



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

THAMIRES RODRIGUES FREITAS

OBTENÇÃO DE DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS DO ALCALOIDE
(-)-CASSINA NA BUSCA POR COMPOSTOS COM POTENCIAL
ANTIMALÁRICO

UBERLÂNDIA

2018

THAMIRES RODRIGUES FREITAS

**OBTENÇÃO DE DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS DO ALCALOIDE
(-)-CASSINA NA BUSCA POR COMPOSTOS COM POTENCIAL
ANTIMALÁRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pivatto

UBERLÂNDIA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F866o
2018 Freitas, Thamires Rodrigues, 1994-
Obtenção de derivados semissintéticos do alcaloide (–)-cassina na
busca por compostos com potencial antimalárico / Thamires Rodrigues
Freitas. - 2018.
310 f. : il.

Orientador: Marcos Pivatto.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.230>
Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Malária - Tratamento - Teses. 3. Alcaloides -
Teses. 4. Biossíntese - Teses. I. Pivatto, Marcos. II. Universidade Federal
de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Maria Salete de Freitas Pinheiro – CRB6/1262



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 275/PPQUI.

DATA: 19/02/2018

DISCENTE: Thamires Rodrigues Freitas

MATRÍCULA: 11612QMI014

TÍTULO DO TRABALHO: Obtenção de derivados semissintéticos dos alcaloides (-)-cassina e (-)-espectralina e avaliação do potencial antimalárico.

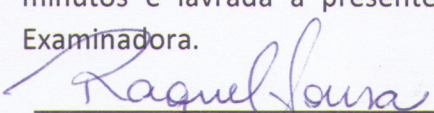
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

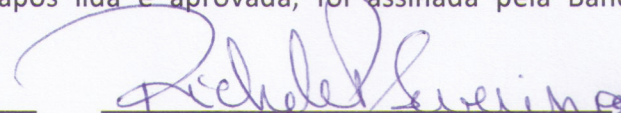
LINHA DE PESQUISA: Química de Produtos Naturais

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Projeto Universal CNPq n. 449846/2014-8: Isolamento, modificação estrutural e avaliação do potencial antimalárico dos alcaloides (-)-cassina e (-)-espectralina e derivados semissintéticos.

Às quatorze horas do dia dezenove de fevereiro do ano dois mil e dezoito, no(a) Auditório Prof. Dr. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones, piso superior do Bloco 5I no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof^a Dra. Raquel Maria Ferreira de Sousa, Universidade Federal de Uberlândia, Prof^a Dra. Richele Priscila Severino, Universidade Federal de Goiás e Prof. Dr. Marcos Pivatto, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será Obtenção de derivados semissintéticos do alcaloide (-)-cassina na busca por compostos com potencial antimalárico.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 08 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof^a Dra. Raquel Maria Ferreira de Sousa


Prof^a Dra. Richele Priscila Severino


Prof. Dr. Marcos Pivatto

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meu caminho, por me dar forças e vontade para seguir em frente.

Ao professor Dr. Marcos Pivatto, pela orientação, por todo o conhecimento transmitido, pelos conselhos, pelo incentivo à pesquisa e por confiar em mim.

A professora Dra. Amanda D. Pivatto, pela contribuição e pelas dicas.

Aos demais professores do NuPPeN (Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais) do Instituto de Química da UFU, pelos ensinamentos.

Ao professor Dr. Ronaldo J. de Oliveira e a aluna de mestrado Pamela A. Candido, pelos ensaios *in silico*.

Aos amigos do NuPPeN, pelo companheirismo e amizade.

Aos meus pais, Leônidas e Eliane, pelo amor, pelo incentivo e apoio. Agradeço pelos ensinamentos e por serem meus exemplos de fé, dedicação e garra.

A minha irmã Thays, amiga querida e companheira. Agradeço pelo amor, pela paciência e pelo exemplo de determinação.

Aos meus avós, por todo o amor, por serem um exemplo de vida e por suas orações.

A CAPES pela bolsa concedida e a FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto vinculado a este trabalho.

Ao Instituto de Química da UFU e ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Lembre-se de que sonhos sem riscos produzem conquistas sem méritos.

(Augusto Cury)

RESUMO

O presente trabalho foi motivado a partir de estudos preliminares que verificaram a atividade antimalárica relacionada aos alcaloides (–)-cassina e (–)-espectralina, isolados das flores de *Senna spectabilis*. Levando em conta que existem poucos medicamentos para o tratamento da malária, uma das doenças negligenciadas que mais assola os países em desenvolvimento, foi planejada uma série de derivados semissintéticos a partir de (–)-cassina, visando a obtenção de compostos mais potentes que possam ser utilizados como modelos para o desenvolvimento de novos fármacos antimaláricos. Inicialmente, uma série de ésteres planejados foi submetida a um *screening* virtual utilizando a ferramenta de *docking* molecular para avaliar a afinidade entre os análogos e a enzima lactato desidrogenase, principal alvo dos fármacos antimaláricos. Em seguida os derivados mais promissores foram sintetizados e obtidos com bons rendimentos: (–)-3-*O*-acetilcassina (48%), 3-*O*-butanoilcassina (67%), 3-*O*-pentanoilcassina (52%), 3-*O*-hexanoilcassina (58%), 3-*O*-heptanoilcassina (65%), 3-*O*-(2-bromobenzoil)cassina (76%), 3-*O*-(3-bromobenzoil)cassina (74%), 3-*O*-(4-bromobenzoil)cassina (79%), 3-*O*-(2-clorobenzoil)cassina (64%), 3-*O*-(3-clorobenzoil)cassina (71%), 3-*O*-(4-clorobenzoil)cassina (76%), 3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (56%), 3-*O*-(3-metilbenzoil)cassina (63%), 3-*O*-(4-metilbenzoil)cassina (59%), 3-*O*-(2-nitrobenzoil)cassina (67%), 3-*O*-(3-nitrobenzoil)cassina (62%), 3-*O*-(4-nitrobenzoil)cassina (74%). Estes compostos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas (ressonância magnética nuclear) e espectrométricas (espectrometria de massas).

Palavras-chave: *Senna spectabilis*, (–)-cassina, (–)-espectralina, alcaloides piperidínicos, derivados semissintéticos.

ABSTRACT

The present work was motivated by preliminary studies that verified the antimalarial activity of the alkaloids (–)-cassine and (–)-spectaline, that were isolated of flowers from *Senna spectabilis*. Whereas that there are few drugs for the treatment of malaria, one of the neglected diseases that plagues most developing countries, a series of semisynthetic derivatives from (–)-cassine was planned, aiming at obtaining more powerful compounds that can be used as models for the development of new antimalarial drugs. Initially, the serie of planned esters was subjected to a virtual *screening* using the molecular *docking* tool to evaluate the affinity between analogues and the enzyme lactate desyhydrogenase, the main target of antimalarial drugs. Then the most promising derivatives were synthesized and obtained with good yields: (–)-3-*O*-acetylcassine (48%), 3-*O*-butanoylcassine (67%), 3-*O*-pentanoylcassine (52%), 3-*O*-hexanoylcassine (58%), 3-*O*-heptanoylcassine (65%), 3-*O*-(2-bromobenzoyl)-cassine (76%), 3-*O*-(3-bromobenzoyl)cassine (74%), 3-*O*-(4-bromobenzoyl)cassine (79%), 3-*O*-(2-clorobenzoyl)-cassine (64%), 3-*O*-(3-clorobenzoyl)cassine (71%), 3-*O*-(4-clorobenzoyl)cassine (76%), 3-*O*-(2-metilbenzoyl)-cassine (56%), 3-*O*-(3-metilbenzoyl)cassine (63%), 3-*O*-(4-metilbenzoyl)cassine (59%), 3-*O*-(2-nitrobenzoyl)-cassine (67%), 3-*O*-(3-nitrobenzoyl)cassine (62%), 3-*O*-(4-nitrobenzoyl)cassine (74%). These compounds were characterized by spectroscopic (nuclear magnetic ressonance) and spectrometric (mass spectrometry) techniques.

Keywords: *Senna spectabilis*, (–)-cassine, (–)-spectaline, piperidine alkaloids, semisynthetic derivatives.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1. | Penicilina G | 16 |
| Figura 2. | Princípios ativos isolados de plantas | 17 |
| Figura 3. | Fármacos antiparasitários lançados entre 1981–2014 | 17 |
| Figura 4. | Fármacos antiparasitários desenvolvidos entre 1981–2014 | 18 |
| Figura 5. | Ciclo de vida do <i>Plasmodium</i> | 21 |
| Figura 6. | Estágios de desenvolvimento do <i>Plasmodium</i> ssp e locais de ação dos fármacos | 22 |
| Figura 7. | Fármacos antimaláricos | 23 |
| Figura 8. | Modelo de polimerização do heme e inibição pela artemisinina | 24 |
| Figura 9. | Reação catalisada pela enzima LDH | 26 |
| Figura 10. | Fluxograma simplificado das rotas metabólicas para compostos nitrogenados, fenólicos e terpenos | 28 |
| Figura 11. | Biogênese da coniina a partir da lisina | 30 |
| Figura 12. | Biogênese da espicigerina (<i>Prosopis spicigera</i>) | 30 |
| Figura 13. | <i>Senna spectabilis</i> : detalhes da planta, flores, frutos, sementes, casca e madeira | 31 |
| Figura 14. | Alcaloides piperidínicos isolados de <i>Senna spectabilis</i> (sin. <i>C. spectabilis</i>) | 32 |
| Figura 15. | Similaridade estrutural entre acetilcolina (ACh) e uma subunidade internalizada nos alcalóides 44 e 45 | 33 |
| Figura 16. | Fluxograma dos procedimentos cromatográficos | 40 |
| Figura 17. | Sistema de Kipp modificado para preparo dos cloridratos de 29 | 40 |
| Figura 18. | Metodologia sintética para obtenção dos derivados acilados | 41 |
| Figura 19. | Metodologia sintética para obtenção dos derivados benzoilados | 41 |
| Figura 20. | Sistema de refluxo para preparo dos derivados semissintéticos | 43 |
| Figura 21. | Fluxograma da extração líquido-líquido do extrato etanólico | 45 |
| Figura 22. | CCD (A) extrato etanólico (E), massa retida no papel de filtro (F) e fração hidrometanólica (H); (B) fração hexano (1 ^a , 2 ^a , 3 ^a , 4 ^a e 5 ^a extrações) e (C) fração clorofórmio (1 ^a , 2 ^a , 3 ^a , 4 ^a e 5 ^a extrações) (FE:sílica, FM: CHCl ₃ :MeOH:NH ₄ OH (9:1:0,25) e revelador: ICIPt) | 46 |
| Figura 23. | CCD da TMC01 (FE: sílica, FM: CHCl ₃ :MeOH:NH ₄ OH (9,2:0,8:0,25)) | 47 |

| | | |
|------------|---|----|
| | e revelador: ICIPt) | |
| Figura 24. | CCD da TMC02 (FE: sílica, FM: CHCl ₃ :MeOH:NH ₄ OH (9,2:0,8:0,25) e revelador: ICIPt) | 47 |
| Figura 25. | CCD da TMC03 (FE: sílica, FM: CHCl ₃ :MeOH:NH ₄ OH (9,2:0,8:0,25) e revelador: ICIPt) | 48 |
| Figura 26. | Cromatograma da fração TMC03-F ₁ (29), obtido por CG-DIC | 48 |
| Figura 27. | Cromatograma da fração TMC03-F ₃ (30), obtido por CG-DIC | 49 |
| Figura 28. | EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide (–)-cassina (29) | 51 |
| Figura 29. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-cassina (29) | 51 |
| Figura 30. | EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide (–)-espectralina (30) | 55 |
| Figura 31. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-espectralina (30) | 55 |
| Figura 32. | Conformações possíveis para o alcaloide 29 | 57 |
| Figura 33. | Mecanismo proposto para as reações com cloretos de acila | 58 |
| Figura 34. | Mecanismo proposto para as reações com cloretos de benzoíla substituídos | 59 |
| Figura 35. | EM-IES-(+) em alta resolução do derivado (–)-3- <i>O</i> -acetilcassina (45) | 61 |
| Figura 36. | EM/EM-IES-(+) do derivado (–)-3- <i>O</i> -acetilcassina (45) | 61 |
| Figura 37. | EM-IES-(+) em alta resolução do derivado 3- <i>O</i> -butanoilcassina (46) | 64 |
| Figura 38. | EM/EM-IES-(+) do derivado 3- <i>O</i> -butanoilcassina (46) | 64 |
| Figura 39. | EM-IES-(+) em alta resolução do derivado 3- <i>O</i> -pentanoilcassina (47) | 69 |
| Figura 40. | EM/EM-IES-(+) do derivado 3- <i>O</i> -pentanoilcassina (47) | 69 |
| Figura 41. | EM-IES-(+) em alta resolução do derivado 3- <i>O</i> -hexanoilcassina (48) | 73 |
| Figura 42. | EM/EM-IES-(+) do derivado 3- <i>O</i> -hexanoilcassina (48) | 73 |
| Figura 43. | EM-IES-(+) em alta resolução do derivado 3- <i>O</i> -heptanoilcassina (49) | 77 |
| Figura 44. | EM/EM-IES-(+) do derivado 3- <i>O</i> -heptanoilcassina (49) | 77 |
| Figura 45. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(2-bromobenzoil)cassina (50) | 81 |
| Figura 46. | EM/EM-IES-(+) do derivado 3- <i>O</i> -(2-bromobenzoil)cassina (50) | 81 |
| Figura 47. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(3-bromobenzoil)cassina (51) | 85 |
| Figura 48. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(3-bromobenzoil)cassina (51) | 85 |
| Figura 49. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(4-bromobenzoil)cassina (52) | 89 |
| Figura 50. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(4-bromobenzoil)cassina (52) | 89 |
| Figura 51. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(2-clorobenzoil)cassina (53) | 93 |
| Figura 52. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(2-clorobenzoil)cassina (53) | 93 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Figura 53. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(3-clorobenzoil)cassina (54) | 97 |
| Figura 54. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(3-clorobenzoil)cassina (54) | 97 |
| Figura 55. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(4-clorobenzoil)cassina (55) | 101 |
| Figura 56. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(4-clorobenzoil)cassina (55) | 101 |
| Figura 57. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(2-metilbenzoil)cassina (56) | 105 |
| Figura 58. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(2-metilbenzoil)cassina (56) | 105 |
| Figura 59. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(3-metilbenzoil)cassina (57) | 109 |
| Figura 60. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(3-metilbenzoil)cassina (57) | 109 |
| Figura 61. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(4-metilbenzoil)cassina (58) | 113 |
| Figura 62. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(4-metilbenzoil)cassina (58) | 113 |
| Figura 63. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(2-nitrobenzoil)cassina (59) | 117 |
| Figura 64. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(2-nitrobenzoil)cassina (59) | 117 |
| Figura 65. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(3-nitrobenzoil)cassina (60) | 121 |
| Figura 66. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(3-nitrobenzoil)cassina (60) | 121 |
| Figura 67. | EM-IES-(+) em alta resolução do 3- <i>O</i> -(4-nitrobenzoil)cassina (61) | 125 |
| Figura 68. | EM/EM-IES-(+) do alcaloide 3- <i>O</i> -(4-nitrobenzoil)cassina (61) | 125 |
| Figura 69. | Padrão de fragmentação dos derivados semissintéticos utilizando (+)-EM/EM-IES | 128 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|-----|
| Tabela 1. | Principais classes de alcaloides sintetizados pelas plantas | 29 |
| Tabela 2. | Reagentes comerciais para as reações de semissíntese | 36 |
| Tabela 3. | Dados das reações de esterificação realizadas. | 42 |
| Tabela 4. | Dados de RMN do alcaloide 29 em CDCl ₃ | 53 |
| Tabela 5. | Dados de RMN do alcaloide 30 em CDCl ₃ | 56 |
| Tabela 6. | Dados de RMN do derivado (–)-3- <i>O</i> -acetilcassina (45) em CDCl ₃ | 63 |
| Tabela 7. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -butanoilcassina (46) em CDCl ₃ | 67 |
| Tabela 8. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -pentanoilcassina (47) em CDCl ₃ | 71 |
| Tabela 9. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -hexanoilcassina (48) em CDCl ₃ | 75 |
| Tabela 10. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -heptanoilcassina (49) em CDCl ₃ | 79 |
| Tabela 11. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(2-bromobenzoil)cassina (50) em CDCl ₃ | 83 |
| Tabela 12. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(3-bromobenzoil)cassina (51) em CDCl ₃ | 87 |
| Tabela 13. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(4-bromobenzoil)cassina (52) em CDCl ₃ | 91 |
| Tabela 14. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(2-clorobenzoil)cassina (53) em CDCl ₃ | 95 |
| Tabela 15. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(3-clorobenzoil)cassina (54) em CDCl ₃ | 99 |
| Tabela 16. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(4-clorobenzoil)cassina (55) em CDCl ₃ | 103 |
| Tabela 17. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(2-metilbenzoil)cassina (56) em CDCl ₃ | 107 |
| Tabela 18. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(3-metilbenzoil)cassina (57) em CDCl ₃ | 111 |
| Tabela 19. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(4-metilbenzoil)cassina (58) em CDCl ₃ | 115 |
| Tabela 20. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(2-nitrobenzoil)cassina (59) em CDCl ₃ | 119 |
| Tabela 21. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(3-nitrobenzoil)cassina (60) em CDCl ₃ | 123 |
| Tabela 22. | Dados de RMN do derivado 3- <i>O</i> -(4-nitrobenzoil)cassina (61) em CDCl ₃ | 127 |

LISTA DE APÊNDICES

| | | |
|-------------|---|-----|
| Apêndice A. | Espectros de RMN do alcaloide 29 | 139 |
| Apêndice B. | Espectros de RMN do alcaloide 30 | 148 |
| Apêndice C. | Espectros de RMN do derivado 45 | 157 |
| Apêndice D. | Espectros de RMN do derivado 46 | 166 |
| Apêndice E. | Espectros de RMN do derivado 47 | 175 |
| Apêndice F. | Espectros de RMN do derivado 48 | 184 |
| Apêndice G. | Espectros de RMN do derivado 49 | 193 |
| Apêndice H. | Espectros de RMN do derivado 50 | 202 |
| Apêndice I. | Espectros de RMN do derivado 51 | 211 |
| Apêndice J. | Espectros de RMN do derivado 52 | 220 |
| Apêndice K. | Espectros de RMN do derivado 53 | 229 |
| Apêndice L. | Espectros de RMN do derivado 54 | 238 |
| Apêndice M. | Espectros de RMN do derivado 55 | 247 |
| Apêndice N. | Espectros de RMN do derivado 56 | 256 |
| Apêndice O. | Espectros de RMN do derivado 57 | 265 |
| Apêndice P. | Espectros de RMN do derivado 58 | 274 |
| Apêndice Q. | Espectros de RMN do derivado 59 | 283 |
| Apêndice R. | Espectros de RMN do derivado 60 | 292 |
| Apêndice S. | Espectros de RMN do derivado 61 | 301 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTs – *Artemisinin-based combination therapy*
CC – Cromatografia em Coluna
CCD – Cromatografia em Camada Delgada
COSY – *Correlation SpectroscopY*
d – duplete
DNDi – *Drugs for Neglected Diseases Initiative*
EM – Espectrometria de Massas
EM-IES – Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray*
FDA – Food and Drug Administration
FE – Fase Estacionária
FM – Fase Móvel
HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*
HMQC – *Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*
IC₅₀ – Concentração necessária para inibição de 50% do parasita
IClPt – Revelador Iodocloroplatinato
IQ – Instituto de Química
J – Constante de acoplamento (em Hertz)
m – multiplete
MMV – *Medicines for Malaria Venture*
NuPPeN – Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais
PIACM – Plano de Intensificação das Atividades de Controle da Malária
q – quadruplete
RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s – singlete
SBDD – *Structure-Based Drug Design*
SBVS – *Structure-Based Virtual Screening*
SNC – Sistema Nervoso Central
t – tripleto
TDR – *Tropical Disease Research*
δ – deslocamento químico em relação ao TMS (expresso em ppm)

SUMÁRIO

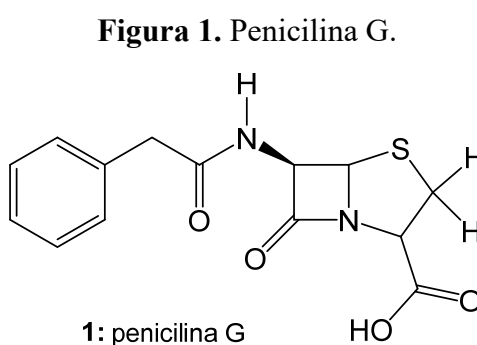
| | | |
|--------------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 | Malária | 20 |
| 1.1.1 | A lactato desidrogenase (LDH) | 25 |
| 1.2 | Metabólitos secundários | 26 |
| 1.2.1 | Alcaloides | 29 |
| 1.3 | <i>Senna spectabilis</i> | 31 |
| 2 | OBJETIVOS | 34 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 35 |
| 3.1 | Solventes | 35 |
| 3.2 | Reagentes | 35 |
| 3.3 | Cromatografia | 36 |
| 3.3.1 | Cromatografia em coluna aberta | 36 |
| 3.3.2 | Cromatografia em camada delgada | 37 |
| 3.3.3 | Cromatografia gasosa | 37 |
| 3.4 | Análises espectrométricas e espectroscópicas | 37 |
| 3.4.1 | Espectrometria de Massas | 37 |
| 3.4.2 | Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear | 38 |
| 4 | PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 38 |
| 4.1 | Preparo do material vegetal e obtenção do extrato | 38 |
| 4.2 | Fracionamento do extrato de <i>Senna spectabilis</i> | 38 |
| 4.2.1 | Preparo do revelador de iodocloroplatinato | 39 |
| 4.3 | Isolamento dos alcaloides (–)-cassina e (–)-espectralina | 39 |
| 4.4 | Metodologia sintética | 40 |
| 4.5 | Estudo <i>in silico</i> (<i>docking</i> molecular) | 43 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 44 |
| 45.1 | Fracionamento do extrato de <i>Senna spectabilis</i> | 44 |
| 5.2 | Isolamento dos alcaloides (–)-cassina e (–)-espectralina | 46 |
| 5.2.1 | Elucidação estrutural do alcaloide 29 | 50 |
| 5.2.2 | Elucidação estrutural do alcaloide 30 | 54 |
| 5.3 | Síntese dos derivados da (–)-cassina (29) | 57 |
| 5.3.1 | Elucidação estrutural do derivado 45 | 60 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 5.3.2 | Elucidação estrutural do derivado 46 | 64 |
| 5.3.3 | Elucidação estrutural do derivado 47 | 68 |
| 5.3.4 | Elucidação estrutural do derivado 48 | 72 |
| 5.3.5 | Elucidação estrutural do derivado 49 | 76 |
| 5.3.6 | Elucidação estrutural do derivado 50 | 80 |
| 5.3.7 | Elucidação estrutural do derivado 51 | 84 |
| 5.3.8 | Elucidação estrutural do derivado 52 | 88 |
| 5.3.9 | Elucidação estrutural do derivado 53 | 92 |
| 5.3.10 | Elucidação estrutural do derivado 54 | 96 |
| 5.3.11 | Elucidação estrutural do derivado 55 | 100 |
| 5.3.12 | Elucidação estrutural do derivado 56 | 104 |
| 5.3.13 | Elucidação estrutural do derivado 57 | 108 |
| 5.3.14 | Elucidação estrutural do derivado 58 | 112 |
| 5.3.15 | Elucidação estrutural do derivado 59 | 116 |
| 5.3.16 | Elucidação estrutural do derivado 60 | 120 |
| 5.3.17 | Elucidação estrutural do derivado 61 | 124 |
| 5.4 | Estudos <i>in silico</i> (<i>docking</i> molecular) | 128 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 132 |
| | REFERÊNCIAS | 133 |
| | APÊNDICES | 139 |

1 INTRODUÇÃO

A utilização das plantas na medicina para o tratamento das doenças que acometem a espécie humana foi relatada inicialmente pelos egípcios, indianos e chineses há mais de 8000 anos e influenciou significativamente a pesquisa científica e a cultura humana (VALLI et al., 2012).

Embora os recursos naturais no mundo ainda tenham sido pouco investigados, há excelentes exemplos em que a biodiversidade levou a descobertas de novos fármacos, possibilitando o tratamento e cura de diversas doenças, como a penicilina G (1) (Figura 1), composto isolado do fungo *Penicillium*, que representa um marco histórico na era dos antibióticos, diminuindo expressamente o número de mortes causadas por doenças infecciosas (REZENDE, 2009; NEWMAN, 2017).

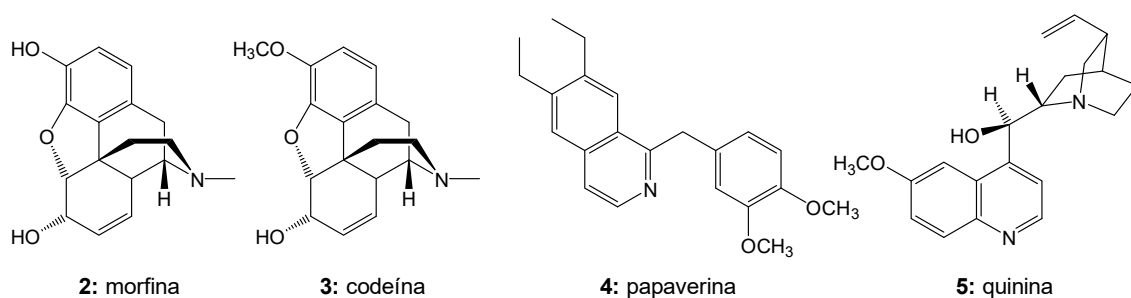


Fonte: autora.

Uma série de evidências mostra como as relações humanas foram afetadas pelas plantas, incluindo a evolução econômica e social de diferentes populações em diferentes regiões. Entretanto, os primeiros estudos científicos sobre plantas foram registrados a partir do século XIX, relatando algumas substâncias como a morfina (2), analgésico isolado da papoula (*Papaver somniferum*) que contribuiu para a descoberta de outros compostos farmacologicamente ativos, como a codeína (3) (antitussígeno) e a papaverina (4) (vasodilatador), isolados da mesma planta (PINTO et al., 2002; VALLI et al., 2012).

O isolamento da quinina (5) (Figura 2) das cascas de espécies da Chinchona, foi relatado em 1820 pelos farmacêuticos Caventou e Pelletier, e foi o primeiro fármaco empregado no tratamento da malária, uma das doenças parasitárias mais recorrentes em todo o mundo (CRAGG; NEWMAN, 2013).

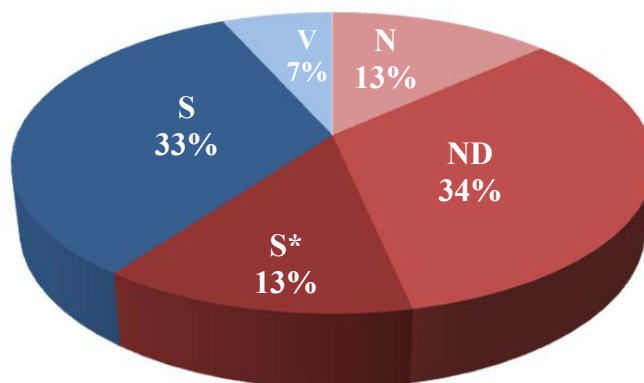
Figura 2. Princípios ativos isolados de plantas.



Fonte: autora.

A importância dos produtos naturais com atividade antiparasitária é destacada no estudo realizado por Newman e Cragg (2016), sobre a origem dos medicamentos lançados entre 1981 e 2014. Neste trabalho, os fármacos foram classificados da seguinte forma: produto natural (isolado de fonte natural) (N), derivado semissintético de produto natural (ND), sintético (S), sintético com grupo farmacofórico baseado em produto natural (S*) e vacinas (V) (Figura 3). Assim, é possível constatar que 60% dos fármacos antiparasitários (6–19) desenvolvidos em 34 anos de estudos apresentam sua origem em produtos naturais (Figura 4).

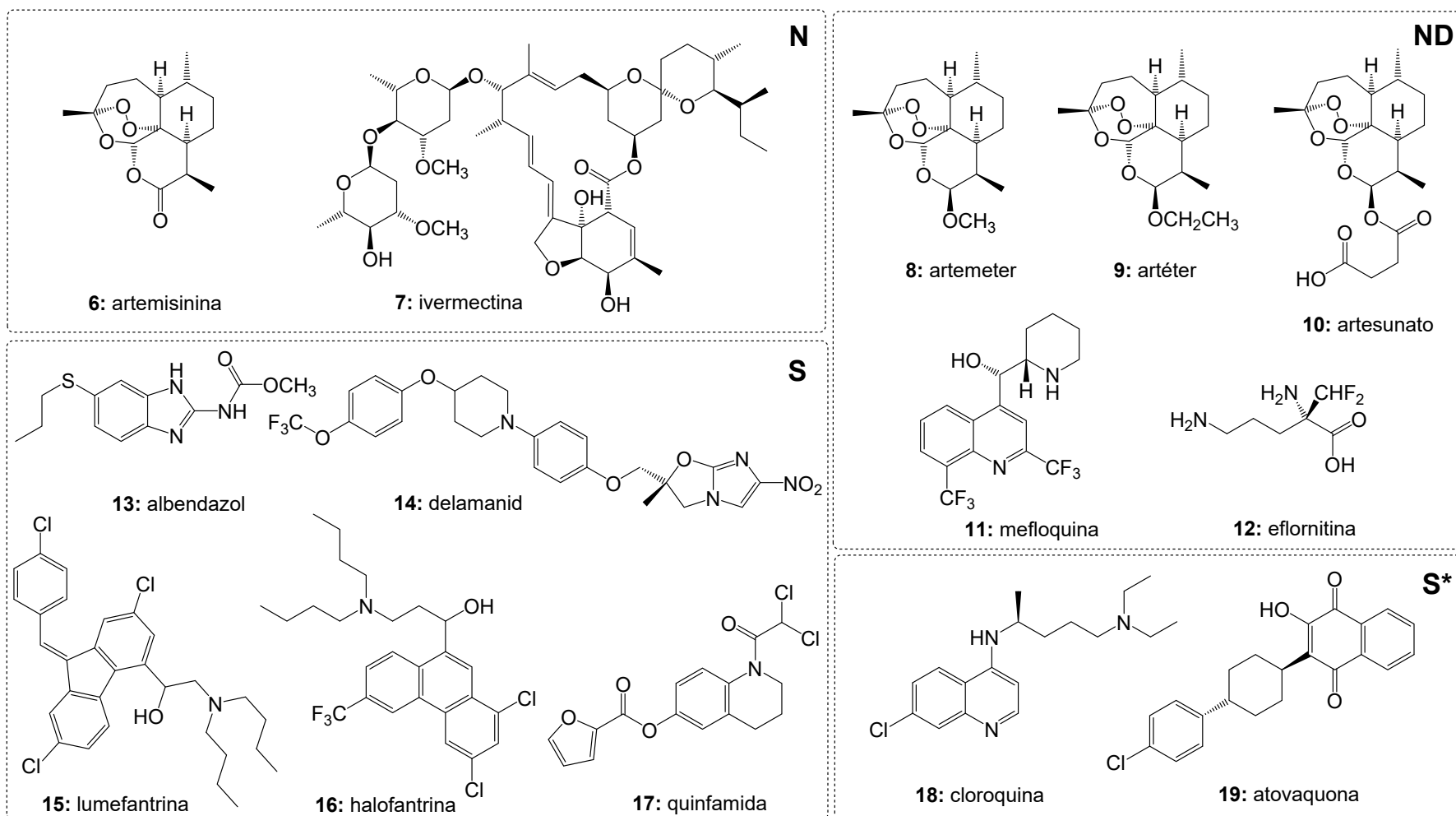
Figura 3. Fármacos antiparasitários lançados entre 1981–2014.



Nota: N - produto natural (isolado de fonte natural), ND - derivado semissintético de produto natural, S - sintético, S* - sintético com grupo farmacofórico igual ao de produto natural e V - vacinas.

Fonte: adaptado de Newman and Cragg (2016).

Figura 4. Fármacos antiparasitários desenvolvidos entre 1981–2014.



Nota: N - produto natural (isolado de fonte natural), ND - derivado semissintético de produto natural, S - sintético, S* - sintético com grupo farmacofórico igual ao de produto natural e V - vacinas.

Fonte: adaptado de Newman and Cragg (2016).

Neste contexto, a pesquisa com produtos naturais possibilita tanto a descoberta de compostos bioativos, como também estimula o desenvolvimento da síntese orgânica para obtenção de novas estruturas moleculares que possam servir como modelos para o desenvolvimento de novos fármacos. Alguns programas como o *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR), vinculado a Organização das Nações Unidas (ONU), o *Medicines for Malaria Venture* (MMV) e o *Drugs for Neglected Diseases initiative* (DNDi), vinculados a Organização Mundial da Saúde (OMS), são exemplos de parcerias público-privadas que visam criar, estimular e investir em pesquisa e desenvolvimento de fármacos para o tratamento de doenças tropicais negligenciadas (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Vale destacar que ao longo do período de 2001 a 2010, o *U. S. Food and Drug Administration* (FDA) aprovou 16 novos fármacos baseados em produtos naturais ou derivados semissintéticos como o artemeter (8), derivado da artemisinina (6) utilizado no tratamento da malária (BOLZANI et al., 2012).

Muitos produtos naturais apresentam arquiteturas moleculares complexas, além de serem isolados em pequenas quantidades, o que inviabiliza a comercialização. Nesse sentido, técnicas racionais de química medicinal podem auxiliar no desenvolvimento de novos protótipos. O planejamento baseado na estrutura do receptor (SBDD, do inglês *structure-based drug design*) é uma técnica que tem sido utilizada no desenvolvimento de novos compostos bioativos. O *docking* molecular é uma das principais estratégias de SBDD, que consiste na predição da conformação bioativa de uma pequena molécula (ligante) no sítio de ligação de uma macromolécula (proteína alvo), seguido da avaliação (pontuação) e classificação do modo de ligação proposto. A triagem virtual baseada na estrutura do receptor (SBVS, do inglês *structure-based virtual screening*) emprega métodos de *docking* molecular na análise de grandes bases de dados de compostos com o objetivo de caracterizar um espaço químico-biológico privilegiado e permitir a seleção de compostos para testes biológicos. Sendo assim, a avaliação da capacidade de pequenas moléculas interagirem com enzimas alvo pré-selecionadas constitui parte primordial no desenvolvimento de novos fármacos (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010; SANGI, 2016).

Esse tipo de estratégia pode ser aplicada para o desenvolvimento de novas substâncias para o tratamento de diversas patologias, entre elas as doenças negligenciadas como a malária. Dentro deste contexto, a quinina (4), um dos principais componentes da casca de *Chinchona officinalis*, que foi utilizada como único tratamento da malária por muitos anos, é

um modelo molecular importante para o desenvolvimento de novos derivados antimaláricos como a mefloquina (**11**) e a cloroquina (**18**). A artemisinina (**6**) também é um importante modelo natural utilizado para o desenvolvimento de novos antimaláricos, uma vez que a baixa solubilidade deste composto motivou a síntese de diversos análogos, como o artemeter (**8**) e o artéter (**9**) (BARREIRO; FRAGA, 2008).

1.1 Malária

A malária é uma doença parasitária que aflige grande parte da população mundial. Em 2015, foi relatado 214 milhões de novos casos e cerca de 438 mil mortes foram relacionadas à malária no mundo (WHO, 2015). Os países subdesenvolvidos e em desenvolvimento são aqueles mais atingidos pela doença, sendo 88% dos casos ocorrentes na África, seguido pelo Sudeste Asiático (10%), região do Mediterrâneo Oriental (2%) e América Central e do Sul (< 1%) (PHILLIPS et al., 2017). A malária, além de ser a principal causa de mortalidade infantil na África, é também responsável por cerca de 10% dos casos de morte da população africana e consome cerca de 40% dos gastos com saúde pública (VALE; MOREIRA; GOMES, 2005). Embora nos últimos 15 anos (2000–2015) houve uma redução de 18% do número de casos de malária e 48% de redução no número de mortes por malária em todo o mundo, ainda assim, 3,3 bilhões de pessoas correm o risco de adquirir a doença (WHO, 2015).

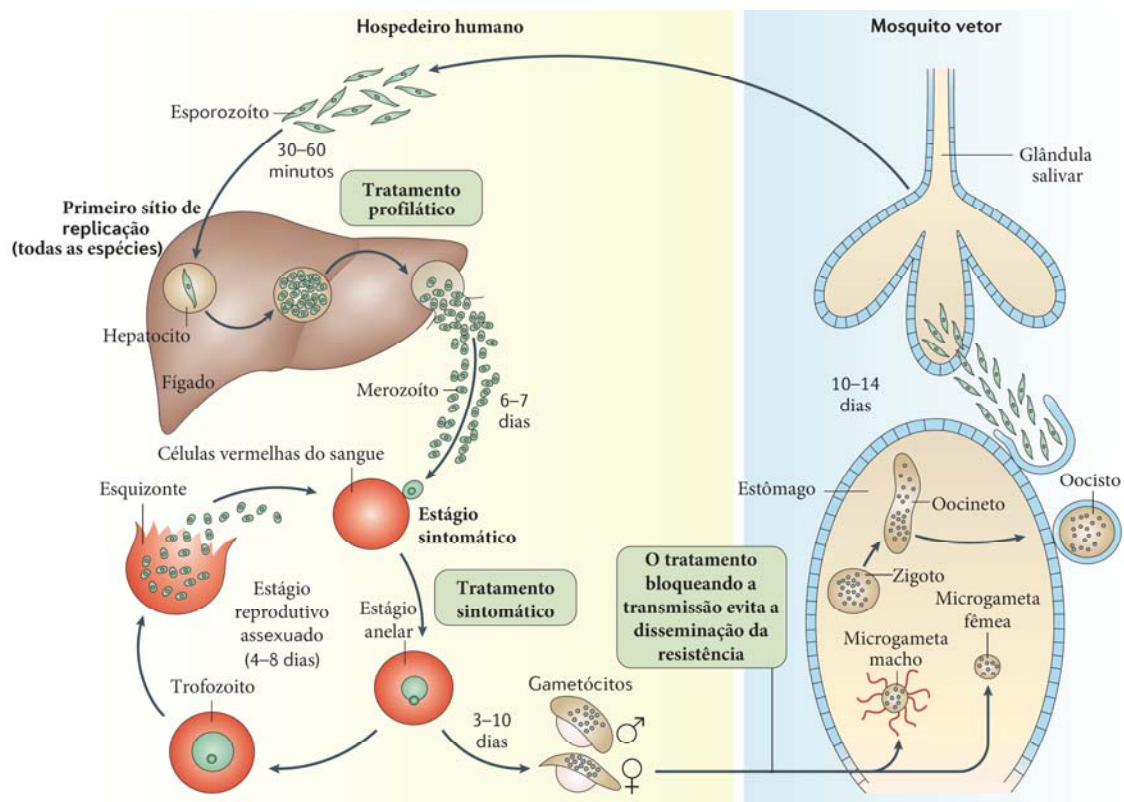
Atualmente, a maioria dos casos registrados é proveniente do continente africano e do continente americano, principalmente no Paraguai e Brasil (Amazônia) (SANTELLI et al., 2016). Os casos de malária na região Amazônica do Brasil geralmente são gerenciados pelos órgãos de saúde. Casos extra-amazônicos representam um grande desafio para as autoridades de saúde devido à falta de conhecimento da população e das unidades de atendimento, o que pode atrasar o diagnóstico da doença e consequentemente aumentar a taxa de mortalidade. Além disso, o desconhecimento pode permitir a disseminação da doença a partir de indivíduos contaminados que estejam em áreas não endêmicas (NASCIMENTO; GUIMARÃES; CARVALHO-COSTA, 2016).

Nas últimas décadas, foram observadas flutuações na transmissão da malária, alternando entre períodos de epidemias de larga escala que ocorreram no final da década de 1990, e períodos de transmissão reduzida em meados de 2005. Essas reduções podem ser resultado de programas como o da implementação do Plano de Intensificação das Atividades

de Controle da Malária na Amazônia brasileira (PIACM), que foi lançado em 2000 pelo governo federal, visando a intensificação das medidas de controle do vetor e as melhorias no acesso ao diagnóstico e tratamento (LIMA; LAPOUBLE; DUARTE, 2017).

A malária é causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo que as espécies *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax* são as mais comuns. A transmissão da doença se dá pela picada das fêmeas do mosquito *Anopheles* infectadas com o parasita (PHILLIPS et al., 2017). O *P. falciparum* é responsável pela maioria das formas graves de malária, apesar de também existirem relatos cada vez mais frequentes de infecções graves pelo *P. vivax*. O ciclo biológico do parasita da malária engloba dois estágios: a fase sexuada que ocorre no interior da fêmea do mosquito *Anopheles*, e a fase assexuada que ocorre no hospedeiro (Figura 5). A infecção pelo *Plasmodium* inicia com a picada do vetor que introduz o patógeno no ser humano. Uma vez no interior do hospedeiro, o parasita passa por várias etapas e pode levar ao acometimento do sistema nervoso central (malária cerebral), anemia grave, insuficiência renal, disfunção pulmonar, hipotensão e choque, coagulação intravascular disseminada, hipoglicemia, acidose metabólica, disfunção hepática, e consequentemente a morte (GOMES et al., 2011).

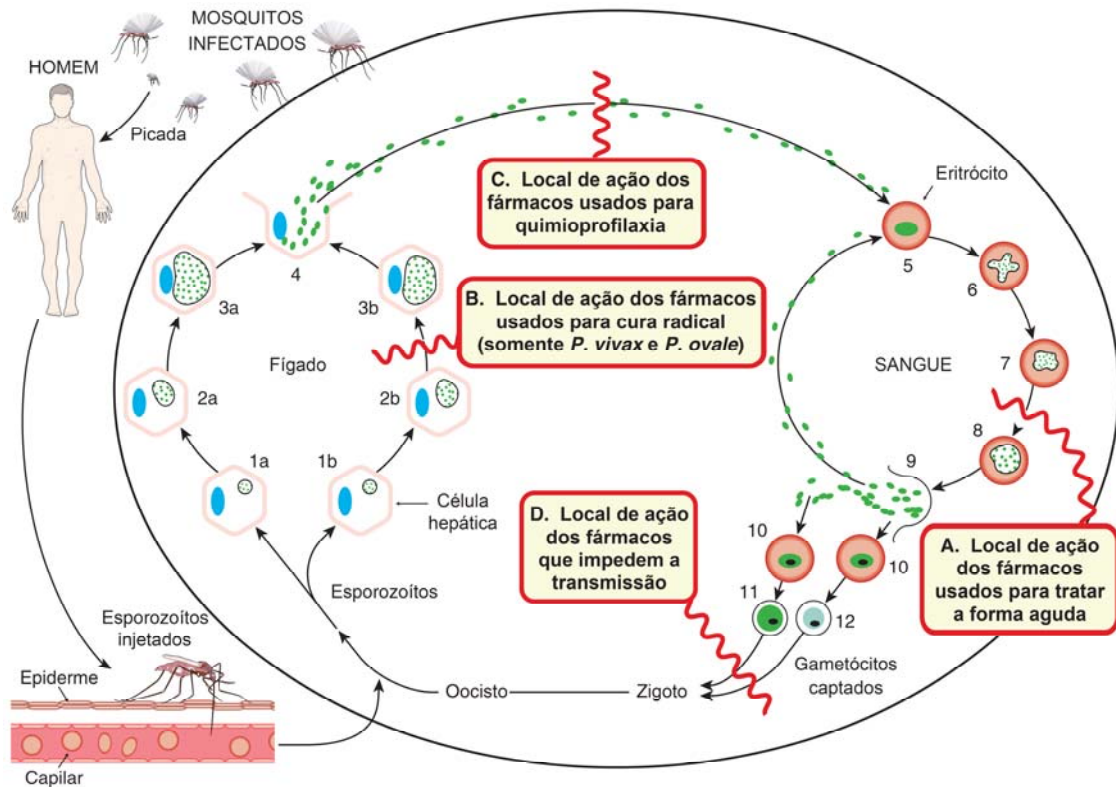
Figura 5. Ciclo de vida do *Plasmodium*.



Fonte: Phillips et al. (2017).

A complexidade do ciclo de vida do *Plasmodium* dificulta a inibição dos estágios de vida do parasita, sendo necessária a utilização de fármacos específicos para cada estágio (Figura 6).

Figura 6. Estágios de desenvolvimento do *Plasmodium* ssp e locais de ação dos fármacos.



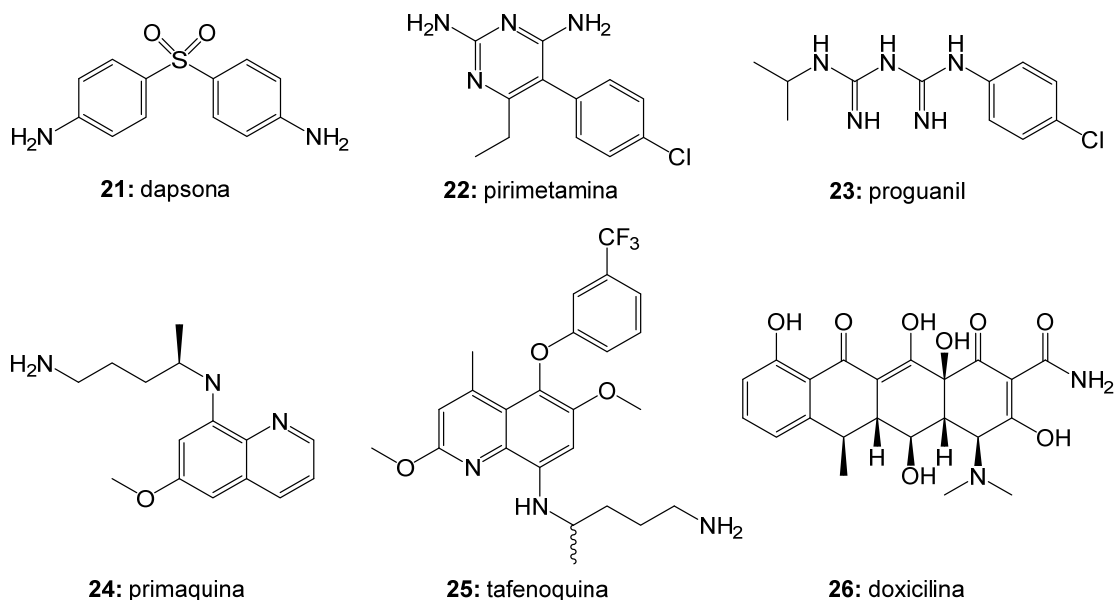
Fonte: Rang and Dale (2012).

Os fármacos usados no tratamento da malária podem possuir vários locais de ação no ser humano:

- Fármacos como a artemisinina (6) e seus derivados (8–10), quinina (4), mefloquina (11), cloroquina (18), dapsona (21), pirimetamina (22), proguanil (23) e atovaquona (19) atuam no sangue para tratar a forma aguda da malária (Figura 6–A).
- Fármacos como a primaquina (24) e tafenoquina (25) (Figura 7) atuam no fígado para a “cura radical” (Figura 6–B), destruindo os gametócitos e, assim, reduzindo a disseminação da infecção.
- Fármacos como os derivados da artemisinina (8–10), cloroquina (18), lumefantrina (15), pirimetamina (22), proguanil (23), mefloquina (11), dapsona (21) e doxiciclina (26) atuam nos merozoítos emergindo das células hepáticas para quimioprevenção (Figura 6–C).

- Fármacos como pirimetamina (**22**), proguanil (**23**) e primaquina (**24**) (Figura 7) atuam nos gametócitos evitando a transmissão pelo mosquito (Figura 6–D) (RANG; DALE, 2012).

Figura 7. Fármacos antimaláricos.



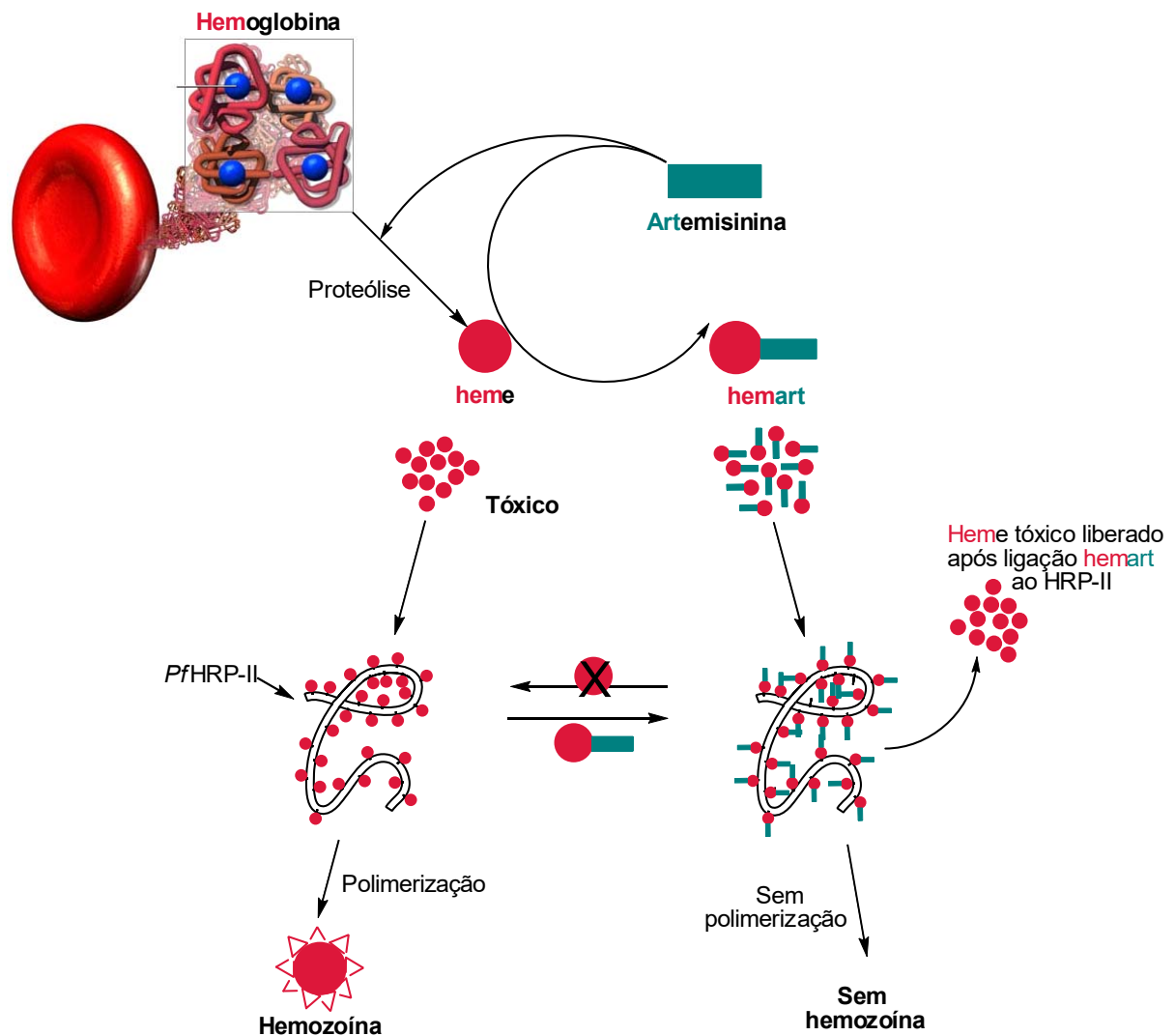
Fonte: autora.

A quinina (**4**), princípio ativo isolado da casca da *Chinchona officinalis*, foi o primeiro fármaco utilizado para tratamento da malária. No entanto, seus efeitos adversos, quando em doses elevadas, e a crescente resistência dos parasitas aos alcaloides dessa classe, tornaram necessária a sua combinação com um segundo fármaco. A quinina faz parte da família das quinolinas, que incluem as 4-aminoquinolinas, as 8-aminoquinolinas e os álcoois quinolínicos, que são representados por cloroquina (**18**), primaquina (**24**) e mefloquina (**11**), respectivamente. O fármaco mais eficaz contra formas eritrocíticas do *P. falciparum* e *P. vivax* foi a cloroquina (**18**), até o surgimento dos primeiros relatos da resistência do parasita em 1959 na Ásia e América do Sul, que impulsionou a busca por novos quimioterápicos (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008; CUNICO et al., 2008).

Existem estudos que mostram que os fármacos quinolínicos, aril-álcoois e a artemisinina e seus derivados são capazes de impedir o mecanismo de polimerização do grupo heme a partir da degradação da hemoglobina (CUNICO et al., 2008). Para obter energia necessária a sua sobrevivência, o parasita ingere a hemoglobina do hospedeiro e a transporta para seu vacúolo digestivo. A hemoglobina é então degradada em pequenos peptídeos e o

grupo heme é liberado. Entretanto, o grupo heme e a hematina, em equilíbrio com sua forma dimérica, são tóxicos para o parasita e podem destruir membranas ou mesmo inibir enzimas, como a protease. Para contornar esse problema, o *Plasmodium* converte a hematina à hemozoína, um polímero não tóxico. Para formar a hemozoína, o íon férrico (Fe^{3+}) central de um grupo heme se liga a um átomo de oxigênio do grupo carboxilato lateral do grupo heme seguinte. Essa ligação se repete entre os grupos heme, formando assim o polímero. Como resultado, a hemozoína se acumula nos eritrócitos e ao ser liberada causa a febre. O papel dos fármacos é justamente impedir que ocorra essa detoxificação do grupo heme e, conseqüentemente, impedir a produção de hemozoína (Figura 8) (KANNAN; SAHAL; CHAUHAN, 2002).

Figura 8. Modelo de polimerização do heme e inibição pela artemisinina.



Fonte: adaptado de Kannan, Sahal and Chauhan (2002).

A artemisinina (**6**) é um agente antimalárico extraído das folhas de *Artemisia annua*, capaz de reduzir rapidamente a parasitemia e a febre. Dada a ação rápida de **6** e a aparente incapacidade do parasita em desenvolver resistência contra este fármaco, foram desenvolvidos diversos derivados na busca de análogos com melhores perfis terapêuticos. Os derivados artemisínicos mais importantes são artemeter (**8**), artéter (**9**) e o artesunato também conhecido como ácido artesúnico (**10**) (Figura 4). Estudos mostram que esse tipo de fármaco atua no metabolismo de proteínas, sendo que uma forma alternativa de potencializar a ação destes medicamentos reside na sua combinação com outros antimaláricos que atuam em diferentes alvos, de modo a atingir o máximo de efeito e o mínimo de resistência. Assim, as principais formas de tratamento da malária são as terapias combinadas baseadas em artemisinina (ACTs), que combinam doses fixas de dois fármacos, um derivado de **6** e um derivado da quinina (**4**) como, por exemplo, artemeter (**8**) e lumefantrina (**15**), artesunato (**10**) e mefloquina (**11**) (Figura 4), sendo que fármacos como **4**, **11** e **15** atuam no bloqueio da degradação da hemoglobina do parasita. Ainda assim, muitas destas combinações ainda não possuem um mecanismo de ação estabelecido, uma vez que podem atuar de forma sinérgica (PHILLIPS et al., 2017).

Estudos recentes mostram que enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos, lipídeos de membrana ou no ciclo da glicose são outros alvos importantes para o desenvolvimento de novos antimaláricos, podendo ser uma alternativa para o problema de parasitas resistentes (JOMAA et al., 1999).

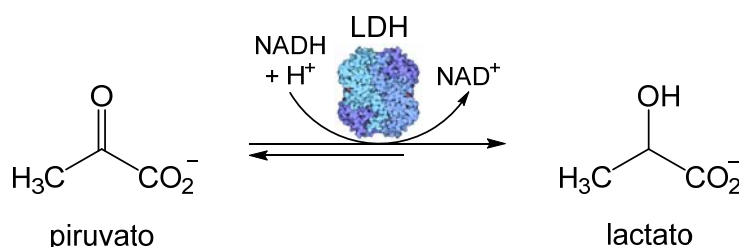
1.1.1 A lactato desidrogenase (LDH)

A malária continua sendo um problema de saúde pública mundial apesar do arsenal de fármacos disponíveis para tratamento da doença, principalmente devido ao rápido desenvolvimento de resistência do *Plasmodium falciparum*. Estudos mostram que os parasitas da malária resistentes aos fármacos surgem através de mutações nos sítios ativos das enzimas alvo ou de alterações bioquímicas nos receptores do fármaco. A busca contínua por novos objetos moleculares para o desenho de novos compostos deve ampliar o arsenal terapêutico e as estratégias para combater a resistência aos fármacos antimaláricos.

Embora o principal mecanismo de ação dos fármacos quinolínicos seja por inibição da polimerização do grupo heme, outros alvos moleculares foram relatados como importantes para a melhoria da eficácia biológica contra *P. falciparum*. A enzima lactato desidrogenase do

parasita (*Pf*LDH) tem se mostrado também um interessante alvo para o tratamento da malária. Essa enzima catalisa a interconversão de piruvato em lactato no passo final da glicólise, fundamental para a produção de energia em células vivas (Figura 9). A hematina, um dos principais produtos de degradação da hemoglobina por parasitas da malária, intoxica o parasita ao competir com NADH para o sítio ativo de *Pf*LDH. A sobrevivência do parasita depende da polimerização da hematina para a hemozoína, que permanece ativa no vacúolo digestivo do parasita. Logo, a interrupção da atividade da LDH impede uma das principais vias de produção de energia do parasita, levando-o a morte (PENNA-COUTINHO et al., 2011).

Figura 9. Reação catalisada pela enzima LDH.



Fonte: adaptado de Beerman et al. (2000).

1.2 Metabolismo secundário de plantas

O metabolismo de uma planta representa o conjunto de reações químicas que está sempre ocorrendo em cada célula. Os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados recebem o nome de metabólitos (SIMÕES et al., 2010), que por sua vez podem ser divididos em metabólitos primários e secundários (WAKSMUNDZKA-HAJNOS; SHERMA; KOWALSKA, 2008).

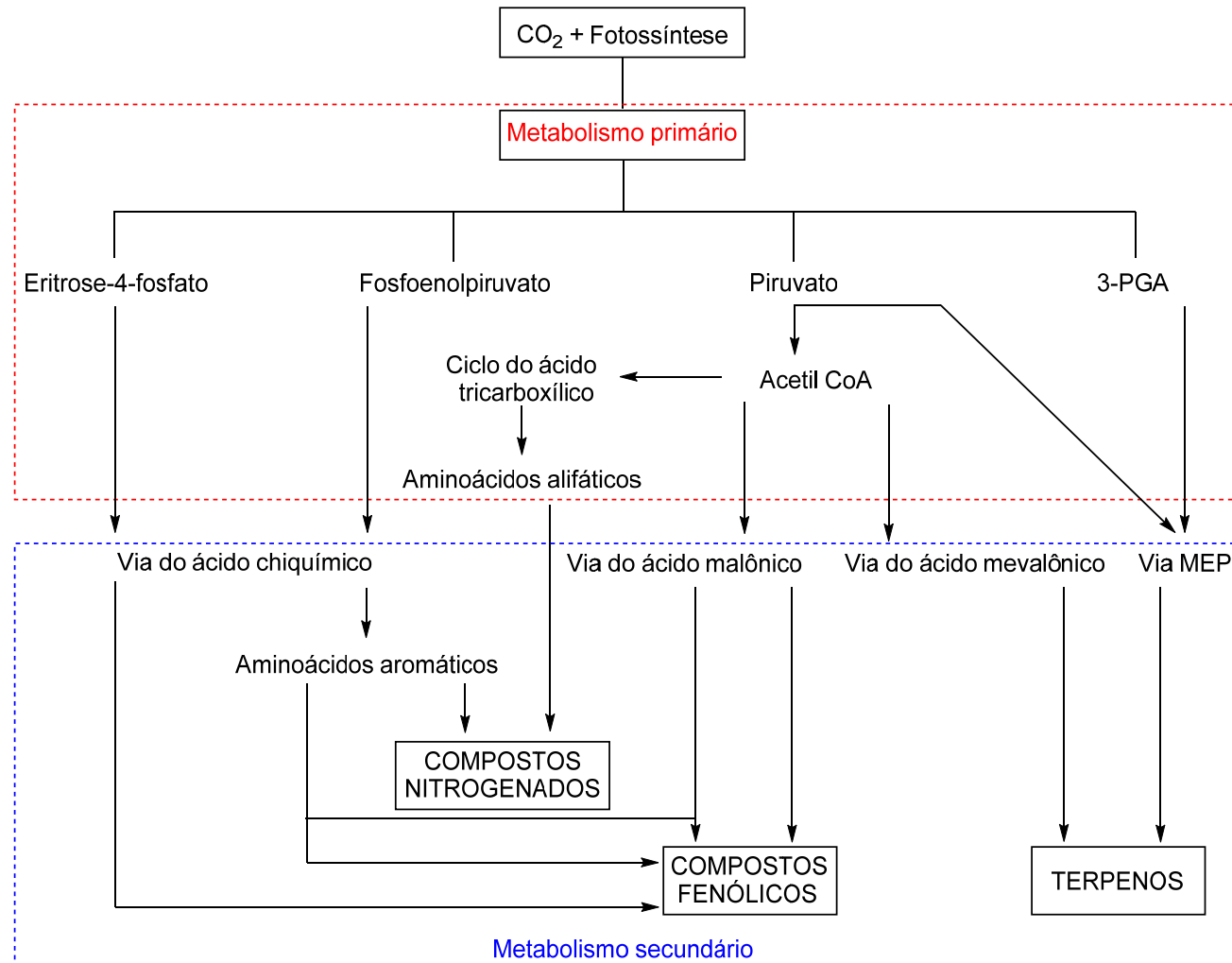
Metabolismo primário compreende as macromoléculas (carboidratos, lipídeos, nucleotídeos e aminoácidos) presentes nos organismos vegetais ou animais que estão envolvidas na manutenção das funções metabólicas essenciais (DIXON, 2001). Vegetais, microrganismos e, em menor escala animais, entretanto, apresentam um metabolismo diferenciado (enzimas, coenzimas e organelas) capazes de produzir, transformar e acumular outras substâncias não necessariamente relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. Esses compostos são chamados de metabólitos secundários, que são substâncias cuja produção e o acúmulo são restritos a um número limitado de organismos,

sendo a bioquímica e o metabolismo específico, características únicas, funcionando como elementos de diferenciação e especialização (SIMÕES et al., 2010).

A maioria dos compostos farmacologicamente ativos é oriunda do metabolismo secundário. Esses compostos não são necessariamente produzidos em todas as condições e suas funções muitas vezes são pouco conhecidas. No entanto, a toxicidade de alguns compostos está relacionada com a defesa contra predadores, assim como compostos voláteis são atrativos para a mesma ou outra espécie e agentes colorantes podem atrair polinizadores, mas é certo que todos desempenham algum papel vital para o bem-estar da espécie (DEWICK, 2009; LOBO; LOURENÇO, 2007).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários que são classificados de acordo com a via biossintética de origem: compostos fenólicos, terpenoides e compostos nitrogenados (alcaloides, glucosinolatos e cianidrinhas) (TAIZ; ZEIGER, 2009). Os compostos fenólicos são sintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e do acetato. Os terpenos podem ser sintetizados através das vias do mevalonato ou pela via do metileritritol. Os compostos nitrogenados são sintetizados a partir de aminoácidos aromáticos e indólicos (triptofano, tirosina), os quais são provenientes da via do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) provenientes do ciclo de Krebs (Figura 10) (ALVES, 2001; PERES, 2004).

Figura 10. Fluxograma simplificado das rotas metabólicas para compostos nitrogenados, fenólicos e terpenos.



Fonte: adaptado de Castro et al. (2004).

1.2.1 Alcaloides

Os alcaloides são bases orgânicas nitrogenadas encontradas principalmente no reino das plantas superiores, apesar de alguns serem relatados em plantas inferiores, microrganismos e algumas espécies de animais (LOBO; LOURENÇO, 2007). Um ou mais átomos de nitrogênio estão presentes, tipicamente como aminas primárias, secundárias ou terciárias, o que geralmente confere a basicidade ao composto. O termo alcaloide é, de fato, derivado de álcali (do árabe *al-qali*), mas o grau de basicidade depende da estrutura da molécula e da presença e localização de outros grupos funcionais (DEWICK, 2009).

Alcaloides podem ser classificados de acordo com o aminoácido precursor (Tabela 1) ou por sua estrutura, como por exemplo, pirrolidina, piperidina, quinolina, isoquinolina, indol, etc (DEWICK, 2009).

Tabela 1. Principais classes de alcaloides sintetizados pelas plantas.

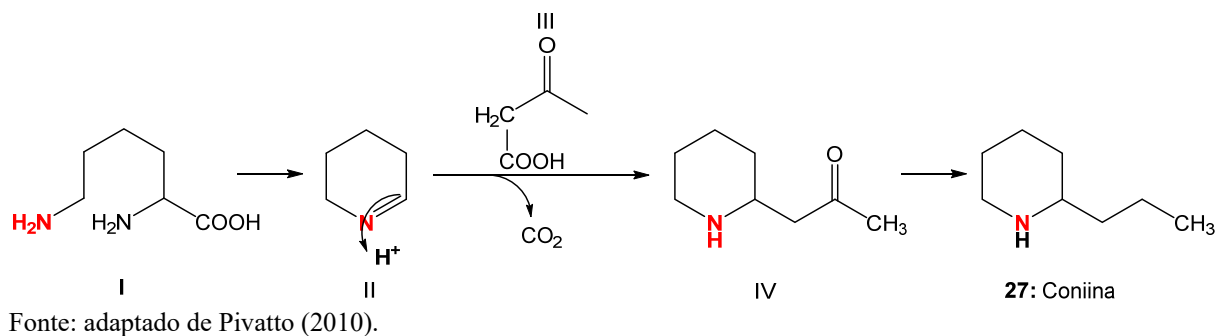
| Classe | Aminoácido precursor | Exemplos |
|------------------------|----------------------|----------------------------------|
| Piperidínicos | Lisina | coniina, cassina, espectralina |
| Indólicos | Triptofano | quinina, vimblasina |
| Isoquinolínicos | Tirosina | morfina, codeína, mescalina |
| Tropânicos | Ornitina | atropina, hioscina, escopolamina |
| Pirrolidínicos | Ornitina | nicotina, higrina |

Fonte: adaptado de Facchini e Luca (1998).

Dentro deste contexto, poucos estudos sobre a biossíntese dos alcalóides 3-piperidinóis-2,6-dissubstituídos estão descritos na literatura até o momento, no entanto a biossíntese do núcleo piperidínico já foi bastante estudada para algumas espécies como *Conium maculatum* L., que produz uma série de alcaloides tóxicos, como a coniina (27), presentes na cicuta que levou a morte o filósofo Sócrates no século V a. C. (LEETE, 1964).

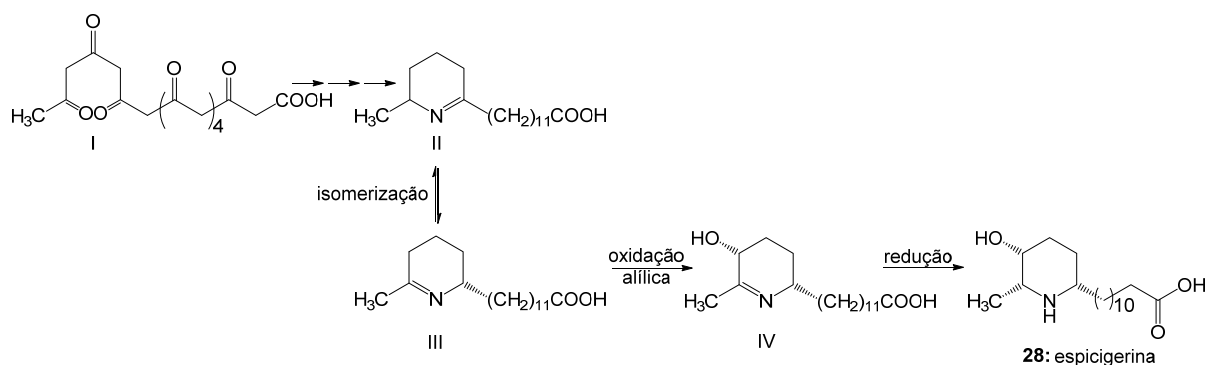
Assim, a biogênese para o núcleo piperidínico foi proposta pela primeira vez por Robinson (1917), onde a lisina (I) seria o precursor do anel piperidínico. Uma etapa de desaminação oxidativa, seguida de descarboxilação do aminoácido levaria a um intermediário Δ^1 -piperideína (II). A condensação desta imina (II) com ácido acetoacético (III) (acetoacetil CoA) leva ao intermediário IV, que após descarboxilação seguida de redução da carbonila levaria ao alcaloide coniina (IV) (27) (Figura 11).

Figura 11. Biogênese da coniina a partir da lisina.



Uma segunda proposta de biossíntese para o núcleo piperidínico seria a partir da via do acetato, que foi feita para o alcaloide espigigerina (**28**), isolado de *Prosopis spicigera*. Inicialmente a condensação de nove unidades de acetato levaria ao intermediário **I**, que na sequência por sucessivas reações de transaminação, ciclização, reduções e desidratações (formação de imina), levaria a formação do anel piperidínico (**II**). Para a formação da hidroxila (C-3) foi proposto uma isomerização da dupla ligação (**III**), seguida de uma oxidação alílica, que levaria a obtenção do núcleo piperidínico 2,3,6-trissubstituído (**IV**), que na etapa final teria a dupla ligação reduzida para obtenção do alcaloide **28** (Figura 12) (LEETE, 1975).

Figura 12. Biogênese da espigigerina (*Prosopis spicigera*).



Dessa forma, a biogênese dos alcaloides piperidínicos de *Senna spectabilis* poderia ser a partir de uma via mista, onde a lisina seria o precursor do núcleo piperidínico, e a cadeia lateral sintetizada a partir da via do acetato e posteriormente condensada ao C-6 do núcleo piperidínico, como proposto para os alcaloides da *Conium maculatum* L. (Figura 11). Ou totalmente a partir da via do acetato, como proposto para a espigigerina (Figura 12).

1.3 *Senna spectabilis*

Senna spectabilis (sin. *Cassia spectabilis*) (Figura 13) pertence à família Fabaceae e no Brasil são encontradas cerca de 200 gêneros e aproximadamente 1500 espécies, sendo comum no nordeste semi-árido (caatinga) e no cerrado do estado de São Paulo. Apresenta altura de 6 a 9 metros, sendo muito usada para confecção de objetos leves, como caixotaria e também para lenha e carvão. Popularmente é conhecida como: são são-joão, cássia do nordeste, canafistula-de-besouro e pau-de-ovelha (LORENZI, 2002). Na medicina tradicional é reconhecida pelo seu potencial laxativo, por tratar amenorréias, anemias, gripes e tosses (CÔRREA, 1984).

Figura 13. *Senna spectabilis*: detalhes da planta, flores, frutos, sementes, casca e madeira.



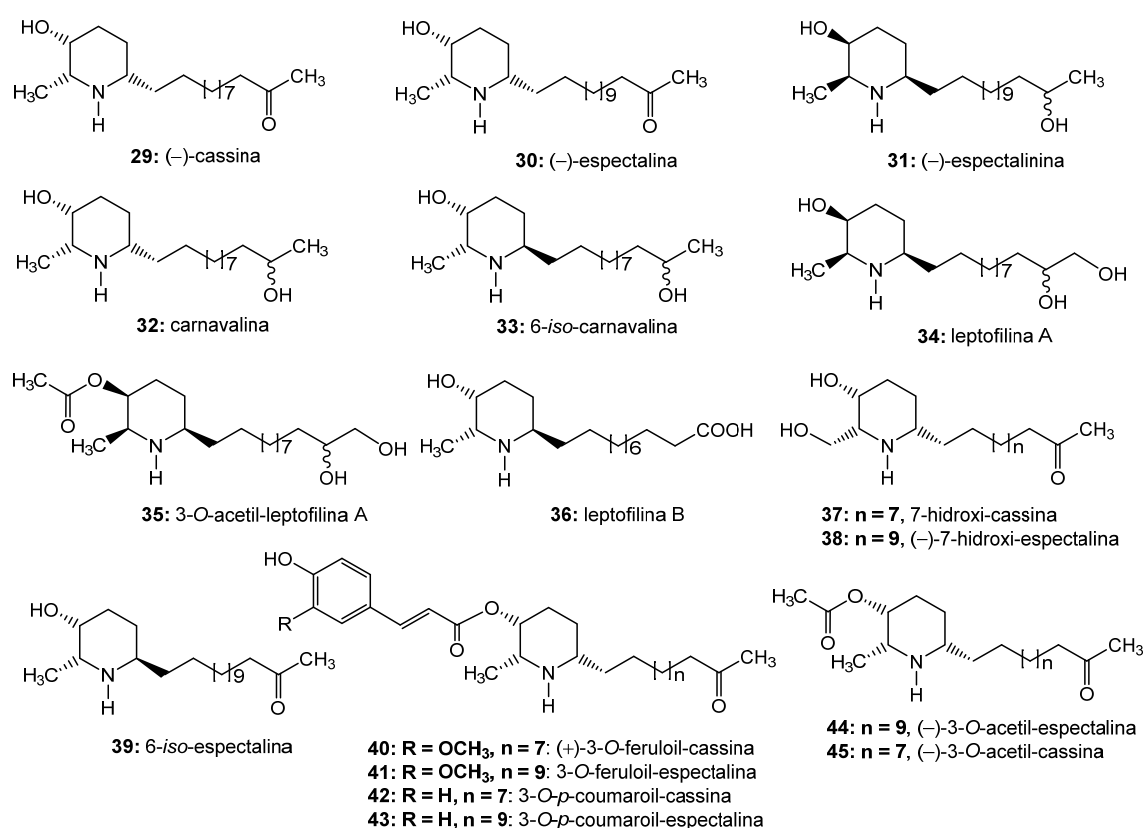
Fonte: Lorenzi (2002).

Highet (1964) isolou pela primeira vez o alcaloide (–)-cassina (**29**) das folhas e galhos de *Cassia excelsa* (sin. *C. spectabilis*). Anos depois, os trabalhos pioneiros de Bolzani (1995) levaram ao isolamento de outros alcaloides piperidínicos (**2–8**) (Figura 14) de *Cassia*

leptophylla. Posteriormente, Viegas Junior et al. (2004), ao estudar as flores de *C. spectabilis* isolaram três novos alcaloides (**37**, **38** e **44**) (Figura 14), além do derivado **30**, já obtido anteriormente.

Estudo sobre a composição alcaloídica dos frutos de *S. spectabilis* permitiu identificar séries homólogas de alcaloides piperidínicos (**29–32**, **37–45**) (Figura 14) utilizando espectrometria de massas *tandem* com ionização por *electrospray* (PIVATTO, 2005). Em estudo posterior Viegas Júnior e colaboradores (2007) isolaram os alcaloides **30**, **40** e **44** (Figura 14) dos frutos verdes de *C. spectabilis*.

Figura 14. Alcaloides piperidínicos isolados de *Senna spectabilis* (sin. *C. spectabilis*).

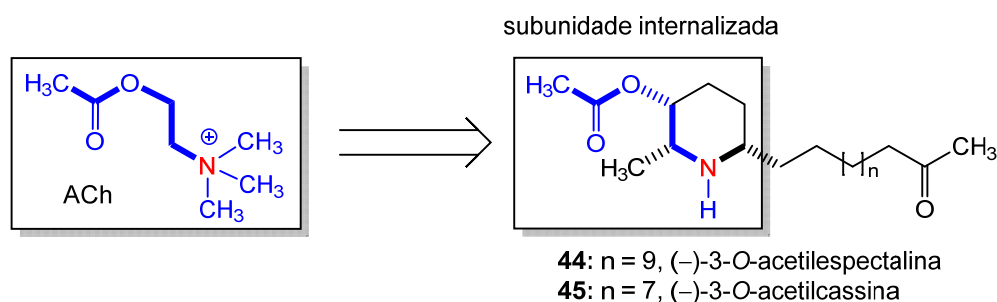


Fonte: autora.

Existem diversas espécies de *Senna* no Brasil e, devido à presença de alcaloides piperidínicos como constituintes majoritários, *Senna spectabilis* foi submetida a diversos estudos e considerada atrativa em função das atividades biológicas apresentadas, atuando principalmente sobre o sistema nervoso central. As substâncias de maior interesse nesta espécie são os homólogos (–)-cassina (**29**) e (–)-espectralina (**30**), isolados dos extratos etanólicos de diversos órgãos de *S. spectabilis* (SILVA et al., 2010).

Esses compostos, por estarem presentes em maior quantidade na espécie, foram eleitos como modelos para o desenvolvimento de novos inibidores de acetilcolinesterase. No entanto, foram os derivados acetilados (**44** e **45**) (Figura 14) que despertaram maior interesse, por apresentarem uma subunidade de acetilcolina internalizada nas suas estruturas (Figura 15) e, assim, foram inseridos em um estudo de fase pré-clínica (VIEGAS JUNIOR et al., 2005a; VIEGAS JUNIOR et al., 2005b; SILVA et al., 2010).

Figura 15. Similaridade estrutural entre acetilcolina (ACh) e uma subunidade internalizada nos alcaloides **44** e **45**.



Fonte: autora.

Mais recentemente, Viegas Júnior e colaboradores (2014), avaliaram a atividade leishmanicida do extrato etanólico ($IC_{50} > 100 \mu g mL^{-1}$), das frações hexano ($IC_{50} > 100 \mu g mL^{-1}$), *n*-butanol ($IC_{50} 1,6 \mu g mL^{-1}$), diclorometano ($IC_{50} 0,6 \mu g mL^{-1}$) e da mistura dos alcaloides **29** e **30** ($IC_{50} 24,9 \mu g mL^{-1}$). Os resultados foram bastante promissores quando comparados com o controle positivo pentamidina ($IC_{50} 0,9 \mu g mL^{-1}$), utilizada no tratamento da doença. Vale destacar que neste estudo foi utilizado o parasita *Leishmania major*.

Dentro deste contexto de prospecção química dos compostos ativos que possam ser utilizados como modelos para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de doenças negligenciadas, os alcaloides **29** e **30** foram avaliados quanto ao potencial antimalárico, apresentando resultados bastante promissores $IC_{50} 1,82 \mu M$ e $IC_{50} 2,76 \mu M$, respectivamente, quando comparados com o controle positivo cloroquina ($IC_{50} 0,30 \mu M$), em ensaios *in vitro* utilizando células infectadas com *P. falciparum* (PIVATTO, 2014), o que nos estimulou para uma investigação mais dirigida para este alvo molecular. Assim foi planejada uma série de ésteres, utilizando como precursor o alcaloide **29**, que serão avaliados neste alvo molecular, visando a descoberta de novos agentes antimaláricos, que possam ser mais eficazes que os produtos naturais e possíveis candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

- Fracionamento do extrato etanólico das flores de *Senna spectabilis*.
- Purificação dos alcaloides majoritários (–)-cassina e (–)-espectalina.
- Preparo, purificação e determinação estrutural dos derivados semissintéticos a partir dos alcaloides isolados.
- Estudo *in silico* através do método de simulação computacional (*docking* molecular) para avaliar a interação dos derivados semissintéticos com o sítio ativo da enzima lactato desidrogenase, importante alvo na busca por compostos com potencial antimalárico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Solventes

- Metanol (MeOH): Synth P.A. ACS
- Clorofórmio (CHCl₃): Synth P.A. ACS
- Hidróxido de amônio (NH₄OH): Synth P.A. ACS
- Solventes de grau analítico (P.A.), purificados por destilação fracionada: hexano, etanol, metanol.
- Clorofórmio-*d* 99,8% ACROS Organics

3.2 Reagentes

Para as preparações dos derivados semissintéticos foram utilizados cloretos de acila de cadeias lineares e homólogas, cloreto de benzoíla e cloretos de benzoíla com substituintes (ativadores e desativadores) no anel aromático (Tabela 2).

Tabela 2. Reagentes comerciais utilizados nas reações de semissíntese

| Reagente ^a | Pureza | FM ^b | MM ^c | Densidade ^d |
|----------------------------|--------|---|-----------------|------------------------|
| Cloreto de acetila | ≥ 99% | CH ₃ COCl | 78,59 | 1,105 |
| Cloreto de butanoíla | ≥ 99% | C ₄ H ₇ ClO | 106,55 | 1,027 |
| Cloreto de pentanoíla | 98% | C ₅ H ₉ ClO | 120,58 | 0,995 |
| Cloreto de hexanoíla | 97% | C ₆ H ₁₁ ClO | 124,60 | 0,959 |
| Cloreto de heptanoíla | 99% | C ₇ H ₁₃ ClO | 148,63 | 0,960 |
| Cloreto de 2-bromobenzoíla | 98% | C ₇ H ₄ BrClO | 219,46 | 1,679 |
| Cloreto de 3-bromobenzoíla | 98% | C ₇ H ₄ BrClO | 219,46 | 1,662 |
| Cloreto de 4-bromobenzoíla | 98% | C ₇ H ₄ BrClO | 219,46 | - |
| Cloreto de 2-clorobenzoíla | 95% | C ₇ H ₄ Cl ₂ O | 175,01 | 1,382 |
| Cloreto de 3-clorobenzoíla | 97% | C ₇ H ₄ Cl ₂ O | 175,01 | 1,367 |
| Cloreto de 4-clorobenzoíla | 99% | C ₇ H ₄ Cl ₂ O | 175,01 | 1,365 |
| Cloreto de 2-metilbenzoíla | 99% | C ₈ H ₇ ClO | 154,59 | 1,185 |
| Cloreto de 3-metilbenzoíla | 99% | C ₈ H ₇ ClO | 154,59 | 1,173 |
| Cloreto de 4-metilbenzoíla | 98% | C ₈ H ₇ ClO | 154,59 | 1,169 |
| Cloreto de 2-nitrobenzoíla | 97% | C ₇ H ₄ ClNO ₃ | 185,56 | 1,404 |
| Cloreto de 3-nitrobenzoíla | 98% | C ₇ H ₄ ClNO ₃ | 185,56 | - |
| Cloreto de 4-nitrobenzoíla | 98% | C ₇ H ₄ ClNO ₃ | 185,56 | - |

^aProduto comercial Sigma-Aldrich; ^bFM = Fórmula molecular; ^cMM = Massa molecular (g/mol); ^dDensidade (g/mL).

3.3 Cromatografia

3.3.1 Cromatografia em coluna aberta

Para as separações cromatográficas em coluna aberta foram utilizadas as seguintes fases estacionárias:

- Sílica gel (SiO₂) para cromatografia (63–200µm, diâmetro de poro 60 Å) Aldrich.
- Sílica gel (SiO₂) para cromatografia *flash* (40–63µm, diâmetro de poro 60 Å) Aldrich.
- C18 sílica gel, premium grade (40–63 µm; 230–400 mesh, diâmetro de poro 60 Å) Sorbent Technologies.

3.3.2 Cromatografia em camada delgada

Para as cromatografias em camada delgada foram utilizadas as seguintes fases estacionárias:

- Placas comerciais de sílica gel 60 com indicador de fluorescência (UV254) 0,20 mm de espessura. As revelações foram feitas por: irradiação ultravioleta (254 ou 366 nm) ou por nebulização de revelador específico para alcaloides (iodocloroplatinato).

3.3.3. Cromatografia gasosa

Cromatógrafo a gás acoplado a detector de ionização de chama (CG-DIC) Shimadzu modelo 2010. Foi utilizada uma coluna capilar do tipo OV-5 (5% de fenil e 95% de polidimetilsiloxano, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm). A análise foi realizada utilizando nitrogênio como gás de arraste com fluxo de 3 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor e detector foram de 290 e 300 °C, respectivamente. O volume de injeção foi de 1,0 µL de solução (1 mg mL⁻¹) em diclorometano (CH₂Cl₂). Foi utilizado o modo *split* de injeção (1:20). A temperatura do forno foi programada para aquecer de 100 a 280 °C com velocidade de 13 °C min⁻¹. Tempo total de análise 21,0 min.

3.4 Análises espectrométricas e espectroscópicas

3.4.1 Espectrometria de Massas

As análises de espectrometria de massas foram realizadas utilizando o equipamento:

✓ Espectrômetro de massas de alta resolução QTOF (Agilent, modelo 6520 B), com fonte de ionização por electrospray no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia. As amostras foram solubilizadas em metanol/água (4:1) e introduzidas utilizando seringa (100 µL), adaptada a uma bomba de infusão direta com fluxo de 200 µL hora⁻¹. A ionização foi realizada com gás nebulizante a 58 psi, sendo o gás secante aquecido a 200 °C com fluxo de 8 L min⁻¹ e no capilar foi aplicado 4,5 KV. Os dados foram adquiridos no modo positivo.

As massas acuradas obtidas dos EM em alta resolução foram comparadas com aquelas obtidas do programa ChemDraw Ultra 12.0 (massas exatas), utilizadas para calcular o erros em ppm. Para isso foi utilizada a equação abaixo:

$$E_{\text{ppm}} = \left[\frac{(\text{massa exata} - \text{massa experimental})}{\text{massa exata}} \right] 10^6$$

3.4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

As análises de ressonância magnética nuclear foram realizadas no IQ-UFU, campus de Santa Mônica utilizando o equipamento:

✓ Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) Bruker modelo Ascend™ 400 Avance III HD (9,2 Tesla) do laboratório multiusuário do Instituto de Química da UFU, operando em frequências de 400 e 100 MHz para os núcleos de hidrogênio e carbono, respectivamente. Os experimentos foram realizados a 25 °C, utilizando TMS como padrão interno ($\delta_{\text{TMS}} = 0,00$).

4 PROCECIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Preparo do material vegetal e obtenção do extrato

O extrato etanólico das flores de *Senna spectabilis* foi preparado previamente pelo Professor Dr. Marcos Pivatto a partir do material vegetal coletado no Terminal Rodoviário de Araraquara, cuja exsicata (SP 384 109) foi enviada para a Professora Inês Cordeiro, que realizou a autenticação do espécime que está depositada no Instituto de Botânica de São Paulo. As flores foram secas em estufa com circulação de ar, trituradas em moinho de facas e submetidas à extração com etanol. Os processos de extração foram repetidos cinco vezes, com intervalo de sete dias entre as extrações.

4.2 Fracionamento do extrato de *Senna spectabilis*

O extrato etanólico (80,0 g) foi solubilizado em 400 mL de solução metanol/água (4:1), filtrado e submetido à extração líquido-líquido com hexano (5 × 250 mL) e clorofórmio (5 × 250 mL), respectivamente, não sendo necessário a extração com outros solventes, uma vez que estudos anteriores mostraram que a maior concentração dos alcaloides está na fração clorofórmio (PIVATTO, 2010). Os solventes das extrações foram evaporados em rotaevaporador.

As frações obtidas, a massa retida no papel de filtro e a fração hidrometanólica foram submetidas à cromatografia em camada delgada (CCD) para verificar a presença dos alcaloides e avaliar a eficiência do procedimento. As placas foram reveladas com o revelador iodocloroplatinato (IClPt).

4.2.1 Preparo do revelador de iodocloroplatinato

Solução A: Solução aquosa a 5% (m/m) de ácido hexacloroplatínico (IV)($\text{H}_2(\text{PtCl}_6) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

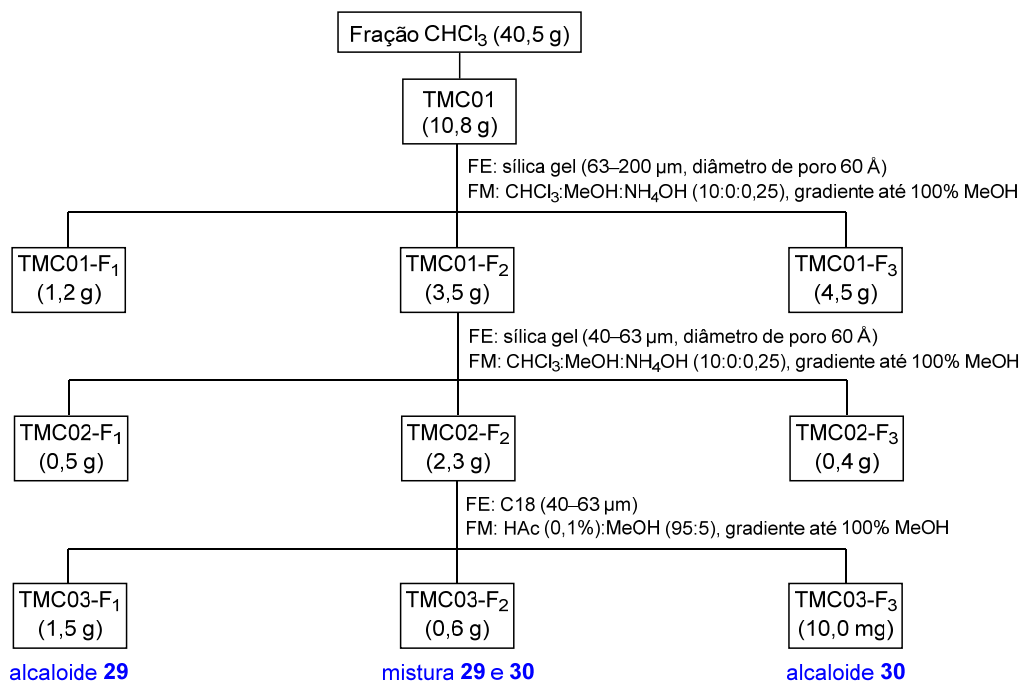
Solução B: Solução aquosa a 10% (m/m) de iodeto de potássio (KI).

Solução spray: Mistura da solução A, solução B e H_2O (1:9:10).

4.3 Isolamento dos alcaloides (–)-cassina e (–)-espectralina

Após análise por CCD, parte da fração alcaloídica (CHCl_3 , 10,8 g) foi submetida a cromatografia em coluna (CC), utilizando como fase estacionária (FE) sílica gel (63–200 μm) (439,5 g, $h = 20$ cm e $\varnothing = 8,0$ cm). A eluição foi feita em modo gradiente utilizando como sistema de solvente 100% de CHCl_3 , seguido de $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ (9,5:0,5:0,25) até 100% de MeOH (100 mL). As subfrações foram reagrupadas após avaliação da similaridade dos valores de R_f e aspecto físico (cor e oleosidade). Depois de reunidas, as subfrações foram denominadas TMC01-F₁, TMC01-F₂ e TMC01-F₃, e a fração TMC01-F₂ (3,5 g) foi submetida novamente a CC (TMC02), utilizando como fase estacionária (FE) sílica gel (40–63 μm) (cromatografia *flash*) e mesmo sistema de solvente da coluna TMC01. As subfrações foram reagrupadas com base na análise por CCD, de onde foi obtida a mistura dos alcaloides homólogos (–)-cassina e (–)-espectralina (TMC02-F₂, 2,3 g). Posteriormente a fração TMC02-F₂ (2,3 g) foi submetida à CC, utilizando como fase estacionária sílica C18 (40–63 μm) (108,3 g, $h = 30$ cm e $\varnothing = 3,5$ cm). A eluição foi feita em modo gradiente utilizando como sistema de solvente HAc (0,1%):MeOH (9,5:0,5) até 100% de MeOH. As subfrações foram monitoradas por CCD e CG-DIC (Figura 16).

Figura 16. Fluxograma dos procedimentos cromatográficos

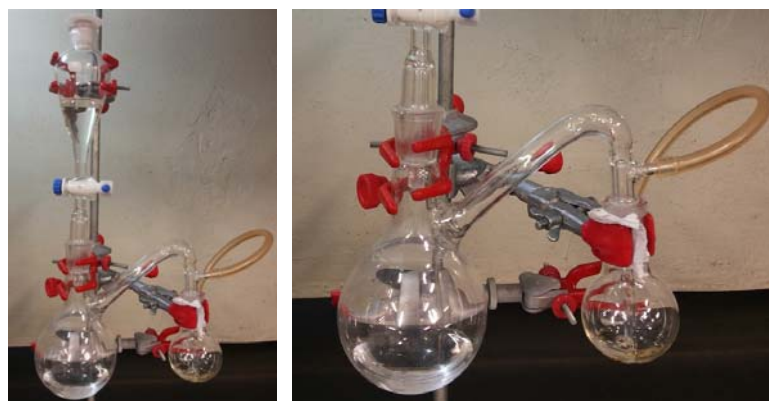


Fonte: autora.

4.4 Metodologia sintética

A metodologia sintética proposta consiste na preparação dos cloridratos de (–)-cassina (**29**), por adição de $\text{HCl}_{(\text{g})}$, gerado a partir do gotejamento de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{l})}$ sobre $\text{HCl}_{(\text{l})}$, através de um sistema de Kipp modificado (Figura 17) (PIVATTO, 2010). Quando necessário, os solventes e reagentes usados nas reações foram tratados segundo literatura específica (PERRIN, 1988). As metodologias sintéticas foram realizadas utilizando o alcaloide **29** (50 mg), tendo em vista que o homólogo **30** foi obtido em menor concentração.

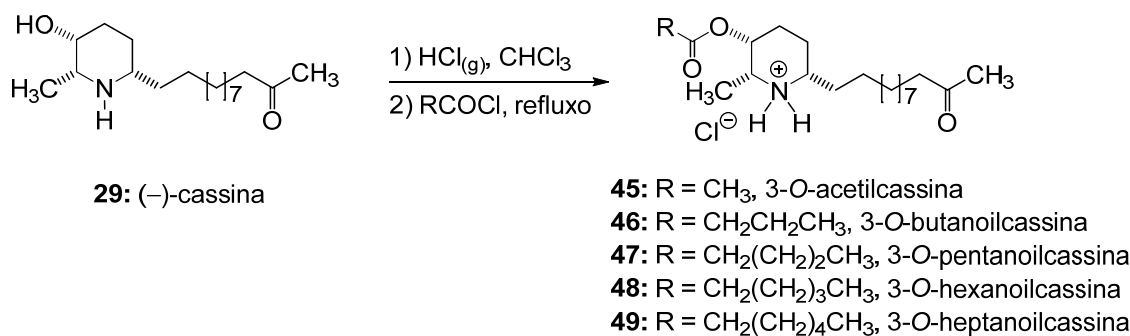
Figura 17. Sistema de Kipp modificado para preparo dos cloridratos de **29**.



Fonte: Pivatto (2010).

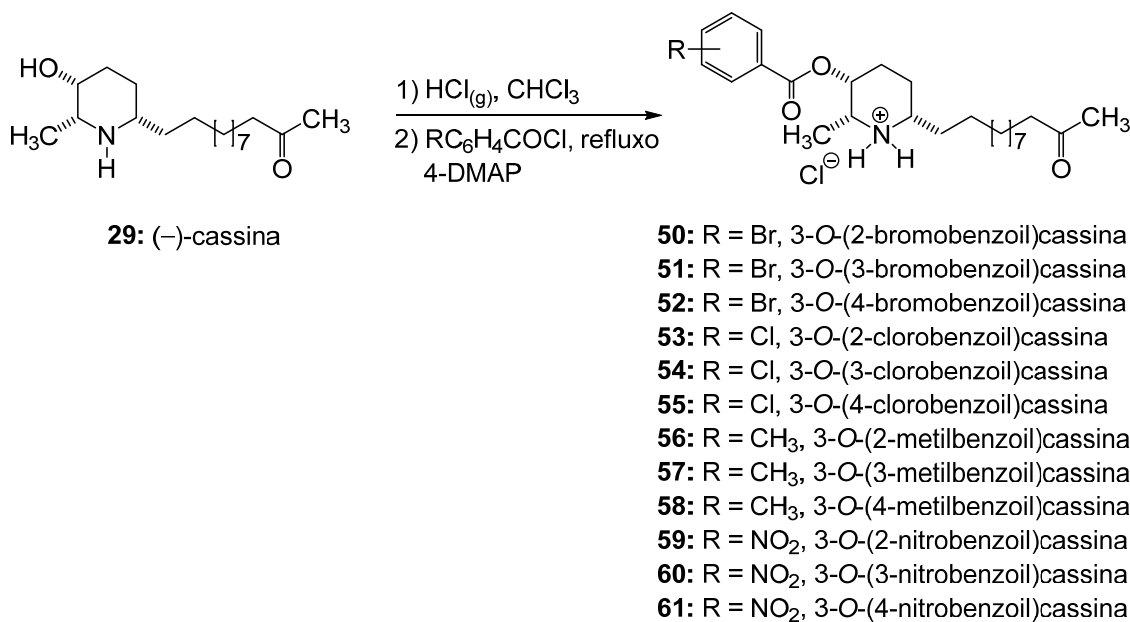
A partir do cloridrato foram feitas reações de esterificação (VIEGAS JUNIOR et al., 2005b; PIVATTO, 2010), utilizando uma série de cloretos de acila (Figura 18) e cloretos de benzoíla substituídos com grupos ativadores e desativadores (Figura 19). As reações foram mantidas em agitação e refluxo (Figura 20) e monitoradas por CCD, até que todo o material de partida tivesse sido convertido nos respectivos produtos (Tabela 3).

Figura 18. Metodologia sintética para obtenção dos derivados acilados



Fonte: autora.

Figura 19. Metodologia sintética para obtenção dos derivados benzoilados



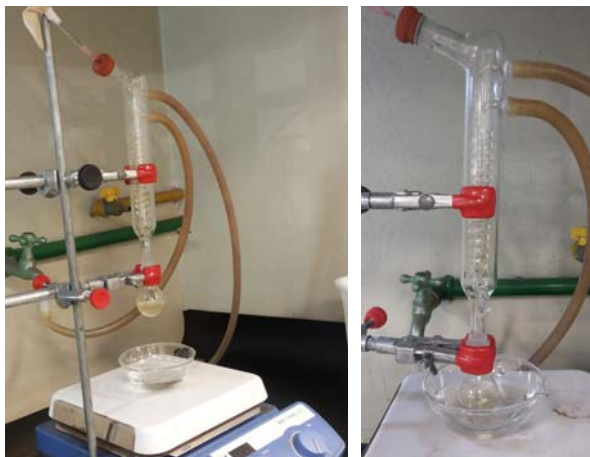
Fonte: autora.

Tabela 3. Dados das reações de esterificação realizadas.

| Produto | | (-)-cassina (29) ^a | | Reagente ^b | | Rendimento | | | Conversão ^d | Tempo |
|---------|---|-------------------------------|------|-----------------------|------|------------|------|----|------------------------|-------|
| | | mg | mmol | mL | mmol | mg | Mmol | % | % | h |
| 45 | 3- <i>O</i> -acetilcassina | 50,0 | 0,15 | 0,05 | 0,75 | 24,5 | 0,07 | 48 | 99 | 4 |
| 46 | 3- <i>O</i> -butanoilcassina | 50,0 | 0,15 | 0,08 | 0,75 | 37,1 | 0,10 | 67 | 99 | 6 |
| 47 | 3- <i>O</i> -pentanoilcassina | 50,0 | 0,15 | 0,09 | 0,75 | 29,8 | 0,08 | 52 | 98 | 6 |
| 48 | 3- <i>O</i> -hexanoilcassina | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 34,4 | 0,09 | 58 | 97 | 6 |
| 49 | 3- <i>O</i> -heptanoilcassina | 50,0 | 0,15 | 0,11 | 0,75 | 40,2 | 0,10 | 65 | 99 | 6 |
| 50 | 3- <i>O</i> -(2-bromobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 54,5 | 0,11 | 76 | 98 | 12 |
| 51 | 3- <i>O</i> -(3-bromobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 53,1 | 0,11 | 74 | 97 | 12 |
| 52 | 3- <i>O</i> -(4-bromobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | - | 0,75 | 56,9 | 0,12 | 79 | 98 | 12 |
| 53 | 3- <i>O</i> -(2-clorobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,09 | 0,75 | 42,1 | 0,10 | 64 | 95 | 12 |
| 54 | 3- <i>O</i> -(3-clorobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 46,7 | 0,11 | 71 | 97 | 12 |
| 55 | 3- <i>O</i> -(4-clorobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 49,8 | 0,11 | 76 | 96 | 12 |
| 56 | 3- <i>O</i> -(2-metilbenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 34,8 | 0,08 | 56 | 98 | 12 |
| 57 | 3- <i>O</i> -(3-metilbenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 39,6 | 0,09 | 63 | 97 | 12 |
| 58 | 3- <i>O</i> -(4-metilbenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 37,0 | 0,09 | 59 | 95 | 12 |
| 59 | 3- <i>O</i> -(2-nitrobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | 0,10 | 0,75 | 45,3 | 0,10 | 67 | 97 | 12 |
| 60 | 3- <i>O</i> -(3-nitrobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | - | 0,75 | 41,9 | 0,09 | 62 | 98 | 12 |
| 61 | 3- <i>O</i> -(4-nitrobenzoil)cassina ^c | 50,0 | 0,15 | - | 0,75 | 49,5 | 0,11 | 74 | 96 | 12 |

^a Substrato na forma de cloridrato. ^b Descritos na Tabela 2. ^c Foi utilizado catalisador 4-DMAP na proporção de 1:2 em relação ao substrato **29**. ^d Porcentagem de conversão calculada a partir da análise por cromatografia gasosa (CG-DIC).

Figura 20. Sistema de refluxo para preparo dos derivados semissintéticos.



Fonte: autora.

Ao término de cada reação, a mistura reacional foi submetida à extração líquido-líquido com solução aquosa saturada de carbonato de sódio (pH 10) e CHCl_3 ($5 \times 25,0$ mL), para retirar o excesso de cloreto de ácido do meio reacional. Os cloretos de ácido reagem com água regenerando o ácido carboxílico correspondente. Os ácidos carboxílicos gerados são praticamente insolúveis em água, mas como a solução aquosa está saturada com Na_2CO_3 será formado o respectivo sal o qual é solúvel em meio aquoso. Desta forma, há formação de uma mistura heterogênea - fase orgânica (produtos da reação e catalisador) e aquosa (sal do cloreto de ácido) sendo possível a separação dos produtos de interesse. A extração líquido-líquido foi realizada em temperatura ambiente para evitar a hidrólise básica do éster formado (SOLOMONS, 2009).

Os produtos das reações (45–61) foram purificados através de colunas cromatográficas (FE: sílica e FM: CHCl_3 :MeOH: NH_4OH (9,5:0,5:0,25) no modo isocrático e tiveram suas estruturas confirmadas por métodos espectroscópicos e espectrométricos.

4.5 Estudo *in silico* (docking molecular)

Neste trabalho foi realizado o estudo *in silico* através do método de simulação computacional chamado de *Docking* Molecular ou *Docking* em parceria com o Professor Doutor Ronaldo Junio de Oliveira, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). Os estudos de *docking* foram realizados com o programa GOLD 5.4.1 que utiliza o algoritmo genético (GA) buscando obter soluções possíveis através de operadores genéticos com a finalidade de se obter a solução final. O GOLD trabalha com uma função escore ou função de

pontuação pré-definida chamada de *Fitness*, e dessa forma o *docking* é realizado com os ligantes e as hidroxilas da molécula de forma flexível. (JONES et al., 1995, JONES et al., 1997, VERDONK et al., 2003).

São quatro os tipos de função de pontuação ou função escore utilizados pelo GOLD: o GoldScore, ChemScore, ChemPLP e o ASP. Nesse estudo foi utilizado duas funções de pontuação, para o escore do *docking* o ChemPLP que é uma função empírica otimizada para a predição de pose, possui termos que são usados para gerar uma complementaridade entre a proteína e o ligante, e é considerada como uma função padrão do GOLD (O. Korb, T. Stützle and T. E. Exner). E para o rescoring o ChemScore que é uma função que permite mostrar uma estimativa da diferença de energia livre após a interação da molécula com o ligante. Esta função também parametriza na forma de dados empíricos os complexos formados que possuem afinidade de ligação conhecida (ELDRIDGE et al., 1997; BAXTER et al., 1998).

Antes de iniciar o *docking* com os respectivos ligantes foi realizada uma validação para verificar os parâmetros ideais para fazer o *docking* dos ligantes propostos no estudo. Para isso foi feito um *redocking* do ligante dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NAD) cristalizado no sítio catalítico da enzima Lactato desidrogenase (PDB: 1LDG). A partir disso foi possível verificar quais as melhores funções de pontuação, os melhores parâmetros como o raio e o número de corridas a ser realizado. O *redocking* apresentou um RMSD de 1,160 Å e, dessa forma apresentou um RMSD menor que 2 Å ao qual considera-se bom. Para o *redocking* foi utilizado as funções de pontuação ChemPLP para o *docking* e ChemScore para o rescoring, a delimitação da cavidade foi de 6Å ao redor do ligante natural, com um número de 200 corridas. Estes mesmos parâmetros foram utilizados para ligantes utilizados neste trabalho.

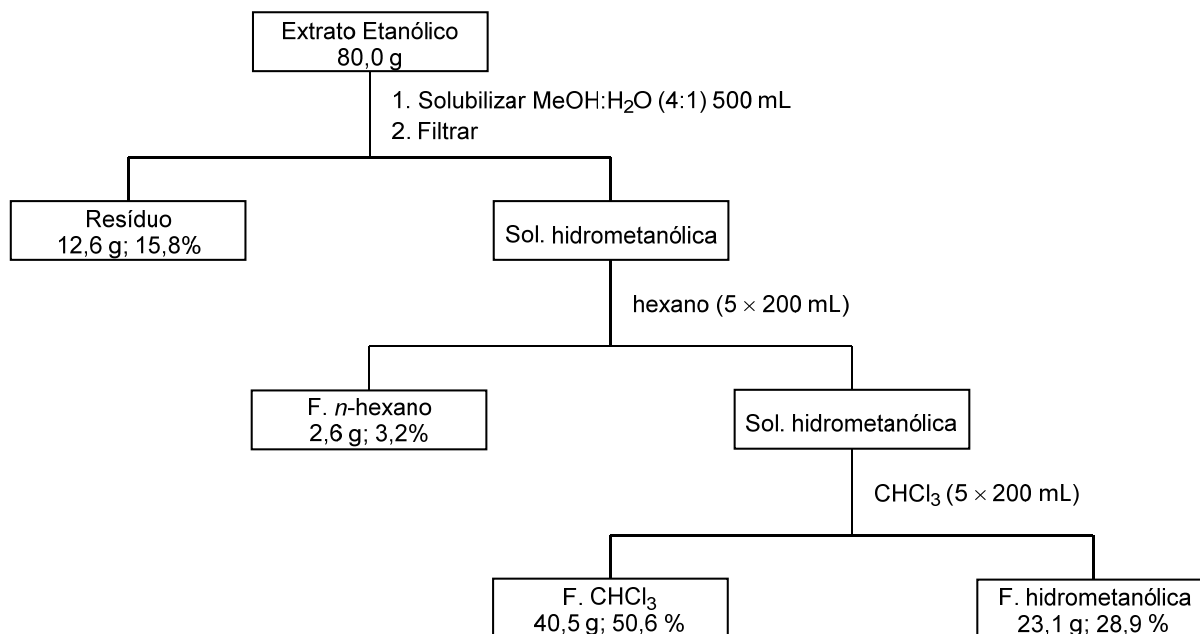
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fracionamento do extrato de *Senna spectabilis*

O extrato etanólico (80,0 g) foi solubilizado em MeOH:H₂O (4:1, 500 mL), filtrado e em seguida submetido a extração líquido/líquido utilizando hexano e clorofórmio. Com base nos valores das massas obtidas em cada uma das frações foi possível concluir que as substâncias presentes no extrato etanólico das flores de *S. spectabilis* apresentam maior afinidade pelo clorofórmio.

Analisando a massa retida no papel de filtro (12,6 g, resíduo) e as obtidas nas frações hexano (2,6 g), clorofórmio (40,5 g) e hidrometanólica (23,1 g), foi possível observar um total de 78,8 g (98,5%), o que indica “perda” 1,2 g (Figura 21).

Figura 21. Fluxograma da extração líquido-líquido do extrato etanólico.



Fonte: autora.

Com o intuito de verificar a eficiência do processo de extração, a massa retida no papel de filtro, a fração hidrometanólica e o extrato etanólico foram submetidos a CCD para avaliar a presença de alcaloides. Depois de revelada com iodocloroplatinato, a cromatoplaça apresentou algumas manchas de coloração amarela, que indicam a presença de outras substâncias que não são da classe dos alcaloides (Figura 22–A).

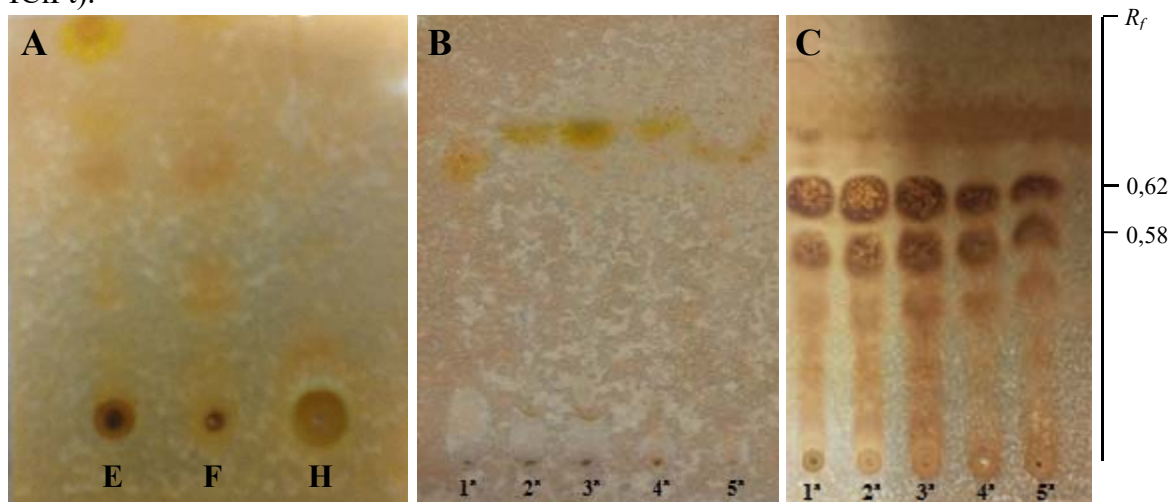
Além disso, o extrato etanólico apresentou duas manchas marrons com valores de R_f 0,62 e 0,58, indicando a presença de dois alcaloides, além de uma mancha intensa de cor amarela. No resíduo retido no papel de filtro foi observada uma mancha marrom com baixa intensidade, o que indica a presença de resquícios de alcaloides. A análise da CCD da fração hidrometanólica permitiu observar que não houve manchas referentes aos alcaloides, indicando que o procedimento de extração líquido-líquido foi eficiente.

A CCD da fração hexânica não apresentou manchas características de alcaloides, no entanto foram observadas manchas amarelas quando a placa foi inspecionada sob luz UV254.

Após revelação com iodocloroplatinato foi constatado que estas manchas não eram referentes aos alcaloides (Figura 22–B).

A CCD da fração clorofórmica demonstrou dois alcaloides majoritários (R_f 0,62 e 0,58) (Figura 22–C).

Figura 22. CCD (A) extrato etanólico (E), massa retida no papel de filtro (F) e fração hidrometanólica (H); (B) fração hexano (1^a, 2^a, 3^a, 4^a e 5^a extrações) e (C) fração clorofórmio (1^a, 2^a, 3^a, 4^a e 5^a extrações) (FE: sílica, FM: CHCl₃:MeOH:NH₄OH (9:1:0,25) e revelador: ICIPt).



Fonte: autora.

No sistema de solvente utilizado para a realização das CCD foi necessário adicionar hidróxido de amônio (NH₄OH) a fase móvel, que atua como amina competidora diminuindo assim a retenção dos alcaloides pela sílica. Os alcaloides são substâncias com caráter básico e por isso sua separação é difícil quando se utiliza sílica como FE, devido as ligações com os grupos silanóis, sítios com caráter ácido (PIVATTO, 2010).

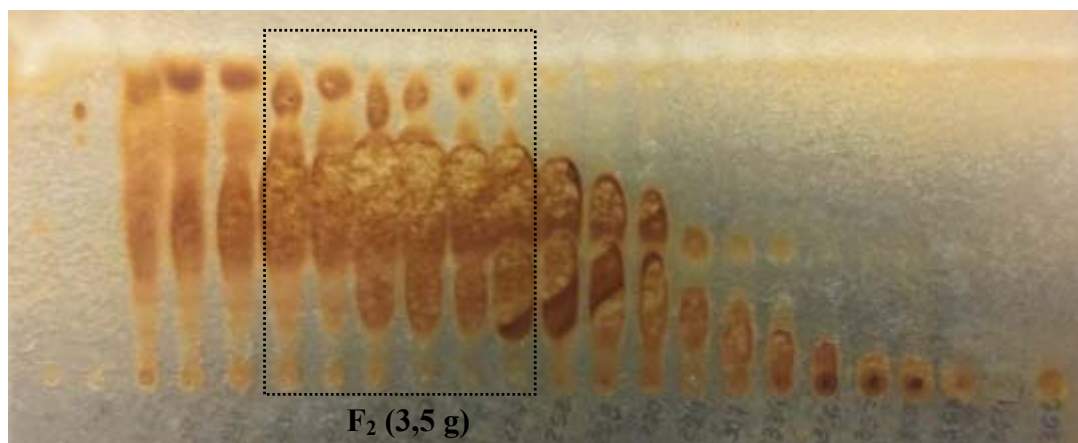
5.2 Isolamento dos alcaloides (–)-cassina (29) e (–)-espectralina (30)

Parte da fração CHCl₃ (10,8 g) foi submetida a CC com o intuito de purificar os alcaloides homólogos (–)-cassina (29) e (–)-espectralina (30). Foram realizados três procedimentos cromatográficos denominados TMC01, TMC02 e TMC03. As frações coletadas destes fracionamentos foram submetidas à análise por CCD e reagrupadas de acordo com a similaridade dos valores de R_f s.

Analizando a CCD da TMC01 (Figura 23) e os aspectos físicos das frações, como cor e oleosidade, as subfrações foram reunidas em TMC01-F₁, TMC01-F₂ e TMC01-F₃, sendo que

na subfração TMC01-F₂ foi obtida uma maior concentração dos alcaloides de interesse. Sendo assim, a subfração TMC01-F₂ (3,5 g) foi submetida novamente à cromatografia em coluna (TMC02).

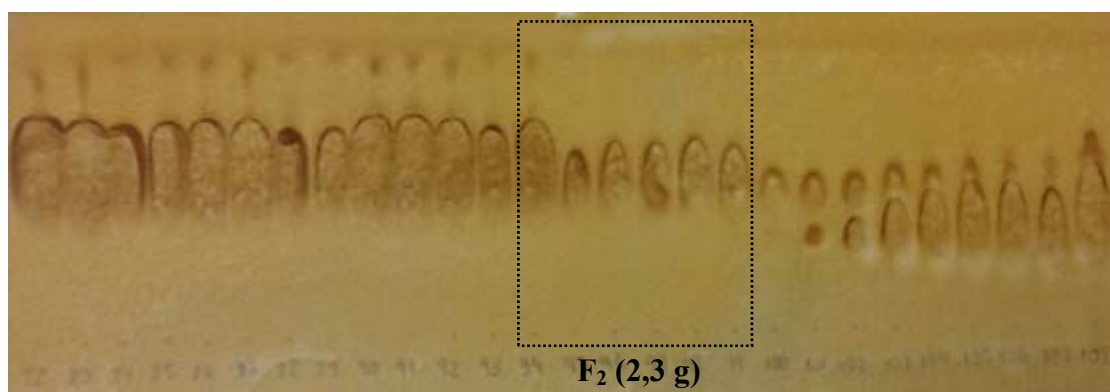
Figura 23. CCD da TMC01 (FE: sílica, FM: CHCl₃:MeOH:NH₄OH (9,2:0,8:0,25) e revelador: ICIpt).



Fonte: autora.

As subfrações da coluna TMC02 foram analisadas por CCD (Figura 24) e reagrupadas de acordo com a similaridade dos *R_f*s. A subfração TMC02-F₂ apresentou somente uma mancha na placa cromatográfica, referente à mistura dos alcaloides homólogos (–)-cassina (29) e (–)-espectralina (30), totalizando uma massa de 2,3 g.

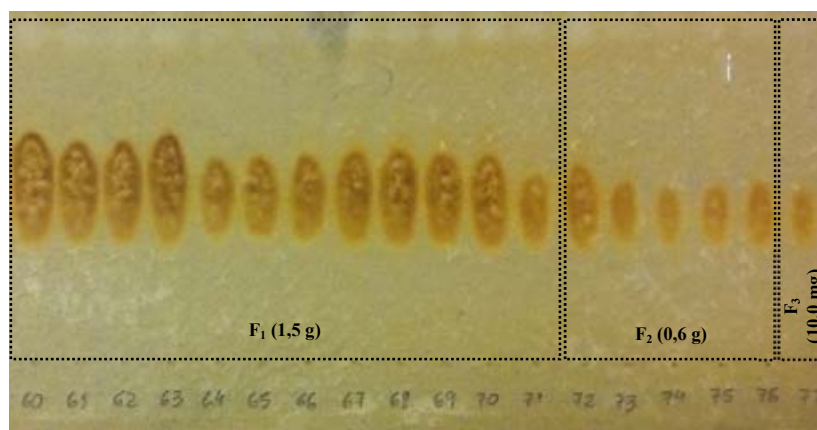
Figura 24. CCD da TMC02 (FE: sílica, FM: CHCl₃:MeOH:NH₄OH (9,2:0,8:0,25) e revelador: ICIpt).



Fonte: autora.

Devido à diferença entre (–)-cassina (**29**) e (–)-espectralina (**30**) ser somente duas unidades metilênicas, a separação destes homólogos não foi possível em coluna de sílica (fase normal), sendo necessário o uso da coluna de C18 sílica gel (fase reversa). Ao comparar a ordem de eluição da coluna de C18 (fase reversa) com a ordem de eluição em coluna de sílica (fase normal), espera-se que seja invertida, justificando uma maior retenção para o alcaloide (–)-espectralina (**30**) em relação ao alcaloide (–)-cassina (**29**). Sendo assim, a subfração TMC02-F₂ foi submetida à CC utilizando C18 como fase estacionária (TMC03). As subfrações da coluna TMC03 foram analisadas por CCD (Figura 25) e por CG-DIC (Figura 26 e 27), visto que os homólogos apresentam o mesmo *R_f*.

Figura 25. CCD da TMC03 (FE: sílica, FM: CHCl₃:MeOH:NH₄OH (9,2:0,8:0,25) e revelador: IClPt).



Fonte: autora.

Figura 26. Cromatograma da fração TMC03-F₁ (**29**) obtido por CG-DIC.

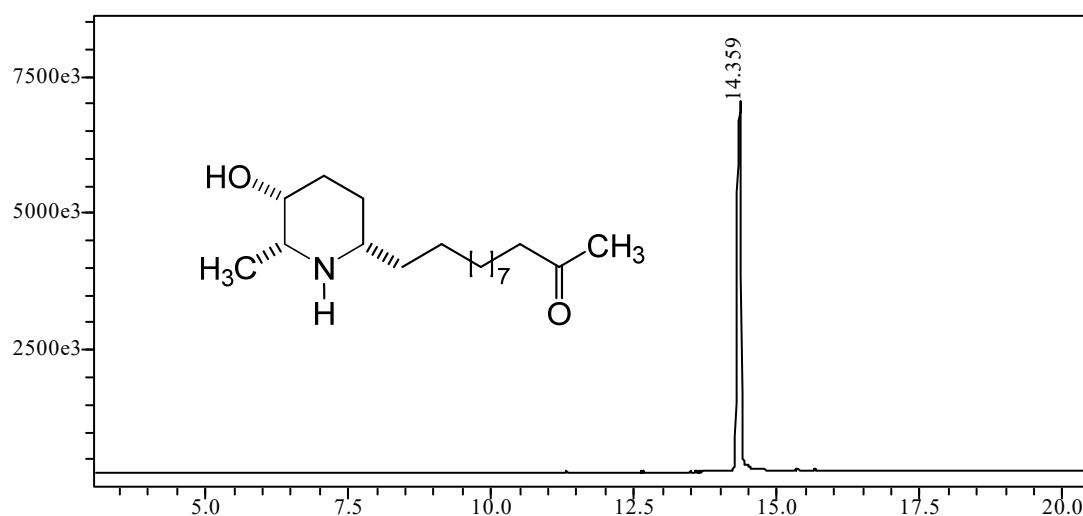
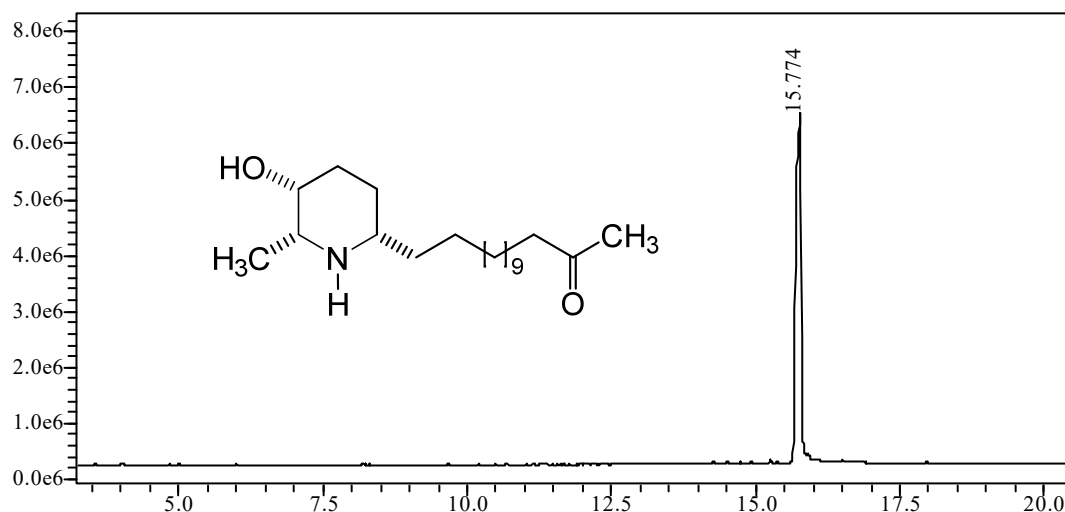


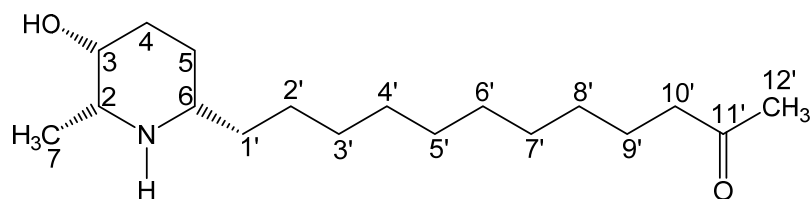
Figura 27. Cromatograma da fração TMC03-F₃ (**30**) obtido por CG-DIC.



Analisando as frações da coluna TMC03 por CCD (Figura 25) e os cromatogramas da análise por CG-DIC (Figuras 26 e 27), foi possível observar que a fração TMC03-F₁ (1,5 g) apresentava o alcaloide (–)-cassina (**29**) (t_R 14,4 min), a fração TMC03-F₂ (0,6 g) a mistura dos alcaloides **29** e **30** e a fração TMC03-F₃ (10,0 mg) o alcaloide (–)-espectralina (**30**) (t_R 15,8 min).

Os homólogos **29** e **30** foram analisados por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (EM-IES) e por ressonância magnética nuclear, para elucidação das suas estruturas.

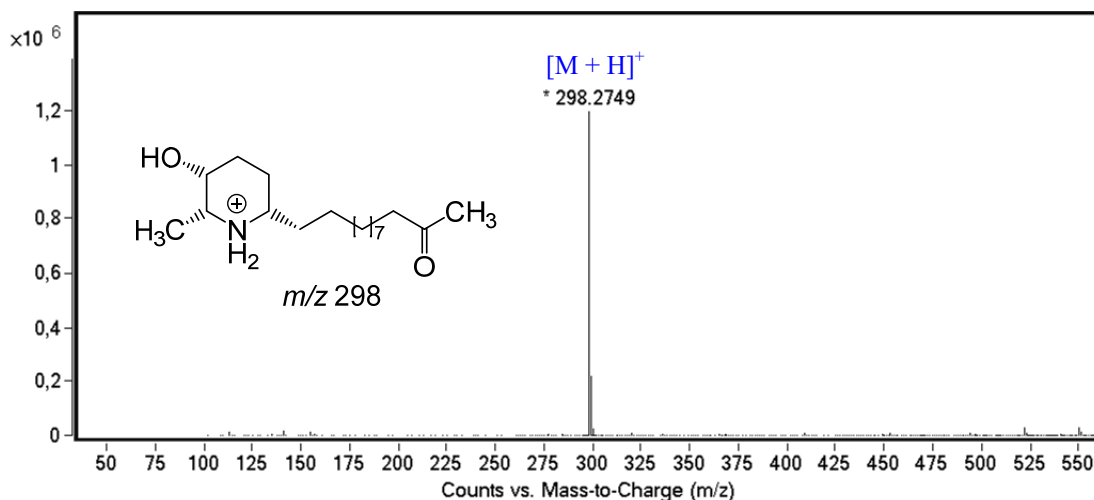
5.2.1 Elucidação estrutural do alcaloide **29**



(-)-cassina (29): sólido branco (1,5 g); CCD R_f 0,52 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 -MeOH- NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 298,2749 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{NO}_2$, 298,2741 (Δ -2,6 ppm); EM/EM-IES m/z 298 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]$; RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3,80 (1H, sl, H-3), 3,10 (1H, qt, $J = 6,1$ Hz, H-2), 2,85 (1H, m, H-6), 2,40 (2H, t, $J = 7,2$ Hz, H-10'), 2,12 (3H, s, H-12'), 2,06 (1H, dd, H-4a), 1,75 (1H, m, H-5), 1,59 (2H, m, H-1', H-4b), 1,55 (2H, qt, $J = 7,2$ Hz, H-9'), 1,39 (3H, d, $J = 6,1$ Hz, H-7), 1,23 (14H, sl, H-2'-H-8'); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,54 (C, C-11'), 66,53 (CH, C-3), 57,60 (CH, C-2), 56,61 (CH, C-6), 43,92 (CH_2 , H-10'), 33,62 (CH_2 , C-1'), 31,06 (CH_2 , C-4), 29,99 (CH_3 , C-12'), 29,62° (CH_2 , C-8'), 29,56° (CH_2 , C-6'), 29,54° (CH_2 , C-5'), 29,51° (CH_2 , C-3'), 29,46° (CH_2 , C-4'), 29,28° (CH_2 , C-7'), 25,61 (CH_2 , C-2'), 23,96 (CH_2 , C-9'), 22,67 (CH_2 , C-5), 15,99 (CH_3 , C-7) °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

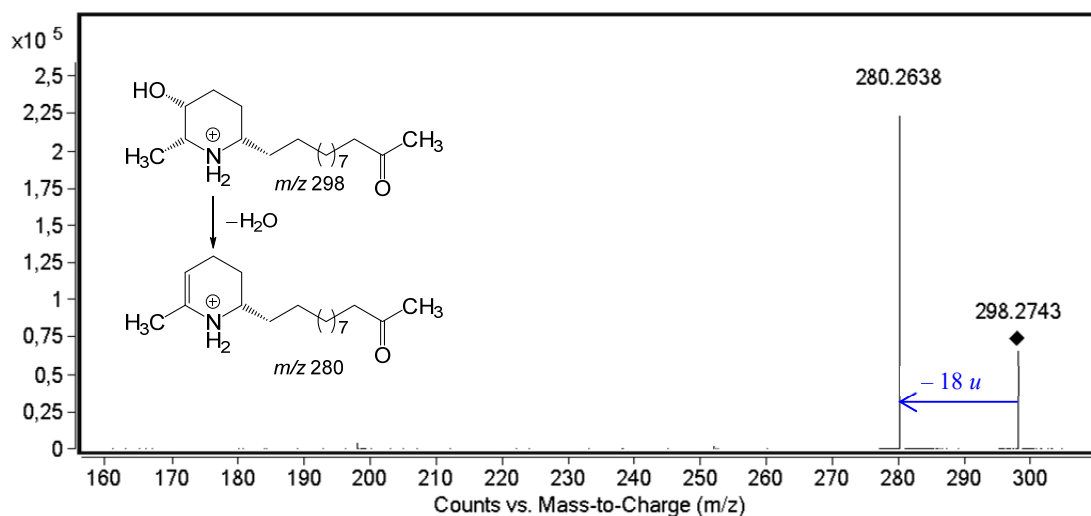
O alcaloide **(-)-cassina (29)** foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO}_2$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a dois. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 298,2749 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{NO}_2^+$, 298,2741 (Δ -2,6 ppm) (Figura 28).

Figura 28. EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide (–)-cassina (**29**).



Quando o sinal de m/z 298 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de água (18 u) (Figura 29).

Figura 29. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-cassina (**29**).



A análise do espectro de RMN de 1H (Apêndice A1 e A2) para o alcaloide **29** permitiu identificar os principais sinais que caracterizam o núcleo piperidínico trissubstituído. Um quinteto em δ 3,10 (integrando para 1H) atribuído a H-2 ($J = 6,1$ Hz), um duplete em δ 1,39 (integrando para 3H) que apresentou acoplamento com H-2 ($J = 6,1$ Hz) no mapa de contorno COSY (Apêndice A3–A5) e foi atribuído aos hidrogênios da metila (H-7), um singlete largo em δ 3,80, referente ao H-3 hidroximetínico (1H), que correlacionou com H-2, H-4a e H-4b no mapa de contorno COSY, um multiplete em δ 2,85 (1H), atribuído ao H-6 que apresentou correlação com H-5 e H-1'a no mapa de contorno COSY, indicando a presença de um

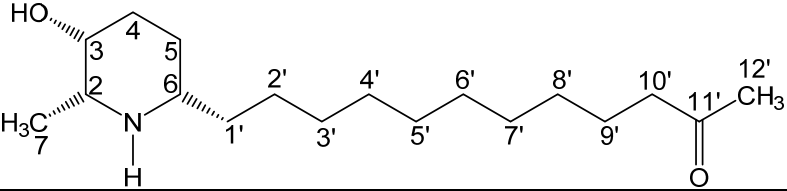
substituinte ligado nessa posição, além de três multipletos em δ 2,06 (1H), 1,60 (1H) e 1,75 (2H) que se correlacionam no contorno COSY e foram atribuídos aos hidrogênios H-4a, H-4b, H-5, respectivamente (Tabela 4).

A extremidade da cadeia lateral, funcionalizada pelo grupo metil-cetona foi identificada pela presença de um tripleto em δ 2,40 ($J = 7,2$ Hz) (integrando para 2H) e um singlete em δ 2,12 (3H), que foram atribuídos aos 2H (H-10') e 3H (H-12'), respectivamente. Esta dedução foi confirmada pelo mapa de contorno HMBC (Apêndice A14–A18), que apresentou correlações (2J) entre H-10' e H-12' com C-11' (δ 209,54). Os sinais relativos aos hidrogênios metilênicos da cadeia lateral encontram-se sobrepostos na região de δ 1,23.

A estrutura foi estabelecida a partir das correlações observadas entre os hidrogênios e carbonos nos mapas de contorno de HSQC e HMBC (Apêndice A12–A18).

O comprimento da cadeia lateral foi estabelecido pelo número de metilenos observados nos espectros de ^{13}C e DEPT 135 (Apêndice A9–A11), principalmente na região entre δ 29,28–29,62, que correlacionavam com os hidrogênios δ 1,23 (H-3'–H-8') no mapa de contorno HSQC (Apêndice A12 e A13). A extensão da cadeia lateral está de acordo com os dados do espectro de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{NO}_2$, $[\text{M} + \text{H}]^+ 298,2849$, para a presença de dez metilenos seguidos de uma metil-cetona, além do núcleo piperidínico trissubstituído.

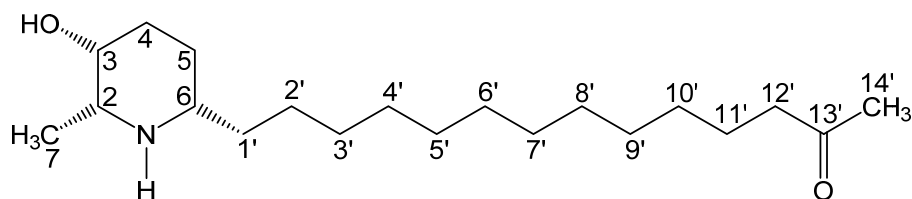
Tabela 4. Dados de RMN do alcaloide **29** em CDCl₃.

| (-)-cassina (29) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,10 q (6,1; 1,4) | 57,63 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 3,80 m | 66,53 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 ^a | 2,06 m | 31,06 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 4b | 1,59 m | | | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | |
| 5 | 1,75 m | 22,67 | CH ₂ | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,85 m | 56,60 | CH | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,39 d (6,1) | 15,99 | CH ₃ | H-2 | H-7 | H-2, H-3 |
| 1'a | 1,86 m | 33,62 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-2', H-3' |
| 1'b | 1,59 m | | | H-2' | H-1'b | |
| 2' | 1,23 m | 25,61 | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,23 m | 29,51 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 4' | 1,23 m | 29,46 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 5' | 1,23 m | 29,54 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 6' | 1,23 m | 29,56 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 7' | 1,23 m | 29,28 ^c | CH ₂ | | H-7' | |
| 8' | 1,23 m | 29,62 ^c | CH ₂ | | H-8' | |
| 9' | 1,55 qt (7,2) | 23,96 | CH ₂ | H-10' | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 10' | 2,40 t (7,2) | 43,92 | CH ₂ | H-9', H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 11' | — | 209,54 | C | — | — | H-9', H-10', H-12' |
| 12' | 2,12 s | 29,99 | CH ₃ | H-10' | H-12' | H-10' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (dublete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

Fonte: a autora

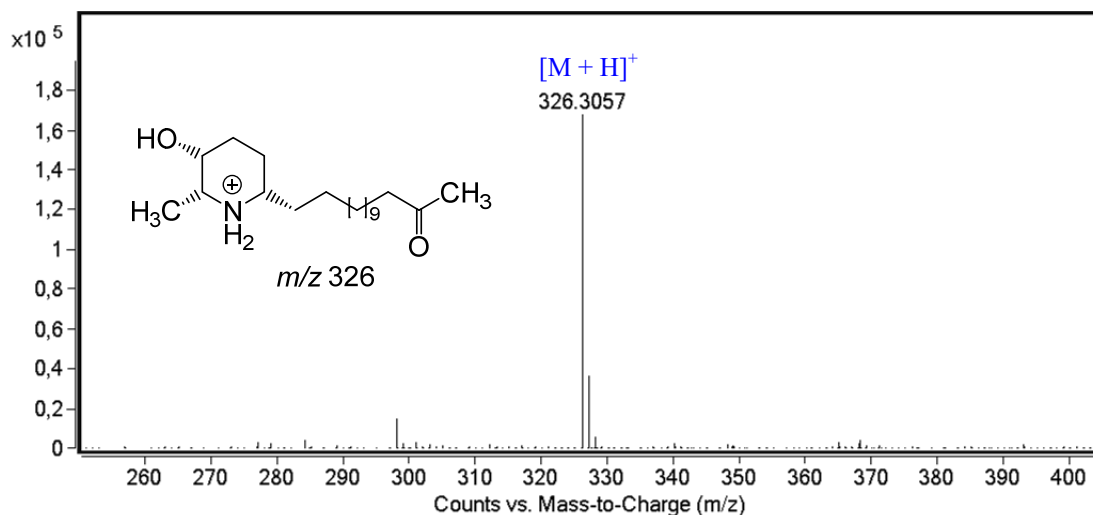
5.2.2 Elucidação estrutural do alcaloide **30**



(-)-espectralina (30): sólido branco (10,0 mg); CCD R_f 0,52 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 –MeOH– NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 326,3057 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{NO}_2$, 326,3057 (Δ –0,9 ppm); EM/EM-IES m/z 326 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 308 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]$; RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3,82 (1H, sl, H-3), 3,15 (1H, qt, $J = 6,2$; 1,4 Hz; H-2), 2,90 (1H, m, H-6), 2,40 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-12'), 2,12 (3H, s, H-14'), 2,06 (1H, m, H-4a), 1,93 (1H, m, H-1'a), 1,78 (2H, m, H-5), 1,55 (4H, m, H-4b, H-1'b, H-11'), 1,43 (3H, d, $J = 6,2$ Hz, H-7), 1,25 (18H, sl, H-2'–H-10'); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,61 (C, C-13'), 66,46 (CH, C-3), 57,84 (CH, C-2), 56,78 (CH, C-6), 43,95 (CH_2 , H-12'), 33,50 (CH_2 , C-1'), 30,79 (CH_2 , C-4), 29,99 (CH_3 , C-14'), 29,72° (CH_2 , C-10'), 29,66° (CH_2 , C-5'), 29,65° (CH_2 , C-6'), 29,59° (CH_2 , C-7'), 29,54° (CH_2 , C-4'), 29,47° (CH_2 , C-8'), 29,42° (CH_2 , C-3'), 29,31° (CH_2 , C-9'), 25,61 (CH_2 , C-2'), 24,00 (CH_2 , C-11'), 22,48 (CH_2 , C-5), 15,91 (CH_3 , C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

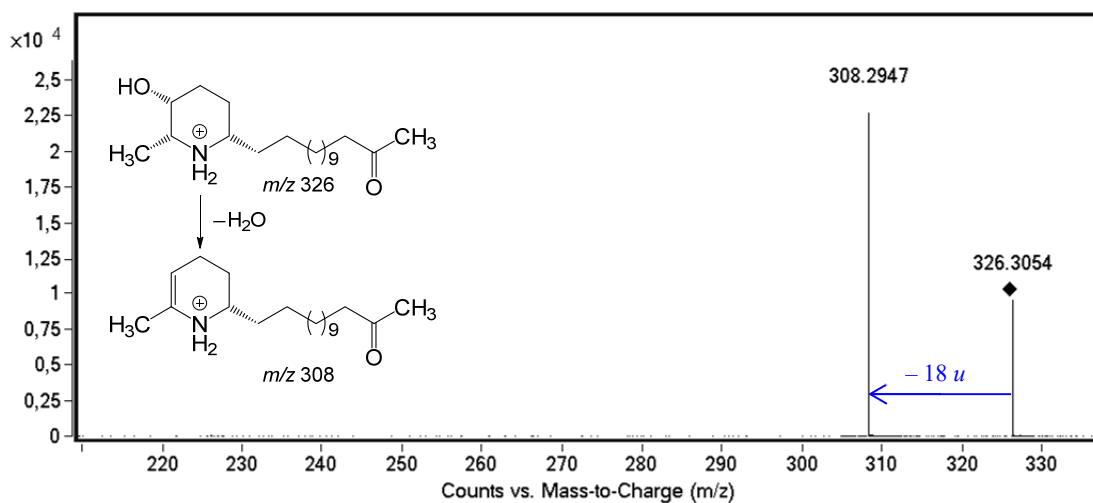
O alcaloide **(-)-espectralina (30)** foi submetido à análise por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{NO}_2$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a dois. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 326,3057 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{NO}_2^+$, 326,3054 (Δ –0,9 ppm) (Figura 30).

Figura 30. EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide (–)-espectralina (**30**).



Quando o sinal de m/z 326 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 308, atribuído à eliminação neutra de água ($18 u$) (Figura 31).

Figura 31. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-espectralina (**30**).



A análise dos espectros de RMN de **30** (Apêndice B) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído são idênticos ao do alcaloide **29**, porém o número de sinais de carbono que aparece na região δ 29,18–29,59 corresponde a oito metilenos para o alcaloide **30** (Tabela 5). A extensão da cadeia lateral está de acordo com os dados do espectro de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $C_{20}H_{39}NO_2$, $[M + H]^+$ 326,3057, para a presença de doze metilenos seguidos da metil-cetona, além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 5. Dados de RMN do alcaloide **30** em CDCl₃.

| (-)-espectralina (30) | | | | | | |
|--------------------------------|---|--|-----------------|--------------------------|------------------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,15 qt (6,2; 1,4) | 56,65 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 3,82 m | 66,33 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4a | 2,06 m | 30,79 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4 ^a | H-2, H-3, H-6 |
| 4b | 1,55 m | | | H-3, H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | |
| 5 | 1,78 m | 22,35 | CH ₂ | H-4a, H-4b, H-5b, H-6 | H-5 | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,9 m | 57,71 | CH | H-5a, H-5b, H-1'a, H-1'b | H-6 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,43 d (6,2) | 15,78 | CH ₃ | H-2 | H-7 | H-2, H-3 |
| 1'a | 1,93 m | 33,36 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-2', H-3' |
| 1'b | 1,55 | | | | H-1'b | |
| 2' | 1,24 m | 25,48 | CH ₂ | H-3' | H-2' | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,24 m | 29,29 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 4' | 1,24 m | 29,41 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 5' | 1,24 m | 29,53 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 6' | 1,24 m | 29,52 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 7' | 1,24 m | 29,46 ^c | CH ₂ | | H-7' | |
| 8' | 1,24 m | 29,34 ^c | CH ₂ | | H-8' | |
| 9' | 1,24 m | 29,18 ^c | CH ₂ | H-8', H-10' | H-9' | |
| 10' | 1,24 m | 29,59 ^c | CH ₂ | H-9', H-11' | H-10' | |
| 11' | 1,55 qt (7,4) | 23,93 | CH ₂ | H-10', H-12' | H-11' | H-9', H-10', H-12' |
| 12' | 2,40 t (7,4) | 43,82 | CH ₂ | H-11' | H-12' | H-11', H-14' |
| 13' | — | 209,48 | C | — | — | H-11', H-12', H-14' |
| 14' | 2,12 s | 29,87 | CH ₃ | H-12' | H-14' | H-12' |

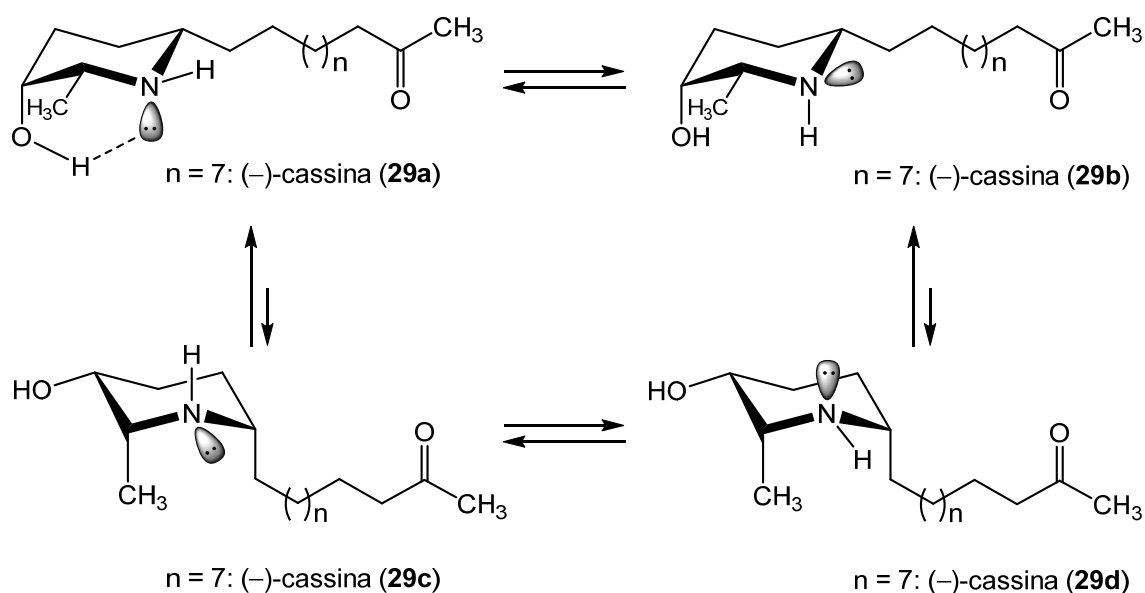
^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (dublete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

Fonte: a autora

5.3 Síntese dos derivados da (-)-cassina (**29**)

Com o objetivo de sintetizar análogos com maior atividade e menor toxicidade que o alcaloide **29**, foram propostas modificações estruturais na hidroxila da posição três (C-3) do núcleo piperidínico. Inicialmente foram propostas somente reações de acetilação, tarefa não trivial quando se trabalha com piperidinóis, 2,6-dissubstituídos, uma vez que diferenças nas conformações e interconversões eletrônicas do nitrogênio, presente no núcleo piperidínio, tornam a hidroxila (C-3) pouco reativa. A análise detalhada dos confôrmeros (Figura 32) permite observar que **29a** apresenta ligação de hidrogênio intramolecular entre a hidroxila do anel piperidínico, tornando esta hidroxila pouco reativa. Também é preciso levar em consideração que a nucleofilicidade do nitrogênio é maior que a da hidroxila, função a ser esterificada, o que pode levar a produtos indesejados de acilação (amidas). Esses produtos podem ser obtidos quando o par de elétrons do nitrogênio não estiver comprometido nas ligações intramoleculares, representado pelos confôrmeros **29b**, **29c** e **29d** (Figura 32). Para contornar esse problema a acetilação foi realizada a partir do cloridrato de **29**, uma vez que este não apresenta ligação intramolecular, tornando a hidroxila um melhor nucleófilo que o nitrogênio, agora na forma de sal de amônio quaternário.

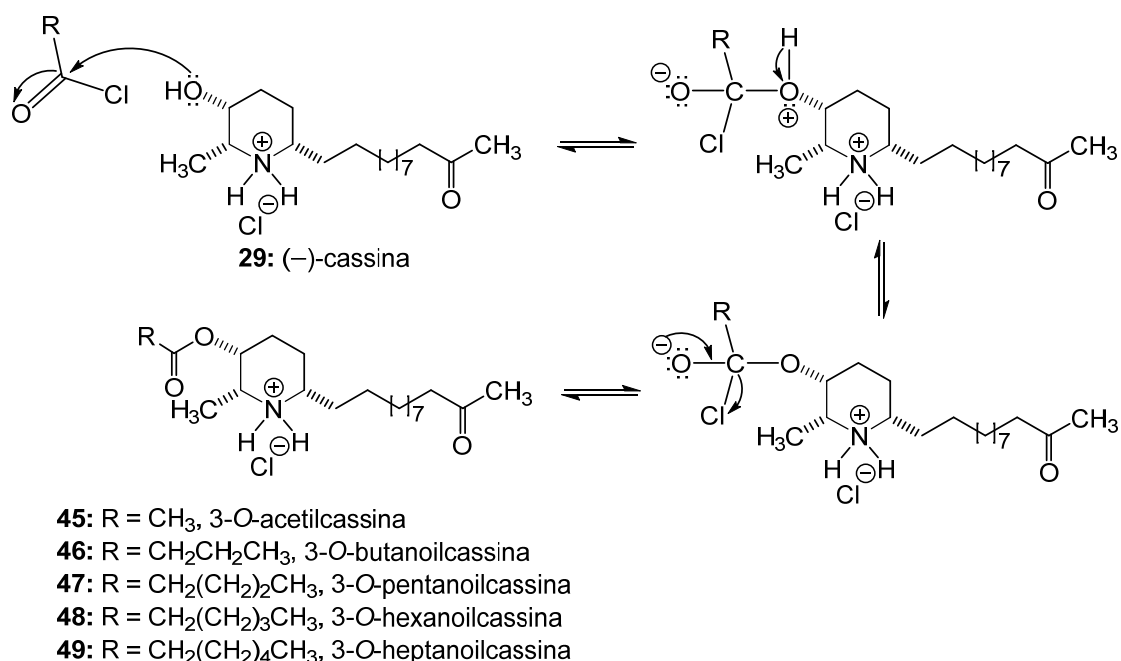
Figura 32. Conformações possíveis para o alcaloide **29**.



Fonte: autora.

Os mecanismos envolvidos nas reações de esterificação para obtenção dos derivados semissintéticos são do tipo substituição nucleofílica acílica (Figuras 33 e 34). Inicialmente o par de elétrons do oxigênio ligado ao C-3 do núcleo piperidínico ataca a carbonila do cloreto de ácido, fazendo com que o par de elétrons permaneça sobre o oxigênio (alcóxido). Na sequência, alguma espécie que possa atuar como base, presente no meio reacional, captura o hidrogênio ligado ao íon hidroxônio. Na próxima etapa o par de elétrons do oxigênio (alcóxido) reestabelece a dupla ligação e consequentemente há a eliminação do halogênio levando a formação do éster (Figura 33).

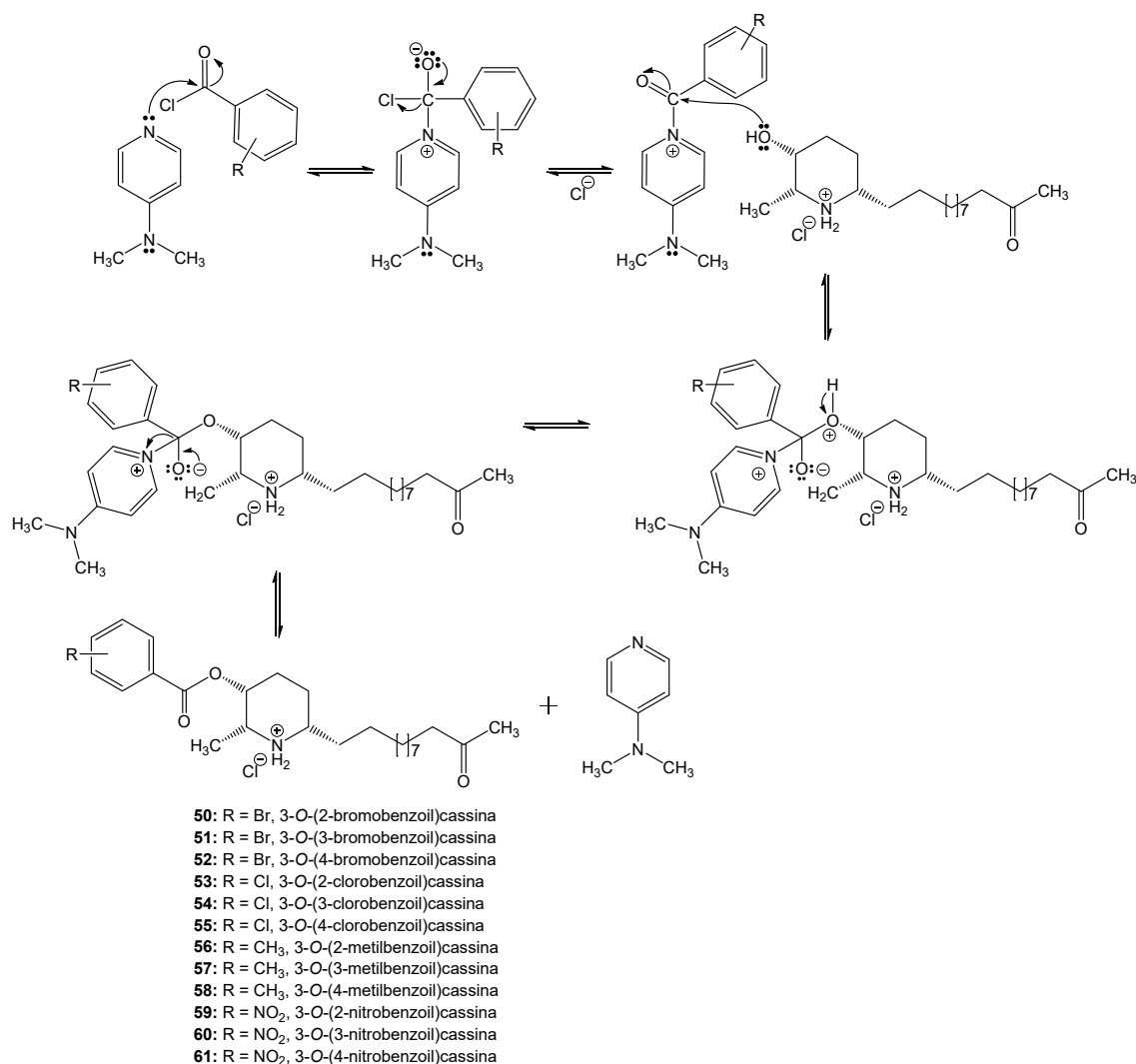
Figura 33. Mecanismo proposto para as reações com cloretos de acila.



Fonte: autora.

Um mecanismo similar acontece quando se usa um catalisador como o 4-dimetilaminopiridina (DMAP), porém inicialmente o catalisador é que se liga ao cloreto de ácido, substituindo o halogênio. Esta espécie carregada apresenta melhor grupo abandonador na etapa equivalente da eliminação do halogênio, aumentando assim a velocidade da reação (Figura 34).

Figura 34. Mecanismo proposto para as reações com cloretos de benzoíla substituídos.

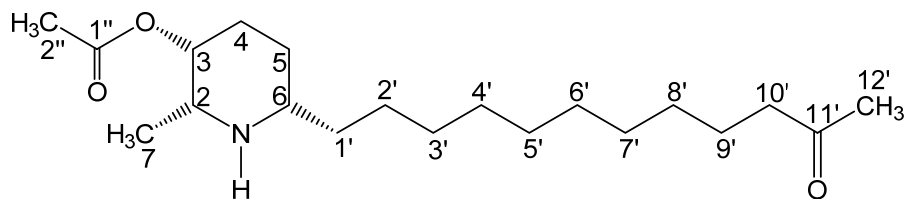


Fonte: autora.

Os produtos (**45–61**) das reações foram analisados por CG-DID para avaliação das porcentagens de conversão (Tabela 3). No entanto foram obtidos baixos rendimentos, devido à perda de massa ocorrida durante os procedimentos de purificação por extração líquido-líquido e por cromatografia em coluna.

Depois de purificados, os derivados semissintéticos foram submetidos à análise por espectrometria de massas de alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer as fórmulas moleculares dos compostos, e por ressonância magnética nuclear.

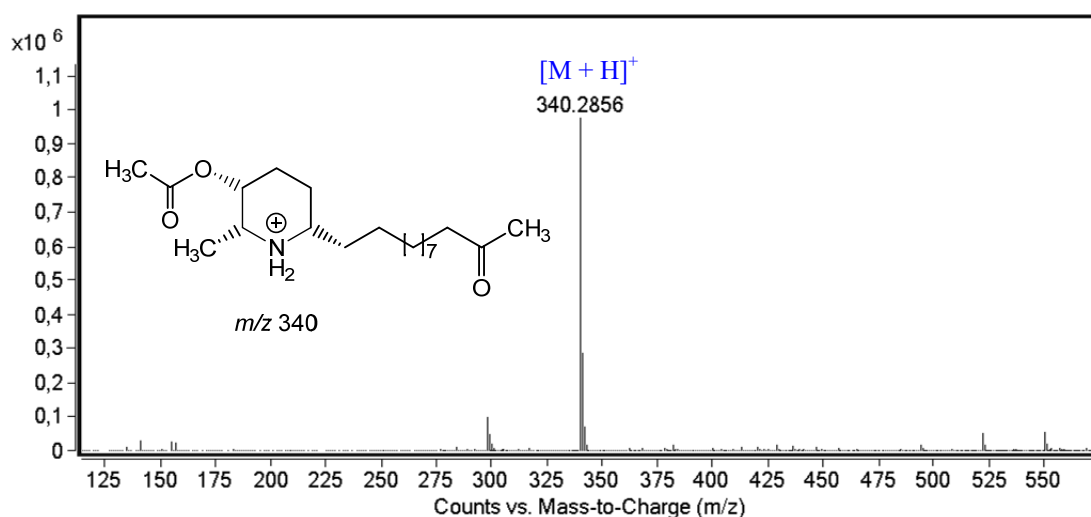
5.3.1 Elucidação estrutural do derivado **45**



3-*O*-acetilcassina (45): óleo amarelo (24,5 mg); CCD R_f 0,82 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 – MeOH – NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 340,2856 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{NO}_3$, 340,2846 (Δ –2,9 ppm); EM/EM-IES m/z 340 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_3\text{CCOOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5,07 (1H, sl, H-3), 3,26 (1H, qt, $J = 6,6$; 1,4 Hz; H-2), 3,00 (1H, m, H-6), 2,41 (2H, t, $J = 7,3$, H-10'), 2,25 (3H, s, H-12'), 2,12 (3H, s, H-2''), 1,87 (2H, m, H-4), 1,75 (2H, m, H-5), 1,66 (2H, m, H-1'), 1,55 (2H, qt, $J = 7,3$ Hz, H-9'), 1,50 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-7), 1,24 (14H, m, H-2'–H-8'); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,53 (C, C-11''), 170,61 (C, C-1''), 67,57 (CH, C-3), 58,14 (CH, C-2), 55,56 (CH, C-6), 43,94 (CH_2 , H-10'), 33,08 (CH_2 , C-1'), 30,01 (CH_3 , C-12'), 29,66 $^\circ$ (CH_2 , C-8'), 29,57 $^\circ$ (CH_2 , C-6'), 29,53 $^\circ$ (CH_2 , C-5'), 29,52 $^\circ$ (CH_2 , C-3'), 29,45 $^\circ$ (CH_2 , C-4'), 29,29 $^\circ$ (CH_2 , C-7'), 27,80 (CH_2 , C-4), 25,71 (CH_2 , C-2'), 23,99 (CH_2 , C-9'), 22,66 (CH_2 , C-5), 21,25 (CH_3 , C-2''), 15,78 (CH_3 , C-7). $^\circ$ Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

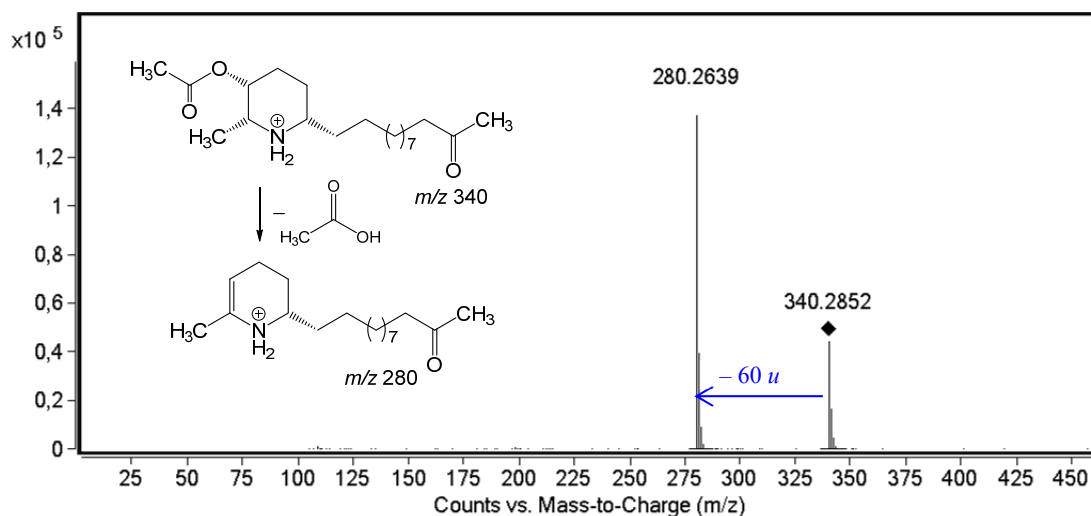
O derivado 3-*O*-acetilcassina (**45**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{NO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a três. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 340,2856 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{NO}_3^+$, 340,2846 (Δ –2,9 ppm) (Figura 35).

Figura 35. EM-IES-(+) em alta resolução do derivado (-)-3-*O*-acetilcassina (**45**).



Quando o sinal de m/z 340 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido acético (60 *u*) (Figura 36).

Figura 36. EM/EM-IES-(+) do derivado (-)-3-*O*-acetilcassina (**45**).



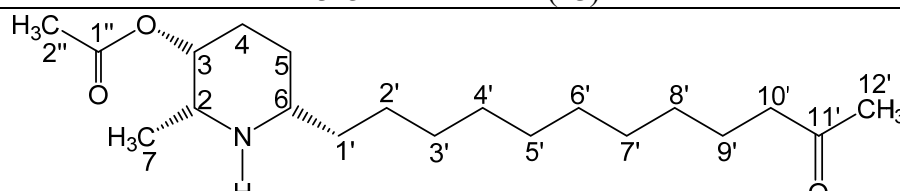
A análise dos espectros de RMN de **45** (Apêndice C) (Tabela 6) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de um singlete adicional em δ 2,12, integrando para três hidrogênios, juntamente com a desproteção do sinal referente ao H-3 (δ 5,07), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo acetila.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de dois sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um primário (C-2'') e um quaternário (C-1'') em δ 21,25 e 170,61, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 5,07, referente ao H-3 com o sinal em δ 170,61, referente ao C-1'' (C=O) da função éster.

