



UnB

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

Preparação de derivados triptamínicos e dímeros inibidores da acetilcolinesterase a partir da bufotenina isolada de *Anadenanthera* (Fabaceae: Mimosideae)

Leandro Andrade Moreira

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Lucilia dos Santos

Brasília, Dezembro de 2015



UnB

Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

Preparação de derivados triptamínicos e dímeros inibidores da acetilcolinesterase a partir da bufotenina isolada de *Anadenanthera* (Fabaceae: Mimoidae)

Leandro Andrade Moreira

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Lucilia dos Santos

Área de Concentração: Química Orgânica

Brasília, 17 de dezembro de 2015.

Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese de Doutorado do (a) aluno (a) **Leandro Andrade Moreira**, matrícula nº **11/0180313**, intitulada *“Preparação de derivados triptamínicos e dímeros inibidores de acetilcolinesterase a partir da bufotenina isolada de Anadenanthera (Fabaceae: Mimoidae)”*, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 17 de dezembro de 2015.

Prof^ª Dr^ª Maria Lucilia dos Santos
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof. Dr. Angelo Henrique de Lira Machado
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof^ª Dr^ª Dâmaris Silveira
Membro Titular (FS / UnB)

Prof. Dr. Wender Alves da Silva
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Guilherme Roberto de Oliveira
Membro Titular (IQ/UFG)

Prof. Dr. Guilherme Dotto Brand
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 17 de dezembro de 2015.

Aos meus queridos pais, José Nascimento e
Maria da Conceição, e aos meus estimados
irmãos Wellington e Elaine, pelo carinho
incentivo.

Agradecimentos

- Agradeço primeiramente a Deus que me ajudou nos momentos de dificuldade.
- Aos meus pais, José e Maria, e aos meus irmãos Wellington e Elaine.
- À minha esposa, Patrícia L. Diniz, pela compreensão, apoio, carinho, e tantas outras contribuições nessa jornada.
- À professora Maria Lucilia dos Santos, pela orientação, seus ensinamentos e dedicação.
- Ao meu amigo Geraldino Andrade Cunha Filho (Dino), *in memoriam*, pela amizade, incentivo, aprendizado na técnica cromatográfica e sugestões de testes farmacológicos.
- Aos amigos de laboratório, Saulo Marques (Sauleira), Teresinha, Fernanda, Charley, Vinicius, Diana, Paulo Henrique, pelos momentos de descontração e de discussão científica.
- Aos amigos do LAQMOS pelo compartilhamento de solventes e reagentes, carinho e palavras de apoio, especialmente Angélica de Fátima e Carlos Eduardo (Kadu).
- Ao Prof. Dr. Christopher W. Fagg, pela identificação e fornecimento de sementes das espécies de *Anadenanthera*.
- À Prof.^a Dr.^a Cláudia Cristina Gatto pela as análises de Monocristais por Difração de Raios X.
- À Prof.^a Dr.^a Maria Márcia Murta pelas sugestões no andamento deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Rafael Oliveira Rocha pela ajuda nas dúvidas relativas às reações químicas.
- Às professoras Dr.^a Inês Sabioni Resck e Profa. Dr.^a Aline Lima de Oliveira, por ajudarem nas dúvidas de espectroscopia orgânica.
- À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Processo CT-INFRA 970/2001, 1040091/2004, pelo apoio a projetos que contribuíram para a realização desse trabalho.
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa nos primeiros anos de estudo e pela manutenção do Portal Periódicos.

- À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), Processo 193.000.410/2008, que permitiu a aquisição de equipamentos, solventes e reagentes necessários à execução desse estudo.
- Ao Laboratório de Controle de Qualidade da FS/UnB pela aquisição dos espectros de IV (ATR).
- À Central Analítica do IQ/UnB que possibilitou aquisição dos espectros de RMN, IV e as análises por CG/MS.
- Às professoras Dr.^a Quezia C. Cass, Dr.^a Kenia L. Vazolini e Dr.^a Bianca Simões, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, pela realização dos testes de inibição da acetilcolinesterase.
- Aos professores Dr. Ângelo Henrique de Lira Machado, Dr. Wender Alves da Silva, Dr. Guilherme Roberto de Oliveira, Dr.^a Dâmaris Silveira e Dr. Guilherme G. Brand, por aceitarem participar da Banca Examinadora.

Índice

1	Introdução e Objetivos	2
1.1.	Introdução	2
1.2.	Objetivos	2
2	Revisão Bibliográfica.....	4
2.1.	Espécies de <i>Anadenanthera</i> do Cerrado como fonte de bufotenina.....	4
2.2.	Atividades farmacológicas dos derivados da triptamina.....	8
2.3.	Compostos diméricos como candidatos a fármacos multialvos para o tratamento da Doença de Alzheimer	10
2.4.	Metodos clássicos de determinação da atividade inibitória da AChE e imobilização enzimática em bioreator capilar (ICER).....	17
2.5.	Importância de oxindóis e preparação a partir do indol.....	21
3	Materiais e Métodos.....	29
3.1.	Material vegetal.....	29
3.1.1	Coleta de sementes de espécies de <i>Anadenanthera</i>	29
3.2.	Parte química.....	29
3.2.1	Procedimentos gerais:.....	29
3.2.2	Extração, isolamento e caracterização da bufotenina (5-Hidróxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina, 1).....	30
3.2.3	Preparação de derivados triptamínicos a partir da bufotenina.....	32
3.2.4	5-Hidróxi- <i>N,N,N</i> -trimetiltriptamina (6).....	33
3.2.5	Complexo bufotenina-aminoborano (79)	33
3.2.6	<i>N,N</i> -Dimetiltriptamina (4)	35
3.2.7	Complexo 5-metóxi- <i>N</i> -Boc-bufotenina aminoborano (80)	35
3.2.8	5-Metóxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (6)	36
3.2.9	Preparação de dímeros da bufotenina e conversão destes nos correspondentes oxindóis	37
3.2.10	5-(2-Cloroetóxi)-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil) aminoborano (85).....	38
3.2.11	1- <i>terc</i> -Butóxicarbonil-5-(2-iodoetóxi)-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil) aminoborano (86)	39
3.2.12	5- <i>terc</i> -Butildimetilsililóxi-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (87)	40
3.2.13	1- <i>terc</i> -Butóxicarbonil-5- <i>terc</i> -butildimetilsililóxi-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil) aminoborano (88)	40
3.2.14	1- <i>terc</i> -Butóxicarbonil-5-(hidróxi)-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (89)	41

3.2.15	5-(3-Bromopropóxi)- 1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (90)	42
3.2.16	5-(3-Bromopropóxi)-1- <i>terc</i> -butóxicarbonil-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (91)	42
3.2.17	5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1- <i>terc</i> -butóxicarbonil -1 <i>H</i> -indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano	43
3.2.18	5- <i>terc</i> -Butildimetilsililóxi-1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (93)	44
3.2.19	5- <i>terc</i> -Butildimetilsililóxi-1-tosil-1 <i>H</i> -indol-3-(2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (94)	44
3.2.20	Complexo 5-metóxi-bufotenina aminoborano (95)	45
3.2.21	Procedimento geral para preparação dos dímeros aminoboranos (96 , 97 ou 98)	46
3.2.22	5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (96)	46
3.2.23	5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-tosil -1 <i>H</i> -indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano (97)	47
3.2.24	1,1'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(5-metóxi-indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etil)-aminoborano(98)	47
3.2.25	Procedimento geral para clivagem do grupo borano (99 , 100 e 101)	48
3.2.26	5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1- <i>terc</i> -butóxicarbonil -1 <i>H</i> -indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etanoamina (99)	48
3.2.27	5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-tosil -1 <i>H</i> -indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etanoamina (100)	49
3.2.28	1,1'-(Propano-1,3-di(bis)oxi-bis(5-metóxi-indol-3-(2- <i>N,N</i> -dimetil)etilanoamina (101)	50
3.2.29	5-(Hidróxi-2-oxoindolin-3-il)-2-(<i>N,N</i> -dimetil)etil aminoborano (102)	50
3.3.	Ensaio biológico	51
3.3.1.	Avaliação da atividade inibitória da bufotenina e derivados por AChE-ICER/ LC-MS	51
3.3.2.	Condições experimentais de análise por AChE-ICER/LC-MS	51
4	Obtenção e caracterização do alcalóide bufotenina (1)	54
4.1.1	Isolamento do alcalóide bufotenina (1) e composição da fração oleaginosa das sementes de <i>Anadenanthera</i>	55
4.1.2	Preparação de derivados triptamínicos a partir da bufotenina	62
4.1.3	Preparação de oxindóis a partir do dímero dos derivados da bufotenina	68
4.1.4	Resultados da Avaliação da atividade inibitória da bufotenina e derivados por (AChE-ICER) LC-MS	90
5	Conclusões e Perspectivas	95
5.1.1	Conclusões	95

5.1.2	Perspectivas	96
6	Bibliografía	99

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa de uso e cobertura da terra cerrado (adaptada)	4
Figura 2. Partes aéreas de <i>anadenanthera peregrina</i> (<i>piptadenia falcata</i> benth)	5
Figura 3. Proposta de felows e bell para a biossíntese de derivados 5-hidróxi-triptamínicos em <i>p. Peregrina</i>	7
Figura 4. Exemplos de atividades farmacológicas de alguns derivados triptamínicos naturais e sintéticos.....	9
Figura 5. Harmalina: inibidor da monoamina oxidase (IMAO).....	10
Figura 6. Representação concavidade ativa da ache da <i>torpedo californica</i>	11
Figura 7. Representação do mecanismo da hidrólise da acetilcolina pela acetilcolinesterase	12
Figura 8. A) neurônio saudável. B) placas amilóides em neurônio.....	12
Figura 9. Exemplos de inibidores clássicos da AChE.	13
Figura 10. Memantina, um antagonista de receptores de glutamato (NMDA). ³²	14
Figura 11. Exemplos de dímeros multialvos inibidores da ache e da agregação da aβ-amilóide	17
Figura 12. Fundamentos químicos do método de Ellman	18
Figura 13. Fundamentos químicos do método de marston e hostettmann.....	19
Figura 14. Proposta de fragmentação da colina.....	20
Figura 15. Método de imobilização da enzima <i>eel</i> e <i>huAChE</i> em capilares de sílica fundida	21
Figura 16. Sistema de LC-MS utilizado da avaliação da atividade inibitória de ligantes da AChE	21
Figura 17. Centros reativos do núcleo oxindólico.....	22
Figura 18. Oxindóis com reconhecidas atividades biotecnológicas.	23
Figura 19. Árvore, ramos, vagens e sementes da espécie <i>a. Peregrina</i> , var. <i>Peregrina</i> (BCE/UnB).	54
Figura 20. Árvore, ramos, vagens e sementes da espécie <i>a. Peregrina</i> , var. <i>Falcata</i> (APCEF).	55
Figura 21. Diagrama de fluxo usado na extração da bufotenina (1) pelo método de Stromberg	56

Figura 22. Diagrama de fluxo usado na obtenção da bufotenina (1) pelo método clássico de extração de alcalóides.	57
Figura 23. CG-EM (Rt 24,00) da bufotenina de <i>A. Peregrina</i> (superior) e de <i>A. Colubrina</i> (inferior).	59
Figura 24. Cromatogramas da mistura de FAMES da fração oleaginosa de amostras de <i>A. Peregrina</i> (a) e <i>A. Colubrina</i> (b).	61
Figura 25. Espectro de HRESI/MS da bufotenidina (7).	63
Figura 26. Espectro de HRESI/MS do derivado aminoborano (79).	64
Figura 27. Representação ortep-3 do derivado aminoborano (79).	65
Figura 28. Espectro de hresi/ms da <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (4) e metóxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (6).	68
Figura 29. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹ H e ¹³ C (APT) do monoalquilboranobufotenina (85).	70
Figura 30. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹ H e ¹³ C do intermediário monoalquilado 86	72
Figura 31. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹ H e ¹³ C do intermediário bromo-álquil (91).	75
Figura 32. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹ H e ¹³ C do dímero (92).	77
Figura 33. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹ H e ¹³ C do dímero 96	80
Figura 34. Espectro de rmn ¹ h da mistura dos derivados éter alílico (107) e brometo (90).	82
Figura 35. Comparação dos espectros de RMN ¹ H dos dímeros 91 e 99	85
Figura 36. Mecanismo proposto para a formação oxindol 102	87
Figura 37. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹ H e ¹³ C do oxindol 102	88
Figura 38 relação de ligantes ensaiados por AChE-ICER em fluxo LC-MS.	90
Figura 39. Curvas de calibração em baixa (0,1 – 6,4 uM) e alta concentrações (6,4 – 208,8 uM).	91

Índice de Esquemas

Esquema 1. Síntese do 2-oxo-araquidônico-serotonina (50).....	24
Esquema 2. Formação dos oxindóis 54 e 55 e da lactona 56 com o uso de dimetildioxirano	24
Esquema 3. Síntese total do alcalóide espirotriptatina B	25
Esquema 4. Formação do espiro-lactona 66 via oxidação de Swern.....	26
Esquema 5. Planejamento esquemático para preparação dos derivados triptamínicos. .	32
Esquema 6. Planejamento esquemático para obtenção dos dímeros e correspondentes derivados oxindólicos.	38
Esquema 7. Preparação da bufotenidina (7) a partir da bufotenina	62
Esquema 8. Tentativa de conversão da bufotenidina (7) em <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (4)	63
Esquema 9. Preparação complexo aminoborano (79) a partir da bufotenina (1).	64
Esquema 10. Preparação da <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (4) e 5-metóxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (6) a partir do derivado aminoborano (79).	66
Esquema 11. Tentativa de formação do dímero 81	69
Esquema 12. Tentativa na formação do dímero (103).....	71
Esquema 13. Formação do iodo-alquil (86) a partir cloro-alquil (85).....	71
Esquema 14. Tentativa de formação do dímero (105) a partir do complexo borano (79).	73
Esquema 15. Formação do intermediário bromo-alquil (91) a partir do complexo borano (79).	74
Esquema 16. Formação do complexo aminoborano dimérico (92) a partir do composto 89	76
Esquema 17. Formação dos boranos díméricos a partir dos respectivos intermediários sililados.....	78
Esquema 18. Proposta de mecanismo para formação dos dímeros.	79
Esquema 19. Reação de dimerização do sililado 87 e formação do éter vinílico (107) e do bromo-alquil (90).....	81
Esquema 20. Formação do dímero aminoborano (98).	83
Esquema 21. Estudo metodológico para remoção do grupo borano.	84
Esquema 22. Tentativa de formação oxindóis 108 a partir da bufotenina (1).....	86

Esquema 23. Formação do oxindol bufotenina borano (102)	86
Esquema 24. Tentativa de formação dos oxindóis diméricos 108 e 109	89

Índice de Tabelas

Tabela 1. Representação estrutural da bufotenina (1) e indolalquilaminas relacionadas .	6
Tabela 2. Compostos isolados de <i>tetrapteryx mucronata</i> com ação inibitória sobre a AChE	15
Tabela 3. Atividade inibitória e seletividade de 24 e 25 frente a AChE/BuChE e MAO A/B.	16
Tabela 4. Adição intramolecular do nucleófilo na formação espiro-oxindóis	27
Tabela 5.comparação dos resultados da extração da bufotenina das espécies de <i>Anadenanthera</i> usando a modificação do método clássico de extração de alcaloides... ..	58
Tabela 6. Dados espectrais RMN ¹ H e ¹³ C da bufotenina (1)	60
Tabela 7. Composição da fração oleaginosa das sementes de <i>Anadenanthera</i>	62
Tabela 8. Comparação dos dados de RMN ¹³ C da bufotenina (1) com os dos derivados triptamínicos 4 , 6 , 7 , 79 e 80	67
Tabela 9. Estudo da reação de formação do composto monoalquil-borano bufotenina (85).	70
Tabela 10. Preparação dos derivados sililados 88 , 93 e 94	77
Tabela 11. Percentagem de inibição da hidrólise da acetilcolina por AChE-ICERs.....	92

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

5-HT	Serotonina
Ac	Acetila
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
APT	Teste do próton diretamente ligado (<i>Attached Proton Test</i>)
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonila
CCD	Cromatografia em camada delgada
Ch	Colina
COSY	Espectroscopia de Correlação (<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>)
DA	Doença de Alzheimer
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octano
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMT	<i>N,N</i> -Dimetiltriptamina
<i>eel</i> AChE	Acetilcolinesterase de <i>Electrophorus electricus</i>
Eq.	Equivalente
Et	Etila
HMQC	Correlação Heteronuclear múltiplas-quântica (<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>)
HMBC	Correlação Heteronuclear de Longa Distância (<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>)
HRESI/MS	Espectrometria de Massa como Ionização por Electrospray de Alta

	Resolução (<i>High-resolution electrospray ionisation mass spectrum</i>)
HTS	Ensaio biológico automatizado em larga escala (<i>high throughput screening</i>)
huAChE	Acetilcolinesterase de <i>Homo sapiens</i>
IC ₅₀	Concentração máxima meia inibitória
ICERs	Biorreatores capilares com enzimas imobilizadas (<i>immobilized capillary enzyme reactor</i>)
Im	Imidazol
IV	Infravermelho
LC	Cromatografia líquida (<i>liquid chromatography</i>)
Me	Metila
MS	Espectrometria de massa (<i>mass spectrometry</i>)
NBS	<i>N</i> -Bromosucinamida
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot Program
p.f.	Ponto de fusão
Ph	Fenil
ppm	Parte por milhão
Py	Piridina
r.f.	Refluxo
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SERT	Transportador de serotonina
t.a.	Temperatura ambiente
TBAB	Brometo de tetra-butilamônio
TBS	<i>tert</i> -butildimetilsilila

TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetraidrofurano
Ts	<i>p</i> -Metil-benzenosulfonila

Resumo

O alcaloide indólico bufotenina (5-hidróxi-*N,N*-dimetiltriptamina) tem sido encontrado em diversas fontes vegetais e animais e, recentemente, vem despertando grande atenção desde a sua detecção em vários fluídos corporais humanos. Esse trabalho descreve um protocolo eficiente para o isolamento da bufotenina de sementes de espécies de *Anadenanthera* (*A. peregrina* e *A. colubrina*), árvores amplamente distribuídas no cerrado brasileiro, e descreve o uso deste alcaloide como matéria-prima apropriada para síntese de vários derivados indólicos com potencial bioativo. A análise química da fração oleaginosa revelou que a composição principal de ácidos graxos insaturados (ácidos oleico e linoleico) sugere elevado valor nutricional das sementes de *Anadenanthera*. A conversão da bufotenina nos derivados triptamínicos iodeto de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (bufotenidina), *N,N*-dimetiltriptamina (DMT) e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (MDMT) foi realizada através de uma rota sintética simplificada e inovadora. Além disso, foi relatado um método fácil para a conversão da bufotenina em um complexo aminoborano inédito. A partir do complexo bufotenina aminoborano foram sintetizados oito dímeros e um derivado oxindólico inéditos. A caracterização estrutural da bufotenina, dos derivados triptamínicos, e oxindólico bem como dos dímeros bis-indólicos foi realizada por CG-MS, FT-IR, RMN ¹H e ¹³C (unidimensionais) e HRESI/MS. A bufotenina, bufotenidina e quatro dímeros indólicos foram avaliados como inibidores da acetilcolinesterase (AChE) pelo método da enzima imobilizada em bioreatores capilares acoplados a espectroscopia de massa (AChE-ICERs/LC-MS). Por meio desse estudo, bufotenidina e três dos dímeros testados apresentaram elevada percentagem de inibição da AChE, com destaque para 1,3-bis-((5-metóxi-3-(2-(*N,N*-dimetil)etilamino)-1*H*-indol-1-il) propano que exibiu 92,23% de atividade inibitória, maior que a galantamina (90,81 %).

Palavras-chave: *Anadenanthera*, bufotenina, bufotenidina, *N,N*-dimetiltriptamina, 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina, dímeros, bis-indólicos, oxindóis, complexo aminoborano, inibidores da acetilcolinesterase, ICERs/LC-MS.

Abstract

The indole alkaloid bufotenine (5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamine) has been found in several vegetal and animal sources, and recently has been attracted great interest since its detection in humans body fluids. This work describes an effortless and efficient protocol for isolation of bufotenine from seeds of *Anadenanthera* species (*A. peregrina* and *A. colubrina*), widespread trees in the Brazilian cerrado, and proposes the utilization of this alkaloid as suitable starting material for the synthesis of various potential bioactive indole derivatives. The analyses of the oleaginous fractions revealed that the main fatty acid composition (oleic and linoleic) indicates the nutritional value of the *Anadenanthera* seeds. The conversion of the bufotenine tryptamine derivatives into 5-hydroxy-*N,N,N*-trimethyltryptamine iodide (bufotenidine), *N,N*-dimethyltryptamine *N,N*-dimethyltryptamine (DMT), 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine (MDMT) was accomplished through an innovative and short synthetic pathway. Furthermore, it was reported an effortless methodology for conversion of the bufotenine into the inherit amineborane complex. Starting from bufotenine-amineborane complex eight new dimers and an oxindole derivative were synthesized. The structural characterization of bufotenine, tryptamine and oxindole derivatives as well as the bis-indole dimers was accomplished by GC-MS, FT-IR, ¹H and ¹³C NMR (uni and two-dimensional) and HRESI/MS. The bufotenine, bufotenidine and four dimers were evaluated as inhibitors of the acetylcholinesterase (AChE) by immobilized capillary enzyme reactor-tandem mass spectroscopy (AChE-ICERs/LC-MS) method. Through this study the tested bufotenidine and three dimers showed great percentage of the AchE inhibition, highlighting for propane-1,3-diylbis(5-methoxy-1H-indole-1,3-diyl))bis(*N,N*-dimethylethan-1-amine which exhibited 92,23% of inhibitory activity, higher than the galantamine (90,81 %).

Keywords: *Anadenanthera*, bufotenine, bufotenidine, *N,N*-dimethyltryptamine, 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine, dimers, bis-indole, amineborane complex, acetylcholinesterase inhibitors, ICERs/LC-MS.

*Introdução e
Objetivos*

1 Introdução e Objetivos

1.1. Introdução

O presente estudo abordou a síntese parcial de derivados triptamínicos (bufotenidina, *N,N*-dimetiltriptamina, e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina), compostos diméricos e respectivos oxindóis a partir do alcalóide indólico bufotenina, extraído de espécies de *Anadenanthera* do cerrado. Os compostos almejados poderão manifestar atividades biofarmacológicas como antineoplásicos, inibidores da acetilconesterase e da agregação A β -amilóide, a exemplo de análogos descritos na literatura. Adicionalmente, os derivados triptamínicos poderão servir como padrão analítico para estudos farmacológicos futuros.

1.2. Objetivos

- Obtenção do alcaloide bufotenina a partir de sementes de espécies/variedades de *Anadenanthera* do bioma cerrado em quantidade suficiente para realização das modificações químicas pretendidas;
- Preparação de derivados triptamínicos (bufotenidina, *N,N*-dimetiltriptamina e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina) a partir da bufotenina;
- Formação de dímeros a partir de derivados aminoborano da bufotenina;
- Formação de oxindóis a partir dos dímeros formados;
- Avaliação biofarmacológica dos intermediários-chave e compostos diméricos como inibidores da acetilcolinesterase.

*Revisão
Bibliográfica*

2 Revisão Bibliográfica

2.1. Espécies de *Anadenanthera* do Cerrado como fonte de bufotenina

O cerrado, segundo maior bioma brasileiro, ocupa cerca de 24% do território nacional e encontra-se distribuído principalmente pelo Planalto Central, nos estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, parte de Minas Gerais, Bahia e Distrito Federal (Figura 1).¹ É considerado uma das trinta e quatro áreas prioritárias de biodiversidade para conservação (*hotspots*) do mundo, com mais de 12.000 espécies vegetais registradas e em grau elevado de ameaça.^{2,3} Essa grande biodiversidade tem estimulado estudos em bioprospecção de compostos químicos.

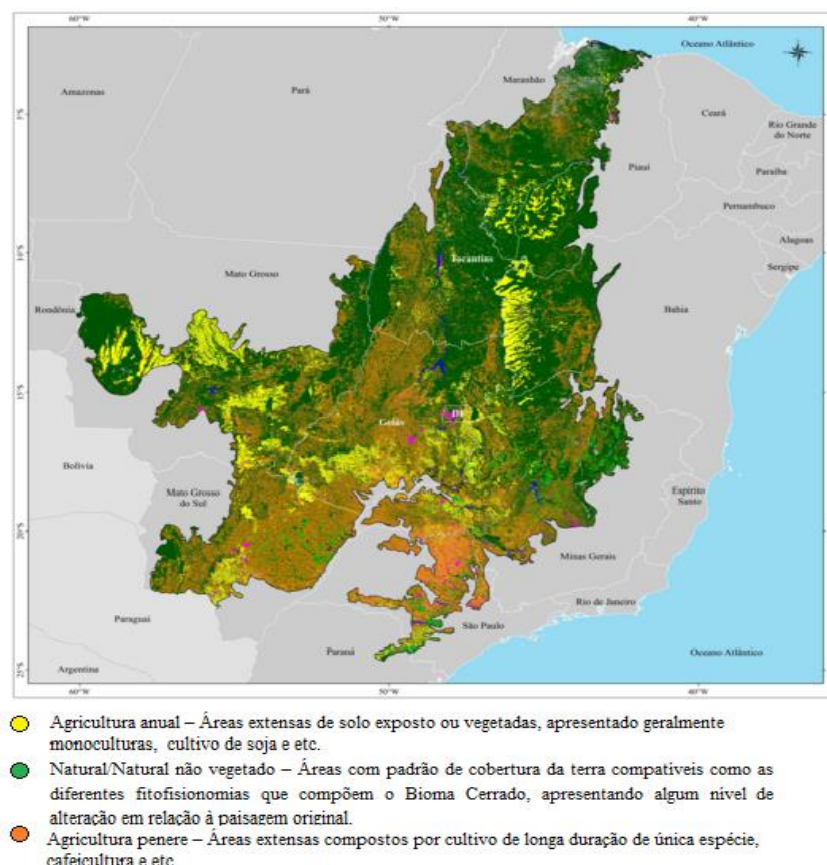


Figura 1. Mapa de uso do cerrado brasileiro e cobertura da terra (Adaptada)¹

¹<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/7808194/mapeamento-inedito-mostra-uso-e-cobertura-do-cerrado> acesso em 12 de dezembro de 2015.

²R. C.; Baumgratz, J. F. A.; Bicudo, C. E. M.; Canhos, D. A. L.; Carvalho Jr, A. A.; Coelho, M. A. N.; Costa, A. F.; Costa, D. P.; Hopkins, M. G.; Leitman, P. M.; Lohmann, L. G.; Lughadha, E. N.; Maia, L. C.; Martinelli, G.; Menezes, M.; Morin, M. P.; Peixoto, A. L.; Pirani, J. R.; Prado, J.; Queiroz, S. S.; Souza, V. C.; Stehmann, J. R.; Sylvestre, L. S.; Walter, B. M. T.; Zappi, D. C. *BioScience* **2012**, *62*, 39.

³Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Da Fonseca, G. A. B.; Kent, J. *Nature* **2000**, *403*, 853.

Na rica vegetação do bioma cerrado destaca-se, pela vasta distribuição e diversidade, a família Fabaceae, compreendendo as subfamílias Faboideae, Caesalpinoideae e Mimosoideae. Nesta última encontra-se o gênero *Anadenanthera* (Fabaceae), formado por árvores de porte alto (popularmente chamadas de angicos) e apresentando duas espécies e quatro variedades: *Anadenanthera peregrina* (var. *Peregrina* e *falcata*) e *Anadenanthera colubrina* (var. *Colubrina* e *cebil*).⁴

A espécie *Anadenanthera peregrina* (*Piptadenia peregrina* Benth), comumente chamada de “angico-do-cerrado”, “angico-cascudo”, “angico-do-campo”, “angico-preto”, “cambuí-ferro”, “pau-de-Boaz” e “arapiraca” (Figura 2), apresenta vasta utilização, como por exemplo, na arborização, construção civil (vigas e assoalhos), curtumes e como corantes artificiais. Sua goma é empregada na forma de goma arábica no tratamento de doenças pulmonares. A casca é rica em taninos, cujo poder adstringente pode ser explorado como depurativo, sob a forma de chá.⁵



Foto: José Antonio da Silva

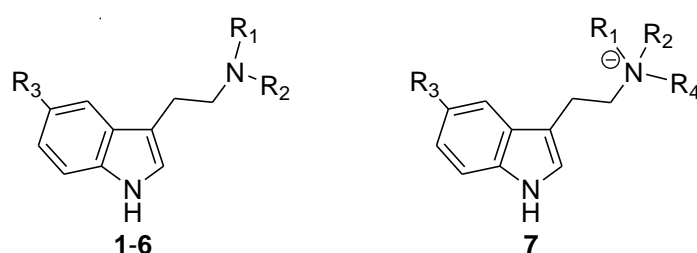
Figura 2. Partes aéreas de *Anadenanthera peregrina* (*Piptadenia falcata* Benth).^{4a}

⁴(a) Almeida, S. P.; Proença, C. E. B.; Sano, S. M.; Ribeiro, F. J. *Cerrado - Espécies vegetais úteis*; Embrapa: Planaltina, DF, 1998. (b) Torres, C. M.; Repke, D. B. *Anadenanthera visionary plant of ancient South America*. The Haworth Herbal Press: New York, 2006. (c) Altschul, S. von R. A Taxonomic Study of the Genus *Anadenanthera*. In: Rollins, R. C.; Foster, R. C., editors. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University. Massachusetts: Lexington Press, 1964. (d) Sprent, J. I. In: The nitrogen factor. *Advances in Legume Systematics*; Sprent, J. I. & McKey, eds.; Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 1994.

⁵(a) Fagg, C. W.; In: APA de Cafuringa, a última fronteira natural do DF; Netto, P. B.; Mecenas, V. V.; Cardoso, E. S. eds.; Semarh, Brasília, 2005; (b) Carvalho, P. E. R. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*; Colombo, EMBRAPA-CNPq, 1994; (c) Corrêa, M. P.; Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas; Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal; Rio de Janeiro, 1984; (d) Maia, G. N.; *Caatinga: Árvores e arbustos e suas utilidades*; D & Z Computação Gráfica e Editora, São Paulo, 2004.

Da semente de *Piptadenia peregrina* (formalmente, *Anadenanthera peregrina*) foi extraído o alcalóide 5-hidróxi-*N,N*-dimetiltriptamina (**1**, bufotenina)⁶, membro de uma vasta classe de compostos derivados da 5-hidróxi-triptamina (**2**, serotonina) e designados como indolalquilaminas (IAAs) ou derivados triptamínicos (Tabela 1).⁷ Nos anos 1950s, bufotenina (**1**), *N,N*-dimetiltriptamina (**4**) e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (**5**) foram detectadas em várias espécies de *Piptadenia* (*P. Paniculada*, *P. Peregrina*, *P. Macrocarpa* e *P. Colubrina*), além de outros vegetais, como por exemplo, na raiz de *Mimosa hostilis*.^{8,9}

Tabela 1. Representação estrutural da bufotenina (**1**) e indolalquilaminas relacionadas.⁷



Composto	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Nome(s)
1	Me	Me	OH	-	5-Hidróxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina, Bufotenina, HDMT
2	H	H	H	-	Triptamina
3	H	H	OH	-	Serotonina, 5-HT
4	Me	Me	H	-	<i>N,N</i> -Dimetiltriptamina, DMT
5	Me	Me	OH	-	5-Hidróxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina
6	Me	Me	OMe	-	5-Metóxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina, MDMT
7	Me	Me	OH	Me	5-Hidróxi- <i>N,N,N</i> -trimetiltriptamina, Bufotenidina, Cinobufotenina

Em 1971, Felows e Bell estudaram o metabolismo de indóis em *Piptadenia peregrina* e sugeriram que triptamina (**3**), 5-hidróxi-triptamina (**2**, 5-HT), 5-hidróxi-*N*-metiltriptamina (**5**) são os intermediários envolvidos na biossíntese da bufotenina (**1**, Figura 3).¹⁰

⁶Stromberg, V.L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 1707.

⁷Yu, A.M, *AAPS Journal* **2008**, 10, 242.

⁸Fish, M.S; Joohnson, M.; Horning, E.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 5892.

⁹Pachter, I. J.; Zacarias, D.E.; Ribeiro, O. *J. Org. Chem.* **1959**, 24, 1285.

¹⁰Fellows, L. E.; Bell, E. A.; *Phytochemistry* **1971**, 10, 2083.

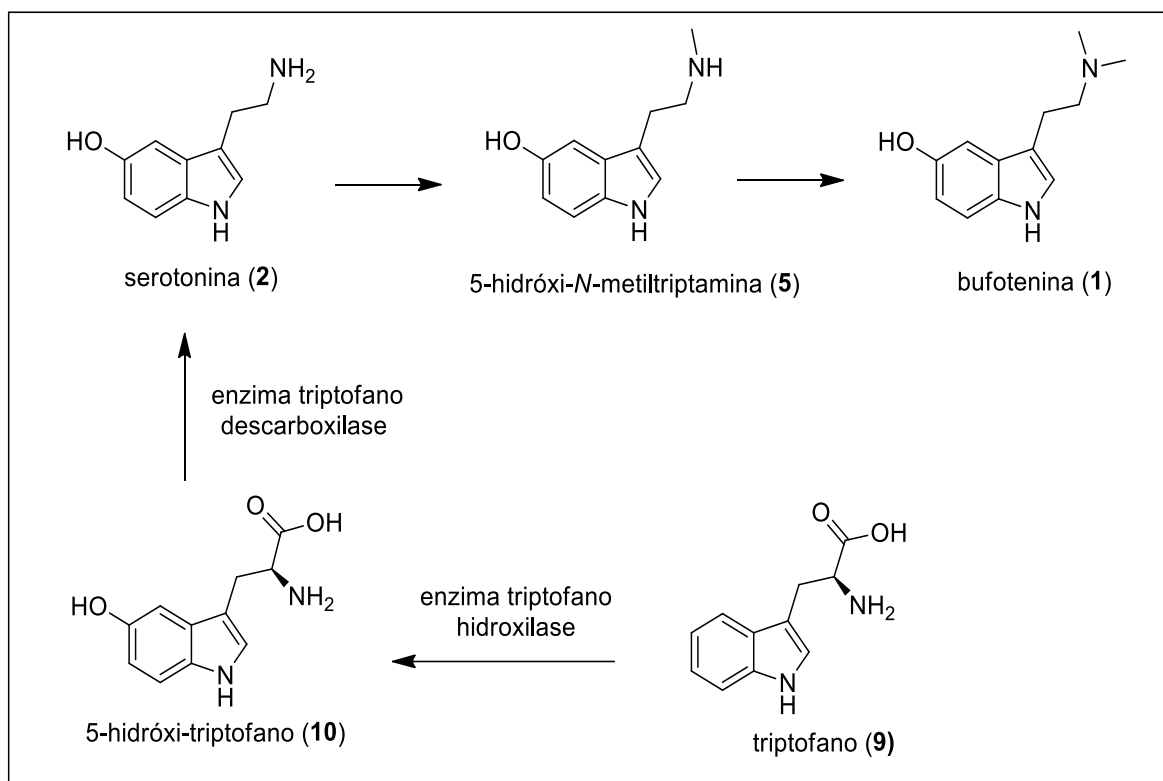


Figura 3. Proposta de Felows e Bell para a biossíntese de derivados 5-hidróxi-triptamínicos em *P. peregrina* (adaptada).¹⁰

A bufotenina foi também encontrada em espécies de gramínea *Phalaris ssp.*,¹¹ no látex da planta medicinal *Brosimum acutifolium*¹² e, mais recentemente, nas folhas de *Citrus bergamia* juntamente com vários outros derivados triptamínicos, inclusive a bufotenidina (7), nunca antes encontrada nesta espécie.¹³ Adicionalmente, bufotenina tem sido detectada em fontes de origem animal, como secreções da pele de anfíbios *Osteocephalus*¹⁴ e vertebrados marinhos *Paramuricea clavata*.¹⁵

O nome bufotenina deriva de sua descoberta em 1893 na pele do sapo Bufo (Bufonidae). Desde então, sapos Bufo e bufotenina têm sido objeto de controvérsias na literatura quanto às suas propriedades psicodélicas.¹⁶ Após sua detecção em urina humana, na década de 50, a bufotenina tornou-se novamente o centro do debate científico. Recentemente, Barker e colaboradores¹⁷ examinaram uma extensiva literatura, compreendendo o período de 1955-2010,

¹¹Zhou, L.; Hopkins, A. A.; Huhman, D. V.; Sumner, L. W. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 9287.

¹²Moretti, C.; Gaillard, Y.; Grenand, P.; Fabien B. F.; Prévost, J. M.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *106*, 198.

¹³Servillo L.; Alfonso, G.; Balestrieri, M.L.; Casale, R.; Cautela, D.; Castaldo, D. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 5156.

¹⁴Costa, T. O. G.; Morales, R. A. V.; Brito, J. P. Gordo, M.; Pinto, A. C.; Bloch, Jr. R. C. *Toxicon* **2005**, *46*, 371.

¹⁵Pérez, N.; Culiol, G.; Pérez, T.; Briand, J. F.; Thomas, O. P.; Blache Y.; *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 2304.

¹⁶(a) Lyttle, T.; Goldstein, D.; Gartz, J. *Journal of Psychoactive Drugs* **1996**, *28*, 267. (b) Shen, H. W.; Jiang, X. L.; Winter, J. C.; Yu, A. M. *Current Drug Metabolism.* **2010**, *11*, 659.

¹⁷Barker, S. A.; McIlhenny, E. H.; Strassman, R.; *Drug Test. Analysis* **2012**, *4*, 617.

relativa à presença de bufotenina e análogos em vários fluídos corporais humanos como sangue, urina e líquido cerebrospinal.

2.2. Atividades farmacológicas dos derivados da triptamina

Derivados triptamínicos naturais ou sintéticos (Figura 4) apresentam diversas atividades farmacológicas, como exemplos, temos: neurotransmissor endógeno (serotonina, **2**); regulador de sono (melatonina, **11**); antimigrainina (zolmitriptano, **12**), ligante sintético do receptor serotoninérgico 5-HT₆ humano (*N*₁-benzenosulfonila-MeO-DMT, **13**),¹⁸ antibiótico (conjugado bufotenina-cinamoíla, **14**)¹⁹ e ligante do receptor da acetilcolina (bufotenidina, **7**).²⁰

¹⁸Wu, Y. -J.; Top. *Heterocycl. Chem.* **2010**, 26, 1. (c) Barlow, R. B.; Burston, K. N.; *Br. J. Pharmacol.* **1980**, 69, 597.

¹⁹Russell, M. G. N.; Baker, R. J.; Barden, L.; Beer, M. S.; Bristow, L.; Broughton, H. B.; Knowles, M. McAllister, G.; Patel, S.; Castro, J. L.; *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3881.

²⁰Barlow, R. B.; Burston, K. N.; *Br. J. Pharmacol.* **1980**, 69, 597.

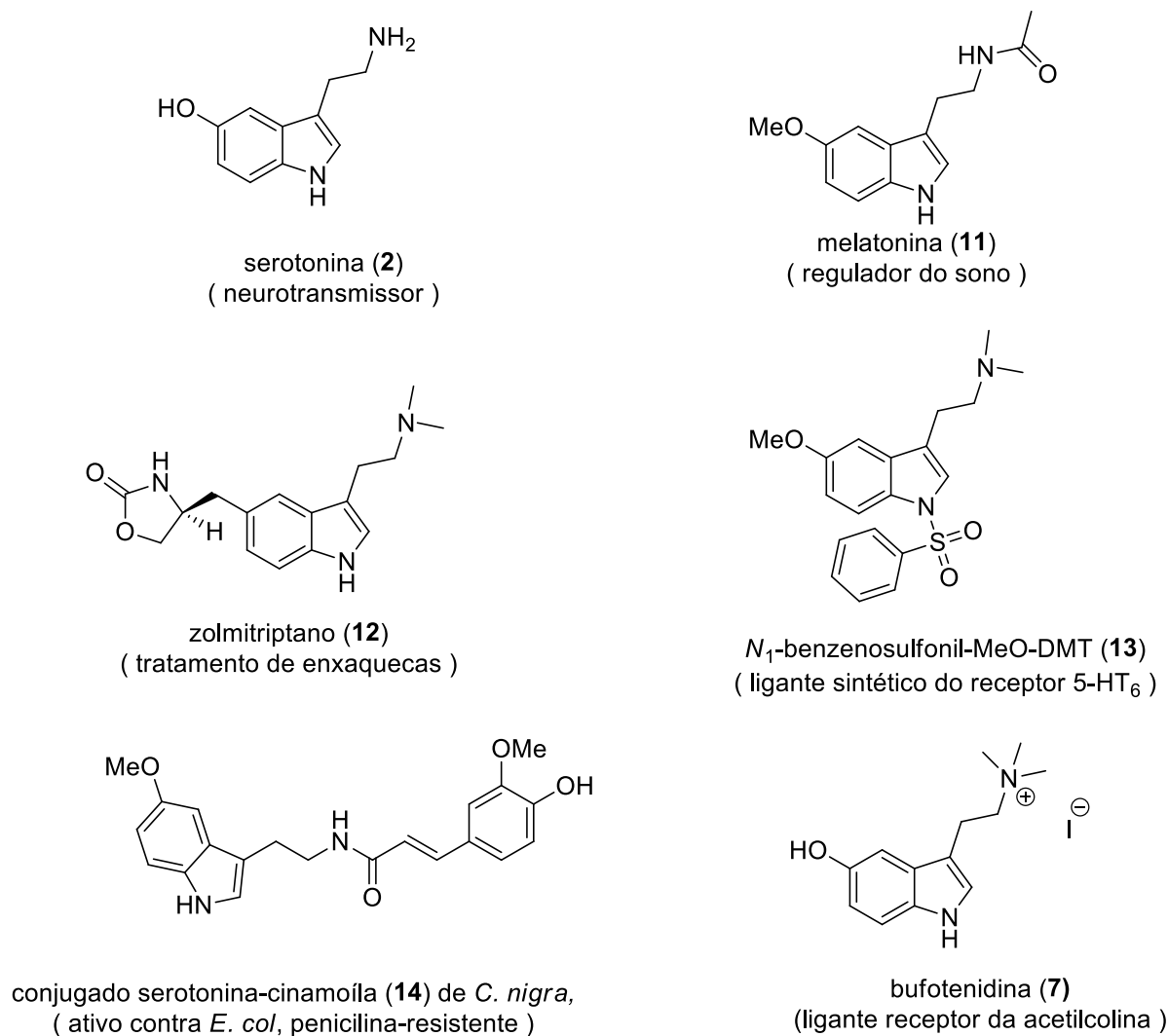


Figura 4. Exemplos de atividades farmacológicas de alguns derivados triptamínicos naturais e sintéticos.¹⁷

O interesse no metabolismo, na farmacocinética e no mecanismo de ação dos derivados triptamínicos tem crescido nos últimos anos, principalmente devido à ocorrência de vários fármacos antipsicóticos que agem diretamente no subtipo 2A do receptor da 5-hidroxitriptamina (5-HT_{2A}), associado com as funções normais do cérebro.²¹

5-Metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT, **6**) e harmalina (**15**) são os alcaloides principais encontradas em uma mistura de ervas que compõem a “*Ayhuaska*”, bebida utilizada em rituais religiosos por algumas tribos indígenas da Amazônia e em cultos da seita Santo Daime.¹⁹ Yu e colaboradores, ao investigarem o perfil da 5-MeO-DMT (**6**), tanto *in vitro* quanto *in vivo*, concluíram que quando esta é coadministrada oralmente com harmalina (**15**), um inibidor competitivo reversível de monoamina oxidase (IMAO), o metabolismo e a

²¹Almaula, N.; Ebersole, B. J.; Zhang, D.; Weinstein, H.; Sealfon, S. C. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 14672.

farmacocinética da 5-MeO-DMT é significativamente afetado bem como a formação do seu metabólico ativo (bufotenina, **1**) catalisada pela enzima hepática citocromo P₄₅₀ 2D6.^{22,23} De acordo com os pesquisadores em questão, a bufotenina (**1**) apresentou cerca de 10 vezes mais afinidade com receptor 5-HT_{2A} do que o 5-MeO-DMT. A atividade inibitória da harmalina (**15**) sobre a MAO aumenta a exposição sistêmica à 5-MeO-DMT (**3**), em 3,6-4,4 vezes, como também à bufotenina (**1**), em 9,9-6,1 vezes.

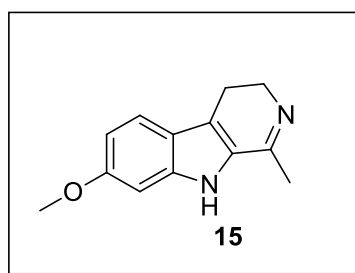


Figura 5. Harmalina: inibidor da monoamina oxidase (MAO) ^{19,20}

2.3. Compostos diméricos como candidatos a fármacos multialvos para o tratamento da Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa que progride de forma agressiva e incurável, acarretando perda da memória e diversos distúrbios cognitivos, tais como, perda da flexibilidade de locomoção, dificuldade na fala, reconhecimento de familiares, demência e até morte.^{24,25} Para retardar o avanço dos distúrbios destacados, foram desenvolvidos fármacos (comercialmente disponíveis e em estágios pré-clínicos) no intuito de normalizar a quantidade de neurotransmissor acetilcolina (ACh) drasticamente diminuído em pessoas que sofrem de DA, além de outros receptores nicotínicos e muscarínicos (M₂) de acetilcolina localizados nas membranas pré-sinápticas.²⁶

A quantidade de acetilcolina no sistema nervoso central (SNC) pode ser melhorada através da inibição das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butilcolinesterase (BuChE) enzimas que catabolizam a acetilcolina liberada no processo sináptico.²⁷ A concavidade ativa da AChE (Gorge), que tem uma profundidade de 20 Å, é formada pelos seguintes subsítios principais: o sítio periférico localizado na entrada, o sítio ligante de amônio quaternário situado no centro ao

²²Shen, H.; Wu, C.; Jiang, X.; Yu, A. M.; *Biochemical Pharmacology* **2010**, 80,122.

²³Winter, J. C.; Amorosi, D. J.; Rice, K. C.; Cheng, K.; Yu, A. M.; *Drug. Metab. Dispos.* **2011**, 99, 311.

²⁴<http://www.alzheimermed.com.br/diagnostico/sintomas-e-evolucao> acessado em 28/04/2015.

²⁵Goedert, M.; Spillantini, M.G. *Science* **2006**, 314, 777.

²⁶Junior, C. V.; Bolzani, S. V.; Furlan, M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Quim. Nova.* **2004**, 27, 655.

²⁷Benzi, G.; Moretti, A., *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, 346, 1.

lado direito, a cavidade oxianiónica no fundo (do Gorge), o sítio catalítico ativo composto por serina (Ser200), histidina (His440) e o ácido glutâmico 327 (Glu327) e bolso de acilação (Figura 6).²⁸

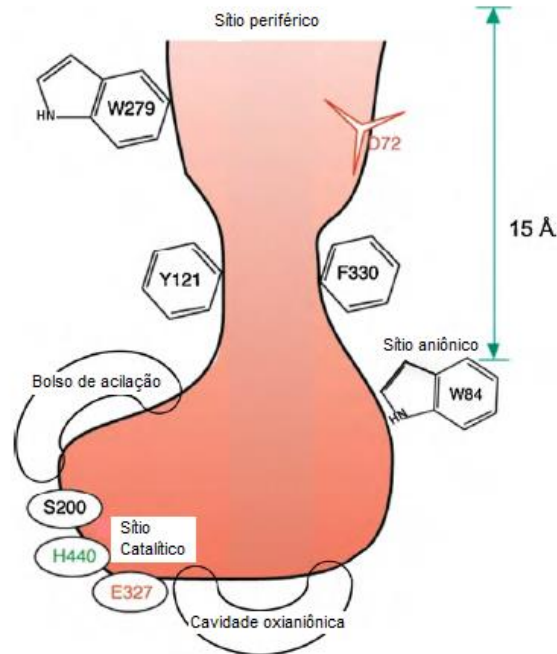


Figura 6. Representação da concavidade ativa da AChE da *Torpedo californica* (adaptada de Dvir e col.).²⁸

De acordo com Silman e colaboradores²⁹ o grupo hidróxi do aminoácido serina no sítio catalítico da AChE ataca a carbonila da acetilcolina formando um complexo enzima substrato e liberando assim a colina. A enzima acetilada é atacada pela molécula de água liberando ácido acético e a enzima (Figura 7). Com isso, inibidores da enzima acetilcolinesterase são importantes ferramentas terapêuticas para DA, por serem capazes de competir com acetilcolina, substrato natural, impedindo assim a sua transformação em colina.

²⁸Dvir, H.; Silman, I.; Harela, M.; Rosenberryc, T. L.; Sussmana, J. L. *Chem. Biol. Interact.* **2010**, 187, 10.

²⁹Silman, I.; Millard, C. B.; Ordentlich, A.; Greenblatt, H. M.; Harel, M.; Barak, D.; Shafferman, A., Sussman J. L. *Chem Biol Inter act* **1999**, 119–120, 43.

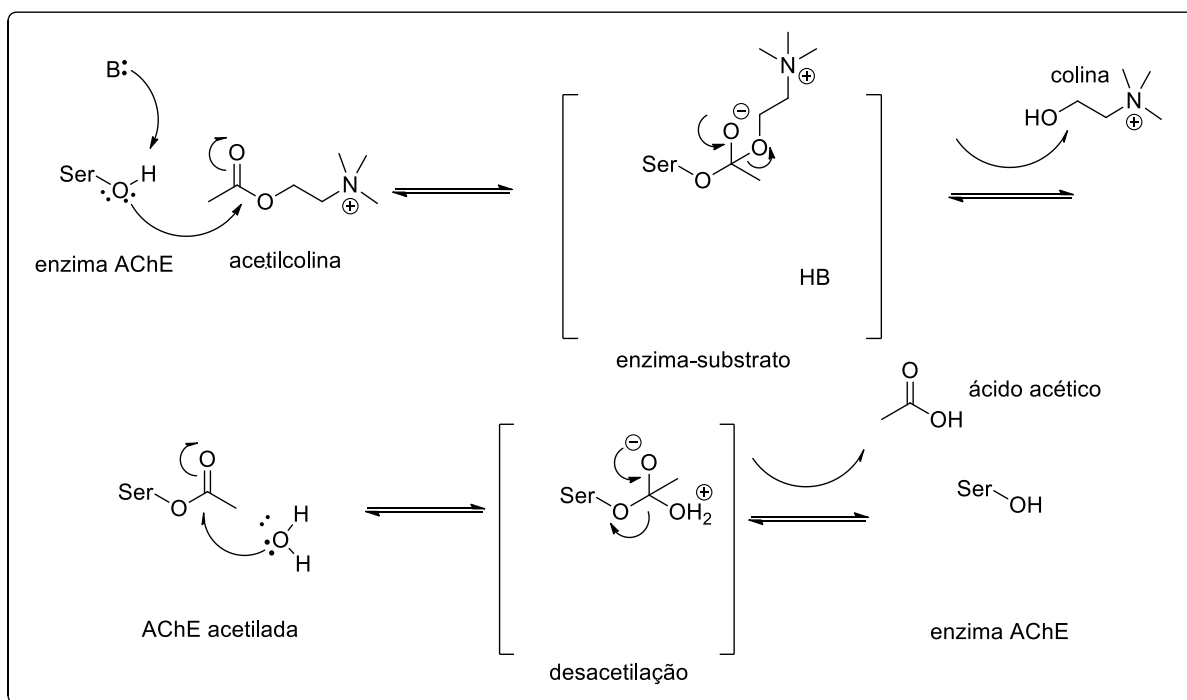


Figura 7. Representação do mecanismo da hidrólise da acetilcolina pela acetilcolinesterase, adaptada de Silman e col.²²

Além de outras evidências patológicas que ocorrem no cérebro, tanto intra ou extracelular, em pacientes que sofrem de DA observa-se a formação das placas protéicas de A β -amilóide entre os neurônios, que acarretam morte celular devido processo neuro-inflamatório e neurotóxico (Figura 8). O peptídeo A β -amilóide é formado por 39 a 42 resíduos de aminoácidos gerados a partir de uma quebra sequencial da proteína precursora amilóide (APP) por duas enzimas secretases (γ e β). A quebra da APP fornece dois resíduos de aminoácidos A β ₁₋₄₀ e A β ₁₋₄₂.³⁰Esse último resíduo é o mais expressivo na formação da agregação protéica devido apresentar menor solubilidade e maior toxicidade neural do que o resíduo A β ₁₋₄₀.

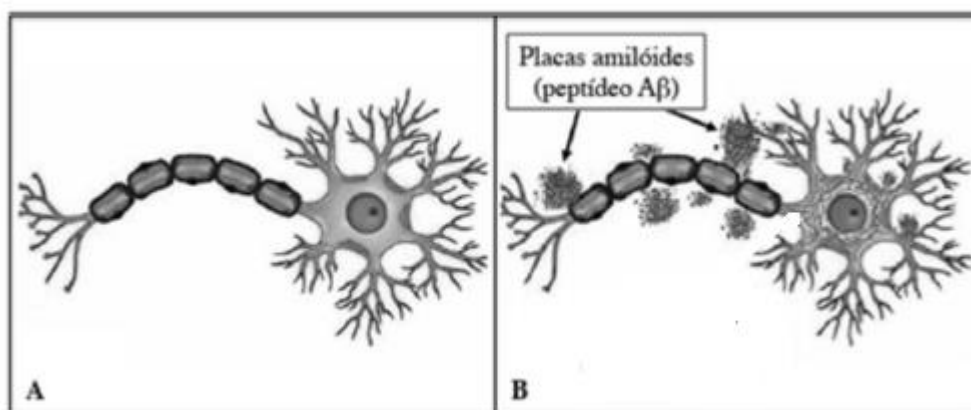


Figura 8. A) Neurônio saudável. B) Placas amilóides em neurônio com DA (adaptada de Falco e col.)²⁸

³⁰Falco, A. D.; Cukierman, D. S.; Hauser-Davis, R. A.; Rey, N. A. *Quim. Nova*, artigo no Prelo, publicado na web em 30/09/2015.

Para o tratamento da doença Alzheimer, os compostos com perfil anticolinesterásico que exibiram resultados promissores foram donepezil (**16**, Aricept®), fisostigmina (**17**, Eserina®), tacrina (**18**, Cognex®), galantamina (**19**, Reminyl®) e dímero da tacrina (**20**). Tacrina foi o primeiro fármaco sintético aprovado pelo FDA, mas devido a sua hepatotoxicidade caiu em desuso (Figura 9).³¹

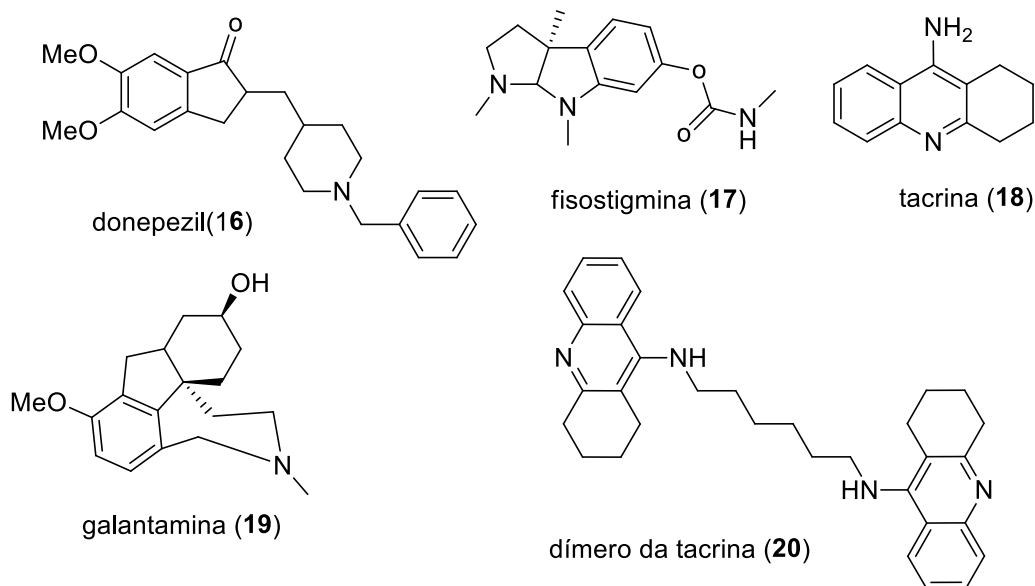


Figura 9. Exemplos de inibidores clássicos da AChE.³¹

Único fármaco com perfil não anticolinesterásico disponível, a memantina (**21**, Namenda®) foi aprovada pela agência FDA em 2003, Figura 10, atuando como um antagonista de receptores de glutamato, *N*-metil-D-aspartato (NMDA).³² O glutamato é o maior neurotransmissor excitatório envolvido em quase todas as funções do SNC. Liberado na sinapse excitatória, ativa o receptor de NMDA induzindo a entrada do íon Ca^{2+} no neurônio,³³ cujo excesso acarreta a morte de neurônio.³⁴ Devido a essa atuação diferenciada, o fármaco em questão, está sendo indicado para o tratamento de DA nos estágios moderados e até mesmo severos.³⁵

³¹(a) Gargano, R.; Paula, A. A. N.; Romeiro, L. A. S. ; Nascimento, E. C. M. ; Kiametis, A. S. ; dos Santos, Maria Lucília ; Castro, N. G. ; Nascente, L. C. ; Martins, J. B. L. *Revista Processos Químicos* **2011**, *10*, 9. (b) Barbosa Filho, J. M.; Medeiros, K. C. P.; Diniz, M. F.; Batita, L. M.; Athayde-Filho, P. F.; Silva, M. S.; da Cunha, E. V.L.; Almeida, J. S.; Quintans-Júnior, L. J. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2016**, *16*, 258.

³²<http://www.alzheimermed.com.br/tratamento/antagonista-dos-receptores-de-glutamato>, acesso em 17 de janeiro de 2015.

³³Bressana, R. A.; Pilowsky, L. S. *Ver. Bras. Psiquiatr.* **2003**, *25*, 177.

³⁴Geldenhuis, W. J.; Van der Schyf, C. J. *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 1662.

³⁵Dias, K. S. T.; de Paula, C. T.; Riquiel, M. M.; Lago, S. T.; Costa, K. C. M.; Vaz, S. M.; Machado, R. P.; Lima, L. M. S.; Viegas Junior, C. *Rev. Virtual Quím.* **2015**, *7*, 609.

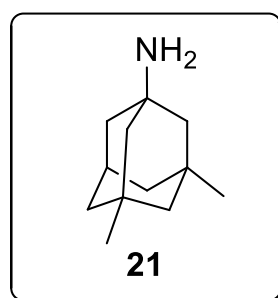


Figura 10. Memantina, um antagonista de receptores de glutamato (NMDA).³²

Garcia-Alloza e colaboradores³⁶ acessaram as funções serotoninérgico e dopaminérgico no córtex frontal e temporal de 22 pacientes de DA (*post-mortem*) e concluíram que o desequilíbrio nesses dois sistemas contribui para os sintomas cognitivos e comportamentais da DA. Considerando esses aspectos, a monoamina oxidase (MAO) foi ponderada como possível alvo da DA e seus inibidores devido as propriedades sobre as duas isoformas: IMAO-A (antidepressivos) e IMAO-B (desordens neurodegenerativas) tornaram candidatos úteis no tratamento da DA.³⁷

Desde o início, na busca de tratamento para DA, foi explorada uma única estratégia terapêutica como, por exemplo, inibidores da AChE, inibidores da agregação A β -amiloide, antagonistas de receptores NMDA ou IMAOs. Entretanto, devido à complexidade dessa doença, moléculas capazes de atingir um único alvo não foram suficientes para um tratamento eficaz da DA. Uma das alternativas recentes incide no desenvolvimento de protótipos moleculares capazes de atingir multialvos simultaneamente.³⁸ Abordagem multialvos tem sido explorada por muitos pesquisadores, em especial, inibidores de colinesterases, inibidores da agregação A β , IMAOs e antagonistas de receptores NMDA. Dentre esses protótipos, moléculas de estrutura dimérica, compostos híbridos contendo subunidade indólica e derivados triptamínicos vem se destacando.³⁹

Dados recentes da literatura evidenciam que derivados da triptamina também exibem ação inibitória sobre a AChE e podem ser considerados candidatos potenciais a

³⁶Garcia-Alloza, M.; Gil-Bea, F. J.; Diez-Ariza, M.; Chen, C.P.L.-H.; Francisc P. T.; Lasherasa, B; Ramirez M. J. *Neuropsychologia* **2005**, *43*, 442.

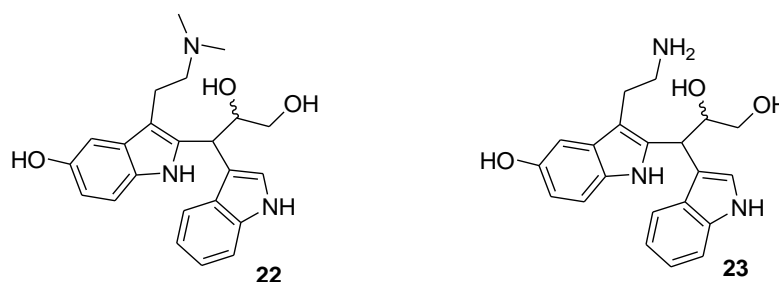
³⁷Bolea, I.; Juárez-Jiménez, J. Los Ríos, C.; Chiou, M.; Pouplana, R.; Luque, F. J.; Unzeta, M.; Marco-Contelles, J.; Samadi, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8251.

³⁸Morphy, R.; Rankovic, Z. *Lead Generation Approaches in Drug Discovery* **2010**, 142.

³⁹(a) Camps, P.; Formosa, X.; Munoz-Torrero, D.; Petrignet, P.; Badia, A.; Clos, V. M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1701. (b) Rodríguez-Franco, M. I.; Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; Hernández-Ledesma, B.; Bartolomé, B. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 459.

anticolinesterásicos. Queiroz e colaboradores⁴⁰ isolaram do caule de *Tetrapteryx mucronata*, planta usada ocasionalmente na preparação da bebida psicoativa *Ayahuasca*, vinte metabólitos secundários, dentre eles, bufotenina (**1**), triptamina (**4**), metóxi-dimetiltriptamina (**6**) e os dímeros **22** e **23**, os quais exibiram atividade inibidora da AChE com valores de IC₅₀ abaixo de 15 µM (Tabela 2).

Tabela 2. Compostos isolados de *Tetrapteryx mucronata* com ação inibitória sobre a AChE.⁴⁰



Composto	IC ₅₀ (µM)
1	11,4 ± 0,2
4	12,5 ± 0,3
6	14,0 ± 0,2
22	11,7 ± 0,4
23	12,7 ± 0,3
Galantamina (17)	2,4 ± 0,2
Tacrina (19)	0,09 ± 0,02

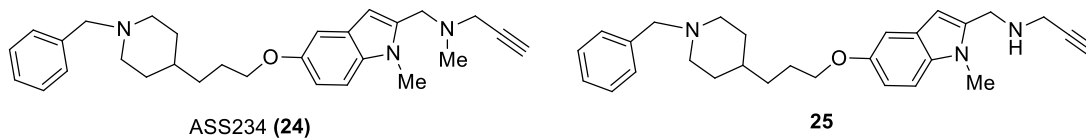
Aguilera e colaboradores⁴¹ planejaram e sintetizaram uma nova série de híbridos donepezil-indolil multialvos análogos do ASS234 (**24**), inibidor das enzimas MAO A/B, AChE e BuChE. Segundo os autores, as características “*drug-like*” e propriedades ADMET do composto **25** (Tabela 3) sugerem ser este um candidato promissor a fármaco para tratamento da DA e, portanto, merecedor de estudos adicionais. Com base em estudo de modelagem molecular (*docking*), os pesquisadores concluíram que a conformação linear de **25** possibilita a interação no sítio catalítico e periférico da *EeAChE*, contribuindo para maior seletividade AChE/BuChE. No

⁴⁰Queiroz, M. F., Queiroz, E. F., Zeraik, M. L., Ebrahimi, S. N., Marcourt, L., Cuendet, M., Castro-Gamboa, I., Hamburger, M., Bolzani, S. V., Wolfender, J.-L. *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 650.

⁴¹Bautista-Aguilera, O. M.; Esteban, G.; Bolea, I.; Nikolic, K.; Agbaba, D.; Moraleda, I.; Iriepa, I.; Samadi, A.; Soriano, E.; Unzeta, M.; Contelles, J.M. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *75*, 82.

caso da MAO, as simulações mostraram que a orientação das subunidades propargilamina e fenil é responsável pela maior seletividade MAO A/B.

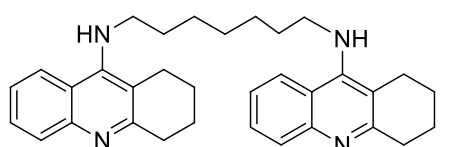
Tabela 3. Atividade inibitória e seletividade de **24** e **25** frente a AchE/BuChE e MAO A/B.²⁷



Composto	IC ₅₀ (μM)		Sel. <i>eqBuChE</i> / <i>EeAChE</i>	IC ₅₀ (μM)		Sel. hMAO B/hMA OA
	<i>EaAChE</i>	<i>eqBuChE</i>		hMAO A	hMAO B	
ASS234(24)	0,35 ± 0,01	0,46 ± 0,06	1,3	0,0042 ± 0,0005	0,039 ± 0,004	9,2
25	0,19 ± 0,01	0,83 ± 0,16	4,4	0,0055 ± 0,0014	0,15 ± 0,031	27,3
Donepezil	0,013 ± 0,001	0,84 ± 0,05	65	850 ± 13	15 ± 2,2	0,017

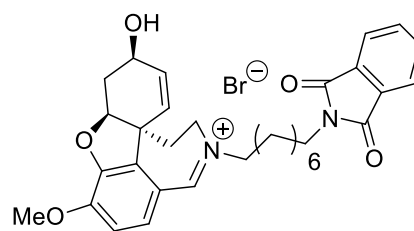
Léon e colaboradores⁴² apresentaram os resultados da atividade de vários dímeros de fármacos disponíveis para o tratamento da DA ou de outras substâncias inibidoras da AChE, comprovando a potencialização da interação dos compostos diméricos no sítio da AChE com consequente melhoria do perfil colinesterásico. A Figura 9 mostra alguns exemplos de homodímeros e heterodímeros multialvos atuando como potentes inibidores da AChE e apresentando propriedades anti agregação Aβ-amilóide melhoradas.

⁴²León, R., Garcia, A.G, Marco-Contelles, *Med. Res. Rev.* **2015**, *33*, 139.



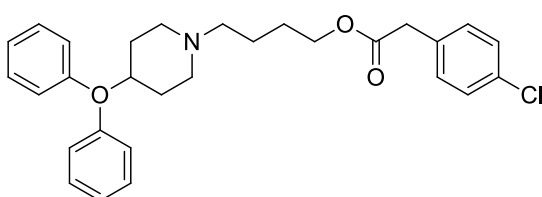
Homodímero: bis-tacrina (**26**)

AChE IC₅₀ = 0,40 nM
BuChE IC₅₀ = 390 nM
abAChE IC₅₀ = 41,7 mM
NMDA (bloqueio) IC₅₀ = 0,76 mM
GABAA (bloqueio) IC₅₀ = 5,6 mM
BACE-1 IC₅₀ = 7,5 mM



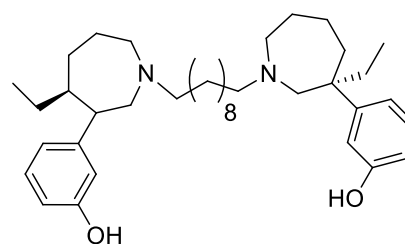
Heterodímero: donepezil-galantamina (**27**)

AChE IC₅₀ = 8,8 nM
BuChE IC₅₀ = 81,5 nM



Heterodímero: piperidina-(clorofenil)acetato (**28**)

AChE IC₅₀ = 0,32 mM
BuChE IC₅₀ = 38,4 mM
abauto ag. IC₅₀ = 28,2 mM
abAChE ag. 42,4 % (1 mM)



Homodímero: bis-N-dimetilmeptazinol (**29**)

AChE IC₅₀ = 9,5 nM
BuChE IC₅₀ = 17,0 nM
abAChE ag. IC₅₀ = 5,80 mM

Figura 11. Exemplos de dímeros multialvos inibidores da AChE e da agregação da Aβ-amilóide.⁴⁰

2.4. Métodos clássicos de determinação da atividade inibitória da AChE e imobilização enzimática em bioreator capilar (ICER)

Diversos métodos têm sido relatados para a determinação da atividade inibitória da AChE, sendo o método espectrofotométrico de Ellman,⁴³ o mais utilizado. O fundamento do método é a produção da tiocolina (**31**) por ação da AChE sobre a acetil-tiocolina (**30**, ATCh). A tiocolina (**31**) formada interage com o ácido ditiol-bis-nitrobenzóico (**33**, DTNB), fornecendo o ácido-5-tio-2-nitrobenzóico (**34**, TNB) de coloração amarelada, que na análise de UV-vis apresenta-se com comprimento de onda de 420 nm. Deste método derivou-se variantes simplificadas ou otimizadas que tem sido relatadas na literatura para determinação dos efeitos falso-positivo por microplacas (*microplates*)⁴⁴; análises de colinesterase eritrocitária⁴⁵ e análise rápida de AChE no fluido amniótico.⁴⁶

⁴³Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V. ; Featherstone, R. M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88.

⁴⁴Rhee, I. K.; Van Rijn, R. M.; Verpoorte, R. *Phytochem. Anal.* **2003**, 14, 127.

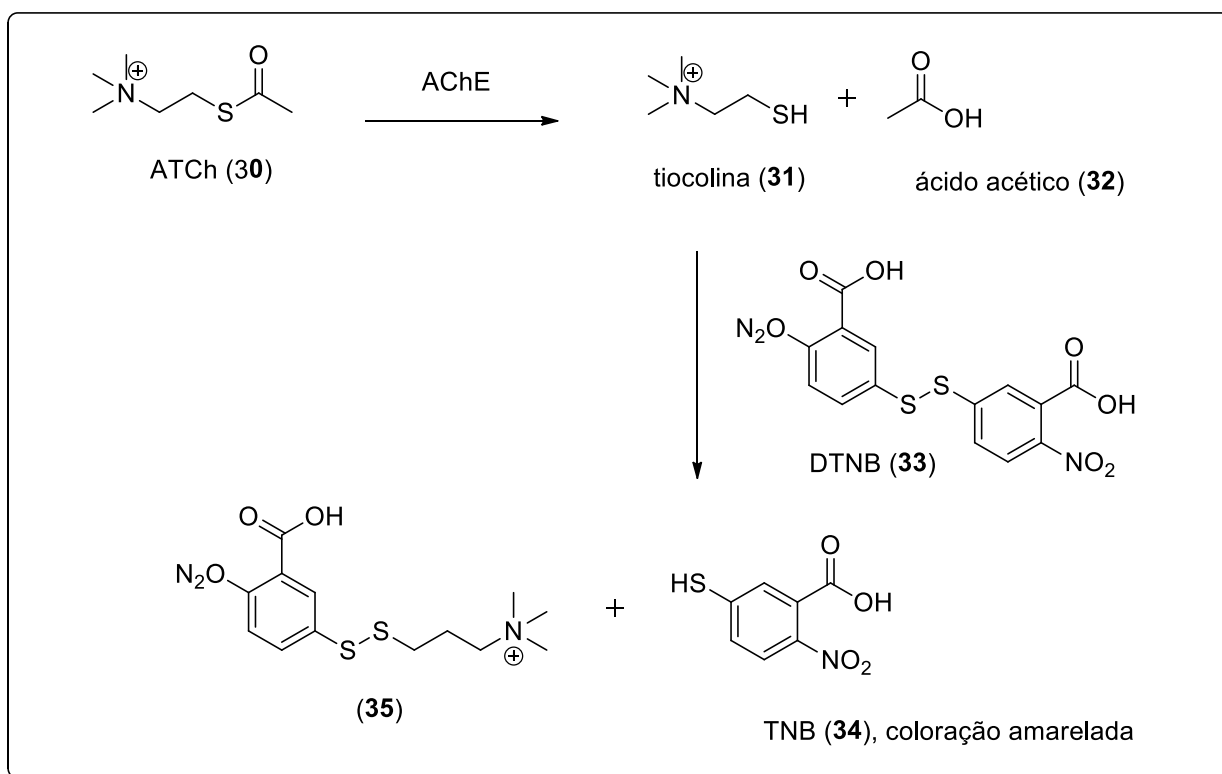


Figura 12. Fundamentos químicos do método de Ellman.⁴¹

Outra metodologia clássica na determinação inibitória de colinesterase é o método de Marston e Hostettmann⁴⁷ que emprega a Cromatografia de Camada Delgada. Consiste em uma análise qualitativa rápida de identificação de compostos com propriedade inibitória da AChE numa mistura complexa como, por exemplo, extrato de plantas. A placa de CCD com a amostra é eluída até migração da amostra, forma tradicional, utilizando um solvente apropriado. A placa é secada com pistola de ar quente até remoção do solvente e uma solução contendo a enzima, previamente preparada, é pulverizada e secada com controle de temperatura. Em seguida, uma solução de acetato de naftil acetato (36) e 39 (*fast Blue Salt B*) é pulverizada na placa, fornecendo uma coloração púrpura devido a formação do composto diazo (40), no caso de resposta positiva (Figura 13).

⁴⁵George, P. M.; Abernethy, M. H. *Clin. Chem.* **1983**, 29, 365.

⁴⁶Hay, D. L.; Ibrahim, G. F.; Horacek, I. *Clin. Chem.* **1983**, 29, 1065.

⁴⁷Marston, A.; Kissling, J.; Hostettmann, K. *Phytochem. Anal.* **2002**, 13, 51.

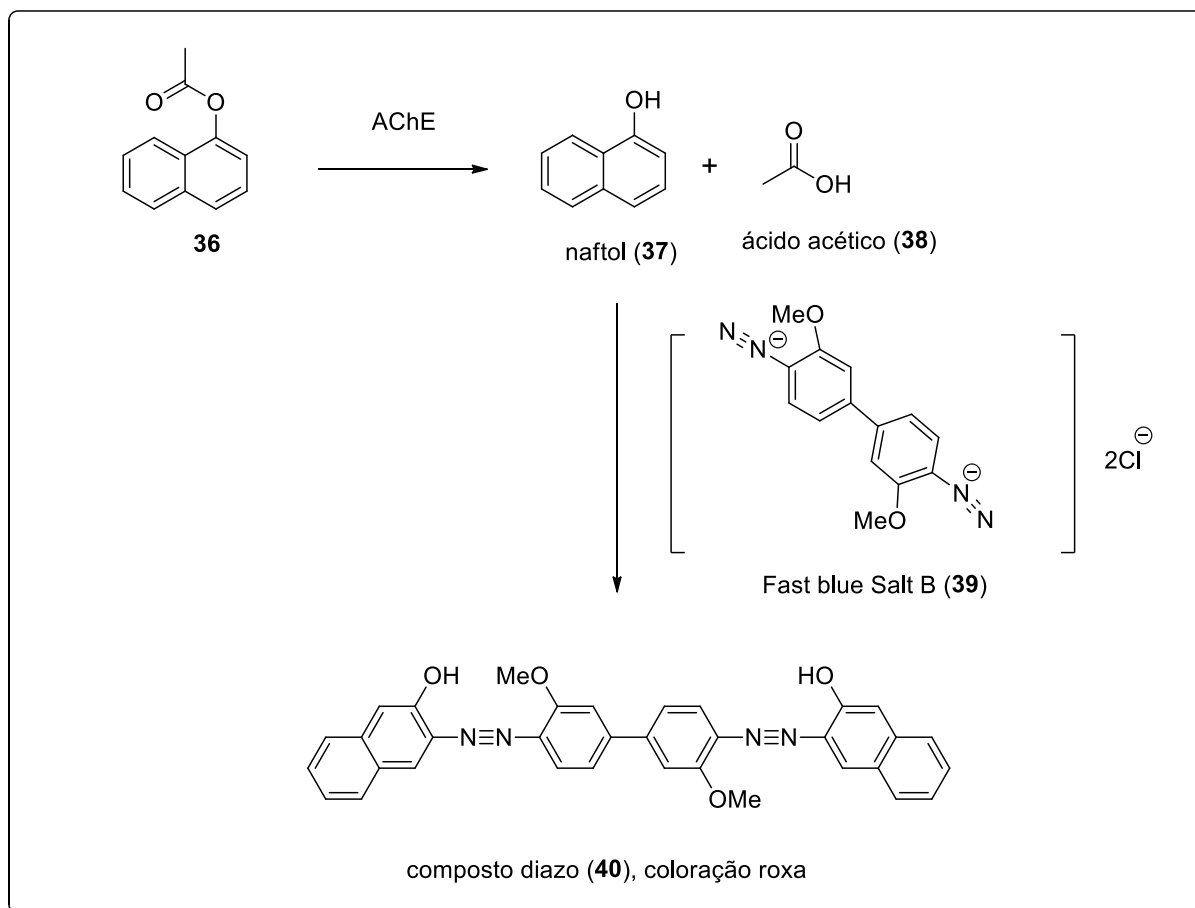


Figura 13. Fundamentos químicos do método de Marston e Hostettmann.⁴⁷

Além dos métodos clássicos apresentados, radiometria, fluorimetria, eletroquímica e metodologia a base de nanopartículas também tem sido descritos na literatura.⁴⁸ Uma abordagem inovadora e interessante para determinação da atividade inibitória da AChE é a técnica de imobilização enzimática em bioreator capilar (ICER, *immobilized capillary enzyme reactor*) em sistema de fluxo, cromatografia líquida (CL), acoplado a espectrofotometria UV-vis⁴⁹ e espectrofotometria de massa.⁵⁰ A técnica permite a quantificação em fluxo do produto da catálise enzimática da acetilcolinesterase sobre a acetilcolina, substrato natural da enzima.

Recentemente, Vanzolini e colaboradores⁵¹ desenvolveram um método AChE-ICER acoplada a LC-MS/MS (*liquid chromatography–tandem-trap mass spectrometer*). Segundo os pesquisadores, nos ensaios de triagem, novos ligantes candidatos a inibidores da acetilcolinesterase e acetilcolina (substrato da enzima da AChE) são coinjectados no CL adaptado com AChE imobilizada em coluna capilar. A atividade é avaliada monitorando-se por MRM

⁴⁸Miao, Y. Q.; Nongyue, H.; Zhu, J. J. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 5216.

⁴⁹da Silva, J. I.; Moraes, M. C.; Vieira, L. C. C.; Corrêa, A. G.; Cass, Q. B.; Cardoso, C. L. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2013**, *73*, 44.

⁵⁰Forsberg, E. M.; Gree, J. R.; Brennan, J. D. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 5230.

⁵¹Vanzolini, K. L.; Vieira, L. C. C.; Corrêa, A. G.; Cardoso, L. C.; Cass, Q. B. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2038.

(*multiple reaction-monitoring*) o íon molecular precursor (colina, produto da catálise), usado para quantificação, e íon fragmento da primeira transição, que corresponde à perda de etanol, para confirmação da catálise enzimática (Figura 14).⁵²

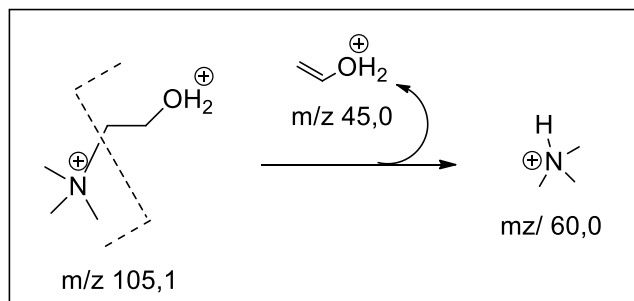
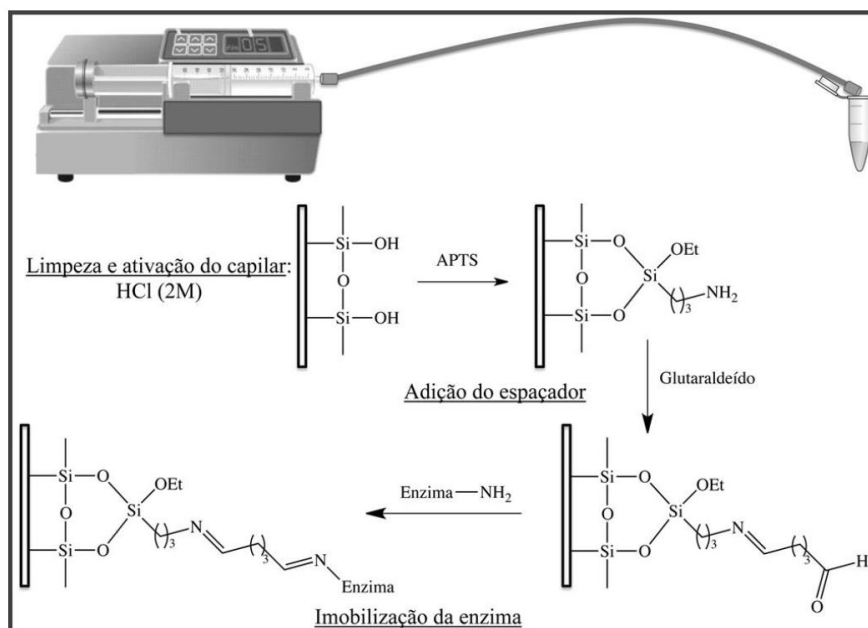


Figura 14. Proposta de fragmentação da colina (adaptado de Vanzolini, K. L.).^{51,52}

O procedimento para imobilização da enzima AChE no capilar pode ser resumido nas seguintes etapas: limpeza e ativação dos grupos silila na superfície interna do capilar com solução ácida para sililação com inserção do grupo 3-aminopropiltriétoxissilano (APTS) e adição do espaçador glutaraldeído para imobilização covalente da enzima acetilcolinesterase de peixe-elétrico (*eel*, *Electrophorus electricus*) e humana (*huAChE*), via formação de bases de Schiff (Figura 14).⁵² Outras formas de imobilização enzimática em capilar tem sido descrito na literatura.^{53,54}



⁵²Vanzolini, K. L. Bioreatores de acetilcolinesterase: estudos de condições para condições para triagem ligantes. Universidade Federal de São Carlos, 2013.

⁵³Gabrovska, K.; Nedelcheva, T.; Godjevargova, T.; Stoilova, O.; Nanolova, N.; Rashkov, I. J. *Mol. Catal. B* **2008**, *55*, 169.

⁵⁴Min, W.; Wang, W.; Chen, J.; Wang, A.; Hu, Z. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *404*, 2397.

Figura 15. Método de imobilização da enzima *eel* e huAChE em capilares de sílica fundida (Reproduzido de Vanzolini, K. L.)⁵²

A configuração básica do sistema operacional LC-MS consiste em uma bomba A, conectada a um reservatório para solução de acetato de amônio (fase móvel), um auto injetor de amostra, uma coluna capilar como enzima acetilcolinesterase imobilizada (AChE-ICER) e uma bomba B conectada a um reservatório com metanol para otimizar a ionização e não alterar atividade da AchE (Figura 32).^{51,52}

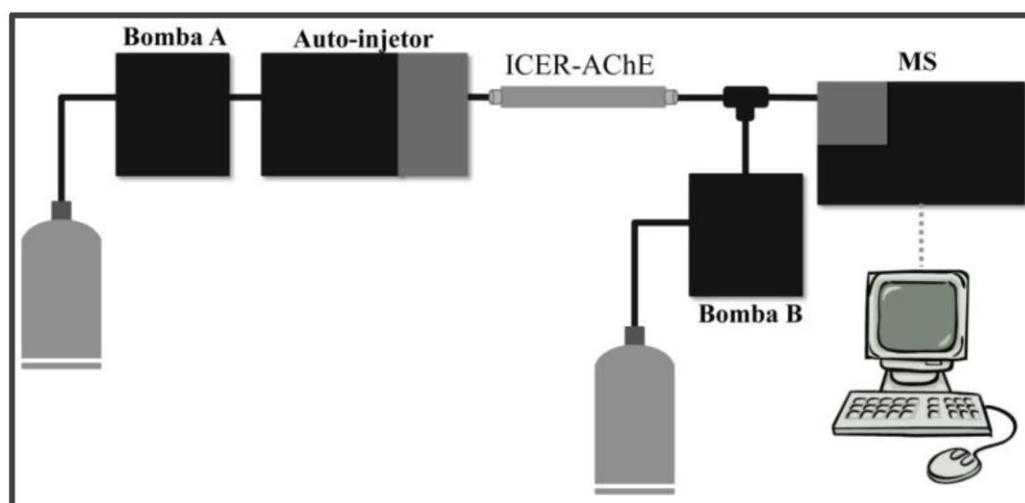


Figura 16. Sistema de LC-MS utilizado da avaliação da atividade inibitória de ligantes da AchE (Reproduzido de Vanzolini, K. L.)⁵²

Recentemente, da Silva e Colaboradores⁵⁵ avaliaram a técnica AChE-ICER junto com outras metodologias clássicas de determinação inibitória da AchE utilizando uma série de benzil-piperidina. Segundo os pesquisadores, a ICER (*immobilized capillary enzyme reactor*) oferece um análise de triagem rápida e automatizada permitindo avaliação inibitória de AChE de vultuosa quantidade de amostras. É considerado um método confiável e alternativo, fornecendo informações importantes de estrutura-atividade norteadores para protótipos mais eficiente.

2.5. Importância de oxindóis e preparação a partir do indol

Os alcalóides oxindólicos representam uma classe de compostos encontrados em uma grande variedade de produtos naturais, tanto em plantas quanto como metabólicos de fungos, muito atraentes no que diz respeito a sua atividade biológica e potencial aplicações na descoberta

⁵⁵da Silva, J. I.; Nicastro, P. C.; de Oliveira, P. C. M.; Fossaluzza, P. C.; Morais, E. P.; Dias, K. S. T.; da Costa, R. S.; Castro, N. G.; Cardoso, C. L.; Viegas Junior, C. *Rev. Virtual Quim.* **2015**, *7*, 2334.

de protótipos a fármacos.^{56,57,58} Estruturalmente, apresentam o núcleo oxindólico (indolinona) que resulta da fusão entre um anel benzênico e a 2-pirrolidona, apresentando quatro sítios reativos, destacados na Figura 13.⁵⁹

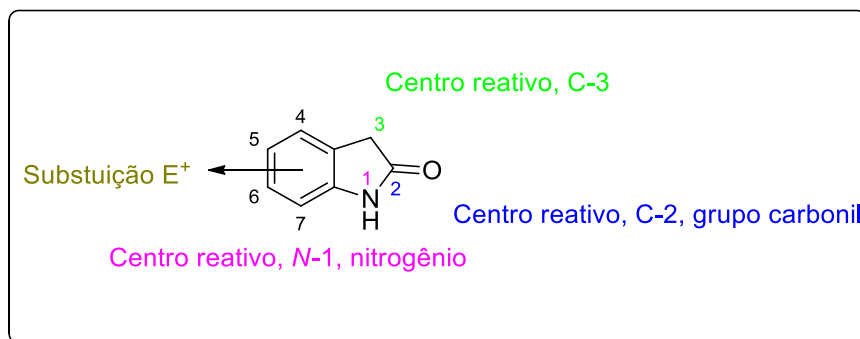


Figura 17. Centros reativos do núcleo oxindólico.³⁴

Na literatura são encontrados registros de utilidade diversificada para os compostos oxindólicos (Figura 14) como, por exemplo, no combate ao HIV (**41**), em distúrbios alimentares e obesidade (**42**), doenças fibróticas (**43**), atividade antitumoral (**44**) e produção de células solares (**45**).⁶⁰ Atualmente, os oxindóis têm despertado especial interesse devido seu potencial terapêutico no combate a diversos tipos de câncer, sendo o Sunitinib[®] (**46**) o primeiro medicamento a ser aprovado pelo FDA para o tratamento de carcinoma renal.⁶¹ Desde então, outros compostos análogos a esta indolinona estão em fase clínica de teste. Tais fatos vêm estimulando estudos visando a sua obtenção por vias sintéticas.⁶²

⁵⁶Song, R.-J.; Liu, Y.; Xie, Y.-X.; Li, J.-H. *Synthesis* **2015**, *47*, 1195.

