



**Universidade de Brasília**  
**Instituto de Química**



**Programa de Pós- graduação em Química**

Obtenção do alcalóide indólico bufotenina de sementes de *Anadenanthera* sp (Fabaceae: Mimosideae) do bioma Cerrado e sua utilização para síntese de substâncias bioativas.

**Luciana Machado Ramos**

**Orientadora: Dr<sup>a</sup> Maria Lucilia dos Santos**

**Co-orientadora: Dr<sup>a</sup> Maria Márcia Murta**

**Brasília, Agosto de 2008**

**Universidade de Brasília**  
**Instituto de Química**  
**Programa de Pós-graduação em Química**

Obtenção do alcalóide indólico bufotenina de sementes de *Anadenanthera* sp (Fabaceae: Mimosideae) do bioma Cerrado e sua utilização para síntese de substâncias bioativas.

**Luciana Machado Ramos**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como parte dos pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientadora: Dr<sup>a</sup> Maria Lucilia dos Santos**

**Co-orientadora: Dr<sup>a</sup> Maria Márcia Murta**

**Área: Química Orgânica**

**Brasília, 22 de Agosto de 2008**

*Dedico aos meus pais, Abílio e Paraciaba, sem os quais jamais teria conseguido  
vencer mais esta luta.*

## **Agradecimentos**

- ❖ Agradeço a todos aqueles que participaram de forma positiva neste trabalho com opiniões, discussão, ajuda e companheirismo, marcando de forma significativa esta dissertação.
- ❖ À professora Maria Lucilia por sua orientação, disposição, paciência, compreensão e pelo ensino.
- ❖ À professora Maria Márcia Murta, por disponibilizar tempo para discussão de conteúdos, seja nas disciplinas em que encontrei dificuldade seja, pela compreensão, ensinamento e paciência durante minha estadia no LITMO.
- ❖ À professora Inês, pelas explicações e orientação dada a mim nos momentos que precisei, seja no estágio ou em análises de espectros.
- ❖ Aos meus pais, cujo apoio, Amor e educação foram essenciais para esta conquista.
- ❖ Às minhas irmãs: Juliana e Tatyana, pela amizade de sempre, pelo amor e força recebida a cada encontro. Ao Cristiano e ao Murilo (meu sobrinho) por participar de mais uma vitória.
- ❖ À amiga de todos os momentos, Ana Paula. Obrigado por estar comigo e acreditar em mim até nos momentos que me dei por vencida.
- ❖ Aos colegas Wagner, Tarcísio, Leandro, André, Wellington e Camila, por terem sido meus companheiros de conversas e brincadeiras em longas tardes no laboratório;
- ❖ Ao colega Leandro, pelas ajudas e análises de CG-EM;
- ❖ Aos amigos Dino e Karine, que foram meus leais companheiros e conselheiros. Obrigado pelas trocas de experiência, pelas conversas e opiniões. Serei eternamente grata por tão sincera amizade, e por estarem comigo nos momentos mais difíceis, e que não foram poucos.
- ❖ Aos meus familiares, cujos nomes não citados, mas grata por toda força e credibilidade.
- ❖ Aos amigos de todos os momentos: Pollyana, Luciana Vieira (Lu Momento) e Dalton, pelas palavras de carinho e companheirismo, mesmo diante de tanta distância.

- ❖ Aos amigos que fiz nessa passagem em Brasília: Inanna, Drako, Kernus e Lunnah. Obrigado por me abrigar em sua casa e por serem minha companhias nesse momento.
- ❖ Aos colegas: Elaine, Alexandre, Adolfo, Guilherme, Edimar..., e aos que esqueci por descuido os nomes.
- ❖ Aos funcionários da secretária do IQ que sempre me prestaram excelente atendimento nas questões burocráticas.
- ❖ À Prof<sup>a</sup>. Dra. Inês Sabioni Resck e ao Sr. Wilson pelas análises de espectros RMN e IV.
- ❖ Finalmente, agradeço a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente na concretização dessa jornada.
- ❖ A todas as pessoas que me ajudaram durante esse período e que por esquecimento não citei aqui.

## Índice

Lista de Abreviaturas e Acrônimos	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Esquemas	x
Lista de Tabelas	xi
Lista de Fluxogramas	xii
Lista de Anexos	xiii
Resumo	xiv
Abstract	xv
1. Introdução	01
1.1. Potencialidades do gênero <i>Anadenanthera</i> como fonte de fármacos	04
1.2. Alcalóides no gênero <i>Anadenanthera</i>	06
1.3. Biogênese de alcalóides indólicos	09
1.4. Propriedades farmacológicas da bufotenina e possíveis aplicações biológicas.	12
1.5. Preparação e aplicações sintéticas de compostos indólicos	17
2. Objetivos	22
2.1 Objetivos Gerais	22
2.2 Objetivos Específicos	22
3. Metodologia	23
4. Resultados e Discussão.	25
4.1. Estudo fitoquímico de semente de espécies de <i>Anadenanthera</i>	25
4.2. Modificações químicas na bufotenina	38
4.2.1. Preparação de éteres da bufotenina	38
4.2.2. Preparação de acilderivados	40
5. Parte Experimental	42
5.1. Procedimentos experimentais	42
5.2. Identificação botânica de espécies de <i>Anadenanthera sp.</i>	43
5.3. Fracionamento e caracterização dos componentes químicos das sementes de <i>Anadenanthera peregrina</i> (BCE e APCEF) e <i>Anadenanthera colubrina</i> (CO.)	44
5.3.1. Extração pelo método Stromberg	44

5.3.2. Extração em Soxhlet	44
5.3.3. Saponificação e esterificação do material oleaginoso	45
5.3.4. Propriedades físico-químicas e espectrométricas de bufotenina (2)	45
5.3.5. Preparação do monopicrato de bufotenina	46
5.4. Modificações químicas da bufotenina	46
5.4.1. Iodeto de N,N,N-trimetil bufotenina	46
5.4.2. Preparação do cinamato de bufotenina	47
5.4.3. Preparação do acetato de bufotenina	47
5.4.4. Preparação do benzoato de bufotenina	48
6. Conclusões e Perspectivas	49
7. Referências bibliográficas	50
8. Anexos	55

## Lista de Abreviaturas e Acrônimos

AC	Acetila
APCEF	Associação dos profissionais da Caixa Econômica Federal
BCE	Biblioteca Central
BnOH	Álcool benzílico
BChE	Butilcolinesterase
Cbz	Carbobenzóxi
CCD	Cromatografia em camada delgada
CO	Centro Olímpico
COSY	Correlated Spectroscopy
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada em espectrômetro de massa
DCM	Diclorometano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMAP	Dimetilaminopiridínio
DMSO	Dimetilssulfóxido
DMT	Dimetiltriptamina
Eq.	Equivalente
Et	Etila
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
ISRS	Inibidores seletivos da recaptação da serotonina
LiEt <sub>3</sub> BH	Trietilboroidreto de lítio
MAO	Monoaminoxidase
Me	Metila
NCEs	Novas entidades químicas
PEA	Feniletilamina
p.f.	Ponto de fusão
Ph	Fenila
Py	Piridina

RMN<sup>13</sup>C

Ressonância Magnética Nuclear de Carbono  
13

RMN<sup>1</sup>H

Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

SNC

Sistema nervoso central

t.a.

Temperatura ambiente

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Novos fármacos, 1981-2002, por origem (n = 1031).	02
<b>Figura 2.</b> <i>Anadenanthera peregrina</i> ( <i>Piptadenia falcata</i> Benth). Detalhe das folhas, inflorescência, da vagem e sementes.	05
<b>Figura 3.</b> Exemplos de alcalóides naturais conhecidos.	07
<b>Figura 4.</b> Núcleo indólico.	07
<b>Figura 5.</b> Principais alcalóides indólicos presentes em <i>Anadenanthera</i>	08
<b>Figura 6.</b> Cinamida e benzoato análogos da serotonina.	14
<b>Figura 7.</b> Marcadores químicos	15
<b>Figura 8.</b> Bufotenina e seu isômero, psilocina	15
<b>Figura 9.</b> Sistema $\beta$ -carbolínico	16
<b>Figura 10.</b> <i>A. peregrina</i> (BCE) – Detalhes do ramo, da vagem, da inflorescência, das sementes e da germinação.	27
<b>Figura 11.</b> <i>A. colubrina</i> (CO). Detalhes da vagem, inflorescências e das sementes.	28
<b>Figura 12.</b> <i>A. peregrina</i> (APCEF) – Detalhes das sementes.	28
<b>Figura 13.</b> Cromatograma (CG-EM) da bufotenina (pico maior) e impurezas.	30
<b>Figura 14.</b> Bufotenina pura: sólido amarelado.	34
<b>Figura 15.</b> Comparação do espectro de massa da bufotenina com dados da biblioteca virtual.	36
<b>Figura 16.</b> Cristais de picrato de bufotenina	36

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1.</b> Formação de alguns aminoácidos via ácido chiquímico	10
<b>Esquema 2 .</b> Biossíntese de indol etilaminas	11
<b>Esquema 3.</b> Proposta mecanística para a síntese de Fisher	18
<b>Esquema 4.</b> Síntese de derivados da melatonina	19
<b>Esquema 5.</b> Preparação de 2-(2-piridil)-indol a partir de hidrazina	19
<b>Esquema 6.</b> síntese geral de Madelung	19
<b>Esquema 7.</b> Método de Madelung-Houlihan	20
<b>Esquema 8.</b> Tetraidro- $\beta$ -carbolina (42) via ciclização de Pictet–Spengler.	20
<b>Esquema 9.</b> Síntese de tetraidro- $\beta$ -carbolinas	21
<b>Esquema 10.</b> Derivados da bufotenina	24
<b>Esquema 11.</b> Equação química da saponificação/esterificação de um triacilglicerol genérico	31
<b>Esquema 12.</b> Formação do sal de bufotenina	39
<b>Esquema 13.</b> Preparação indireta de O-metil bufotenina	40

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Resultado dos processos extrativos no Söhxlet em diferentes condições.	28
<b>Tabela 2:</b> Teor de bufotenina e triacilgliceróis nos extratos etanólicos.	29
<b>Tabela 3:</b> Teor de óleo e composição de ácidos graxos nas sementes de <i>A. peregrina</i>	32
<b>Tabela 4:</b> Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup> H e RMN <sup>13</sup> C da bufotenina isolada	35
<b>Tabela 5.</b> Resultados dos processos extrativos com <i>Anadenanthera peregrina</i> (BCE).	37
<b>Tabela 6.</b> Resultado das reações de metilação.	38

## Lista de Fluxogramas

- Fluxograma 1.** Fracionamento das sementes de *A. peregrina* por maceração. 28
- Fluxograma 2.** Saponificação e esterificação do óleo extraído de *A. peregrina*. 31
- Fluxograma 3.** Obtenção da bufotenina de sementes de *Anadanathera* segundo o método de Stromberg. 33

## Lista de Anexos

<b>Anexo 1.</b> – Chave de Classificação	56
<b>Anexo 2.</b> IV – Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>peregrina</i>	59
<b>Anexo 3.</b> RMN H <sup>1</sup> – Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>peregrina</i>	60
<b>Anexo 4.</b> RMN C <sup>13</sup> – Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>peregrina</i>	61
<b>Anexo 5.</b> APT - Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>peregrina</i>	62
<b>Anexo 6.</b> HMQC - Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>peregrina</i>	63
<b>Anexo 7.</b> CG-EM - Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>peregrina</i>	64
<b>Anexo 8.</b> IV – Triacilglicerol	65
<b>Anexo 9.</b> RMN H <sup>1</sup> - Triacilglicerol	66
<b>Anexo 10.</b> CG – Metil Ésteres (amostra 1)	67
<b>Anexo 11.</b> CG – Metil Ésteres (amostra 2)	68
<b>Anexo 12.</b> IV – Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>falcata</i>	69
<b>Anexo 13.</b> RMN H <sup>1</sup> - Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>falcata</i>	70
<b>Anexo 14.</b> RMN C <sup>13</sup> - Bufotenina <i>A. peregrina</i> var. <i>falcata</i>	71
<b>Anexo 15.</b> IV - Bufotenina <i>A. colubrina</i> var. <i>cebil</i>	72
<b>Anexo 16.</b> RMN H <sup>1</sup> - Bufotenina <i>A. colubrina</i> var. <i>cebil</i>	73
<b>Anexo 17.</b> RMN C <sup>13</sup> - Bufotenina <i>A. colubrina</i> var. <i>cebil</i>	74
<b>Anexo 18.</b> IV – Monopirato de bufotenina	75
<b>Anexo 19.</b> RMN H <sup>1</sup> – Monopirato de bufotenina	76
<b>Anexo 20.</b> RMN C <sup>13</sup> – Monopirato de bufotenina	77
<b>Anexo 21.</b> IV – Iodeto de <i>N,N,N</i> - trimetil bufotenina	78
<b>Anexo 22.</b> RMN H <sup>1</sup> - Iodeto de <i>N,N,N</i> - trimetil bufotenina	79
<b>Anexo 23.</b> RMN C <sup>13</sup> - Iodeto de <i>N,N,N</i> - trimetil bufotenina	80
<b>Anexo 24.</b> RMN H <sup>1</sup> – Derivado cinamato de bufotenina	81
<b>Anexo 25.</b> RMN H <sup>1</sup> – Derivado acetilado de bufotenina	82

## Resumo

O bioma Cerrado Brasileiro tem uma grande variedade de espécies vegetais ricas em substâncias químicas orgânicas de interesse, especialmente alcalóides, encontradas em diferentes teores nas folhas, frutos, caules, raízes e sementes. O presente estudo incidiu sobre a fitoquímica da *Anadenanthera* (Fabaceae: Mimosoideae), uma árvore perene generalizada no Cerrado Brasileiro, conhecida popularmente como angico-do-cerrado, angico-cascudo, angico-do-campo e arapiraca. Uma atenção especial foi destinada ao estudo comparativo do alcalóide indólico bufotenina em sementes de diferentes espécies de *Anadenanthera* e investigação de seu potencial como matéria-prima para preparação de análogos da serotonina que exibem atividade antimicrobiana, antitumoral e capturadores de radicais livres, assim como derivados tetrahydro- $\beta$ -carbolina capazes de atuar no sistema nervoso central. Partes das plantas (folhas, flores, caule e sementes) de espécies do gênero *Anadenanthera* foram coletadas de agosto a setembro de 2006, nos arredores de Brasília. Exsiccatas foram preparadas e depositadas no Herbário da Universidade de Brasília. As espécies coletadas foram identificadas como sendo *Anadenanthera peregrina* (vars. *peregrina* e *falcata*) e *Anadenanthera colubrina* (var. *cebil*). As sementes foram submetidas a diversos métodos extrativos. O extrato etanólico (Soxhlet) das sementes apresentou uma fração menos polar e abundante composta basicamente por triglicerídeos de ácidos graxos e uma fração mais polar constituída apenas pelo alcalóide indólico bufotenina. O método de Stromberg demonstrou ser um método mais eficiente para a extração, purificação e quantificação da bufotenina. A presença de bufotenina em extratos das variedades foi confirmada por FT-IR, RMN  $H^1$ , RMN  $C^{13}$  e CG-EM. O estudo fitoquímico confirmou que estas espécies são fontes promissoras da bufotenina (cerca de 2,9%) e a literatura sugere que modificações estruturais adequadas na bufotenina podem fornecer compostos com elevado potencial bioativo.

**Palavras-chave:** *Anadenanthera*, alcalóides indólicos, bufotenina.

## Abstract

The biome Brazilian Cerrado (Savannah) has a variety of plant species rich in organic chemicals of interest, especially alkaloids, found at different levels in the leaves, fruits, stems, roots and seeds. The current study focused on the phytochemistry of the *Anadenanthera* (Leguminosae: Mimosoideae), a perennial tree widespread in the Brazilian Cerrado, popularly known as angico-do-cerrado, angico-cascudo, angico-do-campo and arapiraca. Special emphasis was intended for comparative investigation of the indole alkaloid bufotenine in seeds of different species of *Anadenanthera* and its potential utilization as raw-material for the preparation of serotonin analogues, which have shown to exhibit antimicrobial, antitumoral and free radical scavenging activities as well as tetrahydro- $\beta$ -carboline derivatives which can be active in the central nervous system. Parts of the plants (leaves, stems, flowers, and seeds) of the genus *Anadenanthera* were collected around Brasilia from August to September, 2006, vouchers were prepared and deposited in the University of Brasilia Herbarium. The species were identified as *Anadenanthera peregrina* (vars. *peregrina* and *falcata*) and *Anadenanthera columbrina* (var. *cebil*). Seeds were submitted to different extraction methodologies. The seed ethanolic extract (Soxhlet) shown a less polar and abundant fraction that the main chemical components are triglycerides of fatty acids and a more polar fraction constituted only by the indole alkaloid bufotenine. The Stromberg method's shown to be a more efficient methodology for extraction, purification and quantification of the bufotenine. The presence of bufotenine in extracts of these varieties was confirmed for FT-IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, and GC-MS. The phytochemical study confirmed that these species are promising source of the bufotenine (about 2,9%) and the literature suggests that appropriate structural modifications on bufotenine may afford potential bioactive compounds.

**Key words:** *Anadenanthera*, indole alkaloids, bufotenine.

## 1. Introdução:

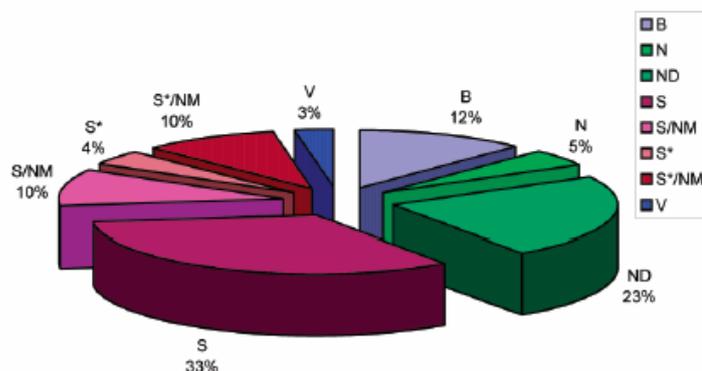
A utilização de produtos naturais como recurso terapêutico é tão antiga quanto à civilização humana e, por muito tempo, produtos minerais, vegetais e animais constituíram o arsenal terapêutico. Com o desenvolvimento da química orgânica, os produtos sintéticos foram adquirindo primazia no tratamento farmacológico e isto ocorreu, entre outros fatores, pela maior facilidade de obtenção de compostos puros, com o desenvolvimento de processos de modificações estruturais (com vistas a fármacos mais ativos e mais seguros) e pelo crescente poder econômico das grandes companhias farmacêuticas. Mesmo assim, os produtos naturais não perderam seu lugar na terapêutica, sendo considerados equivocadamente pela população como medicamentos seguros, garantindo um crescimento em sua utilização.<sup>1</sup>

O reino vegetal é aquele que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos. Por volta de 1990, estimou-se que cerca de 80% da população mundial procurava as plantas como fonte principal de medicamentos. Nos dias atuais, verifica-se que grande parte dessa população, principalmente aqueles países que estão em desenvolvimento, usam como medicamentos extratos ou porções oriundas de plantas. Em um estudo recente, foi demonstrado que mais da metade dos agentes terapêuticos disponibilizados no mercado no período de 1981-2002 são produtos naturais ou originado destes. São classificados como agentes terapêuticos de origem natural (Figura 1): os produtos naturais propriamente ditos, seus derivados semi-sintéticos e os produtos baseados em protótipos naturais, ou seja, modelados a partir destes.<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Montanari, C. A.; Bonzani, V. S.; *Quim. Nova*, **2001**, 24, 105.

<sup>2</sup> Newman, D..J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. *J. Nat. Prod.* **2003**, 60, 1022.



**Figura 1.** Novos fármacos, 1981-2002, por origem (n = 1031). B: biológica; N: produto natural; ND: derivado de produto natural (semi-sintético); S: totalmente sintético; S\*: produzido por síntese total, porém o farmacóforo inspirado em um produto natural; V: vacina; NM: mimetiza um produto natural (Fonte: Newman, D..J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. *J. Nat. Prod.* **2003**, 60, 52).<sup>2</sup>.

O conhecimento adquirido com o estudo químico biomonitorado de espécies brasileiras pode permitir não só o desenvolvimento de novos fármacos ou de modelos para novas moléculas bioativas como também servir de subsídio para o controle de qualidade de fitoterápicos, por exemplo, através da definição de marcadores químicos. Adicionalmente, o conhecimento de características químicas de vegetais pode contribuir para o conhecimento das vias metabólicas bem como para estudos taxonômicos de diferenciação de espécies.

O Brasil conta com importantes ecossistemas, representando uma “mega diversidade” biológica onde se estima existirem incontáveis exemplares de plantas com uso terapêutico comprovado ou com conhecido potencial para esse fim. Diversos ecossistemas incluem representantes de mais de 70% dos organismos vivos do planeta, dos quais cerca de 20% são encontrados somente aqui no Brasil. Mesmo sem contar com um inventário preciso das espécies existentes, considera-se que existam 55.000 tipos de plantas superiores, muitas delas com uso terapêutico tradicionalmente adotado por determinadas comunidades, além de outras já identificadas por pesquisadores, com princípios ativos capazes de atuar em diversas enfermidades. Tem sido amplamente debatido como esse potencial terapêutico, utilizado de forma racional e sustentável, pode ser fonte geradora de vantagem competitiva para as empresas nacionais.<sup>3</sup>

<sup>3</sup> Lewis, G. P.; Schrire, B.; Mackinder, B. & Lock, M.: *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens, Kew, **2005**, 577.

Contudo, a dimensão do território brasileiro e a diversidade de biomas existente ainda representam desafios quando se fala em conservação e gerenciamento de recursos biológicos. Alguns pontos, em particular, devem ser tratados com maior profundidade, como, por exemplo, a adequação das instituições públicas às peculiaridades de cada bioma e à disponibilidade de informação científica referente ao mapeamento e localização de diferentes espécies.

A Fabaceae com cerca de 727 gêneros e 19.325 espécies é considerada a terceira maior família de angiospermas. No Brasil está representada aproximadamente por 188 gêneros e 2.100 espécies, distribuídas em quase todas as formações vegetais. Mimosoideae compreende 78 gêneros e aproximadamente 3.270 espécies, distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e cálido-temperadas. Quase dois terços das espécies conhecidas estão subordinadas a três gêneros: *Acácia*, *Mimosa* e *Inga*. A flora brasileira é considerada uma das mais ricas do globo e a Fabaceae é apontada como uma das famílias mais representativas nas formações florestais neotropicais.<sup>3</sup>

A potencialidade do Cerrado Central Brasileiro como fonte de substâncias interessantes, sob o ponto de vista químico e farmacológico, vem estimulando uma série de pesquisas visando à descoberta de princípios ativos e o desenvolvimento de novos fármacos.<sup>3</sup>

Neste estudo, ênfase especial foi destinada ao gênero *Anadenanthera*, pertencente à família das Fabaceae (*Mimosoideae*), popularmente conhecida como angico-do-cerrado, angico-cascudo, angico-do-campo e arapiraca, de vasta distribuição no Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco e São Paulo, e muito utilizada em arborização de ruas e praças.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup> Almeida, S. P.; Proença, C.E.B.; Sano, S. M. e Ribeiro, F. J. *Cerrado - Espécies vegetais úteis*. Planaltina DF, EMBRAPA. **1998**, 35.

## 1.1. Potencialidades do gênero *Anadenanthera*

No Brasil central, a família das Fabaceae é a mais rica tanto nas formações de cerrado como de matas, produzindo sementes ricas em nitrogênio, permitindo que as plântulas contenham folhas com alto teor de nitrogênio nessa fase juvenil e, portanto, cresçam rapidamente. Adicionalmente, os tecidos ricos em nitrogênio são fontes de nutrientes abundantes em proteína para homens e animais em quase todas as partes do mundo e várias espécies desta família constituem culturas valiosas para o agronegócio. Elas podem crescer em solos pobres em nitrogênio porque desenvolvem nódulos nas suas raízes contendo bactérias simbióticas que fixam o nitrogênio atmosférico ou pelo desenvolvimento de associações ectomicorrízicas com capacidade acentuada de captar nitrogênio.<sup>5</sup>

No gênero *Anadenanthera* (Figura 2) existem duas espécies (*Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina*) e quatro variedades restritas ao Novo Mundo, distribuídas em regiões de climas tropicais e subtropicais.<sup>6</sup> Provavelmente, o centro de origem do gênero está nos cerrados (Figura 2).<sup>7</sup> Segundo Altschul,<sup>6</sup> *A. peregrina* apresenta fruto opaco, escamoso e verrugoso, anteras não glandulares e o involúcro a  $\frac{3}{4}$  do pedúnculo. Enquanto a *A. colubrina* possui frutos reticulados e lustrosos, anteras glandulares e involúcros abaixo do receptáculo.<sup>5</sup> A descrição botânica do gênero *Anadenanthera* contempla entre as principais características: porte arbóreo pouco ramificado, de até 20 metros de altura, com diâmetro à altura do peito variando de 19,5 a 108,6 cm. O fruto é um legume, achatado, grande, até com 25 cm de comprimento. As sementes, de marrom avermelhado a escura, são achatadas, com pequenas reentrâncias hilar.<sup>8,9</sup> A casca da *A. peregrina* é normalmente, pardo-avermelhada, grossa, muito rugosa, e apresenta acúleos no caule e jovens ramos lisos. A casca ao ser ferida exsuda

<sup>5</sup>Sprent, J. I. Nitrogen acquisition systems in the Leguminosae. In : Sprent, J. I. & McKey, D. (eds.) *Advances in Legume Systematics, part 5. The Nitrogen Factor*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. **1994**, 1-16.

<sup>6</sup>Altschul, S. Von R. A taxonomic study of the genus *Anadenanthera*. In: *Contributions to the Gray Herbarium* **1964**, 193, 1-65.

<sup>7</sup>Fagg, C. W. *Leguminosas da APA de Cafuringa*. In: Netto, PB, Mecenas, V.V. e Cardoso ES (Edits) *APA de Cafuringa, a última fronteira natural do DF*. Brasília: Semarh. **2005**, 147-152 e 453-457.

<sup>8</sup>Almeida, E.R. *Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos*. Heemus ed. Limitada. **1993**. 341

<sup>9</sup>Lorenzi, H.; *Árvores brasileiras - Manual de Identificação e cultivo de Plantas arbóreas Nativas do Brasil*- ed. Plantarum, Nova Odessa vol I- São Paulo –SP, **1992**, 352.

uma resina avermelhada e apresentam inflorescência com flores brancas, alvas dispostas em glomérulos fasciculados axilares.



Foto: José Antonio da Silva



**Figura 2.** *Anadenanthera peregrina* (*Piptadenia falcata* Benth). Detalhe das folhas, inflorescência, da vagem e sementes (Fonte: Almeida E.R.).<sup>4</sup>

A *Anadenanthera peregrina* é uma planta melífera de crescimento e de germinação rápida, utilizada para arborização de ruas e praças. A madeira é dura e

compacta sendo, portanto, usada na construção civil. A casca é adstringente e usada para curar ferida e para curtumes. Da casca retira-se corante para tinturaria,<sup>10</sup> a goma é usada no tratamento de doenças pulmonares<sup>11</sup> e substituto para colas industrializadas. A espécie *A. colubrina* também produz madeira de grande durabilidade para a construção civil (vigas e assoalhos), e fornece lenha e carvão de boa qualidade. A goma é comestível como goma arábica ou mastigada como chiclete e, também utilizada como remédio contra tosse, bronquite e afecções do pulmão. A casca é rica em taninos (de 15 a 20%) o que a qualifica como eficiente cicatrizante.<sup>12,13</sup>

A infusão das flores de ambas as espécies de angico tem as mesmas propriedades curativas sendo utilizada na forma de chá como depurativo do sangue.<sup>13</sup> As folhas fenadas ou secas constituem boas forragens, entretanto quando ingeridas por bovino, caprino, eqüino ou ovino pode ocasionar a morte.<sup>14</sup> A casca e as sementes, pelo tanino que possuem (32%), têm ampla utilização industrial, como no curtimento de couro, na indústria de plástico e de tintas,<sup>15</sup> possuindo também outros constituintes químicos, incluindo alcalóides.

## 1.2. Alcalóides no gênero *Anadenanthera*

O bioma cerrado dispõe de grande variedade de espécies vegetais ricas em substâncias químicas de interesse biológico, principalmente alcalóides, encontrados em diferentes teores nas folhas, frutos, caule, raízes e sementes.<sup>4</sup>

Os alcalóides compõem um grupo de substâncias naturais com estrutura molecular bastante diversificada (Figura 3) contendo pelo menos um nitrogênio básico em sua estrutura e que apresentam, freqüentemente, atividade farmacológica

---

<sup>10</sup>Carvalho, P. E. R. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Colombo: EMBRAPA-CNPQ **1994**, 640.

<sup>11</sup> Corrêa, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura / Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, **1984**, 1, 747.

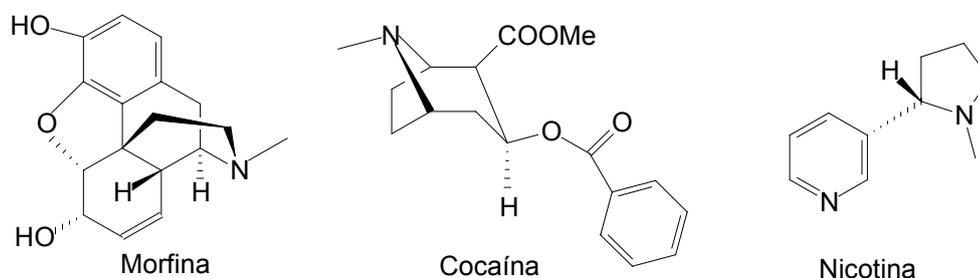
<sup>12</sup>Milano, M. S.; Rizzi, N. E. e Kaniaok, V.C. Princípios básicos de manejo e administração de áreas silvestres. Curitiba: ITCF, **1986**, 55.

