</u>	3H do C <sub>18</sub>

E.M.

m/e: 328 (M<sup>+</sup>, 98%), 327 (100%), 313 (23%), 299 (29%), 297 (23%),  
283 (50%), 214 (33%), 200 (69%), 199 (63%), 186 (52%).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)

carbonos totalmente substituidos sp<sup>2</sup>: 153,6, 135,8, 131,2, 127,5,  
107,2 ppm

carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 111,4, 110,6, 100,3 ppm

carbonos do tipo CH  $sp^3$ : 60,1, 41,5, 37,0 ppm

carbonos do tipo CH<sub>2</sub>  $sp^3$ : 59,8, 52,9, 35,4, 35,1, 23,4, 21,6 ppm

carbonos do tipo CH<sub>3</sub>: 55,8, 11,0 ppm.

Análise Elementar: C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Calculado	Encontrado
% C = 73,14	% C = 73,25
% H = 8,59	% H = 8,45
% N = 8,53	% N = 7,79

### III.4.5. Normacusina-B 30

P.F. 239,6<sup>0</sup>-240,3<sup>0</sup>C (CHCl<sub>3</sub>) - literatura<sup>52</sup> : 245<sup>0</sup>-246<sup>0</sup> e 270<sup>0</sup>-272<sup>0</sup>  
(MeOH)

$[\alpha]_D^{20} = +38^0$  (MeOH) - literatura<sup>27</sup> :  $[\alpha]_D^{20} = +38^0$  (MeOH)

#### U.V. (etanol)

$\lambda$  máx. - neutro: 225 nm (log  $\epsilon$  4,50), 278 nm (log  $\epsilon$  3,82), 289 nm  
(log  $\epsilon$  3,73)

#### I.V. (KBr)

3370 e 3220  $cm^{-1}$  (NH, OH)

#### RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD)

7,55-7,05 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
5,46 ppm	1H	<u>q</u> , J = 6,5 Hz	H do C <sub>19</sub>
1,65 ppm	3H	<u>d</u> , J = 6,5 Hz	3H do C <sub>18</sub>

#### RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>/MeOH)

carbonos totalmente substituídos  $sp^2$ : 136,8, 136,5, 132,8, 127,1,  
103,8 ppm

carbonos do tipo CH  $sp^2$ : 121,5, 119,2, 117,9, 111,1 ppm

carbonos do tipo CH  $sp^3$ : 55,3, 50,3, 43,8, 27,2 ppm

carbonos do tipo CH<sub>2</sub>  $sp^3$ : 64,5, 55,0, 32,8, 26,5 ppm

carbono do tipo CH<sub>3</sub>: 12,7 ppm.



E.M.

m/e: 294 ( $M^+$ , 100%), 293 (93%), 279 (13%), 277 (12%), 263 (46%),  
249 (10%), 182 (16%), 169 (84%), 168 (69%).

III.4.6. Compactinervina 32

$[\alpha]_D^{20} = -508^0$  (etanol) - literatura<sup>52</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -515^0$  (etanol).

U.V. (etanol)

$\lambda_{\text{m\bar{a}x}}$  - neutro: 225 nm ( $\log \epsilon$  4,06), 293 nm ( $\log \epsilon$  3,82), 330 nm  
( $\log \epsilon$  4,00).

I.V. ( $\text{CHCl}_3$ )

3530  $\text{cm}^{-1}$  (OH), 3420  $\text{cm}^{-1}$  (NH), 1730 (C=O),  
1600  $\text{cm}^{-1}$  (duplas conjugadas).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

8,54 ppm	1H	<u>s</u> l	NH ind\~{o}lico
7,34-6,80 ppm	4H	<u>m</u>	H arom\~{a}ticos
3,95 ppm	4H	<u>s</u>	$\text{CH}_3\text{O}_2\text{C} + \text{1H}$
3,50 ppm	-	<u>q</u> , $J \approx 6\text{Hz}$	$\text{CH}-\text{CH}_3$
3,35 ppm	-	<u>m</u>	-OH
1,12 ppm	3H	<u>d</u> , $J \approx 6\text{Hz}$	$\text{CH}_3-\text{CH}-$

E.M.

m/e 356: ( $M^+$ , 100%), 283 (69%), 268 (54%), 257 (43%), 226 (94%), 225  
(87%), 209 (43%), 194 (36%), 180 (29%), 167 (40%), 154 (22%).

III.4.7. 10-Metoxi-yohimbina 28

$[\alpha]_D^{20} = +56,6^0$  (etanol)

U.V. (etanol)

$\lambda_{\text{m\bar{a}x}}$  - neutro: 225 nm ( $\log \epsilon$  4,46), 279 nm ( $\log \epsilon$  3,92), ~294 nm  
( $\log \epsilon$  3,87).

I.V. (CHCl<sub>3</sub>)

3500 cm<sup>-1</sup> (OH), 3400 cm<sup>-1</sup> (NH), 2880, 2830 e 2780 cm<sup>-1</sup> (bandas de Bohlmann), 1710 cm<sup>-1</sup> (C=O).

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,00 ppm	1H	<u>sl</u>	NH indólico
7,22 ppm	1H	<u>d</u> , J = 9Hz	H do C <sub>12</sub>
6,95 ppm	1H	<u>d</u> , J = 3Hz	H do C <sub>9</sub>
6,77 ppm	1H	<u>dd</u> , J = 9Hz J = 3Hz	H do C <sub>11</sub>
4,15 ppm	1H	<u>m</u>	H do C <sub>17</sub>
3,88 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> O-
3,80 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> OCO
2,80 ppm	1H	<u>s</u>	OH

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)

carbonos totalmente substituídos sp<sup>2</sup>: 175,2, 153,5, 135,3, 130,9, 127,5, 107,6 ppm.

carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 111,2, 110,7, 100,3 ppm.

carbonos do tipo CH sp<sup>3</sup>: 66,9, 59,7, 52,2, 40,4, 36,4 ppm

carbonos do tipo CH<sub>2</sub> sp<sup>3</sup>: 61,1, 52,6, 34,0, 31,4, 23,2, 21,6 ppm

carbonos do tipo CH<sub>3</sub>: 55,7, 51,8 ppm.

E.M.

m/e: 384 (M<sup>+</sup>, 100%), 383 (93%), 354 (28%), 353 (33%), 325 (8%),  
214 (33%), 200 (40%), 199 (50%), 192 (20%), 186 (32%),  
174 (26%), 173 (21%).

III.4.8. Pruinosidina 35U.V. (etanol)

λ máx - neutro: ~220 nm (log ε 4,27), 271 nm (log ε 3,76), 295 nm  
(log ε 3,52), 307 nm (log ε 3,45).

I.V. (KBr)

3370  $\text{cm}^{-1}$  (OH), 3220  $\text{cm}^{-1}$  (NH).

E.M.

m/e: 341 ( $\text{M}^+$ , 4%), 340 (16%), 326 (100%), 325 (97%), 311 (12%),  
295 (25%), 281 (46%), 267 (14%), 253 (12%), 215 (28%), 214 (9%),  
200 (24%), 199 (39%), 186 (33%).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

7,35 ppm	1H	<u>d</u> , J = 9Hz	H do $\text{C}_{12}$
7,06 ppm	1H	<u>d</u> , J = 3Hz	H do $\text{C}_9$
6,83 ppm	1H	<u>dd</u> , J = 9Hz J = 3Hz	H do $\text{C}_{11}$
5,88 ppm	1H	<u>q</u> , J = 7Hz	H do $\text{C}_{19}$
3,79 ppm	3H	<u>s</u>	$\text{CH}_3\text{O}-$
3,16 ppm	3H	<u>s</u>	$\text{CH}_3-\text{N}^+$
1,74 ppm	3H	<u>d</u> , J = 7Hz	3H do $\text{C}_{18}$

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ )

carbonos totalmente substituidos: 153,9, 131,9, 128,6, 127,8, 125,5,

103,2 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH sp}^2$ : 132,3, 112,7, 112,5, 100,0 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH sp}^3$ : 65,3, 30,6 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2 \text{ sp}^3$ : 64,5, 59,0, 35,5, 30,9, 17,4 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_3$ : 48,0, 55,7, 13,3 ppm.

III.4.9. Pruinosina 19U.V. (etanol)

$\lambda$   $\bar{m}\bar{a}x$  - neutro: 253 nm ( $\log \epsilon$  4,29), 260 nm ( $\log \epsilon$  4,28), 283 nm  
( $\log \epsilon$  4,00), 307 nm ( $\log \epsilon$  4,10), 329 nm ( $\log \epsilon$  3,55).

$\lambda$   $\bar{m}\bar{a}x$  -  $\bar{a}$ cido: 216 nm ( $\log \epsilon$  4,17), 252 nm ( $\log \epsilon$  4,31), 307 nm  
( $\log \epsilon$  4,18).

$\lambda$  máx - básico: 250 nm ( $\log \epsilon$  4,05), 283 nm ( $\log \epsilon$  4,48), 330 nm ( $\log \epsilon$  3,93).

I.V. ( $\text{CDCl}_3$ )

1720  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1630  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, duplas ligações conjugadas).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

8,1 - 7,2 ppm 6H m H aromáticos

6,1 - 5,13 ppm 3H m  $\text{CH}_2=\text{CH}-$

3,62 ppm 3H s  $\text{CH}_3\text{OCO}$

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 172,2, 143,4, 140,3, 133,5,  
130,3, 119,6 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^2$ : 134,7, 130,9, 122,2, 121,5, 115,0, 113,2 ppm

carbono do tipo  $\text{CH}_2$   $\text{sp}^2$ : 119,2 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^3$ : 47,4, 41,2, 33,6 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2$   $\text{sp}^3$ : 59,9, 58,7, 26,2 ppm

carbono do tipo  $\text{CH}_3$ : 51,5 ppm

E.M.

m/e: 350 ( $\text{M}^+$ , 8%), 332 (8%), 291 (4%), 273 (12%), 261 (36%), 248 (22%),  
247 (100%), 246 (36%), 245 (19%), 233 (19%), 221 (27%), 219 (38%),  
207 (50%), 206 (21%), 182 (29%), 168 (12%), 167 (6%).

### III.5. Modificação de Estruturas de Alcaloides Isolados

#### III.5.1. Iodeto de $\text{N}_b$ -metil-10-metoxi-geissoschizol 34 ( $\text{X}^- = \text{I}^-$ )

0,130 g de 10-metoxi-geissoschizol 13 foram dissolvidas em 5 ml de MeOH e adicionados 1,5 ml de MeI. A reação foi acompanhada por cromatografia de camada delgada e após 2 hs de agitação à temperatura ambiente foram recuperadas 0,130 g de iodeto de  $\text{N}_b$ -metil-10-metoxi-geissoschizol 34.

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 153,9, 131,6, 128,2, 127,4,  
125,4, 103,4 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH sp}^2$ : 132,4, 112,6, 112,2, 100,0 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH sp}^3$ : 65,1, 30,8 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2 \text{ sp}^3$ : 64,4, 59,0, 35,2, 30,8, 17,3 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_3$ : 48,1, 55,7, 13,4 ppm.

III.5.2. Cloreto de  $\text{N}_b$ -metil-10-metoxi-geissoschizol 34 ( $\text{X}^- = \text{Cl}^-$ )

0,130 g do iodeto de  $\text{N}_b$ -metil-10-metoxi-geissoschizol 34- $\text{X}^- = \text{I}^-$  foram dissolvidas em 30 ml de MeOH e adicionou-se a solução 0,090 g de AgCl recentemente preparado, agitando-se durante 20 hs até a precipitação completa de todo AgI; o precipitado foi filtrado e o solvente eliminado em rotavapor resultando 0,120 g de cloreto de  $\text{N}_b$ -metil-10-metoxi-geissoschizol 34.

RMN de  $^1\text{H}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

7,35 ppm	1H	<u>d</u> , $J = 9 \text{ Hz}$	H do $\text{C}_{12}$
7,06 ppm	1H	<u>d</u> , $J = 3 \text{ Hz}$	H do $\text{C}_9$
6,83 ppm	1H	<u>dd</u> , $J \approx 9 \text{ Hz}$ , $J \approx 3 \text{ Hz}$	H do $\text{C}_{11}$
5,88 ppm	1H	<u>q</u> , $J \approx 7 \text{ Hz}$	H do $\text{C}_{19}$
3,79 ppm	3H	<u>s</u>	3H de $\text{CH}_3\text{O}-$
3,16 ppm	3H	<u>s</u>	3H de $\text{CH}_3-\text{N}^+$
1,74 ppm	3H	<u>d</u> , $J \approx 7 \text{ Hz}$	3H do $\text{C}_{18}$

III.5.3. Sitsirikina 24

0,360 g de pruinósina 19 foram dissolvidas em 5 ml de MeOH e adicionou-se a solução  $\text{NaBH}_4$  em excesso. A reação foi agitada à temperatura ambiente por 2 hs e acompanhada por cromatografia de camada delgada. Após a adição de 30 ml de água destilada, extraiu-se três vezes com 30 ml de  $\text{CHCl}_3$ . A reunião das fases orgânicas, após lavagem com água destilada e secagem com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$

anidro, foi concentrada fornecendo 0,250 g de um único composto.

P.F. 206,3<sup>0</sup>-207,0<sup>0</sup>C (MeOH/H<sub>2</sub>O) - literatura<sup>63</sup>: 206-208<sup>0</sup>C (MeOH).

$[\alpha]_D^{20} = -58,7^0$  (MeOH) - literatura<sup>63</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -58^0$  (MeOH).

U.V. (etanol)

$\lambda$  máx - neutro: 224 nm (log  $\epsilon$  4,56), 282 nm (log  $\epsilon$  3,87), 289 nm (log  $\epsilon$  3,80).

I.V. (CHCl<sub>3</sub>)

3460 cm<sup>-1</sup> (OH), 3360 cm<sup>-1</sup> (NH), 2840, 2800 e 2750 cm<sup>-1</sup> (bandas de Bohlmann), 1710 cm<sup>-1</sup> (C=O).

E.M.

m/e: 354 (M<sup>+</sup>, 100%), 353 (63%), 339 (4%), 323 (10%), 295 (3%),  
251 (60%), 223 (28%), 184 (44%), 170 (75%), 169 (35%),  
156 (56%).

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,20 ppm	1H	<u>s</u>	<u>NH</u> indólico
7,65-7,00 ppm	4H	<u>m</u>	<u>H</u> aromáticos
5,60-5,20 ppm	3H	<u>m</u>	<u>H</u> olefínicos
4,08-3,70 ppm	2H	<u>m</u>	<u>-CH<sub>2</sub>-OH</u>
3,68 ppm	3H	<u>s</u>	<u>CH<sub>3</sub>OCO</u>

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)

carbonos totalmente substituídos sp<sup>2</sup>: 174,1, 135,8, 133,9, 127,1  
108,0 ppm

carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 138,1, 121,3, 119,3, 118,0, 110,8 ppm

carbono do tipo CH<sub>2</sub> sp<sup>2</sup>: 118,0 ppm

carbonos do tipo CH sp<sup>3</sup>: 59,0, 48,1, 44,7, 40,5 ppm

carbonos do tipo CH<sub>2</sub> sp<sup>3</sup>: 62,2, 60,9, 52,6, 32,0, 21,5 ppm

carbono do tipo CH<sub>3</sub>: 51,7 ppm.

### III.5.4. 3,5,6-Trideuterio-sitsirikina 23

0,150 g de pruinósina 19, livre de água ou qualquer outro solvente, foram dissolvidas em 4 ml de  $\text{CH}_3\text{OD}$  e a esta solução adicionou-se 0,260 g de  $\text{NaBD}_4$  suspenso em THF seco. A reação foi agitada por 2 hs a temperatura ambiente sob atmosfera de  $\text{N}_2$ . Após a adição de 30 ml de água destilada, extraiu-se por três vezes com 20 ml de  $\text{CHCl}_3$ . A reunião das fases orgânicas foi lavada com água, secada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, e o solvente eliminado em rotavapor, resultando 0,103 g de uma mistura de dois alcalóides que foram separados por placas PF no sistema  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (15%) em cuba saturada com  $\text{NH}_3$ . Obteve-se 0,027 g do composto deuterado de  $R_f = 0,65$  e 0,017 g do de  $R_f = 0,50$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  20%, atmosfera de  $\text{NH}_3$ ). Os dois produtos apresentaram a mesma fragmentação no E.M. e algumas diferenças no RMN de  $^1\text{H}$ .

#### E.M.

m/e: 357 ( $\text{M}^+$ ), 356, 254, 227, 226, 187, 173, 172, 158.

#### RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) (Composto de $R_f = 0,65$ )

8,65 ppm	1H	<u>s</u> l	NH indólico
7,6-7,0 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
5,67-5,05 ppm	3H	<u>m</u>	H olefínicos
4,37 ppm	1H	t, $J \approx 7$ Hz	-
3,87 ppm	2H	<u>m</u>	-CH <sub>2</sub> -OH
3,67 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> OCO

#### RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) (Composto de $R_f = 0,50$ )

8,85 ppm	1H	<u>s</u> l	NH indólico
7,6-7,0 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
5,6-5,0 ppm	3H	<u>m</u>	H olefínicos

### III.5.5. Acetato de Sitsirikina 25

0,109 g de sitsirikina 24 foram dissolvidas em 3 ml de piridina seca

e adicionou-se 3 ml de anidrido acético. A reação ficou sob agitação por 10 hs a temperatura ambiente, adicionou-se 30 ml de água destilada e extraiu-se três vezes com 30 ml  $\text{CHCl}_3$ . As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água, secadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente retirado em rotavapor, resultando 0,101 g de um único composto.

P.F.  $197,7^\circ\text{-}198,5^\circ\text{C}$  (MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$ ) - literatura<sup>63</sup>:  $198^\circ$  (MeOH)

$[\alpha]_D^{20} = -25,9^\circ$  (MeOH) - literatura<sup>63</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -26^\circ$  (MeOH)

U.V. (etanol)

$\lambda$  máx - neutro: 225 nm (log  $\epsilon$  4,59), 280 nm (log  $\epsilon$  3,92), 288 nm  
(log  $\epsilon$  3,83)

I.V. ( $\text{CHCl}_3$ )

$3360\text{ cm}^{-1}$  (NH),  $1730\text{ cm}^{-1}$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$  (2 C=O), 1260 (OAc)

E.M.

m/e: 396 ( $\text{M}^+$ , 100%), 395 (87%), 381 (6%), 365 (8%), 355 (6%), 337  
(19%), 251 (71%), 223 (32%), 184 (45%), 170 (77%), 169 (35%),  
156 (41%).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

8,10 ppm	1H	<u>s</u> l	NH indólico
7,70-7,00 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
5,70-5,10 ppm	3H	<u>m</u>	H olefínicos
4,70-4,10 ppm	2H	<u>m</u>	-CH <sub>2</sub> -OAc
3,70 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> OCO
2,10 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> COO

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 170,7, 135,9, 133,9, 127,1,  
108,0, 171,9 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^2$ : 138,0, 121,3, 119,2, 117,9, 110,8 ppm

carbono do tipo CH<sub>2</sub>  $\text{sp}^2$ : 118,2 ppm



carbonos do tipo CH sp<sup>3</sup>: 59,5, 45,2, 44,4, 40,4 ppm

carbonos do tipo CH<sub>2</sub> sp<sup>3</sup>: 63,5, 61,1, 52,7, 31,3, 21,6 ppm

carbonos do tipo CH<sub>3</sub>: 51,7, 20,8 ppm.

Análise Elemental: C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Calculado	Encontrado
% C = 69,68	% C = 69,86
% H = 7,12	% H = 7,16
% N = 7,07	% N = 6,91

### III.5.6. Diidrositsirikina 26

0,100 g de sitsirikina 24 foram dissolvidas em 10 ml de etanol e deixadas sob agitação em contato com PtO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> a uma pressão de 40 psi por 8 hs a temperatura ambiente. A solução foi filtrada através de celite e o solvente retirado em rotavapor resultando 0,090 g de um único alcaloide.

P.F. 178,9<sup>o</sup>-180,3<sup>o</sup>C (acetona) - literatura<sup>63</sup>: 180<sup>o</sup>C (acetona)

$[\alpha]_D^{20} = -34^{\circ}$  (MeOH) - literatura<sup>63</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -55^{\circ}$  (MeOH)

#### U.V. (etanol)

$\lambda$  máx - neutro: 230 nm (log  $\epsilon$  4,48), 283 nm (log  $\epsilon$  3,82), 295 nm (log  $\epsilon$  3,75)

#### I.V. (KBr)

3390 cm<sup>-1</sup> (OH, NH), 2870, 2840 e 2780 cm<sup>-1</sup> (bandas de Bohlmann), 1730 cm<sup>-1</sup> (C=O).

#### E.M.

m/e: 356 (M<sup>+</sup>, 100%), 355 (82%), 341 (6,5%), 325 (5,5%), 253 (40%), 225 (20%), 184 (12%), 170 (20%), 169 (16%), 156 (12%).

#### RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,35 ppm	1H	<u>s</u>	NH indólico
7,6-6,8 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos

4,10-3,60 ppm	2H	<u>m</u>	$-\underline{\text{CH}}_2-\text{OH}$
3,55 ppm	3H	<u>s</u>	$\text{CH}_3\underline{\text{O}}\text{CO}$
0,92 ppm	3H	<u>s1</u>	$\text{CH}_3-\underline{\text{CH}}_2-$

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 174,1, 135,9, 134,3, 127,1,  
107,5 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^2$ : 121,0, 119,0, 117,9, 110,9 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^3$ : 59,5, 47,4, 39,8, 39,3 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2$   $\text{sp}^3$ : 61,0, 59,5, 52,7, 31,5, 22,9, 21,4 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_3$ : 51,6, 10,6 ppm.

III.5.7. Acetato de Dihidrositsirikina 27

0,043 g de dihidrositsirikina 26 foram dissolvidas em 2 ml de piridina seca, juntou-se 2 ml de anidrido acético e agitou-se a temperatura ambiente por 10 hs. 30 ml de água destilada foram adicionados e extraiu-se com 30 ml de  $\text{CHCl}_3$  por três vezes. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água, secadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente eliminado em rotavapor resultando 0,036 g de um único composto.

P.F. 186,1<sup>0</sup>-186,8<sup>0</sup>C (MeOH) - literatura<sup>63</sup> : 187<sup>0</sup>C (acetona/Et. Petr.)

$|\alpha|_D^{20} = -30,6^0$  (MeOH) - literatura<sup>63</sup> :  $|\alpha|_D^{20} = -31^0$  (MeOH)

U.V. (etanol)

$\lambda$  máx - neutro: 224 nm (log  $\epsilon$  4,64), 280 nm (log  $\epsilon$  4,00), 288 nm (log  $\epsilon$  3,92).

I.V. ( $\text{CHCl}_3$ )

3470  $\text{cm}^{-1}$  (NH), 2820, 2770 e 2720  $\text{cm}^{-1}$  (bandas de Bohlmann),  
1720  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1260  $\text{cm}^{-1}$  (OAc).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

8,14 ppm 1H s1 NH indólico

7,70-7,06 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
4,65-4,10 ppm	2H	<u>m</u>	-CH <sub>2</sub> -OAc
3,71 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> OCO
2,10 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> COO
1,04 ppm	3H	<u>sl</u>	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -

E.M.

m/e: 398 (M<sup>+</sup>, 45%), 397 (43%), 253 (100%), 251 (36%), 225 (61%),  
184 (27%), 170 (36%), 169 (23%), 156 (19%).

Análise Elementar: C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Calculado	Encontrado
% C = 69,34	% C = 68,22
% H = 7,59	% H = 7,55
% N = 7,03	% N = 6,86

III.6. Síntese de Moléculas-Modelo para RMN de <sup>13</sup>CIII.6.1. Harmano<sup>73</sup><sub>37</sub>

1,0 g de dl-triptofano 36 foi dissolvida em 40 ml de água destilada quente e a solução foi esfriada e tratada com 1,5 ml de acetaldeído num balão bem fechado, sob agitação, a temperatura ambiente por uma noite. O triptofano que não reagiu (0,350 g) foi filtrado, restando uma solução aquosa que foi levada à secura em rotavapor sob pressão reduzida e banho termostaticado a 70°C, obtendo-se 0,650 g de um único composto que foi novamente dissolvido em 250 ml de água fervente, adicionando-se 35 ml de uma solução de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> a 10% V/m e 7 ml de ácido acético glacial. A solução foi fervida por um minuto, es friada e tratada com solução diluída de sulfito de sódio, para remover o excesso de agente oxidante, sendo em seguida tornada fortemente alcalina com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Extraíu-se três vezes com 150 ml de éter etílico, recuperando-se 0,500 g de uma mistura que foi purificada por placas PF usando-se o sistema

$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (8%), obtendo-se 0,247 g de Harmano 37.

