

ALCALÓIDES DE *Rauwolfia grandiflora* E DE *Rauwolfia mattfeldiana*
(APOCYNACEAE)

LANAMAR DE ALMEIDA CARLOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OUTUBRO – 2007

ALCALÓIDES DE *Rauwolfia grandiflora* E DE *Rauwolfia mattfeldiana*
(APOCYNACEAE)

LANAMAR DE ALMEIDA CARLOS

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OUTUBRO – 2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 002/2008

Carlos, Lanamar de Almeida

Alcalóides de *Rauvolfia grandiflora* e de *Rauvolfia mattfeldiana* (Apocynaceae) / Lanamar de Almeida Carlos. - 2007.

2v. :il.

Orientador: Ivo José Curcino Vieira

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2007.

Inclui bibliografia.

1. Alcalóides indólicos. 2. Rauvolfia. 3. Apocynaceae I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologia e Agropecuárias. II. Título.

CDD – 615.321

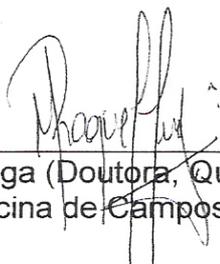
ALCALOIDES DE *Rauvolfia grandiflora* E DE *Rauvolfia mattfeldiana*
(APOCYNACEAE)

LANAMAR DE ALMEIDA CARLOS

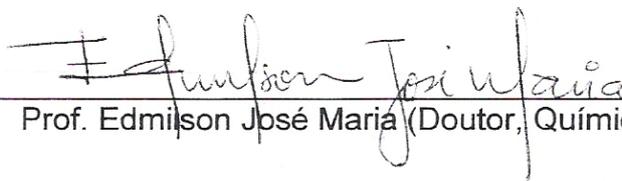
Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Produção Vegetal

Aprovada em 30 de outubro de 2007

Comissão Examinadora:



Profa. Maria Raquel Garcia Vega (Doutora, Química Orgânica) – Faculdade de
Medicina de Campos - FMC



Prof. Edmilson José Maria (Doutor, Química Orgânica) - UENF



Prof. Olney Vieira da Motta (Doutor, Biociências e Biotecnologia) - UENF



Prof. Ivo José Curcino Vieira (Doutor, Química orgânica) - UENF
Orientador

*Aos meus avós Manoel (in memorian) e Ângela,
José (in memorian) e Geralda*

Como homenagem!

*Aos meus pais Selmo e Laura,
a minha irmã Lauricelma
e ao meu esposo Bento*

Ofereço!

*Aos meus filhos Matheus e Lauren
e ao meu sobrinho Ruan*

Dedico!

AGRADECIMENTO

O meu primeiro agradecimento, como não poderia deixar de ser, é ao meu Deus, que certamente até aqui me conduziu e me permitiu experimentar, além das palavras, o que diz as sagradas escrituras: tudo posso n'Aquele que me fortalece (Filipenses 4: 13).

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, pela oportunidade concedida de realizar um estudo de pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, pelo auxílio financeiro nas pesquisas laboratoriais.

Ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos e ao de Zootecnia em especial aos professores Dra Meire Lelis Martins, Dra Alcilene Monteiro, Dra Enilce Coelho e Dr Carlos Augusto pela liberação parcial de carga horária para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador prof. Dr. Ivo José Curcino Vieira, pelos seus ensinamentos, paciência e pelo tempo de convívio no LCQUI, que muito contribuiu para a minha formação profissional e pessoal.

Aos professores Dr. Raimundo Braz Filho, Dr. Olney Vieira da Motta e Dra Leda Mathias pela co-orientação e valiosas contribuições a este trabalho.

Ao professor Alexandre Pio Viana, pelo auxílio na avaliação estatística.

Aos professores Edmilsom Maria, Maria Raquel Garcia Vega e Carlos Matos, sempre prontos a contribuir.

Aos profissionais de nível superior Roberto Ottoni Portela Couto (LCQUI/CCT), pelas análises espectrais de RMN, Maria de Lourdes Bernardino e Gina Nunes Teixeira (LSA/CCTA), pelo grande auxílio durante as análises microbiológicas dos extratos vegetais.

Aos secretários Paulo Sérgio (LTA), Tânia (LCQUI), Fatinha, Luciana e Patrícia (Curso de Produção Vegetal).

À Lara Barbosa Fonseca, pela sua valorosa contribuição, durante a fase experimental, também pela sua amizade e companheirismo.

Aos meus queridos estagiários Letícia Vitorazi e Thiago Araújo, que um dia tive a oportunidade de lhes ensinar alguma coisa e que, em alguns anos mais tarde, também me ensinaram o que eu até então não sabia.

Aos meus amigos Silvia Menezes, Ana Lúcia, Carlos Cordeiro e Eugênia Martins, pelo apoio incondicional e por toda a colaboração que me prestaram.

Aos amigos do LCQUI Moema, Elaine, Vinícius, Jucimar, Rodrigo Primo, Raquel, Antônio Sérgio, Virgínia, Vívian, Cecília e Cleonice, pelas contribuições, pelos “cafés”, pelas risadas em suma, pelo agradável convívio e experiências trocadas, os quais tornaram mais suave a minha jornada.

Aos meus pais Selmo e Laura pelo incentivo, apoio, pelo amor e por serem os pilares da minha vida.

A toda minha família, em especial, minha irmã Lauricelma, minhas tias Diná, Leni, Luci, Laudicéia e avó Geralda pelas fervorosas orações e apoio emocional.

A minha avó Ângela Payão - tão longe, mas tão perto do meu coração - pelo seu exemplo de determinação, dedicação, simplicidade, sabedoria, luta, humildade, perseverança e fé em Deus.

Ao meu esposo Bento, obrigada pela paciência, compreensão e auxílio.

Aos meus filhos Matheus e Lauren, por cederem muito do tempo que poderiam estar comigo e por terem sido minha fonte de inspiração nas horas mais difíceis... Não foi fácil!

Enfim, a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram com a realização deste trabalho.

OBRI GADA! ! !

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
LISTA DE ESQUEMAS.....	xviii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xix
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT.....	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. A Família Apocynaceae.....	4
2.2. O Gênero <i>Rauvolfia</i>	5
2.3. Os alcalóides.....	8
2.3.1. Definição.....	8
2.3.2. Histórico.....	9
2.3.3. Função fisiológica.....	10
2.3.4. Biossíntese.....	10
2.3.5. Classificação.....	11
2.3.5.1. Alcalóides indólicos	15

2.3.5.2. Alcalóides indólicos monoterpênicos.....	16
2.3.6. Alcalóides de <i>Rauvolfia</i>	19
2.3.6.1. Atividades antimicrobianas de extratos e alcalóides de <i>Rauvolfia</i>	55
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3.1. Metodologia.....	59
3.1.1. Escolha da planta a ser estudada.....	59
3.1.2. Identificação botânica.....	60
3.1.3. Coleta das plantas.....	60
3.1.4. Preparo dos extratos brutos.....	60
3.1.5. Prospecção preliminar.....	61
3.1.6. Análises cromatográficas.....	61
3.1.7. Análises espectrométricas.....	62
3.1.7.1. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	62
3.1.7.2. Espectrometria na Região do Infravermelho (IV)	62
3.1.7.3. Espectrometria de Massas (EM)	62
3.1.8. Isolamento e purificação das substâncias.....	62
3.1.8.1. Isolamento dos constituintes químicos de <i>R.</i> <i>mattfeldiana</i>	67
3.1.8.1.1. Cascas das raízes.....	67
3.1.8.1.2. Folhas.....	80
3.1.8.2. Isolamento dos constituintes químicos de <i>R.</i> <i>grandiflora</i>	83
3.1.8.2.1. Cascas das raízes.....	83
3.2. Ensaio biológico dos extratos brutos e das substâncias isoladas.....	96
3.2.1. Microrganismos.....	96
3.2.1.1. Preparo dos inóculos.....	97
3.2.2. Avaliação da atividade antimicrobiana dos alcalóides ajmalicina (92) ou RMAD-4 E RMAD-6, dos extratos das folhas de <i>R. mattfeldiana</i> e das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i> e <i>R.</i> <i>grandiflora</i>	97
3.2.2.1. Pelo método da difusão em agar.....	98
3.2.2.2. Pelo método de diluição em meio líquido.....	99

3.2.2.2.1. Teste de crescimento em solventes.....	99
3.2.2.2.2. Avaliação dos extratos metanólicos das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i> e <i>R. grandiflora</i>	100
3.2.3. Avaliação da produção de enterotoxinas (SE) após tratamento com extrato de <i>Rauvolfia</i>	101
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
4.1. Determinação estrutural dos alcalóides de <i>Rauvolfia</i>	103
4.1.1. Determinação estrutural do alcalóide 92	105
4.1.2. Determinação estrutural do alcalóide 2'	112
4.1.3. Determinação estrutural do alcalóide 27	115
4.1.4. Determinação estrutural do alcalóide 4'	118
4.1.5. Determinação estrutural do alcalóide 97	121
4.1.6. Determinação estrutural da mistura dos alcalóides 138 e 143	124
4.1.7. Determinação estrutural do alcalóide 8'	127
4.1.8. Determinação estrutural do alcalóide 9'	130
4.1.9. Determinação estrutural do alcalóide 166	135
4.1.10. Determinação estrutural do alcalóide 153	139
4.2. Atividade antibacteriana dos extratos brutos e substâncias isoladas de <i>R. mattfeldiana</i> e <i>R. grandiflora</i>	144
4.2.1. Avaliação pelo método de difusão em agar.....	144
4.2.1.1. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa padrão ATCC 25923.....	145
4.2.1.2. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa Wood 46 ATCC 10832.....	146
4.2.1.3. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à Cepa enterotoxinogênica LSA 88.....	147
4.2.1.4. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa COL (metecilina-resistente).....	148
4.2.1.5. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa <i>Smith Diffuse</i> (encapsulado).....	150
4.2.1.6. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa <i>S. epidermidis</i> ATCC12228.....	151

4.2.1.7. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa RN6390B (mutante).....	151
4.2.2. Avaliação pelo método de diluição em meio líquido.....	153
4.2.3. Avaliação da inibição da produção de enterotoxinas (SE) após tratamento com extrato de <i>Rauvolfia</i>	156
5. CONCLUSÃO.....	158
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	160

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Espécies de <i>Rauvolfia</i> encontradas no Brasil e suas respectivas localizações.....	6
Tabela 2.	Exemplos da classificação de alguns alcalóides de acordo com o seu precursor biogenético.....	15
Tabela 3.	Alcalóides isolados das espécies do gênero <i>Rauvolfia</i> até 2007.....	21
Tabela 4.	Fracionamento cromatográfico do extrato em diclorometano das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i>	67
Tabela 5.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.....	68
Tabela 6.	Estudo cromatográfico da fração RM-7.8.....	68
Tabela 7.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.9.....	69
Tabela 8.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.13.....	69
Tabela 9.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.13.2.....	69
Tabela 10.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-8.....	70
Tabela 11.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-8.3.....	71
Tabela 12.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-8.4.....	71
Tabela 13.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-9.....	72
Tabela 14.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-10.....	72

Tabela 15.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-10.3.....	73
Tabela 16.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-10.3.5.....	73
Tabela 17.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-10.3.5.2.....	74
Tabela 18.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-13.....	74
Tabela 19.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-13.2.....	75
Tabela 20.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-14.....	75
Tabela 21.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-14.4.....	76
Tabela 22.	Fracionamento cromatográfico da fração RM-14.7.....	76
Tabela 23.	Fracionamento cromatográfico do extrato em metanol das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i>	77
Tabela 24.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-3.....	77
Tabela 25.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-3.1.....	78
Tabela 26.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-4.....	78
Tabela 27.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-5.....	79
Tabela 28.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-6.....	79
Tabela 29.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-6.2.....	80
Tabela 30.	Fracionamento cromatográfico da fração MR-6.2.1.....	80
Tabela 31.	Fracionamento cromatográfico do extrato em diclorometano das folhas de <i>R. mattfeldiana</i>	81
Tabela 32.	Fracionamento cromatográfico da fração RMAD-10.....	81
Tabela 33.	Fracionamento cromatográfico do extrato em metanol das folhas de <i>R. mattfeldiana</i>	82
Tabela 34.	Fracionamento cromatográfico da fração EMAB-15.....	82
Tabela 35.	Refracionamento cromatográfico da fração EMAB-15.0.....	82
Tabela 36.	Fracionamento cromatográfico do extrato em diclorometano das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i>	83
Tabela 37.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.....	84
Tabela 38.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.2.....	84
Tabela 39.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.2.....	85
Tabela 40.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.2.1.1.....	85
Tabela 41.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.....	86
Tabela 42.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.5.....	86
Tabela 43.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.6.....	86

Tabela 44.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.6.2.....	87
Tabela 45.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.....	87
Tabela 46.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.....	88
Tabela 47.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.3.....	89
Tabela 48.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.3.2.....	89
Tabela 49.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.7.3.2.2.....	89
Tabela 50.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.....	90
Tabela 51.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.2.....	90
Tabela 52.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.5.....	91
Tabela 53.	Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.6.....	91
Tabela 54.	Fracionamento cromatográfico do extrato em metanol das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i>	92
Tabela 55.	Fracionamento cromatográfico da fração RGM-2.....	92
Tabela 56.	Fracionamento cromatográfico da fração RGM-2.0.....	92
Tabela 57.	Fracionamento cromatográfico da fração RGM-7.....	93
Tabela 58.	Fracionamento cromatográfico da fração RGM-7.5.....	94
Tabela 59.	Fracionamento cromatográfico das frações RGM-7.5.1 e RGM-7.5.2.7.....	94
Tabela 60.	Fracionamento cromatográfico da fração RGM-7.5.1.1.....	95
Tabela 61.	Fracionamento cromatográfico do extrato RAB.....	95
Tabela 62.	Fracionamento cromatográfico da fração RAB-1.....	96
Tabela 63.	Microrganismos utilizados nos testes de difusão em agar e concentração mínima inibitória.....	97
Tabela 64.	Concentração dos extratos das folhas de <i>R. mattfeldiana</i> : RMAD (extrato diclorometânico) e EMAB (extrato metanólico); das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i> RM (extrato diclorometânico) e MR (extrato metanólico); das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i> : RG (extrato diclorometânico) e RGM (extrato metanólico).....	98
Tabela 65.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide 92 em CDCl ₃	110
Tabela 66.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) para <i>N</i> -óxido-isoreserpilina (2') e isoreserpilina (92), em CDCl ₃	113

Tabela 67.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em DMSO- <i>d</i> ₆ e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide 27	116
Tabela 68.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide 4' , e comparação com valores de literatura para os modelos Mo-1 e Mo-2	120
Tabela 69.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide 97	123
Tabela 70.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC da mistura dos alcalóides 138 e 143	126
Tabela 71.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (125 MHz) em CDCl ₃ do alcalóide 8'	129
Tabela 72.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz), ¹³ C (100 MHz) observados no espectro de HMQC e constantes de acoplamento observadas no espectro de HMBC do alcalóide (9'), em CDCl ₃	133
Tabela 73.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz), ¹³ C (100 MHz) observados no espectro de HMQC e constantes de acoplamento observadas no espectro de HMBC do alcalóide (166), em CDCl ₃	138
Tabela 74.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz), ¹³ C (100 MHz) observados no espectro de HMQC e constantes de acoplamento observadas no espectro de HMBC do alcalóide (153), em CDCl ₃	142
Tabela 75.	Valores médios, em milímetros, do diâmetro do halo de inibição provenientes dos tratamentos (RMAD-4 = Ajmalicina, RMAD-6 = alcalóide não identificado, RMAD = extrato em diclorometano proveniente das folhas de <i>R. mattfeldiana</i> , EMAB = extrato em metanol proveniente das folhas de <i>R. mattfeldiana</i> , RGM = extrato em metanol proveniente das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i> , MR = extrato em metanol proveniente das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i> , RG = extrato em diclorometano das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i> , DMSO = dimetilsulfóxido e gentamicina.....	145

Tabela 76.	Valores médios, em milímetros, do diâmetro do halo de inibição provenientes dos tratamentos RMAD-4 = 1, RMAD-6 = 2, RMAD = 3 EMAB = 4, cloranfenicol 40 µg/mL (C), gentamicina 10 µg/mL (G) e 30 µg/mL (G30).....	149
Tabela 77.	Avaliação da atividade do extrato RMAD frente à cepa LSA-88.....	154
Tabela 78.	Avaliação da atividade do extrato MR frente à cepa LSA-88.....	154
Tabela 79.	Avaliação da atividade do extrato RGM frente à cepa LSA-88.....	155
Tabela 80.	Avaliação da atividade da substância RMAD-4 frente à cepa LSA-88.....	156

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Estrutura de alguns alcalóides isolados de <i>Rauvolfia</i> (Apocynaceae), citados na tabela 3.....	37
Quadro 2.	Atividade antimicrobiana de alcalóides.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	<i>R. grandiflora</i> , localizada em Bom Jesus do Itabapoana-RJ. (A): árvore e (B): flores de <i>R. grandiflora</i>	7
Figura 2.	<i>Rauvolfia mattfeldiana</i> . (A) : fruto (a), ramo (b) e flor (c). (B) : Folhas	8
Figura 3.	Estrutura dos alcalóides, de 1 a 18A	11
Figura 4.	Reações da origem biossintética dos alcalóides indólicos monoterpênicos.....	16
Figura 5.	Esqueletos básicos das oito subclasses de alcalóides indólicos monoterpênicos.....	18
Figura 6.	Estrutura da ioimbina com o sistema de numeração proposto por Le Men e Taylor (1965).....	18
Figura 7.	Fluxograma do isolamento dos alcalóides dos extratos em diclorometano (RM) e em metanol (MR) das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i>	63
Figura 8.	Fluxograma do isolamento dos alcalóides dos extratos em diclorometano (RMAD) e em metanol (EMAB) das folhas de <i>R. mattfeldiana</i>	65

Figura 9.	Fluxograma do isolamento dos alcalóides do extrato em metanol das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i>	65
Figura 10.	Fluxograma do isolamento dos alcalóides do extrato em diclorometano das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i>	66
Figura 11.	Esquema da aplicação das amostras, do solvente DMSO e antibiótico gentamicina no agar BHA. Cada orifício representa um poço onde foi aplicado 50 µL dos tratamentos e controles.....	99
Figura 12.	Esquema de diluição dos extratos vegetais e da ajmalicina (92) ou RMAD-4 seguido da inoculação do <i>S. aureus</i> LSA-88.....	101
Figuras 3 a 207.	vol 2
Figura 208.	Avaliação da atividade antimicrobiana da Ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), gentamicina com concentração 10 µg/mL (G) e DMSO (D) frente à cepa ATCC 25923.	146
Figura 209.	Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina na concentração 10 µg/mL (G) e DMSO (D) frente à cepa ATCC 10832.....	147
Figura 210.	Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (3), gentamicina na concentração 30 µg/mL (G) DMSO (D) e dos extratos RMAD (1), EMAB (2), RGM (4), RG (5), MR (6), , frente à cepa LSA-88.	148
Figura 211.	Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina na concentração 10 µg/mL(G) e DMSO (D) frente à cepa COL.	148
Figura 212.	Avaliação da atividade antimicrobiana dos antibióticos gentamicina 30 µg/mL (G30) e cloranfenicol (C) 40 µg/mL; da ajmalicina ou RMAD-4 (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), gentamicina 10 µg/mL (G) isoladamente e em conjunto na proporção 1:1 frente à cepa COL.	149

Figura 213.	Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina 10 µg/mL (G) e DMSO (D) frente à cepa <i>Smith Difuse</i>	150
Figura 214.	Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina 10 µg/mL (G) e DMSO (D) frente à cepa <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228.	151
Figura 215.	Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina 10 µg/mL (G) e DMSO (D) frente à cepa RN6390B.....	152
Figura 216.	Atividade antimicrobiana do extrato RMAD frente à cepa LSA-88: efeito bactericida na concentração de 62,4 mg/mL (A); efeito inibitório (bacteriostático) na concentração de 3,9 mg/mL (B) e crescimento bacteriano similar ao controle 2 na concentração de 1,95 mg/mL (C).	154
Figura 217.	Efeito inibitório (bacteriostático) do extrato RGM frente à cepa LSA-88 na concentração de 4,54 mg/mL (A). Crescimento bacteriano do controle 2 (B).	155
Figura 218.	Inibição da produção de enterotoxinas produzidas por <i>Staphylococcus aureus</i> bovino cepa LSA-88 cultivada em meio líquido na presença do extrato metanólico de <i>Rauvolfia grandiflora</i> (RGM). A população de células foi a mesma (DO 550 nm) no tratamento (Ext) e no controle (DMSO). CPKit: controle positivo do Kit e Cnkit: controle negativo do Kit.....	157

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.	Estruturas de alcalóides heteroioimbinóides baseadas na estereoquímica do anel D (Bruyn et al., 1989).	108
Esquema 2.	Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 92	111
Esquema 3.	Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 2	114
Esquema 4.	Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 27	117
Esquema 5.	Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 9	134
Esquema 6.	Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 153	143

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

δ	Deslocamento químico em partes por milhão
APT	Attached Proton Test
BHA	Brain heart agar
d	Dupleto
CC	Cromatografia em coluna
CCDP	Cromatografia em camada delgada em escala preparativa
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
COSY	Correlation Spectroscopy
CVRD	Companhia Vale do Rio Doce
EMAB	Extrato metanólico das folhas de <i>R. mattfeldiana</i> (extração ácido/base)
HMBC	Heteronuclear multiple-bond connectivity
HMCQ	Heteronuclear multiple-quantum coherence
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
Mo-1	Modelo 1
Mo-2	Modelo 2
M^+	Pico do íon molecular

MR	Extrato metanólico das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i>
MRSA	Meticilina –resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
NOESY	Nuclear Overhause Effect Spectroscopy
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
RAB	Extrato diclorometânico das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i> originário da extração ácido/base
RG	Extrato diclorometânico das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i>
RGM	Extrato metanólico das cascas das raízes de <i>R. grandiflora</i>
RMAD	Extrato diclorometânico das folhas de <i>R. mattfeldiana</i> (extração ácido/base)
RM	Extrato diclorometânico das cascas das raízes de <i>R. mattfeldiana</i>
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
S	Sinal simples
SE	Enterotoxina
T	Tripleto
TMB	3,4,5-trimetoxibenzoíla
TMC	3,4,5-trimetoxicinamoíla
TTS	Síndrome do choque tóxico
TSST-1	Toxina do choque tóxico

RESUMO

CARLOS, Lanamar de Almeida; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, outubro, 2007; Alcalóides de *Rauvolfia grandiflora* e de *R. mattfeldiana* (Apocynaceae); Orientador: Ivo José Curcino Vieira. Co-orientadores: Raimundo Braz-Filho, Olney Vieira da Motta e Leda Mathias.

A química do gênero *Rauvolfia*, família Apocynaceae, é conhecida pela grande bioprodução de alcalóides indólicos, os quais possuem grande importância farmacológica, por apresentarem diversas atividades biológicas, tais como, depressores cardíacos, diuréticos, tranqüilizantes, afrodisíacos, anti-hipertensivos, anti-tumorais, etc. Diante do potencial biológico deste gênero, este trabalho teve como objetivos estudar a composição alcaloídica das folhas e cascas das raízes de *R. mattfeldiana*, e das cascas das raízes de *R. grandiflora*, e a avaliação da atividade biológica inibitória dos extratos e ou substâncias isoladas, frente a sete cepas de *S. aureus*.

Do extrato em diclorometano das cascas das raízes de *R. mattfeldiana* foram isolados os alcalóides isoreserpilina, *N*-óxido-isoreserpilina, perakina e vinorina; do extrato em diclorometano das folhas foi isolado a ajmalicina.

Do extrato em metanol de *R. grandiflora* foram isolados os alcalóides darcyribeirina, β -ioimbina, reserpina, rescinamina, 10-metoxireserpina e *N*_a-

metilrauflorina inédito na literatura. A determinação estrutural dessas substâncias foram efetuadas com base nos dados espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C , incluindo experimentos bidimensionais (HMQC e HMBC), e a partir de informações obtidas dos espectros de massas, e na região do infravermelho. Todos os extratos apresentaram atividade antimicrobiana frente às cepas de *S. aureus*, sendo que os extratos metanólicos das cascas das raízes de ambas as plantas, e o extrato em diclorometano das folhas de *R. mattfeldiana* foram os mais efetivos. A ajmalicina não apresentou atividade antimicrobiana sobre nenhuma das cepas estudadas.

ABSTRACT

CARLOS, Lanamar de Almeida; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, October, 2007; Alkaloids of *Rauvolfia grandiflora* and *Rauvolfia mattfeldiana* (Apocynaceae); Advisor: Ivo José Curcino Vieira. Counselors: Raimundo Braz-Filho, Olney Vieira da Motta and Leda Mathias.

Plants of the *Rauvolfia* genus (Apocynaceae) are known by their bioproduction of indole alkaloid, with chemistry and pharmacological importance, and several biological activities. The objectives of this work comprehended the study of alkaloid composition of leaves and roots bark of *R. mattfeldiana* and roots bark of *R. grandiflora* and biological activities towards seven staphylococci strains. From dicloromethanic extract of the roots bark of *R. mattfeldiana* four known fractions were isolated named isoreserpiline, *N*-oxide-isoreserpiline, perakine and vinorine, and one fraction from dicloromethanic extract of the leaves known as ajmalicine. Methanolic extract of roots husks of *R. grandiflora*, resulted in six fractions named darcyribeirine, β -yoimbine, reserpine, rescinamine, 10-methoxyreserpine and *N*_a-methytrauflorin, all alkaloids with no description in the available literature. Determination of the structure of compounds were carried out based on spectral data of NMR ¹H and ¹³C, including two-dimensional evaluations (HMQC and HMBC) and on information obtained from spectral mass and IR

(infrared) area. All plant extracts of *Rauvolfia* presented antimicrobial activity against staphylococci strains. Methanolic extracts of roots barks of both plants and the leaves dicloromethanic extract from *R. mattfeldiana* were the most effective, compared with antimicrobial control gentamicin. The fraction ajmalicine did not present antimicrobial activity towards any of staphylococci strains tested.

1. INTRODUÇÃO

As plantas são consideradas uma valiosa fonte de substâncias biologicamente ativas, que têm sido exploradas pelo homem desde os primórdios da história.

O maior número de espécies vegetais encontra-se nas regiões equatoriais da América do Sul, África e Ásia, onde o Brasil onde se encontra a maior diversidade global, estimada em 20% do total de espécies animais e vegetais existentes (Guerra, 2003).

A respeito da riqueza em termos de biodiversidade da flora brasileira, a atenção do mundo está voltada especialmente para a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica. A Mata Atlântica apresenta uma área contínua com cerca de 1.300.000 Km², que inclui em seu domínio várias formações florestais e ecossistemas associados, formando uma faixa verde paralela à costa brasileira, desde o Estado do Rio Grande do Sul até a Paraíba. Contudo, restam apenas cerca de 8% desta área com cobertura florestal no país (Fundação SOS Mata Atlântica – INPE, 1997).

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão. Estima-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microrganismos, sendo o Brasil o país que apresenta a maior

diversidade genética vegetal do mundo, com mais de 55.000 espécies catalogadas (Dias, 1996).

As primeiras descrições sobre a utilização de plantas brasileiras foram feitas na época do descobrimento por colonizadores europeus, através da observação do uso dos vegetais pelos índios, conforme descrito por Gabriel Soares de Souza, citado por Brandão (2003), em sua obra denominada “Tratado Descritivo do Brasil em 1587”.

Atualmente, a utilização de plantas medicinais e de produtos fitoterápicos encontra-se em expansão no Brasil e no mundo, o que tem impulsionado as indústrias farmacêuticas a investir em pesquisa e na geração de patentes de novos fitofármacos (princípios ativos isolados).

As oportunidades para produtos com possível utilização econômica aumentam com a diversidade das espécies. Diversos alcalóides têm sido utilizados terapêuticamente na forma de derivados, puros, ou em associação (Henriques et al., 2003). Por exemplo, alguns alcalóides vegetais têm-se mostrado especialmente efetivos, como antitumorais (vinblastina e vincristina), anti-hipertensivos (reserpina) e depressor cardíaco (quinidina). Por outro lado, na natureza, os alcalóides exercem um papel importante como substâncias de defesa contra insetos herbívoros [Baldwin e Hamilton (2000), citados por Alves (2003)] e também na defesa de algumas espécies de borboleta contra predadores (Henriques et al., 2003).

Os alcalóides podem ocorrer em diferentes órgãos do vegetal, como raiz (*Symphitum spp.*), folhas (*Passiflora sp.*, *Agerantum conyzoides* e *Phyllanthus spp.*), casca do fruto (*Punica granatum*) e em sementes (*Lupinus albus*). Com relação a sua localização intracelular, são produzidos no retículo endoplasmático, concentrando-se em seguida nos vacúolos (Taiz e Zeiger, 1998).

Os alcalóides são produzidos a partir de aminoácidos e possuem grande importância farmacológica, uma vez que apresentam diversas atividades biológicas em seres humanos e animais, como, por exemplo, alcalóides indólicos monoterpênicos que atuam como depressor cardíaco, diurético, tranquilizante ou afrodisíaco (Zenk, 1980). Assim, plantas do gênero *Rauvolfia* (Apocynaceae) têm despertado o interesse de pesquisadores, especialmente pelo fato de elas produzirem alcalóides indólicos bioativos (Libot et al., 1986; Stöckigt, 1995; Kato et al., 2002), com novos e variados tipos de esqueletos (Cancelieri, 2002).

Dentre as muitas espécies de *Rauvolfia*, especialmente as nativas da Mata Atlântica, poucas foram fitoquimicamente estudadas, culminando em poucas informações a respeito de suas composições químicas e atividades biológicas, como ocorre com as espécies *Rauvolfia grandiflora* e *Rauvolfia mattfeldiana*. Este tipo de estudo possui grande importância, pois as substâncias isoladas do metabolismo secundário de vegetais possibilitam uma interdisciplinaridade da química de produtos naturais com outras áreas como botânica, farmacologia, medicina humana e veterinária, entomologia e ecologia (Braz-Filho, 1994) e, além disso, contribui de maneira relevante para o conhecimento acerca dos constituintes químicos de espécies brasileiras de *Rauvolfia*, somado à caracterização estrutural de substâncias com atividade medicinal que possam vir a ser isoladas dentre as espécies vegetais brasileiras nativas da Mata Atlântica.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos:

1 - Realizar o estudo fitoquímico das cascas das raízes e folhas de *Rauvolfia mattfeldiana* e das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora*, visando especialmente isolar e identificar estruturalmente os alcalóides indólicos.

2 - Avaliar a atividade biológica inibitória dos extratos e de substâncias isoladas, sempre que possível, frente a alguns microrganismos causadores de infecções em animais e seres humanos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Família Apocynaceae

A família Apocynaceae pertence à classe Angiosperma, subclasse dicotiledônea, superordem Asteridales, ordem Gentianales (Kock, 2002) e é constituída de 415 gêneros e de, aproximadamente, 4.555 espécies, que ocorrem principalmente em climas tropicais a temperados. As Apocynaceae se apresentam como árvores, arbustos ou trepadeiras, e geralmente exsudam um látex branco quando sofrem algum tipo de injúria mecânica.

Espécies dessa família estão distribuídas ao longo dos trópicos, muitas delas são encontradas no Brasil e caracterizam-se por serem produtoras de alcalóides tóxicos e/ou medicinais (Mabberley, 1997). Um grande número de plantas dessa família é utilizado na medicina popular e também em rituais religiosos e de magia desde os tempos remotos (Medeiros, 2003).

Atualmente, a medicina moderna emprega substâncias extraídas dessa família para vários tipos de tratamento, como, por exemplo, na quimioterapia neoplásica, que emprega a vimblastina (1) e a vincristina (2), alcalóides indólicos monoterpênicos extraídos do *Cantharanthus roseus*; e também em drogas antidepressivas e tranqüilizantes, como a reserpina (3), um alcalóide indólico monoterpênico extraído de *Rauvolfia serpentina* (Schmeller e Wink, 1998).

Segundo Hesse (1981), a família Apocynaceae está subdividida em três subfamílias: Plumerioideae, Cerberoideae e Echitoideae. Alcalóides indólicos têm sido encontrados apenas em Plumerioideae. Cada uma das subfamílias é dividida em tribos e, destas, apenas algumas (*) produzem alcalóides indólicos:

- a. **Plumerioideae**, que compreende as tribos: Carisseae*, Chilocarpeae, Ambelanieae, Tabernaemontaneae*, Alstoniae* e Rauvofieae*.
- b. **Cerberoideae**, que compreende as tribos: Skytantheae e Thevetieae.
- c. **Echitoideae**, que compreende as tribos: Parsonsieae, Nerieae, Ecdysanthereae e Ichonocarpeae.

A tribo Rauvofieae compreende os gêneros: *Alexia*, *Anechites*, *Cabucala*, *Condylocarpon*, *Excavatia*, *Kopsia*, *Lepinia*, *Lepiniopsis*, *Petchia*, *Podochrosia*, *Ochrosia*, *Rauvolfia*, *Rhipidia* e *Vallesia*.

Endress e Bruyns (2000) elaboraram uma nova classificação para a família Apocynaceae considerando as divisões intrafamiliares, agora composta por cinco subfamílias: Rauvolfioideae Kostel (equivalente à Plumerioideae), Apocynoideae Bumett, Periplocoideae R. Br. Endl, Secamonoideae Endl e Asclepiadoi R. Br. Ex. Bumett. Em sua nova circunscrição, a família Apocynaceae Adans apresenta cerca de 424 gêneros e 4.800 espécies distribuídas essencialmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Esta mais recente classificação também considera que o gênero *Rauvolfia* pertence à tribo Vinceae Duby (Koch, 2002).

2.2. O Gênero *Rauvolfia*

O gênero *Rauvolfia* pertence à subfamília Rauvolfioideae Kostel e tribo Vinceae Duby (Edress e Bruyns, 2000). Este gênero compreende cerca de 86 espécies de distribuição tropical, sendo estimadas 30 espécies para os paleotrópicos e 37 para os netróticos. Entre as 37 espécies de *Rauvolfia*, 26 são endêmicas da América do Sul, sete da América Central e Antilhas e quatro são amplamente distribuídas, ocorrendo na América do Sul, Central, México e Antilhas.

O centro de diversidade de *Rauvolfia* localiza-se na América do Sul, com 31 espécies, sendo 26 endêmicas. O Brasil é o país com maior número de espécies, com 19, sendo 11 endêmicas; seguido por Cuba, com cinco espécies, sendo três endêmicas (Kock, 2002).

As 19 espécies descritas de nosso país estão largamente distribuídas pelo seu território, conforme mostradas na Tabela 1. Contudo, somente seis destas: *R. ligustrina* (Muller, 1957), *R. sellowii* (Batista et al., 1996), *R. mattfeldiana* (Vieira et al., 1998), *R. bahiensis* (Kato et al., 2002), *R. weddelliana* (Kato, 2001) e *R. grandiflora* (Bianco et al., 1994 e Cancelieri, 2001), serviram como fonte de investigação de alcalóides.

Tabela 1 - Espécies de *Rauvolfia* encontradas no Brasil e suas respectivas localizações

Espécie	Localização (Estado brasileiro)
<i>R. atlantica</i>	Bahia
<i>R. bahiensis</i>	Bahia
<i>R. blanchetii</i>	Bahia e Espírito Santo
<i>R. grandiflora</i>	Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Pernambuco e Rio de Janeiro
<i>R. ligustrina</i>	Bahia, Ceará, Maranhão, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Mato Grosso
<i>R. macrantha</i>	Amazonas e Pará
<i>R. mattfeldiana</i>	Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Mato Grosso
<i>R. mollis</i>	Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro
<i>R. moricandi</i>	Bahia e Pernambuco
<i>R. pachyphylla</i>	Roraima
<i>R. paraensis</i>	Amazonas e Pará
<i>R. pauciflora</i>	Bahia e Espírito Santo
<i>R. pentaphylla</i>	Amazonas, Amapá e Pará
<i>R. polyphylla</i>	Amazonas
<i>R. praecox</i>	Acre e Amazonas
<i>R. sprucei</i>	Acre, Amazonas, Mato Grosso e Pará
<i>R. sellowii</i>	Minas Gerais, Pará, Rio de Janeiro e São Paulo
<i>R. sessilifolia</i>	Mato Grosso
<i>R. weddelliana</i>	Mato Grosso

Fonte: adaptada de Kato (2001) e Kock (2002).

Os membros desse gênero são subarbustos, arbustos ou árvores. As folhas são geralmente pequenas e brancas, o fruto é drupácio, carnoso e indeiscente e possui uma semente por unidade de capelo (Koch, 2002).

A espécie *Rauvolfia grandiflora*, conhecida popularmente como “saco de gambá”, apresenta-se como um arbusto, medindo de 2 a 8 metros de altura (Figura 1A). Suas flores (Figura 1B) são pequenas e agrupadas nas extremidades dos ramos, com presença registrada no período de julho a março, e os seus frutos registrados no período de agosto a junho.

Sua distribuição no Brasil ocorre na Mata Atlântica, nos Estados citados na Tabela 1, em várias formações vegetacionais. No Rio de Janeiro, há registros de espécimes coletados para estudos botânicos em Cabo Frio, Campos (Mata Bom Jesus, próxima à Usina São João) e Silva Jardim (Poço das Antas) (Kock, 2002).

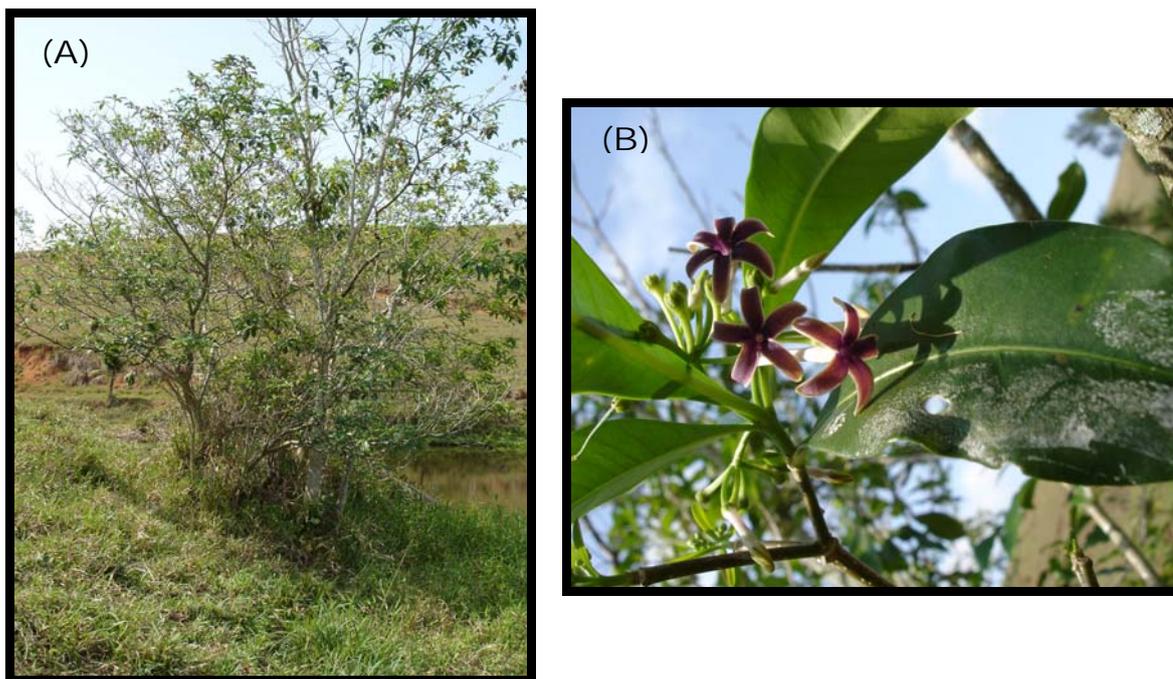
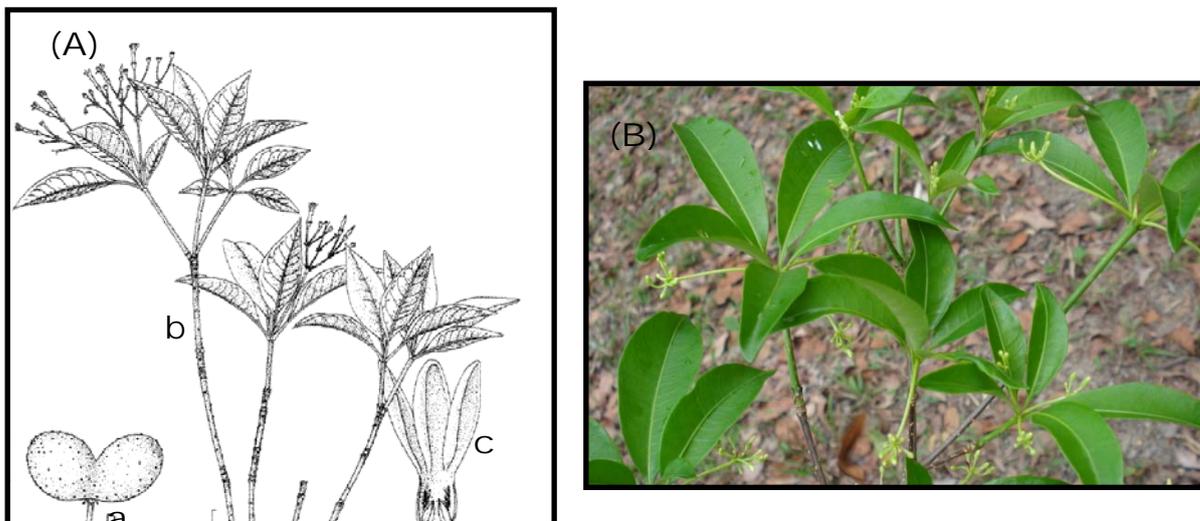


Figura 1. *R. grandiflora*, localizada em Bom Jesus do Itabapoana-RJ. (A): árvore e (B): flores de *R. grandiflora*. Fotos gentilmente cedidas por Walter L. Brasil Medeiros (CEFET-Campos).

A espécie *Rauvolfia mattfeldiana* é também conhecida como “grão de gato”, por causa da forma de seus frutos (assim como ocorre com a espécie “saco de gambá”); apresenta-se como um pequeno arbusto, medindo de 1 a 5 metros de altura. Suas folhas são ovado-elípticas, com até sete centímetros de comprimento (Figura 2), suas flores são registradas no período de outubro a abril, e os seus frutos, de janeiro a abril. Sua distribuição é endêmica no Brasil, e há registros de espécimes coletados na Bahia e em Guarapari-ES (Parque Estadual Paulo César Vinha, Setiba) (Kock, 2002; Assis et al., 2004).



Fonte: Kock (2002).

Figura 2. *Rauvolfia mattfeldiana*. **(A)**: fruto (a), ramo (b) e flor (c). **(B)**: Folhas (Foto gentilmente cedida por Domingos Antônio Folli - CVRD).

2.3. Os alcalóides

2.3.1. Definição

A palavra alcalóide foi usada pela primeira vez por Meissener em 1819 para designar algumas substâncias ativas que se encontravam em vegetais e que possuíam caráter básico. Em 1910, Winterstein e Trier definiram alcalóides em um sentido mais amplo, como substâncias básicas, nitrogenadas, de origem vegetal ou animal (Accame, 2001).

Segundo Pelletier (1983), citado por Henriques et al. (2003), os alcalóides são substâncias nitrogenadas que geralmente contêm nitrogênio em um anel de estrutura variável, em um estado de oxidação negativo.

O nome alcalóide vem do fato de essas substâncias serem álcalis, uma vez que possuem um grupo amina que lhes confere um caráter básico. Os alcalóides que contêm um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados alcalóides verdadeiros. As substâncias com átomos de nitrogênio não pertencentes a um sistema de anel heterocíclico são denominadas de protoalcalóides. As substâncias com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos são chamados pseudoalcalóides.

Os alcalóides constituem-se num vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas (Henriques et al., 2003).

2.3.2. Histórico

O desenvolvimento das rotas marítimas, além de ter colocado a Europa no centro do mundo, possibilitou a descoberta de muitos produtos de plantas nativas de países longínquos, que até então eram desconhecidas. Muitas vezes os próprios conquistadores experimentaram as propriedades mortais do curare, as virtudes anestésicas e estimulantes da folha de coca (*Erythroxylon coca*) e a casca de quina, utilizada para baixar a temperatura nas febres palúdicas; e isto muito antes de se ter conhecimento de como dela se extraia a quinina (4). No encalço dos descobridores prosseguiram os exploradores, missionários e botânicos como Tournefort, que, em 1792, regressa do Oriente com 1.356 plantas então desconhecidas na Europa (Miranda, 1998).

O uso de extratos vegetais contendo alcalóides como medicamentos, venenos e em poções mágicas pode ser traçado desde os primórdios da civilização. Por exemplo, em 1924, o doutor Reginald Campbell Thompson, do Museu Britânico, conseguiu identificar 250 vegetais, minerais e substâncias diversas utilizados por médicos babilônicos, em virtude de suas propriedades terapêuticas.

Dentre esses vegetais, destacavam-se especialmente a beladona (cujas folhas contêm cerca de 0,3 a 0,5% de alcalóides, sendo o principal a hiosciamina (5), administrada contra espasmos, tosse e asma [Lewis, (1977), citado por Bacchi (2003)]. A beladona é conhecida como uma espécie altamente tóxica, tendo sido empregada como veneno desde a época do Império Romano, quando a adicionavam a alimentos servidos em banquetes com o propósito de assassinar os inimigos e adversários políticos do Imperador Romano Augusto.

Outro exemplo clássico foi o uso de um extrato preparado à base de cicuta, contendo o alcalóide coníina (6), na execução do filósofo Sócrates. Também os índios da Bacia Amazônica utilizavam o extrato seco da planta conhecida como curare, contendo o alcalóide tubucurarina (7), para preparar dardos e flechas envenenados para serem utilizados nas caçadas e nas guerras. Em diversos grupos étnicos, os feiticeiros detêm o poder utilizando beberagens

contendo alcalóides alucinógenos (Robbers et al., 1976), citado por Henriques et al. (2003).

Ao longo da primeira metade do século XIX, foram descobertos vários alcalóides. Em 1805, Sertürner isolou o primeiro alcalóide - a morfina (**8**) - do ópio (*Papaver somniferum*). Posteriormente, Pelletier e Caventou isolaram a estricnina (**9**) em 1817, a quinina (**4**) em 1820 e aconiína (**6**) em 1826. A narcotina (**10**) foi isolada por Robiquet em 1817 e a codeína (**11**) em 1832. Runge descobriu a cafeína (**12**) em 1820 e Mein, a atropina (**13**) em 1831. O primeiro alcalóide sintetizado foi a coniína (**6**) em 1886. A identificação da estrutura da morfina (**8**) foi realizada somente em 1923 por Robinson e Gulland (Accame, 2001).

Magendie (1783-1755) iniciou os estudos farmacológicos com a estricnina (**9**) (extraído da *Strychnos nux-vomica* L.) e, posteriormente, Claude Bernard (1813-1878) continuou os ensaios de atividade farmacológica com outros alcalóides que se encontram no curare, tabaco e ópio.

Muitos outros alcalóides continuam sendo descritos, e seu uso introduzido na terapêutica, como por exemplo, os alcalóides antitumorais isolados da *Catharanthus roseus* L. (Henriques et al., 2003).

3.3.3. Função fisiológica

A função fisiológica dos alcalóides nas plantas ainda não está bem elucidada. Existem sugestões de que eles não têm função metabólica importante, contudo, inúmeros trabalhos relatam que essas substâncias têm funções de defesa contra insetos herbívoros. Em inúmeras famílias de plantas, faltam evidências para sustentar essa afirmação, mas, por outro lado, efeitos inibidores dos alcalóides sobre a alimentação de larvas de lepidópteros já foram verificados nas famílias Loganiaceae [estricnina (**9**) e brucina (**14**)], Rubiaceae [cafeína (**12**) e quinina (**9**)], Rutaceae [pilocarpina (**15**)], Apocynaceae [conecina (**16**)] e Leguminosae [esparteína (**18**)], de acordo com Buchanan et al. (2000), citados por Alves (2003).

2.3.4. Biossíntese

A maioria dos alcalóides é derivada do metabolismo dos aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina) e dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano). Os alcalóides derivados do metabolismo da fenilalanina e da tirosina

contêm uma subunidade ArC_2N , freqüentemente unida com uma subunidade ArC_2 ou ArC_1 , proveniente da degradação parcial desses aminoácidos.

O metabolismo do triptofano provê a subunidade C_2N -indol, encontrada em grande variedade de alcalóides, que abrangem desde a gramina (**18**) que é um alcalóide de estrutura relativamente simples, até os que apresentam estruturas mais complexas, como a estricnina (**9**).

De acordo com Taiz e Zeiger (1998), a incorporação do nitrogênio em substâncias orgânicas é rapidamente realizada pelas células vegetais para se evitar a toxicidade do íon amônio, e isto pode estar relacionado com a biossíntese de alcalóides por plantas que se encontram em meio a algum tipo de estresse.

2.3.5. Classificação

Os alcalóides são classificados de acordo com a natureza do átomo de nitrogênio presente na estrutura. O número de subdivisões dá-se de acordo com a complexidade estrutural da substância.

De uma maneira geral, a nomenclatura dos alcalóides não segue nenhuma regra sistemática, seus nomes podem refletir a origem botânica da substância, como por exemplo: estricnina (**9**), que foi isolada da planta *Strychnos*, ou ainda estar ligado a algum tipo de homenagem, como a nicotina (**18A**), que vem de Nicot, embaixador francês que enviou sementes de tabaco para a França, e a darcyribeirina (**27**), que provém da homenagem a Darcy Ribeiro, fundador da UENF.

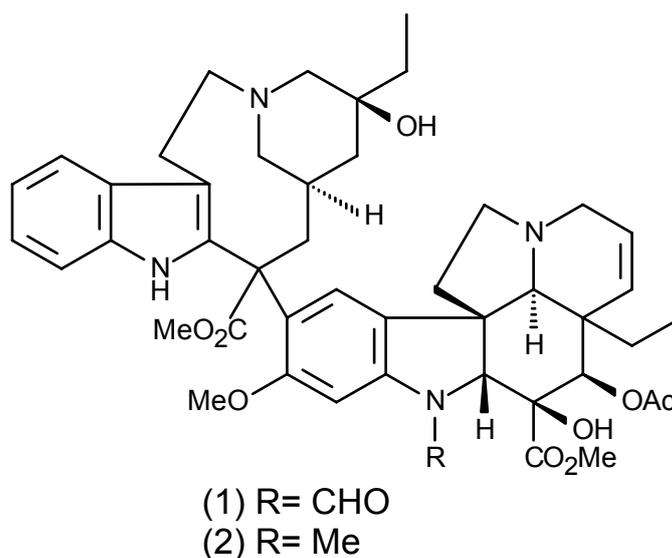


Figura 3. Estrutura dos alcalóides **1** a **18A**.