<sup>13</sup> Maia, G.N. *Caatinga: Árvores e arbustos e suas utilidades*. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora. **2004**, 104-113.

<sup>14</sup> Tokarnia, C.H; Peixoto, P.V.; Dobereiner, L.; *Intoxicação experimental por piptadenia macrocarpa (Leg. Mimodoideae) em bovinos*. Pesquisa veterinária brasileira. **1994**. 14 (2/3): 57-63

<sup>15</sup> Rezende, S.J. Barbatimão. *Ruralidade*. **1975**, 17.

pronunciada.<sup>16,17,18</sup> O grande interesse em alcalóides advém muito provavelmente dessas ações farmacológicas intensas observadas desde os primórdios da civilização.<sup>19,20,21</sup>



**Figura 3.** Exemplos de alcalóides naturais conhecidos: morfina (extraído da *Papaver somniferum* L), cocaína (*Erythroxylon coca* Lam) e nicotina (*Nicotina tabacum* L)

Os alcalóides indólicos fazem parte de uma classe de compostos constituída por moléculas contendo o indol (Figura 4) na estrutura básica, sistema heteroaromático planar, formado por cinco pares de elétrons  $\pi$  conjugados provenientes das ligações duplas carbono-carbono e dos elétrons não-ligantes do átomo de nitrogênio.<sup>22</sup>



**Figura 4.** Estrutura básica de alcalóides indólicos.

Até 1980, o número de alcalóides indólicos estruturalmente conhecidos era de aproximadamente 1200.<sup>23</sup> Após duas décadas, o número de substâncias conhecidas contendo o anel indólico aumentou, perfazendo mais de 3000 alcalóides

<sup>16</sup>Correia, C. R. D.; *Síntese estereosseletiva de alcalóides e N-heterociclo*, UFSCar, **2001**.

<sup>17</sup>Kuboyama, T., Yokoshima, S., Tokuyama, H., Fukuyama, T.; *PNAS*, **2004**, *101* (33), 11966.

<sup>18</sup>M. Kutchan. *The Plant Cell*, **1995**, *7*, 1059.

<sup>19</sup>Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G.; Mello, J. C. P., Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Editora UFSC. **2007**.

<sup>20</sup>Goossens A.; Rischer, H.; *Phytochem Rev.* **2007**, *6*, 35.

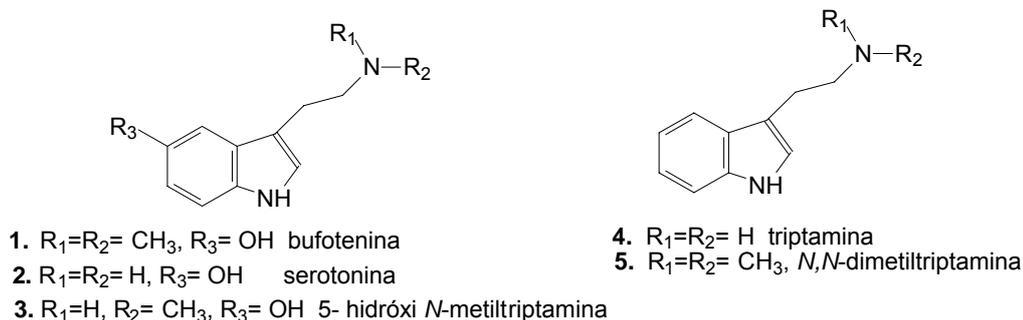
<sup>21</sup>Facchini, P. J.; *Annu. Rev. Plant Physiol.* **2001**, *52*, 29.

<sup>22</sup>Sundberg, R. J. *Indoles*, Academic Press Inc., London, **1996**.

<sup>23</sup>Philipson, J. D.; Zenk, M.H.; *Índole and Biogenetically Related Alkaloids*. Academic Inc. New York. **1980**

isolados, dentre os quais cerca de 40 são agentes medicinais com diversas ações terapêuticas.<sup>24</sup>

Em 1954, Stromberg isolou das sementes de *Piptadenia peregrina* (*A. peregrina*) coletadas no Haiti (América Central), uma quantidade significativa do alcalóide indólico bufotenina (**2**).<sup>25</sup> No ano seguinte, Fish, et AL,<sup>26</sup> trabalhando com sementes de *P. peregrina*, *P. macrocarpa* e *P. paniculada* coletadas em Porto Rico, Brasil e USA (Flórida), observaram um maior teor de alcalóides nas sementes e uma quantidade inferior nas vagens e, em algumas variedades, a inexistência dos mesmos. Em 1959, Zacharias et AL,<sup>27</sup> trabalharam com as sementes de *P. colubrina* (coletadas no Brasil), observando-se em todos os casos quantidades traços de outros alcalóides. Mais tarde, Fellows e Bell,<sup>28</sup> estudando o metabolismo de indóis na mesma planta (coletadas no Caribe e América do Sul), mostraram que além da bufotenina (5-hidróxi-*N,N*-dimetiltriptamina, **1**), também estavam presentes a serotonina (**2**) e outros derivados triptofânicos [5-hidroxi-*N*-metiltriptamina (5-HT, **3**), triptamina (**4**) e *N,N*-dimetiltriptamina (**5**)] (Figura 5).<sup>28</sup>



**Figura 5.** Principais alcalóides indólicos presentes em *Anadenanthera*.

Além de encontrar-se amplamente distribuída entre as plantas, principalmente na família das leguminosas, a bufotenina (**1**) pode ser encontrada em vertebrados (fluido corpóreo em humanos)<sup>26,29,30</sup> e invertebrados.<sup>31-37</sup> Nos anfíbios esta molécula é associada geralmente ao mecanismo de defesa contra predadores, devido a suas propriedades tóxicas, ocorrendo na secreção de pele de anfíbios anuros, principalmente de sapos do gênero *Bufo*, mas também em *Leptophryne*

<sup>24</sup> Austin, J. F.; McMillan, D.W.C.; *J. Am Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1172.

<sup>25</sup> Stromberg, V. L.; *J. Med. Chem.* **1954**, *76*, 1707.

<sup>26</sup> Fish, M. S, Joohnson, M. e Horning, E.C.; *J. American Chem. Soc.* **1955**, *77*, 5892-95.

<sup>27</sup> Pachter, I. J; Zacarias, D. E , Ribeiro, O.; *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1285-87.

<sup>28</sup> Fellows, L. E.; Bell, E. A.; *Phytochemistry*, **1971**, *10*, 2083.

<sup>29</sup> Karkkainem, J; Raisanen, M, *Biological Psychiatry*, **1992**, *32*, 1042-1048.

<sup>30</sup> Falkenerg, G. *Acta Cryst*, **1972**, *28* (Pt11), B 3219.

*borbonica*, *Capensibufo rosei*, *Litoria adelaidensis*, *Litoria granulosa*, *Litoria pearsoniana*, *Rana dalmatina*, *R. iberica*, *R. temporaria*, *Osteocephalus taurinus*, *O. oophagus* e *O. langsdorffi*.<sup>31,32</sup> A bufotenina extraída de *Leptodactylus pentadactylus* teve a sua atividade bactericida e fungicida comprovada.<sup>33</sup>

Outras fontes naturais de bufotenina são: (a) *Phalaris aquatica*, uma grama perene com potencial agrônômico, associado à síndrome da morte-repentina em bovinos;<sup>34</sup> (b) *Brosimum acutifolium* (*Moraceae*), uma planta medicinal e tóxica na Guiana francesa conhecida como takini, takweni, tauni ou mururé, cujo látex é usado como um alucinógeno e para alívio reumatismos<sup>35</sup> e (c) Cogumelos do gênero *Amanita* contêm bufotenina, 5-hidróxitriptofano e 5-hidróxitriptamina,<sup>36</sup> (d) *Musa sapientum* (banana).<sup>37</sup>

De forma geral, conclui-se que os registros sobre *Anadenanthera* demonstram de forma consistente que a bufotenina (1) é o único alcalóide significativo nas sementes maduras de *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina*.

### 1.3 Biogênese de alcalóides indólicos

Levando-se em conta que as substâncias produzidas *via* metabolismo secundário desempenham papéis muito importantes para o organismo que as produz estando, portanto, intimamente relacionadas com a sua sobrevivência no ambiente como, por exemplo, atuando na produção de energia para o organismo.<sup>19,38</sup> Os vegetais, os microorganismos e uma minoria de animais, conseguem produzir, transformar e acumular substâncias através do metabolismo secundário cujos produtos garantem vantagens para a sua sobrevivência. Alguns dos metabólitos secundários possuem atividade biológica importante, sendo

<sup>31</sup>Costa, T. O. G.; Morales, R. A. V.; Brito, J. P.; Gordo, M.; Pinto, A. C.; Bloch Jr, C.; *Toxicon*, **2005**, *46*, 371.

<sup>32</sup>Erspermer, V. in: Heatwole, H., Barthalmus, G.T. (Eds.), *Bioactive secretions of the amphibian integument amphibian biology*. The Integument, vol. 1. Ed Surray Beatty and Sous, Chipping Norton, Australia, **1994**, 178–350.

<sup>33</sup>Habermehl, G.; Preusser, H. J. Z. *Naturforsch B*. **1970**, *25*, 1451-2.

<sup>34</sup>Zhou, L.; Hopkins, A. A.; Huhman, D. V.; Sumner, L. W. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 9287

<sup>35</sup>Moretti, C.; Gaillard, Y.; Grenand, P.; Fabien B.F.; Prévost, J.M.; *J. Ethanopharmac.* **2006**, *106*, 198.

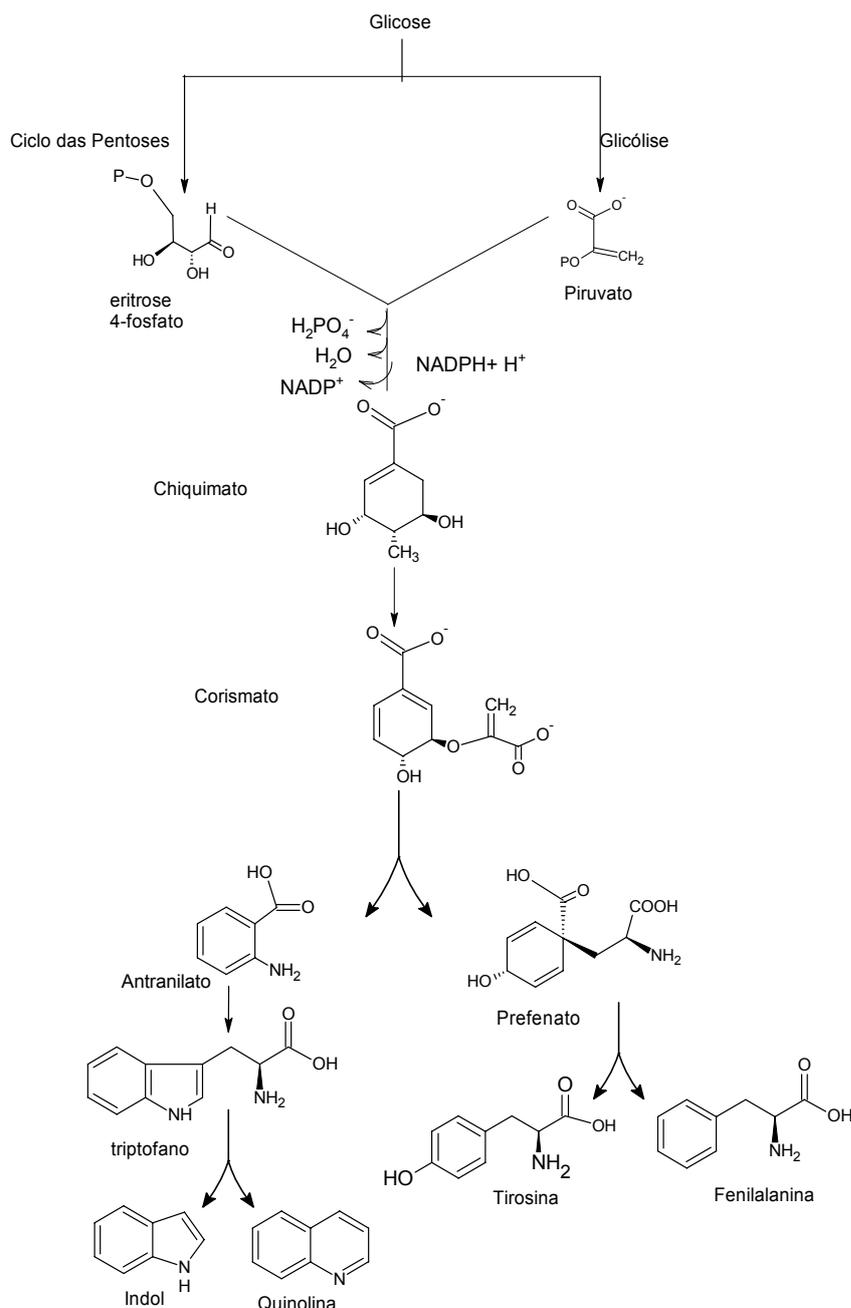
<sup>36</sup>Beutler, John A.; Der Marderosian, Ara H.; *J. Nat Prod.* **1981**, *44*, 422-31.

<sup>37</sup>Fellows, L. E.; Bell, E. A.; *Phytochemistry*, **1970**, *9*, 2389.

<sup>38</sup>Dewick, P. M.; *Medicinal Natural Products*, 2<sup>nd</sup> ed.; Wiley, New York, **2002**.

utilizados na indústria farmacêutica, já que esses metabólitos ou seus derivados, muitas vezes são ativos no controle de algumas doenças.<sup>39</sup>

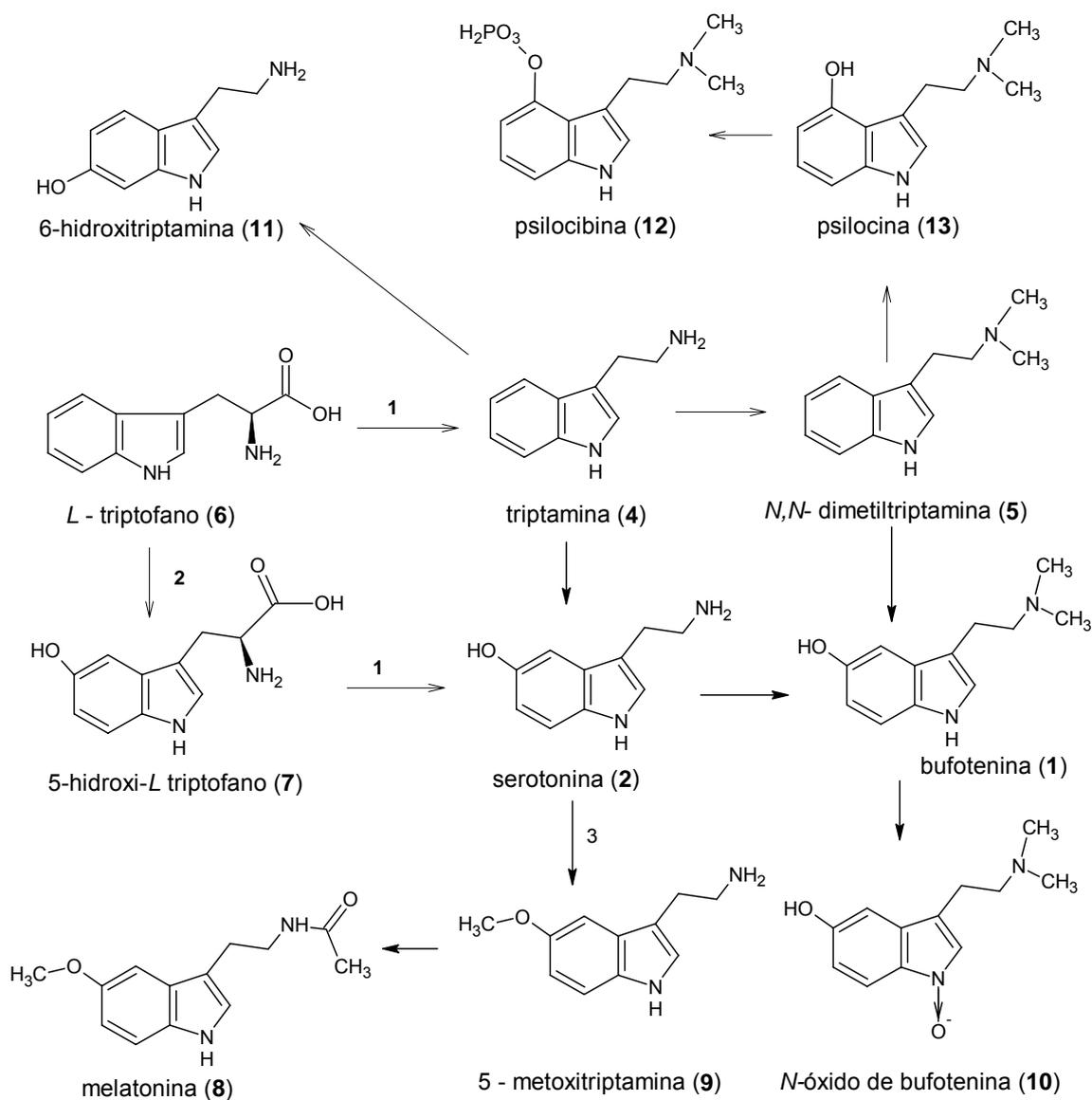
A elevada capacidade biossintética das plantas, evidenciada pelo grande número de substâncias produzidas e sua diversidade em uma mesma espécie, constitui a principal característica do seu metabolismo secundário. A origem dos alcalóides (Esquema 1) provém da glicólise e, no caso específico dos alcalóides indólicos, ocorre a partir do intermediário ácido chiquímico.<sup>19</sup>



**Esquema 1.** Formação de alguns aminoácidos via ácido chiquímico.<sup>19</sup>

<sup>39</sup> Sullivan, R. J.; Hagen, E. H.; *Addiction*, **2002**, *97*, 389.

Na elucidação estrutural de uma substância extraída de uma planta ou microorganismo, a própria estrutura química fornece alguns indícios de sua biogênese: A descarboxilação do *L*-triptofano (6) e 5-hidróxiltriptofano (7) formam a triptamina (4) e serotonina (2), respectivamente. Essas aminas podem sofrer modificações gerando outras estruturas, como por exemplo: por hidroxilação da triptamina (4) são produzidas a serotonina (2) e a 6-hidróxiltriptamina (11); por metilação da serotonina (2) formam-se a bufotenina e 5-metóxitriptamina (9); por *N*-oxidação forma-se o *N*-óxido de bufotenina (10) e por acetilação da 5-metóxitriptamina (9) é produzida a melatonina (8) (Esquema 2).<sup>40</sup>



Enzimas: 1-triptofano descarboxilase, 2- triptofano 5-monoxigenase, 3-triptofano- metil transferase.

**Esquema 2.** Biossíntese de indol etilaminas.<sup>40</sup>

<sup>40</sup>Luckner, M.; *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals*, 3<sup>a</sup>, New York 1990.

De acordo com o Esquema 2, os alcalóides indólicos originam-se do triptofano via descarboxilação, metilação e/ou hidroxilação específicas do aminoácido.<sup>26,39,41</sup> No entanto, não existe um modelo biossintético comum para os alcalóides indólicos nas plantas que os sintetizam, as quais podem mostrar diferenças na suas composições químicas. As diferenças nos teores de alcalóides indólicos em variedades de *Anadenanthera* é devido a fatores genéticos ou ambientais, o que justifica a ausência de certos alcalóides em determinadas espécies.<sup>26,28</sup>

A bufotenina (1) é formada via triptofano (6) por diferentes rotas metabólicas e por ação de enzimas específicas<sup>26,39,40</sup> (Esquema 2). Por meio de uma série de experimentos em que eventuais precursores de bufotenina, não marcados e marcados com C-14 ou H-3, foram incubados com tecidos de *P. peregrina*, Fellow e Bell concluíram que o principal caminho biossintético da bufotenina ocorre via triptofano (6) ou triptamina (4).<sup>28</sup>

#### **1.4. Propriedades farmacológicas dos alcalóides indólicos e possíveis aplicações biológicas**

Com poucas exceções, os neurônios do SNC são incapazes de se dividir ou de sofrer regeneração quando seus axônios são interrompidos. Destarte, um processo patológico passível de provocar perda neuronal geralmente tem conseqüências irreversíveis. Acredita-se que cerca de 1,5 bilhões de pessoas em todo o mundo sejam acometidas de doenças neurológicas ou psiquiátricas, como a depressão e a ansiedade, a epilepsia, dor neuropática e a enxaqueca. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que 13-20% da população mundial apresentam sintomas depressivos, sendo 2-3% desse total atribuído a indivíduos com transtornos afetivos graves.<sup>42</sup> Outras patologias como esquizofrenia e os transtornos uni/bipolar são observadas em uma parte da população. Na maior parte destas doenças, pelo menos 25% dos doentes não têm um diagnóstico correto nem recebem o tratamento adequado.<sup>43</sup>

---

<sup>41</sup> Udenfriend, S.; Titus, E.; Weissbach, H.; Peterson, R.E. *JBC*, **1995**, 335.

<sup>42</sup> Romeiro, L. A.S.; Fraga, C.A. M.; Barreiro, E.J.; *Quim. Nova*, **2003**, 26, 347-358,

<sup>43</sup> Rebelatto, J. R.; Morelli, J. G. S; *Fisioterapia Geriátrica*. 2<sup>a</sup>, **2007**, 241.

As patologias neurodegenerativas tais como Doença de Alzheimer e Parkinson bem como desordens cerebrovasculares constituem uma das principais causas de morbidade e de mortalidade na vida adulta. O desequilíbrio entre os sistemas de geração e de proteção antioxidante celulares, chamado de estresse oxidativo, desempenha um papel importante nos danos neurais causados pelos processos isquêmicos, provocando alterações funcionais em macromoléculas e promovendo lipoperoxidação de membranas. Substâncias com dupla atividade anticolinesterásica e antioxidante vêm sendo consideradas como uma nova abordagem terapêutica para o tratamento farmacológico do Doença de Alzheimer, incentivando a investigação e o estudo de produtos naturais para o desenvolvimento de fármacos novos e mais eficientes.<sup>44,45</sup>

Derivados triptofânicos apresentam importante função no sistema nervoso central (SNC) e controlam ações cardiovasculares, respiratórias, gastrointestinais, além de sintomas de humor e ansiedade.<sup>46</sup>

A serotonina (**2**), um neurotransmissor natural, é responsável pelo efeito modulador geral da atividade psíquica, regulando o humor, o sono, o apetite, o ritmo cardíaco e as funções neuroendócrinas.<sup>46</sup> Os efeitos da serotonina são sentidos de maneira mais proeminente no sistema cardiovascular, com efeitos adicionais no sistema respiratório e nos intestinos. A vasoconstrição é a resposta clássica à administração de serotonina.

Derivados biossintéticos da serotina, as cinamidas (**14**) e o benzoato sintético (**15**) (Figura 6), exibiram atividade antimicrobiana e antioxidante.<sup>47,48</sup> Outros derivados da serotonina mostram atividade antimicrobiana e atuam como capturadores de radicais livres.<sup>49,50</sup>

---

<sup>44</sup> Yu, Q.; Holloway, H. W.; Utsuki, T.; Brossi, A.; Greig, N. H. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1855.

<sup>45</sup> Zhu, X.; Greig, N. H.; Holloway, H. W.; Whittaker, N. F.; Brossi, A.; Yu, Q. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4861.

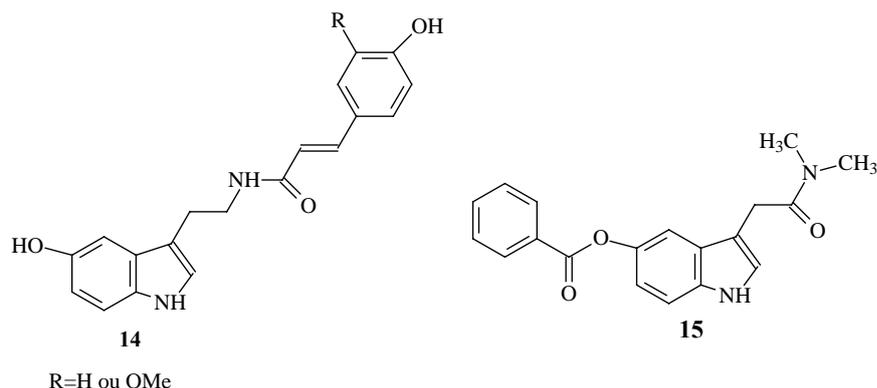
<sup>46</sup> Marais, W.; Holzapfel, C. W.; *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3681.

<sup>47</sup> Kumarasamy, Y.; Middleton, M.; Reid, R. G.; Nahar, L.; Sarker, S. D; *Fitoterapia*, **2003**, *74*, 609.

<sup>48</sup> Stoll, A.; Toxlller, F.; Peyer, J.; Hoffman, A.; *Helvetica Chimica Acta*, **1955**, *38*, 1452.

<sup>49</sup> Kumarasamy, Y.; Middleton, M.; Reid, R. G.; Nahar, L.; Sarker, S. D. *Fitoterapia* **2003**, *74*, 609.

<sup>50</sup> Kang, K.; Jang, S. M.; Kang, S.; Back, K.; *Plant Sci.* **2005**, *168*, 783.



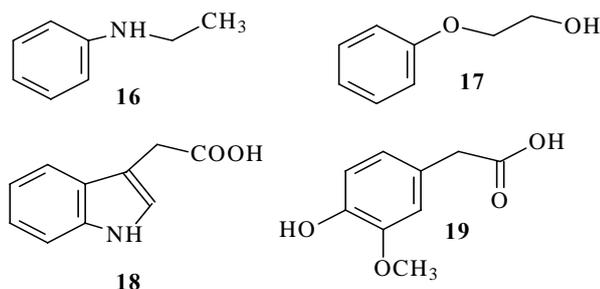
**Figura 6.** Cinamidas (**14**) e benzoato (**15**) análogo da serotonina.

Os receptores 5-HT têm sido alvo de intensa pesquisa nas últimas décadas, uma vez que muitos fármacos efetivos no tratamento da depressão e ansiedade agem sobre este neuromodulador, tanto na forma de inibidores da recaptção de 5-HT (ISRS), quanto agonistas ou antagonistas de seus subtipos de receptores. Ligantes com alta afinidade pelos receptores 5-HT<sub>1A</sub> estimulam a síntese de novos análogos que atuem ao nível deste receptor. De modo significativo para este subtipo de receptor serotoninérgico, minuciosos estudos de seu seqüenciamento, clonagem e localização nos tecidos neurais têm sido desenvolvidos nesta última década. Seguindo esta tendência, muitos outros ligantes, de diferentes classes químicas, foram sintetizados e avaliados na busca da compreensão das interações farmacofóricas relevantes para o reconhecimento molecular pelo receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Entre estes compostos encontram-se derivados de indolalquilaminas, como por exemplo, a bufotenina.<sup>42,43,49</sup>

As propriedades farmacológicas da bufotenina (**1**) ainda se encontram em estudo e indicam ser semelhantes à da dimetiltryptamina (DMT), embora não provoque alucinações visuais como os demais alcalóides indólicos. A bufotenina pode ser encontrada na urina de pessoas normais e a sua excreção urinária em pacientes psiquiátricos é um pouco mais acentuada, pois é também é reforçada pelos inibidores da MAO e por outros medicamentos antidepressivos.<sup>29, 30</sup>

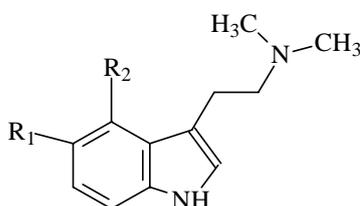
Na esquizofrenia há baixa atividade no lobo médio temporal e, ao mesmo tempo um aumento do acetilspartato no hipocampo. Há maior fluxo sanguíneo no lobo temporal e na área frontal quando os indivíduos sofrem maior intensidade de alucinações. A feniletilamina (PEA), bufotenina e a mono amina cadaverina são encontradas em altas taxas na urina e sangue de pacientes com essa patologia. Chega-se a inferir que os marcadores bioquímicos [feniletilamina (**16**), fenilglicol

(17), ácidos hidroxindolacético (18) e homovanílico(19)] não somente servem para descobrir os estados depressivos, como também, mostraram-se úteis nos casos de obsessões compulsivas e esquizofrenia (do tipo I) que se normalizam após melhora clínica: os marcadores metilados (bufotenina, O-metilbufotenina e dimetiltryptamina) estão relacionados com os sintomas psicóticos (alucinações, sintomas negativos, etc).<sup>42,51</sup>



**Figura 7.** Marcadores químicos.

Quando ingerida em grandes quantidades, a bufotenina (1) pode provocar muitos efeitos indesejáveis do ponto de vista psicológico e circulatório, além de efeitos secundários, tais como: suor, náuseas, visão amarelada e percepção de pontos coloridos.<sup>52</sup> Uma dose oral de 100 mg não causa efeito algum, enquanto que seu isômero extraído de um cogumelo mexicano, a psilocina (13) (Figura 8), em uma quantidade de 4 a 8 mg causam intoxicação.<sup>53</sup> Gesser *et al*<sup>54</sup> sugerem que a baixa potencialidade tóxica da bufotenina é devido à sua baixa solubilidade em lipídios e conseqüente inaptidão para penetrar no SNC.