⁵⁷Tsukamoto, S.; Kato, H.; Samizo, M.; Nojiri, Y.; Onuki, H.; Hirota, H.; Ohta, T. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 2064.

⁵⁸Tsuda, M.; Kasai, Y.; Komatsu, K.; Sone, T.; Tanaka, M.; Mikami, Y.; Kobayashi, J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3087.

⁵⁹Ziarani, G. M.; Gholamzadeh, P.; Lashgari, N.; Hajiabbasia, P. *ARKIVOC* **2013**, *1*, 470.

⁶⁰(a) Maass, G.; Immendoerfer, U.; Koenig, B.; Leser, U.; mueller, B.; Goody, R.; Pfaff, E. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1993**, 2612. (b) Puleo, I.; Marini, P.; Avallone, R.; Zanchet, M.; Bandiera, S.; Baroni, M.; Croci, T. *bioorg. med. chem.*, **2012**, *20*, 5623. (c) Roth, G. J.; Heckel, A.; Brandl, T.; Grauert, M.; Hoerer, S.; Kley, J. T.; Schnapp, G.; Baum, P.; Mennerich, D.; Schnapp, A.; Park, J. E. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7287. (d) Roth, G. J.; Heckel, A.; Colbatzky, F.; Handschuh, S.; Kley, J.; Lehmann-Lintz, T.; Lotz, R.; Tontsch-Grunt, U.; Walter, R.; Hilberg, F. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4466. (f) Manvar, A.; Bavishi, A.; Loriya, R.; Jaggi, M.; Shah, A. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 3076. (g) Valitov, M. I.; Romanova, I. P.; Gromchenko, A. A.; Shaikhutdinova, G. R.; Yakhvarov, D. G.; Bruevich, V. V.; Dyakov, V. A.; Sinyashin, O. G.; Paraschuk, D. Y. *Solar Energy Materials and Solar Cells*. **2012**, *103*, 48.

⁶¹Chow, L. Q.; Eckhardt, S.G.; *J. Clin. Oncol.* **2007**, *25*, 884.

⁶²Prakash, C.R.; Raja, S. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2012**, *12*, 98.

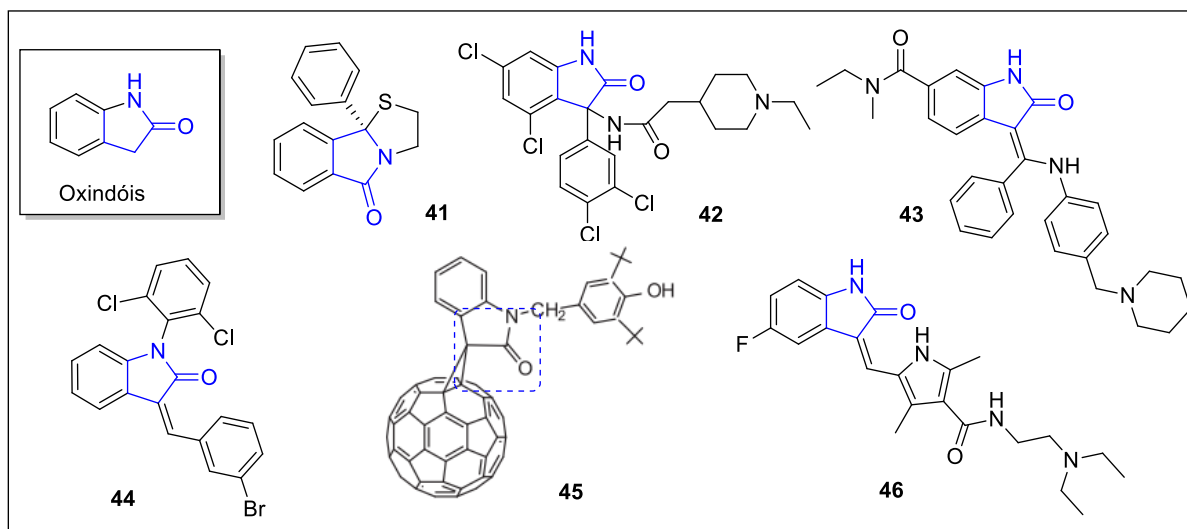


Figura 18. Oxindóis com reconhecidas atividades biotecnológicas.

A oxidação de indóis é importante etapa sintética na preparação de oxindóis, inclusive na síntese de vários alcalóides de estrutura química complexa. Em geral, os reagentes oxidantes clássicos empregados são *N*-bromosuccinimida (NBS) na presença de ácido acético/água/THF, hipoclorito de *tert*-butila (t-BuOCl) e DMSO/HCl.⁶³ Além destes, outros oxidantes, tais como: H₂O₂/chloroperoxidase,⁶⁴ oxaziridina de Davis⁶⁵, dimetildioxirano⁶⁶ e tetróxido de ósmio⁶⁷ tem sido descritos na literatura.

Siller e colaboradores⁶⁸ sintetizaram o 2-oxindol-*N*-araquidônico (**50**), como padrão analítico, a partir da serotonina (**47**). A síntese envolveu cinco etapas, onde a reação chave foi a formação do oxindol **49** a partir de **48**, que quando tratado como ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*CPBA) em diclorometano forneceu **49** com 10 % rendimento.

⁶³Marti, C.;Carreira, E. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2209.

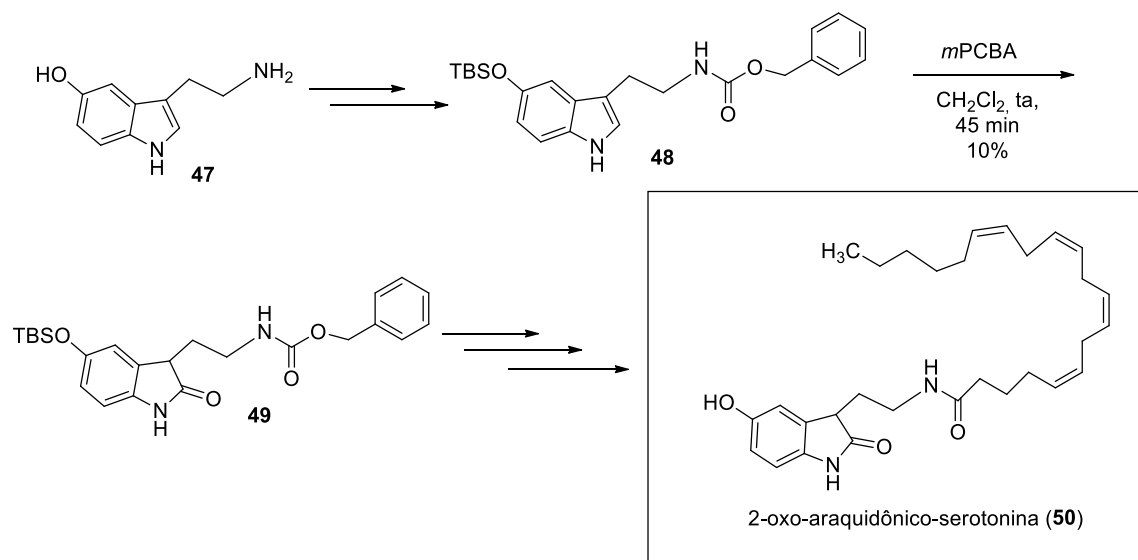
⁶⁴Corbett, M. D.; Chipko, B. R. *Biochem J.* **1979**, 183, 269.

⁶⁵Finefield, J. M.; Williams, R. M. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2785.

⁶⁶Pettersson, M.; Knueppel, D.; Martin, S. F. *Org. Lett.* **2007**, 9, 4623.

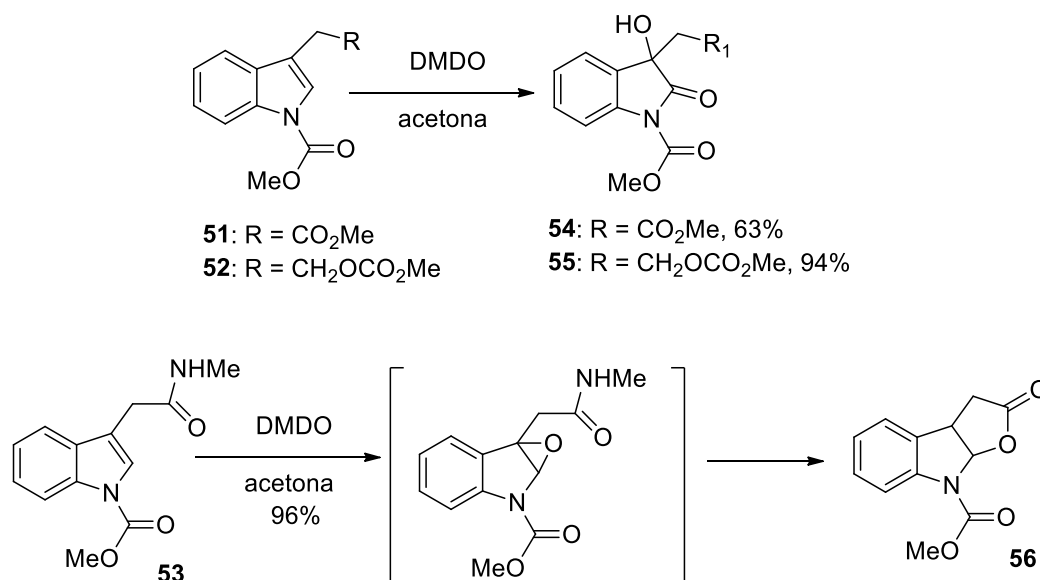
⁶⁷Yu, P.; Cook, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8799.

⁶⁸Siller, M.; Goya, S.; Yoshimoto, F. K.; Xiao, Y.; Wei, S.; Guengerich, F. P. *JCB* **2014**, 389, 10476.



Esquema 1. Síntese do 2-oxo-araquidônico-serotonina (**50**).⁶⁶

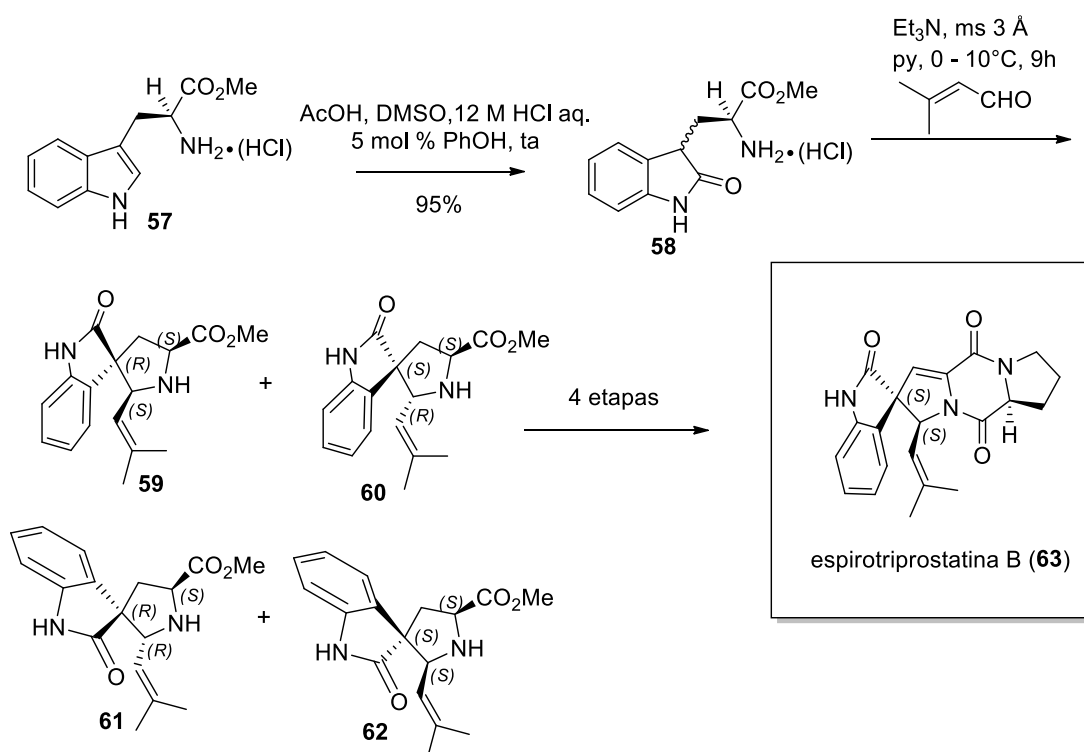
Castillo e colaboradores⁶⁹ apresentaram um protocolo geral para formação de oxindóis a partir do indol, utilizando dimetildioxirano (DMDO). De acordo com os pesquisadores, os indóis **51**, **52** e **53** foram tratados com DMDO (preparado *in situ*) em acetona para fornecer os oxindóis **54** e **55** com rendimentos 63 e 94%, respectivamente, e a lactona (**56**) com rendimento de 96%.



Esquema 2. Formação dos oxindóis **54** e **55** e da lactona **56** com o uso de dimetildioxirano.⁶⁷

⁶⁹Suárez-Castillo, O. R.; Sánchez-Zavala, M.; Meléndez-Rodríguez, M.; Castelán-Duarte, L. E.; Morales-Ríos, M. S.; Joseph-Nathan, P. *Tetrahedron* **2006**, 62 3040.

Danishesky e Nussbaum⁷⁰ relataram uma síntese total e versátil para o alcalóide espiro-oxindol **63** a partir do triptofano. De acordo com esta, o éster metílico do triptofano (**55**) foi transformado no oxindol **56** com uso de AcOH, DMSO/HCl 12 M aq. Este último foi tratado com aldeído prenílico, co-catalisado por base (piridina ou trietilamina) e peneira molecular, gerando uma mistura de estereoisômeros (**59-62**), que após quatro etapas subsequentes forneceu o alcalóide espirotriptostatina B (Esquema 3).

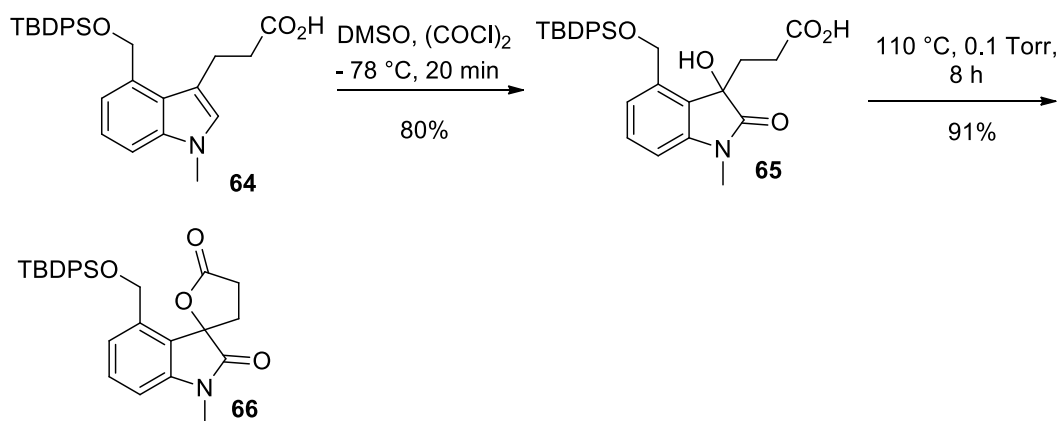


Esquema 3. Síntese total do alcalóide **63** espirotriptostatina B.⁶⁸

Alvarado e colaboradores⁷¹ publicaram um estudo sobre a reação de Swen na formação de espiro-oxindóis. Pela metodologia empregada, o composto indólico **64** foi oxidado com DMSO e cloreto de oxalila durante 20 min para fornecer o oxindol **65** com 80% rendimento. Este último foi transformado na lactona **66** com 91% de rendimento, por aquecimento sob vácuo (Esquema 4).

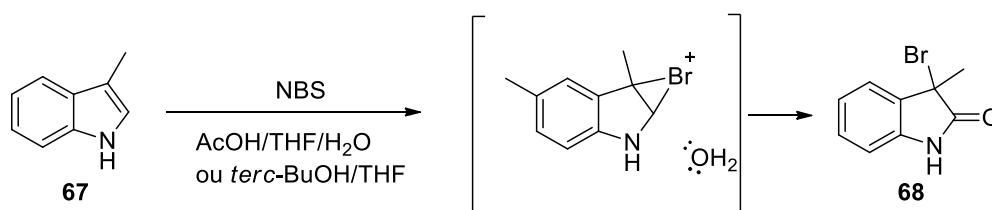
⁷⁰Nussbaum, F. V.; Danishesky, S. J.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2175.

⁷¹Alvarado, L. P.; Steinhoff, J.; Miranda, S.; Avendaño, C.; Menéndez, J. C.; *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 1660.



Esquema 4. Formação do espiro-lactona **66** via oxidação de Swern.⁶⁹

Outro intermediário utilizado na formação de espiro-oxindóis é 3-bromo-3-metil-2-indolinona (**68**) preparado a partir do indol **67** sob condição oxidante, *N*-bromosuccinimida (NBS) na presença de AcOH/H₂O/THF ou *t*-BuOH/THF (Esquema 5).

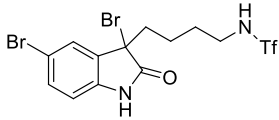
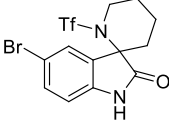
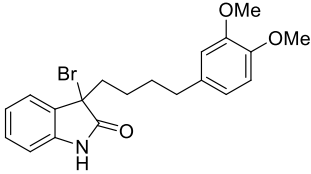
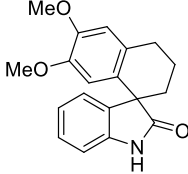
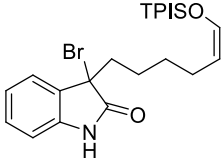
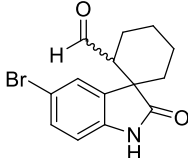


Esquema 5. Formação do 3-bromo-3-metil-2-indolinona (**68**).

Funchs e Funk⁷² relataram o uso de intermediários chave (3-bromo-3-metil-2-indolinonas) com carbonato de céσιο em diclorometano na formação de vários espiro-oxidóis, via adição nucleofílica intramolecular, como mostrado Tabela 4.

⁷²Fuchs, J. R.; Funk, R. L.; *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 677.

Tabela 4. Adição intramolecular do nucleófilo na formação espiro-oxindóis.⁷²

Entrada	Substrato	Condições	Produto
1		CsCO ₃ , CH ₂ Cl ₂ , ta 12h, 85%	
2		CsCO ₃ , CH ₂ Cl ₂ , ta 24h, 13%	
3		CsCO ₃ , CH ₂ Cl ₂ , ta 24h, 78%	

***Materiais e
Métodos***

3 Materiais e Métodos

3.1. Material vegetal

3.1.1 Coleta de sementes de espécies de *Anadenanthera*.

As sementes de *Anadenanthera* foram coletadas durante agosto e setembro de 2009 e 2011, nos arredores da Universidade de Brasília, cerrado *strito sensu*, a uma altitude de 1.030 m. Espécimes testemunhos foram autenticados pelo Prof. Dr. Christofer William Fagg e depositados no Herbário (UB), UnB, CEP 70919970, Brasília DF, Brasil, sob os códigos Fagg CW 1739, *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. Var. Peregrina, e Fagg CW 1737, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. Cebil (Griseb.) Altschul.

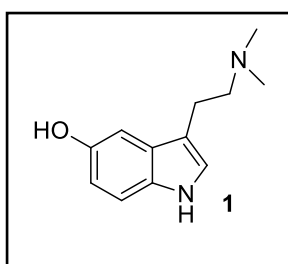
3.2. Parte química

3.2.1 Procedimentos gerais:

- ◆ Os reagentes e solventes foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação adicional, exceto nas reações que demandaram um maior grau de pureza. Na análise preliminar da matéria prima, dos intermediários e dos produtos finais foram empregadas técnicas de cromatografia em camada delgada analítica (CCD) em placas de sílica gel 60 (Macherey Nagel F₂₅₄/0,2 mm, UV₂₅₄), eluídas com diferentes solventes ou misturas, reveladas inicialmente com luz UV e com os reveladores vanilina sulfúrica, reativo de Drangendorff e ácido molibdofosfórico.
- ◆ Na purificação dos produtos foram exploradas técnicas de CCD preparativa (placas de sílica gel previamente preparadas), recristalização e cromatografia clássica em coluna, usando sílica gel 60 (0,04-0,06 mm) como suporte e eluentes diversos puro ou gradiente.
- ◆ Os pontos de fusão foram determinados no equipamento Logen Scientific, LS III plus.

- ◆ Os espectros de IV foram registrados em dois espectrômetros Varian 640 FT-IR utilizando partilha de KBr e Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR utilizando módulo ATR, com frequências expressas cm^{-1} .
- ◆ O assinalamento dos hidrogênios e carbonos foi confirmado por experimentos uni e bidimensionais (APT, COSY, HMQC, HMBC). Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram registrados em espectrômetro Varian Mercury Plus (7,05 T), operando a 300 MHz para ^1H e 75,46 MHz para ^{13}C e espectrômetro Bruker AvanceTM UltraShieldTM Plus (9,4 T), operando a 600 MHz para ^1H e 150 MHz para ^{13}C . Os deslocamentos químicos foram expressos em δ (ppm) com referência ao tetrametilsilano (TMS) para o RMN ^1H e aos solventes deuterados (CDCl_3 , metanol- d_4 e DMSO- d_6) no caso do RMN ^{13}C . As constantes de acoplamento foram relatadas como J (Hz) e os padrões de acoplamento definidos por s (simpleto), d (duplete), m (multiplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplete de dupletos) e sl (simpleto largo).
- ◆ HRMS-ESI foram obtidos num Micro TOF Bruker Daltonics Inc. E HPLC -ESI- IT - TOF Shimadzu e Triple TOF 5600 ACIEX.
- ◆ Os espectros de massas foram obtidos em aparelho de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), utilizando cromatógrafo Shimadzu 7890 A, com coluna capilar de 5%-fenil-95%-metilsilicone (HP5, 30 mm x 0,32mm x 0,25 μm) e hélio como gás carreador (1,0 mL/min). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240°C a uma taxa de aquecimento de 3°C/min. Um miligrama de amostra foi dissolvido em 1,5 mL de metanol e 1 μL da solução foi injetada no modo com divisão de fluxo (1:50), em injetor a 250°C. Os espectros de massas obtidos foram comparados como dados da biblioteca Wiley 6th Ed.
- ◆ As estruturas e nomes dos compostos foram obtidos com o apoio do programa ChemDraw Ultra (versão 10).

3.2.2 Extração, isolamento e caracterização da bufotenina (5-Hidróxi- N,N -dimetiltriptamina, 1)



Na obtenção da bufotenina (1) a partir das sementes de *Anadenanthera* foram explorados dois métodos distintos para preparação do extrato com a fração alcaloífera, mas similares quanto

ao uso do método clássico de extração ácido-base para isolamento do alcaloide, conforme detalhado abaixo.

Metodologia 1 (Método de Stromberg)⁷. As sementes de *Anadenanthera* foram secadas à temperatura ambiente, protegidas da umidade e reduzidas a pó para então proceder à extração química, onde 120 g de sementes trituradas foram agitadas em 300 mL de etanol comercial a 96% e 1% ácido tartárico durante quatro horas, com uso de agitador magnético. A suspensão foi filtrada em funil de Buchner, o filtrado etanólico foi reservado e a torta foi submetida a um segundo ciclo de extração. Em experimento paralelo, uma segunda amostra de 120 g do pó foi submetida ao mesmo protocolo. Os filtrados etanólicos provenientes das duas amostras foram combinados e concentrados no rotaevaporador. O resíduo foi diluído com 40 mL de água destilada e acidificado 60 mL de HCl 2N. A solução ácida resultante foi transferida para um funil de separação, lavada 9 vezes com 60 mL de diclorometano e uma vez com 60 mL clorofórmio. A fase aquosa foi alcalinizada a pH 9-10 com hidróxido de amônio concentrado e, em seguida, extraída por 10 vezes com 60 mL de clorofórmio. As fases orgânicas foram reunidas, o combinado secado com sulfato de sódio e concentrado no rotaevaporador, fornecendo a bufotenina (**1**) como sólido amarelado pálido (4,70g, 1,96%).

Metodologia 2 (Método clássico). As sementes de *Anadenanthera* (50 g) foram secadas à temperatura ambiente, protegidas da umidade e trituradas em liquidificador doméstico para então proceder à extração química. Inicialmente, o pó da semente foi desengordurado com hexano (80 mL x 3) sob agitação, à temperatura ambiente, durante 2 horas. Após filtração, o sólido residual foi extraído com MeOH (80 mL x 4) sob agitação, à temperatura ambiente, durante 2 horas. O extrato metanólico foi filtrado em funil de Büchner e concentrado no roevaporador para 80 mL. Em seguida, foi adicionado água destilada (100 mL) e a solução resultante foi agitada durante 2 h com uma solução aquosa de HCl 2 M (40 mL), neutralizada com Na₂CO₃ sólido (7,0 g). A mistura foi transferida para um funil de separação, extraída com AcOEt (20 mL x 10). A fase orgânica foi secada como Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador, fornecendo um sólido amorfo castanho, o qual foi recristalizado com AcOEt para fornecer a bufotenina (**1**) como um sólido amarelo pálido, em rendimento de 2,0 g (1,2%) de *A. Colubrina* e 2,0 g (4%) de *A. Peregrina*; R_f 0,45 (MeOH-AcOEt-NH₄OH 1:1:0.1); p.f. 150-155 °C (lit. [7] 146-147 °C).

IV (KBr, ν_{\max}) cm⁻¹: 3409, 2945, 1623, 1468, 1245, 1056, 827, 796, 504.

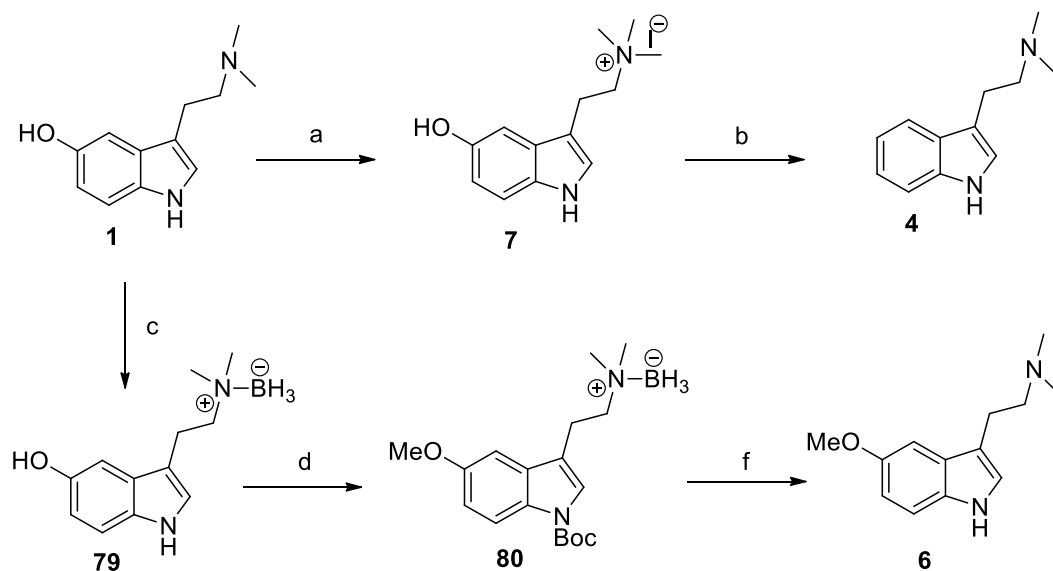
RMN ^1H (300 MHz, metanol- d_4) δ : 1,93 (s), 2,26-2,30 (m), 2,51 (m), 6,64 (s), 6,86 (dd, $J = 8,5; 2,4$ Hz), 6,87 (d, $J = 2,4$ Hz), 6,89 (dd, $J = 8,5; 0,64$ Hz), 9,63 (sl).

RMN ^{13}C (75 MHz, metanol- d_4) δ : 22,9; 43,9; 59,8; 102,2; 111,1; 111,4; 122,6; 127,9; 131,6; 159,7.

HRESIMS, m/z : 205,1335 (calc. para $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 205,1341).

3.2.3 Preparação de derivados triptamínicos a partir da bufotenina

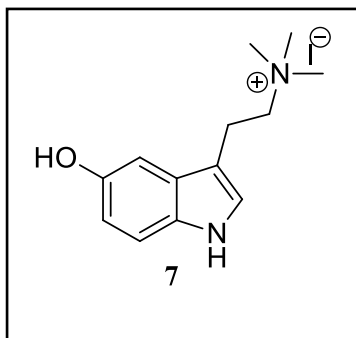
A partir bufotenina (**1**) isolada das sementes de *Anadenanthera* foram planejadas algumas rotas sintéticas curtas para preparação dos derivados triptamínicos (bufotenidina (**7**), Metóxi-*N,N*-dmetiltriptamina (**6**), *N,N*-dimetriptamina, (**4**), de acordo com o Esquema 6.



Reagentes e condições: a) MeI, acetona, ta; b) NaH, $\text{CClF}_3\text{O}_2\text{S}$, THF/ LiAlH_4 , MeOH, refluxo ou H_2 , Pd/C, MeOH; c) $(\text{CH}_3)_2\text{S}:\text{BH}_3$, THF, ta; d), KOH, TBAB, MeI, THF/ $(\text{Boc})_2\text{O}$, CH_2Cl_2 ; f) DABCO, refluxo/TFA, CH_2Cl_2 , ta.

Esquema 5. Planejamento esquemático para preparação dos derivados triptamínicos.

3.2.4 5-Hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (6)



Em um balão de 50 mL foram adicionados acetona (3,0 mL), **1** (0,204 g, 1,0 mmol) e iodometano (0,283 g, 2,0 mmol). A mistura foi mantida sob agitação durante 3h, à 25 °C e sob atmosfera de N₂. O solvente foi evaporado no rotaevaporador e o sólido residual foi recristalizado de acetona para fornecer **6** como um sólido amorfo amarelado (0,186 g, 85%); p.f. 210-214 °C.

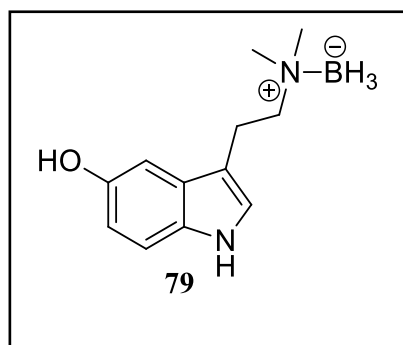
IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 3305, 1582, 1457, 1185, 905, 844, 792.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,05-3,10 (2H, m), 2,18 (9H, s), 3,54-3,57 (2H, m), 6,63 (1H, dd, *J* = 8,4; 2,31 Hz), 6,88 (1H, d, *J* = 2,14 Hz), 7,14 (d, *J* = 3,21 Hz), 7,16 (1H, s), 8,64 (1H, s), 10,64 (1H, sl).

RMN¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 19,2; 52,6; 65,7; 102,7; 107,8; 112,1; 112,3; 124,3; 127,8; 131,2; 150,8.

HRESIMS, m/z: 219, 1493 (calc. para C₁₃H₂₀N₂O [M + H]⁺, 219,1497).

3.2.5 Complexo bufotenina-aminoborano (79)



Em uma balão de 50 mL contendo **1** (1,02 g, 5,0 mmol) dissolvido em THF seco foi adicionada uma solução de Me₂S-BH₃ 10 M em THF (0,75 mL, 7,5 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas, à 25 °C e sob atmosfera de N₂. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo foi transferido para funil de separação dissolvido em CH₂Cl₂ (40 mL). A fase orgânica foi lavada com NH₄OH 10% (100 mL

x 3), secada com Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O óleo escuro resultante foi cromatografado em coluna (silica gel, hexano- AcOEt, 2:1), para fornecer **79** na forma de cristais brancos (1,03 g, 95%); R_f 0,3 (hexano-AcOEt 2:1); p.f. 123-125 °C.

IV (KBr, ν_{\max}) cm⁻¹: 3395, 3028, 2894, 1697, 1576, 1485, 1220, 927, 698.

RMN ¹H (300 MHz, metanol-*d*₄) δ: 2,58 (6H, s), 2,91-2,96 (2H, m), 3,05-3,09 (2H, m), 6,68 (1H, dd, *J* = 8,7; 2,7 Hz), 6,95 (1H, d, *J* = 2,7 Hz), 6,17 (1H, dd, *J* = 8,7; 2,7 Hz).

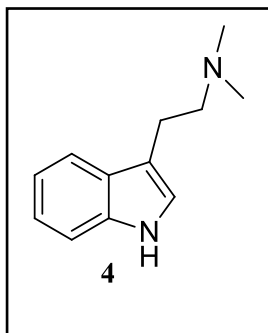
RMN ¹³C (75 MHz, metanol-*d*₄) δ: 20,9; 43,0; 57,6; 109,5; 112,0; 118,7; 118,9; 123,7; 127,1; 136,7.

HRESIMS m/z: 241,1495 (calc. para C₁₂H₁₉BN₂O_na [M + Na]⁺, 241,1488).

Dados cristalográficos do complexo bufotenina-aminoborano (80): C₁₂H₁₉N₂OB; M = 218,10; monoclinico, grupo espacial *P21*; *a* = 5,849 (3) Å, *b* = 7,671 (4) Å, *c* = 13,763 (6) Å; α γ = = 90°, β = 92,160 (3)°; V = 617,17 (5) Å³; Z = 2; D_c = 1,174 g.cm⁻¹; F (000) = 236; bloco incolor, dimensões 0,49 x 0,28 x 0,15 mm; 2423 medidas independentes de reflexões, refinamento baseado em F² para dar R₁ [F² > 4σ (F²)] = 0,048; w₂ = 0,106 para 5,791 reflexões observadas e 151 parâmetros. Os dados de difração foram coletados em um difratômetro de monocristal Bruker CCD SMART APEX II com Mo Kα radiação (0,71073 Å) a 296K. Os dados foram processados com SAINT⁵¹ e as absorções corrigidas usando SADABS⁵². As estruturas foram resolvidas por métodos diretos usando SHELXS-97⁵³ e subsequentes análises de mapas de diferença de Fourier, que forneceram as posições dos átomos diferentes de hidrogênio e o refinamento foi executado utilizando SHELXL -97. Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot, ORTEP-3,⁵⁴ foi utilizado para elaboração dos gráficos moleculares e na preparação do material para publicação, WinGX-Routine⁵⁵. Dados cristalográficos suplementares foram depositados no Centro de Dados Cambridge Crystallographic com número de referência CCDC 1022431. As cópias do material disponível podem ser obtidas, gratuitamente, por solicitação ao Diretor da CCDC, 12 Union Road, Cambridge CH21EZ, UK (fax: +44-1223-336-033 ou e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk ou <http://www.ccdc.cam.ac.uk>).

Dados cristalográficos: C₁₂H₁₉N₂OB; M = 218,10; monoclinico, grupo espacial *P21*; *a* = 5,849 (3) Å, *b* = 7,671 (4) Å, *c* = 13,763 (6) Å; α γ = = 90°, β = 92,160 (3)°; V = 617,17 (5) Å³; Z = 2; D_c = 1,174 g.cm⁻¹; F (000) = 236; bloco incolor, dimensões 0,49 x 0,28 x 0,15 mm; 2423 medidas independentes de reflexões, refinamento baseado em F² para dar R₁ [F² > 4σ (F²)] = 0,048; w₂ = 0,106 para 5,791 reflexões observadas e 151 parâmetros.

3.2.6 *N,N*-Dimetiltriptamina (**4**)



Em um balão de 50 mL, uma mistura contendo NaH (0,06 g, 2,4 mmol, 60% em óleo mineral) e **71** (0,436 g, 2,0 mmol) em THF seco foi agitada a -40 °C, sob atmosfera de N₂. Após 20 min, foi adicionado CITf (0,6 mL, 8,0 mmol) e a agitação foi continuada durante 12h. A mistura reacional foi diluída com CH₂Cl₂ (50 mL), lavada com solução de NH₄OH 10% (10 mL x 3) e salmoura (10 mL), secada como Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo escuro foi dissolvido em MeOH, Pd-C 10% (0,235 g, 0,22 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi degaseificada e mantida em atmosfera de H₂ (ca. De 1 atm, bexiga de borracha). A agitação foi mantida à temperatura ambiente, durante 24 h. Em seguida, a mistura reacional foi filtrada através de uma camada de Celite®. O filtrado foi concentrado no rotaevaporador e cromatografado em coluna (silica gel, AcOEt-Et₃N 1:1,0x10⁻³) para obter **4** como um sólido amarelo (0,147 g, 39%); R_f 0,40 (MeOH-AcOEt-NH₄OH, 1:1:0,1); p.f. 37-40 °C (lit. [56] 38-40 °C).

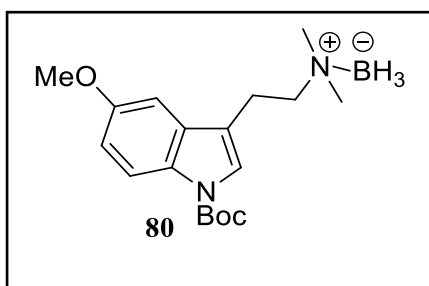
IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 3046, 2772, 1639, 1618, 1460, 1262, 1338, 1221, 740.

RMN ¹H (300 MHz, metanol-*d*₄) δ : 2,81 (6H, s), 3,10-3,15 (2H, m), 3,28-3,32 (2H, m), 7,03-7,16 (2H, m), 7,19 (1H, s), 7,39 (1H, d, *J* = 8,1 Hz), 7,59 (1H, d, *J* = 7,69 Hz), 10,37 (1H, sl).

RNM ¹³C (75 MHz, metanol-*d*₄) δ : 20,7; 42,3; 57,9,4, 108,3; 100,2; 108,8,111,2; 117,5; 118,8; 121,4; 122,9; 126,5; 126,7, 136,9.

HRESIMS, m/z: 189,1482 (calc. para C₁₂H₁₇N₂ [M + H]⁺, 189,1392).

3.2.7 Complexo 5-metóxi-*N*-Boc-bufotenina aminoborano (**80**)



Um balão de 50 mL contendo KOH em pó (0,05 g, 0,75 mmol), TBAB (0,05 g, 0,13 mmol) e **79** (0,109 g, 0,50 mmol), em THF seco, foi agitado a 25 °C, sob atmosfera de N₂. Após 20 min, iodometano (0,05 mL, 0,75 mmol) foi adicionado, matendo-se a agitação durante 12 h. O

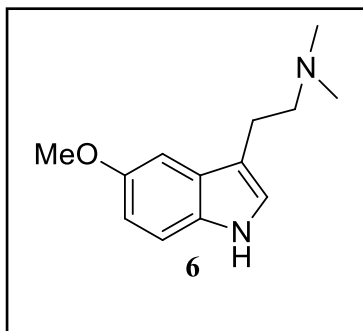
solvente foi evaporado no rotaevaporador e o resíduo foi dissolvido em CH₂Cl₂ (10 mL), lavado com H₂O destilada (3 mL x 3), secado como Na₂SO₄ e o solvente evaporado. O resíduo resultante foi tratado com DMAP catalítico, (Boc)₂, (0,109 g, 0,50 mmol) e Et₃N (0,2 mL, 1,5 mmol) em CH₂Cl₂. Após 2 h, sob agitação a 25 °C, adicionou-se água (3 mL) à mistura reacional, fase orgânica foi separada, fase aquosa resultante foi extraída com CH₂Cl₂ (7 mL x 3). A fase orgânica combinada, foi secada como Na₂SO₄, concentrada e cromatografada em coluna (silica gel, hexano:AcOEt 2:1) para se obter um sólido branco caracterizado como **80** (102 mg, 62%); R_f 0,45 (hexano-AcOEt, 2:1); p.f. 134-136 °C.

IV (KBr, ν_{\max}) cm⁻¹: 2990, 2953, 2387, 2389, 2285, 1725, 1383, 1165, 799.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,65 (9H, s), 2,34 (6H, s), 2,60-2,66 (2H, m), 2,81-2,86 (2H, m), 3,86 (3H, s), 6,92 (1H, dd, $J = 8,84$, $J = 2,46$ Hz), 6,95 (1H, d, $J = 2,46$ Hz), 7,38 (1H, s), 7,90 (1H, sl).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 23,4; 28,2, 43,4; 55,7; 59,1; 101,8; 112,6; 115,9; 118,5; 123,2; 130,1; 131,4; 155,7.

3.2.8 5-Metóxi-*N,N*-dimetilriptamina (**6**)



Em uma balão de 50 mL, uma mistura contendo **80** (90 mg, 0,3 mmol), DABCO (0,07 g, 0,6 mmol), em CH₂Cl₂ (4,0 mL), foi agitada, à temperatura ambiente, sob atmosfera de N₂. Após 2h, a mistura foi diluída com CH₂Cl₂ (10 mL), lavada com H₂O e salmoura, secada com Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo resultante foi tratado com TFA em CH₂Cl₂ (0,5: 1 mL), a 25 °C. O solvente foi evaporado e concentrado foi cromatografado em coluna (silica gel, AcOEt-Et₃N 1:1,0x10⁻³) para obter **6** na forma de óleo amarelo (41 mg, 69%); R_f 0,43 (MeOH-AcOEt-NH₄OH 1:1:0,1).

IV (KBr, ν_{\max}) cm⁻¹: 3297, 1582, 1457, 1360, 904, 848, 796.

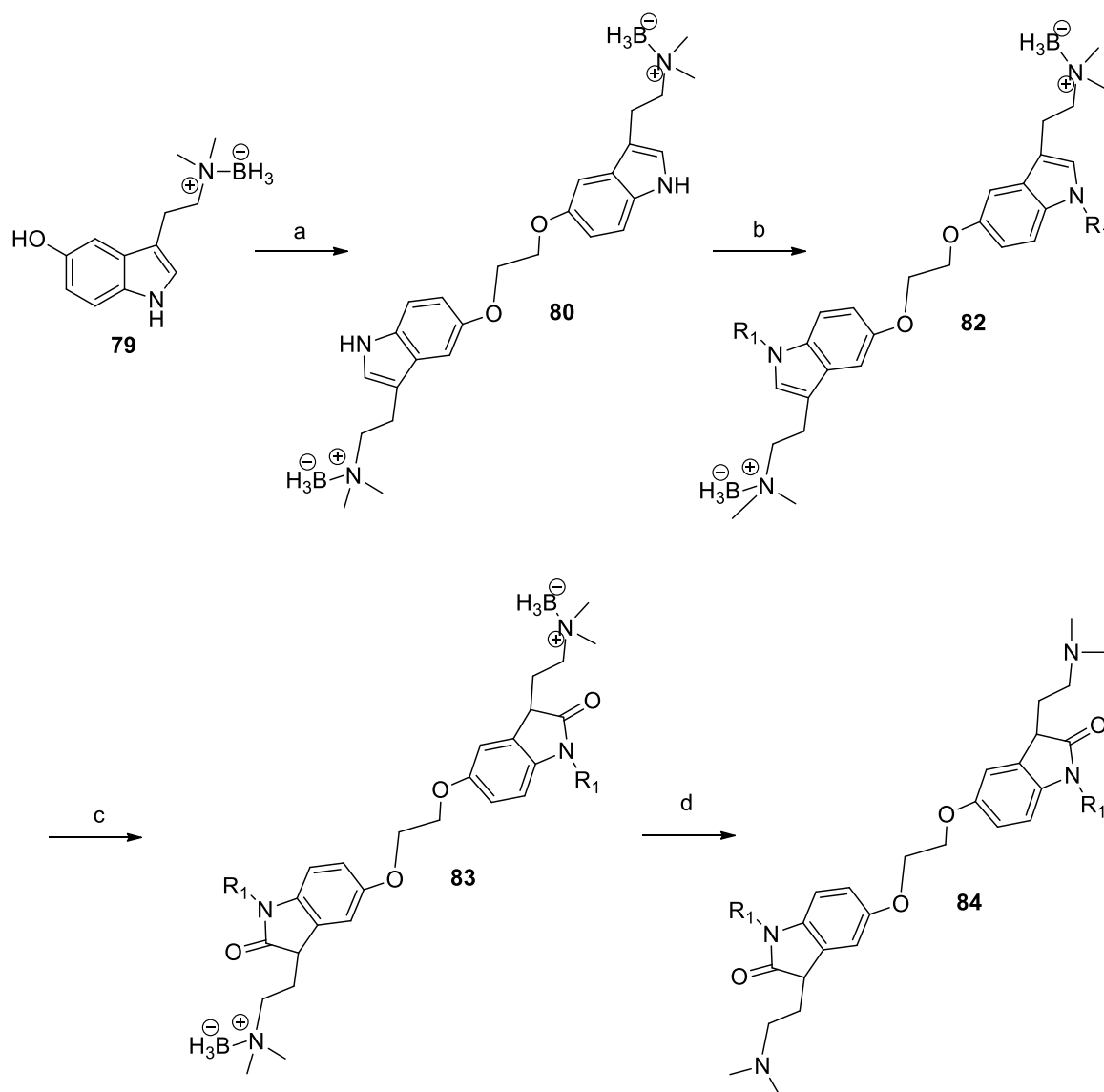
RMN ¹H (300 MHz, metanol-*d*₄) δ : 2,39 (6H, s), 2,68-2,74 (2H, m), 2,90-2,95 (2H, m), 3,82 (3H, s), 6,75 (1H, dd, $J = 8,84$, $J = 2,46$ Hz), 7,01 (1H, d, $J = 2,46$ Hz), 7,03 (1H, s), 7,22 (1H, d, $J = 8,82$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, metanol-*d*₄) δ: 22,6; 43,8; 55,0; 59,7; 99,7; 99,8; 111,1; 111,5; 122,6; 127,4; 132,0; 153,5.

HRESIMS, m/z: 219,1493 (calc. para C₁₃H₁₈N₂O [M + H]⁺, 219,1497).

3.2.9 Preparação de dímeros da bufotenina e conversão destes nos correspondentes oxindóis

O planejamento sintético para obtenção dos compostos-alvo compreendeu a transformação do complexo bufotenina-aminoborano (**79**) em compostos borano diméricos, os quais foram protegidos com diferentes grupos protetores (*tert*-butóxicarbonila, metila e sulfonila), para então serem convertidos (sob várias condições oxidantes) nos correspondentes oxindóis (Esquema 7).

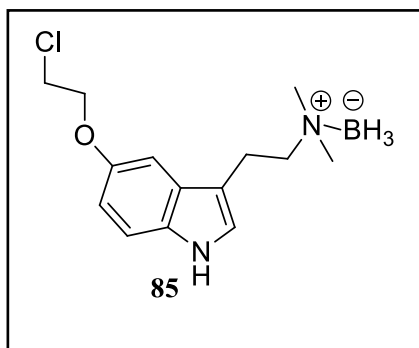


Reagentes e condições: a) (CH₃)₂S:BH₃, THF/K₂CO₃, DMSO, ClCH₂CH₂Br; b) proteção (Boc, metila e sulfonila); c) DMSO, HCl (sob condições oxidantes); d) DABCO, CH₂Cl₂, ta.

Esquema 6. Planejamento esquemático para obtenção dos dímeros e correspondentes derivados oxindólicos.

3.2.10 5-(2-Cloroetóxi)-1H-indol-3-(2-(N,N-dimetil)etil) aminoborano (**85**)

Um balão de 100 mL contendo K₂CO₃ (5,1 g, 37 mmol) e **79** (1,0 g, 4,6 mmol) dissolvido em acetona seca (30 mL) foi mantido sob agitação, à temperatura ambiente. Após 30 min, 1-2-dicloro-etano (1,10 mL, 14 mmol) foi adicionado gota a gota, mantendo-se sob 25 °C, durante 12h. A mistura foi concentrada no rotaevaporador, diluída com diclorometano (8 mL), lavada com H₂O, salmoura e secada com Na₂SO₄.



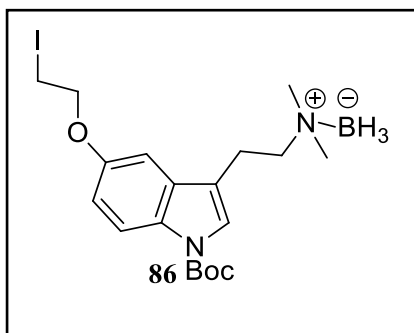
A fase orgânica foi concentrada e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 7:3) para se obter um óleo marron, caracterizado como **85** (0,84 g, 65%); R_f 0,47 (hexano-AcOEt 2:1).

IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 3215, 2925, 2859, 2371, 1487, 1456, 1214, 1172, 1082, 797.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 2,68(6H, s), 2,34 (6H, s), 3,01-3,05 (2H, m), 3,15-3,18 (2H, m), 3,83 (2H, t, $J = 5,7$ Hz), 4,29 (2H, t, $J = 5,7$ Hz) 6,90 (1H, dd, $J = 8,84$, $J = 2,46$ Hz), 7,00 (1H, s), 7,11(1H, d, $J = 2,5$ Hz), 7,27 (1H, d, $J = 8,9$ Hz).

RMN ^{13}C (APT, 75 MHz, $CDCl_3$) δ : 20,4; 42,4; 51,8; 64,8; 69,3; 102,6; 111,7; 112,2; 113,0; 122,9; 127,5; 131,9; 152,1.

3.2.11 1-*tert*-Butóxicarbonil-5-(2-iodoetóxi)-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil)aminoborano (**86**)



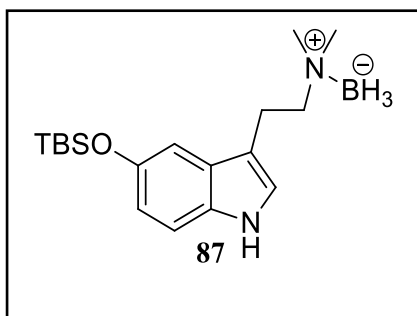
Em balão de 50 mL, uma mistura contendo **85** (0,6 g, 2,1 mmol), DMAP (catalítico), dicarbonato di-*tert*-butila (0,68 g, 2,1 mmol) e trietilamina (0,9 mL, 6,3 mmol), em CH_2Cl_2 , foi mantida sob agitação, a 25 °C. Após 2 h, foi adicionada água (10 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada e a fase aquosa resultante foi extraída com CH_2Cl_2 (20 mL x 3). A fase orgânica foi combinada foi secada com Na_2SO_4 , concentrada no rotaevaporador. O Resíduo foi tratado com KI (3,5 g, 21,0 mmol) seco em acetona anidra (50 mL), mantida sob agitação e refluxo. Após 12h, A fase orgânica foi filtrada, concentrada e cromatografada em coluna (sílica gel, hexano-AcOEt, 7:3) para obter **86** como um óleo amarelado (0,68 g, 85%); R_f 0,45 (hexano-AcOEt, 12:5);

IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 2974,2400, 2370, 1738, 1467, 1366, 1248, 1139, 1082, 860.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 1,65 (9H, s), 2,67 (6H, s), 3,01-3,03 (2H, m), 3,09-3,11 (2H, m), 3,83 (2H, t, $J = 5,6$ Hz), 4,26 (2H, t, $J = 5,6$ Hz) 6,94 (1H, dd, $J=8,84$, $J=2,46$ Hz), 7,07(1H, s), 7,39 (1H, s), 8,03 (1H, s).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 20,2; 29,0; 42,39; 51,8; 63,9; 68,8; 83,6; 103,2; 113,9; 116,1; 116,5; 123,8; 130,5; 130,9; 149,4; 154,4.

3.2.12 5-*tert*-Butildimetilsililóxi-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil)-aminoborano (**87**)



Um balão de 100 mL contendo uma mistura formada por **79** (2,0 g, 9,17 mmol), imidazol (0,75 g, 11,0 mmol) e cloreto de *tert*-butildimetilsilila (1,66 g, 11,0 mmol), em CH_2Cl_2 (20 mL), foi agitada, a 25 °C. Após 2h, a mistura reacional foi diluída com CH_2Cl_2 (20 mL), lavada com água e salmoura, secada com Na_2SO_4 e concentrada no rotaevaporador. O resíduo foi cromatografado em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 7: 3) para se obter um sólido branco, caracterizado como **87** (2,67 g, 87%); R_f 0,35 (hexano-AcOEt, 2:1); p.f. 75-77 °C;

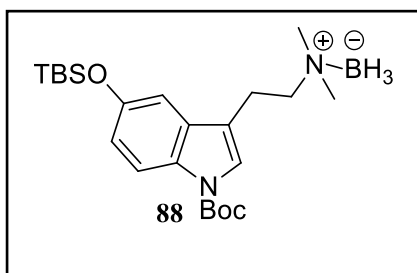
IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 3412, 2371, 2320, 2268, 1628, 1470, 1209, 806.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0,21 (6H, s), 0,98 (9H, s), 2,69 (6H, s), 2,98-3,06 (2H, m), 3,14-3,20 (2H, m), 6,77 (1H, dd, $J = 8,7; 2,3$ Hz), 7,00 (2H, dd, $J = 9,2; 2,3$ Hz), 7,20 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,90 (1H, sl).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : -4,4; 18,3; 23,7; 25,8; 45,4; 60,2; 108,3; 111,3; 113,7; 116,1; 122,3; 128,0; 131,6; 148,9.

HRESIMS, m/z : 331,2325 (calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{BN}_2\text{Osi}$ [$\text{M} - \text{H}_2 + \text{H}$] $^+$, 331,2325).

3.2.13 1-*tert*-Butóxicarbonil-5-*tert*-butildimetilsililóxi-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil)aminoborano (**88**)



Um balão de 50 mL contendo **87** (0,45 g, 1,35 mmol), dicarbonato di-*tert*-butila (0,29 g, 1,35 mmol), DMAP catalítico e trietilamina (0,6 mL, 4,3 mmol) em CH_2Cl_2 (10 mL), foi mantido sob agitação, a 25 °C, durante 2h. A mistura reacional foi diluída com CH_2Cl_2 (10 mL), lavada

com água e salmoura, secada como Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo foi cromatografado em coluna (silica gel, hexano-AcOEt 4:1) para fornecer óleo amarelado, caracterizado como **88** (0,48 g, 82%); R_f 0,43 (hexano-AcOEt 2:1); p.f. 52-54 °C;

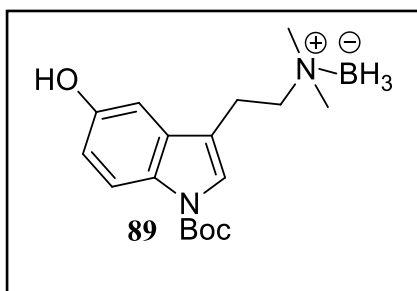
IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 2963, 2932, 2859, 2382, 2275, 1732, 1376, 1276, 958, 847.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 0,22 (6H, s), 1,01 (9H, s), 1,65 (9H, s), 2,69 (6H, s), 2,97-3,03 (2H, m), 3,08-3,14 (2H, m), 6,85 (1H, dd, *J* = 8,9; 2,3 Hz), 6,97 (1H, d, *J* = 2,1 Hz), 7,36 (1H, s), 7,94(1H, sl).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : -4,4; 18,3; 20,3; 25,8; 28,2; 51,9; 64,0; 83,5; 106,8; 115,9; 117,9; 123,6; 130,6; 131,0; 149,5; 151,4.

HRESIMS, m/z: 419,2667 (calc. para C₂₃H₄₁BN₂O₃Si, [M - BH₃ + H]⁺, 419,2724).

3.2.14 1-*tert*-Butóxicarbonil-5-(hidróxi)-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil)-aminoborano (**89**)



Um balão de 50 mL, uma mistura contendo **88** (0,35 g, 0,81 mmol) em CH₂Cl₂ foi tratada com uma solução de fluoreto de tetrabutylamônio 1 M (0,96 mL, 0,96 mmol) em THF (10 mL), sob agitação, a 25 °C, durante 2h. A mistura foi diluída com CH₂Cl₂ (12 mL), lavada com água, secado com Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo escuro

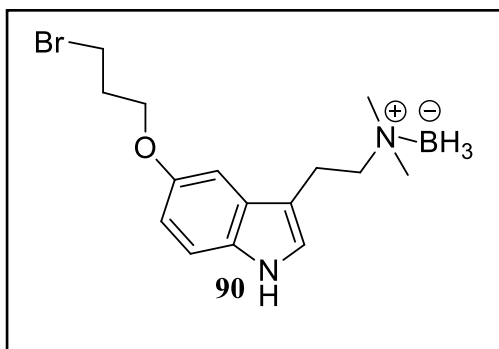
foi cromatografado em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 2:1) para obter **89** como um óleo marron (019 g ,77%); R_f 0,35 (hexane-AcOEt 2:1).

IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 3374, 2973, 2377, 2269, 1734, 1371, 1250, 1138, 1077.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,66 (9H, s), 2,69 (6H, s), 2,97-3,03 (2H, m), 3,06-3,10 (2H, m), 6,85 (1H, dd, *J* = 8,9; 2,3 Hz), 6,98 (1H, d, *J* = 2,1 Hz), 7,38 (1H, s), 7,95 (1H, sl).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 20,3; 28,2; 51,8; 64,0; 83,6; 104,1; 113,6; 116,1; 123,8; 129,8; 131,1; 149,6; 152,1.

3.2.15 5-(3-Bromopropóxi)- 1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil)-aminoborano (**90**)



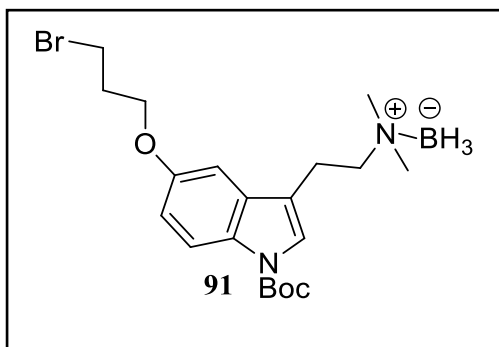
Em balão de 50 mL, **89** (0,50 g, 2,3 mmol) dissolvido em THF foi tratado com hidreto de sódio (0,08 g, 3,3 mmol, 60% em óleo mineral) sob agitação, a 25 °C. Após 20 min, 1,3-dibromopropano (0,5 mL, 3,0 mmol) foi adicionado gota a gota. Após 12h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e dissolvida em CH₂Cl₂ (20 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 2:1) para obter um óleo incolor caracterizado como **90** (0,19 g, 62%). R_f: 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1).

IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 3398, 2938, 2375, 2330, 2225, 1459, 1208, 1185, 798.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 2,34 (2H, q, *J* = 6,2 Hz), 2,69 (6H, s), 3,01-3,06 (2H, m), 3,16-3,20 (2H, m), 3,65 (2H, t, *J* = 5,7 Hz), 4,16 (2H, t, *J* = 5,6 Hz), 6,86 (1H, dd, *J* = 8,9; 2,1 Hz), 6,98 (1H, d, *J* = 2,3 Hz), 7,09 (1H, d, *J* = 2,2 Hz), 7,26 (1H, m), 8,06 (1H, sl).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 20,4; 30,5; 32,6; 51,8; 64,8; 66,3; 101,9; 111,7; 112,1; 112,8; 127,5; 131,6; 153,0.

3.2.16 5-(3-Bromopropóxi)-1-*tert*-butóxicarbonil-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil)-aminoborano (**91**)



Um balão de 50 mL contendo **90** (0,45 g, 1,35 mmol), dicarbonato di-*tert*-butila (0,29 g, 1,35 mmol), DMAP catalítico e trietilamina (0,6 mL, 4,3 mmol), em CH₂Cl₂ (10 mL), foi mantido sob agitação, a 25 °C, durante 2h. A mistura reacional foi diluída com CH₂Cl₂ (10 mL), lavada com água e salmoura, secada como Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo foi cromatografado em

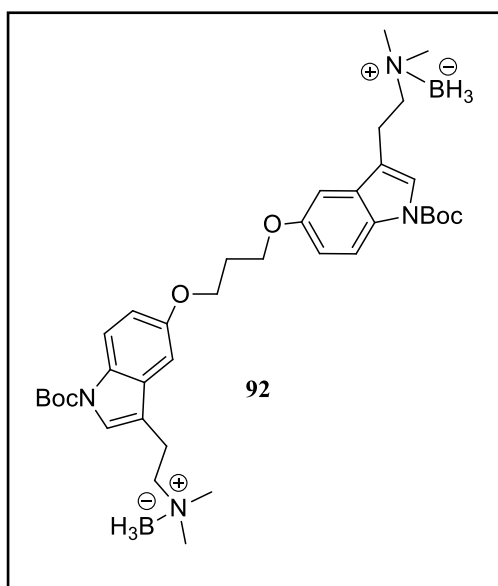
coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 4:1) para fornecer **91** como um óleo amarelado (0,48 g, 82%); R_f 0,43 (hexano-AcOEt, 2:1).

IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 2981, 2377, 2347, 2260, 1738, 1466, 1375, 1254, 1142, 758.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): 1,65 (9H, s), 2,33 (2H, q, $J = 6,1$ Hz), 2,68 (6H, s), 3,00-3,04 (2H, m), 3,14-3,16 (2H, m), 3,62 (2H, t, $J = 5,7$ Hz), 4,15 (2H, t, $J = 5,7$ Hz), 6,93 (1H, dd, $J = 8,9; 2,1$ Hz), 7,05 (1H,s), 7,37 (1H,s), 7,99 (1H, sl).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 20,3; 28,2; 30,3; 38,7; 51,92; 64,00; 65,1; 83,5; 102,6; 113,7; 116,1; 116,5; 123,6; 128,8; 130,9; 149,6; 155,2.

3.2.17 5, 5'-(Propano-1,3-dióxi-bis(1-*terc*-butóxicarbonil -1*H*-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etil-aminoborano



Em balão de 50 mL, **89** (0,50 g, 2,3 mmol) dissolvido em THF foi tratado com hidreto de sódio (0,08 g, 3,3 mmol, 60% em óleo mineral) sob agitação, a 25 °C. Após 20 min, foi adicionada uma solução 0,3 M de **91** em THF (10 mL, 3,0 mmol) gota a gota. Após 24h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e dissolvida em CH_2Cl_2 (20 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 7:3) para obter óleo amarelado caracterizado como **92** (0,23 g, 15%); R_f 0,35 (hexano-AcOEt, 2:1).

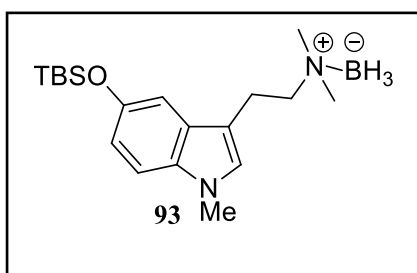
IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 2952, 2464, 2284, 1725, 1383, 1165, 1068, 798.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 1,60 (18H, d, $J = 9,8$ Hz) (2H, q, $J = 6,0$ Hz), 2,69 (6H, s), 3,01-3,03 (4H, m), 3,10-3,15 (4H, m), 4,26 (2H, t, $J = 5,4$ Hz), 6,98 (1H, dd, $J = 8,9; 2,1$ Hz), 7,07 (1H, d, $J = 2,2$ Hz), 7,36 (2H, sl), 8,00 (2H, sl).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 21,9; 30,2; 31,3; 53,5; 65,6; 66,7; 85,6; 85,1; 104,3; 115,2; 118,1; 125,2; 132,5; 151,2; 156,8.

HRESIMS, m/z: 663,4326 (calc. para C₃₇H₅₈B₂N₂O₆, [M - BH₃ + H]⁺, 663,4294).

3.2.18 5-*tert*-Butildimetilsililóxi-1-metil-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil-aminoborano) (93)



Em balão de 50 mL, **87** (0,40 g, 1,2 mmol) dissolvido em THF foi tratado com hidreto de sódio (0,32 g, 8,0 mmol, 60% em óleo mineral) sob agitação, a 25 °C. Após 20 min, foi adicionado iodeto de metila (0,50 mL, 8,0 mmol). Após 12h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e dissolvida em CH₂Cl₂ (20 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 5:1) para fornecer um sólido branco caracterizado como **89** (0,31 g, 75%); R_f 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1); p.f. 65-67 °C.

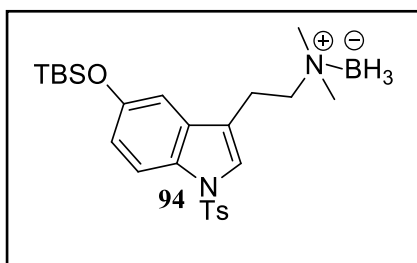
IV (ATR, ν_{max}) cm⁻¹: 2959, 2932, 2856, 2375, 2349, 2271, 1483, 1186, 837, 781.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 0,21 (6H, s), 1,01 (9H, s), 1,65 (9H, s), 2,68 (6H, s), 2,97-3,04 (2H, m), 3,12-3,14 (2H, m), 3,70 (3H, s), 6,80 (1H, dd, *J* = 8,8; 2,3 Hz), 6,84 (1H, s), 6,95 (1H, d, *J* = 2,1 Hz), 7,13 (1H, d, *J* = 8,8 Hz).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: -4,3; 18,3; 20,4; 25,8; 32,8; 51,7; 65,1; 108,1; 109,8; 116,1; 127,3; 128, 0; 132, 9; 149,0.

HRESIMS, m/z: 347,2640 (calc. para C₁₉H₃₅BN₂Osi [M + H]⁺, 347,2688).

3.2.19 5-*tert*-Butildimetilsililóxi-1-tosil-1*H*-indol-3-(2-(*N,N*-dimetil)etil-aminoborano) (94)



Em balão de 50 mL, **87** (0,40 g, 1,2 mmol) dissolvido em THF foi tratado com hidreto de sódio (0,07 g, 4,8 mmol, 60% em óleo mineral) sob agitação, a 25 °C. Após 20 min,

foi adicionado cloreto de *p*-toluenosulfonil (0,46 g, 2,4 mmol). Após 2h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e dissolvida em CH₂Cl₂ (20 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ e cromatografado em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 5:1) para obter **94** como um sólido branco (0,44 g, 76%); R_f 0,45 (hexano-AcOEt, 2:1); p.f. 76-79 °C.

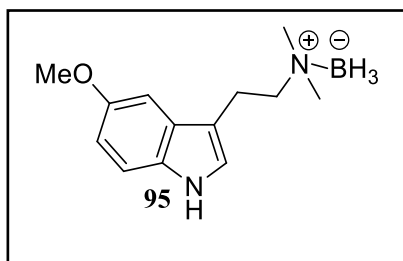
IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 2959, 2928, 2859, 2382, 2361, 2275, 1462, 1162, 837.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 0,19 (6H, s), 1,01 (9H, s), 2,31 (3H, s), 2,65 (6H, s), 2,97-2,99 (2H, m), 3,07-3,14 (2H, m), 6,85 (1H, dd, *J* = 8,9; 2,4 Hz), 6,93 (1H, d, *J* = 2,2 Hz), 7,19 (2H, d, *J* = 8,3), 7,32 (1H, s), 7,71 (2H, d, 8,3 Hz), 7,82 (1H, d, 8,9 Hz).

RMN ¹³C (APT, 75 MHz, CDCl₃) δ : -4,4; 18,3; 20,3; 21,6; 25,7; 51,9; 63,6; 109,1; 114,5; 118,8; 117,9; 123,9; 127,6; 129,9; 130,2; 131,5; 135,0; 144,9; 152,1;

HRESIMS, m/z: 473,2201 (calc. para C₂₅H₃₉BN₂O₃Ssi [M + H]⁺, 473,2289).

3.2.20 Complexo 5-metóxi-bufotenina aminoborano (**95**)



Em balão de 50 mL, **79** (0,5 g, 2.3 mmol) dissolvido em THF foi tratado com hidreto de sódio (0,05 g, 1,1 mmol, 60% em óleo mineral) sob agitação, a 25 °C. Após 20 min, foi adicionado iodeto de metila (0,50 mL, 1,2 mmol). Após 12h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e

dissolvida em CH₂Cl₂ (20 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 5:1) para fornecer um sólido branco caracterizado como **95** (0,34 g, 65%); R_f 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1); p.f. 134-136 °C.

IV (ATR, ν_{\max}) cm⁻¹: 3418, 2951, 2385, 2282, 1584, 1281, 1214, 1169, 1038, 984, 801, 507.

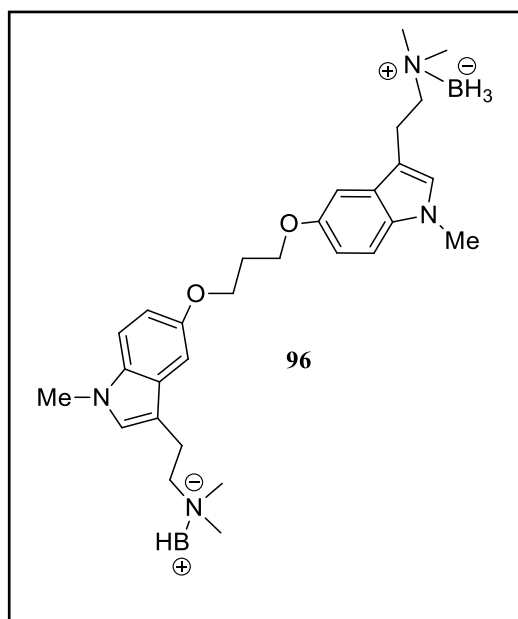
RMN ¹H (75 MHz, CDCl₃) δ : 2,69 (6H, s), 3,05-3,08 (2H, m), 3,16-2,19 (2H, m), 3,88 (3H, s), 6,68 (1H, dd, *J* = 8,7; 2,7 Hz), 6,95 (1H, d, *J* = 2,7 Hz), 6,17 (1H, dd, *J* = 8,7; 2,7 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 20,4; 51,7; 56,0; 64,8; 100,9; 111,5; 112,2; 122,8; 127,5; 131,5; 154,0

3.2.21 Procedimento geral para preparação dos dímeros aminoboranos (96, 97 ou 98)

Em balão de 50 mL contendo uma mistura de **93**, **94** ou **95** (0,40 g, 1,2 mmol), KOH (0,19 g, 3,4 mmol) e TBAB (quantidade catalítica) em THF (2 mL) foi agitada, a 25 °C. Após 20 min, 1,3-dibromopropano (0,46 g, 2,4 mmol) foi adicionado e agitação foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente. Após 12h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e dissolvida em CH₂Cl₂ (10 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 7:3) para fornecer os dímeros aminoboranos **96**, **97** ou **98**.

3.2.22 5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-metil-1*H*-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etil-aminoborano (96)



Preparado a partir de **93** como um óleo amarelado (0,45 g, 75%); R_f 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1).

IV (ATR, ν_{max}) cm⁻¹: 2928, 2855, 2375, 2329, 2288, 1497, 1486, 1224, 1172, 1018, 792.

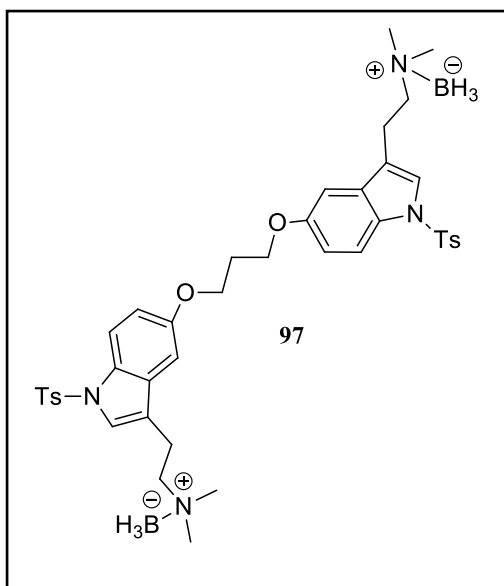
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 2,35 (2H, q, *J* = 6,1 Hz), 2,69 (12H, s), 3,02-3,05 (4H, m), 3,16-3,20 (4H, m), 3,88 (6H, s), 4,99 (4H, t, *J* = 5,7 Hz), 6,79 (2H, s), 6,87 (2H, dd, *J* = 8,9; 2,4 Hz), 7,08 (4H, m).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 20.3, 30.1, 43.4,

56.0, 64.9, 100.8, 110.3, 110.6, 110.6, 112.1, 125.1, 128.1, 131.5, 154.0.

HRESIMS, m/z: 491,3504 (calc. para C₂₉H₄₆B₂N₄O₂, [M – BH₃ + H]⁺, 491,3557).

3.2.23 5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-tosil -1*H*-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etil-aminoborano (97)



Preparado a partir de **90** como um sólido branco (0,56 g, 65%); R_f 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1); p.f. 58-61 °C.

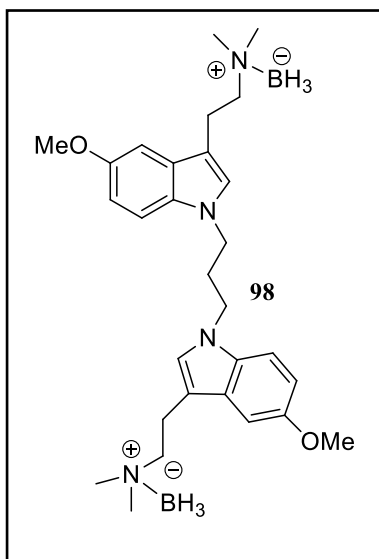
IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 2980, 2904, 2389, 2274, 1597, 1412, 1389, 1217, 1168, 667.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 2,23 (2H, q, $J = 6,1$ Hz), 2,30 (6H, s), 2,65 (12H, s), 2,95-2,99 (4H, m), 3,02-3,07 (4H, m), 4,15 (4H, t, $J = 5,7$ Hz), 6,94 (4H, s), 7,18 (4H, d, $J = 2,8$ Hz), 7,29 (2H, s), 7,68 (4H, d, $J = 2,6$ Hz), 7,83 (2H, d, $J = 2,8$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 20,4, 21,6, 29,3, 52,0, 63,6, 64,8, 102,7, 114,3, 114,7, 119,0, 123,8, 126,7, 129,9, 131,4, 135,0, 145,0, 155,7.

HRESIMS, m/z : 771.3520 (calc. para $C_{41}H_{54}B_2N_4O_6S_2$ [$M - BH_3 + H$] $^+$, 771,3423).

3.2.24 1,1'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(5-metóxi-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etil-aminoborano(98)



Em balão de 50 mL, **98** (0,50 g, 2,3 mmol) dissolvido em THF foi tratado com hidreto de sódio (0,08 g, 3,3 mmol, 60% em óleo mineral) sob agitação, à temperatura ambiente. Após 20 min, 1,3-dibromopropano (0,5 mL, 3,0 mmol) foi adicionado gota a gota e agitação mantida por mais 12h. A mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e dissolvida em CH_2Cl_2 (20 mL), lavada como água e salmoura. A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 e cromatografado em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 2:1) para obter um óleo amarelado

caracterizado como **96** (0,19 g, 62%); R_f 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1).

IV (ATR, ν_{max}) cm^{-1} : 2928, 2855, 2375, 2326, 2268, 1497, 1416, 1224, 1172, 792.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 2,33 (2H, q, *J* = 6,0 Hz), 2,67 (12H, s), 3,01-3,04 (4H, m), 3,16-3,18 (4H, m), 3,88 (6H, s), 4,26 (4H, t, *J* = 5,7 Hz), 6,79 (2H, s), 6,87 (2H, dd, *J* = 8,9; 2,4 Hz), 7,08 (4H, m).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 20,4; 43,4; 51,8; 56,0; 64,9; 100,9; 110,2; 110,7; 112,2; 125,8; 128,2; 131,6; 154,1.

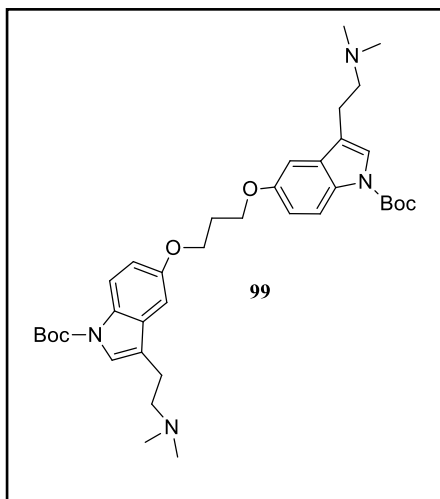
HRESIMS, m/z: 503,3738 (calc. para C₂₉H₄₅B₂N₄O₂, [M + H]⁺, 503,3729).

3.2.25 Procedimento geral para clivagem do grupo borano (99, 100 e 101).

Metodologia 1. Em balão de 50 mL contendo o monômero (0,5 mmol) dissolvido em MeOH foi adicionado Pd-C 10% (0,06 g, 0,05 mmol) e a mistura reacional foi degaseificada e mantida em atmosfera de H₂ (48a. De 1 atm, bexiga de borracha). A agitação foi mantida à temperatura ambiente, durante 24 h. Em seguida, a mistura reacional foi filtrada através de camada de Celite® e o filtrado concentrado no rotaevaporador para obtenção do dímero sem processo de purificação.

Metodologia 2. Em uma balão de 50 mL, uma mistura contendo o monômero (0,393 g, 0,5 mmol), DABCO (0,112 g, 1,0 mmol) em CH₂Cl₂ (15,0 mL) foi agitada, a 25 °C e sob atmosfera de N₂. Após 2h, a mistura reacional foi diluída com CH₂Cl₂ (30 mL), lavada com água e salmoura, secada com Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo foi cromatografado em coluna (silica gel, AcOEt-Et₃N 1:1,0x10⁻³) para obtenção do dímero.

3.2.26 5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-*tert*-butóxicarbonil -1*H*-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etanoamina (99)



Preparado a partir de **92** pela Metodologia 1 na forma de óleo amarelado (0,36 g, 80%); R_f 0,46 (hexano-AcOEt, 2:1).

IV (ATR, ν_{max}) cm⁻¹: 2926, 1725, 1725, 1465, 1213, 1165, 1078, 768.

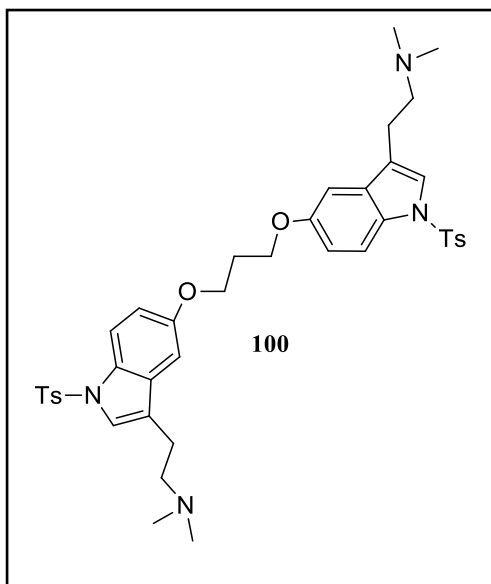
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ: 1,65 (18H), 2,32 (14H, s), 2,60-2,63 (4H, m), 2,79-2,82 (4H, m), 4,25 (4H, t, *J* =

5,6 Hz), 6,94 (2H, dd, $J = 8,8; 2,0$ Hz), 7,02 (2H, d, $J = 2,2$ Hz), 7,36 (2H, sl), 7,97 (2H, sl).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ : 23,5; 28,3; 29,7; 45,5; 59,2; 65,3; 103,0; 113,2; 116,0; 118,8; 155,0.

HRESIMS, m/z: 649,3956 (calc. para $\text{C}_{37}\text{H}_{53}\text{N}_4\text{O}_6$, $[\text{M} + \text{H}]^+$, 649,3965).

3.2.27 5, 5'-(Propano-1,3-dibis(oxi)-bis(1-tosil -1*H*-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etanoamina (100)



Preparado a partir de **92** pela Metodologia 2 como um sólido branco (0,26 g, 70%); R_f 0,45 (MeOH-AcOEt- NH_4OH 1:1:0.1); p.f. 53-56 °C.

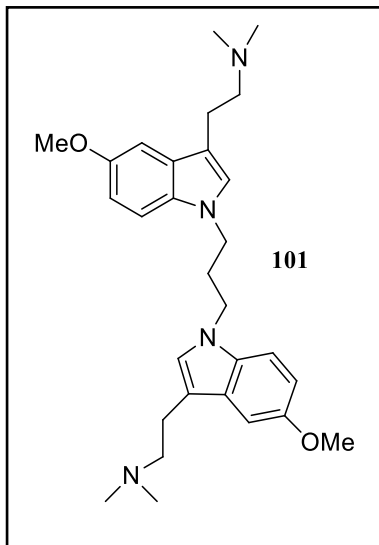
RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ : 2,23 (4H, q, $J = 6,1$ Hz), 2,33 (8H, s), 2,39 (12H, s), 2,72-2,71 (4H, m), 2,83-3,86 (4H, m), 4,18 (4H, t, $J = 5,7$ Hz), 6,94 (4H, d, $J = 2,2$ Hz), 7,00 (2H, s), 7,20 (4H, d, 2,4 Hz s), 7,29 (2H, s), 7,70 (4H, d, $J = 2,4$ Hz), 7,85 (2H, d, 2,4 Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 20,4; 51,6; 30,0; 52,1;

63,8; 65,0; 102,9; 114,4; 114,8; 119,0; 123,7; 126,7; 129,9; 131,4; 135,1; 144,7; 155,8.

HRESIMS, m/z: 757,3090 (calc. para $\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 757,3094).

3.2.28 1,1'-(Propano-1,3-di(bis)oxi-bis(5-metóxi-indol-3-(2-*N,N*-dimetil)etilanoamina
(101)



Preparado a partir de **98** pela Metodologia 1 na forma de óleo alaranjado (0,17 g, 72%); R_f 0,45 (MeOH-AcOEt-NH₄OH 1:1:0.1).

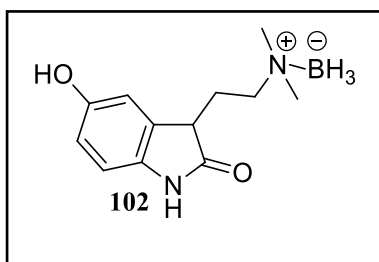
IV (ATR, ν_{max}) cm⁻¹: 2939, 1593; 1467; 1362; 1162; 737, 659.

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ : 2,34 (14H, s), 2,60-2,61 (4H, m), 2,88-2,90 (4H, m), 3,87 (6H, s), 3,99 (4H, t, $J = 5,7$ Hz), 6,79 (2H, s), 6,83 (2H, s), 7,05 (2H, d, $J = 2,4$ Hz), 7,07 (2H, d, 8,9 Hz).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ : 20,4; 43,4; 51,8; 56,0; 64,9; 100,9; 110,2; 110,7; 112,2; 125,8; 128,2; 131,6; 154,1.

HRESIMS, m/z: 477,3224 (calc. para C₂₉H₄₁N₄O₂, [M + H]⁺, 477,3230)

3.2.29 5-(Hidróxi-2-oxoindolin-3-il)-2-(*N,N*-dimetil)etil aminoborano (102)



Em uma balão de 50 mL, contendo **1** (0,20 g, 1,0 mmol) em de DMSO (2,0 mL) foi adicionando gota a gota ácido clórico concentrado (2,0 mL), sob agitação, a 25 °C. Após 45 min, a mistura foi diluída com água destilada (5,0 mL) e neutralizada com hidróxido de amônia. A fase orgânica foi extraída com AcOEt (5 x), secada como Na₂SO₄ e concentrada no rotaevaporador. O resíduo foi dissolvido em THF (4 mL) e tratado com py·BH₃ (0,1 mL). Após 2h, a mistura reacional foi concentrada no rotaevaporador e cromatografada em coluna (silica gel, hexano-AcOEt, 2:1), para fornecer óleo amarelado caracterizado como **101** (35 mg, 15%); R_f 0,3 (hexano-AcOEt 2:1).

IV (ATR, ν_{max}) cm⁻¹: 3215, 2958, 2932, 2382, 2275, 1708, 1473, 1288, 1198, 816.

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ: 2,32-2,37 (2H, m), 2,52 (6H, s), 2,74-2,76 (2H, m), 6,67 (1H, dd, *J* = 8,9; 2,4 Hz), 6,73 (1H, d, *J* = 8,9 Hz), 6,79 (1H, d, *J* = 2,4 Hz).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ: 24,2; 50,3; 50,3; 50,7; 60,4; 110,1; 111, 6; 114,1; 129,8; 134,5; 153,1; 179,9.

3.3. Ensaio biológico

3.3.1. Avaliação da atividade inibitória da bufotenina e derivados por AChE-ICER/ LC-MS

Os ensaios de avaliação da atividade inibitória dos ligantes **1**, **7**, **96**, **99**, **100** e **101** sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE) foram realizados pelo Grupo de Síntese Orgânica de CLAE, liderado pela Prof^a Dr^a Quezia C. Cass (USFCar), por meio da técnica na triagem automatizada (High-Throughput Screening, HTS) usando AChE imobilizada em bioreator capilar (ICER, *immobilized capillary enzyme reactor*) acoplado a espectrofômetro de massa em sistema LC-MS, técnica que apresenta alta seletividade e reprodutibilidade para ligantes inibidores da acetilcolinesterase.

3.3.2. Condições experimentais de análise por AChE-ICER/LC-MS

Empregou-se um sistema cromatográfico de ultra eficiência Waters ACQUITY UPLC (Milford, USA) composto por uma bomba binária (BSM), uma quaternária (QSM), com injetor automático Waters 2777C, acoplado a um espectrômetro de massa modelo Xevo TQ-MS (Waters, Milford, USA) com ionização por eletrospray (ESI) operando no modo positivo para análise de acetilcolina e colina.

Para a otimização das condições de ionização soluções aquosas, individuais de cada composto (100 ng/mL), foram introduzidas no sistema no modo *combined* com vazão de 30 µL/min de MeOH/tampão acetato de amônio 15 mM pH 8 (50:50 v/v) vinda do sistema cromatográfico combinado com uma vazão de 20 µL/min da bomba seringa contendo as soluções aquosas. As condições estabelecidas foram: voltagem do capilar: 2,0 kV; voltagem do cone: 10 V; temperatura de dessolvatação: 350°C; vazão do gás de dessolvatação: 800 L/Hr.

O espectrômetro de massa operou no modo *selected reaction monitoring* (SRM), monitorando-se as transições de cada analito: 146,9>146,9 para acetil colina e 104,07>104,07 para colina.

As soluções estoque de cada composto foram preparadas em diclorometano numa concentração de 10 mg/mL e em seguida foram diluídas em metanol obtendo-se soluções de trabalho 4mM. As amostras foram preparadas aliquotando-se 5 uL das respectivas soluções de trabalho, 25 uL da solução de trabalho de acetilcolina 60 uM e 70 uL de água, sendo a concentração molar final de composto 200 uM e de acetilcolina 15 uM.