As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{NO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 340,2856, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

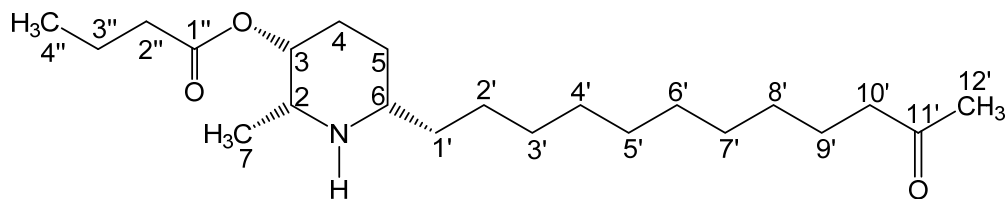
Tabela 6. Dados de RMN do derivado (–)-3-*O*-acetilcassina (**45**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -acetilcassina (45) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,26 qt (6,6; 1,4) | 58,14 | CH | H–3, H–7 | H–2 | H–4, H–7 |
| 3 | 5,07 sl | 67,57 | CH | H–2, H–4a | H–3 | H–2, H–4a, H–4b, H–5, H–7 |
| 4 | 1,87 m | 27,80 | CH ₂ | H–3, H–4b, H–5a, H–5b | H–4a | H–2, H–3, H–6 |
| 5 | 1,75 m | 22,66 | CH ₂ | H–4a, H–5a, H–5b | H–4b | |
| 6 | 3,00 m | 55,56 | CH | H–4a, H–4b, H–6 | H–5 | H–3, H–4, H–6, H–1' |
| 7 | 1,50 d (6,6) | 15,78 | CH ₃ | H–1'a, H–5a, H–5b | H–6 | H–4, H–5, H–1' |
| 1' | 1,66 m | 33,08 | CH ₂ | H–2 | H–7 | H–2, H–3 |
| 2' | 1,24 m | 25,71 | CH ₂ | H–6, H–2' | H–1'a | H–6, H–2', H–3' |
| 3' | 1,24 m | 29,52 ^c | CH ₂ | H–2' | H–1'b | |
| 4' | 1,24 m | 29,45 ^c | CH ₂ | H–1'a, H–1'b, H–3' | H–2' | H–6, H–1', H–3', H–4' |
| 5' | 1,24 m | 29,53 ^c | CH ₂ | | H–3' | |
| 6' | 1,24 m | 29,57 ^c | CH ₂ | | H–4' | |
| 7' | 1,24 m | 29,29 ^c | CH ₂ | | H–5' | |
| 8' | 1,24 m | 29,66 ^c | CH ₂ | | H–6' | |
| 9' | 1,55 qt (7,3) | 23,99 | CH ₂ | | H–7' | |
| 10' | 2,41 t (7,3) | 43,94 | CH ₂ | | H–8' | |
| 11' | – | 209,53 | C | H–10' | H–9' | H–9', H–10', H–12' |
| 12' | 2,25 s | 30,01 | CH ₃ | H–11', H–14' | H–12' | H–10' |
| 1'' | – | 170,61 | C | – | – | H–2'', H–3 |
| 2'' | 2,12 s | 21,25 | CH ₃ | H–12' | H–2'' | |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singlete); d (dublete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

Fonte: a autora

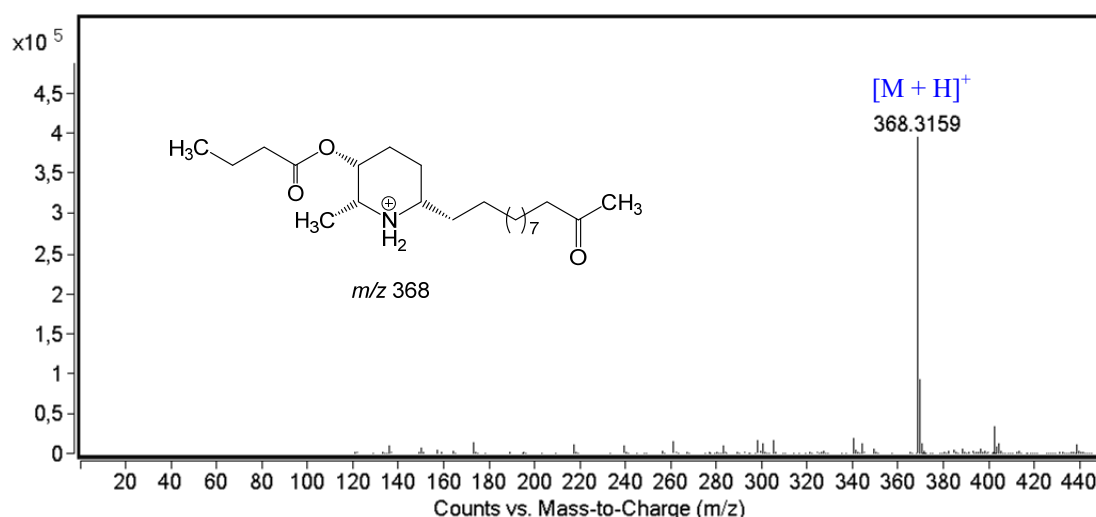
5.3.2 Elucidação estrutural do derivado **46**



3-*O*-butanoilcassina (46): óleo amarelo (37,1 mg); CCD R_f 0,83 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 – MeOH – NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 368,3159 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, 368,2846 (Δ 0,0 ppm); EM/EM-IES m/z 368 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_7\text{C}_3\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5,08 (1H, sl, H-3), 4,29 (1H, qt, $J = 6,6$ Hz, H-2), 2,53 (1H, m, H-6), 2,41 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,30 (2H, m, H-2''), 2,13 (3H, s, H-12'), 1,80 (2H, m, H-4), 1,67 (4H, m, H-5, H-3''), 1,55 (2H, qt, $J = 7,4$ Hz, H-9'), 1,49 (2H, m, H-1'), 1,25 (14H, m, H-2'–H-8'), 0,95 (6H, t, H-7, H-2''); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,68 (C, C-11''), 172,75 (C, C-1''), 67,37 (CH, C-3), 58,14 (CH, C-2), 55,48 (CH, C-6), 43,94 (CH_2 , H-10'), 35,70 (CH_2 , C-2''), 34,84 (CH_2 , C-1'), 30,00 (CH_3 , C-12'), 29,76° (CH_2 , C-8'), 29,71° (CH_2 , C-6'), 29,65° (CH_2 , C-5'), 29,55° (CH_2 , C-3'), 29,51° (CH_2 , C-4'), 29,29° (CH_2 , C-7'), 27,76 (CH_2 , C-2'), 25,80 (CH_2 , C-5), 23,99 (CH_2 , C-4), 22,68 (CH_2 , C-9'), 18,55 (CH_3 , C-3''), 15,46 (CH_3 , C-7), 14,13 (CH_3 , C-4'). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

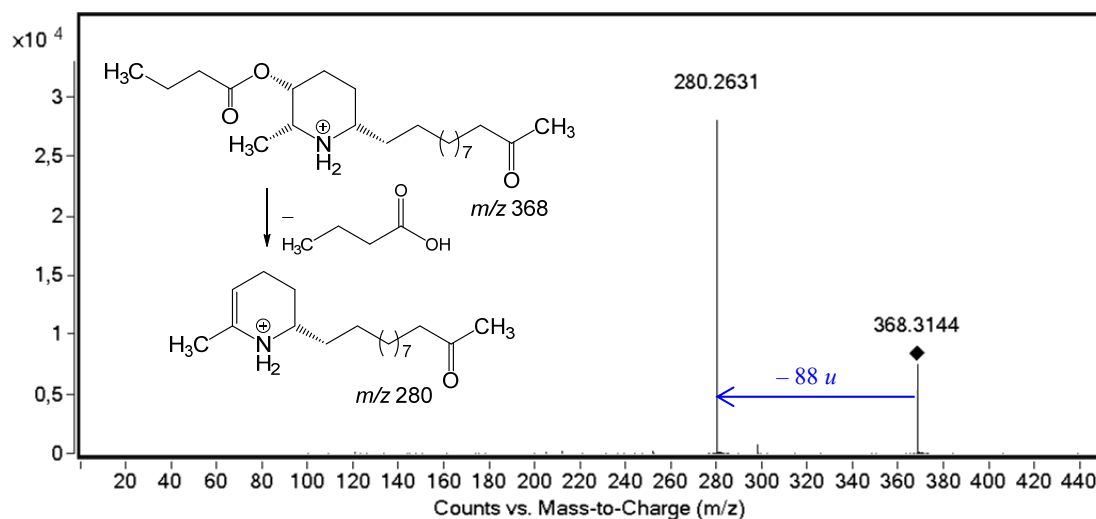
O derivado 3-*O*-butanoilcassina (**46**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a três. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 368,3159 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{NO}_3^+$, 368,3159 (Δ 0,0 ppm) (Figura 37).

Figura 37. EM-IES-(+) em alta resolução do derivado (–)-3-*O*-butanoilcassina (**46**).



Quando o sinal de m/z 368 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido butanoico (88 *u*) (Figura 38).

Figura 38. EM/EM-IES-(+) do derivado (–)-3-*O*-butanoilcassina (**46**).



A análise dos espectros de RMN de **46** (Apêndice D) (Tabela 7) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento adicional de um tripleto (3H) em δ 0,95, e dois sinais referentes aos H-2" (δ 2,30) e H-3" (δ 1,67), juntamente com a desproteção do multipletto referente ao H-3 (δ 5,08), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo butanoila.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de quatro sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um de carbono primário em δ

14,13 (C-4"), dois de secundários em δ 35,70 e δ 18,55 (C-2" e C-3", respectivamente) e um de quaternário em δ 172,75 (C-1").

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 5,08, referente ao H-3 com o sinal em δ 172,75, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $C_{22}H_{41}NO_3$, $[M+H]^+$ 368,3159, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

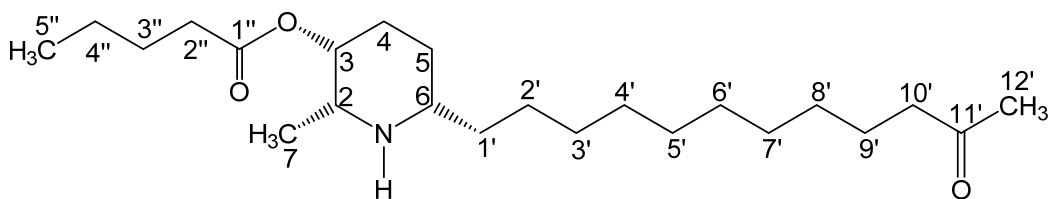
Tabela 7. Dados de RMN do derivado 3-*O*-butanoilcassina (**46**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -butanoilcassina (46) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 4,29 qt (6,6) | 58,14 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 5,08 sl | 67,37 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,80 m | 23,99 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,67 m | 25,80 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,53 m | 55,48 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 0,95 d (6,6) | 15,46 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,49 m | 34,84 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,25 | 27,76 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,25 | 29,55 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,25 | 29,51 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,25 | 29,65 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,25 | 29,71 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,25 | 29,29 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,25 | 29,76 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,55 qt (7,4) | 22,68 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,41 t (7,4) | 43,94 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | – | 209,68 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,13 s | 30,00 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | – | 172,75 | C | – | – | H-2'', H-3 |
| 2'' | 2,30 m | 35,70 | CH ₂ | H-3'' | H-2'' | H-3'' |
| 3'' | 1,67 m | 18,55 | CH ₂ | H-2'', H-4'' | H-3'' | H-2'', H-4'' |
| 4'' | 0,95 t | 14,13 | CH ₃ | H-3'' | H-4'' | H-2'', H-3'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singlete); d (dublete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

Fonte: a autora

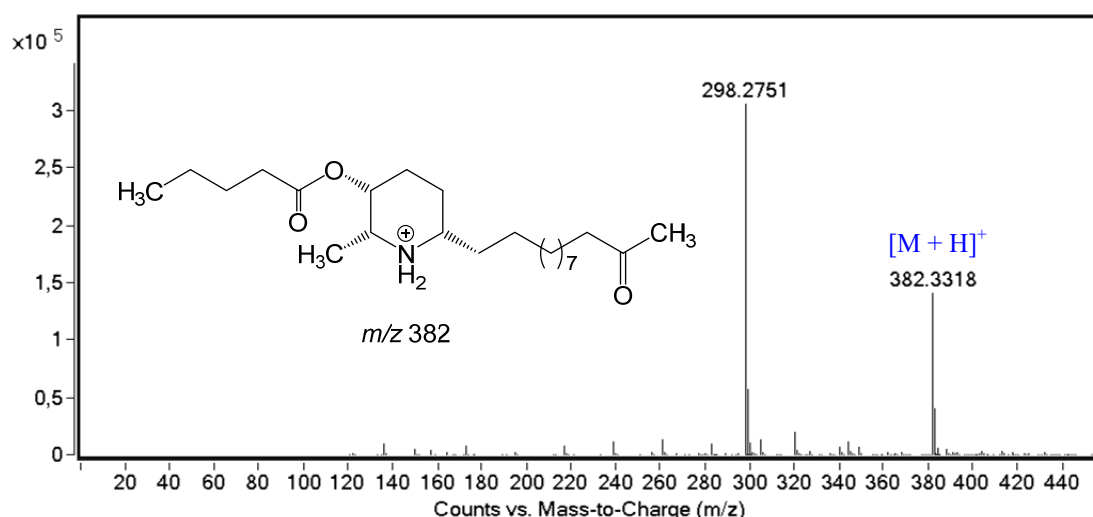
5.3.3 Elucidação estrutural do derivado 47



3-*O*-pentanoilcassina (47): óleo amarelo (29,8 mg); CCD R_f 0,84 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 – MeOH – NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 382,3328 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{NO}_3$, 382,3316 (Δ –0,5 ppm); EM/EM-IES m/z 382 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_9\text{C}_4\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4,55 (1H, m, H-3), 3,72 (1H, qt, $J = 6,5$ Hz, H-2), 2,67 (1H, m, H-6), 2,39 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,35 (2H, m, H-2''), 2,11 (3H, s, H-12'), 1,83 (2H, m, H-4), 1,60 (6H, m, H-5, H-3'', H-9'), 1,44 (2H, m, H-4''), 1,33 (2H, m, H-1'), 1,24 (14H, m, H-2'–H-8'), 1,14 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-7), 0,90 (3H, t, H-5''); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,54 (C, C-11'), 173,74 (C, C-1''), 69,49 (CH, C-3), 57,00 (CH, C-2), 54,37 (CH, C-6), 43,92 (CH_2 , H-10'), 34,82 (CH_2 , C-2''), 34,31 (CH_2 , C-1'), 29,97 (CH_3 , C-12'), 29,75° (CH_2 , C-8'), 29,65° (CH_2 , C-6'), 29,61° (CH_2 , C-5'), 29,53° (CH_2 , C-3'), 29,49° (CH_2 , C-4'), 29,28° (CH_2 , C-7'), 27,74 (CH_2 , C-3''), 27,33 (CH_2 , C-2'), 25,97 (CH_2 , C-5), 23,97 (CH_2 , C-4), 22,76 (CH_2 , C-9'), 22,38 (CH_2 , C-4''), 14,05 (CH_3 , C-7), 13,87 (CH_3 , C-5''). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

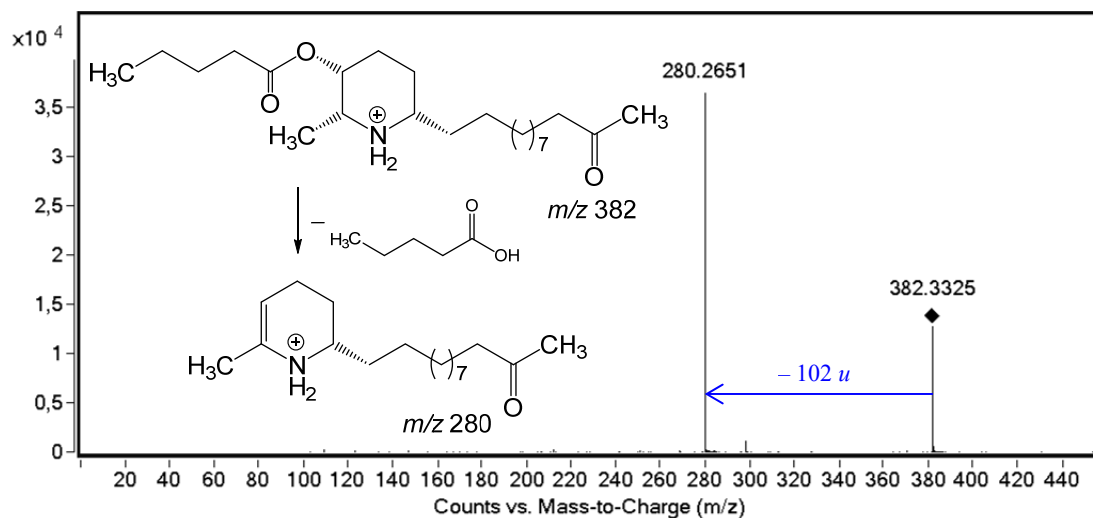
O derivado 3-*O*-pentanoilcassina (47) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{NO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a três. O sinal referente a molécula protonada foi observado em m/z 382,3318 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{NO}_3^+$, 382,3316 (Δ –0,5 ppm) (Figura 39).

Figura 39. EM-IES-(+) em alta resolução do derivado (-)-3-*O*-pentanoilcassina (**47**).



Quando o sinal de m/z 382 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido pentanoico (102 *u*) (Figura 40).

Figura 40. EM/EM-IES-(+) do derivado (-)-3-*O*-pentanoilcassina (**47**).



A análise dos espectros de RMN de **47** (Apêndice E) (Tabela 8) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento adicional de um tripeto (3H) em δ 0,90, e três sinais referentes aos H-2" (δ 2,35), H-3" (δ 1,60) e H-4" (δ 1,44), juntamente com a desproteção do multipeto referente ao H-3 (δ 4,55), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo pentanoila.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de cinco sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um de carbono primário em δ 13,87 (C-5"), três de secundários em δ 34,82, δ 27,74, δ 22,38 (C-2", C-3" e C-4", respectivamente) e um de quaternário em δ 173,74 (C-1").

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,55, referente ao H-3 com o sinal em δ 173,74, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{NO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 382,3318, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

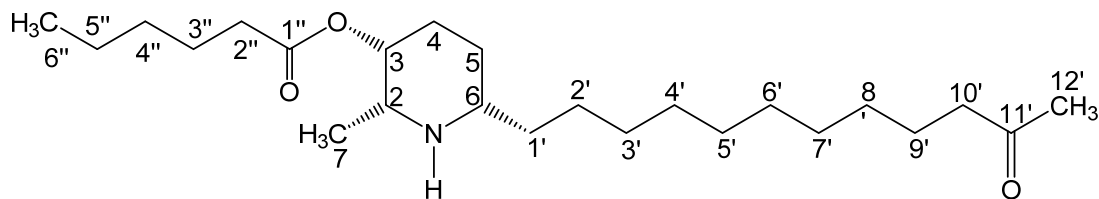
Tabela 8. Dados de RMN do derivado 3-*O*-pentanoilcassina (**47**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -pentanoilcassina (47) | | | | | | |
|---|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,72 qt (6,5) | 57,00 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,55 m | 69,49 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,83 m | 23,97 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,60 m | 25,97 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,67 m | 54,37 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,14 d (6,5) | 14,05 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,33 m | 34,31 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,24 | 27,33 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,24 | 29,53 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,24 | 29,49 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,24 | 29,61 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,24 | 29,65 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,24 | 29,28 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,24 | 29,75 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,60 qt (7,4) | 22,76 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,39 t (7,4) | 43,92 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,54 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,11 s | 29,97 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 173,74 | C | — | — | H-2'', H-3 |
| 2'' | 2,35 s | 34,31 | CH ₂ | H-3'' | H-2'' | H-3'' |
| 3'' | 1,60 m | 27,33 | CH ₂ | H-2'', H-4'' | H-3'' | H-2'', H-4'' |
| 4'' | 1,44 m | 22,38 | CH ₂ | H-3'', H-5'' | H-4'' | H-3'', H-5'' |
| 5'' | 0,90 t | 13,87 | CH ₃ | H-4'' | H-5'' | H-4'', H-3'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

Fonte: a autora

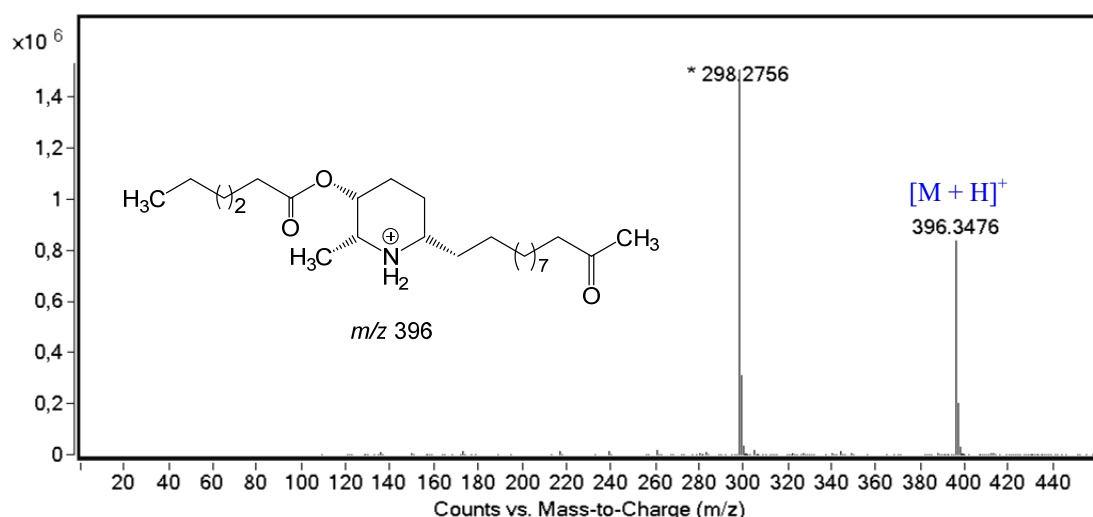
5.3.4 Elucidação estrutural do derivado **48**



3-*O*-hexanoilcassina (48): óleo amarelo (34,4 mg); CCD R_f 0,85 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 – MeOH – NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 396,3476 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{NO}_3$, 396,3472 (Δ –1,0 ppm); EM/EM-IES m/z 396 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_{11}\text{C}_5\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4,58 (1H, sl, H-3), 3,72 (1H, qt, $J = 6,3$ Hz, H-2), 3,00 (1H, m, H-6), 2,40 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,31 (2H, m, H-2''), 2,12 (3H, s, H-12'), 1,67 (10H, m, H-4, H-5, H-3'', H-1', H-9'), 1,30 (3H, t, H-6''), 1,29 (2H, m, H-4''), 1,28 (2H, m, H-5''), 1,24 (14H, m, H-2'–H-8'), 0,87 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, H-7); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,59 (C, C-11''), 173,41 (C, C-1''), 67,35 (CH, C-3), 58,07 (CH, C-2), 55,44 (CH, C-6), 43,92 (CH_2 , H-10'), 34,21 (CH_2 , C-2''), 33,06 (CH_2 , C-1'), 31,85 (CH_2 , C-4''), 31,33 (CH_2 , C-3'') 29,98 (CH_3 , C-12'), 29,65 $^\circ$ (CH_2 , C-8'), 29,61 $^\circ$ (CH_2 , C-6'), 29,55 $^\circ$ (CH_2 , C-5'), 29,52 $^\circ$ (CH_2 , C-3'), 29,49 $^\circ$ (CH_2 , C-4'), 29,27 $^\circ$ (CH_2 , C-7'), 27,82 (CH_2 , C-2'), 25,70 (CH_2 , C-5), 24,74 (CH_2 , C-4), 23,97 (CH_2 , C-9'), 22,47 (CH_3 , C-5''), 15,69 (CH_3 , C-7), 14,06 (CH_3 , C-6''). $^\circ$ Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

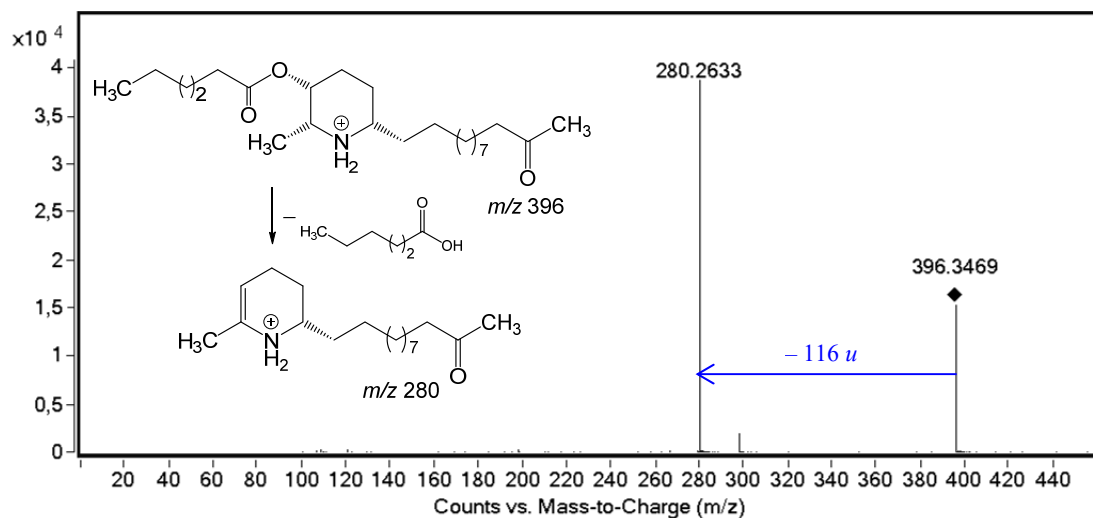
O derivado 3-*O*-hexanoilcassina (**48**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{NO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a três. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 396,3476 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{46}\text{NO}_3^+$, 396,3472 (Δ –1,0 ppm) (Figura 41).

Figura 41. EM-IES-(+) em alta resolução do derivado (–)-3-*O*-hexanoilcassina (**48**).



Quando o sinal de m/z 396 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido hexanoico (116 *u*) (Figura 42).

Figura 42. EM/EM-IES-(+) do derivado (–)-3-*O*-hexanoilcassina (**48**).



A análise dos espectros de RMN de **48** (Apêndice F) (Tabela 9) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento adicional de um tripleto (3H) em δ 1,30, e quatro sinais referentes aos H-2" (δ 2,31), H-3" (δ 1,67), H-4" (δ 1,29), H-5" (δ 1,28), juntamente com a desproteção do multiplete referente ao H-3 (δ 4,58), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo hexanoila.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de seis sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um de carbono primário em δ 14,06 (C-6"), quatro de secundários em δ 34,21, δ 31,33, δ 31,85 e δ 22,47 (C-2", C-3", C-4" e C-5", respectivamente) e um de quaternário em δ 173,41 (C-1").

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,58, referente ao H-3 com o sinal em δ 173,41, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

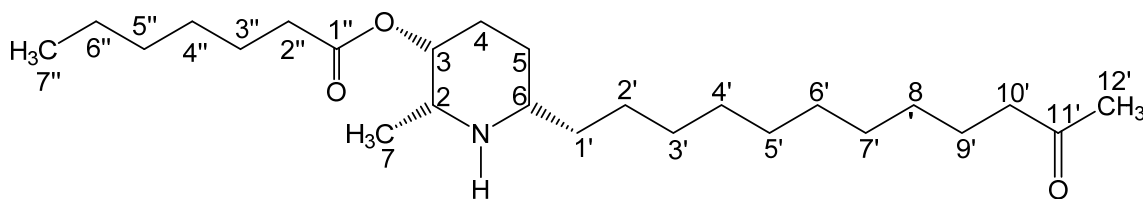
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{NO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 396,2476, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 9. Dados de RMN do derivado 3-*O*-hexanoilcassina (**48**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -hexanoilcassina (48) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,72 qt (6,3) | 58,07 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,58 m | 67,35 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,67 m | 24,74 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,67 m | 25,70 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,00 m | 55,44 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 0,87 d (6,3) | 15,69 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,67 m | 33,06 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,24 | 27,82 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,24 | 29,52 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,24 | 29,49 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,24 | 29,55 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,24 | 29,61 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,24 | 29,27 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,24 | 29,65 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,67 qt (7,4) | 23,97 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,40 t (7,4) | 43,82 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | – | 209,59 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,12 s | 29,98 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | – | 173,41 | C | – | – | H-2'', H-3 |
| 2'' | 2,31 s | 34,21 | CH ₂ | H-3'' | H-2'' | H-3'' |
| 3'' | 1,67 m | 31,33 | CH ₂ | H-2'', H-4'' | H-3'' | H-2'', H-4'' |
| 4'' | 1,29 m | 31,85 | CH ₂ | H-3'', H-5'' | H-4'' | H-3'', H-5'' |
| 5'' | 1,28 m | 22,47 | CH ₂ | H-4'', H-6'' | H-5'' | H-4'', H-3'' |
| 6'' | 1,30 t | 14,06 | CH ₃ | H-5'' | H-6'' | H-4'', H-5'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (duplete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

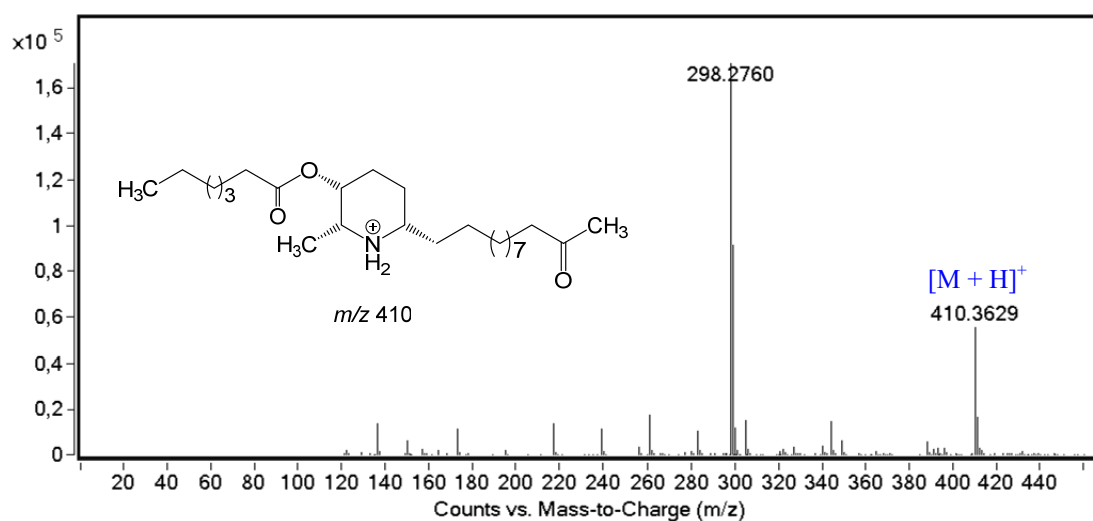
5.3.5 Elucidação estrutural do derivado 49



3-*O*-heptanoilcassina (49): óleo amarelo (40,2 mg); CCD R_f 0,86 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 – $\text{MeOH-NH}_4\text{OH}$); (+)-EM-IES m/z 410,3629 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{NO}_3$, 410,3629 (Δ 0,0 ppm); EM/EM-IES m/z 410 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_{13}\text{C}_6\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4,46 (1H, sl, H-3), 3,01 (1H, qt, $J = 6,4$ Hz, H-2), 2,52 (3H, m, H-6, H-2''), 2,42 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,13 (3H, s, H-12'), 1,85 (6H, m, H-4, H-5, H-9'), 1,60 (2H, m, H-3''), 1,55 (4H, m, H-1', H-4''), 1,48 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, H-7), 1,39 (4H, m, H-5'', H-6''), 1,25 (14H, m, H-2'–H-8'), 0,87 (3H, t, H-7''); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,67 (C, C-11''), 173,36 (C, C-1''), 66,44 (CH, C-3), 58,63 (CH, C-2), 57,32 (CH, C-6), 43,94 (CH_2 , H-10'), 33,27 (CH_2 , C-2''), 31,63 (CH_2 , C-1'), 30,63 (CH_2 , C-5''), 30,03 (CH_3 , C-12'), 29,62° (CH_2 , C-8'), 29,58° (CH_2 , C-6'), 29,52° (CH_2 , C-5'), 29,51° (CH_2 , C-3'), 29,46° (CH_2 , C-4'), 29,28° (CH_2 , C-7'), 28,89 (CH_2 , C-4''), 26,12 (CH_2 , C-2'), 25,65 (CH_2 , C-5), 23,97 (CH_2 , C-4), 22,66 (CH_2 , C-9'), 22,04 (CH_3 , C-6''), 16,02 (CH_3 , C-7), 14,18 (CH_3 , C-7''). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

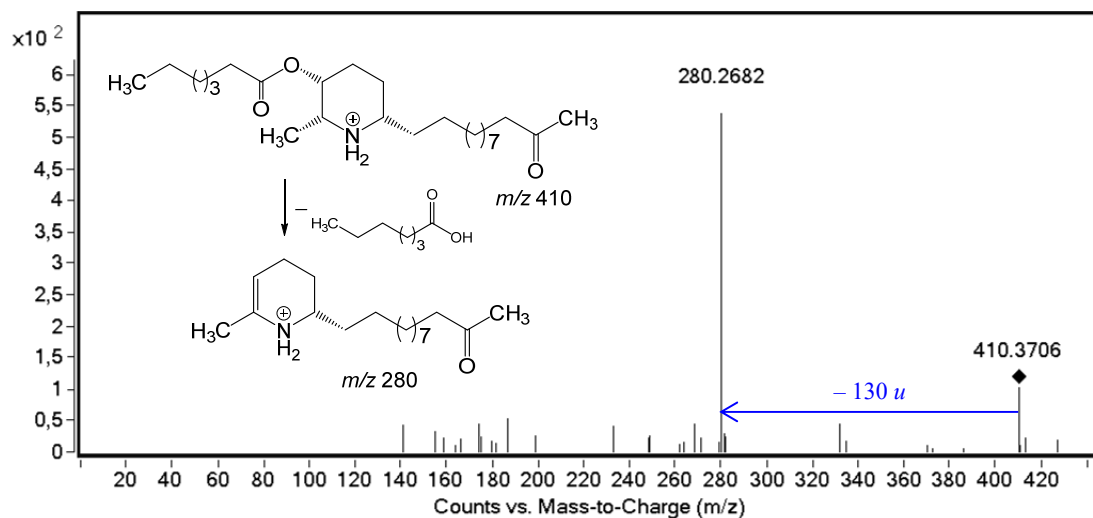
O derivado 3-*O*-heptanoilcassina (49) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{NO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a três. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 410,3629 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{46}\text{NO}_3^+$, 410,3629 (Δ 0,0 ppm) (Figura 43).

Figura 43. EM-IES-(+) em alta resolução do derivado (–)-3-*O*-heptanoilcassina (**49**).



Quando o sinal de m/z 410 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido heptanoico (130 *u*) (Figura 44).

Figura 44. EM/EM-IES-(+) do derivado (–)-3-*O*-heptanoilcassina (**49**).



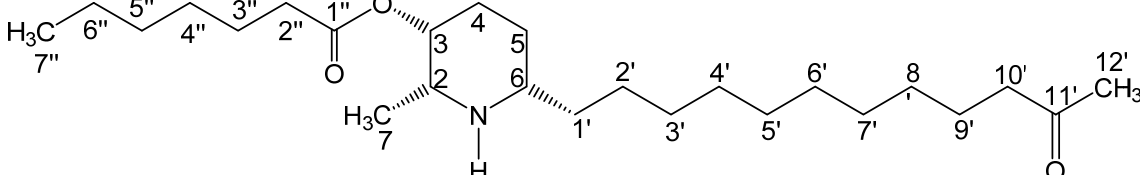
A análise dos espectros de RMN de **49** (Apêndice G) (Tabela 10) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento adicional de um tripleto (3H) em δ 0,87, e cinco sinais referentes aos H-2" (δ 2,52), H-3" (δ 1,60), H-4" (δ 1,55), H-5" e H-6" (δ 1,39), juntamente com a desproteção do multipletto referente ao H-3 (δ 4,46), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo heptanoila.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um de carbono primário em δ 14,18 (C-7"), cinco de secundários em δ 33,27, δ 25,65, δ 28,89, δ 30,63 e δ 22,04 (C-2", C-3", C-4", C-5" e C-6", respectivamente) e um de quaternário em δ 173,36 (C-1").

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,46, referente ao H-3 com o sinal em δ 173,36, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

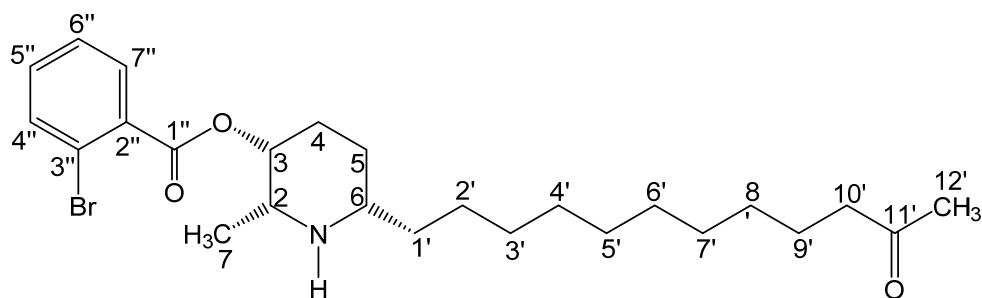
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{NO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 410, 3629, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 10. Dados de RMN do derivado 3-*O*-heptanoilcassina (**49**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -heptanoilcassina (49) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,01 qt (6,4) | 58,63 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,46 sl | 66,44 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,85 m | 23,97 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,85 m | 25,65 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,52 m | 57,32 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,48 d (6,4) | 16,02 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,55 m | 31,63 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,25 | 26,16 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,25 | 29,51 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,25 | 29,46 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,25 | 29,52 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,25 | 29,58 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,25 | 29,28 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,25 | 29,62 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,85 qt (7,4) | 22,66 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,42 t (7,4) | 43,94 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | – | 209,67 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,13 s | 30,03 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | – | 173,36 | C | – | – | H-2'', H-3 |
| 2'' | 2,52 m | 33,27 | CH ₂ | H-3'' | H-2'' | H-3'' |
| 3'' | 1,60 m | 25,05 | CH ₂ | H-2'', H-4'' | H-3'' | H-2'', H-4'' |
| 4'' | 1,55 m | 28,89 | CH ₂ | H-3'', H-5'' | H-4'' | H-3'', H-5'' |
| 5'' | 1,39 m | 30,63 | CH ₂ | H-4'', H-6'' | H-5'' | H-4'', H-3'' |
| 6'' | 1,39 m | 22,04 | CH ₂ | H-5'', H-7'' | H-6'' | H-4'', H-5'' |
| 7'' | 0,87 t | 14,18 | CH ₃ | H-6'' | H-7'' | H-5'', H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (dupleto); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

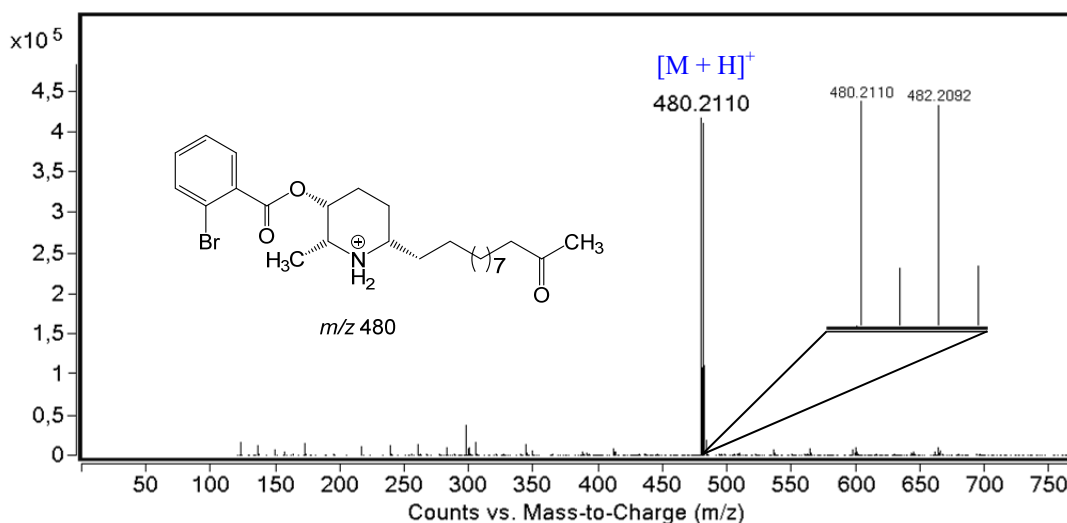
5.3.6 Elucidação estrutural do derivado **50**



3-*O*-(2-bromobenzoyl)cassina (50**):** óleo amarelo (54,5 mg); CCD R_f 0,90 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 480,2110 [$M + H$]⁺, calculado para C₂₅H₃₈BrNO₃, 480,2108 (Δ –0,4 ppm); EM/EM-IES m/z 480 [$M + H$]⁺ e 280 [$M + H - BrH_4C_6COOH$]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,77 (1H, dd, $J = 7,7$ Hz, H-7''), 7,69 (1H, dd, $J = 7,7$ Hz, H-4''), 7,66 (1H, ddd, $J = 7,7; 1,2$ Hz H-5''), 7,48 (1H, ddd, $J = 7,7; 1,2$ Hz, H-6''), 4,40 (1H, q, $J = 6,7$ Hz, H-3), 3,45 (1H, qt, $J = 6,7$ Hz, H-2), 3,09 (1H, m, H-6), 2,40 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,12 (3H, s, H-12'), 1,96 (2H, m, H-4), 1,79 (2H, m, H-1'), 1,69 (2H, m, H-9'), 1,60 (3H, d, $J = 6,7$ Hz, H-7), 1,56 (2H, m, H-5), 1,25 (14H, sl, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 209,60 (C, C-11''), 164,30 (C, C-1''), 134,42 (CH, C-4''), 132,53 (CH, C-5''), 131,31 (CH, C-6''), 128,04 (C, C-2''), 127,27 (CH, C-7''), 121,72 (CH, C-3''), 68,92 (CH, C-3), 58,14 (CH, C-2), 55,29 (CH, C-6), 43,94 (CH₂, H-10'), 33,13 (CH₂, C-1'), 30,01 (CH₃, C-12'), 29,68° (CH₂, C-8'), 29,55° (CH₂, C-6'), 29,50° (CH₂, C-5'), 29,48° (CH₂, C-3'), 29,43° (CH₂, C-4'), 29,28° (CH₂, C-7'), 27,74 (CH₂, C-2'), 25,75 (CH₂, C-5), 23,98 (CH₂, C-9'), 22,83 (CH₂, C-4), 14,35 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

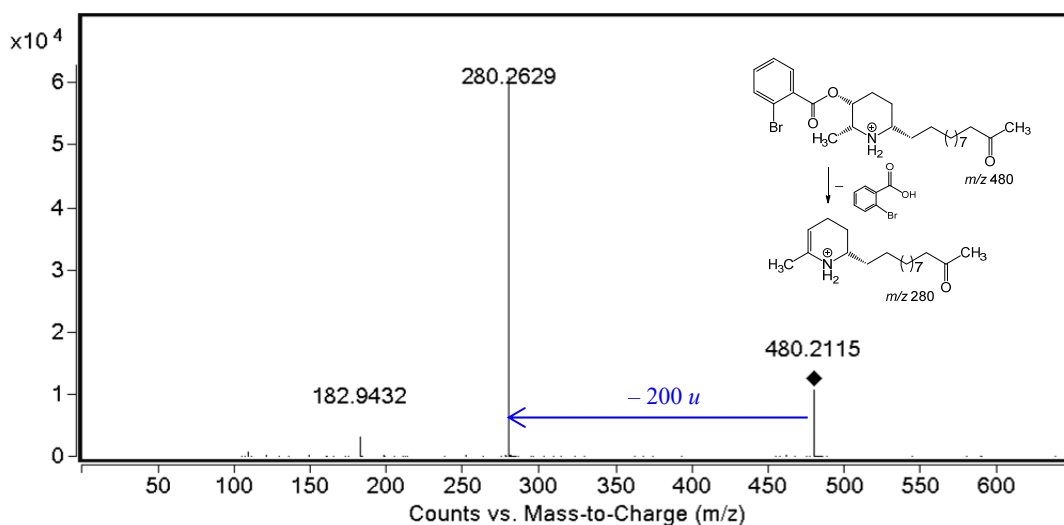
O derivado 3-*O*-(2-bromobenzoyl)cassina (**50**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₅H₃₈BrNO₃, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 480,2110 [$M + H$]⁺, calculado para C₂₅H₃₉BrNO₃⁺, 480,2108 (Δ –0,4 ppm) (Figura 45).

Figura 45. EM-IES-(+) em alta resolução do (-)-3-*O*-(2-bromobenzoil)cassina (**50**).



Quando o sinal de m/z 480 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 2-bromobenzoico (200 *u*) (Figura 46). Também foi observado um sinal de m/z 183 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 46. EM/EM-IES-(+) do derivado (-)-3-*O*-(2-bromobenzoil)cassina (**50**).



A análise dos espectros de RMN de **50** (Apêndice H) (Tabela 11) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-4''–H-7'') na região de δ 7,40–7,80, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,40), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 2-bromobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 127,0–135,0 (C-4"–C-7") e três quaternários (C-1"–C-3") em 164,30, 128,04 e 121,72, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,40, referente ao H-3 com o sinal em δ 164,30, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

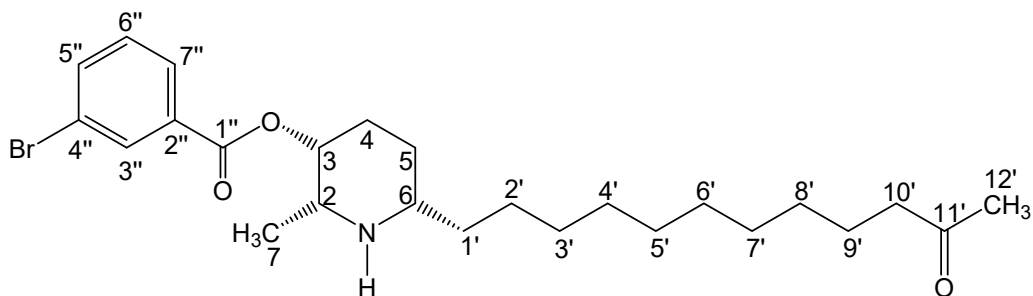
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{BrNO}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480,2110, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 11. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(2-bromobenzoil)cassina (**50**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(2-bromobenzoil)cassina (50) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,45 qt (6,7) | 58,14 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,40 q (6,7) | 68,92 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,96 m | 22,83 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,56 m | 25,75 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,09 m | 55,29 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,60 d (6,7) | 14,35 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,79 m | 33,13 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,25 | 27,74 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,25 | 29,48 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,25 | 29,43 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,25 | 29,50 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,25 | 29,55 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,25 | 29,28 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,25 | 29,68 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,69 qt (7,4) | 23,98 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,40 t (7,4) | 43,81 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,47 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,12 s | 30,01 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 164,30 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 128,04 | C | — | — | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | — | 121,72 | C | — | — | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 4'' | 7,69 dd (7,7) | 134,42 | CH | H-5'', H-6'' | H-4'' | H-5'', H-6'' |
| 5'' | 7,66 ddd (7,7; 1,2) | 132,53 | CH | H-4'', H-6'', H-7'' | H-5'' | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 6'' | 7,48 ddd (7,7; 1,2) | 131,31 | CH | H-4'', H-5'', H-7'' | H-6'' | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 7'' | 7,77 dd (7,7) | 127,27 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-5'', H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

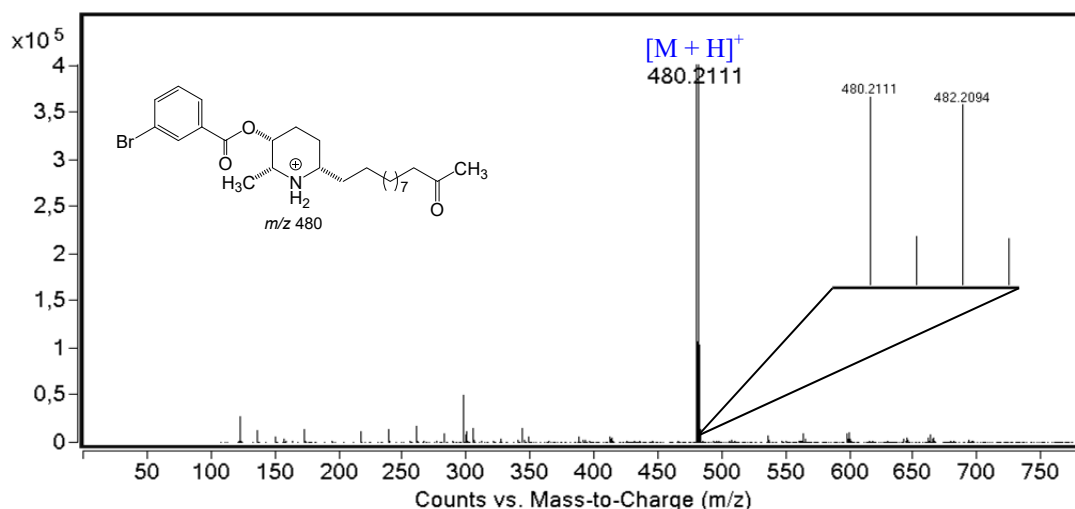
5.3.7 Elucidação estrutural do derivado **51**



3-O-(3-bromobenzoyl)cassina (51): óleo amarelo (53,1 mg); CCD R_f 0,90 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 – MeOH – NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 480,2111 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{BrNO}_3$, 480,2108 (Δ –0,6 ppm); EM/EM-IES m/z 480 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{BrH}_4\text{C}_6\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,14 (1H, s, H-3''), 7,93 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H-7''), 7,63 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H-5''), 7,27 (1H, ddd, $J = 7,9$ Hz, H-6''), 4,34 (1H, q, H-3), 3,88 (1H, qt, $J = 7,1$ Hz, H-2), 2,96 (1H, m, H-6), 2,37 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,09 (3H, s, H-12'), 2,03 (2H, m, H-4), 1,74 (2H, m, H-1'), 1,66 (2H, qt, H-9'), 1,50 (2H, m, H-5), 1,36 (3H, d, $J = 7,1$ Hz, H-7), 1,23 (14H, m, H-2'–H-8'); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,21 (C, C-11''), 165,15 (C, C-1''), 135,69 (CH, C-5''), 132,47 (CH, C-3''), 132,39 (C, C-4''), 129,92 (CH, C-6''), 128,09 (CH, C-7''), 122,36 (C, C-2''), 66,81 (CH, C-3), 57,46 (CH, C-2), 52,35 (CH, C-6), 43,73 (CH_2 , H-10'), 31,25 (CH_2 , C-1'), 29,80 (CH_3 , C-12'), 29,52° (CH_2 , C-8'), 29,51° (CH_2 , C-6'), 29,43° (CH_2 , C-5'), 29,38° (CH_2 , C-3'), 29,35° (CH_2 , C-4'), 29,12° (CH_2 , C-7'), 25,92 (CH_2 , C-2'), 25,53 (CH_2 , C-5), 23,81 (CH_2 , C-4), 23,47 (CH_2 , C-9'), 22,67 (CH_3 , C-8'), 14,26 (CH_3 , C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

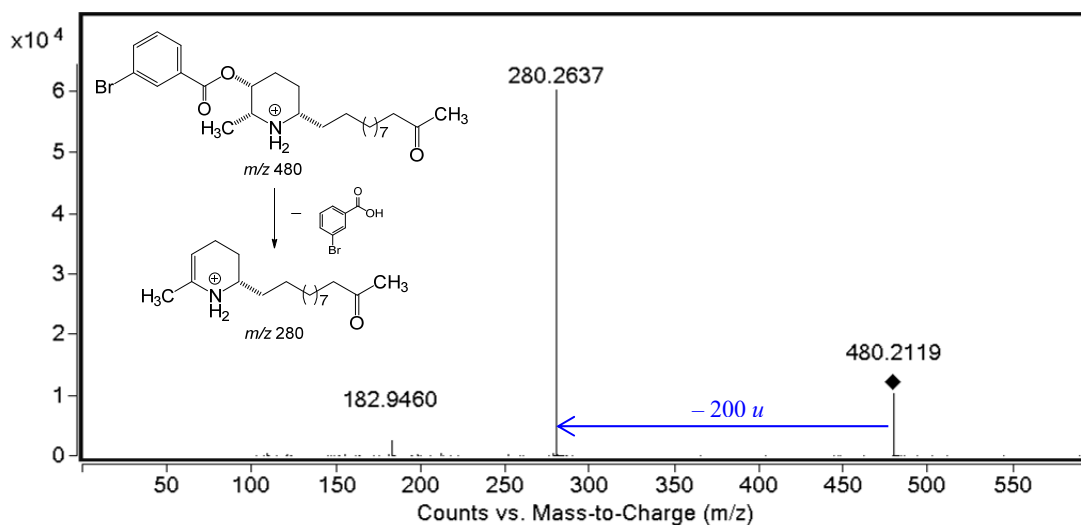
O derivado 3-O-(3-bromobenzoyl)cassina (**51**) foi analisado por espectrometria em massas de alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{BrNO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 480,2111 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{BrNO}_3^+$, 480,2108 (Δ –0,6 ppm) (Figura 47).

Figura 47. EM-IES-(+) em alta resolução do (-)-3-*O*-(3-bromobenzoil)cassina (**51**).



Quando o sinal de m/z 480 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 3-bromobenzoico (200 u) (Figura 48). Também foi observado um sinal de m/z 183 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 48. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (-)-3-*O*-(3-bromobenzoil)cassina (**51**).



A análise dos espectros de RMN de **51** (Apêndice I) (Tabela 12) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-5'', H-6'' e H-7'') na região de δ 7,20–8,20, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,34), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 3-bromobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 128,0–136,0 (C-3", C-5", C-6" e C-7") e três quaternários (C-1", C-2" e C-4") em 165,15, 122,36 e 132,47, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,34, referente ao H-3 com o sinal em δ 165,15, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

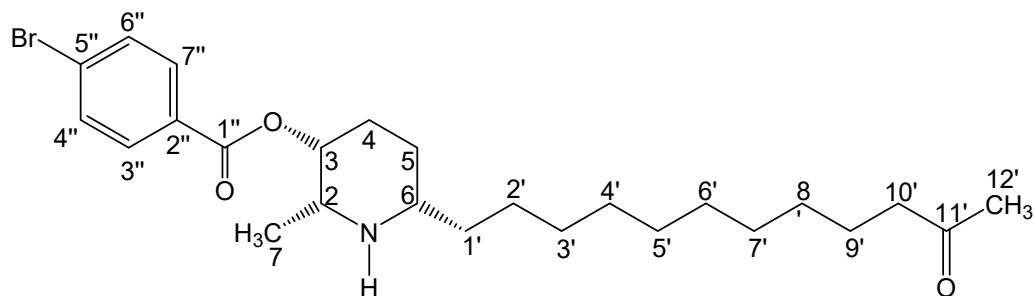
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{BrNO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 480,2111, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 12. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(3-bromobenzoil)cassina (**51**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(3-bromobenzoil)cassina (51) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,88 qt (7,1) | 57,46 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,34 q | 66,81 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 2,03 m | 23,81 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,50 m | 25,53 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,96 m | 52,35 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,36 d (7,1) | 14,26 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,74 m | 31,25 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,23 | 25,92 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,23 | 29,38 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,23 | 29,35 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,23 | 29,43 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,23 | 29,51 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,23 | 29,12 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,23 | 29,52 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,66 qt (7,4) | 23,47 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,37 t (7,4) | 43,73 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,21 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,09 s | 29,80 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 165,15 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 122,36 | C | — | — | H-3'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | 8,14 s | 132,47 | CH | | H-3'' | H-5'', H-7'' |
| 4'' | — | 132,39 | C | — | — | H-3'', H-5'', H-6'' |
| 5'' | 7,63 d (7,9) | 135,69 | CH | H-6'', H-7'' | H-5'' | H-6'' |
| 6'' | 7,27 ddd (7,9) | 129,92 | CH | H-5'', H-7'' | H-6'' | H-5'', H-7'' |
| 7'' | 7,93 d (7,9) | 128,09 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

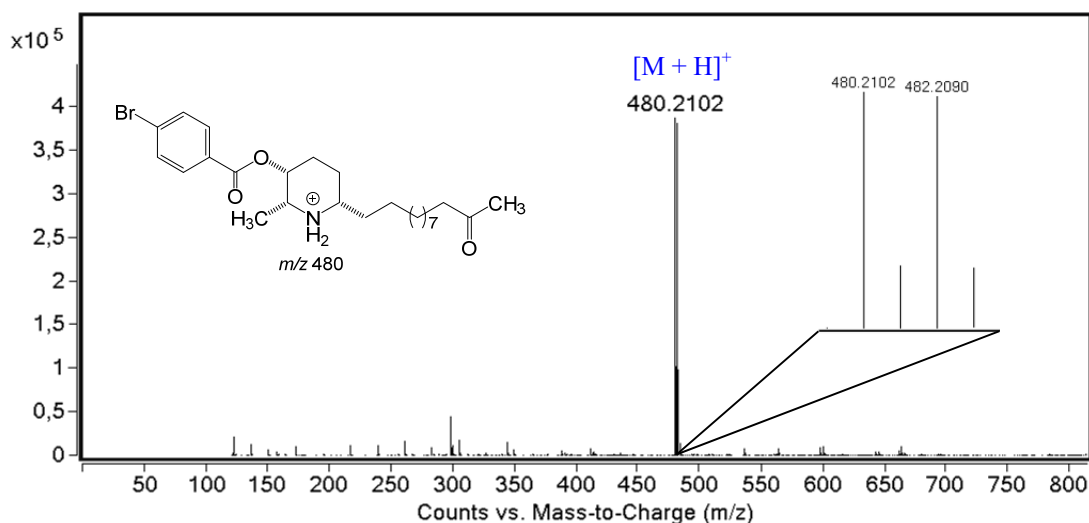
5.3.8 Elucidação estrutural do derivado **52**



3-*O*-(4-bromobenzoyl)cassina (52**):** óleo amarelo (56,9 mg); CCD R_f 0,90 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 480,2102 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₈BrNO₃, 480,2108 (Δ 1,2 ppm); EM/EM-IES m/z 480 [M + H]⁺ e 280 [M + H – BrH₄C₆COOH]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,87 (2H, dd, J = 8,5 Hz, H-4'' e H-6''), 7,54 (2H, dd, J = 8,5 Hz, H-3'' e H-7''), 4,34 (1H, q, H-3), 3,61 (1H, qt, J = 7,1 Hz, H-2), 2,87 (1H, m, H-6), 2,37 (2H, t, J = 7,4, H-10'), 2,10 (3H, s, H-12'), 2,02 (2H, m, H-4), 1,52 (6H, m, H-5, H-1', H-9'), 1,35 (3H, t, J = 7,1 Hz, H-7), 1,22 (14H, m, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 209,38 (C, C-11''), 165,86 (C, C-1'), 131,63 (CH, C-3'' e C-7''), 131,07 (CH, C-4'' e C-6''), 129,38 (C, C-2''), 127,88 (C, C-5''), 67,43 (CH, C-3), 57,34 (CH, C-2), 56,03 (CH, C-6), 43,78 (CH₂, H-10'), 32,19 (CH₂, C-1'), 29,84 (CH₃, C-12'), 29,68° (CH₂, C-8'), 29,62° (CH₂, C-6'), 29,50° (CH₂, C-5'), 29,47° (CH₂, C-3'), 29,40° (CH₂, C-4'), 29,37° (CH₂, C-7'), 26,38 (CH₂, C-2'), 25,69 (CH₂, C-5), 24,84 (CH₂, C-4), 23,83 (CH₂, C-9'), 14,27 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

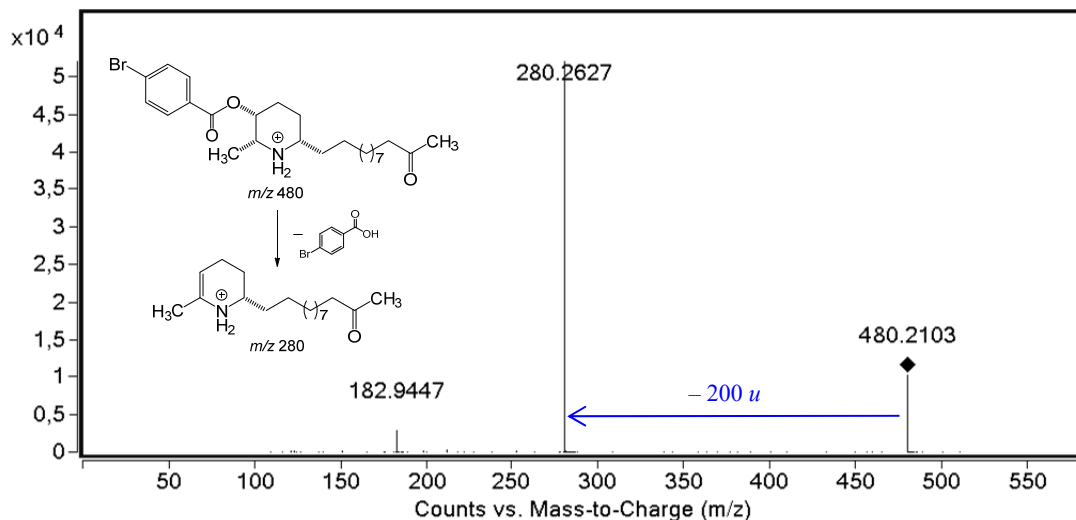
O derivado 3-*O*-(4-bromobenzoyl)cassina (**52**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₅H₃₈BrNO₃, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 480,2102 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₉BrNO₃⁺, 480,2108 (Δ 1,2 ppm) (Figura 49).

Figura 49. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(4-bromobenzoil)cassina (**52**).



Quando o sinal de m/z 480 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 4-bromobenzoico (200 u) (Figura 50). Também foi observado um sinal de m/z 183 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 50. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(4-bromobenzoil)cassina (**52**).



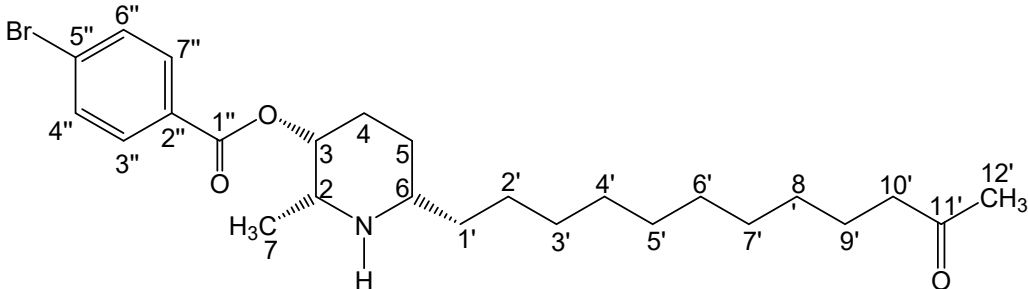
A análise dos espectros de RMN de **52** (Apêndice J) (Tabela 13) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de dois sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-4'', H-6'', H-7'') na região de δ 7,50–7,90, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,34), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 4-bromobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo dois secundários na região de δ 131,63 (C-3" e C-7") e 131,07 (C-4" e C-6") e três quaternários (C-1", C-2" e C-5") em 165,86, 129,38 e 127,88, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,34, referente ao H-3 com o sinal em δ 165,86, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

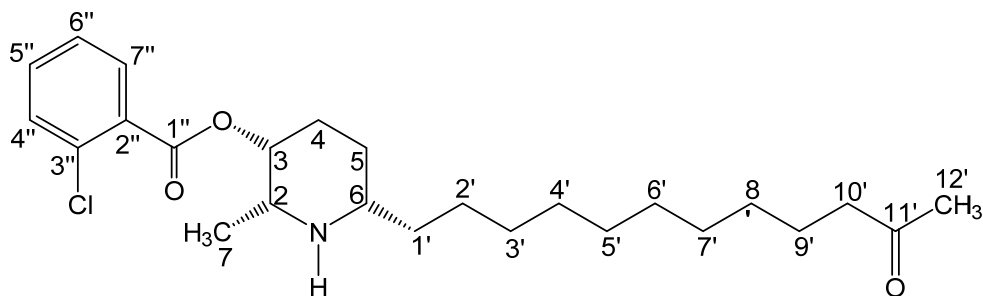
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{BrNO}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480,2102, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 13. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(4-bromobenzoi)cassina (**52**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(4-bromobenzoi)cassina (52) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,61 qt (7,1) | 57,34 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,34 q | 67,43 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 2,02 m | 24,84 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,52 m | 25,69 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,87 m | 56,03 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,35 d (7,1) | 14,27 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,52 m | 32,19 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,22 | 26,38 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,22 | 29,47 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,22 | 29,40 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,22 | 29,50 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,22 | 29,62 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,22 | 29,37 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,22 | 29,68 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,52 qt (7,4) | 23,83 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,37 t (7,4) | 43,78 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,38 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,10 s | 29,84 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 165,86 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 129,38 | C | — | — | H-3'', H-7'' |
| 3'' | 7,54 dd (8,5) | 131,63 | CH | H-4'' | H-3'' | H-4'', H-7'' |
| 4'' | 7,87 dd (8,5) | 131,07 | CH | H-3'' | H-4'' | H-3'', H-6'' |
| 5'' | — | 127,88 | C | — | — | H-4'', H-6'' |
| 6'' | 7,87 dd (8,5) | 131,07 | CH | H-7'' | H-6'' | H-4'', H-7'' |
| 7'' | 7,54 dd (8,5) | 131,63 | CH | H-6'' | H-7'' | H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

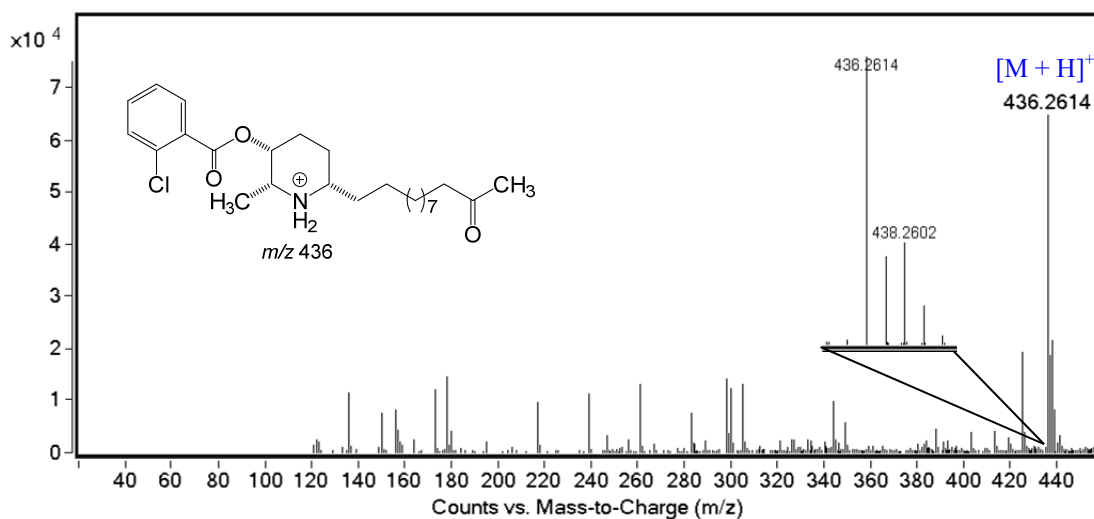
5.3.9 Elucidação estrutural do derivado **53**



3-O-(2-clorobenzoil)cassina (53**):** óleo amarelo (42,1 mg); CCD R_f 0,91 (9,2:0,8:0,5 $\text{CHCl}_3\text{--MeOH--NH}_4\text{OH}$); (+)-EM-IES m/z 436,2614 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, 436,2613 (Δ -0,2 ppm); EM/EM-IES m/z 436 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{ClH}_4\text{C}_6\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,82 (1H, dd, $J = 7,5$ Hz, H-7''), 7,45 (1H, dd, $J = 7,5$ Hz, H-4''), 7,42 (1H, ddd, $J = 7,5; 2,0$ Hz, H-5''), 7,37 (1H, ddd, $J = 7,5; 2,0$ Hz, H-6''), 4,41 (1H, q, H-3), 4,13 (1H, qt, $J = 6,4$ Hz, H-2), 3,55 (1H, m, H-6), 2,43 (2H, t, $J = 7,4$, H-10'), 2,15 (3H, s, H-12'), 1,92 (2H, m, H-4), 1,74 (2H, m, H-1'), 1,59 (2H, qt, $J = 7,4$ Hz, H-9'), 1,45 (2H, m, H-5), 1,23 (14H, m, H-2'–H-8'), 1,16 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, H-7); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,55 (C, C-11''), 168,50 (C, C-1''), 131,92 (CH, C-5''), 131,13 (CH, C-3''), 130,73 (CH, C-7''), 130,43 (CH, C-2''), 129,97 (CH, C-4''), 127,18 (CH, C-6''), 72,70 (CH, C-3), 54,25 (CH, C-2), 53,44 (CH, C-6), 43,84 (CH_2 , H-10'), 34,70 (CH_2 , C-1'), 29,88 (CH_3 , C-12'), 29,70 $^\circ$ (CH_2 , C-8'), 29,65 $^\circ$ (CH_2 , C-6'), 29,59 $^\circ$ (CH_2 , C-5'), 29,53 $^\circ$ (CH_2 , C-3'), 29,39 $^\circ$ (CH_2 , C-4'), 29,17 $^\circ$ (CH_2 , C-7'), 27,42 (CH_2 , C-2'), 26,35 (CH_2 , C-5), 23,88 (CH_2 , C-4), 23,84 (CH_2 , C-9'), 14,87 (CH_3 , C-7). $^\circ$ Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

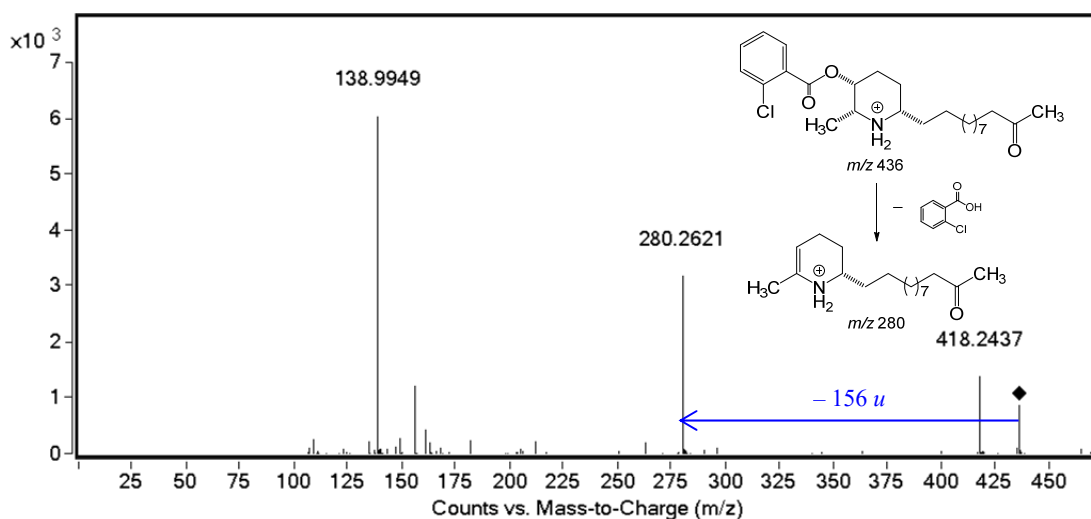
O derivado 3-O-(2-clorobenzoil)cassina (**53**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 436,2614 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{ClNO}_3^+$, 436,2613 (Δ -0,2 ppm) (Figura 51).

Figura 51. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(2-clorobenzoil)cassina (**53**).



Quando o sinal de m/z 436 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 2-clorobenzoico (156 u) (Figura 52). Também foi observado um sinal de m/z 139 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 52. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(2-clorobenzoil)cassina (**53**).



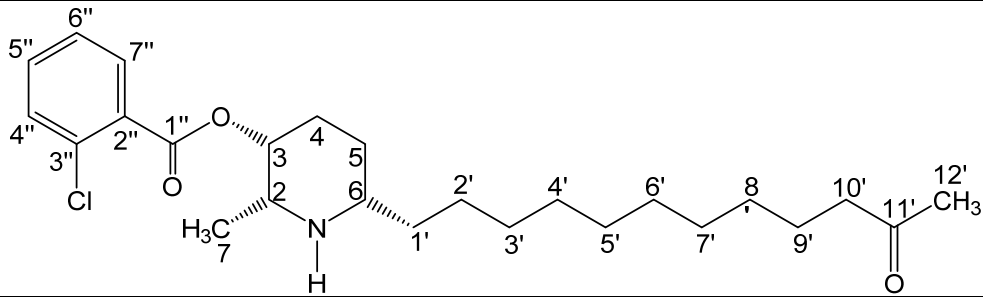
A análise dos espectros de RMN de **53** (Apêndice K) (Tabela 14) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-4''–H-7'') na região de δ 7,30–7,90, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,41), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 2-clorobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 127,0–132,0 (C-4"–C-7") e três quaternários (C-1"–C-3") em 168,50, 130,43 e 131,13, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,41, referente ao H-3 com o sinal em δ 168,50, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

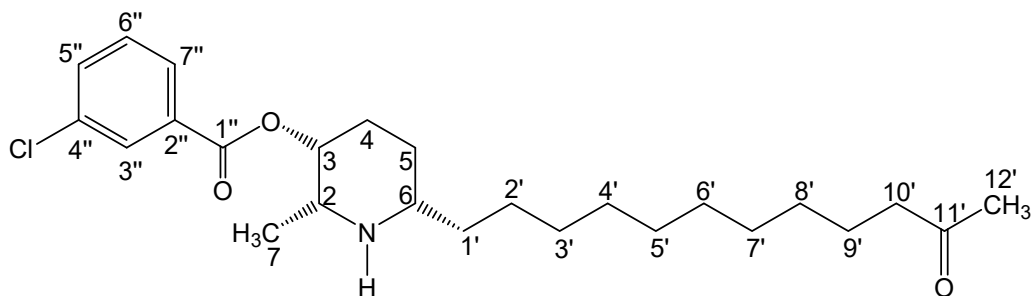
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 436,2614, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 14. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(2-clorobenzoil)cassina (**53**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(2-clorobenzoil)cassina (53) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 4,13 qt (6,4) | 54,25 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,41 q | 72,70 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,92 m | 23,88 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,45 m | 26,35 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,55 m | 53,44 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,16 d (6,4) | 14,87 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,74 m | 34,70 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,23 | 27,42 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,23 | 29,53 | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,23 | 29,39 | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,23 | 29,59 | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,23 | 29,65 | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,23 | 29,17 | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,23 | 29,70 | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,59 qt (7,4) | 23,84 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,43 t (7,4) | 43,84 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,55 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,15 s | 29,88 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 168,50 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 130,43 | C | — | — | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | — | 131,13 | C | — | — | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 4'' | 7,45 dd (7,5) | 129,97 | CH | H-5'', H-6'' | H-4'' | H-5'', H-6'' |
| 5'' | 7,42 ddd (7,5; 2,0) | 131,92 | CH | H-4'', H-6'', H-7'' | H-5'' | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 6'' | 7,37 ddd (7,5; 2,0) | 127,18 | CH | H-4'', H-5'', H-7'' | H-6'' | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 7'' | 7,82 dd (7,5) | 130,73 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-5'', H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

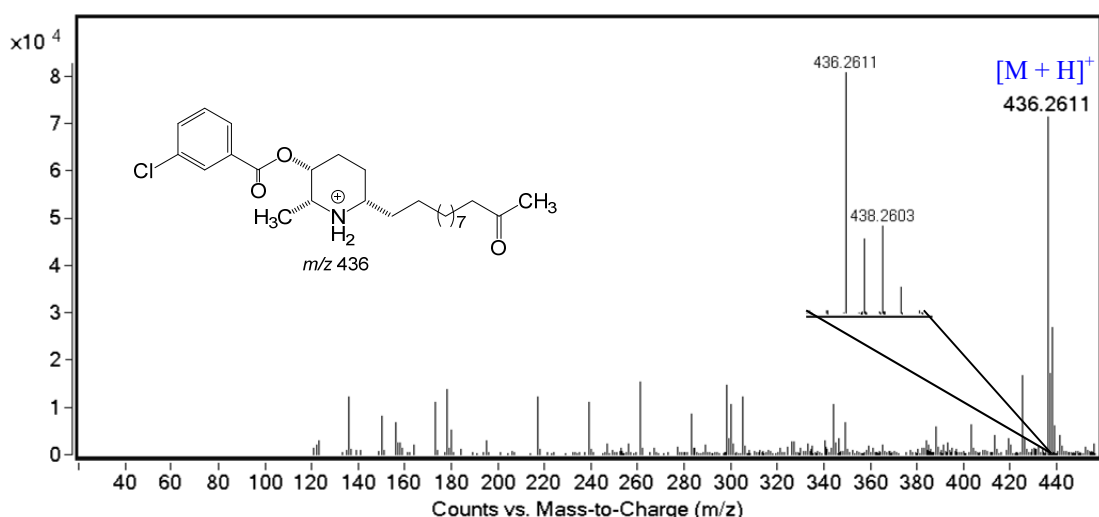
5.3.10 Elucidação estrutural do derivado **54**



3-O-(3-clorobenzoil)cassina (54): óleo amarelo (46,7 mg); CCD R_f 0,91 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 –MeOH– NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 436,2611 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, 436,2613 (Δ 0,4 ppm); EM/EM-IES m/z 436 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{ClH}_4\text{C}_6\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,51 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-7''), 8,34 (1H, s, H-3''), 7,47 (1H, ddd, $J = 7,8$ Hz, H-6''), 7,36 (1H, dd, $J = 7,8$ Hz, H-5''), 4,18 (1H, q, $J = 6,8$ Hz, H-3), 3,43 (1H, qt, $J = 6,8$ Hz, H-2), 3,08 (1H, m, H-6), 2,41 (2H, t, $J = 7,5$, H-10'), 2,13 (3H, s, H-12'), 2,04 (2H, m, H-4), 1,76 (6H, m, H-1', H-9', H-5), 1,60 (3H, d, $J = 6,8$ Hz, H-7), 1,25 (14H, m, H-2'–H-8'); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 203,57 (C, C-11''), 164,82 (C, C-1''), 134,58 (C, C-2''), 133,60 (CH, C-5''), 130,65 (C, C-4''), 130,34 (CH, C-6''), 130,06 (CH, C-3''), 129,21 (CH, C-7''), 64,30 (CH, C-3), 58,13 (CH, C-2), 55,07 (CH, C-6), 43,80 (CH_2 , H-10'), 33,75 (CH_2 , C-1'), 29,87 (CH_3 , C-12'), 29,50° (CH_2 , C-8'), 29,39° (CH_2 , C-6'), 29,36° (CH_2 , C-5'), 29,30° (CH_2 , C-3'), 29,24° (CH_2 , C-4'), 28,89° (CH_2 , C-7'), 27,85 (CH_2 , C-2'), 25,94 (CH_2 , C-5), 23,85 (CH_2 , C-4), 22,60 (CH_2 , C-9'), 15,67 (CH_3 , C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

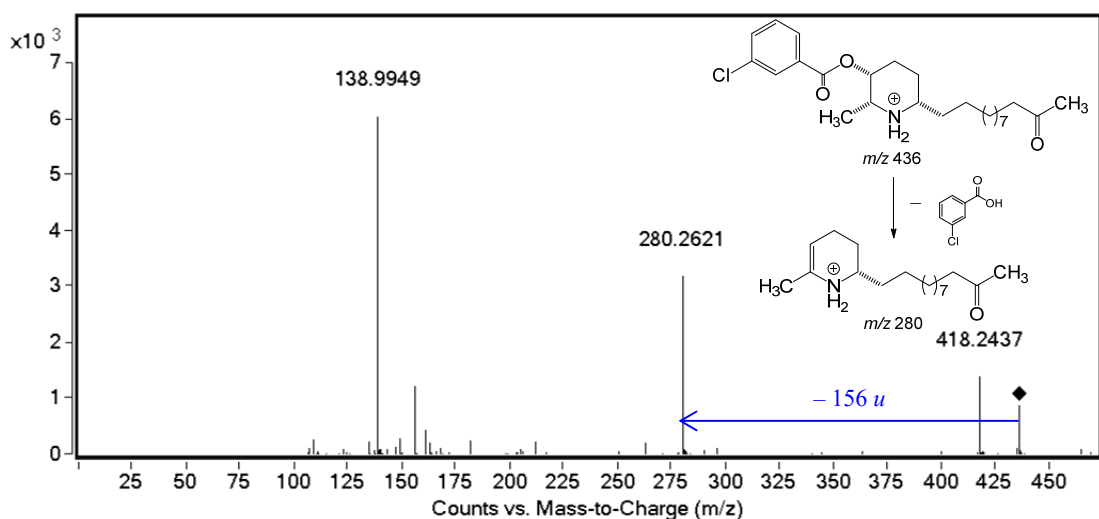
O derivado 3-O-(3-clorobenzoil)cassina (**54**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 436,2611 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{ClNO}_3^+$, 436,2613 (Δ 0,4 ppm) (Figura 53).

Figura 53. EM-IES-(+) em alta resolução do (-)-3-*O*-(3-clorobenzoil)cassina (**54**).



Quando o sinal de m/z 436 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 3-clorobenzoico (156 u) (Figura 54). Também foi observado um sinal de m/z 139 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 54. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (-)-3-*O*-(3-clorobenzoil)cassina (**54**).



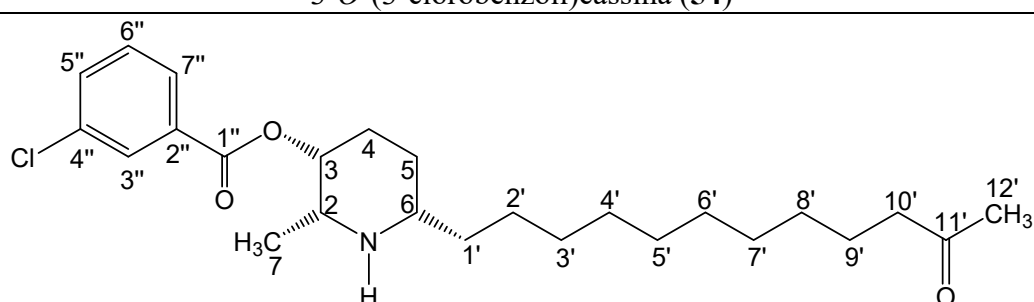
A análise dos espectros de RMN de **54** (Apêndice L) (Tabela 15) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-5'', H-6'' e H-7'') na região de δ 7,30–8,60, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,18), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 3-clorobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 129,0–131,0 (C-3", C-5", C-6" e C-7") e três quaternários (C-1", C-2" e C-4") em 164,82, 134,58 e 130,65, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,18, referente ao H-3 com o sinal em δ 164,82, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

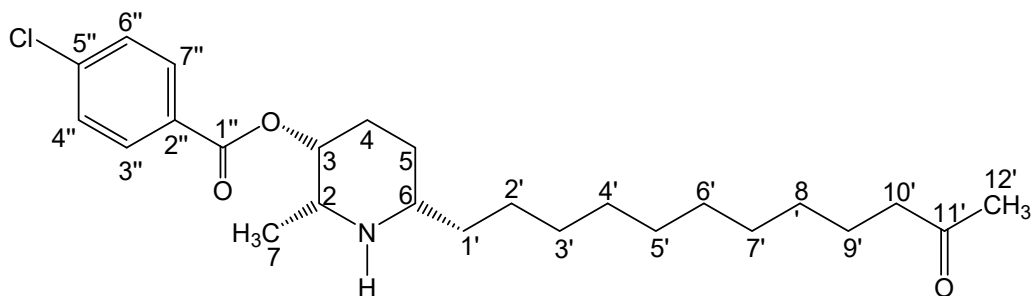
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 436,2611, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 15. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(3-clorobenzoil)cassina (**54**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(3-clorobenzoil)cassina (54) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,43 qt (6,8) | 58,13 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,18 q (6,8) | 64,30 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 2,04 m | 23,85 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,76 m | 25,94 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,08 m | 55,07 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,60 d (6,8) | 15,67 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,76 m | 33,75 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,25 | 27,85 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,25 | 29,24 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,25 | 29,14 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,25 | 29,30 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,25 | 29,37 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,25 | 28,90 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,25 | 29,50 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,76 qt (7,5) | 22,60 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,41 t (7,5) | 43,80 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 203,57 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,13 s | 29,87 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 164,82 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 134,58 | C | — | — | H-3'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | 8,34 s | 130,06 | CH | — | H-3'' | H-5'', H-7'' |
| 4'' | — | 130,65 | C | — | — | H-3'', H-5'', H-6'' |
| 5'' | 7,36 dd (7,8) | 133,60 | CH | H-6'', H-7'' | H-5'' | H-6'' |
| 6'' | 7,47 ddd (7,8) | 130,34 | CH | H-5'', H-7'' | H-6'' | H-5'', H-7'' |
| 7'' | 8,51 dd (7,8) | 129,21 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

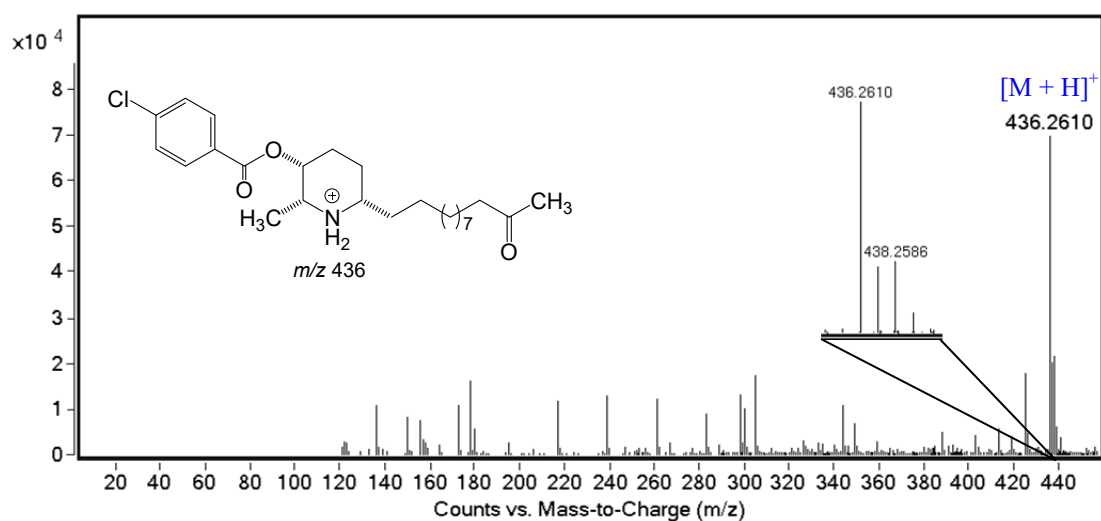
5.3.11 Elucidação estrutural do derivado **55**



3-*O*-(4-clorobenzoil)cassina (55**):** óleo amarelo (49,8 mg); CCD R_f 0,91 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 436,2610 [$M + H$]⁺, calculado para C₂₅H₃₈ClNO₃, 436,2613 (Δ 0,7 ppm); EM/EM-IES m/z 436 [$M + H$]⁺ e 280 [$M + H - ClH_4C_6COOH$]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,40 (2H, dd, $J = 8,6$; 2,4, H-4'' e H-6''), 7,42 (2H, dd, $J = 8,6$ Hz, H-3'' e H-7''), 4,15 (1H, q, H-3), 3,41 (1H, $J = 6,4$ Hz, m, H-2), 3,05 (1H, m, H-6), 2,39 (2H, t, $J = 7,2$, H-10'), 2,11 (3H, s, H-12'), 1,91 (4H, m, H-4 e H-1'), 1,75 (4H, m, H-5, H-9'), 1,53 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, H-7), 1,24 (14H, m, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 209,40 (C, C-11''), 165,10 (C, C-1''), 140,08 (C, C-5''), 132,16 (C, C-3'' e C-7''), 130,99 (C, C-2''), 128,88 (C, C-4'' e C-6''), 68,72 (CH, C-3), 57,91 (CH, C-2), 54,98 (CH, C-6), 43,79 (CH₂, H-10'), 33,74 (CH₂, C-1'), 29,86 (CH₃, C-12'), 29,53° (CH₂, C-8'), 29,42° (CH₂, C-6'), 29,37° (CH₂, C-5'), 29,31° (CH₂, C-3'), 29,24° (CH₂, C-4'), 29,14° (CH₂, C-7'), 27,99 (CH₂, C-2'), 25,94 (CH₂, C-5), 23,87 (CH₂, C-4), 22,85 (CH₂, C-9'), 15,75 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

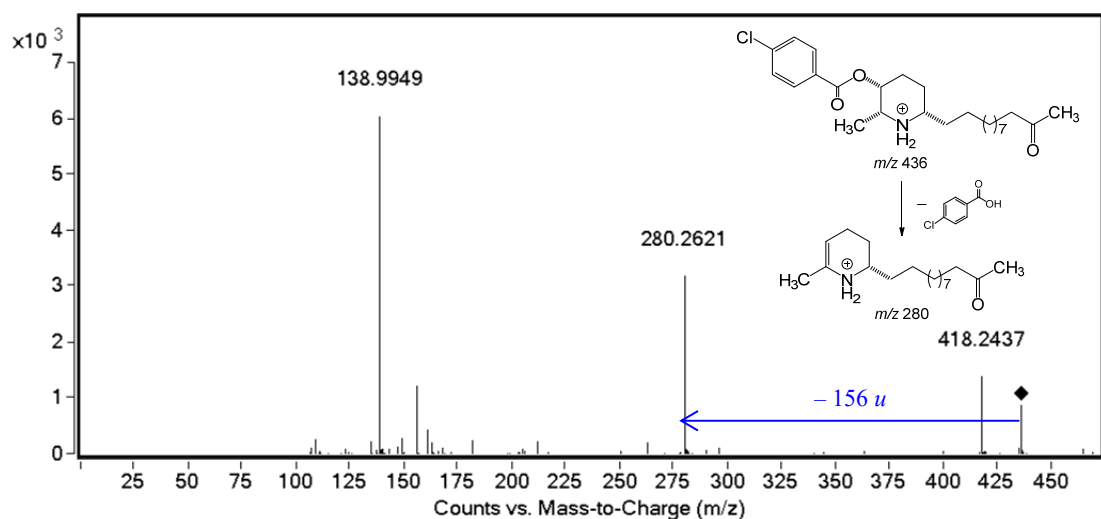
O derivado 3-*O*-(4-clorobenzoil)cassina (**55**) foi analisado por espectrometria em massas de alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₅H₃₈ClNO₃, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 436,2610 [$M + H$]⁺, calculado para C₂₅H₃₉ClNO₃⁺, 436,2613 (Δ 0,7 ppm) (Figura 55).

Figura 55. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(4-clorobenzoil)cassina (**55**).



Quando o sinal de m/z 436 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 4-clorobenzoico (156 u) (Figura 56). Também foi observado um sinal de m/z 139 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 56. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(4-clorobenzoil)cassina (**55**).



A análise dos espectros de RMN de **55** (Apêndice M) (Tabela 16) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-4'', H-6'', H-7'') na região de δ 7,40–8,40, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,15), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 4-clorobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 128,0–133,0 (C-3", C-4", C-6" e C-7") e três quaternários (C-1", C-2", C-5") em 165,10, 130,99 e 140,08, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,15, referente ao H-3 com o sinal em δ 165,10, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

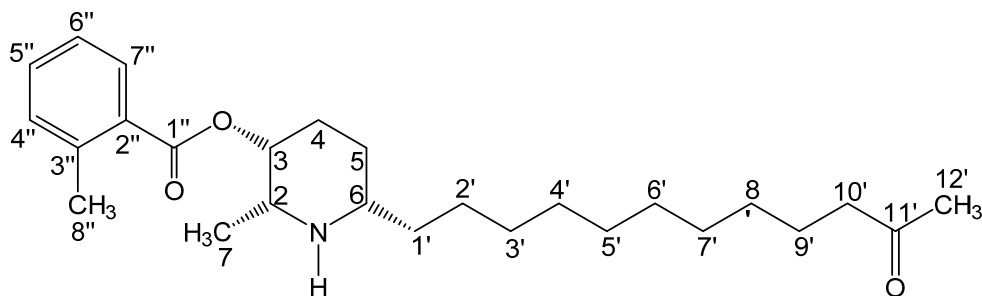
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{ClNO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 436,2610, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 16. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(4-clorobenzoil)cassina (**55**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(4-clorobenzoil)cassina (55) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,41 qt (6,4) | 57,91 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,15 q | 68,72 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,91 m | 23,87 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,75 m | 25,94 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,05 m | 54,98 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,53 d (6,4) | 15,75 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,91 m | 33,74 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,24 | 27,99 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,24 | 29,31 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,24 | 29,24 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,24 | 29,37 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,24 | 29,42 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,24 | 29,14 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,24 | 29,53 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,75 qt (7,2) | 22,85 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,39 t (7,2) | 43,79 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,40 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,11 s | 29,86 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 165,10 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 130,99 | C | — | — | H-3'', H-7'' |
| 3'' | 8,40 dd (8,6; 2,4) | 132,16 | CH | H-4'' | H-3'' | H-4'', H-7'' |
| 4'' | 7,42 dd (8,6) | 128,88 | CH | H-3'' | H-4'' | H-3'', H-6'' |
| 5'' | — | 140,08 | C | — | — | H-4'', H-6'' |
| 6'' | 7,42 dd (8,6) | 128,88 | CH | H-7'' | H-6'' | H-4'', H-7'' |
| 7'' | 8,40 dd (8,6; 2,4) | 132,16 | CH | H-6'' | H-7'' | H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

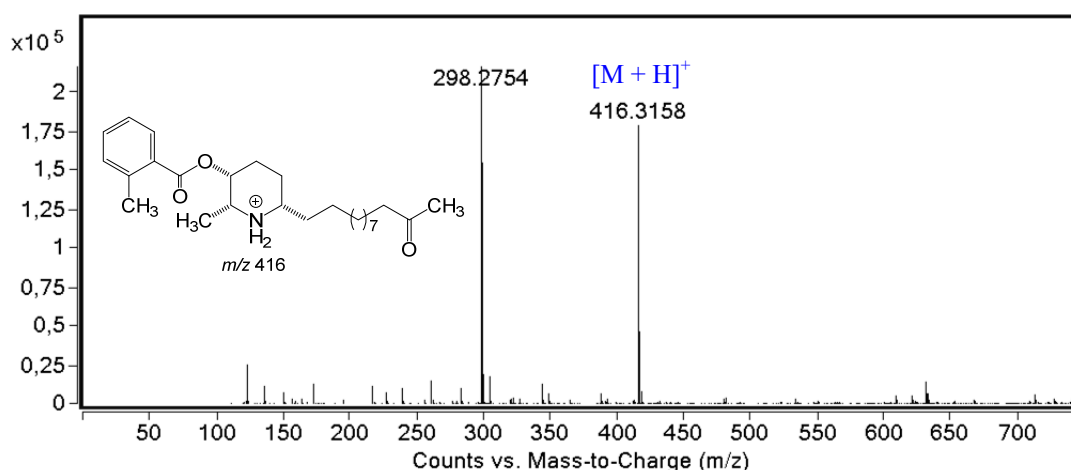
5.3.12 Elucidação estrutural do derivado **56**



3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (56**):** óleo amarelo (34,8 mg); CCD R_f 0,92 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 416,3158 [M + H]⁺, calculado para C₂₆H₄₁NO₃, 416,3159 (Δ 0,2 ppm); EM/EM-IES m/z 416 [M + H]⁺ e 280 [M + H – H₇C₇COOH]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,21 (1H, dd, J = 7,7 Hz, H-7''), 8,11 (1H, d, J = 7,7 Hz, H-5''), 7,91 (1H, ddd, J = 7,7 Hz, H-6''), 7,31 (1H, ddd, J = 7,7 Hz, H-4''), 4,38 (1H, q, H-3), 3,65 (1H, qt, J = 6,8 Hz, H-2), 3,24 (1H, m, H-6), 2,39 (2H, t, J = 7,2, H-10'), 2,33 (3H, s, H-8''), 2,12 (3H, s, H-12'), 2,03 (2H, m, H-4), 1,87 (2H, m, H-1'), 1,69 (2H, qt, J = 7,2, H-9'), 1,50 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-7), 1,37 (2H, m, H-5), 1,19 (14H, m, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 209,57 (C, C-11''), 166,07 (C, C-1''), 137,77 (C, C-3''), 133,01 (CH, C-5''), 130,66 (C, C-2''), 130,47 (CH, C-4''), 128,03 (CH, C-7''), 127,05 (CH, C-6''), 68,95 (CH, C-3), 57,14 (CH, C-2), 54,59 (CH, C-6), 43,78 (CH₂, H-10'), 33,11 (CH₂, C-1'), 29,80 (CH₃, C-12'), 29,39^c (CH₂, C-8'), 29,35^c (CH₂, C-6'), 29,32^c (CH₂, C-5'), 29,31^c (CH₂, C-3'), 29,18^c (CH₂, C-4'), 29,11^c (CH₂, C-7'), 27,97 (CH₂, C-2'), 25,40 (CH₂, C-5), 23,84 (CH₂, C-4), 21,27 (CH₂, C-9'), 21,17 (CH₃, C-8''), 15,57 (CH₃, C-7). ^cValor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

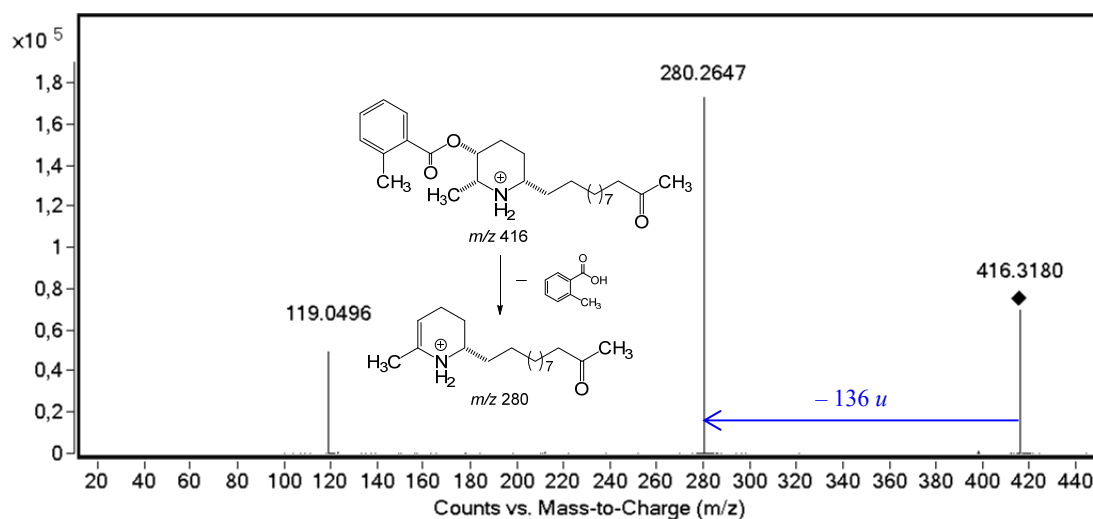
O derivado 3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (**56**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₆H₄₁NO₃, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 416,3158 [M + H]⁺, calculado para C₂₆H₄₂NO₃⁺, 416,3159 (Δ 0,2 ppm) (Figura 57).

Figura 57. EM-IES-(+) em alta resolução do (-)-3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (**56**).



Quando o sinal de m/z 416 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 2-metilbenzoico (136 u) (Figura 58). Também foi observado um sinal de m/z 119 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 58. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (-)-3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (**56**).



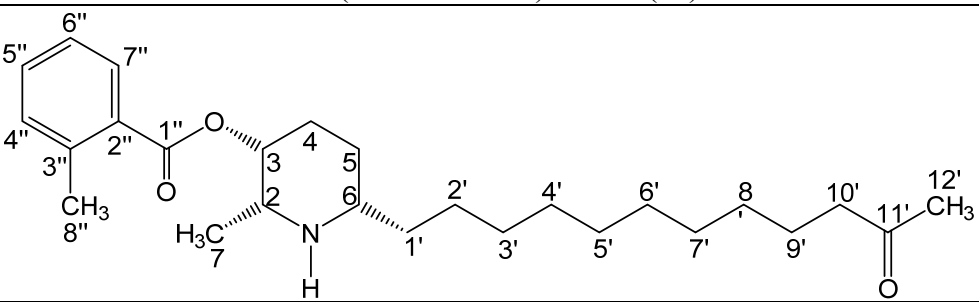
A análise dos espectros de RMN de **57** (Apêndice O) (Tabela 17) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-4''–H-7'') na região de δ 7,30–8,30, característica de compostos aromáticos e um singlete em δ 2,33 integrando para 3H (H-8''), juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,38), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 2-metilbenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de oito sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um primário δ 21,17 (C-8"), quatro secundários na região de δ 127,0–134,0 (C-4–C-7") e três quaternários (C-1", C-2" e C-3") em 166,07, 130,66 e 137,77, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,38, referente ao H-3 com o sinal em δ 166,07, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

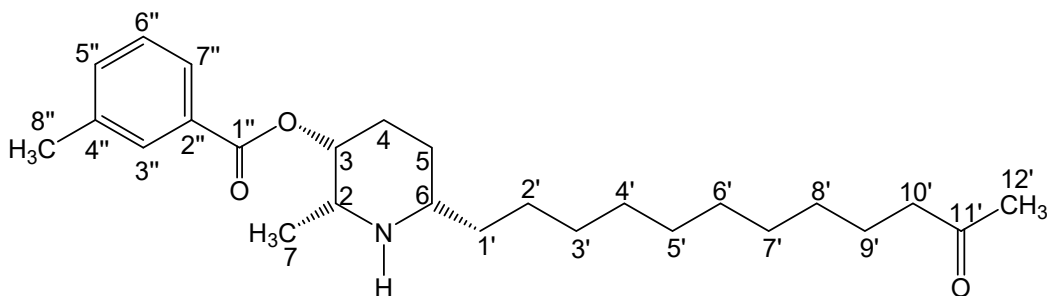
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 416,3152, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 17. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (**56**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(2-metilbenzoil)cassina (56) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,65 qt (6,8) | 57,14 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,38 q | 68,95 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 2,03 m | 23,84 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,37 m | 25,40 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,24 m | 54,49 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,50 d (6,8) | 15,57 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,87 m | 33,11 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,19 | 27,97 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,19 | 29,31 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,19 | 29,18 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,19 | 29,32 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,19 | 29,35 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,19 | 29,11 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,19 | 29,39 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,69 qt (7,2) | 21,27 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,39 t (7,2) | 43,78 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,57 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,12 s | 29,80 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 166,07 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 130,66 | C | — | — | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | — | 137,77 | C | — | — | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 4'' | 7,31 dt (7,7) | 130,47 | CH | H-5'', H-6'' | H-4'' | H-5'', H-6'' |
| 5'' | 8,11 dd (7,7) | 133,01 | CH | H-4'', H-6'', H-7'' | H-5'' | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 6'' | 7,90 dd (7,7) | 127,05 | CH | H-4'', H-5'', H-7'' | H-6'' | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 7'' | 8,21 dd (7,7) | 128,03 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-5'', H-6'' |
| 8'' | 2,33 s | 21,27 | CH ₃ | | H-8'' | H-4'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (dublete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^cValor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

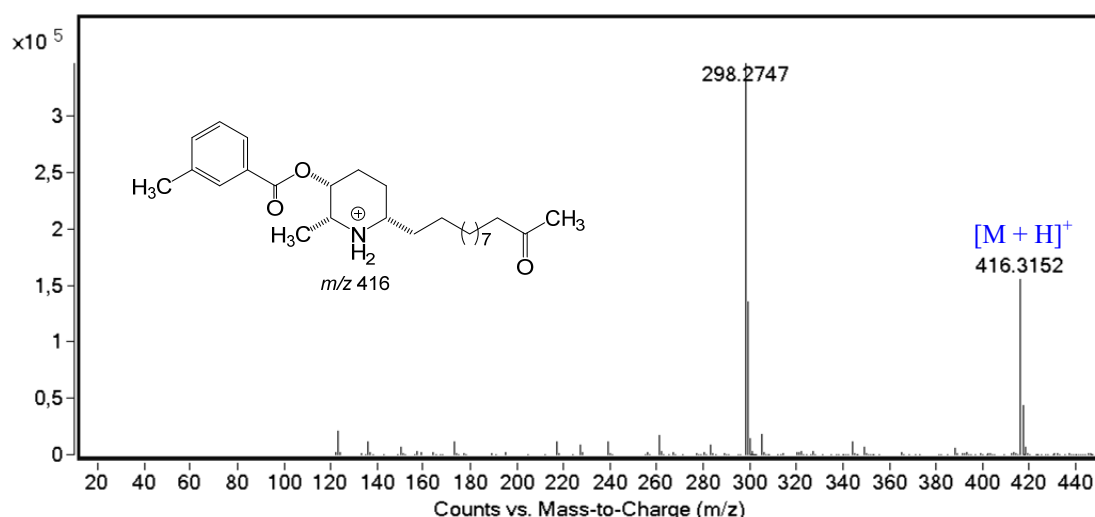
5.3.13 Elucidação estrutural do derivado **57**



3-O-(3-metilbenzoil)cassina (57): óleo amarelo (39,6 mg); CCD R_f 0,92 (9,2:0,8:0,5 CHCl_3 –MeOH– NH_4OH); (+)-EM-IES m/z 416,3152 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, 416,3159 (Δ 1,7 ppm); EM/EM-IES m/z 416 $[\text{M} + \text{H}]^+$ e 280 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_7\text{C}_7\text{COOH}]^+$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,21 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-7''), 8,11 (1H, s, H-3''), 7,91 (1H, ddd, $J = 7,7$ Hz, H-5''), 7,31 (1H, dd, $J = 7,7$ Hz, H-6''), 4,38 (1H, $J = 6,8$ Hz, q, H-3), 3,65 (1H, qt, $J = 6,8$ Hz, H-2), 3,24 (1H, m, H-6), 2,39 (2H, t, $J = 7,2$, H-10'), 2,33 (3H, s, H-8''), 2,12 (3H, s, H-12'), 2,03 (2H, m, H-4), 1,88 (2H, m, H-1'), 1,68 (2H, qt, $J = 7,2$, H-9'), 1,50 (3H, d, $J = 6,8$ Hz, H-7), 1,37 (2H, m, H-5), 1,14 (14H, m, H-2'–H-8'); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 209,61 (C, C-11''), 171,68 (C, C-1''), 137,80 (C, C-2''), 133,05 (CH, C-5''), 130,70 (C, C-4''), 130,51 (CH, C-6''), 128,07 (CH, C-3''), 127,08 (CH, C-7''), 68,98 (CH, C-3), 57,18 (CH, C-2), 54,62 (CH, C-6), 43,81 (CH_2 , H-10'), 33,14 (CH_2 , C-1'), 29,84 (CH_3 , C-12'), 29,43 $^\circ$ (CH_2 , C-8'), 29,38 $^\circ$ (CH_2 , C-6'), 29,36 $^\circ$ (CH_2 , C-5'), 29,34 $^\circ$ (CH_2 , C-3'), 29,21 $^\circ$ (CH_2 , C-4'), 29,15 $^\circ$ (CH_2 , C-7'), 28,00 (CH_2 , C-2'), 25,44 (CH_2 , C-5), 23,58 (CH_2 , C-4), 23,42 (CH_2 , C-9'), 21,31 (CH_3 , C-8''), 15,61 (CH_3 , C-7). $^\circ$ Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

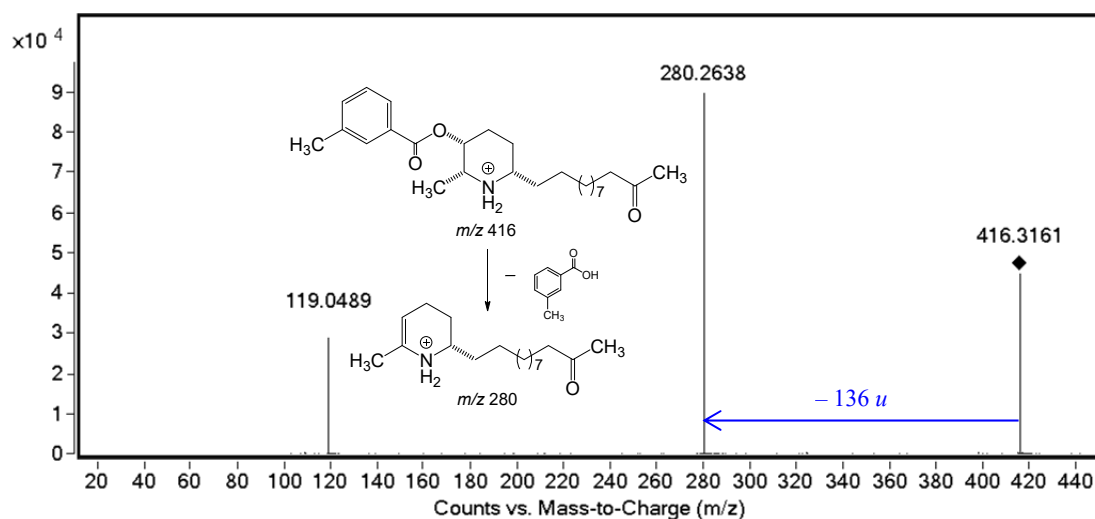
O derivado 3-O-(3-metilbenzoil)cassina (**57**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 416,3152 $[\text{M} + \text{H}]^+$, calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{NO}_3^+$, 416,3159 (Δ 1,7 ppm) (Figura 59).

Figura 59. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(3-metilbenzoil)cassina (**57**).



Quando o sinal de m/z 416 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 3-metilbenzoico (136 u) (Figura 60). Também foi observado um sinal de m/z 119 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 60. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(3-metilbenzoil)cassina (**57**).



A análise dos espectros de RMN de **57** (Apêndice O) (Tabela 18) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3", H-5", H-6", H-7") na região de δ 7,30–8,30, característica de compostos aromáticos e um singlete em δ 2,33 integrando para 3H (H-8"),

juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,38), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 3-metilbenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de oito sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um primário δ 21,31 (C-8"), quatro secundários na região de δ 127,0–134,0 (C-3", C-5", C-6" e C-7") e três quaternários (C-1", C-2" e C-4") em 171,68, 137,80 e 130,70, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,38, referente ao H-3 com o sinal em δ 171,68, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

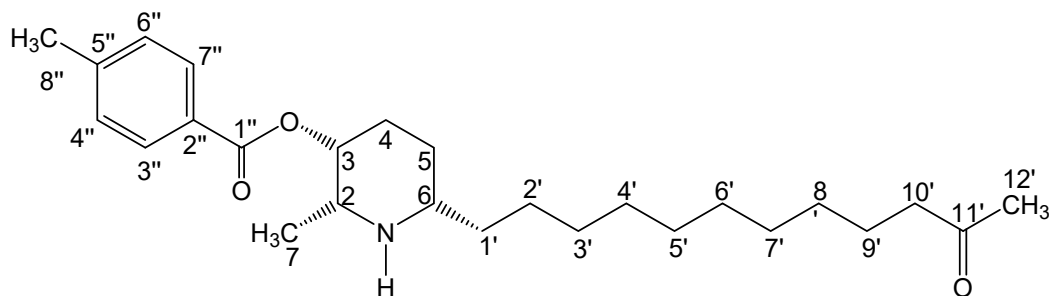
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 416,3152, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 18. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(3-metilbenzoil)cassina (**57**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(3-metilbenzoil)cassina (57) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,65 qt (6,8) | 57,18 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,38 q (6,8) | 68,98 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 2,03 m | 23,58 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,37 m | 25,44 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,24 m | 54,62 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,50 d (6,8) | 15,61 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,88 m | 33,14 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,14 | 28,00 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,14 | 29,34 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,14 | 29,21 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,14 | 29,36 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,14 | 29,38 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,14 | 29,15 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,14 | 29,43 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,68 qt (7,2) | 23,42 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,39 t (7,2) | 43,81 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,61 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,12 s | 29,84 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 171,68 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 137,80 | C | — | — | H-3'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | 8,11 s | 128,07 | CH | — | H-3'' | H-5'', H-7'' |
| 4'' | — | 130,70 | C | — | — | H-3'', H-5'', H-6'' |
| 5'' | 7,91 ddd (7,7) | 133,05 | CH | H-6'', H-7'' | H-5'' | H-6'' |
| 6'' | 7,31 dd (7,7) | 130,51 | CH | H-5'', H-7'' | H-6'' | H-5'', H-7'' |
| 7'' | 8,21 d (7,7) | 127,08 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-6'' |
| 8'' | 2,33 s | 21,31 | CH ₃ | | H-8'' | H-3'', H-5'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

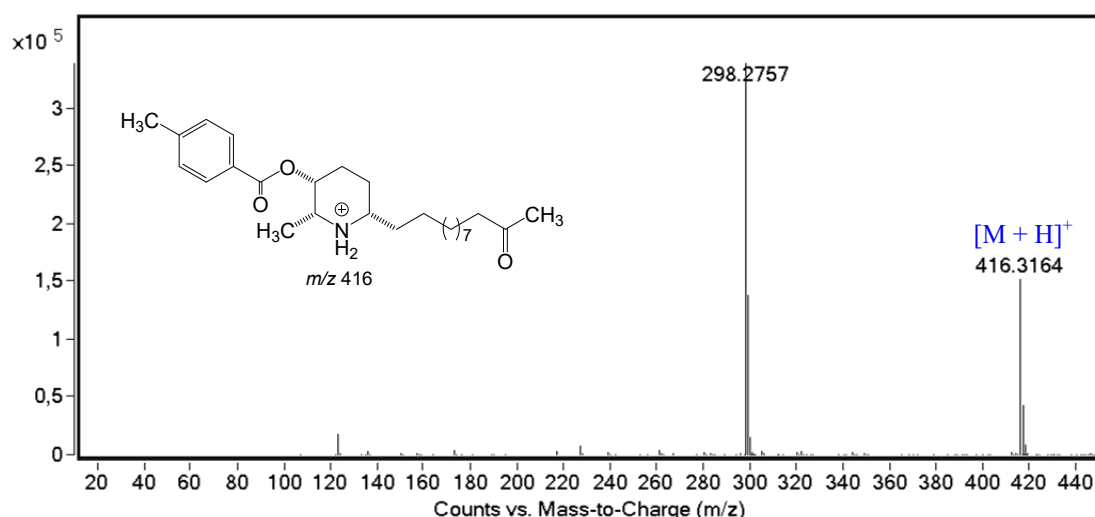
5.3.14 Elucidação estrutural do derivado **58**



3-O-(4-metilbenzoil)cassina (58): óleo amarelo (37,0 mg); CCD R_f 0,92 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 416,3164 [M + H]⁺, calculado para C₂₆H₄₁NO₃, 416,3159 (Δ –1,2 ppm); EM/EM-IES m/z 416 [M + H]⁺ e 280 [M + H – H₇C₇COOH]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,02 (2H, dd, J = 7,9 Hz, H-3'' e H-7''), 7,23 (2H, dd, J = 7,9 Hz, H-4'' e H-6''), 4,38 (1H, q, J = 6,6 Hz, H-3), 3,58 (1H, qt, J = 6,6 Hz, H-2), 3,19 (1H, m, H-6), 2,40 (2H, t, J = 7,2 Hz, H-10'), 2,38 (3H, s, H-8''), 2,14 (3H, s, H-12'), 2,04 (2H, m, H-4), 1,84 (2H, m, H-1'), 1,70 (2H, qt, J = 7,2 Hz, H-9'), 1,53 (2H, m, H-5), 1,48 (3H, d, J = 6,6 Hz, H-7), 1,29 (14H, m, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 209,48 (C, C-11''), 165,99 (C, C-1''), 142,40 (C, C-5''), 129,98 (CH, C-3'' e C-7''), 128,83 (CH, C-4'' e C-6''), 126,75 (C, C-2''), 68,84 (CH, C-3), 57,11 (CH, C-2), 54,57 (CH, C-6), 43,84 (CH₂, H-10'), 32,00 (CH₂, C-1'), 29,87 (CH₃, C-12'), 29,78° (CH₂, C-8'), 29,44° (CH₂, C-6'), 29,40° (CH₂, C-5'), 29,28° (CH₂, C-3'), 29,24° (CH₂, C-4'), 29,20° (CH₂, C-7'), 25,53 (CH₂, C-2'), 23,91 (CH₂, C-5), 23,54 (CH₂, C-4), 22,77 (CH₂, C-9'), 21,64 (CH₃, C-8''), 14,41 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

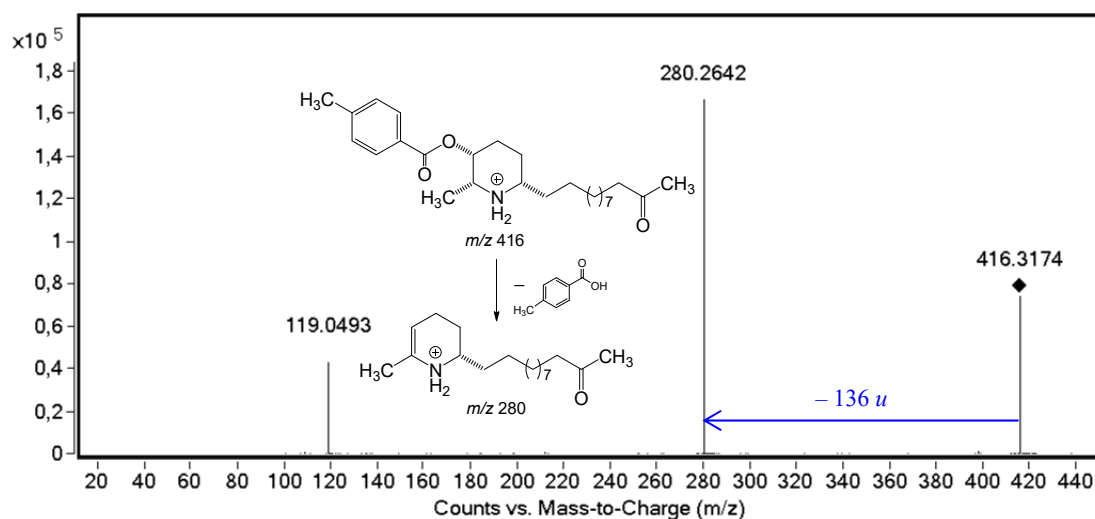
O derivado 3-O-(4-metilbenzoil)cassina (**58**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₆H₄₁NO₃, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 416,3164 [M + H]⁺, calculado para C₂₆H₄₂NO₃⁺, 416,3159 (Δ –1,2 ppm) (Figura 61).

Figura 61. EM-IES-(+) em alta resolução do (-)-3-*O*-(4-metilbenzoil)cassina (**58**).



Quando o sinal de m/z 416 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 4-metilbenzoico (136 u) (Figura 62). Também foi observado um sinal de m/z 119 que foi atribuído a formação do íon acílio (Figura 69).

Figura 62. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (-)-3-*O*-(4-metilbenzoil)cassina (**58**).



A análise dos espectros de RMN de **58** (Apêndice P) (Tabela 19) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-4'', H-6'', H-7'') na região de δ 7,20–8,10, característica de compostos aromáticos e um singlete em δ 2,38 integrando para 3H (H-8''),

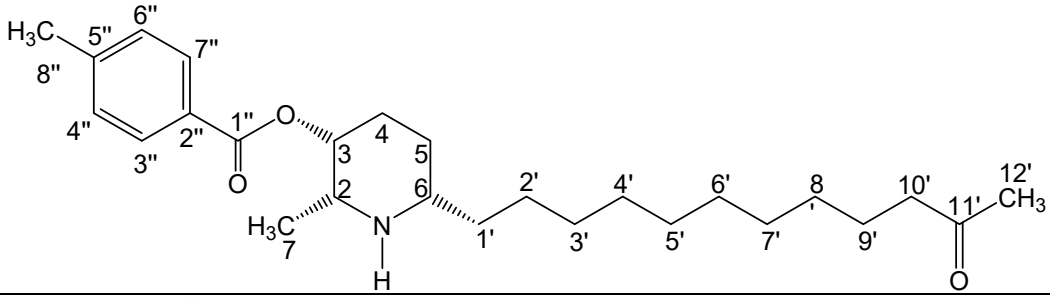
juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,38), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 4-metilbenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de oito sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo um primário δ 21,64 (C-8''), quatro secundários na região de δ 128,0–130,0 (C-3'', C-4'', C-6'' e C-7'') e três quaternários (C-1'', C-2'' e C-5'') em 165,99, 126,75 e 142,40, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,38, referente ao H-3 com o sinal em δ 165,99, referente ao com o C-1'' (C=O) da função éster.

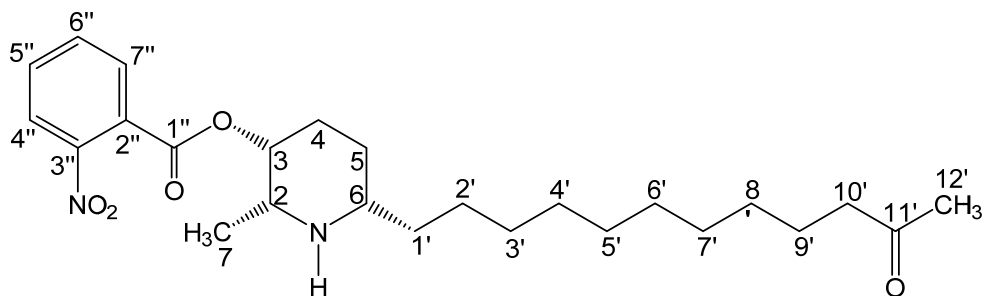
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 416,3152, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 19. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(4-metilbenzoi)cassina (**58**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(4-metilbenzoi)cassina (58) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,58 qt (6,6) | 57,11 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,38 q (6,6) | 68,84 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 2,04 m | 23,54 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,53 m | 23,91 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,19 m | 54,57 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,48 d (6,6) | 14,41 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,84 m | 32,00 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,29 | 25,53 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,29 | 29,28 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,29 | 29,24 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,29 | 29,40 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,29 | 29,44 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,29 | 29,20 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,29 | 29,78 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,70 qt (7,2) | 22,77 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,40 t (7,2) | 43,84 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | – | 209,48 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,14 s | 29,87 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | – | 165,99 | C | – | – | H-7'' |
| 2'' | – | 126,75 | C | – | – | H-3'', H-7'' |
| 3'' | 8,02 dd (7,9) | 129,98 | CH | H-4'' | H-3'' | H-4'', H-7'' |
| 4'' | 7,23 dd (7,9) | 128,83 | CH | H-3'' | H-4'' | H-3'', H-6'' |
| 5'' | – | 142,40 | C | – | – | H-4'', H-6'' |
| 6'' | 7,23 dd (7,9) | 128,83 | CH | H-7'' | H-6'' | H-4'', H-7'' |
| 7'' | 8,02 dd (7,9) | 129,98 | CH | H-6'' | H-7'' | H-6'' |
| 8'' | 2,38 s | 21,64 | CH ₃ | | H-8'' | H-4'', H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

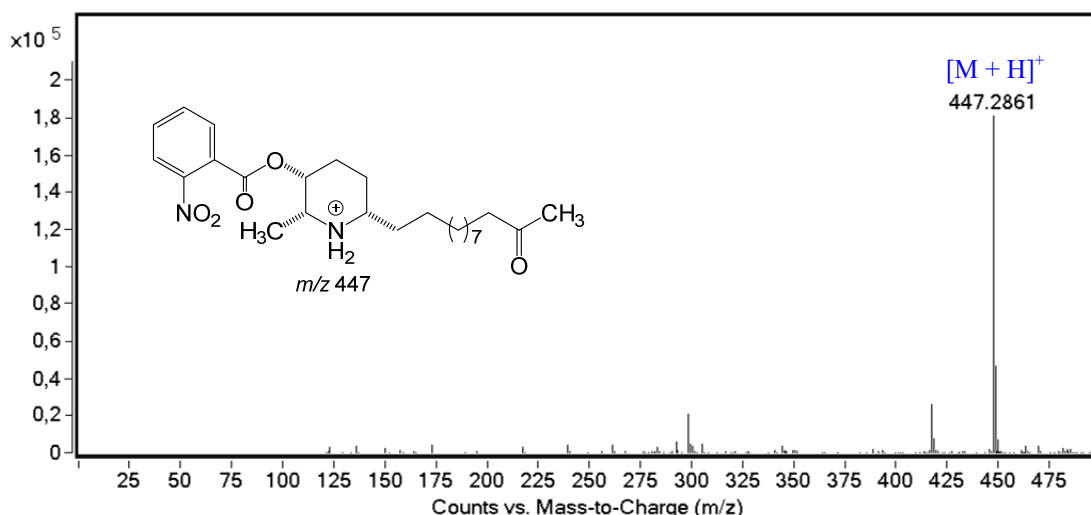
5.3.15 Elucidação estrutural do derivado **59**



3-*O*-(2-nitrobenzoyl)cassina (59**):** óleo amarelo (45,3 mg); CCD R_f 0,93 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 447,2861 [$M + H$]⁺, calculado para C₂₅H₃₈N₂O₅, 447,2853 (Δ –1,8 ppm); EM/EM-IES m/z 447 [$M + H$]⁺ e 280 [$M + H - NO_2H_4C_6COOH$]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,82 (1H, ddd, $J = 7,6; 1,1$ Hz, H-6''), 7,78 (1H, ddd, $J = 7,6; 1,1$ Hz, H-4''), 7,62 (3H, dd, $J = 7,6$ Hz, H-7''), 7,56 (1H, dd, $J = 7,6$ Hz, H-5''), 5,22 (1H, q, $J = 6,2$ Hz, H-3), 3,33 (1H, qt, $J = 6,2$ Hz, H-2), 3,09 (1H, m, H-6), 2,40 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-10'), 2,12 (3H, s, H-12'), 1,95 (2H, m, H-4), 1,82 (2H, m, H-1'), 1,68 (2H, qt, $J = 7,4$ Hz, H-9'), 1,51 (3H, d, $J = 6,2$ Hz, H-7), 1,38 (2H, m, H-5), 1,21 (14H, m, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 210,00 (C, C-11''), 169,29 (C, C-1''), 148,63 (C, C-3''), 132,78 (CH, C-5''), 131,44 (CH, C-6''), 130,10 (C, C-2''), 129,11 (CH, C-7''), 123,76 (CH, C-4''), 66,40 (CH, C-3), 58,20 (CH, C-2), 56,97 (CH, C-6), 43,96 (CH₂, H-10'), 30,33 (CH₂, C-1'), 29,98 (CH₃, C-12'), 29,50 (CH₂, C-8'), 29,46 (CH₂, C-6'), 29,40 (CH₂, C-5'), 29,30 (CH₂, C-3'), 29,26 (CH₂, C-4'), 29,21 (CH₂, C-7'), 26,37 (CH₂, C-2'), 25,32 (CH₂, C-5), 23,99 (CH₂, C-4), 22,65 (CH₂, C-9'), 15,74 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

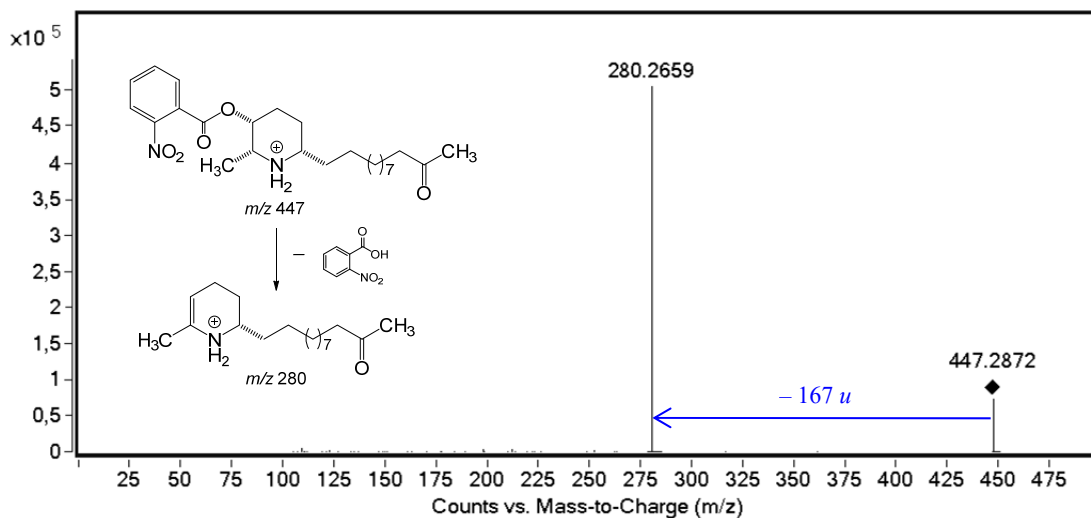
O derivado 3-*O*-(2-nitrobenzoyl)cassina (**59**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₅H₃₈N₂O₅, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 447,2861 [$M + H$]⁺, calculado para C₂₅H₃₉N₂O₅⁺, 447,2853 (Δ –1,8 ppm) (Figura 63).

Figura 63. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(2-nitrobenzoil)cassina (**59**).



Quando o sinal de m/z 447 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de m/z 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 2-nitrobenzoico (167 u) (Figura 64).

Figura 64. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(2-nitrobenzoil)cassina (**59**).



A análise dos espectros de RMN de **59** (Apêndice Q) (Tabela 20) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-4''–H-7'') na região de δ 7,50–7,90, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 5,22), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 2-nitrobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 123,0–149,0 (C-4''–C-7'') e três quaternários (C-1''–C-3'') em 169,29, 130,10 e 148,63, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 5,22, referente ao H-3 com o sinal em δ 169,29, referente ao com o C-1'' (C=O) da função éster.

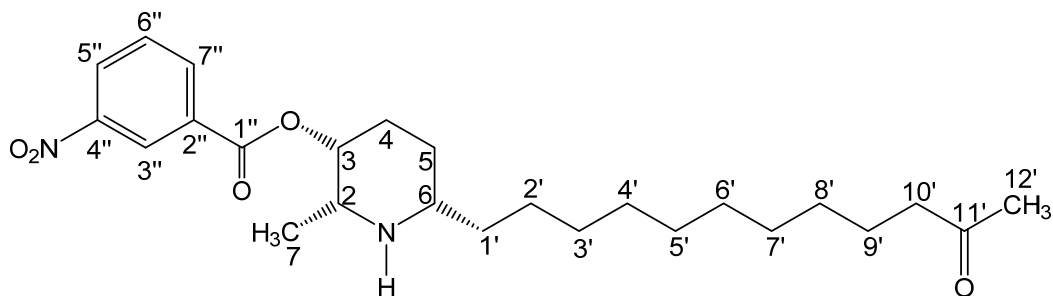
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 447,2861 para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 20. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(2-nitrobenzoi)cassina (**59**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(2-nitrobenzoi)cassina (59) | | | | | | |
|---|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,33 qt (6,2) | 58,20 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 5,22 q (6,2) | 66,40 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,95 m | 23,99 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,38 m | 25,32 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,09 m | 56,97 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,51 d (6,2) | 15,74 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,82 m | 30,33 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,21 | 26,27 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,21 | 29,30 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,21 | 29,26 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,21 | 29,40 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,21 | 29,46 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,21 | 29,21 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,21 | 29,50 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,68 qt (7,4) | 22,65 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,40 t (7,4) | 43,96 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 210,00 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,12 s | 29,98 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 169,29 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 130,10 | C | — | — | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | — | 148,63 | C | — | — | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 4'' | 7,78 ddd (7,6; 1,1) | 123,76 | CH | H-5'', H-6'' | H-4'' | H-5'', H-6'' |
| 5'' | 7,56 dd (7,6) | 132,78 | CH | H-4'', H-6'', H-7'' | H-5'' | H-4'', H-6'', H-7'' |
| 6'' | 7,82 ddd (7,6; 1,1) | 131,44 | CH | H-4'', H-5'', H-7'' | H-6'' | H-4'', H-5'', H-7'' |
| 7'' | 7,62 dd (7,6) | 129,11 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-5'', H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

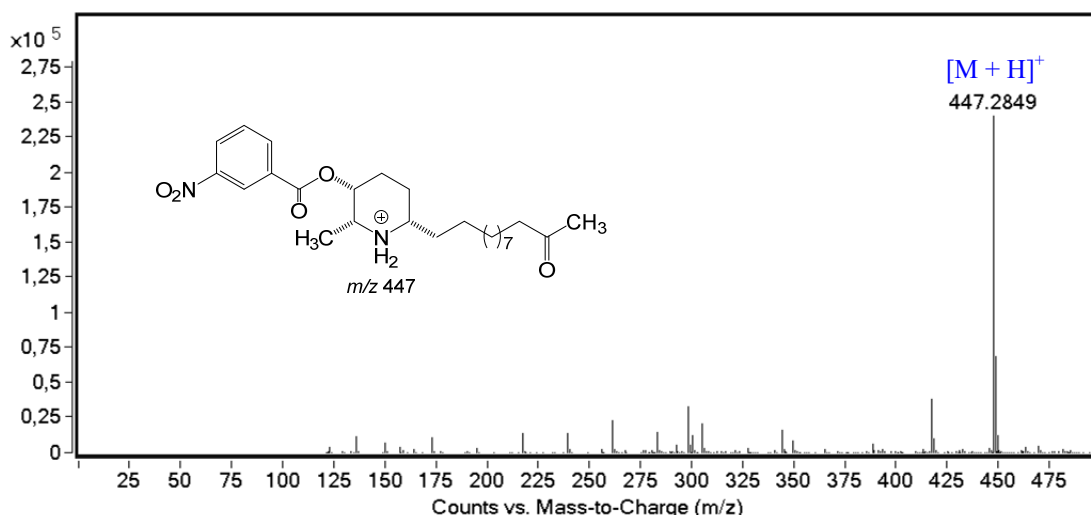
5.3.16 Elucidação estrutural do derivado **60**



3-*O*-(3-nitrobenzoyl)cassina (60): óleo amarelo (41,9 mg); CCD R_f 0,93 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 447,2849 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₈N₂O₅, 447,2853 (Δ 0,9 ppm); EM/EM-IES m/z 447 [M + H]⁺ e 280 [M + H – NO₂H₄C₆COOH]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,87 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-7''), 8,44 (1H, s, H-3''), 8,38 (1H, dd, J = 8,2 Hz, H-5''), 7,67 (1H, dd, J = 8,2 Hz, H-6''), 4,16 (1H, q, J = 6,0 Hz, H-3), 3,68 (1H, qt, J = 6,0 Hz, H-2), 2,63 (1H, m, H-6), 2,41 (2H, t, J = 7,5, H-10'), 2,13 (3H, s, H-12'), 1,94 (2H, m, H-4), 1,84 (2H, m, H-5), 1,58 (2H, qt, J = 7,5 Hz, H-9'), 1,54 (2H, m, H-1'), 1,24 (14H, m, H-2'–H-8'), 1,15 (3H, d, H-7); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 203,63 (C, C-11''), 163,89 (C, C-1''), 148,40 (C, C-4''), 135,64 (CH, C-7''), 129,85 (C, C-2''), 129,67 (CH, C-6''), 127,67 (CH, C-5''), 125,06 (CH, C-3''), 64,29 (CH, C-3), 53,23 (CH, C-2), 52,41 (CH, C-6), 43,80 (CH₂, H-10'), 33,75 (CH₂, C-1'), 29,86 (CH₃, C-12'), 29,70° (CH₂, C-8'), 29,34° (CH₂, C-6'), 29,27° (CH₂, C-5'), 29,21° (CH₂, C-3'), 29,13° (CH₂, C-4'), 29,00° (CH₂, C-7'), 26,28 (CH₂, C-2'), 25,96 (CH₂, C-5), 24,84 (CH₂, C-4), 23,83 (CH₂, C-9'), 14,12 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

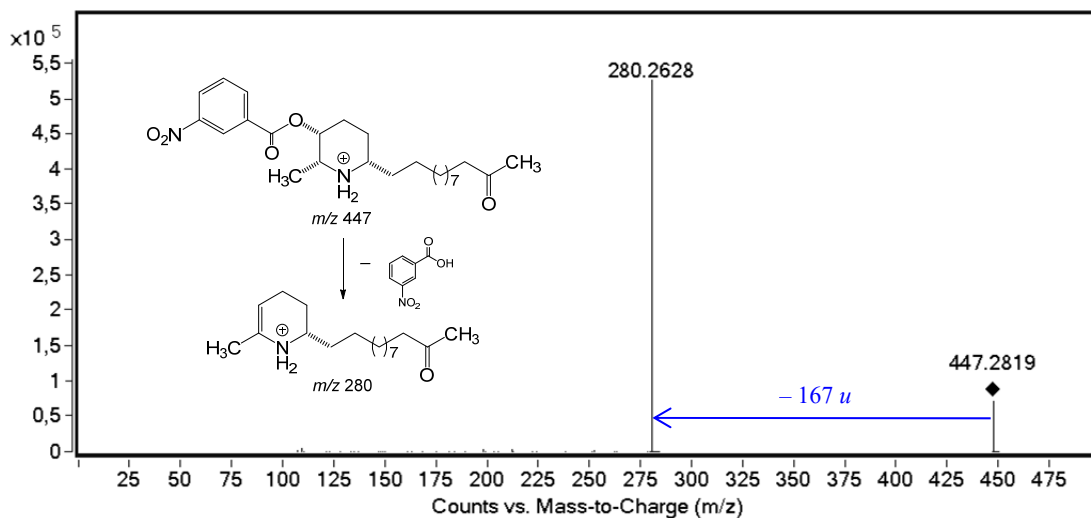
O derivado 3-*O*-(3-nitrobenzoyl)cassina (**60**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₅H₃₈N₂O₅, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 447,2849 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₈N₂O₅⁺, 447,2853 (Δ 0,9 ppm) (Figura 65).

Figura 65. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(3-nitrobenzoil)cassina (**60**).



Quando o sinal de *m/z* 447 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de *m/z* 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 3-nitrobenzoico (167 *u*) (Figura 66).

Figura 66. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(3-nitrobenzoil)cassina (**60**).



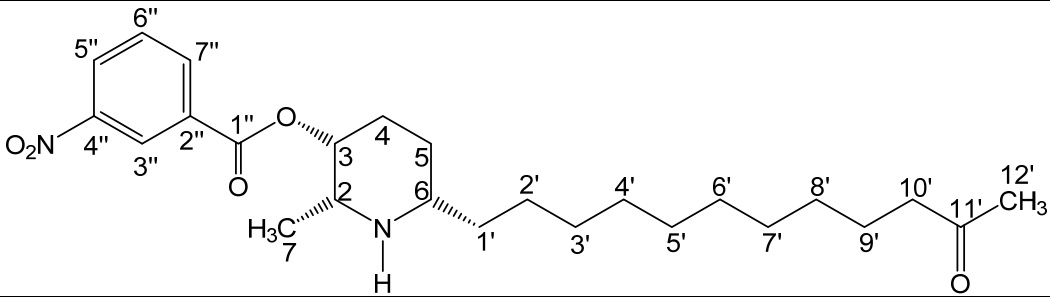
A análise dos espectros de RMN de **60** (Apêndice R) (Tabela 21) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-5''–H-7'') na região de δ 7,60–8,90, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,16), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 3-nitrobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 125,0–136,0 (C-3", C-5"–C-7") e três quaternários (C-1", C-2" e C-4") em 163,89, 129,85 e 148,40, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,16, referente ao H-3 com o sinal em δ 163,89, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

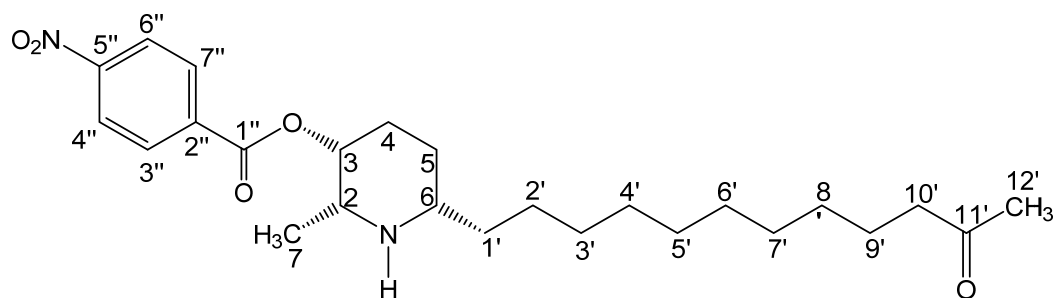
As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 447,2849, para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

Tabela 21. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(3-nitrobenzoil)cassina (**60**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(3-nitrobenzoil)cassina (60) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
|  | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,68 qt (6,0) | 53,23 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,16 q (6,0) | 64,29 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,94 m | 24,84 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,84 m | 25,96 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 2,63 m | 52,41 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,15 d (6,0) | 14,12 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,54 m | 33,75 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,24 | 26,28 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,24 | 29,21 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,24 | 29,13 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,24 | 29,27 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,24 | 29,34 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,24 | 29,00 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,24 | 29,70 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,58 qt (7,5) | 23,83 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,41 t (7,5) | 43,80 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 203,63 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,13 s | 29,86 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 163,89 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 129,85 | C | — | — | H-3'', H-6'', H-7'' |
| 3'' | 8,44 s | 125,06 | CH | | H-3'' | H-5'', H-7'' |
| 4'' | — | 148,40 | C | — | — | H-3'', H-5'', H-6'' |
| 5'' | 8,38 dd (8,2) | 129,67 | CH | H-6'', H-7'' | H-5'' | H-6'' |
| 6'' | 7,67 dd (8,2) | 127,67 | CH | H-5'', H-7'' | H-6'' | H-5'', H-7'' |
| 7'' | 8,87 d (8,2) | 135,64 | CH | H-5'', H-6'' | H-7'' | H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadruplete); qt (quintuplete); m (multiplete). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

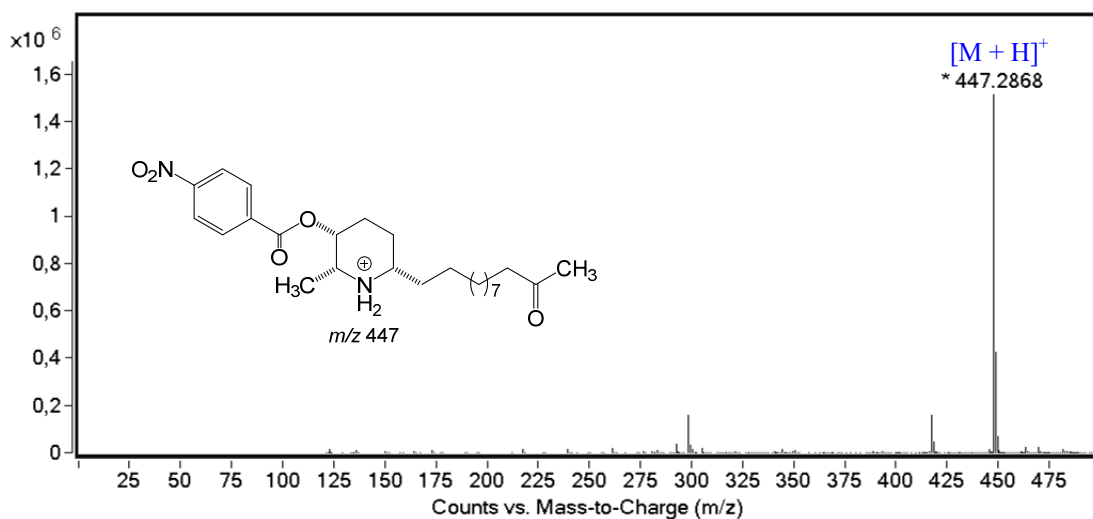
5.3.17 Elucidação estrutural do derivado **61**



3-*O*-(4-nitrobenzoyl)cassina (61**):** óleo amarelo (49,5 mg); CCD R_f 0,93 (9,2:0,8:0,5 CHCl₃–MeOH–NH₄OH); (+)-EM-IES m/z 447,2868 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₈N₂O₅, 447,2853 (Δ 3,3 ppm); EM/EM-IES m/z 447 [M + H]⁺ e 280 [M + H – NO₂H₄C₆COOH]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,19 (2H, dd, J = 8,5 Hz, H-3'' e H-7''), 7,45 (2H, dd, J = 8,5 Hz, H-4'' e H-6''), 4,68 (1H, m, H-3), 3,53 (1H, qt, J = 6,8 Hz, H-2), 3,00 (1H, m, H-6), 2,31 (2H, t, J = 7,4 Hz, H-10'), 2,03 (3H, s, H-12'), 1,84 (4H, m, H-4 e H-1'), 1,62 (2H, qt, J = 7,4 Hz, H-9'), 1,45 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-7), 1,34 (2H, m, H-5), 1,17 (14H, m, H-2'–H-8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 209,48 (C, C-11''), 163,60 (C, C-1''), 150,73 (C, C-5''), 148,17 (C, C-2''), 130,74 (CH, C-3'' e C-7''), 123,65 (CH, C-4'' e C-6''), 69,45 (CH, C-3), 55,09 (CH, C-2), 53,91 (CH, C-6), 43,79 (CH₂, H-10'), 34,71 (CH₂, C-1'), 29,89 (CH₃, C-12'), 29,70° (CH₂, C-8'), 29,59° (CH₂, C-6'), 29,53° (CH₂, C-5'), 29,43° (CH₂, C-3'), 29,38° (CH₂, C-4'), 29,14° (CH₂, C-7'), 27,54 (CH₂, C-2'), 26,52 (CH₂, C-5), 23,81 (CH₂, C-4), 20,27 (CH₂, C-9'), 15,51 (CH₃, C-7). °Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos entre eles.

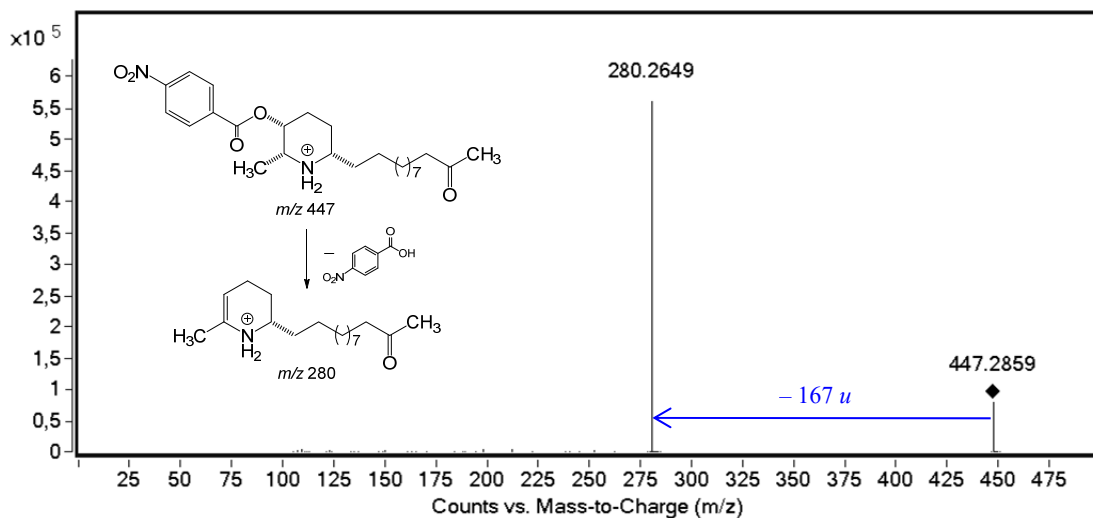
O derivado 3-*O*-(4-nitrobenzoyl)cassina (**61**) foi analisado por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer a fórmula molecular C₂₅H₃₈N₂O₅, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 447,2868 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₈N₂O₅⁺, 447,2853 (Δ 3,3 ppm) (Figura 67).

Figura 67. EM-IES-(+) em alta resolução do (–)-3-*O*-(4-nitrobenzoil)cassina (**61**).



Quando o sinal de *m/z* 447 foi submetido à análise por EM sequencial (EM/EM), foi observado um fragmento de *m/z* 280, atribuído à eliminação neutra de ácido 4-nitrobenzoico (167 *u*) (Figura 68).

Figura 68. EM/EM-IES-(+) do alcaloide (–)-3-*O*-(4-nitrobenzoil)cassina (**61**).



A análise dos espectros de RMN de **61** (Apêndice S) (Tabela 22) permitiu observar que os sinais que identificam o núcleo piperidínico trissubstituído e a metilcetona são idênticos aos do alcaloide **29**, porém o aparecimento de quatro sinais de hidrogênio adicionais (H-3'', H-4'', H-6'' e H-7'') na região de δ 7,40–8,20, característica de compostos aromáticos, juntamente com a desproteção dos sinais referentes aos H-3 (δ 4,68), leva a concluir que o oxigênio de C-3 está ligado a um grupo 4-nitrobenzoíla.

No RMN de ^{13}C foi observado o aparecimento de sete sinais de carbonos adicionais, quando comparado ao alcaloide **29**, sendo quatro secundários na região de δ 123,0–151,0 (C-3", C-4", C-6" e C-7") e três quaternários (C-1", C-2" e C-5") em 163,60, 148,17 e 150,73, respectivamente.

A análise do mapa de contorno HMBC foi utilizada como parâmetro para indicar se a reação ocorreu no local desejado, observando a correlação do sinal em δ 4,68, referente ao H-3 com o sinal em δ 163,60, referente ao com o C-1" (C=O) da função éster.

As extensões das cadeias laterais estão de acordo com os dados dos espectros de massas de alta resolução, em conformidade com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5$, $[\text{M} + \text{H}]^+$ 447,2868 para a presença de dez metilenos, seguidos da metil-cetona além do núcleo piperidínico trissubstituído.

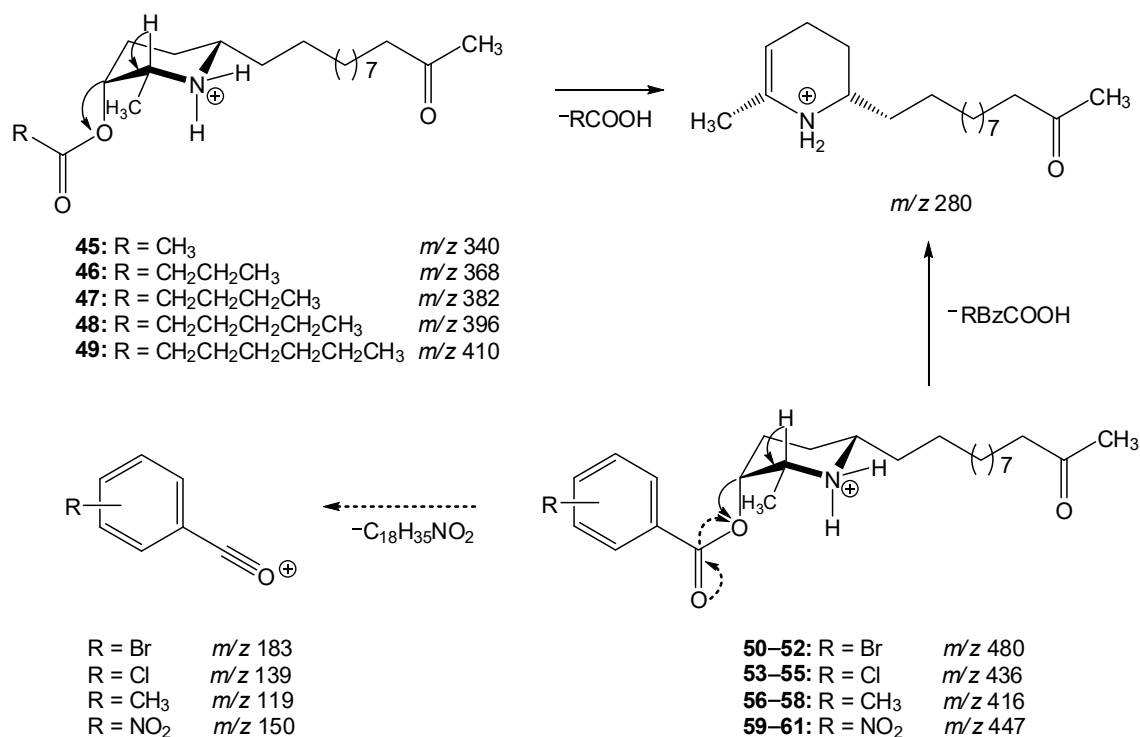
Tabela 22. Dados de RMN do derivado 3-*O*-(4-nitrobenzoil)cassina (**61**) em CDCl₃.

| 3- <i>O</i> -(4-nitrobenzoil)cassina (61) | | | | | | |
|--|---|--|-----------------|-----------------------|-------|---------------------------|
| | | | | | | |
| Posição | ¹ H δ _H ^a mult. ^b (J em Hz) | ¹³ C δ _C ^a (mult.) ^b | DEPT | COSY | HSQC | HMBC |
| 2 | 3,53 qt (6,8) | 55,09 | CH | H-3, H-7 | H-2 | H-4, H-7 |
| 3 | 4,68 m | 69,45 | CH | H-2, H-4a | H-3 | H-2, H-4a, H-4b, H-5, H-7 |
| 4 | 1,84 m | 23,81 | CH ₂ | H-3, H-4b, H-5a, H-5b | H-4a | H-2, H-3, H-6 |
| 5 | 1,34 m | 26,52 | CH ₂ | H-4a, H-5a, H-5b | H-4b | H-3, H-4, H-6, H-1' |
| 6 | 3,00 m | 53,91 | CH | H-4a, H-4b, H-6 | H-5 | H-4, H-5, H-1' |
| 7 | 1,45 d (6,8) | 15,52 | CH ₃ | H-1'a, H-5a, H-5b | H-6 | H-2, H-3 |
| 1' | 1,84 m | 34,71 | CH ₂ | H-2 | H-7 | H-6, H-2', H-3' |
| 2' | 1,17 | 27,54 | CH ₂ | H-6, H-2' | H-1'a | H-6, H-1', H-3', H-4' |
| 3' | 1,17 | 29,43 ^c | CH ₂ | H-2' | H-1'b | |
| 4' | 1,17 | 29,38 ^c | CH ₂ | H-1'a, H-1'b, H-3' | H-2' | |
| 5' | 1,17 | 29,53 ^c | CH ₂ | | H-3' | |
| 6' | 1,17 | 29,59 ^c | CH ₂ | | H-4' | |
| 7' | 1,17 | 29,14 ^c | CH ₂ | | H-5' | |
| 8' | 1,17 | 29,70 ^c | CH ₂ | | H-6' | |
| 9' | 1,62 qt (7,4) | 20,27 | CH ₂ | H-10' | H-7' | |
| 10' | 2,31 t (7,4) | 43,79 | CH ₂ | H-9' | H-8' | |
| 11' | — | 209,48 | C | | H-9' | H-7', H-8', H-10' |
| 12' | 2,03 s | 29,89 | CH ₃ | H-12' | H-10' | H-9', H-12' |
| 1'' | — | 163,60 | C | — | — | H-7'' |
| 2'' | — | 148,17 | C | — | — | H-3'', H-7'' |
| 3'' | 8,19 dd (8,5) | 130,74 | CH | H-4'' | H-3'' | H-4'', H-7'' |
| 4'' | 7,45 dd (8,5) | 123,65 | CH | H-3'' | H-4'' | H-3'', H-6'' |
| 5'' | — | 150,73 | C | — | — | H-4'', H-6'' |
| 6'' | 8,19 dd (8,5) | 123,65 | CH | H-7'' | H-6'' | H-4'', H-7'' |
| 7'' | 7,45 dd (8,5) | 130,74 | CH | H-6'' | H-7'' | H-6'' |

^aOs experimentos de RMN foram realizados a 400 e 100 MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente e deslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). ^bMultiplicidade: s (singleto); d (doblete); t (triplete); q (quadrupeto); qt (quintupeto); m (multipeto). ^c Valor atribuído com base no deslocamento químico calculado (ChemDraw Ultra v. 12) e podem estar interconvertidos dentro da coluna.

Com a síntese e elucidação estrutural de todos os derivados semissintéticos, foi possível observar um padrão de fragmentação característico para os compostos alifáticos e aromáticos, utilizando espectrometria de massas com ionização por *electrospray* no modo positivo. Analisando os espectros de massa, é possível observar que todos os derivados semissintéticos apresentaram o fragmento m/z 280, referente a uma eliminação neutra dos respectivos ácidos carboxílicos. Além disso, todos os derivados aromáticos (**50–61**) apresentaram uma eliminação neutra de 297 *u*, referente à molécula $C_{18}H_{35}NO_2$, formando o íon acílio (Figura 69).

Figura 69. Padrão de fragmentação dos derivados semissintéticos utilizando (+)-EM/EM-IES.



5.4 Estudos *in silico* (*docking* molecular)

Os estudos de *docking* foram realizados com o programa GOLD 5.4.1 que utiliza o algoritmo genético (GA) buscando obter soluções possíveis através de operadores genéticos com a finalidade de se obter a solução final. O GOLD trabalha com escore ou pontuação pré-definida chamada de *Fitness*, e dessa forma o *docking* é realizado com os ligantes e as hidroxilas da molécula de forma flexível. (JONES et al., 1995, JONES et al., 1997, VERDONK et al., 2003).

Esta função já pré-definida é composta por quatro tipos de energia, a energia de ligação de hidrogênio do complexo-receptor, energia de ligação de van der Waals, energia de ligação de hidrogênio intramolecular do ligante e energia de van der waals interna do ligante. Dessa forma o importante é obter um ligante que encaixe de forma geométrica e energética no sítio de ligação mais aceitável sempre baseado nas possíveis funções de pontuação.

São quatro os tipos de função de pontuação ou função escore utilizados pelo GOLD: o GoldScore, ChemScore, ChemPLP e o ASP. Nesse estudo foi utilizado duas funções de pontuação, para o escore do *docking* o ChemPLP que é uma função empírica otimizada para a predição de pose, possui termos que são usados para gerar uma complementaridade entre a proteína e o ligante, e é considerada como uma função padrão do GOLD (O. Korb, T. Stützle and T. E. Exner). E para o rescoring o ChemScore que é uma função que permite mostrar uma estimativa da diferença de energia livre após a interação da molécula com o ligante. Esta função também parametriza na forma de dados empíricos os complexos formados que possuem afinidade de ligação conhecida (ELDRIDGE et al., 1997; BAXTER et al., 1998).

Tabela 23. Pontuações de docagem (função ChemPLP e rescore com ChemScore) dos ligantes no sítio catalítico da enzima Lactato Dehidrogenase. O ligante natural NAI foi incluído como parâmetro de comparação para os outros ligantes.

| | Composto | Função ChemPLP | Função ChemScore |
|-------------------|--|----------------|------------------|
| | NAI (ligante natural) | 111,5379 | 13,0593 |
| 29 | (-)-cassina | 75,6577 | 26,7753 |
| 45 | (-)-3- <i>O</i> -acetilcassina | 76,8749 | 24,3934 |
| 46 | (-)-3- <i>O</i> -butanoilcassina | 78,5676 | 22,3152 |
| Alifáticos | 47 (-)-3- <i>O</i> -pentanoilcassina | 79,2363 | 20,3988 |
| | 48 (-)-3- <i>O</i> -hexanoilcassina | 83,9064 | 30,2301 |
| | 49 (-)-3- <i>O</i> -heptanoilcassina | 87,0119 | 28,5534 |
| | 50 (-)-3- <i>O</i> -(2-bromobenzoil)cassina | 85,8854 | 31,8580 |
| | 51 (-)-3- <i>O</i> -(3-bromobenzoil)cassina | 85,4118 | 30,7787 |
| | 52 (-)-3- <i>O</i> -(4-bromobenzoil)cassina | 83,5708 | 31,6286 |
| | 53 (-)-3- <i>O</i> -(2-clorobenzoil)cassina | 85,2810 | 25,8584 |
| | 54 (-)-3- <i>O</i> -(3-clorobenzoil)cassina | 82,1728 | 31,6370 |
| Aromáticos | 55 (-)-3- <i>O</i> -(4-clorobenzoil)cassina | 80,5981 | 32,1718 |
| | 56 (-)-3- <i>O</i> -(2-metilbenzoil)cassina | 88,7367 | 28,8907 |
| | 57 (-)-3- <i>O</i> -(3-metilbenzoil)cassina | 85,2143 | 29,4583 |
| | 58 (-)-3- <i>O</i> -(4-metilbenzoil)cassina | 82,9496 | 28,8875 |
| | 59 (-)-3- <i>O</i> -(2-nitrobenzoil)cassina | 81,3482 | 23,7733 |
| | 60 (-)-3- <i>O</i> -(3-nitrobenzoil)cassina | 86,1753 | 34,9431 |
| | 61 (-)-3- <i>O</i> -(4-nitrobenzoil)cassina | 87,3803 | 34,4144 |

Após o *redocking* do ligante natural e validação das funções de escore, o *docking* foi realizado para todos os ligantes nas mesmas condições.

A análise dos valores de *docking* (Tabela 23) permitiu observar que os derivados **45–61** apresentaram maiores pontuações quando comparados com a (–)-cassina (**29**) (75,6577), mostrando uma melhor ancoragem com a enzima lactato desidrogenase, que catalisa a interconversão de piruvato em lactato no passo final da glicólise, fundamental para a produção de energia em células vivas. Logo, a interrupção da atividade da LDH impede uma das principais vias de produção de energia do parasita, levando-o a morte (PENNA-COUTINHO et al., 2011).

Entre os derivados alifáticos (**45–49**), a (–)-3-*O*-heptanoilcassina (**49**) foi a que apresentou melhor pontuação (87,0119), sugerindo que o aumento do número de metilenos do éster favorece a flexibilização e interações lipofílicas entre o ligante e a enzima.

Entre os derivados aromáticos (**50–61**), a (–)-3-*O*-(2-metilbenzoil)cassina (**56**) foi a que apresentou melhor pontuação (88,7367), seguida da (–)-3-*O*-(4-nitrobenzoil)cassina (**61**) com uma pontuação de 87,3803.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Senna spectabilis provou ser uma importante fonte de alcaloides piperidínicos, raros em espécies superiores, de onde foi possível isolar os alcaloides homólogos (–)-cassina e (–)-espectralina. Também foi constatada, por CCD, a presença de outros alcaloides que não foram isolados neste trabalho.

Ao longo dos procedimentos cromatográficos foi possível constatar que as metodologias mais eficientes para purificação destes metabólitos, foram aquelas utilizando fase normal, seguida de cromatografia em coluna utilizando fase reversa que resultou na separação dos alcaloides (–)-cassina e (–)-espectralina.

A utilização da CG-DIC foi uma ferramenta importante ao longo dos processos de purificação, uma vez que a (–)-cassina, precursor dos derivados semissintéticos não apresenta grupo cromofórico, restringindo assim o uso de algumas ferramentas que se baseiam na absorção de luz UV como a CLAE-UV.

Depois de purificados os alcaloides (–)-cassina (1,5 g) e (–)-espectralina (10,0 mg) foram submetidos as análises espectroscópicas (ressonância magnética nuclear) e espectrométricas (espectrometria de massas de alta resolução), para confirmação das estruturas moleculares.

A partir do alcaloide (–)-cassina, foi preparada uma série de derivados semissintéticos de cadeias alifáticas e aromáticas (**45–61**), que foram monitorados por CCD e CG-DIG, purificados por CC e caracterizados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas.

O estudo *in silico* (*docking* molecular) mostrou uma melhor ancoragem dos derivados com a enzima lactato desidrogenase, demonstrando que são compostos com potencial atividade antimalárica, capazes de interromper a atividade da LDH, impedindo uma das principais vias de produção de energia do parasita, levando-o a morte.

REFERÊNCIAS

- ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 3, p. 10–15, 2001.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal**: bases moleculares da ação dos fármacos. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015, 608 p.
- BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 235, 2000. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- BOLZANI, V. S.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I. Bioactive and other piperidine alkaloids from *Cassia leptophylla*. **Tetrahedron**, v. 51, n. 21, p. 5929–5934, 1995. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(95\)00254-6](https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00254-6)
- BOLZANI, V. S.; VALLI, M.; PIVATTO, M.; VIEGAS JR., C. Natural products from Brazilian biodiversity as a source of new models for medicinal chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 84, n. 9, p. 1837–1846, 2012. <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-12-01-11>
- BROWN, W. M.; YOWELL, C. A.; HOARD, A.; VANDER JAGT, T. A.; HUNSAKER, L. A.; DECK, L. M.; ROYER, R. E.; PIPER, R. C.; DAME, J. B.; MAKLER, M. T.; VANDER JAGT, D. L. Comparative Structural Analysis and Kinetic Properties of Lactate Dehydrogenases from the Four Species of Human Malarial Parasites. **Biochemistry**, v. 43, p. 6219, 2004. <https://doi.org/10.1021/bi049892w>
- CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Viçosa: Gráfica Suprema e Editora, 2004. 113 p.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>
- CUNICO, W.; CARVALHO, S. A.; GOMES, C. R. B.; MARQUES, G. H. Antimalarial drugs – history and new approaches. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 1, p. 49–55, 2008. <https://doi.org/10.1242/jeb.00589>
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products**: a biosynthetic approach. 3. ed., John Wiley & Sons Ltd, 2009. 546 p.

- DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, p. 843–847, 2001. <https://doi.org/10.1038/35081178>
- DUNN, C. R.; BANFIELD, M. J.; BARKER, J. J.; HIGHAM, C. W.; MORETON, K. M.; TURGUT-BALIK, D.; BRADY, R. L.; HOLBROOK, J. J. The structure of lactate dehydrogenase from *Plasmodium falciparum* reveals a new target for anti-malarial design. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 3, p. 912, 1996. <https://doi.org/10.1038/nsb1196-912>
- FACCHINI, P. J.; LUCA, V. Opium poppy and Madagascar periwinkle: model non-model systems to investigate alkaloid biosynthesis in plants. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 76384, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03438.x>
- FRANÇA, T. C. C.; SANTOS, M. G.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1271–1278, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500060>
- GOMES, A. P.; VITORINO, R. R.; COSTA, A. P.; MENDONÇA, E. G.; OLIVEIRA, M. G. A.; SIQUEIRA-BATISTA, R. Severe *Plasmodium falciparum* malaria. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, n. 3, p. 358–369, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2011000300015>
- GRANCHI, C.; BERTINI, S.; MACCHIA, M.; MINUTOLO, F. Inhibitors of Lactate Dehydrogenase Isoforms and their Therapeutic Potentials. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 672, 2010. <https://doi.org/10.2174/092986710790416263>
- GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Drug design, biotechnology and medicinal chemistry: applications to infectious diseases. **Estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 81–98, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142010000300006>
- HIGHET, R. J. Alkaloids of *Cassia* species. I. cassine. **Journal of Organic Chemistry**, v. 29, p. 471–474, 1964. <https://doi.org/10.1021/jo01025a056>
- JOMAA, H.; WIESNER, J.; SANDERBRAND, S.; ALTINCICEK, B.; WEIDEMEYER, C.; HINTZ, M.; TURBACHOVA, I.; EBERL, M.; ZEIDLER, J.; LICHTENTHALER, H. K.; SOLDATI, D.; BECK, E. Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. **Science**, v. 285, p. 1573, 1999. <https://doi.org/10.1126/science.285.5433.1573>
- KANNAN, R.; SAHAL, D.; CHAUHAN, V. S. Heme-artemisinin adducts are crucial mediators of the ability of artemisinin to inhibit heme polymerization. **Chemistry & Biology**, v. 9, p. 321–332, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(02\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(02)00117-5)
- LEETE, E. Biosynthesis of the hemlock alkaloids. The incorporation of acetate-1-C¹⁴ into coniine and conhydrine. *Journal of the American Chemical Society*, v. 86, n. 12,

p. 2509–2513, 1964. <https://doi.org/10.1021/ja01066a039>

LEETE, R.; LECHLEITER, J. C.; CARVER, R. A. Determination of the “starter” acetate unit in the biosynthesis of pinidine. **Tetrahedron Letters**, n. 44, p. 3779–3781, 1975. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)91271-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)91271-1)

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**, 4. ed., Sarvier: São Paulo, 2006.

LIMA, I. S. F.; LAPOUBLE, O. M. M.; DUARTE, E. C. Time trends and changes in the distribution of malaria cases in the Brazilian Amazon Region, 2004–2013. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 1, p. 8–18, 2017. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160263>

LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. **Biossíntese de produtos naturais**. Lisboa: IST Pess, 2007, 272 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002, v. 1, p. 184.