1 R<sub>1</sub>= OH, R<sub>2</sub>= H bufotenina  
13 R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= OH psilocina

**Figura 8.** Bufotenina (1) e seu isômero, psilocina (13).

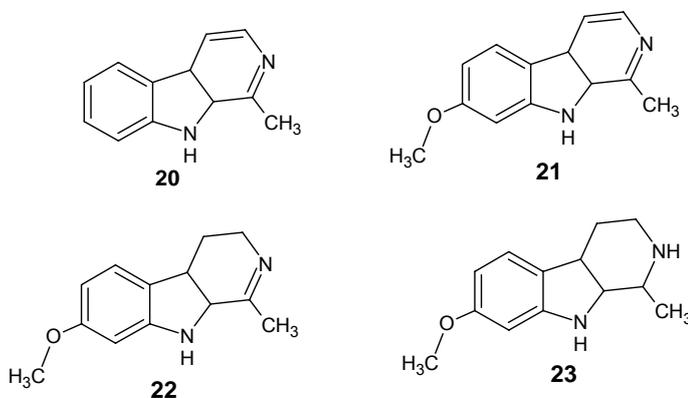
<sup>51</sup> Paiva, L. M.; *Revista da Psicossomática*, **2006**, 1, 16.

<sup>52</sup> Nunes, D. S.; Rocha Filho, G. M.; Elisabethy, E.; Barata, L. E. S.; *Alcalóides triptamínicos de Piptadenia gonoacanth (mart), macbr e Anadenanthera falcata (Benth)*. Speng. *in*: Reunião anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC), Resumo 34, **1982**, Campinas - SP.

<sup>53</sup> Migliaccio, G. P.; Shiceh, T. L. N.; Hathauay, B. A.; Nichols, D. E.; *J. Med. Chem.* **1981**, 24.206

<sup>54</sup> Gesser, P. K.; Godse, D. D.; Krull, A. H.; McMillan, J. M.; *Life Sci.* **1968**, 7, 267.

O núcleo indólico também pode dar origem a alcalóides mais complexos gerando estruturas com potencial farmacológico, por exemplo, o precursor natural da *N,N*-dimetiltriptamina (DMT, **5**), a triptamina (**4**), têm sido utilizado na síntese de alcalóides  $\beta$ -carbolínicos que apresentam afinidade para os receptores da serotonina (**2**) no SNC, de onde resulta seu efeito neurofarmacológico, além de atividade citotóxica.<sup>55a,b</sup> Como mostrado na Figura 9, o sistema  $\beta$ -carbolínico possui diferentes graus de aromaticidade e constitui a unidade estrutural básica de inúmeros alcalóides indólicos de interesse farmacológicos e biológicos, a exemplo da harman (**20**), harmina (**21**); harmalina (**22**) e tetraidro- $\beta$ -carbolínico (**23**).<sup>56</sup>



**Figura 9.** Sistema  $\beta$ -carbolínico

O interesse biológico ou farmacológico por esta classe de compostos deve-se a ocorrência destes, sob condições fisiológicas em tecidos e fluidos biológicos. Alguns relatos evidenciam a importância farmacológica das carbolinas<sup>57,58</sup> e demonstram que as  $\beta$ -carbolinas interagem com os receptores da dopamina e com os sistemas neurotransmissores da serotonina (**2**), o que chama a atenção dos neuroquímicos em investigação que enfocam as  $\beta$ -carbolinas como neurotransmissores e neuromoduladores.<sup>59</sup> Além de ações psicoativas e alucinógenas, essas  $\beta$ -carbolinas têm mostrado uma grande variedade de

<sup>55</sup>(a) Roszkowski, P.; Wojtasiewicz, K.; Leniewski, A.; Maurin, J. K.; Lis, T.; Czarnocki, Z. *J. Molec. Cat. A: Chem.* **2005**, 232, 143; (b) Zhaob, M.; Lanrong Bia, L.; Wangb, W.; Chao Wangb, C.; Baudy-Floc'hdM.; Jingfang Juc, J.; Penga, S.; *Biorganic & Med. Chem.* **2006**, 14, 6998.

<sup>56</sup>Bresolin T. M. B, Cechinel Filho V.(org.) *Ciências Farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos*. Itajaí: Ed. Univali, **2006**, p.43-44.

<sup>57</sup>Ho, B. T.; Taylor, D.; Mctsooc, W. M.; *Adv. Behav. Biol.* **1971**, 1, 97

<sup>58</sup>Dramate, K. L.; Okungn, J. I. *Plant Med.* **1977**, 31,193

<sup>59</sup>Callaway, J. C.; Gynther,J.; Poso, A.; Vepsalainem, J.; Airalksinem, M. M. *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, 31, 431.

propriedades farmacológicas, incluindo atividades antimicrobiais, antivirais, anticonvulsivas, hipnóticas, vasorelaxantes, anti-HIV e antitumorais.<sup>60</sup>

## 1.5. Preparação e aplicações sintéticas de compostos indólicos

Devido à atividade biológica variada e freqüentemente intensa, os alcalóides são objeto de grande interesse farmacológico e medicinal. No entanto, salvo raras exceções, essas substâncias são encontradas nas fontes naturais em pequenas quantidades, às vezes apenas como traços. O estudo detalhado das diversas rotas biossintéticas de alcalóides tem sido muito útil na proposição de derivados sintéticos mais complexos, já que o número de estruturas alcaloídicas encontradas na natureza é variado e, tem despertado grande interesse por parte de muitos pesquisadores. Em muitas ocasiões, a síntese total de uma estrutura mais complexa, pode ser alcançada a partir da utilização de um alcalóide precursor disponível em maior quantidade em determinadas plantas.<sup>54</sup>

A preparação e funcionalização de sistemas indólicos tem sido objeto de intensas pesquisas em síntese orgânica e muitas rotas sintéticas foram desenvolvidas. Em muitos casos, a disponibilidade do material de partida (modelo de substituição) e a tolerância dos grupos funcionais são fatores determinantes na escolha de uma rota. De forma geral, os indóis são usualmente preparados a partir de precursores aromáticos não heterocíclicos. Dentre as metodologias que se destacam, encontram-se: síntese de Fischer e suas variantes, heteroanelação e ciclização de alquilanilinas, ciclizações redutivas (nitro compostos) e outros processos. Apresentamos abaixo, algumas metodologias práticas para preparação de indóis em larga escala, consideradas interessantes sob o ponto de vista industrial e acadêmico.<sup>61</sup>

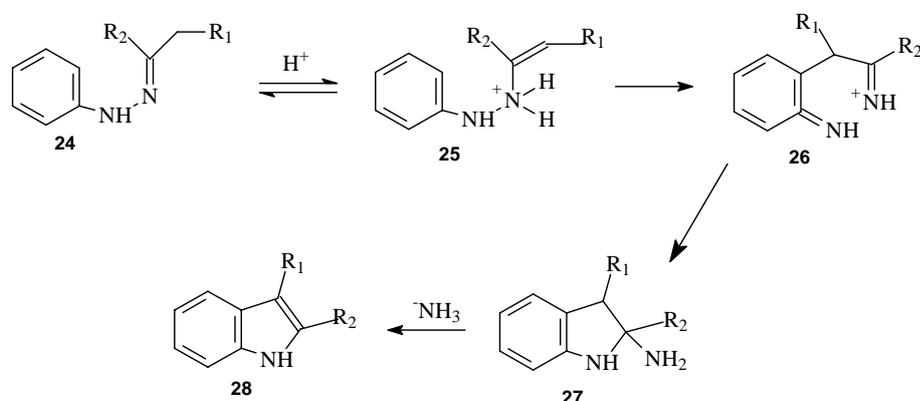
A síntese de Fischer é amplamente utilizada na preparação de indóis e derivados em laboratório.<sup>61</sup> Exemplos incluem a síntese de alcalóides e alcalóides marinhos, derivados da triptamina e novas estruturas indólicas com anéis funcionados, também tem sido utilizada em escala industrial na obtenção de intermediários farmacêuticos. Essa é uma das metodologias clássicas mais usadas,

---

<sup>60</sup> R. Cao, Q. Chen, X. Hou, H. Chen, H. Guan, Y. Ma, W. Peng, *Bio. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 4613.

<sup>61</sup> Humphrey, G. R.; Kuethe, J.T.; *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2875.

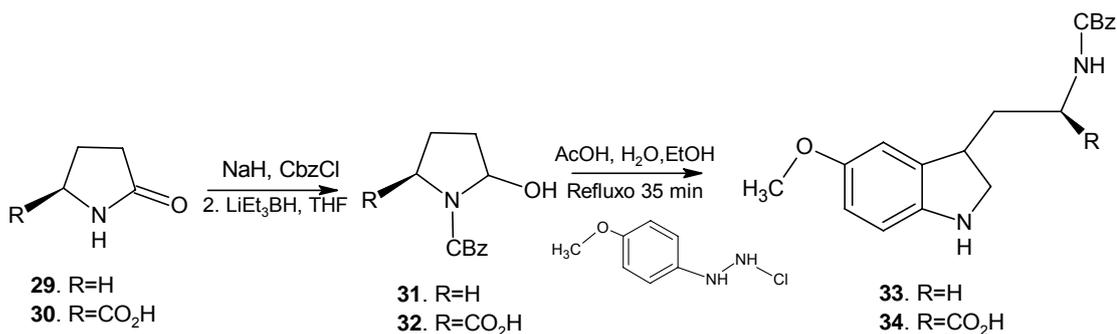
pois ocorre em uma única etapa, a partir da reação entre um composto carbonílico e uma hidrazina de escolha, sob catálise ácida, sendo desnecessário o isolamento da hidrazona correspondente. O mecanismo da reação foi proposto G.M. Robinson e R. Robinson:<sup>62</sup> a hidrazona (**24**), em equilíbrio com a enamina correspondente (**25**), que apresenta a distribuição eletrônica apropriada para realizar o rearranjo sigmatrópico [3,3], dá origem a dupla imina (**26**), altamente instável. A aromaticidade é então imediatamente restabelecida, via o intermediário (**27**) que sofre ciclização, seguida de eliminação de amônia, fornecendo o sistema indólico (**28**) (Esquema 3).<sup>61,62</sup>



**Esquema 3.** Proposta mecanística da síntese de Fischer.<sup>62</sup>

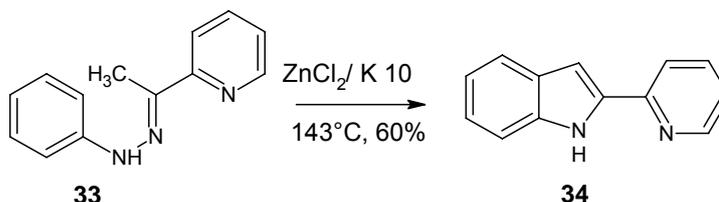
Uma aplicação interessante da síntese de Fischer que possibilita a obtenção de indóis funcionalizados como, por exemplo, os derivados da melatonina (**33**) e do triptofano (**34**) é apresentada no Esquema 4. Esse método é vantajoso, pois além de sua simplicidade, permite a preparação de tais sistemas, em grande escala e com rendimentos excelentes, a partir de reagentes de partida (**29** e **30**) abundantes e de baixo custo. Os derivados da 2-hidroxipirrolidina (**31** e **32**) são formados a partir da proteção de 2-pirolidinona (**29**) e ácido piroglutâmico (**30**) com carbobenzoxi (Cbz) e subsequente redução da lactama com trietilboridreto de lítio (LiEt<sub>3</sub>BH), em 84 e 91% de rendimento, respectivamente. O derivado da melatonina (**33**) e o derivado do triptofano (**34**), formados a partir de uma reação indólica de Fischer, são obtidos com rendimento maiores que 95%.<sup>61</sup>

<sup>62</sup> Laue, T.; Plagem, A.; *Named of reactions organic chemistry*, Wiley, New York, **2000**.



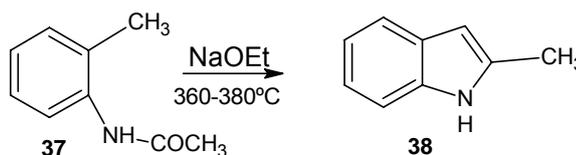
**Esquema 4.** Síntese de derivados da melatonina.<sup>61</sup>

Uma variação do método de Fischer consiste em preparar indóis a partir de fenilidrazinas **35** e cetonas, em presença de ácido acético com irradiação de microondas. Esta metodologia apresenta altos rendimentos e as reações ocorrem em menos de um minuto. O uso de montmorilonita (K10) e cloreto de zinco na presença de microondas, a temperaturas mais baixas e com solvente livre de ácido, forma em bom rendimento o 2-(2-piridil) indol (**36**), um composto cuja unidade básica estrutural está presente em muitos produtos naturais (Esquema 5).<sup>63a,b</sup>



**Esquema 5.** Preparação de 2-(2-piridil)-indol a partir de hidrazina<sup>63b</sup>.

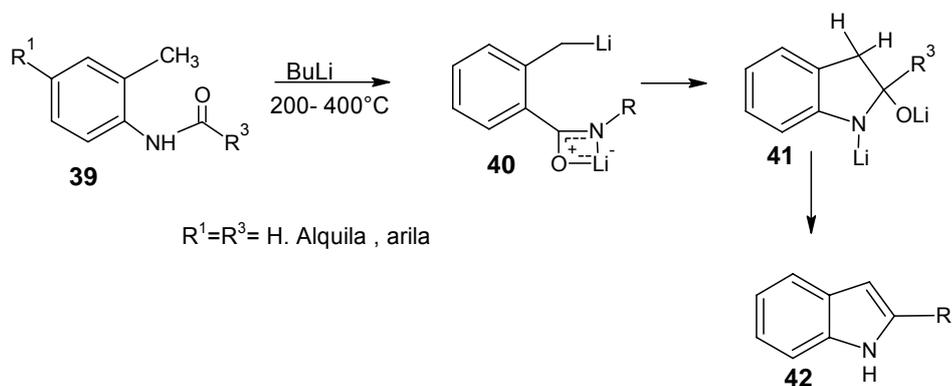
Em 1912, Madelung mostrou que o 2-metilindol (**38**) podia ser preparado, com 60% de rendimento, aquecendo-se a *o*-aceto toluidina (**37**) com etóxido de sódio em atmosfera inerte. O emprego desta metodologia exige condições severas para realizar catálise básica intramolecular na condensação entre um grupo metila aromático não ativado e um substituinte *o*-acilamino<sup>22</sup> (Esquema 6).



**Esquema 6.** Síntese geral de Madelung<sup>22</sup>.

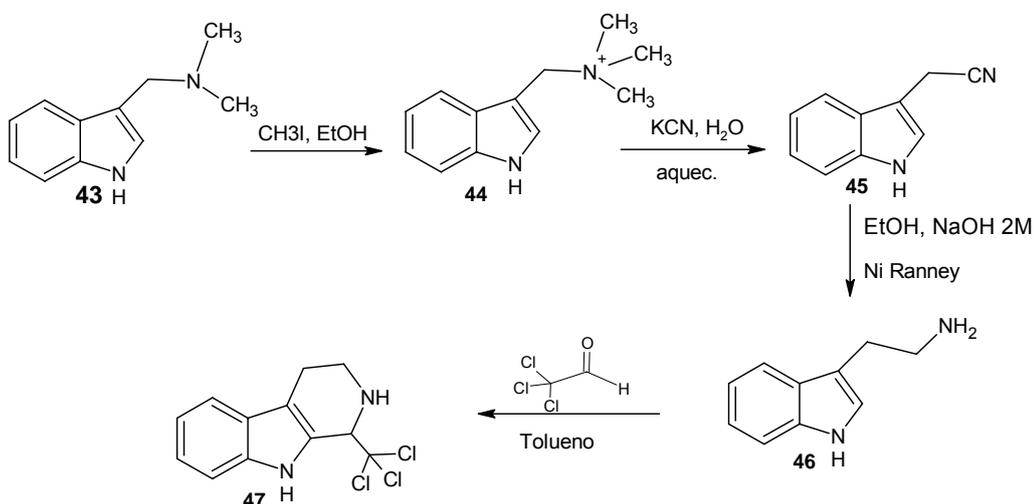
<sup>63</sup> (a) Lipińska, T.; Guibê-Ampel, E.; Petit, A.; Loupy, A. *Synth. Commun.* **1999**, 29 (8,) 1349. (b) Gribble, G. W. Perkin T. I.; *J. Chem. Soc.* **2000**, 1045-1075.

Embora a síntese clássica de Madelung seja atualmente pouco empregada, uma modificação do método introduzido por Houlihan em 1981, na qual foi utilizado butillítio (BuLi) como base, método de Madelung-Houlihan, permitiu a síntese de derivados indólicos (**42**) sob condições mais brandas do que a síntese original (Esquema 7).<sup>64a,b</sup>



**Esquema 7.** Método de Madelung-Houlihan.<sup>64a</sup>

Em geral alcalóides indólicos mais complexos são preparados a partir de precursores indólicos simples. Por exemplo, o derivado  $\beta$ -carbolínicos, 1-triclorometil-1,2,3,4-tetraidro- $\beta$ -carbolina (**47**), foi sintetizado em laboratório a partir da *N,N*-dimetiltriptamina (**43**) via ciclização do tipo Pictet-Spengler (Esquema 8).<sup>65</sup>

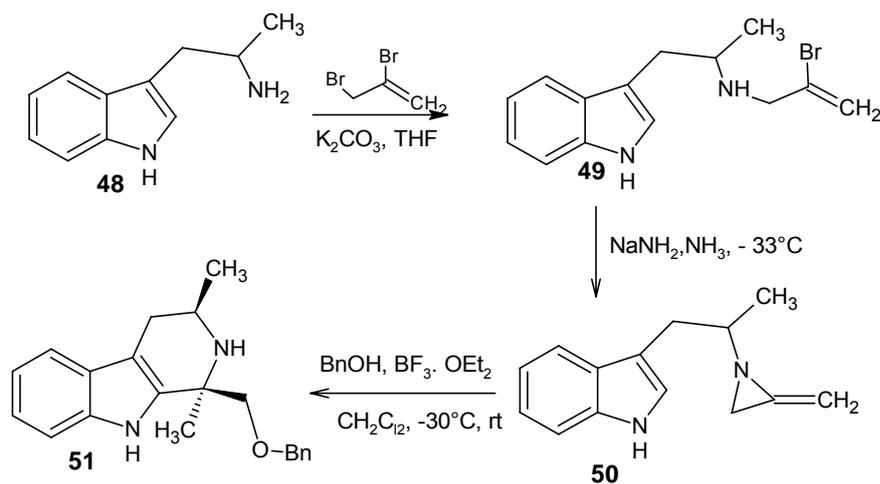


**Esquema 8.** Tetraidro- $\beta$ -carbolina (**47**) via ciclização de Pictet-Spengler.

<sup>64</sup> a) Houlihan, W. J.; Uike, Y; Parrino, V. A.; *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4515. b) Houlihan, W. J.; Uike, Y; Parrino, V. A.; *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4511.

<sup>65</sup> Bringmann, G; Feineis, D; Bruckner, R; God. R; Grote, C; Wesemann, W; *European J. Pharmaceutical Sciences* **2006**, *28*, 412-422.

Outro exemplo de síntese de tetrahydro- $\beta$ -carbolinas envolvendo uma indoletilamina encontra-se apresentado abaixo. A  $\alpha$ -metil-triptamina (**48**) é transformada na correspondente metilenoaziridina **50** via o brometo de vinila **49**, em duas etapas. A reação da aziridina **50** com álcool benzílico na presença de trifluoreto de boro-eterato levou a uma mistura (8:1) de diastereoisômeros **51** (Esquema 9).<sup>66</sup>



**Esquema 9.** Síntese de tetrahydro- $\beta$ -carbolinas.

Nos bancos de dados consultados não foram encontrados registros da síntese desse triciclo tendo a bufotenina (**1**) como precursora.

<sup>66</sup>Mumford, P. M.; Shiers, J. J.; Tarver, G. J.; Hayes, J. F.; Shipman, M; *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, 3489.

## **2. Objetivos:**

### **2.1. Objetivos Gerais**

O presente estudo teve como objetivo central o conhecimento fitoquímico de espécies de *Anadenanthera* (Fabaceae: Mimosoideae) do Cerrado Central, com enfoque no teor de alcalóides indólicos e investigação do potencial da bufotenina como matéria-prima para preparação de novas entidades químicas (NCEs) capazes de atuar no SNC.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Estudo fitoquímico comparativo de sementes de espécies/variedades de *Anadenanthera* do Cerrado Central.
- Determinação do teor do alcalóide indólico bufotenina.
- Estudos visando à preparação de derivados da bufotenina com potencial bio/farmacológico.

### **3. Metodologia:**

As estratégias de ação desta proposta estão baseadas em várias etapas, envolvendo pesquisadores e estudantes de laboratórios especializados que dispõem de condições satisfatórias para o desenvolvimento das etapas envolvidas nesse projeto, que compreendem:

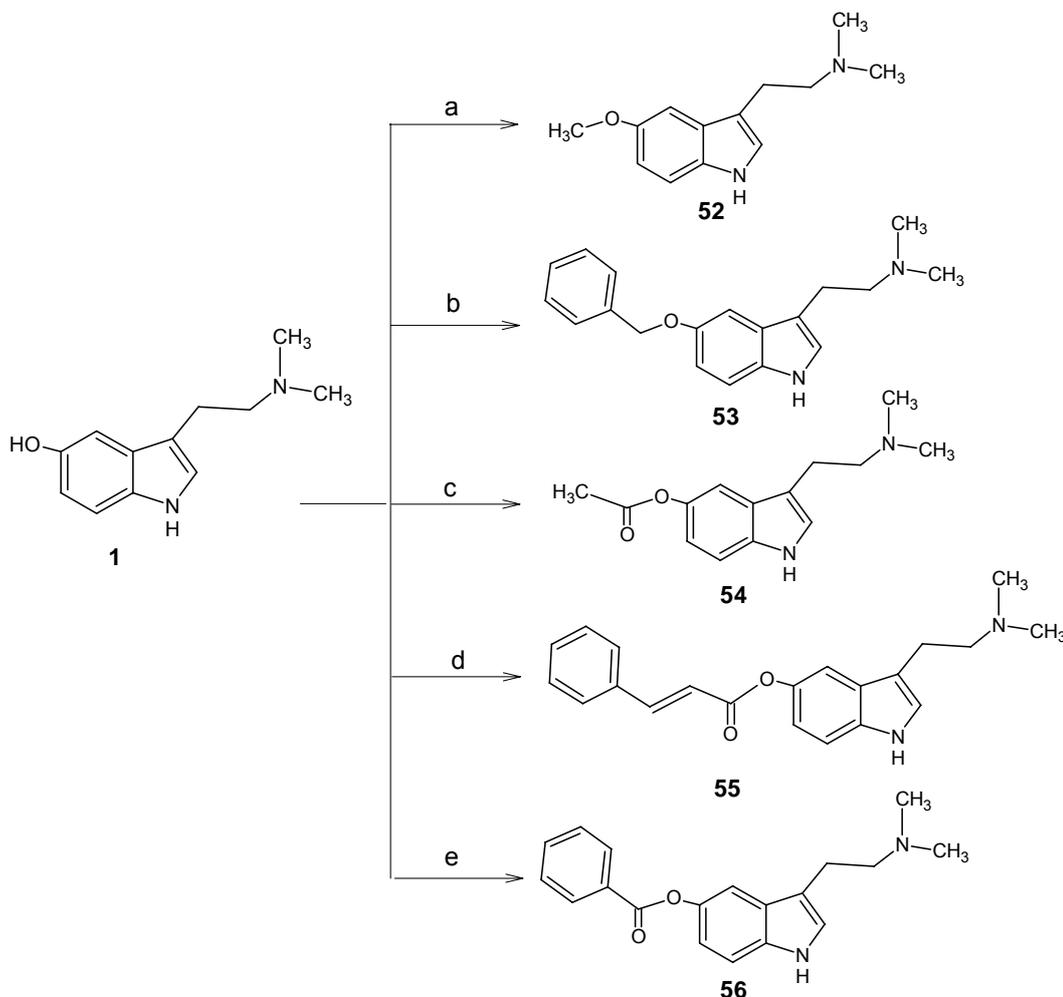
#### **i. Estudo fitoquímico comparativo de sementes de espécies/variedades de *Anadenanthera*.**

Aplicação de procedimentos metodológicos clássicos de extração de sementes das espécies selecionadas, fracionamento do extrato bruto por meio de técnicas, purificação, quantificação e caracterização físico-química dos componentes químicos isolados. O fracionamento dos extratos e a purificação dos alcalóides indólicos presentes nas sementes de cada espécie foram realizadas por técnicas cromatográficas clássicas e instrumentais (CG-EM). Na caracterização dos alcalóides presentes na semente das plantas foram utilizados espectros unidimensionais de hidrogênio (300 MHz) e carbono-13 (75 MHz) e técnicas bidimensionais (APT e HMQC), cujos experimentos foram realizados em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Mercury Plus - Varian (7.05 T), com capacidade de análises multinucleares em solução e estado sólido. As técnicas de Análise Elementar (CHN) e Espectrometria de Massa foram empregadas para confirmação das estruturas propostas.

#### **ii. Modificação química da bufotenina visando à preparação de entidades químicas com potencial bio/farmacológico.**

Empregando-se a bufotenina (1) como material de partida foram planejados derivados indólicos da bufotenina, preparados a partir da proteção da hidroxila fenólica, a exemplo de derivados que poderão manifestar atividade antimicrobiana e atuarem como capturadores de radicais livres com possível afinidade para os receptores da serotonina (3) no SNC, a exemplo dos análogos

serotoninínicos. O planejamento sintético convergente compreende a exploração de procedimentos clássicos envolvendo reações de proteção da hidroxila fenólica da bufotenina, explorando diferentes grupos protetores, para produção dos seguintes derivados: metil éter **52**, benzil éter **53**, acetato **54**, cinamato **55** e benzoato **56** (Esquema 10).



Reagentes: a) MeI, acetona,  $K_2CO_3$ , refluxo; b) BnCl,  $K_2CO_3$ , acetona, refluxo; c)  $Ac_2O$ , Py; d) CynCl,  $Et_3N$ , DMAP,  $CH_2Cl_2$ ; e) BzCl,  $Et_3N$ , DMAP,  $CH_2Cl_2$ .

**Esquema 10.** Derivados da bufotenina

As modificações químicas planejadas consideraram a utilização de reações clássicas em síntese orgânica. A purificação dos intermediários e produtos finais foi realizada por meio de técnicas convencionais (cromatografia e recristalização). A caracterização deu-se a partir da obtenção e análise de espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13, espectros de infravermelho e espectros de massa, em colaboração com pesquisadores responsáveis por laboratórios especializados em técnicas espectrométricas.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Estudo fitoquímico de semente de espécies de *Anadenanthera*

Em geral, a floração do gênero *Anadenanthera* ocorre entre junho e setembro e a frutificação ocorre entre agosto e setembro. Os espécimens analisados apresentaram floração, frutificação e maturação das sementes em tempos diferentes, possibilitando a coleta de sementes entre os meses outubro e novembro de 2006 e 2007.

De acordo com protocolos convencionais (Chave de classificação: Anexo 1 pág. 56) empregados pelo Prof. Dr. Christopher William Fagg (FT-UnB), as espécies selecionadas foram identificadas como sendo: *Anadenanthera peregrina* (Figura 9) oriunda da BCE e APCEF (vars. *peregrina* e *falcata*) (Figura 10) e *Anadenanthera colubrina* coletada no CO (var. *cebil*) (Figura 11).

As sementes foram secadas à temperatura ambiente, trituradas e submetidas a diferentes técnicas de extração: maceração em solvente orgânico; extração contínua em Soxhlet e isolamento pelo método de Stromberg.<sup>25</sup>

Inicialmente, tentou-se a técnica de maceração em solvente orgânico (hexano) para separação dos componentes apolares da fração polar de *Anadenanthera peregrina* (BCE). Cerca de 10 g de sementes trituradas foram extraídas por três vezes com 30 mL de hexano em intervalos de 4 horas, filtrando-se e submetendo-se à amostra a nova extração. Os extratos hexânicos foram reunidos e concentrados para fornecer um material oleoso que suspeitamos tratar-se de triacilgliceróis (cerca de 3%), porém contaminado com pequena porção do componente mais polar. A torta foi extraída por cinco vezes com etanol em presença de cerca de 1g de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, com leve aquecimento. A fração etanólica foi concentrada, dissolvida em AcOEt, lavada com cinco porções de água destilada, secada sob sulfato de sódio e concentrada no rotaevaporador. O resíduo foi submetido à separação por coluna cromatográfica rápida e seca (Dry-Flash Column Chromatography), fornecendo cerca de 0,1% de um material viscoso que, posteriormente, foi identificado como sendo a bufotenina (**1**) (Fluxograma 1, p. 28).