***Resultados e
Discussão***

4 Obtenção e caracterização do alcalóide bufotenina (1)

4.1. Coleta das sementes de espécies de *Anadenanthera*

As sementes de *Anadenanthera* foram coletadas nos períodos de agosto a setembro dos anos de 2011 e 2012, em duas localidades da Universidade de Brasília: atrás da Biblioteca Central (BCE/UnB) e no Centro Olímpico (CO/UnB), respectivamente identificadas pelo Prof. Dr. Christopher William Fagg como sendo *Anadenanthera peregrina*, var. *peregrina* (BCE/UnB, Figura 18) e *Anadenanthera peregrina*, var. *falcata* (APCEF, Figura 19). Como forma de garantia da proteção do patrimônio genético, espécimes foram autenticadas e depositadas no Herbarium da Universidade de Brasília, observados os protocolos de acesso (Anexo 1).



Figura 19. Árvore, ramos, vagens e sementes da espécie *A. Peregrina*, var. *peregrina* (BCE/UnB).



Figura 20. Árvore, ramos, vagens e sementes da espécie *A. peregrina*, var. *falcata* (APCEF).

4.1.1 Isolamento do alcalóide bufotenina (1) e composição da fração oleaginosa das sementes de *Anadenanthera*

As sementes das espécies selecionadas foram secadas à temperatura ambiente, protegidas da umidade e reduzidas a pó para então proceder à extração do alcalóide bufotenina utilizando duas metodologias diferentes.

Inicialmente, foi utilizada uma adaptação da metodologia de Stromberg,⁹ por meio da qual duas porções de sementes de *A. peregrina* foram extraídas com solução etanólica de ácido-tartárico 1% (m/v), em dois experimentos independentes. Os extratos etanólicos ácidos foram concentrados e extraídos várias vezes com diclorometano/clorofórmio para remoção da fração oleaginosa. A fase aquosa foi fortemente basicada com hidróxido de amônia e extraída várias vezes com clorofórmio para obtenção da bufotenina (1) pura em 1,97% de rendimento (Figura 20).

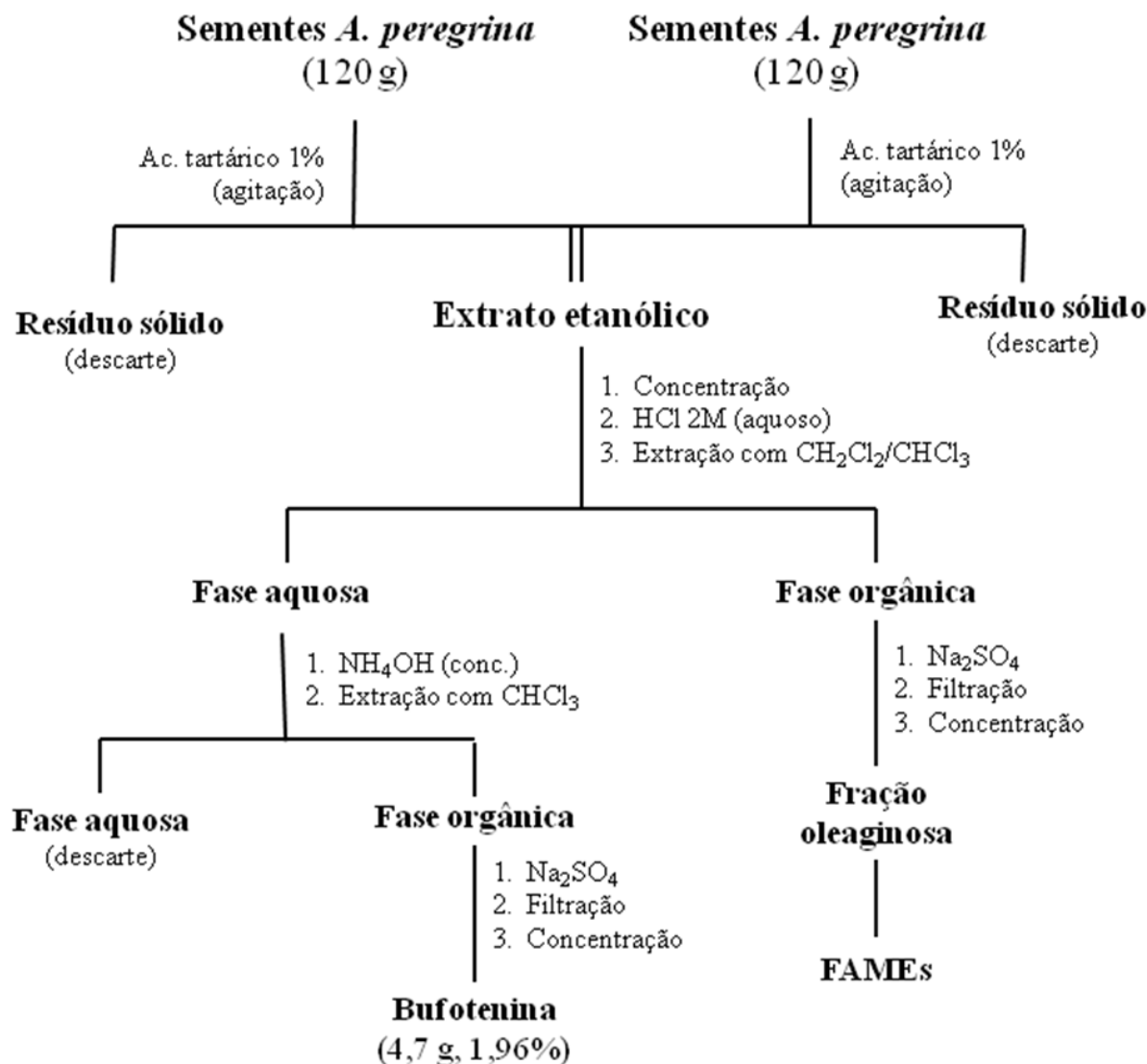


Figura 21. Diagrama de fluxo usado na extração da bufotenina (1) pelo método de Stromberg.⁶

Por esse procedimento, a bufotenina (1) foi obtida de *A. peregrina* como um sólido amarelado; ponto de fusão 154 °C (literatura 146,5°C); $R_f = 0,45$ (silica gel 60, 0,2 mm UV₂₅₄, eluente metanol:acetato de etila:hidróxido de amônio 1:1:0,1); ESI/MS: m/z 205,1335 [M + H]⁺, calculado C₁₂H₁₇N₂O 205,1341, porém com rendimento modesto.

A necessidade de acumular bufotenina em quantidade suficiente para acessar as rotas sintéticas visando à preparação dos compostos espiro-oxindóis diméricos bem como análises biofarmacológicas, incentivaram a busca por melhorias no processo extrativo. Nesse sentido, a bufotenina foi extraída das sementes de *Anadenanthera* spp. usando uma versão modificada do método clássico de extração de alcaloides. Conforme descrito na Figura 21, os componentes lipídicos foram preliminarmente removidos das sementes por maceração com hexano (fração oleaginosa) e o sólido residual foi extraído com metanol. Na sequência, o extrato metanólico

foi concentrado, diluído em água e tratado com uma solução de ácido clorídrico. A mistura resultante foi fortemente basificada e extraída várias vezes com acetato de etila. Os extratos foram combinados, secados, concentrados e o sólido escuro residual foi recristalizado de acetato de etila para fornecer a bufotenina.

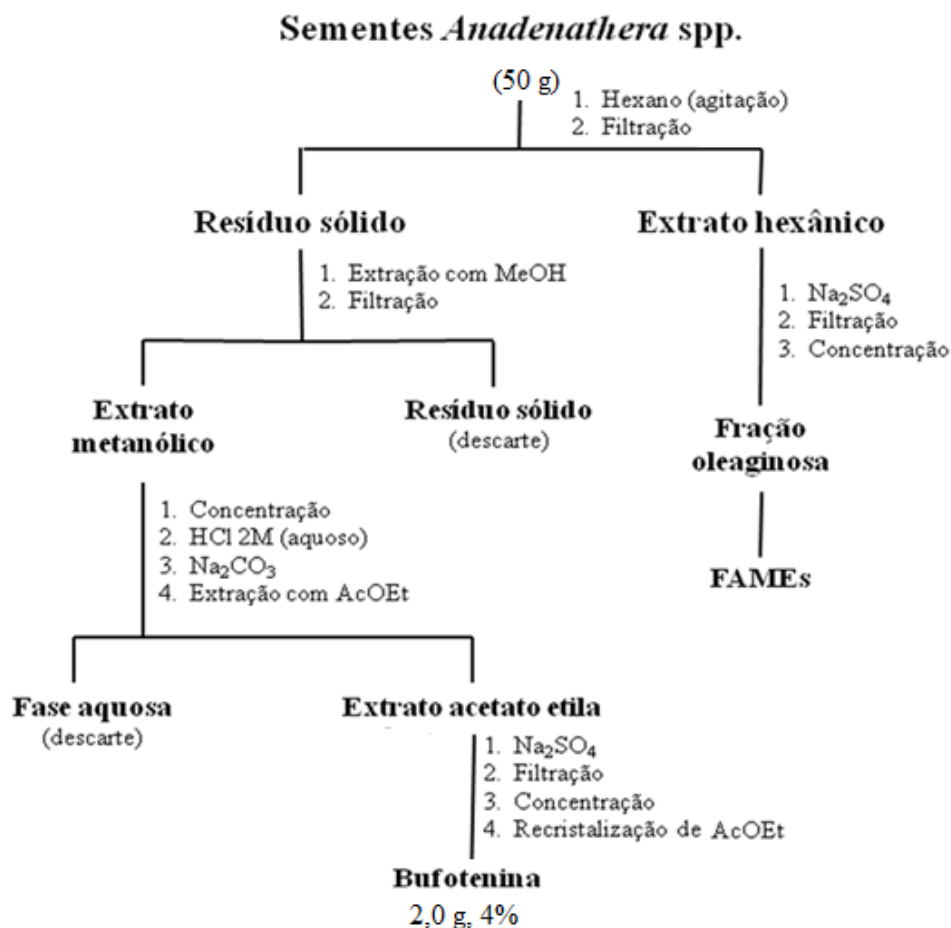


Figura 22. Diagrama de fluxo usado na obtenção da bufotenina (1) pelo método clássico de extração de alcalóides.

Por este procedimento, a bufotenina (1) foi isolada das sementes das duas espécies de *Anadenanthera* com melhor rendimento comparado àquele descrito por Stromberg A. *peregrina* (Tabela 5). Durante esse estudo, verificou-se que, se o tratamento com ácido clorídrico é omitido nas fases finais da separação, a bufotenina (1) pode ser isolada em forma de glicosídeo (gly-bufotenina), confirmado por análise em CG-EM e experimentos de RMN ^1H e ^{13}C .

Tabela 5. Comparação dos resultados da extração da bufotenina das espécies de *Anadenanthera* usando a modificação do método clássico de extração de alcaloides.

Espécie	Rendimento (g, %) ^a		Propriedades	
	Fração oleaginosa	Bufotenina ^b	p.f. (°C) ^c	^d CG R _t
A. peregrina	7,50 g, 15%	2,0 g (4%) ^b	140-142 °C	23,92
A. colubrina	8,75g, 17,5%	1,2 g (2,4%)	139-140 °C	24,00

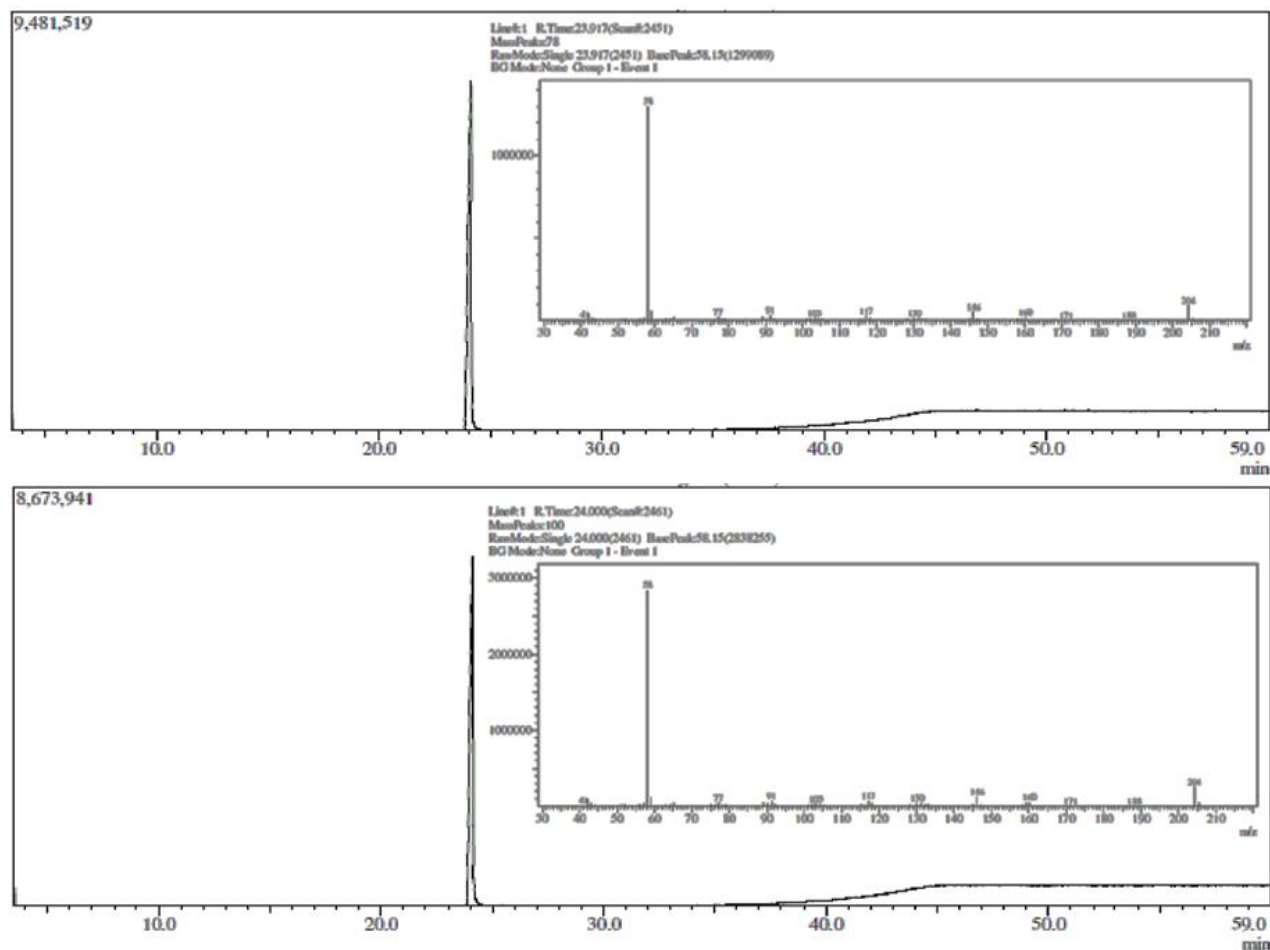
^a Rendimentos baseados na massa das sementes (g de bufotenina por 50 g de sementes).

^b Stromberg 1954: 0.94 %, p.f. 146-147 °C (após várias recristalizações de AcOEt).

^c Pontos de fusão foram medidos método do capilar em bloco de Kofler, não corrigidos.

^d R_t = Tempo de retenção (GC-MS Shimadzu Plus 7890, modo EI a 70 eV; coluna HP-5).

As amostras de bufotenina (**1**) provenientes das duas espécies de *Anadenanthera* foram analisadas por GC/EM. O cromatograma CG-EM demonstrou que as amostras apresentavam elevado grau de pureza e a comparação dos espectros de massa das amostras com o espectro de bufotenina da biblioteca do próprio equipamento (Wiley 6th Ed) confirmou, com 98% de similaridade, tratar-se do alcalóide desejado (Figura 22).

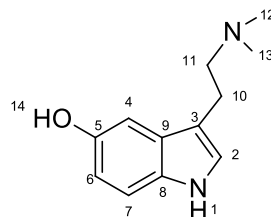


Parâmetros de funcionamento: tempo total de corrida 60,00 min; temperatura da coluna 100 °C, taxa de aquecimento 4 °C.min⁻¹; temperatura do injetor 250 °C; razão de divisão (split) 1: 50; gás de arraste hélio; fluxo total de 48,4 mL.min⁻¹; fluxo da coluna 0,89 mL.min⁻¹.

Figura 23. CG-EM (Rt 24,00) da bufotenina de *A. peregrina* (superior) e de *A. colubrina* (inferior).

Como descrito na seção Materiais e Métodos, na caracterização da bufotenina (1) foi empregada uma combinação de experimentos de RMN ¹H e ¹³C uni- e bi-dimensionais (COSY, HMQC e HMBC). Na Tabela 1 são apresentados os deslocamentos químicos e as atribuições para os sinais observados nos espectros de RMN ¹H e ¹³C (Anexos 2 a 8), de acordo com a numeração apresentada na estrutura da bufotenina.

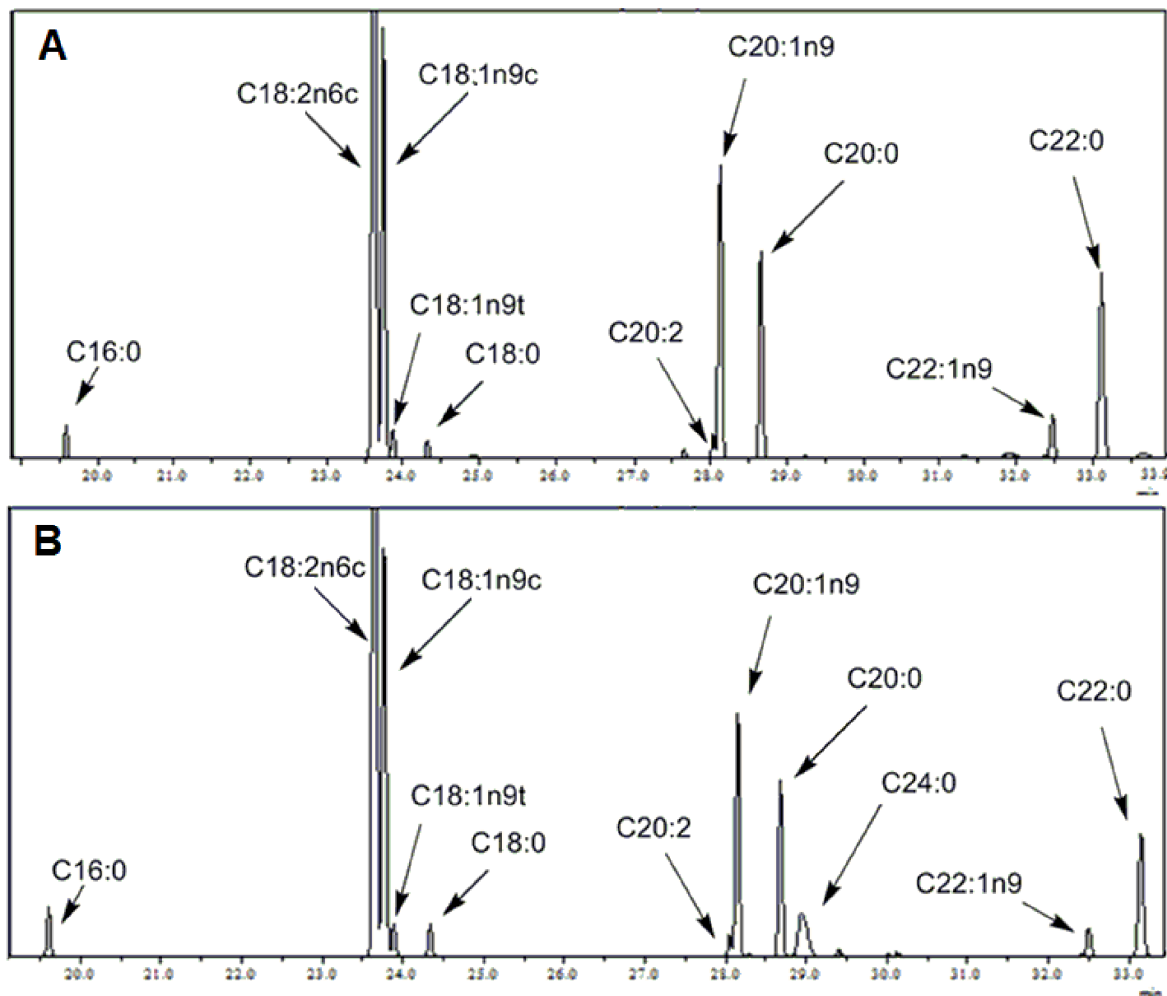
Tabela 6. Dados espectrais RMN de ^1H e ^{13}C da bufotenina (**1**)^a



Posição	δ_{H}^a	δ_{C}^b	APT	$^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY	HMBC
1	-	-	-	-	-
2	6,69; <i>s</i>	122,6	CH	-	H-10
3	---	111,4	C	-	H-2, H-4, H-10, H-11
4	6,91; <i>d</i> ($J= 2,4$ Hz)	102,2	CH	-	H-6
5	-	159,7	C	-	H-6, H-7
6	6,65; <i>dd</i> ($J= 8,5; 2,4$ Hz)	111,1	CH	H-7	H-4, H-7
7	7,15; <i>dd</i> , ($J= 8,5$ Hz)	111,4	CH	H-6	H-6
8	-	131,6	C	-	H-4, H-6
9	-	127,9	C	-	H-2, H-7
10	2,58 – 2,61 (m)	22,9	CH ₂	H-11	H-11
11	2,81 – 2,85; (m)	59,8	CH ₂	H-10	H-10, H-12/H-13
12, 13	2,29; <i>s</i>	43,9	CH ₃	-	H-11, H-12/C-13
14	9,63; <i>sl</i>	-	-	-	-

^aExperimentos realizados a 300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C , em metanol-*d*₄, usando TMS como referência interna (δ 0.00 ppm); ^bAssinalamentos confirmados por experimentos COSY (correlações homonucleares $^1\text{H}-^1\text{H}$), APT, HMQC e HMBC (correlações heteronucleares $^1\text{H}-^{13}\text{C}$).

Para determinar a composição de ácidos graxos da fração oleaginosa, amostras de FAMES (Fatty Acid Methyl Esters) foram preparadas, seguindo procedimentos usuais, e analisadas por GC-EM usando coluna capilar (HP-5). Os componentes foram identificados por comparação do espectro de massa com dados da biblioteca Wiley 6th Ed (Figura 23).



Parâmetros de funcionamento: tempo total de corrida 35,00 min; temperatura da coluna 140 °C, taxa de aquecimento 4 °C.min⁻¹; temperatura do injetor 260 °C; razão de divisão (split) 50,0; gás de arraste hélio; fluxo total de 48,4 mL.min⁻¹; fluxo da coluna 0,89 mL.min⁻¹.

Figura 24. Cromatogramas da mistura de FAMES da fração oleaginosa de amostras de *A. peregrina* (A) e *A. colubrina* (B).

Como mostrado na Tabela 3, a composição em termo de ácidos graxos das sementes de duas variedades de *Anadenanthera* mostraram perfil químico relativamente semelhante. Os principais FAMES foram o éster metil linoleico seguido pelo oleico, com tempos de retenção 23,65 e 23,77 min, respectivamente. (Tabela 7). Apenas *A. colubrina* apresentou o ácido tetracosanóico com um tempo de retenção de 28,94. O teor elevado de ácidos linoleico e oleico indica o valor fisiológico e nutricional das sementes de *Anadenanthera*.

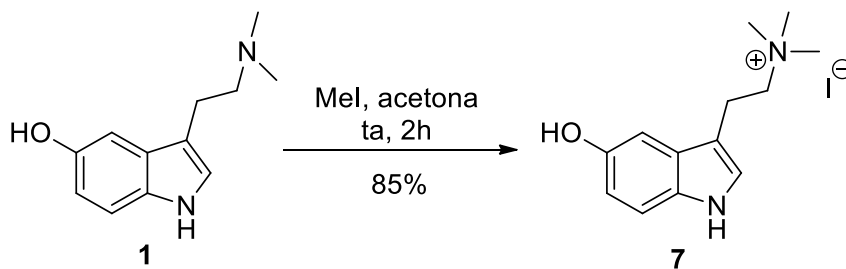
Tabela 7. Composição da fração oleaginosa das sementes de *Anadenanthera*.

FAME	Ácido graxo ^a	Tempo de retenção (min)		Área relativa (%) ^a	
		<i>A. peregrina</i>	<i>A. colubrina</i>	<i>A. peregrina</i>	<i>A. colubrina</i>
1	Palmitico (16:0)	19,61	19,61	2,11	2,01
2	Linoleico (18:2) ^{9,12}	23,65	23,65	41,91	43,09
3	Oleico (18:1) ^{9c}	23,77	23,77	23,02	19,48
4	Elaídico (18:1) ^{9t}	23,89	23,89	1,26	1,36
5	Esteárico (18:0)	24,34	24,34	1,44	1,29
6	Eicodienóico (20:2) ⁶	28,05	28,05	2,74	0,79
7	Eicosenóico (20:1) ⁹	28,15	28,15	12,92	11,27
8	Araquídico (20:0)	28,68	28,68	8,91	7,89
9	Lignocérico (24:0)	-	28,94	-	4,31
10	Erucíco (22:1) ⁹	32,51	32,51	1,26	1,30
11	Behênico (20:0)	33,15	33,15	7,17	7,21

^aPrecursor dos FAMES; ^bPorcentagem em termos de FAMES.

4.1.2 Preparação de derivados triptamínicos a partir da bufotenina.

Após várias tentativas utilizando condições convencionais de metilação (MeI/base), em diferentes temperaturas, a bufotenina (**1**) extraída das sementes de *Anadenanthera* foi seletivamente convertida na bufotenidina (**7**), em 85% de rendimento, por tratamento com iodometano em acetona, sob condições brandas (temperatura ambiente e ausência de base). Esse protocolo simples e eficiente não foi anteriormente descrito na literatura para preparação desse derivado (Esquema 8).



Esquema 7. Preparação da bufotenidina (**7**) a partir da bufotenina.

A formação do derivado **7** foi confirmada por espectrometria de RMN (Anexos 9 e 10), com destaque para o RMN ^1H onde se observou um singleto em δ 3,16 ppm referente aos nove hidrogênios (*N*-Me) e a desblindagem dos grupos metilênicos que se moveram de δ 2,61 e 2,81 ppm para δ 3,05 e 3,51 ppm em relação ao matéria de partida (**1**). O HRESIMS apresentou íon molecular com m/z 219,1493 $[\text{M} + \text{H}]^+$ correspondendo à fórmula $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$ e pico intenso com m/z 160,0606 $[\text{M} + \text{H}]^+$ para $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}$ referente à eliminação alfa do grupo amônio (Figura 24 e Anexo 12).

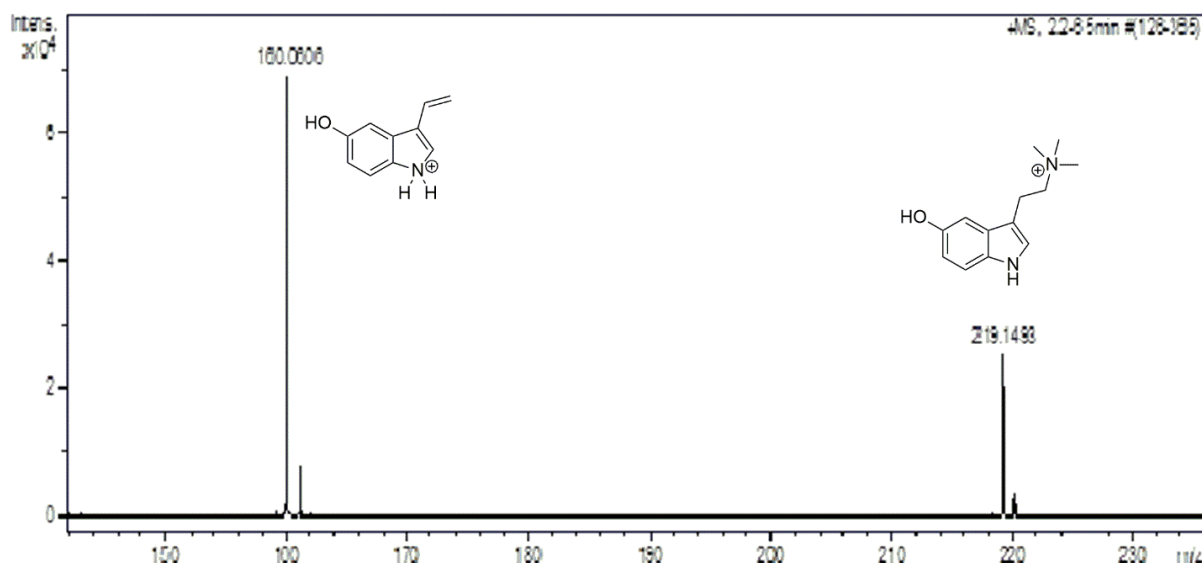
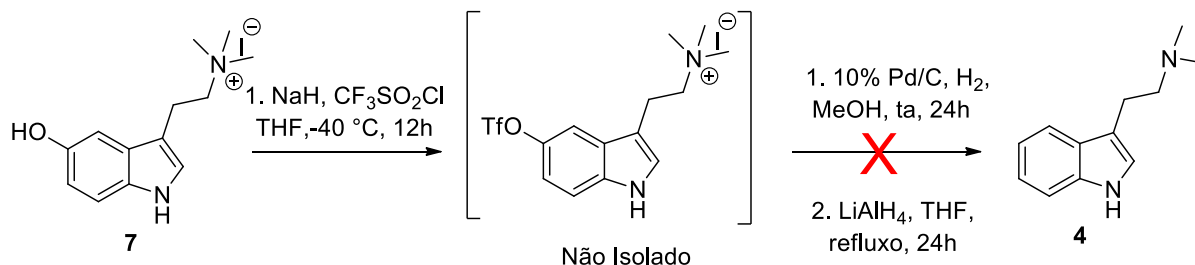


Figura 25. Espectro de HRESI/MS da bufotenidina (**7**).

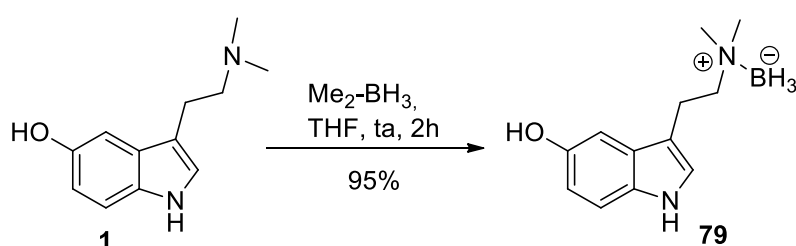
Uma tentativa inicial de conversão da bufotenidina (**7**) na *N,N*-dimetiltriptamina (**4**) via *O*-triflato, por hidrogenação catalítica seguida de redução com hidreto de lítio,⁷³ falhou na etapa de *N*-desmetilação seletiva do sal quaternário, possivelmente, devido ter havido apenas a remoção do grupo triflato (Esquema 9).



Esquema 8. Tentativa de conversão da bufotenidina (**7**) em *N,N*-dimetiltriptamina (**4**)

⁷³Cope, A. C.; Ciganek, E.; Fleckenstein, L. J.; Meisinger, M. A. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82 4651.

Para contornar essa situação, a bufotenina (**1**) foi convertida no complexo aminoborano **71** conforme protocolo descrito na literatura⁷⁴ que utiliza o reagente dimetilsulfeto borano em THF. Após elaboração usual e recristalização de acetato de etila, **79** foi obtido como um sólido cristalino branco com 95% de rendimento (Esquema 10). Interessantemente, o derivado aminoborano **79** apresentou propriedades desejáveis para utilização como matéria-prima em propósitos sintéticos: grande estabilidade e menor polaridade (técnicas cromatográficas) que seu precursor.



Esquema 9. Preparação do complexo aminoborano (**79**) a partir da bufotenina (**1**).

O espectro de RMN ¹H do derivado aminoborano **79** apresentou aspecto semelhante do alcalóide de partida (**1**), exceto pela desblindagem do singlete referente aos seis hidrogênios do grupo *N*-Me que se moveu de δ 2,29 para 2,57 ppm bem como dos dois tripletos relativos aos hidrogênios metilênicos, de δ 2,61 e 2,81 ppm para δ 2,95 e 3,04 ppm (Anexo 13). No HRESI/MS apresentou íon molecular com m/z 241,1495 $[M + Na]^+$, correspondendo à fórmula $C_{12}H_{19}BN_2NaO$ (Figura 25, Anexo 19).

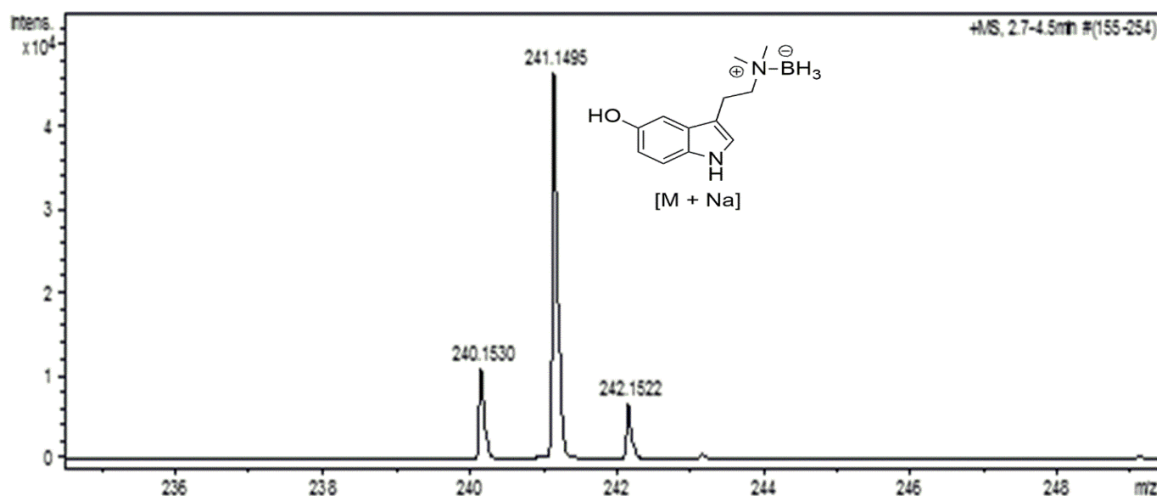


Figura 26. Espectro de HRESI/MS do derivado aminoborano (**79**).

⁷⁴ Gomes, J. M.; Gil, L.; Ferroud, C.; Olesker, A. G.; Martin, M. T.; Marazano. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4898.

A partir da amostra do derivado aminoborano (**79**) foi possível a obtenção de um monocristal adequado para análise por cristalografia de raios-X que confirmou a estrutura química do novo derivado da bufotenina. Na Figura 26, é mostrada uma representação ORTEP-3 (Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot) da unidade assimétrica de aminoborano complexo (**79**) com átomos identificados e elipsóides de deslocamento a 50% de probabilidade.

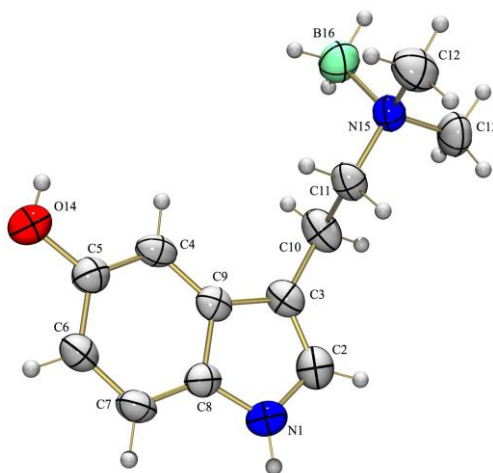
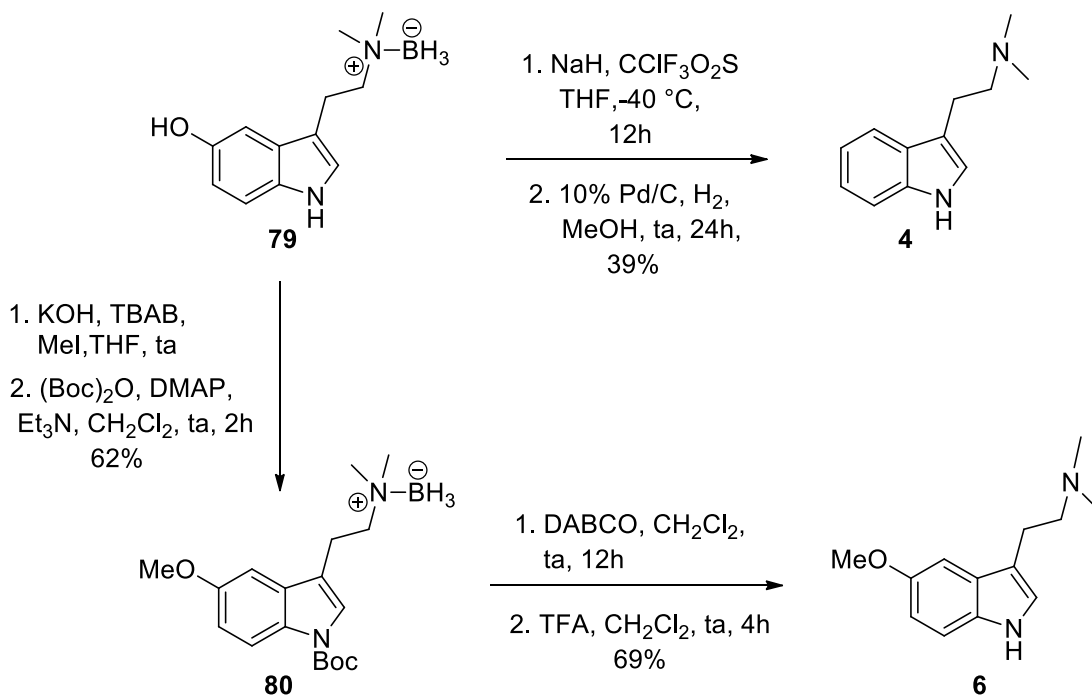


Figura 27. Representação ORTEP-3 do derivado aminoborano (**79**).

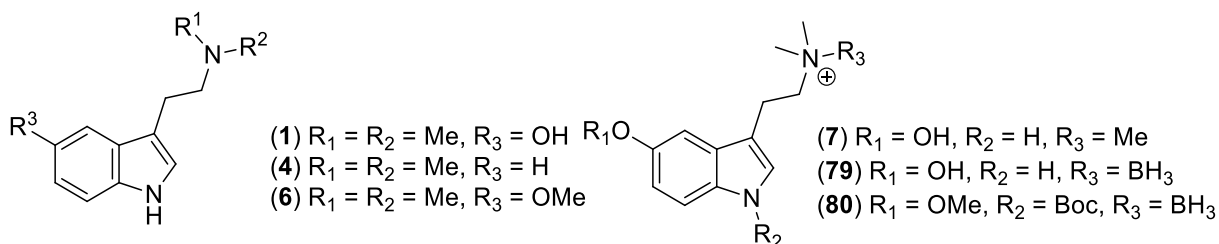
Com a disponibilidade do intermediário-chave **79** foi possível prosseguir na rota sintética visando a preparação da *N,N*-dimetiltriptamina (**4**) e da 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (**6**). Neste sentido, o grupo 5-hidróxi do derivado aminoborano (**71**) foi transformado na subunidade *O*-trifluorometanosulfonila, que em seguida foi integralmente removida por hidrogenólise fornecendo o derivado triptamínico **4** em 39% de rendimento. Na preparação do derivado triptamínico **6**, o derivado aminoborano (**79**) foi tratado com iodometano sob condições de catálise por transferência de fase (KOH em pó, TBAB em THF seco) e posterior introdução do grupo Boc no *N*-indol para se obter o intermediário **80** com 62% de rendimento. Na etapa final, procedeu-se o tratamento sequencial de **80** com DABCO e TFA para clivagem do borano e remoção do grupo Boc, respectivamente, obtendo-se 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (**6**) em 69% de rendimento (Esquema 11).



Esquema 10. Preparação da *N,N*-dimetiltryptamina (**4**) e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina (**6**) a partir do derivado aminoborano (**79**).

No espectro de RMN ¹H da *N,N*-dimetiltryptamina (**4**), destaque para um sinal em forma de multiplete em δ 7,13-7,06 ppm referente aos dois hidrogênios na posição 5 e 6 do sistema indólico. No RMN de ¹³C destacou-se o sinal em δ 118,9 ppm referente ao (CH) na posição 5 do núcleo indólico (Anexo 20 e 21). No espectro de RMN ¹H e ¹³C da 5-metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina (**6**), foi observado o desaparecimento dos singletos em δ 1,65 ppm e 155,7 ppm referentes ao grupo *tert*-butil do grupo Boc. (Anexo 27 e 28). Na Tabela 3 são apresentadas as atribuições de RMN ¹³C de todos os derivados triptamínicos **4**, **6**, **7**, **79** e **80**, comparados aos da bufotenina (**1**).

Tabela 8. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C da bufotenina (**1**) com os derivados triptamínicos **4**, **6**, **7**, **79** e **80**.



Posição	1	4	6	7	79	80
1-NH	-	-	-	-	-	-
2-(CH)	122,6	123,7	122,6	124,3	121,6	123,2
3-(C)	111,4	112,0	99,7	107,8	108,8	118,5
4-(CH)	102,2	118,7	99,8	102,7	100,7	101,8
5-(C-OH),(C-H), (C-OMe)	159,7	118,9	153,5	150,8	148,5	149,7
6-(CH)	111,1	121,7	111,5	112,3	110,2	112,6
7-(CH)	111,4	109,5	111,1	112,1	109,9	115,9
8-(C)	131,6	136,7	132,0	131,2	130,4	130,1
9-(C)	127,9	127,1	127,4	127,8	126,5	131,4
10-(CH ₂)	22,9	20,9	22,6	19,2	18,7	23,4
11-(CH ₂)	59,8	57,6	59,7	52,6	63,4	59,1
12, 13,-(NCH ₃)	43,9	43,0	43,8	65,7	49,3	43,4
14-OCH ₃	-	-	55,0	-	-	55,7
15-COO(CCH ₃)	-	-	-	-	-	155,7

No HRESI/MS os derivados triptamínicos **4** e **6** apresentaram íon molecular com m/z 189,1493 $[\text{M} + \text{H}]^+$ correspondendo à fórmula $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2$ e com m/z 219,1493 $[\text{M} + \text{H}]^+$ correspondendo fórmula $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$, respectivamente (Figura 21, Anexos 23 e 30).

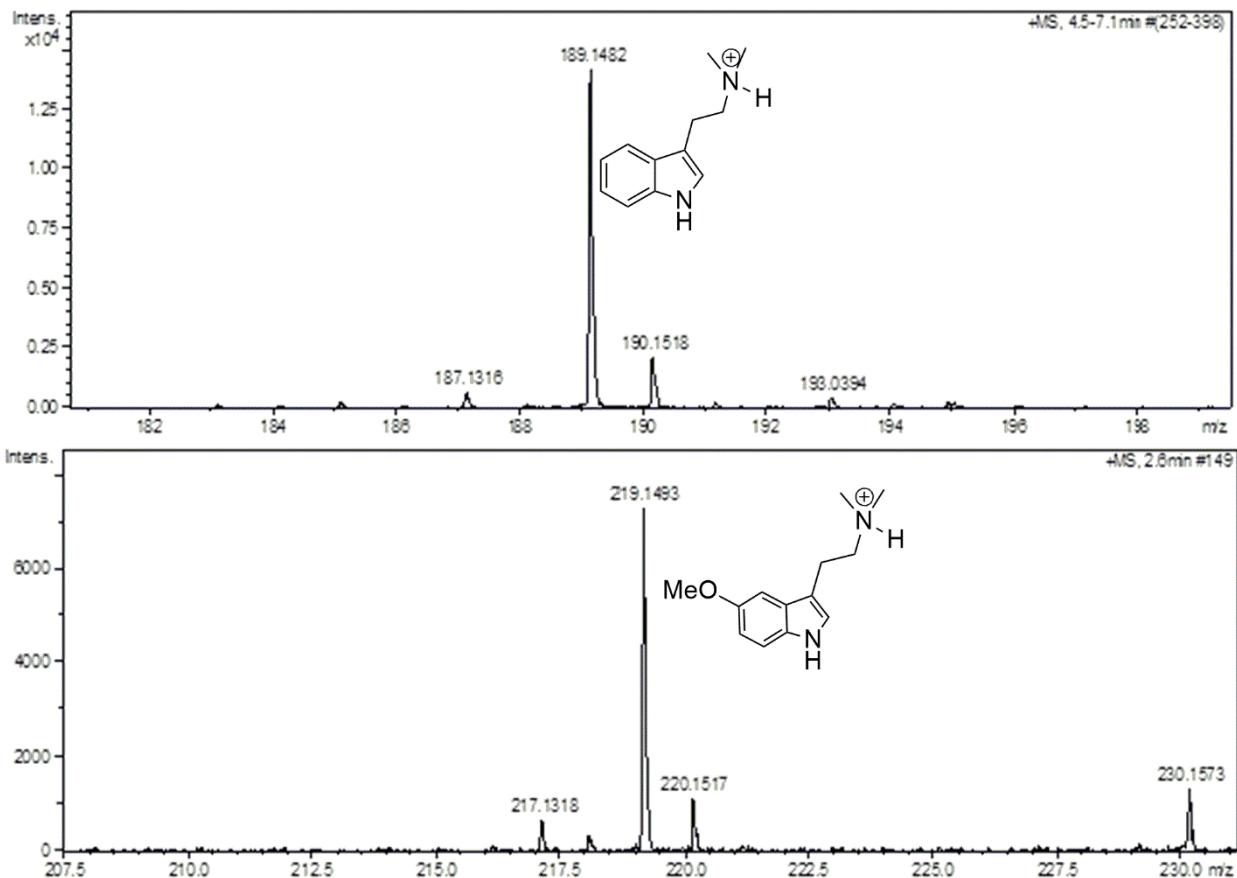
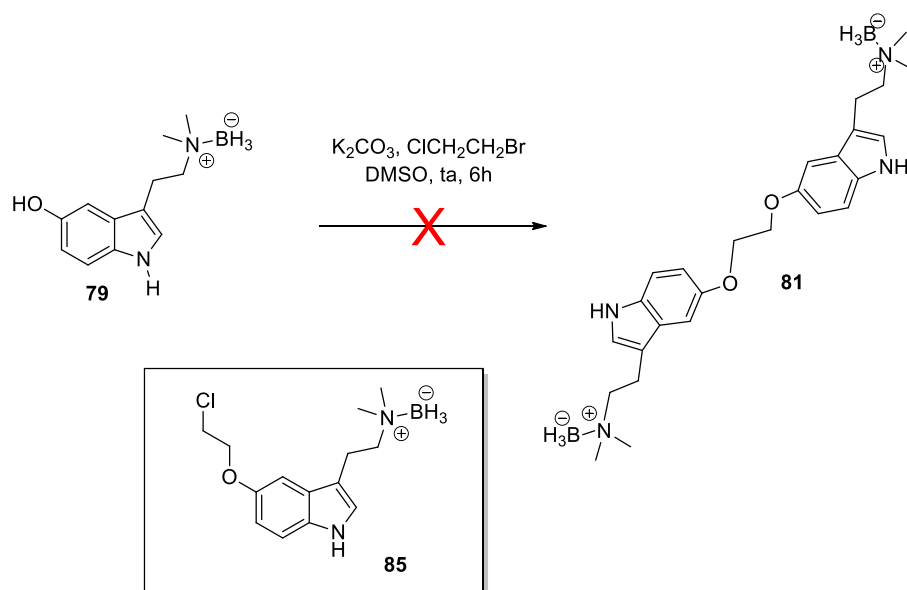


Figura 28. Espectro de HRESI/MS da *N,N*-dimetiltryptamina (**4**) e metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina (**6**).

4.1.3 Preparação de oxindóis a partir do dímero dos derivados da bufotenina

Conforme planejamento inicial, o complexo bufotenina aminoborano (**79**) foi explorado como ponto de partida para formação dos dímeros que seriam posteriormente transformados nos correspondentes oxindóis. Entretanto, as várias tentativas para transformar o complexo borano (**79**) diretamente no dímero **81** com carbonato e 1-bromo-2-cloroetano em DMSO, explorando temperatura ambiente e refluxo, não levaram ao produto esperado, fornecendo apenas o composto monoalquilado **85** com 5% de rendimento (Esquema 12).



Esquema 11. Tentativa de formação do dímero **81**.

No espectro de RMN 1H do monoalquil-boranobufenina (**85**) foram observados nove sinais, com destaque para dois tripletos em δ 4,26 e 3,86 ppm referentes aos hidrogênios metilênicos do grupo cloro-etóxi, confirmados no espectro de APT pelos sinais em δ 69,30 e 42,43 ppm (Figura 28, Anexos 31 e 32).

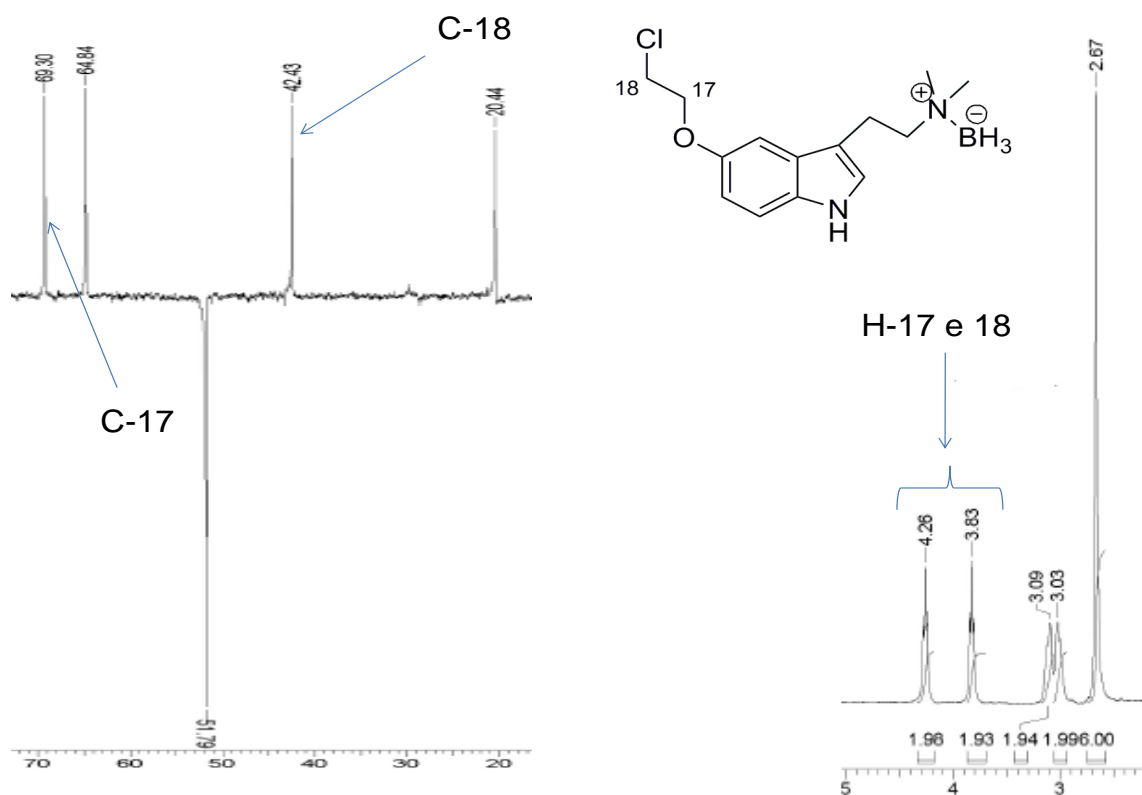
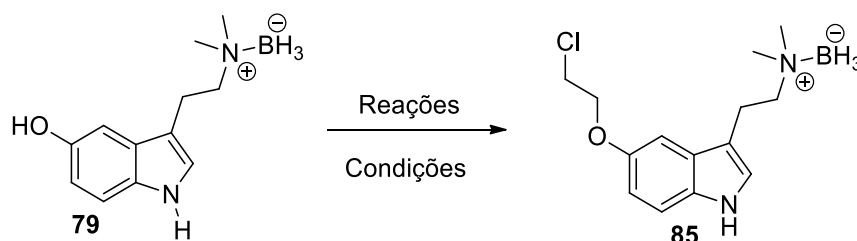


Figura 29. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C (APT) do monoalquil-boranobufotenina (**85**).

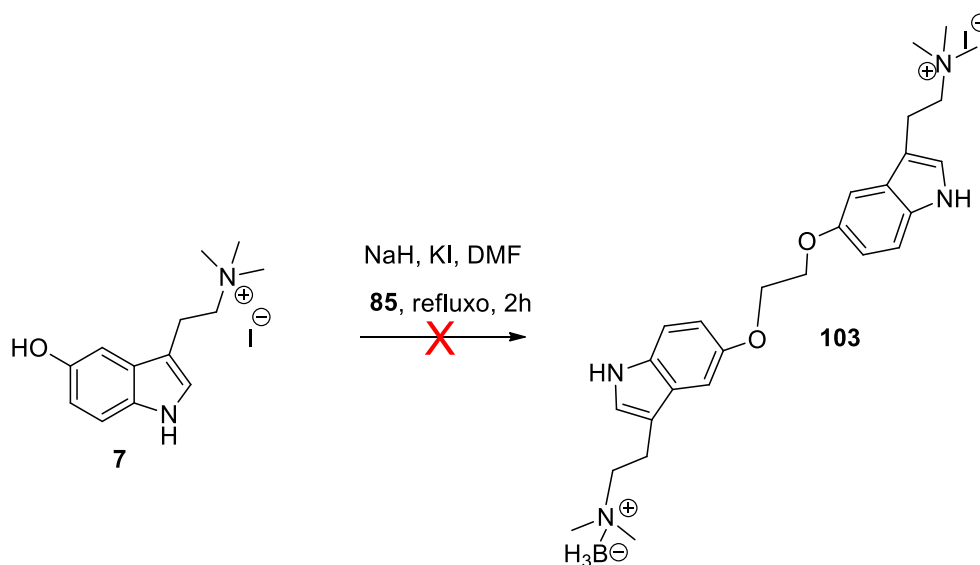
Considerando que o monoalquil-boranobufotenina (**85**) poderia ser utilizado para formação subsequente de dímeros com derivados da bufotenina, resolveu-se investigar várias condições com o intuito de melhorar o rendimento da reação de formação do composto monoalquilado-boranobutenina (**85**) para, somente então, proceder à formação do dímero. Na Tabela 9 são mostrados os resultados do estudo de monoalquilação do complexo aminoborano (**79**) para obtenção do monoalquil-boranobufotenina (**85**).

Tabela 9. Estudo da reação de formação do composto monoalquil-boranobufotenina (**85**).



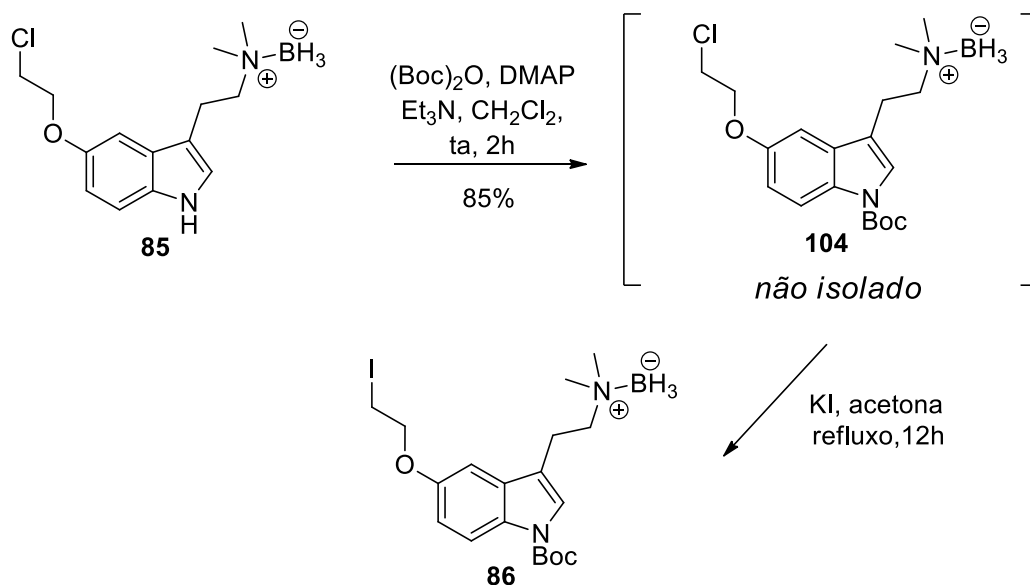
Reagentes e condições	Rendimento %
DMSO, K_2CO_3 , ta, 6h	5%
Acetona, K_2CO_3 , ta, 6h	20%
Acetona, K_2CO_3 , refluxo, 12h	65%

Alternativamente, foi tentada a dimerização da bufotenidina (**7**) com o composto monoalquil-boranobufotenina (**85**), usando hidreto de sódio em presença de iodeto de potássio. De forma semelhante, as tentativas de formação do dímero **79** falharam (Esquema 13), resultando apenas na recuperação dos derivados indólicos na forma monomérica.



Esquema 12. Tentativa na formação do dímero (**103**).

Antes de novas tentativas de dimerização, o grupo Boc foi introduzido no cloro-alquil (**85**), de acordo com protocolos convencionais e, em seguida, procedeu-se a transformação do derivado protegido no iodo-alquil (**104**) que foi transformado, *in situ*, no iodo-alquil derivado (**86**) como mostrado no Esquema 14.



Esquema 13. Formação do iodo-alquil (**86**) a partir cloro-alquil (**85**).

O espectro de RMN ¹H do iodo-alquil **86** apresentou dez sinais, dentre os quais se destacam o singlete em δ 1,65 ppm referente ao *terc*-butila do grupo Boc e dois tripletos em δ 4,26-3,86 ppm referentes aos dois hidrogênios metilênicos do grupo iodo-etóxi, confirmados no

espectro de RMN ^{13}C pelos sinais em δ 28,18, 68,75 e 42,39 ppm, respectivamente. A presença do grupo Boc também foi confirmada pelo sinal em δ 154,39 ppm no RMN ^{13}C (Figura 29, anexos 34 e 35).

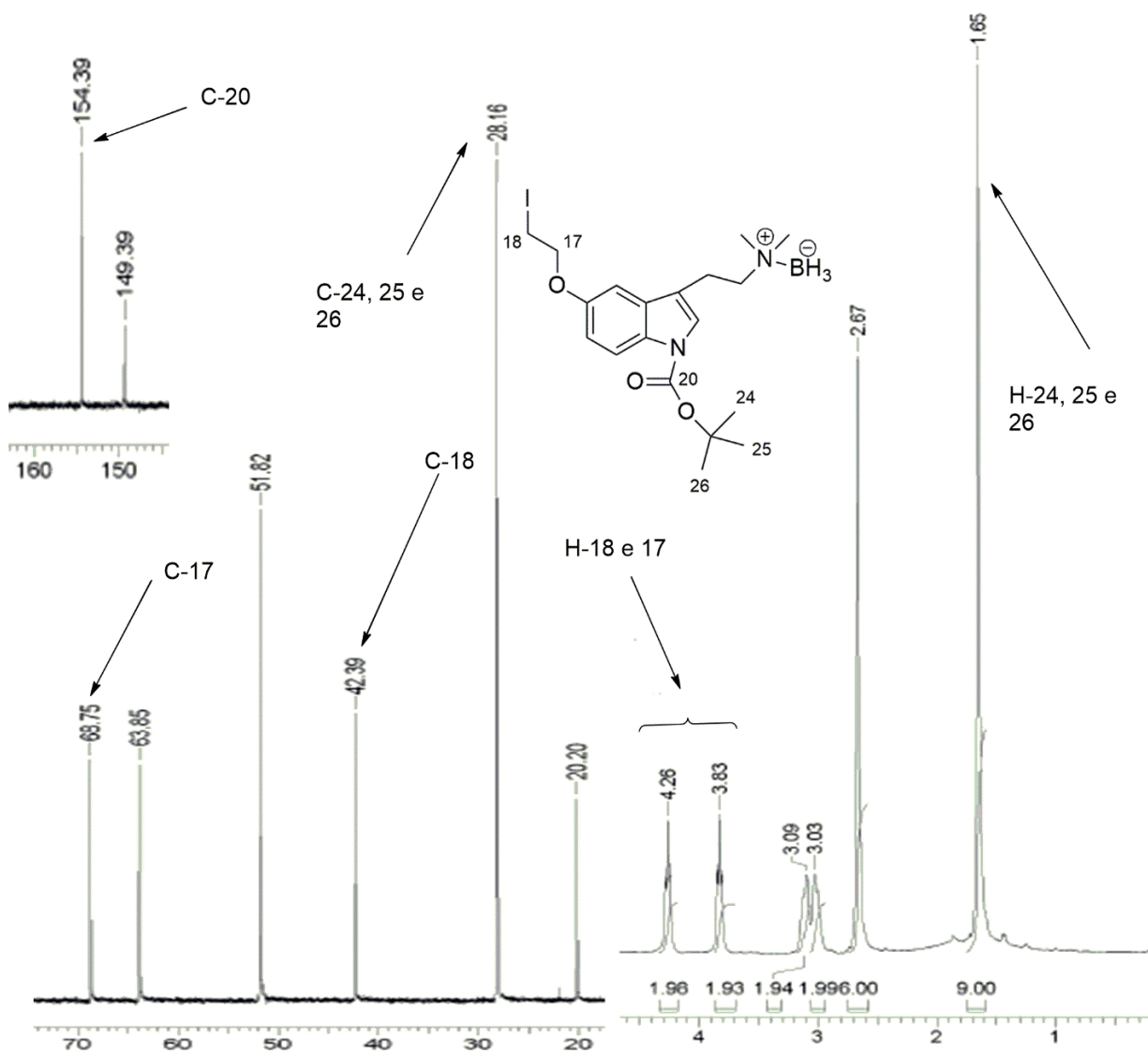
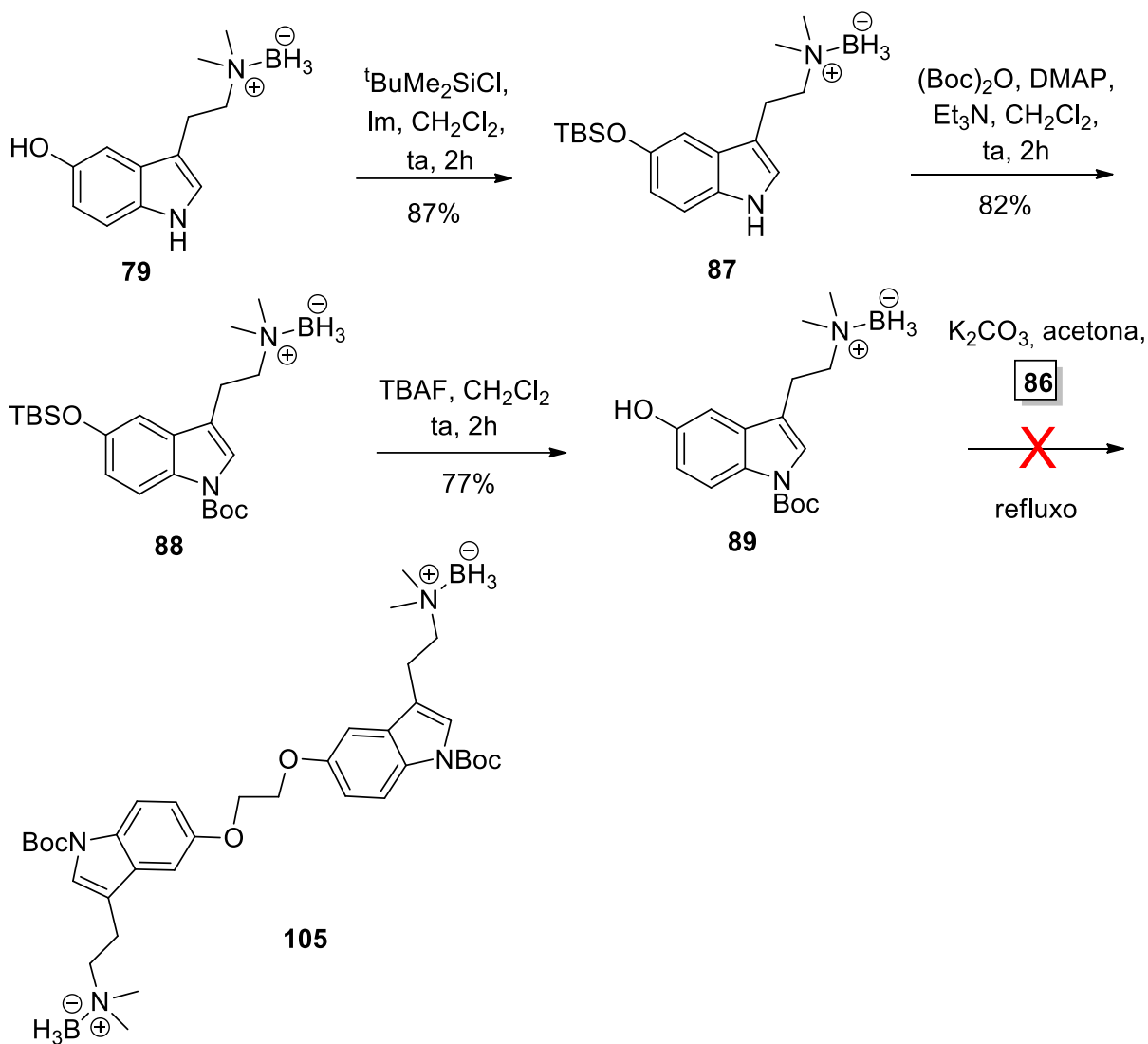


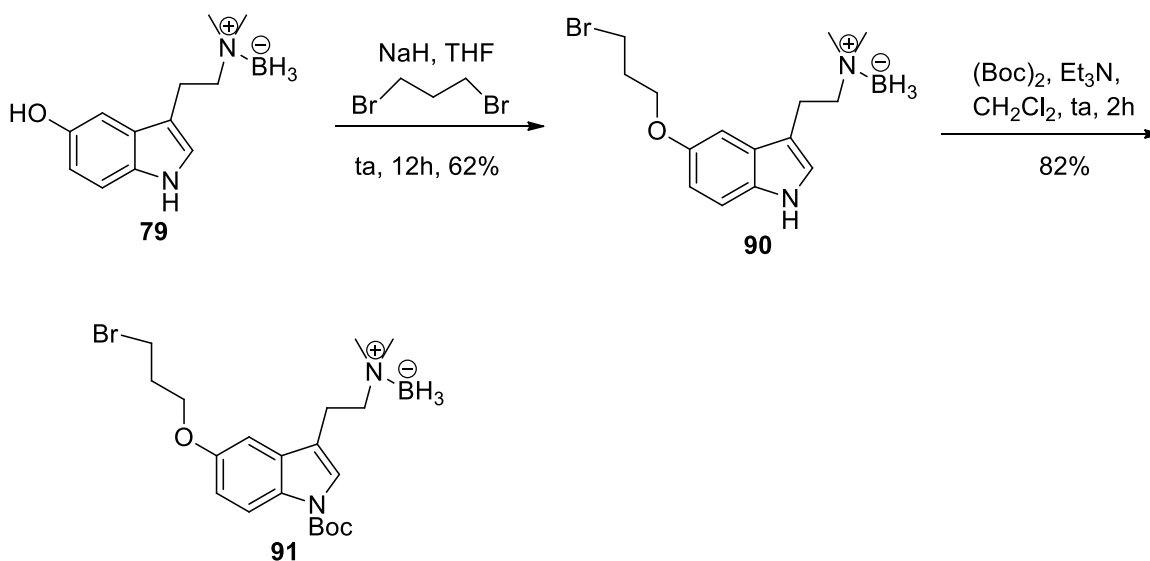
Figura 30. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C do intermediário monoalquilado **86**.

Em paralelo, o complexo borano **79** foi sequencialmente protegido com *tert*-butildimetilsilila e *N*-Boc para formação do derivado **89** que, após remoção do grupo silila, foi tratado com carbonato de potássio, seguido da adição do iodo-alquil (**86**) preparado anteriormente, no intuito de se obter o dímero **105** (Esquema 16). Surpreendentemente, o produto bruto dessa última etapa foi submetido a uma cromatografia em coluna de onde foram recuperadas as duas matérias primas.



Esquema 14. Tentativa de formação do dímero (**105**) a partir do complexo borano (**79**).

Para tentar contornar essa situação, o complexo borano **79** foi tratado com hidreto de sódio e 1,3-dibromopropano em THF, à temperatura ambiente, fornecendo o bromo-alquil **90** com 62% de rendimento. Este último foi tratado com Boc-anidrido, trietilamina, DMAP (catalítico) em diclorometano, à temperatura ambiente, fornecendo o intermediário **91** em 82% de rendimento (Esquema 16).



Esquema 15. Formação do intermediário bromo-alquil (**91**) a partir do complexo borano (**79**).

No espectro de RMN ¹H do composto **91** foram observados onze sinais, com destaque para um quinteto em δ 2,33 ppm referente aos hidrogênios metilênicos centrais do grupo bromo-propóxi e dois tripletos em δ 4,16 e 3,62 ppm dos hidrogênios metilênicos dos carbonos adjacentes deste mesmo grupo, confirmados no espectro de RMN ¹³C pelos sinais em δ 66,28, 32,60 e 30,47 ppm (Figura 30, Anexos 44 e 45).

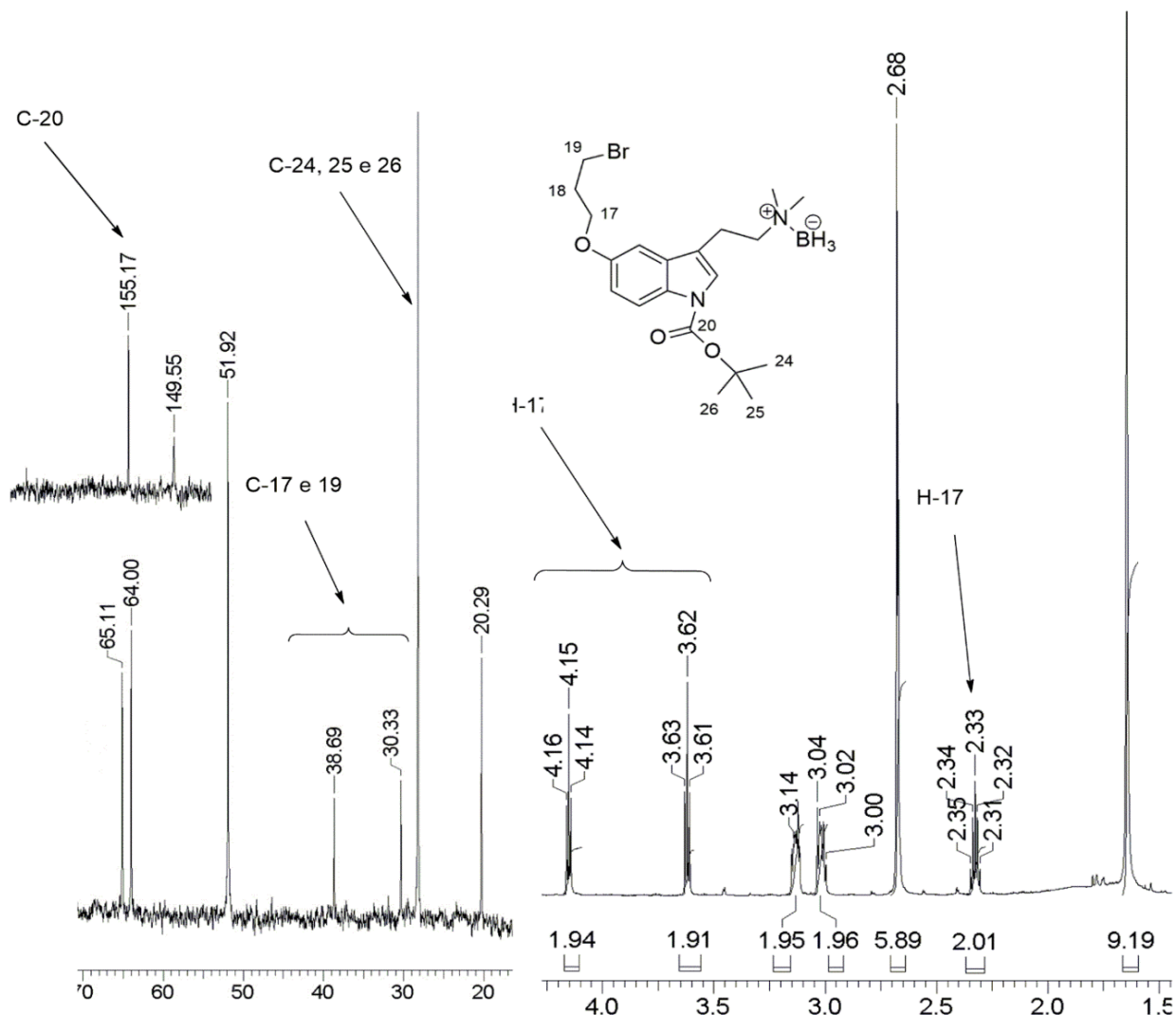
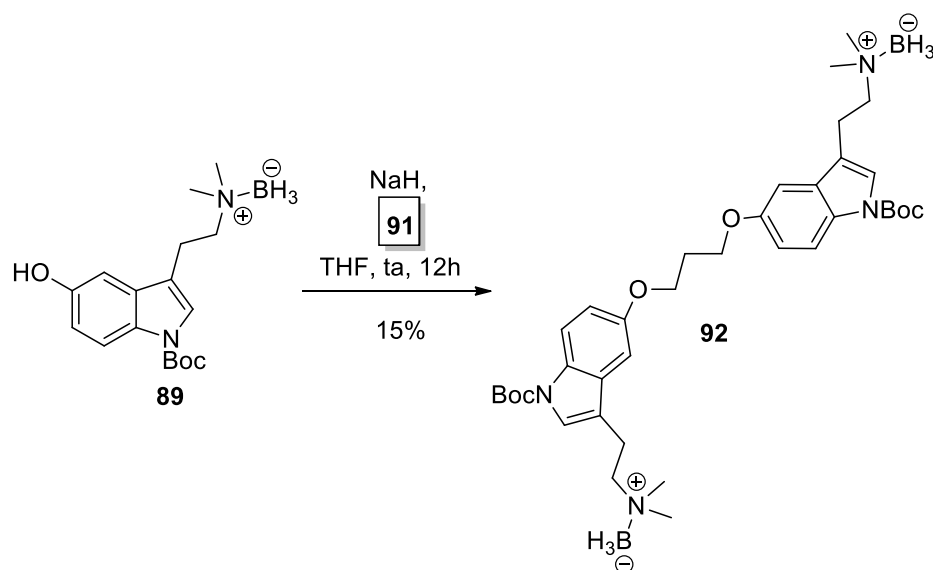


Figura 31. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C do intermediário bromo-álquil (**91**).

Com o bromo-álquil **91** disponível, procedeu-se a reação de preparação do dímero **92**. De acordo com Esquema 17, o complexo borano **89** foi tratado com hidreto de sódio e o bromo-álquil **91** em THF durante 12h, à temperatura ambiente, fornecendo o dímero do complexo aminoborano (**92**) em modesto rendimento de 15%.



Esquema 16. Formação do complexo aminoborano dimérico (**92**) a partir do composto **89**.

No espectro de RMN ^1H do produto de alquilação foram observados nove sinais, com destaque para um tripleto em δ 4,26 ppm referente aos quatro hidrogênios metilênicos dos carbonos ligados aos átomos de oxigênio do grupo espaçador e um quinteto em δ 2,30 ppm do grupo metilênico central deste mesmo grupo, confirmados no espectro de RMN ^{13}C pelos sinais em δ 64,88 e 30,14 ppm, respectivamente. (Figura 31, anexos 51 e 52).

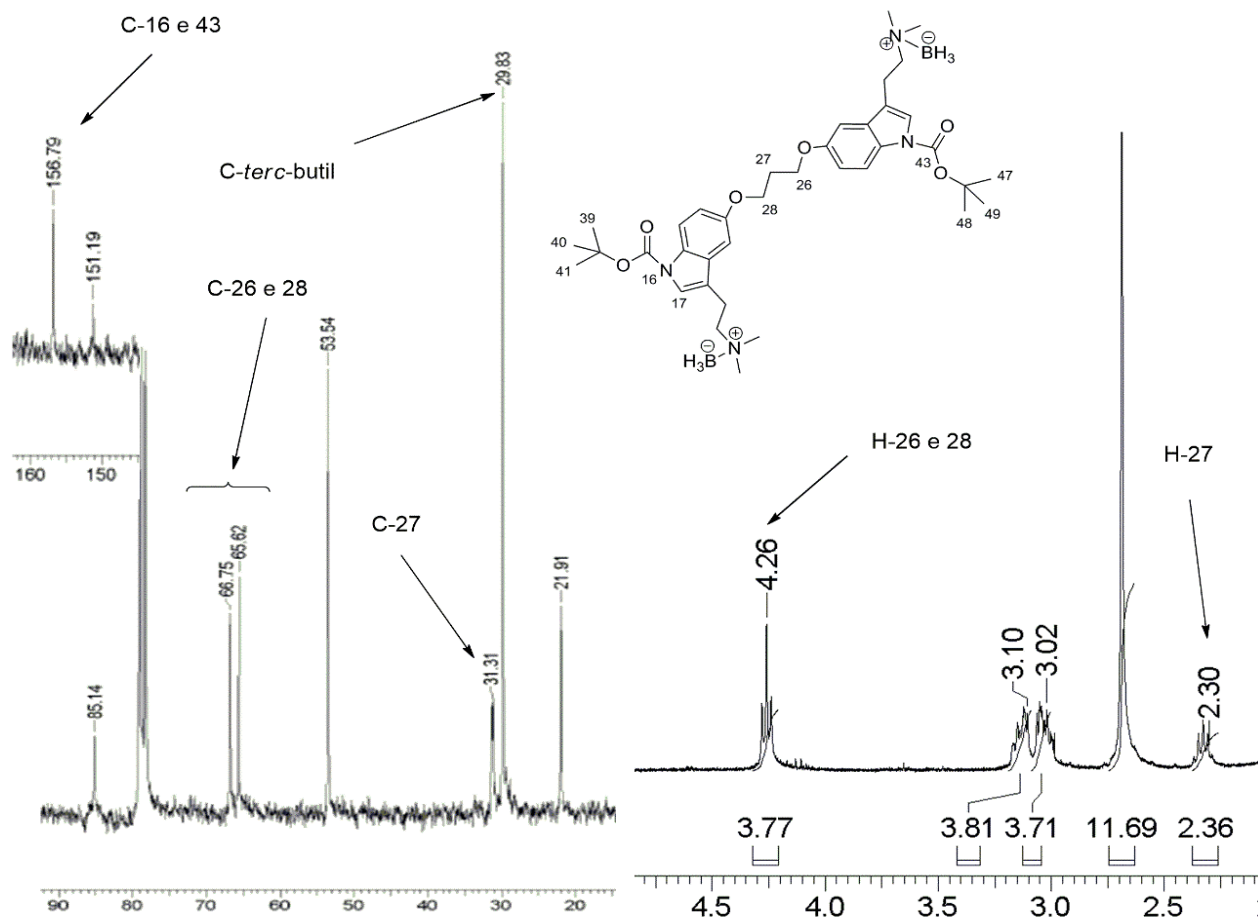
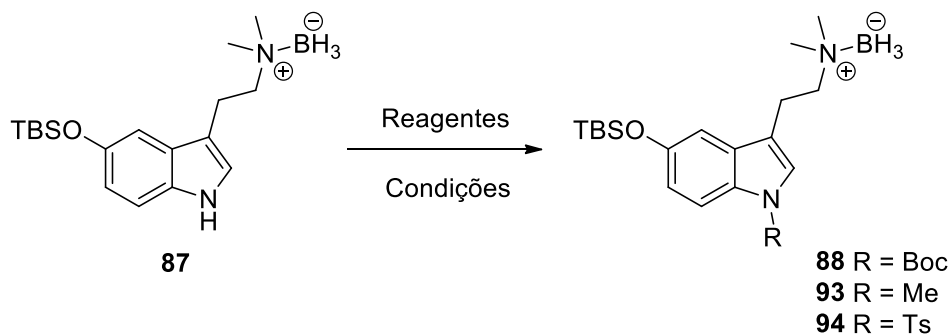


Figura 32. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C do dímero (**92**).

O HRESI/MS do dímero **92** apresentou íon molecular 663,4326 m/z $[\text{M} - \text{BH}_3 + \text{H}]^+$, correspondendo à fórmula $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{BN}_4\text{O}_6$, e fragmentação 563,3744 m/z $[\text{M} - \text{BH}_3 - \text{Boc} + \text{H}]^+$ referente à fórmula $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{BN}_4$.

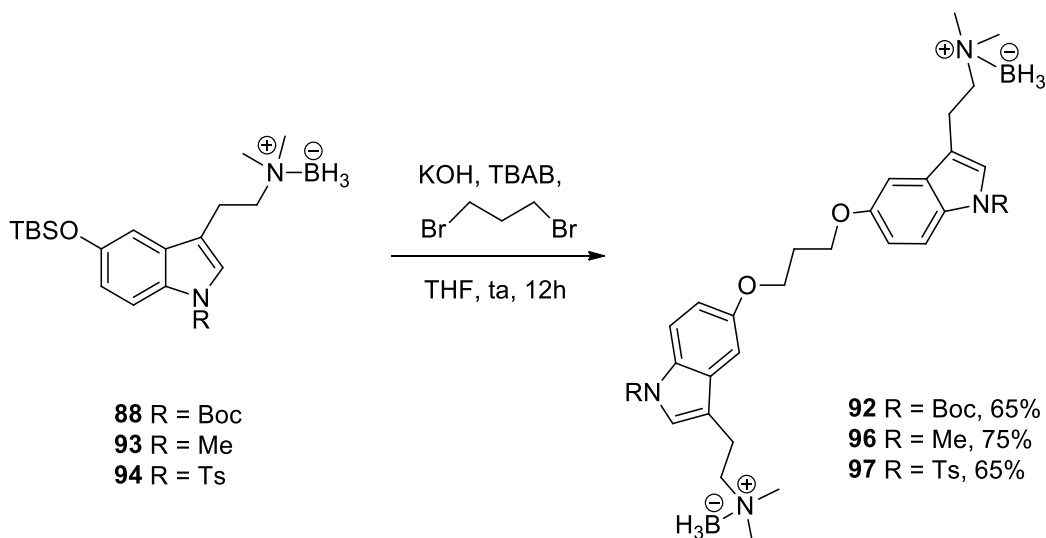
Considerando que o produto almejado foi obtido em modesto rendimento e que a técnica empregada envolveu várias etapas, uma metodologia alternativa foi proposta, onde no derivado sililado (**87**) foi introduzido s grupos protetores (Boc, alquila e sulfonila), fornecendo os sililados **88**, **93** e **94** com redimentos de 82, 75 e 76 %, respectivamente.

Tabela 10. Preparação dos derivados sililados **88**, **93** e **94**.



Reagentes e condições	Produtos (sililados)	Rendimentos (%)
(Boc) ₂ O, DMAP, Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , ta, 2h	88	82%
NaH, MeI, THF, ta, 12h	93	75%
NaH, <i>p</i> -TsCl, THF, 2h	94	76%

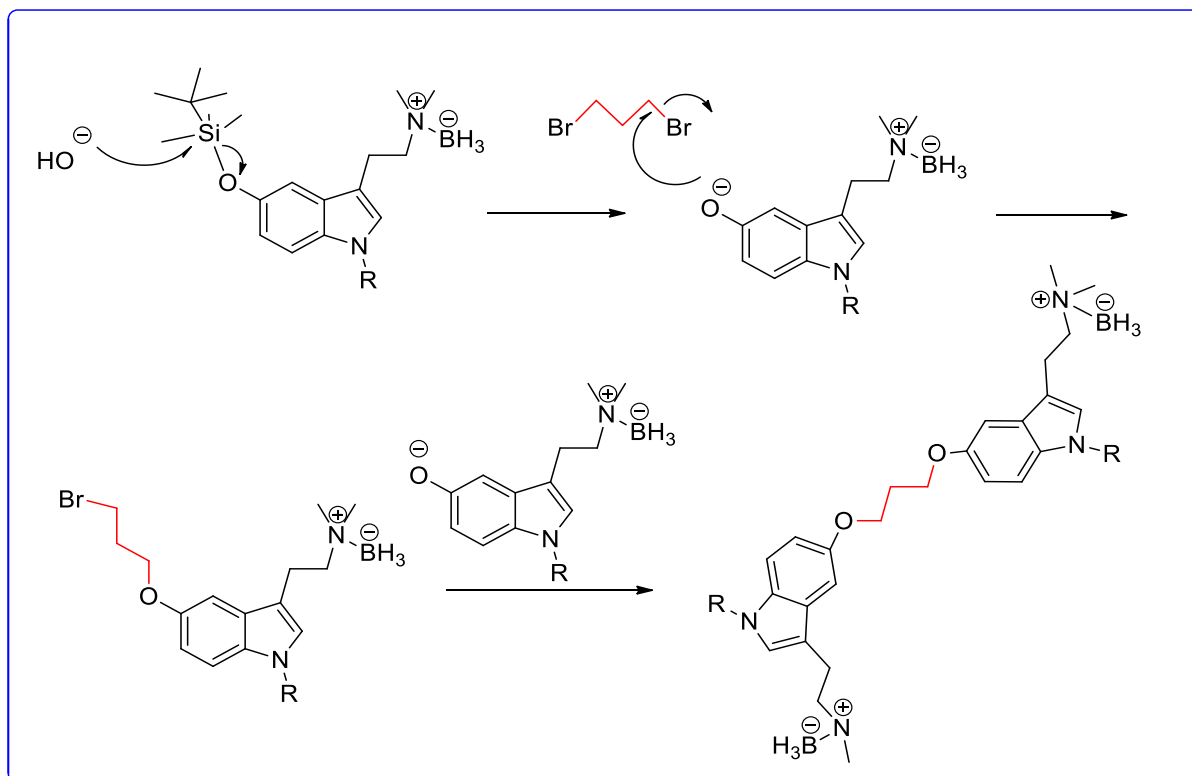
Para tanto, em experimentos independentes, os sililados **79**, **88**, **93** e **94** foram tratados com hidróxido de sódio, brometo de tetrabutilamônio (TBAB), 1,3-dibromopropano em THF, fornecendo os respectivos complexos borano diméricos (**92**, **96**, **97** e **106**), em alguns casos, com bons rendimentos. Por esta nova abordagem ocorreu a remoção do grupo silila e alquilação (dimerização) consecutiva, em mistura reacional única (Esquema 18).



Esquema 17. Formação dos boranos díméricos a partir dos respectivos intermediários sililados.

Uma proposta de mecanismo para a transformação geral é apresentada no Esquema 19. Inicialmente, ocorre a remoção paulatina do grupo *tert*-butildimetilsilila com formação do correspondente ion alcóxido. Este último ataca via S_N2 o 1,3-dibromopropano formando o

bromo-alquilindol correspondente. O ion hidróxi permanece atacando o grupo silila, dando continuidade à supracitada reação de substituição, mas também ataca o bromo-alquilindol gerado, o que conduz à formação dos dímeros.



Esquema 18. Proposta de mecanismo para formação dos dímeros.