MILLER, L. H.; GOOD, M. F.; MILON, G. Malaria Pathogenesis. **Science**, v. 264, p. 1878, 1994. <https://doi.org/10.1126/science.8009217>

NASCIMENTO, J. A. A.; GUIMARÃES, L. M.; CARVALHO-COSTA, F. A. Malaria epidemiology in the state of Piauí, Northeastern Brazil: a retrospective study with secondary data. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 1, p. 99–103, 2016. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0153-2015>

NEWMAN, D. J. The influence of brazilian biodiversity on searching for human use pharmaceuticals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 3, p. 402–414, 2017. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20160225>

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629–661, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, p. 1–10, 2004.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 3. ed. Oxford Pergamon Press, 1988.

PHILLIPS, M. A.; BURROWS, J. N.; MANYANDO, C.; HUIJSDUIJNEN, R. H. V.; VOORHIS W. C. V.; WELLS, T. N. C. Malaria. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 1–24, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.50>

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45–61, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>

PIONTEK, K.; CHAKRABARTI, P.; SCHAR, H. P.; ROSSMANN, M. G.; ZUBER, H. Structure determination and refinement of *Bacillus stearothermophilus* lactate dehydrogenase. **Proteins**, v. 7, p. 74, 1990. <https://doi.org/10.1002/prot.340070108>

PIVATTO, M.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; REZENDE, A.; VIEGAS JUNIOR, C.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Electrospray ionization mass spectrometry screening of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* (Fabaceae) extracts: fast identification of new constituents and co-metabolites. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1431–1438, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532005000800023>

PIVATTO, M. **Estudo das vias biossintéticas dos alcaloides piperidínicos de *Senna spectabilis***. 2010. 196 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

PIVATTO, M.; BOLZANI, V. S.; GARCIA, C. R. S.; BACCINI, L. R.; SHARMA, A.; NAKABASHI, M.; DANUELLO, A.; VIEGAS JUNIOR, C. Antimalarial activity of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* and semisynthetic derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1900–1906, 2014. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20140195>

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 658–663, 2012.

READ, J. A.; WILKINSON, K. W.; TRANTER, R.; SESSIONS, R. B.; BRADY, R. L. Chloroquine Binds in the Cofactor Binding Site of *Plasmodium falciparum* Lactate Dehydrogenase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 10213, 1999. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.15.10213>

REZENDE, J. F. **À sombra do plátamo: crônicas de história da medicina**. São Paulo: Editora Unifesp. Fleming, o acaso e a observação, p. 241–243, 2009.

ROBINSON, R. A theory of the mechanism of the phytochemical synthesis of certain alkaloids. **Journal of the Chemical Society**, v. 111, p. 876–899, 1917. <https://doi.org/10.1039/CT9171100876>

SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 995–1006, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160089>

SANTELLI, A. C. F. S.; DAMASCENO, C. P.; PETERKA, C. L.; MARCHESINI, P. **B. Plano de eliminação de malária no Brasil**. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/janeiro/04/Plano-eliminacao-malaria-pub.pdf>>. Acesso em: 15 de julho de 2017.

SILVA, D. H. S.; VIEGAS JUNIOR, C.; SANTOS, L. A.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; CASTRO, N. G.; PIVATTO, M.; YOUNG, M. C. M.; ROCHA, M. S.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Espectralina, cassina e análogos semissintéticos como potenciais candidatos a fármacos para o tratamento da Doença de Alzheimer. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 38–46, 2010. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20100005>

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010, 1102 p.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. Tradução Oliveira, M. L. G. de. v. 2. Rio de Janeiro: LTC, 2009. p. 496.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 2009.

VALE, N.; MOREIRA, R.; GOMES, P. Quimioterapia da malária: um século no desenvolvimento de antimaláricos. **Química**: boletim da sociedade portuguesa de química, v. 2, n. 99, p. 57–69.

VALLI, M.; PIVATTO, M.; DANUELLO, A.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; FURLAN, M.; LOPES, M. N.; BOLZANI, V. S. Tropical biodiversity: has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry? **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2278–2287, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001100036>

VANDER JAGT, D. L.; HUNSAKER, L. A.; CAMPOS, N. M.; BAACK, B. R. D-Lactate production in erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum*. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 42, p. 277, 1990. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(90\)90171-H](https://doi.org/10.1016/0166-6851(90)90171-H)

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; BARREIRO, E. J.; YOUNG, M. C. M.; TOMAZELA, D.; EBERLIN, M. N. Further bioactive piperidinealkaloids from the flowers and green fruits of *Cassia spectabilis*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n.12, p. 908–910, 2004. <https://doi.org/10.1021/np0303963>

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. New anti-Alzheimer drugs from biodiversity: the role of the natural acetylcholinesterase inhibitors. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 915–926, 2005a. <https://doi.org/10.2174/138955705774329546>

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; PIMENTEL, L. S.; CASTRO, N. G.; CABRAL, R. F.; COSTA, R. S.; FLOYD, C.; ROCHA, M. S.; YOUNG, M. C.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. New selective acetylcholinesterase inhibitors designed from natural piperidine alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 4184–4190, 2005b. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.04.030>

VIEGAS JUNIOR, C.; SILVA, D. H. S.; PIVATTO, M.; REZENDE, A.; CASTRO-GAMBÔA, I.; BOLZANI, V. S.; NAIR, M. G. Lipoperoxidation and cyclooxygenase enzyme inhibitory piperidine alkaloids from *Cassia spectabilis* green fruits. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p.2026–2028, 2007. <https://doi.org/10.1021/np070312g>

VIEGAS JUNIOR, C.; MELO, G. M. A.; SILVA, M. C. R.; GUIMARÃES, T. P.; PINHEIRO, K. M.; MATTA, C. B. B.; QUEIROZ, A. C.; PIVATTO, M.; BOLZANI, V. S.; MOREIRA, M. S. M. Leishmanicidal activity of the crude extract, fractions and major piperidine alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Phytomedicine**, v. 23, p. 277–281, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.09.024>

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phitochemistry. **Chromatographic Science Series**, v. 99, 2008.

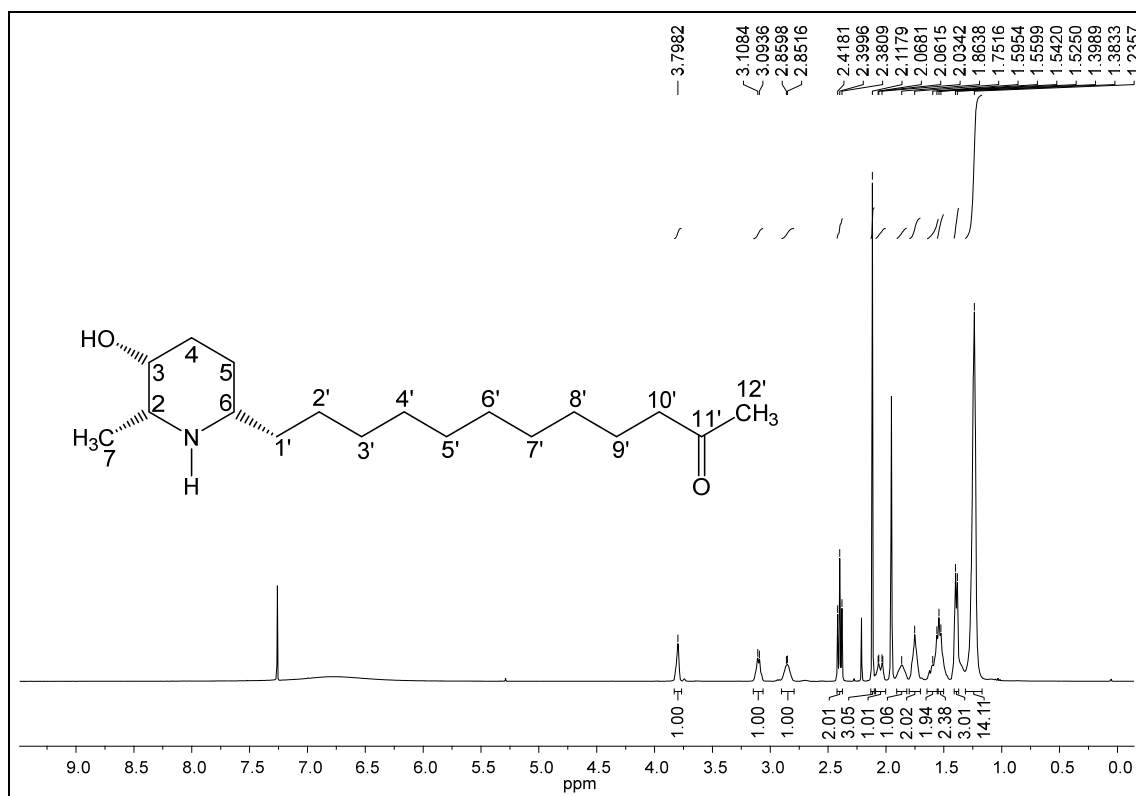
WHITE, J. L.; HACKERT, M. L.; BUEHNER, M. ADAMS, M. J.; FORD, G. C. LENTZ, P. J.; SMILEY, I. E.; STEINDEL, S. J.; ROSSMANN, M. G. A comparison of the structures of apo dogfish M₄-LDH and its ternary complexes. **Journal of Molecular Biology**, v. 102, p. 759, 1976. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(76\)90290-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(76)90290-4)

WHO - World Health Organization. **The world malaria report**.

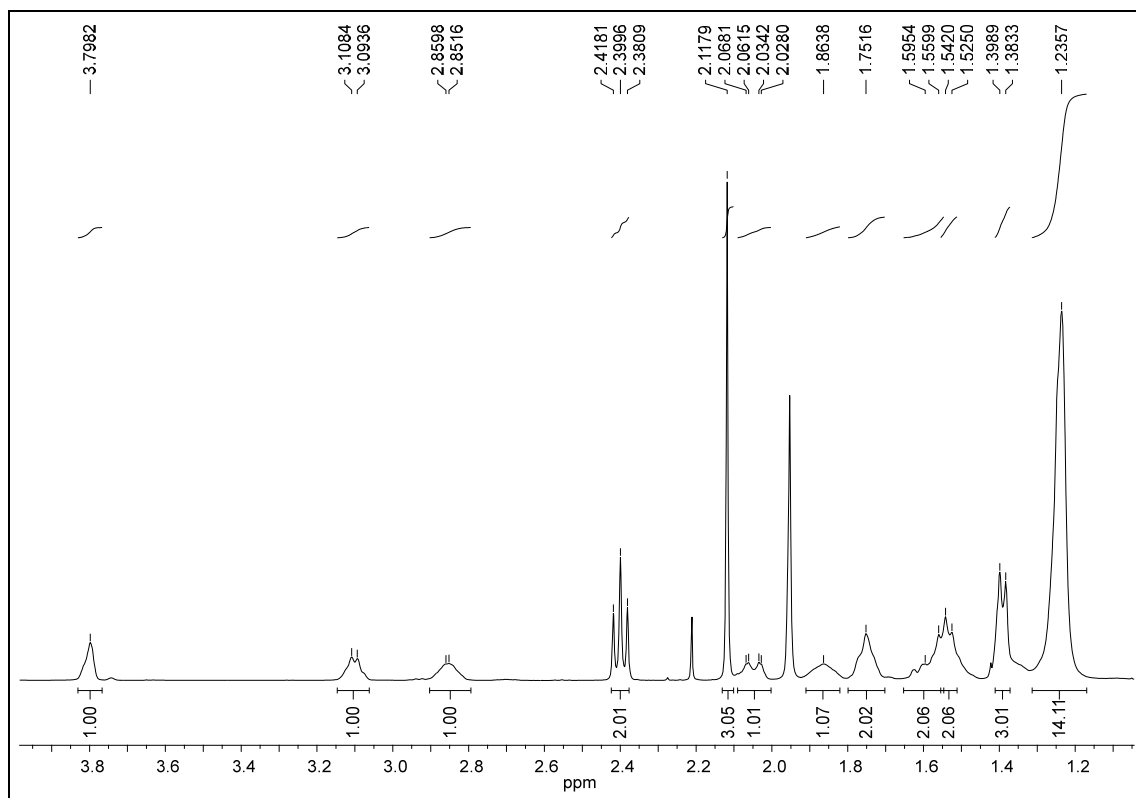
Disponível em: <<http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>>. Acesso em: 15 de julho de 2017.

APÊNDICE A

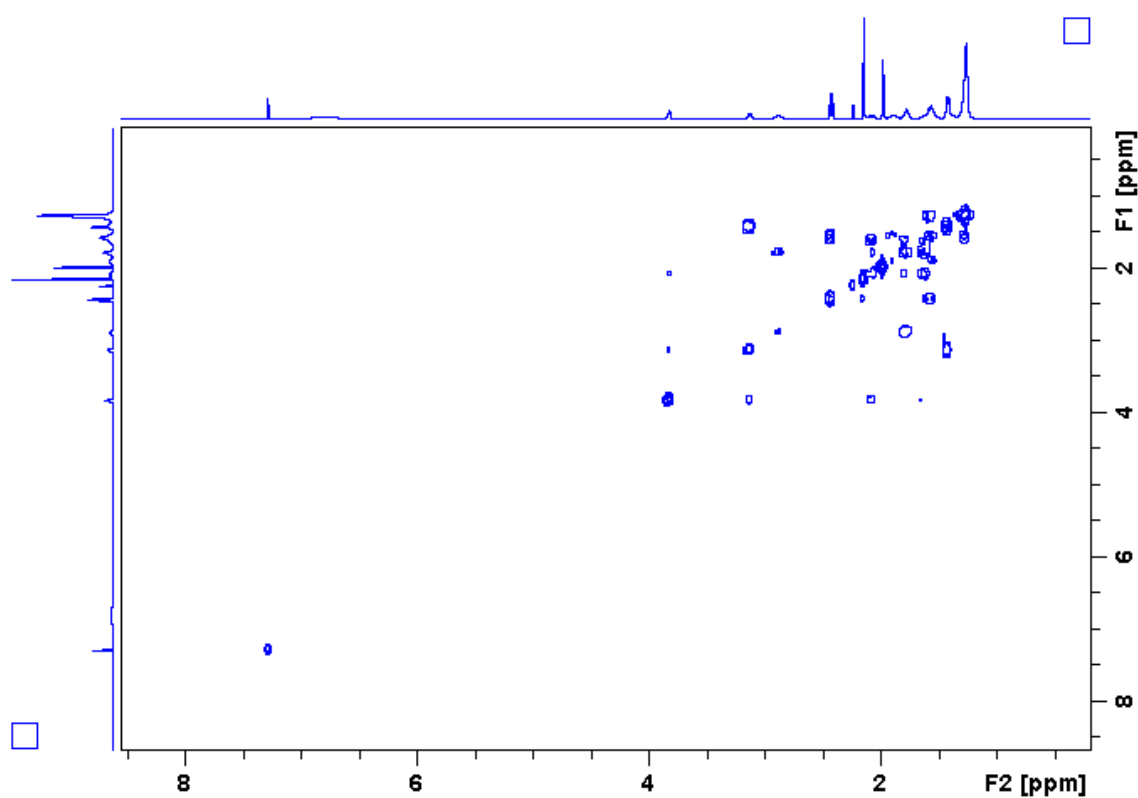
Apêndice A1. Espectro de RMN de ^1H do alcaloide **29** (400 MHz, CDCl_3).



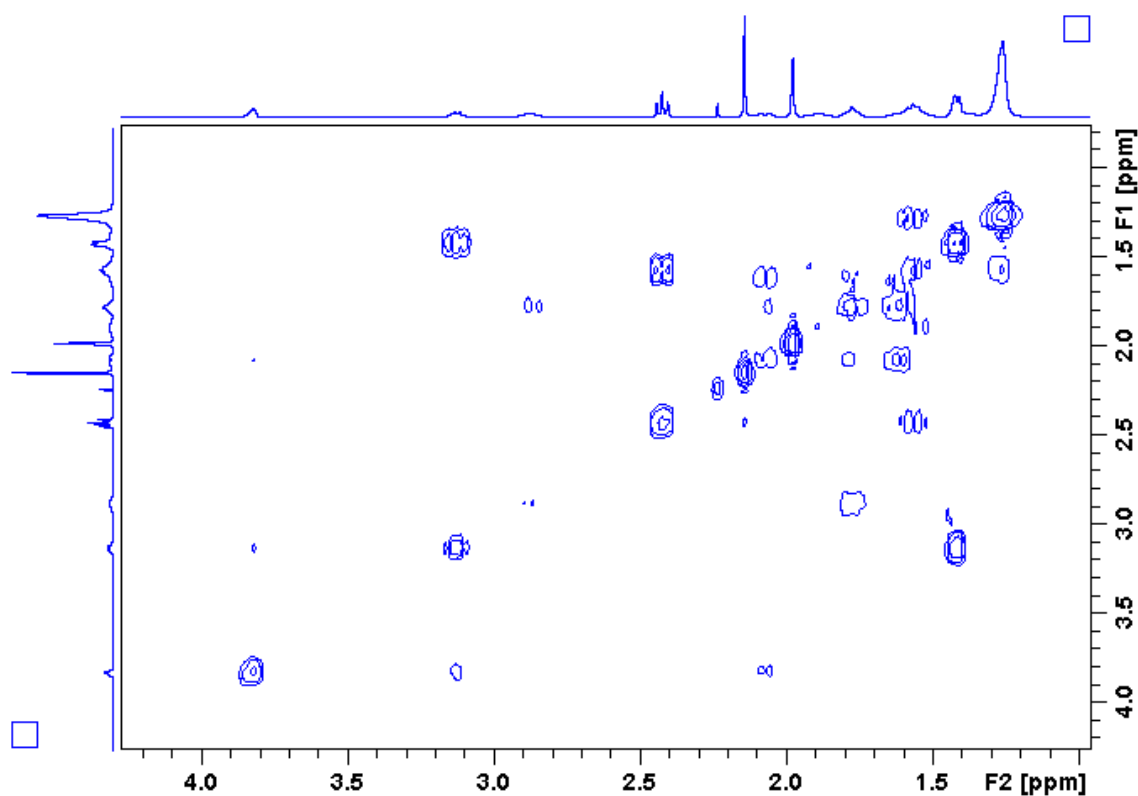
Apêndice A2. Ampliação do espectro A1 (δ 1,20–3,80) do alcaloide **29**.



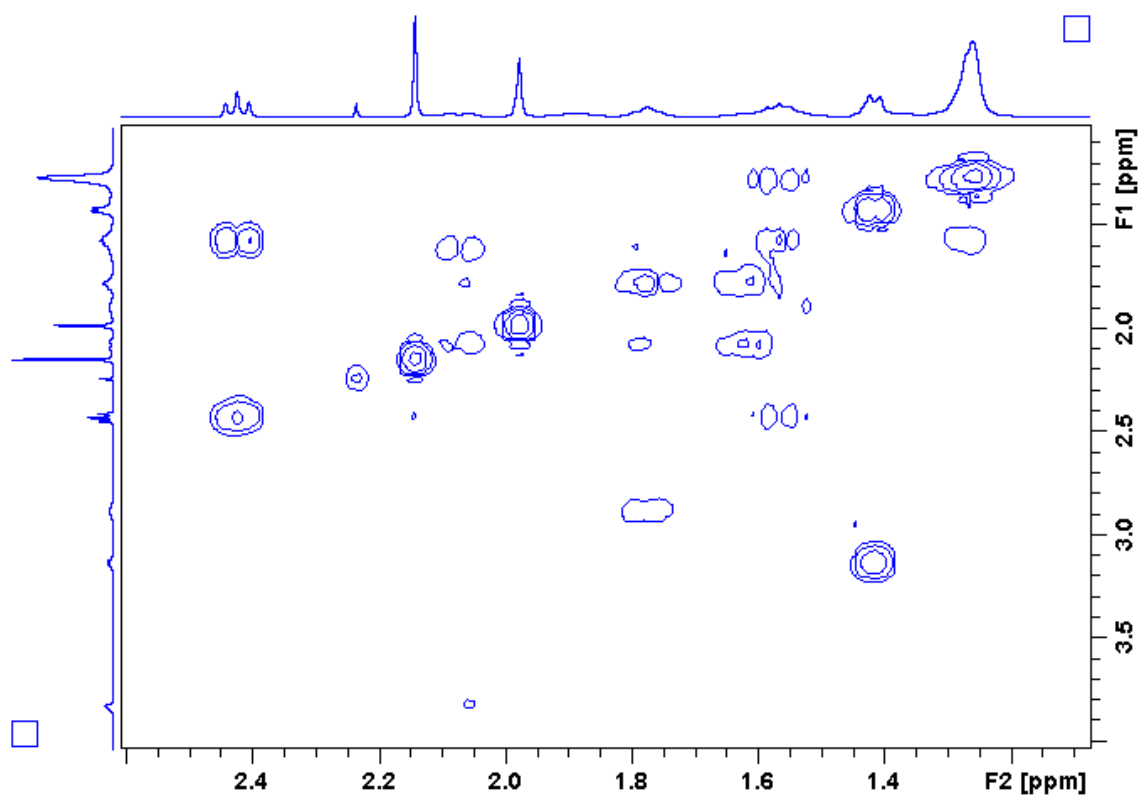
Apêndice A3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **29**.



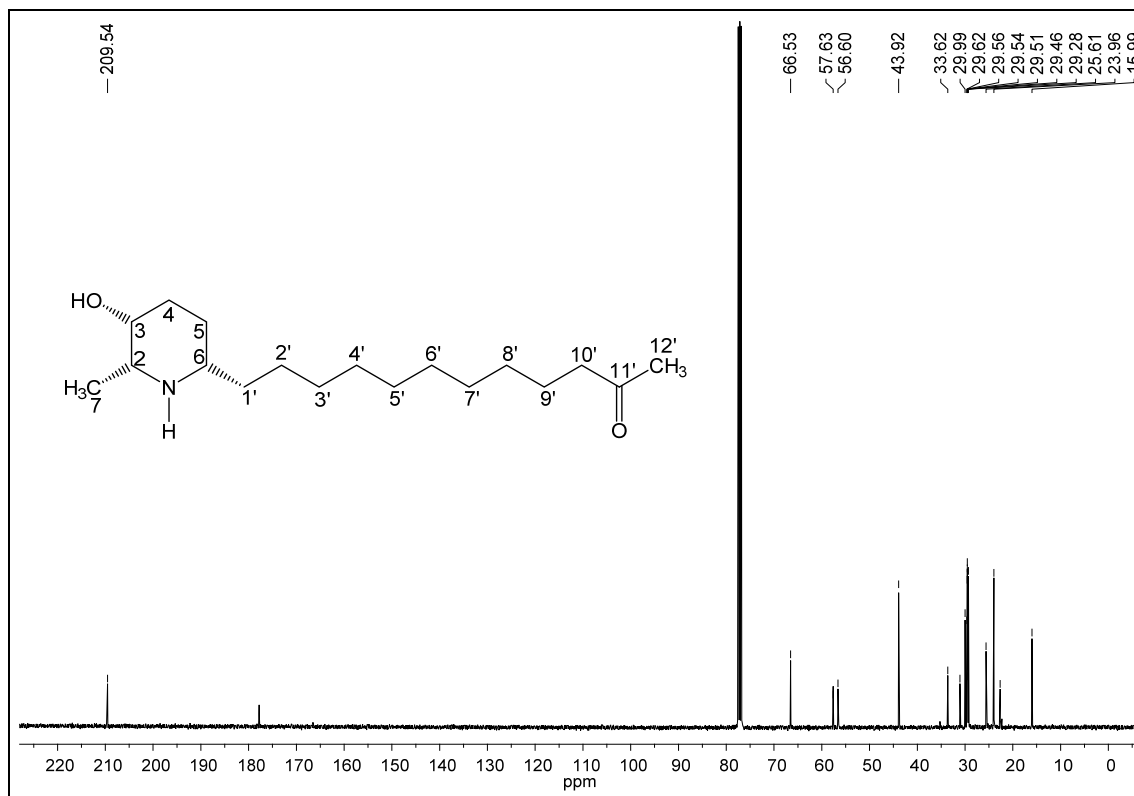
Apêndice A4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–4,0) do alcaloide **29**.



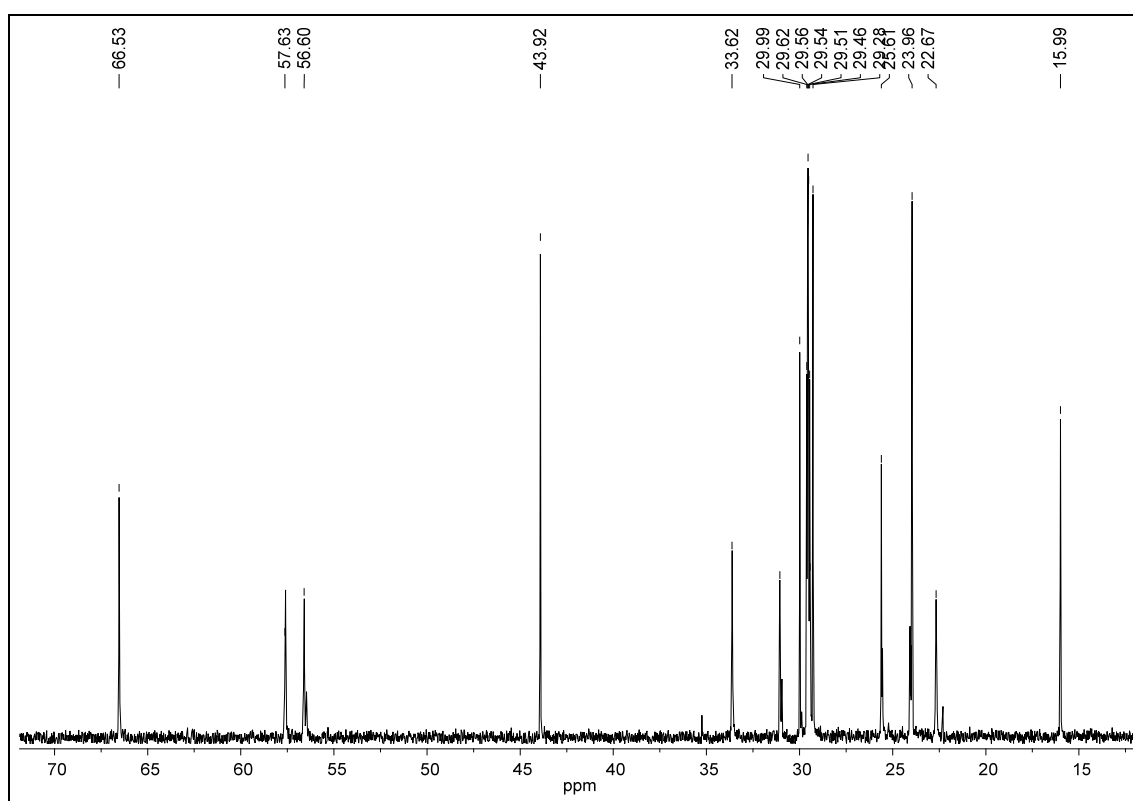
Apêndice A5. Mapa de contorno COSY (δ 1,2–2,6) do alcaloide **29**.



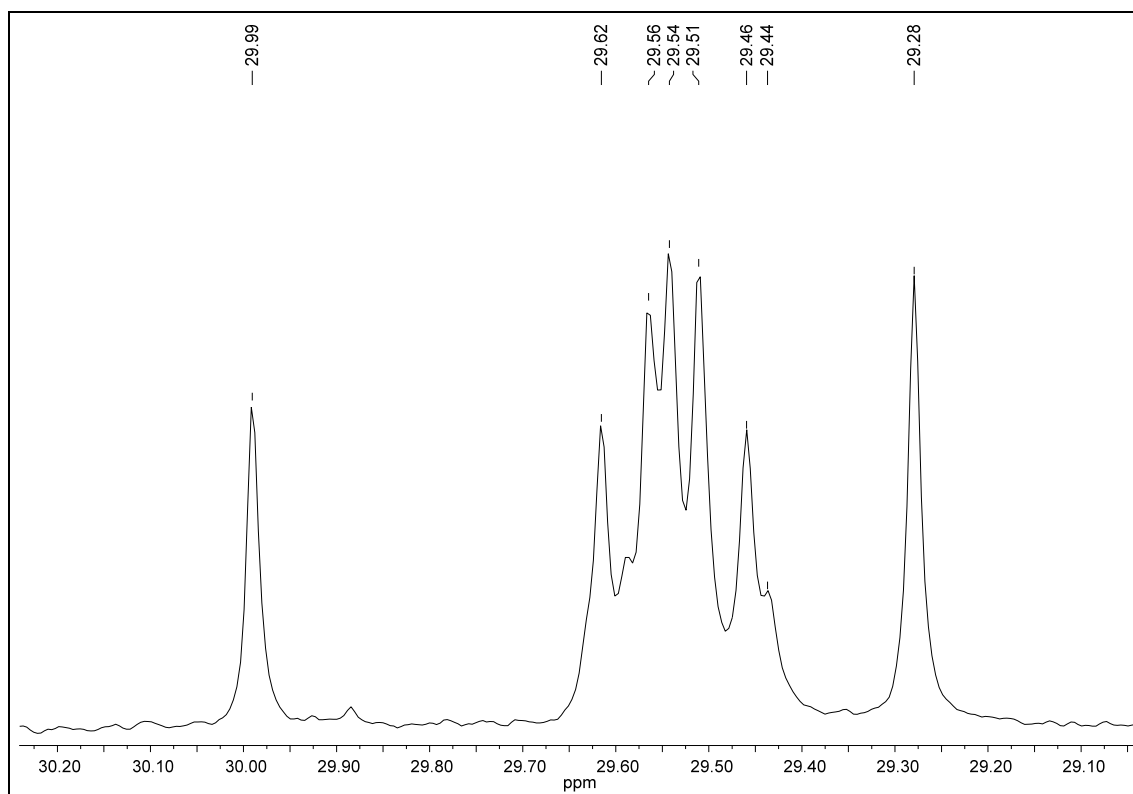
Apêndice A6. Espectro de RMN de ^{13}C do alcaloide **29** (100 MHz, CDCl_3).



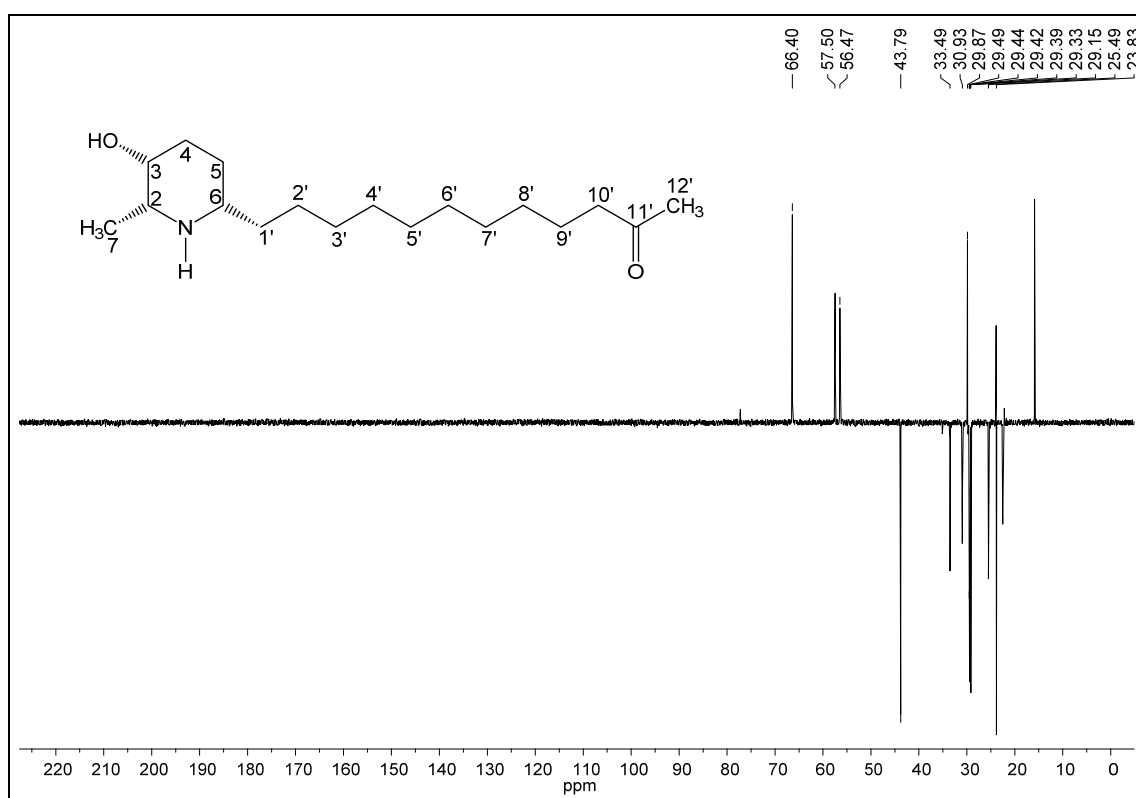
Apêndice A7. Ampliação do espectro A6 (δ 15,0–70,0) do alcaloide **29**.



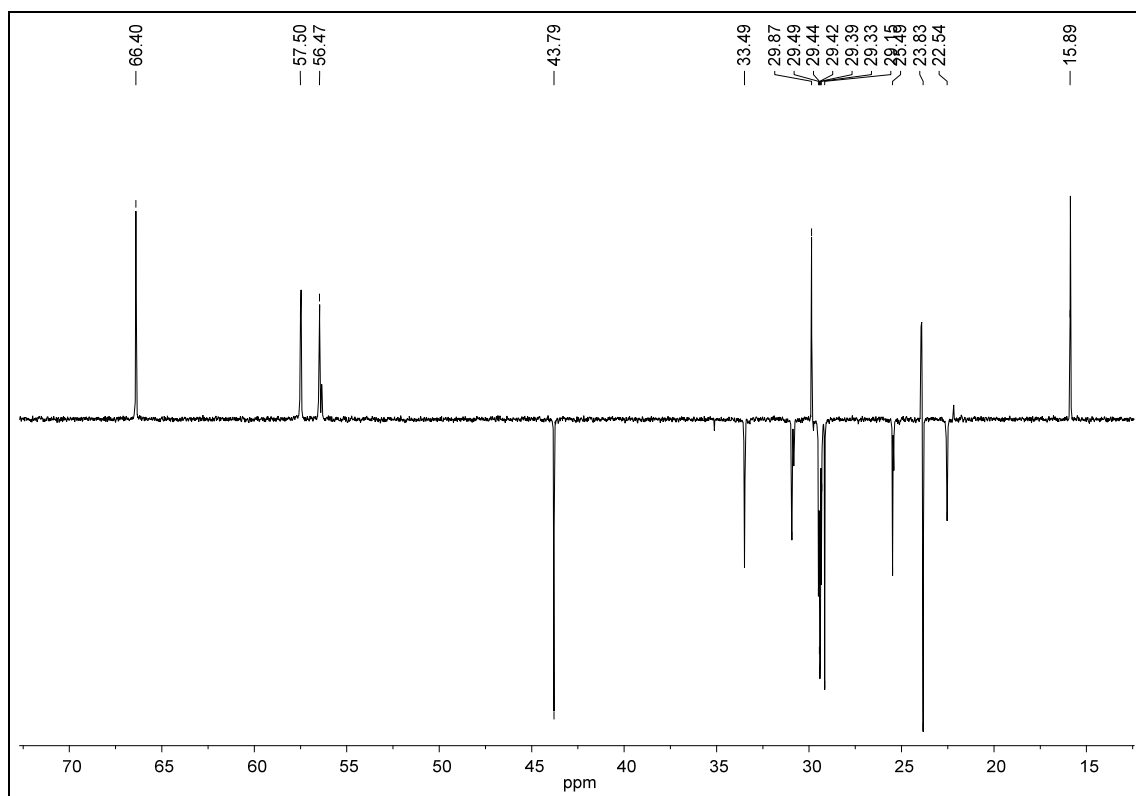
Apêndice A8. Ampliação do espectro A7 (δ 29,1–30,2) do alcaloide **29**.



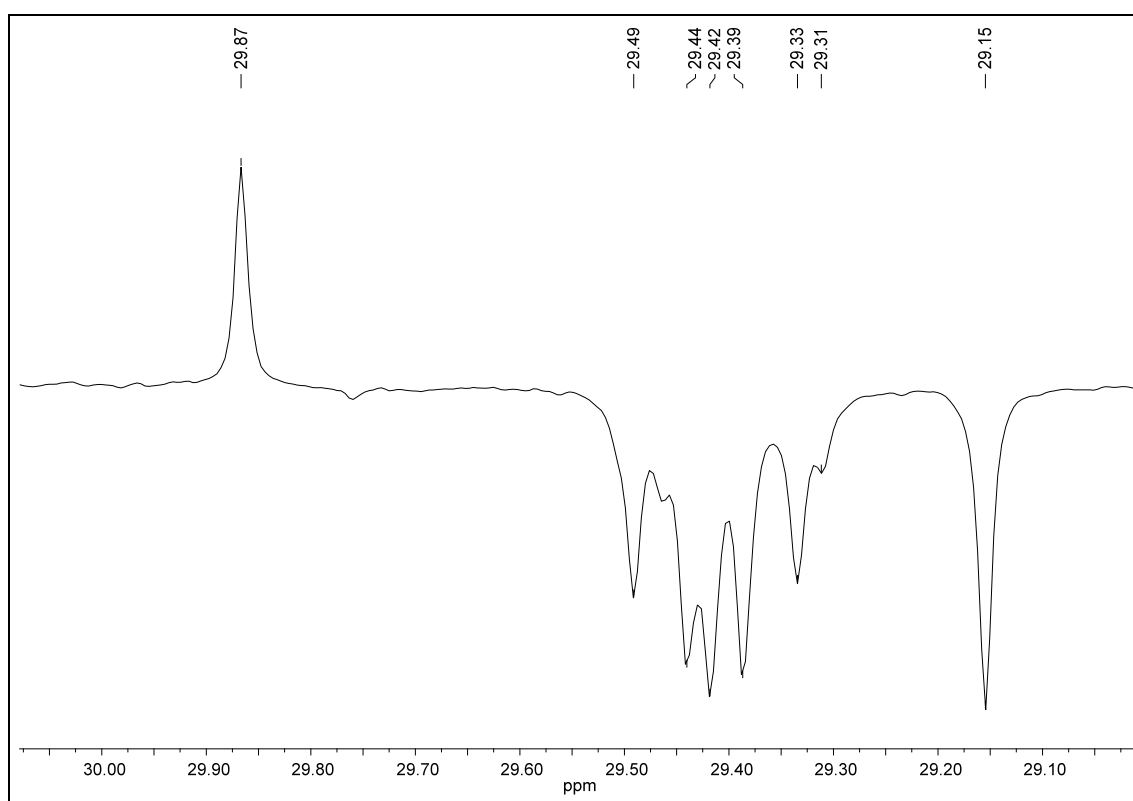
Apêndice A9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do alcaloide **29**.



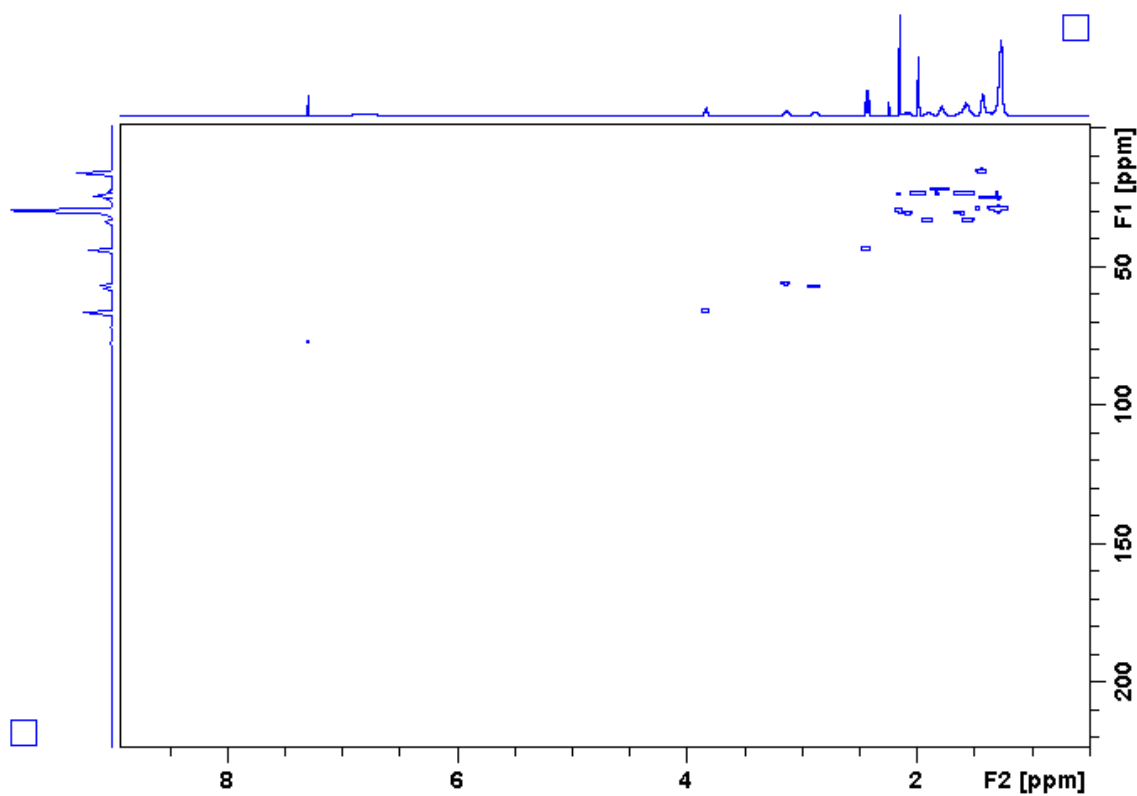
Apêndice A10. Ampliação do espectro A9 (δ 15,0–70,0) do alcaloide **29**.



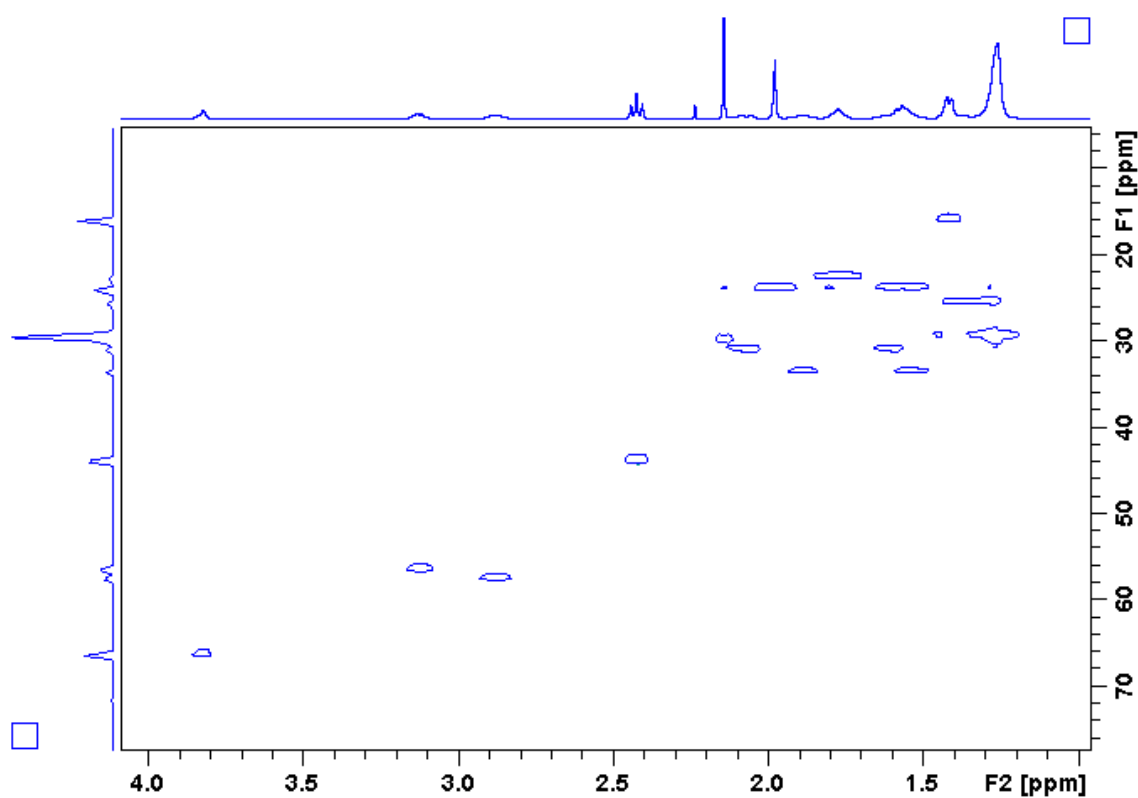
Apêndice A11. Ampliação do espectro A10 (δ 29,1–30,0) do alcaloide **29**.



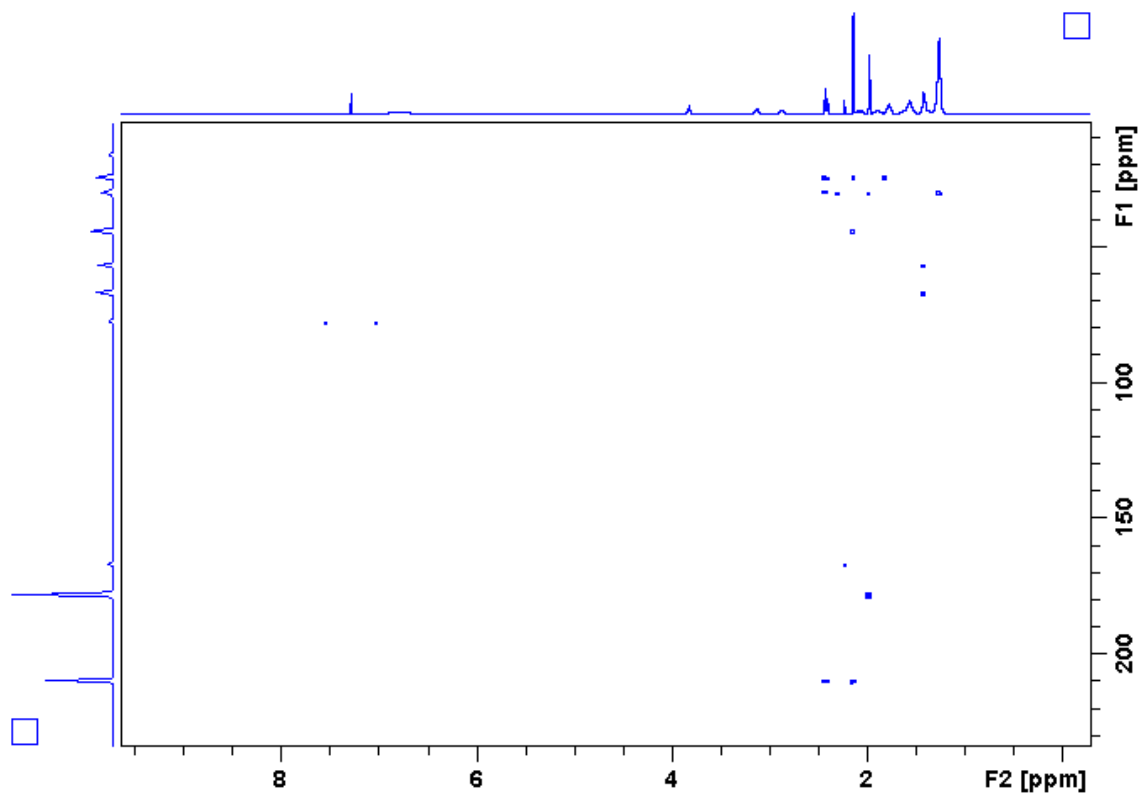
Apêndice A12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **29**.



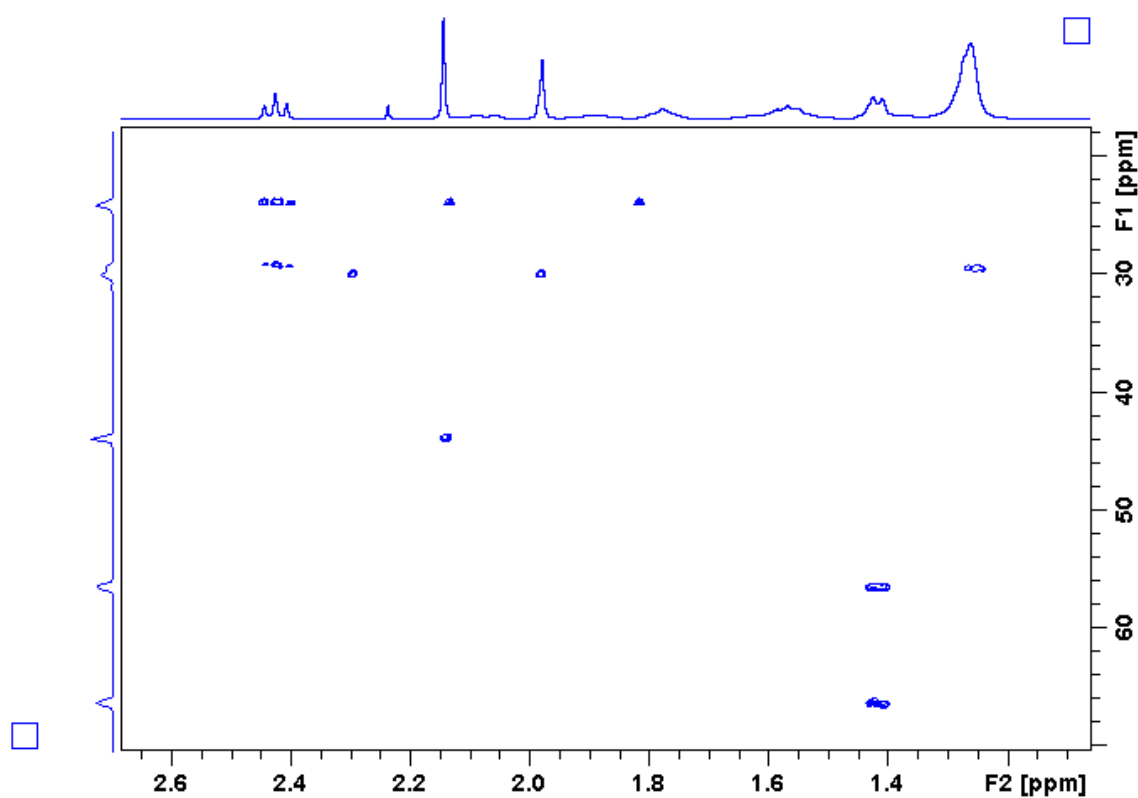
Apêndice A13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **29**.



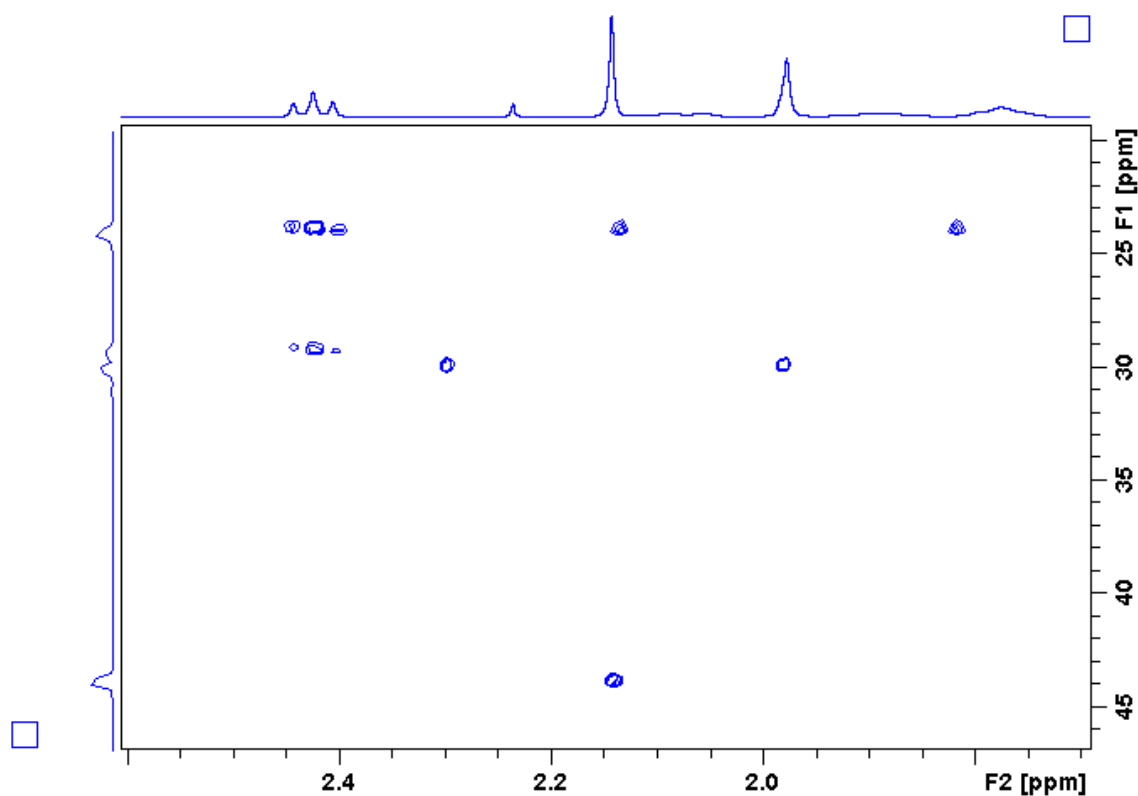
Apêndice A14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **29**.



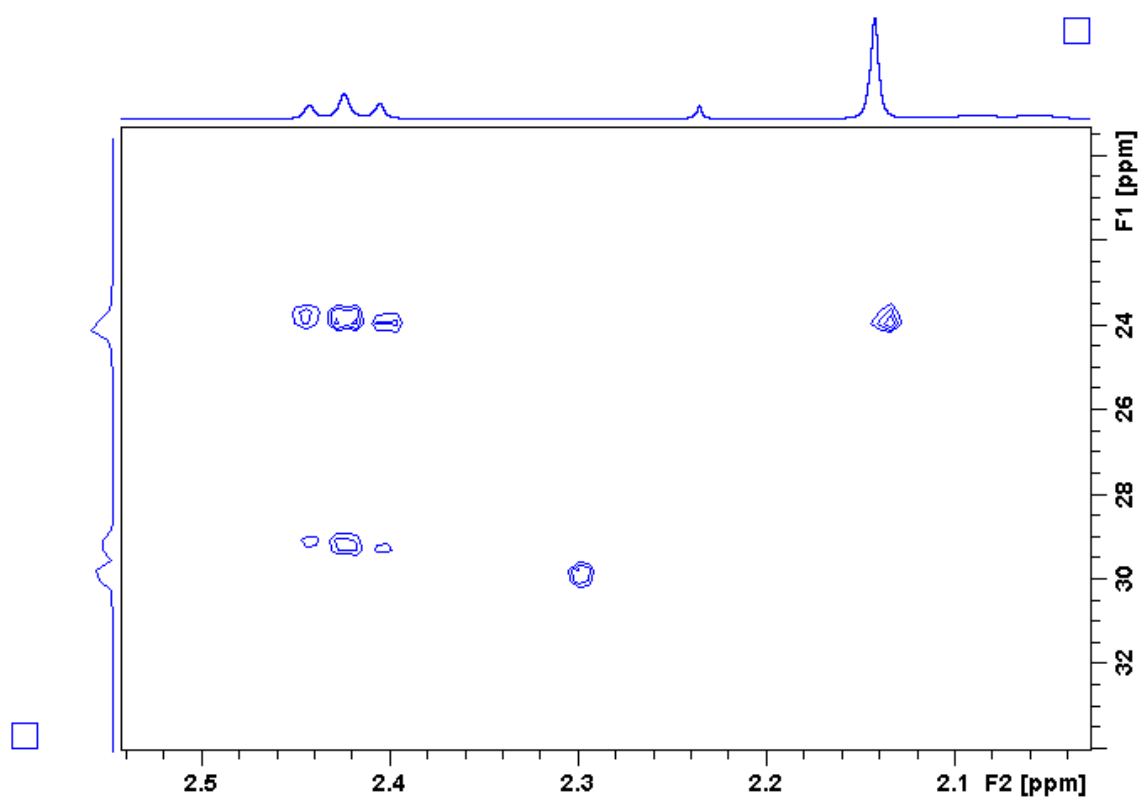
Apêndice A15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **29**.



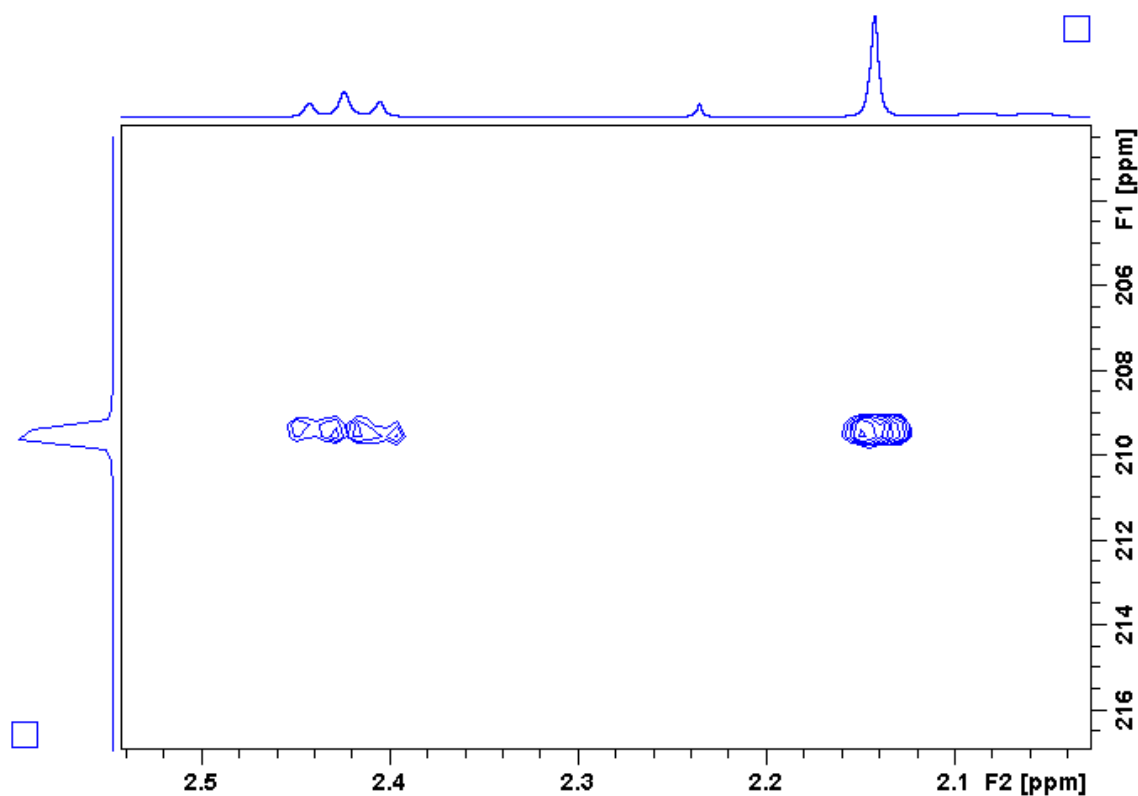
Apêndice A16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **29**.



Apêndice A17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–32,0) do alcaloide **29**.

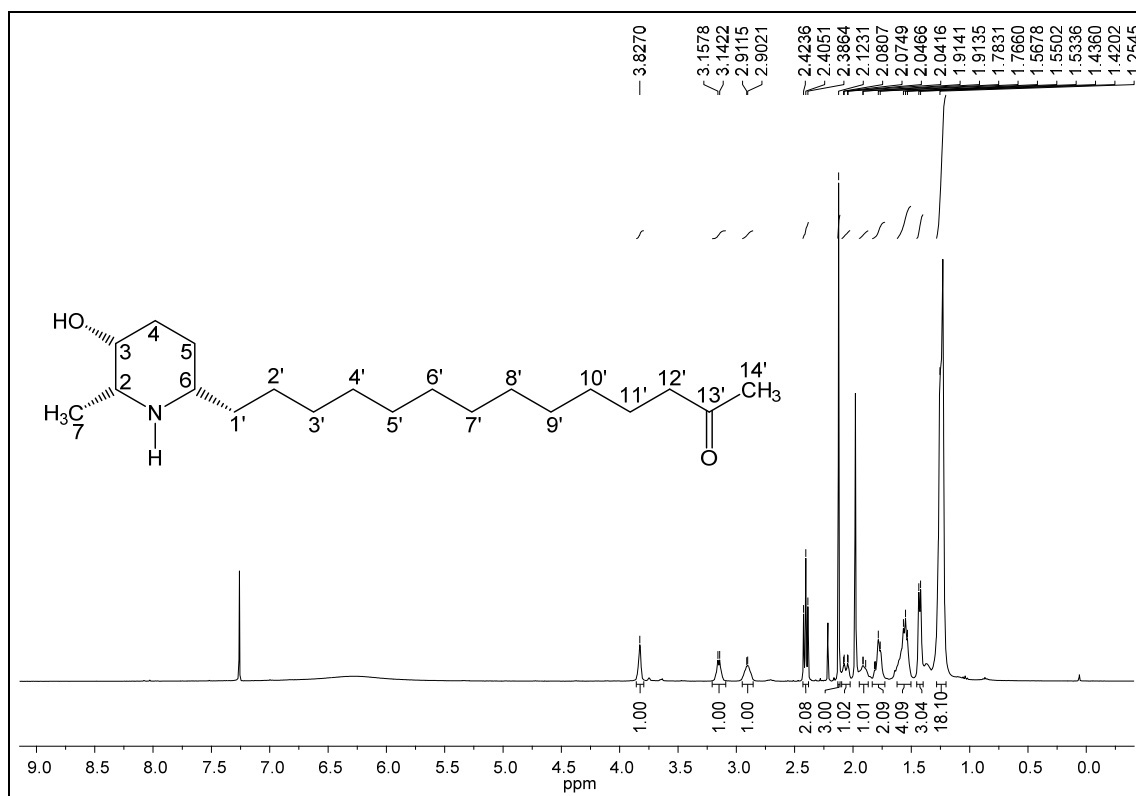


Apêndice A18. Mapa de contorno HMBC (δ 204,0–216,0) do alcaloide **29**.

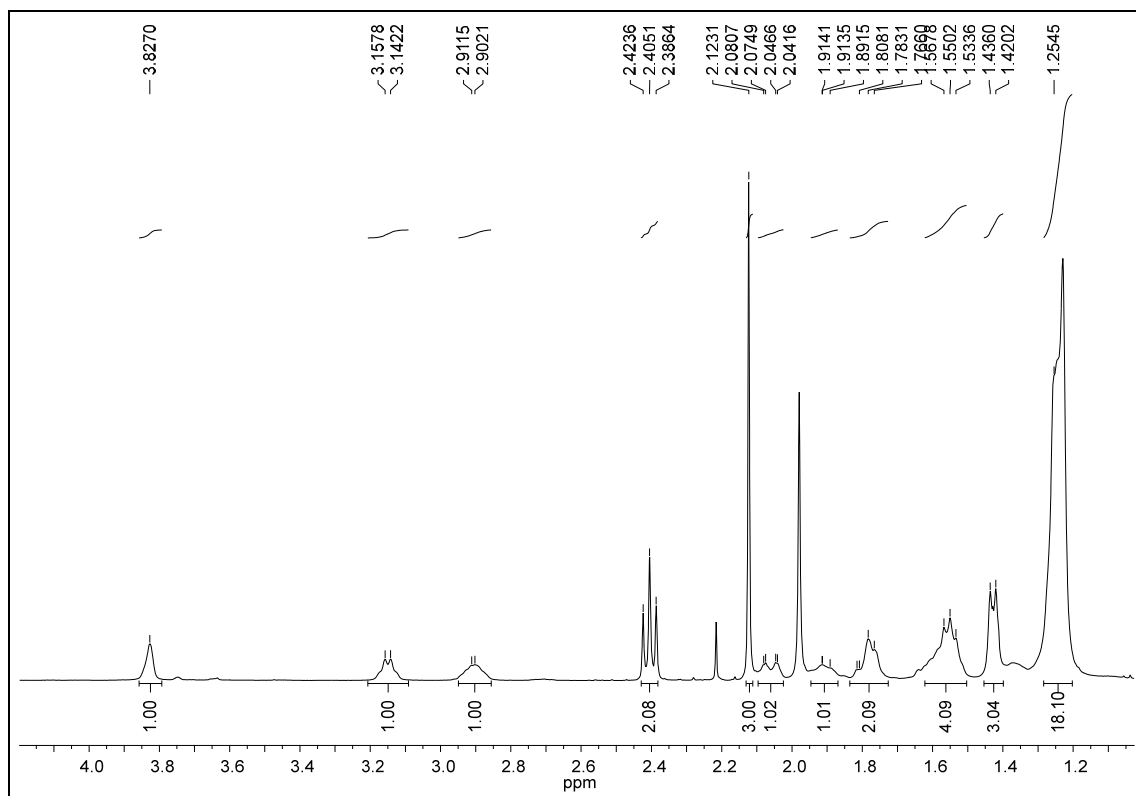


APÊNDICE B

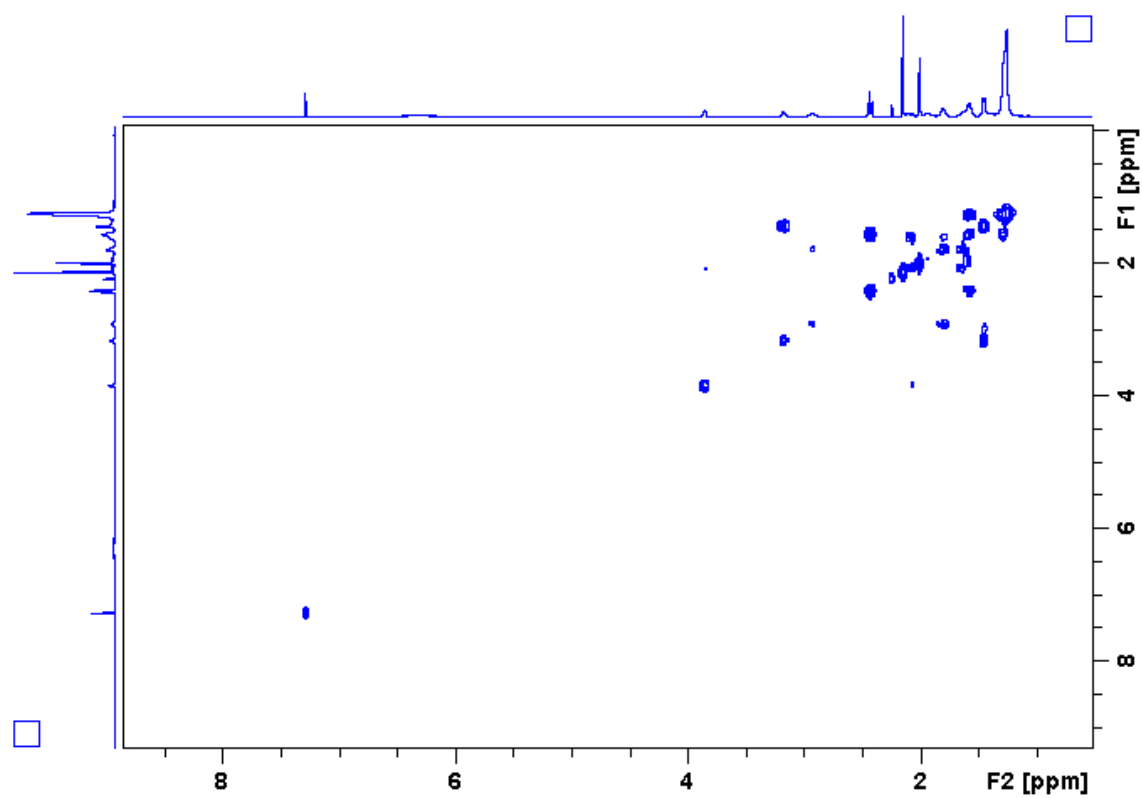
Apêndice B1. Espectro de RMN de ^1H do alcaloide **30** (400 MHz, CDCl_3).



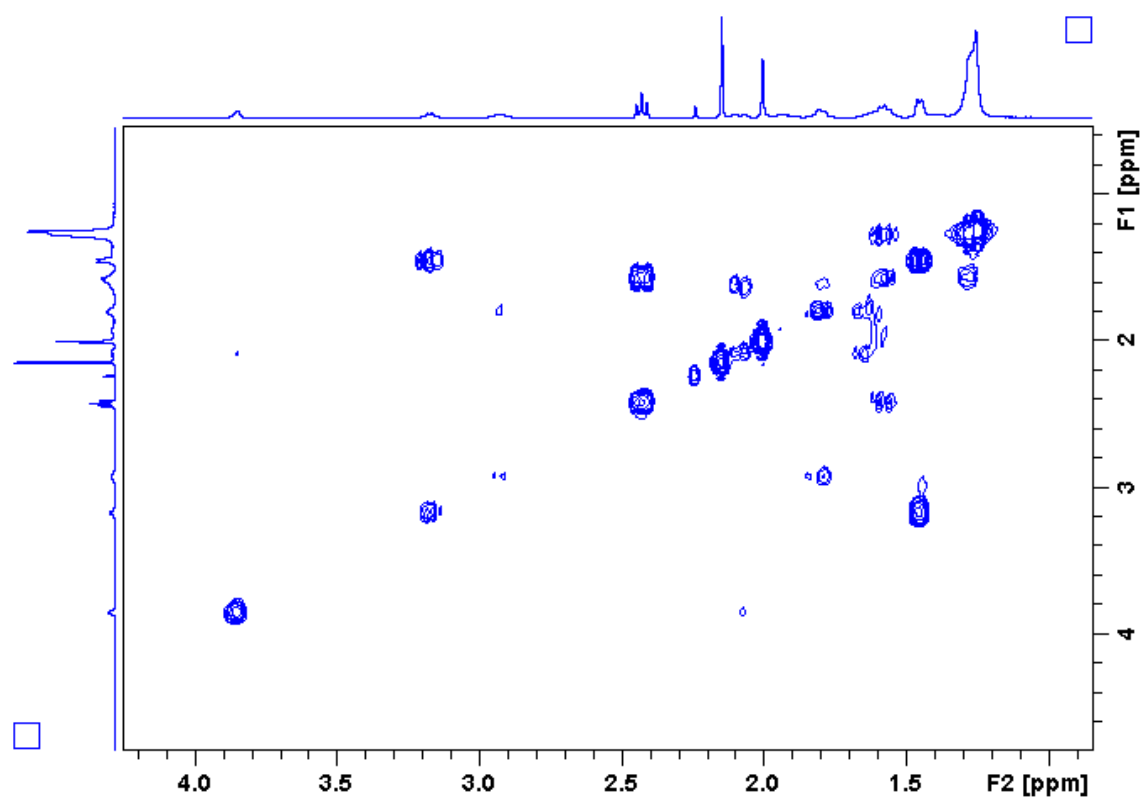
Apêndice B2. Ampliação do espectro B1 (δ 1,20–1,90) do alcaloide **30**.



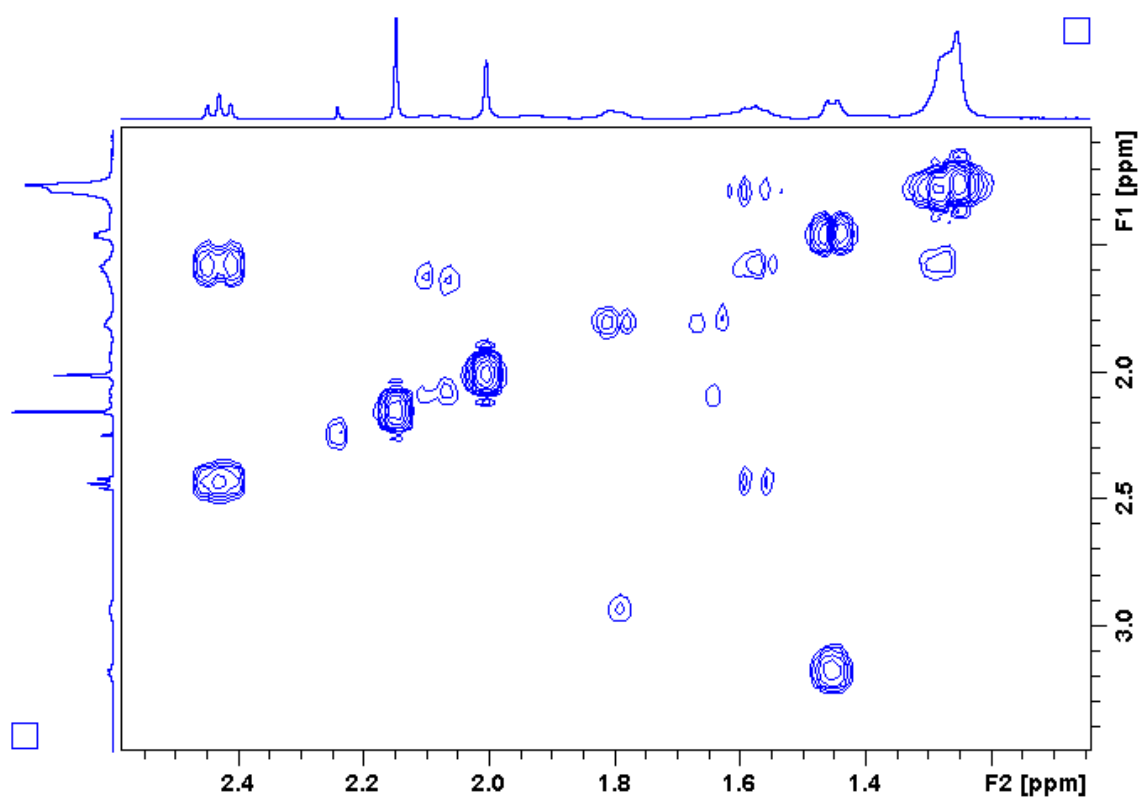
Apêndice B3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **30**.



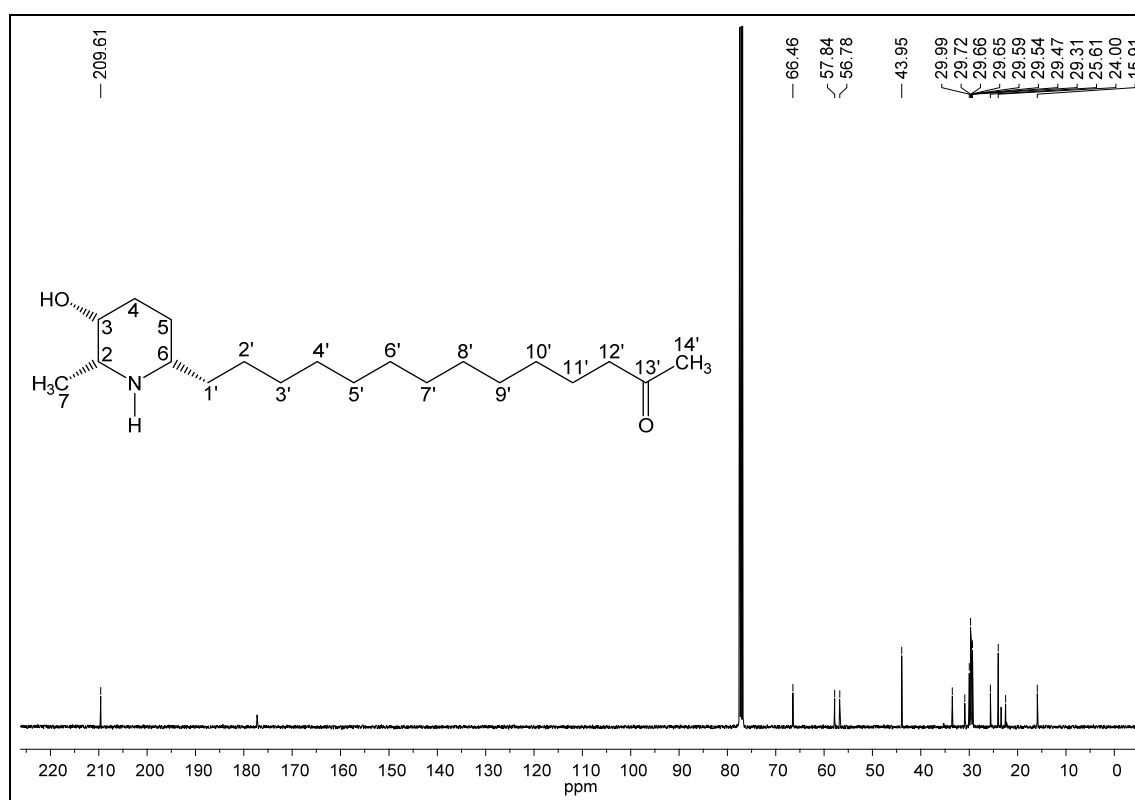
Apêndice B4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–4,0) do alcaloide **30**.



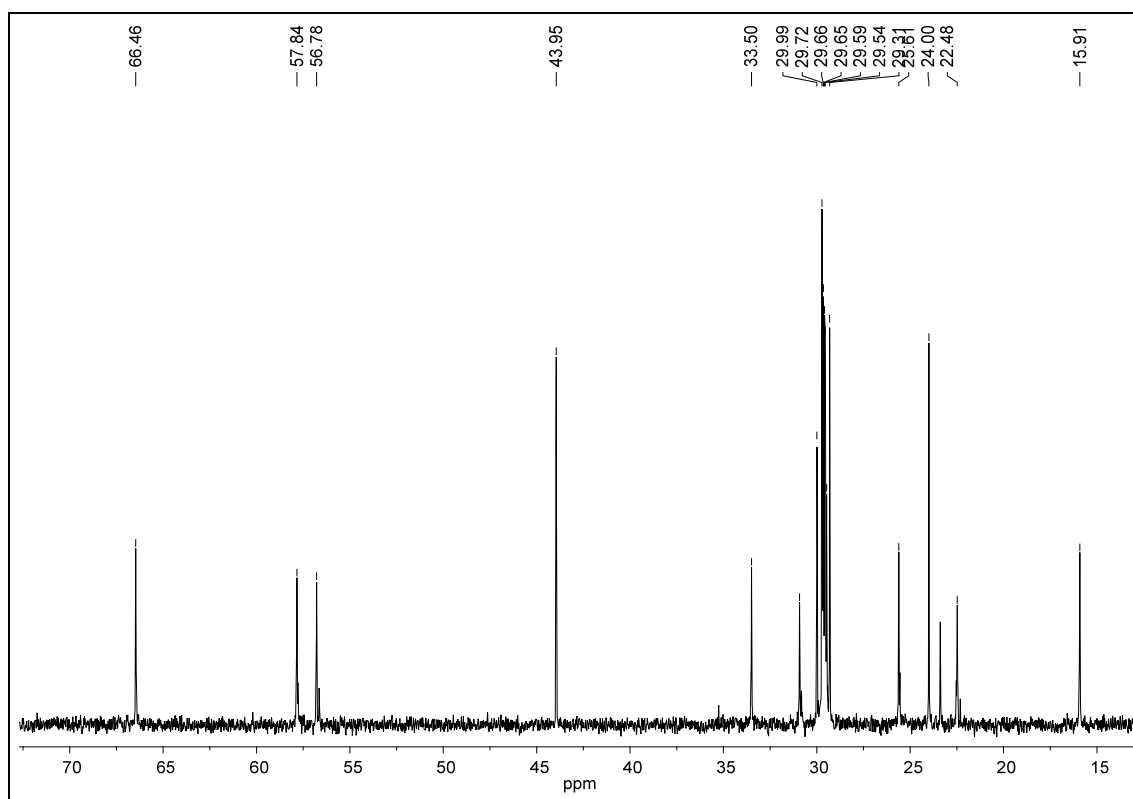
Apêndice B5. Mapa de contorno COSY (δ 1,2–2,4) do alcaloide **30**.



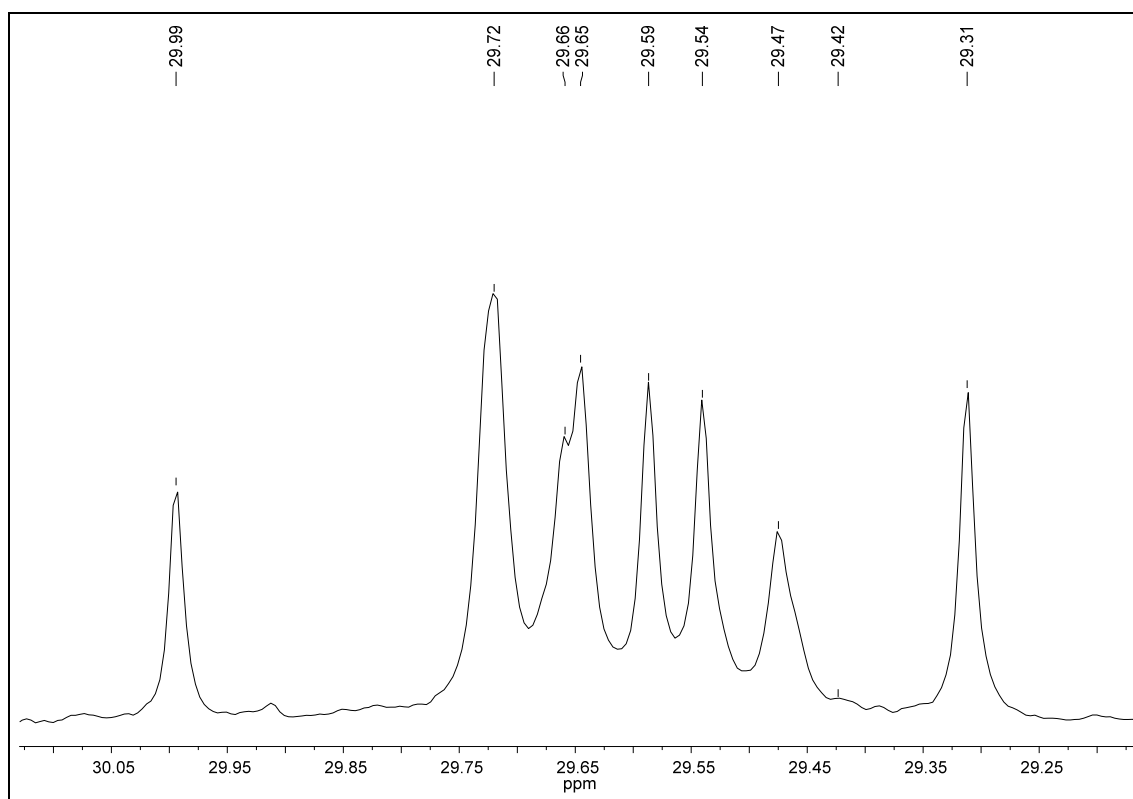
Apêndice B6. Espectro de RMN de ¹³C do alcaloide **30** (100 MHz, CDCl₃).



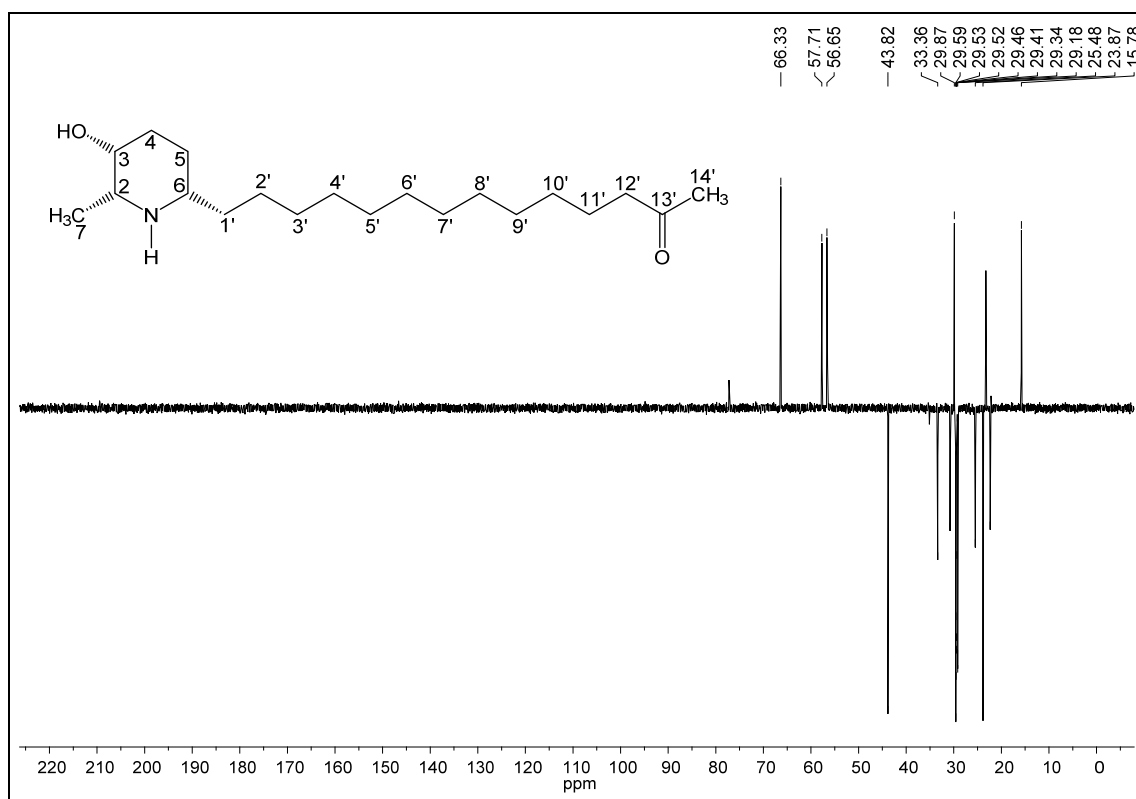
Apêndice B7. Ampliação do espectro B6 (δ 14,0–74,0) do alcaloide **30**.



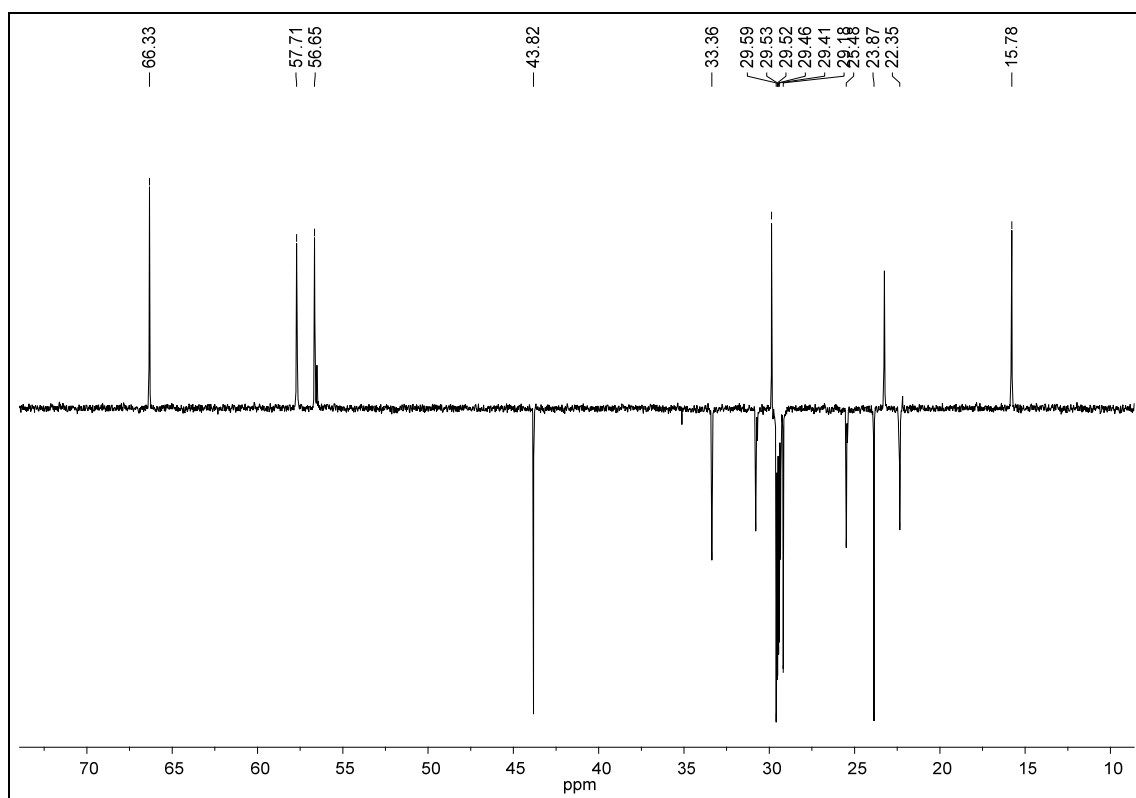
Apêndice B8. Ampliação do espectro B7 (δ 29,25–30,05) do alcaloide **30**.



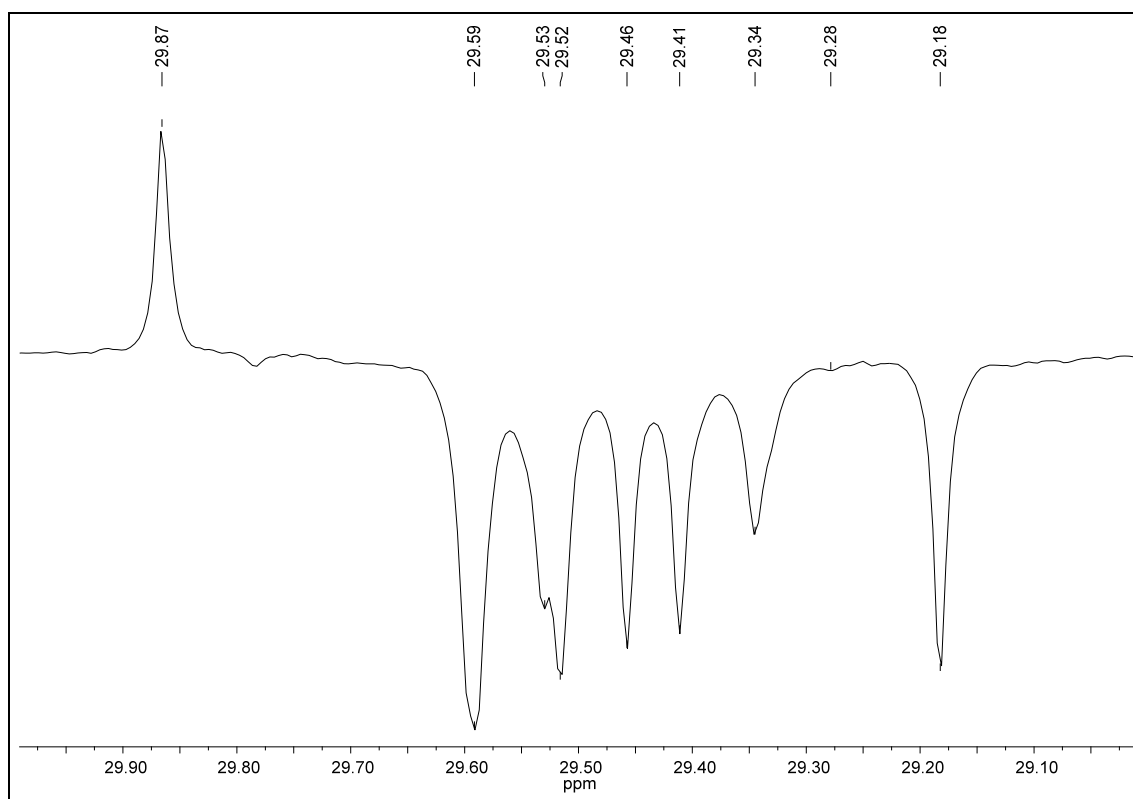
Apêndice B9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do alcaloide **30**.



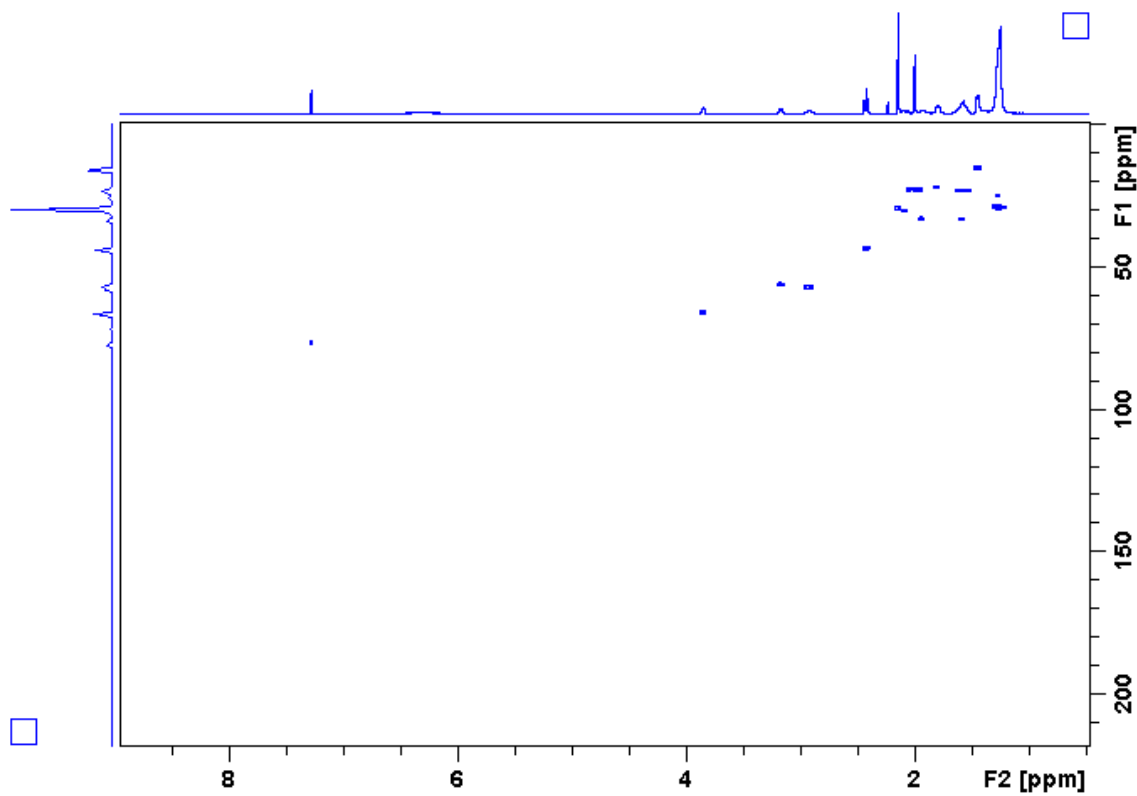
Apêndice B10. Ampliação do espectro B9 (δ 16,0–72,0) do alcaloide **30**.



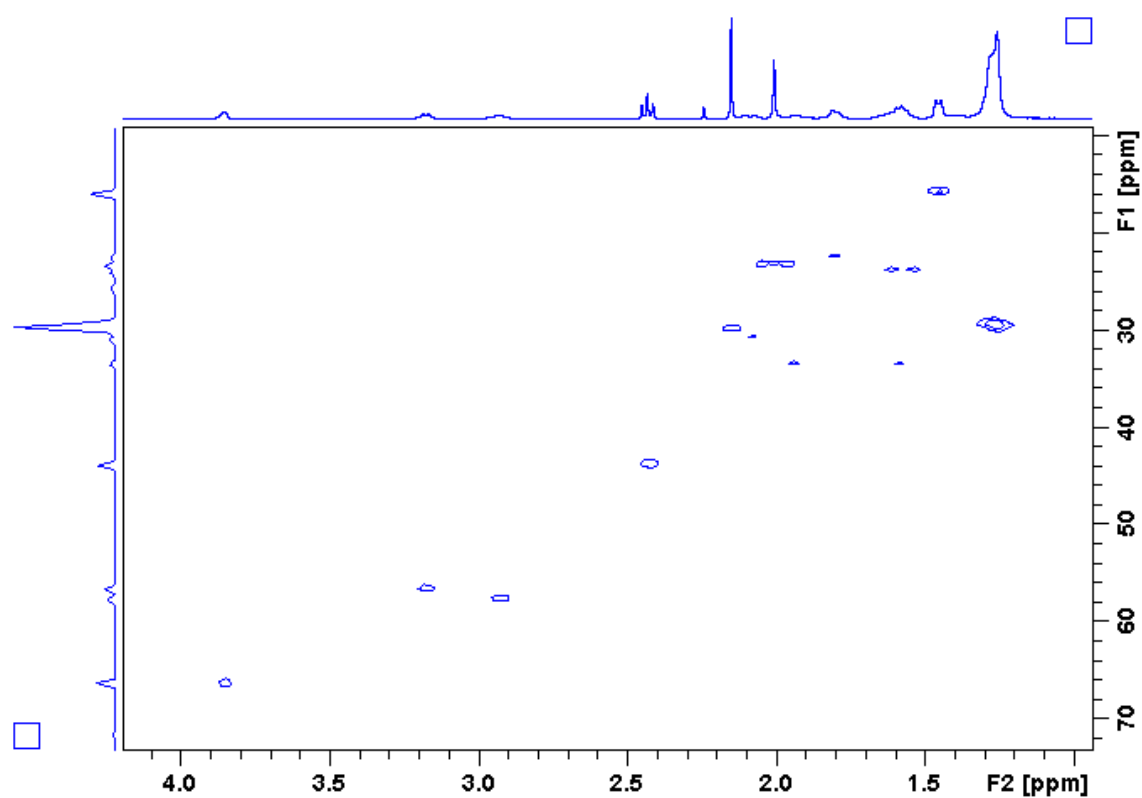
Apêndice B11. Ampliação do espectro B10 (δ 29,1–29,9) do alcaloide **30**.



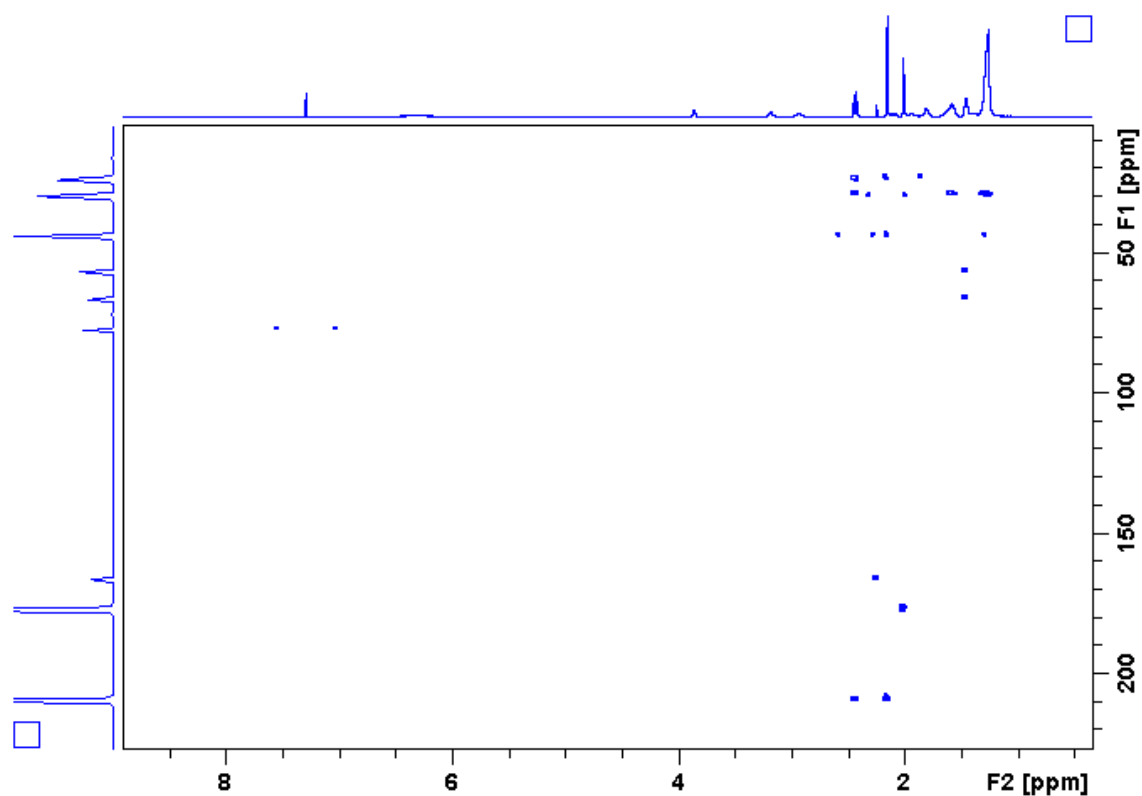
Apêndice B12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **30**.



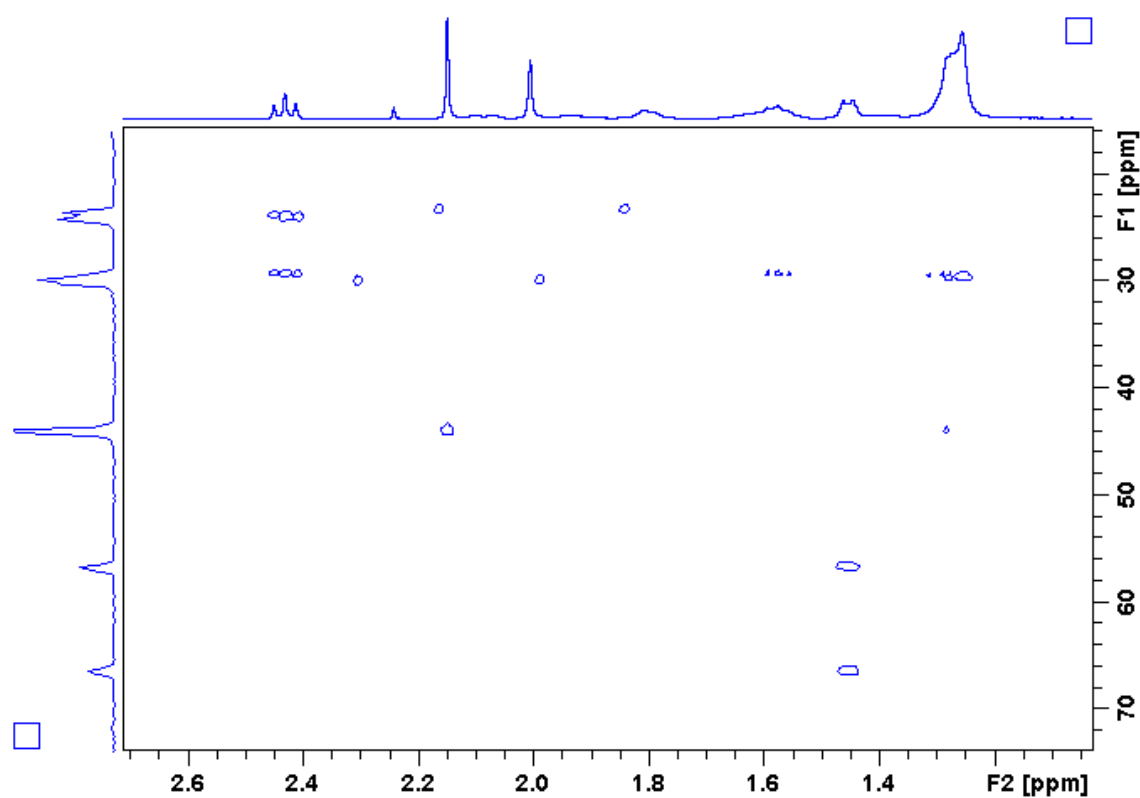
Apêndice B13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **30**.



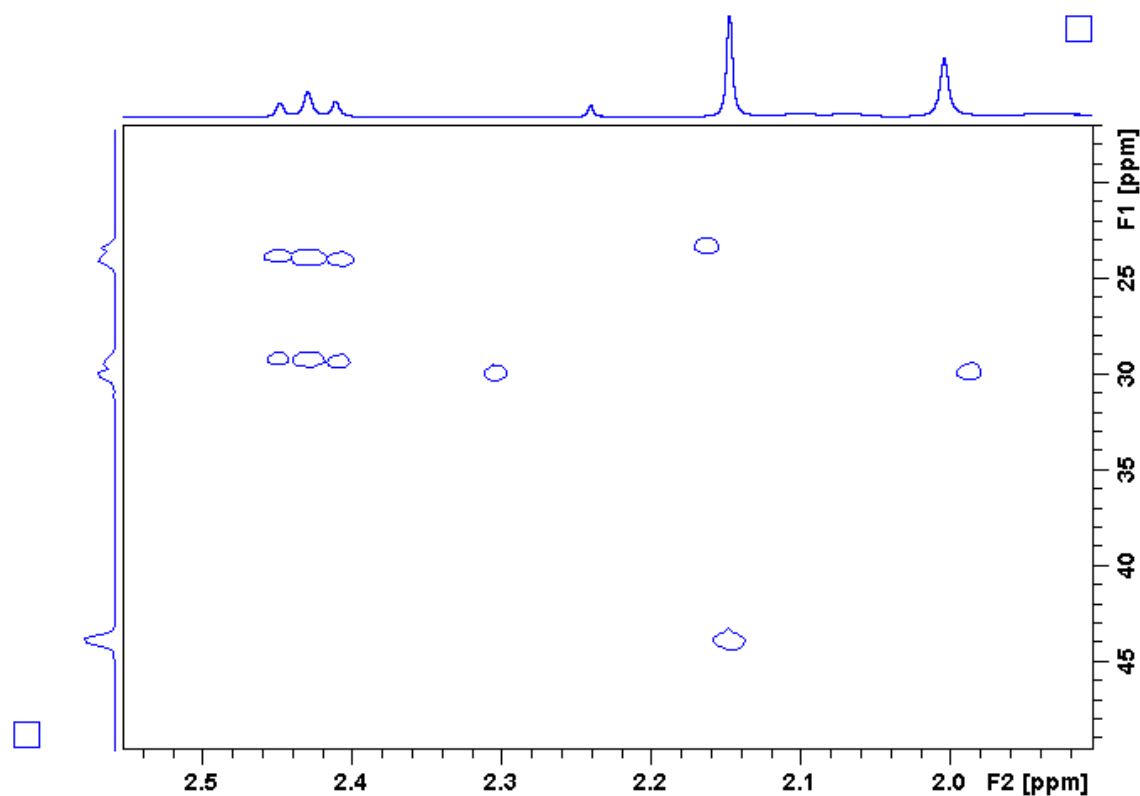
Apêndice B14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **30**.



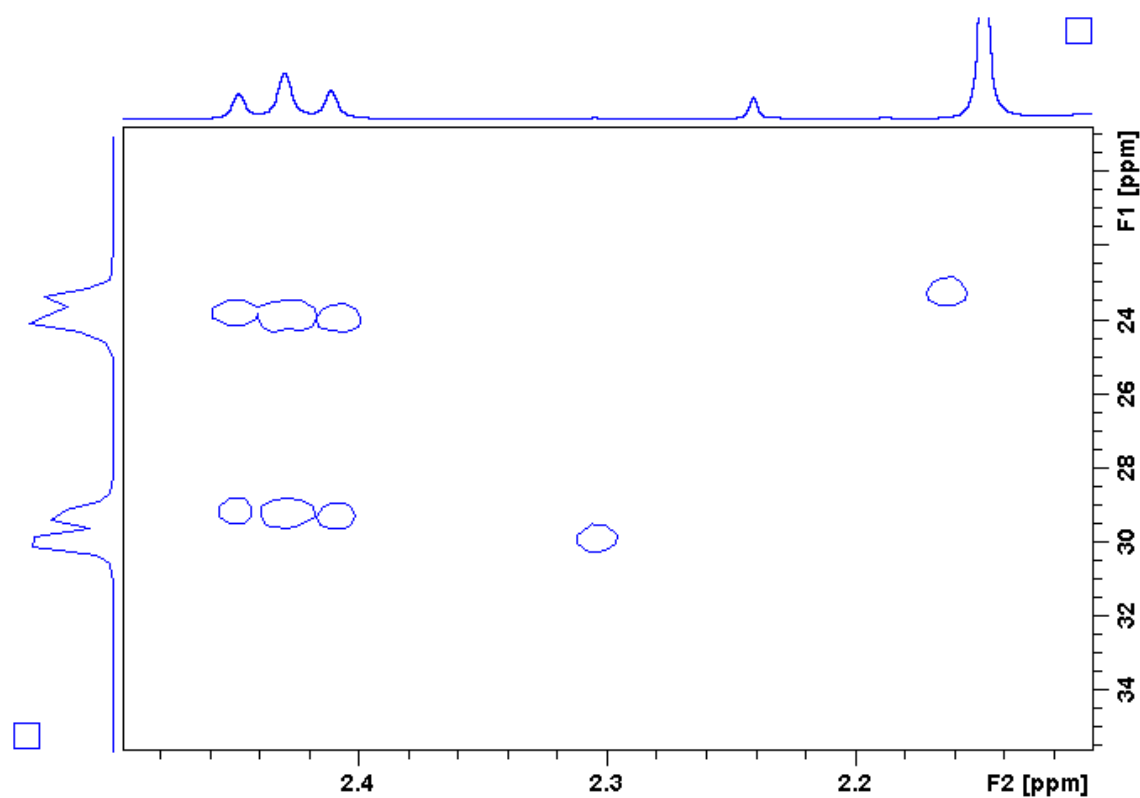
Apêndice B15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **30**.



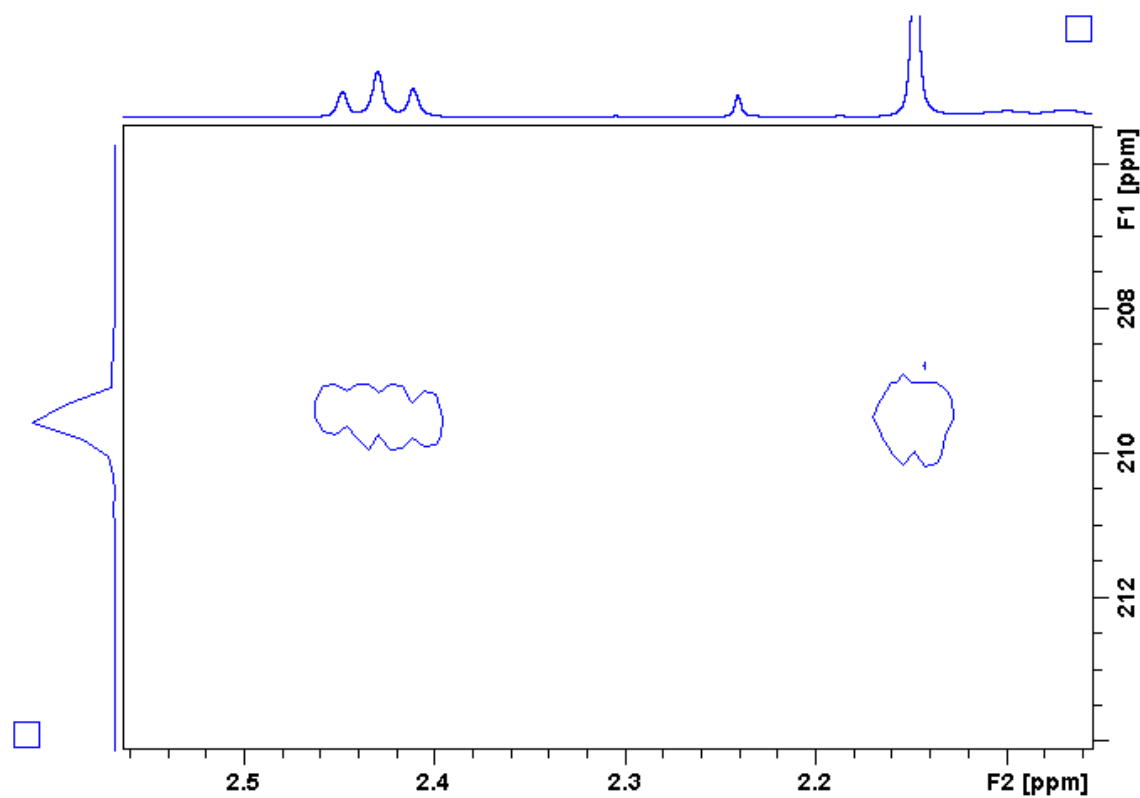
Apêndice B16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–50,0) do alcaloide **30**.



Apêndice B17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–34,0) do alcaloide **30**.

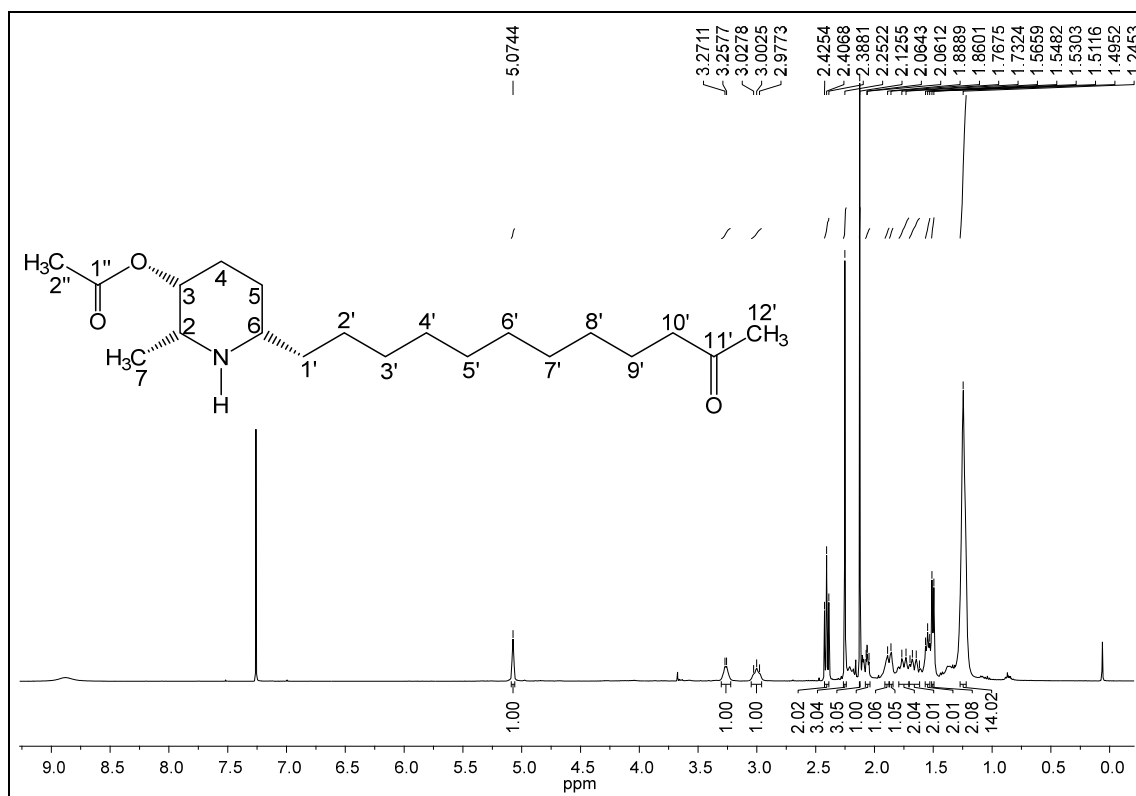


Apêndice B18. Mapa de contorno HMBC (δ 208,0–214,0) do alcaloide **30**.

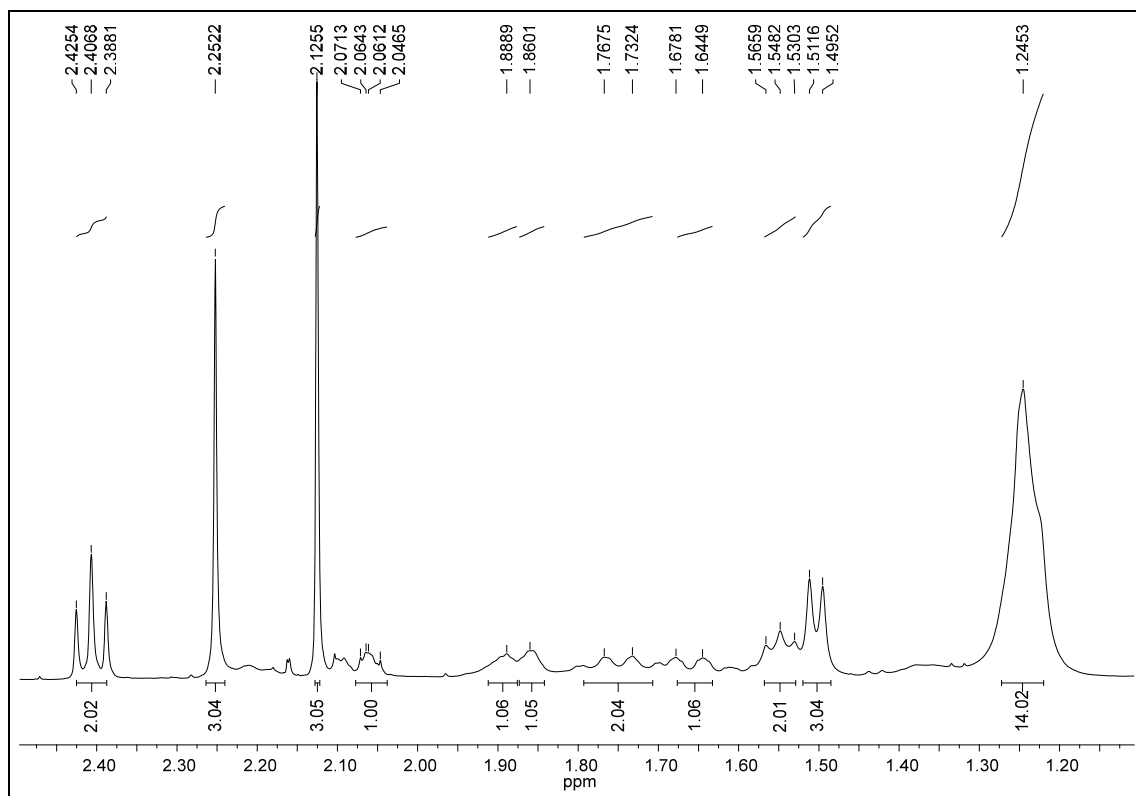


APÊNDICE C

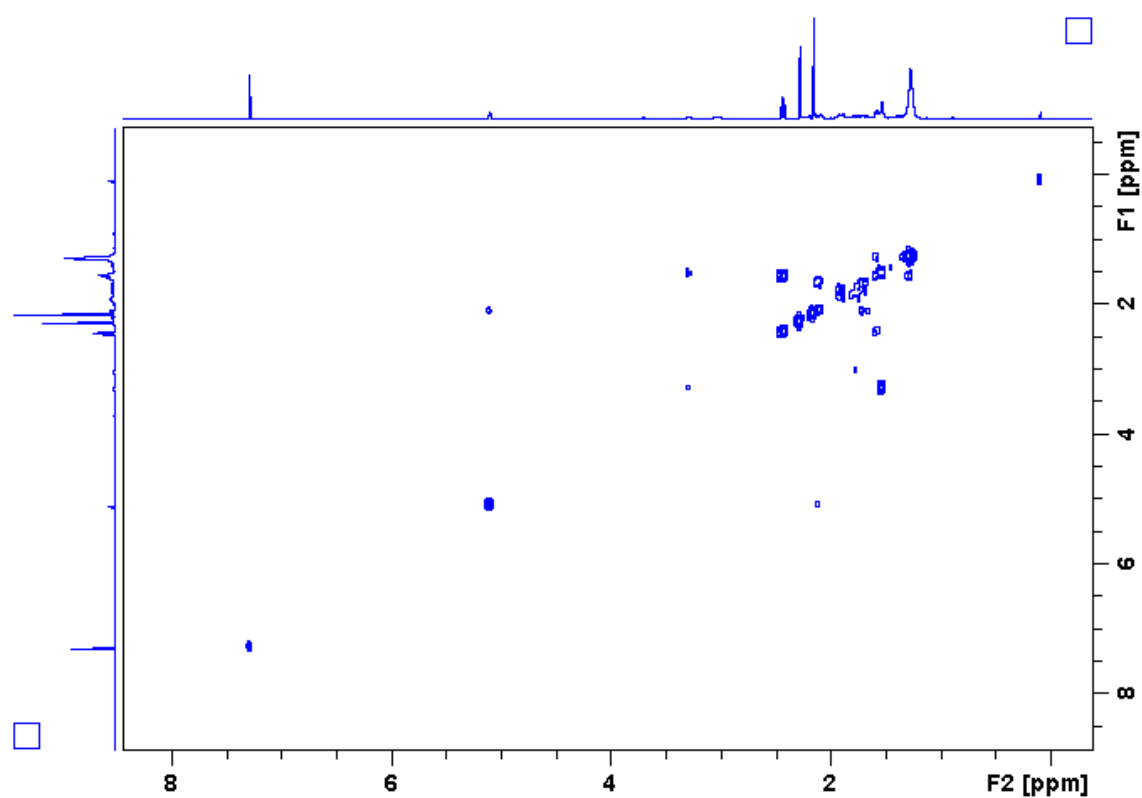
Apêndice C1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **45** (400 MHz, CDCl_3).



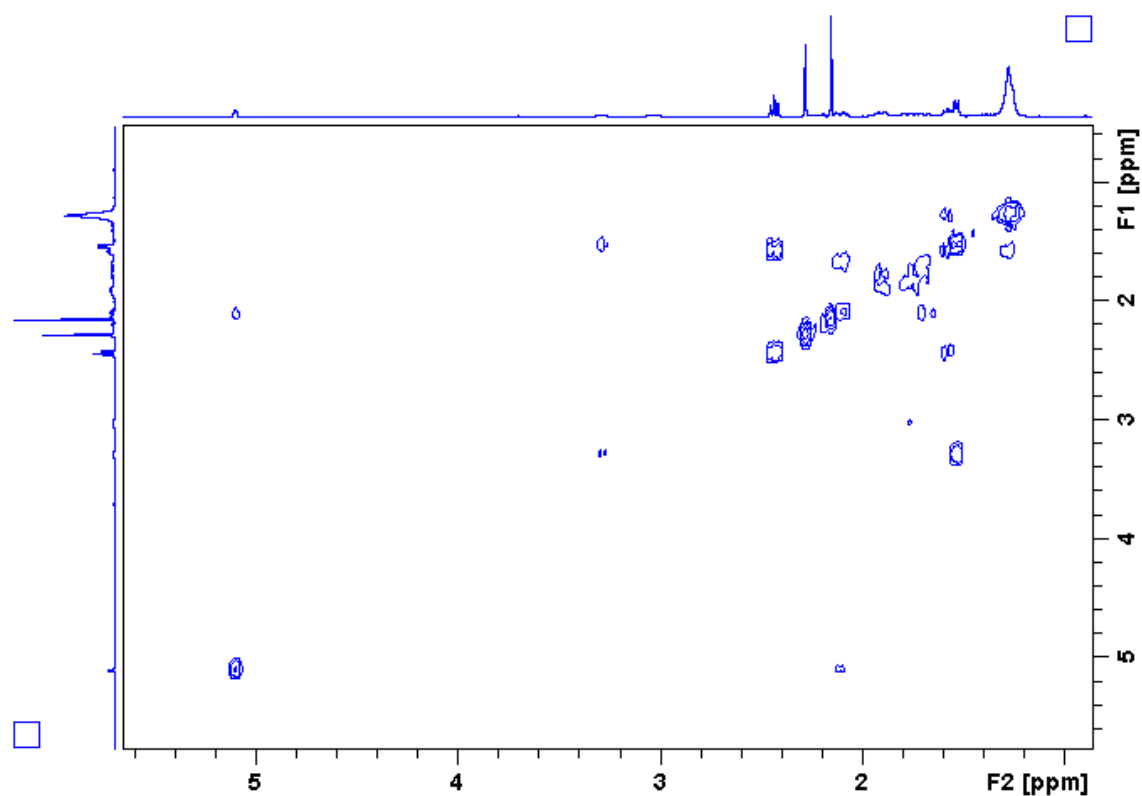
Apêndice C2. Ampliação do espectro C1 (δ 1,20–2,40) do derivado **45**.



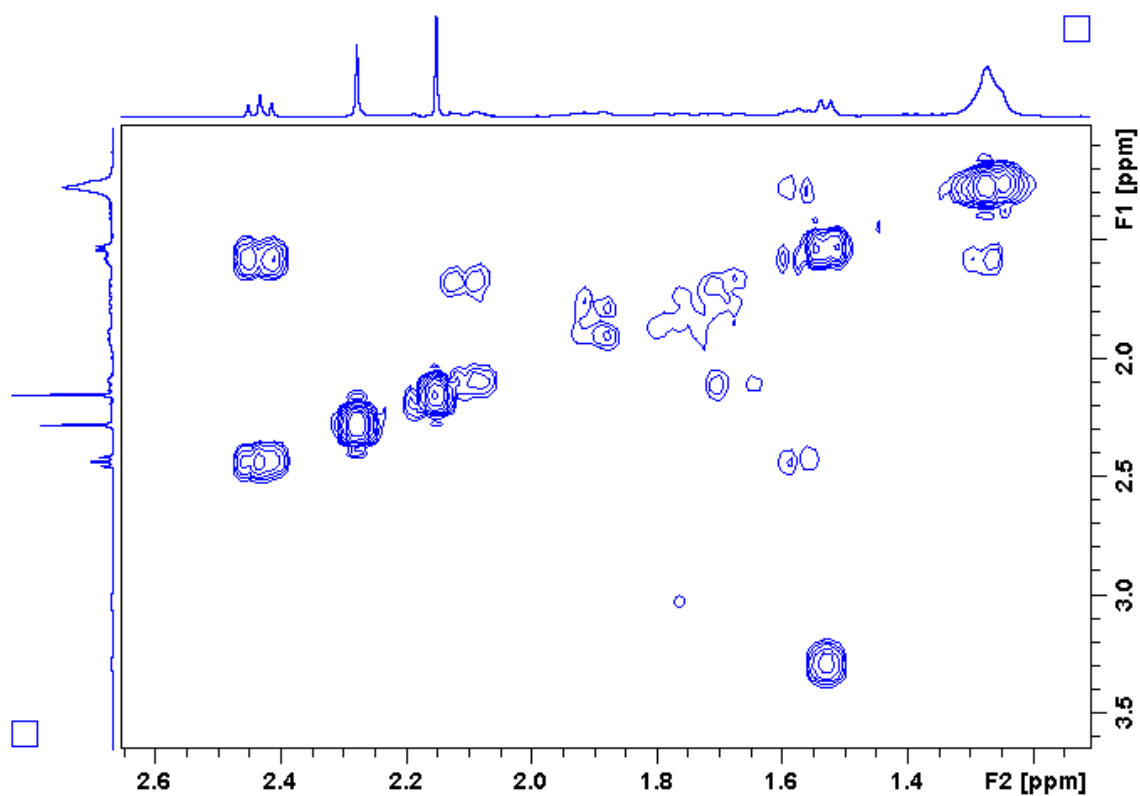
Apêndice C3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **45**.



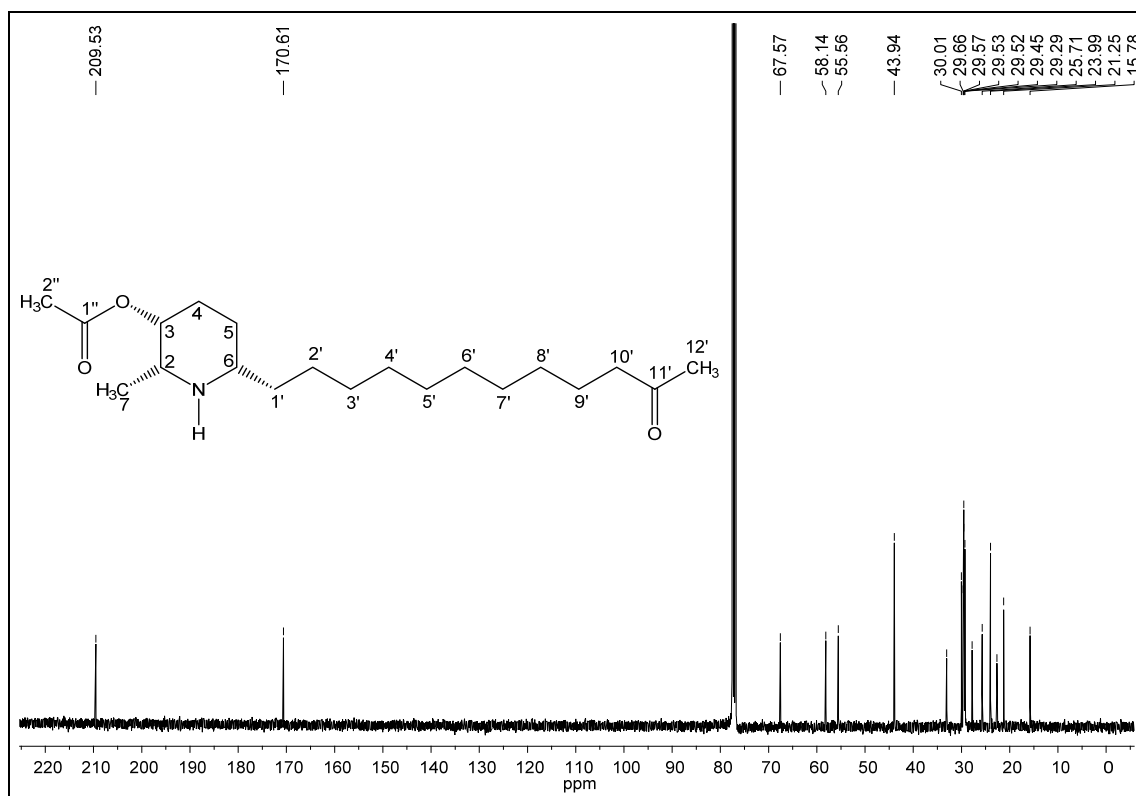
Apêndice C4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,5,0) do alcaloide **45**.



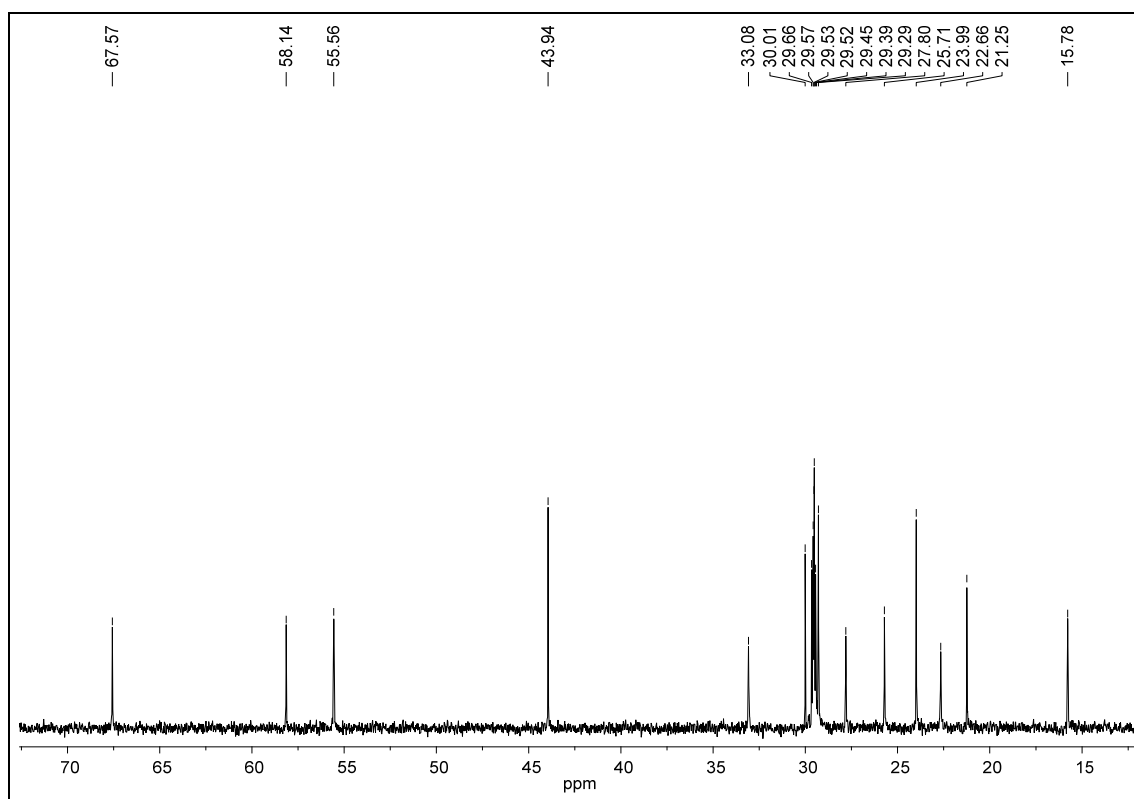
Apêndice C5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **45**.



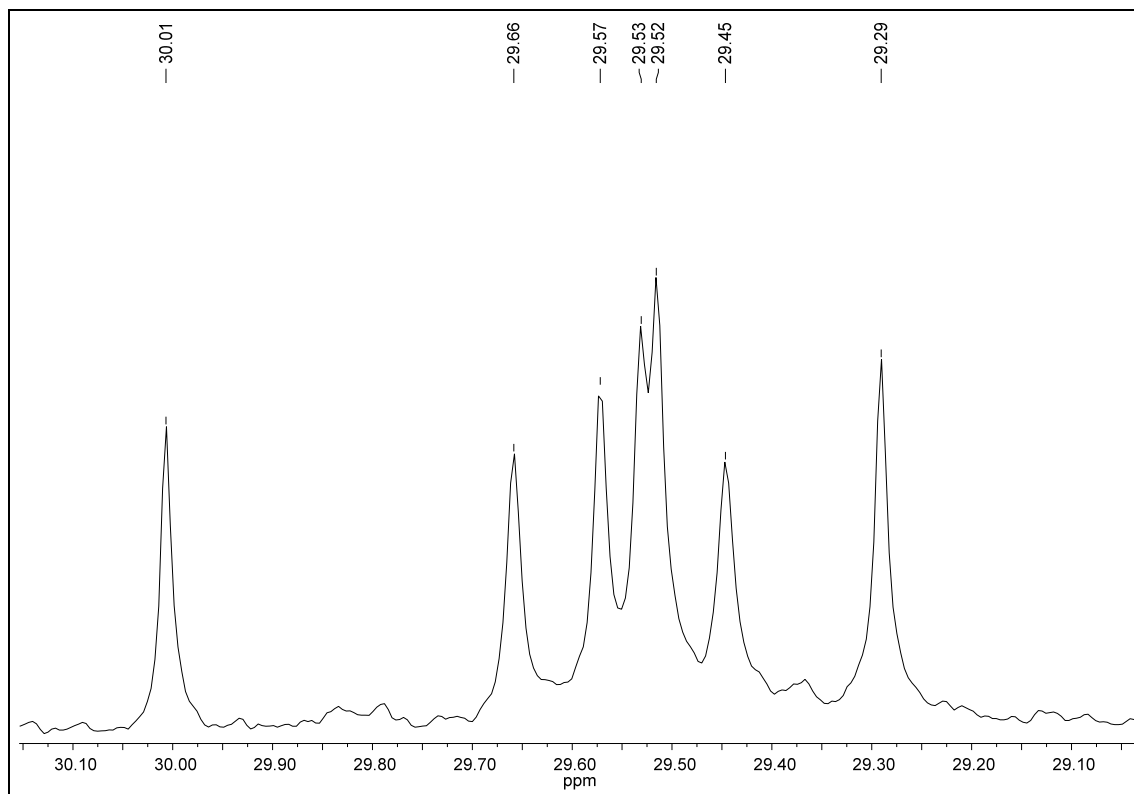
Apêndice C6. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **45** (100 MHz, CDCl_3).



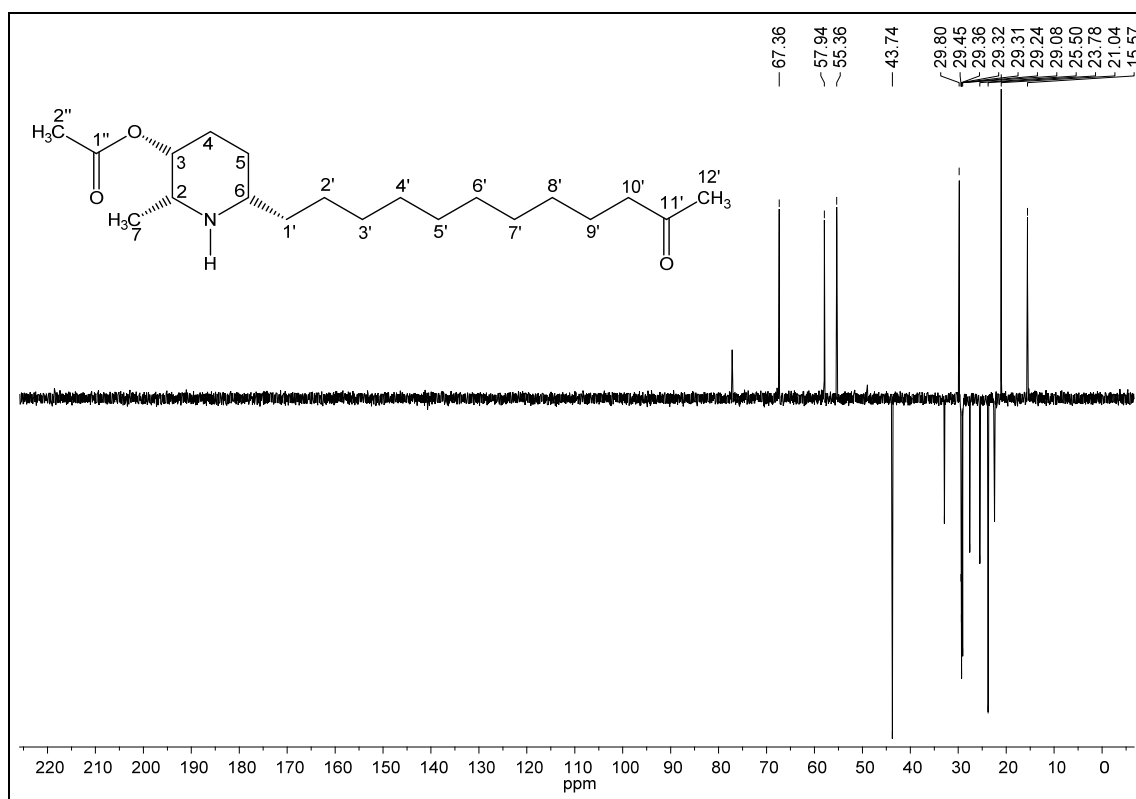
Apêndice C7. Ampliação do espectro C6 (δ 15,0–70,0) do derivado **45**.



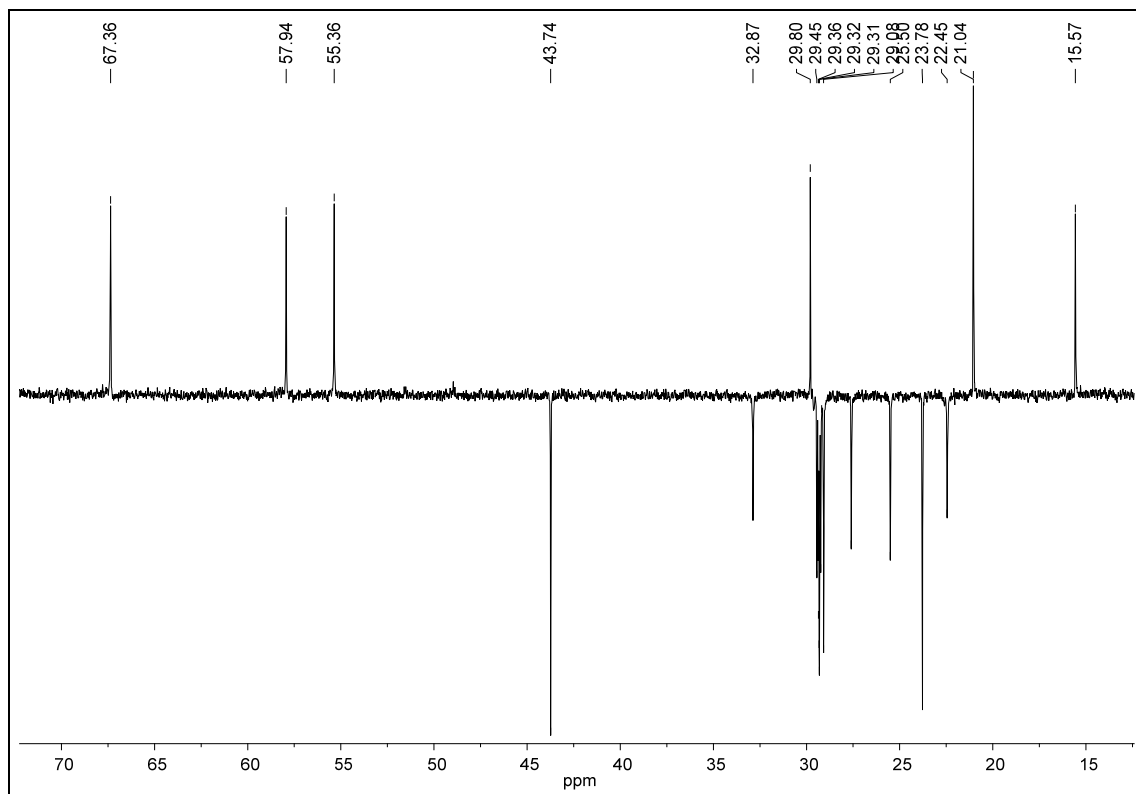
Apêndice C8. Ampliação do espectro C7 (δ 29,1–30,1) do derivado **45**.



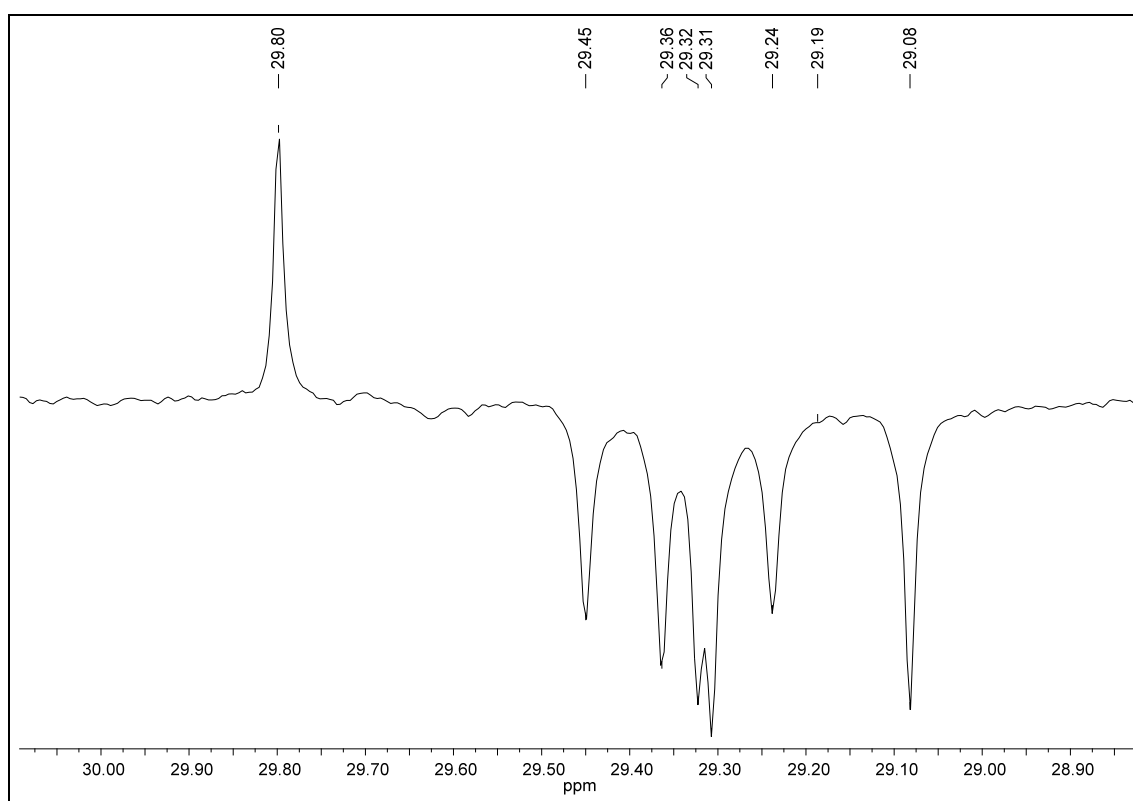
Apêndice C9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **45**.



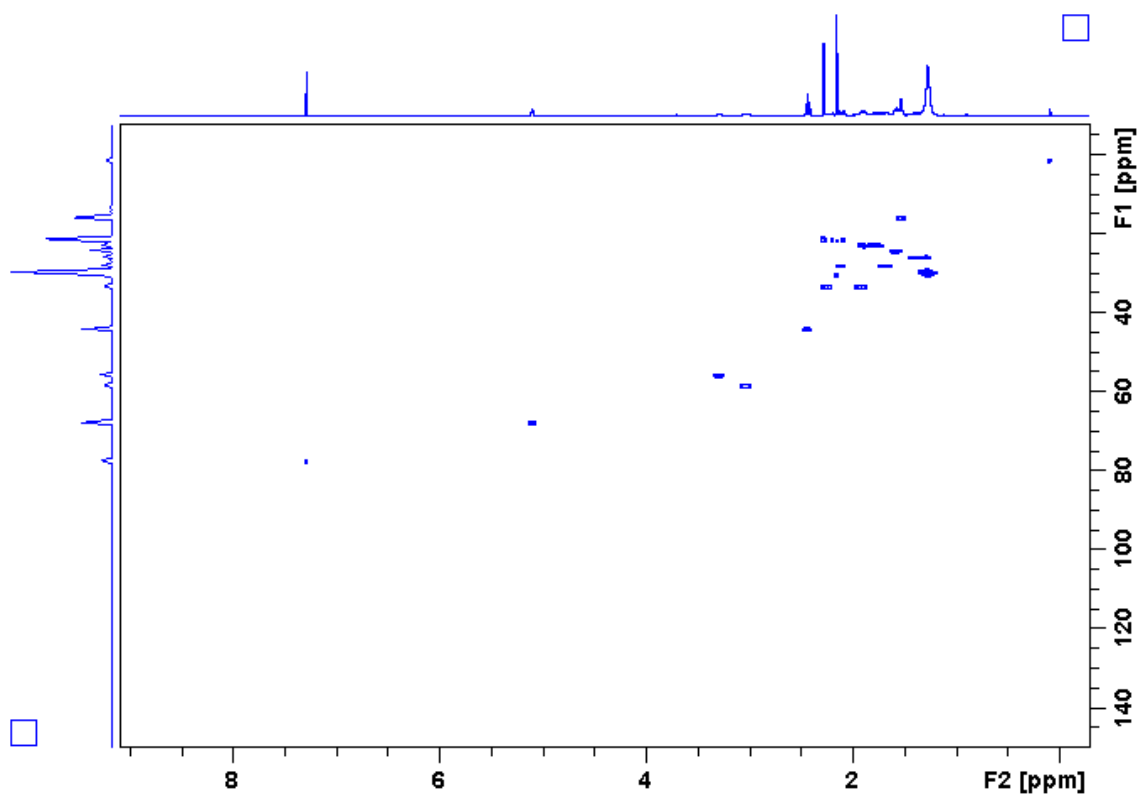
Apêndice C10. Ampliação do espectro C9 (δ 15,0–70,0) do derivado **45**.



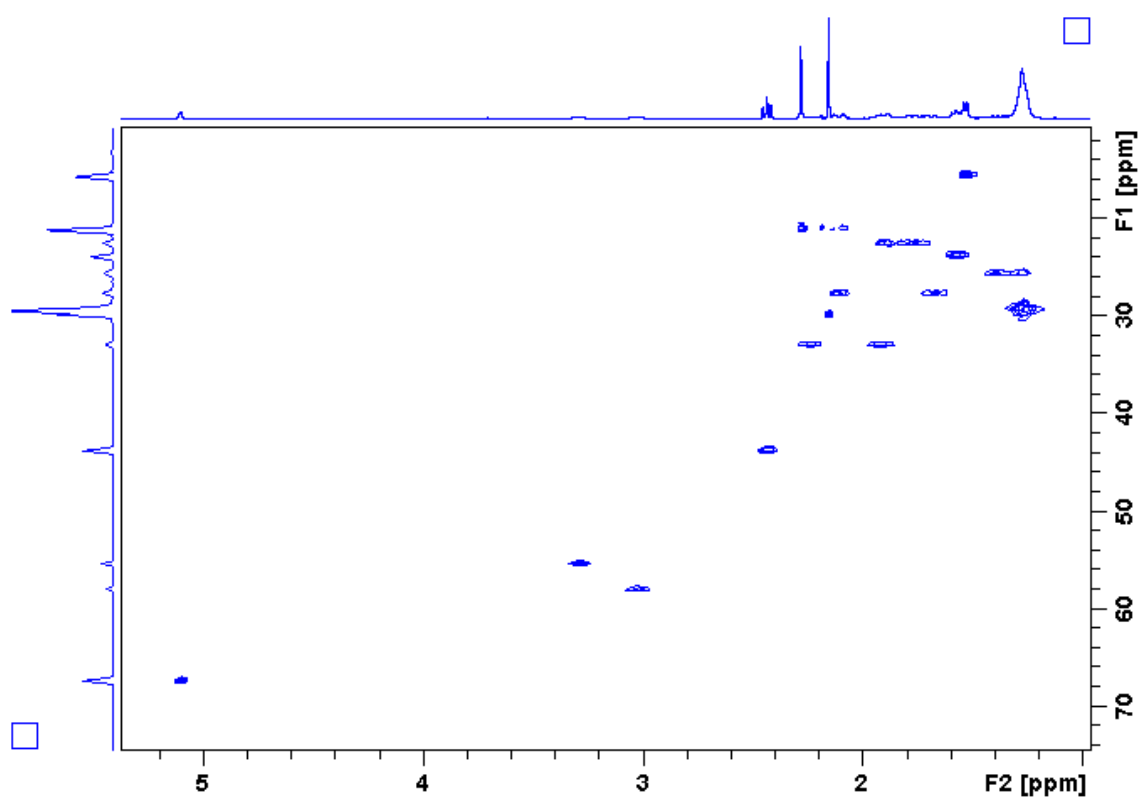
Apêndice C11. Ampliação do espectro C10 (δ 28,9–30,0) do derivado **45**.



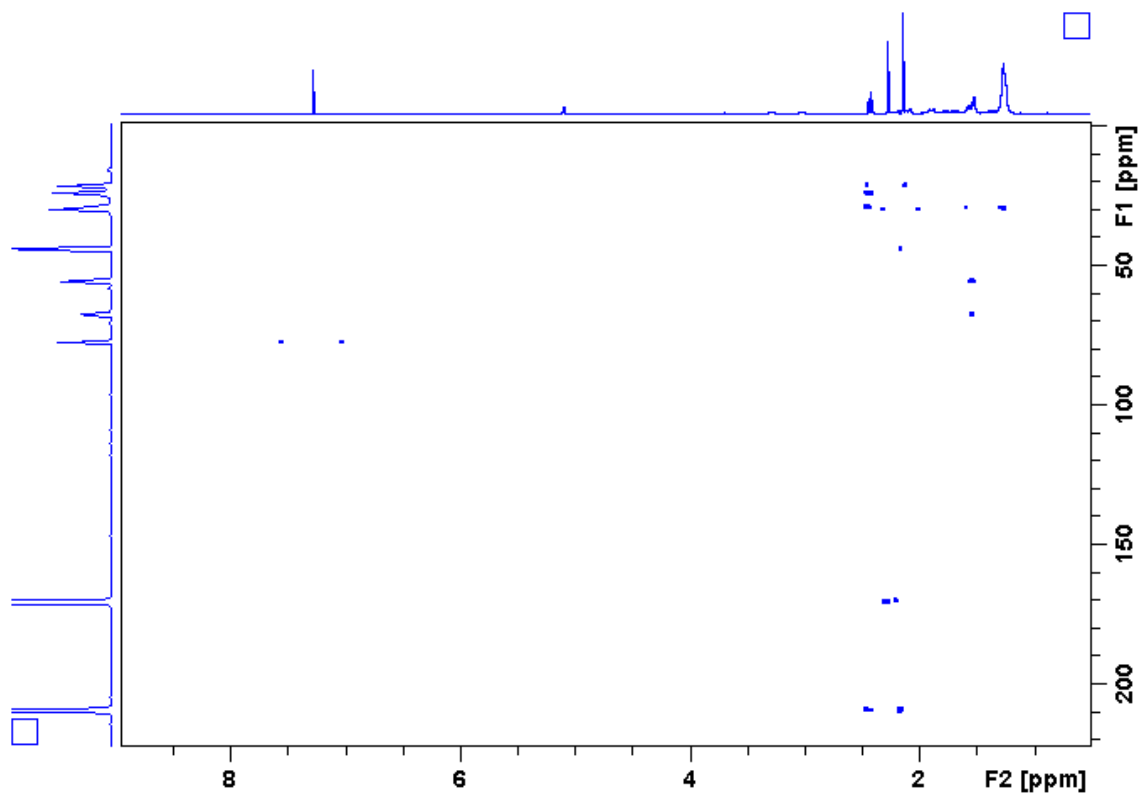
Apêndice C12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **45**.



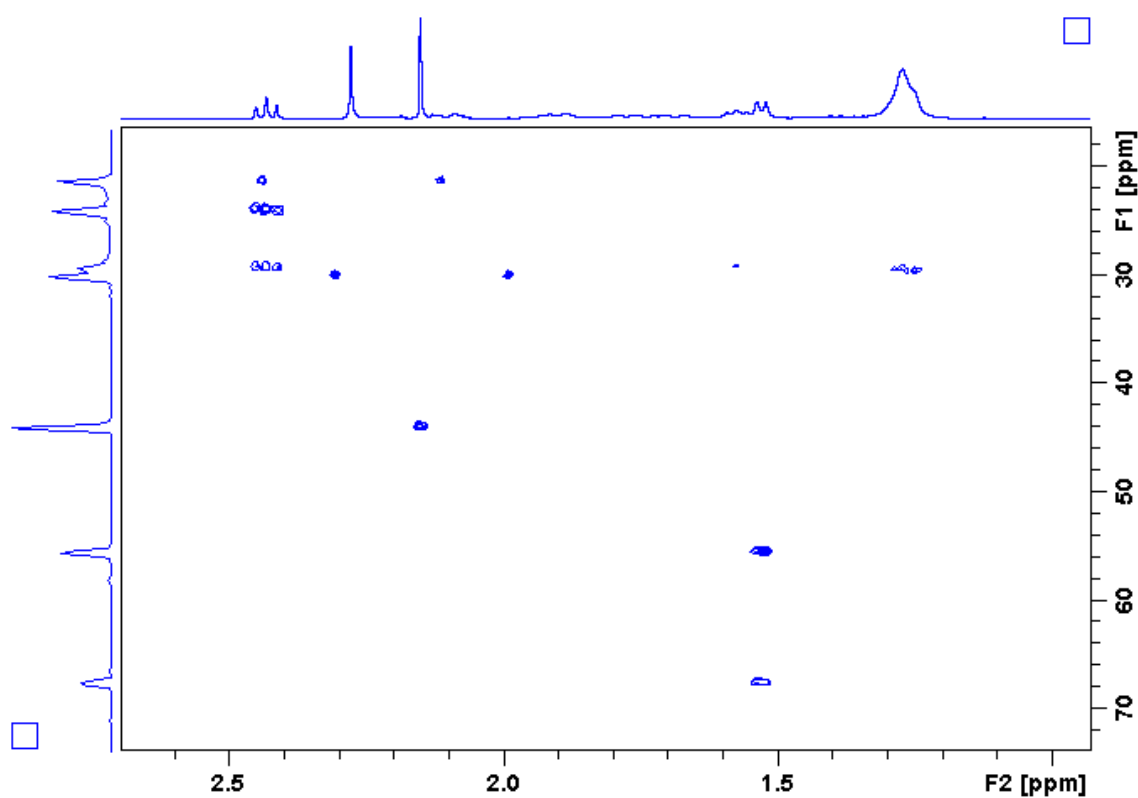
Apêndice C13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **45**.



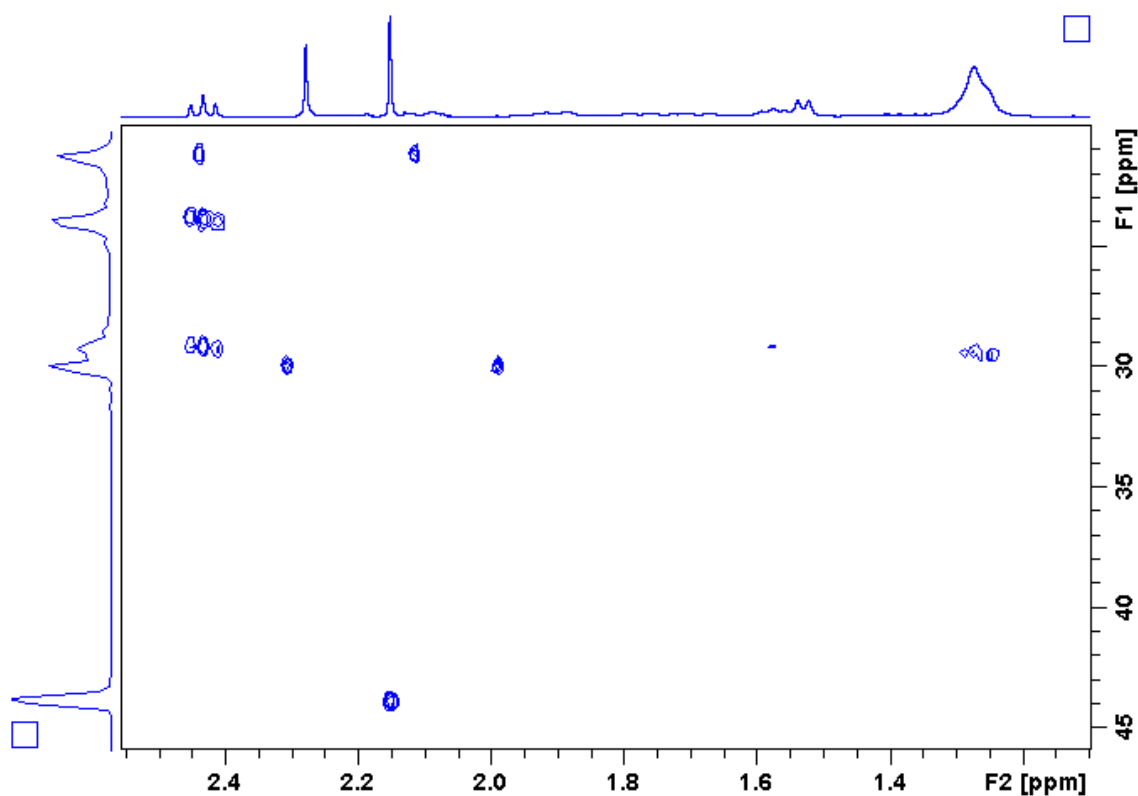
Apêndice C14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **45**.



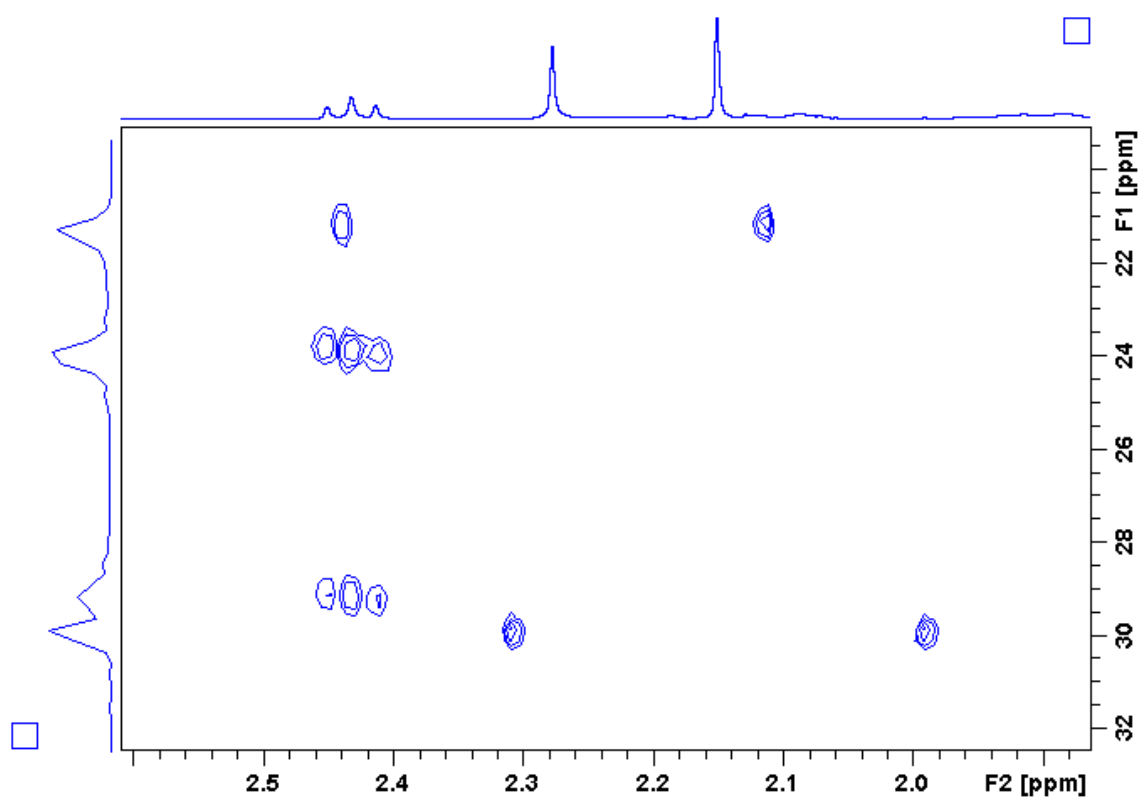
Apêndice C15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **45**.



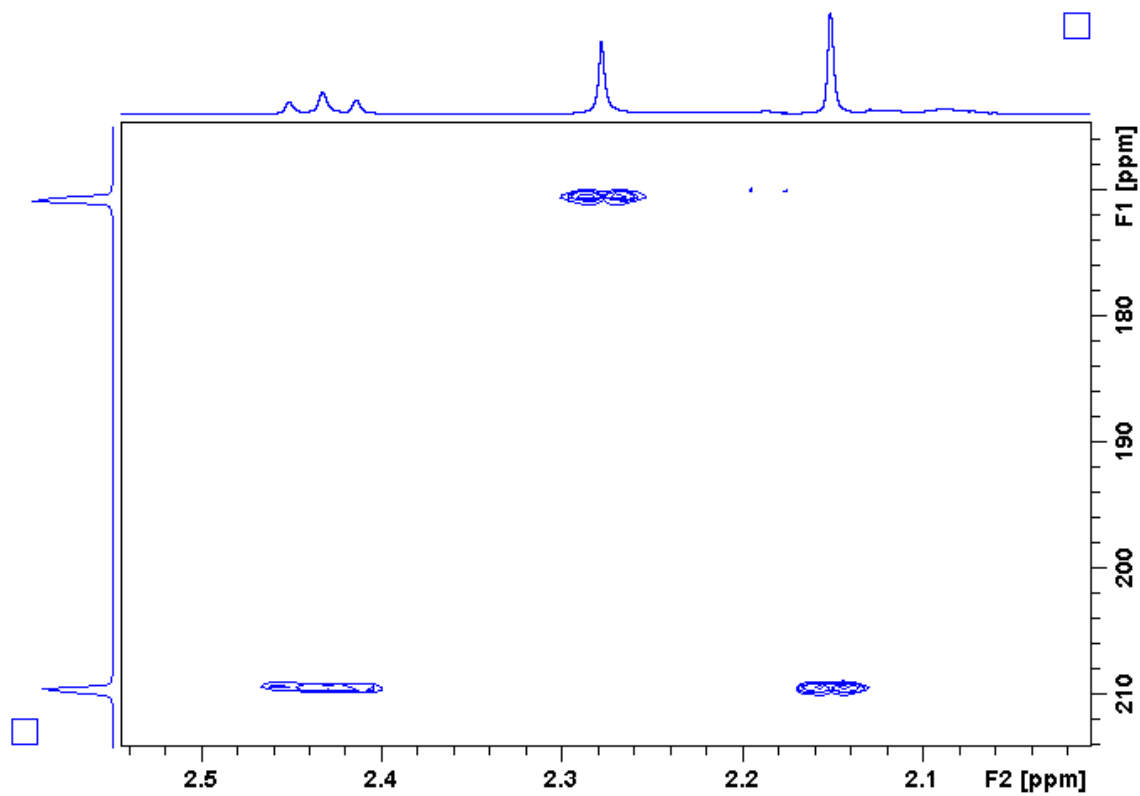
Apêndice C16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **45**.



Apêndice C17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–32,0) do alcaloide **45**.