P.F.  $195,3^{\circ}\text{C}$ - $196,4^{\circ}\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3$ ) - literatura <sup>73</sup> :  $238^{\circ}\text{C}$  (etanol)

U.V. (etanol)

$\lambda$   $\bar{m}$ ax - neutro: 234 nm (log  $\epsilon$  4,55), 248 nm (log  $\epsilon$  4,36), 287 nm  
(log  $\epsilon$  4,10), 333 nm (log  $\epsilon$  3,67), 347 nm (log  $\epsilon$  3,66)

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

9,85 ppm	1H	<u>s</u>	NH indólico
8,55-7,02 ppm	6H	<u>m</u>	H aromáticos
2,85 ppm	3H	<u>s</u>	<u>CH<sub>3</sub>-C=</u>

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 141,4, 140,6, 134,7, 128,0,  
121,2 ppm

carbonos do tipo CH  $\text{sp}^2$ : 136,6, 127,8, 121,3, 119,3, 112,6, 111,5 ppm

carbono do tipo  $\text{CH}_3$ : 19,3 ppm.

### III.6.2. Cloreto de $\text{N}_b$ -metil-harmano 39

0,180 g de harman 37 foram dissolvidas em 5 ml de MeOH, adicionando-se 1 ml de MeI à solução e agitando-se por 2 hs a temperatura ambiente. O solvente foi eliminado em rotavapor, obtendo-se 0,180 g de iodeto de  $\text{N}_b$ -metil-harman 38, que foi redissolvido em MeOH. Adicionou-se 0,100 g de AgCl à solução e agitou-se por uma noite. Removeu-se o AgI precipitado e obteve-se 0,170 g de cloreto de  $\text{N}_b$ -metil-harmano 39.

P.F.  $286,0^{\circ}\text{C}$ - $286,7^{\circ}\text{C}$  (MeOH) - literatura <sup>74</sup> :  $288^{\circ}\text{C}$  (MeOH).

U.V. (etanol)

$\lambda$   $\bar{m}$ ax - neutro: 253 nm (log 4,42), 307 nm (log  $\epsilon$  4,22).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

8,67-7,40 ppm	6H	<u>m</u>	H aromáticos
---------------	----	----------	--------------

4,45 ppm	3H	<u>s</u>	<u>CH<sub>3</sub>-C=</u>
3,20 ppm	3H	<u>s</u>	<u>CH<sub>3</sub>-N<sup>+</sup></u>

RMN de <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD)

carbonos totalmente substituídos sp<sup>2</sup>: 144,9, 141,5, 136,0, 128,8,  
120,8 ppm  
carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 134,8, 132,3, 123,4, 122,4, 115,9, 113,2 ppm  
carbonos do tipo CH<sub>3</sub>: 45,0, 15,3 ppm.

III.6.3. N<sub>b</sub>-metil-tetrahydro-harmano<sub>40</sub>

0,150 g de cloreto de N<sub>b</sub>-metil-harmano<sub>39</sub> foram dissolvidas em 3 ml de MeOH, adicionando-se 0,200 g de NaBH<sub>4</sub> à solução. A reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 2 hs. Adicionou-se 15 ml de água destilada e extraiu-se três vezes com 15 ml de CHCl<sub>3</sub>. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água, secadas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente eliminado em rotavapor obtendo-se 0,130 g de um único produto por cromatografia de camada delgada.

P.F. 107,0<sup>o</sup>-108,0<sup>o</sup>C (CHCl<sub>3</sub>) - literatura<sup>72</sup>: 109<sup>o</sup>-110<sup>o</sup>C (xileno)

U.V. (etanol)

λ máx - neutro: 225 nm (log ε 4,52), 281 nm (log ε 3,84), 289 nm (log ε 3,76).

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)

8,26 ppm	1H	<u>s</u>	NH indólico
7,70-6,98 ppm	4H	<u>m</u>	H aromáticos
3,48 ppm	1H	<u>q</u> , J = 7 Hz	H do C <sub>3</sub>
3,05-2,64 ppm	4H	<u>m</u>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
2,48 ppm	3H	<u>s</u>	CH <sub>3</sub> -N
1,35 ppm	3H	<u>d</u> , J = 7 Hz	CH <sub>3</sub> -CH

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)

carbonos totalmente substituídos sp<sup>2</sup>: 135,8, 127,0, 107,4 ppm  
carbonos do tipo CH sp<sup>2</sup>: 121,1, 119,0, 117,8, 110,5 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2 \text{ sp}^3$ : 50,7, 20,3 ppm

carbono do tipo  $\text{CH sp}^3$ : 55,4 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_3$ : 42,1, 18,2 ppm.

#### III.6.4. Iodeto de $\text{N}_b, \text{N}_b$ -dimetil-tetrahydro-harmano<sup>41</sup>

0,130 g de  $\text{N}_b$ -metil-tetrahydro-harmano<sup>40</sup> foram dissolvidas em 3 ml de MeOH, adicionando-se à solução 1,0 ml de MeI. A reação foi agitada por 2 hs a temperatura ambiente. O solvente foi eliminado em rotavapor e obteve-se 0,130 g de um único produto.

P.F. 221,8<sup>0</sup>-222,4<sup>0</sup>C ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ ).

U.V. (etanol)

$\lambda$  máx - neutro: 218 nm (log  $\epsilon$  4,74), 270 nm (log  $\epsilon$  3,93),

277 nm (log  $\epsilon$  3,91), 298 nm (log  $\epsilon$  3,79).

RMN de  $^1\text{H}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

8,38 ppm	1H	<u>s</u> l	<u>NH</u> indólico
7,68-6,00 ppm	4H	<u>m</u>	<u>H</u> aromáticos
5,06 ppm	1H	<u>q</u> , J = 7 Hz	<u>H</u> do $\text{C}_3$
4,0-3,7 ppm	4H	<u>m</u>	<u>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-</u>
3,05 ppm	6H	<u>s</u>	<u>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-N+</u>
1,73 ppm	3H	<u>d</u> , J = 7 Hz	<u>CH<sub>3</sub>-CH</u>

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ )

carbonos totalmente substituídos  $\text{sp}^2$ : 136,6, 128,2, 124,9, 102,9 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH sp}^2$ : 122,6, 119,7, 117,9, 111,5 ppm

carbono do tipo  $\text{CH sp}^3$ : 65,6 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_2 \text{ sp}^3$ : 60,3, 17,6 ppm

carbonos do tipo  $\text{CH}_3$ : 51,4, 46,3, 15,1 ppm.

Análise Elemental:  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{I}$

Calculado                  Encontrado

% C = 49,13                  % C = 49,37

% H = 5,55      % H = 5,45

% N = 8,18      % N = 7,64

## CONCLUSÃO

O estudo da casca de Aspidosperma pruinatum permitiu o isolamento de seis alcaloides indólicos já conhecidos e tres compostos indólicos novos.

Este trabalho permitiu ainda concluir que esta espécie se enquadra na serie Nitida de acordo com a classificação de Gilbert pelo fato de seus alcaloides pertencerem ao grupo II, exceção feita à compactinervina 32.

As estruturas dos compostos novos foram totalmente elucidadas ficando bem estabelecida a estereoquímica dos mesmos com o auxilio fundamental de uma análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  que envolveu os produtos naturais isolados, seus derivados e substancias modelo que foram sintetizadas.

Esta análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  permitiu evidenciar certos efeitos bem interessantes na transformação das bases terciárias nos seus respectivos sais. Também através deste estudo sugerimos conformações mais estáveis para o 10-metoxi-geissoschizol 13 que possui um sistema do tipo cis-quinolizidina bem como para a pruinósidina 35 que teria o mesmo tipo de conformação, tendo como base os efeitos nos deslocamentos químicos dos carbonos  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  e  $\text{C}_{21}$  pela metilação do  $\text{N}_b$ .

Observamos que esta espécie dispõe de alcaloides mais polares em outros extratos que serão estudados oportunamente.

Para concluir, gostaríamos de frisar que submetemos alguns compostos isolados a ensaios biológicos com o Prof. Dr. Urbano M. F. Meirelles do Dep. de Farmacologia F.C.M. da UNICAMP, tendo o iodeto de  $\text{N}_b$ -metil-diidroscitsirikina apresentado efeito espasmolítico moderado atuando como anticolinérgico. Estes resultados recentes são bastante encorajadores para o prosseguimento do trabalho.



ESPECTROS

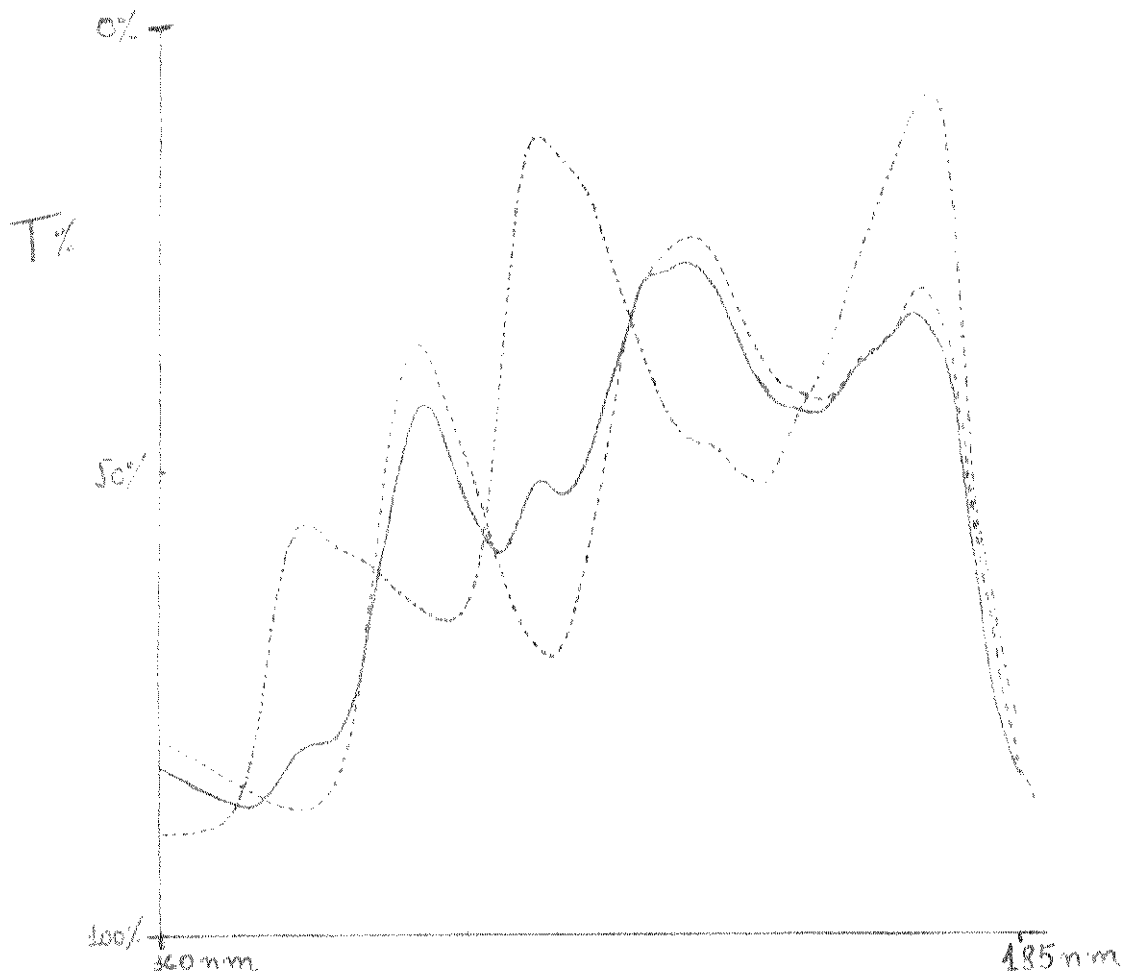


Fig. 1. Espectro de U.V. de prunosina 19.  
 — neutro; ---- ácido; -.-.-. básico.

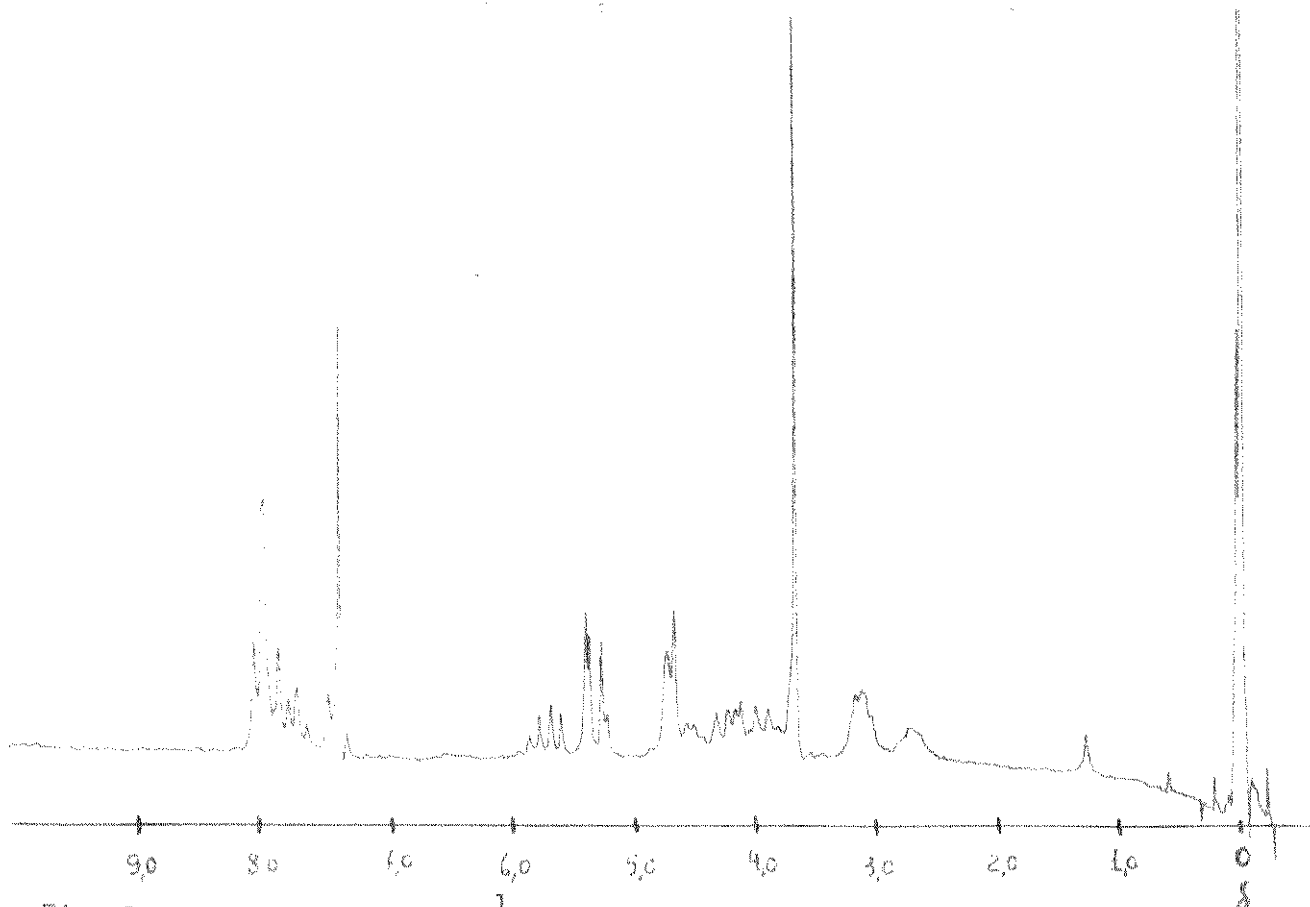


Fig. 2. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de prunosina 19  
 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>.

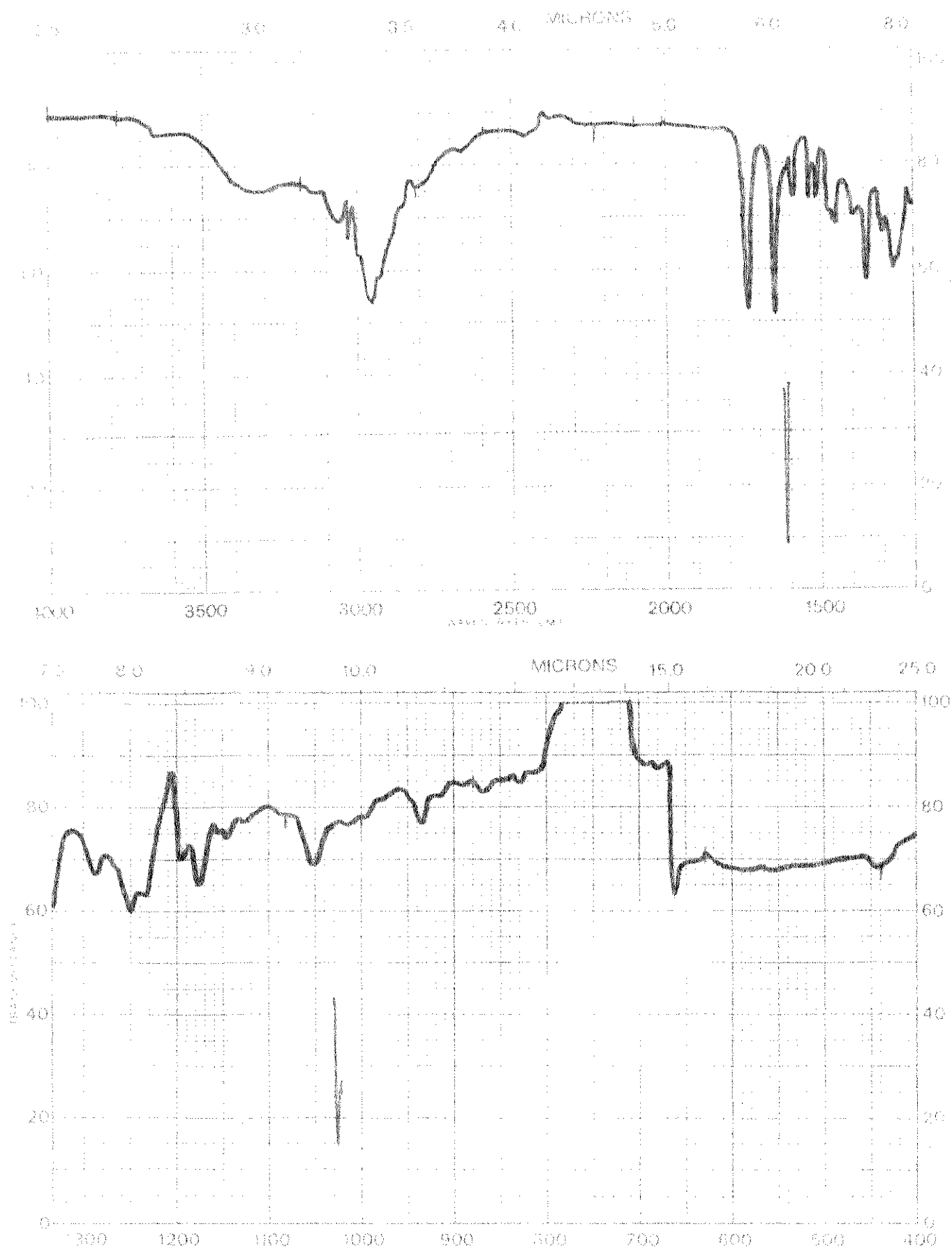


Fig. 3. Espectro de I.V. de prinosina 19  
- $\text{CHCl}_3$ .

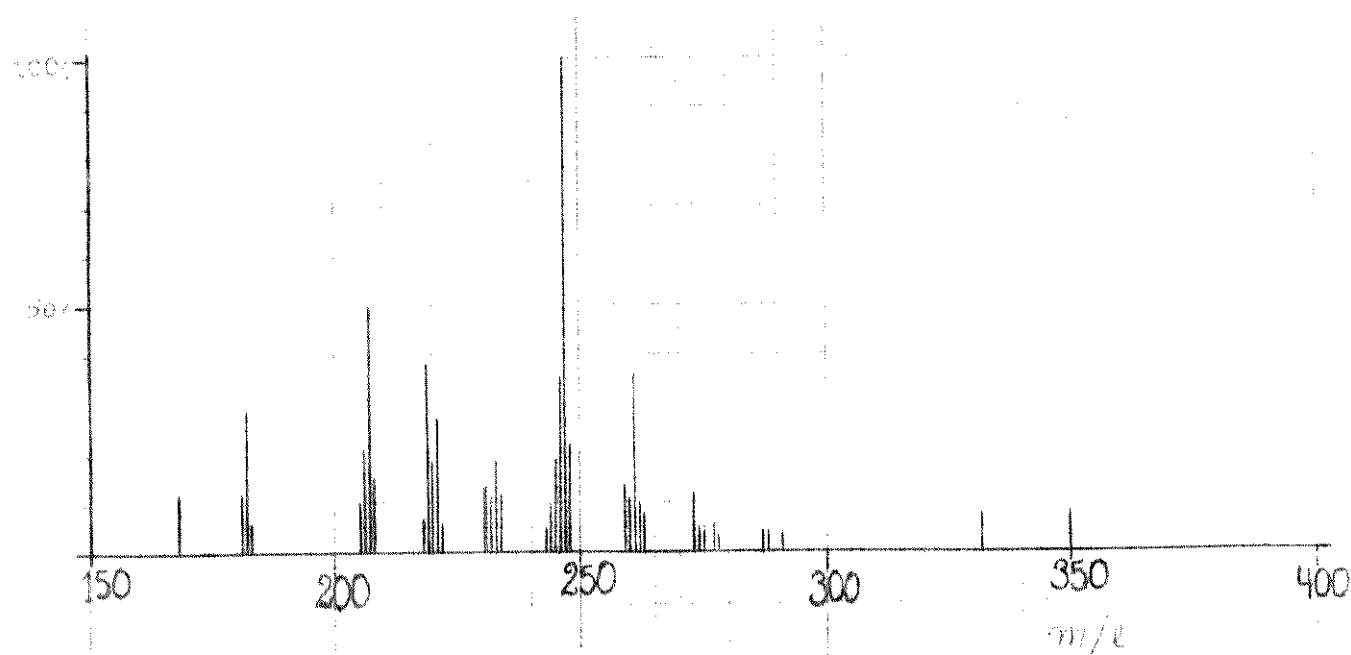


Fig. 4. Espectro de massa de prunosina 19.