A formação dos dímeros **92**, **96** e **97** foi comprovada por técnicas espectrométricas de RMN (^1H e ^{13}C) e HRESI/MS. Para exemplificar a análise dos dados espectrais dos produtos diméricos foi escolhido o dímero **96**. No espectro de RMN ^1H , o dímero **96** apresentou nove sinais e no diagnóstico de sua formação, além da proporção relativa do número de hidrogênio, foram usados os sinais do grupo espaçador: um multipletto em δ 3,99 ppm referente aos quatro hidrogênios metilênicos dos carbonos ligados aos átomos de oxigênio e um quinteto em δ 2,35 ppm relativo aos hidrogênios centrais. Essas atribuições foram confirmadas no espectro de RMN ^{13}C pelos sinais em δ 64,86 e 30,14 ppm, respectivamente (Figura 32, Anexos 64 e 65). No HRESI/MS de **96** observou-se o íon molecular com m/z 419,3495 $[\text{M} - \text{BH}_3 + \text{H}]^+$, correspondendo à fórmula $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{BN}_4\text{O}_2$ (Anexo 64).

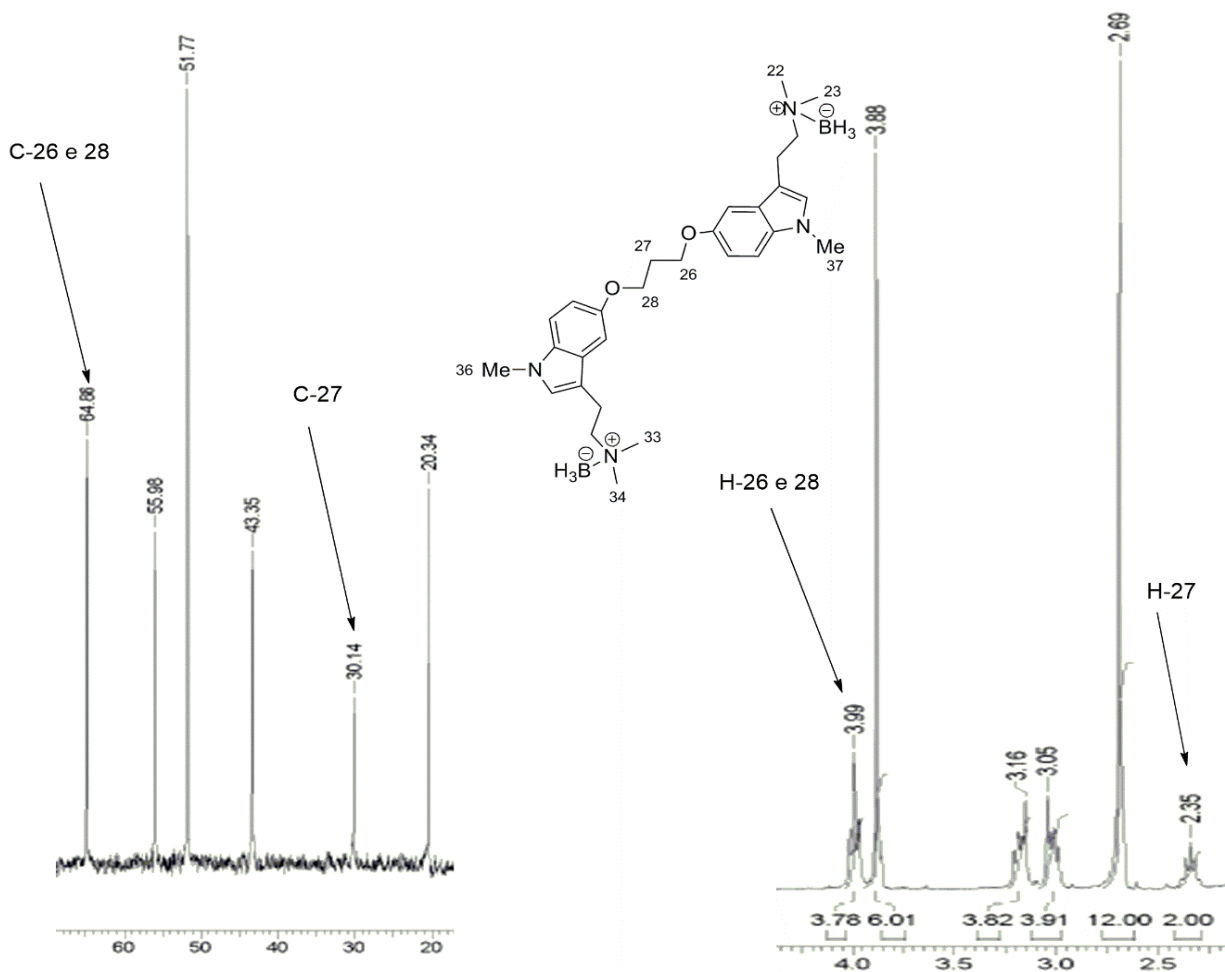
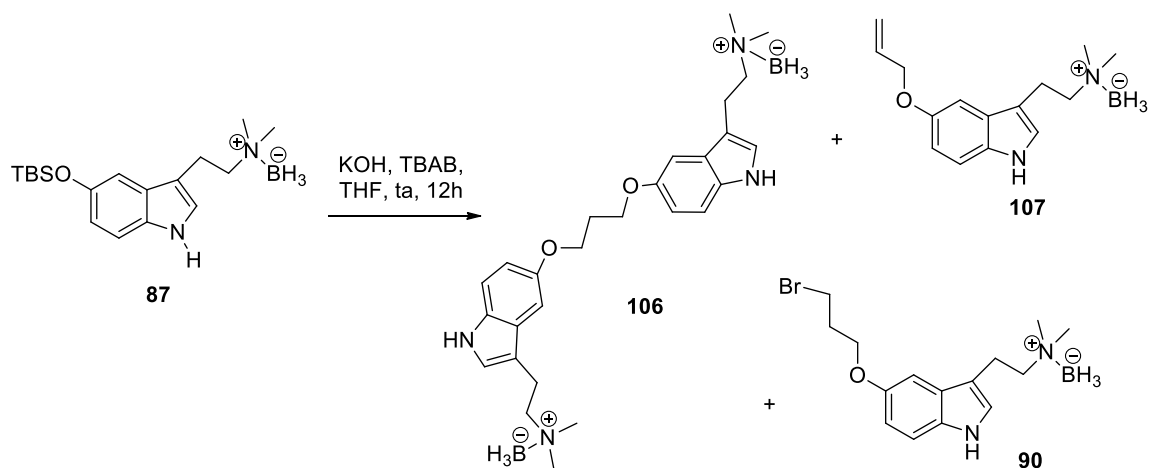


Figura 33. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C do dímero 96.

Registra-se aqui que quando a metodologia acima descrita foi aplicada ao derivado sililado **84**, com o nitrogênio indólico não protegido, obteve-se a formação de uma mistura composta pelo dímero **106**, o derivado vinílico (**107**) e o bromo-álquil (**90**), dificilmente separados por cromatografia em coluna devido apresentarem o mesmo fator de retenção. Essa observação mostrou ser necessária a proteção do nitrogênio indólico antes da reação de dimerização (Esquema 20).



Esquema 19. Reação de dimerização do sililado **87** e formação do éter vinílico (**107**) e do bromo-álquil (**90**).

A mistura foi analisada por RMN de ^1H , onde foi confirmada além da formação do dímero **106** com base nos sinais característicos do grupo espaçador, conforme descrito acima para o análogo dimérico **96** (Figura 33), a presença do éter vinílico **107** e do bromo-álquil (**90**). RMN ^1H apresentou absorções características do grupo *O*-alílico do éter vinílico **107**: um multiplete em δ 6,25-6,00 ppm, correspondente ao hidrogênio vinílico interno (H-18a), um duplete de duplete em δ 5,50-5,20 ppm relativo aos hidrogênios vinílicos terminais (H-19a,a') e um duplete de tripleto em δ 4,60-4,40 ppm referente aos hidrogênios *O*-metilênicos. No caso do bromo-álquil **90** destacaram-se os sinais dos hidrogênios metilênicos do grupo bromo-propóxi, ou seja, um tripleto em δ 4,20 (H-17), um tripleto em δ 3,50 ppm (H-19) e um quinteto em δ 2,30 ppm referente aos hidrogênios internos (H-18).

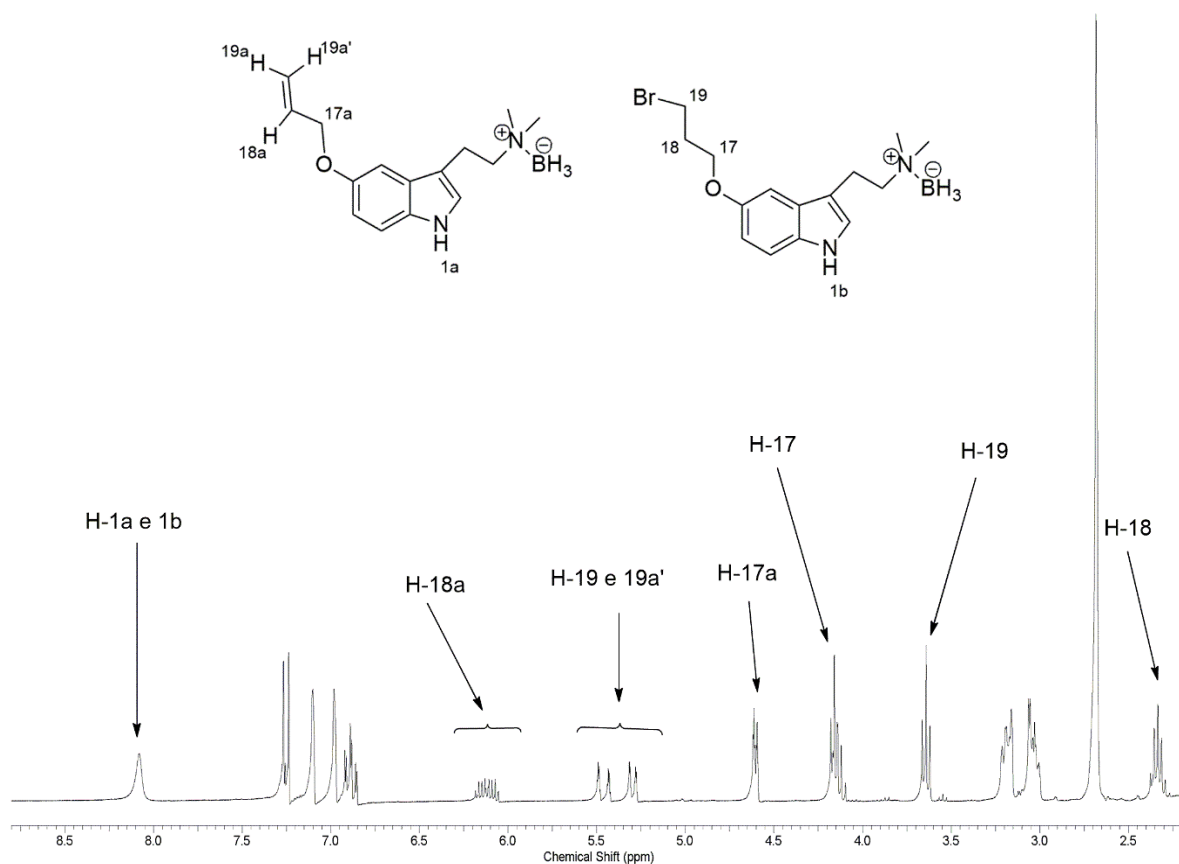
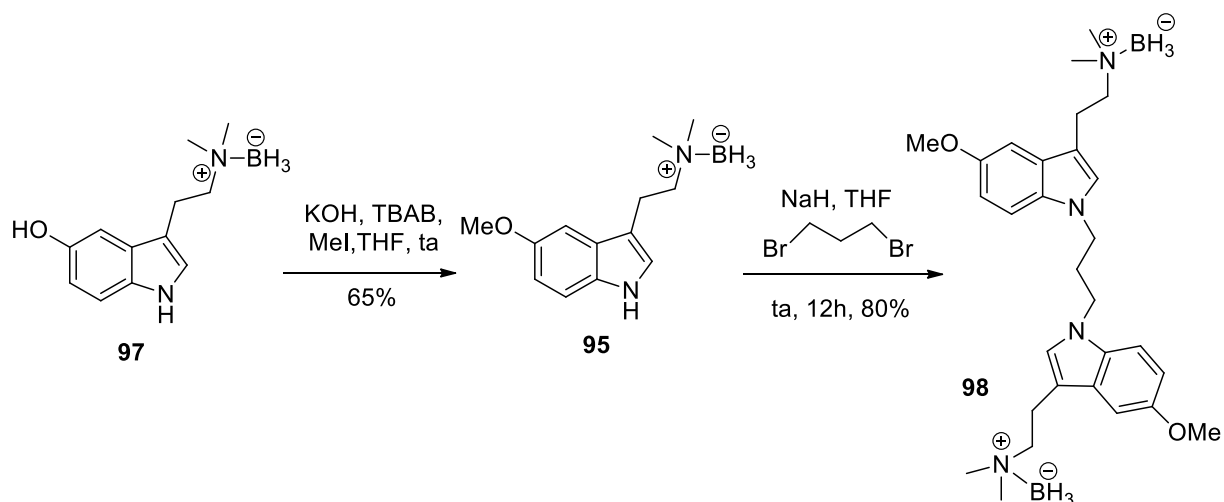


Figura 34. Espectro de RMN ^1H da mistura dos derivados éter alílico (**107**) e brometo (**90**).

Devido às propriedades farmacológicas da 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (**6**) ao nível do SNC, pensou-se na formação do dímero desta molécula para, juntamente com os dímeros descritos acima, submetê-los a ensaios biofarmacológicos na perspectiva da descoberta de novos inibidores da acetilcolinesterase com potencial para atuar em outros alvos de interesse na terapia da DA. Para tanto, o intermediário aminoborano (**79**) foi tratado com hidreto de sódio e iodometano em THF, fornecendo o intermediário aminoborano **95** com 65% de rendimento. Na sequência, este último foi tratado com hidreto de sódio, 1,3-dibromopropano em THF para fornecer o dímero **98** com 80% de rendimento (Esquema 21).

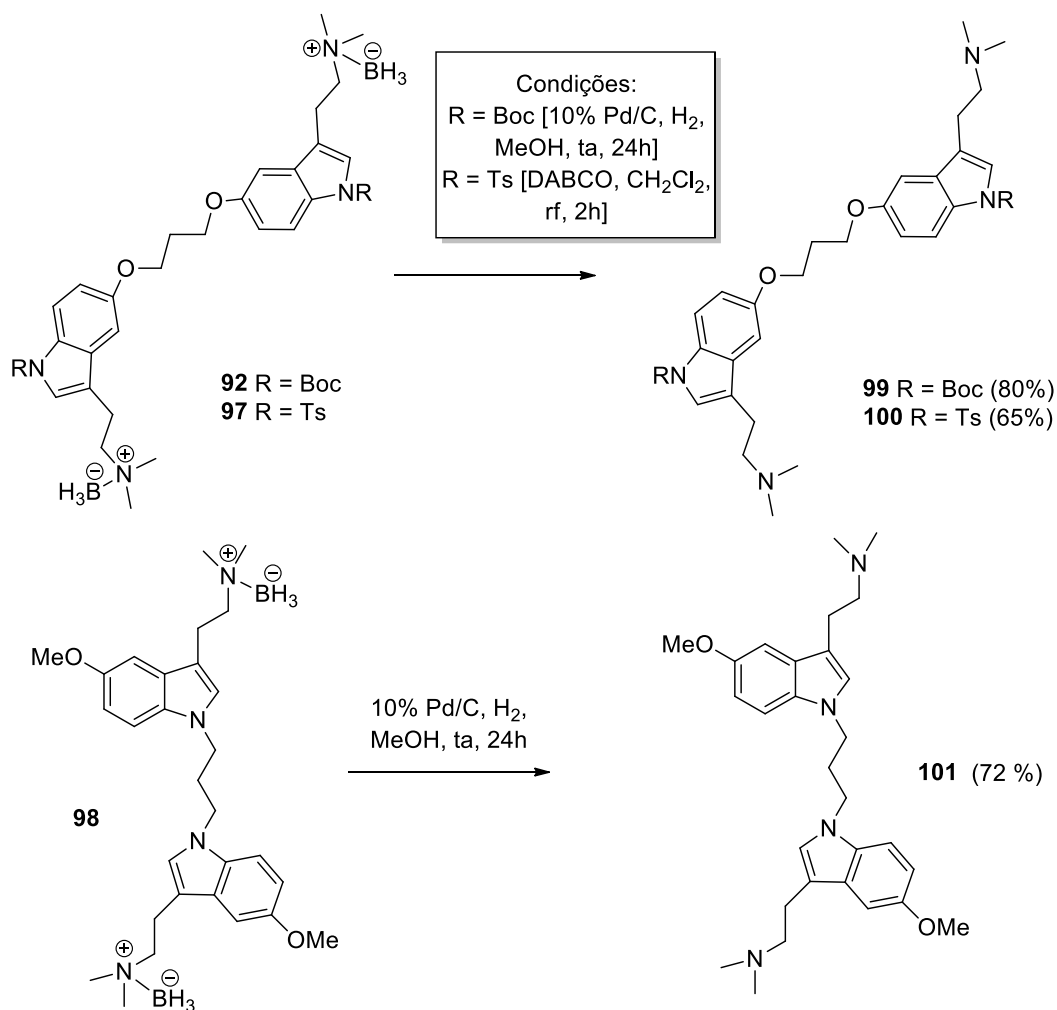


Esquema 20. Formação do dímero aminoborano (**98**).

Com base em modelos da literatura, duas metodologias foram escolhidas para a remoção do grupo borano nos dímeros: hidrogenação catalítica com Pd/H₂⁷⁵ e refluxo com DABCO em diclorometano.⁷⁶ Os resultados do estudo para remoção do grupo borano encontram-se mostrados no Esquema 22. Ressalta-se que as duas metodologias foram testadas com o dímero **96**, entretanto, obteve-se composto instável que sofreu decomposição.

⁷⁵ Blakemore, P. R.; Kim, S.-K.; Schulze, V. K.; White, J. D.; Yokochi, A. F.T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, *1*, 1831.

⁷⁵ Tam, A.; Raines, T. *Bioorganic. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1055.



Esquema 21. Estudo metodológico para remoção do grupo borano.

A formação dos dímeros **99**, **100** e **101** foi comprovada por técnicas espectrométricas de RMN (¹H e ¹³C) e HRESI/MS, por meio das quais se verificou o desaparecimento dos sinais característicos da presença do borano. A título de exemplificação são apresentados abaixo a comparação dos espectros de RMN ¹H do dímero **91** e do correspondente dímero desboronado **99**. Na análise desses dados espectrais destacou-se a blindagem do singlete referente aos doze hidrogênios (*N*-Me), que migraram de δ 2,71 ppm para δ 2,29 ppm, e dos grupos metilênicos que se moveram de δ 3,05 e 3,15 ppm para δ 2,66 e 2,78 ppm, respectivamente. Adicionalmente, foi observada a sobreposição do sinal do quinteto referente ao grupo metilênico central do espaçador com o sinal dos hidrogênios *N*-Me (Figura 34, Anexos 63 e 76).

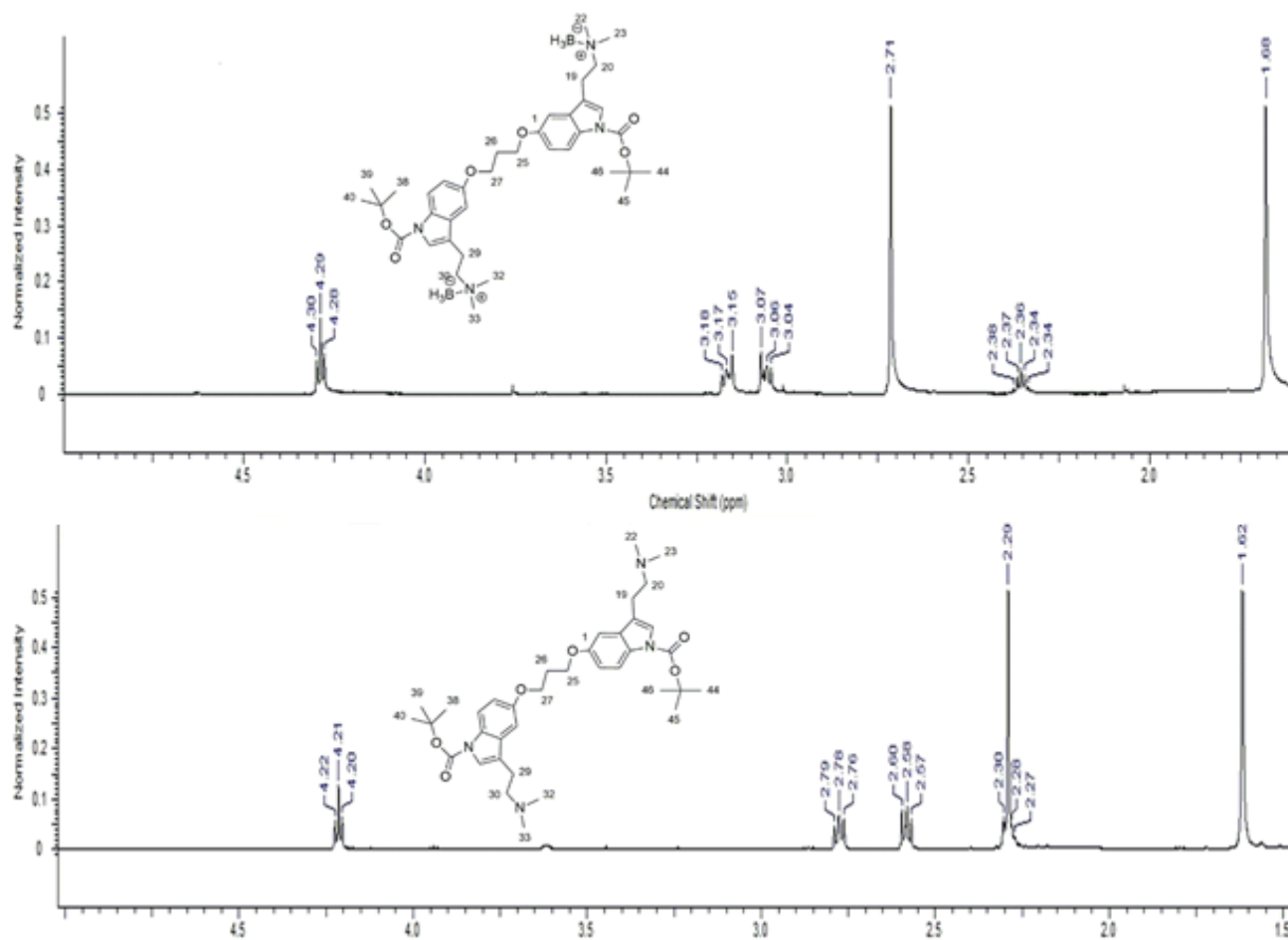
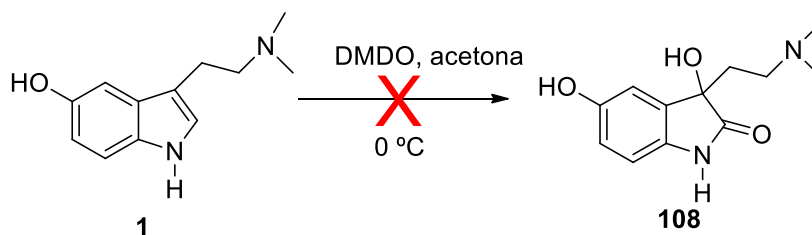


Figura 35. Comparação dos espectros de RMN ¹H dos dímeros **91** e **99**.

O HRESI/MS do dímero **99** apresentou íon molecular com m/z 649,3958 $[M + H]^+$ correspondendo à fórmula $C_{37}H_{53}N_4O_6$. No HRESIMS/MS foram observadas algumas fragmentações principais, destacando-se os fragmentos com m/z 549,3490 $[C_{32}H_{45}N_4O_4]^+$, 449,2911 $[C_{27}H_{37}N_4O_2]^+$, 404,2338 $[C_{25}H_{30}N_3O_2]^+$ e 359,1755 $[C_{29}H_{23}N_2O_2]^+$ (Anexos 79).

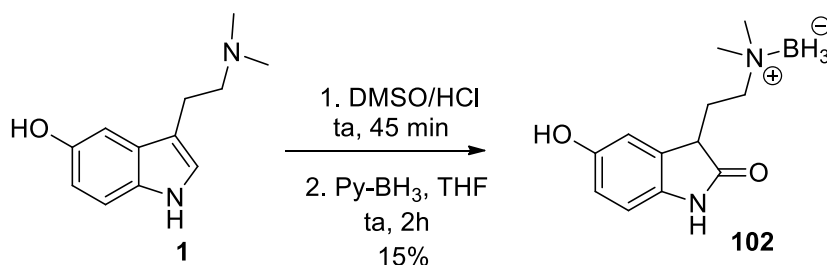
Dando continuidade ao planejamento sintético proposto, foram executadas algumas tentativas de formação do oxindol via oxidação do C2-C3 dos compostos indólicos. Inicialmente, foi realizado um estudo teste visando a formação de oxindóis a partir de bufotenina (**1**) com dimetildioxirano (DMDO), preparado previamente de acordo com metodologia de Murray e Singh.⁷⁷ Por essa metodologia, ocorreu a formação de dois compostos de difícil separação cromatográfica, porém não se verificou por espectroscopia qualquer evidência do oxindol almejado (**108**) (Esquema 23).

⁷⁷ Murray, R. W.; Singh, M. *Organic Syntheses*, **1998**, *9*, 288.



Esquema 22. Tentativa de formação oxindóis **108** a partir da bufotenina (**1**).

Alternativamente foi empregada uma adaptação da metodologia de Castillo e colaboradores,⁷⁸ por meio da qual a bufotenina (**1**) foi tratada com DMSO/HCl durante 45 min e, em seguida, o produto foi capturado na forma de complexo borano com py:BH₃. Por este procedimento, o oxindol **101** foi obtido com 15% de rendimento (Esquema 24).



Esquema 23. Formação do oxindol bufotenina borano (**102**)

Um mecanismo plausível para a reação de oxidação envolve a captura de um próton pelo anel indólico (C3), seguida da adição do dimetil-sulfóxido ativado na posição C2. Na etapa seguinte, o íon cloreto retira um próton e por deslocamento de elétrons forma-se a carbonila com eliminação de dimetil-sulfeto. Na etapa subsequente, o borano (BH₃) complexa com a amina alifática terciária gerando o oxindol **102** (Figura 35).

⁷⁸Castillo-Suárez., O. R.; Rodríguez-Meléndez, M.; Duarte-Castelán.; L. E.; Zalava-Sánchez., M.; Becerril-Rivera, E.; Ríos-Morales.; M. S.; Nathan-Joseph, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2374.

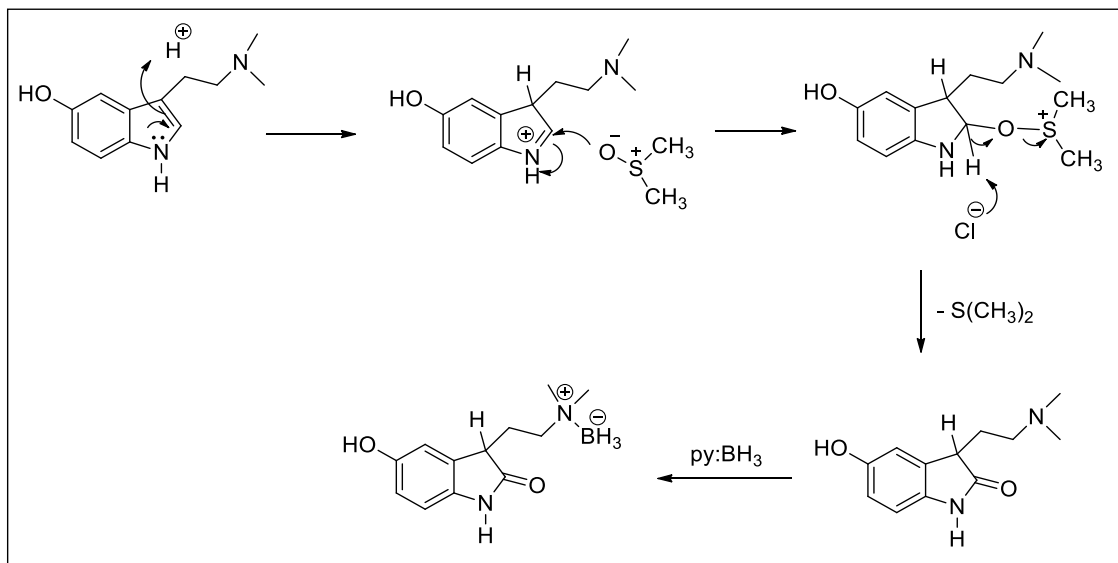


Figura 36. Mecanismo proposto para a formação oxindol **102**.

No espectro de RMN ^1H do oxindol **102** foram observados nove sinais, sobressaindo o deslocamento dos dois multipletos em δ 2,70 e 2,30 ppm, referentes aos quatro hidrogênios metilênicos, e a ausência do hidrogênio C2-indólico. No espectro de RMN ^{13}C foram observados onze sinais, destacando-se os sinais em δ 179,60 ppm, referente ao grupo carbonila, e δ 50,27 ppm, referente ao carbono quaternário na posição C3-indólico (Figura 36, Anexos 92 e 93). No espectro de Infravermelho, foram observadas uma banda fina em em 1709 cm^{-1} correspondente ao estiramento axial do grupo carbonila e uma banda larga de estiramento O-H em 3215 cm^{-1} .

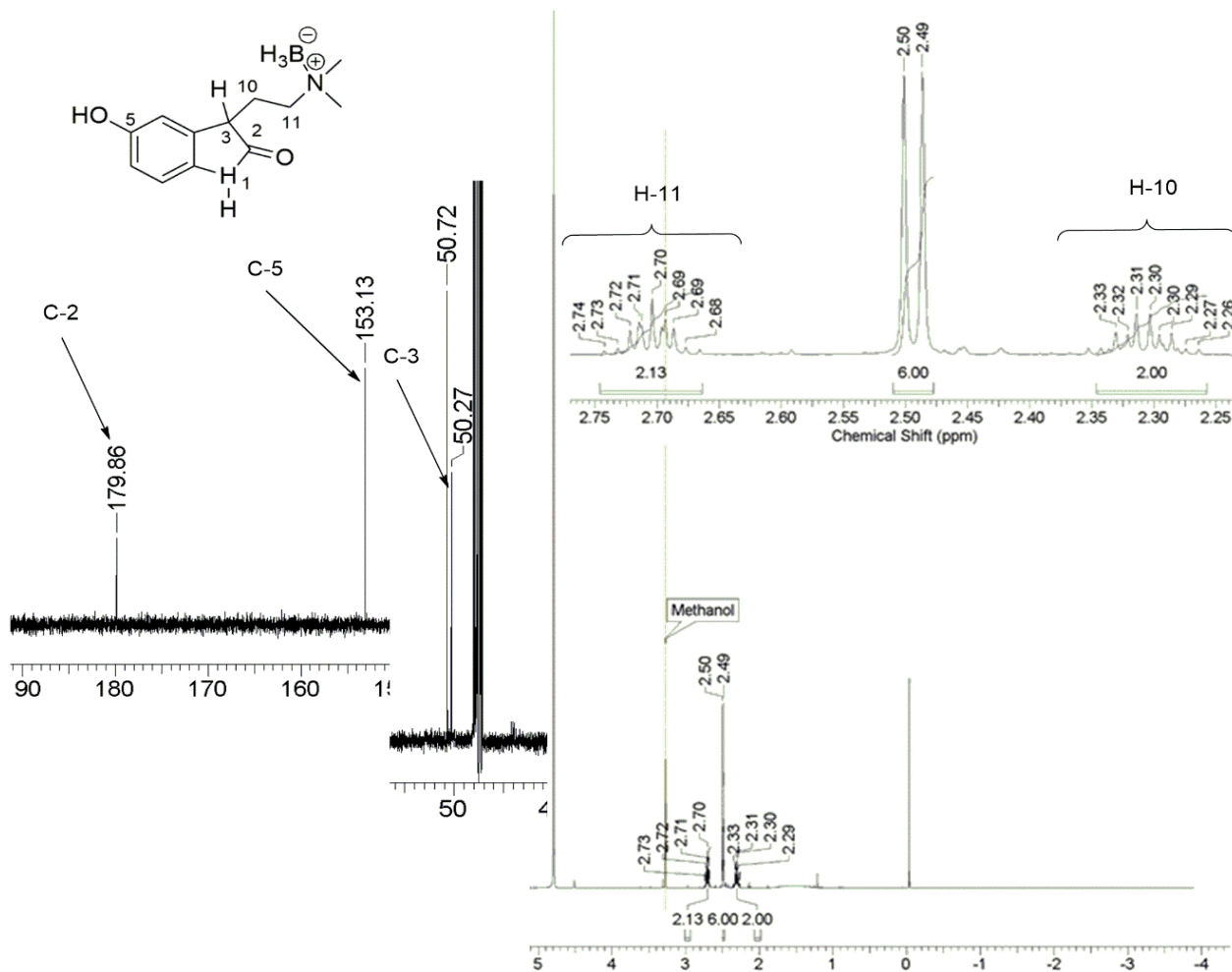
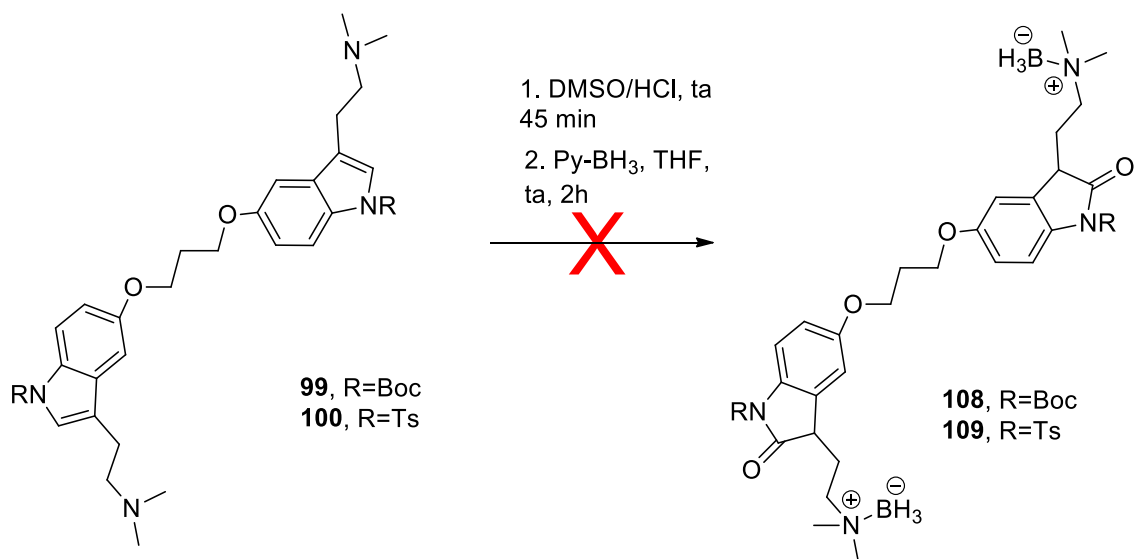


Figura 37. Regiões diagnósticas dos espectros de RMN ¹H e ¹³C do oxindol **102**.

O mesmo protocolo foi utilizado na formação oxindóis diméricos a partir dos dímeros **97** e **98**, onde estes foram tratados sob condição oxidante (DMSO/HCl) e na sequência com Py-BH₃. Entretanto, os dímeros almejados não foram observados, exceto a decomposição do núcleo indólico. Outra metodologia⁷⁰ foi testada, utilizando agente oxidante *N*-bromosuccinimida (NBS) e ácido acético ou *tert*-BuOH, sem obter êxito.



Esquema 24. Tentativa de formação dos oxindóis diméricos **108** e **109**.

Tendo em vista a não evolução dos estudos metodológicos visando à obtenção dos oxindóis diméricos, resolveu-se por suspender novas tentativas. Entretanto, levando-se em consideração as possíveis propriedades farmacológicas desses compostos, a bufotenina (**1**), bufotenidina (**7**) e os dímeros (**96**, **99**, **100** e **101**) foram enviados para avaliação do potencial farmacológico como inibidores da AChE.

4.1.4 Resultados da Avaliação da atividade inibitória da bufotenina e derivados por (AChE-ICER) LC-MS

Os ligantes bufotenina (**1**), a bufotenidina (**7**) e compostos diméricos **96**, **99**, **100** e **101** envolvidos no presente estudo (Figura 37) foram ensaiados pela técnica da AChE imobilizada em bioreator capilar (ICER, *immobilized capillary enzyme reactor*) em sistema LC-MS, conforme descrito na seção Materiais e Métodos. O ensaio foi validado usando como referência (controle positivo) a galantamina, um inibidor conhecido da AChE.

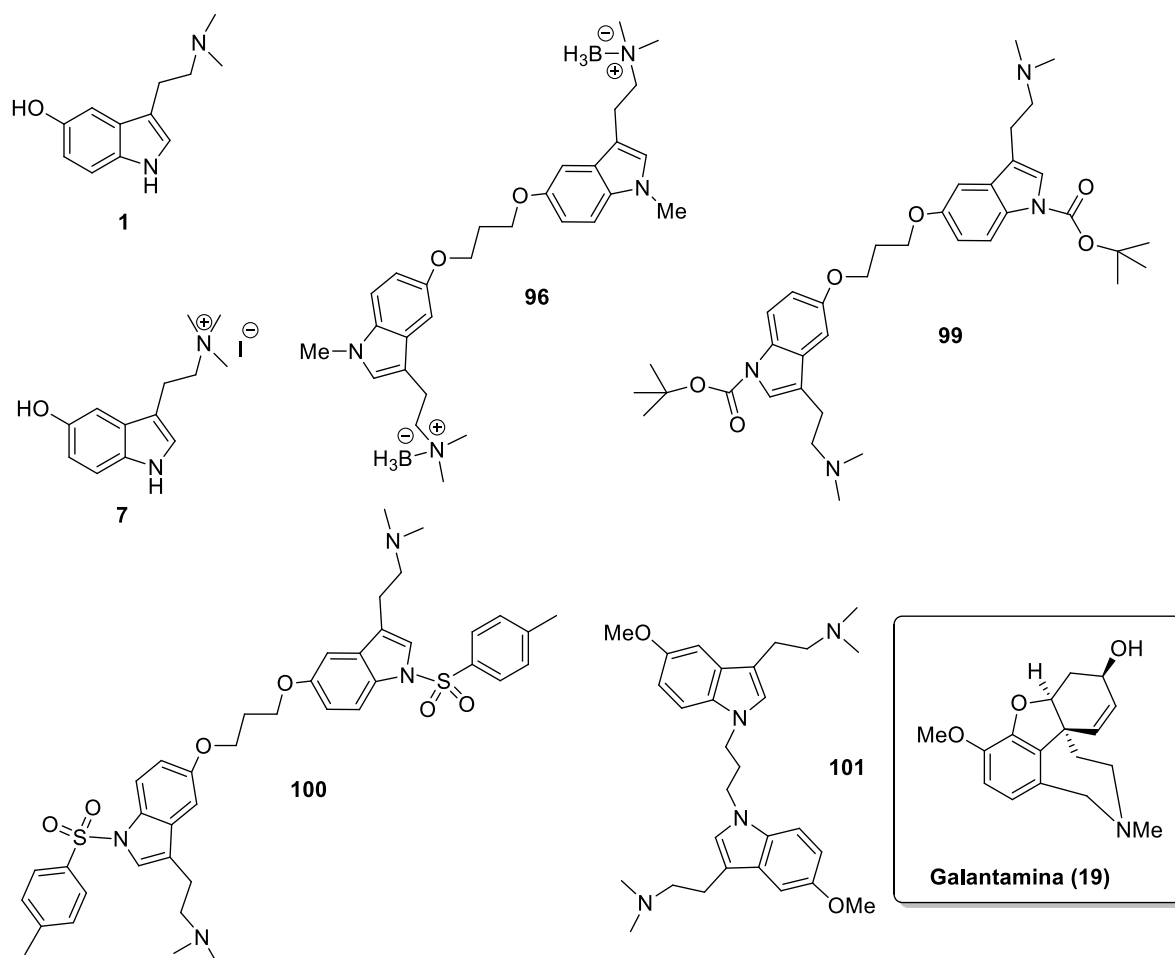


Figura 38 Relação de ligantes ensaiados por AChE-ICER em fluxo LC-MS.

Para quantificar a colina produzida foram construídas as curvas de calibração em baixas (0,1 – 6,4 μM) e altas concentrações molares (6,4 – 208,8 μM). De acordo com a Figura 34 a curva de calibração obtida com o uso de altas concentrações molares mostrou-se mais adequada, tendo em vista a baixa quantidade de colina detectada no primeiro caso, em outras palavras, a atividade inibitória em concentrações menores não foi significativa.

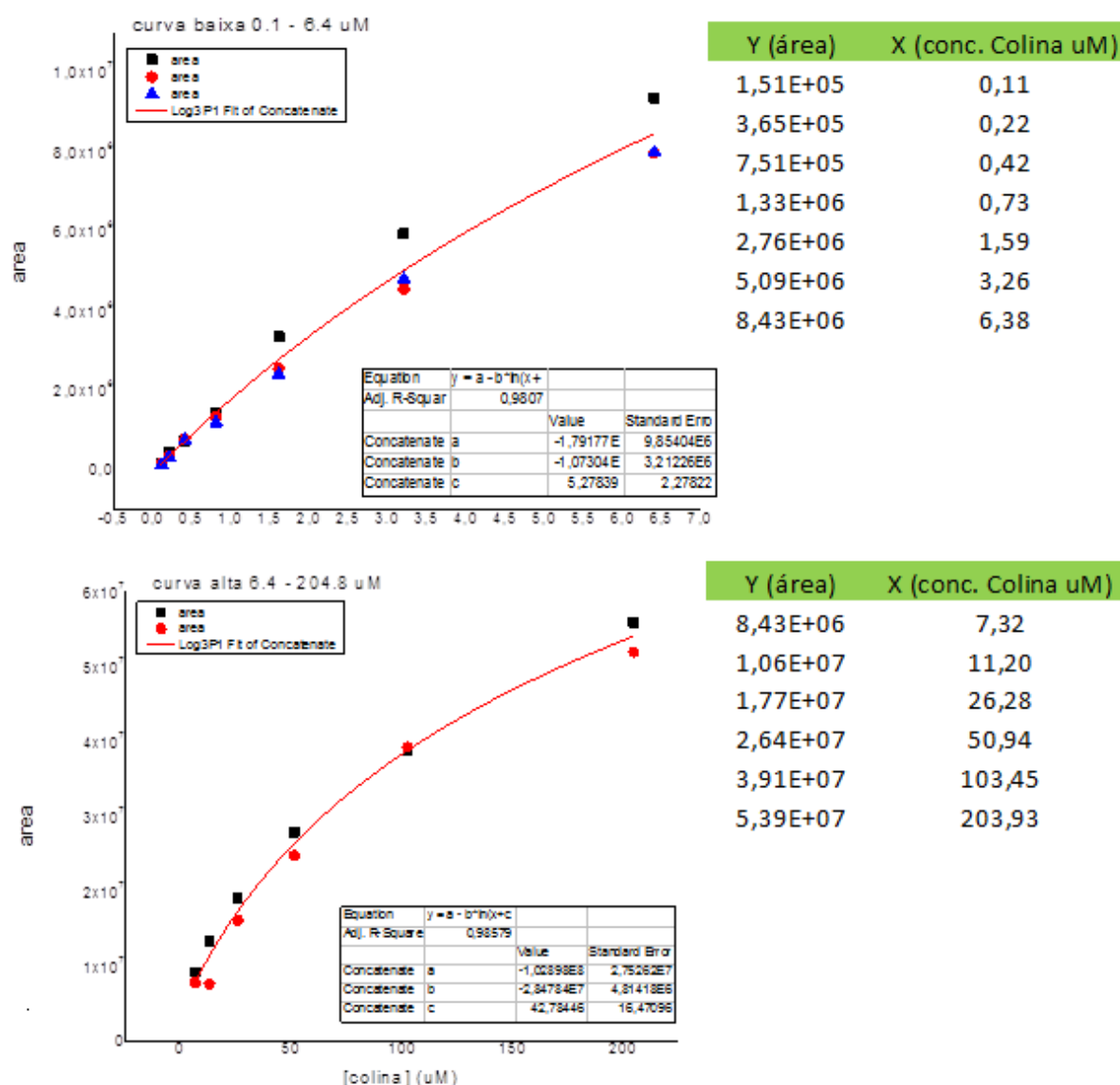


Figura 39. Curvas de calibração em baixa (0,1 – 6,4 uM) e alta concentrações (6,4 – 208,8 uM).

O percentual de inibição de hidrólise da colina [I (%)] para cada ligante foi calculado com base na quantidade de colina produzida na ausência de ligante, P₀ (controle negativo) e na quantidade de colina produzida em presença do ligante, P_i, incluindo a galantamina (controle positivo), segundo a equação abaixo. Os resultados de inibição a concentração molar final dos ligantes 200 uM e de acetilcolina 15 uM encontram-se mostrados na Tabela 32.

$$I (\%) = 100 - (P_i/P_0)$$

Tabela 11. Percentagem de inibição da hidrólise da acetilcolina por AChE-ICERs.

Ligante ^a	Colina produzida sem ligante (P ₀)	Colina produzida com ligante (P _i)	I (%) ^b
1	57,56	22,27	61,31
7	13,35	1,58	88,14
96	12,40	9,90	20,16
99	12,15	2,50	79,42
100	10,32	11,29	-9,32
101	37,31	2,90	92,23
Galantamina (19)	7,49	0,69	90,81

^aConcentração molar final de composto 200 μ M e de acetilcolina 15 μ M.

^bPercentagem de inibição.

De acordo com os dados experimentais, dos seis ligantes testados, três apresentaram elevada percentagem de inibição da hidrólise da acetilcolina, os ligantes **101**, **7** e **99**, com 92,23, 88,14 e 79,42 %, respectivamente. Destaca-se aqui a dímero **101** com percentagem inibitória acima da exibida pela galantamina que apresentou 90,81 % de inibição. Interessantemente, a bufotenidina (**7**) apresentou percentual inibitório comparável ao dímero **99**, fato que merece aprofundamento das investigações quanto a sua ação neste alvo terapêutico dada à facilidade de sua obtenção a partir da bufotenina (**1**). Por outro lado, o ligante **100** mostrou uma atividade inibitória desprezível.

De forma geral, a análise do percentual inibitório e a estrutura dos ligantes testados sugerem que o grupo amina terciário e a função metóxi na posição 5 indólica, presentes na estrutura do dímero **101**, exercem um papel importante na interação com a AChE, à semelhança do protótipo galantamina. A presença de grupos volumosos na posição 5, como em **96**, **99** e **100** parece ser responsáveis pela diminuição da atividade inibitória, quando comparado ao grupo hidróxi da bufotenidina (**7**) e metóxi do dímero **101**. A função sulfonamida presente em **100** parece interferir na interação do ligante no sítio catalítico da acetilcolinesterase, seja por efeito eletrônico (retirador de densidade eletrônica) ou pelo volume do grupo *p*-metil benzenosulfonila.

Os resultados dos ensaios preliminares são animadores e justificam a continuidade dos estudos de avaliação da atividade inibitória com ênfase no mecanismo de ação bem como quanto à preparação/teste inibitório de novos ligantes que, em conjunto, poderão contribuir para o estabelecimento inequívoco da relação estrutura-atividade dessa classe de compostos.

***Conclusões e
Perspectivas***

5 Conclusões e Perspectivas

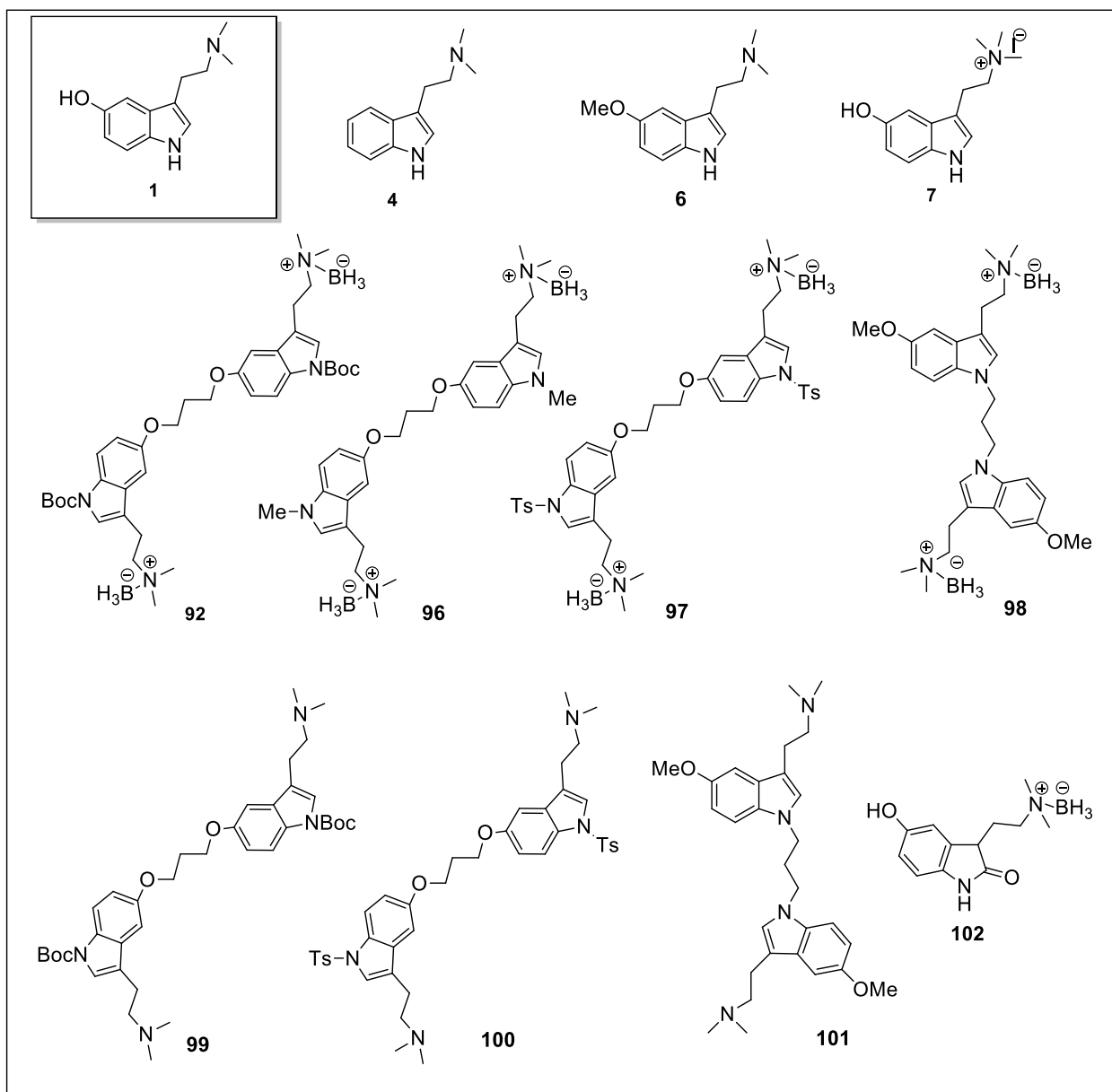
5.1.1 Conclusões

Sob o ponto de vista da Química Medicinal, o presente estudo abordou a importância das plantas do bioma Cerrado, em especial de espécies de *Anadenanthera*, por apresentarem em suas sementes quantidades elevadas do alcalóide bufotenina (**1**), que poderá ser aproveitado como material de partida para síntese de derivados triptamínicos, compostos diméricos e oxindólicos com potencial biológico.

Ao considerar os pressupostos que orientaram a execução do presente estudo, os seguintes objetivos foram atingidos:

- Das sementes das espécies/variedades de *Anadenanthera* (*A. peregrina* e *A. colubrina*) foi extraído por procedimento eficiente o alcalóide bufotenina (**1**) em quantidade suficiente para realização das modificações químicas pretendidas;
- Os derivados triptamínicos bufotenidina (**7**), *N,N*-dimetilriptamina (**4**) e 5-metóxi-*N,N*-dimetilriptamina (**6**), encontrados em diversas fontes naturais, foram preparados a partir da bufotenina (Quadro 1), configurando-se esta como uma rota alternativa para obtenção desses compostos;
- Sete compostos bis-indólicos **92**, **96**, **97**, **98**, **99**, **100** e **101** (Quadro 1) foram preparados a partir de derivados da bufotenina por metodologia simples e eficiente, várias etapas em um frasco reacional;
- O estudo metodológico para obtenção de derivados oxindólicos da bufotenina permitiu o desenvolvimento de um protocolo adaptado para preparação do oxindol **102** (Quadro 1);
- Os ensaios farmacológicos preliminares usando a técnica AChE-ICER acoplada a LC-MS evidenciaram que a bufotenidina (**7**) e os dímeros **92** e **96** apresentaram elevado percentagem de inibição, com destaque para o dímero **96**, que apresentou atividade

inibitória superior à galantamina (um inibidor consagrado da acetilcolinesterase), e a para a bufotenidina (7), um derivado simples da bufotenina.



Quadro 1. Bufotenina e derivados triptamínicos, bis-indólicos e oxindólico produzidos.

5.1.2 Perspectivas

Os avanços alcançados nesse estudo, em especial quanto a formação dos derivados da triptamina (bufotenidina, *N,N*-dimetiltryptamina e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina), dímeros e

oxindol fundamentam diversas perspectivas de atuação no campo sintético e biofarmacológico, como por exemplo:

- Aplicação de protocolo para formação de oxindol desenvolvida nesse trabalho na síntese de novos compostos oxindólicos a partir da bufotenina, visando explorar o potencial terapêutico de membros dessa classe de compostos no combate a diversos tipos de câncer;
- Estudos de mecanismo de inibição da AChE pela bufotenidina (**7**), dímeros **97** e **99**, além de pesquisas complementares sobre esse alvo biológico;
- Ampliação da biblioteca de compostos testados visando uma melhor compreensão da relação estrutura-atividade inibitória da AChE;
- Estudos visando a conjugação dos derivados triptamínicos (bufotenidina, *N,N*-dimetiltriptamina e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina) com compostos luminescentes para estudos de processos celulares.

Bibliografía

6 Bibliografia

1. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/7808194/mapeamento-inedito-mostra-uso-e-cobertura-do-cerrado>, acesso em 12 de dezembro de 2015.
2. R. C.; Baumgratz, J. F. A.; Bicudo, C. E. M.; Canhos, D. A. L.; Carvalho Jr, A. A.; Coelho, M. A. N.; Costa, A. F.; Costa, D. P.; Hopkins, M. G.; Leitman, P. M.; Lohmann, L. G.; Lughadha, E. N.; Maia, L. C.; Martinelli, G.; Menezes, M.; Morin, M. P.; Peixoto, A. L.; Pirani, J. R.; Prado, J.; Queiroz, S. S.; Souza, V. C.; Stehmann, J. R.; Sylvestre, L. S.; Walter, B. M. T.; Zappi, D. C. *BioScience* **2012**, *62*, 39.
3. Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Da Fonseca, G. A. B.; Kent, J. *Nature* **2000**, *403*, 853.
4. (a) Almeida, S. P.; Proença, C. E. B.; Sano, S. M.; Ribeiro, F. J. Cerrado - Espécies vegetais úteis; Embrapa: Planaltina, DF, **1998**. (b) Torres, C. M.; Repke, D. B. *Anadenanthera* visionary plant of ancient South America. The Haworth Herbal Press: New York, 2006. (c) Altschul, S. von R. A Taxonomic Study of the Genus *Anadenanthera*. In: Rollins, R. C.; Foster, R. C., editors. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University. Massachusetts: Lexington Press, **1964**. (d) Sprent, J. I. In: The nitrogen factor. Advances in Legume Systematics; Sprent, J. I. & McKey, eds.; Royal Botanic Gardens, Kew, UK, **1994**.
5. (a) Fagg, C. W.; In: APA de Cafuringa, a última fronteira natural do DF; Netto, P. B.; Mecenas, V. V.; Cardoso, E. S. eds.; Semarh, Brasília, **2005**; (b) Carvalho, P. E. R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira; Colombo, EMBRAPA-CNPQ, **1994**; (c) Corrêa, M. P.; Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas; Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal; Rio de Janeiro, **1984**; (d) Maia, G. N.; Caatinga: Árvores e arbustos e suas utilidades; D & Z Computação Gráfica e Editora, São Paulo, **2004**.
6. Stromberg, V.L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 1707.
7. Yu, A.M, *AAPS Journal* **2008**, *10*, 242.
8. Fish, M.S; Joohnson, M.; Horning, E.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 5892.
9. Pachter, I. J.; Zacarias, D.E.; Ribeiro, O. J. *Org. Chem.* **1959**, *24*, 1285.
10. Fellows, L. E.; Bell, E. A.; *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2083.

11. Zhou, L.; Hopkins, A. A.; Huhman, D. V.; Sumner, L. W. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 9287.
12. Moretti, C.; Gaillard, Y.; Grenand, P.; Fabien, B. F.; Prévost, J. M.; J. *Ethanopharmacol.* **2006**, *106*, 198.
13. Servillo, L.; Alfonso, G.; Balestrieri, M.L.; Casale, R.; Cautela, D.; Castaldo, D. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 5156.
14. Costa, T. O. G.; Morales, R. A. V.; Brito, J. P. Gordo, M.; Pinto, A. C.; Bloch, Jr. R. *C. Toxicol.* **2005**, *46*, 371.
15. Pénez, N.; Culiol, G.; Pérez, T.; Briand, J. F.; Thomas, O. P.; Blache, Y.; *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 2304.
16. (a) Lyttle, T.; Goldstein, D.; Gartz, J. *Journal of Psychoactive Drugs* **1996**, *28*, 267.
(b) Shen, H. W.; Jiang, X. L.; Winter, J. C.; Yu, A. M. *Current Drug Metabolism.* **2010**, *11*, 659.
17. Barker, S. A.; McIlhenny, E. H.; Strassman, R.; *Drug Test. Analysis* **2012**, *4*, 617.
18. Wu, Y. -J.; *Top. Heterocycl. Chem.* **2010**, *26*, 1. (c) Barlow, R. B.; Burston, K. N.; *Br. J. Pharmacol.* **1980**, *69*, 597.
19. Russell, M. G. N.; Baker, R. J.; Barden, L.; Beer, M. S.; Bristow, L.; Broughton, H. B.; Knowles, M. McAllister, G.; Patel, S.; Castro, J. L.; *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3881.
20. Barlow, R. B.; Burston, K. N.; *Br. J. Pharmacol.* **1980**, *69*, 597.
21. Almaula, N.; Ebersole, B. J.; Zhang, D.; Weinstein, H.; Sealfon, S. C. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 14672.
22. Shen, H.; Wu, C.; Jiang, X.; Yu, A. M.; *Biochemical Pharmacology* **2010**, *80*, 122.
23. Winter, J. C.; Amorosi, D. J.; Rice, K. C.; Cheng, K.; Yu, A. M.; *Drug. Metab. Dispos.* **2011**, *99*, 311.
24. <http://www.alzheimermed.com.br/diagnostico/sintomas-e-evolucao>, acessado em 28/04/2015.
25. Goedert, M.; Spillantini, M.G. *Science* **2006**, *314*, 777.
26. Junior, C. V.; Bolzani, S. V.; Furlan, M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. *J. Quim. Nova* **2004**, *27*, 655.
27. Benzi, G.; Moretti, A. *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, *346*, 1.
28. Dvir, H.; Silman, I.; Harela, M.; Rosenberryc, T. L.; Sussmana, J. L. *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *187*, 10.

29. Silman, I.; Millard, C. B.; Ordentlich, A.; Greenblatt, H. M.; Harel, M.; Barak, D.; Shafferman, A., Sussman J. L. *Chem Biol Inter act* **1999**, 119–120, 43.
30. Falco, A. D.; Cukierman, D. S.; Hauser-Davis, R. A.; Rey, N. A. *Quim. Nova*, artigo no Prelo, publicado na web em 30/09/2015.
31. a) Gargano, R.; Paula, A. A. N.; Romeiro, L. A. S. ; Nascimento, E. C. M. ; Kiametis, A. S. ; dos Santos, Maria Lucília ; Castro, N. G. ; Nascente, L. C. ; Martins, J. B. L. *Revista Processos Químicos* **2011**, 10, 9. (b) Barbosa Filho, J. M.; Medeiros, K. C. P.; Diniz, M. F.; Batita, L. M.; Athayde-Filho, P. F.; Silva, M. S.; da Cunha, E. V.L.; Almeida, J. S.; Quintans-Júnior, L. J. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2016, 16, 258.
32. <http://www.alzheimermed.com.br/tratamento/antagonista-dos-receptores-de-glutamato>, acesso em 17 de janeiro de 2015.
33. Bressana, R. A.; Pilowsky, L. S. *Ver. Bras. Psiquiatr.* **2003**, 25, 177.
34. Geldenhuys, W. J.; Van der Schyf, C. J. *Curr. Med. Chem.* **2013**, 20, 1662.
35. Dias, K. S. T.; de Paula, C. T.; Riquiel, M. M.; Lago, S. T.; Costa, K. C. M.; Vaz, S. M.; Machado, R. P.; Lima, L. M. S.; Viegas Junior, C. *Rev. Virtual Quim.* **2015**, 7, 609.
36. Garcia-Alloza, M.; Gil-Bea, F. J.; Diez-Ariza, M.; Chen, C.P.L.-H.; Francisc P. T.; Lasherasa, B; Ramirez M. *J. Neuropsychologia* **2005**, 43, 442.
37. Morphy, R.; Rankovic, Z. *Lead Generation Approaches in Drug Discovery* **2010**, 142
38. Bolea, I.; Juárez-Jimeénez, J. Los Ríos, C.; Chiou, M.; Pouplana, R.; Luque, F. J.; Unzeta, M.; Marco-Contelles, J.; Samadi, A. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 8251.
39. (a) Camps, P.; Formosa, X.; Munoz-Torrero, D.; Petrignet, P.; Badia, A.; Clos, V. M. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1701. (b) Rodríguez-Franco, M. I.; Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; Hernández-Ledesma, B.; Bartolomé, B. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 459.
40. Queiroz, M. F., Queiroz, E. F., Zeraik, M. L., Ebrahimi, S. N., Marcourt, L., Cuendet, M., Castro- Gamboa, I., Hamburger, M., Bolzani, S. V., Wolfender, J.-L. *J. Nat. Prod.* **2014**, 77, 650.
41. Bautista-Aguilera, O. M.; Esteban, G.; Bolea, I.; Nikolic, K.; Agbaba, D.; Moraleda, I.; Iriepa, I.; Samadi, A.; Soriano, E.; Unzeta, M.; Contelles, J.M. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 75, 82.
42. León, R., Garcia, A.G, Marco-Contelles, *Med. Res. Rev.* **2015**, 33, 139.
43. Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, R. M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88.

44. Rhee, I. K.; Van Rijin, R. M.; Verpoorte, R. *Phytochem. Anal.* **2003**, *14*, 127.
45. George, P. M.; Abernethy, M. H. *Clin. Chem.* **1983**, *29*, 365.
46. Hay, D. L.; Ibrahim, G. F.; Horacek, I. *Clin. Chem.* **1983**, *29*, 1065.
47. Marston, A.; Kissling, J.; Hostettmann, K. *Phytochem. Anal.* **2002**, *13*, 51.
48. Miao, Y. Q.; Nongyue, H.; Zhu, J. J. *Chemical Reviews* **2010**, *110*, 5216.
49. da Silva, J. I.; Moraes, M. C.; Vieira, L. C. C.; Corrêa, A. G.; Cass, Q. B.; Cardoso, C. L. *J. Pharm.biomed.anal.* **2013**, *73*, 44.
50. Forsberg, E. M.; Gree, J. R.; Brennan, J. D. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 5230.
51. Vanzolini, K. L.; Vieira, L. C. C.; Corrêa, A. G.; Cardoso, L. C.; Cass, Q. B. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2038.
52. Vanzolini, K. L. Bioreatores de acetilcolinesterase: estudos de condições para condições para triagem ligantes. Universidade Federal de São Carlos, **2013**.
53. Gabrovska, K.; Nedelcheva, T.; Godjevargova, T.; Stoilova, O.; Nanolova, N.; Rashkov, I. J. *Mol. Catal. B* **2008**, *55*, 169.
54. Min, W.; Wang, W.; Chen, J.; Wang, A.; Hu, Z. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *404*, 2397.
55. da Silva, J. I.; Nicastro, P. C.; de Oliveira, P. C. M.; Fossaluzza, P. C.; Morais, E. P.; Dias, K. S. T.; da Costa, R. S.; Castro, N. G.; Cardoso, C. L.; Viegas Junior, C. *Rev. Virtual Quim.* **2015**, *7*, 2334.
56. Song, R.-J.; Liu, Y.; Xie, Y.-X.; Li, J.-H. *Synthesis* **2015**, *47*, 1195.
57. Tsukamoto, S.; Kato, H.; Samizo, M.; Nojiri, Y.; Onuki, H.; Hirota, H.; Ohta, T. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 2064.
58. Tsuda, M.; Kasai, Y.; Komatsu, K.; Sone, T.; Tanaka, M.; Mikami, Y.; Kobayashi, J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3087.
59. Ziarani, G. M.; Gholamzadeh, P.; Lashgari, N.; Hajiabbasia, P. *ARKIVOC* **2013**, *1*, 470.
60. (a) Maass, G.; Immendoerfer, U.; Koenig, B.; Leser, U.; mueller, B.; Goody, R.; Pfaff, E. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1993**, 2612. (b) Puleo, I.; Marini, P.; Avallone, R.; Zanchet, M.; Bandiera, S.; Baroni, M.; Croci, T. *bioorg. med. chem.*, **2012**, *20*, 5623. (c) Roth, G. J.; Heckel, A.; Brandl, T.; Grauert, M.; Hoerer, S.; Kley, J. T.; Schnapp, G., Baum, P.; Mennerich, D.; Schnapp, A.; Park, J. E. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7287. (d) Roth, G. J.; Heckel, A.; Colbatzky, F.; Handschuh, S.; Kley, J.; Lehmann-Lintz, T.; Lotz, R.; Tontsch-Grunt, U.; Walter, R.; Hilberg, F. *J. Med.*

- Chem.* **2009**, 52, 4466. (f) Manvar, A.; Bavishi, A.; Loriya, R.; Jaggi, M.; Shah, A. *Med. Chem. Res.* **2013**, 22, 3076. (g) Valitov, M. I.; Romanova, I. P.; Gromchenko, A. A.; Shaikhutdinova, G. R.; Yakhvarov, D. G.; Bruevich, V. V.; Dyakov, V. A.; Sinyashin, O. G.; Paraschuk, D. Y. *Solar Energy Materials and Solar Cells.* **2012**, 103, 48.
61. Chow, L. Q.; Eckhardt, S.G. *J. Clin. Oncol.* **2007**, 25, 884.
62. Prakash, C.R.; Raja, S. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2012**, 12, 98.
63. Marti, C.; Carreira, E. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2209.
64. Corbett, M. D.; Chipko, B. R. *Biochem J.* **1979**, 183, 269.
65. Finefield, J. M.; Williams, R. M. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2785.
66. Pettersson, M.; Knueppel, D.; Martin, S. F. *Org. Lett.* **2007**, 9, 4623.
67. Yu, P.; Cook, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8799.
68. Siller, M.; Goya, S.; Yoshimoto, F. K.; Xiao, Y.; Wei, S.; Guengerich, F. P. *JCB* **2014**, 389, 10476.
69. Suárez-Castillo, O. R.; Sánchez-Zavala, M.; Meléndez-Rodríguez, M.; Castelán-Duarte, L. E.; Morales-Ríos, M. S.; Joseph-Nathan, P. *Tetrahedron* **2006**, 62, 3040.
70. Nussbaum, F. V.; Danishefsky, S. J.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2175.
71. Alvarado, -L. P.; Steinhoff, J.; Miranda, S.; Avendaño, C.; Menéndez, J. C.; *Tetrahedron*, **2009**, 65, 1660.
72. Fuchs, J. R.; Funk, R. L.; *Org. Lett.* **2005**, 7, 677.
73. Cope, A. C.; Ciganek, E.; Fleckenstein, L. J.; Meisinger, M. A. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4651.
74. Gomes, J. M.; Gil, L.; Ferroud, C.; Olesker, A. G.; Martin, M. T.; Marazano. *J. Org. Chem.* 2001, 66, 4898.
75. Blakemore, P. R.; Kim, S.-K.; Schulze, V. K; White, J. D.; Yokochi, A. F.T. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2001**, 1, 1831.
76. Tam, A.; Raines, T. *Bioorganic. Med. Chem.* **2009**, 17, 1055.
77. Murray, R. W.; Singh, M. *Organic Syntheses*, **1998**, 9, 288.
78. Castillo-Suárez., O. R.; Rodríguez-Meléndez, M.; Duarte-Castelán.; L. E.; Zalava-Sánchez., M.; Becerril-Rivera, E.; Ríos-Morales.; M. S.; Nathan-Joseph, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, 20, 2374.

Anexos

Anexo 1. Chave botânica 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 floral3. A. *colubrina*
- 3a. Fruto com margem ondulada e regularmente contraída entre as sementes, botão floral esbranquiçado, inflorescências terminais em forma de panícula2a. 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 racemo2b. 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 últimas 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.

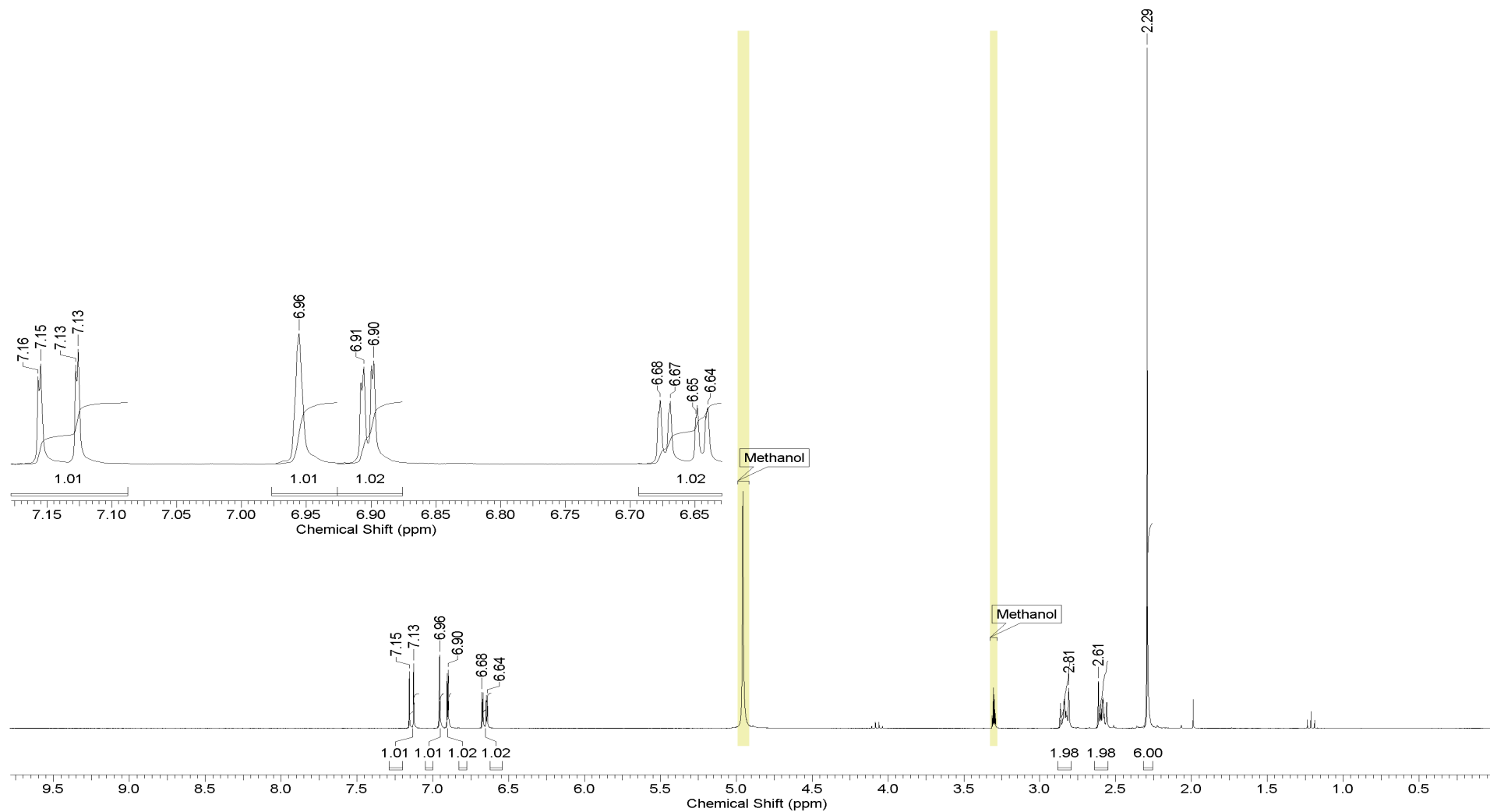
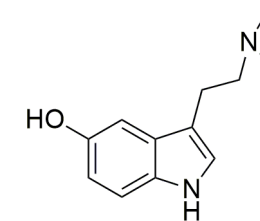
2.1 *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *colubrina*

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

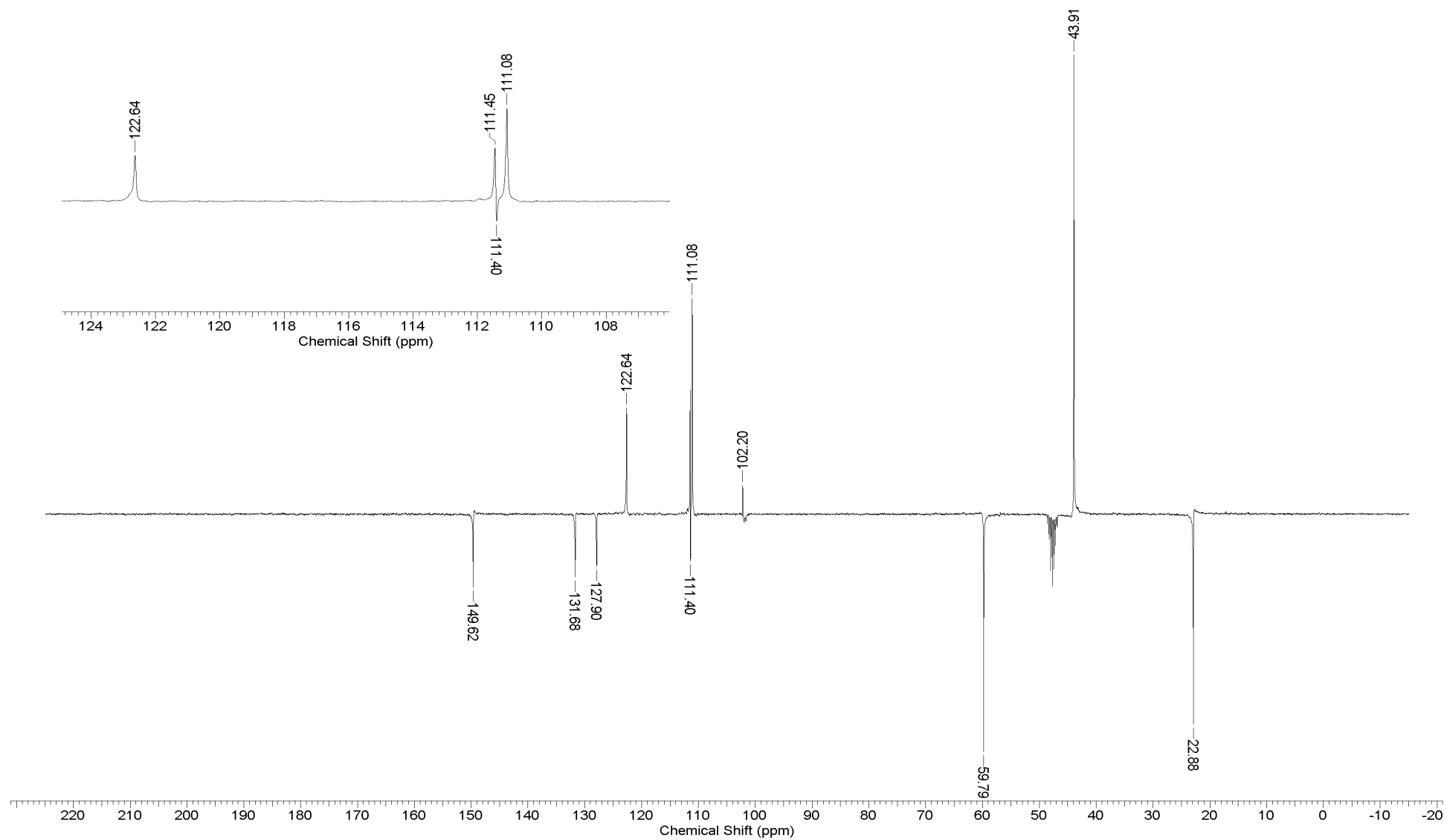
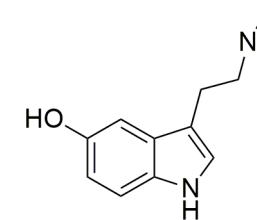
2.2 *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altschul

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

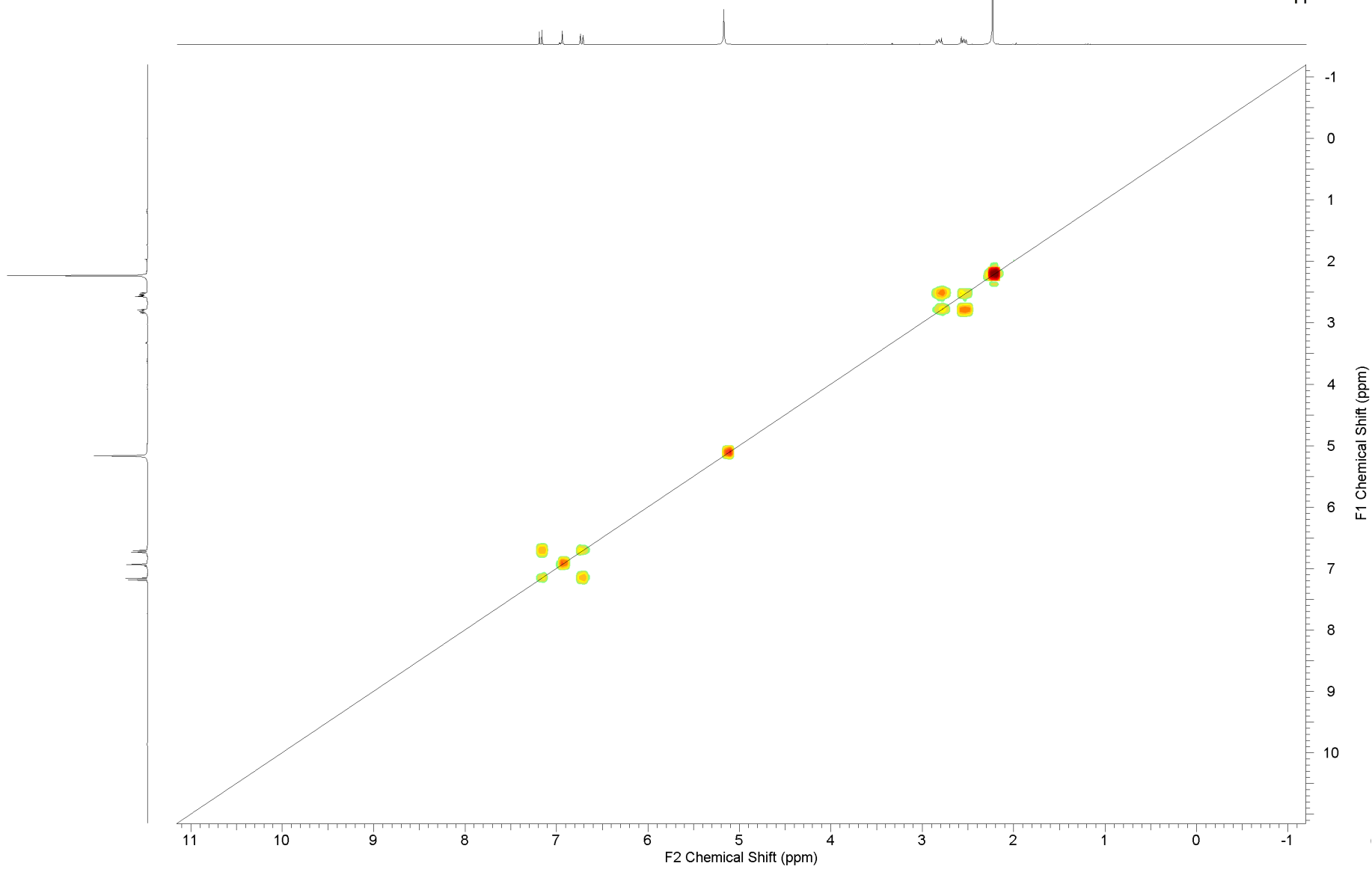
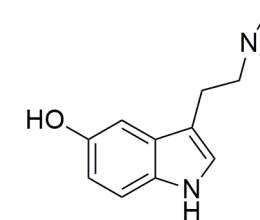
Anexo 2. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz) da bufotenina (1)



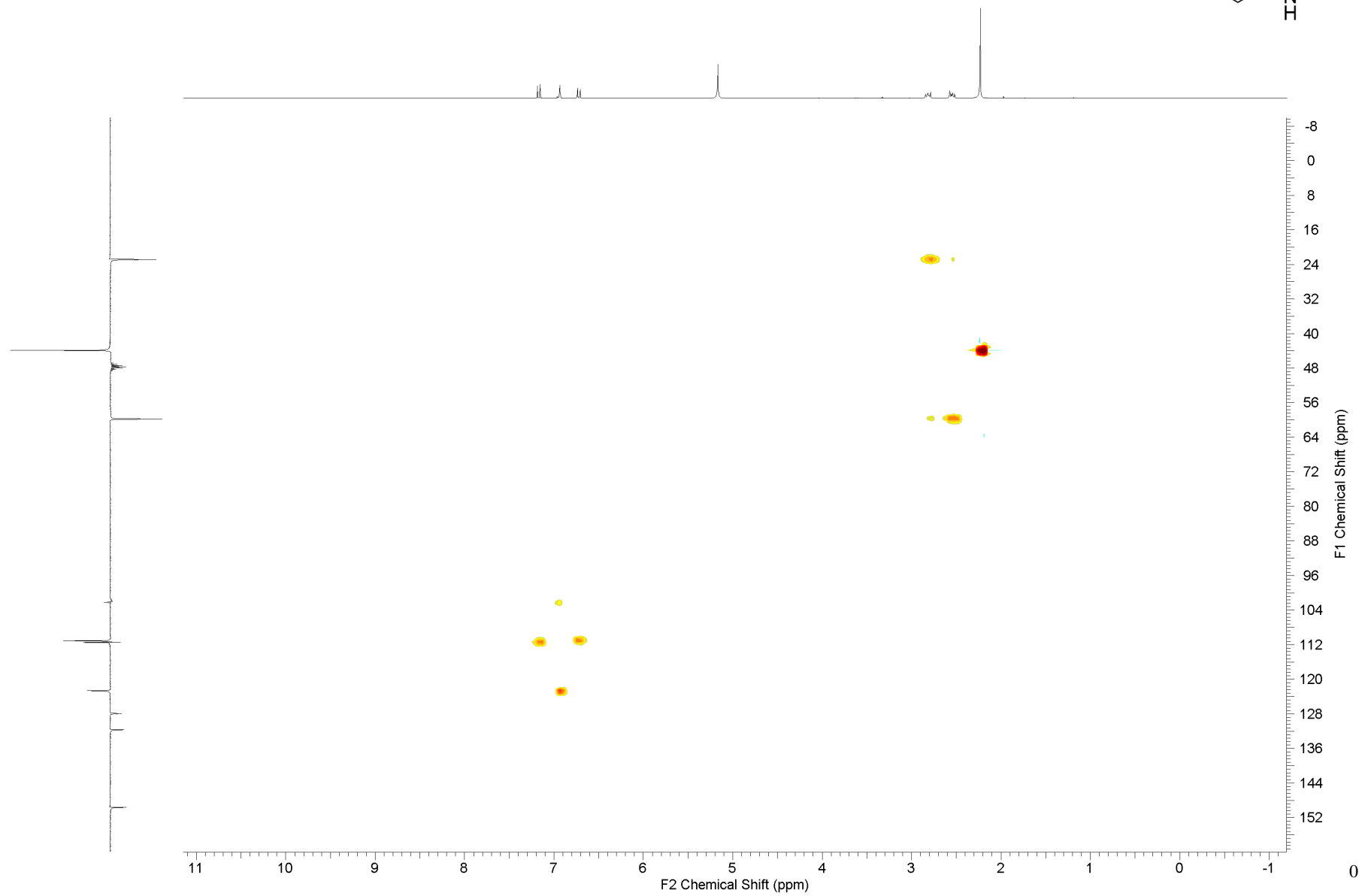
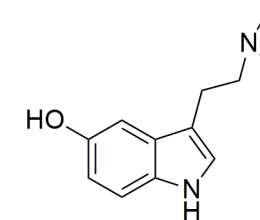
Anexo 3. Espectro ^{13}C (APT, CD_3OD , 75 MHz) da bufotenina (1)



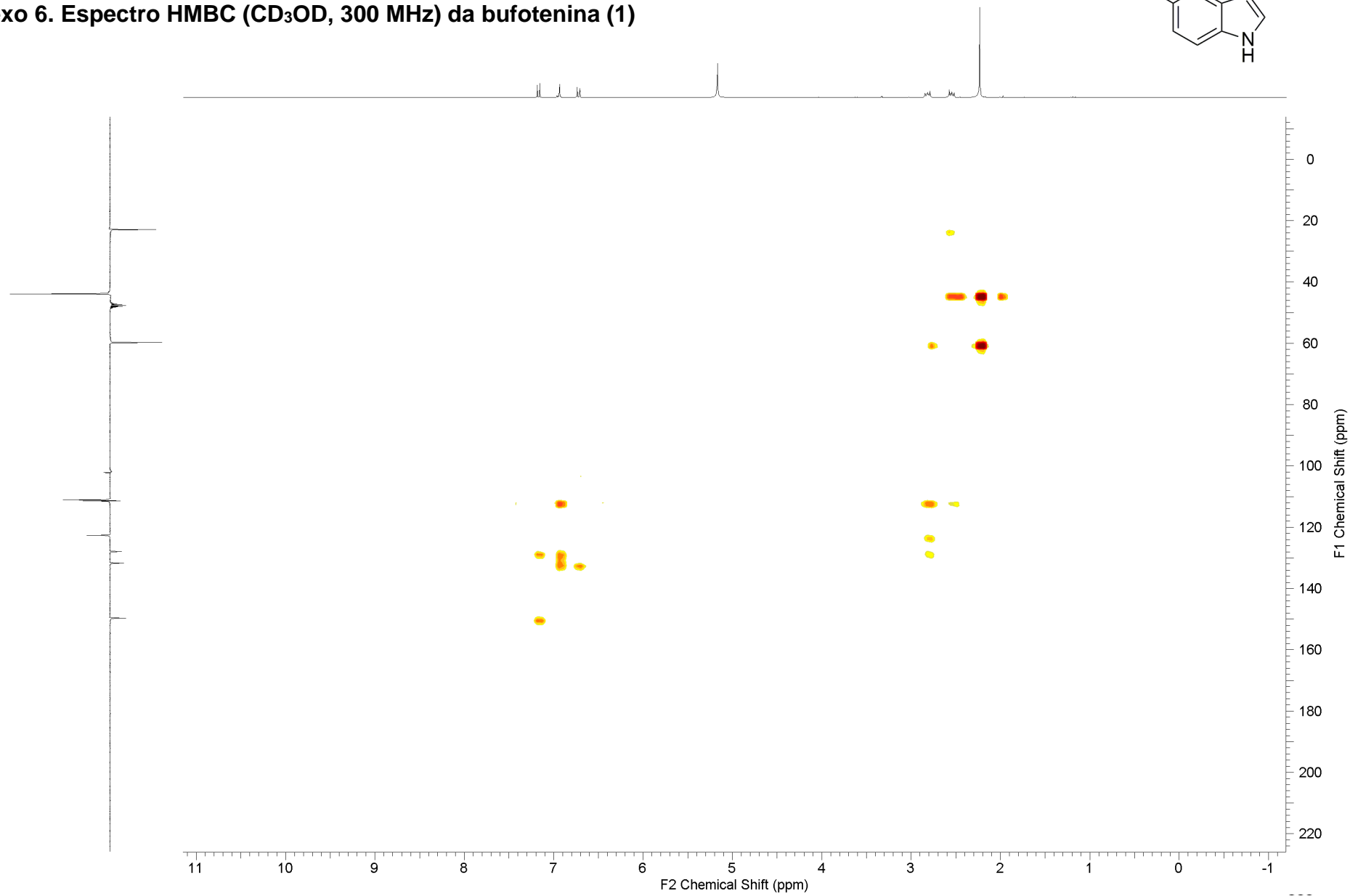
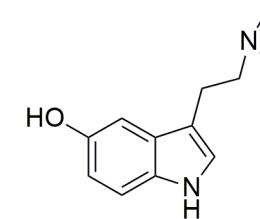
Anexo 4. Espectro COSY ^1H - ^1H (CD_3OD , 300 MHz) da bufotenina (1)