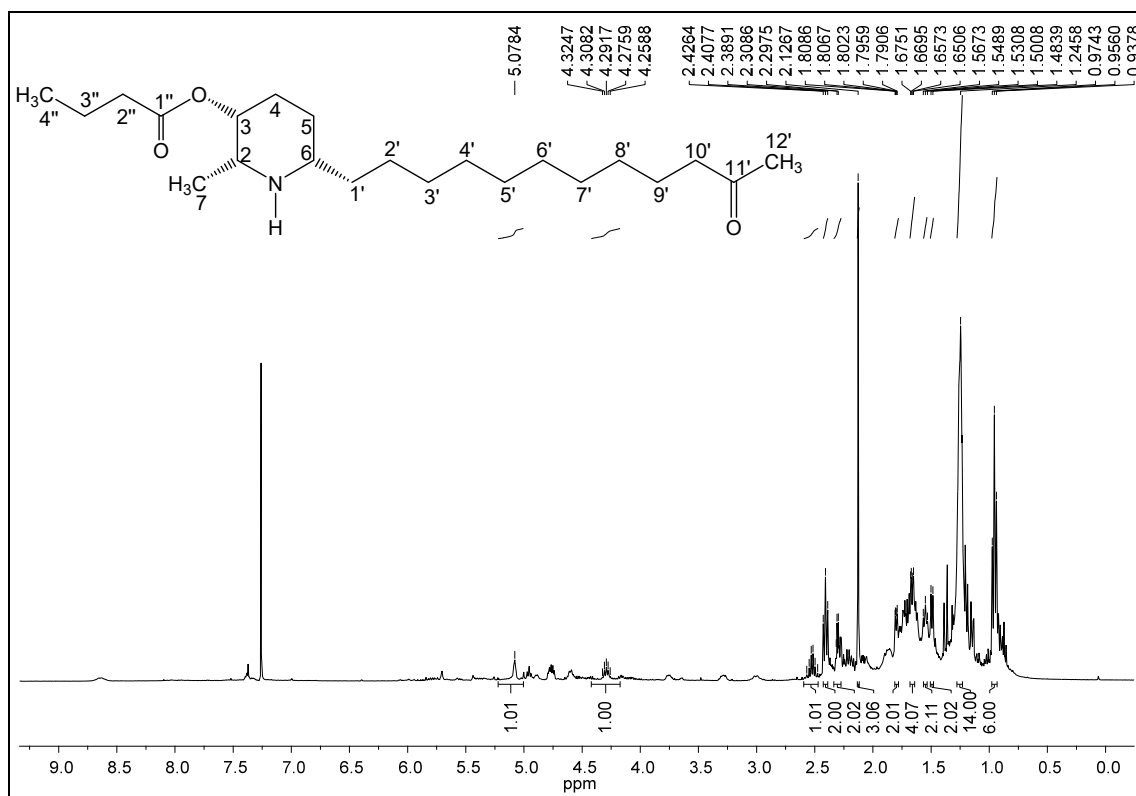


Apêndice C18. Mapa de contorno HMBC (δ 170,0–210,0) do alcaloide **45**.

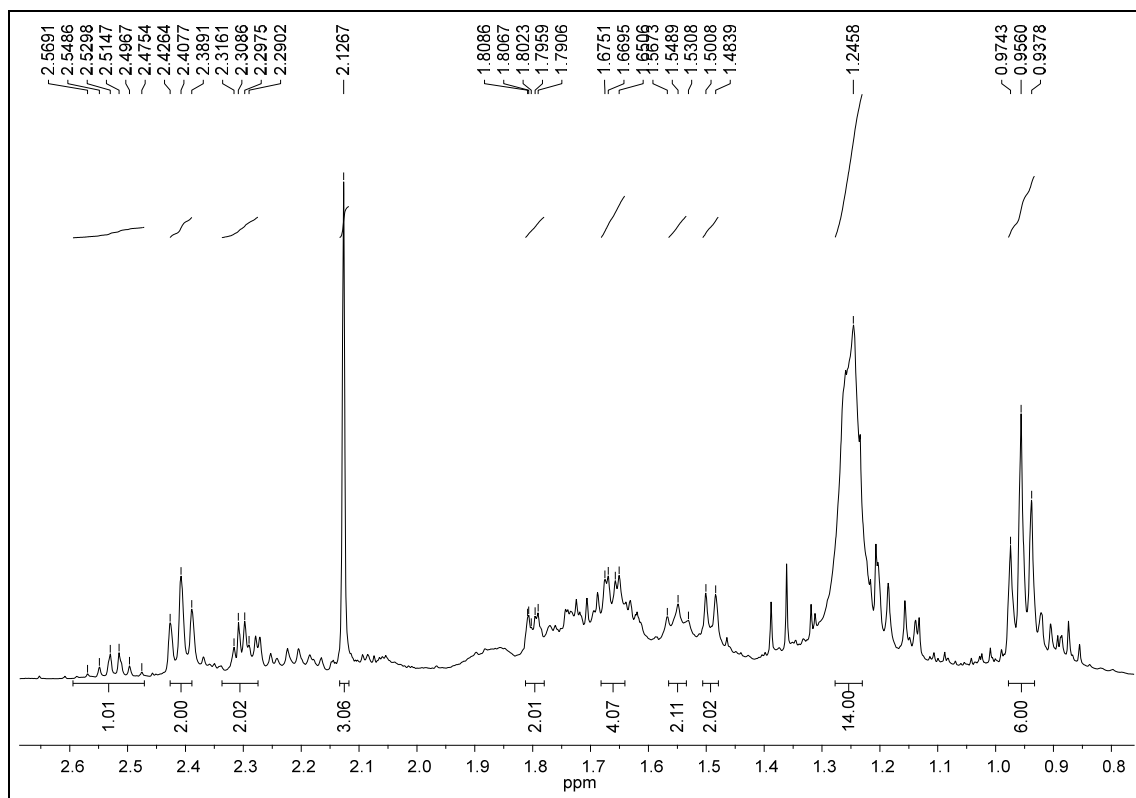


APÊNDICE D

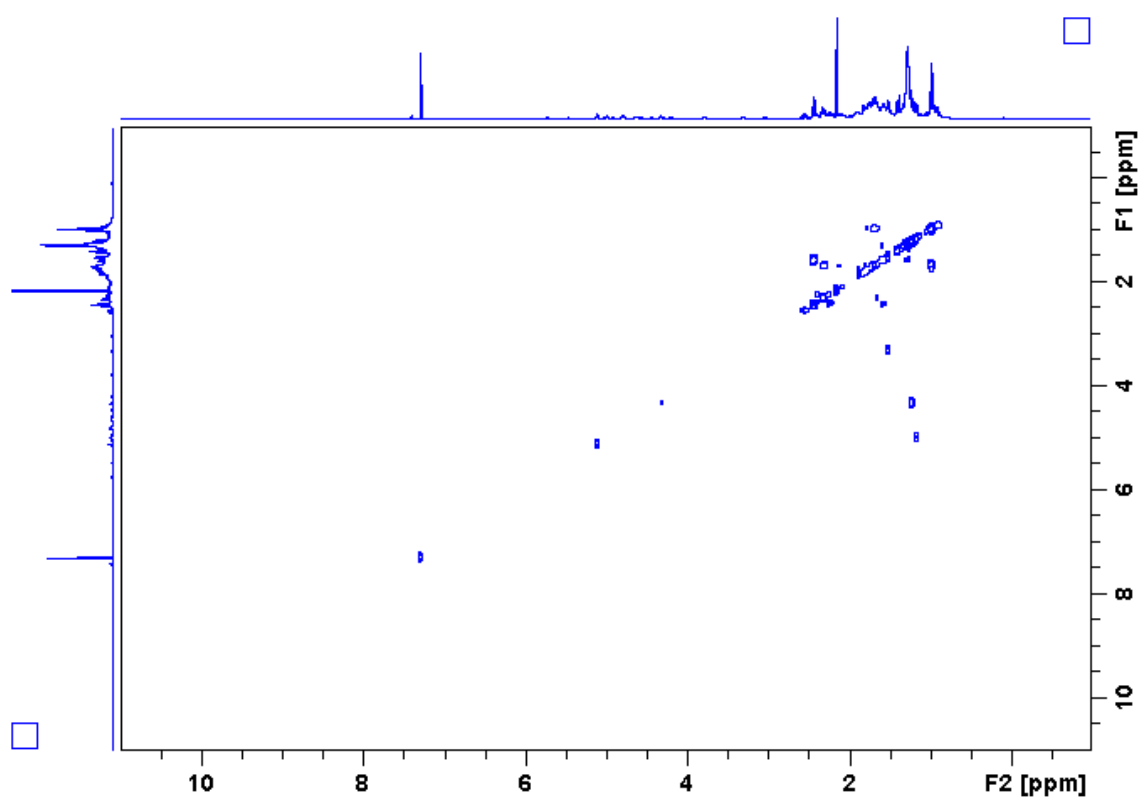
Apêndice D1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **46** (400 MHz, CDCl_3).



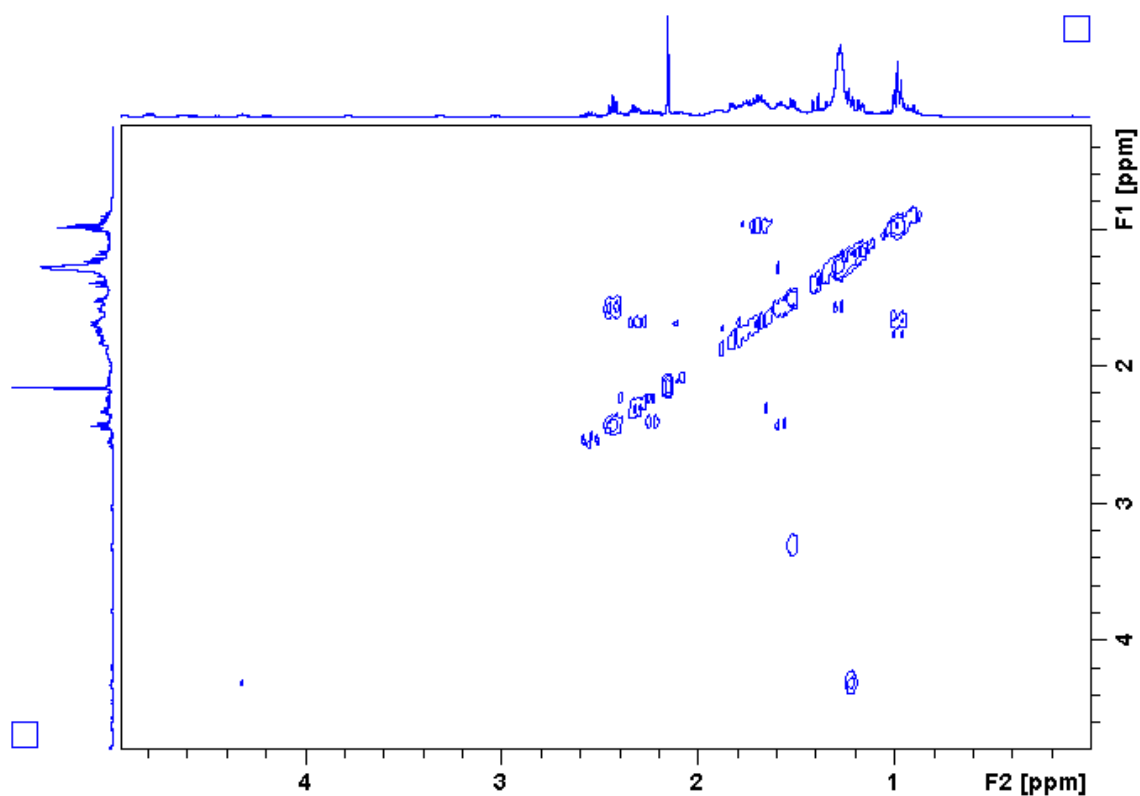
Apêndice D2. Ampliação do espectro D1 (δ 0,8–2,6) do derivado **46**.



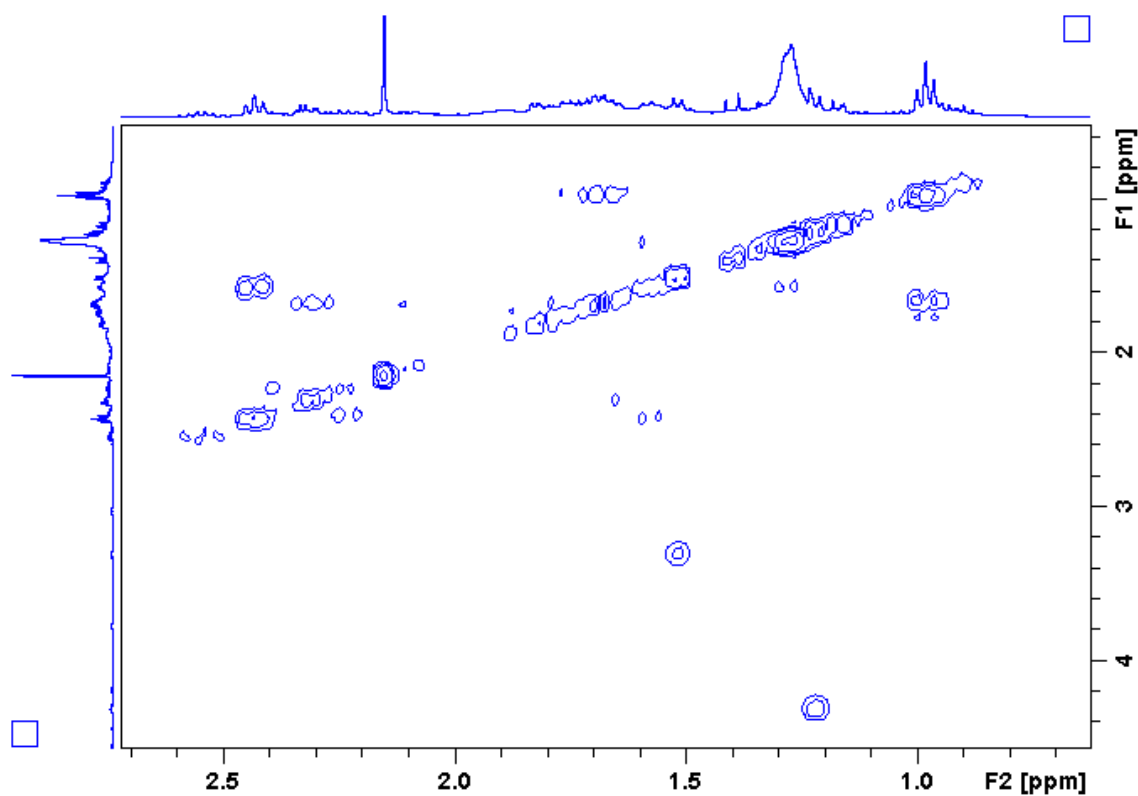
Apêndice D3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **46**.



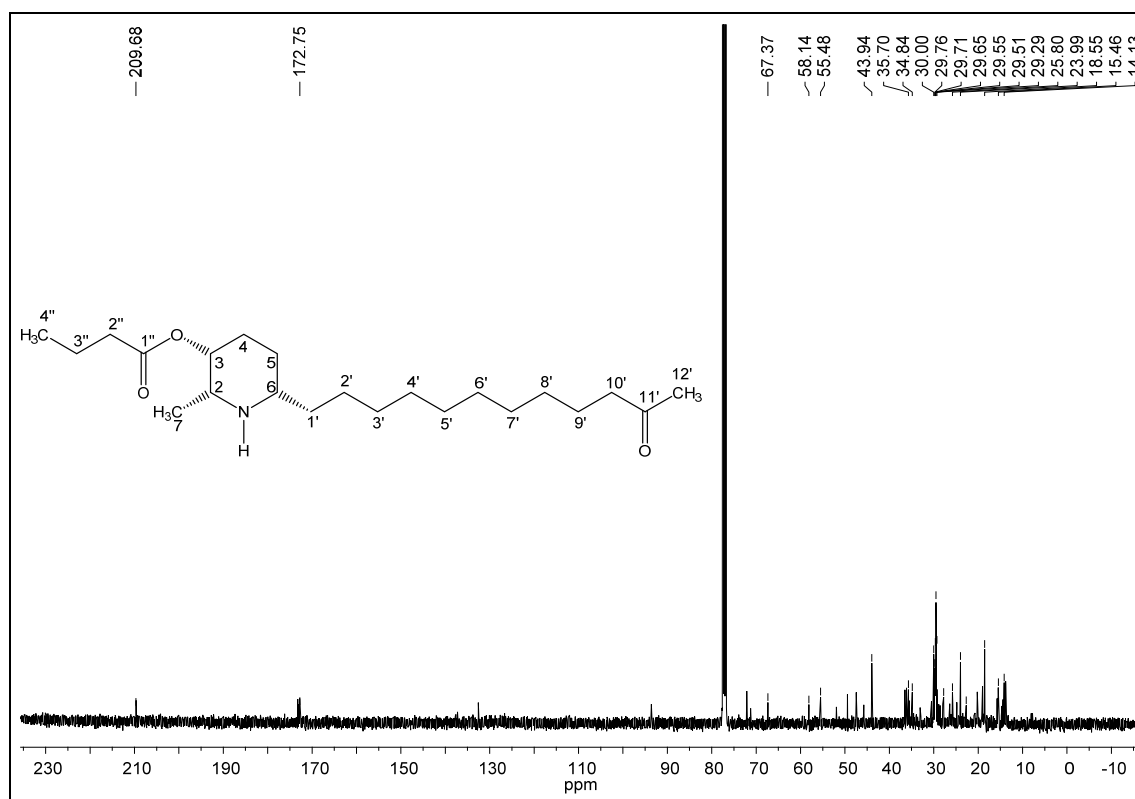
Apêndice D4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–4,0) do alcaloide **46**.



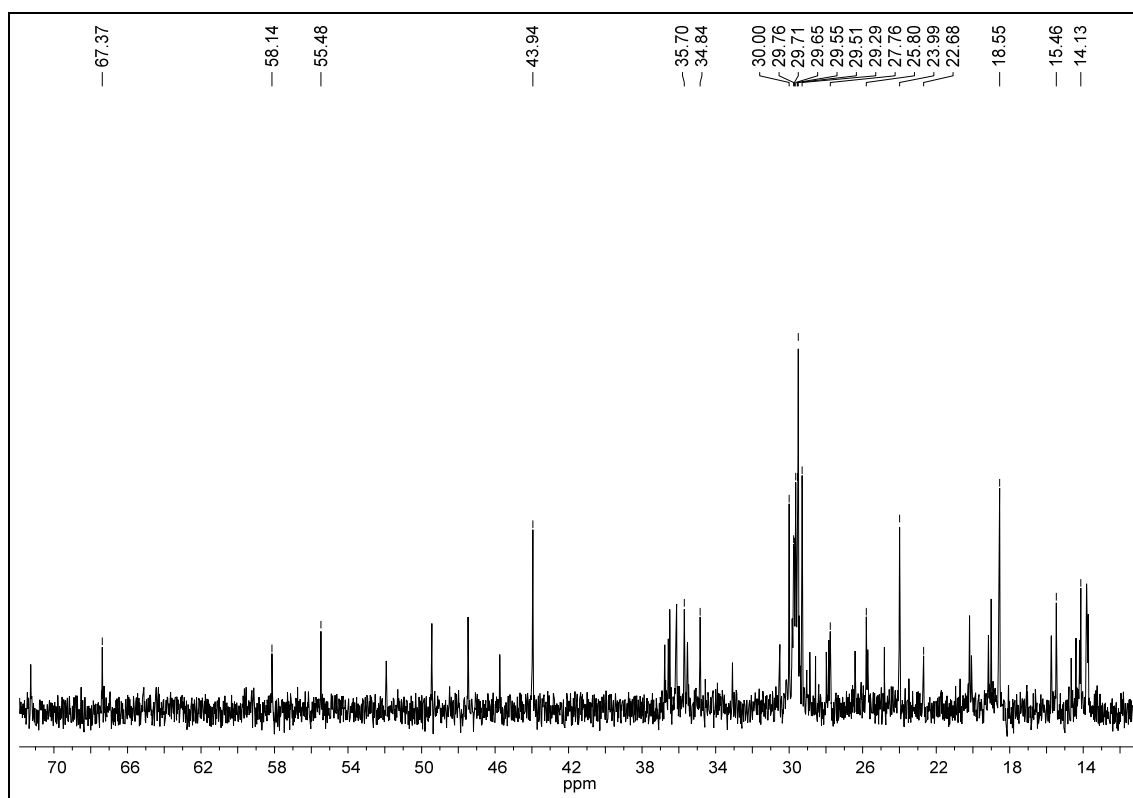
Apêndice D5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **46**.



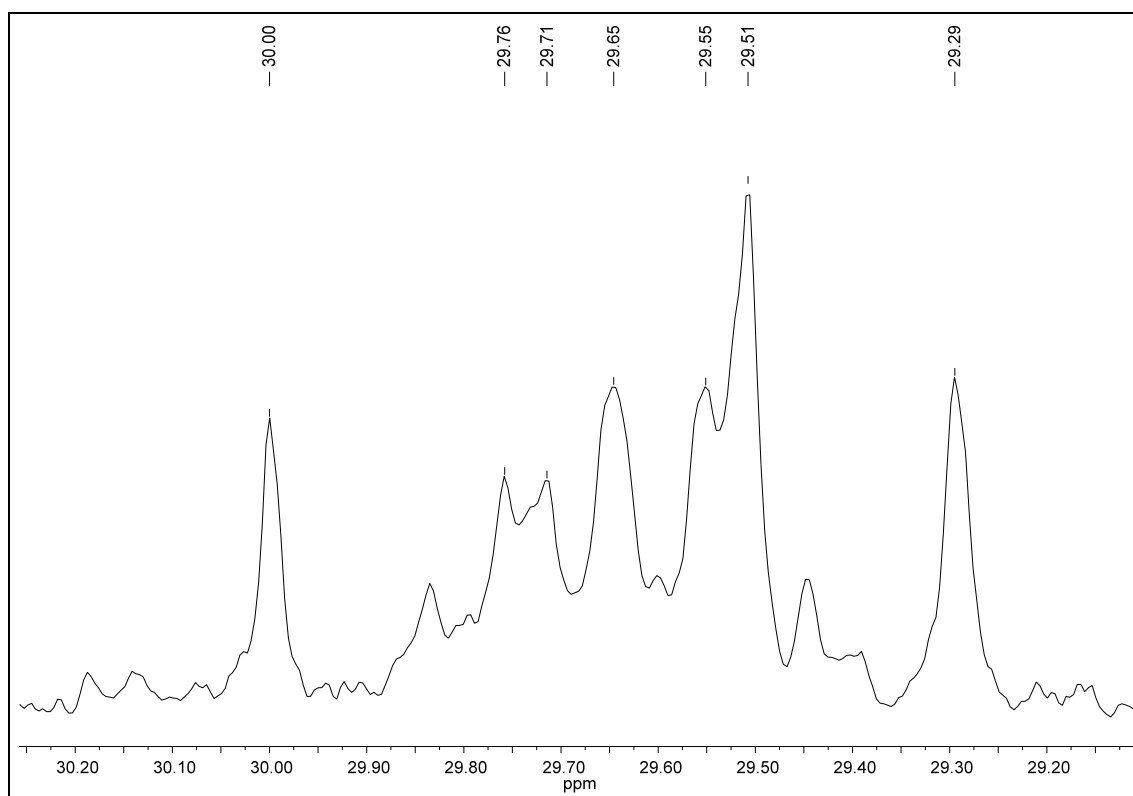
Apêndice D6. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **46** (100 MHz, CDCl_3).



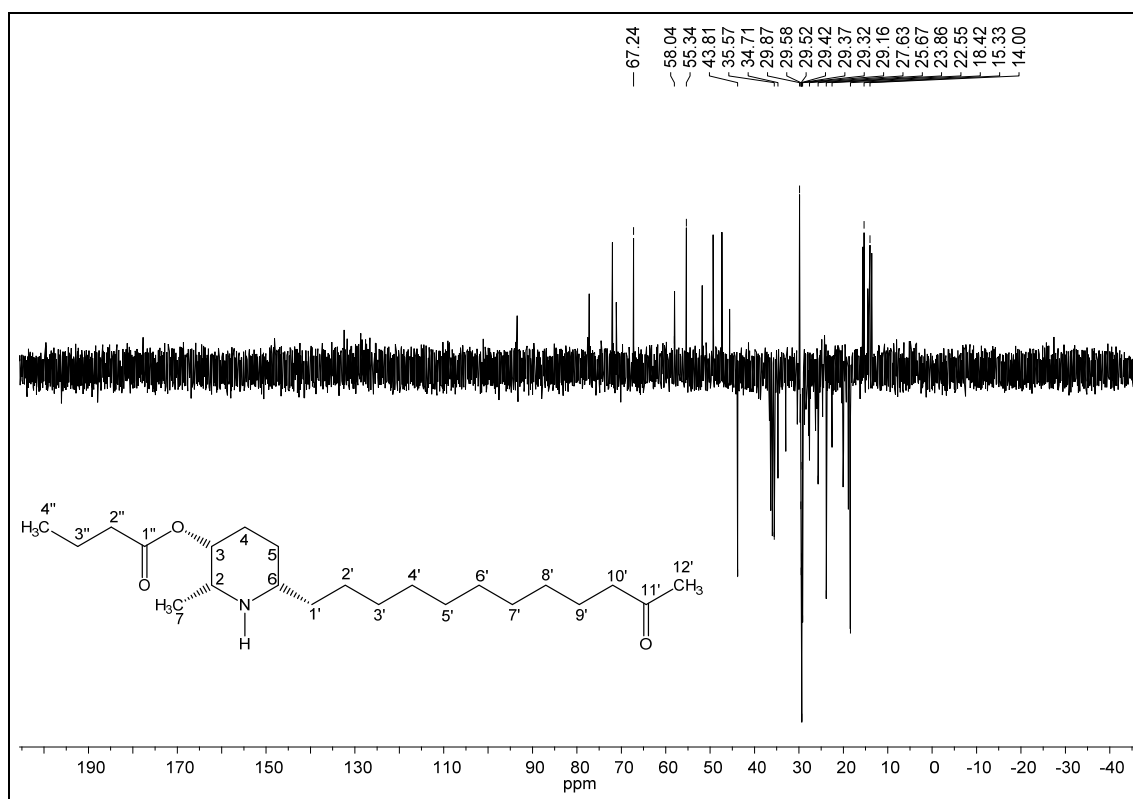
Apêndice D7. Ampliação do espectro D6 (δ 14,0–70,0) do derivado **46**.



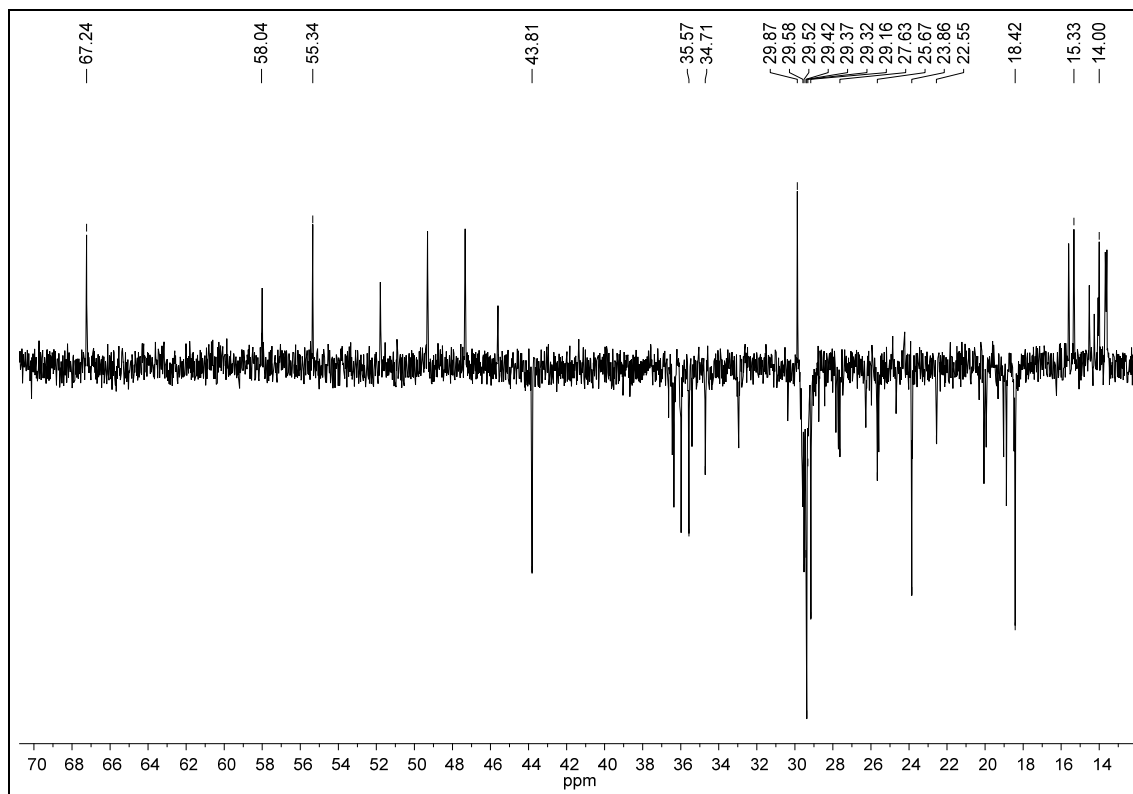
Apêndice D8. Ampliação do espectro D7 (δ 29,2–30,3) do derivado **46**.



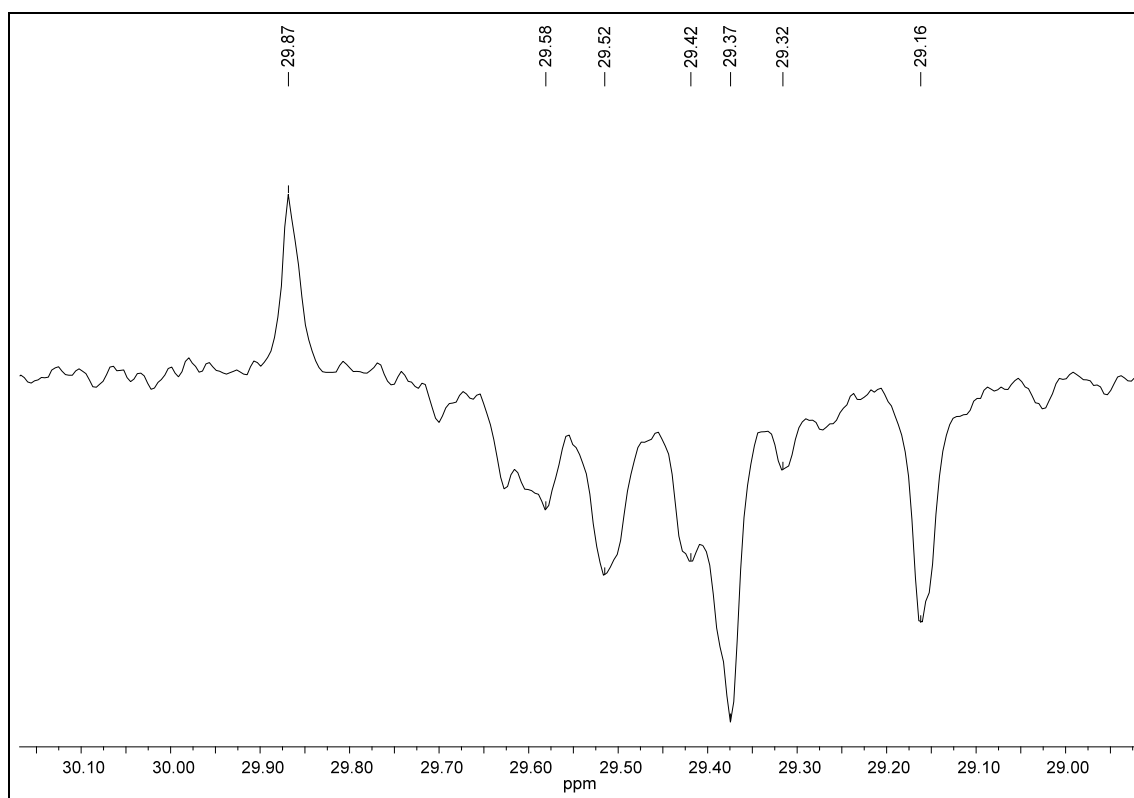
Apêndice D9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **46**.



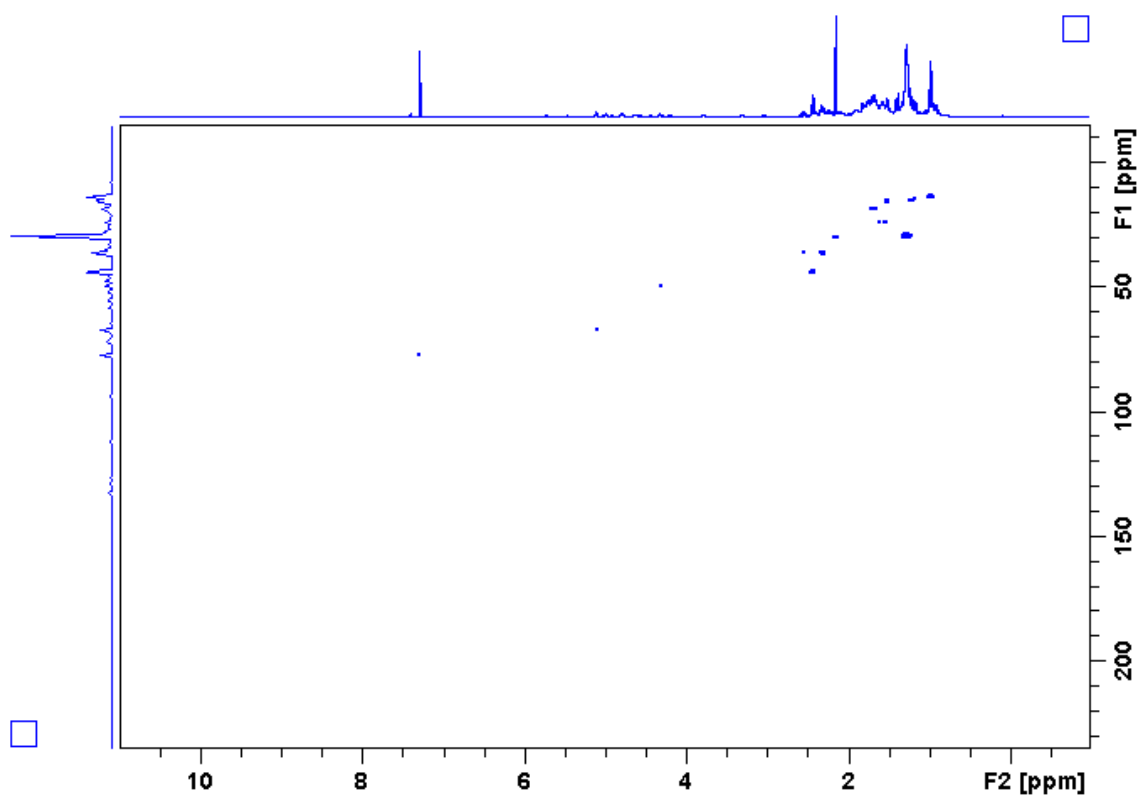
Apêndice D10. Ampliação do espectro D9 (δ 14,0–70,0) do derivado **46**.



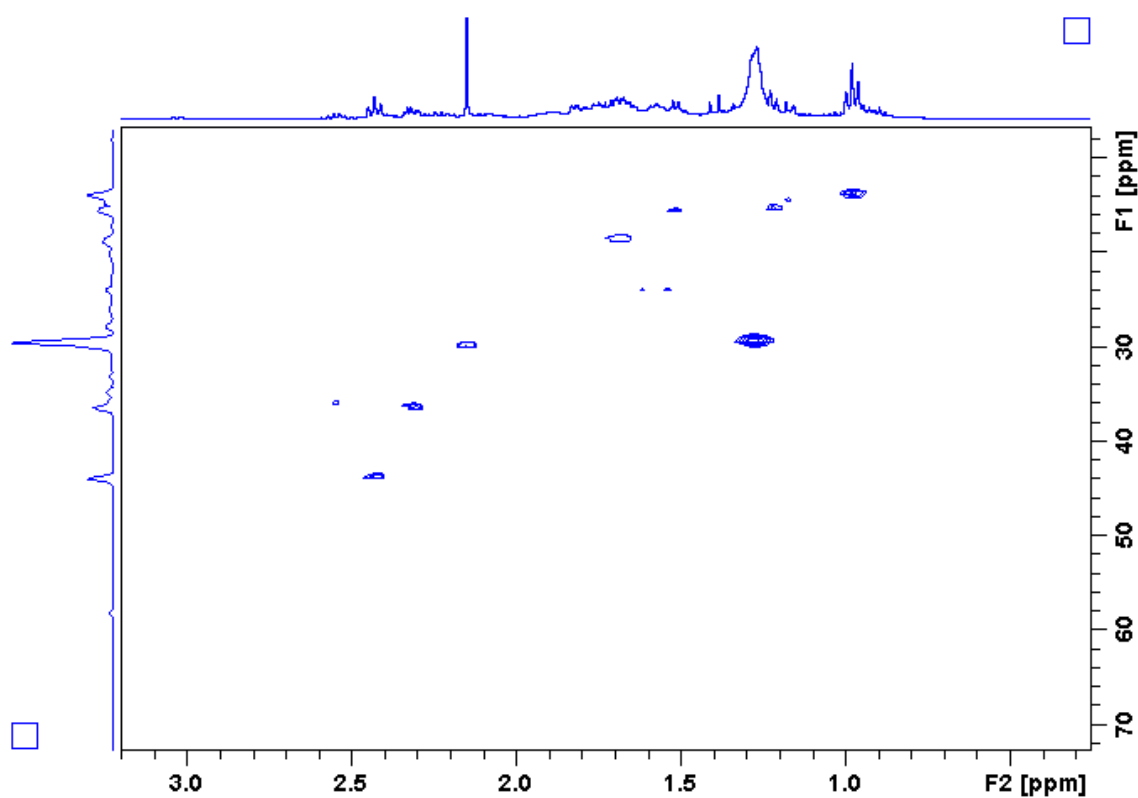
Apêndice D11. Ampliação do espectro D10 (δ 29,0–30,1) do derivado **46**.



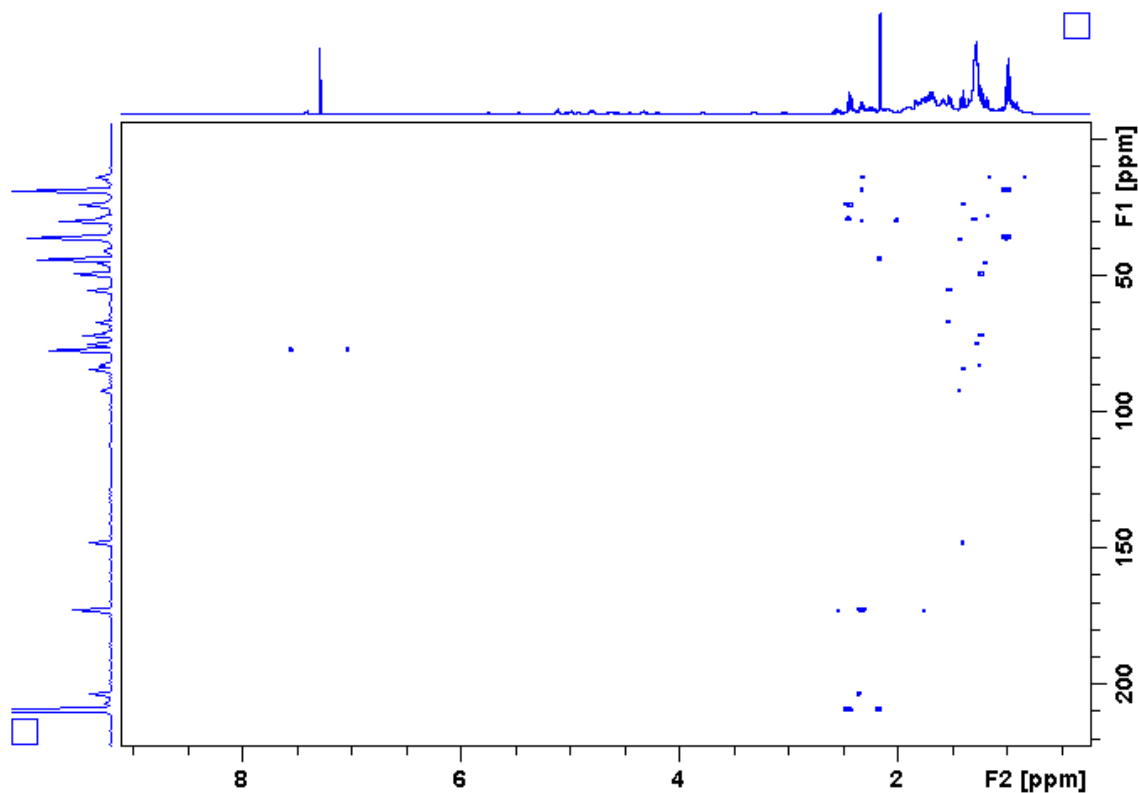
Apêndice D12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **46**.



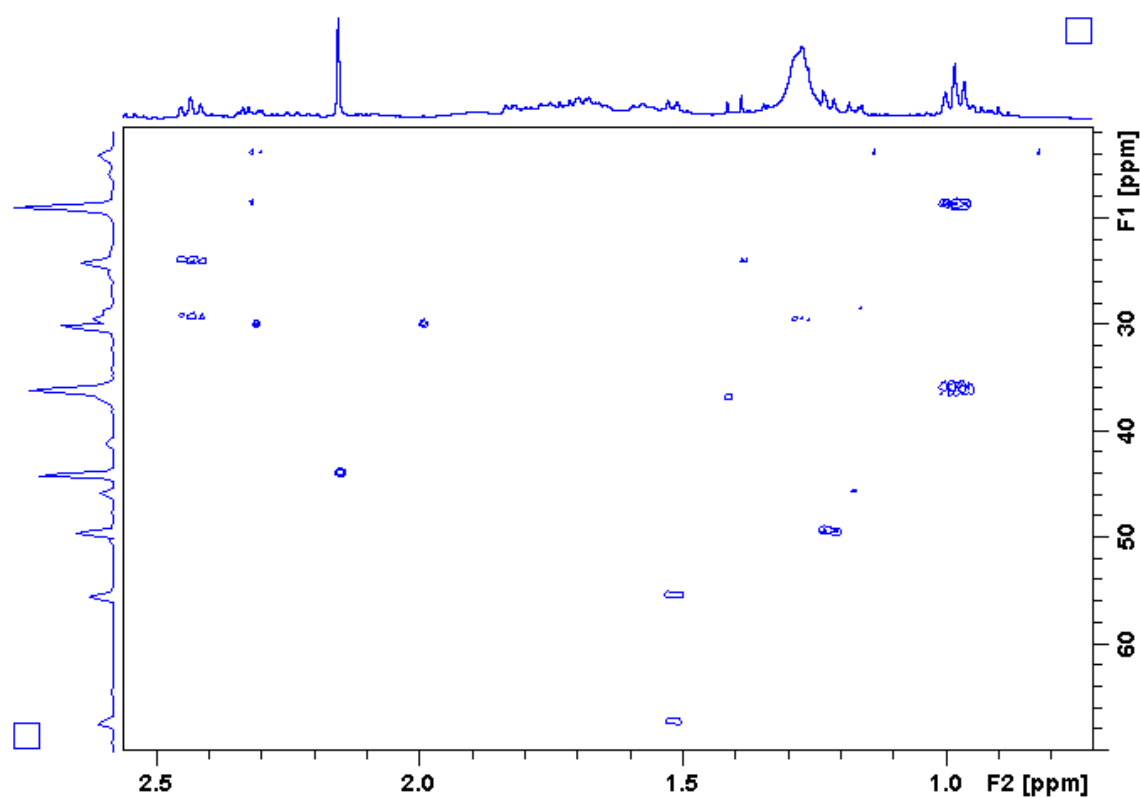
Apêndice D13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **46**.



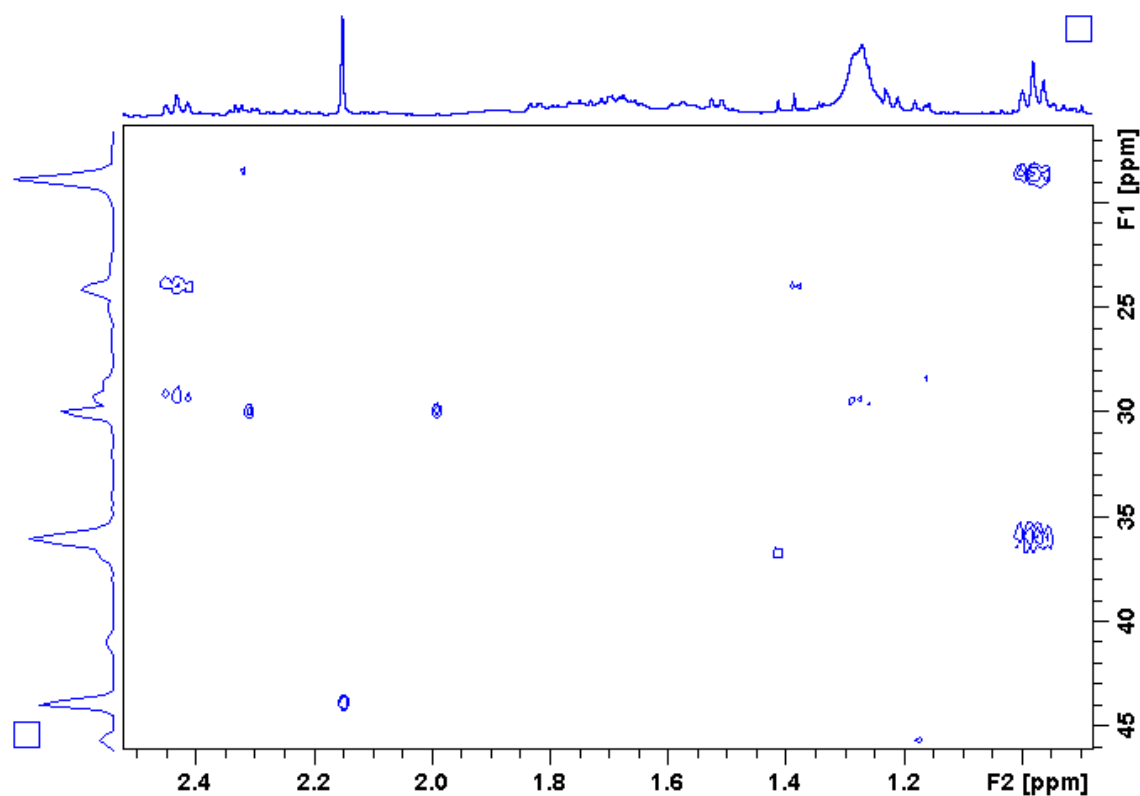
Apêndice D14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **46**.



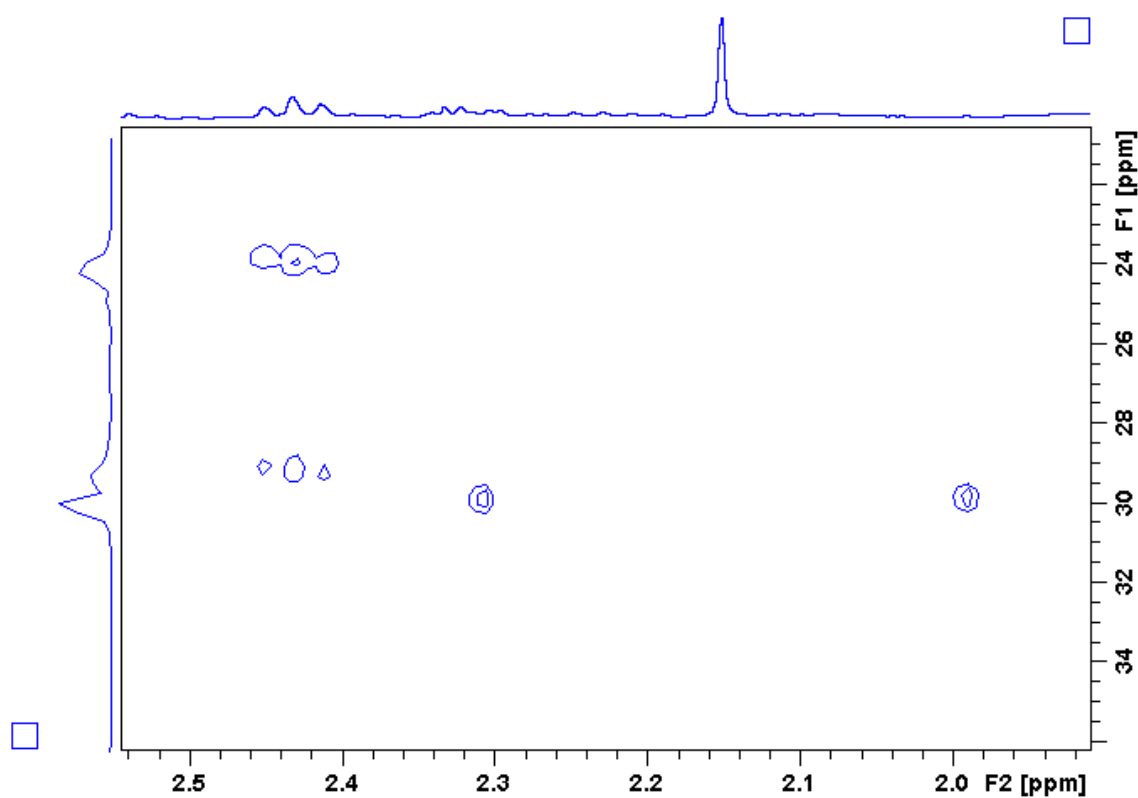
Apêndice D15. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–65,0) do alcaloide **46**.



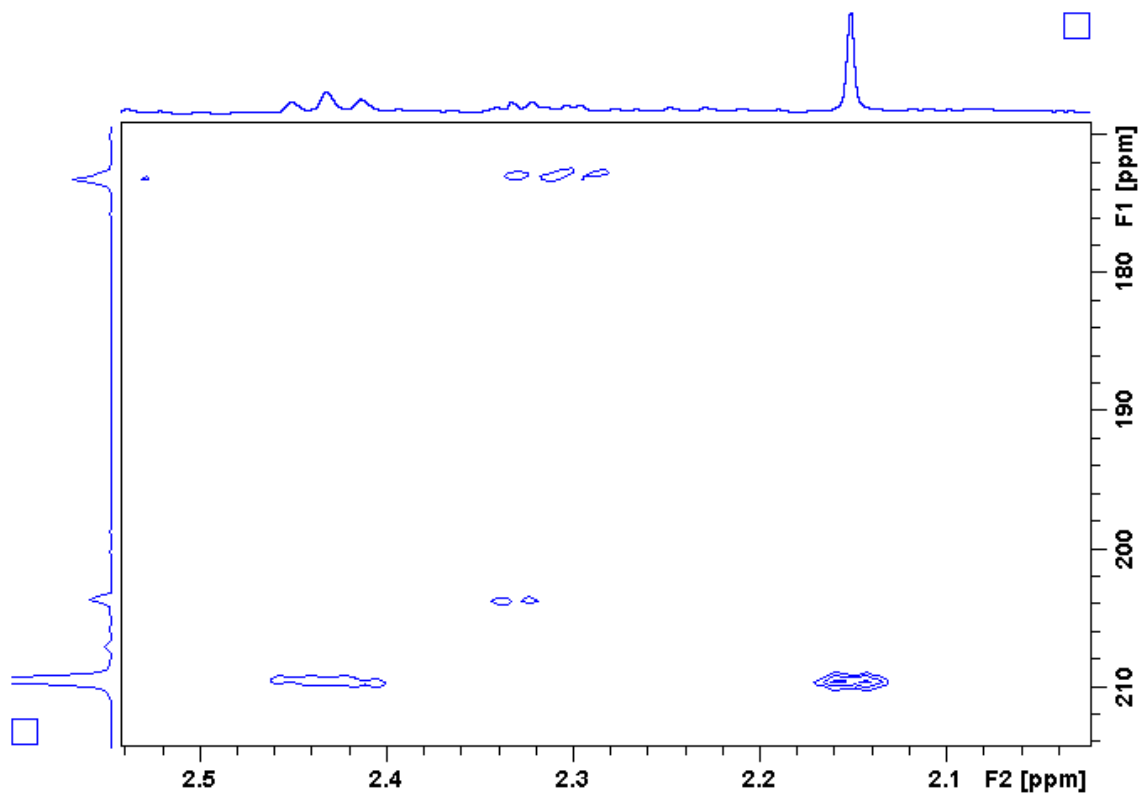
Apêndice D16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **46**.



Apêndice D17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–32,0) do alcaloide **46**

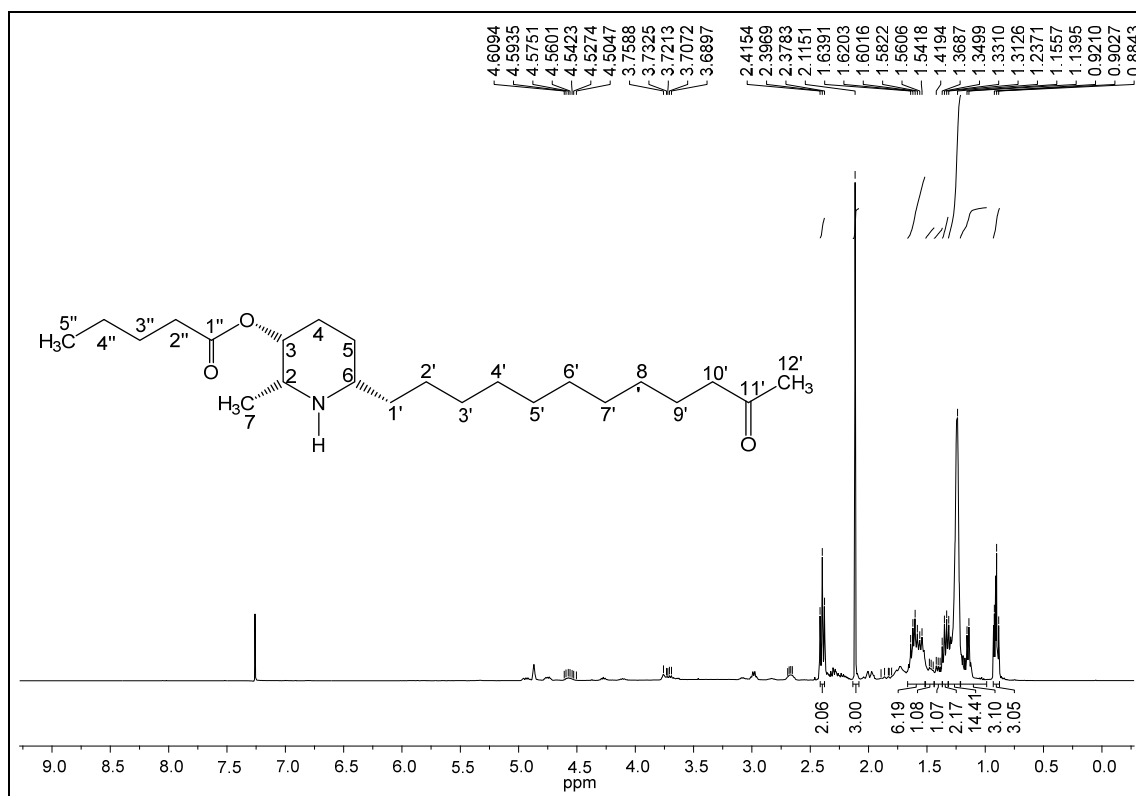


Apêndice D18. Mapa de contorno HMBC (δ 170,0–212,0) do alcaloide **46**.

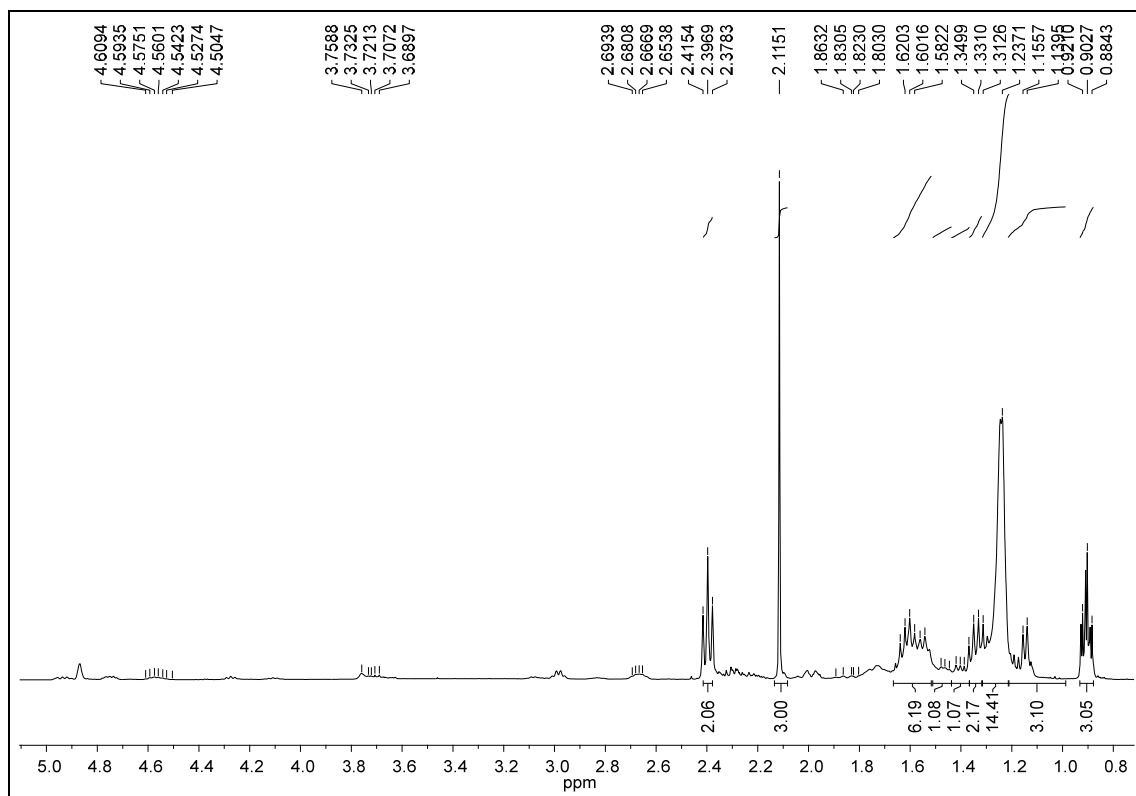


APÊNDICE E

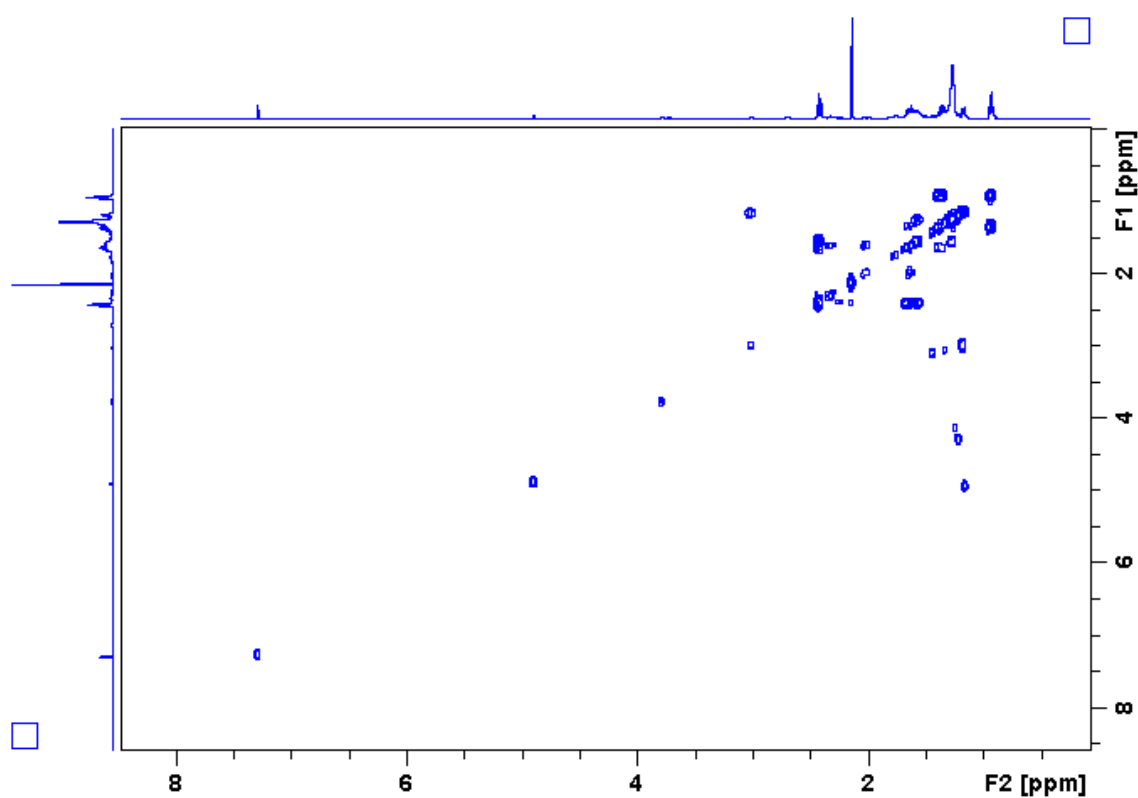
Apêndice E1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **47** (400 MHz, CDCl_3).



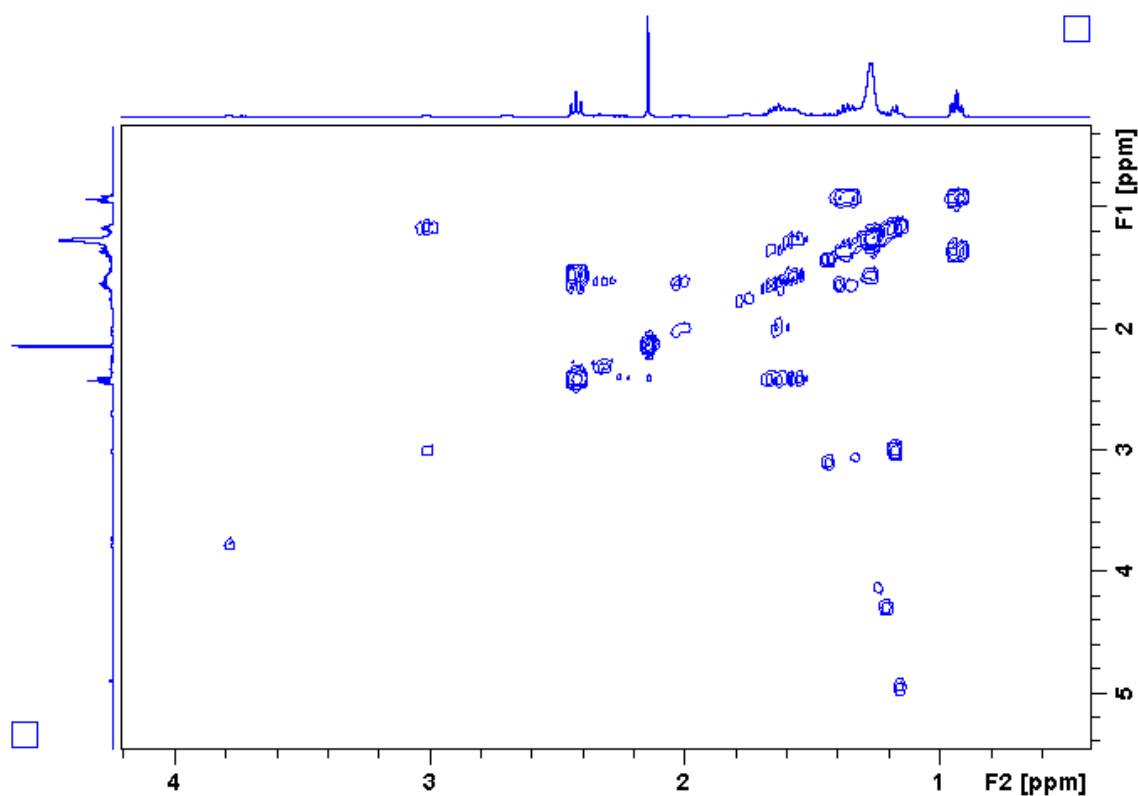
Apêndice E2. Ampliação do espectro E1 (δ 0,8–5,0) do derivado **47**.



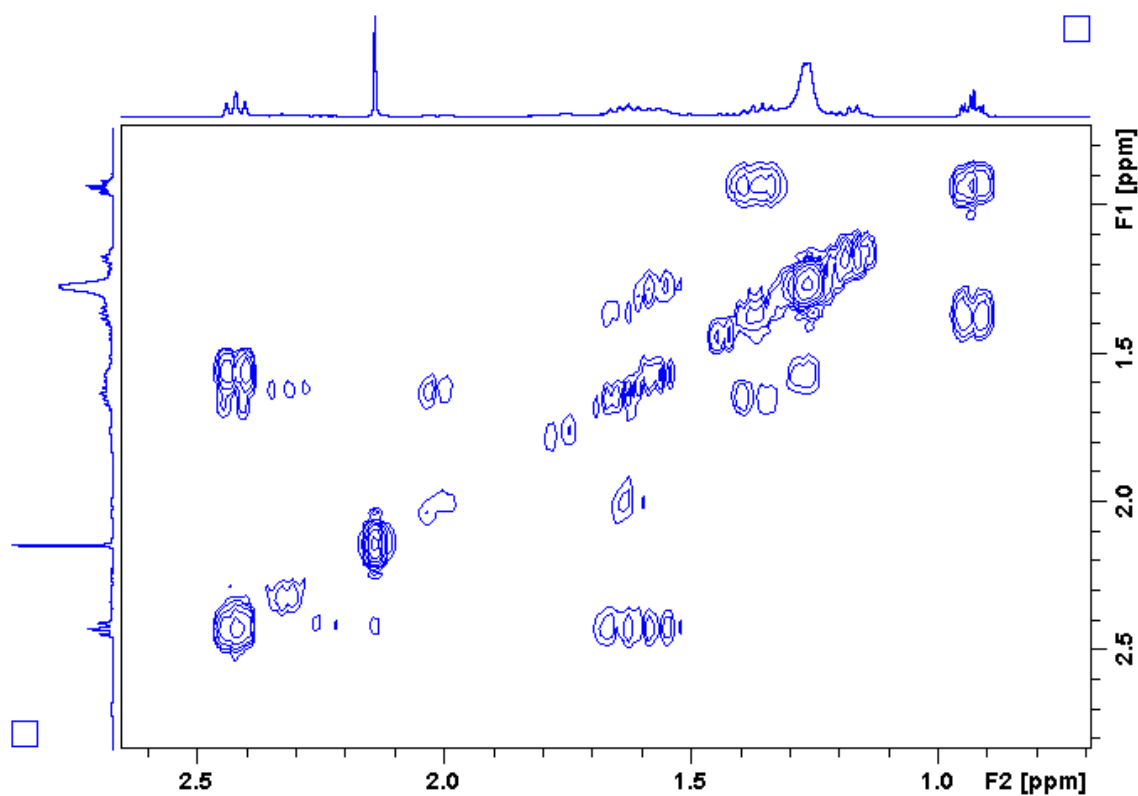
Apêndice E3. Mapa de contorno COSY do alcaloide 47.



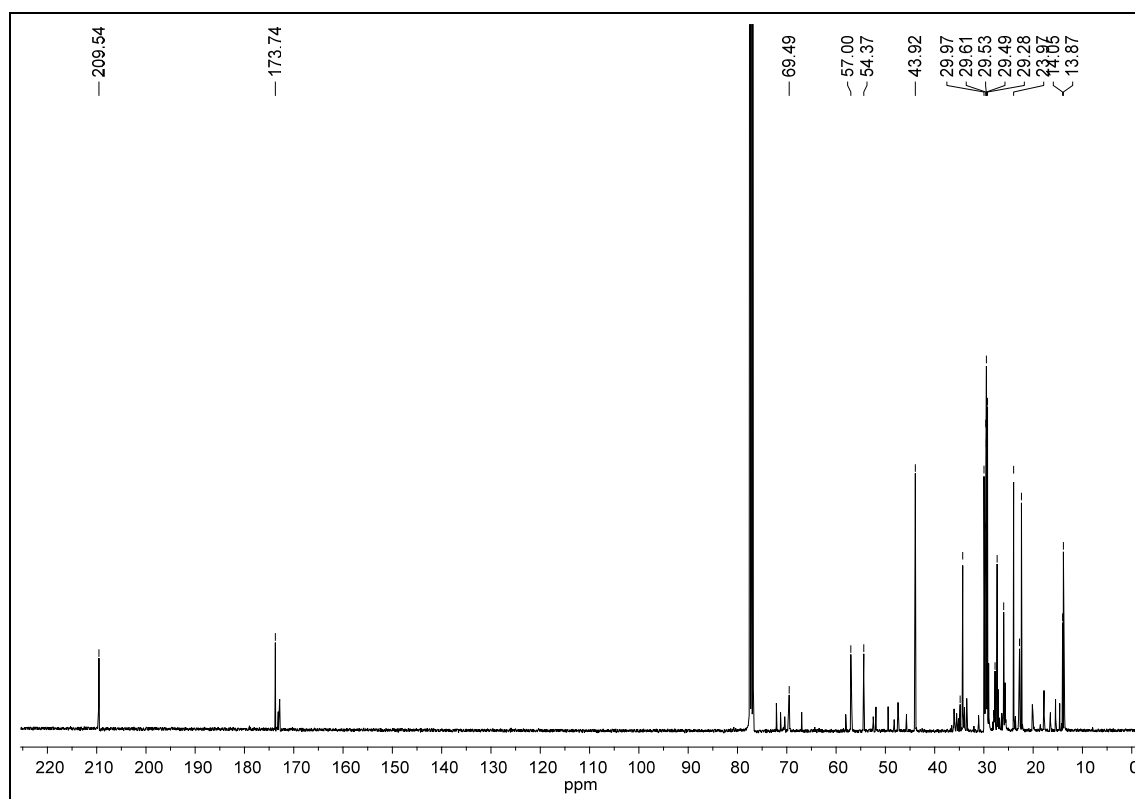
Apêndice E4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide 47.



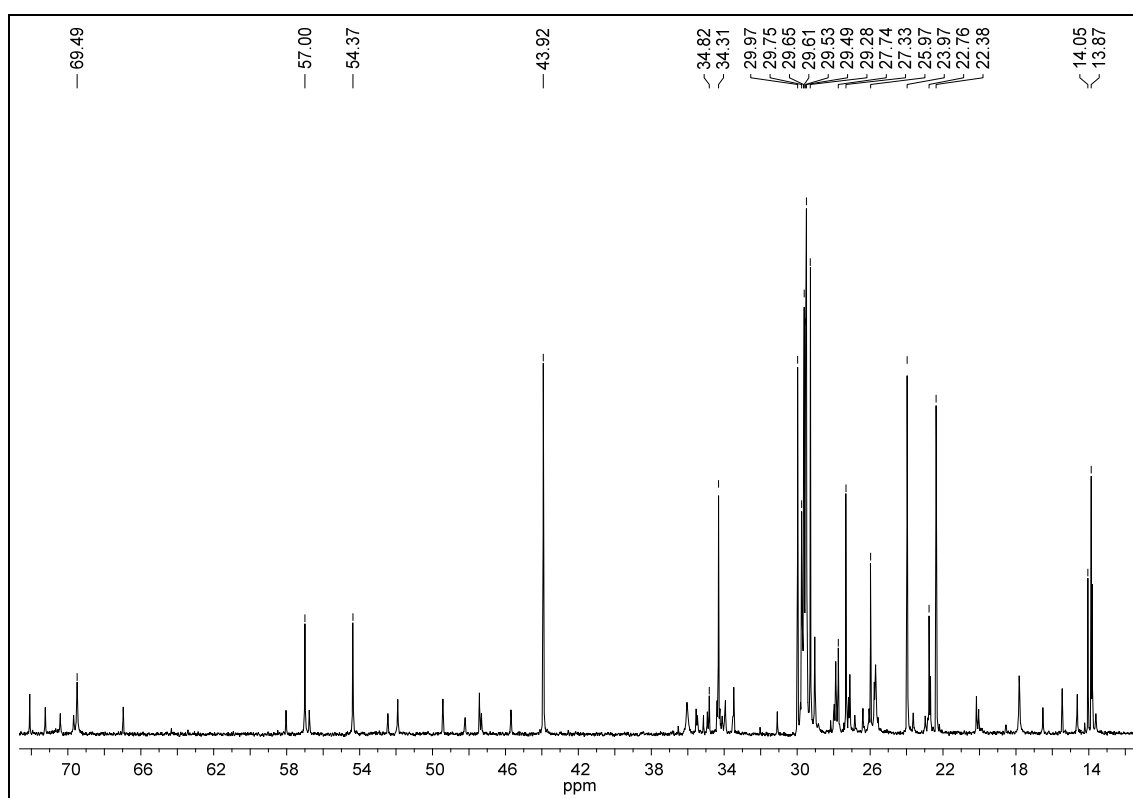
Apêndice E5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–2,5) do alcaloide **47**.



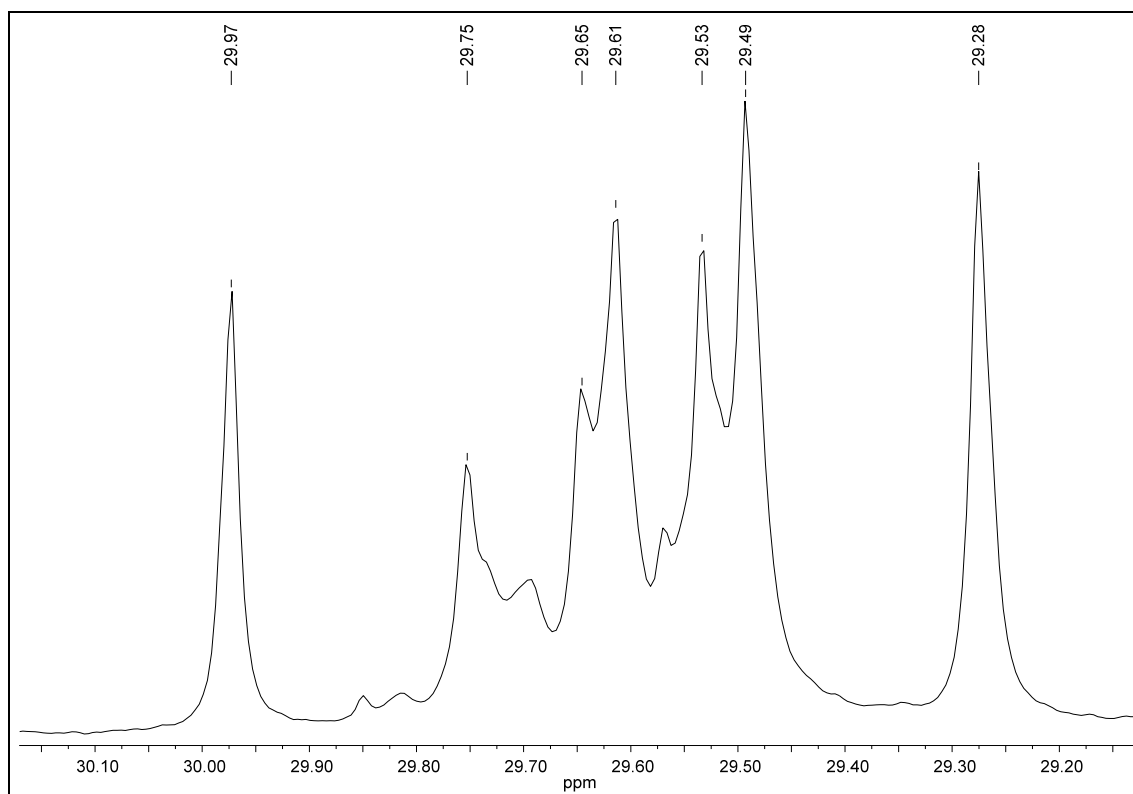
Apêndice E6. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **47** (100 MHz, CDCl_3).



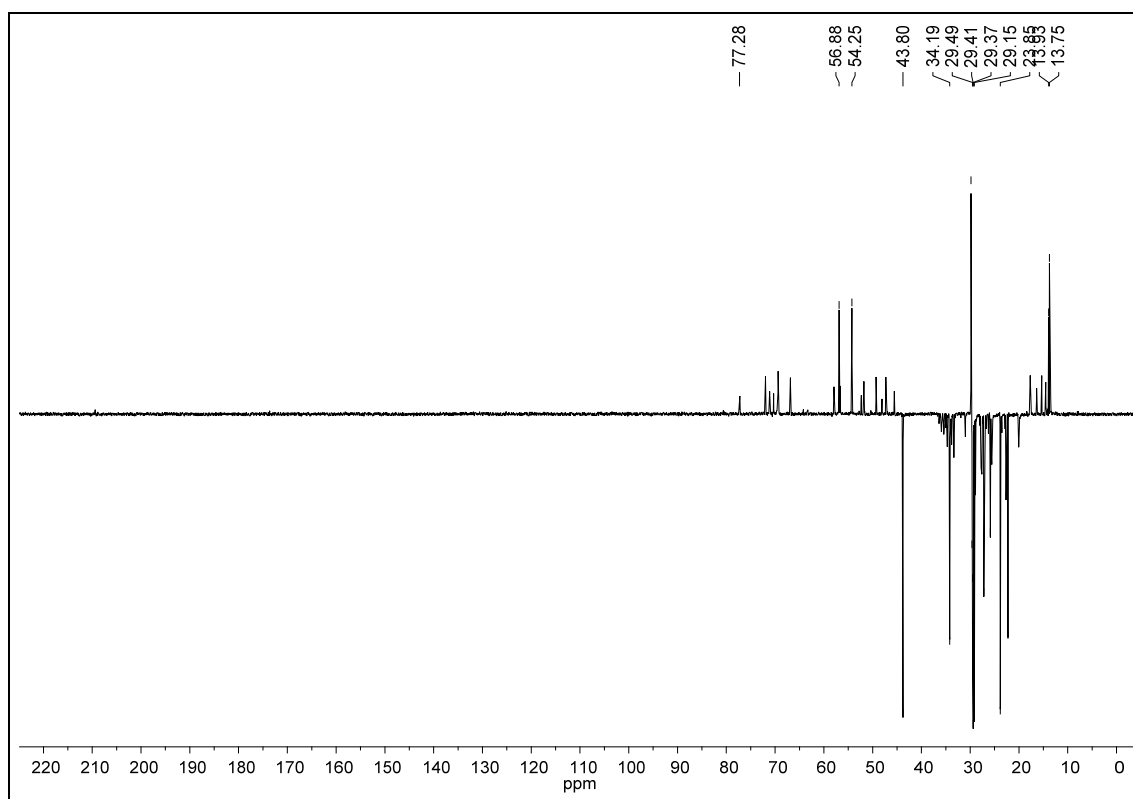
Apêndice E7. Ampliação do espectro E6 (δ 15,0–80,0) do derivado **47**.



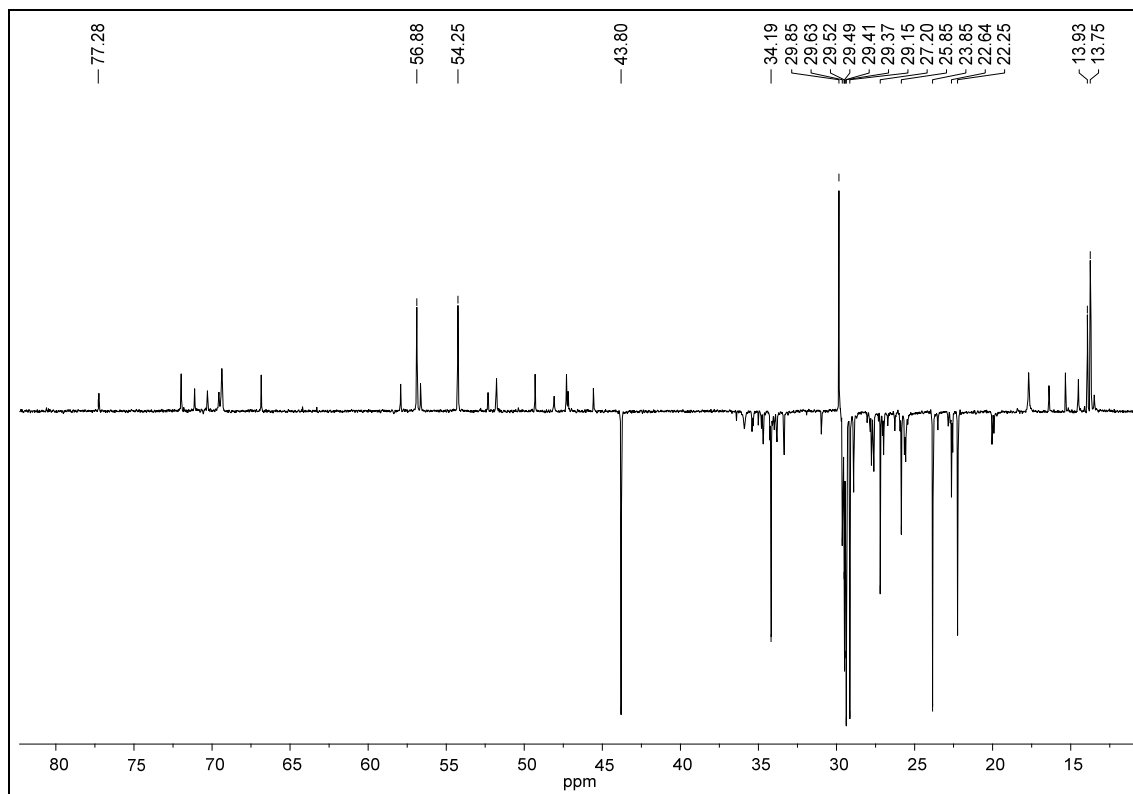
Apêndice E8. Ampliação do espectro E7 (δ 29,2–30,1) do derivado **47**.



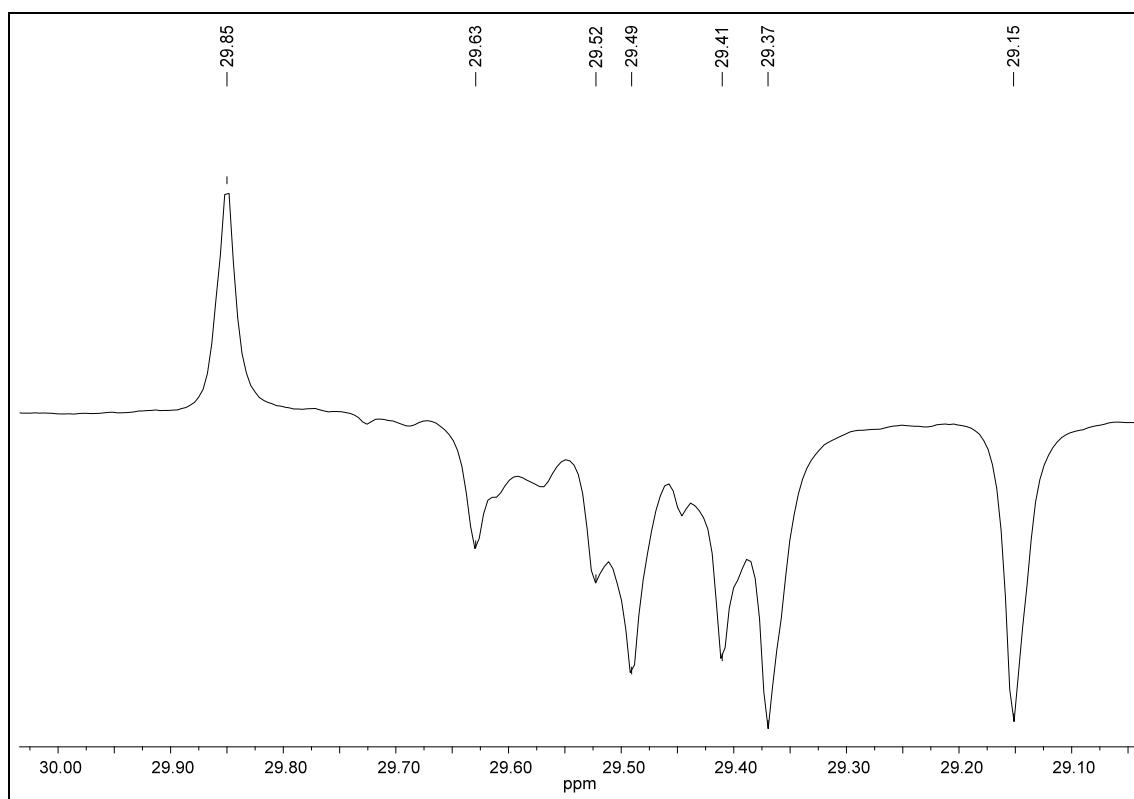
Apêndice E9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **47**.



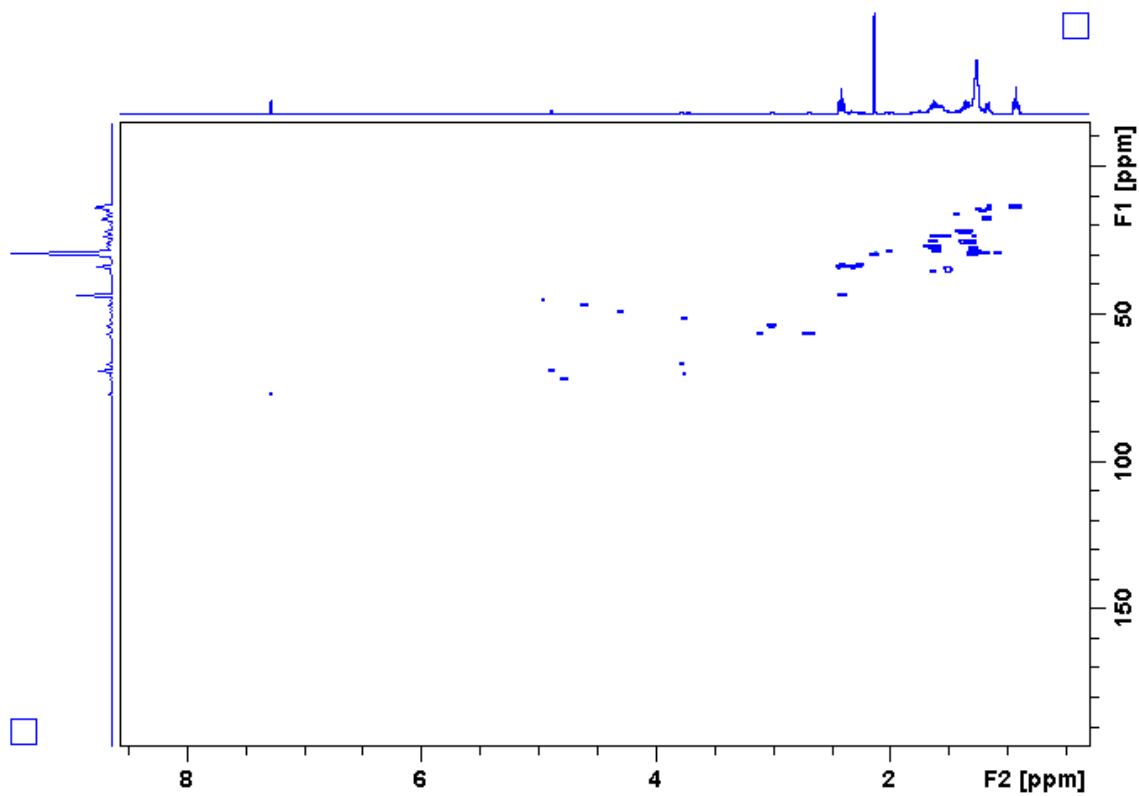
Apêndice E10. Ampliação do espectro E9 (δ 15,0–80,0) do derivado **47**.



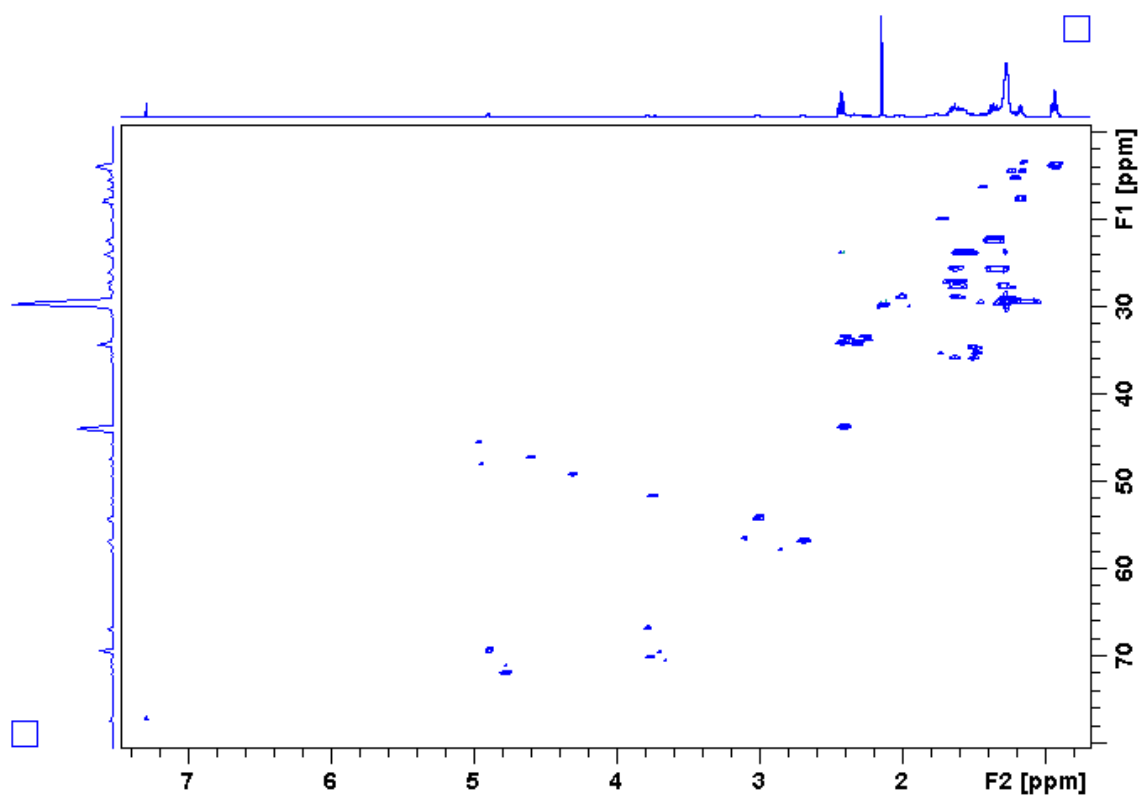
Apêndice E11. Ampliação do espectro E10 (δ 29,1–30,0) do derivado **47**.



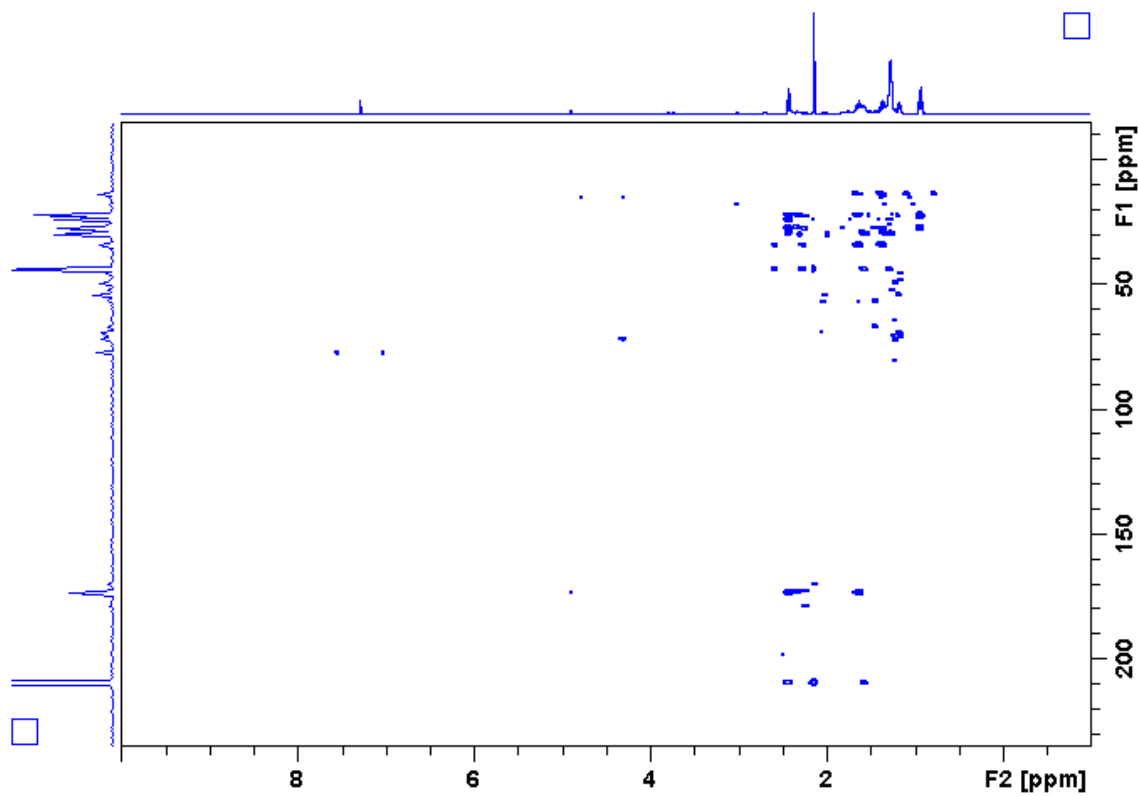
Apêndice E12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **47**.



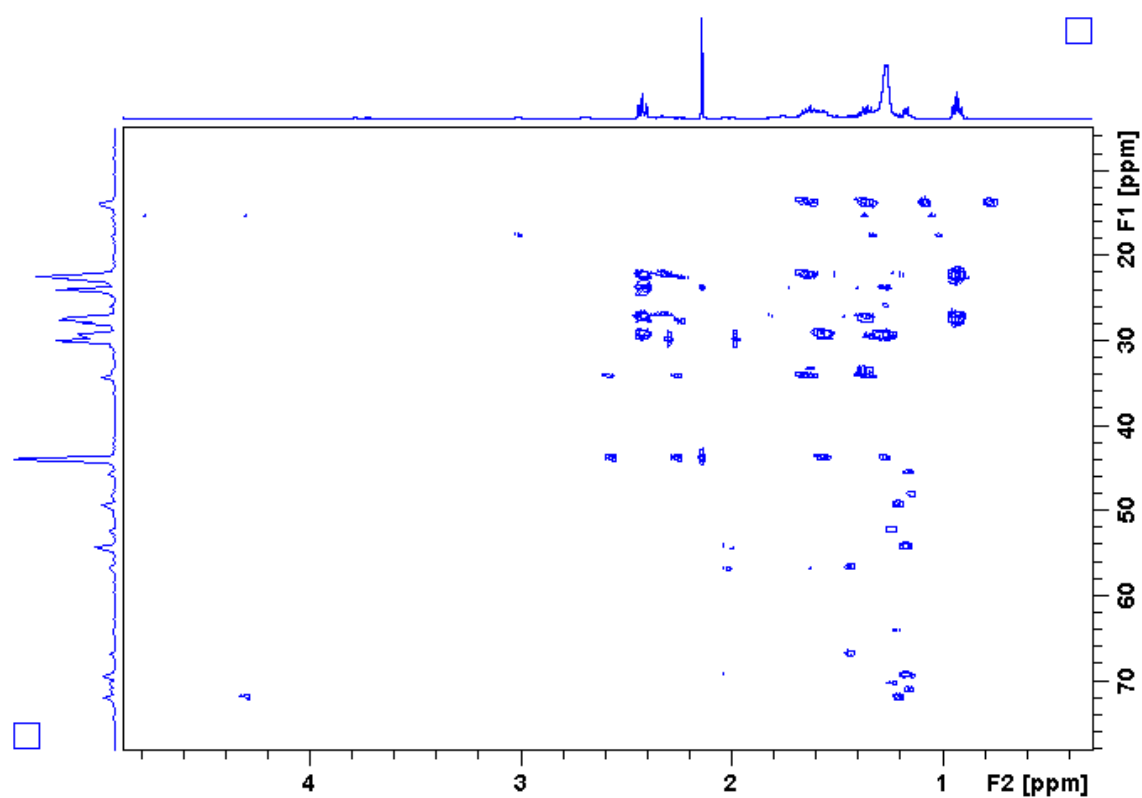
Apêndice E13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–80,0) do alcaloide **47**.



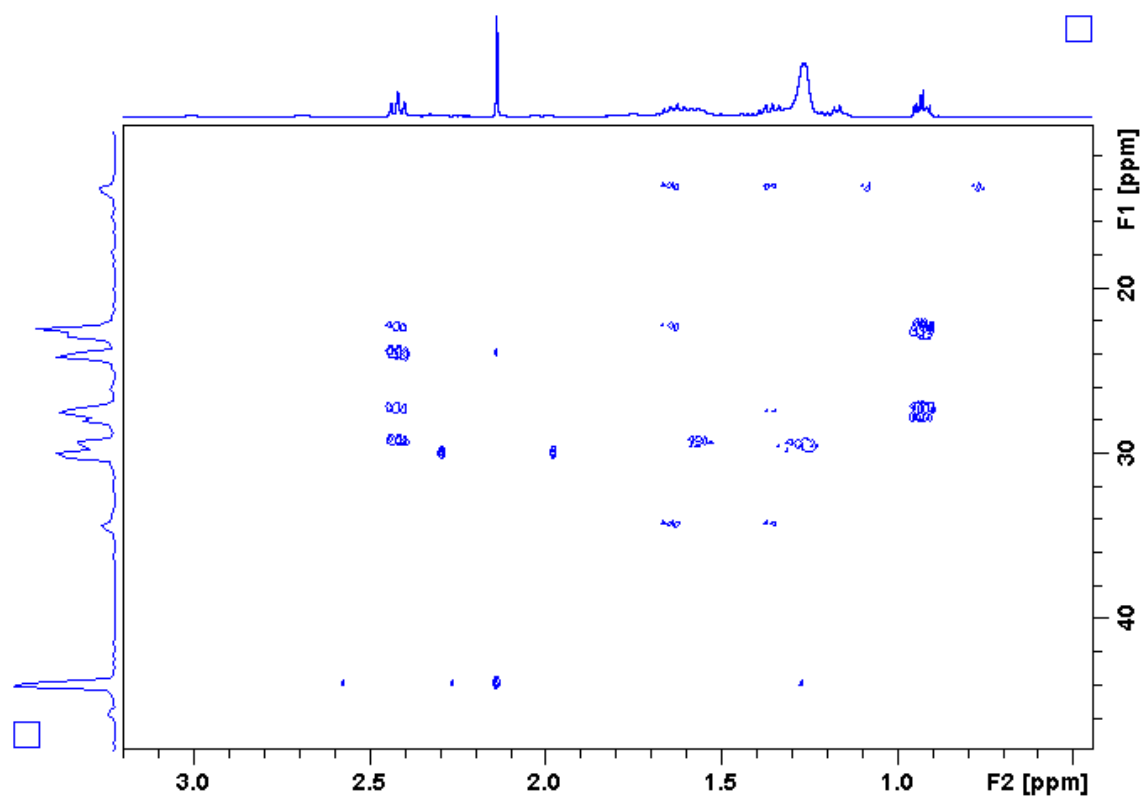
Apêndice E14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **47**.



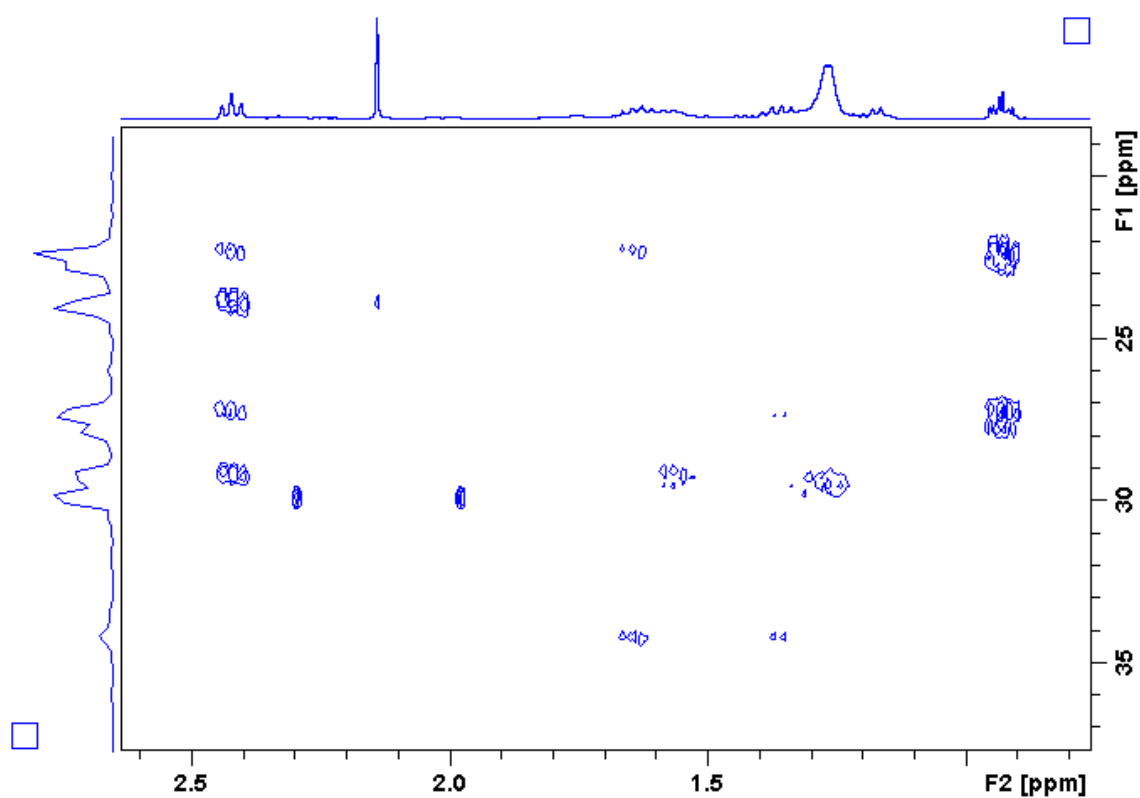
Apêndice E15. Mapa de contorno HMBC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **47**.



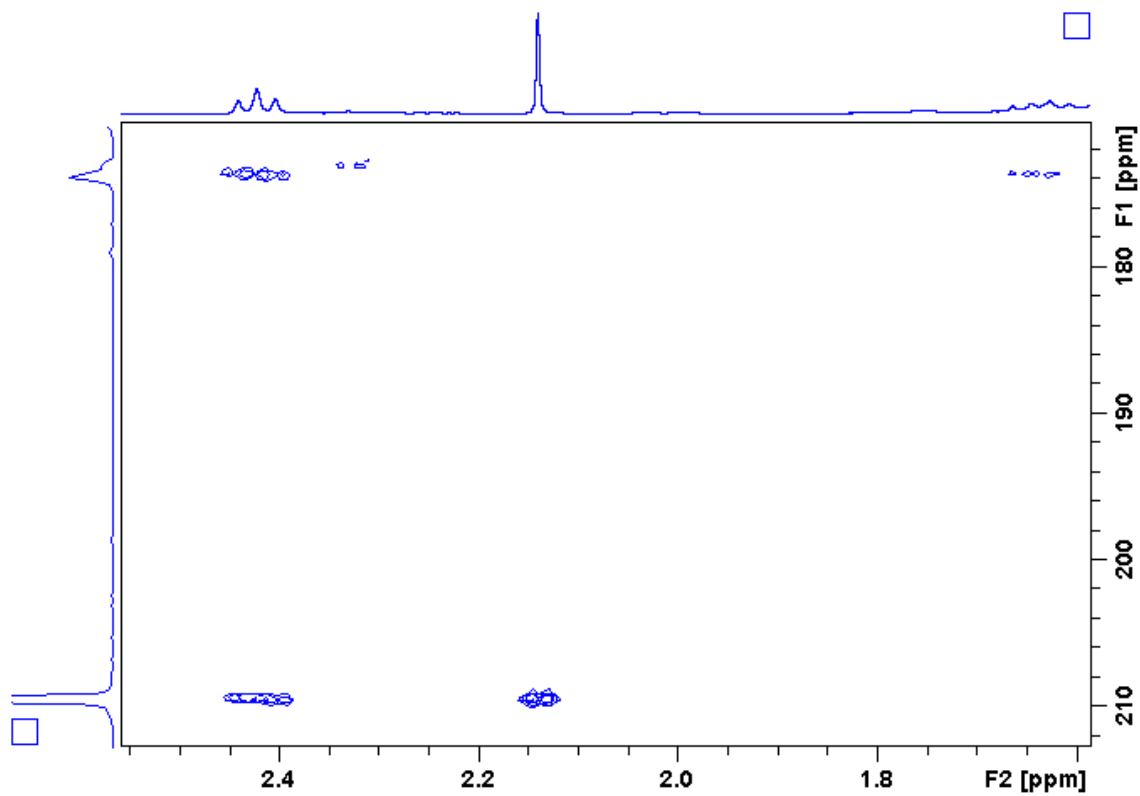
Apêndice E16. Mapa de contorno HMBC (δ 10,0–50,0) do alcaloide **47**.



Apêndice E17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–32,0) do alcaloide **47**.

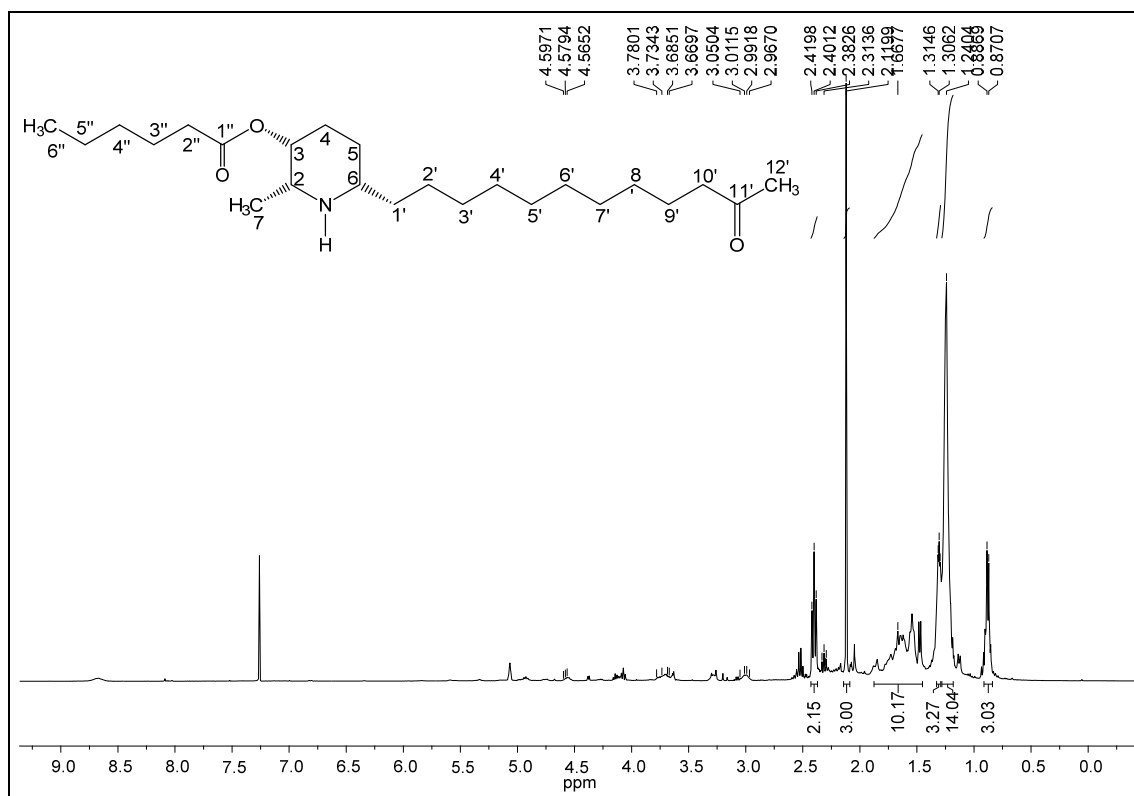


Apêndice E18. Mapa de contorno HMBC (δ 170,0–211,0) do alcaloide **47**.

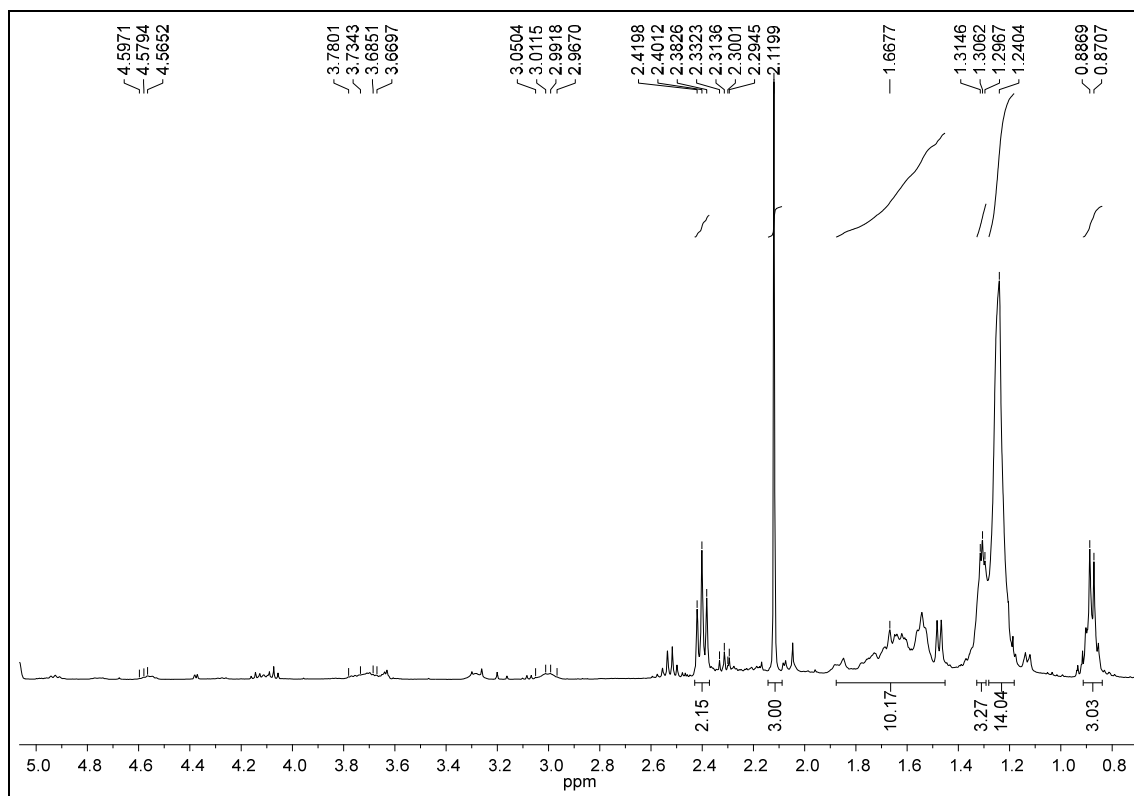


APÊNDICE F

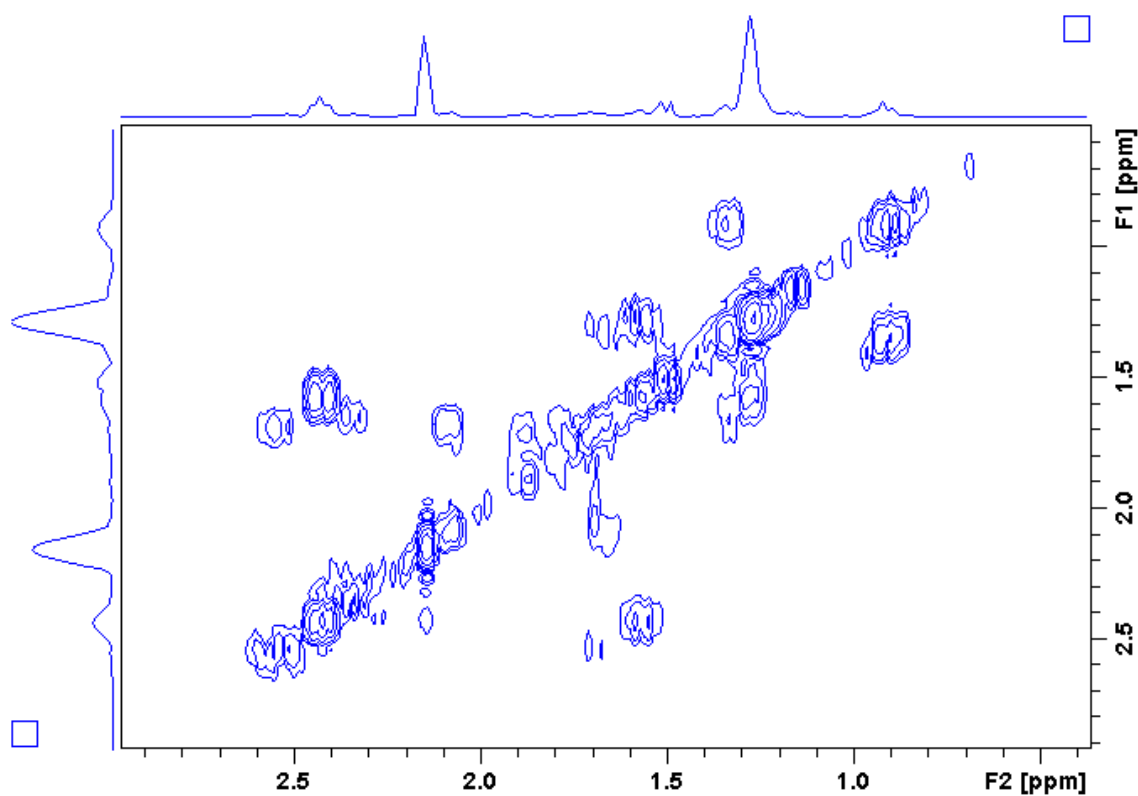
Apêndice F1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **48** (400 MHz, CDCl_3).



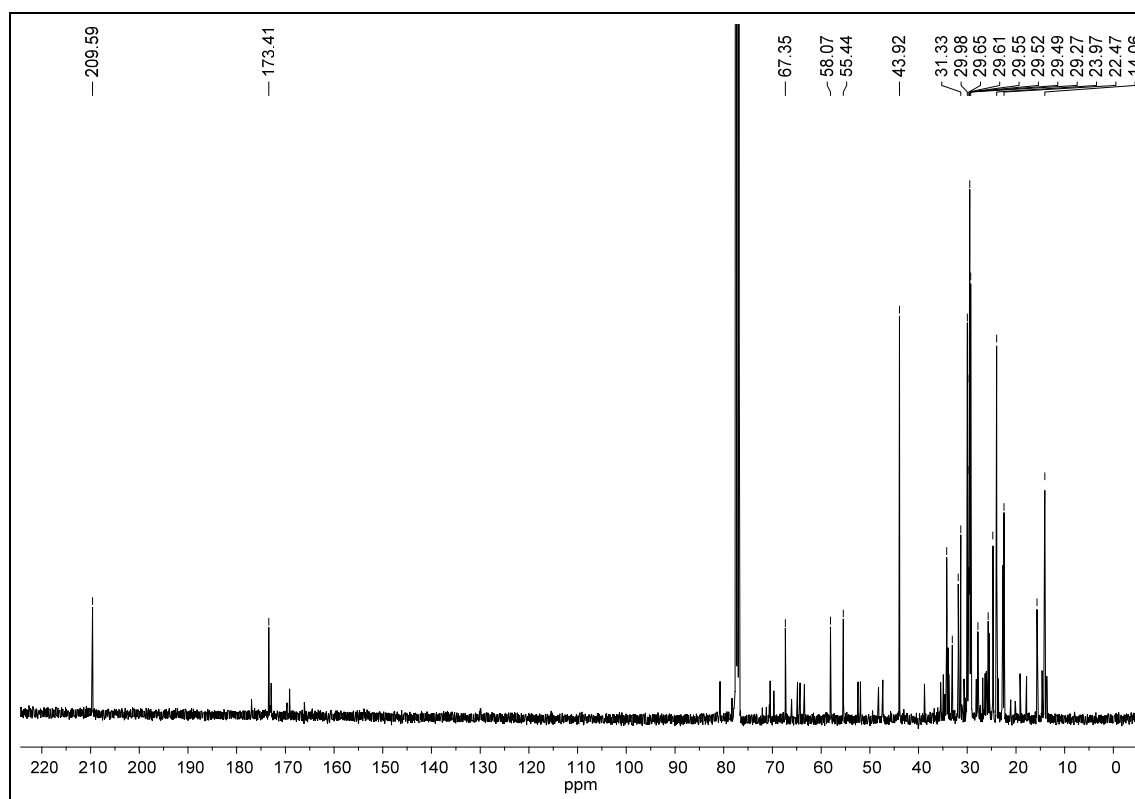
Apêndice F2. Ampliação do espectro F1 (δ 0,8–5,0) do derivado **48**.



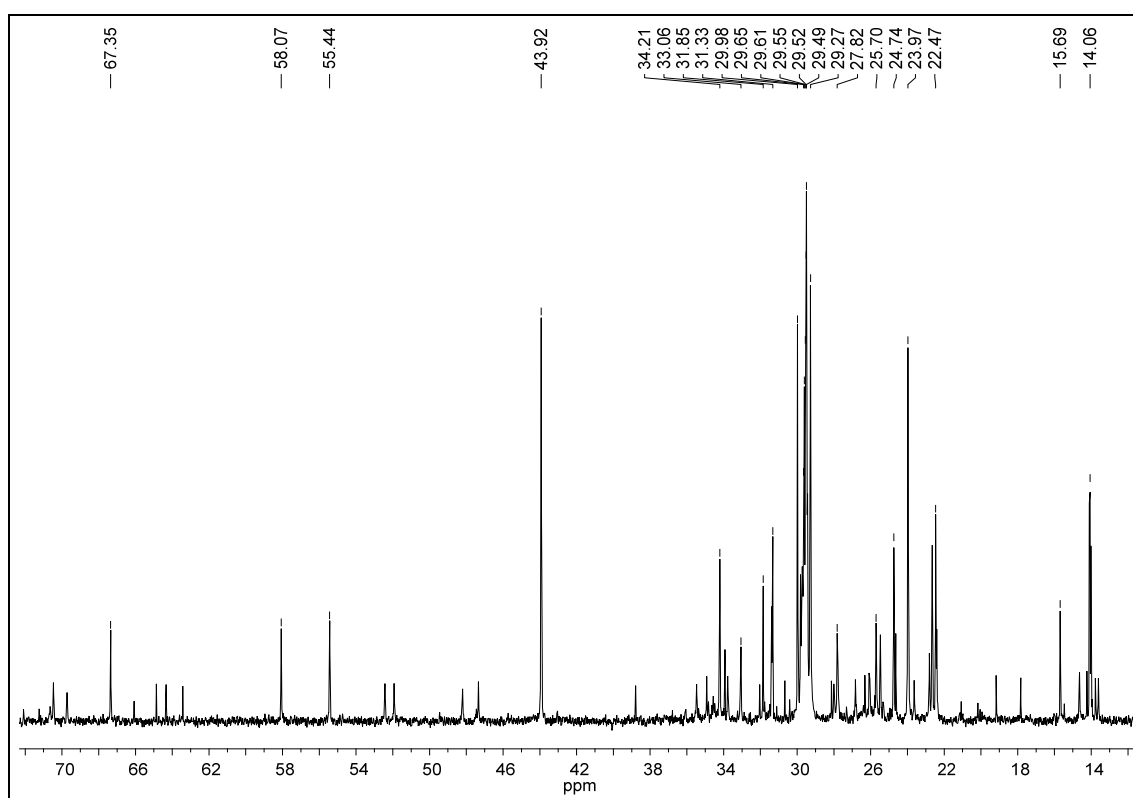
Apêndice F5. Mapa de contorno COSY (δ 0,5–3,0) do alcaloide **48**.



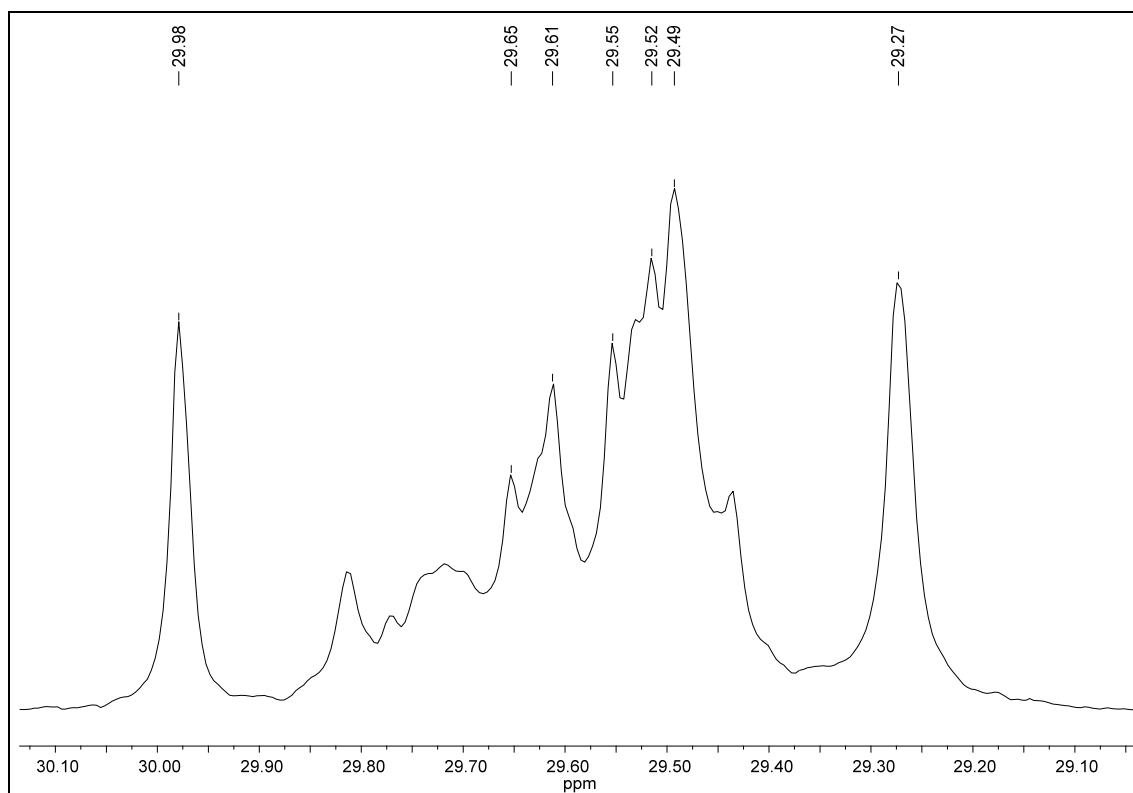
Apêndice F6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **48** (100 MHz, CDCl₃).



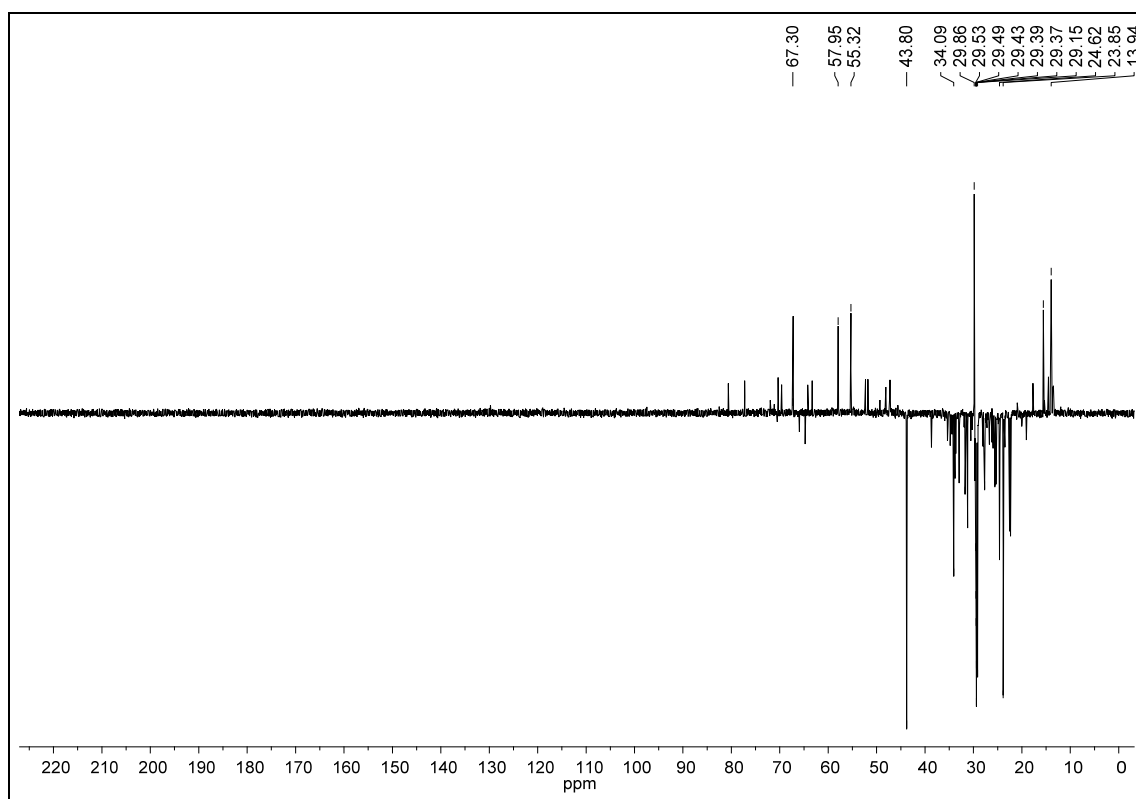
Apêndice F7. Ampliação do espectro F6 (δ 14,0–70,0) do derivado **48**.



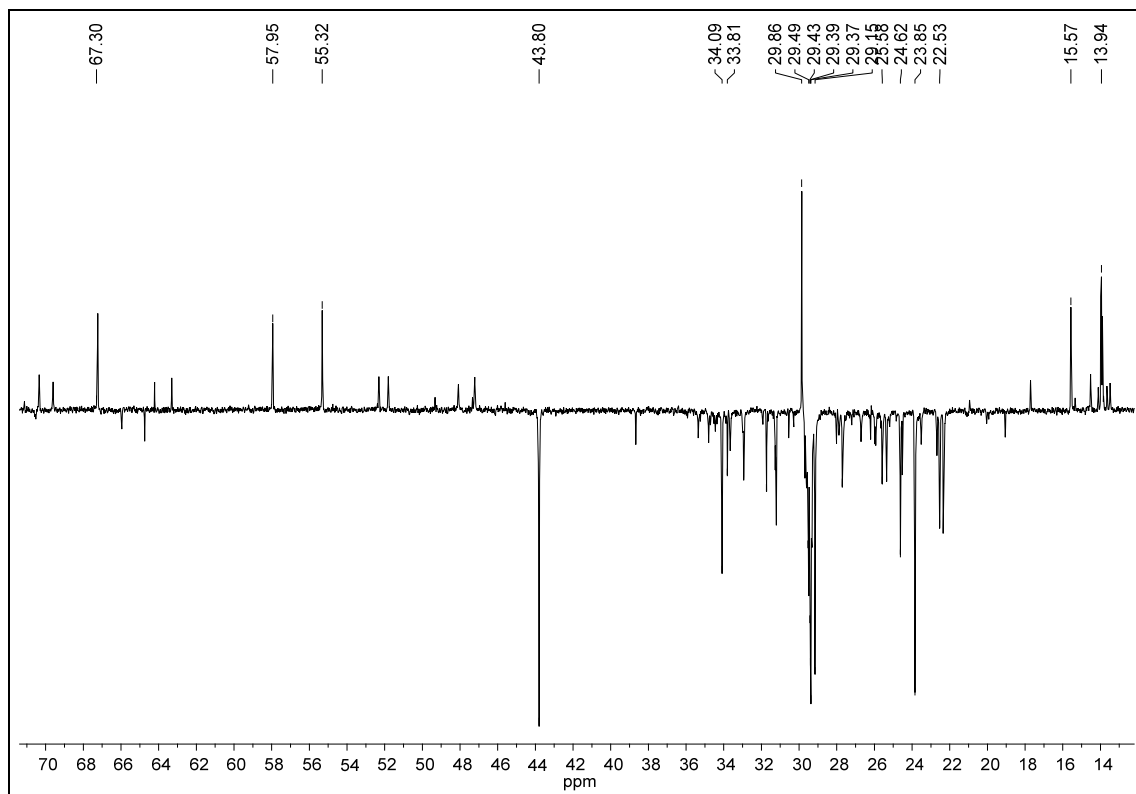
Apêndice F8. Ampliação do espectro F7 (δ 29,2–30,3) do derivado **48**.



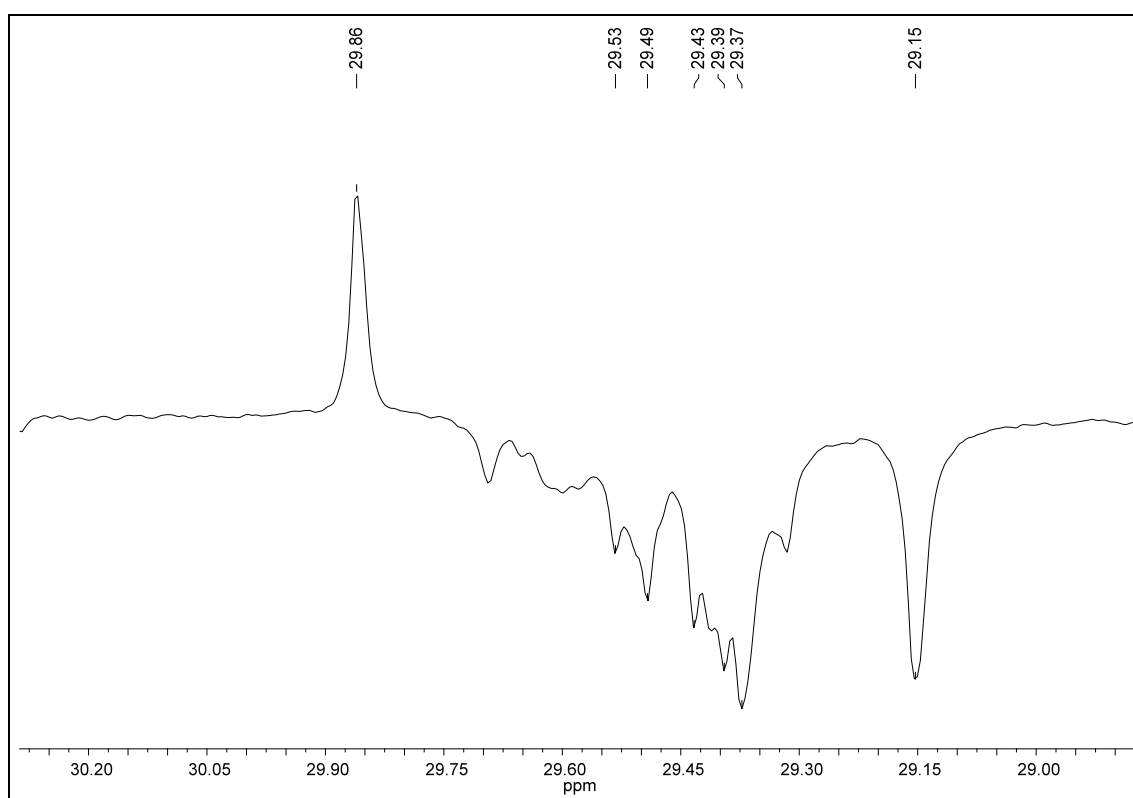
Apêndice F9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **48**.



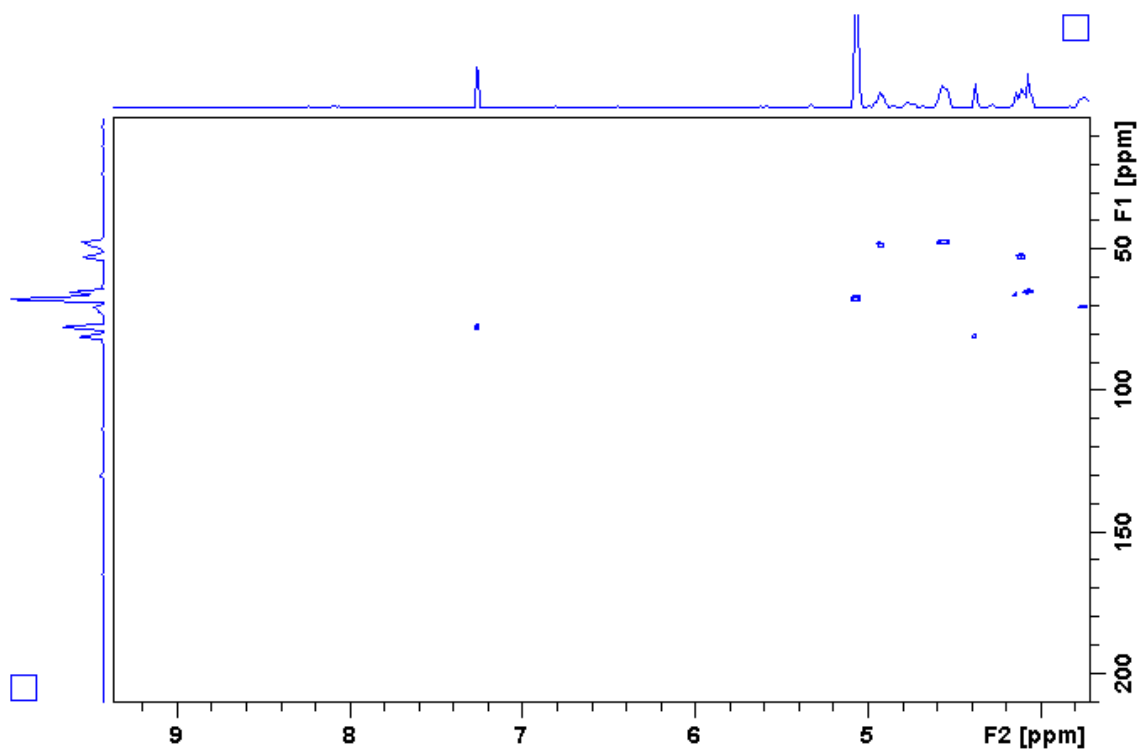
Apêndice F10. Ampliação do espectro F9 (δ 14,0–70,0) do derivado **48**.



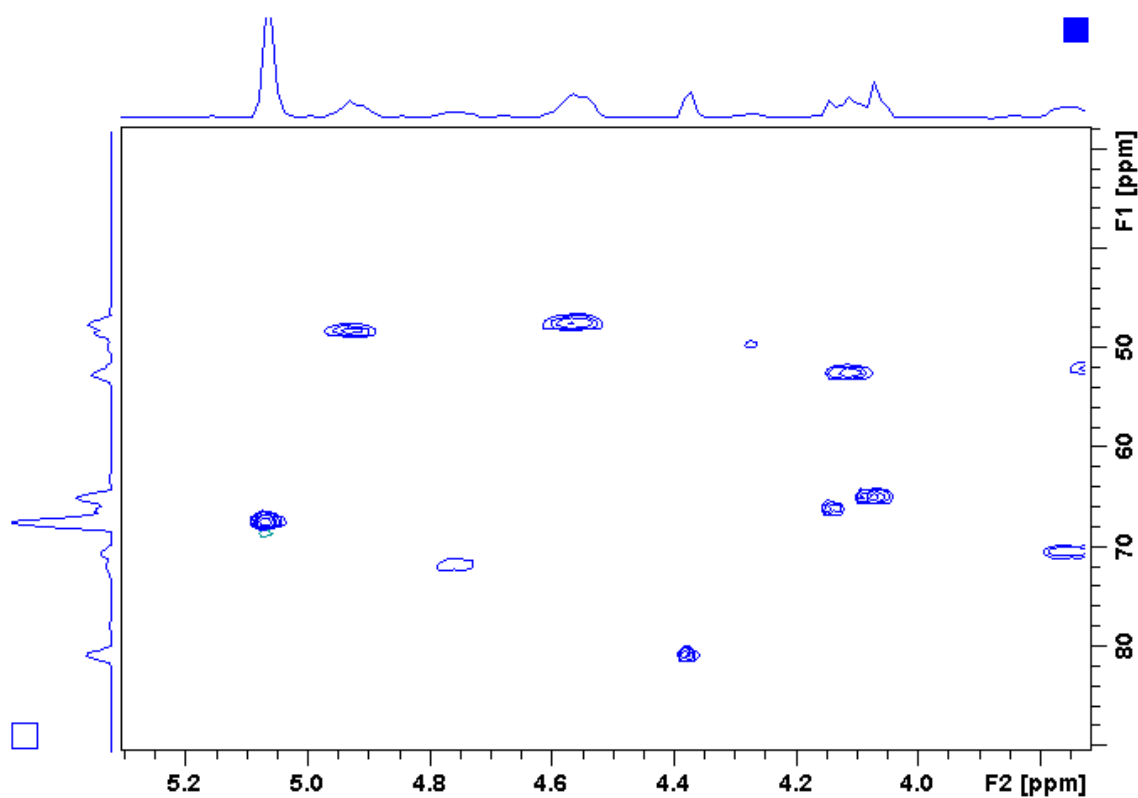
Apêndice F11. Ampliação do espectro F10 (δ 29,0–30,2) do derivado **48**.



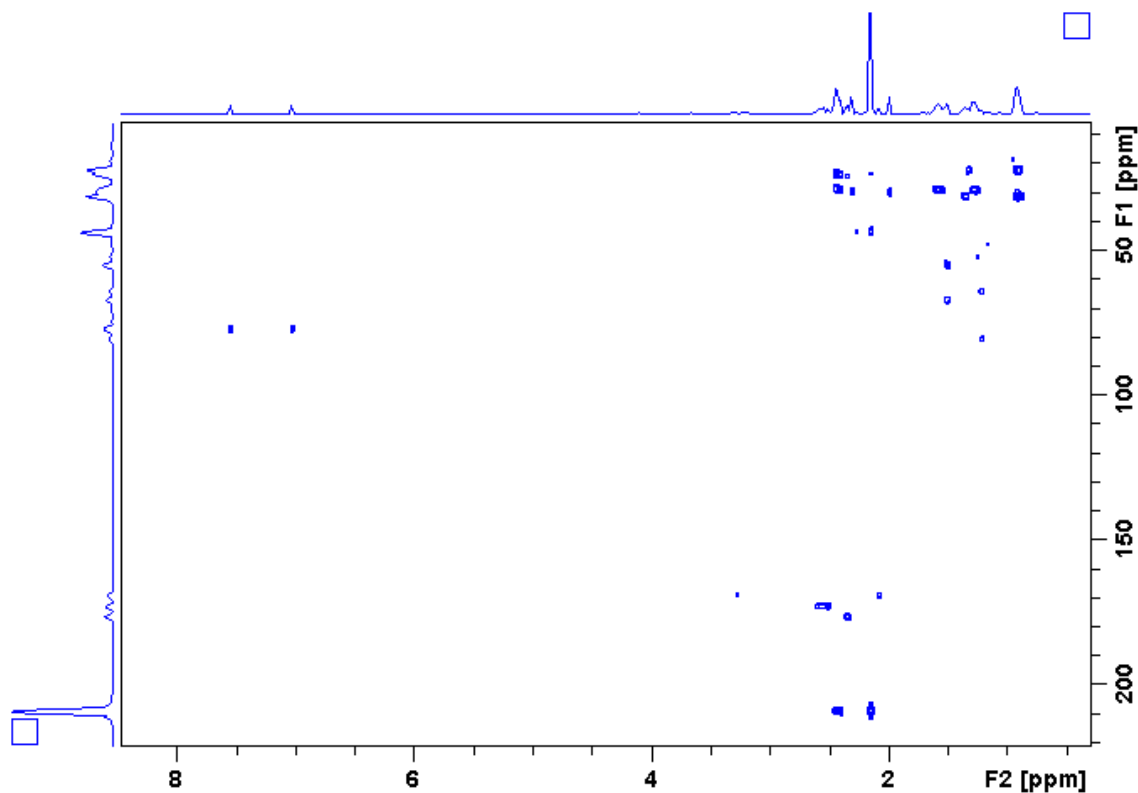
Apêndice F12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **48**.



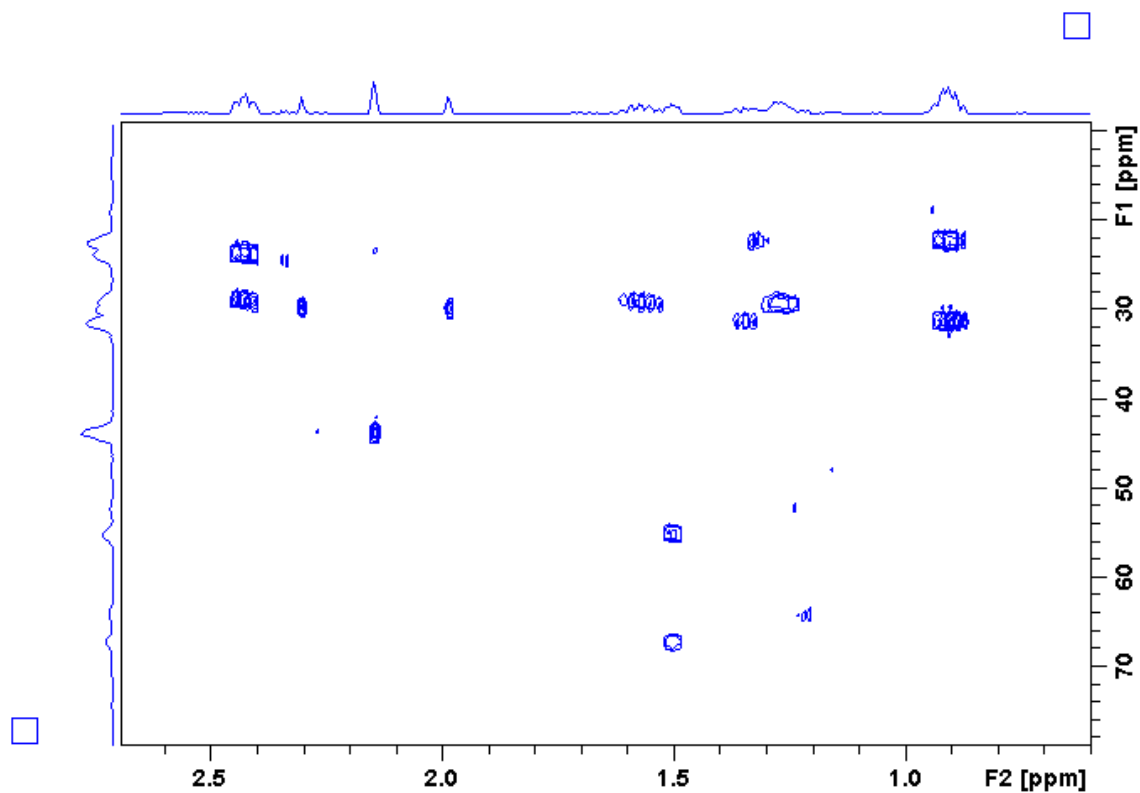
Apêndice F13. Mapa de contorno HSQC (δ 30,0–80,0) do alcaloide **48**.



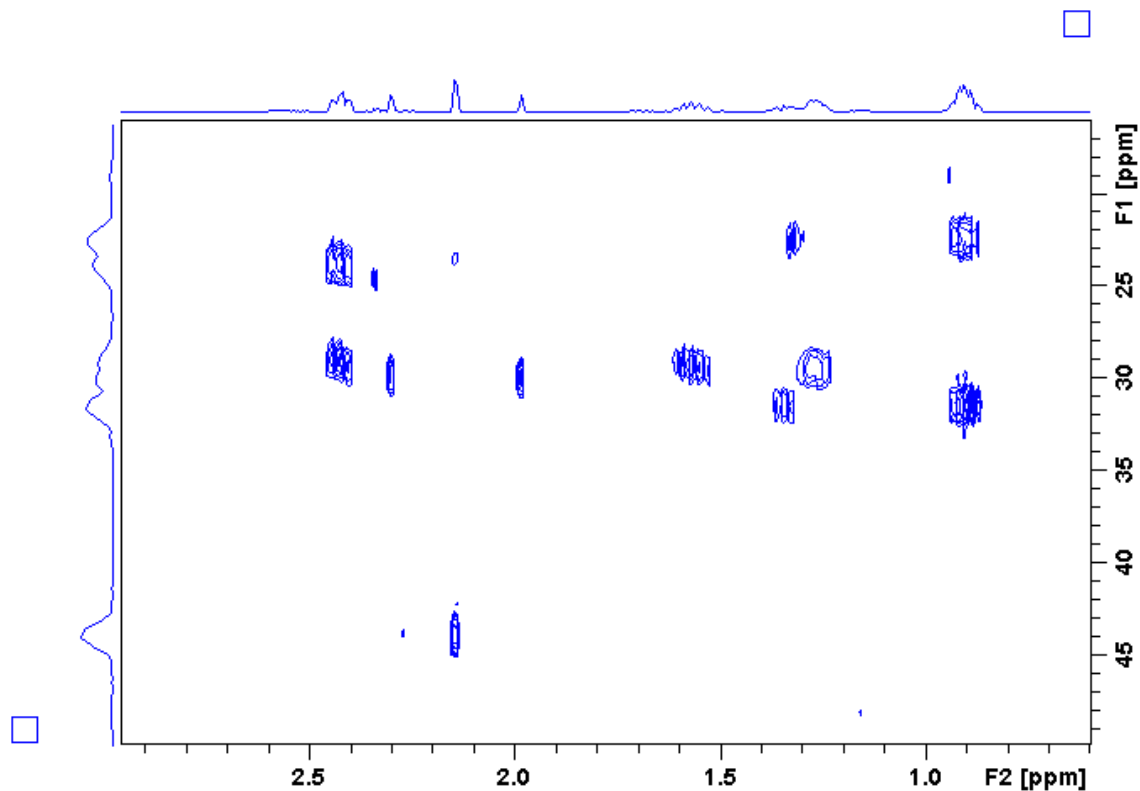
Apêndice F14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **48**.



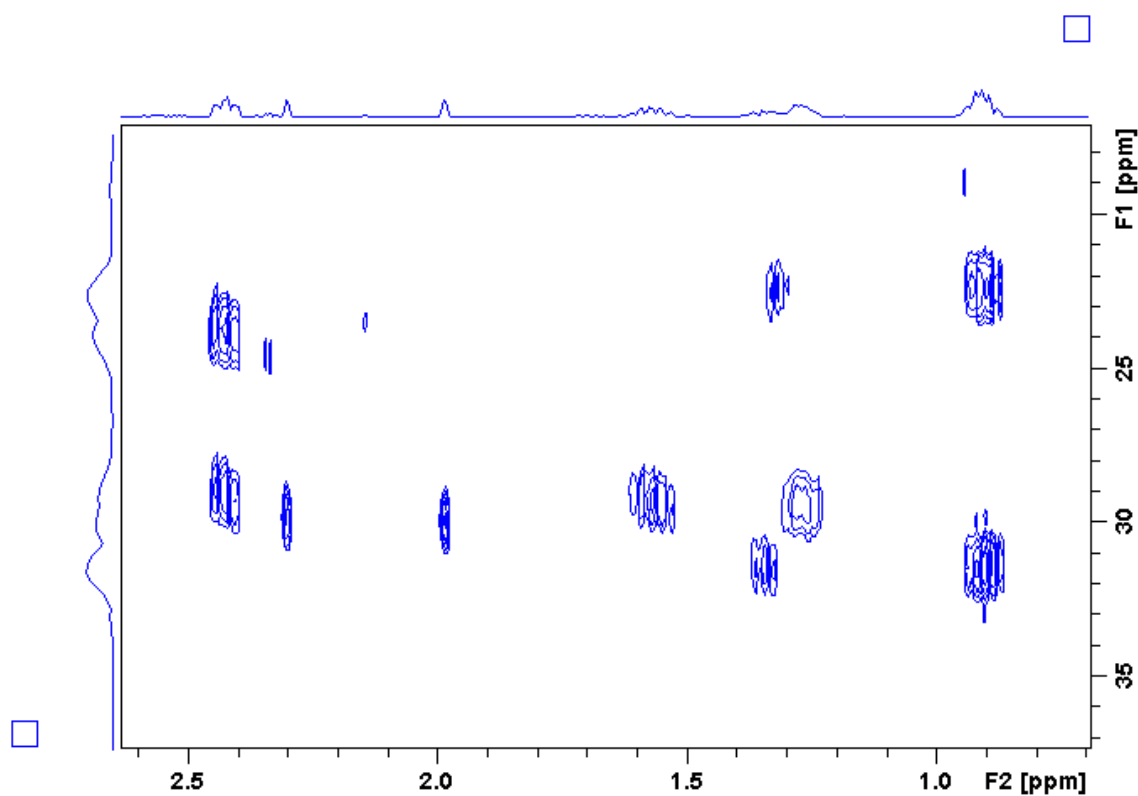
Apêndice F15. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **48**.



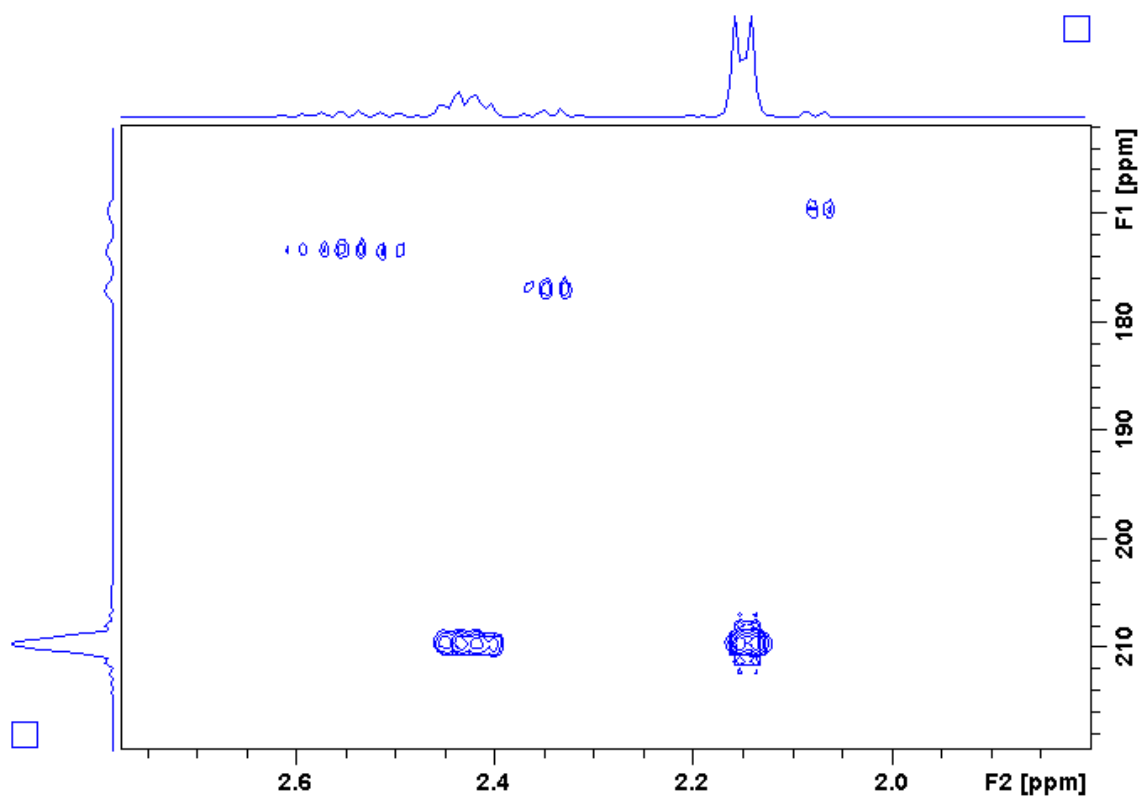
Apêndice F16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **48**.



Apêndice F17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–35,0) do alcaloide **48**.

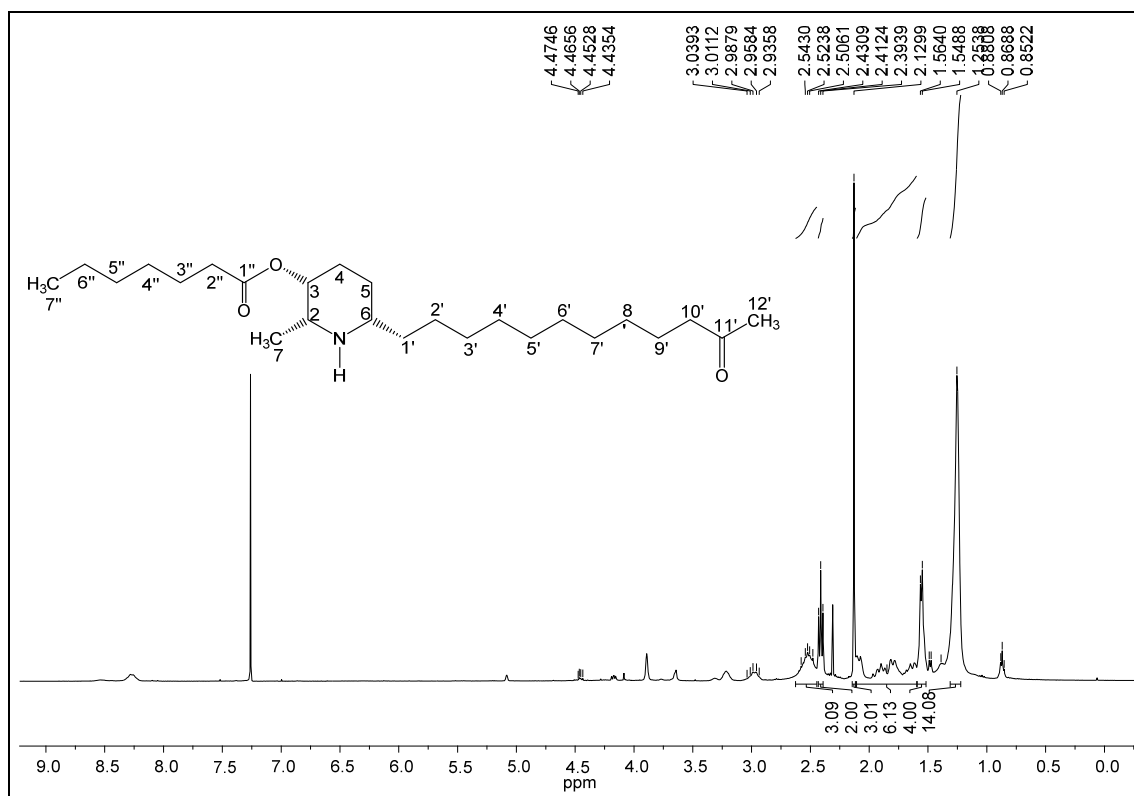


Apêndice F18. Mapa de contorno HMBC (δ 165,0–215,0) do alcaloide **48**.

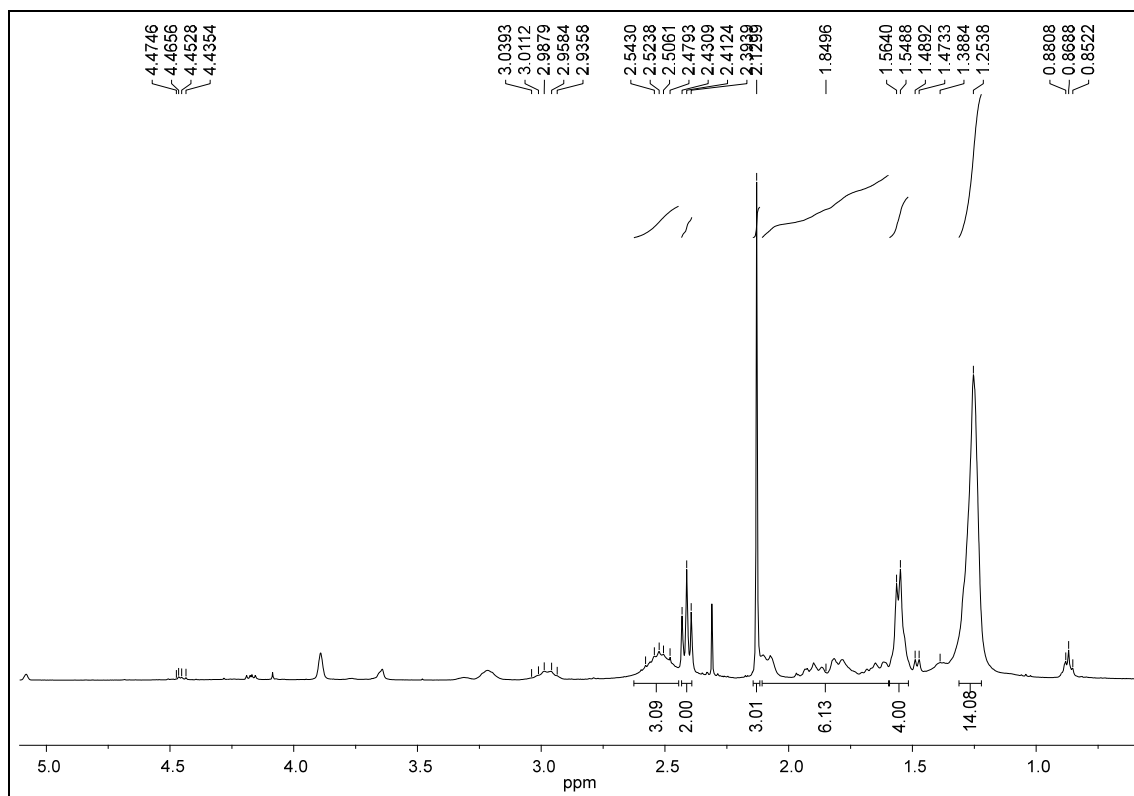


APÊNDICE G

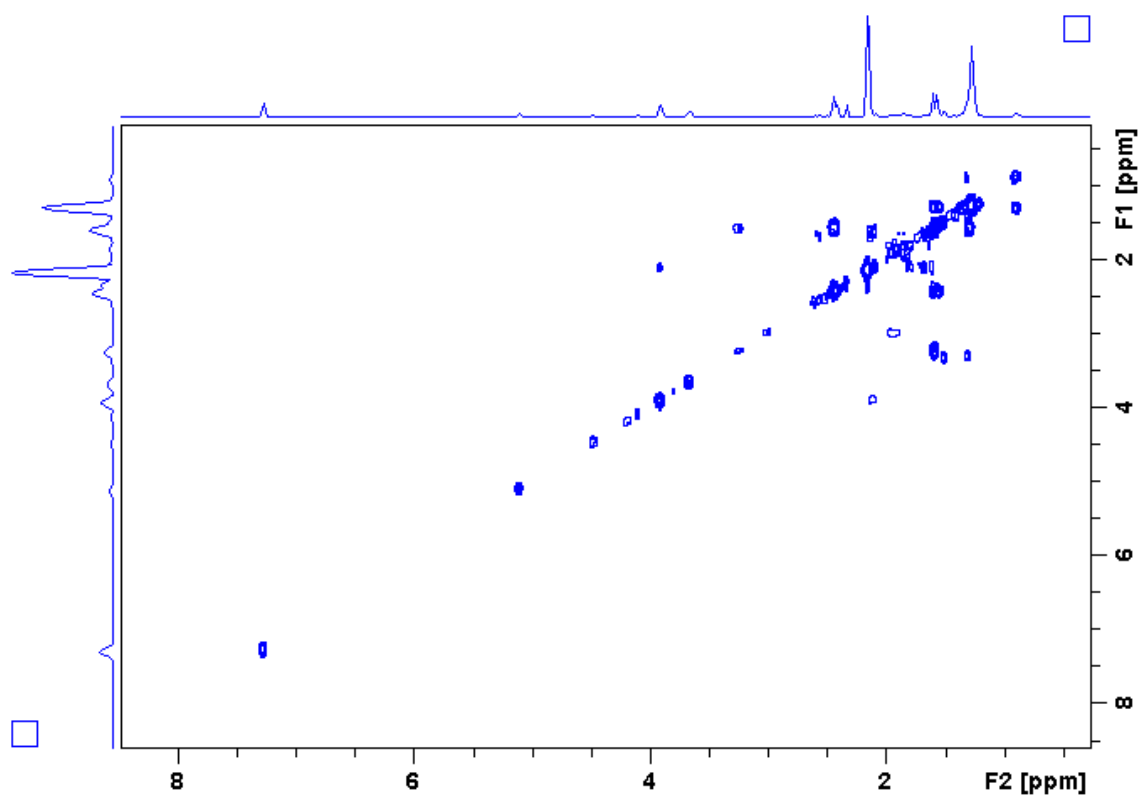
Apêndice G1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **49** (400 MHz, CDCl_3).



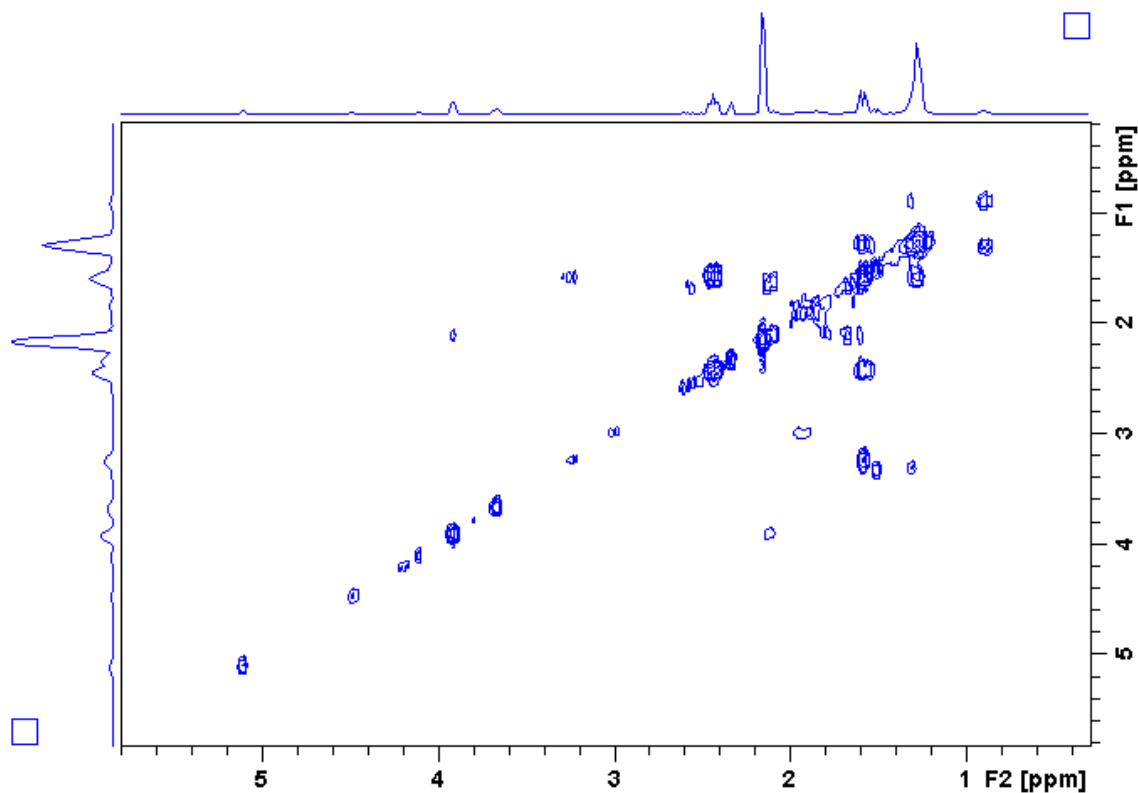
Apêndice G2. Ampliação do espectro G1 (δ 0,8–5,2) do derivado **49**.