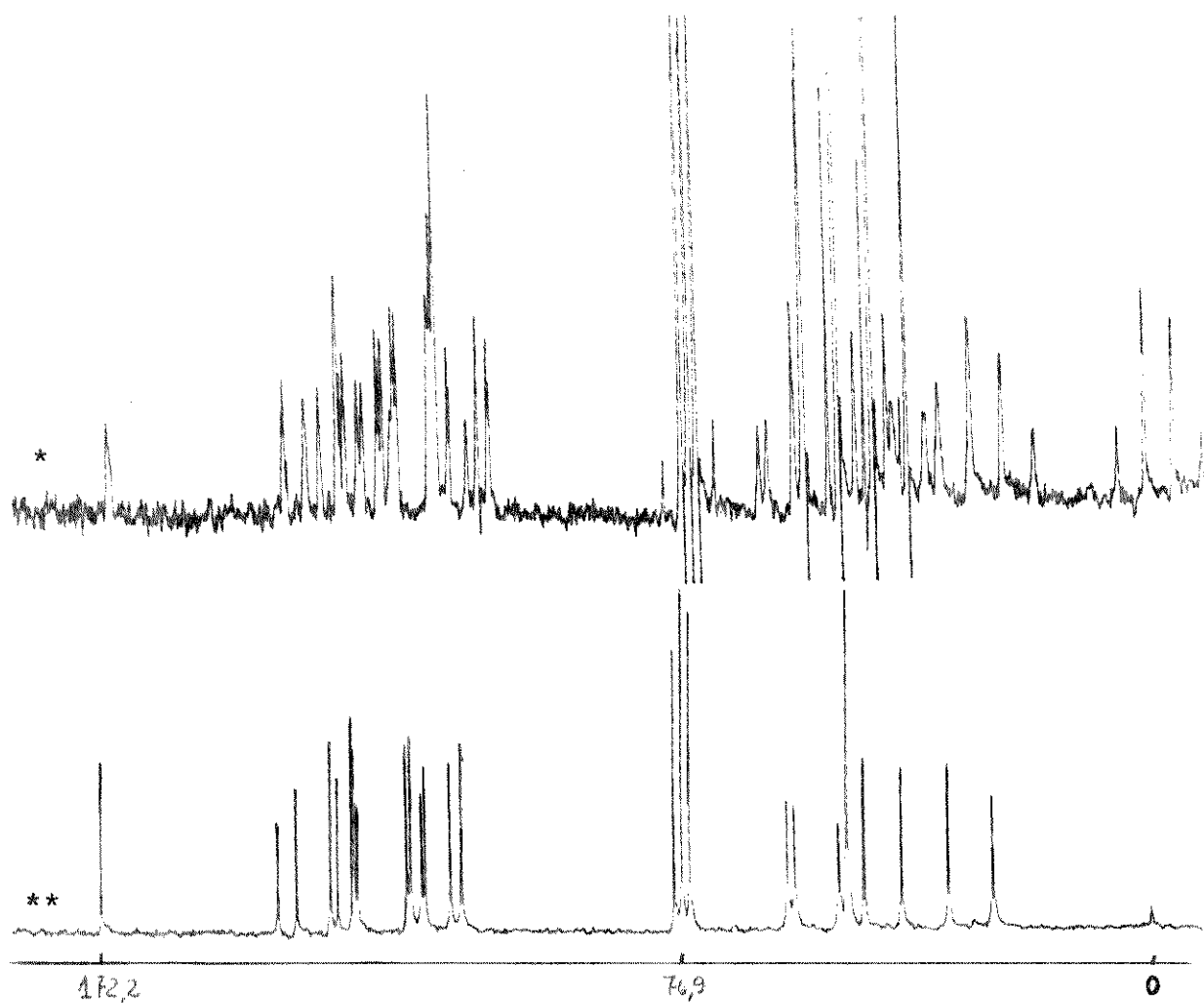


Fig. 5. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de prunosina 19  
 $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ ; \*D.A., \*\*D.F.L.

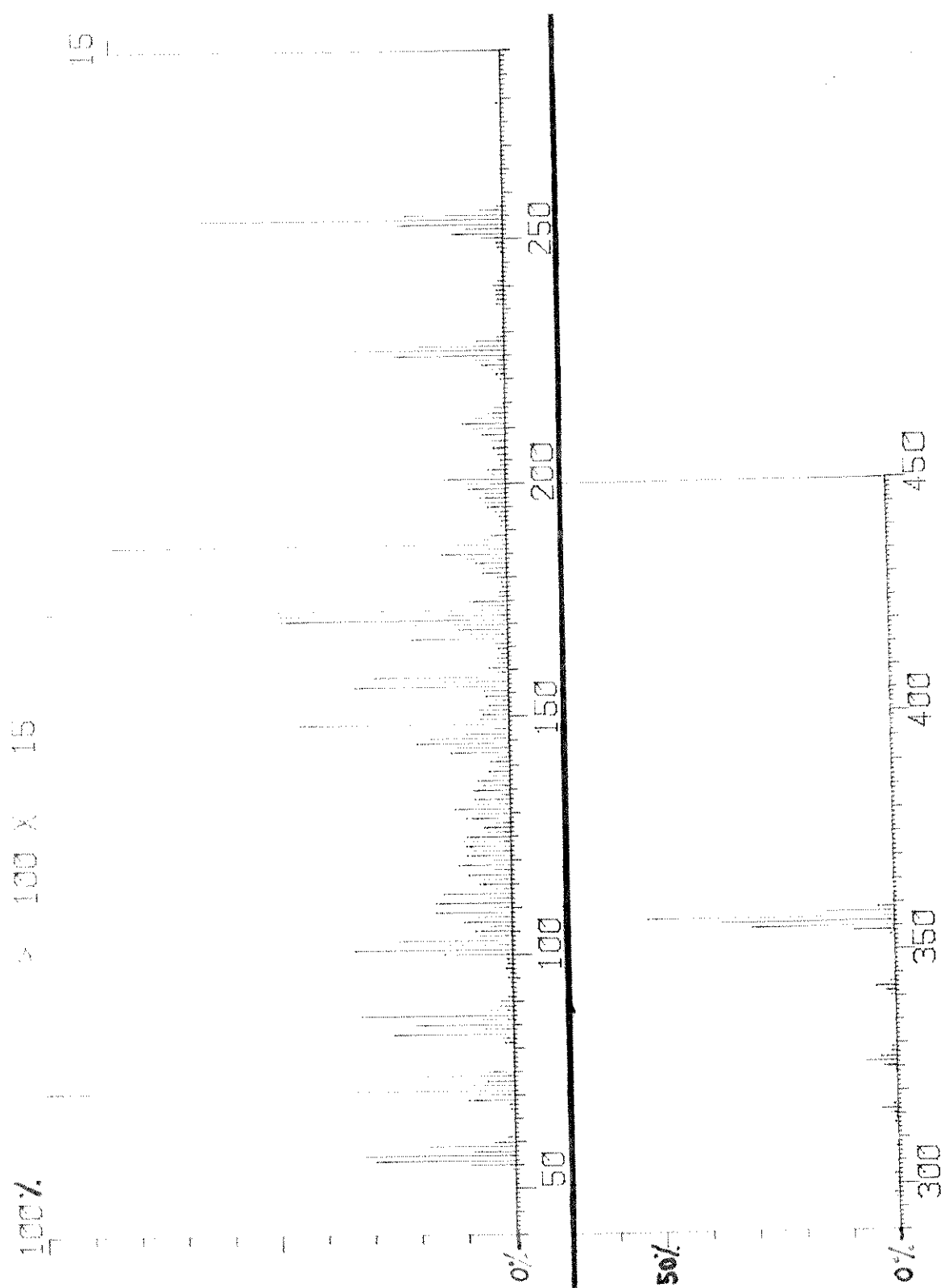


Fig. 6. Espectro de massa de 3,5,6-trideuterio-tetra hidro-pruinosina 23.

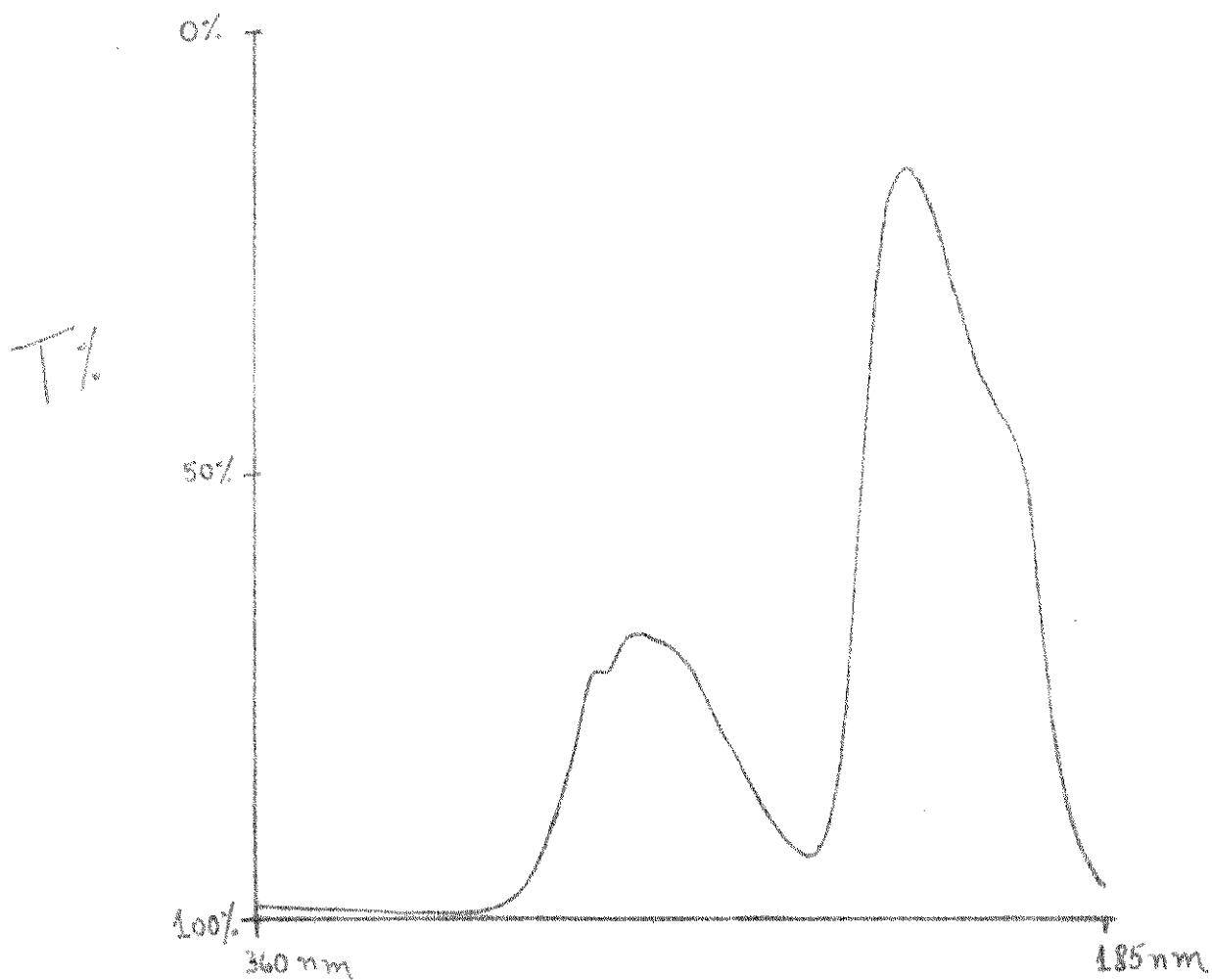


Fig. 7. Espectro de U.V. de sirsirikina 24  
meio neutro.

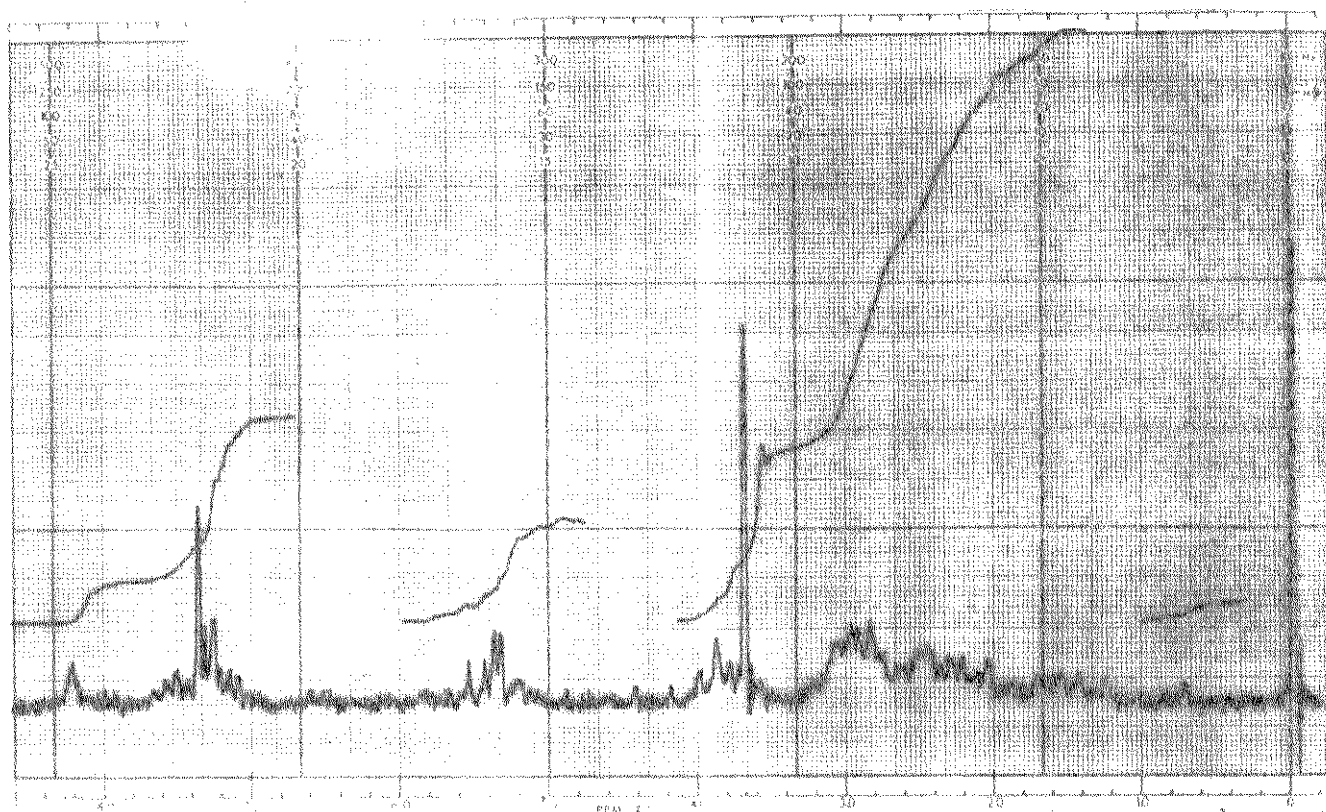


Fig. 8. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de sirsirikina 24  
60 MHz;  $\text{CDCl}_3$ .

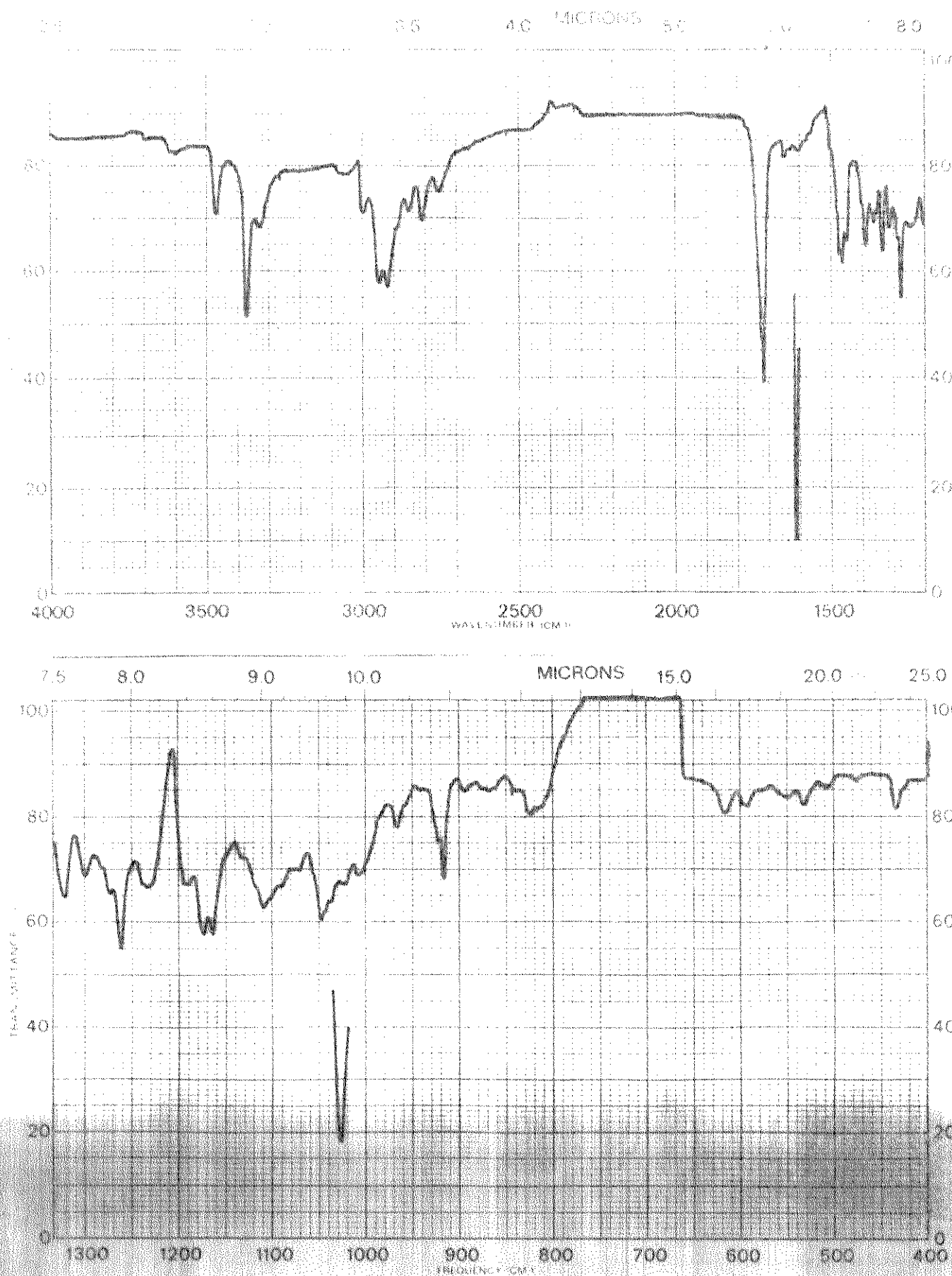


Fig. 9. Espectro de I.V. de sirsirikina 24  
- $\text{CHCl}_3$ .

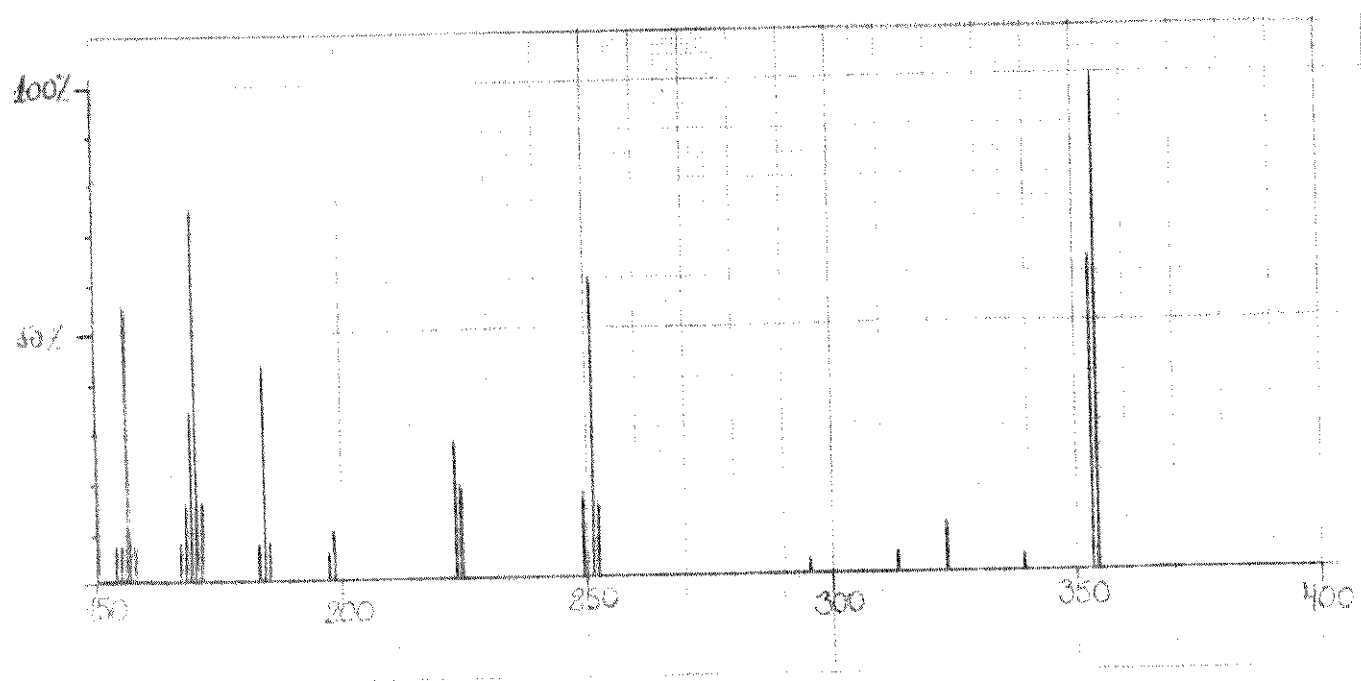


Fig. 10. Espectro de massa de sirsirikina 24.

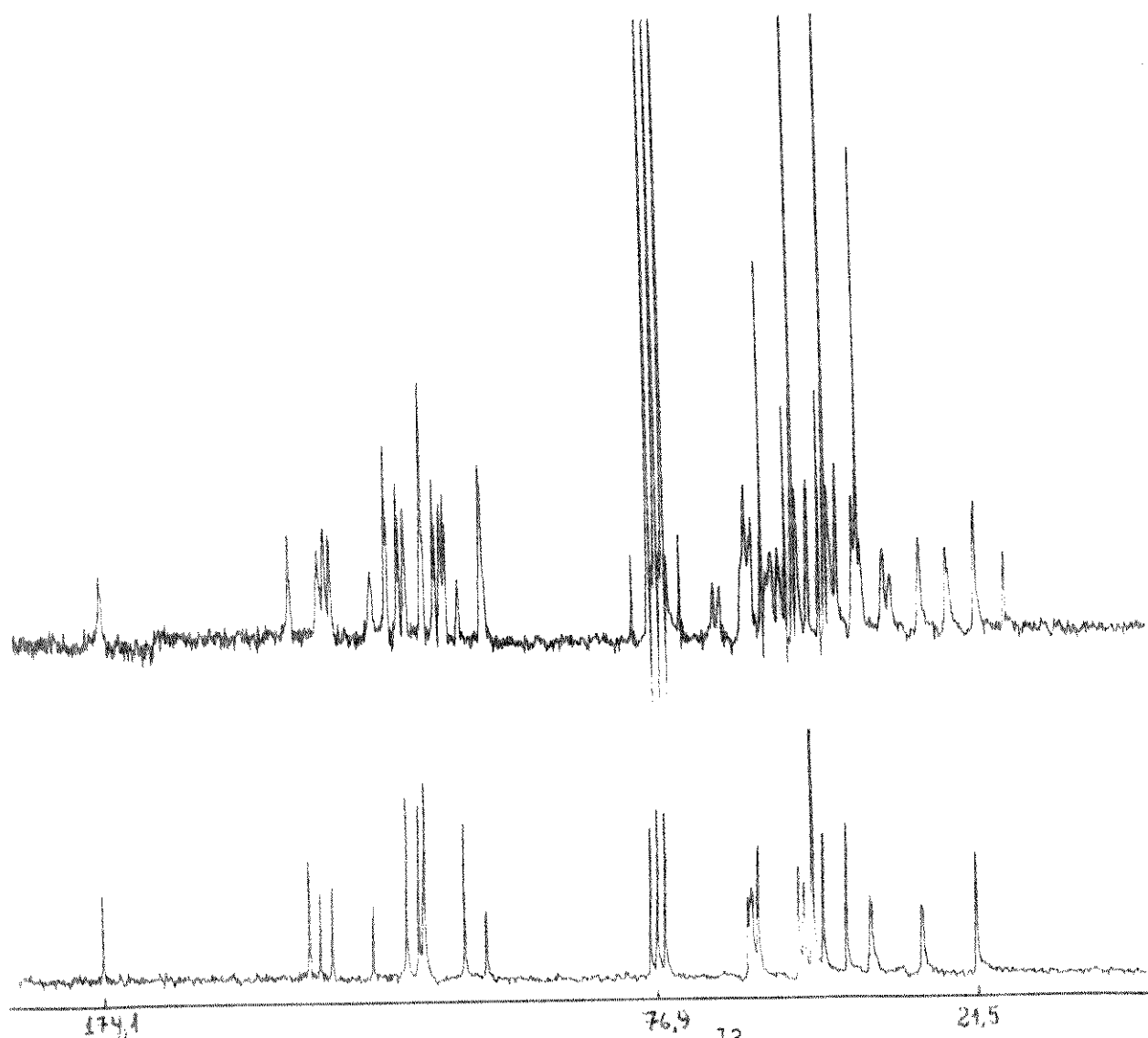


Fig. 11. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de sirsirikina 24  
 $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ ; \*D.A., \*\*D.F.L.