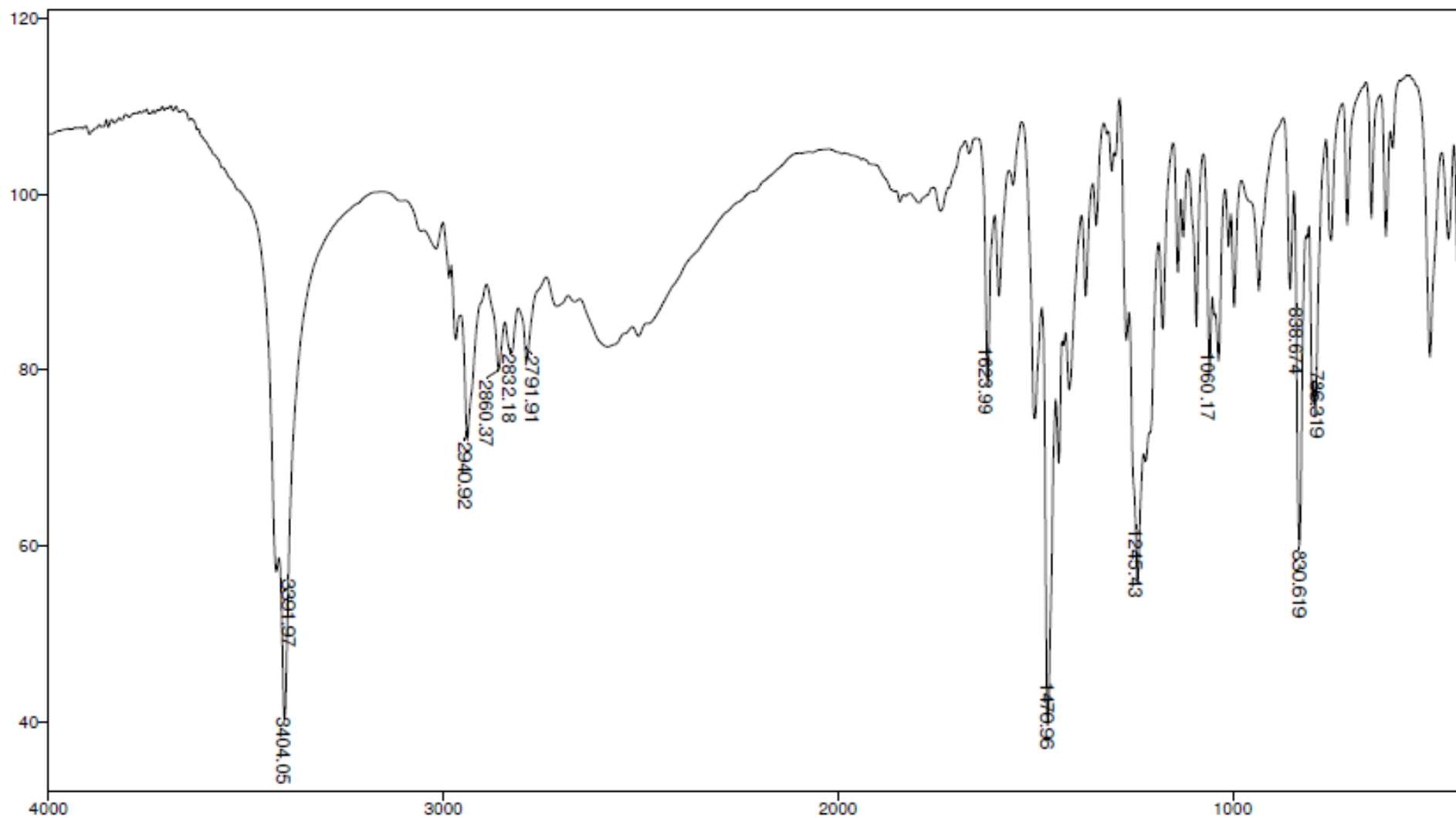
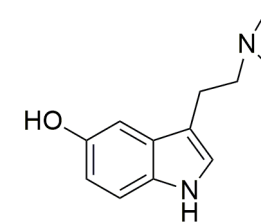
Anexo 5. Espectro HMQC (CD₃OD, 300 MHz) da bufotenina (1)



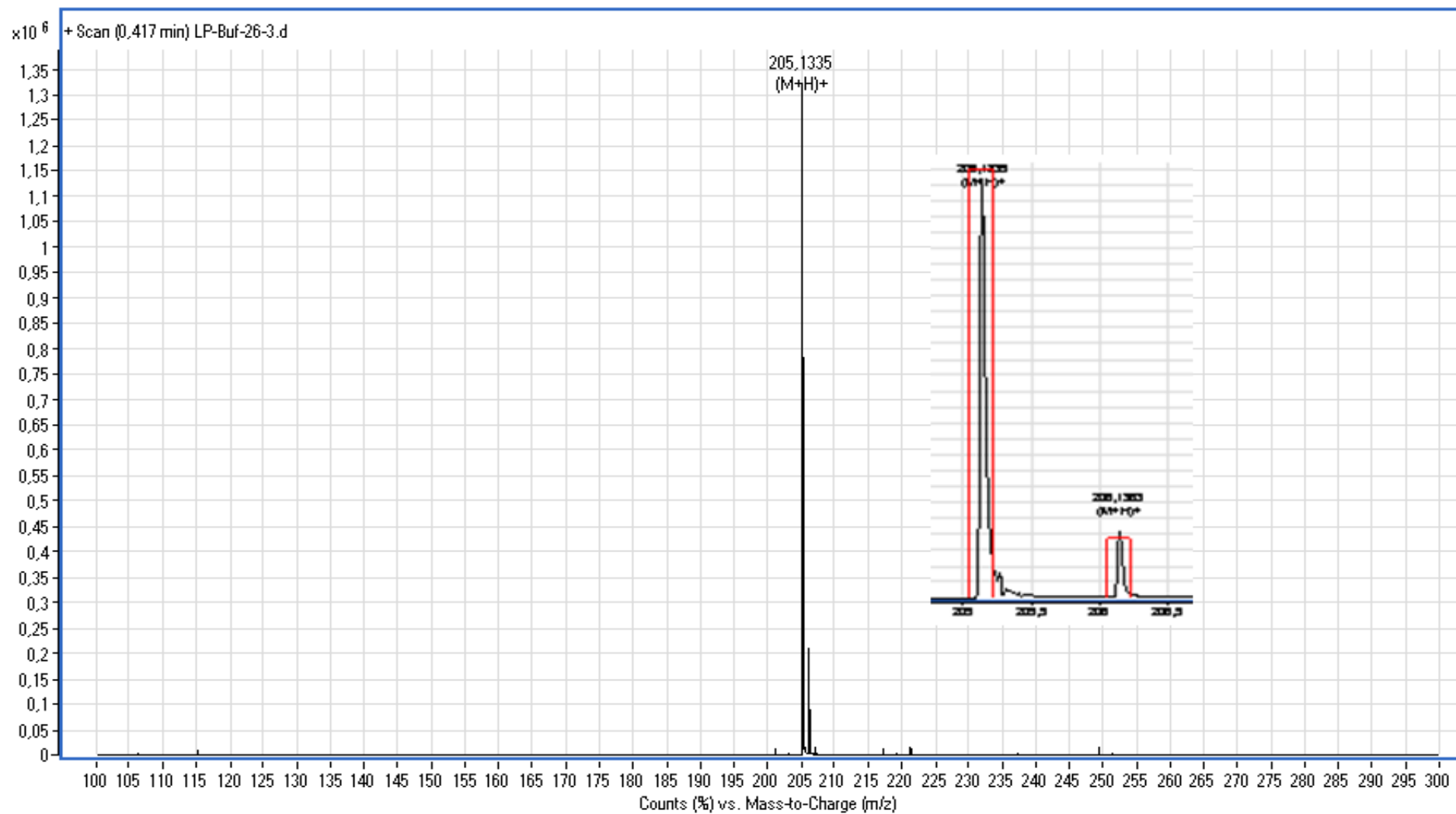
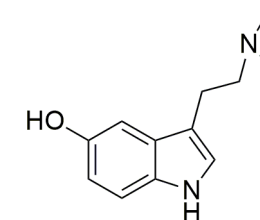
Anexo 6. Espectro HMBC (CD₃OD, 300 MHz) da bufotenina (1)



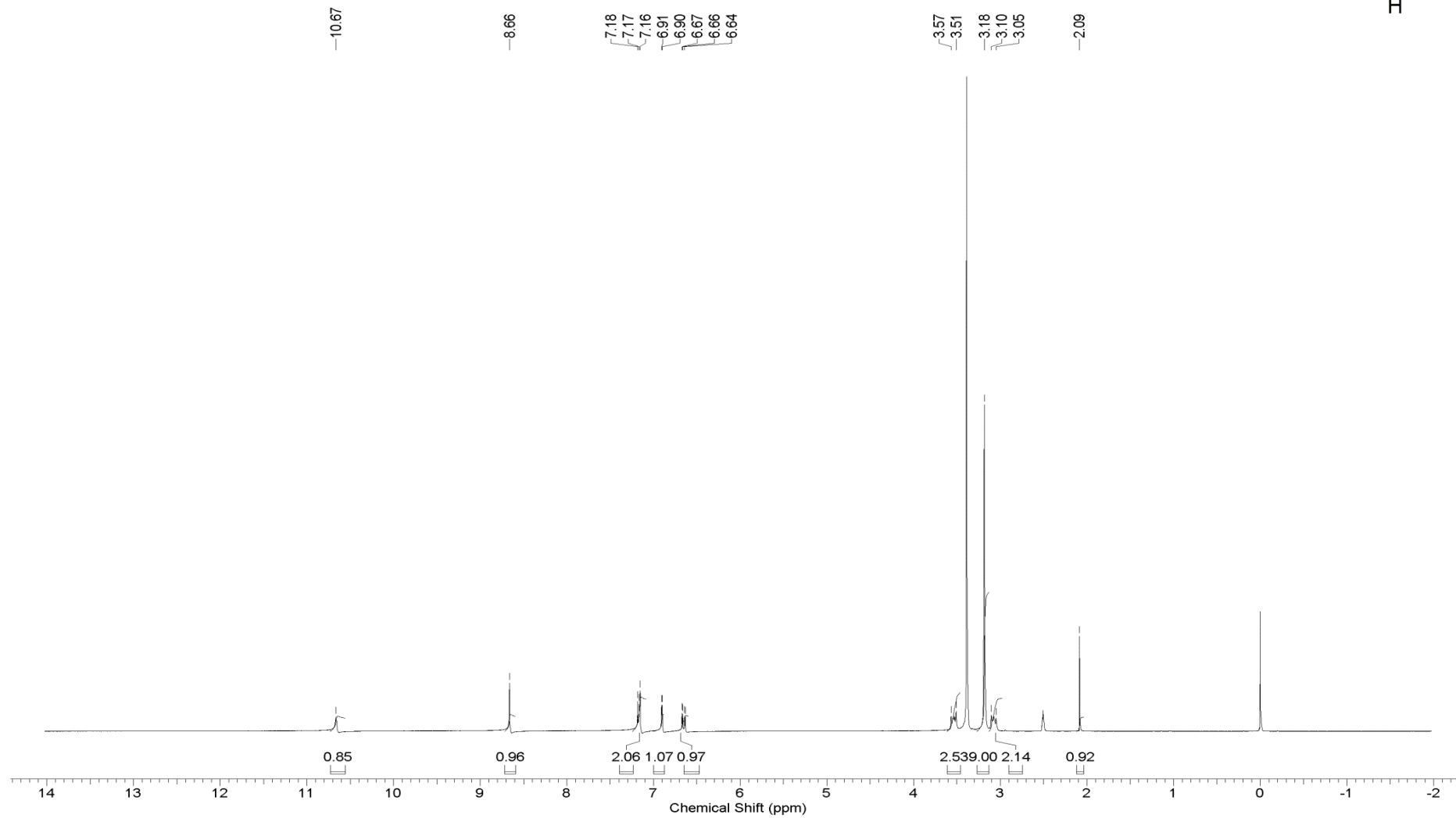
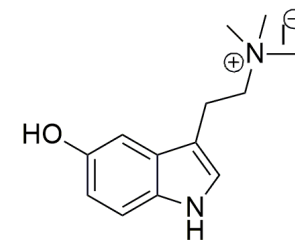
Anexo 7. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da bufotenina (1)



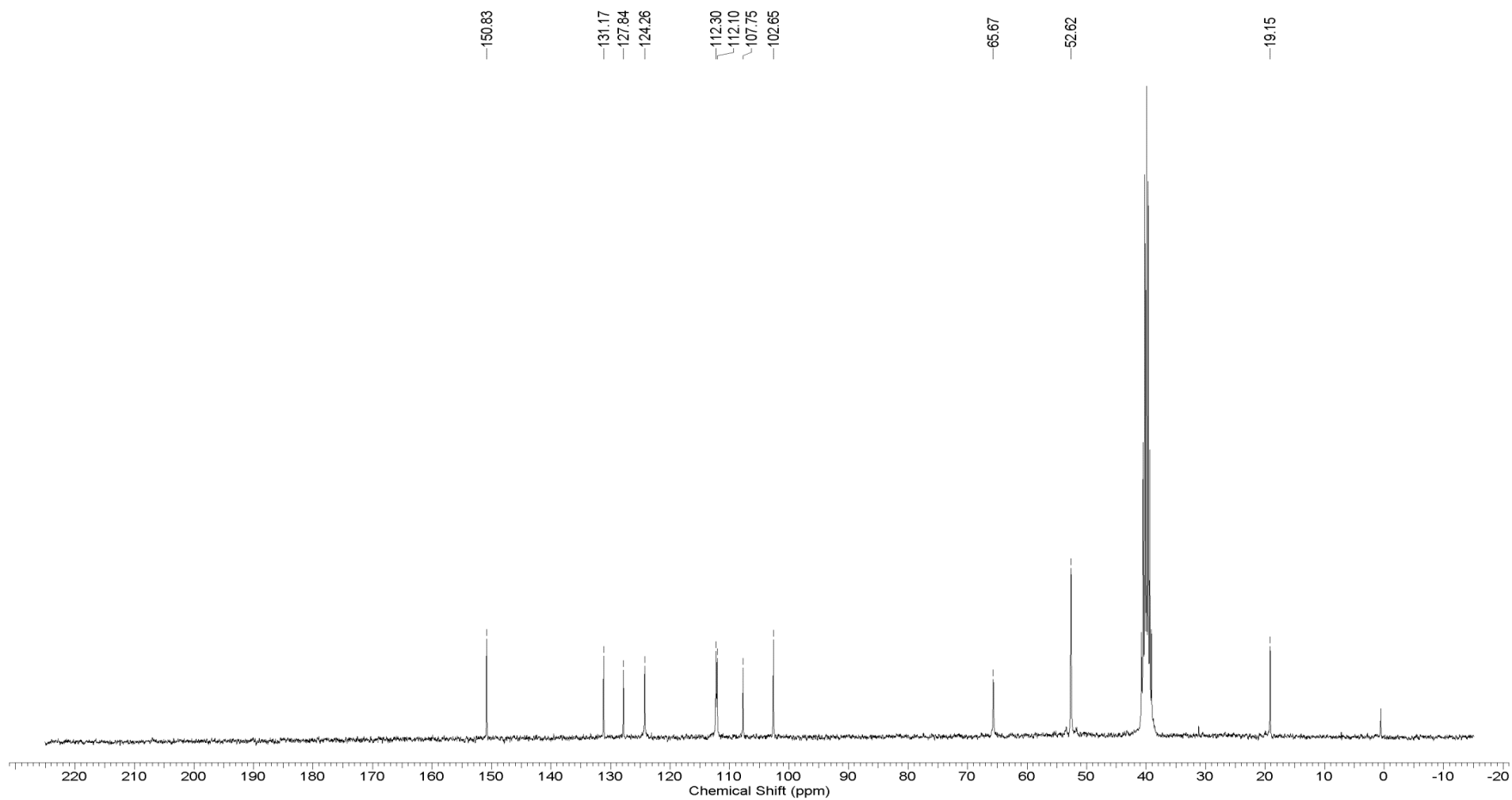
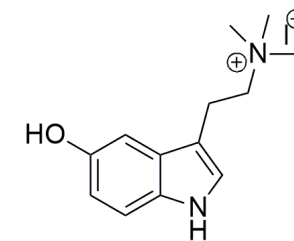
Anexo 8. Espectro de HRESI/MS da bufotenina (1)



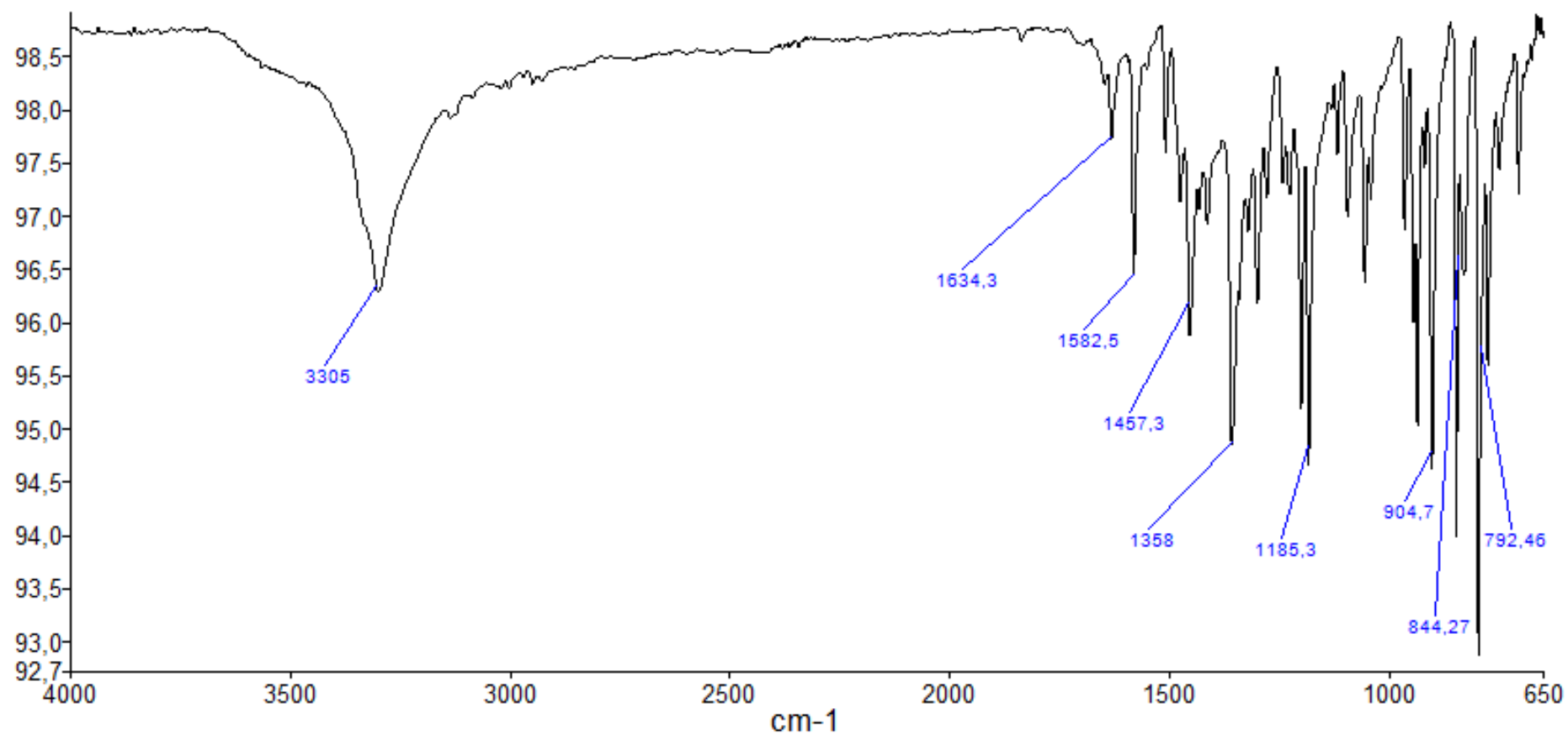
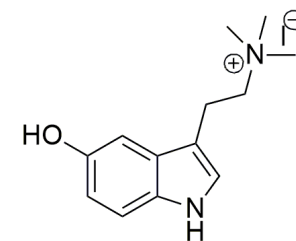
Anexo 9. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz) de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (7)



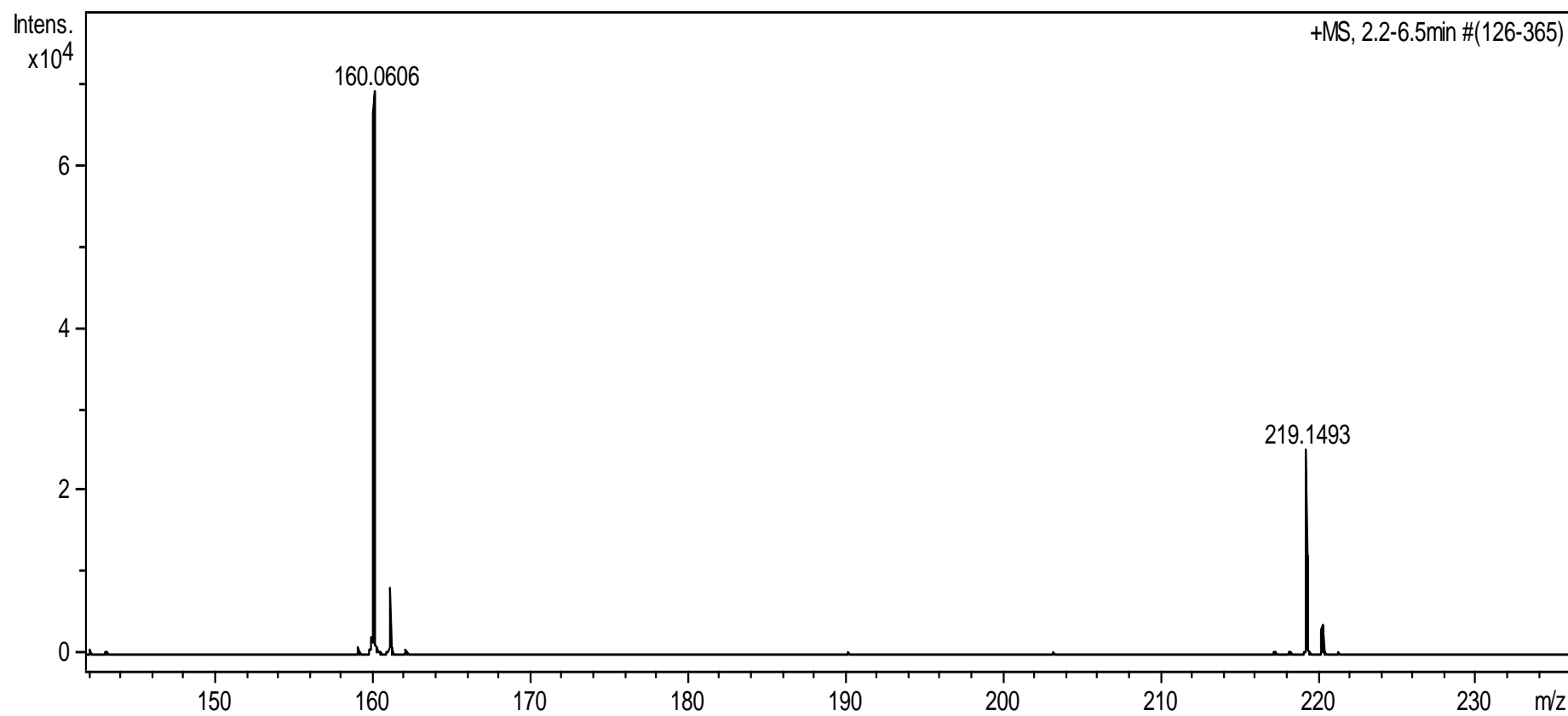
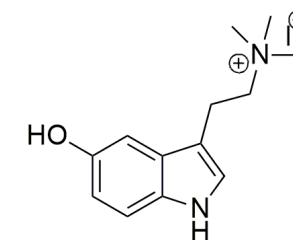
Anexo 10. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (7)



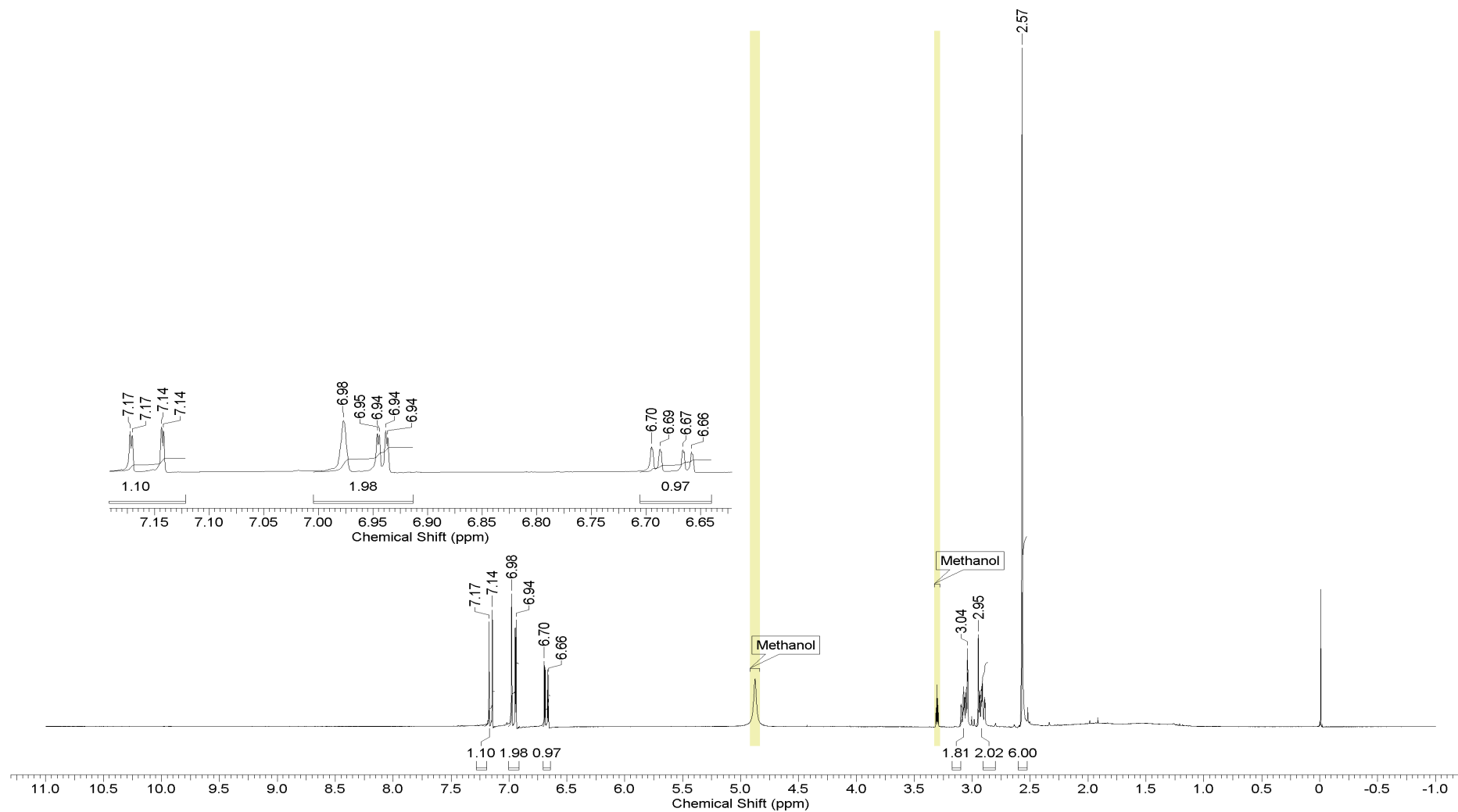
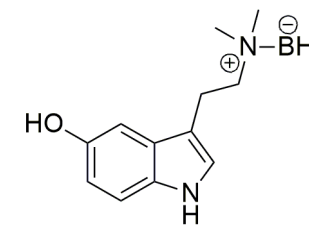
Anexo 11. Espectro de Infravermelho (ATR) de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltryptamina (7)



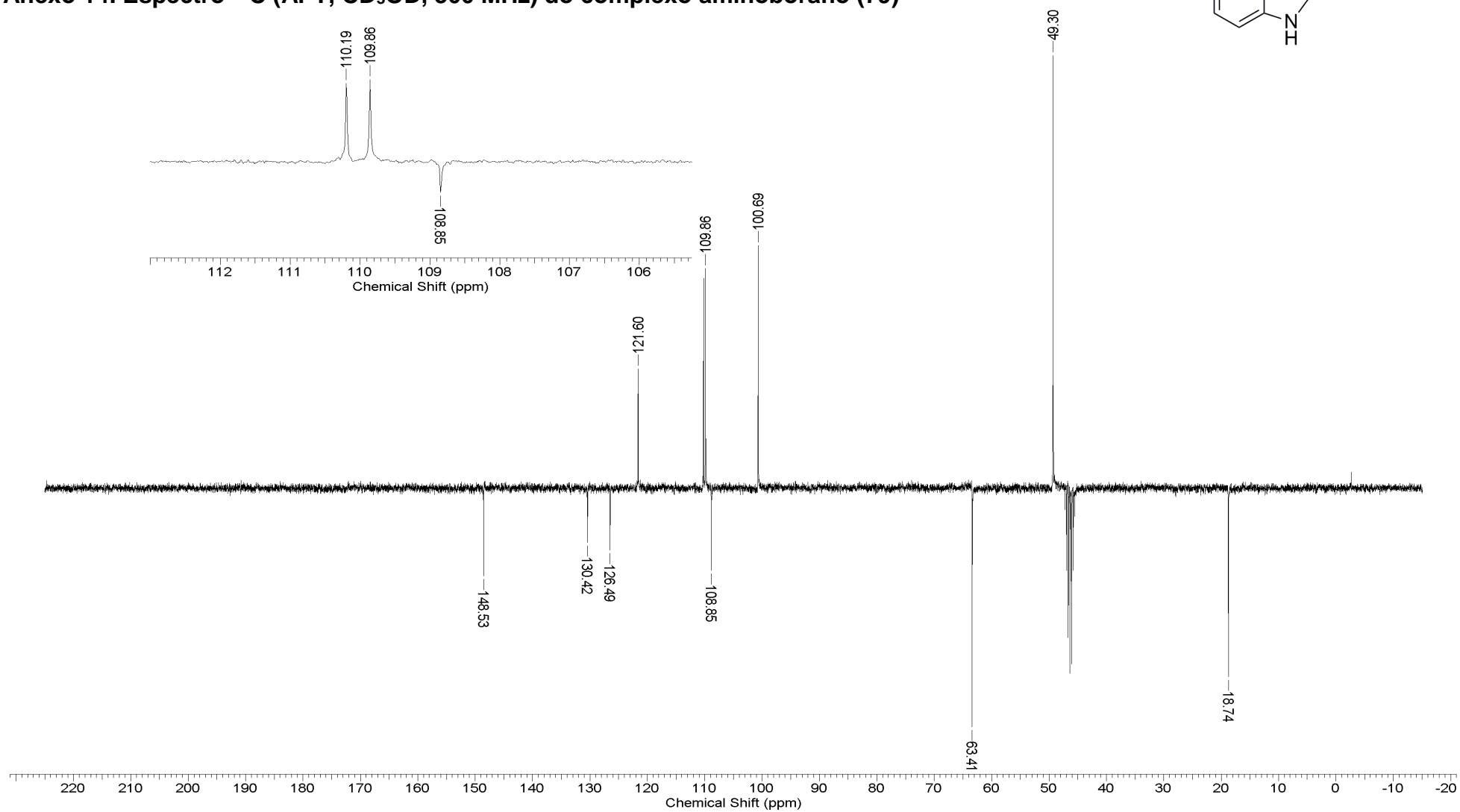
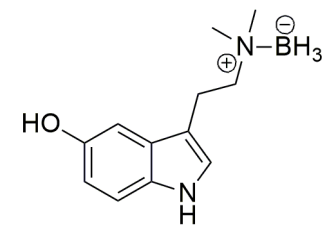
Anexo 12. Espectro de HRESI/MS de 5-hidróxi-*N,N,N*-trimetiltriptamina (7)

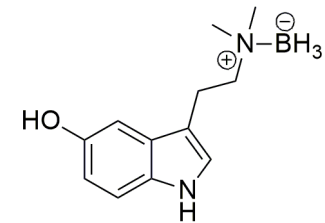


Anexo 13. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz) do complexo aminoborano (79)



Anexo 14. Espectro ^{13}C (APT, CD_3OD , 300 MHz) do complexo aminoborano (79)





Anexo 15. Espectro COSY ^1H - ^1H (CD_3OD , 300 MHz) do complexo aminoborano (79)

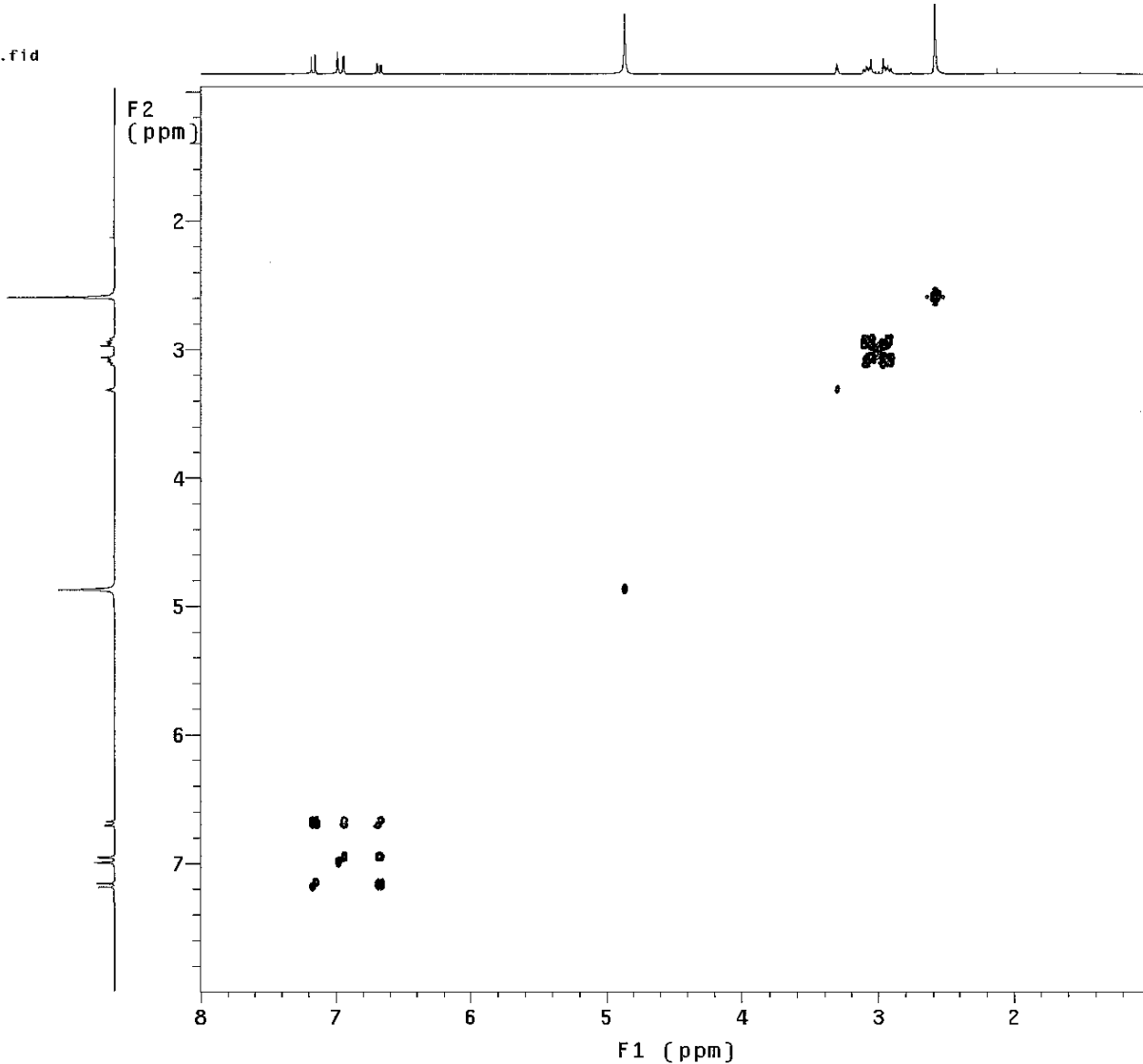
2013-3-1cosy-BH3final
Litmo
Leandro

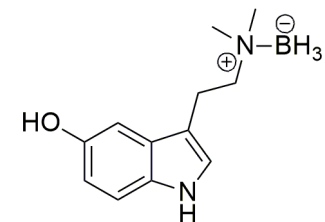
File: /home/alunos/vnmrsys/data/Lucilia/2013-3-2cosy-BH3final.fid

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od
Ambient temperature
Operator: alunos
File: 2013-3-2cosy-BH3final
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.301 sec
Acq. time 0.142 sec
Width 3601.0 Hz
2D Width 3601.0 Hz
Single scan
512 increments
OBSERVE H1, 300.0685495 MHz
DATA PROCESSING
Sq. sine bell 0.071 sec
F1 DATA PROCESSING
Sq. sine bell 0.142 sec
FT size 4096 x 4096
Total time 16 min, 15 sec





Anexo 16. Espectro HMBC (CD₃OD, 300 MHz) do complexo aminoborano (79)

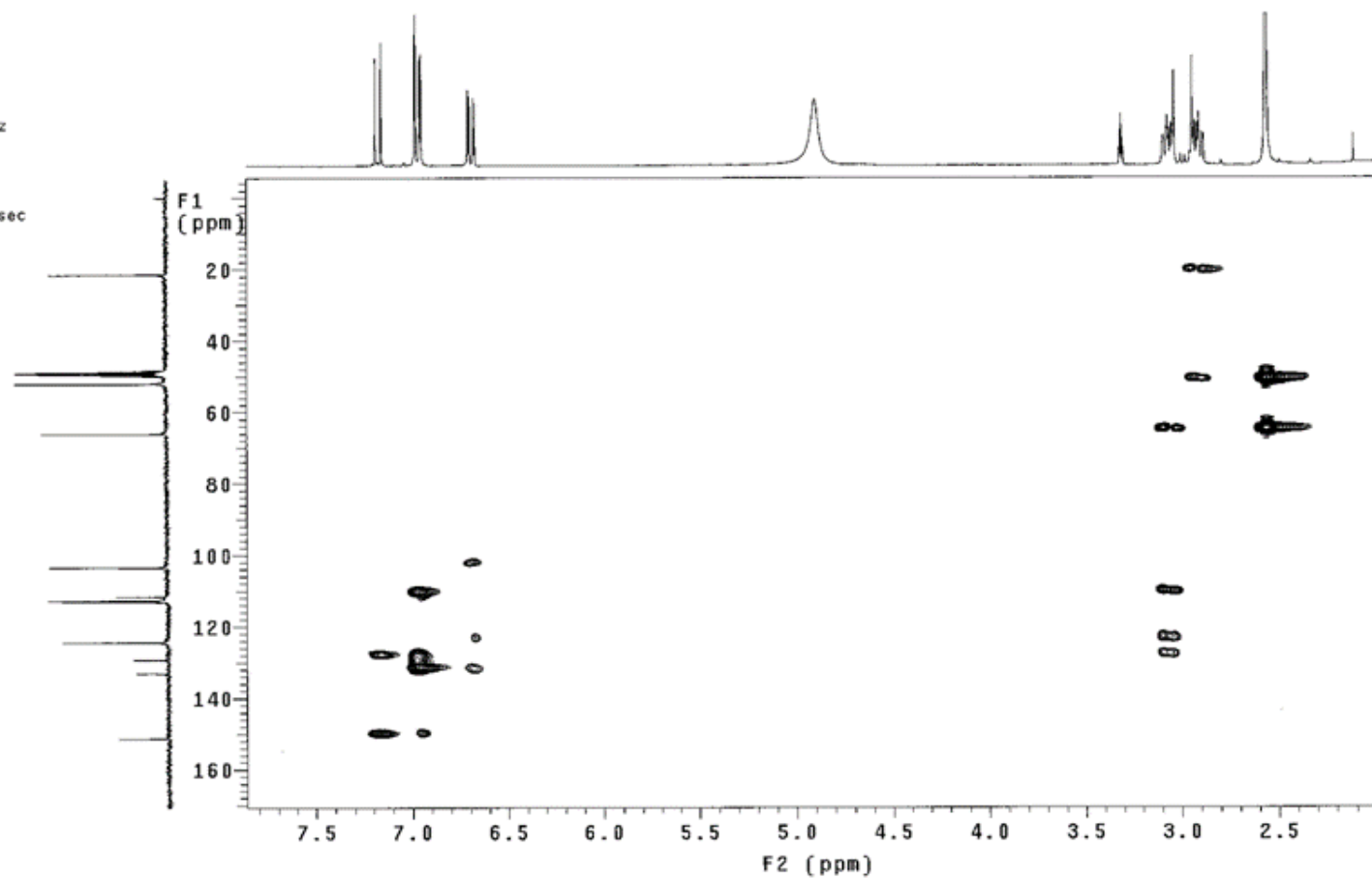
2013-7HMBC-BH3final2

File: /home/alunos/vnarsys/data/Lucilia/2013-7HMBC-BH3final2.fid

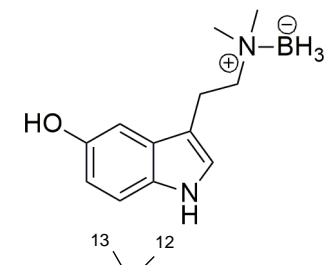
Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od
Ambient temperature
Operator: alunos
File: 2013-7HMBC-BH3final2
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.500 sec
Mixing 0.080 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 2730.0 Hz
2D Width 18107.7 Hz
64 repetitions
128 increments
OBSERVE H1, 300.0665495 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.007 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 3 hr, 59 min, 14 sec



Anexo 17. Espectro HMQC (CD₃OD, 300 MHz) do complexo aminoborano (79)



2013-6HMQC-BH3final2

File: /home/alunos/vnmrsys/data/Lucilia/2013-6HMQC-BH3final2.fid

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Ambient temperature

Operator: alunos

File: 2013-6HMQC-BH3final2

Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.128 sec

Width 2730.0 Hz

2D Width 12826.7 Hz

64 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 300.0685495 MHz

DECOUPLE C13, 75.4579557 MHz

Low power 10 dB atten.

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

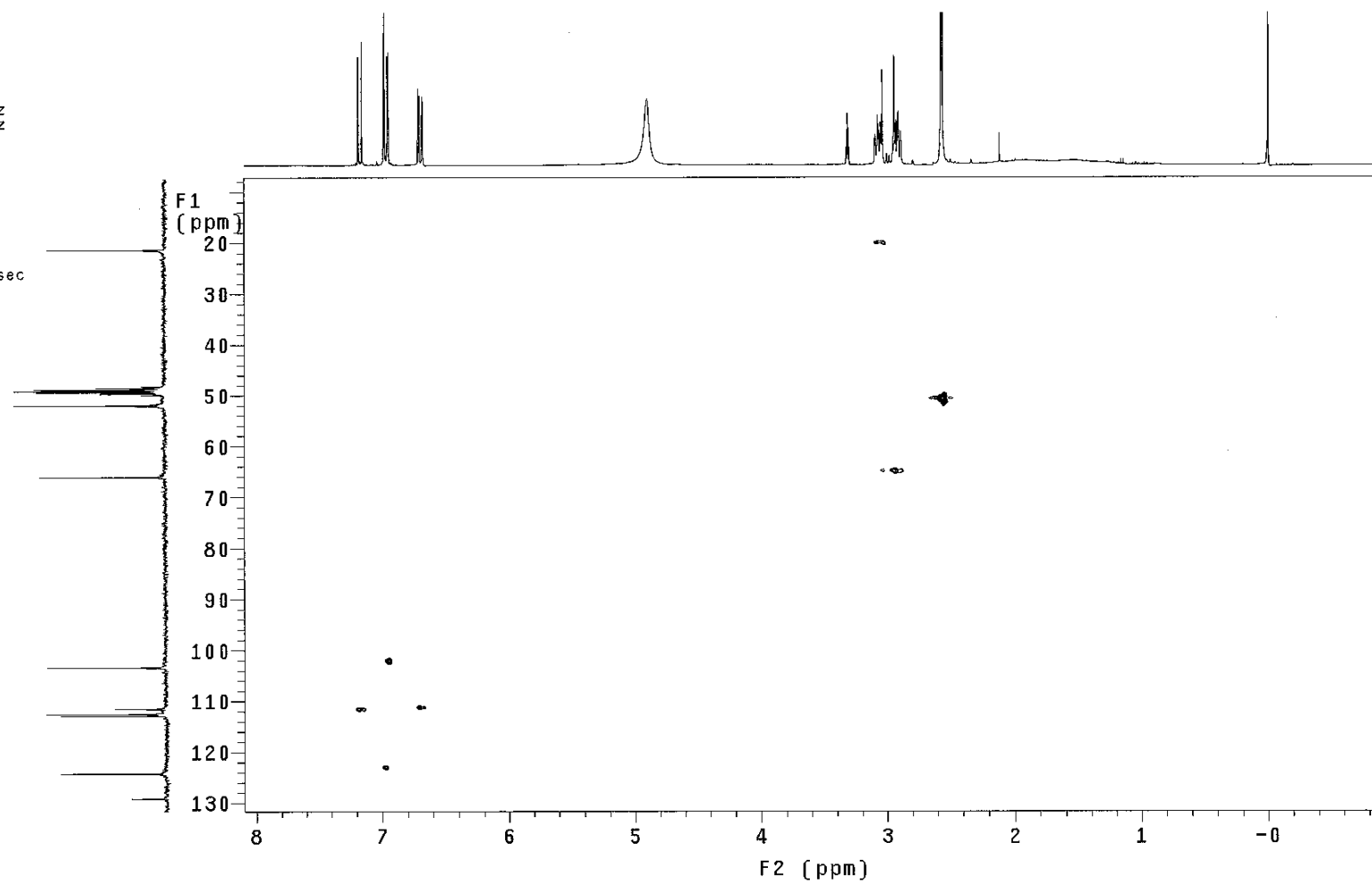
Gauss apodization 0.059 sec

F1 DATA PROCESSING

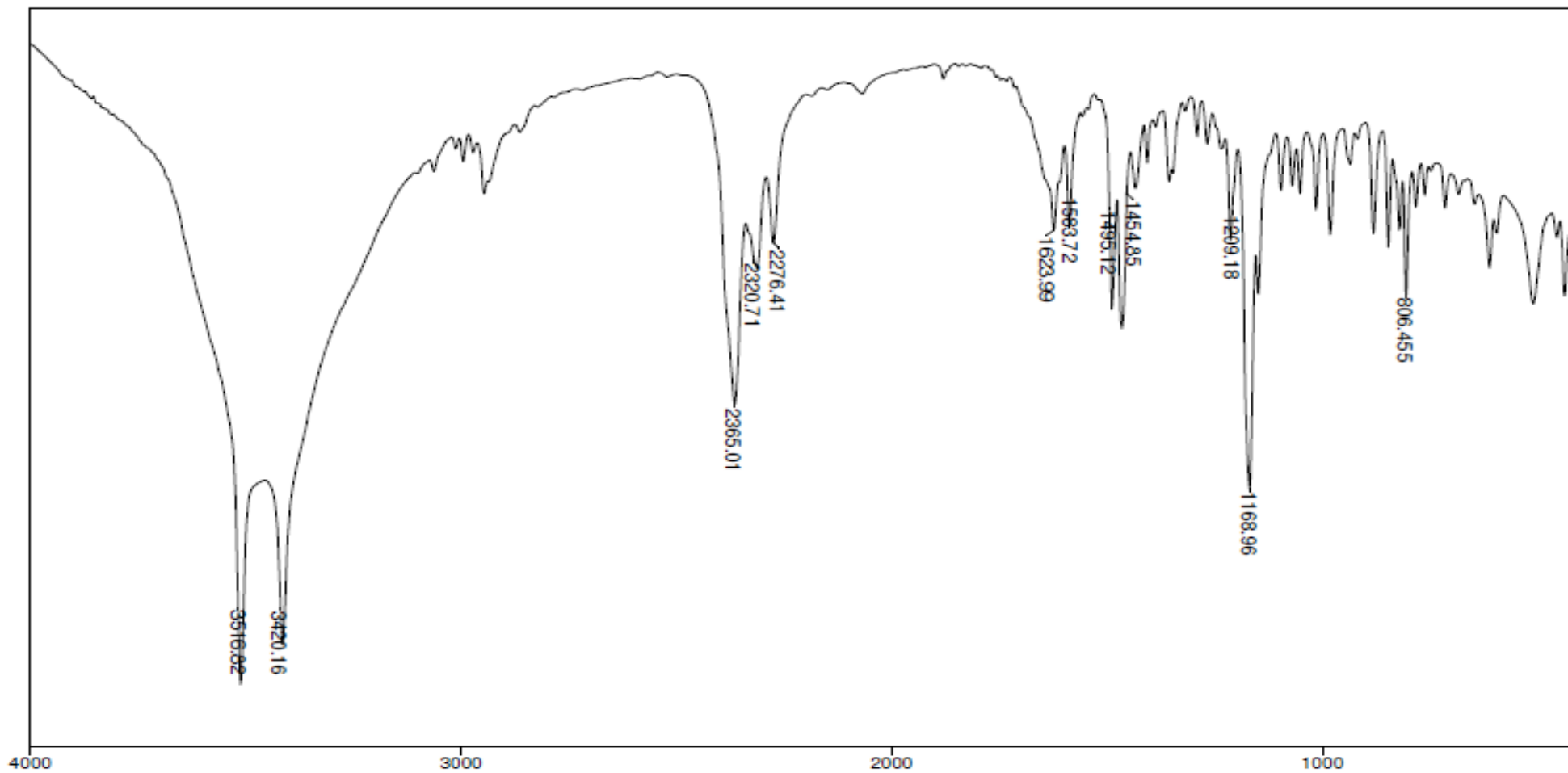
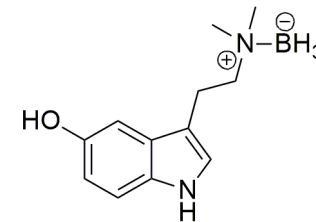
Gauss apodization 0.009 sec

FT size 2048 x 2048

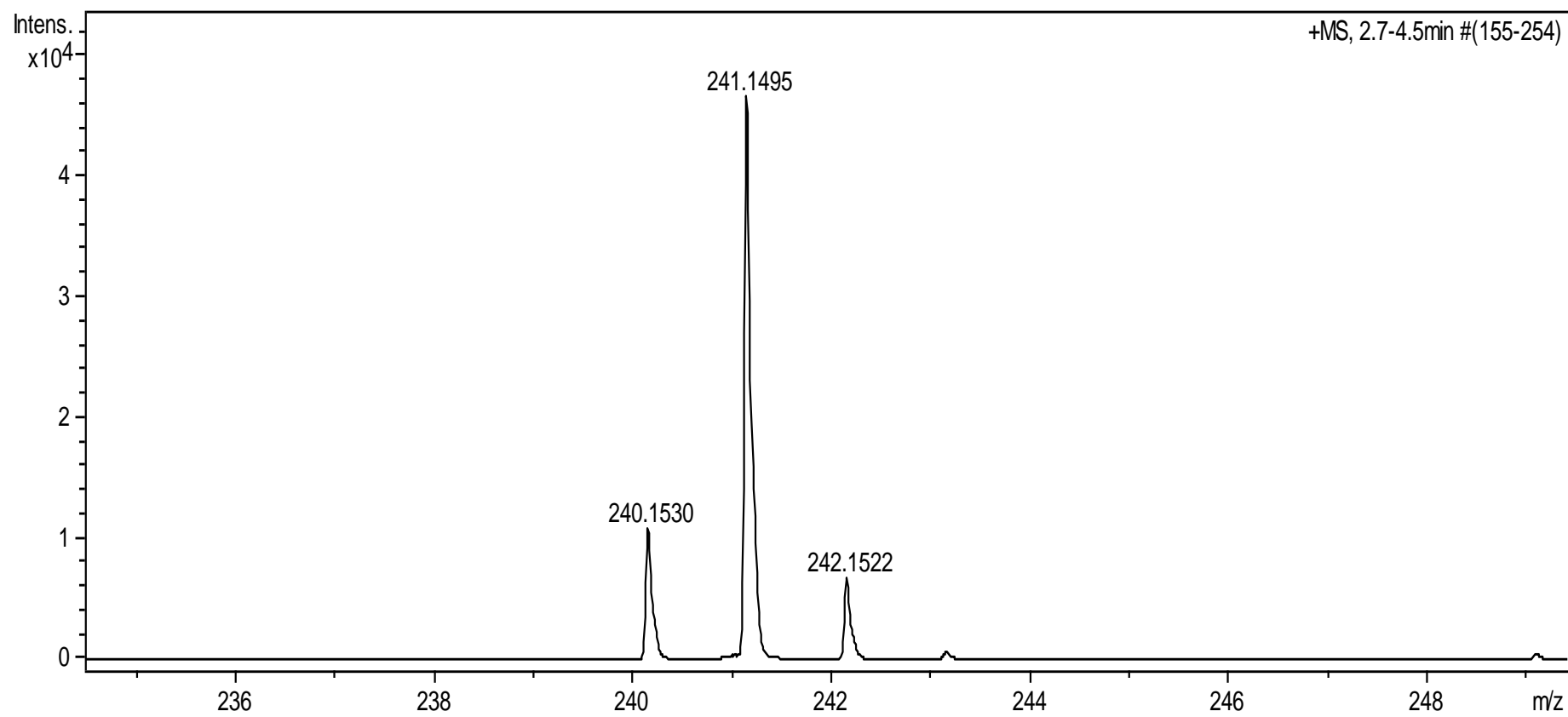
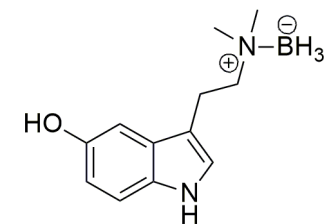
Total time 5 hr, 32 min, 29 sec



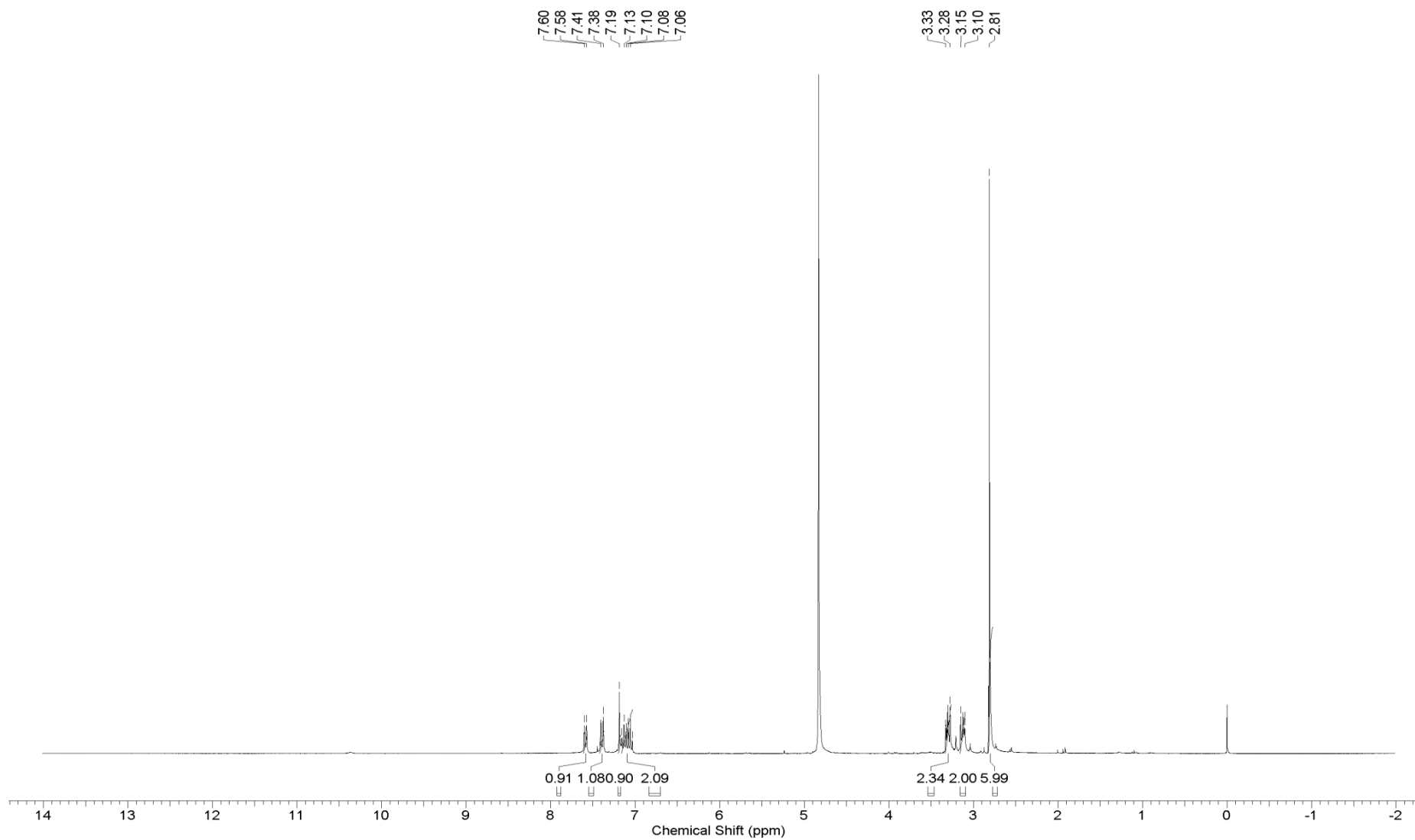
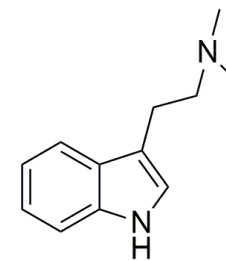
Anexo 18. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) do complexo aminoborano (79)



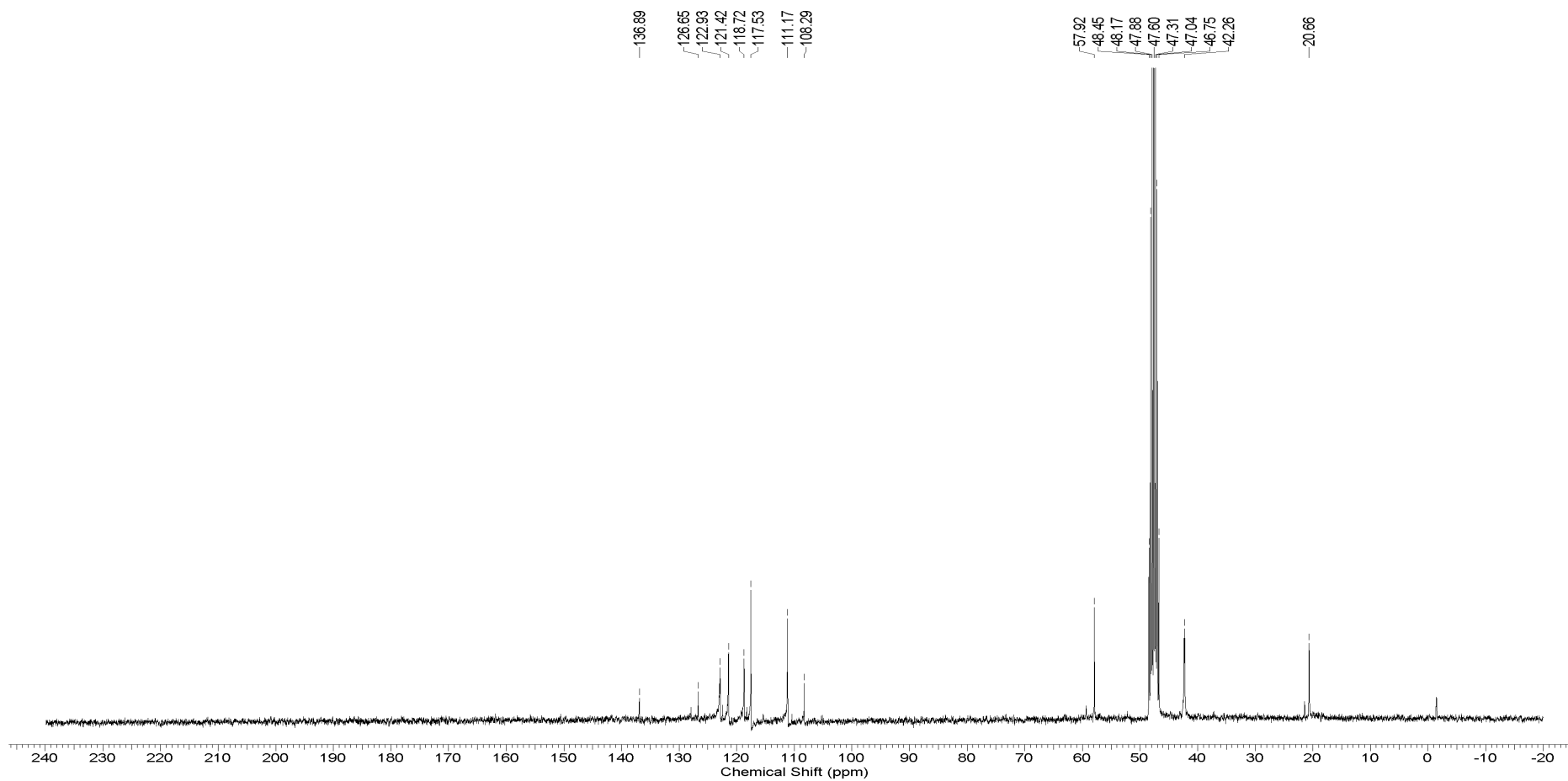
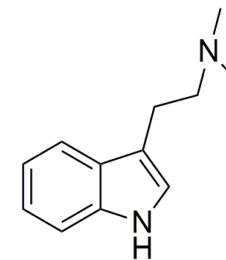
Anexo 19. Espectro de HRESI/MS do complexo aminoborano (79)



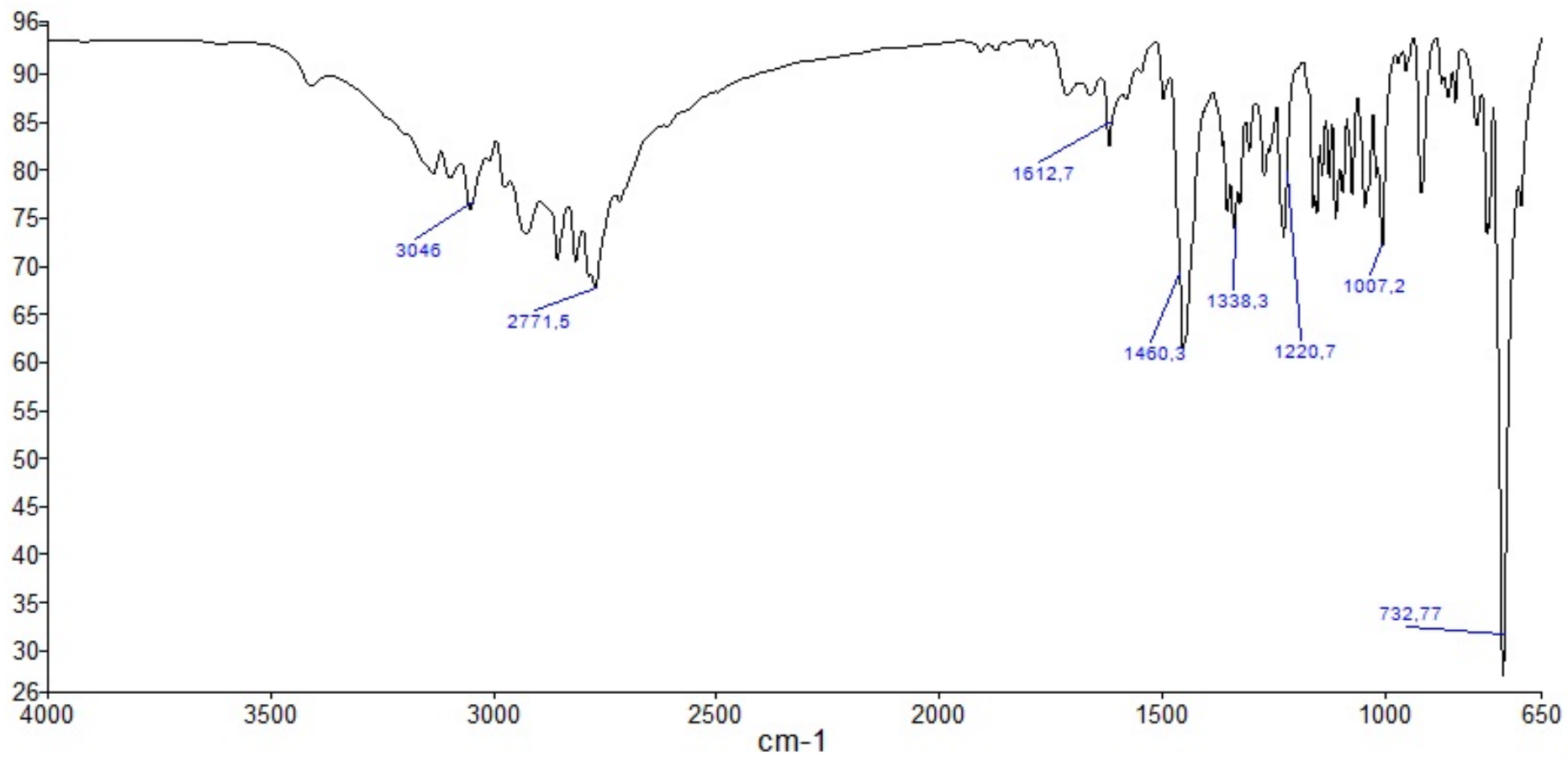
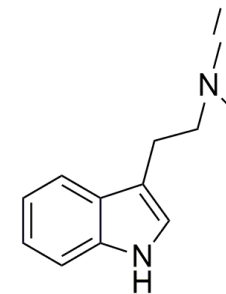
Anexo 20. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz) de *N,N*-Dimetiltriptamina (4)



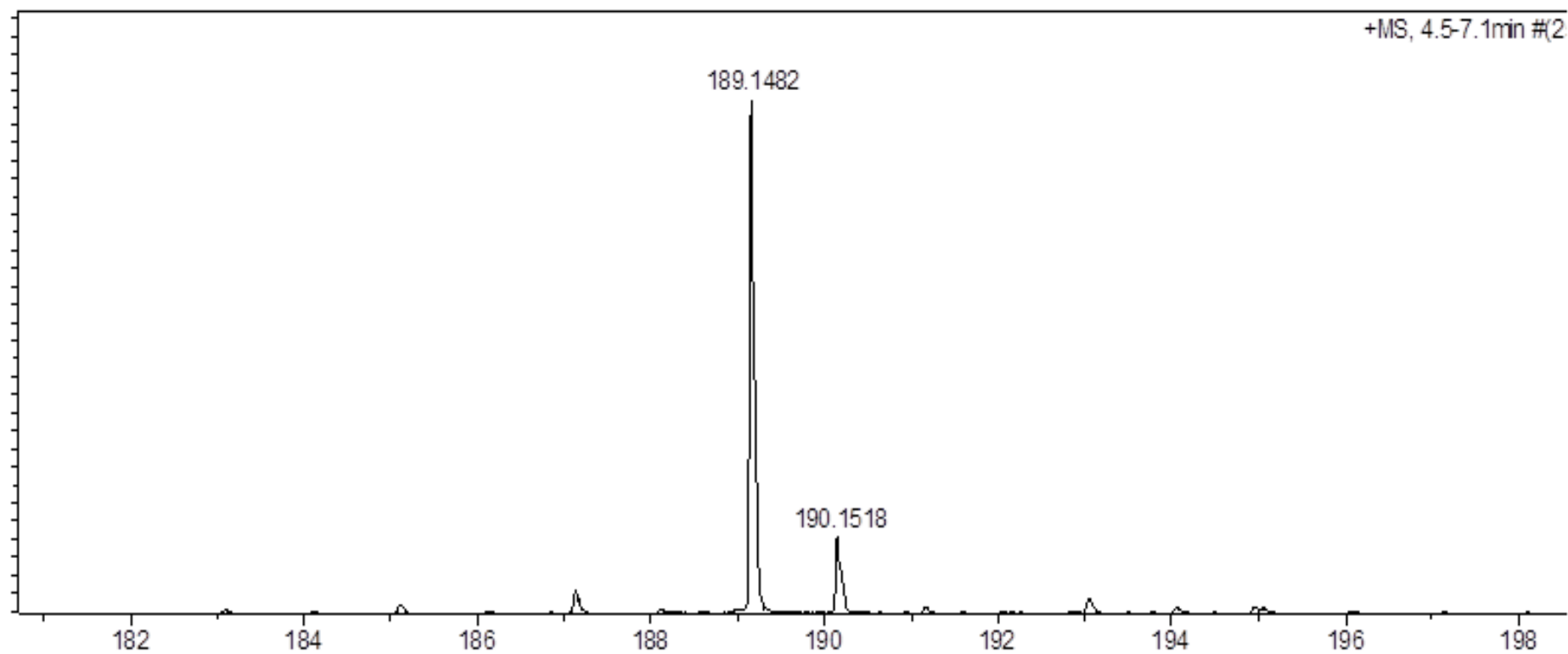
Anexo 21. Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD, 75 MHz) de *N,N*-Dimetiltriptamina (4)



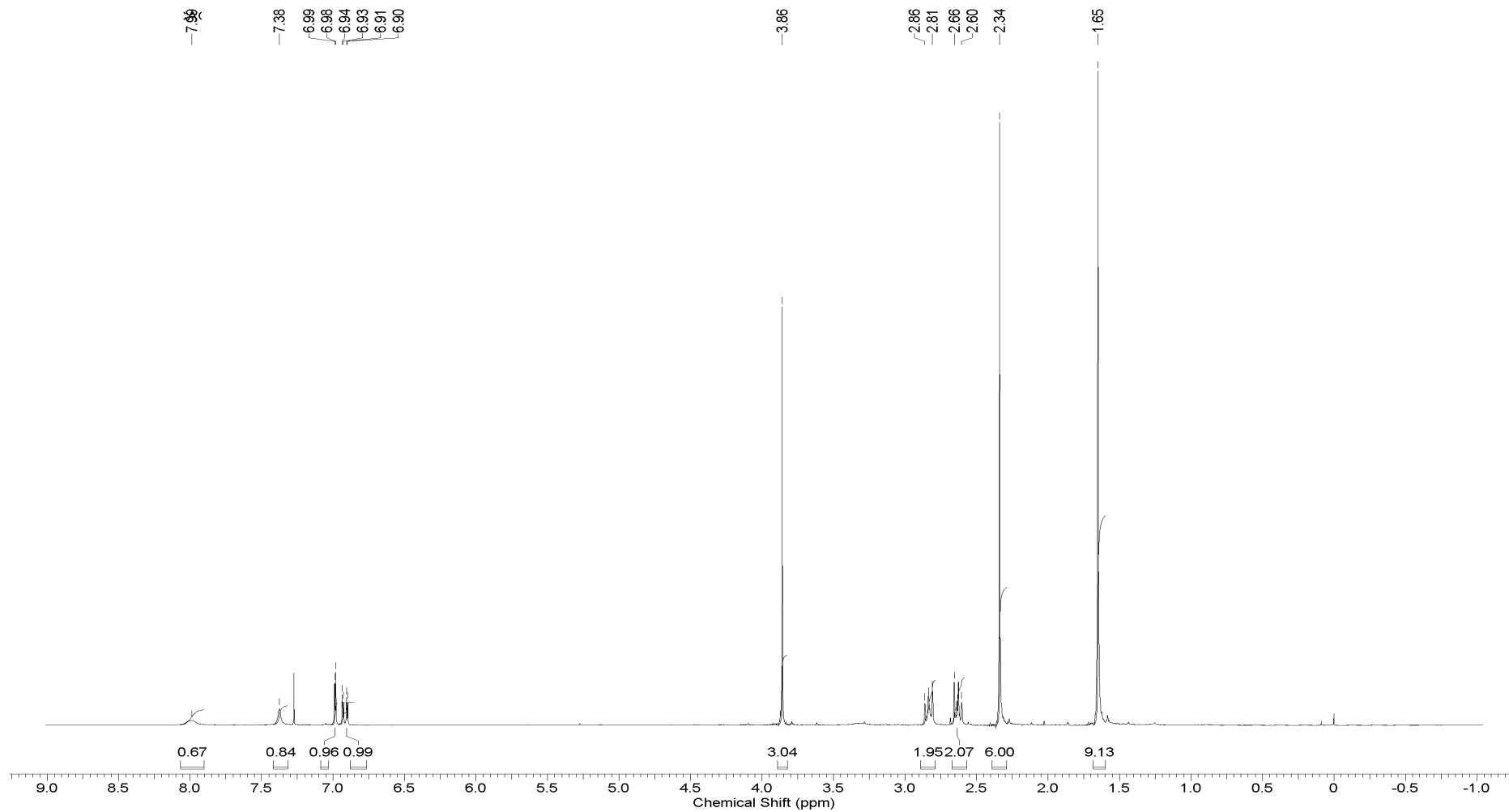
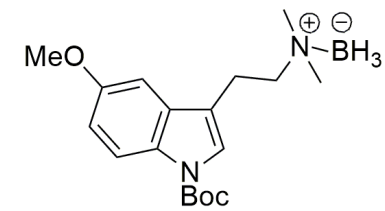
Anexo 22. Espectro de Infravermelho (ATR) *N,N*-dimetiltriptamina (4)



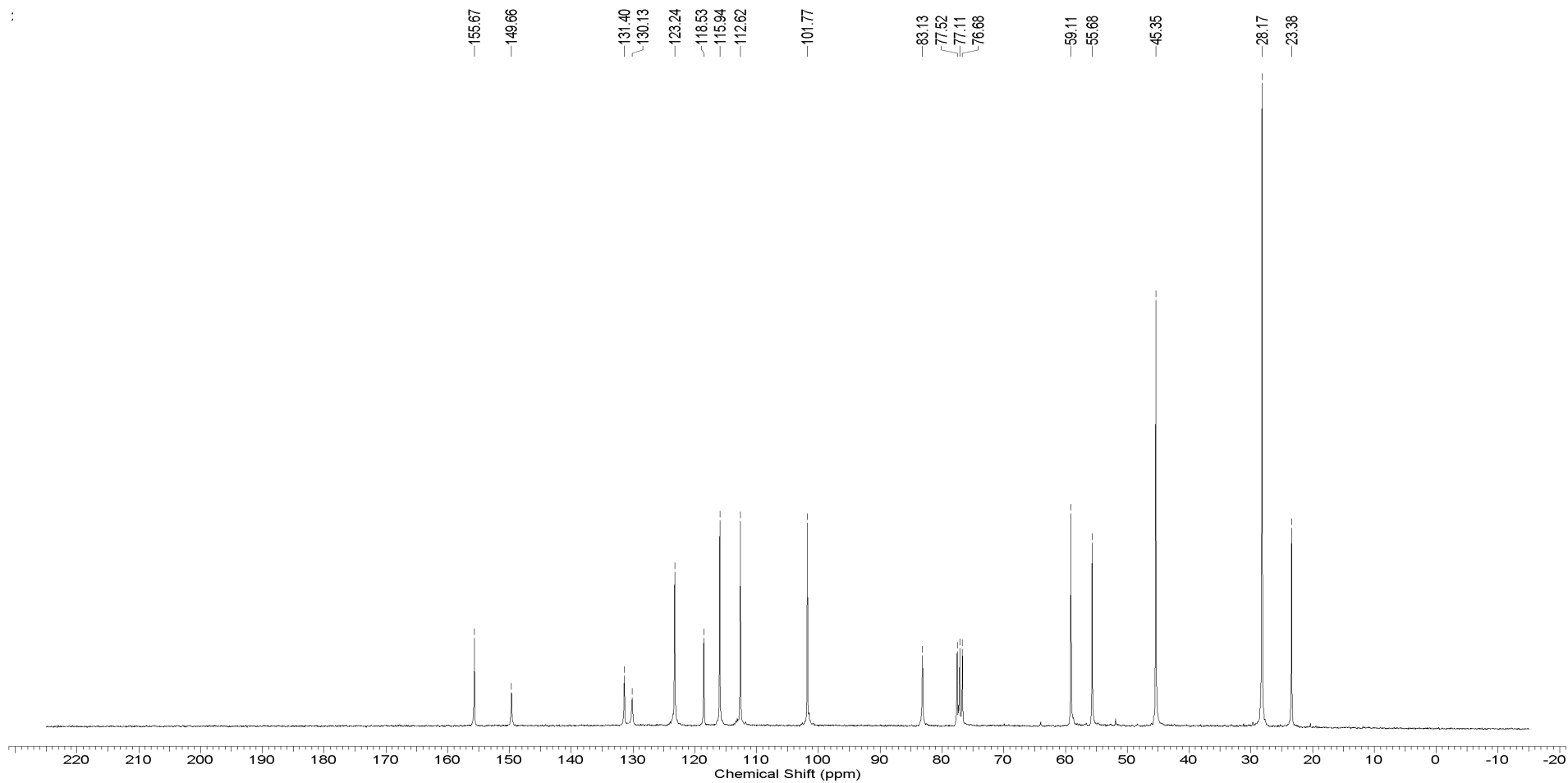
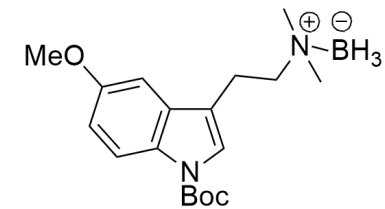
Anexo 23. Espectro de HRESI/MS de *N,N*-dimetiltriptamina (4)



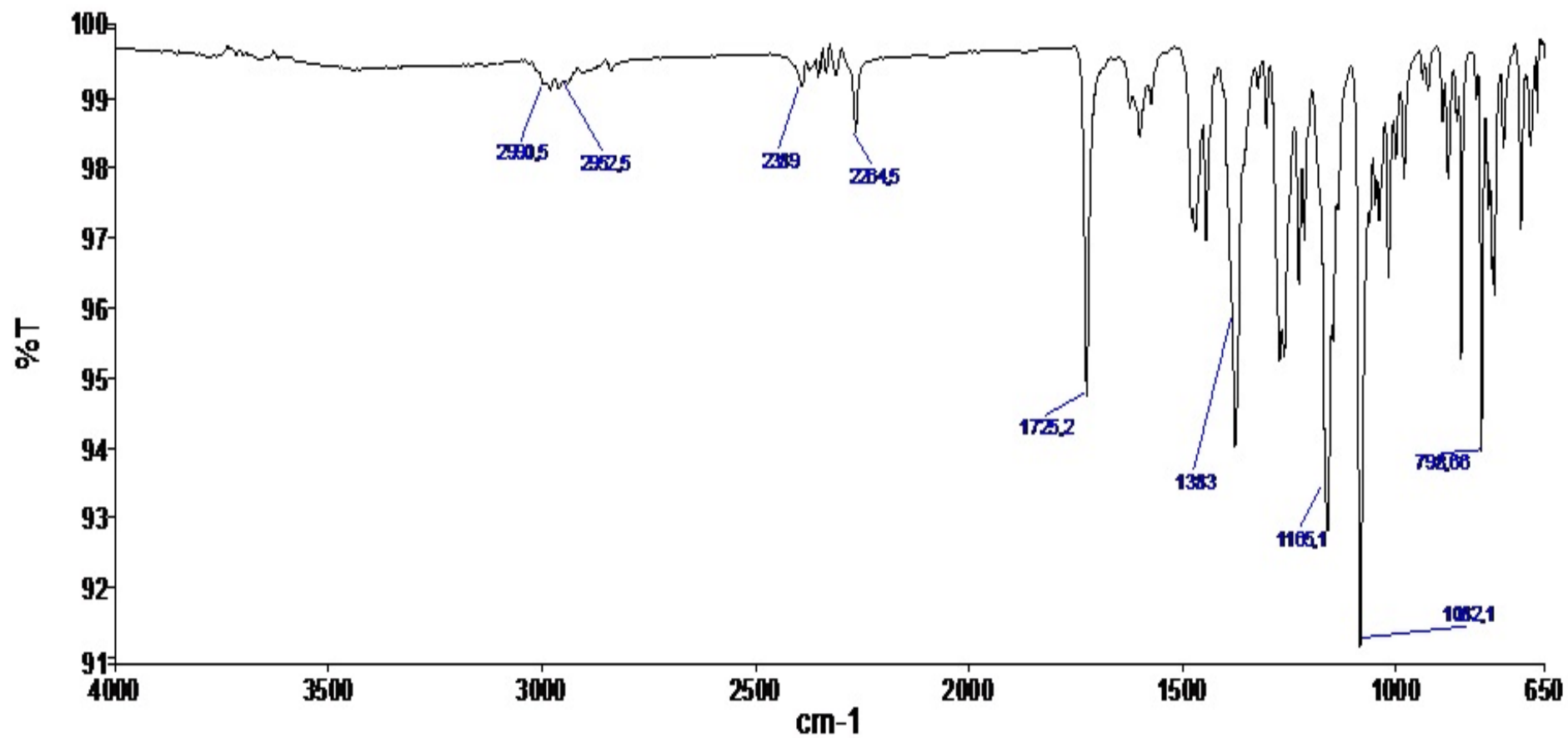
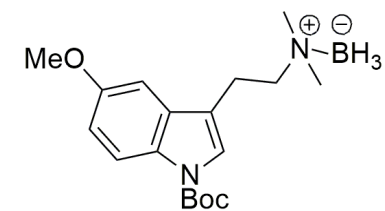
Anexo 24. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 5-Metóxi-N-Boc aminoborano (80)

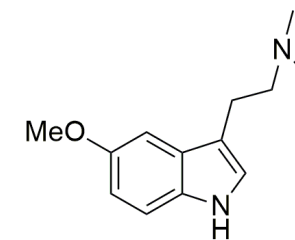


Anexo 25. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de 5-Metóxi-*N*-Boc aminoborano (80)

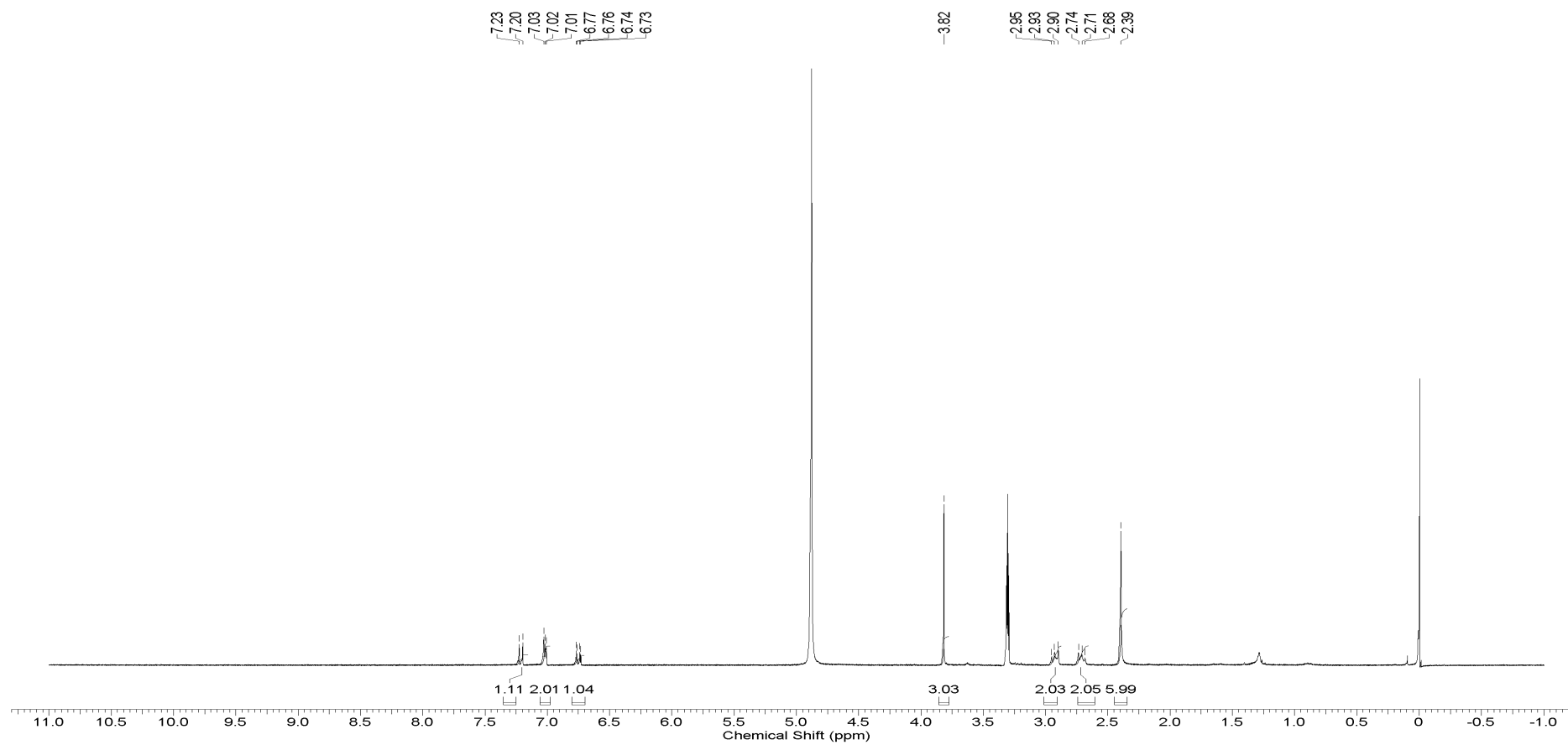


Anexo 26. Espectro de Infravermelho (ATR) de 5-Metóxi-N-Boc aminoborano (80)