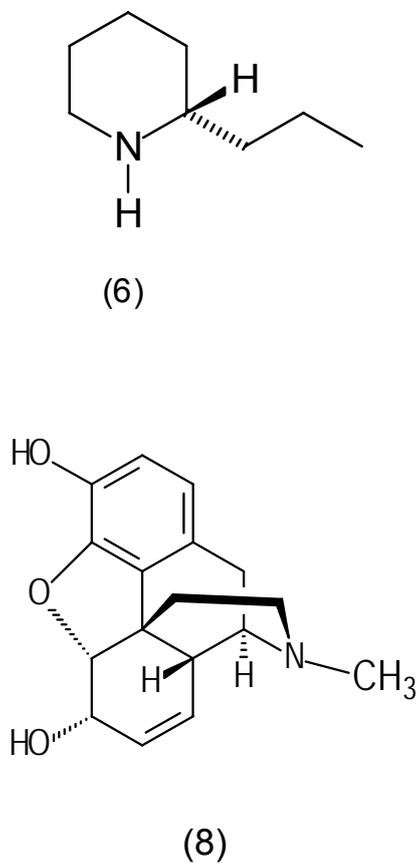
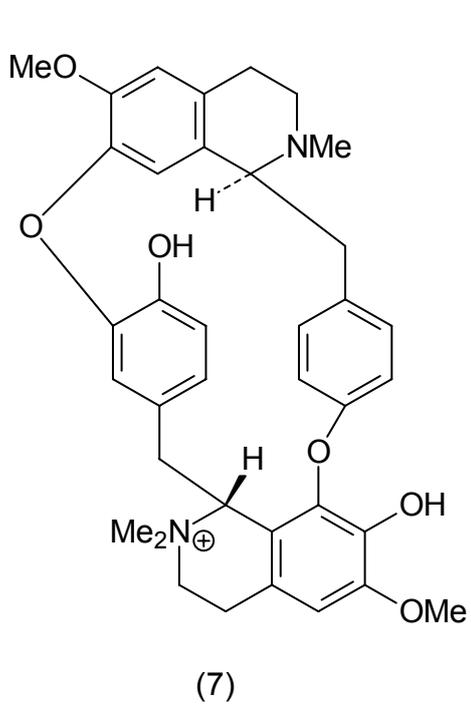
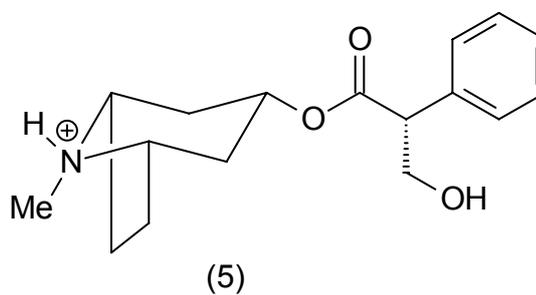
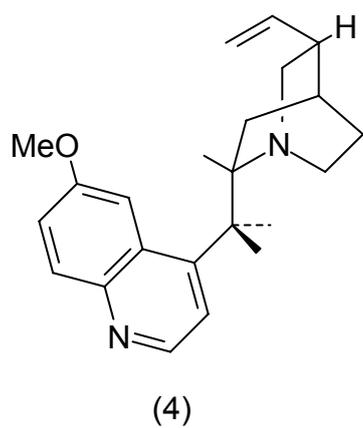
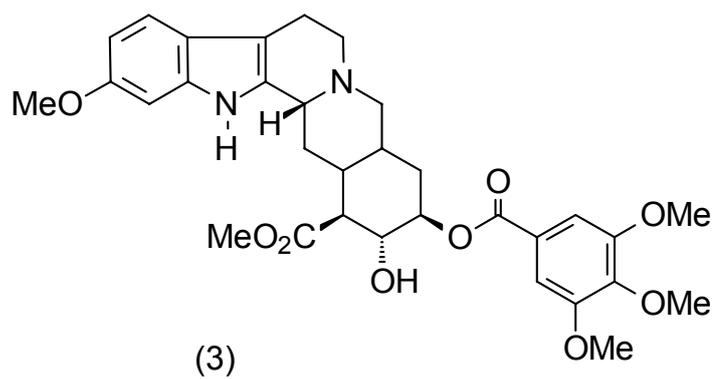
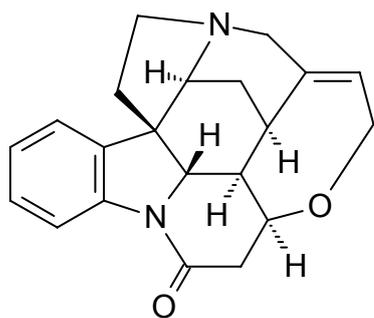
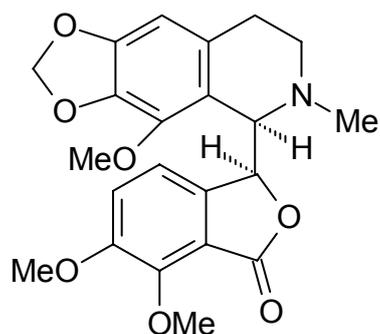


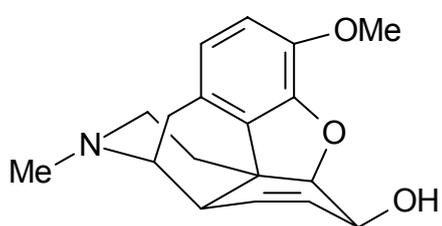
Figura 3, cont.



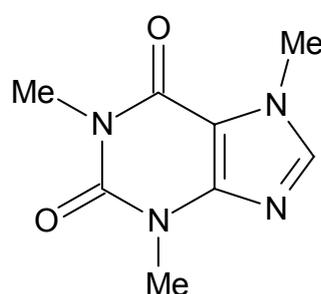
(9)



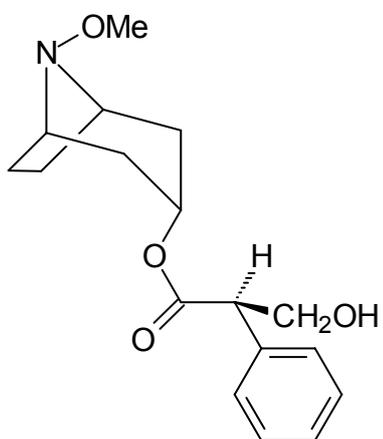
(10)



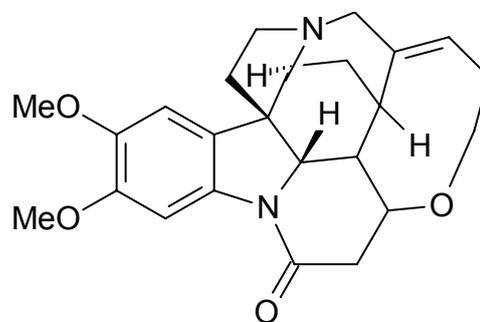
(11)



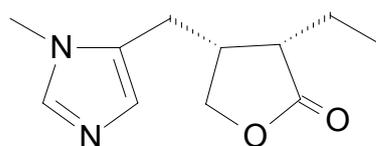
(12)



(13)

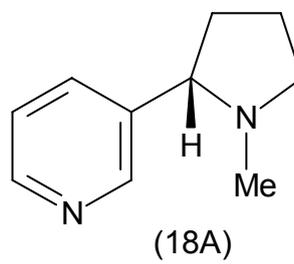
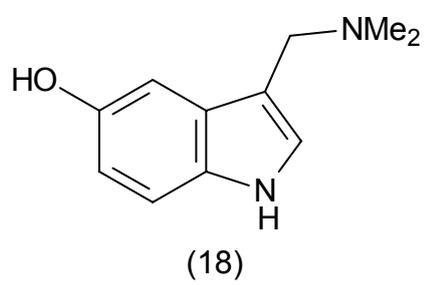
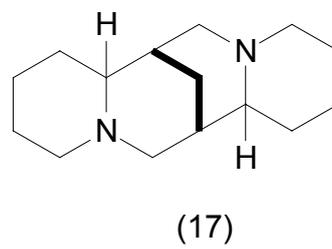
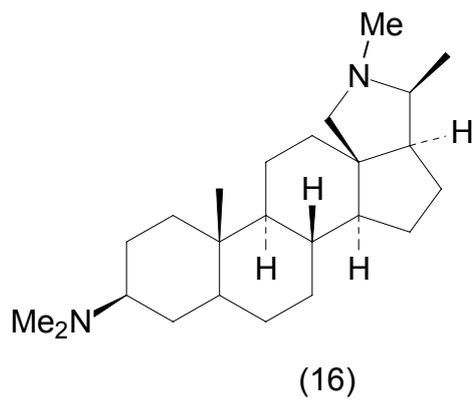


(14)



(15)

Figura 3, cont.



Os alcalóides também podem ser classificados de acordo com os seus precursores biogenéticos, os quais conferem suas características estruturais próprias, conforme pode se observar na Tabela 2.

Tabela 2 - Exemplos da classificação de alguns alcalóides de acordo com o seu precursor biogenético

Precursor	Classe	Exemplo (origem)
L-ornitina	Tropânico	Atropina (<i>Atropa belladonna</i> L.)
	Fenantroindolizidínico	Tiloforina (<i>Tylophora asthmatica</i>)
	Pirrolizidínico	Retronecina (<i>Senecio</i> spp.)
	Pirrolidínico	Higrina (<i>Erythroxylum</i> spp.)
L-lisina	Quinolizidínico	Lupinina (<i>Lupinus luteos</i> L.)
	Piperidínico	Coniina (<i>Conium maculatum</i> L.)
	Indolizidínico	Catanospemina (<i>Catanospermum australe</i> Hook)
L-triptofano	Indólico simples	Psilocina (<i>Psilocybe mexicanus</i>)
	Indólico	Reserpinina (<i>Rauvolfia</i> spp.)
	monoterpênico	
	β -carbolina	Harmina (<i>Peganum harmala</i> L.)
	Quinolínico	Quinina (<i>Cinchona</i> spp.)
	Pirroloindólico	Fisostigmina (<i>Physostigma venenosum</i> Balf)
	Ergolina	Ácido (+) lisérgico (<i>Caviserps purpurea</i>)

Fonte: adaptação de Henriques et al., 2003.

2.3.5.1. Alcalóides indólicos

São alcalóides que possuem o triptofano como precursor biogenético. O triptofano é um aminoácido aromático que tem origem na rota do ácido chiquímico via ácido antranílico, que contém em sua estrutura um sistema de anel indólico. Este aminoácido atua tanto como precursor dos alcalóides indólicos como também pode sofrer reações de rearranjo promovendo a conversão do sistema de anel indólico em anel quinolínico. A classe dos alcalóides indólicos pode ser dividida em dois grupos: alcalóides indólicos monoterpênicos e os demais alcalóides indólicos.

Os alcalóides indólicos simples são formados por modificações simples do L-triptofano, como descarboxilações, hidroxilações e metilações (Figura 4).

2.3.5.1.1. Alcalóides indólicos monoterpênicos

São formados pela reação de condensação (catalisada pela enzima estrictosidina sintase) entre a triptamina (formada através da descarboxilação do L-triptofano) e o iridóide secologamina, originando a estrictosidina (Figura 4).

Os alcalóides indólicos monoterpênicos apresentam uma grande variedade estrutural, porém a origem biossintética é comum, ou seja, todos eles têm o mesmo precursor, a estrictosidina [que é um glicosídeo formado pela condensação de uma molécula de triptamina com uma de secologamina (que é um aldeído monoterpênico)] (Bruneton, 1995).

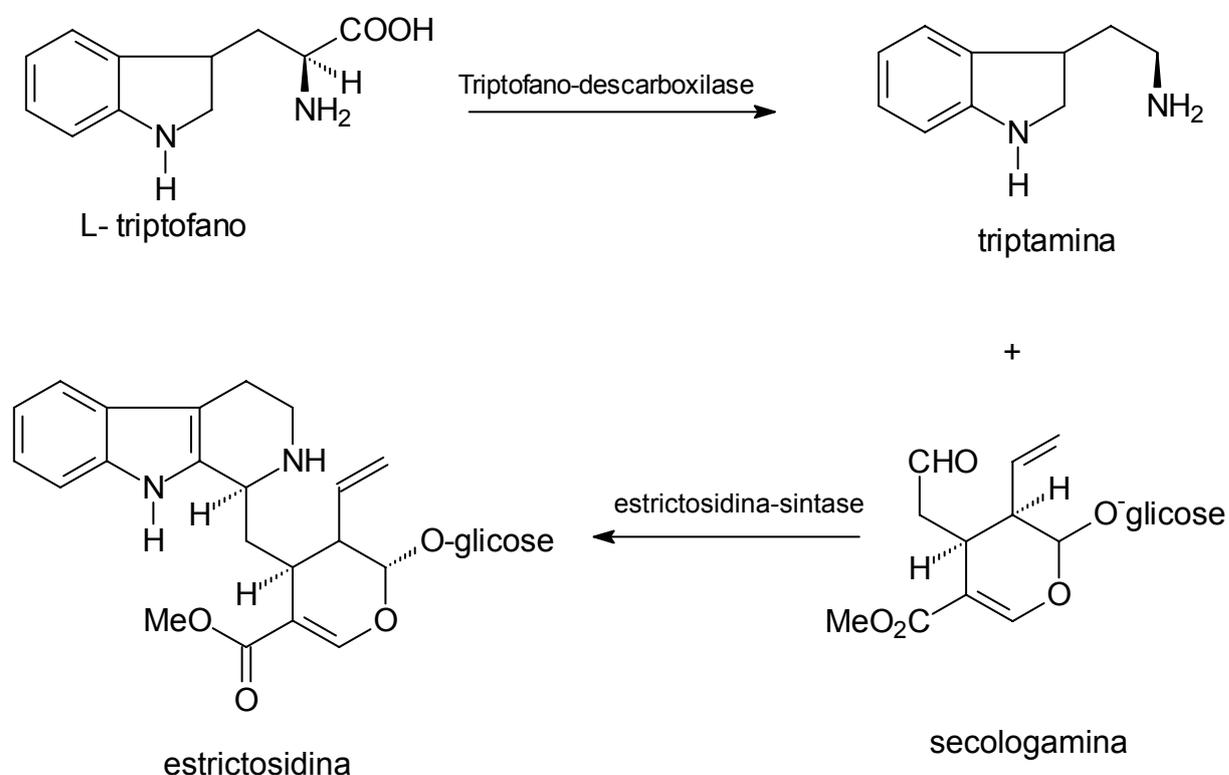


Figura 4. Reações da origem biossintética dos alcalóides indólicos monoterpênicos.

A biossíntese a partir do intermediário estrictosidina ainda não está esclarecida (Loyola-Vargas et al., 2004), pois muitas das enzimas envolvidas ainda não foram isoladas e caracterizadas. Apenas substâncias com grande importância farmacológica como a vimblastina (1) e vincristina (2) possuem as últimas etapas de suas biossínteses definidas.

Em 1980, Kisakürek e Hesse subdividiram os alcalóides indólicos monoterpênicos em oito classes, conforme citado por Schripsema et al. (2003). Em 1985, Van Beek ampliou esta classificação adicionando três classes: uma para um novo arranjo de esqueleto de alcalóides indólicos monoterpênicos (posteriormente denominada classe Tacamano), outra classe para alcalóides indólicos monoterpênicos diméricos e uma outra classe para todos os demais alcalóides indólicos monoterpênicos. Esta classificação foi feita de acordo com as variações das características estruturais dos esqueletos dos alcalóides, conforme citado por Cancelieri (2001):

- 1. Corinanteano ou tipo C:** esta subclasse de alcalóide apresenta 46 variações no seu esqueleto e, como exemplo, pode-se citar ioimbina (**22**), ajmalicina (**97**), sarpagina (**31**) e picranila (**122**).
- 2. Vincosano ou tipo D:** constitui-se de 11 diferentes variações no esqueleto. Exemplos: vincosidina e talbotina.
- 3. Valesiachotamano ou tipo V:** possui duas variações no esqueleto. Exemplo: valesiachotamina.
- 4. Estricnano ou tipo S:** apresenta 11 variações no esqueleto. Exemplos: vomicina e akuamicina.
- 5. Aspidospermatano ou tipo A:** apresenta seis variações no esqueleto. Exemplos: stemadenina, condilocarpina e aspidospermatina.
- 6. Eburnano ou tipo E:** apresenta cinco variações no esqueleto. Exemplos: vincamina e dicotina.
- 7. Plumerano ou tipo P:** apresenta 11 variações no esqueleto e isolados. Exemplos: Kopsina, aspidospermidina e tabersonina.
- 8. Ibogano ou tipo J:** possui 11 variações no esqueleto. Exemplos: voaluteina, ibogaina, pseudoaspidospermina e catarantina.
- 9. Tacamano ou tipo T:** exemplo: tacamina.
- 10. Bis-indol**
- 11. Diversos**

Os esqueletos básicos das nove primeiras classes estão ilustrados na Figura 5.

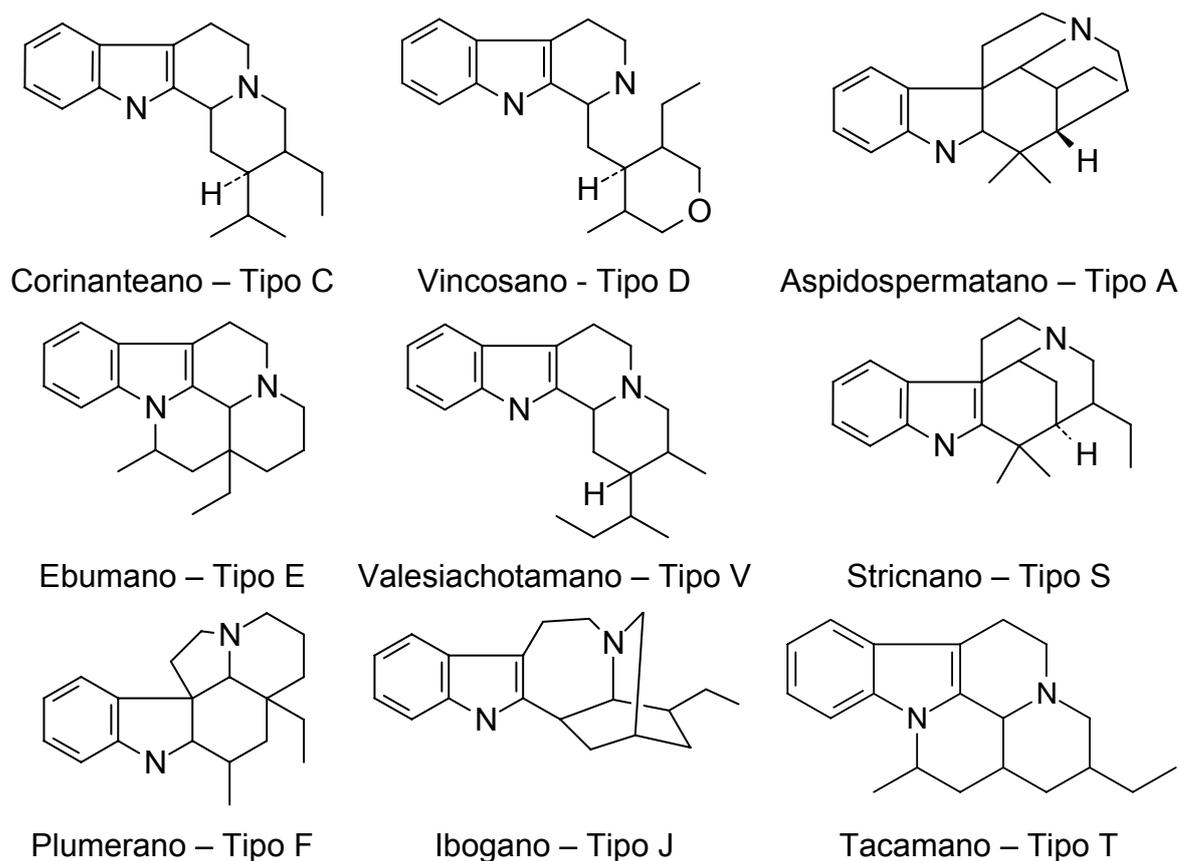


Figura 5. Esqueletos básicos das nove primeiras subclasses de alcalóides indólicos monoterpênicos.

O sistema de numeração aceito atualmente para os alcalóides indólicos monoterpênicos foi proposto em 1965 por Le Men e Taylor, estando relacionado com sua biogênese, no qual, tem-se como base a ioimbina (**22**), conforme ilustra a Figura 6 (Le Men e Taylor, 1965), citado por Schripsema et al. (2003).

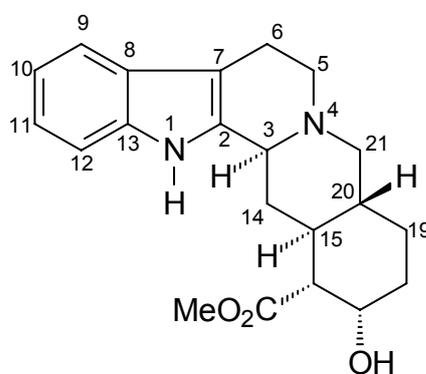


Figura 6. Estrutura da ioimbina com o sistema de numeração proposto por Le Men e Taylor em 1965.

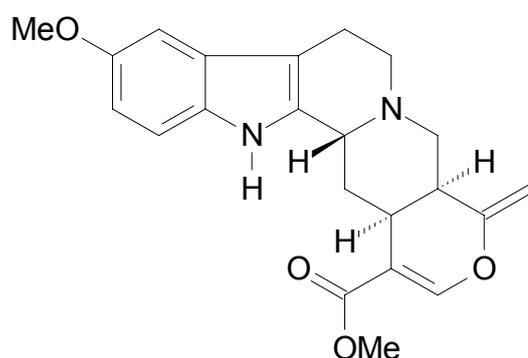
A subclasse denominada alcalóides indólicos pode ser encontrada em plantas das famílias Apocynaceae, Rubiaceae e Loganiaceae. Na família Apocynaceae, as espécies do gênero *Rauvolfia* e *Tabernaemontana* destacam-se como bioprodutoras desses alcalóides.

2.3.6. Alcalóides de *Rauvolfia*

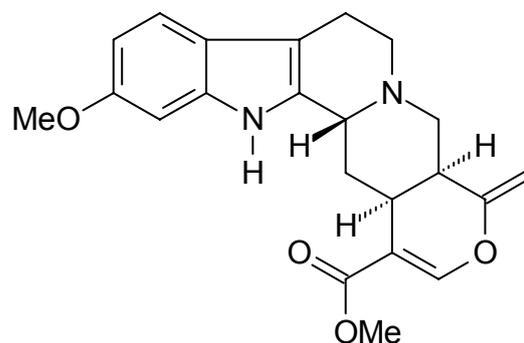
No gênero *Rauvolfia*, encontram-se basicamente alcalóides indólicos, com esqueletos carbônicos do tipo ajmalina (**23**), reserpina (**24**), ioimbina (**22**) e outros que são importantes agentes terapêuticos (Kato et al., 2002).

A espécie *R. vomitoria* contém uma ampla quantidade (0,7 a 2,4%) de alcalóides indólicos, entretanto apenas 0,15 a 2,0% destes possuem atividades terapêuticas, como reserpina (**24**), rescinamina (**143**) e deserpina (**26**).

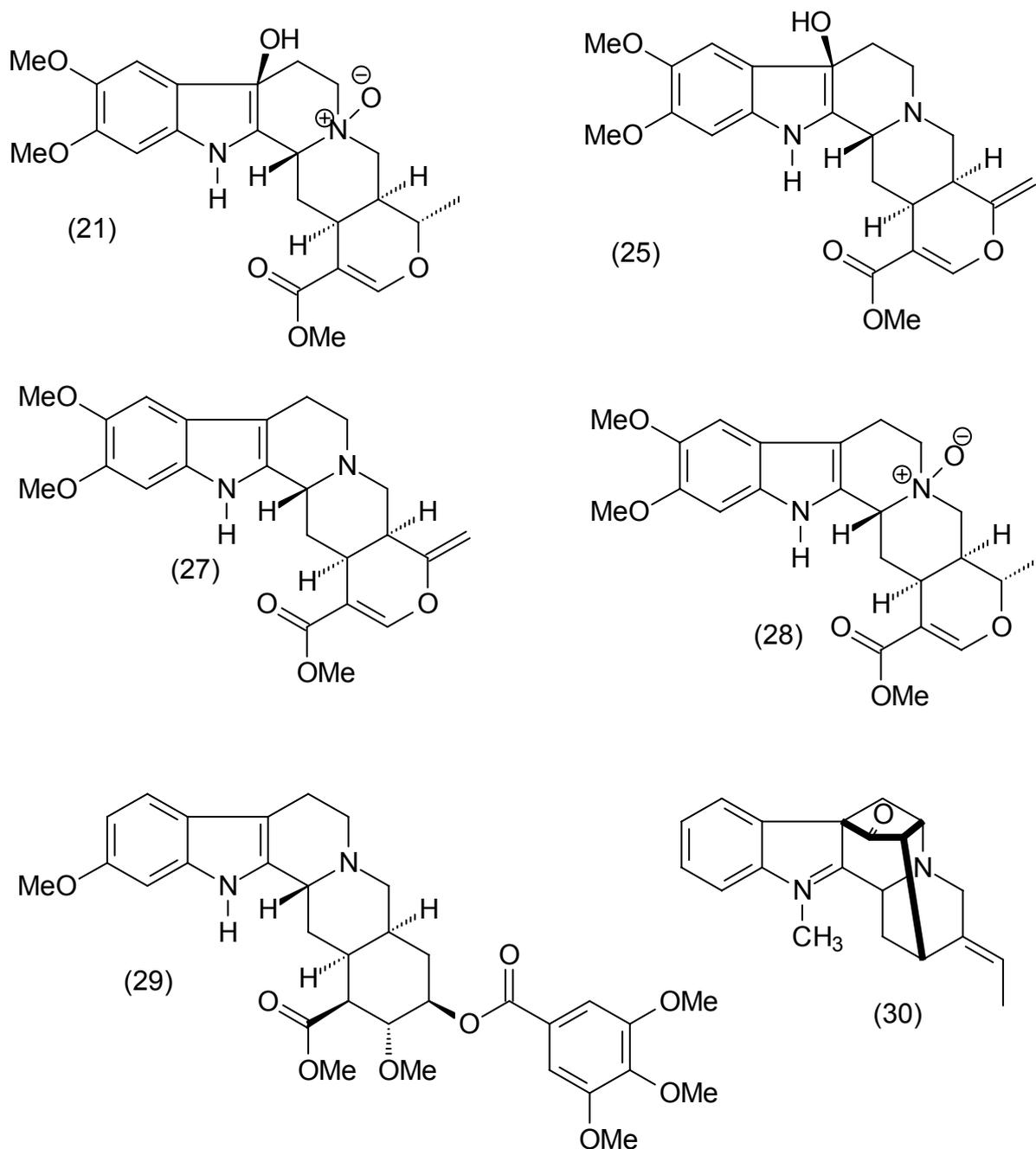
Canceliere et al. (2002), estudando o extrato em diclorometano das cascas das raízes de *Rauvolfia grandiflora*, conhecida como “saco de gambá”, caracterizaram um novo alcalóide indólico pentacíclico denominado darcyibeirina (**27**), 7-hidroxiindolina darcyibeirina (**25**), 11-desmetoxidarcyibeirina (**19**), 10-desmetoxidarcyibeirina (**20**) e outros alcalóides indólicos já conhecidos – isoreserpilina (**92**), isoreserpina (**29**), *N*-óxido isoreserpilina (**28**), *N*-óxido-7-diidroxiindolina-isoreserpilina (**21**) e isoreserpina (**29**), além do triterpeno lupeol e os esteróides β -sitosterol, estigmasterol e campesterol.



(19)



(20)



Kato et al. (2000) descreveram três novos alcalóides: 12-metoxi- N_a -metil-sapargan-17-al (**288**), 12-desmetoxipurpelina (**30**) e 12-metoxiafinisina (**224**) e mais outros 30, isolados das folhas e cascas de *R. bahiensis*.

De uma maneira geral, pode-se dizer que os sistemas de anéis de quase todos os alcalóides encontrados no gênero *Rauvolfia* são basicamente representados pelos seguintes compostos: ioimbina (**22**), ajmalina (**23**), ajmalicina (**97**) e sarpagina (**31**) (Zenk, 1980). A literatura registra grande número de alcalóides isolados de *Rauvolfia*, por diversos pesquisadores, conforme ilustra a Tabela 3, cujas estruturas estão ilustradas por ordem numérica no Quadro 1.

Tabela 3 - Alcalóides isolados das espécies do gênero *Rauvolfia* até 2007

Substâncias	Espécie	Referência
Acetato de 19, 20–desidroadirubina (114)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00463
17-O-acetilajmalina (33)	<i>R. caffra</i> <i>R. volkensis</i>	Khan, 1984 Akinloye e Court, 1981
Acetil- <i>allo</i> -ioimbina (57)	<i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., A-01068
Acetilgeissoschizol (61)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
O-acetilgeissoschizol (236) ver dicionário	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., G-00178
17-acetil-19,20-diidro-vomilenina (73)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
21–acetil–19,20–diidrovomilenina (237)	<i>R. caffra</i>	Dic. of Nat. Prod., V-00460
10-O-acetil-nortetrafilicina (67)	<i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01162
17-acetil-sandwicina (39)	<i>R. vomitoria</i>	Ronchetti et al., 1871
17–O–acetil-tetrafilicina (65)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
Ácido 16,17-didesidro-17-hidroxi-16-(hidroximetil)-corinan-5-carboxílico (74)	<i>R. caffra</i>	Dic. of Nat. Prod., D-00888
Ácido- α - lactona-2,7,19,20–tetraidro–3-hidroxi–1–metilvolbasan–17–óico (76)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., T-00470
Ácido resérpico (77)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00126
2-acilindol (238)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
Ajmalicidina (81)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987a
Ajmalicina (97)	<i>R. serpentina</i> <i>R. caffra</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. nitida</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. yunnanensis</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00610 Madati et al., 1977; Khan, 1984; Nasser e Court, 1983 Iwu e Court, 1978 Iwu e Court, 1980 Amer e Court, 1981b Akinloye e Court, 1981 Poser et al., 1990 Hanaoka et al., 1970 Akinloye e Court, 1981 Hu et al., 2006
Ajmalicinina (78)	<i>R. caffra</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. serpentina</i>	Iwu et. al., 1978 Dic. of Nat. Prod., A-00607 Dic. of Nat. Prod., A-00605
Ajmalina (32)	<i>R. balansae</i> <i>R. canescens</i> <i>R. biauriculata</i> <i>R. caffra</i>	Libot et al., 1986 Arambewela e Madawella, 2001 Abaul et al., 1986 Khan, 1984, Nasser e Court, 1983 e Habib e Court, 1974,

Tabela 3, Cont.

	<i>R. cambodiana</i>	Can, 1991
	<i>R. cubana</i>	Martinez e Nicolaeva, 1989
	<i>R. heterophylla</i>	Amtipova et al., 1988
	<i>R. ligustrina</i>	Martinez et al., 1992
	<i>R. littoralis</i>	Can, 1990
	<i>R. macrophyla</i>	Amer e Court, 1981a
	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
	<i>R. obscura</i>	Timmins e Court, 1974
	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
	<i>R. sellowii</i>	Poser et al., 1990
	<i>R. serpentina</i>	Endreß et al., 1992
	<i>R. semperflorens</i>	Libot et al., 1987
	<i>R. sevenetii</i>	Libot et al., 1987
	<i>R. spathulata</i>	Libot et al., 1986
	<i>R. suaveolens</i>	Majumdar et al., 1973
	<i>R. sumatrana</i>	Hanaoka et al., 1970
	<i>R. verticillata</i>	Arthur et al., 1968
	<i>R. viridis</i>	Martinez et al., 1988
	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
	<i>R. vomitoria</i>	Ronchetti et al., 1971; Sabri e Court, 1978
	<i>R. yunnanensis</i>	Hu et al., 2006
Ajmalinimina (105)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987c
Ajmalidina (100)	<i>R. mauiensis</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00608
	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
	<i>R. sellowii</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00608
	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00608
	<i>R. viridis</i>	Péres et al., 1997
Ajmalinimina (239)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987c
Ajmalinina (240)	<i>R. sellowii</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00612
	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00612
Ajmalinol (35)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00610
Akuamidina (241)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
Akuamicina (103)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
	<i>R. volkensis</i>	Alinkoye e Court, 1981
	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Akuamilina (110)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00634
	<i>R. vomitoria</i>	Amer e Court, 1980a
Alcalóide B ₁ ou Usambarina (115)	<i>R. obscura</i>	Dic. of Nat. Prod., U-00171
Alcalóide C ₂ (244)	<i>R. obscura</i>	Timmins, 1975
Alcalóide CRB (242)	<i>R. cumminsii</i>	Iwu et al, 1978

Tabela 3, Cont.

Alcalóide D ₁ (243)	<i>R. obscura</i>	Timmins e Court, 1974
Alcalóide D ₂ (244)	<i>R. obscura</i>	Timmins e Court, 1974
Aloioimbina (52)	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
Alstonina (117)	<i>R. littoralis</i> <i>R. nitida</i> <i>R. obscura</i> <i>R. serpentina</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Can, 1991 Amer e Court, 1981b Timmins e Court, 1974 Dic. of Nat. Prod., A-01118 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978
Amerovolficina (16-desmetoxi-carbonil-pagicerina) (120)	<i>R. cubana</i>	Martinez et al., 1989
Amerovolfina (acedina) (121)	<i>R. cubana</i> <i>R. tetraphyla</i>	Martinez et al., 1989 Martinez et al., 1995
Amsoniaefolina (245)	<i>R. amsoniaefolia</i>	Dic. of Nat. Prod., A-01630
Aricina ou Raumitorina (90)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., A-02726
Burnamina (124)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., P-01217
16-carboxilato-etil-16,17-didesidrometoxi-19-metiloxioimbano (210)	<i>R. suaveolens</i>	Dic. of Nat. Prod., M-00942
Cabufilina (130)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
Canembina (246)	<i>R. canescens</i>	Dic. of Nat. Prod., C-00239
Carapanaubina (131)	<i>R. oreogiton</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Akinloye e Court, 1981 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1980a
Carboxilato de hidroxioimbina (247)	<i>R. linearifolia</i>	Martinez et al., 1994
16-carboxilato-metil-16,17-didesidrometoxi-19-metiloimbano ou metiloxioimbano (210)	<i>R. linearifolia</i>	Martinez et al., 1994
Carinana (248)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1984
Chandrina (249)	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., C-00846
Chelerithrina (250)	<i>R. sellowii</i>	Poser et al., 1990
Compactinervina (251)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
Compactinervina I, II, III (252)	<i>R. sprucei</i>	Madinaveitia et. al., 1995
Corinanteal (136)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., C-01893
Corinanteol (135)	<i>R. cumminsii</i> <i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1978 Iwu e Court, 1980
Corinantina (42)	<i>R. biauriculata</i> <i>R. canescens</i>	Abaul et al., 1986 Arambewela e Madawella, 2001,

Tabela 3, Cont.

Darcyribeirina (27)	<i>R. grandiflora</i>	Cancelieri, 2001
Desacetildesformoakuamilina (253)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978; Amer e Court, 1980a
Deserpideina (134)	<i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., D-00552
Deserpidina (139)	<i>R. canescens</i> <i>R. nitida</i>	Arambewela e Madawela 2001 Amer e Court, 1981b
16–descarbometoxi–desidrovobasina (148)	<i>R. discolor</i>	Combes et al., 1968
10-desmetoxidarcyribeirina (254)	<i>R. grandiflora</i>	Cancelieri, 2001
11-desmetoxidarcyribeirina (255)	<i>R. grandiflora</i>	Cancelieri, 2001
12-desmetoxipurpelina (256)	<i>R. bahienses</i>	Kato et. al., 2002
Diacetilajmalina (36)	<i>R. caffra</i>	Khan. 1984
(5 β)–17–O–diacetil–5,11–dimetoxiakuaminilina (257)	<i>R. yunnanensis</i>	Hu et al., 2006
Diacetil–1,2– β –diidroakuamilina (150)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00634
O–Diacetil–12–metoxivomilenina (155)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., V-00460
Diacetil–picralina (123)	<i>R. cumminsii</i>	Iwu e Court, 1978
<i>N</i> _a -18-didesmetil-19-hidroxi- <i>N</i> _b -metilsuaveolina (163)	<i>R. caffra</i>	Dic. of Nat. Prod., D-00892
16,17–Diepipseudoreserpina (45)	<i>R. yunnanensis</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00128
19, 20–Diidroakuamicina (158)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
1, 2– β –diidroakuamilina (149)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00634
19, 20–Diidro- α -ioimbina (161)	<i>R. obscura</i>	Dic. of Nat. Prod., D-00348
Diidroindol (262)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
17, 18–Diidroperaksina (157)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
19, 20–Diidroreserpilina (159)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
7–Diidrosistoterol (259)	<i>R. serpentina</i>	Karmakar e Chakraborty, 1983
Dimetilcorinanteina (174)	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
Dimetilcorinateidina (75)	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
Tabela 3, Cont.		
Dimetildiidroxicorinanteina (174)	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
Dimetildiidrocorinanteidina (175)	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
Tabela 3, Cont.		

N_a -dimetil–diidropurpelina (Diidronorpurpelina) (169)	<i>R. cumminsii</i>	Iwu e Court, 1978
N_a, N_b -dimetilsarpagina (178)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
N_a -dimetilseradamina (173)	<i>R. sumatrana</i>	Hanaoka et al., 1970
Dimetoxiacetil perakina (artefato) (168)	<i>R. sellowii</i>	Batista et al., 1996
10,11–dimetoxiajmalina (98)	<i>R. cumminsii</i>	Iwu e Court, 1978
10, 11–dimetoxiajmalicina (98)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00605
10, 11–dimetoxipicrinina (260)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
12-Desmetoxi purpelina (30)	<i>R. bahiensis</i>	Kato et al., 2002
12–dimetoxitabernulosina (126)	<i>R. sellowii</i>	Batista et al., 1996
Dioxiperakisna (176)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
10–dioxisarpagina (262)	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
21-Dioxivomilenina (263)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
Dispegatrina (179)	<i>R. verticillata</i>	Dic. of Nat. Prod., D-03467
16– <i>epi</i> –afinina (180)	<i>R. cubana</i>	Martinez et al., 1989a
3– <i>epi</i> – α -ioimbina (53)	<i>R. bahiensis</i> <i>R. sprucei</i> <i>R. serpentina</i>	Kato et al., 2002 Madinaveitia et al., 1995 Falkenhagen e Strockigt, 1993
3– <i>epi</i> – β -ioimbina (43)	<i>R. linearifolia</i>	Pérez et al., 1991
17– <i>epi</i> –Norseredamina (264)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00591
19– <i>epi</i> –serpentina (118)	<i>R. cumminsii</i>	Iwu e Court, 1978
19 α , 20 α -epoxi–akuamicina (177)	<i>R. sellowii</i>	Batista et al., 1996
Endolobina (185)	<i>R. cumminsii</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. vomitoria</i>	Iwu e Court, 1978 Iwu e Court, 1980 Sabri e Court, 1978
Epirauviridina (188)	<i>R. viridis</i>	Martinez et al., 1989
Estgmasterol (265)	<i>R. serpentina</i>	Karmakar e Chakraborty, 1983
Etilharmano (266)	<i>R. pisicotrioides</i>	Córdova e Pena, 1979
Flexicorina (191)	<i>R. reflexa</i>	Chatterjee et al., 1982
Gardenerina (44)	<i>R. biauriculata</i>	Abaul et al., 1986
Geissoschizol (59)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Geissoschizina (192)	<i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978

Tabela 3, Cont.

Harmano (129)	<i>R. piscotrioides</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. viridis</i>	Córdova e Pena, 1979 Belém-Pinheiro et al., 1988 Subhadhirasakul et al., 1994 Martinez et al., 1988
Heteroioimbina (267)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
Hidroheteroioimbina (268)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
10-Hidroxiakuamicina (Sevarina) (194)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
12-hidroxiajmalina (37)	<i>R. serpentina</i>	Falkenhagen e Strockigt, 1993
21-hidroxiciclocnerina (193)	<i>R. biauriculata</i>	Abaul et al., 1986
18-hidroxigardnerina (269)	<i>R. biauriculata</i>	Abaul et al., 1986
10-Hidroxigeissoschizol (62)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
7-hidroxindolina darcyribeirina (270)	<i>R. grandiflora</i>	Cancelieri, 2001
18-hidroxi-epi- <i>allo</i> -ioimbina (55)	<i>R. nitida</i> <i>R. sprucei</i>	Dic. of Nat. Prod., H-03181 Madinaveitia et al., 1995
18- β -hidroxi-3-epi- α -ioimbina (54)	<i>R. serpentina</i>	Falkenhagen e Strockigt, 1993
18-hidroxi-ioimbina (48)	<i>R. cumminsii</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. bahiensis</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. nitida</i> <i>R. suaveolens</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Iwu e Court, 1978 Dic. of Nat. Prod., H-03181 Kato et al., 2002 Iwu e Court, 1980 Amer e Court, 1981b Majumdar et al., 1973 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978
18-hidroxi- α -ioimbina (51)	<i>R. bahiensis</i> <i>R. mombasiana</i>	Kato et al., 2002 Iwu e Court, 1980
18-hidroxilocnerina (272)	<i>R. biauriculata</i> <i>R. sprucei</i>	Abaul et al., 1986 Madinaveitia et al., 1995
12-hidroximauiensina (72)	<i>R. media</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01162
5- β -Hidroximetilakuamilina (112)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00634
(16 <i>S</i> , 19 <i>E</i>)- <i>N</i> ₁ -(hidroximetil) isotisirikina (288)	<i>R. yunnanensis</i>	Hu et al., 2006
10-Hidroxinortetrafilicina (68)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
6- α -Hidroxiraumaclina (196)	<i>R. serpentina</i>	Endreß et al., 1992
10-hidroxistrictamina (107)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
Indobina (160)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987a
Indobinina (274)	<i>R. serpentina</i> <i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987a Dic. of Nat. Prod., I-00126

Tabela 3, Cont

Indolenina RG (275)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Isoraunescina (145)	<i>R. canescens</i> <i>R. ligustrina</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00063 Dic. of Nat. Prod., R-00063
Isoreserpilina pseudoindoxil (198)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
β -Isoreserpilina (84)	<i>R. canescens</i> <i>R. ligustrina</i> <i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., R-0129 Martinez et al., 1992 Amer e Court, 1981b
α -ioimbina (50)	<i>R. canescens</i> <i>R. ligustrina</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. nitida</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. perakensis</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. sumatrana</i>	Arambewela e Madawela, 2001 Martinez et al., 1992 Iwu e Court, 1980 Amer e Court, 1981b Akinloye e Court, 1981 Kiang et al., 1966 Belém-Pinheiro et al., 1990 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978; Amer e Court, 1980 Hanaoka et al., 1970
β -ioimbina (4')	<i>R. sellowii</i>	Belém-Pinheiro, 1988
L-oimbina (46)	<i>R. biauriculata</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. linearifolia</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. nitida</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. verticillata</i> <i>R. viridis</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Abaul et al., 1986 Iwu e Court, 1978 Pérez, et al., 1991 Iwu e Court, 1980 Amer e Court, 1981b Akinloye e Court, 1981 Hanaoka et al., 1970 Arthur et al., 1968 Martinez et al., 1988 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978
δ - ioimbina (276)	<i>R. verticillata</i>	Arthur et al., 1968
Ioimbina (58)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et. al., 1987
β -isoajmalicina (96)	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
Isoajmalina (40)	<i>R. serpentina</i> <i>R. yunnanensis</i>	Dic. of Nat. Prod., I-00272 Hu, et al, 2006
Isocarapanaubina (oxindolisoereserpilina) (277)	<i>R. salicifolia</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. nitida</i> <i>R. grandiflora</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. perakensis</i> <i>R. semperflorens</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., C-00343 Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1981b Cancelieri, 2001 Akinloye e Court, 1981 Kiang et al., 1966 Libot et al., 1987 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1980a
Isorauhimbina (278)	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., I-00764

Isoreserpilina pseudoindoxil (198)	<i>R. ligustrina</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., I-00767 Dic. of Nat. Prod., I-00767 Dic. of Nat. Prod., I-00767
Isoreserpilina-w-indoxil (279)	<i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978 Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1980a
Isosandiwicina (41)	<i>R. vomitoria</i>	Ronchetti et al., 1871
IT 14 (197)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Lanceomigina (280)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
Lankanescina (175)	<i>R. canescens</i>	Arambewela e Madawela, 2001
Locnerina (281)	<i>R. biauriculata</i> <i>R. cubana</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. nitida</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. suaveolens</i>	Abaul et al., 1986 Martinez et al., 1989a Dic. of Nat. Prod., S-00225 Amer e Court, 1981b Belém-Pinheiro et al., 1990 Dic. of Nat. Prod., S-00225
Locvinerina (282)	<i>R. biauriculata</i>	Abaul et al., 1986
Loganina (283)	<i>R. gandiflora</i>	Bianco et al., 1994
Macrofilina (162)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
Maculosidina (284)	<i>R. sellowii</i>	Poser et al., 1990
Magrospetrina (205)	<i>R. chensis</i> <i>R. verticillata</i>	Xiuyun et al., 1987 Dic. of Nat. Prod., M-00062
Mauiensina (71)	<i>R. mauiensis</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01162
Mayumbina (87)	<i>R. yunnanensis</i>	Dic. of Nat. Prod., M-00358
MB 10 (306)	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
Melinonina A (94)	<i>R. volkensis</i>	Dic. of Nat. Prod., T-00391
O-metilakuamina (208)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00635
Metildeserpidato (142)	<i>R. obscura</i> <i>R. volkensis</i>	Dic. Of Nat. Prod., D-00553 Akinloye e Court, 1981, Armer e Court, 1980
N ₆ -Metilestrictamina (211)	<i>R. stricta</i>	Dic. of Nat. Prod., S-01436
Metil-12-hidroxiakuamilina-17-oato (113)	<i>R. sumatrana</i>	Arbain et al., 1991
N ₆ -metiltraumaclina (195)	<i>R. serpentina</i>	Endreß et al., 1992
N ₆ -metil-Tetraidroalstonina (207)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
Metilreserpato (137)	<i>R. amsoniaefolia</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. serpentina</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00126 Amer e Court, 1981a Dic. of Nat. Prod., R-00126 Sabri e Court, 1978

Tabela 3, Cont

4–metilreserpilina (206)	<i>R. confertiflora</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00127
N_a –metilvelosimina (285)	<i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., V-00103
12–metoxi affinisina (224)	<i>R. bahiensis</i>	Kato et al., 2002
10–metoxi-2,7–diidropleiocarpamina (213)	<i>R. volkensii</i>	Akinloye e Court, 1981
11–metoxiestrictamina (108)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
10–metoxigeissoschizol (60)	<i>R. obscura</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., H-01854 Sabri e Court, 1978
11–metoxioimbina (47)	<i>R. capuroni</i> <i>R. nitida</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., M-00775 Amer e Court, 1981b Sabri e Court, 1978
10–metoxi–16–desmetoxicarbonil pagicerina (312)	<i>R. yunnanensis</i>	Hu et al., 2006
10–Metoxinormacusina B (287)	<i>R. bahiensis</i>	Kato et al., 2002
10–metoxipleiocarpamina (203)	<i>R. volkensii</i>	Akinloye e Court, 1981
11–metoxipseudoioimbina (49)	<i>R. capuroni</i>	Dic. of Nat. Prod., M-00775
12–metoxisarpagan-17-al (288)	<i>R. bahienses</i>	Kato et al., 2002
17–metoxisarpagano (49)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01542
10–metoxitetrafilicina (64)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
12–metoxi-velosimina (209)	<i>R. bahiensis</i>	Kato et al., 2002
12–metoxi- N_a –metilvelosimina (204)	<i>R. bahiensis</i>	Kato et al., 2002
Mitoridina (184)	<i>R. vomitoria</i> <i>R. cumminsii</i>	Sabri e Court, 1978 Dic. of Nat. Prod., P-02203
Neoreserpilina (83)	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
Neonoreserpina (214)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00128
Nitidita (290)	<i>R. sellowii</i>	Poser et al., 1990
	<i>R. cumminsii</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00591 Dic. of Nat. Prod., S-00591 Dic. of Nat. Prod., S-00591
Norajmalina (34)	<i>R. caffra</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. nitida</i> <i>R. obscura</i> <i>R. suaveolens</i>	Nasser e Court, 1984 Dic. of Nat. Prod., A-00610 Amer e Court, 1981b Dic. of Nat. Prod., A-00610 Majumdar et. al., 1973
Norharmano (β -Carbolina) (215)	<i>R. caffra</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. cumminsii</i>	Nasser e Court, 1983 Subhadhirasakul et al., 1994 Iwu e Court, 1978

Tabela 3, Cont

	<i>R. macrophyla</i>	Amer e Court, 1981a
	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
	<i>R. suaveolens</i>	Majumdar et al., 1973
	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
		Amer e Court, 1980a
	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Norpurpelina (183)	<i>R. cumminsii</i>	Iwu e Court, 1978
	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
	<i>R. bahienses</i>	Kato et al., 2002
Obscuridina (291)	<i>R. obscura</i>	Timmins e Court, 1974
Obscurina (292)	<i>R. obscura</i>	Timmins e Court, 1974
<i>N</i> ₆ -óxido Akuamicina (102)	<i>R. volkensis</i>	Dic. of Nat. Prod., A- 00631
<i>N</i> ₆ -óxido Carapaunubina (219)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
<i>N</i> -óxido-estricamina (212)	<i>R. stricta</i>	Dic. of Nat. Prod., S-01436
<i>N</i> -óxido-7-diidroindolina (293)	<i>R. grandiflora</i>	Dic. of Nat. Prod., S-01436
Óxido 10- metoxi- <i>N</i> ₆ -pleiocarpamina (216)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
<i>N</i> -óxido-17-metoxisarpagano (metil normacusina B) (218)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01542
<i>N</i> -óxido-raujemidina (217)	<i>R. canescens</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00552
Oxindol (294)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1984
Óxindol reserpinina (199)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01163
Papaverina (220)	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., P-00146
Pelirina (221)	<i>R. perakensis</i>	Dic. of Nat. Prod., P-00286
Perakina (166)	<i>R. bauriculata</i>	Abaul et al., 1986
	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983
		Khan, 1984
	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
	<i>R. sellowii</i>	Batista et al., 1996
	<i>R. sprucei</i>	Madinaveitia et al., 1995
	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
	<i>R. vomitoria</i>	Amer e Court, 1980a
Peraksina (vomifolina) (223)	<i>R. perakensis</i>	Dic. of Nat. Prod., P-00807
Periciclívina (222)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., P-00819
Picrafilina (295)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Picalina (122)	<i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., P-01217
	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978

Picrinina (125)	<i>R. bahiensis</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. vomitoria</i>	Kato et al., 2002 Dic. of Nat. Prod., P-01238 Dic. of Nat. Prod., P-01238 Batista et al., 1996 Sabri e Court, 1978
Piriciclivina (224)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., P-00819
Pleicarpanina (202)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
Pleicarpaminol (296)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Polineuridina (297)	<i>R. suaveolens</i> <i>R. volkensis</i>	Dic. of Nat. Prod., P-01599 Dic. of Nat. Prod., P-01599
Pseudoreserpina (140)	<i>R. canescens</i> <i>R. ligustrina</i> <i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., R-0128 Dic. of Nat. Prod., R-0128 Amer e Court, 1981b
Purpelina (182)	<i>R. bahienensis</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. reflexa</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. mombasiana</i>	Kato et al., 2002 Iwu e Court, 1978 Dic. of Nat. Prod., P-02203 Sabri e Court, 1978 Iwu e Court, 1980
Quaternina (128)	<i>R. oreogiton</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., P-01238 Dic. of Nat. Prod., P-01238 Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1980a
Quebracidina (225)	<i>R. discolor</i> <i>R. viridis</i>	Dic. of Nat. Prod., Q-00009 Martinez et al., 1988, Pérez et al., 1997
Raucafricina (152)	<i>R. caffra</i> <i>R. serpentina</i> <i>R. serpentina</i>	Khan, 1984 Ruyter et al., 1991 Dic. of Nat. Prod., V-00460
Raucafridina (297)	<i>R. caffra</i>	Khan, 1984
Raucafrilina (156)	<i>R. caffra</i>	Khan, 1984
Raucafrinolina (167)	<i>R. caffra</i> <i>R. caffra</i> <i>R. nitida</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. semperflorens</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Nasser e Court, 1983 Khan, 1984 Amer e Court, 1981b Batista et al., 1996 Libot et al., 1987 Akinloye e Court, 1981 Amer e Court, 1980a
Raucubaina (299)	<i>R. salicifolia</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00059
Raucubainina (300)	<i>R. salicifolia</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00553
Rauflexina (187)	<i>R. reflexa</i>	Chatterjee et al., 1982
Raufloricina (109)	<i>R. confertiflora</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00634
Raufloridina (88)	<i>R. confertiflora</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00129

Tabela 3, Cont

Rauflorina (186)	<i>R. confertiflora</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00060
Raugustina (141)	<i>R. ligustrina</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00061
Raujemedina (133)	<i>R. canescens</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00127 e D-00552
Raumaclina (333)	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00062, Endreß et al., 1992
Raumitorina (89)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Raunescina (144)	<i>R. canescens</i> <i>R. tetraphylla</i> <i>R. ligustrina</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00063 Dic. of Nat. Prod., R-00063 Dic. of Nat. Prod., R-00063
Rauniticina (86)	<i>R. nitida</i>	Salkin, et. al., 1961
Raunitidina (85)	<i>R. nitida</i>	Salkin, et. al., 1961
Raureflexina (301)	<i>R. reflexa</i>	Chatterjee et al., 1982
Rausutranina (226)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
Rausutrina (227)	<i>R. sumatrana</i>	Subhadhirasakul et al., 1994
Rauvanina (95)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
Rauviridina (189)	<i>R. viridis</i>	Martinez et al., 1989
Rauvolcinina (80)	<i>R. volkensis</i>	Akinloye e Court, 1981
<i>Rauwolfia obscura</i> alcalóide C ₂ (302)	<i>R. obscura</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00824
<i>Rauwolfia obscura</i> alcalóide D ₁ (303)	<i>R. obscura</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00830
<i>Rauwolfia obscura</i> alcalóide D ₂ (304)	<i>R. obscura</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00831
Rauvoxinina (132)	<i>R. piscotrioides</i> <i>R. vomitoria</i>	Córdova e Pena, 1979 Sabri e Court, 1978
Rauwolfina (228)	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00071
Razimol (111)	<i>R. vomitoria</i> <i>R. oreogiton</i>	Dic. of Nat. Prod., A-00634 Dic. of Nat. Prod., A-00634
Renoxidina (229)	<i>R. canescens</i> <i>R. serpentina</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00128 Dic. of Nat. Prod., R-00128 Sabri e Court, 1978
Rescidina (146)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00126
Rescinamina (143)	<i>R. caffra</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Madati et al., 1977 Iwu e Court, 1978 Amer e Court, 1981a Iwu e Court, 1980 Akinloye e Court, 1981 Dic. of Nat. Prod., R-00126 Hanaoka et al., 1970 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978

