

**ESTUDO DO GÊNERO *HIMATANTHUS*: ANATOMIA  
VEGETAL, FITOQUÍMICA, FARMACOLOGIA E  
BIOTRANSFORMAÇÃO.**

**POR**

**CARLA JUNQUEIRA MORAGAS**

**TESE APRESENTADA COMO UM DOS REQUISITOS  
PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM  
CIÊNCIAS, JUNTO AO NÚCLEO DE PESQUISAS DE  
PRODUTOS NATURAIS (NPPN) DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO (UFRJ).**

**RIO DE JANEIRO  
DEZEMBRO/ 2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

## Ficha catalográfica

Moragas, Carla Junqueira

Estudo do gênero *Himatanthus*: anatomia vegetal, fitoquímica, farmacologia e biotransformação./ Carla Junqueira Moragas.- Rio de Janeiro: UFRJ/NPPN, 2006.

xi, 270 f.: il.; 31cm

Orientadores: Ana Claudia Fernandes Amaral.

Ricardo Machado Kuster.

Tese (doutorado) – UFRJ/NPPN - Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 253-270.

1. *Himatanthus*. 2. Anatomia vegetal. 3. Fitoquímica 4. Farmacologia.  
5. Biotransformação

ESTE TRABALHO FOI REALIZADO SOB A  
ORIENTAÇÃO DOS PROFESSORES ANA CLAUDIA  
FERNANDES AMARAL DE FARMANGUINHOS/  
FIOCRUZ E RICARDO MACHADO KUSTER DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO-  
NPPN-UFRJ.

Aos meus pais, **Thereza** e **Vicente** e meus irmãos **Vicente** e **Leandro**, por todo apoio, incentivo e amizade durante a execução deste trabalho.

À meu esposo **Valnei**, pelo amor, dedicação e compreensão em todos os momentos desta caminhada.

À Meus filhos **Victor** e **Vinícius** pelo simples fato de existirem e tornarem a minha vida melhor a cada dia,

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Aos Prof. Dra. Ana Claudia Fernandes Amaral e Dr. Ricardo Machado Kuster, pela grande amizade, confiança, incentivo e oportunidade no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. José Luiz Pinto Ferreira, Chefe do Laboratório de Padronização de Produtos Naturais, Far-Manguinhos/Fiocruz, por todo apoio, amizade e pelo espaço gentilmente cedido.

Aos colegas de Laboratório de Padronização de Produtos Naturais, Eliane Velasco, Renata Bastos, Thalia Sampaio e Carine Silveira pelo grande companheirismo em todos os momentos desta jornada.

À Prof<sup>a</sup>. Ana Luisa Palhares de Miranda, do LASSBIO pelos ensaios de farmacologia realizados.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

À Deus que iluminou meus caminhos em todos os momentos desta jornada e me ajudou a chegar até aqui.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e fórmulas	x
Resumo	xi
Abstract	xiii
Objetivos	xv
<b>1. Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2. Resultados e discussão</b>	<b>38</b>
2.1. <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel	38
2.2. <i>Himatanthus obovatus</i> (Muell. Arg.) Woodson	46
2.3. Aspectos Químicos	53
2.3.1. Identificação estrutural dos constituintes das cascas e folhas de <i>Himatanthus drasticus</i> e <i>H. obovatus</i>	54
2.3.2.1. Triterpenos	54
2.3.2.1.A. $\beta$ -amirina	55
2.3.2.1.B. Acetato de lupeol	56
2.3.2.1.C. Cinamato de $\beta$ -amirina	57
2.3.2.2. Iridóides	57
2.3.2.2.A. Plumierídeo (HDCA-1)	57
2.3.2.2.B. Isoplumierídeo (HDCA-2)	62
2.3.2.2.C. Protoplumericina A (HDCA-3)	67
2.3.2.2.D. Cafeoilplumierídeo (HDCA-4)	72
2.3.2.2.E. Ácido-3-metoxi-3,4- diidroplumierídeo (HDCA-5)	77
2.3.2.3. Flavonóides	83
2.3.2.3.A. Rutina (HDFD-33)	83
2.3.2.3.B. Isoquercitrina (HOFA-1)	88
<b>3. Setor de espectros e cromatogramas</b>	<b>94</b>
<b>4. Avaliação da Atividade Farmacológica de <i>Himatanthus</i></b>	<b>206</b>
<b>5. Ensaio de metabolização <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> do plumierídeo</b>	<b>217</b>
<b>6. Análise Quantitativa do iridóide plumierídeo nas cascas e folhas de <i>Himatanthus drasticus</i> e <i>H. obovatus</i>.</b>	<b>229</b>
<b>7. Análise quantitativa do triterpeno acetato de lupeol nas cascas e folhas de <i>Himatanthus drasticus</i> e <i>H. obovatus</i>.</b>	<b>232</b>
<b>8. Parte Experimental</b>	<b>235</b>
8.1. Material e Métodos	235
8.2. Coleta e identificação das espécies de <i>Himatanthus</i>	240
8.3. Preparo do Material Vegetal	241
8.4. Obtenção e Fracionamento dos Extratos	242
8.5. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos orgânicos	245
<b>9. Conclusão</b>	<b>251</b>
<b>10. Referências Bibliográficas</b>	<b>254</b>

## ÍNDICE DE ESPECTROS E CROMATOGRAMAS

<b>Cromatograma 1</b> – Cromatograma da fração em hexano das folhas de <i>H. drasticus</i>	94
<b>Cromatograma 2</b> – Cromatograma da fração em hexano das cascas de <i>H. drasticus</i>	95
<b>Cromatograma 3</b> – Cromatograma da fração em hexano das folhas de <i>H. obovatus</i>	96
<b>Cromatograma 4</b> – Cromatograma da fração em hexano das cascas de <i>H. obovatus</i>	97
<b>Espectro 1</b> – Espectro de massas (impacto de elétrons) da $\beta$ -amirina	98
<b>Espectro 2</b> – Espectro de massas (impacto de elétrons) do ac. de lupeol	99
<b>Espectro 3</b> – Espectro de massas (impacto de elétrons) do cin. de lupeol	100
<b>Espectro 4</b> – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) <sup>1</sup> H do plumierídeo	101
<b>Espectro 5</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	102
<b>Espectro 6</b> – 2 <sup>a</sup> expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	103
<b>Espectro 7</b> – Espectro de RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	104
<b>Espectro 8</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	105
<b>Espectro 9</b> – 2 <sup>a</sup> expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	106
<b>Espectro 10</b> – Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	107
<b>Espectro 11</b> – Espectro HSQC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	108
<b>Espectro 12</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro HSQC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	109
<b>Espectro 13</b> – 2 <sup>a</sup> expansão do espectro HSQC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	110
<b>Espectro 14</b> – Espectro HMBC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	111
<b>Espectro 15</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro HMBC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo	112
<b>Espectro 16</b> – Espectro de Infravermelho do isoplumierídeo	113
<b>Espectro 17</b> – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	114
<b>Espectro 18</b> – 1 <sup>a</sup> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	115
<b>Espectro 19</b> – 2 <sup>a</sup> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	116
<b>Espectro 20</b> – Espectro de RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	117
<b>Espectro 21</b> – Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	118
<b>Espectro 22</b> – Espectro de HSQC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	119
<b>Espectro 23</b> – Espectro de HMBC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	120
<b>Espectro 24</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro de HMBC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	121
<b>Espectro 25</b> – 2 <sup>a</sup> expansão do espectro de HMBC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	122
<b>Espectro 26</b> – Espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	123
<b>Espectro 27</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	124
<b>Espectro 28</b> – 2 <sup>a</sup> expansão do espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	125
<b>Espectro 29</b> – 3 <sup>a</sup> expansão do espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	126
<b>Espectro 30</b> – 4 <sup>a</sup> expansão do espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo	127
<b>Espectro 31</b> – Espectro RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	128
<b>Espectro 32</b> – 1 <sup>a</sup> Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	129
<b>Espectro 33</b> – 2 <sup>a</sup> Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	130
<b>Espectro 34</b> – 3 <sup>a</sup> Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	131
<b>Espectro 35</b> – Espectro RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	132
<b>Espectro 36</b> – 1 <sup>a</sup> expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	133



<b>Espectro 37</b> – 2ª expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A	134
<b>Espectro 38</b> – Espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A	135
<b>Espectro 39</b> – 1ª Expansão do espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A	136
<b>Espectro 40</b> – 2ª Expansão do espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A	137
<b>Espectro 41</b> – 3ª Expansão do espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A	138
<b>Espectro 42</b> – Espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A	139
<b>Espectro 43</b> – 1ª Expansão do espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (500MHz) da protoplumericina A	140
<b>Espectro 44</b> – 2ª Expansão do espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (500MHz) da protoplumericina A	141
<b>Espectro 45</b> – Espectro HMQC (500MHz) da protoplumericina A	142
<b>Espectro 46</b> – 1ª Expansão do espectro HMQC (500MHz) da protoplumericina A	143
<b>Espectro 47</b> – 2ª Expansão do espectro HMQC (500MHz) da protoplumericina A	144
<b>Espectro 48</b> – 3ª Expansão do espectro HMQC (500MHz) da protoplumericina A	145
<b>Espectro 49</b> – Espectro RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo	146
<b>Espectro 50</b> – 1ª Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	147
<b>Espectro 51</b> – 2ª Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	148
<b>Espectro 52</b> – 3ª Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	149
<b>Espectro 53</b> – 4ª Expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	150
<b>Espectro 54</b> – Espectro RMN <sup>13</sup> C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	151
<b>Espectro 55</b> – 1ª Expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	152
<b>Espectro 56</b> – 2ª Expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	153
<b>Espectro 57</b> – 3ª Expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	154
<b>Espectro 58</b> – Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	155
<b>Espectro 59</b> – 1ª Expansão do Espectro DEPT (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	156
<b>Espectro 60</b> – 2ª Expansão do Espectro DEPT (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	157
<b>Espectro 61</b> – 3ª Expansão do Espectro DEPT (400MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	158
<b>Espectro 62</b> – Espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	159
<b>Espectro 63</b> – 1ª Expansão do Espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (500MHz)do 13-O-cafeoilplumierídeo	160
<b>Espectro 64</b> – 2ª Expansão do Espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (500MHz)do 13-O-cafeoilplumierídeo	161
<b>Espectro 65</b> – Espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoilplumierídeo	162
<b>Espectro 66</b> – 1ª Expansão do espectro HMBC (500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo	163
<b>Espectro 67</b> – 2ª Expansão do espectro HMBC (500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo	164
<b>Espectro 68</b> – Espectro RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	165
<b>Espectro 69</b> – 1ª expansão do espectro RMN <sup>1</sup> H do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	166
<b>Espectro 70</b> – 2ª Expansão espectro RMN <sup>1</sup> H do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	167
<b>Espectro 71</b> – Espectro RMN <sup>13</sup> C(MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	168
<b>Espectro 72</b> – Espectro DEPT(MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	169
<b>Espectro 73</b> – 1ª Expansão do espectro DEPT do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	170
<b>Espectro 74</b> – 2ª Expansão do espectro DEPT do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	171
<b>Espectro 75</b> – Espectro HMQC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	172
<b>Espectro 76</b> – 1ª expansão do espectro HMQC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	173
<b>Espectro 77</b> – 2ª expansão do espectro HMQC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	174
<b>Espectro 78</b> – 3ª expansão do espectro HMQC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	175

<b>Espectro 79</b> – Espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	176
<b>Espectro 80</b> – 1ª expansão do espectro HMBC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	177
<b>Espectro 81</b> – 2ª expansão do espectro HMBC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	178
<b>Espectro 82</b> – 3ª expansão do espectro HMBC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	179
<b>Espectro 83</b> – Espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H (MeOD, 400MHz) do HDCA- 5	180
<b>Espectro 84</b> – 1ª Expansão do Espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	181
<b>Espectro 85</b> – 2ª Expansão do Espectro COSY <sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	182
<b>Espectro 86</b> – Espectro RMN <sup>1</sup> H 500 MHz da Rutina	183
<b>Espectro 87</b> - 1ª Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H 500 MHz da Rutina	184
<b>Espectro 88</b> - 2ª expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H 500 MHz da Rutina	185
<b>Espectro 89</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C 500 MHz da Rutina	186
<b>Espectro 90</b> - 1ª Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (500 MHz) da Rutina	187
<b>Espectro 91</b> - 2ª Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (500 MHz) da Rutina	188
<b>Espectro 92</b> - 3ª Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C (500 MHz) da Rutina	189
<b>Espectro 93</b> - Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Rutina	190
<b>Espectro 94</b> - 1ª Expansão do Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Rutina	191
<b>Espectro 95</b> - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Rutina	192
<b>Espectro 96</b> - Espectros de UV (Em MeOH e com reagentes de deslocamento) da Rutina	193
<b>Espectro 97</b> - Espectro de massas da rutina	194
<b>Espectro 98</b> – Espectro RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) da Isoquercitrina	195
<b>Espectro 99</b> - 1ªExpansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) da Isoquercitrina	196
<b>Espectro 100</b> - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Isoquercitrina	197
<b>Espectro 101</b> - Espectro RMN <sup>13</sup> C (500 MHz) da Isoquercitrina	198
<b>Espectro102</b> - 1ª Expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (500 MHz) da Isoquercitrina	199
<b>Espectro 103</b> -2ª Expansão do espectro RMN <sup>13</sup> C (500 MHz) da Isoquercitrina	200
<b>Espectro 104</b> - Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Isoquercitrina	201
<b>Espectro 105</b> - Espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (500 MHz) da Isoquercitrina	202
<b>Espectro 106</b> - 1ª Expansão do espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (500 MHz) da Isoquercitrina	203
<b>Espectro 107</b> - 2ª Expansão do espectro COSY <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H (500 MHz) da Isoquercitrina	204
<b>Espectro 108</b> - Espectro UV (em MeOH e reagentes de deslocamento) da Isoquercitrina	205

## LISTA DE ABREVIATURAS E FÓRMULAS

CCF-Si	Cromatografia em camada fina de gel de sílica
CCF-RP-18	Cromatografia em camada fina em fase reversa RP-18
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>s</i>	Singleto largo
<i>s</i>	Singleto
<i>t</i>	Tripleto
<i>m</i>	Multipleto
<i>q</i>	Quarteto
Hz	Hertz
ppm	Parte por milhão
J	Constante de acoplamento
Pg.	Página
Tab.	Tabela
UV	Ultravioleta
VS	Vanilina sulfúrica
OS	Orcinol sulfúrico
NP/PEG	Natural Products-Polyethyleneglycol
MHz	Megahertz
Da	Daltons
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectômetro de massas
COSY	Correlated Spectroscopy
EM	Espectro de massas
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation Experiment
AcOEt	Acetato de etila
MeOH	Metanol
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
<b>MeOD</b>	Metanol deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
H <sub>2</sub> O	água

## RESUMO

Duas espécies do gênero *Himatanthus*, *Himatanthus drasticus* e *Himatanthus obovatus* foram analisadas química e farmacologicamente e comparadas à espécie mais comumente utilizada na região norte do país como antiinflamatória, o *Himatanthus sucuuba*.

Das cascas de *Himatanthus drasticus* foram isolados os iridóides já conhecidos plumierídeo, isoplumierídeo, protoplumericina A, cafeoilplumierídeo e o iridóide inédito ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo, além dos triterpenos acetato e cinamato de lupeol e a  $\beta$ -amirina. Das folhas de *H. drasticus* foi isolado o flavonóide rutina.

Das cascas de *Himatanthus obovatus* também foram observados os triterpenos descritos para *H. drasticus*, à exceção do cinamato de lupeol, os iridóides plumierídeo e isoplumierídeo e das folhas foi obtido o flavonóide isoquercitrina.

Atividade antiinflamatória da mistura de triterpenos de *H. obovatus* e *H. drasticus* foi determinada, assim como para o iridóide plumierídeo. A associação entre as duas classes de substâncias naturais, no entanto, não demonstrou um efeito satisfatório de inibição da inflamação quando administrado sob a forma *in natura*, porém, quando a administração se deu por meio de lipossomas verificou-se um aumento nesta atividade.

A capacidade de biotransformação do iridóide plumierídeo em outra substância foi verificada *in vitro* e *in vivo*. O modelo *in vivo* foi o que proporcionou resultados mais conclusivos indicando uma possível transformação do plumierídeo em outra substância possivelmente mais ativa contra a inflamação.

As análises quantitativas do plumierídeo e do acetato de lupeol por CLAE/UV e densitometria por HPTLC foram úteis para confirmar a semelhança química entre as espécies estudadas e a mais popularmente utilizada, o *Himatanthus sucuuba*.

## ABSTRACT

Two species of the genus *Himatanthus*, *Himatanthus drasticus* and *Himatanthus obovatus* have been analyzed for their chemical and pharmacological properties in comparison with the most popular specie *Himatanthus sucuuba*, which is used in the north Brazil as a natural anti-inflammatory remedy.

From the barks of *Himatanthus drasticus* were isolated the known already iridoids plumieride, isoplumieride, cafeoilplumieride and protoplumericina A, and a new structure, the acid derivative of 3-methoxy-3,4-dihydroplumieride. The triterpenes, lupeol acetate, lupeol cinnamate and  $\beta$ -amyrin were identified from the same source. From the leaves of *H. drasticus* was isolated the flavonoid rutin.

From the bark of *H. obovatus* the same triterpenes described for *H. drasticus* were observed, except for the lupeol cinnamate. The iridoids plumieride and isoplumieride were also identified, while from the leaves of the plant, the flavonoid isoquercitrin was isolated.

Anti-inflammatory activity for the triterpene mixture of *H. obovatus* and *H. drasticus* was determined, as well as for the iridoid plumieride. The association between the two classes of natural compounds did not

demonstrate a satisfactory effect to inhibit the inflammation when administrated in their natural form. However, when administrated in a liposome form, an increase in the anti-inflammatory activity was observed.

The biotransformation of plumieride in another derivative was conducted *in vitro* and *in vivo*. The *in vivo* model was more conclusive than the other, indicating a possible biotransformation pathway from the plumieride into another more anti-inflammatory substance.

Quantitative analyses based on HPLC and HPTLC densitometry were conducted using as standards lupeol acetate and plumieride. They have been useful to confirm the chemical similarity between the studied species and the more popular one, *Himatanthus sucuuba*.

## OBJETIVOS

Avaliar química e farmacologicamente duas espécies de *Himatanthus* da região nordeste do país, *Himatanthus obovatus* e *H. drasticus* e que são utilizadas pela população com os mesmos fins terapêuticos do *H. sucuuba*, espécie nativa da região norte do país.

Avaliar qualitativamente as espécies, caracterizando-as macro e microscopicamente.

Avaliar as propriedades antiinflamatórias do componente majoritário das cascas de ambas as espécies, o iridóide plumierídeo, bem como sua capacidade de biotransformação em outra substância.





## 1. Introdução

### 1.1. A Família Apocynaceae

A família Apocynaceae (Dicotyledonae) está entre as 10 maiores das Angiospermas descritas por Antoine Laurent de Jussieu estando subordinada à subclasse Asteridae, ordem Gentianales, subordem Apocyninae<sup>1</sup>.

Sua estatística taxonômica aponta para cerca de 250 a mais de 550 gêneros e entre 3700 e 5100 espécies, dentre as quais aproximadamente um terço ocorre no Novo Mundo. A maioria das espécies ocorre na região tropical, limitando-se a 61°N e 50°S, e poucas são registradas em regiões temperadas. As espécies desta família estão representadas em todos os continentes, exceto a Antártida<sup>2</sup>, como podemos observar em vermelho no mapa abaixo.



Fig. 1. Distribuição geográfica mundial da família Apocynaceae.

A família Apocynaceae inclui espécies arbustivas, herbáceas, arbóreas, muita das quais trepadeiras, suculentas e latexcentes (muitas ditas como venenosas). Os gêneros mais importantes desta família são *Alstonia*, *Aspidosperma*, *Rauwolfia*, *Vinca*, *Tabernaemontana*, *Mandevilla*, *Hancornia*, *Nerium*, *Strophantus*, *Catharanthus*, *Allamanda*, *Thevetia*, *Himatanthus*, *Plumeria* e *Wrightia*. No Brasil ocorrem 41 gêneros e aproximadamente 400 espécies. JOLY (1998)<sup>3</sup> destaca, dentre os gêneros, aqueles que incluem espécies arbóreas, como *Aspidosperma*, que possui diversas espécies como a Peroba e o Pau-pereira como fornecedores de madeira; *Hancornia*, com espécies distribuídas nos cerrados e na Amazônia, muitas das quais conhecidas como Mangaba; as ornamentais como *Tabernaemontana* e *Plumeria*; as espécies trepadeiras como os gêneros *Allamanda*, muito utilizadas ornamentalmente e entre as espécies de pequeno porte, os gêneros *Mandevilla* e *Thevetia*<sup>4</sup>.

### 1.1.1. Aspectos Botânicos

A família Apocynaceae compreende plantas com floema interno quase sempre presente tanto como um anel contínuo como trouxas isoladas na margem do mesocarpo; trouxas vasculares bicolaterais, periciclo apresentando frequentemente anéis contínuos ou cordões separados de fibras de celulose brancas. Sistema bem desenvolvido de laticíferos não articulados, ramificados ou não ramificados. Com folhas opostas ou ocasionalmente verticiladas (principalmente ternifolias), decussadas, simples e inteiras, usualmente sem estípulas ou raramente com pequenas estípulas interpeciolares. Cascas algumas vezes com estruturas externas e internas anômalas (especialmente as lianas); alguns gêneros apresentando espinhos (*Pachypodium*, *Carissa*). Inflorescências cimosas, raro racemosas, ou solitárias, brácteas e bracteóles usualmente presentes<sup>1</sup>. Flores pentâmeras simpétalas, de prefloração contorta; androceu isostêmone com estames inseridos no tubo da corola; gineceu com ovário súpero, geralmente bilocular, estilete filiforme coroado por um estigma adpresso às anteras. Frutos indeiscentes ou deiscentes; sementes às vezes aladas ou com pêlos<sup>5</sup>.

### 1.1.2. Aspectos Químicos

Essa família pode ser considerada uma das mais importantes fontes vegetais de constituintes químicos de utilidade na medicina moderna. Várias substâncias têm sido isoladas a partir de suas espécies, sendo que muitas delas apresentam protótipos de classes farmacológicas distintas de drogas e fazem parte da história da Farmacologia e da Terapêutica<sup>4</sup>. Dentre as classes químicas mais encontradas em Apocináceas destacam-se alcalóides, glicosídeos cardiotônicos e iridóides.

#### 1.1.2.1. Alcalóides

Dentre as Apocináceas, o gênero *Tabernaemontana* destaca-se por ser especialmente rico em alcalóides indólicos, os quais se caracterizam por serem úteis marcadores químicos do gênero e por possuírem um grande valor na classificação das espécies.

Do gênero *Rauwolfia*, especialmente a espécie *Rauwolfia serpentina*, arbusto encontrado na Índia, Java, Paquistão e Tailândia, e que inclui aproximadamente trinta alcalóides, destacamos a ajmalina (1), serpentina (2), serpentinina (3) e reserpina (4), sendo este último o mais importante, encontrado em várias outras espécies do gênero. Esta substância foi isolada em 1952 e possui inúmeras atividades farmacológicas muito bem descritas nas obras clássicas de farmacologia<sup>4</sup>. A reserpina age diminuindo o nível de catecolaminas e serotonina no sistema nervoso central e outros órgãos,

levando a uma queda na pressão sanguínea e da frequência cardíaca após administração crônica. A diminuição dos mediadores a nível central explicaria sua ação sedativa e neuroléptica<sup>6</sup>.



*Rauwolfia serpentina*

Dos gêneros *Vinca* e *Catharanthus*, as espécies *Vinca major*, *Vinca rosea* e *Catharanthus roseus* são fontes de mais de sessenta distintos alcalóides dos quais destacamos vinblastina (5) e vincristina (6), importantes por impedir a formação de microtúbulos durante a metáfase, interrompendo a divisão celular, sendo assim importantes agentes antineoplásicos. A vincamina (7), extraída de *Vinca minor* aumenta o fluxo sanguíneo no cérebro e é utilizada no tratamento de doenças cerebrovasculares, especialmente em idosos. A espécie *Vinca Rosea*, segundo Evans (1996)<sup>7</sup>, tem sido também designada como *Catharanthus roseus*,

fonte principal dos alcalóides antitumorais citados e de aproximadamente mais de 150 distintos alcalóides<sup>4</sup>.

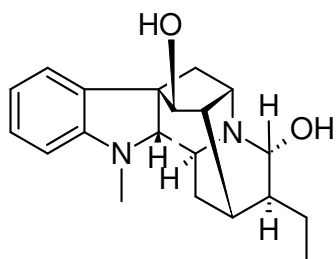


*Vinca major*

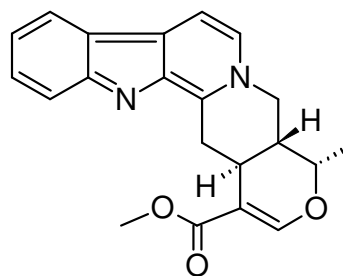


*Catharantus roseus*

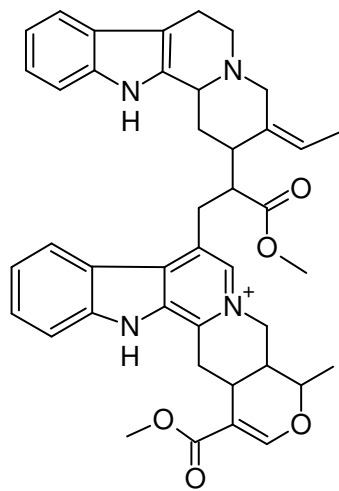
Inúmeros alcalóides bioativos foram também encontrados em espécies do gênero *Alstonia* tais como *Alstonia scholaris* e *A. constricta* e *A. macrophylla*. Dentre eles podemos destacar a alstonina (8), alstonilina (9), alstonerina<sup>8</sup> (10) e reserpina (4) entre outras.



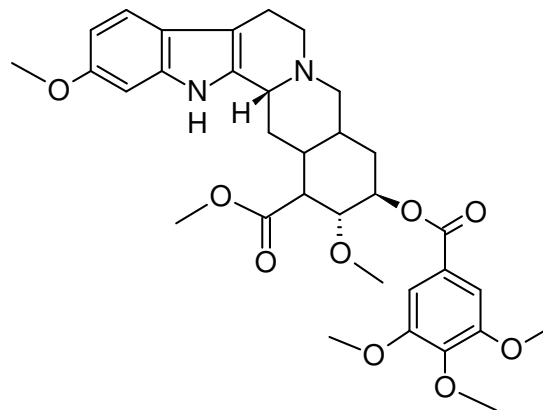
(1)



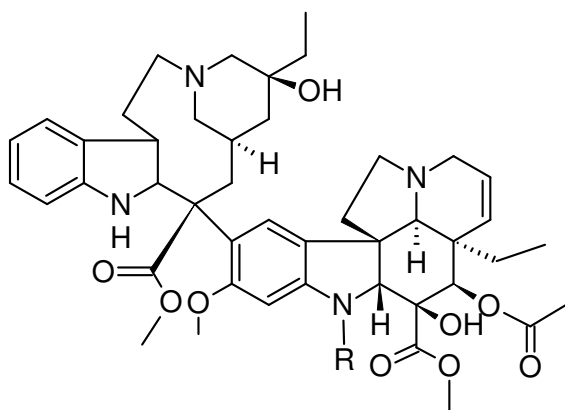
(2)



(3)

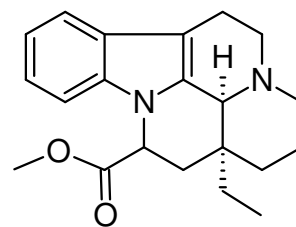


(4)

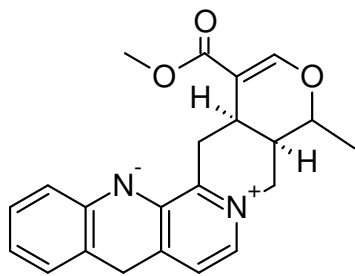


(5) R = CH<sub>3</sub>

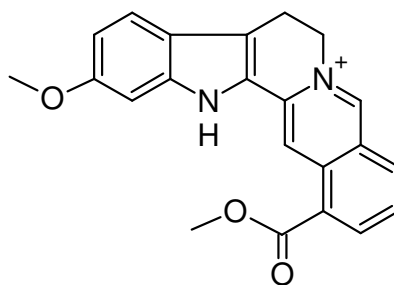
(6) R = CHO



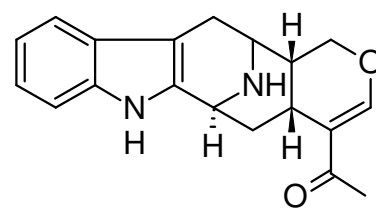
(7)



(8)



(9)

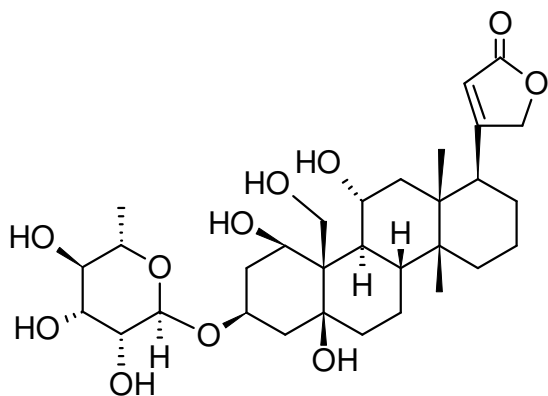


(10)

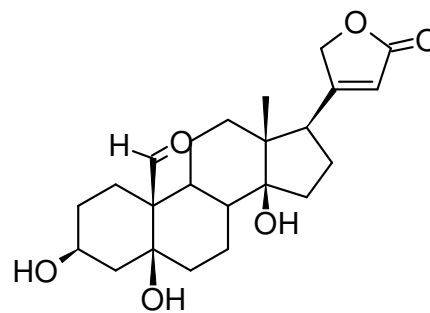


### 1.1.2.2. Heterosídeos cardiotônicos

Do gênero *Strophantus* destacam-se as espécies *Strophantus gratus*, *Strophantus kombe* e *Strophantus sarmentosus*, ricas fontes de glicosídeos. O estrofanto é uma das plantas com atividade cardíaca mais importante e, por isso, era usada pelos povos africanos em doses tóxicas para preparar suas flechas envenenadas. A droga provém de plantas selvagens coletadas na África Ocidental (*S. gratus*) e na África Oriental (*S. kombe*; *S. hispidus*)<sup>9</sup>. As sementes são submetidas a extração para obtenção das substâncias ativas, a estrofantidina G (**11**) (*S. gratus*) e a estrofantidina K (**12**) (*S. kombe* e *S. hispidus*)<sup>10</sup>. A estrofantidina G é também conhecida por ouabaína e é aplicada quando se quer uma ação rápida e breve de um medicamento de emergência administrado intravenosamente. Também é utilizada para estudos *in vitro* da atividade da enzima ATPase Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup><sup>11</sup>.



(11)



(12)

Outro gênero que se destaca pelos glicosídeos cardiotônicos que contém é o *Nerium*, especialmente a espécie *Nerium olander*, conhecida no Brasil como espirradeira e muito utilizada como ornamental<sup>4</sup>.



*Strophantus gratus*



*Nerium olander*

### 1.1.2.3 – Iridóides

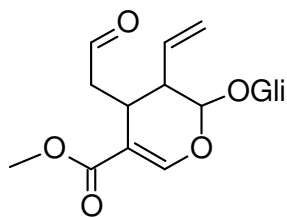
Iridóides são substâncias monoterpnoídicas formadas em plantas por uma ciclização alternativa do pirofosfato de geranila. A estrutura química destas espécies é baseada no esqueleto ciclopentano-[C]-pirano. Embora os iridóides só tenham sido isolados de plantas nos anos de 1800s, o trabalho pioneiro que levou ao conhecimento de estruturas desta classe de compostos ocorreu em meados de 1950 com iridomirmecina e iridodial isolados de formigas australianas *Iridomyrmex* spp<sup>12</sup>. O nome dado a estes compostos veio mais tarde ser adaptado para se referir a sua classe estrutural, a maioria deles sendo isolados de vegetais<sup>13</sup>. O interesse químico nos iridóides foi estimulado por seu papel no mecanismo de defesa das formigas e a secologanina (**13**) foi considerada chave na biossíntese de

alcalóides indolomonoterpenoides e certos isoquinolínicos de Apocináceas, Loganiáceas e Rubiáceas. Por um longo tempo, os iridóides não foram considerados como uma classe de substâncias com importante atividade farmacológica. Agora, porém, têm estado presentes em um considerado número de remédios populares como sedativos, febrífugos, cicatrizantes e hipotensivos<sup>13</sup>.

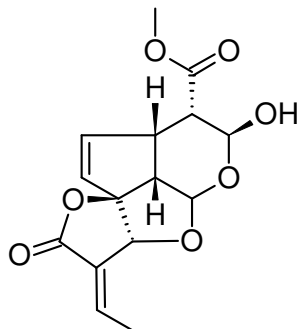
Em 1974, Kupchan<sup>14</sup> e colaboradores reportaram o isolamento de vários novos iridóides do extrato etanólico de raízes de *Allamanda cathartica*. Dentre eles destaca-se a alamandina (**14**) que apresentou significativa atividade *in vitro* contra células derivadas do carcinoma humano (KB)<sup>15</sup>. De outras espécies do gênero *Allamanda*, como *A. schottii*, foram isolados do caule os iridóides não glicosilados isoplumericina (**15**), plumericina (**16**) e alamicina (**17**)<sup>16</sup>.



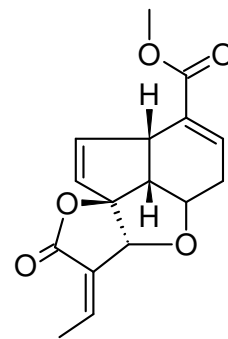
*Allamanda schottii*



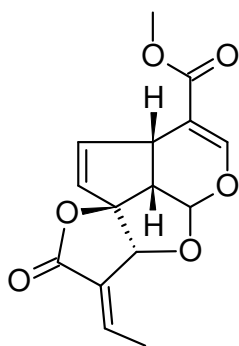
(13)



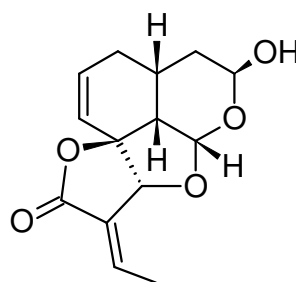
(14)



(15)



(16)



(17)

### 1.1.3. Usos medicinais e Dados Farmacológicos

Dentro da família Apocynaceae destacam-se por seu uso medicinal amplamente difundido: *Allamanda cathartica*, *Himatanthus* sp. e *Thevetia peruviana*.

#### 1.1.3.1. *Allamanda cathartica* L.

Nomes populares: Alamanda, Alamanda-de-flor-grande, Dedal-de-dama, Orélia, Alamanda amarela e Quatro patacas.

**Aspectos botânicos:** A espécie *Allamanda cathartica* é um arbusto alto e trepador latescente, semilenhoso, com folhas brilhantes, espessas, glabras e verticiladas; inflorescências com flores amarelas grandes e em grande número, axilares e fasciculadas, com tubo estreito e longo, na forma de funil; fruto do tipo capsular, contendo poucas sementes. O gênero possui doze espécies tropicais, sendo a *A. cathartica* a mais extensivamente cultivada como ornamental.

**Medicina Tradicional:** O macerado de todas as partes da planta é utilizado topicamente contra sarna, especialmente em crianças e também em animais domésticos. A infusão das folhas é utilizada como emético, purgativo e catártico, enquanto o decocto das cascas da planta, quando usado internamente, é considerado um excelente vermífugo. Segundo CORRÊA (1984)<sup>17</sup>, a planta exsuda um látex considerado venenoso.

**Dados Farmacológicos:** Estudos recentes demonstraram que os extratos brutos de *A. cathartica* causam purgação e aumento no movimento propulsivo do intestino em camundongos, além de induzir contrações dose dependentes apenas antagonizadas pela atropina, indicando ação purgativa por aumento da motilidade do trato gastrintestinal via ativação do receptor muscarínico<sup>18</sup>. O extrato etanólico das partes aéreas de *A. blanchetii*, conhecida popularmente como orélia produziu atividade anti-espasmódica, anti-hipertensora<sup>19,20</sup>. A atividade antibiótica foi atribuída a alamandina **(14)** de *A. violacea*<sup>21</sup> e a plumericina **(16)** e isoplumericina **(15)** isoladas de *A. cathartica* e *A. blanchetii*<sup>22,23</sup>.



*Allamanda cathartica*

### **1.1.3.2. *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum.**

**Nomes populares:** Castanha-da-Índia, Chapéu-de-Napoleão, Jorro-jorro, Coração-de-Jesus, Noz-de-cobra, Fava-elétrica e Ahoay-guassu.

**Aspectos botânicos:** É um arbusto alto, alcançando até 10 m de altura, com um tronco de casca cinzenta; folhas alternas, simples, linear-lanceoladas, acuminadas, com até 15 cm de comprimento e 7 cm de largura, carnosas e glabras nas duas faces, inflorescências dispostas em cimeiras terminais, contendo flores grandes, amarelas, aromáticas, com corola em forma de funil; fruto do tipo carnoso, triangular, contendo sementes duras e grandes. É uma espécie muito usada como ornamental, sendo amplamente cultivada em vários países tropicais. No Brasil, as sementes da espécie são muito utilizadas pelos indígenas na confecção de artefatos de adorno, como pulseiras, colares, braceletes, vestimento de maracás<sup>17</sup>. O gênero inclui somente oito espécies tropicais.

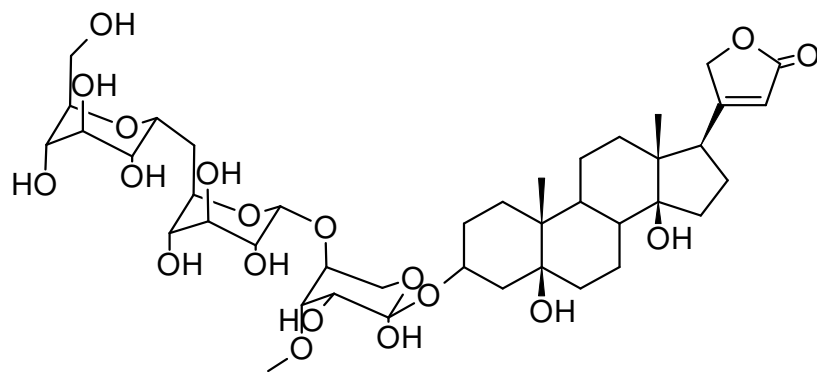
**Medicina tradicional:** As cascas da planta são utilizadas internamente sob a forma de infuso como antitérmico, purgante e emético, enquanto a decocção das folhas é usado no alívio dos sintomas após picada de cobra. O látex acre é usado no alívio de dores de dente e como veneno para flechas. No continente africano, esta espécie possui um histórico de uso no envenenamento de peixes e como inseticida<sup>24</sup>, enquanto na Índia é comum a utilização da espécie para suicídios<sup>2</sup>.

**Dados farmacológicos:** O glicosídeo tevetina (**18**) isolado de *Thevetia peruviana* possui importante ação estimulante dos músculos lisos do intestino, bexiga, útero e vasos sanguíneos<sup>25</sup>. Dados clínicos mostraram que tal composto produziu bons resultados em pacientes com descompensação cardíaca<sup>26</sup>, mas substâncias mais ativas e menos tóxicas que elas foram obtidas por processos semi-sintéticos. Ações similares foram obtidas como glicosídeo tevetoxina (**19**), o qual se mostrou menos tóxico que a tevetina, mas mesmo assim, pouco seguro para ser usado como agente terapêutico<sup>27</sup>. O neriifosídeo (**20**), isolado dessa espécie, é considerado precursor de outros glicosídeos citados e possui efeitos farmacológicos e tóxicos similares aos apresentados<sup>28</sup>. Peruvosídeo (**21**) e neriifosídeo (**20**), componentes principais da espécie *Thevetia peruviana*, inibiram a atividade da Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase por mecanismos similares ao dos digitálicos<sup>29</sup>. O óleo das sementes de *T. peruviana* apresentou atividade bactericida contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* e outros microorganismos<sup>30,31</sup>.

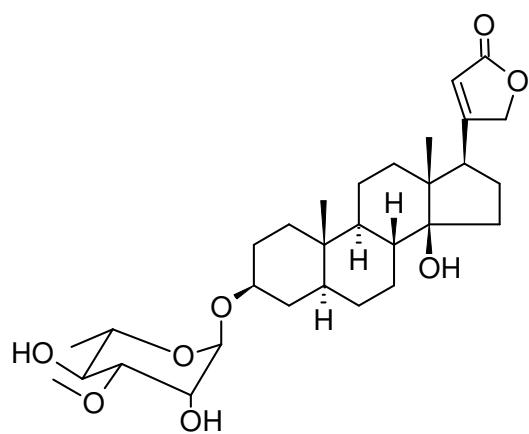


*Thevetia peruviana*

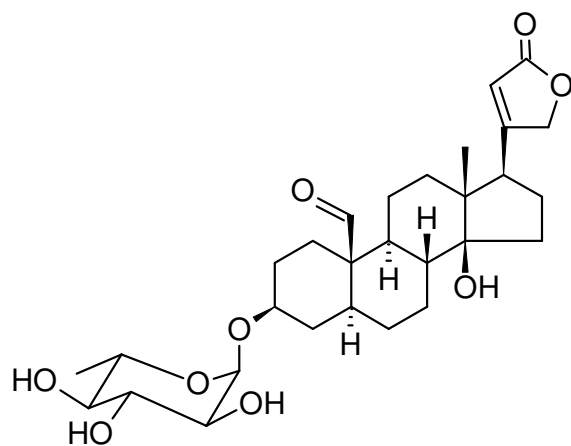




(18)



(20)



(21)

## 1.2. O gênero *Himatanthus*

O gênero *Himatanthus* pertence à família Apocynaceae, subfamília Plumeroidea, tribo Plumerínea. Este gênero foi descrito por J.A. Schultes em 1819, a partir de manuscritos trazidos até o herbário de Willdenow, sobre dez amostras coletadas no estado do Pará, trazidas pelo comandante J. C. Von Hoffmannseg<sup>32</sup>. A criação do gênero *Himatanthus* permitiu separar do gênero *Plumeria* as espécies do continente sul-americano que possuíam duas brácteas amplas e persistentes envolvendo os botões florais. O nome *Himatanthus* foi tirado do grego e significa “manto de flor”. Em 1938, Woodson<sup>33</sup> confirmou a separação dos dois gêneros, citando *H. articulatus* como a espécie típica do gênero e realçando suas diferenças. Em 1991, Marcel-Marie Plumel<sup>34</sup> escreveu uma revisão taxonômica de *Himatanthus* onde, além de confirmar a separação ainda acrescenta alguns elementos na distinção dos mesmos. Dispondo de material bastante abundante principalmente dos grandes herbários do Brasil e coletando o material de quase todas as espécies, estabelece ainda a existência de dois subgêneros: *Obovatae* e *Lanceolatae*. O primeiro com folhas obovais e oblongas e o limbo arredondado a obtuso na base e o segundo com folhas oblanceoladas ou espatuladas com base aguda mais ou menos atenuada no pecíolo. Neste trabalho foi descrita uma nova espécie, o *H. stenophyllus* o que elevou o número de espécies para treze<sup>35</sup>.

Tabela. 1.: Classificação e subdivisões do gênero *Himatanthus* segundo Plumel, M.M.

<b>Família: Apocynaceae</b>	
<b>Gênero: <i>Himatanthus</i></b>	
<b>Sub-gênero: <i>Obovatae</i></b>	<b>Sub-gênero: <i>Lanceolatae</i></b>
<i>H. obovatus</i> (Muell. Arg.) Woodson	<i>H. stenophyllus</i> Plumel, spec. nov
<i>H. drasticus</i> (Mart.) Plumel, comb. Nov.	<i>H. lancifolius</i> (Muell. Arg.) Woodson
<i>H. fallax</i> (Muell. Arg.) Plumel, comb. Nov.	<i>H. phagedaenicus</i> (Mart.) Woodson
<i>H. articulatus</i> (Vahl) Woodson	<i>H. speciosus</i> (Muell. Arg.) Plumel comb. Nov.
<i>H. sucuuba</i> (Spruce) Woodson	<i>H. bracteatus</i> (A. DC.) Woodson
<i>H. tarapotensis</i> (Schumman ex Markgraf) Plumel comb. Nov.	<i>H. semilunatus</i> Markgraf
	<i>H. attenuatus</i> (Benth.) Woodson

Mais recentemente, Spina (2004) em sua tese de doutorado, reclassificou o gênero *Himatanthus* corrigindo a classificação adotada por Plumel. A autora afirma que o sub-gênero *Obovatae* deveria ser denominado *Himatanthus*, já que neste estaria posicionada a espécie típica do gênero, erradamente citada por Woodson como *H. articulatus*, mas que deve ser considerada como o neótipo *H. rigidus*<sup>36</sup>. A classificação mais recente de *Himatanthus* sinonimizou algumas espécies e estabeleceu em nove o número de espécies do gênero, sendo seis delas da região Amazônica: *H. attenuatus* (Benth.) Woodson, *H. phagedaenicus* (Mart.) Woodson, *H. revolutus* (Huber) Spina & Kinoshita, *H. semilunatus* Markgr., *H. tarapotensis* Schum. ex Markgr. e *H. articulatus* (Vahl.) Woodson, uma espécie em áreas de cerrado do Brasil e da Bolívia, *H. obovatus* (Muell. Arg.) Woodson e duas espécies exclusivas do Brasil, *H.*

*bracteatus* (A. DC.) Woodson e *H. drasticus* (Mart.) Plumel. *H. drasticus* (Mart.) Plumel é restrita à região nordeste, em vegetação de cerrado, caatinga e carrasco e *H. bracteatus* (A. DC.) Woodson é distribuída ao longo da Floresta Atlântica. *H. fallax* foi considerada sinônimo de *H. drasticus*, *H. lancifolius* e *H. speciosus* de *H. bracteatus*, *H. sucuuba* de *H. articulatus* e *H. stenophyllus* de *H. revolutus*. Por outro lado, *H. bracteatus* var. *revolutus* foi elevada ao nível específico como *H. revolutus* (Huber) Spina & Kinoshita. Uma análise das espécies *H. phagedaenicus* e *H. bracteatus* mostrou, que estes nomes, como usualmente aplicados são incorretos e que a espécie previamente conhecida por *H. phagedaenicus* deveria ser denominada *H. bracteatus* e vice-versa<sup>36</sup>.

Tabela. 2.: Classificação e subdivisões do gênero *Himatanthus* segundo Spina (2004)

<b>Família: Apocynaceae</b>
<b>Gênero: <i>Himatanthus</i></b>
<b>Sub-gênero: <i>Himatanthus</i></b>
<i>H. attenuatus</i> (Benth.) Woodson, e
<i>H. phagedaenicus</i> (Mart.) Woodson,
<i>H. revolutus</i> (Huber) Spina & Kinoshita,
<i>H. semilunatus</i> Markgr.,
<i>H. tarapotensis</i> Schum. ex Markgr.
<i>H. articulatus</i> (Vahl.) Woodson,
<i>H. obovatus</i> (Muell. Arg.) Woodson
<i>H. bracteatus</i> (A. DC.) Woodson
<i>H. drasticus</i> (Mart.) Plumel.

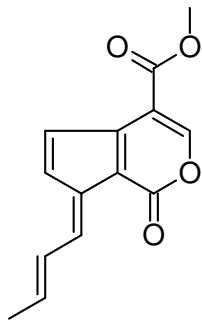
### 1.2.1. Aspectos botânicos

*Himatanthus* Willd. ex. Schult. é um gênero neotropical constituído por árvores de folhas alternas aglomeradas no ápice dos ramos, dicásios terminais envoltos por duas brácteas florais, petalóides e decíduas, coléteres na axila dos pecíolos e na base das brácteas florais, corola hipocrateriforme, convoluta sinistrorsa; anteras totalmente férteis, gineceu hemi-sincárpico composto por dois carpelos de bases unidas e ápices livres, cabeça do estilete cilíndrico com dois apêndices apicais redondos, estames adnados a base do tubo da corola com anteras totalmente férteis e livres da cabeça do estilete, ovário semi-ínfero sem disco nectarífero, e dois folículos opostos lenhosos com sementes de alas concêntricas<sup>36</sup>.

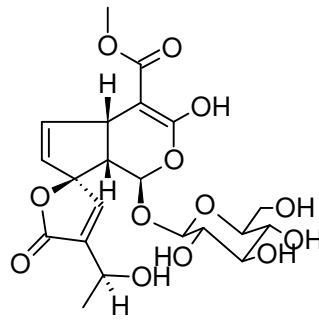
### 1.2.2. Aspectos químicos e usos medicinais

#### 1.2.2.1. Iridóides

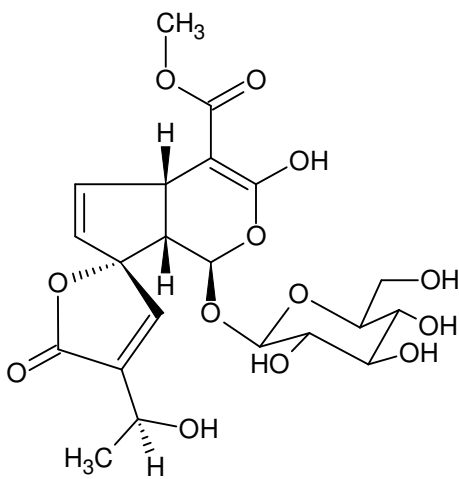
O látex de *Himatanthus sucuuba* é rico nos iridóides fulvoplumierina (**22**), plumericina (**16**), isoplumericina (**15**)<sup>37</sup>, que possuem atividade antifúngica, antibiótica<sup>38</sup> e citotóxica<sup>39</sup>, além de plumierídeo (**23**), isoplumierídeo (**24**), desmetilplumierídeo (**25**) e desmetilisoplumierídeo (**26**)<sup>40</sup>.



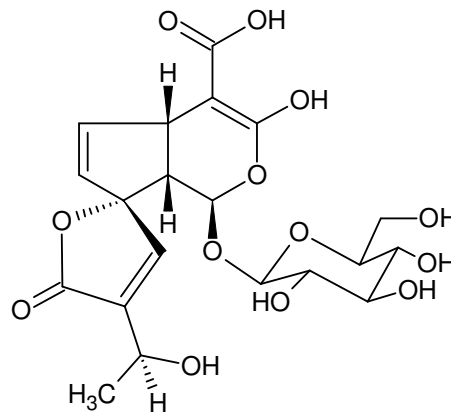
(22)



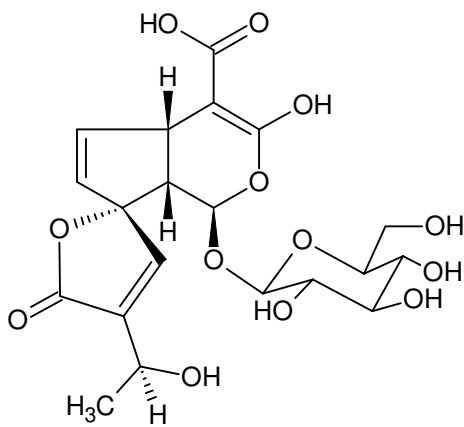
(23)



(24)



(25)

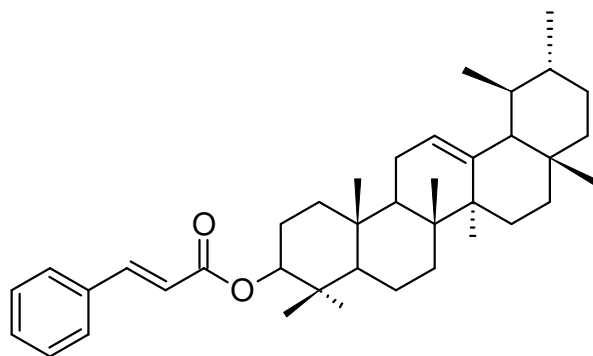


(26)

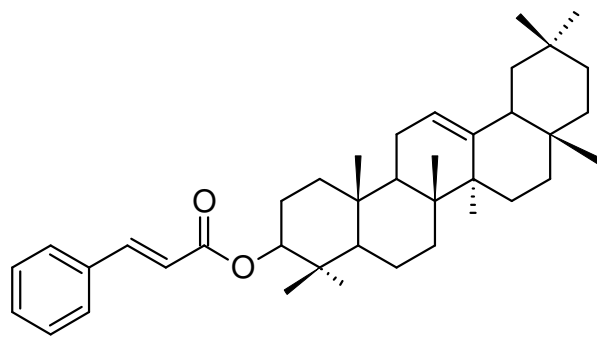
### 1.2.2.2. Triterpenos

Os triterpenos pentacíclicos tais como, cinamato de  $\alpha$  (**27**) e  $\beta$ -amirina (**28**), cinamato de lupeol (**29**) e acetato de lupeol (**30**) também são encontrados nas cascas e no látex de *Himatanthus sucuuba* e a estes é atribuído o uso destas partes da planta com finalidade antiinflamatória e analgésica<sup>41</sup>.

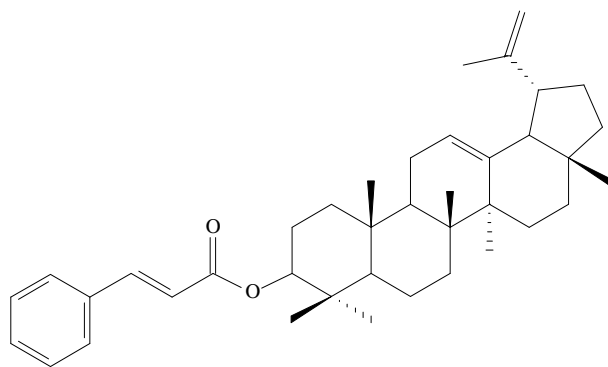
De *H. articulatus* (Vahl.) Woodson, planta utilizada na região amazônica no tratamento da sífilis<sup>42</sup>, foram isolados além dos triterpenos citados acima, ácido ursólico (**31**) e cicloartenol (**32**)<sup>43</sup>.



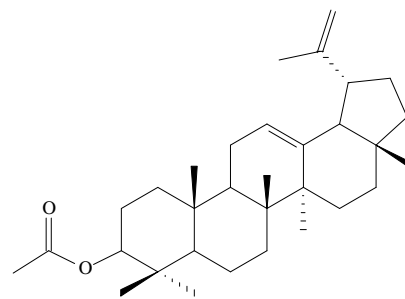
(27)



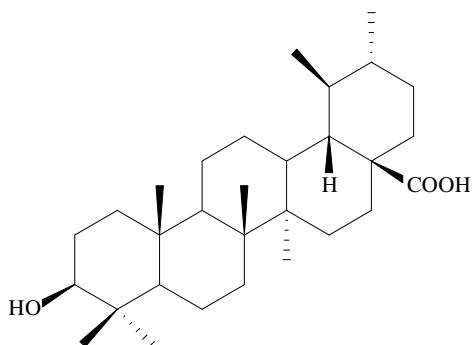
(28)



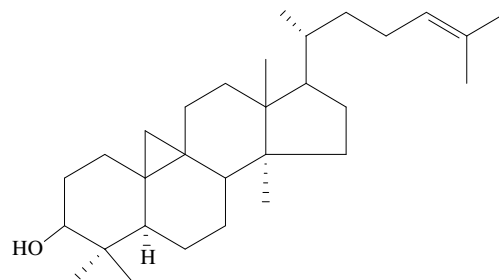
(29)



(30)



(31)

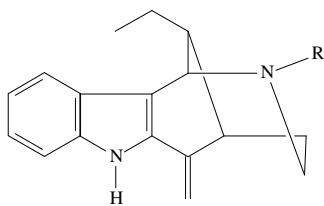


(32)

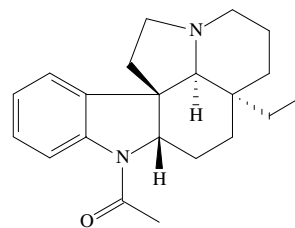
### 1.2.2.3. Alcalóides

Das cascas de *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.), também conhecida como agoniada e indicada no tratamento de doenças da pele, asma, sífilis, estimulante de contrações uterinas, auxiliar da concepção e regulação menstrual, foram isolados os alcalóides uleína (33) e desmetoxiaspidospermina<sup>44</sup> (34).





(33)

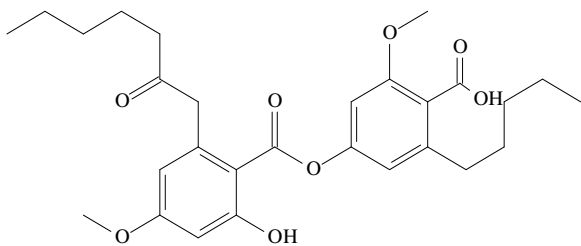


(34)

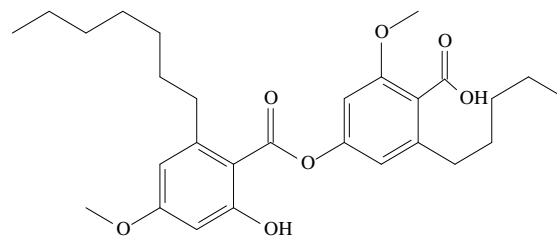
#### 1.2.2.4. Depsídeos e compostos fenólicos

Dois depsídeos inibidores de monoamino oxidase B (MAO) foram isolados das cascas de *Himatanthus sucuuba*, ácido confluêntico (35) e ácido-2'-O-metilperlatólico (36), juntamente com os compostos fenólicos ácido vanílico (37), ácido -p- cumárico (38) e ácido -p- hidroxibenzóico<sup>45</sup> (39).

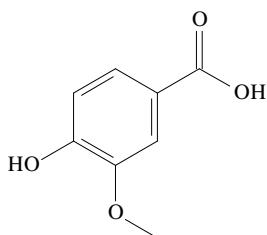
Dentre os compostos fenólicos destacamos os flavonóides miricetrina (40) e quercitrina (41) isolados do látex de *Himatanthus sucuuba*<sup>40</sup>.



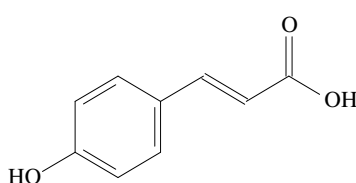
(35)



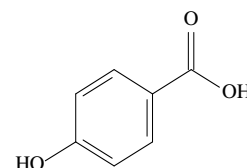
(36)



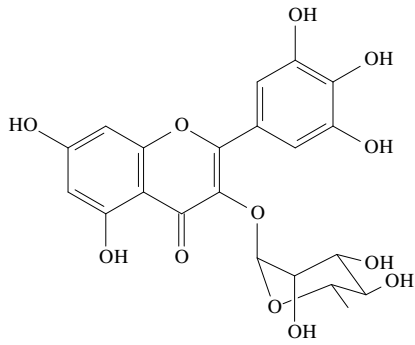
(37)



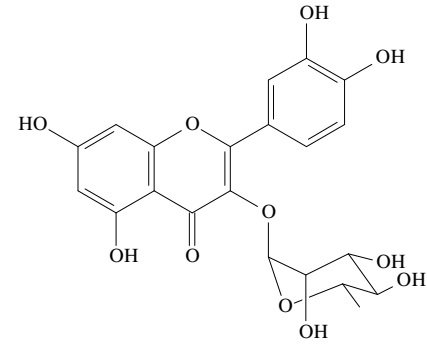
(38)



(39)



(40)



(41)

### 1.2.3. *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson

Árvore de 10 a 20 m de altura, ramos jovens castanho-escuros e mais velhos castanho-claros, periderme dos ramos jovens lisa e nos mais velhos sulcada e estriada. Folhas obovadas, oblanceoladas ou elípticas, ápice agudo ou obtuso, base aguda cuneada, assimétrica oblíqua ou redonda, margem inteira, levemente ondulada, coriácea. Nervuras secundárias com 12 – 21 pares por folha, ângulo de divergência 60 a 80 graus, nervuras terciárias emersas nas duas faces, pecíolo de 20 a 50 cm de comprimento, glabro. Brácteas de 15 a 20 mm, cálice 4 x 2 mm, cinco lacínias desiguais no tamanho podendo apresentar uma ou duas reduzidas. Corola de 25 a 40 mm de comprimento com tubo extremamente glabro e internamente piloso a 3-7 mm do ápice da antera até a fauce. Estames pilosos distantes da base do tubo da corola cerca de 2 mm. Cabeça do estilete obcônica, sem ornamento e sem tricomas com dois apêndices apicais longos. Ocorre no

Panamá, Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Brasil (Norte: Acre, Amapá, Amazonas, Pará e Roraima e no Centro-oeste: Goiás e Mato-grosso) e na Bolívia. É popularmente conhecida na Bolívia por “Caimo-plátano”, “Plátano”, Na Venezuela, “Amapola”, “Eukui-ye”, “Kamajumimo”, “Lechero”, “Maripa-aripao”, “Mapolo”, “Platanote”, “Rabipelado”, na Guiana, “Frangi-pani” e “Maho”, Na Guiana Francesa, “Balata-sauvage”, “Bois-chenille”, “Bois-lait”, no Brasil, “Ceboleira”, “Coquilheiro”, “Janaguba” e na Bolívia, “Jihui bepia”<sup>36</sup>.



*Himatanthus sucuuba*

De seu caule exsuda um látex branco que é utilizado *in natura* como um anti-helmíntico<sup>46</sup> e é indicado no tratamento de afecções da pele, especialmente no alívio a coceiras. Suas folhas são usadas internamente, sob a forma de decocto, contra problemas do intestino (constipação), estômago (dores, irritação) e na expulsão de vermes<sup>4</sup>. No Peru, suas cascas

são usadas sob a forma de infusos na cicatrização de feridas, no tratamento de tumores, no combate a artrites e como agente vermífugo laxativo<sup>47</sup> e como alucinógeno<sup>48</sup>. No Brasil à suas cascas secas são atribuídas propriedades anti-ulcerogênicas e afrodisíacas enquanto seu látex é utilizado como agente anti-tumoral<sup>42</sup>. Suas cascas são também usadas pelos caboclos amazonenses como analgésico e agente antitussígeno<sup>49</sup>. Na Colômbia, suas raízes são conhecidas por serem extremamente venenosas<sup>50</sup>.

#### **1.2.4. *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel**

*Himatanthus drasticus* é uma planta muito comum em alguns estados do norte e nordeste do Brasil (87%) como Ceará (21%), Bahia (16%), Pará (13%), onde é popularmente conhecida por tiborna, jasmim manga, raivosa, sebeu-uva, janaguba, sucuba ou sucuuba (Plumel, 1991). Ocorre também, embora em menor concentração nas Guianas (7%) e Suriname (5%) onde é chamada “Carterpillar tree” e Frangipani. Seus galhos e troncos produzem um látex muito comercializado na região do Cariri – Crato (CE). De acordo com o uso medicinal popular local, suas raízes são utilizadas como purgativas e vermífugas, seu látex diluído em água, assim como a casca, é muito eficaz no tratamento de tumores, afecções gástricas e intestinais, verminoses, artrites e também contra o câncer.

#### 1.2.4.1. Características Gerais:

Pequenas árvores de até 7 m de altura, densamente folheadas na extremidade dos ramos. Apresenta folhas obovais, sub-coriáceas, brilhantes, glabras, verde-escuras na parte superior e verde-claras na parte inferior, ápice arredondado a obtuso, por vezes um pouco apiculado, base arredondada a obtusa, pecíolo curto (aproximadamente 1 cm), 15 a 19 nervuras secundárias ligeiramente sinuosas, pouco inclinadas (70 a 80°) que se encontram em nervura sub-marginal ligeiramente sinuosa. A nervura terciária forma um entrelaçado denso em relevo nas duas faces da folha após dessecação. Cálice com 5 sépalas desenvolvidas, de diferentes tamanhos, ovais a lanceoladas (1 a 4 mm). Flores brancas, de odor suave. Os frutos são folículos alongados, de 15 a 20 cm x 2,5 cm, ligeiramente curvos, cilíndricos em sua parte mediana, lisos, apresentando finas estrias longitudinais. Sua floração ocorre no período de início de novembro a final de maio e seus frutos ocorrem de fevereiro a outubro.

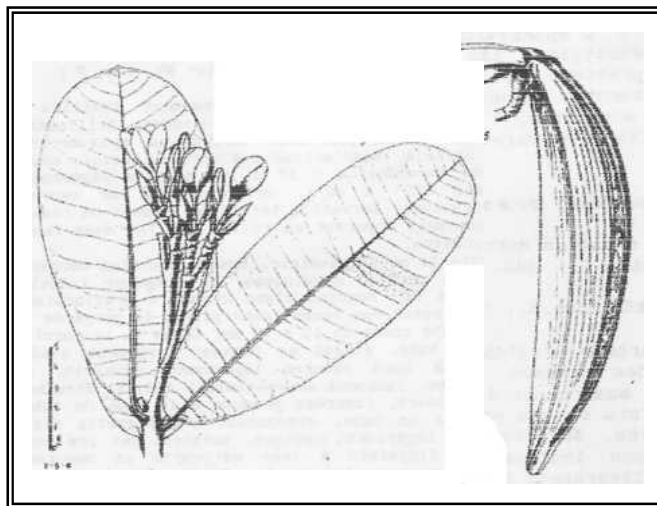


Fig. \_\_\_ - Ramo floral com folhas e fruto de *Himatanthus drasticus*

### 1.2.5. *Himatanthus obovatus* (Muell. Arg.) Woodson.

*Himatanthus obovatus* é uma espécie arbustiva de porte médio, que atinge de 4 a 8m de altura, nativa do cerrado (Centro-Oeste) brasileiro onde é conhecida popularmente por tiborna-do-cerrado (Pio corrêa, 4; 649), pau-de-leite, sucubinha, leiteiro, janaguba ou sucuíba. Na Bolívia é denominada mangava brava (Plumel, M., 1991). Esta espécie do gênero *Himatanthus* se destaca pelo uso medicinal de suas raízes frescas, as quais são vendidas em feiras livres do Brasil Central e são utilizadas na medicina tradicional popular com as mesmas finalidades de *H. lancifolius* (agoniada) por quem são por vezes substituídos. A casca de sua raiz é tida como emenagoga, purgativa e febrífuga, o látex branco que exsuda de seu caule é utilizado diluído em água no tratamento de úlceras gástricas (Plumel, M, 1991) e o extrato de suas folhas é útil no tratamento de tumores cancerígenos. Devido seu amplo uso como planta medicinal do cerrado esta espécie foi ilustrada em um selo dos correios em 2003.



Fig. 2 – Tiborna – *Himatanthus obovatus* - Selo da Série América 2003: Flora e Fauna Autóctones – Plantas Medicinais do Cerrado.

### 1.2.5.1. Caracteres Gerais

Trata-se de uma espécie arbustiva que atinge 4 a 6 m de altura, densamente folheada nos ramos, com casca acinzentada, fortemente suberosa, ramo denso, um pouco carnudo, folhas sésseis ou subsésseis firmemente membranosas, verde escuras na parte superior e verde mais claras na parte inferior, obovais largas a obovais oblongas com ápice de arredondado a obtuso. Apresentam de 14 a 18 nervuras secundárias ligeiramente sinuosas, claramente inclinadas formando com a nervura primária um ângulo de aproximadamente 60° que se juntam na extremidade à nervura marginal sinuosa. Nervura terciária imperfeita e pouco marcada. Cálice com sépalas desenvolvidas desigualmente com o maior lancéolo agudo atingindo de 8 a 10m. Floresce e frutifica de novembro a fevereiro.



Fig. 3 - Folhas, casca exsudando látex e ramo floral de *Himatanthus obovatus*

### **1.3 Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais**

O recente e significativo crescimento do uso da medicina alternativa, incluindo remédios herbais tradicionais, implicou no desenvolvimento de técnicas de padronização e controle de qualidade com objetivo de garantir a identidade, consistência e autenticidade das amostras vegetais<sup>51-54</sup>. A impressão digital cromatográfica (cromatogramas que representam as características químicas das plantas medicinais) é composta de uma variedade de técnicas cromatográficas incluindo CCD<sup>55</sup>, CLAE/DAD<sup>56-60</sup>, CG-EM<sup>61</sup>, CL-EM, infravermelho e espectrofotometria, entre outras<sup>62</sup>.

Em geral, os métodos de controle de qualidade de plantas medicinais envolvem além das inspeções analíticas já descritas, as inspeções sensoriais (estudos macro e microscópicos). Por outro lado, os métodos de extração e preparo da amostra são também de grande importância no preparo de boas impressões digitais de plantas medicinais<sup>62</sup>.

Entende-se por qualidade o conjunto de critérios que caracterizam a matéria-prima para o uso ao qual se destina. A partir do estabelecimento dos parâmetros de qualidade para a matéria-prima, e considerando-se um planejamento adequado e um controle do processo de produção do medicamento, a qualidade do produto final estará em grande parte, assegurada. Contudo, esse requisito para as matérias-primas vegetais não garante, por si, a eficácia, a segurança e a qualidade do produto final. A



eficácia é dada pela comprovação, por meio de ensaios farmacológicos pré-clínicos e clínicos, dos efeitos biológicos preconizados para esses recursos terapêuticos. A segurança é determinada pelos ensaios que comprovam a ausência de efeitos tóxicos<sup>6</sup>.

A qualidade adequada das matérias-primas deve ser realizada de acordo com bases científicas e técnicas. Nos procedimentos rotineiros de análise da qualidade, geralmente é preconizado o emprego de metodologias químicas, físicas ou físico-químicas e biológicas, sendo necessária a correlação entre os parâmetros analisados e a finalidade a que se destina. Os parâmetros de qualidade para fins farmacêuticos são, em princípio, estabelecidos nas Farmacopéias e Códigos oficiais. No caso das plantas medicinais brasileiras, a grande maioria não possui descrição em Farmacopéia, sendo essencial a elaboração de monografias que estabeleçam seus padrões de qualidade<sup>6</sup>. A autenticidade de uma amostra vegetal é dada pelos parâmetros de identidade botânica através de ensaios macro e microscópicos, bem como pela presença dos constituintes químicos ativos e/ou característicos da espécie<sup>6</sup>.

### **1.3.1. Caracteres botânicos macroscópicos**

Esses ensaios correspondem à análise a olho nu ou com auxílio de lupa. Nas análises de rotina são necessários conhecimentos básicos de botânica, disponibilidade de literatura especializada e preferencialmente, de material

para comparação, como amostra autêntica, desenhos ou fotos. Os estudos para o estabelecimento dos parâmetros de identidade botânica devem ser realizados em colaboração com os profissionais botânicos. Estes critérios devem basear-se na descrição dos elementos característicos da espécie, sendo, geralmente, desnecessária a descrição botânica completa<sup>6</sup>.

### **1.3.2. Caracteres botânicos microscópicos**

Esta análise é realizada com auxílio do microscópio, exigindo, inicialmente, a preparação adequada do material. A preparação das lâminas pode ser realizada a partir de drogas inteiras ou de material fragmentado, fazendo-se cortes histológicos. Se isso não for possível pode-se analisar o próprio pó da droga. Muitas vezes também é preconizada a realização de reações histoquímicas, as quais permitem a caracterização de certos grupos de constituintes químicos auxiliares na identificação das estruturas microscópicas. Em certos casos a análise microscópica permite, além da verificação da autenticidade da amostra, outras inferências a respeito da qualidade do material<sup>6</sup>.

### **1.3.3. Caracterização fitoquímica**

A identidade baseada nos constituintes químicos característicos da espécie exige conhecimentos fitoquímicos prévios. A pesquisa fitoquímica tem por finalidade conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar a sua presença. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma. Estes dados devem objetivar o estabelecimento de reações químicas de caracterização destes constituintes ou de um perfil cromatográfico para a espécie, bem como o isolamento, a purificação e a elucidação estrutural das substâncias principais. Esses conhecimentos permitem identificar a espécie vegetal e, conjuntamente com ensaios de atividade biológica, analisar e caracterizar frações ou substâncias ativas.

Outra aplicação consiste no estabelecimento de marcadores químicos, que são indispensáveis para o planejamento e monitoramento das ações de transformação tecnológicas e para os estudos de estabilidade dos produtos intermediário e final<sup>6</sup>.

### **1.3.4. Caracterização cromatográfica**

Dentre as variedades de métodos de controle de qualidade, o perfil ou impressão digital cromatográfica é a que mais despertou atenção recentemente<sup>63</sup>. Este método tem sido amplamente aceito e introduzido pelos órgãos FDA<sup>64</sup>, WHO<sup>65</sup>, EMEA<sup>66</sup>, German Commission E<sup>67</sup>, British Herbal Medicine Association<sup>68</sup>, Indian Drug Manufacturers Association<sup>69</sup> e algumas outras organizações não oficiais como estratégia ao acesso das plantas medicinais<sup>63</sup>.

As diferentes técnicas cromatográficas como a cromatografia em camada delgada (CCD), a cromatografia em papel (CP), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa (CG), entre outras são as mais utilizadas na análise de drogas vegetais, principalmente quando acopladas a métodos de detecção adequados.

Para as análises de identificação é recomendada a determinação do perfil cromatográfico utilizando a técnica e o sistema cromatográfico adequados para o grupo de constituintes avaliado. Nessas análises, é recomendada a utilização de padrões das substâncias características, de extratos de amostra autêntica ou, na ausência destes, de substâncias marcadoras ou de referência. A análise cromatográfica é uma alternativa fundamental para a identificação de matérias-primas adquiridas na forma

de preparados fitoterápicos intermediários (tinturas, extratos, óleos fixos e voláteis, entre outros).

Empregando-se técnicas quantitativas na preparação de soluções de análise e padrões, bem como na detecção dos constituintes, a análise cromatográfica permite a determinação do teor dos constituintes ativos ou principais. Com esta finalidade, emprega-se na CCD, a densitometria. Na CLAE ou na CG o teor de substância é determinado no cromatograma através da área sob a curva ou da altura do pico, empregando-se a curva de calibração dos constituintes analisados<sup>6</sup>.

### **1.3.5. Caracterização da Atividade Biológica**

Devido ao grande número de amostras a serem analisadas, alguns aspectos devem ser observados quando se procura princípios ativos em plantas<sup>70</sup>. Neste contexto, devem ser levados em consideração a simplicidade, a rapidez, a reprodutibilidade e o baixo custo dos testes biológicos<sup>71</sup>. Usualmente são feitas triagens com modelos experimentais menos complexos e após a seleção das substâncias puras ativas, estas são validadas em ensaios mais específicos, e posteriormente submetidas à análise do mecanismo de ação biológica<sup>70</sup>.

A avaliação da atividade biológica inclui a investigação da atividade farmacológica de substâncias isoladas, frações obtidas ou extratos totais da

droga vegetal. A necessidade de verificar a atividade biológica de uma planta e dos produtos derivados pode ser abordada sob dois pontos de vista. O primeiro considera a necessidade de comprovação de uma determinada atividade farmacológica ou toxicológica já atribuída à planta pela medicina popular. Sob o segundo ponto de vista, essa etapa revela-se indispensável no estabelecimento de estratégias de desenvolvimento tecnológico, no qual a validação do processo tecnológico exige a conservação da composição química e, sobretudo, da atividade farmacológica a ser explorada. Esse último aspecto adquire especial importância nos casos em que o monitoramento químico do processo é realizado considerando outras substâncias que não as responsáveis pelo efeito biológico, ou seja, através de marcadores químicos não-bioativos<sup>6</sup>.

Independentemente do ponto de vista considerado, o conhecimento dos aspectos de atividade biológica do vegetal é requisito essencial para a transformação da planta medicinal em produto fitoterápico<sup>6</sup>.

## 2. Resultados e discussão

Esta tese teve por objetivo analisar química e farmacologicamente duas espécies do gênero *Himatanthus* de diferentes regiões do Brasil: *Himatanthus drasticus* e *Himatanthus obovatus* utilizadas pela população para os mesmos fins terapêuticos de *Himatanthus sucuuba*.

### 2.1. *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel

#### 2.1.1. Descrição Macroscópica

##### 2.1.1.1. Folha

As folhas de *H. drasticus* caracterizam-se por serem obovadas e coriáceas. Seu limbo de base atenuada apresenta-se de pequena dimensão quando comparado ao de *H. obovatus* enquanto seu ápice, pode ser obtuso ou arredondado com margem inteira e plana. A face adaxial apresenta cor verde-escura, com nervura central desenvolvida e proeminente de onde partem, em ângulo levemente agudo, nervuras secundárias paralelas amarelas e retas (um pouco arqueadas próxima ao ápice), unindo-se, porém a 1-2 mm da margem, formando um arco. A face abaxial, de coloração verde-amarelada e consistência coriácea, possui nervuras secundárias destacadas, sendo a nervura central ainda mais proeminente nesta face. O pecíolo é curto, canaliculado em cima e convexo arredondado na parte de baixo.



Fig. A. Folha de *Himatanthus drasticus* – Faces adaxial e abaxial

#### 3.1.1.2. Casca

A casca de *H. drasticus* apresenta fragmentos de forma quase plana, encurvando-se na extremidade. Sua superfície externa tem coloração acastanhada com fissuras longitudinais, enquanto a interna, castanho-esbranquiçada, é finamente estriada no sentido do comprimento. A superfície de fratura transversal é nítida, escura externamente e clara na região interna.





Fig. B. Casca de *Himatanthus drasticus* – superfícies externa e interna.

## 2.1.2. Descrição Microscópica:

### 2.1.2.1. Folha

A lâmina foliar em secção transversal apresentou na região do mesofilo, epidermes das regiões adaxial e abaxial uniestratificadas, glabras, de cutícula espessa e estriada. O parênquima paliçádico mostrou duas a três camadas de células, sendo a primeira delas mais longa no sentido anticlinal. O parênquima lacunoso, um pouco mais desenvolvido, contendo grãos de amido, canais laticíferos e feixes fibro-vasculares, apresentou de 8 a 10 estratos celulares, constituindo um mesofilo dorsiventral. Ao longo da lâmina foliar podem ser vistos diversos feixes vasculares de pequenas dimensões, dispostos paralelamente, envolvidos por uma espessa bainha de natureza fibrosa (Fig. C). A região da nervura mediana, biconvexa, é

revestida externamente por epidermes idênticas às do mesófilo, o colênquima angular apresenta-se bastante desenvolvido e o parênquima fundamental possui uma grande quantidade de canais laticíferos não articulados, amido e idioblastos taníferos. Os feixes vasculares bicolaterais encontram-se dispostos em círculo, o floema em pequenos núcleos de tubos crivosos; o xilema com vasos em disposição radial, de paredes fortemente lignificadas. No centro, podemos notar a presença de um parênquima medular com canais laticíferos. (Fig.D,E e F).