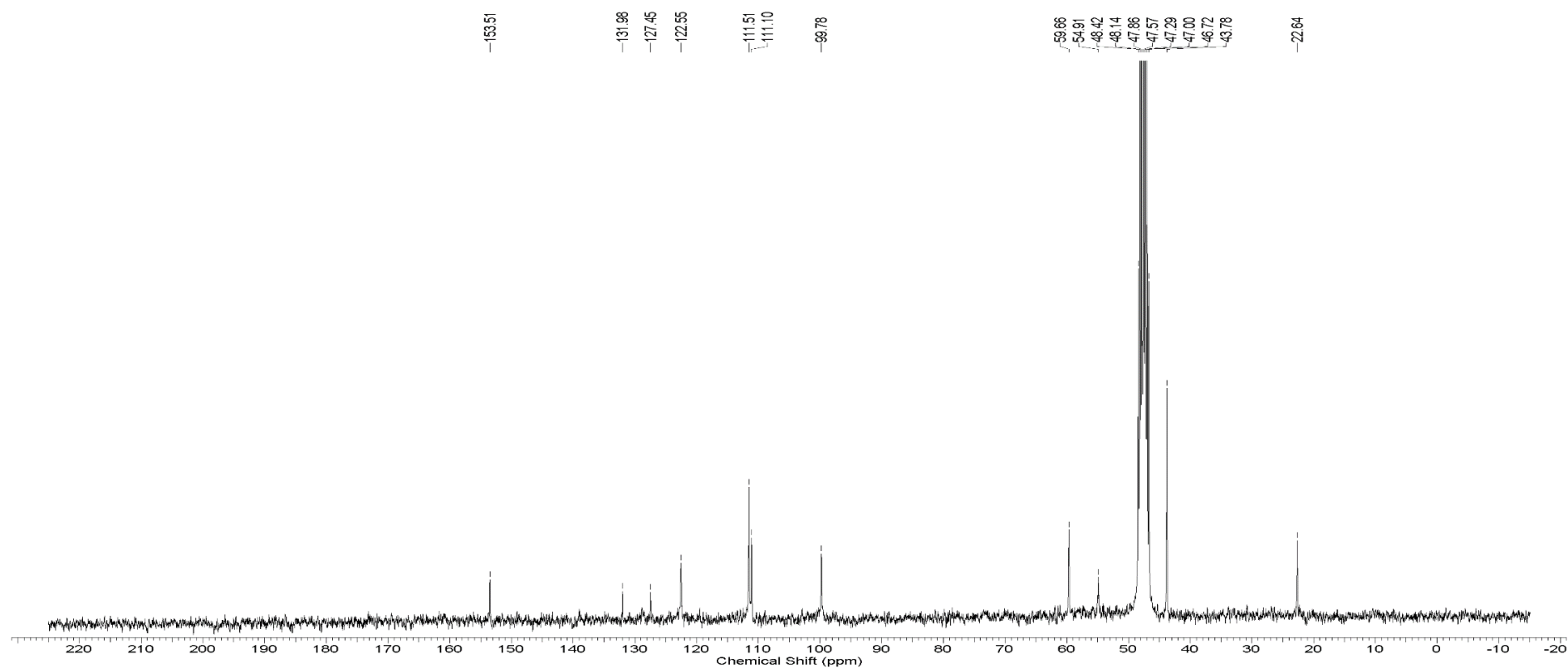
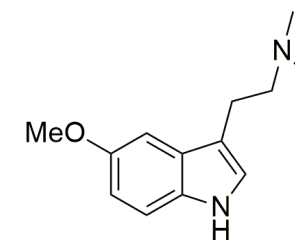


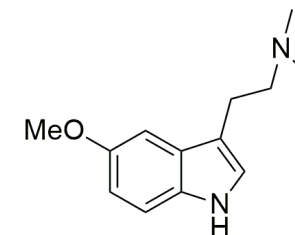


Anexo 27. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 75 MHz) de 5-Metóxi-N,N-dimetiltriptamina (6)

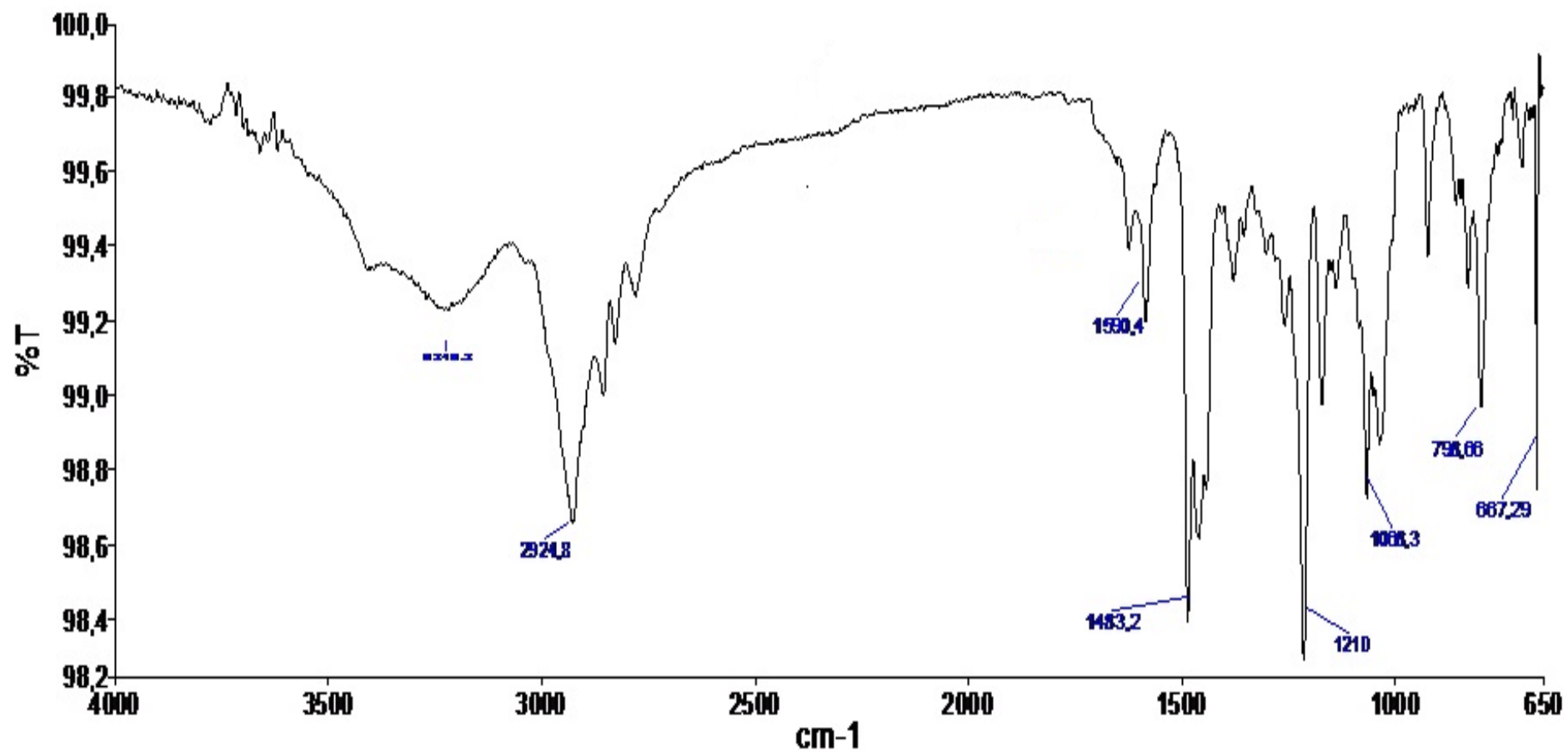


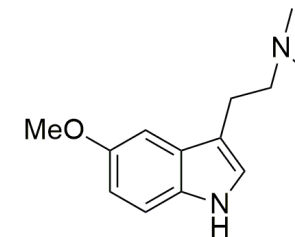
Anexo 28. Espectro de RMN ^{13}H (CDCl_3 , 75 MHz) de 5-Metóxi-*N,N*-dimetiltriptamina (6)



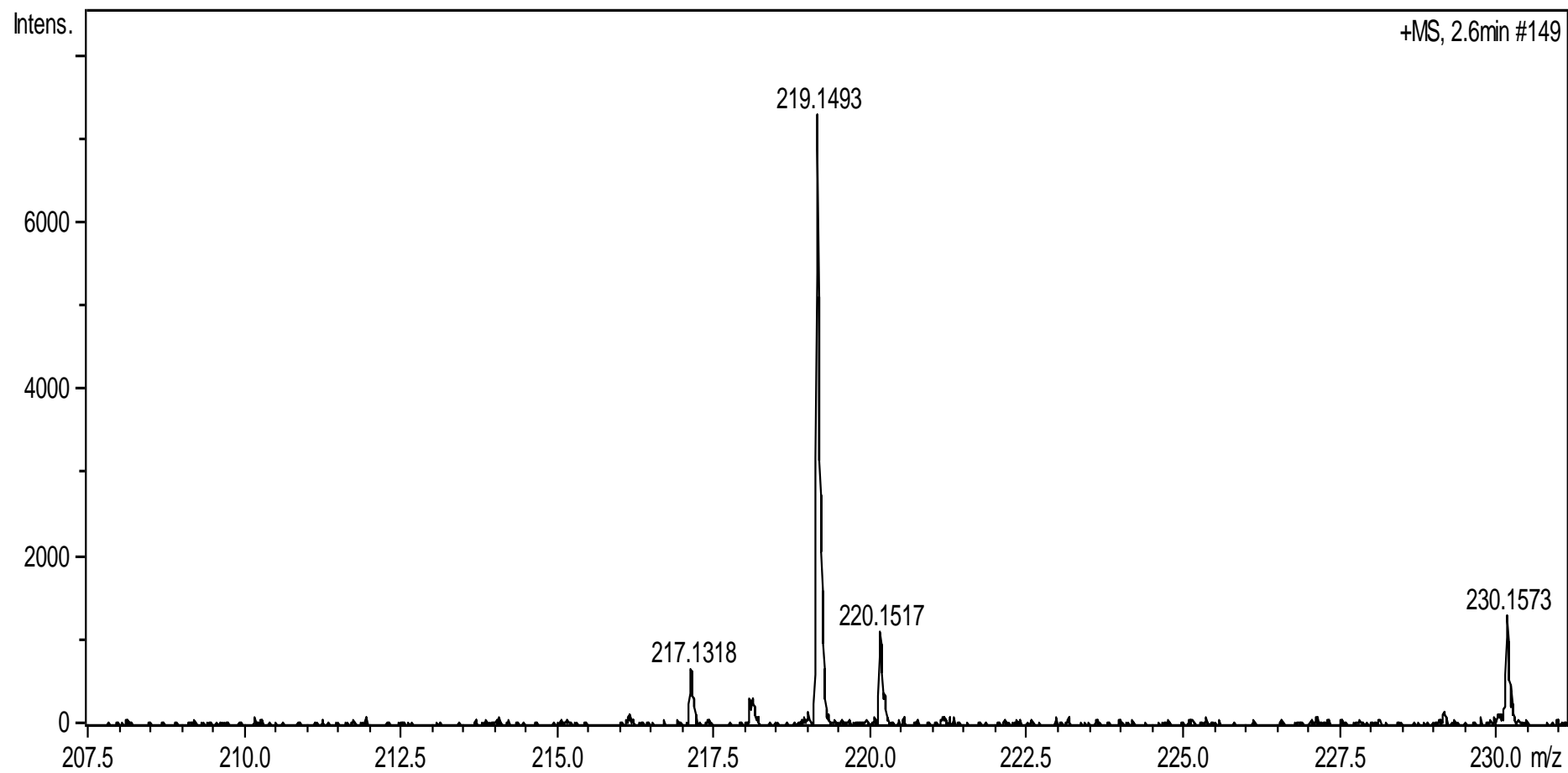


Anexo 29. Espectro de Infravermelho (ATR) de 5-metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina (6)

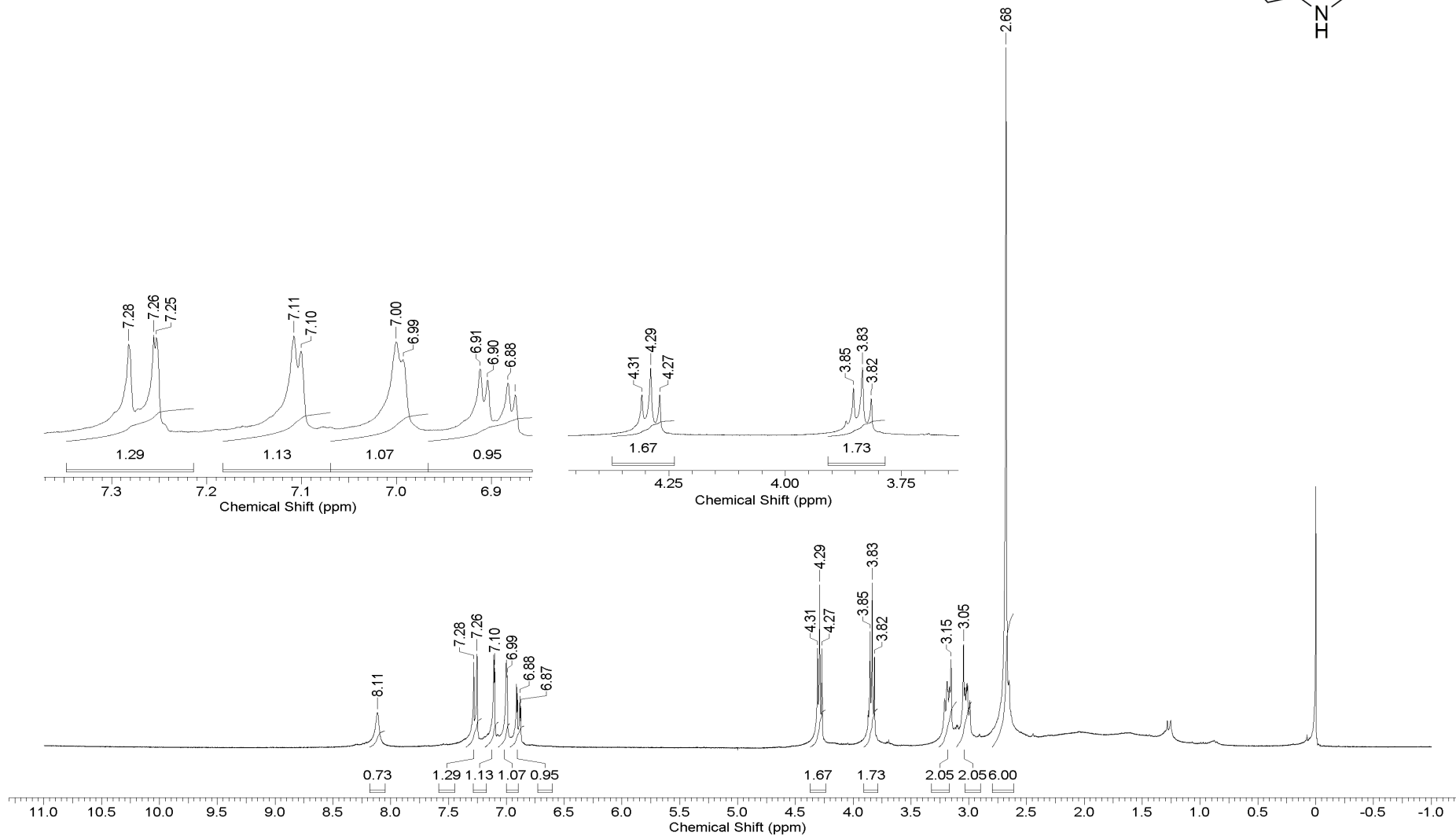
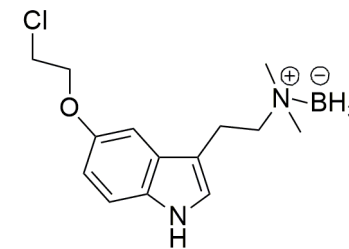




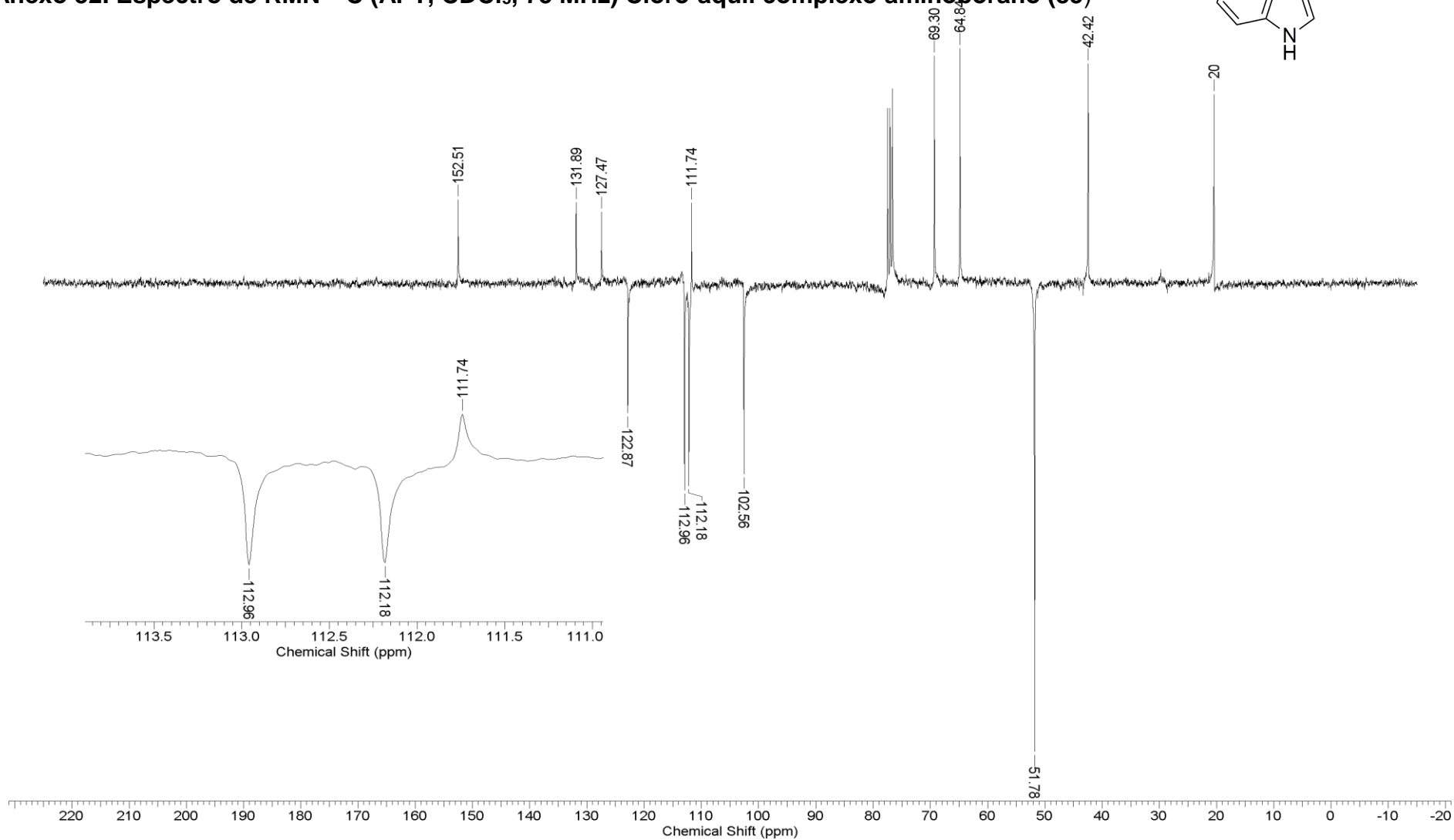
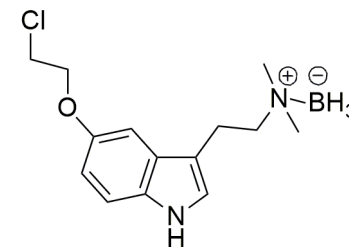
Anexo 30. Espectro de HRESI/MS de 5-metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina (6)

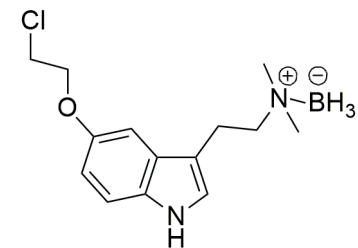


Anexo 31. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do Cloro-aquil complexo aminoborano (85)

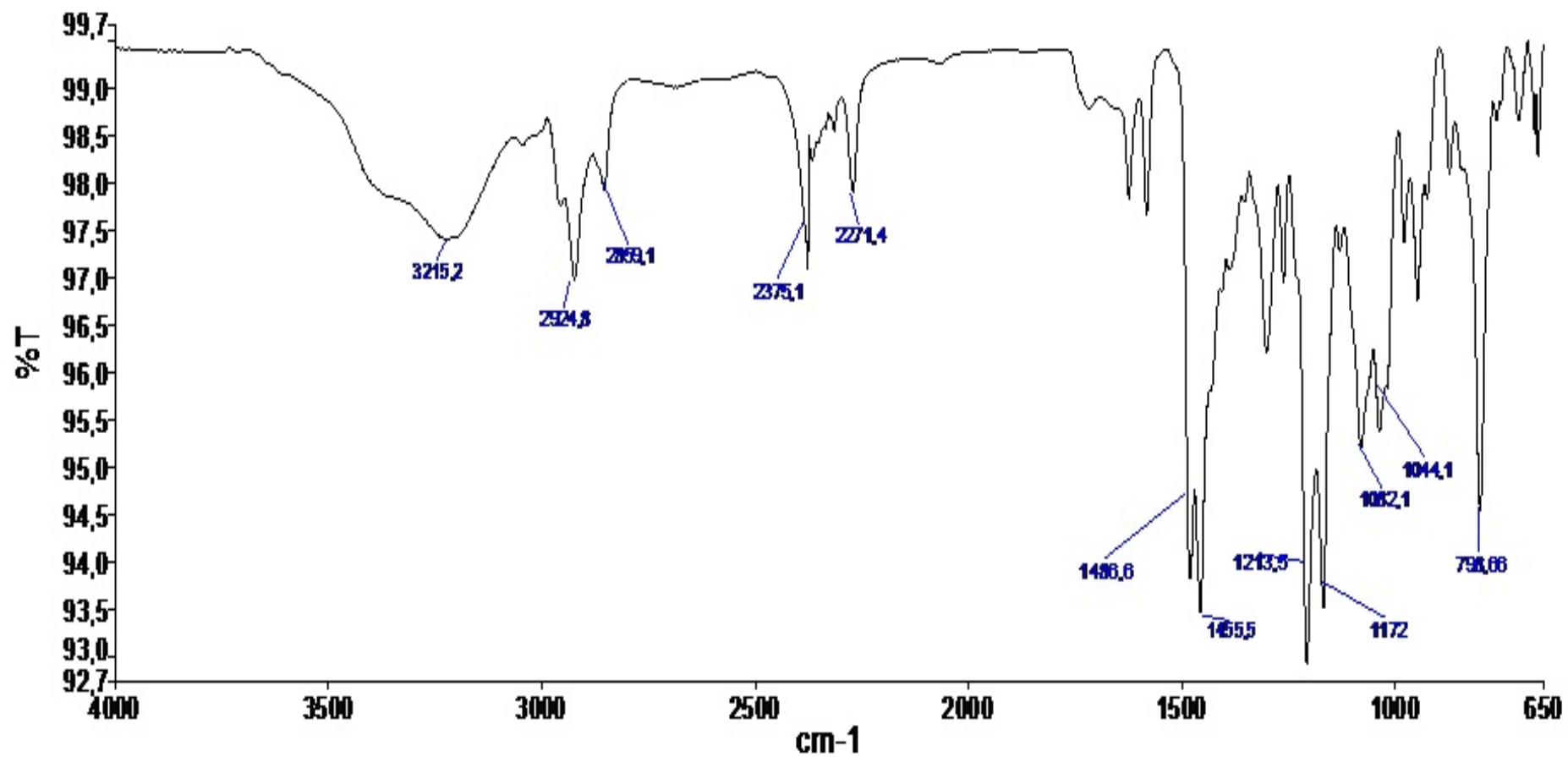


Anexo 32. Espectro de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 75 MHz) Cloro-aquil complejo aminoborano (85)

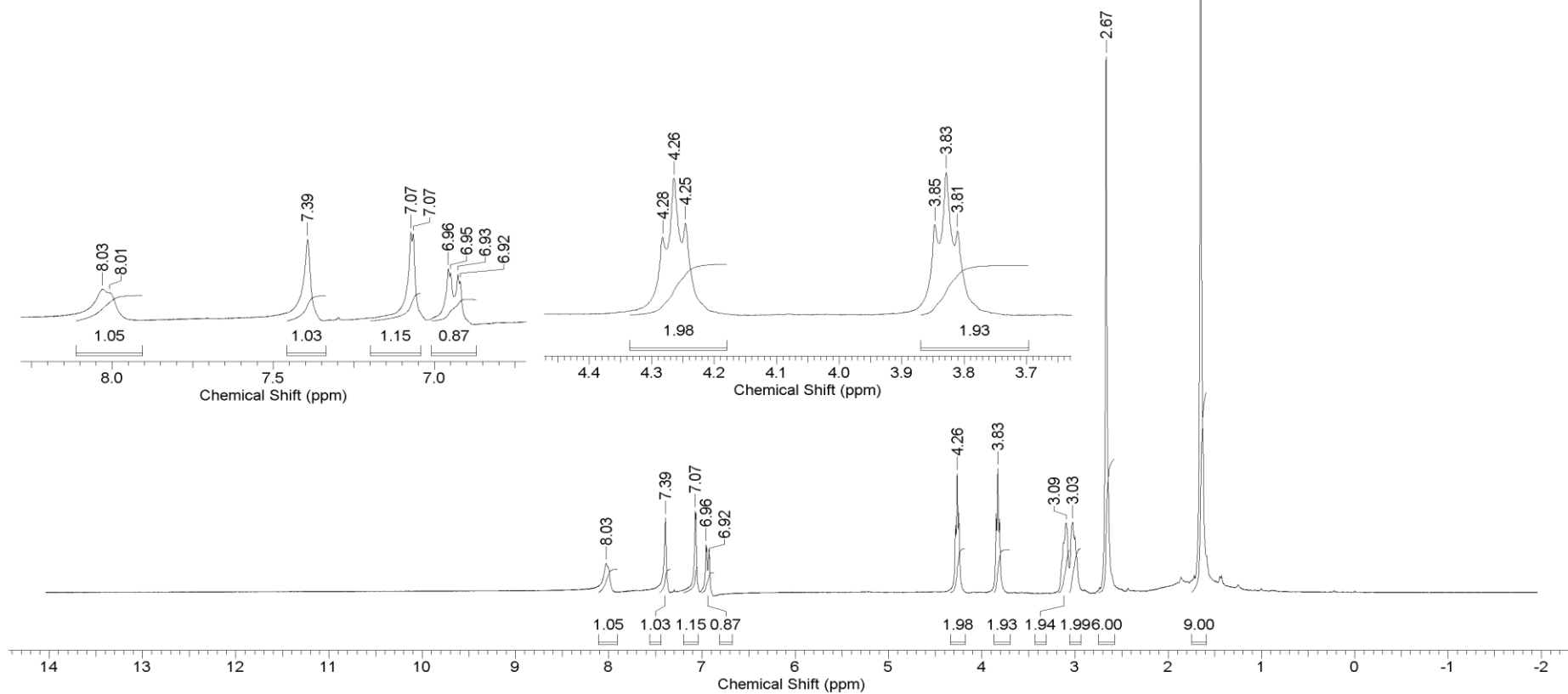
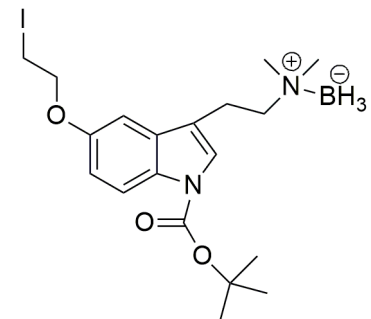




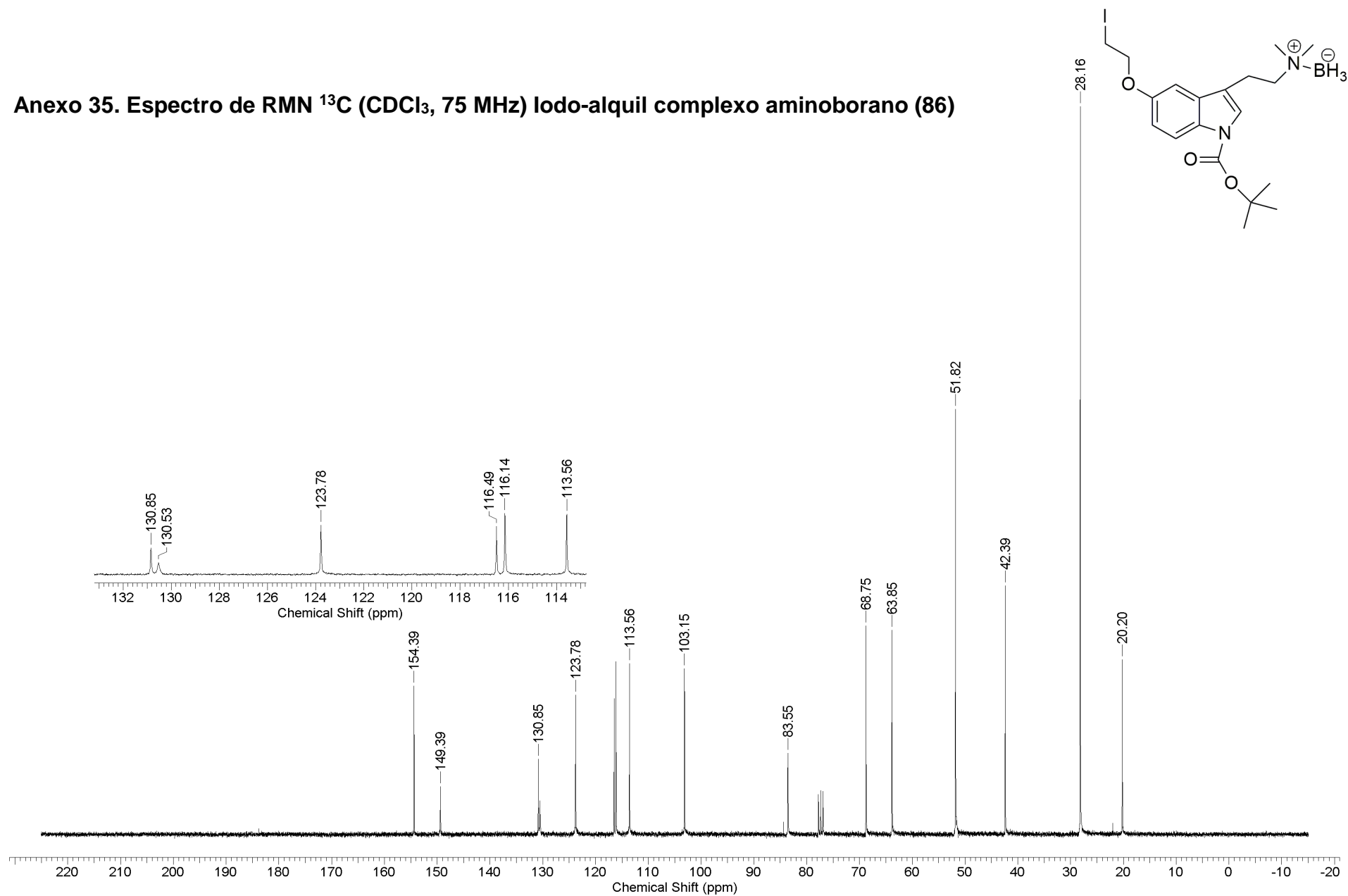
Anexo 33. Espectro de Infravermelho (ATR) do Cloro-aquil complexo aminoborano (85)

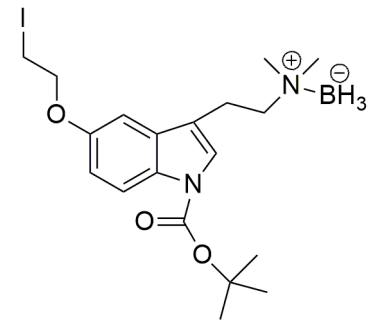


Anexo 34. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do Iodo-alquil complexo aminoborano (86)

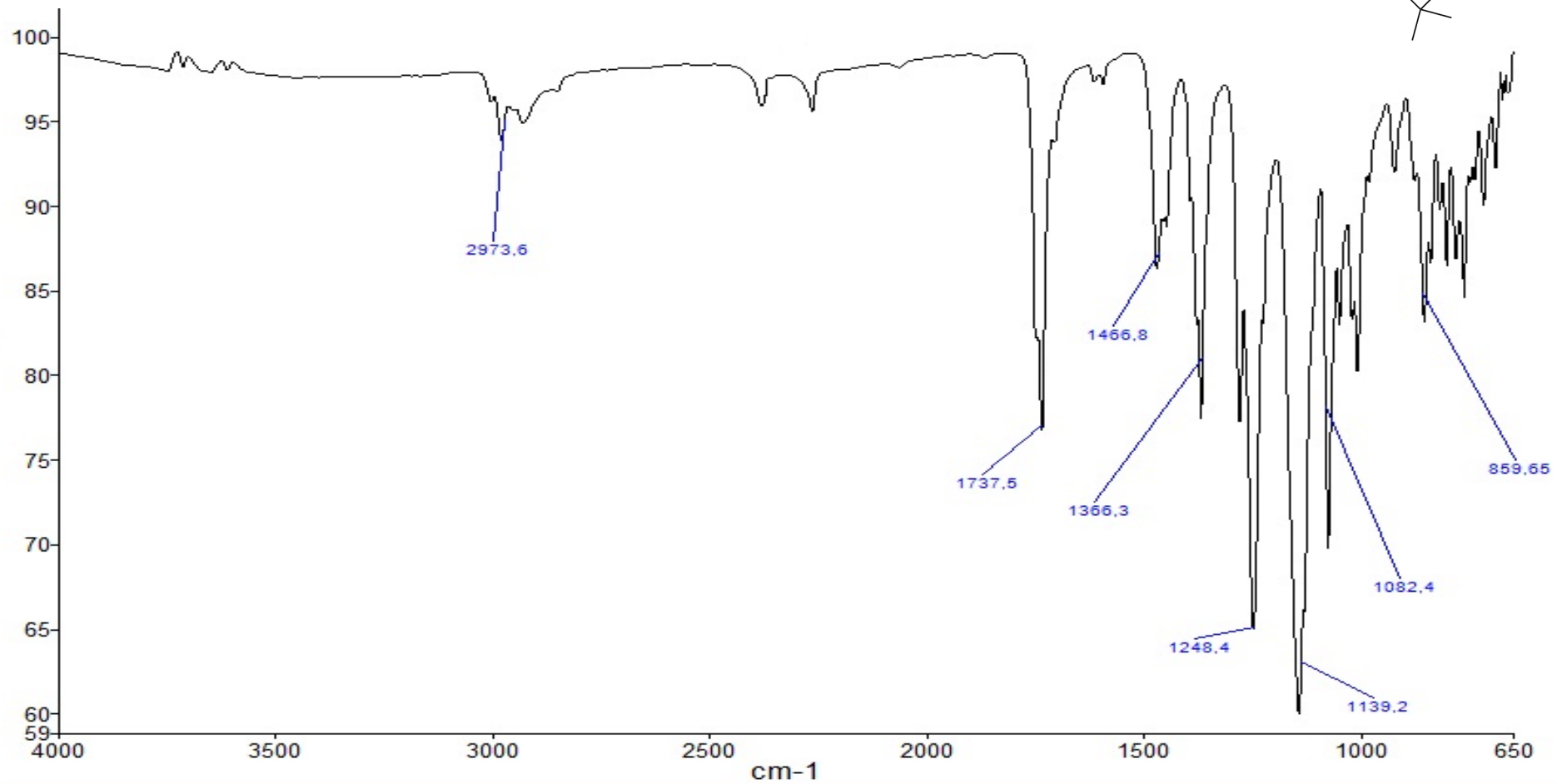


Anexo 35. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) Iodo-alquil complejo aminoborano (86)

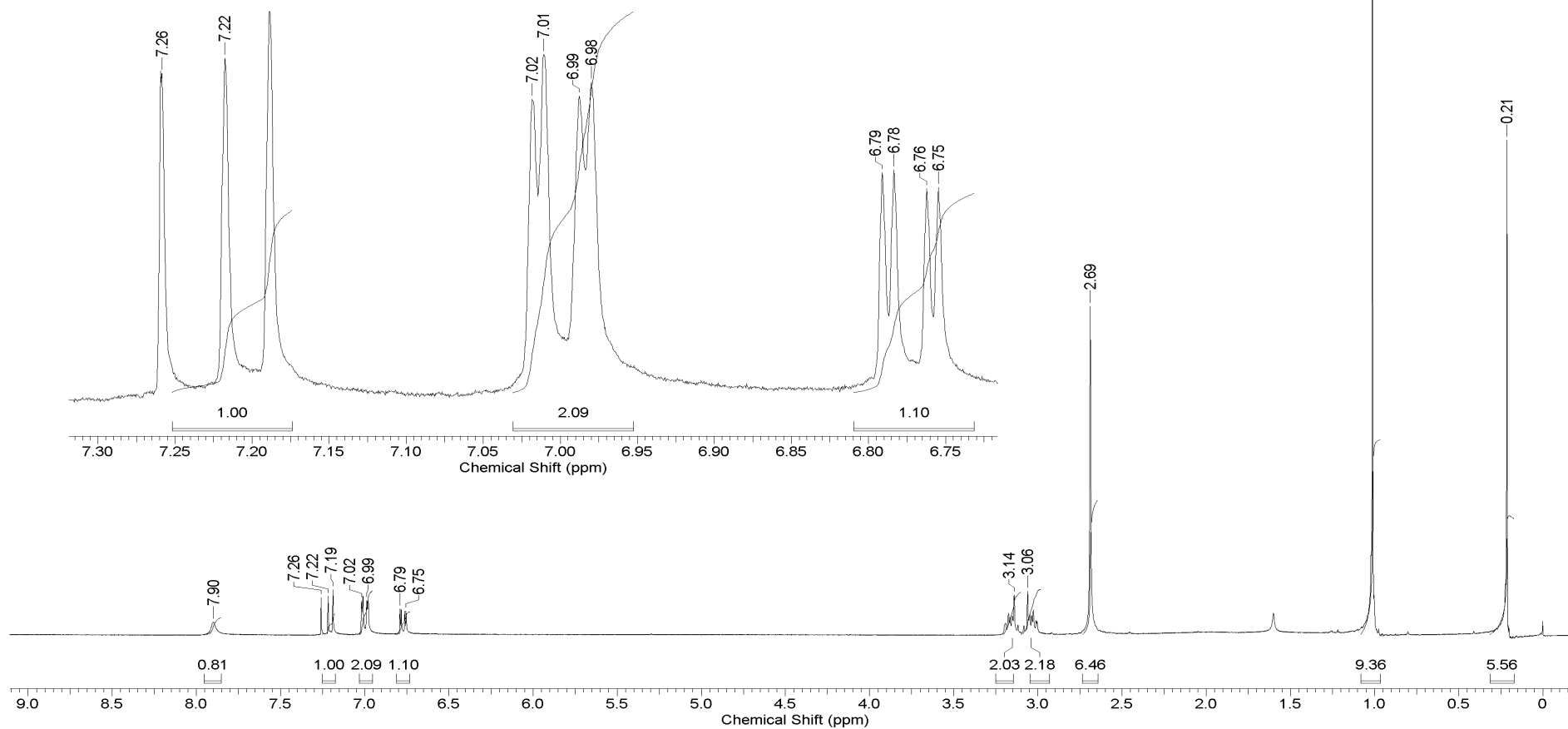
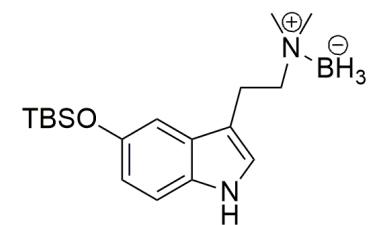


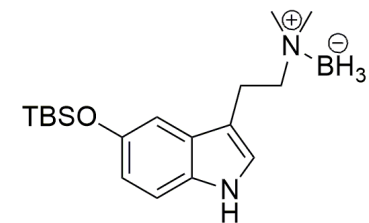


Anexo 36. Espectro de Infravermelho (ATR) do Iodo-alquil complexo aminoborano (86)

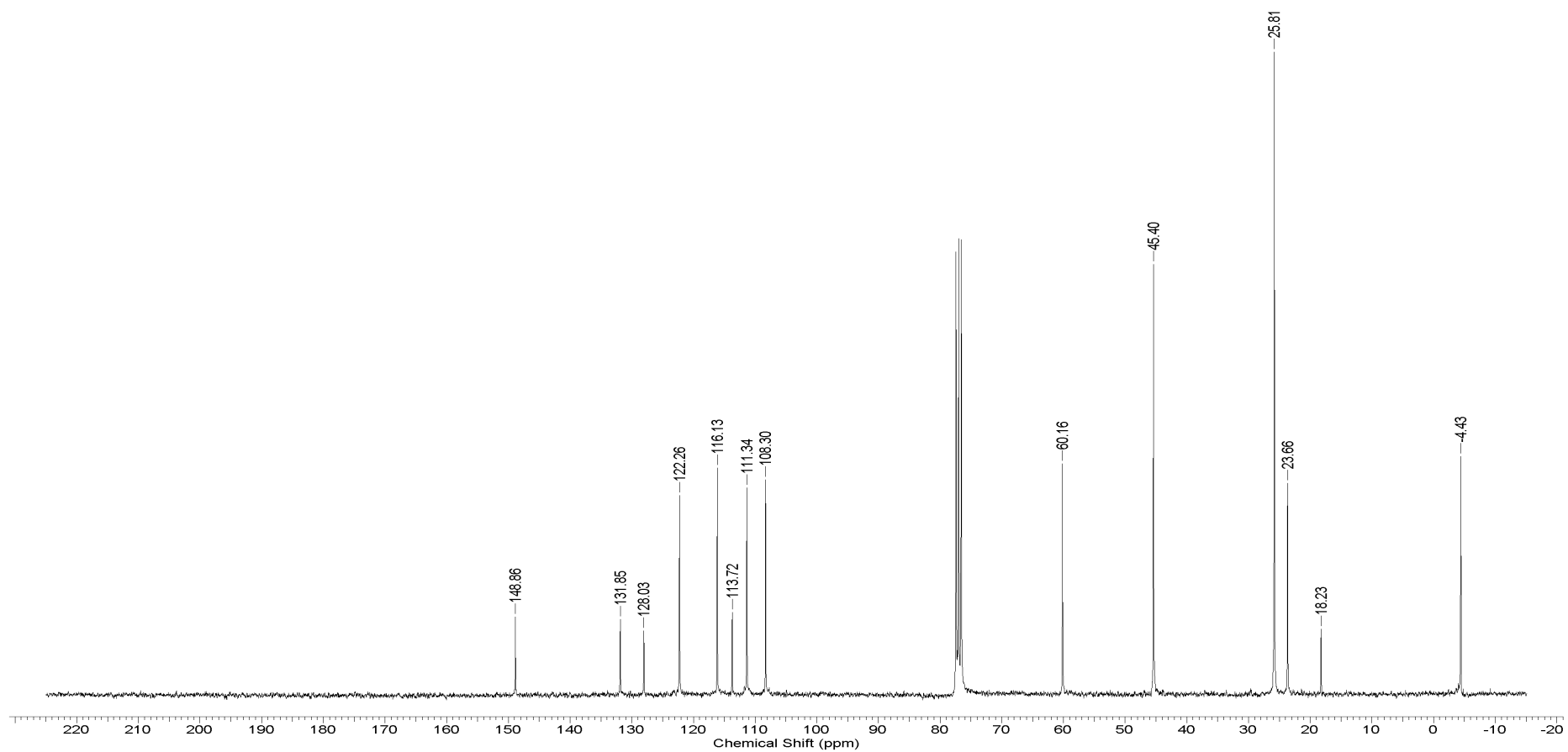


Anexo 37. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do complexo aminoborano (87)

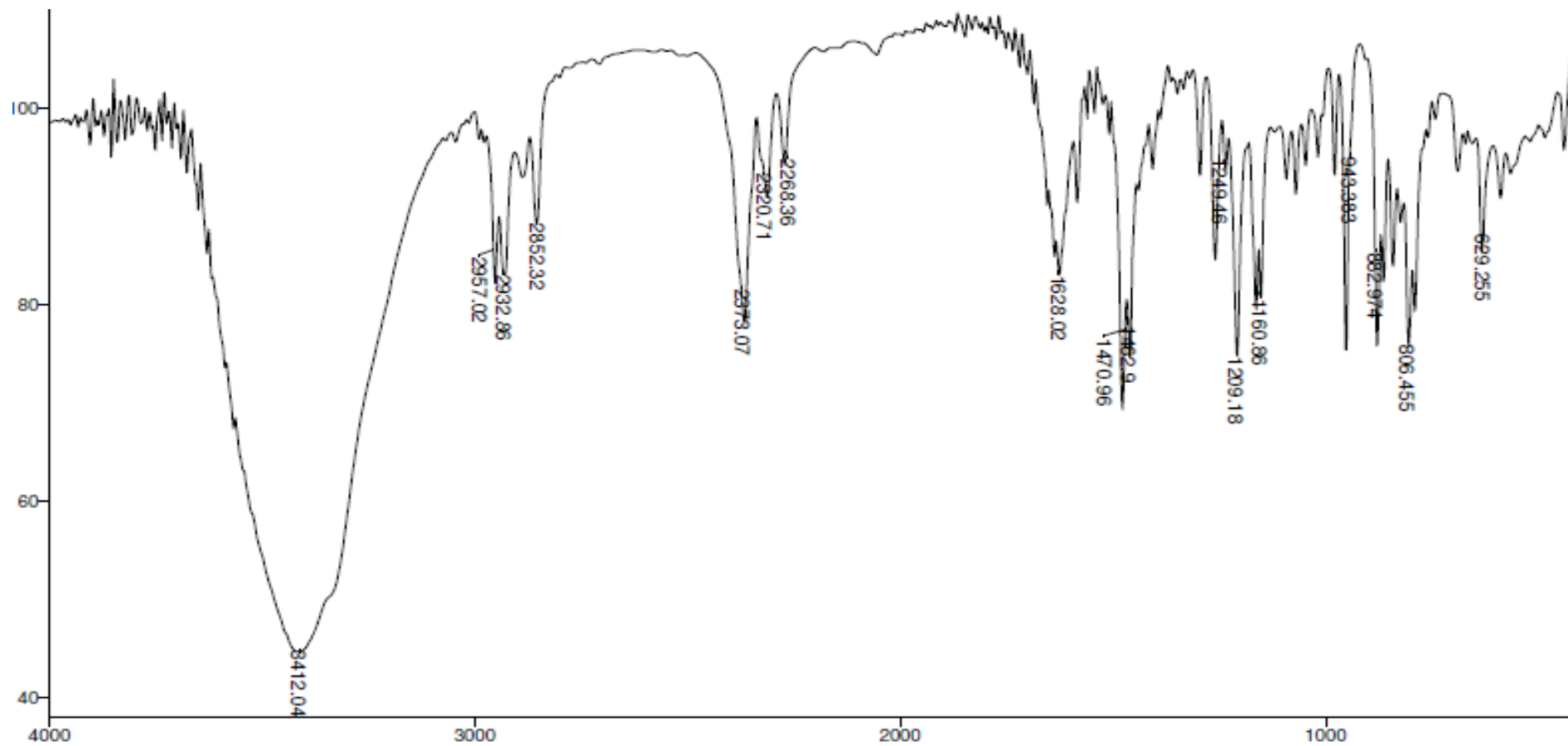
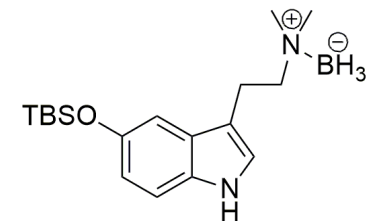




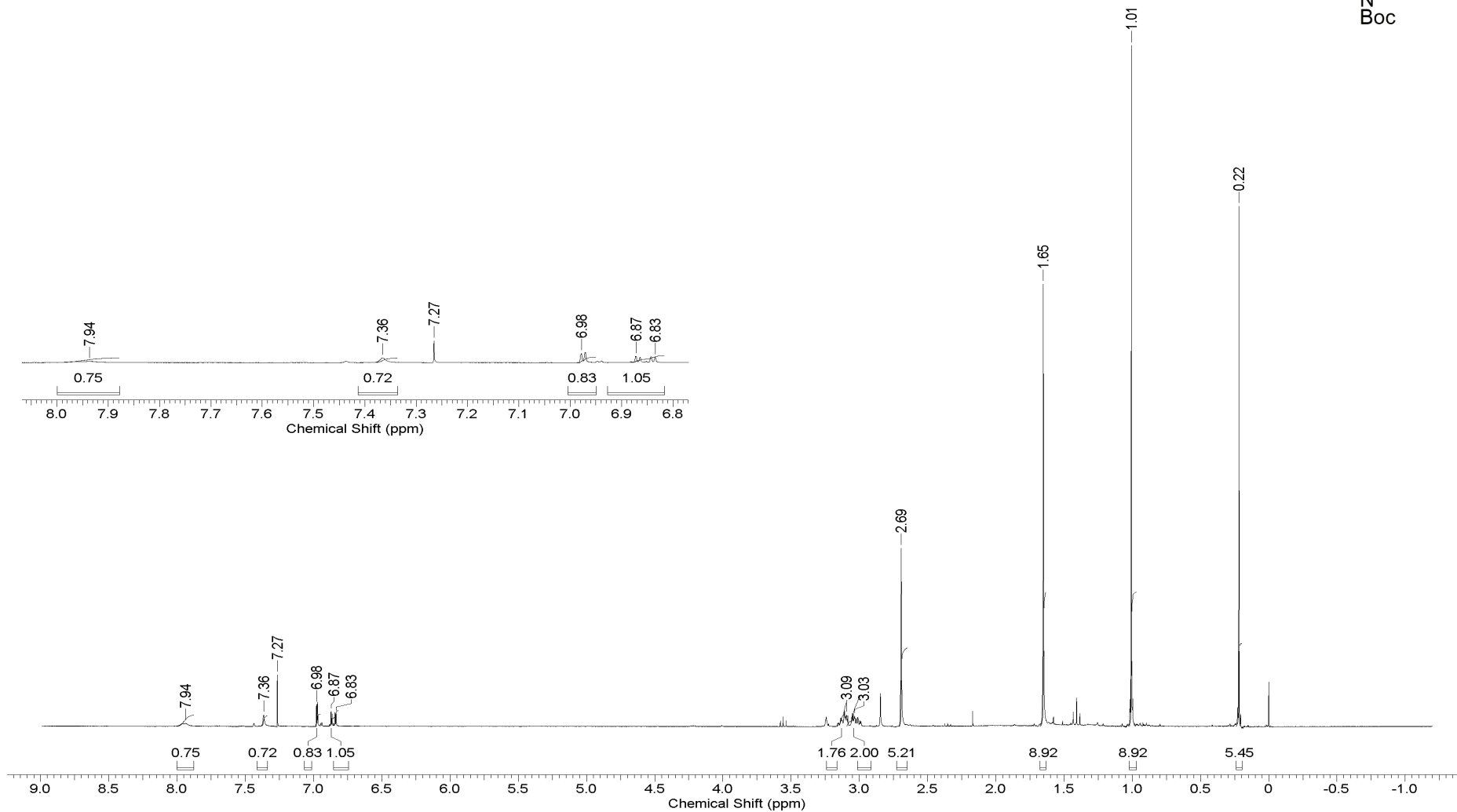
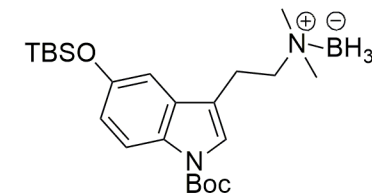
Anexo 38. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 300 MHz) do complexo aminoborano (87)



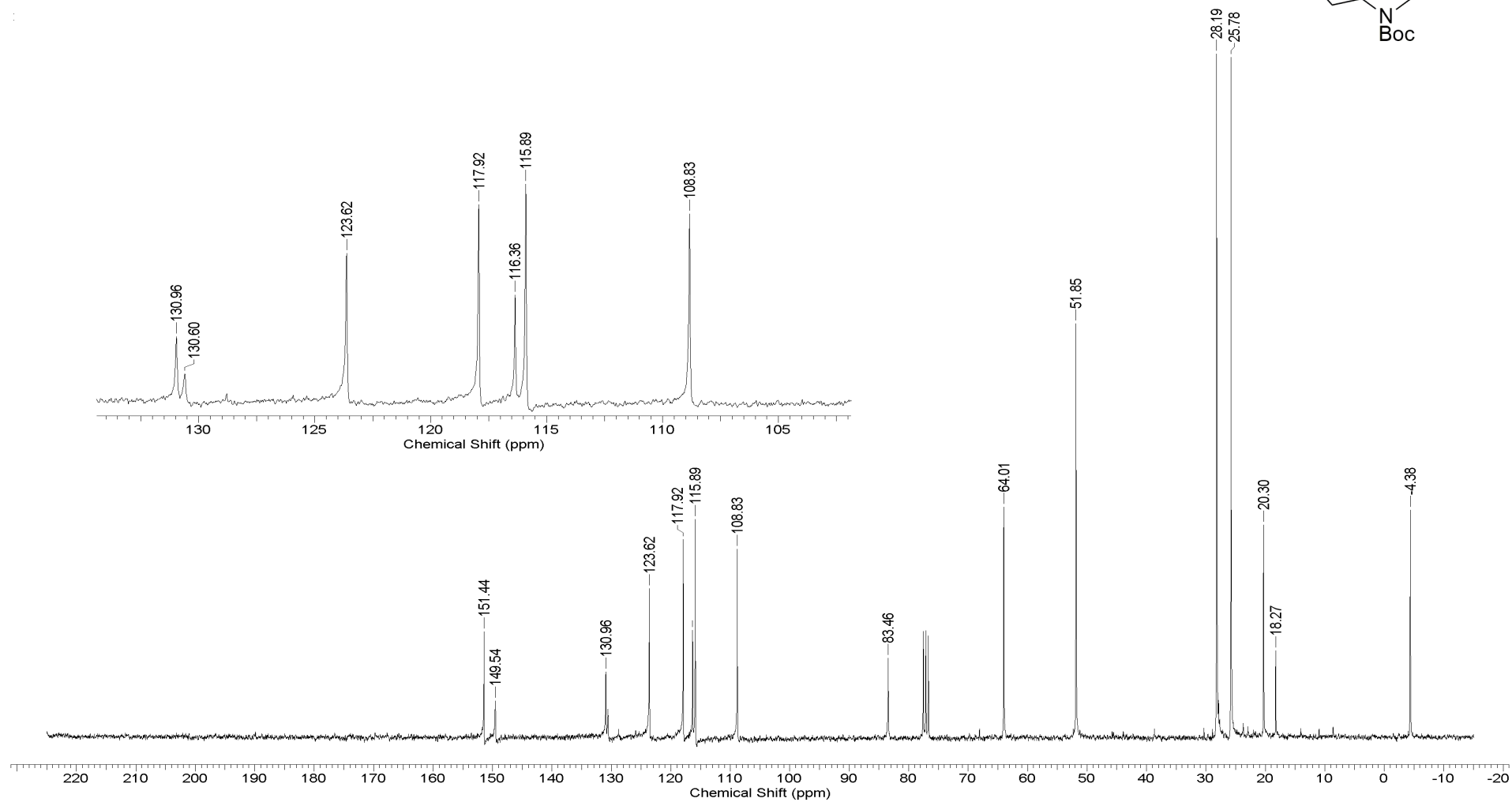
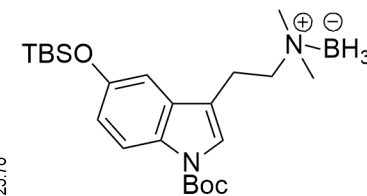
Anexo 39. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) do aminoborano (87)



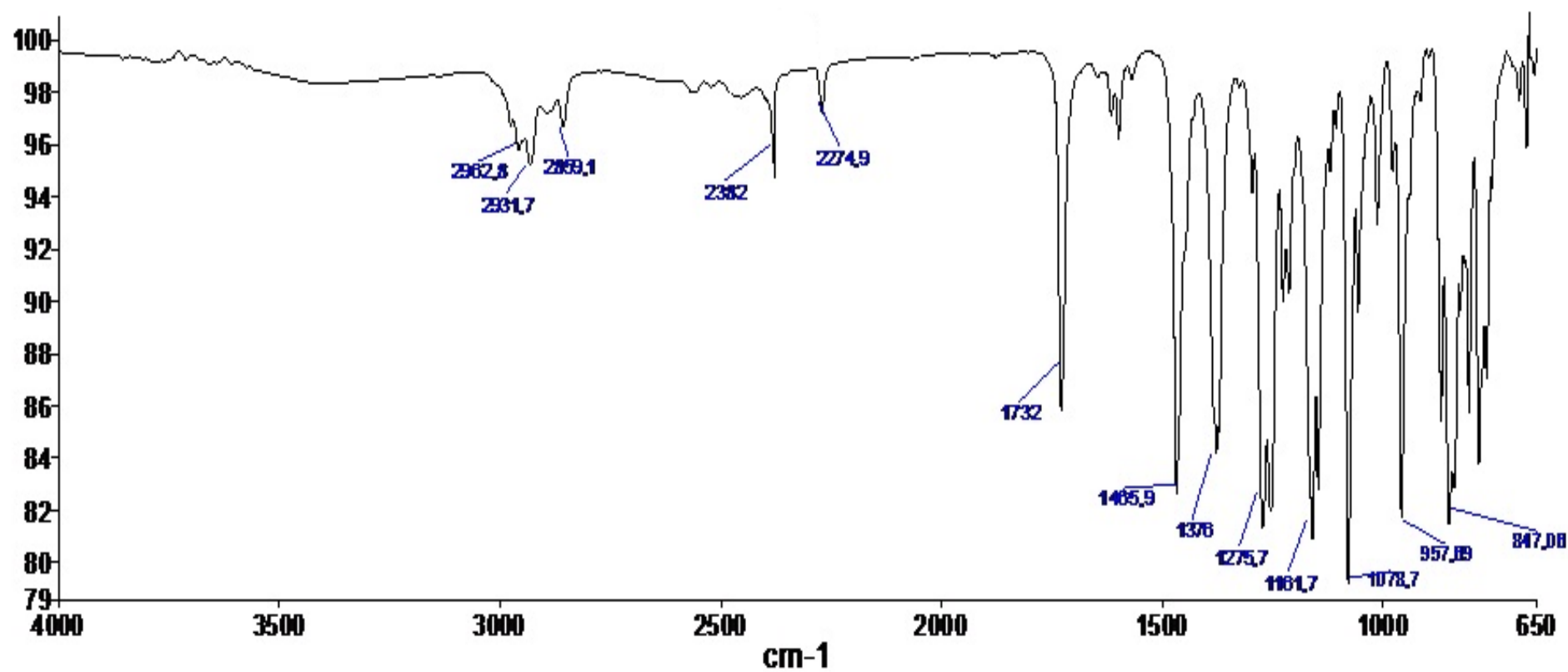
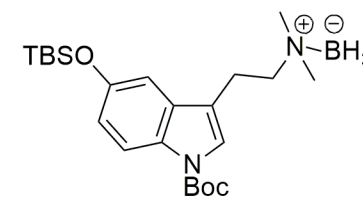
Anexo 40. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do complexo aminoborano (88)



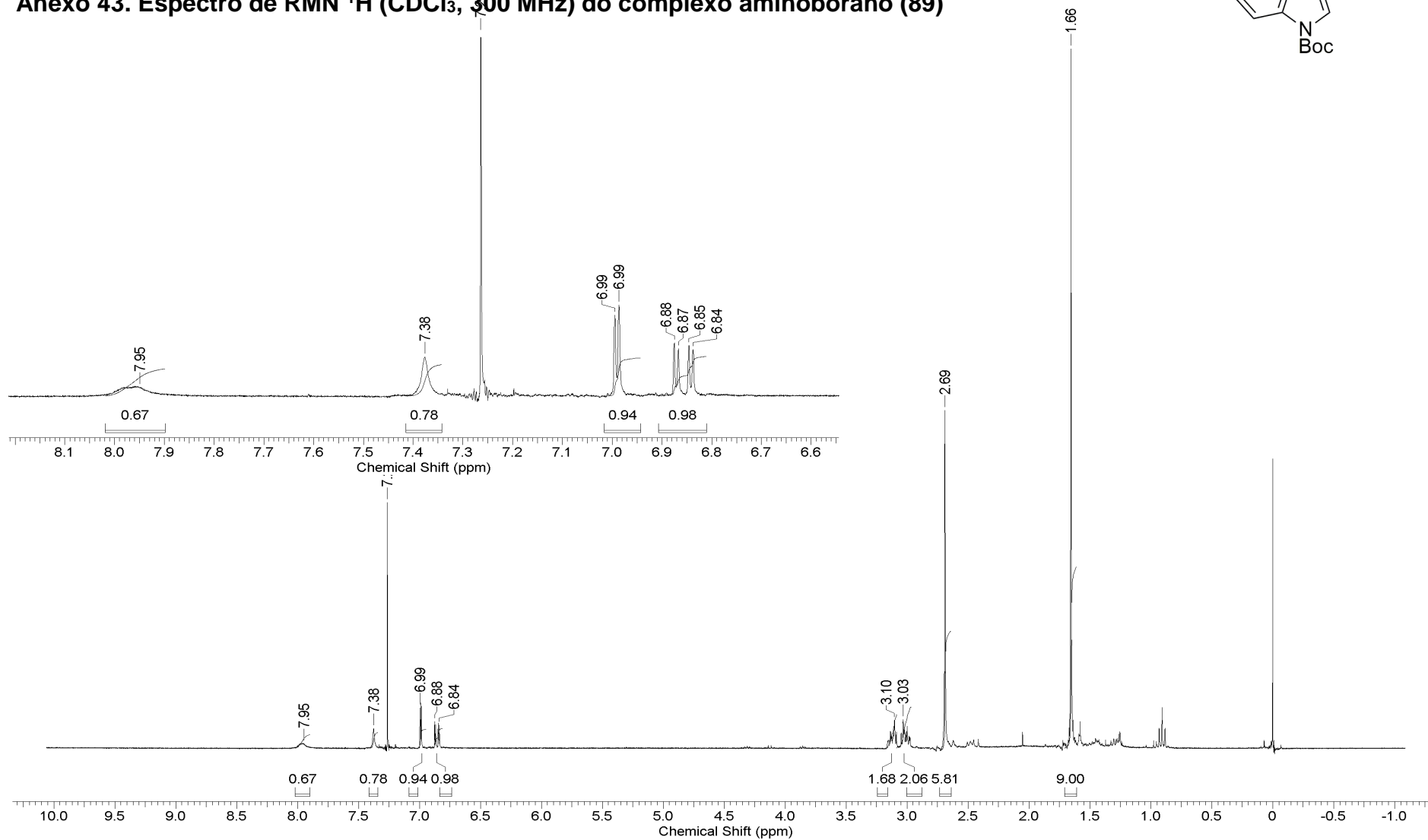
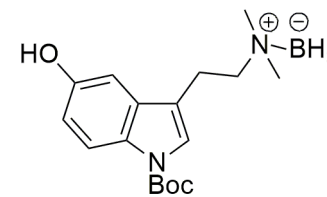
Anexo 41. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do complexo aminoborano (88)



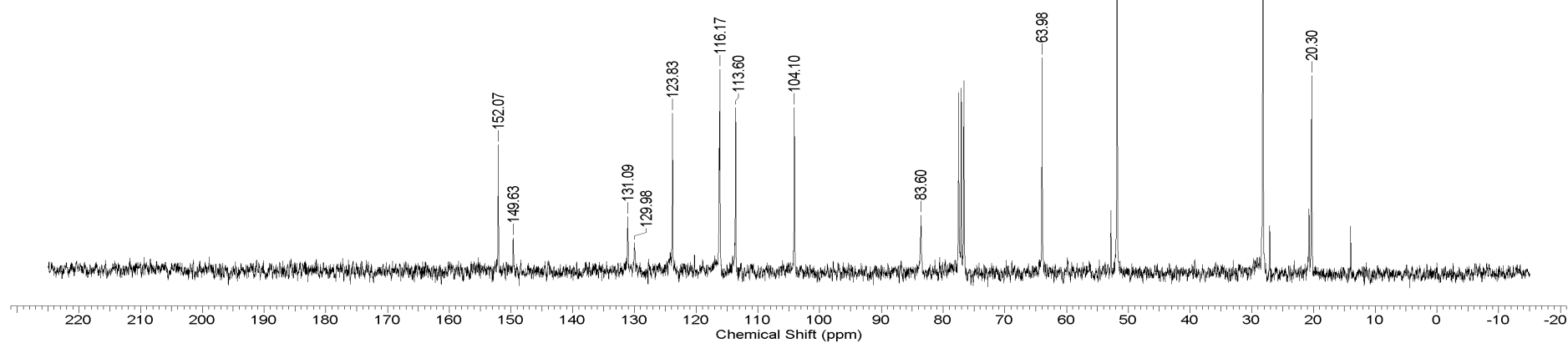
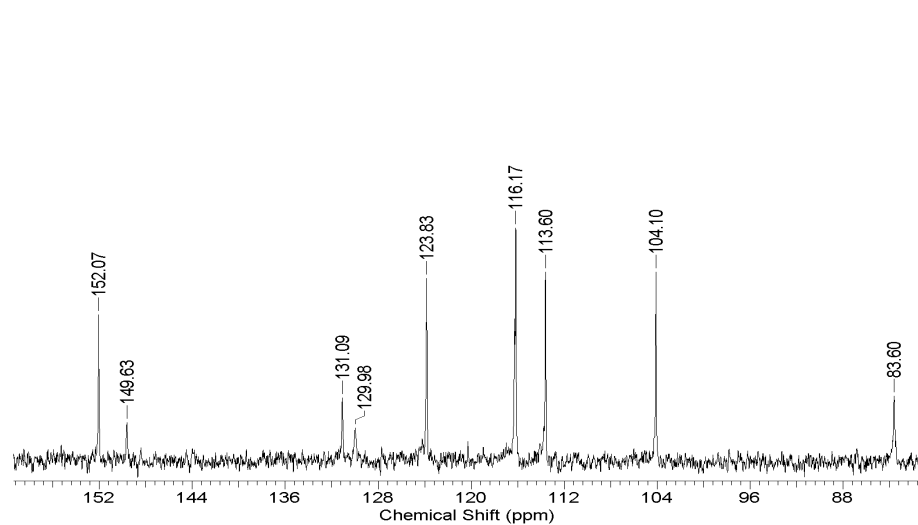
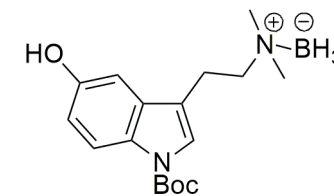
Anexo 42. Espectro de Infravermelho (ATR) do complexo aminoborano (88)



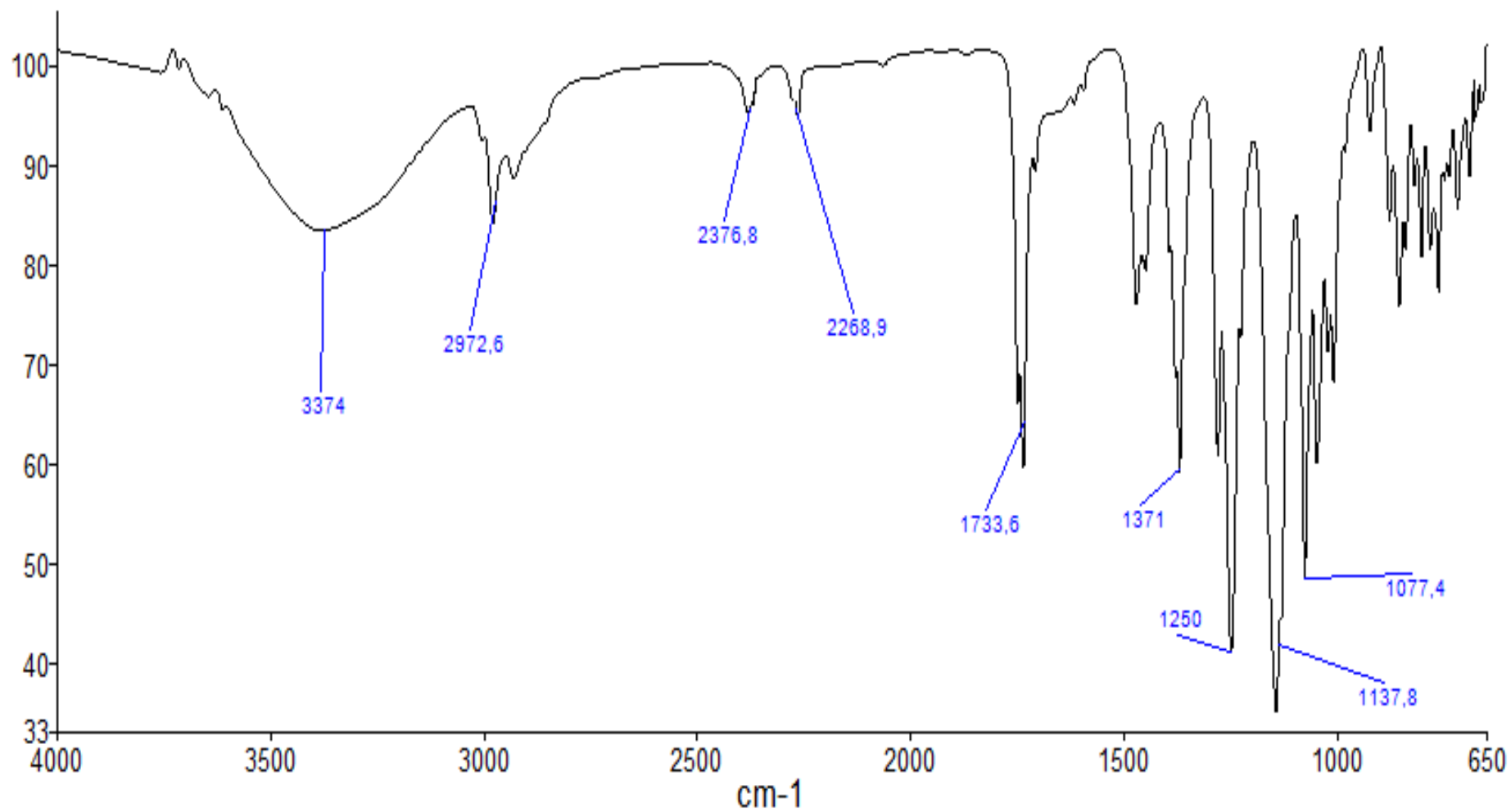
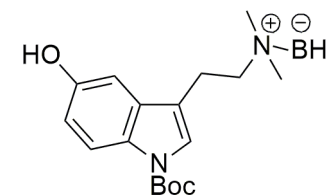
Anexo 43. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do complexo aminoborano (89)



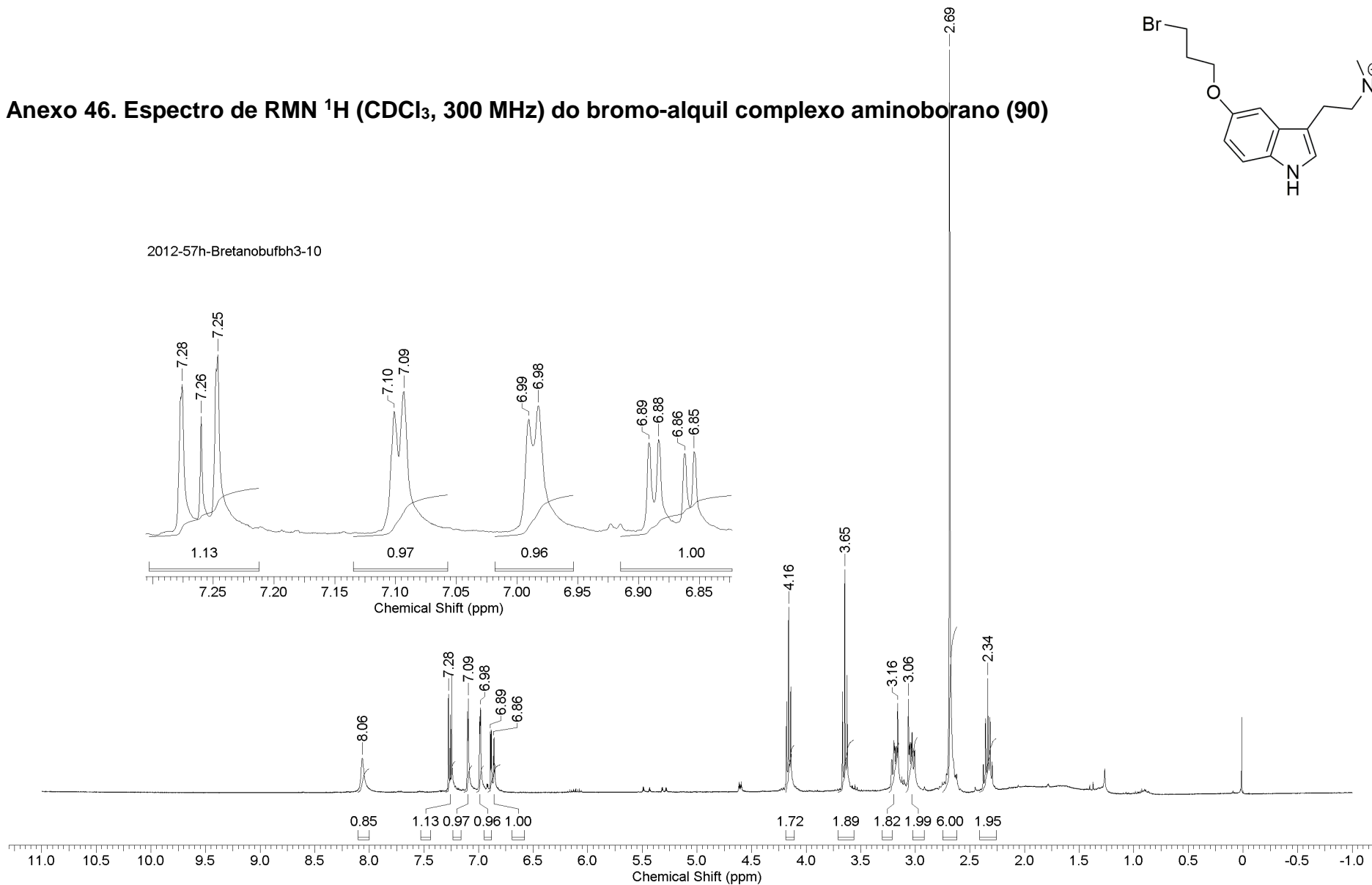
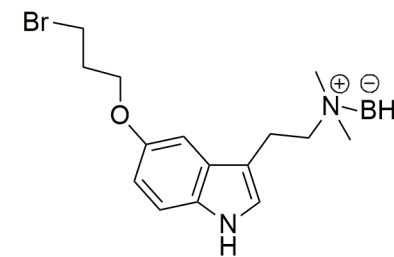
Anexo 44. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do complexo aminoborano (89)



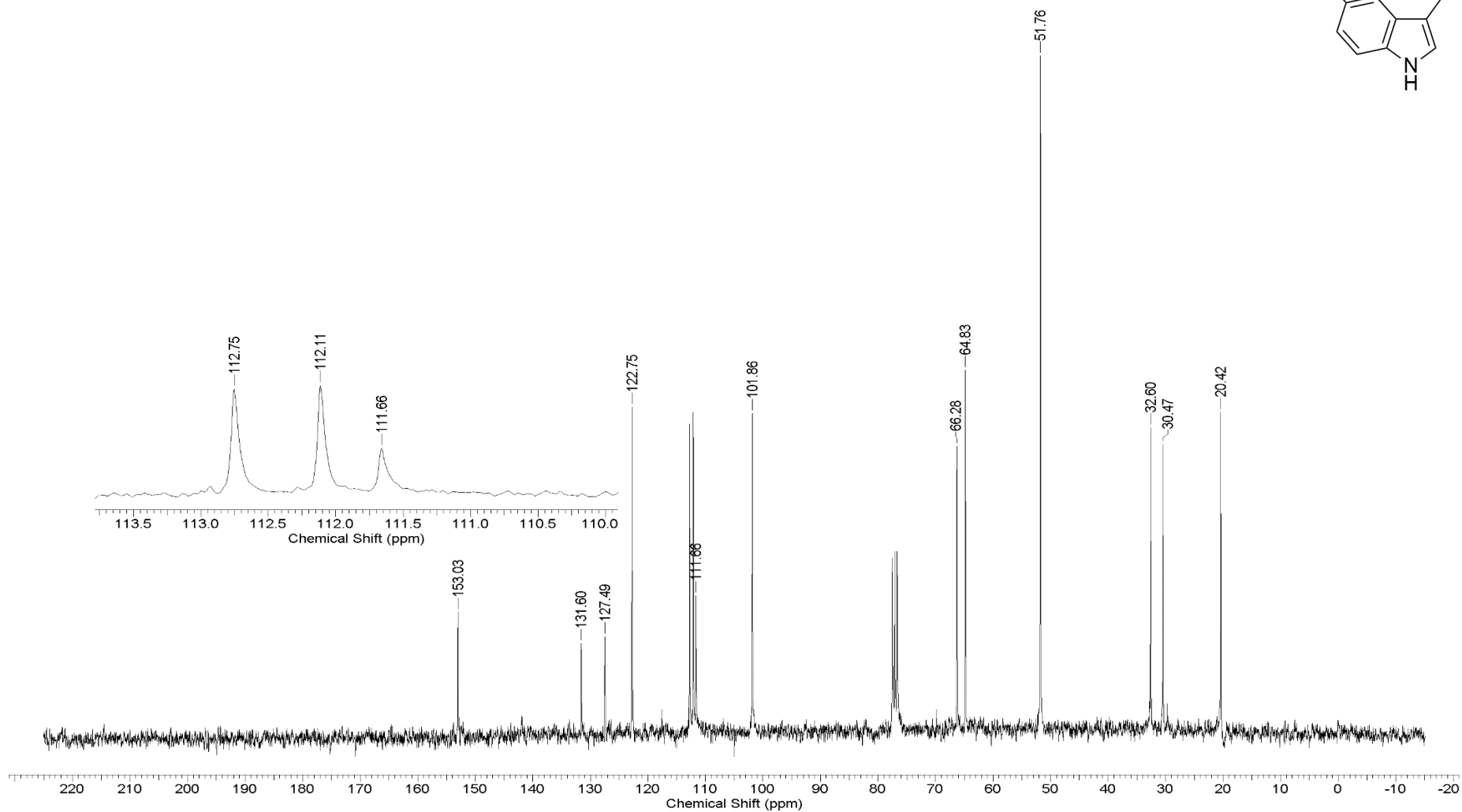
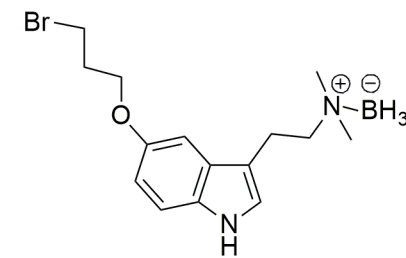
Anexo 45. Espectro de Infravermelho (ATR) do complexo aminoborano (89)



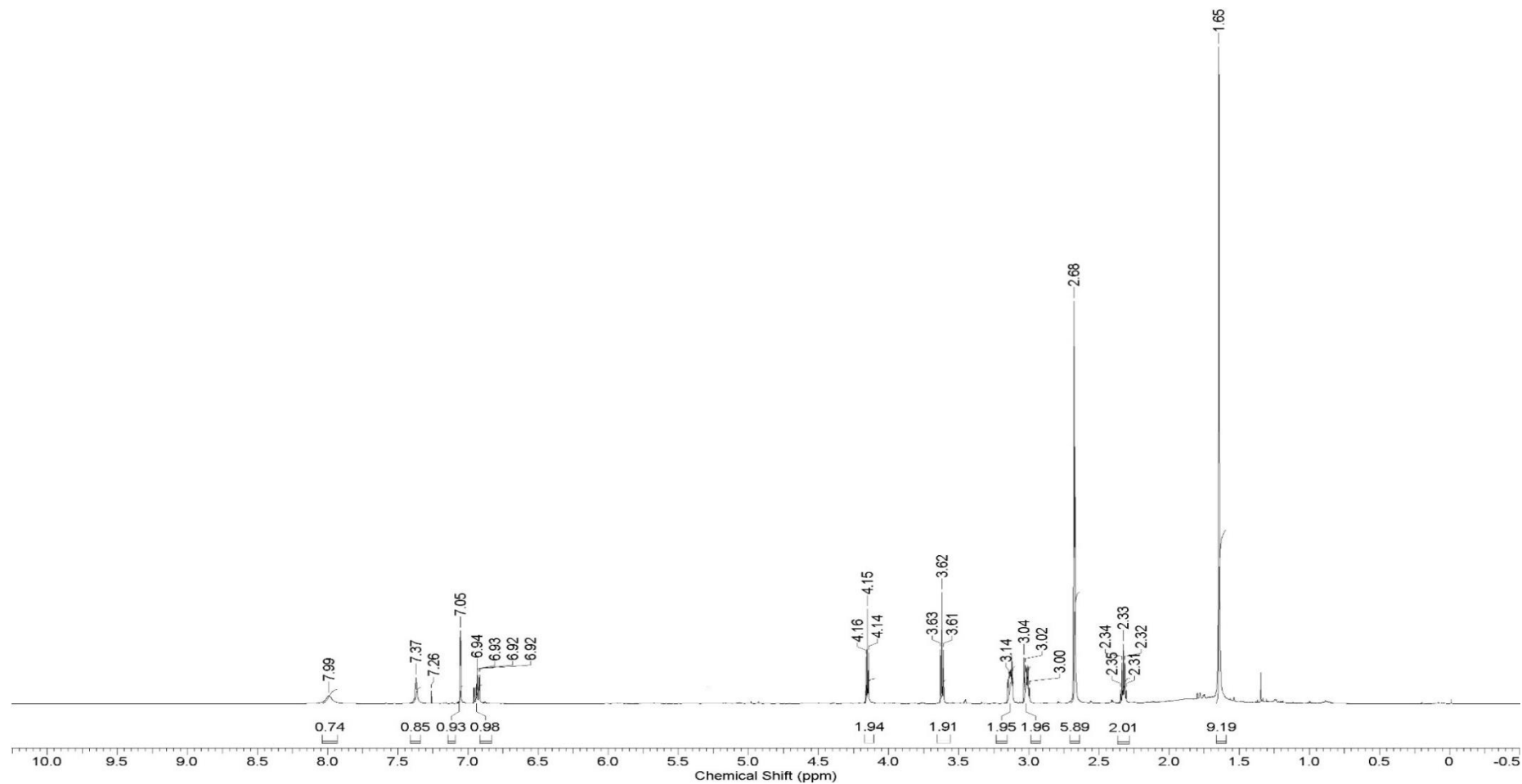
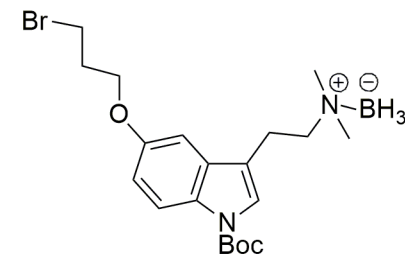
Anexo 46. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do bromo-alquil complexo aminoborano (90)



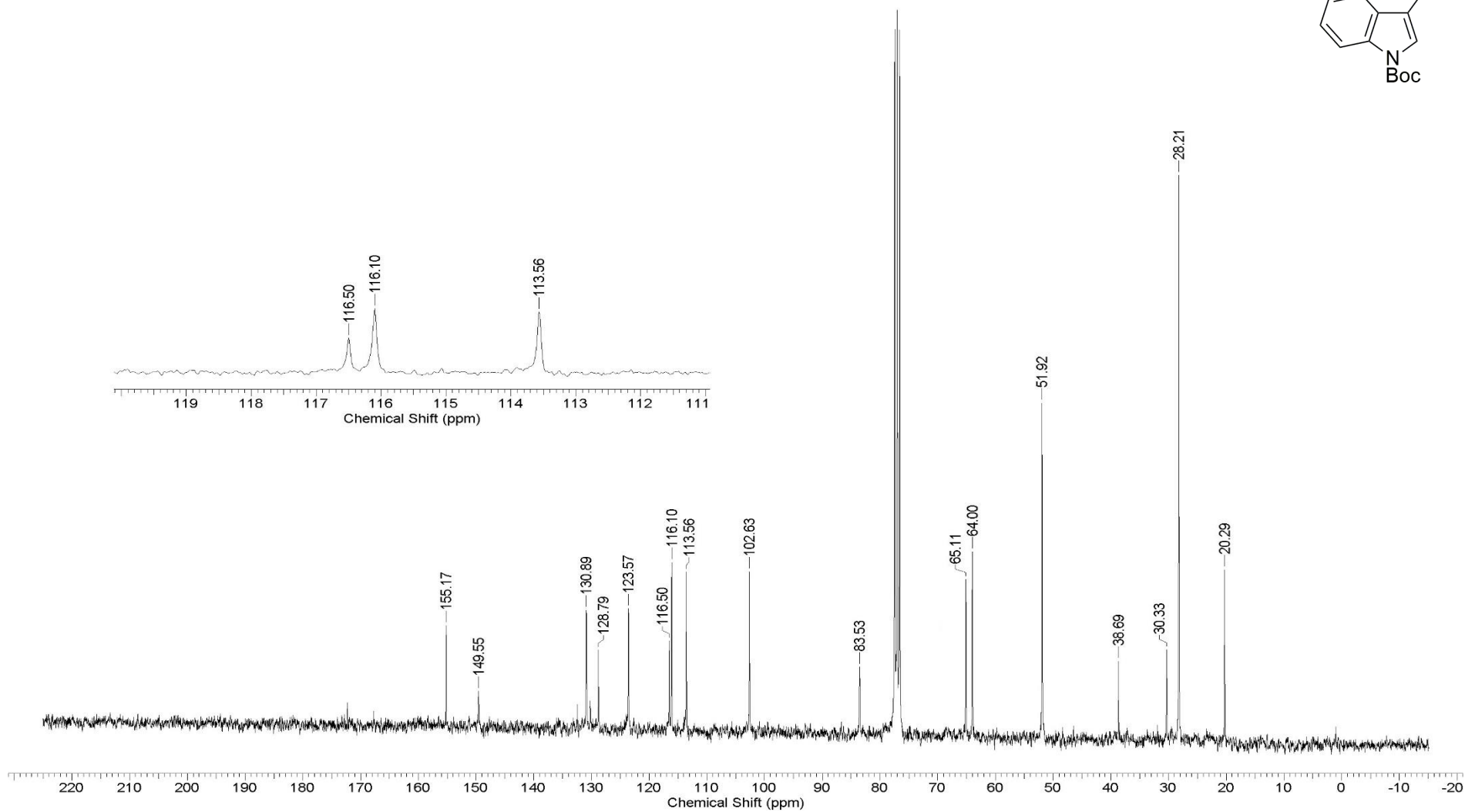
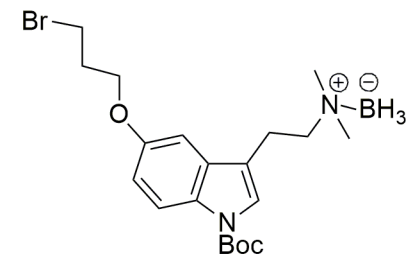
Anexo 47. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do bromo-alquil complexo aminoborano (90)