Rescinamidina (147)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987
Rescinaminol (305)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987c
Reserpenediol (44)	<i>R. serpentina</i>	Dic. of Nat. Prod., R-00125
Reserpilina (82)	<i>R. bauriculata</i> <i>R. nitida</i> <i>R. caffra</i> <i>R. ligustrina</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. semperflorens</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. nitida</i>	Abaul et al., 1986 Armer e Court, 1981 Madati et al., 1977 Martinez et al., 1992 Akinloye e Court, 1981 Belém-Pinheiro et al., 1990 Libot et al., 1987 Hanaoka et al., 1970 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1981b
Reserpina (138)	<i>R. bahiensis</i> <i>R. camodiana</i> <i>R. cubana</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. heterophylla</i> <i>R. litoralis</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. nitida</i> <i>R. obscura</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. perakensis</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. serpentina</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. verticillata</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. caffra</i> <i>R. yunnanensis</i>	Kato et al., 2002 Can, 1991 Martinez et al, 1989a Iwu e Court, 1978 Antipova et al., 1988 Can, 1990 Dic. of Nat. Prod., R-00128 Dic. of Nat. Prod., R-00128 Iwu e Court, 1980 Amer e Court, 1981b Timmins e Court, 1974 Akinloye e Court, 1981 Kiang et al., 1966 Poser et al., 1990 Ruyter et al., 1991 Hanaoka et al., 1970 Arthur et al., 1968 Akinloye e Court, 1981 Madati et al., 1977 Hu el al., 2006
Reserpidina (306)	<i>R. macrophyla</i>	Amer e Court, 1981a
Reserpinina (93)	<i>R. ligustrina</i> <i>R. semperflorens</i> <i>R. serpentina</i>	Martinez et al., 1992 Martinez et al., 1987 Libot et al., 1987 Dic. of Nat. Prod., R-00129
RE (307)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
RF (308)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
RMB 10 (309)	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
RVS 19 (310)	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978
RW 47 (311)	<i>R. verticillata</i>	Arthur et al., 1967
RP-2 (312)	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
RP-3 (313)	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
Tabela 3, Cont		

RP-5 (315)	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
RP-7 (316)	<i>R. perakensis</i>	Kiang et al., 1966
Sandwicina (38)	<i>R. cubana</i> <i>R. sandwicensis</i> <i>R. semperflorens</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. mauiensis</i>	Martinez et al., 1989a Dic. of Nat. Prod., A-00610 Libot et al., 1987 Ronchetti et al., 1971 Dic. of Nat. Prod., A-00610
Sandwicolina (317)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987
Sandwicolidina (230)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987
Sarpagana (318)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1984
Sarpagina (31)	<i>R. caffra</i> <i>R. cubana</i> <i>R. mombasiana</i> <i>R. nitida</i> <i>R. perakensis</i> <i>R. viridis</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Nasser e Court, 1983 Martinez et al., 1989a Iwu e Court, 1980 Amer e Court, 1981b Kiang et al., 1966 Martinez et al., 1988 Akinloye e Court, 1981 Sabri e Court, 1978
Sellowina (<i>N</i> ₁ -dimetil-20-dietil-suaaveolina) (165)	<i>R. sellowii</i>	Batista et al., 1996
Seredamina (170)	<i>R. cumminsii</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. cumminsii</i>	Iwu e Court, 1978 Sabri e Court, 1978 Dic. of Nat. Prod., S-00591
Seredina (56)	<i>R. serpentina</i> <i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00592 Sabri e Court, 1978
Serpenticina (116)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00602
Serpentina (119)	<i>R. caffra</i> <i>R. cumminsii</i> <i>R. littoralis</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. nitida</i> <i>R. serpentina</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. verticillata</i> <i>R. viridis</i> <i>R. serpentina</i>	Habib e Court, 1974; Madati et al., 1977 Iwu e Court, 1978 Can, 1990 Amer e Court, 1981a Amer e Court, 1981b Ruyter et al., 1991 Hanaoka et al., 1970 Arthur et al., 1968 Martinez et al., 1988 Dic. of Nat. Prod., S-00603
Serpentinina (233)	<i>R. littoralis</i> <i>R. nitida</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. vomitoria</i>	Can, 1990 Amer e Court, 1981b Hanaoka et al., 1970 Sabri e Court, 1978
Sevarina ou Hidroxiakuamicina (194)	<i>R. stricta</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00670
Silicina (231)	<i>R. discolor</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00740
Sitsirikina (232)	<i>R. caffra</i>	Nasser e Court, 1983

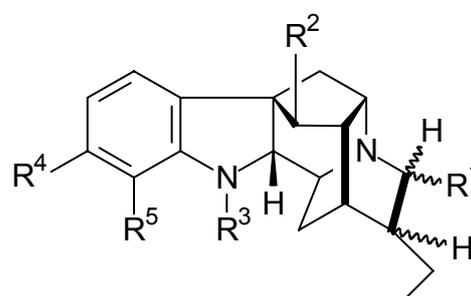
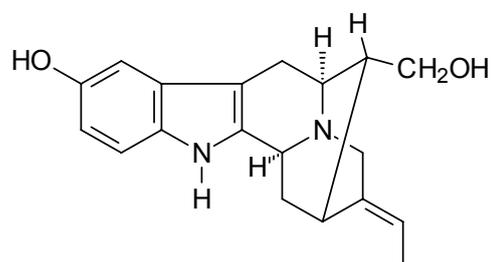
Tabela 3, Cont

Skimmianina (319)	<i>R. sellowii</i>	Poser et al., 1990
Spegatrina (320)	<i>R. sprucei</i> <i>R. verticillata</i>	Madinaveitia et al., 1995 Lin et al., 1987
Strictamina ou Estrictamina (106)	<i>R. caffra</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. vomitoria</i> <i>R. stricta</i>	Nasser e Court, 1983, Nasser e Court, 1984 Subhadhirasakul et al., 1994 Dic. of Nat. Prod., S-01436 Dic. of Nat. Prod., S-01436
Suaveolina (164)	<i>R. caffra</i> <i>R. macrophyla</i> <i>R. nitida</i> <i>R. suaveolens</i> <i>R. volkensis</i>	Nasser e Court, 1984 Amer e Court, 1981b Amer e Court, 1981b Majumdar et al., 1972 Akinloye e Court, 1981
Tetrafilina (99)	<i>R. nitida</i>	Amer e Court, 1981b
Tetrafilicina ou Serpinina ou	<i>R. mombasiana</i>	Iwu e Court, 1980
Seperflorina (63)	<i>R. nitida</i> <i>R. obscura</i> <i>R. oreogiton</i> <i>R. suaveolens</i> <i>R. sumatrana</i> <i>R. tetraphyla</i> <i>R. volkensis</i> <i>R. vomitoria</i>	Amer e Court, 1981b Timmins e Court, 1974 Akinloye e Court, 1981 Majumdar et al., 1973 Subhadhirasakul et al., 1994 Dic. of Nat. Prod., T-01162 Akinloye e Court, 1981 Ronchette et al., 1971
Tetrafilinina (79)	<i>R. discolor</i>	Fonzes et al., 1969
Tetrahidroalstonina (91)	<i>R. cubana</i> <i>R. ligustrina</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. volkensis</i>	Martinez et al., 1989a Martinez et al., 1987 Poser et al., 1990 Akinloye e Court, 1981
	<i>R. vomitoria</i>	Sabri e Court, 1978 Amer e Court, 1980 ^a
3,4,5–Trimetoxibenzoilseredamina (171)	<i>R. cumminsii</i>	Dic. of Nat. Prod., S-00591
Tombozino	<i>Rauwolfia</i>	Dic. of Nat. Prod., T-01542
Usambarina (321)	<i>R. obscura</i>	Dic. of Nat. Prod., U-00171
Velosimina (322)	<i>R. macrophyla</i> <i>R. nitida</i>	Dic. of Nat. Prod., V-00103 Amer e Court, 1981b
Venoterpina (234)	<i>R. verticillata</i>	Hu et al., 2006
Verticilatina (235)	<i>R. verticillata</i>	Lin et al., 1985
Vinorina (21–deoxivomilenina) (153)	<i>R. caffra</i> <i>R. perakensis</i> <i>R. semperflorens</i> <i>R. bahienses</i>	Dic. of Nat. Prod., V-00460 Dic. of Nat. Prod., V-00460 Libot et al., 1987 Kato et al., 2002
Vobasina (181)	<i>R. viridis</i>	Martinez et al., 1988

Tabela 3, Cont

Volkensina (127)	<i>R. oreogiton</i> <i>R. volkensis</i>	Dic. of Nat. Prod., P-01238 Dic. of Nat. Prod., P-01238
Vomalidina (101)	<i>R. mombasiana</i> <i>R. obscura</i> <i>R. vomitoria</i>	Iwu e Court, 1980 Dic. of Nat. Prod., A-00608 Dic. of Nat. Prod., A-00608
Vormifoliol (261)	<i>R. vomitoria</i>	Dic. of Nat. Prod., D-02230
Vomifolina (Peraksina) (323)	<i>R. caffra</i> <i>R. perakensis</i>	Nasser e Court, 1983, Dic. of Nat. Prod., P-00807
Vomilenina (151)	<i>R. biauriculata</i> <i>R. caffra</i> <i>R. sellowii</i> <i>R. vomitoria</i>	Abaul et al., 1986 Nasser e Court, 1983 Batista et al., 1996 Sabri e Court, 1978
Yohambinina (190)	<i>R. serpentina</i>	Siddiqui et al., 1987a

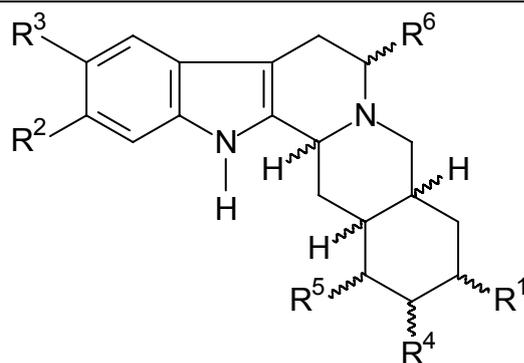
Quadro 1. Estrutura de alguns alcalóides isolados de *Rauvolfia* (Apocynaceae), citados na Tabela 3



(31)

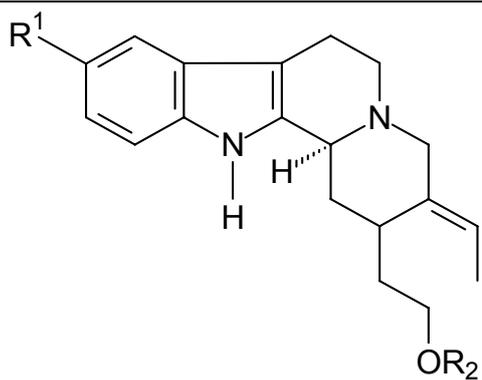
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	H-17	H-20
(32)	α-OH	OH	Me	H	H	α	α
(33)	α-OH	OAc	H	H	H	α	α
(34)	α-OH	OH	H	H	H	α	α
(35)	α-OH	OH	Me	OH	H	α	α
(36)	α-OH	OAc	Me	H	H	α	α
(37)	α-OH	OH	Me	H	OH	α	α
(38)	α-OH	OH	Me	H	H	β	α
(39)	α-OH	OAc	Me	H	H	β	α
(40)	β-OH	OH	Me	H	H	β	β
(41)	β-OH	OH	Me	H	H	α	β

Quadro 1, Cont.

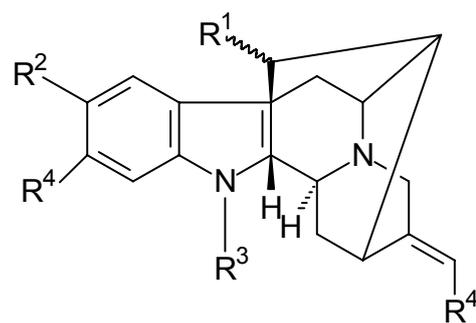


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	H-3	H-15	H-20
(42)	H	H	H	α-OH	β-COOMe	H	α	α	β
(43)	H	H	H	β-OH	α-COOMe	H	β	α	β
(44)	β-OH	OMe	H	α-OH	β-COOMe	H	β	α	α
(45)	β-OTMB	OMe	H	β-OH	α-COOMe	H	β	α	α
(46)	H	H	H	α-OH	α-COOMe	H	α	α	β
(47)	H	Ome	H	α-OH	α-COOMe	H	α	α	β
(48)	α-OH	H	H	α-OH	α-COOMe	H	α	α	β
(49)	H	H	H	α-OH	α-COOMe	H	α	β	β
(50)	H	H	H	α-OH	β-COOMe	H	α	α	α
(51)	β-OH	H	H	α-OH	β-COOMe	H	α	α	α
(52)	H	H	H	α-OH	α-COOMe	H	α	α	α
(53)	H	H	H	α-OH	β-COOMe	H	β	α	α
(54)	β-OH	H	H	α-OH	β-COOMe	H	β	α	α
(55)	α-OH	H	H	α-OH	α-COOMe	H	α	α	α
(56)	H	OMe	OMe	α-OH	β-COOMe	H	α	α	α
(57)	H	H	H	α-Oac	β-COOMe	H	α	α	α
(58)	H	H	H	H	H	β-CH ₃	β	α	β

Quadro 1, Cont.

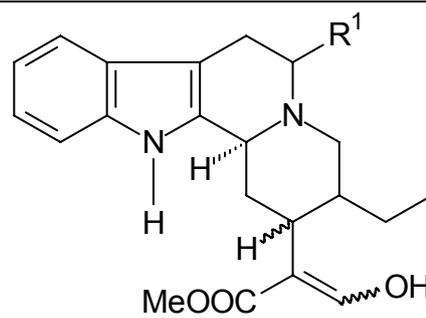
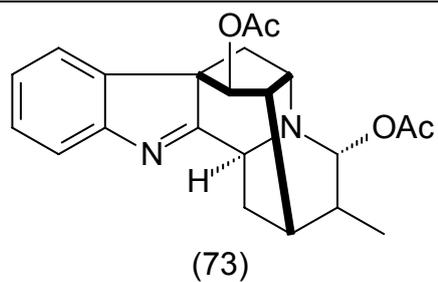


	R ¹	R ²
(59)	H	H
(60)	OMe	H
(61)	H	Ac
(62)	OH	H

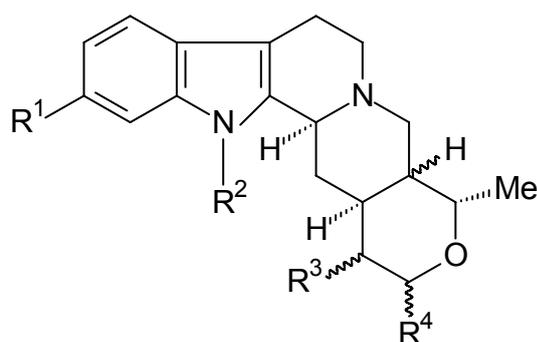
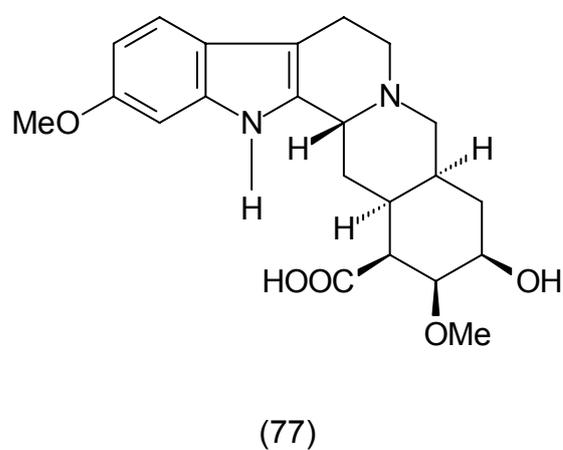
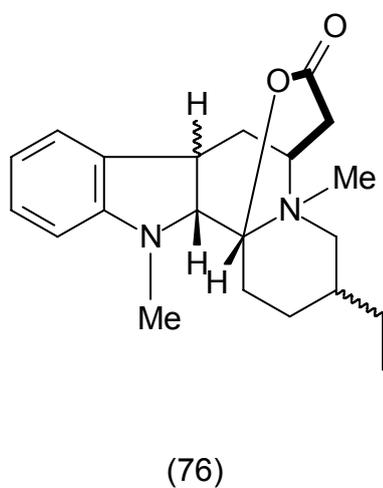


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
(63)	α -OH	H	Me	H
(64)	α -OH	OMe	Me	H
(65)	α -OAc	H	Me	H
(66)	α -OH	H	H	H
(67)	OAc	H	H	H
(68)	α -OH	H	H	OH
(69)	α -TMB	H	Me	H
(70)	α -TMB	H	H	H
(71)	β -OH	H	Me	H
(72)	β -OH	H	Me	H

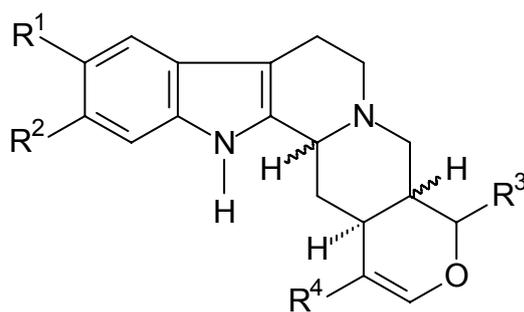
Quadro 1, Cont.



	R ¹	H-15	H-20
(74)	COOH	-	-
(75)	H	α	β

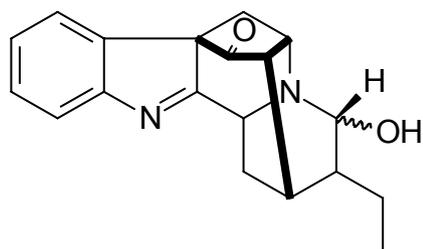


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	H-20
(78)	H	H	α-COOMe	β-OH	β
(79)	OMe	H	α-COOMe	β-OH	β
(80)	H	H	β-COOMe	α-OH	α
(81)	H	COOH	H	β-OH	β

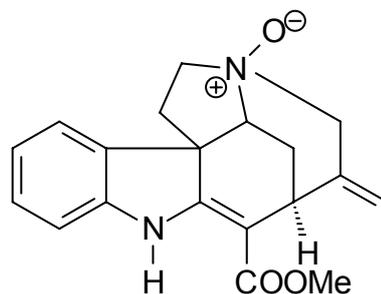


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	H-3	H-20	H-15
(82)	OMe	OMe	α-Me	COOMe	β	α	α
(83)	OMe	OMe	β -Me	COOMe	α	β	β
(84)	H	OMe	α-Me	COOMe	β	α	α
(85)	H	OMe	β -Me	COOMe	α	α	α
(86)	H	H	β -Me	COOMe	α	α	α
(87)	H	H	β -Me	COOMe	α	β	α
(88)	H	OMe	α-Me	COOMe	β	β	α
(89)	OMe	H	β -Me	COOMe	α	β	α
(90)	OMe	H	α-Me	COOMe	α	α	α
(91)	H	H	α-Me	COOMe	α	α	α
(92)	OMe	OMe	α-Me	COOMe	α	α	α
(93)	H	OMe	α-Me	COOMe	α	α	α
(94)	H	H	α-Me	H	α	α	α
(95)	OMe	OMe	β -Me	COOMe	α	β	α
(96)	OMe	OMe	β -Me	COOMe	β	β	α
(97)	H	H	α-Me	COOMe	α	β	α
(98)	OMe	OMe	α-Me	COOMe	α	β	α
(99)	H	OMe	α-Me	COOMe	α	β	α

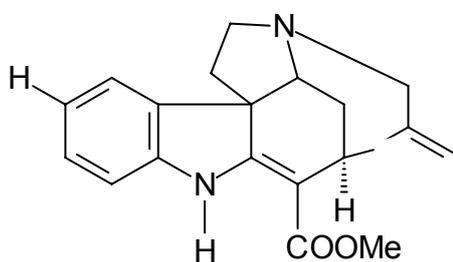
Quadro 1, Cont.



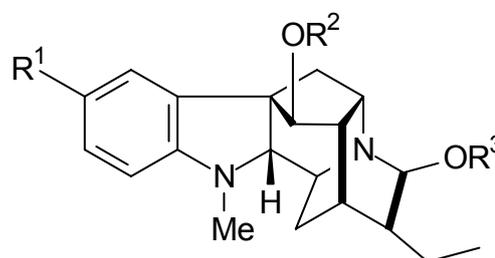
(100) R
 (101) H
 OMe



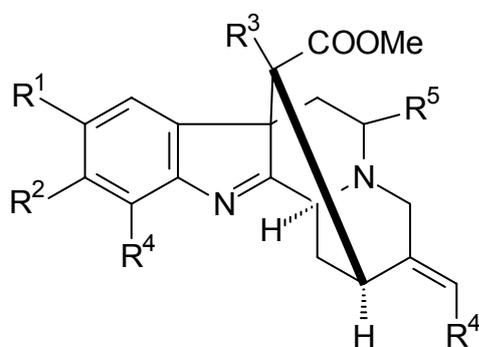
(102)



(103)

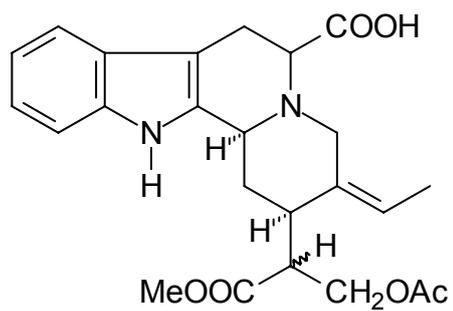


(104) R¹ H R² H R³ TMB
 (105) COMe Ac H

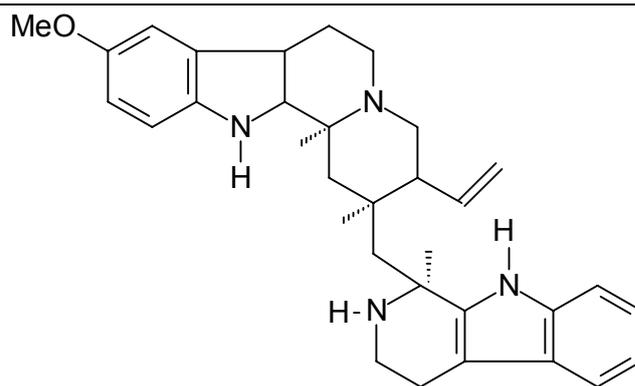


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
(106)	H	H	H	H	H
(107)	OH	H	H	H	H
(108)	H	OMe	H	H	H
(109)	OMe	H	CH ₂ OAc	H	H
(110)	H	H	CH ₂ OAc	H	H
(111)	H	H	Me	H	H
(112)	H	H	CH ₂ OAc	H	CH ₂ OH
(113)	H	H	COOMe	CH ₂ OH	H

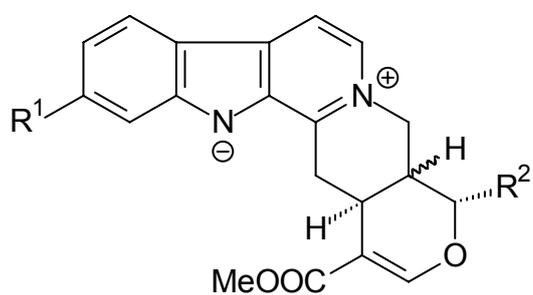
Quadro 1, Cont.



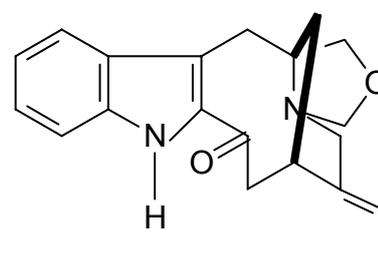
(114)



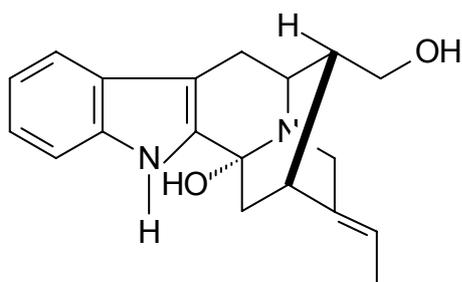
(115)



	R ¹	R ²	H-20
(116)	OMe	Me-β	β
(117)	H	Me-α	α
(118)	OMe	Me-β	β
(119)	H	Me-β	α

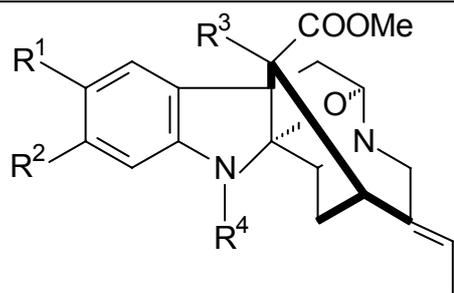


(120)

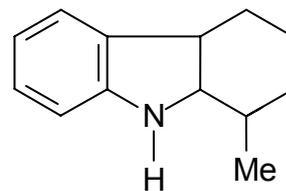


(121)

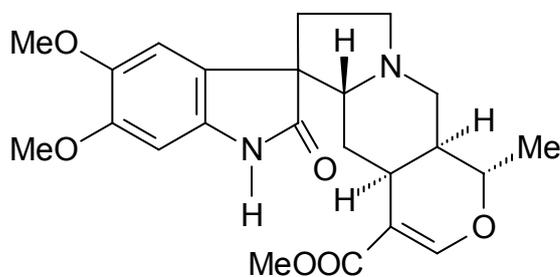
Quadro 1, Cont.



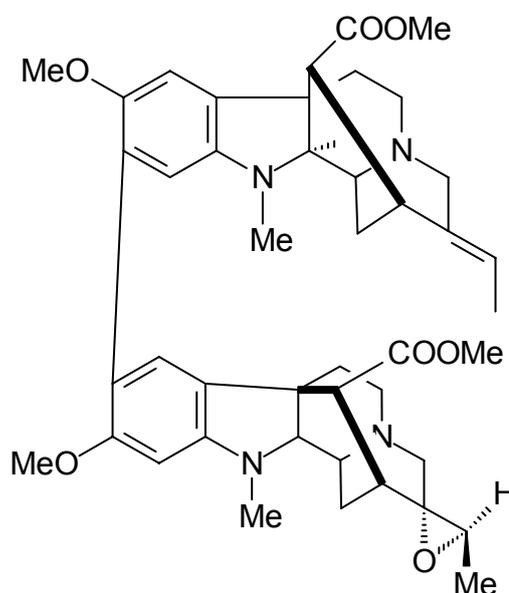
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
(122)	H	H	CH ₂ OAc	H
(123)	H	H	CH ₂ OAc	H
(124)	H	H	Me	H
(125)	H	H	H	H
(126)	H	H	OMe	H
(127)	OMe	OMe	H	H
(128)	OMe	OMe	H	Me



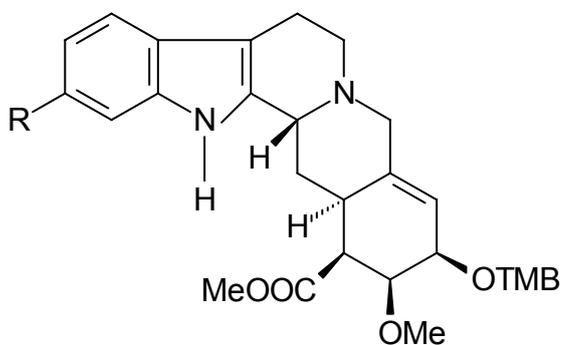
(129)



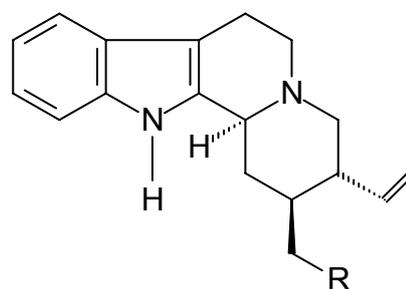
(131)	H-3
(132)	α
	β



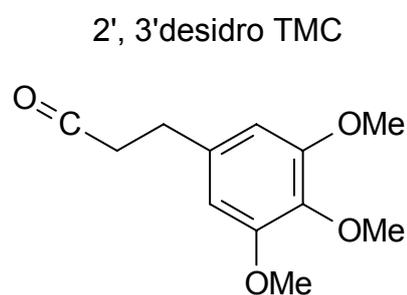
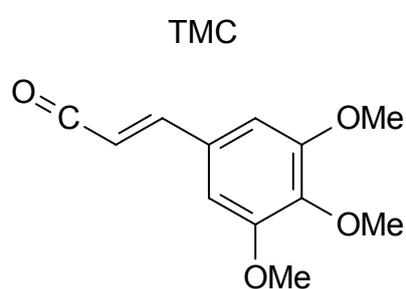
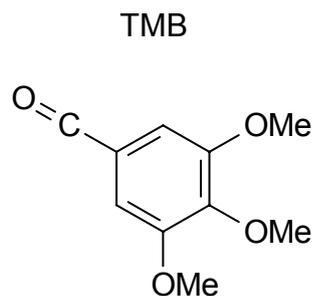
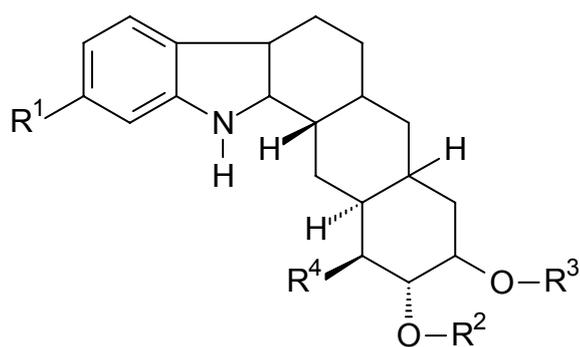
(130)



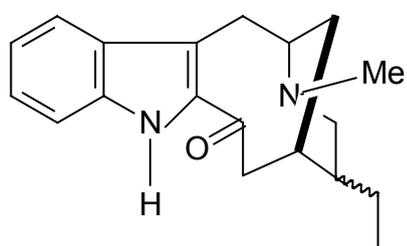
(133)	R
(134)	OH
	H



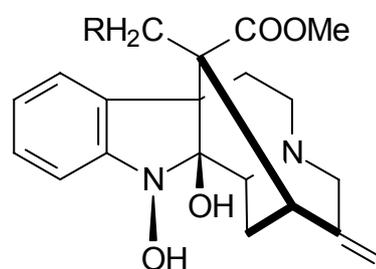
(135)	R
(136)	CH ₂ OH
	CHO



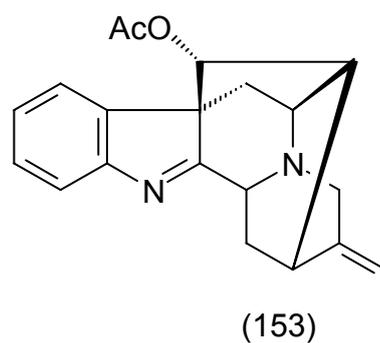
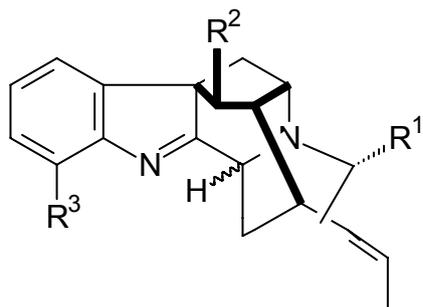
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
(137)	OMe	Me	H	COOH
(138)	OMe	Me	TMB	COOH
(139)	H	Me	TMB	COOH
(140)	OMe	H	TMB	COOH
(141)	OMe	TMB	H	COOH
(142)	H	Me	H	COOH
(143)	OMe	Me	TMC	COOH
(144)	H	H	TMB	COOH
(145)	H	TMB	H	COOH
(146)	OMe	H	TMC	COOMe
(147)	OMe	Me	2', 3'desidro TMC	COOMe



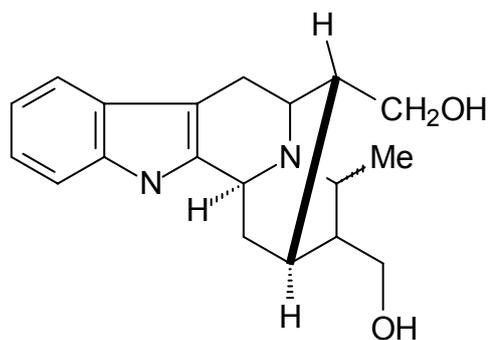
(148)

(149)
(150)

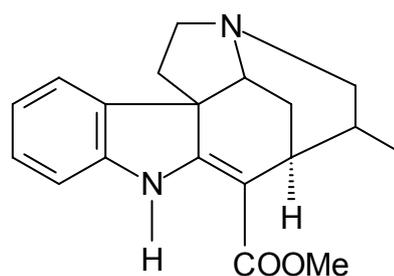
R
OAc
H



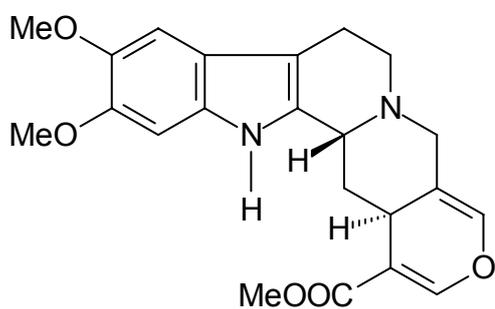
	R ¹	R ²	R ³	H-3
(151)	α-OH	OAc	H	α
(152)	Glic	OAc	H	α
(154)	H	OAc	H	α
(155)	H	OH	OMe	α
(156)	β-OH	OAc	H	β



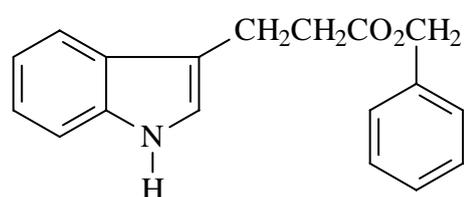
(157)



(158)

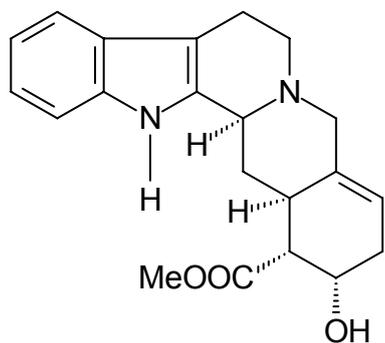


(159)

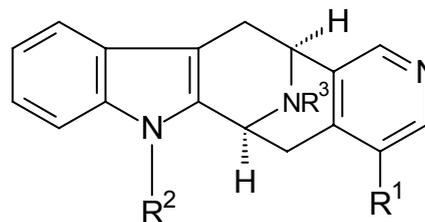


(160)

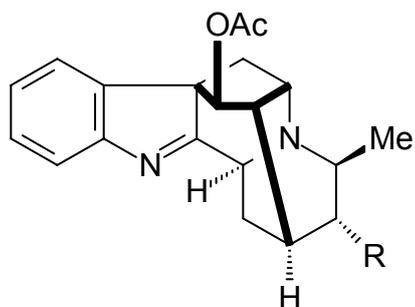
Quadro 1, Cont.



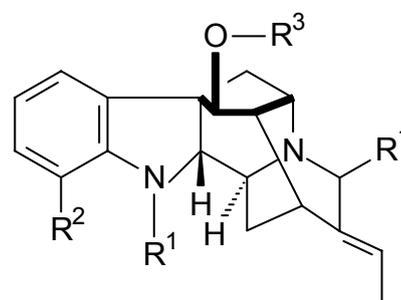
(161)



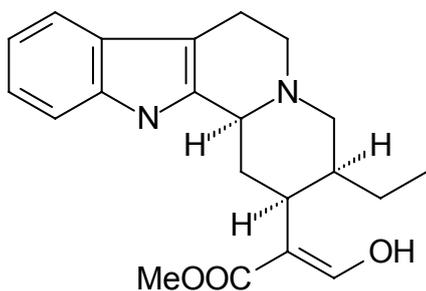
	R ¹	R ²	R ³
(162)	CH ₂ CH ₂ OH	H	Me
(163)	CH ₂ OH	H	Me
(164)	CH ₂ CH ₃	Me	Me
(165)	H	H	H



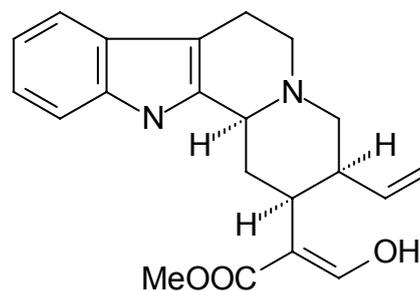
	R
(166)	CHO
(167)	CH ₂ OH
(168)	CH(OCH ₃) ₂



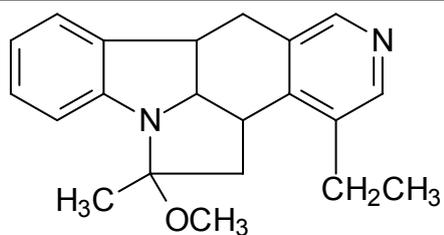
	R ¹	R ²	R ³
(169)	H	OMe	α-H
(170)	Me	OMe	β-H
(171)	Me	OMe	β-TMB
(172)	Me	OMe	β-H
(173)	Me	OMe	β-H



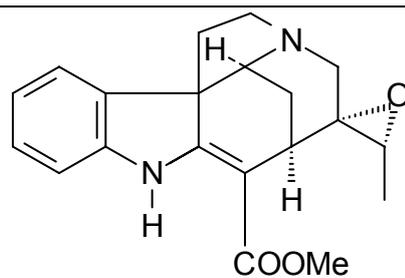
(174)



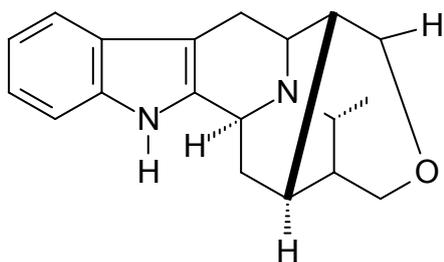
(175)



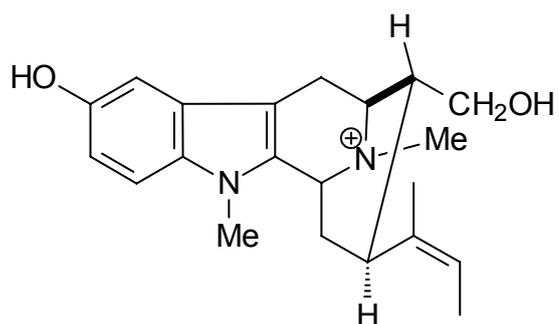
(175)



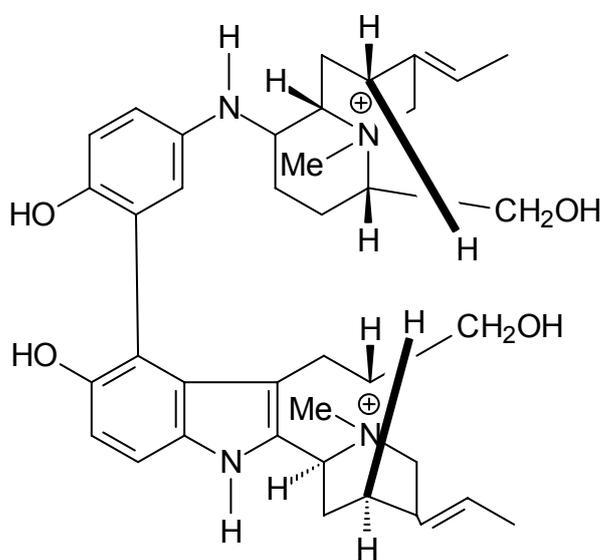
(177)



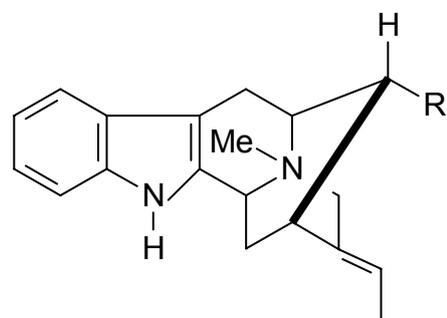
(176)



(178)



(179)

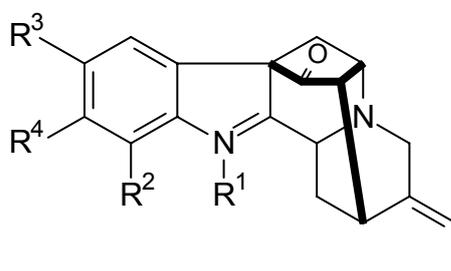


(180)

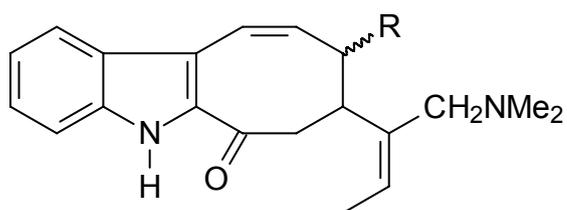
(181)

R
COOMe
CH₂OH

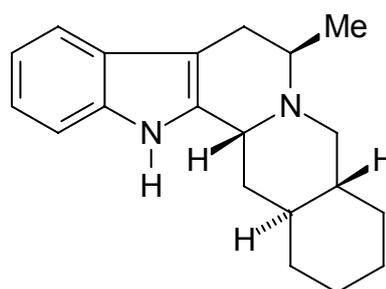
Quadro 1, Cont.



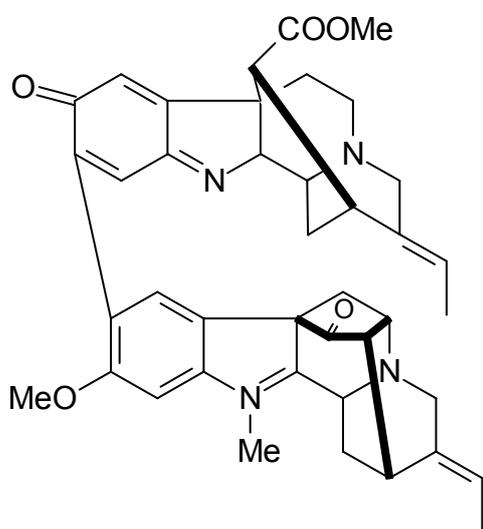
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
(182)	Me	OMe	H	H
(183)	H	OMe	H	H
(184)	OMe	Me	H	H
(185)	H	H	H	H
(186)	H	H	OMe	H
(187)	Me	H	H	OMe



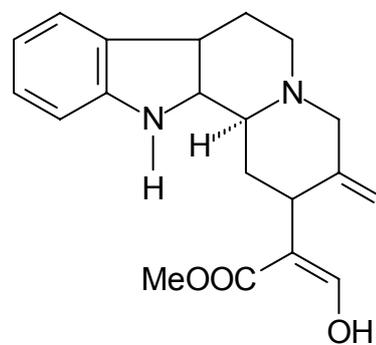
	R
(188)	α -COOMe
(189)	β -COOMe



(190)

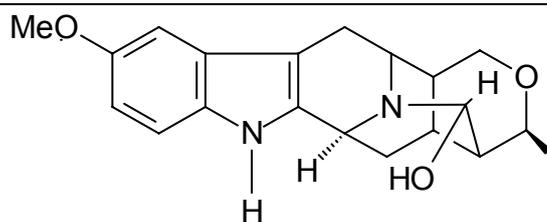


(191)

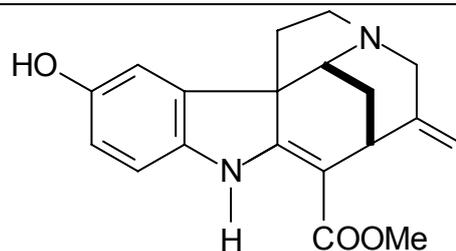


(192)

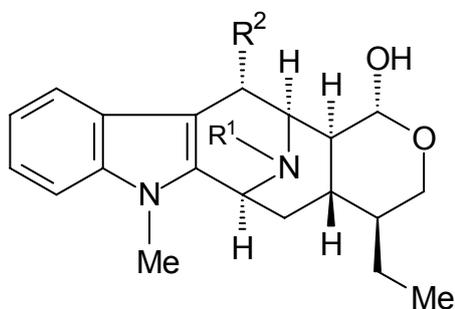
Quadro 1, Cont.



(193)



(194)



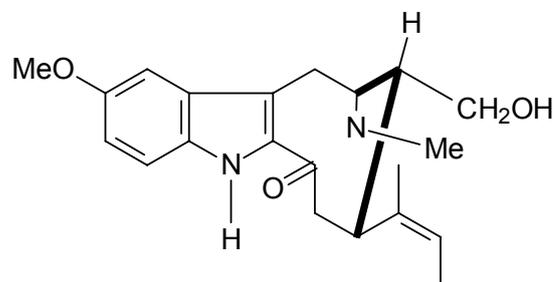
(195)

R¹
MeR²
H

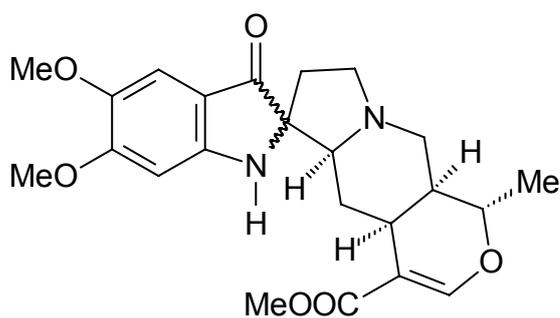
(196)

H

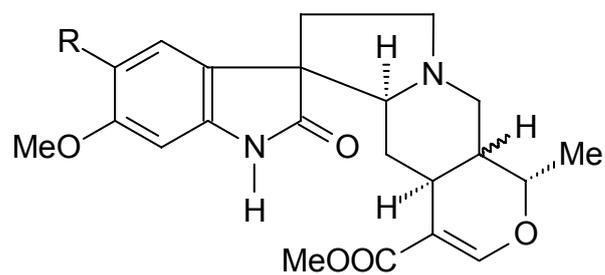
OH



(197)



(198)



(199)

H-20
βR
H

(200)

α

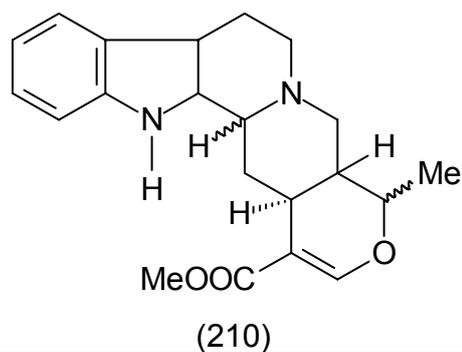
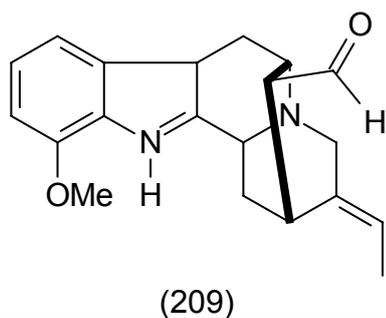
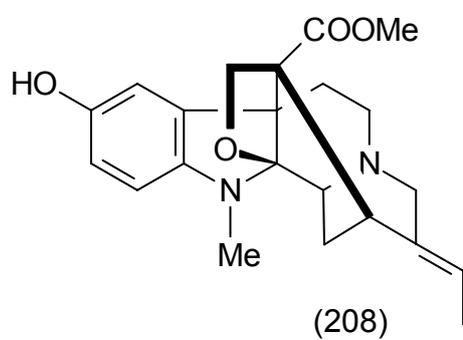
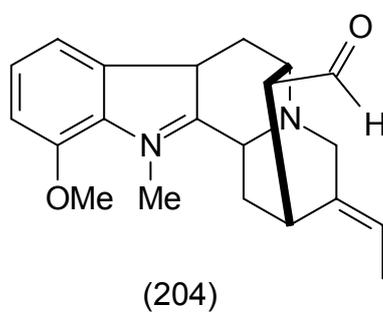
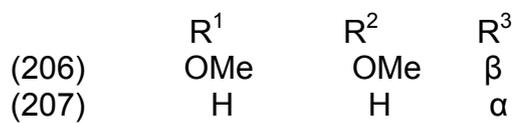
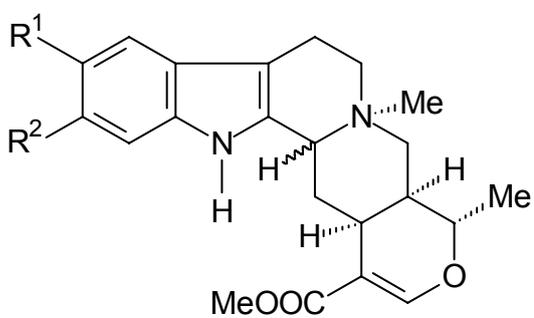
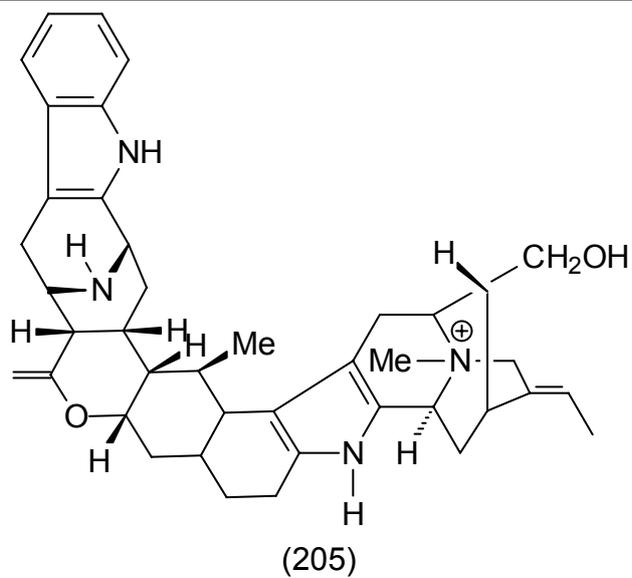
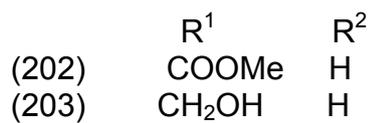
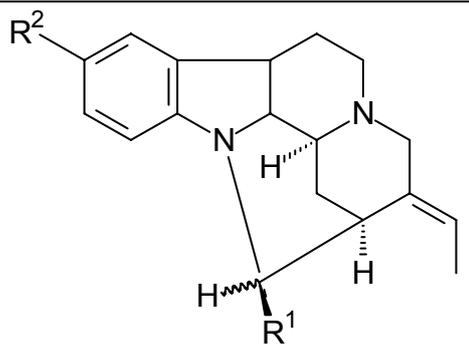
H

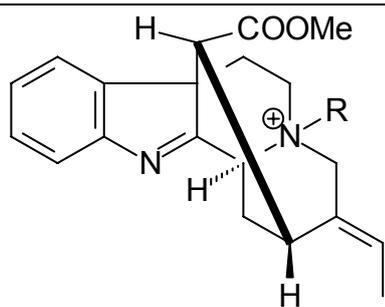
(201)

α

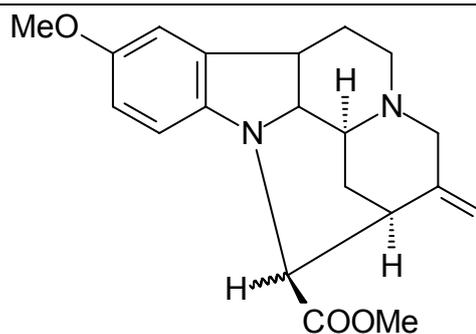
OMe

Quadro 1, Cont.