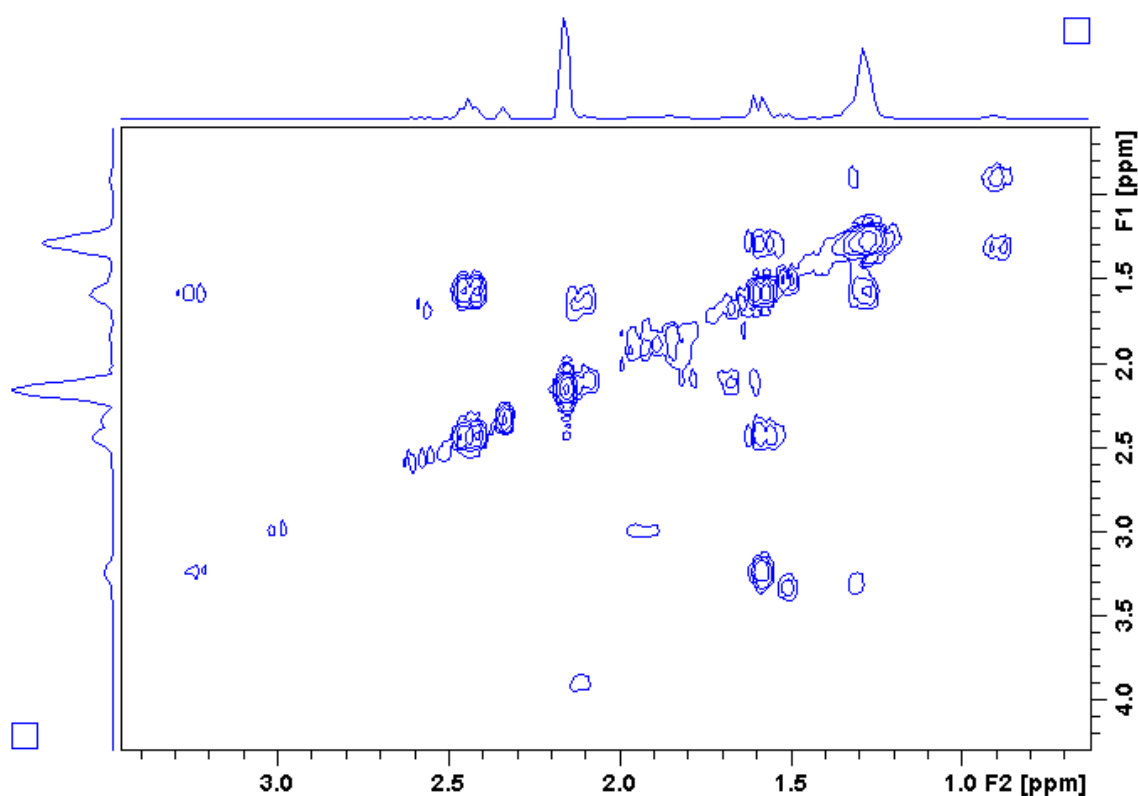
Apêndice G3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **49**.



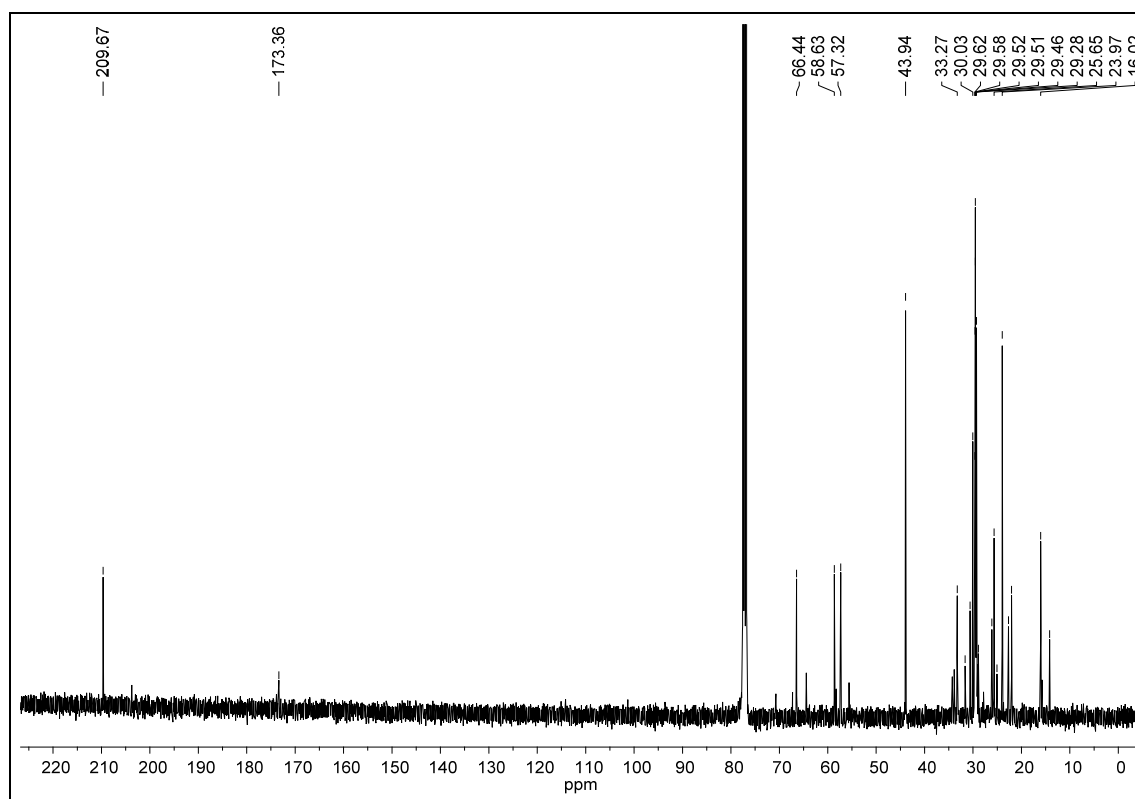
Apêndice G4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **49**.



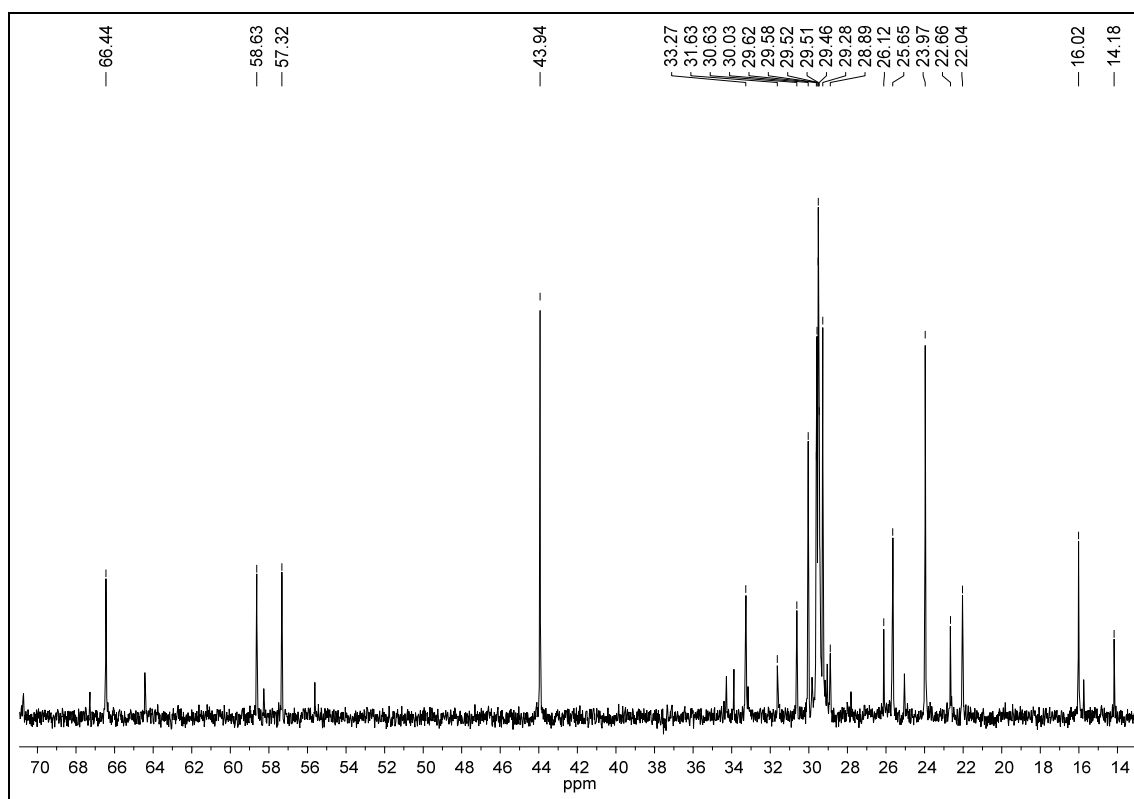
Apêndice G5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–4,0) do alcaloide **49**.



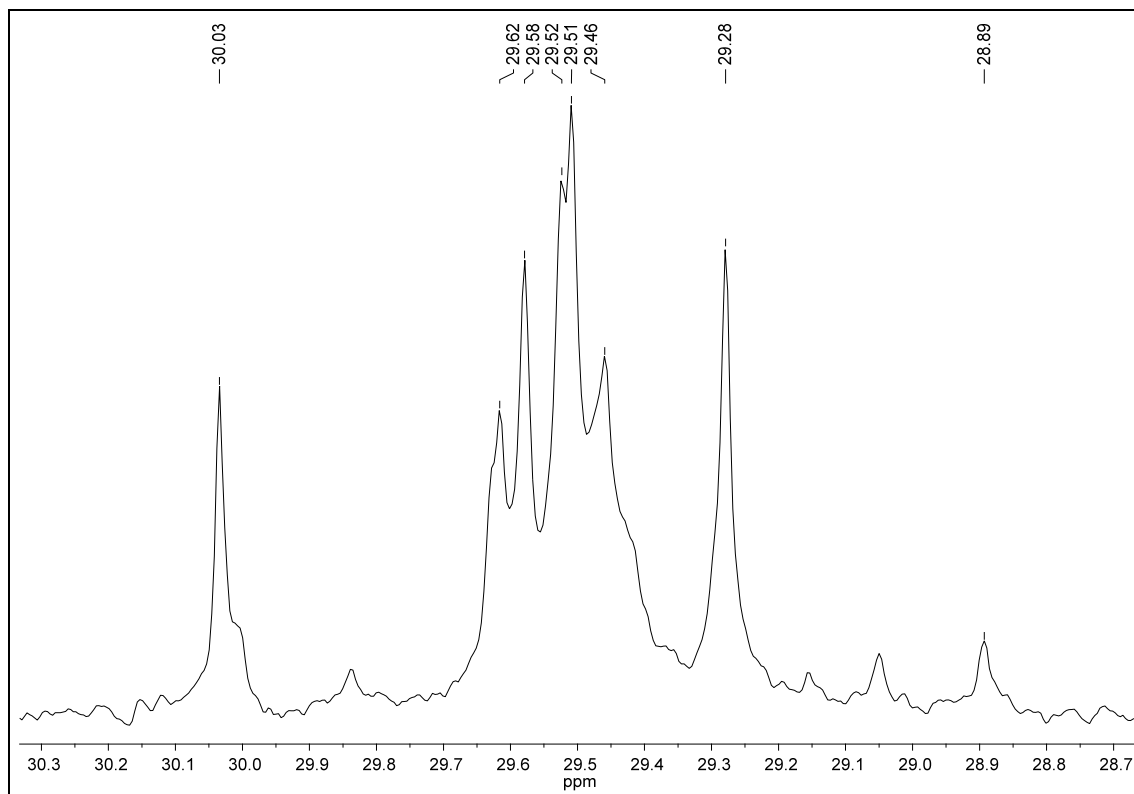
Apêndice G6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **49** (100 MHz, CDCl₃).



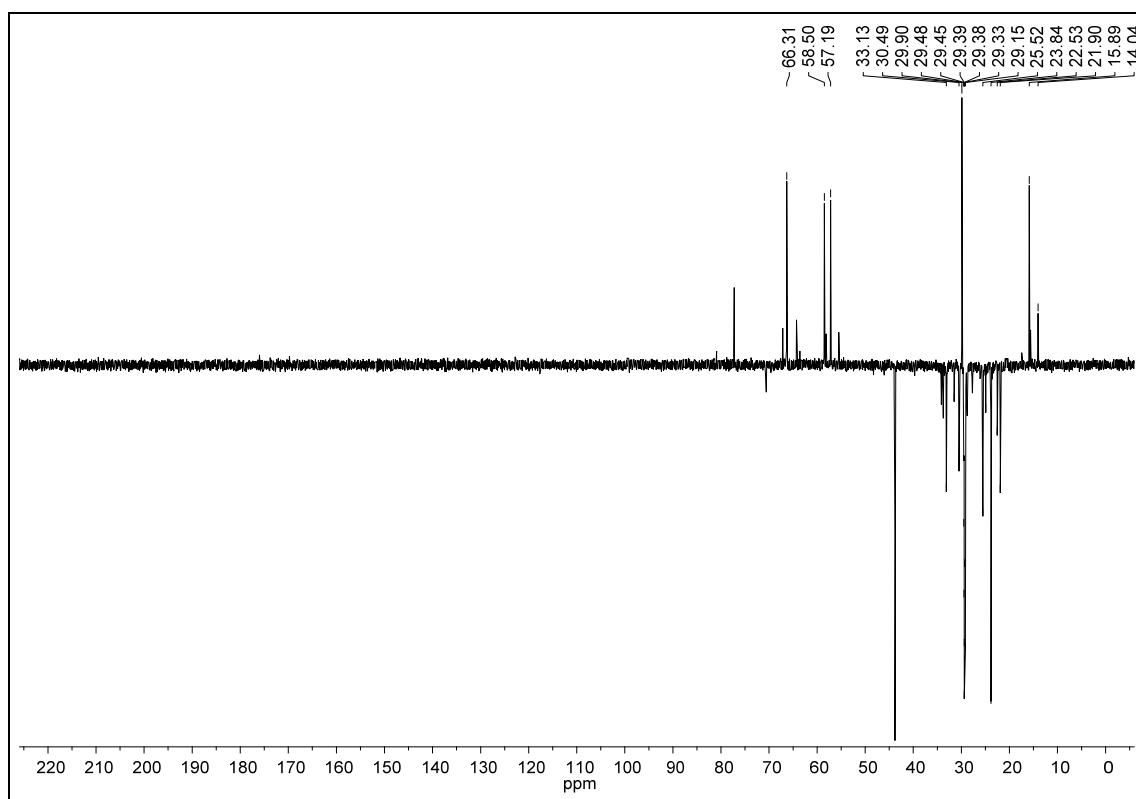
Apêndice G7. Ampliação do espectro G6 (δ 14,0–70,0) do derivado **49**.



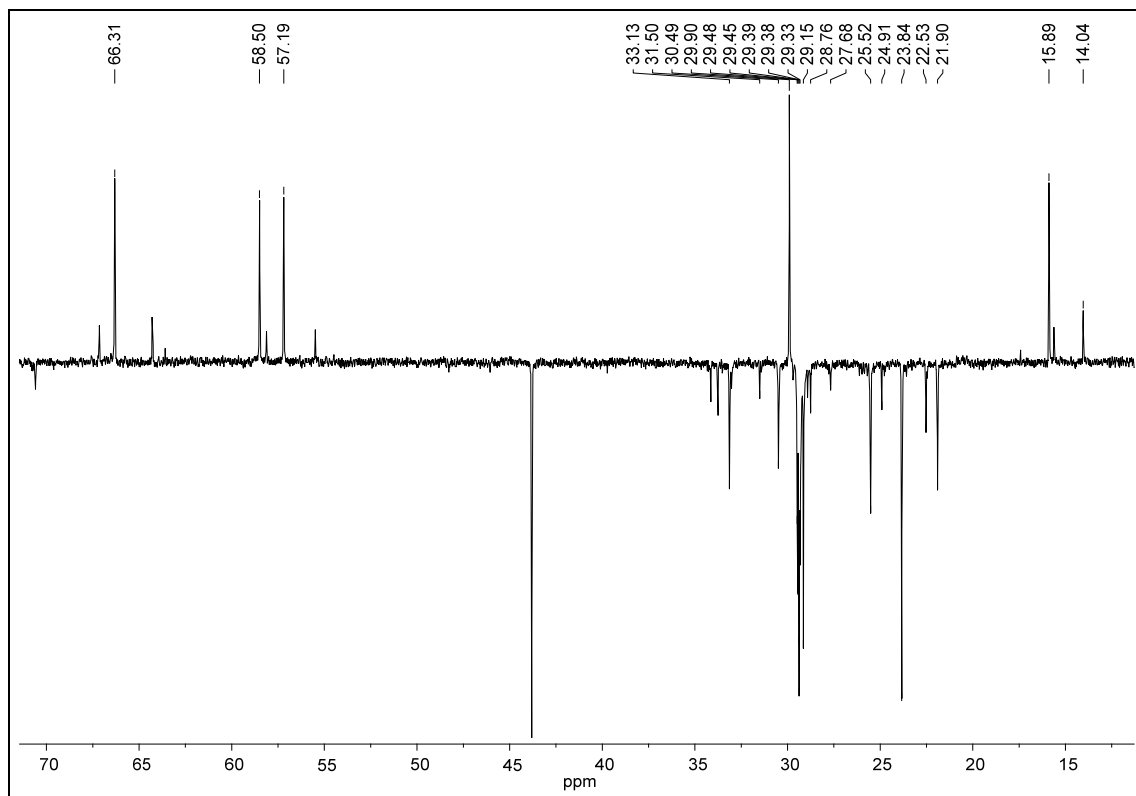
Apêndice G8. Ampliação do espectro G7 (δ 28,7–30,3) do derivado **49**.



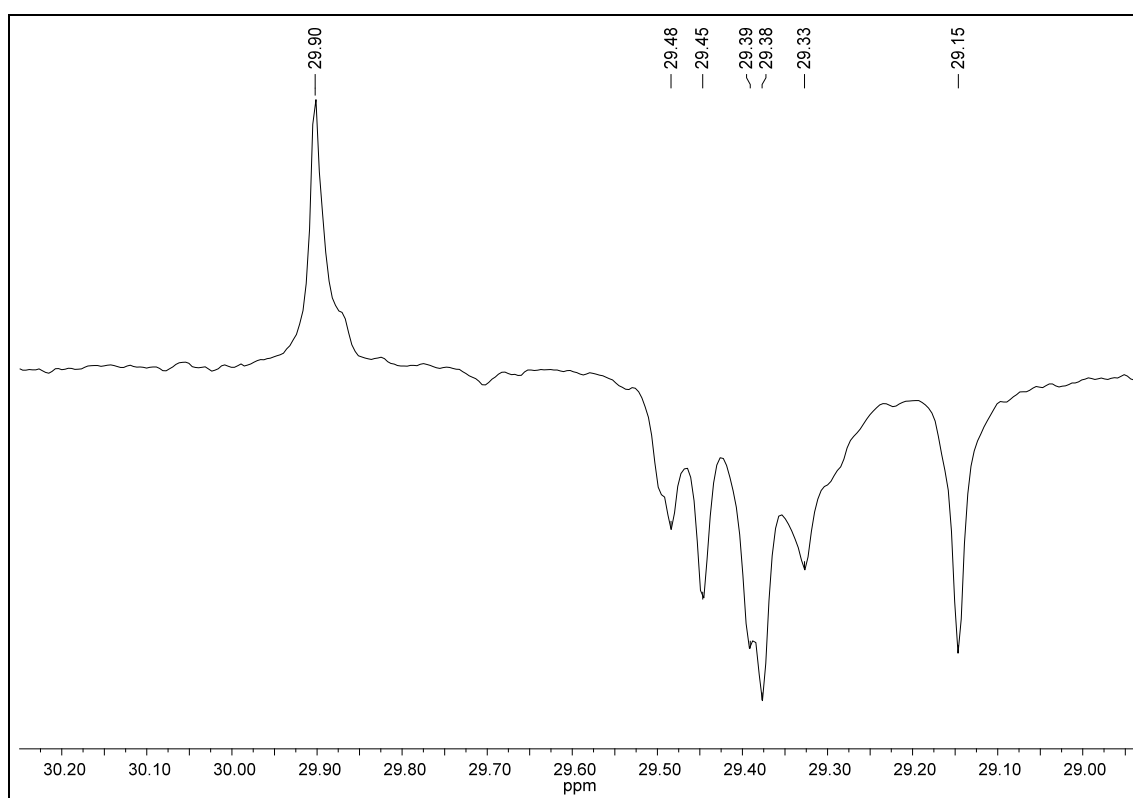
Apêndice G9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **49**.



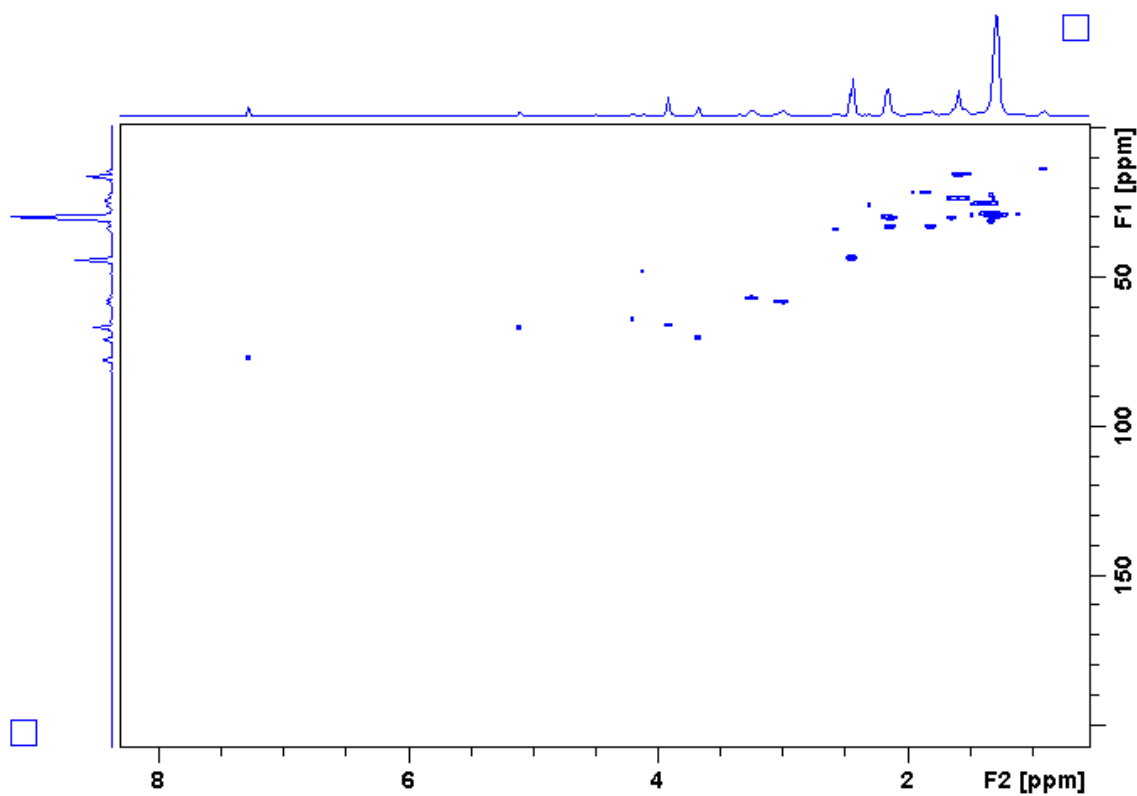
Apêndice G10. Ampliação do espectro G9 (δ 14,0–70,0) do derivado **49**.



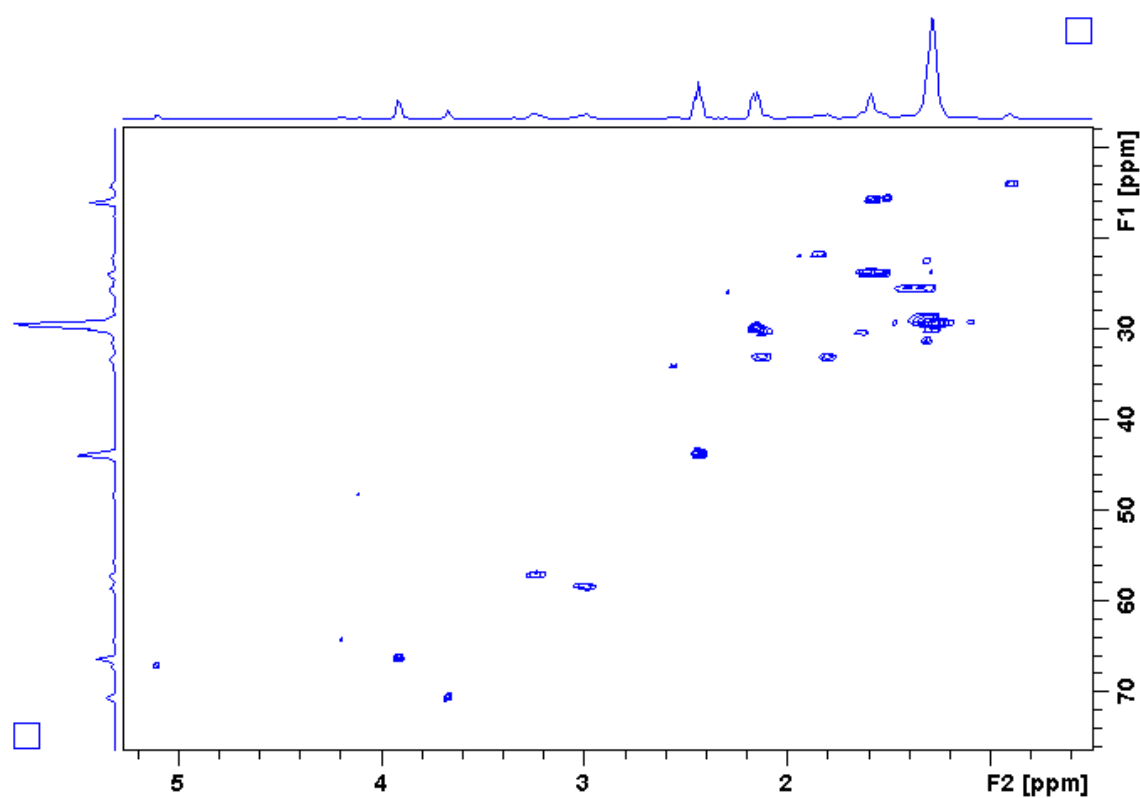
Apêndice G11. Ampliação do espectro G10 (δ 29,0–30,2) do derivado **49**.



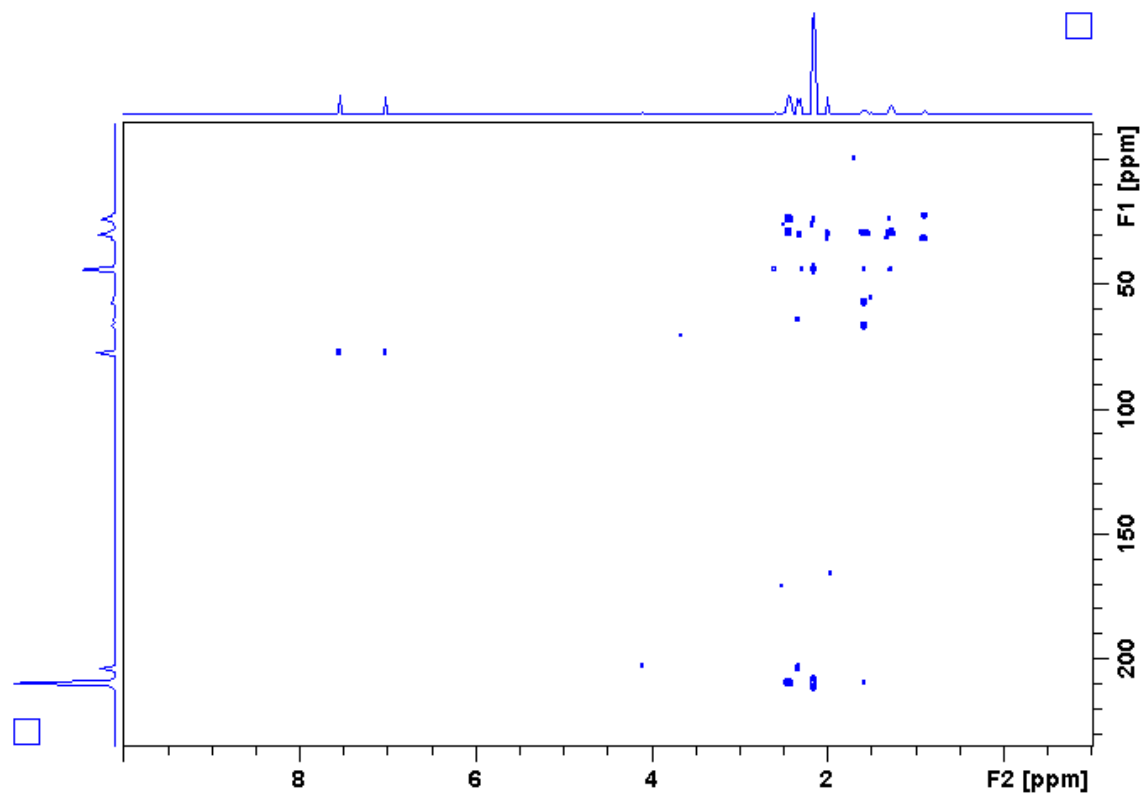
Apêndice G12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **49**.



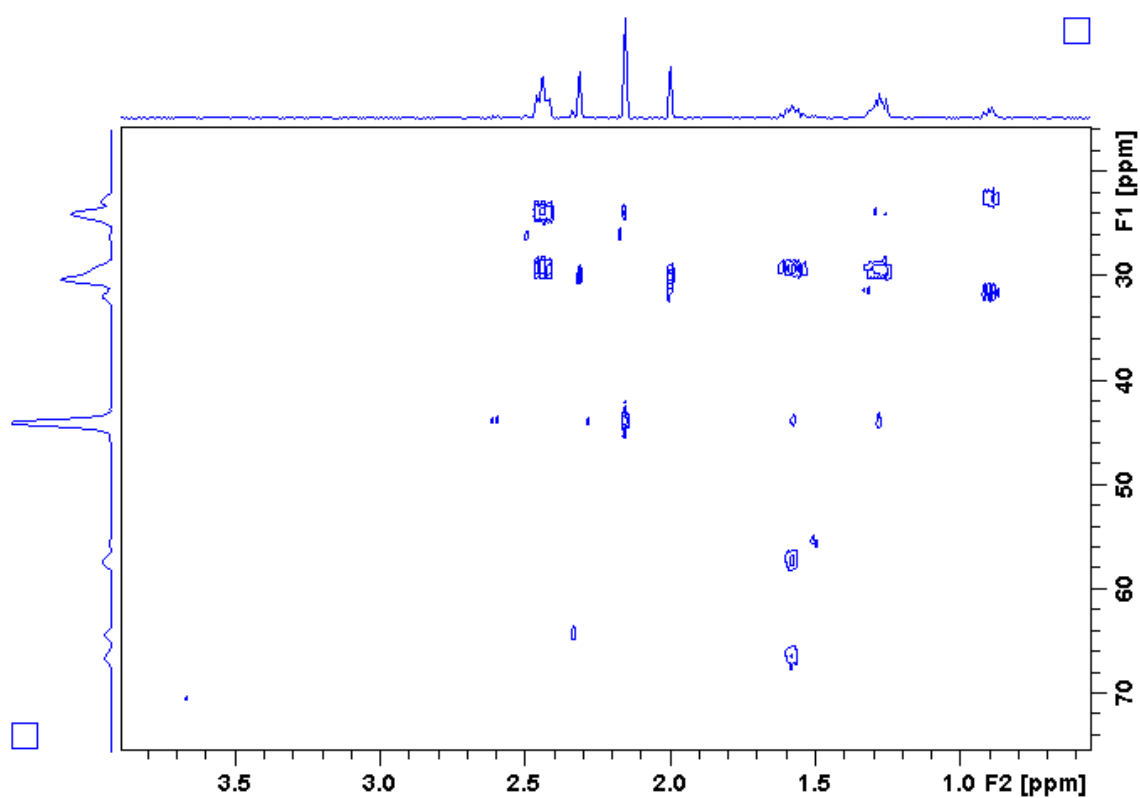
Apêndice G13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **49**.



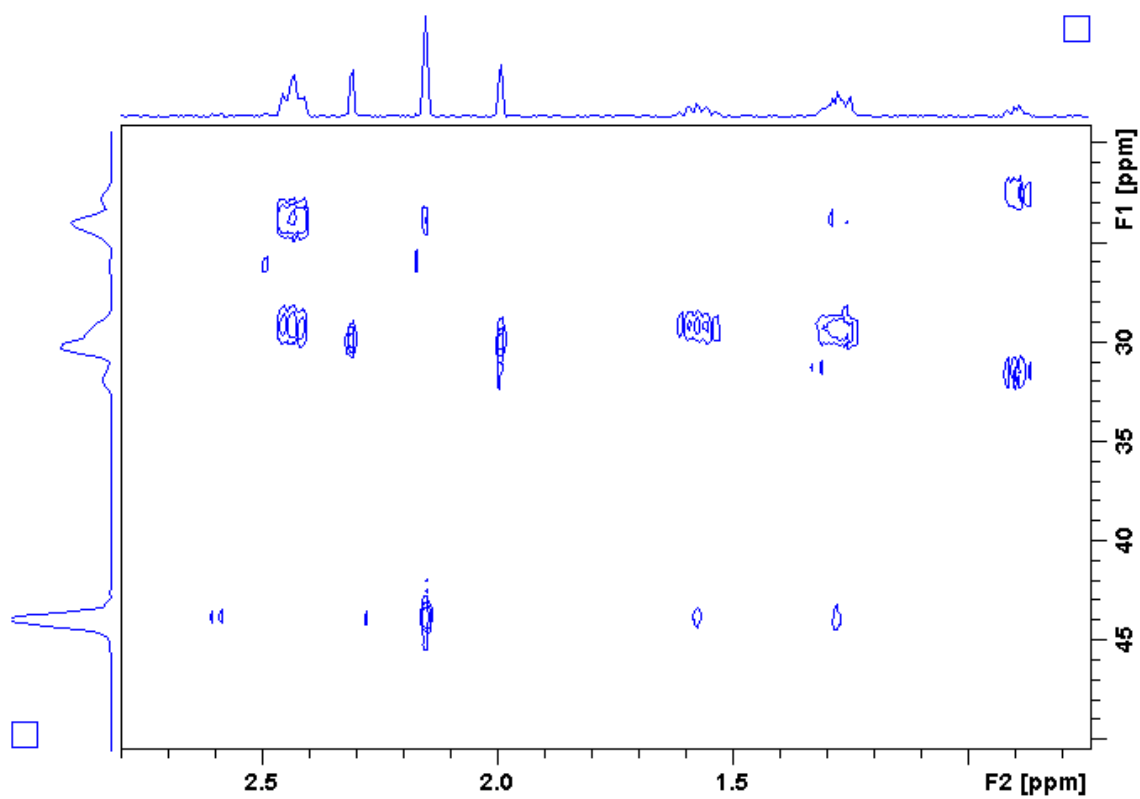
Apêndice G14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **49**.



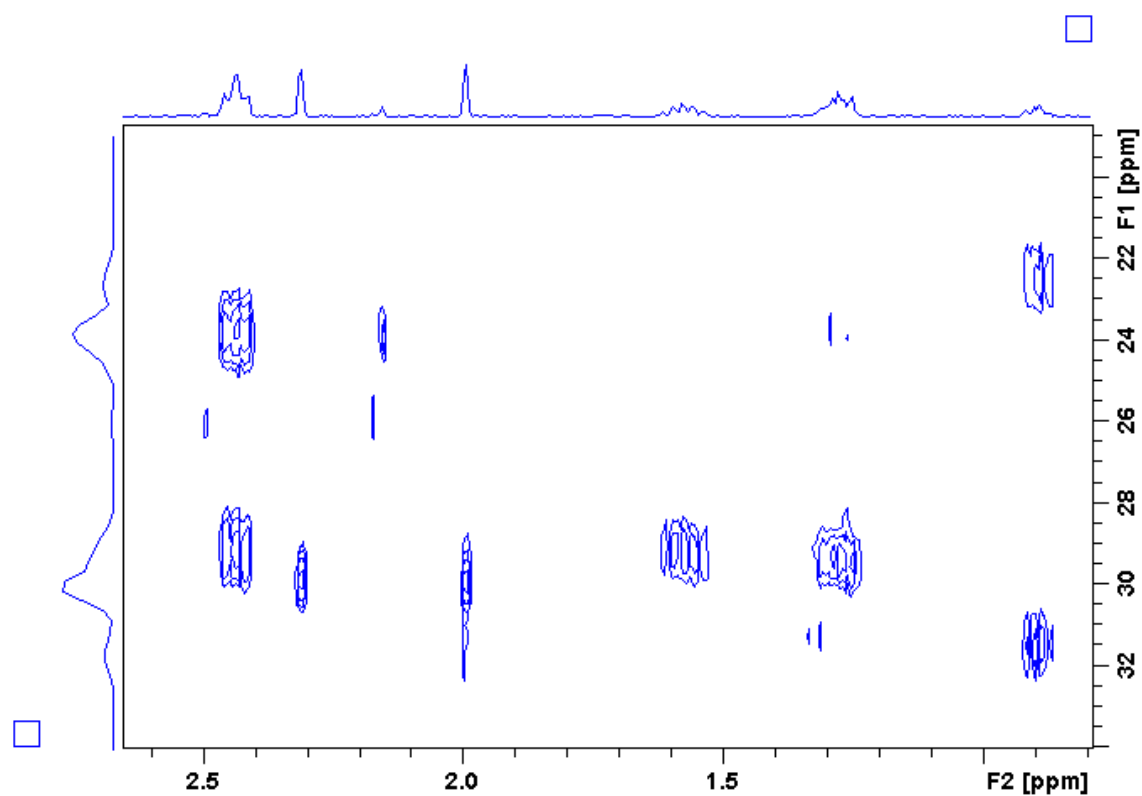
Apêndice G15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **49**.



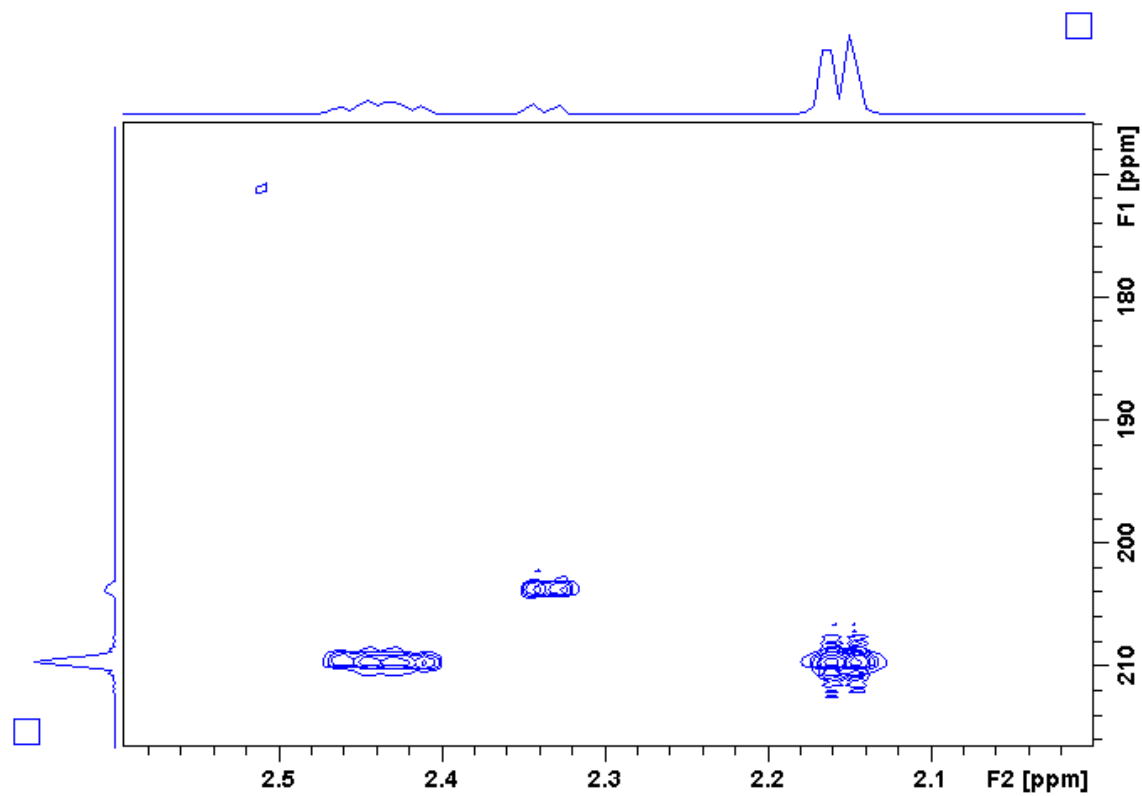
Apêndice G16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **49**.



Apêndice G17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–32,0) do alcaloide **49**.

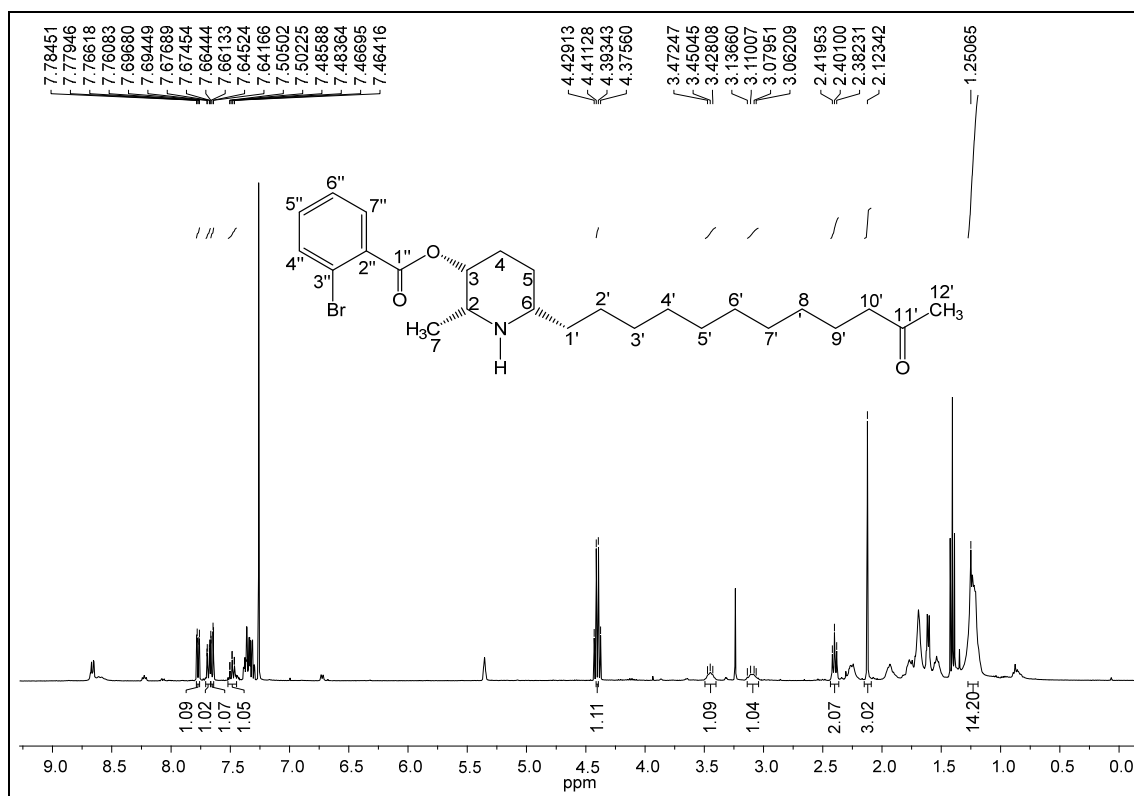


Apêndice G18. Mapa de contorno HMBC (δ 170,0–210,0) do alcaloide **49**.

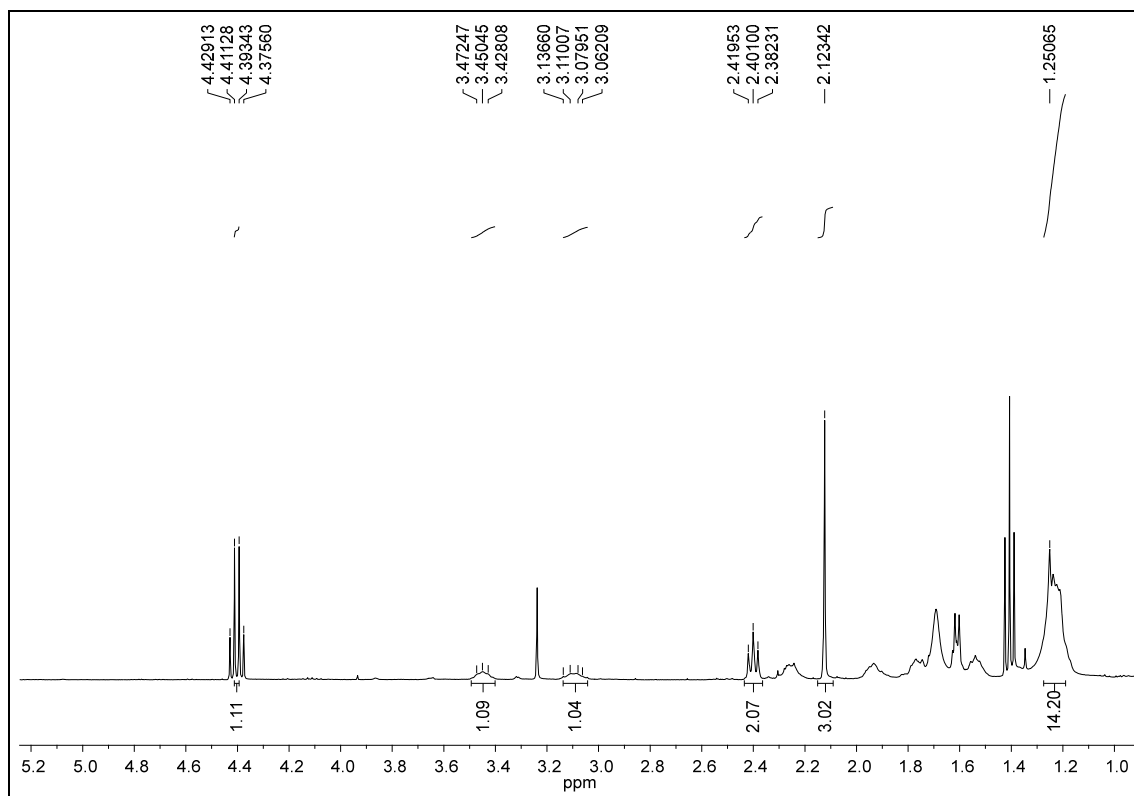


APÊNDICE H

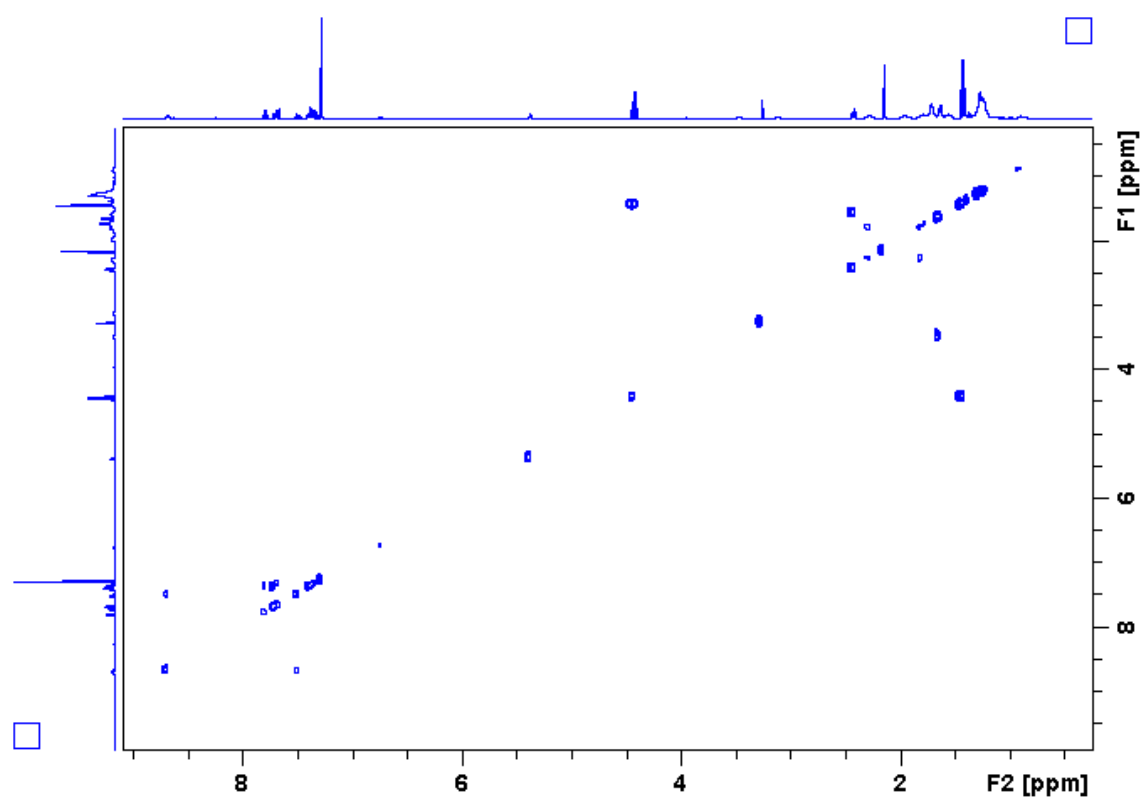
Apêndice H1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **50** (400 MHz, CDCl_3).



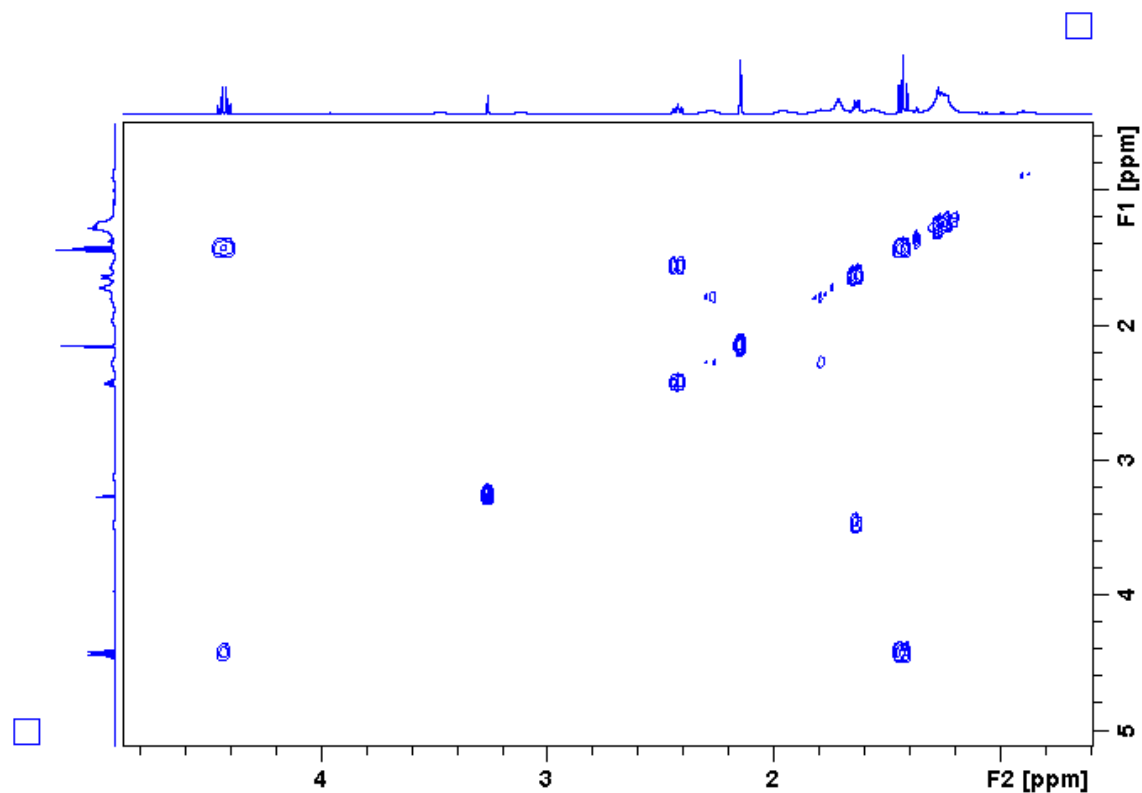
Apêndice H2. Ampliação do espectro H1 (δ 1,0–5,2) do derivado **50**.



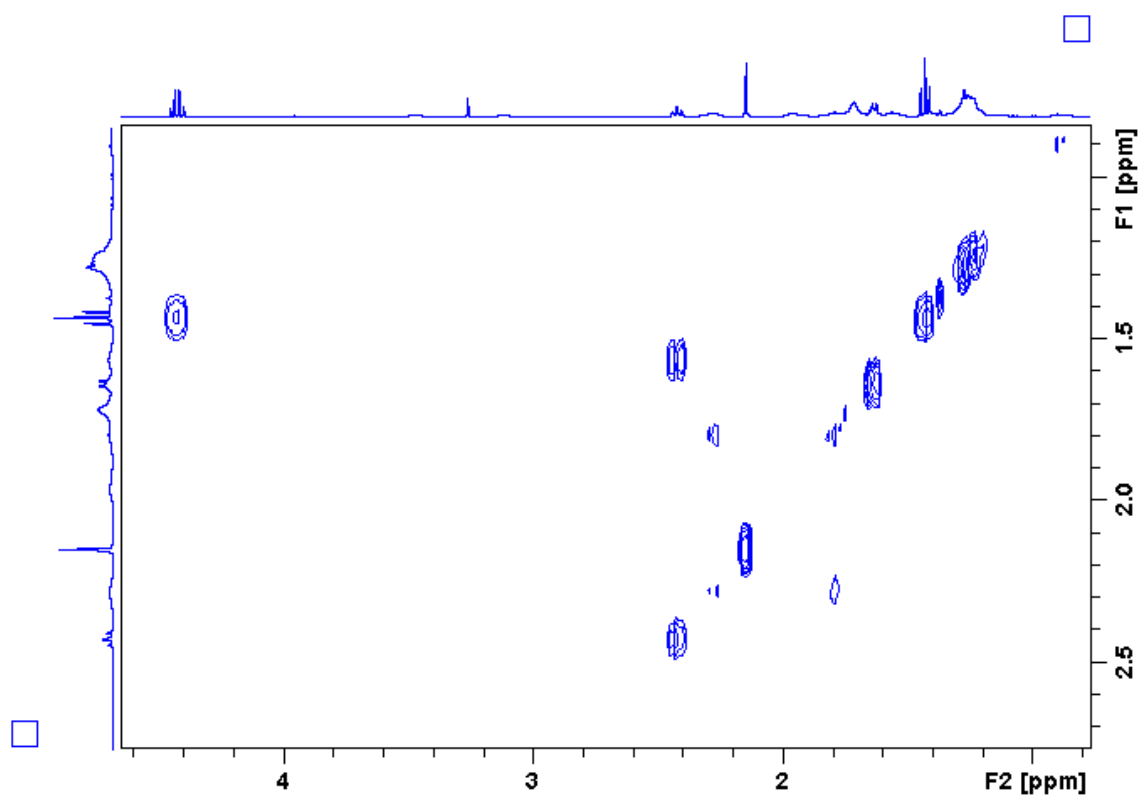
Apêndice H3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **50**.



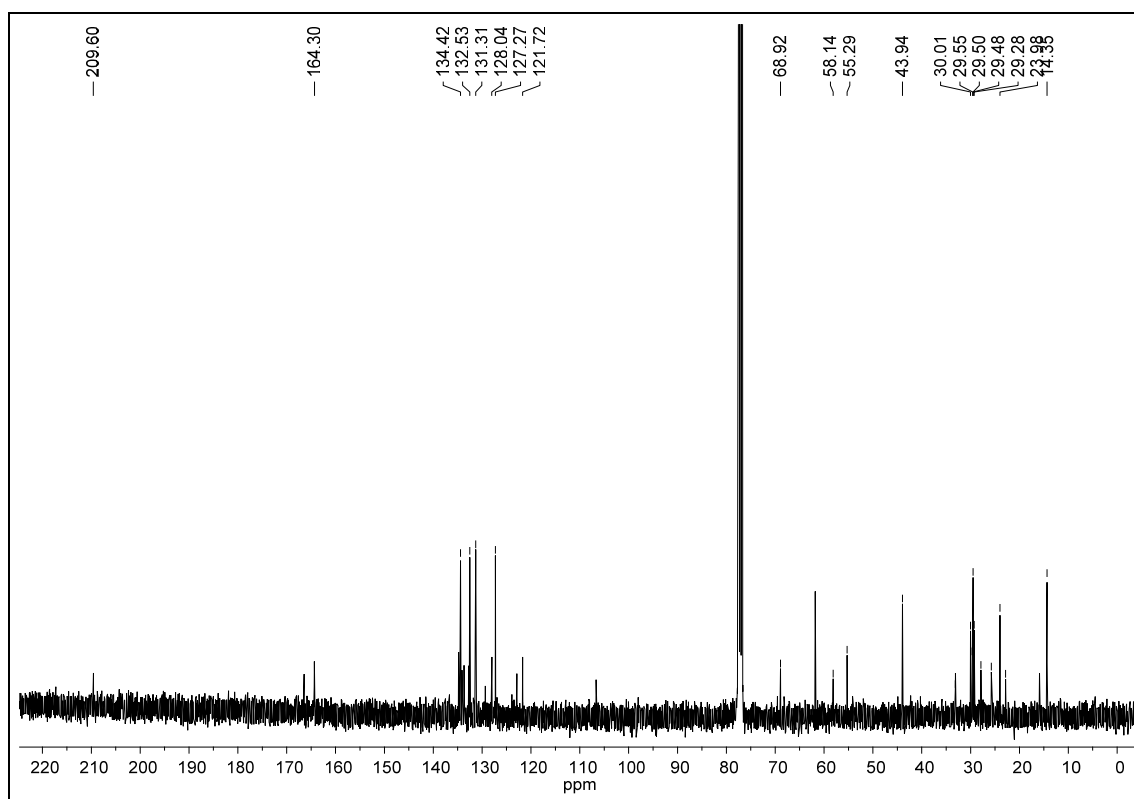
Apêndice H4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **50**.



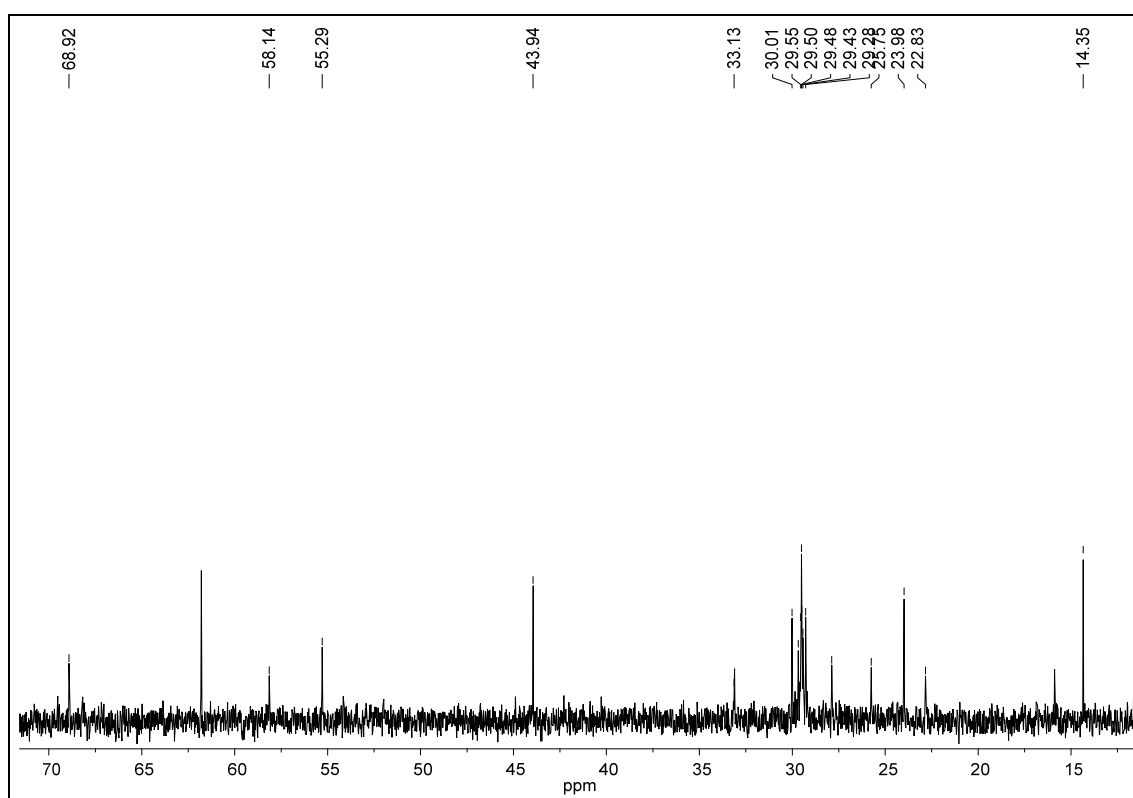
Apêndice H5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–2,5) do alcaloide **50**.



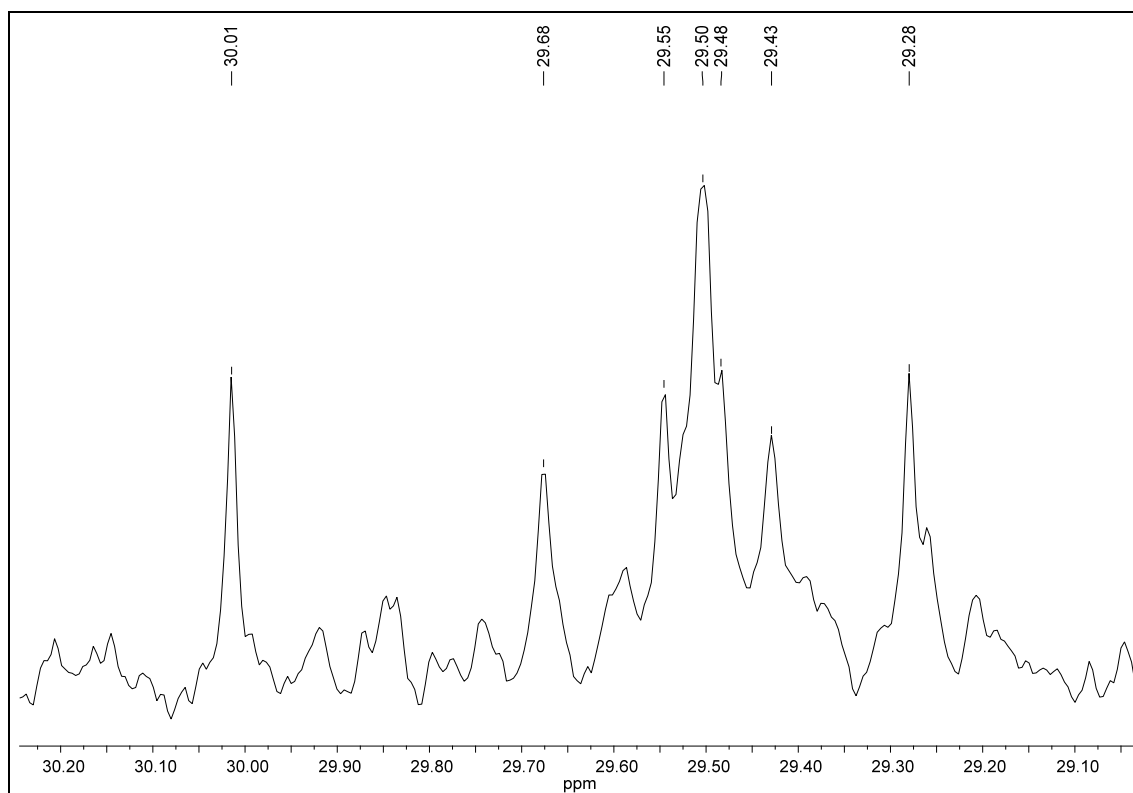
Apêndice H6. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **50** (100 MHz, CDCl_3).



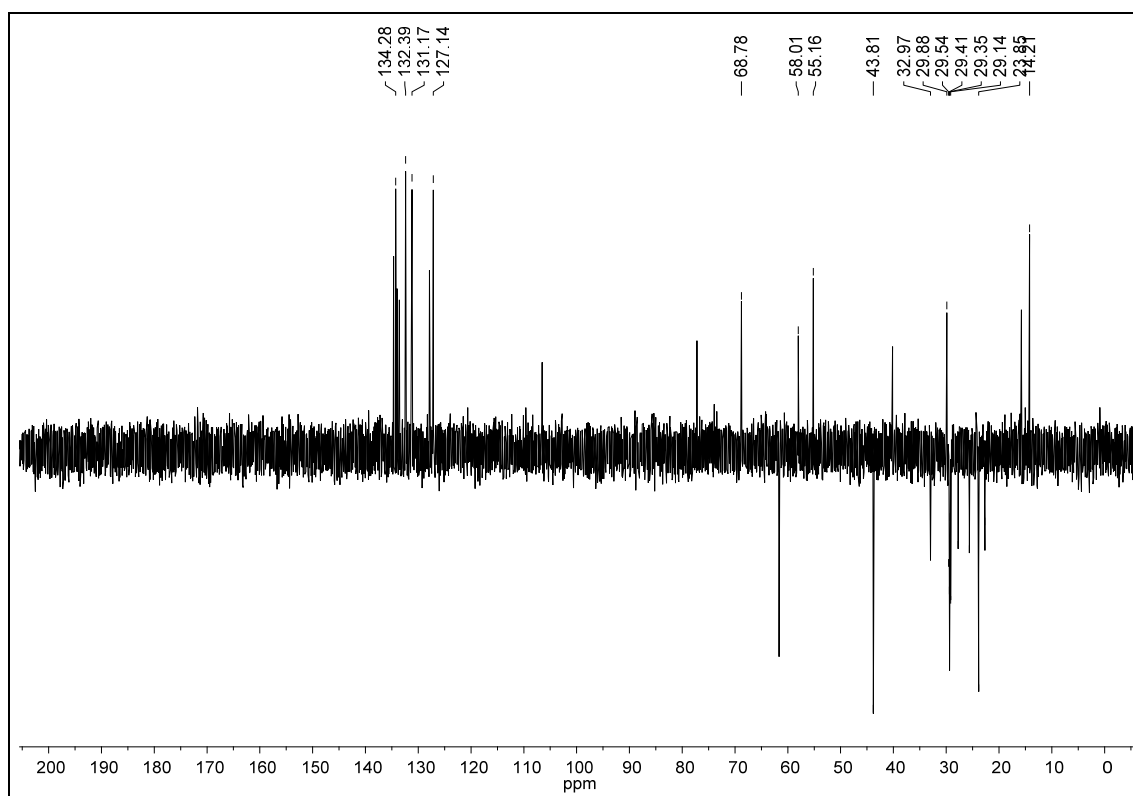
Apêndice H7. Ampliação do espectro H6 (δ 14,0–70,0) do derivado **50**.



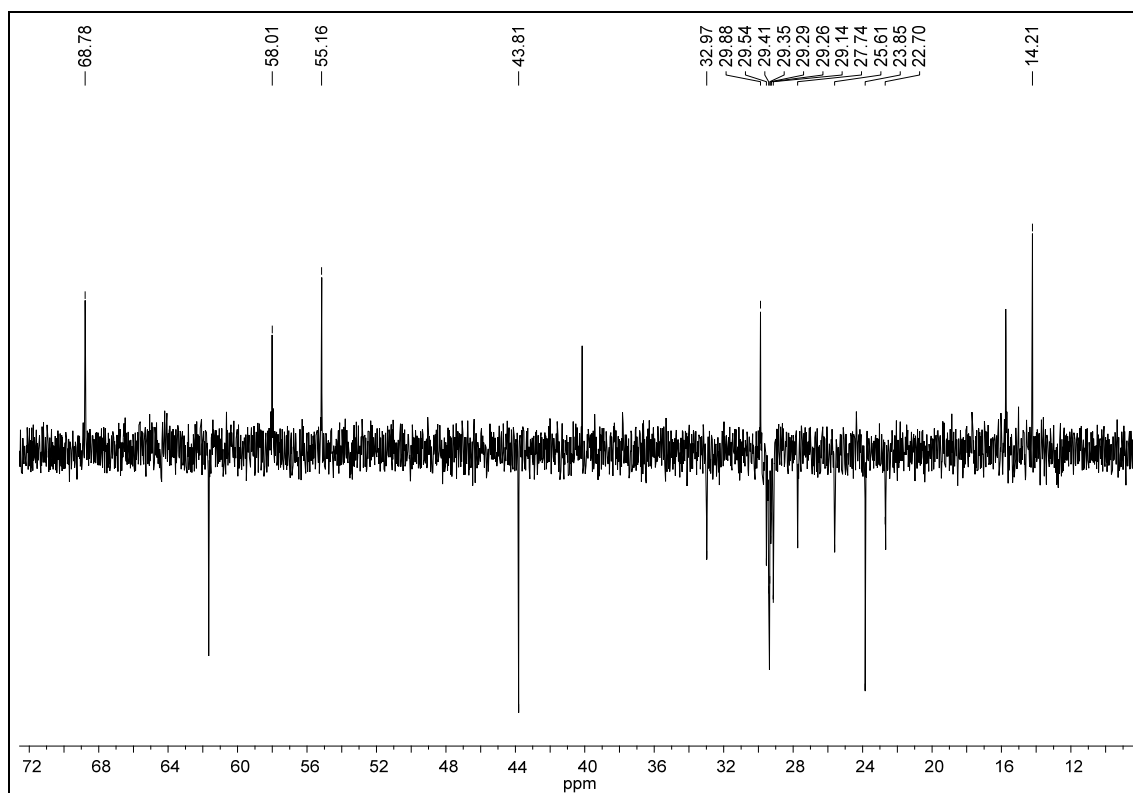
Apêndice H8. Ampliação do espectro H7 (δ 29,2–30,3) do derivado **50**.



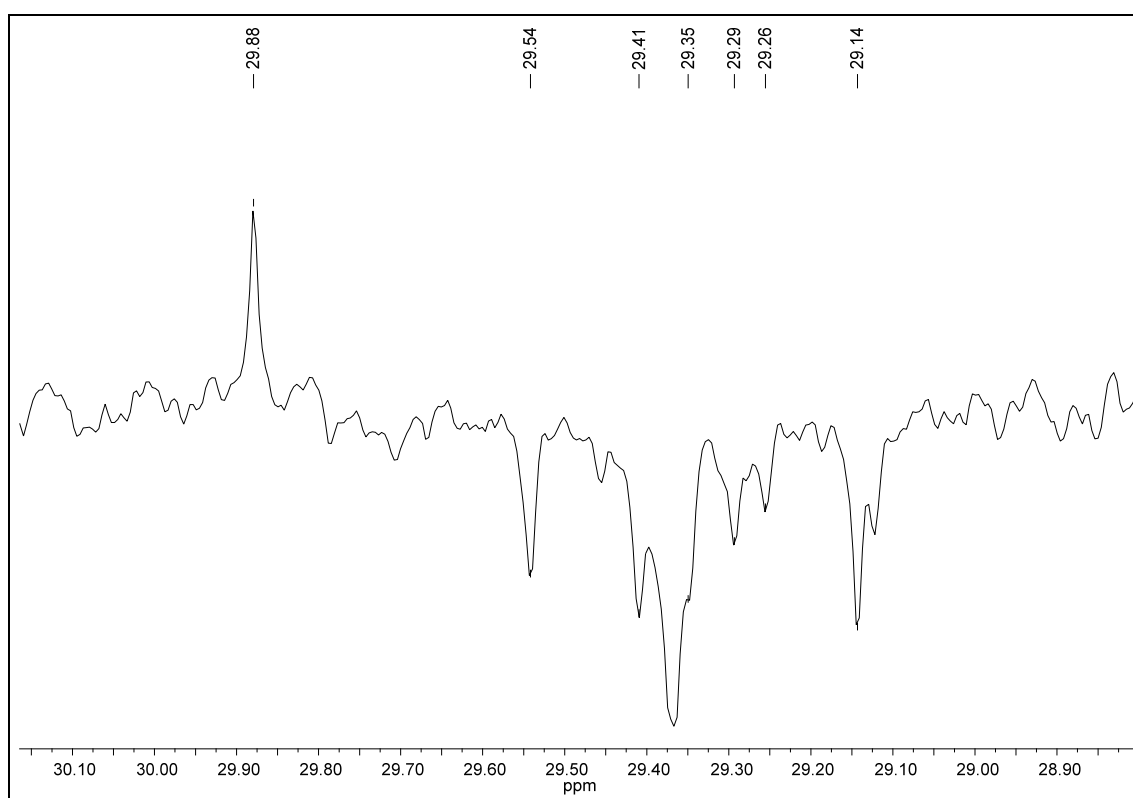
Apêndice H9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **50**.



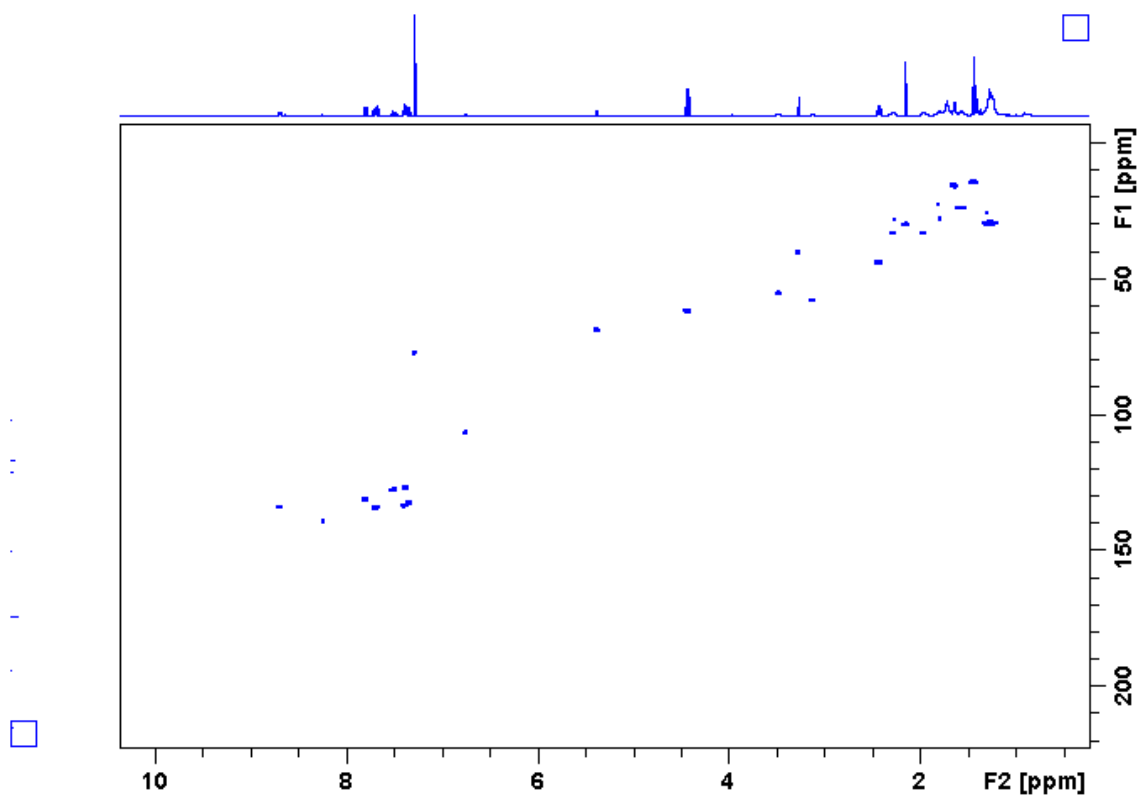
Apêndice H10. Ampliação do espectro H9 (δ 14,0–70,0) do derivado **50**.



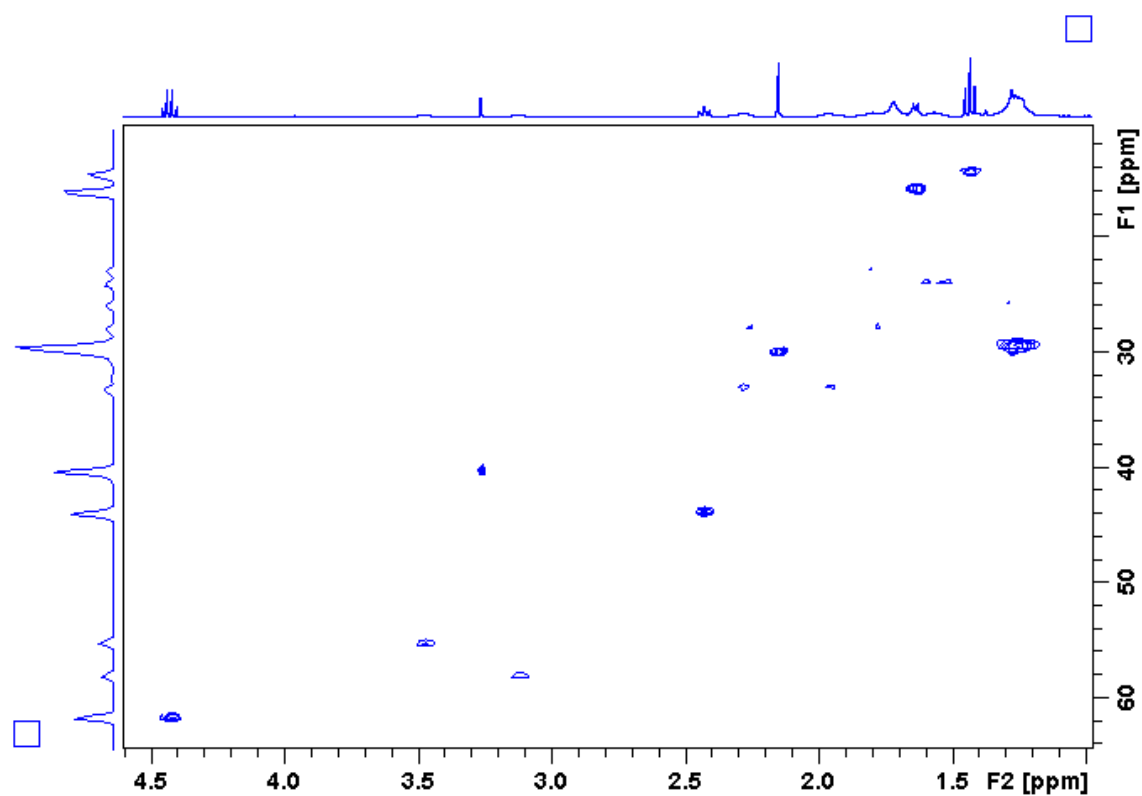
Apêndice H11. Ampliação do espectro H10 (δ 29,0–30,1) do derivado **50**.



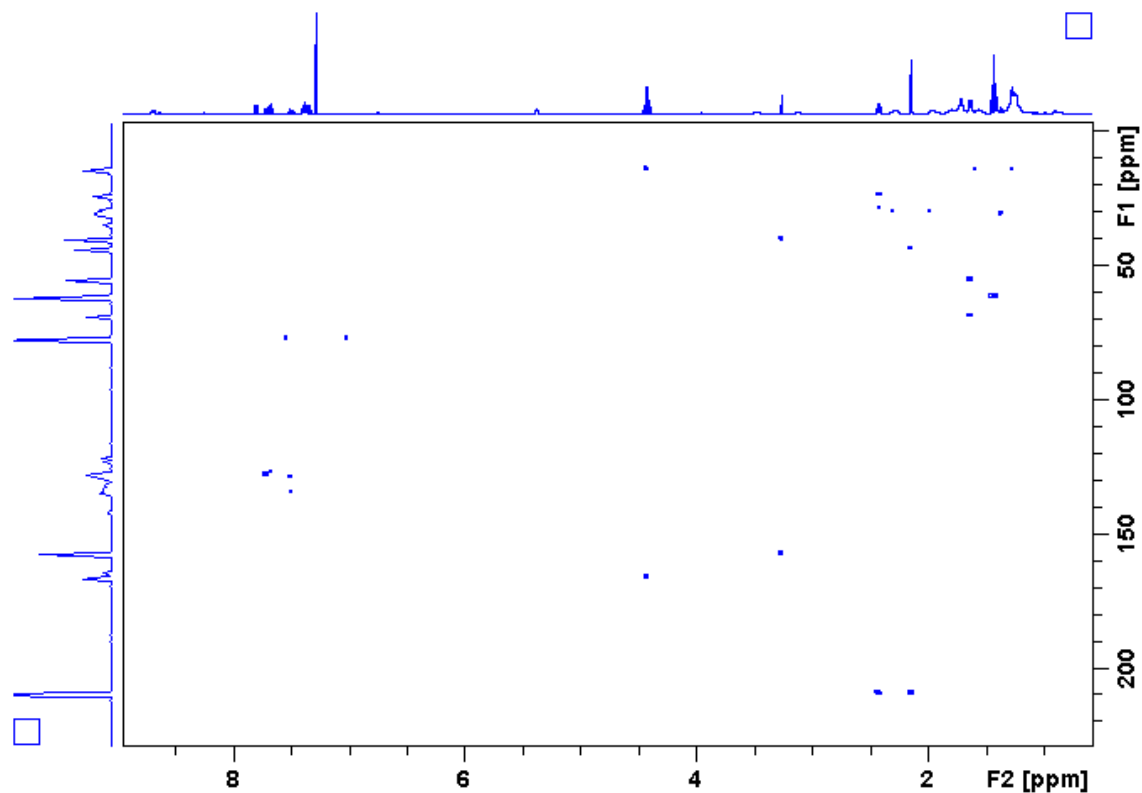
Apêndice H12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **50**.



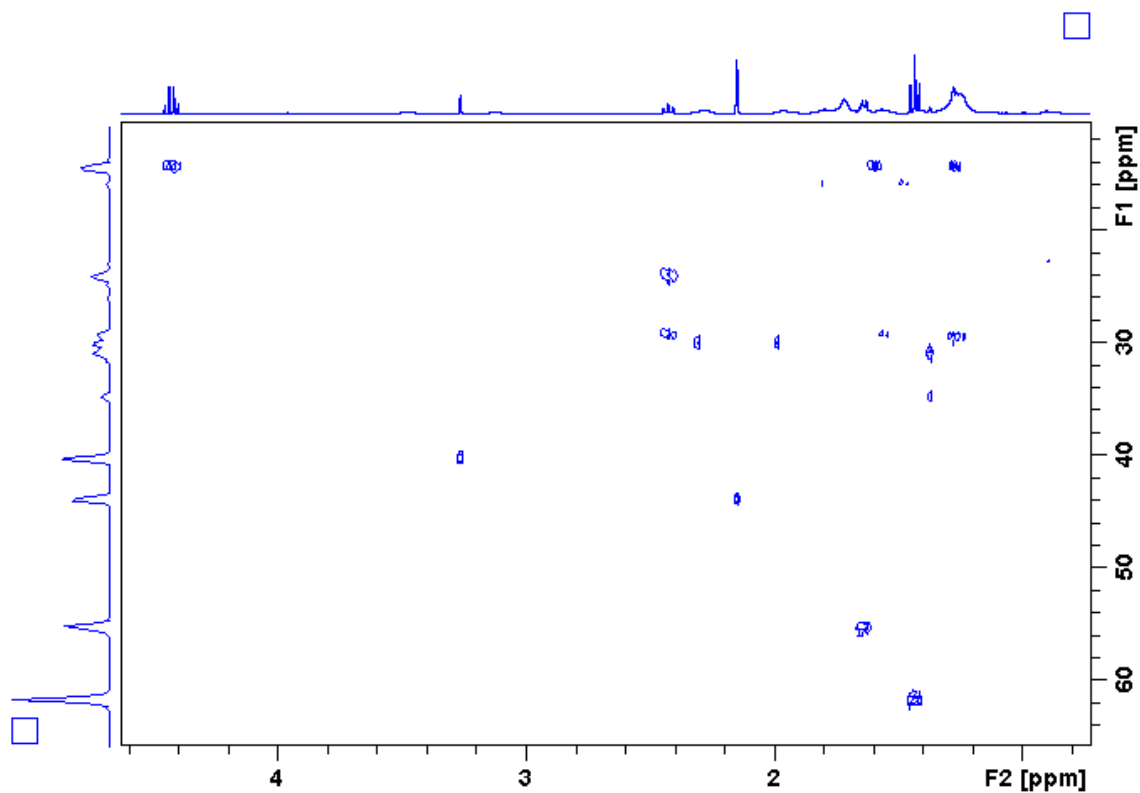
Apêndice H13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **50**.



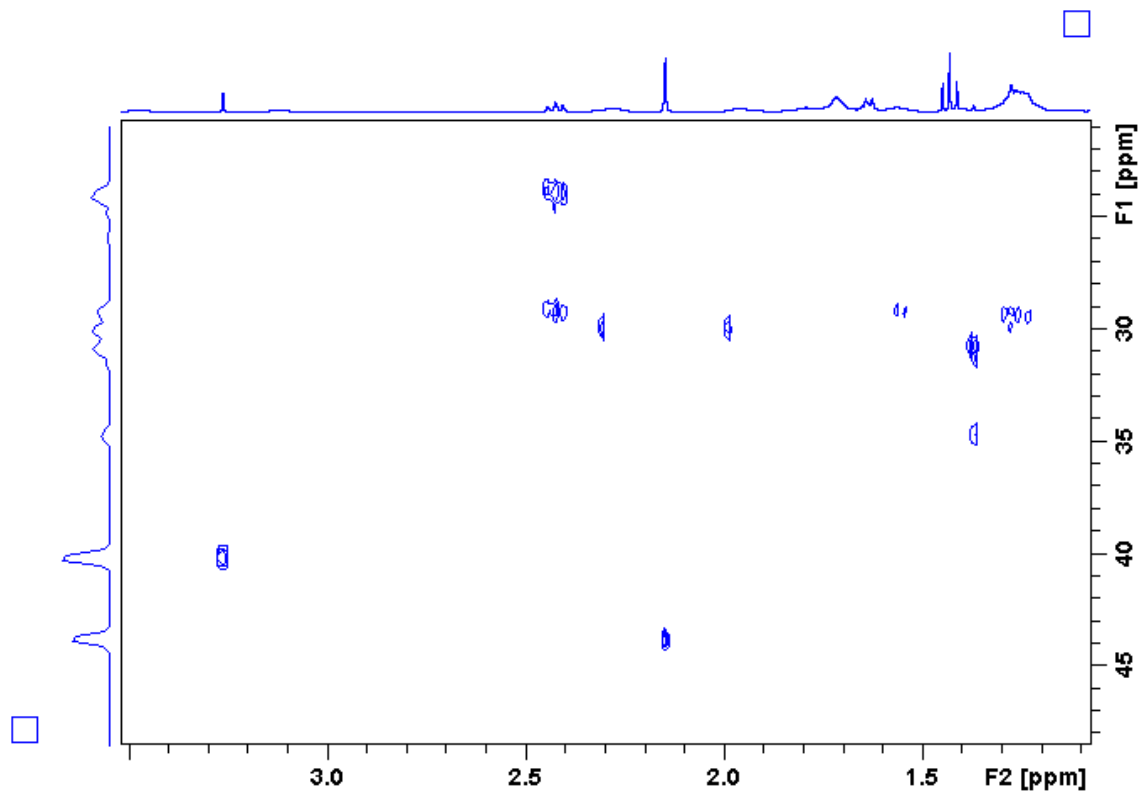
Apêndice H14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **50**.



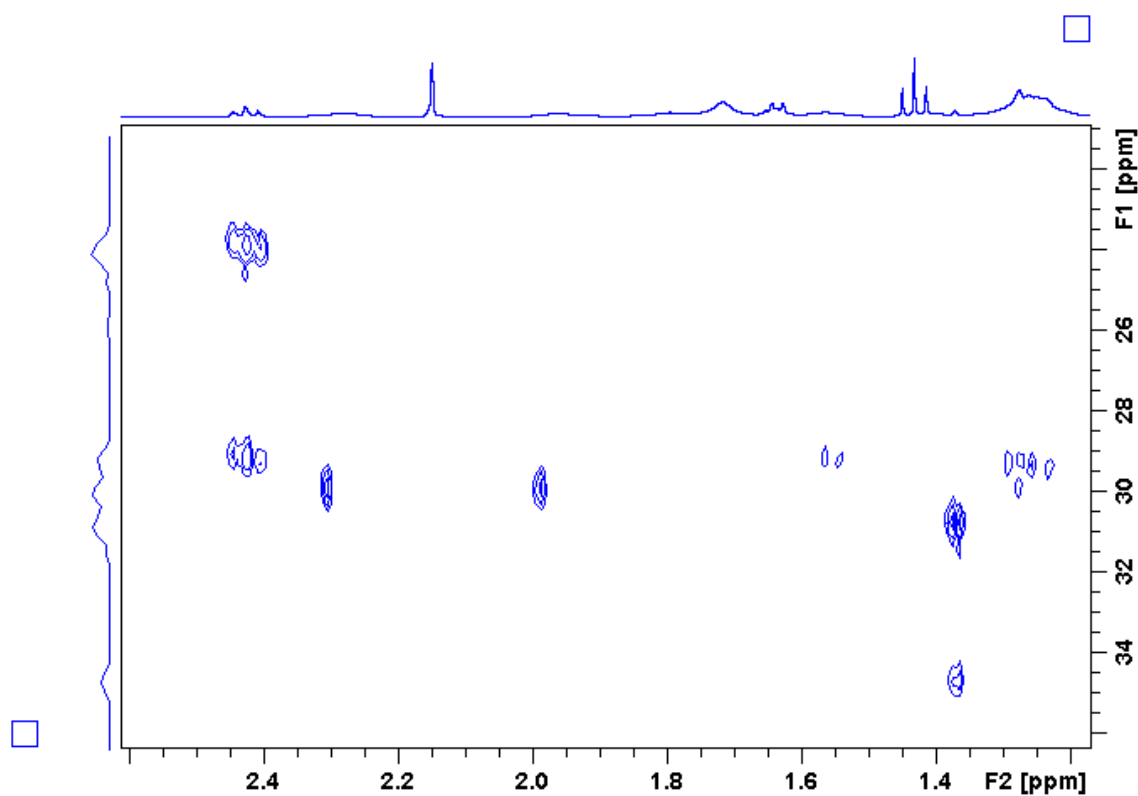
Apêndice H15. Mapa de contorno HMBC (δ 10,0–65,0) do alcaloide **50**.



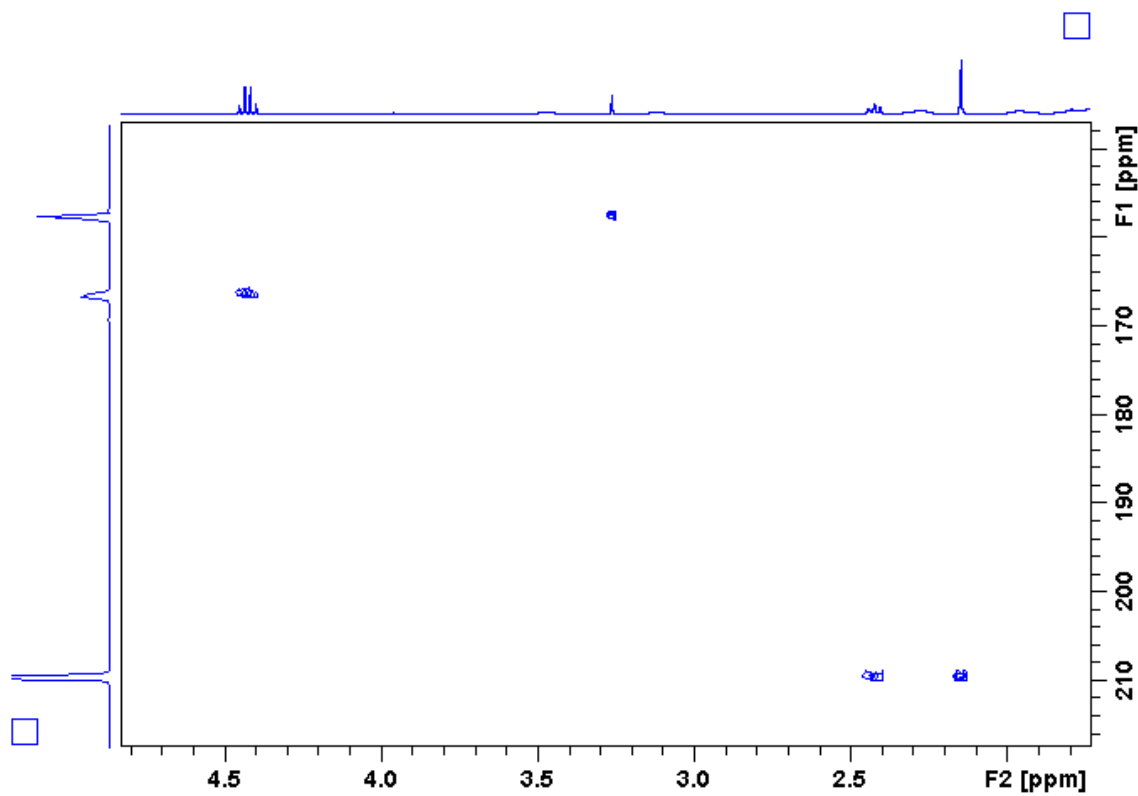
Apêndice H16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–50,0) do alcaloide **50**.



Apêndice H17. Mapa de contorno HMBC (δ 22,0–34,0) do alcaloide **50**.

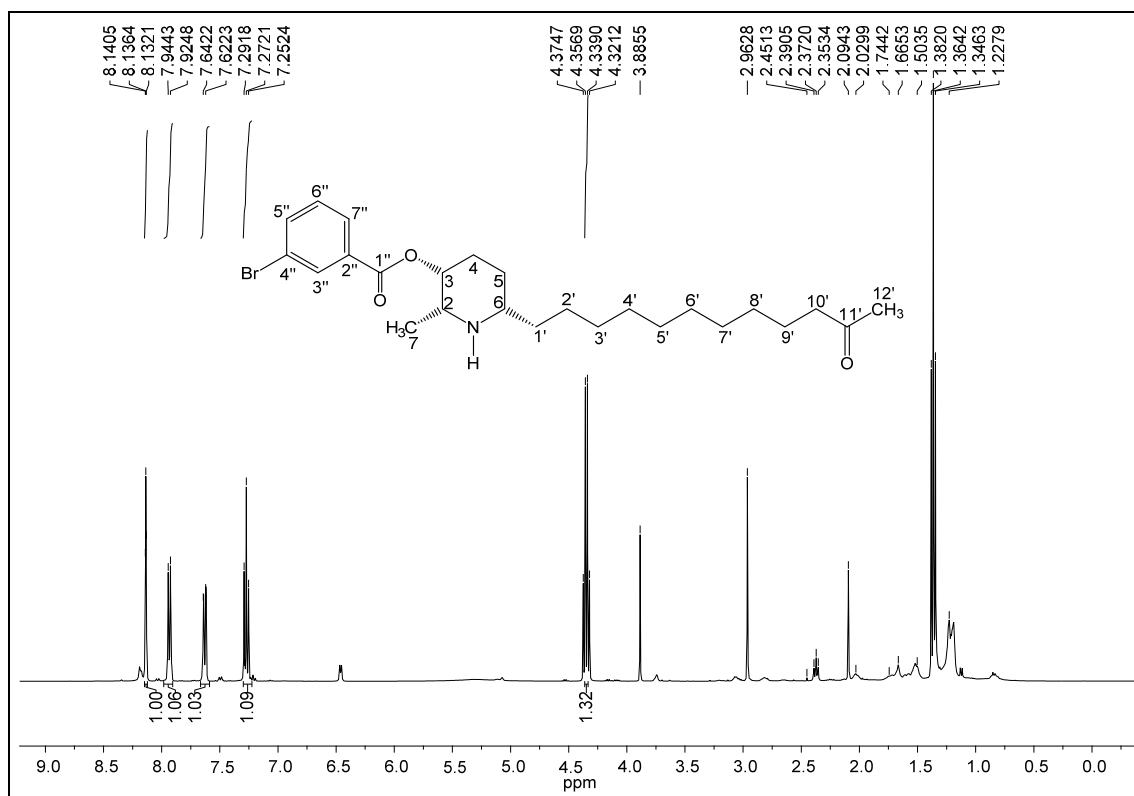


Apêndice H18. Mapa de contorno HMBC (δ 160,0–210,0) do alcaloide **50**.

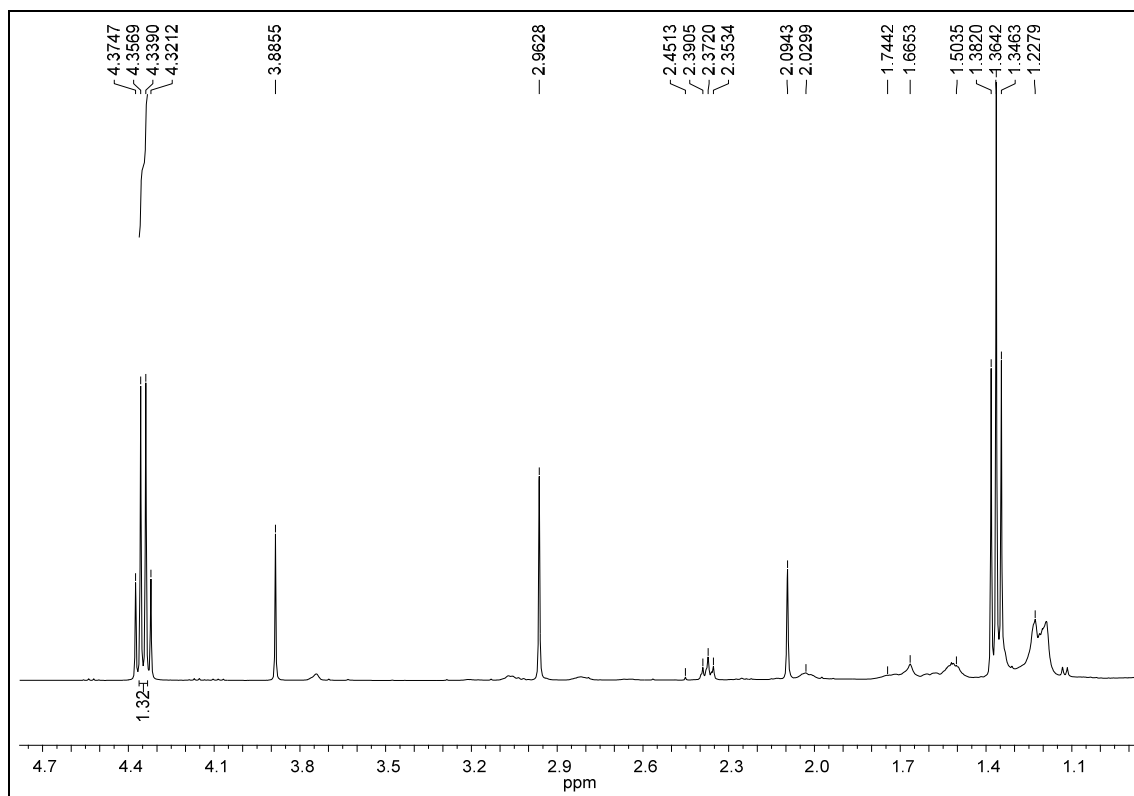


APÊNDICE I

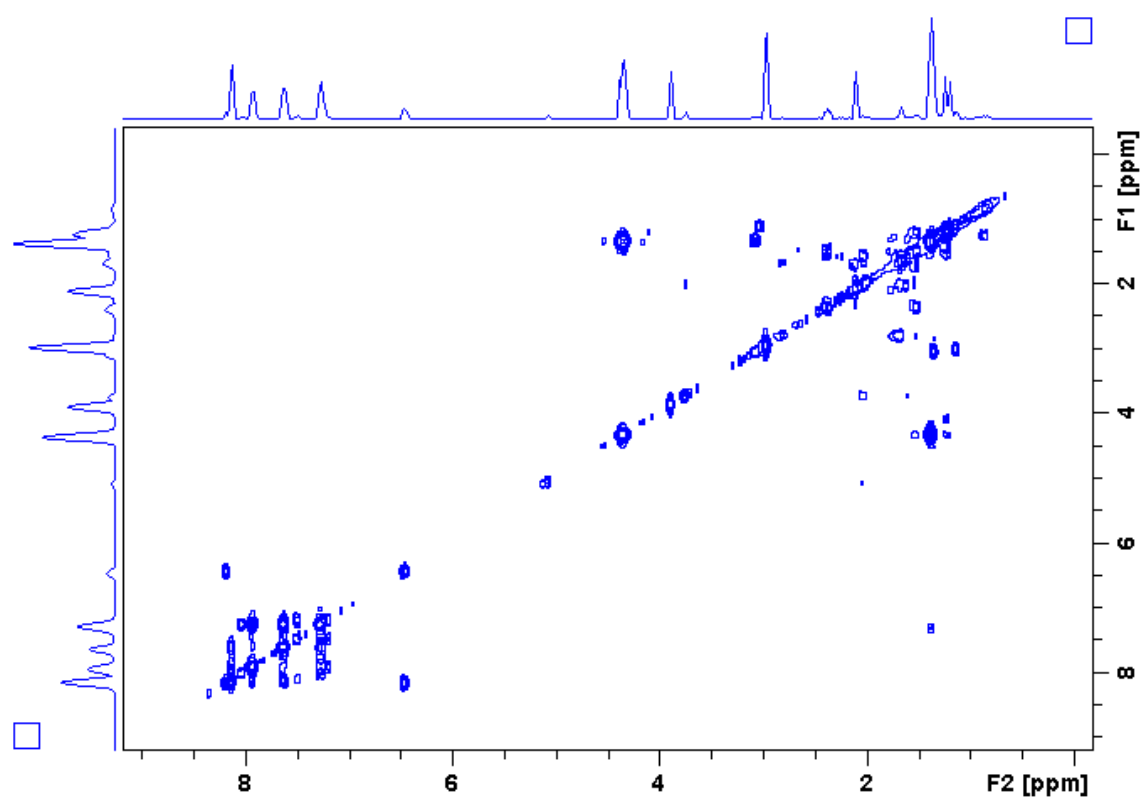
Apêndice I1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **51** (400 MHz, CDCl_3).



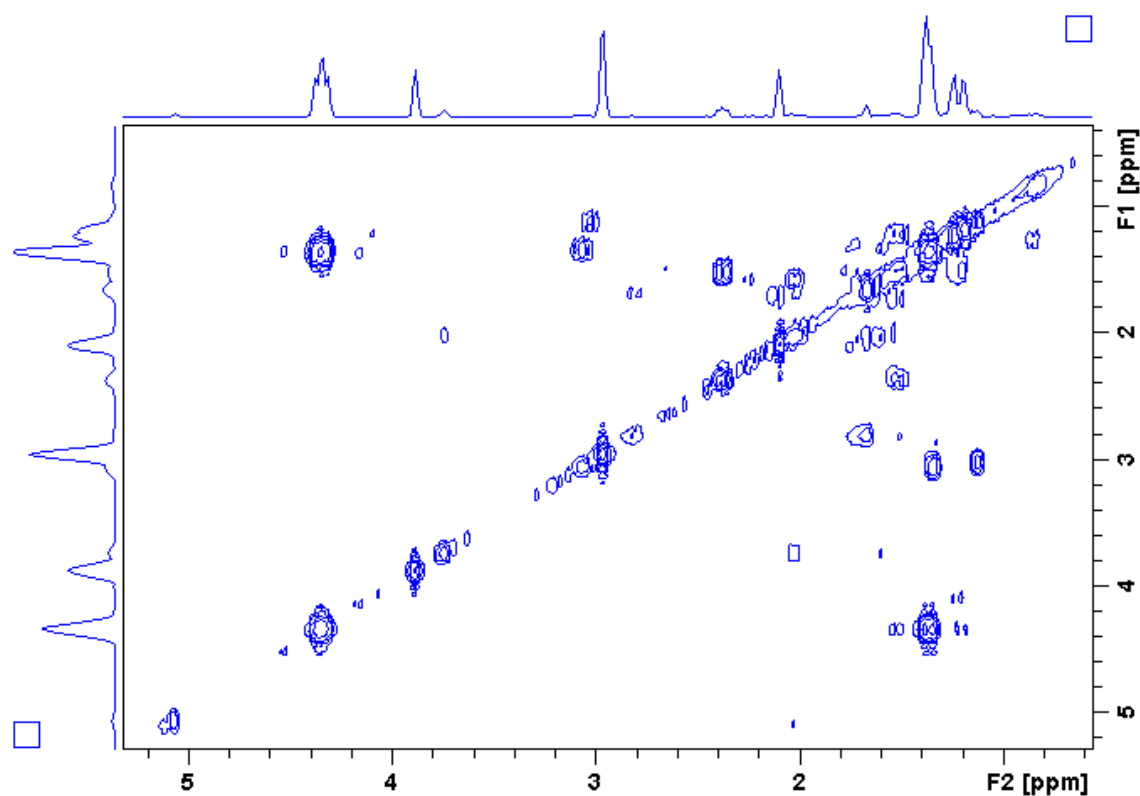
Apêndice I2. Ampliação do espectro I1 (δ 1,1–4,5) do derivado **51**.



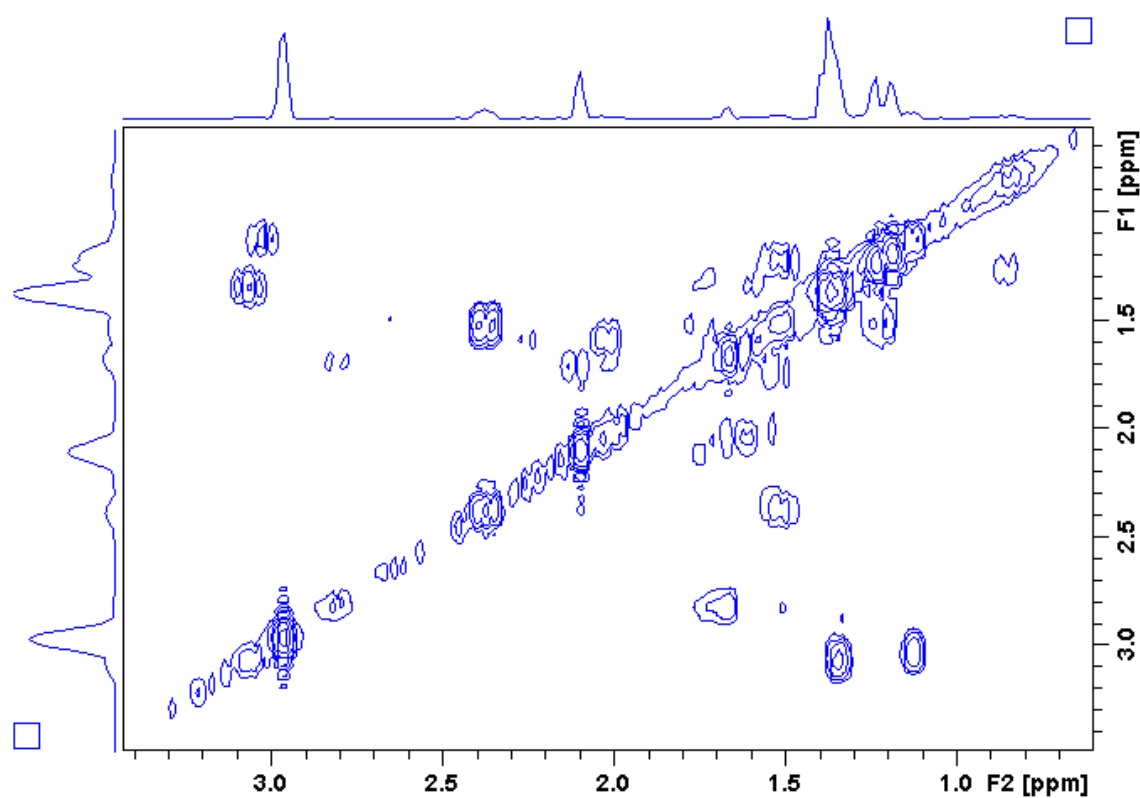
Apêndice I3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **51**.



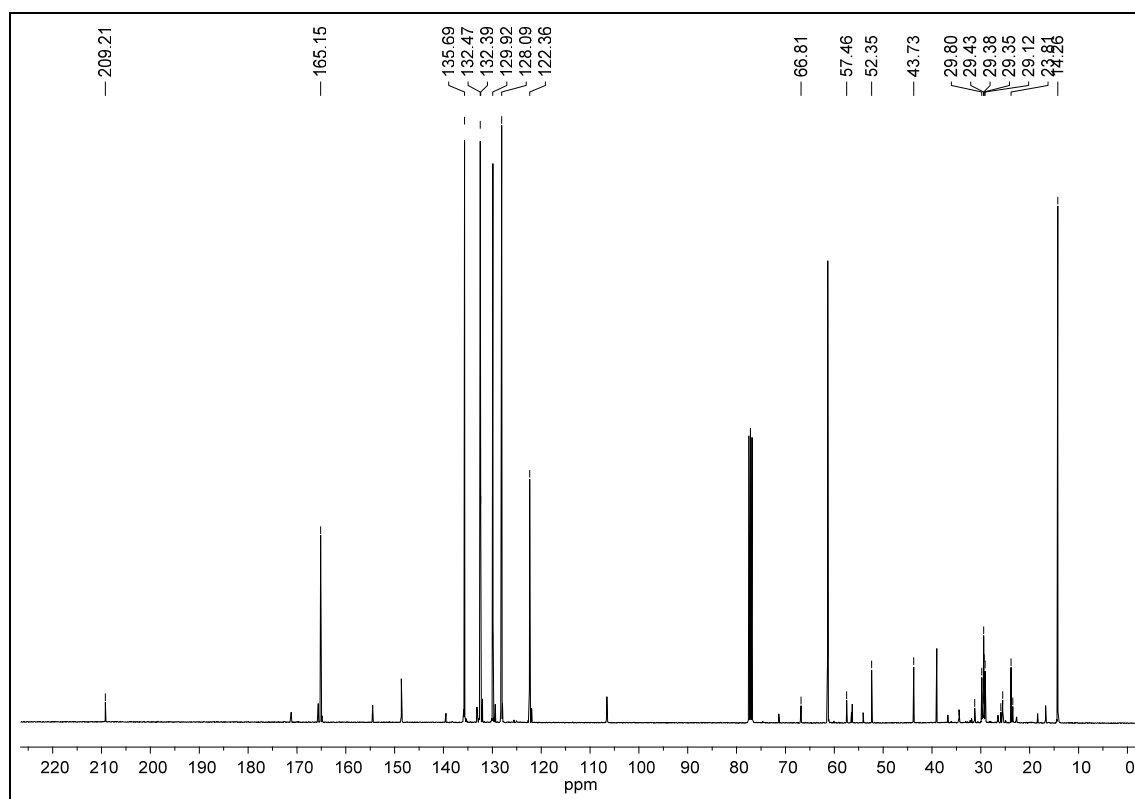
Apêndice I4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–4,0) do alcaloide **51**.



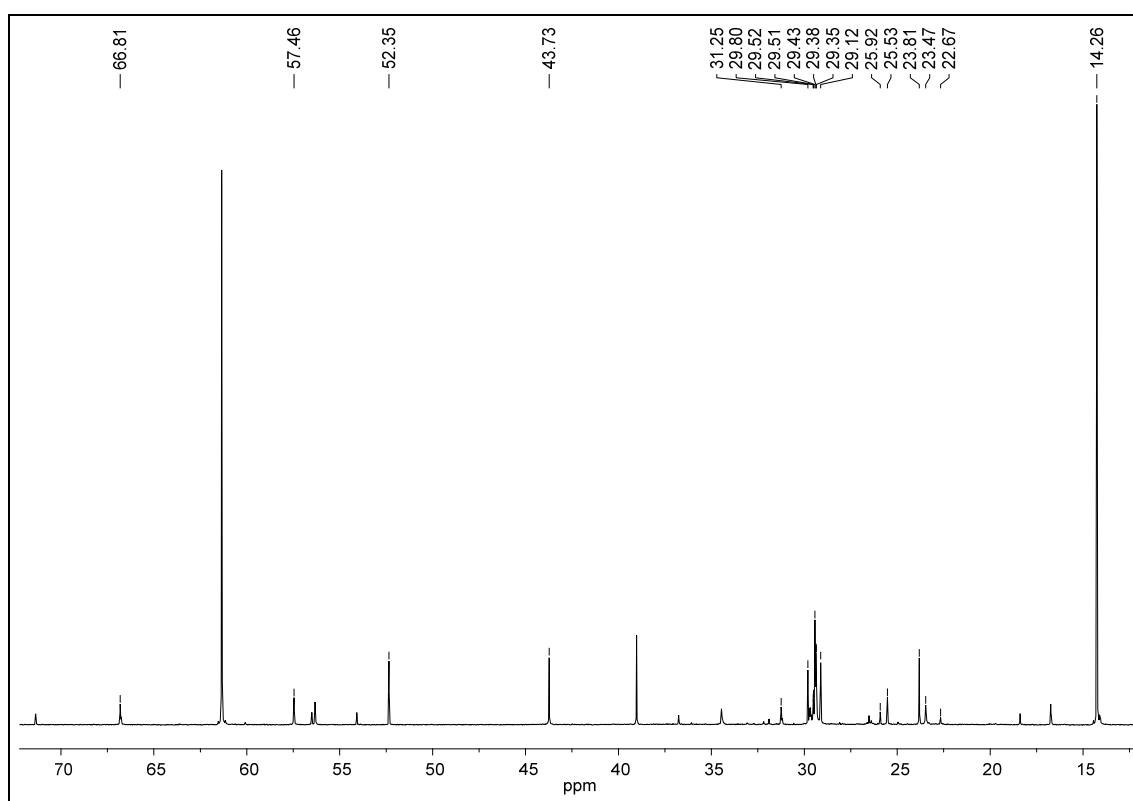
Apêndice I5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **51**.



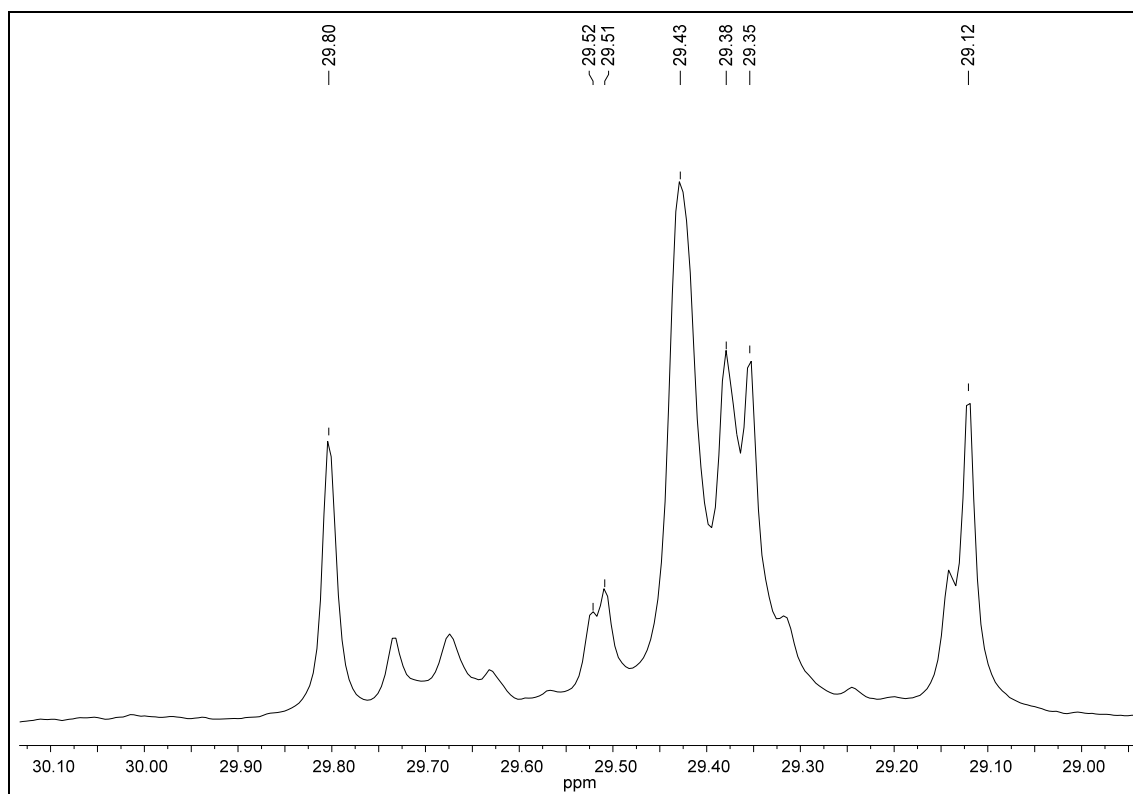
Apêndice I6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **51** (100 MHz, CDCl₃).



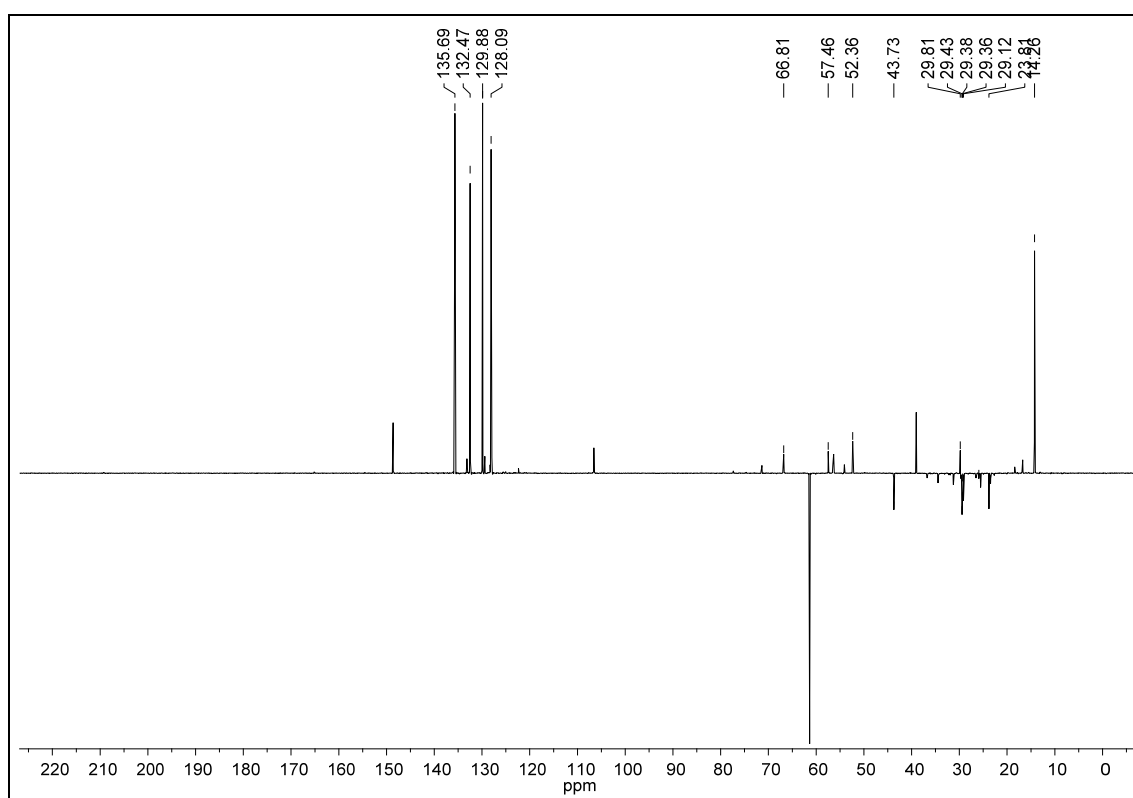
Apêndice I7. Ampliação do espectro I6 (δ 14,0–70,0) do derivado **51**.



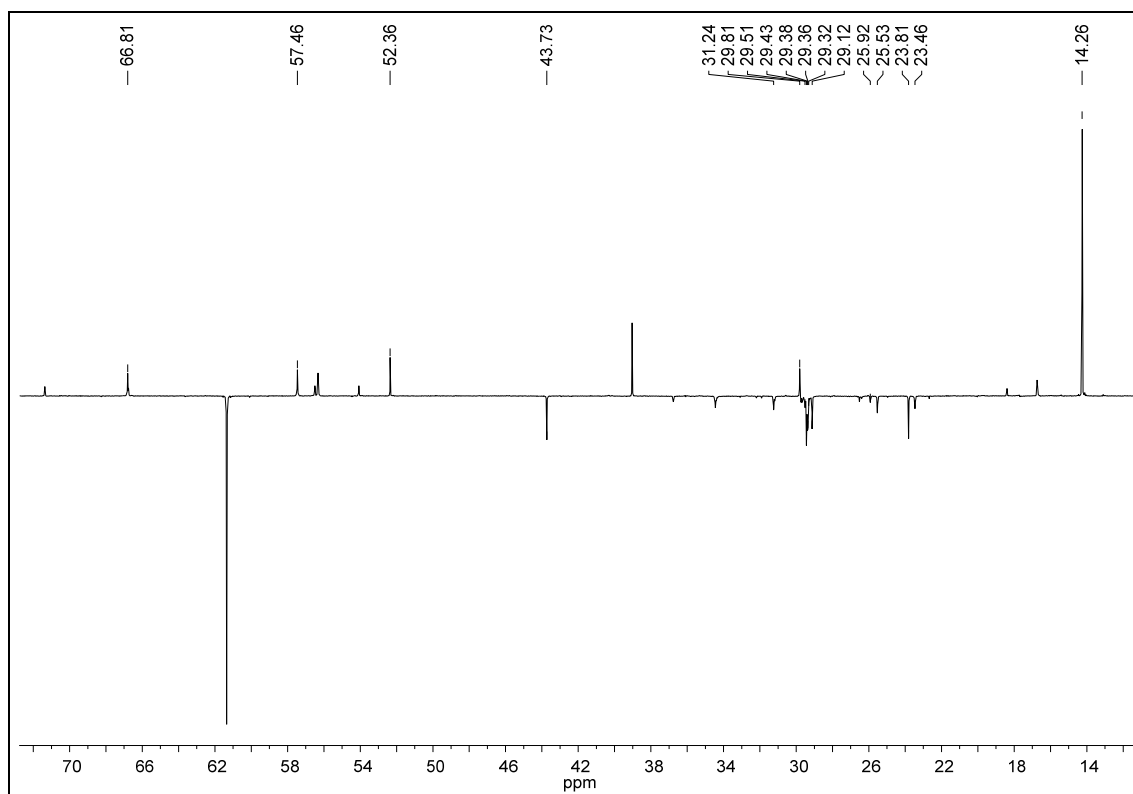
Apêndice I8. Ampliação do espectro I7 (δ 29,0–30,1) do derivado **51**.



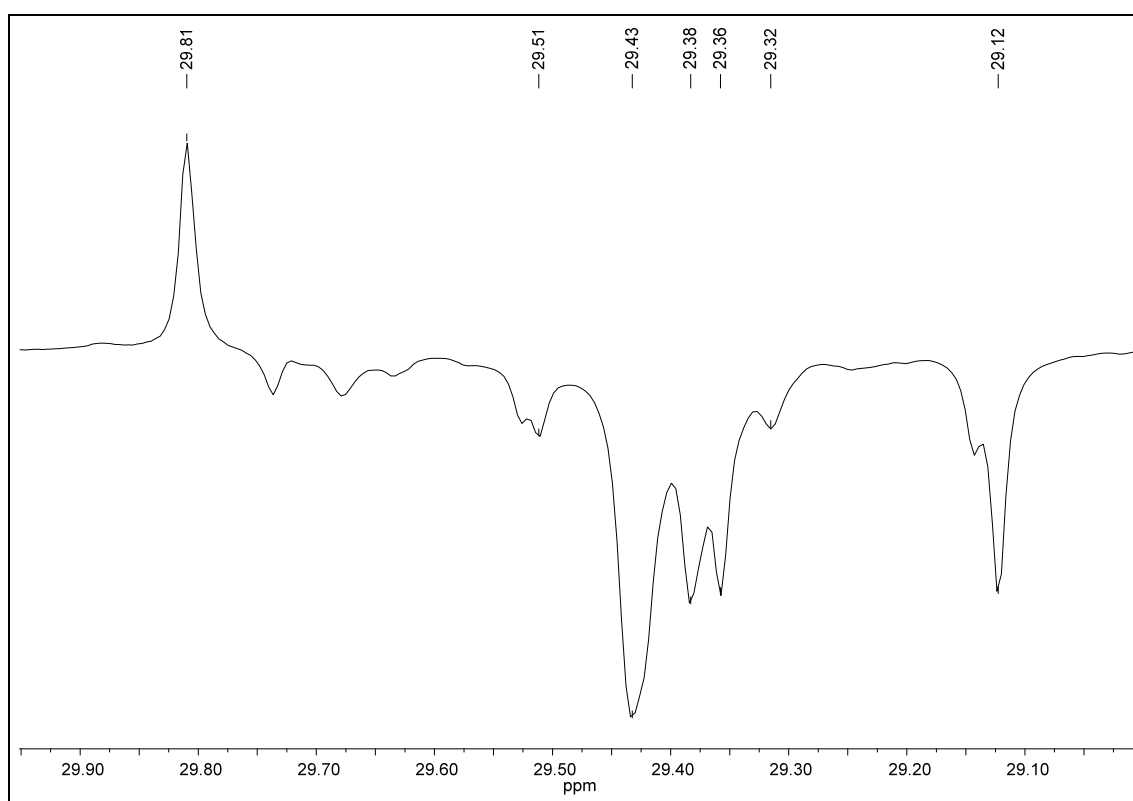
Apêndice I9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **51**.



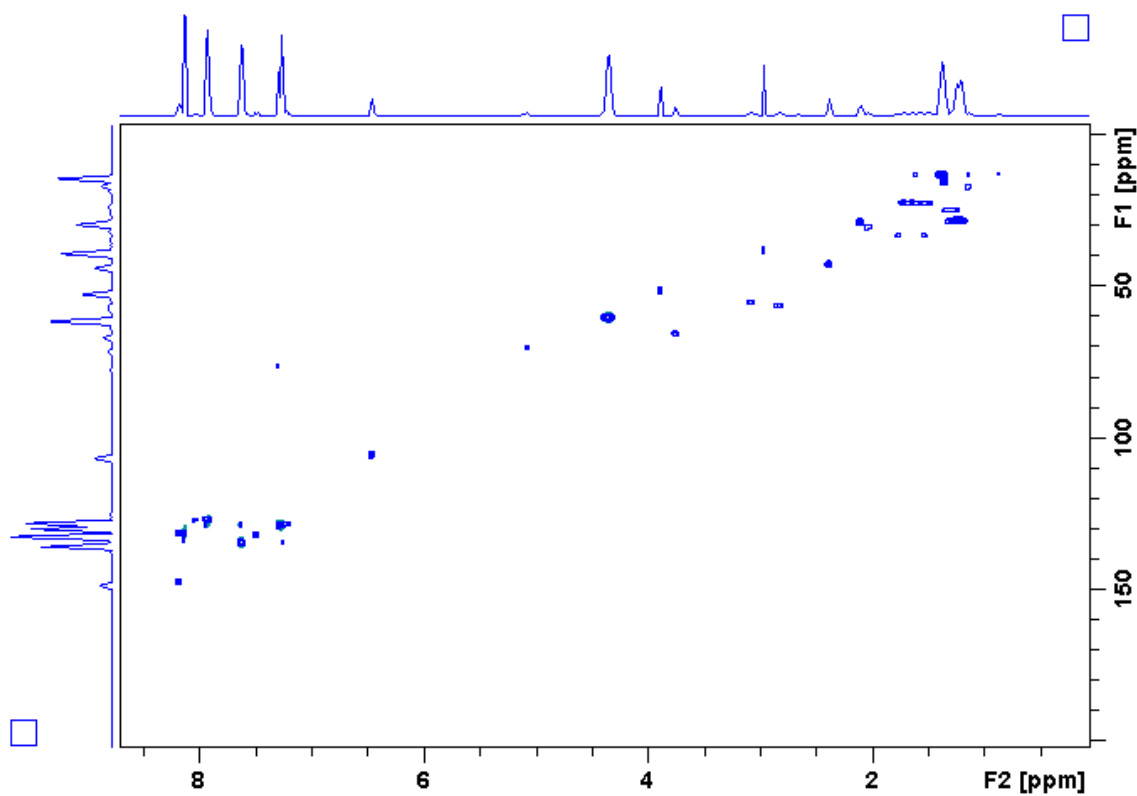
Apêndice I10. Ampliação do espectro I9 (δ 14,0–70,0) do derivado **51**.



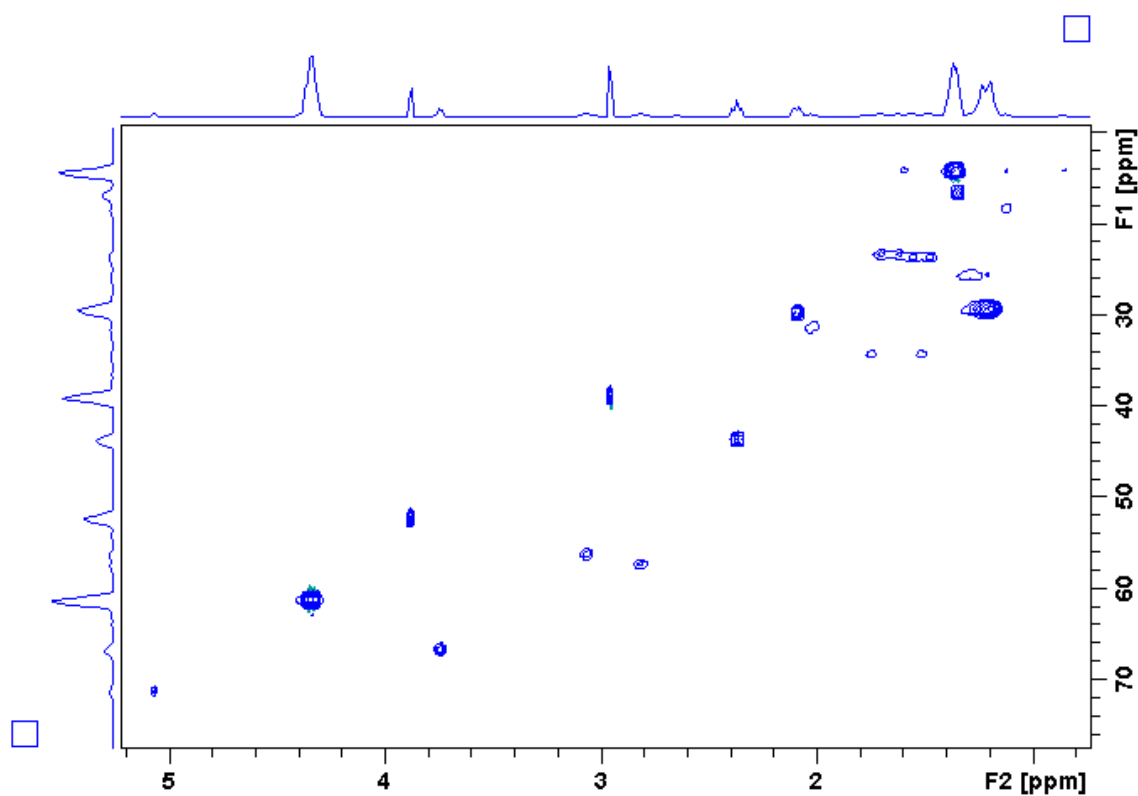
Apêndice I11. Ampliação do espectro I10 (δ 29,1–29,9) do derivado **51**.



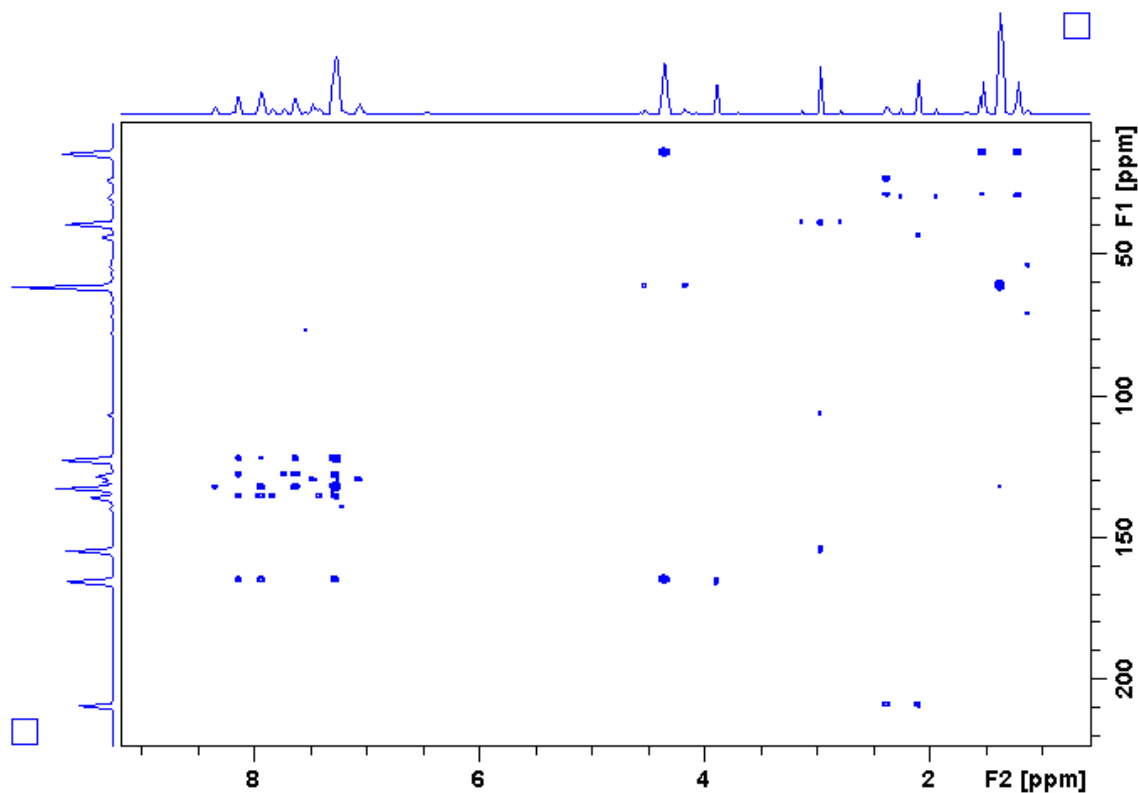
Apêndice I12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **51**.



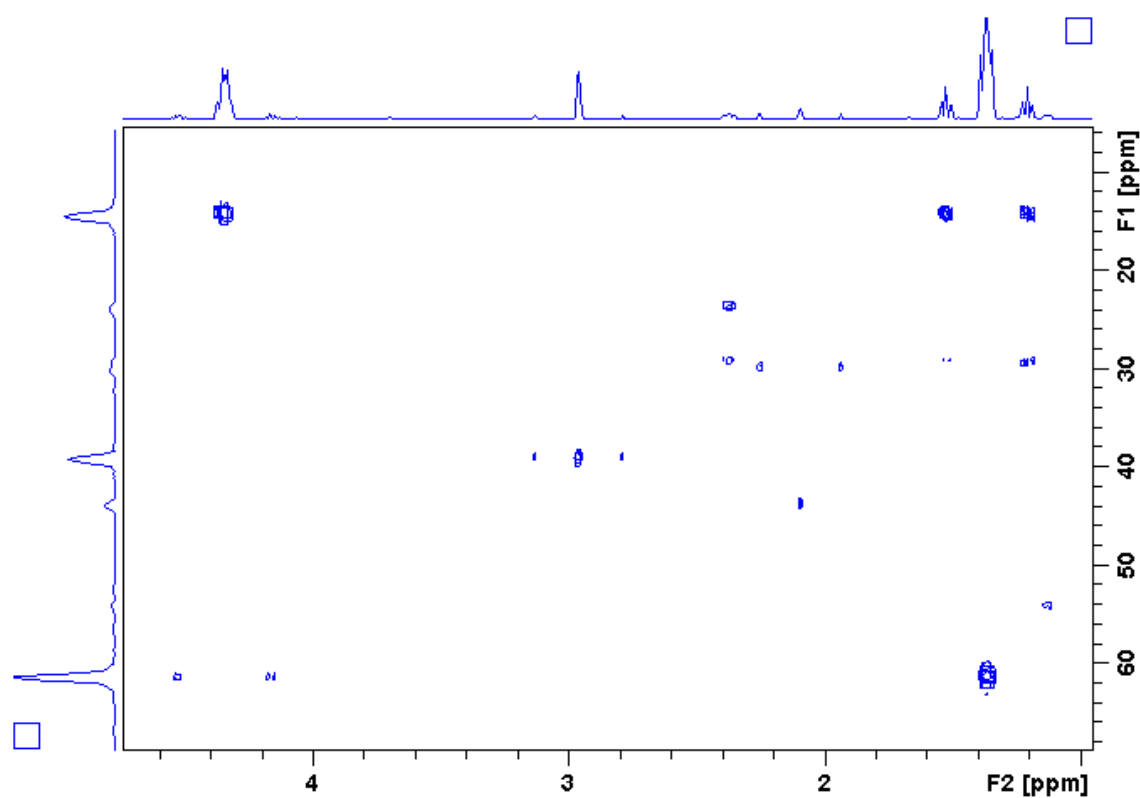
Apêndice I13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **51**.



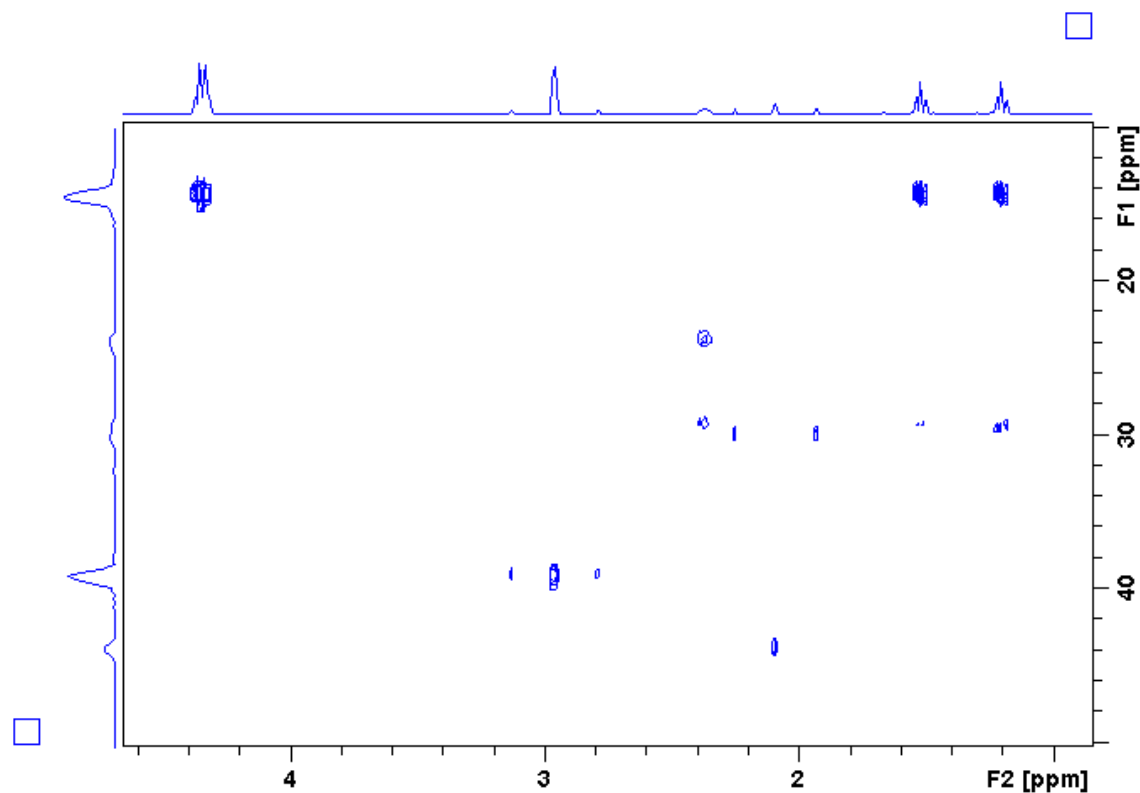
Apêndice I14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **51**.



Apêndice I15. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–65,0) do alcaloide **51**.



Apêndice I16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **51**.

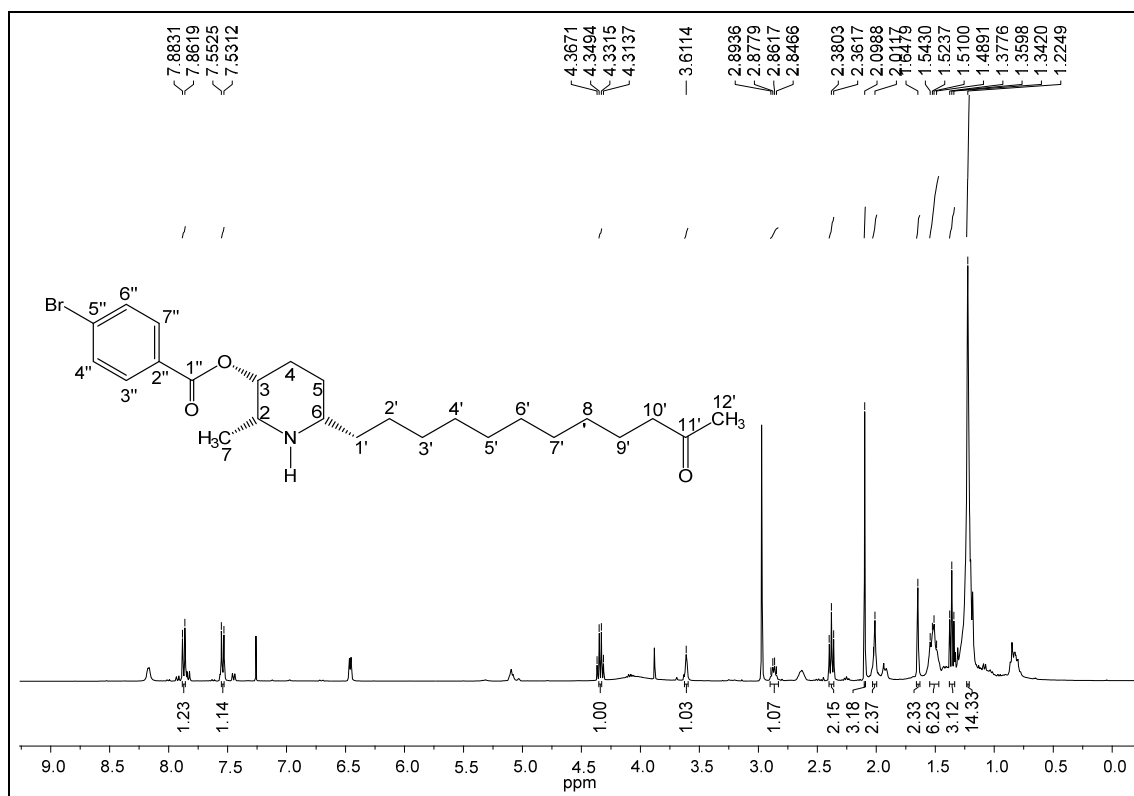


□

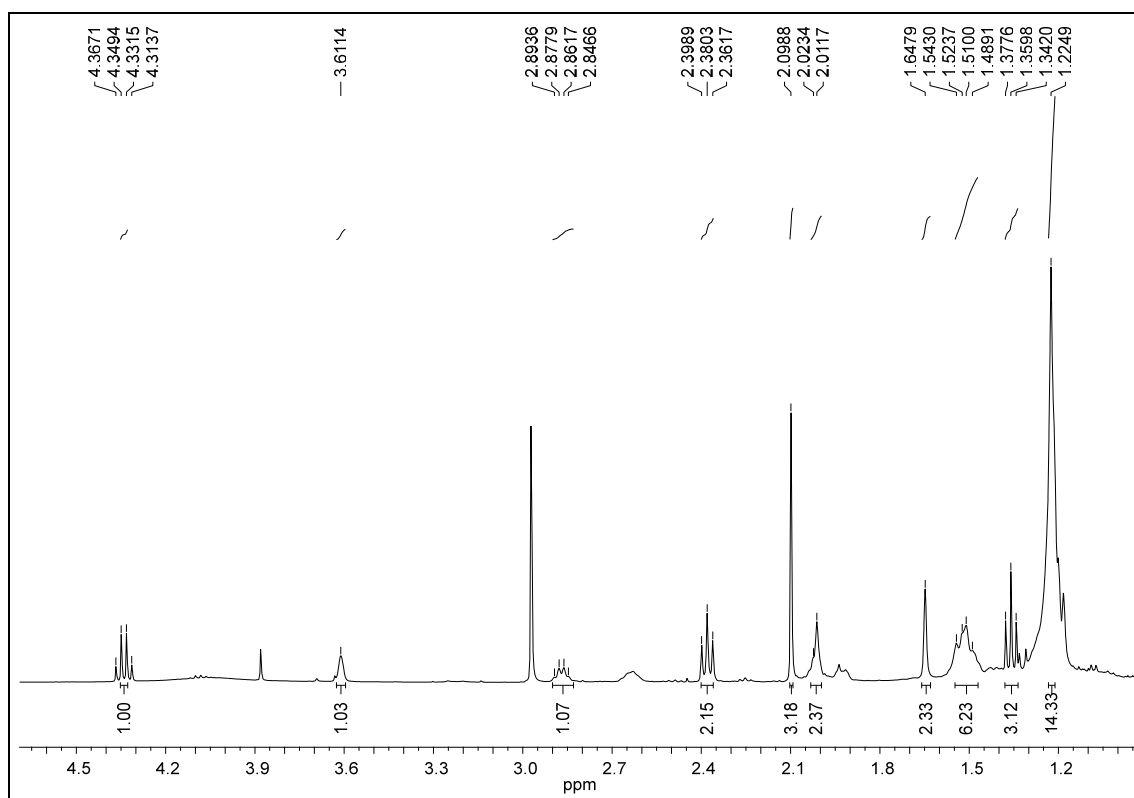


APÊNDICE J

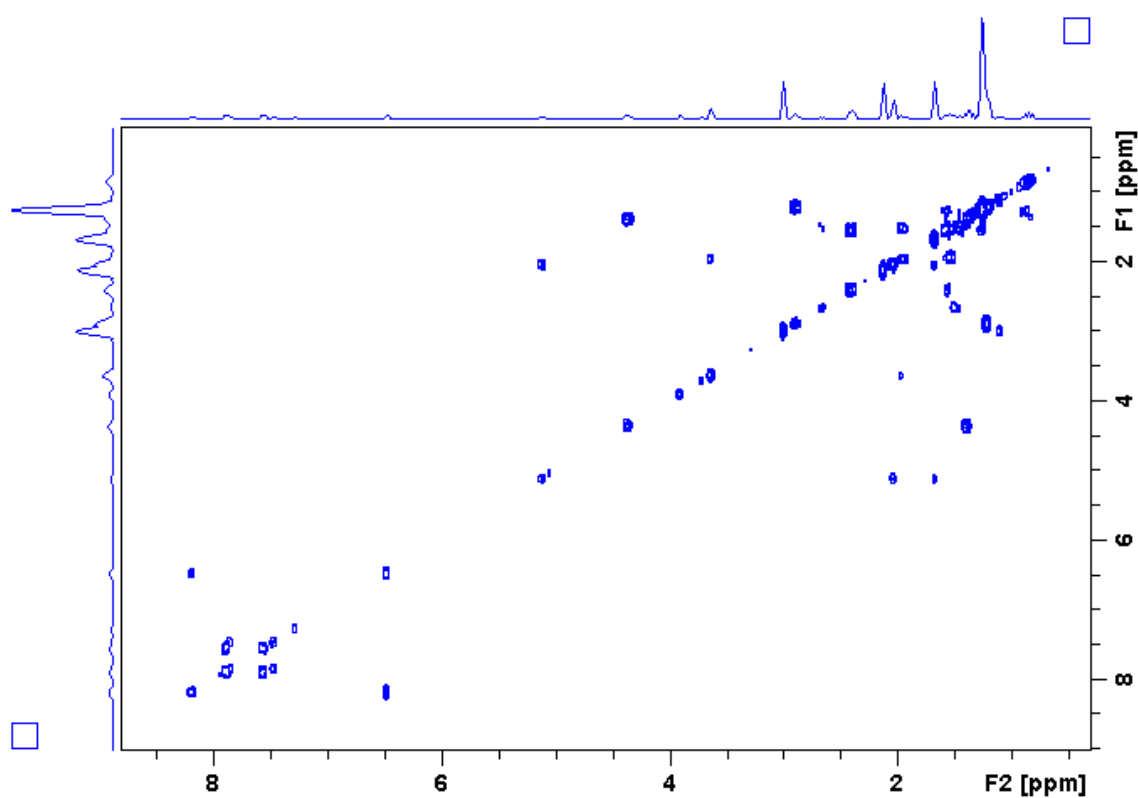
Apêndice J1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **52** (400 MHz, CDCl_3).



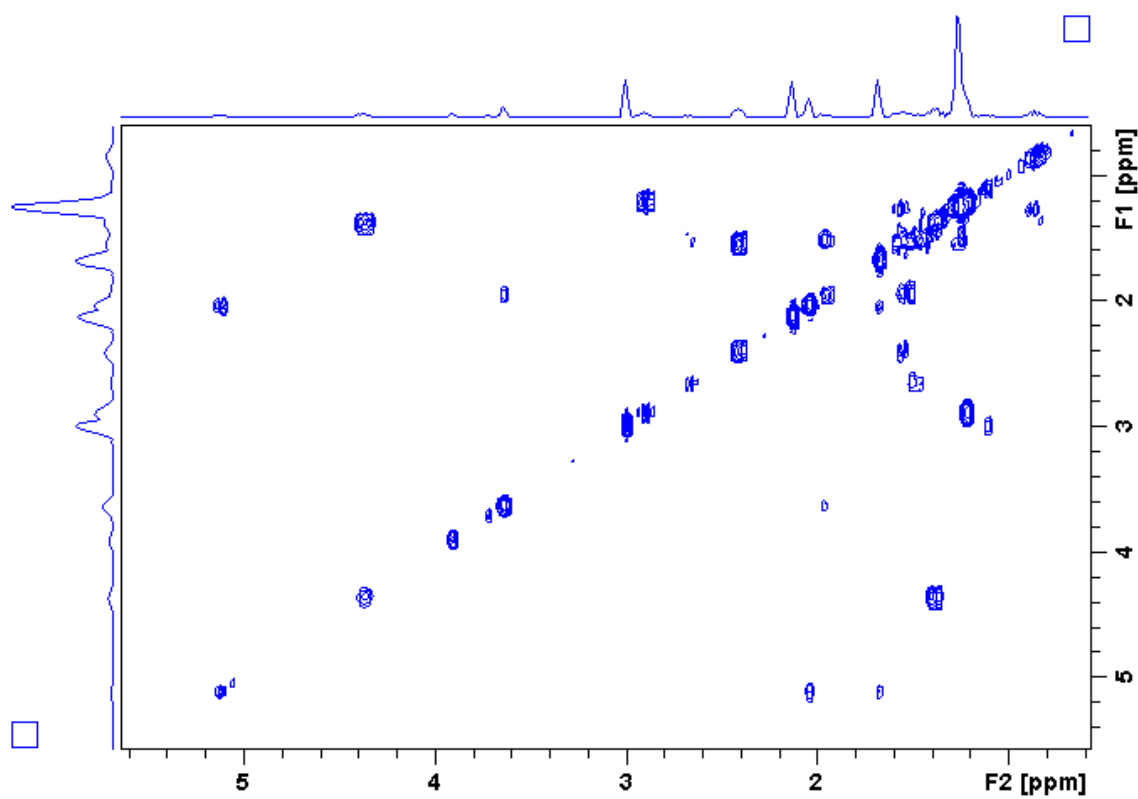
Apêndice J2. Ampliação do espectro J1 (δ 1,2–4,5) do derivado **52**.



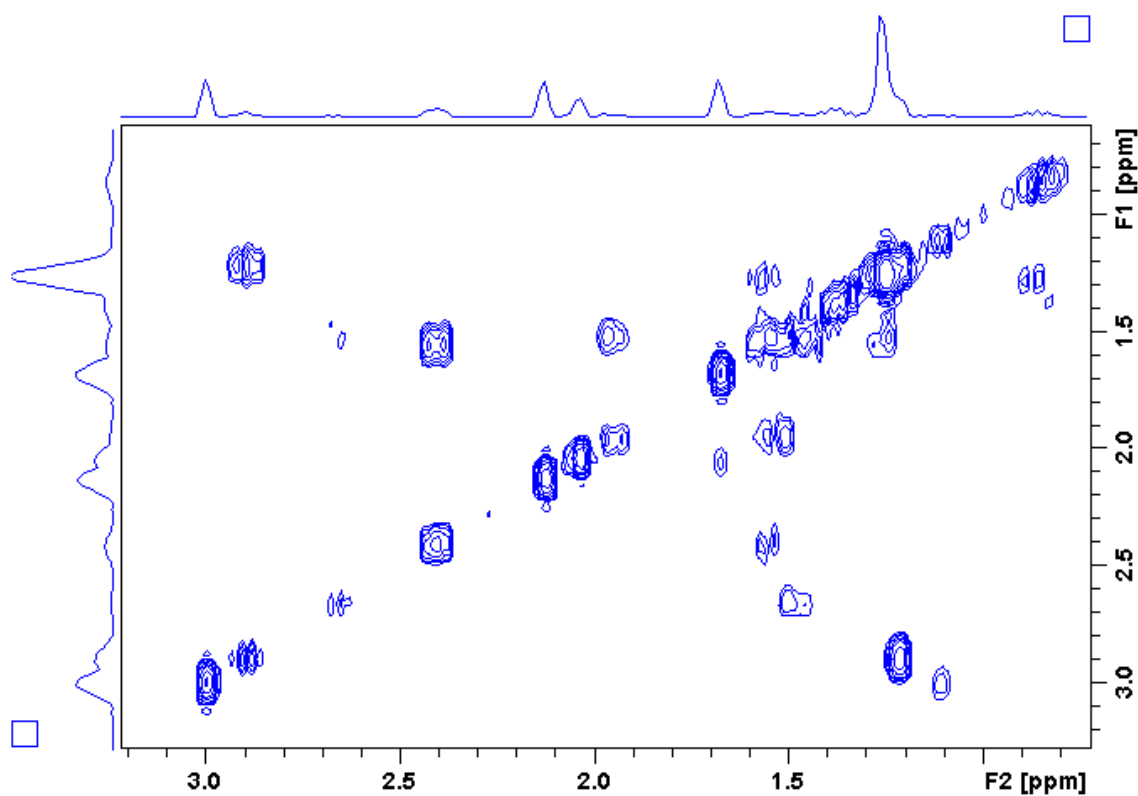
Apêndice J3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **52**.



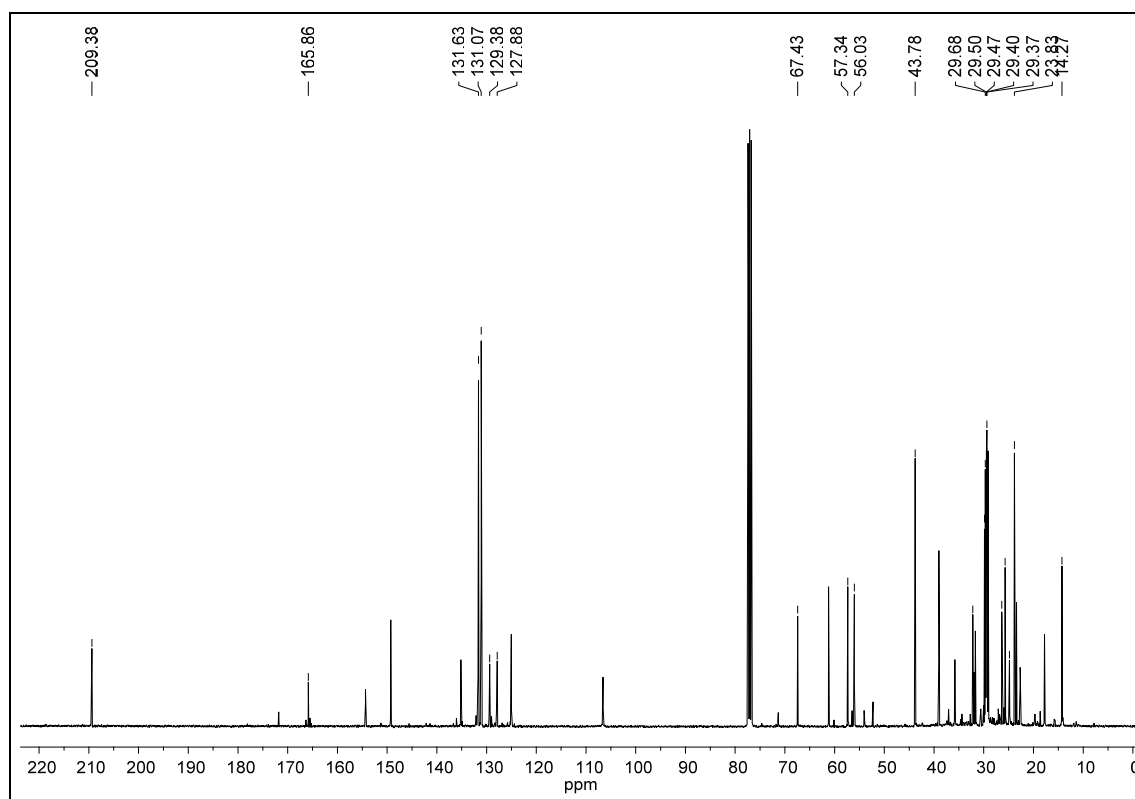
Apêndice J4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **52**.



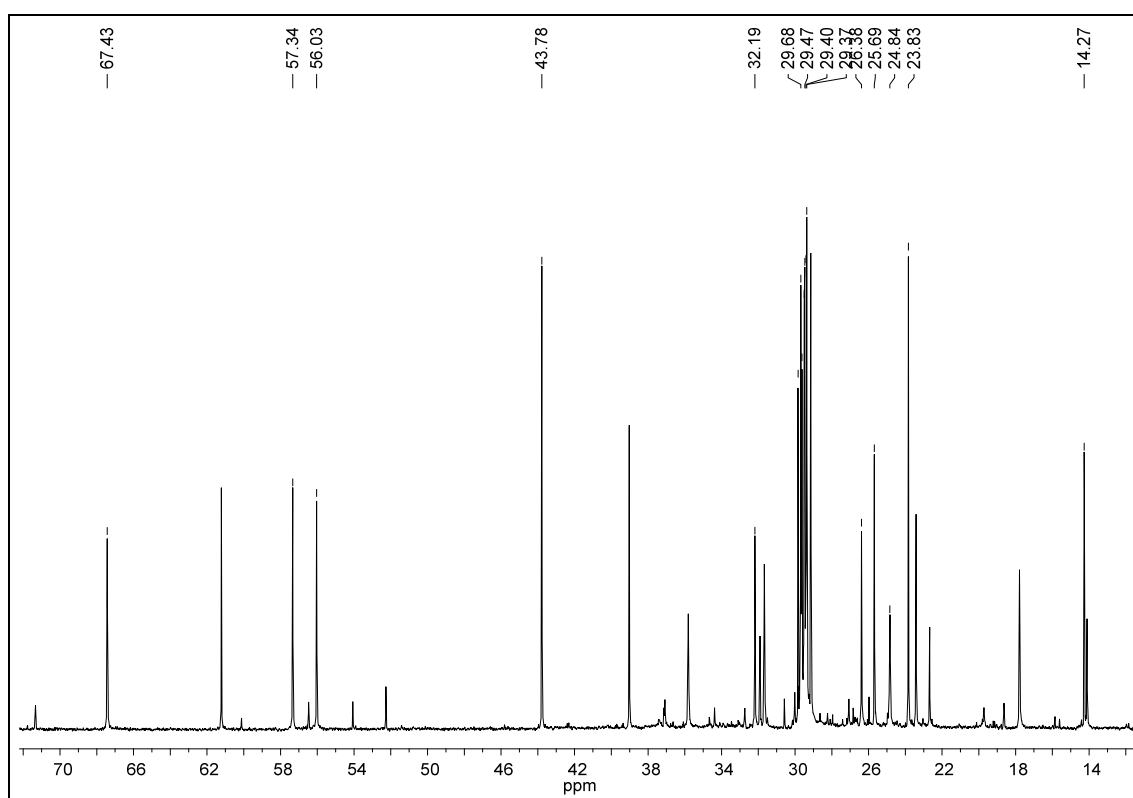
Apêndice J5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,0) do alcaloide **52**.



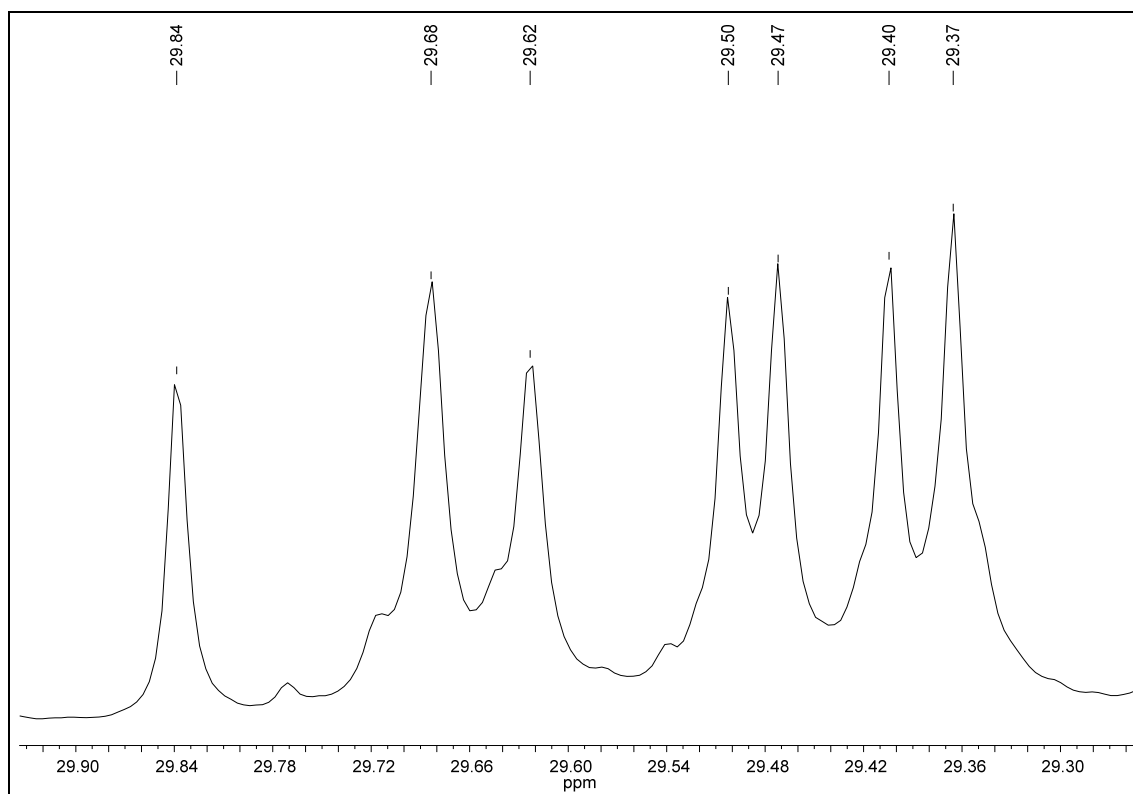
Apêndice J6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **52** (100 MHz, CDCl₃).



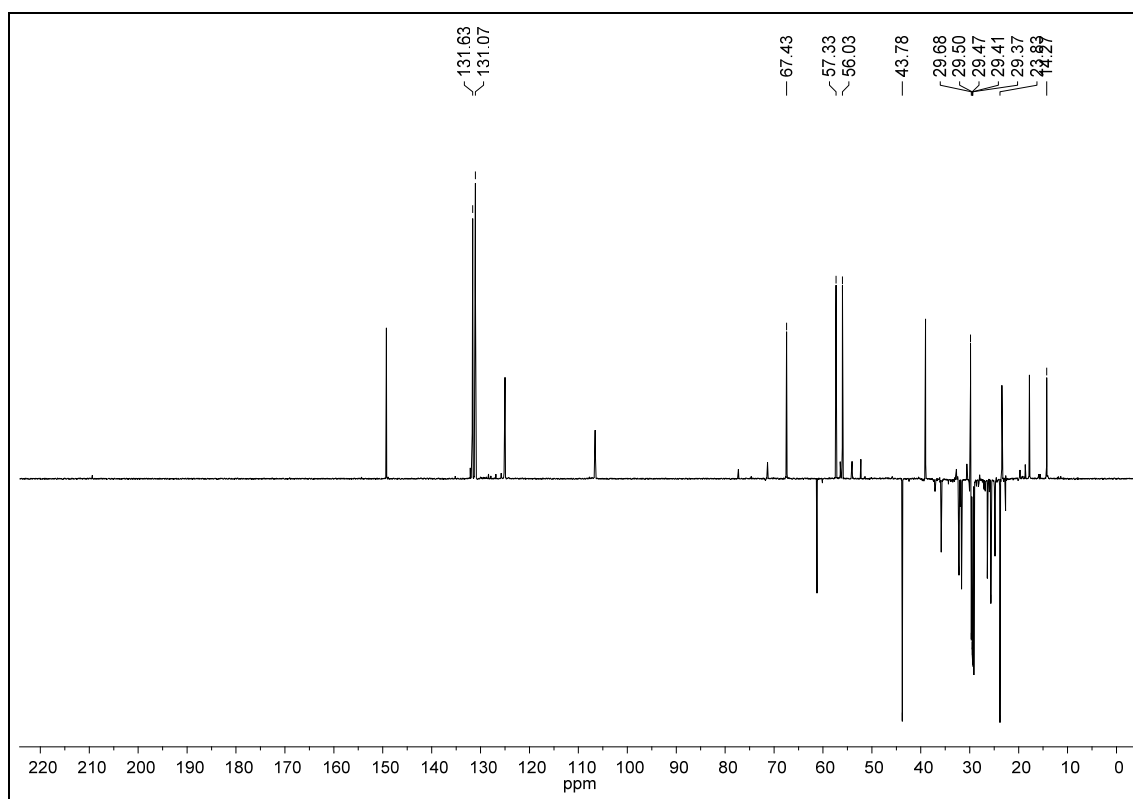
Apêndice J7. Ampliação do espectro J6 (δ 14,0–70,0) do derivado **52**.