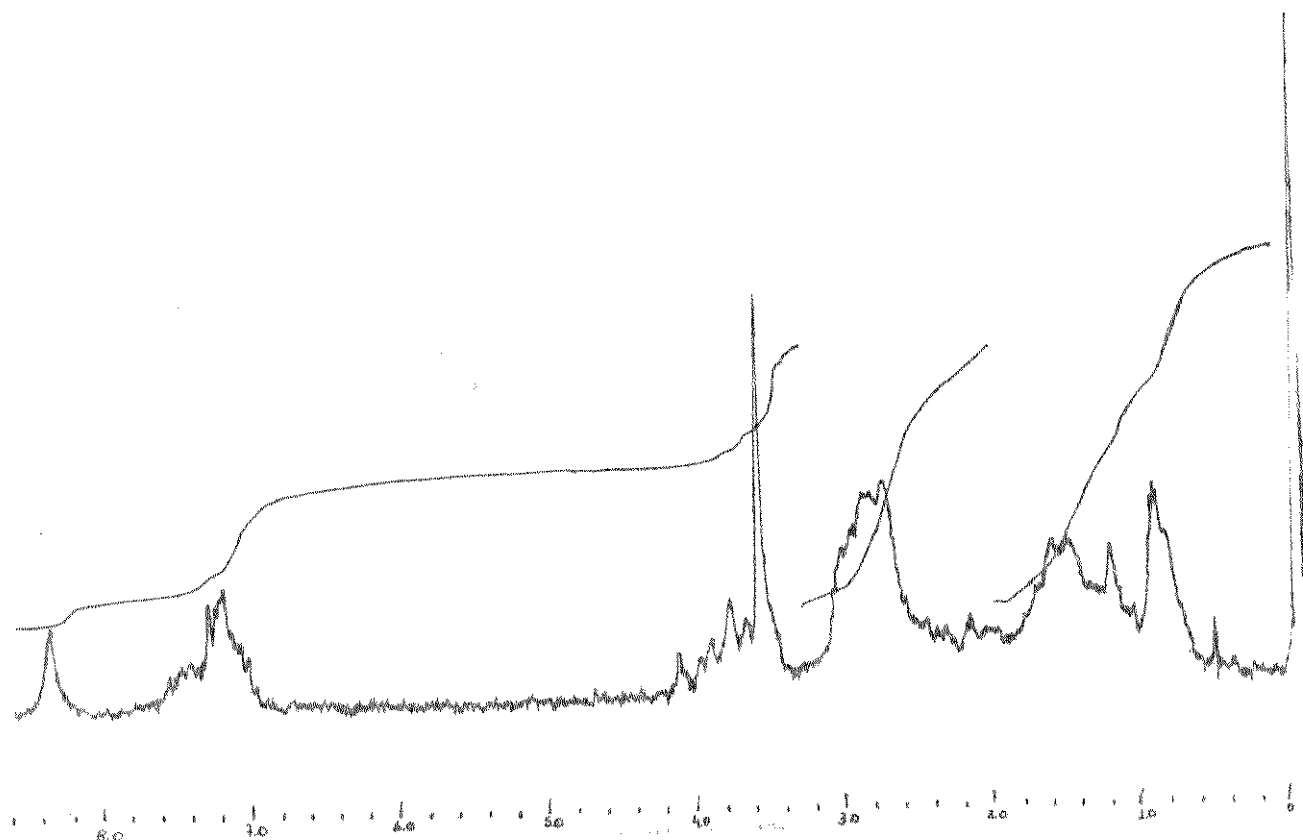


Fig. 12. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de diidrositsirikina 26  
60 MHz;  $\text{CDCl}_3$ .

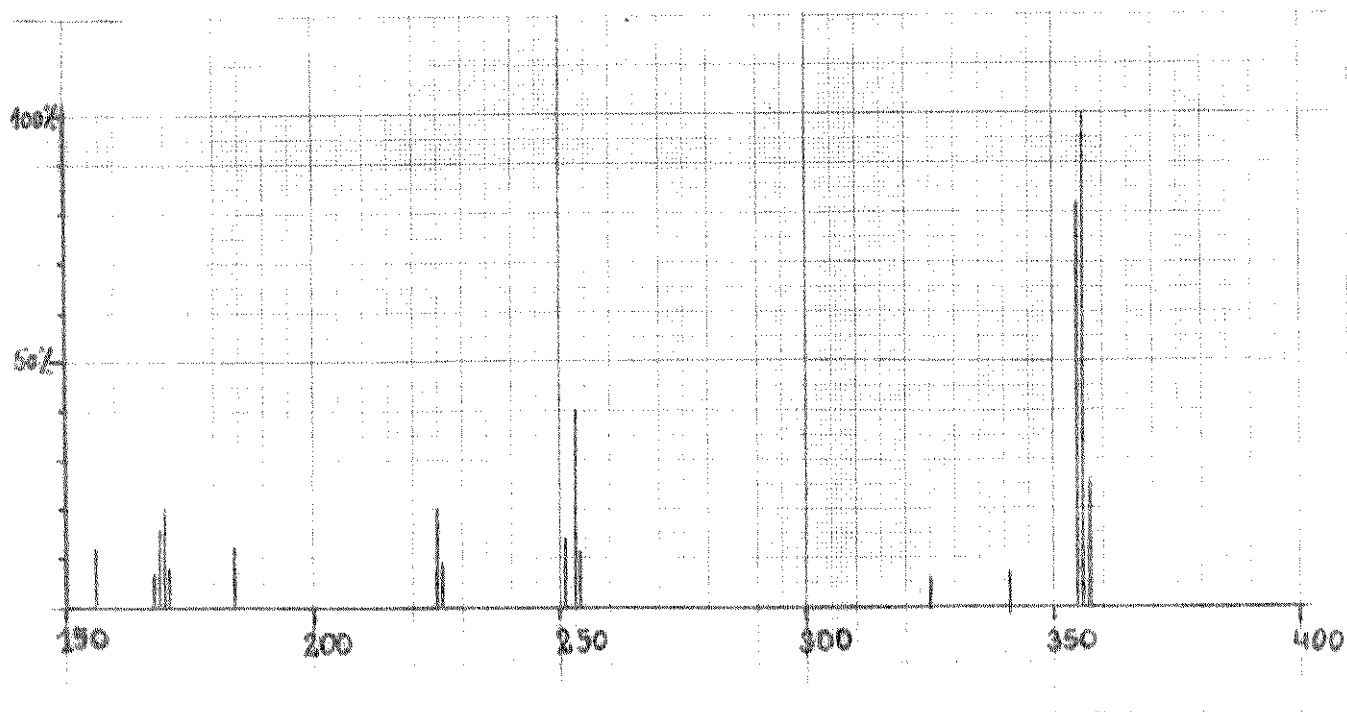


Fig. 13. Espectro de massa de diidrositsirikina 26.

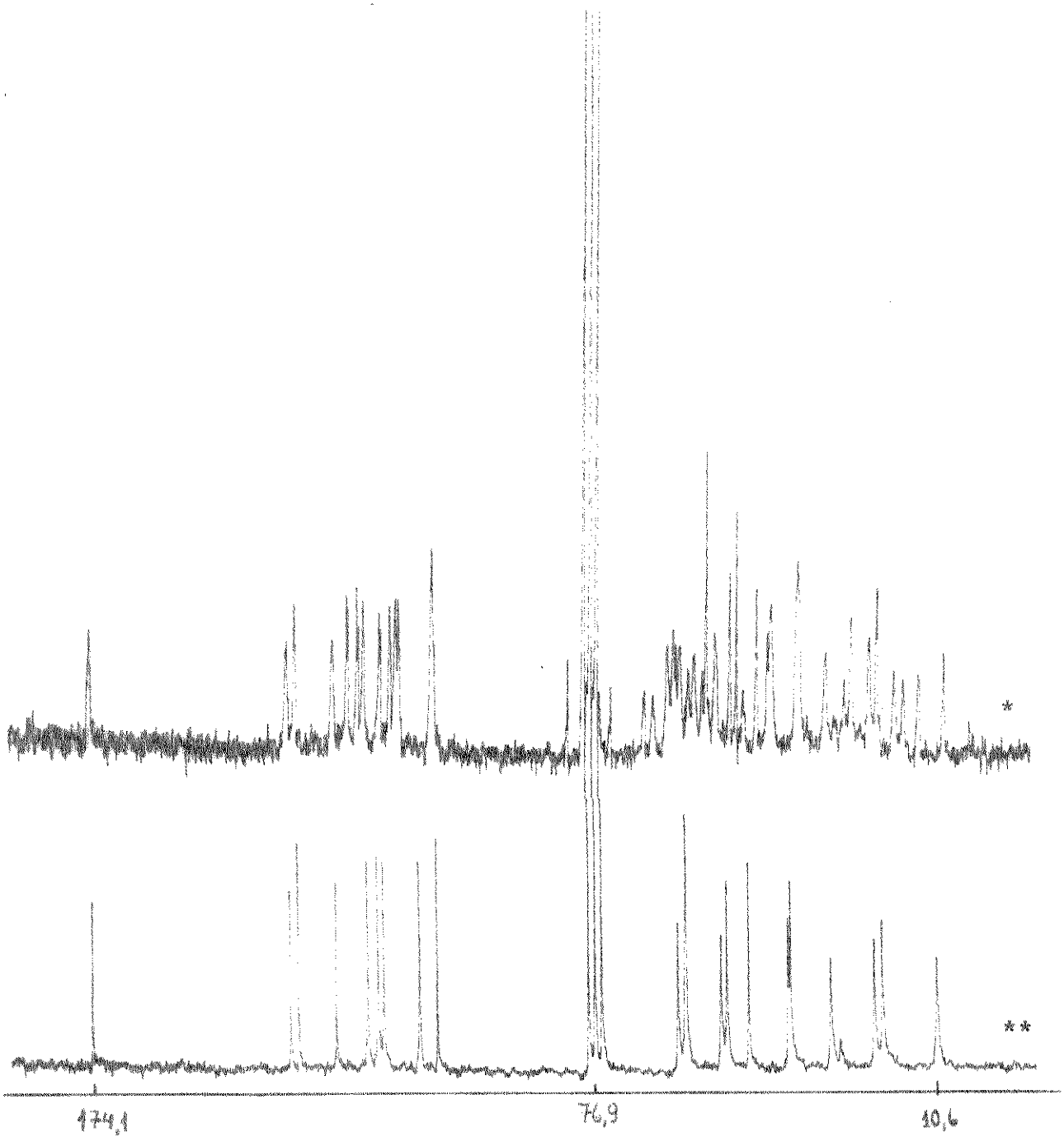


Fig. 14. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de dihidrositsirikina 26  
-  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ ; \* D.A. , \*\* D.F.L.

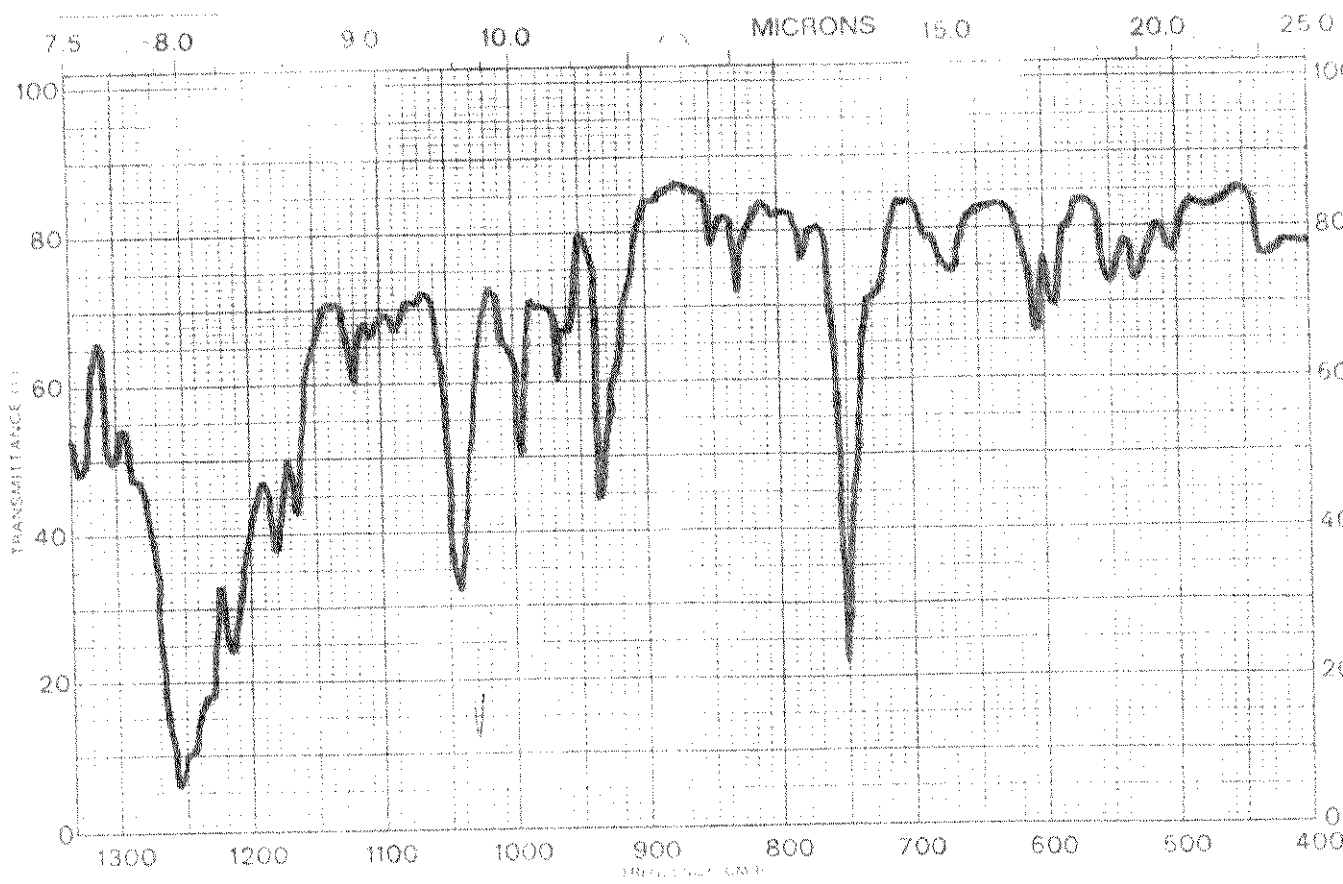
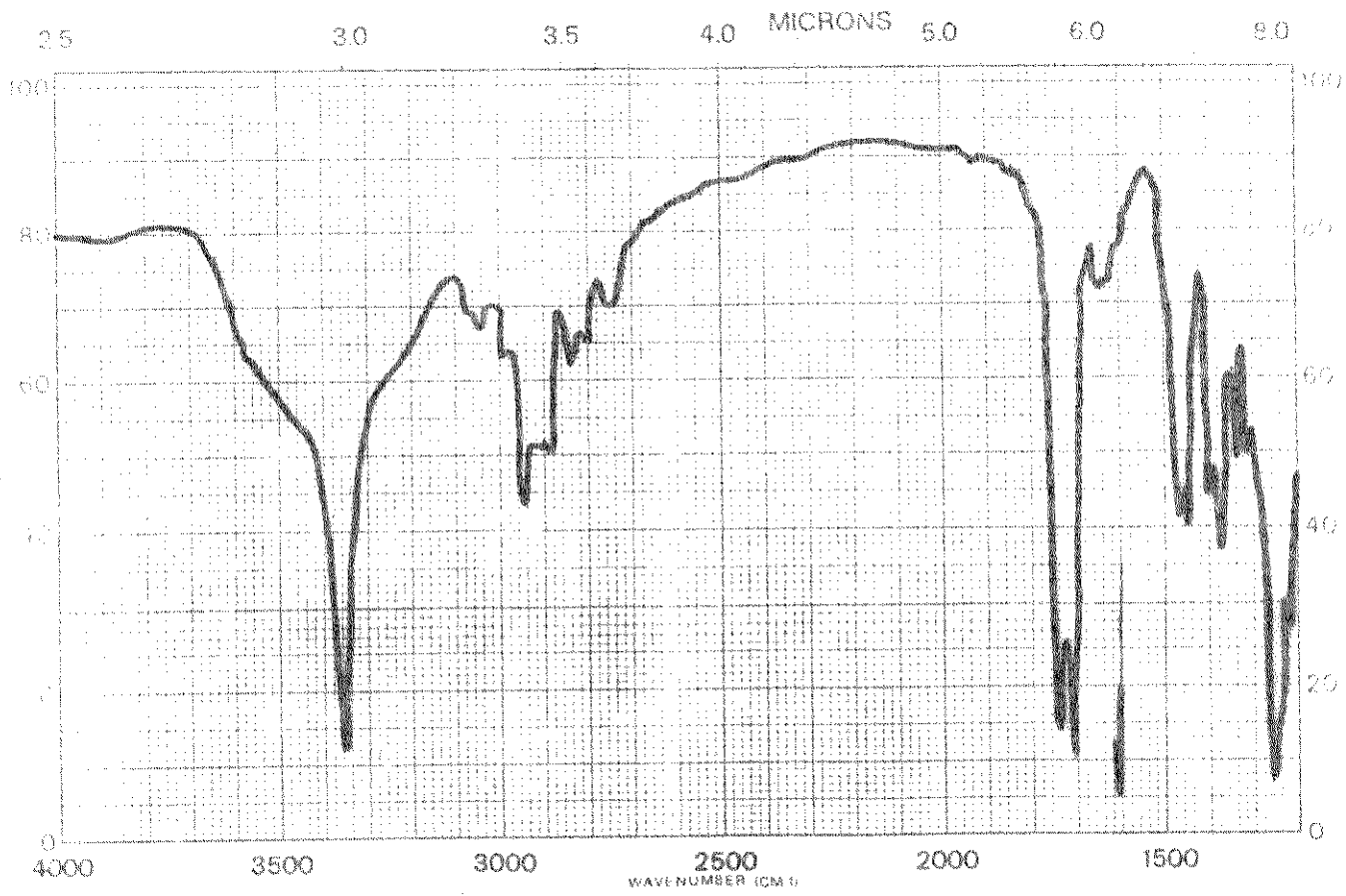


Fig. 15. Espectro de I.V. do acetato de sitsirikina 25 --  $\text{CHCl}_3$

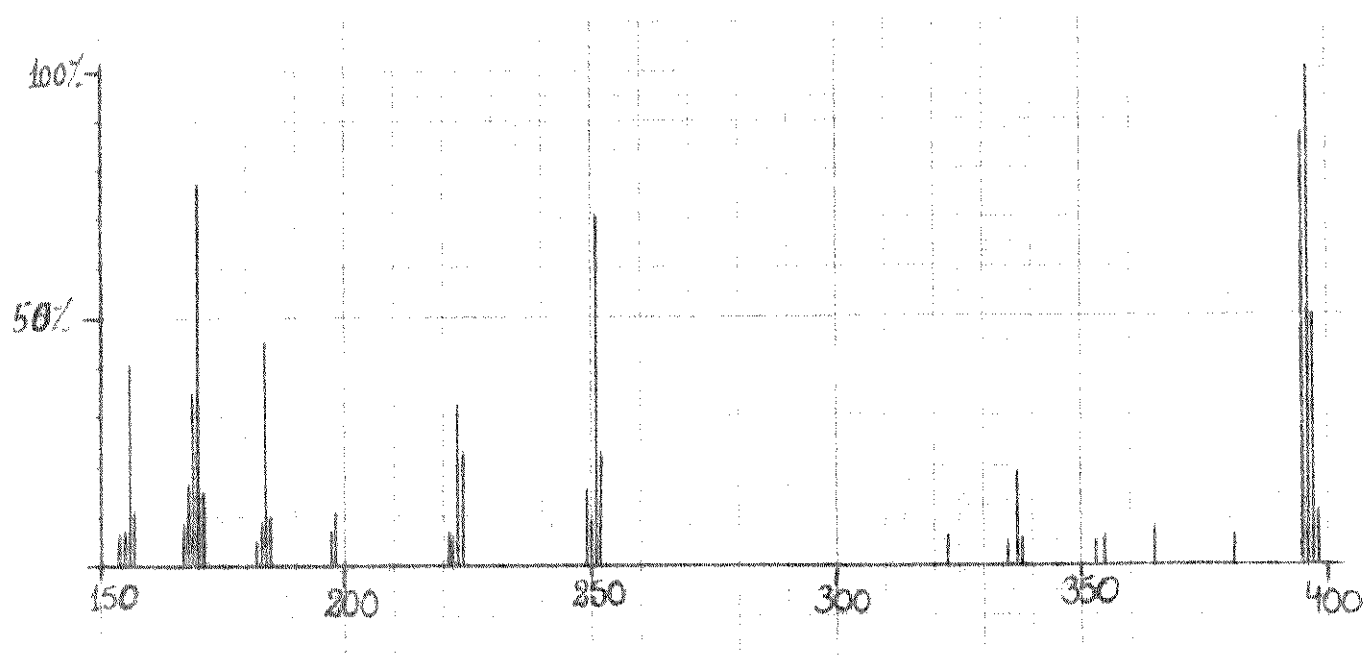


Fig. 16. Espectro de massa do acetato de sítirikina 25

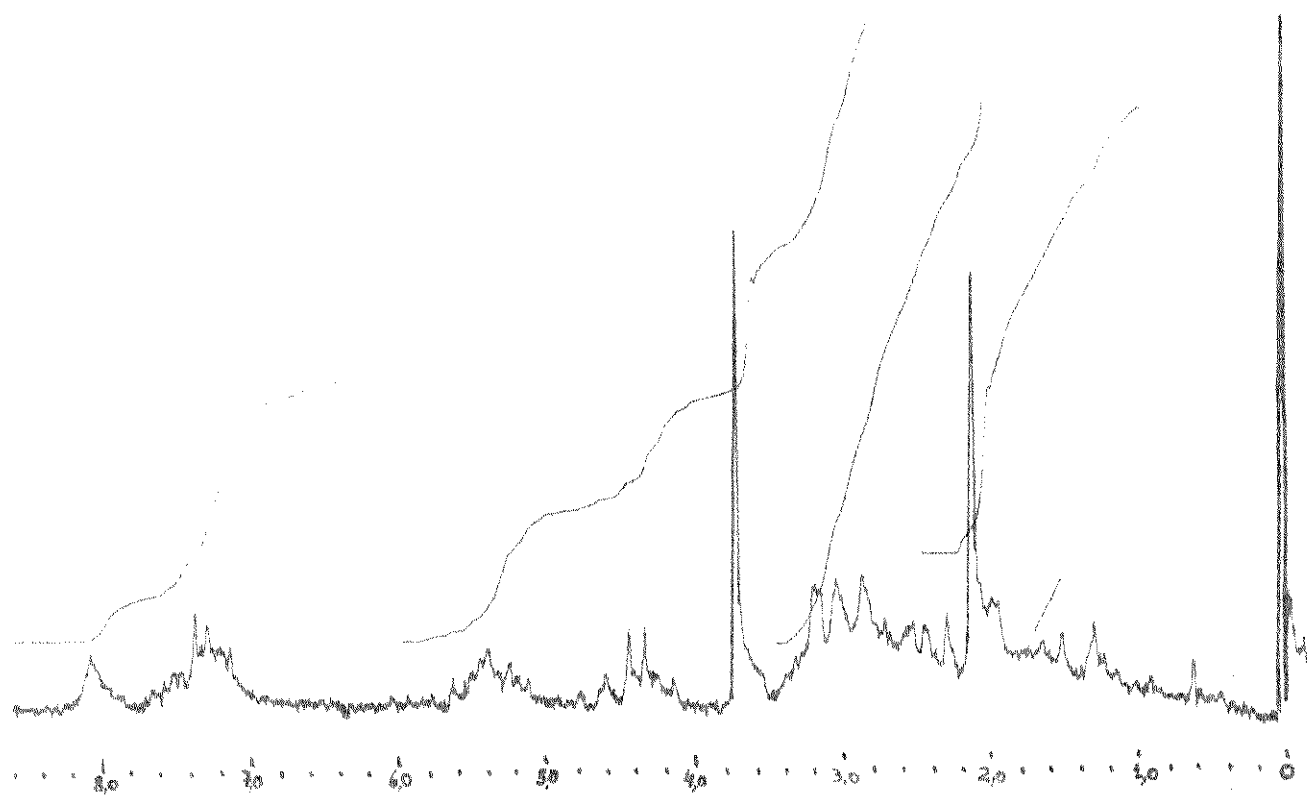


Fig. 17. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do acetato de sítirikina 25  
60 MHz ; CDCl<sub>3</sub>