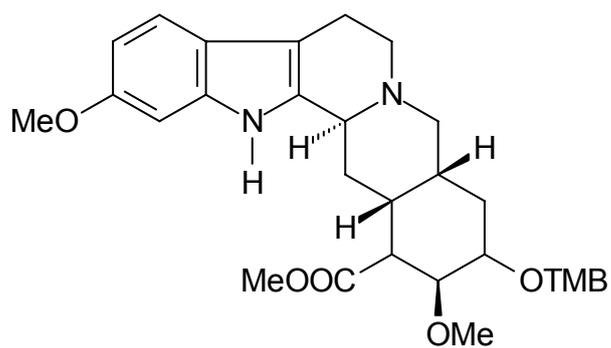




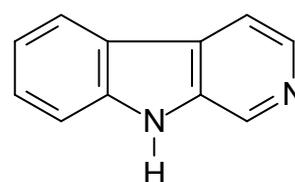
R
(211) Me
(212) O



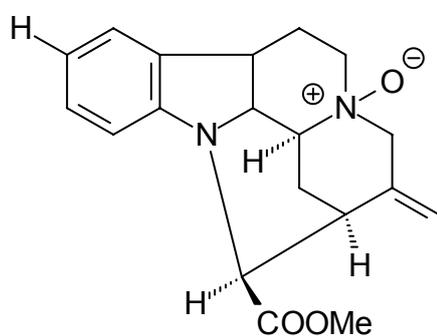
(213)



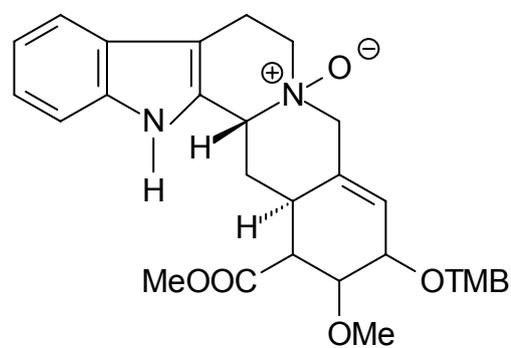
(214)



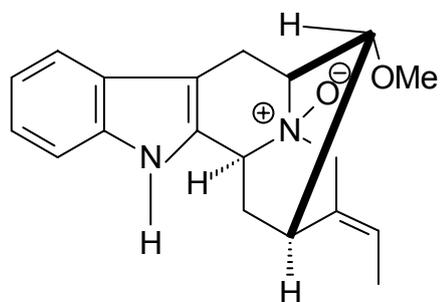
(215)



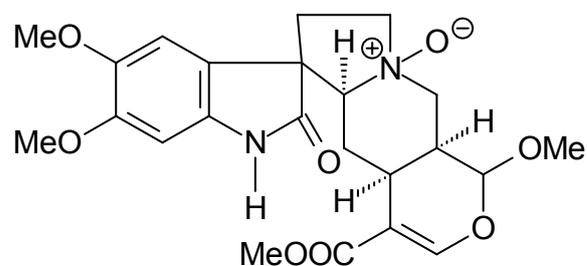
(216)



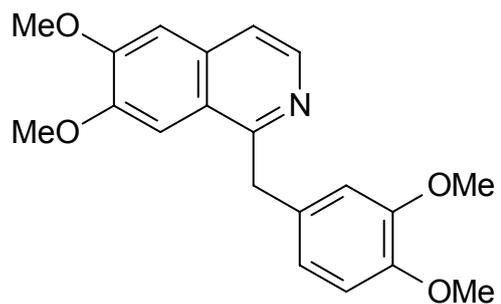
(217)



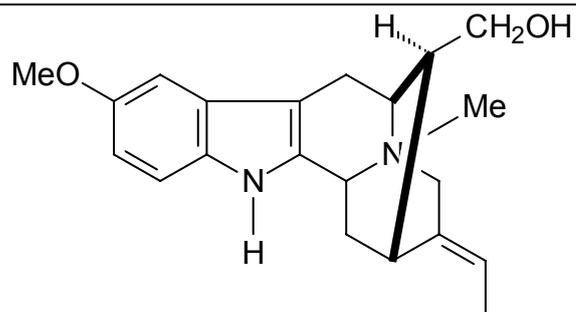
(218)



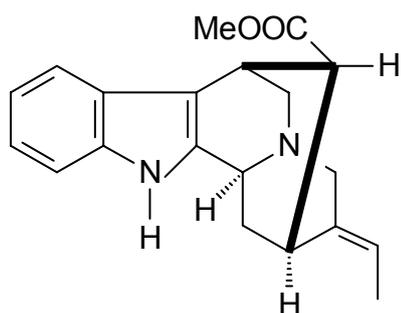
(219)



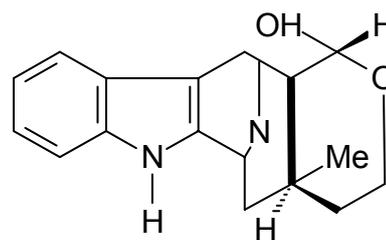
(220)



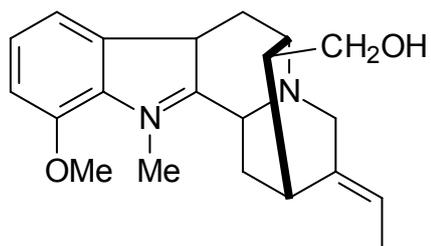
(221)



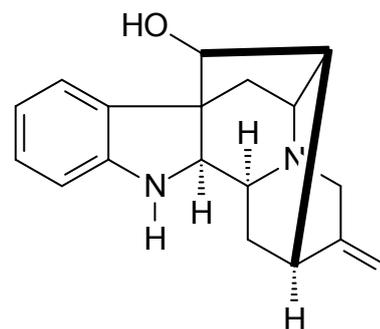
(222)



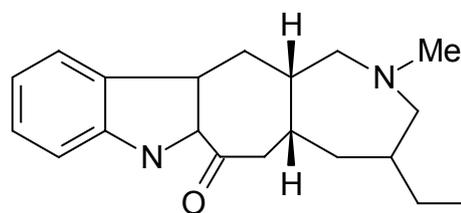
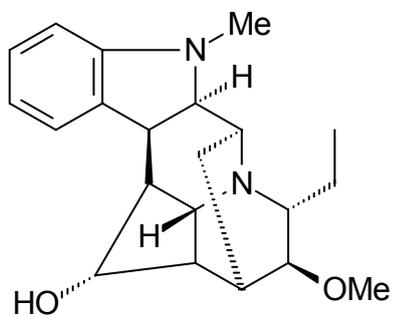
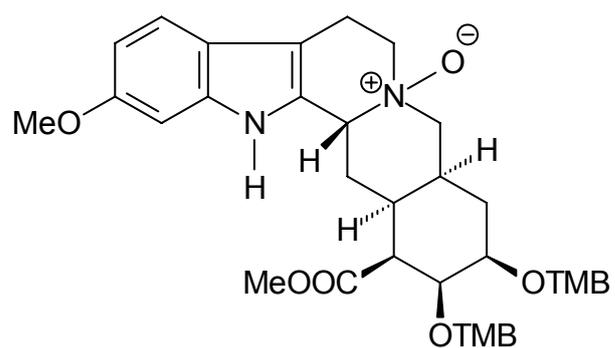
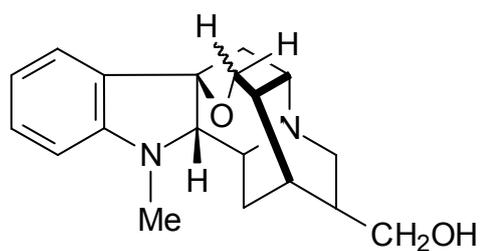
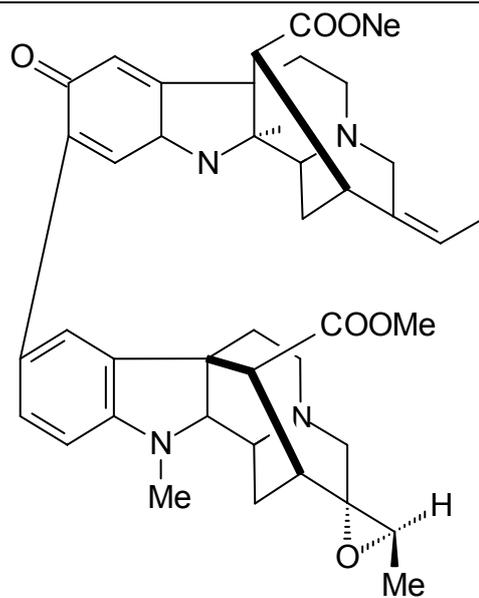
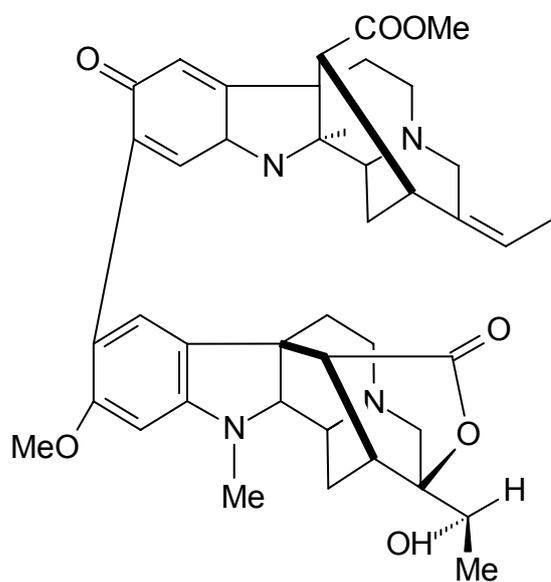
(223)

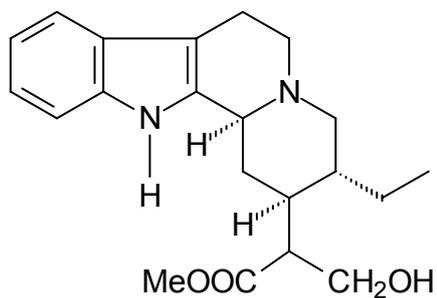


(224)

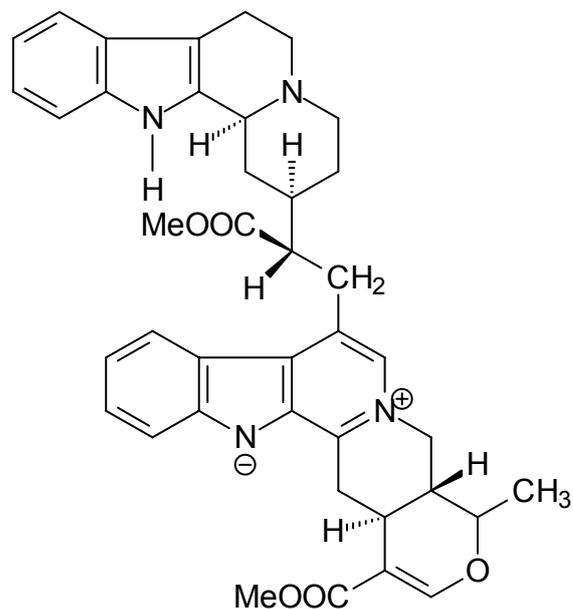


(225)

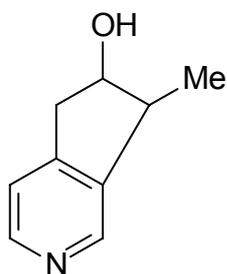




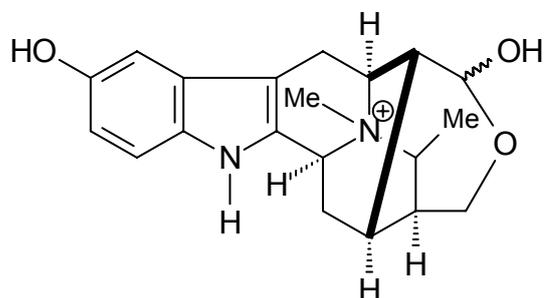
(232)



(233)



(234)



(235)

2.3.6.1. Atividades antimicrobianas de extratos alcalóidicos e alcalóides

Roberts e Wink (1998) citaram cerca de 300 alcalóides com atividades antimicrobianas, contudo, apenas um pequeno número destes alcalóides tem sido estudado farmacologicamente. Infelizmente a maioria dessas substâncias possui atividade citotóxica, o que os excluem de serem usados como antibióticos. Muitos estudos sobre os seus mecanismos de ação têm sido empregados no desenvolvimento de novos antibióticos.

A ação antimicrobiana desse grupo, ou seja, o mecanismo de ação dos alcalóides, parece estar relacionada a sua capacidade de se intercalar entre a parede celular e o DNA do microrganismo (Domingo e López-Brea, 2003).

Vários pesquisadores têm trabalhado com extratos alcalóidicos brutos e fracionados e também com alcalóides purificados para a realização de testes antimicrobianos. Segundo Dempsey et al. (1998), citado por Souza (2006), quando certos extratos são analisados com o fim de se encontrar qual dos seus componentes é responsável pela sua atividade antimicrobiana, encontra-se não apenas um, mas um conjunto de substâncias que só são bioativas quando juntas, como por exemplo, o látex de *Carica papaya* (constituído de papaína, carpaína e terpenóides), que apresenta atividade bacteriostática contra *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* e *Proteus vulgaris*, entretanto quando fracionado, os compostos isolados apresentam uma atividade muito menor do que a do extrato puro, provavelmente porque seus componentes atuam sinergisticamente.

De Aquino et al. (2001) testaram extratos etanólicos brutos das folhas e ramos de *Aspidosperma tomentosum* frente ao *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* (através do método de turbidez) e verificaram atividade apenas contra *E. coli*, na concentração de 200 µg/mL. No mesmo ensaio, foram analisados os extratos de alcalóides totais obtidos a partir de sementes e das cascas das sementes de *Aspidosperma ramiflorum*, em que foi observada atividade frente ao *S. aureus*, *E. coli*, na concentração de 80 µg/mL.

Conegero et al. (2003) realizaram ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana de *A. glandulosa*. Neste estudo, foi comprovada a existência de atividade moderada para o extrato bruto metanólico frente a *S. aureus* (CMI = 250 µg/mL) e *C. albicans* (CMI = 125 µg/mL); atividade significativa para a fração alcaloidal, resultante do fracionamento do extrato bruto por extração ácido-base, frente a *B. subtilis* (CMI = 62,5 µg/mL) e *C. tropicalis* (CMI = 31,2 µg/mL) e atividade moderadamente ativa (CMI de 125 a 250 µg/mL) frente aos demais microrganismos testados (*E. coli*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*). A análise da fração alcaloidal por CG/EM mostrou que a mesma contém o alcalóide guanidínico e outros componentes que não puderam ser identificados.

Battista e Bargarti (2003) detectaram atividade do extrato metanólico e da fração alcaloidal da casca do caule de *Tabernaemontana catharinensis* A.DC.

pelo método de difusão em agar (Kirby-Bauer), frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* resistente à metilina, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus epidermidis* e *Acinetobacter iwoffii*.

O Quadro 2 mostra um resumo da atividade antimicrobiana de alguns alcalóides purificados.

Quadro 2. Atividade antimicrobiana de alcalóides.

Alcalóide	Ação antimicrobiana frente a	CMI	Referência
Agroclavina	Bactérias gram-positivas e gram-negativas	200 µg/mL	Eich et al. (1985)
Ajamalinina	Bactérias gram-negativas e fungos	Não mencionada	Hernandez (1979)
Arenosclerin A Arenosclerin B Arenosclerin C Haliclonaclamina	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> e MRSA (10 cepas de <i>S. aureus</i> resistentes a metilina) (zona de inibição de 7 a 13 mm)	Difusão de Kirby-Bauer	Torres et al. (2002)
Aspidospermina	Bactérias gram-positivas e gram-negativas	1000 µg/mL	Hernandez (1979)
Cocaína	Cocos gram-positivos	Não mencionada	Domingo e López-Brea, (2003)
Harmina	Bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos e leveduras	Não mencionada	Ahmad et al. (1992)
Isoraunescina	Bactérias gram-positivas	1000 µg/mL	Mitscher et al. (1972)
Iboxigaína	Bactérias gram-positivas	1000 µg/mL	Mitscher et al. (1972)
Ibogaina	Bactérias gram-positivas	Não mencionada	Van BeeK et al. (1985)
Isoboldina	Bactérias gram-positivas e gram-negativas e fungos	100 µg/mL	Paulo et al. (1992)
Piperina	Fungos e lactobacilos	Não mencionada	Domingo e López-Brea, 2003
Quindolina	Bactérias gram-positivas e gram-negativas	100 µg/mL	Paulo et al. (1994)
Tabernantina	Bactérias gram-positivas	1000 µg/mL	Mitscher et al. (1972)
Voacamina	Bactérias gram-positivas	20-40 µg/mL	Van BeeK et al. (1985)

2.3.6.1. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é uma espécie de estafilococo coagulase-positivo, é um patógeno oportunista e um dos maiores causadores de infecções hospitalares adquiridas por humanos e também de mastites em animais destinados à produção de leite (Balaban et al., 2000). O *S.aureus* é a mais virulenta espécie do seu gênero, e este fator está relacionado à produção de enterotoxinas, resistentes aos sucos agressivos gastrointestinais, que são produzidas por 30-50% das estirpes (Balaban e Rasooly, 2000).

A síndrome do choque tóxico (TST) é determinada mais freqüentemente pela toxina do choque tóxico (TSST-1), entretanto podem estar envolvidas ainda as enterotoxinas dos tipos B e C. Segundo Cardoso et.al. (1999), a produção de TSST-1 e de EEC por *S. aureus*, provenientes de mastite bovina em um rebanho, foi relatada pela primeira vez por Jones e Wieneke em 1986. É possível que a TSST-1 represente um fator de virulência importante em casos graves de mastites segundo Cardoso et al. (1999), os quais fizeram a primeira descrição da produção desta toxina por *S.aureus*, isolado de mastites, no Brasil. O potencial patogênico deste microrganismo está associado à diferenciada capacidade de mutação para formas resistentes, exigindo reavaliações periódicas de seu perfil de susceptibilidade (Ferreira et al., 2004). A crescente aquisição de resistência vem preocupando os pesquisadores há décadas, pois, embora os primeiros trabalhos a estudarem o uso de penicilina no tratamento de infecções por *S. aureus* relatassem sensibilidade de 95% na década de 50 (Martin, 1967), essa alta sensibilidade foi diminuindo progressivamente nas décadas seguintes. Mason (1991) e Hughes (1976), ao encontrarem apenas 15% de cepas sensíveis, consideraram inadequada a terapia com penicilinas para tal microrganismo. Zavadinack-Netto et al. (2001) concluíram que este microrganismo é resistente às penicilinas *in vitro*, e que estas não devem ser utilizadas como alternativas terapêuticas. Assim, a busca de novas formas de tratamento torna este estudo relevante no que diz respeito ao uso de antimicrobianos em medicina.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Metodologia

O estudo fitoquímico das espécies *Rauvolfia grandiflora* e *R. mattfeldiana* foi desenvolvido seguindo as etapas sugeridas por Matos (1997): a) escolha das espécies a serem estudadas, juntamente com levantamento bibliográfico sobre o gênero. b) identificação botânica das espécies escolhidas. c) prospecção preliminar das espécies; d) isolamento e purificação dos constituintes principais. e) determinação estrutural das substâncias isoladas.

3.1.1. Escolha da planta a ser estudada

A escolha das espécies *Rauvolfia mattfeldiana* e *Rauvolfia grandiflora* foi baseada na posição filogenética do gênero, onde muitas dessas espécies apresentam quantidades relevantes de alcalóides indólicos, dotados de diversas atividades biológicas, e, por fim, devido à escassez de estudos sobre a constituição química das duas espécies.

3.1.2. Identificação botânica

A identificação botânica da espécie *R. grandiflora* foi realizada pelo botânico Dr. Leeuwenberg da Universidade de Wageningen, Holanda. A exsicata do espécimen encontra-se depositada no herbário de agricultura da Universidade de Wageningen, Holanda, sob o código WAG. A identificação botânica da espécie *R. mattfeldiana* foi realizada pela Companhia Vale do Rio Doce (CVRD). Sua exsicata encontra-se depositada sob o código de coleta CVRD-368.

3.1.3. Coleta das plantas

As cascas das raízes de *R. mattfeldiana* foram coletadas na Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce, no município de Linhares - Espírito Santo, em junho de 1999, e as suas folhas foram coletadas em março de 2005 na mesma reserva.

As cascas das raízes de *R. grandiflora* foram coletadas no município de Bom Jesus do Itabapoana – RJ em setembro de 1999. Todo o material vegetal utilizado neste trabalho foi coletado pelo Prof. Ivo José Curcino Vieira, do Laboratório de Ciências Químicas (LCQUI) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

3.1.4. Preparo dos extratos brutos

A secagem das cascas das raízes foi feita ao ar livre, logo após a coleta, para evitar a presença de fungos. Já a das folhas foi feita em uma estufa com circulação forçada de ar, Modelo Pardal, à temperatura de 50 °C. Os materiais secos foram distintamente convertidos em pó usando-se moinho de martelos marca Tecnal.

A extração de componentes fixos das cascas das raízes foi feita a frio (maceração) usando sucessivamente, em ordem crescente de polaridade, os solventes orgânicos diclorometano e metanol. As soluções obtidas a partir da *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora* foram destiladas à pressão reduzida em evaporador rotativo, fornecendo os extratos brutos das cascas das raízes de *R. mattfeldiana* em diclorometano [RM (125 g)] e em metanol [MR (57 g)], e os das cascas das raízes de *R. grandiflora* em diclorometano [RG (26,9 g)] e em metanol [RGM (36 g)].

O pó obtido das folhas secas de *R. mattfeldiana* (4.139 gramas) foi submetido ao processo de extração ácido/base (Matos, 1987). A extração de componentes do precipitado alcalóidico seco (412 g) foi feita por maceração, utilizando-se sucessivamente os solventes orgânicos diclorometano e metanol. As soluções obtidas a partir da extração ácido/base foram destiladas à pressão reduzida em evaporador rotativo, fornecendo os extratos brutos das folhas de *R. mattfeldiana* em diclorometano [extrato RMAD (14,7 g)] e em metanol [extrato EMAB (53,3 g)].

3.1.5. Prospecção preliminar

Esta etapa, que objetivou a confirmação da presença de alcalóides indólicos, foi realizada, utilizando-se cromatografia em camada delgada analítica. Procedeu-se à aplicação de uma pequena parte dos extratos brutos de *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora* utilizando como revelador o reagente de Dragendorff [solução de KBil_4 em ácido acético diluído]. A formação de um precipitado laranja-avermelhado indicou a presença de alcalóides.

3.1.6. Análises cromatográficas

Efetuuou-se o estudo fitoquímico dos extratos em diclorometano e em metanol das duas espécies de *Rauvolfia* por meio de métodos clássicos de cromatografia. Para as cromatografias em coluna (CC), utilizaram-se colunas de vidro empacotadas com gel de sílica Merck Darmstadt 60 (0,063-0,200 mm). Para as cromatografias de camada delgada (CCD), utilizaram-se cromatofolhas de alumínio 20x20 cm com gel de sílica 60 F_{254} Merck, onde as substâncias foram visualizadas através da irradiação com lâmpadas ultravioletas, com comprimentos de onda de 254 e 365 nm e, posteriormente, reveladas com os reagentes cromogênicos Dragendorf e Vanilina sulfúrica.

As análises em cromatografia em camada delgada, em escala preparativa (CCDP), foram realizadas utilizando-se placas de vidro 20x20 cm, recobertas com gel de sílica 60 GF_{254} Merck. As manchas referentes às substâncias foram detectadas através de métodos similares aos empregados para a CCD.

3.1.7. Análises espectrométricas

3.1.7.1. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em espectrômetros:

- JEOL modelo Eclipse (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C), do Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense.

Os solventes utilizados foram metanol e clorofórmio deuterados, e, como frequência interna, o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades adimensionais (δ) representados em partes por milhão (ppm) da frequência aplicada, e as constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hz.

O número de hidrogênios ligados aos carbonos foi determinado por experimentos utilizando técnicas de ^{13}C , tais como APT, e experimentos bidimensionais ^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^1H -NOESY, HMBC e HMQC.

A multiplicidade dos sinais observados nos espectros de RMN ^1H , referentes a cada absorção, foi expressa conforme as convenções: sinal simples (s), sinal duplo (d), sinal triplo (t), sinal quádruplo (q), sinal múltiplo (m), duplo sinal duplo (dd), sinal simples largo (sl), sinal duplo largo (dl) e sinal triplo largo (tl).

3.1.7.2. Espectrometria na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Shimadzu modelo FTIR-8300. As amostras foram preparadas sob a forma de pastilhas comprimidas utilizando-se KBr como veículo. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de número de ondas (cm^{-1}).

3.1.7.3. Espectrometria de massas (EM)

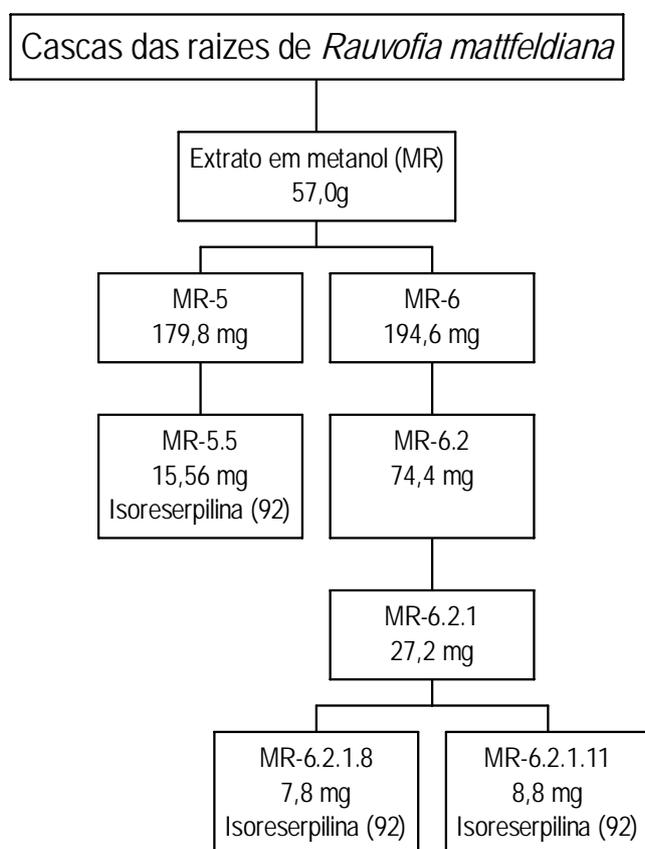
Os espectros de massa foram obtidos em um aparelho CG/MS Shimadzu, modelo QP-5050A, utilizando-se impacto de elétrons.

3.1.8. Isolamento e purificação das substâncias

Os esquemas da Figura 7 (A e B) mostram o isolamento simplificado dos alcalóides dos extratos em diclorometano (RM) e em metanol (MR), das cascas das raízes de *R. matffeldiana*, e a Figura 8, o isolamento dos alcalóides dos

extratos em diclorometano (RMAD) e metanol (EMAB) das folhas de *R. mattfeldiana*. A Figura 9 mostra o fracionamento e isolamento dos alcalóides do extrato em metanol (RGM) e a Figura 10 ilustra o fracionamento e isolamento dos alcalóides do extrato em diclorometano (RG) das cascas das raízes de *R. grandiflora*.

(A)



(B)

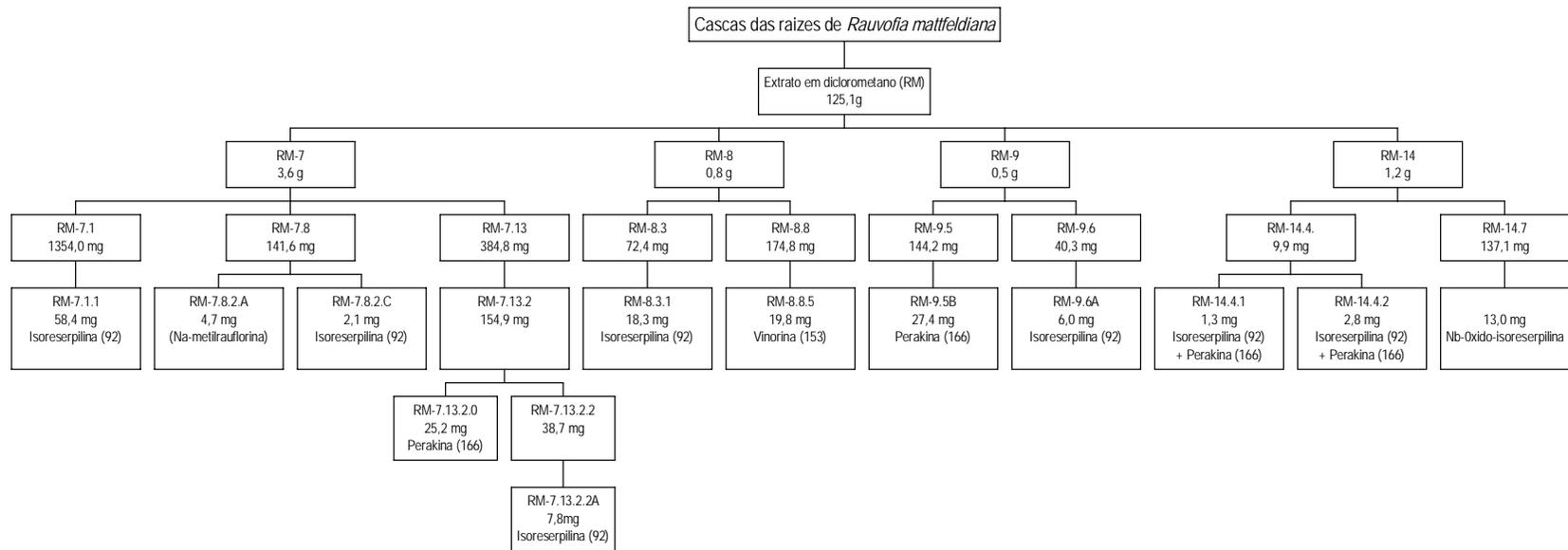


Figura 7. Fluxograma do isolamento dos alcalóides dos extratos em metanol (A) e em diclorometano (B) das cascas das raízes de *R. mattfeldiana*.

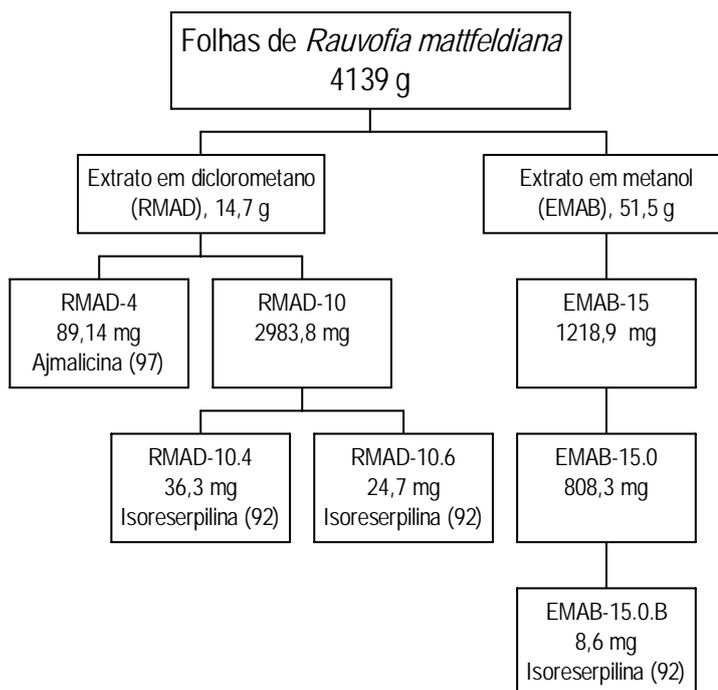


Figura 8. Fluxograma do isolamento dos alcalóides dos extratos em diclorometano (RMAD) e em metanol (EMAB), das folhas de *R. mattfeldiana*.

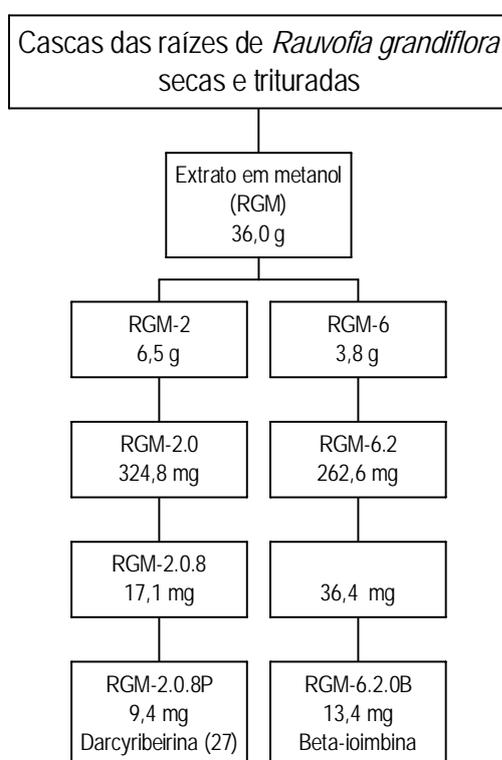


Figura 9. Fluxograma do isolamento dos alcalóides do extrato em metanol das cascas das raízes de *R. grandiflora*.

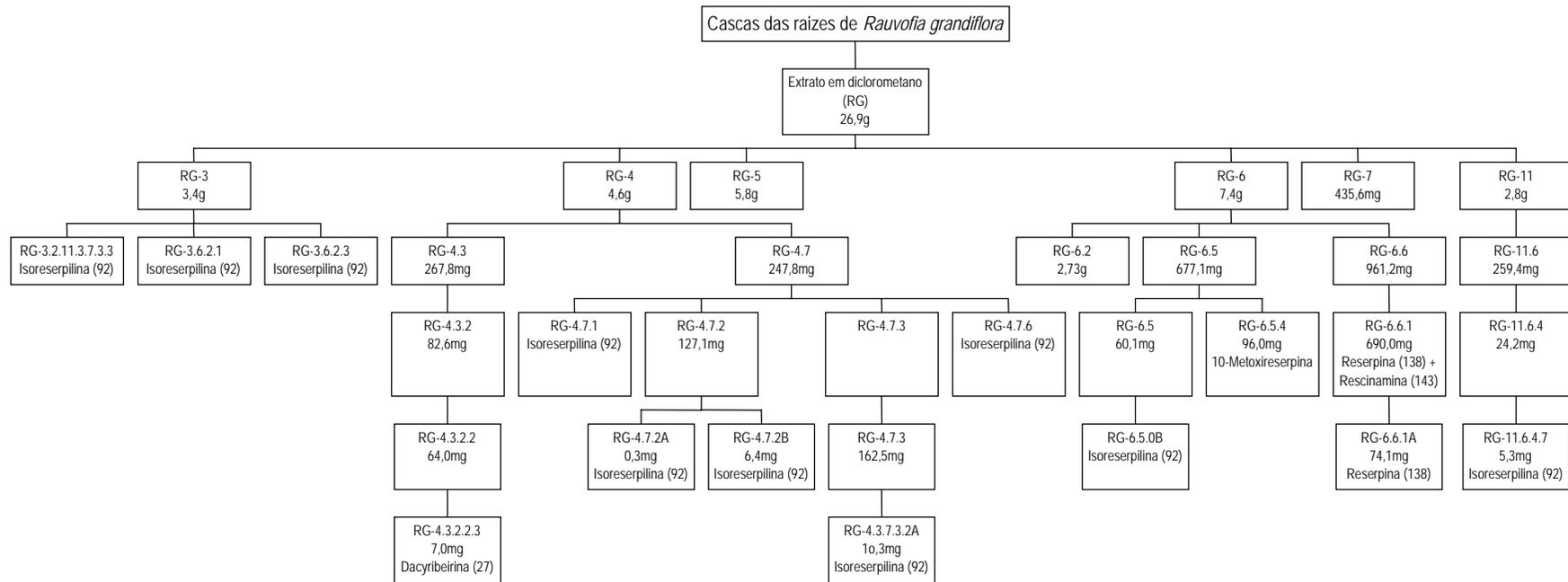


Figura 9. Fluxograma do isolamento dos alcalóides do extrato em diclorometano das cascas das raízes de *R. grandiflora*.

3.1.8.1. Isolamento dos constituintes químicos de *R. mattfeldiana*

3.1.8.1.1. Cascas das raízes

EXTRATO EM DICLOROMETANO (RM)

O resíduo do extrato em diclorometano foi submetido a uma cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica, eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Originaram-se 24 frações que, após evaporação dos solventes, foram reunidas por similaridade verificada através de CCD em 15 novas frações, cujos dados estão descritos na Tabela 4.

As frações RM-0, RM-1, RM-2, RM-3, RM-4, RM-5 e RM-6 não foram cromatograficamente estudadas devido ao fato de não apresentarem alcalóides em sua constituição, após serem submetidas ao teste com o reagente de Dragendorff.

Tabela 4 - Fracionamento cromatográfico do extrato em diclorometano das cascas das raízes de *R. mattfeldiana*

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-0	0	451,8
RM-1	1	324,0
RM-2	2	404,22
RM-3	3	873,6
RM-4	4 e 5	759,6
RM-5	6	854,8
RM-6	7	557,0
RM-7	8 e 9	3584,7
RM-8	10	797,2
RM-9	11	469,3
RM-10	12	3190,3
RM-11	13	151,3
RM-12	14 a 17	420,5
RM-13	18	1176,5
RM-14	19 a 24	1549,0

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RM-7

A fração RM-7 (3584,7 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 36 frações que foram reunidas em 15 novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 5.

Tabela 5 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-7

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-7.0	0	32,9
RM-7.1	1	1230,7
RM-7.2	2 a 6	124,1
RM-7.3	7 e 8	168,2
RM-7.4	9	73,6
RM-7.5	10 a 13	118,1
RM-7.6	14 a 18	90,7
RM-7.7	19	22,0
RM-7.8	20 a 22	141,6
RM-7.9	23	64,9
RM-7.10	24 e 25	375,8
RM-7.11	26 e 27	140,8 isoreserpilina (92)
RM-7.12	28	155,2
RM-7.13	29 a 31	348,8
RM-7.14	32 a 35	56,6

A fração RM-7.8 (141,6 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se sete frações que foram reunidas em quatro novas frações por similaridade através de CCD, conforme ilustra a Tabela 6.

Tabela 6 - Estudo cromatográfico da fração RM-7.8

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-7.8.2	2	56,7
RM-7.8.3	3	45,8

A fração RM-7.8.2 (56,7) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (97:3), fornecendo 4,7 mg do alcalóide isoreserpilina (**92**) (RM-7.8.2C).

Através dos dados espectrais de RMN, a fração RM-7.8.3 foi identificada como o alcalóide isoreserpilina (**92**).

A fração RM-7.9 (64,9 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 16 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 7.

Tabela 7 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.9

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-7.9.0	0	2,7
RM-7.9.1	1	7,0
RM-7.9.2	2	9,1 isoreserpilina (92)
RM-7.9.3	3 a 5	10,3
RM-7.9.4	6 a 10	9,5
RM-7.9.5	11 a 13	12,1
RM-7.9.6	14	4,0
RM-7.9.7	15	3,0

A fração RM-7.13 (384,8 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 21 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 8.

Tabela 8 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.13

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-7.13.0	0 a 2	14,0
RM-7.13.1	3 e 4	13,2
RM-7.13.2	5 a 12	141,3
RM-7.13.3	13	31,8
RM-7.13.4	14 e 15	79,5
RM-7.13.5	16 a 21	49,1

A fração RM-7.13.2 (141,3 mg) foi submetida a uma CC em sephadex LH-20 eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 25 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 9.

Tabela 9 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-7.13.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-7.13.2.0	0 a 2	25,2
RM-7.13.2.1	3 e 4	2,0
RM-7.13.2.2	5 a 12	38,5
RM-7.13.2.3	13	1,8
RM-7.13.2.4	14 e 15	1,6
RM-7.13.2.5	16 a 21	2,4

A fração RM-7.13.2.2 (38,5) foi submetida a uma CCDP eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (97:3), fornecendo 9,0 mg do alcalóide isoereserpilina (**92**) (RM-7.13.2.2A).

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO RM-8

A fração RM-8 (7972,0 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 39 frações que foram reunidas em 16 novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 10.

Tabela 10 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-8

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-8.0	1 a 5	22,5
RM-8.1	6 e 7	17,2
RM-8.2	8	13,7
RM-8.3	9 e 10	72,4
RM-8.4	11 a 13	121,0
RM-8.5	14 a 18	12,93
RM-8.6	19	13,0
RM-8.7	20	11,6
RM-8.8	21 e 22	89,5
RM-8.9	23 a 24	85,3
RM-8.10	25	21,1
RM-8.11	26 a 28	30,2
RM-8.12	29	25,5
RM-8.13	30 a 32	73,5
RM-8.14	33	12,8
RM-8.15	34 a 39	54,4

A fração RM-8.3 (72,4 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 28 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 11.

Tabela 11 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-8.3

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-8.3.0	0	1,0
RM-8.3.1	1	18,3
RM-8.3.2	2 a 4	38,4
RM-8.3.3	5 e 6	6,7
RM-8.3.4	7 a 10	6,3
RM-8.3.5	11 a 15	6,9

A fração RM-8.3.1 (18,3 mg) foi identificada como o alcalóide isoereserpilina (**92**).

A fração RM-8.4 (121,0 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 37 frações que foram reunidas em 13 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 12.

Tabela 12 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-8.4

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-8.4.0	0	5,6
RM-8.4.1	1 e 2	3,0
RM-8.4.2	3	19,4
RM-8.4.3	4 a 6	17,6 isoereserpilina (92)
RM-8.4.4	7	7,3
RM-8.4.5	8	2,2
RM-8.4.6	9 a 14	5,7
RM-8.4.7	15	1,0
RM-8.4.8	16 a 19	10,4
RM-8.4.9	20 a 29	5,7
RM-8.4.10	30 a 32	7,0
RM-8.4.11	33	1,5
RM-8.4.12	34 a 36	2,2

A fração RM-8.4.2 (19,4 mg) foi identificada como o alcalóide isoereserpilina (**92**).

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RM-9

A fração RM-9 (469,3 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 30 frações que foram reunidas em 10 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 13.

Tabela 13 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-9

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-9.0	0 a 4	5,8
RM-9.1	5	4,0
RM-9.2	6	8,5
RM-9.3	7 e 8	15,4
RM-9.4	9 e 10	62,3
RM-9.5	11 e 12	144,2
RM-9.6	13 a 15	40,3
RM-9.7	16 e 17	50,0
RM-9.8	18 a 22	12,7
RM-9.9	23 a 30	43,0

A fração RM-9.5 (144,2 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (95:5), fornecendo 30,0 mg do alcalóide perakina (**166**) (RM-9.5B), e 27,4 mg do alcalóide isoereserpilina (**28**) (RM-9.5A).

A fração RM-9.6 (40,3 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (90:10), fornecendo 6,0 mg do alcalóide isoereserpilina (**92**) (RM-9.6A).

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RM-10

A fração RM-10 (3190,3) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 50 frações que foram reunidas em 12 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 14.

Tabela 14 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-10

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-10.0	0 a 10	275,6
RM-10.1	11	82,9
RM-10.2	12	185,3
RM-10.3	13 a 16	58,8
RM-10.4	17	115,5
RM-10.5	18 a 21	139,5
RM-10.6	22 a 30	74,9
RM-10.7	31 a 41	98,0
RM-10.8	42 e 43	22,8
RM-10.9	44 a 47	167,5
RM-10.10	48	17,4
RM-10.11	49	3,4

A fração RM-10.3 (1754,6 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 35 frações que foram reunidas em 14 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 15.

Tabela 15 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-10.3

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-10.3.0	0 a 4	58,1
RM-10.3.1	5	16,3
RM-10.3.2	6 a 10	66,2
RM-10.3.3	11	12,1
RM-10.3.4	12	31,1
RM-10.3.5	13 a 15	31,8
RM-10.3.6	16 a 19	8,3
RM-10.3.7	20 a 24	15,9
RM-10.3.8	25	5,1
RM-10.3.9	26	3,4
RM-10.3.10	27 e 28	10,2
RM-10.3.11	29	7,0
RM-10.3.12	30 a 32	51,5
RM-10.3.13	33 e 34	3,5

A fração RM-10.3.5 (68,6 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 15 frações que foram reunidas em sete novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 16.

Tabela 16 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-10.3.5

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-10.3.5.0	0 a 1	1,5
RM-10.3.5.1	2	2,0
RM-10.3.5.2	3	9,6
RM-10.3.5.3	4 a 6	15,8
RM-10.3.5.4	7 a 9	5,9
RM-10.3.5.5	10	10,7
RM-10.3.5.6	11 a 15	7,1

A fração RM-10.3.5.2 (9,6 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 27 frações que foram reunidas em três novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 17.

Tabela 17 - Fracionamento cromatográfico da fração 10.3.5.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-10.3.5.2.0	0	1,2
RM-10.3.5.2.1	1	2,5
RM-10.3.5.2.2	2 a 8	3,2 isoreserpilina(92)
RM-10.3.5.2.3	9 a 26	1,8

A fração RM-10.3.5.2. forneceu 3,2 mg do alcalóide isoreserpilina(92).

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RM-13

A fração RM-13 (1246 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 76 frações que foram reunidas em 19 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 18.

Tabela 18 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-13

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-13.0	0 e 1	19,5
RM-13.1	1 e 2	12,6
RM-13.2	4 a 7	24,1
RM-13.3	8 a 10	18,9
RM-13.4	11 a 14	26,8
RM-13.5	15 a 18	91,2
RM-13.6	19	24,0
RM-13.7	20 a 24	142,6
RM-13.8	25 a 27	85,2
RM-13.9	28 a 34	177,9
RM-13.10	35 a 38	97,8
RM-13.11	39 a 41	74,4
RM-13.12	42 e 43	89,4
RM-13.13	44 a 47	138,6
RM-13.14	48 a 52	161,7
RM-13.15	53 a 59	119,0
RM-13.16	60 a 65	104,4
RM-13.17	66 a 72	181,6
RM-13.18	73 a 75	0,9

A fração RM-13.4 (26,8 mg) foi identificada como isoreserpilina (92).

A fração RM-13.2 (24,1mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%.

Obtiveram-se 54 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 19.

Tabela 19 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-13.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-13.2.0	0 a 7	5,5 perakina (166)
RM-13.2.1	8 a 10	12,6
RM-13.2.2	11 a 24	24,1
RM-13.2.3	25 e 26	18,9
RM-13.2.4	27 a 40	181,6
RM-13.2.5	41 a 53	0,9

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO RM-14

A fração RM-14 (1246 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 20 frações que foram reunidas em 11 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 20.

Tabela 20 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-14

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-14.0	0 a 3	10,5
RM-14.1	4	23,0
RM-14.2	5	4,8 isoereserpilina (92)
RM-14.3	6	6,7
RM-14.4	7	9,9
RM-14.5	8	31,7
RM-14.6	9	112,9 isoereserpilina (92)
RM-14.7	10	78,0
RM-14.8	11 e 12	216,2
RM-14.9	13 e 14	182,8
RM-14.10	15 a 19	23,8

As frações RM-14.2 (4,8 mg) e RM-14.6 (112,9 mg) foram identificadas como isoereserpilina (**92**).

A fração RM-14.4 (9,9 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 22 frações que foram reunidas em 11 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 21.

Tabela 21 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-14.4

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-14.4.0	0	1,1
RM-14.4.1	1	1,3 isoreserpilina (92)
RM-14.4.2	2	0,6
RM-14.4.3	3 e 4	1,0
RM-14.4.4	5 e 6	1,1
RM-14.4.5	7 e 8	0,5
RM-14.4.6	9 a 11	1,3
RM-14.4.7	12 a 22	1,5

A fração RM-14.7 (137,1 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 14 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 22.

Tabela 22 - Fracionamento cromatográfico da fração RM-14.7

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RM-14.7.0	0 a 2	10,9
RM-14.7.1	3 a 5	13,0 N-óxido isoreserpilina (2')
RM-14.7.2	6 e 7	23,0
RM-14.7.3	8	11,4
RM-14.7.4	9 a 11	19,8
RM-14.7.5	12 a 14	6,1

EXTRATO EM METANOL

O resíduo do extrato em metanol foi submetido a uma cromatografia em coluna em gel de sílica, eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 50 frações que, após evaporação dos solventes, foram reunidas por similaridade através de CCD em 21 novas frações, cujos dados estão descritos na Tabela 23.

Tabela 23 - Fracionamento cromatográfico do extrato em metanol das cascas das raízes de *R. matffeldiana*

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-0 *	0 a 9	50,8
MR-1 *	10 a 12	93,6
MR-2	13	25,2
MR-3	14 e 15	57,4
MR-4	16	77,1
MR-5	17	179,8
MR-6	18	194,6
MR-7	19 e 20	119,5
MR-8	21 a 23	1025,8
MR-9	24 e 25	154,4
MR-10	26 e 27	290,7
MR-11	28 e 29	797,5
MR-12	30	518,1
MR-13	31 e 32	1009,4
MR-14	33 e 34	1288,0
MR-15	35 a 37	2886,4
MR-16	38	1633,2
MR-17	39	2,0939
MR-18	40 a 44	6,1193
MR-19	45 a 48	5461,0
MR-20	49	2005,7

(*) As frações MR-0 e MR-1 não foram cromatograficamente estudadas por não apresentarem alcalóides em sua composição.

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO MR-3

A fração MR-3 (57,4 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 28 frações que foram reunidas em cinco novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 24.

Tabela 24 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-3

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-3.0	0 a 10	21,1
MR-3.1	11 a 16	17,0
MR-3.2	17 a 21	3,2
MR-3.3	22	1,1
MR-3.4	23 a 28	8,1

A fração MR-3.1 (17,0 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 37 frações que foram reunidas em sete novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 25.

Tabela 25 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-3.1

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-3.1.1	0 a 5	4,1 isoreserpilina (92)
MR-3.1.2	6 a 8	1,8
MR-3.1.3	9 e 10	3,0
MR-3.1.4	11 a 17	2,2
MR-3.1.5	18 a 37	0,2

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO MR-4

A fração MR-3 (77,1 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se cinco frações que foram reunidas em 14 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 26.

Tabela 26 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-4

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-4.0	0 a 9	12,9
MR-4.1	10 e 11	24,2 isoreserpilina (92)
MR-4.2	12 e 13	19,3
MR-4.3	14	8,9
MR-4.4	15	7,0
MR-4.5	16 e 17	4,4
MR-4.6	18	1,4
MR-4.7	19	9,1
MR-4.8	20 a 25	5,7
MR-4.9	26	6,6
MR-4.10	27	2,7
MR-4.11	28	7,7
MR-4.12	29 e 30	4,8
MR-4.13	31 a 34	8,6

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO MR-5

A fração MR-5 (179,8 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 46 frações que foram reunidas em 10 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 27.

Tabela 27 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-5

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-5.0	0 a 4	15,1
MR-5.1	5 e 6	8,7
MR-5.2	7 e 8	4,9
MR-5.3	9 a 11	18,5
MR-5.4	12 e 13	46,2
MR-5.5	14 a 19	19,8 isoreserpilina (92)
MR-5.6	20 e 21	15,56
MR-5.7	22 e 23	1,8
MR-5.8	24 a 45	37,6
MR-5.9	41 e 42	5,8

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO MR-6

A fração MR-6 (194,6 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 47 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 28.

Tabela 28 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-6

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-6.0	0 a 6	12,0
MR-6.1	7 a 11	4,1
MR-6.2	12 a 16	74,4
MR-6.4	17 a 30 e 36 a 39	3,9
MR-6.5	31 a 35	4,2
MR-6.6	40 a 43	3,9
MR-6.7	44 a 47	14,3

A fração MR-6.2 (74,4 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se

50 frações que foram reunidas em sete novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 29.

Tabela 29 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-6.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-6.2.0	0	1,2
MR-6.2.1	1 a 10	27,5
MR-6.2.2	11 a 22	13,1
MR-6.2.3	23	7,7
MR-6.2.4	24 a 32	11,8
MR-6.2.5	33 a 50	3,1

A fração MR-6.2.1 (27,5 mg) foi novamente submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 45 frações que foram reunidas em 15 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 30.

Tabela 30 - Fracionamento cromatográfico da fração MR-6.2.1

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
MR-6.2.1.0	0 e 1	0,5
MR-6.2.1.1	2 a 4	2,2
MR-6.2.1.2	5 a 8	1,6
MR-6.2.1.3	9 a 11	3,5
MR-6.2.1.4	12 a 18	1,8
MR-6.2.1.8	19 e 20	3,8 isoreserpilina (92)
MR-6.2.1.9	21	2,6
MR-6.2.1.10	22 a 24	0,4
MR-6.2.1.11	25 a 28	4,8 isoreserpilina (92)
MR-6.2.1.12	29	1,3
MR-6.2.1.13	30 a 36	1,5
MR-6.2.1.14	37 a 42	0,7

3.1.8.1.2. Folhas

A prospecção preliminar dos extratos em diclorometano e em metanol das folhas de *R. mattfeldiana* mostrou que suas composições eram semelhantes.

EXTRATO EM DICLOROMETANO (RMAD)

O resíduo do extrato em diclorometano foi submetido a uma cromatografia em coluna de gel de sílica eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Originaram-se 41 frações que, após evaporação dos solventes, foram reunidas por similaridade verificada através de CCD em 15 novas frações, cujos dados estão descritos na Tabela 31.

Tabela 31 - Fracionamento cromatográfico do extrato em diclorometano das folhas de *R. matfeldiana*

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RMAD-2	0 a 2	64,3
RMAD-3	3	1004,4
RMAD-4	4	89,14 ajmalicina (97)
RMAD-5	5	680,4
RMAD-6	6 e 7	1297,7
RMAD-7	8 e 9	637,5
RMAD-8	10 e 11	419,4
RMAD-9	12 e 13	263,9
RMAD-10	14 a 16	2983,8
RMAD-11	17 e 18	910,3
RMAD-12	19 a 23	140,5
RMAD-13	24 a 32	187,6
RMAD-14	33 a 40	349,4

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RMAD-10

A fração RMAD-10 (2983,8 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 53 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 32.

Tabela 32 - Fracionamento cromatográfico da fração RMAD-10

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RMAD-10.0	0 a 9	425,4
RMAD-10.1	10 e 11	233,7
RMAD-10.2	12 e 13	385,5
RMAD-10.3	14 e 15	298,7
RMAD-10.4	16	36,3 isoreserpilina (92)
RMAD-10.5	17 a 25	609,5
RMAD-10.6	26 e 27	24,7 isoreserpilina (92)
RMAD-10.7	29 a 53	468,9

EXTRATO EM METANOL (EMAB)

O resíduo do extrato em metanol (51,5 g) foi submetido a uma filtração rápida em funil de Bucner com gel de sílica, eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição, conforme descrito na Tabela 33, originando-se cinco frações.

Tabela 33 - Fracionamento cromatográfico do extrato em metanol das folhas de *R. matfeldiana*

Código	Solvente $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$	Quantidade (mg)
EMAB-15	85:15	1218,9
EMAB-2	80:20	124,3
EMAB-3	70:30	3457,9
EMAB-4	60:40	2947,7
EMAB-5	50:50	1984,3

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO EMAB-15

A fração EMAB-15 (1218,9 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 49 frações que foram reunidas em quatro novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 34.

Tabela 34 - Fracionamento cromatográfico da fração EMAB-15

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
EMAB-15.0	0 a 12	808,3
EMAB-15.1	13 a 15	75,9
EMAB-15.2	16 a 19	23,0

Uma parte da fração EMAB-15.0 (621,0 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (9:1), fornecendo três novas frações, descritas na Tabela 35.