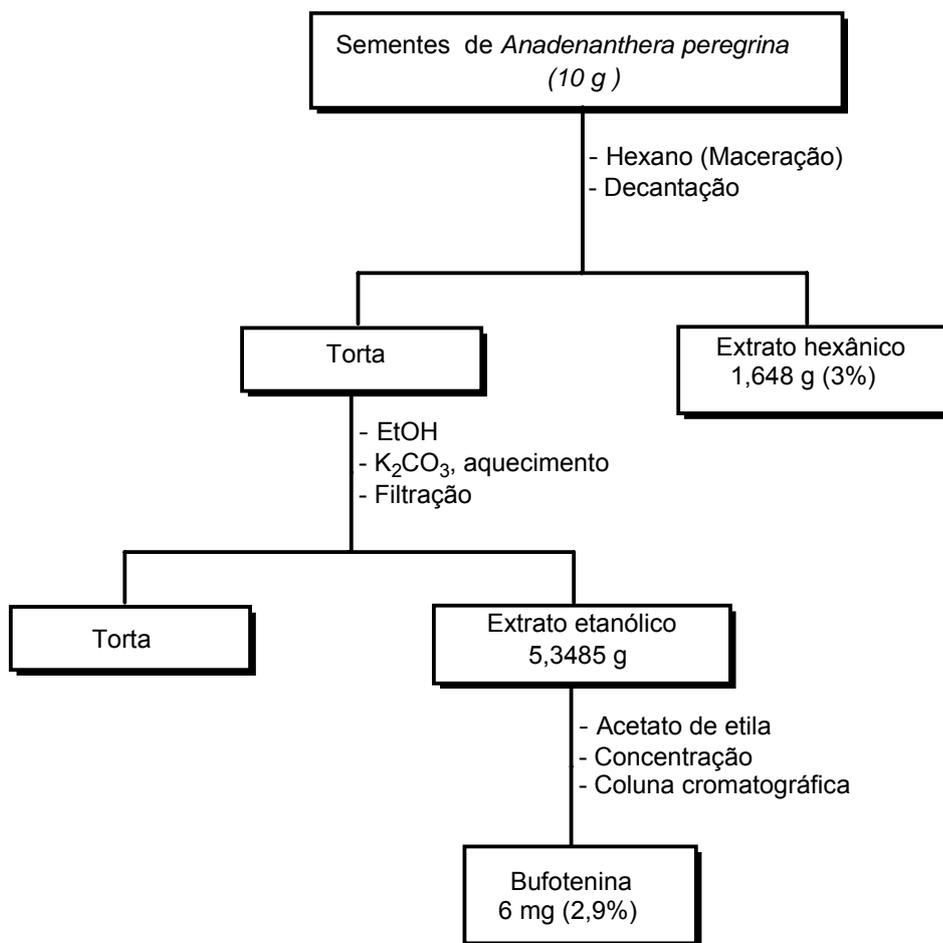
**Figura 10.** *A. peregrina* (BCE) - Detalhes do ramo verdes, da vagem, da inflorescência, das sementes e da germinação (cortesia Juliana Machado Ramos UFG).



Figura 11. *A. colubrina* (CO). Detalhes da vagem, inflorescências e das sementes.



Figura 12. *A. peregrina* (APCEF) - Detalhe das sementes.



**Fluxograma 1.** Fracionamento das sementes de *A. peregrina* por maceração.

As extrações feitas no soxhlet foram realizadas com etanol comercial a 78 °C, usando diferentes massas do material biológico (*A. peregrina*, BCE) e tempos de extração, conforme expresso na Tabela 1.

**Tabela 1:** Resultado dos processos extrativos no sohxlet em diferentes condições.

Entrada	m <sub>semente</sub>	m <sub>extrato</sub>	Tempo <sub>extração</sub>	Rend. %*
1	191,3 g	47,4 g	63 h	25,0
2	32,0 g	16,1 g	30 h	50,3
3	27,5 g	9,90 g	24 h	36,0
4	19,1 g	8,00 g	15 h	41,8
5	18,0 g	8,00 g	34 h	44,4
6	9,00 g	3,80 g	34 h	42,2

\*Rendimento percentual de extrato bruto, considerando a massa de semente utilizada no processo extrativo.

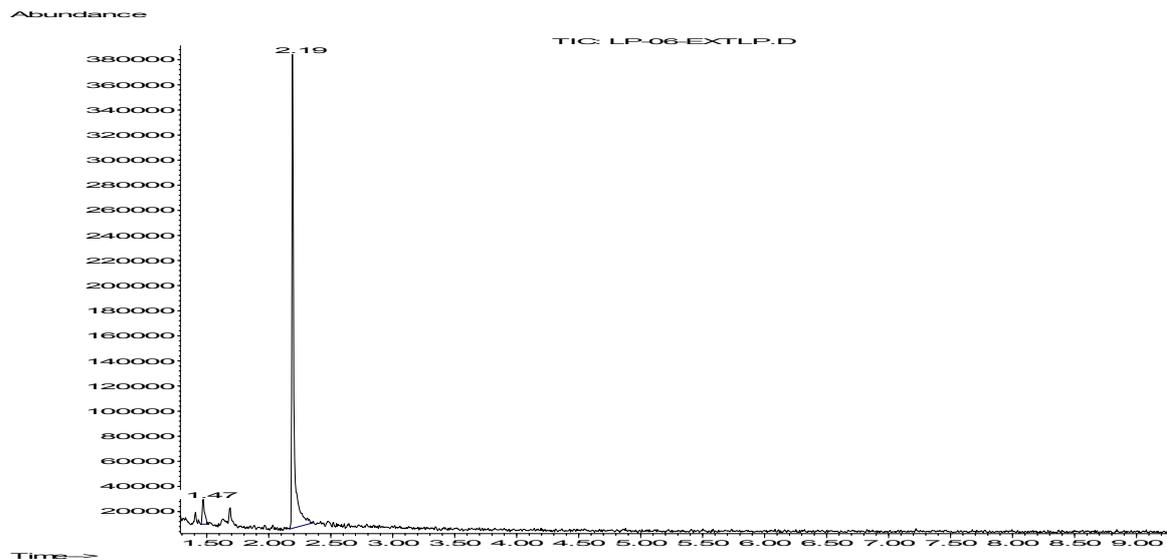
Por meio desse estudo verificou-se que a massa de semente utilizada e o tempo de extração influenciam na quantidade do extrato obtido. De acordo com os resultados, observou-se que quando da utilização de uma massa muito grande de material biológico, mesmo com exaustivo tempo de extração o rendimento foi muito baixo, provavelmente em função de problemas operacionais (Entrada 1). Foram observados melhores rendimentos quando do uso de massa compatível com a aparelhagem e tempo de extração de cerca de 30 h (Entrada 2). Uma maior redução da massa de semente não influenciou no aumento do rendimento (Entradas 3, 4, 5 e 6). Na etapa de concentração dos extratos, verificou-se ainda que a temperatura influencia profundamente a eficiência do processo de obtenção do alcalóide, pois quando aquecida à temperatura mais elevada, para remoção do solvente no roto-evaporador, observou-se por cromatografia em camada delgada (CCD) que a bufotenina sofria decomposição.

Após definida a melhor condição para extração em sohxlet, foi realizado um estudo comparativo do teor da bufotenina e de outros constituintes presentes nas espécies analisadas (*A. peregrina*, variações *peregrina* e *falcata*, e *A. colubrina*). Surpreendentemente, todos os extratos brutos apresentaram no máximo dois pontos bem definidos na cromatoplaça, usando diferentes eluentes. Neste sentido, os extratos etanólicos foram submetidos a fracionamento por cromatografia rápida em coluna seca. Após caracterização por métodos espectrométricos a fração mais polar foi confirmada tratar-se da bufotenina (Anexos 2 - 7; páginas 59 - 64), isolada como material viscoso que na análise por Cromatografia Gasosa (Cromatógrafo Agilent Technologies 6890N, detector seletivo de massas CG-EM) mostrou ainda a presença de impurezas (Figura 13). Além de bufotenina, todos os extratos brutos obtidos por essa metodologia continham quantidade substancial de fração menos polar, com aspecto oleoso que por espectroscopia de IV e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  indicou tratar-se de triacilgliceróis (Tabela 2).

**Tabela 2.** Teor de bufotenina e triacilgliceróis nos extratos etanólicos.

Espécie	Bufotenina*	Triacilgliceróis
<i>A. peregrina</i> (BCE)	2,9%	9,97%
<i>A. peregrina</i> (APCEF)	0,3%	12,41%
<i>A. colubrina</i> (CO)	0,1%	9,6%

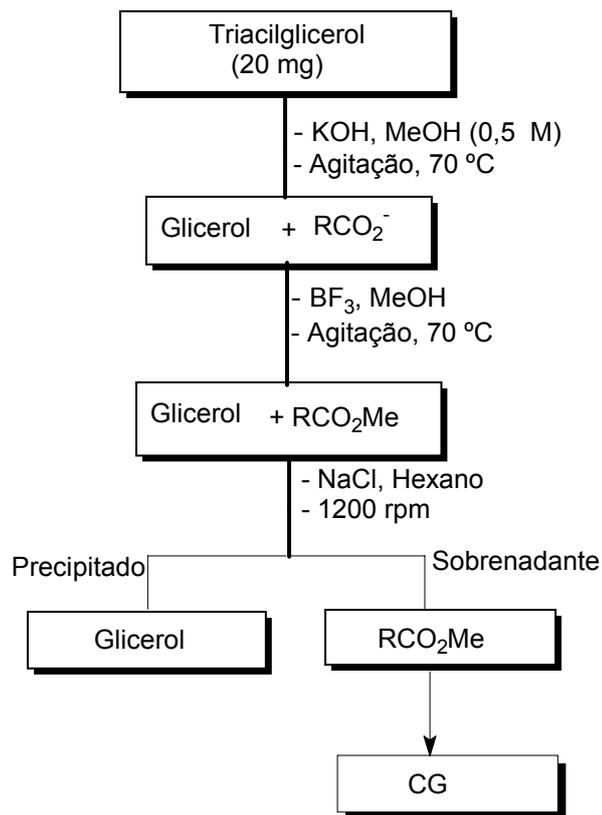
\*Nessas condições a bufotenina foi obtida como um óleo viscoso.



**Figura 13.** Cromatograma (CG-EM) da bufotenina (pico maior) e impurezas.

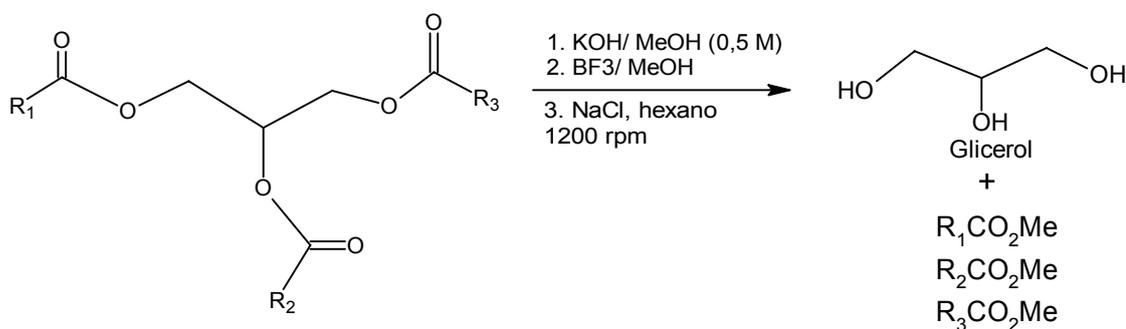
A investigação da composição do material oleoso foi realizada por meio da técnica de Cromatografia Gasosa (CG VARIAN- STAR 3400) equipado com injetor SPLIT/SPLITLESS, usando como padrão mistura de metil éster de ácidos graxos (SUPELCO 37 Component FAME MIX - Sigma Aldrich Co).<sup>67</sup> Para tanto, amostras em duplicata foram submetidas a um processo de saponificação seguida de esterificação gerando os ésteres metílicos correspondentes que se separam da fração mais polar por centrifugação, podendo ser analisados por CG (Fluxograma 2), (anexos 8 - 11, páginas 65 - 68).

<sup>67</sup> Catálogo nº 47885-U, Supelco 37, Sigma-Aldrich Co.



**Fluxograma 2** - Saponificação e esterificação do óleo extraído de *A. peregrina*.

Como mostrado no esquema abaixo, o triacilglicerol sofre uma saponificação em KOH/MeOH, com agitação e aquecimento e na subsequente reação com BF<sub>3</sub>/MeOH, os ácidos graxos sofrem esterificação gerando os ésteres metílicos correspondentes (Esquema 11).



**Esquema 11.** Equação química da saponificação/esterificação de um triacilglicerol genérico.

Como mostrado na Tabela 3, a saponificação seguida de esterificação da fração oleosa sugere que *A. peregrina* apresenta composição e teores variados em termos de ácidos graxos, incluindo outros componentes ácidos de cadeia menor (apenas os ácidos graxos em quantidade significativa foram apresentados na tabela).

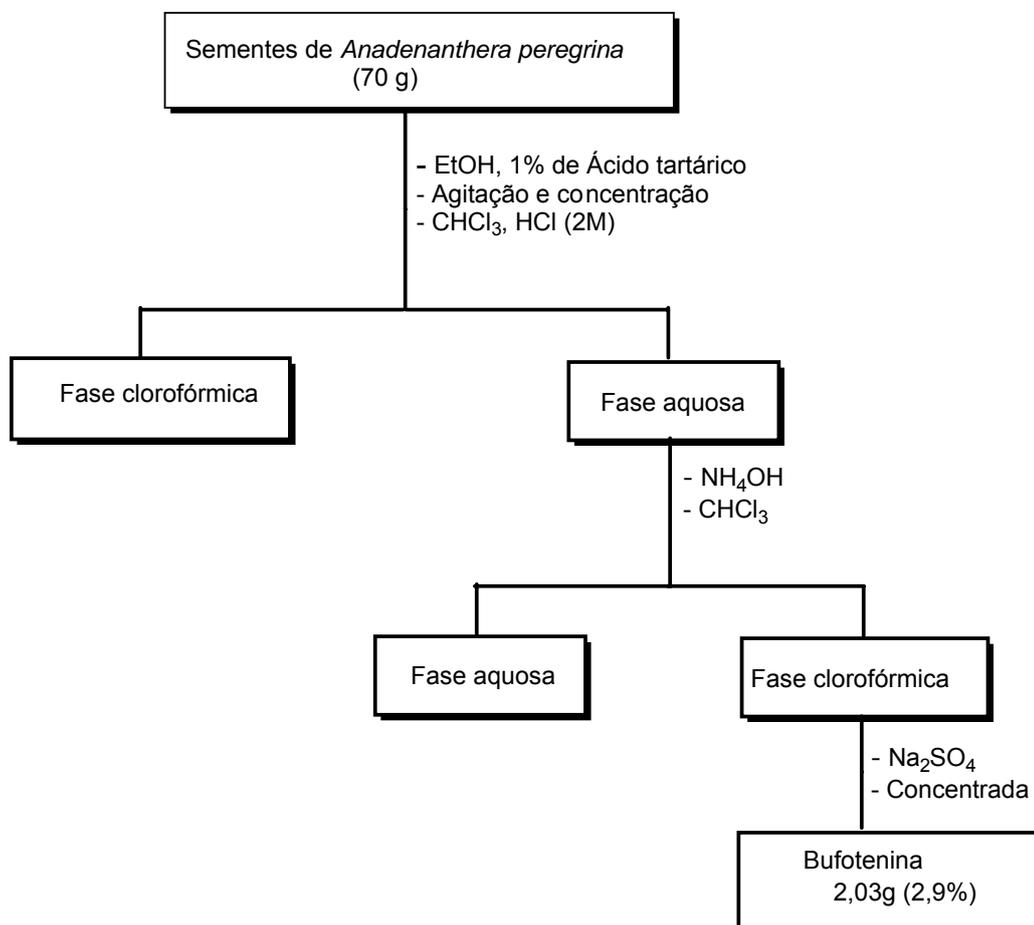
**Tabela 3.** Composição química da fração oleosa de sementes de *A. peregrina*\*.

Ácido correspondente	Teor %
Ácido cis-11-eicosenóico (C 20:1)	2,0
Ácido linoléico (C 18:2n)	1,6
Ácido oléico (C 18:1n)	4,0
Ácido esteárico (C 18:0)	0,9
Ácido heptdecanóico (C 17:0)	8,5
Ácido palmítico (C 16:0)	4,4
Ácido miristoléico (C 14:1)	46
Ácido tridecanóico (C 13:0)	17,4
Ácido undecanóico (C 11:0)	0,8
Ácido cáprico (C 10:0)	7,4
Ácido caprílico (C 8:0)	1,3
Ácido capróico (C 6:0)	1,0
Ácido butírico (C 4:0)	3,2

\* Composição e teores relativos ao metil ésteres gerados.

Após separação de todos os compostos da semente, conclui-se que as sementes de *A. peregrina* (BCE e APCEF) e *A. colubrina* (CO) apresentam apenas bufotenina e triacilgliceróis (Tabela 2 e 3), nenhum dos outros alcalóides identificados por Fellows e Bell<sup>28</sup> em *Piptadenia peregrina* (originárias das Ilhas Caribenhas) foi encontrado. A espécie *A. peregrina* (var. *peregrina*) apresentou maior teor de bufotenina.

A técnica de extração simples pode ser utilizada para fazer uma separação (fracionamento) usando solventes quimicamente ativos ou solventes de reação capazes de reagir com o soluto para dar origem a um composto mais solúvel. Extrações com solventes de reação podem ser usadas para separar ácidos carboxílicos, fenóis e aminas de substâncias neutras, aplicando a variação do pKa destes substratos. Ácidos e bases orgânicas podem ser dirigidas para qualquer uma das fases de extração, aquosa ou orgânica, pelo ajuste do pH da fase aquosa. O método de Stromberg<sup>25</sup> baseia-se num processo extrativo envolvendo variação de pH e solventes de reação, de acordo com o Fluxograma 3.



**Fluxograma 3.** Obtenção da bufotenina de sementes de *Anadenanthera* segundo o método de Stromberg<sup>25</sup>.

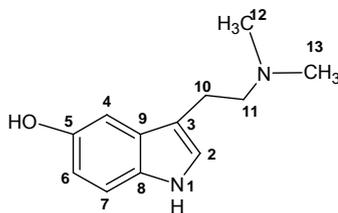
Por essa metodologia a bufotenina foi isolada como um sólido amarelado que após recristalização de AcOEt-hexano forneceu um sólido (Figura 14), com ponto de fusão 155 °C (literatura: 146,5 °C)<sup>25</sup>.



**Figura 14.** Bufotenina pura: sólido amarelado.

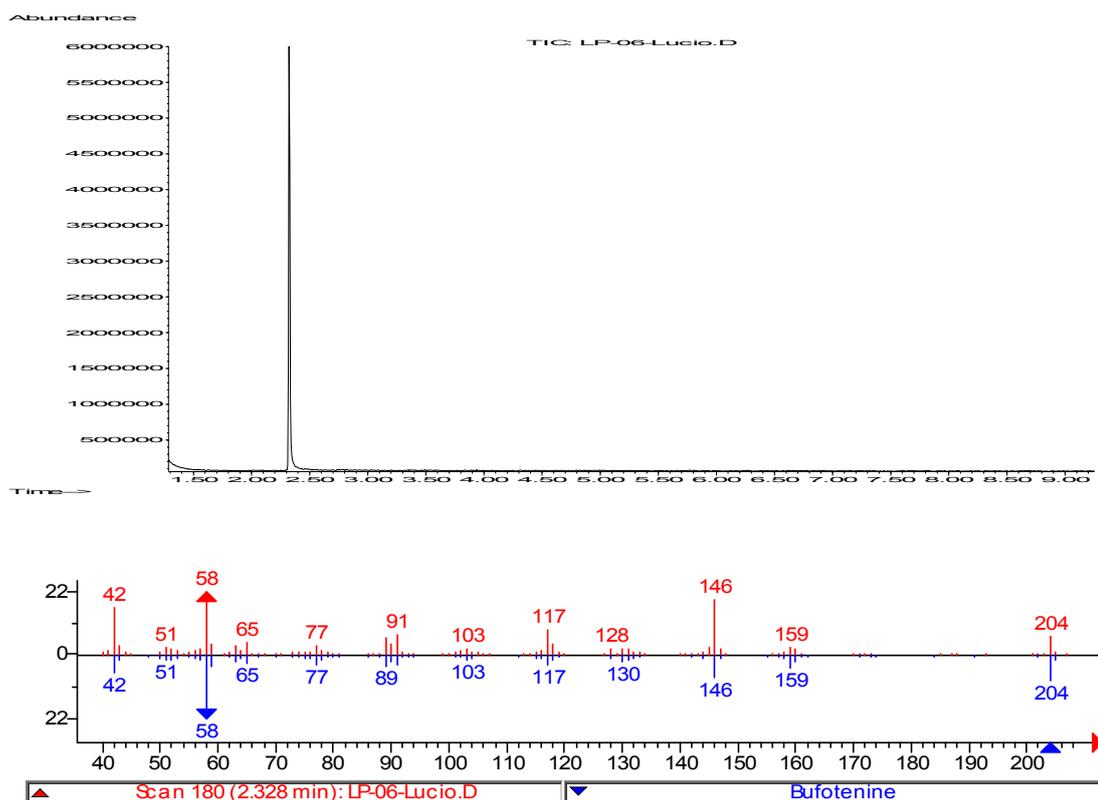
A bufotenina assim isolada foi caracterizada por métodos espectroscópicos (IV, RMN<sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C) e CG-EM. As espécies analisadas, *Anadenanthera peregrina* (Figura 10 e 12) oriunda da BCE e APCEF, vars. *Peregrina* (anexos 2 - 7, páginas 59 - 64) e *falcata* (anexos 12 - 14, páginas 69 - 71) e *Anadenanthera colubrina* coletada no CO, var. *cebil* (anexos 15 - 17, páginas 72 - 74), apresentaram os mesmos componentes polares. Na Tabela 4 são apresentadas todas as atribuições dos hidrogênios e carbonos, de acordo com a numeração dos átomos.

**Tabela 4:** Dados espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  da bufotenina isolada. Os deslocamentos químicos estão apresentados em  $\delta$  (ppm) e as constantes de acoplamento em (Hz).



No	$\delta$ (PPM)	$\delta\text{H(m, J)}$
C		-
C-2	102,5	-
C-3	111,8	-
C-4	123,2	-
C-5	150,4	-
C-6	111,4	-
C-7	111,9	-
C-8	131,1	-
C-9	128,2	-
C-10	23,4	-
C-11	60,2	-
C-12	45,3	-
C-13	45,3	-
H		
NH	10,42	s
H-2	6,80	d ( 2,4 Hz)
H-4	7,02	d ( 1,5Hz)
H-6	6,59	(dd (8,7 e 2,4 Hz)
H-7	7,11	dd ( 8,7 e 0,6 Hz)
H-10	2,73	m
H-11	2,49	m
H-12	2,20	s
H-13	2,20	s

Adicionalmente, a amostra de bufotenina foi analisada por CG-EM. O cromatograma demonstrou que a amostra apresentava acentuado grau de pureza (Figura 15a). A comparação do espectro de massa da amostra com o espectro da bufotenina disponível na biblioteca eletrônica do aparelho mostrou a perfeita sobreposição dos picos, confirmando a identidade da amostra (Figura 15b).



**Figura 15. A** - Cromatograma gasoso da amostra de bufotenina sólida. **B** - Comparação do espectro de massa da bufotenina com dados da biblioteca virtual (bufotenina = biblioteca virtual, bufotenina= amostra analisada).

A identidade do alcalóide também foi confirmada por meio da formação do monopícrato de bufotenina,<sup>68</sup> sólido vermelho (Figura 16),  $R_f$  0,25 eluente metanol p.f. 166-168 °C, enquanto que a literatura<sup>25,69</sup> descreve valores 0,25 e 170°C. Adicionalmente, o pícrato foi caracterizado por métodos espectroscópicos (IV, RMN  $H^1$  e RMN  $C^{13}$ ), (anexos 18 – 20, pág. 75 - 77).



**Figura 16.** Cristais de pícrato de bufotenina

<sup>68</sup> Armarego, W .L. F; Perrin, D. D; *Chemical Methods used in Purification*. ,4 ed, **1996**, 51.

<sup>69</sup> Iacobucci, G. A.; Ruveda, E. A.; *Phytochemistry*, **1964**, 3, 3465.

Os diferentes processos extrativos foram executados várias vezes a fim de quantificar o teor em alcalóides e verificar qual o método mais eficiente para obtenção da bufotenina (Tabela 5).

**Tabela 5.** Resultados dos processos extrativos com *Anadenanthera peregrina* (BCE).

Entrada	Método de extração	Condições	Resultados (rend. % em relação à massa de semente; técnica de purificação)
1	Extração em Soxhlet	1. EtOH, 60 h 2. Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , concentrada 3. Coluna Cromatográfica	Presença de triacilgliceróis (9.3%) e bufotenina (cerca de 0,3%), após cromatografia em coluna.
2	Método de Stromberg	1. EtOH, ácido tartárico 2. HCl 2M, CHCl <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O 3. NH <sub>4</sub> OH, CHCl <sub>3</sub> 4. Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Isolamento de bufotenina pura (cerca de 2,9%), após recristalização em AcOEt/hexano 3:1.

Como mostrado na Tabela 5, nas diferentes metodologias observou-se a presença de bufotenina nos extratos. O método de Stromberg (Entrada 2) mostrou-se mais eficiente para obtenção da bufotenina pura, por recristalização direta do extrato. Para isolamento da bufotenina quando da utilização dos outros métodos extrativos avaliados foram empregadas diversas condições (recristalização direta, extração com solução diluída de HCl e coluna cromatográfica). Apenas quando do uso da cromatografia em coluna, o alcalóide foi isolado em rendimento inferior ao método de Stromberg, porém como um óleo viscoso e amarelado, que não solidificou, mesmo quando submetido a diversas tentativas de recristalização.

Em função da eficiência (rendimento, aspecto físico) o método de Stromberg foi o eleito para acúmulo de bufotenina a ser utilizada na etapa de modificação química. Para obtenção e caracterização dos outros constituintes químicos das espécies em estudo, a metodologia de extração em soxhlet mostrou-se mais eficiente.

## 4.2. Modificações químicas na bufotenina

### 4.2.1. Preparação de éteres da bufotenina

Devido a acidez e baixo potencial redox do grupo fenólico, quando envolvidos em rotas sintéticas, a sua proteção para manipulações químicas posteriores torna-se obrigatória. As reações de proteção de grupos fenólicos requerem o uso de grupos protetores estáveis e, em certos casos, a remoção destes torna-se um problema pois, em geral, o núcleo fenólico é cercado por sensíveis funcionalidades. Tipicamente, aril alquil éteres apresentam uma elevada estabilidade, naturalmente isso significa que as suas clivagem são drásticas.<sup>70</sup>

Geralmente, as alquilações de compostos com hidrogênios ácidos são classicamente efetuadas em meio homogêneo, com a desprotonação do substrato ácido por uma base forte não nucleofílica (em geral de custo elevado), seguido por reações do ânion formado com um agente alquilante. Essas operações na maioria das vezes requerem condições anidras e atmosfera inerte.<sup>71</sup> A técnica de CTF permite que essa reação seja realizada em meio aquoso e em frasco aberto, sem o inconveniente de reações colaterais, que poderiam ocorrer nos procedimentos clássicos.<sup>72</sup>

Neste estudo, diversas metodologias foram tentadas para realizar a *o*-metilação da bufotenina e os resultados encontram-se registrados na Tabela 6. As reações de metilação foram realizadas de acordo com protocolos previamente estabelecidos no nosso laboratório e procedimentos descritos na literatura para grupos fenólicos.

**Tabela 6.** Resultado das tentativas de metilação.

Entrada	Reagentes e condições	Resultados
1	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , NaOH aq, ~10h.	Desaparecimento da matéria-prima e não isolamento de produto.
2	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , EtOH, NaOH 2M, refluxo, ~4h.	Formação de produto solúvel em água e não isolado.
3	Mel, acetona, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , refluxo, 4 h.	Formação de produto solúvel em água e não isolado.

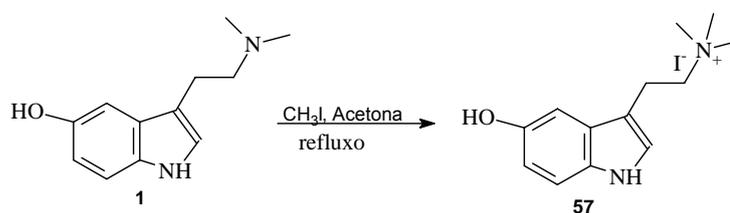
<sup>70</sup> Marette, C; Larrouquet; Tisnes, P; Deloye, J. B; Gras, E.; *Tetrahedron Lett.* 47, **2006**, 6947.

<sup>71</sup> Greene, T. W; Wuts, G .M; *Protective Groups in Organic Synthesis.* 3 ed. **1998**, 246.

<sup>72</sup> Lang, E. S.; Comasseto, J. V.; *Quim. Nova*, **1988**, 11, 238.

Inicialmente, a bufotenina foi submetida a tratamento com sulfato de dimetila sob condições de transferência de fase, com diclorometano e hidróxido de sódio 2M, procedimento usual no nosso laboratório. Nessas condições, observou-se o desaparecimento da matéria-prima, porém não foi possível o isolamento do produto formado (Entrada 1). O emprego de sulfato de dimetila em presença de NaOH e etanol, sob condições de refluxo,<sup>73</sup> não levou a formação o produto esperado, mas de um material extremamente polar que, após elaboração da mistura reacional, migrou para fase aquosa (Entrada 2). Suspeitamos então se tratar do produto da superalquilação da bufotenina (sal). Utilizando iodeto de metila em presença de carbonato de potássio, sob refluxo de acetona,<sup>63,74</sup> observamos a formação inicial de um produto menos polar que, na seqüência, dá origem a um produto bem mais polar (CCD) com característica de um sal. Essa hipótese mostrou-se coerente, pois após extração contínua líquido-líquido da fase aquosa usando o AcOEt como solvente foi obtido pequena quantidade de um material (cerca de 20%, Entrada 3) que na análise espectroscópica apresentou picos nas regiões características bufotenina, porém levemente modificados em termos de deslocamentos químicos e muito sinais deformados (ruídos).