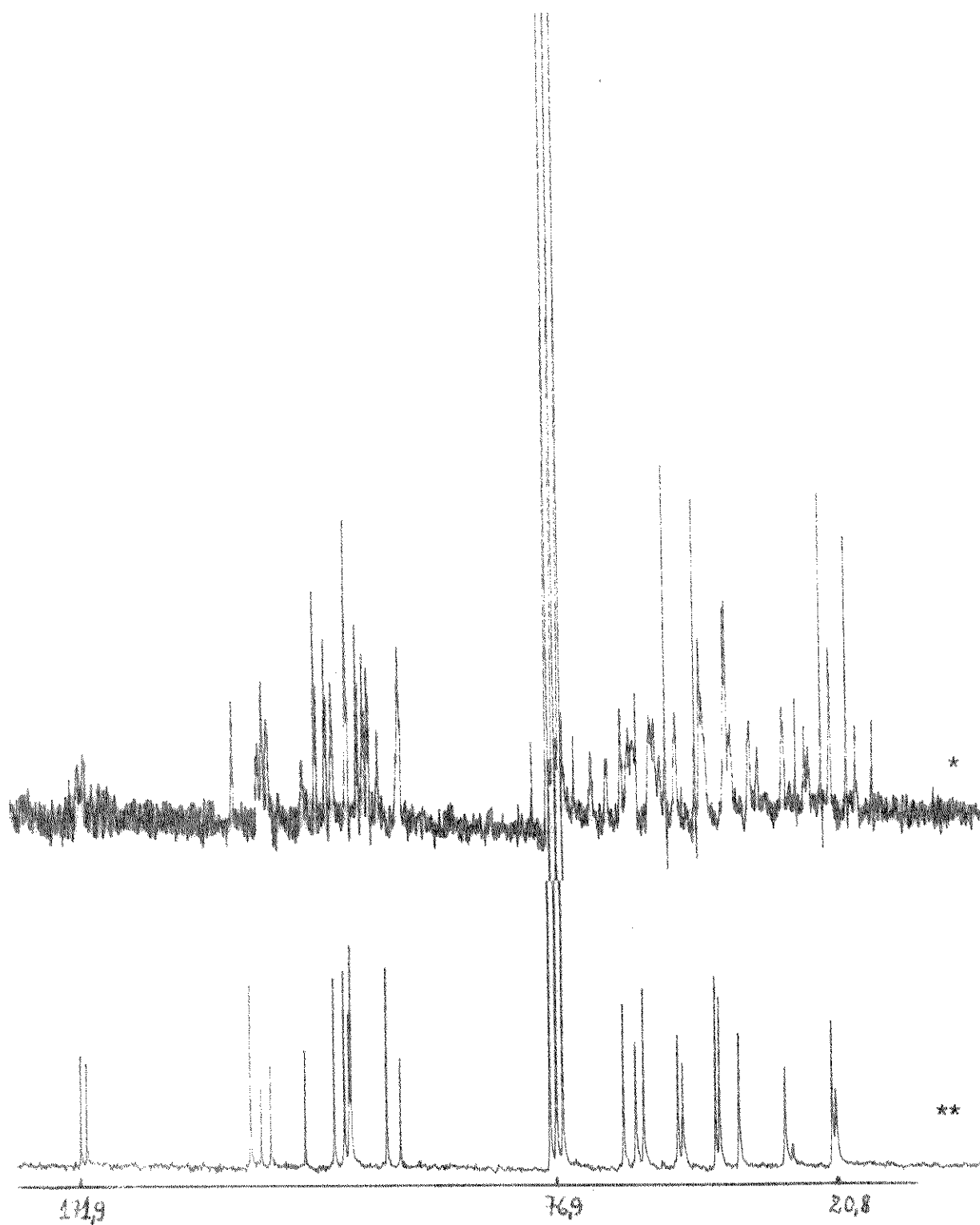


Fig. 18. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do acetato de sibirikina 25  
-  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$ ; \* D.A. , \*\* D.F.L.

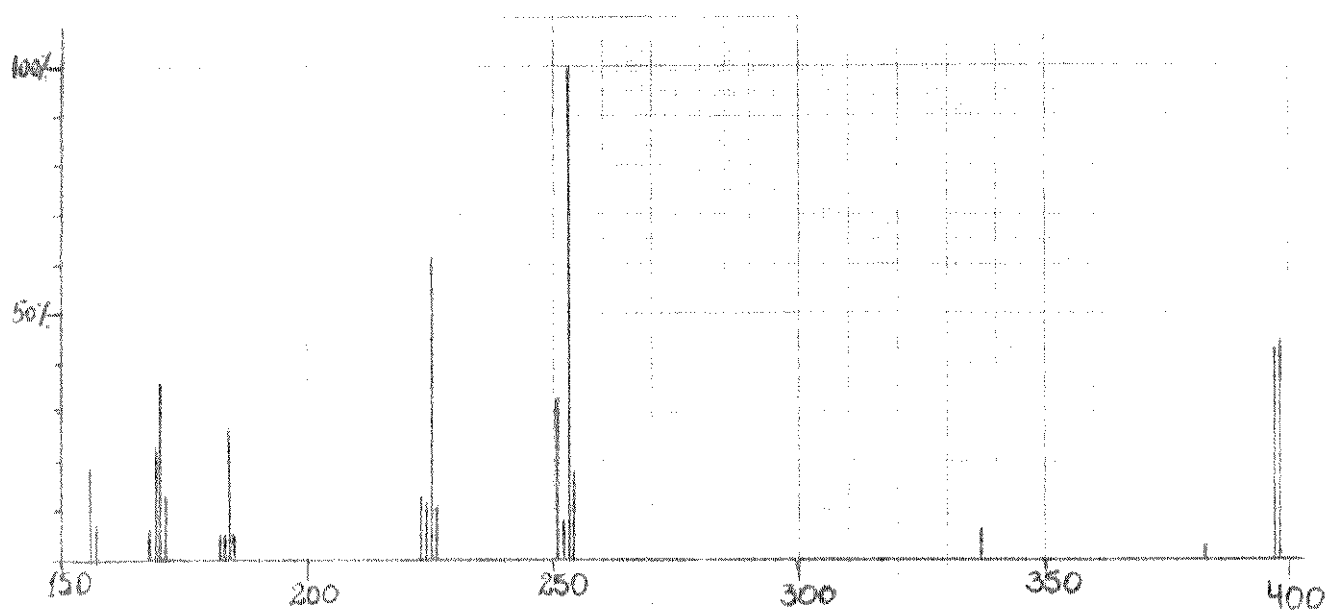


Fig. 19. Espectro de massa do acetato de diidrositsirikina 27

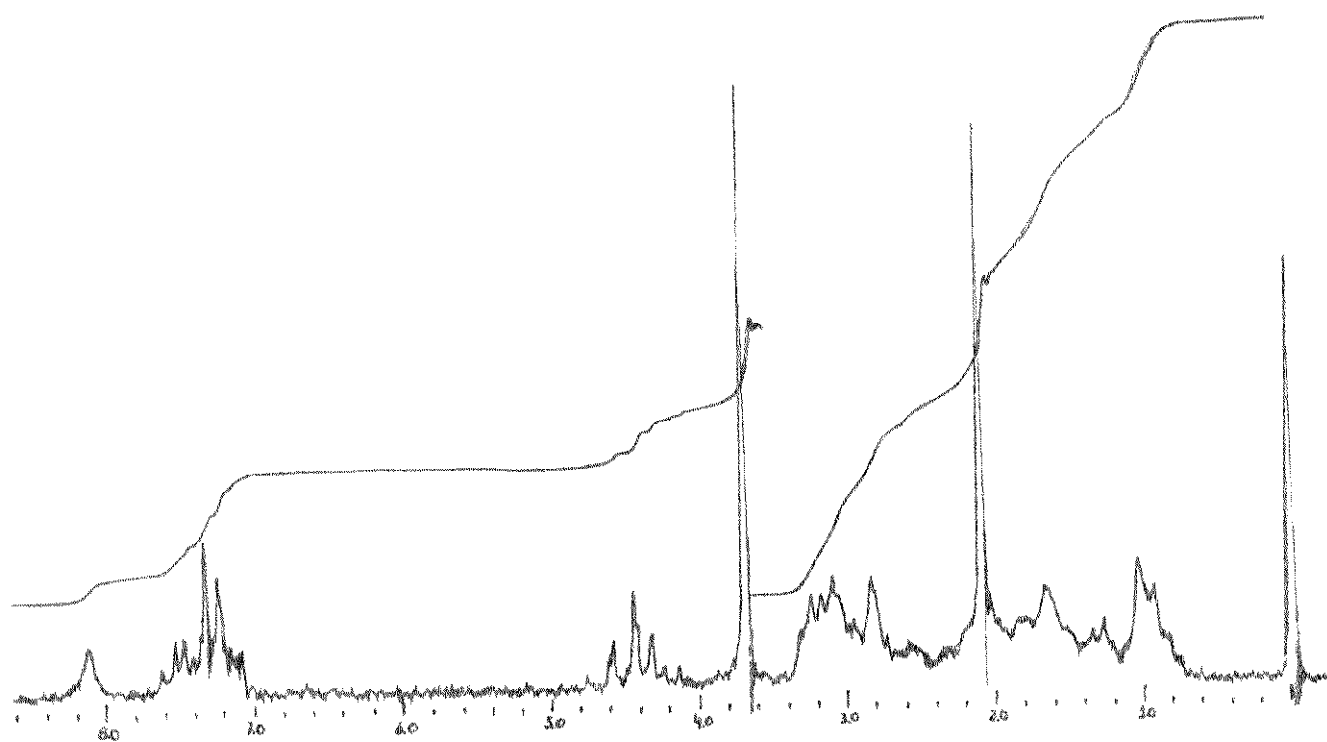


Fig. 20. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do acetato de diidrositsirikina 27  
60 MHz; CDCl<sub>3</sub>

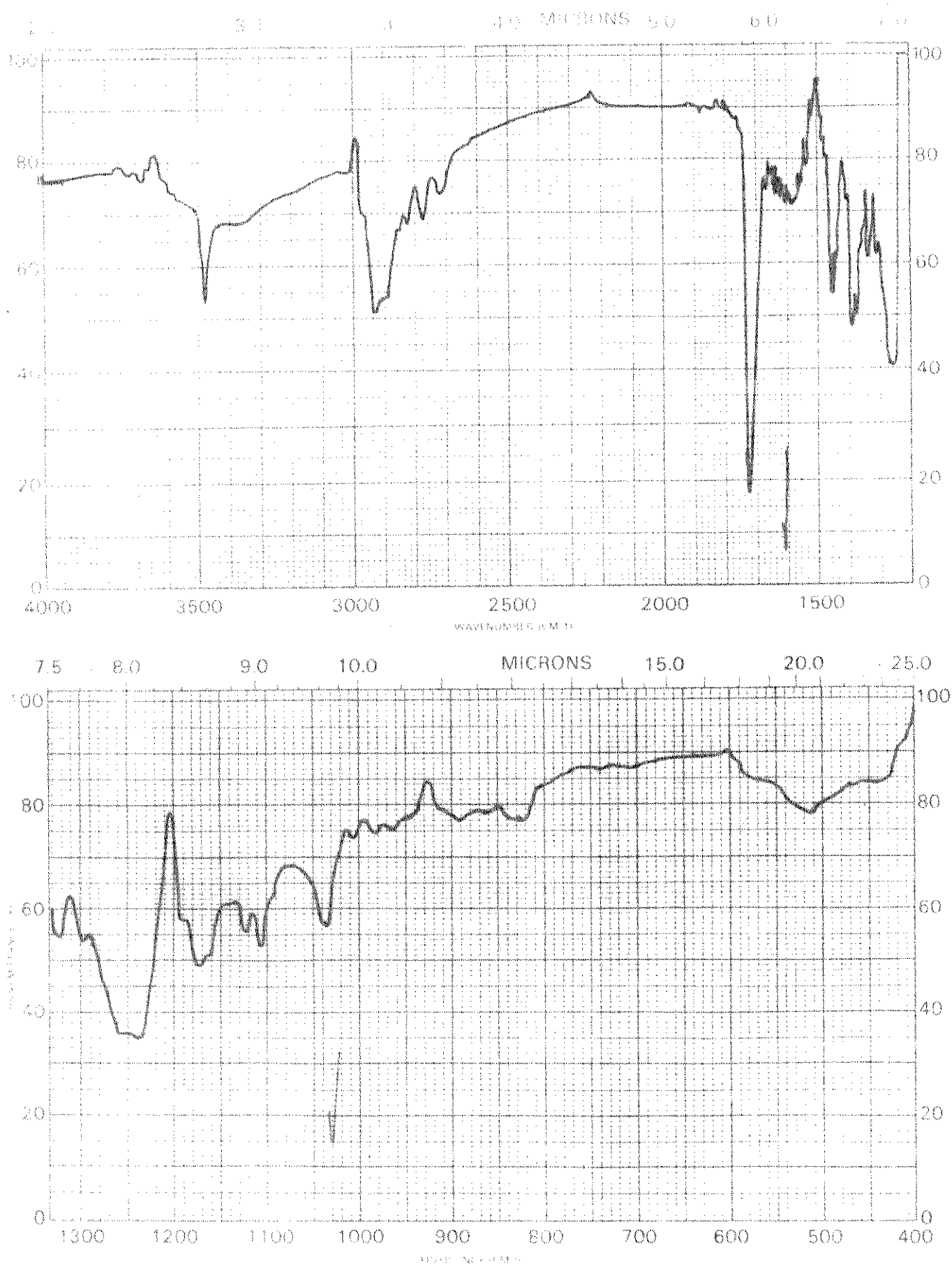


Fig. 21. Espectro de I.V. do acetato de diidrositsirikina 27  
 $\text{CHCl}_3$

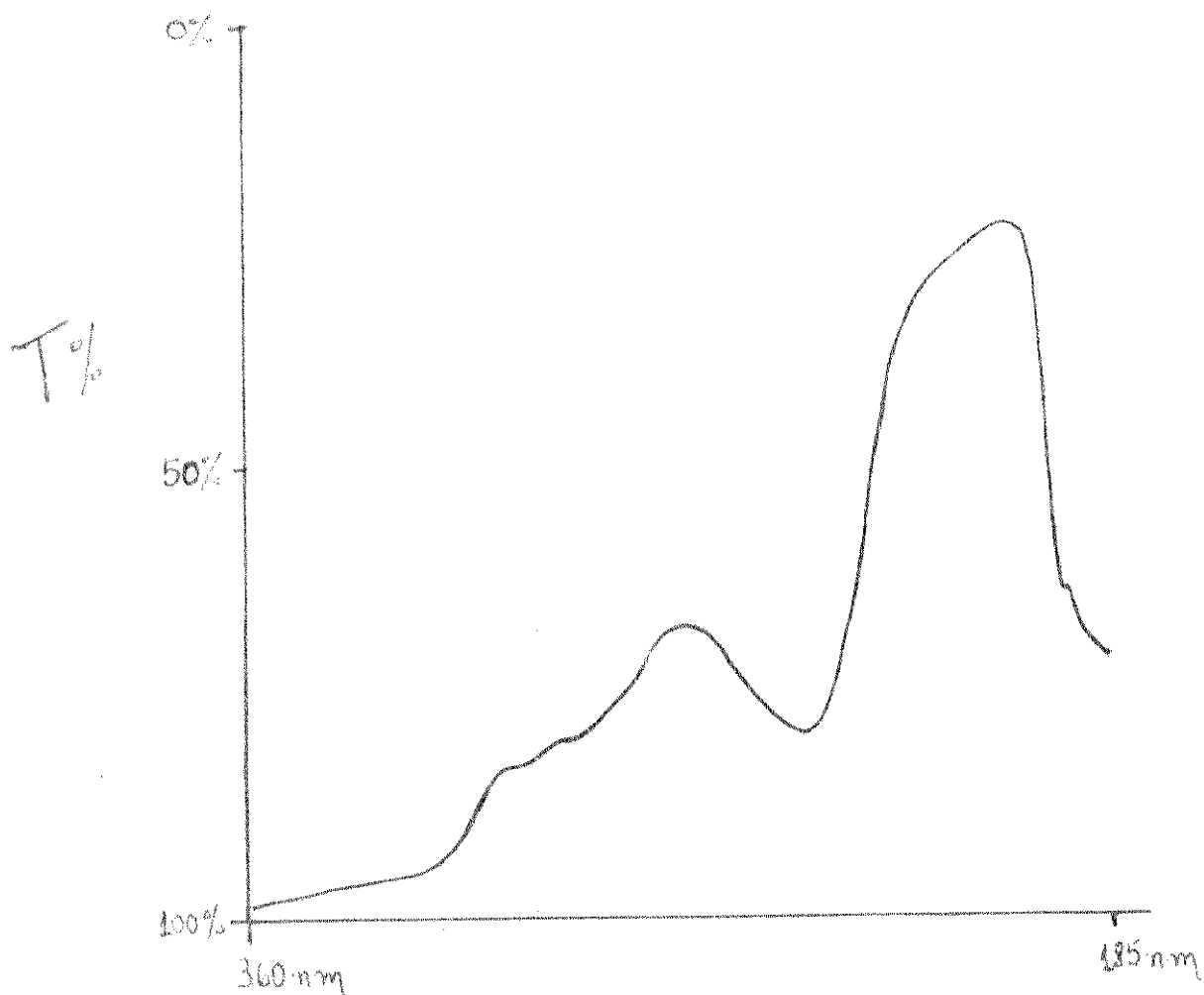


Fig. 22. Espectro de U.V. de prunosidina 35 - meio neutro

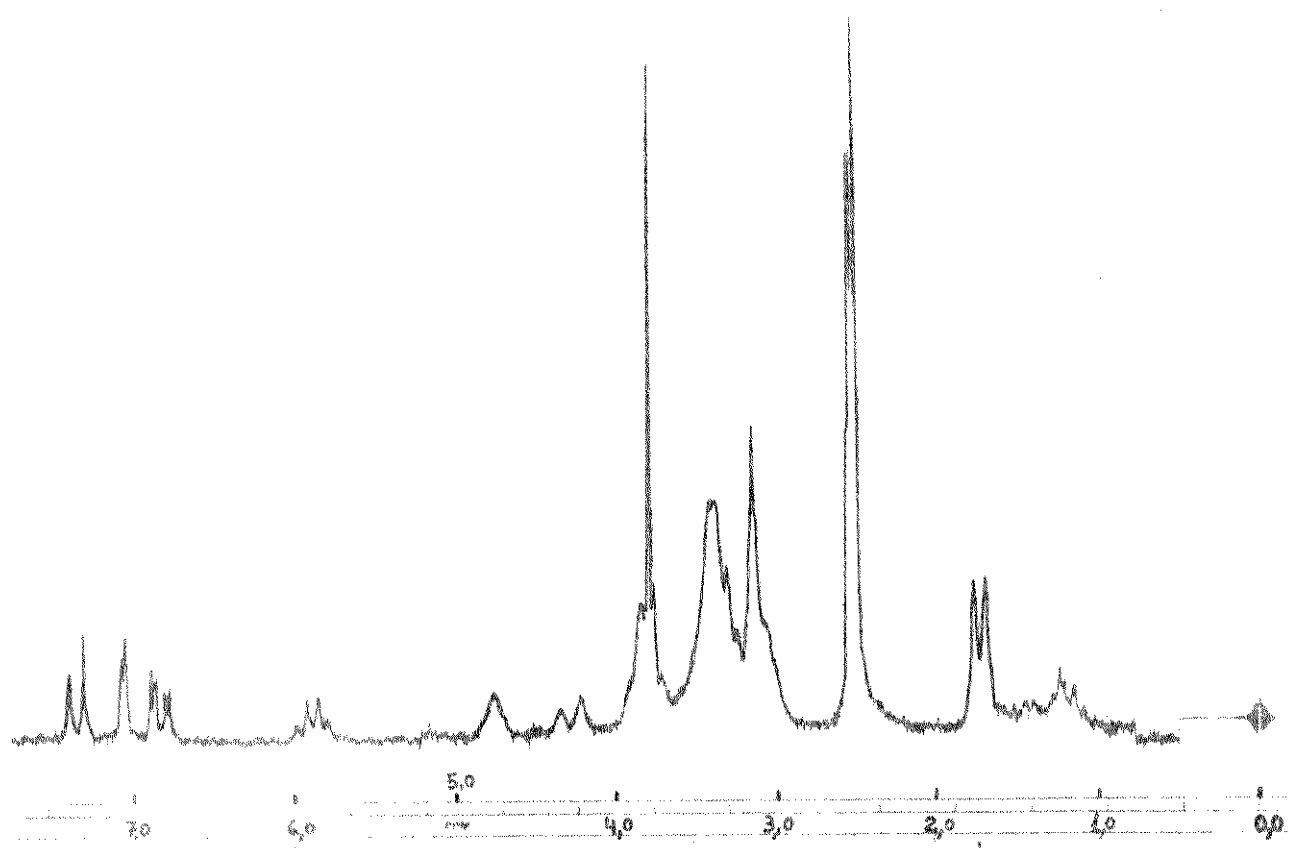


Fig. 23. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de prunosidina 35  
100 MHz ; DMSO hexadeuterado