Tabela 35 - Refracionamento cromatográfico da fração EMAB-15.0

Código	Quantidade (mg)
EMAB-15.0A	199,8
EMAB-15.0B	8,6
EMAB-15.0C	3,5

Uma parte da fração EMAB-15.0.A. (35,8 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (85:15), fornecendo 11,4 mg do alcalóide isoresserpilina (**92**) (Fração EMAB-15.0A.1).

3.1.8.2. Isolamento dos constituintes químicos de *R. grandiflora*

3.1.8.2.1. Cascas das raízes

EXTRATO EM DICLOROMETANO (RG)

O resíduo do extrato em diclorometano foi submetido a uma cromatografia em coluna em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Originaram-se 33 frações que, após evaporação dos solventes, foram reunidas por similaridade através de CCD em 14 novas frações, cujos dados estão descritos na Tabela 36.

Tabela 36 - Fracionamento cromatográfico do extrato em diclorometano das cascas das raízes de *R. grandiflora*

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-0	0	337,5
RG-1	1	287,3
RG-2	2	249,6
RG-3	3 a 5	3,3839
RG-4	6 a 8	455,56
RG-5	9	581,44
RG-6	10 a 13	738,05
RG-7	14 e 15	435,6
RG-8	16	272,00
RG-9	17 e 18	471,9
RG-10	19	336,5
RG-11	20 a 24	278,82
RG-12	25 a 30	621,1
RG-13	31 e 32	288,7

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RG-3

A fração RG-3 (3,3839 g) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 31 frações que foram reunidas em 11 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 37.

Tabela 37 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.0	0 a 3	252,0
RG-3.1	4 a 10	58,1
RG-3.2	11	374,3
RG-3.3	12	433,0
RG-3.4	13 e 14	478,8
RG-3.5	15 e 16	413,0
RG-3.6	17 e 18	768,7
RG-3.7	19 a 22	254,7
RG-3.8	23	148,38
RG-3.9	24 e 25	122,72
RG-3.10	26 a 31	114,6

A fração RG-3.2 (374,3 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 87 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 38.

Tabela 38 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.2.0	0 a 31	87,1
RG-3.2.1	32 a 34	767,4
RG-3.2.2	35	109,7
RG-3.2.3	36 e 37	392,8
RG-3.2.4	38 e 39	23,8
RG-3.2.5	40 a 49	200,1
RG-3.2.6	50 a 58	33,9
RG-3.2.7	59 a 64	25,1
RG-3.2.8	65 a 67	34,8
RG-3.2.9	68 a 87	185,2

A fração RG-3.2.1 (767,4 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 56 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 39.

Tabela 39 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.2.1.0	0 a 15	6,2
RG-3.2.1.1	16 a 25	56,5
RG-3.2.1.2	26 a 32	114,3
RG-3.2.1.3	33 a 37	189,8
RG-3.2.1.4	38 a 41	194,3
RG-3.2.1.5	42	5,0
RG-3.2.1.6	43 a 49	15,6
RG-3.2.1.7	50 a 55	32,8

A fração RG-3.2.1.1 (56,5 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 98 frações que foram reunidas em oito novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 40.

Tabela 40 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.2.1.1

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.2.1.1.0	0 a 58	17,9
RG-3.2.1.1.1	59	5,6
RG-3.2.1.1.2	60 a 77	10,2
RG-3.2.1.1.3	78 a 83	81,0
RG-3.2.1.1.4	84 a 87	52,8
RG-3.2.1.1.5	88	18,4 Darcyribeirina (27)
RG-3.2.1.1.6	89	5,0
RG-3.2.1.1.7	90 a 97	30,5

A fração RG-3.2.1.1.3 (81,0 mg) foi submetida a uma CC em alumina e eluída com hexano/acetato de etila, com gradiente de eluição até acetato de etila 100%. Obtiveram-se 69 frações que foram reunidas em 11 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 41.

Tabela 41 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-4

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.2.1.1.3.0	0 a 10	12,0
RG-3.2.1.1.3.1	11	1,3
RG-3.2.1.1.3.2	12 a 13	3,8
RG-3.2.1.1.3.3	14 a 26	17,8 Darcyribeirina (27)
RG-3.2.1.1.3.4	27 a 39	20,9
RG-3.2.1.1.3.5	40 a 45	30,5
RG-3.2.1.1.3.6	46	6,4
RG-3.2.1.1.3.7	47 a 50	24,8
RG-3.2.1.1.3.8	51 a 60	1,6
RG-3.2.1.1.3.9	61 a 63	0,9
RG-3.2.1.1.3.10	64 a 69	1,0

A fração RG-3.5 (413,0 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 23 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 42.

Tabela 42 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.5

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.5.0	0 a 3	53,8
RG-3.5.1	4	123,0
RG-3.5.2	5	147,3
RG-3.5.3	6 a 12	12,9 Darcyribeirina (27)
RG-3.5.4	13 e 14	7,8 Darcyribeirina (27)
RG-3.5.5	15 a 18	87,9
RG-3.5.6	19 a 22	25,5

A fração RG-3.6 (768,7 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 50%. Obtiveram-se 86 frações que foram reunidas em cinco novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 43.

Tabela 43 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.6

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.6.0	0 a 26	22,0
RG-3.6.1	27 a 30	23,0
RG-3.6.2	31 a 50	388,6
RG-3.6.3	51 a 67	83,8
RG-3.6.4	68 a 89	25,8

A fração RG-3.6.2 (388,6 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com hexano/acetato de etila, com gradiente de eluição até acetato de etila 100%. Obtiveram-se 56 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 44.

Tabela 44 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-3.6.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-3.6.2.0	0 a 11	9,4
RG-3.6.2.1	12 a 28	14,3 isoreserpilina (92)
RG-3.6.2.2	29 a 44	8,6 isoreserpilina (92)
RG-3.6.2.3	45	5,6
RG-3.6.2.4	46 a 49	24,6
RG-3.6.2.5	50 a 55	120,0

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RG-4

A fração RG-4 (455,56 mg) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 33 frações que foram reunidas em 11 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 45.

Tabela 45 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-4

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-4.0	0 a 4	20,3
RG-4.1	5	3,7
RG-4.2	6	72,3
RG-4.3	7 a 14	167,8
RG-4.4	15	15,3
RG-4.5	16 a 18	37,0
RG-4.6	19 a 21	10,7
RG-4.7	22 a 25	20,3
RG-4.8	26 a 27	18,9
RG-4.9	28 e 29	25,1
RG-4.10	30 a 32	3,3

A parte da fração RG-4.2 (72,3 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (95:5), fornecendo 0,3 mg do alcalóide darcyribeirina (**27**) (RG-4.2A), 6,4 mg de isoreserpilina (**92**) (RG-4.2B) e 27,0 mg do alcalóide isoreserpilina (**92**) (RG-4.2C).

A fração RG-4.7 (0,6771 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 52 frações que foram reunidas em quatro novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 46.

Tabela 46 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-4.7.0	0 a 2	1,2
RG-4.7.1	3	4,5 Darcyribeirina (27)
RG-4.7.2	4 a 9	87,9
RG-4.7.3	10 a 19	162,5
RG-4.7.4	20 a 28	28,1
RG-4.7.5	29 e 30	12,7
RG-4.7.6	31 a 45	11,1 isoreserpilina (92)
RG-4.7.7	46	25,1
RG-4.7.8	47 a 52	6,9

A parte da fração RG-4.7.2 (87,9 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (97:3), fornecendo 6,8 mg do alcalóide isoreserpilina (**92**) (RG-4.7.2B).

A fração RG-4.3 (677,1 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 50%. Obtiveram-se 32 frações que foram reunidas em sete novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 47.

Tabela 47 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.3

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-4.3.0	0 a 9	16,8
RG-4.3.1	10	34,5
RG-4.3.2	11 e 12	82,6
RG-4.3.3	13	141,7
RG-4.3.4	14 e 15	13,3
RG-4.3.5	16 a 19	5,7
RG-4.3.6	20 a 22	202,1
RG-4.3.7	23 a 25	43,8
RG-4.3.8	26 a 31	23,9

A fração RG-4.3.2 (82,6 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 50%.

Obtiveram-se 27 frações que foram reunidas em seis novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 48.

Tabela 48 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.3.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-4.3.2.0	0 a 4	5,8
RG-4.3.2.1	5 a 8	10,1
RG-4.3.2.2	9 e 10	39,8
RG-4.3.2.3	11 a 21	5,2
RG-4.3.2.4	22	2,1,
RG-4.3.2.5	23 a 27	7,3

A fração RG-4.3.2.2 (39,8 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 50%. Obtiveram-se 45 frações que foram reunidas em 10 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 49.

Tabela 49 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-4.7.3.2.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-4.3.2.2.0	0 a 3	1,3
RG-4.3.2.2.1	4 a 15	2,1
RG-4.3.2.2.2	17 e 18	1,7
RG-4.3.2.2.3	19	15,6
RG-4.3.2.2.4	20 a 25	5,1
RG-4.3.2.2.5	26 a 31	1,2
RG-4.3.2.2.6	32 a 36	2,6
RG-4.3.2.2.7	37 a 39	2,1
RG-4.3.2.2.8	40 e 41	1,4
RG-4.3.2.2.9	42 a 44	1,8

A parte da fração RG-4.3.2.2.3 (15,6 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (97:3), fornecendo 1,6 mg do alcalóide isoereserpilina darcyribeirina (**27**) (RG-4.3.2.2.3D).

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RG-6

A fração RG-6 (7,4 g) foi submetida a uma CC em gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se

46 frações que foram reunidas em 14 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 50.

Tabela 50 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-6

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-6.1	1 a 3	45,9
RG-6.2	4 a 11	2725,9
RG-6.3	12 a 14	338,2
RG-6.4	15 a 17	121,4
RG-6.5	18 a 31	677,1
RG-6.6	32 a 33	961,2
RG-6.7	34	64,7
RG-6.8	35 e 36	272,0
RG-6.9	37	30,1
RG-6.10	38 a 42	226,5
RG-6.11	43	123,3
RG-6.12	44	54,2
RG-6.13	45	19,9

A fração RG-6.2 (2725,9 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 20 frações que foram reunidas em sete novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 51.

Tabela 51 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-6.2.0	0 e 1	73,6
RG-6.2.1	2	45,2
RG-6.2.2	3 a 5	254,4
RG-6.2.3	6 e 7	281,5 isoreserpilina (92)
RG-6.2.4	8 e 9	332,7
RG-6.2.5	10 e 11	39,4
RG-6.2.6	12 e 13	149,6
RG-6.2.7	14 a 18	432,1

A parte da fração RG-6.2.0 (71,3 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (98:2), fornecendo 1,8 mg do alcalóide β -ioimbina (4') (RG-6.2.0 B).

A fração RG-6.5 (0,6771 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH

100%. Obtiveram-se 22 frações que foram reunidas em sete novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 52.

Tabela 52 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.5

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RG-6.5.0	0	75,5
RG-6.5.1	1 a 3	120,8
RG-6.5.2	4 a 11	86,9
RG-6.5.3	12 a 14	45,8
RG-6.5.4	15 a 17	96,0 10-metoxireserpina (8')
RG-6.5.5	18 a 31	245,7
RG-6.5.6	45	53,2

A parte da fração RG-6.5.0 (75,5 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (95:5), fornecendo 3,3 mg do alcalóide isoreserpilina (**28**) (RG-6.5.0B).

A fração RG-6.6 (0,9612 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se nove frações que foram reunidas em três novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 53.

Tabela 53 - Fracionamento cromatográfico da fração RG-6.6

Código	Frações reunidas	Quantidade (g)
RG-6.6.1	4 e 5	0,3800
RG-6.6.2	6 a 8	0,2910

Uma parte da fração RG-6.6.1 foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (97:3), fornecendo 74,1 mg da mistura dos alcalóides isoreserpina (**92**) e rescinnamina (**143**) (RG-6.6.A).

Uma parte da fração RG-6.6.2 foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (97:3), fornecendo 15,1 mg da mistura do alcalóide vinorina (**153**) (RG-6.2B).

EXTRATO EM METANOL (RGM)

O resíduo do extrato em metanol (35,9673 g) foi submetido a uma cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica eluída com

CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Originaram-se 31 frações que, após evaporação dos solventes, foram reunidas por similaridade através de CCD em 10 novas frações, cujos dados estão descritos na Tabela 54.

Tabela 54 - Fracionamento cromatográfico do extrato em metanol das cascas das raízes de *R. grandiflora*

Código	Frações reunidas	Quantidade (gramas)
RGM-0	0	0,0813
RGM-1	1	0,9862
RGM-2	2 a 15	6,4794
RGM-3	16	0,5005
RGM-4	17	0,8064
RGM-5	18 e 19	1,5830
RGM-6	20	1,2706
RGM-7	21 a 24	8,0825
RGM-8	25	3,1835
RGM-9	26 a 30	12,2939

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FRAÇÃO RGM-2

A fração RGM-2 (6,4794 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 34 frações que foram reunidas em 11 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 55.

Tabela 55 - Fracionamento cromatográfico da fração RGM-2

Código	Frações reunidas	Quantidade (g)
RGM-2.0	0 e 1	0,3248
RGM-2.1	2 a 4	1,4132
RGM-2.2	5 a 8	1,2528
RGM-2.3	9 e 10	0,8803
RGM-2.4	11 a 20	0,1893
RGM-2.5	21 e 22	0,0543
RGM-2.6	23	0,0331
RGM-2.7	24 e 25	0,3897
RGM-2.8	26 e 27	0,1404
RGM-2.9	28	0,0970
RGM-2.10	29 a 32	0,5276

A fração RGM-2.0 (324,8 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH

100%. Obtiveram-se 90 frações que foram reunidas em 14 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 56.

Tabela 56 - Fracionamento cromatográfico da fração RGM-2.0

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RGM-2.0.0	0 a 3	6,0
RGM-2.0.1	4	0,5
RGM-2.0.2	5 a 15	3,4
RGM-2.0.3	16 a 54	3,3
RGM-2.0.4	55	1,3
RGM-2.0.5	56 a 57	7,1
RGM-2.0.6	58 a 62	7,1
RGM-2.0.7	63 a 71	45,3
RGM-2.0.8	72	17,1
RGM-2.0.9	73	7,8
RGM-2.0.10	74 a 76	13,0
RGM-2.0.11	77 a 78	1,4
RGM-2.0.12	79 a 81	16,3
RGM-2.0.13	82 a 90	11,9

A fração RGM-2.0.8 (17,1 mg) foi reunida à fração RGM-2.0.9 (7,8 mg) e submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (97:3), fornecendo 3,4 mg do alcalóide darcyribeirina (**27**) (RGM-2.0.8.9P).

A fração RGM-7 (8,0825 g) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 50%. Obtiveram-se 20 frações que foram reunidas em 10 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 57.

Tabela 57 - Fracionamento cromatográfico da fração RGM-7

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RGM-7.0	0 a 2	31,2
RGM-7.1	3 e 4	21,0
RGM-7.2	5 e 6	29,0
RGM-7.3	7 e 8	40,8
RGM-7.4	9 a 11	363,2
RGM-7.5	12 e 13	1004,8
RGM-7.6	14 a 16	3811,5
RGM-7.7	17 a 18	2044,7
RGM-7.7	19	1084,8
RGM-7.7	20 e 21	70,5

A fração RGM-7.5 (1004,8 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 21 frações que foram reunidas em nove novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 58.

Tabela 58 - Fracionamento cromatográfico da fração RGM-7.5

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RGM-7.5.0	0 a 7	32,3
RGM-7.5.1	8 e 9	24,0
RGM-7.5.2	10	48,6
RGM-7.5.3	11 a 13	348,7
RGM-7.5.4	14 a 17	215,1
RGM-7.5.5	18 a 20	119,9

As frações RGM-7.5.1 e RGM-7.5.2 foram reunidas (peso total: 72,6 mg) e submetidas a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 45 frações que foram reunidas em 10 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 59.

Tabela 59 - Fracionamento cromatográfico das frações RGM-7.5.1 e RGM-7.5.2

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RGM-7.5.1.0	0	0,9
RGM-7.5.1.1	1	9,8
RGM-7.5.1.2	2	1,5
RGM-7.5.1.3	3 a 16	6,3
RGM-7.5.1.4	17 a 24	1,1
RGM-7.5.1.5	25 a 34	6,4
RGM-7.5.1.6	35 a 41	6,0
RGM-7.5.1.7	42	5,8
RGM-7.5.1.8	43	6,1
RGM-7.5.1.9	44 a 46	9,7

A fração RGM-7.5.1.1 (9,8 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, com gradiente de eluição até CH_3OH 100%. Obtiveram-se 19 frações que foram reunidas em quatro novas frações

após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 60.

Tabela 60 - Fracionamento cromatográfico da fração RGM-7.5.1.1

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RGM-7.5.1.1.0	0 a 2	3,3
RGM-7.5.1.1.1	3	1,0
RGM-7.5.1.1.2	4 a 12	1,2
RGM-7.5.1.1.3	13 a 18	0,5

A fração RGM-7.5.1.1.0 (3,3 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH (95:5), fornecendo 0,6 mg do alcalóide β-ioimbina (4') (RGM-7.5.1.1.0A).

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO DICLOROMETÂNICO PROVENIENTE DA EXTRAÇÃO ÁCIDO BASE

O extrato diclometânico RAB (5,6665 g), obtido através da extração ácido/base, foi submetido a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 53 frações que foram reunidas em 13 novas frações após o teste de similaridade por CCD, conforme ilustra a Tabela 61.

Tabela 61 - Fracionamento cromatográfico do extrato RAB.

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RAB-1	0 e 1	10,6
RAB-2	2	5,4
RAB-3	3 a 5	16,1
RAB-4	6 a 16	26,1
RAB-5	17	762,4
RAB-6	18	1,0227
RAB-7	19	1,3707
RAB-8	20 a 22	126,8
RAB-9	23 a 25	100,5
RAB-10	26 a 29	316,8
RAB-11	30 a 35	248,5
RAB-12	36 a 52	70,2

A fração RAB-1 (10,6 mg) foi submetida a uma CC empacotada com gel de sílica e eluída com CH₂Cl₂/CH₃OH, com gradiente de eluição até CH₃OH 100%. Obtiveram-se 28 frações que foram reunidas em três novas frações após o teste de similaridade, realizado por CCD comparativa, conforme ilustra a Tabela 62.

Tabela 62 - Fracionamento cromatográfico da fração RAB-1

Código	Frações reunidas	Quantidade (mg)
RAB-1.0	0 A 10	3,3
RAB-1.1	11 A 14	1,0
RAB-1.2	15 A 20	1,2 isoreserpilina (28)
RAB-1.3	21 A 27	0,5

3.2. Ensaio biológicos dos extratos brutos e das substâncias isoladas

3.2.1. Microrganismos

Os microrganismos utilizados neste trabalho foram a bactéria *S. epidermidis* e seis cepas de *Staphylococcus aureus*: cepa clínica secretora de enterotoxinas e TTST-1 (LSA 88) e as cepas-padrão ATCC 25923, COL (metecilina-resistente, MRSA), Smith Diffuse (encapsulado) e RN6390B (agr positivo, Novick et al., 1993), cujas caracterizações estão descritas na Tabela 63. A bactéria *S. aureus* LSA-88 foi isolada pelo LSA/UENF de leite de vacas com mastite subclínica, em rebanho da região Norte fluminense. A cepa LSA-88, além de ser resistente a vários antimicrobianos, apresenta outro fator de virulência importante, que é a secreção de enterotoxina (SE) e toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1), que tornam o hospedeiro ainda mais vulnerável no quadro de infecção devido à liberação de moléculas pró-inflamatórias que acentuam a reação do tecido mamário infectado na presença dessas toxinas (Yokomizo et al., 1995).

Tabela 63 - Microrganismos utilizados nos testes de difusão em agar e concentração mínima inibitória

Microrganismo	Grupo	Cepa	Procedência
<i>S. aureus</i>	Gram-positiva	LSA-88 bovina toxigênica	Laboratório de Sanidade Animal–UENF/Campos-RJ
<i>S.aureus</i>	Gram-positiva	ATCC25923	Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz – RJ
<i>S.aureus</i>	Gram-positiva	ATCC10832	Laboratório Biotecnologia-LBT/UENF/RJ
<i>S.aureus</i>	Gram-positiva	COL - Meticilina resistente (Sabath et al., 1974; Shafer e landolo, 1979)	Laboratório de Biologia Molecular de Bactérias-LBMB/UFRJ/RJ
<i>S.aureus</i> Smith Diffuse (SD)	Gram-positiva	ATCC13709 cápsula-positiva	Laboratório Biotecnologia-LBT/UENF/RJ
<i>S.aureus</i> RN6390B	Gram-positiva	ATCC 55620 - <i>agr</i> positiva	Laboratório Biotecnologia-LBT/UENF/RJ
<i>S.epidermidis</i> (SE)	Gram-positiva	ATCC12228	Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz – RJ

3.2.1.1. Preparo dos Inóculos

Staphylococcus sp.

As cepas de *S. aureus* foram distintamente cultivadas em agar estoque (BHA-Brain Heart agar, Acumedia, EUA), previamente reativadas em tubos de ensaio contendo caldo BHI (Acumedia, EUA) e levadas à estufa tipo B.O.D. (Cientec modelo CT705) a 37 °C por 24 horas. A concentração inicial de cada inóculo foi obtida através da transferência de colônias ativadas para caldo BHI estéril até atingir uma turbidez equivalente a uma concentração de 0,5 McF em fotômetro (Densimat®, bioMérieux, França), equipado com leitor para comprimento de onda 550 nm (Araújo et al., 2004).

3.2.2. Avaliação da atividade antimicrobiana dos alcalóides ajmalicina (92) ou RMAD-4 E RMAD-6, dos extratos das folhas de *R. mattfeldiana* e das cascas das raízes de *R. mattfeldiana* e de *R. grandiflora*

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos em metanol e em diclorometano de *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora*, foram

empregados dois métodos: o método da difusão em agar descrito por Rojas et al. (2006) e o método da diluição em meio líquido, baseado na metodologia descrita por Lemos 1997.

3.2.2.1. Pelo método da difusão em agar

Os extratos brutos foram secos até a completa remoção (por secagem natural) do solvente de origem (metanol ou diclorometano) e, em seguida, foram diluídos em DMSO p.a. (dimetilssulfóxido - VETEC), obtendo-se as concentrações mostradas na Tabela 64. O antibiótico gentamicina foi diluído em água destilada estéril de maneira a se obterem as concentrações de 30 µg/mL e 10 µg/mL, e os alcalóides ajmalicina e RMAD-6 diluídos em DMSO p.a., em quantidade suficiente para se obter a concentração de 3,65 mg/mL.

Tabela 64 - Concentração dos extratos das folhas de *R. mattfeldiana*: RMAD (extrato diclorometânico) e EMAB (extrato metanólico); das cascas das raízes de *R. mattfeldiana*: RM (extrato diclorometânico) e MR (extrato metanólico); das cascas das raízes de *R. grandiflora*: RG (extrato diclorometânico) e RGM (extrato metanólico)

Espécie	Parte estudada	Extrato/substância isolada	µg/50µL
<i>R. grandiflora</i>	Cascas raízes	(RG) diclorometano	2,13
		(RGM) metanólico	2,13
<i>R. mattfeldiana</i>	Cascas raízes	(RM) diclorometano	2,13
		(MR) metanólico	2,13
	Folhas	(RMAD) A/B diclorometano	2,13
		(EMAB) A/B metanólico	2,13

Os inóculos foram obtidos a partir de culturas recentes das bactérias citadas na Tabela 52, preparando-se suspensões padronizadas pela turvação equivalente a 0,5 da escala de MacFarland, em caldo BHI. Alíquotas de 100 µL das suspensões de microrganismos foram semeadas na superfície do meio de cultura agar BHA, com auxílio de um suabe estéril. Em cada placa de Petri previamente semeada, foram perfurados cinco orifícios circulares (minipoços), com perfurador, de 6 mm de diâmetro, em que foram colocados 50 µL do antibiótico gentamicina, dos alcalóides ajmalicina (**92**) e RMAD-6, do solvente (DMSO p.a) e dos extratos metanólicos e dos extratos em diclorometano nas concentrações descritas na Tabela 53. Após incubação das placas, por 24 h, em

estufa tipo B.O.D. a 37 °C, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital (marca STARRET, Brasil). Os resultados do teste de susceptibilidade foram interpretados de acordo com a Tabela de zonas de inibição baseada em *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* (Laborclin, Paraná, Brasil), utilizando como antibiótico para comparação (controle positivo) a gentamicina (30 g/mL e 10 g/mL). O experimento foi realizado em triplicada e as médias dos resultados comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

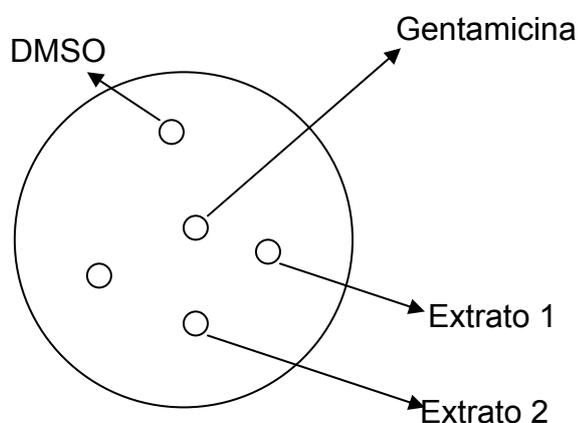


Figura 11. Esquema da aplicação de amostras na placa. Cada orifício representa um poço onde foram aplicados 50 μ L dos tratamentos, do solvente DMSO e do antibiótico gentamicina no agar BHA.

3.2.2.2. Pelo método de diluição em meio líquido

3.2.2.2.1. Teste de crescimento em solventes

Para condução dos testes com os extratos das plantas, foram realizados testes de crescimento dos microrganismos em questão, em meios contendo metanol, diclorometano e DMSO, na ausência dos extratos.

Os solventes foram diluídos em Caldo BHI nas concentrações de 50, 25, 15 e 5%. Cada tubo foi inoculado com as bactérias *S. aureus* cepa LSA-88 descrita na Tabela 63 (0,8 McF), preparado conforme descrito no item 4.2.1.1. Após incubação dos tubos em estufa, a 37°C por 24 horas, 0,1 mL do sobrenadante foi inoculado em placas de Petri contendo agar BHA. As placas

foram incubadas em estufa tipo B.O.D. a 37 °C por um período de 24 horas. Os resultados obtidos em cada tratamento foram expressos em função da sensibilidade do microrganismo, conforme metodologia utilizada por Lemos (1997). Dessa forma, a ausência de crescimento no agar (A) correspondeu ao não crescimento de nenhuma UFC (unidades formadoras de colônias). A presença de pelo menos 10 UFC correspondeu a crescimento bacteriano intermediário (I); a presença de crescimento aparente (P) correspondeu à formação de até 300 UFC, e a presença de um número superior a 300 UFC, com aspecto de confluência de colônias, foi considerado como ausência de atividade.

3.2.2.2. Avaliação dos extratos metanólicos das cascas das raízes de *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora*

Os tubos para diluição seriada dos extratos continham 2,0 mL de Caldo BHI, e o plaqueamento foi feito em agar BHA.

Os extratos metanólicos de *R. mattfeldiana* e de *R. grandiflora* e o alcalóide ajmalicina (**92**) foram solubilizados em DMSO p.a., nas concentrações descritas no item 3.2.2.1. Em seguida, 2,0 mL do extrato diluído (2,13 mg/50 μ L) foram adicionados a 2,0 mL do meio BHI (Acumedia, EUA) contido em um tubo Falcon, correspondendo a primeira diluição 1:10 (primeiro tubo). Transferiram-se 2 mL do conteúdo do primeiro tubo para o segundo tubo também contendo 2 mL de caldo BHI e, assim por diante, até o sexto tubo, de maneira a se obter uma diluição seriada de cada um dos extratos avaliados. A cada tubo foi adicionado um volume de 100 μ L de suspensão da bactéria *S.aureus* (LSA-88), padronizada pela turvação equivalente a 0,5 da escala de MacFarland, em caldo BHI. Após o cultivo a 37 °C por 24 horas, 0,1 mL do conteúdo de cada tubo foi semeado em placas de Petri contendo agar BHA (Acumedia, EUA), conforme ilustra o esquema mostrado na Figura 12. Após o período de incubação das placas (a 37 °C por 24 horas), foi realizada a contagem de UFC (unidades formadoras de colônias) obtidas em cada tratamento, com subsequente comparação com o controle. O controle foi preparado de maneira similar aos extratos, porém os tubos de ensaio contendo o caldo BHI receberam inicialmente 2,0 mL do solvente DMSO p.a., ou seja, apenas o solvente sem o extrato adicionado, para a realização da diluição seriada, conforme foi feito com os extratos.

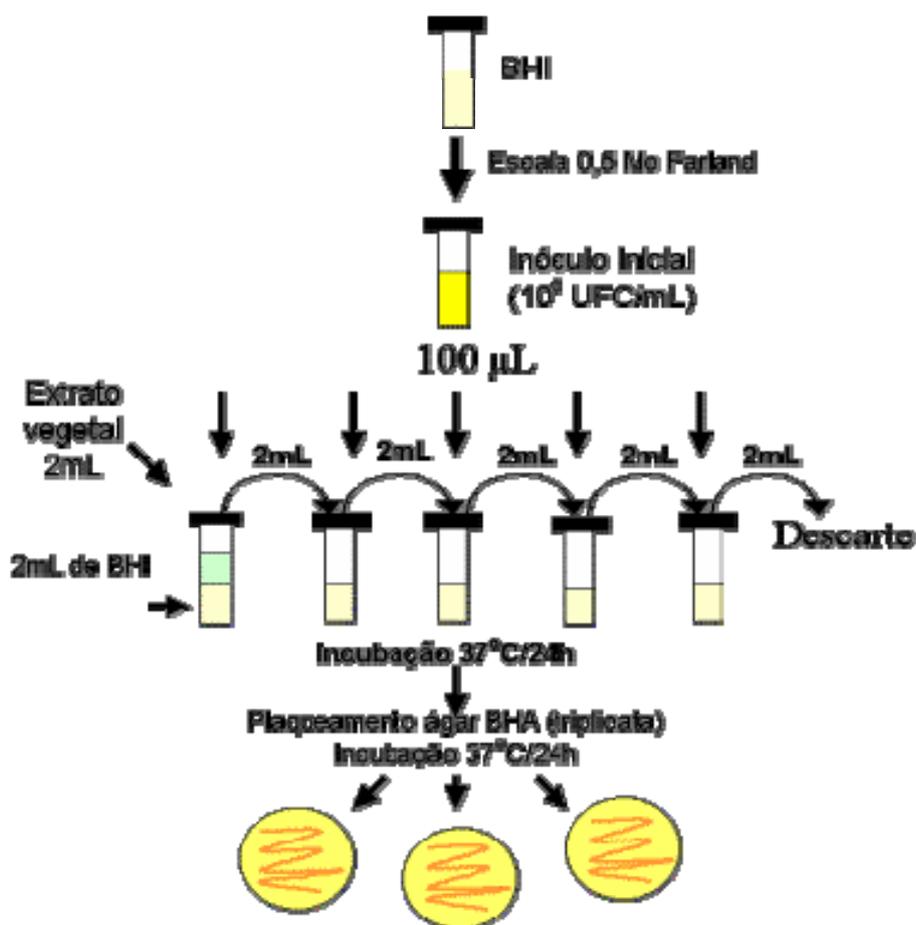


Figura 12. Esquema de diluição dos extratos vegetais e da ajmalicina (92) ou RMAD-4 seguido da inoculação do *S. aureus* LSA-88.

3.2.3. Avaliação da produção de enterotoxinas (SE) após tratamento com extrato de *Rauvolfia*

Para este experimento, foi utilizado um kit de detecção visual de imunoenaios TECRA® (Immunoassay VIA™ -Bioenterprises Pty. Ltd., Austrália) baseado na técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA), de acordo com resultados previamente obtidos (Vieira-da-Motta et al., 2001).

O extrato RGM (metanólico das cascas das raízes de *R. grandiflora*) foi diluído em DMSO de maneira a se obter uma concentração de $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Este extrato foi selecionado por estar entre os que apresentaram maior atividade no que diz respeito à inibição da cepa *S. aureus* LSA-88 produtora de enterotoxinas (Vieira-da-Motta et al., 2001).

Os cultivos bacterianos a 37°C em meio líquido BHI (Acumedia, EUA), na ausência de extrato (controle) e presença dos extratos, tiveram seu crescimento acompanhado através da medida espectrofotométrica do grau de turbidez em DO_{550nm} , utilizando-se a escala de valores McFarland (Densimat, bioMérieux, França), para garantir uma população de células proporcional entre o controle e os tratamentos, de maneira a permitir a comparação da produção de enterotoxina pelas células dos controles e dos tratamentos. O grau de turbidez, para a equivalência do número de células entre controle e tratamentos, deu-se com 3 horas para o controle e 4 horas para os tratamentos.

Após a centrifugação (12,6xg por 10 minutos à temperatura ambiente), os sobrenadantes foram submetidos à avaliação quantitativa das enterotoxinas utilizando-se o kit TECRA®, de acordo com as instruções do fabricante para a detecção de enterotoxinas A, B, C, D e E (limites de detecção inferiores a 1 ng/mL).

As amostras dos sobrenadantes (que desenvolveram gradualmente uma coloração proporcional ao nível de toxinas presentes) foram lidas em leitor de ELISA (Biorad, EUA) em filtro DO_{410nm} .

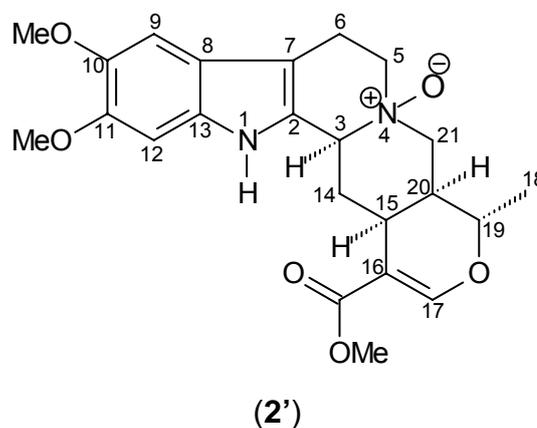
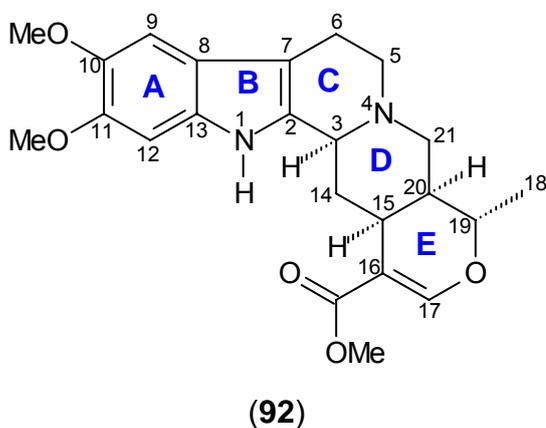
O experimento foi realizado em triplicatas. Para análise dos resultados, foi utilizada estatística descritiva.

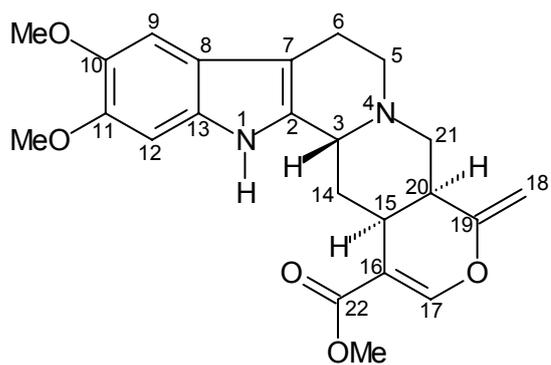
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Determinação estrutural dos alcalóides de *Rauvolfia*

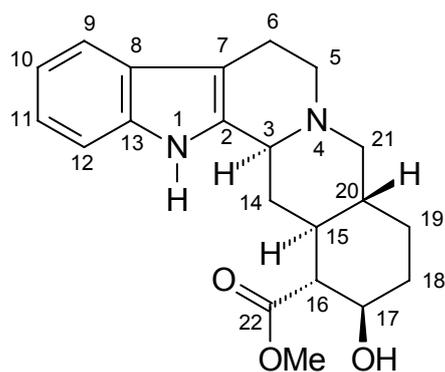
O estudo fitoquímico de *Rauvolfia grandiflora* e *Rauvolfia mattfeldiana* resultou no isolamento de onze alcalóides indólicos monoterpênicos: isoreserpilina (**92**), *N_b*-óxido-ioreserpilina (**2'**), darcyribeirina (**27**), β-ioimbina (**4'**), ajmalicina (**97**), reserpina (**138**), rescinamina (**143**), 10-metoxireserpina (**8'**), *N_a*-metilraufloina (**9'**), perakina (**166**) e vinorina (**153**).

Todas as substâncias isoladas e identificadas neste trabalho, com exceção da *N_a*-metilraufloina (**9'**), já foram descritas na literatura, a saber:

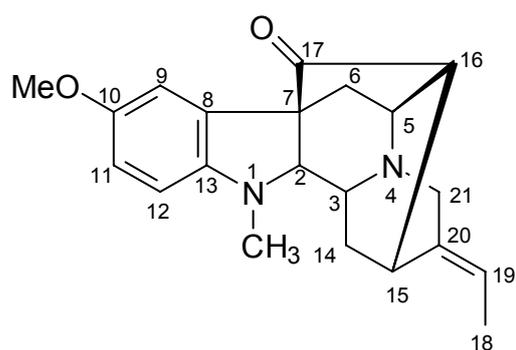




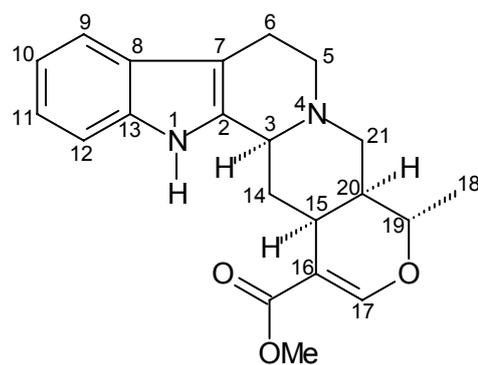
(27)



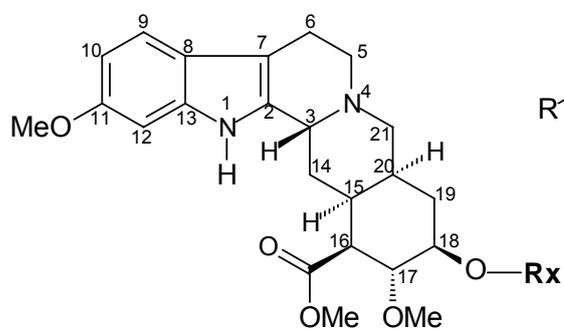
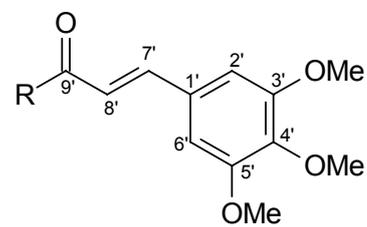
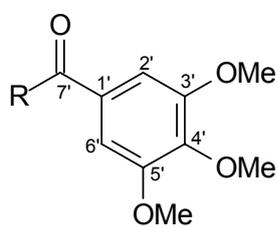
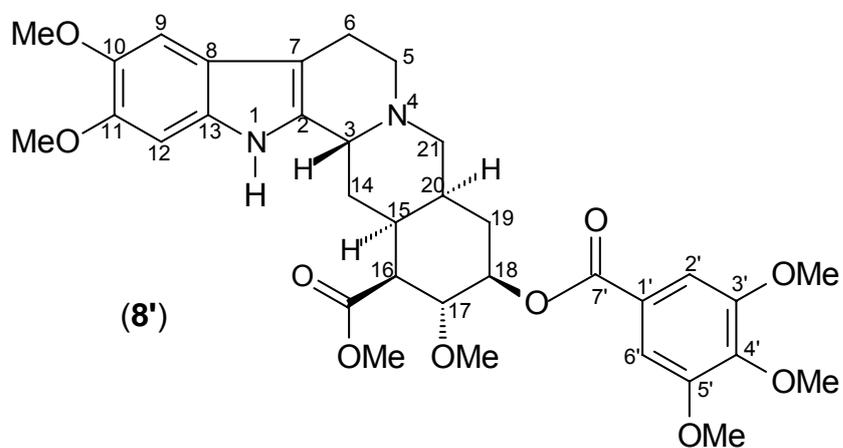
(4')



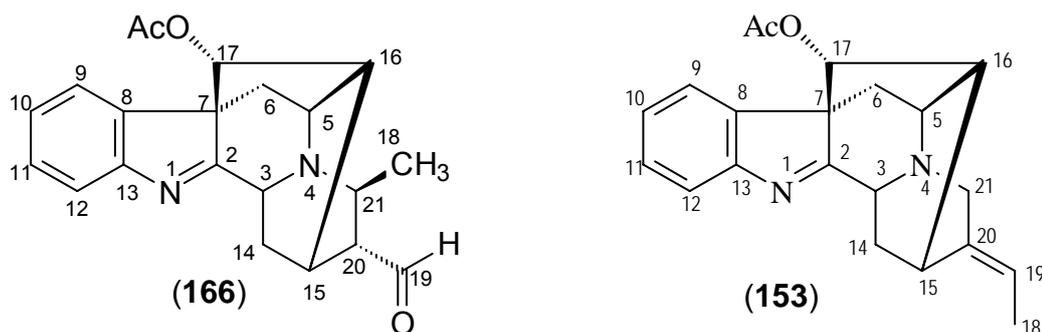
(9')



(97)

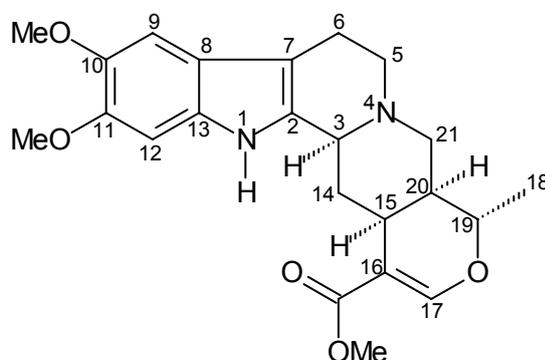
Rx=1
(138)Rx=2
(143)

(8')



A determinação estrutural dos alcalóides indólicos foi realizada seguindo as etapas: a) levantamento bibliográfico, o qual indicou a presença de alcalóides indólicos monoterpênicos no gênero *Rauvolfia*. b) utilização de técnicas de RMN uni- ^1H e ^{13}C e bidimensionais COSY ^1H - ^1H , NOESY, HMQC, HMBC, e utilização de dados espectrais de massas e na região do infravermelho. c) comparação com dados espectrais da literatura para alcalóides indólicos monoterpênicos.

4.1.1. Determinação estrutural do alcalóide 92



A substância (**92**) apresentou-se como um sólido de cor castanha-escuro, revelando ser um alcalóide por meio do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 13, v. 2) apresentou absorções em 3361 (N-H), 1699 (C=O conjugada de éster) e 829 - 771 cm^{-1} (C-H de anel benzênico substituído) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

O espectro de RMN ^1H (Figura 14, v.2; e Tabela 65) apresentou sinais (δ_{H}) correspondentes a grupos metila, metoxila de grupo carbometoxi, metoxila ligada a anel aromático, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos

metilênicos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina, e, no espectro de RMN ^{13}C (Figuras 19 e 20, v.2; Tabela 65), observou-se a presença de sinais (δ_c) para 23 átomos de carbono.

No espectro de RMN ^1H (Figura 15, v.2), observaram-se dois sinais simples em δ_H 3,89 e δ_H 3,85, característicos de grupos metoxila ligados a anel benzênico, correspondentes aos sinais em δ_c 56,15 e δ_c 56,31 no espectro de RMN ^{13}C , sugerindo a presença de dois grupos metoxila ligados ao anel A. O espectro de HMQC (Figuras 23 a 25, v.2; Tabela 65) permitiu confirmar esses sinais a partir das correlações, OCH_3 -10 (δ_c 56,15)/ $^3\text{H-OCH}_3$ -10 (δ_H 3,89, $^1J_{\text{CH}}$); OCH_3 -11 (δ_c 56,31) / $^3\text{H-OCH}_3$ -11 (δ_H 3,85, $^1J_{\text{CH}}$), corroboradas ainda pelas correlações C-10 (δ_c 144,59)/ $^3\text{H-OCH}_3$ -10 (δ_H 3,89, $^3J_{\text{CH}}$),/C-11 (δ_c 146,23)/ $^3\text{H-OCH}_3$ -11 (δ_H 3,85, $^3J_{\text{CH}}$), observadas no espectro de HMBC (Figuras 26 a 28, v. 2; Tabela 65).

Dois sinais simples centrados em δ_H 6,89 e δ_H 6,78, relativos aos hidrogênios H-9 e H-12 respectivamente, apresentaram correlações com os sinais δ_c 100,32 e δ_c 94,90, observadas no espectro de HMQC, sugerindo um padrão de substituição para no anel benzênico, confirmado através das correlações a longa distância entre C-11 (δ_c 146,23) /H-9 (δ_H 6,89, $^3J_{\text{CH}}$), e C-10 (δ_c 144,59) /H-12 (δ_H 6,78, $^3J_{\text{CH}}$), observadas no espectro de HMBC (Figuras 26 a 28, v. 2; Tabela 65).

Um sinal simples integrando para um hidrogênio em δ_H 8,07, observado no espectro de RMN ^1H , foi atribuído a um hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio do núcleo indólico, como já indicado pela presença da banda com absorção em 3361 cm^{-1} , no espectro na região do infravermelho, confirmado ainda pelas correlações a longa distância entre HN-1 (δ_H 8,07, $^3J_{\text{CH}}$) com C-7 (δ_c 107,47) e C-8 (δ_c 119,84) e HN-1 (δ_H 8,07, $^2J_{\text{CH}}$) com C-13 (δ_c 130,15) e C-2 (δ_c 133,19), observadas no espectro de HMBC (Figuras 26 a 28, v. 2; Tabela 65).

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao átomo de carbono C-16 [(sp^2) comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano] (Zenk, 1980), apresentado no espectro da região de infravermelho (Figura 13, v. 2), foi apoiada pela correlação OCH_3 -22 (δ_c 51,00) com um sinal simples integrando para três

hidrogênios em δ_H 3,73, $^1J_{CH}$, apresentadas nos espectros de HMQC (Figuras 23 a 25, v. 2; Tabela 65).

A localização deste grupo foi confirmada através das correlações entre C-22 (δ_C 167,98), com um sinal em δ_H 3,73 (OCH₃-22, $^3J_{CH}$), e um sinal simples relativo a um hidrogênio H-17 vinílico, ligado a um heteroátomo em δ_H 7,56, $^3J_{CH}$, apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 26, v. 2; Tabela 65).

A presença de um sinal duplo em δ_H 1,38 com $J = 6,2$ Hz foi atribuída ao grupo Me-18 (comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano, Zenk, 1980), acoplando com um duploquaduplete, relativo a um hidrogênio carbinólico em δ_H 4,48 com $J = 6,2$ e 10,3 Hz.

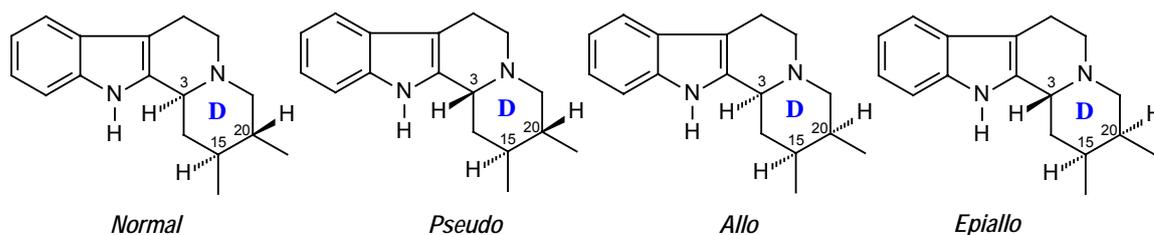
Aliada à biossíntese, a localização deste grupo foi confirmada através das correlações à longa distância dos carbonos C-19 (δ_C 72,39, $^2J_{CH}$) e C-20 (δ_C 38,29, $^3J_{CH}$) com três hidrogênios (H-18, δ_H 3,73), apresentadas nos espectros de HMBC (Figuras 28, v. 2; Tabela 65).

Outras correlações à longa distância dos demais átomos de carbono encontram-se sumarizadas na Tabela 65.

As estereoquímicas relativas dos hidrogênios H-3, H-15 e H-20 do anel D, do hidrogênio H-19 e do grupo Me-18 no anel E foram definidas com base nas constantes de acoplamento apresentadas pelas formas dos heteroioimbinóides, mostradas no Esquema 1 (Bruyn et al., 1989).

A relação *trans* entre os hidrogênios H-19 e H-20 foi deduzida com base nos deslocamentos químicos e na constante de acoplamento dos mesmos. Para valores de δ_H apresentados pelo hidrogênio H-20 na região entre 1,61–1,86 ppm, a relação entre ambos é *trans*, para valores entre 2,01–2,29, a relação é *cis*, para valores de δ_H apresentados pelo hidrogênio H-19 na região entre 3,5–3,8 ppm, associa-se com as séries H-19 α , H-20 β , e para valores entre 4,2–4,5 associa-se com as séries H-19 β , H-20 α (Bruyn et al., 1989).

Portanto, com base nos valores de δ_H apresentados pelos hidrogênios H-19 (δ_H 4,48) e H-20 (δ_H 1,66) no espectro de RMN 1H (Figuras 14, 15 e 18, v.2), podemos inferir uma relação *trans* 19 β , H-20 α para o alcalóide (**92**).



Esquema 1. Estruturas de alcalóides heteroioimbinóides baseadas na estereoquímica do anel D (Bruyn et al., 1989).

Esta relação às formas (*allo* e *epiallo*, Esquema 1) foi corroborada ainda através do valor de $J = 10,3$ Hz entre H-19 e H-20, apresentado no espectro de RMN ^1H (Figuras 14 a 18, v.2), consistente para relações *trans* entre hidrogênios vicinais em anéis de seis membros (Friebolin, 1993).

A relação *cis* entre os hidrogênios H-20 e H-15 foi estabelecida com base no valor de $J = 4,4$ Hz, consistente com as formas *allo* e *epiallo* apresentadas na Figura 18, v.2.

Observou-se no espectro de RMN ^1H (Figuras 17 e 18, v.2), um quadrupeleto em $\delta_{\text{H}} 1,48$ ($J = 12,5$ Hz, H-14b) e um multiplete em $\delta_{\text{H}} 2,51$ (H-14a), onde a constante de acoplamento de 12,5 Hz refere-se a um acoplamento geminal, sugerindo a presença do grupo metilênico (2H-14) em um sistema cíclico de seis membros, confirmado através das correlações apresentadas no espectro de ^1H - ^1H -COSY (Figuras 21 e 22, v.2).

Esses sinais observados apresentaram correlações com um sinal em $\delta_{\text{C}} 34,14$ através do espectro de HMQC (Figura 23, v. 2). O sinal em $\delta_{\text{H}} 1,48$ mais protegido refere-se ao hidrogênio axial (H-14b), enquanto que o sinal em $\delta_{\text{H}} 2,51$ refere-se ao hidrogênio equatorial (H-14a).

Para o quadrupeleto, em adição, a constante de acoplamento de 12,5 Hz para (H-14a, H-14b) dois valores de 12,5 Hz, para as constantes de acoplamentos vicinais é consistente com a proposta de uma posição antiperiplanar do hidrogênio H-14a com os hidrogênios H-3 e H-15, conseqüentemente os hidrogênios H-3 e H-15 encontram-se em uma posição sinaxial. Portanto, reconhecendo que o hidrogênio H-15 está α posicionado, então o hidrogênio H-3 também deverá estar alfa posicionado (Bruyn et al., 1989).

Portanto, com os valores de δ_{H} e das constantes de acoplamento para os hidrogênios H-19 e H-20, aliados à configuração α relativa aos hidrogênios H-3 e

H-15, pode-se então estabelecer uma configuração relativa α , α , α e β para os hidrogênios H-3, H-15, H-20 e H-19 respectivamente, consistente com uma configuração *allo* (Esquema 1).