Um experimento realizado no laboratório consistiu em utilizar as condições de metilação (iodeto de metila em presença de carbonato de potássio, sob refluxo de acetona) para formar o sal, evitando-se o tratamento posterior com água. Por esse procedimento, obteve-se um precipitado que foi filtrado e lavado com acetona, para isolamento de um sólido branco (70%, p f 210 °C), caracterizado por análises de RMN H<sup>1</sup> e RMN C<sup>13</sup> como sendo Iodeto de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (anexos 21 - 23, pág. 78 - 80).



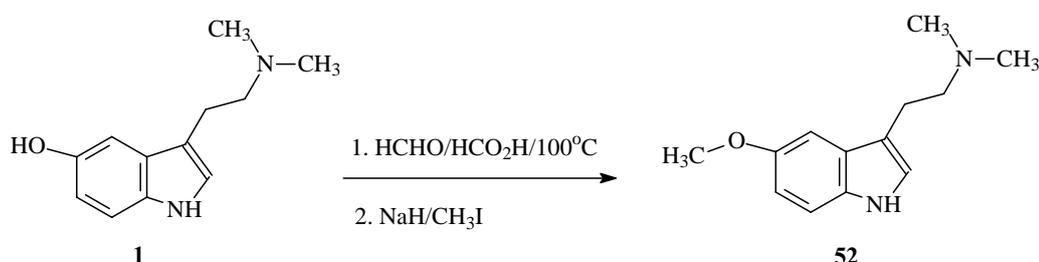
**Esquema 12.** Formação do sal de bufotenina<sup>72</sup>.

<sup>73</sup> Rabjhon, N.; Organic Syntheses. Collective Vol IV. Wiley. **1963**, 837.

<sup>74</sup> Mackenzie, A, R; Moodt, C, J, Rees, C. W; *Tetrahedron*, **1986**, 42, 3259.

Benington e colaboradores<sup>75</sup> prepararam uma série de *o*- e *N*-metilderivados da bufotenina e da dimetil-triptamina. No entanto, seus estudos apontaram para a dificuldade de se conseguir a metilação seletiva da função fenólica sem a quaternização da amina na cadeia lateral, o que resultou na mudança da seqüência sintética inicialmente planejada.

No sentido de se evitar a superalquilação, um problema comum na metilação de aminas, outras condições reacionais para proteção seletiva da hidroxila fenólica serão testadas, por exemplo, a alquilação com um grupo mais volumoso (benzil) ou, indiretamente, via a proteção do grupo amino lateral com formação do íon amínio com formaldeído, seguida de redução com ácido fórmico a 100°C, para então se tentar a metilação da hidroxila fenólica com NaH/CH<sub>3</sub>I (Esquema 13).



**Esquema 13.** Proposta para preparação indireta de *O*-metil bufotenina

#### 4.2.2. Preparação de acilderivados

Em síntese orgânica os grupos acila também são importantes agentes protetores para álcoois, aminas, sulfetos e fenóis e diversos agentes acilantes podem ser empregados com esse propósito.<sup>70</sup> No entanto, grupos acila não são tão estáveis como os alquilas, sendo facilmente hidrolisados, o que limita o seu uso e torna necessário adequar catalisadores, solventes e tempo reacional para diferentes alvos de proteção.<sup>65</sup>

A proteção na forma de grupo acetila é uma ferramenta bastante explorada na síntese de fármacos. Existem várias opções de introdução do grupo acetila em uma molécula que possui uma hidroxila fenólica. Uma estratégia clássica consiste em tratar o composto fenólico com uma mistura de anidrido acético e piridina.<sup>60</sup> A aplicação dessa metodologia, para acetilação da bufotenina levou a formação de um produto menos polar que a matéria-prima (CCD) que suspeitamos

<sup>75</sup> Benington, F.; Morin, R. D.; Clark, Leland C., Jr. *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 1977.

tratar-se do acetil derivado desejado **54**. No entanto, esse produto se apresentou muito instável, não resistindo aos procedimentos usuais de purificação para remoção da piridina, gerando um produto final com quantidade substancial de impurezas e que ainda sofria decomposição na coluna cromatográfica (espectro 24, página 81).

Em face dessas dificuldades, optamos por aplicar uma recente metodologia que utiliza  $\text{Ac}_2\text{O}$  em presença do  $\text{MgClO}_4$  como catalisador, na ausência de solvente.<sup>76</sup> Esse procedimento tem a vantagem da ausência da piridina evitando-se, portanto, o tratamento com solução ácida para sua remoção. Por cromatografia em camada delgada observou-se a formação de um produto menos polar, porém em função de problemas técnicos não foi possível a aquisição de dados espectroscópicos.

Paralelamente, a bufotenina foi submetida a tratamento com outros agentes acilantes (cloreto de cinamoíla e cloreto de benzoíla) usando  $\text{Et}_3\text{N}$  como base e em presença de quantidade catalítica de DMAP.<sup>77</sup> Em ambos os casos, foram observados o consumo total da matéria-prima e formação de produtos com baixa estabilidade e de difícil purificação. Os espectros obtidos da reação com cloreto de cinamoíla indicam a presença de um derivado cinamoíla da bufotenina. No entanto, apresentam diversos sinais adicionais que podem ser resultantes da decomposição e interferem na caracterização dos mesmos. Em função de problemas técnicos para aquisição de novos dados espectroscópicos, não foram adquiridos dados espectroscópicos da reação da bufotenina com cloreto de benzoíla. As amostras envolvidas nesse estudo foram reservadas para posterior purificação e identificação.

---

<sup>76</sup> Chakraborti, A. K.; Sharma, L.; Gulhane, R.; Shivani. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 7661

<sup>77</sup> Macor, J. E.; Cuff, A.; Cornelius, L.; *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2733.

## 5. Parte Experimental

### 5.1- Procedimentos Gerais

- As sementes foram secadas à temperatura ambiente e reduzidas a pó em um liquidificador doméstico. O material pulverizado foi reservado à temperatura ambiente, protegido de luz e umidade.

- Os reagentes e solventes foram adquiridos de fornecedores comerciais e utilizados sem purificação adicional, exceto nos procedimentos e reações que requereram um maior grau de pureza.

- As análises em cromatografia em camada delgada foram efetuadas em placas de sílica gel suportada em alumínio 60F<sub>254</sub>/0,2 mm (Merck), utilizando como eluente, acetato de etila, etanol-acetato de etila; metanol, metanol-ácido acético em concentrações apropriadas e como reveladores luz ultravioleta, iodo, solução de vanilina sulfúrica, DMPH.

- As purificações foram realizadas por recristalização; cromatografia rápida sob pressão (Flash Column Chromatography) ou por cromatografia rápida em coluna seca (Dry-Flash Column Chromatography), usando como suporte sílica gel 60 (0,04-0,06 mm) e como eluentes: hexano, acetato de etila, etanol, metanol, isolados e na forma de misturas em concentrações apropriadas.

- Os pontos de fusão foram determinados no bloco de Köfler e se encontram registrados sem correção.

- Os espectros de IV foram registrados nos espectrômetros Bomem Hartmann & Braun (MB – 100), com valores expressos em  $\text{cm}^{-1}$ .

- Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $\text{C}^{13}$  foram registrados em espectrômetros Varian (7.05 T), utilizando como solvente,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , MeOD ou  $\text{DMSO-d}_6$ . Os deslocamentos químicos foram expressos em  $\delta$  (ppm) com referência ao TMS (RMN  $^1\text{H}$ ) e aos deutérios dos solventes usados (RMN  $\text{C}^{13}$ ) e os padrões de acoplamento foram definidos por: s (simpleto), d (duplete), t (triplete), m (multiplete), dd (duplo duplete) e sl (singleto largo). Alguns espectros foram processados no Programa Mestre C. O assinalamento dos hidrogênios e carbonos foi confirmado por experimentos uni e bidimensionais (APT e HMQC).

- As análises por Cromatografia Gasosa foram realizadas em CG VARIAN-STAR 3400 equipado com injetor SPLIT/SPLITLESS, com detector FID. Condições: Coluna CAPTAR de sílica fundida (Código SP<sup>TM</sup> - 2380) de 300 m X 0,25 mm X 0,20 µm (SUPELCO - Sigma Aldrich Co); Padrão: mistura de metil éster de ácidos (SUPELCO 37 Component FAME MIX - Sigma Aldrich Co); Método: corrida de 30 min com N<sub>2</sub> como gás de arraste, temperatura da coluna (140 – 240 C°), a temperatura do injetor e detector (260°C).

- Os espectros de massas foram obtidos em aparelho de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), utilizando Cromatógrafo Agilent Technologies 6890N, detector seletivo de massas (operando a 70 eV) Agilent Technologies 5973 Inert e coluna DB-5MS.

## **5.2. Identificação botânica de espécies de *Anadenanthera* sp.**

As partes da plantas (folhas, flores e sementes) de duas espécies do gênero *Anadenanthera* foram coletadas, de agosto a setembro de 2006, em três localidades de Brasília: nos arredores da Biblioteca Central (BCE), Centro Olímpico (CO) Universidade de Brasília (UnB) e da Associação dos Profissionais da Caixa Econômica Federal (APCEF). Exsicatas foram depositadas no Herbarium da Universidade de Brasília (UB: Dos Santos, M.L. e Logrado L.P.L.), sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dra. Carolyn Elinora Barnes Proença (Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UnB) e as espécies foram identificadas pelo Prof. Dr. Christopher William Fagg (Professor Visitante do Departamento de Engenharia Florestal da Faculdade de Tecnologia da UnB), de acordo com protocolos convencionais.

### **5.3. Fracionamento e caracterização dos componentes químicos das sementes de *Anadenanthera peregrina* (BCE e APCEF) e *Anadenanthera colubrina* (CO).**

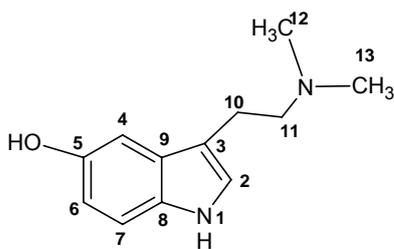
**5.3.1. Extração pelo método de Stromberg.**<sup>25</sup> 70 g de sementes secas e trituradas foram agitadas em 300 mL de etanol a 96% e 1% ácido tartárico durante quatro horas, com uso de agitador mecânico. A suspensão foi filtrada em funil de Buchner, a extração foi repetida com mais uma porção de 300 mL de etanol a 96% e 1% ácido tartárico e os filtrados foram combinados, concentrados para um volume de 150 mL. O resíduo foi diluído com 50 mL de água destilada e à solução foram acrescentados 3 mL de HCl 2 M. A solução resultante (pH em torno de 3-4) foi transferida para um funil de separação e lavada por seis vezes com 70 mL de clorofórmio. A fase aquosa foi alcalinizada a pH 8-9 com hidróxido de amônio concentrado e, em seguida, novamente extraída por oito vezes com 70 mL de clorofórmio. Os extratos combinados de clorofórmio foram concentrados até o surgimento de um óleo amarelado que re-dissolvido com aquecimento em acetato de etila e hexano. Após resfriamento, observou-se a formação de um sólido marrom escuro. A água mãe foi filtrada sob pressão reduzida e a massa sólida foi lavada com acetato de etila frio para fornecer 2,15 g de um sólido caracterizado como sendo a bufotenina (**1**), rendimento de 2,9% em relação ao extrato bruto. Após recristalização em AcOEt-hexano obteve-se um sólido amarelo-esverdeado com ponto de fusão 155 °C (literatura: 146,5 °C).<sup>20</sup>

**5.3.2. Extração em Soxhlet.** 20g de sementes trituradas foram colocados em um aparelho Soxhlet e, extraídas com etanol (diferentes tempos de extração foram testados, Tabela 1, página 28). O extrato etanólico foi concentrado a um óleo esverdeado no rotoevaporador. O resíduo oleoso foi impregnado em sílica gel, a temperatura ambiente, e cromatografado em coluna (Dry-Flash Column Chromatography), usando a seguinte seqüência de solventes: AcOEt; AcOEt-EtOH e EtOH puro. Foram obtidas duas frações: uma mais polar caracterizada por métodos espectrométricos como sendo a bufotenina (**1**) (rendimento de 0.3% em relação ao extrato orgânico bruto) e quantidade substancial de uma fração menos polar, com

aspecto oleaginoso caracterizado como uma mistura de triacilgliceróis, conforme descrito abaixo.

**5.3.3. Saponificação e esterificação do óleo<sup>78</sup>.** 20 mg do óleo foi tratado com 1,5 mL de uma solução de metanólica de KOH ( 0,5 M), por 1 minuto, sob agitação. A mistura foi colocada em banho-maria a 70°C por 5 minutos e depois resfriada à temperatura ambiente. A essa mistura foi adicionada 2 mL de BF<sub>3</sub> em metanol por 1 minuto, sob agitação, e depois em banho-maria por 5 minutos a 70°C. A separação do éster formado foi realizada por tratamento da mistura de reação com 2,5 mL de NaCl saturado em 1 mL de hexano, seguida de centrifugação por 10 minutos (1200 rpm). O sobrenadante (fase hexânica) foi analisado por CG (VARIAN- STAR 3400 equipado com injetor SPLIT/SPLITLESS, com detector FID). (Anexos 8 - 11, páginas 65 - 68)

**5.3.4. Propriedades físico-químicas e espectrométricas de bufotenina (1).** As propriedades físico-químicas e espectrométricas da bufotenina isolada das diferentes espécies (*A. peregrina*, BCE e APCEF, e *A. colubrina*, CO) pelo método de Stromberg apresentaram-se similares (anexos de 2 - 7 e 12 - 17, páginas 59 - 64 e 69 - 74):



**Constantes físico-químicas:** R<sub>f</sub> 0,49 (eluente MeOH), p.f. 155 °C (literatura: R<sub>f</sub> 0,27, pf. 146,5 °C).<sup>25</sup>

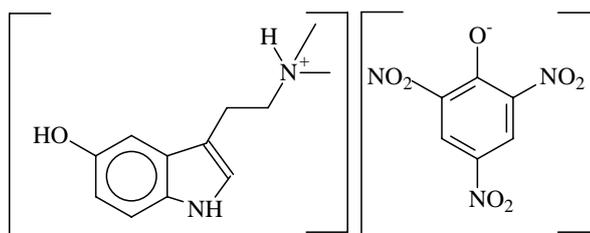
**IV (KBr,  $\nu_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3399, 3237;

**RNM H<sup>1</sup>** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 10,42 (s, 1H); 7,11 (dd, J= 8,7e 0,6 Hz, 1H); 7,02 (d, J= 2,4Hz, 1H); 6,80 (d, J= 1,5 Hz, 1H); 6,59 (dd, J= 8,7 Hz e 2,4 Hz, 1H), 2,72 (m, 2H), 2,20 (s, 6H).

<sup>78</sup> Knothe, G.; Gerpen, J. V.; Krahl, J.; Ramos, L.P. Manual de Biodiesel, Ed. Edgarb Blucher, 2006.

**RNM C<sup>13</sup>** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 123,2 (C-4); 111,8 (C-3); 102,5 (C-2); 150,4 (C-5); 111,4 (C-6); 111,9 (C-7); 128,2 (C-9); 131,1 (C-8); 23,4 (C-10); 60,2 (C-11); 45,3 (C-12 e C-13).

**5.3.5. Monopicrato de bufotenina.**<sup>68</sup> Em um balão de 50 mL adaptado de um condensador de refluxo, adicionou-se 0,15 g do extrato etanólico concentrado dissolvido em 5 mL etanol. A esta mistura, foram adicionados 5 mL de solução saturada de ácido pícrico (2,4,6-trinitrofenol) em 5 mL etanol, mantendo a mistura sob agitação e refluxo até que toda matéria prima fosse consumida (CCD, MeOH). Ao final de 20 min, a mistura reacional foi resfriada e filtrada a vácuo, lavando-se com pequena quantidade de etanol gelado. O sólido vermelho foi caracterizado por métodos espectroscópicos (anexos de 18 a 20, páginas 75 a 77) como monopicrato de bufotenina ( 90%; R<sub>f</sub> 0,25 (AcOEt/ MeOH 1:1) e pf 166-168 °C (literatura: R<sub>f</sub> 0,25; pf 170 °C)<sup>68</sup>



Monopicrato de bufotenina

**IV (KBr, ν<sub>máx</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3374 cm<sup>-1</sup> (CH – Ar); 1574 e 1335 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>);

**RNM H<sup>1</sup>** (300 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>.d<sub>6</sub>) δ: 7,17 (m, 1H); 7,20 (s, 1H); 2,29 (s, 1H), 8,71 (s, 1 H)

**RMN C<sup>13</sup>** (75MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>.d<sub>6</sub>) δ: 151,52 (C-5), 103,20 (C-6), 21, 95(C-10), 59,25 (C-11), 44,04 (C12 e C-13), 126,37 (C-16 e C-18).

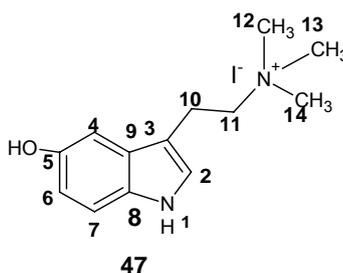
## 5.4. Modificações químicas da bufotenina

**5.4.1. Iodeto de 5-hidróxi-N,N,N-trimetiltriptamina (52).** Em um balão de 100 mL, foram adicionados 6 mL de acetona e 200mg (0,98 mmol) de bufotenina. Em seguida, foi adicionado cerca de 1 mL (1,7 mmol) de iodeto de metila e a mistura foi mantida sob refluxo por 3h. O sólido formado foi filtrado e lavado com cerca de 10 mL de acetona gelada. Obteve-se 160 mg do sólido branco (pf: 207-210 C°),

caracterizado como sendo iodeto de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (anexos 21 – 23, páginas 78 - 80).

**RNM H<sup>1</sup>** (300 MHz, DMSO d<sub>6</sub>) δ: 6,88 (s,1H); 7,13 (s, 1H); 10.65 (m, 2H); 3,16 (m, 2H).

**RMN C<sup>13</sup>** (75MHz, DMSO d<sub>6</sub>) δ: 112, 56 (C-2); 102,88 (C-4); 151,05 (C-6); 107,98 (C-7); 128,08 (C-8); 124,52 (C-9); 19,38 (C-10); 65,83 (C-11); 40,15 (C-12, 13, 14).



**5.4.2. Cinamato de bufotenina (55)** Em um balão de 50 mL, adaptado com um condensador de refluxo, foram adicionados 204 mg de bufotenina (1,0 mmol) dissolvidos em diclorometano seco (6 mL), 0,2 mL de Et<sub>3</sub>N (1,2 eq), 200 mg de cloreto de cinamóila (1,2 eq) e uma quantidade catalítica de DMAP. A mistura foi deixada sob refluxo e agitação, acompanhada por CCD MeOH: AcOH (gotas de AcOH). Ao final de 8 horas, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação e lavada sequencialmente com 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> (três vezes) e com 7 mL de salina. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e, após a evaporação do solvente, o resíduo foi dissolvido em acetato de etila/hexano e colocado na geladeira para cristalização. Não havendo a cristalização, o solvente foi evaporado, o resíduo foi filtrado em coluna seca e rápida (SiO<sub>2</sub>, MeOH; AcOEt) e fração representativa recolhida foi submetida a análise espectroscópica (anexo 24, página 81) pela qual foram observados sinais característicos de uma espécie de cinamato de bufotenina.

**RNM H<sup>1</sup>** (75MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>- d<sub>6</sub>) δ\*: 2,35 (s, 1H); 6,64 (d, 1H); 7,9 (d, 1H), 9,27 (s, 1H).

\*Sinais característicos de um cinamato de bufotenina.

**5.4.3. Acetato de bufotenina (54).** Em um balão de 50 mL foram adicionados 100 mg (0,5 mmol) de bufotenina dissolvidos em 1 mL de anidrido acético e 0,1 mL de piridina. A mistura foi deixada sob agitação e acompanhada por CCD MeOH:ACO (gotas de AcOH). Ao final de 3 horas, a mistura reacional foi dissolvida em AcOEt,

transferida para um funil de separação e lavada com salina. A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e, após a evaporação do solvente, o resíduo foi dissolvido em acetato de etila/hexano e colocado na geladeira para cristalização. Não havendo a cristalização, o solvente foi evaporado. O produto acetilado foi recolhida foi submetida a análise espectroscópica (anexo 25, página 82 pela qual foram observados sinais característicos de uma espécie de acetato de bufotenina.

$^1\text{H RMN}$  (75MHz, *DMSO*)  $\delta^*$ : 2,29

\*Sinais característicos de um acetato de bufotenina.

**5.4.4. Benzoato de bufotenina (56).** Em um balão de 50 mL, adaptado com um condensador de refluxo, foram adicionados 100 mg (0,5 mmol) de bufotenina dissolvidos em 5 mL de diclorometano seco (5 mL), 0,1 mL  $\text{Et}_3\text{N}$  (1.2 eq, 0.6 mmol), 0,1 mL cloreto de benzoíla (84mg, 1.2 eq, 0,6 mmol) e DMAP (quantidade catalítica). A mistura foi deixada sob refluxo e agitação, acompanhada por CCD MeOH:ACOH (gotas de AcOH). Ao final de 3 horas, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação e lavada sequencialmente com 6 mL de  $\text{NaHCO}_3$  (três vezes) e com 5 mL de salina. A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e, após a evaporação do solvente. As amostras envolvidas nesse estudo foram reservadas para posterior purificação e identificação devido a problemas operacionais.

## 6. Conclusões e Perspectivas

A necessidade de se explorar os produtos naturais oriundos da grande biodiversidade brasileira, principalmente o Cerrado, como fonte de inspiração para o planejamento racional de novos candidatos a fármacos potentes e seletivos que permitam o controle da evolução de doenças do SNC, que apresentem baixo perfil de toxicidade, justifica a importância da continuidade desse projeto. Um dos objetivos do presente estudo é tornar mais objetivas e menos dispendiosas as pesquisas por constituintes químicos de plantas, através do desenvolvimento técnicas de ensaios químicos e bioquímicos para monitoramento e seleção de extratos, frações de extratos e substâncias puras bio/farmacologicamente úteis.

As espécies coletadas foram identificadas como sendo *Anadenanthera peregrina* (vars. *peregrina* e *falcata*) e *Anadenanthera colubrina* (var. *cebil*). As sementes foram submetidas a diversos métodos extrativos. O extrato etanólico (Soxhlet) das sementes apresentou uma fração menos polar e abundante composta basicamente por triglicerídeos de ácidos graxos e uma fração mais polar constituída apenas pelo alcalóide indólico bufotenina. O método de Stromberg demonstrou ser um método mais eficiente para a extração, purificação e quantificação da bufotenina. A presença de bufotenina em extratos das variedades foi confirmada por FT-IR, <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN e CG-EM. O estudo fitoquímico confirmou que estas espécies são fontes promissoras da bufotenina (cerca de 2,9 %). Não foram encontrados os outros alcalóides citados na literatura.

A literatura sugere que modificações estruturais adequadas na bufotenina podem fornecer compostos com elevado potencial bioativo, a exemplo dos análogos ou derivados da serotonina. Neste estudo foram empregadas algumas metodologias para modificações simples da bufotenina para obtenção de derivados fenólicos (metil éter, benzil éter, cinamato e benzoato). No entanto, essas transformações não se mostraram triviais em função da competitividade das funções amino e fenólica. Muitas dessas observações se encontram registradas na literatura.

No presente momento, as metodologias de proteção seletiva do grupo fenólico estão sendo aperfeiçoadas visando à obtenção de derivados com melhor padrão de qualidade e em quantidade suficiente para avaliação da atividade biológica e utilização na preparação de indolaminas mais complexas, como por exemplo, derivados  $\beta$ -carbolínicos.

## 7. Referências Bibliográficas

1. Montanari, C. A.; Bonzani, V. S.; *Quim. Nova*, **2001**, 24, 105.
2. Newman, D..J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. J. *Nat. Prod.* 2003, 60, 1022.
3. Lewis, G. P.; Schrire, B.; Mackinder, B. & Lock, M.: *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens, Kew, **2005**, 577.
4. Almeida, S .P.; Proença, C.E.B.; Sano, S. M. e Ribeiro, F. J. *Cerrado - Espécies vegetais úteis*. Planaltina DF, EMBRAPA. **1998**, 35.
5. Sprent, J. I. **1994**. Nitrogen acquisition systems in the Leguminosae. In : Sprent, J. I. & McKey, D. (eds.) *Advances in Legume Systematics*, part 5. The Nitrogen Factor. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 1-16.
6. Altschul, S. von R. A taxonomic study of the genus *Anadenanthera*. In: *Contributions to the Gray Herbarium*. **1964**, 193, 1-65.
7. Fagg, C. W . Leguminosas da APA de Cafuringa. In: Netto, PB, Mecnas, V.V. e Cardoso ES (Edits) *APA de Cafuringa, a última fronteira natural do DF*. Brasília: Semarh. **2005**, 147-152 e 453-457.
8. Almeida, E. R. *Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos*. Heemus ed. Limitada. **1993**, 341
9. Lorenzi, H. *Árvores brasileiras - Manual de Identificação e cultivo de Plantas arbóreas Nativas do Brasil*- ed. Plantarum, Nova Odessa vol I- São Paulo –SP, **1992**, 352.
10. Carvalho, P. E. R. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Colombo: EMBRAPA-CNPQ **1994**. 640.
11. Corrêa, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura / Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v1, **1984**, 747.
12. Milano, M. S.; Rizzi, N. E. e Kaniaok, V. C. *Princípios básicos de manejo e administração de áreas silvestres*. Curitiba: ITCF, **1986**, 55.
13. Maia, G. N. *Caatinga: Arvores e arbustos e suas utilidades*. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora. **2004**, 104-113.
14. Tokarnia, C. H; Peixoto, P. V.; Dobereiner, L. **1994**. Intoxicação experimental por piptadenia macrocarpa (*Leg. Mimodoideae*) em bovinos. *Pesquisa veterinária brasileira*. 14 (2/3): 57-63

15. Rezende, S. J. Barbatimão. Ruralidade. **1975**, 17.
16. Correia, C. R. D.; Síntese Estereosseletiva de alcalóides e N-heterociclo, UFSCar, **2001**.
17. Kuboyama, T., Yokoshima, S., Tokuyama, H., Fukuyama, T.; *PNAS*, **2004** ,101 (33), 11966.
18. M. Kutchan. *The Plant Cell*, **1995**, 7, 1059.
19. Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann,G.; Mello,J.C.P., Mentz,L.A.; Petrovick, P.R.; *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Editora UFSC. **2007**.
20. Goossens, A.; Rischer, H.; *Phytochem Rev.* **2007**, 6, 35.
21. Facchini, P. J.; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **2001**, 52, 29.
22. Sundberg, R.J. *Indoles*, Acaemic Press Inc., Lodon, **1996**.
23. Phlipson, J. D.; Zenk, M. H.; *Índole and Biogenetically Realated Alkalods*. *Acaddemic Inc.* New York.**1980**
24. Austin, J. F.; McMillan, D.W.C.; *J. Am Chem. Soc.* **2002**, 124, 1172.
25. Stromberg, V. L.; *J.Med. Chem.* **1954**, 76, 1707.
26. Fish, M. S, Joonson, M. e Horning, E. C.; *J. American Chem. Soc.* **1955**, 77, 5892-95.
27. Pachter, I. J; Zacarias, D. E , Ribeiro, O.; *J. Org. Chem.* **1959**, 24, 1285-87.
28. Fellows, L. E.; Bell, E. A.; *Phytochemistry*, **1971**, 10, 2083.
29. Karkkainem, J; Raisanen, M, *Biological Psychiatry*, **1992**, 32, 1042-1048.
30. Falkenerg, G. *Acta Crystallographica*, **1972**, 28 (Pt11), B, 3219
31. Costa, T. O. G.; Morales, R. A. V.; Brito, J. P.; Gordo, M.; Pinto , A. C .; Bloch Jr. C.; *Toxicon* **2005**, 46, 371.
32. Erspamer, V. In: Heatwole, H., Barthalmus, G.T. (Eds.), *Bioactive Secretions of the Amphibian Integument Amphibian Biology. The Integument*, vol. 1. Ed Surray Beatty and Sous, Chipping Norton, Australia, **1994**, 178–350.
33. Habermehl, G.; Preusser, H. J. *Z. Naturforsh B.* **1970**, 25, 1451-2.
34. Zhou, L.; Hopkins; A. A.; Huhman.; D. V.; . Sumner, L. W. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 9287.
35. Moretti, C.; Gaillard,Y.; Grenand,P.; Fabien B.F.; Prévost, J.M.; *J.Ethanopharmac.* **2006**, 106, 198.
36. Beutler, J. A.; Der Marderosian, Ara H.; *Journal of Natural Products* **1981**, 44, 422-31.