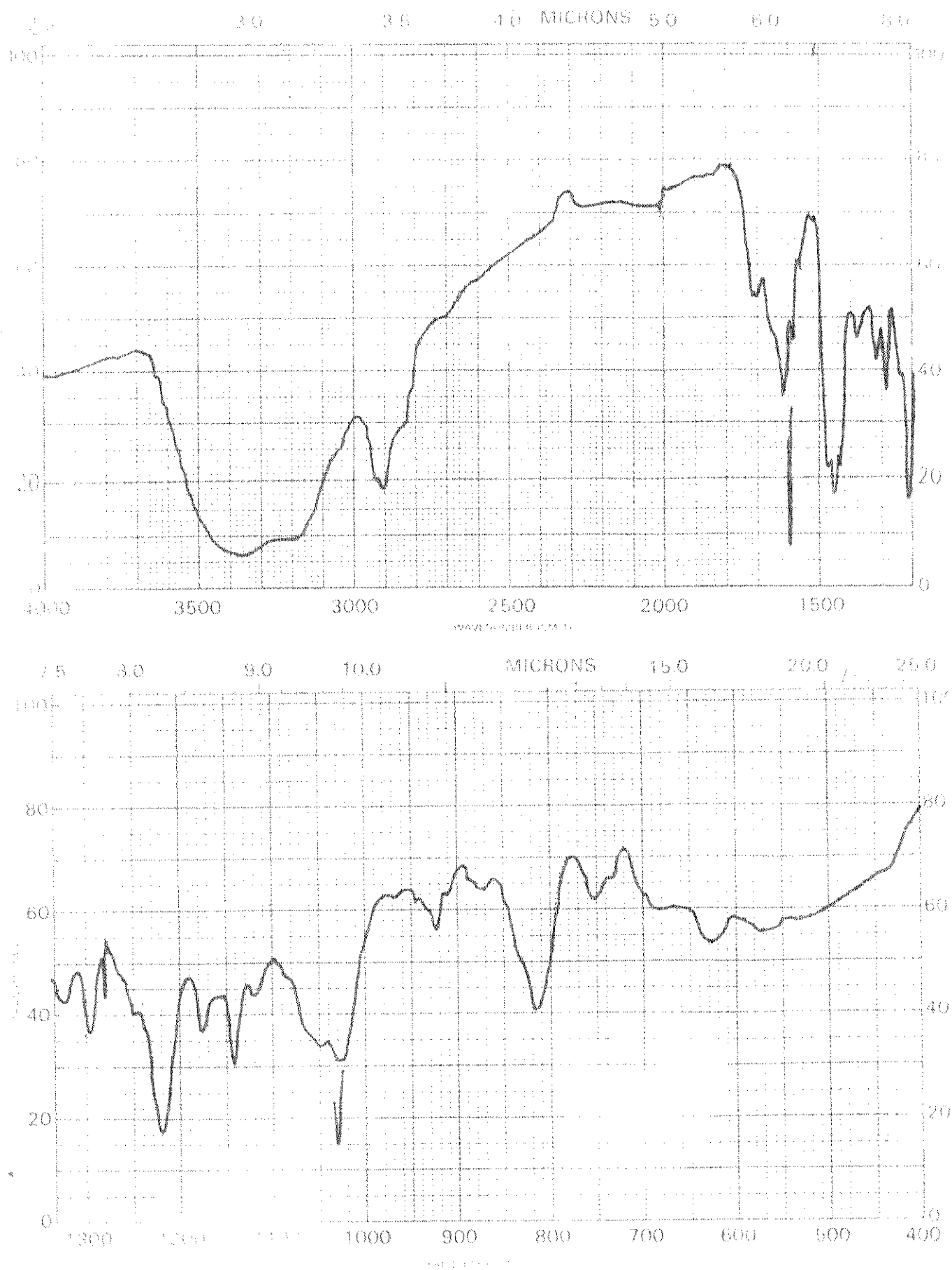


Fig. 24. Espectro de I.V. de prinosidina 35 - KBr

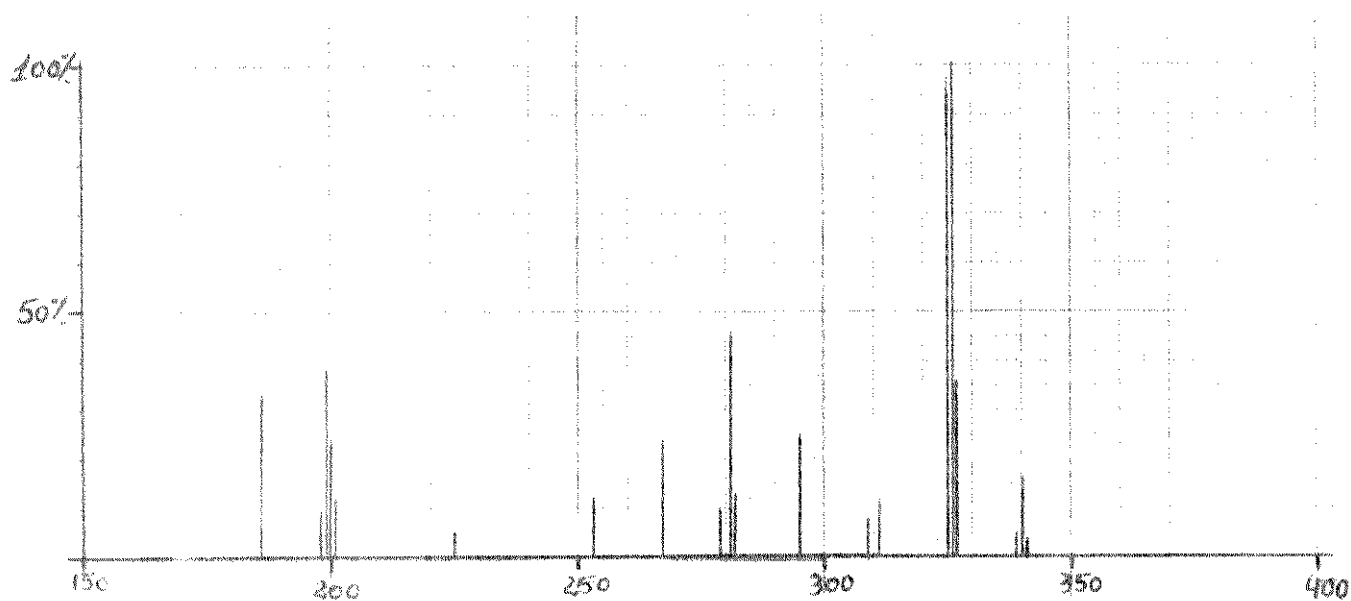


Fig. 25. Espectro de massa de pruinósida 35

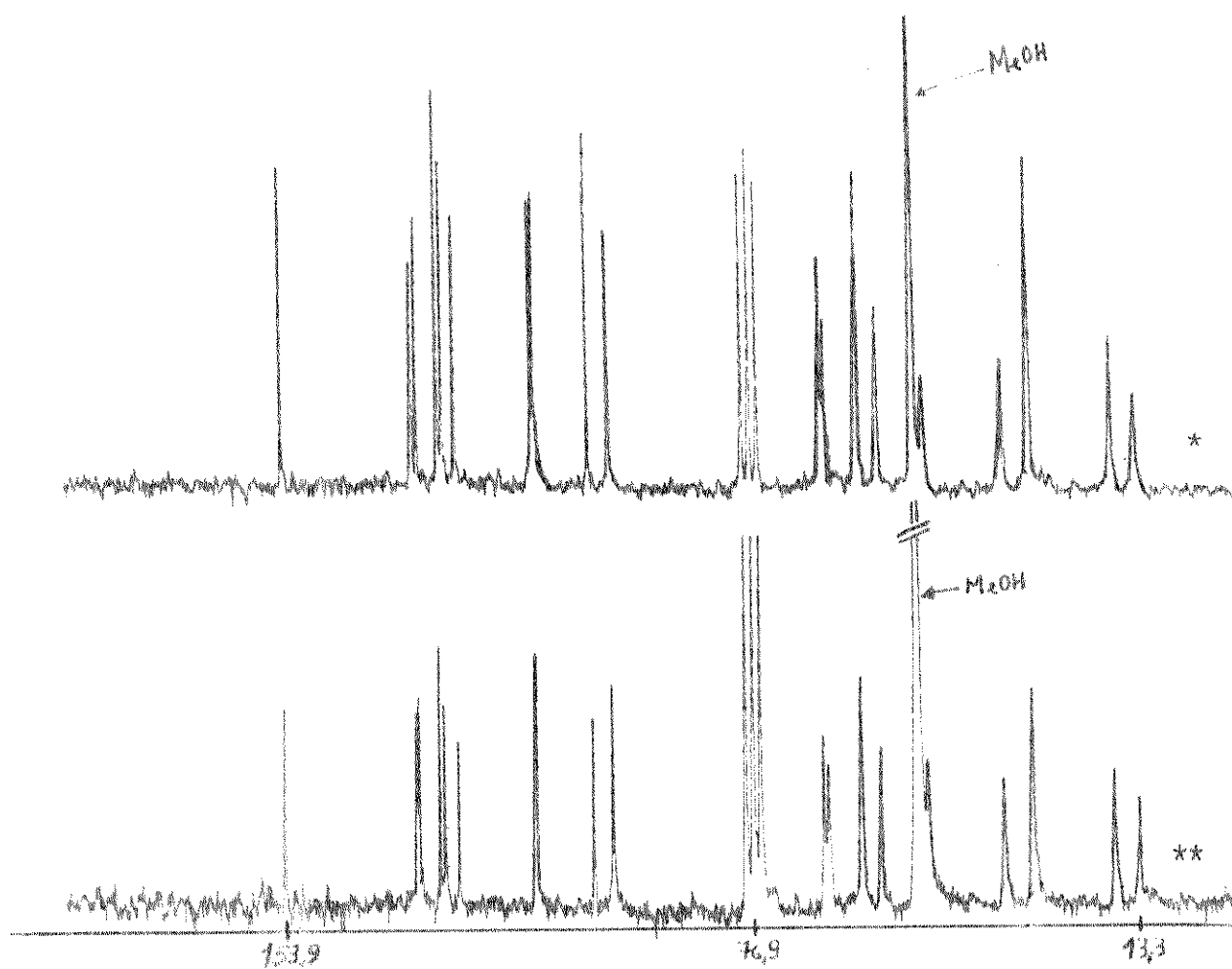


Fig. 26. \* Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do iodeto de  $\text{N}_6$ -metil-10-metoxi-geissoschizol 34 -  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$  ; D.F.L.

\*\* Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de pruinósida 35 -  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$  ; D.F.L.

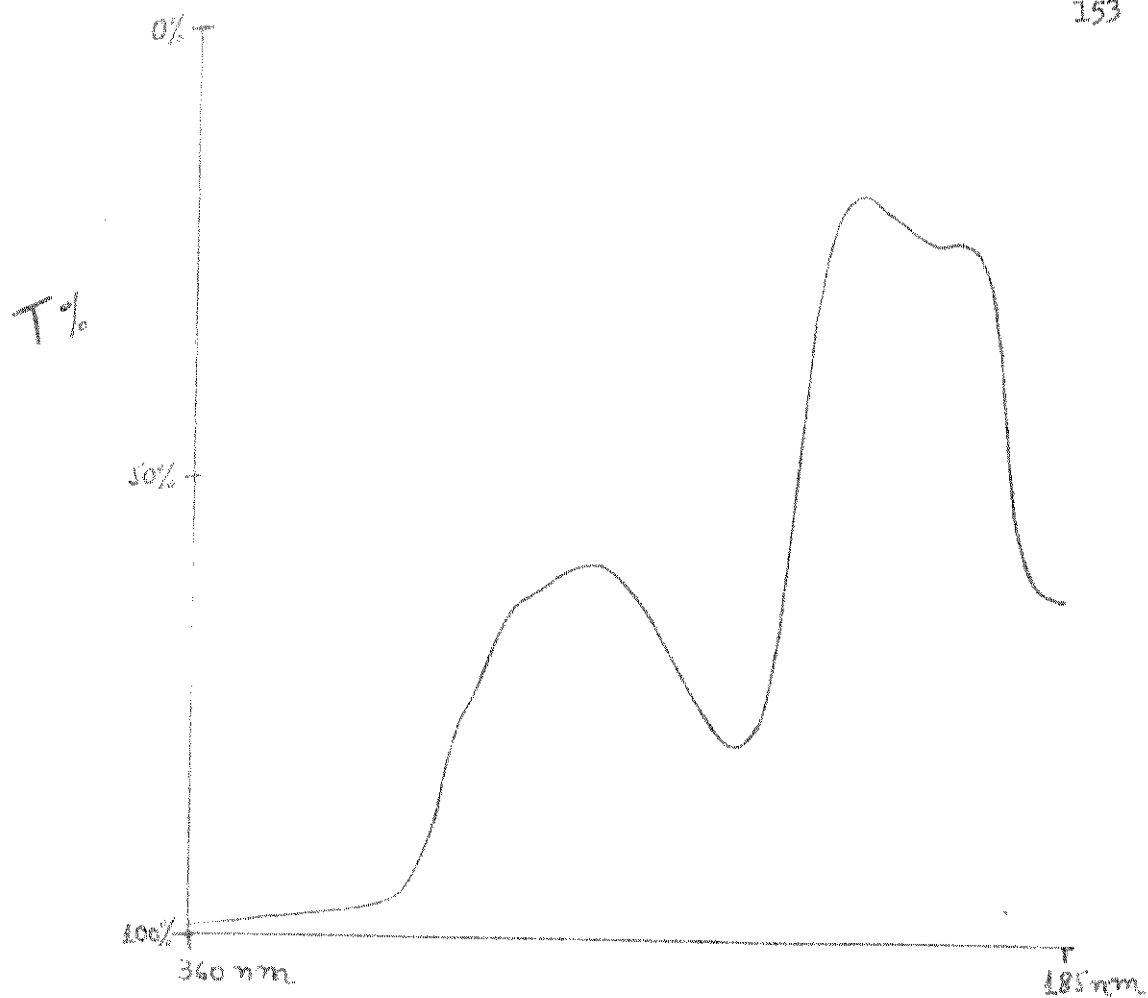


Fig. 27. Espectro de U.V. de 10-metoxi-yohimbina 28  
meio neutro

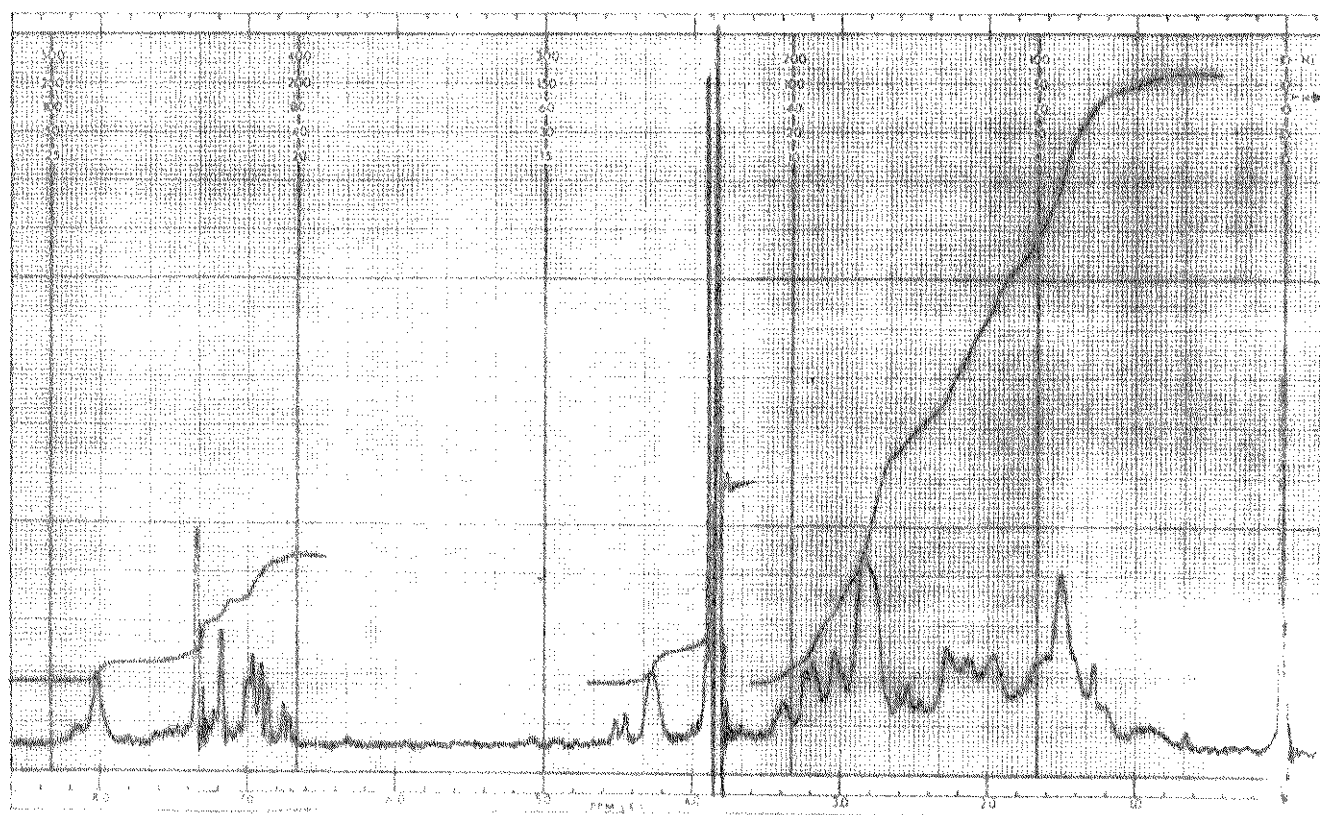


Fig. 28. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 10-metoxi-yohimbina 28  
60 MHz ;  $\text{CDCl}_3$

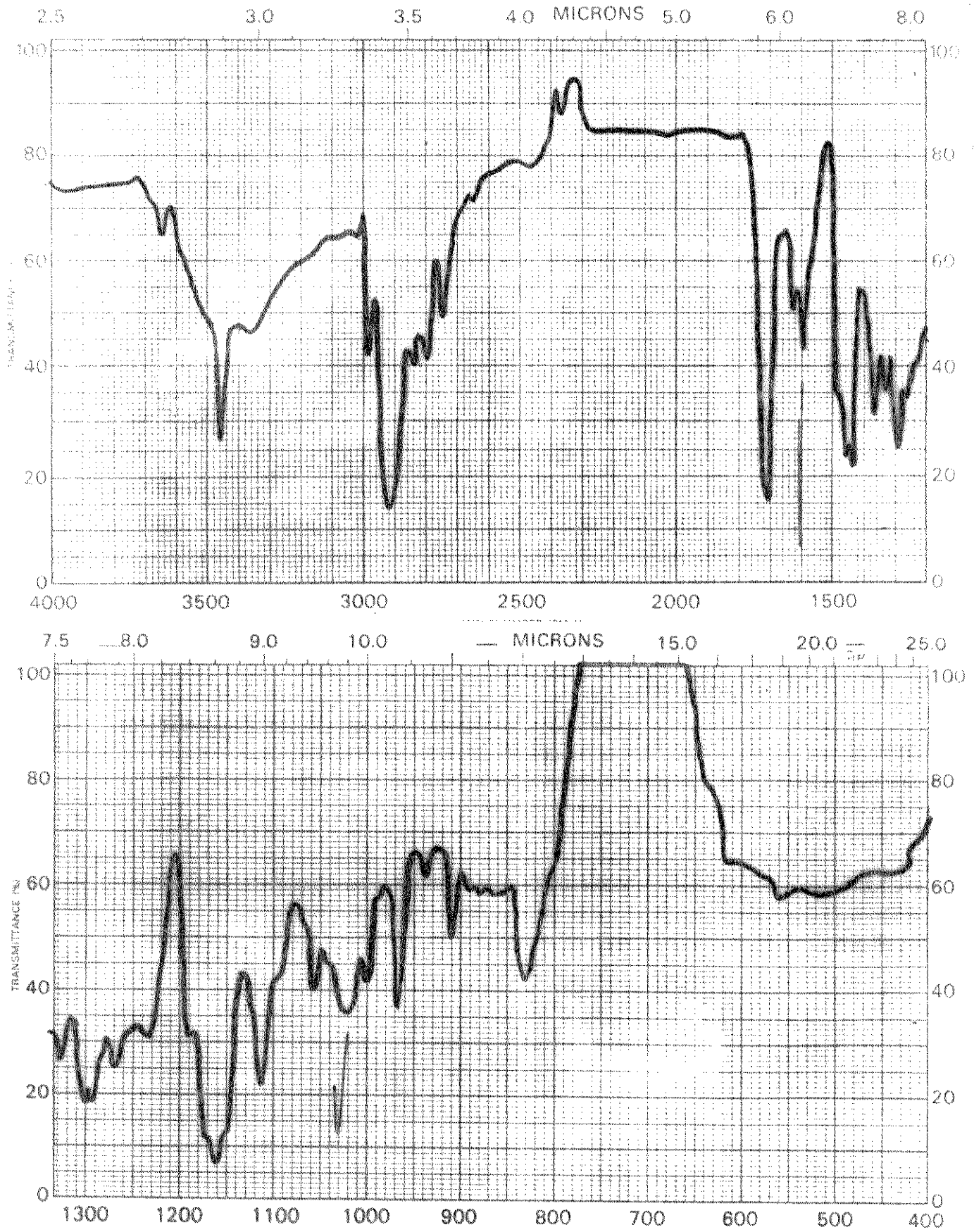


Fig. 29. Espectro de I.V. de 10-metoxi-yohimbina 28 - CHCl<sub>3</sub>

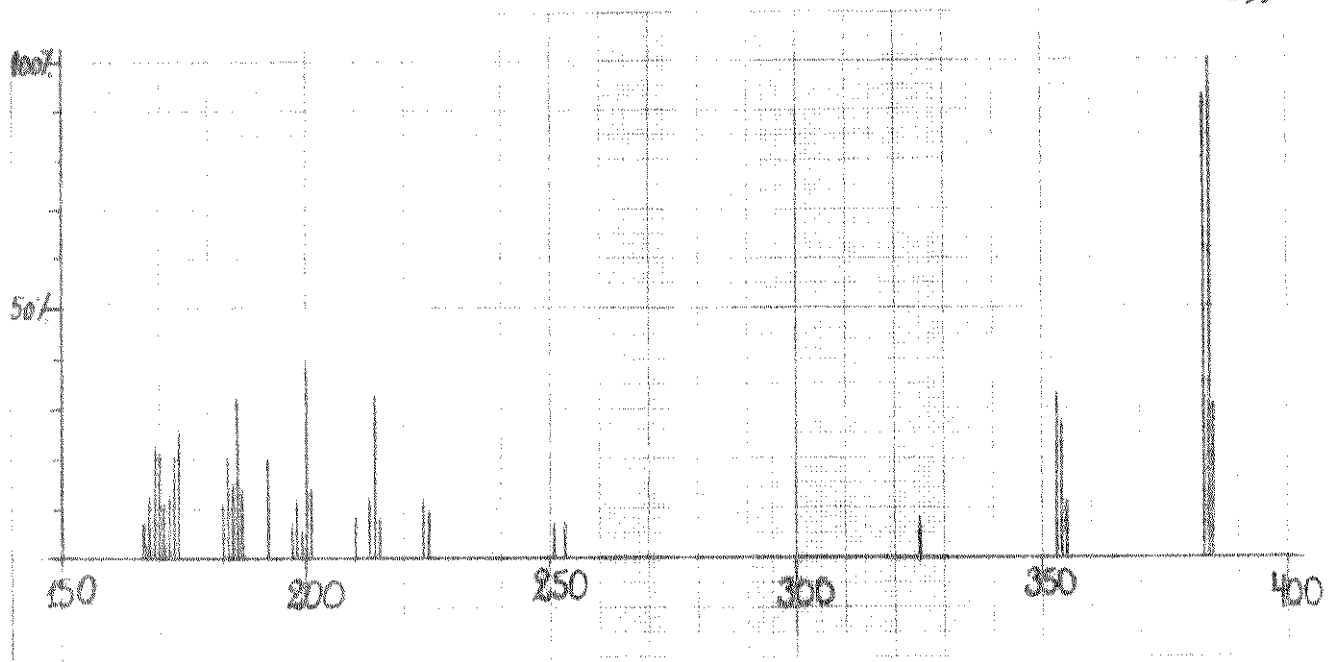


Fig. 30. Espectro de massa de 10-metoxi-yohimbina 28

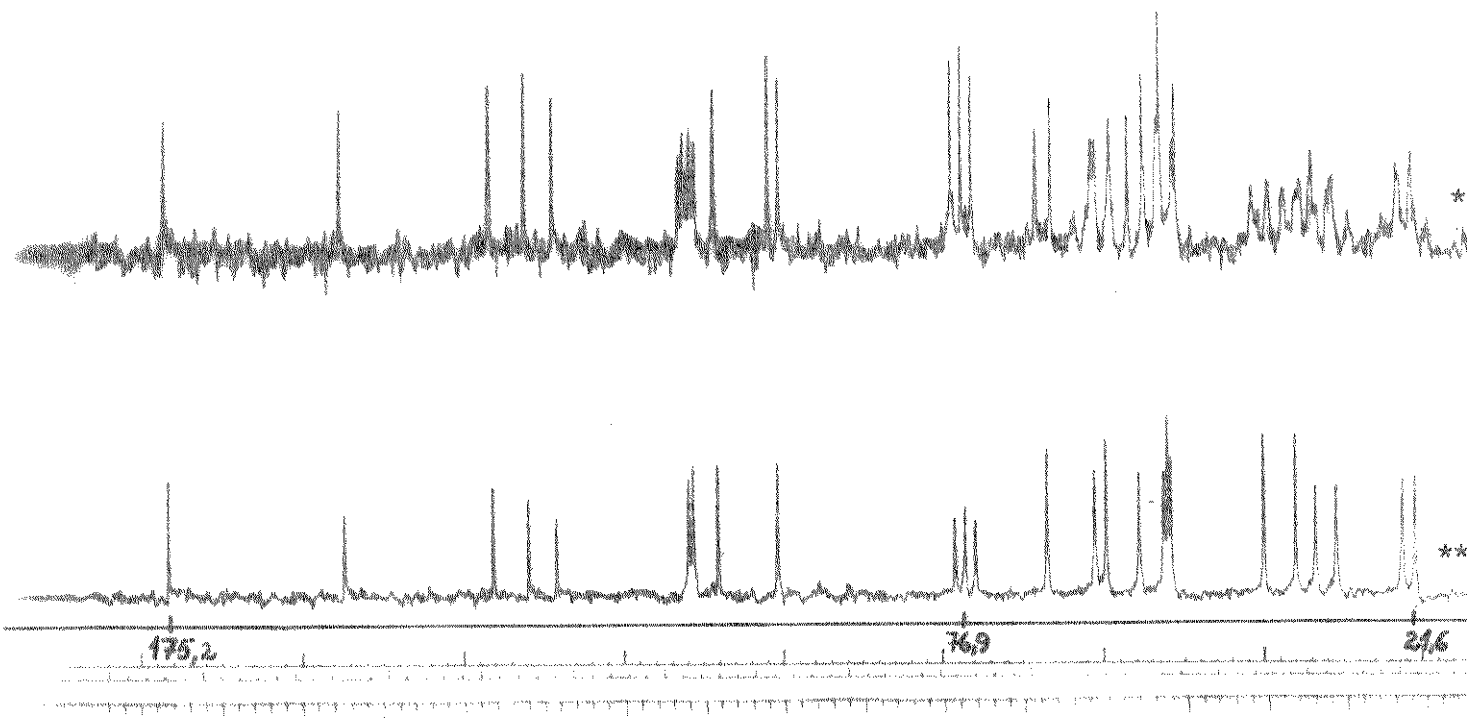


Fig. 31. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 10-metoxi-yohimbina 28  
 $\text{CDCl}_3$  ; \* F.D.F.F. , \*\* D.F.L.