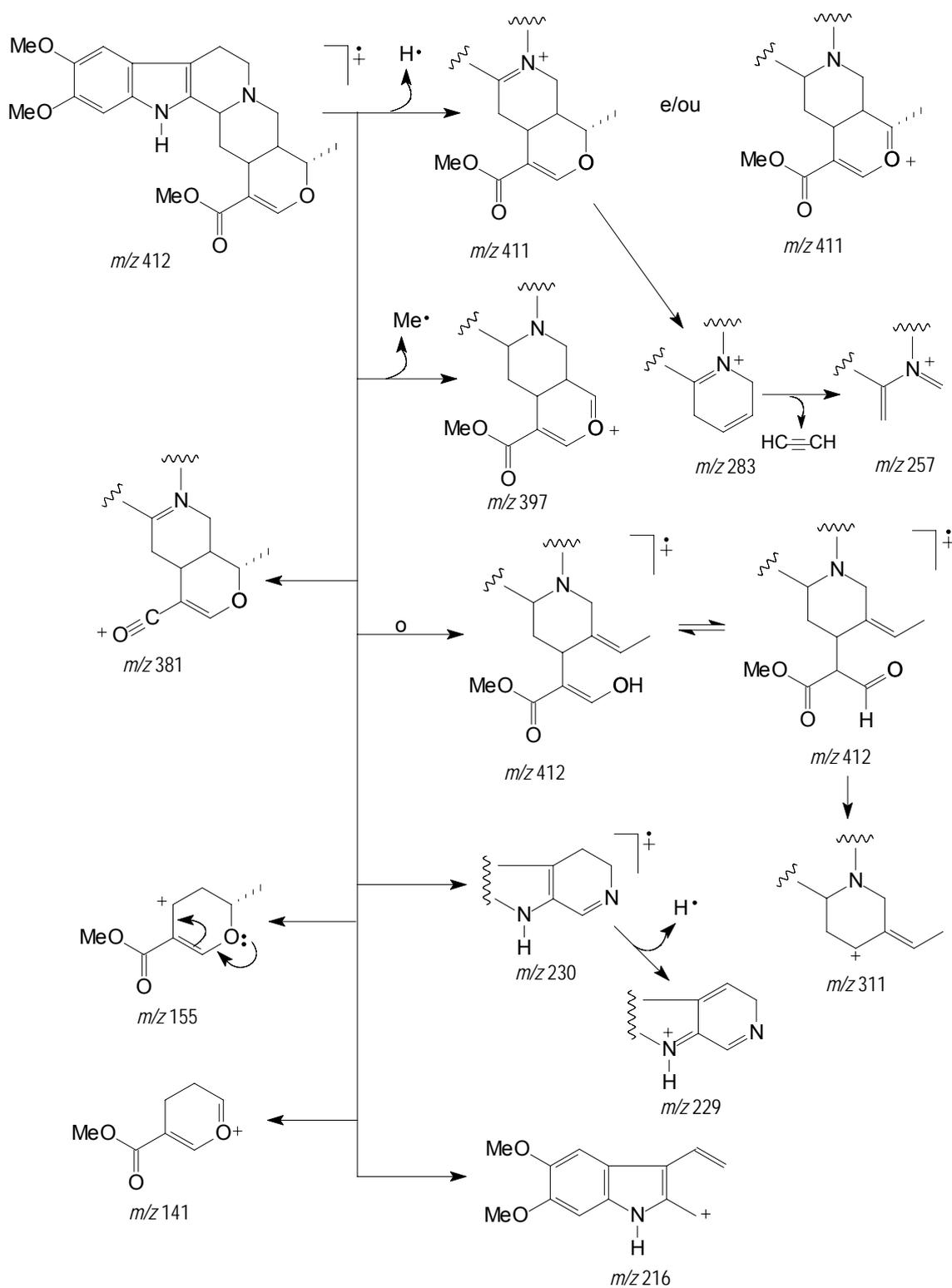
No espectro de massas (Figura 29, v.2), observou-se o pico do íon molecular $[M]^+$ 412 compatível com a fórmula molecular $C_{23}H_{28}O_5N_2$, onde os fragmentos de m/z 155 e m/z 141 (Esquema 2) são característicos de esqueletos do tipo heteroioimbinóides (Malik et al., 1981).

Os dados descritos acima para o alcalóide 92 estão de acordo com os descritos em literatura (Bruyn et al., 1989) para o alcalóide isoreserpilina (10,11-dimetoxitetraidroalstonina), comprovando assim a proposta estrutural para o alcalóide **92**, isolado por Cancelieri (2001) a partir extrato em diclorometano de *R. grandiflora*.

Isoreserpilina (**92**) foi o primeiro alcalóide identificado neste trabalho, realizado no Setor de Química de Produtos Naturais da UENF com a espécie *R. grandiflora*, sendo que a estrutura apresenta um esqueleto tipo corinanteano, e o conhecimento de seus dados espectroscópicos foi de grande importância na elucidação estrutural dos alcalóides posteriormente identificados.

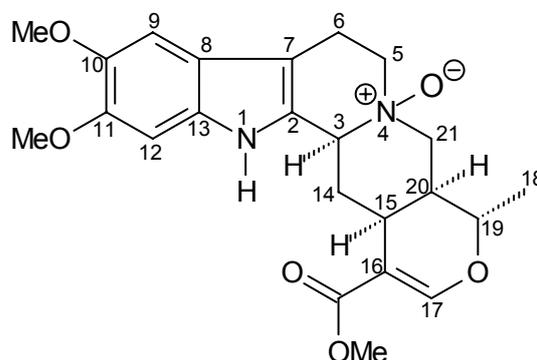
Tabela 65 - Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide **92** em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz

	δ_{C}	HMQC δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	HMBC $^3J_{\text{CH}}$
C				
2	133,19	-	H-3; HN-1	2H-14
7	107,47	-	2H-6	HN-1; H-9; H-5a; H-3
8	119,84	-		H-12; HN-1
10	144,59	-		H-12; MeO-10
11	146,23	-		H-9; MeO-11
13	130,15	-	HN-1; H-12	H-9
16	109,48	-	H-17; H-15	H-14b
22	167,98	-		H-15; H-17; MeO-22
CH				
3	59,82	3,34 (dl, 12,5)	H-14b	2H-5; 2H-21
9	100,32	6,89 (s)		
12	94,90	6,78 (s)		
15	31,17	2,72 (dt, 4,4; 12,5)	2H-14	H-17; H-21a
17	155,70	7,56 (s)		H-15
19	72,39	4,48 (dq, 6,2; 10,3)	3H-18; H-20	H-17; 2H-21; H-15
20	38,29	1,66 (m)	2H-21	H-14a; 3H-18
CH₂				
5	53,42	2,91 (m)		2H-21
		2,49 (m)		
6	21,73	2,86 (m)	2H-5	
		2,61 (m)		
14	34,14	2,51 (m)	H-3	
		1,48 (q, 12,5)		
21	56,05	3,05 (dl, 12,1)		H-3; H-5a
		2,66 (dd, 12,1; 3,3)		
CH₃				
18	18,35	1,38 (d, 6,2)		
MeO-10	56,15	3,89 (s)		
MeO-11	56,31	3,85 (s)		
MeO-22	51,00	3,73 (s)		
HN-1				
		8,07 (s)		



Esquema 2. Interpretação mecânica dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide **92**.

4.1.2. Determinação estrutural do alcalóide 2'



A substância **2'** apresentou-se como um sólido amorfo, de cor castanha, revelando ser alcalóide através do teste para alcalóides com o reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 30, v.2) apresentou absorções em 3330 (N-H), 1691 (C=O conjugada de éster) e 819 -773 cm^{-1} (C-H de anel benzênico substituído) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

Os dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (Figuras 31 a 36, v.2; Tabela 66) do alcalóide **2'**, quando comparados com os do alcalóide **92**, revelaram que suas estruturas eram bastantes semelhantes, apesar dos dados de RMN não apresentarem uma resolução satisfatória, visto que a multiplicidade de muitos sinais não pôde ser observada, necessitando a posteriori de novas medidas com variação de solvente e temperatura. Portanto, desta forma supôs-se que as estereoquímicas para os hidrogênios H-3, H-15 e H-20 do alcalóide **2'** fossem iguais às do alcalóide **92**.

Apesar da semelhança dos dados de RMN, pôde-se observar através do espectro de massas (Figura 41, v.2), o pico do íon molecular m/z 428 daltons ($[\text{M}]^{*+}$) compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{N}_2$, e o pico base em m/z 412 $[\text{M}-16]^+$, resultante da perda de oxigênio, sugerindo então para o alcalóide **2'** estrutura de um N-óxido (Kam et al., 1999). Os picos apresentados pelo alcalóide **2'**, com exceção do fragmento em (m/z 427), relativo ao ($[\text{M}]^{*+}$), correspondem aos observados para o alcalóide **92**, diferindo apenas nas intensidades relativas. Os principais fragmentos encontram-se no Esquema 03.

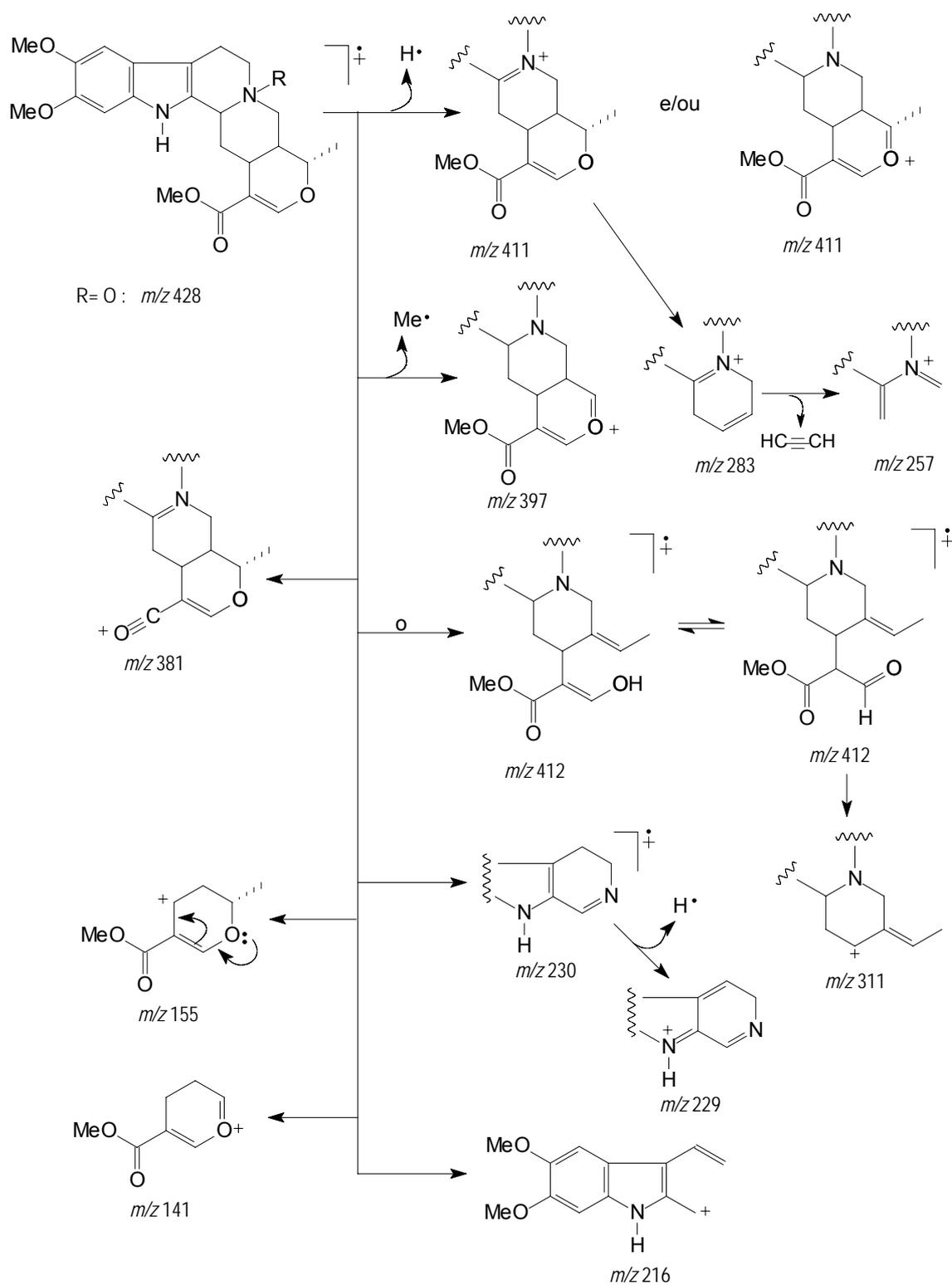
Os sinais observados nos mapas de correlação dos espectros de HMQC e HMBC (Figuras 37 a 40, v.2; Tabela 66) corroboram a proposta estrutural para o

alcalóide **2'**, visto que observou-se uma desproteção nos sinais relativos aos carbonos ligados diretamente ao átomo de nitrogênio [CH-3 69,92 ppm (**2'**), 59,82 ppm (**2'**) e C-5 68,51 ppm (**2'**), 53,42 ppm (**2'**)] (Figuras 37 e 38, v.2), como era de se esperar.

Portanto, propõe-se para o alcalóide **2'** a estrutura do *N_b*-óxido-isoreserpilina, já descrita anteriormente por Cancelieri (2001).

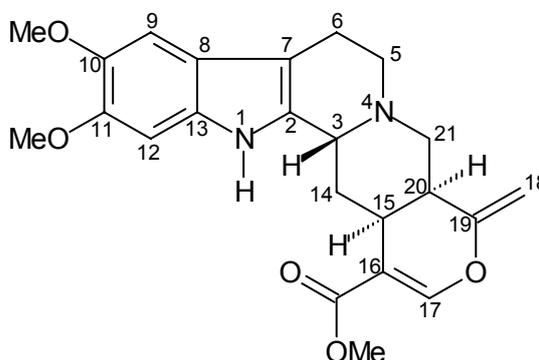
Tabela 66 - Dados de RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) para *N*-óxido-isoreserpilina (**2'**) e isoreserpilina (**92**), em CDCl₃. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz

C	2'				92	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	δ_C	δ_H
2	127,37	-	HN-1; H-3	H-6	133,19	-
7	105,81	-	H-6	HN-1; H-5 ^a ; H-9	107,47	-
8	118,90	-		HN-1; H-12	119,84	-
10	145,33	-	H-9	MeO-10; H-12	144,59	-
11	147,56	-	H-12	H-9; MeO-11	146,23	-
13	131,46	-	HN-1; H-12	H-9	130,15	-
16	107,80	-	H-17		109,48	-
22	167,99	-		H-17; MeO-22	167,98	-
CH						
3	69,92	4,59 (sl)	H-14a	H-21b	59,82	3,34 (dl, 12,5)
9	99,90	6,85 (s)			100,32	6,89 (s)
12	95,28	6,99 (s)			94,90	6,78 (s)
15	25,65	2,49 (m)		H-3; H-17; H-21b	31,17	2,72 (dt, 4,4; 12,5)
17	156,61	7,60 (s)			155,70	7,56 (s)
19	73,15	5,13 (m)	3H-18	H-17; 2H-21	72,39	4,48 (dq, 6,2; 10,3)
20	37,41	1,56 (m)	H-15; 2H-21	H-14b; 3H-28	38,29	1,66 (m)
CH₂						
5	68,51	3,82 (m) 3,67 (m)	H-6a	H-21b	53,42	2,91 (m) 2,49 (m)
6	20,48	2,98 (m)			21,73	2,86 (m) 2,61 (m)
14	26,08	2,82 (m) 2,52 (m)			34,14	2,51 (m) 1,55 (q, 12,5)
21	56,74	3,72 (dl, 12,4) 3,29 (dl, 12,4)			56,05	3,05 (dl, 12,1) 2,66 (dd, 12,1; 3,3)
CH₃						
18	18,59	1,55 (d, 6,0)			18,35	1,38 (d, 6,2)
MeO-10	56,17	3,91 (s)			56,15	3,89 (s)
MeO-11	56,40	3,94 (s)			56,31	3,85 (s)
MeO-22	51,23	3,74 (s)			51,00	3,73 (s)
HN-1		9,00 (s)				8,07 (s)



Esquema 3. Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 2'.

4.1.3. Determinação estrutural do alcalóide 27



A substância **27** apresentou-se como um sólido amorfo de cor castanha-escuro com ponto de fusão 154 °C, revelando ser alcalóide indólico através do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 42, v.2) apresentou absorções em 3336 (N-H), 1705 (C=O conjugada de éster) e 831 - 769 cm^{-1} (C-H de anel benzênico substituído) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

A comparação dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (Tabela 67) do alcalóide **27** com o alcalóide **92** revelou grande semelhança em seus esqueletos carbônicos, diferindo basicamente nos sinais relativos aos átomos de carbono C-18 e C-19, revelando a ausência do sinal duplo, integrando para três hidrogênios, característico do grupo metila ligado ao carbono C-18, apresentado no espectro de RMN ^1H (Figuras 43 a 46, v.2) para o alcalóide **92**.

Entretanto, observou-se, nos espectros de HMQC (Figuras 52 a 54, v.2), a presença de dois sinais largos em δ_{H} 4,70 e 4,58 acoplando entre si [Figuras 49 a 51, v.2, (espectros de ^1H - ^1H -COSY), relativos aos átomos de hidrogênio H-18a e H-18b, respectivamente, correlacionados com um carbono sp^2 em δ_{C} 93,51 (CH_2 -18), característico de grupo vinilidênico terminal (Cancelieri, 2001).

A localização inequívoca de uma ligação dupla entre os átomos de carbono C-19 e C-18 no alcalóide **27** foi deduzida através das correlações à longa distância do átomo de carbono C-19 (δ_{C} 155,67) com o átomos de hidrogênio 2H-18 (δ_{H} 4,70 e 4,58, $^2J_{\text{CH}}$) e H-17 (δ_{H} 7,48, $^3J_{\text{CH}}$), observadas nos espectros de HMBC (Figuras 55 a 58, v.2).

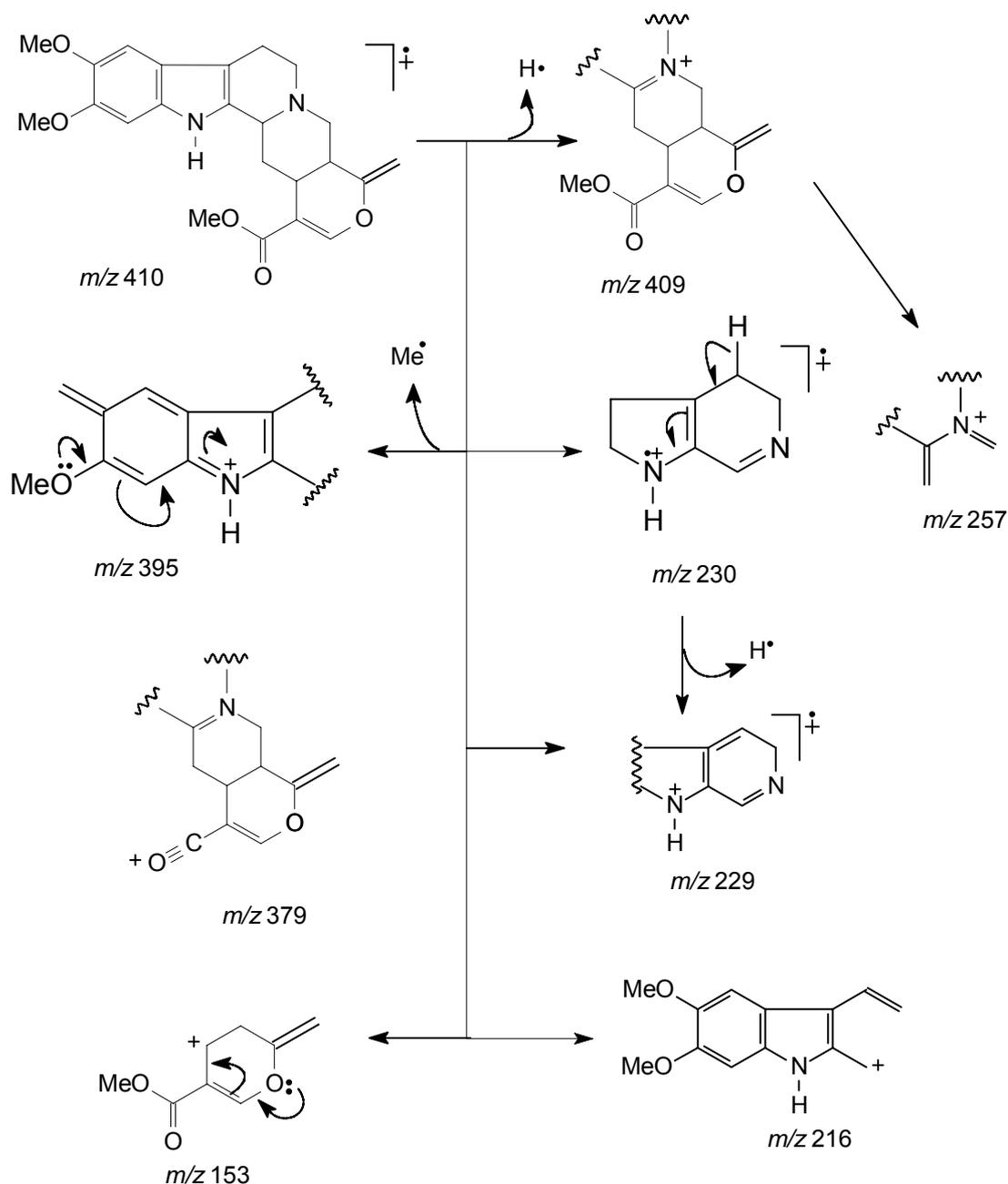
As correlações adicionais estão sumarizadas na Tabela 67.

No espectro de massas (Figura 59, v.2), observou-se o pico do íon molecular m/z 410 daltons ($[M]^{*+}$) compatível com a fórmula molecular $C_{23}H_{26}O_5N_2$, onde os fragmentos de m/z 154 e m/z 141 (Esquema 4) são compatíveis com esqueletos do tipo heteroioimbinóide (Malik et al., 1981).

Tabela 67 - Dados de RMN 1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em DMSO- d_6 e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide **27**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz

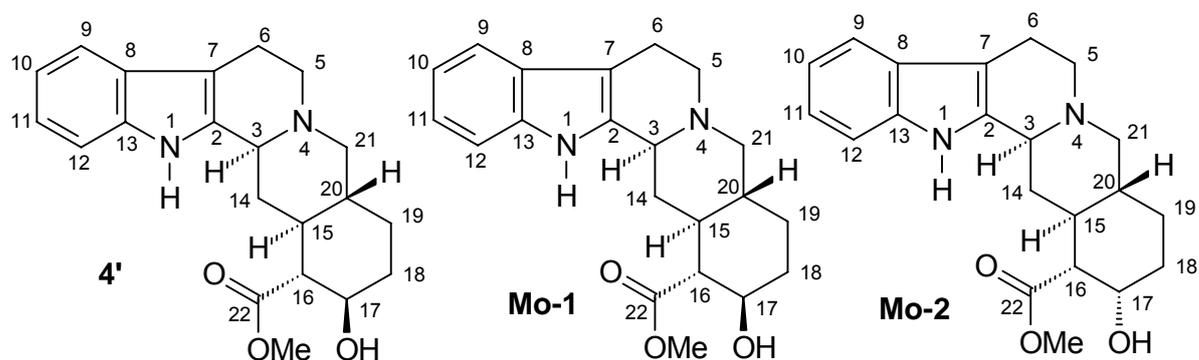
	δ_C	HMQC δ_H	$^2J_{CH}$	HMBC $^3J_{CH}$
C				
2	132,71	-	H-3; HN-1	
7	106,23	-		HN-1; H-9; H-5a; H-9
8	119,84	-		H-12; HN-1
10	144,17	-		H-12; MeO-10
11	145,82	-		H-9; MeO-11
13	130,46	-		H-9
16	108,43	-	H-17	
19	155,67	-	2H-18	
22	165,86	-		MeO-22
CH				
3	54,35	3,33 (dl, 12,5)		2H-5; 2H-21
9	101,22	6,88 (s)		
12	96,26	6,91 (s)		
15	28,47	2,83 (dt, 4,4; 12,5)		H-17
17	151,25	7,48 (s)		H-15
20	36,02	2,90 (m)		2H-18
CH₂				
5	51,68	3,02 (m)		
		2,58 (m)		
6	20,01	2,80 (m)		
		2,52 (m)		
14	29,62	2,70 (m)		
		1,75 (q, 12,5)		
18	93,51	4,70		
		4,58		
21	51,86	2,83 (dl, 12,1)		
		2,60 (dd, 12,1; 3,3)		
CH₃				
MeO-10	55,98	3,75 (s)		
MeO-11	56,27	3,76 (s)		
MeO-22	50,82	3,73 (s)		
HN-1		10,19 (s)		

Os dados espectrais desse alcalóide, isolado do extrato em metanol de *R. grandiflora*, foram comparados com os dados do alcalóide Darcyribeirina, isolado do extrato em diclorometano de *R. grandiflora* por Cancelieri (2001), de onde conclui-se que se tratava da mesma substância.



Esquema 4. Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide 27.

4.1.4. Determinação estrutural do alcalóide 4'



A substância (**4'**) apresentou-se como um óleo viscoso de cor amarela clara, revelando ser um alcalóide através do teste com o reagente de Dragendorff.

Os espectros de RMN ^1H (Figuras 60 a 64, v.2) apresentaram sinais (δ_{H}) correspondentes a grupos metoxila de grupo carbometoxi, hidrogênios aromáticos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina, e, no espectro de RMN ^{13}C (Figura 65 a 67, v.2), observaram-se sinais (δ_{C}) para 23 átomos de carbono.

O espectro de RMN ^1H (Figura 61, v.2) apresenta quatro sinais relativos aos átomos de hidrogênio aromáticos acoplando entre si (^1H - ^1H -COSY) (Figuras 76 a 79, v.2) δ_{H} 7,45 (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 7,07 (1H, dt, $J = 7,7$ e 1,4 Hz), 7,13 (1H, dd, $J = 7,7$ e 1,4 Hz) e 7,30 (1H, d, $J = 7,7$ Hz) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (Azoug et al., 1995), confirmado através das correlações heteronuclear (HMQC) (Figuras 68 a 71, v.2), em que se observam as correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 118,12)/H-9 (δ_{H} 7,45), CH-10 (δ_{C} 119,41)/H-10 (δ_{H} 7,07), CH-11 (δ_{C} 121,44)/H-11 (δ_{H} 7,13), CH-12 (δ_{C} 110,79)/H-12 (δ_{H} 7,30).

Um sinal simples integrando para um hidrogênio em δ_{H} 7,89, observado no espectro de RMN ^1H (Figura 61, v.2), foi atribuído a um hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio do núcleo indólico, confirmado ainda pelas correlações à longa distância entre HN-1 (δ_{H} 7,89, $^3J_{\text{CH}}$) com C-7 (δ_{C} 108,26) e C-8 (δ_{C} 127,31) e HN-1 (δ_{H} 7,89, $^2J_{\text{CH}}$) com C-2 (δ_{C} 134,12), observadas nos espectros de HMBC (Figura 72 a 75, v.2; Tabela 68).

A presença do núcleo indólico livre de substituintes foi também corroborada pelas correlações heteronucleares à longa distância apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 72 a 75, v.2) através das correlações a entre CH-9 (δ_C 118,12)/H-11 (δ_H 7,13), CH-10 (δ_C 119,41)/H-12 (δ_H 7,30), CH-11 (δ_C 121,44)/H-9 (δ_H 7,45), CH-12 (δ_C 110,79)/H-10 (δ_H 7,07), C-7 (δ_C 108,26)/HN-1 (δ_H 7,89) e C-13 (δ_C 136,02)/H-9 (δ_H 7,45)/H-11 (δ_H 7,13); as demais correlações estão descritas na Tabela 68.

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 [comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano] (Zenk, 1980) apresentado no espectro da região de infravermelho foi apoiada pela correlação OCH₃-22 (δ_C 51,94) com um sinal simples integrando para três hidrogênios em δ_H 3,83, $^1J_{CH}$, apresentadas nos espectros de HMQC (Figuras 68 a 71, v. 2). A localização deste grupo foi confirmada através das correlações entre C-22 (δ_C 174,85) com [δ_H 3,83, OCH₃-22, $^3J_{CH}$], com um sinal duploduplete relativo ao hidrogênio H-17 carbinólico em δ_H 3,83, $^3J_{CH}$, apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 72 a 75, v.2; Tabela 68).

Podem-se observar a ausência dos sinais relativos ao grupo Me-18, a insaturação nos átomos de carbono C-16 – C-17 e a oxigenação no carbono C-18 (comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano; Zenk, 1980); observa-se ainda nos espectros de HMQC (Figuras 68 a 71, v.2) a presença de um sinal duploduplete relativo ao hidrogênio carbinólico H-17 em δ_H 3,83, correlacionando com o átomo de carbono C-17 em δ_C 72,19, característico do esqueleto tipo ioimbina (Breitmaier, 1987; Shamma, 1979).

As demais correlações à longa distância dos átomos de carbono encontram-se sumarizadas na Tabela 68.

A estereoquímica relativa do grupo hidroxila ligada ao carbono C-17 (δ_C 72,19) do alcalóide **4'** foi definida por comparação com os valores de δ_C registrados na literatura para os alcalóides β -ioimbina (δ_C 71,6, **Mo-1**) e ioimbina (δ_C 66,9, **Mo-2**), confirmando assim a estrutura do alcalóide **4'** (Breitmaier, 1987; Shamma, 1979).

As estereoquímicas relativas dos hidrogênios H-3, H-15 e H-20 do anel D e dos hidrogênios H-16 e do H-17 no anel E foram estabelecidas por comparação com dados de literatura para o alcalóide β -ioimbina (Breitmaier, 1987; Shamma,

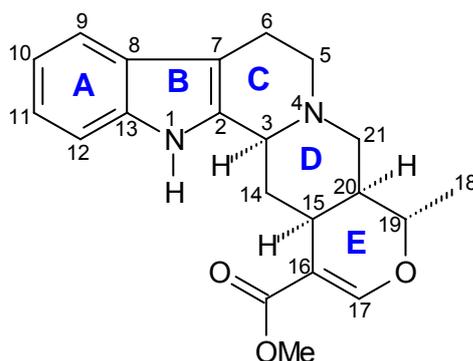
1979) e confirmadas por experimentos de ^1H - ^1H -COSY e ^1H - ^1H -NOESY (Figuras 76 a 80, v.2).

Os dados descritos acima para o alcalóide **4'** estão em acordo com os dados descritos em literatura (Breitmaier, 1987; Shamma, 1979) para o alcalóide β -ioimbina, comprovando assim a proposta estrutural para o alcalóide **4'**.

Tabela 68 - Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide **4'**, e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz

	HMQC		HMBC		Mo-1	Mo-2
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{C}
C						
2	134,12	-	HN-1; H-3		134,0	134,3
7	108,26	-	2H-6	HN-1; H-5a; H-9	107,4	107,5
8	127,31	-		HN-1; H-10; H-12	126,9	127,0
13	136,02	-		H-9; H-11	135,8	135,8
22	174,85	-	H-16	MeO-22	175,0	175,2
CH						
3	59,45	3,24 (dd, 11,0; 1,8)	2H-14	2H-5; H-21a	59,0	59,8
9	118,12	7,45 (d, 7,7)		H-11	117,2	117,7
10	119,41	7,07 (dt, 7,7)		H-12	118,8	118,8
11	121,44	7,13 (dt, 7,7; 1,4)		H-9	120,9	120,8
12	110,79	7,30 (d, 7,7)		H-10	110,7	110,6
15	41,85	1,52 (m)	H-14; H-16; H-20	H-18b; H-21a	41,6	36,4
16	57,30	2,18 (t, 9,9)			57,1	52,6
17	72,19	3,83 (dd, 10,2; 4,0)	H-16; H-18b	H-19a	71,6	66,9
20	39,83	1,52 (m)		H-14a; H-18a	39,1	40,2
CH₂						
5	52,91	3,08 (dd, 11,0, 5,1) 2,60 (dd, 11,0, 4,8)	H-6b		52,3	52,1
6	21,65	2,90 (m), 2,71 (m)	H-5a		21,3	21,5
14	34,06	1,96 (m), 1,44 (m)	H-15		33,8	33,8
18	34,11	2,10 (m), 1,40 (m)		H-20	33,5	31,4
19	27,85	1,69 (qd, 13,2; 3,0) 1,18 (m)			27,5	23,1
21	60,99	2,98; 2,09			60,5	61,0
CH₃						
MeO-22	51,94	3,83 (s)			51,6	51,7
HN-1	-	7,89 (sl)			-	-

5.1.5. Determinação estrutural do alcalóide 97



A substância (**97**) apresentou-se como um sólido amorfo, com ponto de fusão 228 °C, de cor amarela claro, revelando ser um alcalóide através do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 82, v.2) apresentou absorções em 3398 (N-H), 1701 (C=O conjugada de éster) e 848 – 746 cm^{-1} (C-H de anel benzênico) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

Os espectros de RMN ^1H (Figuras 83 a 87, v.2; Tabela 69) apresentaram sinais (δ_{H}) correspondentes a grupos metila, metoxila de grupo carbometoxi, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina, e, no espectro de RMN ^{13}C (Figura 88, v.2; Tabela 69), observaram-se sinais (δ_{C}) para 21 átomos de carbono.

O espectro de RMN ^1H (Figura 84, v.2) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,43 (^1H , d, $J = 7,3$ Hz), 7,06 (^1H , dt, $J = 8,1$ e 1,6 Hz), 7,10 (^1H , dd, $J = 8,1$ e 1,6 Hz) e 7,20 (^1H , d, $J = 8,1$ Hz) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (Azoug, et al., 1995), confirmado através das correlações heteronuclear (HMQC, Figuras 89 a 92, v.2), onde observam-se as correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 117,99)/H-9 (δ_{H} 7,43), CH-10 (δ_{C} 119,24)/H-10 (δ_{H} 7,06), CH-11 (δ_{C} 121,21)/H-11 (δ_{H} 7,10) e CH-12 (δ_{C} 110,80)/H-12 (δ_{H} 7,20).

Um sinal simples integrando para um hidrogênio em δ_{H} 8,03, observado no espectro de RMN ^1H , foi atribuído a um átomo de hidrogênio ligado a um átomo de nitrogênio do núcleo indólico, como já indicado pela presença da banda com absorção em 3398 cm^{-1} , presente no espectro na região do infravermelho e confirmado ainda pelas correlações à longa distância entre HN-1 (δ_{H} 8,03, $^3J_{\text{CH}}$)

com C-7 (δ_c 107,85), C-8 (δ_c 127,12) e C-2 (δ_c 135,98), observadas no espectro de HMBC (Figuras 93 a 97, v.2; Tabela 69).

A presença do núcleo indólico livre de substituintes foi também corroborada pelas correlações heteronucleares à longa distância apresentadas nos espectros de HMBC (Figuras 93 a 97, v.2; Tabela 69) através das correlações a entre CH-9 (δ_c 117,99)/H-11 (δ_H 7,10), CH-11 (δ_c 121,21)/H-9 (δ_H 7,43), CH-12 (δ_c 110,80)/H-10 (δ_H 7,06), C-7 (δ_c 107,85)/HN-1 (δ_H 8,033) e C-13 (δ_c 134,62)/H-9 (δ_H 7,43)/H-11 (δ_H 7,10) e pelo espectro de ^1H - ^1H -COSY (Figuras 98 A 100, v.2); as demais correlações estão descritas na Tabela 69.

A presença de um grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16 [(sp^2) , comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano] (Zenk, 1980) apresentado no espectro da região de infravermelho, foi apoiada pela correlação entre OCH_3 -22 (δ_c 51,13) com um sinal simples integrando para três hidrogênios em δ_H 3,75, $^1J_{\text{CH}}$, apresentada no espectro de HMQC (Figuras 89 a 92, v.2; Tabela 69). A localização deste grupo foi confirmada através das correlações entre C-22 (δ_c 168,05) com δ_H 3,75, OCH_3 -22, $^3J_{\text{CH}}$, e com um sinal simples relativo ao hidrogênio H-17 vinílico, ligado a um heteroátomo em δ_H 7,57, $^3J_{\text{CH}}$, apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 93 a 97, v.2; Tabela 69).

A presença de um sinal duplo foi atribuída ao grupo Me-18 (comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano) (Zenk, 1980) em δ_H 1,38 com $J = 6,2$ Hz, acoplado com um duploquaduplete relativo a um hidrogênio carbinólico δ_H 4,48 com $J = 6,2$ e 10,3 Hz. Aliada à biossíntese, a localização deste grupo foi confirmada, através das correlações à longa distância dos átomos de carbono C-19 (δ_c 72,47, $^2J_{\text{CH}}$) e C-20 (δ_c 38,35, $^3J_{\text{CH}}$) com 3H-18 (δ_H 1,38), apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 93 a 97, v.2; Tabela 69).

Outras correlações à longa distância dos demais átomos de carbono encontram-se sumarizadas na Tabela 69.

As estereoquímicas relativas dos hidrogênios H-3, H-15 e H-20 do anel D e do hidrogênio H-19 e do grupo Me-18 no anel E foram definidas com base nas constantes de acoplamento apresentadas pelas formas dos heteroioimbinóides, mostradas no Esquema 1, seguindo a metodologia de Bruyn et al., 1989, consistente com uma configuração *allo*, igual a do alcalóide **92** (isoreserpilina).

No espectro de massas (Figura 101, v.2), observou-se o pico do íon molecular $[\text{M}]^{+\bullet}$ 352 compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{N}_2$, onde os

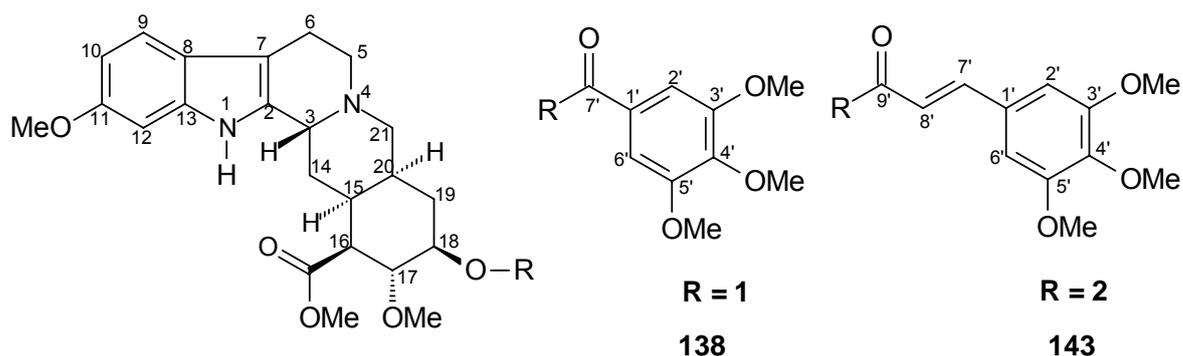
fragmentos de m/z 156 e m/z 142 são característicos de esqueletos do tipo heteroioimbinóides (Malik et al., 1981).

Os dados descritos acima para o alcalóide **97** estão em acordo com os descritos em literatura (Lounasmaa, 1986; Shamma, 1979) para o alcalóide ajmalicina, comprovando assim a proposta estrutural para o alcalóide **97**.

Tabela 69 - Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC do alcalóide **97**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) estão em Hz

	δ_{C}	HMQC δ_{H}	HMBC $^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	135,98	-	NH-1; H-3	H-14a; 2H-6
7	107,85	-	2H-6	NH-1; H-3; H-5b
8	127,12	-	H-9	NH-1; H-12; H-10; 2H-6
13	134,62	-	NH-1	H-9; H-11
16	109,50	-	H-17	2H-14; H5a
22	168,05	-		OMe-22; H-17; H-15
CH				
3	59,77	3,26 (dl, 11,4)	H-14a	2H-21
9	117,99	7,43 (d, 7,3)		H-11
10	119,24	7,06 (dt, 1,6; 8,1)	H-9; H-11	
11	121,21	7,10 (dt, 1,6; 8,1)	H-12	H-9
12	110,80	7,20 (d, 8,1)		H-10
15	31,27	2,74 (dt, 4,8; 12,1)	2H-14	H-17; H-3; H-21b
17	155,78	7,57 (s)		H-15
19	72,47	4,48 (dq, 6,2; 10,3)	Me-18	H-17; 2H-21; H-15
20	38,35	1,65 (m)	H-21b; H-15	H-14b; Me-18
CH₂				
5	53,46	2,87 (m) 2,50 (m)	2H-6	
6	21,72	2,89 (m) 2,67 (m)	2H-5	
14	34,21	2,51 (m) 1,49 (q, 12,1)	H-3; H-15	
21	56,20	2,64 (m) 3,05 (dd, 12,1; 1,5)		H-3; H-5b
CH₃				
18	18,45	1,38 (d, 6,2)		
MeO-22	51,13	3,75 (s)		
HN-1		8,13 (s)		

4.1.6. Determinação estrutural da mistura dos alcalóides **138** e **143**



A amostra contendo as substâncias **138** e **143** apresentou-se como um sólido amorfo, com ponto de fusão variando entre 145 e 149 °C, de cor castanha, revelando-se ser alcalóides através do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 102, v. 2) apresentou absorções em 3226 (N-H), 1716 (C=O conjugada de éster) e 832 – 773 cm^{-1} (C-H de anel benzênico substituído) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

Os espectros de RMN ^1H (Figuras 103 a 108, v.2; Tabela 70) apresentaram sinais (δ_{H}) correspondentes a grupos metoxila de grupo carbometoxi, metoxilas ligadas a anel aromático, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina, e, nos espectros de RMN ^{13}C (Figuras 109 a 115, v.2; Tabela 70), observaram-se sinais (δ_{C}) para mais 36 átomos de carbono, onde a maioria estava duplicada, sugerindo a presença de uma mistura de alcalóides.

No espectro de RMN ^1H (Figuras 106, v.2), observou-se um sinal simples em δ_{H} 3,82, característico de um grupo metoxila ligado a anel benzênico, correspondente ao sinal em δ_{C} 55,78 no espectro de RMN ^{13}C (Figuras 113, v.2), sugerindo a presença de um grupo metoxila ligado ao anel A. O espectro de HMQC (Figuras 116 a 120, v.2) permitiu confirmar esses sinais através das correlações, OCH_3 -11 (δ_{C} 55,78) e 3H-OCH_3 -11 (δ_{H} 3,82, $^1J_{\text{CH}}$), corroboradas ainda com a correlação entre C-11 (δ_{C} 156,29) e 3H-OCH_3 -11 (δ_{H} 3,82, $^3J_{\text{CH}}$), observada no espectro de HMBC (Figuras 121, 125 e 127 v.2; Tabela 70).

O modo de substituição do anel A foi confirmado através da multiplicidade e das constantes de acoplamento dos sinais relativos aos átomos de hidrogênio aromáticos. A presença de um sinal duplo em δ_{H} 7,32 integrando para um hidrogênio com $J = 8,4$ Hz, acoplando com um sinal duploduplete em δ_{H} 6,77,

integrando para um hidrogênio com $J = 8,4$ e $2,2$ Hz, acoplando com um sinal duplo em δ_H 6,87, integrando para um hidrogênio com $J = 2,2$ Hz, respectivamente, confirmou assim um padrão de substituição 1,2,4-trissubstituído para o anel A.

Este modo de substituição foi ainda confirmado através das correlações à longa distância entre CH-10 (δ_c 109,10) e H-12 (δ_H 6,87, $^3J_{CH}$), e CH-12 (δ_c 95,77) e H-10 (δ_H 6,77, $^3J_{CH}$), observadas no espectro de HMBC (Figuras 121 e 124, v.2). Foi observada ainda a presença de outros sinais relativos a grupos metoxila ligados a anel aromático na região de δ_H 3,88-3,90 e na região de hidrogênios aromáticos em δ_H 6,75-7,31, sugerindo a presença de outra unidade benzênica na molécula.

Diante da complexidade da mistura dos alcalóides **138** e **143**, compararam-se os dados espectrais com os dados dos alcalóides da série da reserpina, descritos na literatura (Kato, 2001; Shamma, 1979; Lousnasmaa, 1986), onde observou-se a presença de dois sinais simples integrando para dois hidrogênios (H-2' e H-6') em δ_H 7,31 (**6**) e δ_H 6,75 (**7**), juntamente com a presença de dois sinais simples, um integrando para nove hidrogênios em δ_H 3,90 (138) e δ_H 3,88 (143) [MeO-3', MeO-4' e MeO-5']. Os outros dois sinais simples em δ_H 3,50 e 3,86, relativos aos grupos MeO-17 e MeO-22, estão em concordância com os alcalóides da série da reserpina.

A presença de dois sinais duplos acoplando entre si em δ_H 7,62 e 6,36 com $J = 16,1$ Hz, característicos de ligação dupla *trans* (Silvertein, 2000), correspondentes aos sinais em δ_c 145,29 e 117,08 no espectro de RMN ^{13}C (Figuras 109 a 115, v.2; Tabela 70), foi corroborada através das correlações apresentadas no espectro de HMQC (Figuras 116 a 120, v.2; Tabela 70).

A presença do grupo carbometoxi ligado ao carbono C-16, comum no esqueleto para alcalóides do tipo corinanteano (Zenk, 1980), foi apoiada pela correlação de OCH₃-22 (δ_c 52,18) com um sinal simples integrando para três hidrogênios em δ_H 3,86 (138) e 3,85 (143), $^1J_{CH}$, apresentada no espectro de HMQC (Figuras 116, 118 e 120, v.2; Tabela 70). A localização deste grupo foi confirmada através das correlações entre C-22 (δ_c 173,15) com [δ_H 3,86 e 3,85, OCH₃-22, $^3J_{CH}$], apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 121, 125 e 127 v.2; Tabela 70).

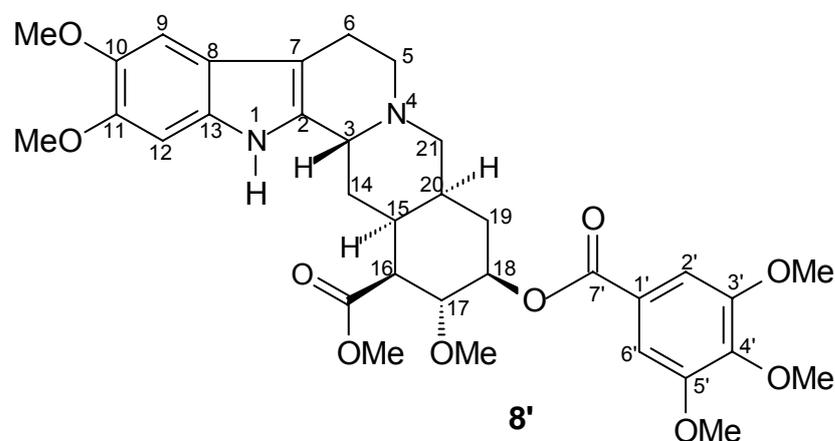
Tabela 70 - Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 e as correlações observadas nos espectros de HMQC e HMBC da mistura dos alcalóides **138** e **143**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz

	138			143		
	δ_{C}	δ_{H}	HMBC $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}	HMBC $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$
C						
2	129,78	-	H-6b	129,78	-	H-6b
7	107,62	-	2H-5; H-9	107,50	-	2H-5; H-9
8	121,91	-	H-10; H-12; H-9	121,85	-	H-10; H-12; H-9
11	156,29	-	H-9; H-2	156,29	-	H-9; H-2
13	136,59	-	H-9; H-12	136,59	-	H-9; H-2
22	173,15	-	MeO-22; H-16	173,15	-	MeO-22; H-16
1'	125,11	-	H-2'/H-6'	129,57	-	H-2'/H-6'; H-8'; H-7'
7'	166,13	-	H-2'/H-6'	-	-	
9'	-	-	-	166,83	-	H-7'; H-8'
3',5'	152,87	-	H-2'/H-6'; MeO-3'; MeO-5'	153,36	-	H-2'/H-6'; MeO-3'/MeO-5'
4'	142,31	-	H-2'/H-6'; MeO-4'	140,13	-	H-2'/H-6'; MeO-4'
CH						
3	53,81	4,32 (sl)	H-5; H-21b	53,81	4,32 (sl)	H-5; H-21b
9	118,52	7,32 (d, 8,4)		118,52	7,32 (d, 8,4)	
10	109,10	6,77 (dd, 8,4; 2,2)	H-12	109,10	6,77 (dd, 8,4; 2,2)	H-12
12	95,77	6,87 (d, 2,2)	H-10	95,77	6,87 (d, 2,2)	H-10
15	33,83	1,94		33,75	1,94	
16	52,24	3,70 (dd, 10,2; 4,8)		52,15	3,66(dd, 9,9; 4,4)	
17	68,61	4,34 (t, 10,2)	H-16	68,49	4,24 (t, 9,9)	H-16
18	76,85	5,03 (m)	H-17; H-19a	76,41	4,86 (m)	H-17; H-19a
20	31,86			31,77		
7'	-	-	-	145,29	7,62 (d, 16,1)	H-2'/H-6'; H-8'
8'	-	-	-	117,08	6,36 (d, 16,1)	H-7'
2',6'	106,93	7,31 (s)		105,28	6,75 (s)	H-7'
CH ₂						
5	50,98	3,20 (m)		50,96	3,20 (m)	
6	23,98	2,30		23,88	2,30	
		1,90			1,90	
		2,52			2,52	
14	16,59	1,20		16,59	1,20	
		2,40			2,40	
19	29,10	1,97	H-21a	29,21	1,97	H-21a
		3,10 (dd, 12,1; 4,0)			3,10 (dd, 12,1; 4,0)	
21	48,81	2,52 (dd, 12,1; 10,6)	H-5	48,76	2,52 (dd, 12,1; 10,6)	H-5
MeO						
11	55,78	3,82 (s)		55,78	3,82 (s)	
17						
22	52,18	3,86 (s)		52,18	3,85 (s)	MeO-22
3',5'	56,26	3,90(s)		56,11	3,88 (s)	
4'	60,89	3,90 (s)		60,93	3,88 (s)	

A relação *trans* do hidrogênio H-17 [(δ_{H} 4,34 (**138**) e 4,24 (**143**)] com os hidrogênios H-18 [(δ_{H} 5,03 (**138**) e 4,86 (**143**)] e H-16 [(δ_{H} 3,70 (**138**) e 3,66 (**143**)] foi definida com base na multiplicidade (sinal triplo) e no valor de *J* do H-17 de 10,2 (**138**) e 9,9 Hz (**143**), consistentes com a configuração relativa apresentada para os alcalóides reserpina e rescinnamina.

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C (Figuras 102 a 115, v.2; Tabela 70) descritos para a mistura dos alcalóides **138** e **143** estão em acordo com os descritos na literatura para os alcalóides reserpina (**138**) (The Aldrich Library of ^{13}C and ^1H NMR Spectra, 1993; Kato, 2001; Shamma, 1979; Lousnasmaa, 1986) e rescinnamina (**143**) (Martin et. al., 1987; Shamma, 1979; Lousnasmaa, 1986), comprovando assim as propostas estruturais para a mistura dos alcalóides **138** e **143**.

4.1.7. Determinação estrutural do alcalóide **8'**



A substância **8'** apresentou-se como um sólido amorfo, com ponto de fusão entre 158 e 162 °C, cor castanha-escuro, revelando ser alcalóide através do teste com o reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 128, v.2) apresentou absorções em 3205 (N-H), 1741 (C=O conjugada de éster) e 819 - 773 cm^{-1} (C-H de anel benzênico) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

O espectro de RMN ^1H (Figuras 129 a 134, v.2; Tabela 71) apresentou sinais (δ_{H}) correspondentes a grupos metoxila de grupo carbometoxi, metoxilas

ligadas a anel aromático, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, grupos metilênicos e hidrogênio ligado a nitrogênio referente a grupamento amina, e, no espectro de RMN ^{13}C (Figura 135 v.2; Tabela 71), observaram-se sinais (δ_{c}) para 34 átomos de carbono.

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (Figuras 129 a 140, v.2) mostraram-se semelhantes aos do alcalóide reserpina (**138**), discutido anteriormente, com exceção no modo de substituição do anel A do núcleo indólico.

No espectro de RMN ^1H (Figura 132, V.2; Tabela 71), observaram-se dois sinais simples em δ_{H} 3,81 e δ_{H} 3,86, característicos de grupos metoxila ligados a anel benzênico, correspondentes aos sinais em δ_{c} 56,30 e δ_{c} 56,01 no espectro de RMN ^{13}C (Figura 139, Tabela 71), sugerindo a presença de dois grupos metoxila ligados ao anel A.

A presença de dois sinais simples no espectro de RMN ^1H (Figura 130, v.2 Tabela 71) centrados em δ_{H} 6,93 e δ_{H} 6,90, relativos aos hidrogênios H-9 e H-12, respectivamente, correspondentes aos sinais δ_{c} 100,03 e δ_{c} 95,18 apresentados no espectro de RMN ^{13}C (Figura 137, V.2; Tabela 71), confirmam um padrão de substituição *para* no anel benzênico.

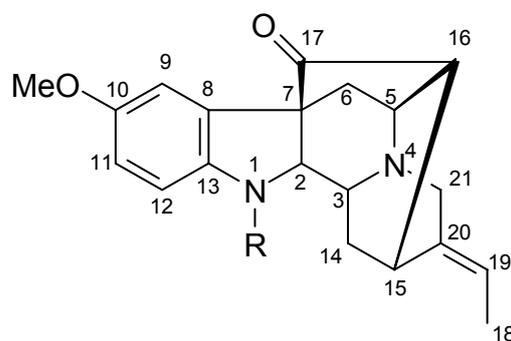
O restante dos dados de RMN ^1H e ^{13}C (Figuras 129 a 140, v.2) do alcalóide **8'** estão em acordo com os descritos na literatura para o alcalóide reserpina (The Aldrich Library of ^{13}C and ^1H NMR Spectra, 1993; Kato, 2001; Shamma, 1979; Lousnasmaa, 1986;).

Portanto, pode-se propor a estrutura da 10-metoxireserpina para o alcalóide **8'**.