37. Fellows, L. E.; Bell, E. A.; *Phytochemistry*, **1970**, *9*, 2389.
38. Dewick, P. M.; *Medicinal Natural Products*, 2<sup>nd</sup> ed.; Wiley, New York, **2002**.
39. Sullivan, R. J.; Hagen, E. H.; *Addiction*, **2002**, *97*, 389.
40. Luckner, M. ; *Secondary Metabolism in Microorganisms, plants e a animals*, 3<sup>nd</sup>, New York **1990**.
41. Udenfriend. S.; Titus, E.; Weissbach, H.; Peterson, R. E. *JBC*, **1995**, 335.
42. Rebelatto, J.R; Morelli, J. G. S; *Fisioterapia Geriátrica*. 2<sup>ed</sup> , **2007**, 241.
43. Yu, Q.; Holloway, H. W.; Utsuki, T.; Brossi, A.; Greig, N. H. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1855.
44. Zhu, X.; Greig, N. H.; Holloway, H. W.; Whittaker, N. F.; Brossi, A.; Yu, Q. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4861 Kang, K.; Jang, S.M.; Kang, S.; Back, K. *Plant Sci.* **2005**, *168*, 783.
45. Romeiro, L. A.S.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova*, **2003**, *26*, 347-358,
46. Marais, W.; Holzapfel, C. W.; *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3681.
47. Kumarasamy, Y.; Middleton, M.; Reid, R. G.; Nahar, L.; Sarker, S. D. *Fitoterapia* **2003**, *74*, 609;
48. Kumarasamy, Y; Middleton, M; Reid, R. G; Nahar, L; Sarker, S. D; *Fitoterapia*, 2003, 74, 609.
49. Stoll, A; Toxller, F.; Peyer, J.; Hoffman, A. *Helvetica Chimica Acta*, **1955**, *38*, 1452.
50. Kang, K.; Jang, S. M.; Kang, S.; Back, K. *Plant Sci.* **2005**, *168*, 783.
51. Paiva, L. M.; *Revista da Psicossomática* . **2006**, *1*, 16.
52. Nunes, D. S.; Rocha Filho, G. M.; Elisabethy, E.; Barata, L. E. S.; Alcalóides triptamínicos de *Piptadenia gonoacanth* (mart), *macbr* e *Anadenanthera falcata* (Benth). Speng. In: Reunião anual da Sociedade Brasileira para ao Progresso da Ciência (SBPC), Resumo 34, **1982**, Campinas - SP.
53. Migliaccio, G .P.; Shiceh, T. L. N.; Hathauay, B. A.; Nichols, D .E.; *J. Méd. Chem.* **1981**, *24*, 206
54. Gesser, P.K.; Godse, D. D.; Krull, A. H.; McMillan, J. M.; *Life Sci.* **1968**, *7*, 267.
55. (a) Roszkowski, P.; Wojtasiewicz, K.; Leniewski, A.; Maurin, J. K.; Lis, T.; Czarnocki, Z. *J. Molec. Cat. A: Chem.* **2005**, *232*, 143; (b) Zhaob, M.; Lanrong Bia, L.; Wangb, W.; Chao Wangb, C.; Baudy-Floc'hdM.; Jingfang Juc, J.; Penga, S.; *Biorganic & Med. Chem.* **2006**, *14*, 6998.

56. Bresolin T. M. B, Cechinel Filho V.(org.) Ciências Farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. Itajaí: Ed. Univali, p.43-44.
57. Ho, B. T.; Taylor, D.; Mctsooc, W. M.; *Adv. Behav. Biol.* **1971**, *1*, 97
58. Dramate, K. L.; Okungn, *J.I. Plant Med.* **1977**, *31*,193
59. Callaway, J. C.; Gynther, J.; Poso, A.; Vepsalainem, J.; Airalksinem, M. M. *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, *31*,431.
60. R. Cao, Q. Chen, X. Hou, H. Chen, H. Guan, Y. Ma, W. Peng,. *Bio. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 4613-4623
61. Humphrey, G. R.; Kuethe, J. T.; *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2875.
62. Laue, T.; Plagem, A.; *Named of reactions organic chemistry*, Wiley, New York, **2000**.
63. (a) Lipińska, T.; Guibê-Ampel, E.; Petit, A.; Loupy, A. *Synth. Commun.* **1999**, *29*(8,) 1349. (b) Gribble, G. W. Recent developments in indoles ring synthesis-methology and applications. *J. Chem. Soc, Perkin Trans. I*, p. 1045-1075, 2000.
64. a) Houlihan, W. J.; Uike, Y; Parrino, V. A.; *J. Org. Chem.* **1981**,*46*,4515. b) Houlihan, W. J.; Uike, Y; Parrino, V. A.; *J. Org. Chem.* **1981**,*46*, 4511.
65. Bringmann, G; Feineis, D; Bruckner, R, God. R; Grote, C; Wesemann, W; *Europen J. of Pharmaceutical Sciences* **2006**, *28*, 412-422.
66. Mumford, P. M.; Shiers, J.J.; Tarver, G. J.; Hayes, J.F.; Shipman, M; *Tetrahedron Letters* , 2008, *49*, 3489.
67. Catálogo nº 47885-U, Supelco 37 Sigma Aldrich Co.
68. Armarego, W. L. F; Perrin, D.D; *Chemical Methods used in Purification.*, 4<sup>ed</sup>,**1996**,51.
69. Iacobucci, G. A.; Ruveda, E. A.; *Phytochemistry*, **1964**, *3*, 3465.
70. Murette, C; Larrouquet; Tisnes, P; Deloye, J, B; Gras, E;. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6947.
71. Greene, T.W; Wuts, G.M; *Protective Groups in Organic Synthesis*. 3 ed. **1998**, 246.
72. Lang, E. S.; Comasseto, J. V.; *Quim. Nova* **1988**, *11*, 238.
73. Rabjhon, N.; *Organic Syntheses. Collective Vol IV*. Wiley. **1963**, 837.
74. Mackenzie, A, R; Moodt, C,J, Rees, C.W; *Tetrahedron*, **1986**, *42*, 3259.
75. Benington, F.; Morin, R. D.; Clark, Leland C., Jr. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1977.

76. Chakraborti, A. K; Sharma; L; Gulhane, R; Shivani. *Tetrahedron lett.* **2003**, *59*, 7661
77. Macor, J. E; Cuff, A; Cornelius, L.; *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2733.
78. Knothe, G.; Gerpen, J. V.; Krahl, J.; Ramos, L.P. *Manual de Biodiesel*, Ed. Edgarb Blucher, 2006

# **Anexos**

## Anexo 1.

### Chave de Anadenanthera

- 1a. Textura da superfície do fruto rugoso, áspero e opaco, anteras sem glândulas no botão floral.....2. *A. peregrina*
- 2a. Fruto reto.....1a. *A. peregrina* var. *peregrina*
- 2b. Fruto curvado ou em forma de foice.....1b. *A. peregrina* var. *falcata*
- 1b. Textura da superfície do fruto lisa e brilhosa, anteras com glândula no botão floral .....3. *A. colubrina*.
- 3a. Fruto com margem ondulada e regularmente contraída entre as sementes, botão floral esbranquiçado, inflorescências terminais em forma de panícula .....2a. *A. colubrina* var. *colubrina*
- 3b. Fruto com margem ondulada ou não e irregularmente contraída entre as sementes, botão floral não esbranquiçados, inflorescências axilares ou terminais em forma de racemo .....2b. *A. colubrina* var. *cebil*

#### 1. *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. Physis 6:313. 1923.

Arbusto até árvore alta, tronco até 3-27m e 20-40cm diâmetro; ritidoma de cor acinzentada até quase preto com muitas lenticelas, sem ou com projeções com espinhos no tronco quando jovem, depois **com ritidoma grossa**, folhas multifolioladas, folhas e caules pubérulos e depois glabras. Estípulas pubescentes linear 6x0,5mm rapidamente decídua. Eixo foliar 12-20(30) cm, maiores raquis 10,5-19,5 cm, pecíolo 15-45mm, pecíolo base mais escuro 4-8mm, glândula normalmente basal ou às vezes até metade do pecíolo e plana 0,5-5mm; pinas de (10)13-22(30) jugos, glândulas pequenas entre últimas 1-3(5) pares de pinas, ráquis de pina maiores 35-95mm, folíolos de pinas maior (25)45-90 jugos, folíolos maiores oblongos 0,5-5(2-8) x 0,5-1(1,5) mm, uma nervura. Pedúnculos 1-8 por nó, (1,75)2,0-3,2(4) cm na antese, pubérulo; capítulo normalmente axilar 10-18mm diâmetro com

filamentos verde-branco ou amarelo-creme; involúcro pubérulo bi-dentato de um mm a  $\frac{3}{4}$  no base do pedúnculo; bracteólo deltóide 1-2mm; flores haplostêmmones 5 pétalas; cálice 0,5-2,6mm; corola 2-3,5mm, ambos campanulados; filetes brancas, 10 por flor e livres, 5-8mm, anteras sem glândula no botão floral. Fruto reto ou falcado, oblongo-elongado 1-3 por capítulo, 9-33,5x1,5-2,8mm sem estipe, estipe 1-3,5cm, margem ondulada ou não entre sementes, textura da superfície rugosa, áspera e opaca, 8-16 sementes; sementes muita finas e compressas, circular com margem fina até 1mm, castanha-escura a preta e lustrosa, 10-20 mm diâmetro, com pleurograma no centro 5-7mm.

### **1.1 *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *peregrina***

Sinonímia: *Mimosa peregrina* L., *Acacia peregrina* (L.)Willd., *Piptadenia peregrina* (L.) Benth., *Niopa peregrina* (L.) Britton & Rose, *Acacia angustiloba* DC.

### **1.2 *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *falcata* (Benth.) Altschul**

Sinonímia: *Piptadenia falcata* Benth., *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg.

## **2. *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan Kew Bull. 2:182 1955.**

Arbusto até árvore alta, tronco até 3-30m e 30-50cm diâmetro; ritidoma acinzentada 2-5cm grossa glabra ou rugosa, sem ou com projeções no tronco quando jovem, folhas multifolioladas, folhas e caules pubérulos e depois glabros. Estípulas pubescentes lineares 6x0,5mm, rapidamente decídua. Eixo foliar (4)11-16,5 (20) cm, maiores ráquis 9,5-15 cm com sulco, pecíolo 12-18mm, base de pecíolo mais escuro 6mm, glândula achatada no pecíolo 0,5-4mm no centro até

apical posição; pinas de (7)24-33(35)jugos, glândulas pequenas entre ultimas 1-6(7) pares de pinas, ráquis de pinas maiores (12)20-40(70)mm às vezes com mucro 1,5-2mm, folíolos de maiores pinas (20)50-67(80) jugos, folíolos maiores oblongos (1)2-3(6) x 0,5-0,75(1,5)mm, nervura **obscura** ou com uma. Pedúnculos 1-7 por nó, 1,5-(4) cm no antese, pubérulos ou glabras; capítulo normalmente axilar ou agrupados em racemos ou panículas no ápices, 15-20mm diâmetro com filamentos brancos ou amarelo-creme; involúcro glabro diretamente embaixo do capítulo; bracteolo deltóide 1-2mm; flores haplostêmmones 5 pétalas; cálice (0,6)-(3)mm; corola (2,5)-(4)mm, ambos campanulado; filetes brancos, 10 por flor e livres, 5-8mm, anteras com glândula no botão floral, rapidamente decíduo. Fruto reto ou falcado, oblongo-elongado 1-2 por capítulo, 10,5-29(32)x(1)1,5-2(3)cm com estipe, estipe 1,5-2,5cm, margem ondulada ou não entre sementes, textura da superfície lisa e brilhosa, 8-16 sementes; sementes muita finas e compressas, circular com margem fina até 1mm, castanha-oscuro e lustrosa, 12-20 mm diâmetro, com pleurograma no centro 5-4mm.

### **2.1. Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. colubrina**

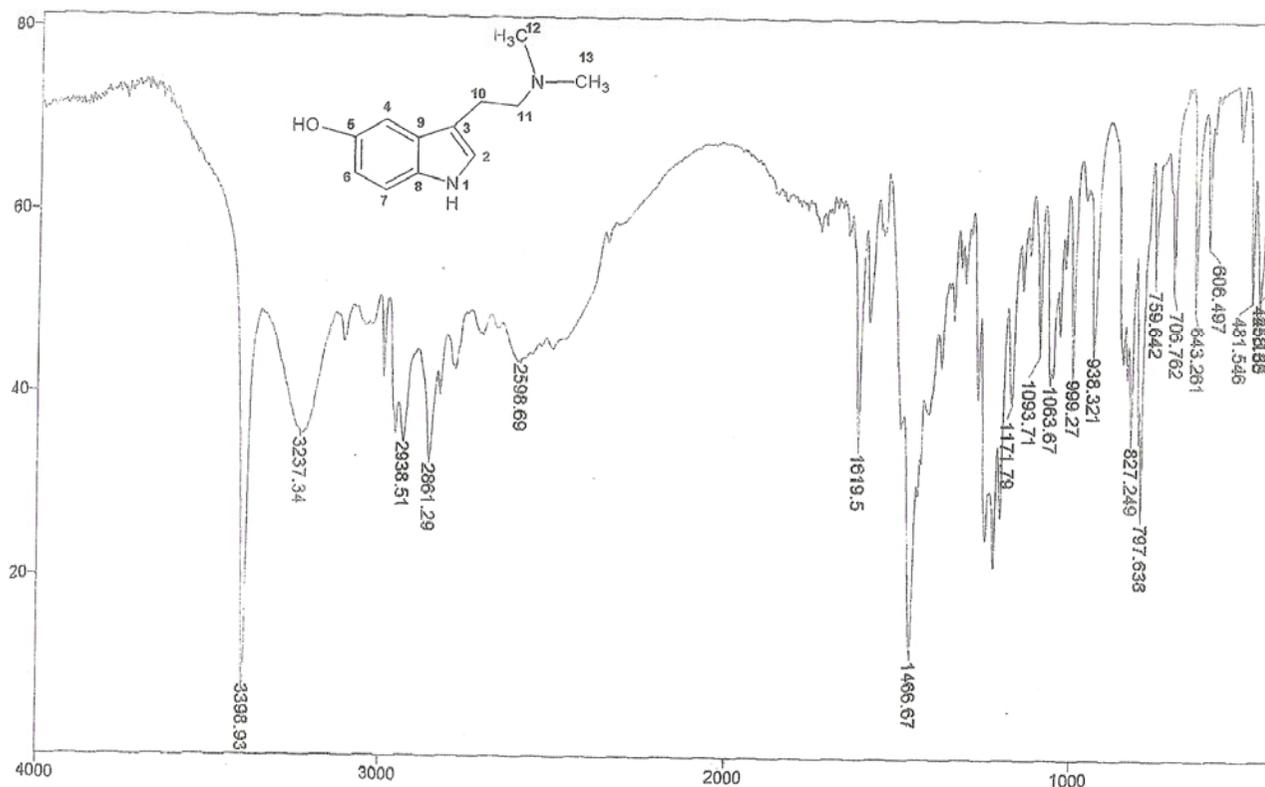
Sinonímia: *Mimosa colubrina* Vell., *Acacia colubrina* (Vell.) Mart., *Piptadenia colubrina* (Vell.) Benth.

### **2.2 Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb.) Altschul**

Sinonímia: *Acacia cebil* Griseb., *Piptadenia macrocarpa* Benth., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan, *Piptadenia microphylla* Benth., *Piptadenia hassleriana* Chod.

## Anexo 2: IV – Bufotenina *A. peregrina* var. *peregrina*

File # 8 : LITMO  
Mode= 2 (Mid-IR)  
27/09/08 09:31  
Sample Description: KBr  
Scans= 10 Slow  
Res=4 cm-1  
Apod= Cosine  
Zero Filling= 1 x

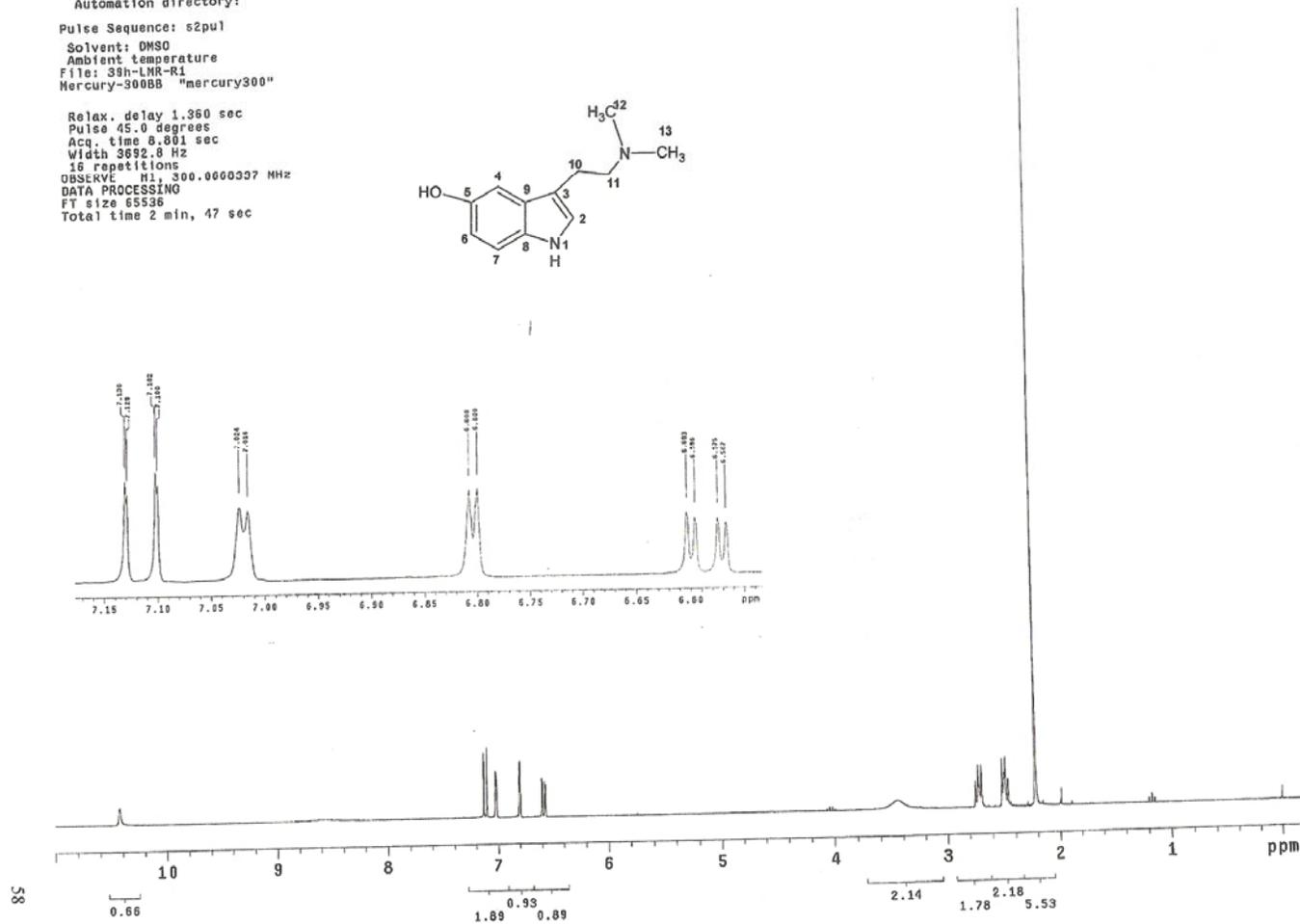
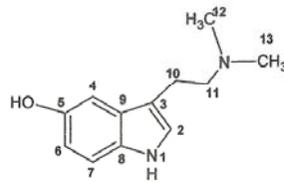


Transmittance / Wavenumber (cm<sup>-1</sup>)

# Anexo 3: RMN H<sup>1</sup> – Bufotenina A. peregrina var. peregrina

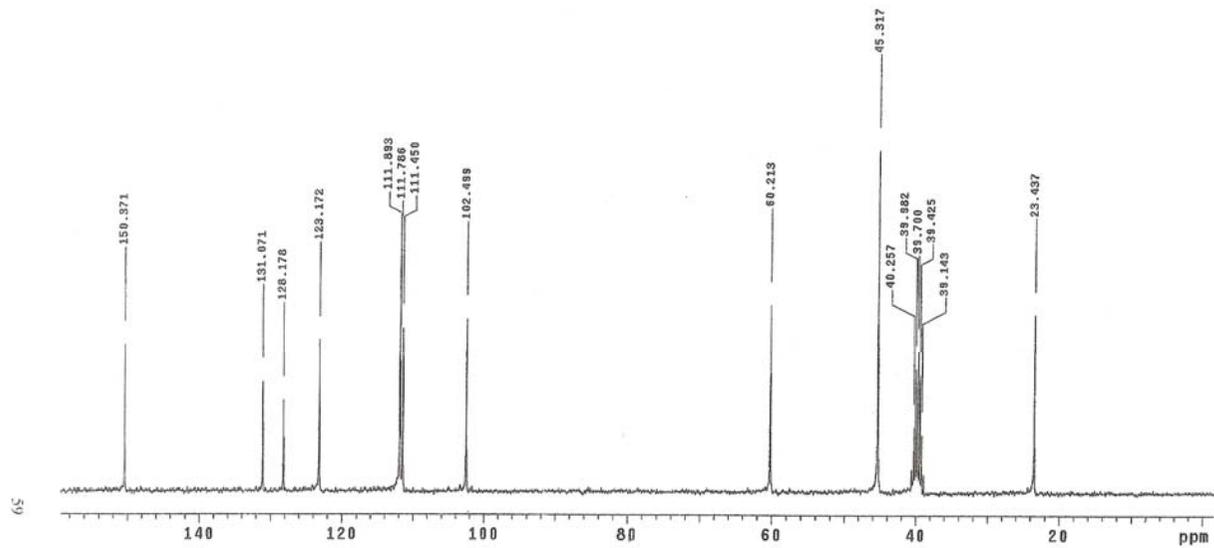
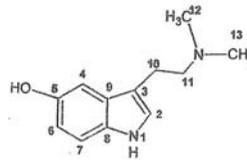
3Sh-LMR-R1  
 Bufotenina  
 Automation directory:  
 Pulse Sequence: s2pu1  
 Solvent: DMSO  
 Ambient temperature  
 File: 3Sh-LMR-R1  
 Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.360 sec  
 Pulse 45.0 degrees  
 Acq. time 8.001 sec  
 Width 3092.8 Hz  
 15 repetitions  
 OBSERVE H1, 300.0000337 MHz  
 DATA PROCESSING  
 FT size 65536  
 Total time 2 min, 47 sec



# Anexo 4: RMN C<sup>13</sup> – Bufotenina *A. peregrina* var. *peregrina*

396-LMR-R1  
Bufotenina  
Pulse Sequence: s2pu1  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
Mercury-300BB "mercury300"  
Relax. delay 0.276 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.722 sec  
Width 16567.9 Hz  
176 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4516830 MHz  
DECOUPLE H1, 300.9682350 MHz  
Low power 1023 dB atten.  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 3.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 38 min, 58 sec



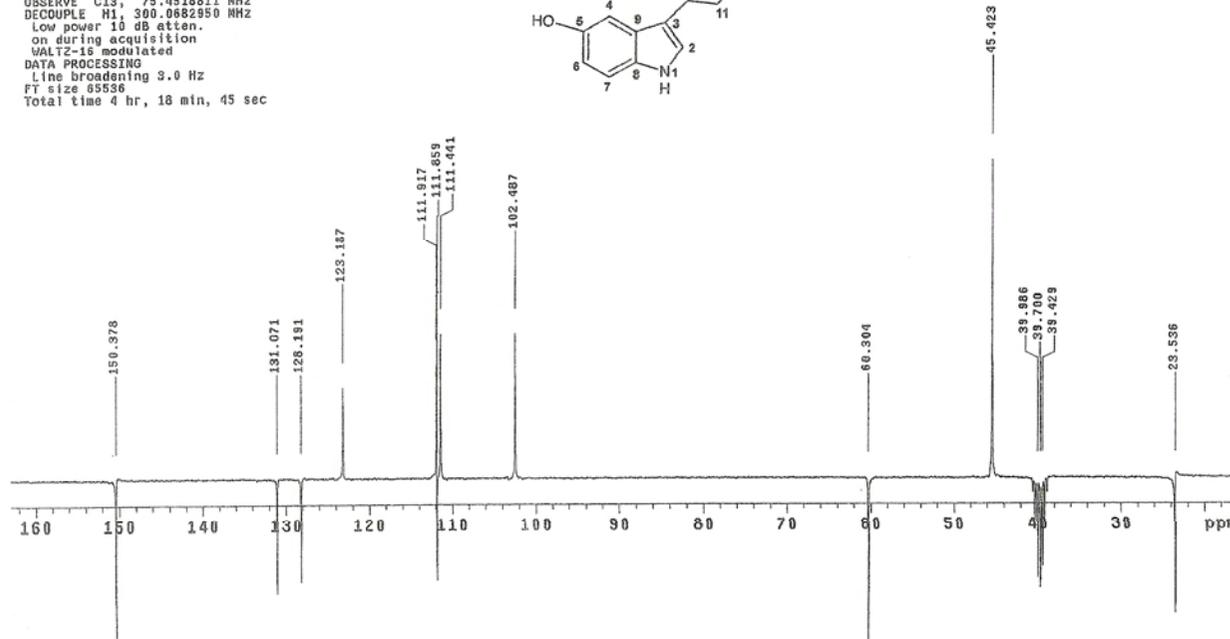
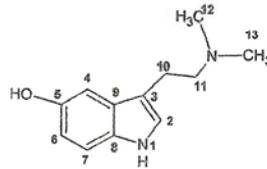
# Anexo 5: APT - Bufotenina *A. peregrina* var. *peregrina*

51Apt-LRH29  
Luciana

Automation directory:

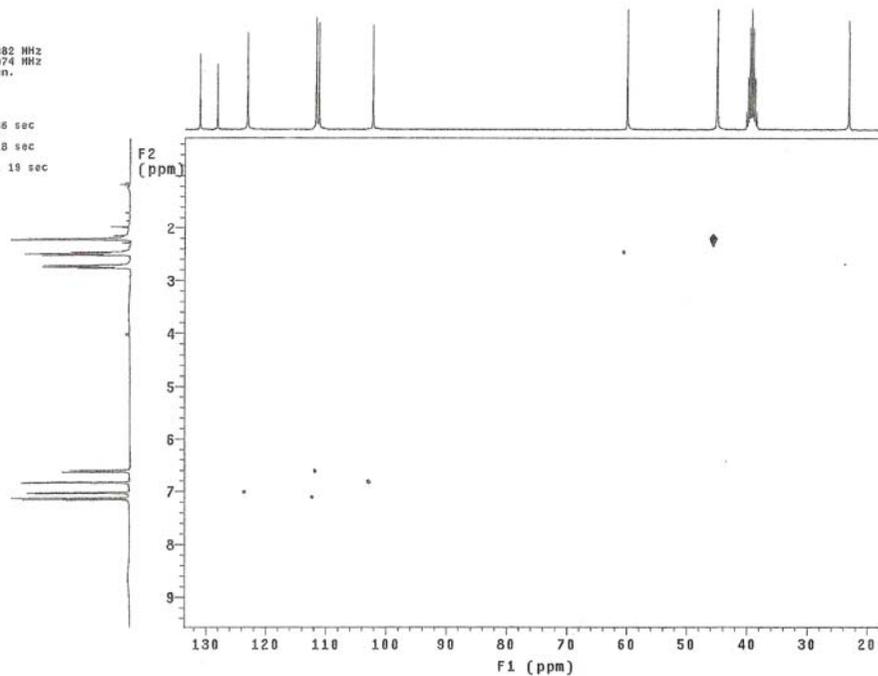
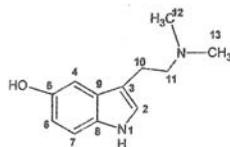
Pulse Sequence: APT  
Solvent: dmsc  
Ambient Temperature  
Operator: ines  
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec  
1st pulse 90.0 degrees  
2nd pulse 135.0 degrees  
Acq. time 1.794 sec  
Width 18115.9 Hz  
1488 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4519811 MHz  
DECOUPLE H1, 300.0682950 MHz  
Low power 10 dB atten.  
on during acquisition  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 3.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 4 hr, 18 min, 45 sec