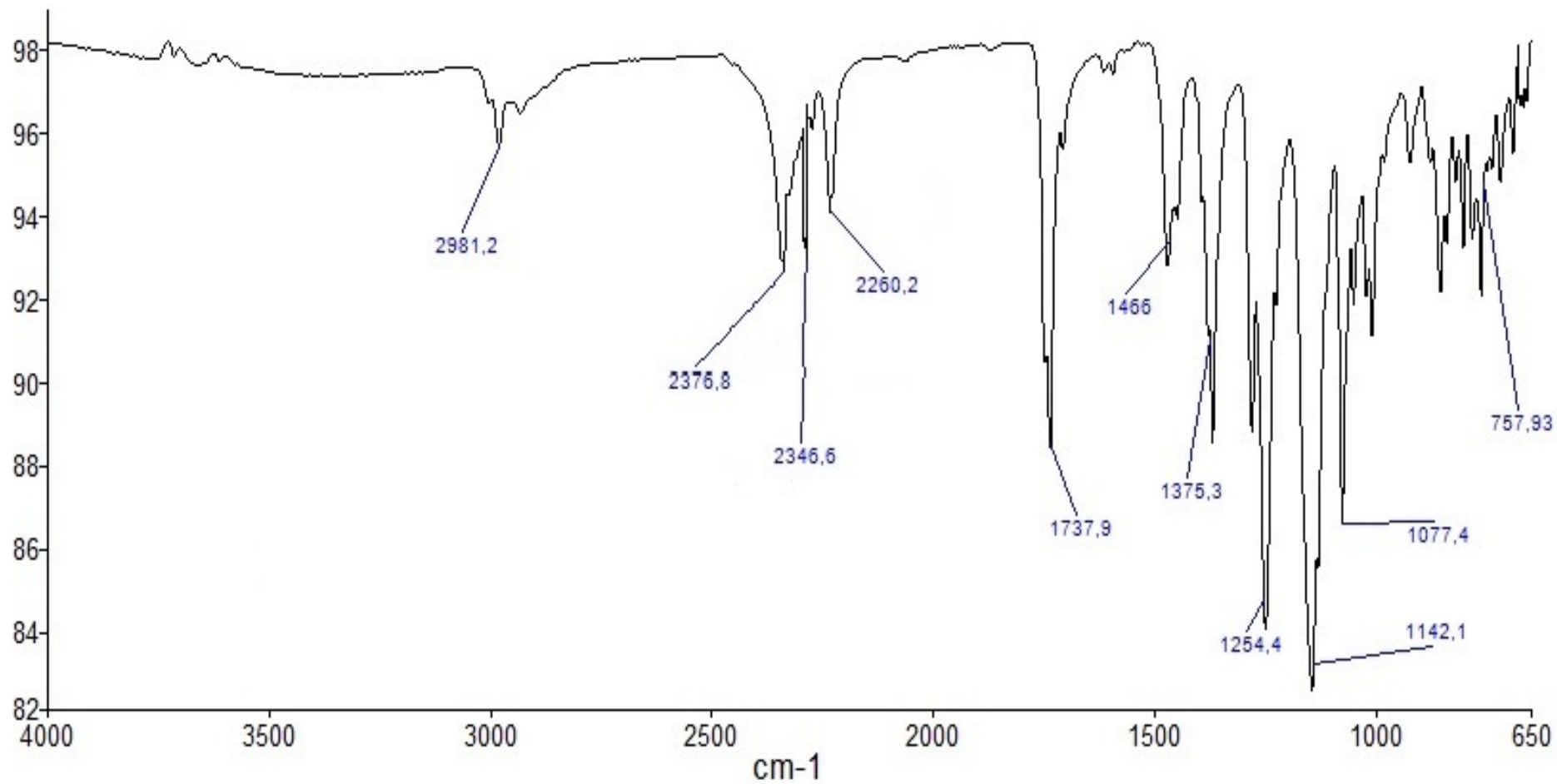
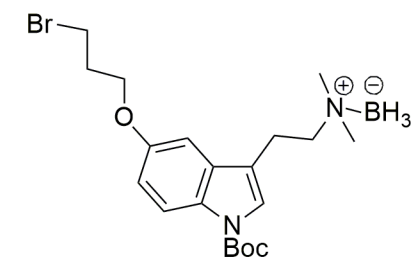
Anexo 48. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do bromo-alquil complexo aminoborano (91)



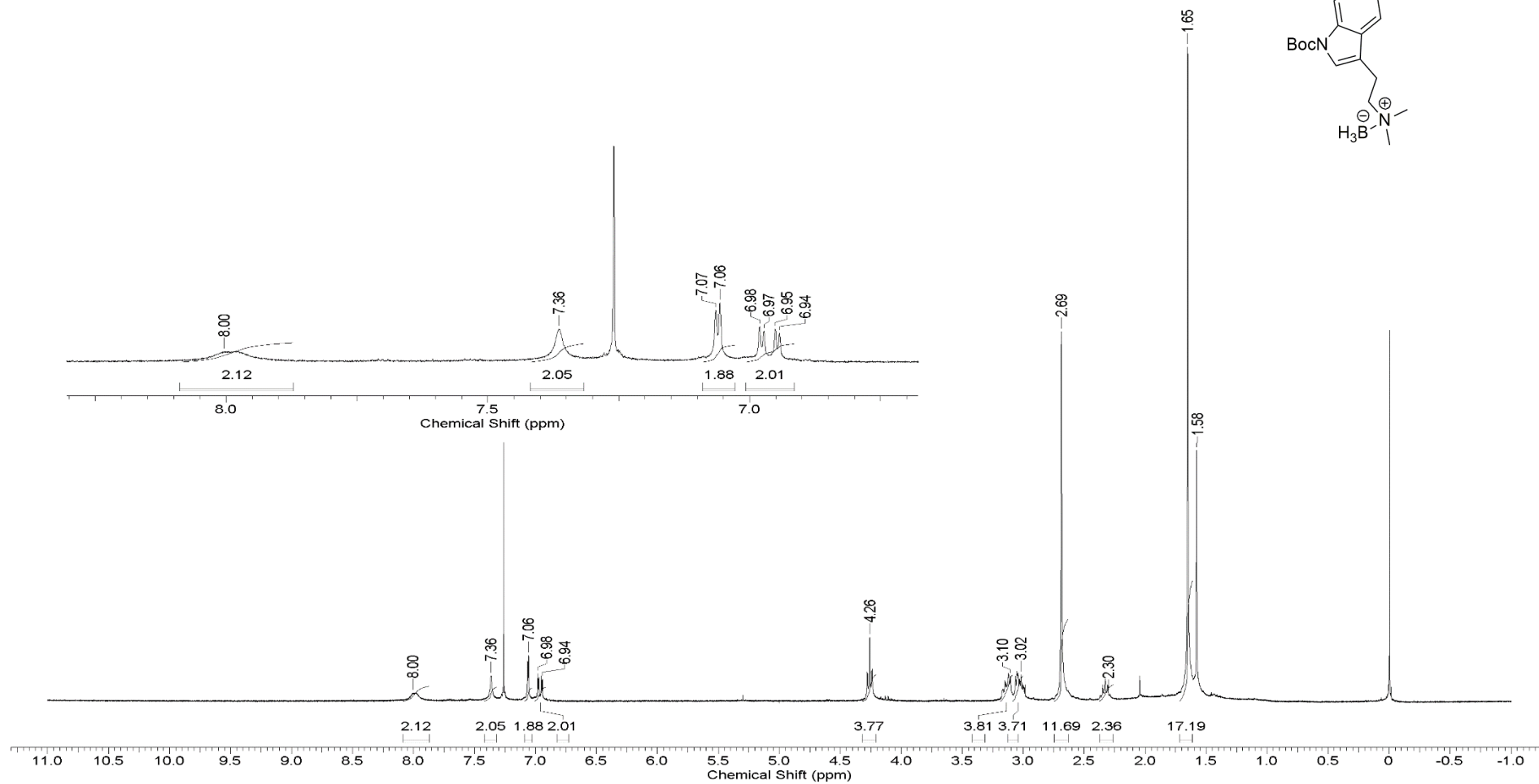
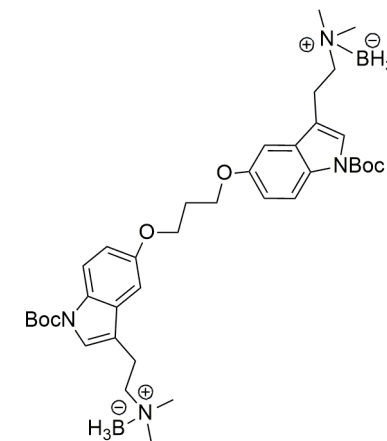
Anexo 49. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do bromo-alquil complexo aminoborano (91)



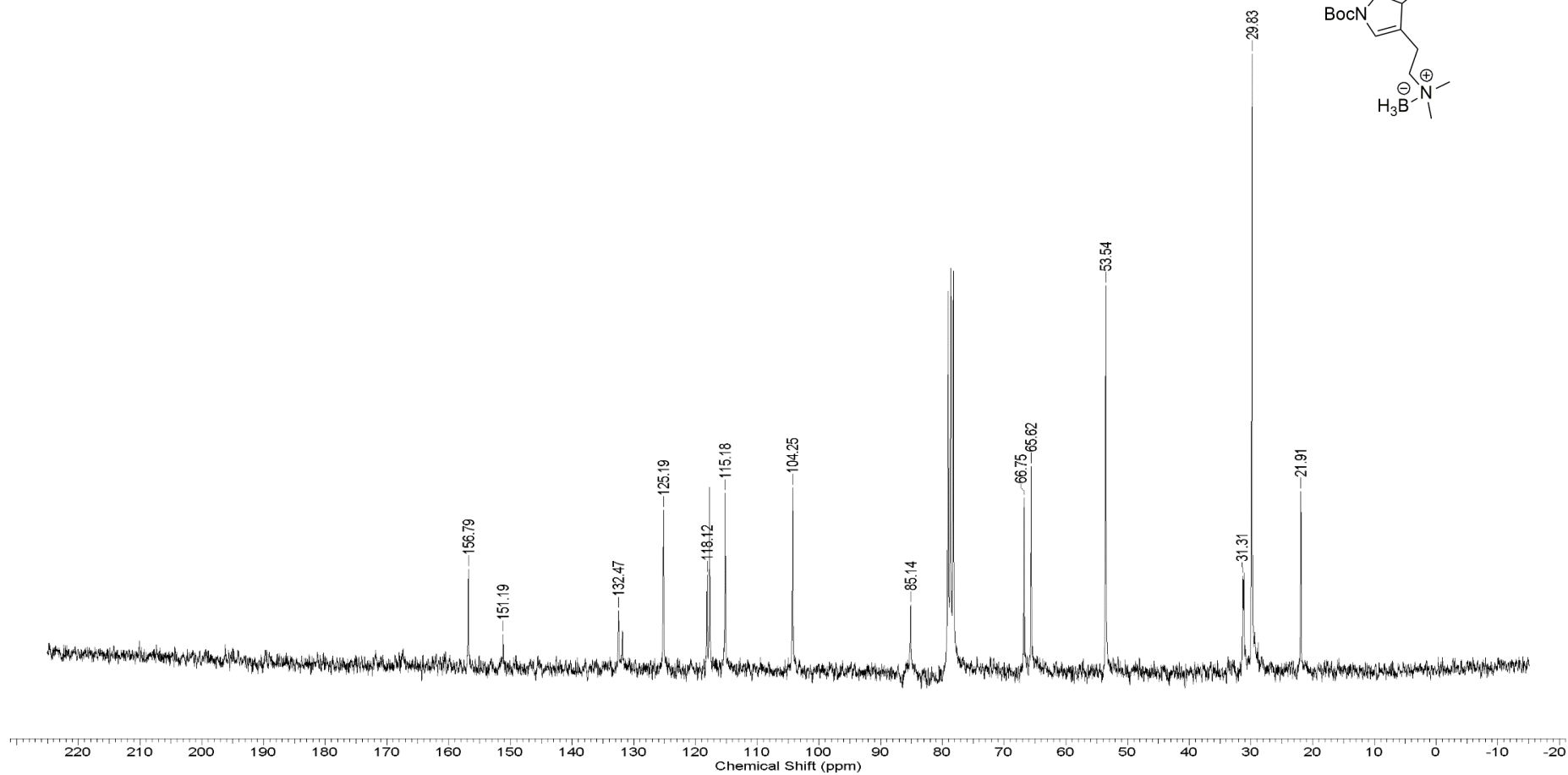
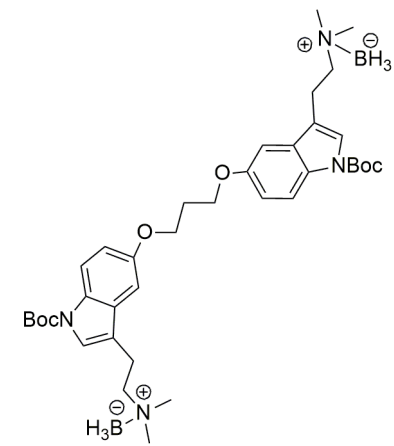
Anexo 50. Espectro de Infravermelho (ATR) do bromo-álquil complexo aminoborano (91)



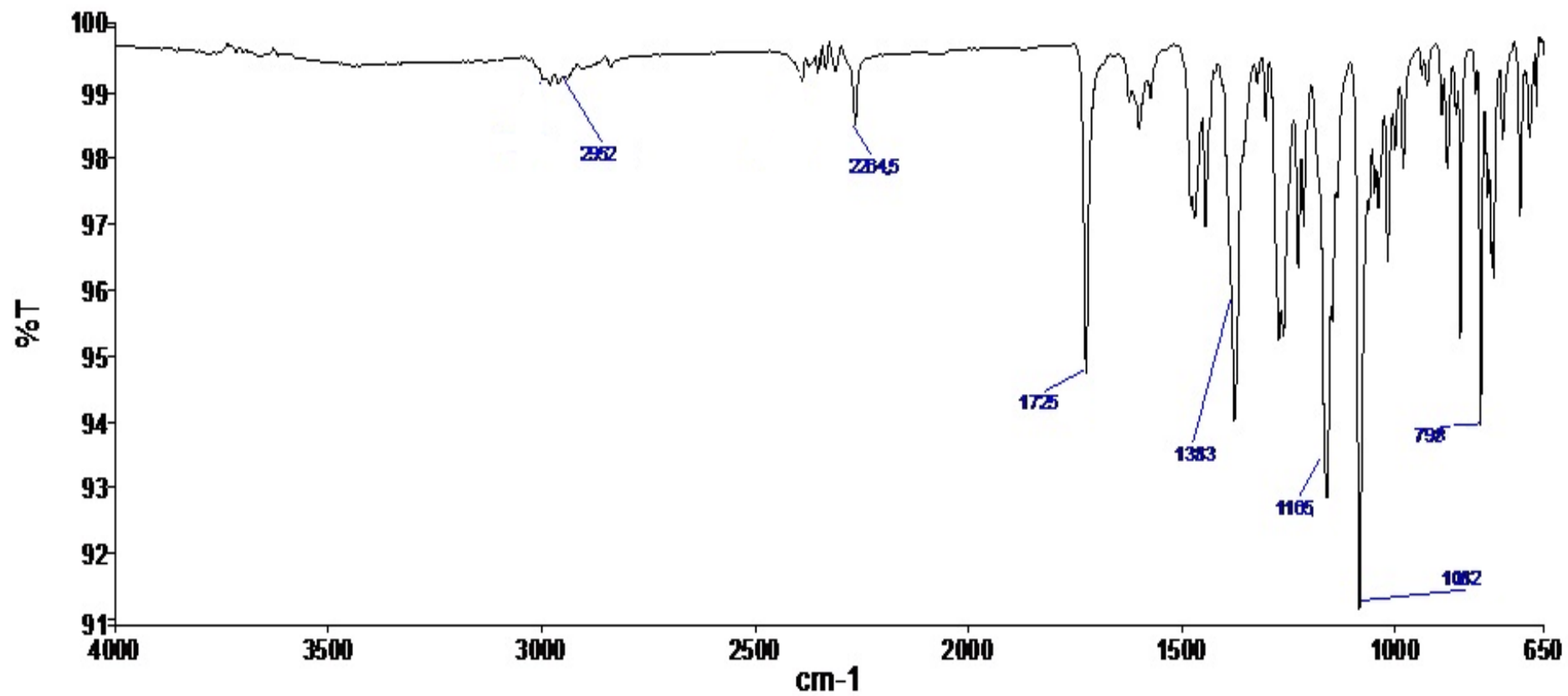
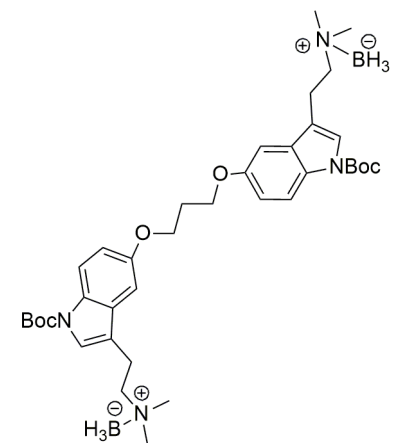
Anexo 51. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do amino borano dimérico (92)



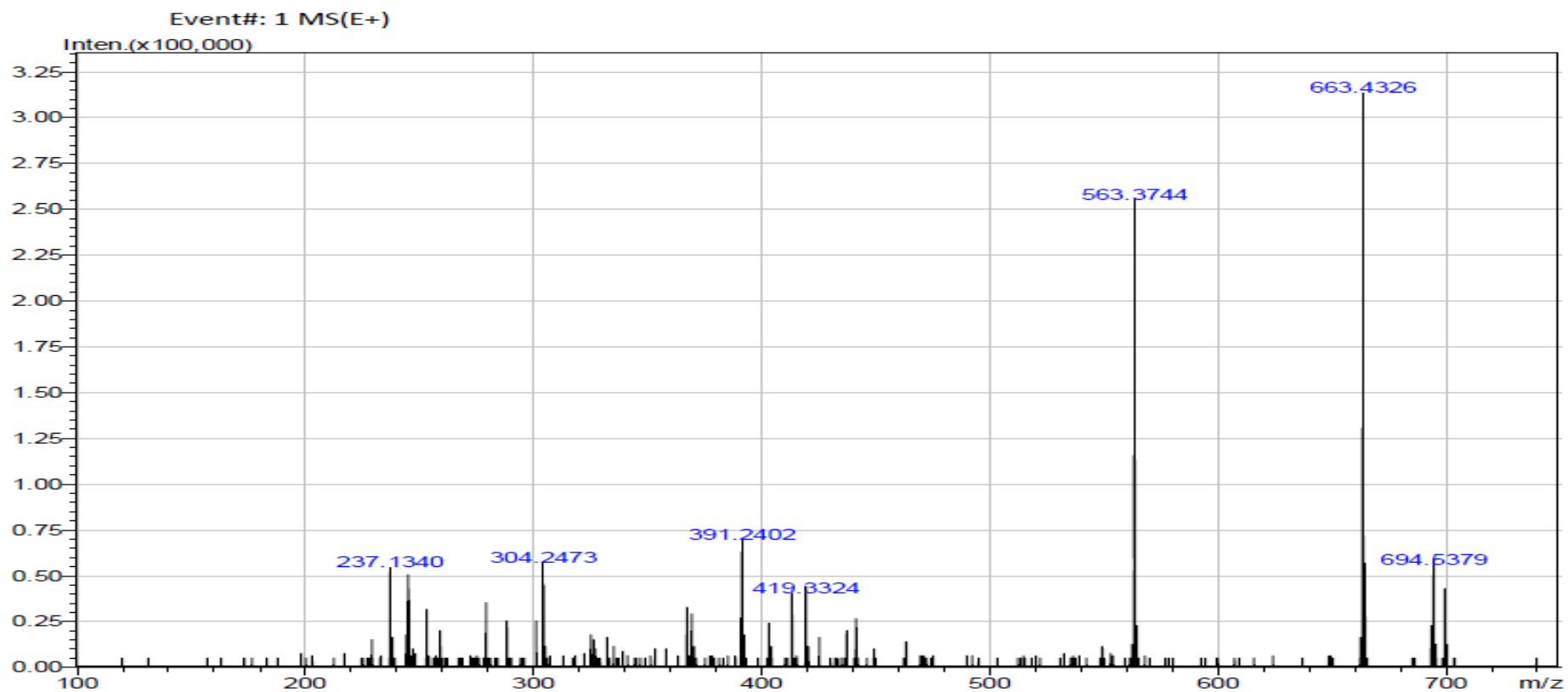
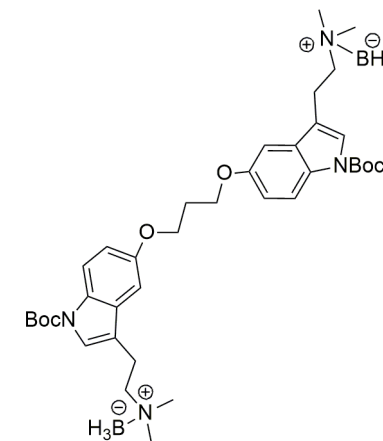
Anexo 52. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do amino borano dimérico (92)



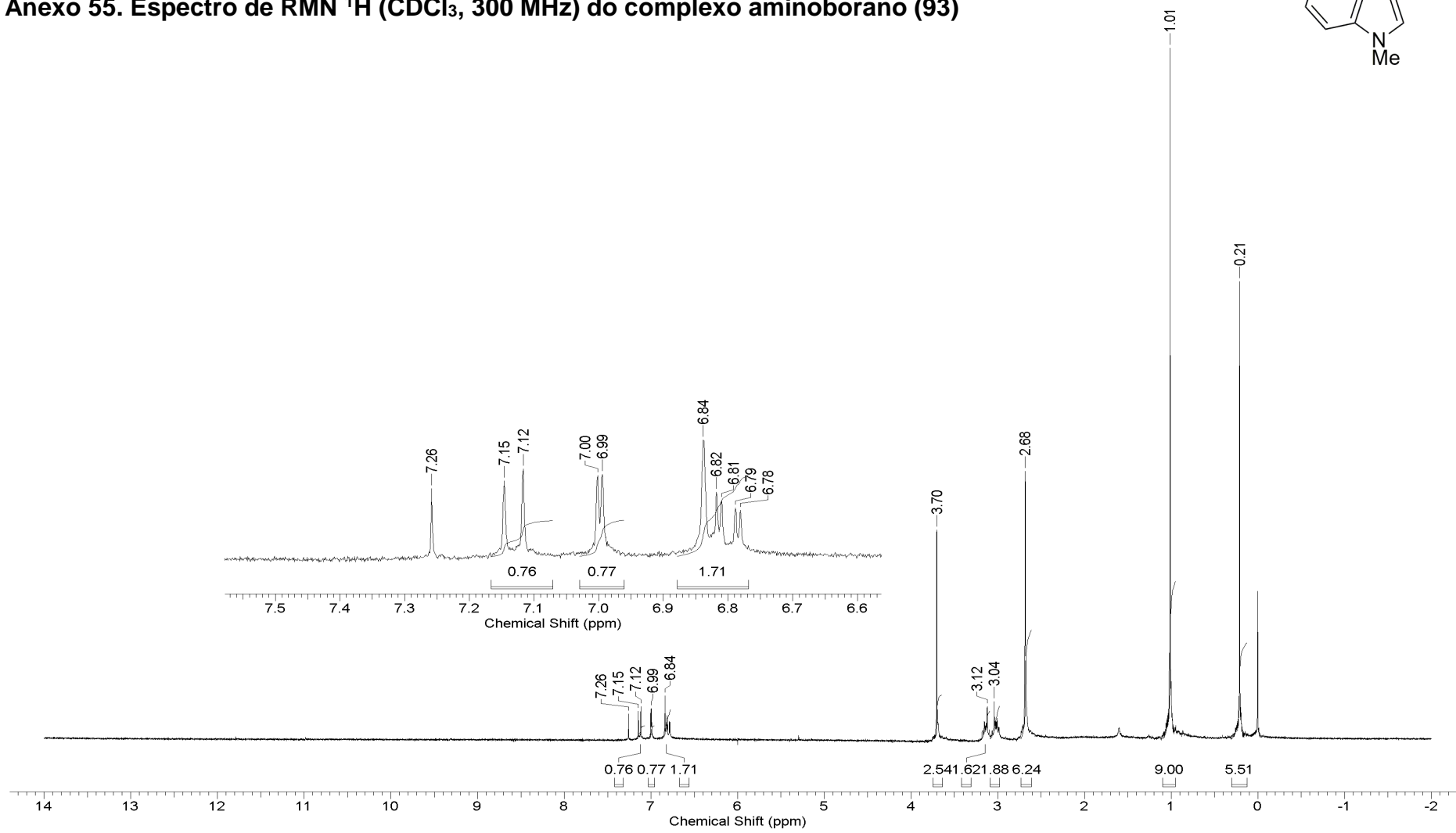
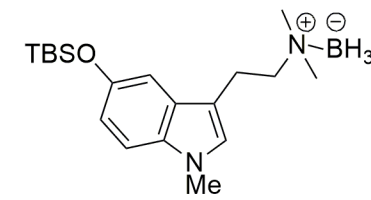
Anexo 53. Espectro de Infravermelho (ATR) do amino borano dimérico (92)



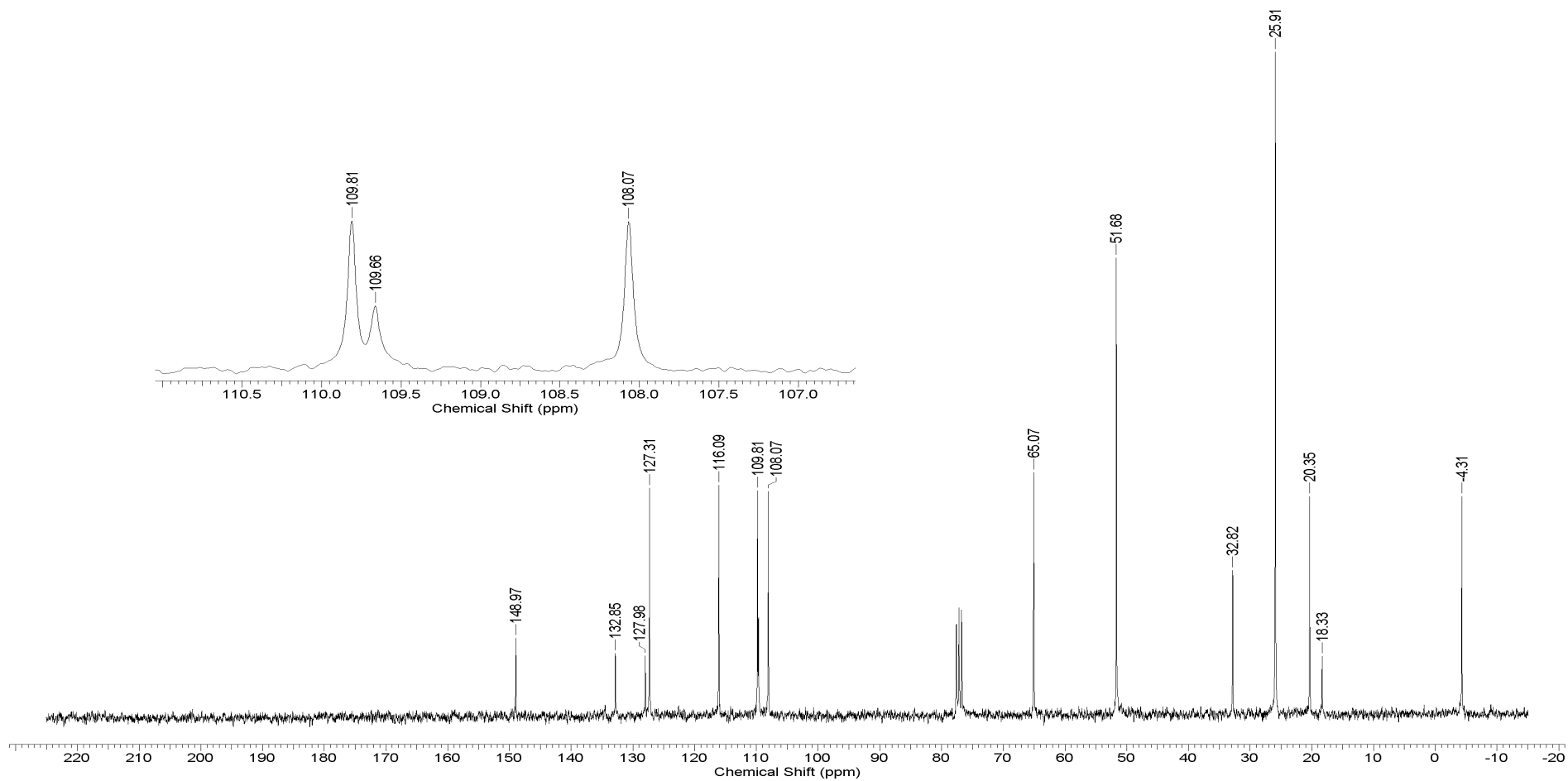
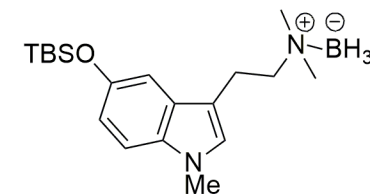
Anexo 54. Espectro de HRESI/MS do amino borano dimérico (92)



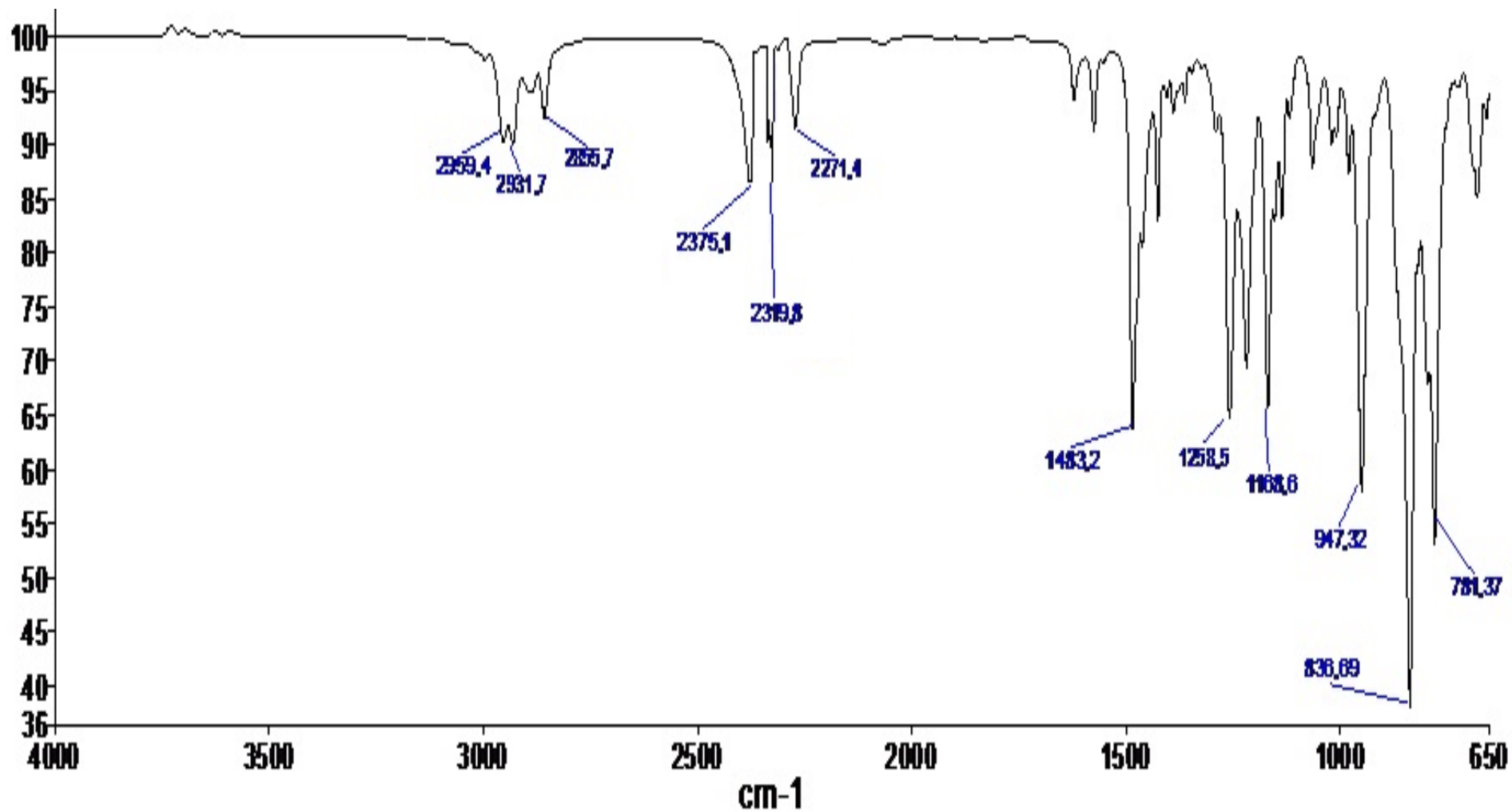
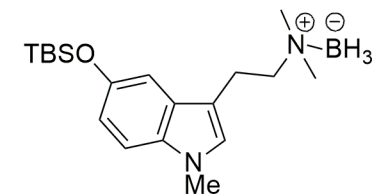
Anexo 55. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do complexo aminoborano (93)



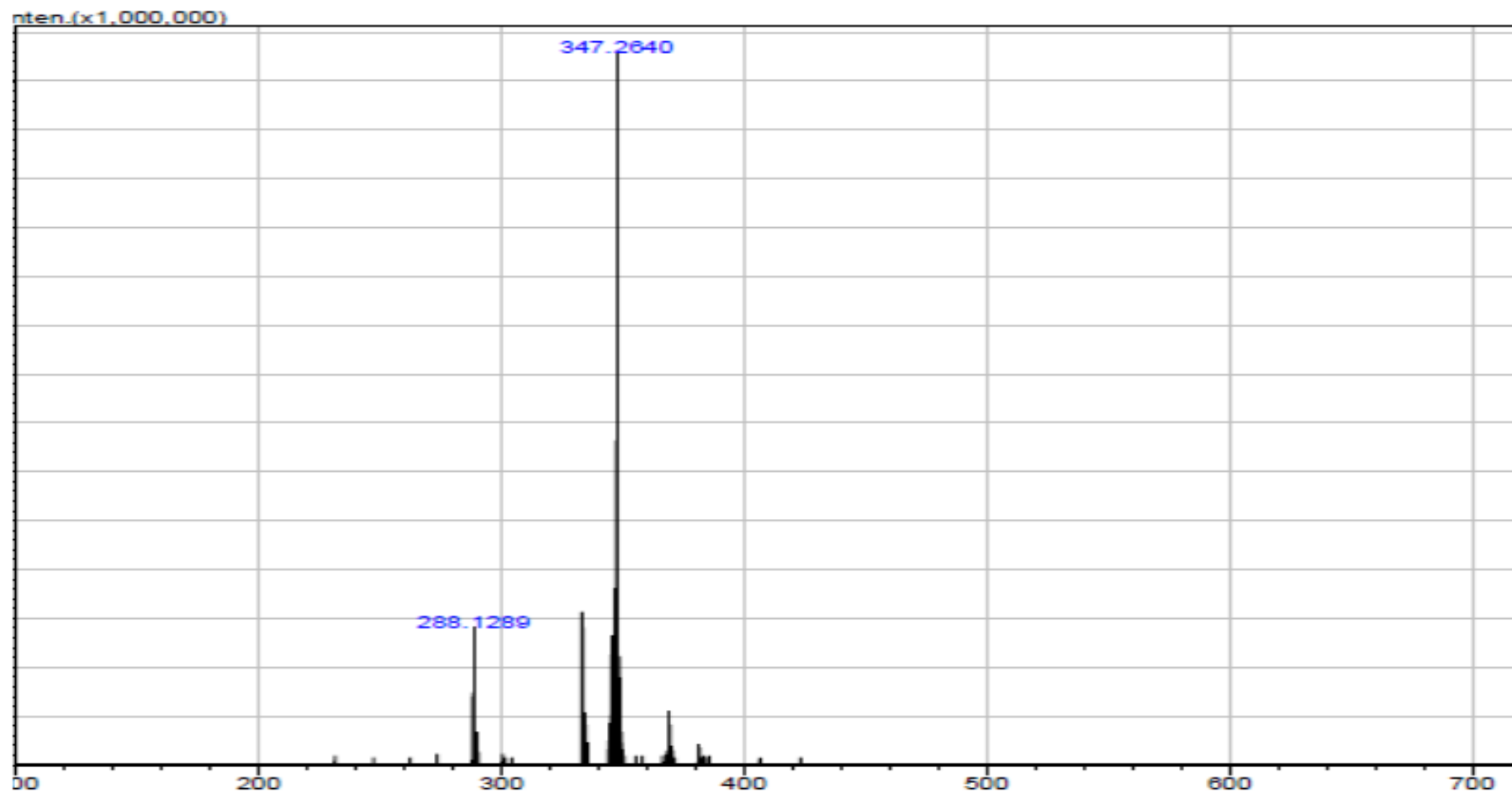
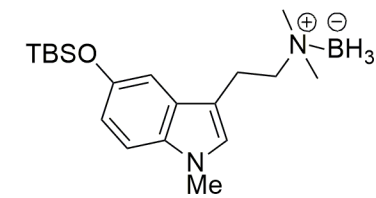
Anexo 56. Espectro de RMN 13C (CDCl3, 75 MHz) do complexo aminoborano (93)



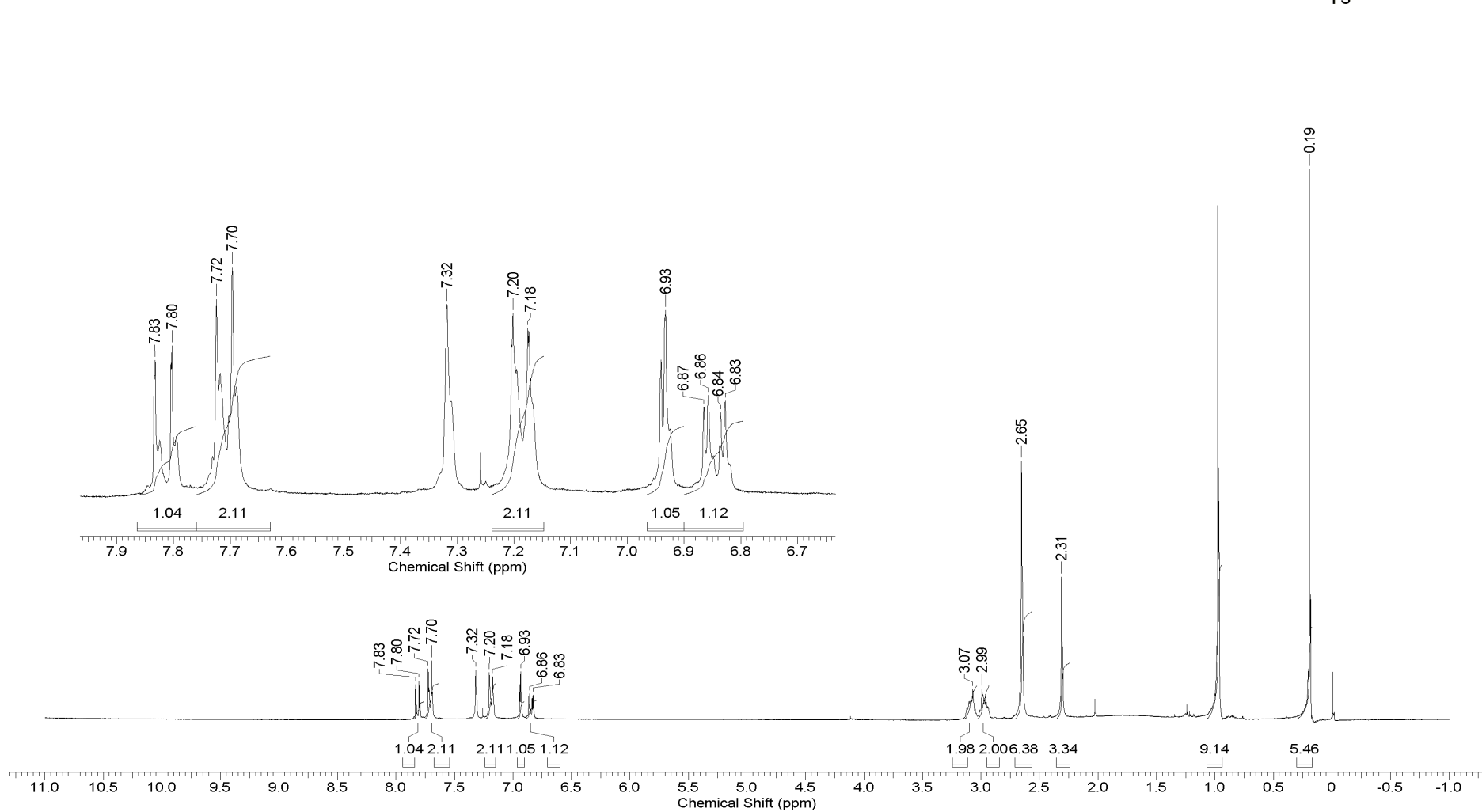
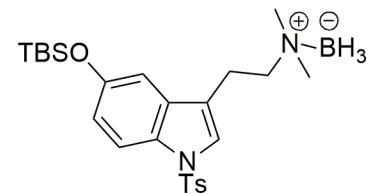
Anexo 57. Espectro de Infravermelho (ATR) do complexo aminoborano (93)



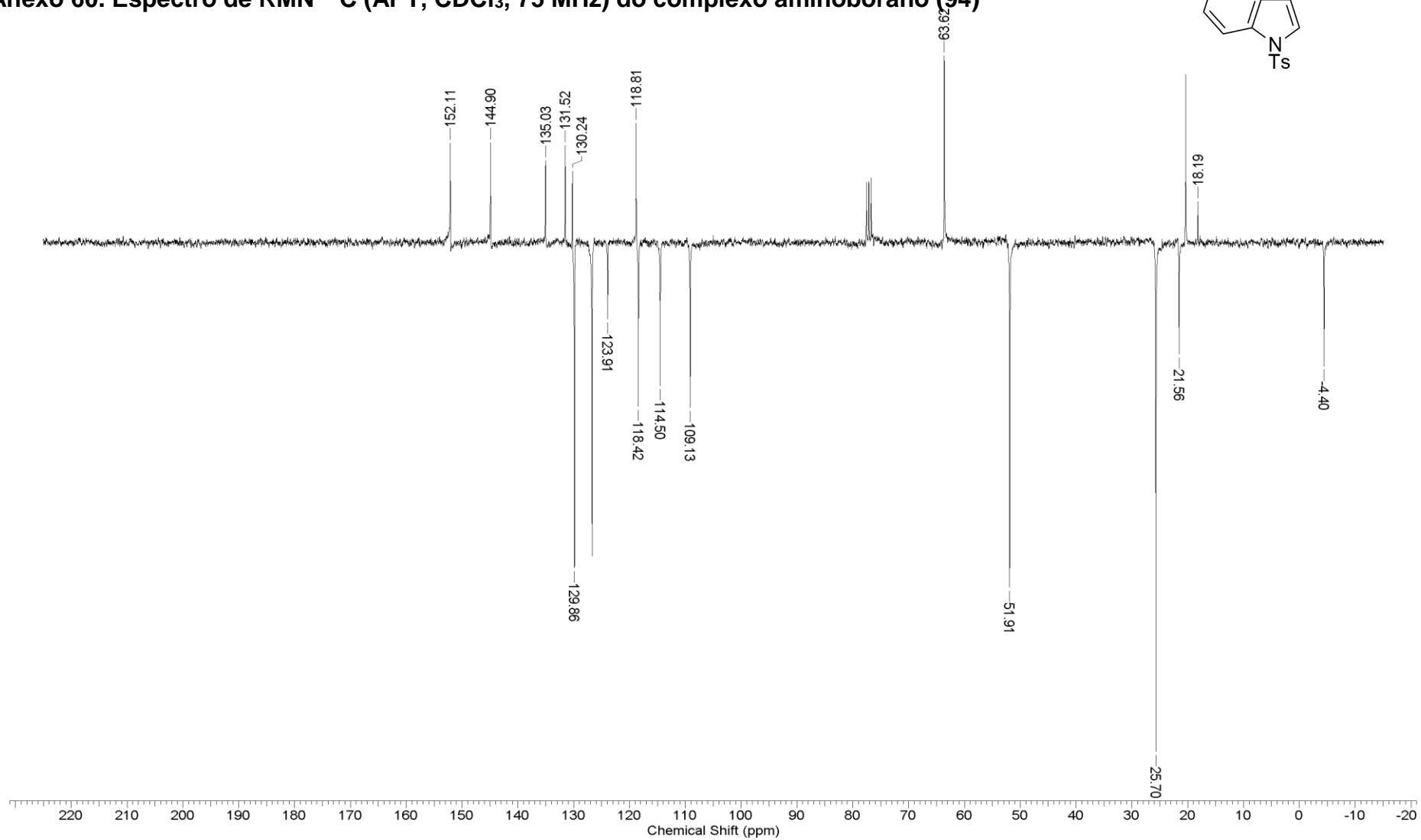
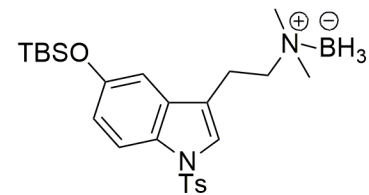
Anexo 58. Espectro do HRESI/MS do complexo aminoborano (93)



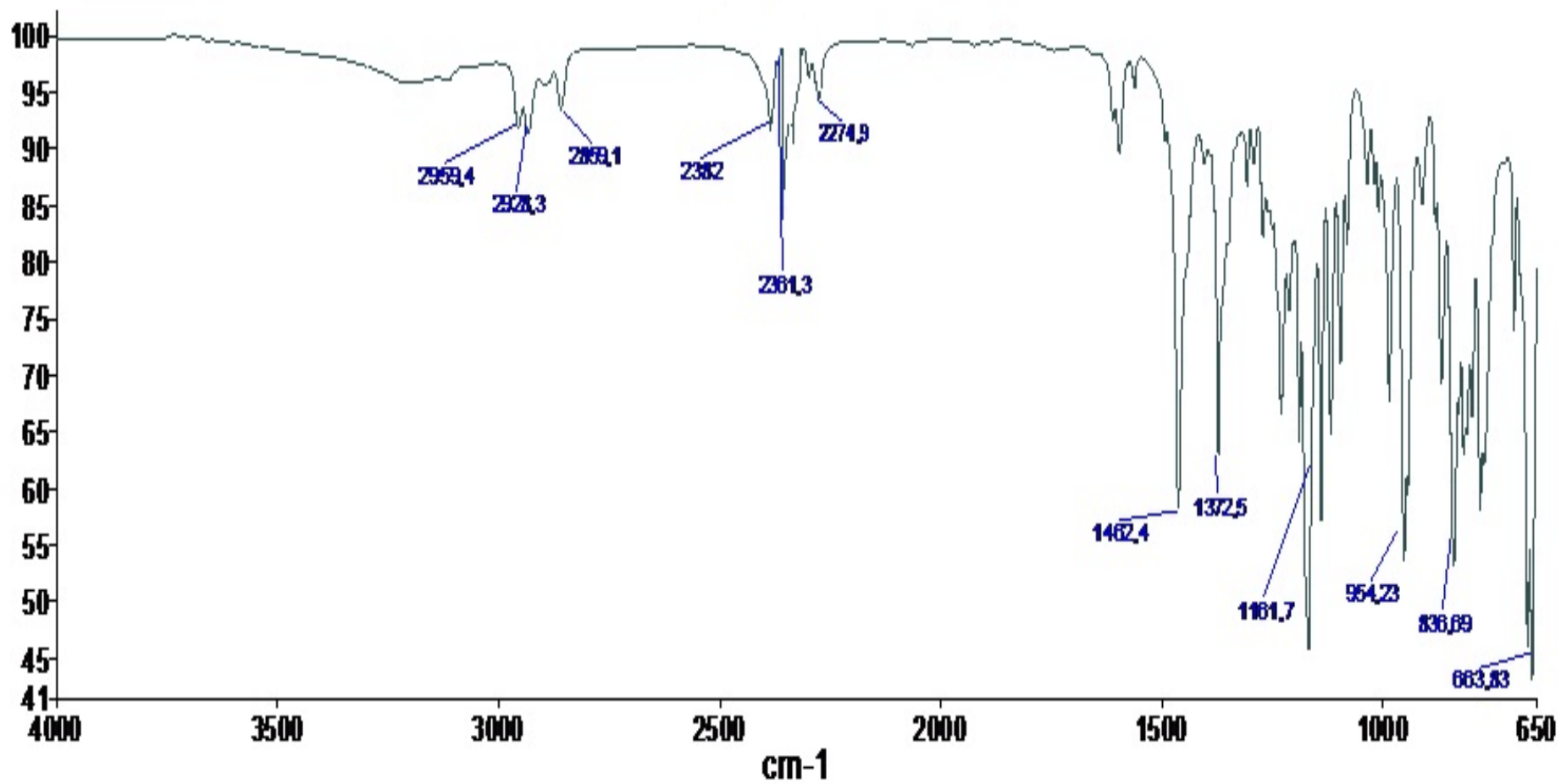
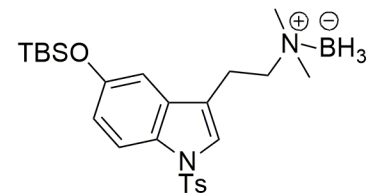
Anexo 59. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do complexo aminoborano (94)

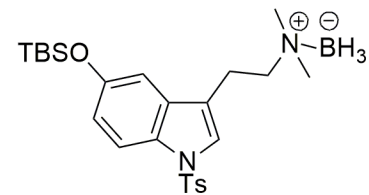


Anexo 60. Espectro de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 75 MHz) do complexo aminoborano (94)

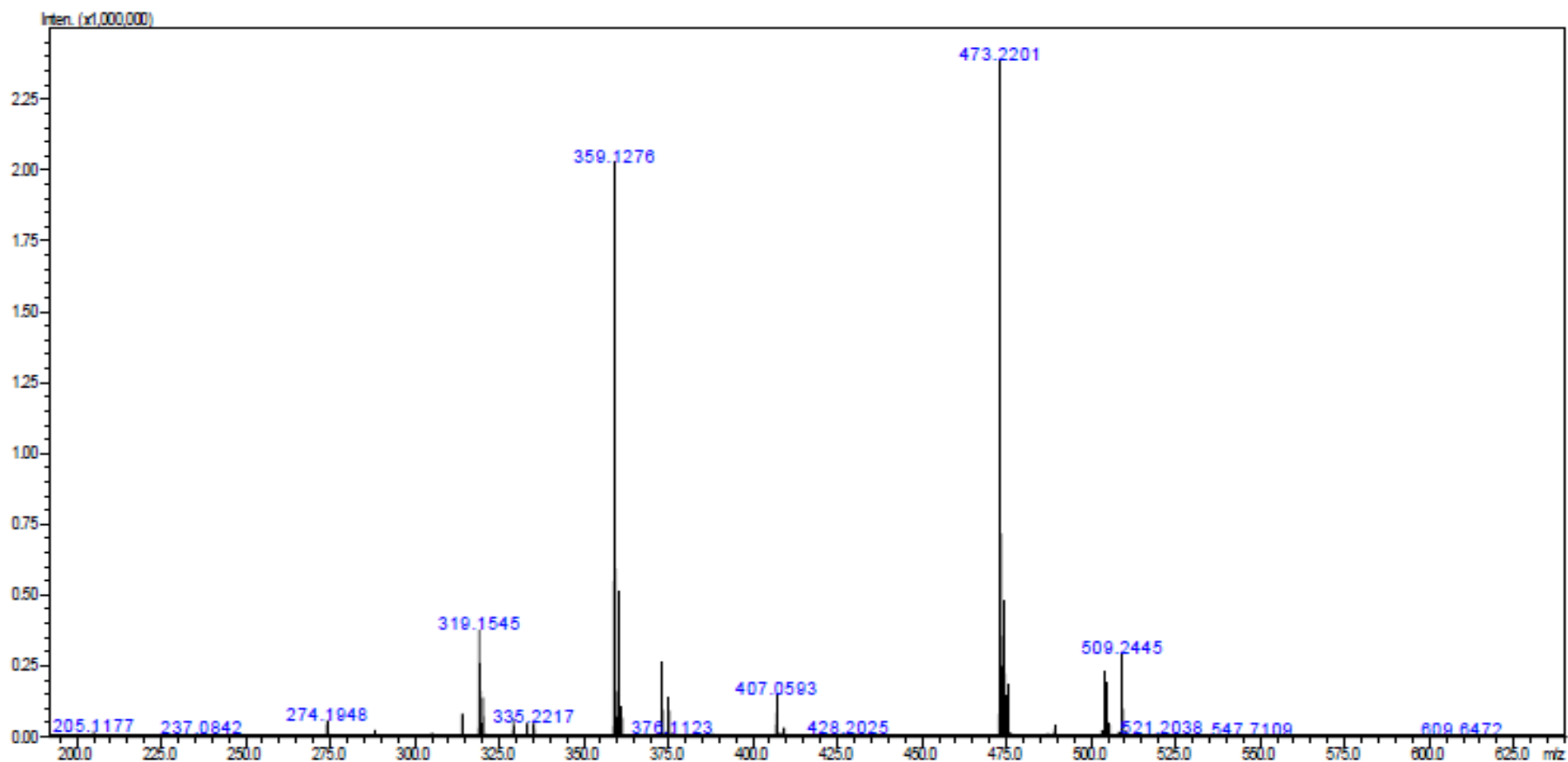


Anexo 61. Espectro de Infravermelho (ATR) do complexo aminoborano (94)

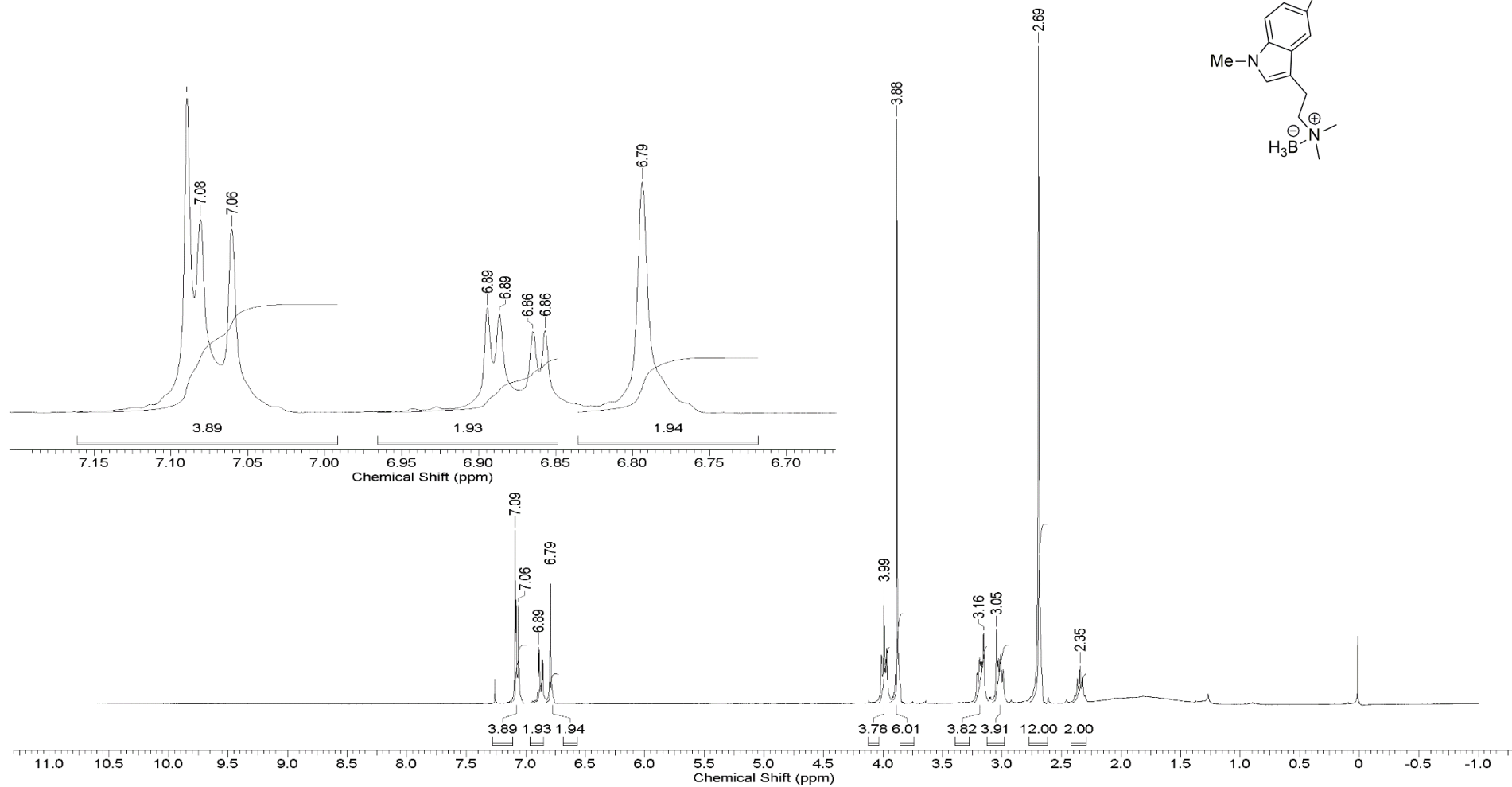
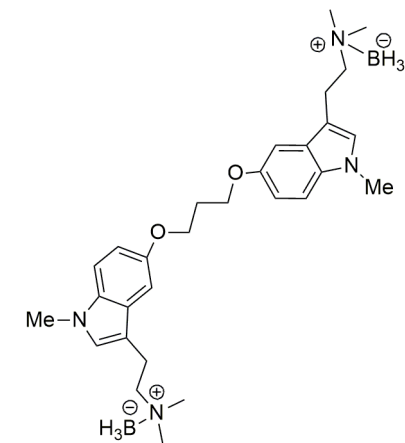




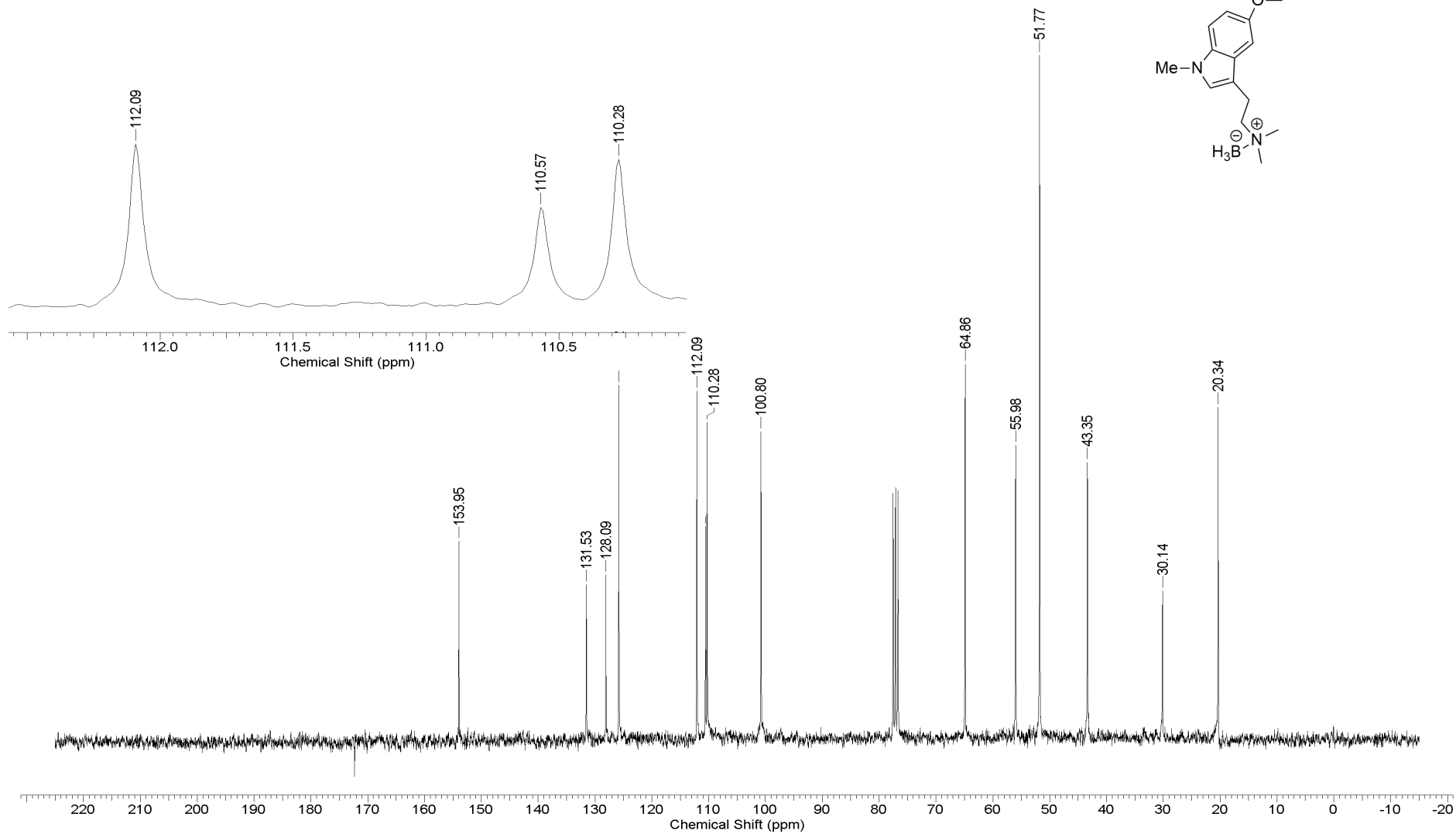
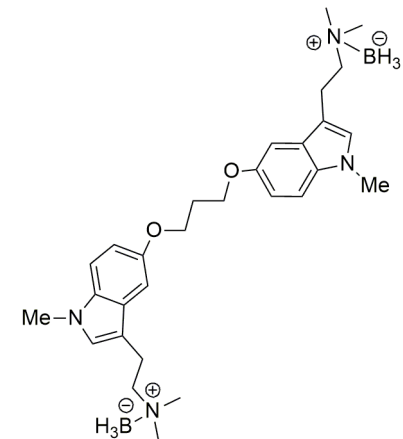
Anexo 62. Espectro de HRESI/MS do complexo aminoborano (94)



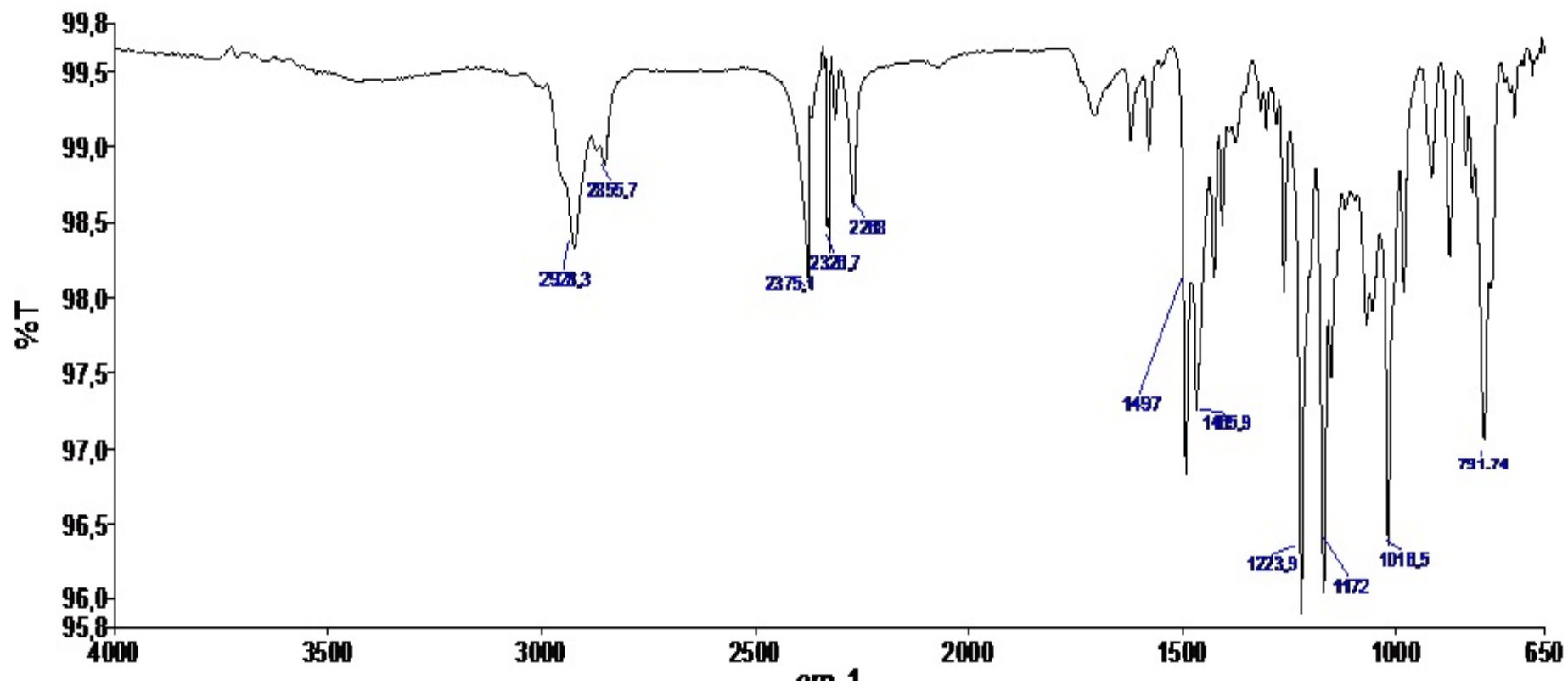
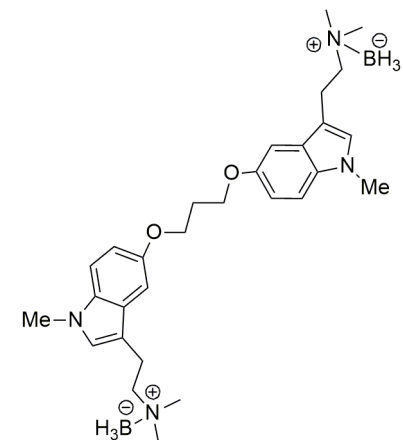
Anexo 63. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do amino borano dímérico (96)



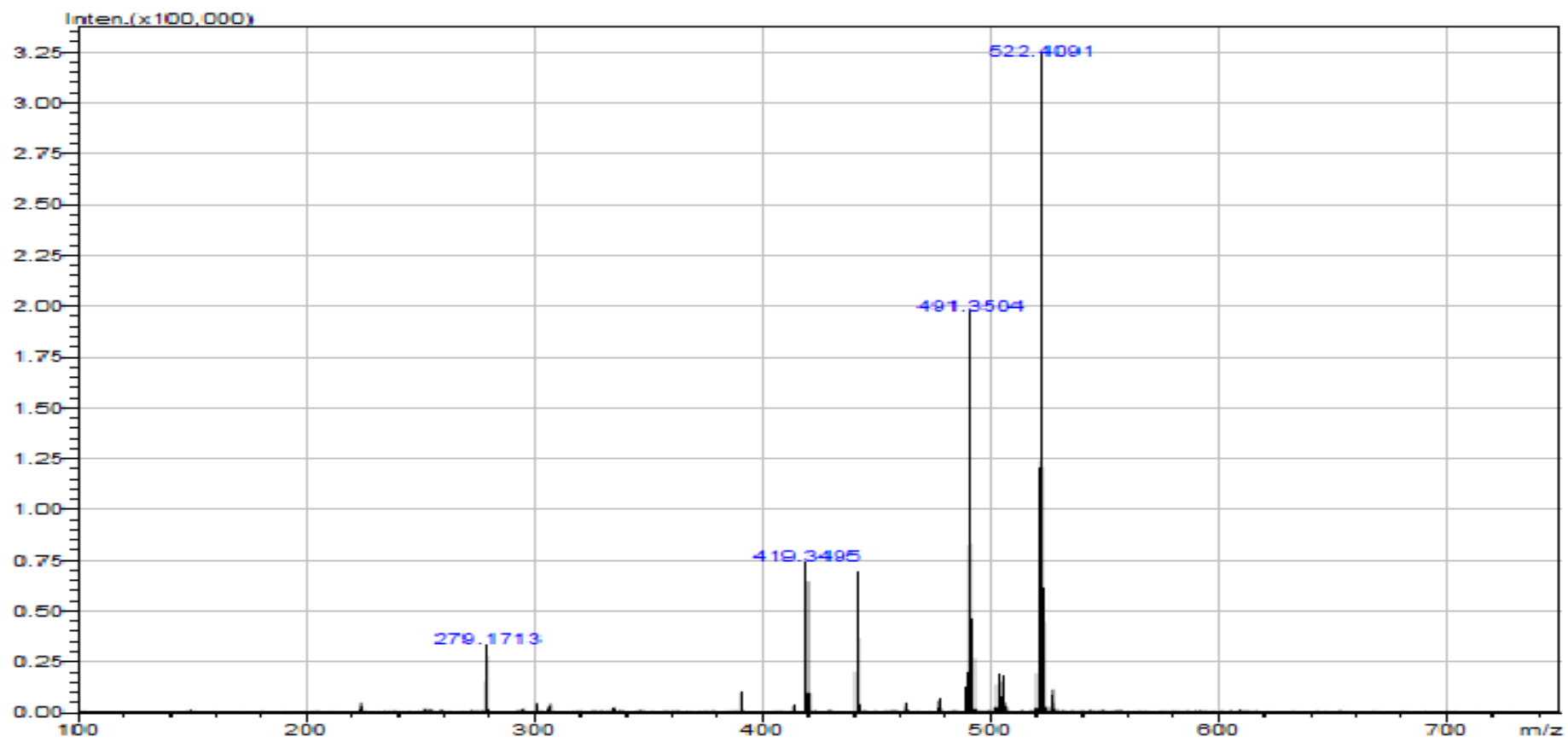
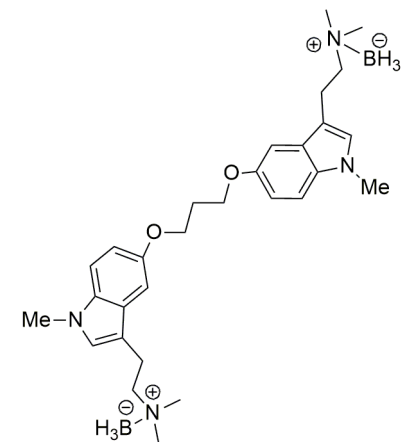
Anexo 64. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do amino borano dímérico (96)



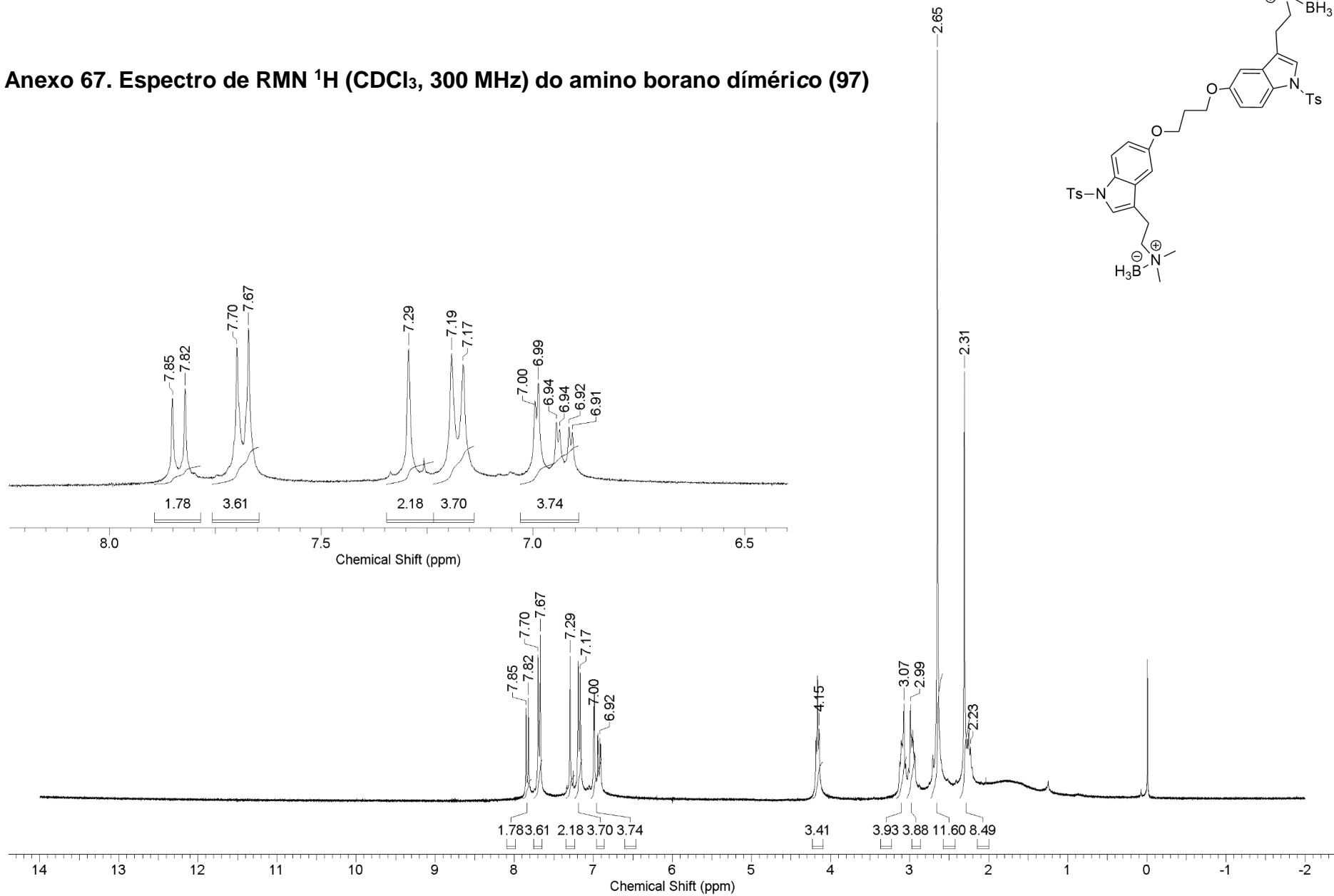
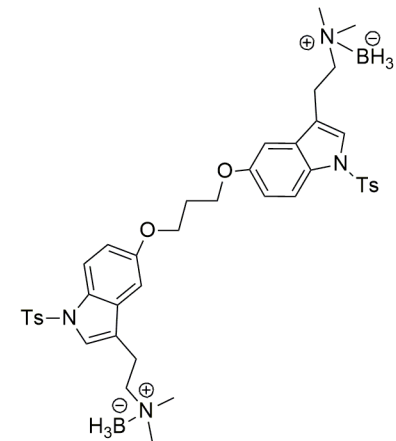
Anexo 65. Espectro de Infravermelho (ATR) do amino borano dímérico (96)



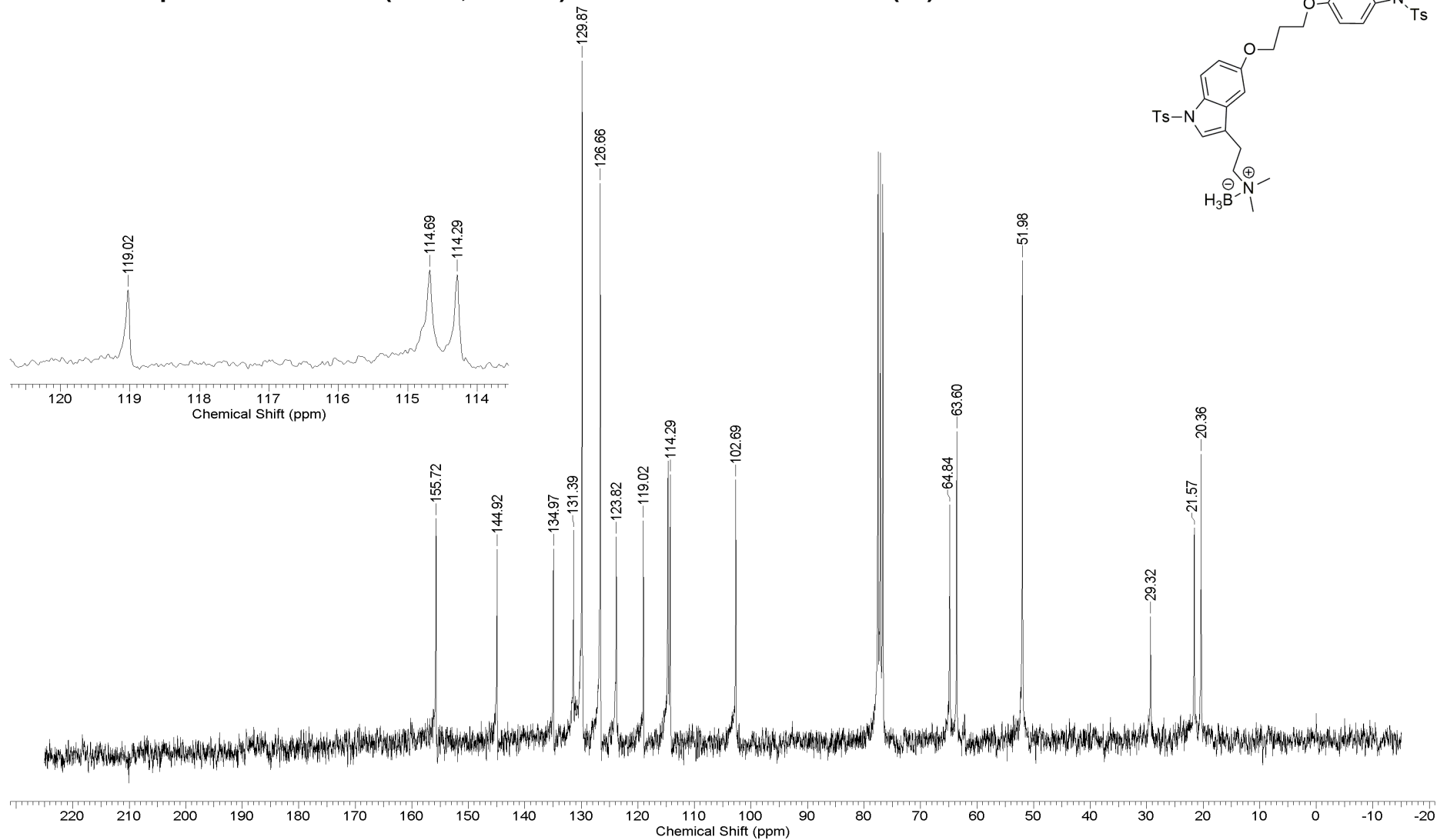
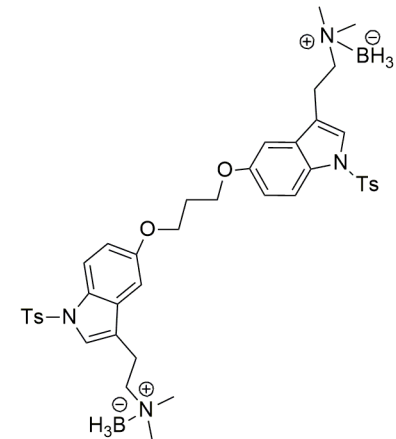
Anexo 66. Espectro de HRESI/MS do amino borano dímérico (96)



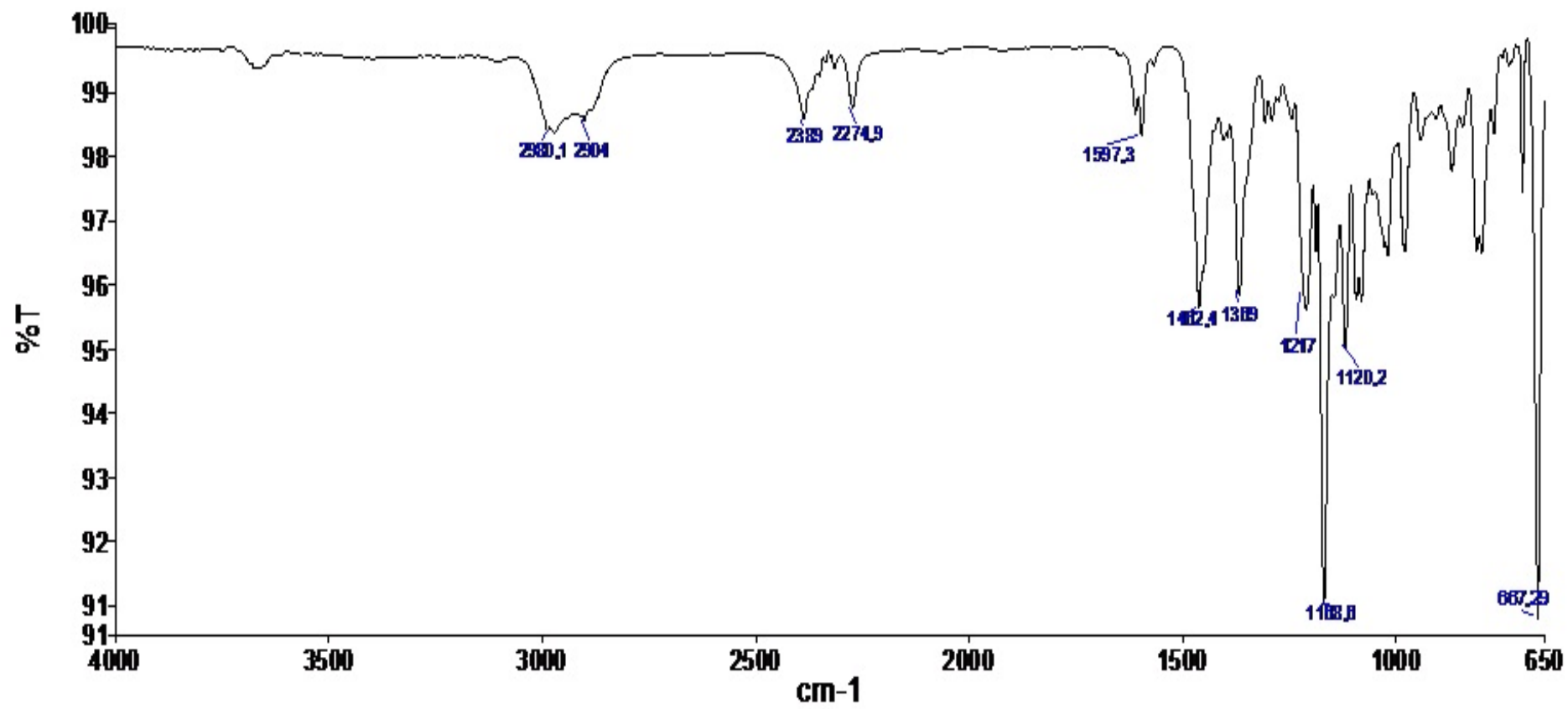
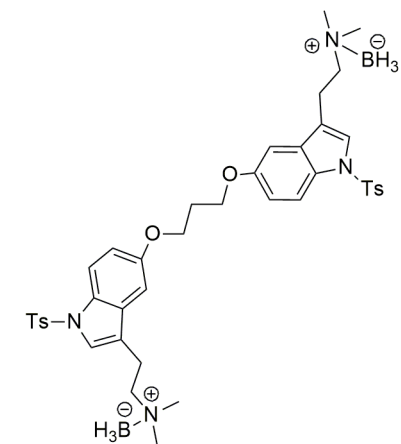
Anexo 67. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do amino borano dímérico (97)



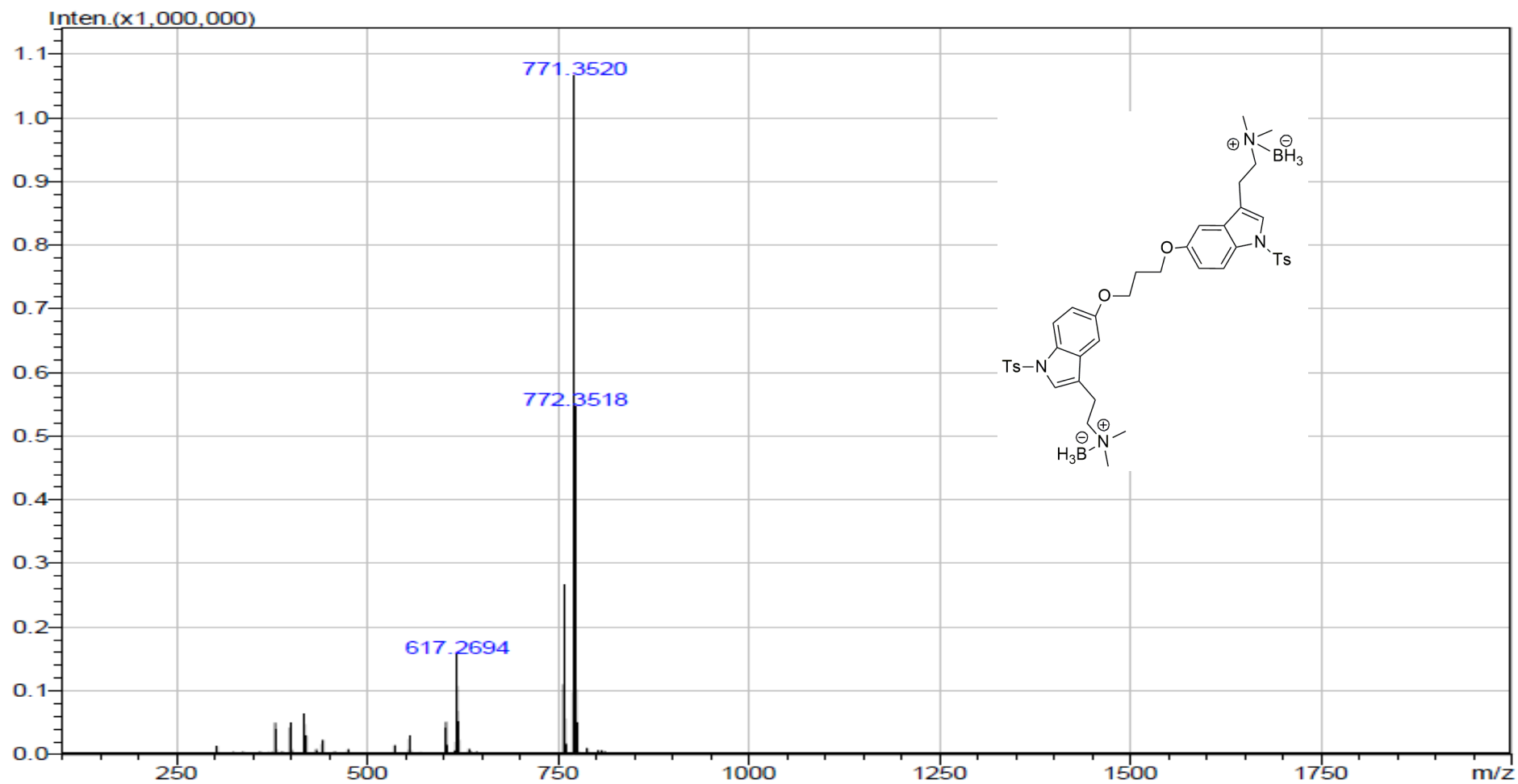
Anexo 68. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do amino borano dímérico (97)