Tabela 71 - Dados de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 observados nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C do alcalóide **8'**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz

	δ_{C}	δ_{H}
C		
2	129,55	
7	107,62	
8	119,91	
10	144,67	
11	146,48	
13	130,15	
22	173,09	
1'	125,19	
3'	150,85	
4'	140,61	
5'	150,85	
7'	167,32	
CH		
3	54,55	4,51 (sl)
9	100,03	6,93 (s)
12	95,18	6,90 (s)
15	34,51	1,96 (m)
16	53,65	3,81 (dd, 11,0; 4,4)
17	68,45	4,33 (t, 9,9)
18	77,20	5,05 (m)
20	29,52	
2'/6'	106,76	7,33 (s)
CH₂		
5	50,66	3,21 (m)
6	16,73	2,32 (m) 1,93 (m)
14	27,27	2,46 (m) 1,96 (m)
19	27,27	2,46 (m) 1,96 (m)
21	46,19	3,17 (dd, 12,1; 4,0) 2,58 (dd, 12,1; 10,6)
MeO		
10	56,30	3,81 (s)
11	56,01	3,86 (s)
22	51,23	3,87 (s)
3'/5'	56,07	3,92 (s)
4'	60,72	3,87 (s)
17	53,32	3,18 (s)
NH-1	-	8,58 (s)

5.1.8. Determinação estrutural do alcalóide 9'



9'. R= CH₃

9a. R= H

A substância **9'** foi isolada como um sólido amorfo, apresentando ponto de fusão 166 a 168 °C, revelando um teste positivo para alcalóides com reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 141, v.2) apresentou absorções 1755,1 (C=O de cetona) e 862,1-779,2 cm⁻¹ (C-H de anel benzênico) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

A análise dos dados de RMN ¹³C (APT) (Figuras 148, v.2) mostrou que o alcalóide **9'** apresenta 21 átomos de carbono, sendo três metílicos (um N-Me, um OMe e um outro ligado a carbono sp²), três metilênicos (todos sp³, sendo um ligado a nitrogênio), nove metínicos (sendo quatro sp², três sp³ ligados a um átomo de nitrogênio) e seis carbonos quaternários (um sp³ e cinco sp²) (Tabela 72).

O espectro de RMN ¹H (Figuras 142 e 143, v.2) apresenta três sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_H 6,86 (¹H, s), 6,84 (¹H, d, *J* = 9,2 Hz) e 6,80 (¹H, dd, *J* = 9,2 e 3,0 Hz) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se substituído (Jokela et al., 1996; Chatterjee et al., 1982), confirmado através das correlações heteronucleares (HMQC Figuras 149 a 152, v.2), onde observam-se as correlações a ¹J_{CH} entre CH-9 (δ_C 121,32)/H-9 (δ_H 6,86), CH-11 (δ_C 112,68)/H-11 (δ_H 6,80), CH-12 (δ_C 115,96)/H-12 (δ_H 6,84).

A presença de um sinal simples em δ_H 3,80 referente a três átomos de hidrogênio de um grupo metoxila foi confirmado pela correlação ¹J_{CH} OCH₃ (δ_C

56,04)/OMe-10 (δ_H 3,80), corroborando assim a existência de um núcleo indólico substituído por um grupo metoxílico (Figura 149 e 151, v.2) (Jokela et al., 1996; Chatterjee et al., 1982).

A presença de um sinal simples em δ_H 3,06 referente a três átomos de hidrogênio de um grupo Me-N foi confirmada pela correlação $^1J_{CH}$ CH₃-N-1 (δ_C 36,94)/MeN-1 (δ_H 3,06), corroborando a existência de um núcleo indólico substituído por um grupo N-Metil metoxílico (Figura 149 e 151, v.2) (Azoug et al., 1995).

O modo de substituição e a localização do grupo metoxila e do grupo MeN-1 no núcleo indólico foram confirmados pelas correlações heteronucleares à longa distância (HMBC, Figuras 153 a 157, v.2), onde podem-se observar as correlações a $^3J_{CH}$ entre C-8 (δ_C 130,99)/H-12 (δ_H 6,84), C-10 (δ_C 147,53)/H-12 (δ_H 6,84) /OMe-10 (δ_H 3,80), C-13 (δ_C 141,85)/H-9 (δ_H 6,86)/H-11 (δ_H 6,80)/MeN-1 (δ_H 3,06), CH-11 (δ_C 112,68)/H-9 (δ_H 6,86) e CH-2 (δ_C 79,50)/MeN-1 (δ_H 3,06). As demais correlações estão descritas na Tabela 72.

A presença de um grupo metila ligado a um átomo de carbono sp^2 pode ser reconhecida no espectro de RMN 1H (Figuras 142 e 144, v.2) pelo sinal duplo a δ_H 1,65 (3H, d, $J = 7,0$ Hz) e pelo multipeto a δ_H 5,31 (1H, m) (Figuras 149 e 150, v.2), referentes aos hidrogênios 3H-18 e H-19, respectivamente. A presença da ligação dupla e do grupo metila ligado a esta foram corroboradas ainda através das correlações à longa distância (HMBC, Figuras 153 e 154, v.2), onde se observam as correlações a $^2J_{CH}$ entre CH₃-18 (δ_C 12,91)/H-19 (δ_H 5,31), CH-19 (δ_C 115,52)/3H-18 (δ_H 1,65), e a correlação $^3J_{CH}$ entre C-20 (δ_C 137,48)/3H-18 (δ_H 1,65) (Jokela et al., 1996; Braga et al., 1987; Chatterjee et al., 1982).

A presença de um carbono carbonílico na posição 17 (Jokela et al., 1996; Braga et al., 1987; Chatterjee et al., 1982) foi confirmada através das correlações heteronucleares (HMBC Figura 153 e 155, v.2) entre C-17 (δ_C 213,59)/H-16 (δ_H 2,58)/ H-2 (δ_H 2,64)/ H-5 (δ_H 3,22)/ H-6a (δ_H 1,66). As demais correlações estão descritas na Tabela 72.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos e metínicos restantes da cadeia alifática (Tabela 72) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio (Friebolim, 1993).

O espectro de massas do alcalóide **9'** (Figura 164, v.2) apresenta o pico do íon molecular a m/z 336, bem como fragmentos a m/z 307, 293, 213, 174, que caracterizam a presença de um núcleo indólico, e ainda fragmentos a m/z 200, m/z 159 e m/z 108 (Esquema 5), característicos da parte alifática não substituída de um alcalóide indólico do tipo sapargina (Budzikiewicz et al., 1964). Esses dados, junto aos de RMN ^{13}C (Figuras 147 e 148, v.2), permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ para o alcalóide **9'**.

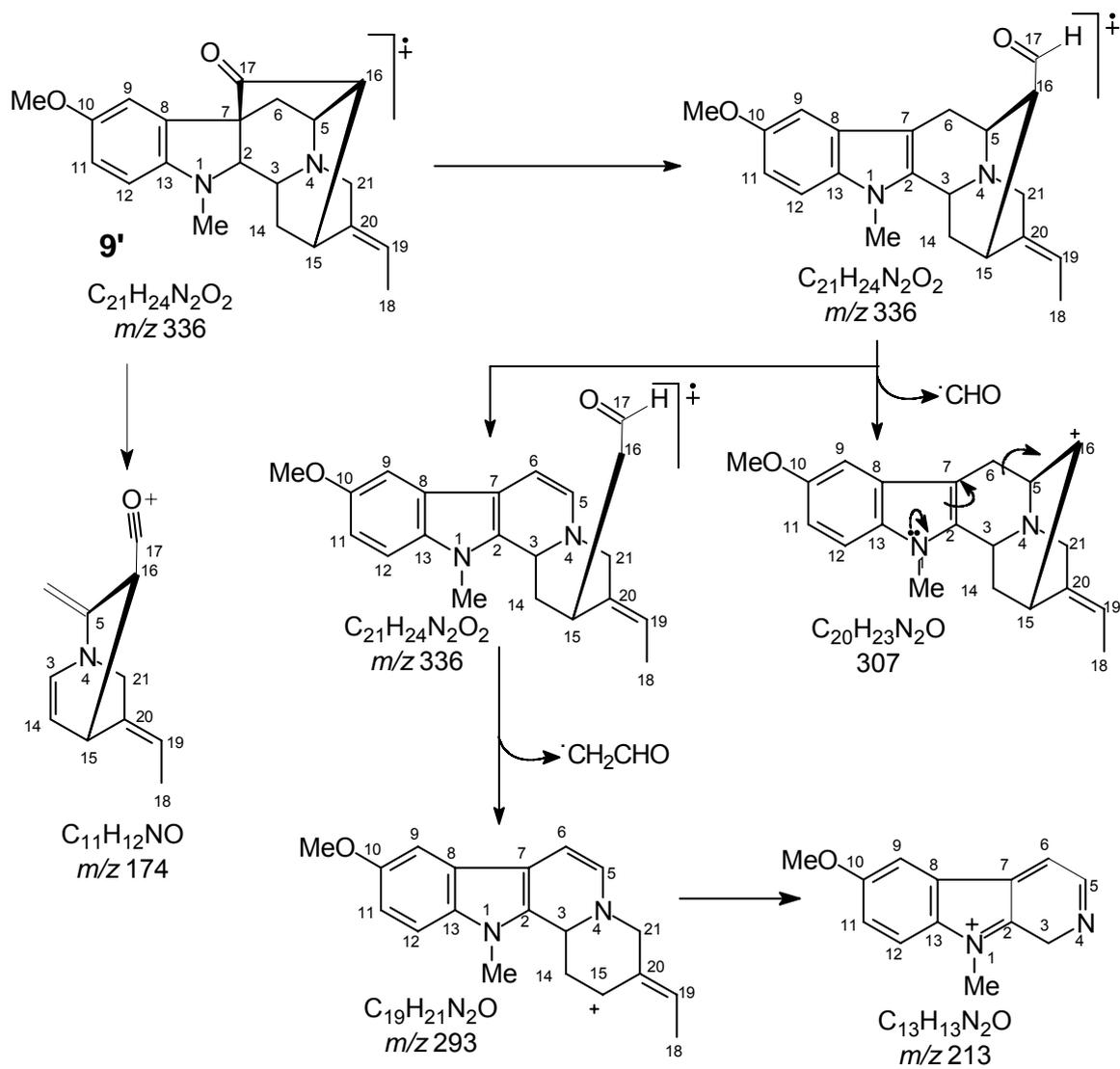
O conjunto desses dados permitiu definir um esqueleto do tipo sapargina (Jokela et al., 1996; Braga et al., 1987; Chatterjee et al., 1982) e propor a estrutura **9'** para o alcalóide isolado. A prova final dessa estrutura adveio da comparação dos dados de RMN ^{13}C (Figuras 147 e 148, v.2) com os da literatura para o alcalóide rauflorina (**9a**) (Jokela et al., 1996), verificando-se que a diferença entre eles trata-se apenas de um grupo N-metil apresentado pelo alcalóide **9'**.

Portanto, conclui-se que o alcalóide **9'** trata-se do N_a -metilrauflorina, inédito na literatura até o presente momento. Os valores de δ_{H} e δ_{C} propostos foram confirmados por experimentos bidimensionais (^1H - ^1H -COSY) (Figuras 159 a 161, v.2) e HMQC e HMBC (Figuras 149, 152 e 153 e 158, v.2).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono assimétricos proposta para **9'** foi feita com base em dados biogénéticos (Danieli e Palmisano, 1986) e por comparações com dados de literatura de alcalóides com esqueleto do tipo sapargina (Jokela et al., 1996; Chatterjee et al., 1982; Azoug et al., 1995; Braga et al., 1987) e confirmada pelo experimento de ^1H - ^1H -NOESY (Figuras 162 e 163, v.2).

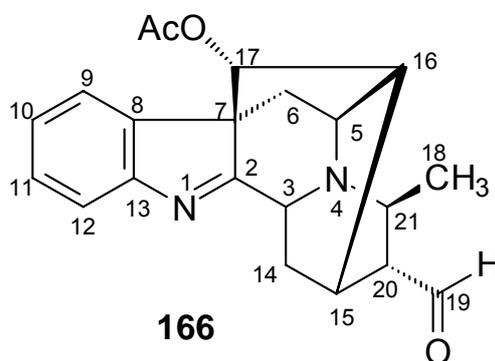
Tabela 72 - Dados de RMN ^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz) observados no espectro de HMQC e constantes de acoplamento verificadas no espectro de HMBC do alcalóide (**9'**), em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e a constantes de acoplamento (J) em Hz

	HMQC		HMBC		
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
C					
7	58,00	-	H-2; 2H-6	H-3; H-5	
8	130,99	-		H-12	
10	147,53	-		H-12; MeO-10	
13	141,85	-		H-9; H-11; MeN-1	
17	213,59	-	H-16	H-2; H-5; H-6a	
20	137,48	-	H-15; 2H-21	2H-14; 3H-18	
CH					$^1\text{H}-^1\text{H}$ -NOESY
2	79,50	2,64 (sl)	H-3	MeN-1; 2H-6; 2H-14	MeN-1; H-14 β
3	49,52	3,68 (d, 9,9)		H-15; 2H-21	
5	53,10	3,22 (m)	H-6a	H-3; H-15; 2H-21	H-14 α
9	121,32	6,86 (s)			
11	112,68	6,80 (dd, 9,2; 3,0)		H-9	
12	115,96	6,84 (d, 9,2)			
15	28,57	3,21 (m)	2H-14; H-16	H-3; H-19	
16	50,30	2,58 (tl, 5,1)		H-6a; H14a	
19	115,52	5,31 (m)	3H-18	H-15; 2H-21	H-21
CH₂					
6	35,30	2,38 (d, 12,0) 1,66 (m)		H-2	
14	31,57	1,91 (m) 1,41 (dd, 13,9; 4,4)	H-3	H-2; H-16	H-21 α ; H-5 H-2 β
21	55,66	3,50 (sl)		H-5; H-19	H-19
CH₃					
18	12,91	1,65 (d, 7,0)	H-19		
MeO-10	56,04	3,80 (s)			
MeN-1	36,94	3,06 (s)		H-2	H-2



Esquema 5. Interpretação mecânica dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide **9'**.

4.1.9. Determinação estrutural do alcalóide 166



A substância **166** foi isolada como um sólido amorfo, de cor amarela, apresentando ponto 162-165 °C, revelando um teste positivo para alcalóides com reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 13, v.2) apresentou absorções em 3406 (N-H), 1735 (C=O conjugada de éster) e 831 -775 cm^{-1} (C-H de anel benzênico substituído) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

A análise dos dados de RMN ^{13}C (Figura 171, v.2) mostrou que o alcalóide 166 apresenta 21 átomos de carbono, sendo dois metílicos, dos quais um OCOOMe , dois metilênicos (todos sp^3), 11 metínicos (sendo quatro sp^2 , três sp^3 ligados a um átomo de nitrogênio e um ligado a oxigênio) e seis carbonos quaternários (um sp^3 e cinco sp^2 , sendo dois carbonílicos) (Tabela 73).

O espectro de RMN ^1H (Figuras 166 a 169, v.2) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,48 (1H, d, $J = 7,3$ Hz), 7,23 (^1H , dd, $J = 7,9$ e 1,1 Hz), 7,39 (^1H , dd, $J = 1,1$ e 7,9 Hz) e 7,61 (^1H , d, $J = 7,7$ Hz) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (Azoug et al., 1995; Atta-Ur-Rahman, 1995), confirmado através das correlações heteronuclear (HMQC Figuras 172 a 174, v.2), onde observam-se as correlações $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 123,82)/H-9 (δ_{H} 7,48), CH-10 (δ_{C} 125,53)/H-10 (δ_{H} 7,23), CH-11 (δ_{C} 128,72)/H-11 (δ_{H} 7,39), CH-12 (δ_{C} 120,99)/H-12 (δ_{H} 7,61).

A ausência de um sinal simples referente a um grupo NH-1 ou de um grupo Me-N-1, comum nos alcalóides discutidos até o presente momento, indica a ausência desses grupos, ou seja, que o núcleo indólico encontra-se livre de substituintes (Atta-Ur-Rahman, 1995).

A presença deste núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares à longa distância (HMBC Figuras 175 a 180, v.2), onde se observam as correlações entre CH-9 (δ_C 123,82)/H-10 (δ_H 7,23)/H-11 (δ_H 7,39), CH-10 (δ_C 125,53)/H-12 (δ_H 7,61), CH-11 (δ_C 128,72)/H-9 (δ_H 7,48), CH-12 (δ_C 120,99)/H-10 (δ_H 7,23)/H-11 (δ_H 7,39), C-8 (δ_C 136,08)/ H-10 (δ_H 7,23)/H-12 (δ_H 7,61) e C-13 (δ_C 156,39)/ H-9 (δ_H 7,48)/H-11 (δ_H 7,39); as demais correlações estão descritas na Tabela 73.

A presença de um grupo aldeído ligado ao átomo de carbono C-20 pode ser reconhecida pelo sinal simples a δ_H 2,17 no espectro de RMN 1H (Figura 166, v.2) e pelo sinal a δ_C 56,27 no espectro de RMN ^{13}C (Figura 171, v.2) referente ao carbono carbonílico, característico de uma função aldeído. A presença do grupo aldeído foi corroborada ainda através das correlações à longa distância (HMBC, Figura 178, v.2), onde se observam as correlações a $^2J_{CH}$ entre CH-21 (δ_C 201,52)/H-20 (δ_H 2,17), e a $^3J_{CH}$ com H-15 (δ_H 2,88) e H-19 (δ_H 3,33) (Atta-Ur-Rahman, 1995).

O sinal duplo foi atribuído ao grupo Me-18 (comum no esqueleto para alcalóides indólicos monoterpênicos) (Zenk, 1980) em δ_H 1,29 com $J = 6,9$ Hz acoplando com um sinal múltiplo em δ_H 3,33 (1H - 1H -COSY, Figuras 181 a 183, V.2). A localização deste grupo foi confirmada através das correlações à longa distância dos carbonos CH-19 (δ_C 49,85, $^2J_{CH}$) e CH-20 (δ_C 56,27, $^3J_{CH}$) com 3H-18 (δ_H 1,29), apresentadas no espectro de HMBC (Figuras 174 a 179, v.2).

A presença do grupo OAc na posição 17 (Atta-Ur-Rahman, 1995; Libot, 1980; Nasser, 1983) foi confirmada através das correlações heteronucleares (HMBC, Figuras 175 a 180, v.2), onde se observam as correlações entre CH-17 (δ_C 77,90)/H-16 (δ_H 2,48)/ H-5 (δ_H 3,64)/ 2H-6 (δ_H 1,66 e 2,81) e AcO (δ_C 170,03) com Me (δ_H 2,18). As demais correlações estão descritas na Tabela 73.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos e metínicos restantes da cadeia alifática (Tabela 73) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio (Friebolim, 1993).

O espectro de massas do alcalóide **166** (Figura 187, v.2) apresenta o pico do íon molecular a m/z 350, bem como fragmentos a m/z 321, m/z 251, m/z 196 e m/z 168, que caracterizam a presença de um núcleo indólico, e ainda fragmentos

a m/z 180, 154 e 115 característicos da parte alifática não substituída de um alcalóide indólico do tipo sapargina (Budzikiewicz et al., 1964b). Esses dados, junto aos de RMN ^{13}C (Figuras 171, v.2), permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ para o alcalóide **166**.

O conjunto desses dados permitiu definir um esqueleto do tipo sapargina (Atta-Ur-Rahman, 1995) e propor a estrutura **166** para o alcalóide isolado. A prova final dessa estrutura adveio da comparação dos dados de RMN ^{13}C com os da literatura para o alcalóide perakina (**166**) (Atta-Ur-Rahman, 1995; Nasser e Court, 1983).

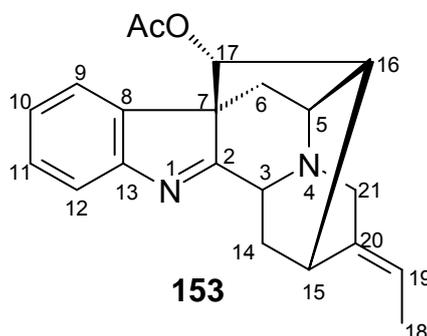
Os valores de δ_{H} e δ_{C} propostos foram confirmados por experimentos bidimensionais (^1H - ^1H -COSY, Figuras 181 a 183, v.2) e HMQC e HMBC, (Figuras 172 a 180, v.2).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono assimétricos proposta para substância **166** foi feita com base em dados biogenéticos (Danieli e Palmisano, 1986), por comparações com dados de literatura de alcalóides com esqueleto do tipo sapargina (Atta-Ur-Rahman, 1995, Nasser e Court, 1983), e confirmadas pelo experimento de ^1H - ^1H -NOESY (Figuras 184 a 186, v.2)

Tabela 73 - Dados de RMN ^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz) observados no espectro de HMQC e constantes de acoplamento verificadas no espectro de HMBC do alcalóide (**166**), em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e a constantes de acoplamento (J) em Hz

	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	182,64	-	H-3	2H-6; H-14 α ; H-17
7	64,81	-		H-3; H-5; H-6 α ; H-9; H-16
8	136,08	-		H-10; H-12
13	156,39	-		H-9; H-11
AcO	170,03	-	Me em 2,18 (s)	H-17
CH				
3	56,78	4,19 (d, 9,2)		H-5; H-15
5	51,56	3,64 (dl, 5,9)	2H-6	H-3; H-15; H-17; H-19
9	123,82	7,48 (d, 7,3)	H-10	H-11
10	125,53	7,23 (dd, 7,3; 7,7)		H-12
11	128,72	7,39 (dt, 7,7; 1,1)		H-9
12	120,99	7,61 (d, 7,7)	H-11	H-10
15	26,11	2,88 (dl, 5,1)	2H-14; H-16; H-20	H-3; H-17
16	48,67	2,48 (dd, 5,1; 5,9)		H-6b; H-14 β ; H-20
17	77,90	4,94 (s)	H-16	H-5; 2H-6
19	49,85	3,33 (m)	3H-18; H-20	H-21
20	56,27	2,17 (d)	H-19; H-21	2H-14; H-16; 3H-18
21	201,52	9,84 (s)	H-20	H-15; H-19
CH₂				
6	37,29	2,81 (dd, 12,1; 5,2) 1,66 (d, 12,1)	H-5	H-17
14	22,51	1,76 (dd, 14,6; 9,2), H $_{\alpha}$ 1,60 (dd, 14,6; 5,1), H $_{\beta}$	H-3	H-16; H-20
CH₃				
18	18,83	1,29 (d, 6,9)	H-19	H-20
AcO	21,02	2,18 (s)		

4.1.10. Determinação estrutural do alcalóide **153**



A substância **153** foi isolada como um sólido amorfo, de cor castanha claro, apresentando ponto de fusão 118-120 °C, revelando um teste positivo para alcalóides com reagente de Dragendorff.

O espectro na região do infravermelho (Figura 188, v. 2) apresentou absorções em 3328 (N-H), 1741 (C=O conjugada de éster) e 821 -773 cm^{-1} (C-H de anel benzênico substituído) (Majumdar et al., 1973; Wolter-Filho, 1981).

A análise dos dados de RMN ^{13}C (APT) (Figura 194, v.2) mostrou que o alcalóide **153** apresenta 21 átomos de carbono, sendo dois metílicos (um OCOOMe e um ligado ao carbono sp^2), três metilênicos (todos sp^3), dez metínicos (sendo cinco sp^2 , dois sp^3 ligados a um átomo de nitrogênio e um ligado a oxigênio) e seis carbonos quaternários (um sp^3 e cinco sp^2 , sendo um carbonílico) (Tabela 74).

O espectro de RMN ^1H (Figuras 188 e 189, v.2) apresenta quatro sinais relativos a hidrogênios aromáticos a δ_{H} 7,48 (^1H , d, $J = 7,7$ Hz), 7,23 (^1H , t, $J = 7,7$ Hz), 7,40 (^1H , t, $J = 7,7$ Hz) e 7,63 (^1H , d, $J = 7,7$ Hz) característicos de um núcleo indólico, indicando que o anel A encontra-se livre de substituintes (Azoug et al., 1995; Atta-Ur-Rahman, 1995), confirmado através das correlações heteronuclear (HMQC) (Figuras 195 a 198, v.2), onde se observam as correlações a $^1J_{\text{CH}}$ entre CH-9 (δ_{C} 123,75)/H-9 (δ_{H} 7,48), CH-10 (δ_{C} 125,59)/H-10 (δ_{H} 7,23), CH-11 (δ_{C} 128,64)/H-11 (δ_{H} 7,40) e CH-12 (δ_{C} 120,98)/H-12 (δ_{H} 7,63). Observa-se agora a ausência de um sinal simples referente a um grupo NH-1 ou de um grupo Me-N-1, comum nos alcalóides discutidos até o presente momento, exceto o (**166**),

indicando assim que o núcleo indólico livre de substituintes encontra-se ausente desses grupos (Atta-Ur-Rahman, 1995).

A presença deste núcleo indólico foi também corroborada pelas correlações heteronucleares à longa distância (HMBC) (Figuras 199 e 204, v. 2), onde se observam as correlações entre CH-9 (δ_C 123,75)/H-10 (δ_H 7,23)/H-11 (δ_H 7,40), CH-10 (δ_C 125,59)/H-12 (δ_H 7,63), CH-11 (δ_C 128,64)/H-9 (δ_H 7,48)/H-10 (δ_H 7,23)/ H-12 (δ_H 7,63), C-8 (δ_C 136,07)/ H-10 (δ_H 7,23)/H-12 (δ_H 7,63) e C-13 (δ_C 156,14)/H-9 (δ_H 7,48)/H-11 (δ_H 7,40); as demais correlações estão descritas na tabela 74.

A presença de um grupo aldeído ligado ao átomo de carbono C-17 pode ser reconhecida pelo sinal simples a δ_H 9,84 no espectro de RMN (Figura 189, v.2) e pelo sinal a δ_C 201,52 no espectro de RMN ^{13}C (Figura 193, v.2) referente ao carbono carbonílico, característico de uma função aldeído. A presença do grupo aldeído ligado ao átomo de carbono C-20 foi corroborada ainda através das correlações à longa distância (HMBC, Figura 199, v.2), onde se observam as correlações a $^2J_{CH}$ entre CH-21 (δ_C 201,52)/H-20 (δ_H 2,17), e a $^3J_{CH}$ com H-15 (δ_H 2,88) e H-19 (δ_H 3,33) (Atta-Ur-Rahman, 1995).

A presença de um grupo metila ligado a um átomo de carbono sp^2 pode ser reconhecida pelo sinal duplo a δ_H 1,67 (3H, d, $J = 6,0$ Hz) e pelo sinal simples largo a δ_H 5,73 (1H , sl), referentes aos hidrogênios 3H-18 e H-19, respectivamente. A presença da ligação dupla e do grupo metila ligado a esta foi corroborada ainda através das correlações à longa distância (HMBC, Figura 201, v.2), onde se observam as correlações a $^2J_{CH}$ entre CH-19 (δ_C 120,89)/3H-18 (δ_H 1,67), e pela correlação a $^3J_{CH}$ entre C-20 (δ_C 138,72)/3H-18 (δ_H 1,67) (Kato, 2002; Libot, 1986; Chatterjee et al., 1982; Atta-Ur-Rahman, 1995).

A presença do grupo OAc na posição 17 (Atta-Ur-Rahman, 1995; Kato, 2002; Libot, 1986) foi confirmada através das correlações heteronucleares (HMBC, Figuras 199 e 200, v. 2), onde se observam as correlações entre CH-17 (δ_C 77,52)/H-16 (δ_H 2,43)/ H-5 (δ_H 3,92)/ 2H-6 (δ_H 1,66 e 2,77), e Ac O (δ_C 169,78) com Me (δ_H 2,17) e H-17 (δ_H 4,99). As demais correlações estão descritas na Tabela 74.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos e metínicos restantes da cadeia alifática (Tabela 74) foi feita com base nos

parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio (Friebolim, 1993).

O espectro de massas do alcalóide **153** (Figura 207a, v. 2) apresenta fragmentos a m/z 168, 196, 251, 180 (Esquema 06), que caracterizam a presença de um alcalóide indólico do tipo sapargina (Budzikiewicz et al., 1964). Esses dados, junto aos de RMN ^{13}C (Figuras 193 e 194, v. 2), permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ para o alcalóide **153**.

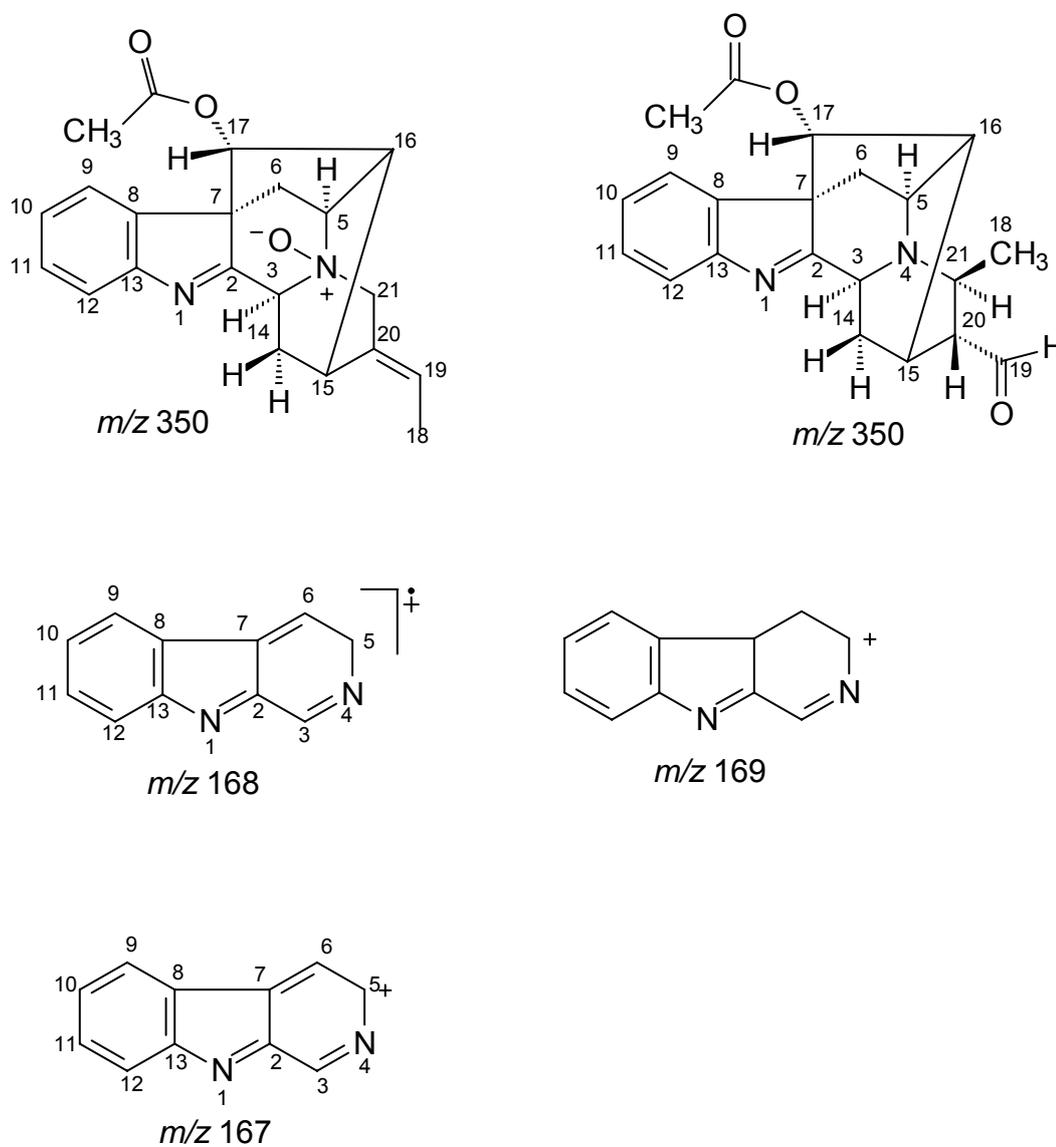
O conjunto desses dados permitiu definir um esqueleto do tipo sapargina (Atta-Ur-Rahman, 1995) e propor a estrutura **153** para o alcalóide isolado. A prova final dessa estrutura adveio da comparação dos dados de RMN ^{13}C com os da literatura para o alcalóide vinorina (**153**) (Atta-Ur-Rahman, 1995; Kato, 2002; Libot, 1986).

Os valores de δ_{H} e δ_{C} propostos foram confirmados por experimentos bidimensionais (^1H - ^1H -COSY, Figura 205 e HMQC e HMBC, Figuras 195 a 204, v. 2).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono assimétricos proposta para **153** foi feita com base em dados biogenéticos (Danieli e Palmisano, 1986), por comparações com dados de literatura de alcalóides com esqueleto do tipo sapargina (Kato, 2002; Libot, 1986), e confirmadas pelo experimento de ^1H - ^1H -NOESY (Figuras 206 e 207, v.2).

Tabela 74 - Dados de RMN ^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz) observados no espectro de HMQC e constantes de acoplamento observadas no espectro de HMBC do alcalóide (**153**), em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hz

	HMQC		HMBC		Perakina	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^2J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
C						
2	182,08	-	H-3	2H-6; 2H-14; H-17	182,60	-
7	64,97	-	H-6a	H-3; H-5; H-16; H-9	64,73	-
8	136,07	-		H-10; H-12	136,03	-
13	156,14	-		H-9; H-11	156,30	-
20	138,72	-	H-15	3H-18; H14b	-	-
Ac	169,78	-	CH_3	H-17	169,94	-
CH						
3	54,32	4,35 (sl)			56,68	4,19 (d, 9,2)
5	50,01	3,92 (sl)			51,47	3,63 (m)
9	123,75	7,48 (d, 7,7)	H-10	H-11	123,73	7,48 (d, 7,7)
10	125,59	7,23 (t, 7,7)		H-12	125,45	7,22 (t, 7,7)
11	128,64	7,40 (t, 7,7)	H-10; H-12	H-9	128,64	7,38 (t, 7,7)
12	120,98	7,63 (d, 7,7)			120,98	7,61 (d, 7,7)
15	28,05	3,29	H-16	H-17	26,01	2,87 (t)
16	49,06	2,43 (tl)			48,56	2,48 (t, 5,8)
17	77,52	4,99 (sl)	H-16	2H-6; H-5	77,81	4,94 (sl)
19	201,46	5,73 (sl)	3H-18		201,46	9,83 (sl)
20	-	-	-	-	56,15	2,16
21	-	-	-	-	49,76	3,32 (s)
CH₂						
6	36,27	2,77 (dd, 12,1, 4,8) 1,66 (dl)		H-17; H-16	37,20	2,81 (dd, 12,1; 5,1) 1,67 (d, 12,1) 1,76
14	26,14	1,87 (dl)			22,42	(dd, 14,6; 9,2) 1,61 (dd, 14,6, 5.2)
21	53,33	3,28			-	-
CH₃						
18	12,97	1,67 (d, 6,0)			18,74	1,28 (d, 6,6)
Ac	20,96	2,17 (s)			20,96	2,18 (s)



Esquema 6. Interpretação mecanística dos principais fragmentos no espectro de massas do alcalóide **153**.

4.2. Atividade antibacteriana dos extratos brutos e substâncias isoladas de *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora*

É importante ressaltar que esses são os primeiros ensaios realizados com os extratos brutos e substâncias isoladas de *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora* e as bactérias do gênero *Staphylococcus*. O *S. aureus* é um patógeno oportunista e um dos maiores causadores de infecções hospitalares adquiridas por humanos, e também de mastites em animais destinados à produção de leite (Balaban et al., 2000).

Os extratos brutos em metanol e em diclorometano das duas espécies de *Rauvolfia* foram avaliados em dois protocolos experimentais quanto à atividade antimicrobiana-difusão em agar ou método de Kirby-Bauer e diluição em meio líquido- frente às cepas de *S. aureus*.

4.2.1. Avaliação pelo método de difusão em agar

Os extratos, quando submetidos ao teste pelo método de difusão em agar, promoveram a inibição do crescimento das cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis* apresentando os halos de inibição significativos ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey, conforme descrito na Tabela 75.

Cada extrato foi considerado ativo quando apresentou halo de inibição comparável ao promovido pelo padrão gentamicina (10 µg/mL), que promoveu os halos de inibição variando de 0,0 a 17,0 mm, medidos a partir do centro do poço.

As substâncias isoladas RMAD-4 (ajamlicina) e RMAD-6 (estrutura ainda não elucidada), assim como o solvente DMSO p.a. não apresentaram halo de inibição para nenhuma das cepas testadas.

Tabela 75 - Valores médios, em milímetros, do diâmetro do halo de inibição provenientes dos tratamentos (RMAD-4 = Ajmalicina, RMAD-6 = alcalóide não identificado, RMAD = extrato em diclorometano proveniente das folhas de *R. mattfeldiana*, EMAB = extrato em metanol proveniente das folhas de *R. mattfeldiana*, RGM = extrato em metanol proveniente das cascas das raízes de *R. grandiflora*, MR = extrato em metanol proveniente das cascas das raízes de *R. mattfeldiana*, RG = extrato em diclorometano das cascas das raízes de *R. grandiflora* e DMSO = dimetilsulfóxido e gentamicina)

Extratos	Cepas de <i>Staphylococcus</i>						
	ATCC 108032	ATCC 25923	LSA 88	COL	SD	SE	RN
RMAD-4	0,0 ^{CA}	0,0 ^{DA}	0,0 ^{CA}	0,00 ^{CA}	0,00 ^{CA}	0,0 ^{CA}	0,0 ^{BA}
RMAD-6	0,0 ^{CA}	0,0 ^{DA}	0,0 ^{CA}	0,00 ^{CA}	0,00 ^{CA}	0,0 ^{CA}	0,0 ^{BA}
RMAD	17,8 ^{aAB}	21,5 ^{aA}	19,2 ^{aAB}	20,4 ^{aAB}	19,3 ^{aAB}	20,8 ^{aAB}	17,1 ^{aB}
EMAB	13,3 ^{bBC}	16,2 ^{bAB}	15,2 ^{abABC}	12,2 ^{bC}	15,4 ^{abABC}	17,6 ^{abA}	14,2 ^{aABC}
RGM	16,6 ^{bB}	15,2 ^{bAB}	17,4 ^{abAB}	13,9 ^{bB}	15,9 ^{abAB}	17,9 ^{abA}	16,1 ^{aAB}
MR	0,0 ^{CC}	8,5 ^{CB}	14,1 ^{BA}	12,6 ^{BA}	13,1 ^{BA}	15,2 ^{BA}	13,6 ^{aA}
RG	0,0 ^{CB}	13,0 ^{bAB}	0,0 ^{CB}	0,0 ^{CB}	0,0 ^{CB}	0,0 ^{CB}	0,0 ^{bB}
DMSO	0,0 ^A	0,0 ^{DA}	0,0 ^{CA}	0,0 ^{CA}	0,0 ^{CA}	0,0 ^{CA}	0,0 ^{BA}
Gentamicina	13,4 ^{BA}	15,3 ^{BA}	14,2 ^{BA}	0,0 ^{CC}	17,0 ^{abB}	15,3 ^{BA}	15,8 ^{aA}

Médias seguidas de pelo menos uma letra na coluna (extrato) e na linha (microrganismo) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5.2.1.1. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa padrão ATCC 25923

Os resultados do teste biológico indicaram que houve ação antimicrobiana significativa com níveis variados contra a cepa ATCC25923, sendo que o extrato em diclorometano (RMAD) apresentou atividade superior a dos demais, seguido pelo EMAB, gentamicina, RGM e RG, que não diferiram entre si, e pelo MR, que foi inferior ao dos demais. Por outro lado, a ajmalicina e a substância RMAD-6, isoladas do extrato RMAD, que foi o mais ativo, não apresentaram nenhuma atividade antimicrobiana, semelhantemente ao solvente DMSO, conforme ilustra a Figura 208. Isto pode ser atribuído ao fato de que alguns compostos só são bioativos quando juntos, ou então, o efeito inibitório pode ser atribuído a algum outro componente do extrato RMAD, ainda não isolado e/ou identificado.

Os halos de inibição resultantes das atividades dos extratos RMAD, EMAB e RGM contra esta cepa foram bem mais intensos dos que os apresentados pelos extratos de *Achyrocline satureioides*, descritos por Lemos (1997).

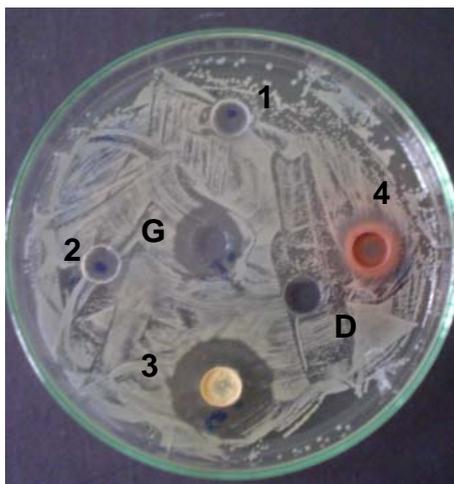


Figura 208. Avaliação da atividade antimicrobiana da Ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), gentamicina com concentração 10 µg/mL(G) e DMSO (D) frente à cepa ATCC25923.

4.2.1.2. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa Wood 46 ATCC 10832

A Figura 209 mostra que o extrato RMAD apresentou maior atividade do que os extratos RGM, EMAB e a gentamicina, e que estes diferiram significativamente entre si, conforme mostra a Tabela 75. As substâncias isoladas, o solvente e os extratos MR e RG não apresentaram nenhuma atividade frente a esta cepa.

A cepa Wood 46 (ATCC 10832), ao contrário da cepa Smith Diffuse (ATCC 13709), é reconhecida por sua pouca produção de cápsula (O’Riordan e Lee, 2004). Além disso, trata-se de uma cepa sensível à meticilina (Salgado et al., 2004) e de menor poder patogênico. Embora a cepa não tenha sido testada frente à meticilina no presente estudo, os testes realizados frente à gentamicina mostraram que os halos de inibição só se diferiram significativamente para as cepas COL e SD. Este resultado também foi observado nos tratamentos com os extratos e alcalóides testados, onde os diâmetros dos halos não diferiram significativamente das demais cepas estudadas neste trabalho.

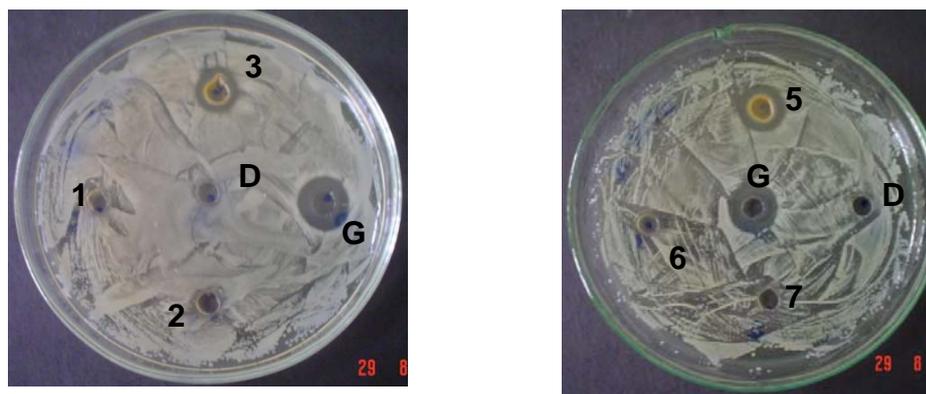


Figura 209. Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina na concentração $10 \mu\text{g/mL}$ (G) e DMSO (D) frente à cepa ATCC10832.

4.2.1.3. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à Cepa enterotoxinogênica LSA 88

Em relação à cepa LSA-88 (Figura 210), observou-se que o extrato RMAD também apresentou maior atividade do que os extratos RGM e EMAB, porém estes não diferiram entre si e foram significativamente superiores à gentamicina e ao extrato MR, que também não diferiram entre si, conforme descrito na Tabela 75.

Esta cepa isolada de amostra de leite de vaca com mastite subclínica apresenta resistência a outras drogas, porém trata-se de uma cepa sensível à meticilina (Vieira-da-Motta et al., 2000a). Contudo, a enterotoxigenicidade da cepa foi demonstrada recentemente pela técnica molecular de PCR, e a produção de enterotoxina C (SEC) e D (SED) denotam maior patogenicidade de LSA 88 (Vieira-da-Motta et al., 2001). Assim, os resultados observados pelas zonas de inibição, relativa aos extratos RMAD, RGM e EMAB, são relevantes e justificam estudos posteriores envolvendo a influência dos mesmos sobre a produção de enterotoxinas.

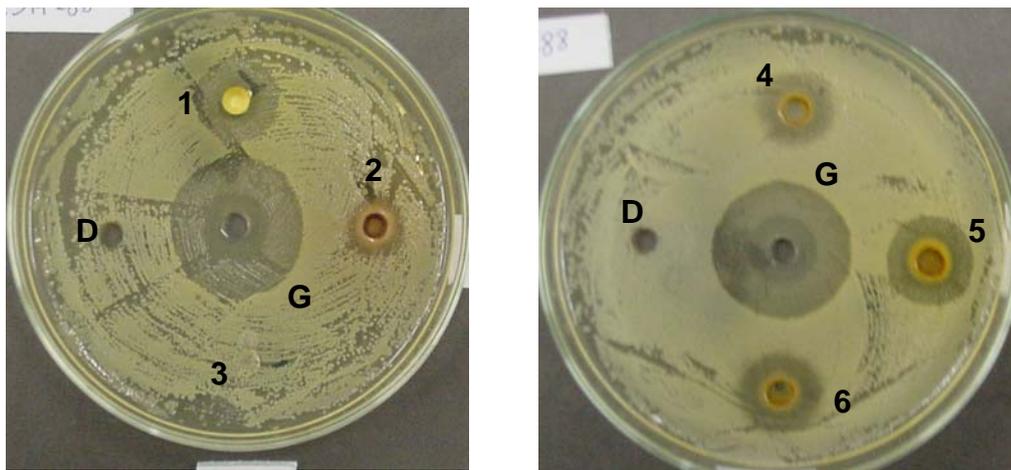


Figura 210. Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (3), gentamicina na concentração 30 $\mu\text{g/mL}$ (G), DMSO (D) e dos extratos RMAD (1), EMAB(2), RGM (4), RG (5), MR (6), frente à cepa LSA-88.

4.2.1.4. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa COL (metecilina-resistente)

O extrato RMAD apresentou atividade superior aos extratos RGM, MR e EMAB, que não diferiram entre si, conforme pode ser observado na Tabela 75. O antibiótico gentamicina, nas concentrações 10 $\mu\text{g/mL}$ e 30 $\mu\text{g/mL}$, não apresentou nenhuma atividade contra esta cepa, não se diferenciando do extrato RG, do solvente DMSO e das substâncias isoladas RMAD-4 e RMAD-6, conforme ilustra a Figura 211.

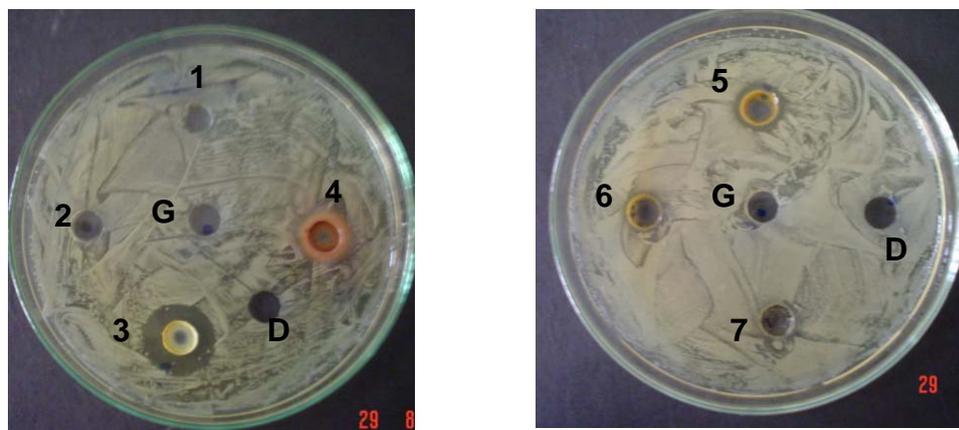


Figura 211. Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina na concentração 10 $\mu\text{g/mL}$ (G) e DMSO (D) frente à cepa COL.

Observou-se ainda que os limites da zona de inibição dos halos resultantes da mistura 1:1 do extrato que apresentou maior atividade (RMAD) com as substâncias isoladas (RMAD-4 e RMAD-6), com o extrato EMAB e com a gentamicina (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foram inferiores aos do halo formado pelo RMAD quando avaliado isoladamente, conforme podem ser observados na Figura 212. A gentamicina, em ambas as concentrações (10 e 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$), não apresentou halo de inibição, e o cloranfenicol (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) também não foi efetivo na concentração avaliada, apresentando apenas um pequeno halo (12,0 mm) quando comparado ao RMAD (24,0 mm). A Tabela 76 sumariza os valores médios de três repetições das medidas dos halos formados pelos tratamentos acima descritos.

Tabela 76 - Valores médios, em milímetros, do diâmetro do halo de inibição provenientes dos tratamentos RMAD-4=1, RMAD-6=2, RMAD=3 EMAB=4, cloranfenicol 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (C), gentamicina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G) e 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G30)

Tratamento	Média	Tratamento	Média
1	0,0	2+G	0,0
1+G	0,0	3	24,0
1+2	0,0	3+4	17,0
1+3	19,0	4	8,0
1+4	13,5	Cloranfenicol 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (C)	12,0
2	0,0	Gentamicina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G)	0,0
2+3	19,0	Gentamicina 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G)	0,0
2+4	16,7		

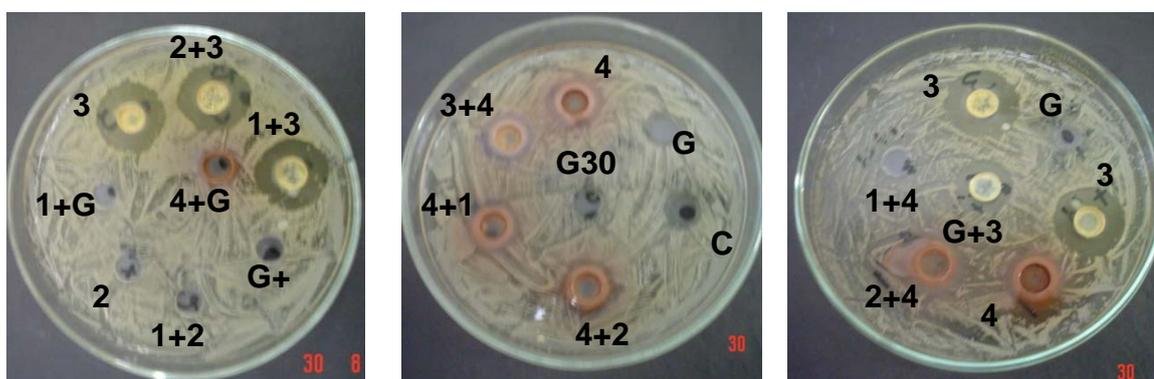


Figura 212. Avaliação da atividade antimicrobiana dos antibióticos gentamicina 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G30) e cloranfenicol (C) 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$; da ajmalicina ou RMAD-4 (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), gentamicina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G) isoladamente e em conjunto na proporção 1:1 frente à cepa COL.

Segundo Sabath et al. (1974) e Shafer e Landolo (1979), a cepa *S. aureus* COL apresenta visual resistência frente à metilina e outras drogas antibacterianas, entre elas os betalactâmicos penicilina, oxacilina e cefalosporinas, e outras drogas como a tetraciclina. Além disso, esta cepa é capaz de secretar a enterotoxina B (Shafer e Landolo, 1979), o que a torna ainda mais patogênica.

Os resultados obtidos demonstram a atividade dos extratos quando comparados com os obtidos frente à droga gentamicina, contra a qual a bactéria não apresentou susceptibilidade inerente ao seu perfil de resistência frente a drogas antimicrobianas. Este efeito representa uma perspectiva no tratamento de infecções estafilocócicas causadas por cepas MRSA, especialmente pelo fato de serem de cepas multirresistentes e causadoras de infecções hospitalares entre humanos.

4.2.1.5. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa Smith Diffuse (encapsulado)

O extrato RMAD apresentou visualmente maior atividade antimicrobiana, contudo não diferiu significativamente ($\alpha = 5\%$) da gentamicina e dos extratos RGM e EMAB. A atividade antimicrobiana do extrato MR foi superior à das substâncias isoladas, ao extrato RG e ao solvente, que não apresentaram nenhuma atividade frente a esta cepa, conforme ilustra a Figura 213.

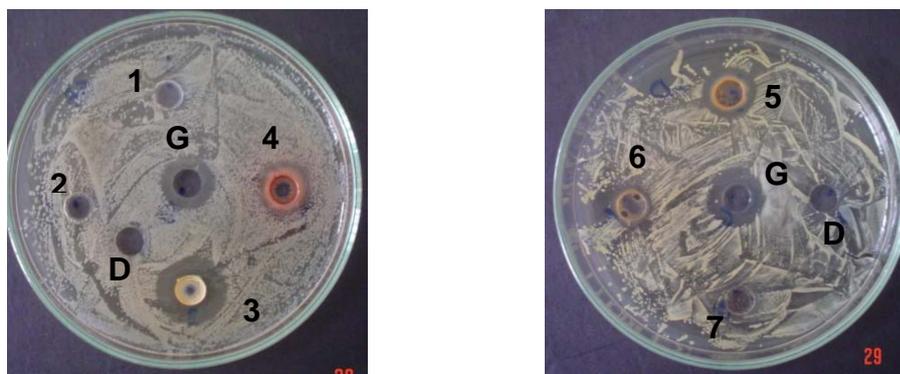


Figura 213. Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G) e DMSO (D) frente à cepa *Smith Difuse*.