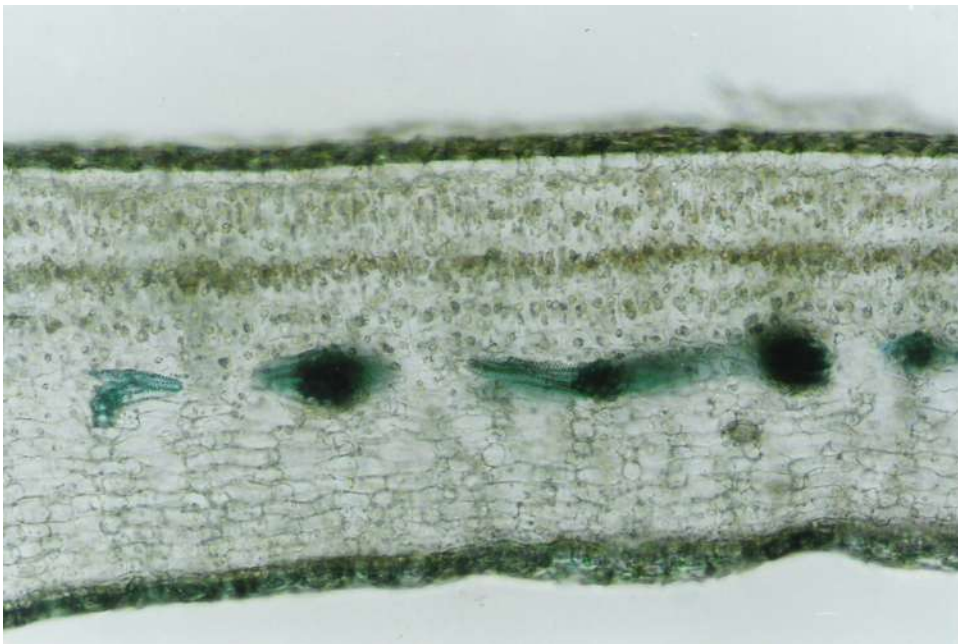


Fig.C: Corte transversal da lâmina foliar de *H. drasticus* em aumento de 150x evidenciando a região do mesófilo;

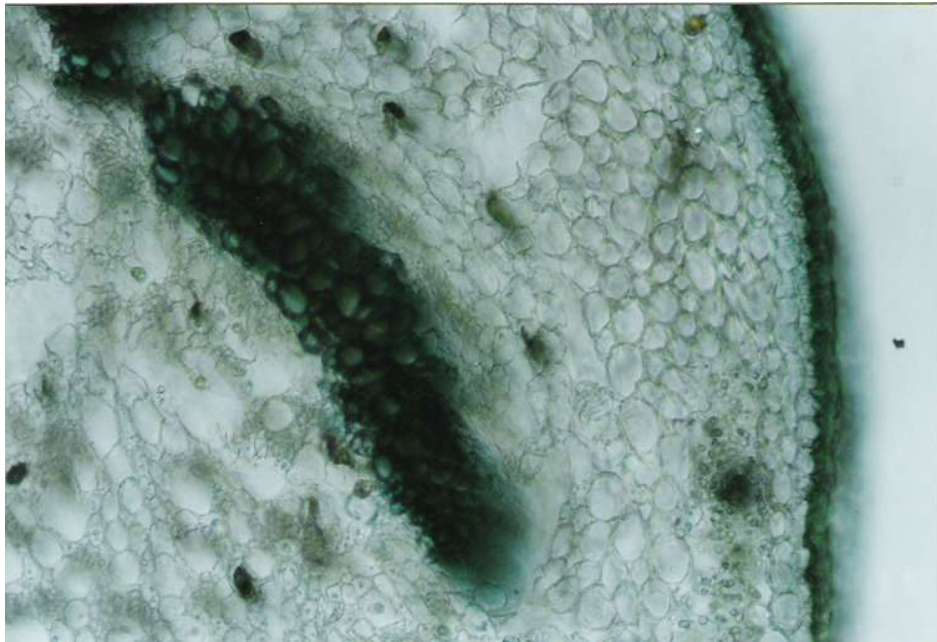


Fig. D: Corte transversal da lâmina foliar de *H. drasticus* em aumento de 150x evidenciando a nervura principal – região adaxial



Fig. E: Corte transversal da lâmina foliar de *H. drasticus* em aumento de 150x evidenciando a nervura principal – região abaxial.

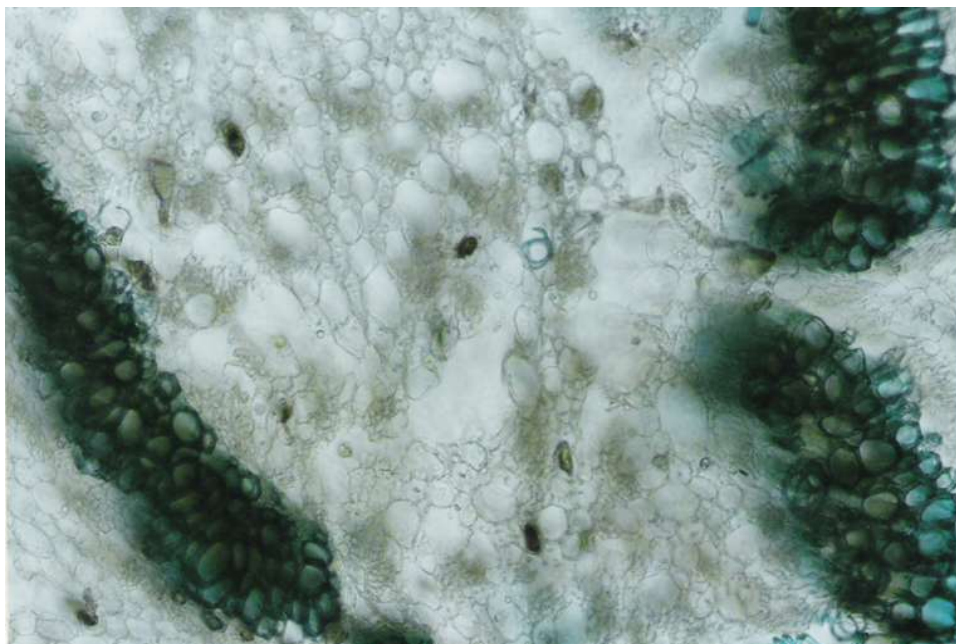


Fig. F: Corte transversal da lâmina foliar de *H. drasticus* em aumento de 150x evidenciando a nervura principal – região vascular.

#### 2.1.2.2. Casca

O corte transversal da casca em estrutura secundária evidenciou a presença de uma periderme espessa (Fig. G) e um parênquima cortical com grãos de amido e células contendo numerosos cristais prismáticos de oxalato de cálcio, maciços de tecido esclerenquimático (Fig. H), próximo dos quais encontram-se algumas células cristalígenas e canais laticíferos não articulados, de conteúdo castanho. O floema, muito desenvolvido, é composto por um parênquima contendo os mesmos elementos descritos para a região cortical (Fig. I e J).

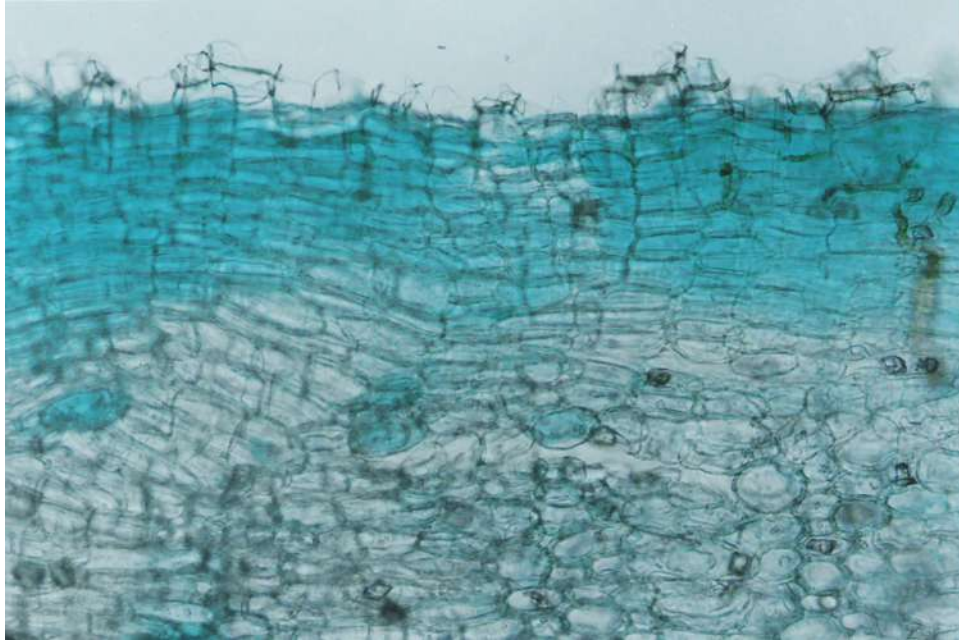


Fig. G: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se região cortical com periderme espessa.

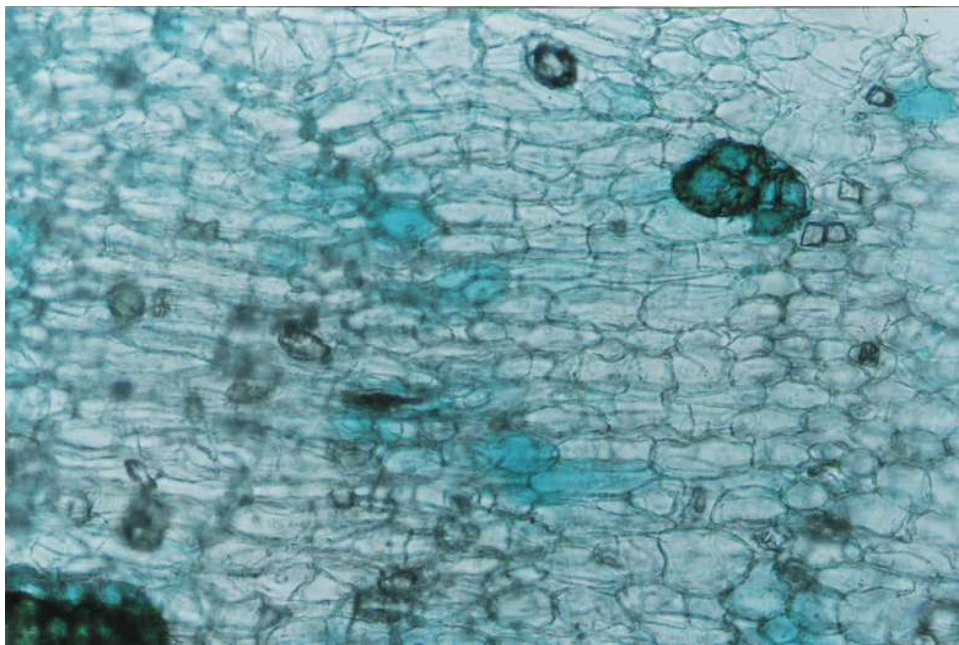


Fig. H: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se região cortical com cristais prismáticos de oxalato de cálcio e células esclerosas.

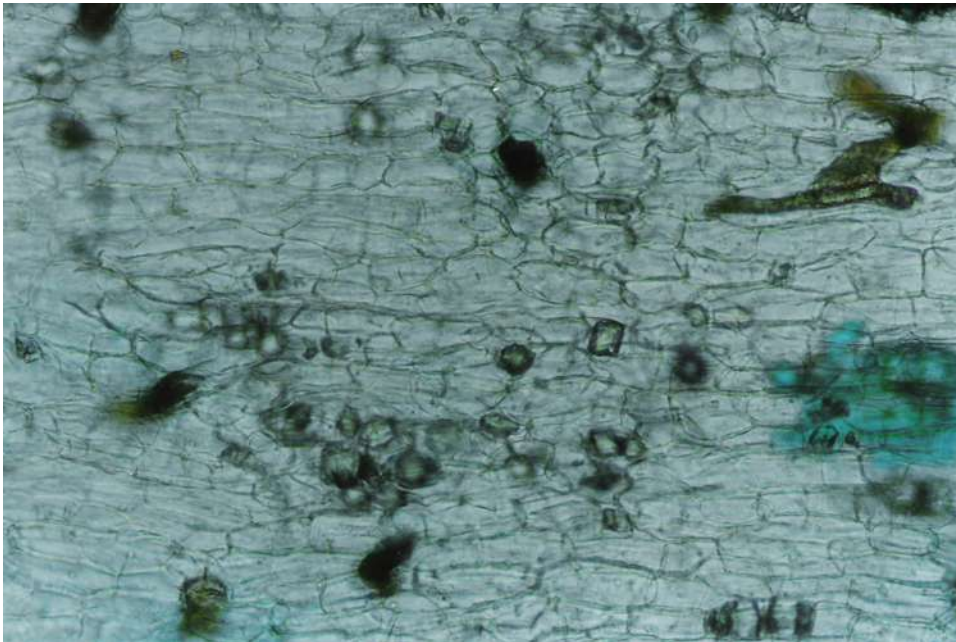


Fig. I: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se região floemática rica em cristais e canais laticíferos

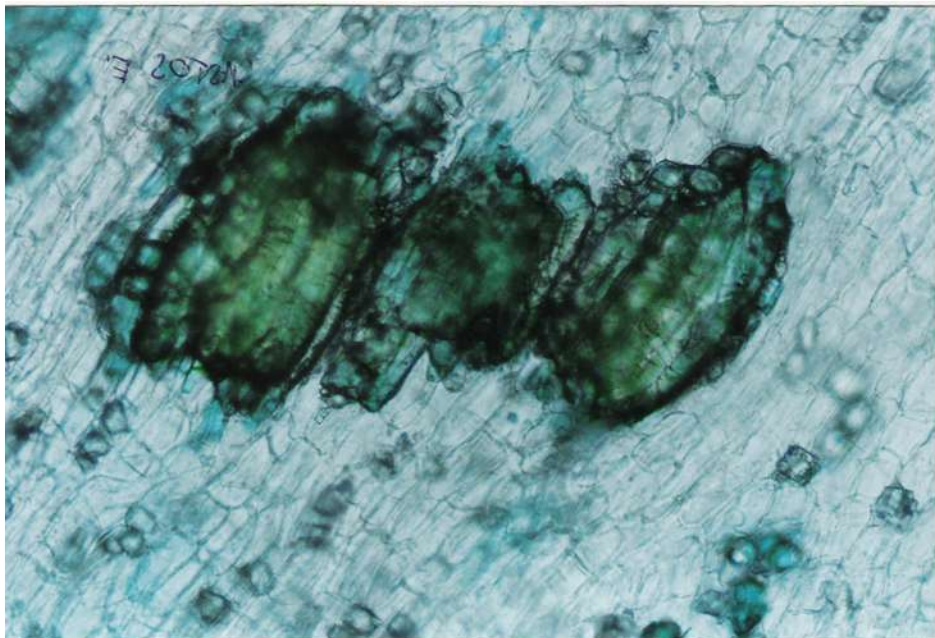


Fig. J: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se maciços esclerosos da região floemática.

## 2.2. *Himatanthus obovatus* (Muell. Arg.) Woodson.

### 2.2.1. Descrição Macroscópica

#### 2.2.1.1. Folha

As folhas de *Himatanthus obovatus* são grandes, razoavelmente elípticas (por volta de 21 a 24 cm de comprimento por 9,5 a 10,5 cm de largura), de consistência levemente coriácea na face adaxial e aveludada na abaxial. A base é obtusa, o ápice arredondado, porém mais estreito que o de *H. drasticus*, com margem inteira, plana ou levemente ondulada. Apresenta coloração verde-escura na face adaxial, com nervura central saliente, e as secundárias de coloração castanha, paralelas entre si, retas, com a maioria delas saindo em ângulo reto ou ligeiramente agudo da nervura principal, unindo-se a 1-2 mm da margem. A face abaxial, de coloração verde-amarelada, possui nervuras salientes.



Fig. L. Folha de *Himatanthus obovatus* – Faces adaxial e abaxial

### 2.2.1.2. Casca

Casca de forma canaleta ou em canudo, de superfície externa acastanhada, com sulcos longitudinais e cicatrizes dos ramos aparentes. A superfície interna apresenta-se com coloração castanho-escuro e finamente estriada no sentido do comprimento. A fratura transversal mostra-se nítida, mais clara e estreita na região externa, escurecida e relativamente mais espessa internamente.



Fig. M. Cascas de *Himatanthus obovatus* – superfícies externa e interna.



## 2.2.2. Descrição Microscópica.

### 2.2.2.1. Folha

A folha de *Himatanthus obovatus* apresenta a região do limbo foliar com epidermes uniestratificadas, de cutícula espessa, contendo tricomas tectores unicelulares, unisseriados, de paredes finamente verrucosas, mais abundantes na face abaxial. O mesófilo, do tipo dorsiventral, apresenta normalmente duas camadas de parênquima paliçádico e várias de parênquima lacunoso (Fig. Q). No mesófilo são observadas células esclerenquimáticas, grandes drusas de oxalato de cálcio e feixes fibrovasculares (Fig. Q). A nervura central, biconvexa, contém epidermes semelhantes às descritas para a região do mesófilo, colênquima angular, parênquima fundamental com canais laticíferos não articulados, grãos de amido e idioblastos taníferos (Fig. O e P). A região vascular apresenta feixes condutores bicolaterais, dispostos quase em círculo, delimitando uma medula central desenvolvida que possui os mesmos elementos mencionados para o parênquima fundamental (Fig. N).

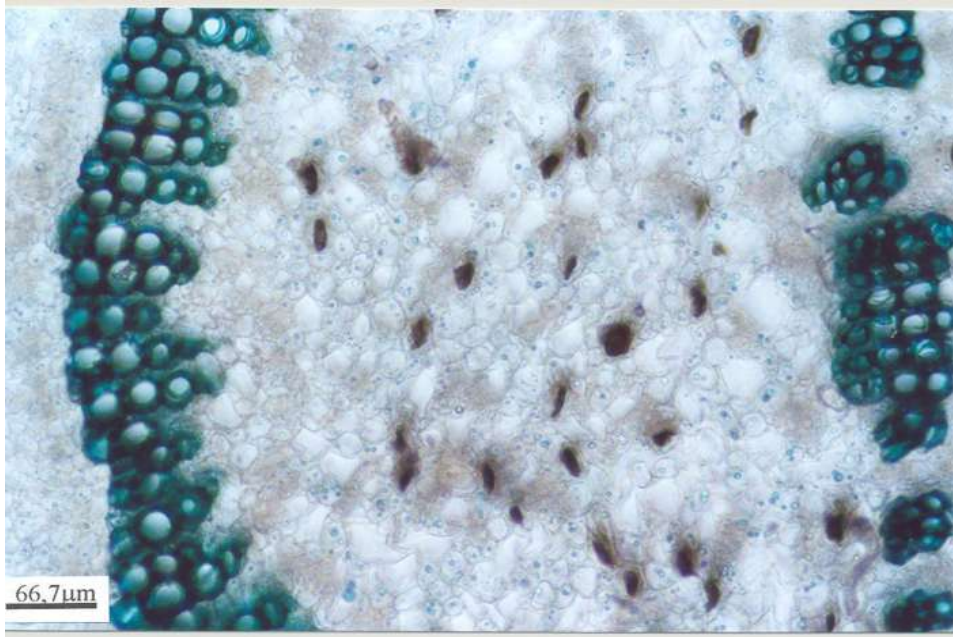


Fig. N- Região vascular da nervura central da lâmina foliar de *H. obovatus* com feixes bicolaterais

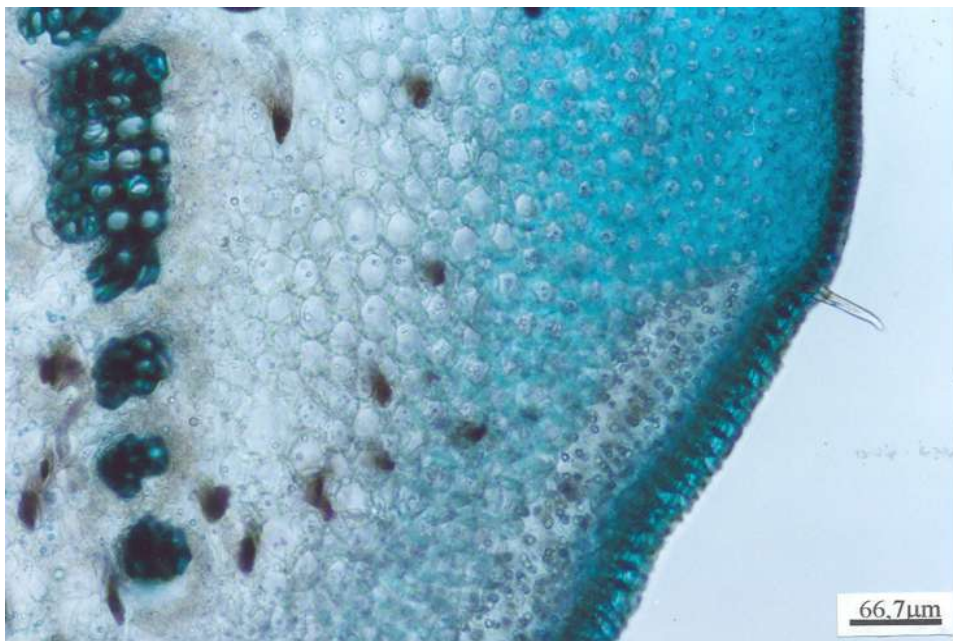


Fig. O - Face adaxial da nervura central da lâmina foliar de *H. obovatus* com colênquima angular

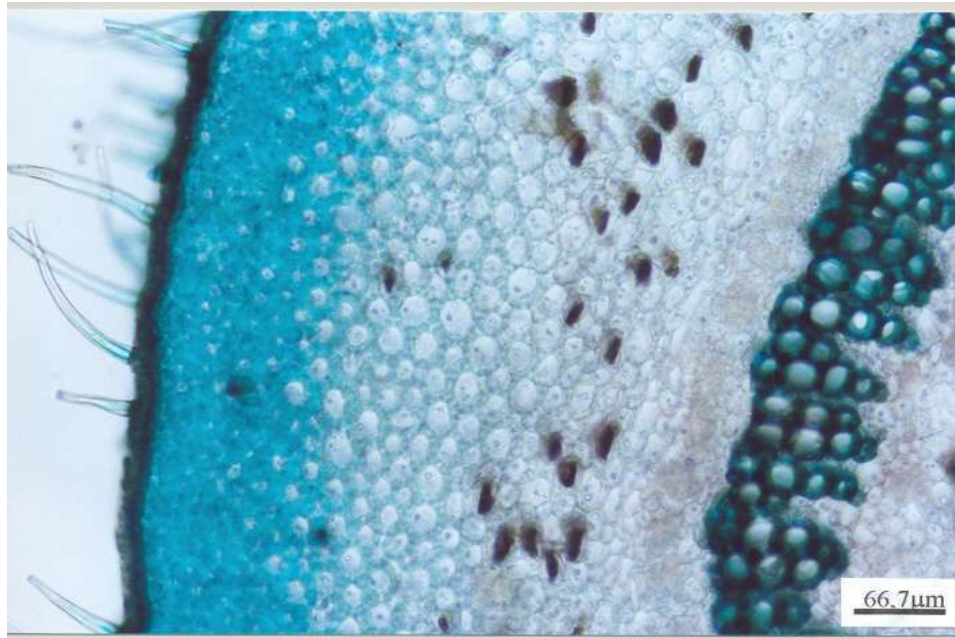


Fig. P - Face abaxial da nervura central da lâmina foliar de *H. obovatus* com tricomas tectores, colênquima e parênquima fundamental

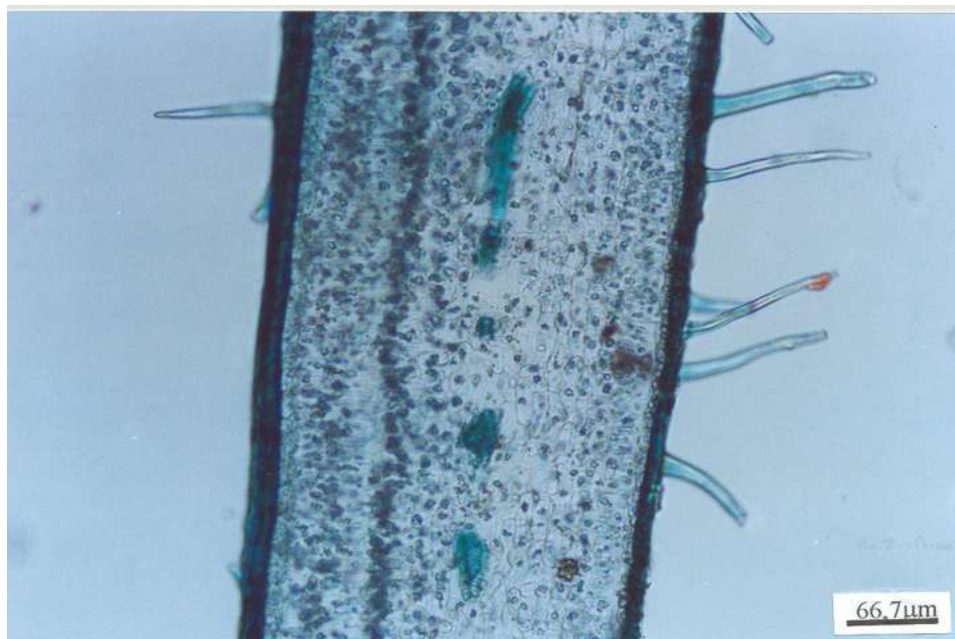


Fig. Q - Mesofilo dorsiventral da lâmina foliar de *H. obovatus* destacando a dupla camada em paliçada, células esclerosas e drusas de oxalato de cálcio

#### 2.2.2.2. Cascas

A região cortical das cascas de *Himatanthus obovatus* possui súber desenvolvido, parênquima cortical com maciços de células esclerosas, grãos de amido, cristais prismáticos de oxalato de cálcio, canais laticíferos e idioblastos taníferos (Fig. R). O floema apresenta tubos crivosos alternados com parênquima e fibras e contém os mesmos elementos descritos para o parênquima cortical. (Fig. S).

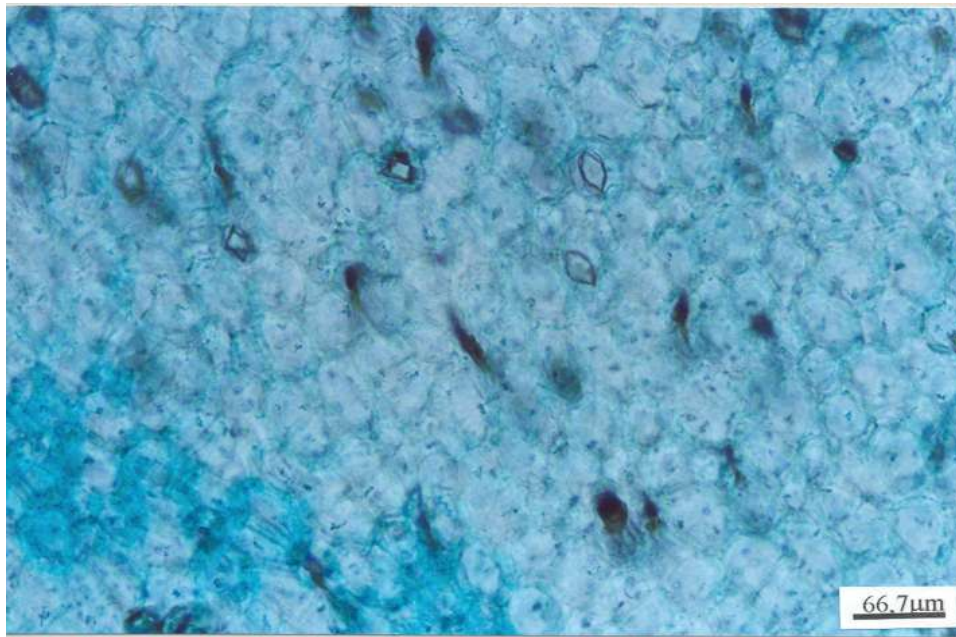


Fig. R – Parênquima da casca de *H. obovatus* com cristais prismáticos de oxalato de cálcio e idioblastos taníferos

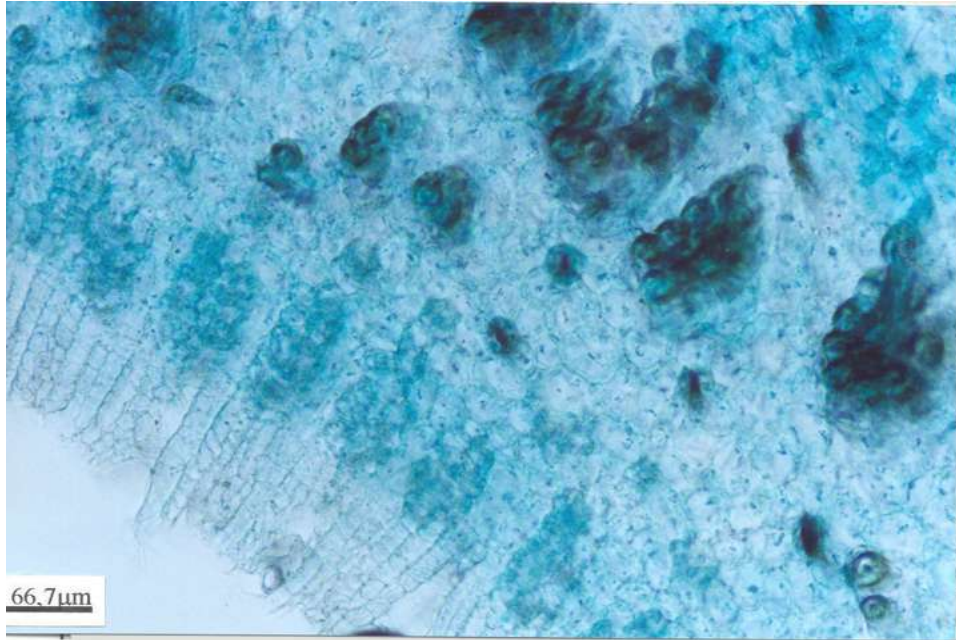


Fig. S - Região floemática da casca de *H. obovatus* com numerosas células esclerosas.

### 2.3. Aspectos Químicos

As cascas e folhas frescas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus* foram secas, moídas e maceradas em etanol, os extratos brutos resultantes foram suspensos em uma mistura EtOH : H<sub>2</sub>O (2:8) e submetidos a partições sucessivas com hexano, diclorometano e acetato de etila. As frações orgânicas resultantes foram analisadas por cromatografia em camada fina de gel de sílica (CCF-Si) utilizando-se vanilina sulfúrica e NP-PEG como agentes reveladores.

No processo de isolamento foram utilizadas colunas cromatográficas de sephadex LH-20, com sistemas de eluentes sob a forma de gradientes de acetato de etila em hexano e metanol em acetato de etila e metanol puro, respectivamente.

Essas frações foram investigadas com base nos dados da literatura que relacionam substâncias iridoídicas com agentes antiinflamatórios<sup>72</sup> e com base nos dados etnofarmacológicos que relatam o uso das cascas e do látex de espécies do gênero *Himatanthus* sob a forma de infusos, decoctos e cataplasmas no alívio de reações inflamatórias<sup>73</sup>.

## 2.3.1. Identificação estrutural dos constituintes das cascas e folhas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus*

### 2.3.2.1. Triterpenos

As partições em hexano das folhas e cascas de *H. drasticus* e *H. obovatus* foram submetidas à análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM). As folhas de *H. drasticus* (cromatograma 1, p. 95) apresentaram três substâncias como constituintes principais e as cascas (cromatograma 2, p. 96) apenas dois, todos pertencentes à classe dos triterpenos. As folhas e cascas de *H. obovatus* (cromatogramas 3 e 4 p. 97 e 98, respectivamente) apresentaram o mesmo componente majoritário. Os espectros de massas obtidos permitiram confirmar a presença dos íons característicos dos triterpenos da série lupano (189 m/z) e  $\Delta^{12}$ -ursano ou oleanano<sup>74,75</sup> (218 m/z).

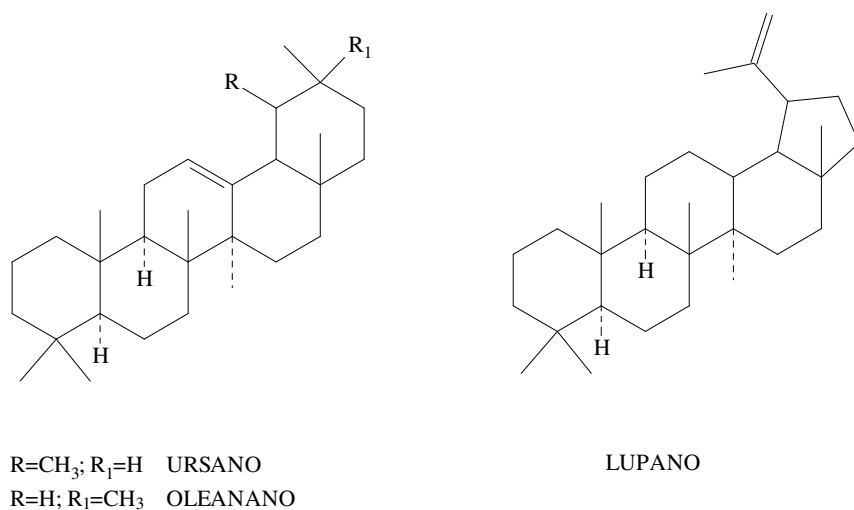


Fig. 5: Esqueletos de triterpenos das séries ursano, oleanano e lupano.

Os dados obtidos, em comparação com os do banco de dados do aparelho permitiram identificar:

<i>Himatanthus obovatus</i>				
FOLHA		Área (%)	Tempo de retenção (min)	Substância
	A	17,41	57,92	$\beta$ -amirina
	B	56,16	58,86	Acetato de lupeol
CASCA		Área (%)	Tempo de retenção (min)	Substância
	A	18,03	57,93	$\beta$ -amirina
	B	23,89	58,82	Acetato de lupeol

Tab. 3. Triterpenos das cascas e folhas de *H. obovatus*

<i>Himatanthus drasticus</i>				
FOLHA		Área (%)	Tempo de retenção (min)	Substância
	A	2,11	57,90	$\beta$ -amirina
	B	61,86	58,86	Acetato de lupeol
	C	24,17	107,49	Cinamato de lupeol
CASCA		Área (%)	Tempo de retenção (min)	Substância
	A	6,45	57,91	$\beta$ -amirina
	B	80,85	58,86	Acetato de lupeol

Tab. 4. Triterpenos das cascas e folhas de *H. drasticus*

### 2.3.2.1.A. $\beta$ -amirina

O espectro de massas da substância A (espectro 1, p. 98) de tempo de retenção 57,90 minutos apresentou o íon molecular de 426 m/z, compatível com a fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O$ . Foi observado o íon característico das séries  $\Delta^{12}$ -ursano ou oleanano m/z 218, proveniente de um rearranjo do tipo retro-Diels-Alder<sup>74,75</sup>. Outro fragmento característico é o m/z 189.

### 2.3.2.1.B. Acetato de lupeol

O espectro de massas da substância B (espectro 2, p. 99) de tempo de retenção 58,86 minutos apresentou o íon molecular de 468 m/z, compatível com a fórmula molecular  $C_{32}H_{52}O_2$  e fragmentos no espectro de massas característicos do esqueleto lupano, de m/z 218 e 189. O fragmento m/z



189 tem origem a partir da cisão das ligações C8-C14 e C12-C13, seguida da transferência de hidrogênio resultando na estrutura contendo os anéis D e E. Outra explicação para o íon  $m/z$  189 é a cisão das ligações C9-C11 e C8-C14 fornecendo um fragmento contendo os anéis A e B. O fragmento  $m/z$  408 pode ser atribuído ao rearranjo McLafferty<sup>76</sup>, proveniente do íon molecular de  $m/z$  486. A figura 5 mostra esquema com os principais fragmentos observados para este triterpeno.

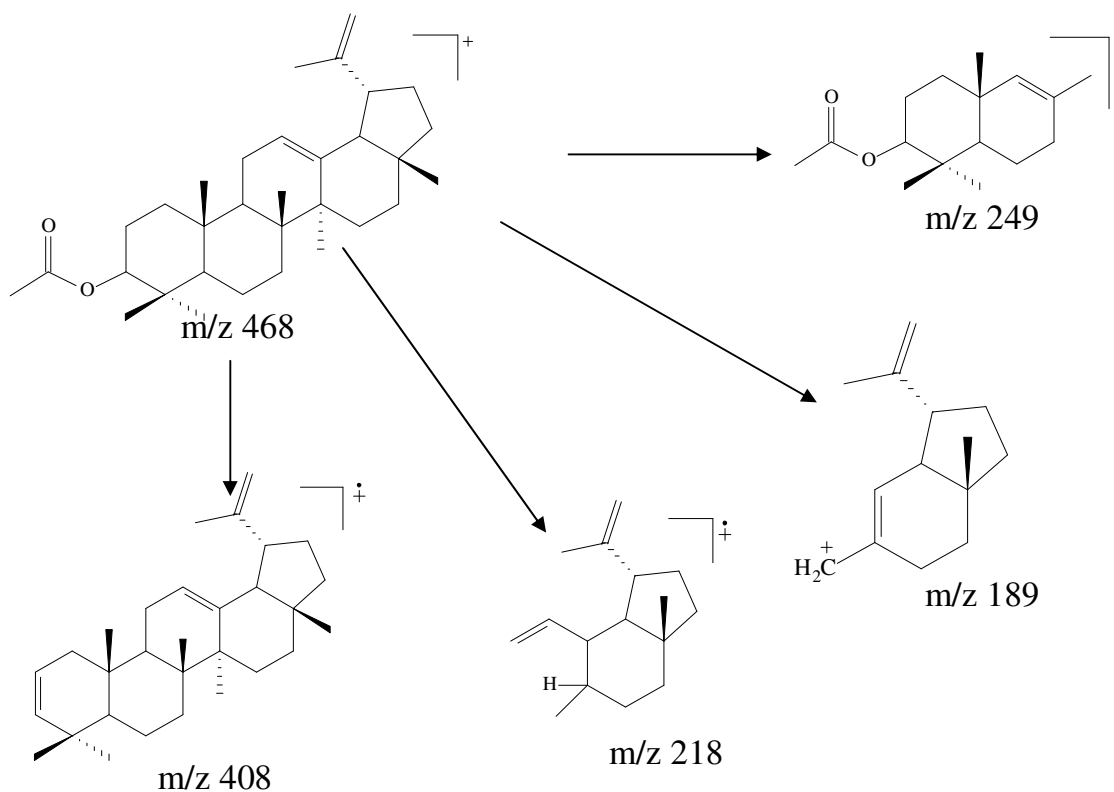


Fig. 5 - Esquema dos principais fragmentos do acetato de lupeol.

### 3.3.2.1.C. Cinamato de lupeol

O espectro de massas da substância C (espectro 3, p. 100) de tempo de retenção 58,86 minutos apresentou o íon molecular de 556  $m/z$ , compatível com a fórmula molecular  $C_{39}H_{56}O_2$  e fragmentos no espectro de massas característicos do esqueleto lupano, de  $m/z$  218 e 189. O íon  $m/z$  408 ( $M^{+\bullet}$ -

148), resultante da perda de  $C_9H_8O_2$  acompanhado do fragmento  $m/z$  131 indicam a presença de um grupo cinamoíla ligado ao esqueleto triterpênico<sup>77,78</sup>.

### 2.3.2.2. Iridóides

#### 2.3.2.2.A. Plumierídeo (HDCA-1)

A substância, codificada como HDCA-1, foi isolada das cascas de *H. drasticus* sob a forma de um sólido branco cristalino. As CCF-Si (SS1) e CCF-C<sub>18</sub>, eluídas em AcoEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4), respectivamente, após revelação com VS mostraram uma coloração característica de iridóide (verde claro)<sup>79</sup> e após revelação com orcinol sulfúrico (OS) apresentaram revelação de cor roxa indicando a presença de um glicosídeo<sup>80</sup>.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro **4**, p. 101) em CH<sub>3</sub>OD, 400 MHz permitiu as seguintes observações:

- Um dubleto em 1,40 ppm (3H, J= 6,4 Hz) referente aos hidrogênios do grupo metila;
- Um sinal simples em 3,74 ppm referente ao hidrogênio do grupo metoxila;
- Sinais entre 3,0 e 4,5 ppm referentes aos hidrogênios da unidade glicosídica determinada como β-glicose devido a presença de um

sinal duplo em 4,68 ppm (1H, J=8,0 Hz) atribuído ao hidrogênio anomérico (H<sub>1</sub>' );

- Um sinal duplo em 5,25 ppm (J=4,8 Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H<sub>1</sub>);
- Dois sinais duplos dubletos em 5,51 ppm (1H, J= 5,6 e 2,0 Hz) e 6,45 ppm (1H, J=5,6 e 2,4 Hz), referentes aos hidrogênios H<sub>6</sub> e H<sub>7</sub> do esqueleto iridóide- $\Delta$ <sup>6 81,82,83</sup>;
- Um sinal simples em 7,35 ppm (1H) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H<sub>3</sub>);
- Um sinal duplo em 7,49 ppm (1H, J= 1,2 Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H<sub>10</sub>).

Os valores descritos na literatura para os deslocamentos químicos dos hidrogênios do plumerídeo (obtidos em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) apresentam algumas diferenças em relação aos valores deste trabalho (obtidos em CD<sub>3</sub>OD). Tais diferenças podem ser explicadas a partir das variações existentes nas interações solvente-soluto<sup>84</sup>.

<b>H</b>	<b><math>\delta</math> (ppm) obtido</b>	<b><math>\delta</math> (ppm) literatura</b>
<b>1</b>	5,25 ( <i>d</i> , J=4,8 Hz)	5,68 ( <i>d</i> , J=4,0 Hz)
<b>3</b>	7,49 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,60 ( <i>d</i> , J= 1,0 Hz)
<b>5</b>	3,92 ( <i>dd</i> , J=8 e 1,6 Hz)	3,97 ( <i>ddd</i> , J=8,0, 3,0 e 2,0 Hz)
<b>6</b>	6,45 ( <i>dd</i> , J= 5,6 e 2,4 Hz)	6,47 ( <i>dd</i> , J= 6,0 e 3,0 Hz)
<b>7</b>	5,51 ( <i>dd</i> , 5,6 e 2,0 Hz)	5,49 ( <i>dd</i> , J= 6,0 e 2,0 Hz)
<b>9</b>	2,94 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 4,4 Hz)	3,17 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 4,0 Hz)
<b>10</b>	7,35 ( <i>d</i> , J= 1,2 Hz)	7,81 ( <i>d</i> , J=1,0 Hz)
<b>13</b>	4,55 ( <i>q</i> , J= 6,4Hz)	4,96 ( <i>q</i> , J= 6,0Hz)
<b>14</b>	1,40 ( <i>d</i> , J=6,4 Hz)	1,63 ( <i>d</i> , J=6,0 Hz)
<b>COOMe</b>	3,74 ( <i>s</i> )	3,62 ( <i>s</i> )
<b>1'</b>	4,68 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)	5,25 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)

Tab. 5 –Valores dos deslocamentos químicos dos hidrogênios de HDCA-1 e da literatura<sup>82</sup>.

Os valores descritos na literatura para os deslocamentos químicos dos hidrogênios do plumerídeo (obtidos em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) apresentam algumas diferenças em relação aos valores deste trabalho (obtidos em CD<sub>3</sub>OD). Tais diferenças podem ser explicadas a partir das variações existentes nas interações solvente-soluto<sup>84</sup>.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro 7, p. 104) mostrou 21 sinais, cujos valores de multiplicidade, obtidos pela técnica DEPT (espectro 10, p. 107) estão listados na tabela 6. A presença de um núcleo ciclopentanodihidropirano foi confirmada pelos sinais 94,2 ppm (carbono metínico) referente ao C-1, 152,5 ppm (carbono metínico) referente ao C-3, 111,0 ppm (carbono quaternário) referente ao C-4. Os sinais em 40,4 e 50,6 ppm correspondem aos C-5 e C-9, respectivamente. A dupla ligação entre os carbonos 6 e 7, que já havia sido observada no espectro de RMN<sup>1</sup>H foi confirmada pelos sinais 130,0 e 141,4 ppm, correspondentes a dois carbonos sp<sup>2</sup> do núcleo ciclopentano.

C	$\delta$ obtido(ppm)	$\delta$ literatura <sup>82</sup> (ppm)	Multiplicidade
1	94,2	93,7	CH
3	152,5	151,7	CH
4	111,0	109,9	C
5	40,4	39,5	CH
6	141,4	140,1	CH
7	130,0	129,7	CH
8	97,9	96,3	C
9	50,6	49,9	CH
10	150,2	148,7	CH
11	138,6	139,0	C
12	172,7	171,2	C=O
13	63,5	62,8	CH
14	22,4	22,9	CH <sub>3</sub>
15	168,4	166,6	C
16	51,9	51,1	O-CH <sub>3</sub>
1'	100,1	100,7	CH
2'	74,6	74,6	CH
3'	78,4	78,2	CH
4'	71,3	70,9	CH
5'	77,8	78,7	CH
6'	62,5	62,2	CH <sub>2</sub>

Tab. 6 - Valores dos deslocamentos químicos dos carbonos de HDCA-1 em comparação aos da literatura<sup>82</sup>.

Os sinais em 97,9 ppm (carbono quaternário – C-8), 150,2 ppm (carbono metínico - C-10), 138,6 (carbono quaternário – C-11) e 172,7 ppm (C=O) confirmam a presença de uma  $\gamma$ -lactona não saturada e os sinais em 168,4 ppm (C=O) e 51,9 ppm (O-CH<sub>3</sub>) confirmam a presença do éster não saturado nos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$ . Os sinais da  $\beta$ -glicose foram observados em: 100,7; 74,6; 78,2; 70,9; 78,7 e 62,2 ppm e confirmaram os dados obtidos no espectro de RMN<sup>1</sup>H.

As correlações obtidas nos espectros bidimensionais de HSQC (espectro **11**, p. 108) e HMBC (espectro **14**, p. 111) permitiram confirmar as assinalações feitas nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, são elas:

Para o HSQC:

	H ( $\delta$ ppm)	C ( $\delta$ ppm)
1	5,25	94,21
3	7,49	152,5
5	3,92	40,4
6	6,45	141,4
7	5,51	130,0
9	2,94	50,6
10	7,35	150,2
13	4,55	63,5
14	1,40	22,4
16	3,74	51,9
1'	4,68	100,1
2'	3,19	74,6
3'	3,33	78,4
4'	3,34	71,3
5'	3,35	77,8
6'	3,65 e 3,86	62,5

Tab. 7 – Correlações encontradas no espectro HSQC de HDCA-1.

E para o HMBC:

C	Correlação com H
C-1	H-3, H-9 e H-1'
C-3	H-1, H-5
C-4	H-3, H-5 e H-9
C-5	H-1, H-3, H-6, H-7, H-9
C-6	H-1, H-5 e H-9
C-7	H-1, H-5, H-6 e H-9
C-8	H-1, H-6, H-7, H-9 e H-10
C-9	H-5, H-6 e H-7
C-10	H-9 e H-13
C-11	H-10, H-13 e H-14
C-12	H-10 e H-13
C-13	H-14 e H-10
C-14	H-13
C-15	H-3 e H-16
C-16	H-5

Tab. 8 – Correlações encontradas no espectro HMBC de HDCA-1.

Os dados dos espectros de RMN<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT, HSQC e HMBC em comparação com os dados da literatura permitem identificar a substância HDCA-1 como o iridóide glicosilado plumierídeo, já anteriormente encontrado em espécies do gênero *Plumeria*, *Allamanda* e *Himatanthus*<sup>82, 83, 85, 86, 87</sup>.

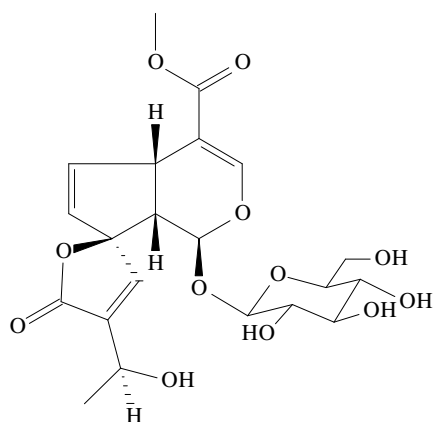


Fig. 6. Estrutura química do iridóide plumierídeo isolado das cascas de *Himatanthus drasticus*.

### 2.3.2.2.B. Isoplumierídeo (HDCA-2)

A substância, codificada como HDCA-2, foi isolada das cascas de *H. drasticus* sob a forma de um sólido amarelo cristalino. A análise a partir da das CCF-Si e CCF-C<sub>18</sub>, eluídas em AcoEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4), respectivamente, após revelação com VS mostrou uma coloração característica de iridóide (verde claro)<sup>79</sup> e a presença do grupamento glicosídico foi caracterizada pela revelação com orcinol sulfúrico, a qual apresentou coloração arroxeadada.

O espectro IV (espectro **16** p. 113) forneceu os seguintes dados:

Absorção (cm <sup>-1</sup> )	Observações
3427 cm <sup>-1</sup>	Deformação axial de OH
1796 cm <sup>-1</sup>	Deformação axial de C=O de $\gamma$ -lactona não saturada
1311 cm <sup>-1</sup>	Deformação axial de C-(C=O)-O do éster
1075 cm <sup>-1</sup>	Deformação axial de C-O-C de éter

Tab. 9 – Regiões de absorção no IV de HDCA-2

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro **17**, p. 114) em CD<sub>3</sub>OD permitiu observar os seguintes sinais:

- Um sinal duplo em 1,40 ppm (3H, J=6,8 Hz) referente aos hidrogênios do grupo metila;
- Um sinal simples em 3,73 ppm (3H) referente aos hidrogênios do grupo metoxila;
- Sinais entre 3,0 e 4,0 ppm sugerem a presença de uma unidade glicosídica determinada como β-glicose de acordo com o sinal duplo em 4,61 (d, J= 8,0 Hz), referente ao carbono anomérico.
- Dois sinais duplos em 5,29 ppm (1H, J=1,2 Hz) e 5,51 ppm (1H, J=5,6 Hz) correspondentes aos hidrogênios do esqueleto iridóide-Δ<sup>6</sup><sub>81,82,83</sub>.
- Sinal duplo em 7,41 ppm (1 H, J= 1,2 Hz) referente a hidrogênio de carbono metínico (H<sub>10</sub>).
- Um sinal duplo em 7,33 ppm (1H, J= 1,2 Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H<sub>3</sub>).

Os dados do espectro de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-2 assemelham-se aos encontrados para a substância HDCA-1, identificada como plumierideo, no entanto, algumas diferenças observadas nos deslocamentos químicos e nas constantes de acoplamento serão detalhadas a seguir:

- O sinal observado em 2,94 ppm (*dd*, J=8,0 e 4,4 Hz) para HDCA-1 (plumierídeo) correspondente a junção de anel em C-9 aparece com



um deslocamento para campo mais baixo em HDCA-2 estando em 3,05 ppm (+0,11 ppm), indicando maior desproteção deste hidrogênio em HDCA-2 devido à proximidade a um átomo de oxigênio.

- O sinal duplo que em HDCA-1 é observado em 5,25 ppm ( $d$ ,  $J=4,8$  Hz) referente ao H-1, no espectro de HDCA-2 aparece em 5,29 ppm ( $d$ , 1,2 Hz), indicando que a diferença na constante de acoplamento observada deve-se à expansão do ângulo diedro entre H-1 e H-9, devido à deformação do anel diidropirano, resultante da aproximação de dois átomos de oxigênio em C-1 e C-8, que torna a interação entre H-1 e H-9 menos efetiva.
- O sinal que em HDCA-1 é observado em 7,35 ppm (H-10) aparece deslocado para campo mais baixo em HDCA-2 estando em localizado em 7,41 ppm, devido aos efeitos de proteção e desproteção, respectivamente, relacionados ao oxigênio em C-1 da porção glicosídica.

A tabela 10 compara os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-2 (isoplumierídeo) com HDCA-1 (plumierídeo) e os valores encontrados na literatura<sup>82</sup>.

H	$\delta$ (ppm) Plumierídeo (CD <sub>3</sub> OD)	$\delta$ (ppm) Isoplumierídeo (CD <sub>3</sub> OD)	$\delta$ (ppm) Isoplumierídeo literatura <sup>82</sup> (C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N)
<b>1</b>	5,25 ( <i>d</i> , J=4,8 Hz)	5,29 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	5,84 ( <i>d</i> , J= 1,0 Hz)
<b>3</b>	7,49 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,33 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,66 ( <i>d</i> , J= 1,0 Hz)
<b>5</b>	3,92 ( <i>dd</i> , J=8 e 1,6 Hz)	3,85 ( <i>dd</i> , J= 12,0 e 1,6 Hz)	3,80 ( <i>ddd</i> , J= 8,0; 3,0 e 1,0 Hz)
<b>6</b>	6,45 ( <i>dd</i> , J= 5,6 e 2,4 Hz)	6,57 ( <i>dd</i> , J=6,6 e 2,8 Hz)	6,68 ( <i>dd</i> , J= 5,0 e 3,0 Hz)
<b>7</b>	5,51 ( <i>dd</i> , 5,6 e 2,0 Hz)	5,51 ( <i>d</i> , J= 5,6 Hz)	5,58 ( <i>dd</i> , J=5,0 e 1,0 Hz)
<b>9</b>	2,94 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 4,4 Hz)	3,05 ( <i>dd</i> , J= 8,4 e 1,6 Hz)	3,25 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 1,0 Hz)
<b>10</b>	7,35 ( <i>d</i> , J= 1,2 Hz)	7,41 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,50 ( <i>d</i> , J=1,0 Hz)
<b>13</b>	4,55 ( <i>q</i> , J= 6,4Hz)	4,57 ( <i>d</i> , J= 7,2 Hz)	4,97 ( <i>dq</i> , J= 7,0 e 1,0 Hz)
<b>14</b>	1,40 ( <i>d</i> , J=6,4 Hz)	1,40 ( <i>d</i> , J=6,8 Hz)	1,67 ( <i>d</i> , J=7,0 Hz)
<b>COOMe</b>	3,74 ( <i>s</i> )	3,73 ( <i>s</i> )	3,57 ( <i>s</i> )
<b>1'</b>	4,68 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)	4,61 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)	5,21 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)

Tab. 10 - Tabela comparativa dos deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-2 (isoplumierídeo), HDCA-1 (plumierídeo) e os valores do plumierídeo encontrados na literatura<sup>82</sup>.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro **20**, p. 117) apresentou 20 sinais cujas multiplicidades foram obtidas pela técnica DEPT (espectro **21**, p. 118) e estão descritas na tabela abaixo:

C	$\delta$ obtido (ppm)	$\delta$ literatura <sup>82</sup> (ppm)	Multiplicidade
1	92,6	92,6	CH
3	150,8	151,7	CH
4	110,2	108,3	C
5	39,1	38,3	CH
6	142,4	141,3	CH
7	129,0	128,6	CH
8	96,5	94,9	C
9	46,6	46,2	CH
10	152,2	149,3	CH
11	140,5	140,9	C
12	173,0	171,5	C
13	63,5	62,9	CH
14	22,2	22,6	CH <sub>3</sub>
15	168,7	166,8	C
16	51,8	51,0	CH <sub>3</sub>
1'	99,7	101,1	CH
2'	74,6	74,7	CH
3'	71,5	78,3	CH
4'	77,9	71,3	CH
5'	78,2	78,4	CH
6'	62,7	62,7	CH <sub>2</sub>

Tab. 11. Comparação entre os valores dos deslocamentos químicos obtidos para HDCA-2 e os encontrados na literatura<sup>82</sup>.

As correlações obtidas nos espectros bidimensionais de HSQC (espectro **22**, p. 119), HMBC (espectro **23**, p. 120) e COSY  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  (espectro **26**, p. 123) permitiram confirmar as assinalações feitas nos espectros de RMN $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . São elas:

- Para HMBC:

H	Correlação com C
H-1	C-3, C-5, C-1'
H-3	C-1, C-4, C-15
C-7	C-6, C-8, C-9
C-10	C-8, C-11, C-12, C13
C-14	C-13, C-11

Tab. 12 – Correlações encontradas no espectro HMBC de HDCA-2.

- Para o HSQC:

	H ( $\delta$ ppm)	C ( $\delta$ ppm)
1	5,29	92,64
3	7,41	152,20
5	3,85	39,13
6	6,57	140,57
7	5,51	129,08
9	3,05	46,69
10	7,33	150,89
13	4,57	63,55
14	1,40	22,23
16	3,73	51,82
1'	4,61	99,78
2'	3,12	74,67
3'	3,30	71,53
4'	3,38	77,96
5'	3,37	78,29
6'	3,63 e 3,85	62,70

Tab. 13 – Correlações encontradas no espectro HSQC de HDCA-2.

No espectro COSY  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  (esp. **26**, p. 123) são observadas as correlações entre H-13 e H-14, H6 e H-7 e H-1 e H-9.

Os dados obtidos em comparação com os dados da literatura nos permitem identificar a substância HDCA-2 como o iridóide isoplumierídeo, já anteriormente descrito em espécies de *Plumeria*<sup>82</sup> e *Himatanthus*<sup>40</sup>.

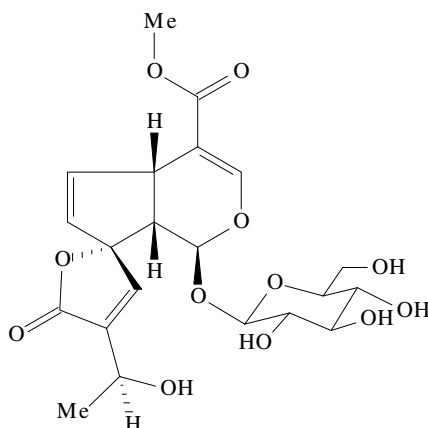


Fig.7. Estrutura química do iridóide isoplumierídeo isolado das cascas de *Himatanthus drasticus*.

### 2.3.2.2.C. Protoplumericina A (HDCA-3)

A substância isolada das cascas de *H. drasticus* sob código HDCA-3 foi obtida sob a forma de um sólido branco amorfo (8,3 mg), o qual, após análise por CCF-Si (AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (6,5:1,5:2,0)) e CCF-C<sub>18</sub> (MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4)) e revelação com vanilina sulfúrica apresentou uma coloração verde claro indicativa de iridóide glicosilado<sup>79</sup>. A mesma amostra após revelação com orcinol sulfúrico (OS) apresentou revelação arroxeadada caracterizando a presença de um glicosídeo<sup>80</sup>.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (esp. **31**, p. 128) em CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz permitiu observar os seguintes sinais:

- Um sinal duplo em 1,56 ppm (3H, J=6,4 Hz) referente aos hidrogênios do grupo metila;
- Um sinal simples em 3,74 ppm (3H) referente aos hidrogênios do grupo metoxila;
- Sinais entre 3,0 e 4,0 ppm sugerem a presença de duas unidades glicosídicas determinada como  $\beta$ -glicose de acordo com os sinais duplos em 4,70 (*d*, J= 7,6 Hz) e 4,96 (*d*, J= 7,6 Hz), referentes aos hidrogênios anoméricos.
- Um conjunto de duplos dubletos em 5,52 ppm (1H, J=5,2 e 2,4 Hz) e 6,47 ppm (1H, J=5,6 e 2,4 Hz) correspondentes aos hidrogênios H<sub>6</sub> e H<sub>7</sub> do esqueleto iridóide- $\Delta$ <sup>6,81,82,83</sup>.
- Sinal duplo em 7,51 ppm (1 H, J= 1,2 Hz) referente a hidrogênio de carbono metínico (H<sub>10</sub>).
- Um sinal simples (singleto largo) em 7,50 ppm (1H) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H<sub>3</sub>).
- Um sinal duplo dubleto em 2,92 ppm (*dd*, J= 7,2 e 5,2 Hz) correspondente a junção de anel em C-9.
- Um sinal duplo em 5,27 ppm (*d*, J= 5,2 Hz) referente ao H-1.
- Sinal duplo em 7,12 ppm (2H, J=8,8 Hz) correspondente a dois hidrogênios aromáticos (H-3' e H-5').

- Sinal duplo em 7,64 ppm (2H, J=8,8 Hz) correspondente a dois hidrogênios aromáticos (H-2' e H-6').
- Dois sinais duplos em 6,46 ppm (*d*, J=16 Hz) e 7,68 (*d*, J=16 Hz) correspondentes aos hidrogênios metínicos  $\alpha$ - e  $\beta$ - carbonila.

A tabela 14 mostra os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-3 em comparação aos encontrados na literatura para a protoplumericina A<sup>88</sup>.

H	$\delta$ (ppm) HDCA-3 (CD <sub>3</sub> OD)	Protoplumericina A Literatura <sup>88</sup> (ppm)
1	5,27 ( <i>d</i> , J=5,2 Hz)	5,63 ( <i>d</i> , J=5Hz)
3	7,50 ( <i>sl</i> )	7,66 ( <i>d</i> , J=2 Hz)
5	3,93 ( <i>m</i> )	-
6	6,47 ( <i>dd</i> , J= 5,6 e 2,4 Hz)	6,48 ( <i>dd</i> , J=5,0 e 2,5 Hz)
7	5,52 ( <i>dd</i> , 5,2 e 2,4 Hz)	5,43 ( <i>dd</i> , J=5,0 e 2,5 Hz)
9	2,92 ( <i>dd</i> , J=7,2 e 5,2 Hz)	3,03 ( <i>dd</i> , J= 7,0 e 5,0)
10	7,51 ( <i>d</i> , J= 1,2 Hz)	8,03 ( <i>d</i> , J=2,0 Hz)
13	5,70 ( <i>q</i> , J= 6,4Hz)	6,09 ( <i>dq</i> , J=6,0 e 2,0 Hz)
14	1,40 ( <i>d</i> , J=6,4 Hz)	1,62 ( <i>d</i> , J=7,0)
COOMe	3,74 ( <i>s</i> )	3,61 ( <i>s</i> )
1'	4,69 ( <i>d</i> , J=7,6 Hz)	5,29 ( <i>d</i> , J=6,0 Hz)
$\alpha$	6,46 ( <i>d</i> , J=16 Hz)	6,69 (J=16Hz)
$\beta$	7,68 ( <i>d</i> , J=16 Hz)	7,96 (J=16 Hz)
2'' e 6''	7,64 ( <i>d</i> , J=8,8 Hz)	7,60 ( <i>d</i> , 7,0 Hz)
3'' e 5''	7,12 ( <i>d</i> , J=8,8 Hz)	7,33 ( <i>d</i> , J= 7,0 Hz)

Tab. 14. Comparação entre os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H em CH<sub>3</sub>OD obtidos para HDCA-3 e os encontrados na literatura<sup>88</sup>.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro **35**, p. 132) apresentou 34 sinais cujas multiplicidades foram obtidas pela técnica DEPT (espectro **38**, p. 135) e estão descritas na tabela abaixo:

C	$\delta$ obtido (ppm)	$\delta$ literatura (ppm)	Multiplicidade
1	94,1	93,7	CH
3	152,0	152,1	CH
4	110,9	109,3	C
5	40,77	40,3	CH
6	142,1	141,7	CH
7	129,5	128,6	CH
8	98,1	96,6	C
9	50,6	50,4	CH
10	152,7	151,3	CH
11	133,0	133,6	C
12	171,9	170,3	C
13	66,3	65,0	CH
14	19,3	19,2	CH <sub>3</sub>
15	167,7	166,6	C
16	52,0	51,2	CH <sub>3</sub>
1'	99,9	100,6	CH
2'	74,7	74,8	CH
3'	78,3	78,4	CH
4'	71,3	71,23	CH
5'	78,7	78,9	CH
6'	62,5	62,3	CH <sub>2</sub>
1'''	101,9	101,7	CH
2'''	74,9	74,7	CH
3'''	78,5	78,4	CH
4'''	71,7	71,2	CH
5'''	77,9	78,9	CH
6'''	62,8	62,3	CH <sub>2</sub>
C=O	168,4	166,4	C
$\alpha$	116,6	116,3	CH
$\beta$	146,6	145,3	CH
1''	129,8	128,9	C
2'' e 6''	131,0	130,4	CH
3'' e 5''	118,0	117,1	CH
4''	161,0	160,2	C

Tab. 15. Comparação entre os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>13</sup>C obtidos para HDCA-2 e os encontrados na literatura<sup>82</sup>.

As correlações obtidas nos espectros bidimensionais de COSY <sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H (esp. **42**, p.139) e HMQC (esp. **45**, p. 142) permitiram confirmar as assinalações feitas nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. São elas:

- HMQC (esp. 45, p.142):

	H ( $\delta$ ppm)	C ( $\delta$ ppm)
1	5,27	94,63
3	7,51	152,0
5	3,93	40,7
6	6,47	141,3
7	5,52	128,6
9	2,92	50,4
10	7,50	152,7
13	5,70	66,3
14	1,55	19,3
16	3,74	52,0
1'	4,69	99,9
1'''	4,96	101,9
$\alpha$	6,46	116,6
$\beta$	7,68	146,6
2'' e 6''	7,64	131,5
3'' e 5''	7,12	118,0

Tab. 16 – Correlações encontradas no espectro HMQC de HDCA-3.

- COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (esp. 42, p. 139):

H ( $\delta$ ppm)	H ( $\delta$ ppm)
H- $\alpha$ (6,46)	H- $\beta$ (7,48)
H-5 (3,93)	H-9 (2,92)
H-6 (6,47)	H-7 (5,52)
H-2'' e H-6'' (7,64)	H-3'' e H5''

Tab. 17 – Correlações encontradas no espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H de HDCA-3.

Os dados obtidos em comparação com os dados da literatura nos permitem identificar a substância HDCA-3 como o iridóide **protoplumericina A**, já anteriormente descrito em espécies de *Allamanda neriifolia*<sup>88,89</sup>.



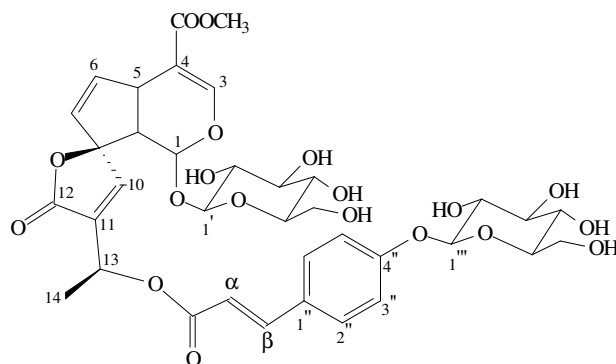


Fig. 8. Estrutura química do iridóide protoplumericina A isolada das cascas de *Himatanthus drasticus*.

#### 2.3.2.2.D. Cafeoilplumierídeo (HDCA-4)

A substância, codificada como HDCA-4, foi isolada sob a forma de um sólido branco amorfo que após análise em CCF-Si (AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (6,5:1,5:2,0)) e CCF-C<sub>18</sub> (MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4)) reveladas com VS e OS apresentou revelação nas cores verde claro e roxa, respectivamente, indicando a presença de iridóide glicosilado.

Os sinais observados no espectro de RMN<sup>1</sup>H (esp. **49**, p. 146) em CH<sub>3</sub>OD permitiram as seguintes observações:

- Um sinal duplo em 1,55 ppm (3H, J=6,8 Hz) referente aos hidrogênios do grupo metila;
- Um sinal simples em 3,74 ppm (3H) referente aos hidrogênios do grupo metoxila;

- Sinais entre 3,0 e 4,0 ppm sugerem a presença de uma unidade glicosídicas determinada como  $\beta$ -glicose de acordo com o sinal duplo em 4,71 (*d*,  $J= 8,0$  Hz), referente ao hidrogênio anomérico.
- Um conjunto de duplos dubletos em 5,52 ppm (1H,  $J=5,2$  e  $2,4$  Hz) e 6,47 ppm (1H,  $J=5,6$  e  $2,4$  Hz) correspondentes aos hidrogênios H<sub>6</sub> e H<sub>7</sub> do esqueleto iridóide- $\Delta$ <sup>6 82,83,84</sup>.
- Sinal duplo em 7,49 ppm (*sl*, 1H) referente a hidrogênio de carbono metínico (H<sub>10</sub>).
- Um sinal simples (singleto largo) em 7,51 ppm (1H, *d*,  $J=1,2$  Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H<sub>3</sub>).
- Um sinal duplo dubleto em 2,93 ppm (*dd*,  $J= 7,6$  e  $5,2$  Hz) correspondente a junção de anel em C-9.
- Um sinal duplo em 5,27 ppm (*d*,  $J= 5,2$  Hz) referente ao H-1.
- Um quarteto em 5,69 ppm (*qd*,  $J= 7,2$  Hz) referente ao hidrogênio metínico H-13.
- Sinal duplo em 7,41 ppm (*d*,  $J=8,4$  Hz) correspondente ao hidrogênio aromático H-6'.
- Sinal duplo em 7,45 ppm (*s*) correspondente ao hidrogênio aromático H-2''.
- Sinal duplo em 6,81 ppm (*d*,  $J= 8,4$  Hz) correspondente ao hidrogênio aromático H-5'.

- Dois sinais duplos em 6,37 ppm (*d*, J=16 Hz) e 7,65 (*d*, J=16 Hz) correspondentes aos hidrogênios metínicos  $\alpha$  e  $\beta$  - carbonila.

A tabela 18 mostra os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-4 (13-*O* – cafeoilplumierídeo)<sup>82</sup>.

H	$\delta$ (ppm) 13- <i>O</i> -cafeoil plumierídeo(CD <sub>3</sub> OD)	Literatura <sup>82</sup> (em Piridina-d <sub>5</sub> , 400MHz) (ppm)
<b>1</b>	5,27 ( <i>d</i> , J=5Hz)	5,62 ( <i>d</i> , J=5,2 Hz)
<b>3</b>	7,51 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,63 ( <i>d</i> , J=1,0 Hz)
<b>5</b>	3,93 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 2,0)	3,99 ( <i>td</i> , J=7,0 e 2,0)
<b>6</b>	6,47 ( <i>dd</i> , J=5,6 e 2,4 Hz)	6,43 ( <i>dd</i> , J= 5,0 e 2,0 Hz)
<b>7</b>	5,52 ( <i>dd</i> , J=5,6 e 2,4 Hz)	5,38 ( <i>dd</i> , 5,0 e 2,0 Hz)
<b>9</b>	2,93 ( <i>dd</i> , J= 7,6 e 5,2)	3,04 ( <i>dd</i> , J=7,0 e 6,0 Hz)
<b>10</b>	7,49 ( <i>sl</i> )	7,97 ( <i>s</i> )
<b>13</b>	5,69 ( <i>q</i> , J=7,2 Hz)	6,07 ( <i>q</i> , J= 6,0Hz)
<b>14</b>	1,55 ( <i>d</i> , J=6,8)	1,61 ( <i>d</i> , J=6,0 Hz)
<b>COOMe</b>	3,74 ( <i>s</i> )	3,63 ( <i>s</i> )
<b>1'</b>	4,70 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)	5,39 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)
<b><math>\alpha</math></b>	6,37 (J=16Hz)	6,68 ( <i>d</i> , J=16 Hz)
<b><math>\beta</math></b>	7,65 (J=16 Hz)	8,02 ( <i>d</i> , J=16 Hz)
<b>2''</b>	7,45 ( <i>s</i> )	7,61 ( <i>d</i> , J=1,0 Hz)
<b>5''</b>	6,81 ( <i>d</i> , J=8,4 Hz)	7,19 ( <i>d</i> , J=8,0)
<b>6''</b>	7,41 ( <i>d</i> , 8,4 Hz)	7,17( <i>dd</i> J=8,0 e 1,0Hz)

Tab. 18. Comparação entre os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H em CH<sub>3</sub>OD obtidos para HDCA-4 e os encontrados na literatura.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro **54** p. 151) apresentou 30 sinais cujas multiplicidades foram obtidas pela técnica DEPT (espectro **58** p. 155) e estão descritas na tabela 19 abaixo. As correlações observadas para o espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (espectro **62**, p. 159) e HMQC (esp. **65**, p. 162) estão relacionadas nas tabelas 20 e 21, respectivamente.

C	$\delta$ obtido (ppm)	$\delta$ literatura (ppm)	Multiplicidade
1	94,2	93,8	CH
3	152,0	152,1	CH
4	110,9	109,5	C
5	40,8	40,3	CH
6	142,2	141,6	CH
7	129,6	128,6	CH
8	98,2	96,7	C
9	51,0	50,3	CH
10	152,8	150,7	CH
11	134,7	133,9	C
12	168,5	170,2	C
13	66,2	64,9	CH
14	19,7	19,5	CH <sub>3</sub>
15	168,2	166,6	C
16	52,1	51,2	CH <sub>3</sub>
1'	100,0	100,6	CH
2'	74,8	74,8	CH
3'	78,0	78,2	CH
4'	71,8	71,5	CH
5'	78,7	79,0	CH
6'	62,9	62,5	CH <sub>2</sub>
C=O	168,5	166,5	C
$\alpha$	116,0	116,6	CH
$\beta$	147,5	146,7	CH
1''	127,2	126,8	C
2''	133,6	114,4	CH
3''	161,5	150,6	C
4''	147,5	147,6	C
5''	117,0	116,0	CH
6''	131,5	122,2	CH

Tab. 19. Comparação entre os valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>13</sup>C obtidos para HDCA-4 com suas multiplicidades e os encontrados na literatura<sup>82</sup>

- COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (esp. 62, p. 159):

H ( $\delta$ ppm)	H ( $\delta$ ppm)
H- $\alpha$ (6,37)	H- $\beta$ (7,65)
H-5 (3,93)	H-9 (2,93)
H-6 (6,47)	H-7 (5,52)
H-5'' (6,81)	H-6'' (7,41)

Tab. 20 – Correlações encontradas no espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H de HDCA-4.

- HMQC (esp. 65, p. 162):

	H ( $\delta$ ppm)	C ( $\delta$ ppm)
1	5,27	94,2
3	7,51	152,1
5	3,93	40,8
6	6,47	142,2
7	5,52	129,6
9	2,93	51,0
13	5,69	66,2
14	1,55	19,7
16	3,74	52,1
1'	4,70	100,0
$\alpha$	6,37	116,0
$\beta$	7,65	147,5
5''	6,81	116,0
6''	7,41	128,6

Tab. 21 – Correlações encontradas no espectro HMQC de HDCA-4.

Os dados obtidos em comparação com os dados da literatura nos permitem propor para a substância de código HDCA-3 a estrutura do iridóide **13-O cafeoilplumierídeo**, já anteriormente descrito em espécies de *Plumeria acutifolia* (Apocynaceae)<sup>82</sup>.

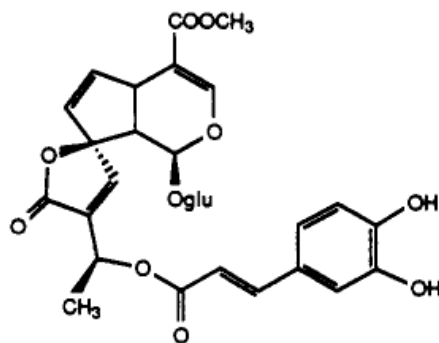


Fig. 9. Estrutura química do iridóide 13-O – cafeoilplumierídeo isolada das cascas de *Himatanthus drasticus*.

### 2.3.2.2.E. Ácido-3-metoxi-3,4- dihidroplumierídeo (HDCA-5)

A substância, codificada como HDCA-5, foi isolada das cascas de *H. drasticus* sob a forma de um sólido branco amorfo que após análise em CCF-Si AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (6,5:1,5:2,0) e CCF-C<sub>18</sub> (MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4)) reveladas com VS e OS apresentou revelação nas cores verde claro e roxa, respectivamente, indicando a presença de um iridóide glicosilado.

Os sinais observados no espectro de RMN<sup>1</sup>H (esp. **68**, p. 165) em CH<sub>3</sub>OD permitiram as seguintes observações:

- Um sinal duplo em 1,40 ppm (3H, J=6,4 Hz) referentes aos hidrogênios do grupo metila na posição 14;
- Um sinal simples em 3,45 ppm referente aos três hidrogênios do grupo metoxila em C-16.
- Um conjunto de sinais entre 3,24 e 3,85 ppm referentes aos hidrogênios de uma unidade glicosídica definida como β-glicose a partir do sinal duplo observado em 4,65 ppm (1H, J=8,0 Hz) atribuído ao hidrogênio anomérico.
- Dois sinais duplos em 5,49 ppm (1H, J=5,5 HZ) e 6,29 ppm (1H, J=2,5 Hz) referentes aos hidrogênios metínicos da dupla ligação entre C-6 e C-7 e característicos do esqueleto iridóide  $\Delta^{6,82,83,84}$ .
- Um sinal simples em 7,33 ppm (1H) referente a hidrogênio metínico (H-10) da dupla ligação entre C-10 e C-11.

Os dados obtidos comparados aos do iridóide plumierídeo, permitiram identificar algumas diferenças estruturais significativas entre ambos:

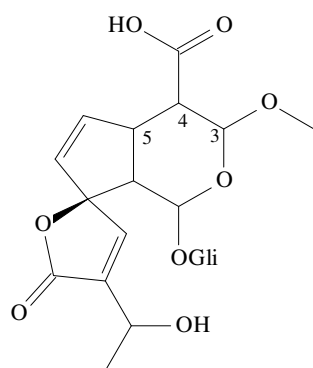
- A presença de apenas um sinal simples na região entre 7,0 e 8,0 ppm indicou a existência de somente um hidrogênio metínico (H-10), enquanto o plumierídeo apresentou dois destes sinais referentes aos hidrogênios H-3 e H-10. Isto nos levou a concluir que não há no HDCA-5, a dupla ligação entre C-3 e C-4, estando C-3 substituído.
- O sinal da metoxila em 3,45 ppm encontra-se deslocado para campo mais alto em comparação ao observado para o plumierídeo (3,75ppm). Este deslocamento pode ser explicado pelo fato desta metoxila não estar localizada em posição  $\alpha$ -carbonila como no plumierídeo.

A tabela abaixo compara os valores de deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-5 com os do plumierídeo.

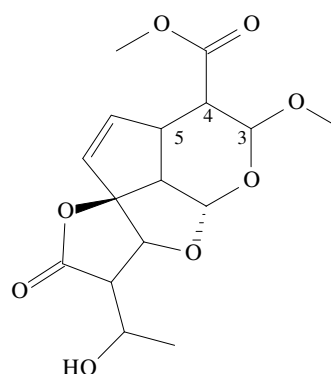
H	$\delta$ (ppm) Plumierídeo (HDCA-1)	$\delta$ (ppm) HDCA-5
1	5,25 ( <i>d</i> , J=4,8 Hz)	5,17 ( <i>sl</i> )
3	7,49 ( <i>d</i> , J=1,2 Hz)	5,11 ( <i>d</i> , J=9,0 Hz)
4	-	2,76 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 3,0 Hz)
5	3,92 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 1,6 Hz)	3,35 ( <i>m</i> )
6	6,45 ( <i>dd</i> , J= 5,6 e 2,4 Hz)	6,29 ( <i>d</i> , J=2,5 Hz)
7	5,51 ( <i>dd</i> , 5,6 e 2,0 Hz)	5,49 ( <i>d</i> , J= 5,5 Hz)
9	2,94 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 4,4 Hz)	2,14 ( <i>t</i> , J=11,5 Hz)
10	7,35 ( <i>d</i> , J= 1,2 Hz)	7,33 ( <i>s</i> )
13	4,55 ( <i>q</i> , J= 6,4Hz)	4,52 ( <i>d</i> , J=6,5 Hz)
14	1,40 ( <i>d</i> , J=6,4 Hz)	1,40 ( <i>d</i> , J=6,0 Hz)
COOMe	3,74 ( <i>s</i> )	-
OMe	-	3,45 ( <i>s</i> )
I'	4,68 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)	4,65 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)

Tab. 22. Comparação entre os valores de deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-5 com os do plumierídeo.

Os valores descritos acima para H-3, H-4, H-5 e OMe foram comparados aos de substâncias semelhantes já descritas na literatura, tais como a 3-O-metil-alamancina isolada de *Allamanda neriifolia*<sup>83</sup>.



HDCA-5



3-O-metil-alamancina

H	HDCA-5	3-O-metil-alamancina
3	5,11 ( <i>d</i> , J=9,0 Hz)	4,99 ( <i>d</i> , J=8,0 Hz)
4	2,76 ( <i>dd</i> , J=8,0 e 3,0 Hz)	2,74 ( <i>dd</i> , J= 8,0 e 4,0 Hz)
5	3,35 ( <i>m</i> )	3,52 ( <i>m</i> )
OMe	3,45 ( <i>s</i> )	3,43 ( <i>s</i> )

Tab. 23. Comparação entre alguns valores de deslocamentos químicos de RMN<sup>1</sup>H de HDCA-5 com os da 3-O-metil-alamancina.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (esp. 71, p. 168) apresentou 21 sinais os quais tiveram suas multiplicidades determinadas pela técnica DEPT (esp. 72, p. 169) e estão descritos na tabela a seguir.



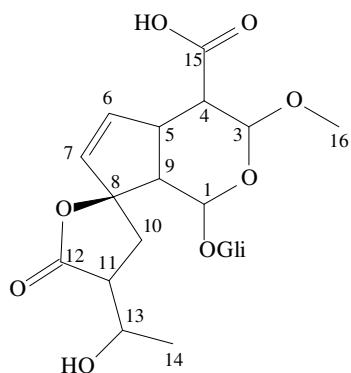
C	$\delta$ obtido (ppm)	Multiplicidade
1	93,6	CH
3	99,3	CH
4	50,0	CH
5	45,6	CH
6	141,4	CH
7	130,9	CH
8	100,3	C
9	56,3	CH
10	149,6	CH
11	139,2	C
12	173,0	C
13	63,9	CH
14	22,1	CH <sub>3</sub>
15	179,2	C
OMe	56,9	CH <sub>3</sub>
1'	98,2	CH
2'	74,8	CH
3'	71,3	CH
4'	77,9	CH
5'	78,2	CH
6'	62,3	CH <sub>2</sub>

Tab. 24. Valores dos deslocamentos químicos de RMN<sup>13</sup>C obtidos para HDCA-5 e suas multiplicidades.