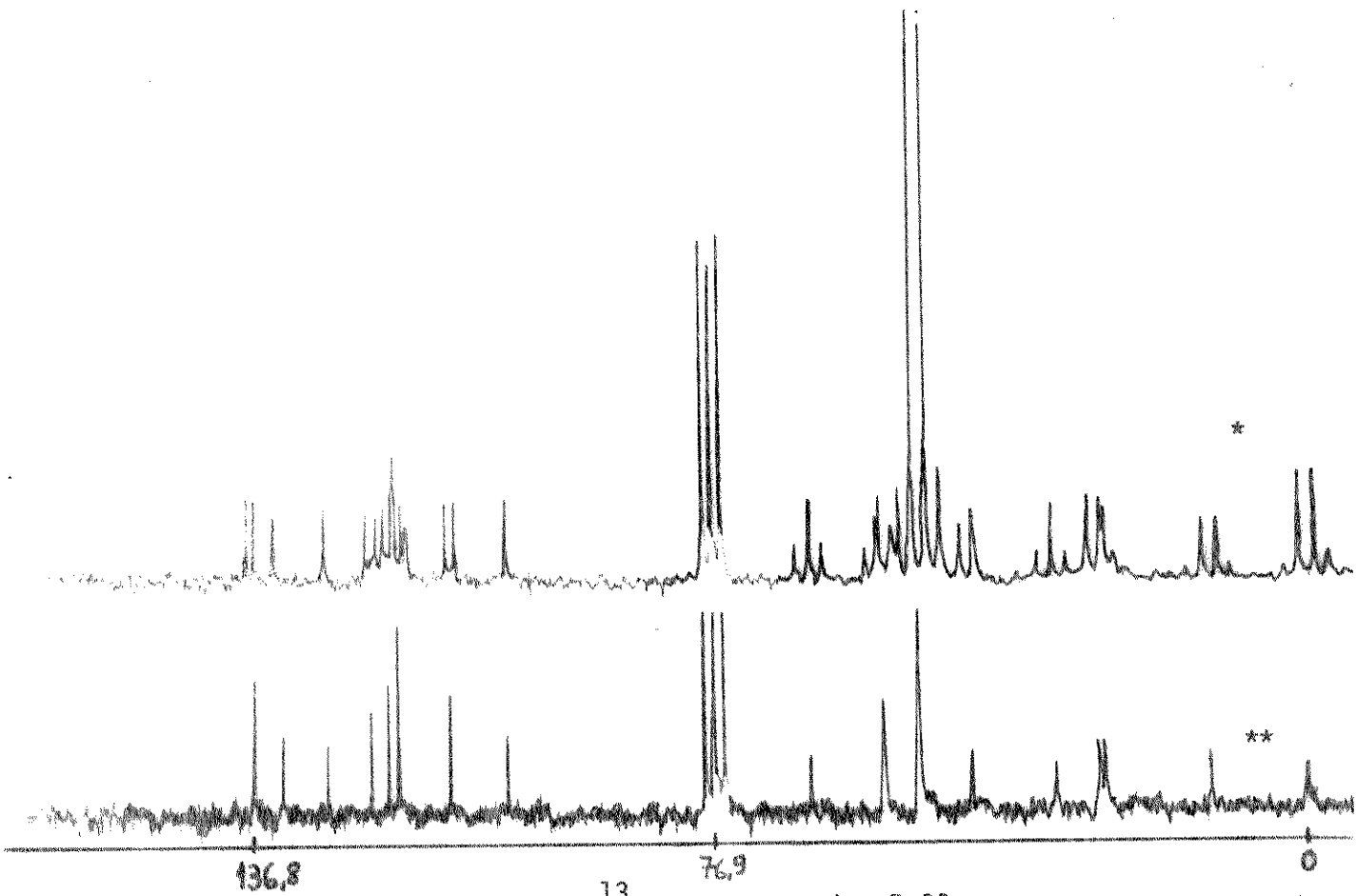


Fig. 32. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de normacusina-B. 30

$\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$  ; \* F.D.F.F. , \*\* D.F.L.

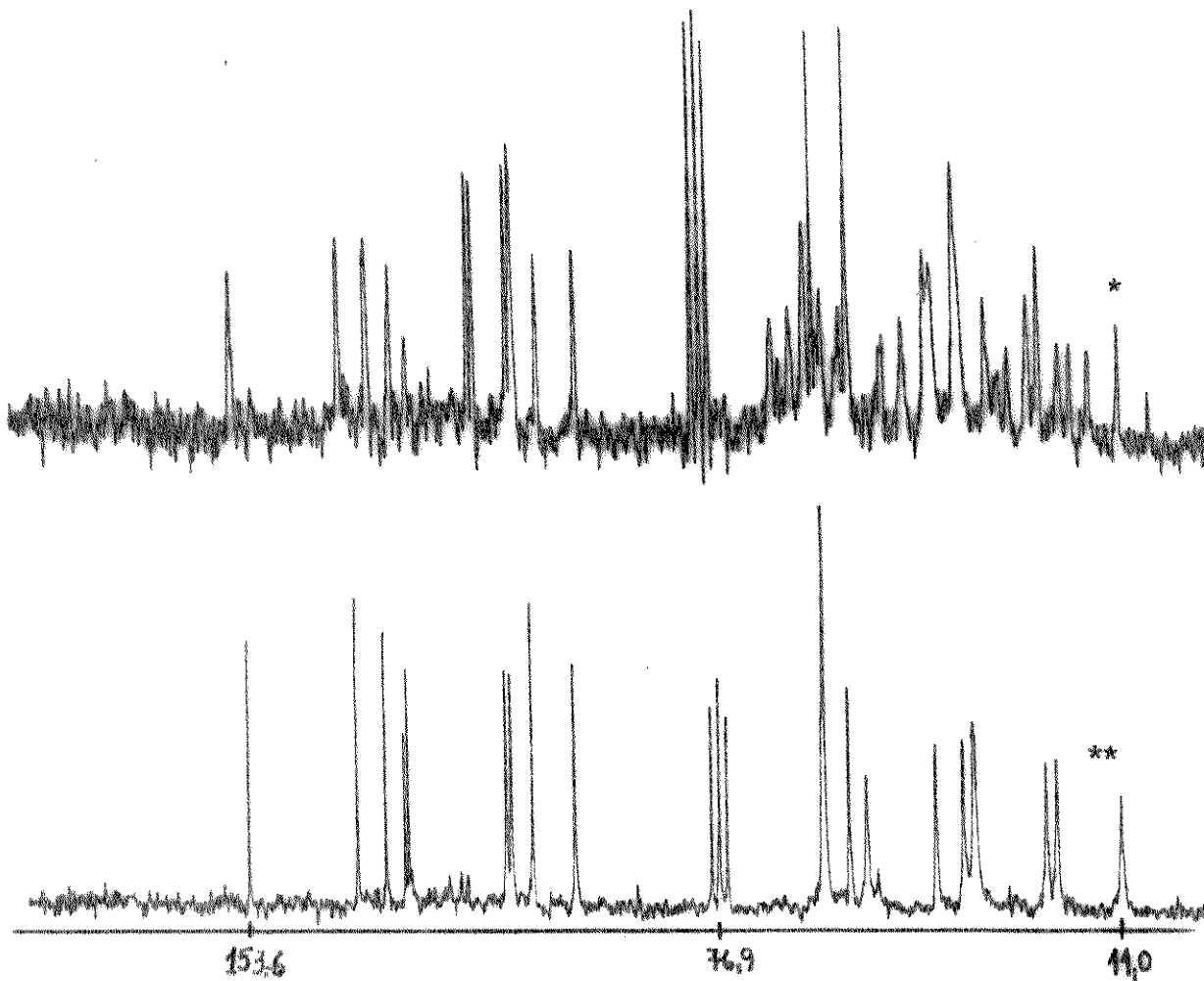


Fig. 33. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 10-metoxi-dihidro corinanteol

$\text{CDCl}_3$  ; \* D.A. , \*\* D.F.L.

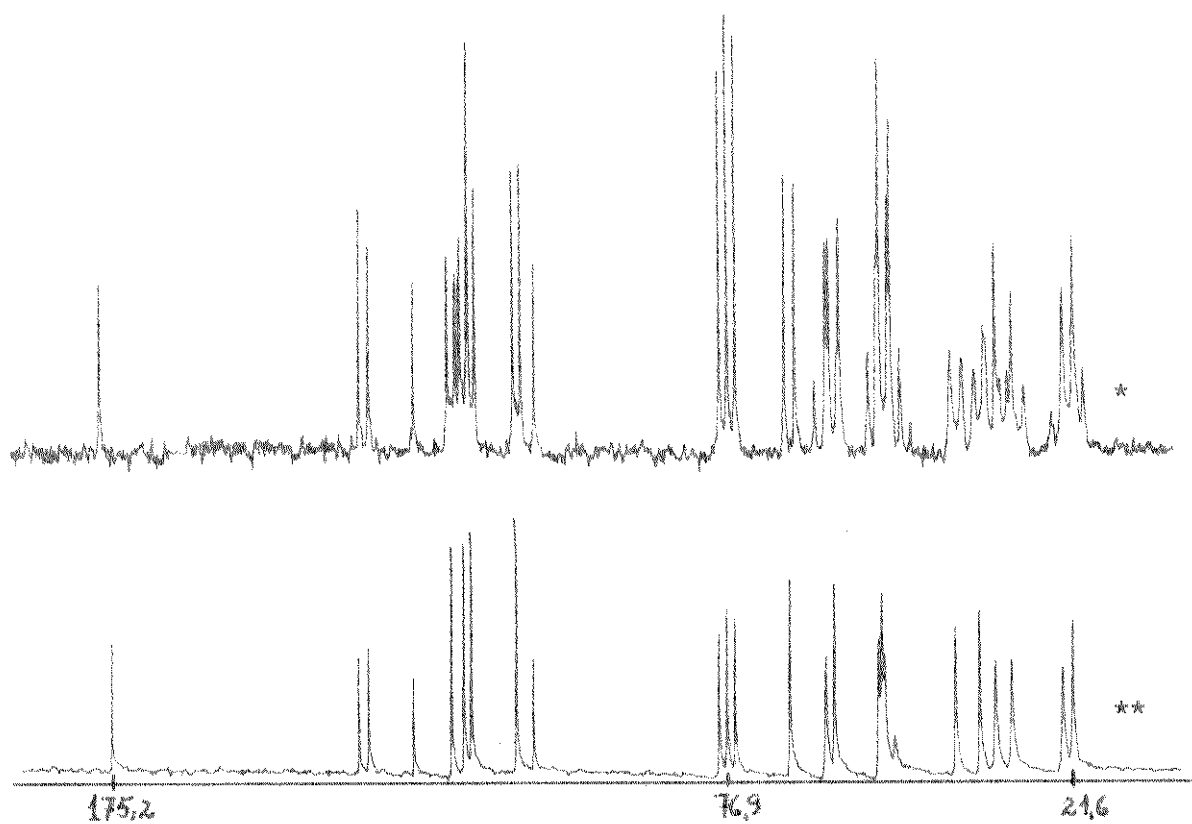


Fig. 34. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de yohimbina 5 -  $\text{CDCl}_3$   
 \* F.D.F.F. , \*\* D.F.L.

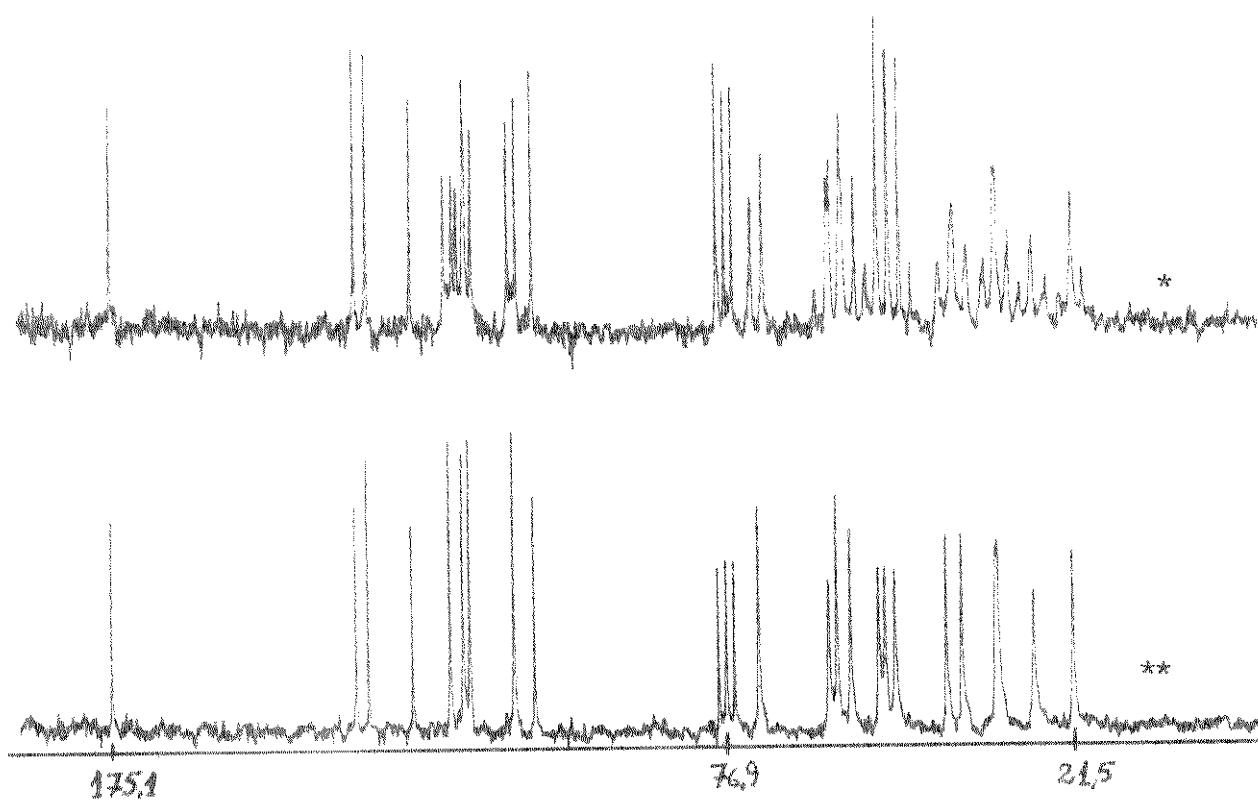


Fig. 35. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de  $\beta$ -yohimbina 6 -  $\text{CDCl}_3$   
 \* F.D.F.F. , \*\* D.F.L.

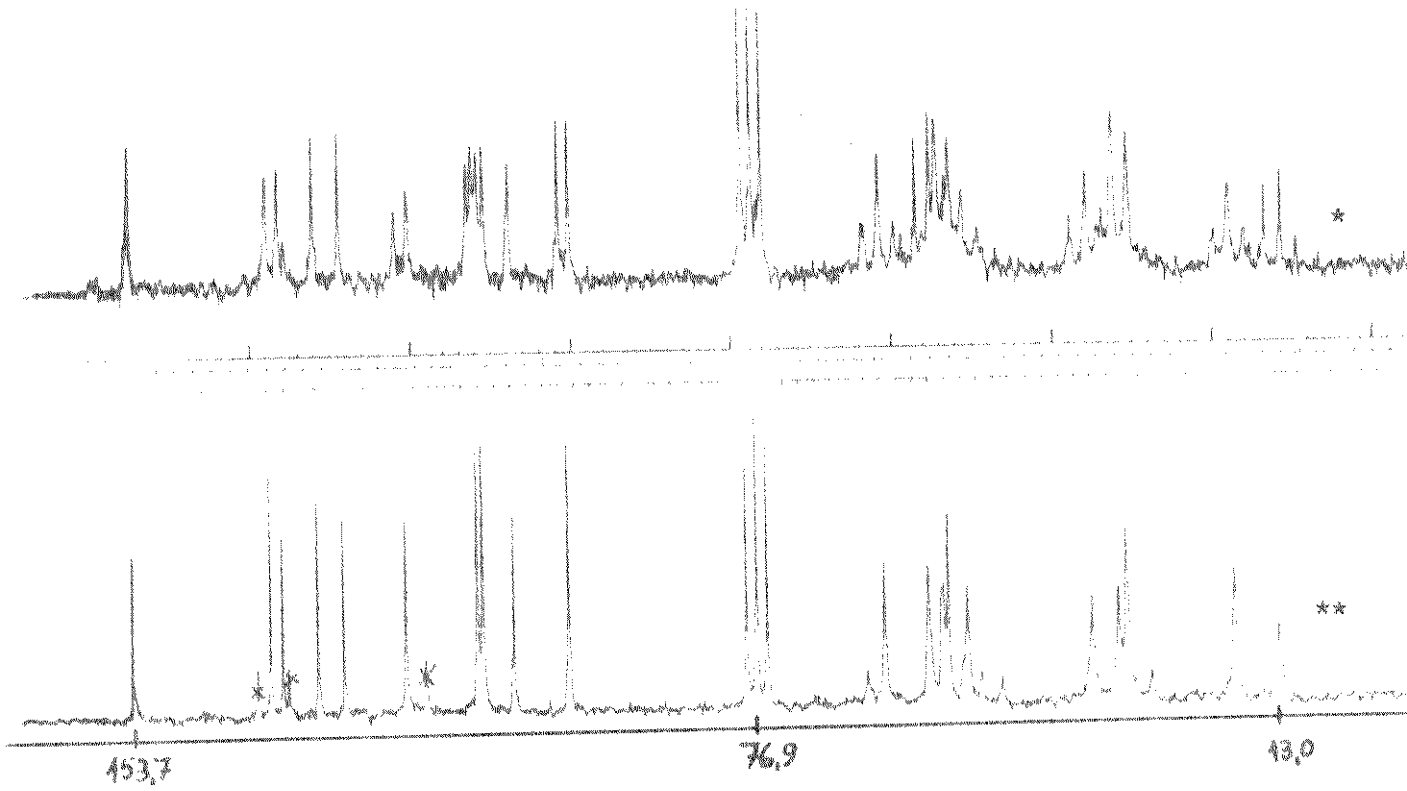


Fig. 36. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 10-metoxigeissoschizol 13 -  $\text{CDCl}_3$

\* F.D.F.F. , \*\* D.F.L.

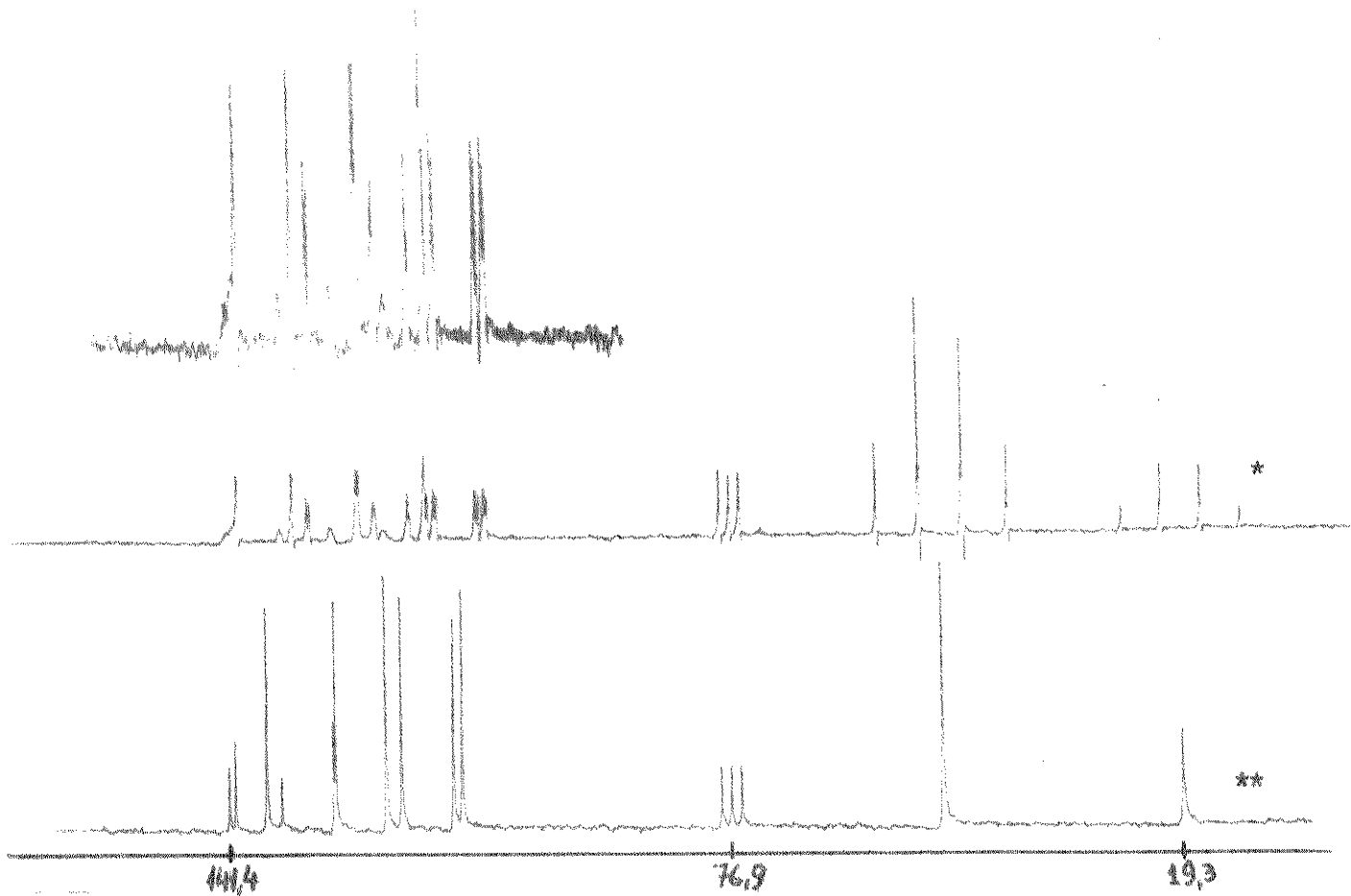


Fig. 37. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do harmano 37 -  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$

\* D.A. , \*\* D.F.L.



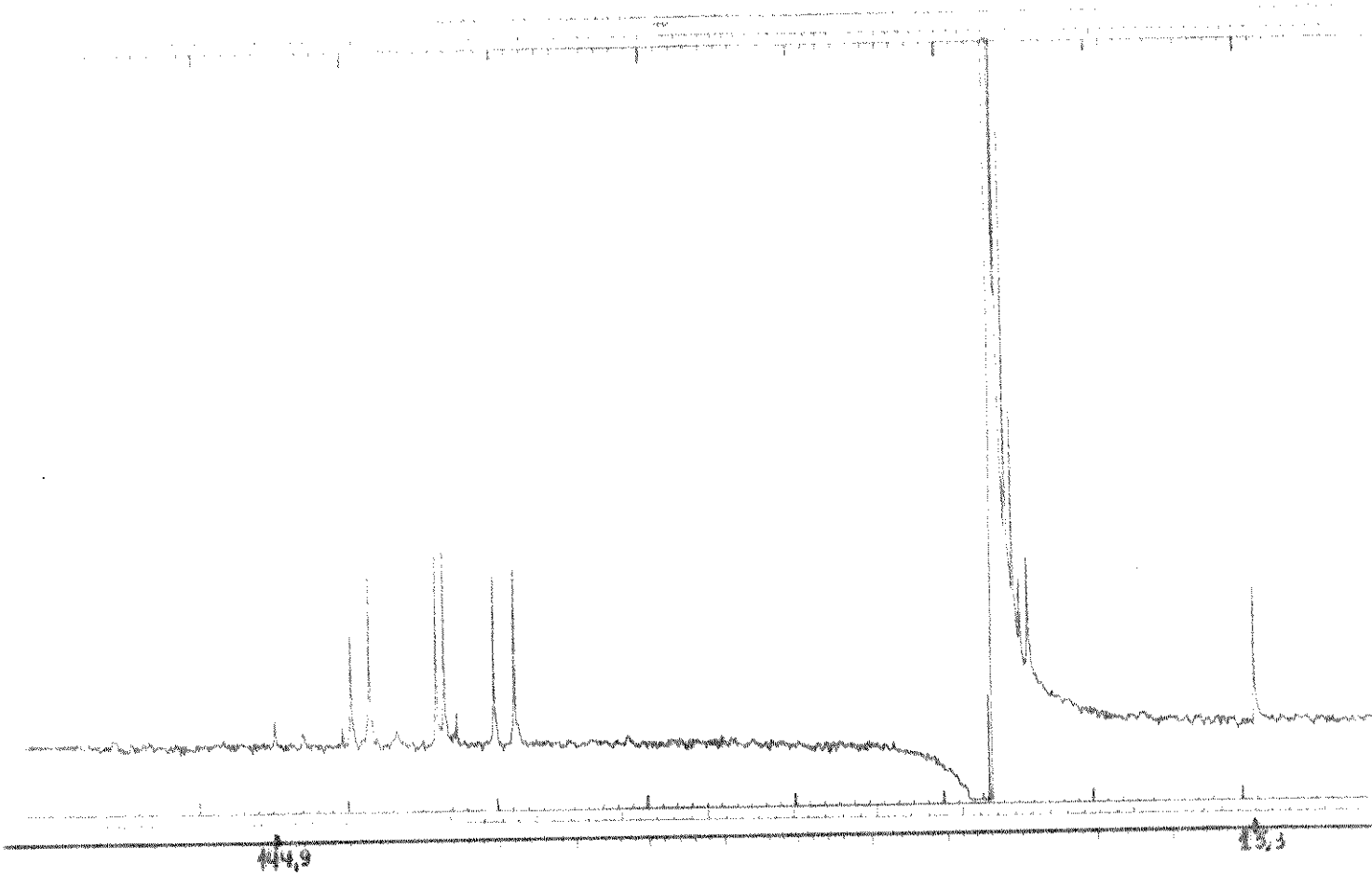


Fig. 38. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do cloreto de  $\text{N}_b$ -metil-harmano 39  
D.F.L.