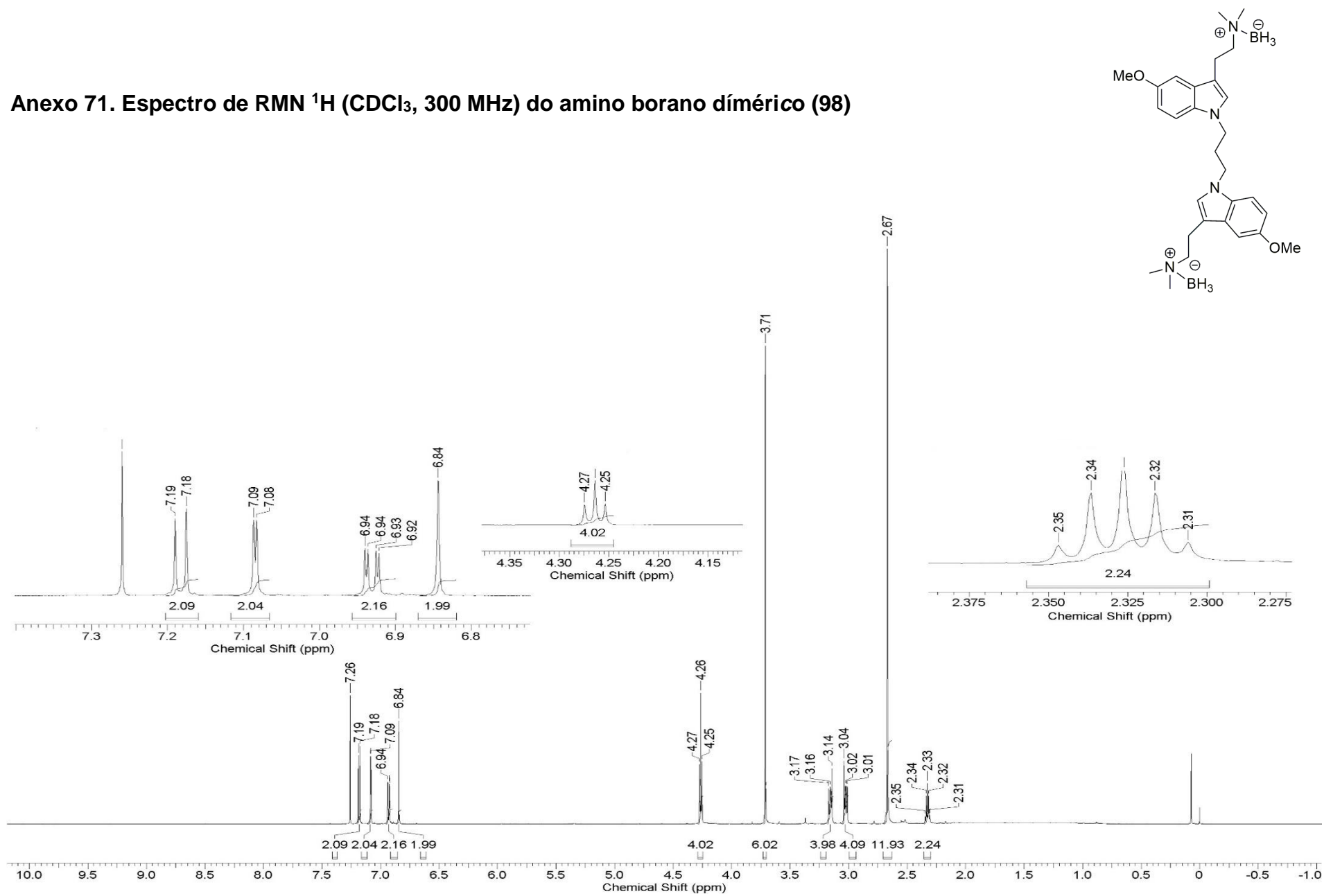
Anexo 69. Espectro de Infravermelho (ATR) do amino borano dímérico (97)



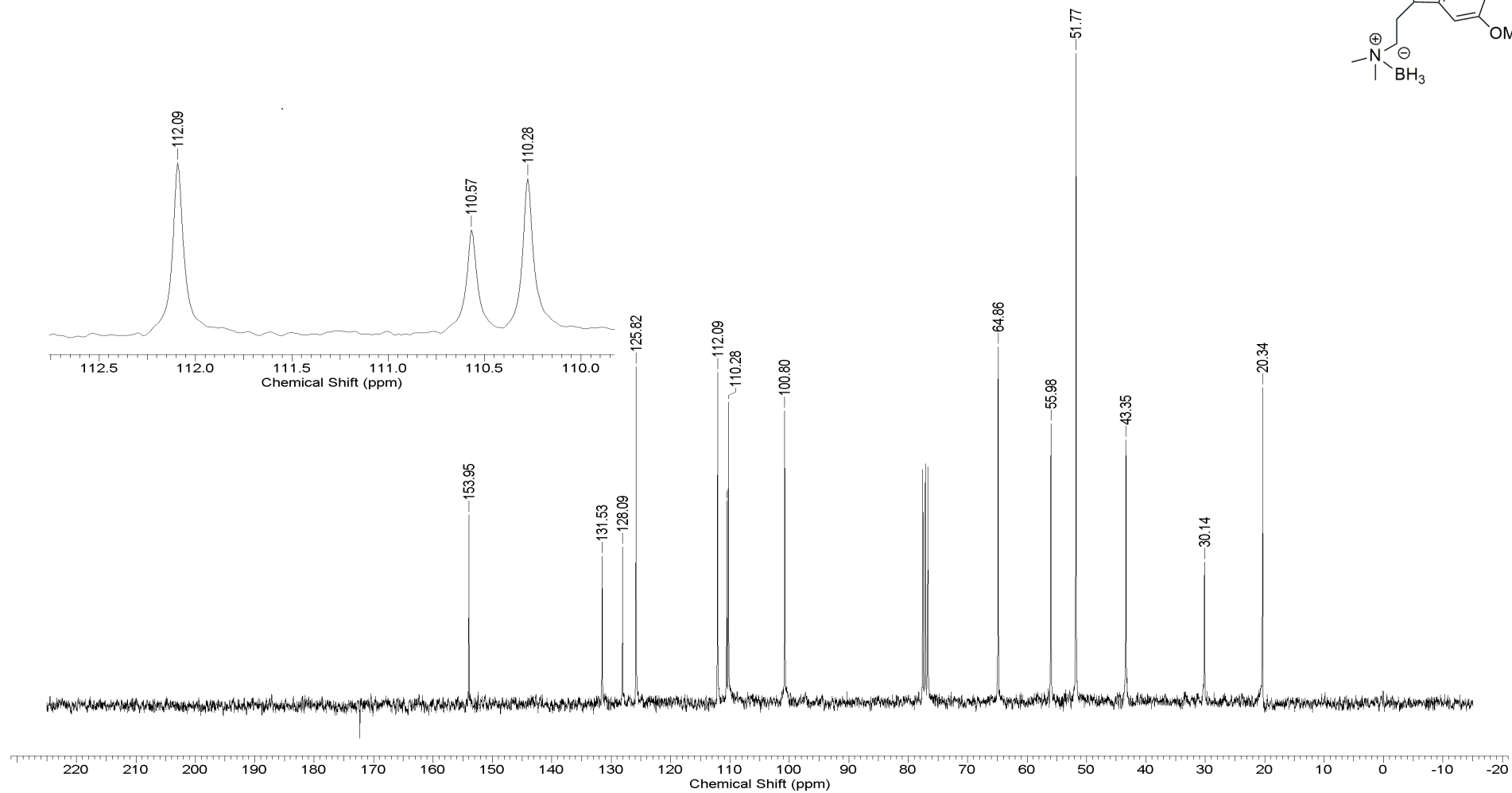
Anexo 70. Espectro do HRESI/MS do amino borano dímérico (97)



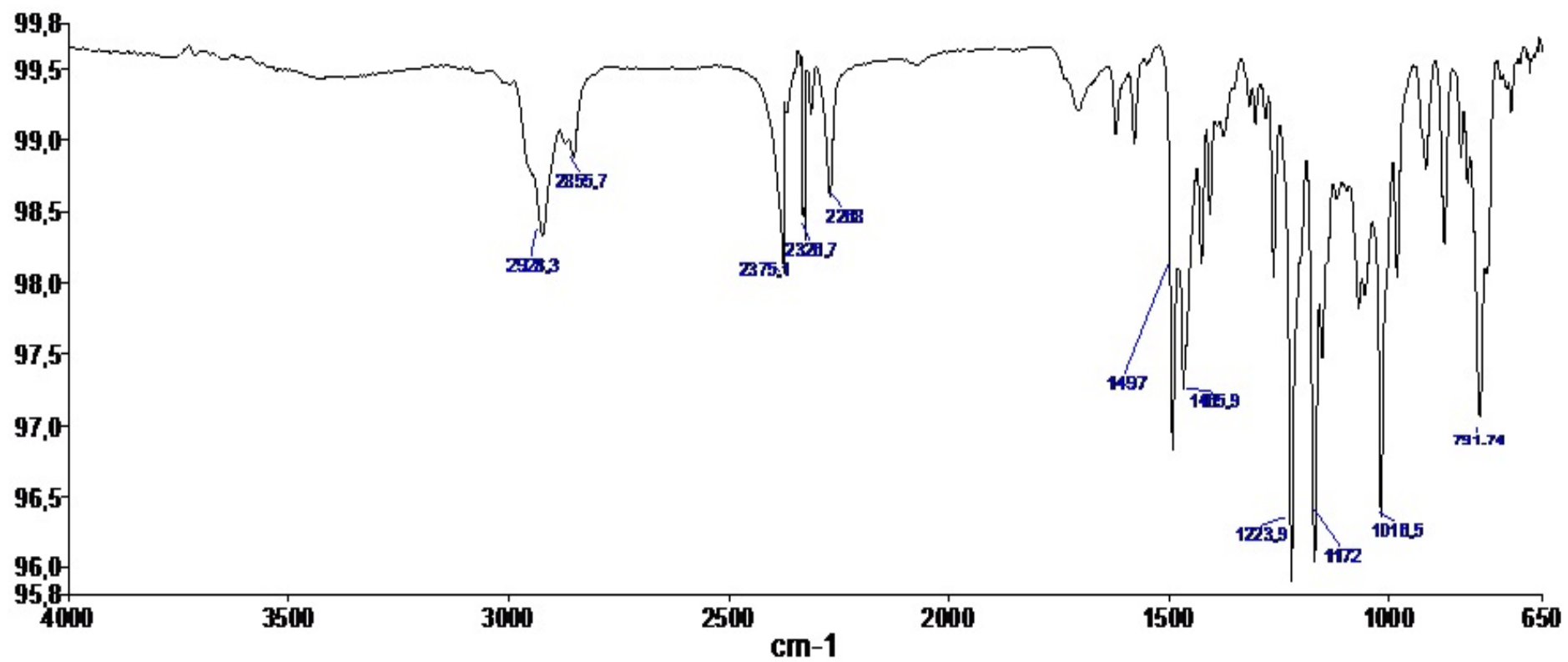
Anexo 71. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do amino borano dímérico (98)



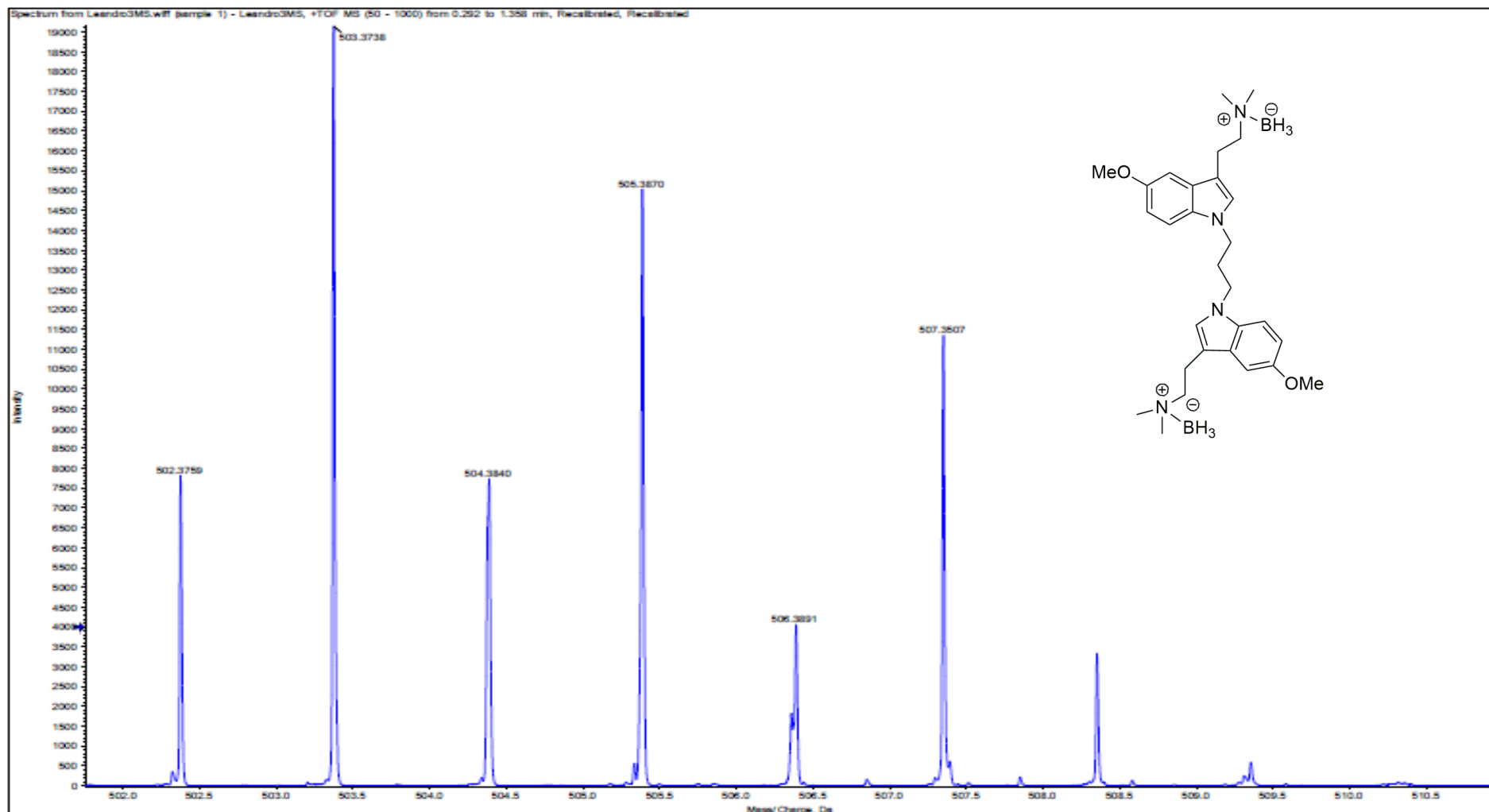
Anexo 72. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do amino borano dímérico (98)



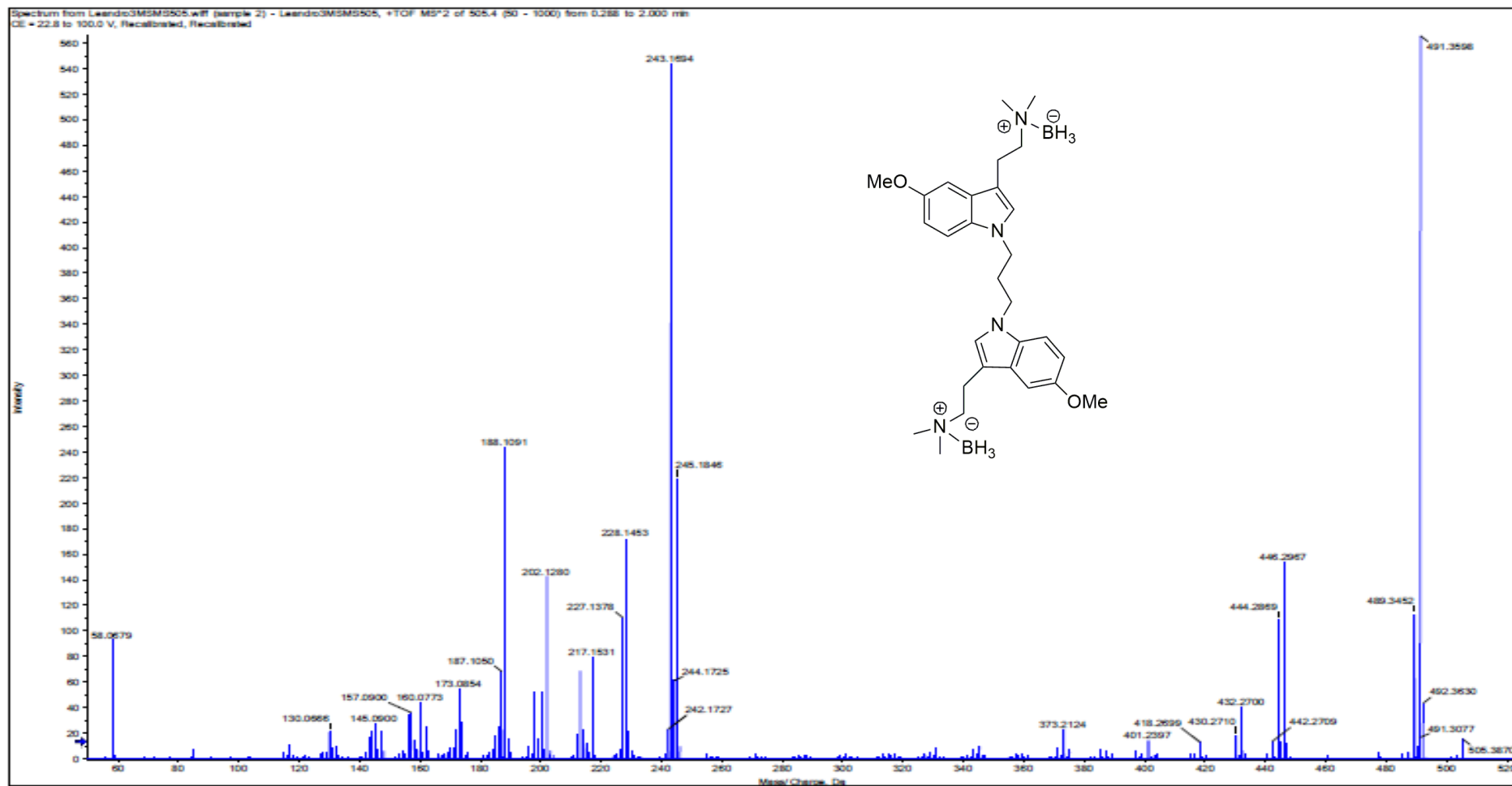
Anexo 73. Espectro de Infravermelho (ATR) do amino borano dímérico (98)



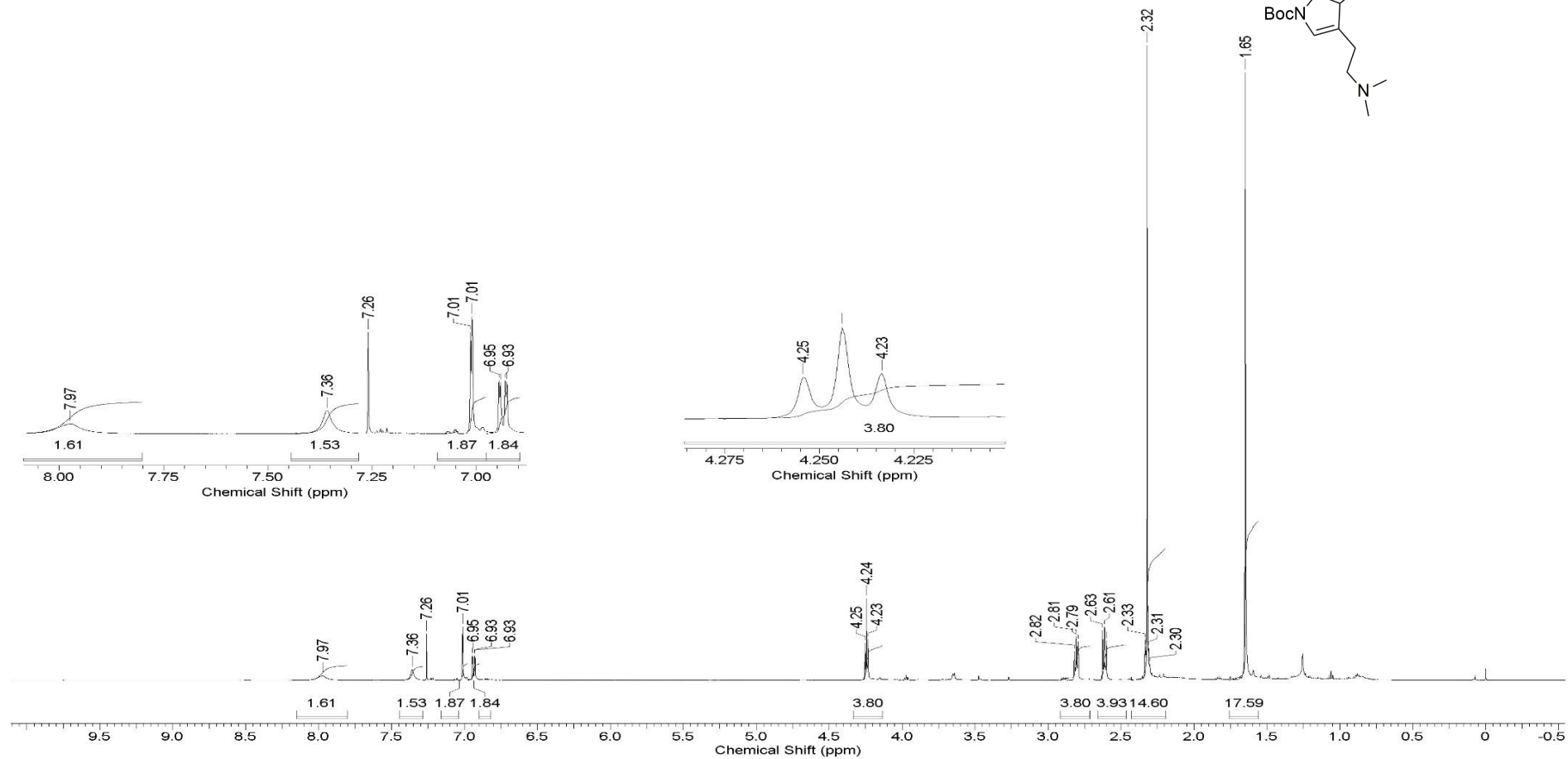
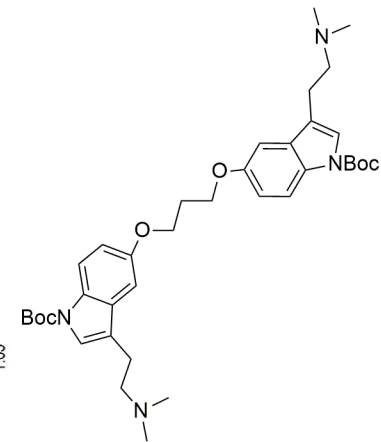
Anexo 74. Espectro de HRESI/MS do amino borano dímérico (98)



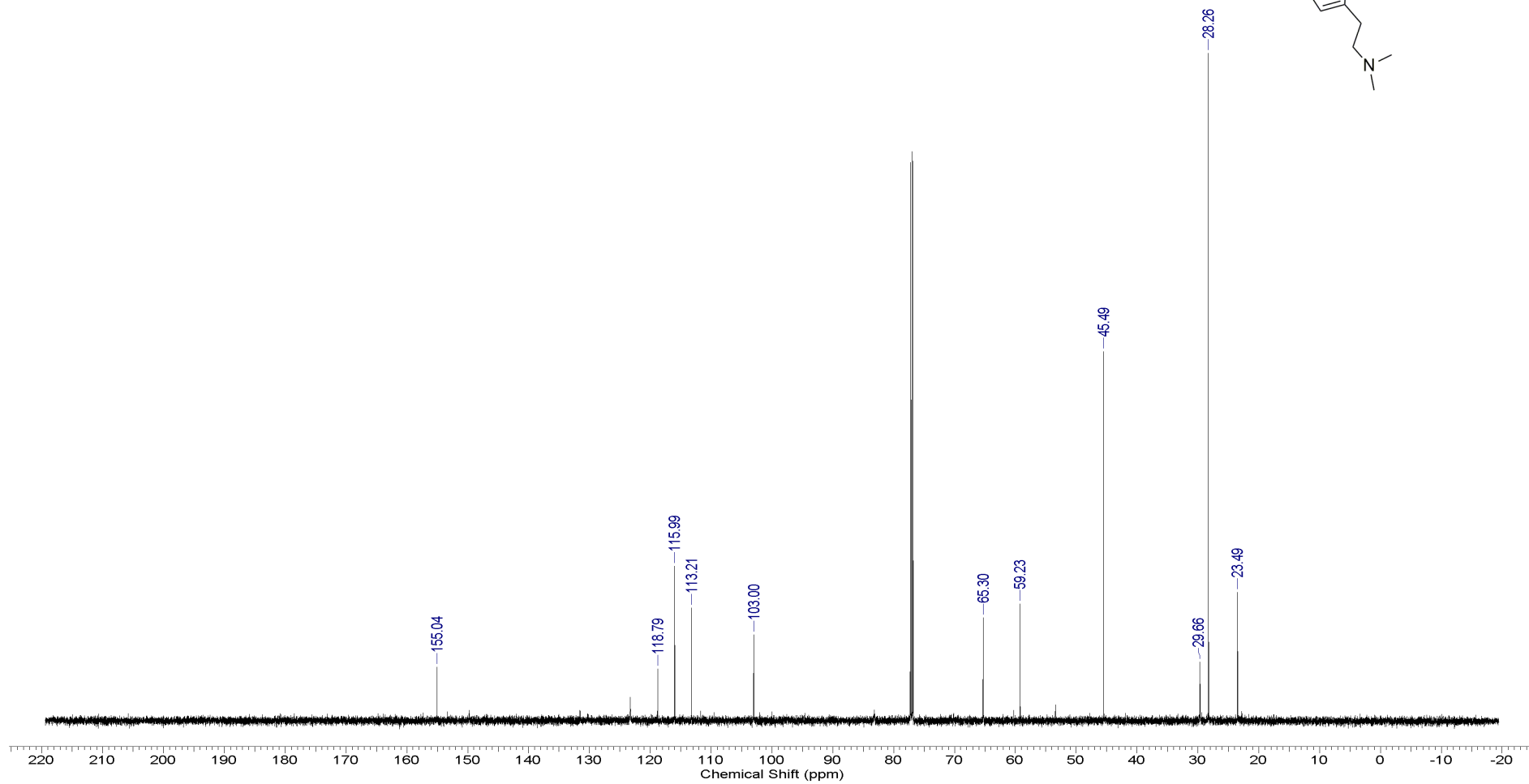
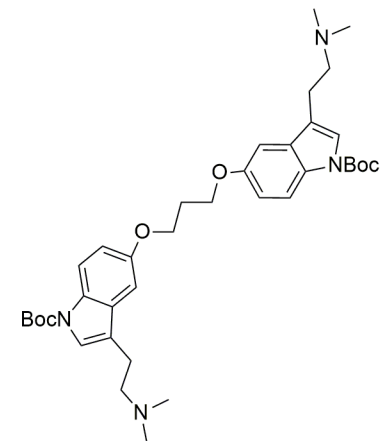
Anexo 75. Espectro de varredura íon produto precursor $[M + H]^+ = 503,3738$ do amino borano dímérico (98)



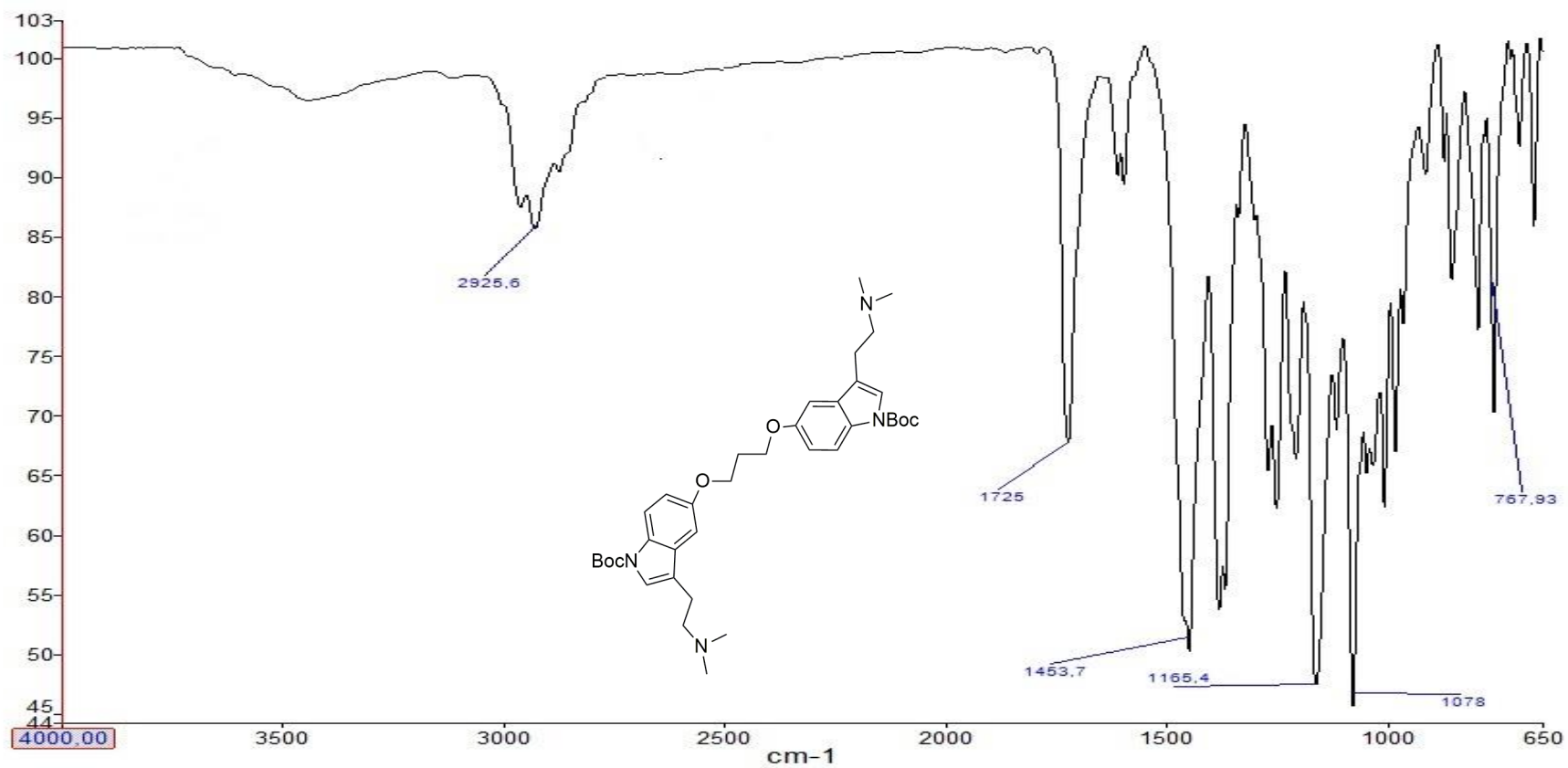
Anexo 76. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) do dímero (99)



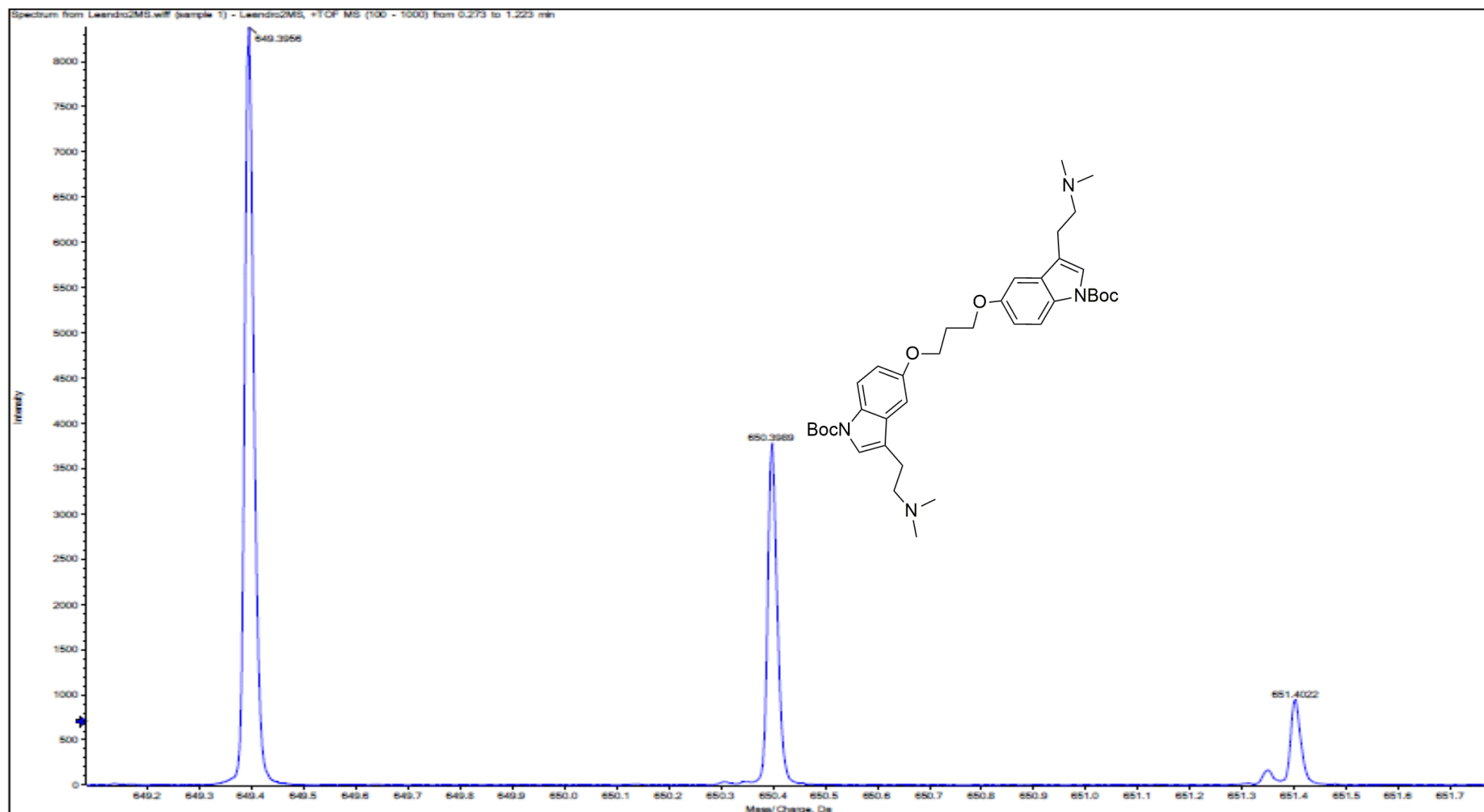
Anexo 77. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) do dímero (99)



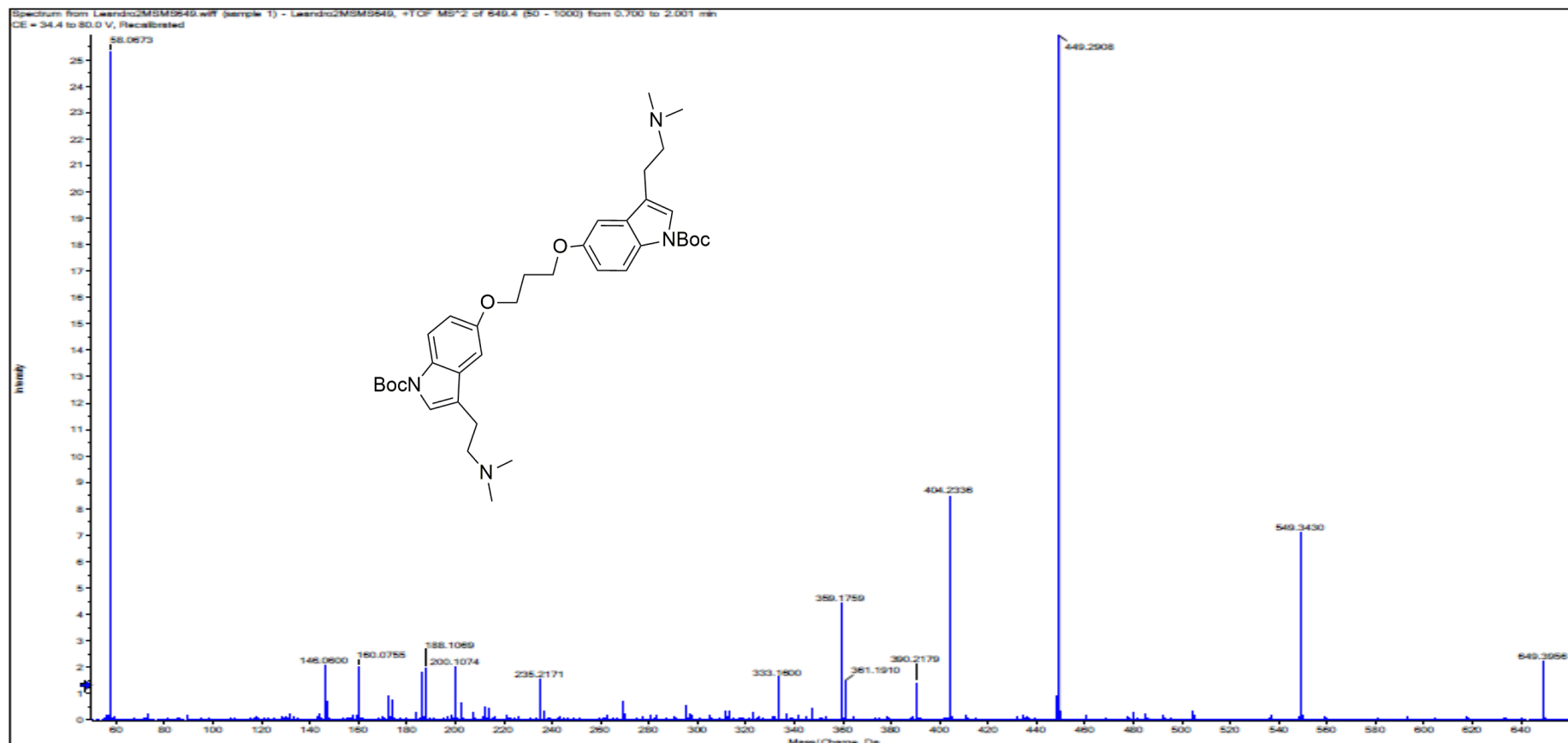
Anexo 78. Espectro de Infravermelho (ATR) do dímero (99)



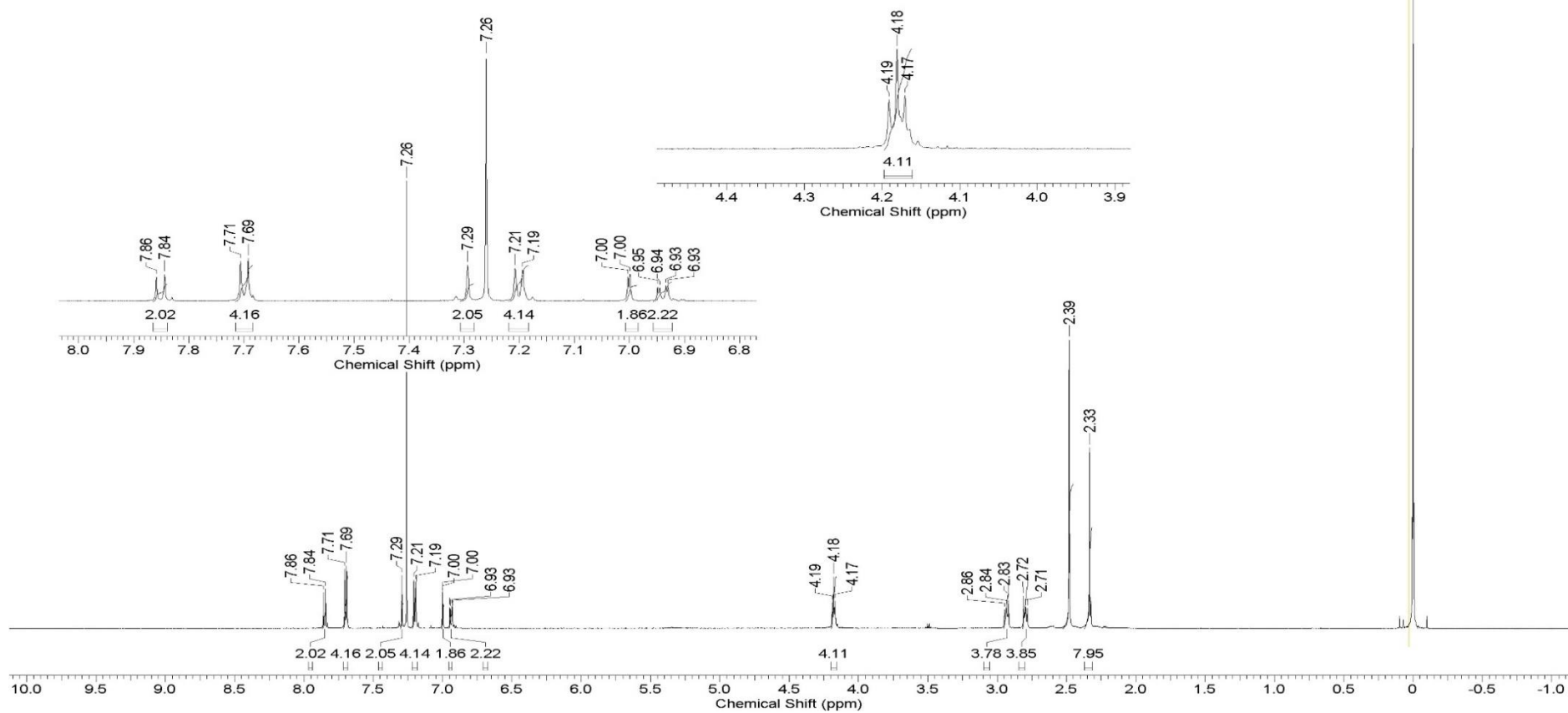
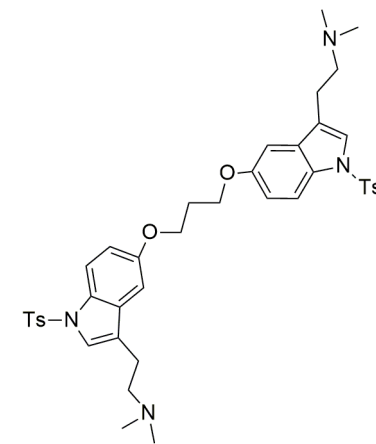
Anexo 79. Espectro de HR-ESIMS dímero (99)



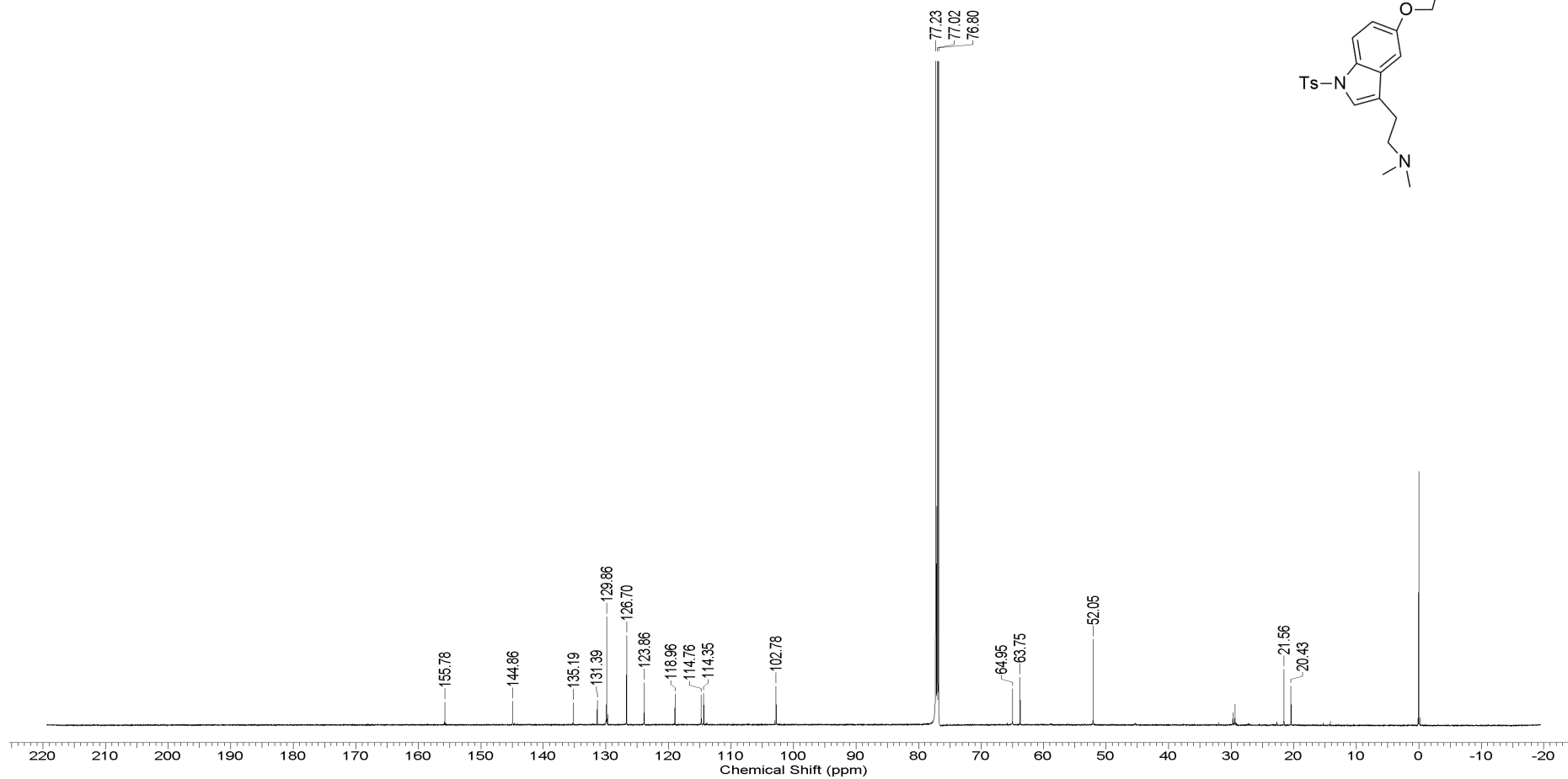
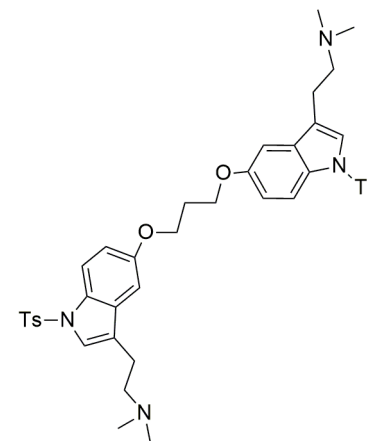
Anexo 80. Espectro de varredura do íon produto precursor $[M + H]^+ = 649,3956$ do dímero (99)



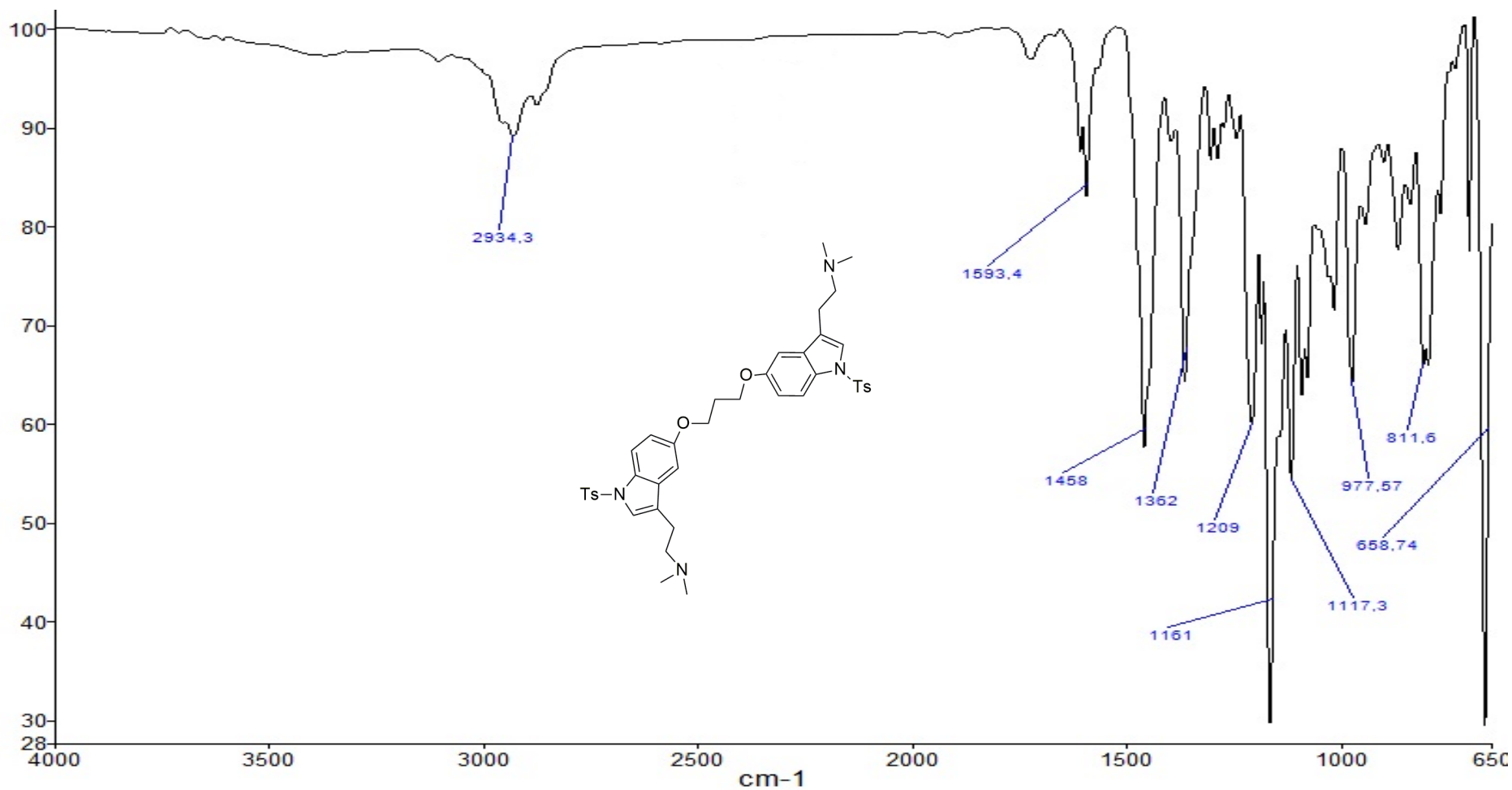
Anexo 81. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) do dímero (100)



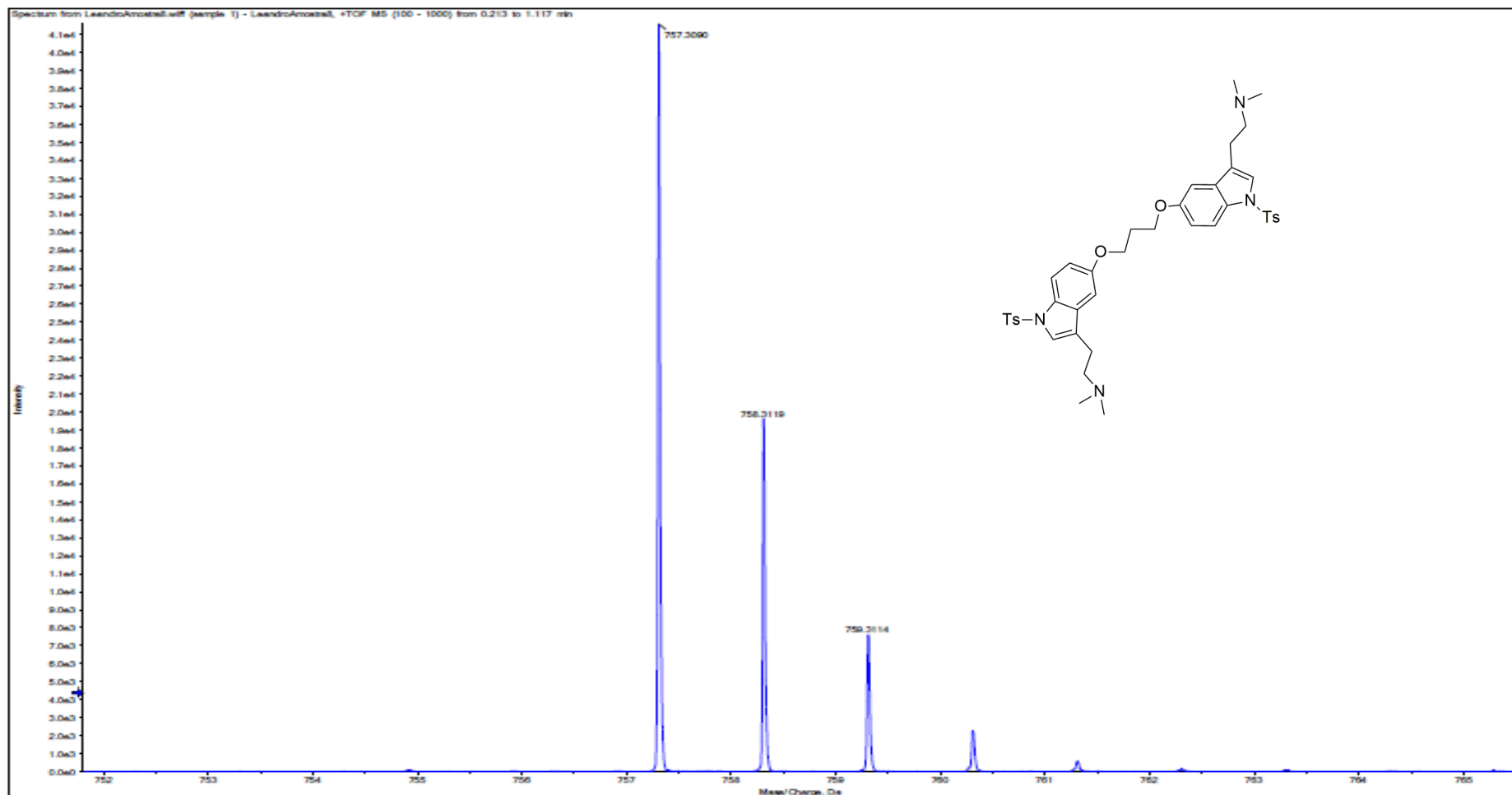
Anexo 82. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) do dímero (100)



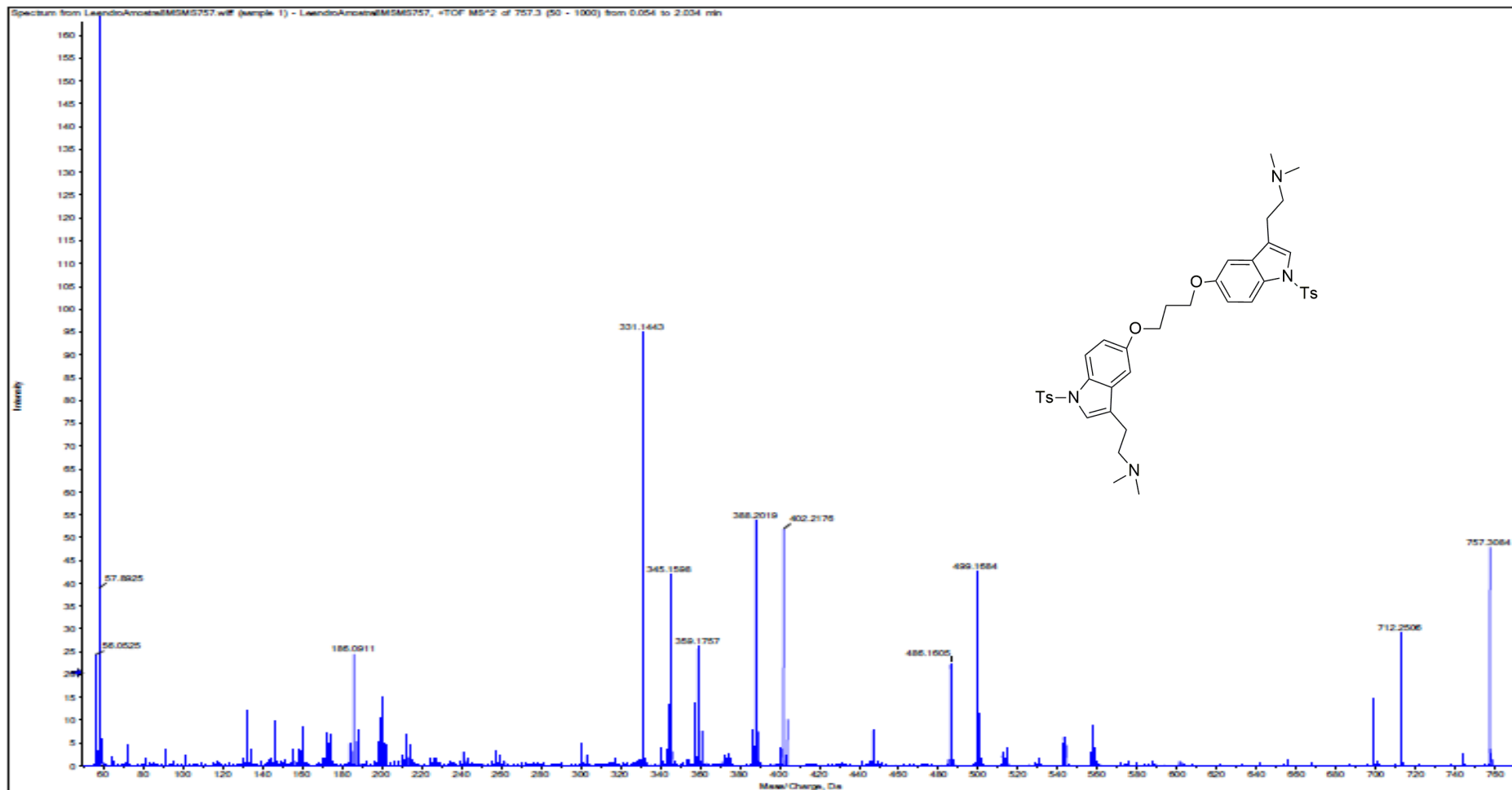
Anexo 83. Espectro de Infravermelho (ATR) do dímero (100)



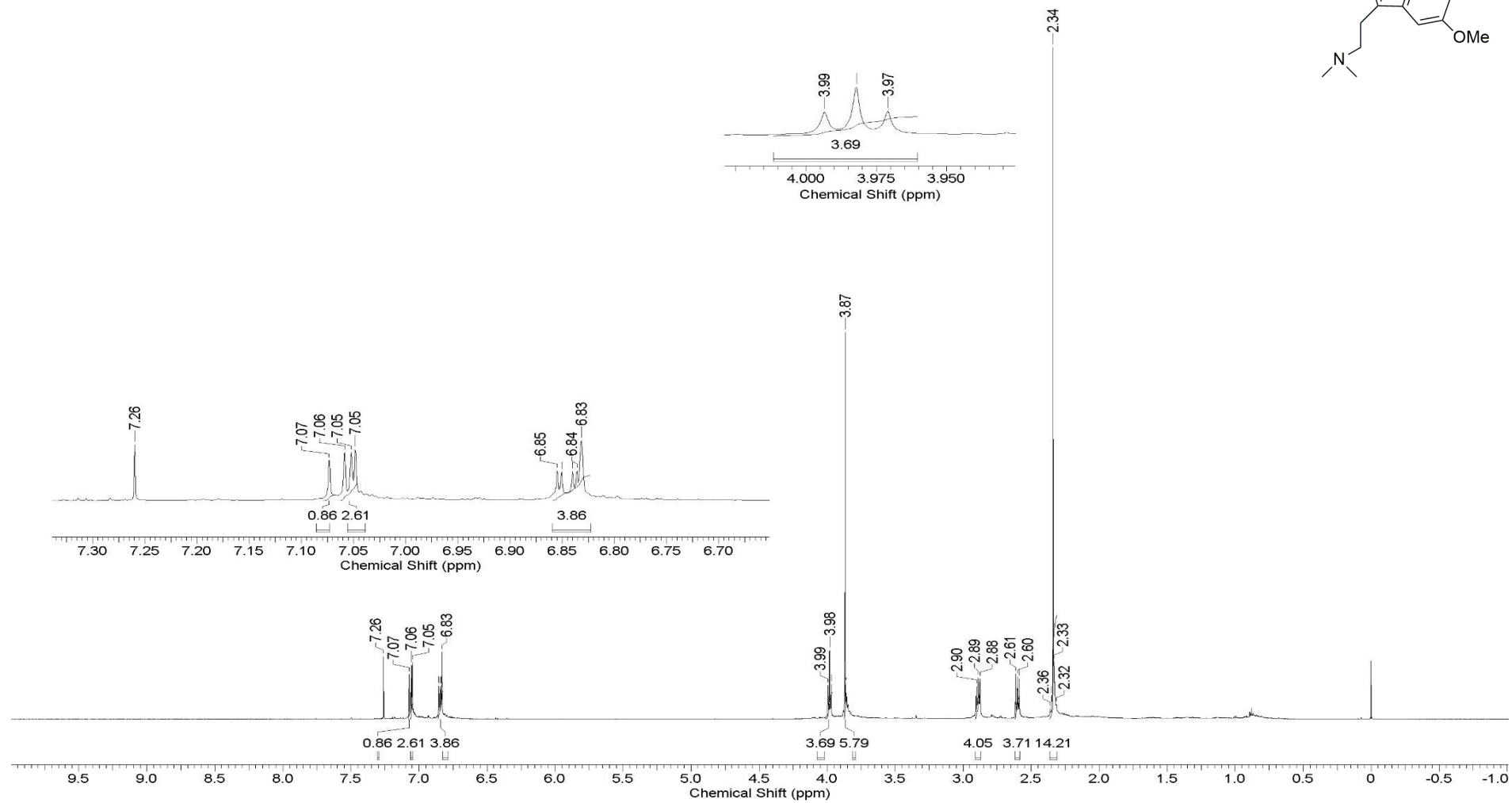
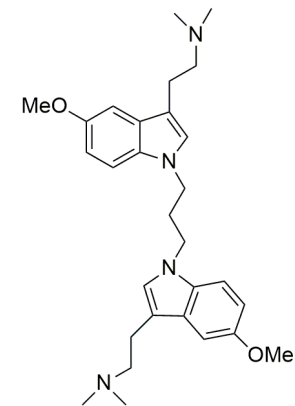
Anexo 84. Espectro de HRESI/MS do dímero (100)



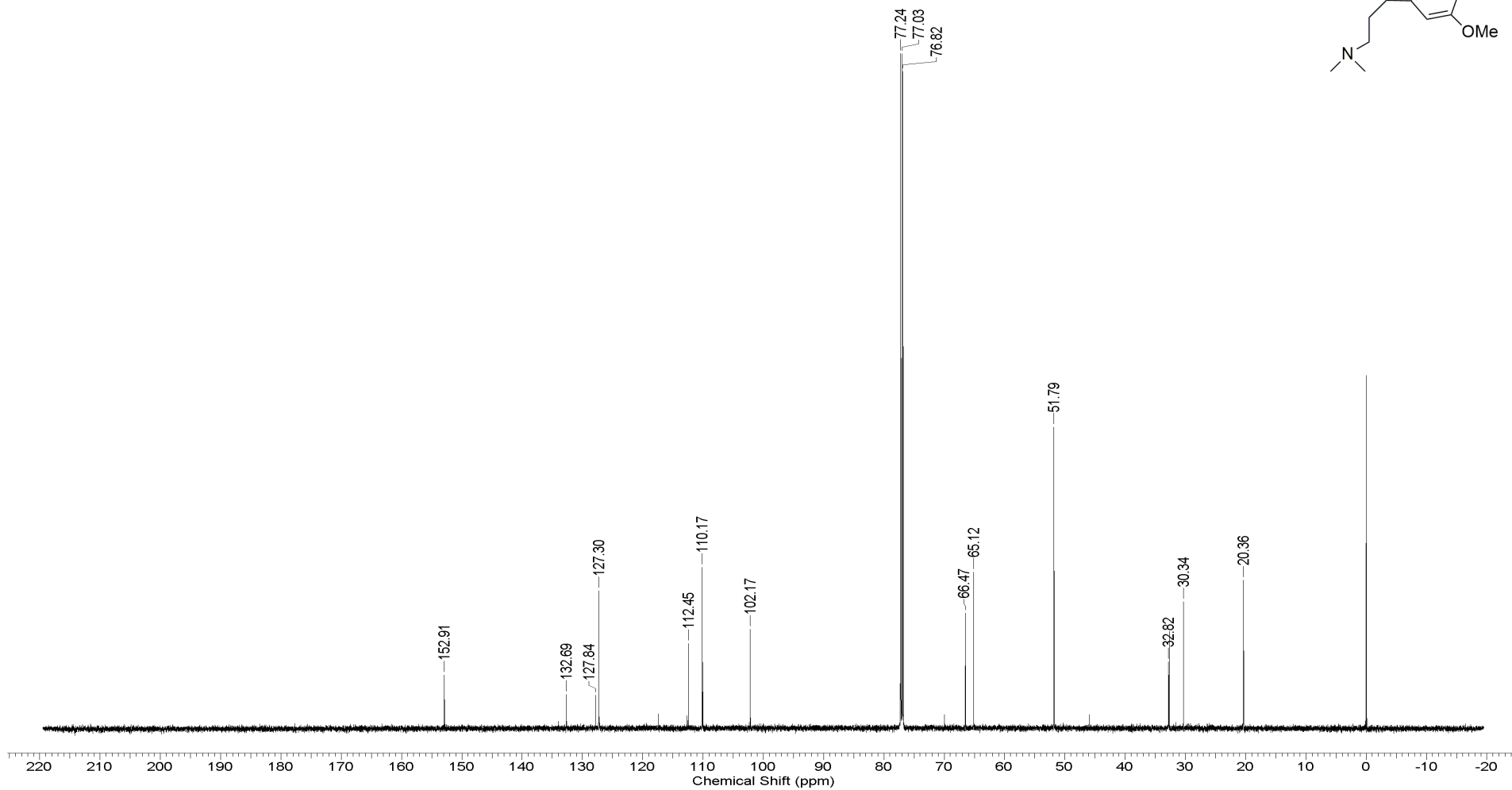
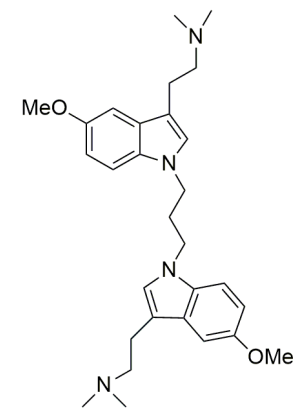
Anexo 85. Espectro de varredura do íon produto precursor $[M + H]^+ = 757,3090$ do dímero (100)



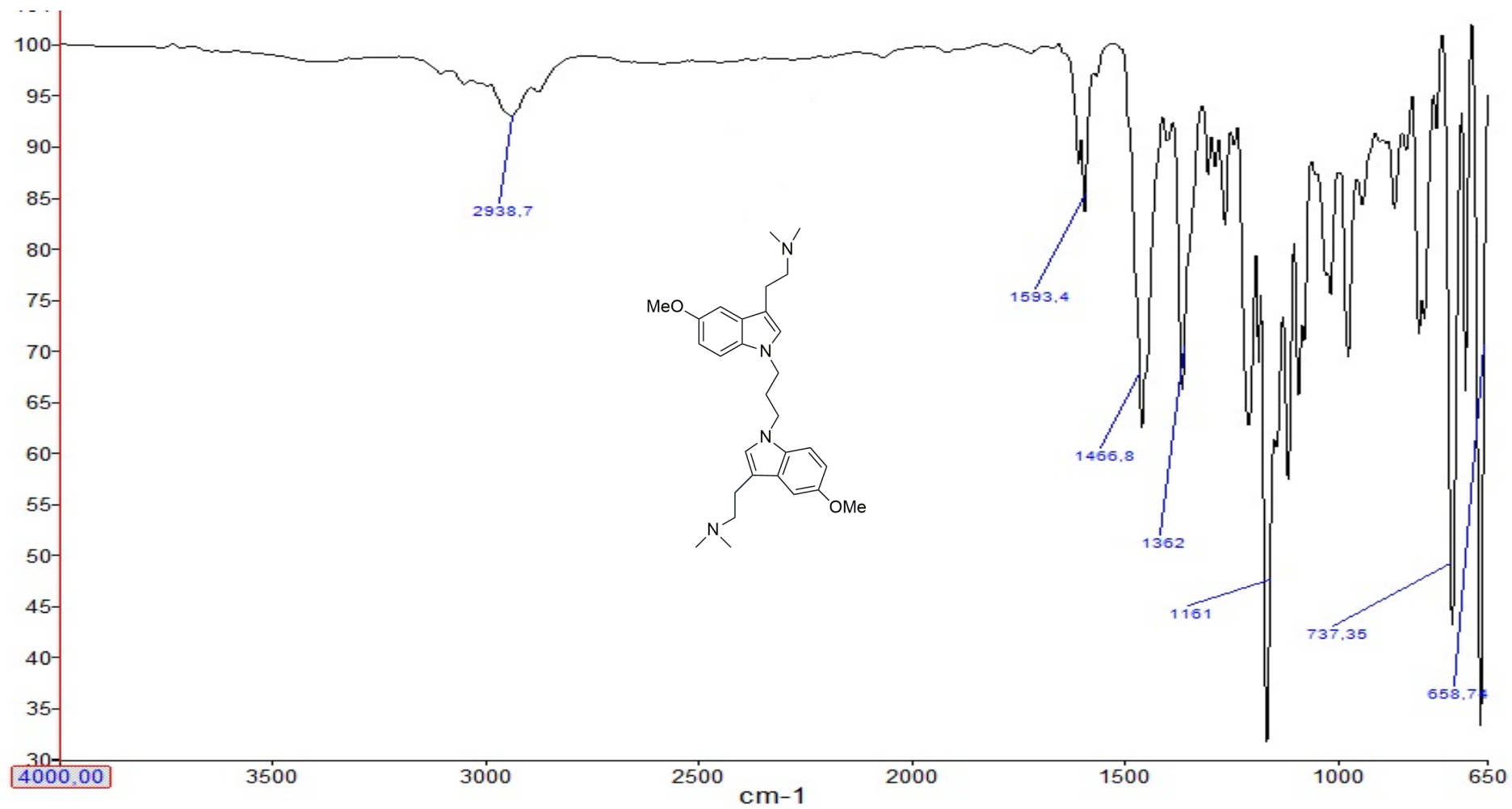
Anexo 86. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) do dímero (101)



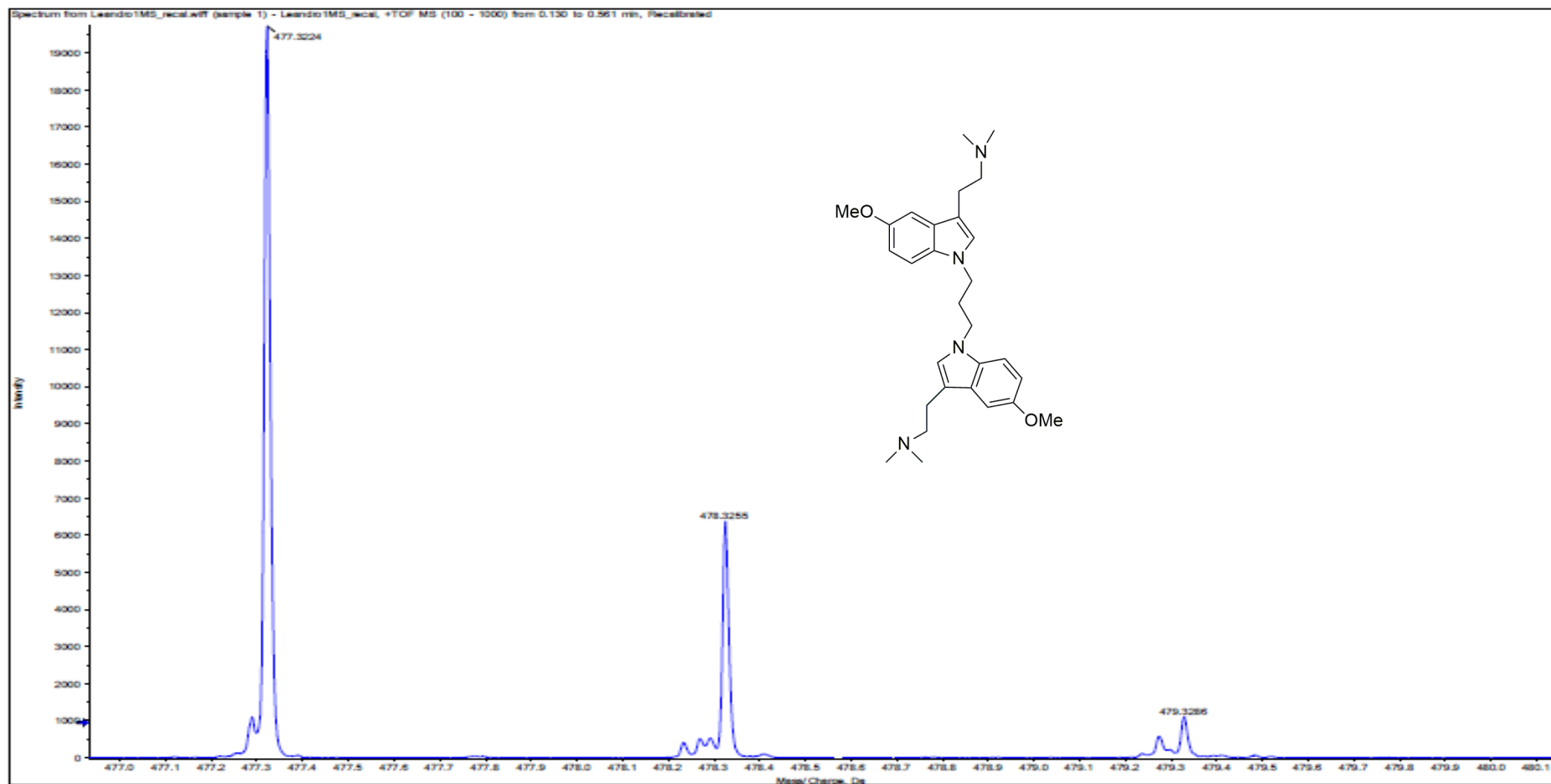
Anexo 87. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz) do dímero (101)



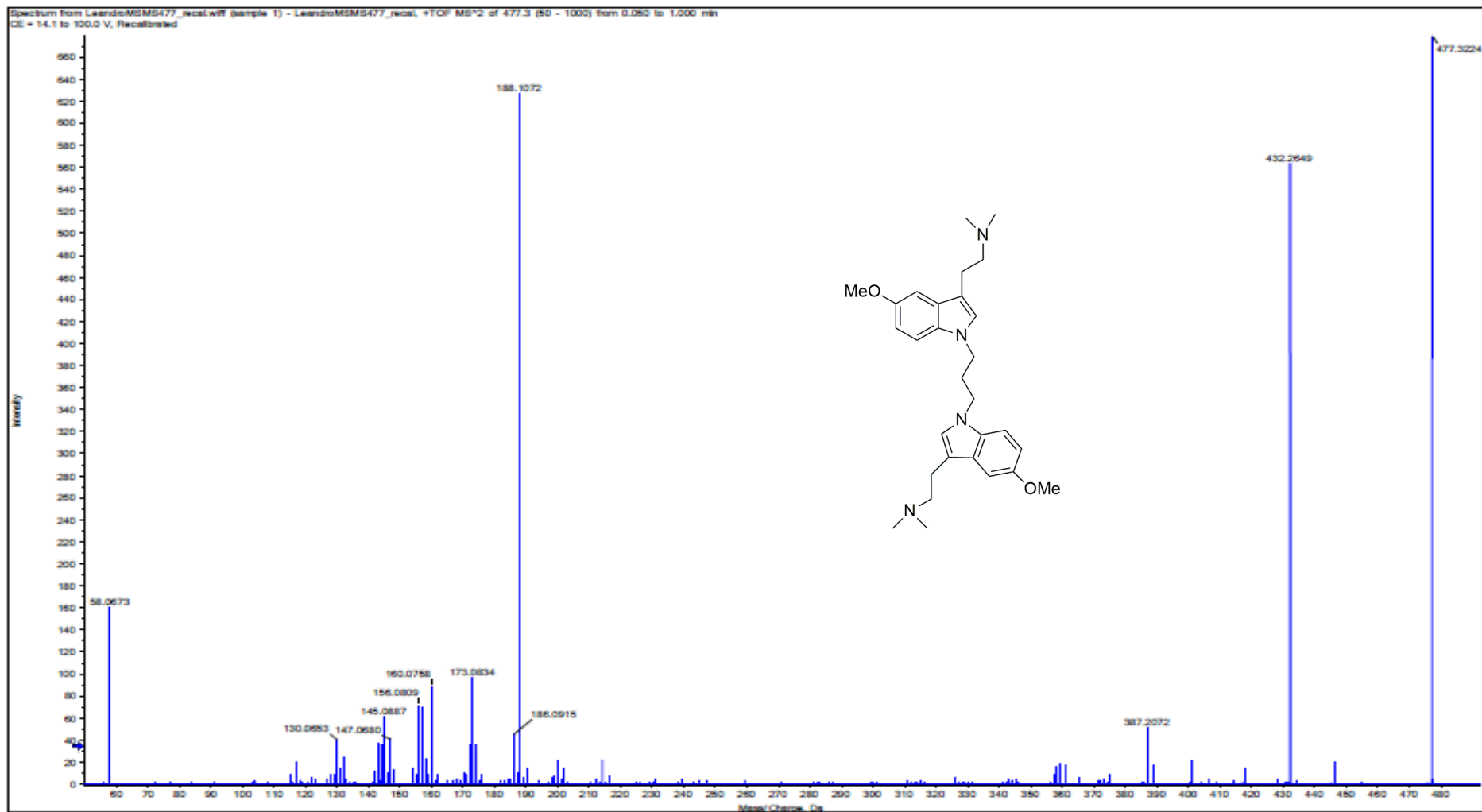
Anexo 88. Espectro de Infravermelho (ATR) do dímero (101)



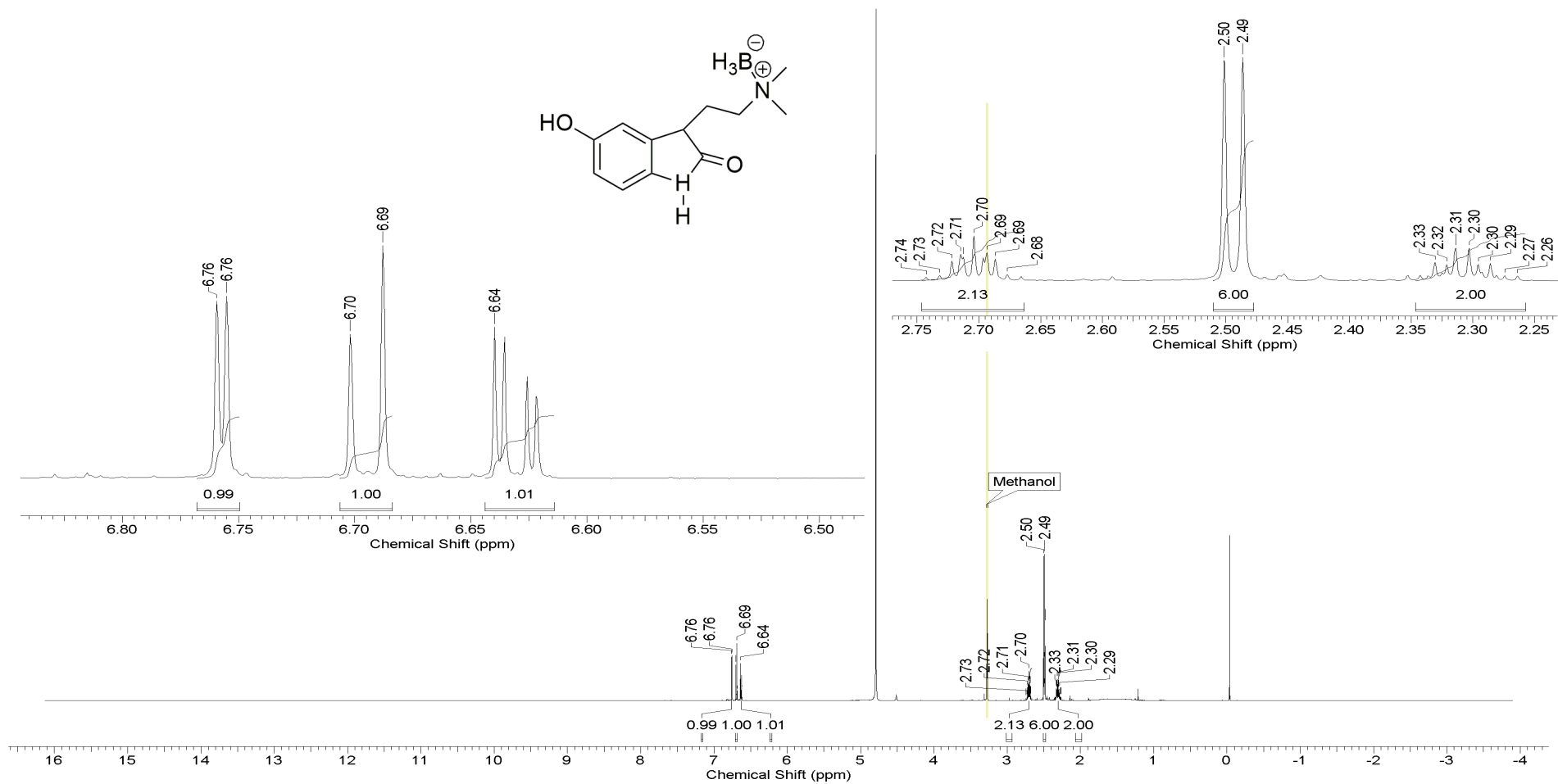
Anexo 89. Espectro de HR-ESIMS do dímero (101)



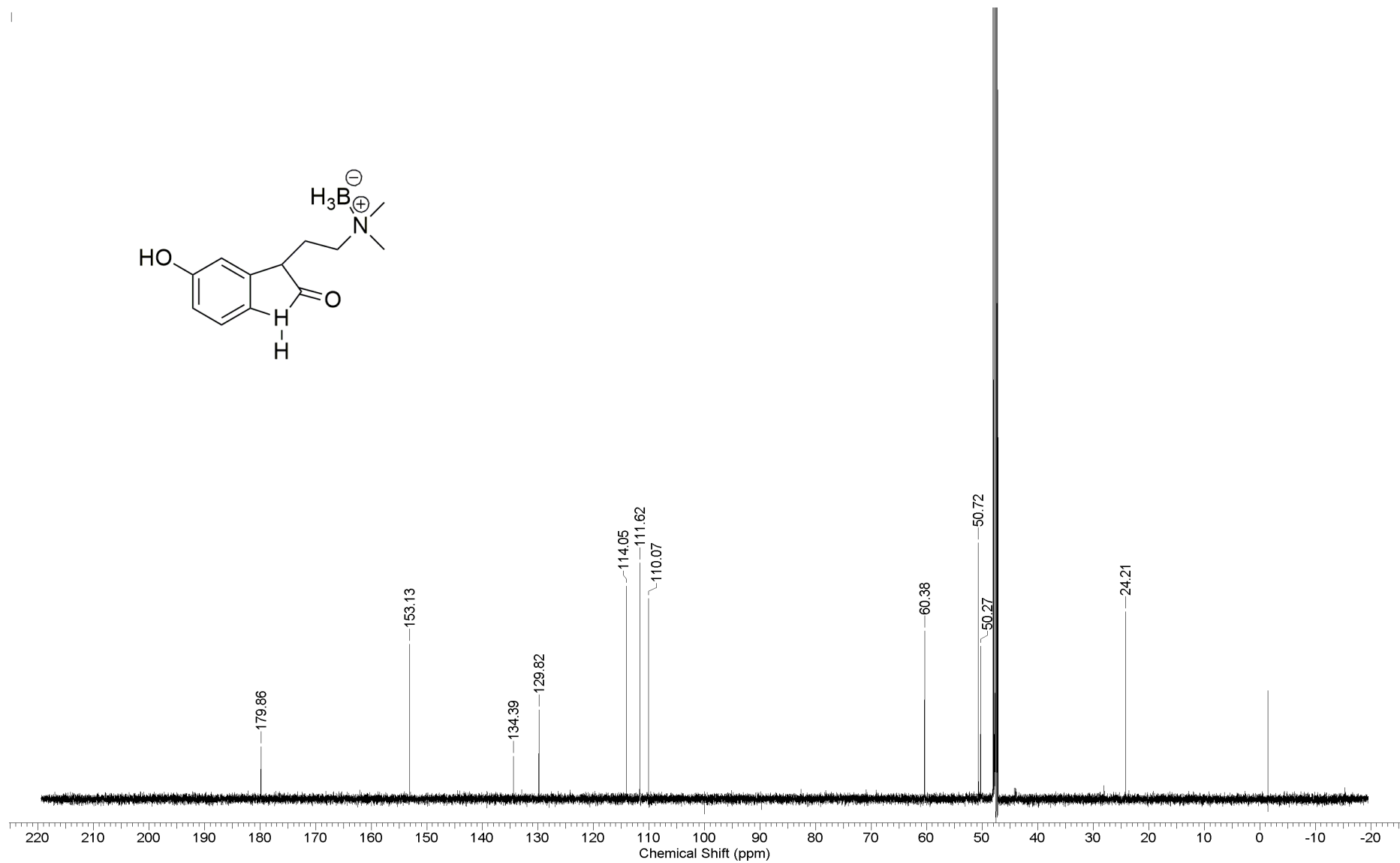
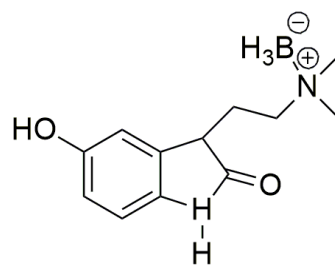
Anexo 90. Espectro de varredura do íon produto precursor $[M + H]^+ = 477,3224$ do dímero (101)



Anexo 91. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) do oxindol (102)



Anexo 92. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) do oxindol (102)



Anexo 93. Espectro de Infravermelho (ATR) do oxindol (102)