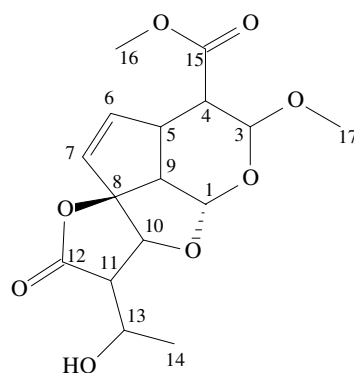
Os valores encontrados para os carbonos C-3, C-4, C-5 e MeO também foram comparados aos encontrados na literatura para a 3-O-metil-alamancina, como observamos na tabela abaixo:

C	HDCA-5	3-O-metil-alamancina
<b>3</b>	99,3	99,1
<b>4</b>	50,0	45,2
<b>5</b>	45,6	42,6
<b>OMe</b>	56,9	55,5

Tab. 25. Valores de alguns deslocamentos químicos de RMN<sup>13</sup>C obtidos para HDCA-5 em comparação aos encontrados na literatura para a 3-O-metil-alamancina.



HDCA-5



3-O-metil-alamancina

Os dados obtidos no espectro bidimensional de HMQC (esp. 75, p. 172) confirmaram as assinalações feitas nos espectros de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C a partir das seguintes correlações descritas na tabela abaixo:

	H (δ ppm)	C (δ ppm)
1	5,17	93,6
3	5,11	99,3
4	2,76	50,0
5	3,35	45,6
6	6,29	141,4
7	5,49	130,9
9	2,14	56,3
10	7,33	149,6
13	4,52	63,9
14	1,40	22,1
16	3,45	56,9
1'	4,65	98,2
2'	3,24	74,8
3'	3,30	71,3
4'	3,36	77,9
5'	3,25	78,2
6'	3,71 e 3,85	62,3

Tab. 26. Correlações encontradas no espectro HMQC para HDCA-5

O espectro de HMBC (esp. 79, p. 176) apresentou correlações importantes para a confirmação da presença do grupo metoxila em C-3, como vemos na tabela abaixo:

H	Correlação com C
H-3 (5,11 ppm)	MeO (56,9 ppm) e (C-1)93,6 ppm
MeO (3,45 ppm)	C-3 (99,3 ppm)

Tab. 27. Correlações encontradas no espectro HMBC para HDCA-5

As correlações observadas nos espectro COSY <sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H (esp. 83, p. 180) auxiliaram na confirmação da estrutura:

H	H
H-3 (5,11 ppm)	H-4 (2,76 ppm)
H-4 (2,76 ppm)	H-5 (3,35 ppm)
H-6 (6,29 ppm)	H-7 (5,49 ppm)
H-13 (4,52 ppm)	H-14 (1,40 ppm)

Tab. 28. Correlações encontradas no espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H para HDCA-5

Os dados obtidos com as diferentes técnicas de RMN em comparação com os dados descritos na literatura para substâncias estruturalmente semelhantes, tais como o plumierídeo e a 3-O-metil-alamancina nos permitem propor a estrutura abaixo para a substância isolada sob código HDCA-5. Esta substância, um iridóide ácido, não foi encontrado na literatura, sendo uma substância inédita.

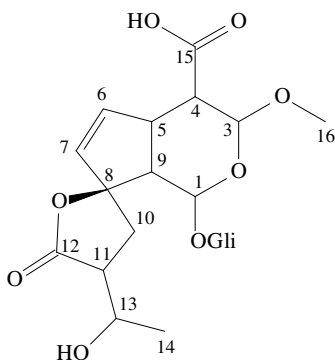


Fig. 10. Estrutura proposta para a substância HDCA-5 isolada das cascas de *Himatanthus drasticus*.

### 2.3.2.3. Flavonóides

#### 2.3.2.3.A. Rutina (HDFD-33)

A substância codificada como HDFD-33 foi isolada sob a forma de um óleo amarelo intenso a partir da fração 33 resultante da cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 do extrato em diclorometano das folhas de *H. drasticus*, utilizando-se MeOH como eluente. A análise por CCF-Si e CCF-RP18 (AcoEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH: H<sub>2</sub>O (1:1), respectivamente) de HDFD-33 apresentou, após a utilização do reagente NP/PEG, uma coloração laranja fluorescente no comprimento de onda 365 nm na região do UV. Esta revelação é característica de flavonóides com esqueleto semelhante ao flavonol quercetina<sup>90</sup>.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (esp. 86, p. 183) em CH<sub>3</sub>OD, 500 MHz apresentou os seguintes sinais com os deslocamentos químicos:

- Um sinal simples em 7,66 ppm (1H) correspondente ao hidrogênio aromático do carbono C2'.
- Um sinal duplo em 6,87 ppm (1H, J=8,5 Hz) correspondente ao hidrogênio aromático do carbono C5', com constante de acoplamento característica de hidrogênios em relação *orto*.
- Um sinal duplo dubleto em 7,62 ppm (1H, J= 8,5 e 2,0 Hz) correspondente ao hidrogênio aromático C6', com constantes de acoplamento característicos de hidrogênio aromático interagindo com hidrogênios em posição *orto* e *meta*.

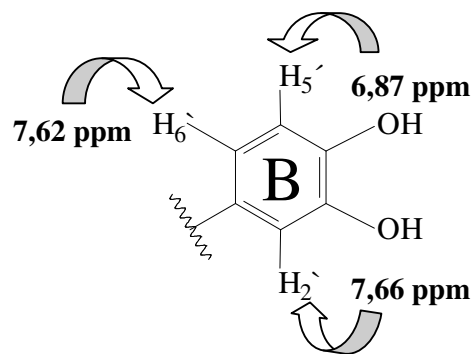


Fig. 11 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel B.

- O sinal simples observado em 6,20 ppm (1H) e o sinal simples observado em 6,39 ppm (1H) correspondem aos hidrogênios ligados aos carbonos C6 e C8 do anel A, respectivamente.

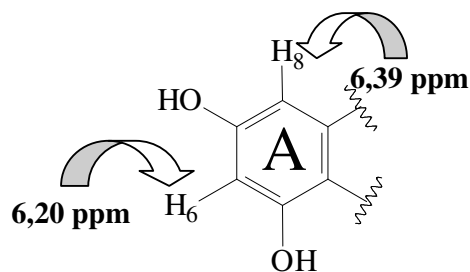


Fig. 12 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel A.

- Observou-se o sinal duplo em 5,11 ppm (1H,  $J=7,5$  Hz) correspondente ao hidrogênio anomérico da glicose ( $H1''$ ).
- Observou-se um sinal simples em 4,51 ppm (1H) correspondente ao hidrogênio anomérico da rhamnose. A presença deste carboidrato foi

confirmada pelo sinal duplo (*d*,  $J=5$  Hz) presente em 1,15 ppm referente ao grupo metila da rhamnose.

A análise dos espectros de RMN<sup>13</sup>C (espectro 89, p. 186) e DEPT (espectro 93, p. 190) permitiu identificar após comparação com os dados da literatura<sup>91</sup> a presença dos sinais cujos deslocamentos químicos e multiplicidades estão descritos na tabela 29.

C	Obtido (ppm)	Literatura <sup>91</sup> (ppm)	multiplicidade
2	158,57	156,4	C
3	135,64	133,6	C
4	n.o.	177,4	C
5	149,87	156,6	C
6	100,03	98,8	CH
7	163,05	164,0	C
8	94,92	93,6	CH
9	159,36	161,2	C
10	105,60	105,2	C
1'	123,12	121,6	CH
2'	116,07	115,3	CH
3'	145,89	144,6	CH
4'	n.o.	148,3	CH
5'	117,68	116,5	CH
6'	123,56	121,6	CH
1''	104,76	101,5	CH
2''	75,75	74,2	CH
3''	78,20	76,8	CH
4''	71,41	70,4	CH
5''	77,24	76,1	CH
6''	68,56	67,1	CH <sub>2</sub>
1'''	102,46	100,7	CH
2'''	69,75	70,4	CH
3'''	72,14	70,8	CH
4'''	72,23	72,2	CH
5'''	73,95	68,2	CH
6'''	17,93	17,5	CH <sub>3</sub>

n.o. – não observado

Tab. 29. Comparação entre os valores de deslocamentos químicos de RMN<sup>13</sup>C obtidos e os relatados na literatura.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono treze é muito útil na determinação das ligações interglicosídicas em diglicosídeos<sup>91</sup>.

Quando o espectro da rutina é comparado com o de flavonóides com açúcar livre, como a isoquercitrina, próximo flavonóide a ser descrito neste trabalho, fica evidente a principal diferença entre ambos, um deslocamento do sinal do carbono 6 para campo magnético mais baixo (cerca de 4,8 ppm).

	<b>Rutina</b> (diglicosídeo)	<b>Isoquercitrina</b> (monoglicosídeo)
<b>C-6</b>	68,56 ppm	62,60 ppm

O espectro ultravioleta (esp. **96**, p. 193) da substância HDFD-33 apresentou absorções em 362 nm, correspondente à metade cinamoíla da molécula (banda I) e 259 nm, correspondente ao sistema benzoíla (banda II), característica de flavonóides<sup>91</sup>.

A adição de acetato de sódio (AcONa) à solução contendo a substância HDFD-33 provocou um deslocamento batocrômico da banda II na ordem de 9 nm, o que comprovou a presença de um grupo hidroxila ligado a C-7, descartando a possibilidade de um 7-O-glicosídeo.

A adição de AlCl<sub>3</sub> promoveu um deslocamento batocrômico da banda I para 435 nm (+73 nm) resultante da formação de complexos quelantes do AlCl<sub>3</sub> com os grupos diidroxilas em questão. A adição de HCl

promoveu um deslocamento hipsocrômico para 401 nm (-34 nm), isto se explica pela decomposição, na presença do ácido, dos complexos quelantes formados (fig. 13).

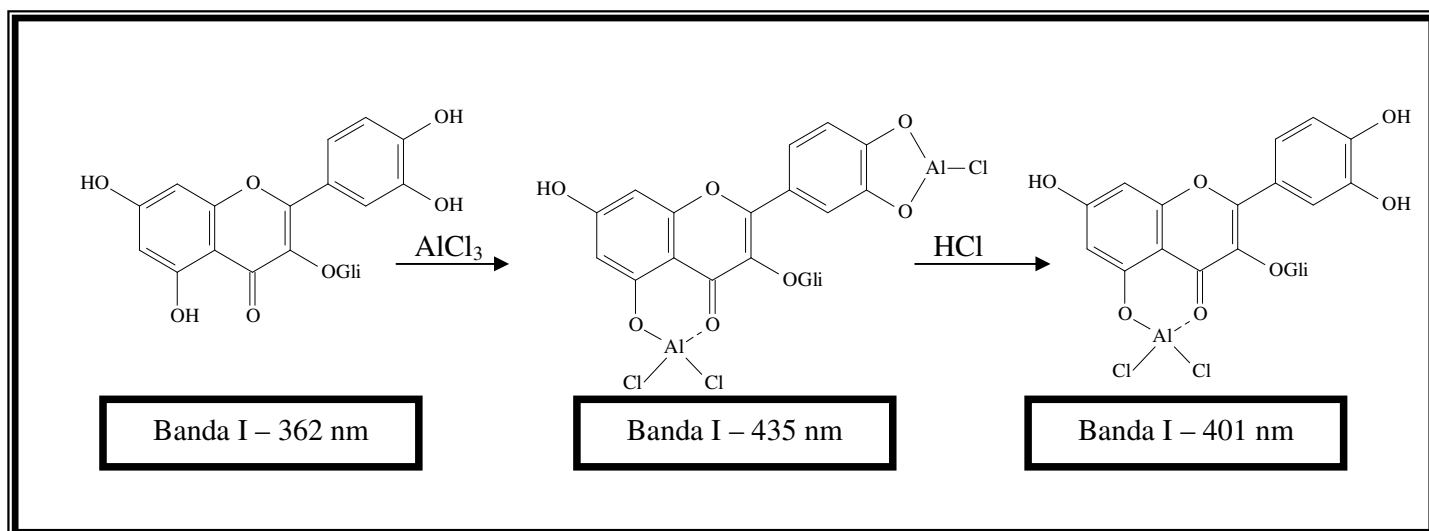


Fig. 13. Esquema ilustrativo dos tipos de complexos formados pelo AlCl<sub>3</sub> com a substância HDFD-33 na presença e na ausência de ácido e os deslocamentos decorrentes.

Os deslocamentos observados acima com adição de AlCl<sub>3</sub> e HCl confirmaram a presença de um grupo hidroxila em C-5 e corroboraram para a proposta do 3-O- glicosídeo.

- ❖ O espectro de massas (esp. **97**, p. 194) apresentou o pico íon molecular [M-1] em 609 Daltons (Da) compatível com a fórmula molecular da rutina de C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>O<sub>7</sub> (aglicona) + C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> (glicose) + C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> (rhamnose).



Os resultados obtidos em comparação com os descritos na literatura permitiram identificar a substância codificada por HDFD-33 como o flavonol rutina (Fig. 14).

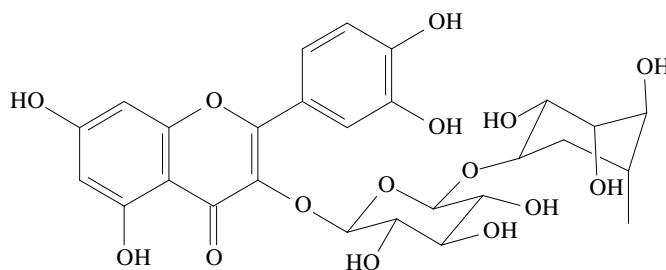


Fig. 14 - Estrutura da Rutina (HDFD-33) isolada das folhas de *H. drasticus*.

#### 2.3.2.3.B. Isoquercitrina (HOFA-1).

A substância codificada como HOFA-1 foi isolada sob a forma de um óleo amarelo intenso a partir da cromatografia em coluna de sephadex LH-20 da fração acetato de etila das folhas de *H. obovatus*, utilizando-se MeOH como eluente. A análise por CCF-Si e CCF-RP18 (AcoEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH: H<sub>2</sub>O (1:1), respectivamente) de HOFA-1 apresentou, após a utilização do reagente NP/PEG, uma coloração laranja fluorescente no comprimento de onda 365 nm na região do UV.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (esp. **98**, p. 195) apresentou os seguintes sinais com os deslocamentos químicos:

- Um sinal duplo em 7,70 ppm (1H, J= 2,0 Hz) correspondente ao hidrogênio aromático do carbono C2', com constante de acoplamento característica de hidrogênios em relação *meta*.

- Um sinal duplo em 6,86 ppm (1H,  $J=8,5$  Hz) correspondente ao hidrogênio aromático do carbono C5', com constante de acoplamento característica de hidrogênios em relação *orto*.
- Um sinal duplo dubleto em 7,56 ppm (1H,  $J= 8,5$  e  $2,0$  Hz) correspondente ao hidrogênio aromático C6', com constantes de acoplamento característicos de hidrogênio aromático interagindo com hidrogênios em posição *orto* e *meta*.

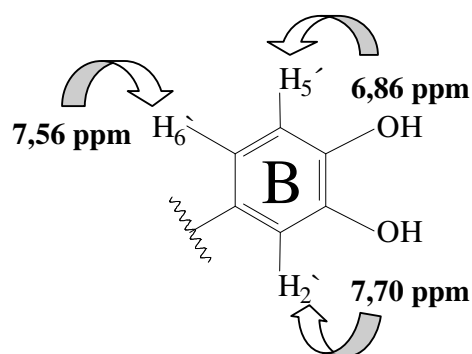


Fig. 15 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel B.

- O sinal duplo observado em 6,18 ppm (1H,  $J= 2$ Hz) e o sinal simples observado em 6,36 ppm (1H) correspondem aos hidrogênios ligados aos carbonos C6 e C8 do anel A.

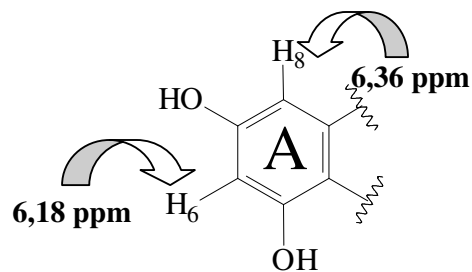


Fig. 16 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel A.

- Observou-se o sinal duplo em 5,24 ppm (1H, J=7,5 Hz) correspondente ao hidrogênio anomérico da glicose (H1'').

A análise dos espectros de RMN<sup>13</sup>C (espectro 101, p. 198) e DEPT (espectro 104, p. 201) permitiu identificar a presença de 21 sinais cujos deslocamentos químicos e multiplicidades estão descritos na tabela 30.

Estes dados nos conduzem à fórmula parcial C<sub>21</sub>H<sub>15</sub> (267 Da).

C	Obtido (ppm)	Literatura (ppm)	multiplicidade
2	158,60	156,5	C
3	135,64	133,7	C
4	179,42	177,6	C
5	149,94	161,3	C
6	100,28	98,8	CH
7	163,05	164,2	C
8	94,99	93,6	CH
9	158,93	156,5	C
10	105,43	104,2	C
1'	123,22	121,4	CH
2'	116,05	115,3	CH
3'	145,98	144,8	CH
4'	167,14	148,5	CH
5'	117,56	116,5	CH
6'	123,11	121,6	CH
1''	104,47	101,4	CH
2''	75,77	74,3	CH
3''	78,17	76,8	CH
4''	71,25	70,3	CH
5''	78,43	77,5	CH
6''	62,60	61,3	CH <sub>2</sub>

Tab. 30 - Valores dos deslocamentos químicos obtidos no espectro de RMN<sup>13</sup>C e suas multiplicidades obtidas pela técnica DEPT.

O espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (esp. **105**, p. 202) apresentou as seguintes correlações:

H (δ ppm)	H (δ ppm)
H-8 (6,36)	H-6 (6,18)
H-5' (6,86)	H-6' (7,56)
H-6' (7,56)	H-2' (7,70)

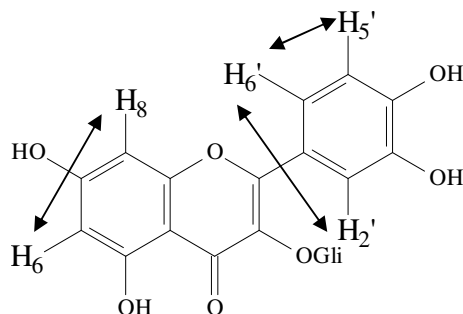


Fig. 17 - Correlações observadas no espectro COSY H<sup>1</sup>x<sup>1</sup>H de HDFD-33.

O espectro ultravioleta (esp. 108 p. 205) da substância HOFA-1 apresentou absorções em 355 nm (relativa à metade cinamófla da molécula – banda I) e 257 nm (referente ao sistema benzoíla – banda II), característica de flavonóides<sup>91</sup>.

A adição de acetato de sódio (AcONa) à substância HOFA-1 provocou um deslocamento batocrômico da banda II na ordem de 15 nm, que assim como o que ocorreu com a rutina, descrita anteriormente, comprovou a presença de um grupo hidroxila ligado a C-7, descartando a possibilidade de um 7-O-glicosídeo.

A adição de AlCl<sub>3</sub>, utilizada para detectar grupos *orto* diidroxilados, promoveu um deslocamento batocrômico da banda I para 405 nm (+51 nm) característico da formação de complexos quelantes do AlCl<sub>3</sub> com os grupos diidroxilas em questão. A adição de HCl promoveu a decomposição dos complexos quelantes formados, o que resultou em um deslocamento hipsocrômico para 354 nm (-51 nm)(fig. 18).

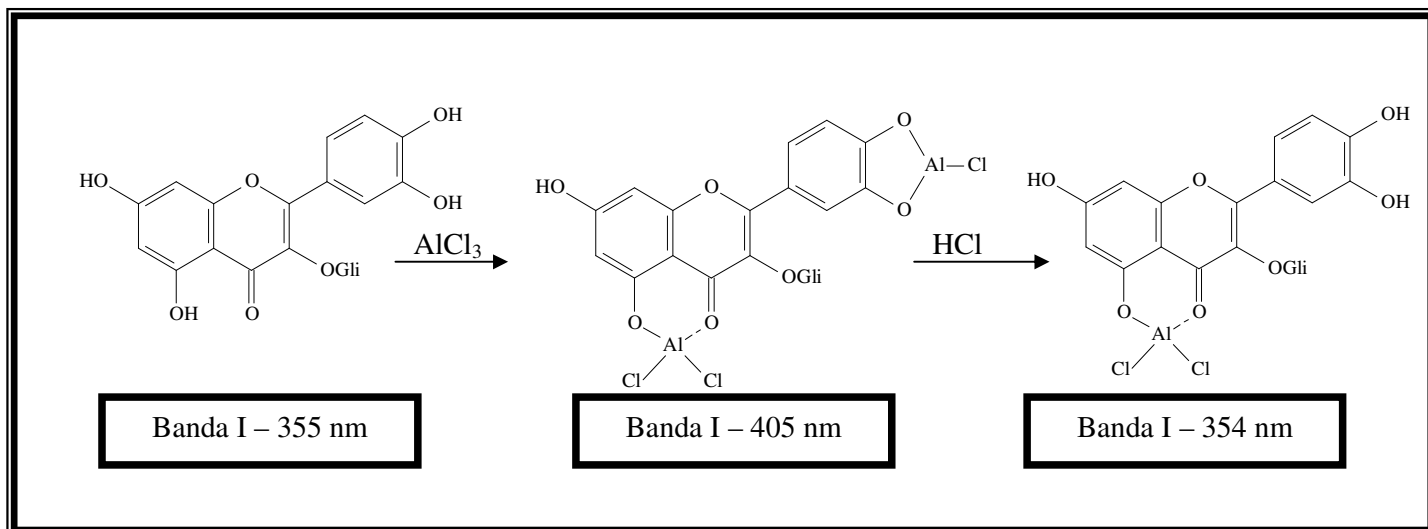


Fig. 18. Esquema ilustrativo dos tipos de complexos formados pelo  $\text{AlCl}_3$  com a substância HDFD-33 na presença e na ausência de ácido e dos deslocamentos decorrentes.

Os dados obtidos com os deslocamentos do espectro de UV após adição de  $\text{AlCl}_3$  e  $\text{HCl}$  confirmaram a presença do grupo hidroxila em C-5 e corroboraram para a proposta de um 3-O- glicosídeo.

O espectro de massas (esp. **108**, p. 206), apresentou o pico íon molecular em 464 Daltons (Da) compatível com a fórmula molecular da isoquercitrina de  $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_7$  (aglicona) +  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5$  (glicose). Outros picos importantes são relacionados abaixo:

- ❖  $m/z$  (463) =  $[\text{M}-1]$  – perda de hidrogênio
- ❖  $m/z$  (465) =  $[\text{M}+1]$  – adição de hidrogênio
- ❖  $m/z$  (301) =  $[\text{M} (464) - \text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5 (163)]$  = aglicona

Os resultados obtidos em comparação com os descritos na literatura permitiram identificar a substância codificada por HOFA-1 como o flavonol isoquercitrina<sup>91</sup> (Fig. 19).

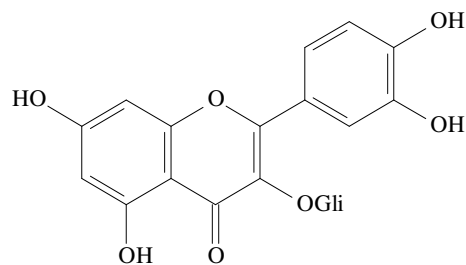
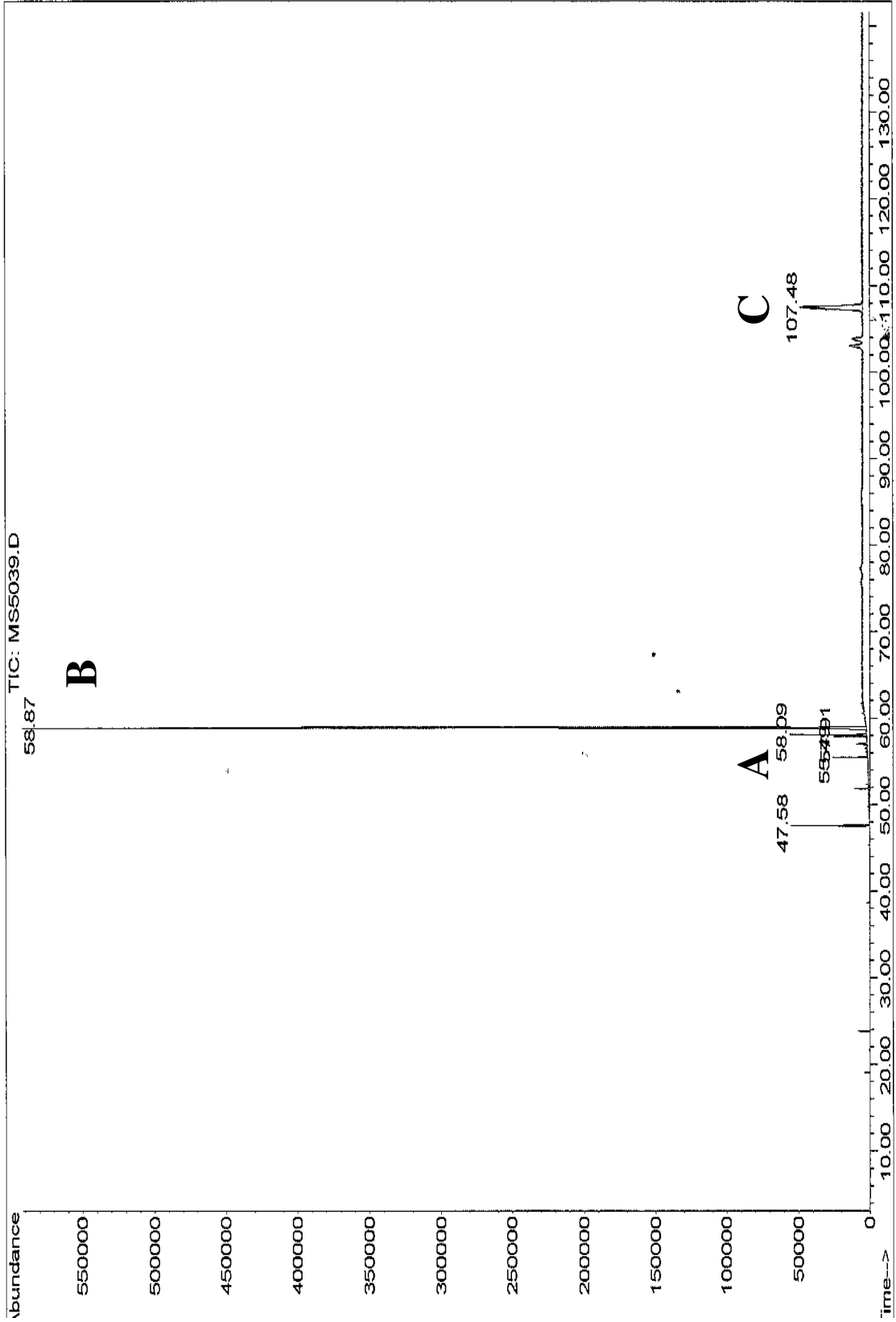
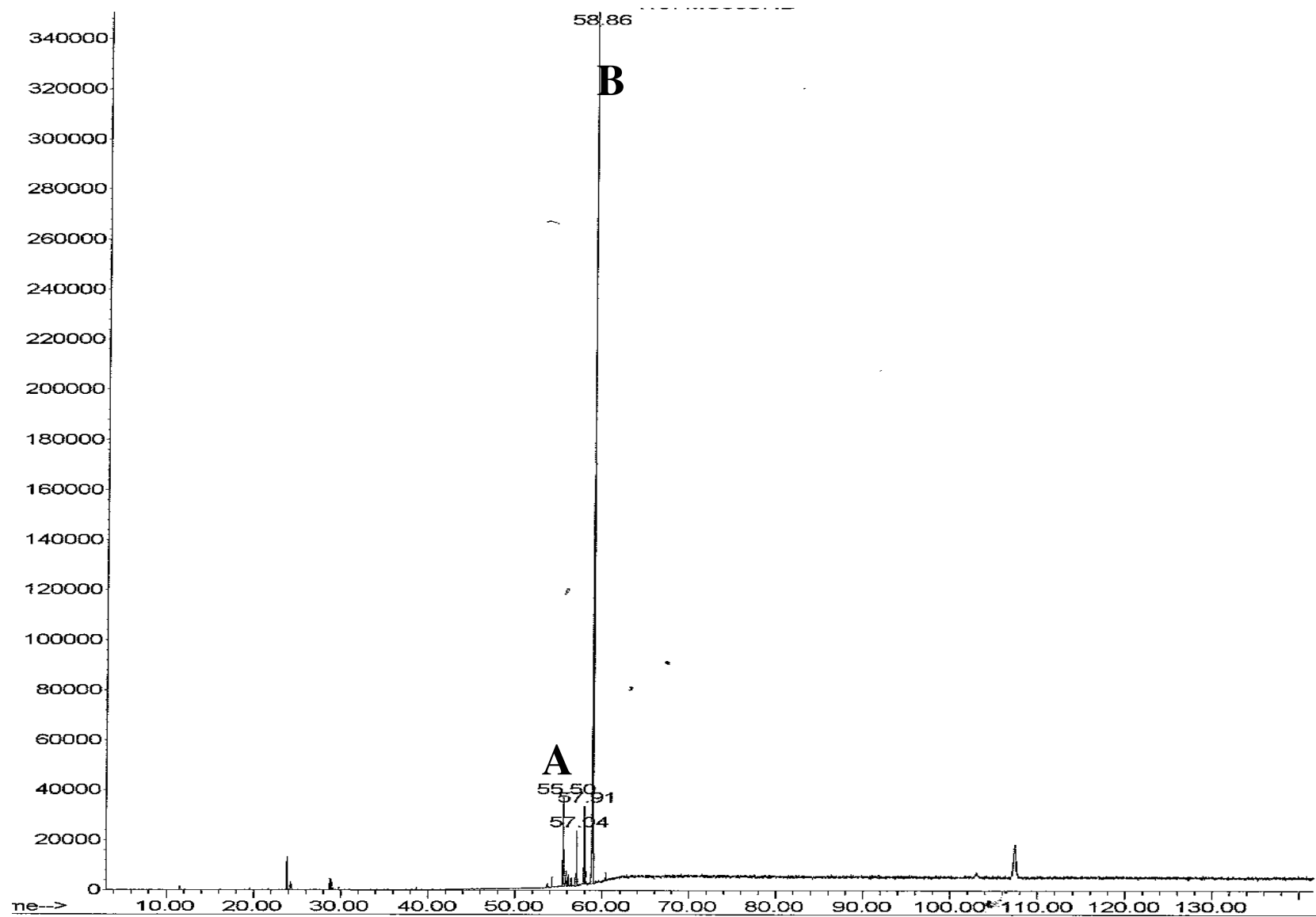


Fig. 19. Estrutura química da isoquercitrina (HOFA-1)

### 3. Setor de espectros e cromatogramas

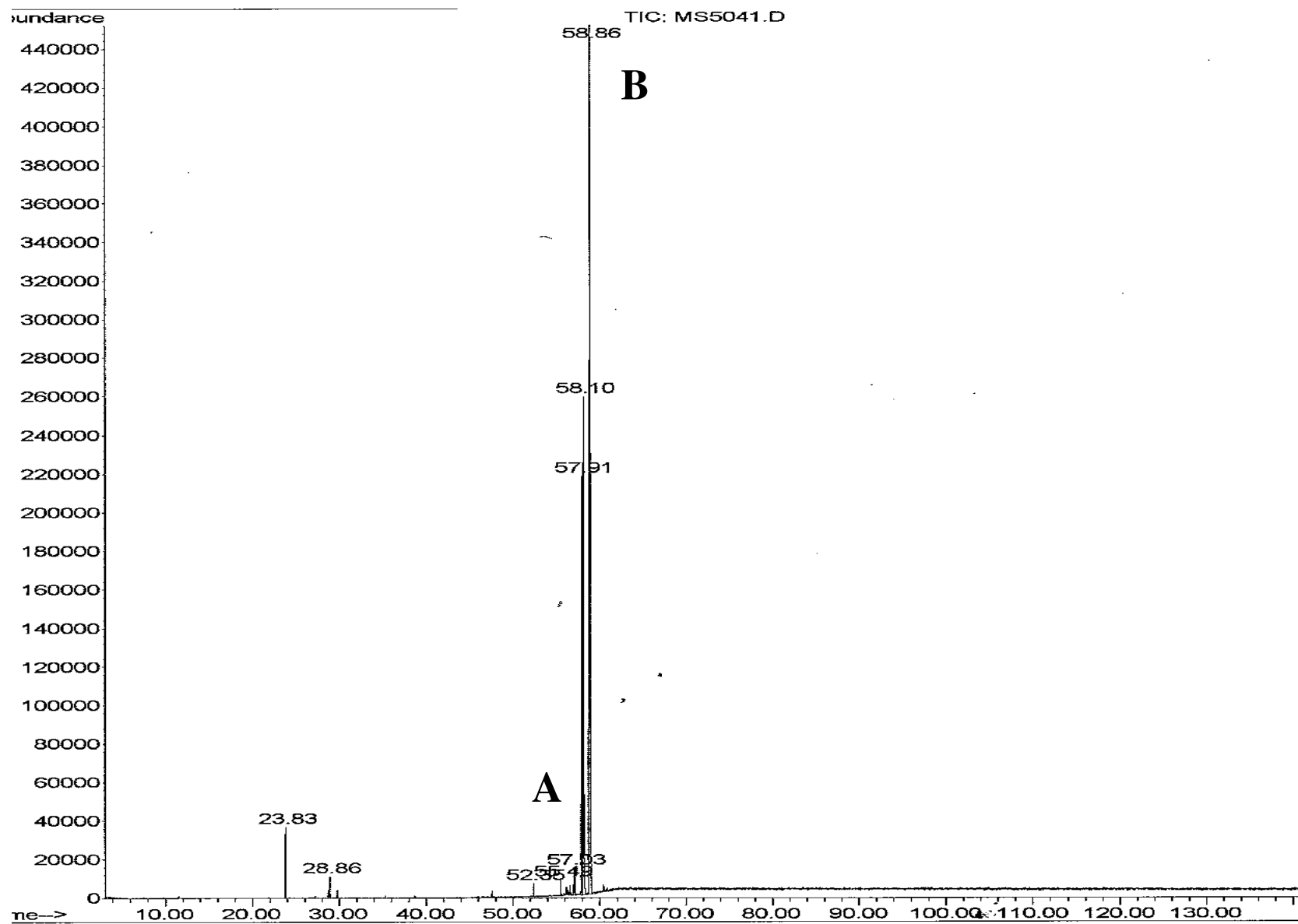


Cromatograma 1 – Cromatograma da fração em hexano das folhas de *H. drasticus*

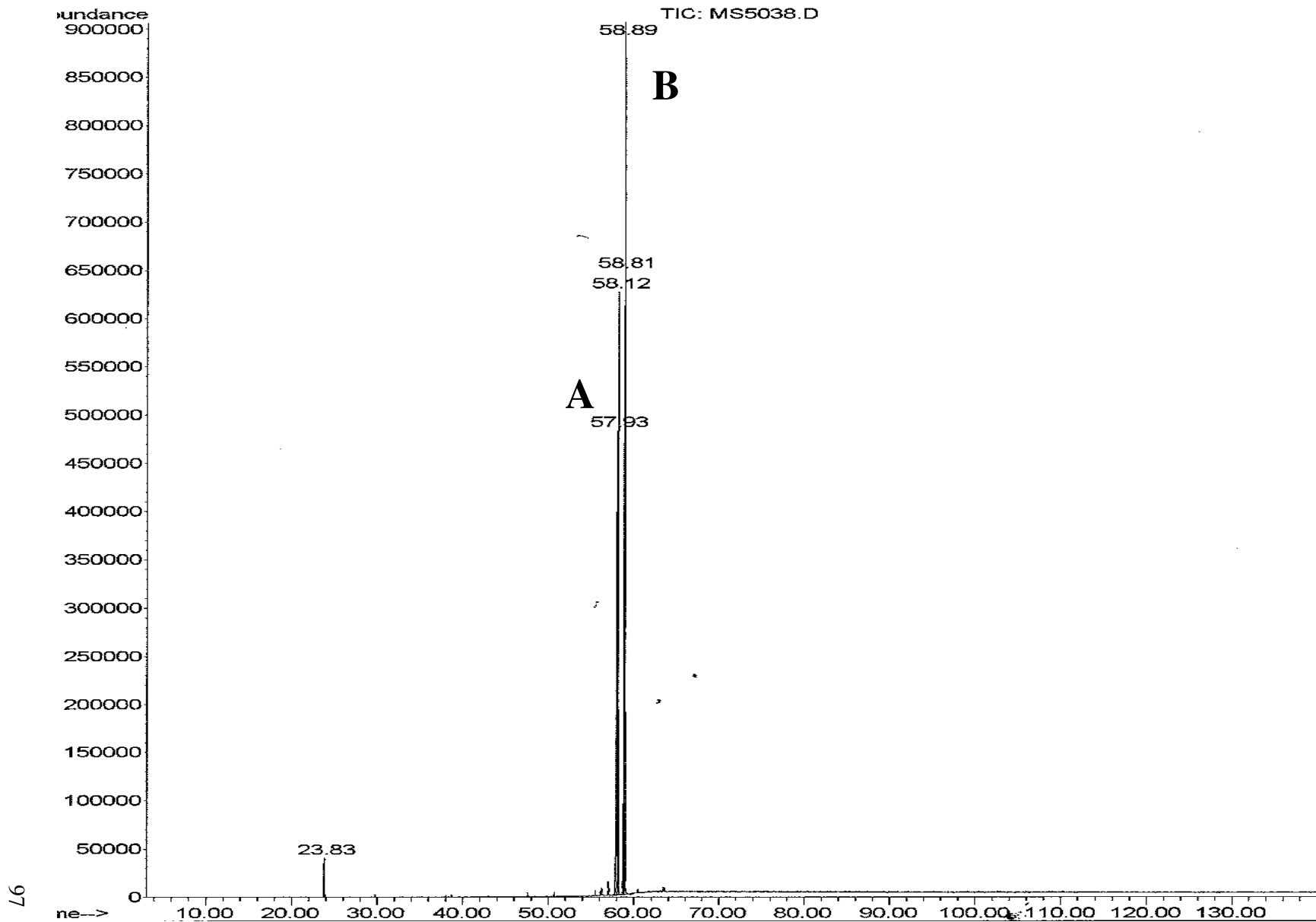


Cromatograma 2 – Cromatograma da fração em hexano das cascas de *H. drasticus*

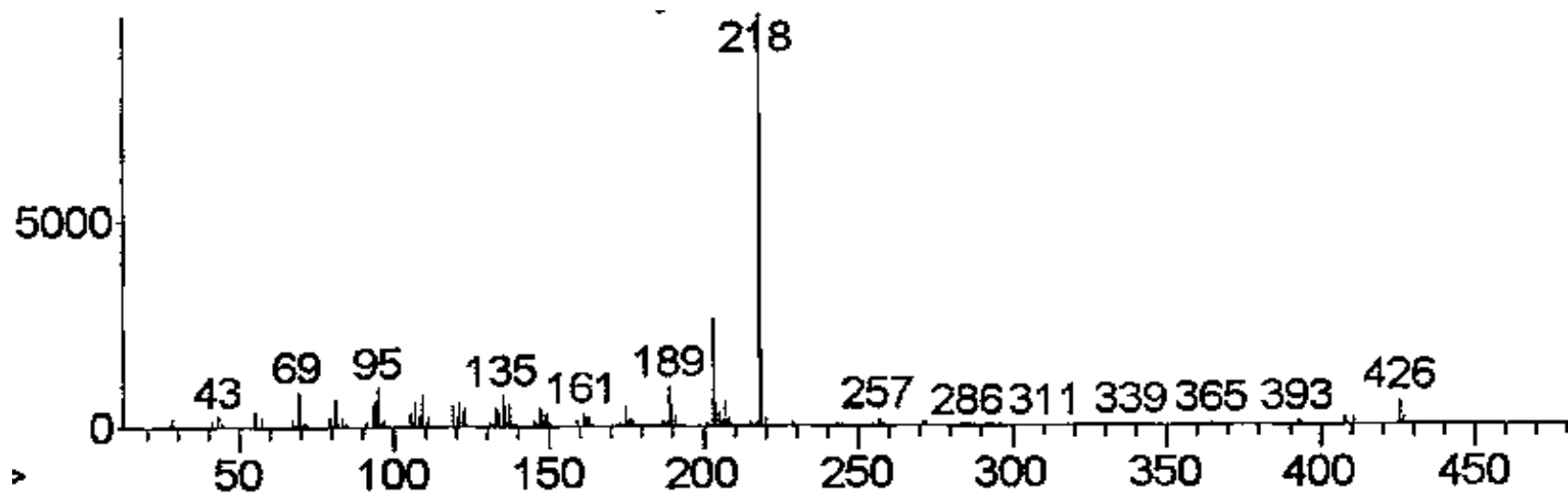




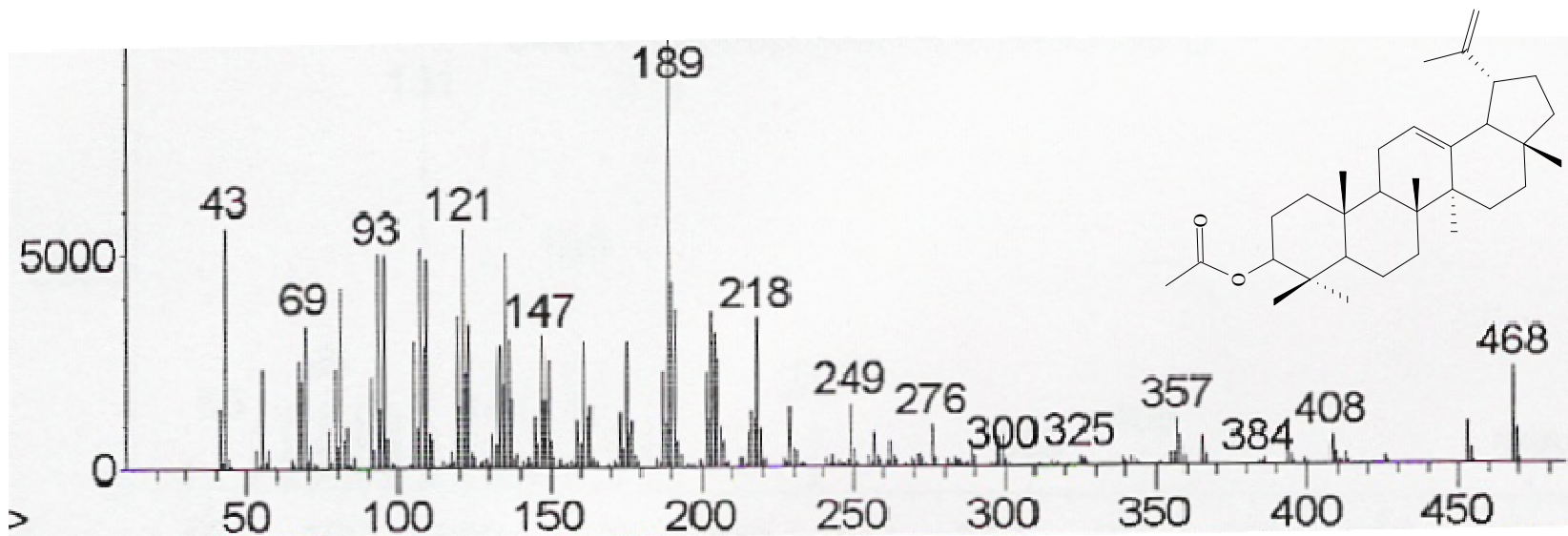
Cromatograma 3 – Cromatograma da fração em hexano das folhas de *H. obovatus*



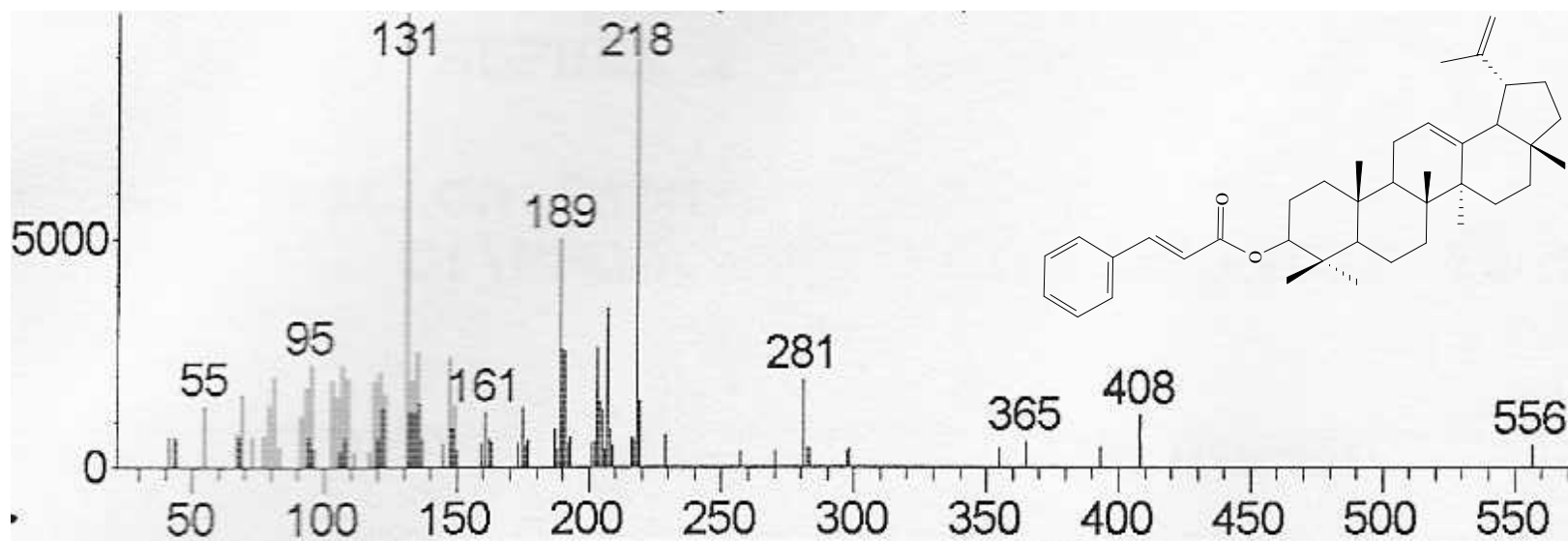
Cromatograma 4 – Cromatograma da fração em hexano das cascas de *H. obovatus*



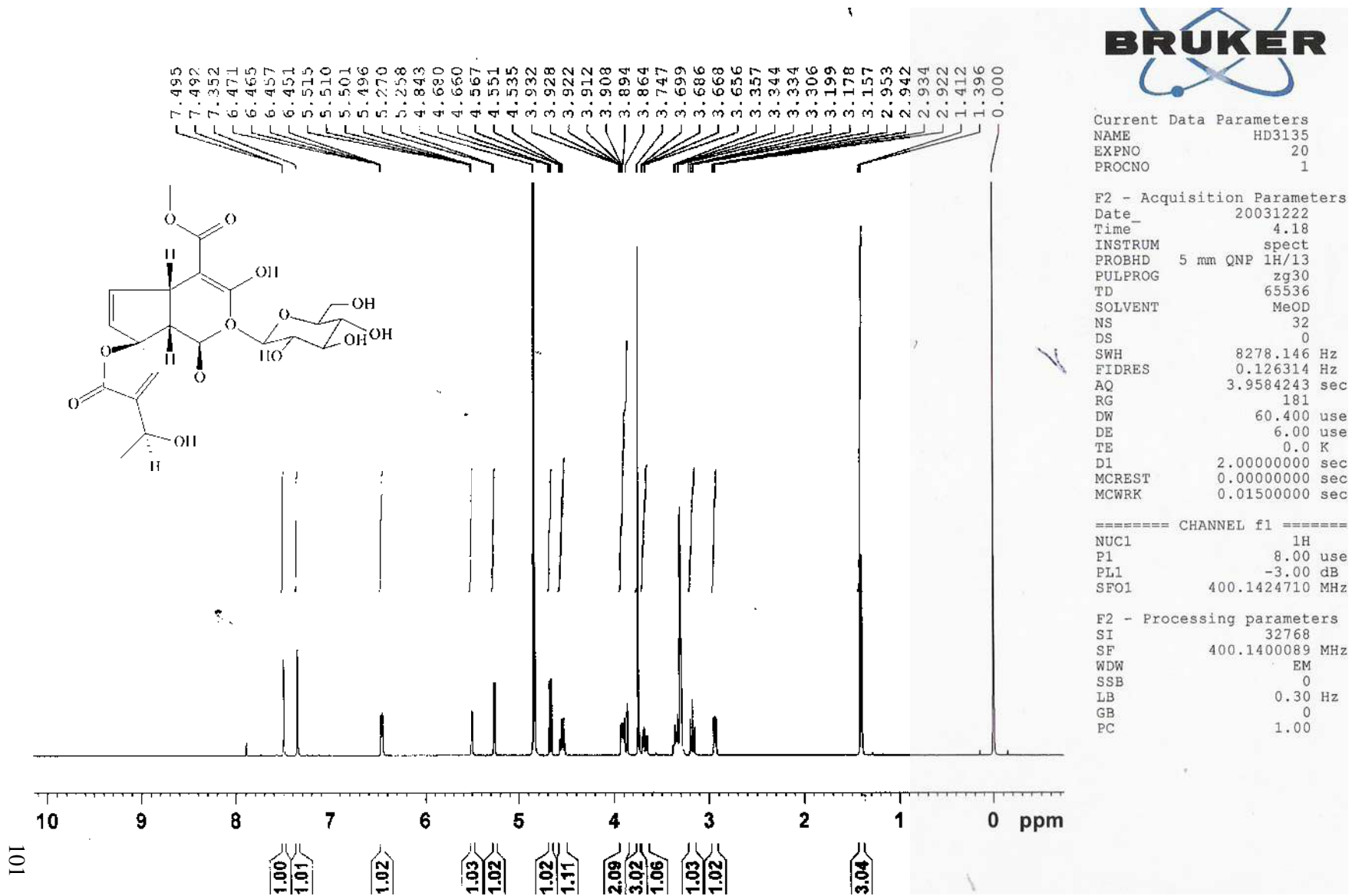
Espectro 1 – Espectro de massas (impacto de elétrons) da  $\beta$ -amirina



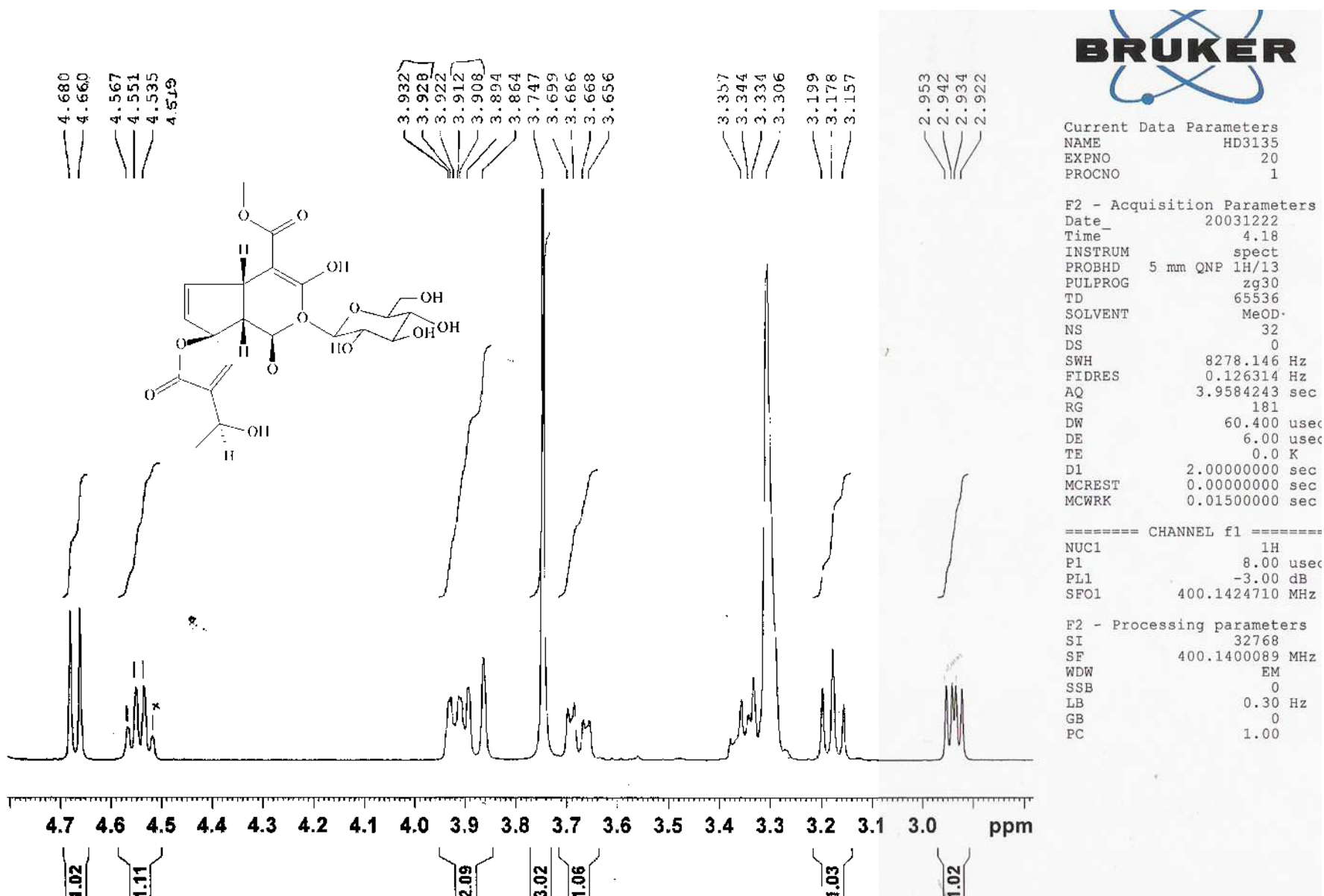
Espectro 2 – Espectro de massas (impacto de elétrons) do acetato de lupeol



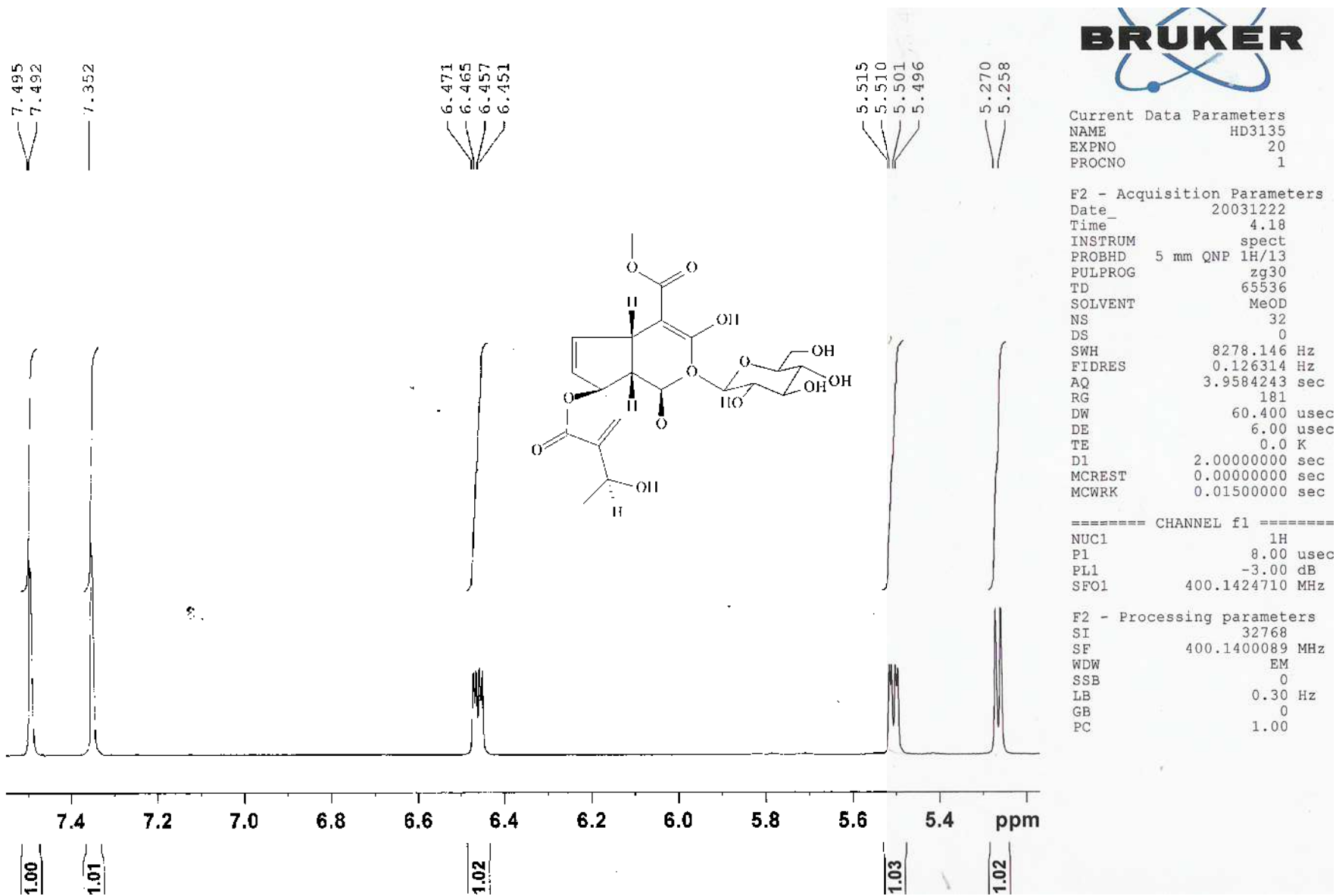
Espectro 3 – Espectro de massas (impacto de elétrons) do cinamato de lupeol



Espectro 4 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz)<sup>1</sup>H do plumierídeo (HDCA-1)

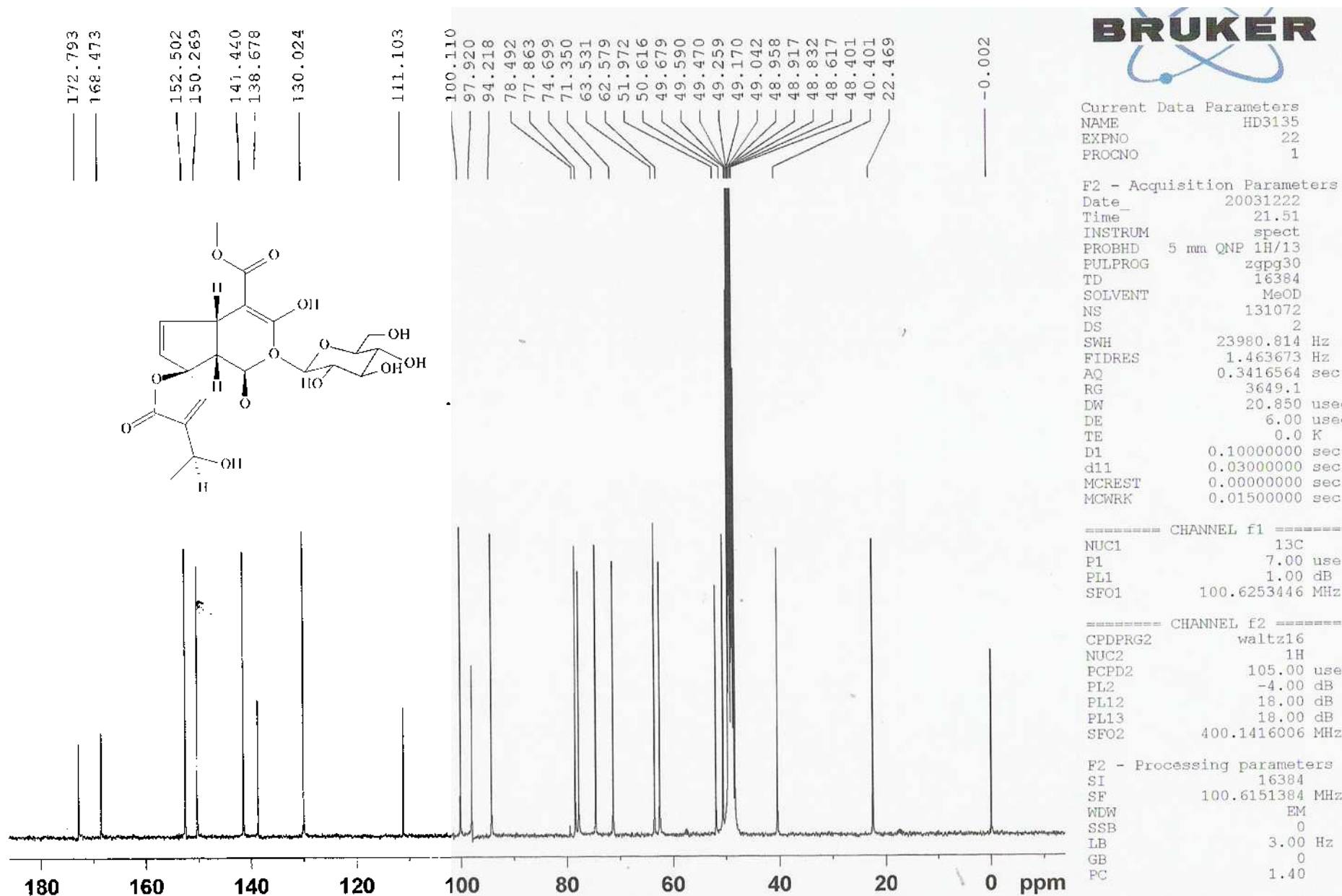


Espectro 5 – 1ª expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)

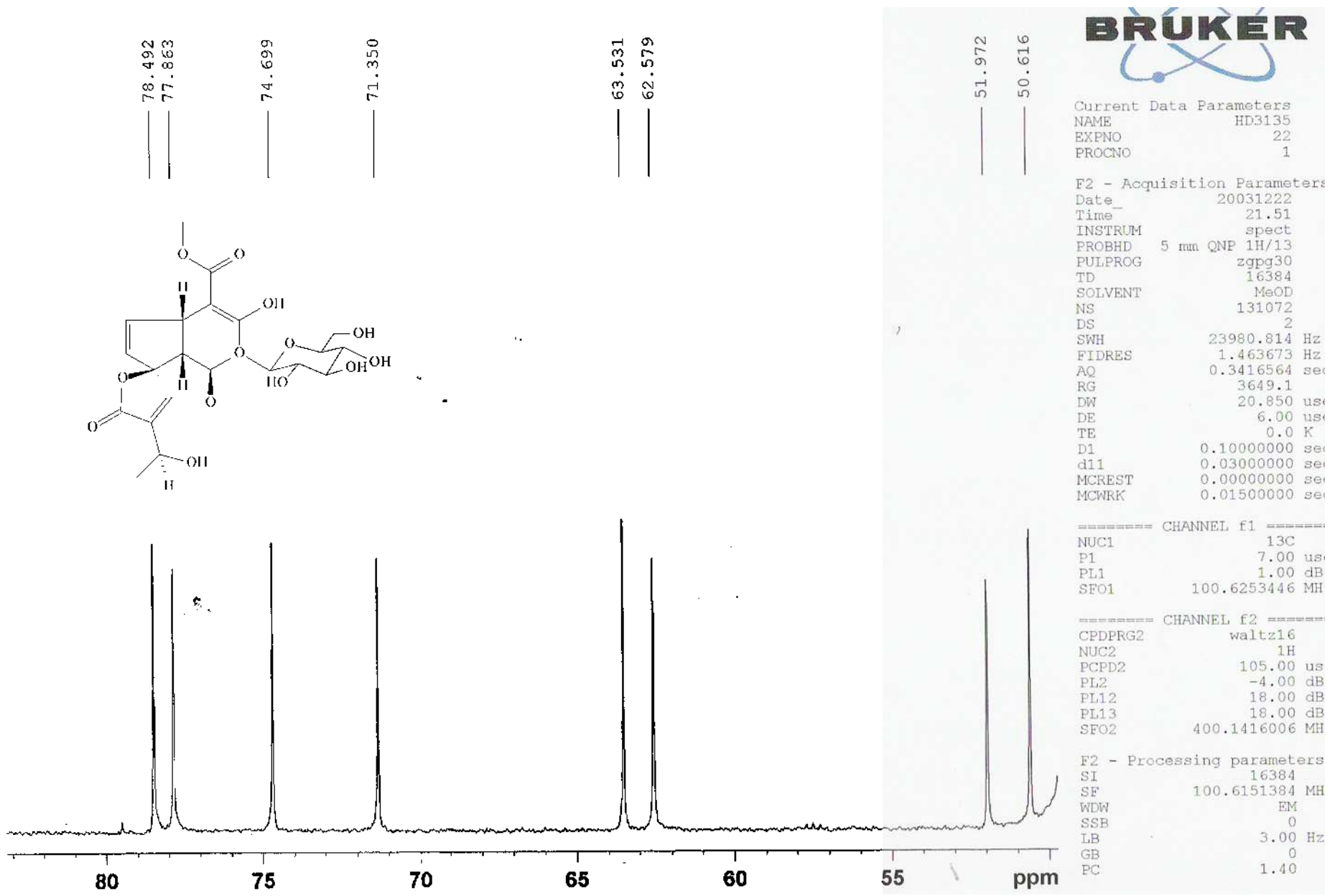


Espectro 6 – 2ª expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H(MeOD, 400MHz) do plumierídeo(HDCA-1)

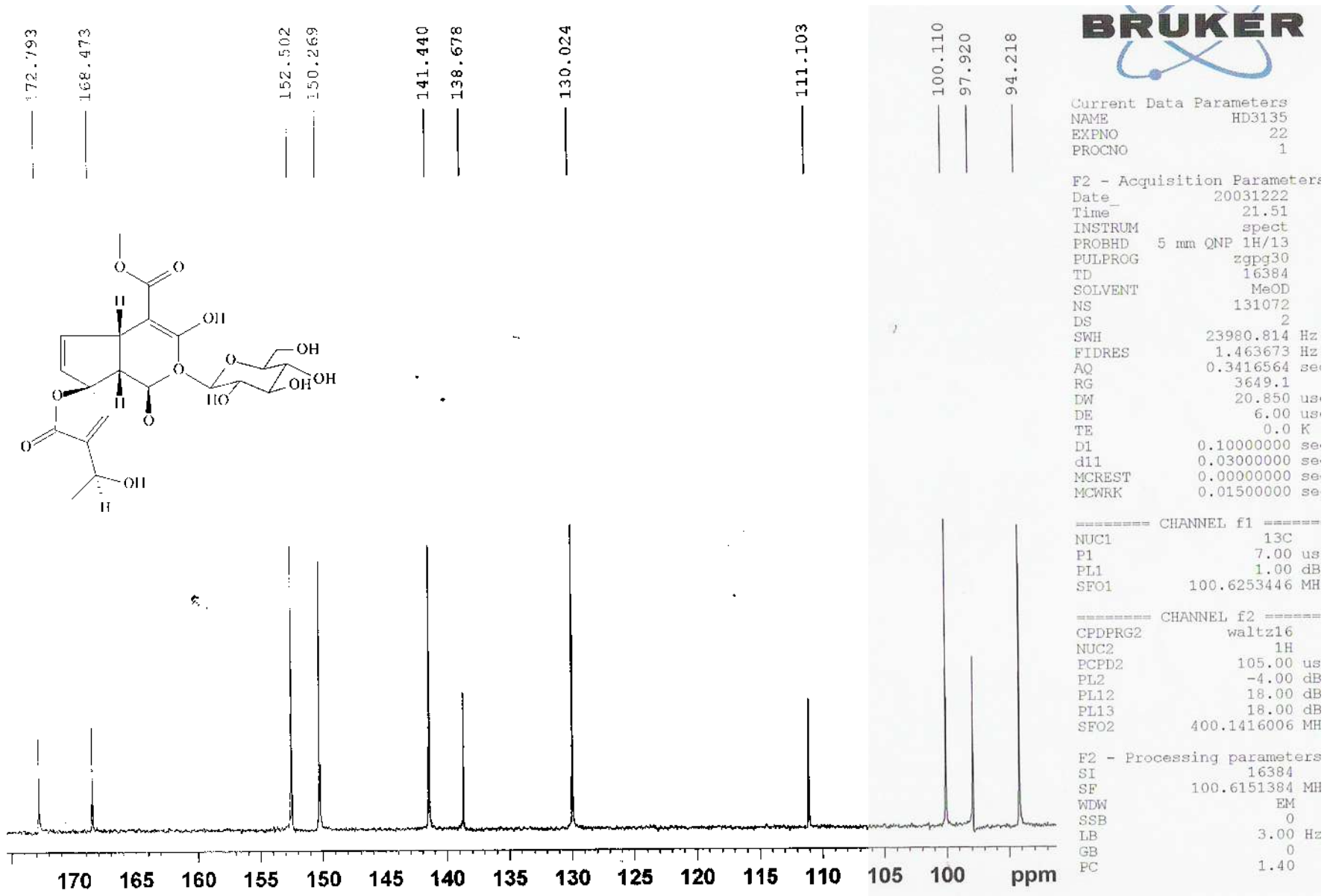




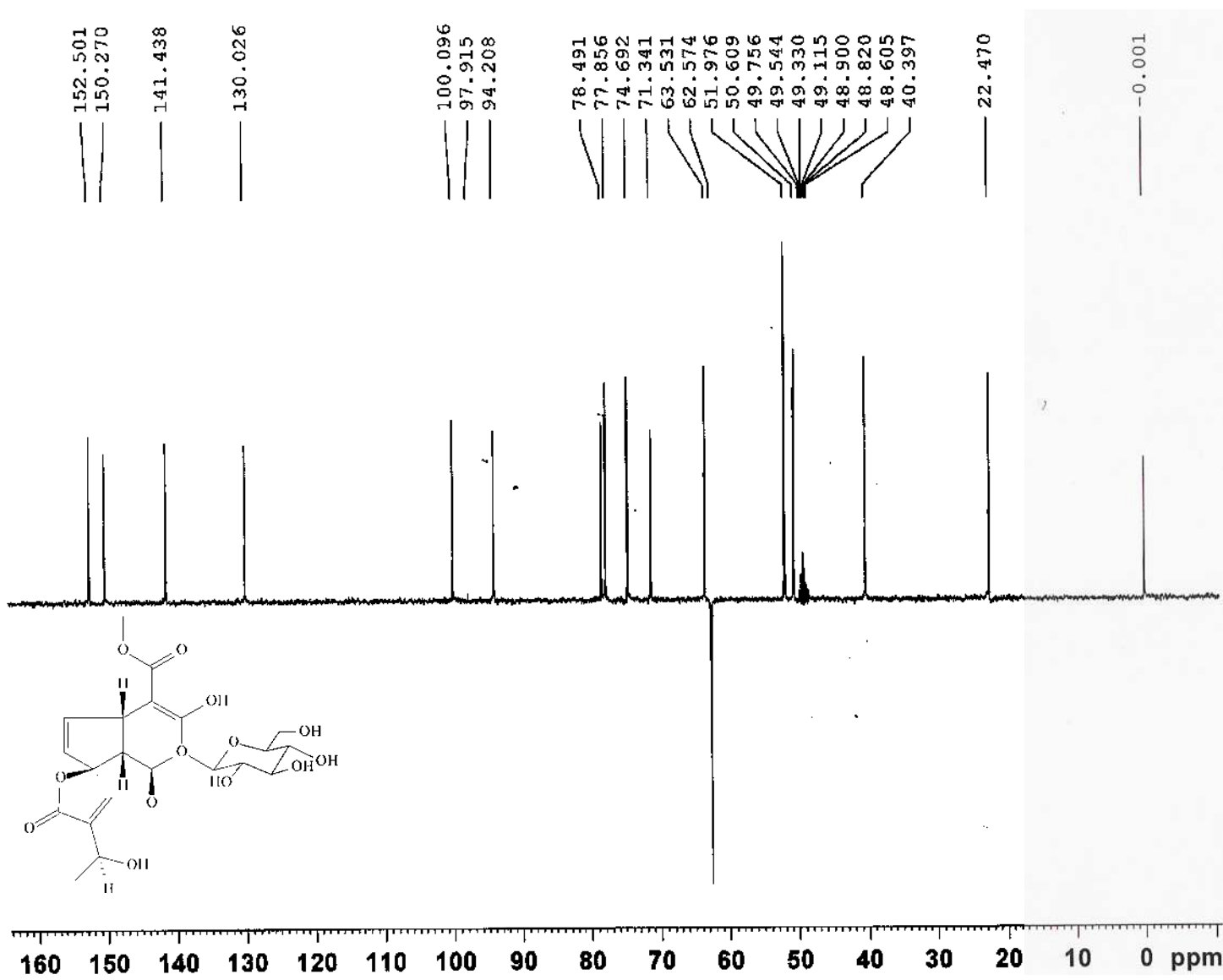
Espectro 7- Espectro de RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Espectro 8- 1ª expansão do espectro de RMN<sup>13</sup>C(MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Espectro 9- 2ª expansão do espectro de RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



152.501  
150.270  
141.438  
130.026  
100.096  
97.915  
94.208  
78.491  
77.856  
74.692  
71.341  
63.531  
62.574  
51.976  
50.609  
49.756  
49.544  
49.330  
49.115  
48.900  
48.820  
48.605  
40.397  
22.470

-0.001



Current Data Parameters  
NAME HD3135  
EXPNO 23  
PROCNO 1

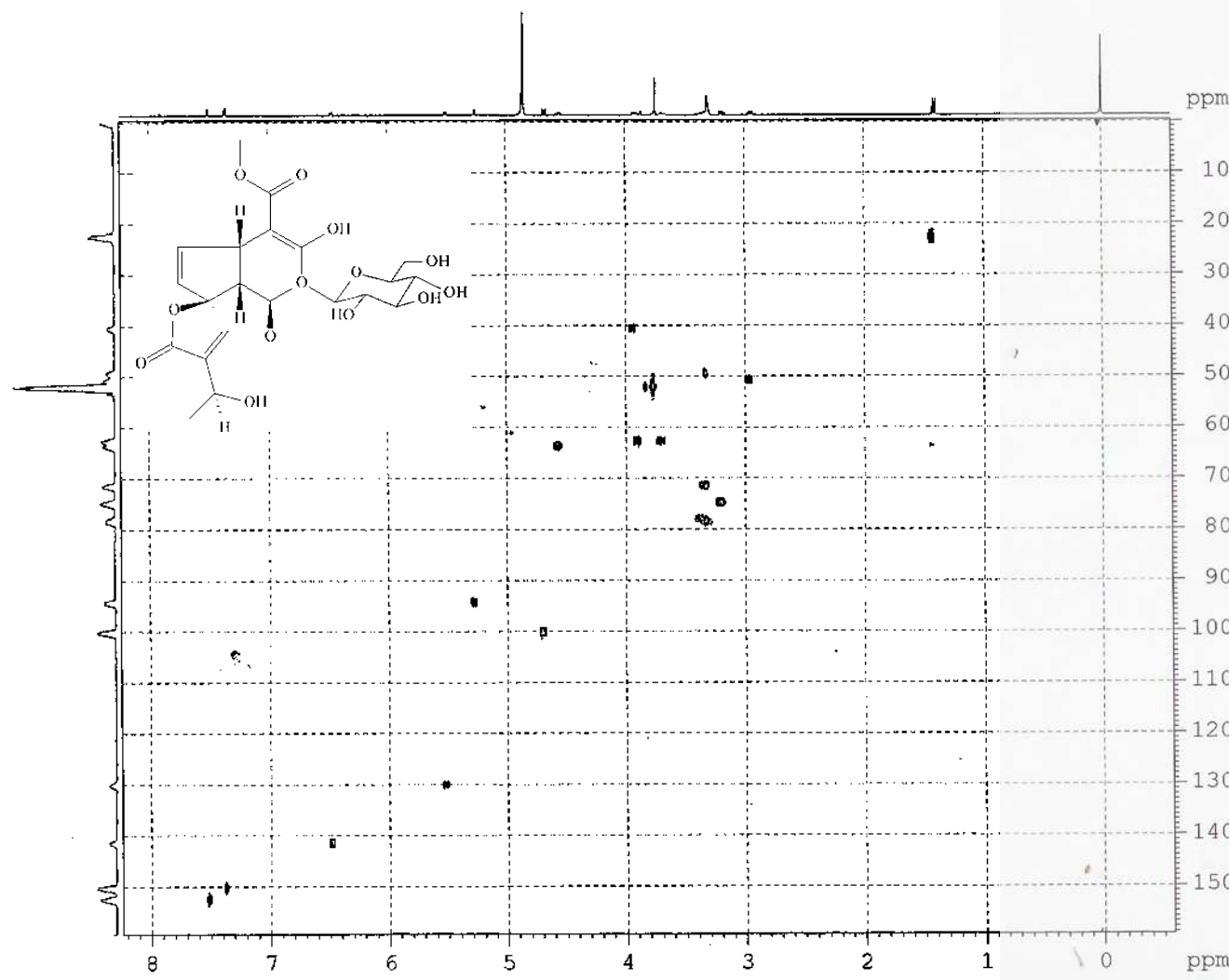
F2 - Acquisition Parameters  
Date 20031223  
Time 11.17  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
PULPROG dept135  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 14175  
DS 4  
SWH 23980.814 Hz  
FIDRES 0.365918 Hz  
AQ 1.3664756 sec  
RG 16384  
DW 20.850 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
CNST2 145.0000000  
D1 2.00000000 sec  
d2 0.00344828 sec  
d12 0.00002000 sec  
DELTA 0.00000891 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 7.00 usec  
p2 14.00 usec  
PL1 1.00 dB  
SFO1 100.6253446 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
P3 9.30 usec  
p4 18.60 usec  
PCPD2 105.00 usec  
PL2 -4.00 dB  
PL12 18.00 dB  
SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 100.6151384 MHz  
WDW EM

Espectro 10 – Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Current Data Parameters  
NAME HD136  
EXPNO 40  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040131  
Time 2.31  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
PULPROG hsqcet3pg  
TD 2048  
SOLVENT MeOD  
NS 16  
DS 16  
SWH 3531.073 Hz  
FIDRES 1.724157 Hz  
AQ 0.2900463 sec  
RG 4096  
AQ 141.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 300 K  
CST2 145.0000000  
d0 0.0000000 sec  
d1 1.0000000 sec  
d4 0.00172414 sec  
d11 0.03000000 sec  
d13 0.00000460 sec  
d16 0.00060000 sec  
D21 0.00344928 sec  
DELTA 0.00192628 sec  
DELTA1 0.00071614 sec  
IN0 0.00003105 sec  
NCREST 0.00000000 sec  
MCPRE 0.20000000 sec  
STCNT 256

----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P1 8.00 usec  
PC 16.00 usec  
P28 2000.00 usec  
PL1 -3.00 dB  
SFO1 400.141300 MHz

----- CHANNEL f2 -----  
CPDPRG2 gacp  
NUC2 13C  
P3 7.00 usec  
PC 14.00 usec  
PCPD2 70.00 usec  
PL2 1.00 dB  
PL13 21.00 dB  
SFO2 100.6231310 MHz