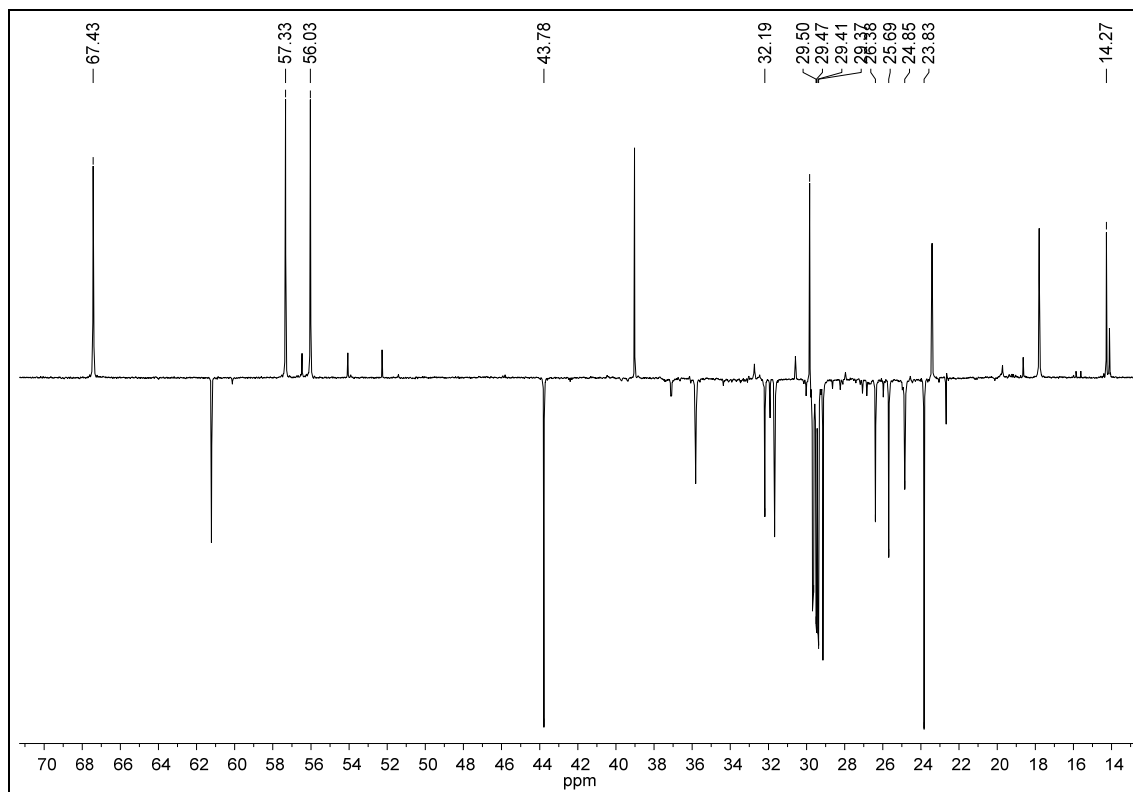
Apêndice J8. Ampliação do espectro J7 (δ 29,3–29,9) do derivado **52**.



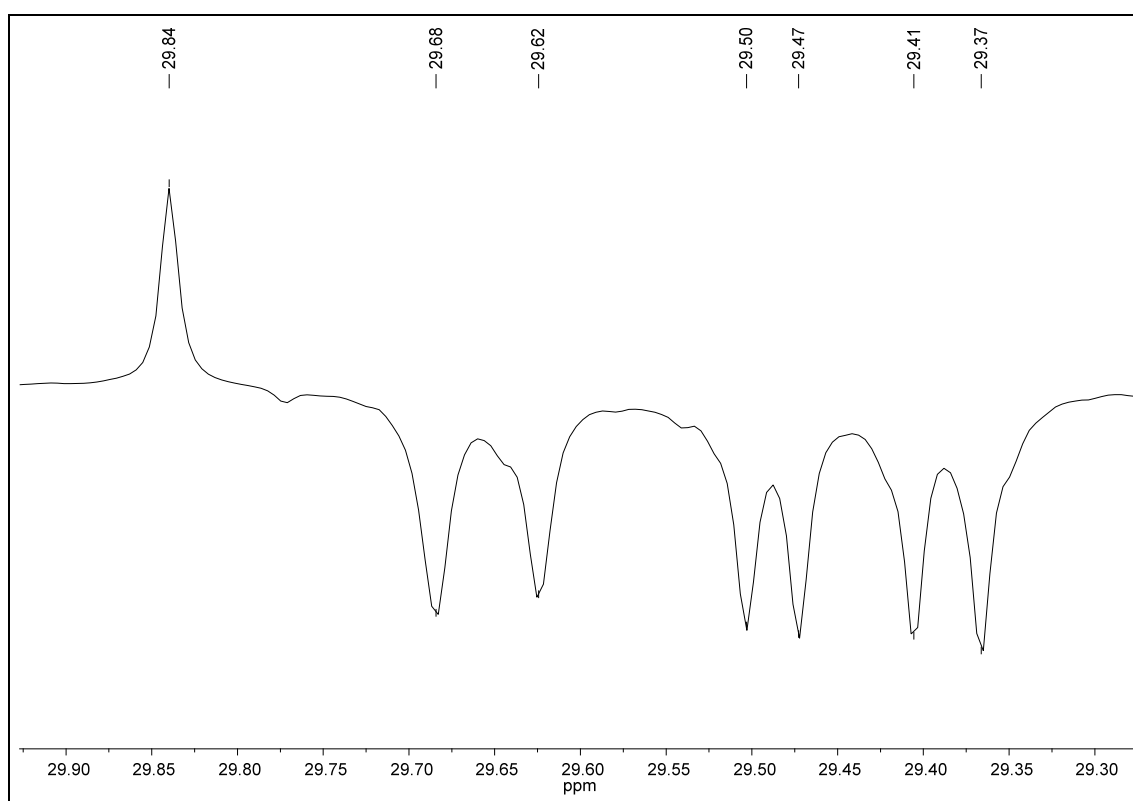
Apêndice J9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **52**.



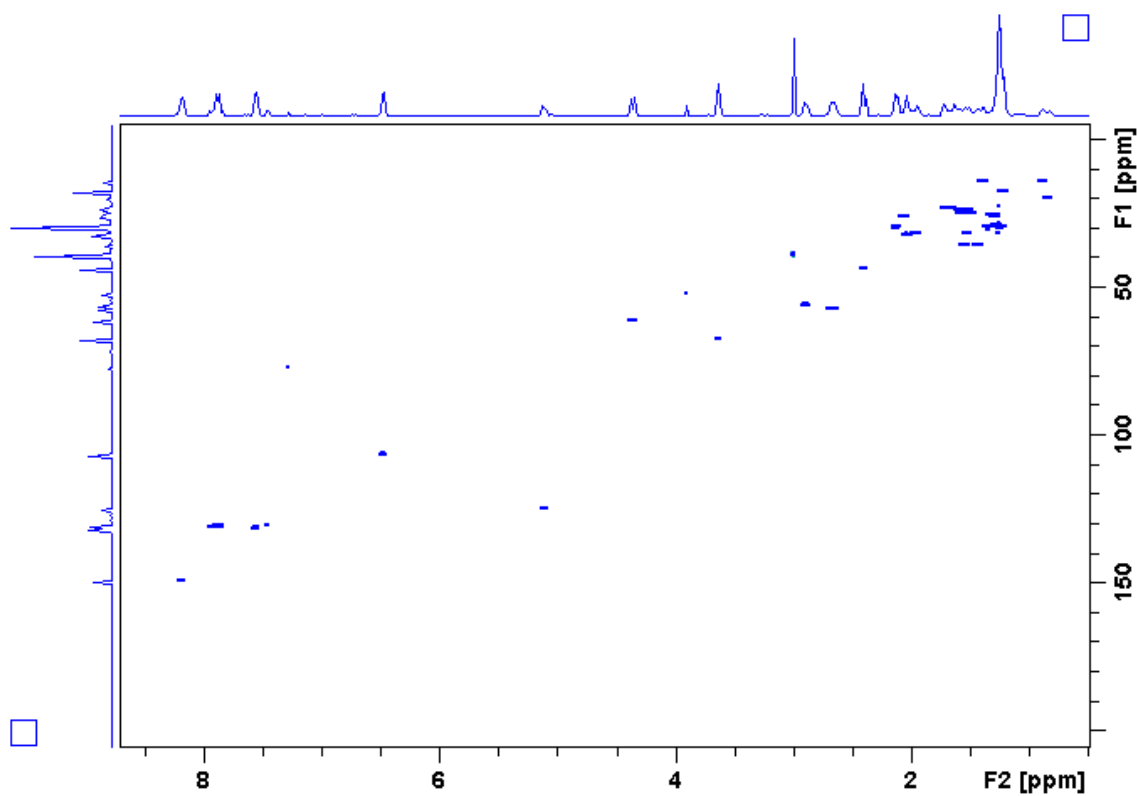
Apêndice J10. Ampliação do espectro J9 (δ 14,0–70,0) do derivado **52**.



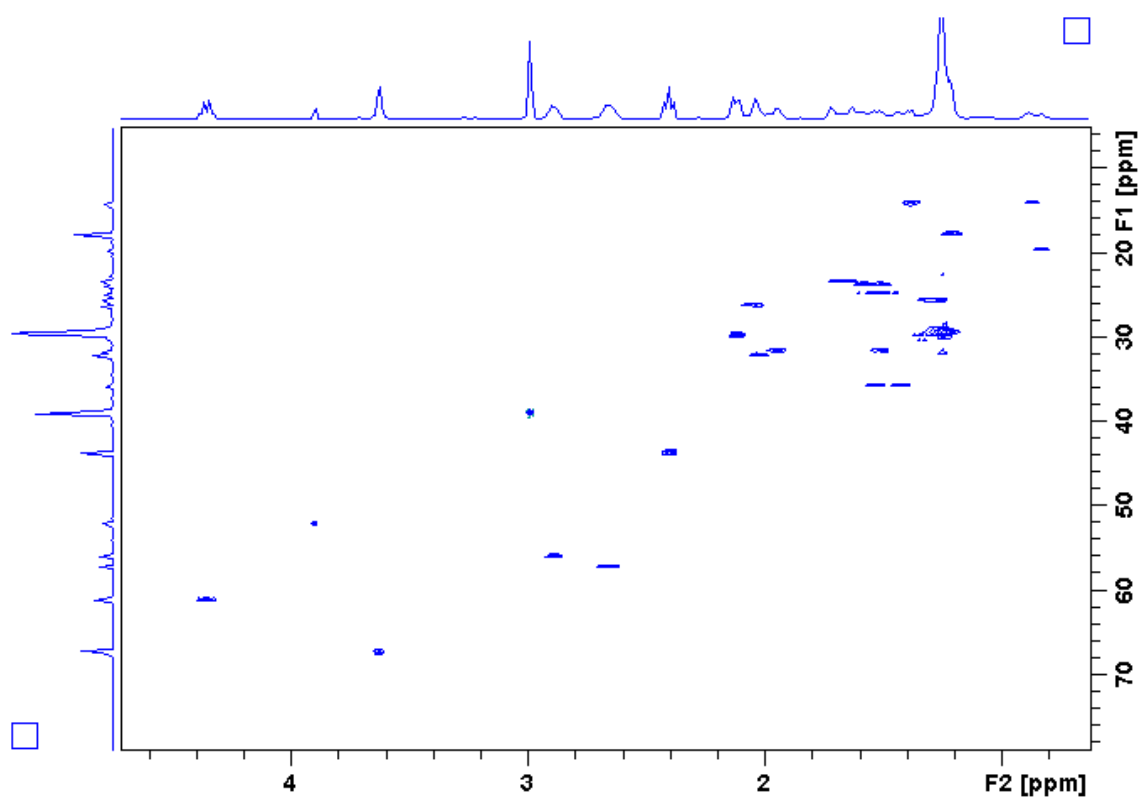
Apêndice J11. Ampliação do espectro J10 (δ 29,3–29,9) do derivado **52**.



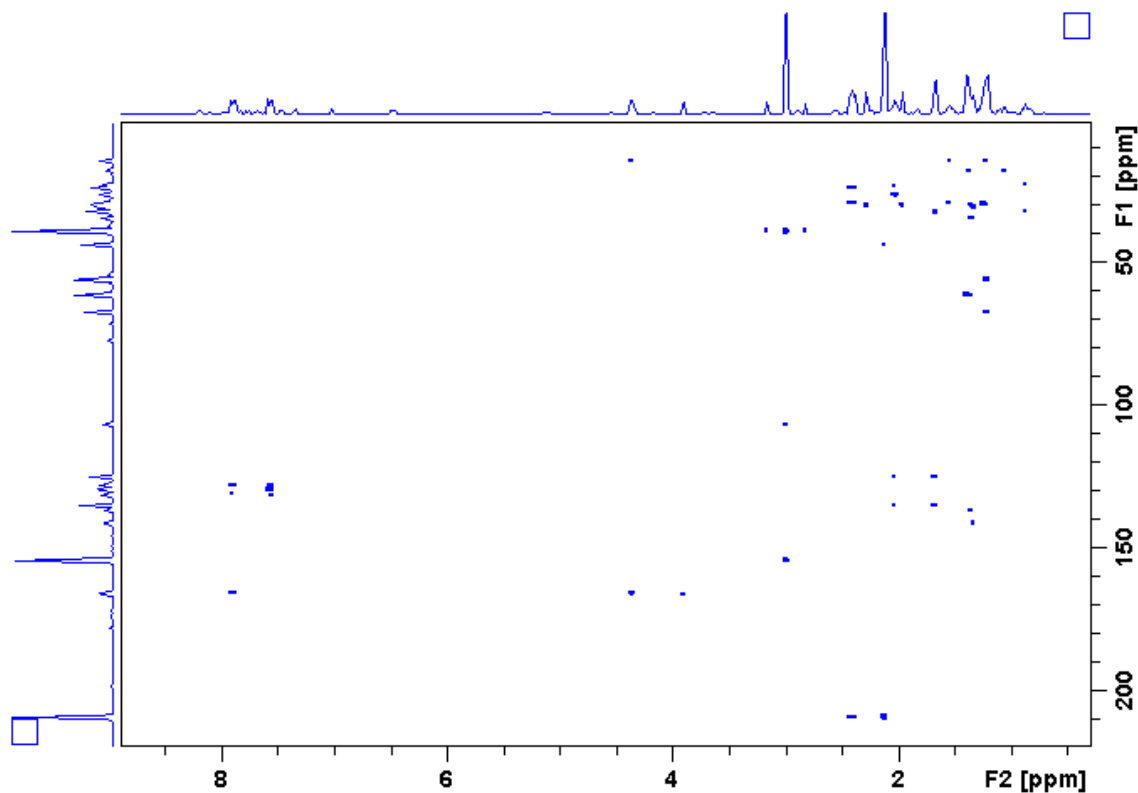
Apêndice J12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **52**.



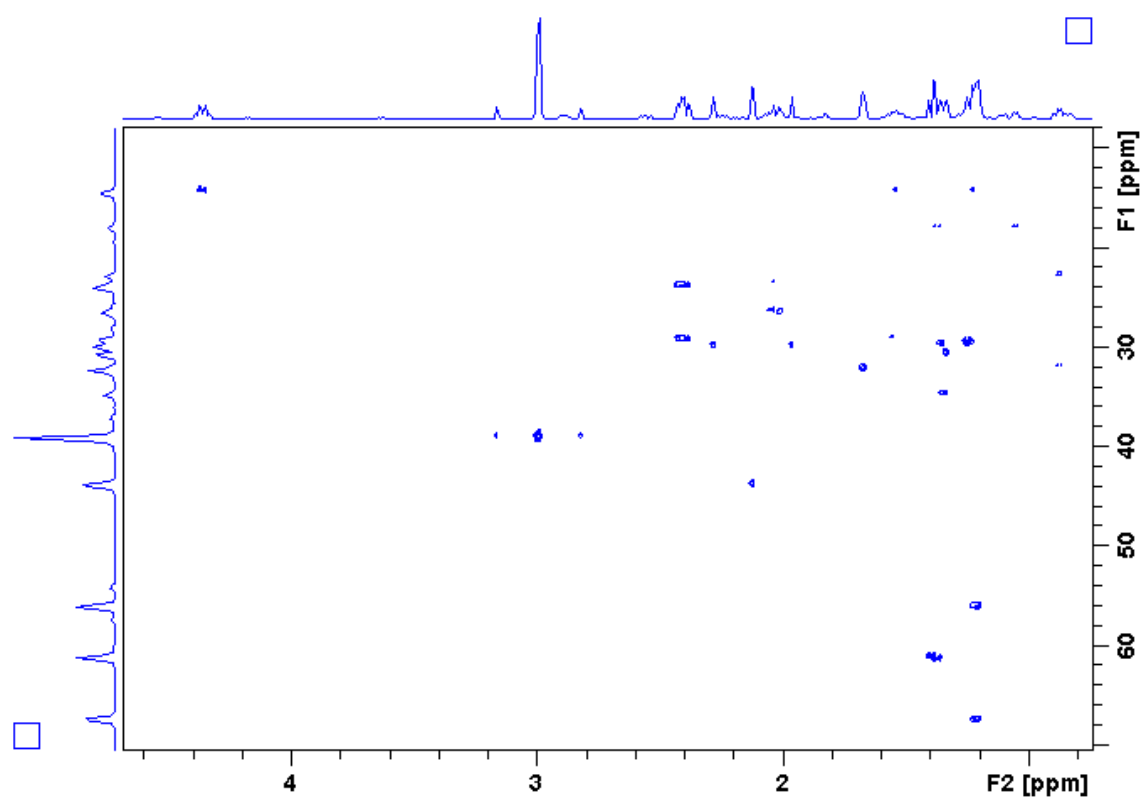
Apêndice J13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **52**.



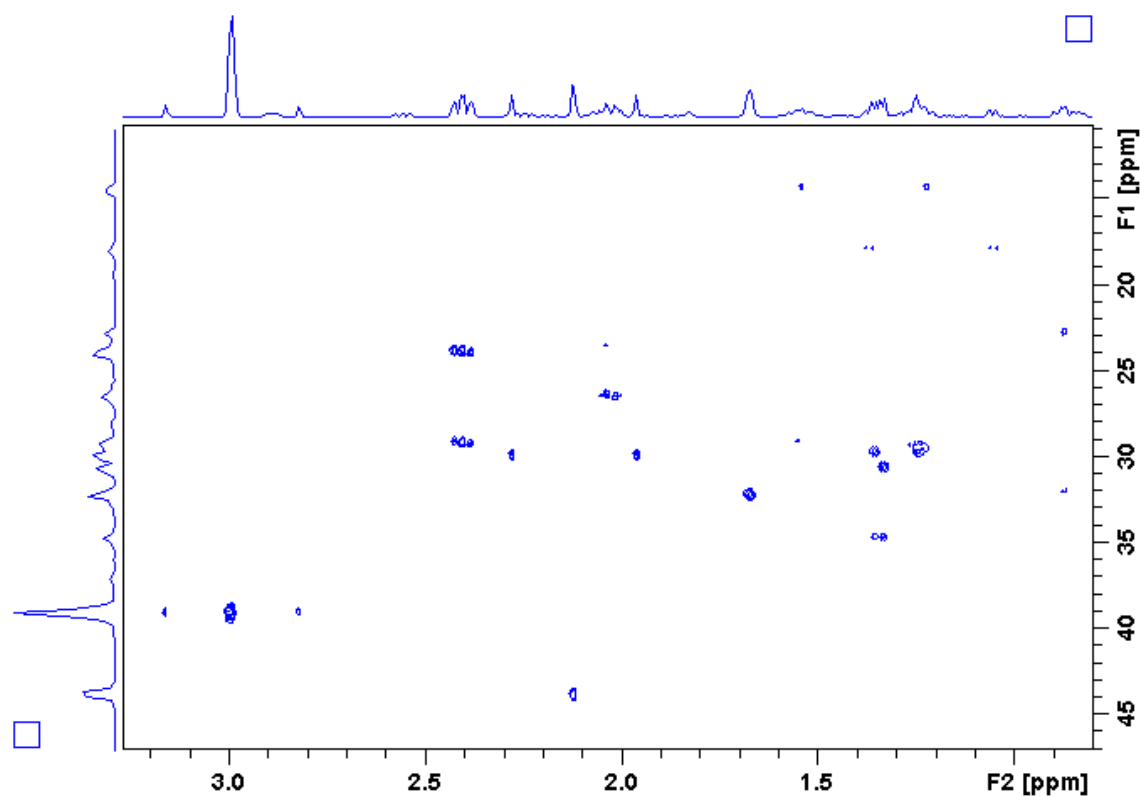
Apêndice J14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **52**.



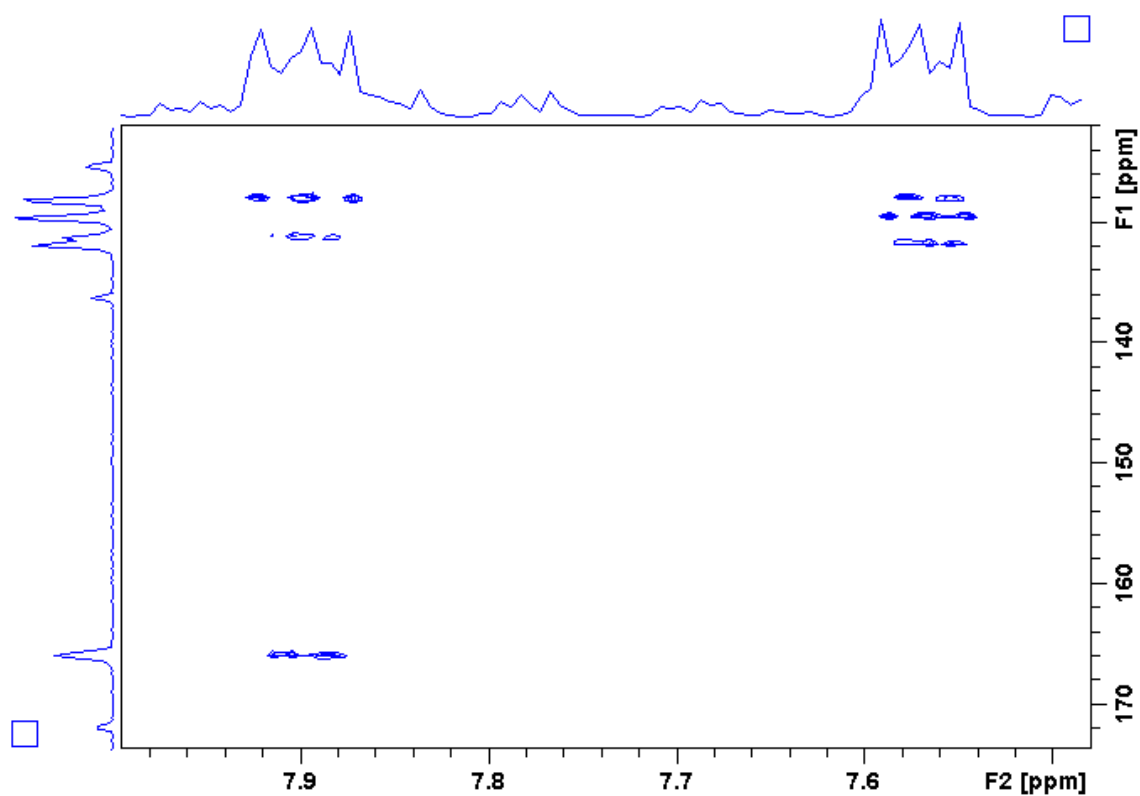
Apêndice J15. Mapa de contorno HMBC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **52**.



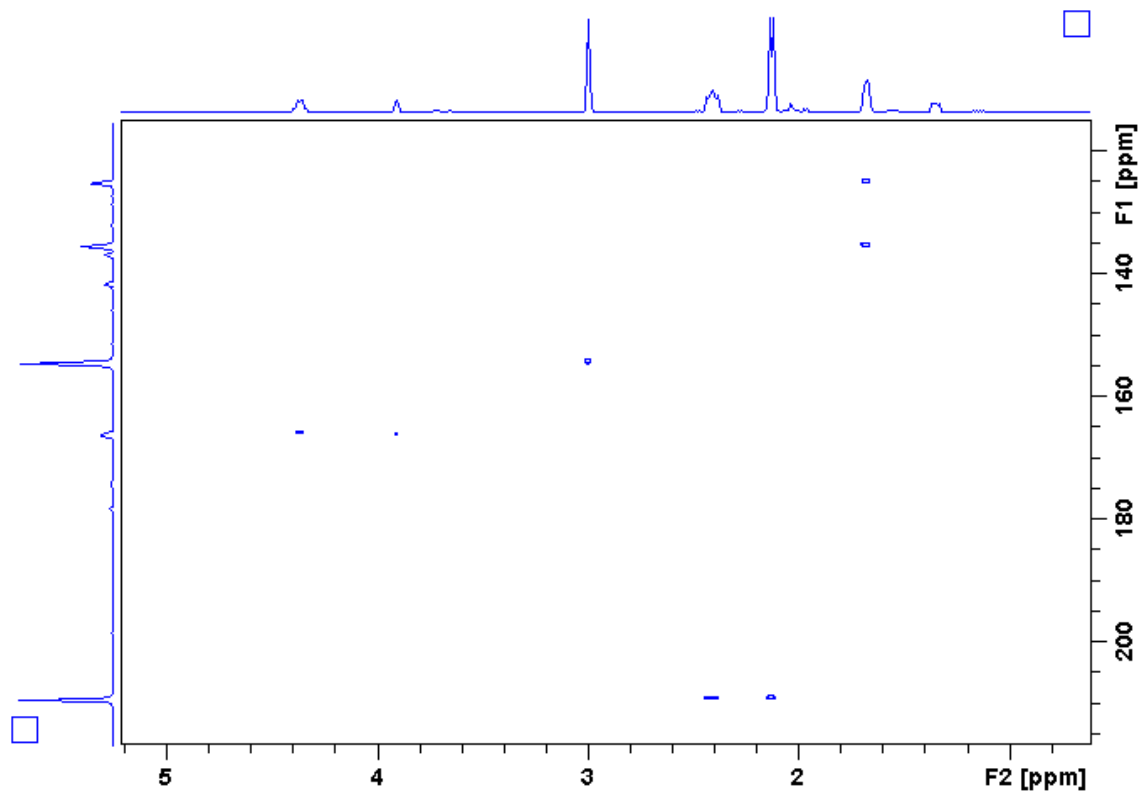
Apêndice J16. Mapa de contorno HMBC (δ 10,0–45,0) do alcaloide **52**.



Apêndice J17. Mapa de contorno HMBC (δ 130,0–170,0) do alcaloide **52**.

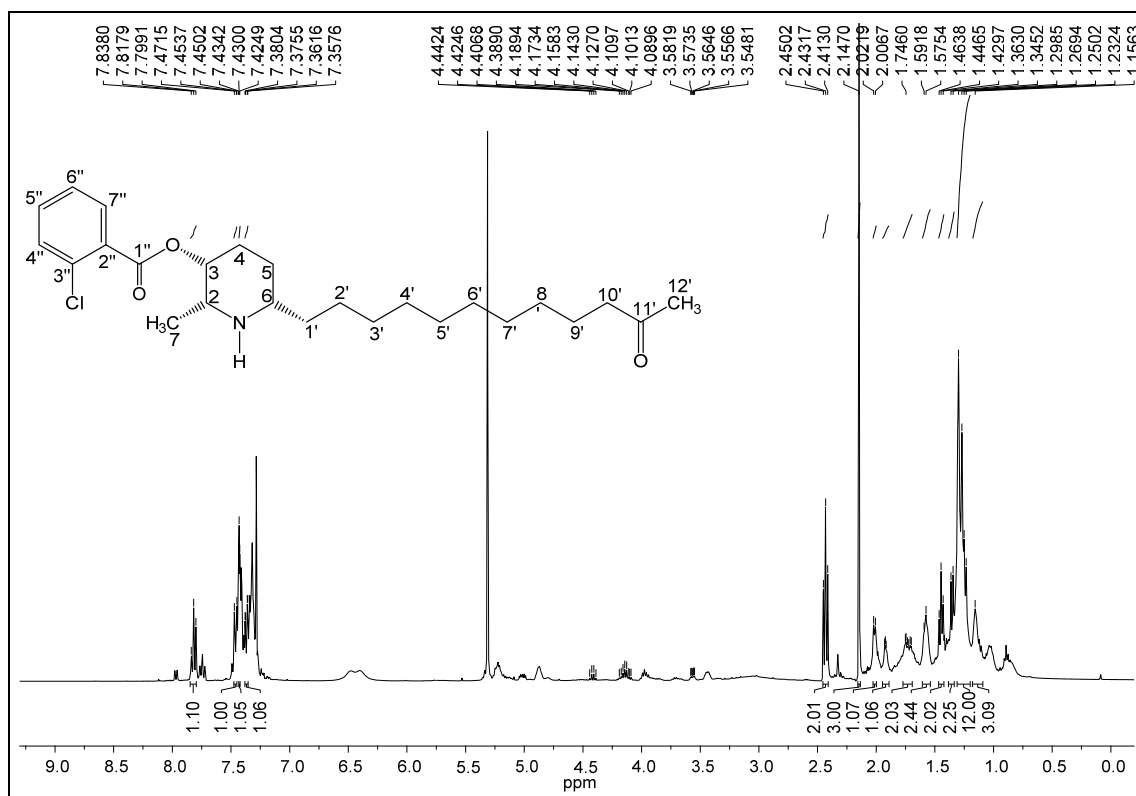


Apêndice J18. Mapa de contorno HMBC (δ 170,0–212,0) do alcaloide **52**.

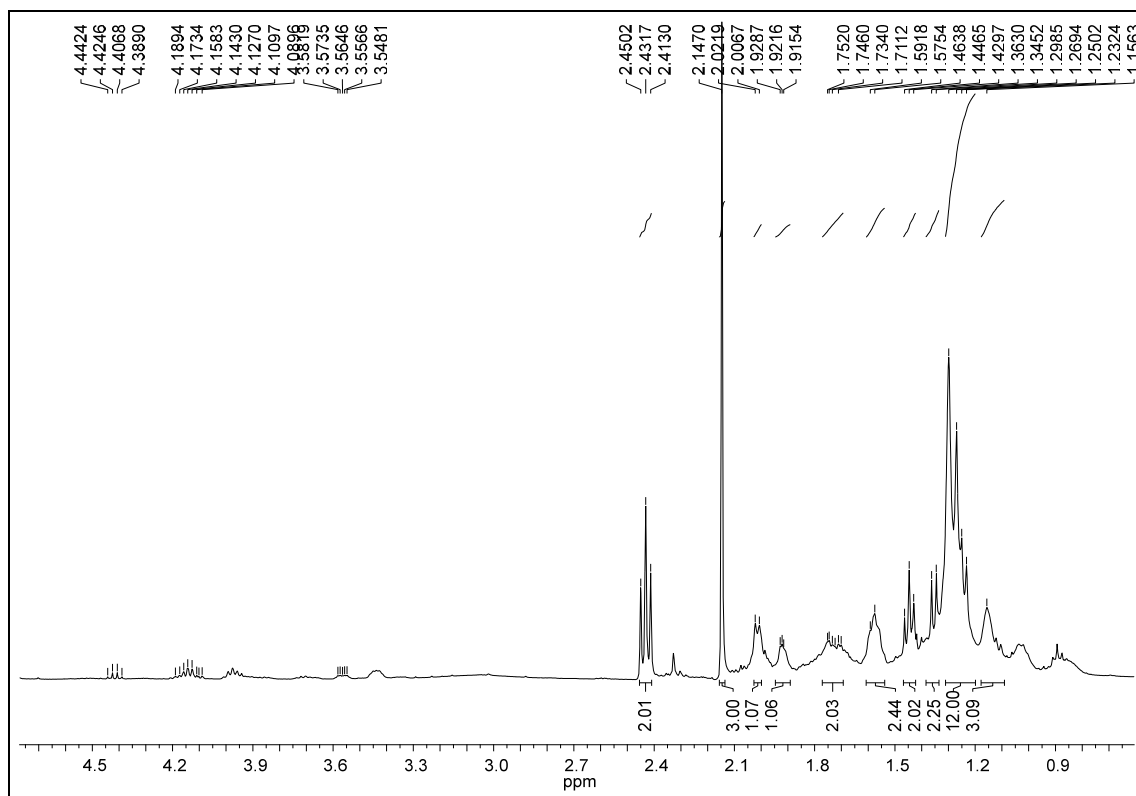


APÊNDICE K

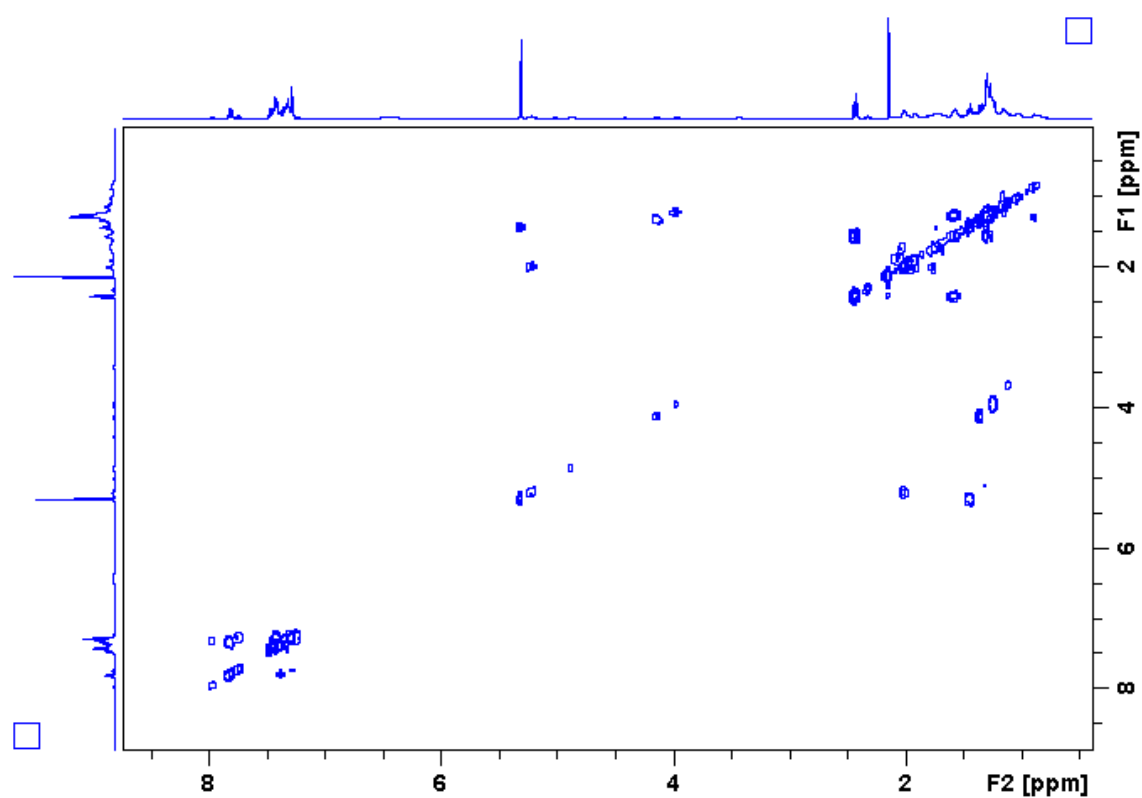
Apêndice K1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **53** (400 MHz, CDCl_3).



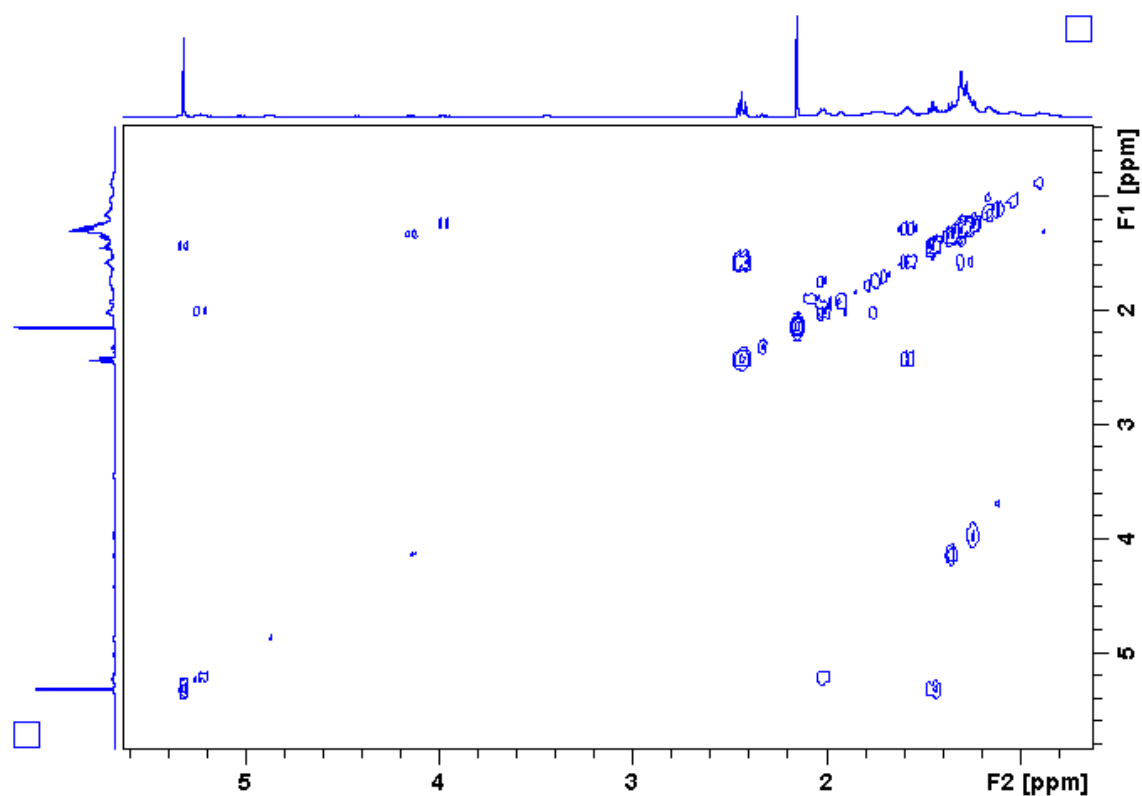
Apêndice K2. Ampliação do espectro K1 (δ 0,9–4,5) do derivado **53**.



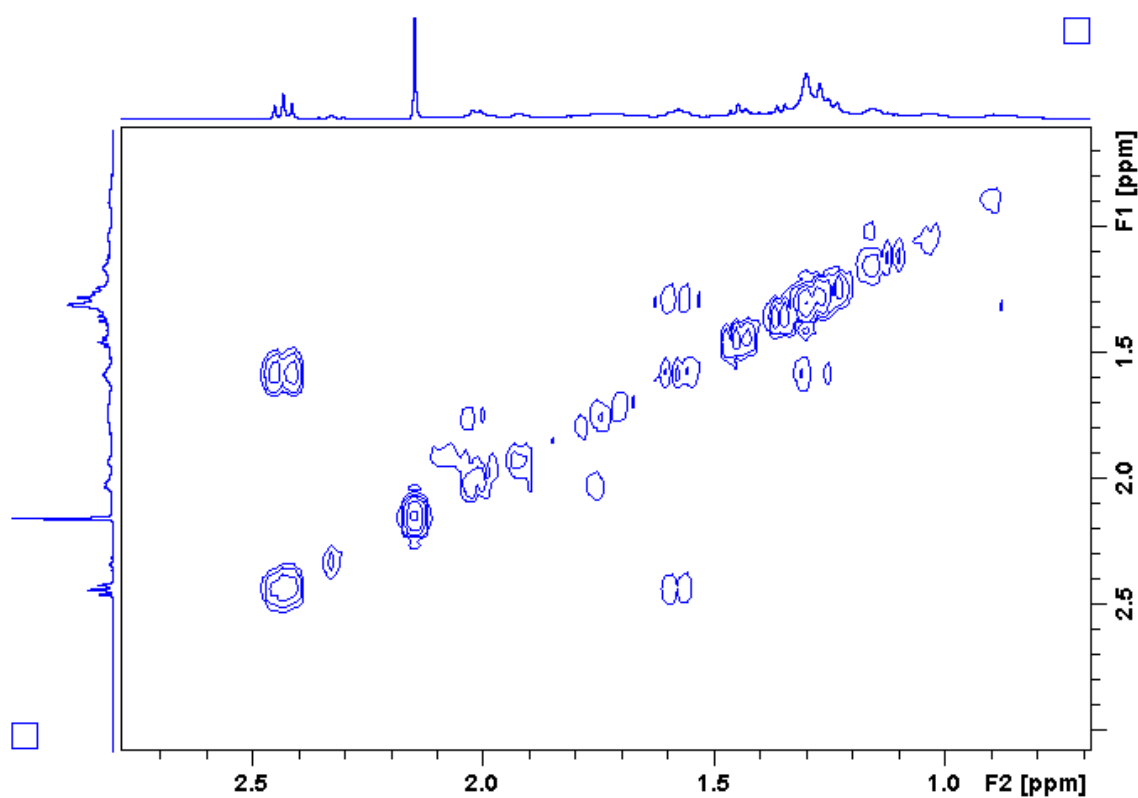
Apêndice K3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **53**.



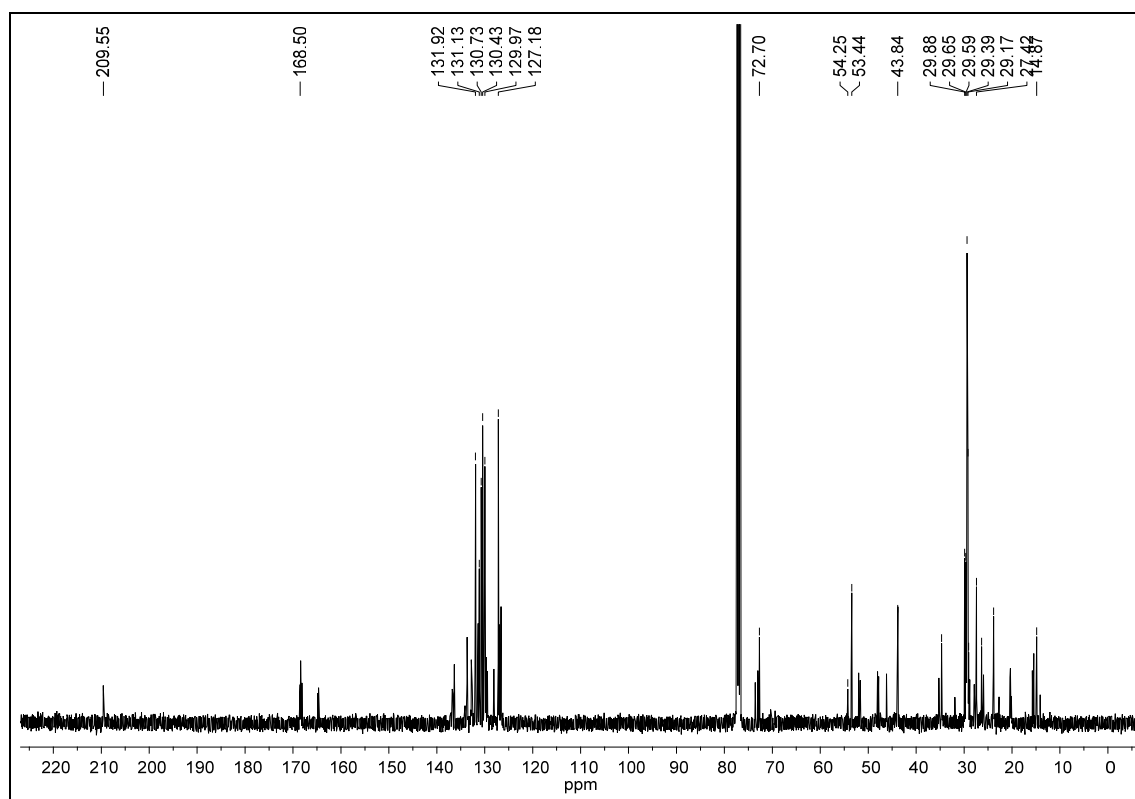
Apêndice K4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **53**.



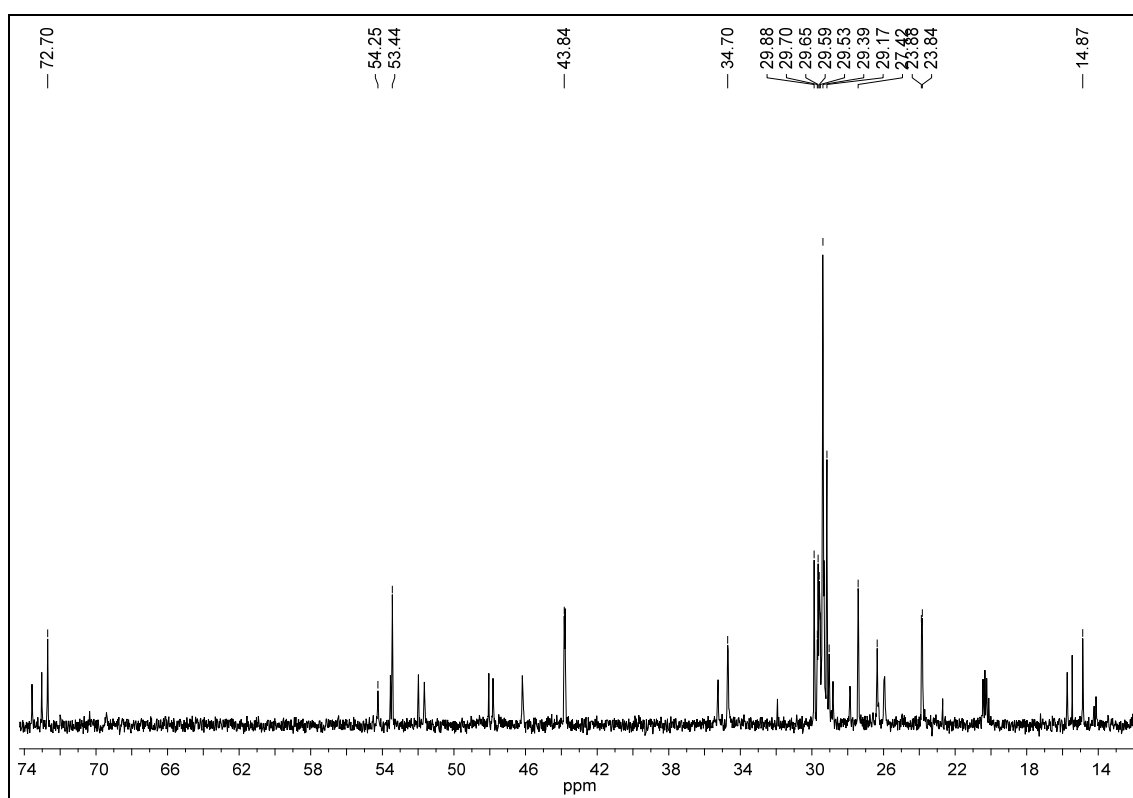
Apêndice K5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–2,5) do alcaloide **53**.



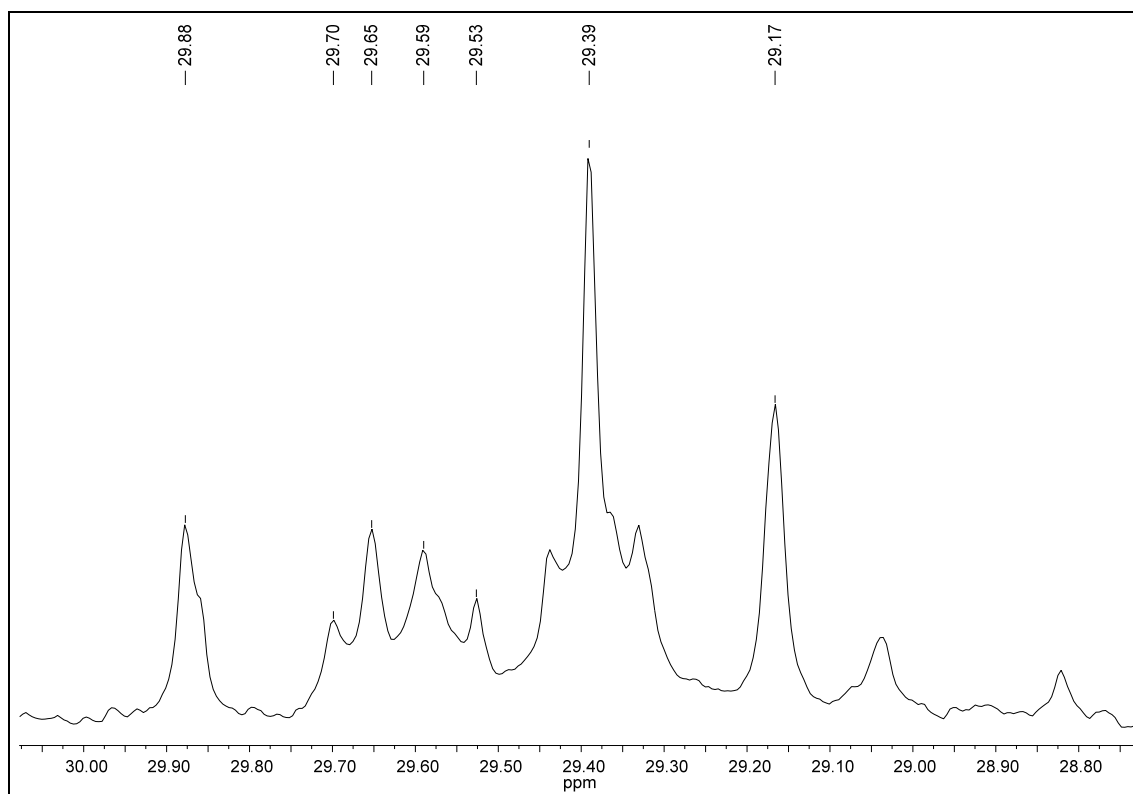
Apêndice K6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **53** (100 MHz, CDCl₃).



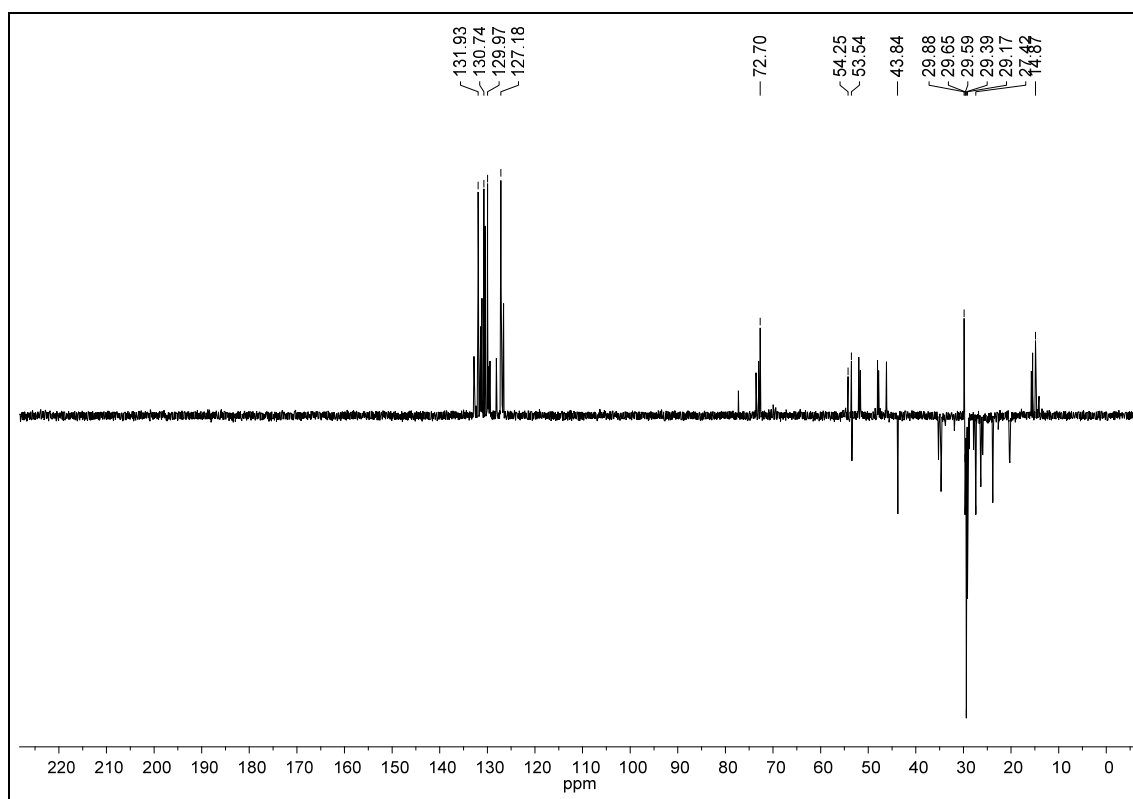
Apêndice K7. Ampliação do espectro K6 (δ 14,0–74,0) do derivado **53**.



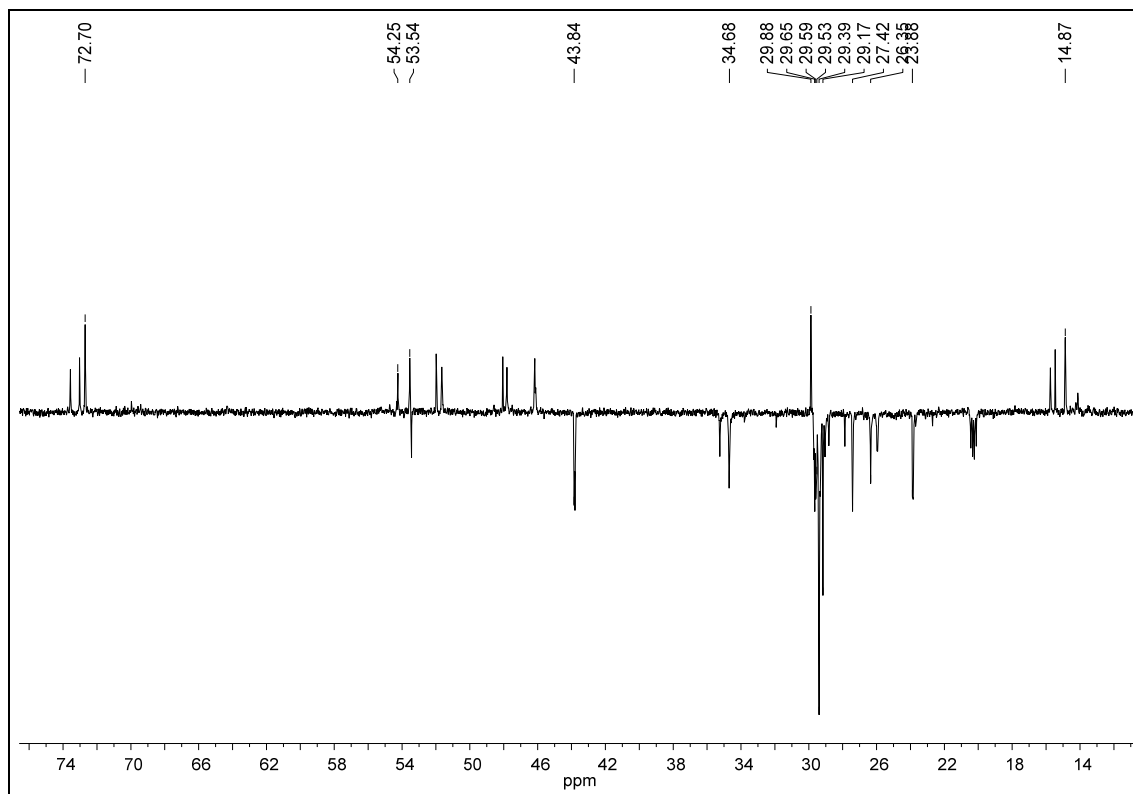
Apêndice K8. Ampliação do espectro K7 (δ 28,8–30,0) do derivado **53**.



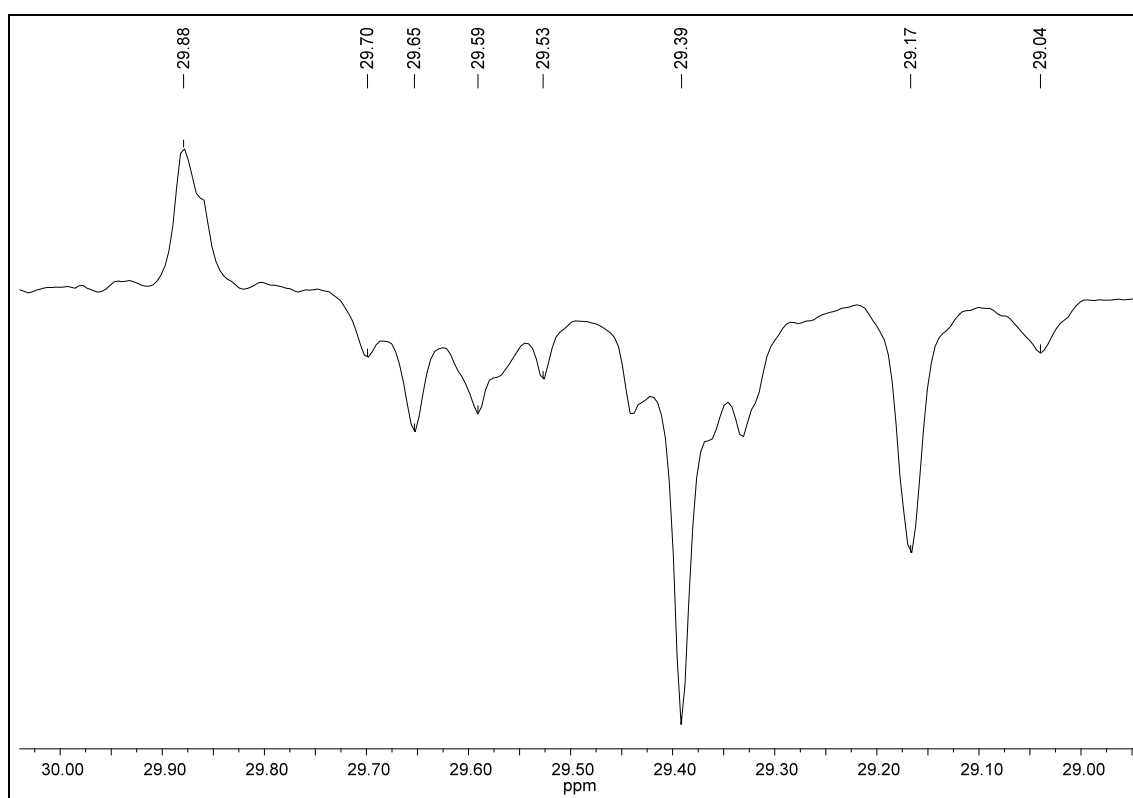
Apêndice K9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **53**.



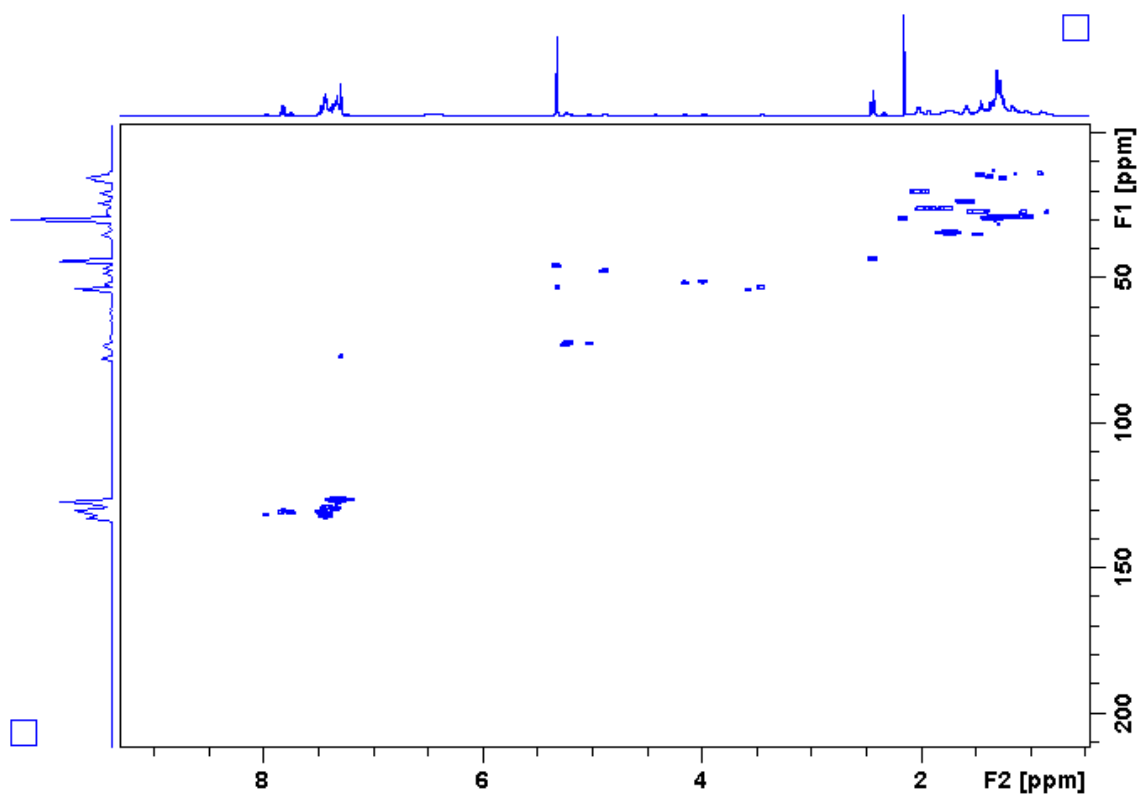
Apêndice K10. Ampliação do espectro K9 (δ 14,0–74,0) do derivado **53**.



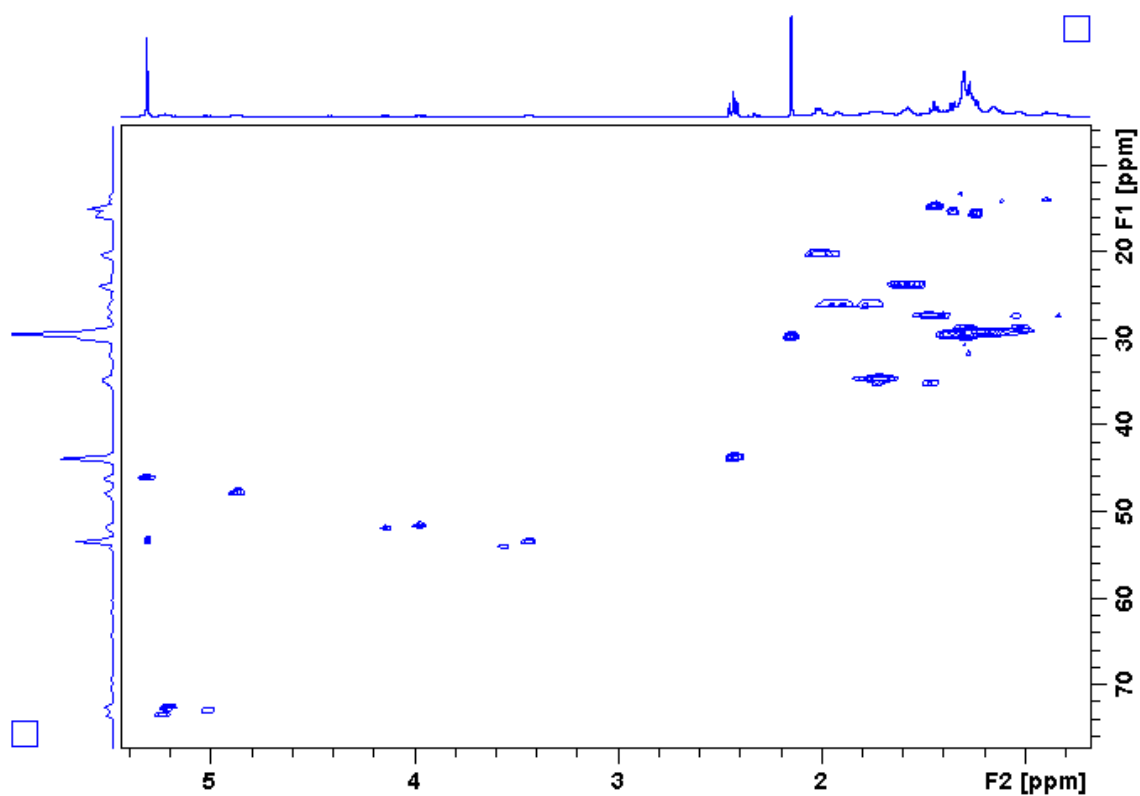
Apêndice K11. Ampliação do espectro K10 (δ 29,0–30,1) do derivado **53**.



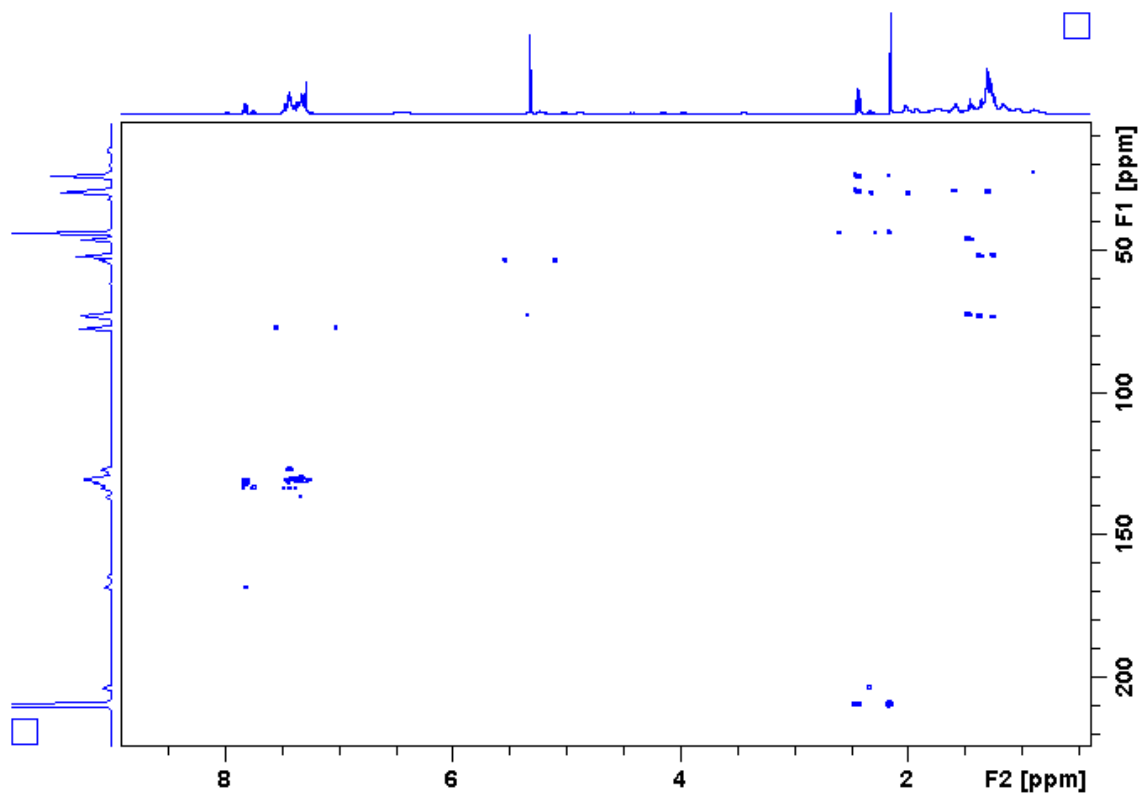
Apêndice K12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **53**.



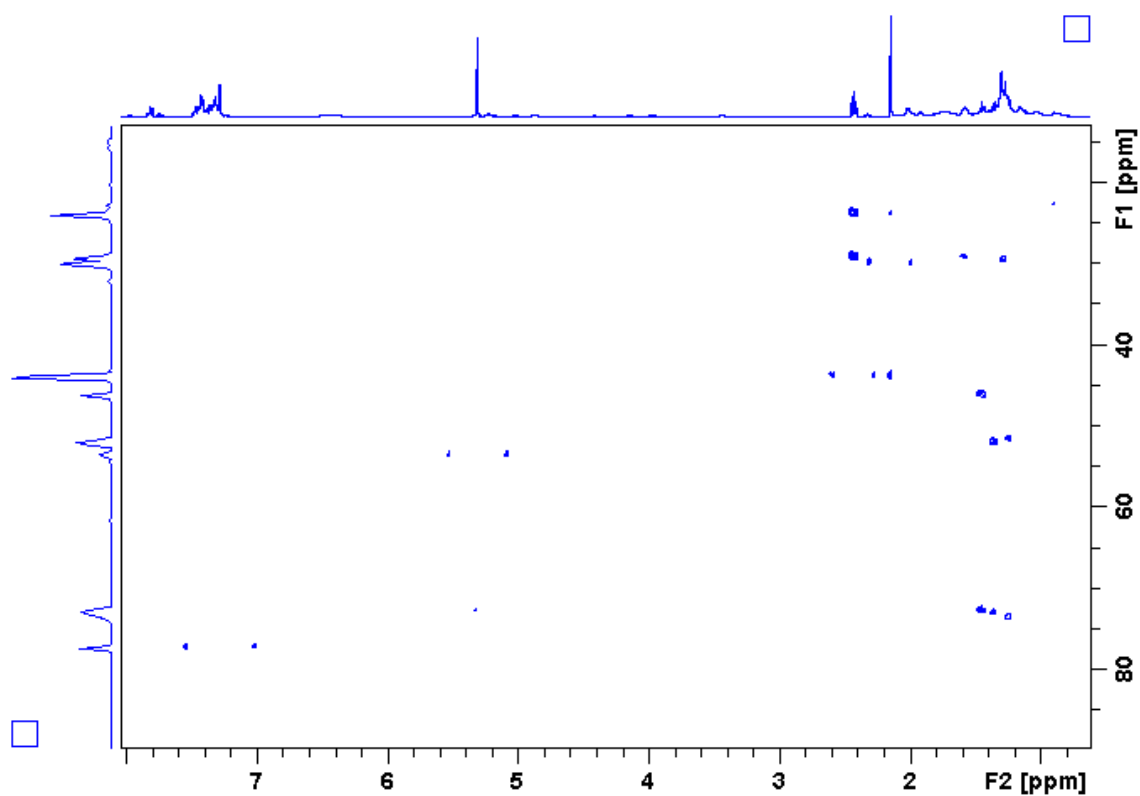
Apêndice K13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **53**.



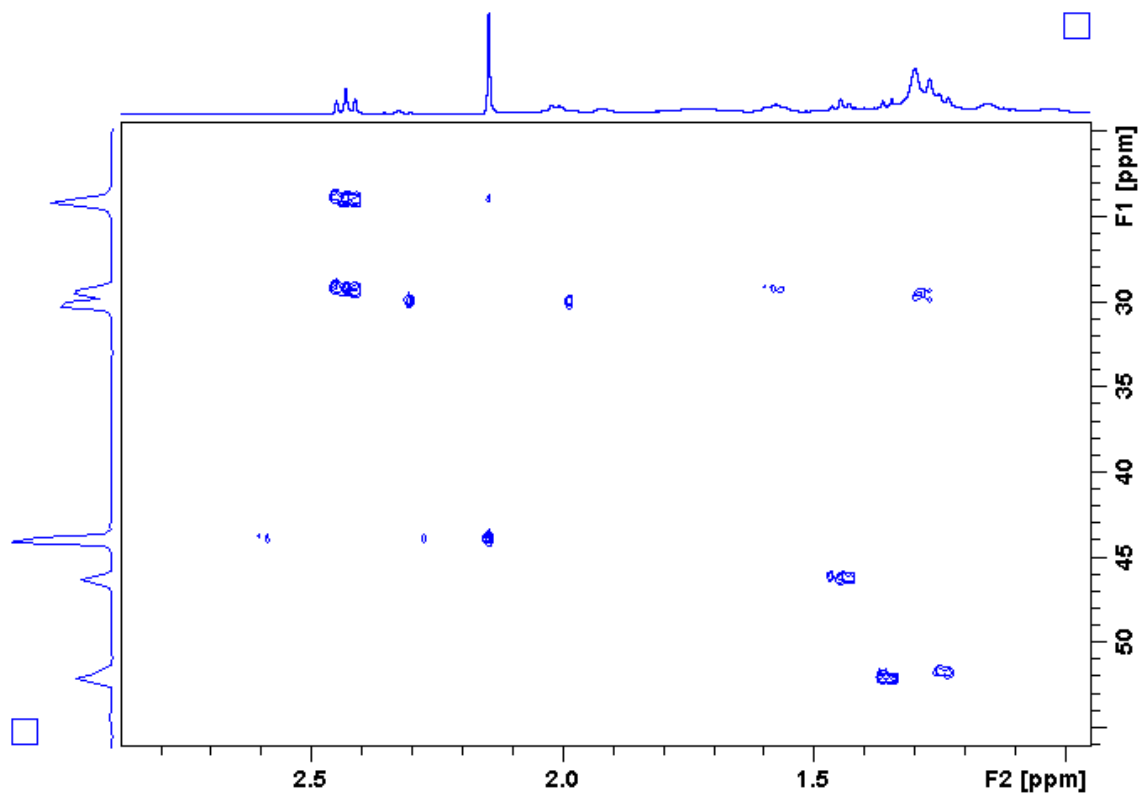
Apêndice K14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **53**.



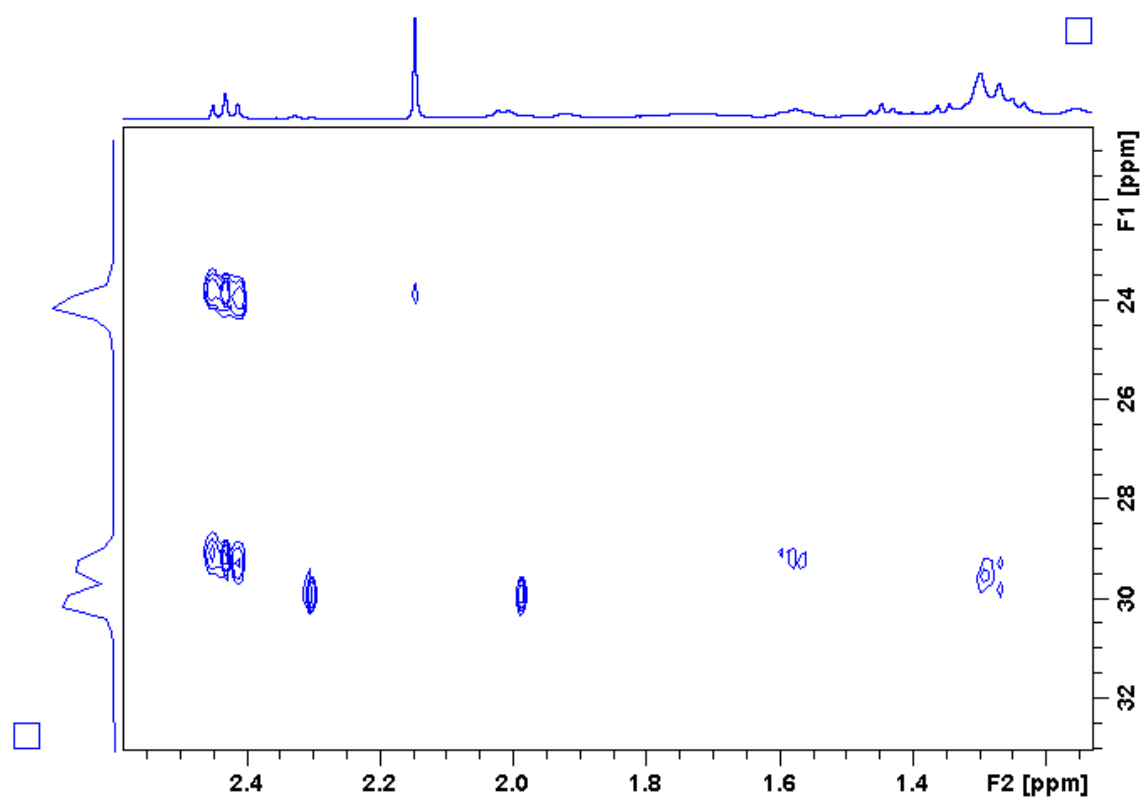
Apêndice K15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–80,0) do alcaloide **53**.



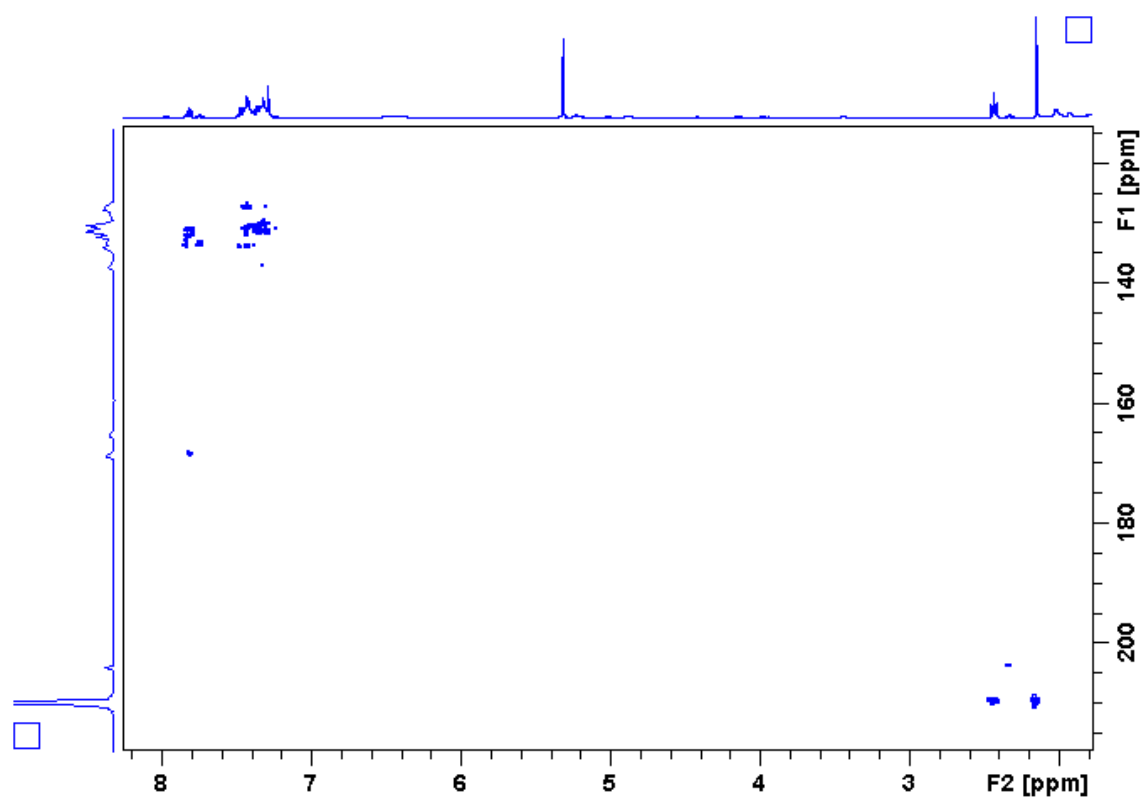
Apêndice K16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **53**.



Apêndice K17. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–32,0) do alcaloide **53**.

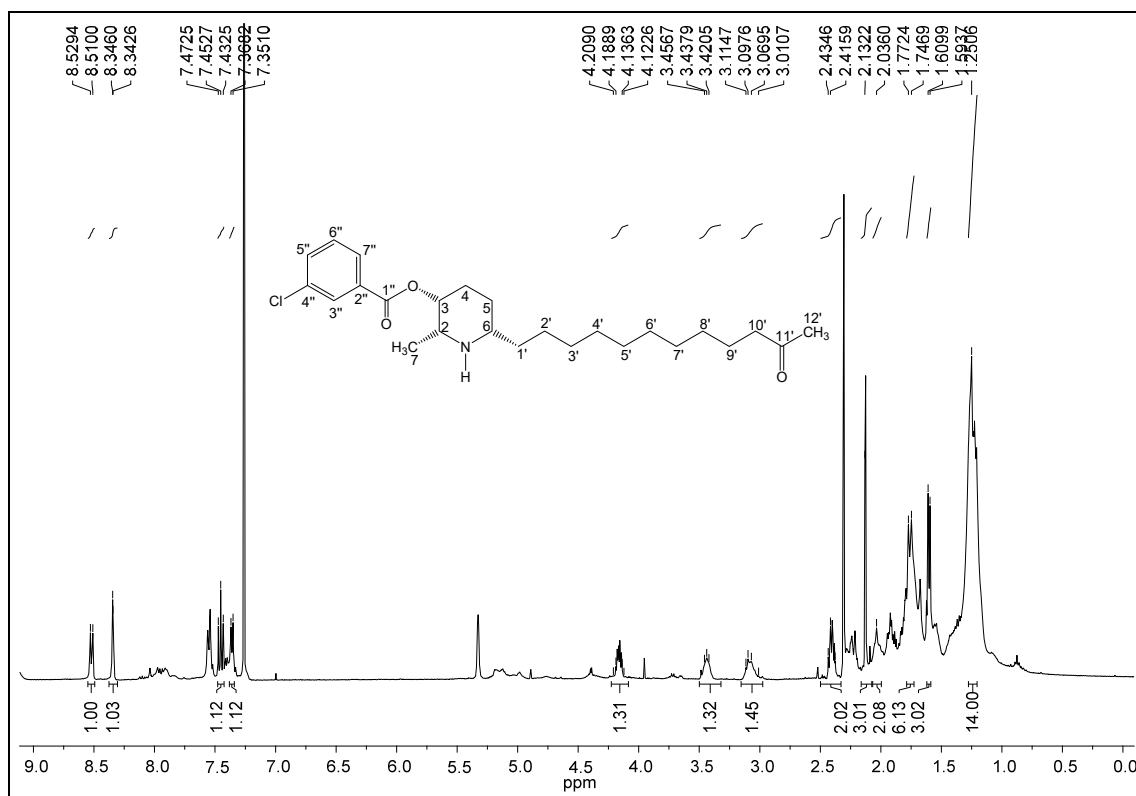


Apêndice K18. Mapa de contorno HMBC (δ 130,0–210,0) do alcaloide **53**.

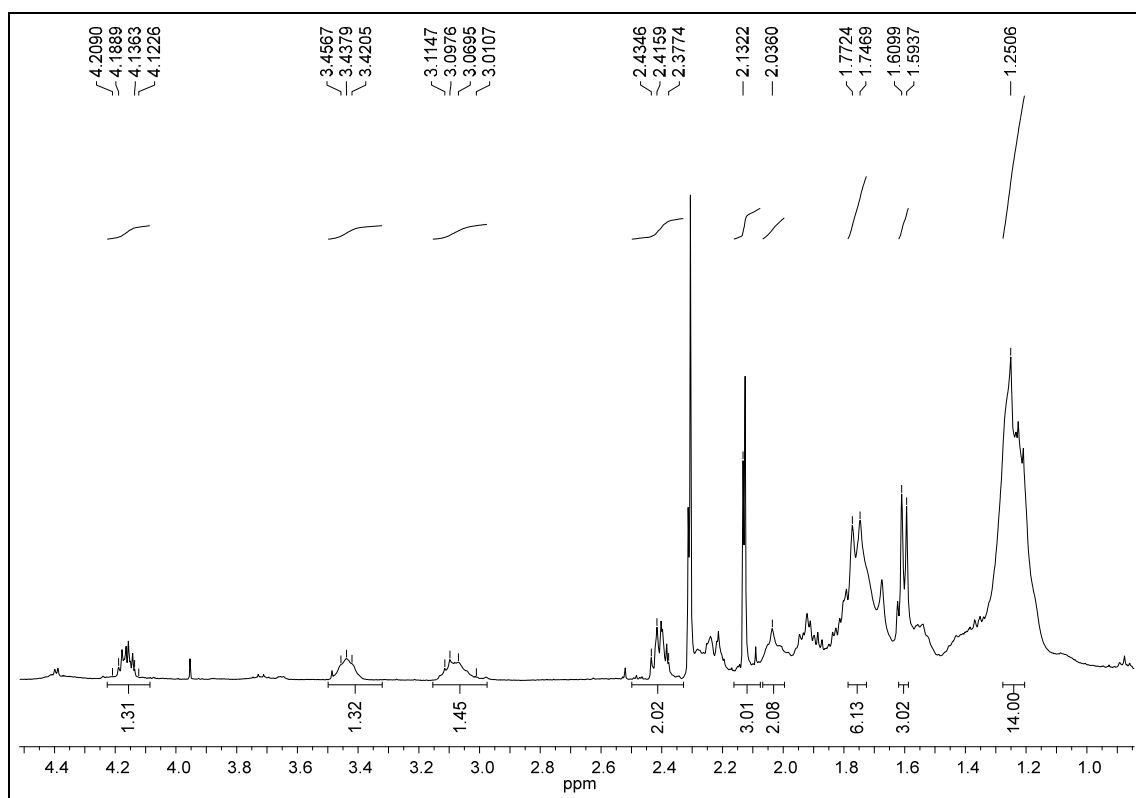


APÊNDICE L

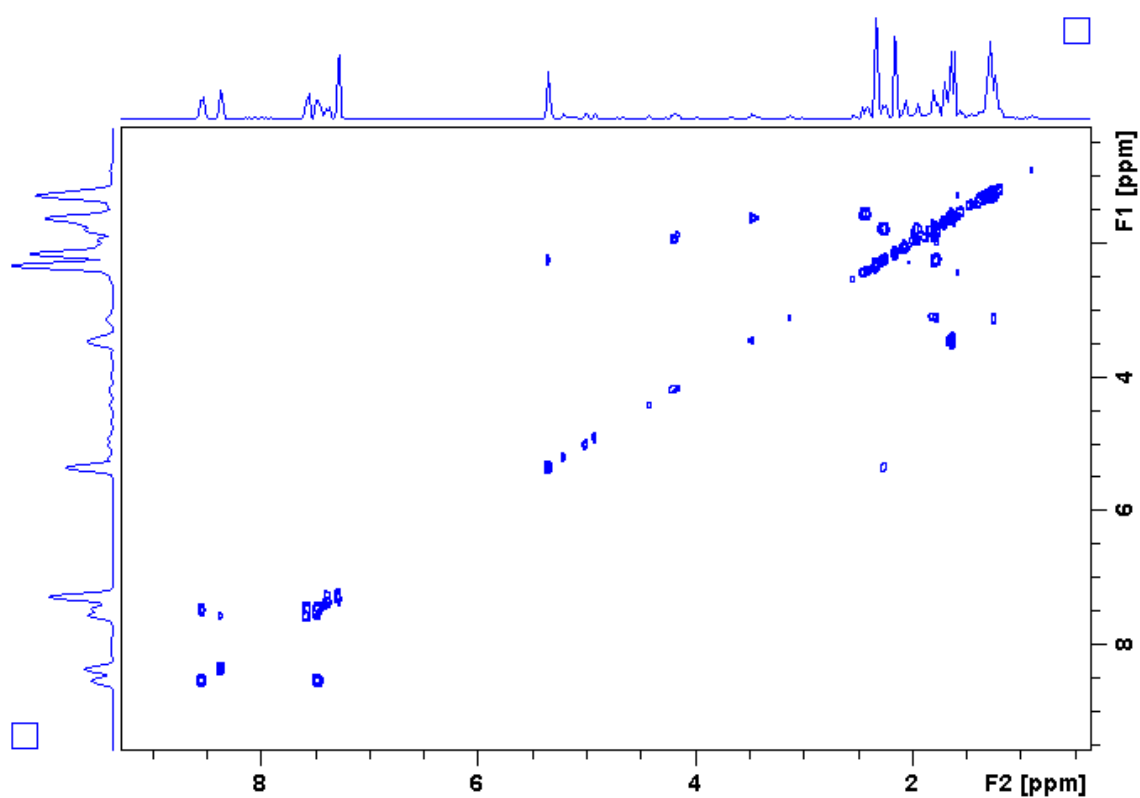
Apêndice L1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **54** (400 MHz, CDCl_3).



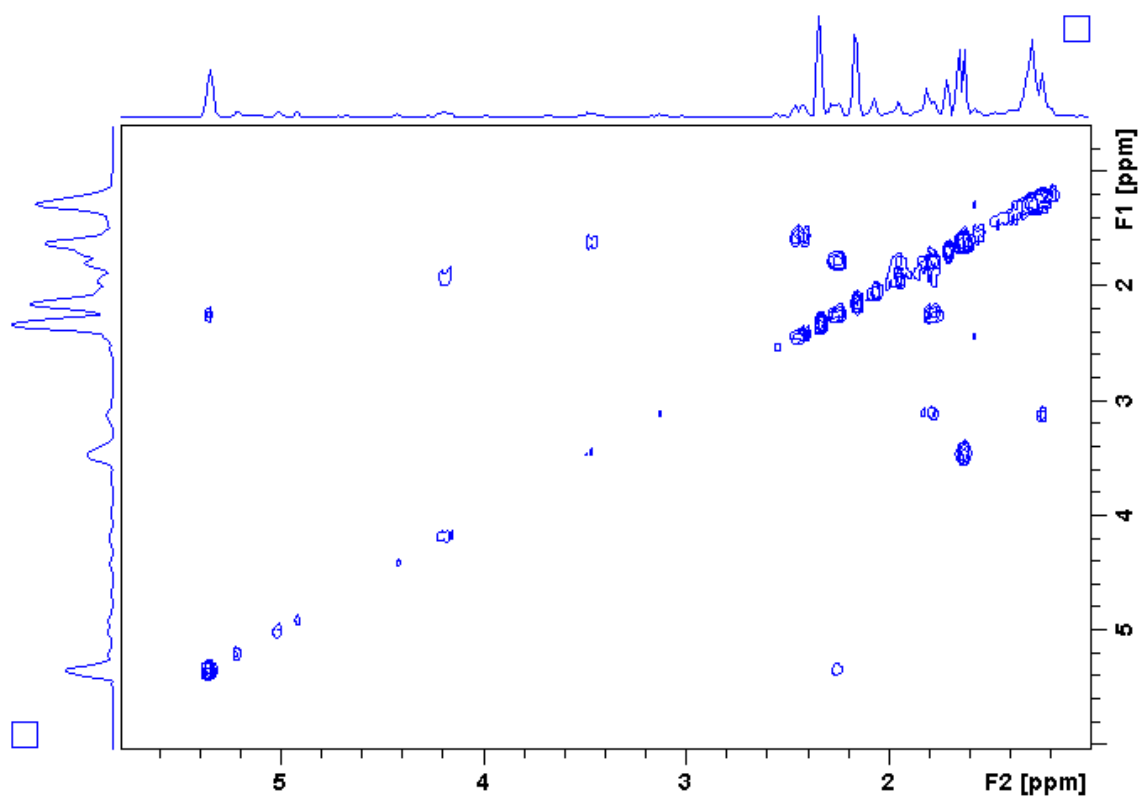
Apêndice L2. Ampliação do espectro L1 (δ 1,1–4,4) do derivado **54**.



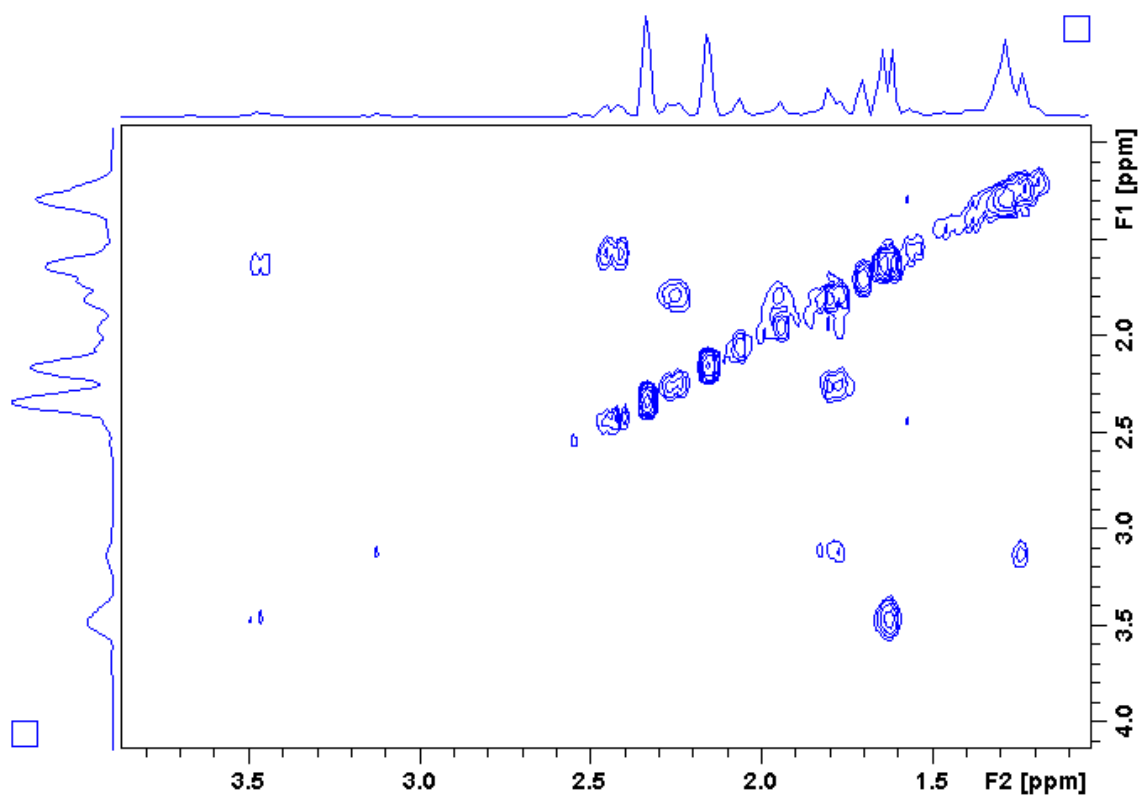
Apêndice L3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **54**.



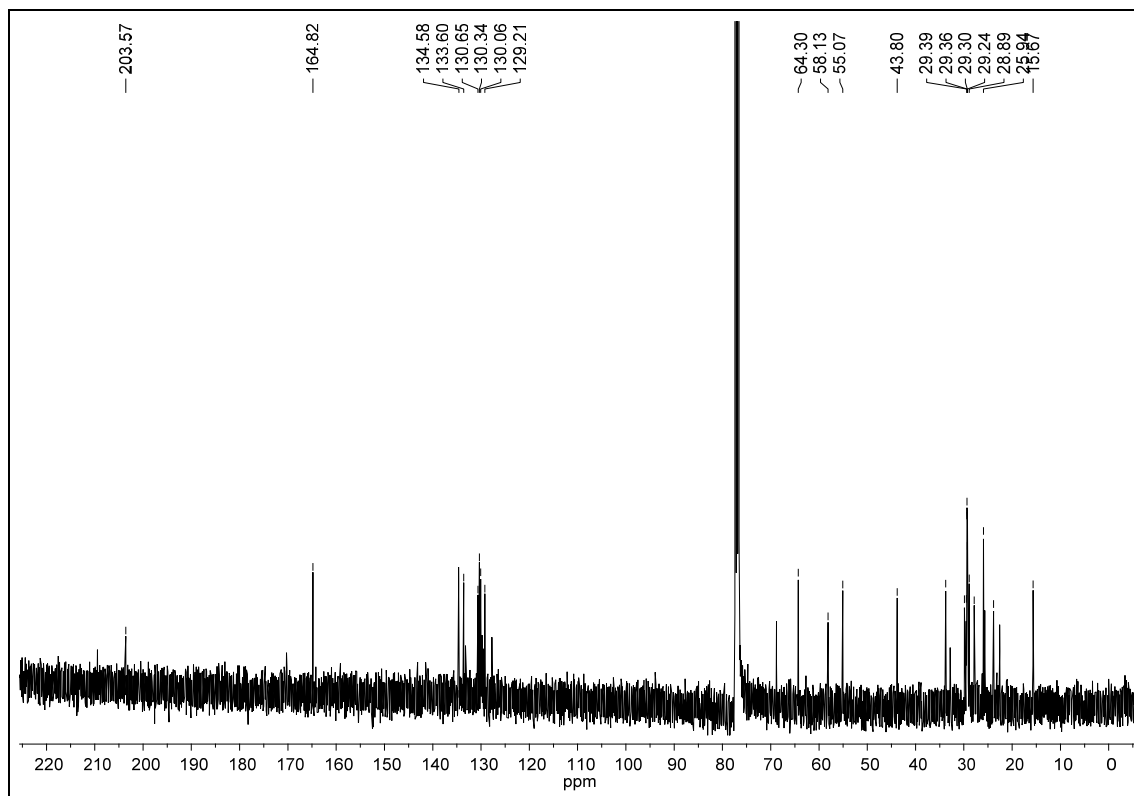
Apêndice L4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–6,0) do alcaloide **54**.



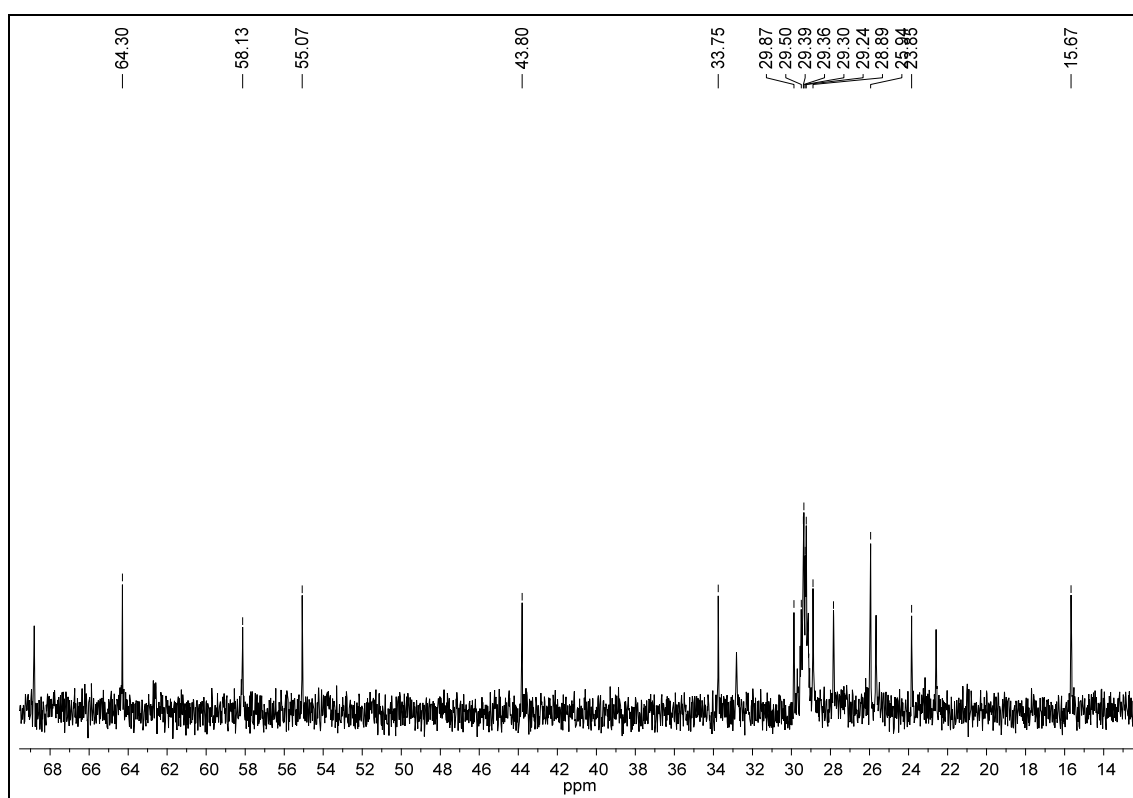
Apêndice L5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **54**.



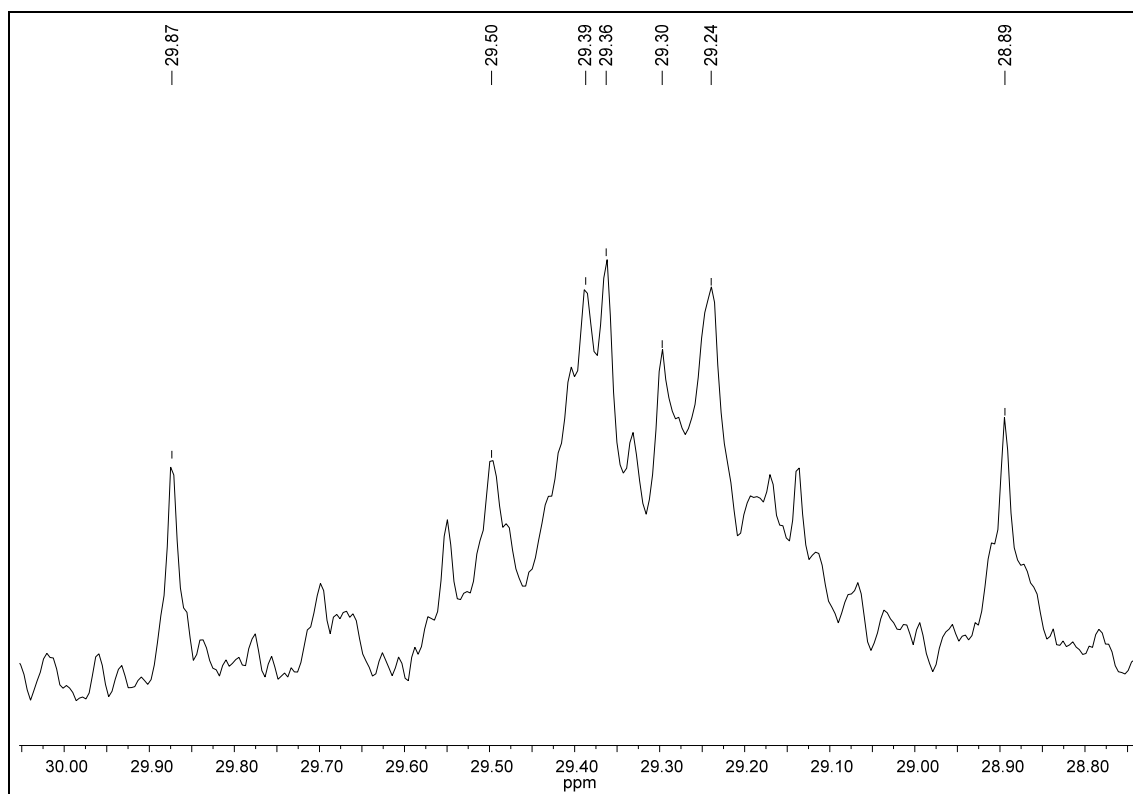
Apêndice L6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **54** (100 MHz, CDCl₃).



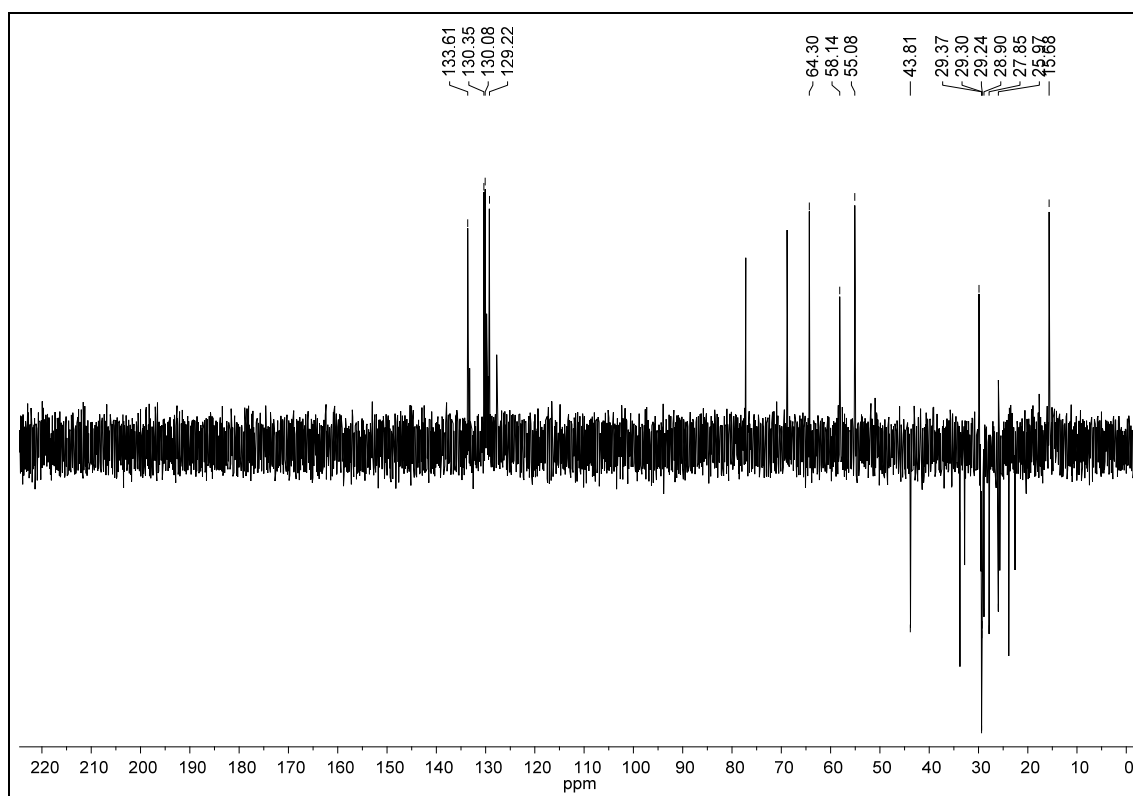
Apêndice L7. Ampliação do espectro L6 (δ 14,0–68,0) do derivado **54**.



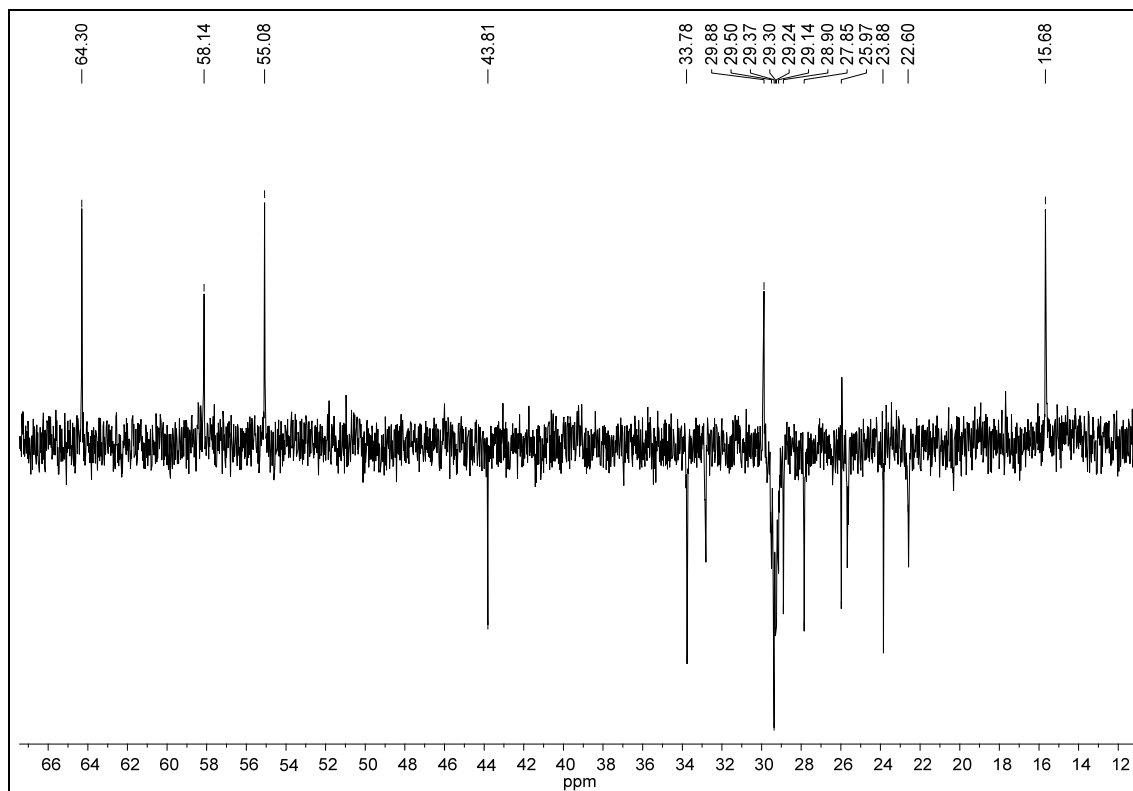
Apêndice L8. Ampliação do espectro L7 (δ 29,0–29,8) do derivado **54**.



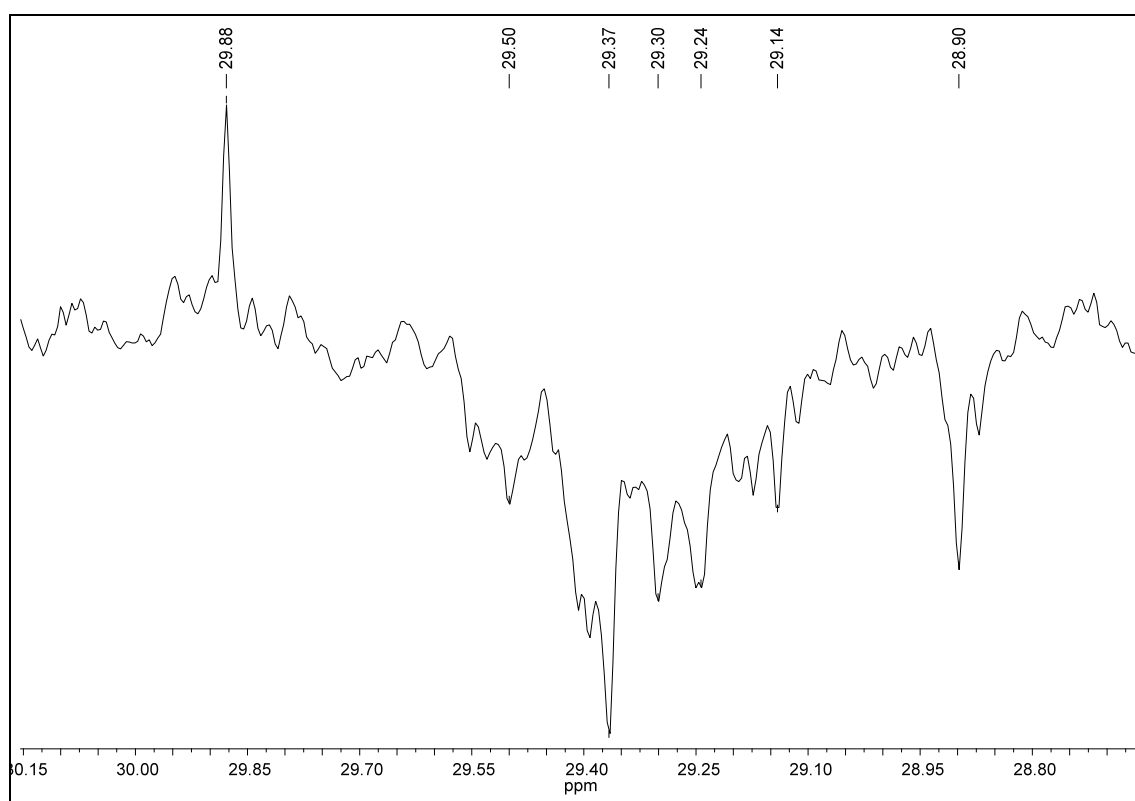
Apêndice L9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **54**.



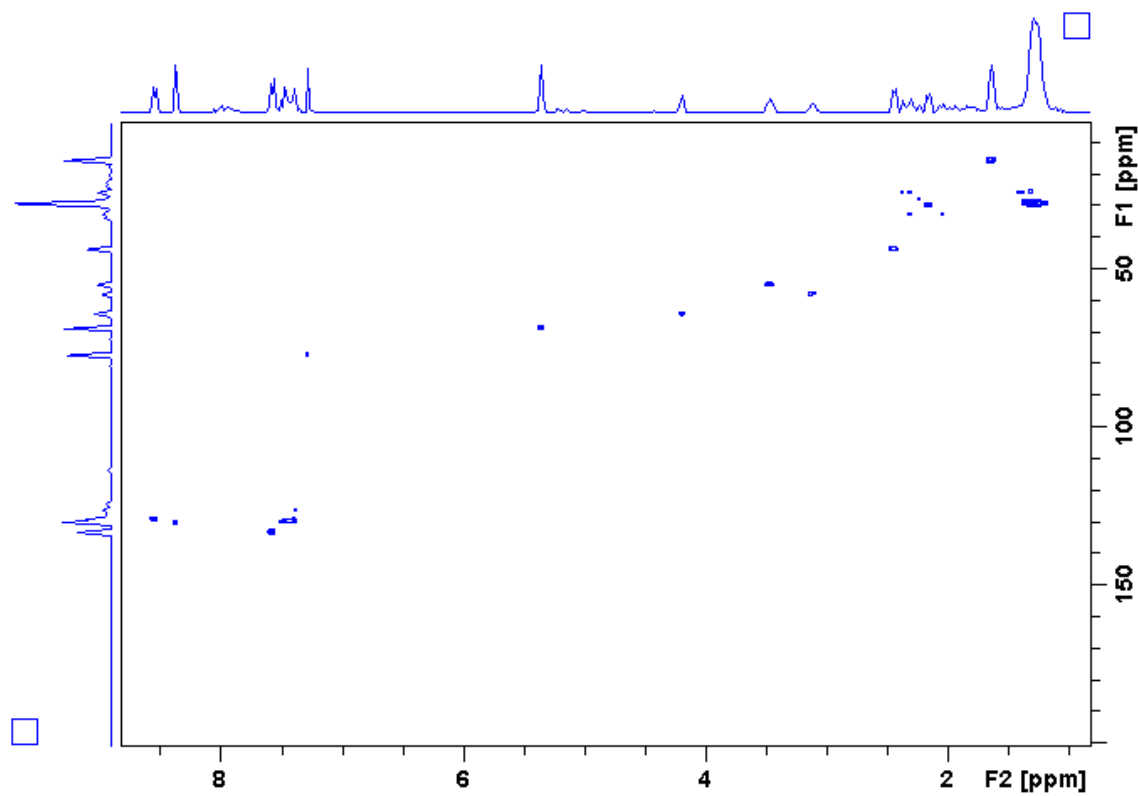
Apêndice L10. Ampliação do espectro L9 (δ 12,0–66,0) do derivado **54**.



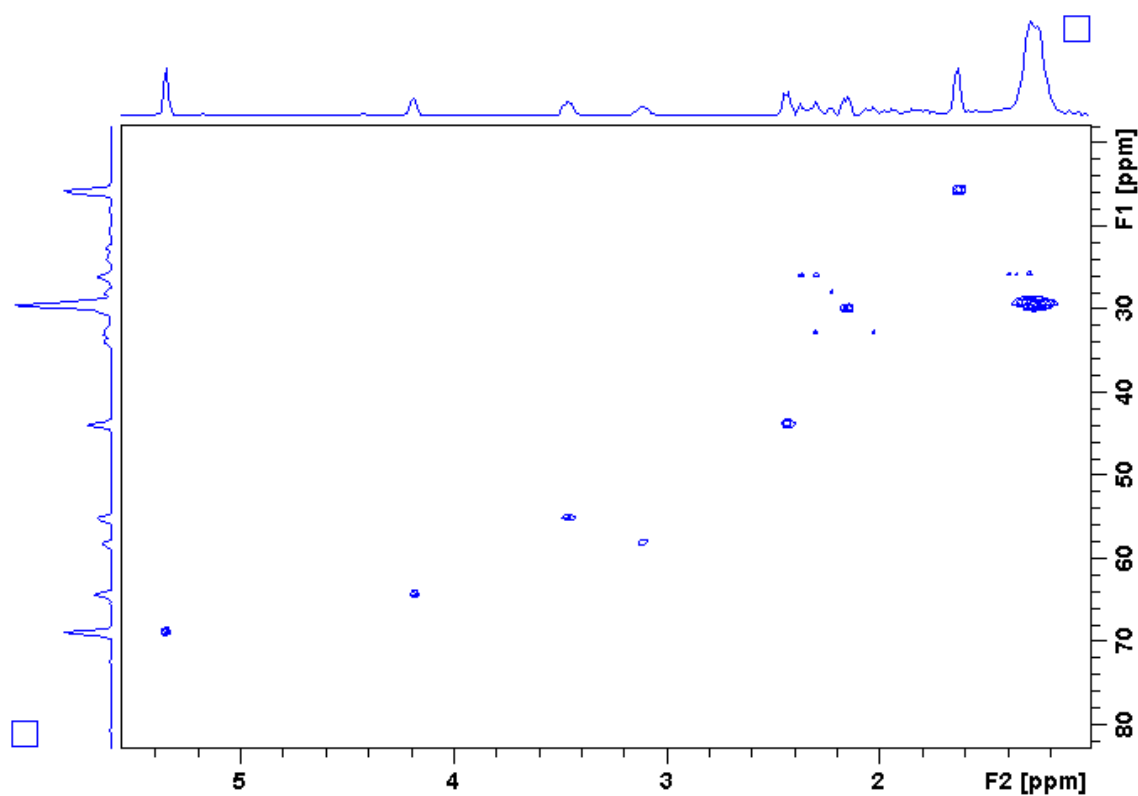
Apêndice L11. Ampliação do espectro L10 (δ 29,1–30,0) do derivado **54**.



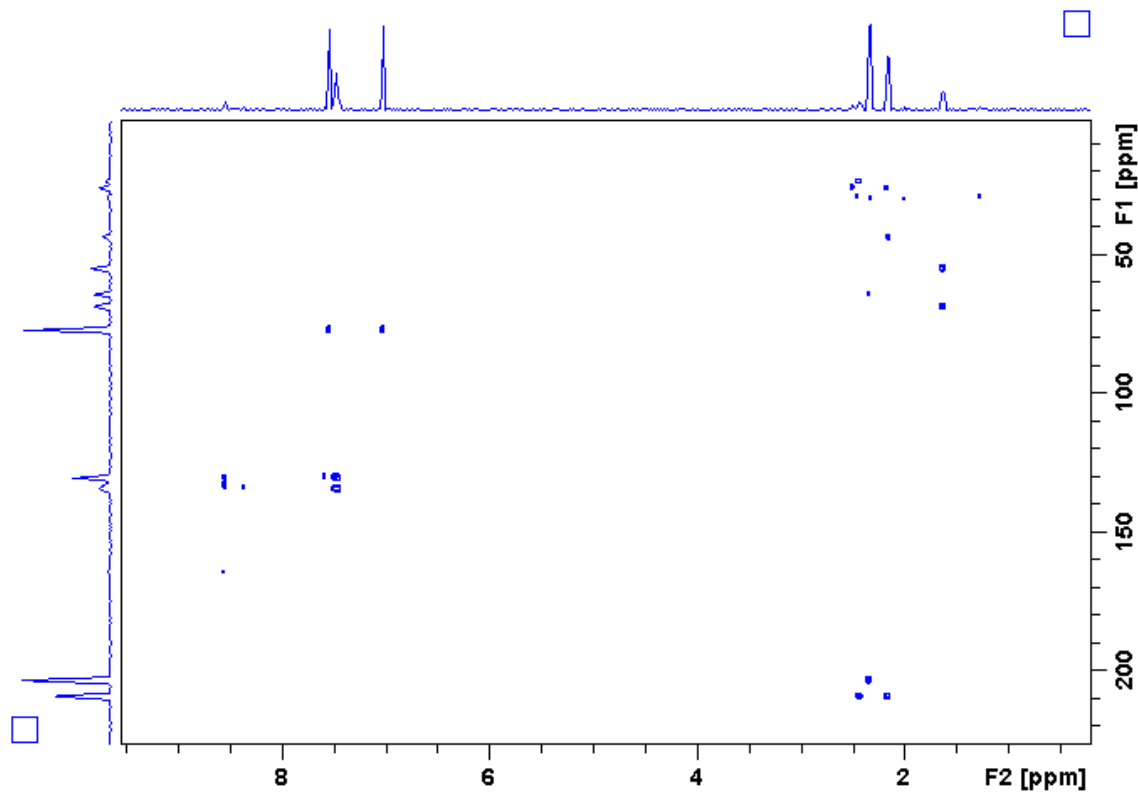
Apêndice L12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **54**.



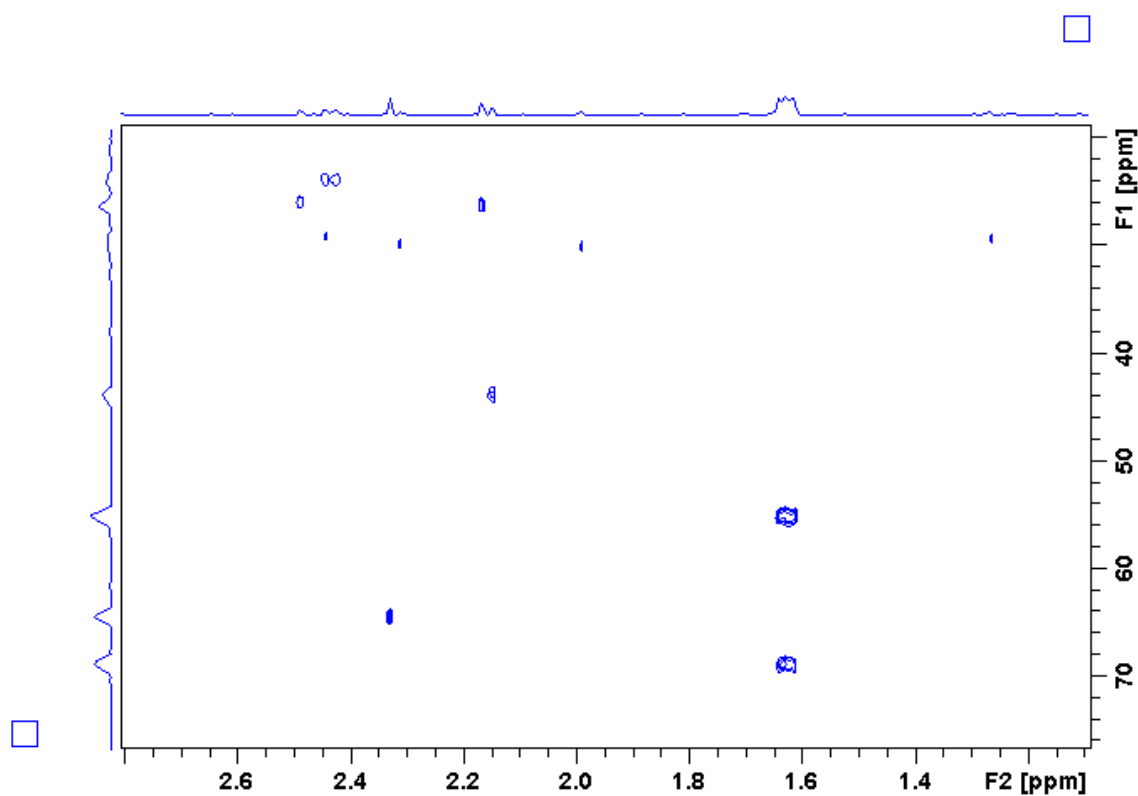
Apêndice L13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **54**.



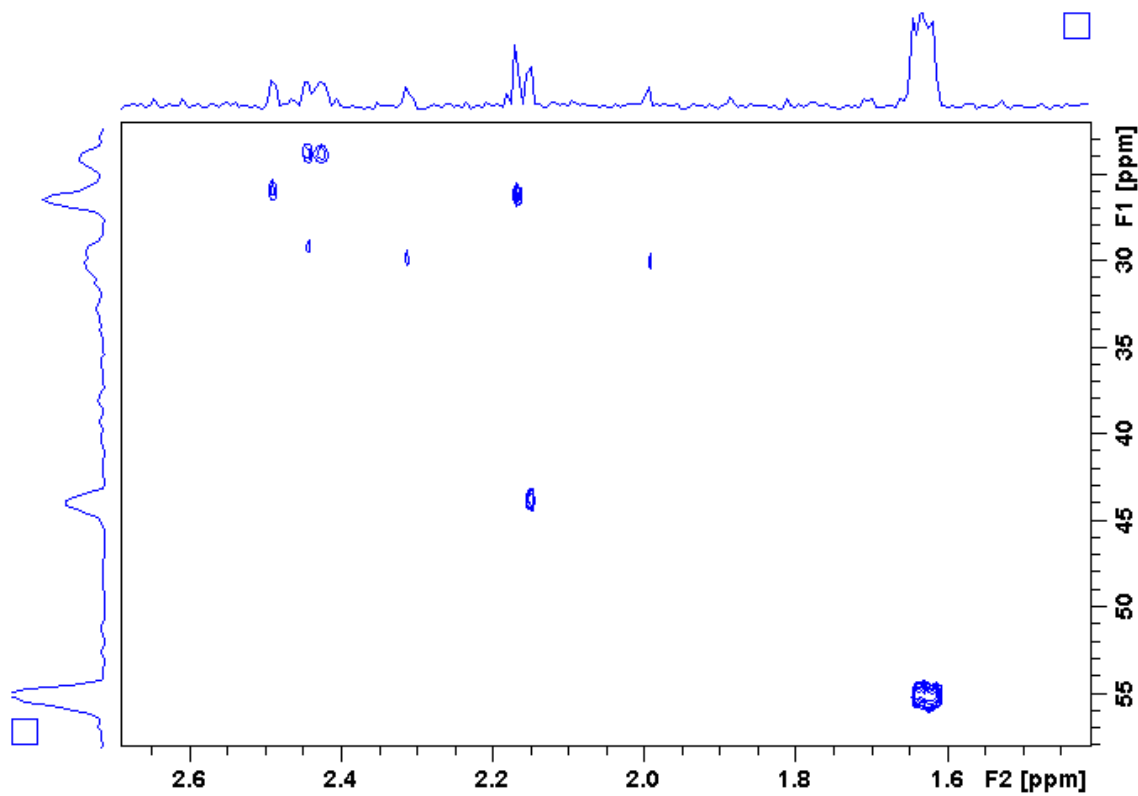
Apêndice L14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **54**.



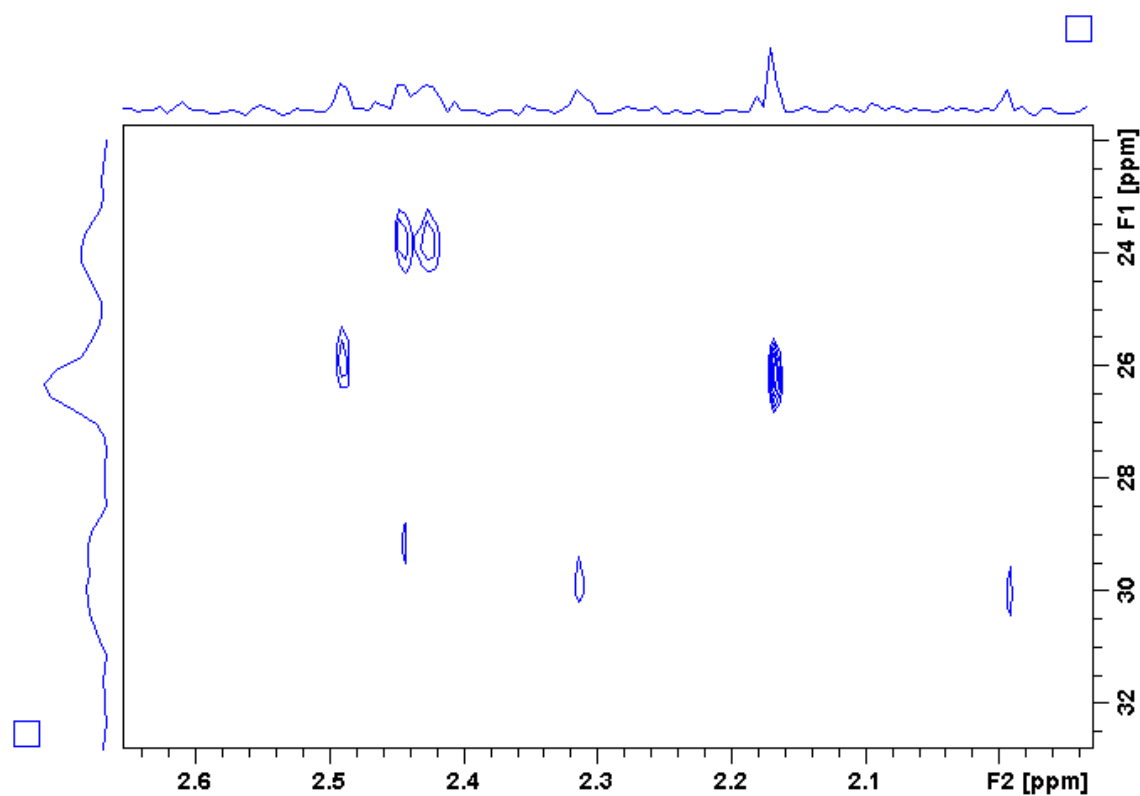
Apêndice L15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **54**.



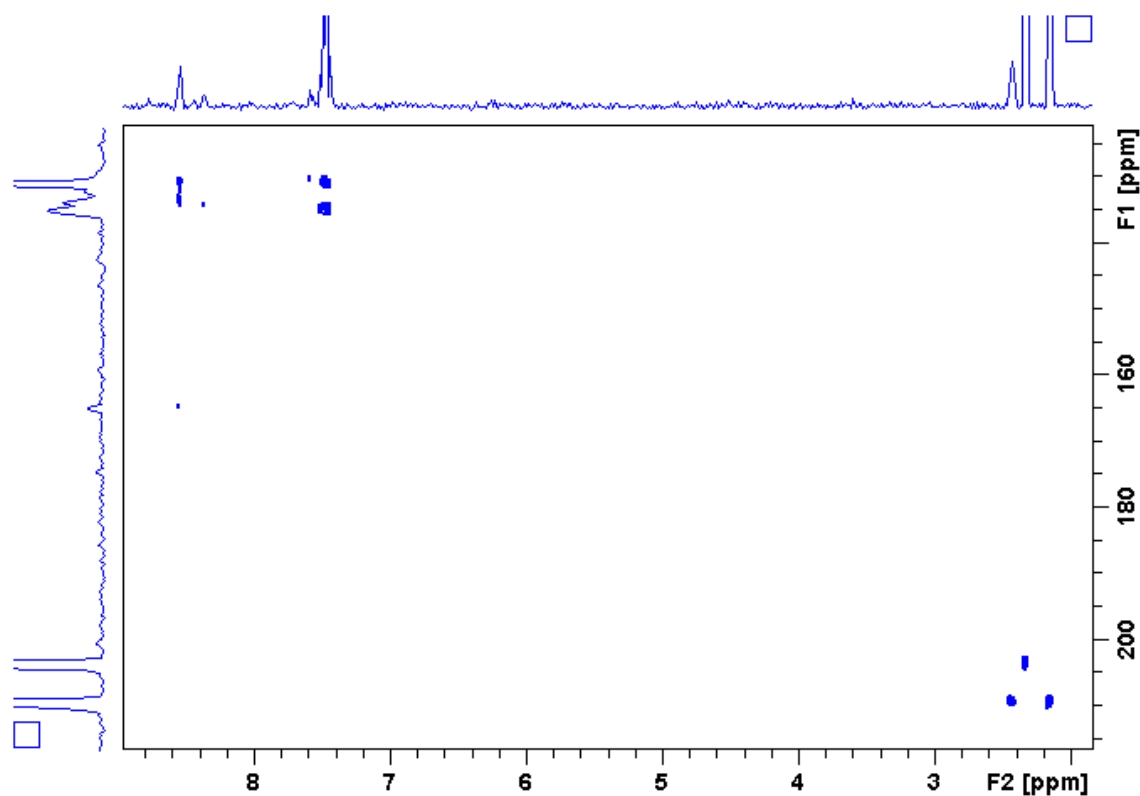
Apêndice L16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **54**.



Apêndice L17. Mapa de contorno HMBC (δ 22,0–32,0) do alcaloide **54**.

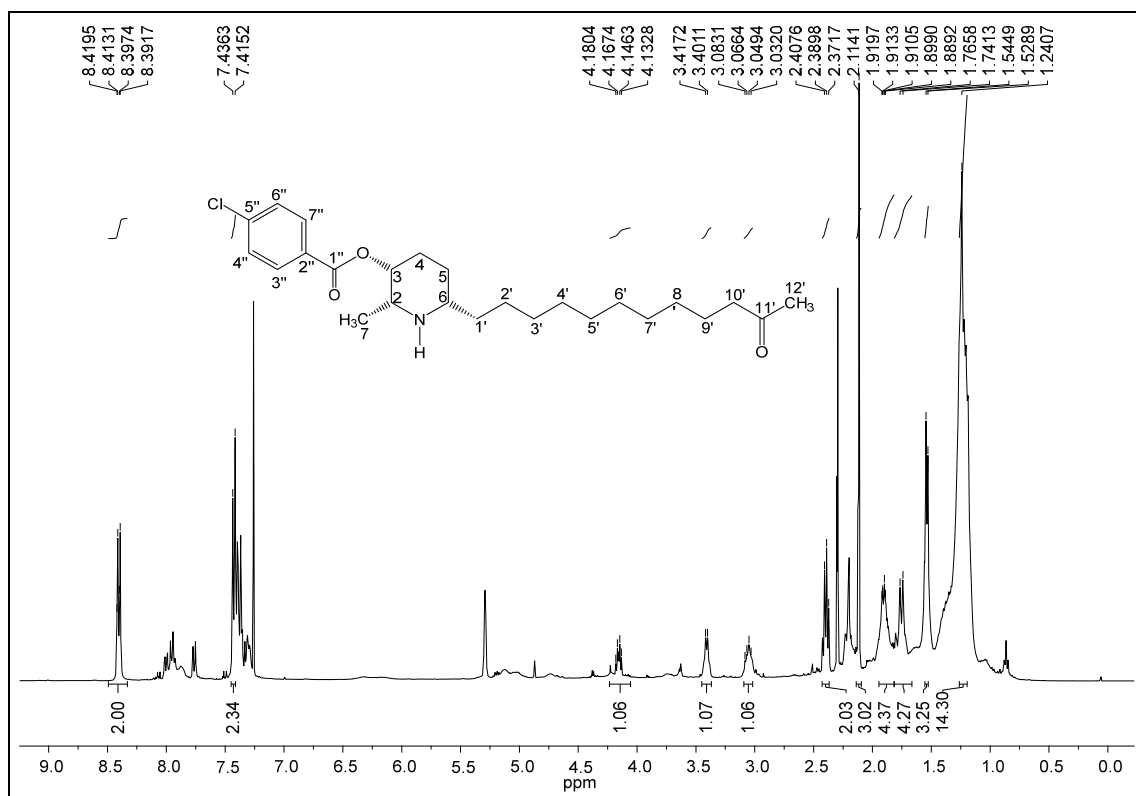


Apêndice L18. Mapa de contorno HMBC (δ 150,0–210,0) do alcaloide **54**.

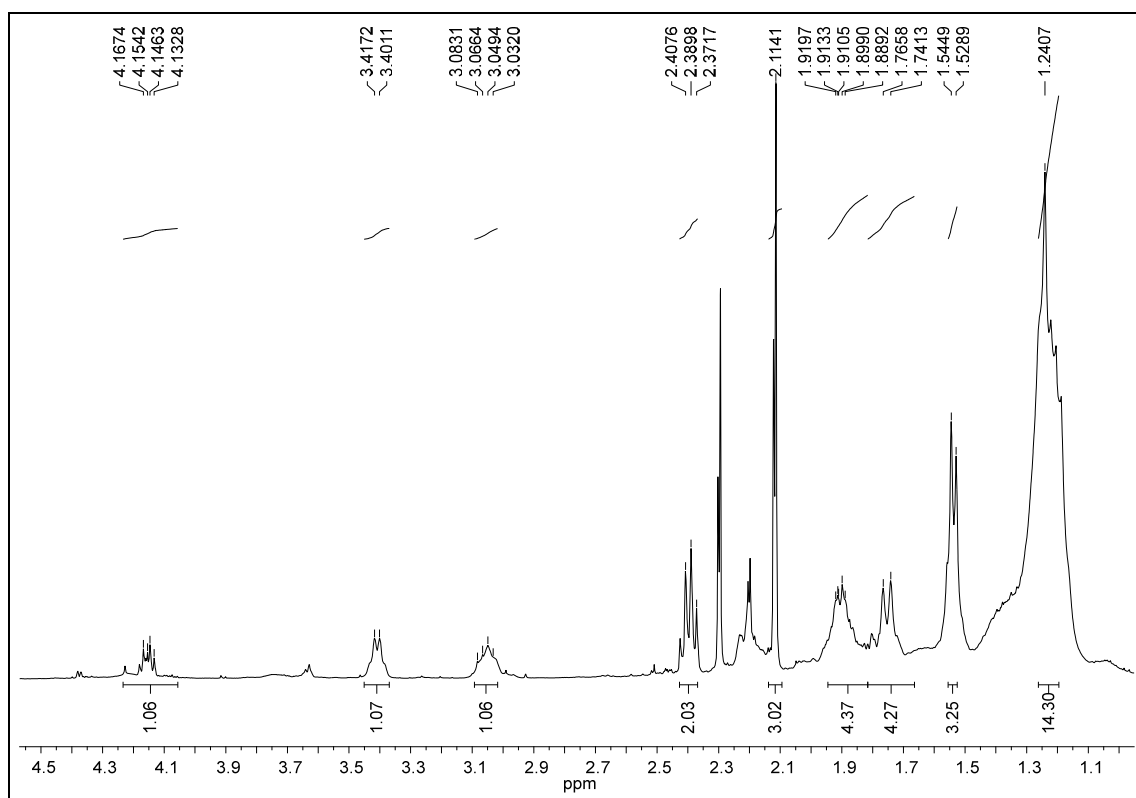


APÊNDICE M

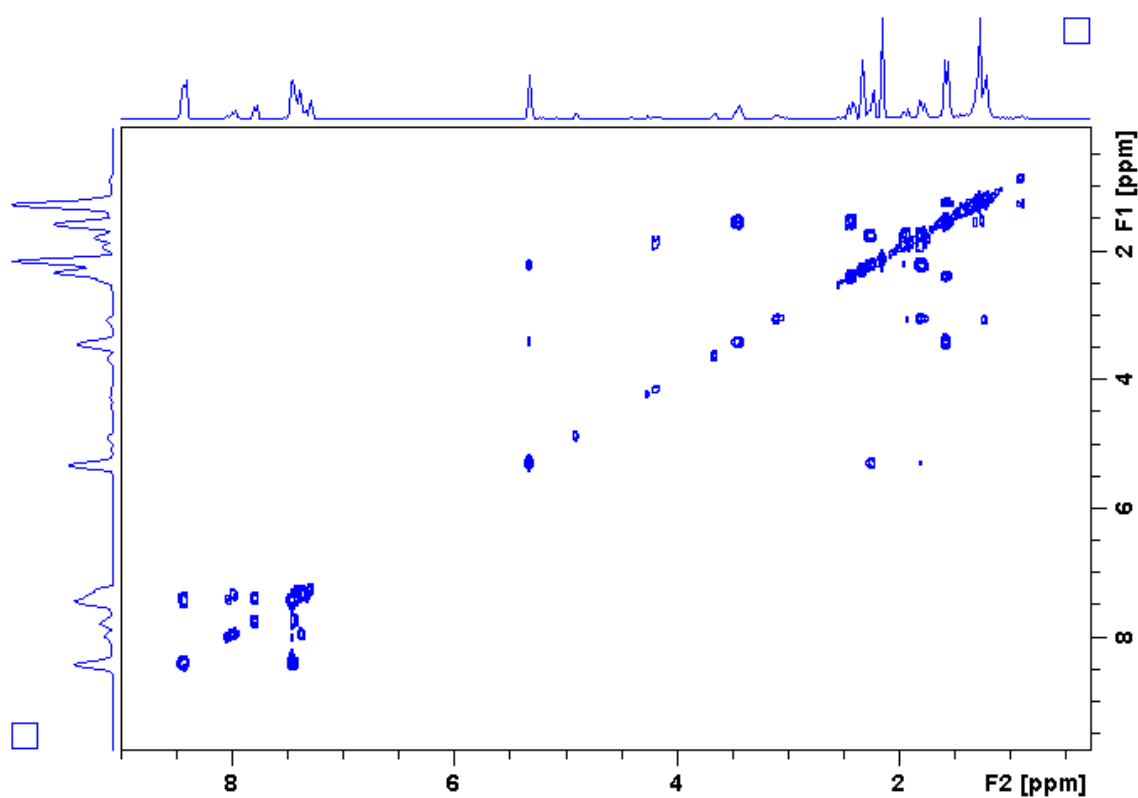
Apêndice M1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **55** (400 MHz, CDCl_3).



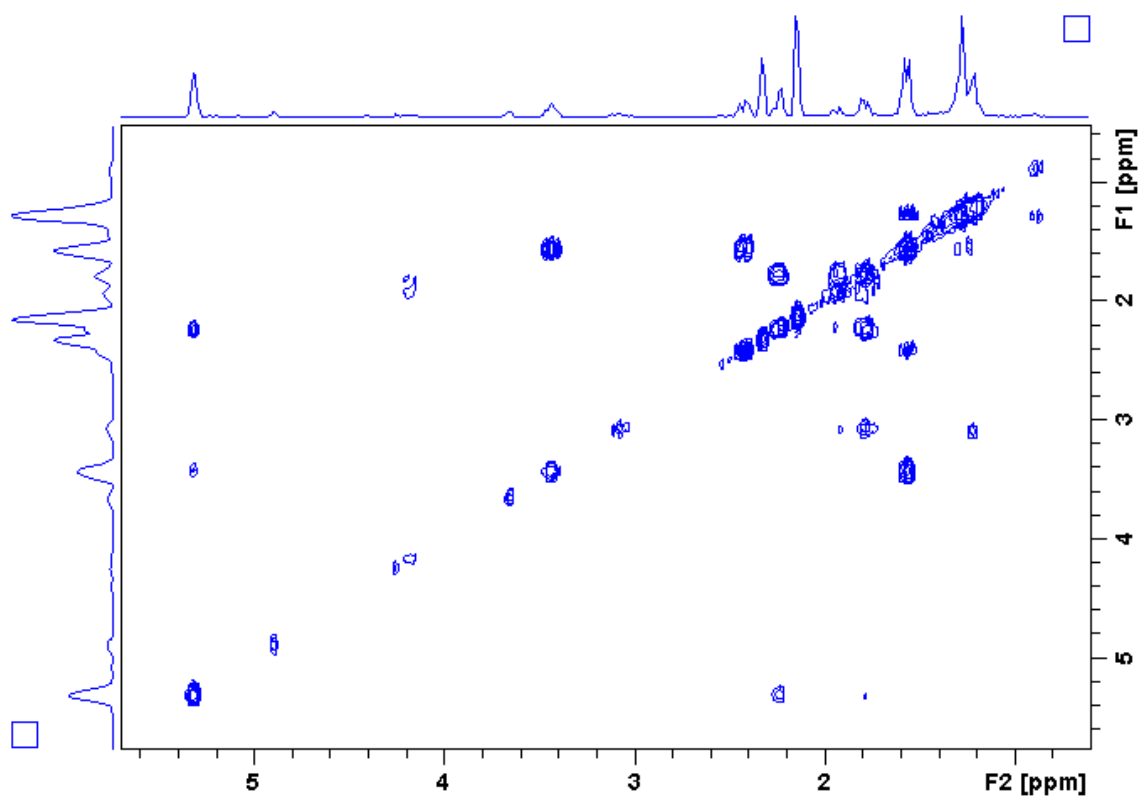
Apêndice M2. Ampliação do espectro M1 (δ 1,0–5,4) do derivado **55**.



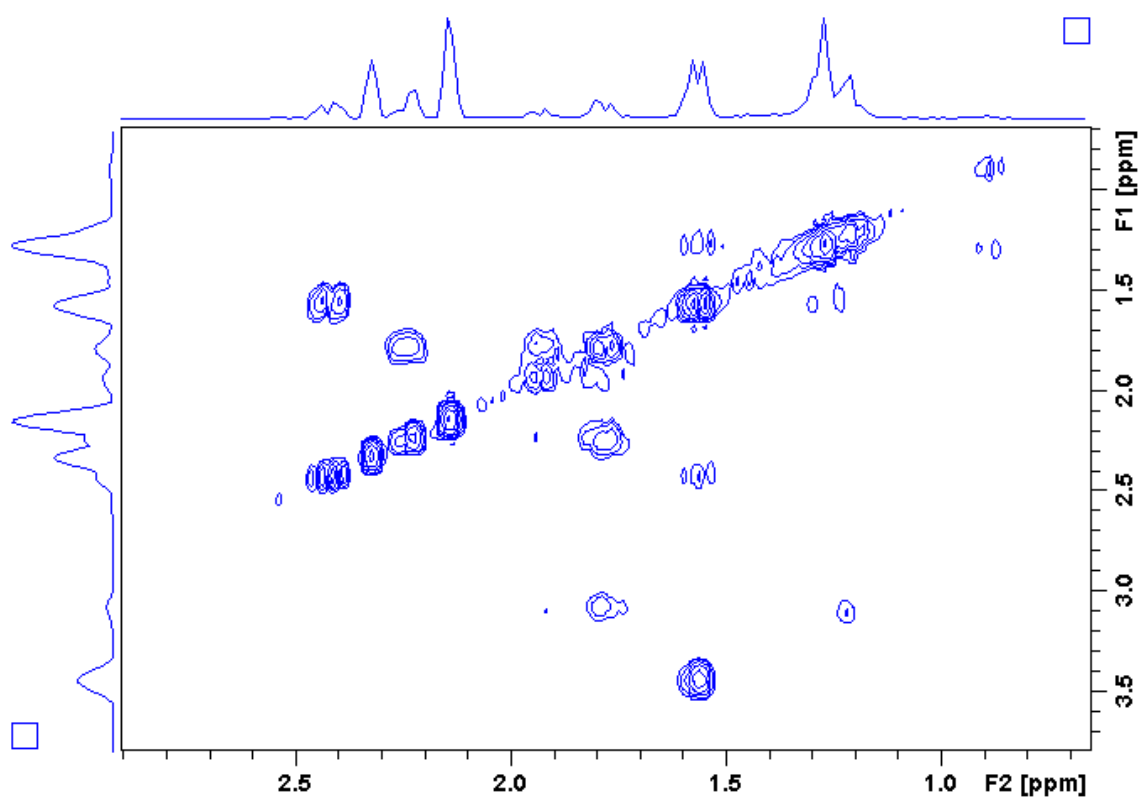
Apêndice M3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **55**.



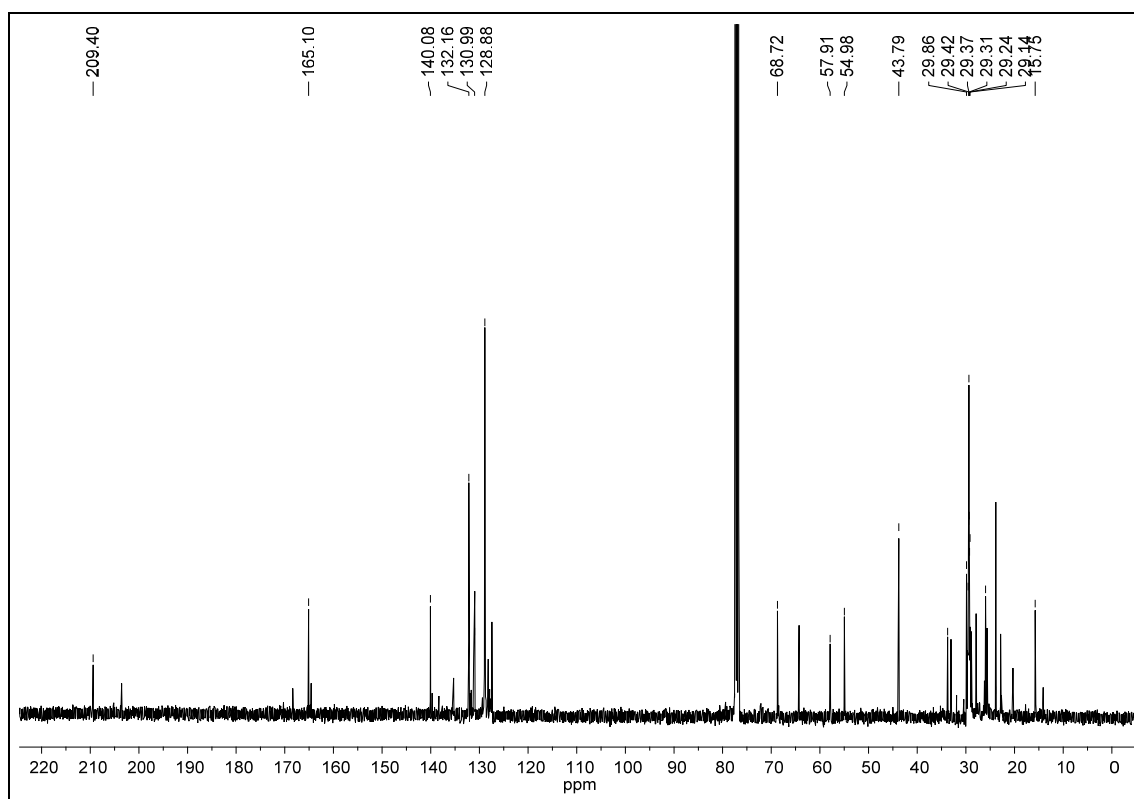
Apêndice M4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **55**.



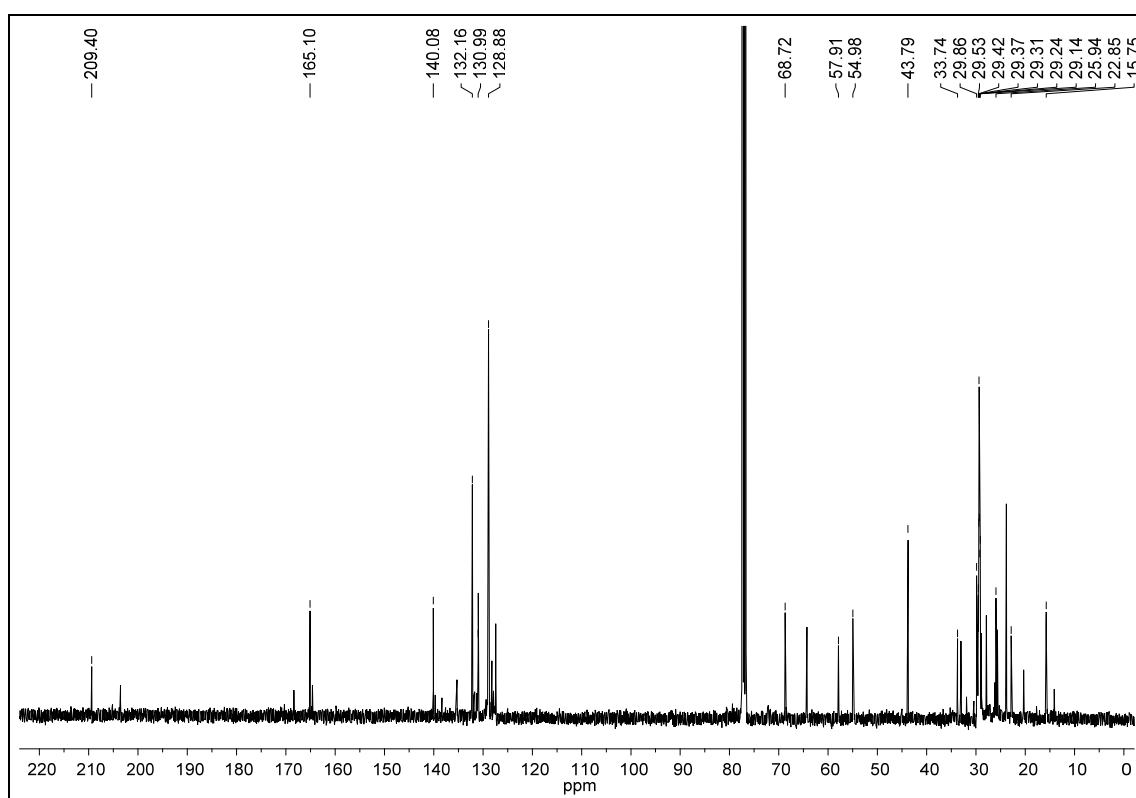
Apêndice M5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **55**.



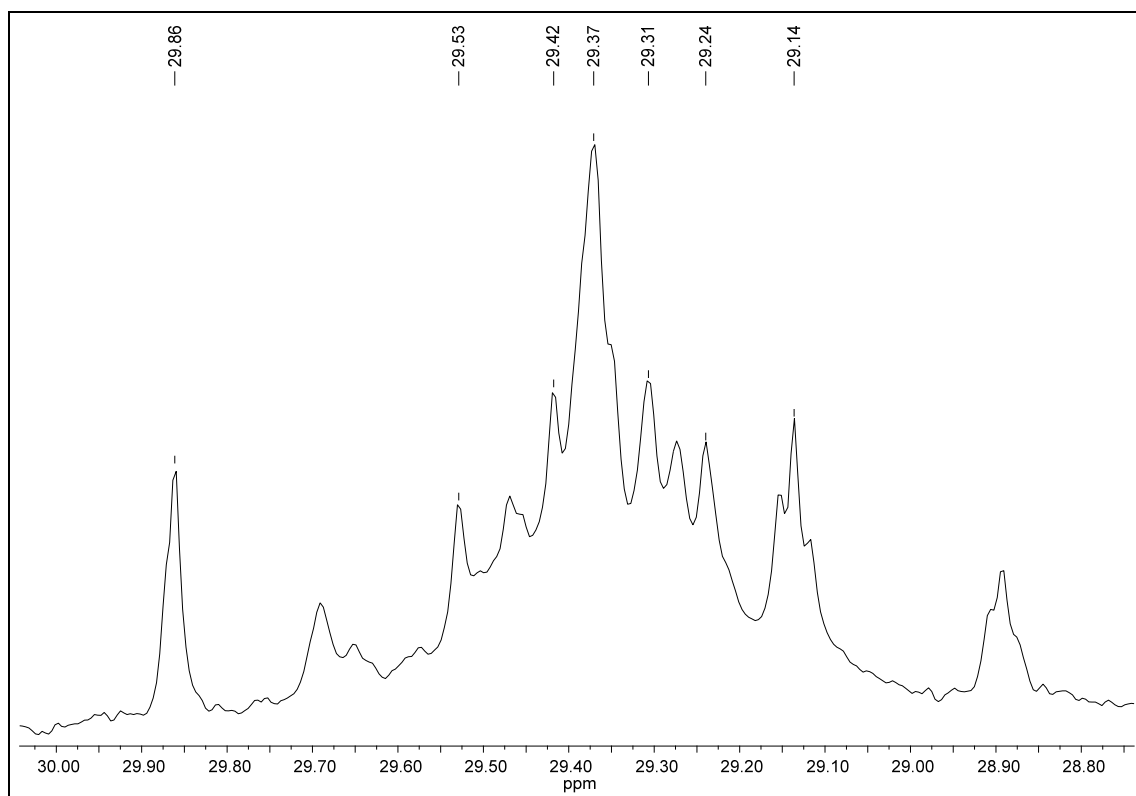
Apêndice M6. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **55** (100 MHz, CDCl_3).



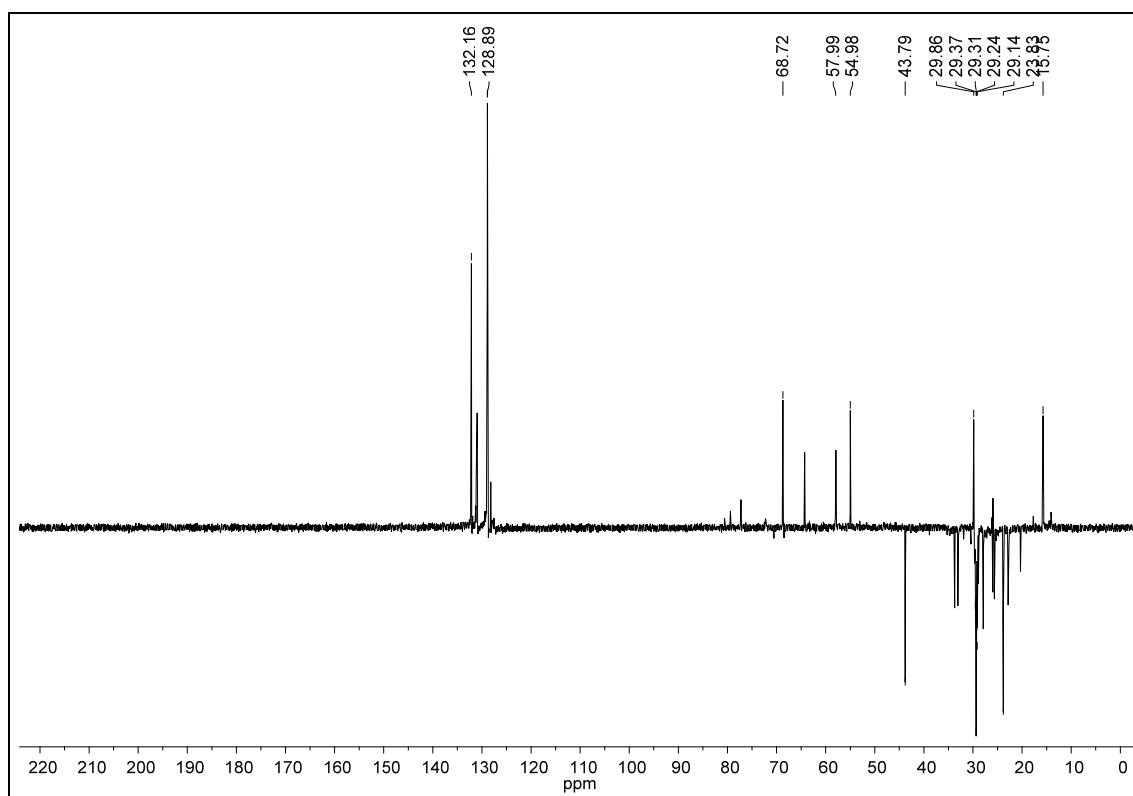
Apêndice M7. Ampliação do espectro M6 (δ 14,0–70,0) do derivado **55**.



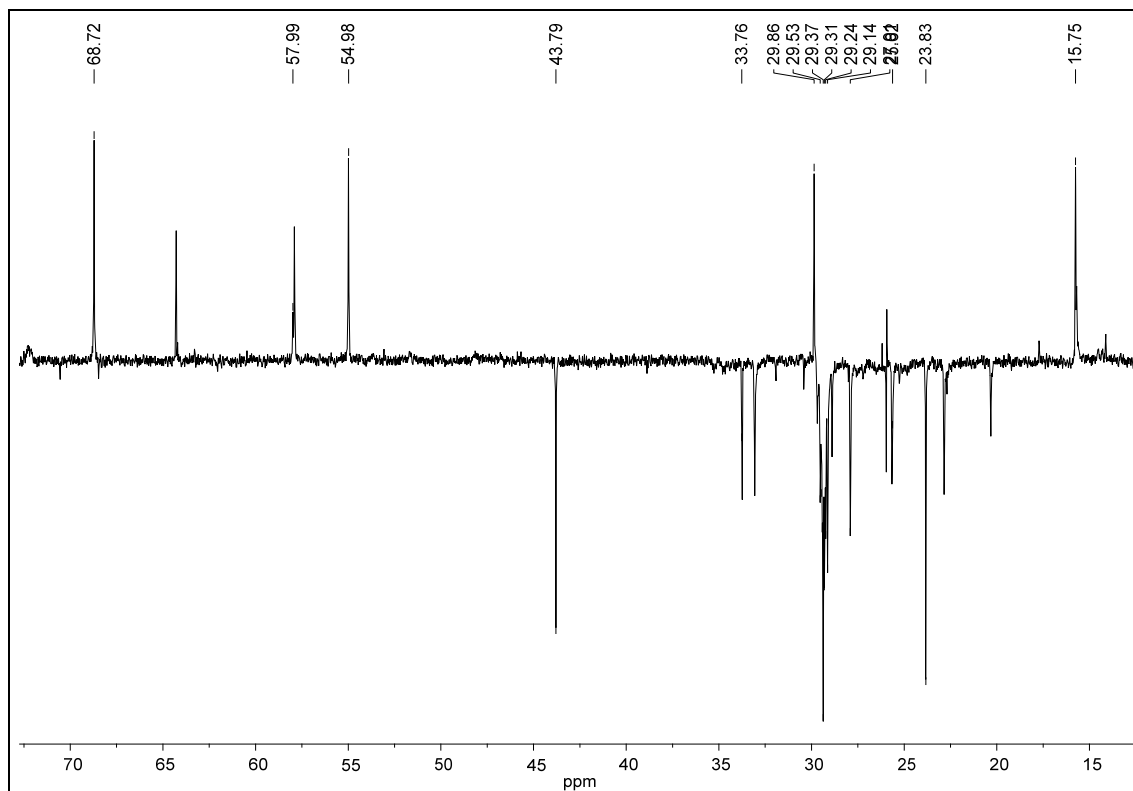
Apêndice M8. Ampliação do espectro M7 (δ 28,8–30,0) do derivado **55**.



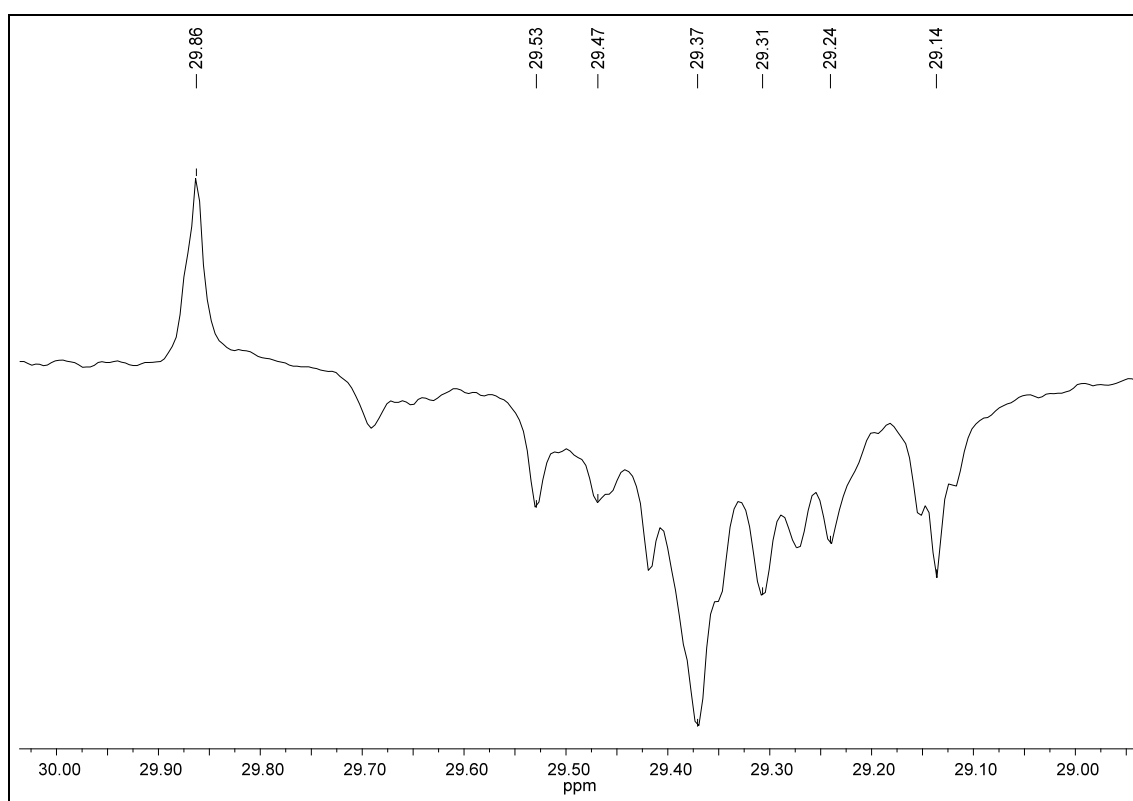
Apêndice M9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **55**.