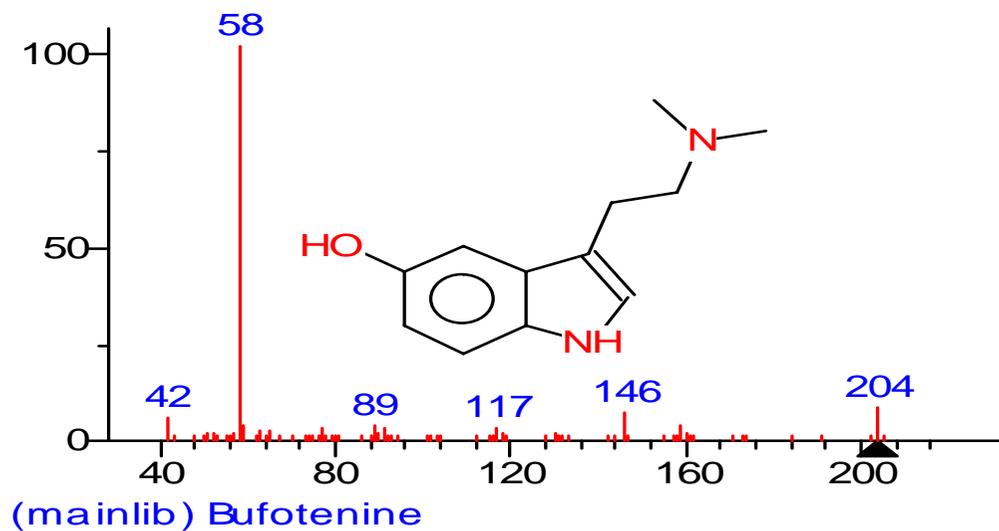
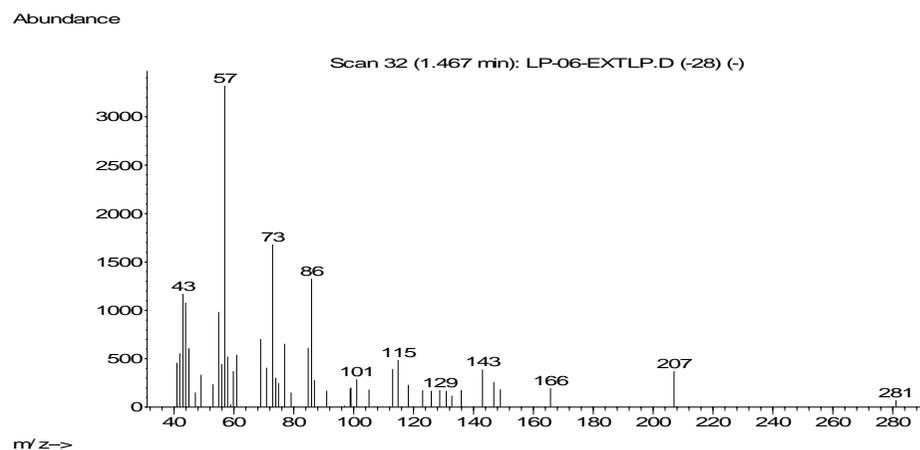
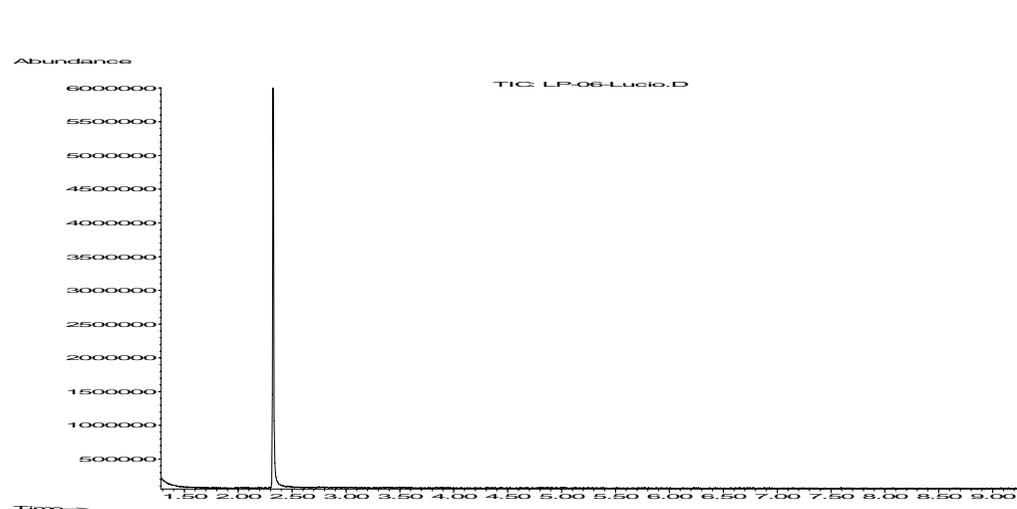


# Anexo 6: HMQC - Bufotenina *A. peregrina* var. *peregrina*

SigHMQC-LMR29  
Luciana  
Automation directory:  
Pulse Sequence: gHMQC  
Solvent: dmsc  
Ambient temperature  
Operator: ines  
File: SigHMQC-LMR29  
Mercury-300SB "mercury300"  
Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0.142 sec  
Width 3597.1 Hz  
2D Width 12620.5 Hz  
24 repetitions  
2 x 128 increments  
OBSERVE H1, 399.9668382 MHz  
DECOUPLE C13, 75.4575074 MHz  
Low power 1023 dB atten.  
on during acquisition  
off during delay  
GARP-1 modulated  
DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.066 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.010 sec  
FT size 1024 x 2048  
Total time 2 hr, 8 min, 18 sec

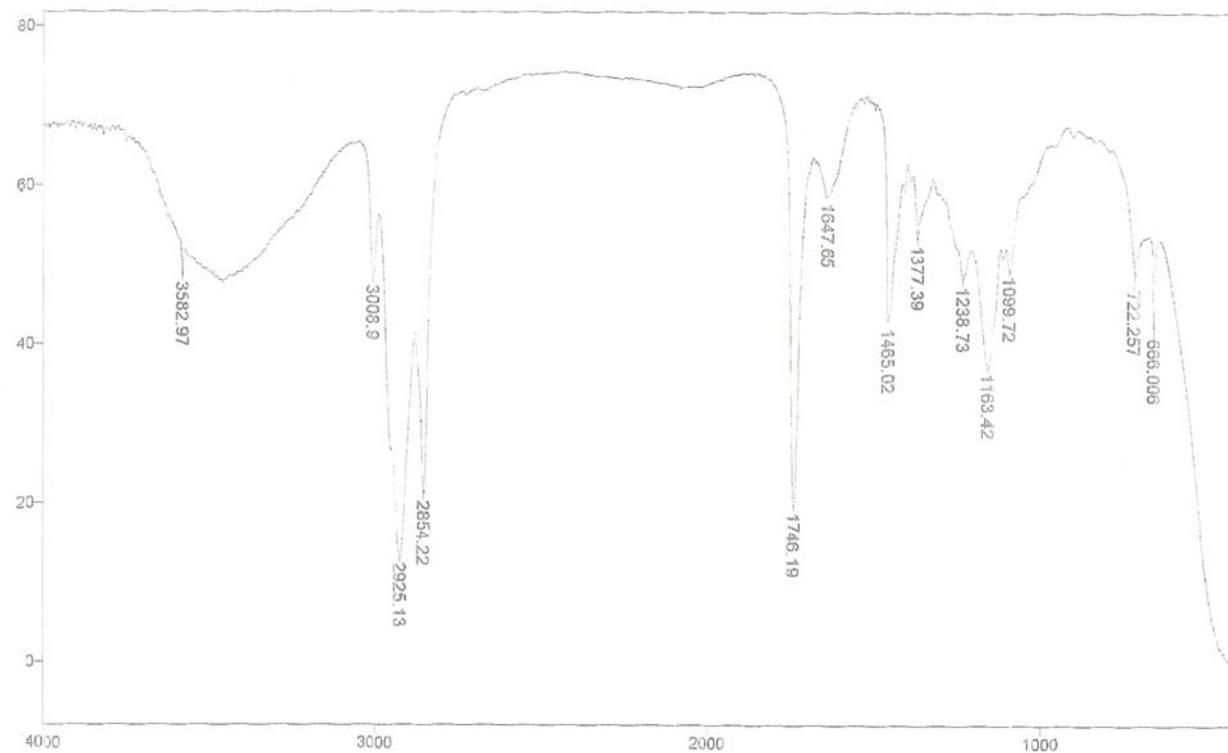


# Anexo 7: CG-EM - Bufotenina *A. peregrina* var. *peregrina*



# Anexo 8: IV – Triacilgliceróis

File # 1 : LMR15  
Mode = 2 (Mid-IR)  
16/08/07 10:47  
Sample Description: Filme  
Scans = 10  
Res = 4 cm-1 21 scans/min  
Apod = Cosine



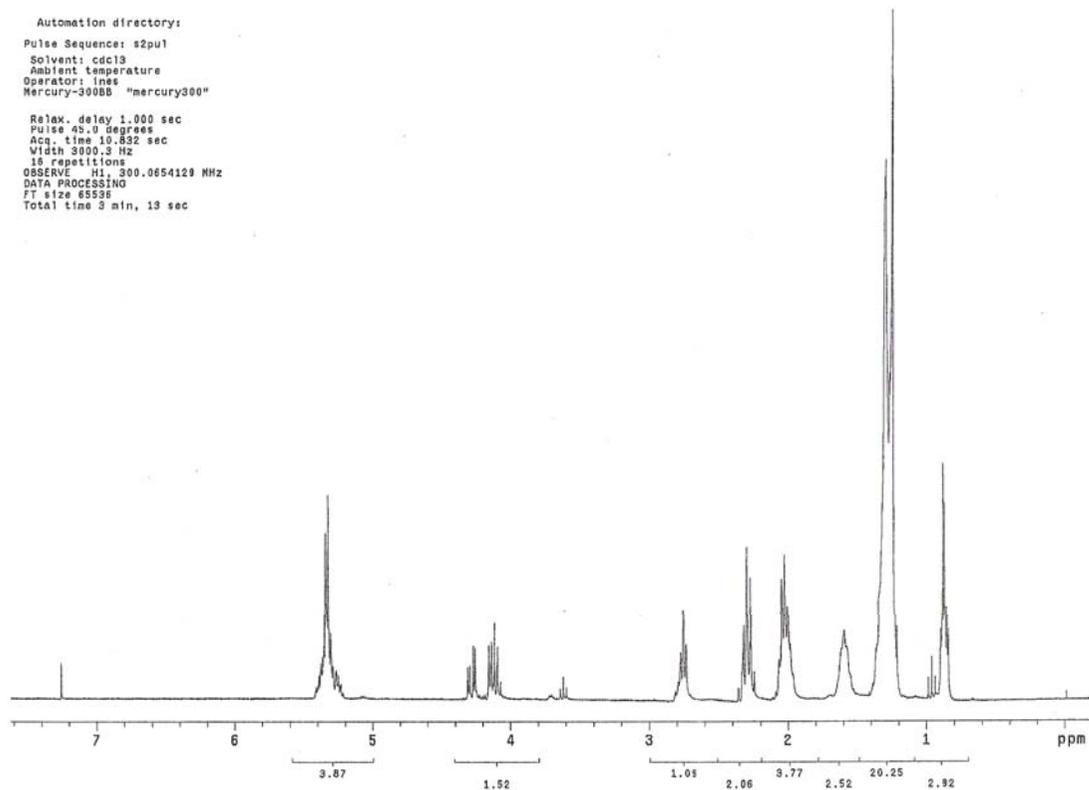
63

# Anexo 9: RMN H<sup>1</sup> - Triacilgliceróis

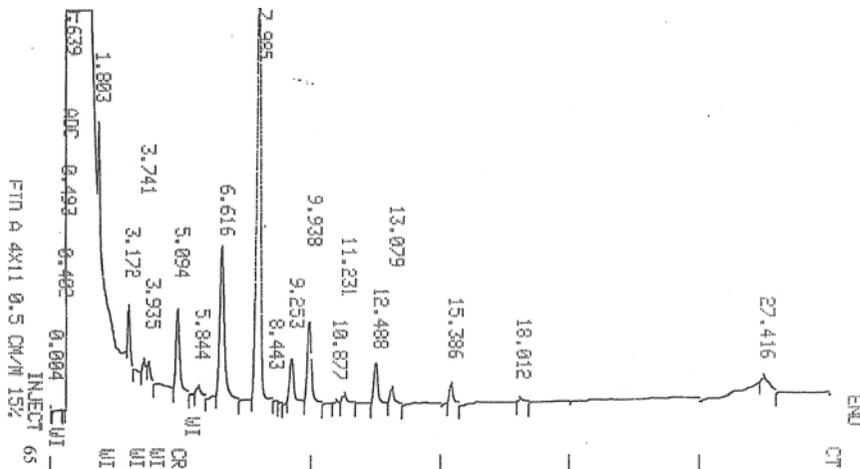
2h-PW-1E530-1310-100-6-C1  
AMOTRA 2  
Erl) ester (biodiesel) LMC

Automation directory:  
Pulse Sequence: s2pu1  
Solvent: cdcl3  
Ambient temperature  
Operator: lms  
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 10.832 sec  
Width 3000.3 Hz  
16 repetitions  
OBSERVE H1, 300.0654120 MHz  
DATA PROCESSING  
FT size 65528  
Total time 3 min, 13 sec



# Anexo 10: CG – Metil Ésteres (amostra 1)



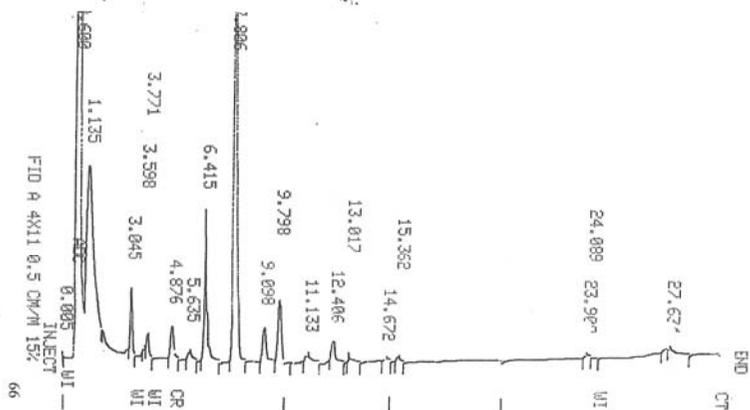
VARIAN 3400 GAS CHROMATOGRAPH  
 METHOD 2 RUN 7947  
 TIME 01:23 26 JUN 08  
 SAMPLE: SINTESE  
 RUN MODE: ANALYSIS  
 CALCULATION TYPE: PERCENT  
 BASELINE CORRECTED

PEAK NO.	PEAK NAME	TIME MIN	RESULT	AREA COUNTS
1		3.172	3.1829	30108
2		3.741	1.0007	9466
3		3.935	1.2781	12090
4		5.094	7.4452	70427
5		5.844	0.8231	7786
6		6.616	17.3716	164324
7		7.985	45.8647	433851
8		8.443	0.2624	2483
9		9.253	4.4173	41785
10		9.938	8.5119	80517
11		10.877	0.2695	2549
12		11.231	0.8892	8412
13		12.488	3.8533	36450
14		13.079	1.5941	15079
15		15.386	1.6899	15985
16		18.012	0.3750	3548
17		27.416	1.1703	11071

TOTALS: 100.0000 945936  
 DETECTED PEAKS: 17 REJECTED PEAKS: 0  
 AMOUNT STANDARD: 1.0000000  
 MULTIPLIER: 1.0000000 DIVISOR: 1.0000000  
 NOISE: 135.2 OFFSET: -21

ERROR LOG:  
 ADC OVERRANGE  
 ANNOTATION OMITTED

# Anexo 11: CG – Metil Ésteres (amostra 2)



MARIAN 3400 GAS CHROMATOGRAPH  
 METHOD 2 RUN 7949  
 TIME 02:48 26 JUN 08  
 SAMPLE: SINTESE  
 RUN MODE: ANALYSIS  
 CALCULATION TYPE: PERCENT  
 BASELINE CORRECTED

PEAK NO.	PEAK NAME	TIME MIN	RESULT	AREA COUNTS
1		3.045	4.4126	40148
2		3.598	0.2584	2351
3		3.771	1.8473	16808
4		4.876	3.6200	32937
5		5.635	1.0624	9666
6		6.415	20.6693	188060
7		7.806	49.1445	447142
8		9.098	3.9891	36295
9		9.798	7.6932	69997
10		11.133	1.2247	11143
11		12.406	2.3350	21245
12		13.017	0.7401	6734
13		14.672	0.1201	1092
14		15.362	0.5394	4907
15		23.908	0.3083	2805
16		24.089	0.3044	2770
17		27.635	1.7303	15743

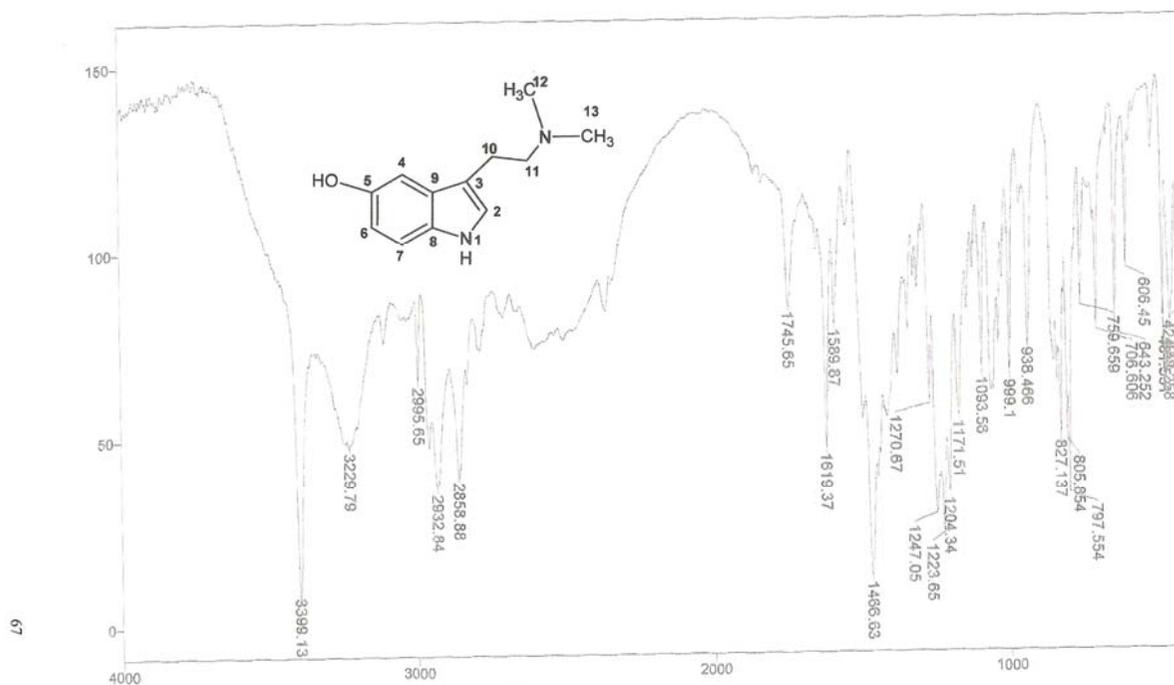
TOTALS: 100.0000 909851

DETECTED PEAKS: 17 REJECTED PEAKS: 0  
 INJECT STANDARD: 1.0000000  
 MULTIPLIER: 1.0000000 DIVISOR: 1.0000000  
 NOISE: 135.2 OFFSET: -19

ERROR LOG:  
 DET TEMP  
 ADC OVERRANGE  
 ANNOTATION OMITTED

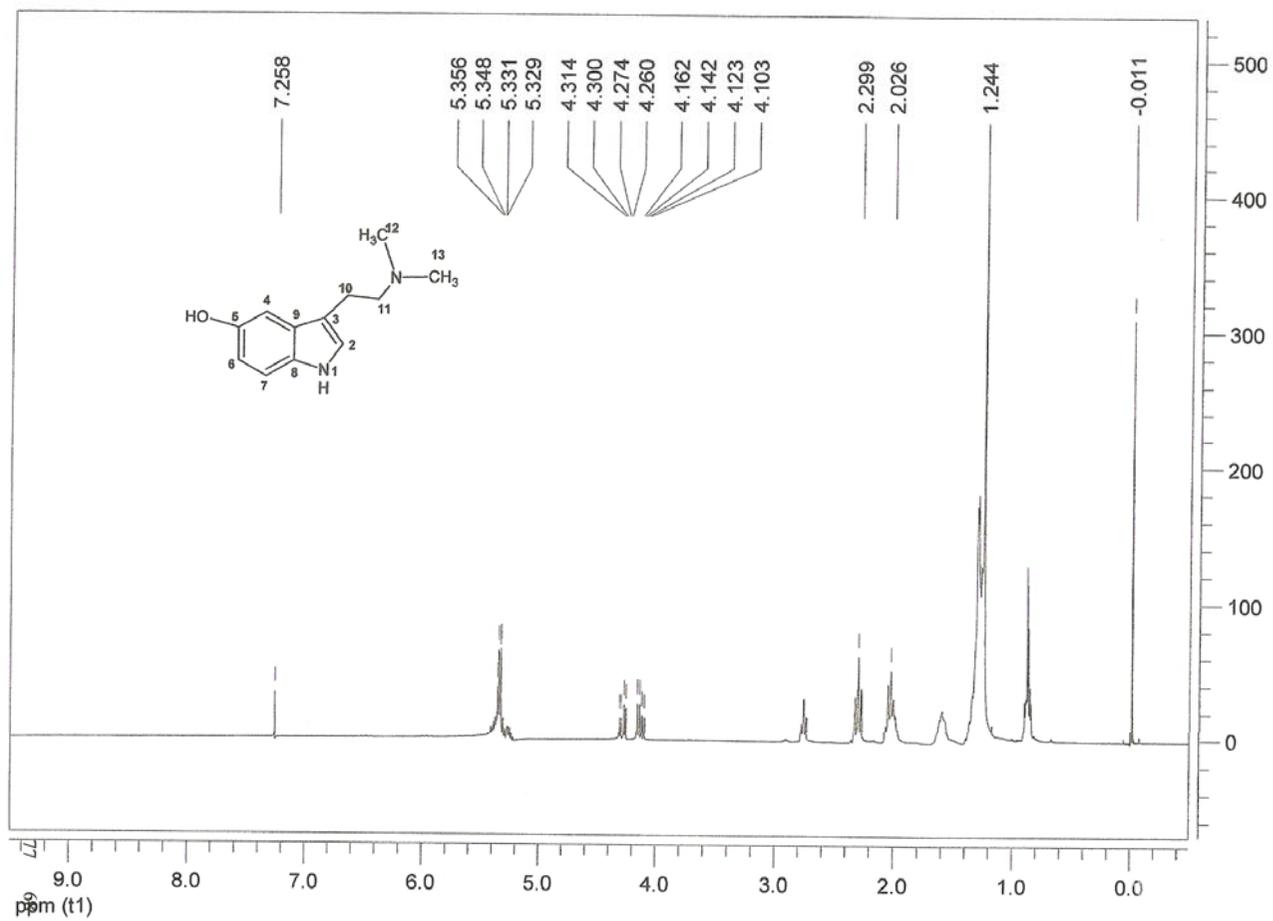
# Anexo 12: IV – Bufotenina A. peregrina var. falcata

File # 3 : 26  
Mode = 2 (Mid-IR)  
07/11/07 11:01  
Sample Description: KBr  
Res = 4 cm-1 21 scans/min  
Apod = Cosine  
Scans = 10



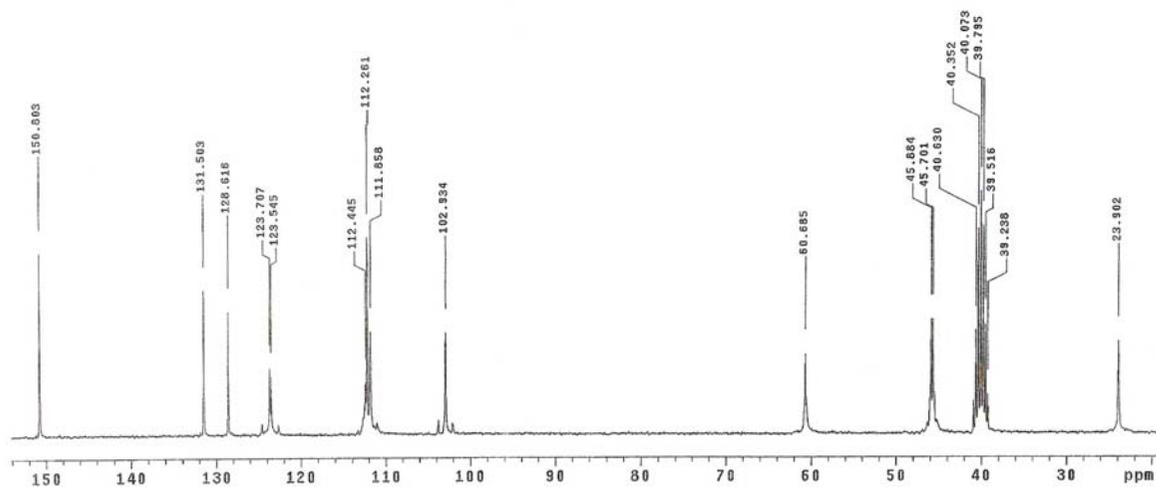
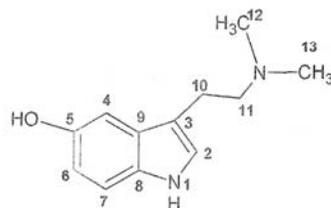
67

# Anexo 13: RMN H<sup>1</sup> - Bufotenina A. peregrina var. falcata



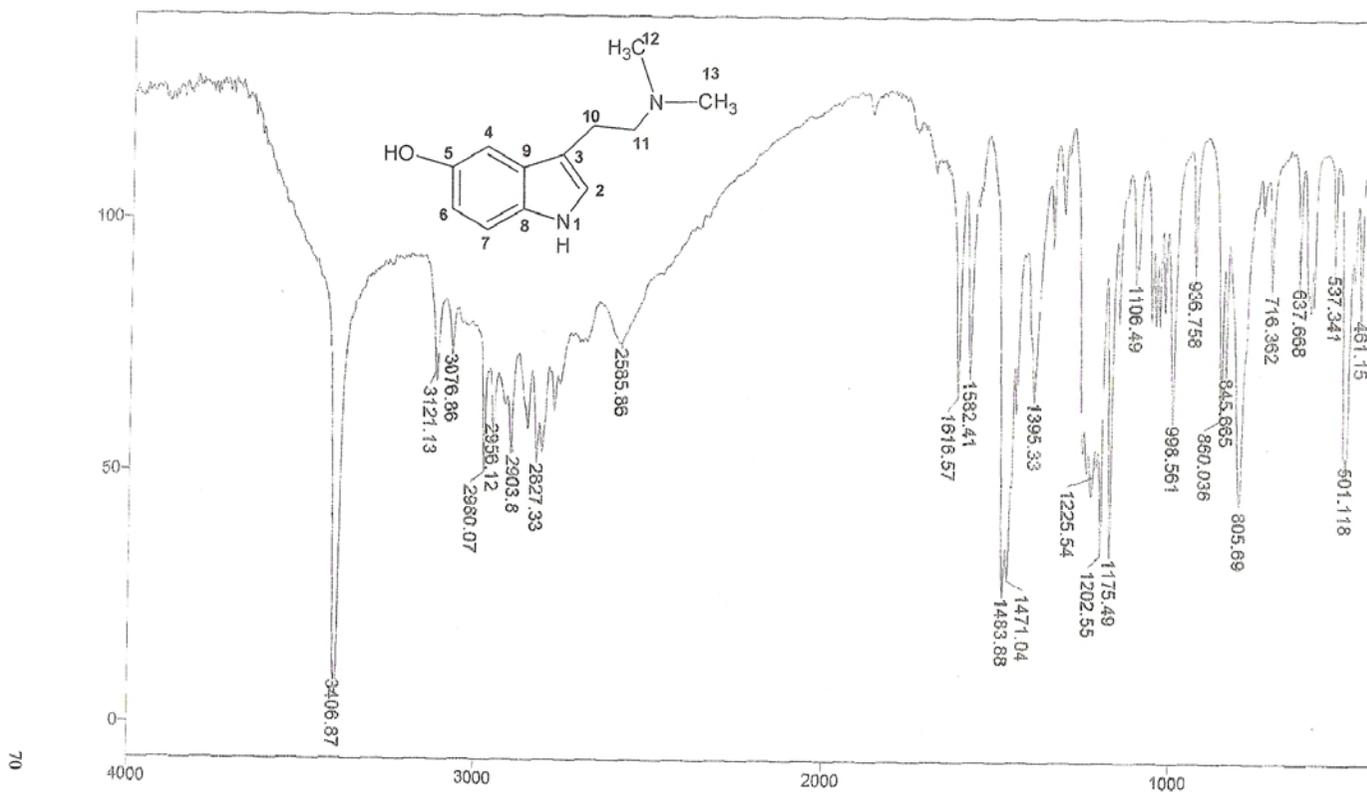
# Anexo 14: RMN C<sup>13</sup> - Bufotenina A. peregrina var. falcata

13c-LHR2  
Automation directory:  
Pulse Sequence: e2pu1  
Solvent: dms  
Ambient temperature  
Operator: alunos  
Mercury-3000B "mercury300"  
  
Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.784 sec  
Width 18115.9 Hz  
1000 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4518485 MHz  
DECOUPLE H1, 300.0682950 MHz  
Low power 10 dB atten.  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 3.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 48 min, 9 sec