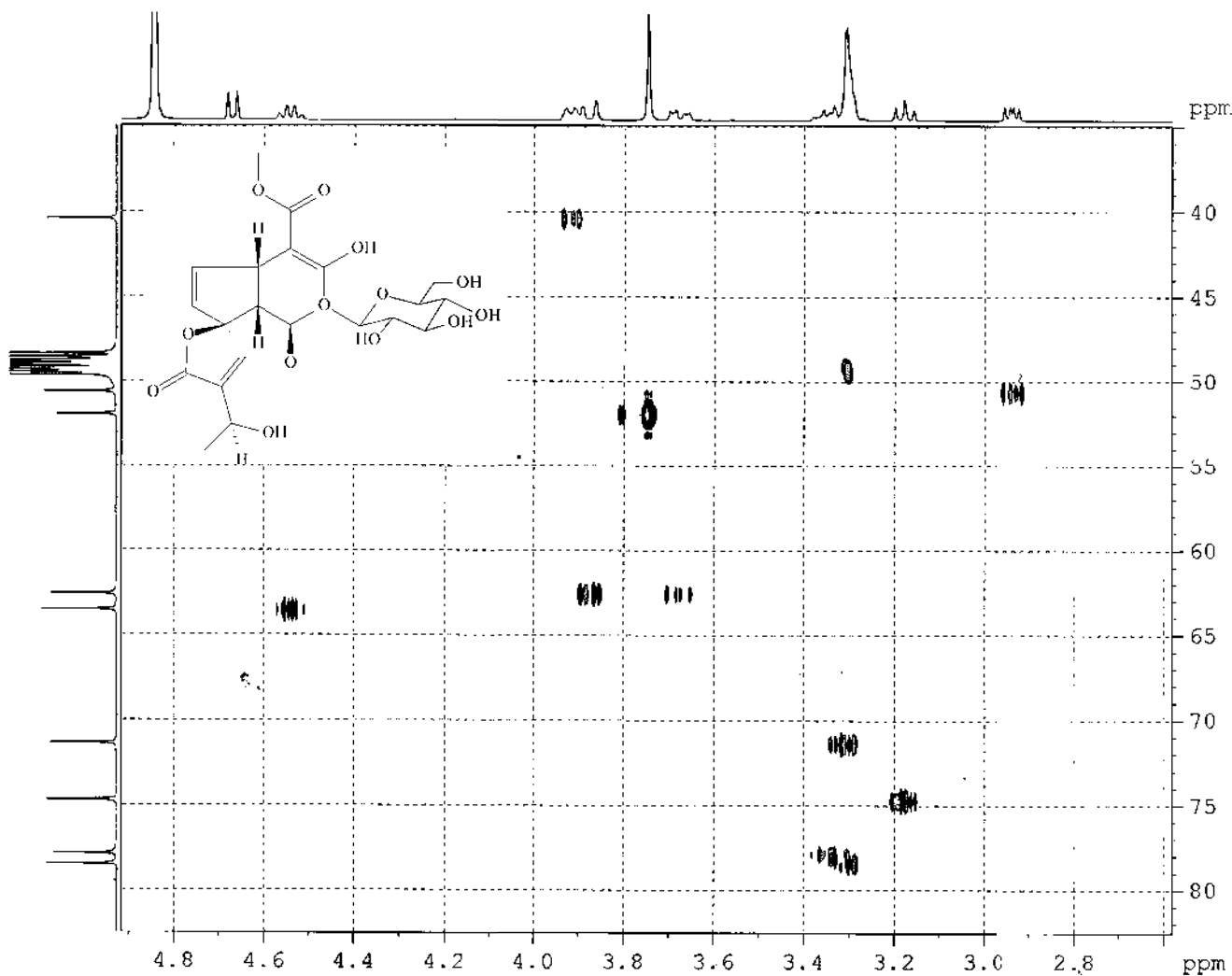
----- GRADIENT CHANNEL -----  
GPRAM1 SINK.100  
GPRAM2 SINK.100  
GPR1 0.00 t  
GPR2 0.00 t  
GPT1 0.00 t  
GPT2 0.00 t  
GPE1 80.00 t  
GPE2 20.10 t  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
ND0 2  
TD 512  
SFO1 100.6231 MHz  
FIDRES 31.451289 Hz  
AQ 160.033 usec  
P1600E Echo-Antiecho

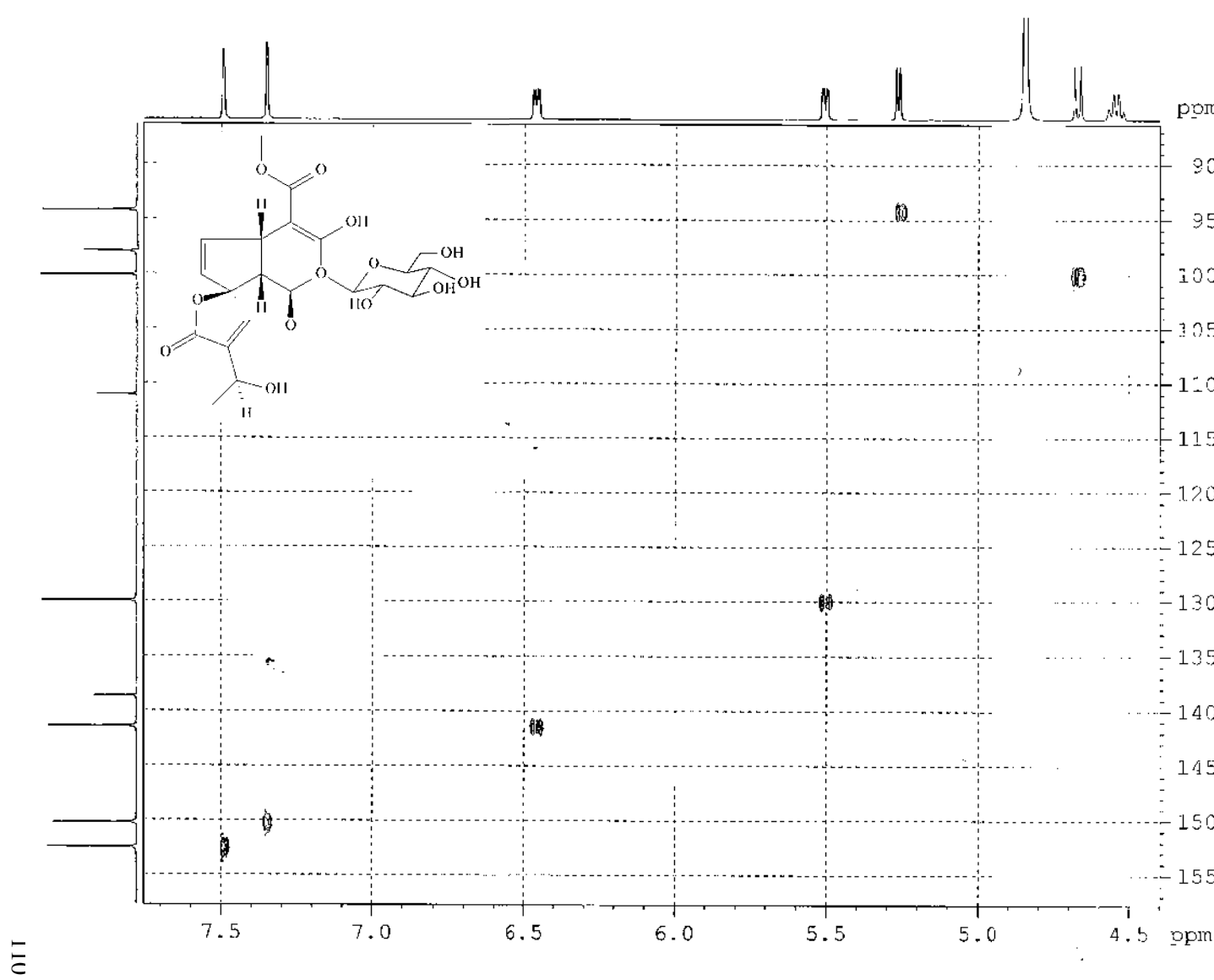
F2 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 400.1400000 MHz  
WDW SINK  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

F1 - Processing parameters  
SI 512  
MC2 echo-antiecho  
SF 100.6151401 MHz  
WDW SINK  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0

Espectro 11 – Espectro HSQC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Espectro 12- 1ª expansão do espectro HSQC(MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Current Data Parameters  
NAME HD3113  
EXNO 40  
PROCNO 1

Acquisition Parameters  
Date 20041131  
Time 7.31  
INSTRUM spect  
PULPROG zgpg30  
TD 32768  
SOLVENT MeOD  
NS 10  
DS 16  
SWH 4531.312 Hz  
F1A049 1.724157 Hz  
AQ 0.2902488 sec  
RG 678  
DF 141.600 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.1 K  
CMT2 145.1000000  
d0 0.0000000 sec  
D1 1.0000000 sec  
d4 0.00172414 sec  
d11 0.01000000 sec  
d12 0.00000000 sec  
DEC 0.0000000 sec  
DEL 0.00300000 sec  
DETA 0.00300000 sec  
DELTA 0.00300000 sec  
INC 0.00300000 sec  
MRESV 0.0000000 Hz  
NUC1 13C  
PULPRG zgpg30

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 1.00 usec  
P2 16.00 usec  
P3 0.00 usec  
P4 3.00 usec  
SFO1 400.1415000 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPCPG2 zgpg30  
NUC2 1H  
P1 1.00 usec  
P2 14.00 usec  
P3 14.00 usec  
P4 14.00 usec  
P5 1.00 usec  
P6 21.00 dB  
SFO2 100.6131000 MHz

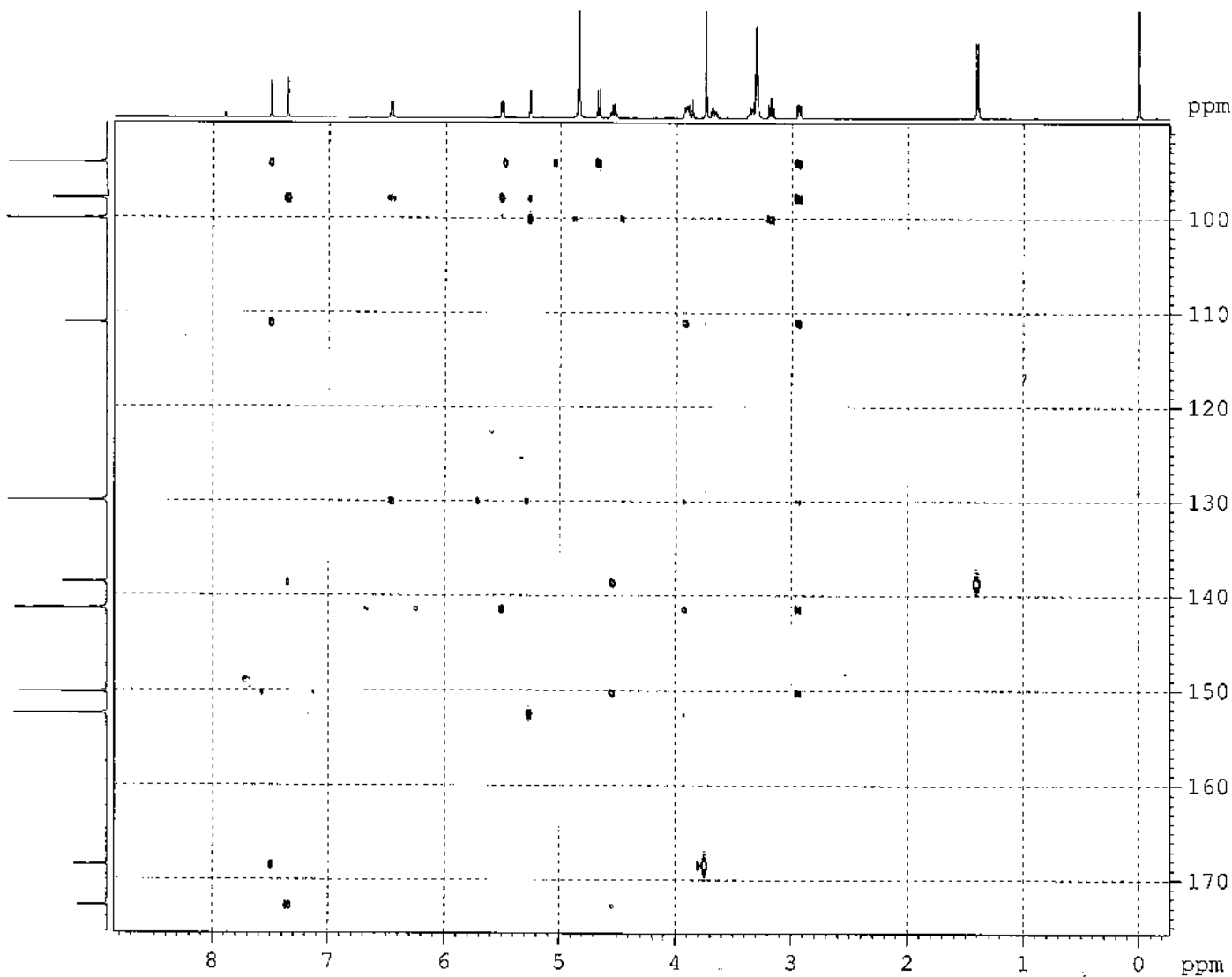
===== DEPENDENT CHANNEL =====  
GENP1 SINE 100  
GENP2 SINE 100  
CPD1 0.00 A  
CPD2 0.00 A  
CPD3 0.00 A  
CPD4 0.00 A  
CPD5 0.00 A  
CPD6 0.00 A  
CPD7 0.00 A  
CPD8 0.00 A  
CPD9 0.00 A  
CPD10 0.00 A  
CPD11 0.00 A  
CPD12 0.00 A  
CPD13 0.00 A  
CPD14 0.00 A  
CPD15 0.00 A  
CPD16 0.00 A  
CPD17 0.00 A  
CPD18 0.00 A  
CPD19 0.00 A  
CPD20 0.00 A  
CPD21 0.00 A  
CPD22 0.00 A  
CPD23 0.00 A  
CPD24 0.00 A  
CPD25 0.00 A  
CPD26 0.00 A  
CPD27 0.00 A  
CPD28 0.00 A  
CPD29 0.00 A  
CPD30 0.00 A  
CPD31 0.00 A  
CPD32 0.00 A  
CPD33 0.00 A  
CPD34 0.00 A  
CPD35 0.00 A  
CPD36 0.00 A  
CPD37 0.00 A  
CPD38 0.00 A  
CPD39 0.00 A  
CPD40 0.00 A  
CPD41 0.00 A  
CPD42 0.00 A  
CPD43 0.00 A  
CPD44 0.00 A  
CPD45 0.00 A  
CPD46 0.00 A  
CPD47 0.00 A  
CPD48 0.00 A  
CPD49 0.00 A  
CPD50 0.00 A  
CPD51 0.00 A  
CPD52 0.00 A  
CPD53 0.00 A  
CPD54 0.00 A  
CPD55 0.00 A  
CPD56 0.00 A  
CPD57 0.00 A  
CPD58 0.00 A  
CPD59 0.00 A  
CPD60 0.00 A  
CPD61 0.00 A  
CPD62 0.00 A  
CPD63 0.00 A  
CPD64 0.00 A  
CPD65 0.00 A  
CPD66 0.00 A  
CPD67 0.00 A  
CPD68 0.00 A  
CPD69 0.00 A  
CPD70 0.00 A  
CPD71 0.00 A  
CPD72 0.00 A  
CPD73 0.00 A  
CPD74 0.00 A  
CPD75 0.00 A  
CPD76 0.00 A  
CPD77 0.00 A  
CPD78 0.00 A  
CPD79 0.00 A  
CPD80 0.00 A  
CPD81 0.00 A  
CPD82 0.00 A  
CPD83 0.00 A  
CPD84 0.00 A  
CPD85 0.00 A  
CPD86 0.00 A  
CPD87 0.00 A  
CPD88 0.00 A  
CPD89 0.00 A  
CPD90 0.00 A  
CPD91 0.00 A  
CPD92 0.00 A  
CPD93 0.00 A  
CPD94 0.00 A  
CPD95 0.00 A  
CPD96 0.00 A  
CPD97 0.00 A  
CPD98 0.00 A  
CPD99 0.00 A  
CPD100 0.00 A

F1 - Acquisition parameters  
NUC1 13C  
TE 312  
SFO1 100.6221 MHz  
PCPSW 31.451000 Hz  
SFO 400.1415000 MHz  
PNAMEDE Echo-Antiaecho

F2 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 400.1406000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
GB 0.00 Hz  
CB 0  
PC 1.00

F3 - Processing parameters  
SI 32768  
MDC Echo-antiaecho  
SF 100.6131000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
GB 0.00 Hz  
CB 0

Espectro 13- 2ª expansão do espectro HSQC (MeOD, 400MHz) do plumericídeo (HDCA-1)



Current Data Parameters  
NAME HD3125  
EXPNO 50  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040131  
Time 5.31  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
PULPROG hmbcgp.prdg  
TD 2948  
SOLVENT MeOD  
NS 16  
DS 26  
SWH 4401.409 Hz  
FIDRES 2.149125 Hz  
AQ 0.2327826 sec  
RG 3251  
DM 113.600 usec  
DE 6.00 usec  
TE 300.2 K  
CNS12 145.000000  
CNS13 8.000000  
d0 0.0000300 sec  
D1 1.0090000 sec  
d2 0.0034828 sec  
d6 0.0625000 sec  
D16 0.0096000 sec  
IN0 0.0002485 sec  
MCREST 0.0000000 sec  
MCRK 1.0000000 sec

----- CHANNEL F1 -----  
NUCL 1H  
P1 8.00 usec  
P2 16.00 usec  
PL1 -5.00 dB  
SFO1 400.1415308 MHz

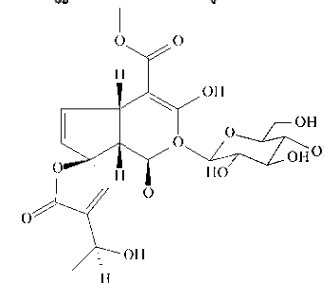
----- CHANNEL F2 -----  
NUC2 13C  
P3 7.00 usec  
PL2 1.00 dB  
SFO2 100.6251433 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----  
GPRM1 SINE 100  
GPRM2 SINE 100  
GPRM3 SINE 100  
GPR1 0.00 %  
GPR2 0.00 %  
GPR3 0.00 %  
GPR4 0.00 %  
GPR5 0.00 %  
GPR6 0.00 %  
GPR7 50.00 %  
GPR8 30.00 %  
GPR9 40.00 %  
PRG 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
ND0 2  
TD 512  
SFO1 100.6251 MHz  
FIDRES 39.298290 Hz  
SW 189.957 ppm  
FHM000 QF

F2 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 400.140000 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
RC 1.00

F1 - Processing parameters  
SI 2048  
MCZ QF  
SF 100.6151801 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0



Espectro 14 – Espectro HMBC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)





Current Data Parameters  
NAME HD1125  
EXPHO 50  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040131  
Time 5.31  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
PULPROG hndcgppndqf  
TD 2948  
SOLVENT MeOD  
NS 16  
DS 16  
SWH 4401.489 Hz  
FIDRES 2.149125 Hz  
AQ 0.2327028 sec  
RG 3251  
DM 113.500 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
CNSFZ 145.000000  
CNST13 8.000000  
d0 0.0000300 sec  
d1 1.0000000 sec  
d2 0.0034008 sec  
d6 0.0025000 sec  
d15 0.0006000 sec  
IR0 0.0002485 sec  
MCXBT 0.0000000 sec  
MCWEX 1.0000000 sec

\*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*  
NUC1 1H  
P1 8.00 usec  
P2 16.00 usec  
PL1 -3.00 dB  
SFO1 400.1415308 MHz

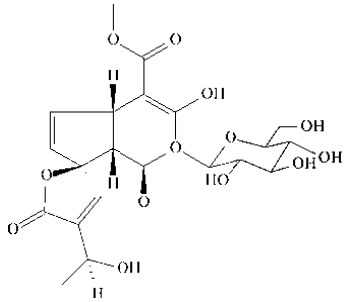
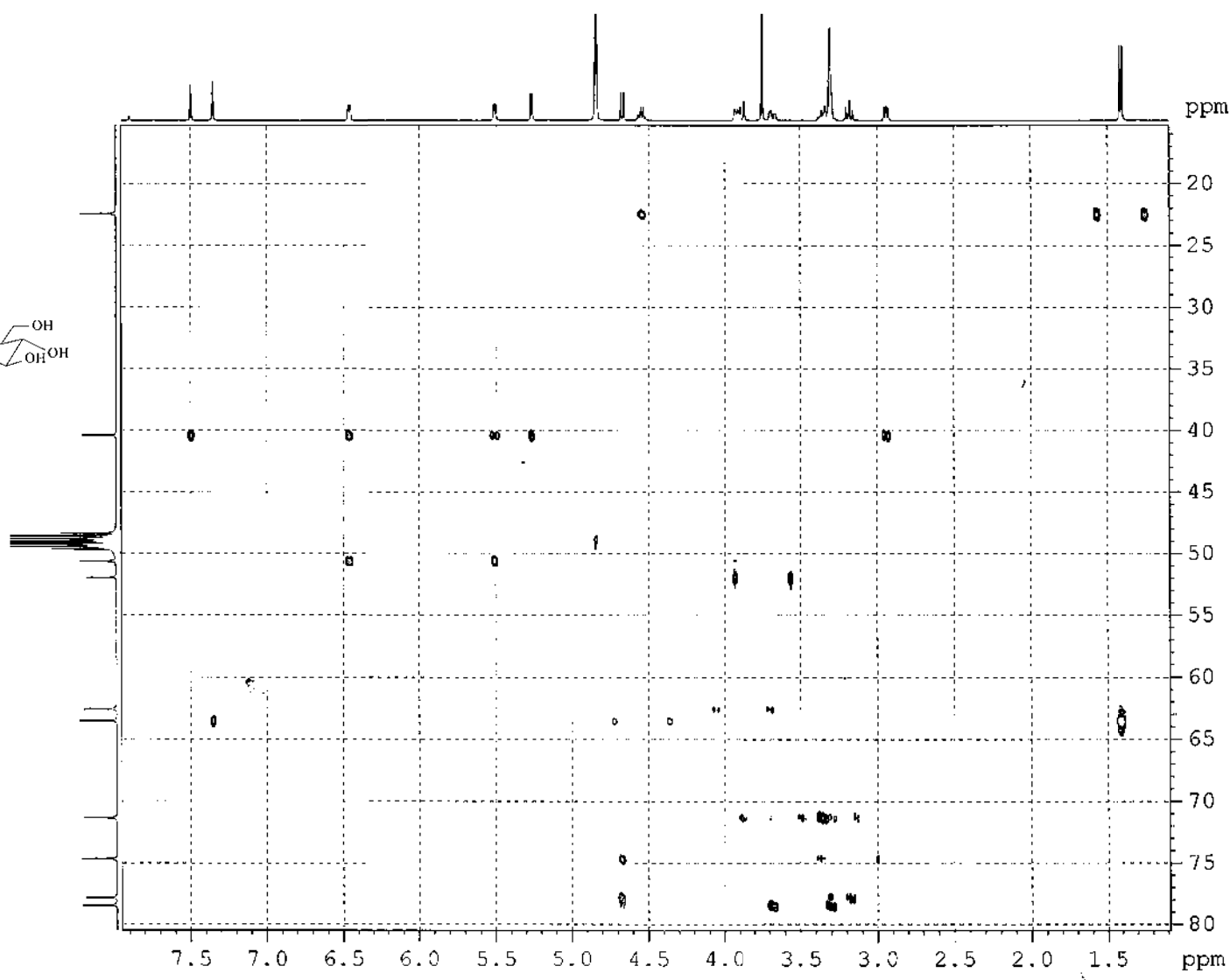
\*\*\*\*\* CHANNEL f2 \*\*\*\*\*  
NUC2 13C  
P3 7.00 usec  
PL2 1.00 dB  
SFO2 100.6251433 MHz

\*\*\*\*\* GRADIENT CHANNEL \*\*\*\*\*  
GPRAM1 SINE.100  
GPRAM2 SINE.100  
GPRAM3 SINE.100  
GPK1 0.00 %  
GPK2 0.00 %  
GPK3 0.00 %  
GPY1 0.00 %  
GPY2 0.00 %  
GPY3 0.00 %  
GPE1 50.00 %  
GPE2 30.00 %  
GPE3 40.00 %  
P16 1000.00 usec

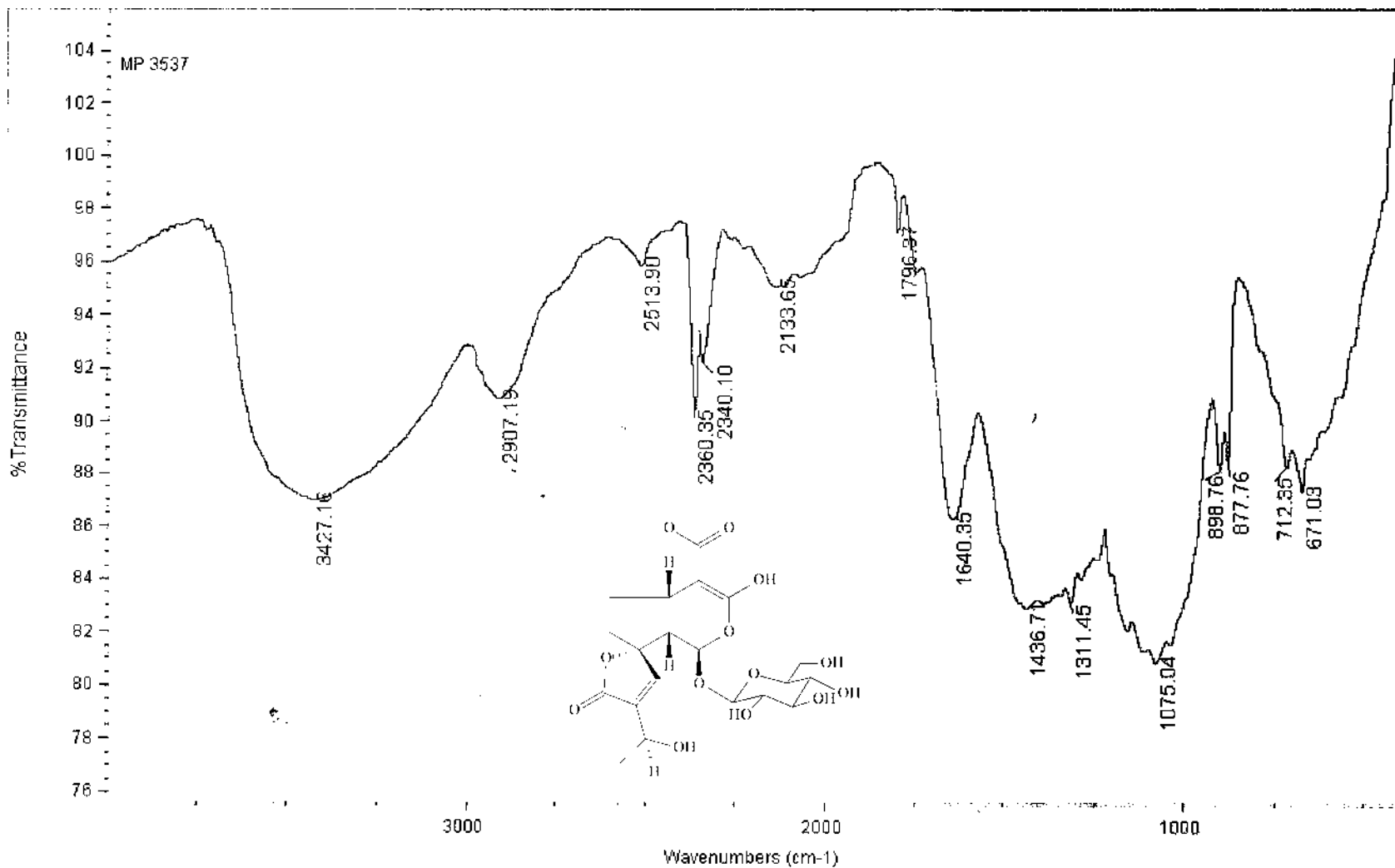
F1 - Acquisition parameters  
ND0 2  
TD 512  
SFO1 100.6251 MHz  
FIDRES 39.298290 Hz  
SW 199.957 ppm  
FMODE QF

F2 - Processing parameters  
S1 2048  
SF 400.140000 MHz  
WCM SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
EC 1.00

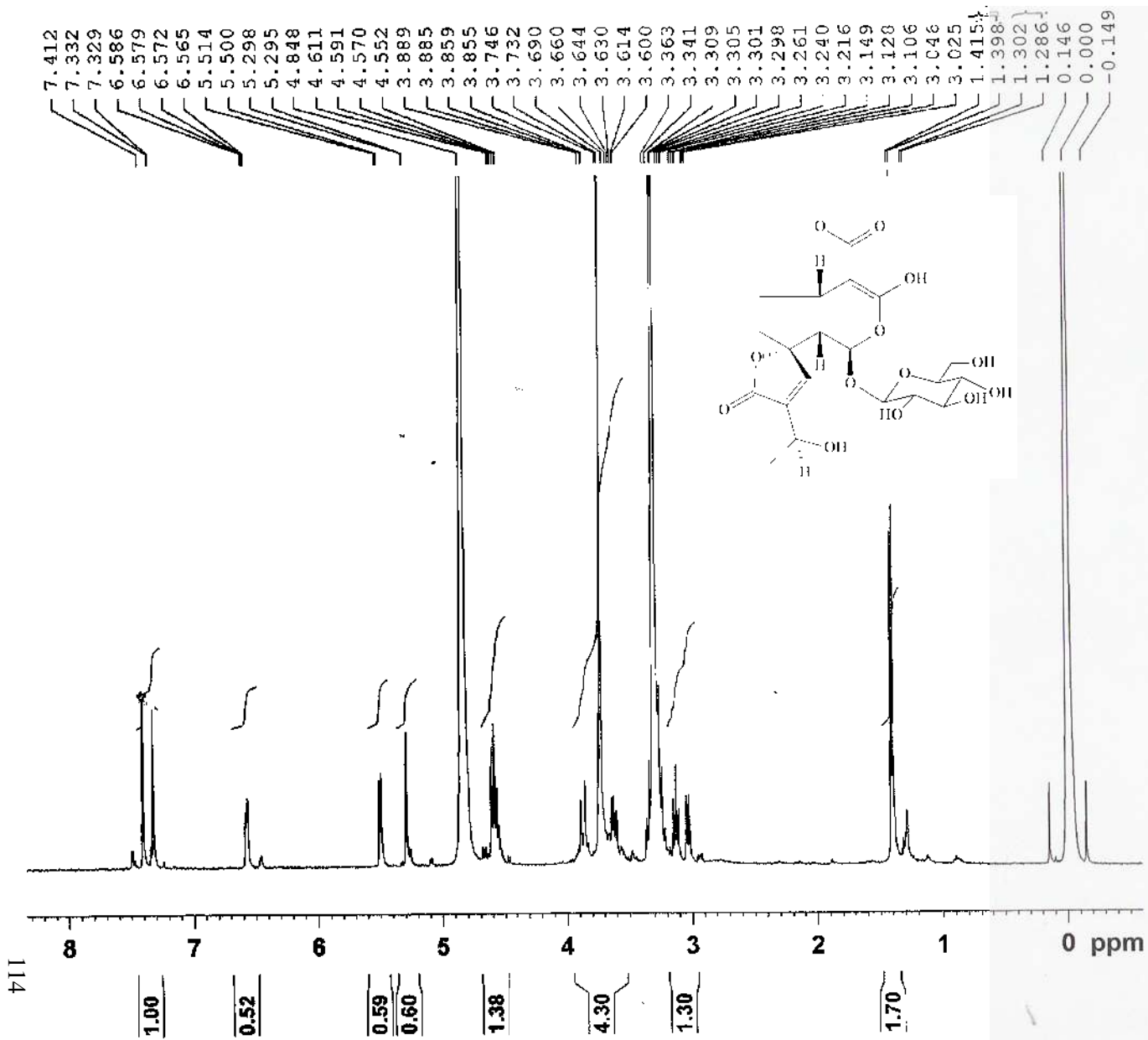
F1 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 100.6151401 MHz  
WCM SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0



Espectro 15 – 1ª expansão do espectro HMBC(MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Espectro 16 – Espectro de Infravermelho do isoplumierídeo (HDCA-2)



**BRUKER**

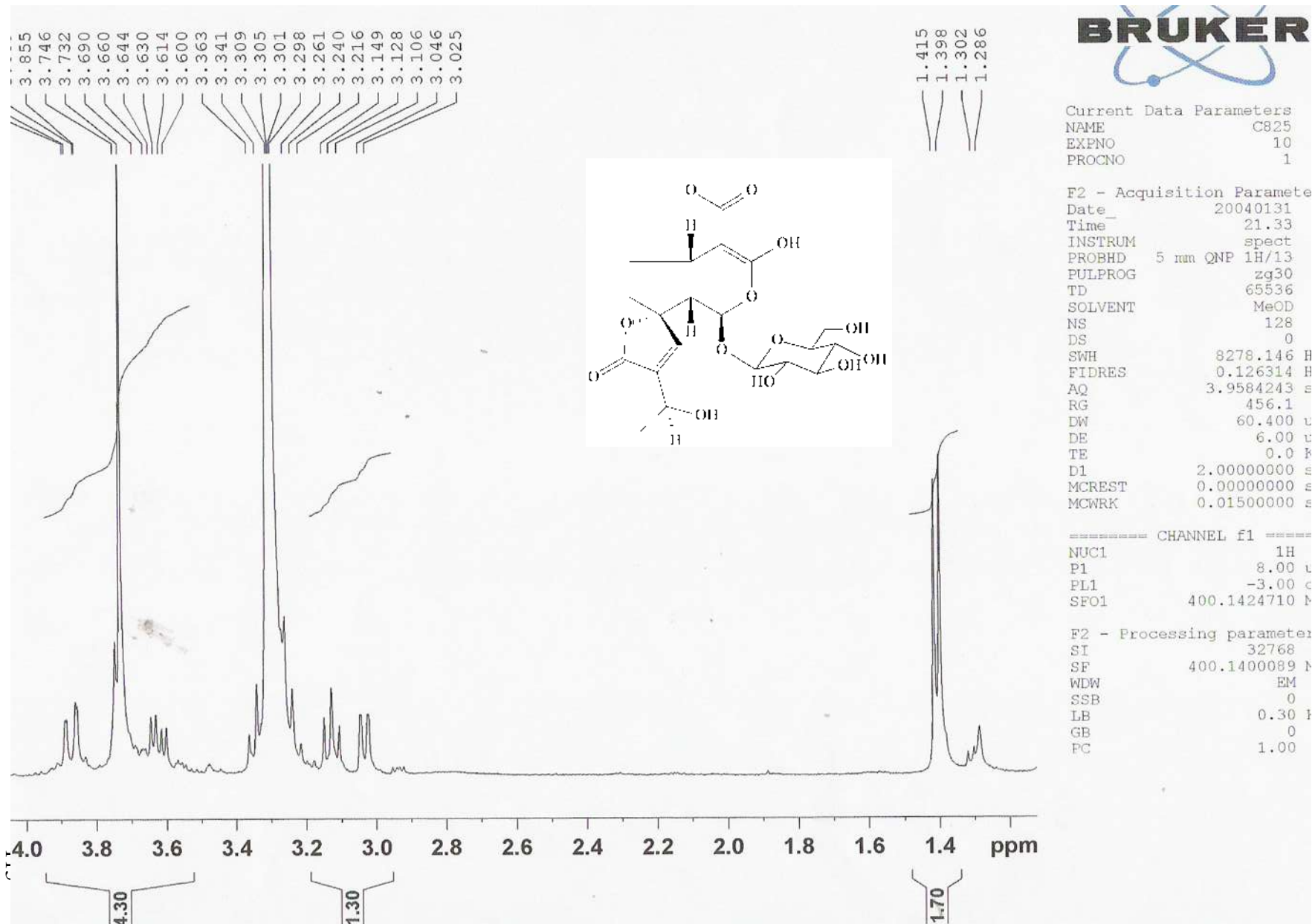
Current Data Parameters  
 NAME C825  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20040131  
 Time\_ 21.33  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 128  
 DS 0  
 SWH 8278.146 Hz  
 FIDRES 0.126314 Hz  
 AQ 3.9584243 sec  
 RG 456.1  
 DW 60.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 2.00000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

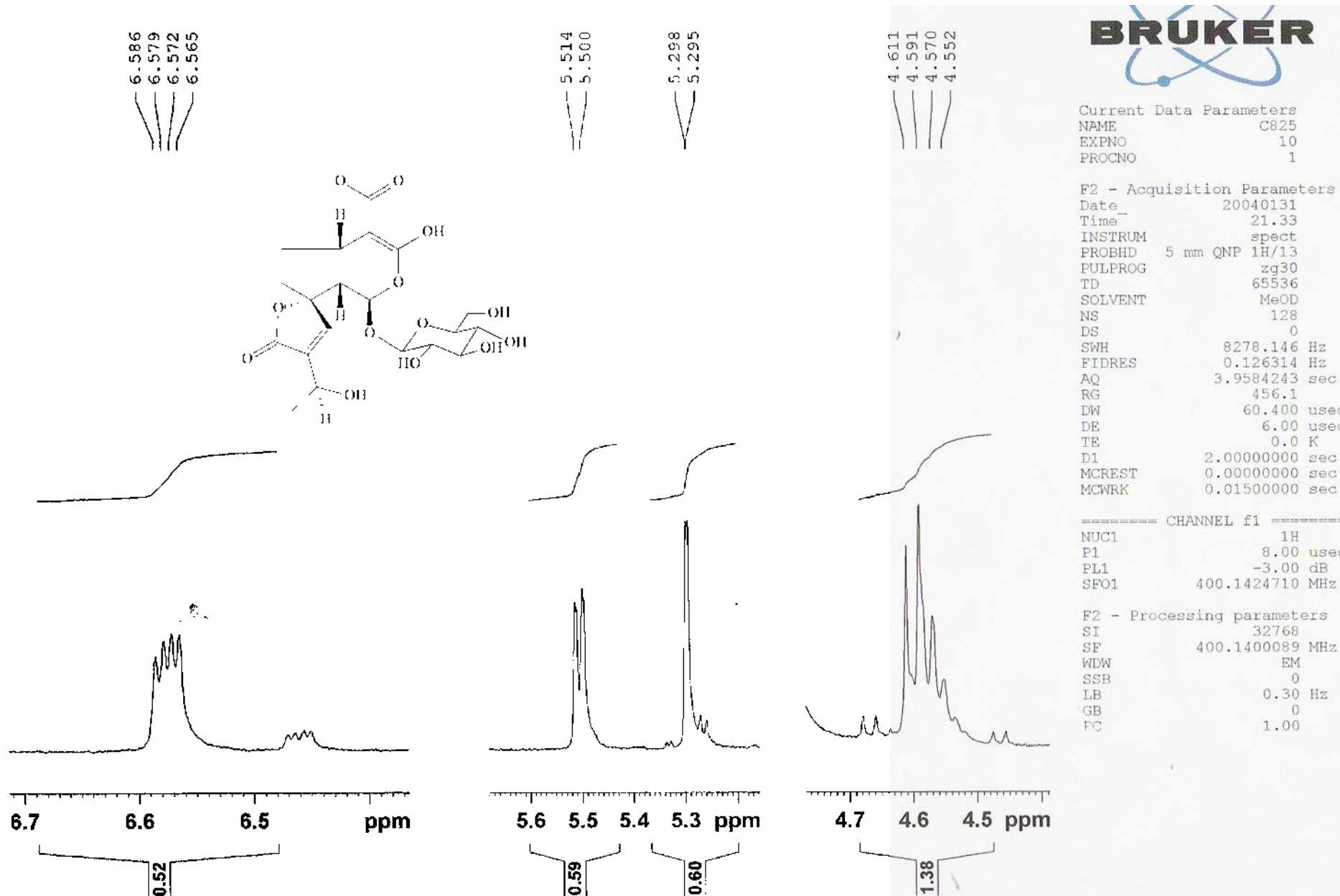
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 8.00 usec  
 PL1 -3.00 dB  
 SFO1 400.1424710 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 400.140089 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

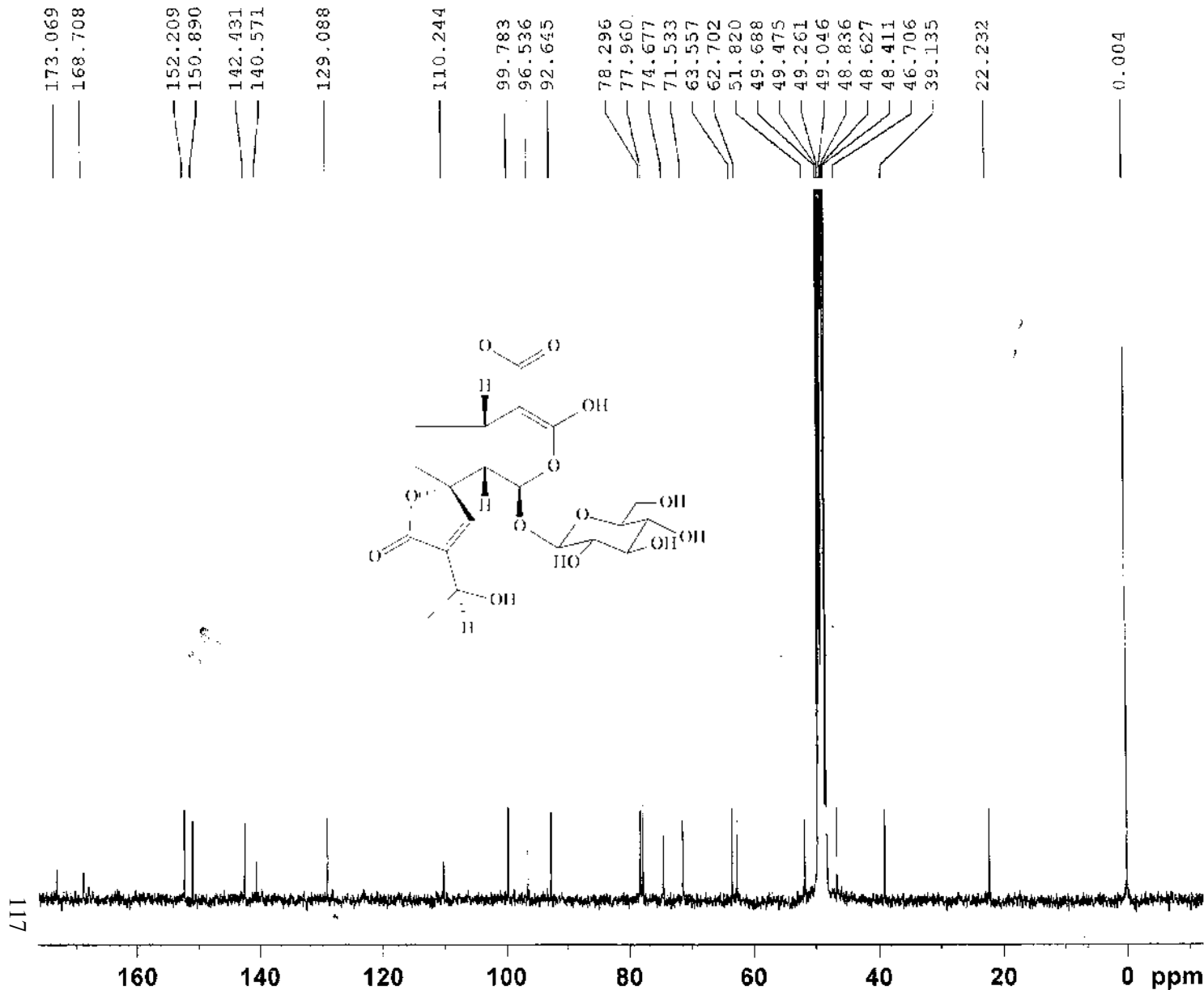
Espectro 17 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 18 – 1ª Expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 19 – 2ª Expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Current Data Parameters  
NAME KP3537  
EXFNO 20  
PROCNO 1

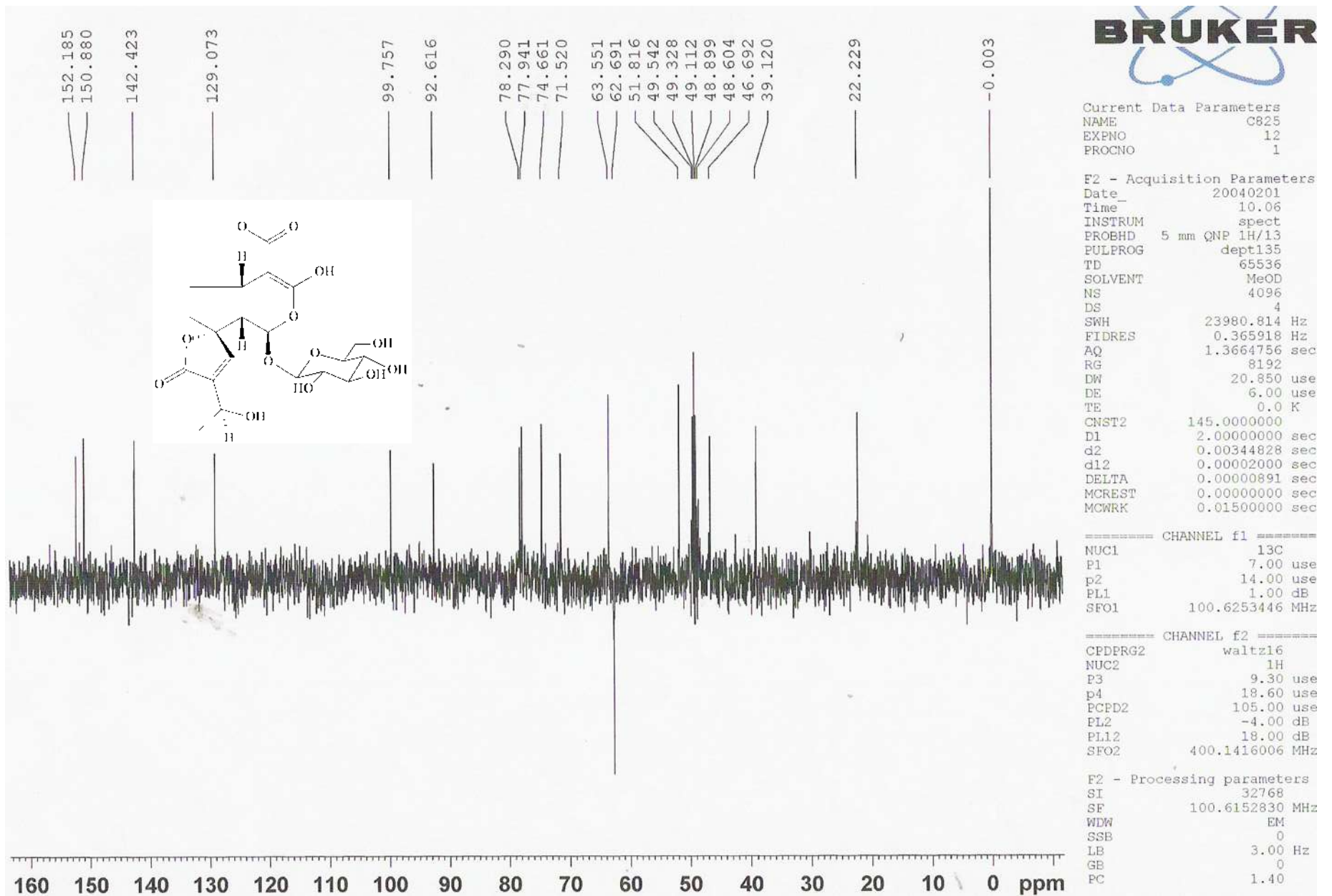
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040202  
Time 15.09  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
PULPROG zgpg30  
TD 16384  
SOLVENT MeOD  
NS 65536  
DS 2  
SWE 23980.814 Hz  
FIDRES 1.463673 Hz  
AQ 0.3416564 sec  
RG 3649.1  
DW 20.850 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
DL 0.1000000 sec  
d11 0.0300000 sec  
MCRBST 0.0000000 sec  
MCWRK 0.0150000 sec

==== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
F1 7.00 usec  
PL1 1.00 dB  
SFO1 100.6253446 MHz

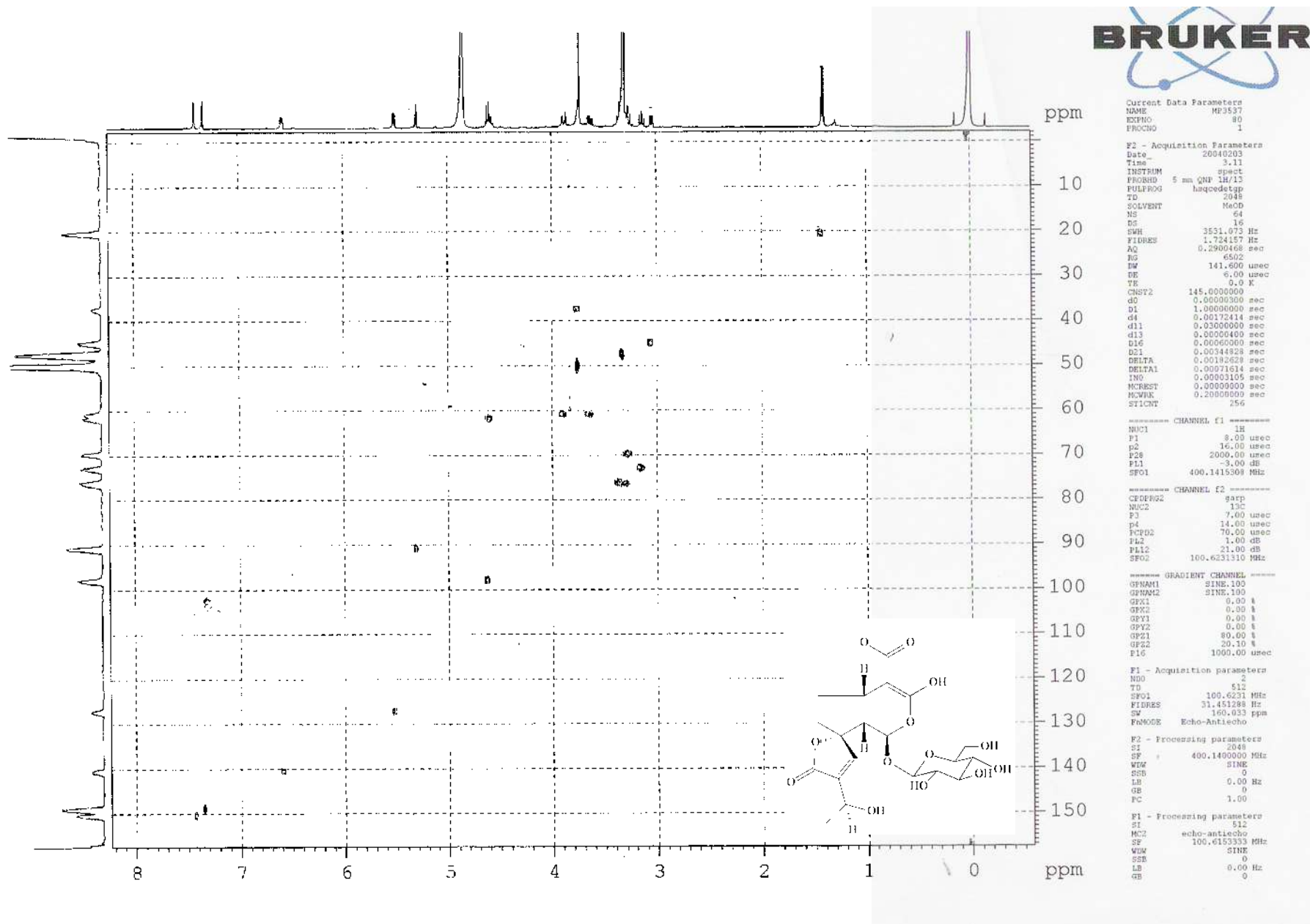
==== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
PCPD2 105.00 usec  
PL2 -4.00 dB  
PL12 18.00 dB  
PL13 18.00 dB  
SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 16384  
SF 100.6181369 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

Espectro 20 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 21 – Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 22 – Espectro de HSQC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)





Current Data Parameters  
NAME PK10650710  
EXPNO 12  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20050701  
Time\_ 14.48  
INSTRUM spect  
PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
PULPROG hmbzdprqf  
TD 4096  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 16  
SWH 750.1307 Hz  
FIDRES 1.832888 Hz  
AQ 0.2729102 sec  
RG 2048  
EW 56.600 usec  
LE 6.00 usec  
TE 294.2 K  
CKST13 8.0000000  
d0 0.0000000 sec  
d1 1.5000000 sec  
d6 0.06250000 sec  
d11 0.03000000 sec  
d12 0.00020000 sec  
IN0 0.0001790 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRR 0.03000000 sec

===== CHANNEL f1 =====

NUC1 1H  
P1 9.00 usec  
P2 18.00 usec  
PL1 3.00 dB  
PL2 57.89 dB  
SFO1 500.1324006 MHz

===== CHANNEL f2 =====

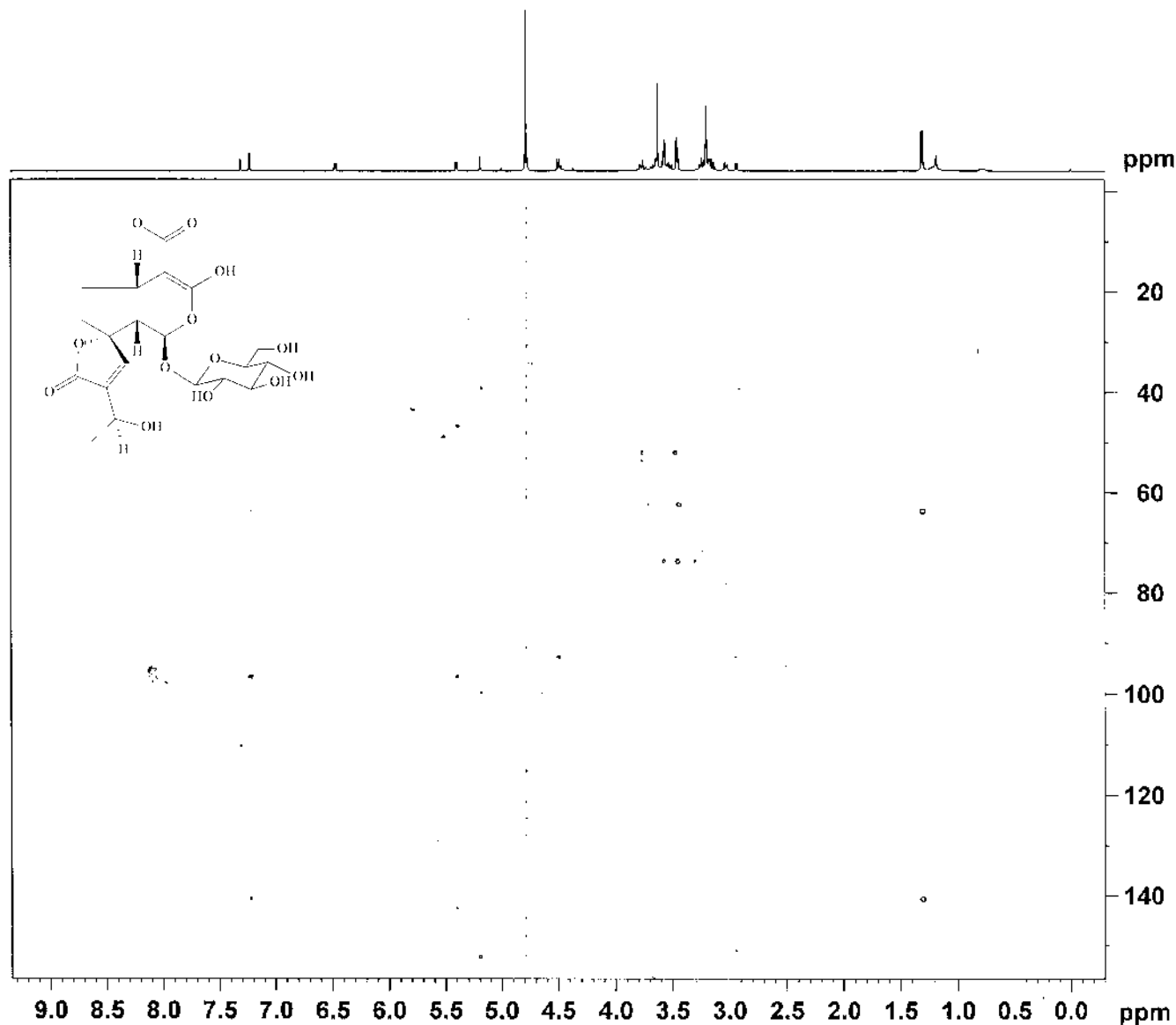
NUC2 13C  
P3 8.00 usec  
PL2 8.00 dB  
SFO2 125.7703437 MHz

F1 - Acquisition parameters

ND0 2  
TD 512  
SFO1 125.7703 MHz  
FIDRES 54.556564 Hz  
SW 222.095 ppm  
EnMODE QF

F2 - Processing parameters

SI 2048  
SF 500.1300115 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
CB 0  
PC 1.40



Espectro 23 – Espectro de HMBC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)

**BRUKER**

Current Data Parameters  
NAME EN10650710  
EXPNO 12  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20050701  
Time 14.48  
INSTRUM spect  
PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
PULPROG hmbcndprgf  
TD 4096  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 16  
SWH 7507.507 Hz  
FIDRES 1.832888 Hz  
AQ 0.2729102 sec  
RG 2048  
DW 66.600 uscc  
DE 6.000 usec  
TE 294.2 K  
CNST13 8.0000000  
d0 0.00000300 sec  
d1 1.50000000 sec  
d6 0.06250000 sec  
d11 0.03000000 sec  
d12 0.00002000 sec  
IN0 0.00001790 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.03000000 sec

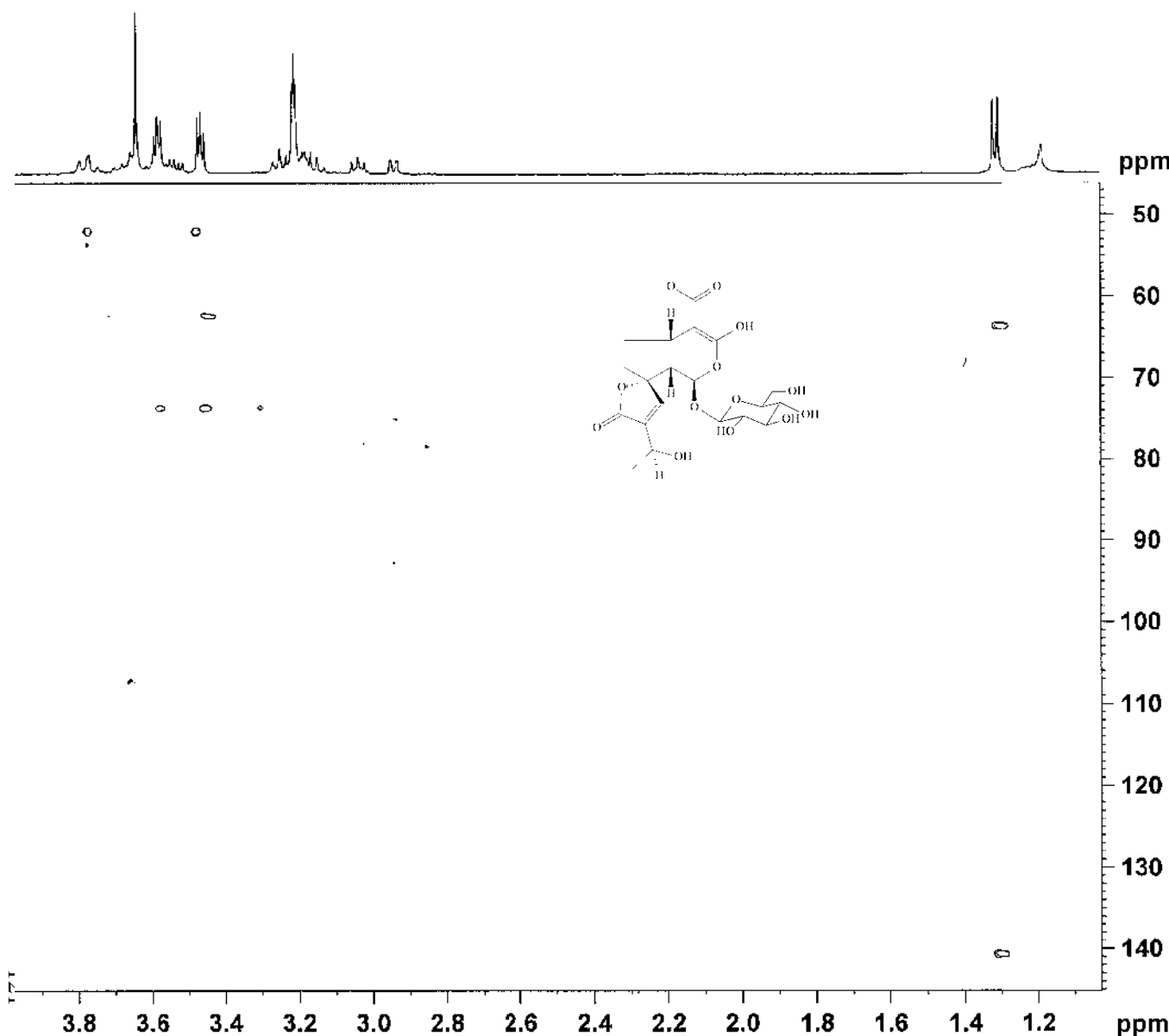
----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P1 9.00 usec  
P2 18.00 usec  
PL1 3.00 dB  
PL2 57.89 dB  
SFO1 500.1324006 MHz

----- CHANNEL f2 -----  
NUC2 13C  
P3 8.00 usec  
PL2 8.00 dB  
SFO2 125.7703437 MHz

F1 - Acquisition parameters  
ND0 2  
TD 512  
SFO1 125.7703 MHz  
FIDRES 54.556564 Hz  
SW 222.095 ppm  
F0M0DF QF

F2 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 500.1300115 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters



Espectro 24 – 1ª expansão do espectro de HMBC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)

**BRUKER**

Current Data Parameters  
NAME PN10650710  
EXPNO 12  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20050701  
Time 14.48  
INSTRUM spect  
PROBHD 2.5 mm BBL 13C  
PULPROG hmbcndprgf  
TD 4096  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 16  
SWH 7507.507 Hz  
FIDRES 1.832888 Hz  
AQ 0.2729102 sec  
RG 2048  
DW 66.600 usec  
DE 6.00 usec  
TE 294.2 K  
CNST13 8.0000000  
d0 0.0000000 sec  
d1 1.5000000 sec  
d6 0.06250000 sec  
d11 0.03000000 sec  
d12 0.00002000 sec  
INC 0.00001790 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWKK 0.03000000 sec

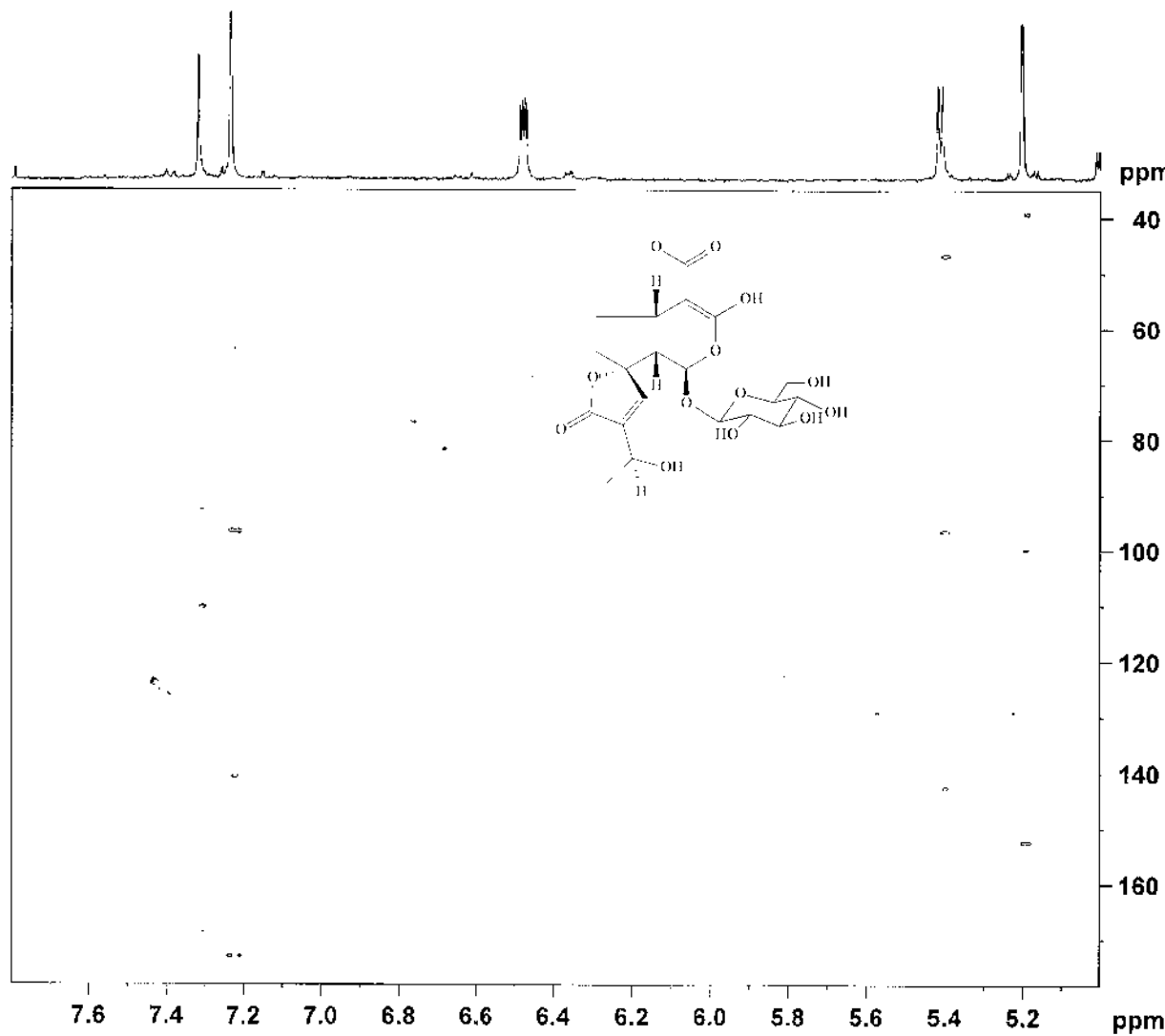
===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 9.00 usec  
p2 18.00 usec  
PL1 3.00 dB  
PL2 57.89 dB  
SFO1 500.1324006 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
NUC2 13C  
P3 8.00 usec  
PL2 8.00 dB  
SFO2 125.7703437 MHz

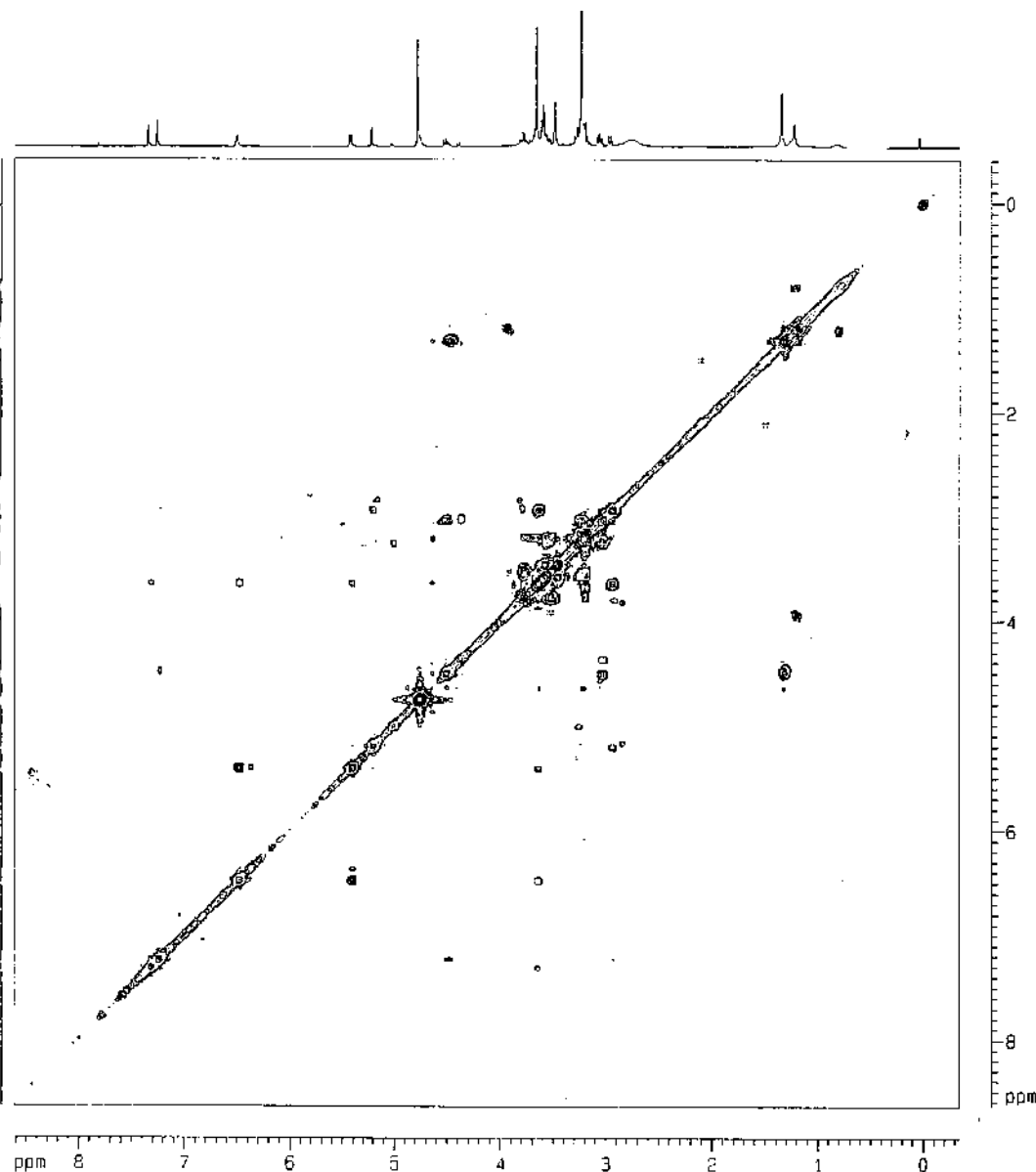
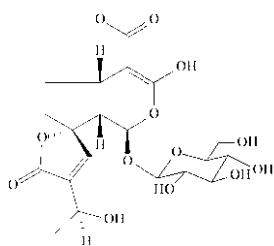
F1 - Acquisition parameters  
NUC 2  
TD 512  
SFO1 125.7703 MHz  
FIDRES 54.556564 Hz  
SW 222.095 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 500.1300115 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters



Espectro 25 – 2ª expansão do espectro de HMBC (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



```

Current Data Parameters
NAME      pd10750710
EXPRNO    11
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20050707
Time      15:43
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/1
PULPROG   zgpg30
TD         2048
SOLVENT   H2O
NS         64
DS         4
SWH        5200.333 Hz
FIDRES     2.543132 Hz
AQ         0.1966580 sec
RG         800
DW         96.000 usec
DE         6.00 usec
TE         0.0 K
GB         0.0000000 sec
G1         2.0000000 sec
G11        0.0300000 sec
G12        0.0002000 sec
G13        0.0000400 sec
INO        0.00015224 sec
ACRES1     0.0000000 sec
ACW1       0.0300000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1       1H
P0         8.00 usec
P1         8.00 usec
PL1        -3.00 dB
PL2        52.00 dB
SFO1       400.1419047 MHz

F1 - Acquisition parameters
WDW        1
SSB        0
SF01       400.1418 MHz
FIDRES     20.318818 Hz
SA         13.000 ppm
RG         0

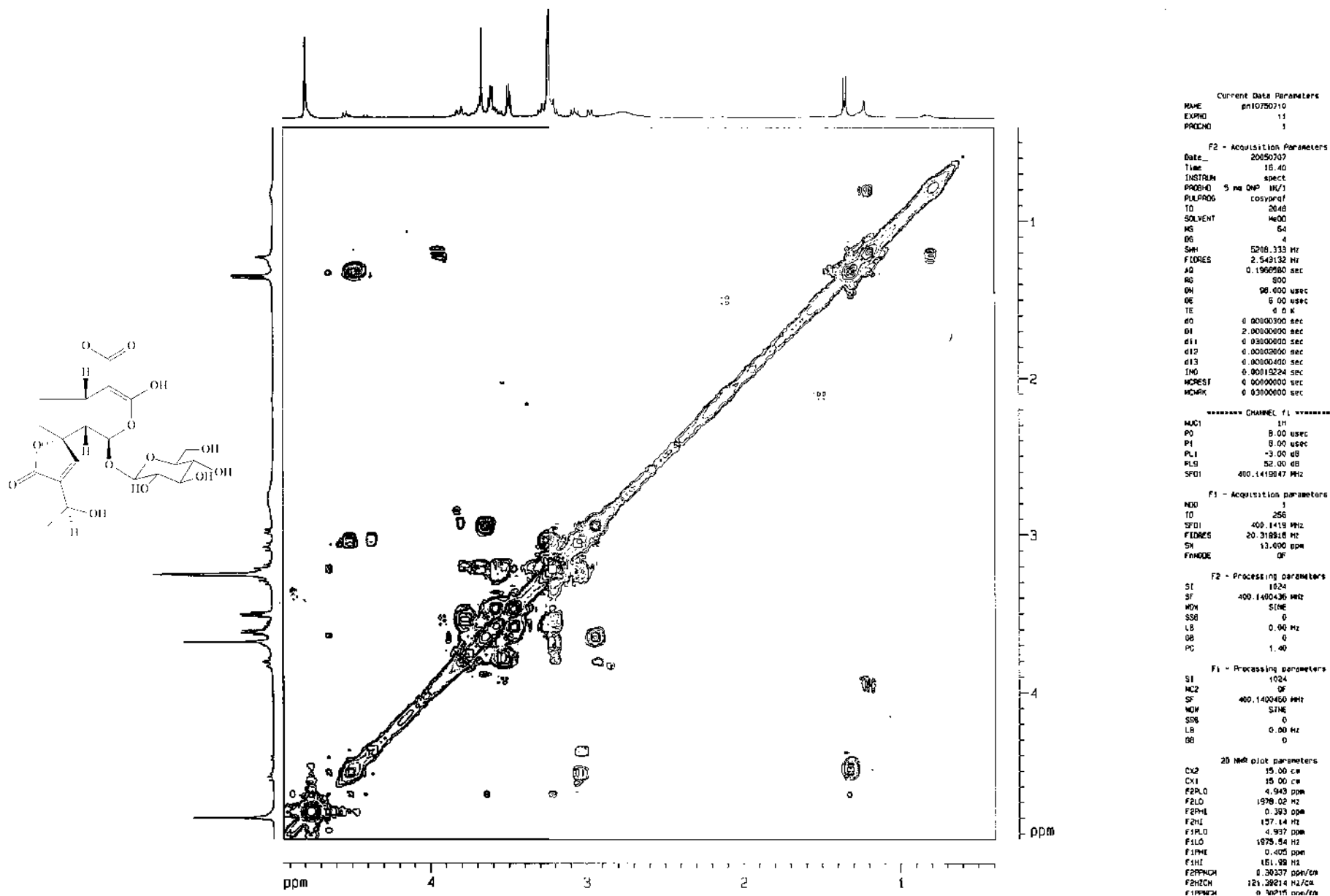
F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         400.1400436 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         1024
WDW        0
SF         400.1400460 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0

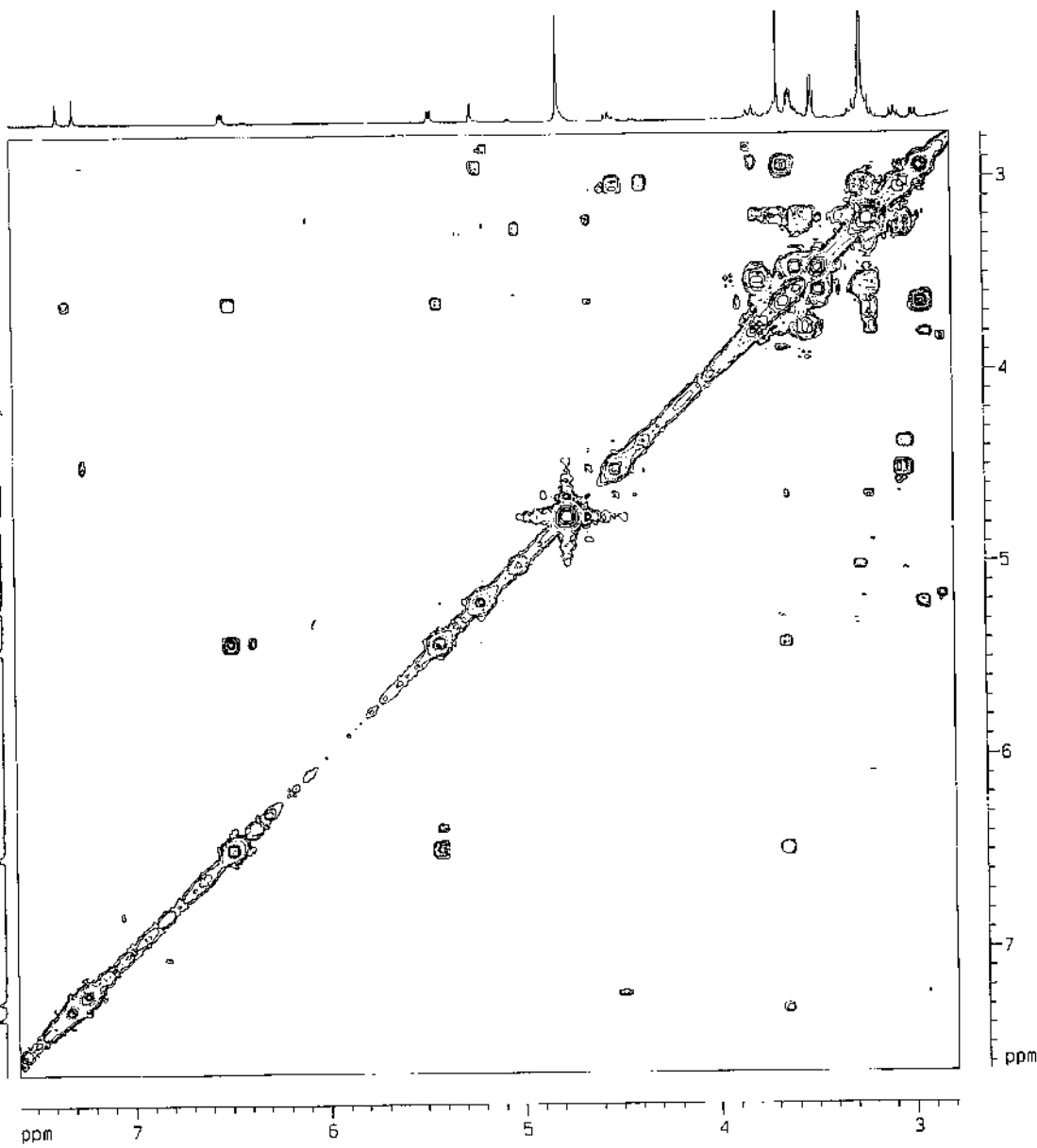
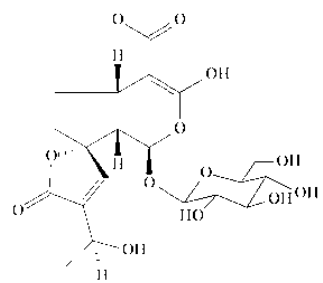
2D NMR plot parameters
CX2       15.00 cm
CY1       15.00 cm
F2PL0     8.607 ppm
F2PL1     3447.95 Hz
F2PH1     -0.345 ppm
F2PH2     -137.86 Hz
F2PL2     8.644 ppm
F2PL3     3456.80 Hz
F2PH3     -0.408 ppm
F2PH4     -163.13 Hz
F2PH5CH   0.55743 ppm/cm
F2PH6CH   239.05437 Hz/cm
F2PH7CH   0.60346 ppm/cm
F2PH8CH   341.46276 Hz/cm