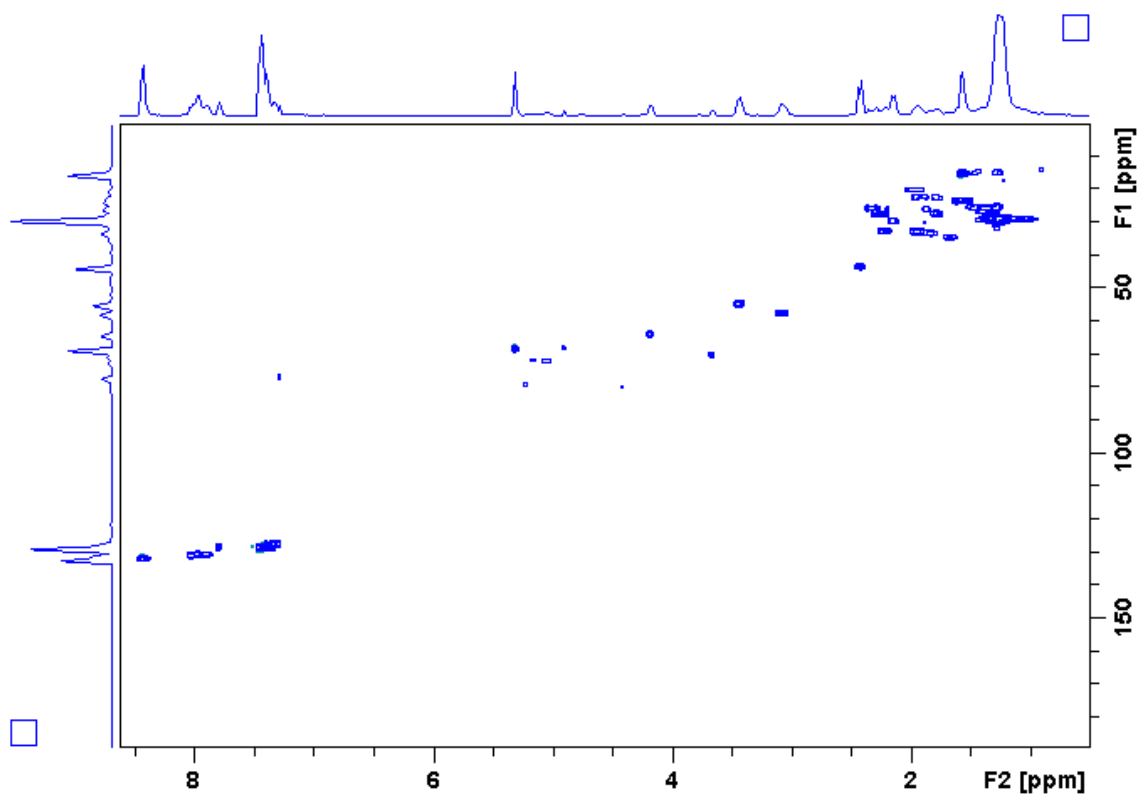
Apêndice M10. Ampliação do espectro M9 (δ 14,0–70,0) do derivado **55**.



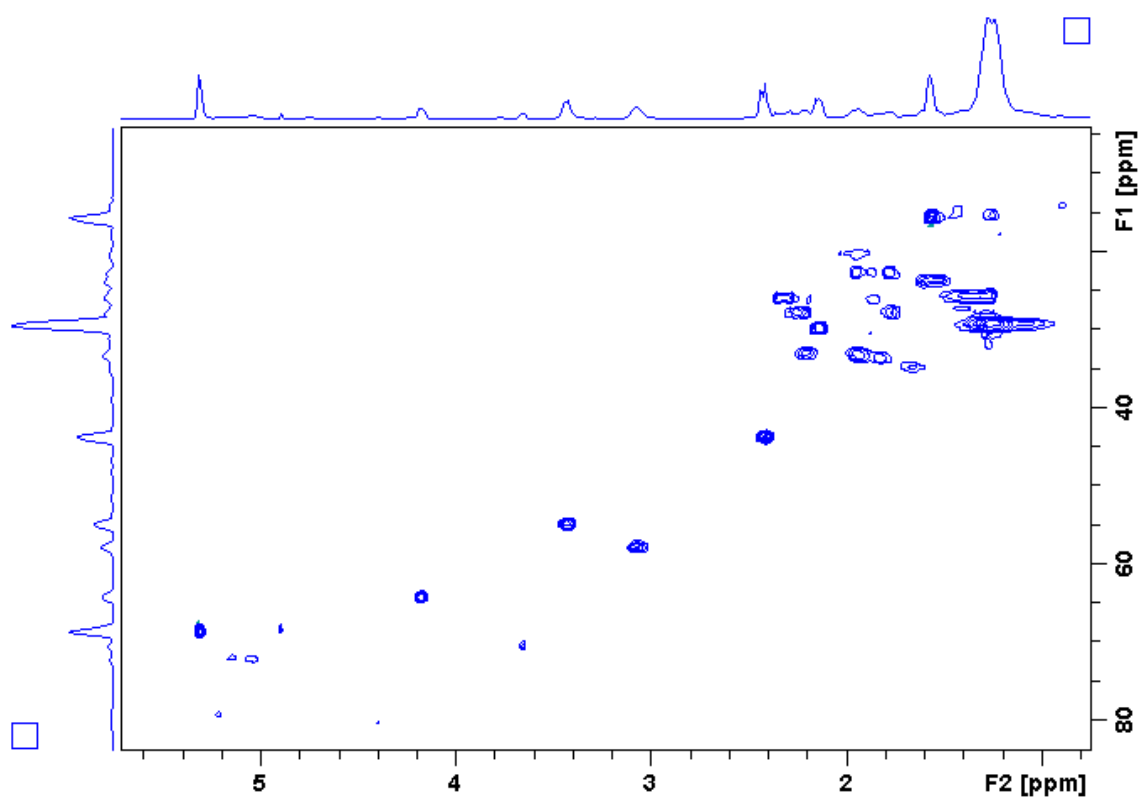
Apêndice M11. Ampliação do espectro M10 (δ 29,0–30,0) do derivado **55**.



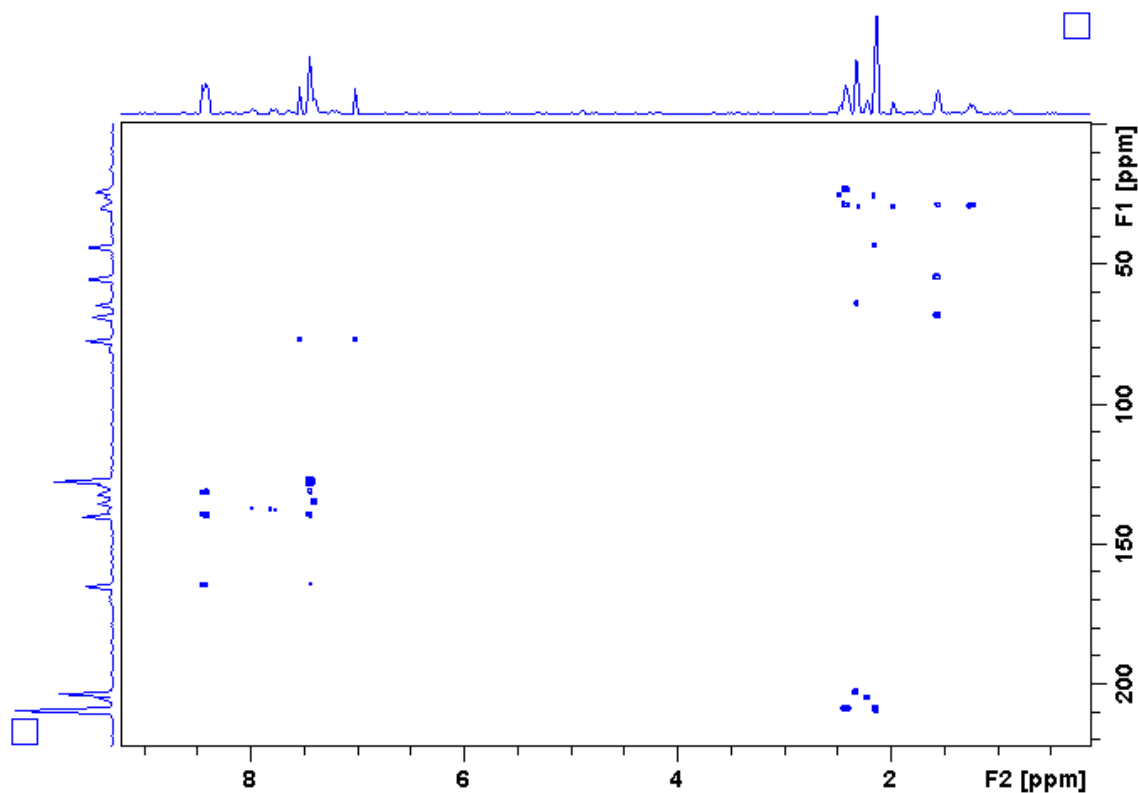
Apêndice M12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **55**.



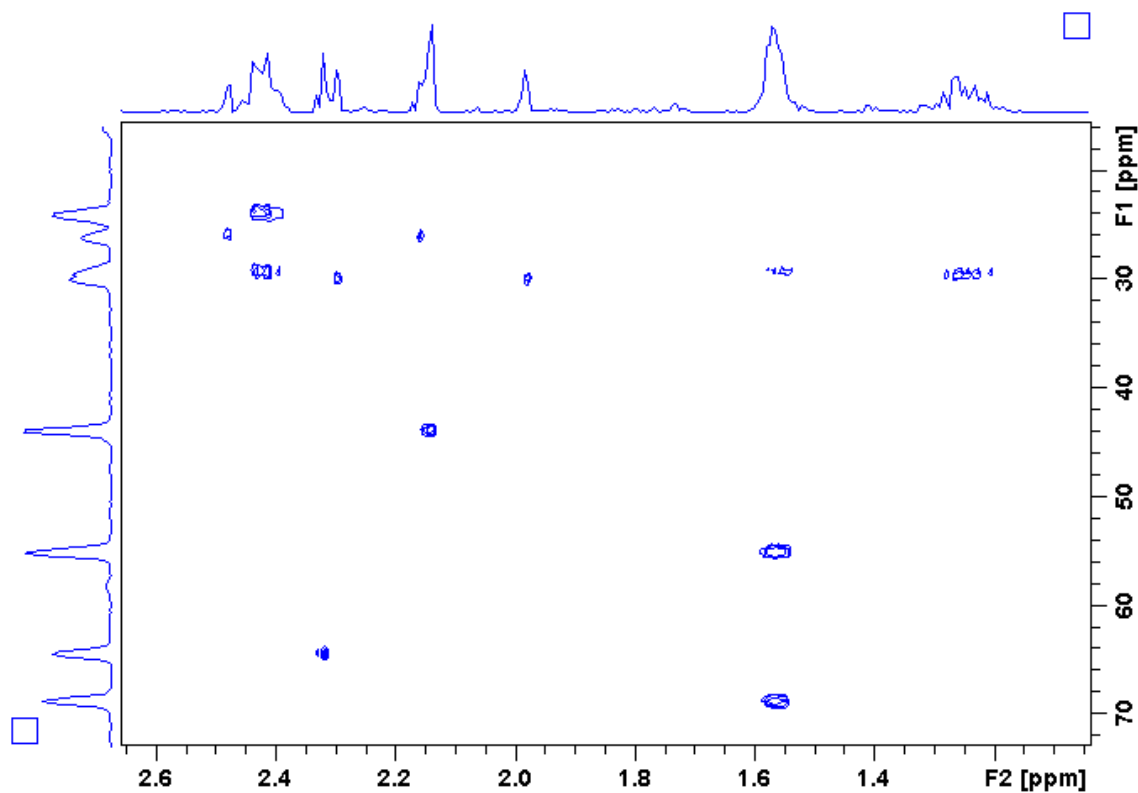
Apêndice M13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–80,0) do alcaloide **55**.



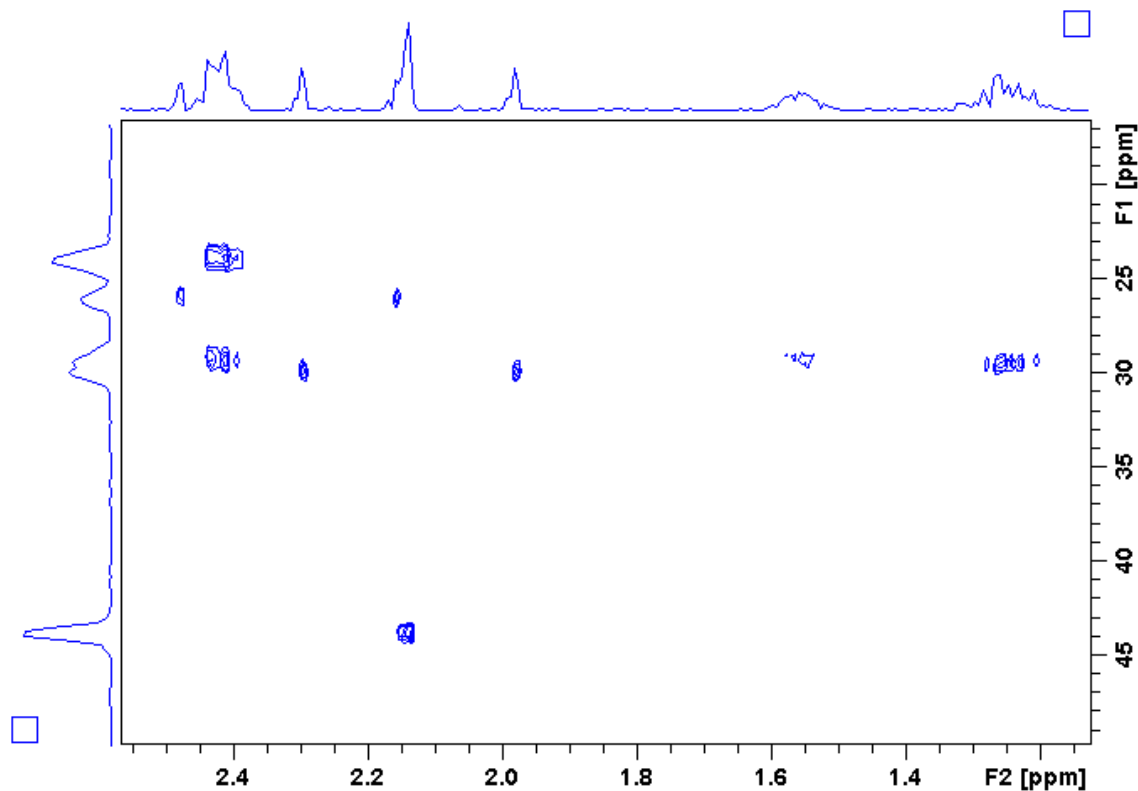
Apêndice M14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **55**.



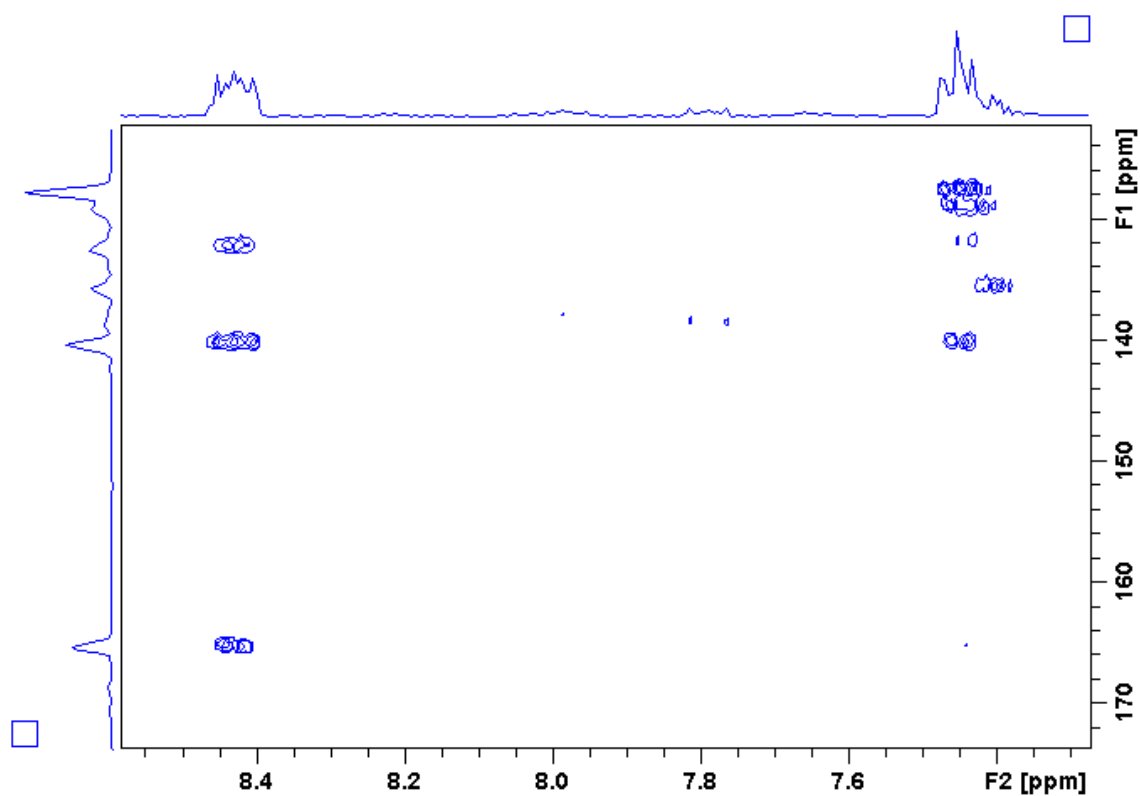
Apêndice M15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **55**.



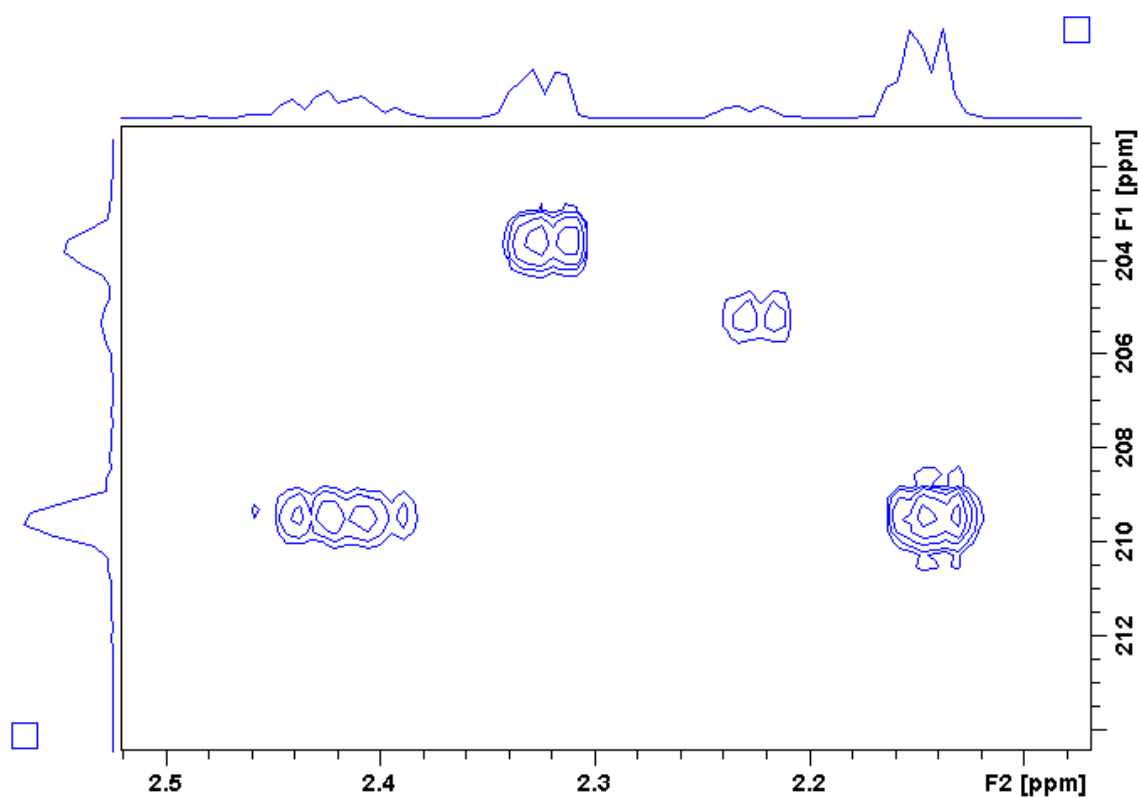
Apêndice M16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **55**.



Apêndice M17. Mapa de contorno HMBC (δ 120,0–170,0) do alcaloide **55**.

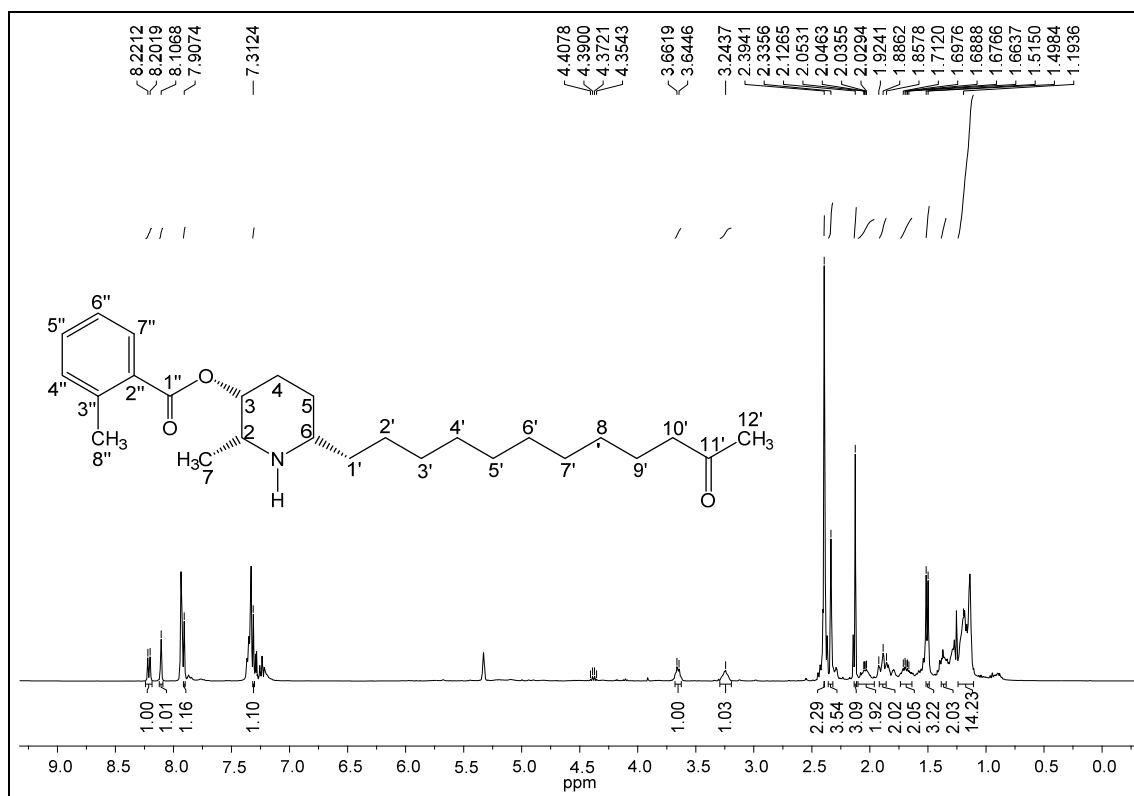


Apêndice M18. Mapa de contorno HMBC (δ 202,0–214,0) do alcaloide **55**.

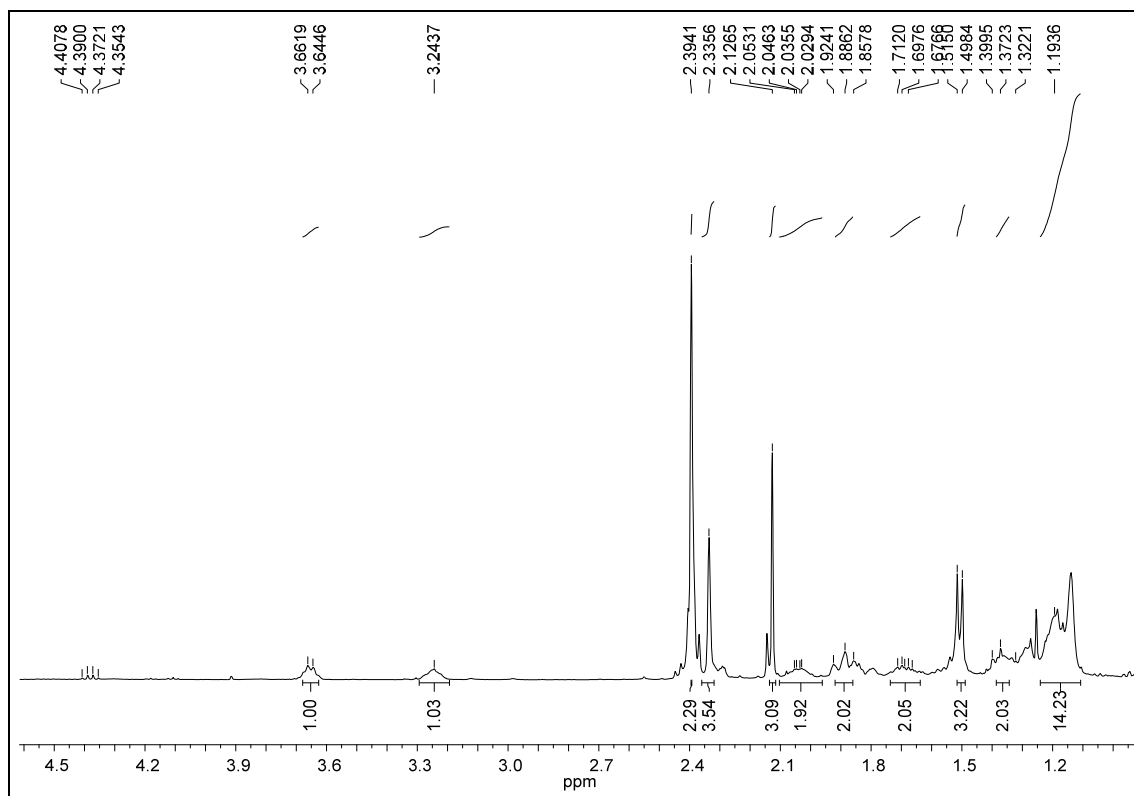


APÊNDICE N

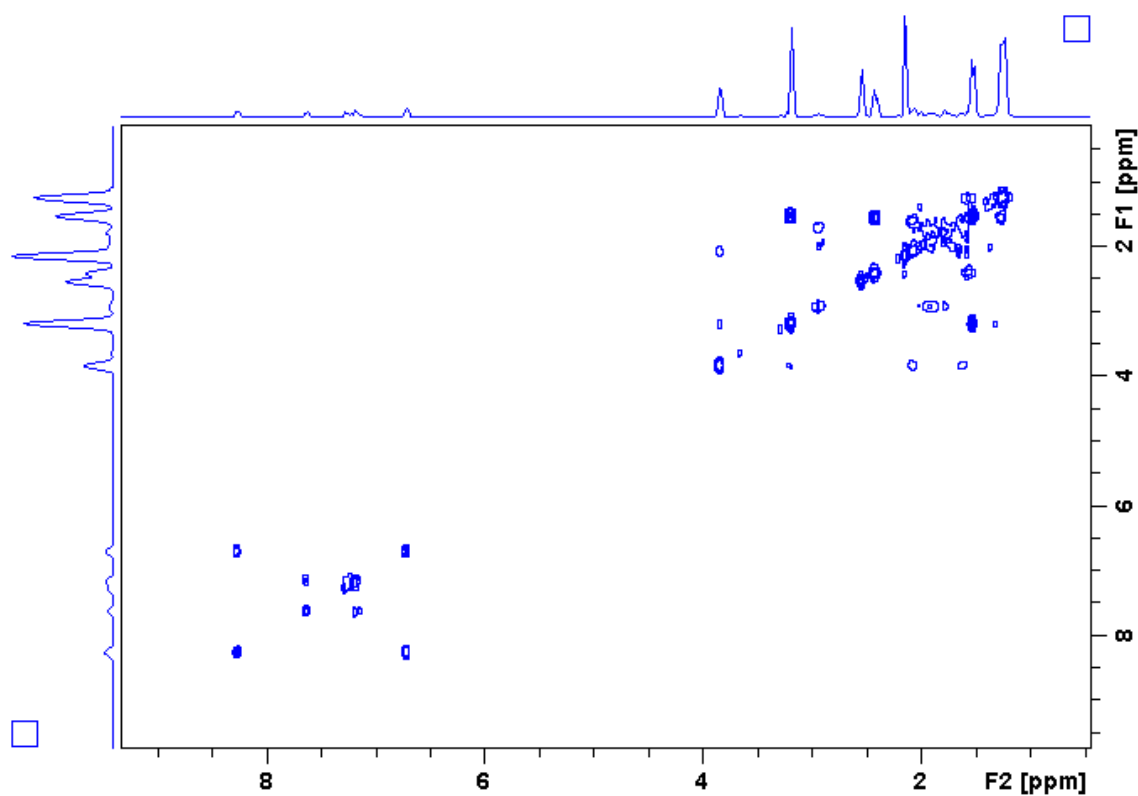
Apêndice N1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **56** (400 MHz, CDCl_3).



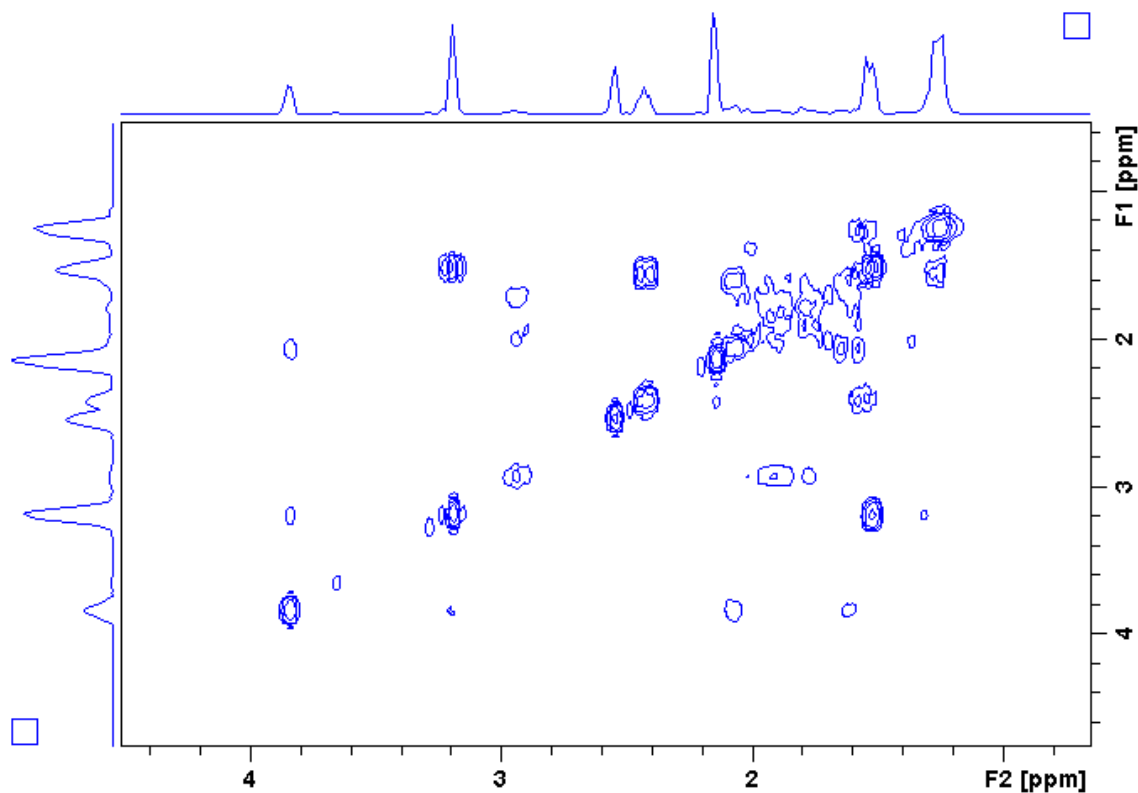
Apêndice N2. Ampliação do espectro N1 (δ 1,1–4,7) do derivado **56**.



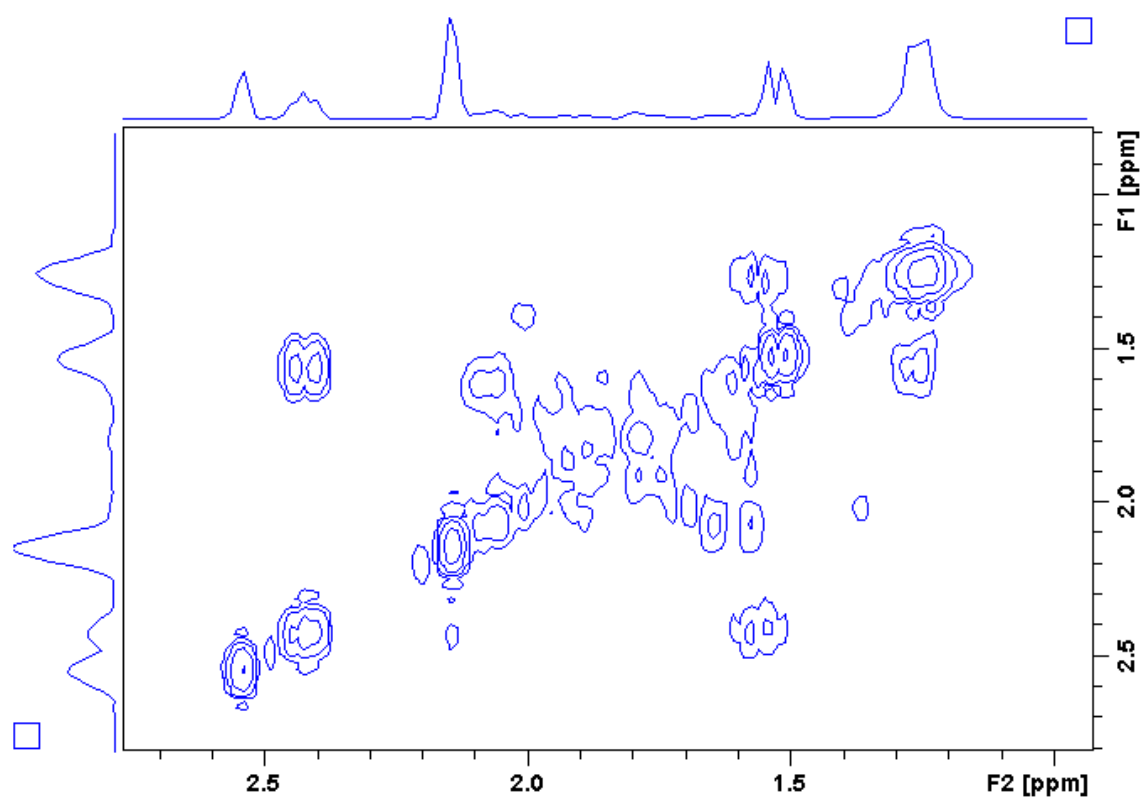
Apêndice N3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **56**.



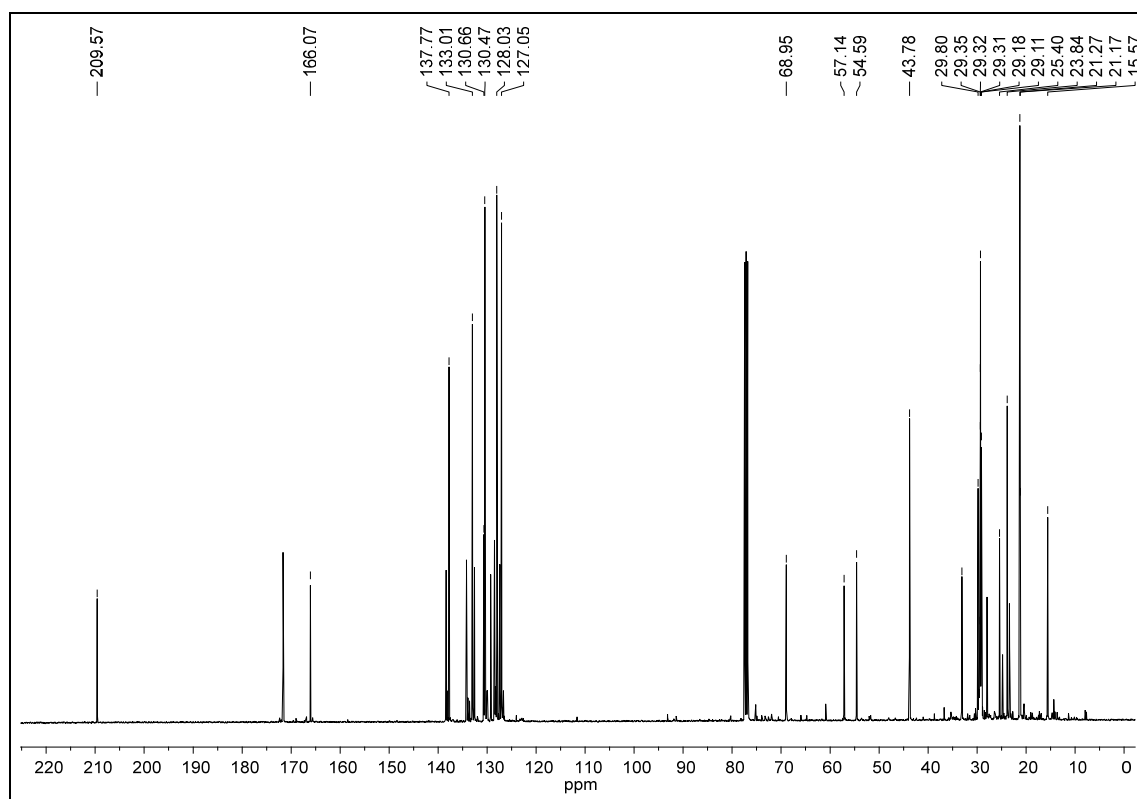
Apêndice N4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–4,0) do alcaloide **56**.



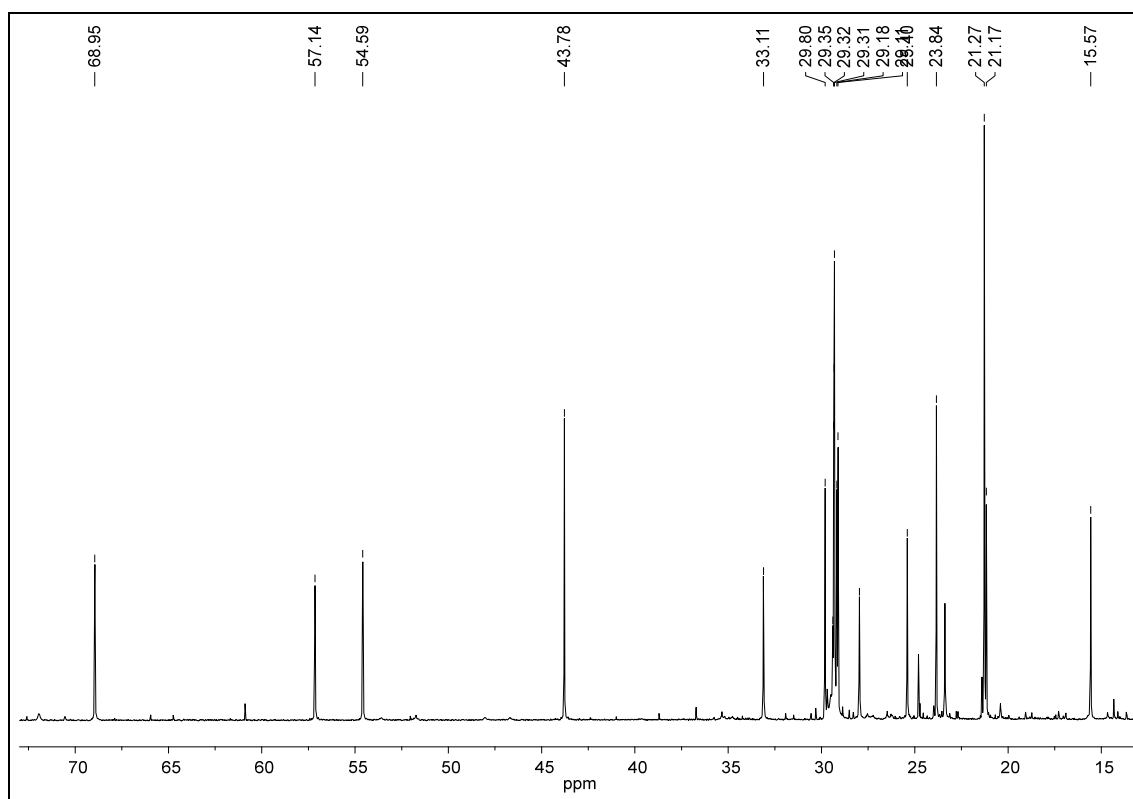
Apêndice N5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–2,5) do alcaloide **56**.



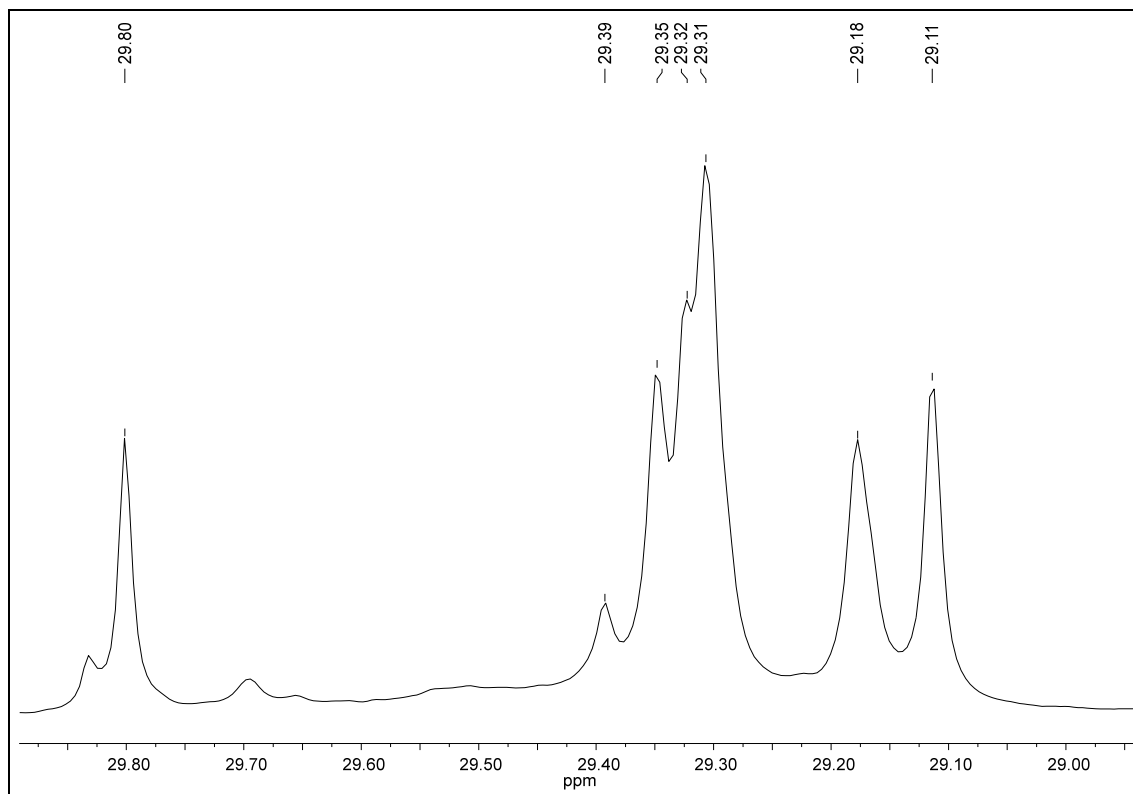
Apêndice N6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **56** (100 MHz, CDCl₃).



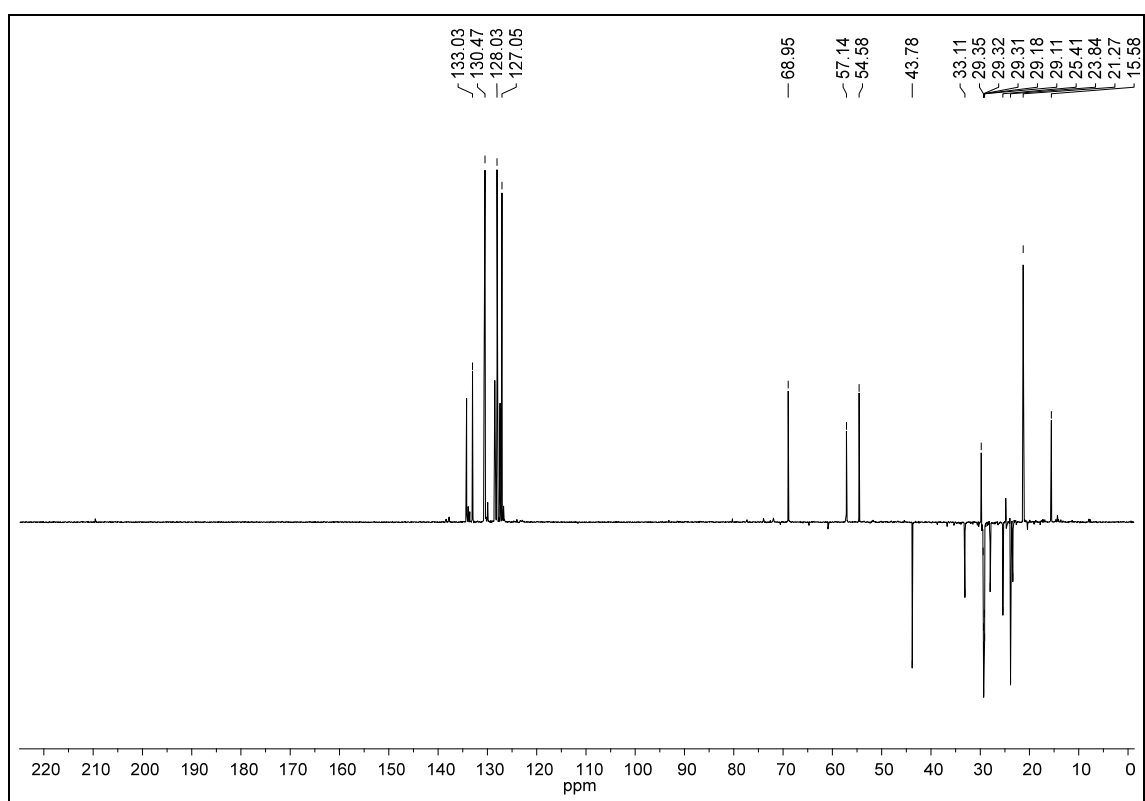
Apêndice N7. Ampliação do espectro N6 (δ 15,0–70,0) do derivado **56**.



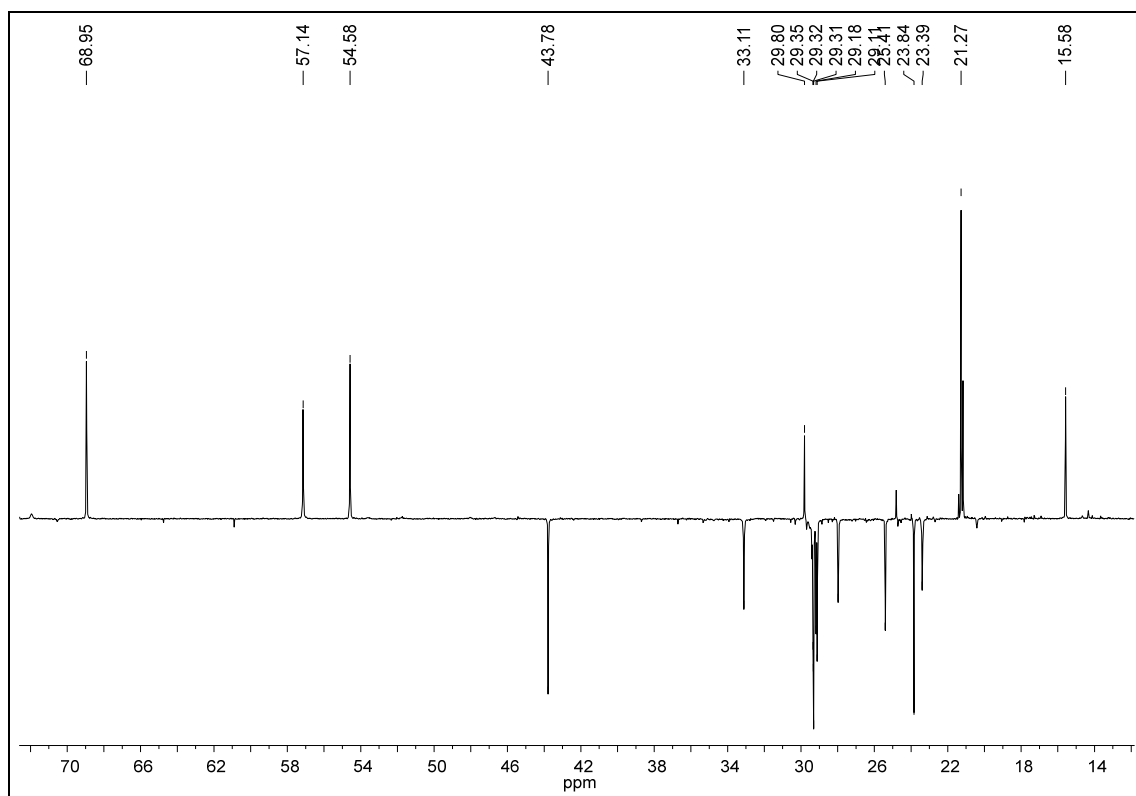
Apêndice N8. Ampliação do espectro N7 (δ 29,2–30,3) do derivado **56**.



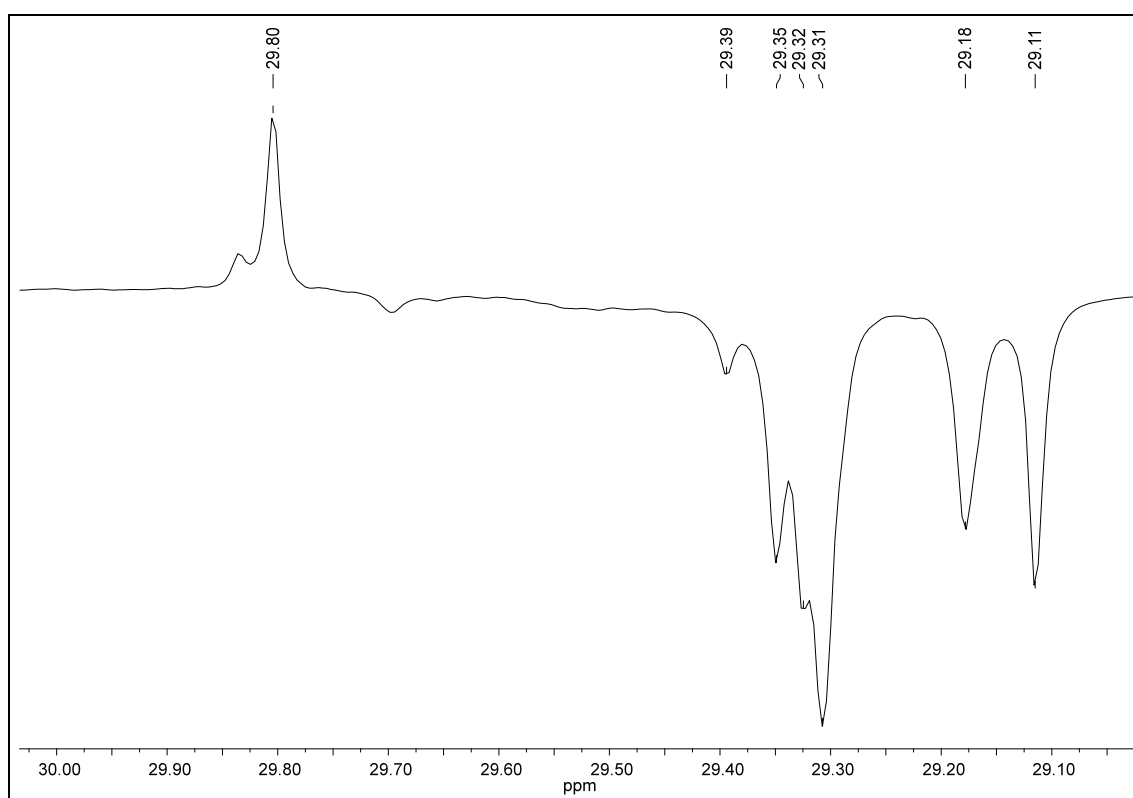
Apêndice N9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **56**.



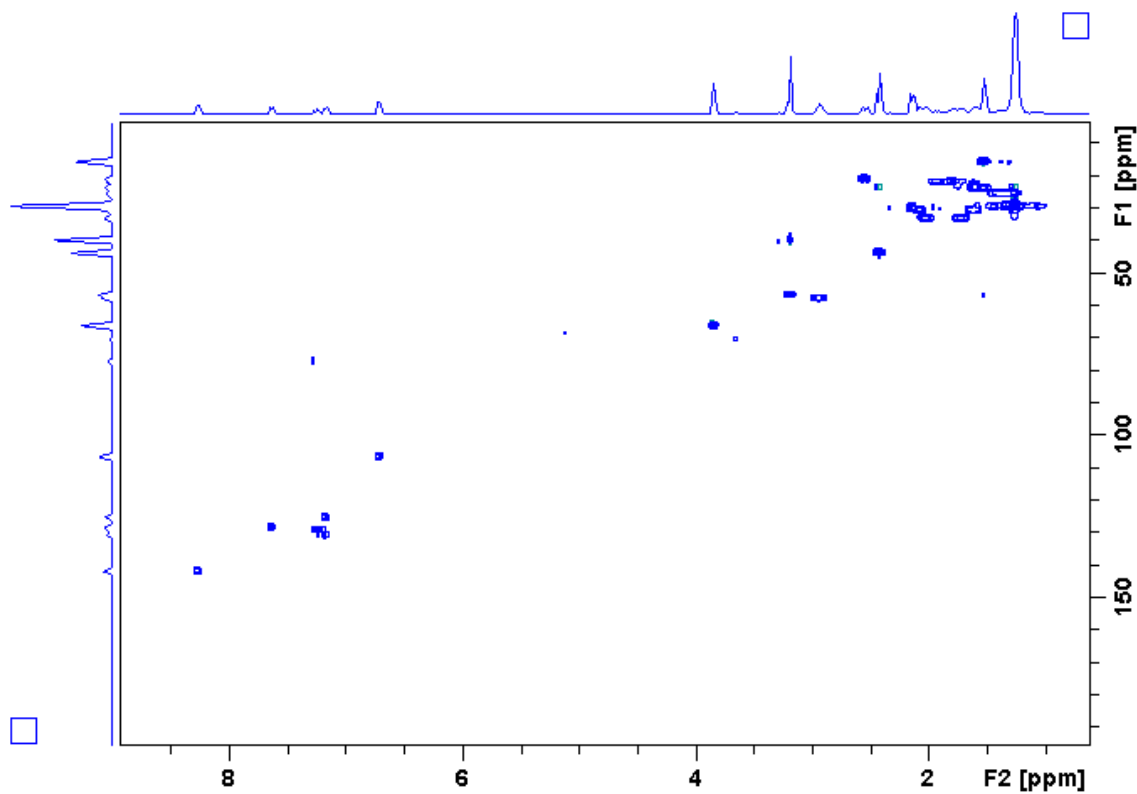
Apêndice N10. Ampliação do espectro N9 (δ 14,0–70,0) do derivado **56**.



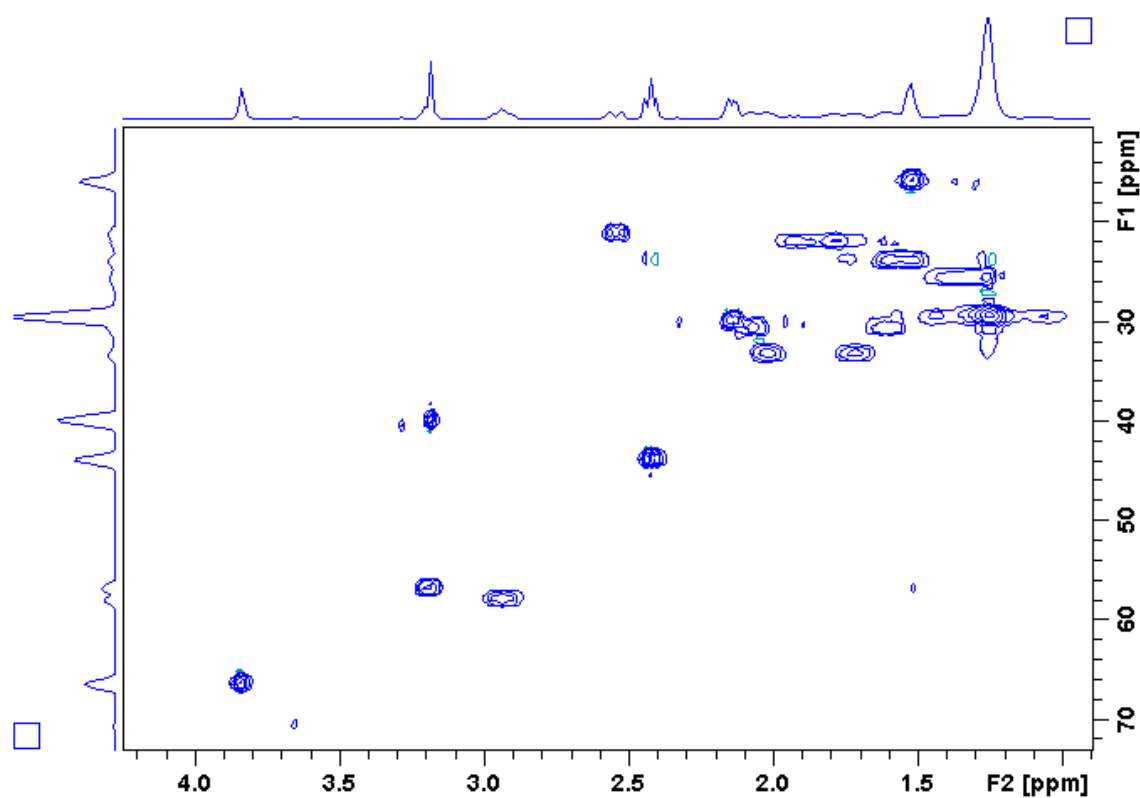
Apêndice N11. Ampliação do espectro N10 (δ 29,0–30,1) do derivado **56**.



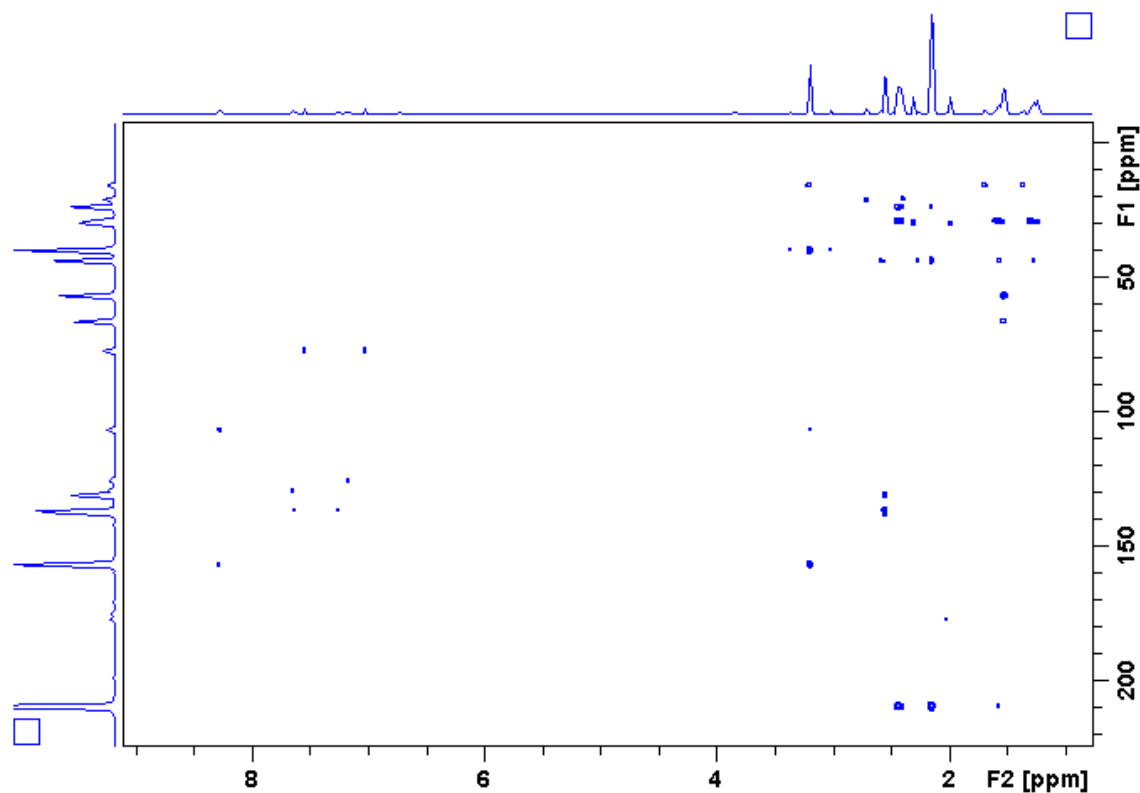
Apêndice N12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **56**.



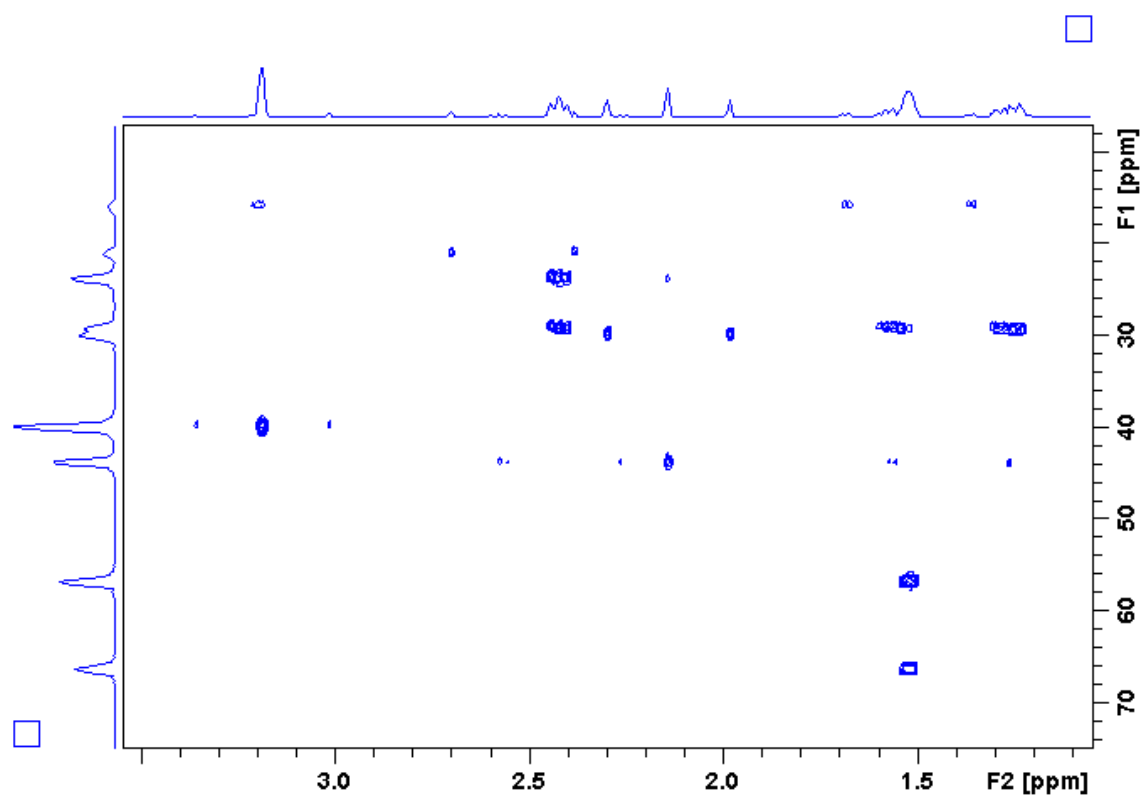
Apêndice N13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **56**.



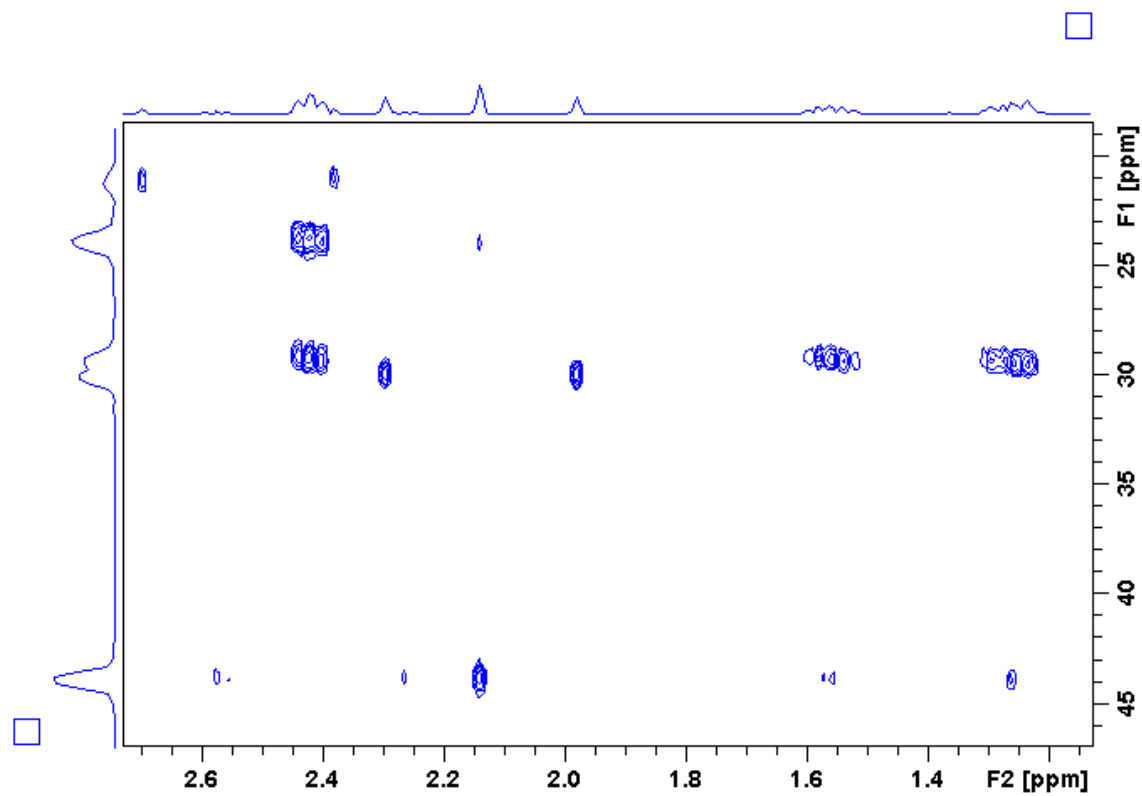
Apêndice N14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **56**.



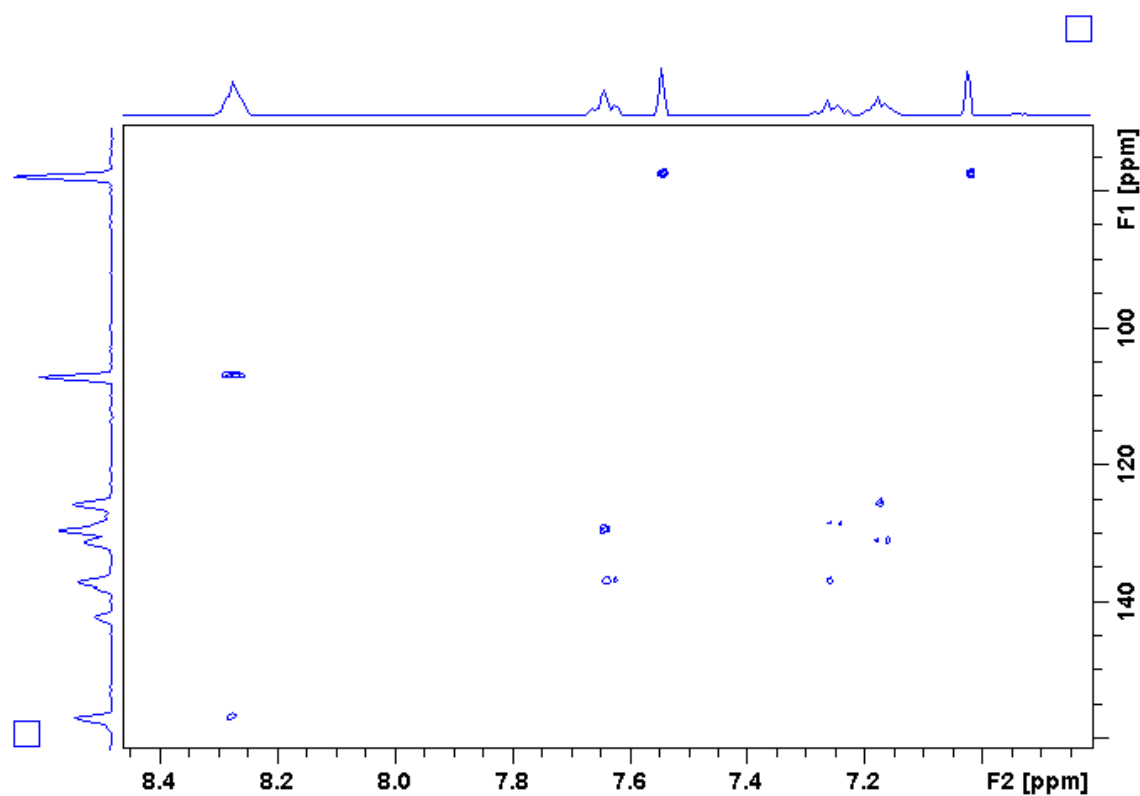
Apêndice N15. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–65,0) do alcaloide **56**.



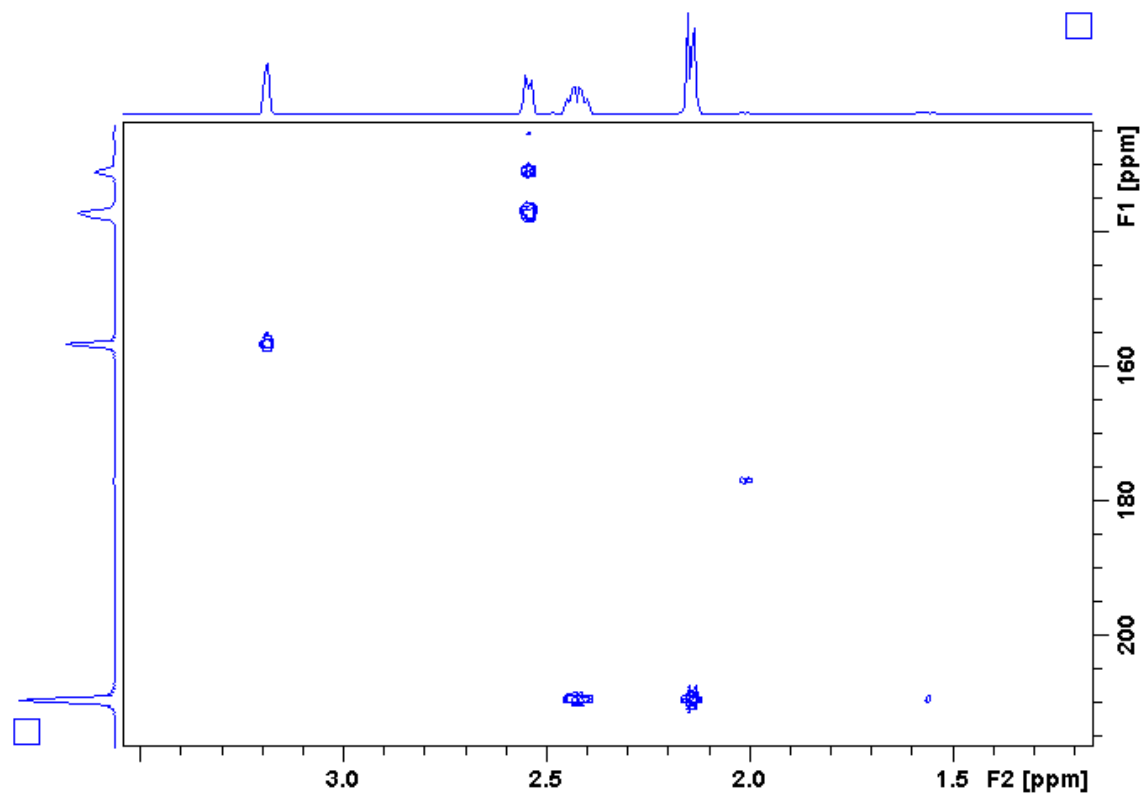
Apêndice N16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–45,0) do alcaloide **56**.



Apêndice N17. Mapa de contorno HMBC (δ 90,0–150,0) do alcaloide **56**.

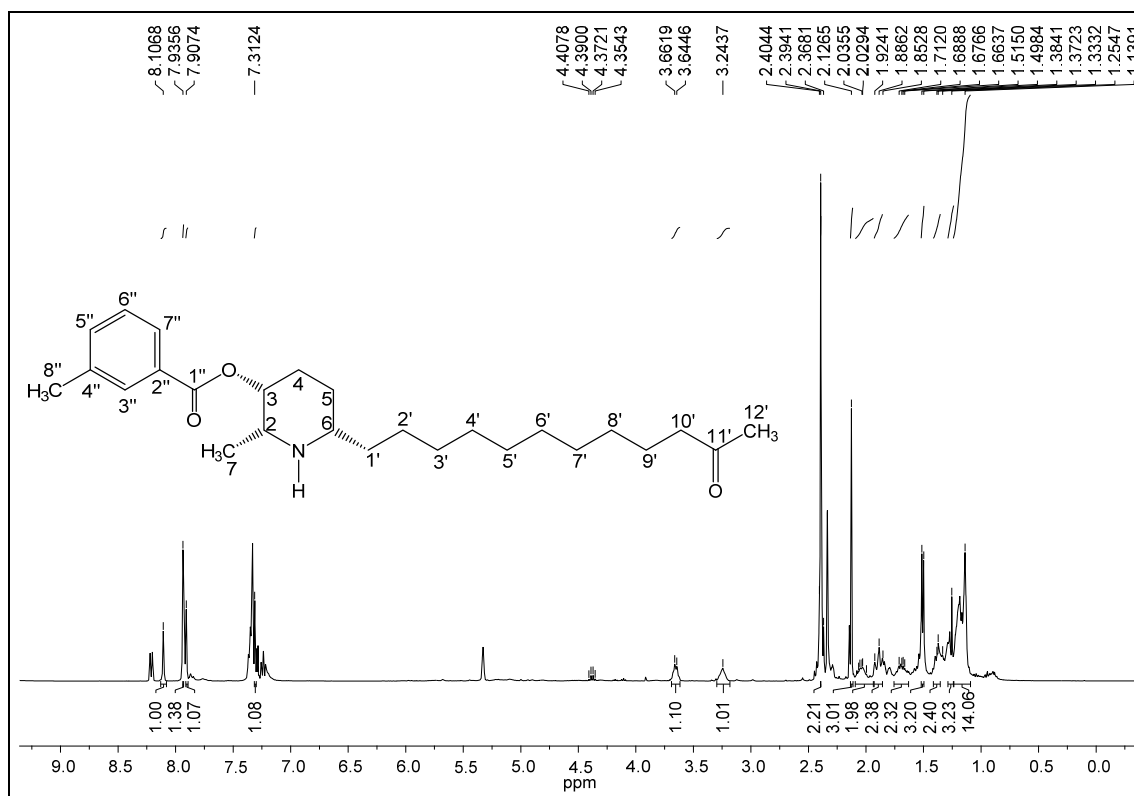


Apêndice N18. Mapa de contorno HMBC (δ 155,0–205,0) do alcaloide **56**.

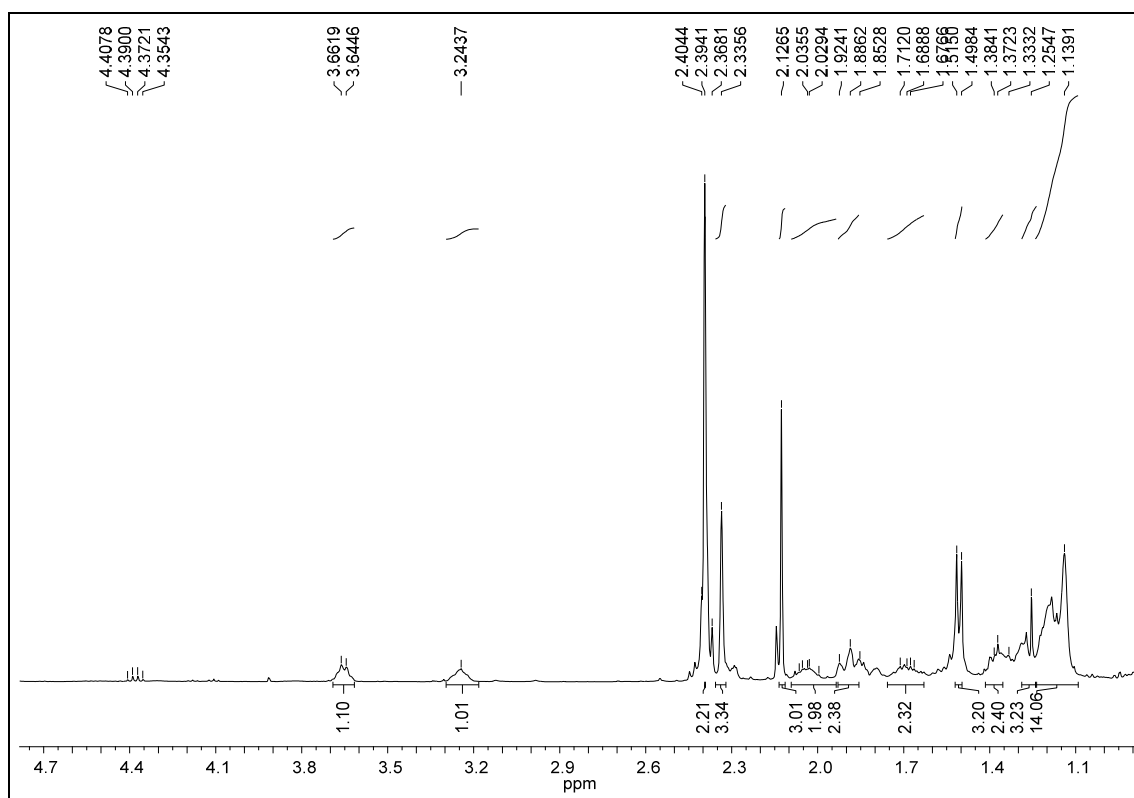


APÊNDICE O

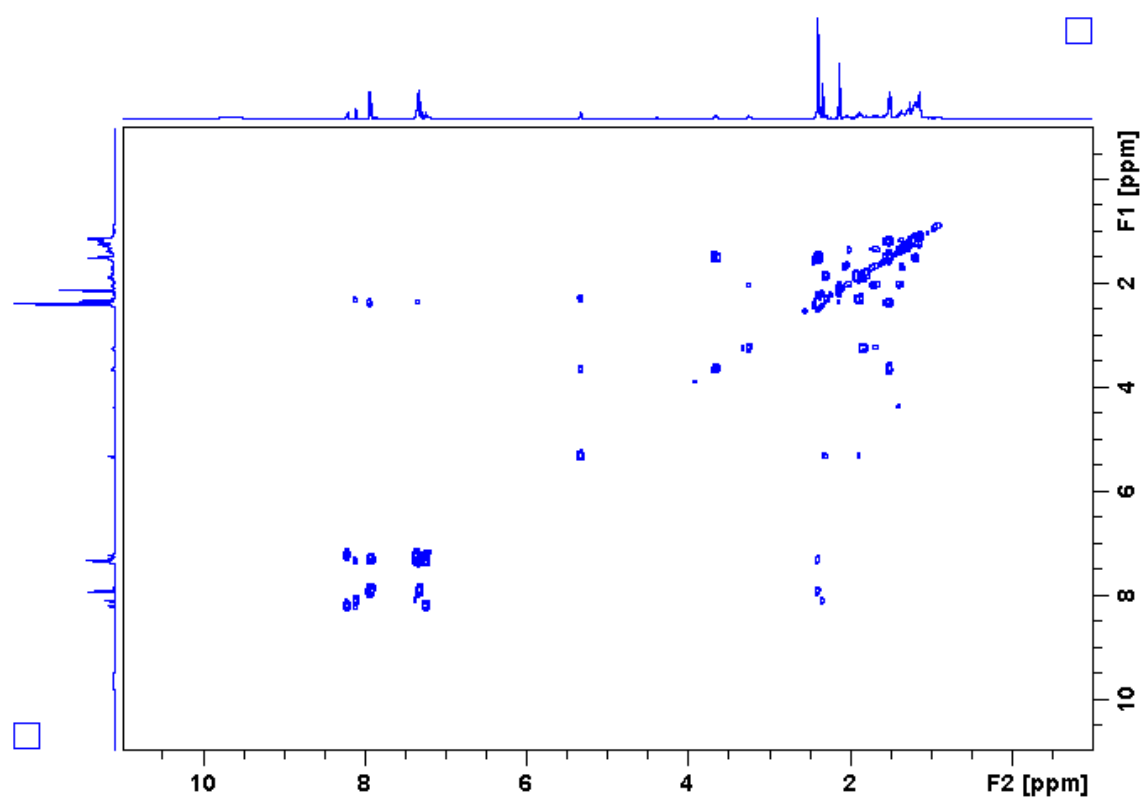
Apêndice O1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **57** (400 MHz, CDCl_3).



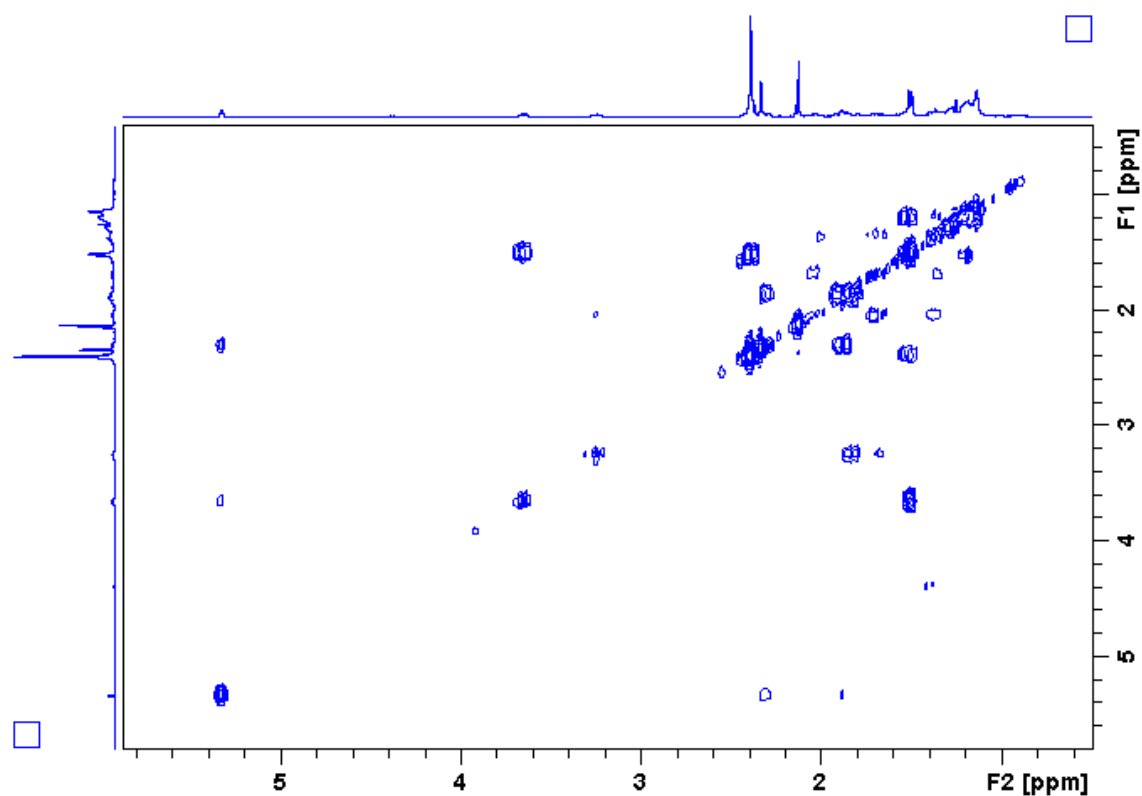
Apêndice O2. Ampliação do espectro O1 (δ 1,1–4,7) do derivado **57**.



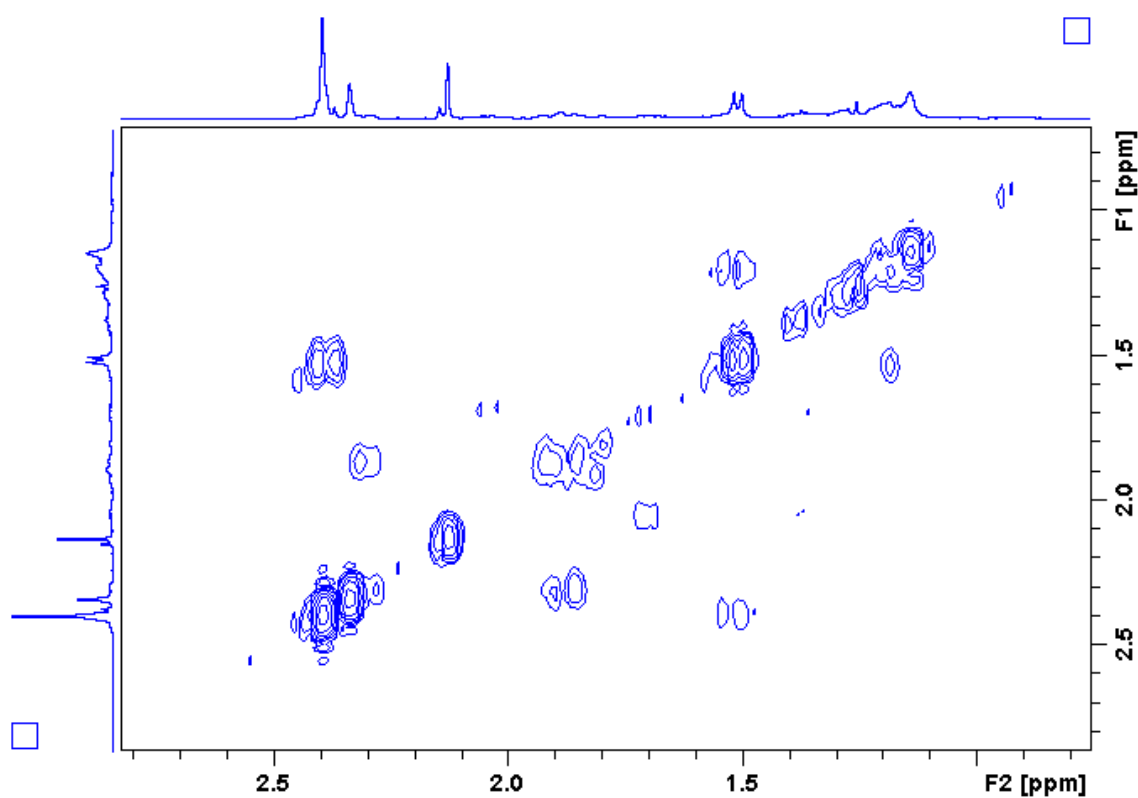
Apêndice O3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **57**.



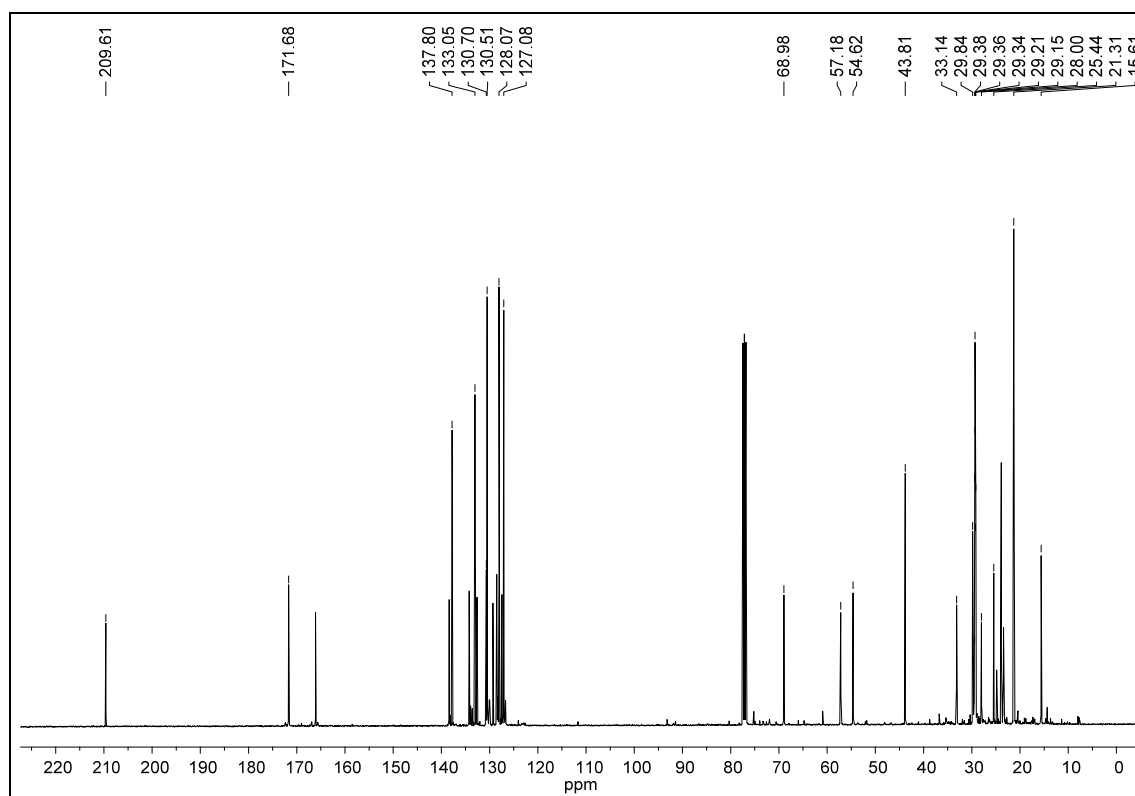
Apêndice O4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **57**.



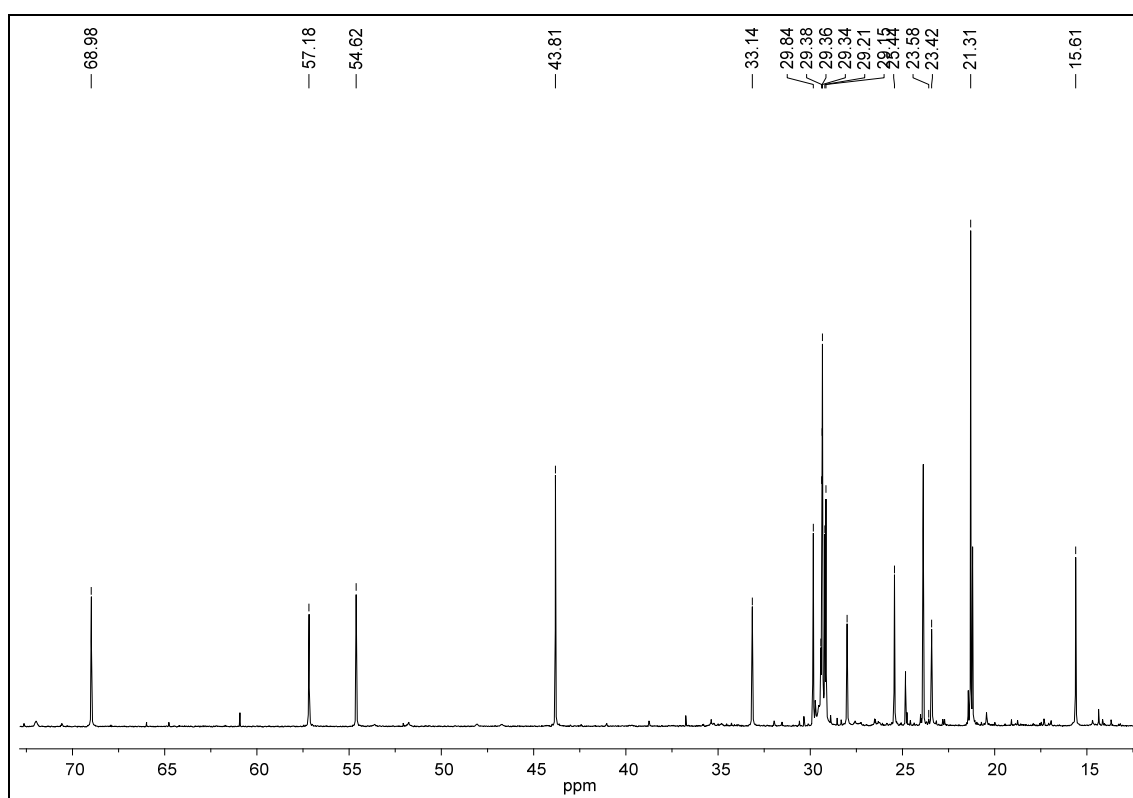
Apêndice O5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–2,5) do alcaloide **57**.



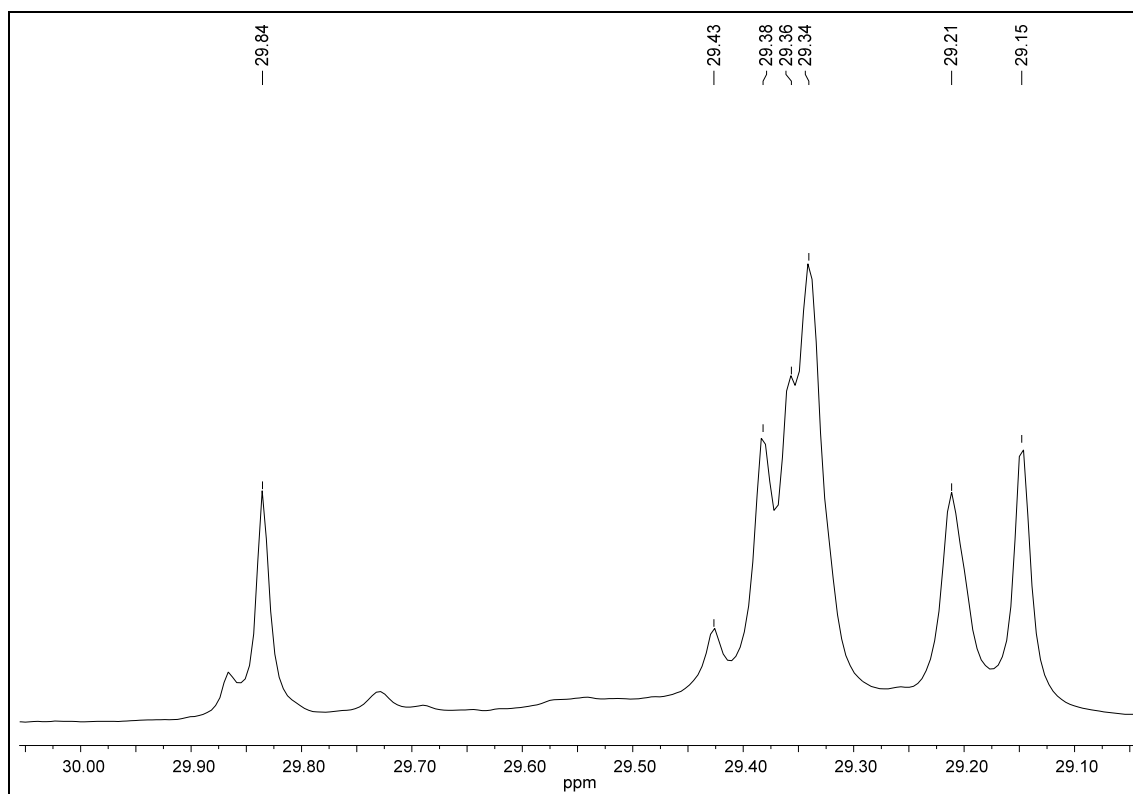
Apêndice O6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **57** (100 MHz, CDCl₃).



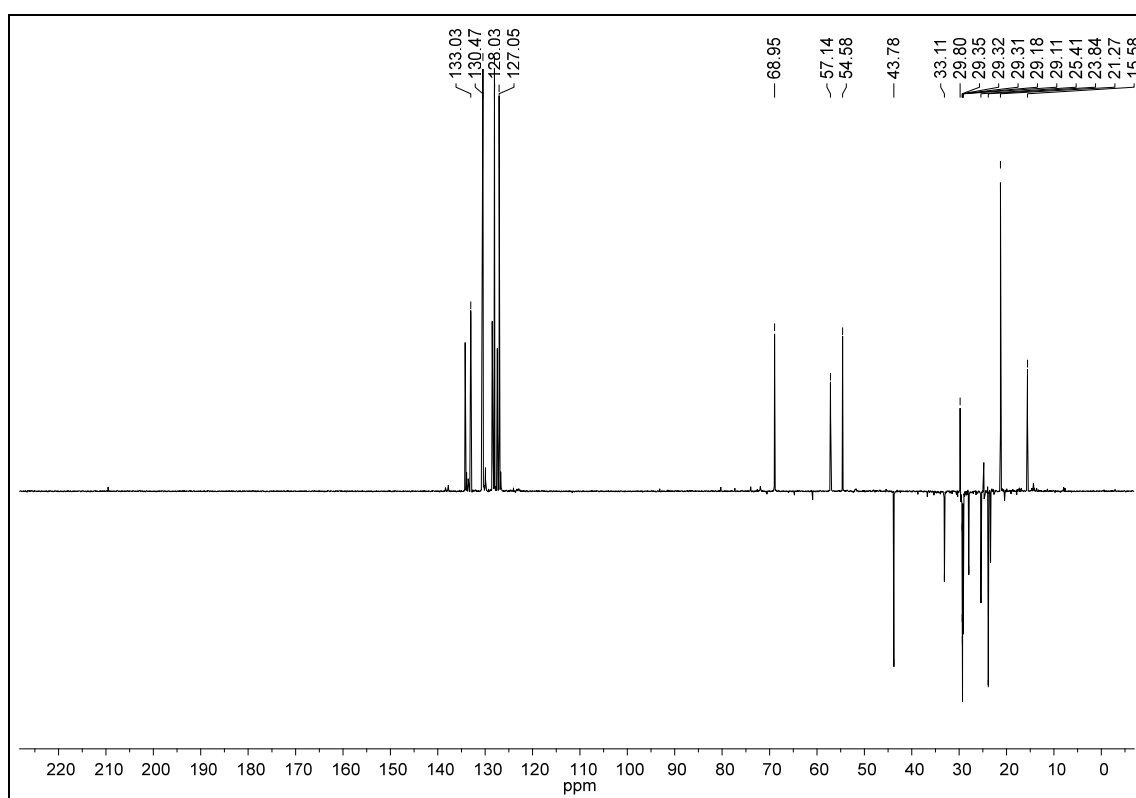
Apêndice O7. Ampliação do espectro O6 (δ 15,0–70,0) do derivado **57**.



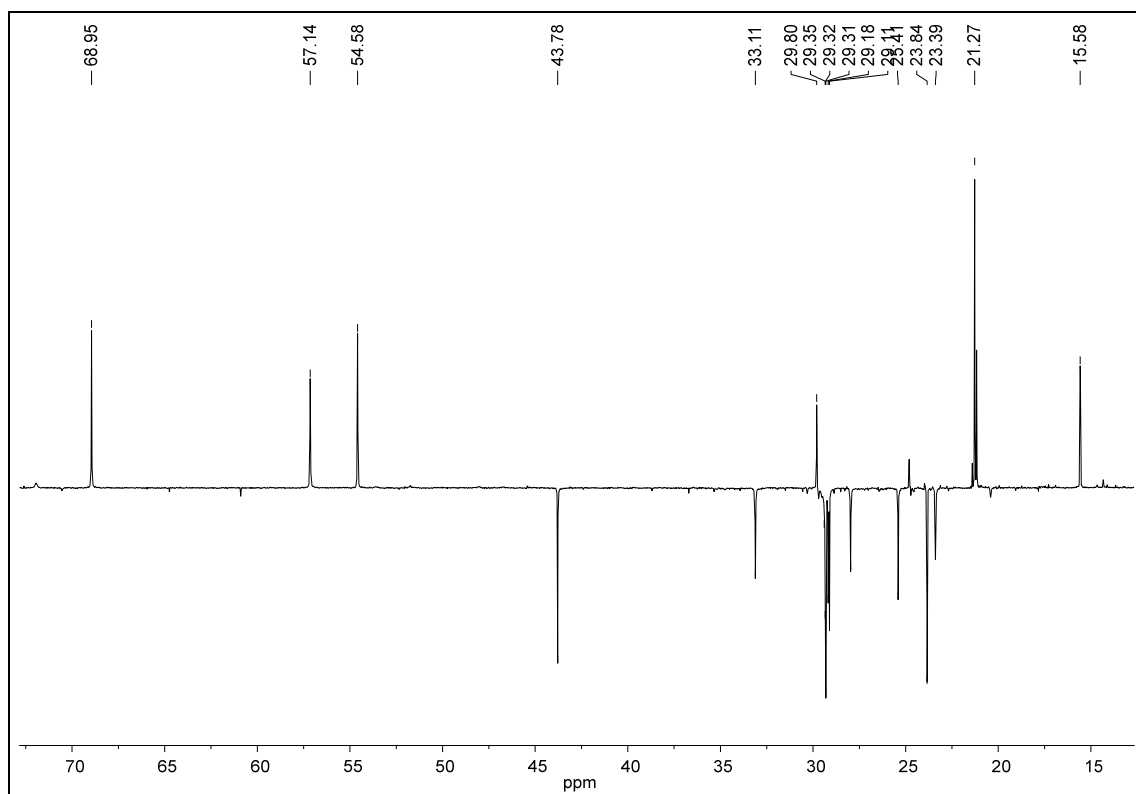
Apêndice O8. Ampliação do espectro O7 (δ 29,1–30,0) do derivado **57**.



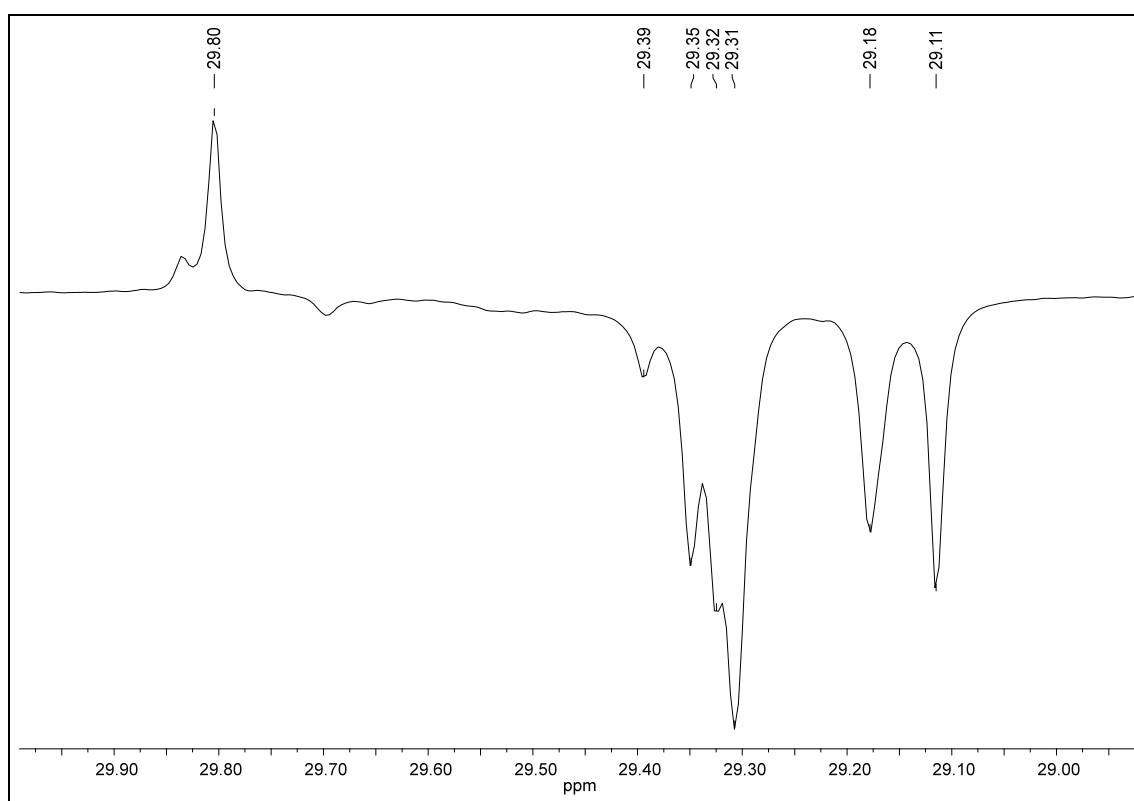
Apêndice O9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **57**.



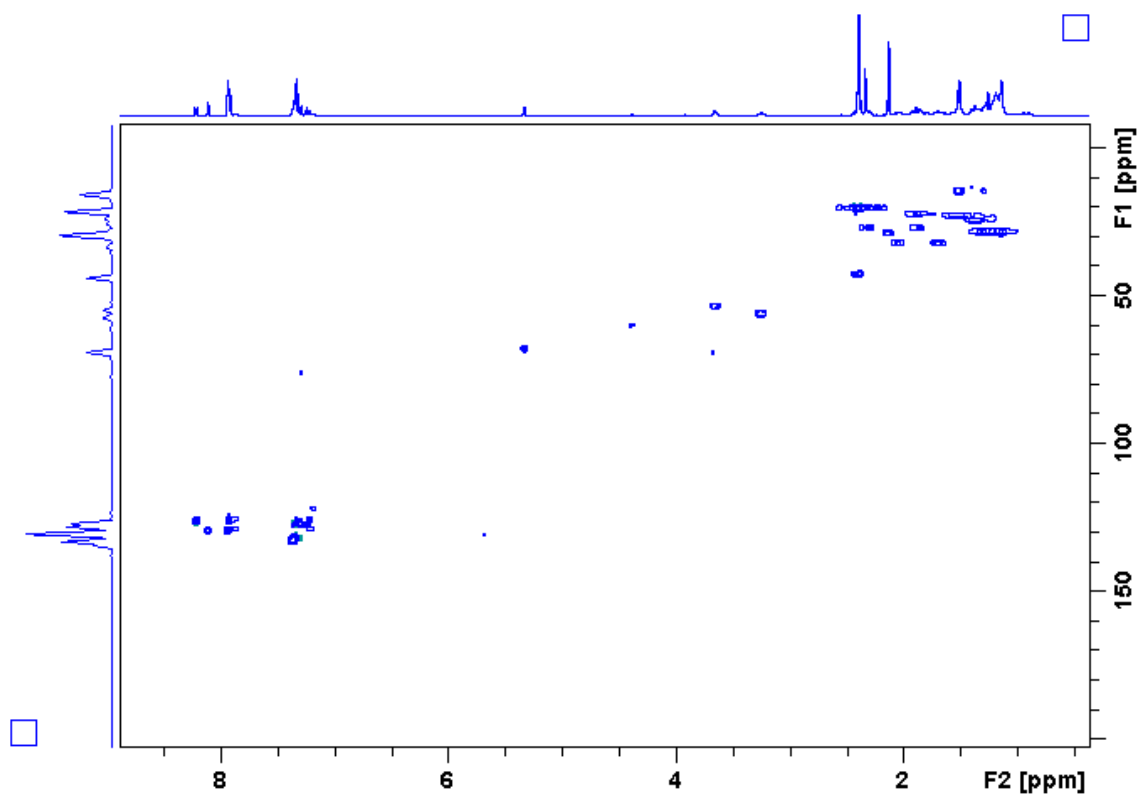
Apêndice O10. Ampliação do espectro O9 (δ 15,0–70,0) do derivado **57**.



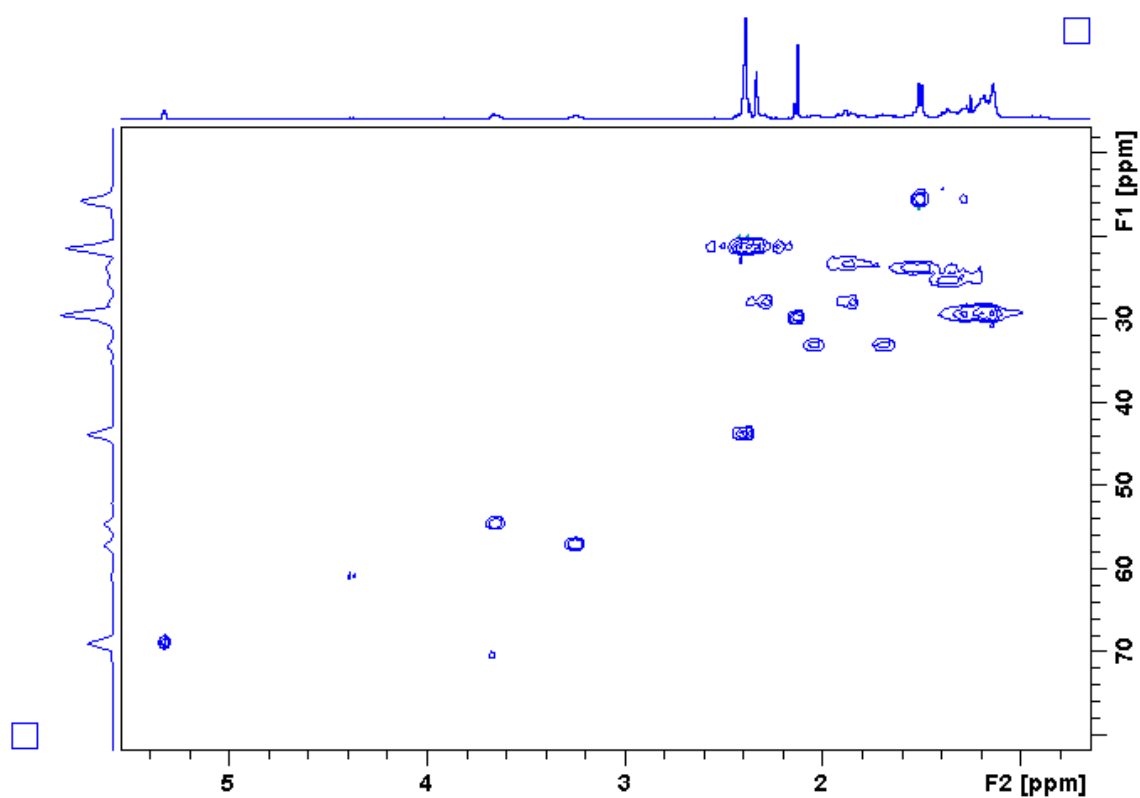
Apêndice O11. Ampliação do espectro O10 (δ 29,0–29,9) do derivado **57**.



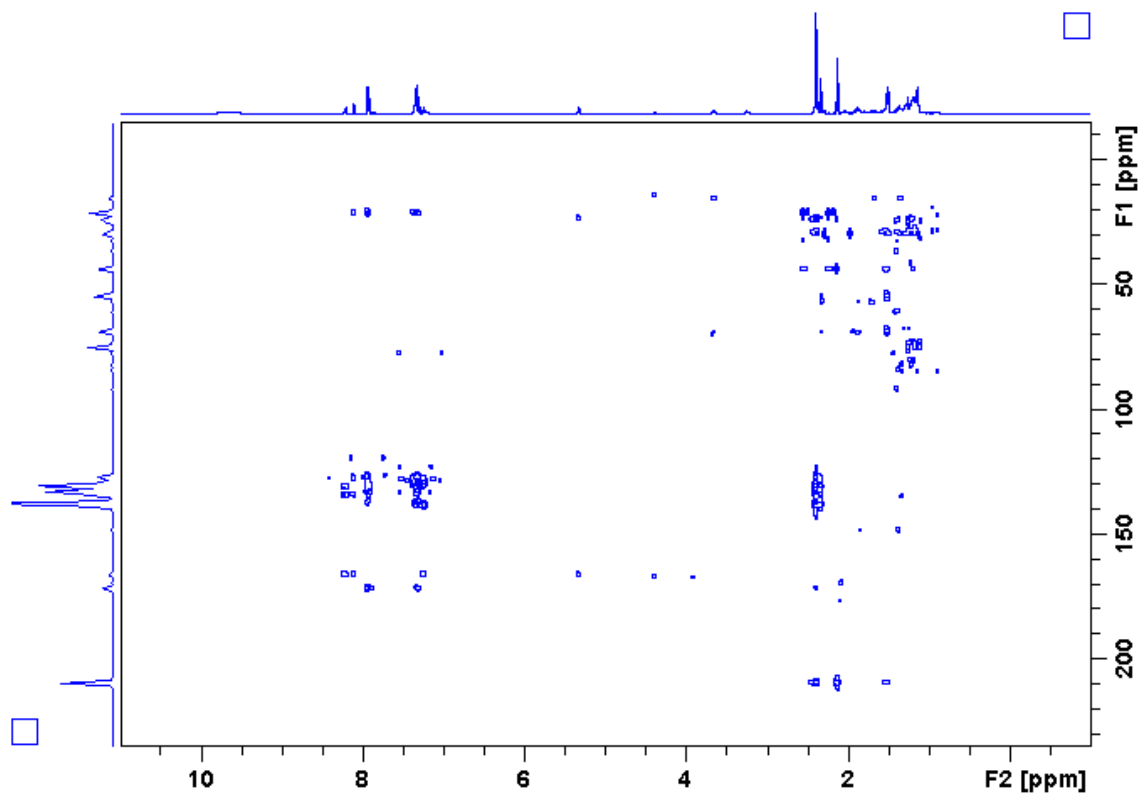
Apêndice O12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **57**.



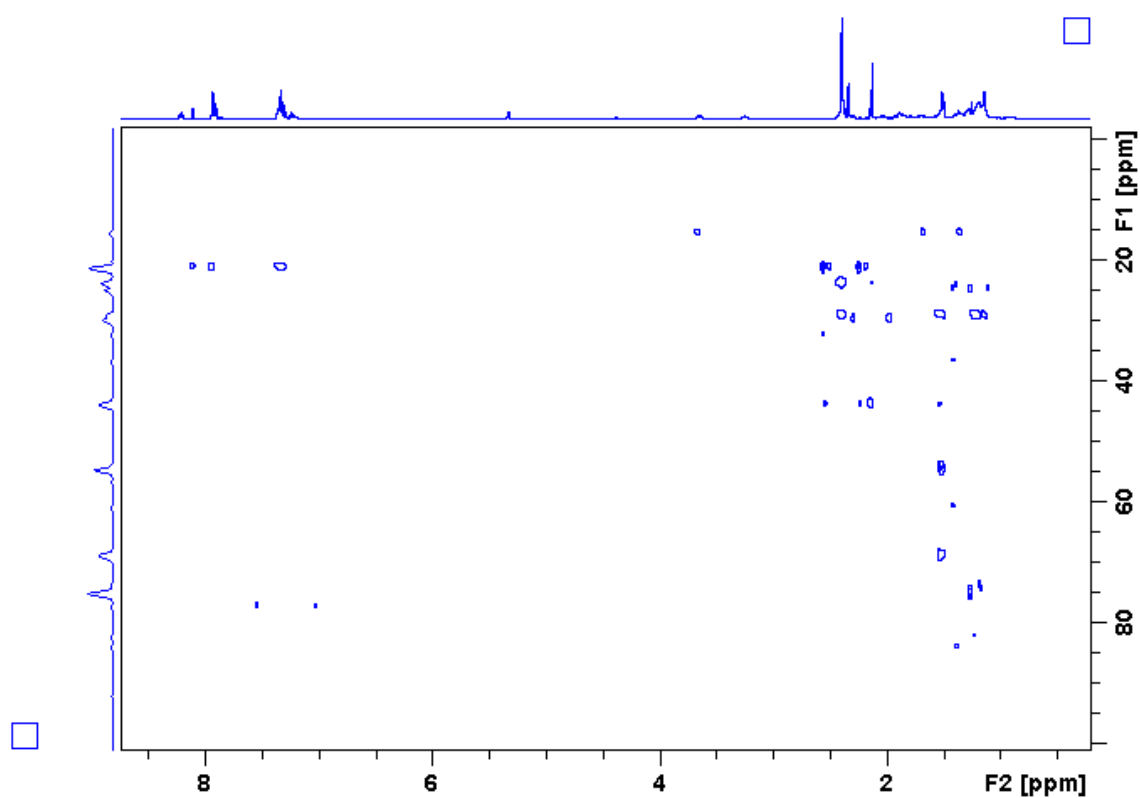
Apêndice O13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **57**.



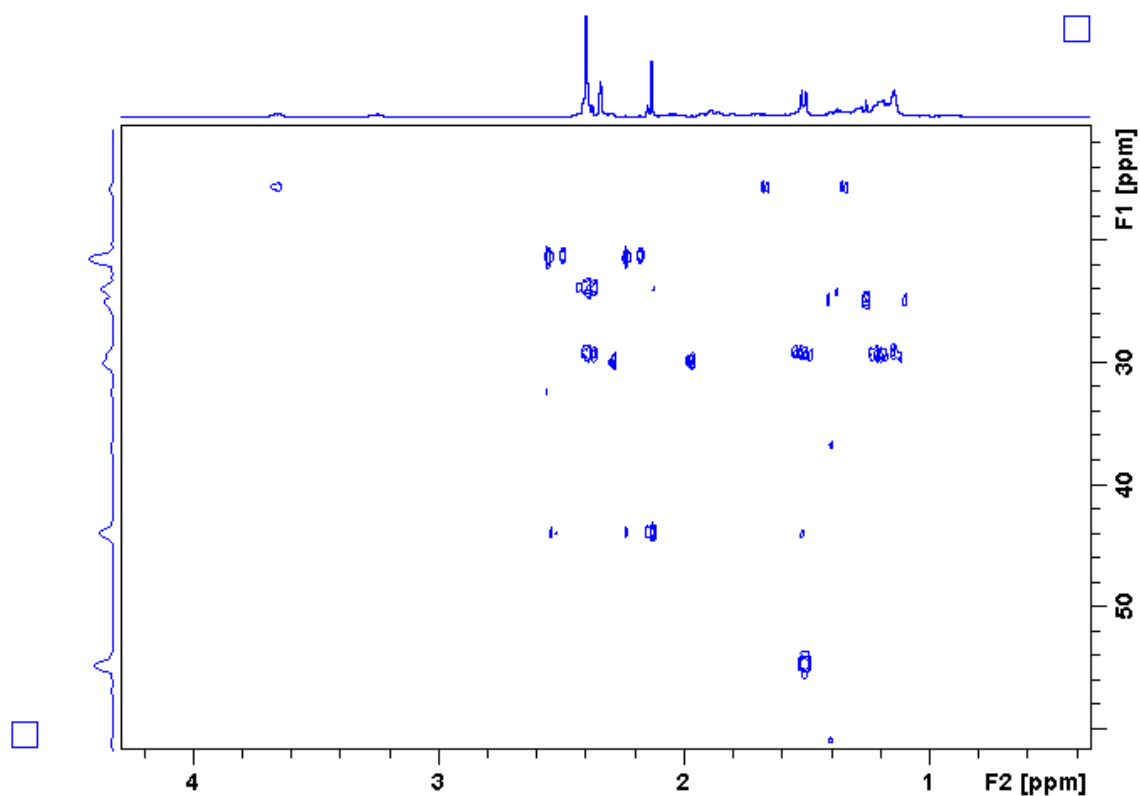
Apêndice O14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **57**.



Apêndice O15. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–65,0) do alcaloide **57**.



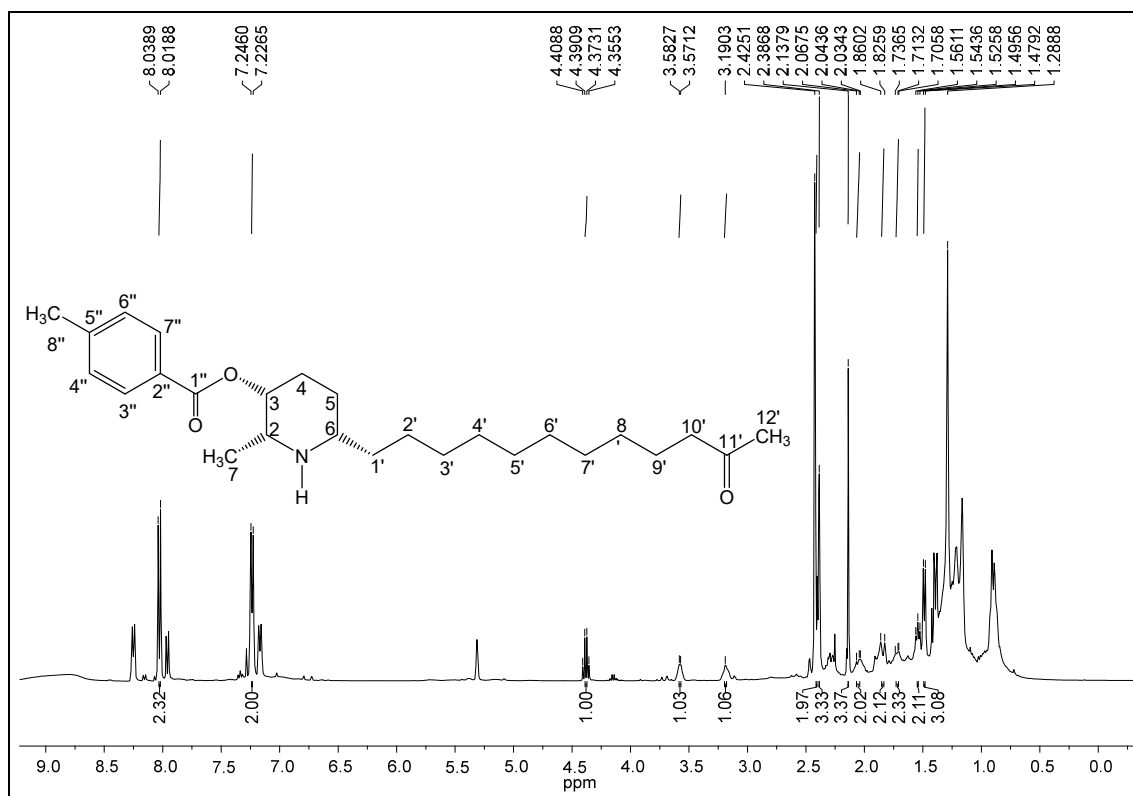
Apêndice O16. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–60,0) do alcaloide **57**.



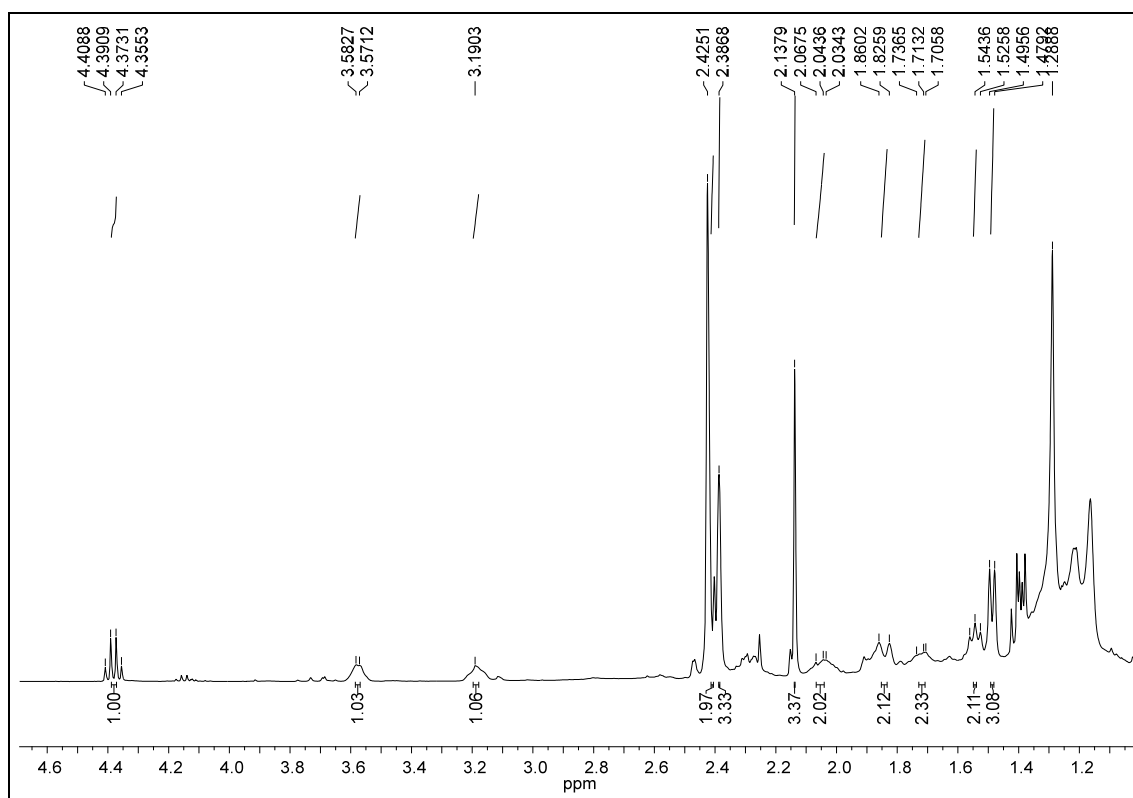


APÊNDICE P

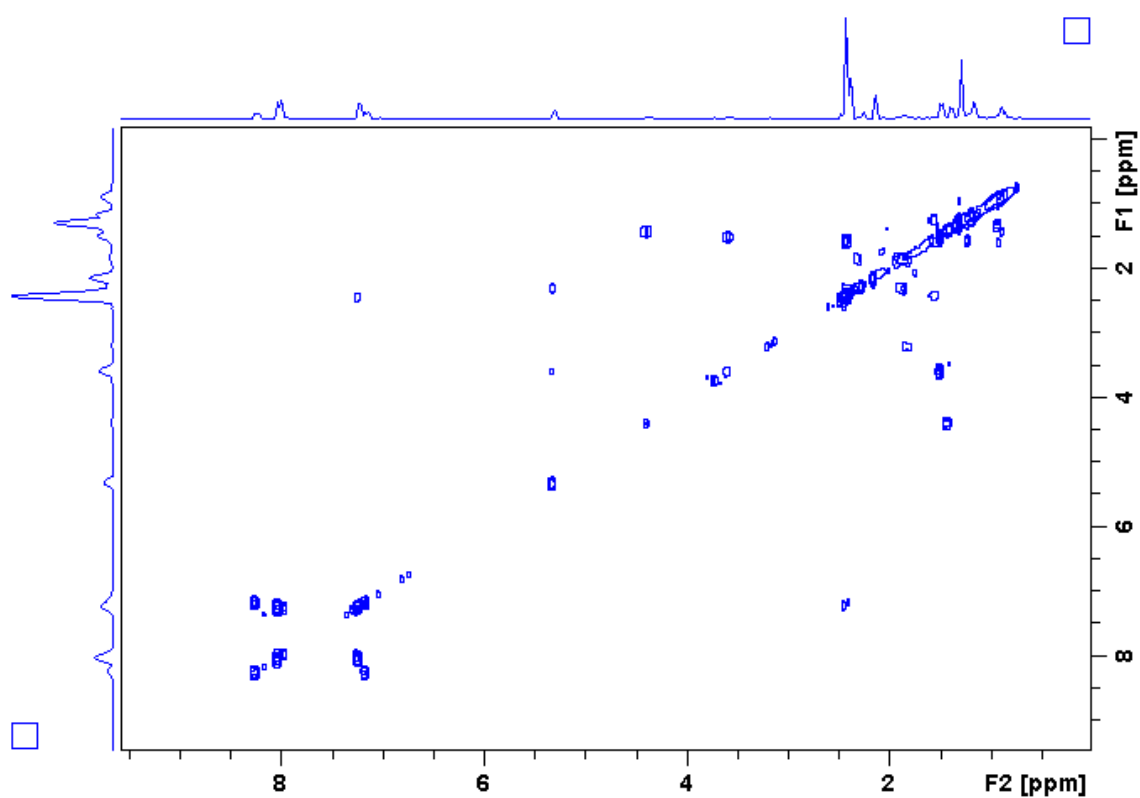
Apêndice P1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **58** (400 MHz, CDCl_3).



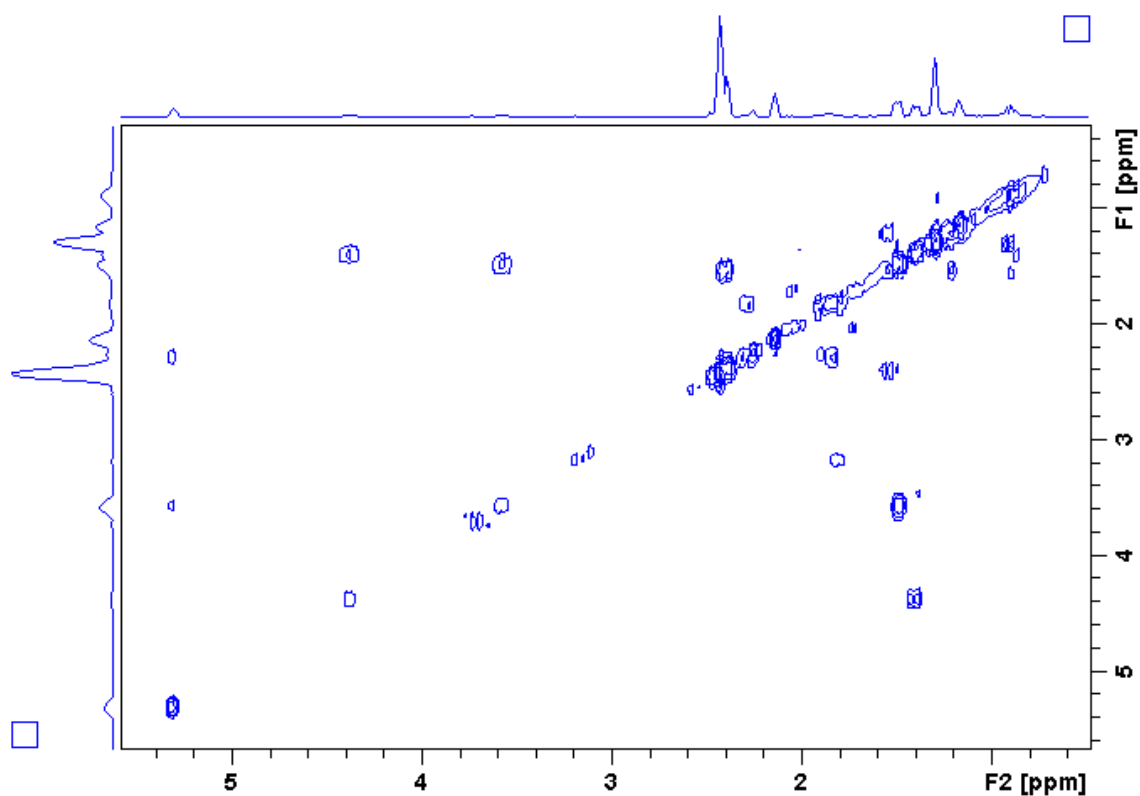
Apêndice P2. Ampliação do espectro P1 (δ 1,2–4,6) do derivado **58**.



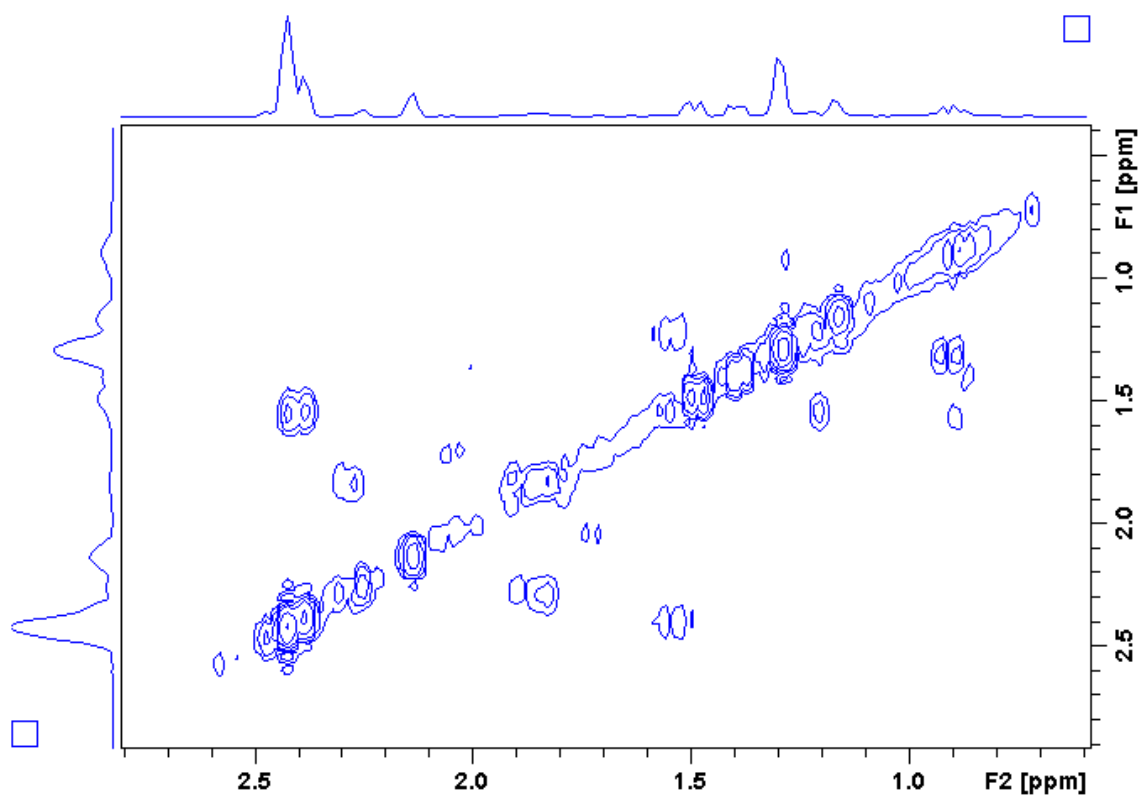
Apêndice P3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **58**.



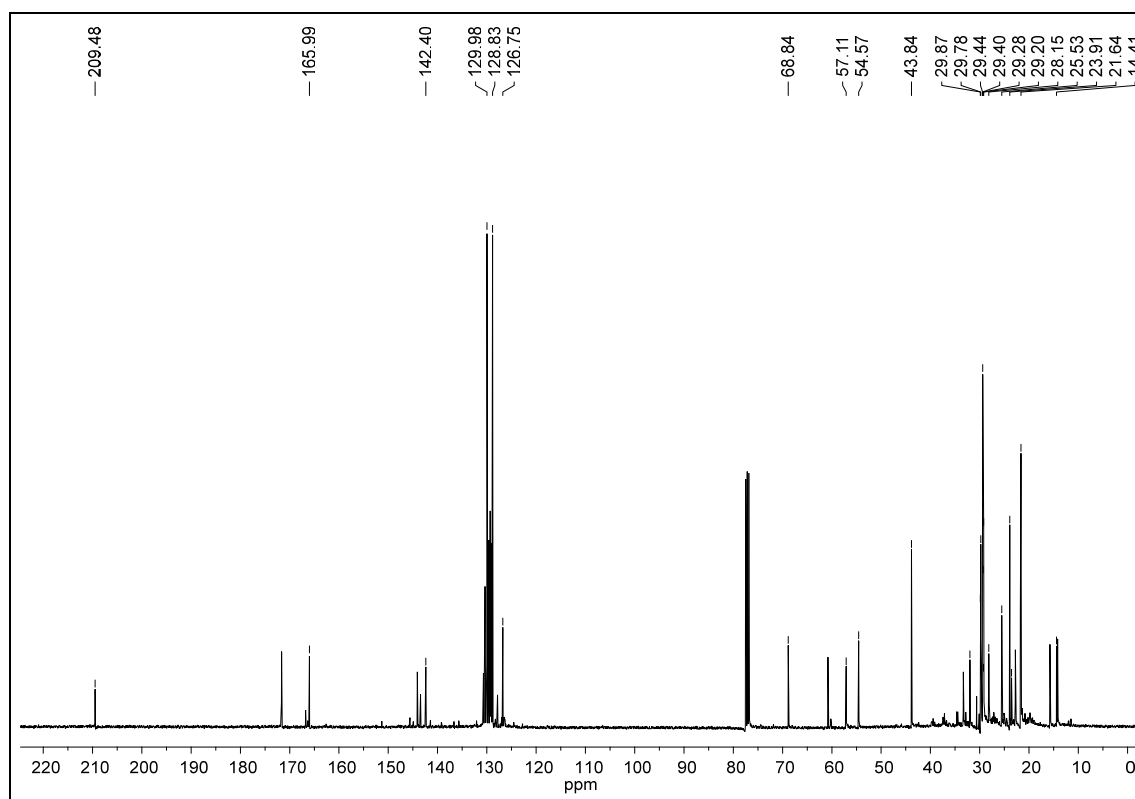
Apêndice P4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **58**.



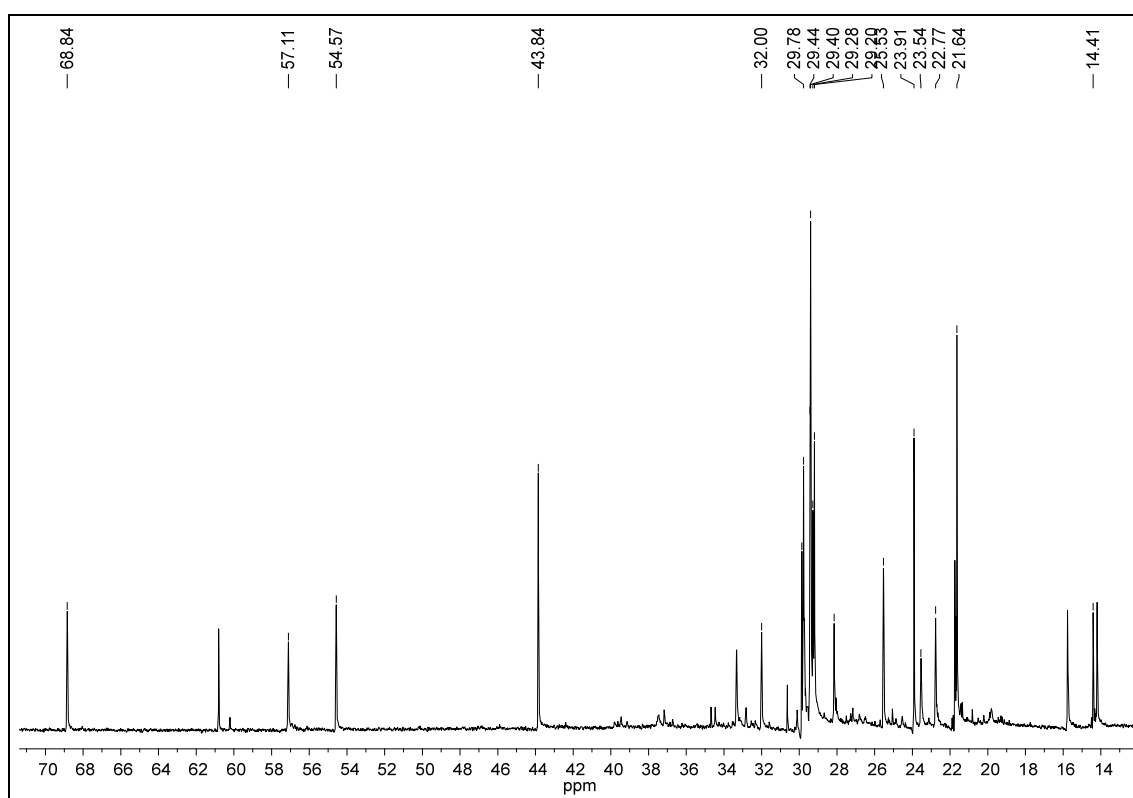
Apêndice P5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,0) do alcaloide **58**.



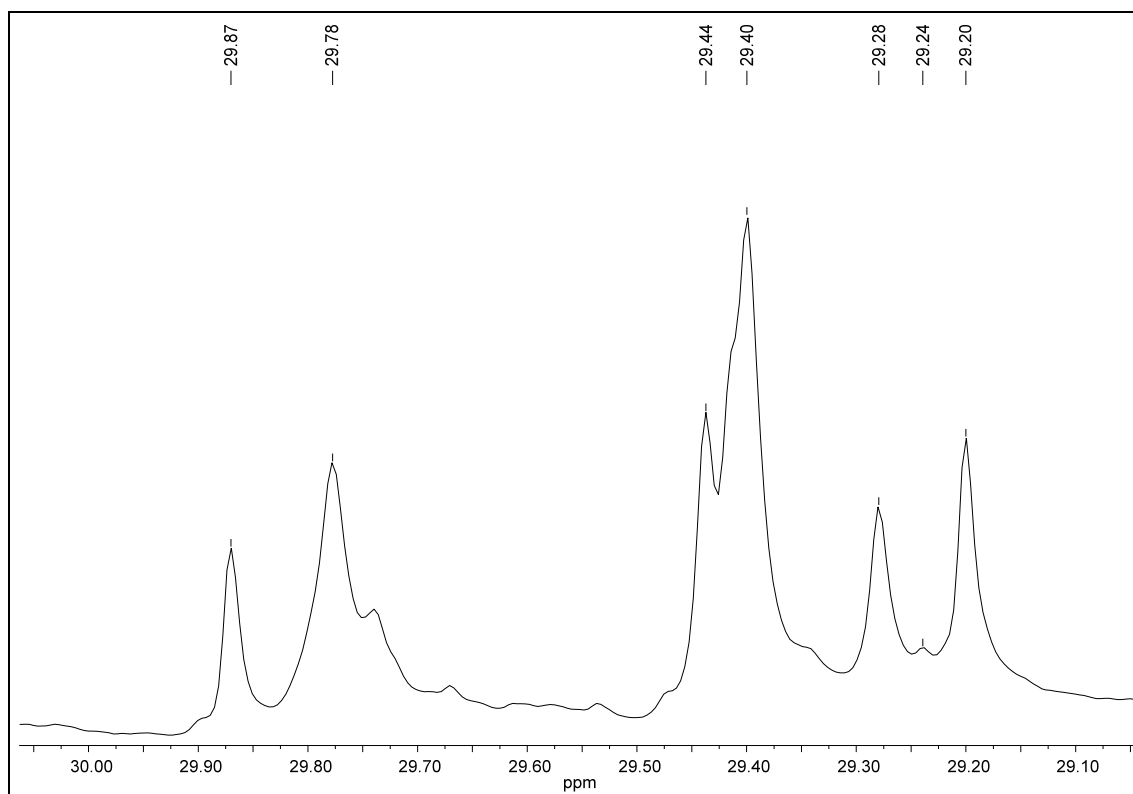
Apêndice P6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **58** (100 MHz, CDCl₃).



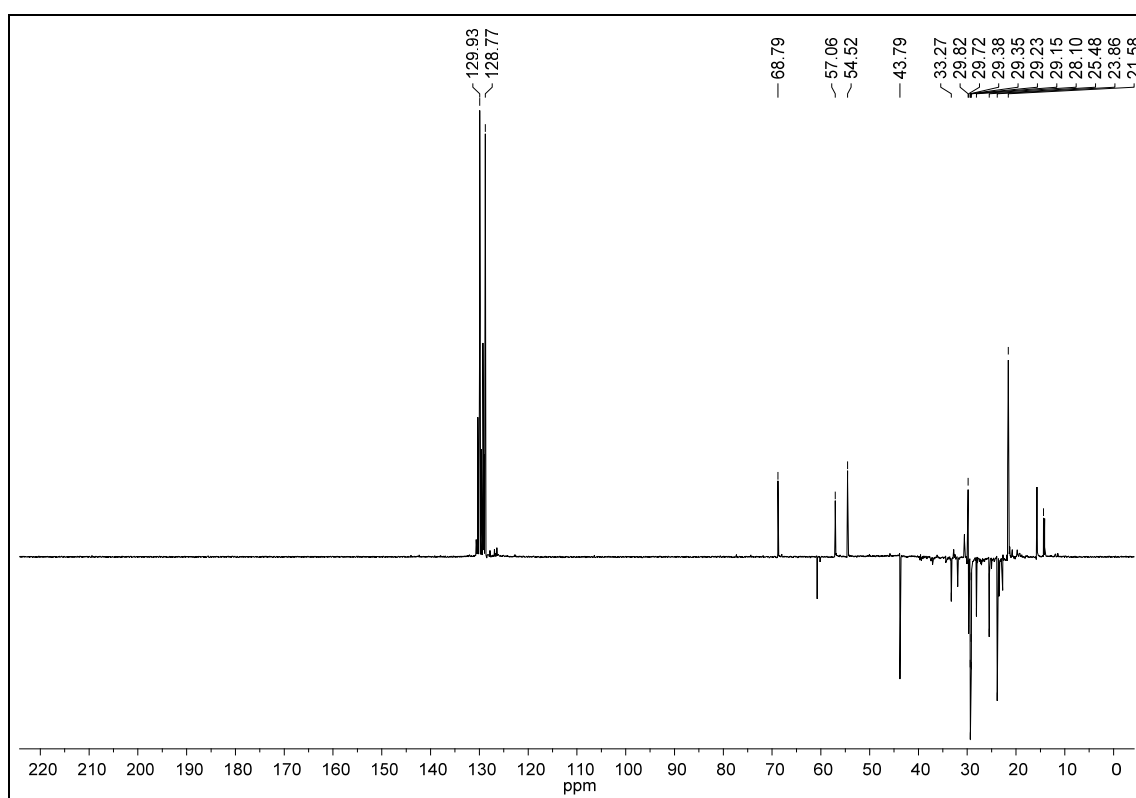
Apêndice P7. Ampliação do espectro P6 (δ 14,0–70,0) do derivado **58**.



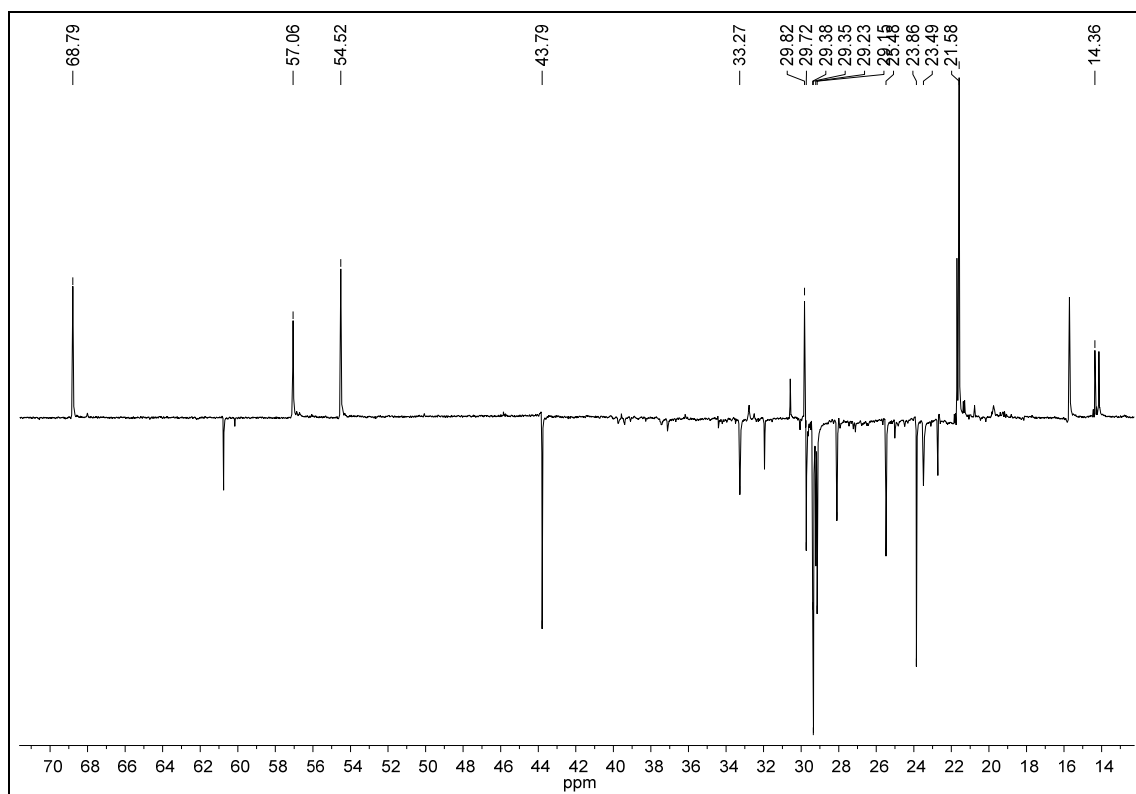
Apêndice P8. Ampliação do espectro P7 (δ 29,1–30,0) do derivado **58**.



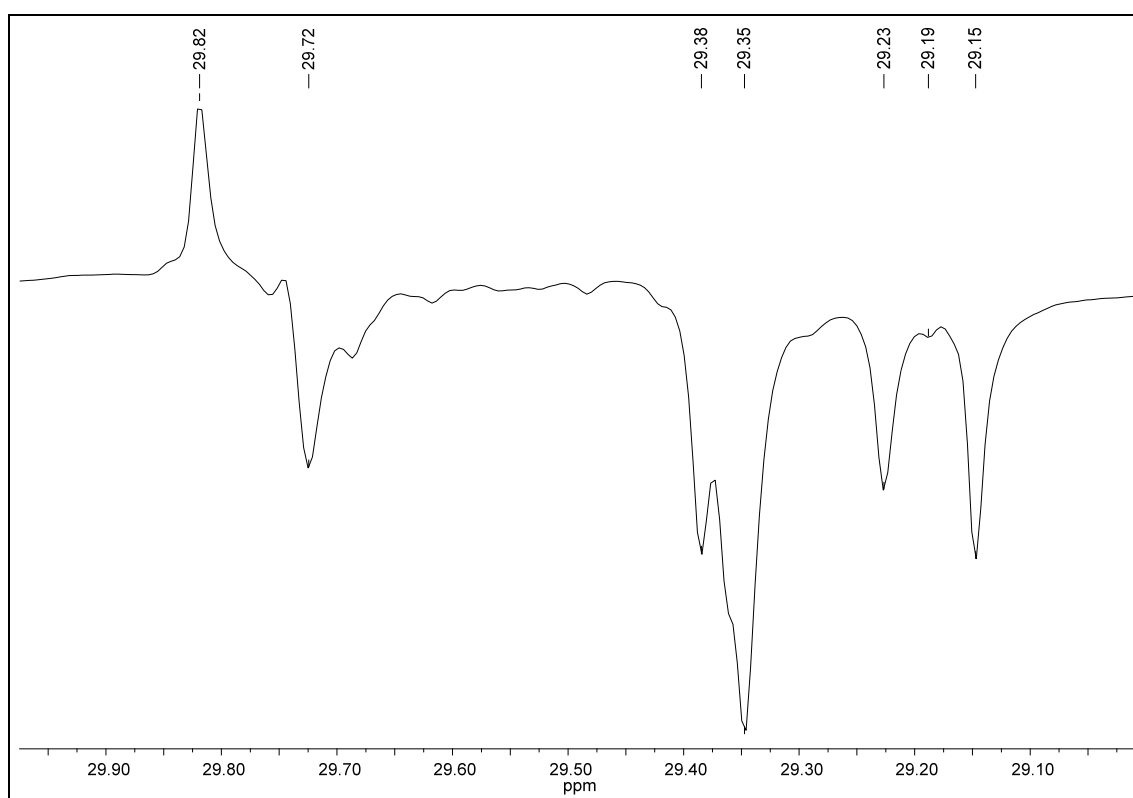
Apêndice P9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **58**.



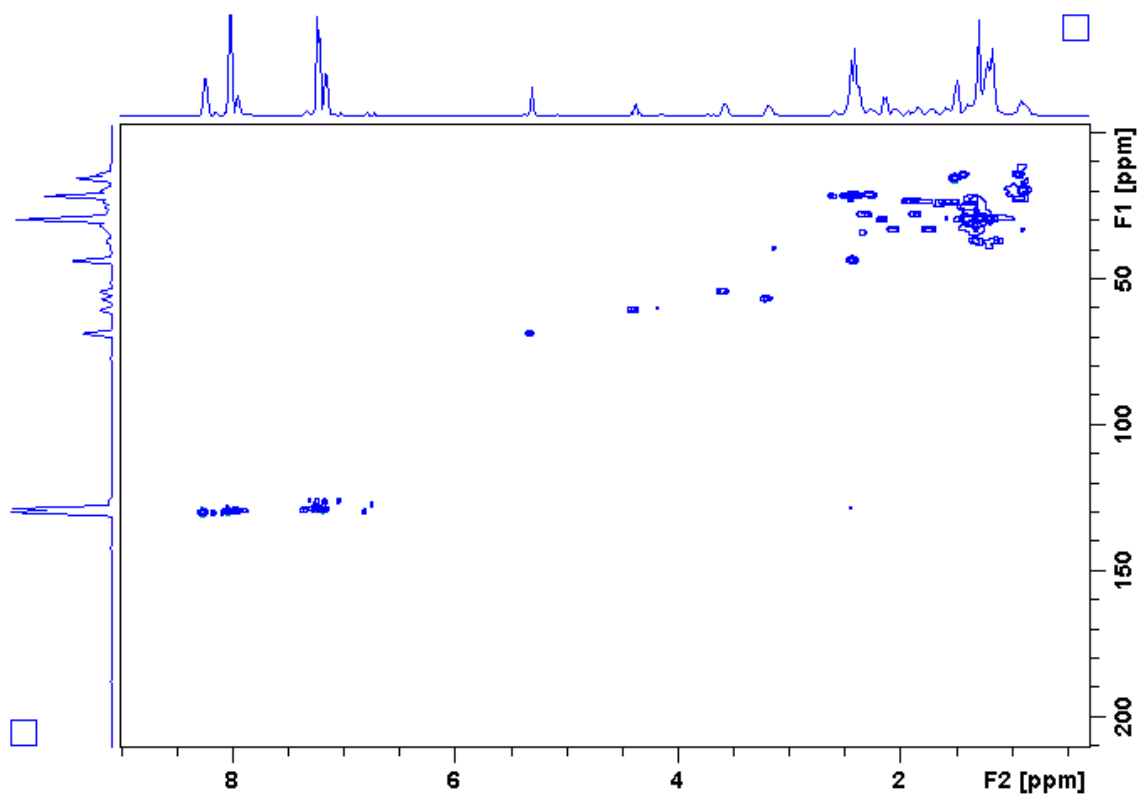
Apêndice P10. Ampliação do espectro P9 (δ 14,0–70,0) do derivado **58**.



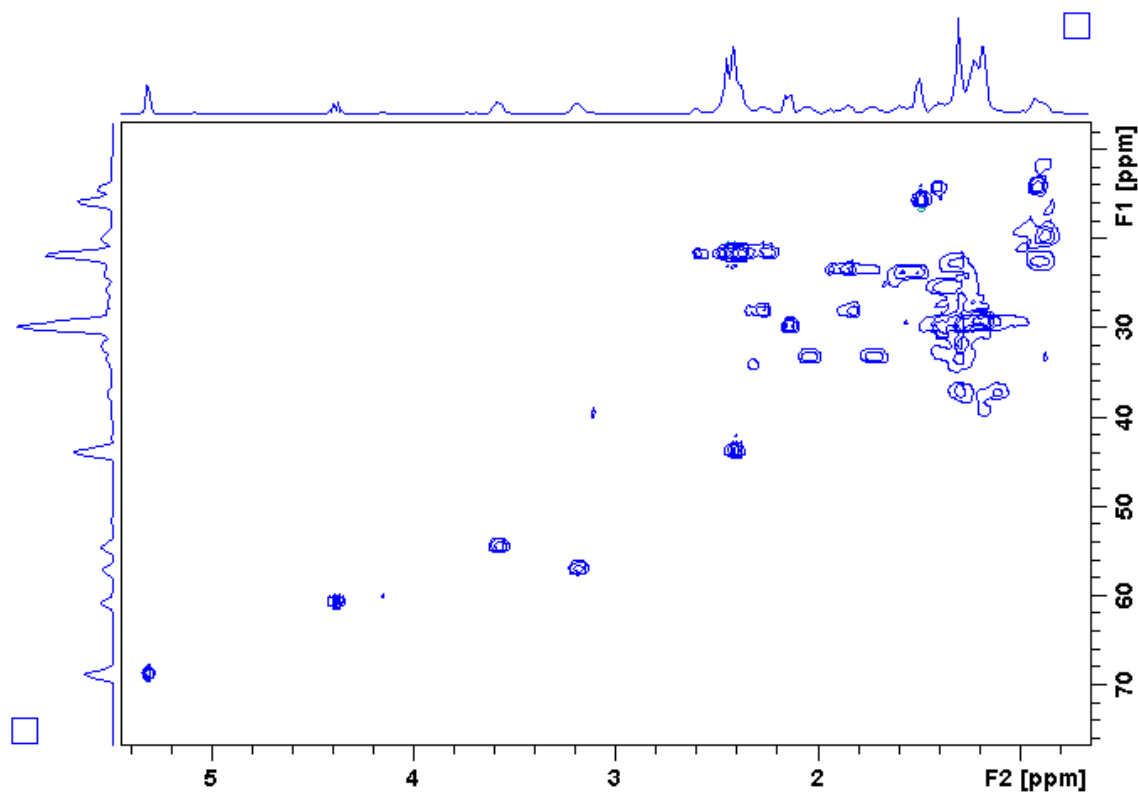
Apêndice P11. Ampliação do espectro P10 (δ 29,1–29,9) do derivado **58**.



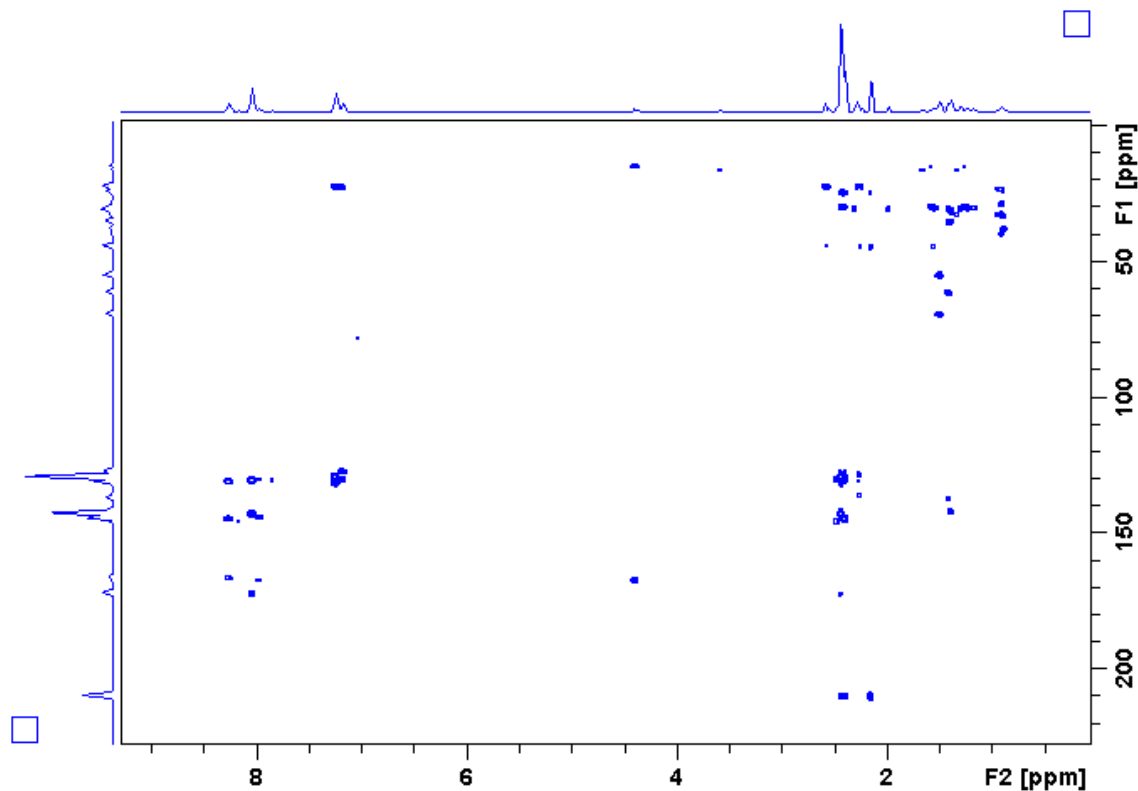
Apêndice P12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **58**.



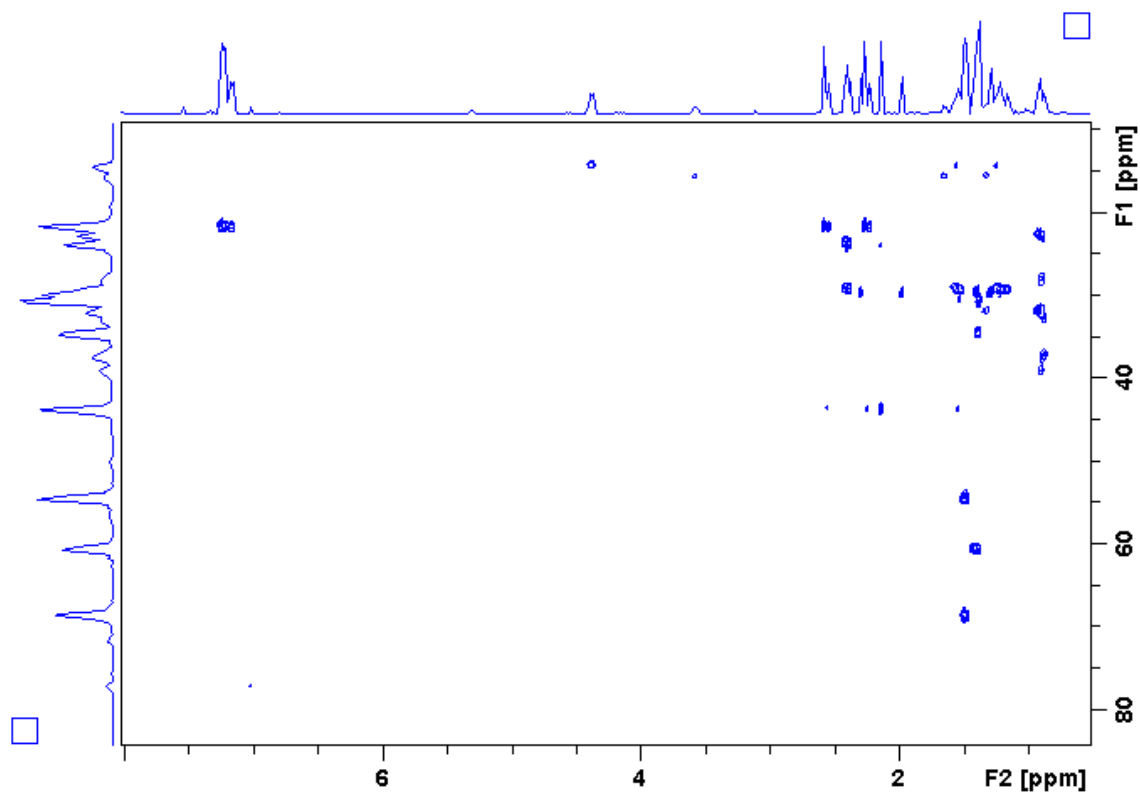
Apêndice P13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **58**.