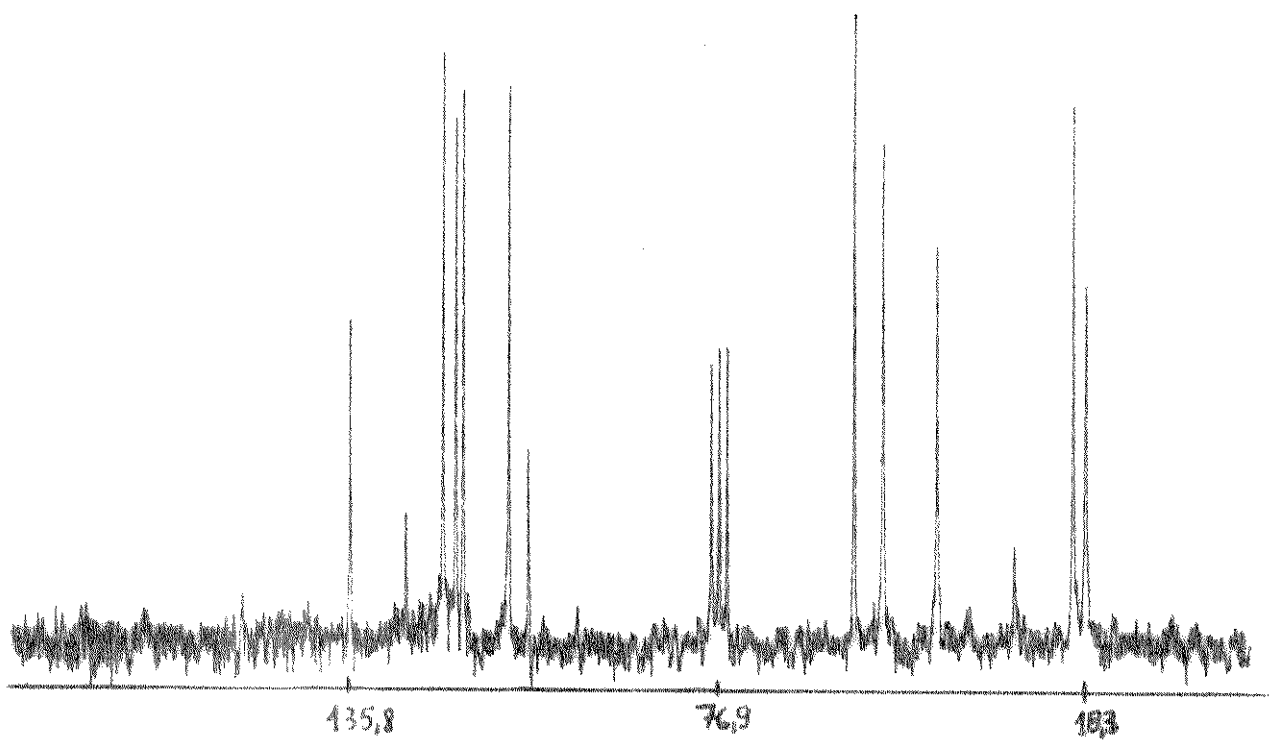


Fig. 39. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do  $\text{N}_b$ -metil-tetraidro-harmano 40  
D.F.L.

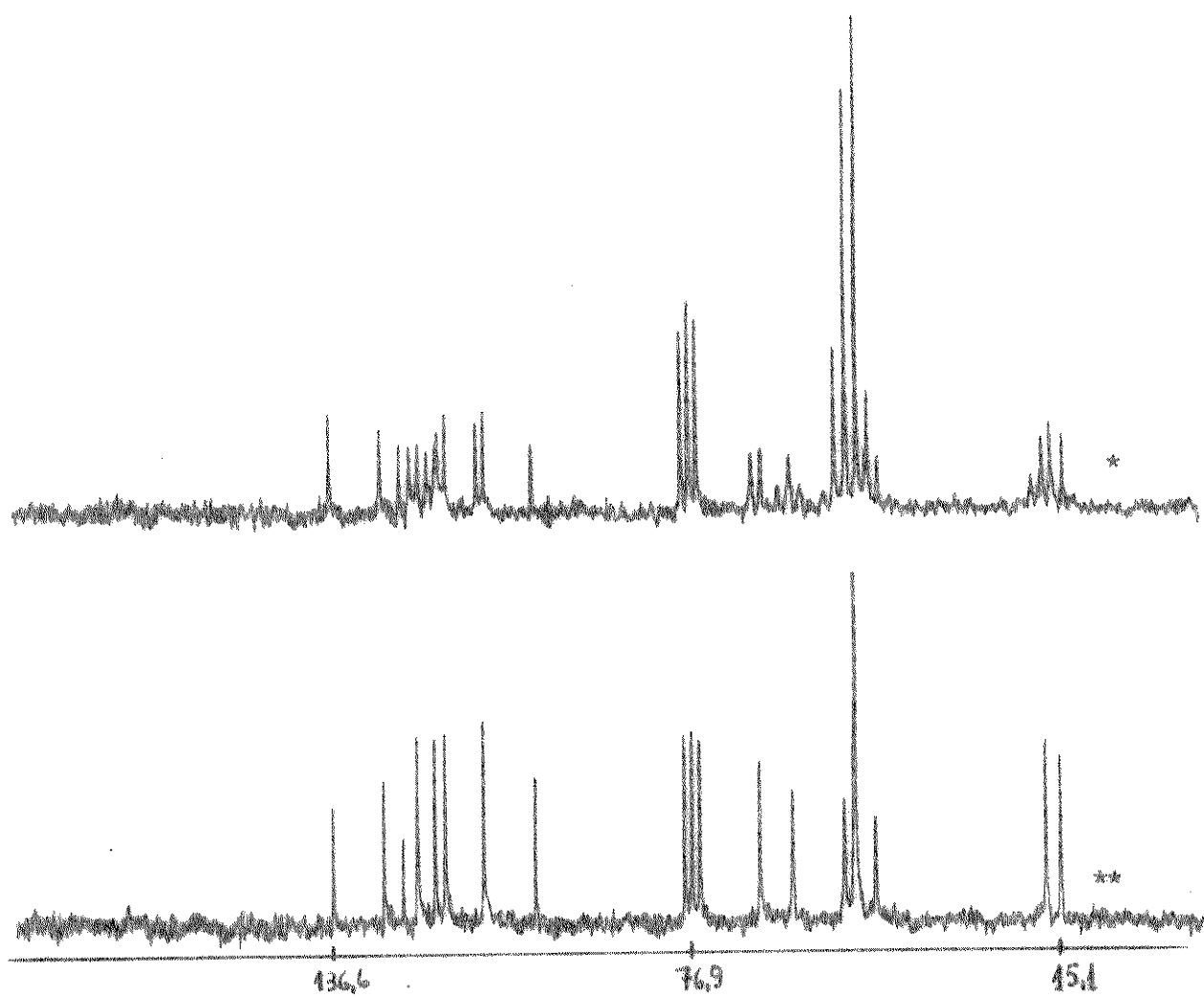


Fig. 40. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de iodeto de  $\text{N}_D, \text{N}_D$ -dimetil-tetrahidroharmano 41 -  $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$  ; \* F.D.F.F. , \*\* D.F.L.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. "The alkaloids of twelve *Aspidosperma* species", Gilbert, B., Duarte, A.P., Nakagawa, Y., Joule, J.A., Flores, S. E., Brissolese, J.A., Campello, J., Carrazzoni, E.P., Owellen, R. J., Blossey, E.C., Brown, K. S., Djerassi, C., *Tetrahedron* (1965) 21, 1141.
2. "Um estudo fitoquímico do gênero *Aspidosperma*", Gilbert, B., *An. Acad. Bras. Ciênc.*, (1966) 38 (supl.), 315.
3. "Indolalkaloide in Tabellen", Hesse, M., Springer, Berlin, (1964) vol. I.
4. "Indolalkaloide in Tabellen", Hesse, M., Springer, Berlin, (1968) vol. II.
5. "The Alkaloids", The Chemical Society, Specialist Periodical Reports, (1971) vol. 1; *ibid* (1972) vol. 2; *ibid* (1973) vol.3; *ibid* (1974) vol. 4; *ibid* (1975) vol. 5; *ibid* (1976) vol. 6; *ibid* (1977) vol. 7.
6. "Indole Alkaloids", Gabetta B.; *Fitoterapia*, (1976) supl. 1, 247.
7. "Indole Alkaloids", Gabetta B.; *Fitoterapia*, (1972), vol. 43, 3.
8. "Laboratory models for the biogenesis of indole alkaloids", Scott, A.I., *Recent Advances in Phytochemistry*; (1975) vol. 9, 189.
9. "The Biosynthesis of Natural Products", Bu'lock, J.D.; Mac Graw-Hill, Londres, (1965), pág. 22.
10. "Strictosidine: The key intermediate in the biosynthesis of monoterpenoid indole alkaloids"; Stockigt, J., Zenk, M.H.; *J.Chem. Soc., Chem. Commum.* (1977), 646.
11. "The basic glucosides related to the biosynthesis of indole and Ipecac alkaloids"; Battersby, A.R., Lewis, N.G.; Tripett, J.M.; *Tetrahedron Lett.* (1978), 4849.

12. "The biosynthesis of indole alkaloids", Cordeil, G.A., *Lloydia* (1974), 37, 219.
13. "Biosynthesis of Catharanthus alkaloids. Formation from shikimic-U-<sup>14</sup>C Acid"; Stolle, K.; Gröger, D., Mothes, K., *Abh. Deut. Akad. Wiss. Berlin*, (1966), 5, 497. *Chem. Abstr.* 66, 92453.
14. "Biosynthesis of Vinca minor alkaloids with a piridocanthine structure"; *Herba. Hung.* (1966), 5, 55. *Chem. Abstr.* 68, 36797.
15. "Biogenesis of Ajmaline"; Leete, E., *Chem. Ind. (London)*, (1960), 682.
16. "Studies on indole alkaloid biosynthesis", Kutney, J.P., Cretney, W.J.; Hadfield, J.R.; Hall, E.S.; Nelson, V. R.; Wigfield, D.C.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1968), 90 3566.
17. "On the origin of the C-1 fragment in indole alkaloids", Barton, D. H. R., Kirby, G. W., Prager, R. H., Wilson, E. M., *J. Chem. Soc.*, (1965), 3990.
18. "Biosynthesis of the vinca alkaloids. Feeding experiments with tryptophan-2-<sup>14</sup>C and acetate-1-<sup>14</sup>C"; Leete, E., Ahmad, A., Kompis, I., *J. Am. Chem. Soc.* (1965), 87, 4168.
19. "Biosynthesis of indole alkaloids: sequential precursor formation and biological conversion in Vinca rosea", Qureshi, A.A., Scott, A.I.; *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1968), 948.
20. "Über die biosynthese einiger alkaloide von Catharanthus roseus", Gröger, D., Stolle, K., Mothes, K., *Tetrahedron Lett.*, (1964), 2579.

21. "Zur Biosynthese des strychnins"; Shlatter, G., Waldner, E., Gröger, D., Maier, W., Schmid, H.; *Helv. Chim. Acta*, (1969), 52, 776.
22. "Partial Synthesis and Isolation of Vincoside and Isovincoside"; Battersby, A.R., Burnett, A.R., Parsons, P.G.; *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, (1968), 1282.
23. "A possible biosynthetic relationship between the cyclopentanoid monoterpenes and the indole alkaloids"; Thomas, R., *Tetrahedron Lett.*, (1961), 544.
24. "Biosynthesis of indole alkaloids. The aspidosperma and iboga bases", Wenkert, E., *J. Am. Chem. Soc.*, (1962) 84, 98.
25. "Alkaloid biosynthesis. Part XIV. Secologanin: its conversion into ipecoside and its role as biological precursor of indole alkaloids"; Battersby, A.R., Burnett, A.R., Parsons, P.G.; *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1969), 1187.
26. "Terpenoid indole alkaloids", Battersby, A.R., *The Specialist Periodical Reports*, The Chemical Society, London (1971), Vol. 1, pag. 31.
27. "Loganin as precursor of the indole alkaloids", Battersby, A. R., Brown, R.T., Kapil, R.S., Martin, J.A., Plunkett, A.O., Mo, L., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1968), 133.
28. "The Biological conversion of loganin into indole alkaloids", Loew, P., Arigoni, D., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1968) 137.
29. "Zur biosynthese der iridoidglucoside", Inouye, H., Yoshida, T., Tomida, S., *Tetrahedron Lett.* (1969), 2351.
30. "Alcaloidi indolici da Adina cordifolia"; Merlini, L., Nasini, G.; *Gazz. Chim. Ital.* (1968) 98, 974.
31. "Strictosidine: a key intermediate in the biogenesis of indole alkaloids", Smith, G.N., *J. Chem.Soc., Chem. Comm.* (1968), 912.
32. Smith, G.N.; Trabalho não publicado, citado na ref. 12.
33. "Stereochemistry of strictosidine", De silva, K.T.D., Smith, G.N., Warren, K.E.H.; *J.Chem.Soc., Chem.Comm.* (1971), 905.
34. "X-ray determination of the structure of OO-dimethylpecoside"; Kennard, O., Roberts, P.J., Isaacs, N.W., Allen, F.H., Mother Well, W.D.S., Gibson, K.H., Battersby, A.R., *J.Chem. Soc., Chem. Comm.* (1971), 901.

35. "The Alkaloids"; Staunton, J.; Specialist Periodical Reports, The Chemical Society, London (1972), vol. 3, pag. 1.
36. "Alkaloid biosynthesis. Part XV. Partial synthesis and isolation of vincoside and isovincoside", Battersby, A.R., Burnett, A.R., Parsons, P.G.; J. Chem. Soc., Chem. Comm. (1969), 1193.
37. "Biosynthesis of the indole alkaloids"; Scott, A.I., Acc.Chem. Res. (1970) 3, 151.
38. "The mechanism of indole alkaloid biosynthesis", Battersby, A. R., Byrne, J.C., Kapil, R.S., Martin, J.A., Payne, T., Arigoni, D., Loew, P., J. Chem. Soc., Chem. Comm. (1968) 951.
39. "The structure and reactions of preakuammicine"; Scott, A.I., Qureshi, A.A., J. Am. Chem. Soc. (1969) 91, 5874.
40. "Interconversion of corynanthe, aspisdoperma, and iboga alkaloids. A model for indole alkaloids biosynthesis", Qureshi, A.A., Scott, A.I.; J. Chem. Soc., Chem. Comm. (1968), 945.
41. "Biogenetic-type synthesis of iboga alkaloids:Catharanthine"; Qureshi, A.A.; Scott, A.I.; J. Chem. Soc., Chem. Comm.(1968),947.
42. "Mechanism of indole alkaloid biosynthesis. Recognition of intermediacy and sequence by short-term incubation"; Scott, A.I., Reichardt, P.B., Slaytor, M.B.; Sweeny, J.G.; Bioorganic. Chem. (1971) 1, 157.
43. "Hypohalite-induced oxidative decarboxylation of X-amino acids"; Van Tamelen, E.E.; Haarstad, V.R.; Orvis, R.L.; Tetrahedron (1968), 24, 687.
44. "Adina alkaloids: desoxycordifoline, 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -and 3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -tetrahydrodesoxycordifoline lactam"; Brown, R.T.; Chapple, C.L.; Lee, G.K.; J. Chem.Soc., Chem. Comm.: (1972), 1007.
45. "Non-involvement of 5- $\alpha$ -carboxy-strictosidine and -vincoside in the biosynthesis of sarpagine-type alkaloids"; Stockigt, J., Tetrahedron Lett. (1976), 4731.
46. "The minor alkaloids of Strychnos gossweileri"; Coune, C.A.; Planta Med. (1979) 36, 297.
47. "Neuere Entwicklungen in der chemie der chemie der naturstoffe", Woodward, R.B.; Angew. Chem. (1956) 68, 13.

48. "The biological conversion of sweroside into gentiopicroside and vincoside and a biogenetic aspect of some indole alkaloids", Inouye, H., Ueda, S., Takeda, Y., Chem. Pharm. Bull., (1971), 19, 587
49. "Contribuição para uma Revisão do Gênero Aspidosperma", Pereira, A. D., An. Acad. Bras. Ciênc., (1970), 42, 289.
50. "Establishment of physical criteria for the normal, pseudo, allo, and epiallo configurations by conformational analysis", Trager, W. F., Lee, C. M., Beckett, A. H., Tetrahedron, (1967), 23, 365.
51. "The C-3 configuration of certain indole alkaloids", Wenkert, E., Roychaudhuri, D. K., J. Am. Chem. Soc., (1956), 78, 6417.
52. "Mass spectrometry in structural and stereochemical problems", Antonaccio, L.D., Pereira, N.A., Vorbruegen, H., Budzikiewicz, H., Wilson, J.M., Durhan, L.J., Djerassi, C., J. Am. Chem. Soc., (1962), 84, 2161.
53. "Structure elucidation of natural products by Mass Spectrometry", Budzikiewicz, H., Djerassi, C., Williams, D. H., Holden-Day, Inc., San Francisco, (1964), Vol. I.
54. "Isolation of Yohimbine from Rauwolfia serpentina", Bader, F.E., Dickel, D.F., Schlittler, E., J. Am. Chem. Soc., (1954), 76, 1695.
55. "Base-catalysed condensations with yohimbanones and alloyohimbanones", Albright, J. D., Mitscher, L.A., Goldman, L., J. Org. Chem. (1963), 28, 38.
56. "Short routes of construction of yohimboid and ajmalinoid systems and their <sup>13</sup>C NMR spectral analysis", Wenkert, E., Chang, C.-J., Chawla, H.P.S., Cochran, D. W., Haganan, E.W., King, J.C., Orito, K., J. Am. Chem. Soc., (1976), 98, 3645.
57. "Studies on the alkaloids of Adina elliptica", Kimoto, S., Okamoto, M., Pharm. Bull. (Japan), (1955), 3, 392.
58. "Über die Alkaloide von Aspidosperma discolor", Daastor, N.J., Gormann, A.A., Schmid, H., Helv. Chim. Acta, (1967), 50, 213.
59. "Carbon-13 NMR spectroscopy of naturally occurring substances. Alkaloids", Wenkert, E., Bindra, J. S., Chang, C.-J., Cochran, D. W., Schell, F. M., Acc. Chem. Res., (1974), 7, 46.
60. "Structure d'un alcaloïde indolique ancien: la geissoschizine", Damak, M., Ahond, A., Potier, P., Janot, M.-M., Tetrahedron Lett. (1976), 4731.

61. "Über das alkaloides serpentine aus R. serpentina", Schlittler, E., Schwarz, H., *Helv. Chim. Acta*, (1950) 33, 1463.
62. "Further Investigation of Alstonine", Elderfield, R.C., Gray, A.P.; *J. Org. Chem.*, (1951), 16, 506.
63. "The structural elucidation of sitsirikine, dihydrositsirikine and isositsirikine"; Kutney, J.P.; Brown, R.T.; *Tetrahedron* (1966), 22, 321.
64. "<sup>13</sup>C-NMR. Spectroscopy of Naturally occurring substances. Iboga Alkaloids", Wenkert, E., Cochran, D.W., Gottlieb, H. E., Hagaman, E.W., Filho, R.B., Matos, F.J. de A., Madruga, M.I.L.M.; *Helv. Chim. Acta*, (1976), 59, 2437.
65. "Alkaloids of Aspidosperma excelsum", Benoin, P.R.; Burnnell, R.H.; Medina, J. D., *Can. J. Chem.*, (1967), 45, 725.
66. "Absolute configurations of Mitragynine, Specioliatine, Mitraciliatine and speciogynine", Lee, C.M., Trager, W.F.; Beckett, A.H. *Tetrahedron* (1967), 23, 375.
67. "Antirrhine and Antirrhine metho-salt from the leaves of Strychnos camptoneura", Bisset, N.G.; Phillipson, J.D.; *Phytochemistry* (1974), 13, 1265.
68. "<sup>13</sup>C NMR Analysis of geissospermine and its indole alkaloids monomers fragments"; Goutarel, R., Paŕs, M., Gottlieb, H.E., Wenkert, E.; *Tetrahedron Lett.* (1978), 1235.
69. "Application of pulse and Fourier transform carbon-13 NMR techniques to structure elucidation. Rauwolfia Alkaloids", Levin, R.H.; Lallemand, J-Y; Roberts, J.D.; *J. Org. Chem.*, (1973), 38, 1983.
70. "Structure cristalline de la Geissospermine", Chiaroni, A., Riche, C., Paŕs, M., Goutarel, R., *Tetrahedron Lett.* (1976), 4729.
71. Comunicação particular, Braga, R.M..
72. "N<sub>b</sub>-methyltetrahydroharman from Acacia complanata", Johns, S. R., Lambertson, J.A., Sioumis, A.A., *Aust. J. Chem.*, (1966), 19, 1539.
73. "The synthesis of r-6-metoxytryptophan and of harmine with a note on the action of acetaldehyde on tryptophan"; Harvey, D. G., Robson, W.; *J. Chem. Soc.*, (1938), 97.



74. "Über die Alkaloide aus der Rinde von Strychnos melinoniana"; Bachi, E., Vamvacas, C., Schmid, H., Harrer, P., *Helv. Chim. Acta*, (1957), 40, 1167.
75. "Stéréoisomères de la Yohimbine: nouvelles isomérisations et obtention de L'epi-3 corinanthine et L'epi-3 allo-yohimbine", Janot, M-M.; Goutarel, R.; Warnhoff, E.W., Le Hir, A., *Bull. Soc. Chim. France*, (1961), 637.
76. "Stéréoisomères de la Yohimbine:  $\beta$ -yohimbine", Le Hir, A., Goutarel, R., *Bull. Soc. Chim. France*, (1953), 1023.
77. "Alkaloïde aus Diplorrhynchus condylocarpon", Stauffacher, D., *Helv. Chim. Acta.*, (1961), 44, 2006.
78. "Étude par RM<sup>13</sup>C d'alkaloïdes à squelette acridanone et pyrido carbazole", Ahond, A., Poupat, C., Potier, P., *Tetrahedron*, (1978), 34, 2385.
79. "<sup>13</sup>C NMR spectral analysis of some isoquinoline alkaloids", Marsaioli, A.J.; Rūveda, E.A.; Reis, F. de A.M.; *Phytochemistry* (1978), 17, 1655.
80. "Carbon magnetic resonance spectra of gardneria alkaloids", Aimi, N., Yamaguchi, K., Sakai, S-I., Haginiwa, J., Kubo, A., *Chem. Pharm. Bull.*, (1978), 26, 3444.