```

Espectro 26 – Espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 27 – 1ª expansão do espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



```

Current Data Parameters
NAME      on10750710
EXPNO    11
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20050707
Time     18.40
INSTRUM spect
PROBHD   5 mm GNP 1H/1
PULPROG zgpg30
TD        2048
SOLVENT  MeOD
NS        64
DS        4
SMT       2066.333 Hz
FIDRES   2.543132 Hz
AQ        0.1966580 sec
RG         800
DN         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         0.0 K
d0         0.0000000 sec
D1         2.0000000 sec
d11        0.0000000 sec
d12        0.0000000 sec
d13        0.0000400 sec
IND        0.00015224 sec
MREPEAT   0.0000000 sec
NUMRG     0.0000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1      1H
PQ        0.00 usec
PI         8.00 usec
PL1       -3.00 dB
PL2       20.00 dB
SFO1      400.1419047 MHz

F1 - Acquisition parameters
ND0        1
TD         256
SFO1      400.1419047 MHz
FIDRES    20.319516 Hz
SY        13.000 ppm
F0MODE    QF

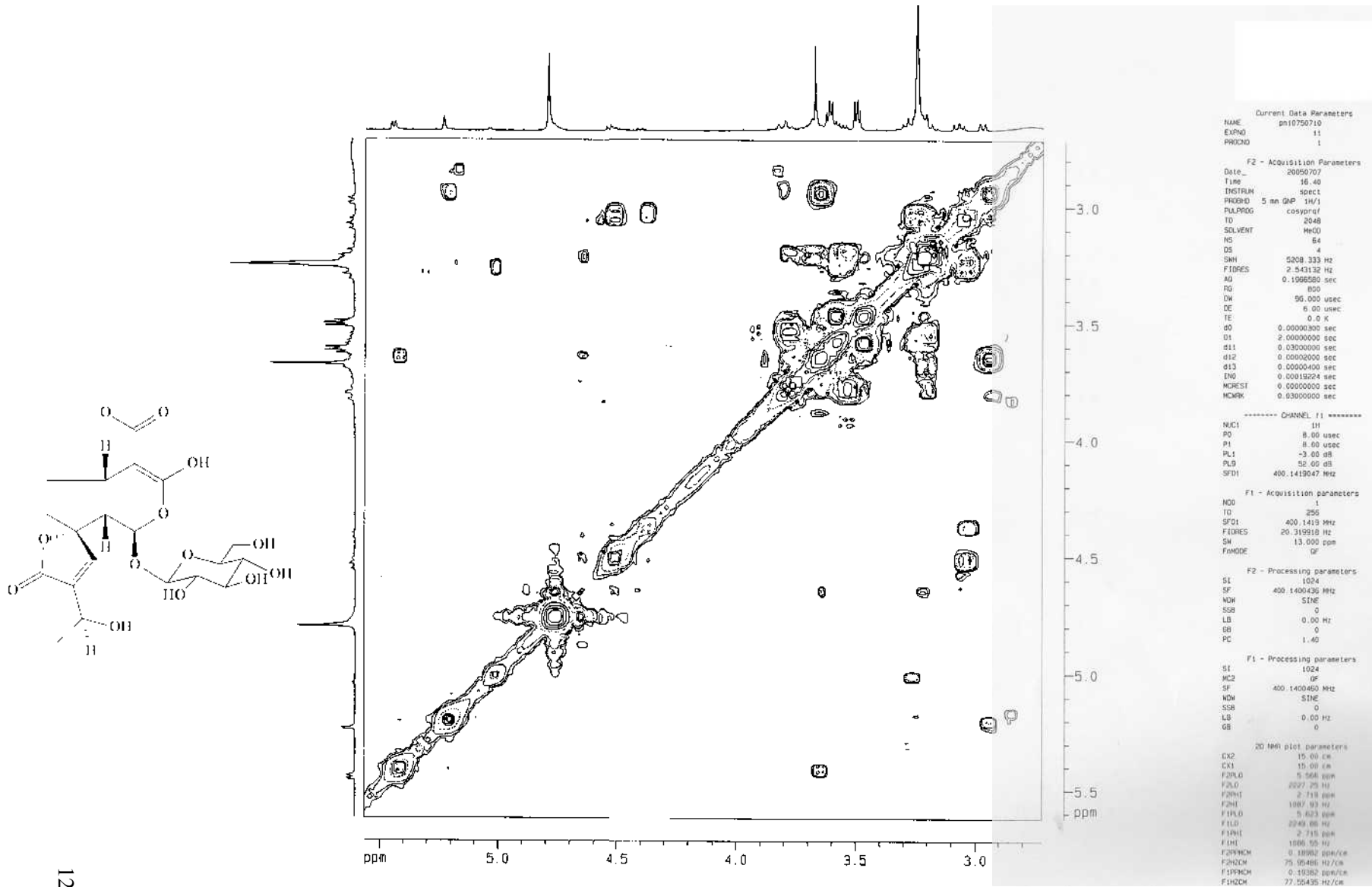
F2 - Processing parameters
SI         1024
SF        400.1400436 MHz
WDW        SINC
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         1024
SF        400.1400436 MHz
WDW        SINC
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0

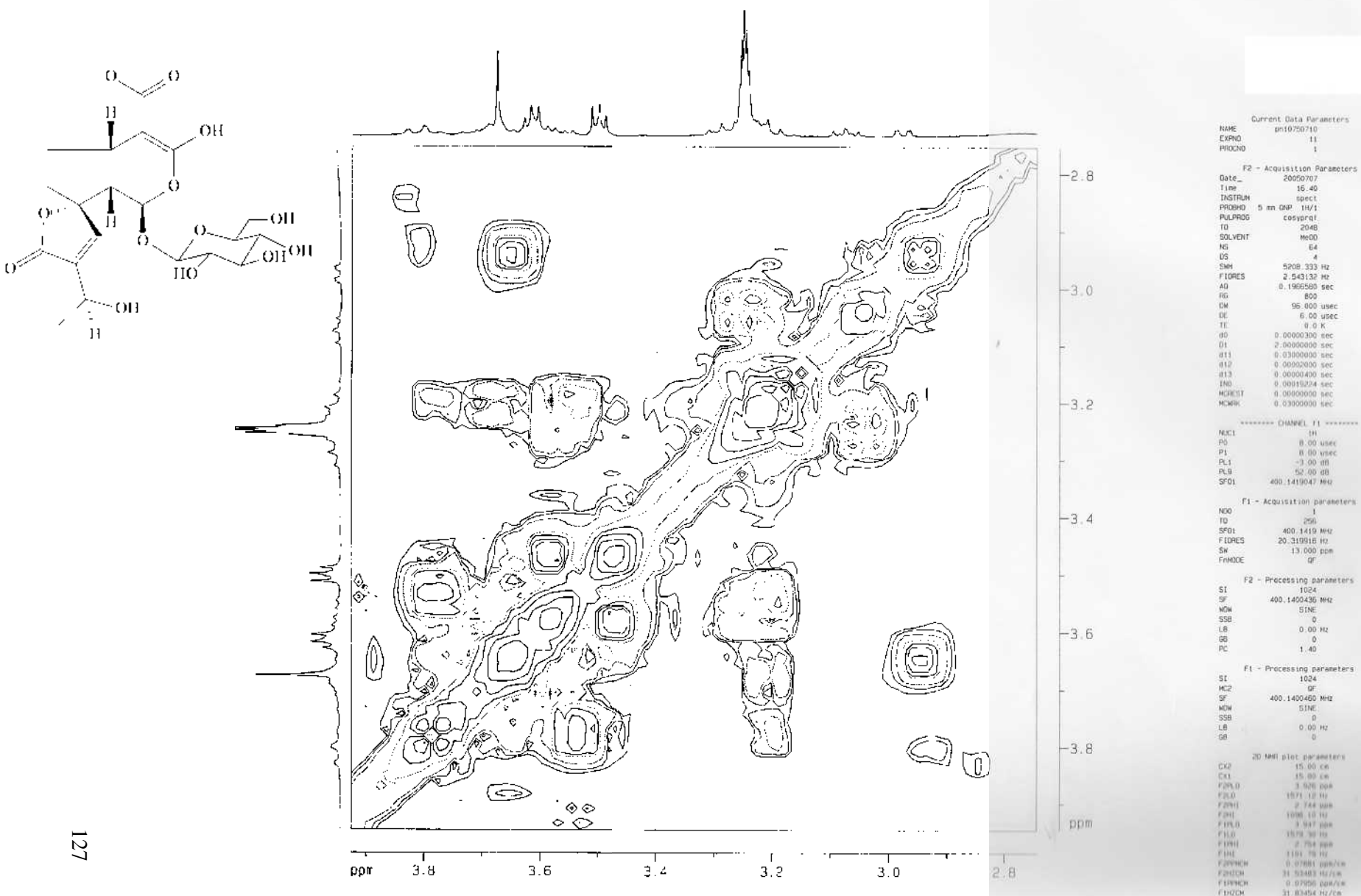
2D NMR plot parameters
CX2        15.60 cm
CX1         15.60 cm
F2PLD      7.584 ppm
F2L0       3038.78 Hz
F2PH1      2.789 ppm
F2H1       1116.17 Hz
F2PL0      7.648 ppm
F2L1       3060.11 Hz
F2PH1      2.773 ppm
F2H1       1109.40 Hz
F2PHCHN    0.32032 ppm/cm
F2HZCHN    129.17384 Hz/cm
F1PHCHN    0.32500 ppm/cm
F1HZCHN    130.04749 Hz/cm

```

Espectro 28 – 2ª expansão do espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)

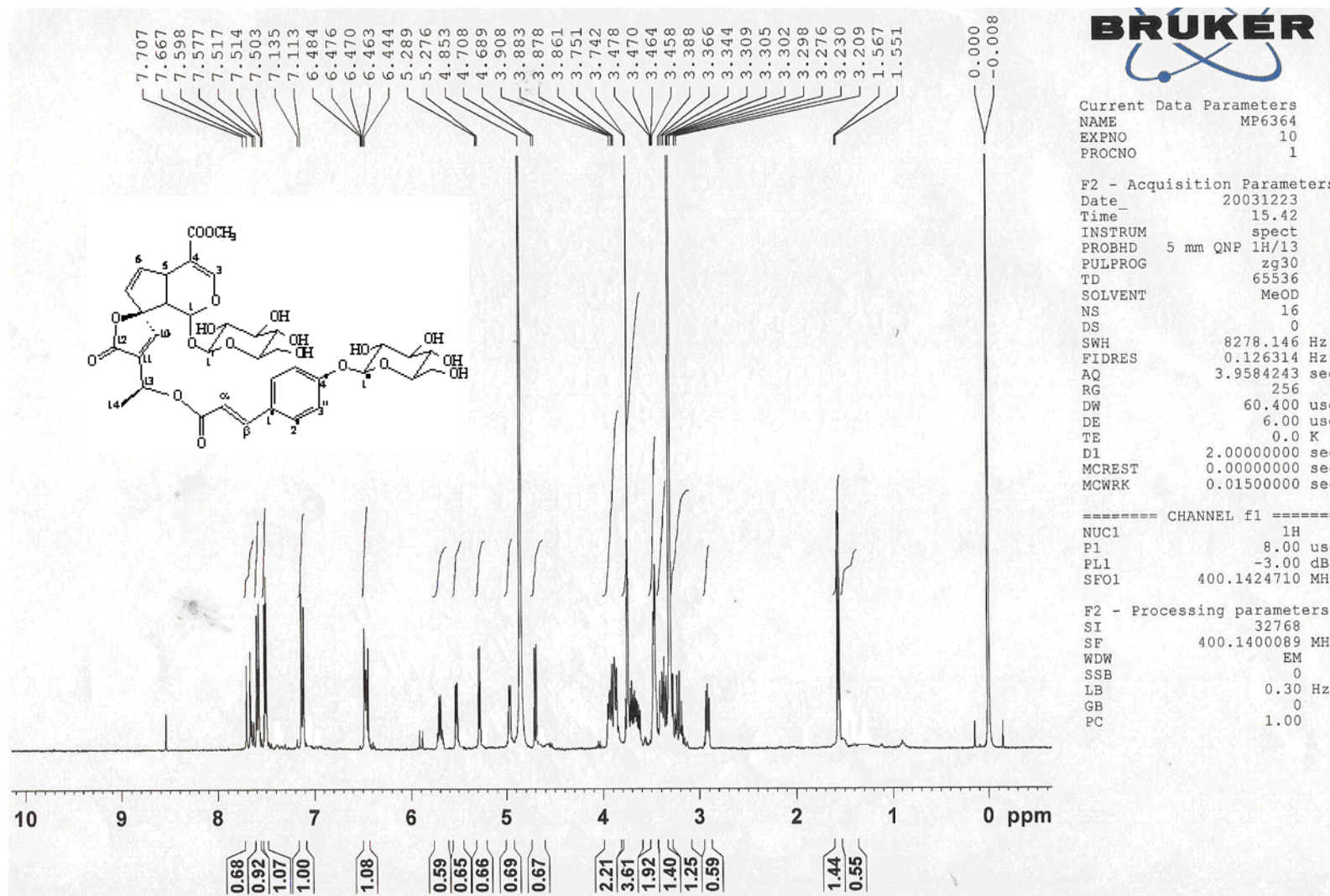


Espectro 29 – 3ª expansão do espectro COSY<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)

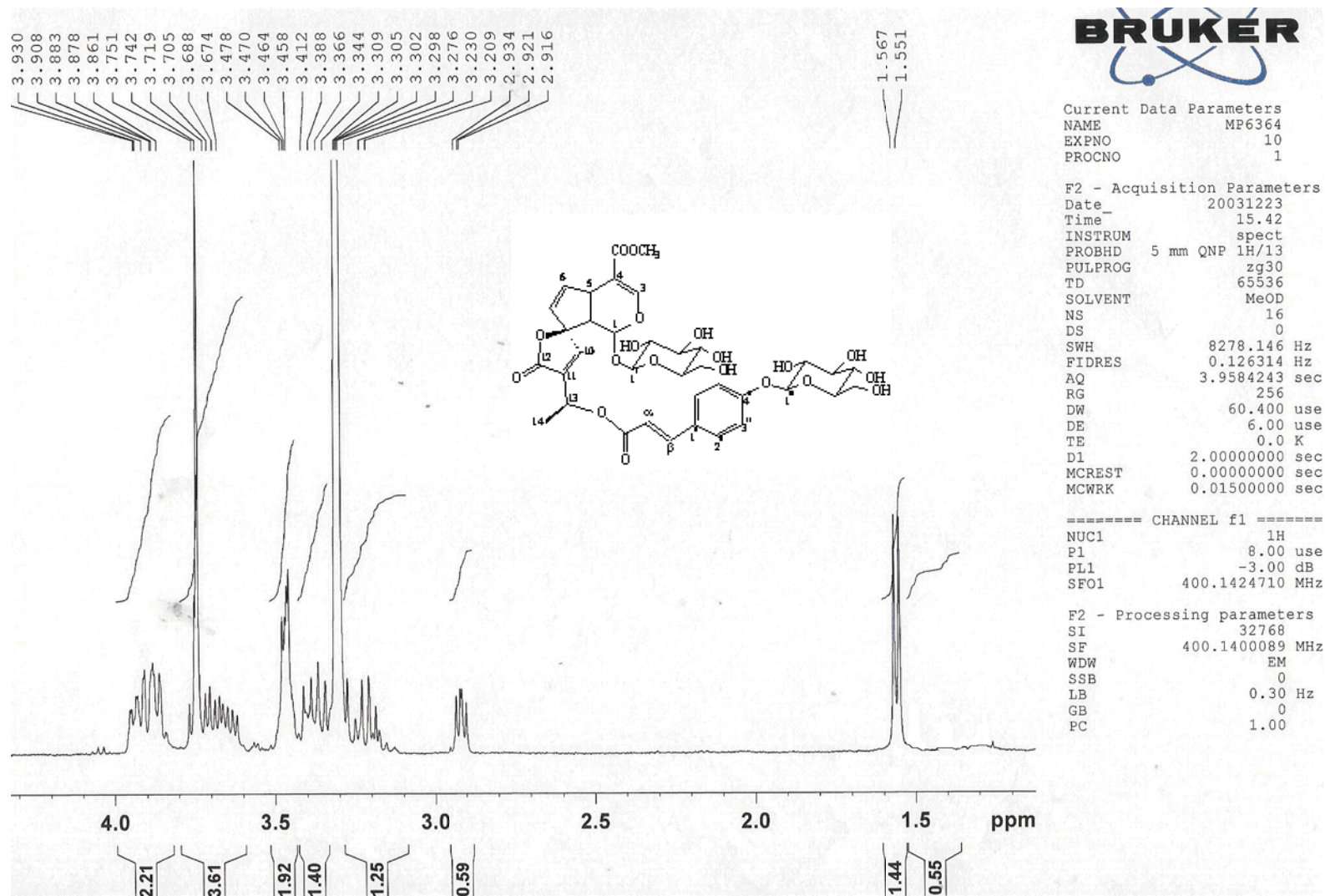


Espectro 30 – 4ª expansão do espectro COSY $^1\text{H}\times^1\text{H}$  (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)

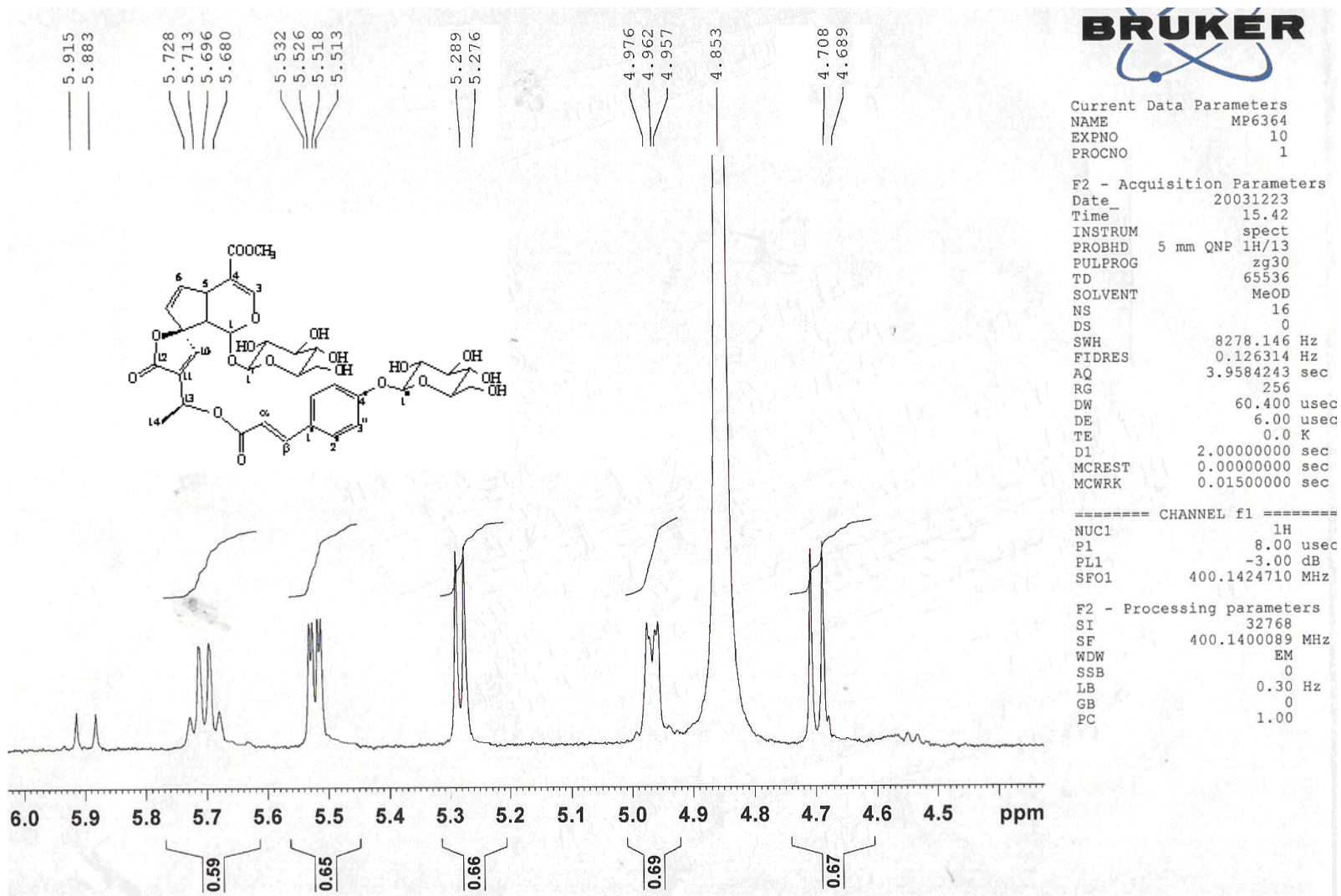




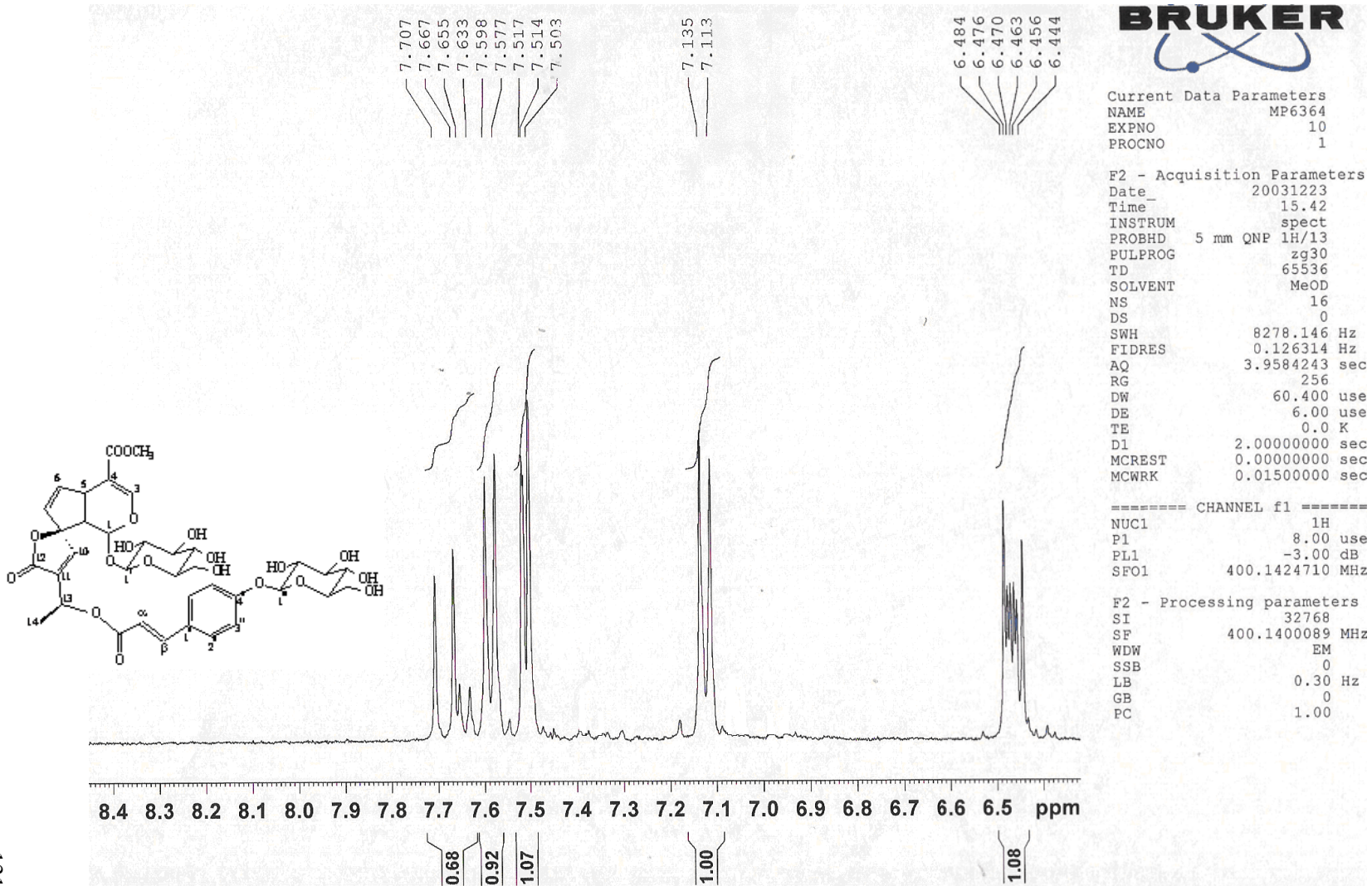
Espectro 31 – Espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



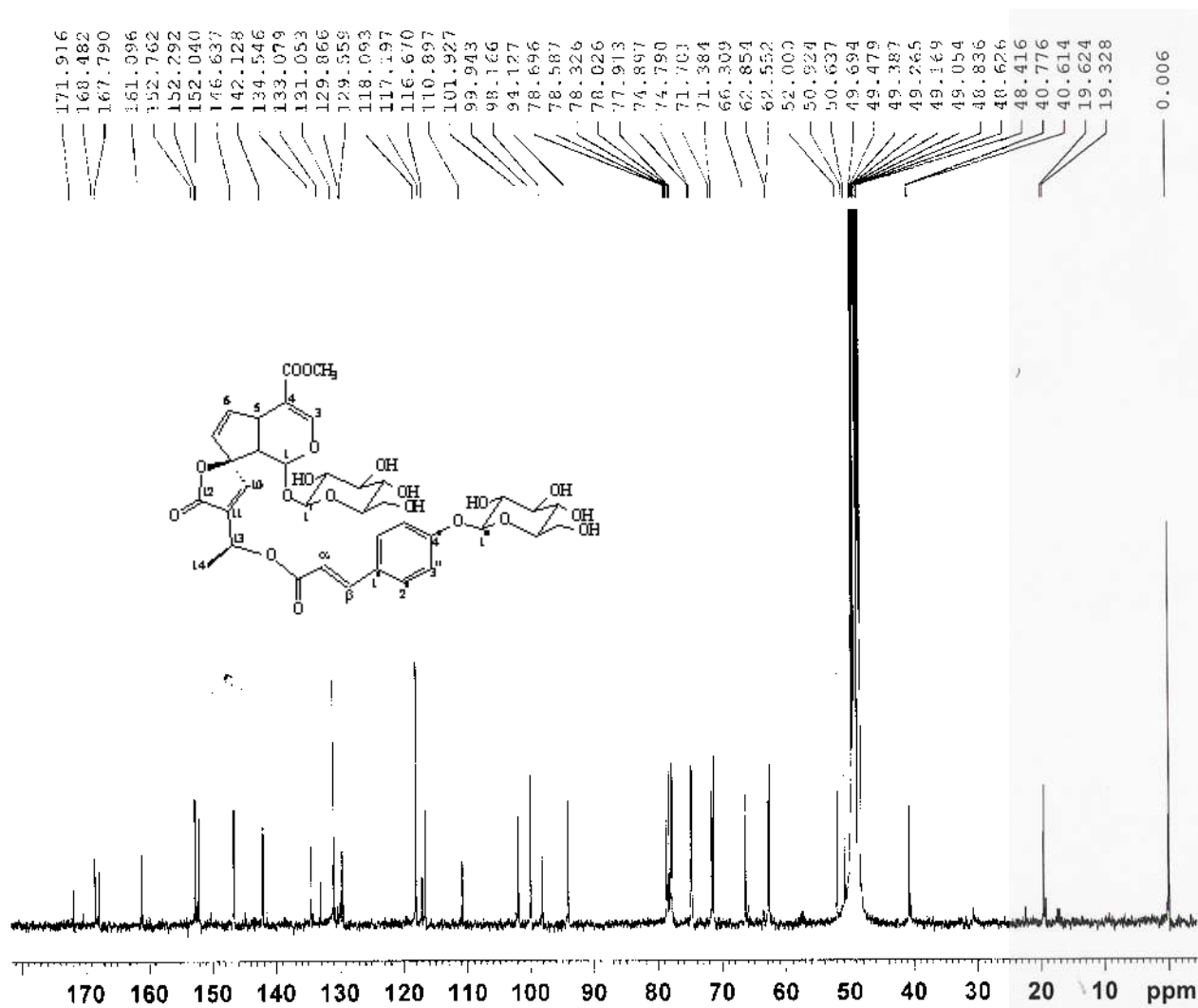
Espectro 32 – 1ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Espectro 33 – 2ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Espectro 34 – 3ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



**BRUKER**

Current Data Parameters  
 NAME MP6364  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

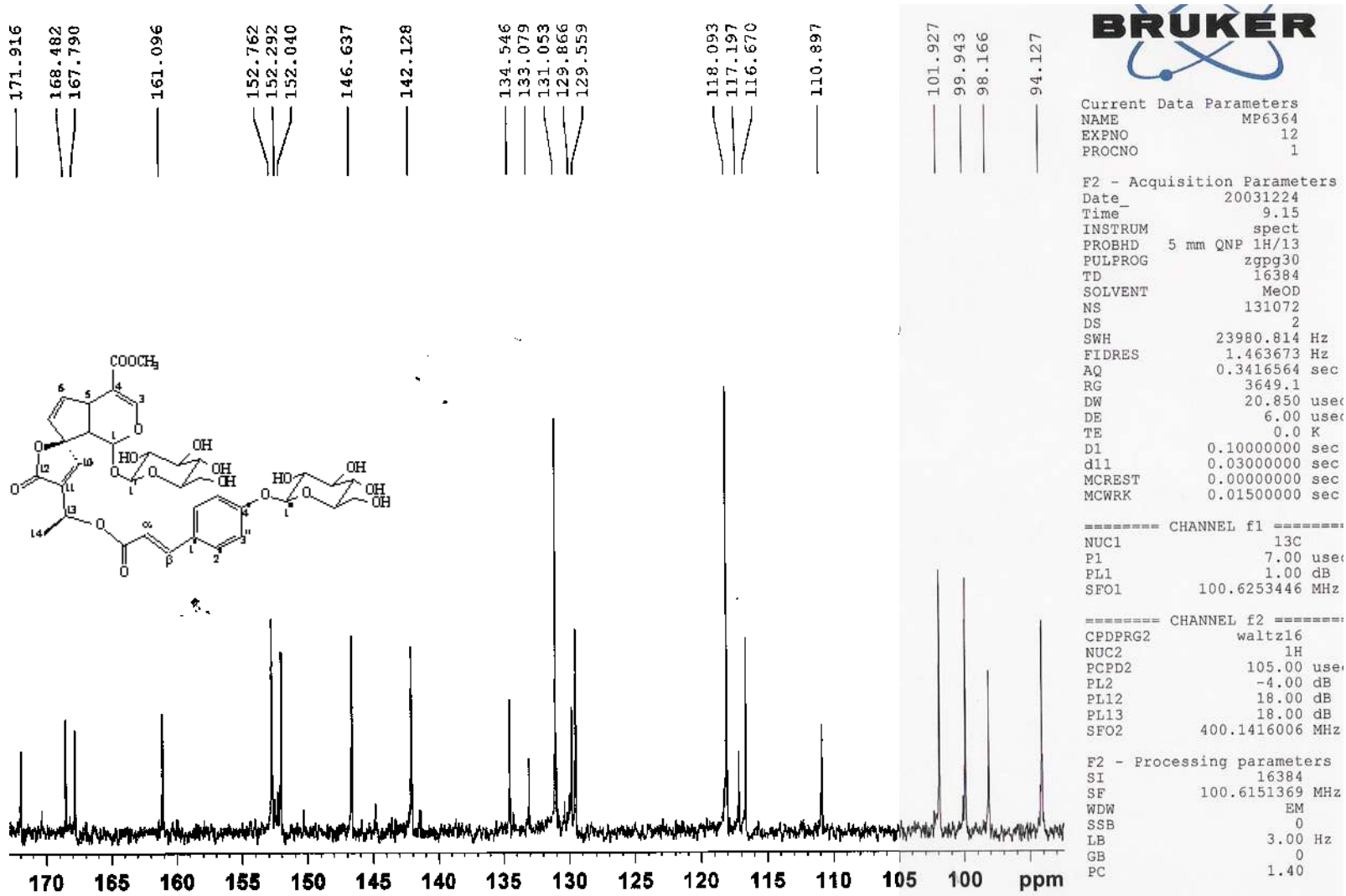
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20031224  
 Time\_ 9.15  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT MeOD  
 NS 131072  
 DS 2  
 SWH 23980.814 Hz  
 FIDRES 1.463673 Hz  
 AQ 0.3416564 sec  
 RG 3649.1  
 DW 20.850 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 7.00 usec  
 PL1 1.00 dB  
 SFO1 100.6253446 MHz

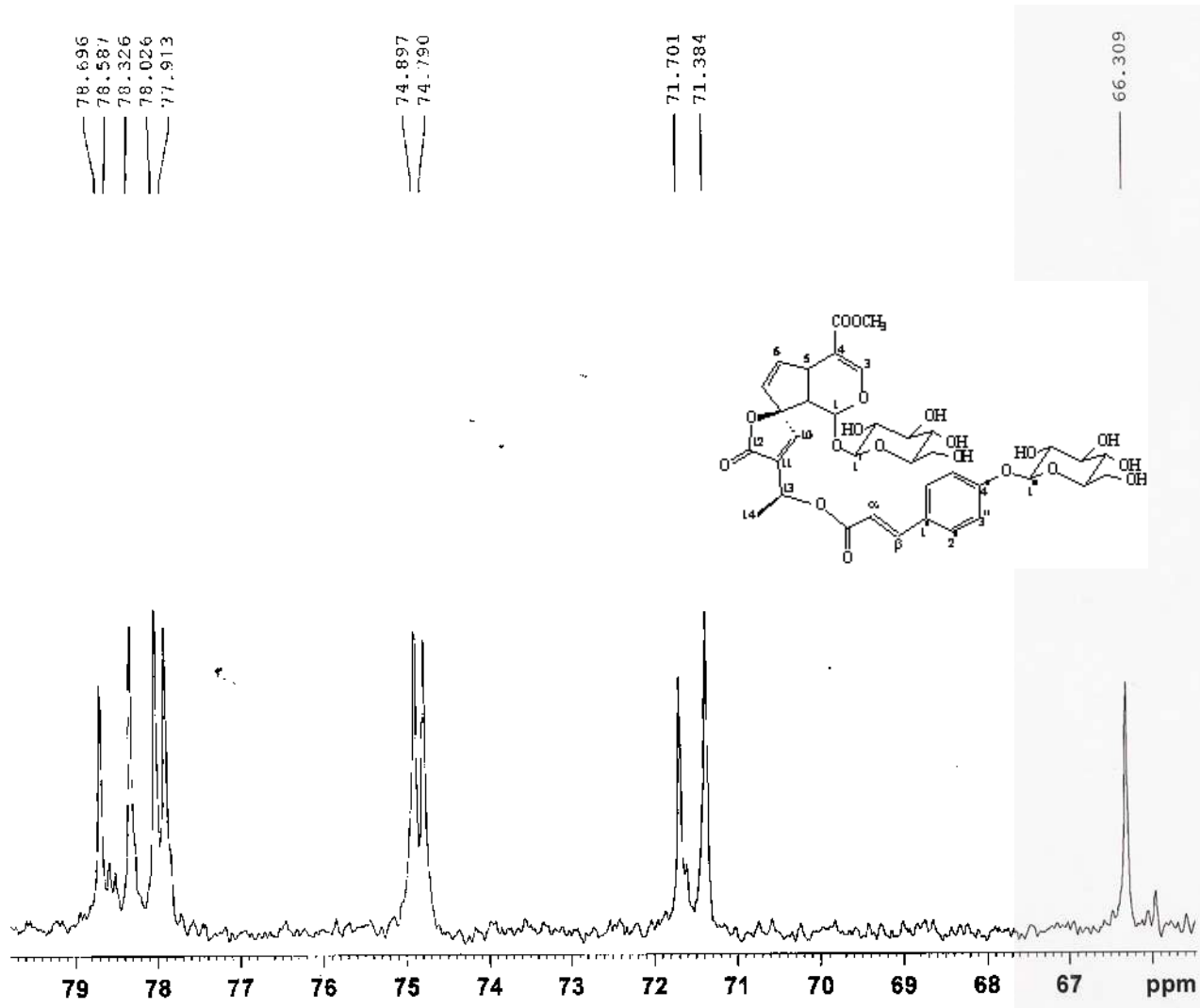
===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 105.00 usec  
 PL2 -4.00 dB  
 PL12 18.00 dB  
 PL13 18.00 dB  
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 100.6151369 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Espectro 35 – Espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Espectro 36 – 1ª expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
 NAME MP6364  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20031224  
 Time\_ 9.15  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT MeOD  
 NS 131072  
 DS 2  
 SWH 23980.814 Hz  
 FIDRES 1.463673 Hz  
 AQ 0.3416564 sec  
 RG 3649.1  
 DW 20.850 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

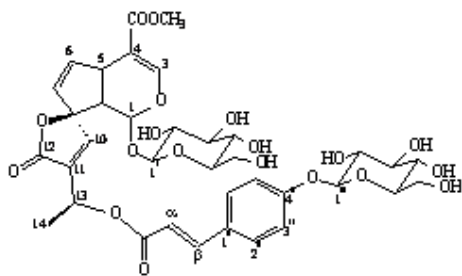
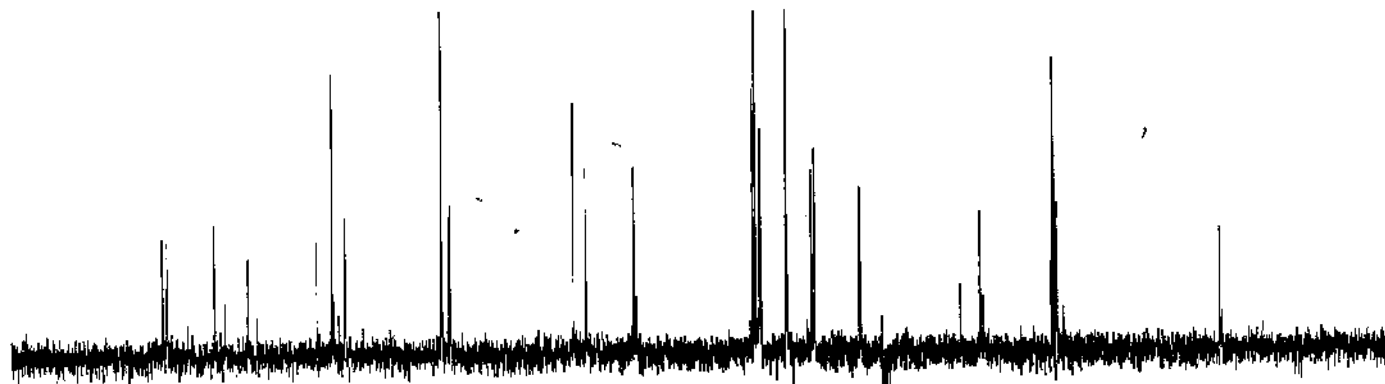
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 7.00 usec  
 PL1 1.00 dB  
 SFO1 100.6253446 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 105.00 usec  
 PL2 -4.00 dB  
 PL12 18.00 dB  
 PL13 18.00 dB  
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 100.6151369 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Espectro 37 – 2ª expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)

151.31  
150.73  
144.73  
143.44  
140.49  
131.87  
129.93  
129.80  
128.34  
116.38  
116.23  
115.37  
115.18  
99.70  
98.14  
98.03  
92.00  
91.72  
77.19  
77.07  
76.86  
76.36  
76.30  
76.18  
72.95  
72.79  
72.06  
69.84  
69.78  
69.58  
69.40  
63.75  
63.55  
60.90  
60.73  
60.40  
60.03  
51.16  
48.75  
48.34  
39.85  
39.68  
39.51  
39.35  
39.18  
39.07  
18.67



Current Data Parameters  
NAME FN10750705  
EXPNO 13  
PROCNO 1

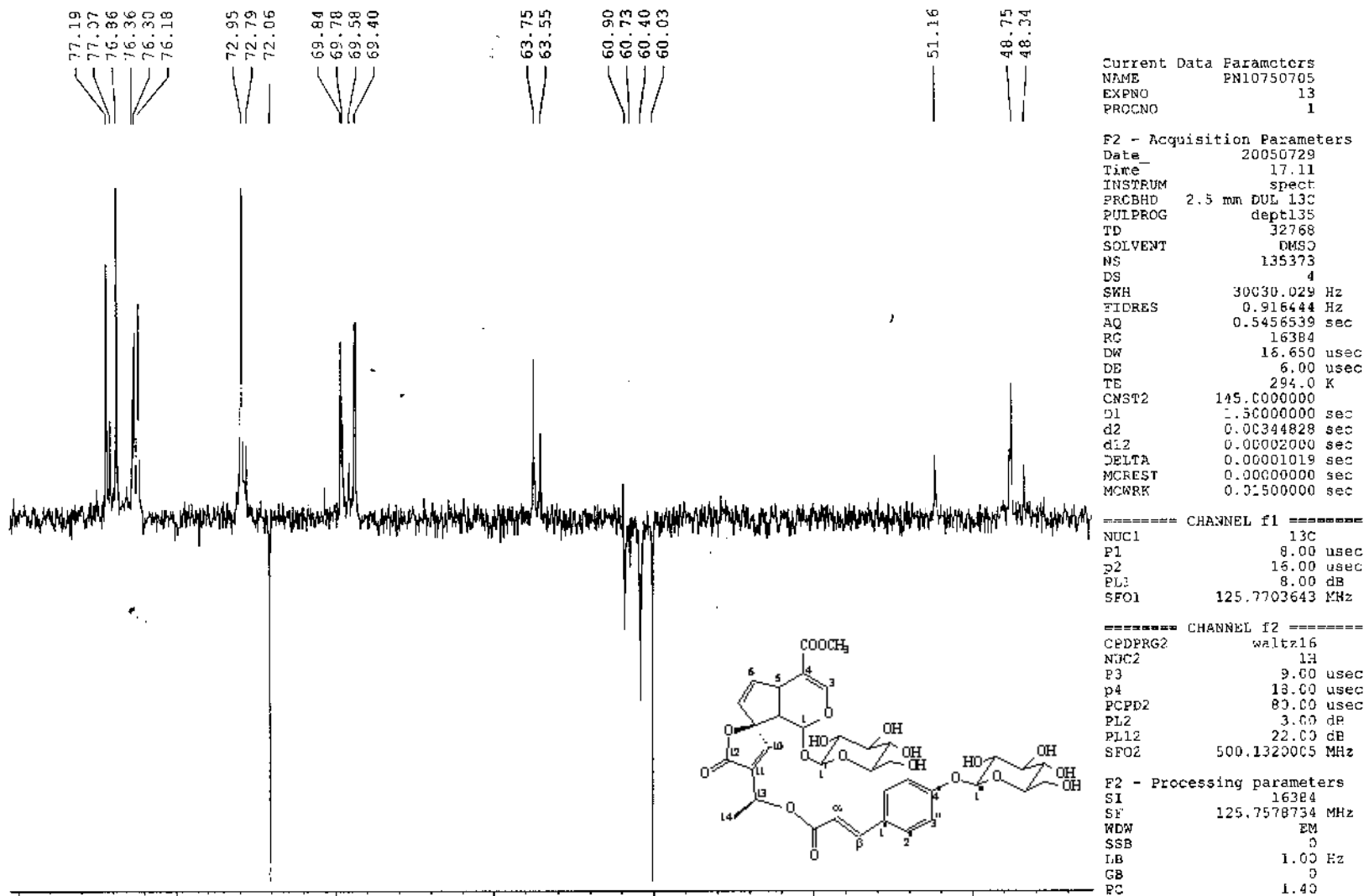
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20050729  
Time\_ 9.57  
INSTRUM spect  
PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
PULPROG dept135  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 25567  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 0.916444 Hz  
AQ 0.5456539 sec  
RG 16384  
DW 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 294.5 K  
CNST2 145.0000000  
d1 1.50000000 sec  
d2 0.00344828 sec  
d12 0.00002000 sec  
DELTA 0.00001019 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 8.00 usec  
p2 16.00 usec  
PL1 9.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

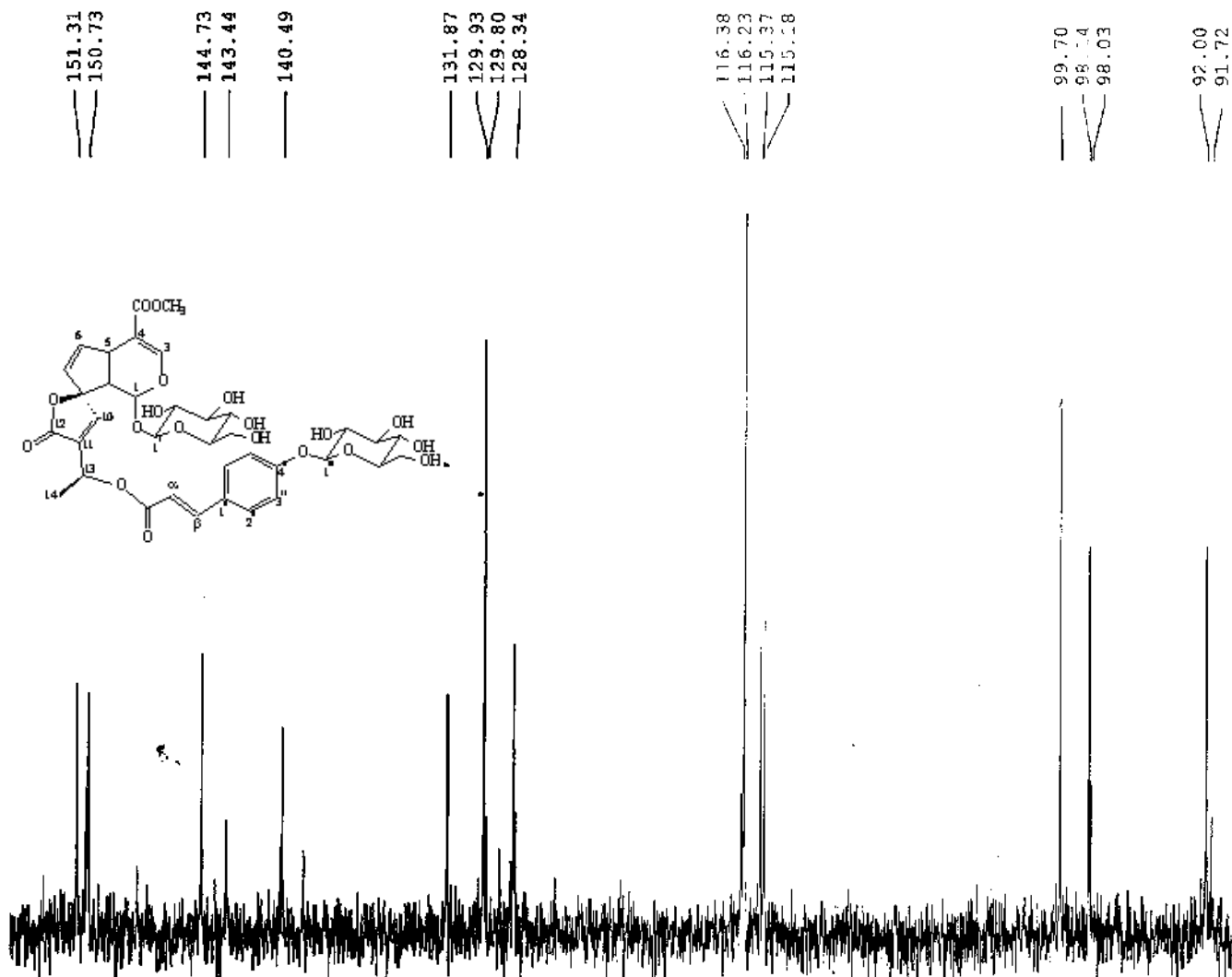
===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
P3 9.00 usec  
p4 18.00 usec  
PCPD2 80.00 usec  
PL2 3.00 dB  
PL12 22.00 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 16384  
SF 125.7578734 MHz  
WDW EM





Espectro 39 – 1ª Expansão do espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
NAME PN10750705  
EXFNO 13  
PROCNO 1

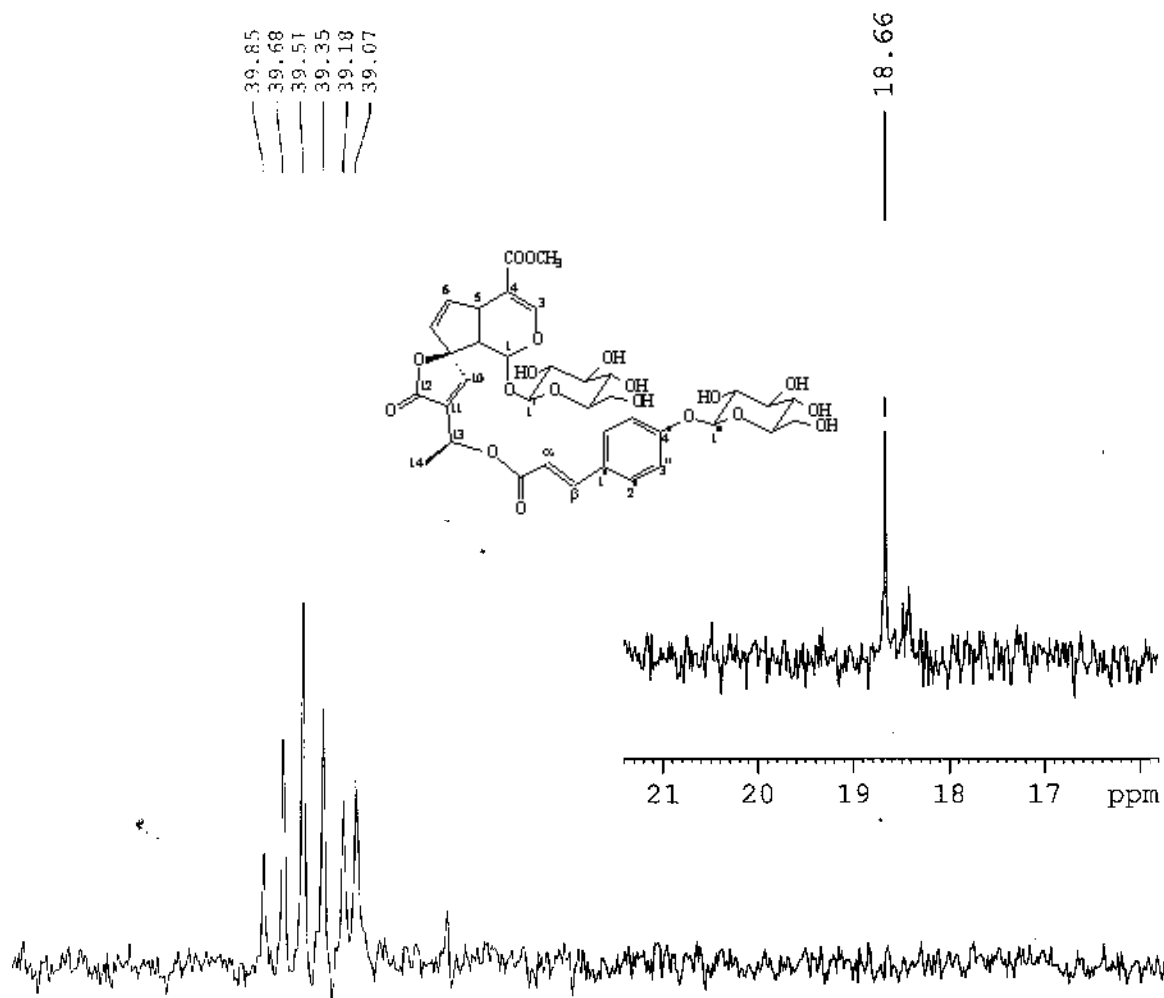
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20050729  
Time 17.11  
INSTRUM spect  
PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
PULPROG dept135  
TD 32768  
SOLVENT DMSO  
NS 135373  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 3.916444 Hz  
AQ 0.5436539 sec  
RG 16384  
DW 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 294.0 K  
CNST2 145.0000000  
D1 1.50000000 sec  
c2 0.00344828 sec  
d12 0.00002000 sec  
DELTA 0.00001019 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWEK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 8.00 usec  
p2 16.00 usec  
PL1 8.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
P3 9.00 usec  
p4 18.00 usec  
PCPD2 80.00 usec  
PL2 3.00 dB  
PL12 22.00 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 16384  
SI 16384

Espectro 40 – 2ª Expansão do espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
 NAME FN10750705  
 EXPNO 13  
 PROCNO 1

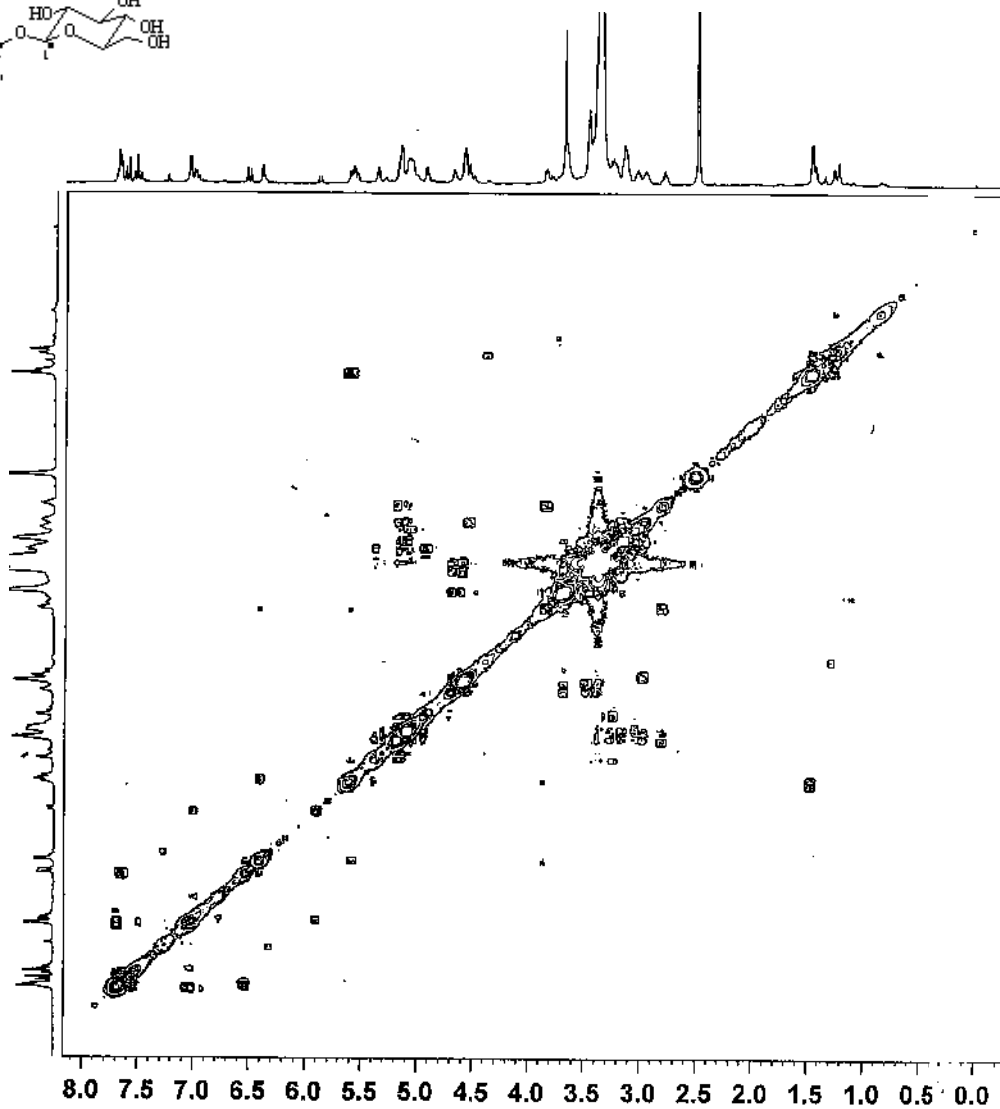
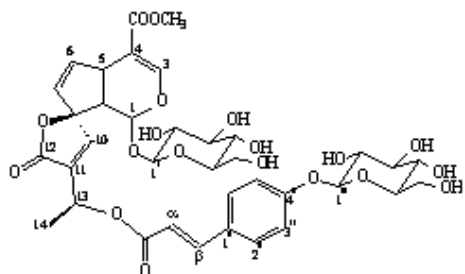
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050729  
 Time\_ 17.11  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm JYL 13C  
 PULPROG dept135  
 ID 32768  
 SOLVENT DMSO  
 NS 135373  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.916444 Hz  
 AQ 0.5456539 sec  
 RG 16384  
 DW 16.650 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.0 K  
 CNST2 145.0000000  
 d1 1.50000000 sec  
 d2 0.00344828 sec  
 d12 0.00002000 sec  
 DELTA 0.00001019 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 8.00 usec  
 P2 16.00 usec  
 PL1 8.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 P3 9.00 usec  
 P4 18.00 usec  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 3.00 dB  
 PL12 22.00 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 125.7578734 MHz  
 WDW EM

Espectro 41 – 3ª Expansão do espectro DEPT (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



```

Current Data Parameters
NAME      PN10750705
EXPNO     11
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20050728
Time      13.41
INSTRUM   spect
PROBHD    2.5 mm PUL 13C
PULPROG   ccsygfsc
TD         2048
SOLVENT   DMSO
NS         32
DS         4
SWE        5482.456 Hz
FIDRES     2.676980 Hz
AQ         0.1869188 sec
RG         1024
DW         91.200 usec
DE         6.00 usec
TE         294.2 K
d0         0.0000300 sec
d1         1.0000000 sec
INO        0.00018178 sec
MCREST     0.0000000 sec
MCWRK     1.0000000 sec

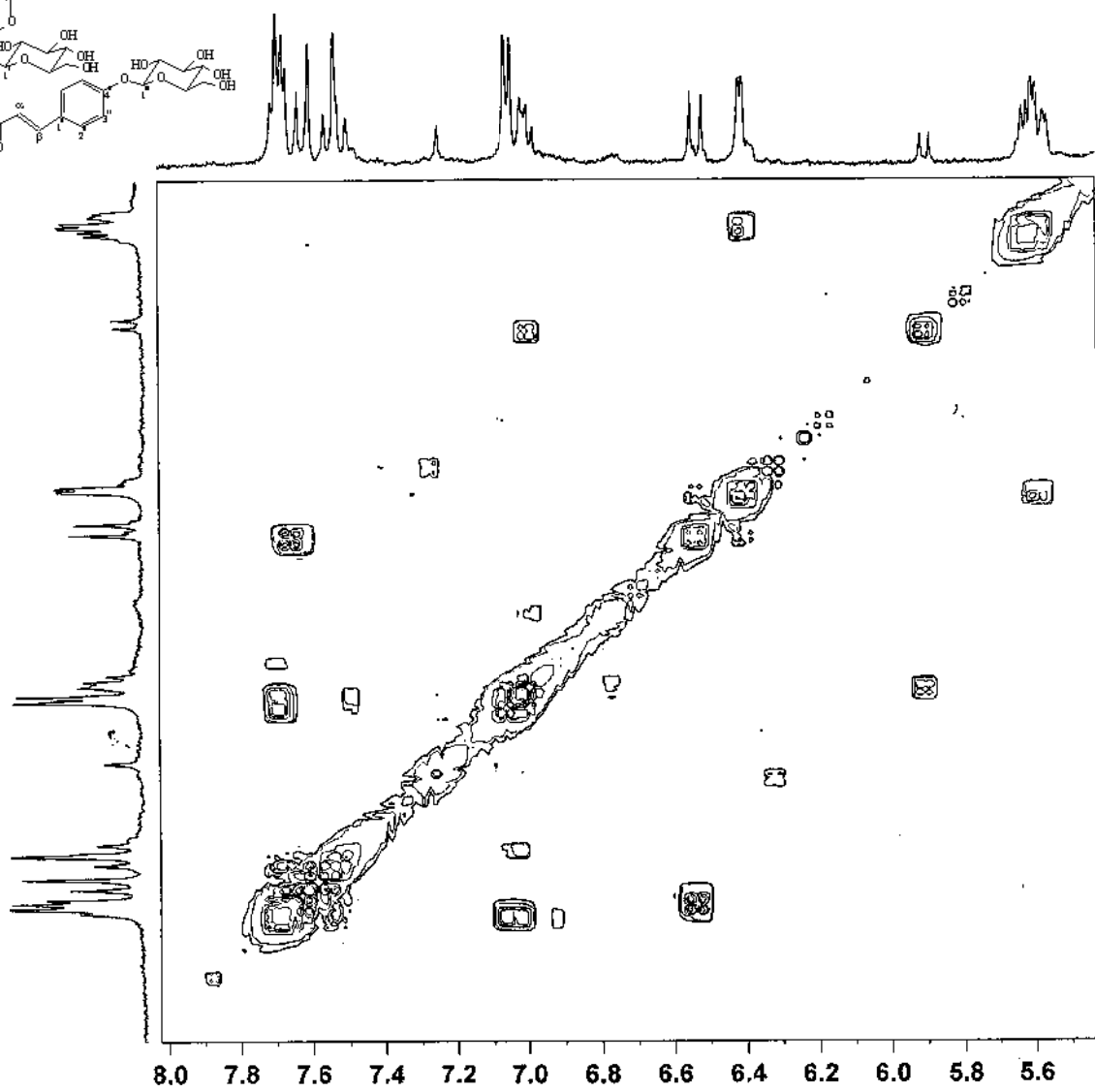
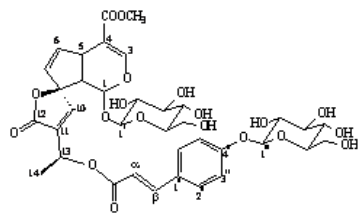
----- CHANNEL f1 -----
NUC1       1H
P1         9.00 usec
PL1        3.00 dB
SFO1       500.1323164 MHz

F1 - Acquisition parameters
ND0        1
TD         92
SFO1       500.1323 MHz
FIDRES     59.796810 Hz
SN         11.000 ppm
FMODE      QT

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         500.1300004 MHz
WDW        SINE
SSB        C
LB         0.00 Hz
GB         C
PC         1.00

F1 - Processing parameters
SI         1024
MC2        CF
SF         500.1299925 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GR         0
  
```

Espectro 42 – Espectro COSY <sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data parameters  
 NAME FN10750705  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050728  
 Time 13.41  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
 PULPROG cosyqf90  
 TD 2048  
 SOLVENT DMSO  
 NS 32  
 DS 4  
 SWH 5482.456 Hz  
 FIDRES 2.676980 Hz  
 AQ 0.1869188 sec  
 RG 1024  
 DW 91.200 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.1 K  
 d0 0.00000300 sec  
 D1 1.00000000 sec  
 INO 0.00018178 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 1.00000000 sec

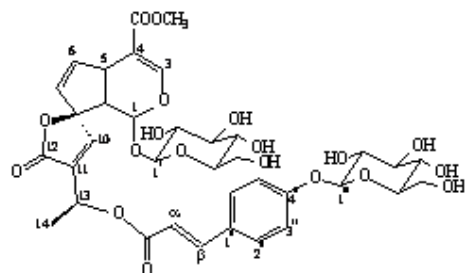
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 9.00 usec  
 PLL 3.00 dB  
 SFO1 500.1323164 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 ND0 1  
 TD 92  
 SFO1 500.1323 MHz  
 FIDRES 59.796810 Hz  
 SW 11.000 ppm  
 FMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 500.1300004 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 1024  
 MC2 QF  
 SF 500.1299925 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

Espectro 43 – 1ª Expansão do espectro COSY <sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
 NAME PK10750795  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

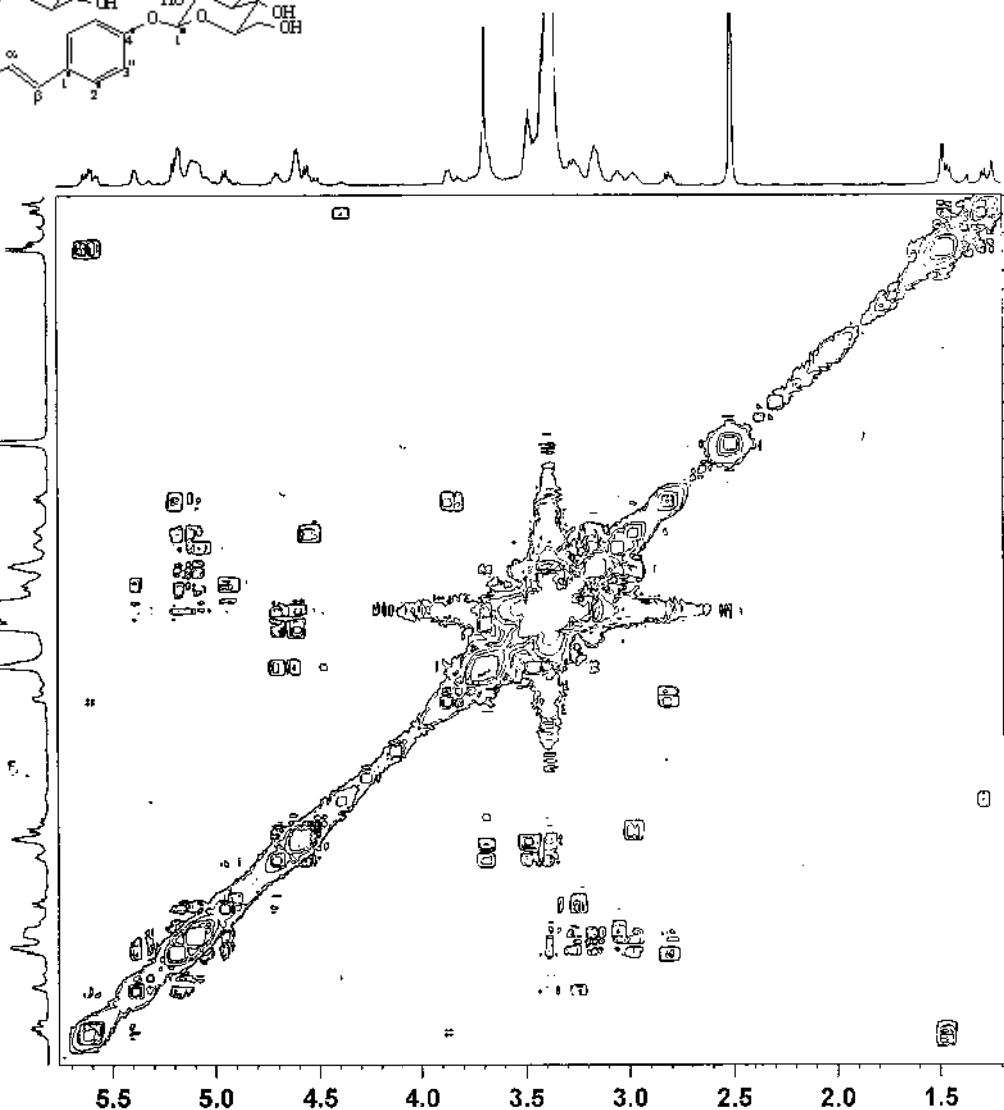
Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050728  
 Time 13.41  
 INSTRUM spect  
 PROBRD 2.5 mm QNP 13C  
 PULPROG cosyqf9c  
 TD 2048  
 SOLVENT DMSO  
 NS 32  
 DS 4  
 SWH 5482.456 Hz  
 FIDRES 2.675260 Hz  
 AQ 0.1869188 sec  
 RG 1024  
 DW 91.200 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.1 K  
 d0 0.0000000 sec  
 d1 1.0000000 sec  
 INO 0.00018178 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWRR 1.0000000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P1 9.00 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 500.1323154 MHz

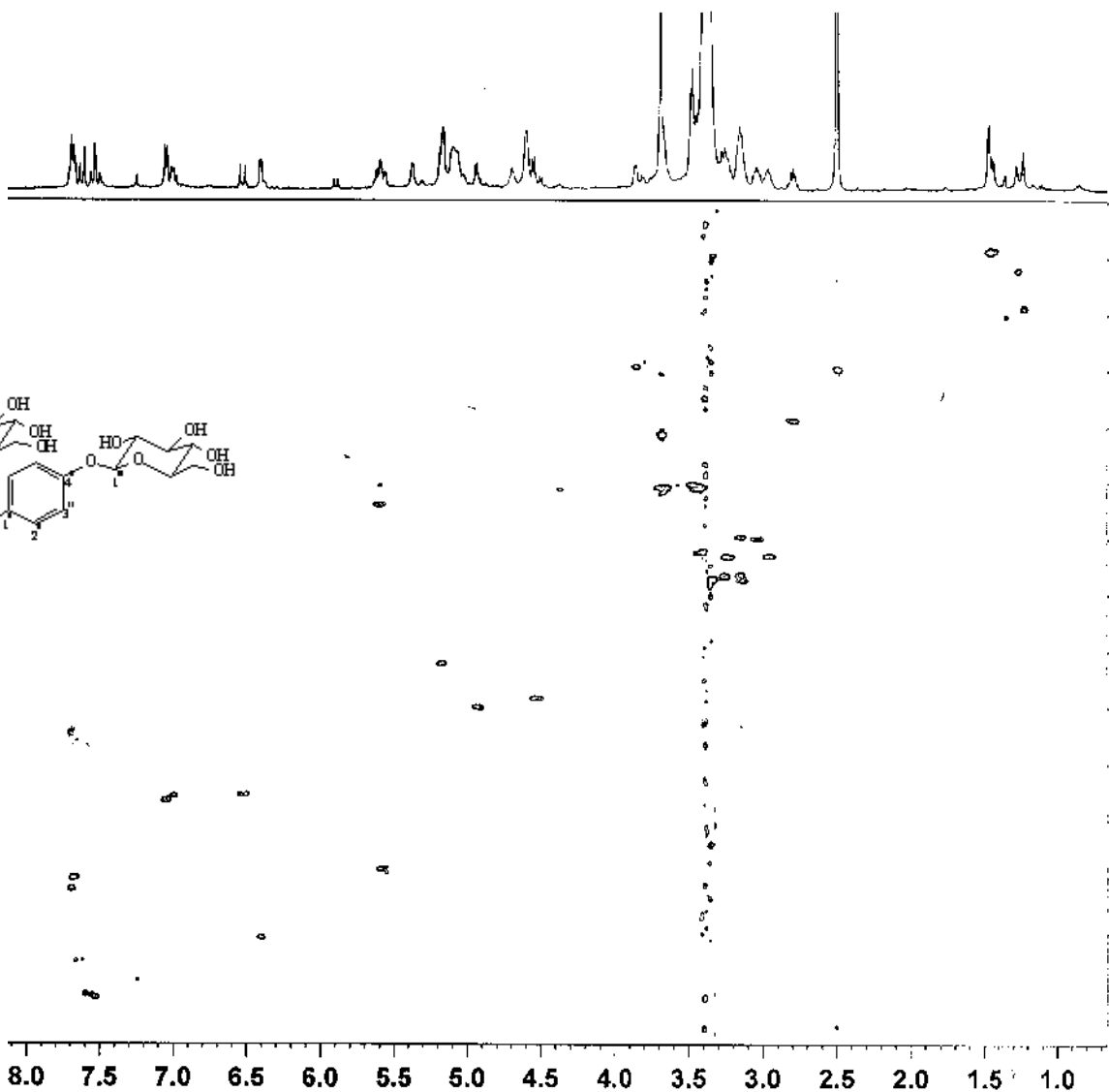
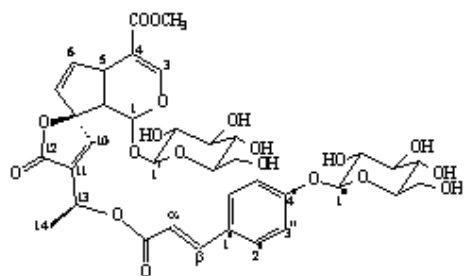
F1 - Acquisition parameters  
 N20 1  
 TD 92  
 SFO1 500.1323 MHz  
 FIDRES 59.796810 Hz  
 SW 11.000 ppa  
 FWHM02 0F

F2 - Processing parameters  
 ST 1024  
 SF 500.1300009 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 GB 0.00 Hz  
 CB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 1024  
 MC2 0F  
 SF 500.1259925 MHz  
 WLW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0



Espectro 44 – 2ª Expansão do espectro COSY <sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
 NAME PN1J750705  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050728  
 Time 16.12  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
 PULPROG hmqcbiph  
 TD 1924  
 SOLVENT DMSO  
 NS 64  
 DS 16  
 SWH 7002.901 Hz  
 FIDRES 6.838673 Hz  
 AQ 0.0732350 sec  
 RG 4597.6  
 DW 71.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 293.8 K  
 CNST2 145.0000000  
 d0 0.00000300 sec  
 D1 1.50000000 sec  
 d2 0.00344828 sec  
 D7 0.40000001 sec  
 INO 0.00002339 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWK 0.75000000 sec  
 STCNT 128

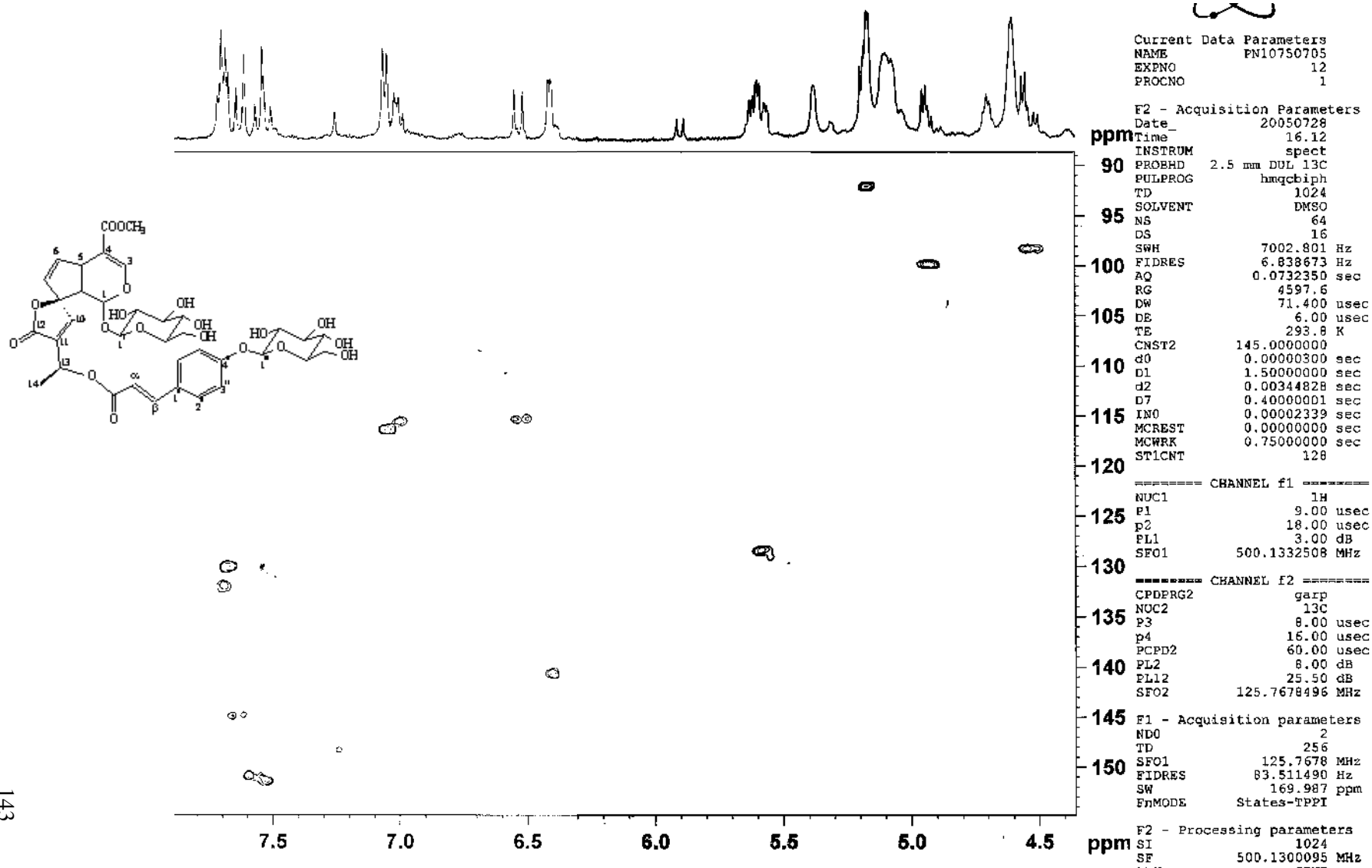
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 9.60 usec  
 p2 18.00 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 500.1332508 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 garp  
 NUC2 13C  
 P3 9.00 usec  
 p4 16.00 usec  
 PCPD2 60.00 usec  
 PL2 8.00 dB  
 PL12 25.50 dB  
 SFO2 125.7678496 MHz

F2 - Acquisition parameters  
 NUC 2  
 TD 256  
 SFO1 125.7678 MHz  
 FIDRES 83.511490 Hz  
 SW 169.987 ppm  
 FNMODE States-TPPI

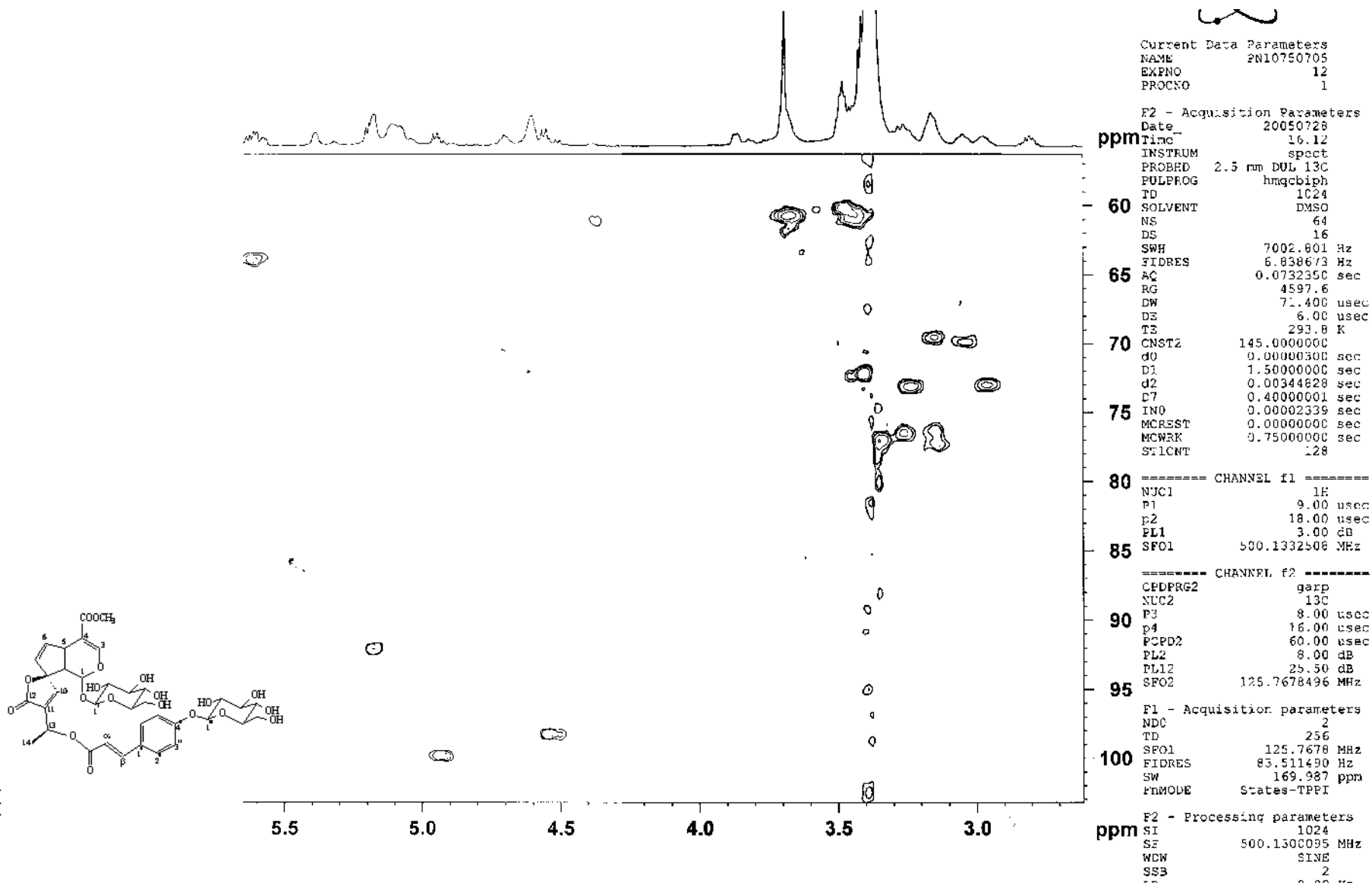
F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 500.1332508 MHz

Espectro 45 – Espectro HMQC (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)