4.2.1.6. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa *S. epidermidis* ATCC12228

A atividade do extrato RMAD não diferiu estatisticamente dos extratos RGM e EMAB, sendo, contudo, superior à ação da gentamicina, que não diferiu do extrato MR, conforme pode se observar na Tabela 75. As substâncias isoladas bem como o extrato RG e o solvente não apresentaram nenhuma atividade (Figura 214).

O gênero *Staphylococcus*, com predominância de *S. aureus* e *S. epidermidis*, está fortemente relacionado às infecções hospitalares ou nosocomiais que envolvem pacientes internados, e representam grandes perdas econômicas (Wisplinghoff et al., 2003).

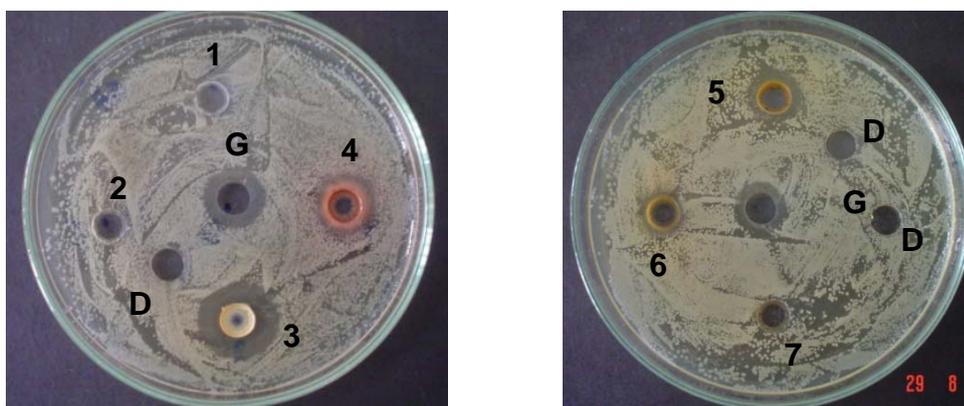


Figura 214. Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina 10 µg/mL (G) e DMSO (D), frente à cepa *S. epidermidis* ATCC12228.

4.2.1.7. Efeito dos extratos alcaloídicos e metabólitos isolados frente à cepa RN6390B (mutante)

Os extratos RMAD, EMAB, RGM, MR e a gentamicina apresentaram atividade antimicrobiana e não diferiram significativamente entre si, enquanto que as substâncias isoladas bem como o extrato RG não apresentaram nenhuma atividade, conforme pode se observar na Tabela 75 e na Figura 215.

A cepa RN6390, caracterizada por possuir o locus genético *agr*, cuja principal característica está relacionada à produção de fatores de virulência por *S.*

aureus (Recsei et al., 1986), como resistência a drogas. A inativação do locus agr resultou em diminuição de resistência desta cepa frente à oxacilina (Piriz-Duran et al., 1996).

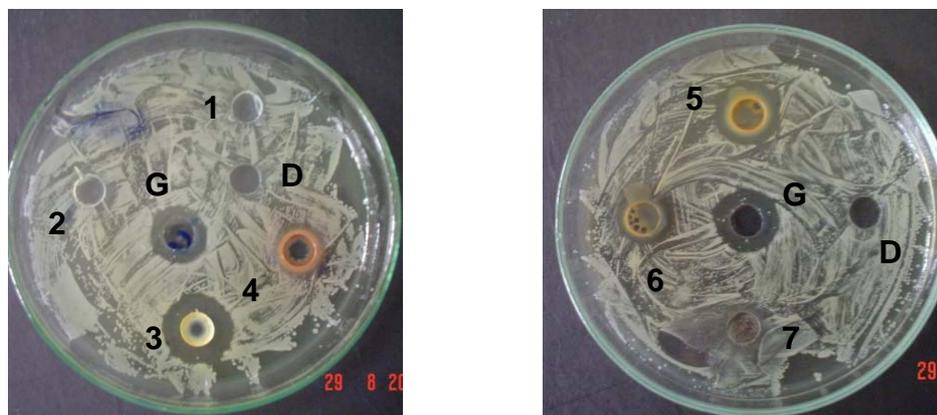


Figura 215. Avaliação da atividade antimicrobiana da ajmalicina (RMAD-4) (1), RMAD-6 (2), RMAD (3), EMAB (4), RGM (5), MR (6), RG (7), gentamicina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (G) e DMSO (D), frente à cepa RN6390B.

Analisando os resultados observados na Tabela 75, pode-se sugerir que todos os extratos testados, exceto o MR para a cepa ATCC25923, apresentaram atividade frente às cepas testadas, uma vez que os halos de inibição formados foram expressivos quando comparados com os halos formados frente à gentamicina. A atividade do extrato RMAD foi a mais expressiva quando comparada aos demais extratos e não se diferenciou entre os microrganismos testados.

Os halos de inibição resultantes da atividade do extrato RMAD sobre as cepas avaliadas destacaram-se dos demais extratos por apresentarem forte nitidez dos limites da zona de inibição e também os maiores valores, que variaram entre 17,1 mm para a cepa RN6390B e 21,5 mm para a cepa ATCC25923, conforme pode se observar na Tabela 75.

O antibiótico gentamicina, utilizado como padrão, nas condições em que foi testado (10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 40 $\mu\text{L}/\text{mL}$), apresentou halos de inibição com valores que variaram de 0,0 a 17,0 mm para as cepas avaliadas. Para a cepa COL, não houve formação de halo. Houve maior atividade para a cepa Smith Difuse, seguida pelas cepas ATCC108032, ATCC25923, LSA-88, *S. epidermidis* e RN6390B, que não

diferiram entre si e apresentaram halos de inibição variando entre 13,4 e 15,8 mm.

Apesar da concentração do extrato RMAD (2,12 mg/50 μ L) ter sido muito superior à concentração da gentamicina (0,5 μ g/50 μ L), esses resultados são promissores e apontam para um possível uso de princípios ativos de *Rauvolfia mattfeldiana*, podendo estes serem substâncias puras ou até mesmo frações do extrato RMAD. Estes resultados podem vir a contribuir nos estudos que buscam novas drogas para o tratamento de doenças causadas pelo *S.aureus* nas áreas de medicina humana e veterinária, tendo em vista a crescente resistência aos antibióticos por este tipo de bactéria, cujo potencial patogênico está associado à diferenciada capacidade de mutação para formas resistentes, exigindo reavaliações periódicas de seu perfil de susceptibilidade (Ferreira et al., 2004).

Um outro fator de virulência do *S.aureus* está relacionado à produção de enterotoxinas, que podem comprometer o organismo humano levando a infecções sistêmicas, ocasionando septicemia, endocardite, choque tóxico e outras complicações, independente da faixa etária e do ambiente em que foi adquirida a infecção (Barraviera, 1994).

4.2.2. Avaliação pelo método de diluição em meio líquido

A atividade antimicrobiana dos extratos RGM, RMAD, MR e do alcalóide ajmalicina (RMAD-4) também foi avaliada pelo método da diluição em meio líquido, frente à cepa LSA-88.

Os extratos RMAD e MR tiveram efeito bactericida quando as cepas bacterianas foram cultivadas em meio líquido contendo 62,4 g/mL de extrato RMAD e 47,94 g/mL de extrato MR. Concentrações até 3,9 mg/mL do extrato RMAD e 2,99 mg/mL do extrato MR não foram consideradas bactericidas, mas promoveram diminuição significativa do número de unidades formadoras de colônias –UFC- (presença de inibição), quando comparadas ao controle, conforme pode ser observado nas Tabelas 77 e 78. Concentrações iguais ou superiores a 1,95 mg/mL do extrato RMAD e 1,50 mg/mL do extrato MR não promoveram inibição, sendo similares ao controle (Figura 216).

Tabela 77 - Avaliação da atividade do extrato RMAD frente à cepa LSA-88

<i>S. aureus</i>	Concentração do extrato RMAD (mg/mL)						
	62,4	31,2	15,6	7,8	3,9	1,95	0,98
Cepa LSA-88	A	I	P	P	P	C	C
Controle 1	A	A	A	A	A	A	A
Controle 2	C	C	C	C	C	C	C

A: ufc \leq 1 (ausência de crescimento bacteriano: efeito bactericida).

I: $1 \leq$ ufc \leq 10 (inibição de crescimento bacteriano: efeito bacteriostático).

P: ufc $<$ 300.

C: ufc \geq 300 (confluência de colônias).

Controle 1: meio de crescimento com extrato e sem inóculo.

Controle 2: meio de crescimento sem extrato e com inóculo.

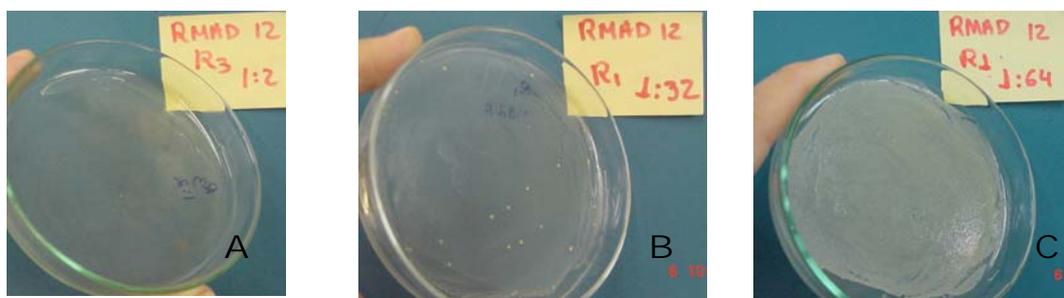


Figura 216. Atividade antimicrobiana do extrato RMAD frente à cepa LSA-88: efeito bactericida na concentração de 62,4 mg/mL (A); efeito inibitório (bacteriostático) na concentração de 3,9 mg/mL (B) e crescimento bacteriano similar ao controle 2 na concentração de 1,95 mg/mL (C).

Tabela 78 - Avaliação da atividade do extrato MR frente à cepa LSA-88

<i>S. aureus</i>	Concentração do extrato MR (mg/mL)						
	47,94	23,97	11,99	5,99	2,99	1,50	0,75
Cepa LSA-88	A	I	I	P	P	C	C
Controle 1	A	A	A	A	A	A	A
Controle 2	C	C	C	C	C	C	C

A: ufc \leq 1 (ausência de crescimento bacteriano: efeito bactericida).

I: $1 \leq$ ufc \leq 10 (inibição de crescimento bacteriano: efeito bacteriostático).

P: ufc $<$ 300.

C: ufc \geq 300 (confluência de colônias).

Controle 1: meio de crescimento com extrato e sem inóculo.

Controle 2: meio de crescimento sem extrato e com inóculo.

O extrato RGM não apresentou efeito bactericida em nenhuma das concentrações investigadas, contudo observou-se presença de inibição quando as cepas foram cultivadas nos meios contendo de 36,33 a 4,54 mg de extrato/mL (Figura 217). As concentrações de 2,27 a 0,57 mg de extrato/mL não interferiram no crescimento das bactérias e foram similares ao controle 2, conforme mostra a Tabela 79.

Tabela 79 - Avaliação da atividade do extrato RGM frente à cepa LSA-88

<i>S. aureus</i>	Concentração do extrato RGM (mg/mL)						
	36,33	18,17	9,08	4,54	2,27	1,14	0,57
Cepa LSA-88	P	P	P	P	C	C	C
Controle 1	A	A	A	A	A	A	A
Controle 2	C	C	C	C	C	C	C

A: ufc \leq 1 (ausência de crescimento bacteriano: efeito bactericida).

I: $1 \leq$ ufc \leq 10 (inibição de crescimento bacteriano: efeito bacteriostático).

P: ufc $<$ 300.

C: ufc \geq 300 (confluência de colônias).

Controle 1: meio de crescimento com extrato e sem inóculo.

Controle 2: meio de crescimento sem extrato e com inóculo.

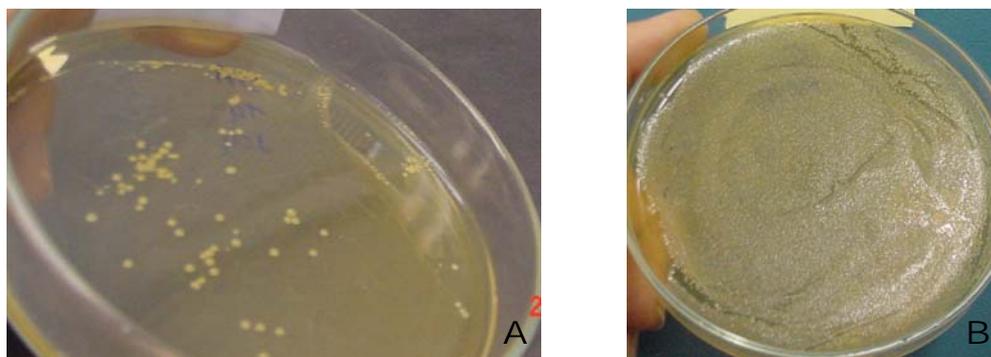


Figura 217. Efeito inibitório (bacteriostático) do extrato RGM frente à cepa LSA-88 na concentração de 4,54 mg/mL (A). Crescimento bacteriano do controle 2 (B).

O alcalóide ajmalicina não apresentou atividade em nenhuma das concentrações testadas frente à cepa LSA-88, uma vez que o número de UFC foi similar aos dos resultados apresentados pelo controle 2, cujo meio de diluição foi testado nas mesmas condições, diferenciando-se apenas pela ausência do alcalóide, conforme ilustra a Tabela 80.

Tabela 80 - Avaliação da atividade da substância RMAD-4 frente à cepa LSA-88

<i>S. aureus</i>	Concentração da substância RMAD-4 – ajmalicina (mg/mL)						
	1,62	0,81	0,41	0,20	0,10	0,05	0,03
Cepa LSA-88	C	C	C	C	C	C	C
Controle 1	A	A	A	A	A	A	A
Controle 2	C	C	C	C	C	C	C

A: ufc \leq 1 (Ausência de crescimento bacteriano: efeito bactericida).

C: ufc \geq 300 (confluência de colônias).

Controle 1: meio de crescimento com extrato e sem inóculo.

Controle 2: meio de crescimento sem extrato e com inóculo.

4.2.3. Avaliação da inibição da produção de enterotoxinas (SE) após tratamento com extratos de *Rauvolfia*

A produção de enterotoxinas (SE) de *S. aureus* LSA-88 foi bastante inibida pelos extratos adicionados ao meio de cultura durante o seu período de incubação, conforme pode-se observar no gráfico (Figura 218). A Figura 218 ilustra a atividade inibitória dos extratos sobre a produção de SE pela população de células de *S. aureus* cepa LSA-88, após 12 h de incubação a 37 °C. A produção de SE pela população de células do controle foi muito superior à produção de SE oriundas da população de células dos meios que receberam os tratamentos - isto, ressaltando-se que a população de células do controle e dos dois tratamentos com extratos eram similares, ou seja, 10⁸ McFarland. O método utilizado neste ensaio é quantitativo e, portanto, representa a real inibição da produção de enterotoxina estafilocócica, enquanto que outros métodos, como por exemplo, o que emprega o teste de aglutinação (Nostro et. al., 2003) onde a interpretação é apenas visual (positivo ou negativo), podendo mais facilmente ser susceptível a erros.

Estes resultados mostraram que os extratos de *R. mattfeldiana* e *R. grandiflora* inibiram significativamente tanto o crescimento das cepas de *S. aureus* estudadas como a produção de enterotoxina, assim, os dados apresentados sinalizam para o uso em potencial desses derivados no tratamento de mastite em ruminantes, bem como em infecções estafilocócicas na medicina humana.

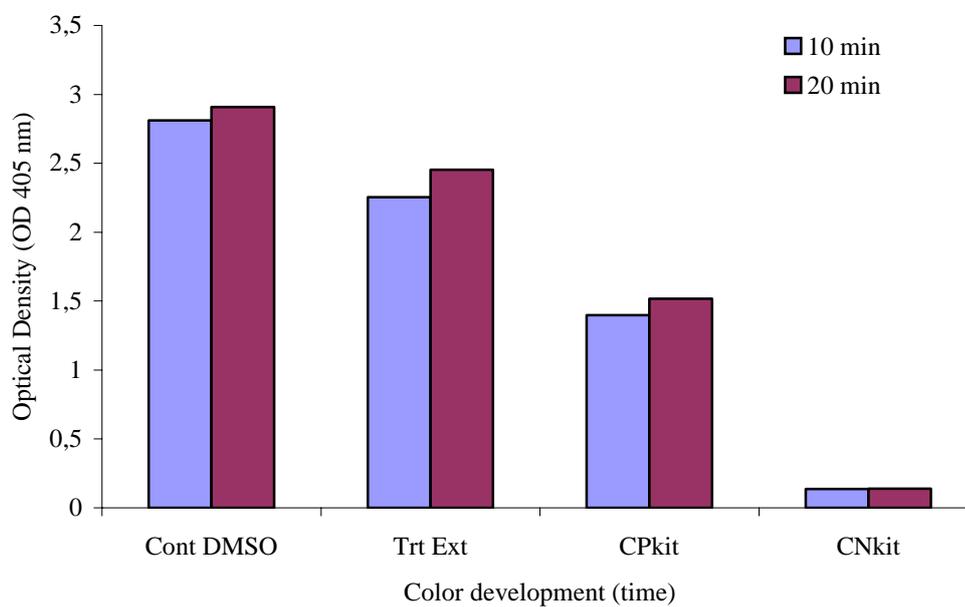


Figura 218. Inibição da produção de enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus aureus* bovino cepa LSA-88 cultivada em meio líquido na presença do extrato metanólico de *Rauvolfia grandiflora* (RGM). A população de células foi a mesma (DO 550 nm) no tratamento (Trt Ext) e no controle (Cont DMSO). CPKit: controle positivo do Kit e Cnkit: controle negativo do Kit.

5. CONCLUSÃO

Este estudo, com as folhas de *R. mattfeldiana* e as cascas das raízes de *R. mattfeldiana* e *Rauvolfia grandiflora*, resultou no isolamento de onze alcalóides indólicos monoterpênicos: isoreserpilina (**92**), *N_b*-óxido-isoreserpilina (**2'**), darcyribeirina (**27**), β -ioimbina (**4'**), ajmalicina (**97**), reserpina (**138**), rescinamina (**143**), 10-metoxireserpina (**8'**), *N_a*-metilraufloarina (**9'**), perakina (**166**) e vinorina (**153**). O alcalóide *N_a*-metilraufloarina (**9'**), isolado do extrato em diclorometano das cascas das raízes de *R. mattfeldiana*, ainda não havia sido descrito na literatura.

A composição do extrato metanólico de *R. grandiflora* é similar a do extrato diclorometânico, também estudado por Cancelieri (2001).

A composição alcaloídica dos extratos metanólico e diclorometânico das cascas das raízes e das folhas de *R. mattfeldiana* também foram similares, dentro do mesmo objeto de estudo.

Os extratos RMAD, MR e RGM apresentaram atividade antimicrobiana frente ao *S. epidermidis* (ATCC 12228) e às cepas de *S.aureus*: LSA-88 bovina toxigênica; ATCC 25923; Wood 46 cápsula negativa (ATCC 10832); COL - Meticilina resistente; *Smith Diffuse* (ATCC13709 cápsula-positiva) e RN6390B (55620 – agr positiva).

Os alcalóides ajmalicina (RMAD-4) e o RMAD-6, isolados a partir do extrato RMAD, não apresentaram atividade antimicrobiana frente às cepas testadas. Esses resultados permitem sugerir que o efeito bactericida e/ou bacteriostático do extrato RMAD pode estar associado ao efeito conjunto de seus componentes ou a algum outro componente não identificado até o presente momento.

O efeito *in vitro* dos extratos diclorometânico e metanólico das plantas *R. grandiflora* e *R. mattfeldiana*, observado neste trabalho, indica o potencial para obtenção de princípios ativos presentes no material que possam combater bactérias do gênero *Staphylococcus*, responsáveis por graves infecções em animais e no homem.

Os extratos RMAD e RGM apresentaram inibição tanto do crescimento do *S. aureus* cepa LSA-88 como da sua produção de enterotoxina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abaul, J., Philogene, E., Bourgeois, P., Mérault, G., Poupat, C., Ahoud, A. E., Potier, P. (1986) Alkaloids indoliques of *Rauwolfia biauriculata*. *Journal of Natural Products*, 49: 829-832.
- Accame, M.A.C. (2001) Alcaloides: aspectos generales (I). *Panorama Actual Med.* 25: 222-227.
- Ahmad, A., Khan, K.A., Sultana, S., Siddiqui, B.S., Begum, S., Faizi, S., Siddiqui, S. (1992) Study of the in vitro antimicrobial activity of harmine, and their derivatives. *J. Ethnopharmacol.* 35: 289-294.
- Akinloye, B.A., Court, W.E. (1981) The alkaloids of *Rauwolfia oreogiton*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 41: 69-71.
- Amer, M.A., Court, W.E. (1981b) Alkaloid of *Rauwolfia nitida* root bark. *Phytochemistry*, 20: 2569-2573.
- Alves, M. N. (2003) Alocação de alcalóides tropânicos em *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). Tese (Doutorado o em 2003) - Campinas - SP, UNICAMP, 103p.
- Amer, M.M.A., Court, W.E. (1980) Leaf alkaloids of *Rauwolfia vomitoria*. *Phytochemistry*, 19: 1833-1836.

- Amer, M.M.A., Court, W.E. (1981a) Root Wood Alkaloids of *Rauwolfia macrophylla*. *Planta Medica*, 45: 94-95.
- Amtipova, E.A., Nikolaeva, L.A., Badzhelidze, A.Sh. (1988) Comparative characterization of alkaloid contents in some species of *Rauwolfia* L. *Rastit.*, 24: 575-578.
- Arambewela, L.S.R., Madawela, G. (2001) Alkaloids from *Rauwolfia canescens*. *Pharmaceutical Biology*, 39: 239-240.
- Araújo, R., Rodrigues, A.G., Pina-Vaz, C. (2004) A fast, practical and reproducible procedure for the standardization of the cell density of an *Aspergillus* suspension. *J. Med. Microbiol.* 53: 783–786.
- Arbain, D., Adnan, A.A., Byrne, L.T., Harahap, A.K., Sargent, M.V. (1991) Methyl 12-hydroxyakuammilian-17-oate: a new indolenine alkaloid from *Rauwolfia sumatrana*. *Aust. J. Chem.* 44: 1007-1011.
- Arthur, H.R., Johns, R.S., Lamberton, J.A., Loo, S.N. (1968) A new monoterpenoid Alkaloid (RW-47) from *Rauwolfia verticillata* (Lour.) bail. of Hong Kong. *Aust. J. Chem.* 20: 2505-2508.
- Assis, A. M., Thomáz, L. D., Pereira, O. J. (2004) Florística de um trecho da floresta de restinga do município de Guarapari, Espírito Santo, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, 18: 191-201.
- Atta-Ur-Rahman, Sultana, A., Nighat, F., Bhatti, K., Kuruku, S., Kartal, M. (1995) Alkaloids from *Vinca major*. *Phytochemistry*. 38: 1057-1061
- Azoug, M., Loucaci, A., Richard, B., Nuzillard, J., Moreti, C., Hanrot, Z., Men-Oliver, L. (1995) Alkaloids from steam bark and leaves of *Peschiera buchtieni*. *Phytochemistry*, 39: 1223-1228.
- Bacchi, E. M. (2003) Alcalóides tropânicos. *In*: Simões, C.M.O., et.al. *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 5 ed.: Editora da UFSC, p. 793-817.
- Balaban, N., Collins, V., Cullor, J.S., Hume, E.B., Medina-Acosta, E., Vieira-da-Motta, O., O'Callaghan, R., Rossitto, P.V., Silveira, L.S., Shirliff, M.E., Tarkowski, A., Torres, J.V. (2000) Prevention of *Staphylococcus aureus* infections by the peptide RIP. *Peptides*, 21: 1301-1311.
- Balaban, N., Rasooly, A. (2000) Staphylococcal enterotoxins. *International journal of food microbiology*, 61: 33-40.

- Barboni, I., Manzi, A., Bellomaria, B., Quinto, A.M. (1994) Alkaloid content in four *spartium junceum* population as a defensive strategy against predators. *Phytochemistry*, 37: 1197-1200.
- Barbosa, R.C.S.B., Giesbrecht, A.M., Barbosa Filho, J.M., Yoshida, M., Gottlieb, O.R. (1988) Avaliação da atividade antibiótica de extratos de Lauraceae. *Acta Amazônica*, 18: 91-94.
- Barriviera, B. (1994) Estudo clínico das stafilococcias. *JBM*, 67: 160-192.
- Batista, C.V.F., Schispema, J., Veerporte, R., Reche, S.B., Henriques, A.T. (1996) Indole alkaloids from *Rauwolfia selowii*. *Phytochemistry*, 41: 969-973.
- Batista, G. A., Bargardi, S. (2003) Actividad antibacteriana de Alkaloides de *Tabernaemontana catharinenses* A.DC. *Ars Pharmaceutica*, 42: 167-173.
- Belem-Pinheiro, M.L., Imbiriba da Rocha, A.F., Quetin-Leclercq, J., Wauters, J. N., Angenot, Luc. (1988) Alkaloids of *Rauwolfia sellowii* from Amazônia. *J. Pharm. Belg.* 43: 379-381.
- Bianco, A., Luca, A., Mazzei R. A., Nicoletti, M., Passacantilli, P., Lima, R.A. (1994) Iridoids of *Rauwolfia grandiflora*. *Phytochemistry*, 35: 1485-1487.
- Braga, R. M., Reis, F.de A.M. (1987) Quaternary alkaloids from *Peschiera fuchsiaefolia*. *Phytochemistry*, 26, p. 833-836.
- Brandão, M.G.L (organizadora). (2003) *Plantas medicinais e fitoterapia*. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Gráfica O Lutador, 113p.
- Braz-Filho, R. (1994) Química de produtos naturais: importância, interdisciplinidade, dificuldades e perspectivas. *Química Nova*, 17: 405-445.
- Breitmaier, E., Voelter, W. (1987) *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*. 3. ed. Weinheim: VCH, p. 465.
- Bruneton, J. (1995) *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. London: Lavoisier, p. 815-861.
- Bruyn, A., Zhang, W., Budesinshky, M. (1989) NMR study of three hetroyohimbine derivatives from *Rauwolfia serpentina*: stereochemical aspects of the two isomers of reserpiline hydrochloride. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 27: 935-940.

- Budzikiewicz, H., Djarassi, C., Williams, D. (1964) Structure elucidation of natural products by mass spectrometry: alkaloids. Vol.1. Holden-Day inc., San Francisco – USA, 233p.
- Can, N.K. (1990) Alkaloids of *Rauwolfia littoralis*. *Khim. Prir. Soedin.* 2:282-283.
- Can, N.K., Nikolaeva, L.A. (1991) Alkaloids of *Rauwolfia* species growing in Vietnam. *Khim. Prir. Soedin.* 6: 813-816.
- Canceleri, N.M. (2001) *Alcalóides indólicos de Rauwolfia grandiflora Mart.* Tese (Mestrado em 2001) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 204p.
- Canceleri, N.M., Vieira, I.J.C., Mathias, L., Braz-filho, R. (2002) Darcyribeirine, a novel pentacyclic indole alkaloid from *Rauwolfia grandiflora* Mart. *Tetrahedron Letters*, 43:1783-1787.
- Cardoso, H.F., Silva, N., Sena, M.J., Carmo, L.S. (1999) Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 29:347-349.
- Carvalho, A.A.T., Sampaio, M.C.C., Sampaio, F.C., Melo, A.F.M., Sena, K.X.F.R., Chiappeta, A.A., Higino, J.S. (2002) Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guava* L. sobre bactérias Gram-Negativas. *Acta Farm. Bonaerense*, 21 (4): 255-258.
- Castro, H.G., Ferreira, F.A., Silva, D.J.H., Mosquim, P.R. (2001) *Contribuição ao estudo das plantas medicinais - metabólitos secundários*. Suprema Gráfica e Editora S.A., p. 58-63.
- Chatterjee, A., Ghosh, A.K., Hagaman, E.W. (1982) Indole alkaloids of *Rauwolfia reflexa*. Carbono-13 nuclear magnetic resonance structural analysis of the *Bis* (indole) alkaloid flexicorina. *J. Org. Chem.* 47: 1732-1734.
- Combes, G., Fonzes, L., Winternitz, F. (1968) Sur les alcaloïdes des *Rauwolfia* de Madagascar-II, *Phytochemistry*, 7: 477-483.
- Conegero, L.S., Ide, R.M., Nazari, A.S., Sarragiotto, M.H., Filho, B.P.D., Nakamura, C.V. (2003) Constituintes químicos de *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae). *Química Nova*, 26 (6): 825-827.
- Cordell, G.A., Quinn-Beattie, M.L., Faarnsworth, N.R. (2001) The potential of alkaloids in drug discovery. *Phytoter. Res.* 15: 183-205.
- Córdova, H.E., Pena, C.A. (1979) Alkaloids from *Rauwolfia psychotrioides*. *Phytochemistry*, 18: 1419-1420.

- Coyle, J., Kersham, P. (2001) Galantamine, a cholinesterase inhibitor that allosterically modulates nicotinic receptors: effects on the course of Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry*, 49 (3): 289-299.
- Daniele, B., Palmisano, G. (1986) Alkaloids from *Tabernaemontana*. In: Brossi, A. (ed.) *The Alkaloids*. New York: Academic Press, 27:1.
- De Aquino, E.M. ; Moreno, P. R. H. ; Ohara, M. T. ; Moreno, A. C. R. 2001. Atividade antimicrobiana dos extratos de alcalóides totais de *Aspidosperma tomentosum* e *Aspidosperma ramiflorum*. In: 9º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 9º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, 2001. v. 1. p. 342-342.
- Dewick, P.M. (1997) *Medicinal natural products – a biosynthetic approach*. England: John Wiley & Sons Ltd., p. 119-129.
- Dias, B.F.S. (1996) *A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil; desafios e oportunidades*. Campinas: André Tosello, p. 10.
- Dict. Of Natural Products Chemical Database. (1994) Ed. Chapman & Hall. New York, USA.
- Domingo, D., López-Brea, M. (2003) Plantas con acción antimicrobiana. *Rev. Esp. Quimioterap.* 16: 385-393.
- Dunkle, L.M., Naqvi, S.H., McCallum, R., Lofgren, J.P. (1981) Eradication of epidemic methicillin-gentamicin-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care nursery. *Am J. Med.* 70: 455-458.
- Eich, E., Eichberg, D., Schwarz, G., Clas, F., Loss, M. (1985) Antimicrobial activity of clavines. *Arzneim. Forsch.* 35: 1760-1762.
- Endress, M.E., Brieyns, P.V. (2000) A revised classification of the Apocynaceae. *The Botanical Review*, 66: 1-56.
- Endreß, S., Suda, S., Takayama, H., Aimi, N., Sakai, S., Stöckigt, J. (1992) Isolation, Identification and chemical Synthesis of 6 α -Hydroxyraumacline: A novel Alkaloid from Cultivated *Rauwolfia serpentina*. *Can. J. Chem.* 71: 2201-2203.
- Falkenhagen, H., Stöckigt, J., Kuzovkina, I.N., Alterman, I.E., Kolshom, H. (1993) Indole Alkaloids from "hairy roots" of *Rauwolfia serpentina*. *Can. J. Chem.* 71: 2201-2203.

- Ferreira, D.T., Andrej, C.C., Saridakis, H.O., Faria, T.J., Vinhato, E., Carvalho, K.E., Daniel, J.F.S., Machado, S.L., Saridakis, D.P., Braz-Filho, R. (2004) Antimicrobial activity and chemical investigation of Brazilian Drosera. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 753-755.
- Fonzes, L., Lucas, C., Pavia, A., Winternitz, F. (1969) Sur les alcalóides dês *Raulwolfia* de Madagascar stéréochimie de la tetraphylinine. *Phytochemistry*, 8: 1797-1802.
- Friebolin, H. (1993) Indirect Spin-Spin Coupling. In: Friebolin, H. (org.) *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*. 2. ed. Weinheim, Basel (Switzerland), Cambridge, New York: VCH, p. 335.
- Fundação SOS Mata Atlântica/Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (1997) *Atlas da Evolução das Remanescentes Florestais e Ecossistemas Associados do Domínio da Mata Atlântica no Período 1990-1995*.
- Guerra, C. B. (2003) In: Brandão, M.G.L (organizadora). (2003) *Plantas medicinais e fitoterapia*. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Gráfica O Lutador, p. 37-45.
- Habib, M.S., Court, W.E. (1974) Leaf alkaloids of *Raulwolfia caffra*. *Phytochemistry*, 13: 661-662.
- Hanaoka, M., Hesse, M., Schmid, H. (1970) N_(a)-Demethylseredamin, ein neues alkaloids aus *Rauwolfia sumatrana*; absolute configuration von Seredamin. *Helvetica Chimica Acta*, 53: 1723-1732.
- Henriques A.T., Kerber, V.A., Moreno, P.R.H. (2003) Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: Simões, C.M.O., et.al. *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 5 ed.: Editora da UFSC, p. 765-791.
- Hernandez, N.M.R. (1979) Assessment of the antimicrobial activity of indole alkaloids. *Rev. Cubana Med. Trop.* 31: 199-204.
- Hesse, M. (1981) The taxonomic position of some genera in the Loganiaceae, Apocynaceae, and Rubiaceae, related families which contain indole alkaloids. *Alkaloid Chemistry*. Tradução de I. Ralph C. University of Tasmania: A Wiley-Interscience publication, 26p.
- Hu, X., He, H., Zhou, H., Di, Y., yang, X., Hao, X., Kong., L. (2006) New Indole Alkaloids from *Rauwolfia yunnanensis*. *Helvetica Chimica Acta Zürich*, Switzerland Volume 89, Issue 7, p.1344 – 1350.
- Huber, B., Eberl, L., Feucht, W., Polster, J. (2003) Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. *Z. Naturforsch [C]*, 58:879-84.

- Hufford, C.D., Funderburk, M.J., Morgan, J.M., Robertson, L.W. (1975) Two antimicrobial alkaloids from heartwood of *Liriodendron tulipifera* L. *J. Pharm. Sci.* 64: 789-792.
- Hughes, G. B. (1976) Staphylococci in community-acquired infections: increased resistance to penicillin. *Ann. Surg. Philadelphia.* 183: 335-357.
- Itoh, A., Kumashiro, T., Yamaguchi, M., Nagakura, N., Mizushima, Y., Nishi, T., Tanahashi, T. (2005) Indole alkaloids and other constituents of *Rauwolfia serpentina*. *J. Nat. Prod.* 68: 848-852
- Iwu, M.M., Court, W.E. (1978) The alkaloids of *Rauwolfia cumminsii* stem. *Phytochemistry*, 17:1651-1654.
- Iwu, M.M., Court, W.E. (1980a) The alkaloids of *Rauwolfia mombasiana*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 45: 105-111.
- Jokela, R., Lounasmaa, M. A. (1996) ¹H and ¹³C-NMR spectral data of five sapargine-type alkaloids. *Heterocycles.* 43: 1015-1020.
- Kam, T.S., Yoganathan, K., Wei, C. (1999) Indole and monoterpene alkaloid from the leaves of *Kopsia desyrachis*. *Phytochemistry*, 52: 959-963.
- Karakawa, W.W., Vann, W.F. (1982) Capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. *Seminars in Infectious Diseases*, 4: 285-293.
- Karmatar, T., Chakraborty, D.P. (1983) 7-dehidrositosterol from *Rauwolfia serpentina*. *Phytochemistry*, 22: 608-609.
- Kato, L. (2001) *Estudo fitoquímico de espécies brasileiras de Rauwolfia (Apocynaceae)*. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Campinas - SP, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 201p.
- Kato, L., Braga, R.M., Kock, I., Antônio, M.A., Carvalho, J.E. (2000) *Alcalóides Indólicos de Apocynaceae - estudo de espécies brasileiras de Rauwolfia*. Livro de Resumos da 23ª Reunião anual da SBQ.
- Kato, L., Braga, R.M., Kock, I., Kinoshita, L.S. (2002) Indole alkaloids from *Rauwolfia bahiensis* (Apocynaceae). *Phytochemistry*, 60: 315-320.
- Khan, M.A. (1984) Studies in the alkaloids of *Rauwolfia caffra* Sonder. *Nat. Prod. Chem., Proc. Int. Symp. Pak.-U.S. Binatl. Workshop, 1st, Meeting Date 1984, 195-212*. Edited by: Tahman, Atta Ur. Springer: Berlin, Fed. Re. Ger. (English) 1986.

- Kiang, K.A., et al., (1966) The structures of peraksine (RP-5) and RE-7 constituents of the leaves and stems of *Rauwolfia perakensis*. *Tetrahedron*, 22: 3293-3300.
- Kock, I (2002). Estudo de espécies neotropicais do gênero *Rauwolfia* L. (Apocynaceae). Tese (Doutorado em 2002) – Campinas - SP, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 292p.
- Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003) *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2: 63–76.
- Lemos, G.C. S. (1997) Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de espécies vegetais frente a bactérias de mastite bovina. Tese (Mestrado em 1997) – Campos dos Goytacazes – RJ – UENF, 141p.
- Lemos, G.C.S., Ederli, L.O., Motta, O.V., Folly, M.M. (2000) Bactericidal activity of *Achyrocline satureioides* (Lam.) and *Piper aduncum* L towards strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 3: 67-72.
- Lemos, G.C.S., Oliveira, L.O., Eberli, B.B., Vieira-da-Motta, O., Folly, M.M. (2000) Bactericidal activity of macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) and jaborandi-falso (*Piper aduncum* L.) against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, 3: 67-72.
- Libot, F., Miet, C., Kunesch, N., Poisson, J.E., Pusset, J., Sevenet, T. (1986) Plants of New Caledonia. Part 1020. Indole Alkaloids from *Rauwolfia* species of New Caledonia. *Ann. Pharm. Fr.* 44: 477-485.
- Libot, F., Miet, C., Kunesch, N., Poisson, J.E., Pusset, J., Sevenet, T., Duhet, D., Guegan, P., Debray, M. (1987) New Caledonia *Rauwolfia* alkaloids: *Rauwolfia semperflorens* var. *viridis* Boiteau. *Plant. Med. Phytother.* 21: 189-194.
- Lima, I.O., Oliveira, R.A.G., Lima, E.O., Barbosa Filho, J.M., Farias, N.M.P. (2003) Atividade antifúngica de alcalóides obtidos de plantas contra leveduras do gênero *Candida* e *Cryptococcus*. Disponível em http://www.prgg.ufpb.br/~enic/2004/res_vida.html. em 04/02/2005. Página mantida pelo Departamento de Fisiologia e Patologia da Universidade Federal da Paraíba.
- Lin, M., Yang, B., Yu, S., Lin, X., Zhang, Y. (1987) A quaternary alkaloid from *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill var. *Hahananensis* Tsiang. Structure of macrospogastrine Yaoxue *Xuebao*, 22: 833-836.
- Lounasmaa, M., Tolvanem, A. (1986) ¹H NMR Data of monoterpenoid indole alkaloids. *Heterocycles*, 24: 3229-3281.

- Loyola-Vargas, V.M., Sánchez-Iturbe, P., Canto-Canché, B., Gutiérrez-Pacheco, L.C., Galaz-Ávalos, R.M., Moreno-Valenzuela, O. (2004) Biosíntesis de los alcalóides indólicos. Una revisión crítica. *Ver. Soc. Quím. Méx.* 48: 67-94.
- Mabberley, D.J. (1997) *The plant-book-portable dictionary of the vascular plants*. 2 ed.: Cambridge University Press UK. 771p.
- Madati, P. J., Kayani, M. J., Pazi, H. A. M., Nyangenda, A. F. D., (1977). Alkaloids of *Rauwolfia caffra* Sond. I. Phytochemical and toxicological studies. *Planta Medica*, 32: 258-267.
- Madinaveitia, A., Valencia, E., Bermejo, J., Gonzalez, A. Indole alkaloids from *Rauwolfia sprucei*. (1995) *Biochemical Systematics and Ecology*, 23: 877.
- Majumdar S.P., Potier P., Poisson J. (1973) Alkaloids of *Rauwolfia suaveolens*. *Phytochemistry*, 12: 1167-1169.
- Majumdar S.P., Potier P., Poisson J, (1972) The structure of suaveolina, a new alkaloid from *Rauwolfia suaveolens* S. Moore (Apocynaceae). *Tetrahedron Letters*, 16: 1563-1566.
- Malik, A., Afza, N., Siddiqui, S. Structure and absolute configuration of serpenticine, a new anhidronium base from *Rauwolfia volmitoria afzuelia*. *Heterocycles*, 16: 1727-1733.
- Manson, P. R. (1991) Community acquired staphylococcal skin infections in rural areas of Zimbabwe. *Cent. Afr. J. Med*, 37: 56-60.
- Martin, W.J. (1967) Newer penicillins. *Med. Clin. North. Am.* 21: 1107
- Martin, S. F., Rüeger, H., Willianson, S. A., Grzejszczak, S. (1987) General strategies for the synthesis of indole alkaloids. Total syntheses of (±)-reserpine and (±)- α -yohimbine. *J. Am. Chem. Soc.* 109: 6124-6134.
- Martinez Perez, J.A., Eckacka Ockomby, A.A., Amare Meressa, A., Machua Veitia, M. (1988) Alkaloids of *Rauwolfia*. VII. Alkaloids of the stem bark of *Rauwolfia viridis* Roem. & Schult. *Rev. Cubana Farm*, 23: 117-127.
- Martinez Perez, J. A.; Alarcón, A. B., Tápanes, O. M., Fiallo, V. F., (1997) Bases débiles minoritarias de la raíz de *Rauwolfia viridis* Roem. et Schult. *Rev. Cubana Farm.* 31: 109-113.
- Martinez, J.A., Gómez, C., Támara, S., Velez, H. (1989) Alkaloids from *Rauwolfia cubana* Stem Bark. *Planta Medica*, 55: 283-285.

- Martinez, J.A., Sierra, M., Machua, M. (1992) *Rauwolfia* alkaloids: Isolation and identification of bases from the stem bark of *Rauwolfia ligustrina*. *Cubana Quím.* 6 (2):54-58.
- Martinez, J.A., Sosa, M., Noda, T., Rosado, A., Vélez, H., Bloedm, W.D., Doepke, W. (1994) Alkaloids in *Rauwolfia linearifolia*. *Britt Pharmzie*, 49: 937-938.
- Matos, F.J.A. (1997) *Roteiro geral para o estudo químico das plantas*. Introdução à fitoquímica experimental. Ed. UFC, p. 17-33.
- Medeiros, W.L.B. (2003) *Constituintes químicos de Tabernaemontana laeta Mart (Apocynaceae)*. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 139p.
- Medeiros, W.L.B., Vieira, I.J.C., Mathias, I., Braz-filho, R., Schripsema, J. (2002) Estudo fitoquímico de *Tabernaemontana laeta* (Apocynaceae). *Livro de Resumos da 25ª Reunião Anual da SBQ*, Poços de Caldas.
- Miranda, P. Segredos e virtudes das plantas medicinais: <http://www.winbr.com/abc/medicina.html> em 14/06/2005.
- Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W.N., Beal, J.L., White, R. (1972) Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology, *Lloydia*, 35: 157-176.
- Muller, J.M. (1957) Ubre dielcaloid von *Rauwolfia ligustrina* R e S Raugustin, ein neues reserpinhliches alkaloid. *Experientia*, 13: 479-481.
- Nasser, A.M.A.G., Court, W.E. (1983) Leaf alkaloids of *Rauwolfia Caffra*. *Phytochemistry*, 22: 2297-2300.
- Nostro, A., Cannatelli, M.A, Musolino, A.D., Procopio, F., Alonzo, V. (2002) *Helichrysum italicum* extract interferes with the production of enterotoxins by *Staphylococcus aureus*. *Lett. in Appl. Microbiol.* 35: 181-184.
- Novick, R.P., Ross, H.F., Projan, S.J., Kornblum, J., Kreiswirth, B., Moghazeh, S. (1993) Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. *EMBO J.* 12: 3967–3975.
- O’Riordan, K., Lee, J.C. (2004) *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharides. *Clin. Microbiol. Rev.* 17: 218–234.
- Paulo, M.Q., Barbosa-Filho, J.M., Lima, E.O., Maia, R.F., Barbosa, R.C.B.B., Kaplan, M.A.C. (1992) Antimicrobial activity of benzylisoquinoline alkaloids from *Annona salzamanii*. *J. Ethnopharmacol*, 36: 39-41.

- Pérez, J.A.M., González, C.G., Rodríguez, M.E.S., Llerena, L.T.N. (1991) 3-epi- β -yohimbina from roots of *Rauwolfia linearifolia*. *Phytochemistry*, 30: 1352-1353.
- Pfaller, M.A., Jones, R.N., Doern, G.V., Sader, H.S., Kugler, K.C., Beach, M.L. (1999) Survey of blood stream infections attributable to gram-positive cocci: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and Latin America from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. SENTRY Participants Group. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 33: 283-297.
- Piriz-Duran, S., Kayser, F.H., Berger-Baïchi, B. (1996) Impact of *sar* and *agr* on methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 141: 255–260.
- Poser Von, G., Andrade, H.H.R., Silva, K.V.C.L., Henriques, A.T., Henriques, J.A.P. (1990) Genotoxic, mutagenic and recombinogenic effects of *Rauwolfia* alkaloids. *Mutat. Res.*, 232: 37-43.
- Recsei, P., Kreiswirth, B., O'Reilly, M., Schlievert, P., Gruss, A., Novick, R.P. (1986) Regulation of exoprotein gene expression in *Staphylococcus aureus* by *agr*. *Mol. Gen. Genet.* 202: 58–61.
- Roberts, M.F., Wink, M. (1998) *Alkaloids: biochemistry, ecology and medicinal applications*. New York: Plenum Press, 486p.
- Rojas, R. Bustamate, B., Ventosilla, P., Fernández, I., Caviedes, L., Gilman, R.H., Lock, O., Hammond, G.B. (2006) Larvicidal, antimicobacterial and antifungal compounds from bark of the Peruvian Plant *Swartzia polyphylla* DC. *Chem. Pharm. Bull.* 54: 278-279.
- Ronchetti, F., Russo, G., Bombardelli, E., Bonati, A. (1971) A new alkaloid from *Rauwolfia vomitoria*. *Phytochemistry*, 10: 1385-1388.
- Ruyter, C. M., Akaram, M., Iah, I. Stöckigt, J. (1991) Investigation of the alkaloid content of *Rauwolfia serpentina* roots from regenerated plants. *Planta Medica*, 57: 328-330.
- Sabath, L.D., Wallace, S.J., Byers, K., Toftegaard, I. (1974) Resistance of *Staphylococcus aureus* to penicillins and cephalosporins: reversal of intrinsic resistance with some chelating agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 236: 435–443.
- Sabri, N.N., Court, W.E. (1978) Stem alkaloids of *Rauwolfia vomitoria*. *Phytochemistry*, 17: 2023-2026.

- Salgado, M.M., Pignatari, A.C.C., Bellinati-Pires, R. (2004) Phagocytosis and killing of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by human neutrophils and monocytes. *Braz. J. Infect. Dis.* 8: 80-89.
- Salkin, R., Hosansky, R., Jaret, R. (1961) Leaf alkaloids of *Rauwolfia nitida*. *J. Pharmaceutical Sciences.* 50: 1038-1041
- Schmeller, T., Wink, M. (1998) Utilization of alkaloids in modern medicine. In: Roberts, M.F., Wink, M. (ed.) *Alkaloids: Biochemistry, ecology, and medicinal applications*. New York: Plenum Press, 486p.
- Schripsema, J., Dagnino, D., Gosmann, G. (2003) Alcalóides indólicos. In: Simões, C.M.O., et al. *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 5 ed.: Editora da UFSC, p. 819-846.
- Shafer, W.M., Landolo, J.J. (1979) Genetics of staphylococcal enterotoxin B in methicillin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* 25: 902-911.
- Shamma, M. (1979) *Carbon-13 NMR Shift Assignments of Amines and Alkaloids*. New York: Plenum Press, 303p.
- Siddiqui, S., Ahmad, S.S., Haider, S.I. (1987a) Isolation of a new alkaloid "yohambinine" from *Rauwolfia serpentina* Benth. *Tetrahedron Letters*, 28: 1311-1312.
- Siddiqui, S., Ahmad, S.S., Haider, S.I. (1987c) Ajmalinimine – A new alkaloid from *Rauwolfia serpentina* Benth. *Heterocycles*, 26: 463-467.
- Siddiqui, S., Ahmad, S.S., Haider, S.I. (1987e) Isolation of Indobinine, a new alkaloid from roots of *Rauwolfia serpentina* Benth. *Indian J. Chem., Sect B*, V 26B: 279-280.
- Silverstein, R.M., Wenster, F.X (1998). Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6 ed. Ed.LTC, Rio de Janeiro, 460p.
- Souza, E. C.-Plantas: <http://www.icb.ufmg.br/~prodap/projetos/punica/plantas.html> em 17/08/2006 página mantida pelo Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.
- Stöckigt, J., Rueff, M., Kan-fan, C., Hudson, H.P. (1980) On the role of 17-hydroxy-19-epi-cathenamina in the biosynthesis of heteroyohimbine alkaloids. *Planta Medica*, 39: 73-76.

- Subhadhirasakul, S., Takayama, H., Aimi, N., Ponglux, D., Sakai, S. (1994) Novel indole Alkaloids from the leaves of *Rauwolfia sumatrana* Jack. Thailand *Chem. Pharm. Bull.* 42: 1427-1431.
- Taiz, L., Zeiger, E. (1998) *Plant physiology*. 2. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 792p.
- The Aldrich Library of ¹³C and ¹H NMR Spectra (1993) (Edition I), III, 615 B.
- Timmins, P., Court, W. (1974) Root bark alkaloids of *Rauwolfia obscura*. *Phytochemistry*, 13: 1997.
- Torres, Y.R., Berlinck, R.G.S., Nascimento, G.G.F., Fortier, S.C., Pessoa, C., Moraes, M.O. (2002) Antibacterial activity against resistant bacteria and cytotoxicity of four alkaloid toxins isolated from the marine sponge *Arenosclera brasiliensis*. *Toxicon*. 40: 885-891.
- Van Beek, T.A., Verpoorte, R., Baerheim Sevendesen, A., Fokkens, R. (1985) Antimicrobially active alkaloids from *Tabernaemontana chippii*. *J. Nat. Prod.* 48:400-423.
- Veeramuthu, D., Muniappan, A., Savarimuthu, I. (2006) Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6: 35-41.
- Verpoorte, R. (1986) Methods for the structure elucidation of alkaloids. *Journal of Natural Products*, 49: 1-25.
- Vieira, I.J.C., Cecchi, C.M.P., Mathias, L., Braz-Filho, R., Rodrigues-Filho, E. (1998) A new depside isolated from the bark of *Rauwolfia matfieldiana*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 9: 91-95.
- Vieira-da-Motta, O., Damaceno, P.R., Dias da Silva, W., Medina-Acosta, E. (2001) RNAIII Inhibiting Peptide (RIP) inhibits *agr*-regulated toxin production. *Peptides*, 22: 1621-1627.
- Vieira-da-Motta, O., Donatele, D.M., Oliveira, P.R., Folly, M.M. (2000a) *Staphylococcus aureus* sensíveis à meticilina provenientes de leite mastítico no Estado do Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Veterinary Science*, 7: 123-126.
- Vieira-da-Motta, O., Fernandes, R. C. C., Acosta, E. M. (2000b) Isolamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) de pacientes na cidade de Campos dos Goytacazes-RJ. *IV CONSOPERJ*, Rio de Janeiro.
- Wisplinghoff, H., Seifert, H., Tallent, S.M., Bischoff, T., Wenzel, R.P., Edmond, M.B. (2003) Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United

States hospitals: epidemiology, clinical features and susceptibilities. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22: 686-691.

Wolter-Filho, W. (1981) Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste. Tese (Mestre em Química Orgânica) – Fortaleza – CE, Universidade Federal do Ceará, 156p.

Xiuyun, L., Qitai, Z., Youji, Z., Mao, L., Dequan, U., Xin, L. (1987) Structure of macrospegatine. *Jiegou Huaxue*, 6: 89-93.

Yokomizo, Y., Mori, Y., Shimoji, Y., Shimizu, S., Sentsui, H., Kodama, M., Igarashi, H. (1995) Proliferative response and cytokine production of bovine peripheral blood mononuclear cells induced by superantigens, staphylococcal enterotoxins and toxic shock syndrome toxin. *J. Vet. Med. Sci.* 57: 299–305.

Zavadinack-Netto, M., Herreiro, F., Bandeira, C. O. P., Ito, Y., Ciorlin, E., Saqueti, E. E., Ansileiro, I. J., Gonsalvez, L., Siqueira, V. (2001) *Staphylococcus aureus*: incidência e resistência antimicrobiana em abscessos cutâneos de origem comunitária. *Acta Scientiarum*, 23: 709-712.

Zecconi, A., Cesaris, L., Liandris, E., Daprà, V., Piccinini, R. (2006) Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microbial Pathogenesis*, 40: 177-183.

Zenk, P. (1980) The spectrum of biological activities of indole alkaloids. In: Neuss, N. (org.) *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*. Nova Iorque: Academic Press, 298p.