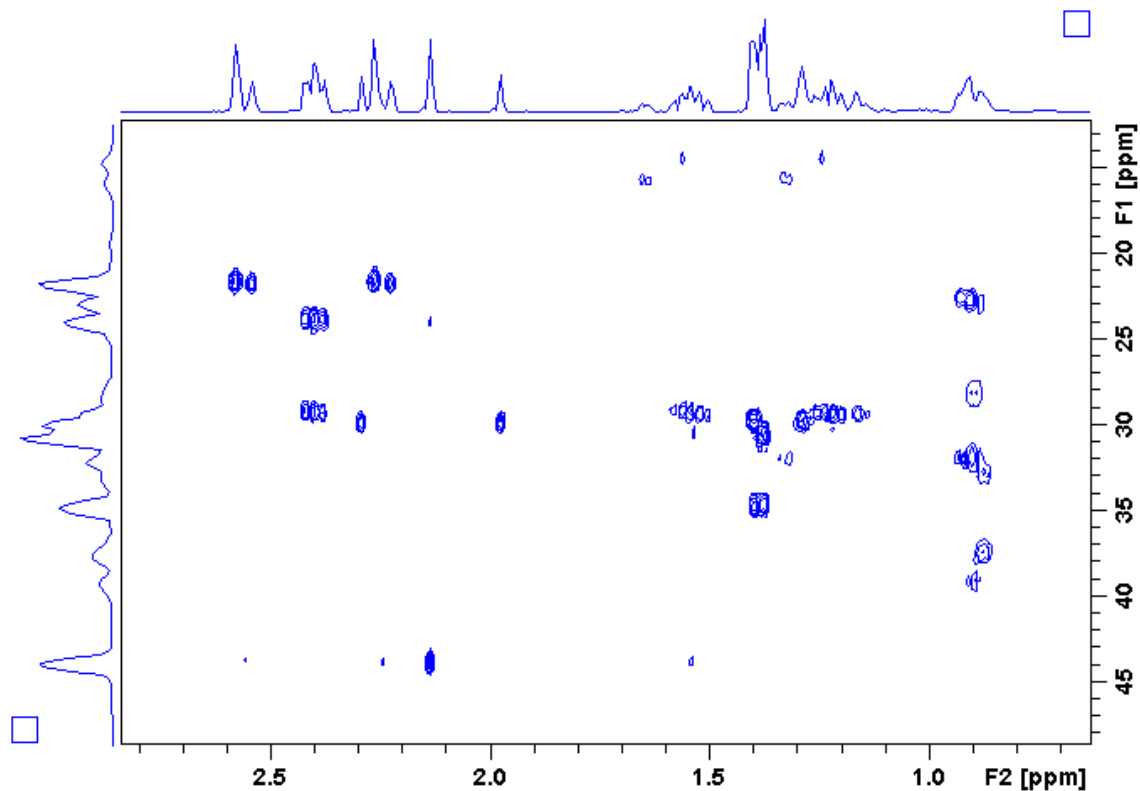
Apêndice P14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **58**.



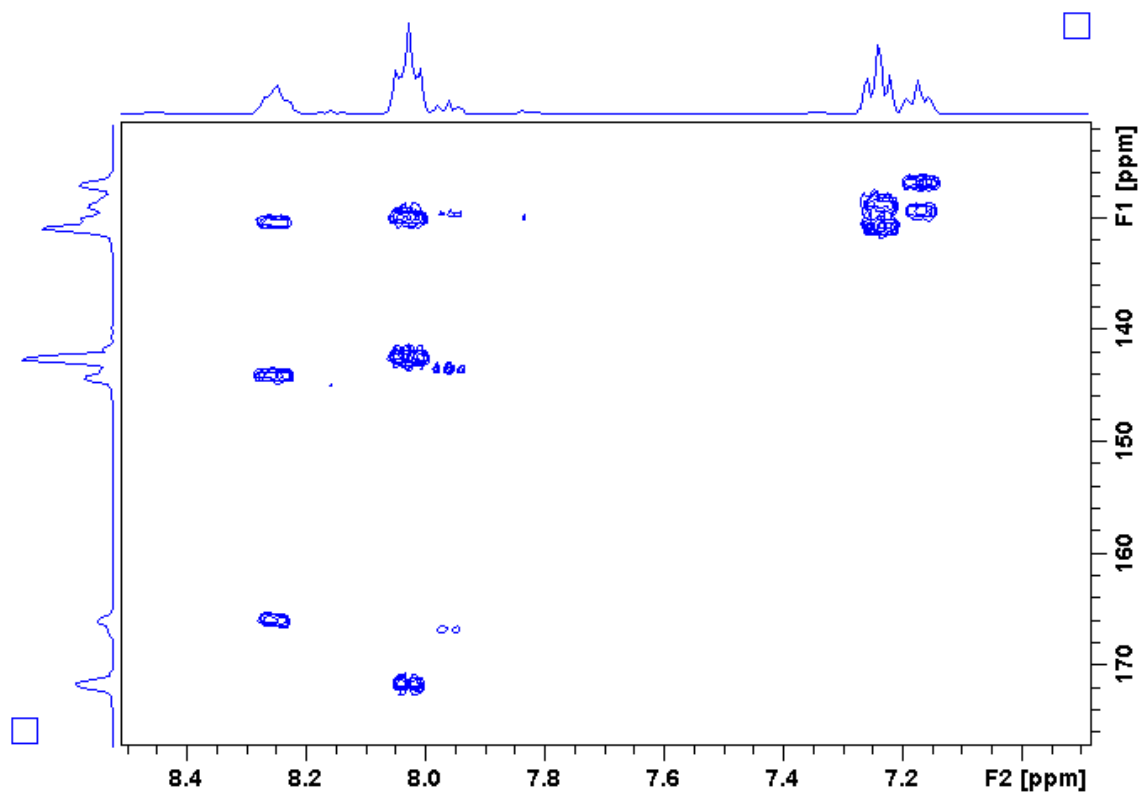
Apêndice P15. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–80,0) do alcaloide **58**.



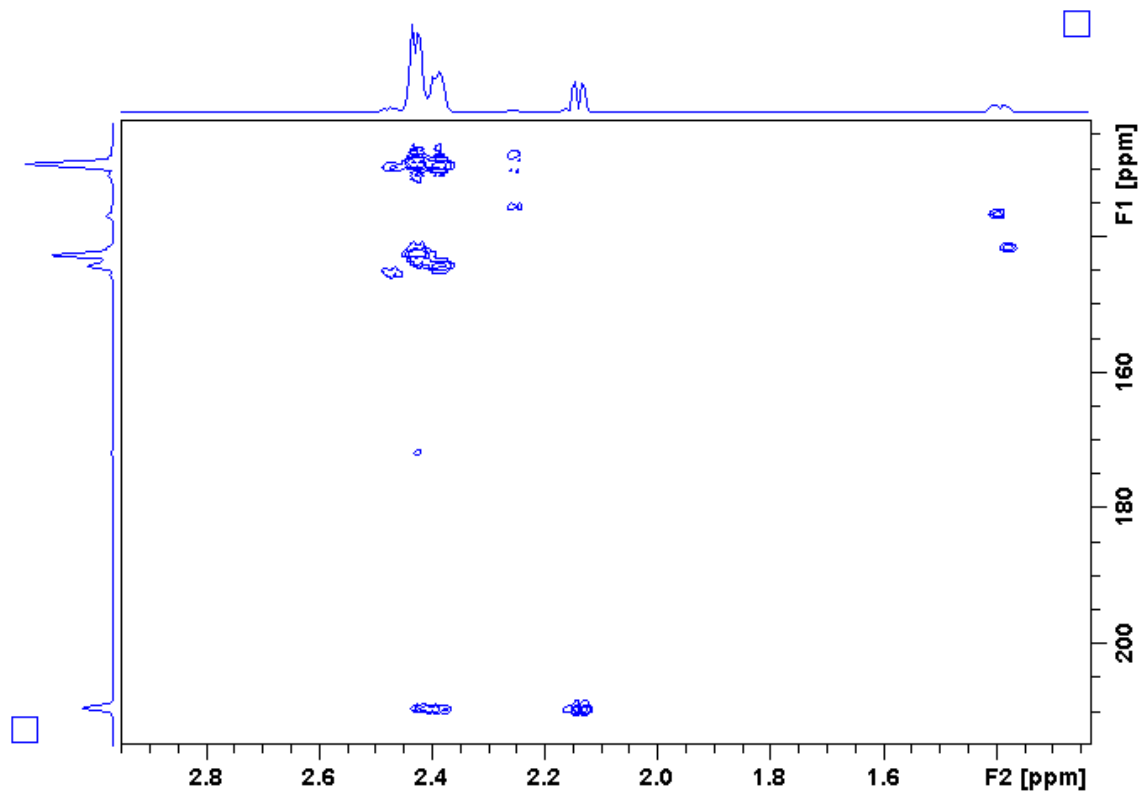
Apêndice P16. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–45,0) do alcaloide **58**.



Apêndice P17. Mapa de contorno HMBC (δ 130,0–170,0) do alcaloide **58**.

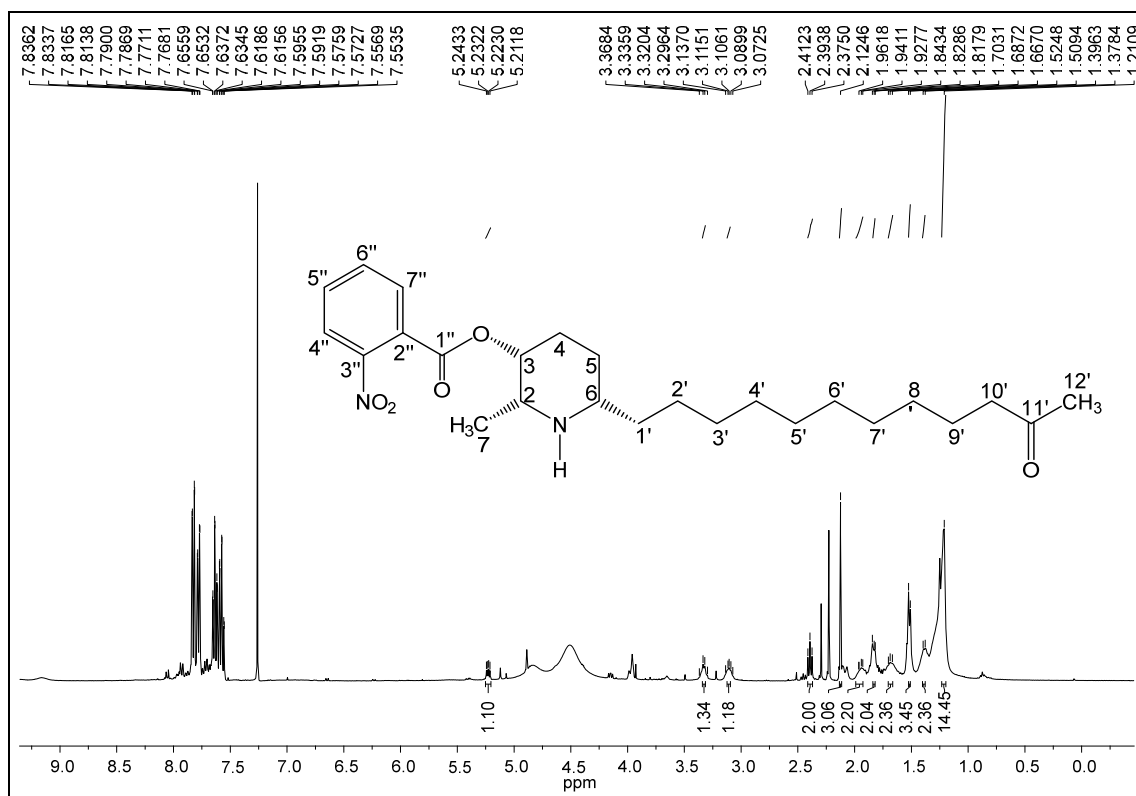


Apêndice P18. Mapa de contorno HMBC (δ 140,0–210,0) do alcaloide **58**.

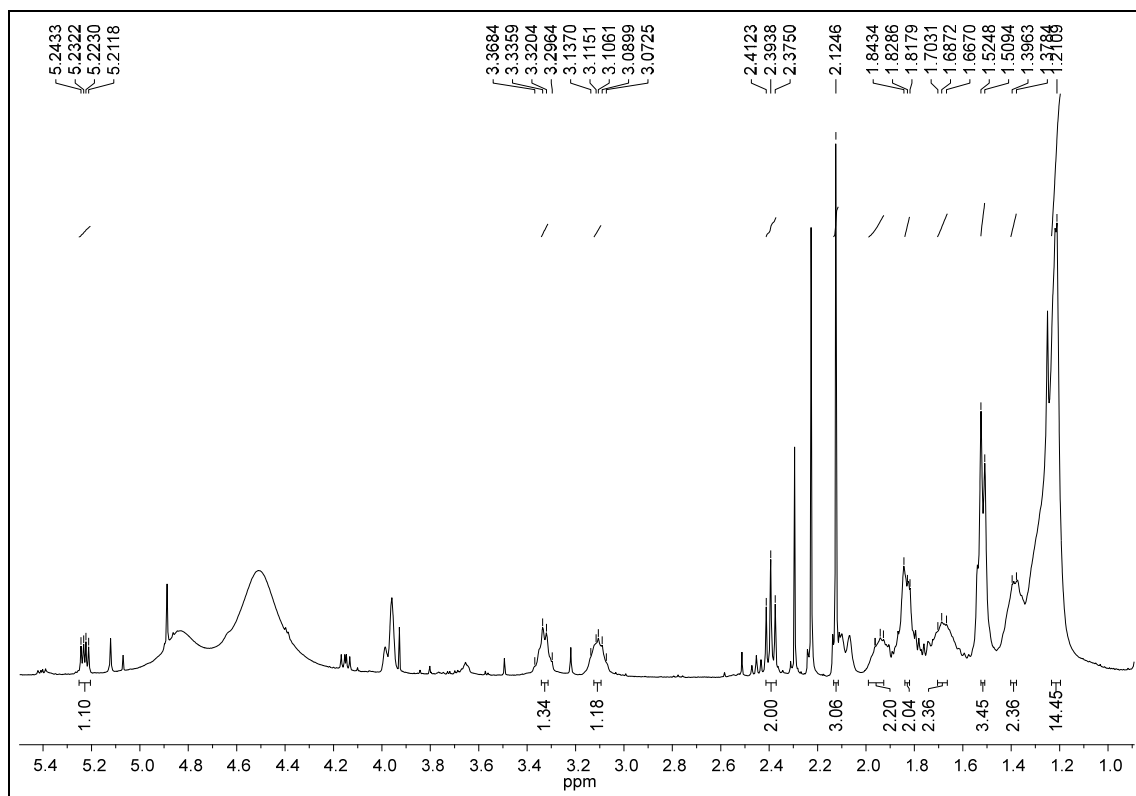


APÊNDICE Q

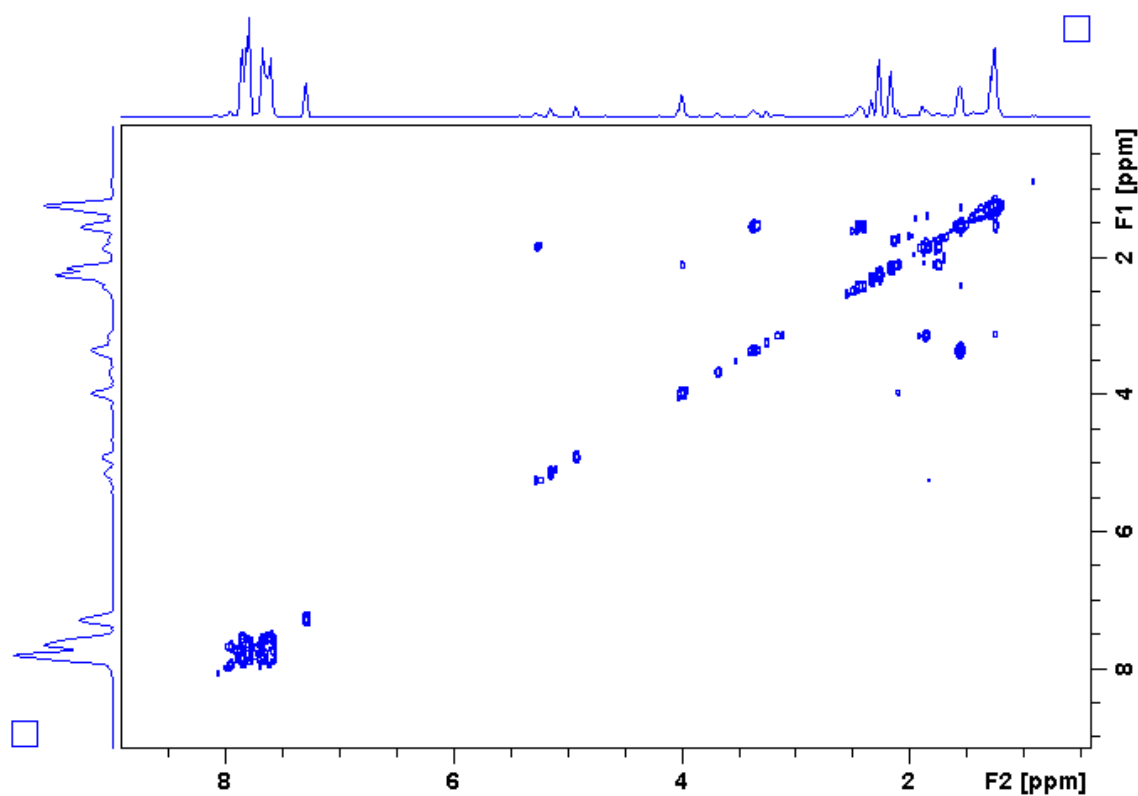
Apêndice Q1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **59** (400 MHz, CDCl_3).



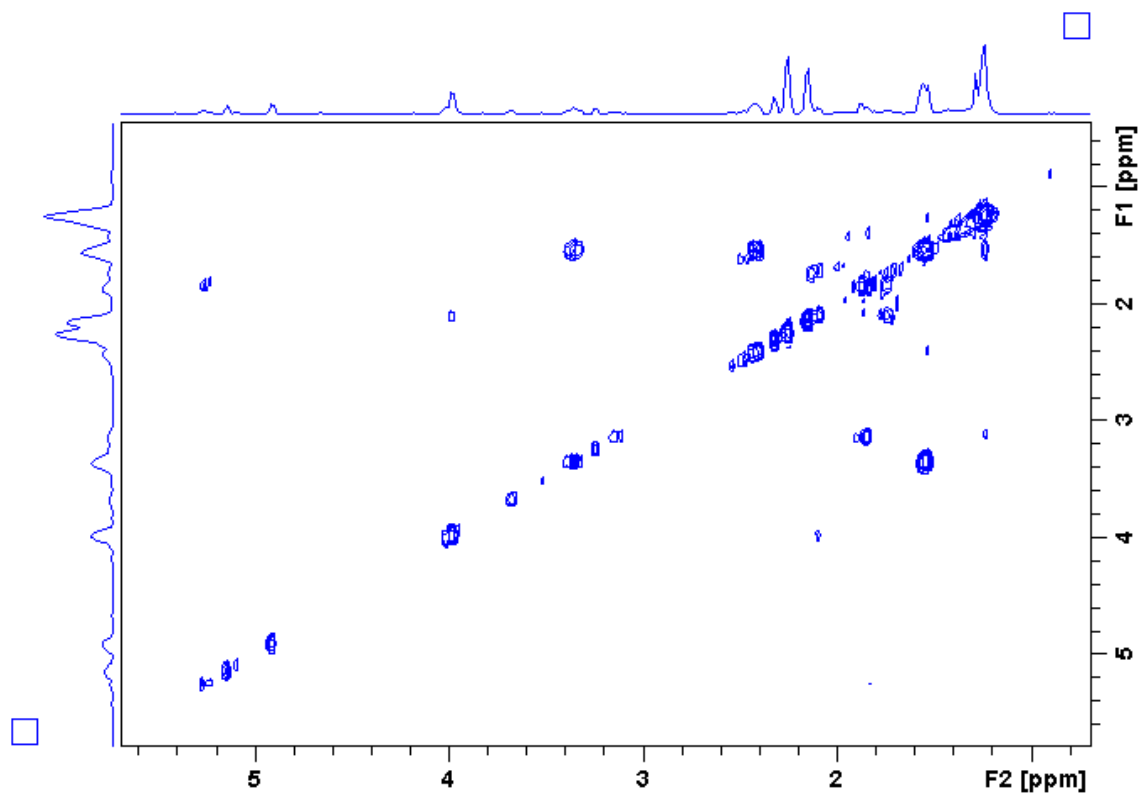
Apêndice Q2. Ampliação do espectro Q1 (δ 1,0–5,4) do derivado **59**.



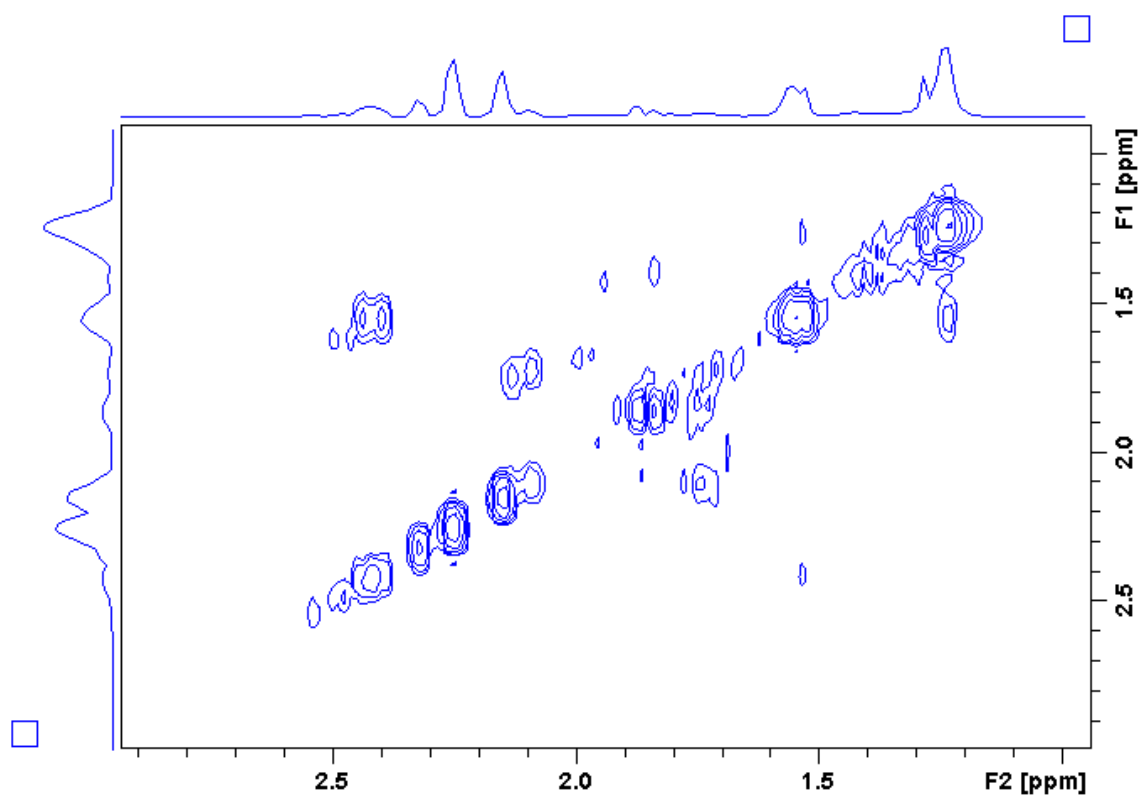
Apêndice Q3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **59**.



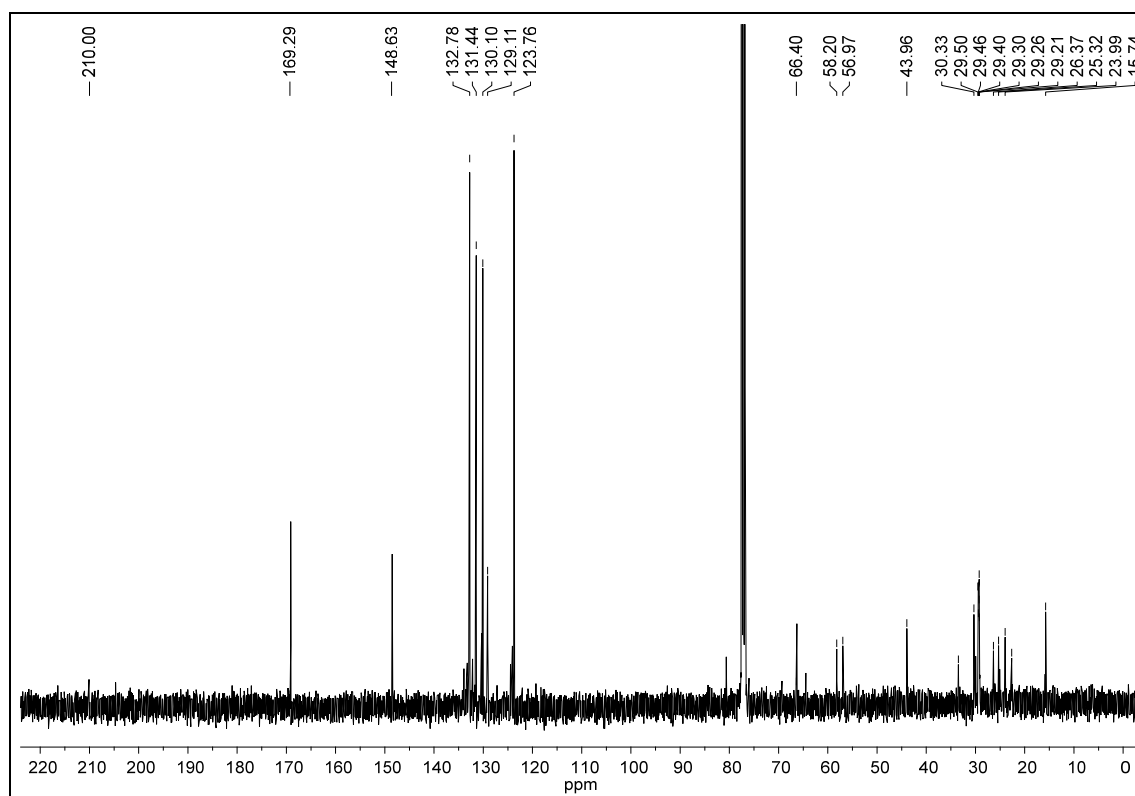
Apêndice Q4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **59**.



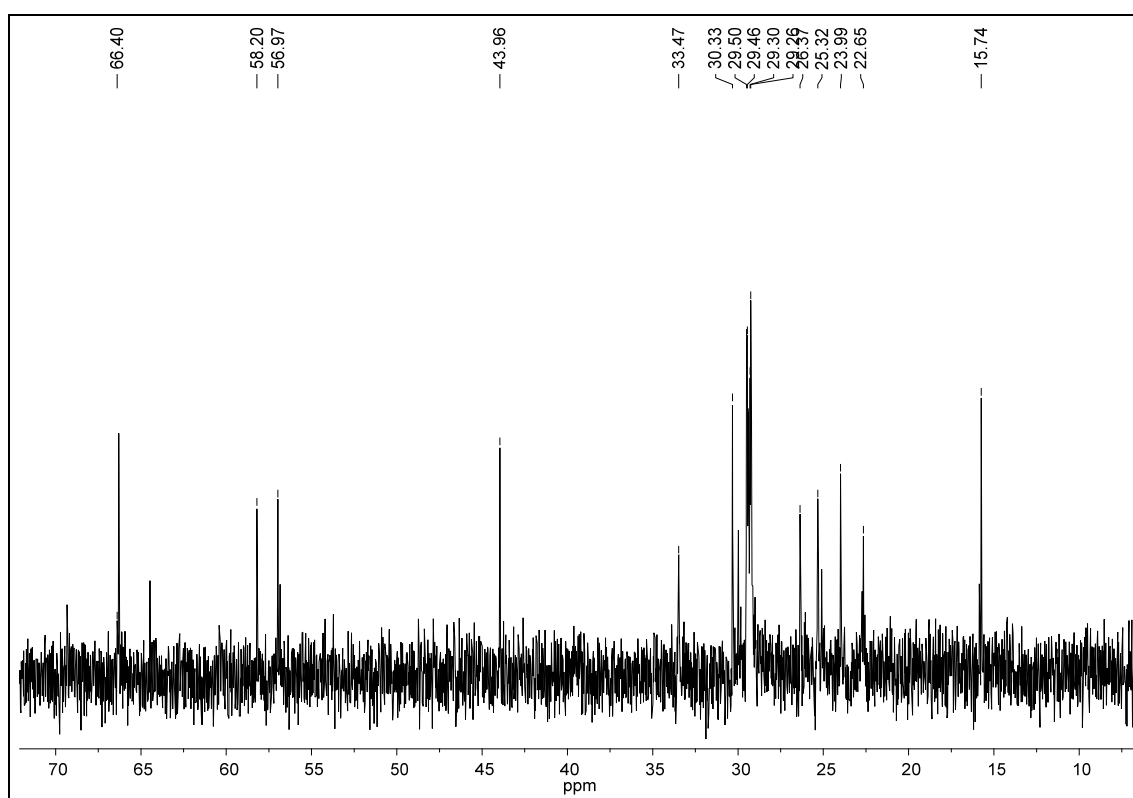
Apêndice Q5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,0) do alcaloide **59**.



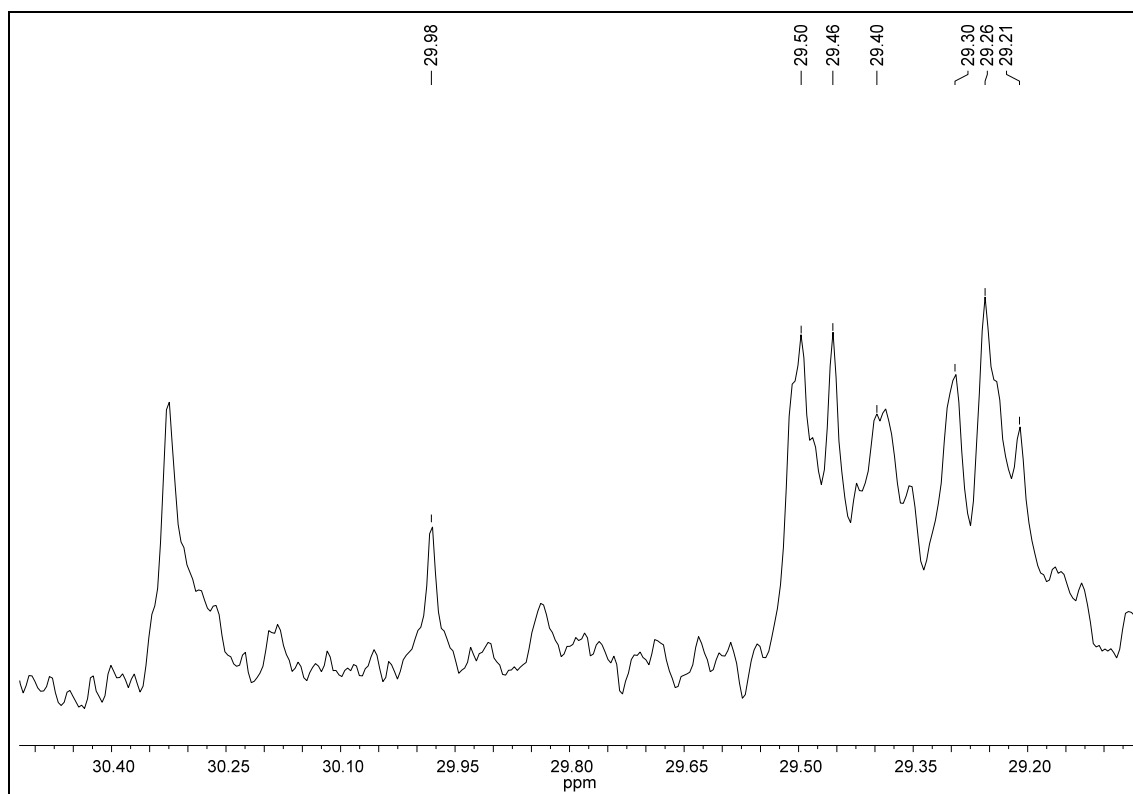
Apêndice Q6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **59** (100 MHz, CDCl₃).



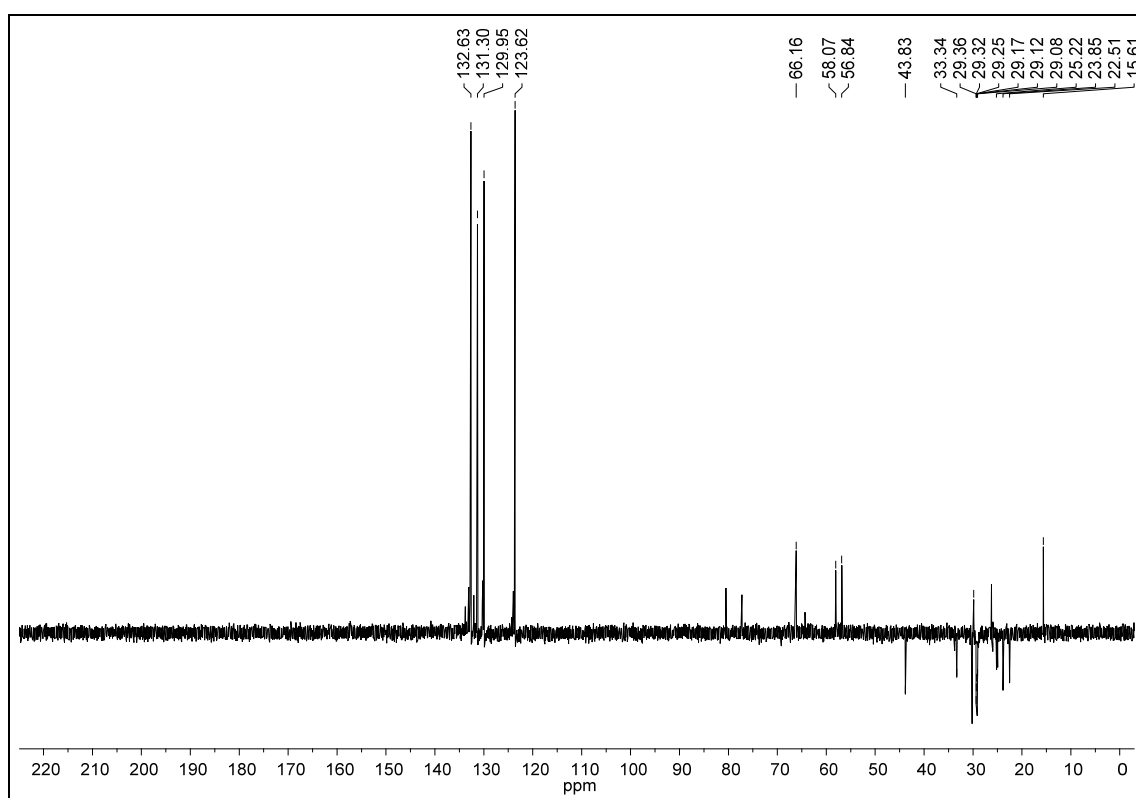
Apêndice Q7. Ampliação do espectro Q6 (δ 14,0–70,0) do derivado **59**.



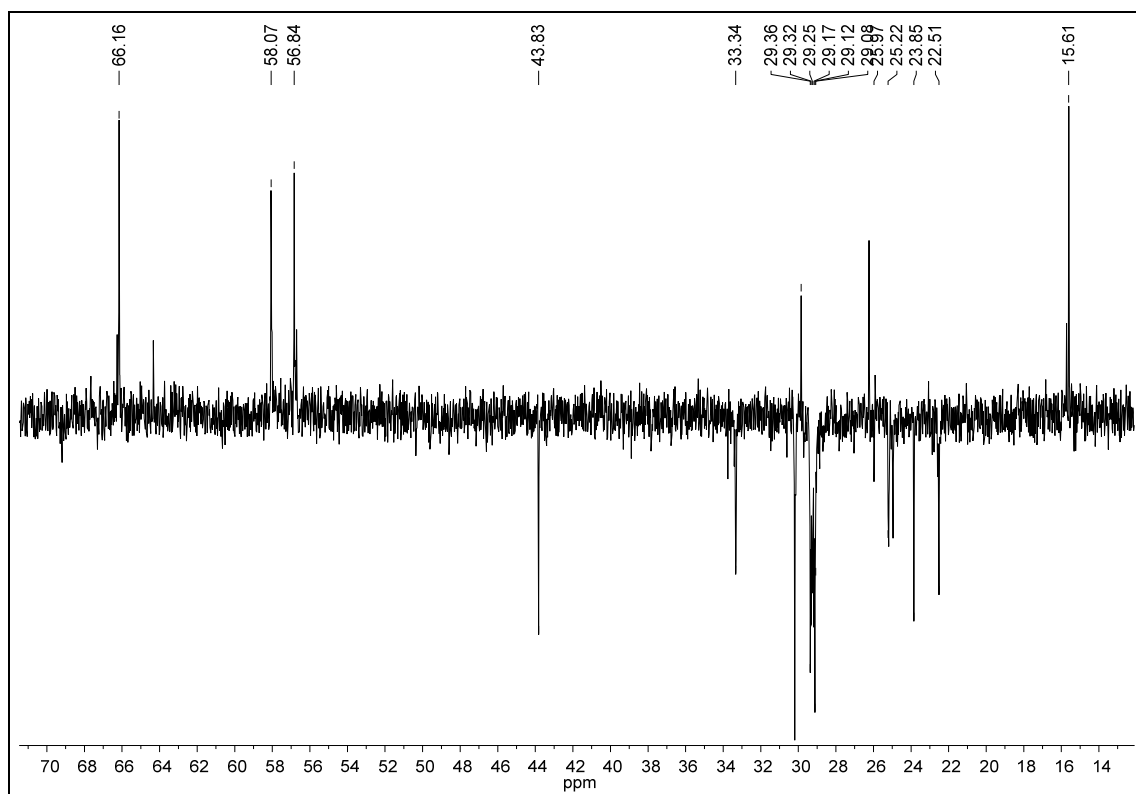
Apêndice Q8. Ampliação do espectro Q7 (δ 29,2–30,4) do derivado **59**.



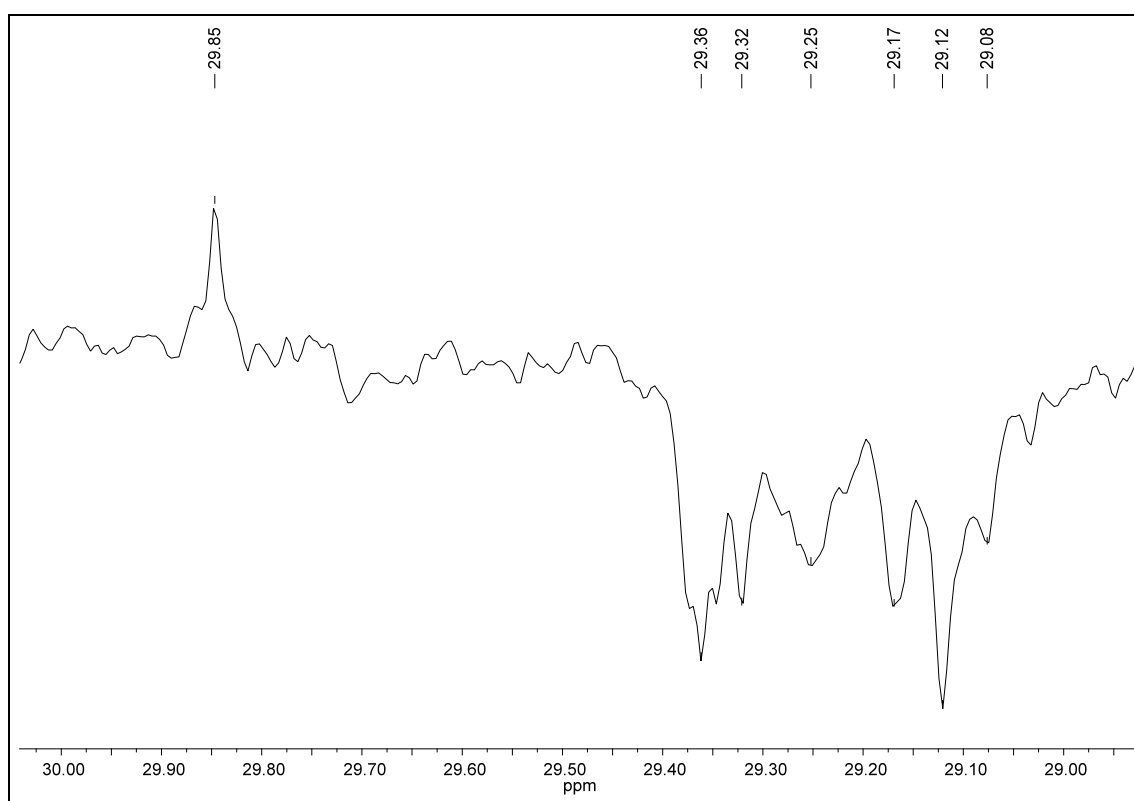
Apêndice Q9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **59**.



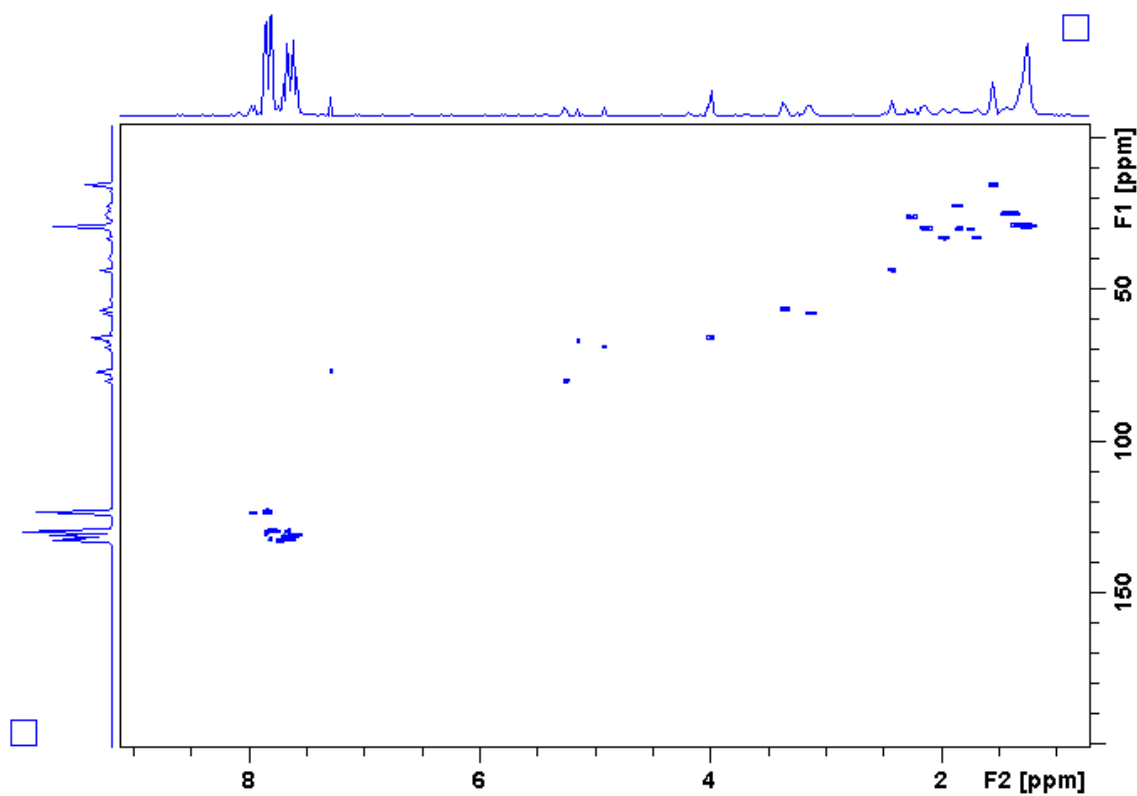
Apêndice Q10. Ampliação do espectro Q9 (δ 15,0–68,0) do derivado **59**.



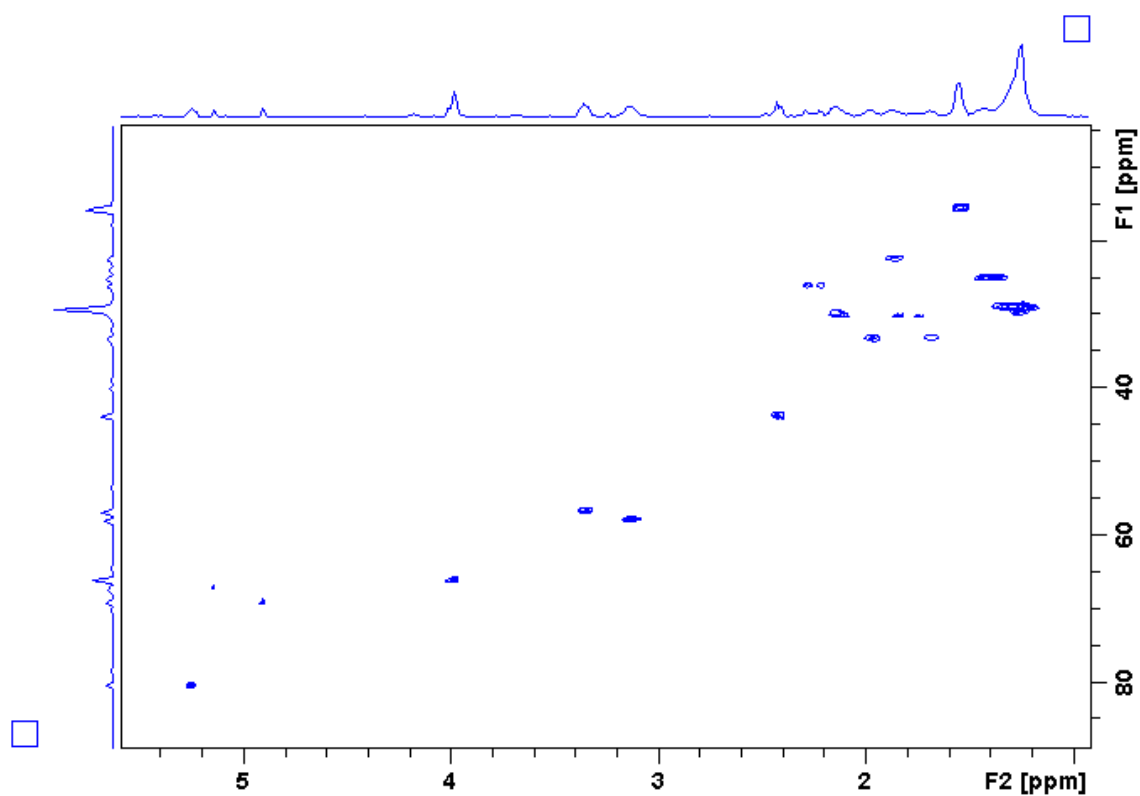
Apêndice Q11. Ampliação do espectro Q10 (δ 29,0–30,0) do derivado **59**.



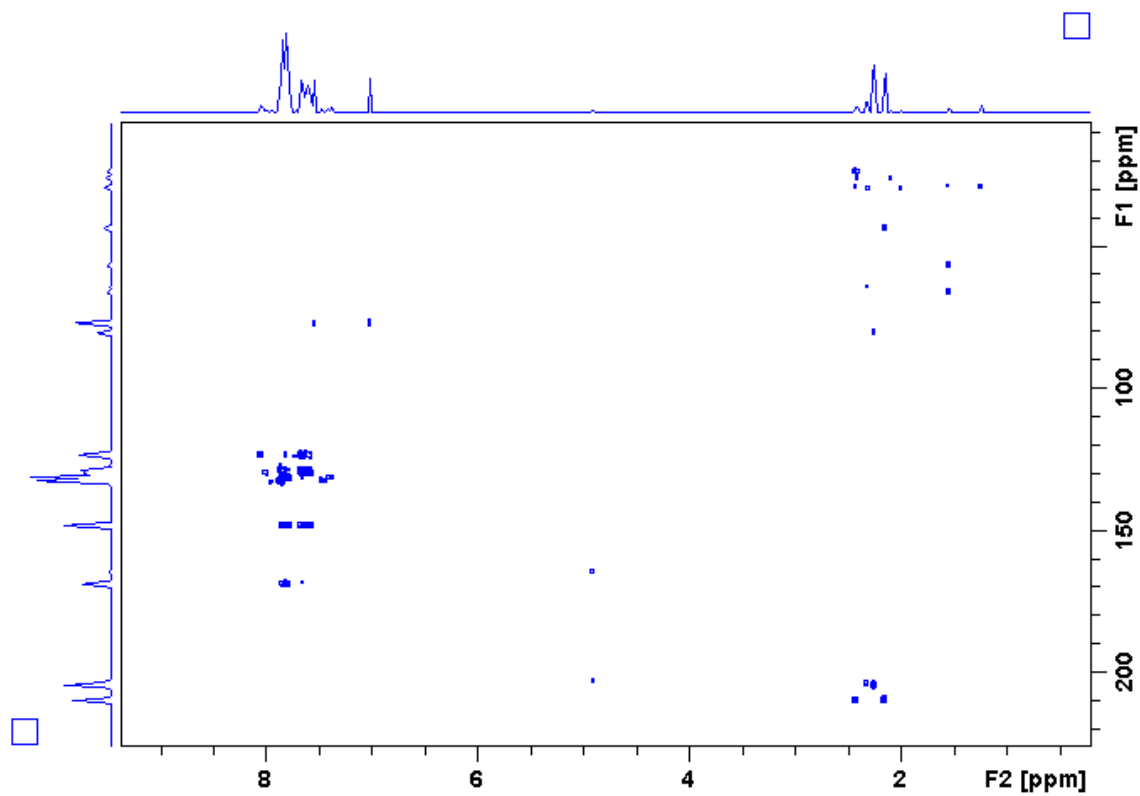
Apêndice Q12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **59**.



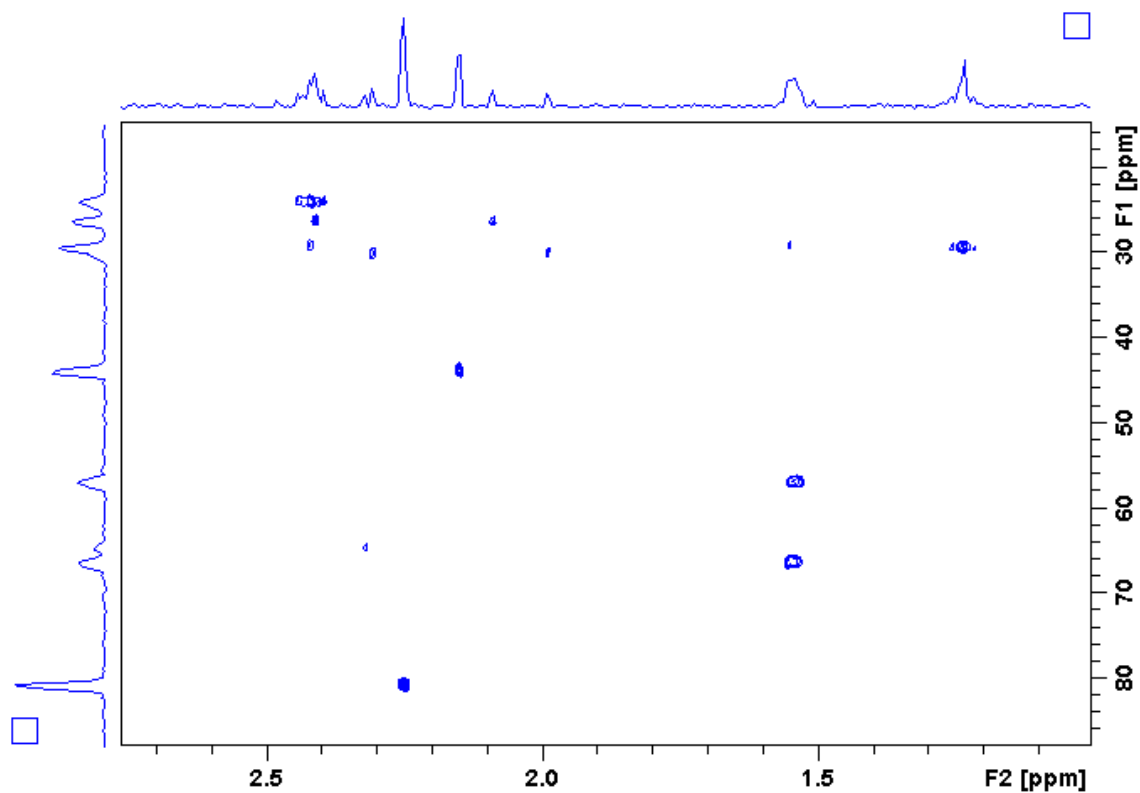
Apêndice Q13. Mapa de contorno HSQC (δ 15,0–70,0) do alcaloide **59**.



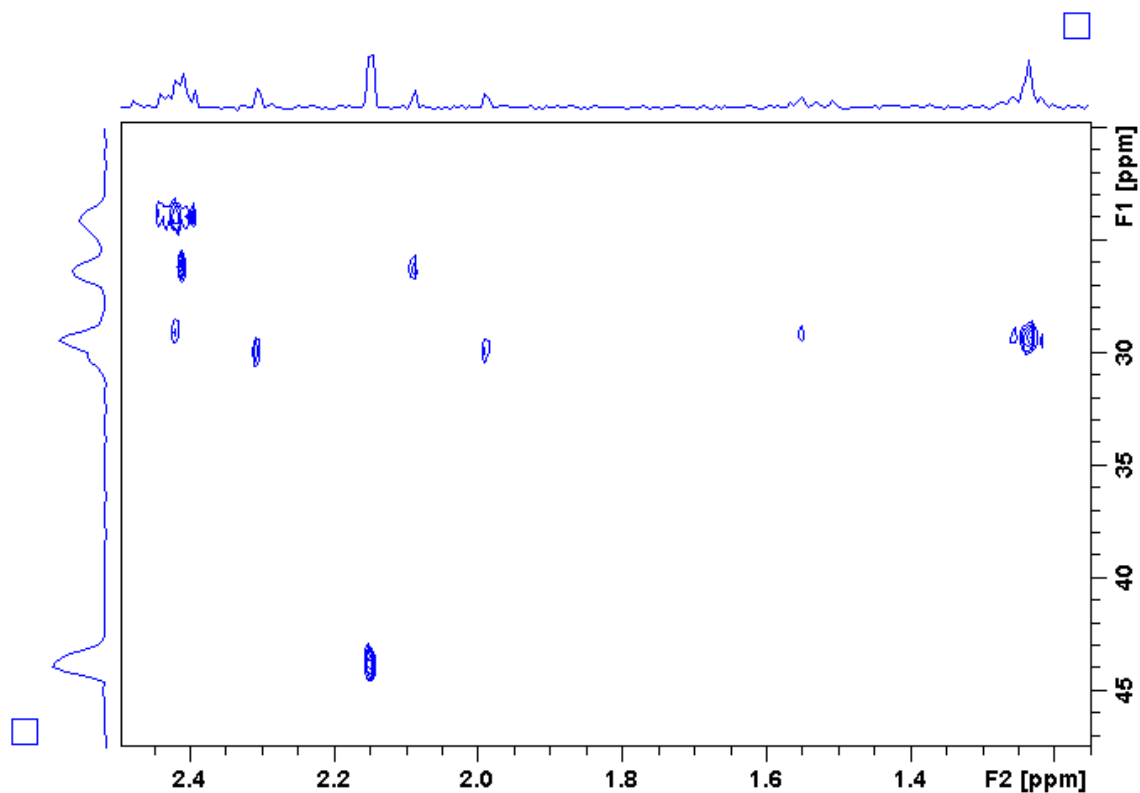
Apêndice Q14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **59**.



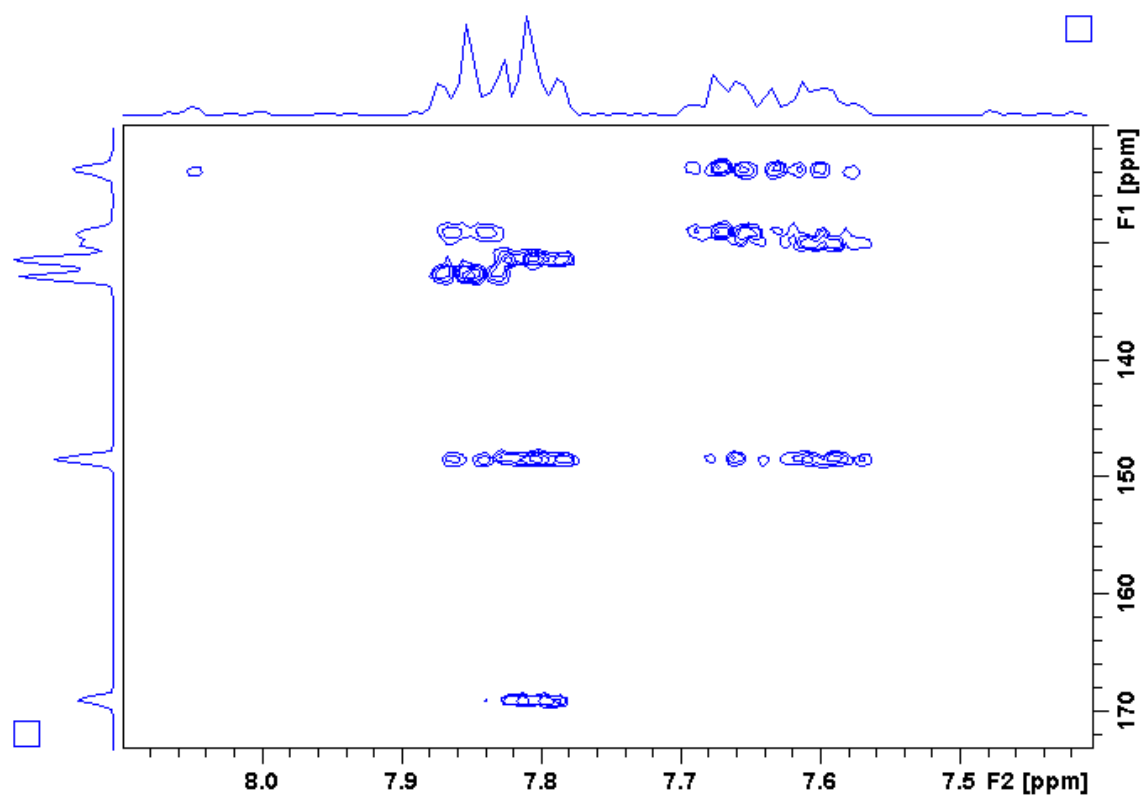
Apêndice Q15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–80,0) do alcaloide **59**.



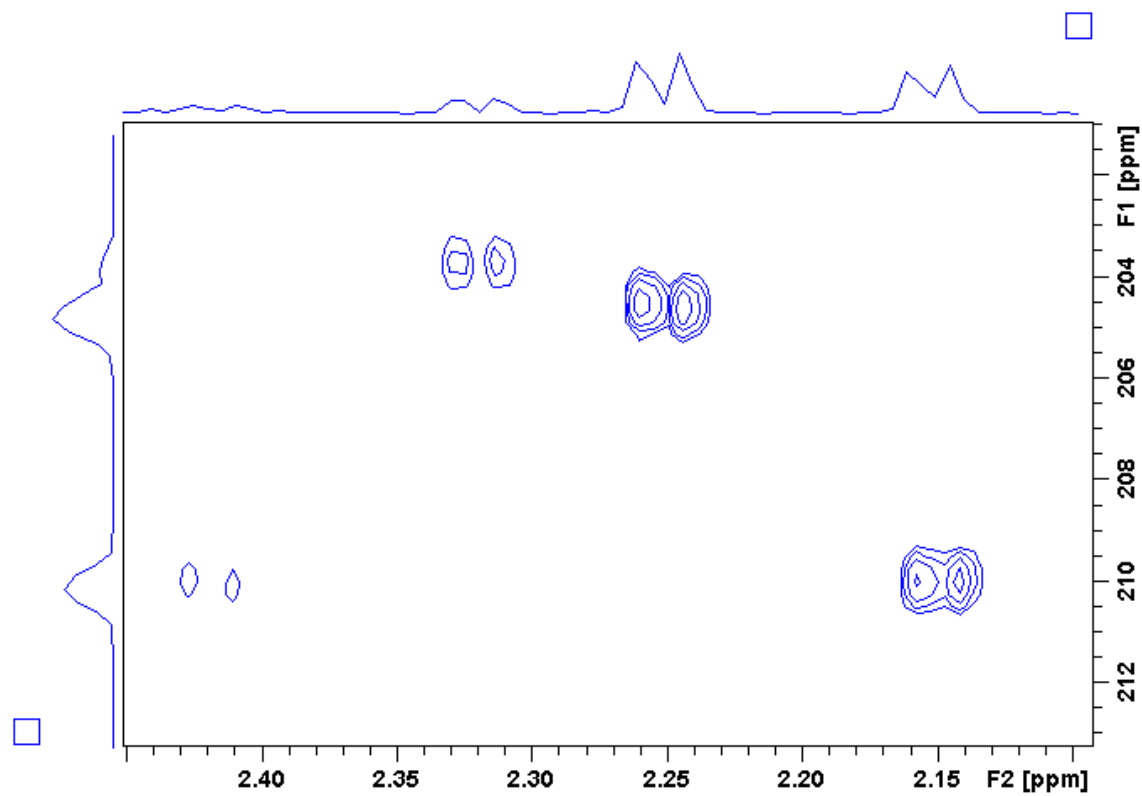
Apêndice Q16. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–45,0) do alcaloide **59**.



Apêndice Q17. Mapa de contorno HMBC (δ 130,0–170,0) do alcaloide **59**.

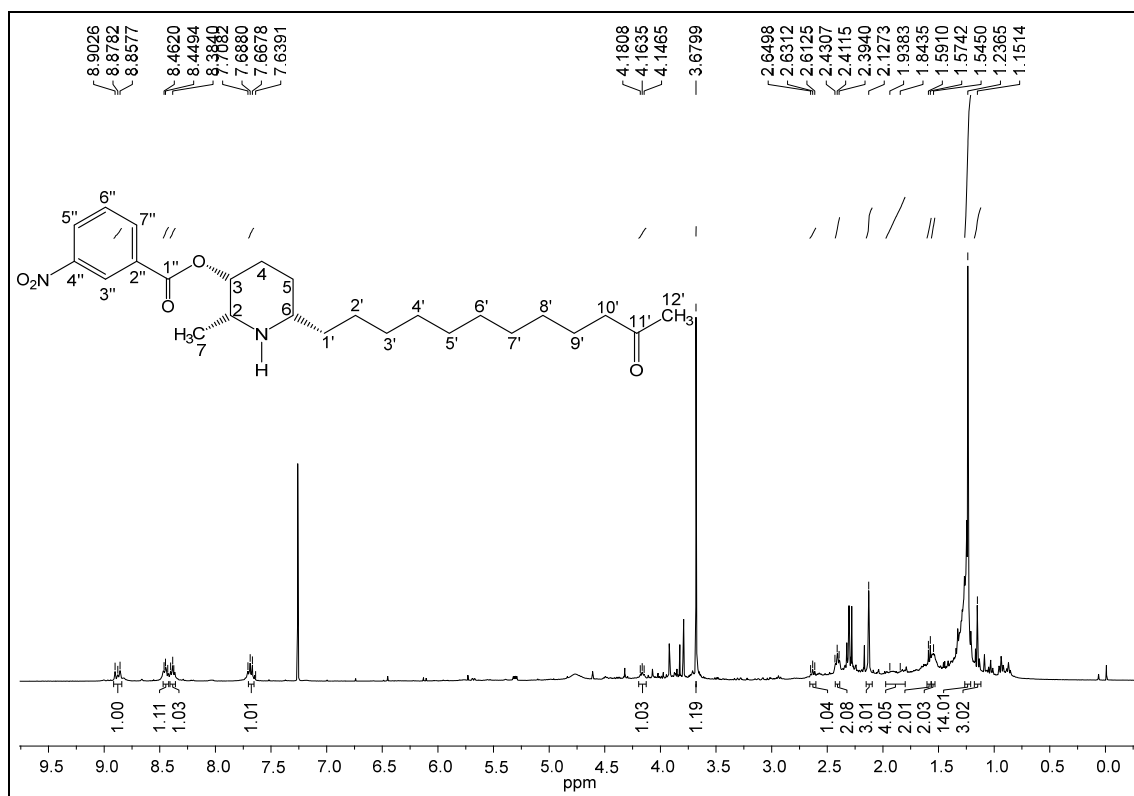


Apêndice Q18. Mapa de contorno HMBC (δ 202,0–212,0) do alcaloide **59**.

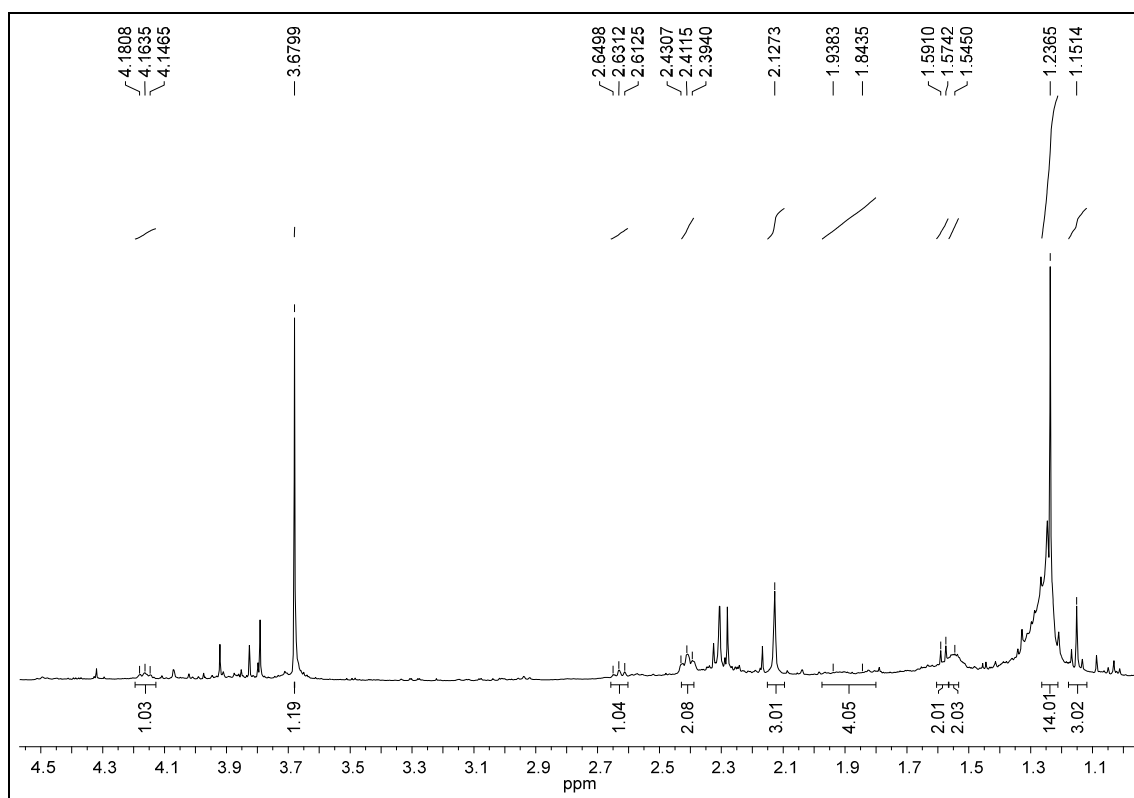


APÊNDICE R

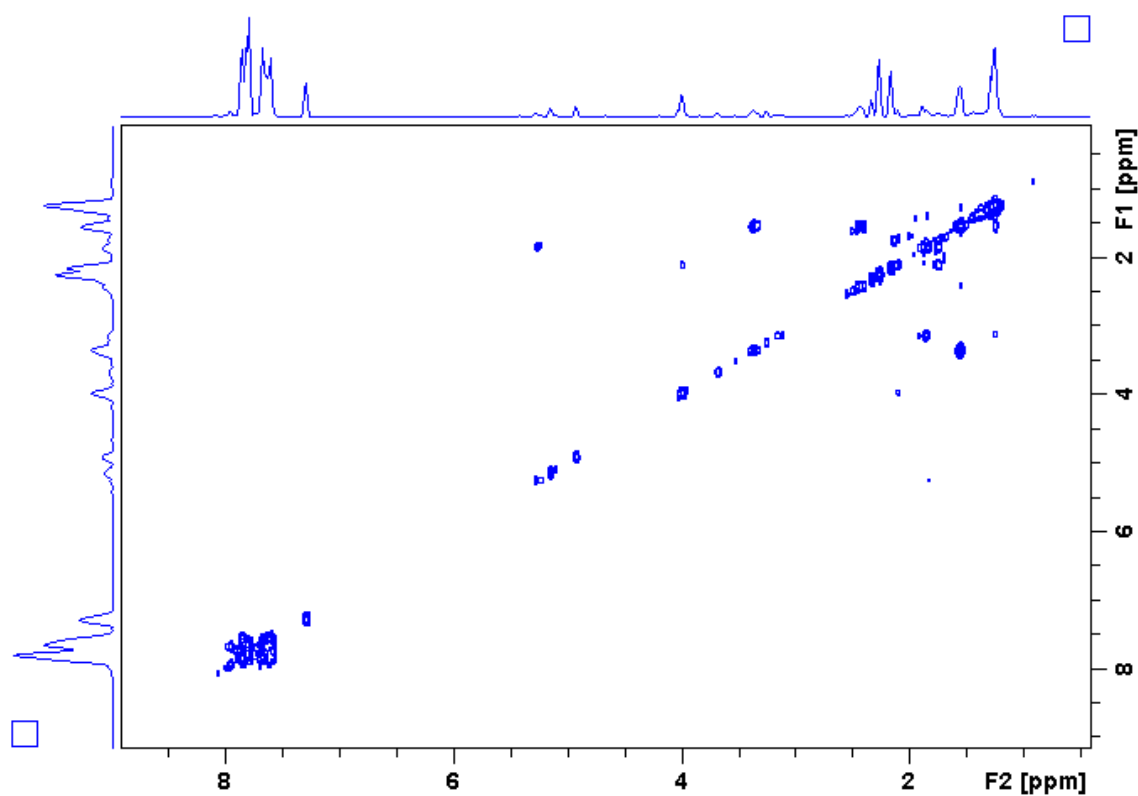
Apêndice R1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **60** (400 MHz, CDCl_3).



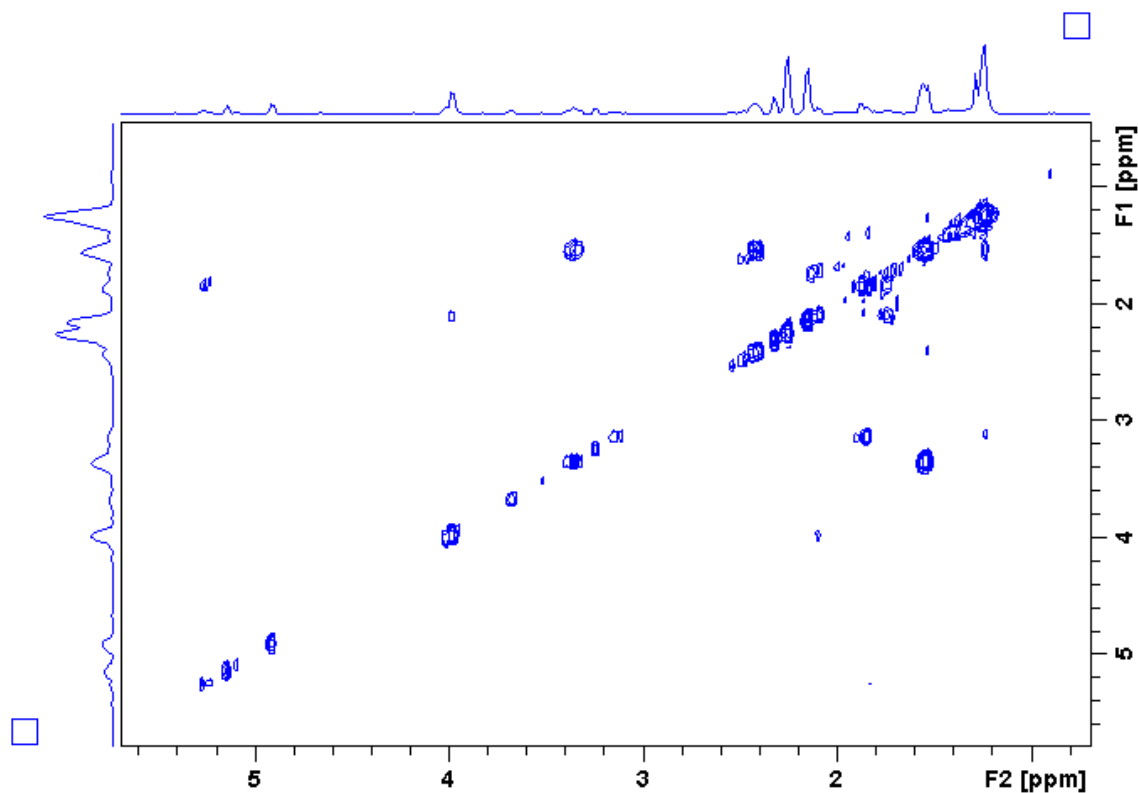
Apêndice R2. Ampliação do espectro R1 (δ 1,1–4,5) do derivado **60**.



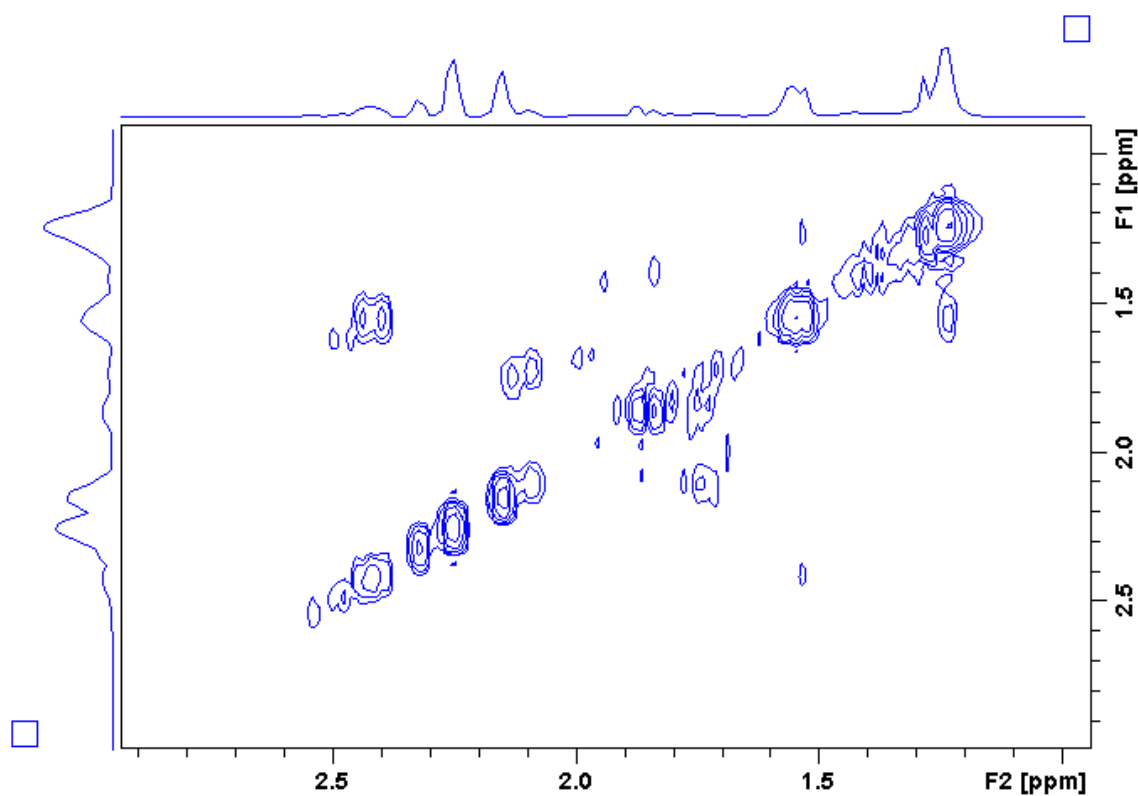
Apêndice R3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **60**.



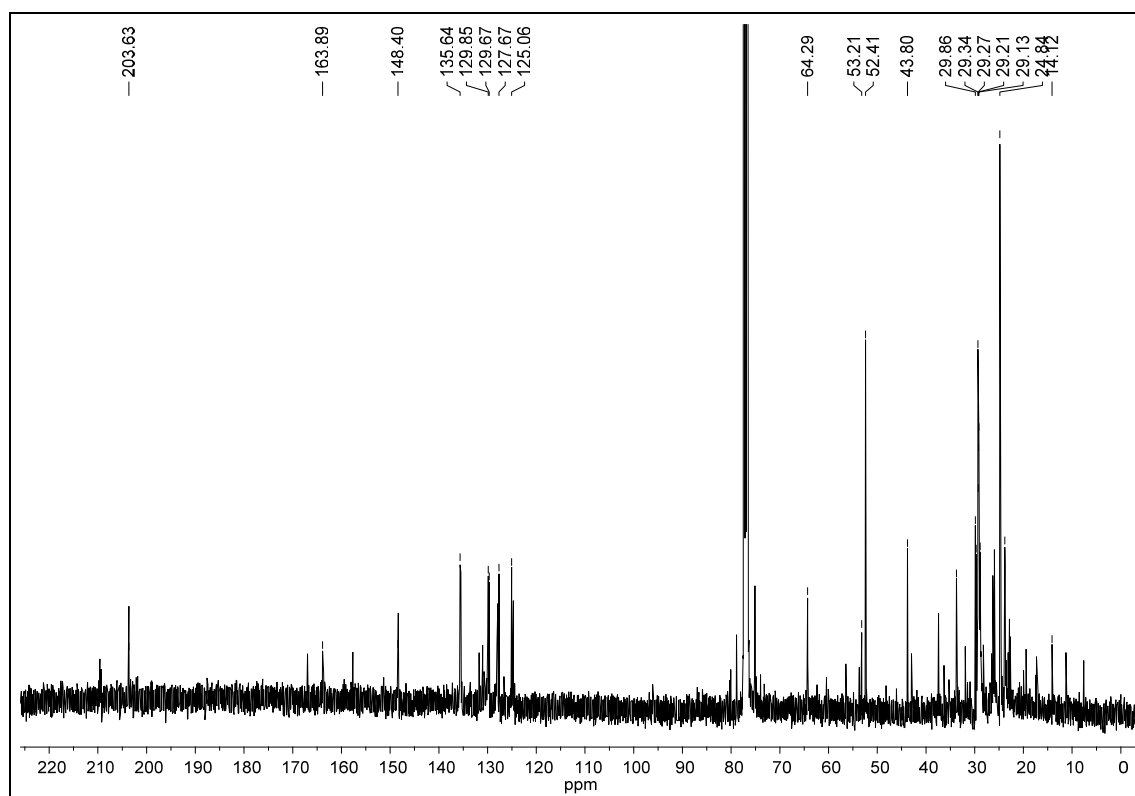
Apêndice R4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–5,0) do alcaloide **60**.



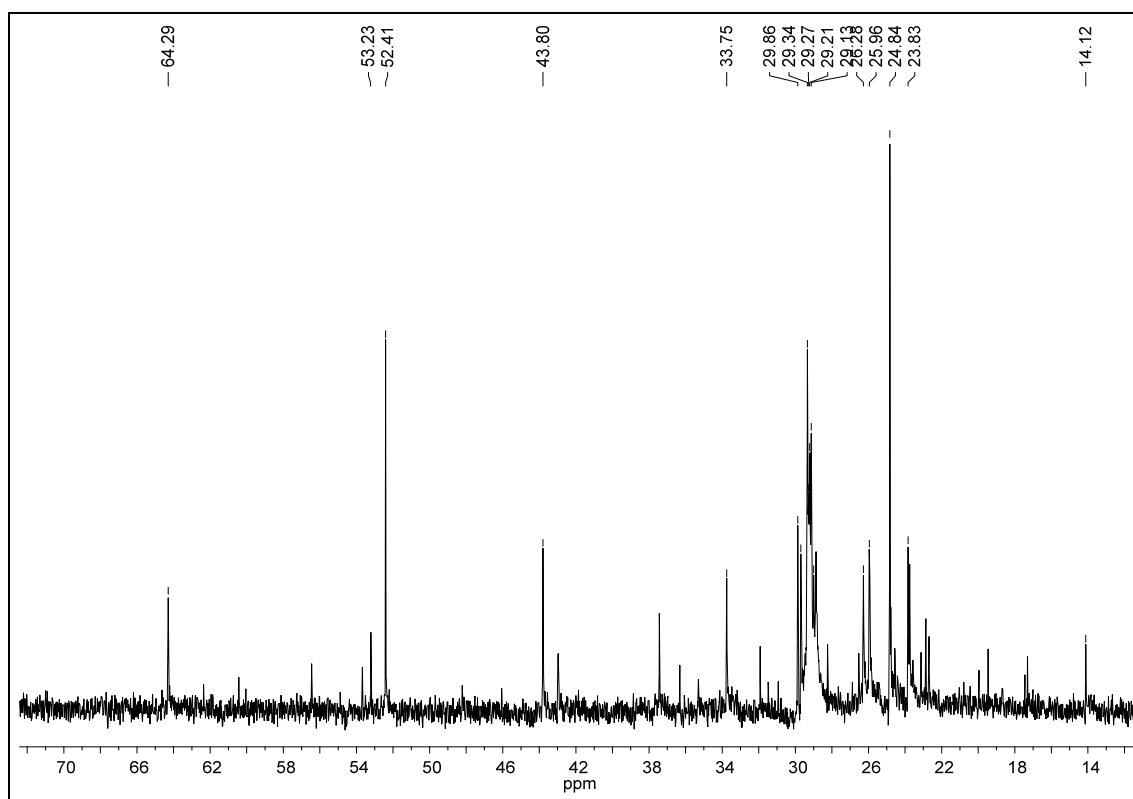
Apêndice R5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **60**.



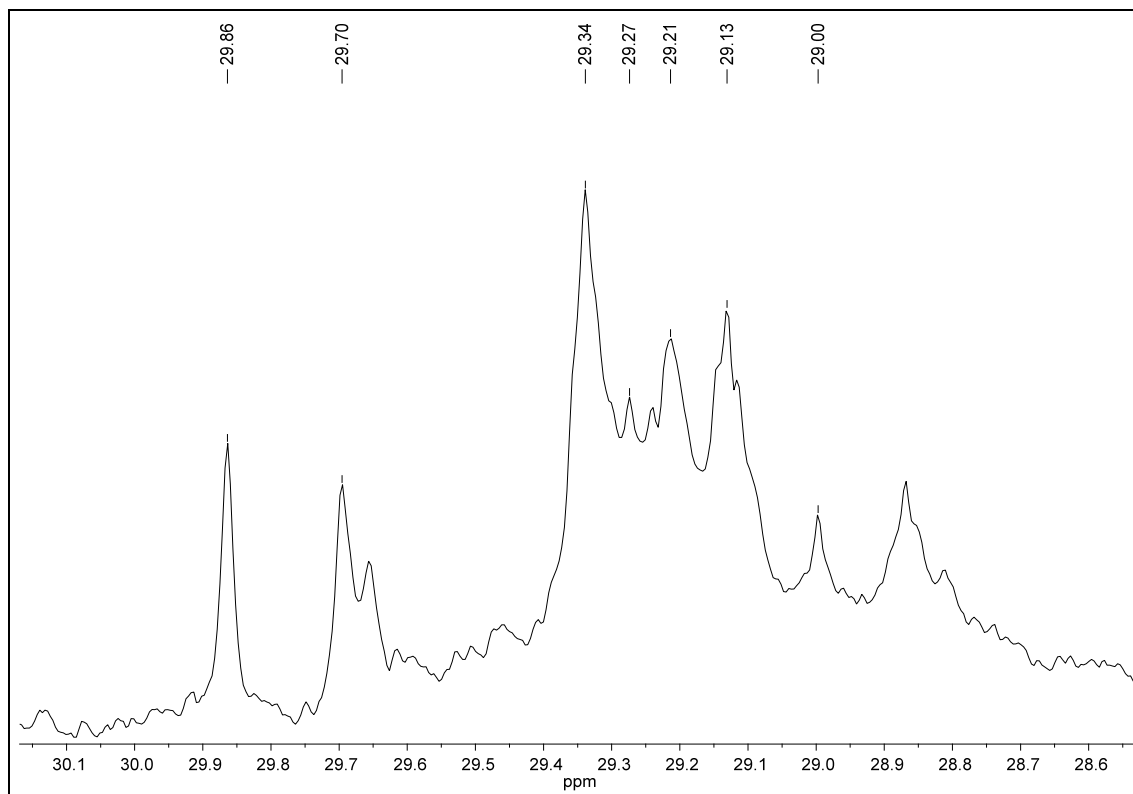
Apêndice R6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **60** (100 MHz, CDCl₃).



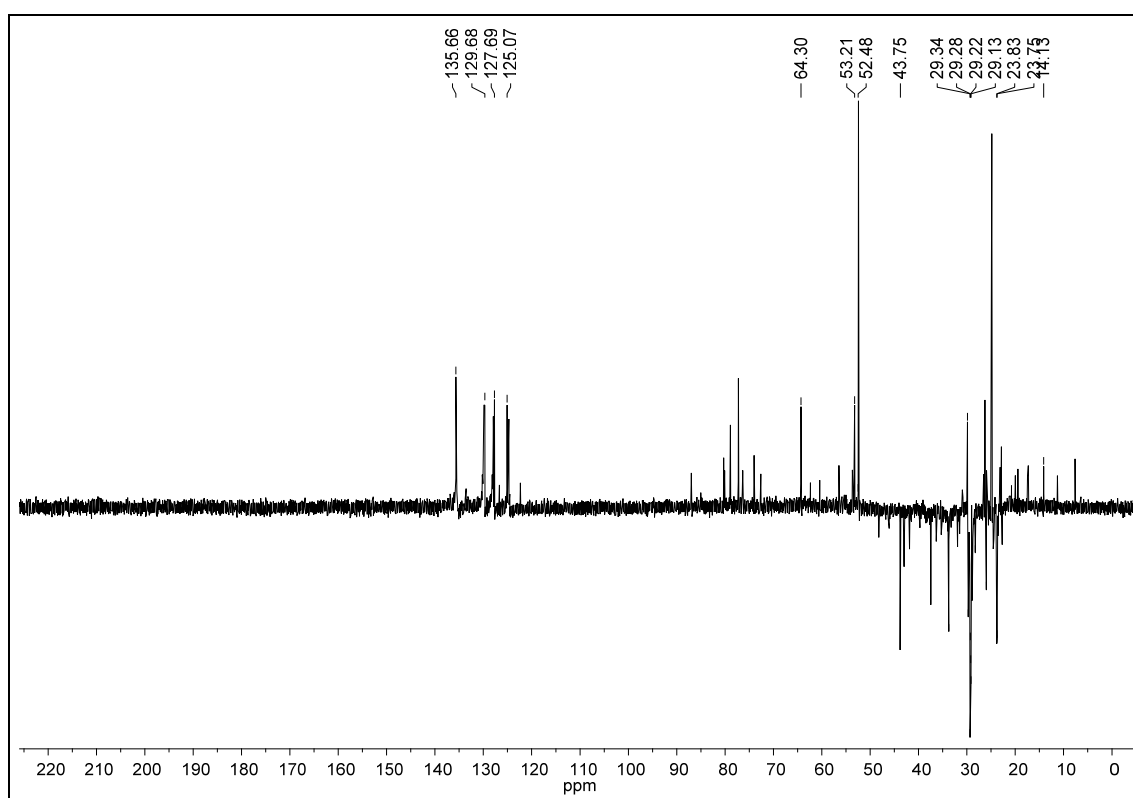
Apêndice R7. Ampliação do espectro R6 (δ 10,0–70,0) do derivado **60**.



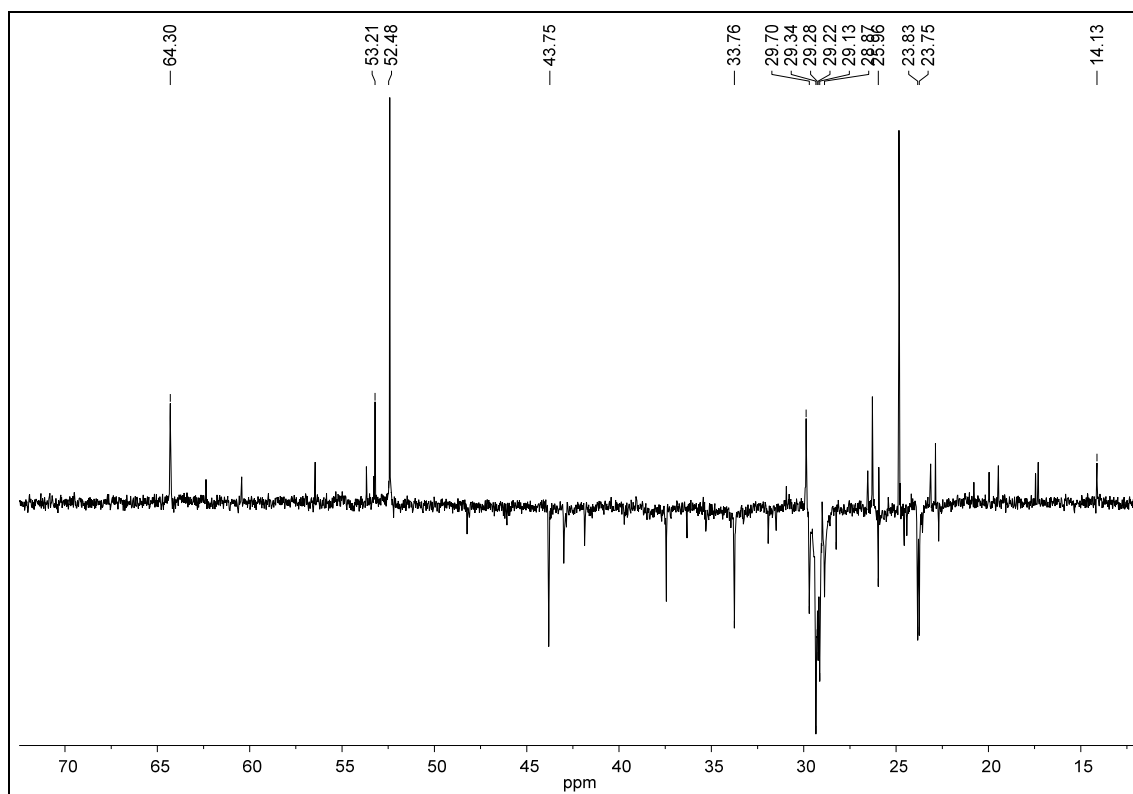
Apêndice R8. Ampliação do espectro R7 (δ 28,6–30,1) do derivado **60**.



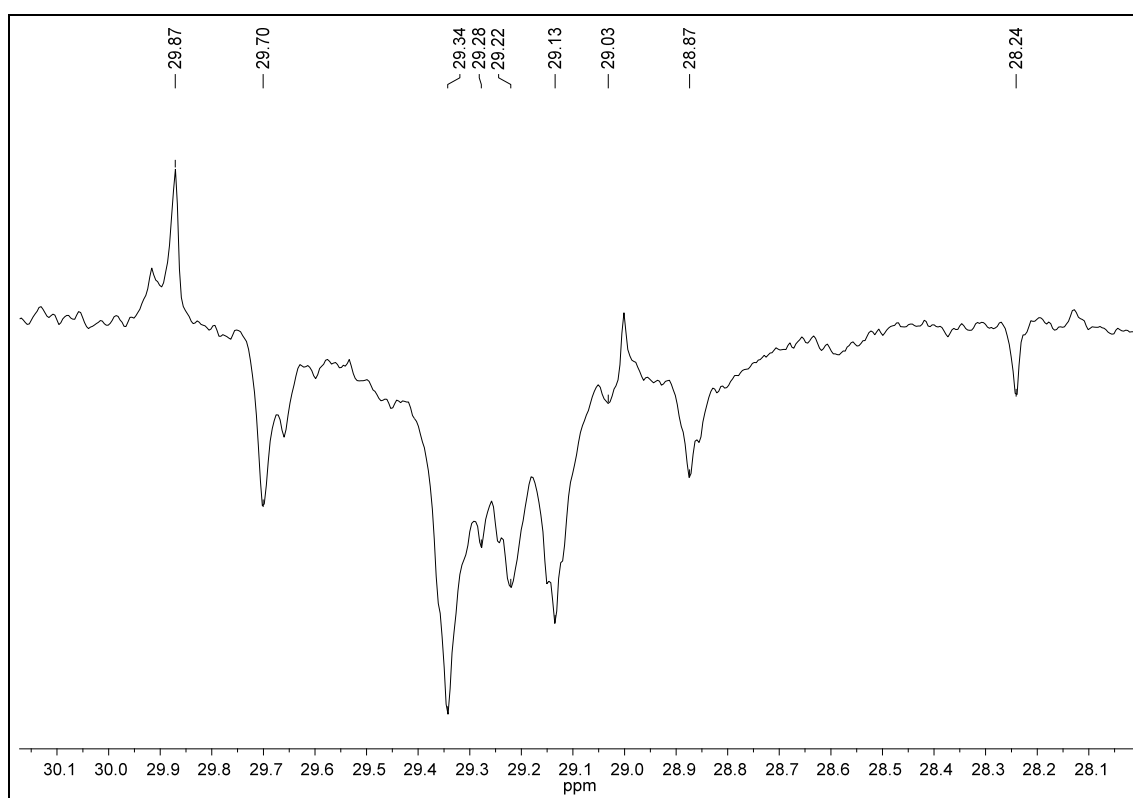
Apêndice R9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **60**.



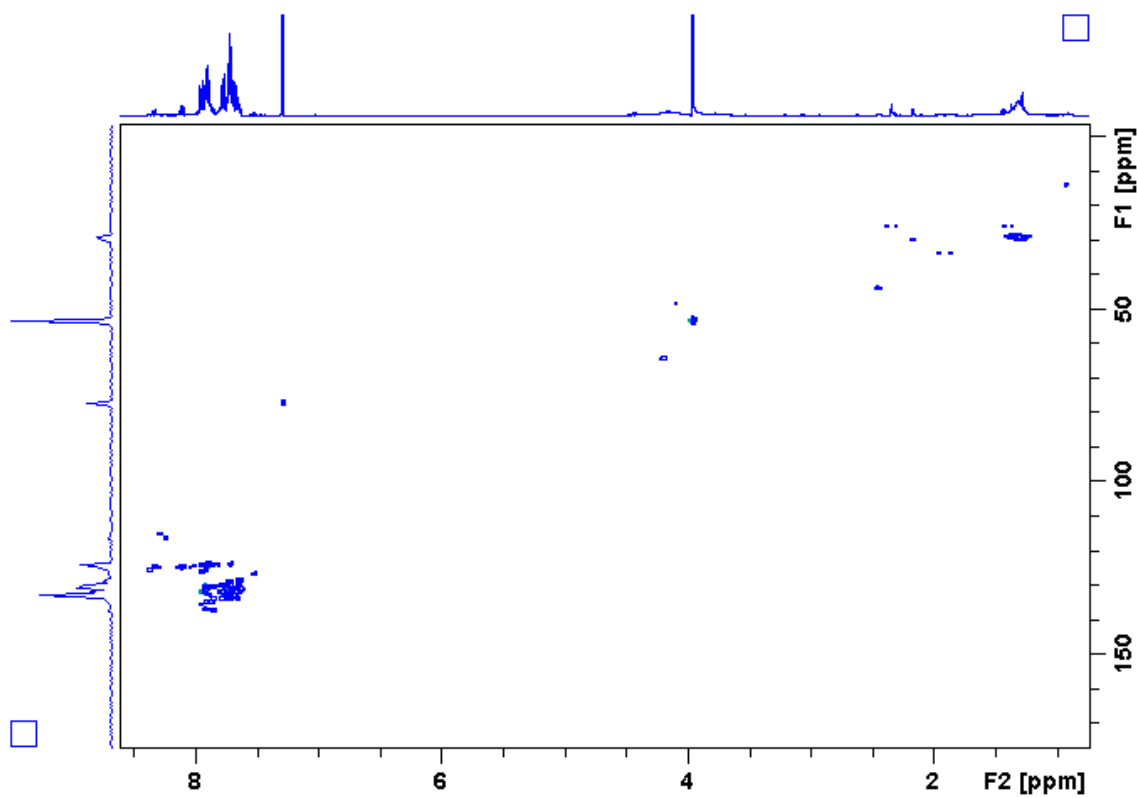
Apêndice R10. Ampliação do espectro R9 (δ 15,0–70,0) do derivado **60**.



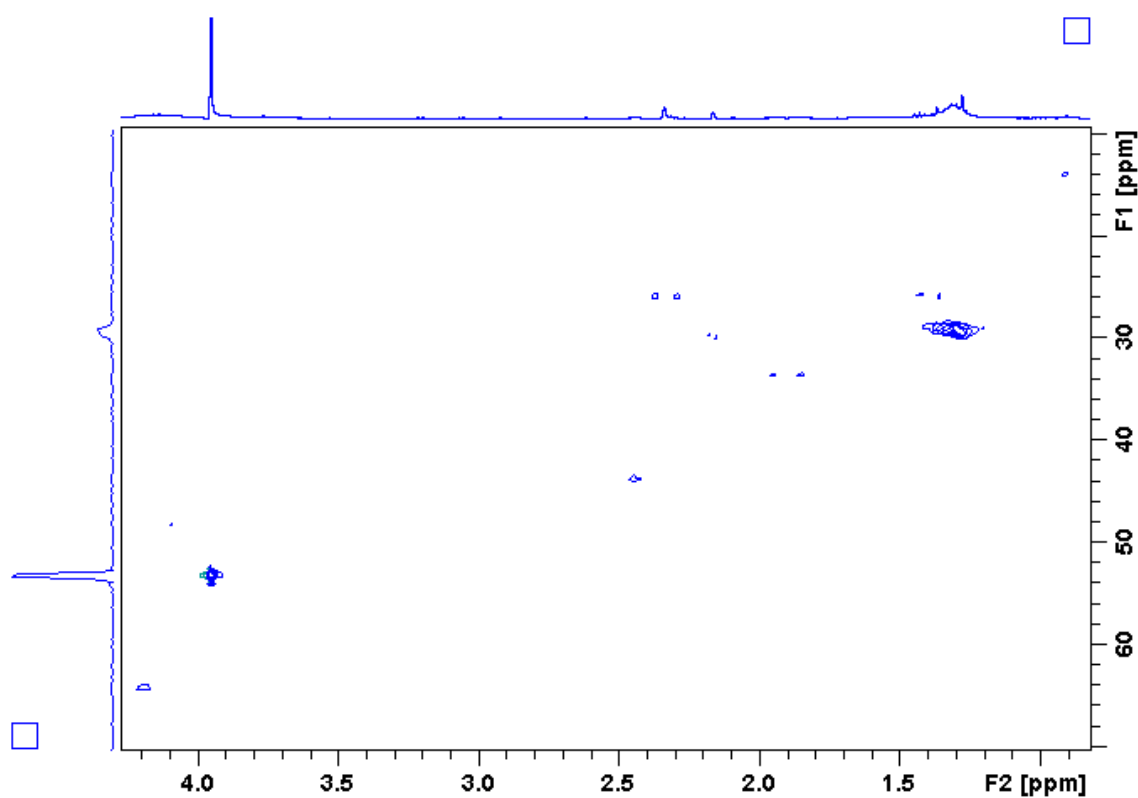
Apêndice R11. Ampliação do espectro R10 (δ 28,1–30,1) do derivado **60**.



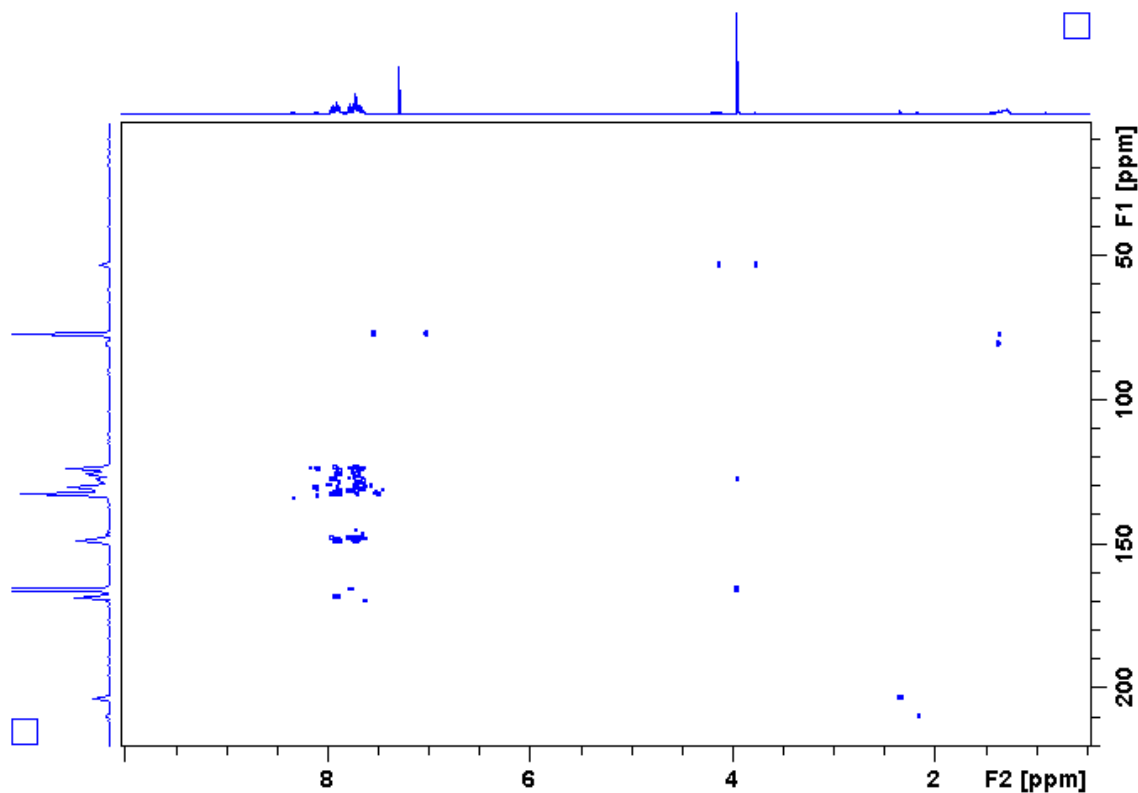
Apêndice R12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃) do alcaloide **60**.



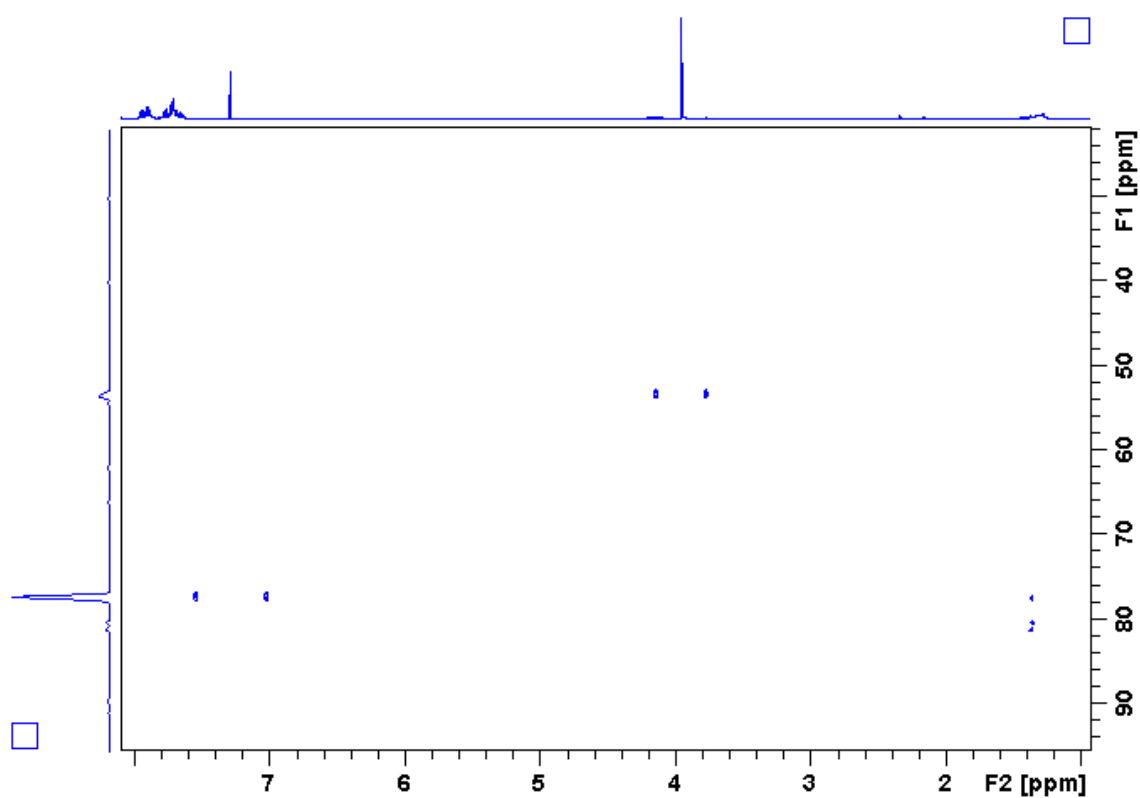
Apêndice R13. Mapa de contorno HSQC (δ 10,0–70,0) do alcaloide **60**.



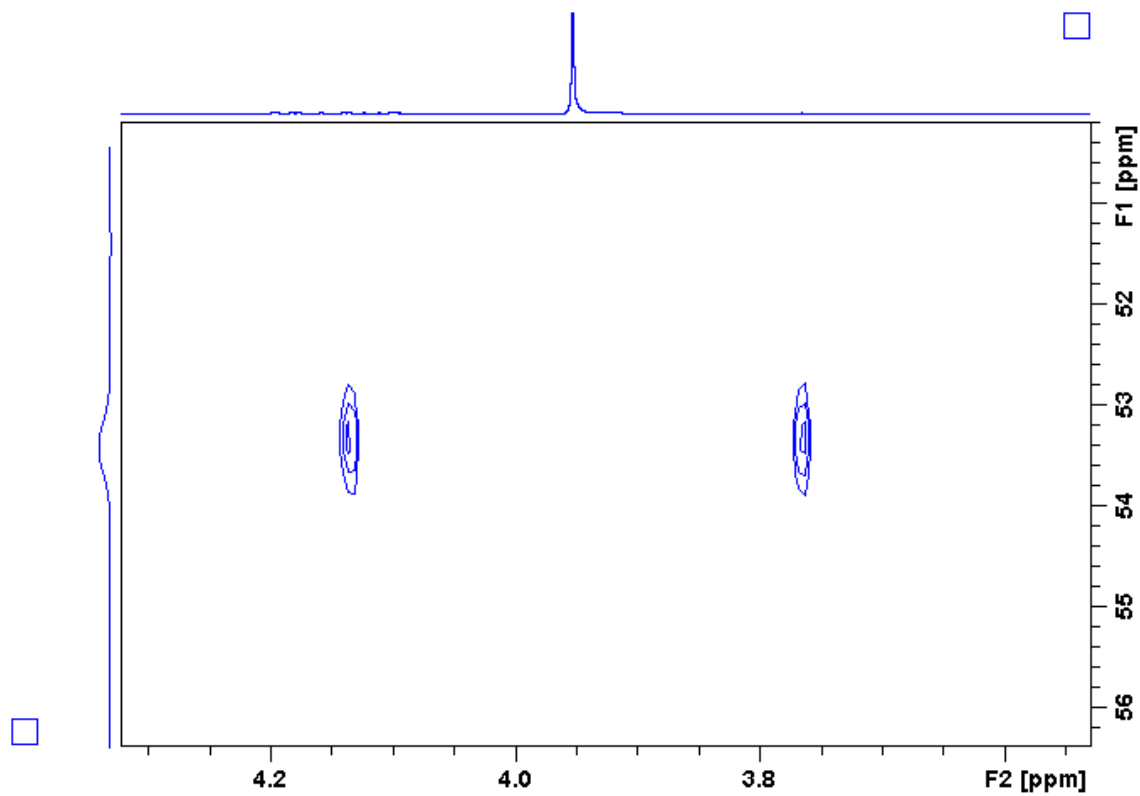
Apêndice R14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **60**.



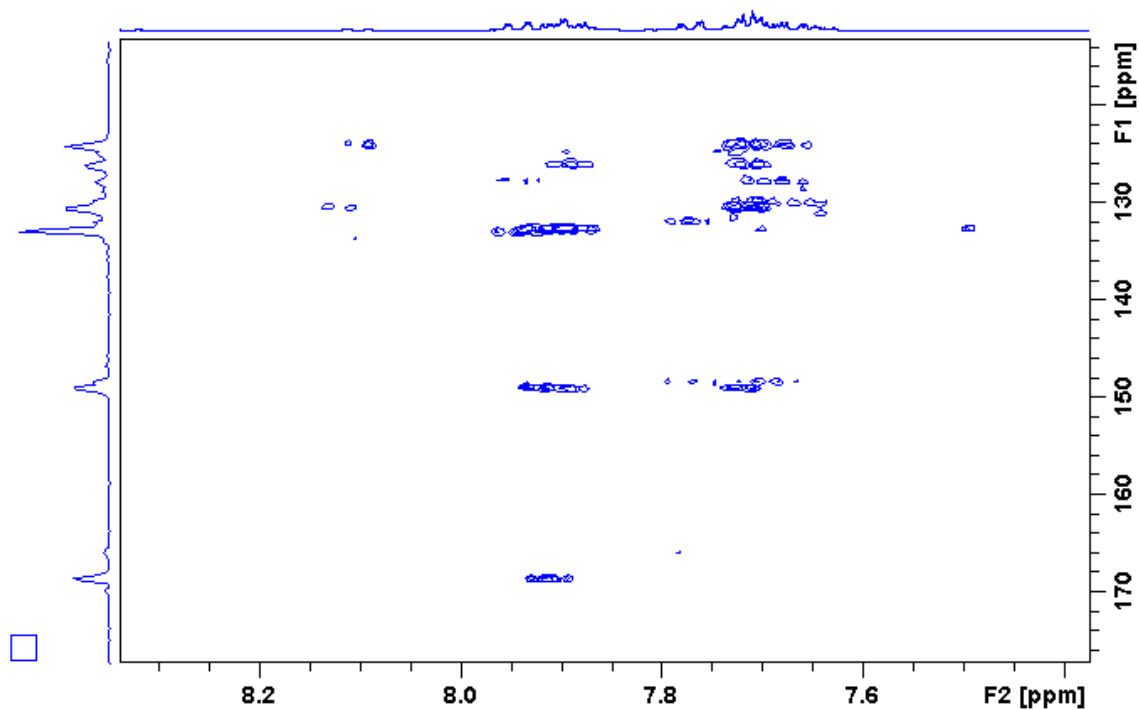
Apêndice R15. Mapa de contorno HMBC (δ 30,0–90,0) do alcaloide **60**.



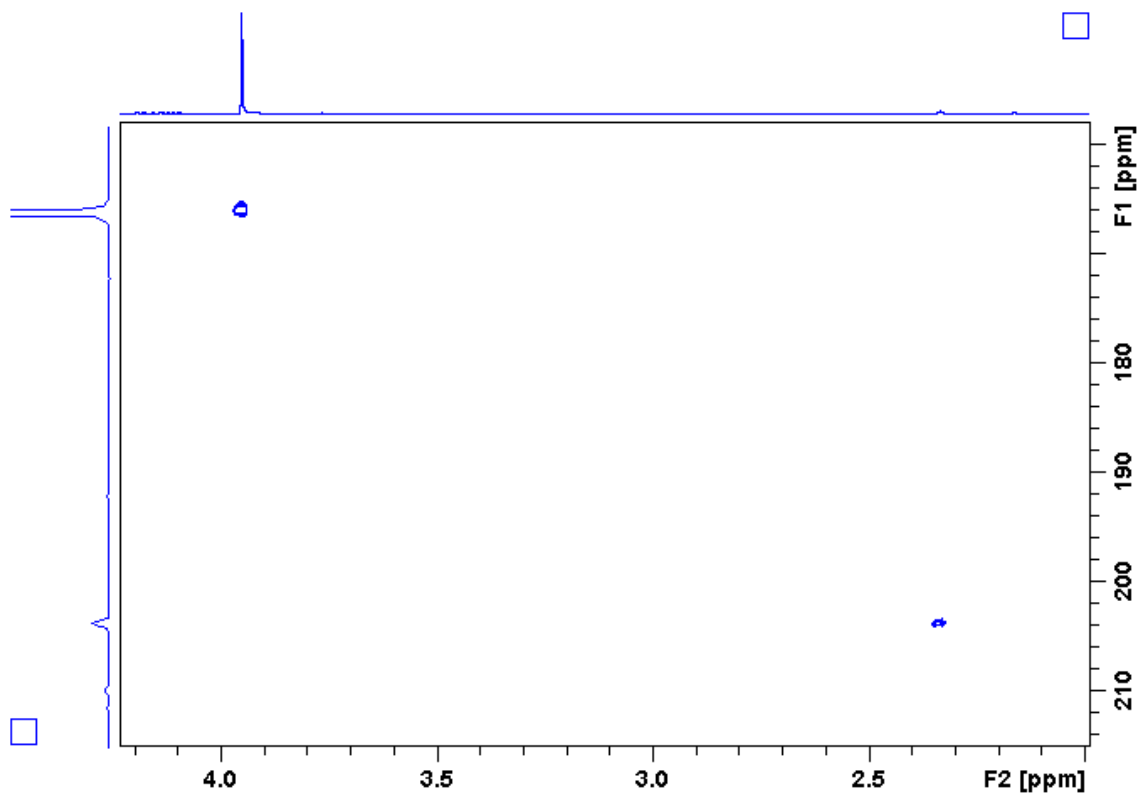
Apêndice R16. Mapa de contorno HMBC (δ 51,0–56,0) do alcaloide **60**.



Apêndice R17. Mapa de contorno HMBC (δ 120,0–170,0) do alcaloide **60**.

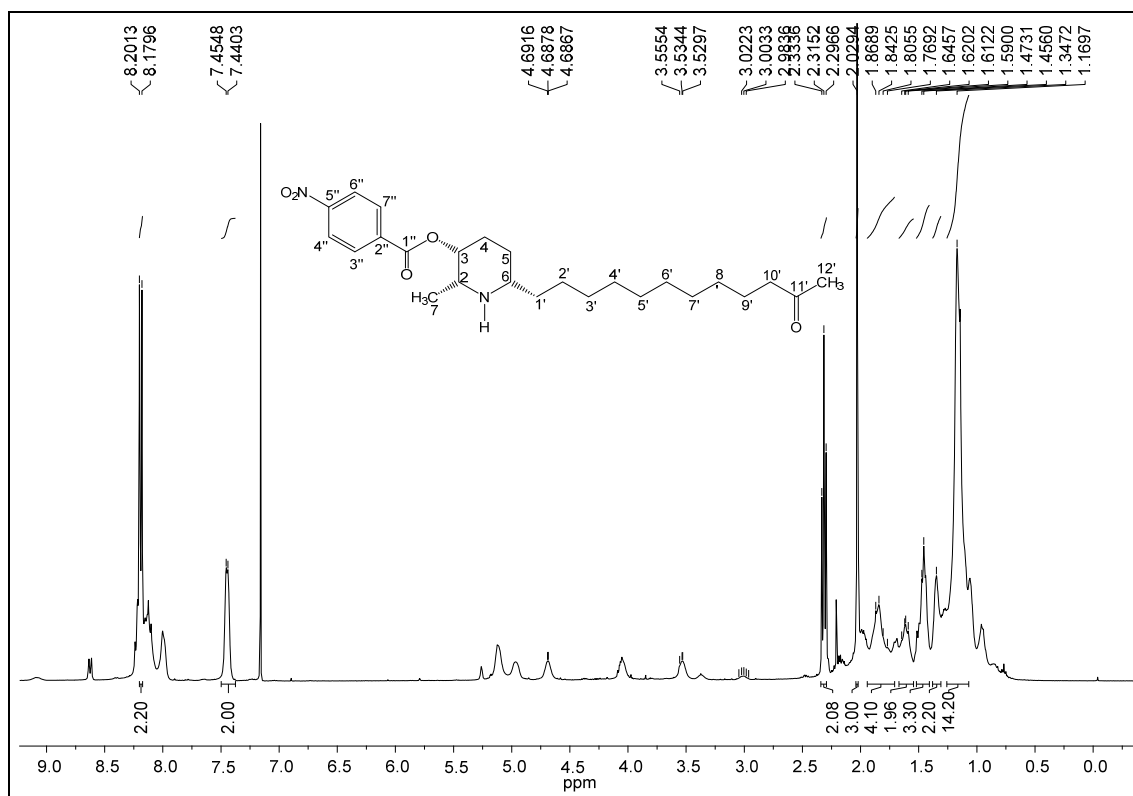


Apêndice R18. Mapa de contorno HMBC (δ 160,0–212,0) do alcaloide **60**.

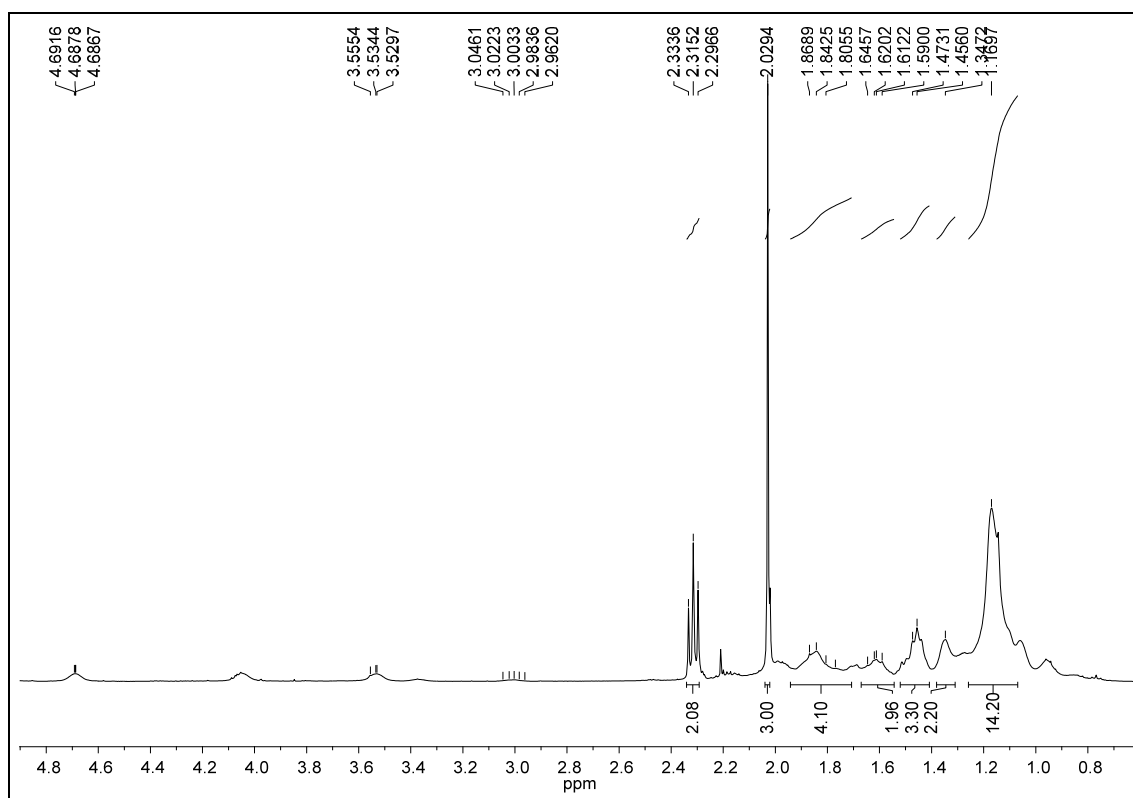


APÊNDICE S

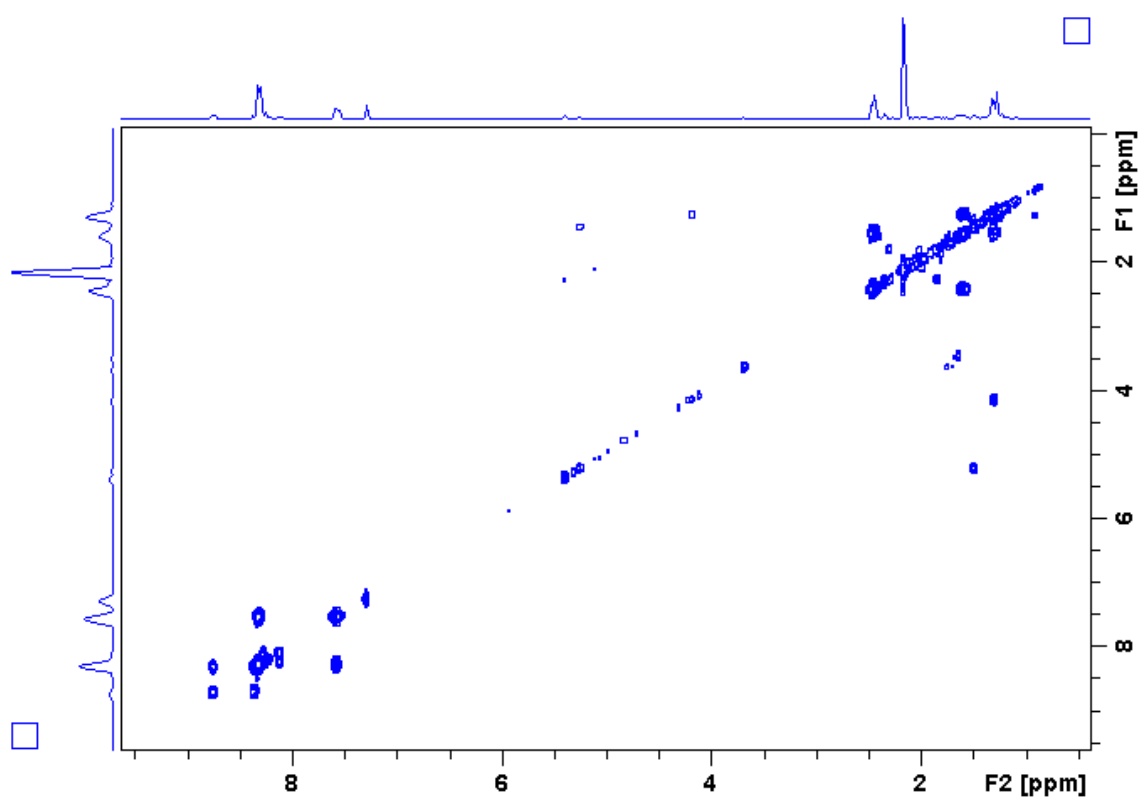
Apêndice S1. Espectro de RMN de ^1H do derivado **61** (400 MHz, CDCl_3).



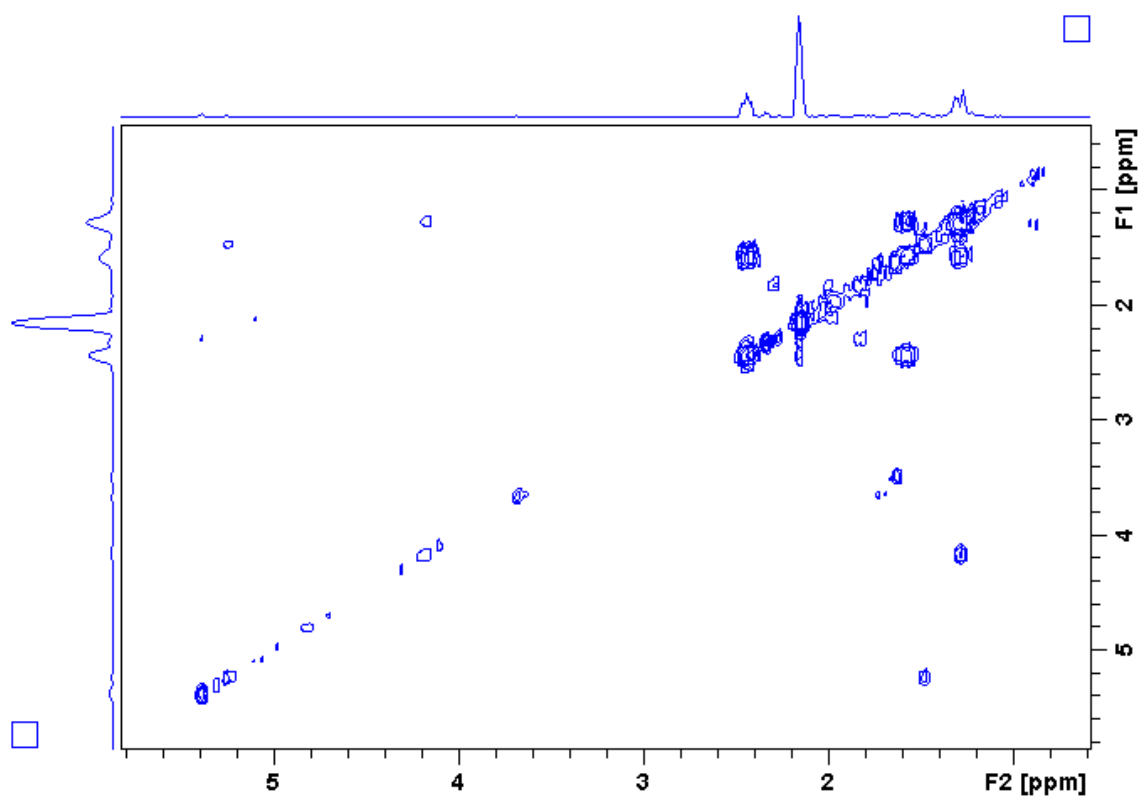
Apêndice S2. Ampliação do espectro S1 (δ 0,8–4,8) do derivado **61**.



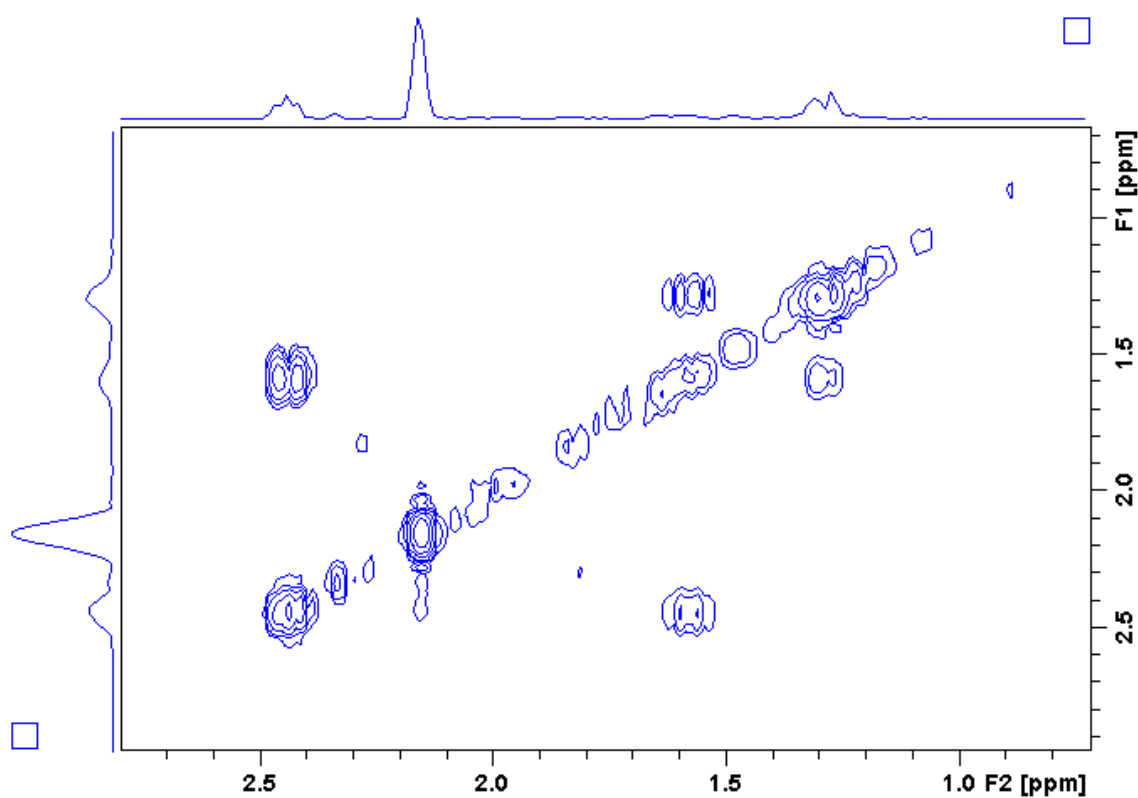
Apêndice S3. Mapa de contorno COSY do alcaloide **61**.



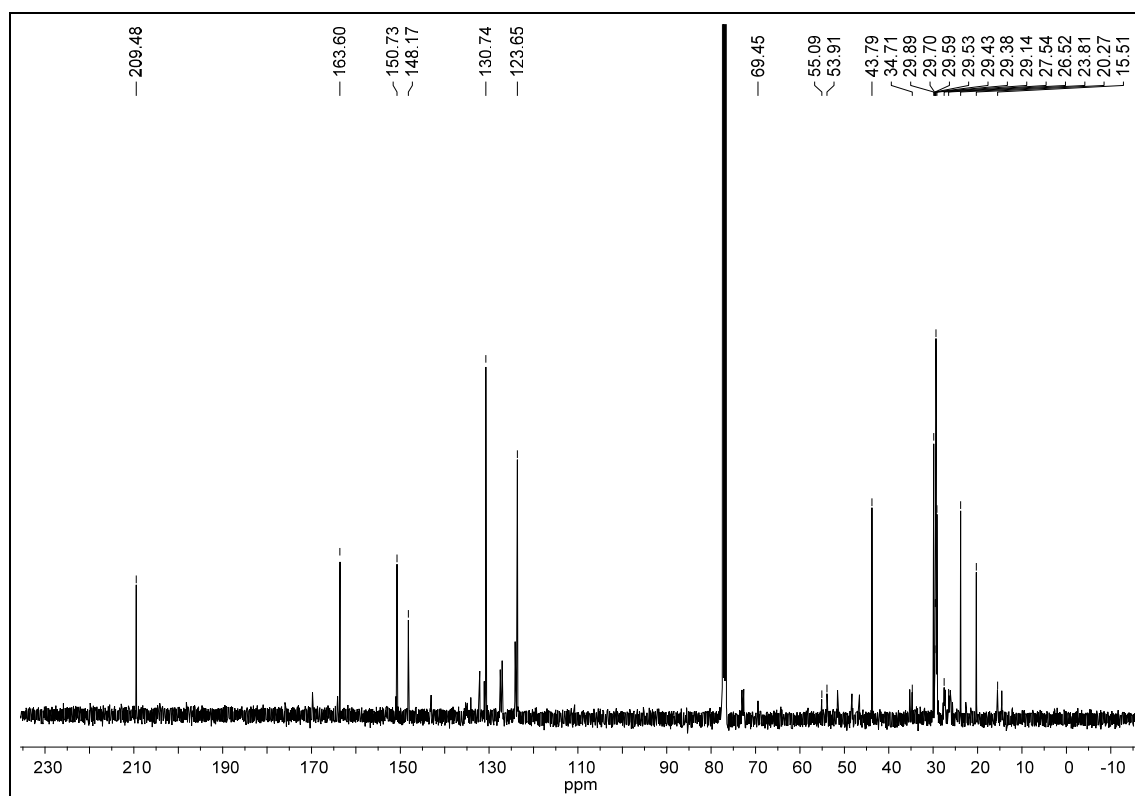
Apêndice S4. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–6,0) do alcaloide **61**.



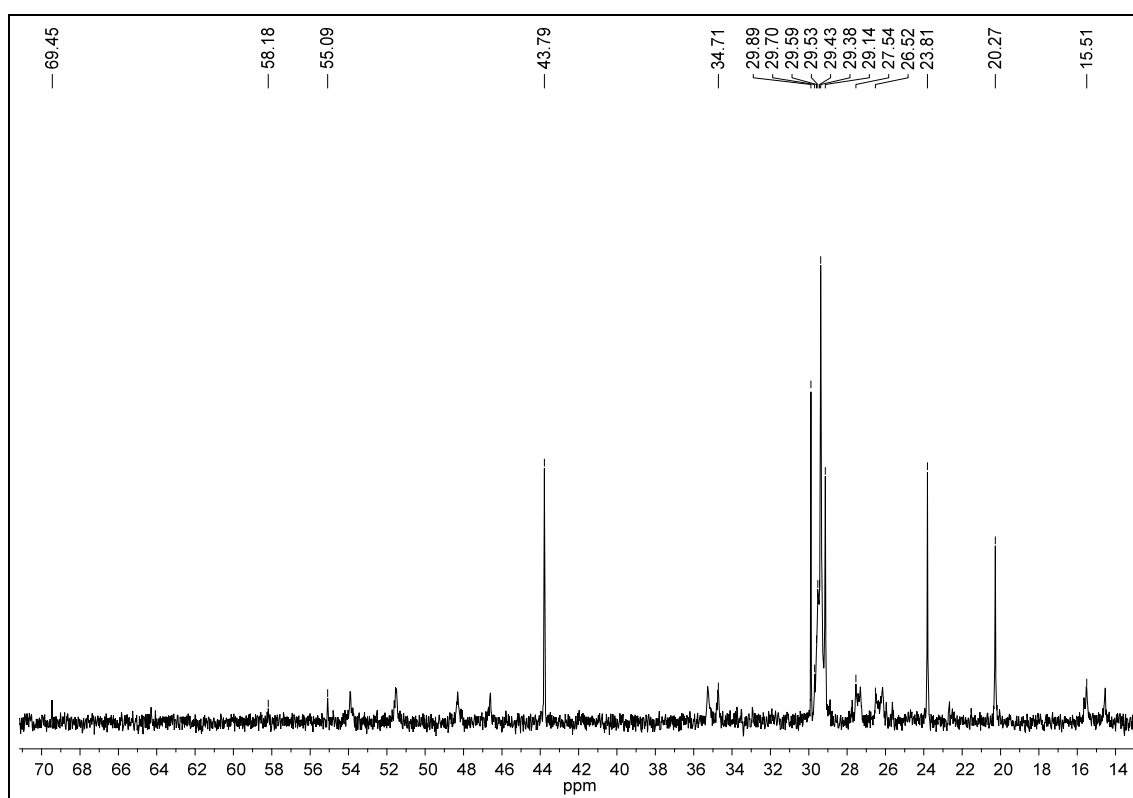
Apêndice S5. Mapa de contorno COSY (δ 1,0–3,5) do alcaloide **61**.



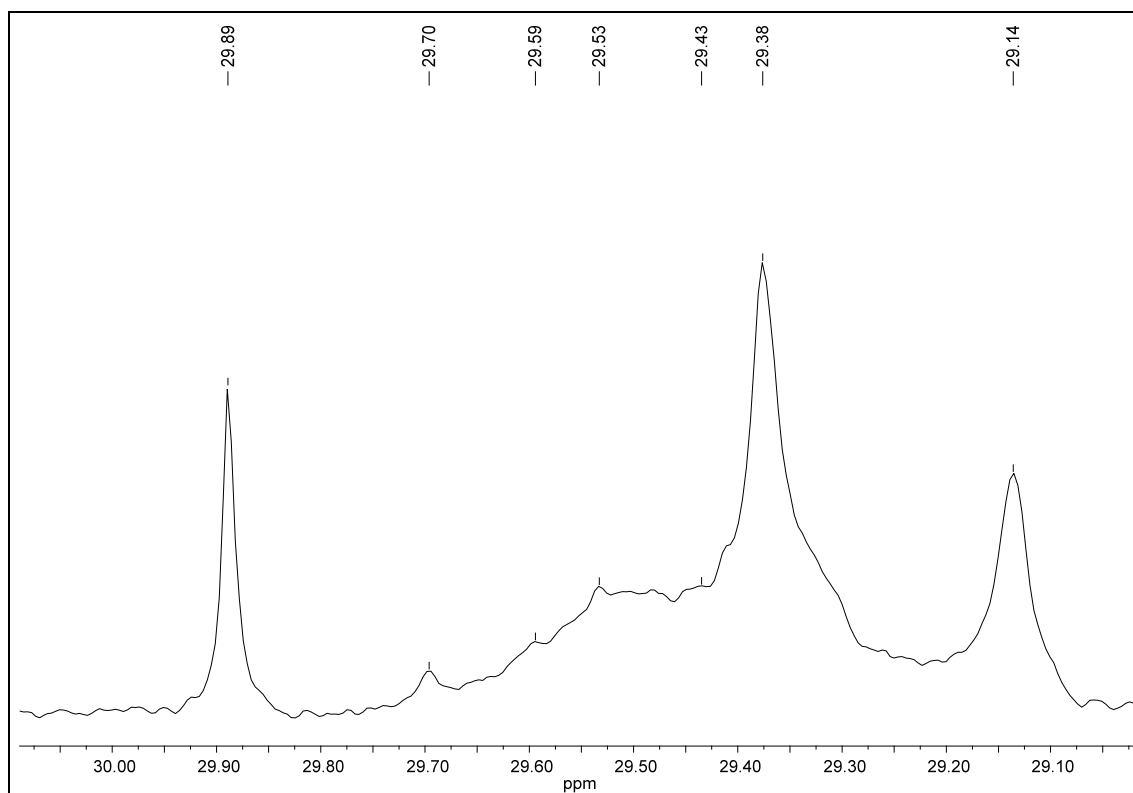
Apêndice S6. Espectro de RMN de ¹³C do derivado **61** (100 MHz, CDCl₃).



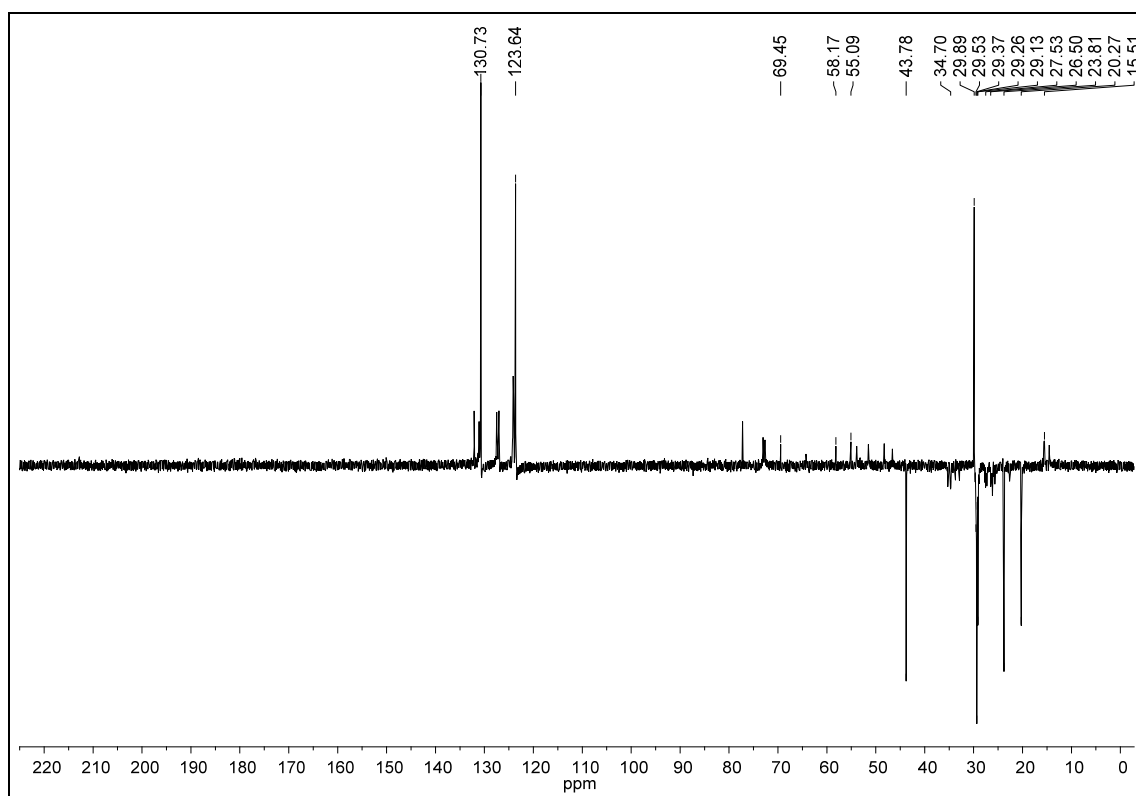
Apêndice S7. Ampliação do espectro S6 (δ 14,0–70,0) do derivado **61**.



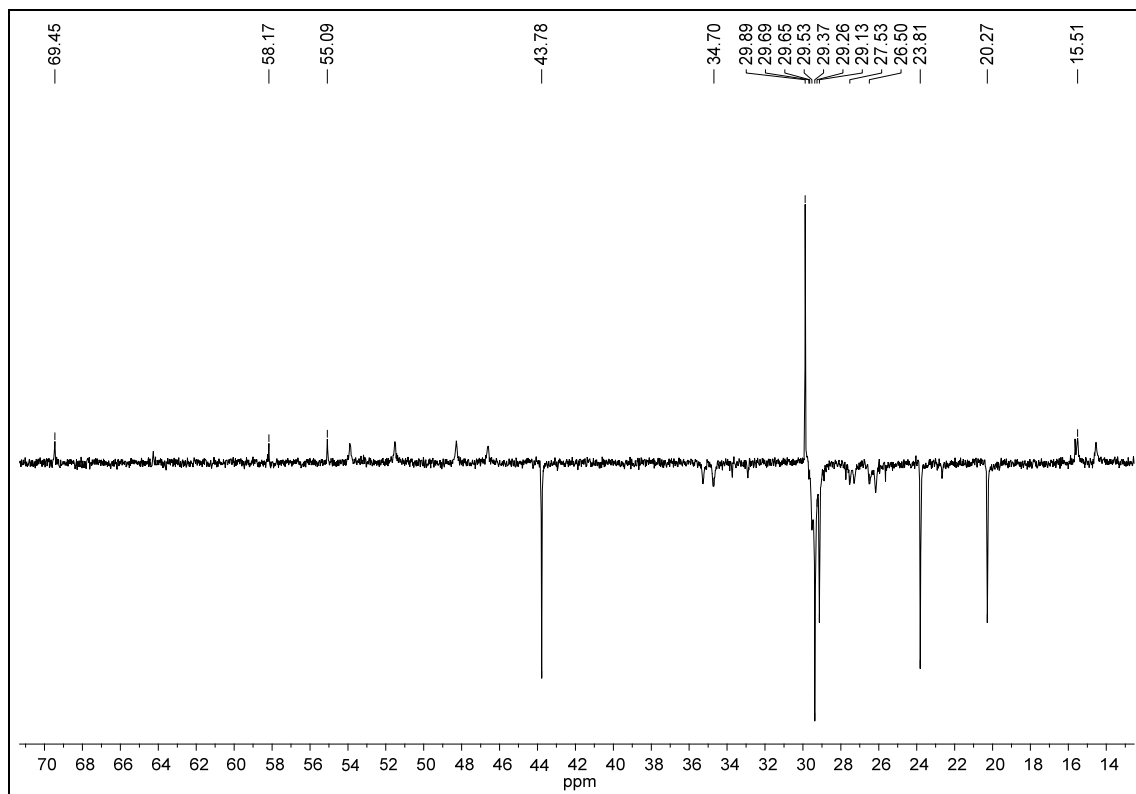
Apêndice S8. Ampliação do espectro S7 (δ 29,1–30,0) do derivado **61**.



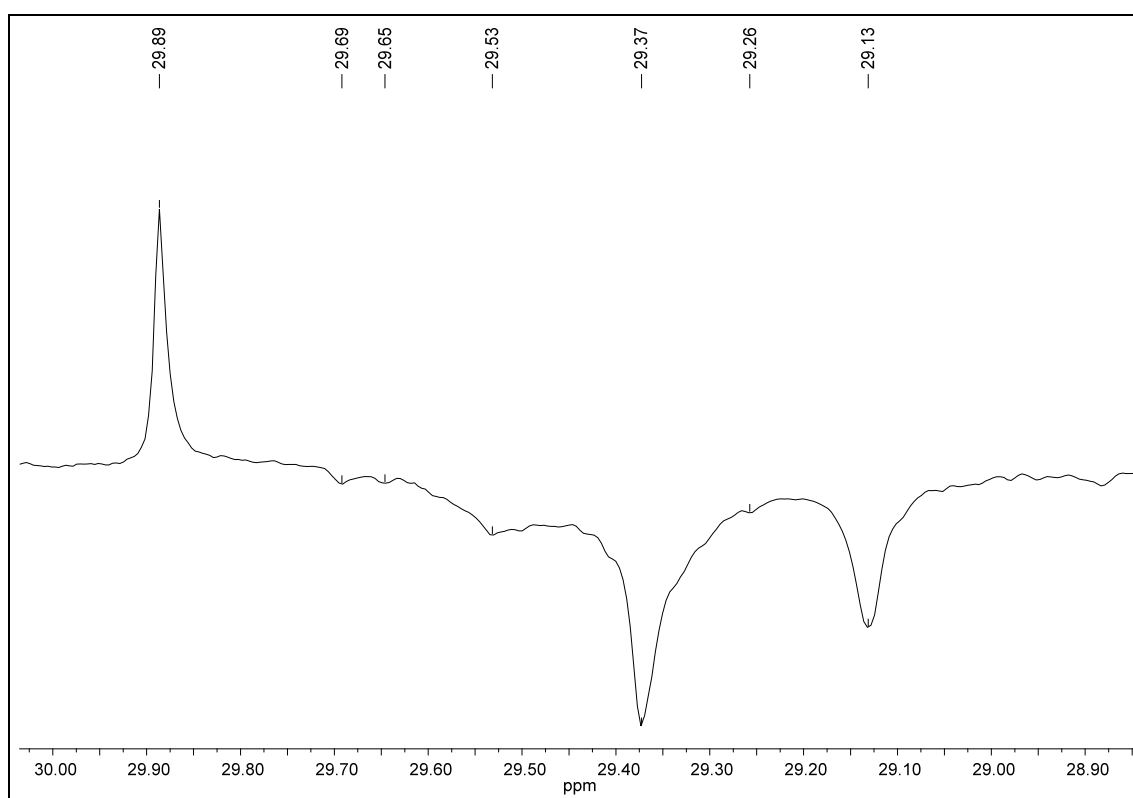
Apêndice S9. Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do derivado **61**.



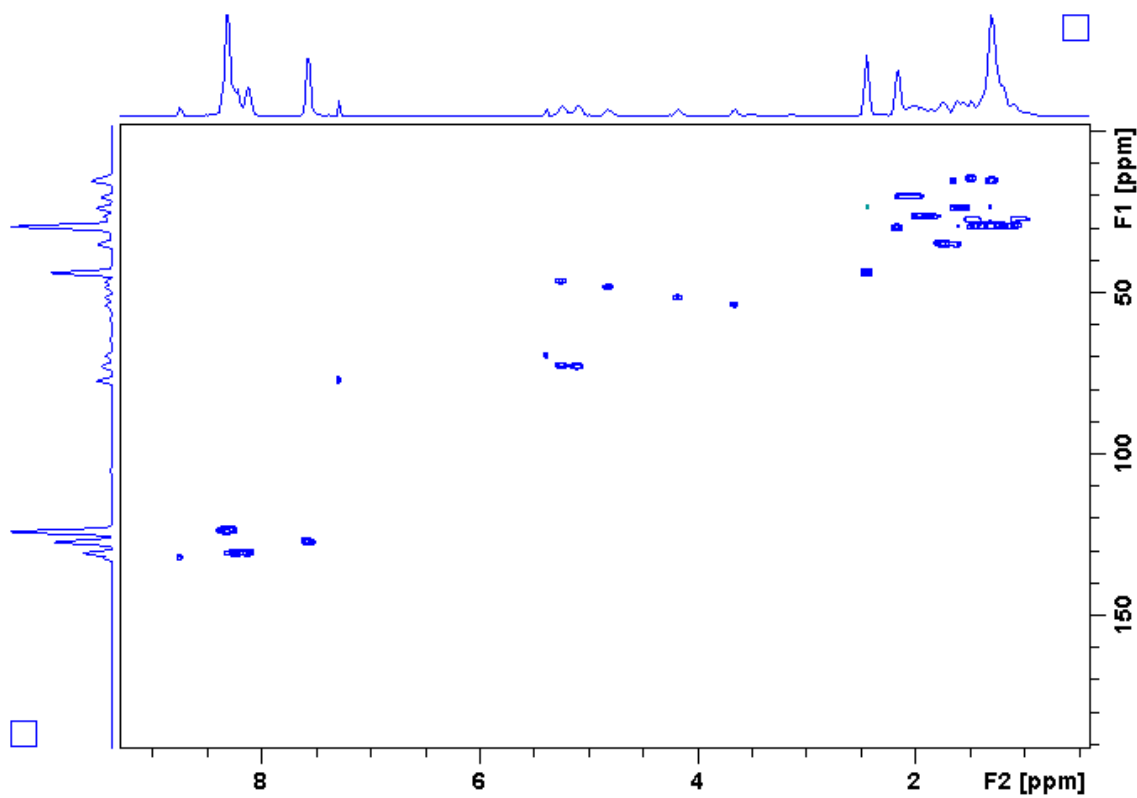
Apêndice S10. Ampliação do espectro S9 (δ 14,0–70,0) do derivado **61**.



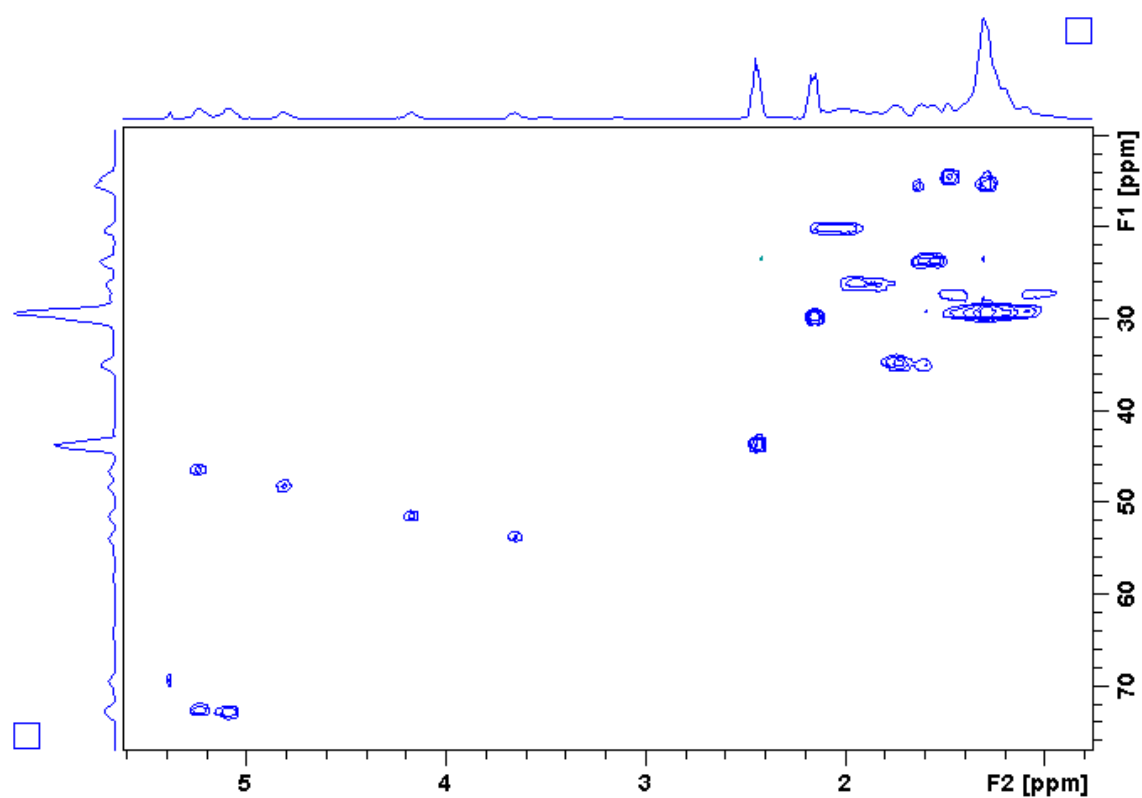
Apêndice S11. Ampliação do espectro S10 (δ 29,0–30,1) do derivado **61**.



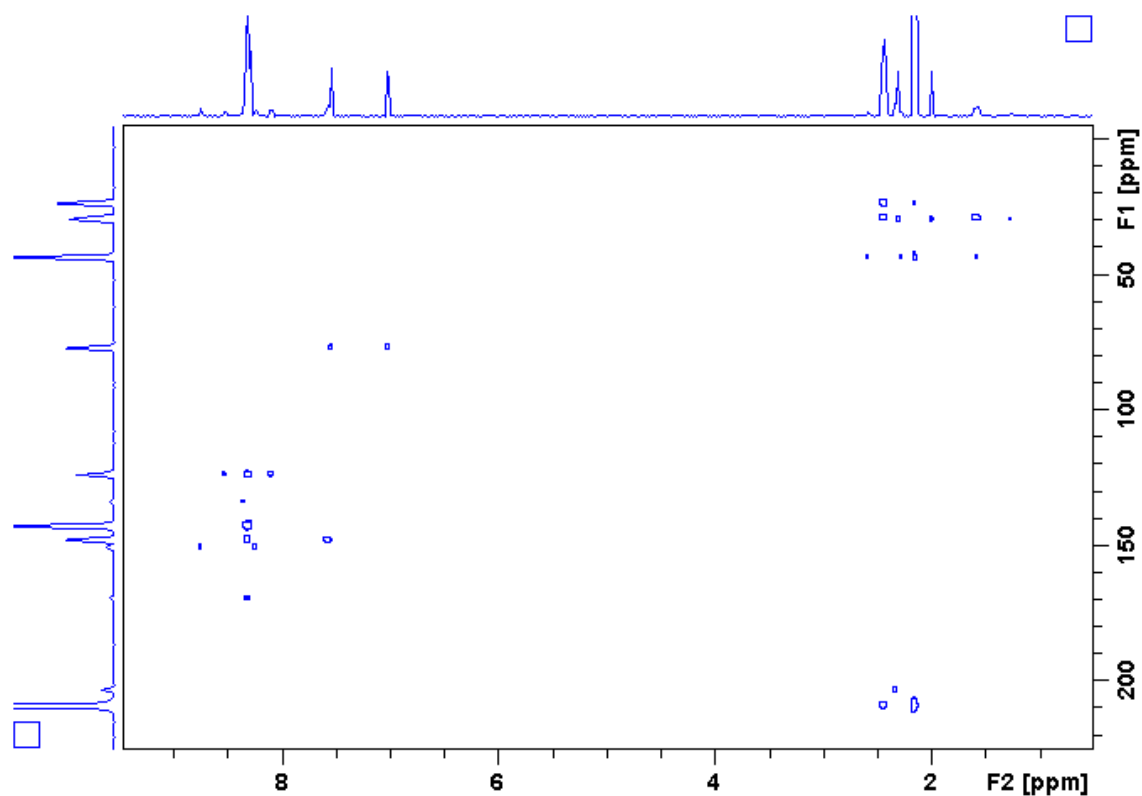
Apêndice S12. Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **61**.



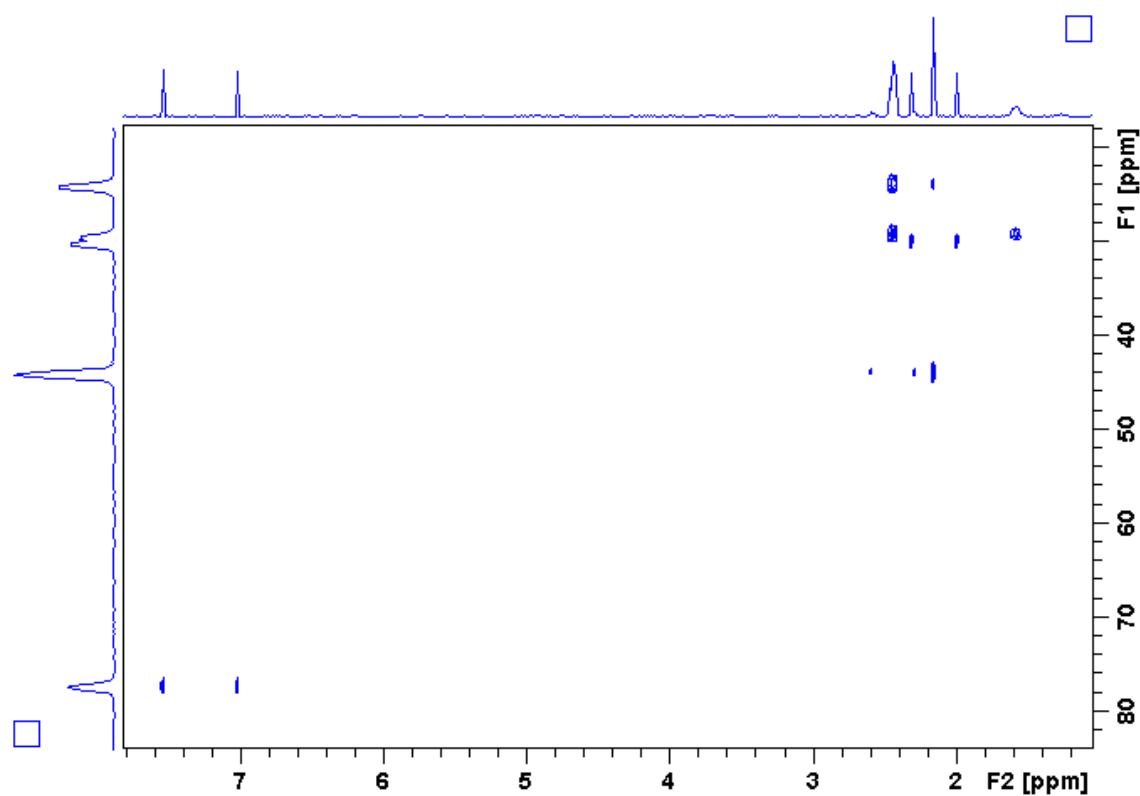
Apêndice S13. Mapa de contorno HSQC (δ 20,0–70,0) do alcaloide **61**.



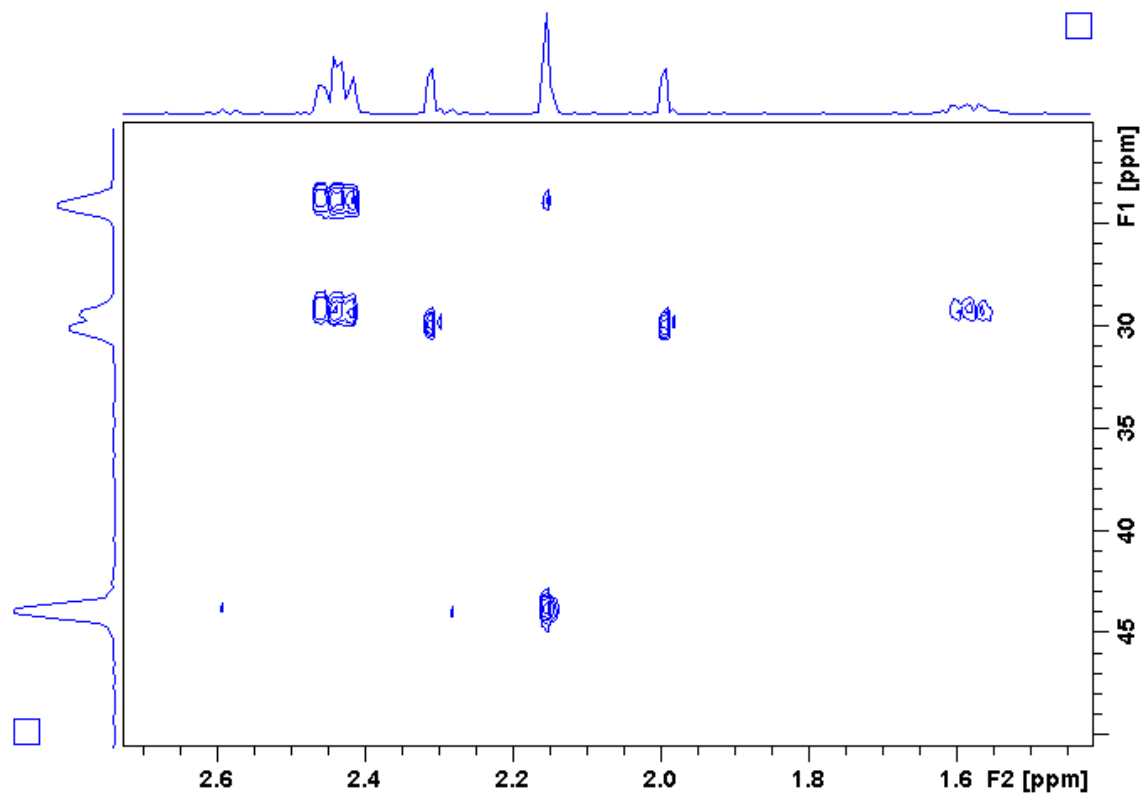
Apêndice S14. Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3) do alcaloide **61**.



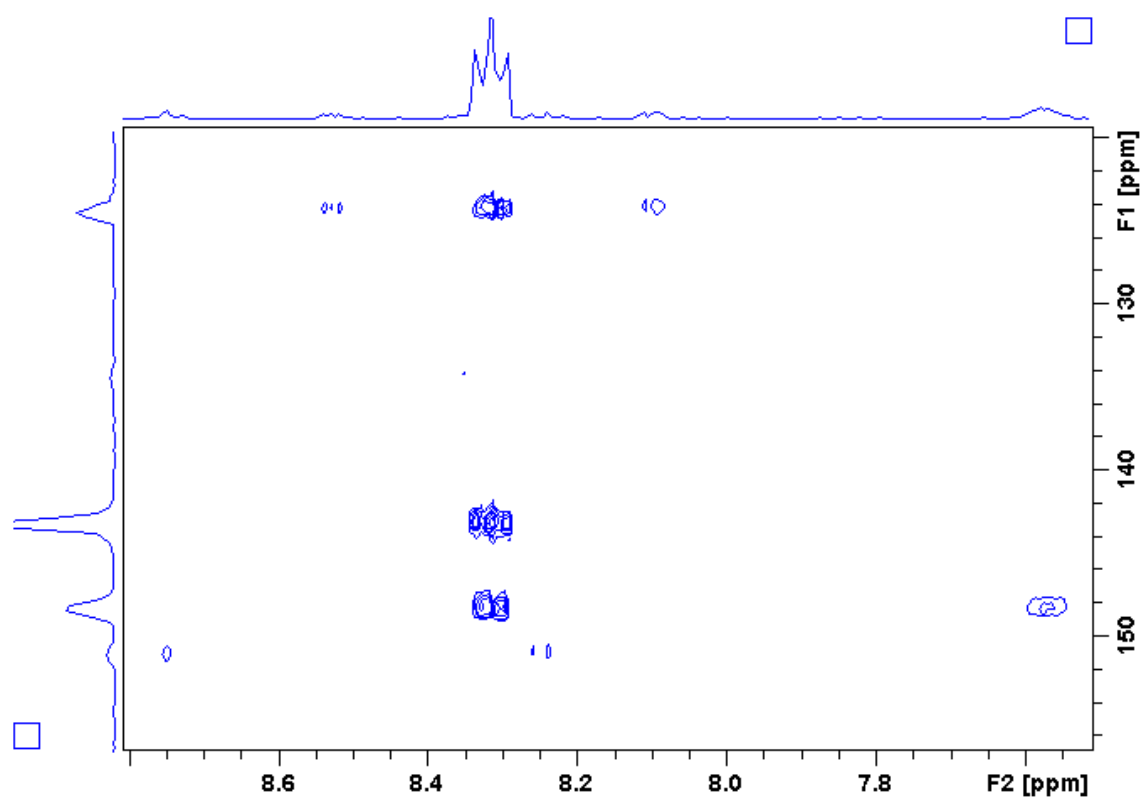
Apêndice S15. Mapa de contorno HMBC (δ 20,0–80,0) do alcaloide **61**.



Apêndice S16. Mapa de contorno HMBC (δ 15,0–50,0) do alcaloide **61**.



Apêndice S17. Mapa de contorno HMBC (δ 120,0–160,0) do alcaloide **61**.



Apêndice S18. Mapa de contorno HMBC (δ 204,0–212,0) do alcaloide **61**.