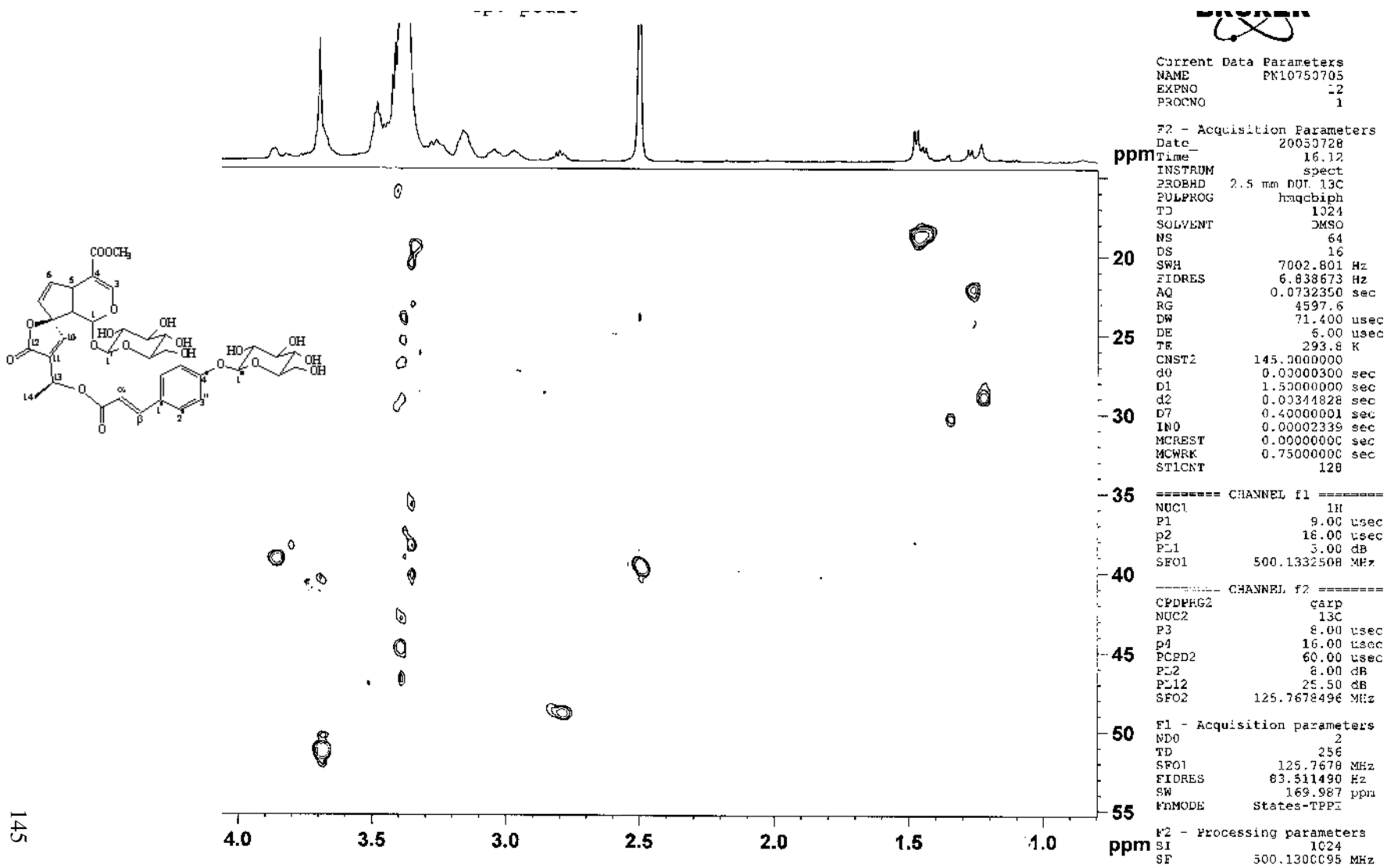


Espectro 46 – 1ª Expansão do espectro HMQC (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)





Espectro 47 – 2ª Expansão do espectro HMQC (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
 NAME PK10750705  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20030728  
 Time 16.12  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm DUT 13C  
 PULPROG hmqcbiph  
 TD 1024  
 SOLVENT DMSO  
 NS 64  
 DS 16  
 SWH 7002.801 Hz  
 FIDRES 6.838673 Hz  
 AQ 0.0732350 sec  
 RG 4597.6  
 DW 71.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 293.8 K  
 CNST2 145.0000000  
 d0 0.00000300 sec  
 D1 1.50000000 sec  
 d2 0.00341828 sec  
 D7 0.40000001 sec  
 IN0 0.00002339 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWFK 0.75000000 sec  
 ST1CNT 128

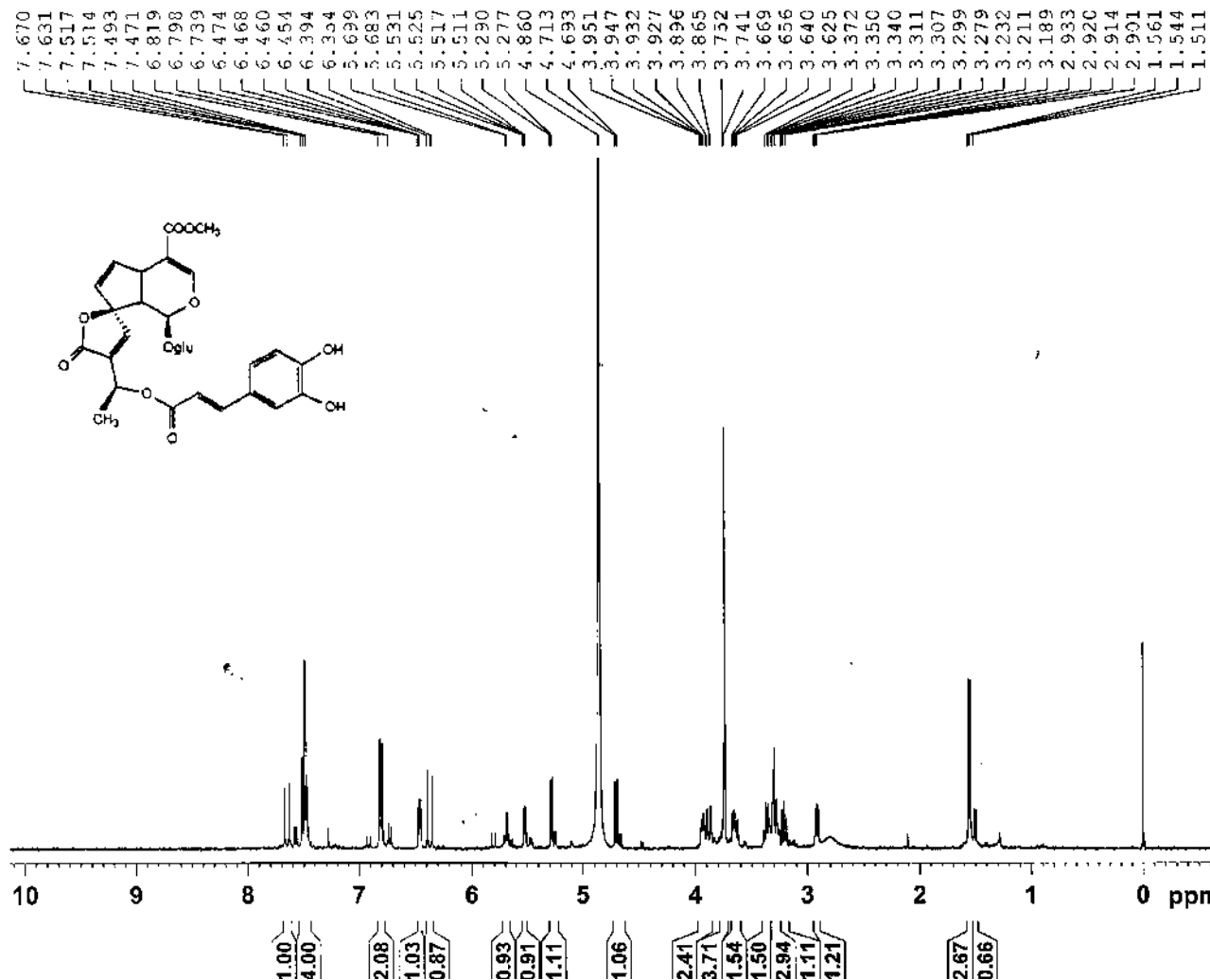
==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 9.00 usec  
 p2 18.00 usec  
 PL1 3.00 dB  
 SFO1 500.1332508 MHz

==== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 carp  
 NUC2 13C  
 P3 8.00 usec  
 p4 16.00 usec  
 PCPD2 60.00 usec  
 PL2 8.00 dB  
 PL12 25.50 dB  
 SFO2 125.7678496 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 ND0 2  
 TD 256  
 SFO1 125.7678 MHz  
 FIDRES 83.311490 Hz  
 SW 169.987 ppm  
 FvMODE States-TFPI

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 500.1300095 MHz

Espectro 48 – 3ª Expansão do espectro HMQC (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Current Data Parameters  
NAME HS61C-2  
EXPNO 10  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20050321  
Time\_ 8.33  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 0  
SWH 8278.146 Hz  
FIDRES 0.126314 Hz  
AQ 3.9584243 sec  
RG 2172.3  
DW 60.400 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
DL 2.0000000 sec  
MCREST 0.0000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

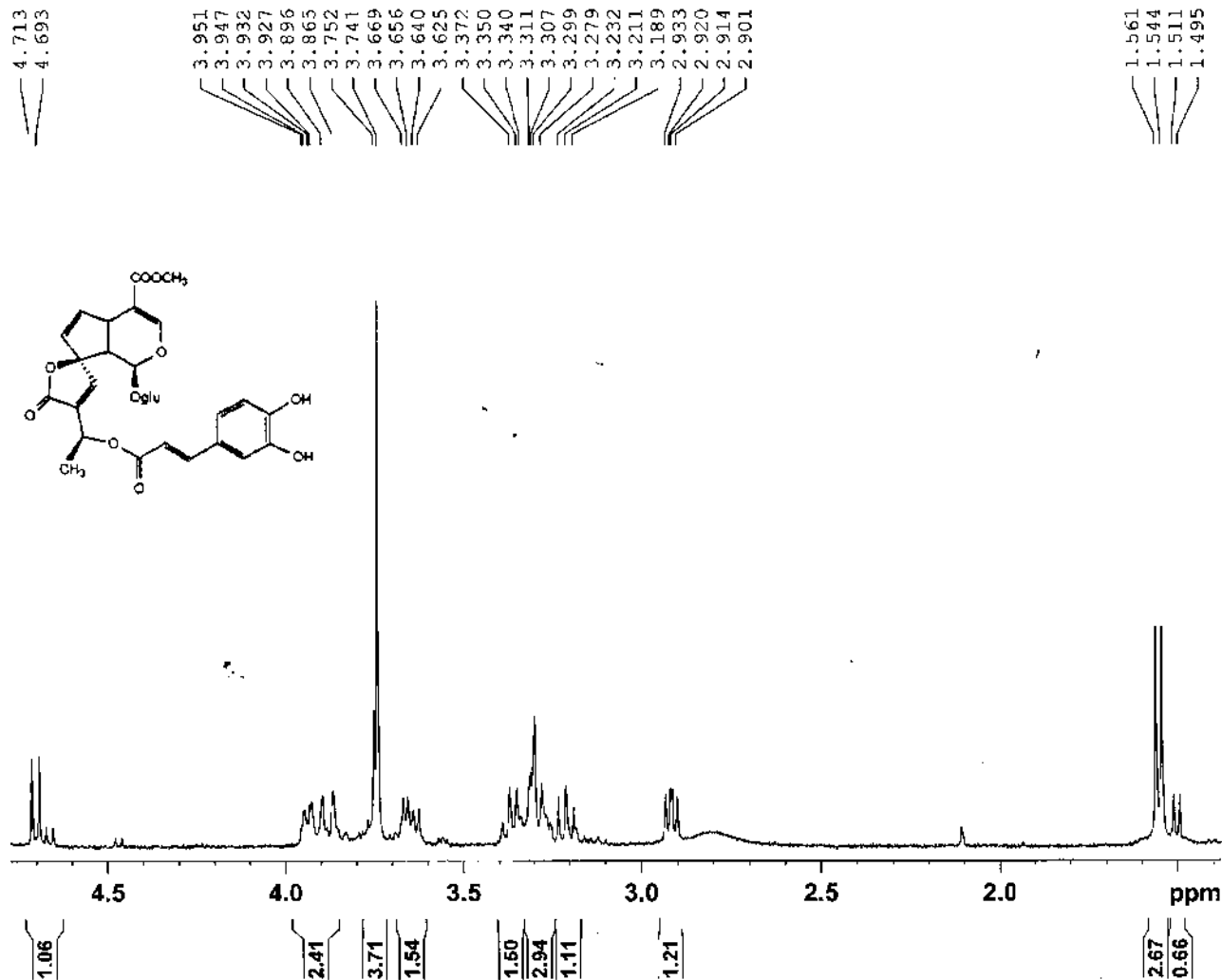
----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P1 8.00 usec  
PL1 -3.00 dB  
SF01 400.1424710 MHz

F1 - Acquisition parameters  
ND0 2  
TD 200  
SF01 100.6203 MHz  
FIDRES 85.011726 Hz  
SW 165.000 ppr.  
PnMODE undefined

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 400.1400381 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

F1 - Processing parameters  
SI 512  
MC2 echo-antiecho  
SF 100.6127117 MHz  
WDW no  
SSB 2  
LB 0.30 Hz  
GB 0.1

Espectro 49 – Espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierideo (HDCA- 4)



```

Current Data Parameters
NAME      HS61C-2
EXPNO    10
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20050321
Time      8.33
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   MeOD
NS         128
DS         0
SWH        8278.146 Hz
FIDRES     0.126314 Hz
AQ         3.9584243 sec
RG         2172.3
DW         60.400 usec
DE         6.00 usec
TE         0.0 K
D1         2.00000000 sec
MCREST    0.00000000 sec
MCWEX     0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P1         8.00 usec
PL1        -3.00 dB
SFO1       400.1424710 MHz

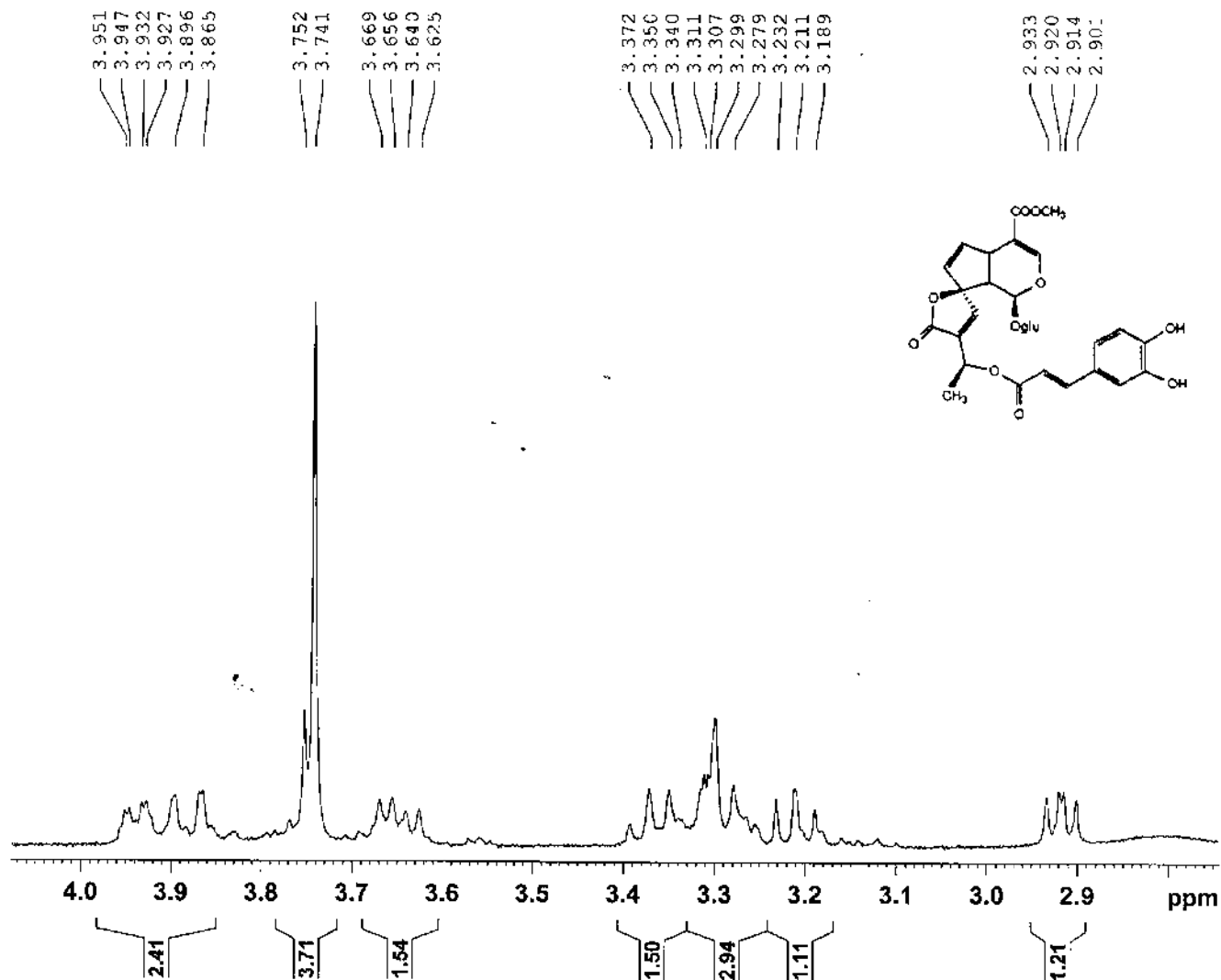
F1 - Acquisition parameters
ND0        2
TD         200
SFO1       100.6203 MHz
FIDRES     83.011726 Hz
SQ         165.000 ppm
F2MODE     undefined

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         400.1400081 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.00

F1 - Processing parameters
SI         512
MC2        echo-antiecho
SF         100.6127117 MHz
WDW        no
SSB        2
LB         0.30 Hz
GB         0.1

```

Espectro 50 – 1ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Current Data Parameters  
 NAME HS610-2  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050321  
 Time 8.33  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT MeCD  
 NS 128  
 DS 0  
 SWH 8278.146 Hz  
 FIDRES 0.126314 Hz  
 AQ 3.9584243 sec  
 RG 2172.3  
 DW 60.400 usec  
 DM 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 2.00000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

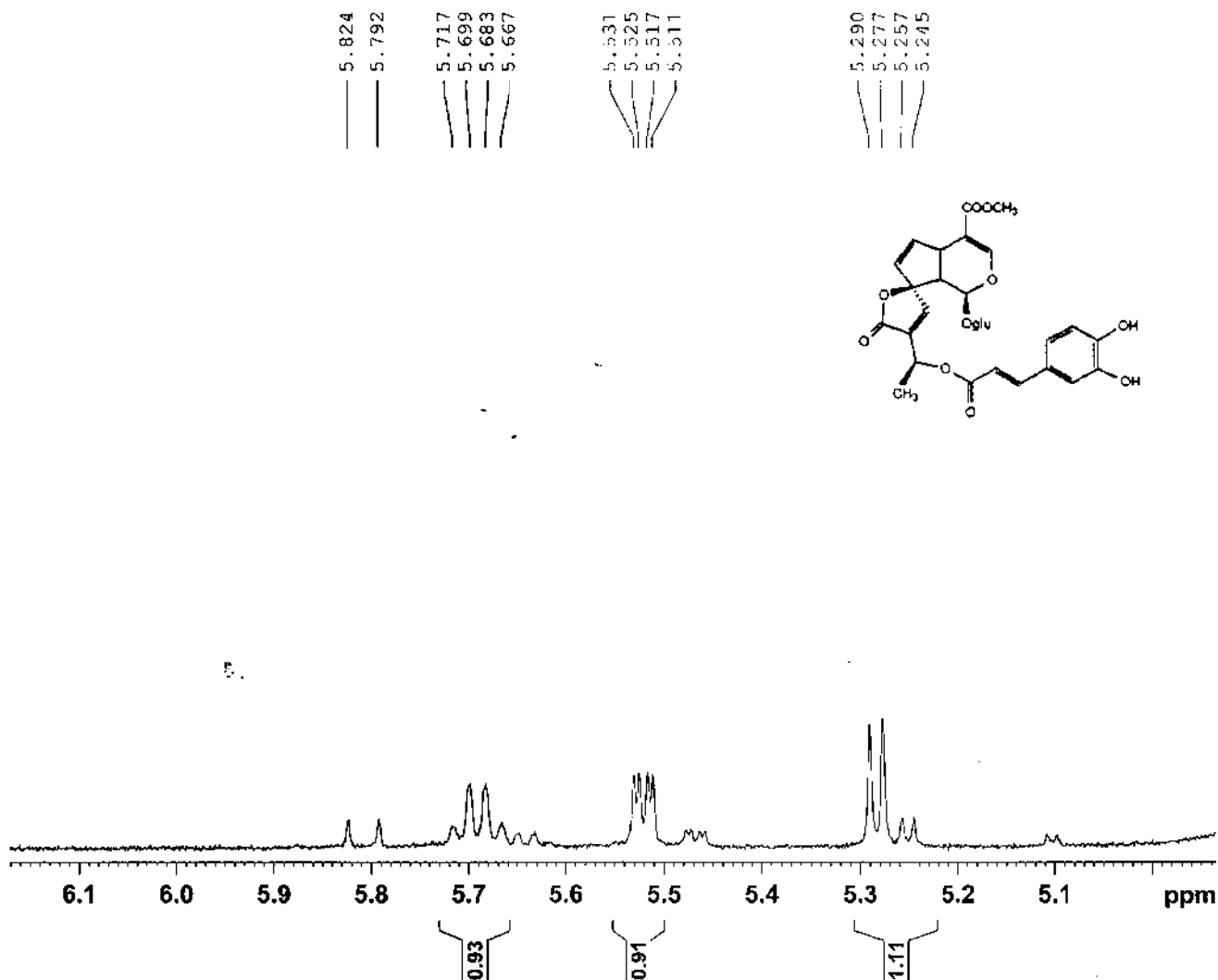
===== CHANNEL f1 =====  
 NUCL1 1H  
 P1 0.00 usec  
 PL1 -3.00 dB  
 SF01 400.1424710 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 NDC 2  
 TD 203  
 SF01 100.6203 MHz  
 FIDRES 83.011726 Hz  
 SW 165.000 ppm  
 FMODE undefined

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 400.1400081 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 512  
 MC2 echo-antiecho  
 SF 100.6127117 MHz  
 WDW no  
 SSB 2  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0.1

Espectro 51 – 2ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Current Data Parameters  
 NAME HS610-2  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050321  
 Time 8.33  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 128  
 DS 0  
 SWH 8278.146 Hz  
 FIDRES 0.126314 Hz  
 AQ 3.9584243 sec  
 RG 2172.3  
 DW 60.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 2.00000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

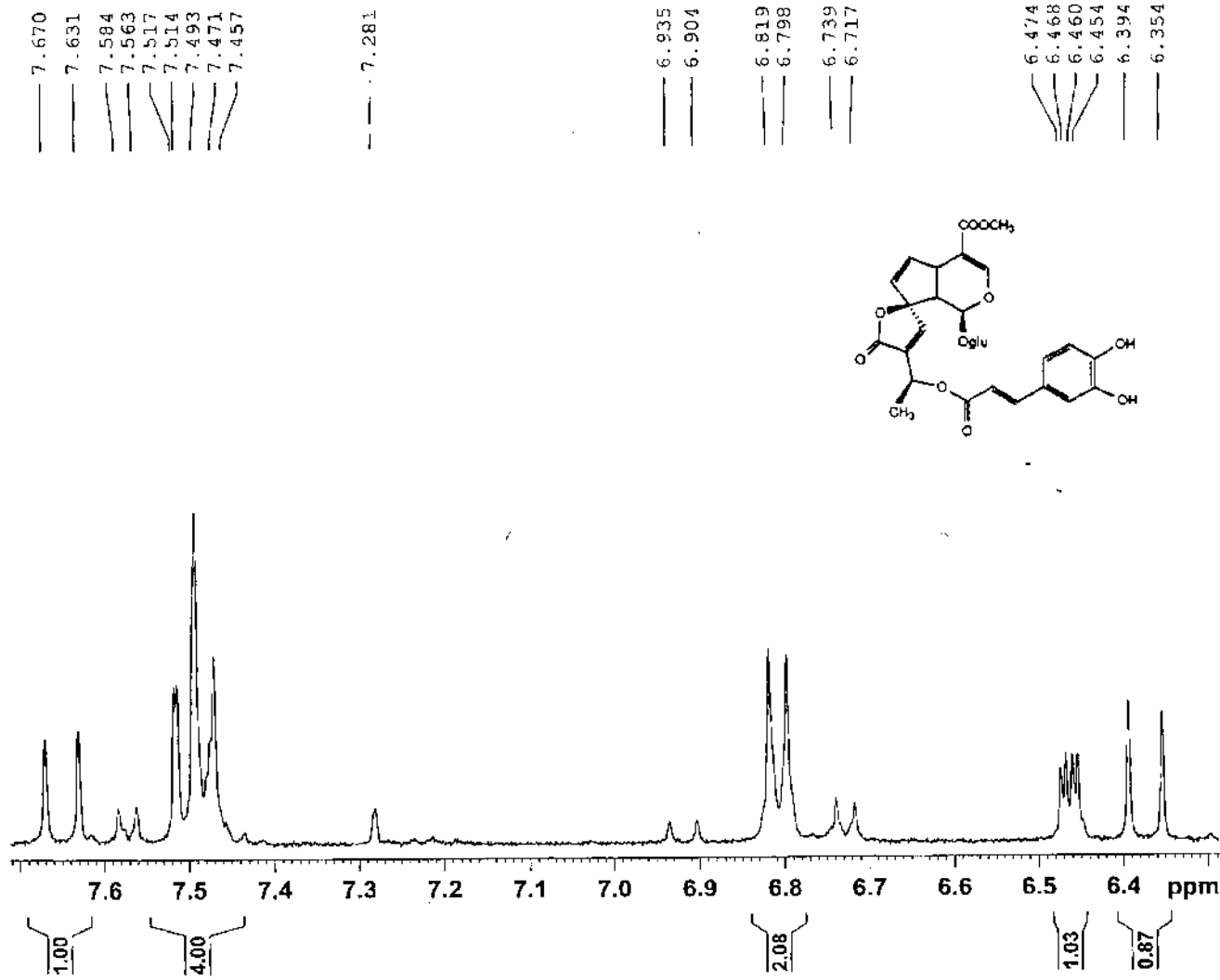
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 8.00 usec  
 PLL -3.00 dB  
 SFO1 400.1424710 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 ND0 2  
 TD 200  
 SFO1 100.6203 MHz  
 FIDRES 83.011726 Hz  
 SW 165.000 ppm  
 FnMODE undefined

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 400.1400081 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 512  
 MC2 echo-antiecho  
 SF 100.6127117 MHz  
 WDW no  
 SSB 2  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0.1

Espectro 52 – 3ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do 13-O-caffeoil plumierídeo (HDCA- 4)



```

Current data parameters
NAME      HS610-2
EXPNO    10
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20050321
Time      8.33
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   MeOD
NS         128
DS         0
SWH        5278.146 Hz
FIDRES     0.126314 Hz
AQ         3.9584243 sec
RG         2172.3
DW         60.400 usec
DE         6.00 usec
TE         0.0 K
D1         2.00000000 sec
MCREST    0.30000000 sec
MCWRK     0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1         8.00 usec
PL1        -3.00 dB
SFO1      400.1424710 MHz

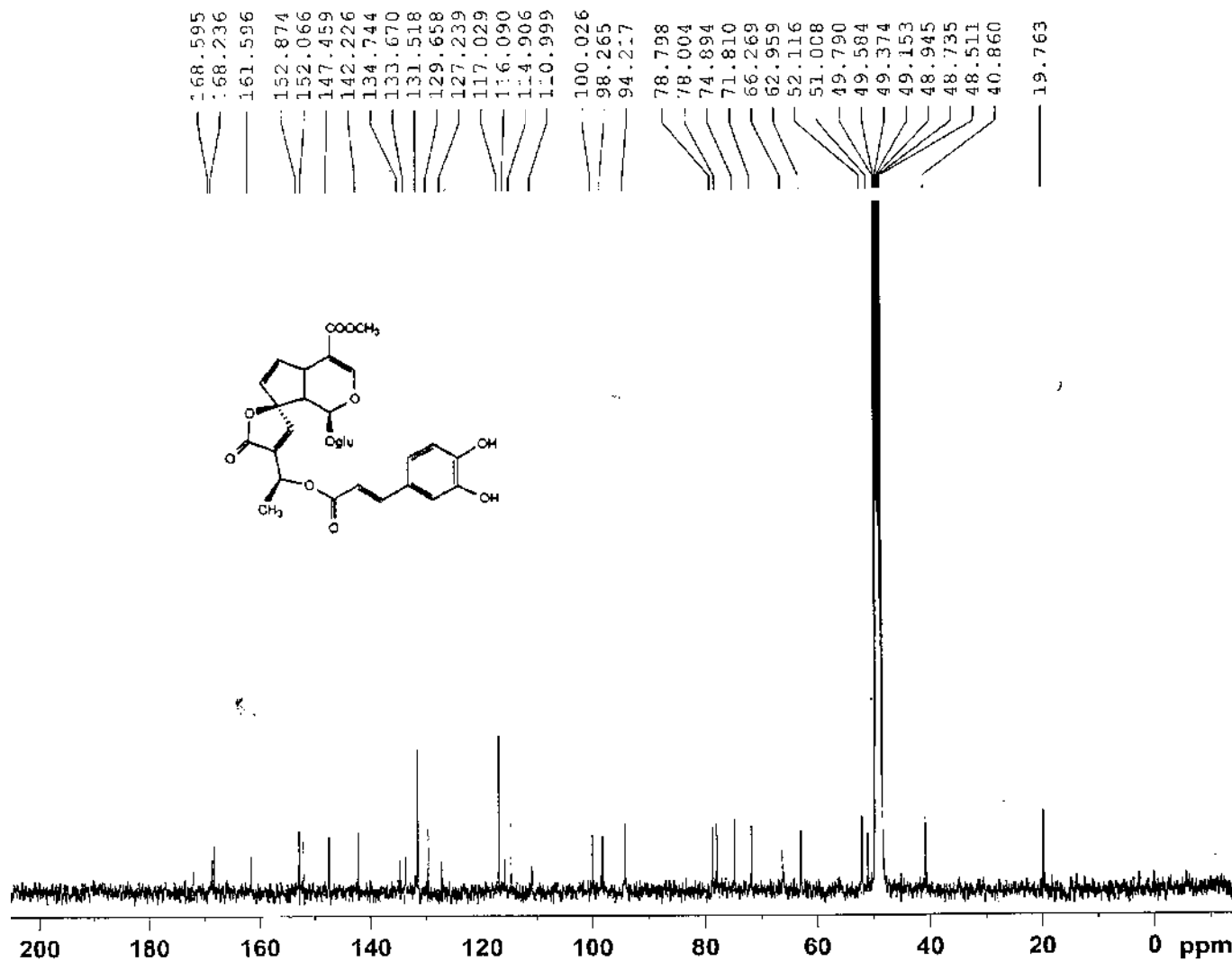
F1 - Acquisition parameters
ND0        2
TD         200
SFO1      100.6203 MHz
FIDRES     03.011726 Hz
SW         165.000 ppm
EnMODE     undefined

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         400.1400081 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.00

F1 - Processing parameters
SI         512
MC2        echo-antiecho
SF         100.6127117 MHz
WDW        no
SSB        2
LB         0.30 Hz
GB         0.1

```

Espectro 53 – 4ª Expansão do espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Current Data Parameters  
 NAME HS610-2  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050318  
 Time\_ 16.49  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 481501  
 DS 0  
 SWH 23980.814 Hz  
 FIDRES 1.463673 Hz  
 AQ 0.3416564 sec  
 RG 16384  
 DW 20.850 use  
 DE 6.00 use  
 TE 0.0 K  
 D1 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

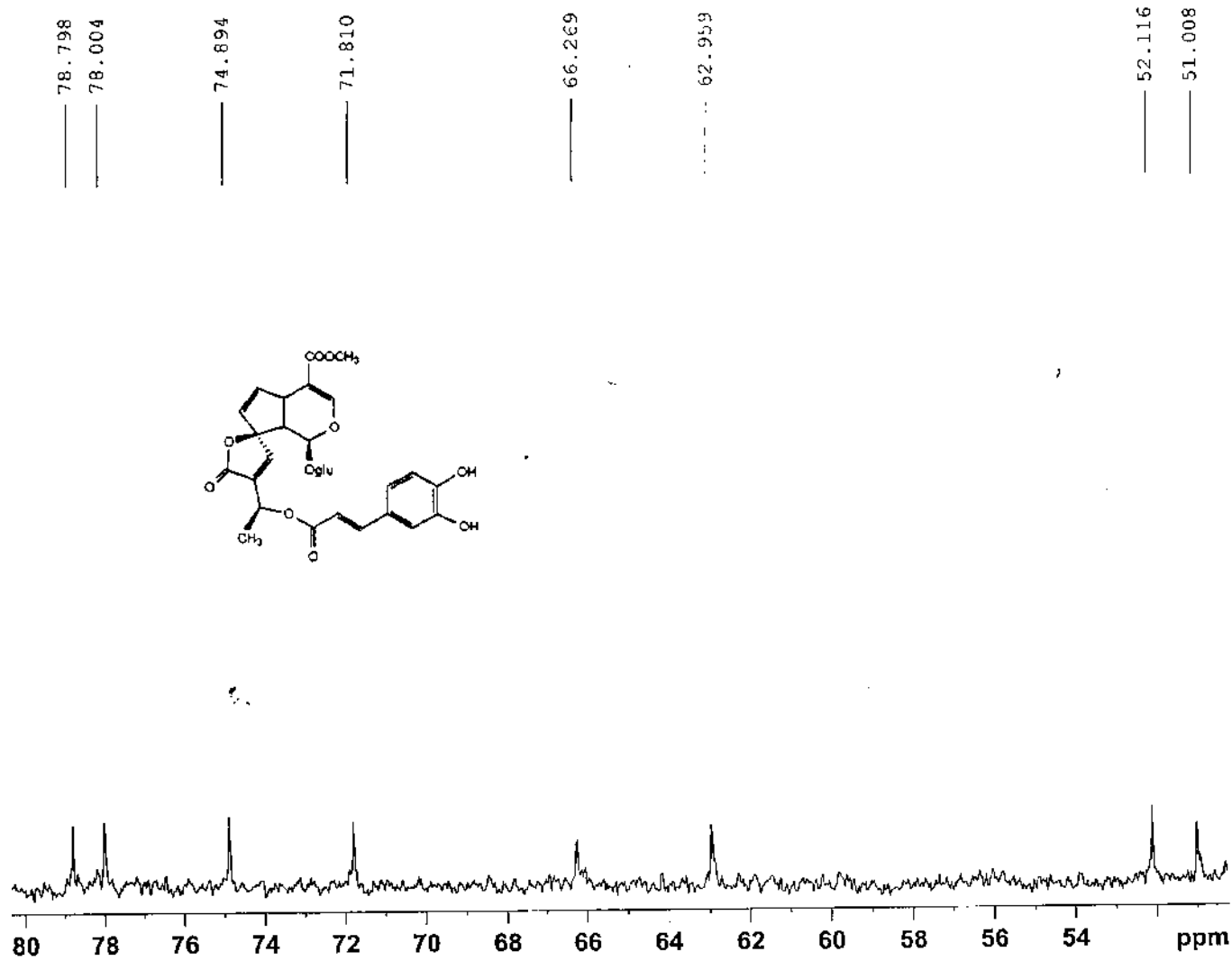
===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 7.00 use  
 PL1 1.00 dB  
 SFO1 100.6253446 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 105.00 use  
 PL2 -4.00 dB  
 PL12 18.00 dB  
 PL13 18.00 dB  
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 8192  
 SF 100.6151272 MHz  
 WDW EM  
 SSR 0

Espectro 54 – Espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)





Current Data Parameters  
 NAME HS610-2  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

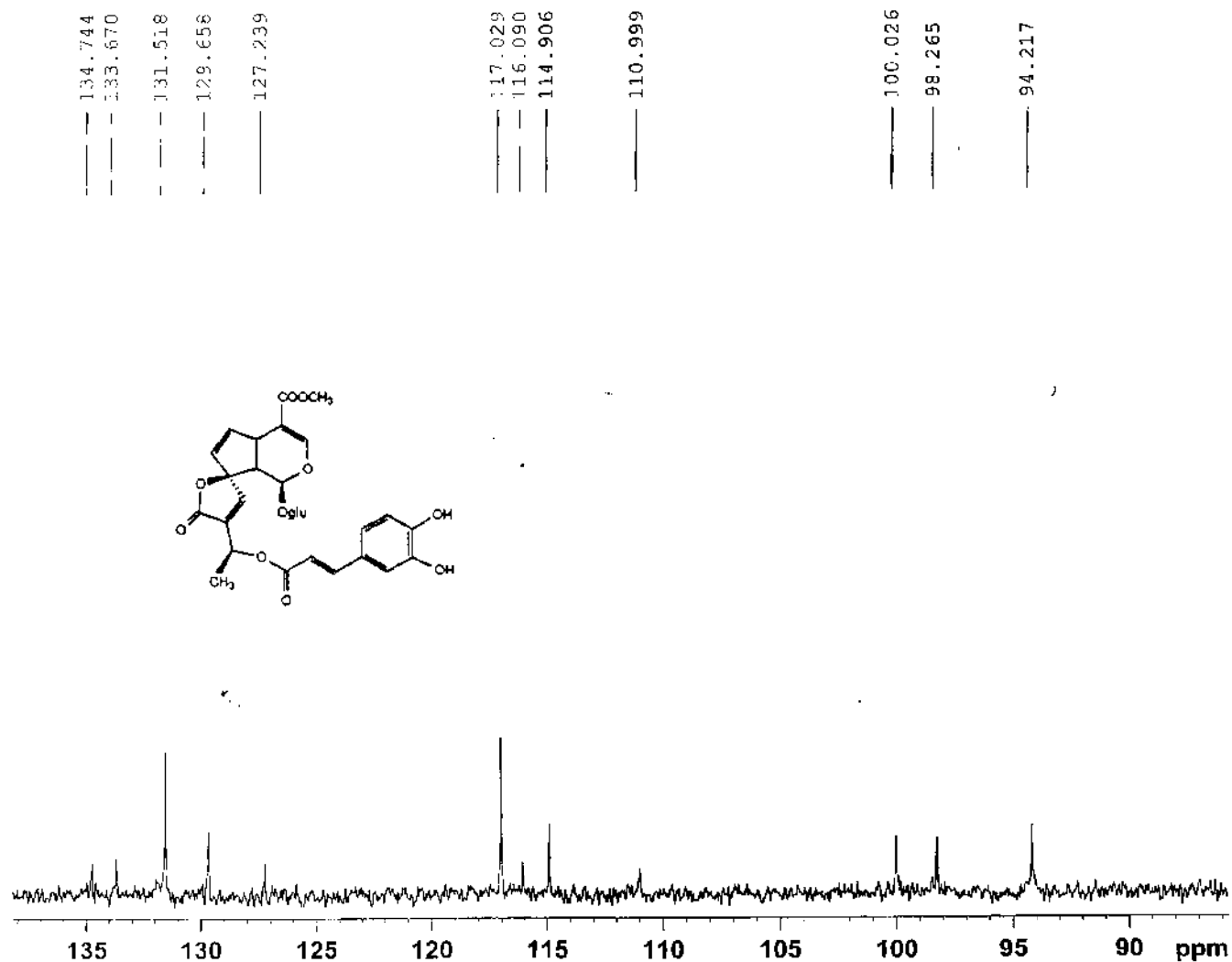
Date\_ 20050318  
 Time 16.49  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 481501  
 DS 0  
 SWH 23980.814 Hz  
 FIDRES 1.463673 Hz  
 AQ 0.3416564 sec  
 RG 16384  
 DW 20.850 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 7.00 usec  
 PL1 1.00 dB  
 SFO1 100.6253446 MHz

==== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 105.00 usec  
 PL2 -4.00 dB  
 PL12 18.00 dB  
 PL13 18.00 dB  
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 8192  
 SF 100.6151272 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 ---

Espectro 55 – 1ª Expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA-4)



Current Data Parameters  
 NAME HS610-2  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

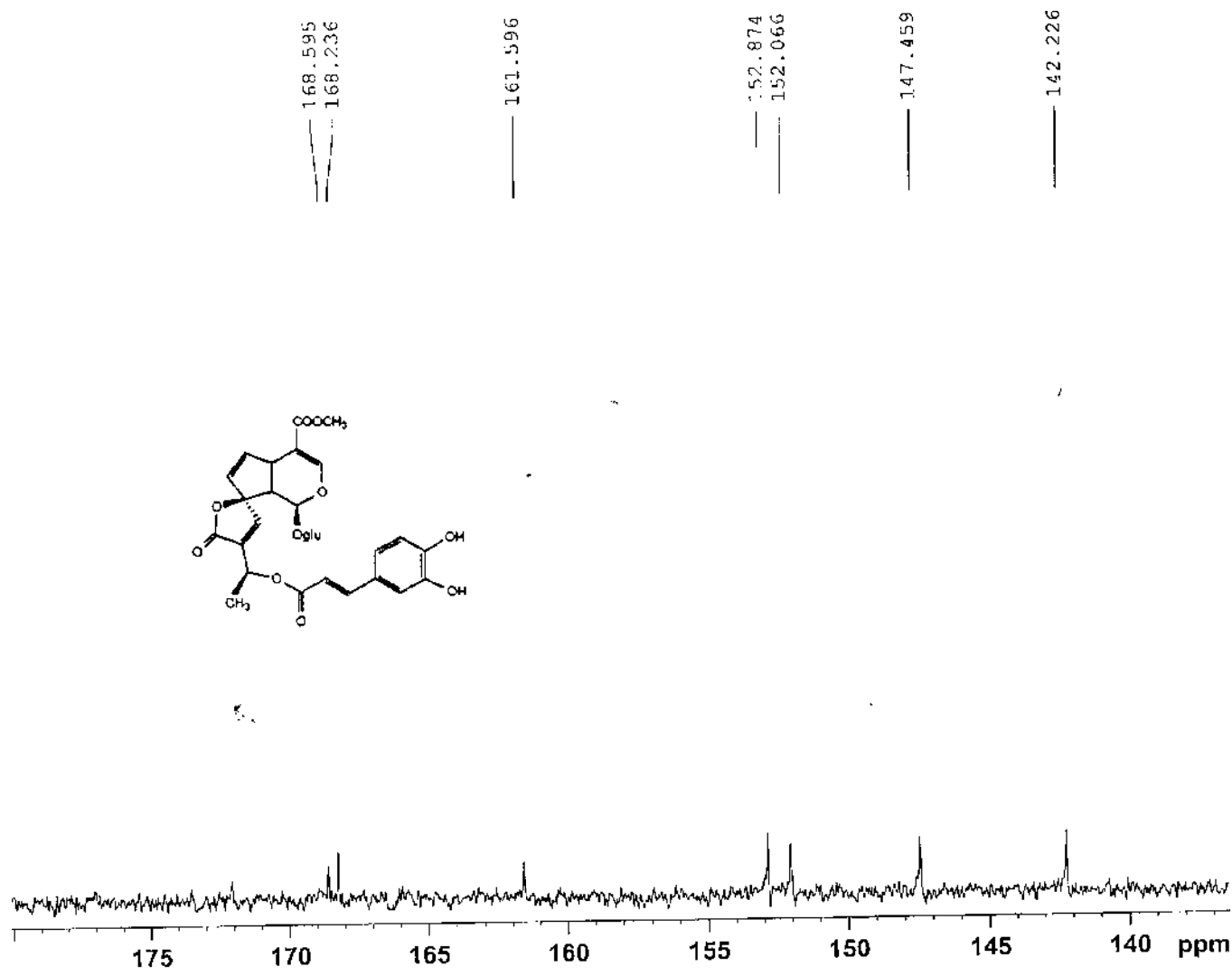
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050318  
 Time\_ 16.49  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 481501  
 DS 0  
 SWH 23980.814 Hz  
 FIDRES 1.463673 Hz  
 AQ 0.3416564 sec  
 RG 16384  
 DW 20.850 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 7.00 usec  
 PL1 1.00 dB  
 SFO1 100.6253446 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 105.00 usec  
 PL2 -4.00 dB  
 PL12 18.00 dB  
 PL13 18.00 dB  
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 8192  
 SF 100.6151272 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz

Espectro 56 – 2<sup>a</sup> Expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA-4)



Current Data Parameters  
 NAME HS610-2  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

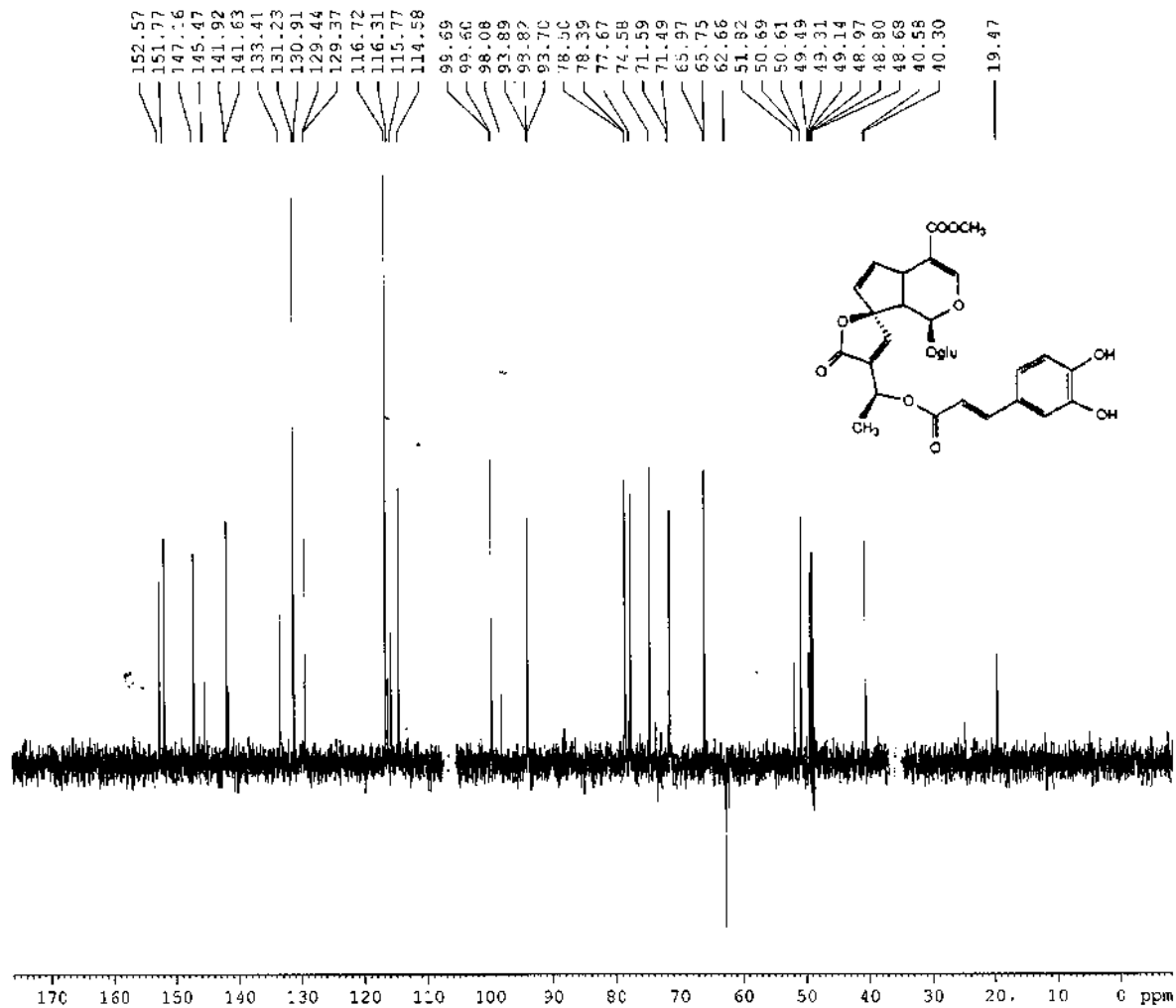
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050318  
 Time 16.49  
 INSTRUM spect  
 PROBPD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 481301  
 DS 0  
 SWH 23980.814 Hz  
 FIDRES 1.463673 Hz  
 AQ 0.3416564 sec  
 RG 16384  
 DW 20.850 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 DL 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.30000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 7.00 usec  
 PL1 1.00 dB  
 SFO1 100.6253446 MHz

==== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 105.00 usec  
 PL2 -4.00 dB  
 PL12 18.00 dB  
 PL13 18.00 dB  
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters  
 ST 8192  
 SF 100.6151272 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 RB 3.00 Hz

Espectro 57 – 3ª Expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 400MHz) do 13-O-caffeoil plumierídeo (HDCA-4)



Current Data Parameters  
 NAME pn10561115p  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

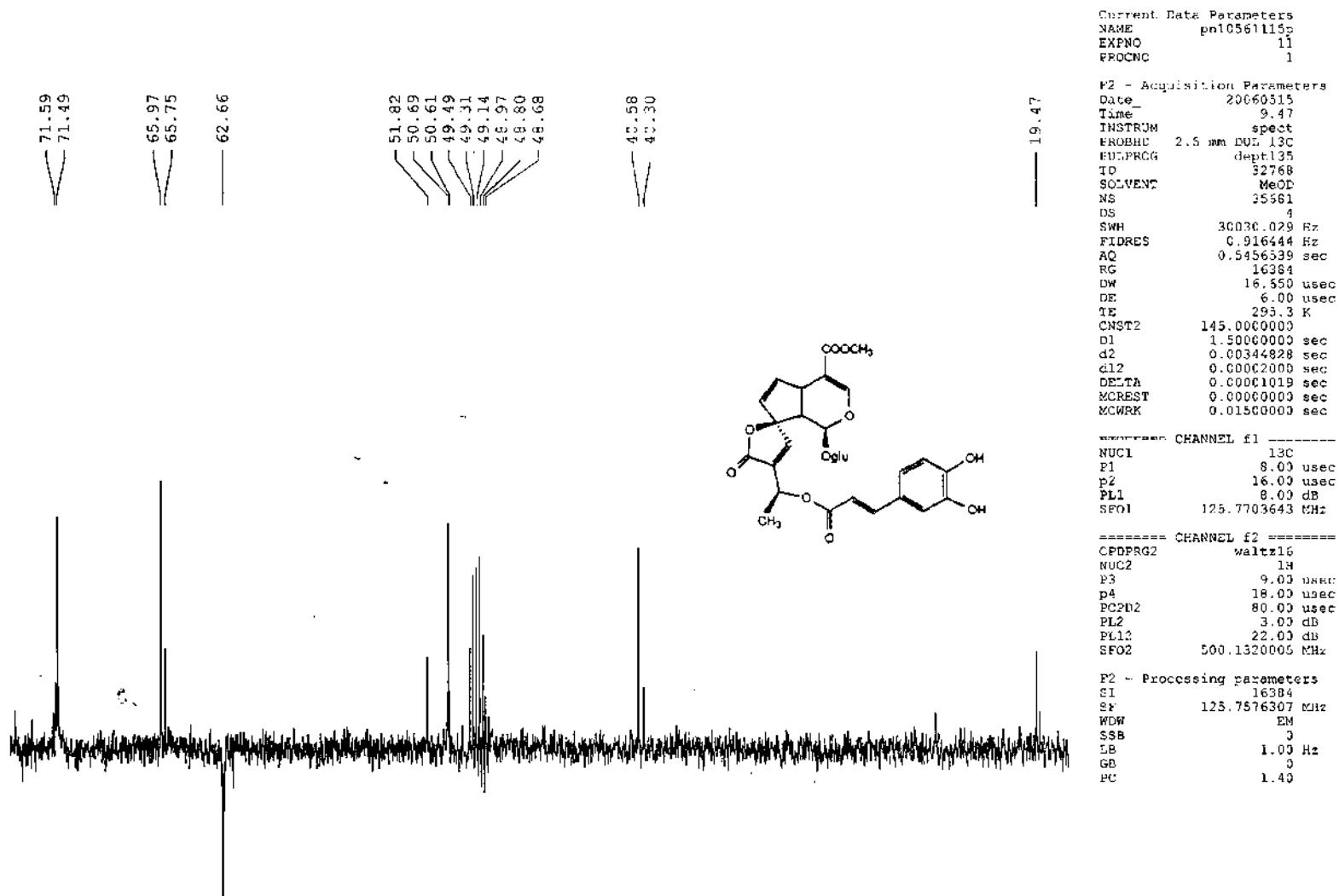
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20060515  
 Time 9.47  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm CUL 13C  
 PULPROG dept135  
 TD 32768  
 SOLVENT MeOD  
 NS 35681  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.916444 Hz  
 AQ 0.5456539 sec  
 RG 16384  
 DW 16.650 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 295.3 K  
 CNST2 14 0000000  
 d1 1.5000000 sec  
 d2 0.00344828 sec  
 d12 0.0002000 sec  
 DELTA 0.0001019 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWRK 0.0150000 sec

===== CHANN : f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 8.00 usec  
 P2 16.00 usec  
 PL1 8.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

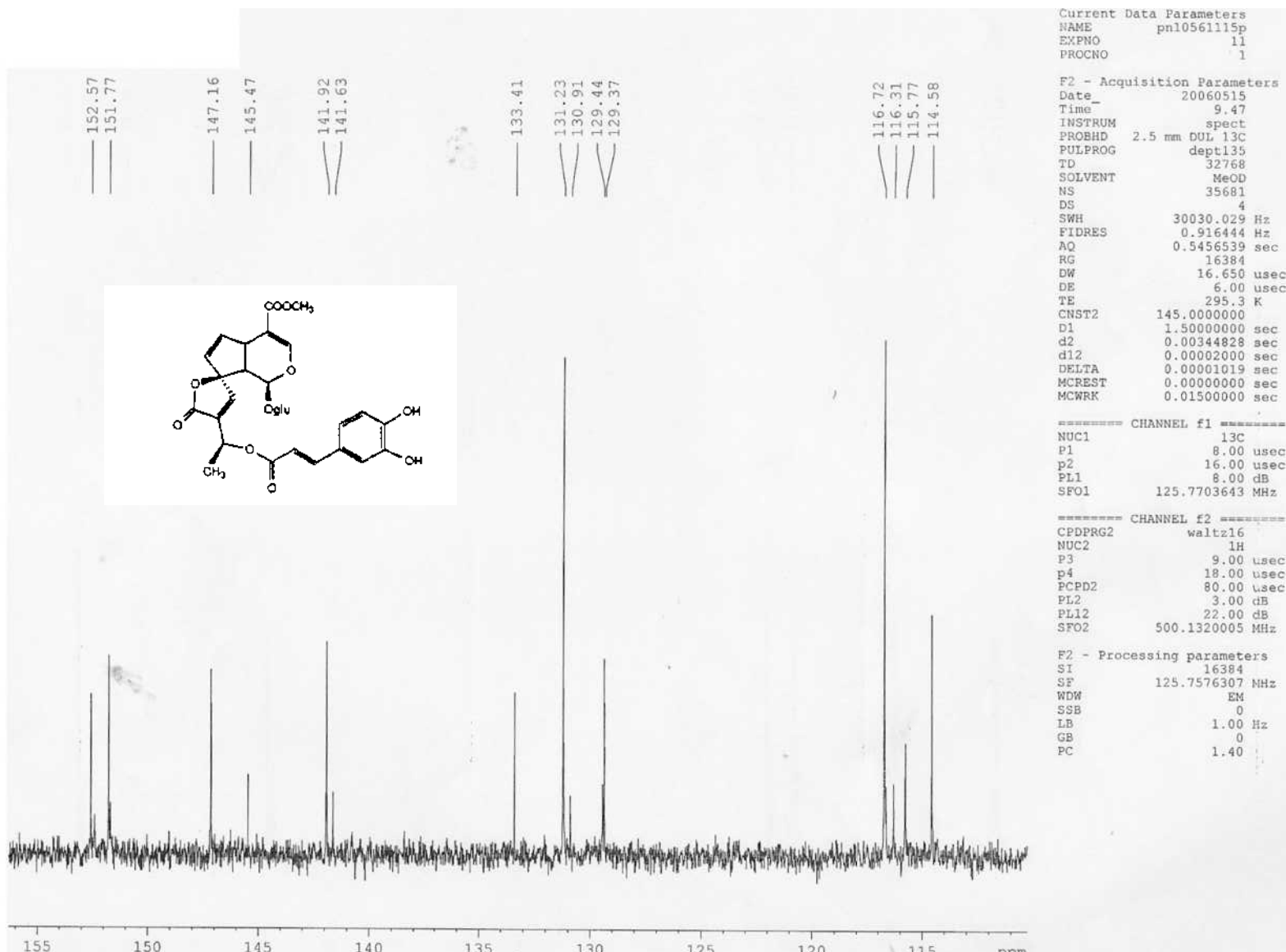
===== CHANN : f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 P3 9.00 usec  
 P4 18.00 usec  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 3.00 dB  
 PL12 22.00 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 125.7576307 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

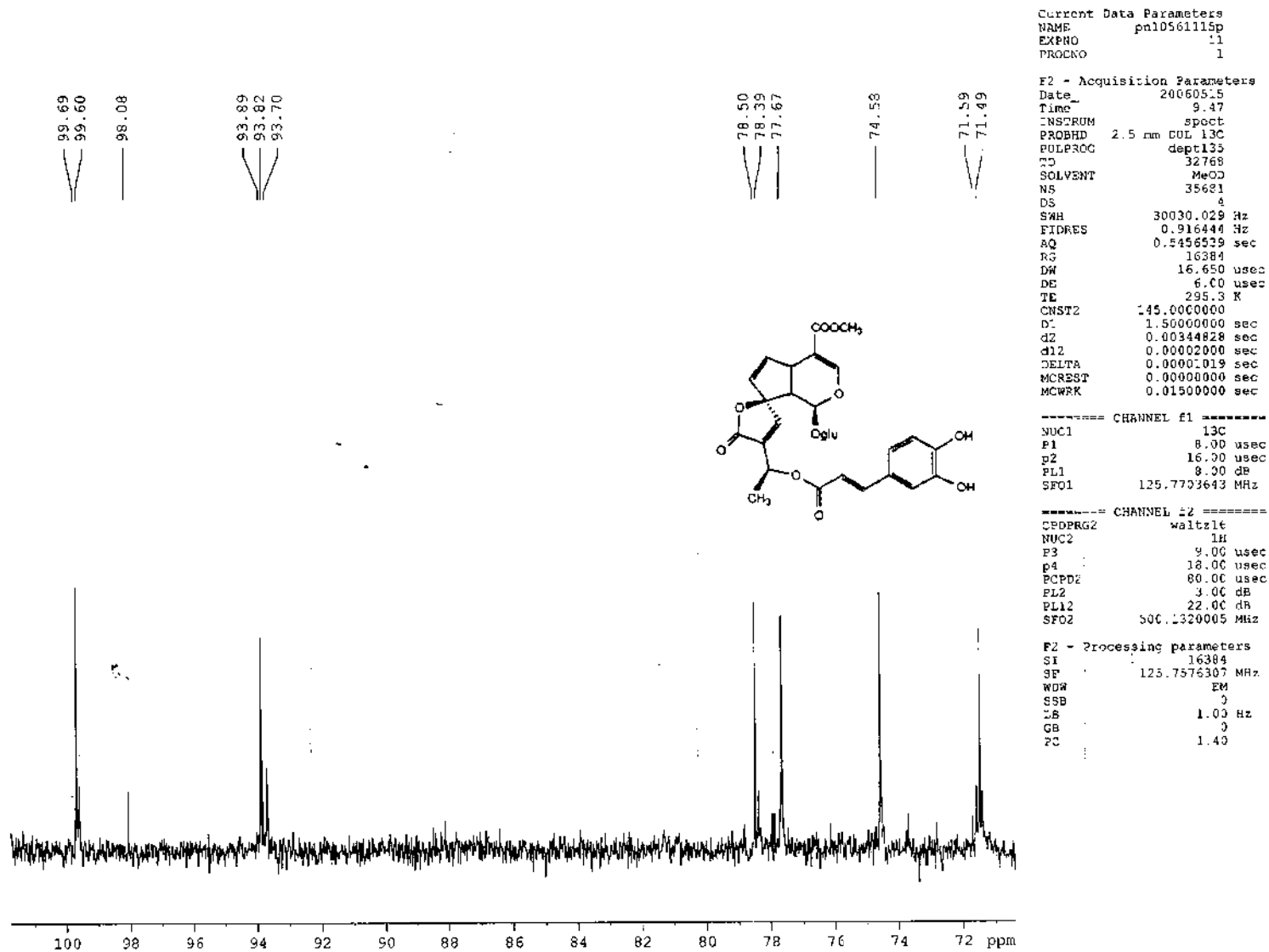
Espectro 58 – Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



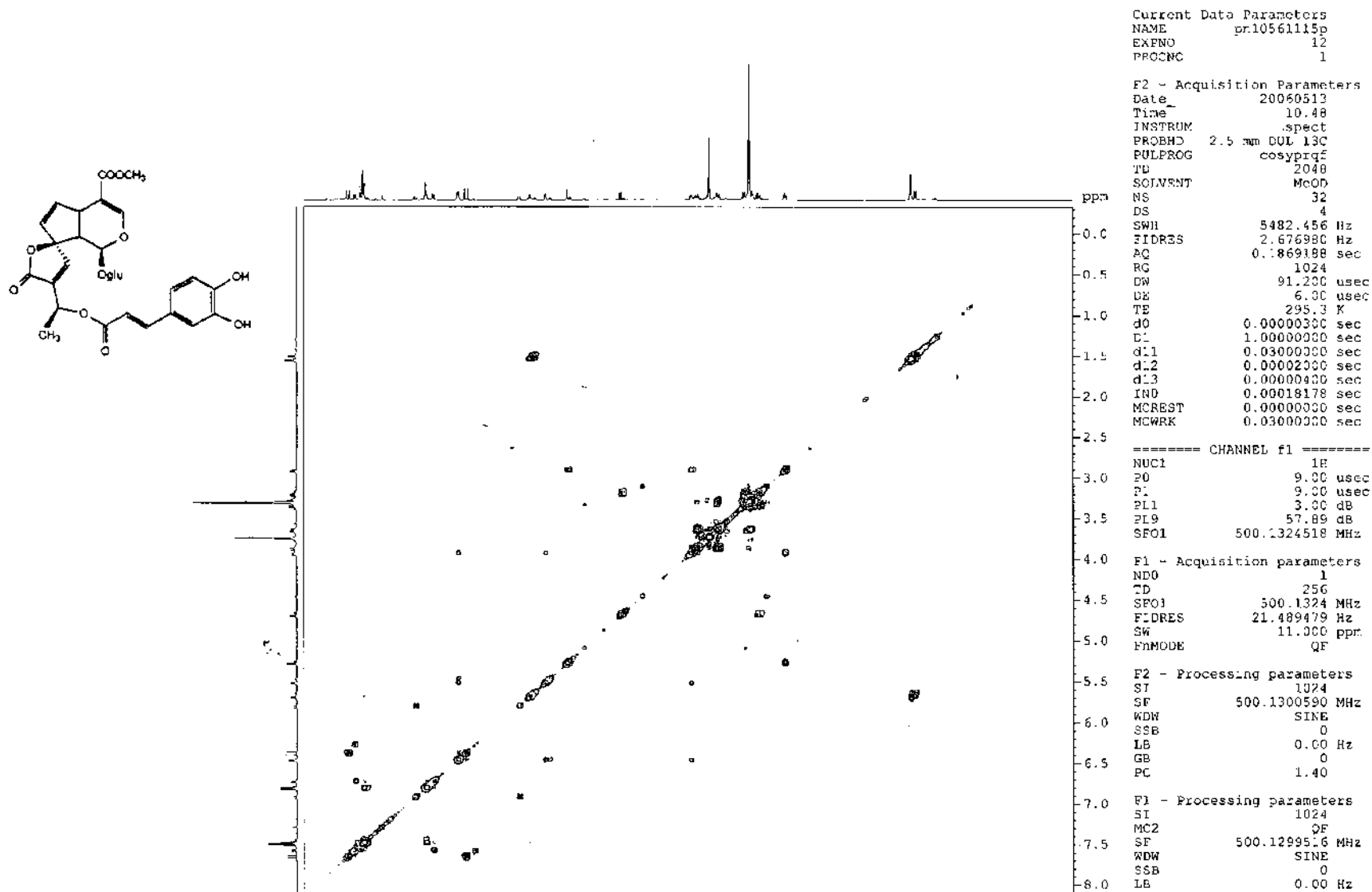
Espectro 59 – 1ª Expansão do Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Espectro 60 – 2ª Expansão do Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)

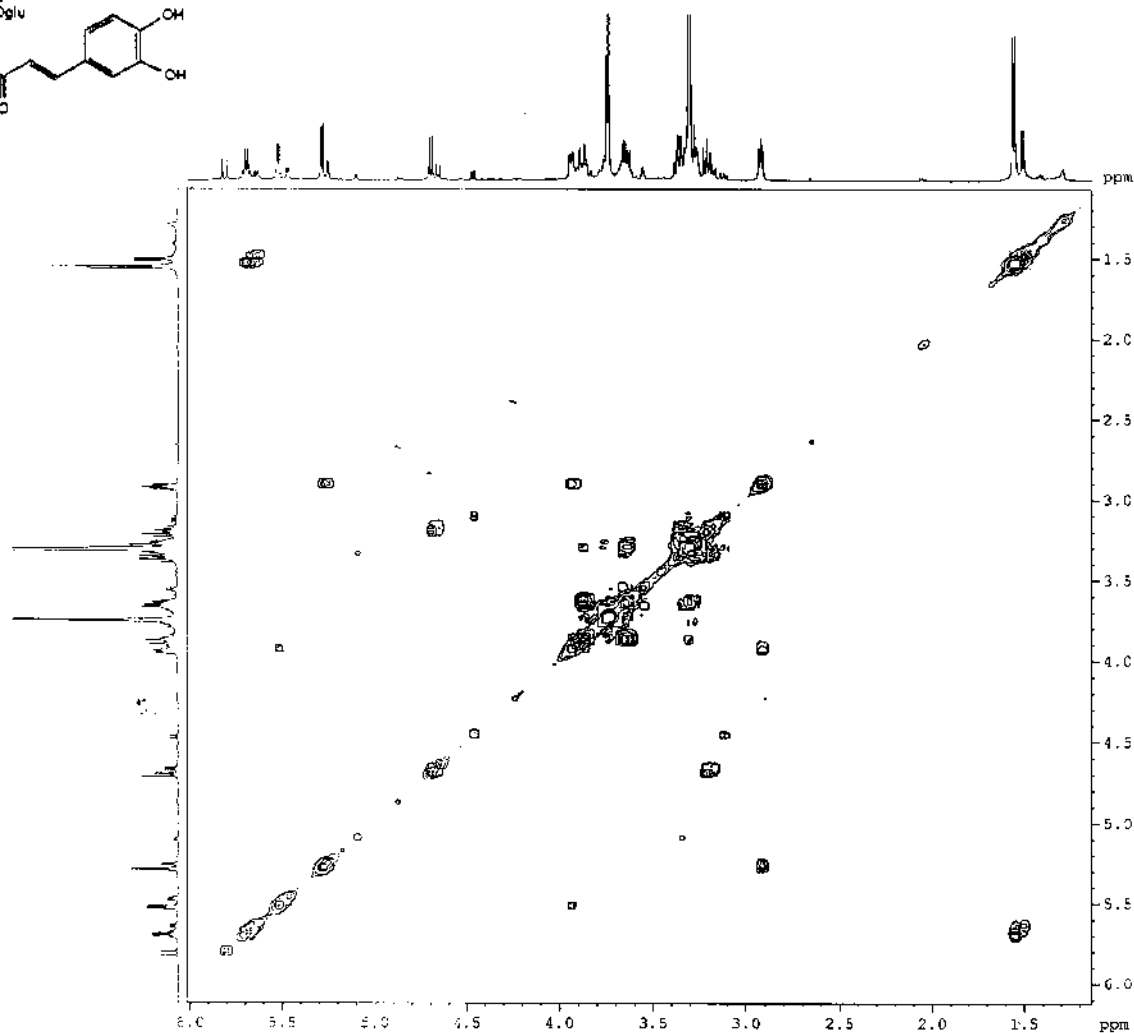
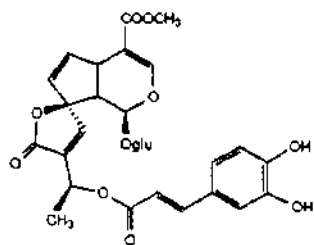


Espectro 61 – 3ª Expansão do Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Espectro 62 – Espectro COSY<sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)





```

Current Data Parameters
NAME      pn12561115p
EXPNO     12
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20060513
Time      10.48
INSTRUM   spect
PROBHD    2.5 mm DUL 13C
PULPROG   cosyprgf
TD         2048
SOLVENT   MeOD
NS         32
DS         4
SWH        5482.456 Hz
FIDRES     2.676980 Hz
AQ         0.1869188 sec
RG         1024
DW         91.200 usec
DE         6.00 usec
TE         295.3 K
d0         0.0000000 sec
d1         1.3000000 sec
d11        0.3300000 sec
d12        0.3000000 sec
d13        0.3000000 sec
INO        0.30018178 sec
MCREST     0.30000000 sec
MCWRK     0.33000000 sec

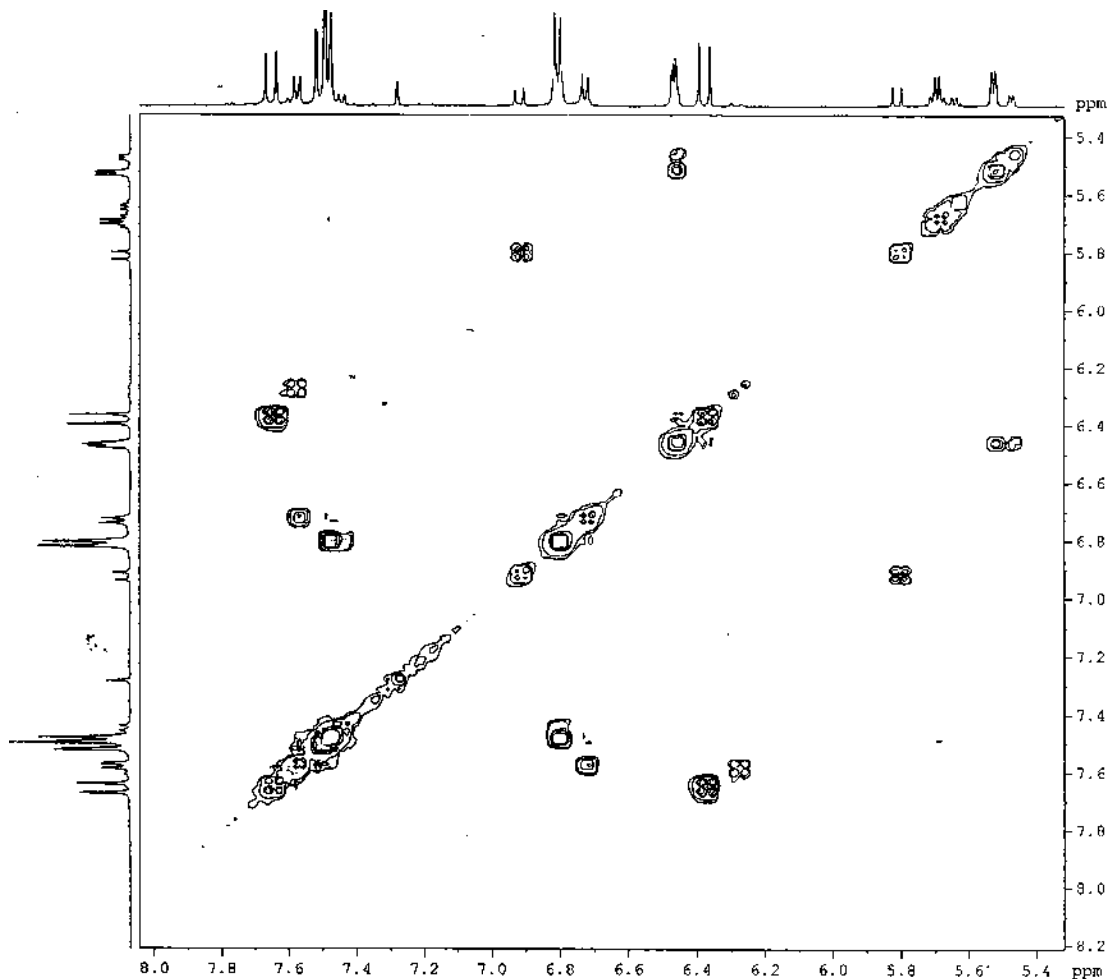
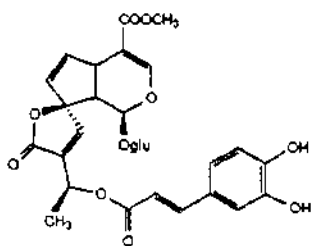
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P0         9.00 usec
P1         9.00 usec
PL1        3.00 dB
PL2        57.89 dB
SFO1       500.1324518 MHz

F1 - Acquisition parameters
NDO        1
TD         256
SFO1       500.1324 MHz
FIDRES     21.489479 Hz
SW         11.000 ppm
FnMODE     QF

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         500.1300590 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         1024
MC2        QF
SF         500.1299516 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.00 Hz
GB         0
  
```

Espectro 63 – 1ª Expansão do Espectro COSY<sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



```

Current Data Parameters
NAME      pn10561115p
EXPNO     12
PROCNO    1

F2 Acquisition Parameters
Date_     20060513
Time      10.48
INSTRUM   spect
PROBHD    2.5 mm DUL 13C
PULPROG   cosyprqf
TD         2048
SOLVENT   MeOD
NS         32
DS         4
SWH        5462.456 Hz
FIDRES     2.676980 Hz
AQ         0.1869188 sec
RG         1024
DW         91.200 usec
DE         6.00 usec
TE         295.3 K
e0         0.00000300 sec
d1         1.0000000 sec
d11        0.0300000 sec
d12        0.0002000 sec
d13        0.0000400 sec
INC        0.00018178 sec
MCREST     0.0000000 sec
MCWRS      0.0300000 sec

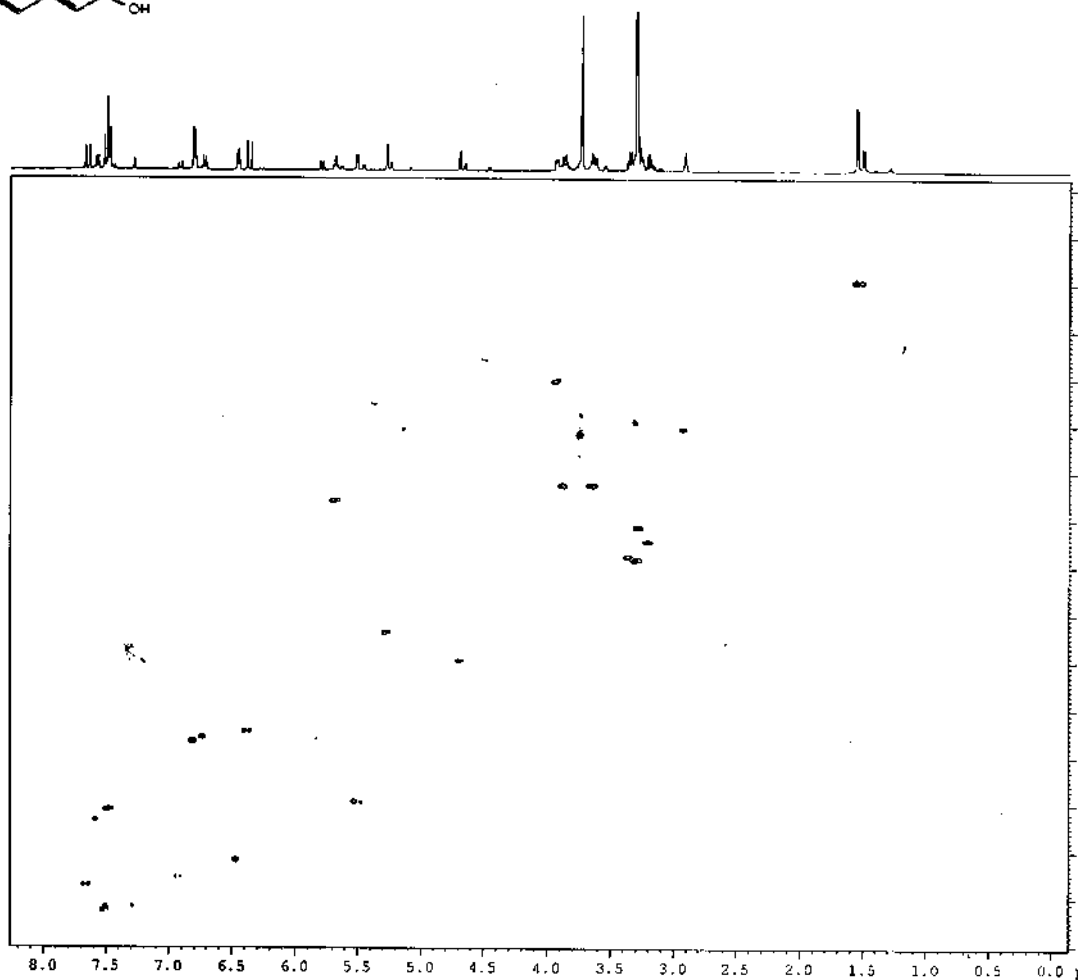
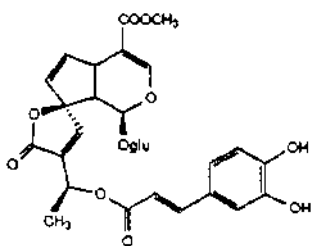
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P0         9.00 usec
PL         9.00 usec
PL1        3.00 dB
PL9        57.89 dB
SFO1       500.1324518 MHz

F1 - Acquisition parameters
NDC         1
TD          256
SFO1        500.1324 MHz
FIDRES      21.489479 Hz
SN          11.000 ppm
FHM0DE      QF

F2 - Processing parameters
SI          1024
SF          500.1300590 MHz
WDW         SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.40

F1 - Processing parameters
SI          1024
MC2         QF
SF          500.1299516 MHz
WDW         SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
  