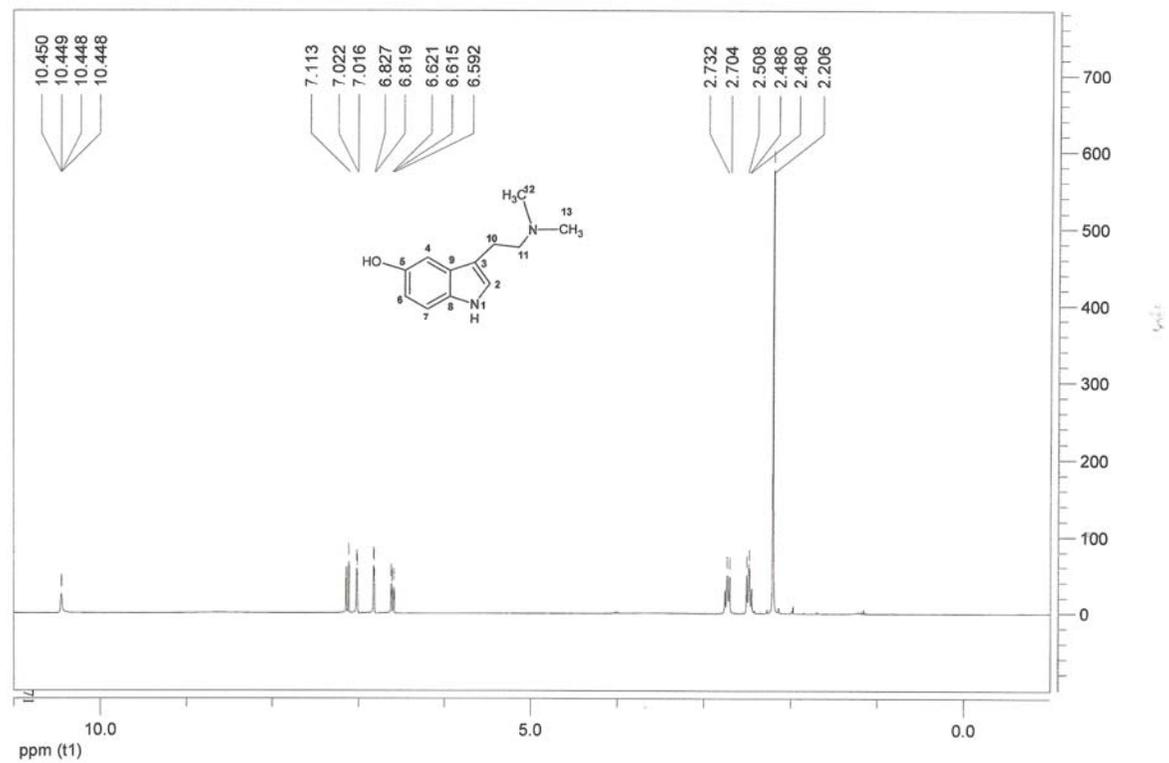


# Anexo 15: IV - Bufotenina A. colubrina var. cebil

File # 1 : LMR29 Mode = 2 (Mid-IR) 18/12/07 10:24  
Sample Description: KBr  
Scans = 10 Res = 4 cm-1 21 scans/min Apod = Cosine



# Anexo 16: RMN H<sup>1</sup> - Bufotenina A. colubrina var. cebil

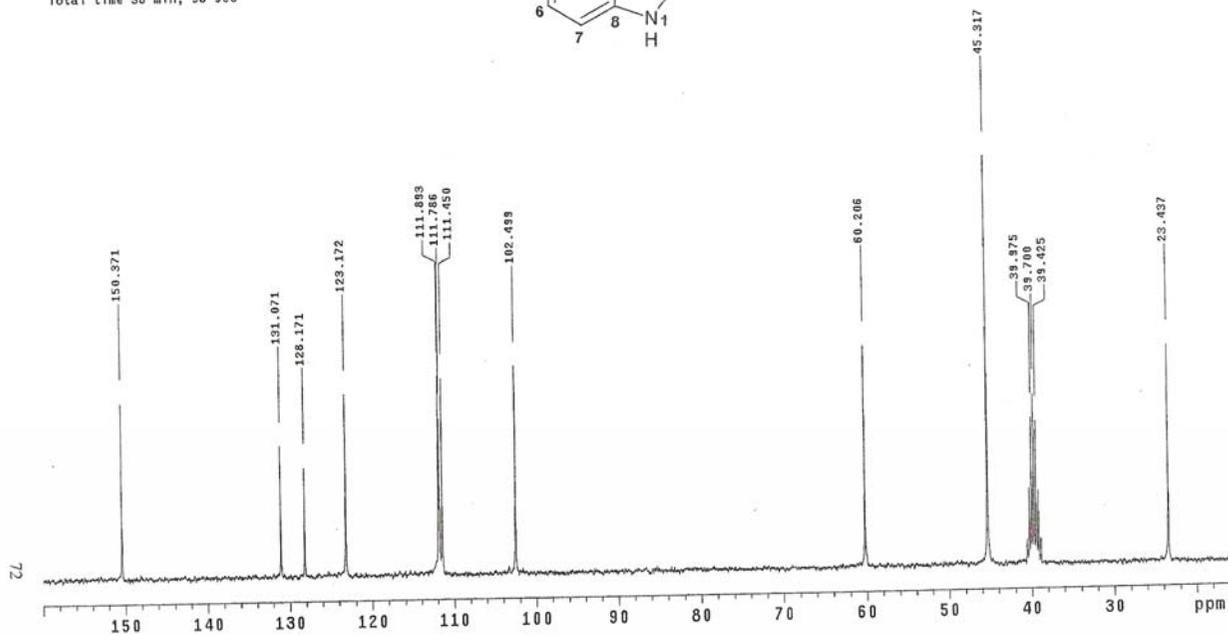
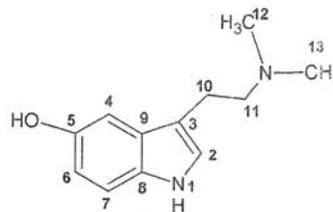


# Anexo 17: RMN C<sup>13</sup> - Bufotenina A. colubrina var. cebil

3sc-LMR-R1  
Bufotenina

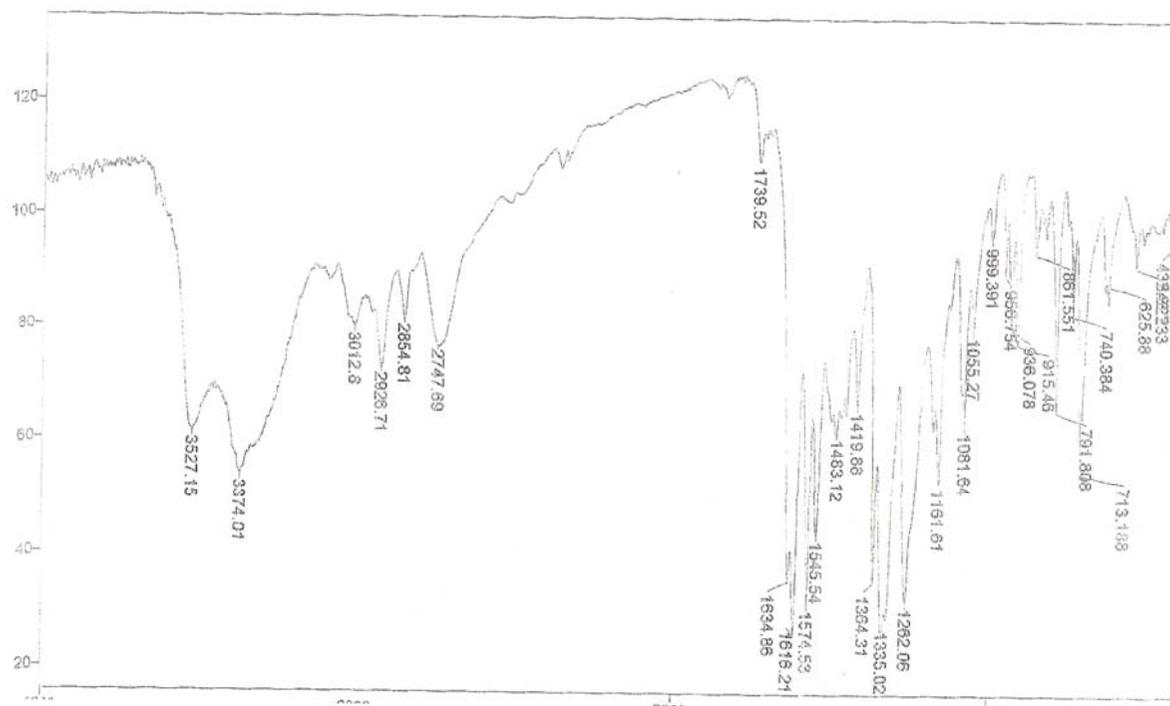
Automation directory:  
Pulse Sequence: s2pu1  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
File: 3sc-LMR-R1  
Mercury-3005B "mercury300"

Relax. delay 0.278 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.722 sec  
Width 18867.9 Hz  
176 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4518830 MHz  
DECOUPLE H1, 300.062950 MHz  
Low power 1023 dB atten.  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 3.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 38 min, 58 sec



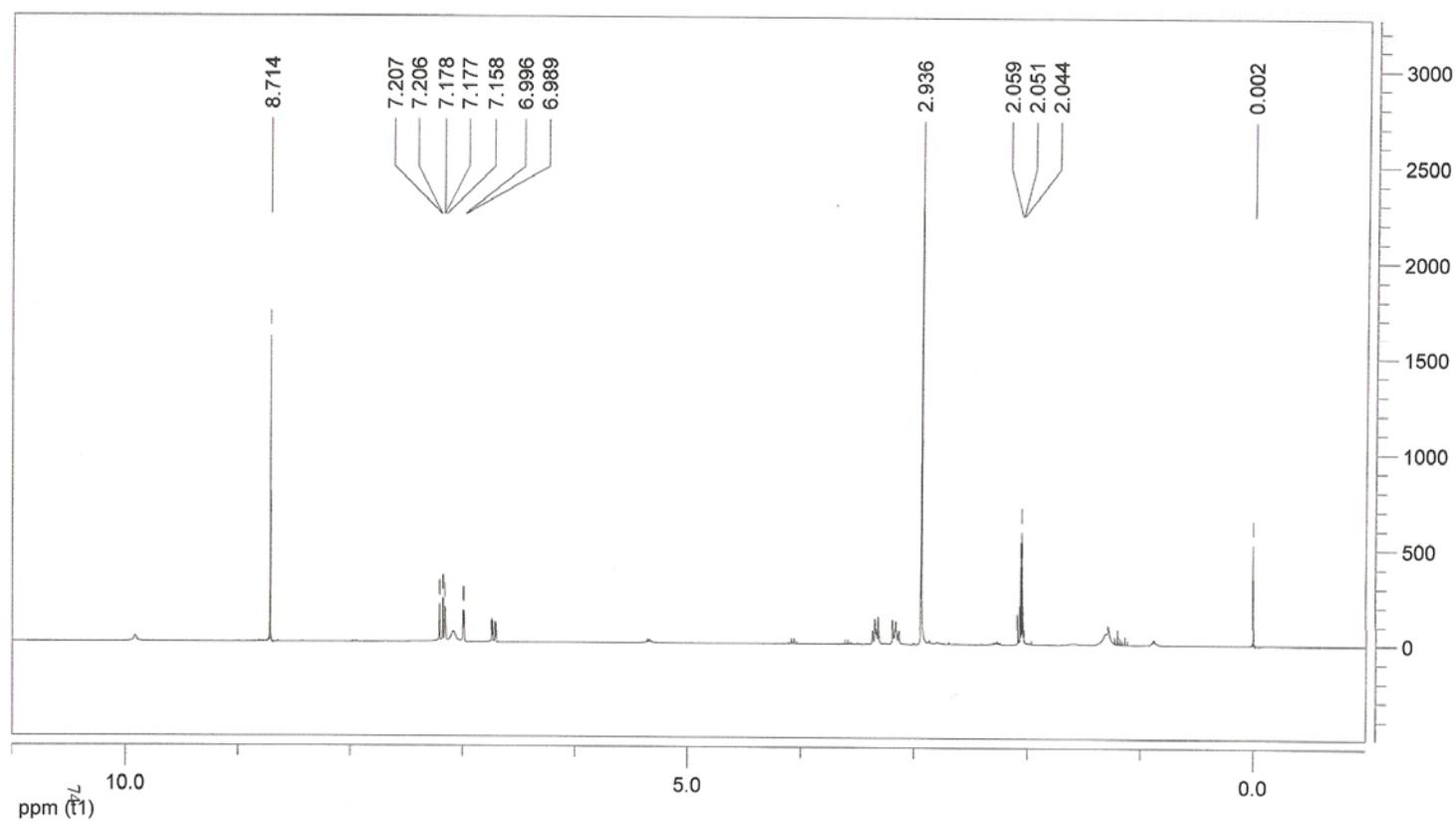
# Anexo 18: IV – Monopirato de bufotenina

File #1 : LUCILIA Mode = 2 (Mid-IR) 15/08/07 09:44  
Sample Description: KBr C12H16ON2 Picrato  
Scans = 10 Res = 4 cm-1 22 scans/min Apod = Cosine



73

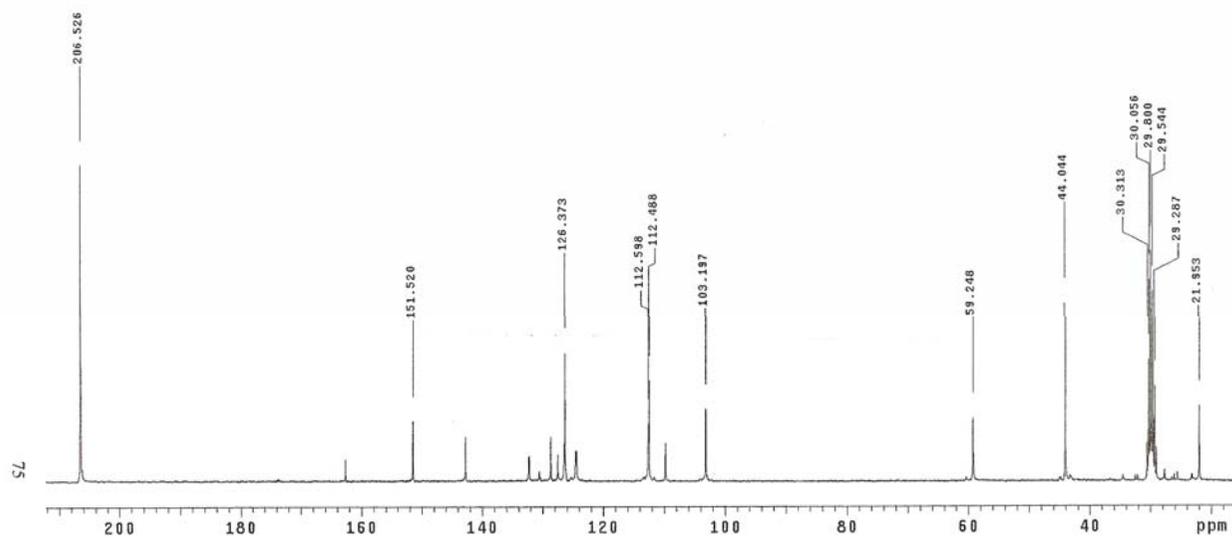
# Anexo 19: RMN H<sup>1</sup> – Monopicrato de bufotenina



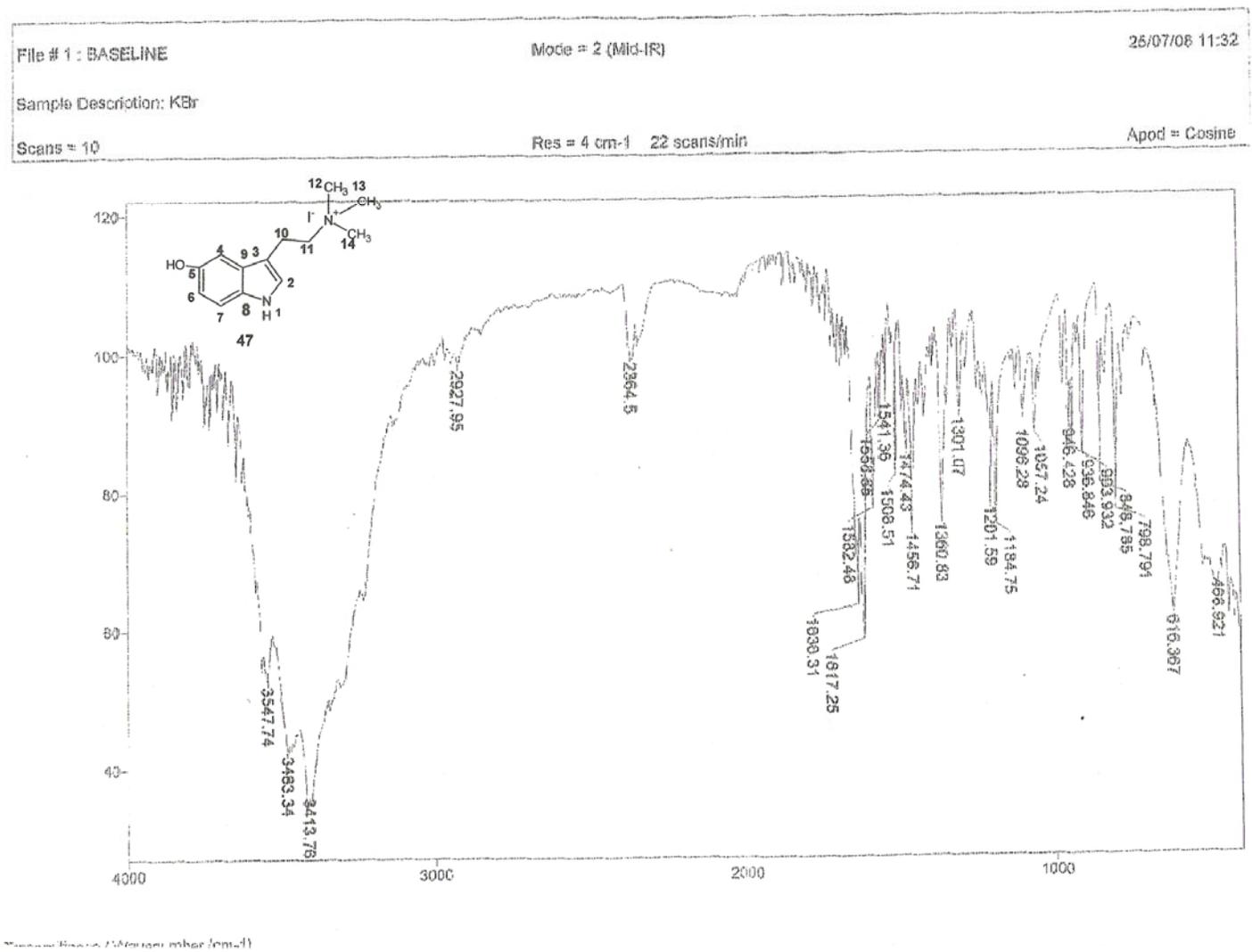
# Anexo 20: RMN C<sup>13</sup> – Monopirato de bufotenina

38c-picrato de bufotenina  
Luciana  
Automation directory:  
Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: acetone  
Ambient temperature  
Operator: ines  
File: 38c-picrato-de-bufotenina  
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.794 sec  
Width 18115.9 Hz  
3284 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4518414 MHz  
DECOUPLE H1, 300.0684271 MHz  
Low power 10 dB atten.  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 3.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 4 hr, 44 sec

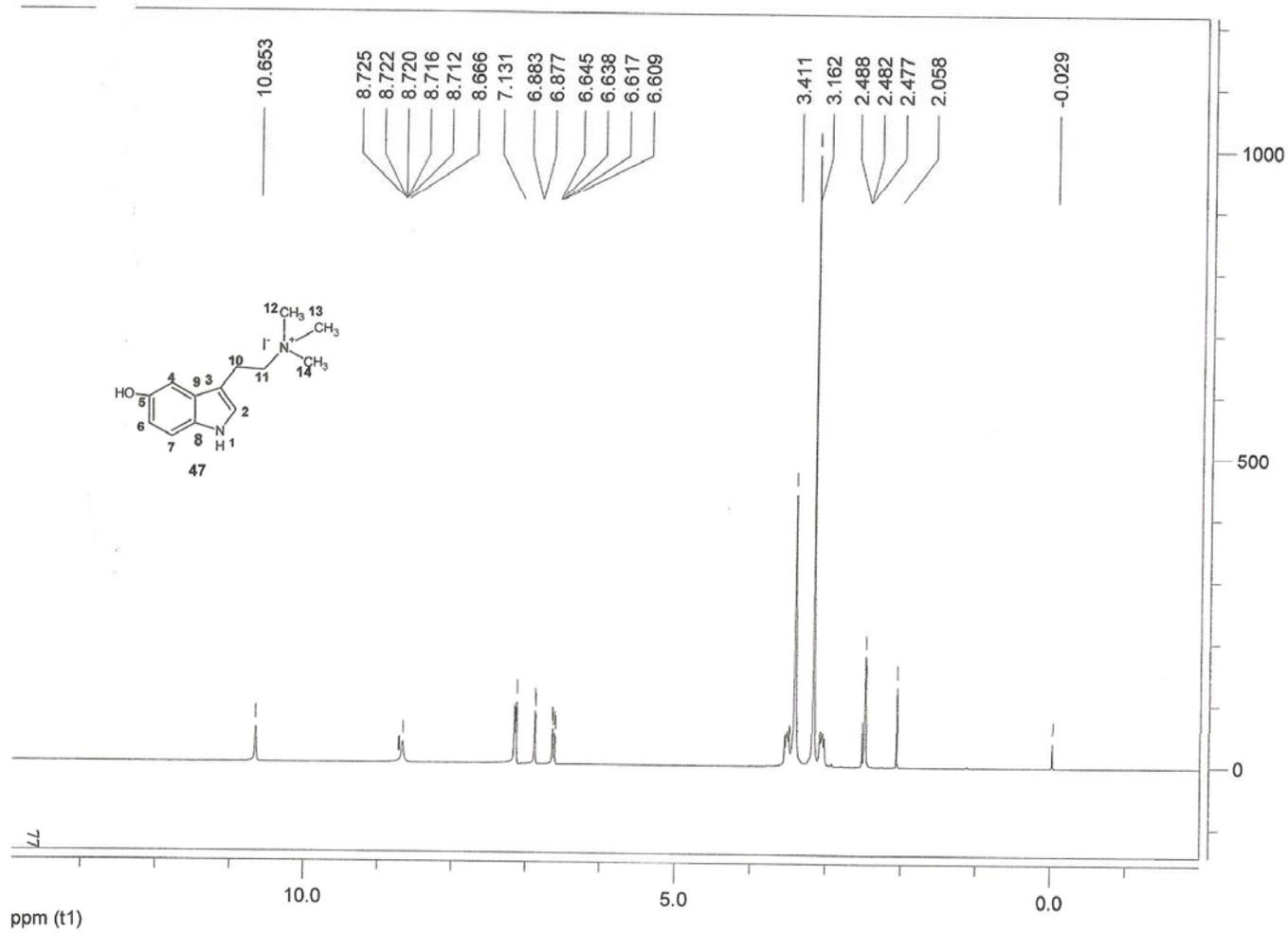


# Anexo 21: IV – Iodeto de 5-hidróxi – *N,N,N*-trimetil bufotenina

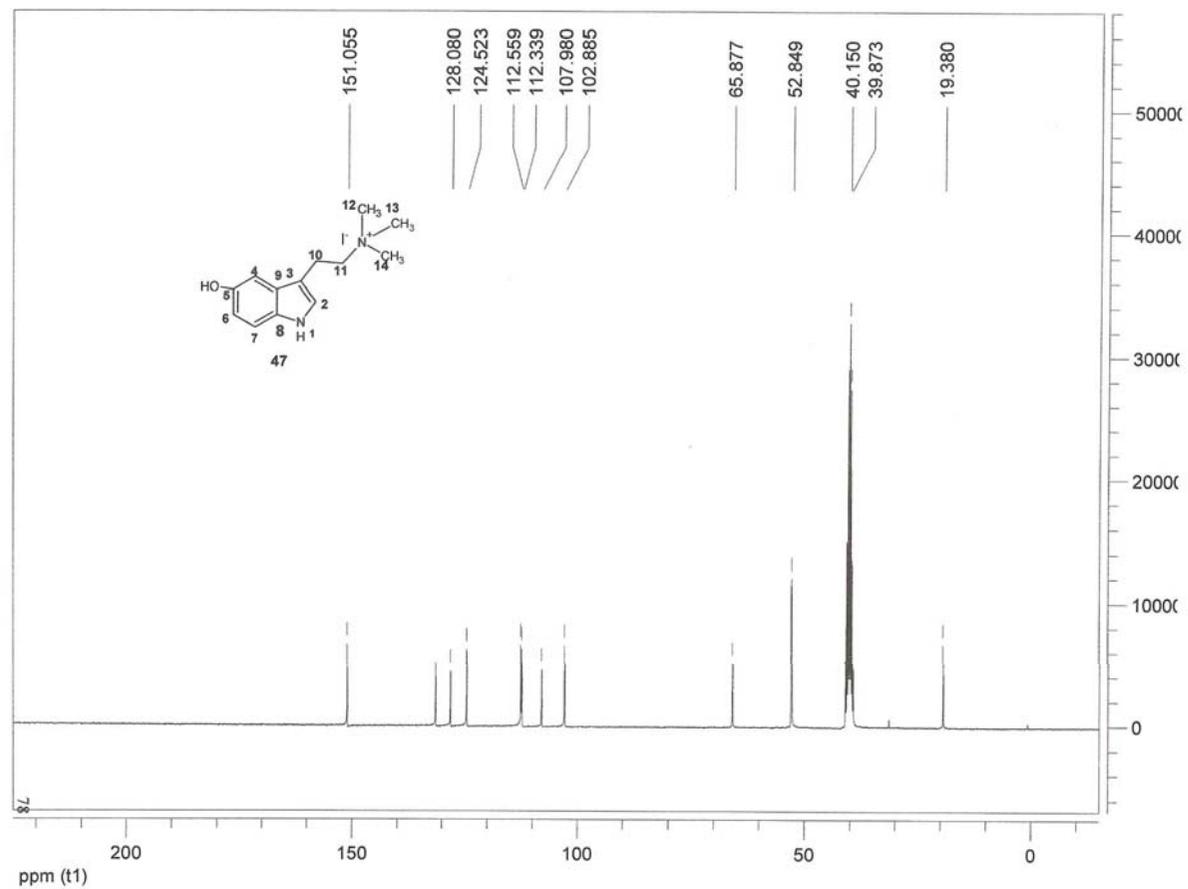


76

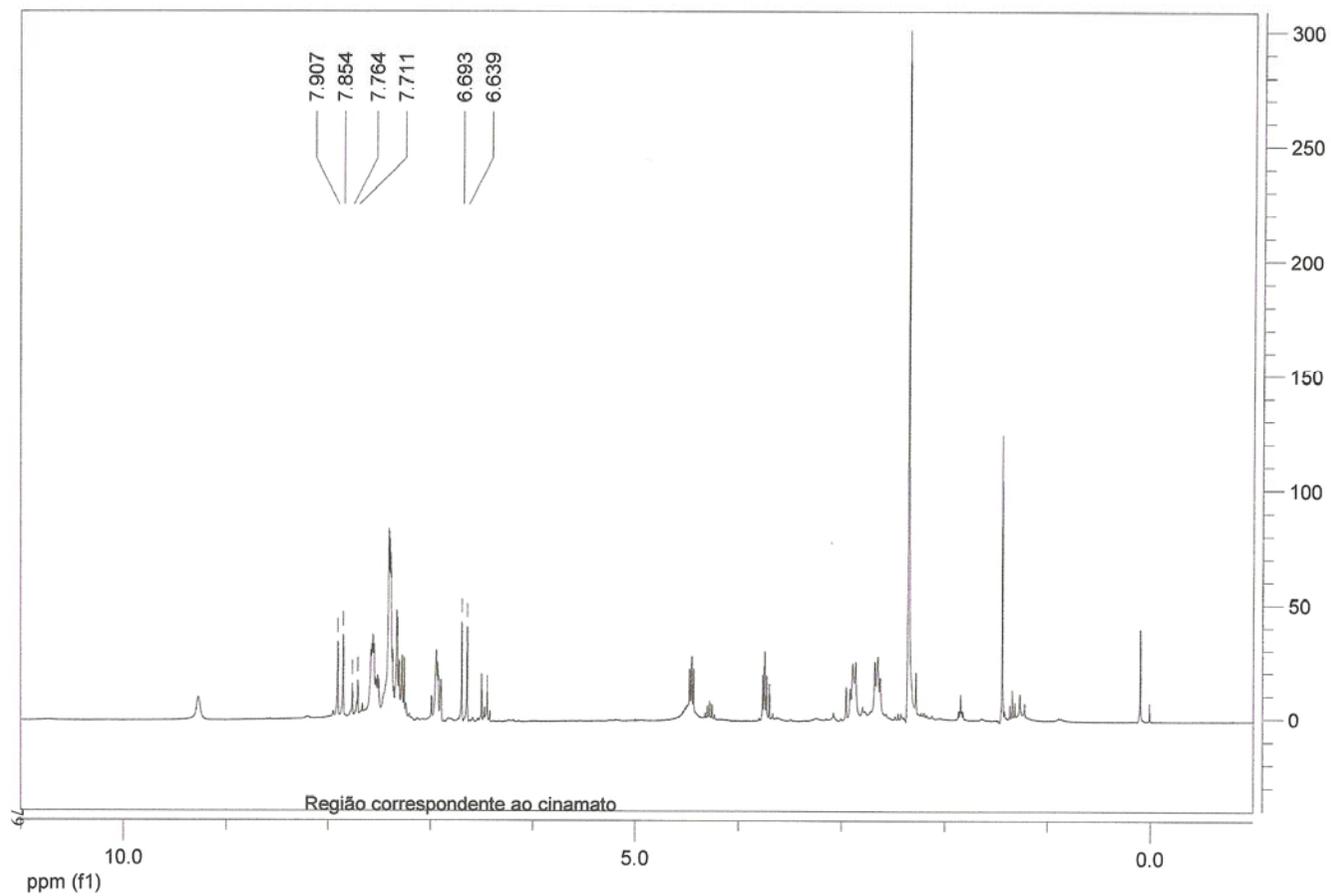
# Anexo 22: RMN H<sup>1</sup> - Iodeto de 5-hidróxi – *N,N,N*-trimetil bufotenina



# Anexo 23: RMN C<sup>13</sup> - Iodeto de 5-hidróxi – *N,N,N*-trimetil bufotenina



## Anexo 24: RMN H<sup>1</sup> – Derivado cinamato de bufotenina



## Anexo 25: RMN H<sup>1</sup> – Derivado acetilado de bufotenina