```

Espectro 64 – 2ª Expansão do Espectro COSY<sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H (MeOD, 500MHz) do 13-O-caffeoyl plumierídeo (HDCA- 4)



```

Current Data Parameters
NAME      pn10561:15p
EXPNO    13
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20060513
Time     13.40
INSTRUM  spect
PROBHD   2.5 mm DUL 13C
PULPROG  hmqcbipapr
TD       1024
SOLVENT  MeOD
NS       64
DS       16
SWH      5122.951 Hz
FIDRES   5.002882 Hz
AQ       0.1000900 sec
RG       4096
DN       97.600 usec
DE       6.00 usec
TE       295.0 K
CNST2    145.0000000
d0       0.0000300 sec
D1       1.5000000 sec
d2       0.00344828 sec
D7       0.4000001 sec
d11      0.0300000 sec
d12      0.0000200 sec
d13      0.0000400 sec
IN0      0.00002339 sec
MCREST   0.0000000 sec
MCWRK    0.00999999 sec
ST1CNT   64

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     1H
P1       9.00 usec
p2       18.00 usec
PL1      3.60 dB
PL2      57.89 dB
SFO1     500.1324518 MHz

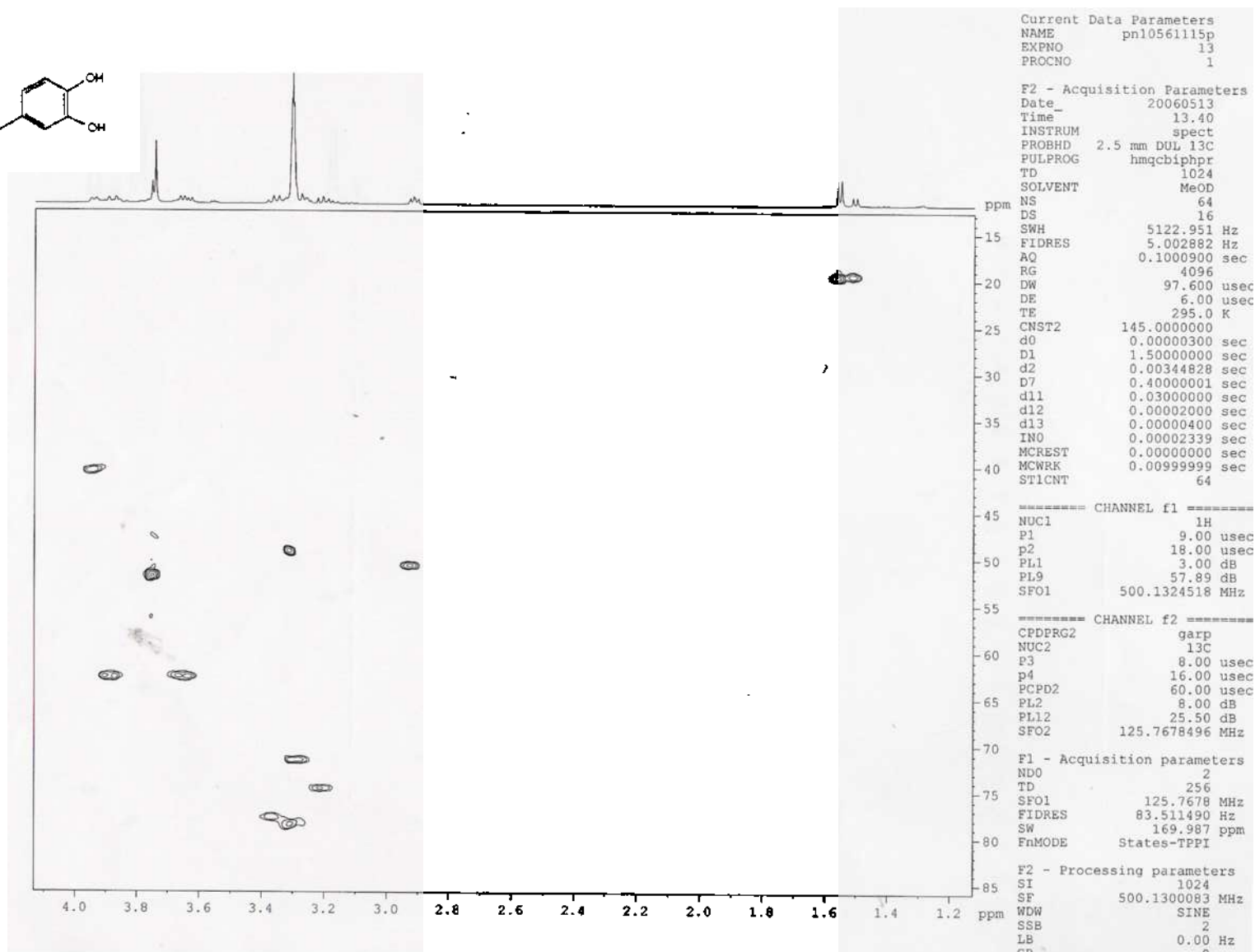
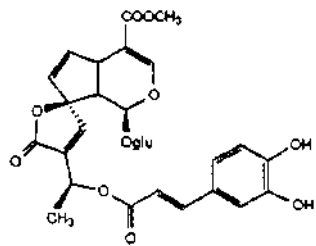
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  garp
NUC2     13C
P3       8.00 usec
p4       16.00 usec
PCPD2    60.00 usec
PL2      8.00 dB
PL12     25.50 dB
SFO2     125.7678496 MHz

F1 - Acquisition parameters
KD0      2
TD       256
SFO1     125.7678 MHz
FIDRES   83.511490 Hz
SW       169.987 ppm
F0MODE   States-TPPI

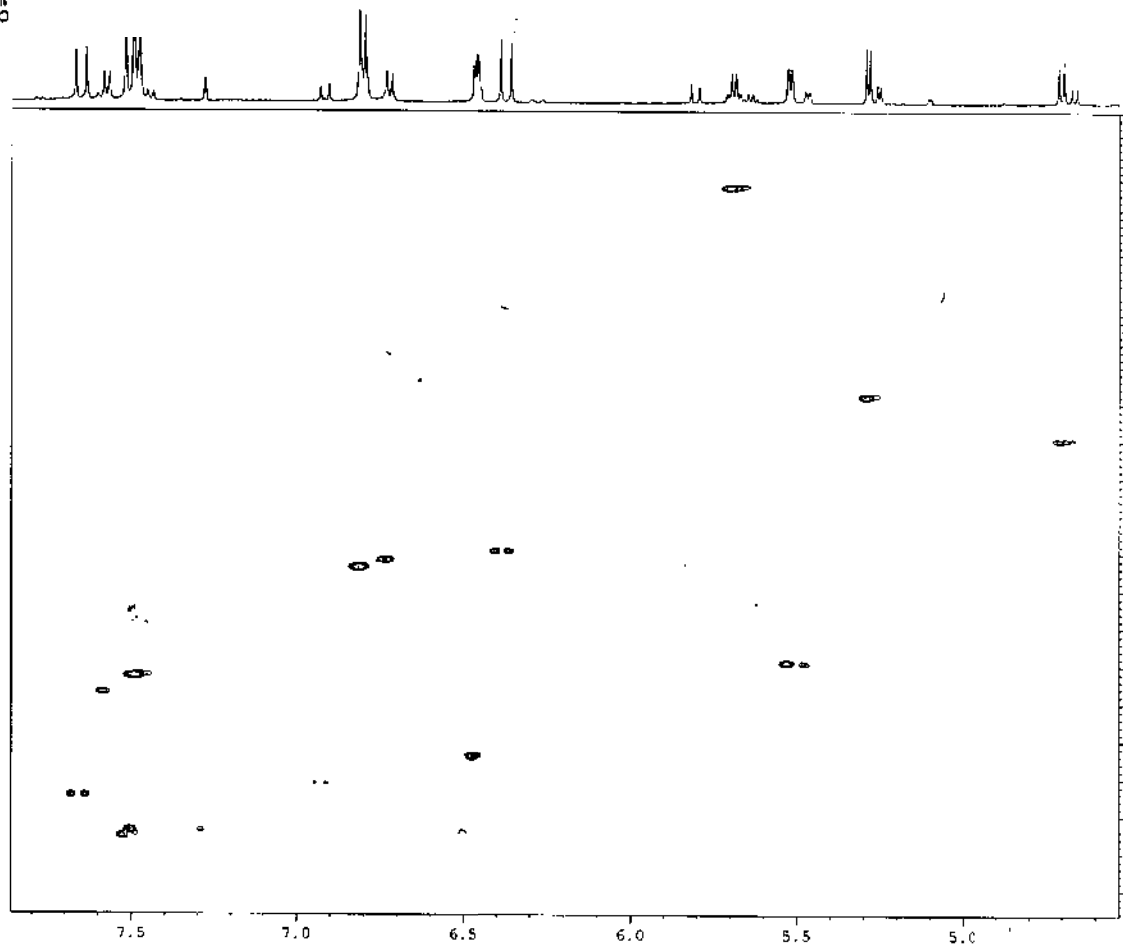
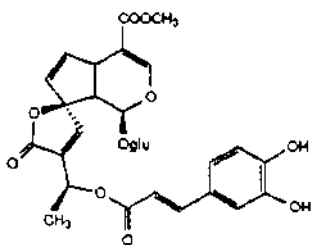
F2 - Processing parameters
SI       1024
SF       500.130083 MHz
WDW      SINE
SSB      2
GB       0
CB       0

```

Espectro 65 – Espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Espectro 66 – 1ª Expansão do espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



```

Current Data Parameters
NAME      pn1056113p
EXPNO     13
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20060513
Time      13.40
INSTRUM   spect
PROBHD    2.5 mm QNP 13C
PULPROG   zgpg30
TD         1024
SOLVENT   MeOD
NS         64
DS         16
SWH        5122.951 Hz
FIDRES     5.002882 Hz
AQ         0.1000000 sec
RG         4096
DW         97.600 usec
DE         6.00 usec
TE         295.0 K
CNSC2     145.000000
d0         0.0000000 sec
d1         1.5000000 sec
d2         0.00344828 sec
d7         0.4000001 sec
d11        0.0300000 sec
d12        0.0002000 sec
d13        0.0000300 sec
d10        0.00002339 sec
XCFIRST   0.0000000 sec
XCFIRK    0.0000000 sec
STICN2    64

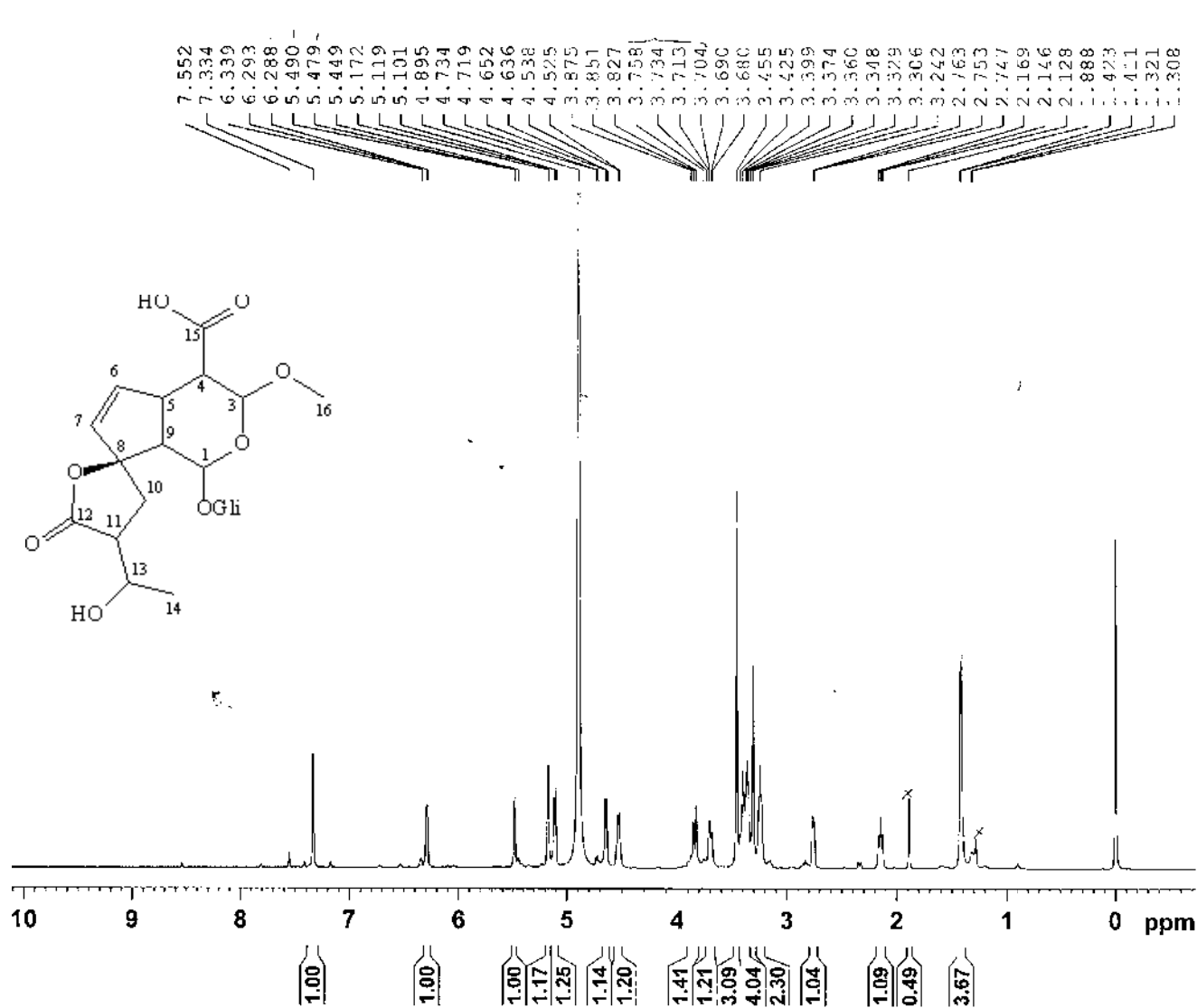
===== CHANNEL f1 =====
105 NU11    1H
    F1      9.00 usec
    P2      18.00 usec
    PL1     3.00 dB
    PL2     57.89 dB
115 SFO1    500.1324518 MHz

===== CHANNEL f2 =====
120 CPDPRG2  garp
    NUC2     13C
    P3       8.00 usec
    P4       16.00 usec
130 PCPD2    60.00 usec
    PL2      8.00 dB
135 PL12    25.50 dB
    SFO2     125.7678496 MHz

140 f1 - Acquisition parameters
145 N20      2
    TD       256
    SFO1     125.7678 MHz
150 FIDRES   83.511490 Hz
    SW       169.987 ppm
155 F2MODE   States-TPPI

160 F2 - Processing parameters
    SI       1024
    SF       500.130083 MHz
    WDW      SINE
    SSB      2
  
```

Espectro 67 – 2ª Expansão do espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



**BRÜKER**

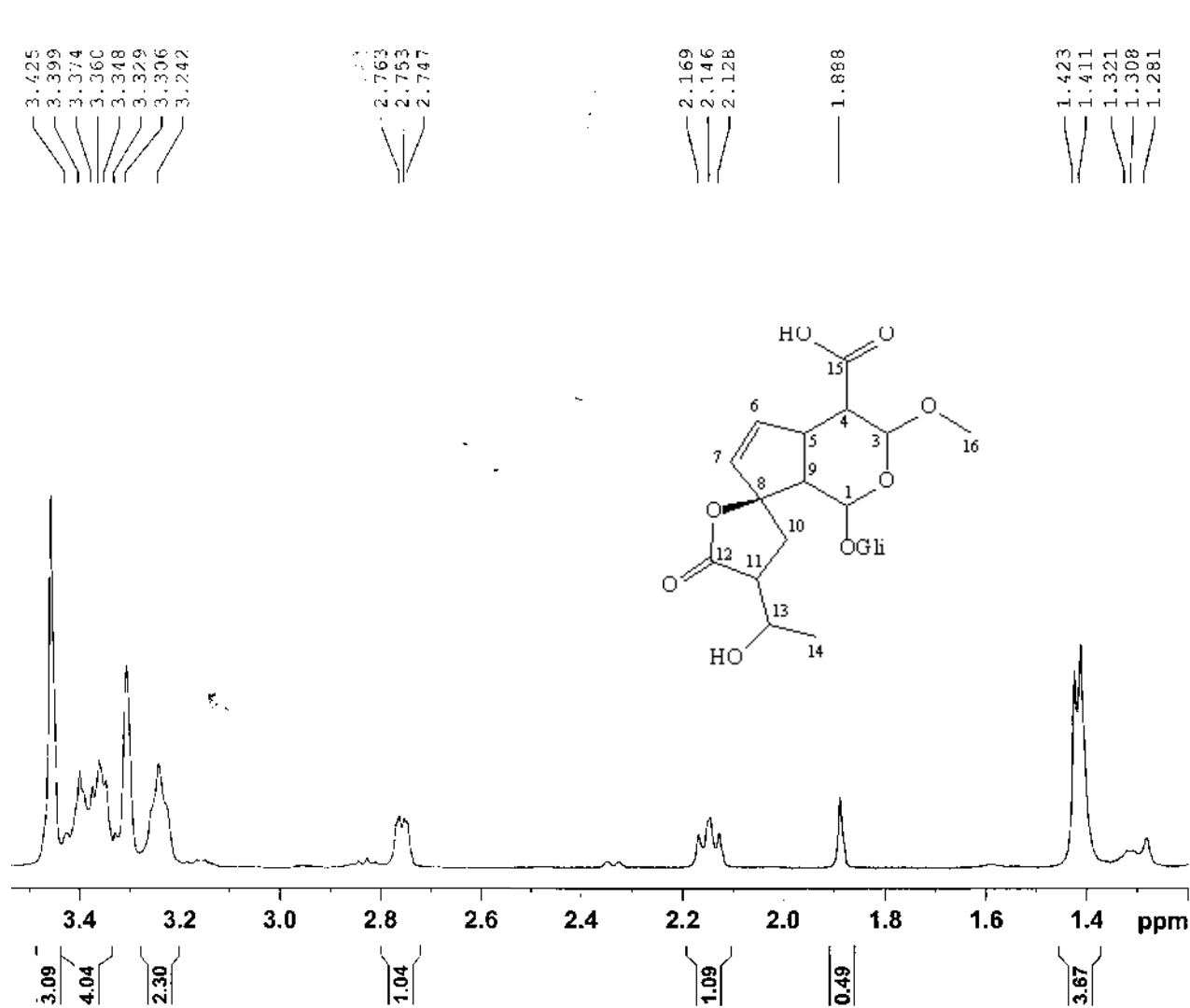
Current Data Parameters  
 NAME H0CD6  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041209  
 Time 19.41  
 INSTRUM spect  
 PROBRD 5 mm BBO B5-1H  
 PULPROG zg30  
 TE 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 16  
 DS 2  
 SSW 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1720407 sec  
 RG 128  
 DW 48.400 use  
 DE 6.00 use  
 TE 300 K  
 D1 1.00000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P1 13.75 use  
 PL1 0.00 dB  
 SFO1 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300125 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GE 0  
 PC 1.00

Espectro 68 – Espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



**BRÜKER**

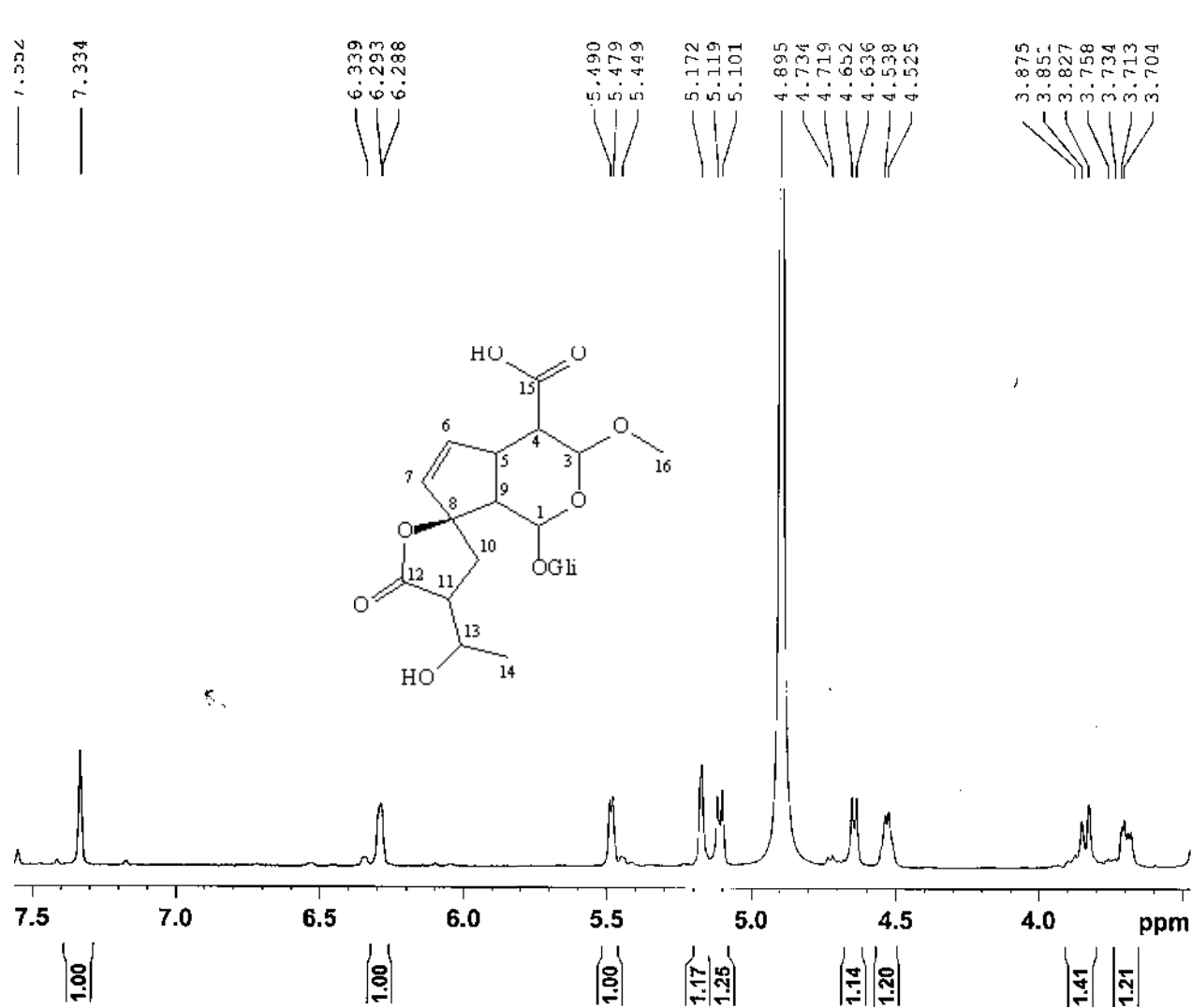
Current Data Parameters  
 NAME HDCD6  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041209  
 Time\_ 19.41  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1720407 sec  
 RG 128  
 DW 48.400 use  
 DE 6.00 use  
 TE C.0 K  
 D1 1.00300000 sec  
 MCREST 0.00300000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 13.75 use  
 PL1 0.00 dB  
 SF01 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300125 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Espectro 69– 1ª Expansão espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters  
 NAME HJCD6  
 EXPNO 10  
 PROCNO 1

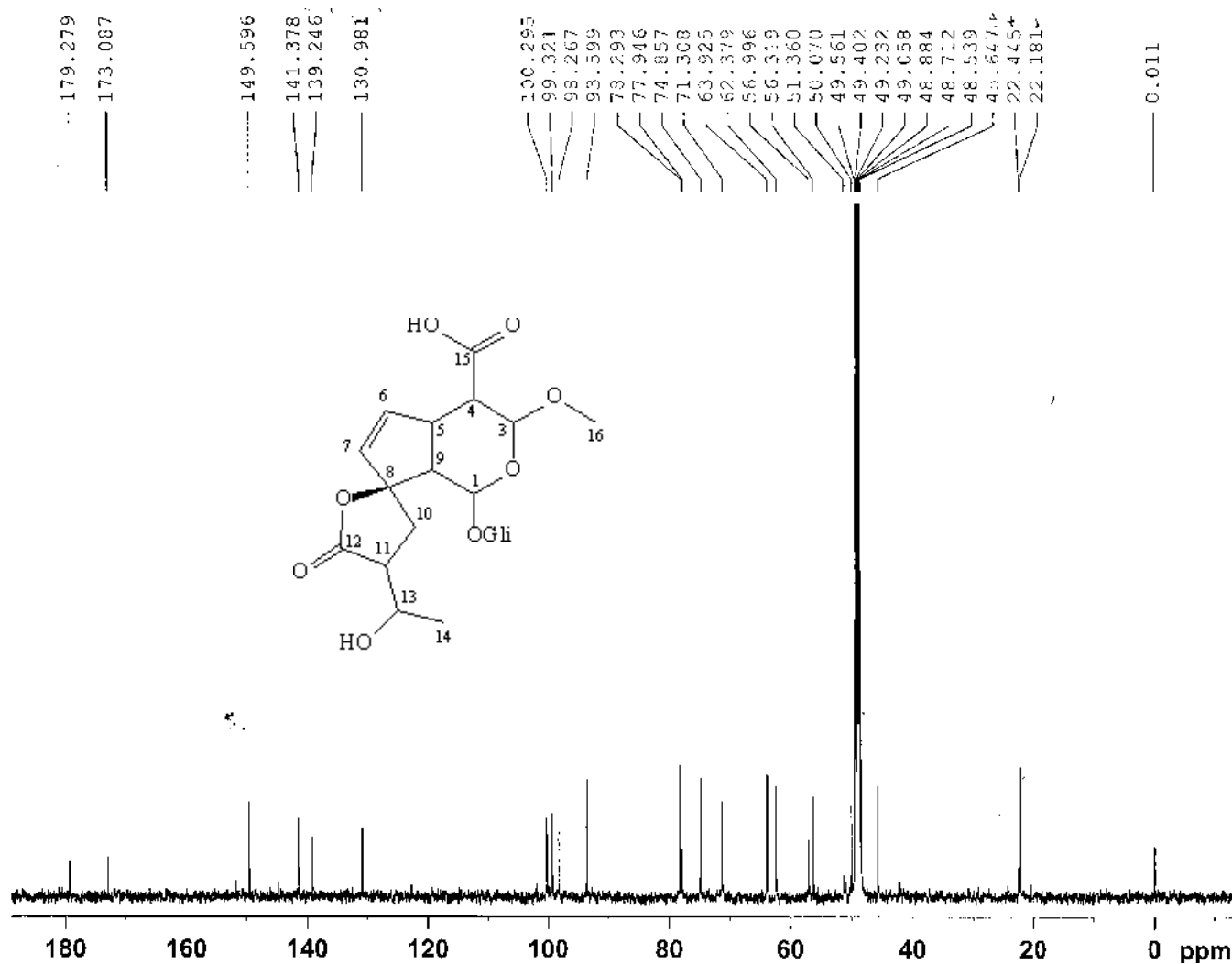
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041209  
 Time\_ 19.41  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 10330.578 Hz  
 FIDRES 0.157632 Hz  
 AQ 3.1720407 sec  
 RG 128  
 DW 48.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 1.00000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCNRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 13.75 usec  
 PL1 0.00 dB  
 SF01 500.1330685 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 500.1300125 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Espectro 70 – 2ª Expansão espectro RMN<sup>1</sup>H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo





**BRÜKER**

Current Data Parameters  
 NAME HCCD6  
 EXPNO 20  
 PROCNO 1

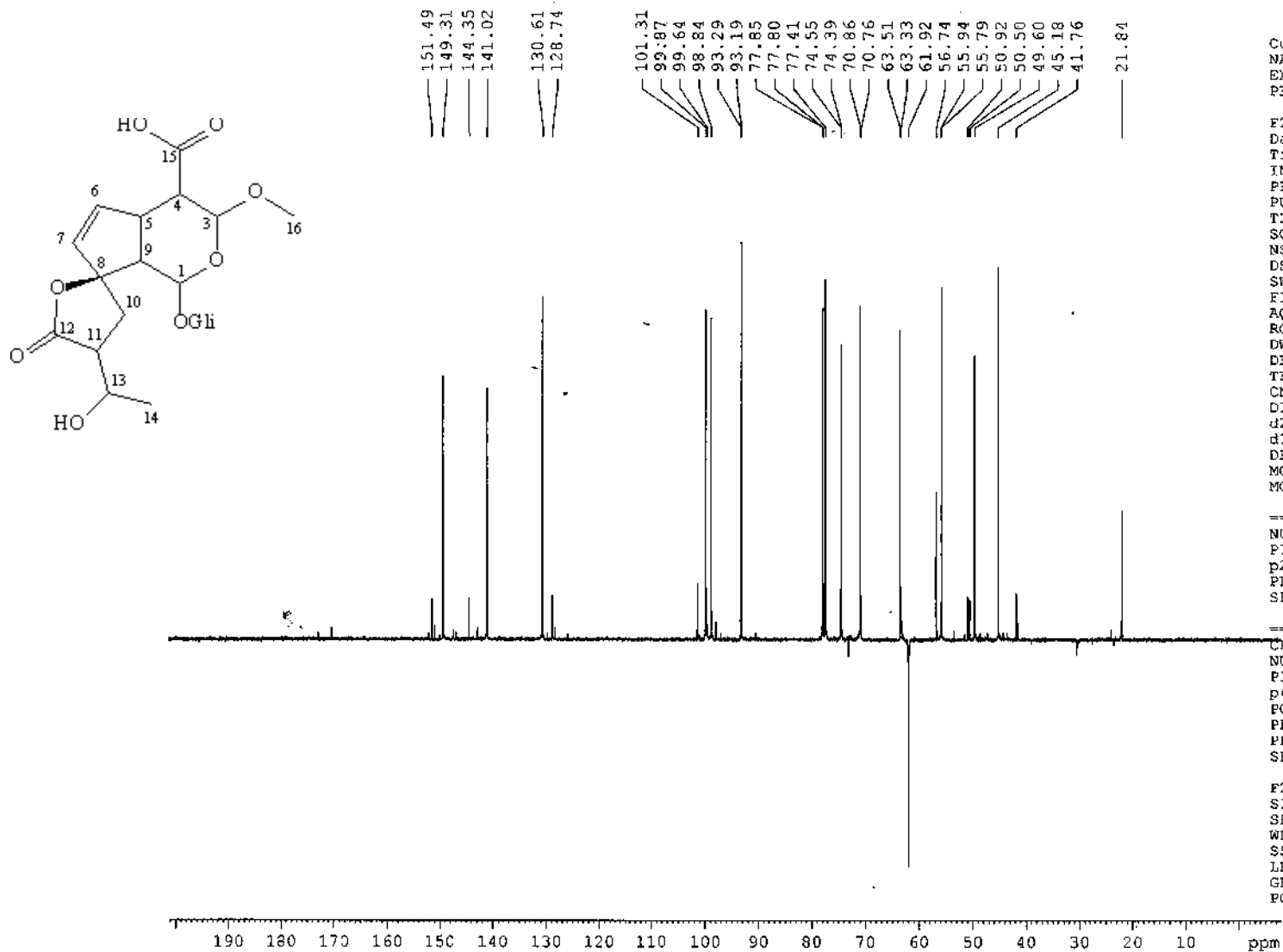
F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20041209  
 Time 20.09  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT MeOD  
 NS 4096  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 1.832888 Hz  
 AQ 0.2728603 sec  
 RG 32768  
 DW 16.650 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.1000000 sec  
 d11 0.0300000 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWRX 0.0150000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NU01 13C  
 P1 10.00 usec  
 PL1 6.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NU02 1H  
 PCPD2 100.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PL12 17.23 dB  
 PL13 17.89 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 8192  
 SF 125.7576074 MHz  
 WDW RM  
 GB 0

Espectro 71 – Espectro RMN<sup>13</sup>C (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters  
 NAME PN10650706  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050625  
 Time 15.17  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
 PULPROG dept135  
 TD 32768  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32768  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.916444 Hz  
 AQ 0.5456539 sec  
 RG 16384  
 DW 16.650 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.4 K  
 CNST2 145.0000000  
 D1 1.50000000 sec  
 d2 0.00344828 sec  
 d12 0.00002000 sec  
 DELTA 0.00001019 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 13C  
 P1 8.00 usec  
 p2 16.00 usec  
 PL1 8.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

----- CHANNEL f2 -----  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 P3 9.00 usec  
 p4 18.00 usec  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 3.00 dB  
 PL12 22.00 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 125.7576587 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Current Data Parameters  
 NAME PN10650706  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

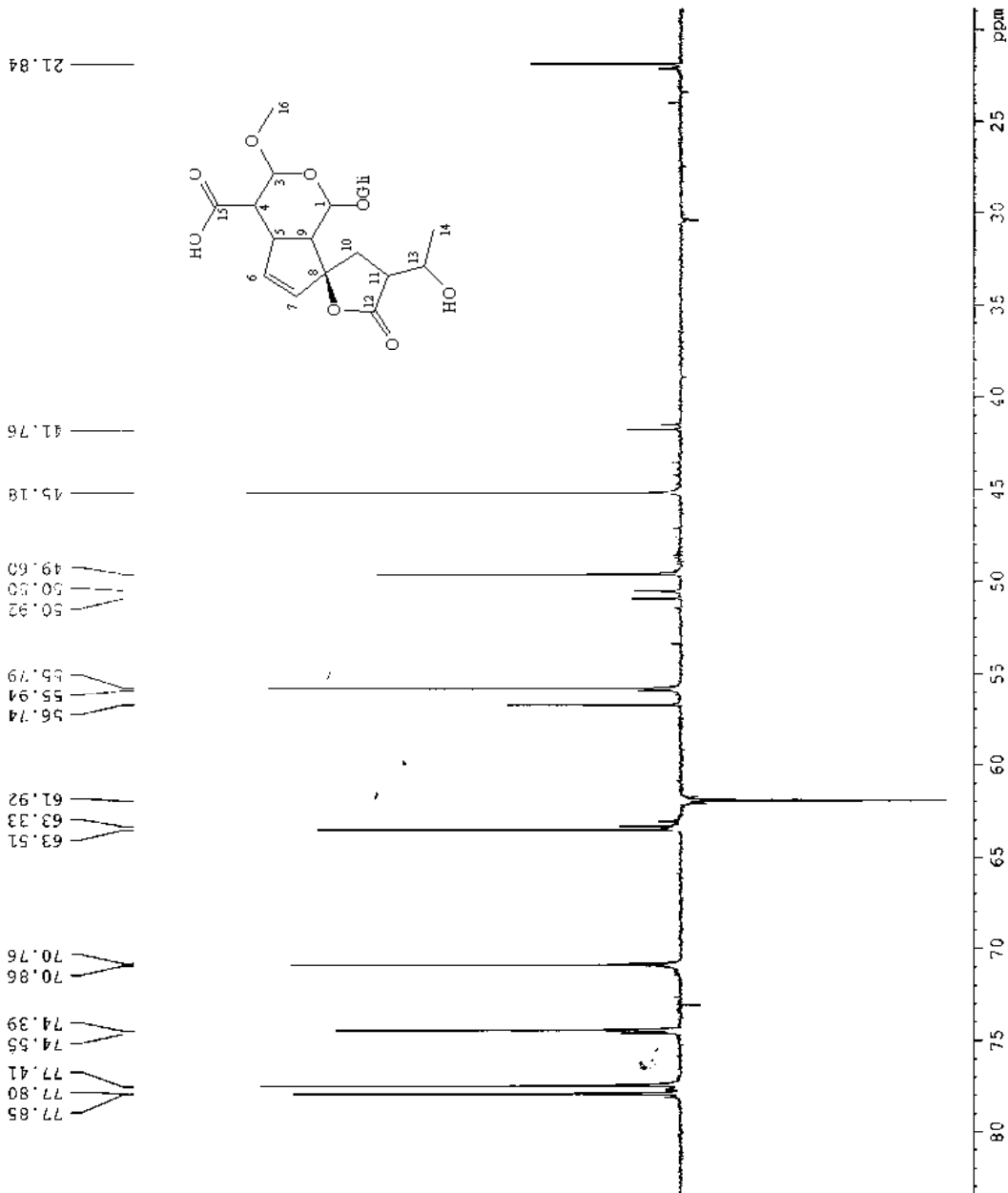
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050625  
 Time\_ 15.17

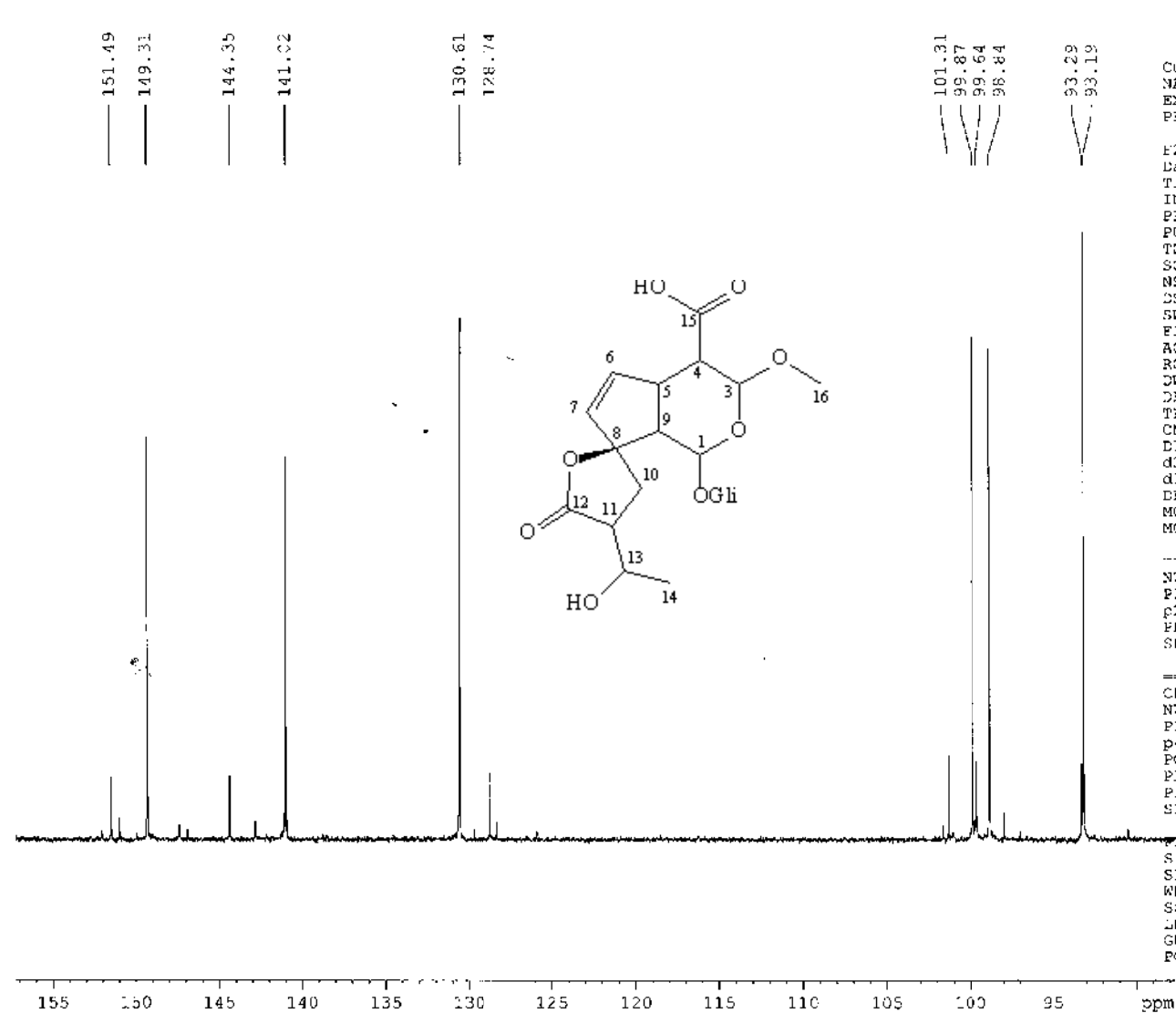
INSTRUM Spect  
 PROBHD 2.5 mm DUL 13C  
 PULPROG dept135  
 TD 32768  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32768  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.916444 Hz  
 AQ 0.5456539 sec  
 RG 16384  
 DW 16.650 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 294.4 K  
 CNST2 145.000000  
 D1 1.50000000 sec  
 d2 0.0034828 sec  
 g12 0.00002000 sec  
 DELTA 0.0001019 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 8.00 usec  
 P2 16.00 usec  
 PL1 8.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

==== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 P3 8.00 usec  
 P4 16.00 usec  
 FCFD2 60.00 usec  
 FL2 3.00 dB  
 FLI2 22.00 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 125.7576587 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 FC 1.40





Current Data Parameters  
 NAME PN10650706  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

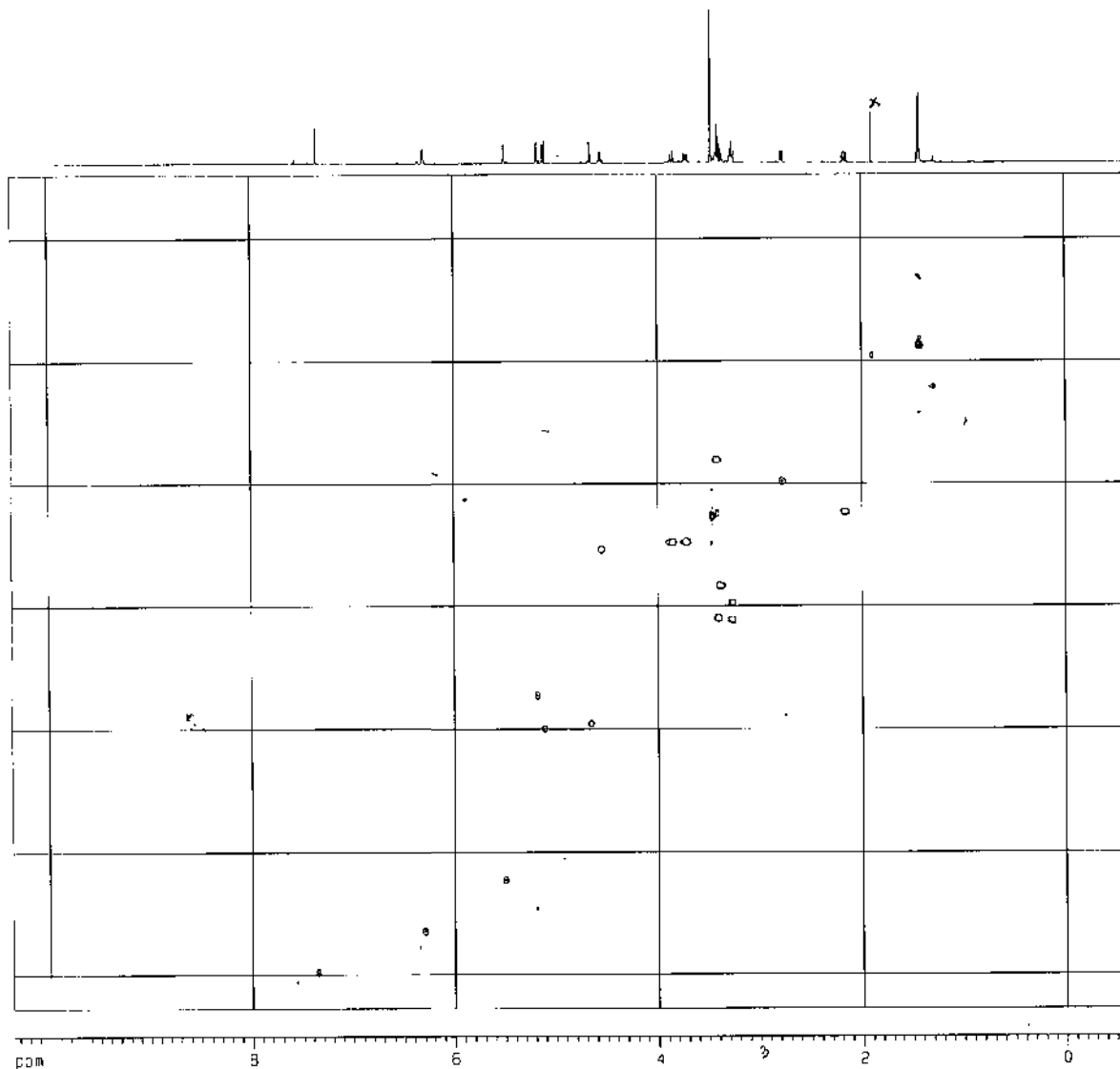
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050625  
 Time 15.17  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 2.5 mm DSI 13C  
 PULPROG dept135  
 TD 32768  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32768  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.916444 Hz  
 AQ 0.5496539 sec  
 RG 16384  
 CW 16.650 usec  
 CB 6.00 usec  
 TE 294.4 K  
 CNST2 145.0000000  
 DI 1.53000000 sec  
 d2 0.00344828 sec  
 dI2 0.00002000 sec  
 DELTA 0.00001019 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUCL 13C  
 P1 8.00 usec  
 p2 16.00 usec  
 PL1 8.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUCL 1H  
 P3 9.00 usec  
 p4 18.00 usec  
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 3.00 dB  
 PL12 22.00 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

--- Processing parameters ---  
 SI 16384  
 SF 125.7576587 MHz  
 RDN EM  
 SSB 0  
 LE 1.00 Hz  
 GE 0  
 PC 1.40

Espectro 74 – 2ª Expansão do espectro DEPT (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters  
NAME 00000000  
EXPNO 1  
PROCNO 1

12 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20090204  
Time 11:30  
INSTRUM spect  
PROBHD 7.5 mm QNP 13C  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SFO 125  
AQ 0.022200 sec  
RG 2048  
DD 0.0000000 sec  
DE 6.50 usec  
TE 300.4 K  
25 DAS1 14.5000000 sec  
SFO 125.0000000 MHz  
AQ 0.0222000 sec  
RG 2048  
DD 0.0000000 sec  
DE 6.50 usec  
TE 300.4 K

50 \*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 10.00 usec  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PC2 12.00 usec  
F2 - acquisition parameters  
NUC 1H  
P1 12.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 12.00 usec  
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.136064 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 0

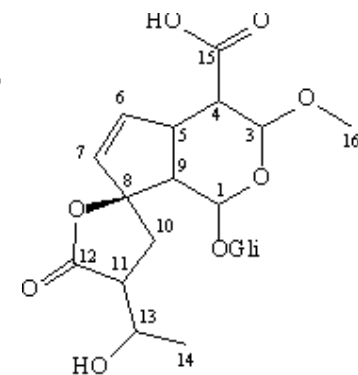
75 \*\*\*\*\* CHANNEL f2 \*\*\*\*\*  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 10.00 usec  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PC2 12.00 usec  
F2 - acquisition parameters  
NUC 1H  
P1 12.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 12.00 usec  
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.136064 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 0

10 \*\*\*\*\* CHANNEL f3 \*\*\*\*\*  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 10.00 usec  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PC2 12.00 usec  
F2 - acquisition parameters  
NUC 1H  
P1 12.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 12.00 usec  
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.136064 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 0

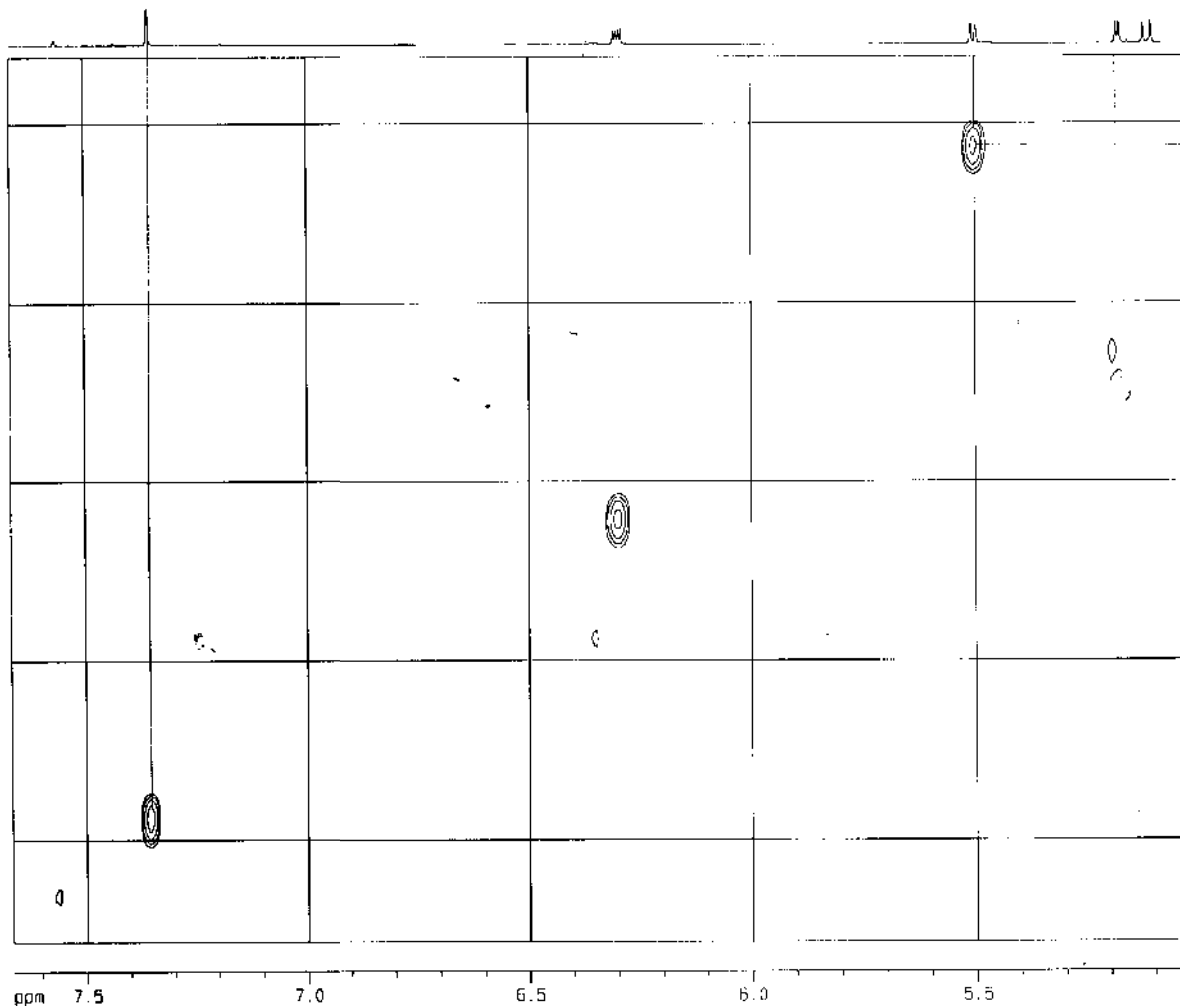
125 \*\*\*\*\* CHANNEL f4 \*\*\*\*\*  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 10.00 usec  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PC2 12.00 usec  
F2 - acquisition parameters  
NUC 1H  
P1 12.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 12.00 usec  
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.136064 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 0

150 \*\*\*\*\* CHANNEL f5 \*\*\*\*\*  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 10.00 usec  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PC2 12.00 usec  
F2 - acquisition parameters  
NUC 1H  
P1 12.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 12.00 usec  
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.136064 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 0

175 \*\*\*\*\* CHANNEL f6 \*\*\*\*\*  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 10.00 usec  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PC2 12.00 usec  
F2 - acquisition parameters  
NUC 1H  
P1 12.00 usec  
PL1 0.00 dB  
PC1 12.00 usec  
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.136064 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 0



Espectro 75 – Espectro HMQC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-dihidroplumierídeo



```

Current Data Parameters
NAME: P4050006
EXPNO: 11
PROCNO: 11

F2 - Acquisition Parameters
Date_   20060524
Time    11:02
INSTRUM spect
PROBHD  2.5 mm QNP 13C
PULPROG zgpg30
AQ       6.04
SOLVENT  H2O
NS       64
DS       16
SWH      5482.456 Hz
FIDRES   0.232951 Hz
AQ       0.3063300 sec
RG        2048
AQ       0.1200 usec
DE        0.30 usec
TE        294.2 K
CHRG1   1.0000000
RG1      0.0000000 sec
RG2      1.5000000 sec
RG3      0.0000000 sec
RG4      0.4000000 sec
RG5      0.0000000 sec
RG6      0.0000000 sec
RG7      0.0000000 sec
RG8      0.0000000 sec
RG9      0.0000000 sec
RG10     0.0000000 sec
RG11     0.0000000 sec
RG12     0.0000000 sec
RG13     0.0000000 sec
RG14     0.0000000 sec
RG15     0.0000000 sec
RG16     0.0000000 sec
RG17     0.0000000 sec
RG18     0.0000000 sec
RG19     0.0000000 sec
RG20     0.0000000 sec

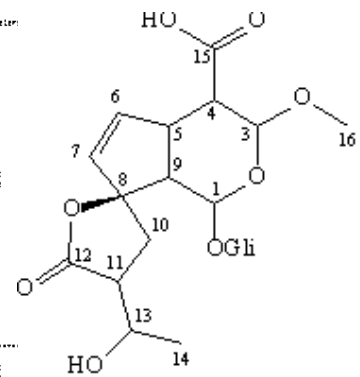
***** CHANNEL f1 *****
NUC1     13C
P1       9.00 usec
PT       16.00 usec
PL1     -2.00 dB
PS1     57.00 dB
SFO1    500.1264500 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2  zgpg30
NUC2     13C
PCPD     1.00 usec
PT       16.00 usec
PL2     -2.00 dB
PS2     57.00 dB
SFO2    500.1264500 MHz

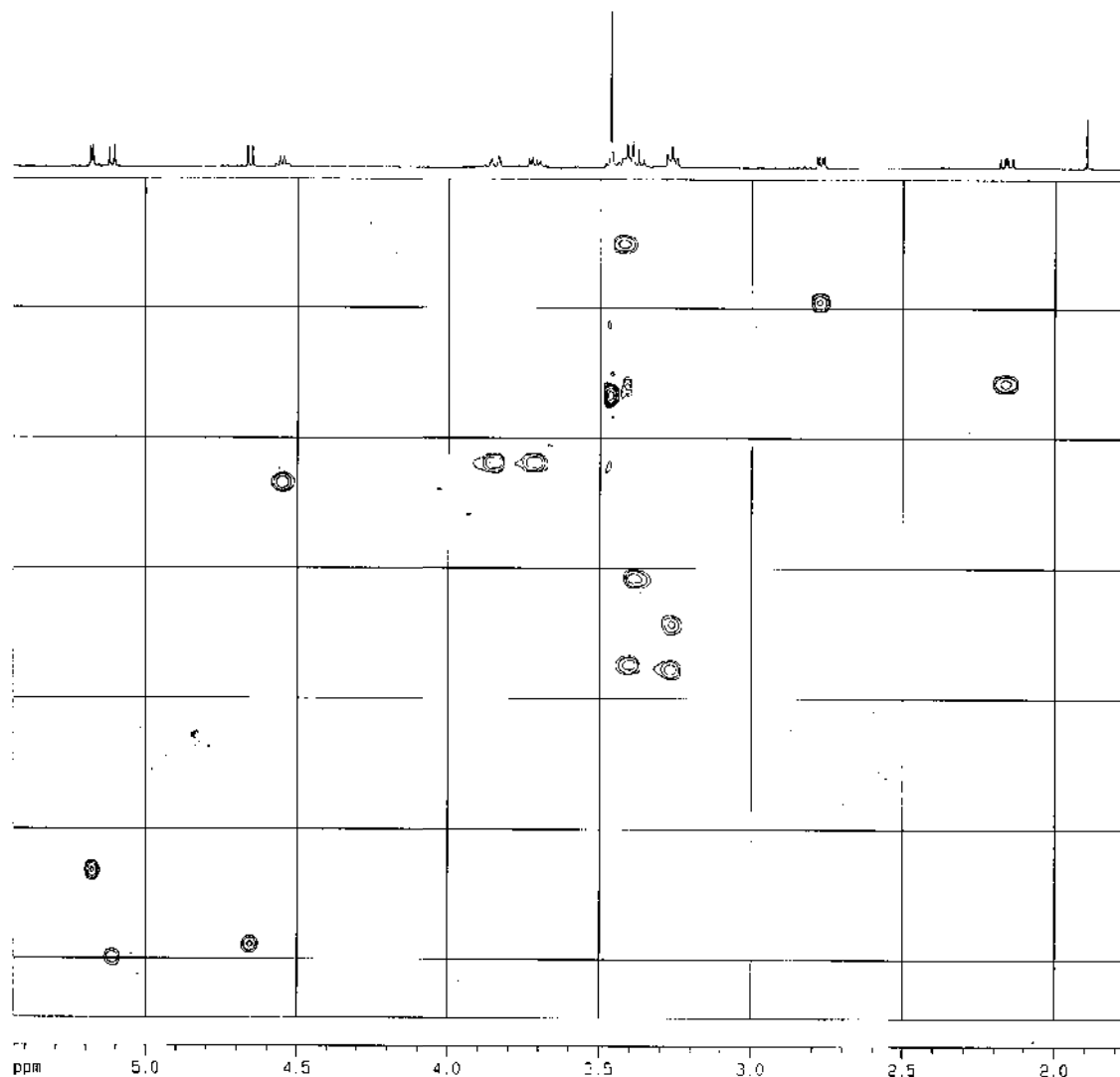
F1 - Acquisition Parameters
RG2      2
RG3      225
SFO1     125.760718 MHz
FIDRES   0.0311400 Hz
SFO2     500.1264500 MHz
F2 - Processing parameters
SI        32768
SF        500.1264500 MHz
RG1       1024
SFO1     125.760718 MHz
RG2       2
RG3       2
RG4       0.00 Hz
RG5       0
RG6       1.00
F3 - Processing parameters
SI        32768
SF        500.1264500 MHz
RG1       1024
SFO1     125.760718 MHz
RG2       2
RG3       2
RG4       0.00 Hz
RG5       0
RG6       1.00

2D NMR List Parameters
SI        32768
SF        500.1264500 MHz
RG1       1024
SFO1     125.760718 MHz
RG2       2
RG3       2
RG4       0.00 Hz
RG5       0
RG6       1.00
F2 - Acquisition Parameters
SI        32768
SF        500.1264500 MHz
RG1       1024
SFO1     125.760718 MHz
RG2       2
RG3       2
RG4       0.00 Hz
RG5       0
RG6       1.00
F3 - Processing parameters
SI        32768
SF        500.1264500 MHz
RG1       1024
SFO1     125.760718 MHz
RG2       2
RG3       2
RG4       0.00 Hz
RG5       0
RG6       1.00

```



Espectro 76 – 1ª expansão do espectro HMQC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-dihidroplumierídeo



Current Data Parameters

```

NAME: 010000700
EXPNO: 1
PROCNO: 1
  
```

F2 - Acquisition Parameters

```

Date_: 20050624
Time: 21:00
INSTRUM: spect
PROBHD: 5 mm QNP 13C
PULPROG: zgpg30
TD: 65536
SOLVENT: DMSO
NS: 1024
DS: 4
SWH: 5483.456 Hz
FIDRES: 0.28381 Hz
AQ: 0.263560 sec
RG: 2048
DE: 81.300 mm
TE: 300.2 K
D1: 0.500000 sec
d11: 0.000000 sec
d12: 0.000000 sec
d13: 0.000000 sec
d14: 0.000000 sec
d15: 0.000000 sec
d16: 0.000000 sec
d17: 0.000000 sec
d18: 0.000000 sec
d19: 0.000000 sec
d20: 0.000000 sec
d21: 0.000000 sec
d22: 0.000000 sec
d23: 0.000000 sec
d24: 0.000000 sec
d25: 0.000000 sec
d26: 0.000000 sec
d27: 0.000000 sec
d28: 0.000000 sec
d29: 0.000000 sec
d30: 0.000000 sec
d31: 0.000000 sec
d32: 0.000000 sec
d33: 0.000000 sec
d34: 0.000000 sec
d35: 0.000000 sec
d36: 0.000000 sec
d37: 0.000000 sec
d38: 0.000000 sec
d39: 0.000000 sec
d40: 0.000000 sec
d41: 0.000000 sec
d42: 0.000000 sec
d43: 0.000000 sec
d44: 0.000000 sec
d45: 0.000000 sec
d46: 0.000000 sec
d47: 0.000000 sec
d48: 0.000000 sec
d49: 0.000000 sec
d50: 0.000000 sec
  
```

----- CHANNEL f1 -----

```

NUC1: 13C
P1: 9.00 usec
PL1: 0.00 dB
PL2: 0.00 dB
PL3: 0.00 dB
PL4: 0.00 dB
PL5: 0.00 dB
PL6: 0.00 dB
PL7: 0.00 dB
PL8: 0.00 dB
PL9: 0.00 dB
PL10: 0.00 dB
PL11: 0.00 dB
PL12: 0.00 dB
PL13: 0.00 dB
PL14: 0.00 dB
PL15: 0.00 dB
PL16: 0.00 dB
PL17: 0.00 dB
PL18: 0.00 dB
PL19: 0.00 dB
PL20: 0.00 dB
PL21: 0.00 dB
PL22: 0.00 dB
PL23: 0.00 dB
PL24: 0.00 dB
PL25: 0.00 dB
PL26: 0.00 dB
PL27: 0.00 dB
PL28: 0.00 dB
PL29: 0.00 dB
PL30: 0.00 dB
PL31: 0.00 dB
PL32: 0.00 dB
PL33: 0.00 dB
PL34: 0.00 dB
PL35: 0.00 dB
PL36: 0.00 dB
PL37: 0.00 dB
PL38: 0.00 dB
PL39: 0.00 dB
PL40: 0.00 dB
PL41: 0.00 dB
PL42: 0.00 dB
PL43: 0.00 dB
PL44: 0.00 dB
PL45: 0.00 dB
PL46: 0.00 dB
PL47: 0.00 dB
PL48: 0.00 dB
PL49: 0.00 dB
PL50: 0.00 dB
PL51: 0.00 dB
PL52: 0.00 dB
PL53: 0.00 dB
PL54: 0.00 dB
PL55: 0.00 dB
PL56: 0.00 dB
PL57: 0.00 dB
PL58: 0.00 dB
PL59: 0.00 dB
PL60: 0.00 dB
PL61: 0.00 dB
PL62: 0.00 dB
PL63: 0.00 dB
PL64: 0.00 dB
PL65: 0.00 dB
PL66: 0.00 dB
PL67: 0.00 dB
PL68: 0.00 dB
PL69: 0.00 dB
PL70: 0.00 dB
PL71: 0.00 dB
PL72: 0.00 dB
PL73: 0.00 dB
PL74: 0.00 dB
PL75: 0.00 dB
PL76: 0.00 dB
PL77: 0.00 dB
PL78: 0.00 dB
PL79: 0.00 dB
PL80: 0.00 dB
PL81: 0.00 dB
PL82: 0.00 dB
PL83: 0.00 dB
PL84: 0.00 dB
PL85: 0.00 dB
PL86: 0.00 dB
PL87: 0.00 dB
PL88: 0.00 dB
PL89: 0.00 dB
PL90: 0.00 dB
PL91: 0.00 dB
PL92: 0.00 dB
PL93: 0.00 dB
PL94: 0.00 dB
PL95: 0.00 dB
PL96: 0.00 dB
PL97: 0.00 dB
PL98: 0.00 dB
PL99: 0.00 dB
PL100: 0.00 dB
  
```

----- CHANNEL f2 -----

```

NUC2: 13C
P2: 9.00 usec
PL2: 0.00 dB
PL3: 0.00 dB
PL4: 0.00 dB
PL5: 0.00 dB
PL6: 0.00 dB
PL7: 0.00 dB
PL8: 0.00 dB
PL9: 0.00 dB
PL10: 0.00 dB
PL11: 0.00 dB
PL12: 0.00 dB
PL13: 0.00 dB
PL14: 0.00 dB
PL15: 0.00 dB
PL16: 0.00 dB
PL17: 0.00 dB
PL18: 0.00 dB
PL19: 0.00 dB
PL20: 0.00 dB
PL21: 0.00 dB
PL22: 0.00 dB
PL23: 0.00 dB
PL24: 0.00 dB
PL25: 0.00 dB
PL26: 0.00 dB
PL27: 0.00 dB
PL28: 0.00 dB
PL29: 0.00 dB
PL30: 0.00 dB
PL31: 0.00 dB
PL32: 0.00 dB
PL33: 0.00 dB
PL34: 0.00 dB
PL35: 0.00 dB
PL36: 0.00 dB
PL37: 0.00 dB
PL38: 0.00 dB
PL39: 0.00 dB
PL40: 0.00 dB
PL41: 0.00 dB
PL42: 0.00 dB
PL43: 0.00 dB
PL44: 0.00 dB
PL45: 0.00 dB
PL46: 0.00 dB
PL47: 0.00 dB
PL48: 0.00 dB
PL49: 0.00 dB
PL50: 0.00 dB
PL51: 0.00 dB
PL52: 0.00 dB
PL53: 0.00 dB
PL54: 0.00 dB
PL55: 0.00 dB
PL56: 0.00 dB
PL57: 0.00 dB
PL58: 0.00 dB
PL59: 0.00 dB
PL60: 0.00 dB
PL61: 0.00 dB
PL62: 0.00 dB
PL63: 0.00 dB
PL64: 0.00 dB
PL65: 0.00 dB
PL66: 0.00 dB
PL67: 0.00 dB
PL68: 0.00 dB
PL69: 0.00 dB
PL70: 0.00 dB
PL71: 0.00 dB
PL72: 0.00 dB
PL73: 0.00 dB
PL74: 0.00 dB
PL75: 0.00 dB
PL76: 0.00 dB
PL77: 0.00 dB
PL78: 0.00 dB
PL79: 0.00 dB
PL80: 0.00 dB
PL81: 0.00 dB
PL82: 0.00 dB
PL83: 0.00 dB
PL84: 0.00 dB
PL85: 0.00 dB
PL86: 0.00 dB
PL87: 0.00 dB
PL88: 0.00 dB
PL89: 0.00 dB
PL90: 0.00 dB
PL91: 0.00 dB
PL92: 0.00 dB
PL93: 0.00 dB
PL94: 0.00 dB
PL95: 0.00 dB
PL96: 0.00 dB
PL97: 0.00 dB
PL98: 0.00 dB
PL99: 0.00 dB
PL100: 0.00 dB
  
```

F1 - Acquisition parameters

```

RG: 2048
SFO1: 125.762 MHz
FIDRES: 0.28381 Hz
AQ: 0.263560 sec
FWD00: 0.000000 sec
  
```

F2 - Processing parameters

```

SI: 32768
SF: 500.136064 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 0.00 Hz
GB: 0
PC: 1.40
  
```

F3 - Processing parameters

```

SI: 32768
HC2: S4444-1003
SF: 125.762625 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 0.00 Hz
GB: 0
PC: 1.40
  
```

F4 - Acquisition parameters

```

RG: 2048
SFO4: 125.762 MHz
FIDRES: 0.28381 Hz
AQ: 0.263560 sec
FWD00: 0.000000 sec
  
```

F5 - Processing parameters

```

SI: 32768
HC2: S4444-1003
SF: 125.762625 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 0.00 Hz
GB: 0
PC: 1.40
  
```

F6 - Acquisition parameters

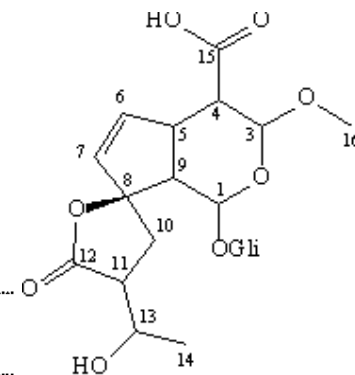
```

RG: 2048
SFO6: 125.762 MHz
FIDRES: 0.28381 Hz
AQ: 0.263560 sec
FWD00: 0.000000 sec
  
```

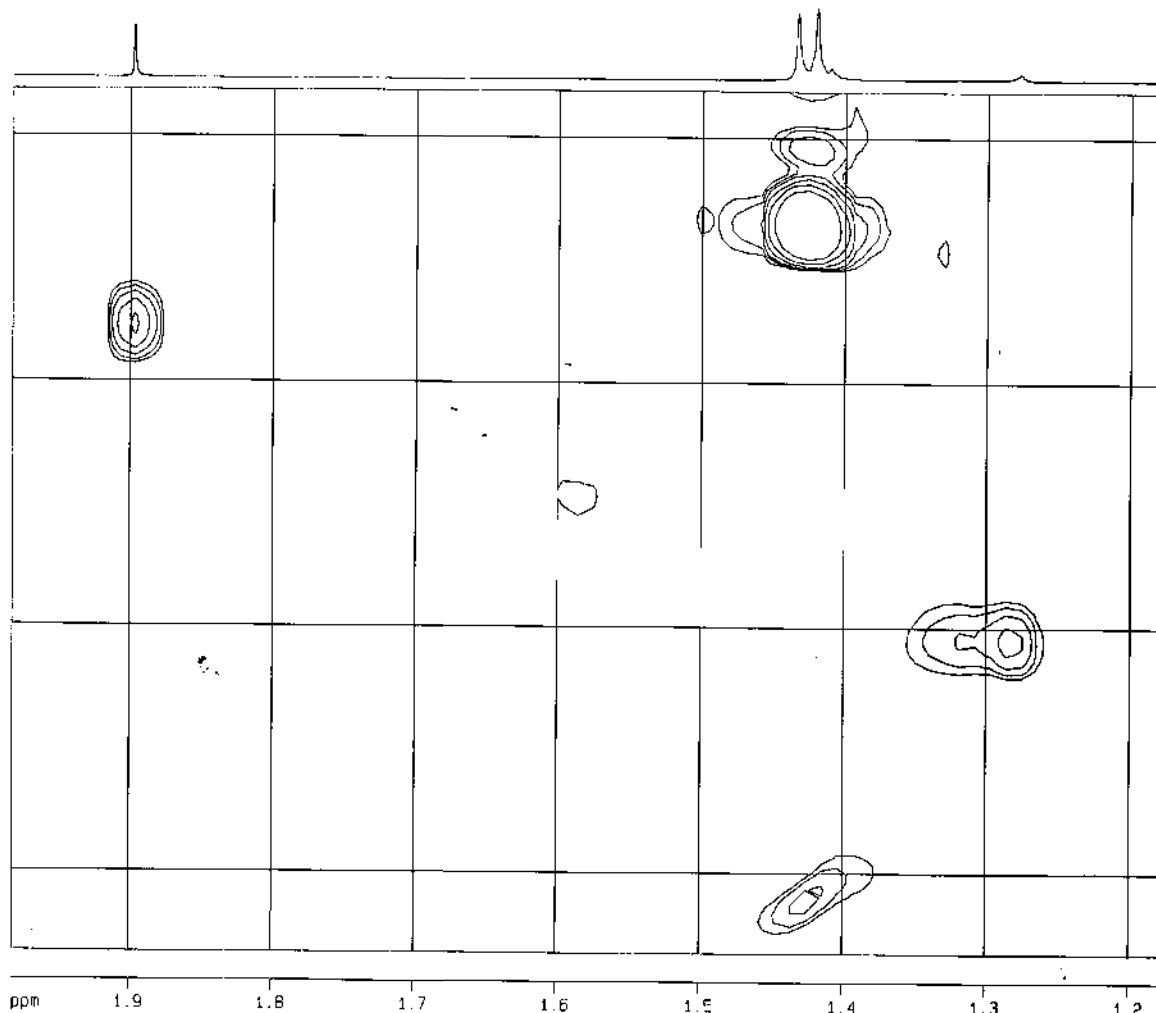
F7 - Processing parameters

```

SI: 32768
HC2: S4444-1003
SF: 125.762625 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 0.00 Hz
GB: 0
PC: 1.40
  
```



Espectro 77 – 2ª expansão do espectro HMQC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters  
 NAME: M080706  
 EXPNO: 12  
 PROCNO: 5

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_: 20090604  
 Time: 01:30  
 INSTRUM: spect  
 PROBNM: 2.5 ml D1, 12C  
 PULPROG: zgpg30  
 TO: 1004  
 SOLVENT: H2O  
 NS: 64  
 DS: 4  
 SWH: 5467.450 Hz  
 FIDRES: 0.25381 Hz  
 AQ: 0.020300 sec  
 TD: 65536  
 SFO: 500.136099 MHz  
 DE: 2.00 usec  
 TE: 293.15 K  
 CHFTZ: 143 000000  
 HQ: 0.0000000 sec  
 D1: 1.5000000 sec  
 D2: 0.0034400 sec  
 D3: 0.4000000 sec  
 d11: 0.1000000 sec  
 d12: 0.0000000 sec  
 d13: 0.0000000 sec  
 d14: 0.0000000 sec  
 DELTA: 0.0000000 sec  
 ACQ1: CHAN1: f1  
 CH1: 50  
 PL1: 9.00 usec  
 PL2: 18.00 usec  
 PL3: 2.00 dB  
 PL4: 97.80 dB  
 SFO1: 500.1324506 MHz

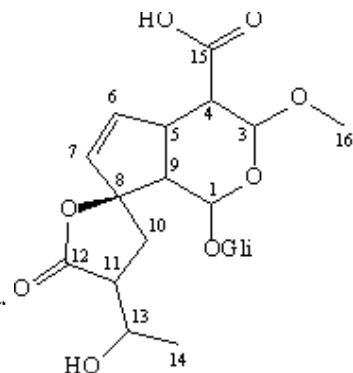
CHANNEL F2  
 CPDPRG2: waltz16  
 P1: 8.00 usec  
 P2: 18.00 usec  
 P3: 18.00 usec  
 P4: 20.00 usec  
 PL1: 9.00 dB  
 PL2: 25.00 dB  
 SFO2: 125.765218 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 HQ: 2  
 TO: 256  
 SFO: 125.765719 MHz  
 FIDRES: 0.151490 Hz  
 SW: 160.000 MHz  
 PULPROG: States-PPH

F2 - Processing parameters  
 SI: 1024  
 SF: 500.132009 MHz  
 NS: 516  
 DS: 2  
 SWH: 0.00 MHz  
 DE: 2.00 usec  
 TE: 1.00

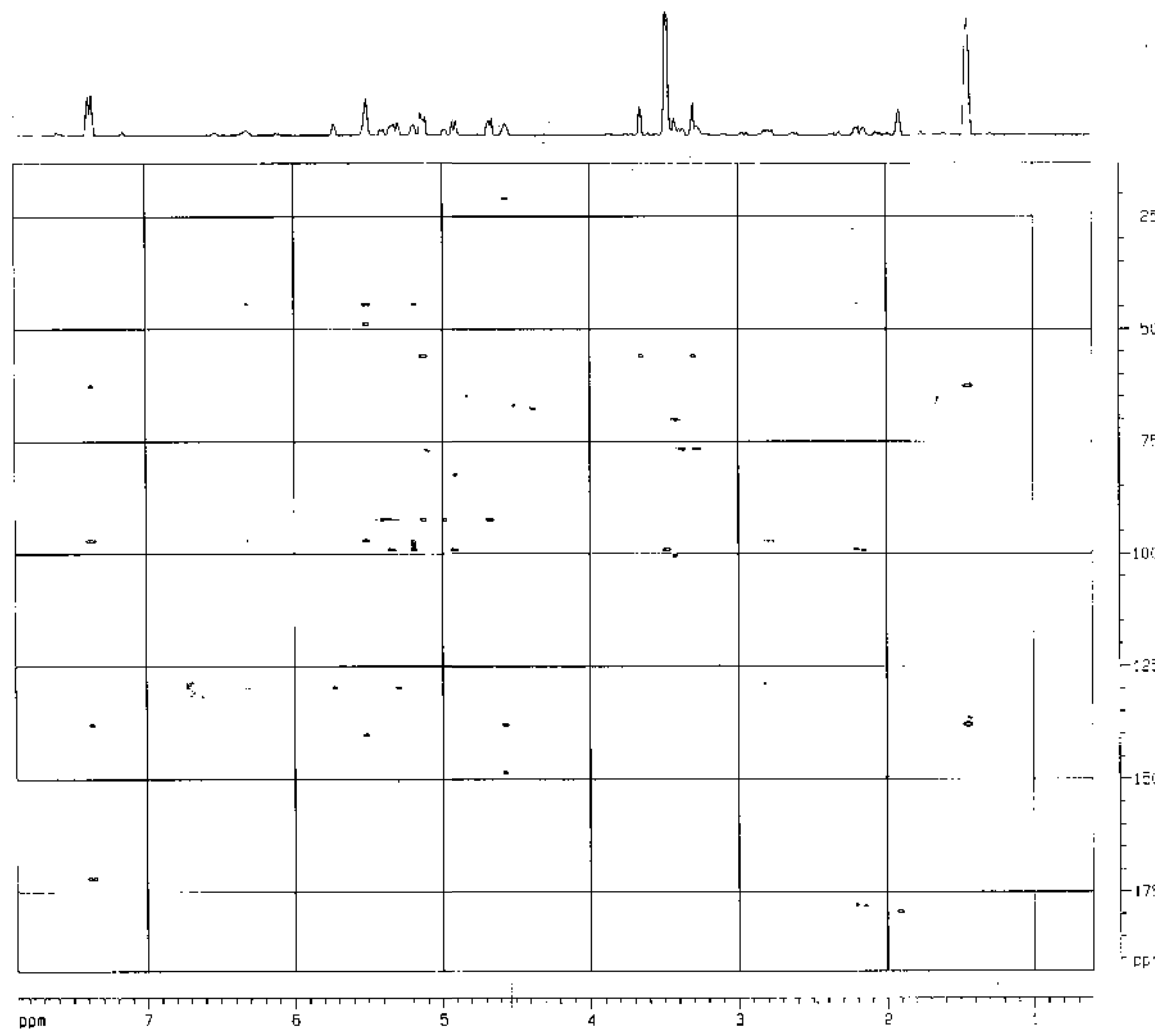
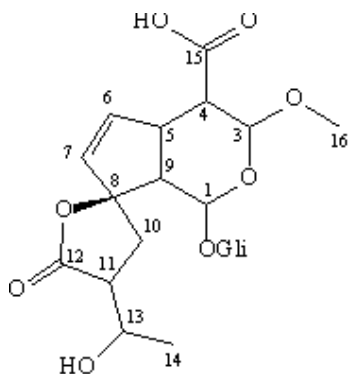
F1 - Processing parameters  
 SI: 1024  
 SF: 125.765719 MHz  
 NS: 516  
 DS: 2  
 SWH: 0.00 MHz  
 DE: 2.00

35 50 MHz plot parameters  
 CQ: 20.00 usec  
 CZ: 15.00 usec  
 FIDRES: 1.000 MHz  
 F1D: 591.27 MHz  
 F2P1: 1.575 MHz  
 F2P2: 596.72 MHz  
 F1F0: 36.625 ppm  
 F1F1: 4699.78 Hz  
 F1F2: 19.858 ppm  
 F1F3: 2386.61 Hz  
 F2P1F0: 0.01014 ppm/ton  
 F2P1F1: 26.0778 Hz/ton  
 F2P1F2: 1.17318 ppm/ton  
 F2P1F3: 147.0987 Hz/ton



Espectro 78 – 3ª expansão do espectro HMQC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



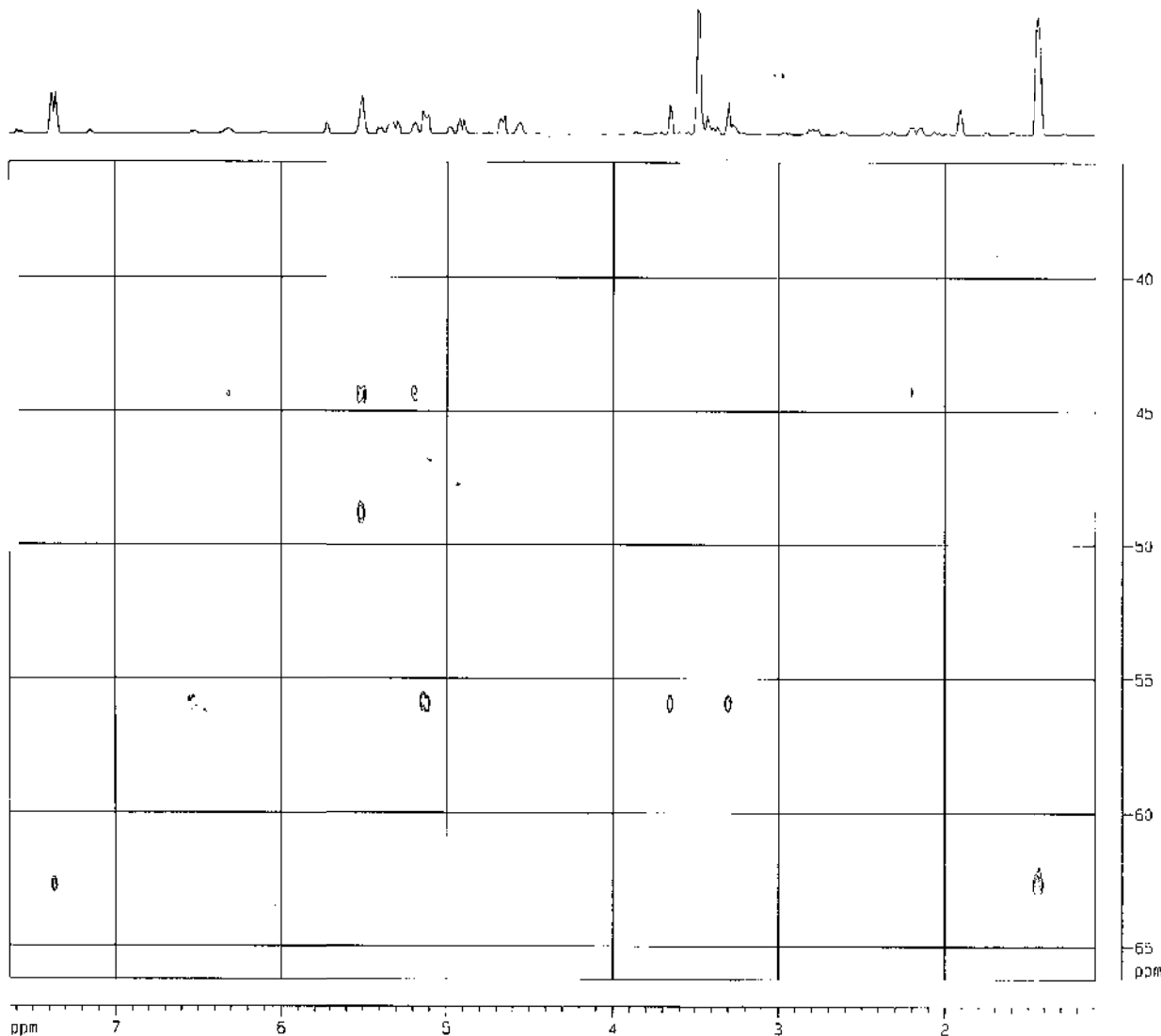
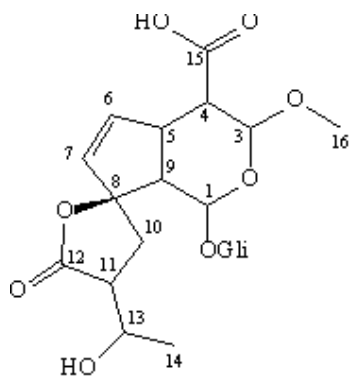


```

Current Data Parameters
NAME: 79
EXPNO: 1
PROCNO: 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ : 200908
Time : 1.31
INSTRUM : spect
PROBHD : 5 mm QNP 1H/1
PULPROG : zgpg30
AQ : 0.096311
RG : 655
AQ : 0.096311
SFO : 500
PC : 1.00
RG : 655
AQ : 0.096311
SF : 500.136
F2 - Processing parameters
SI : 655
SF : 500.136
WDW : EM
SSB : 0
GB : 0
PC : 1.00
F1 - Acquisition parameters
Date_ : 200908
Time : 1.31
INSTRUM : spect
PROBHD : 5 mm QNP 1H/1
PULPROG : zgpg30
AQ : 0.096311
RG : 655
AQ : 0.096311
SFO : 500
PC : 1.00
RG : 655
AQ : 0.096311
SF : 500.136
F1 - Processing parameters
SI : 655
SF : 500.136
WDW : EM
SSB : 0
GB : 0
PC : 1.00
F2 - Acquisition parameters
Date_ : 200908
Time : 1.31
INSTRUM : spect
PROBHD : 5 mm QNP 1H/1
PULPROG : zgpg30
AQ : 0.096311
RG : 655
AQ : 0.096311
SFO : 500
PC : 1.00
RG : 655
AQ : 0.096311
SF : 500.136
F1 - Processing parameters
SI : 655
SF : 500.136
WDW : EM
SSB : 0
GB : 0
PC : 1.00

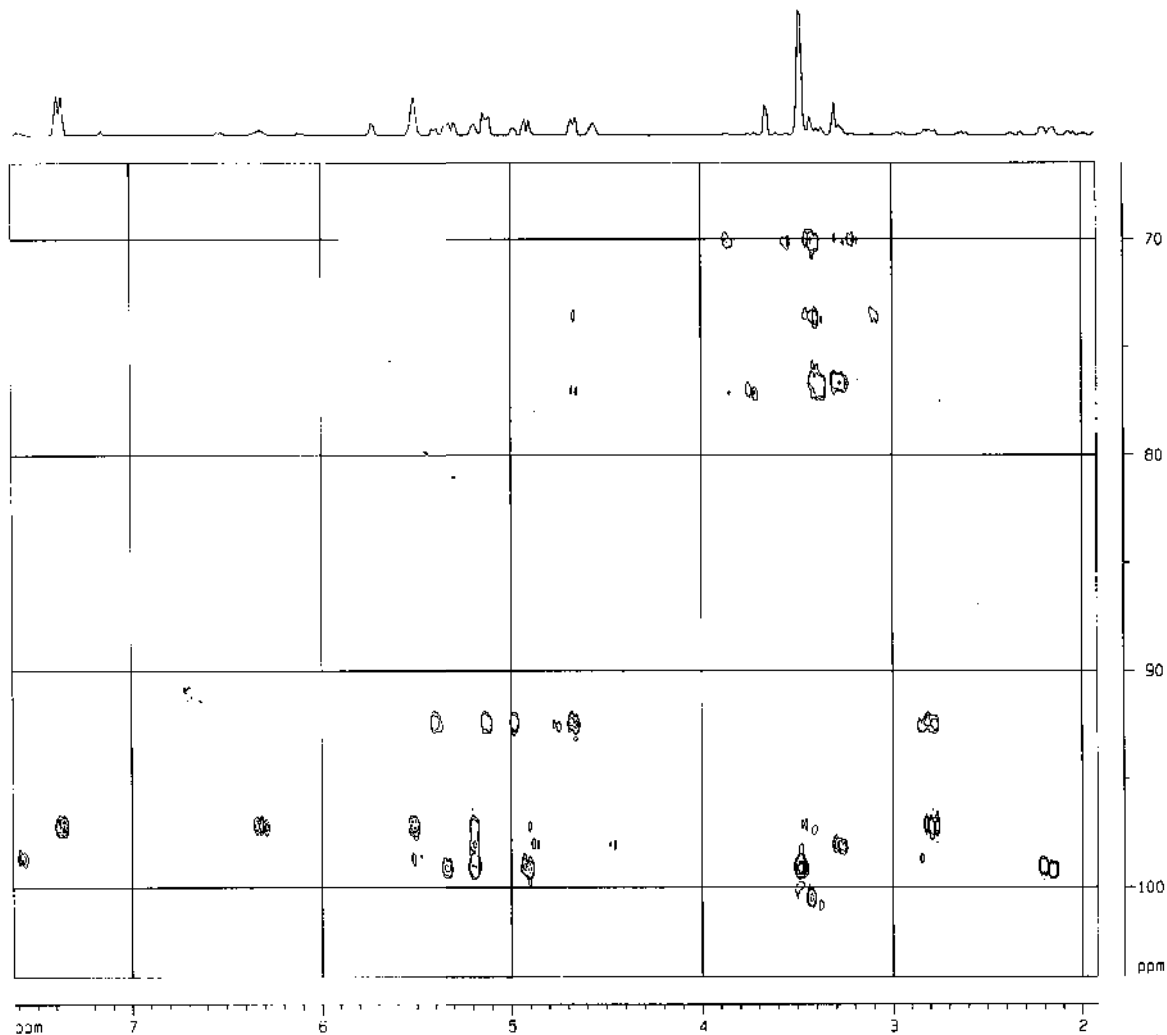
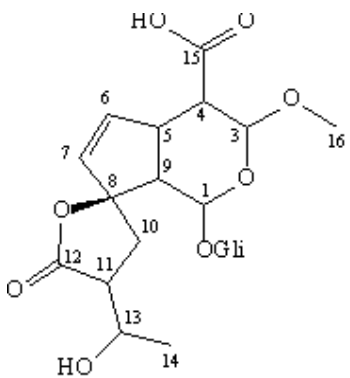
```

Espectro 79 – Espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Control Data Parameters  
 NAME LUMI 3  
 PROC F2  
 F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 06/06/2015  
 Time 4:31  
 INSTRUM spect  
 PROBE 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG zgpg30  
 PC 400  
 DCOffset 0  
 AC 32  
 Am 4200.000 Hz  
 F2STEP 1.62500 Hz  
 AQ 0.491875 sec  
 RG 304  
 SFO 400 MHz  
 DE 104.400 uV  
 IE 5.00 uV  
 IL 0.4  
 CHFT2 0.300000  
 GR 0.0000000 sec  
 IN 1.0000000 sec  
 OB 0.0000000 sec  
 DFC 0.0000000 sec  
 LW 0.0000000 sec  
 ACQST 0.0000000 sec  
 HOREF 0.3000000 sec  
 \*\*\*\*\* CHANNEL F1 \*\*\*\*\*  
 NUC1 13C  
 P1 0.05 sec  
 PL1 16.12 uV  
 PL2 -0.13 dB  
 SFO1 100.6261200 MHz  
 \*\*\*\*\* CHANNEL F2 \*\*\*\*\*  
 NUC2 1H  
 P2 7.00 sec  
 PL2 1.00 dB  
 SFO2 400.1464000 MHz  
 \*\*\*\*\* CHANNEL F3 \*\*\*\*\*  
 CHANNEL F3AC 13C  
 CHANNEL F3SIC 13C  
 CHANNEL F3SC 13C  
 GRF1 0.00 Hz  
 GRF2 0.00 Hz  
 GRF3 0.00 Hz  
 GRF4 0.00 Hz  
 GRF5 0.00 Hz  
 GRF6 0.00 Hz  
 GRF7 0.00 Hz  
 GRF8 0.00 Hz  
 GRF9 0.00 Hz  
 GRF10 0.00 Hz  
 GRF11 0.00 Hz  
 GRF12 0.00 Hz  
 GRF13 0.00 Hz  
 GRF14 0.00 Hz  
 GRF15 0.00 Hz  
 F3 100.00 MHz  
 F3 - Acquisition Parameters  
 SI 1024  
 SF 400.1464000 MHz  
 FIDRES 0.1000000 Hz  
 AQ 0.491875 sec  
 F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 400.1464000 MHz  
 DSF 0.1000000 Hz  
 AQ 0.491875 sec  
 FIDRES 0.1000000 Hz  
 SF 400.1464000 MHz  
 F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 100.6261200 MHz  
 DSF 0.1000000 Hz  
 AQ 0.491875 sec  
 FIDRES 0.1000000 Hz  
 SF 100.6261200 MHz

Espectro 80 – 1ª expansão do espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo

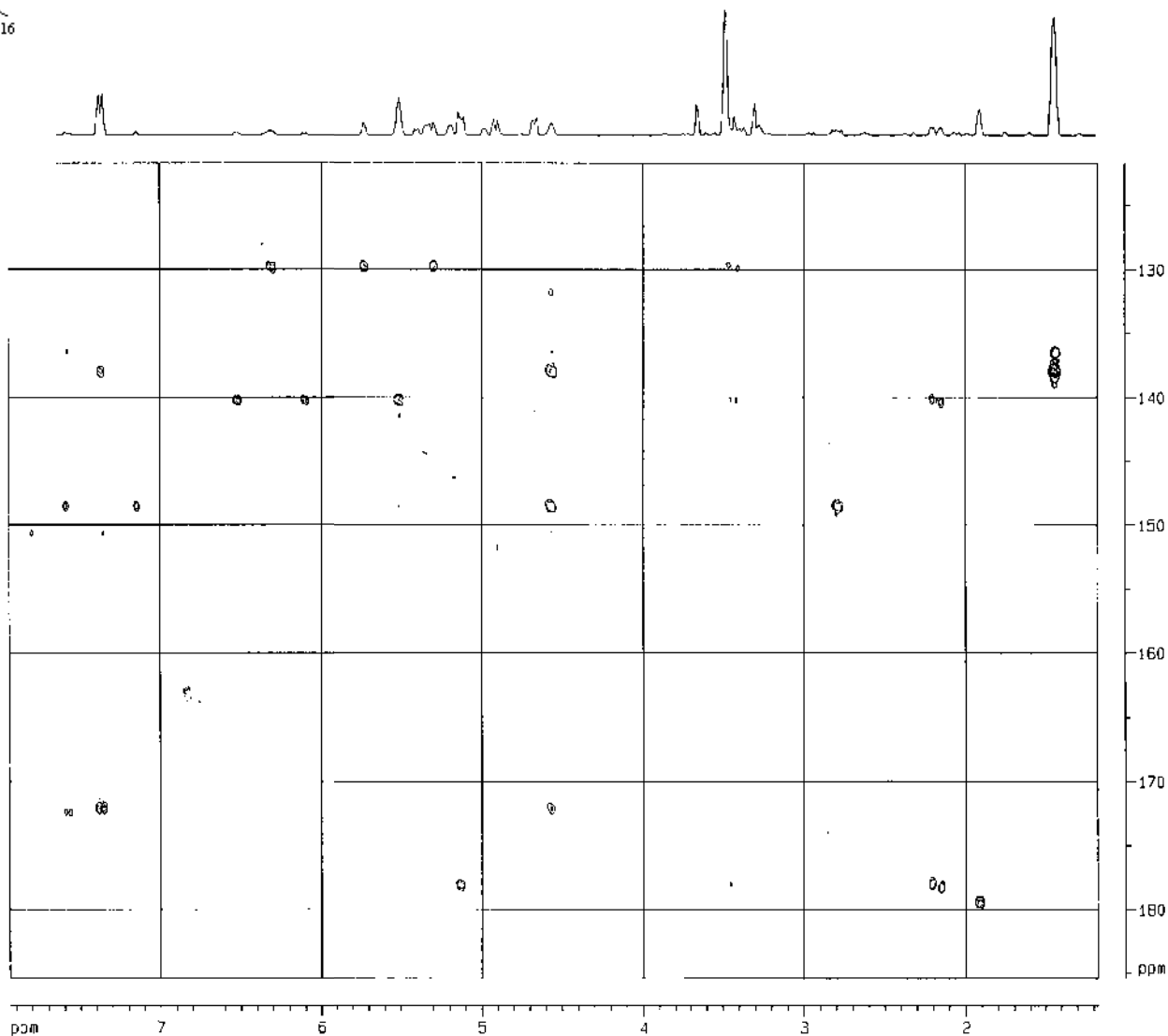
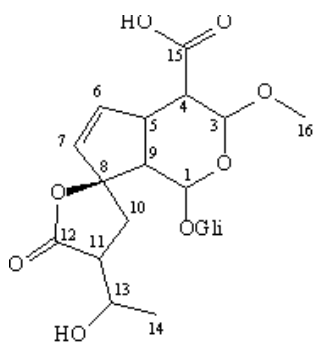


```

Current Data Parameters
NAME          81804506
EXPNO        13
PROCNO       1
-----
F2 - Acquisition Parameters
Date_        20080212
Time         7.21
INSTRUM      spect
PROBHD       5 mm BBO 1H/13
PULPROG      zgpg30
ID           4886
SOLVENT      H2O
DS           24
SWH          1188.212 Hz
FREQS        1.182450 Hz
AQ           0.429724 sec
RG           324.6
DE           104.480 uS
TE           300.2 K
CARET        0.000000
AQ           0.000000 sec
SI           1.000000 sec
AS           0.000000 sec
DLE          0.0001000 sec
SFO          0.0000000 sec
RG          0.0000000 sec
RG          0.0000000 sec
RG          1.5000000 sec
-----
NUC1          CHANNEL 1
P1           18.00 uS
P2           6.00 uS
PC           38.00 uS
PL1          -2.00 dB
PL2          -2.00 dB
PL3          -2.00 dB
PL4          -2.00 dB
PL5          -2.00 dB
PL6          -2.00 dB
PL7          -2.00 dB
PL8          -2.00 dB
PL9          -2.00 dB
PL10         -2.00 dB
PL11         -2.00 dB
PL12         -2.00 dB
PL13         -2.00 dB
PL14         -2.00 dB
PL15         -2.00 dB
PL16         -2.00 dB
PL17         -2.00 dB
PL18         -2.00 dB
PL19         -2.00 dB
PL20         -2.00 dB
PL21         -2.00 dB
PL22         -2.00 dB
PL23         -2.00 dB
PL24         -2.00 dB
PL25         -2.00 dB
PL26         -2.00 dB
PL27         -2.00 dB
PL28         -2.00 dB
PL29         -2.00 dB
PL30         -2.00 dB
PL31         -2.00 dB
PL32         -2.00 dB
PL33         -2.00 dB
PL34         -2.00 dB
PL35         -2.00 dB
PL36         -2.00 dB
PL37         -2.00 dB
PL38         -2.00 dB
PL39         -2.00 dB
PL40         -2.00 dB
PL41         -2.00 dB
PL42         -2.00 dB
PL43         -2.00 dB
PL44         -2.00 dB
PL45         -2.00 dB
PL46         -2.00 dB
PL47         -2.00 dB
PL48         -2.00 dB
PL49         -2.00 dB
PL50         -2.00 dB
PL51         -2.00 dB
PL52         -2.00 dB
PL53         -2.00 dB
PL54         -2.00 dB
PL55         -2.00 dB
PL56         -2.00 dB
PL57         -2.00 dB
PL58         -2.00 dB
PL59         -2.00 dB
PL60         -2.00 dB
PL61         -2.00 dB
PL62         -2.00 dB
PL63         -2.00 dB
PL64         -2.00 dB
PL65         -2.00 dB
PL66         -2.00 dB
PL67         -2.00 dB
PL68         -2.00 dB
PL69         -2.00 dB
PL70         -2.00 dB
PL71         -2.00 dB
PL72         -2.00 dB
PL73         -2.00 dB
PL74         -2.00 dB
PL75         -2.00 dB
PL76         -2.00 dB
PL77         -2.00 dB
PL78         -2.00 dB
PL79         -2.00 dB
PL80         -2.00 dB
PL81         -2.00 dB
PL82         -2.00 dB
PL83         -2.00 dB
PL84         -2.00 dB
PL85         -2.00 dB
PL86         -2.00 dB
PL87         -2.00 dB
PL88         -2.00 dB
PL89         -2.00 dB
PL90         -2.00 dB
PL91         -2.00 dB
PL92         -2.00 dB
PL93         -2.00 dB
PL94         -2.00 dB
PL95         -2.00 dB
PL96         -2.00 dB
PL97         -2.00 dB
PL98         -2.00 dB
PL99         -2.00 dB
PL100        -2.00 dB
-----
NUC2          CHANNEL 13
P1           7.00 uS
P2           7.00 uS
PC           100.000000 uS
PL1          100.000000 dB
PL2          100.000000 dB
PL3          100.000000 dB
PL4          100.000000 dB
PL5          100.000000 dB
PL6          100.000000 dB
PL7          100.000000 dB
PL8          100.000000 dB
PL9          100.000000 dB
PL10         100.000000 dB
PL11         100.000000 dB
PL12         100.000000 dB
PL13         100.000000 dB
PL14         100.000000 dB
PL15         100.000000 dB
PL16         100.000000 dB
PL17         100.000000 dB
PL18         100.000000 dB
PL19         100.000000 dB
PL20         100.000000 dB
PL21         100.000000 dB
PL22         100.000000 dB
PL23         100.000000 dB
PL24         100.000000 dB
PL25         100.000000 dB
PL26         100.000000 dB
PL27         100.000000 dB
PL28         100.000000 dB
PL29         100.000000 dB
PL30         100.000000 dB
PL31         100.000000 dB
PL32         100.000000 dB
PL33         100.000000 dB
PL34         100.000000 dB
PL35         100.000000 dB
PL36         100.000000 dB
PL37         100.000000 dB
PL38         100.000000 dB
PL39         100.000000 dB
PL40         100.000000 dB
PL41         100.000000 dB
PL42         100.000000 dB
PL43         100.000000 dB
PL44         100.000000 dB
PL45         100.000000 dB
PL46         100.000000 dB
PL47         100.000000 dB
PL48         100.000000 dB
PL49         100.000000 dB
PL50         100.000000 dB
PL51         100.000000 dB
PL52         100.000000 dB
PL53         100.000000 dB
PL54         100.000000 dB
PL55         100.000000 dB
PL56         100.000000 dB
PL57         100.000000 dB
PL58         100.000000 dB
PL59         100.000000 dB
PL60         100.000000 dB
PL61         100.000000 dB
PL62         100.000000 dB
PL63         100.000000 dB
PL64         100.000000 dB
PL65         100.000000 dB
PL66         100.000000 dB
PL67         100.000000 dB
PL68         100.000000 dB
PL69         100.000000 dB
PL70         100.000000 dB
PL71         100.000000 dB
PL72         100.000000 dB
PL73         100.000000 dB
PL74         100.000000 dB
PL75         100.000000 dB
PL76         100.000000 dB
PL77         100.000000 dB
PL78         100.000000 dB
PL79         100.000000 dB
PL80         100.000000 dB
PL81         100.000000 dB
PL82         100.000000 dB
PL83         100.000000 dB
PL84         100.000000 dB
PL85         100.000000 dB
PL86         100.000000 dB
PL87         100.000000 dB
PL88         100.000000 dB
PL89         100.000000 dB
PL90         100.000000 dB
PL91         100.000000 dB
PL92         100.000000 dB
PL93         100.000000 dB
PL94         100.000000 dB
PL95         100.000000 dB
PL96         100.000000 dB
PL97         100.000000 dB
PL98         100.000000 dB
PL99         100.000000 dB
PL100        100.000000 dB
-----
F1 - Processing parameters
SI           327.636 MHz
SF           100.626363 MHz
RG           42.000000 Hz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.00 Hz
PC           1.40
-----
F2 - Processing parameters
SI           101.626363 MHz
SF           100.626363 MHz
RG           42.000000 Hz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.00 Hz
PC           1.40
-----
F3 - Processing parameters
SI           101.626363 MHz
SF           100.626363 MHz
RG           42.000000 Hz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.00 Hz
PC           1.40
-----
2D NMR parameters
NUC1         13C
NUC2         1H
SI           100.626363 MHz
SF           100.626363 MHz
RG           42.000000 Hz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.00 Hz
PC           1.40
-----
2D NMR parameters
NUC1         13C
NUC2         1H
SI           100.626363 MHz
SF           100.626363 MHz
RG           42.000000 Hz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.00 Hz
PC           1.40
-----

```

Espectro 81 – 2ª expansão do espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



```

Current Data Parameters
NAME          01100009
EXPNO         11
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20050823
Time         1:24
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm BBO 1H/13
PULPROG       zgpg30
TD            65536
SOLVENT       H2O
NS           512
DS            32
SWH           4780.772 Hz
FIDRES       1.450798 Hz
AQ           1.4270114 sec
RG            256
DB            100.000000 sec
DC            6.00 usec
TE            300.2 K
CQ1313       0.0000000
AQ           0.0000000 sec
D1           1.5000000 sec
DE           0.0000000 sec
D18          0.0000000 sec
D19          0.0000000 sec
RGRES1       0.0000000 sec
RGRES2       1.5000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1          13C
P1            8.00 usec
PL1           0.00 dB
SFO1         101.625361 MHz

----- CHANNEL f2 -----
NUC2          13C
P2            7.00 usec
PL2           0.00 dB
SFO2         101.625361 MHz

----- CHANNEL CHANNEL -----
OPUS1        512K, 190
OPUS2        512K, 130
OPUS3        512K, 190
OPUS4        0 Hz, 2
OPUS5        0 Hz, 2
OPUS6        0 Hz, 2
OPUS7        0 Hz, 2
OPUS8        0 Hz, 2
OPUS9        0 Hz, 2
OPUS10       20.00 Hz, 2
OPUS11       20.00 Hz, 2
OPUS12       20.00 Hz, 2
OPUS13       20.00 Hz, 2
P18          1667.00 usec

F1 - Acquisition Parameters
NAME          01100009
EXPNO         11
PROCNO        1
FIDRES       13.538639 Hz
SFO          271.527 MHz
P1           0

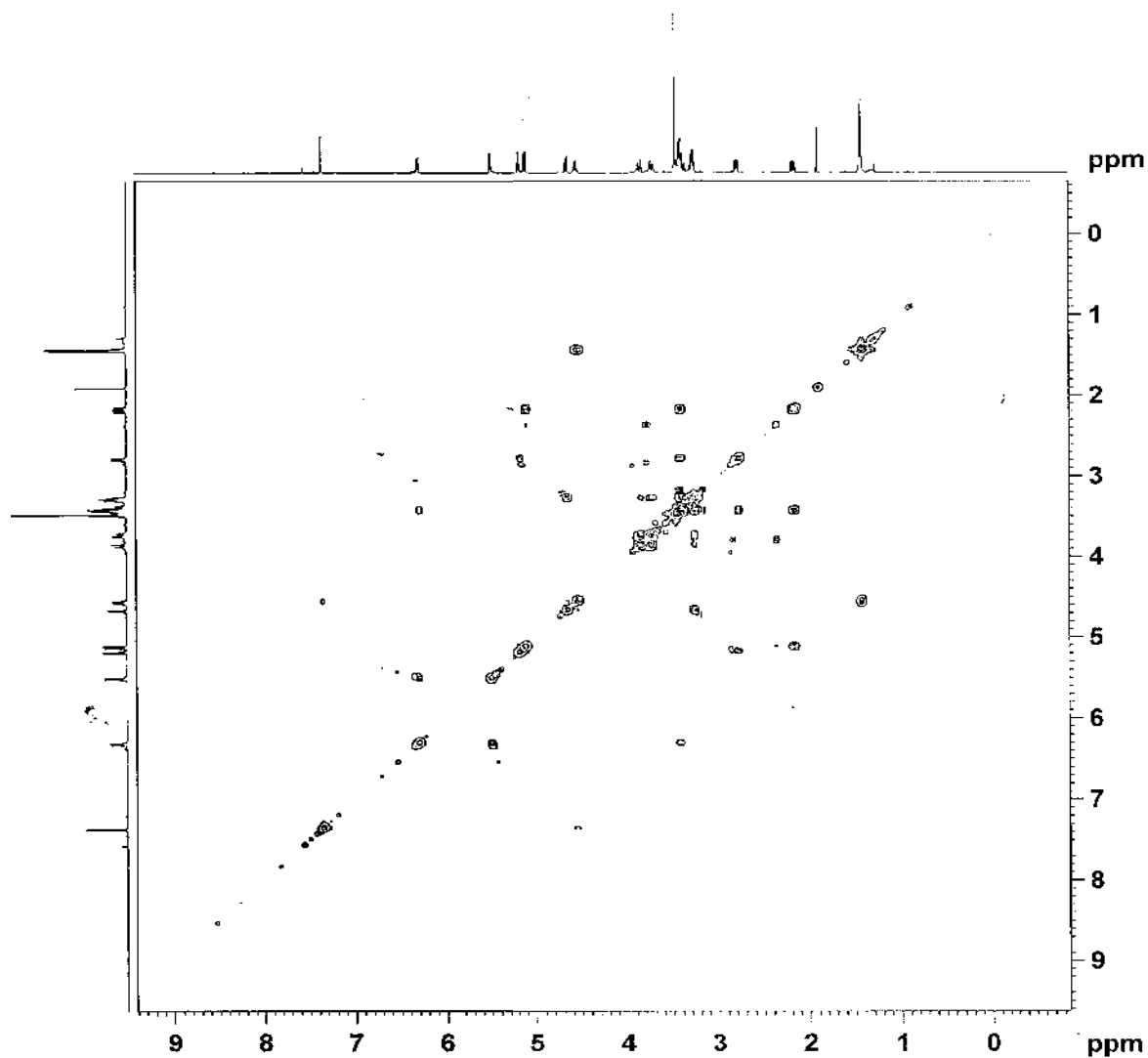
F2 - Processing parameters
SI            32768
SF           400.142003 MHz
WDW           EM
SSB            0
LB            0.50 Hz
GB            0
PC            1.41

F3 - Processing parameters
SI            32768
SF           400.142003 MHz
WDW           EM
SSB            0
LB            0.50 Hz
GB            0
PC            1.41

3D NMR 13C Parameters
Crd          20.00 Hz
C11          15.00 Hz
F2300        7.500 MHz
F2301        3.750 MHz
F2302        3.750 MHz
F2303        400.142 MHz
F2304        20.00 Hz
F2305        20.00 Hz
F2306        20.00 Hz
F2307        20.00 Hz
F2308        20.00 Hz
F2309        20.00 Hz
F2310        20.00 Hz
F2311        20.00 Hz
F2312        20.00 Hz
F2313        20.00 Hz
F2314        20.00 Hz
F2315        20.00 Hz
F2316        20.00 Hz
F2317        20.00 Hz
F2318        20.00 Hz
F2319        20.00 Hz
F2320        20.00 Hz
F2321        20.00 Hz
F2322        20.00 Hz
F2323        20.00 Hz
F2324        20.00 Hz
F2325        20.00 Hz
F2326        20.00 Hz
F2327        20.00 Hz
F2328        20.00 Hz
F2329        20.00 Hz
F2330        20.00 Hz
F2331        20.00 Hz
F2332        20.00 Hz
F2333        20.00 Hz
F2334        20.00 Hz
F2335        20.00 Hz
F2336        20.00 Hz
F2337        20.00 Hz
F2338        20.00 Hz
F2339        20.00 Hz
F2340        20.00 Hz
F2341        20.00 Hz
F2342        20.00 Hz
F2343        20.00 Hz
F2344        20.00 Hz
F2345        20.00 Hz
F2346        20.00 Hz
F2347        20.00 Hz
F2348        20.00 Hz
F2349        20.00 Hz
F2350        20.00 Hz
F2351        20.00 Hz
F2352        20.00 Hz
F2353        20.00 Hz
F2354        20.00 Hz
F2355        20.00 Hz
F2356        20.00 Hz
F2357        20.00 Hz
F2358        20.00 Hz
F2359        20.00 Hz
F2360        20.00 Hz
F2361        20.00 Hz
F2362        20.00 Hz
F2363        20.00 Hz
F2364        20.00 Hz
F2365        20.00 Hz
F2366        20.00 Hz
F2367        20.00 Hz
F2368        20.00 Hz
F2369        20.00 Hz
F2370        20.00 Hz
F2371        20.00 Hz
F2372        20.00 Hz
F2373        20.00 Hz
F2374        20.00 Hz
F2375        20.00 Hz
F2376        20.00 Hz
F2377        20.00 Hz
F2378        20.00 Hz
F2379        20.00 Hz
F2380        20.00 Hz
F2381        20.00 Hz
F2382        20.00 Hz
F2383        20.00 Hz
F2384        20.00 Hz
F2385        20.00 Hz
F2386        20.00 Hz
F2387        20.00 Hz
F2388        20.00 Hz
F2389        20.00 Hz
F2390        20.00 Hz
F2391        20.00 Hz
F2392        20.00 Hz
F2393        20.00 Hz
F2394        20.00 Hz
F2395        20.00 Hz
F2396        20.00 Hz
F2397        20.00 Hz
F2398        20.00 Hz
F2399        20.00 Hz
F2400        20.00 Hz

```

Espectro 82 – 3ª Expansão do espectro HMBC (MeOD, 400MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters  
 NAME pn10650706  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

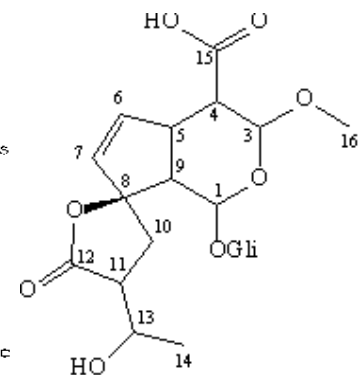
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20050622  
 Time 15.37  
 INSTRUM spect  
 PROBMU 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG cosygpprqf  
 TD 2048  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32  
 DS 4  
 SWE 5208.333 Hz  
 FIDRES 2.543132 Hz  
 AQ 0.1966580 sec  
 RG 812.7  
 CW 96.000 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE C.C K  
 d0 0.0000300 sec  
 d1 2.0000000 sec  
 d11 0.0300000 sec  
 d12 0.0000000 sec  
 d13 0.0000000 sec  
 d16 0.0001000 sec  
 IK3 0.0001924 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWRR 0.0300000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUCL1 1H  
 P0 8.00 usec  
 PL 8.00 usec  
 PL1 -3.00 dB  
 PL9 52.92 dB  
 SFOL 400.1419447 MHz

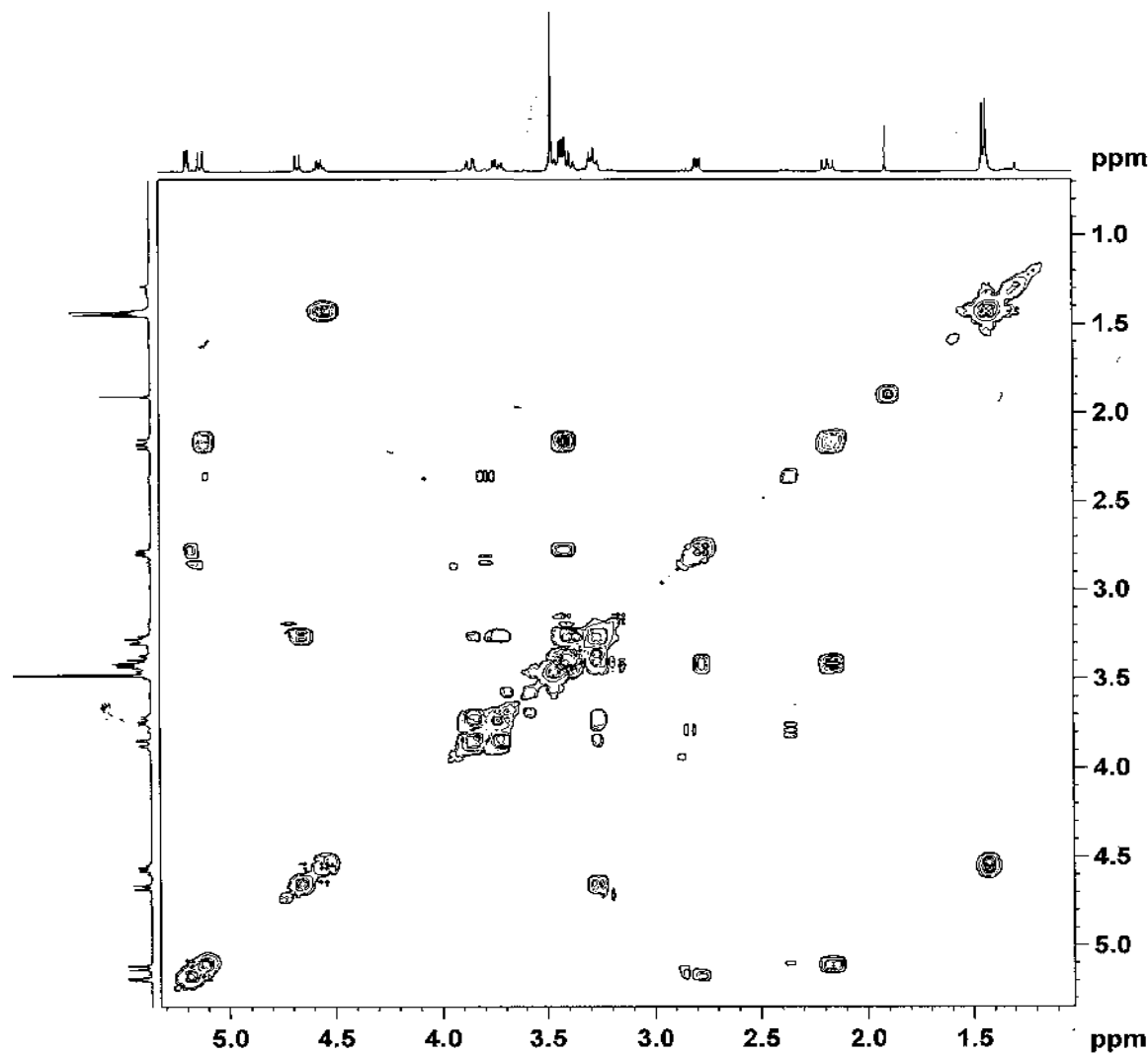
----- GRADIENT CHANNEL -----  
 GPNAM1 SINE.100  
 GPX1 0.00 %  
 GPY1 0.00 %  
 GPZ1 80.00 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
 NDO 1  
 PD 256  
 SF01 400.1419 MHz  
 FIDRES 20.319918 Hz  
 SW 13.000 ppm  
 F0MODE QF

F2 - Processing parameters  
 S1 1024  
 SF 400.140046 MHz  
 WDW STINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0



Espectro 83 – Espectro COSY<sup>1</sup> Hx<sup>1</sup>H (MeOD, 400MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters  
 NAME pnl0650706  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

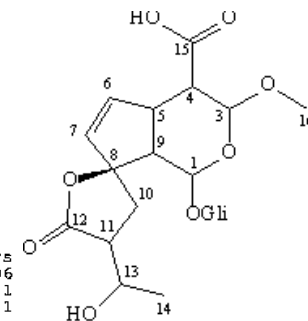
F2 - Acquisition Paramet  
 Date\_ 20050622  
 Time 15.37  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13  
 PULPROG cosygpprqf  
 TD 2048  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32  
 DS 4  
 SWH 5208.333 Hz  
 FIDRES 2.543132 Hz  
 AQ 0.1966580 sec  
 RG 812.7  
 DW 96.000 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 d0 0.00000300 sec  
 D1 2.00000000 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 D12 0.00002000 sec  
 d13 0.00000300 sec  
 D16 0.00010000 sec  
 IN0 0.00019224 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.03000000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 1H  
 P0 8.00 usec  
 P1 8.00 usec  
 PL1 -3.00 dB  
 PL9 52.92 dB  
 SFO1 400.1419447 MHz

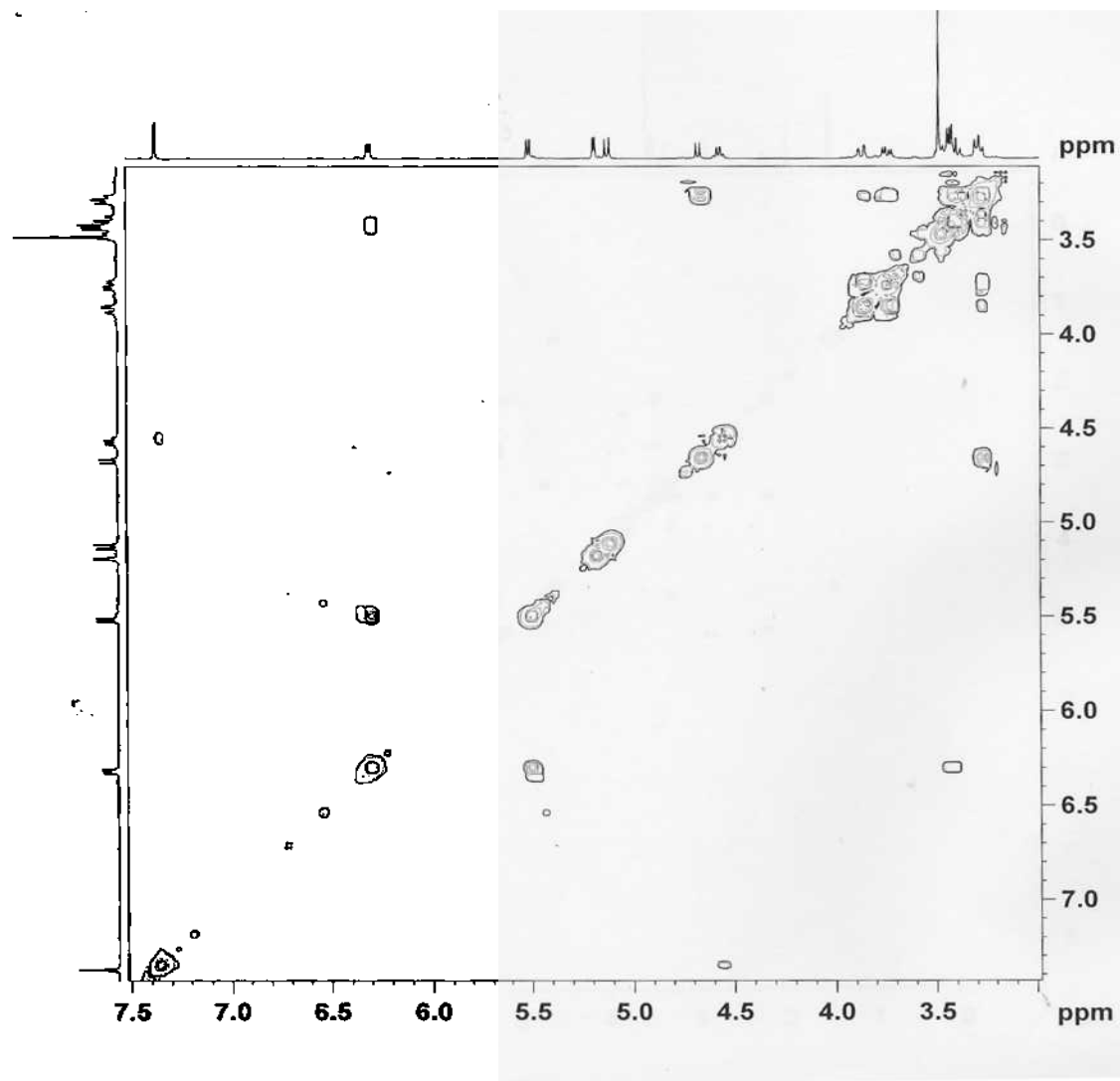
----- GRADIENT CHANNEL -----  
 GPNAM1 SINE.100  
 GPX1 0.00 %  
 GPY1 0.00 %  
 GPZ1 80.00 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
 ND0 1  
 TD 256  
 SFO1 400.1419 MHz  
 FIDRES 20.319918 Hz  
 SW 13.000 ppm  
 EnMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 1024  
 SF 400.1400046 MHz  
 WDW SINE



Espectro 84 – 1ª Expansão do Espectro COSY<sup>1</sup> Hx<sup>1</sup>H (400MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



```

Current Data Parameters
NAME          pnl0650706
EXPNO         11
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20050622
Time          15.37
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       cosygpprqf
TD            2048
SOLVENT       MeOD
NS            32
DS            4
SWH           5208.333 Hz
FIDRES        2.543132 Hz
AQ            0.1966580 sec
RG            812.7
DW            96.000 usec
DE            6.00 usec
TE            0.0 K
d0            0.00000300 sec
D1            2.00000000 sec
D11           0.03000000 sec
D12           0.00002000 sec
d13           0.00000300 sec
D16           0.00010000 sec
IN0           0.00019224 sec
MCREST        0.00000000 sec
MCWRK         0.03000000 sec

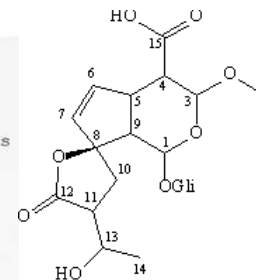
===== CHANNEL f1 =====
NUC1           1H
P0             8.00 usec
P1             8.00 usec
PL1            -3.00 dB
PL9            52.92 dB
SFO1          400.1419447 MHz

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1        SINE.100
GPX1           0.00 %
GPY1           0.00 %
GPZ1           80.00 %
P16           1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ND0            1
TD             256
SFO1           400.1419 MHz
FIDRES         20.319918 Hz
SW             13.000 ppm
FnMODE         QF

F2 - Processing parameters
SI             1024
SF             400.1400046 MHz
WDW            SINE
SSB            0
LB             0.00 Hz
GB            0

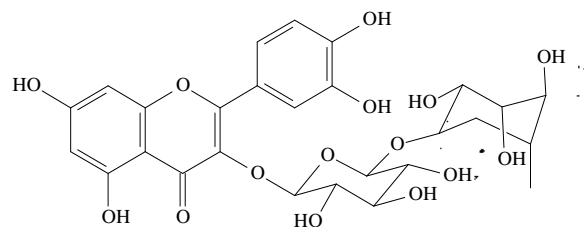
```



Carla - PREP 3



7.663  
7.641  
7.625  
7.621  
6.878  
6.861  
6.398  
6.205  
5.112  
5.097  
4.909  
4.513  
3.809  
3.788  
3.624  
3.548  
3.541  
3.529  
3.522  
3.484  
3.466  
3.456  
3.450  
3.445  
3.438  
3.424  
3.405  
3.388  
3.380  
3.367  
3.333  
3.311  
3.308  
3.305  
3.302  
3.299  
3.280  
3.274  
3.262  
3.255  
3.243

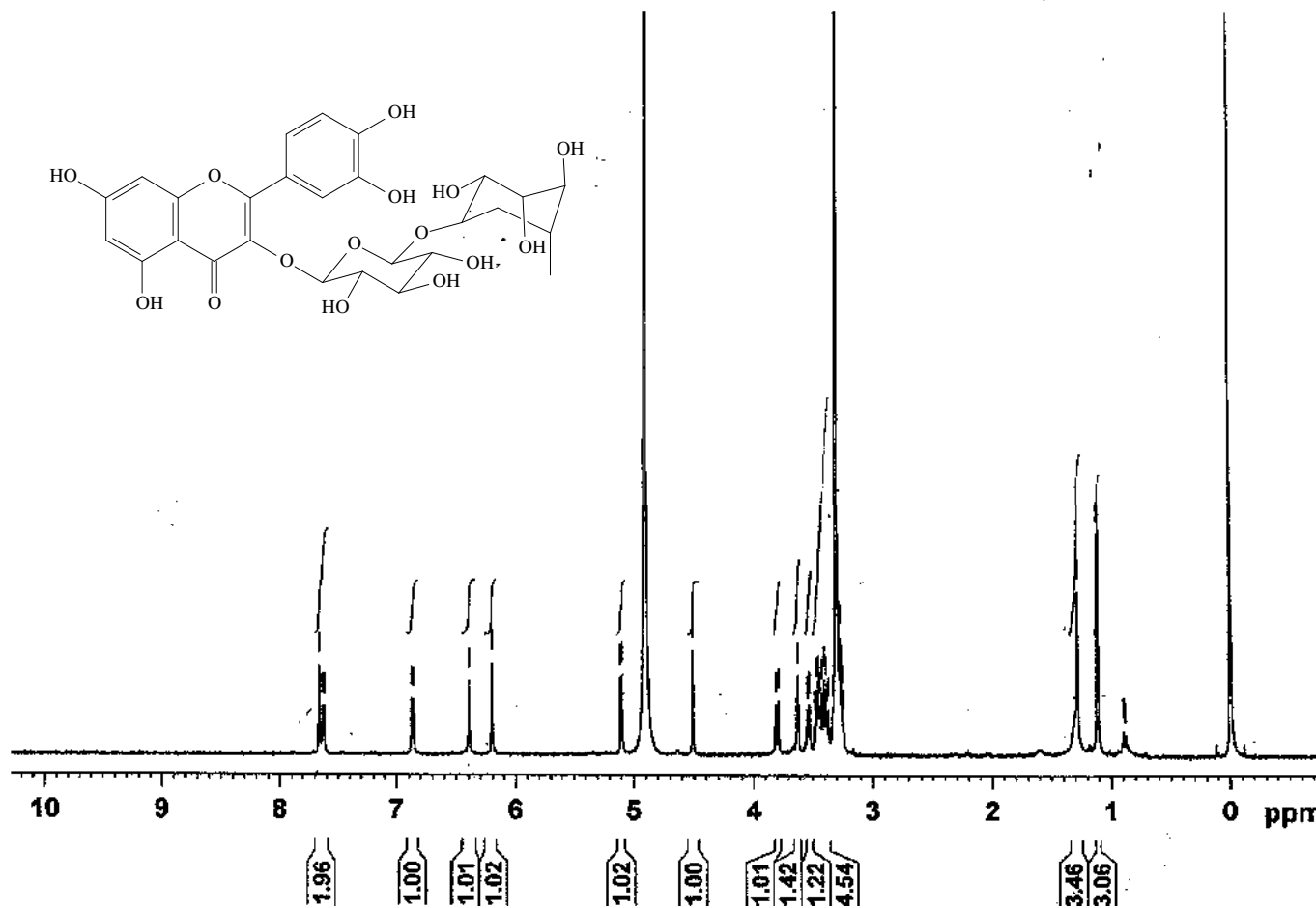


Current Data Parameters  
NAME PREP3  
EXPNO 10  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040521  
Time 14.36  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 0  
SWH 10330.578 Hz  
FIDRES 0.157632 Hz  
AQ 3.1720407 sec  
RG 287.4  
DW 48.400 use  
DE 6.00 use  
TE 0.0 K  
D1 2.00000000 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P1 12.75 use  
PL1 0.00 dB  
SF01 500.1330985 MHz

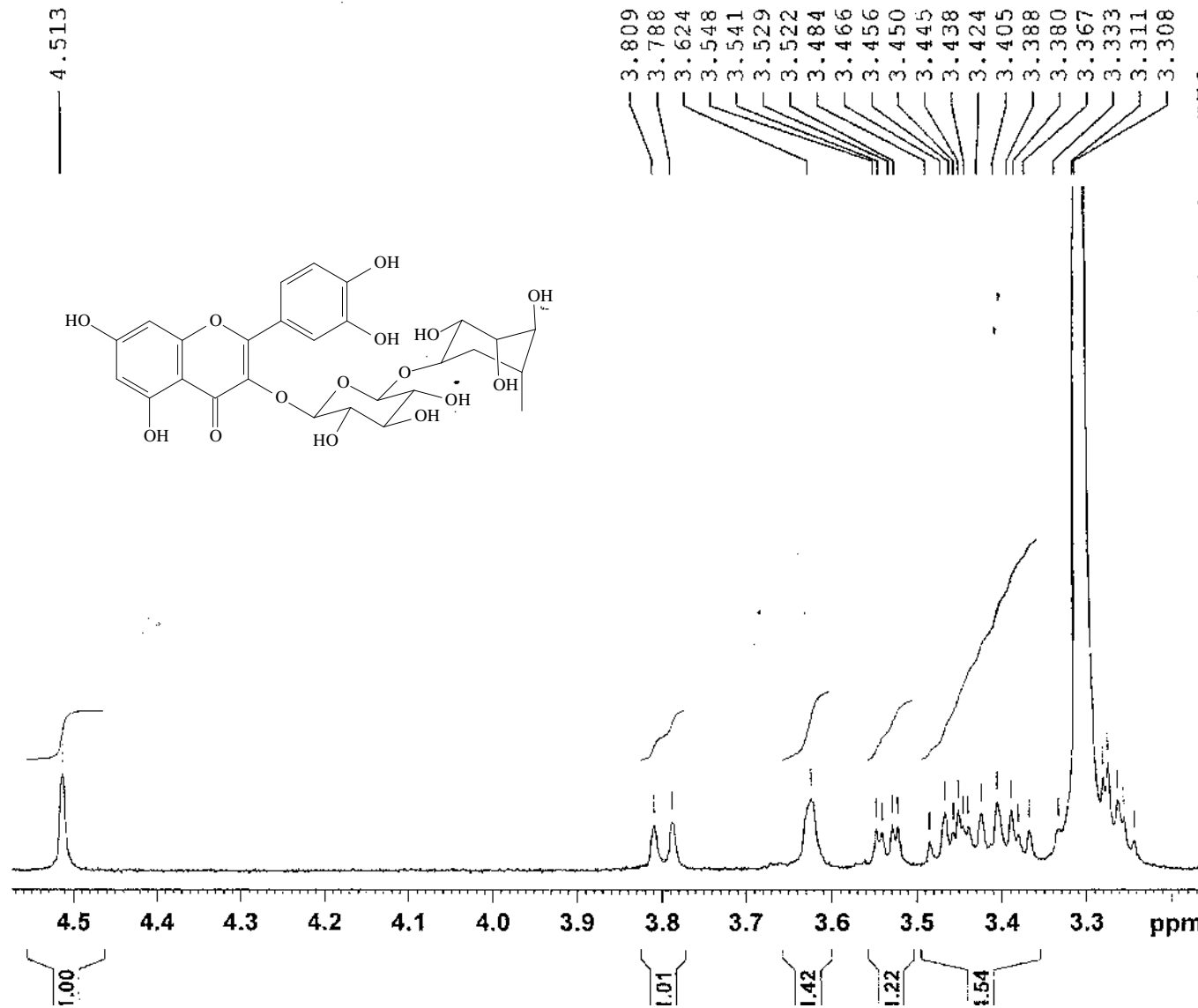
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300137 MHz  
WDW no  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Espectro 86 - Espectro RMN<sup>1</sup>H 500 MHz da Rutina



Carla - PREP 3



Current Data Parameters  
NAME PREP3  
EXPNO 10  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040521  
Time\_ 14.36  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 0  
SWH 10330.578 Hz  
FIDRES 0.157632 Hz  
AQ 3.1720407 sec  
RG 287.4  
DW 48.400 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
D1 2.0000000 sec  
MCREST 0.0000000 sec  
MCWRK 0.0150000 sec

==== CHANNEL f1 =====  
NUC1 1H  
P1 12.75 usec  
PL1 0.00 dB  
SFO1 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300137 MHz  
WDW no  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

Espectro 87- 1ªExpansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H 500 MHz da Rutina



Current Data Parameters  
NAME PREP3  
EXPNO 10  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040521  
Time\_ 14.36  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 128  
DS 0  
SWH 10330.578 Hz  
FIDRES 0.157632 Hz  
AQ 3.1720407 sec  
RG 287.4  
DW 48.400 use  
DE 6.00 use  
TE 0.0 K  
D1 2.00000000 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 1H  
P1 12.75 use  
PL1 0.00 dB  
SFO1 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300137 MHz  
WDW no  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

Carla - PREP 3

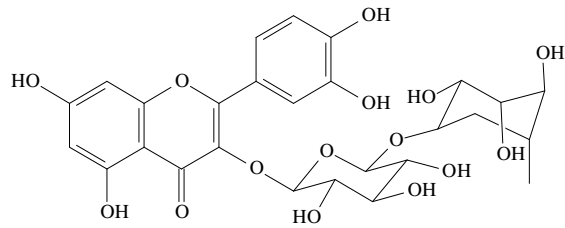
7.663  
7.641  
7.625  
7.621

6.878  
6.861

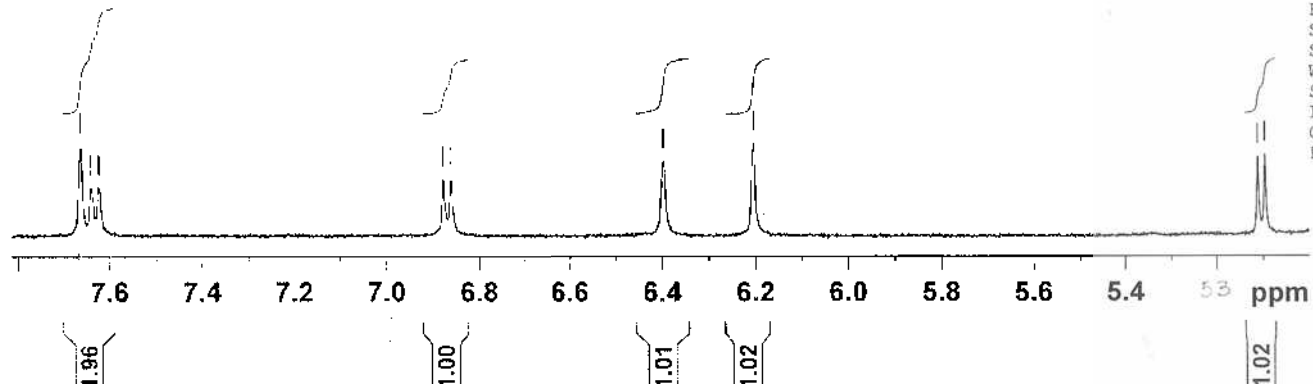
6.398

6.205

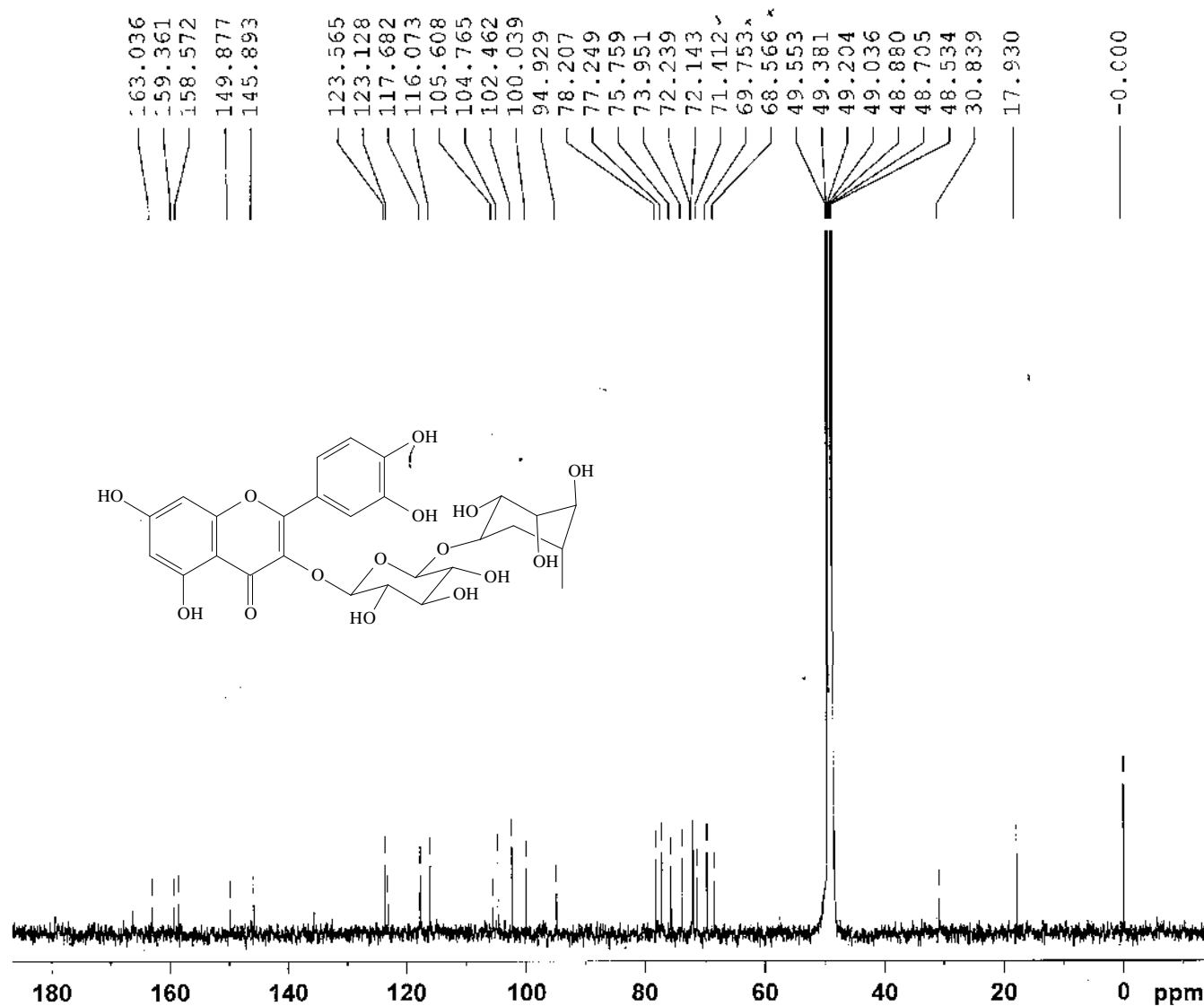
5.112  
5.097



581



Espectro 88- 2ª expansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H 500 MHz da Rutina



```

Current Data Parameters
NAME      PREP3
DATE      15
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20040817
Time      3.13
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   MeOD
NS         131072
DS         4
SWH        20020.029 Hz
FIDRES     1.832988 Hz
AQ         0.2728603 sec
RG         32768
DW         16.500 usec
DE         6.00 usec
TE         293.4 K
D1         0.10000000 sec
d11        0.03000000 sec
MCHRES1    0.00000000 sec
MCHRES2    0.01500000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1       13C
P1         10.00 usec
PL1        6.00 dB
SFO1       125.7703643 MHz

***** CHANNEL f2 *****
CPDPRG2    multiz16
NUC2       1H
PCPD2      100.00 usec
PL2         0.00 dB
PL12        17.89 dB
PL13        17.89 dB
SFO2       500.1320005 MHz

F1 - Acquisition parameters
NUC        13C
TD         256
SFO1       500.1323 MHz
FIDRES     27.354691 Hz
SW         14.002 ppm
F2MODE     QF

F2 - Processing parameters
SI         8192
SF         125.7576074 MHz
WDW        EM
SSB        C
LB         3.00 Hz
GB         C
PC         1.40

F1 - Processing parameters
SI         512
NUC2       QF
SF         500.1300000 MHz
WDW        SINE
SSB        0
LB         0.10 Hz
GB         0.1
  
```

Espectro 89 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C 500 MHz da Rutina



Current Data Parameters  
NAME PREP3  
EXPNO 15  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040617  
Time 8.13  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zgpg30  
TD 16384  
SOLVENT MeOD  
NS 131072  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 1.832888 Hz  
AQ 0.2728603 sec  
RG 32768  
DM 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 293.4 K  
D1 0.10000000 sec  
d11 0.03000000 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

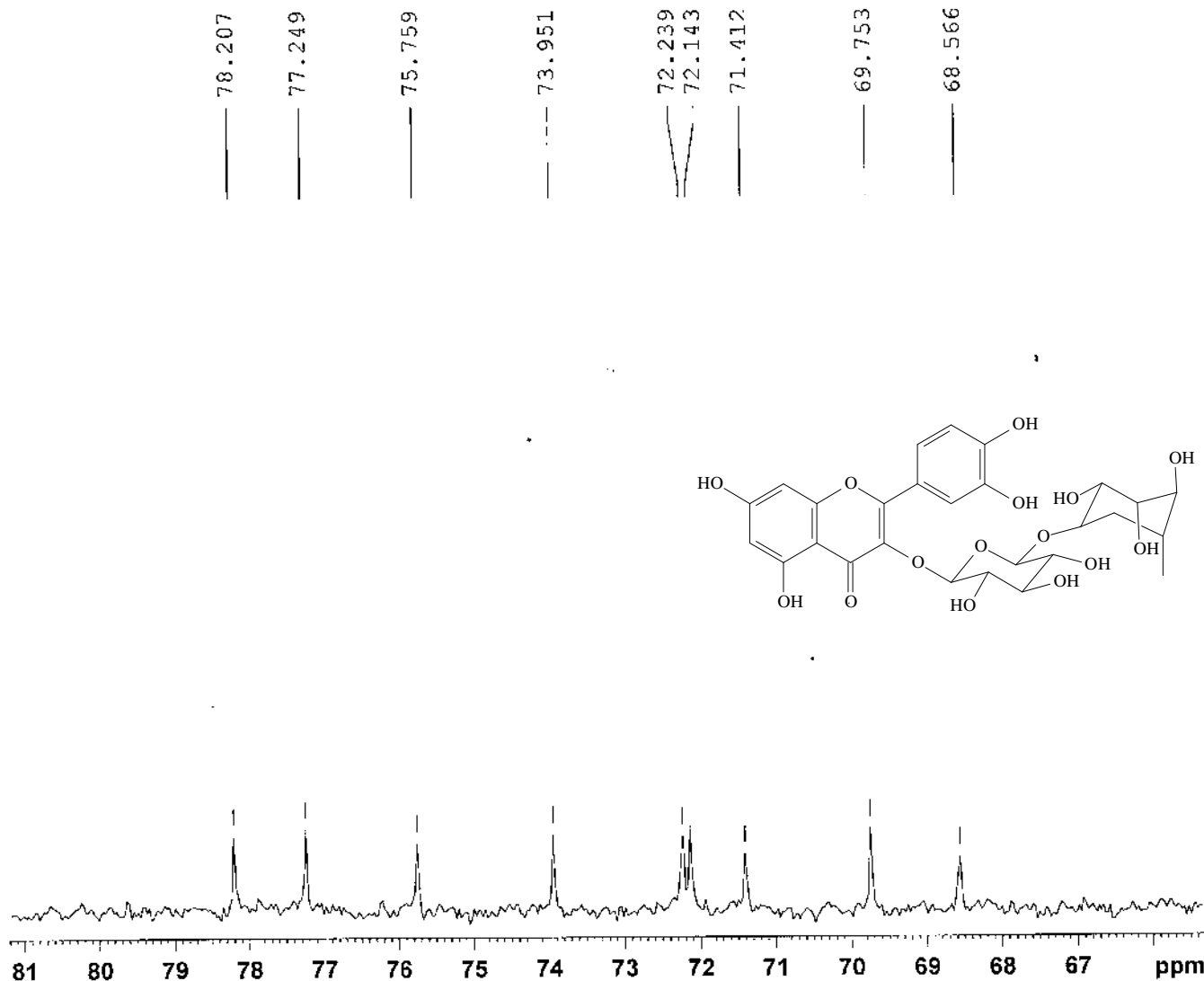
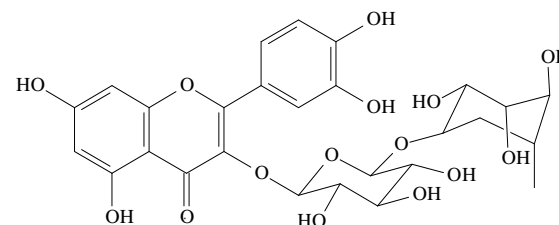
===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
PCPD2 100.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.89 dB  
PL13 17.89 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

F1 - Acquisition parameters  
ND0 2  
TD 256  
SFO1 500.1323 MHz  
FIDRES 27.354691 Hz  
SM 14.002 ppm  
FAMODE QF

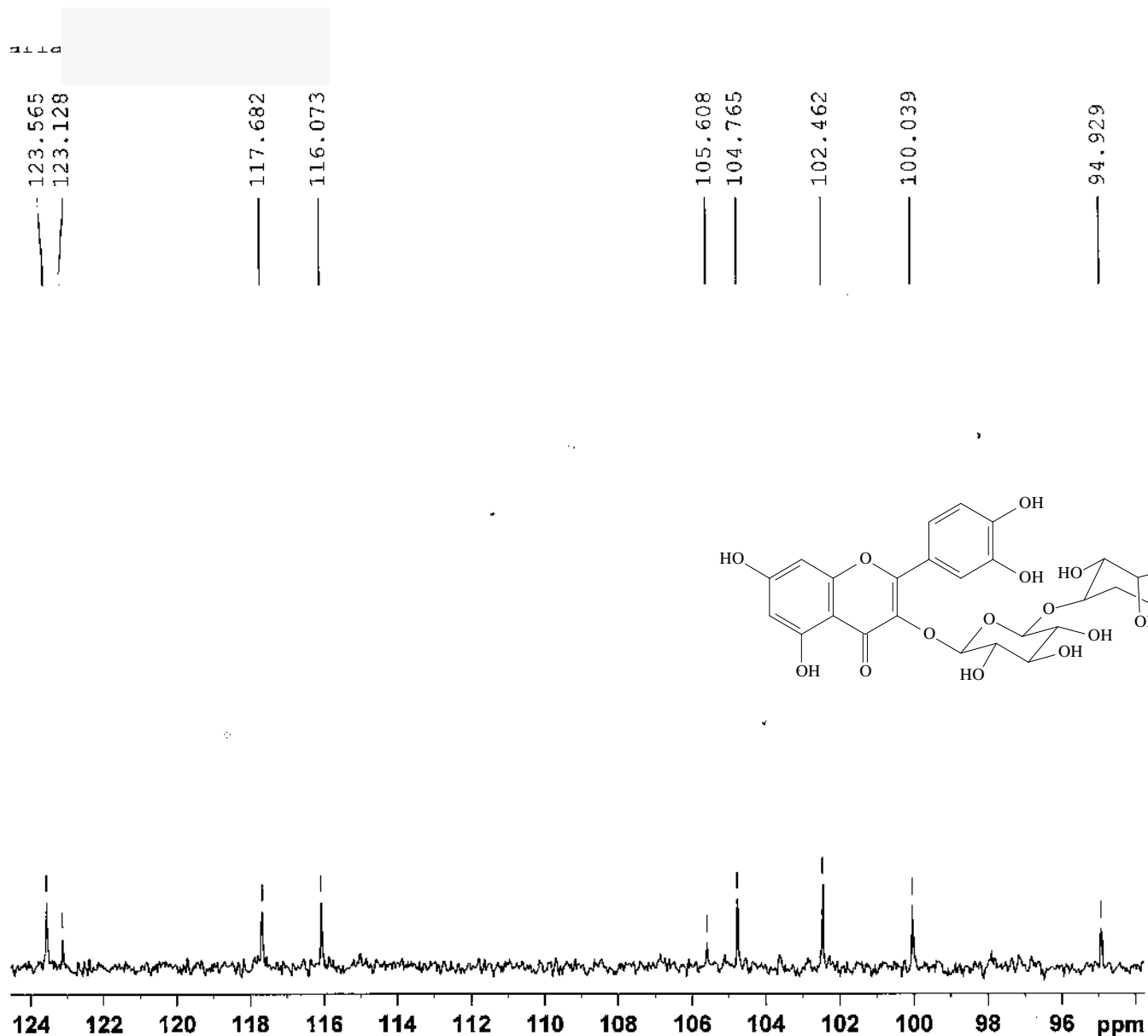
F2 - Processing parameters  
SI 8192  
SF 125.7576074 MHz  
WDW EM  
SSR 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 512  
MC2 QF  
SF 500.1300000 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0.1



181

Espectro 90 - 1ª Expansão do espectro de RMN<sup>13</sup>C 500 MHz da Rutina



Current Data Parameters  
NAME PRF3  
EXPNO 15  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040617  
Time\_ 8.13  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB 1H  
PULPROG zgpg30  
TD 16384  
SOLVENT MeOD  
NS 131072  
DS 4  
SWH 36030.029 Hz  
FIDRES 1.832898 Hz  
AQ 0.2728603 sec  
RG 32768  
DK 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 293.4 K  
D\_ 0.1000000 sec  
d1\_ 0.0300000 sec  
MGREST 0.0000000 sec  
MORPH 0.0150000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

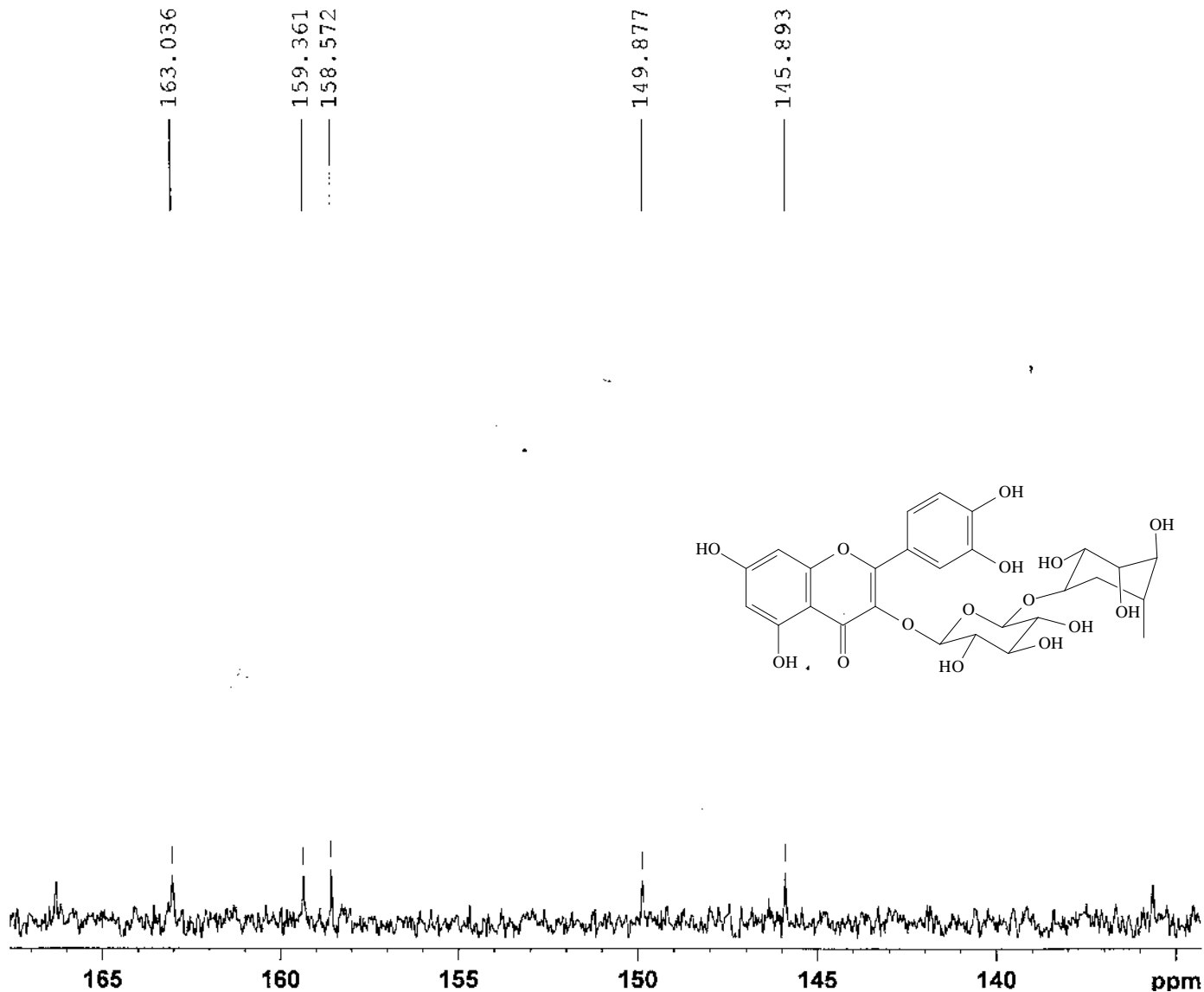
===== CHANNEL f2 =====  
CTDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
PCPD2 100.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.89 dB  
PL13 17.89 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

F1 - Acquisition parameters  
NDG 2  
TD 256  
SFO1 500.1323 MHz  
FIDRES 27.354691 Hz  
SW 14.002 ppm  
EnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 8192  
SP 125.7576074 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 512  
MC2 QF  
SF 500.1300000 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0.1

Espectro 91 - 2ª Expansão do espectro de RMN<sup>13</sup>C 500 MHz da Rutina



Current Data Parameters  
 NAME PREP3  
 EXPNO 15  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20040617  
 Time 8.13  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zgpg30  
 TD 15384  
 SOLVENT MeOD  
 NS 131072  
 DS 4  
 SWH 30033.029 Hz  
 FIDRES 1.832888 Hz  
 AQ 0.27286C3 sec  
 RG 32768  
 DW 16.650 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 293.4 K  
 D1 0.1000000 sec  
 d11 0.0300000 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCARK 0.0150000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 13C  
 P1 10.00 usec  
 PL1 6.00 dB  
 SFO1 125.7703643 MHz

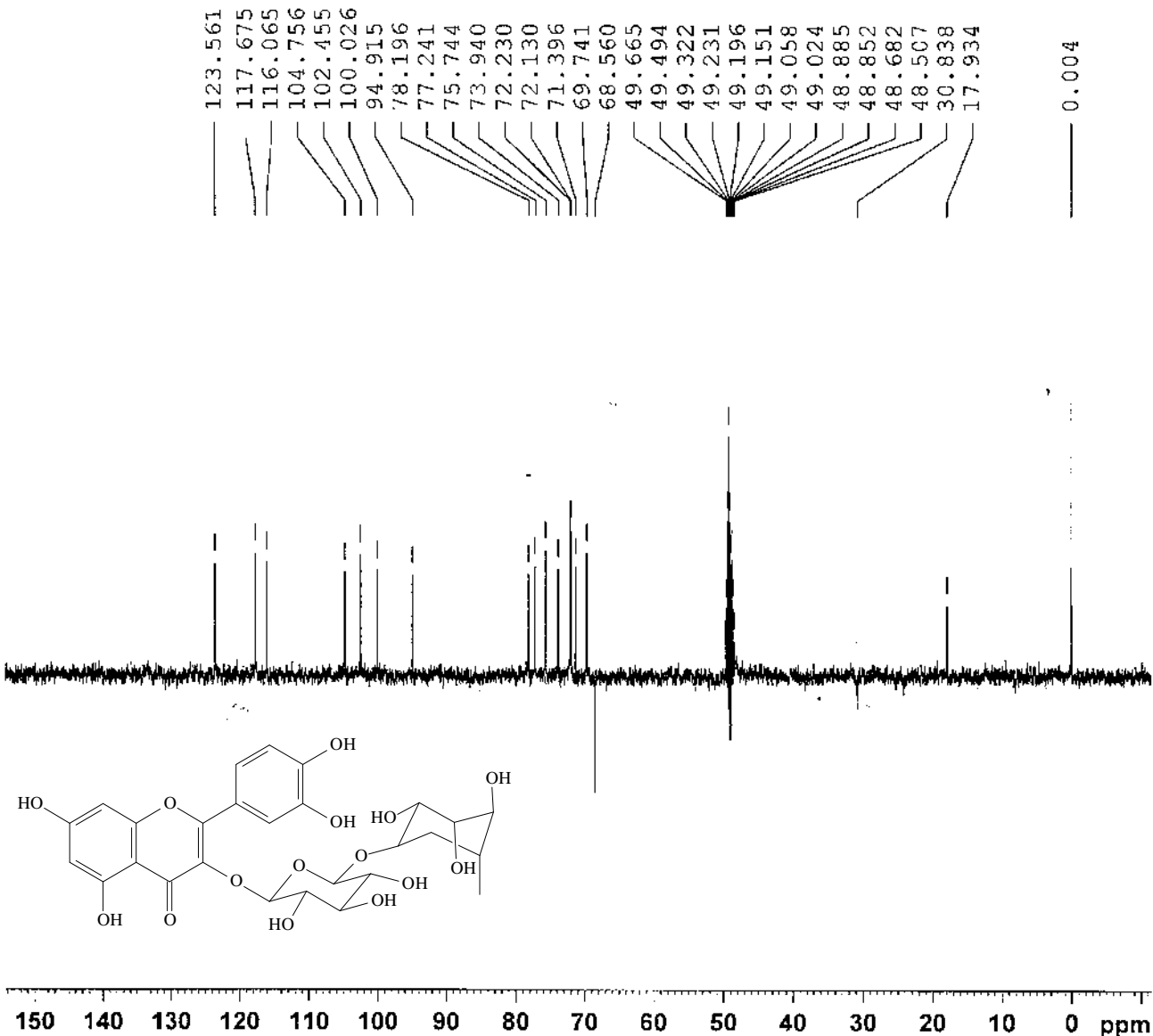
----- CHANNEL f2 -----  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 100.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PL12 17.89 dB  
 PL13 17.59 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 NSD 2  
 TD 256  
 SFC1 500.1323 MHz  
 FIDRES 27.354691 Hz  
 SW 14.002 ppm  
 FMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 8192  
 SF 125.7576074 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

F1 - Processing parameters  
 SI 512  
 MC2 QF  
 SF 500.130000 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0.1

Espectro 92 - 3ª Expansão do espectro de RMN<sup>13</sup>C 500 MHz da Rutina



Current Data Parameters  
NAME PRF3  
EXPNO 14  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20040616  
Time 16.07  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG dept135  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 8192  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 0.458222 Hz  
AQ 1.0912410 sec  
RG 16384  
DW 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 292.1 K  
CNST2 145.0000000  
D1 2.0000000 sec  
d2 0.00344878 sec  
d12 0.00002000 sec  
DELTA 0.00001273 sec  
MCREST 0.0000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
P2 20.00 usec  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 wa1tz16  
NUC2 1H  
P3 12.75 usec  
P4 25.50 usec  
PCPD2 100.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.89 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 125.7576083 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

Espectro 93 - Espectro DEPT 135 - 500 MHz da Rutina



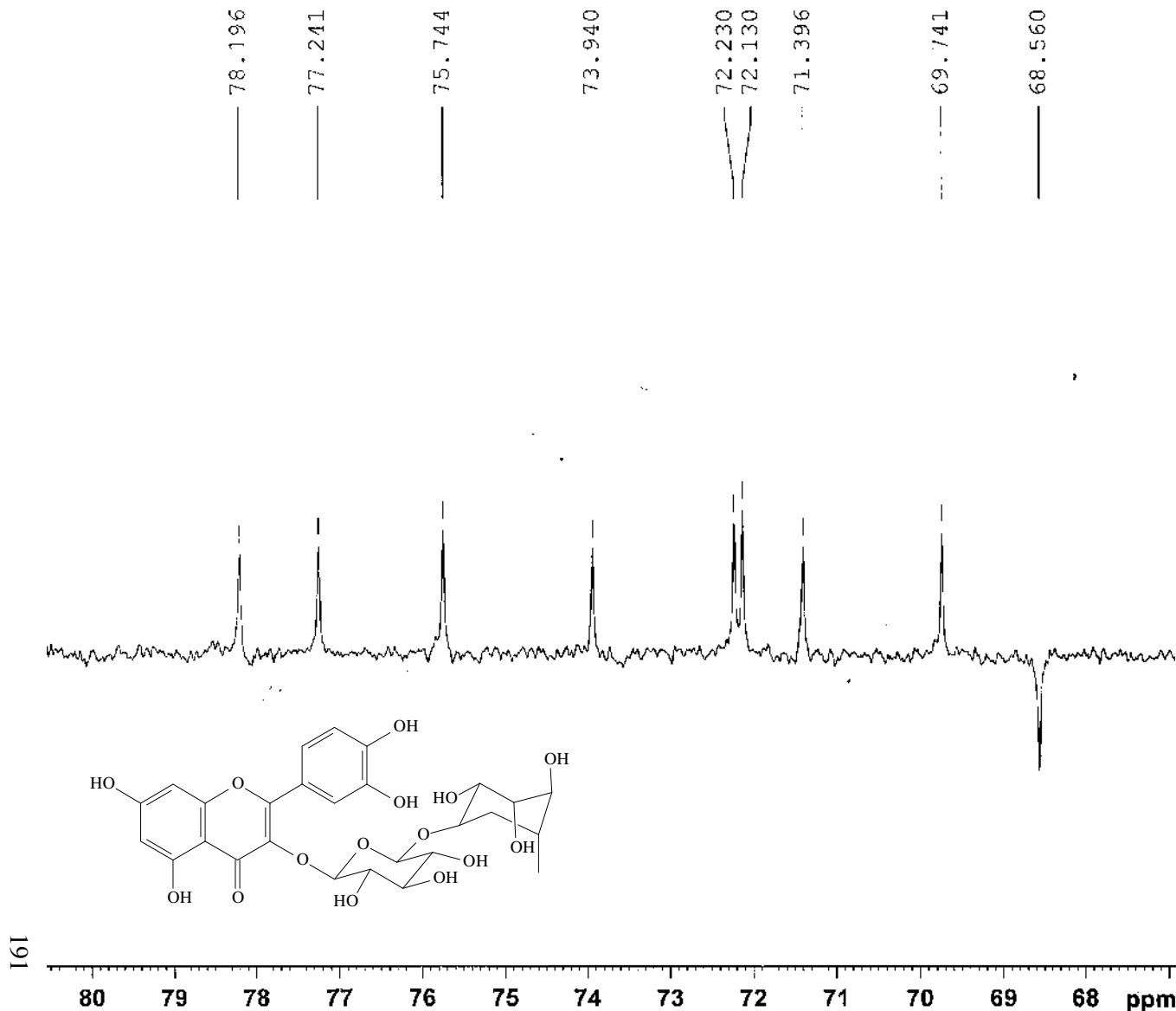
Current Data Parameters  
NAME PREP3  
EXENO 14  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date 20040616  
Time 16.07  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG dept135  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 8192  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 0.458222 Hz  
AQ 1.0912410 sec  
RG 16384  
DW 16.650 use  
DE 6.00 use  
TE 292.1 K  
CNST2 145.0000000  
D1 2.00000000 sec  
d2 0.00344828 sec  
d12 0.00002000 sec  
DELTA 0.00001273 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 use  
p2 20.00 use  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
P3 12.75 use  
p4 25.50 use  
PCPD2 100.00 use  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.89 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 125.7576083 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



Espectro 94 - 1ª Expansão do Espectro DEPT 135 - 500 MHz da Rutina





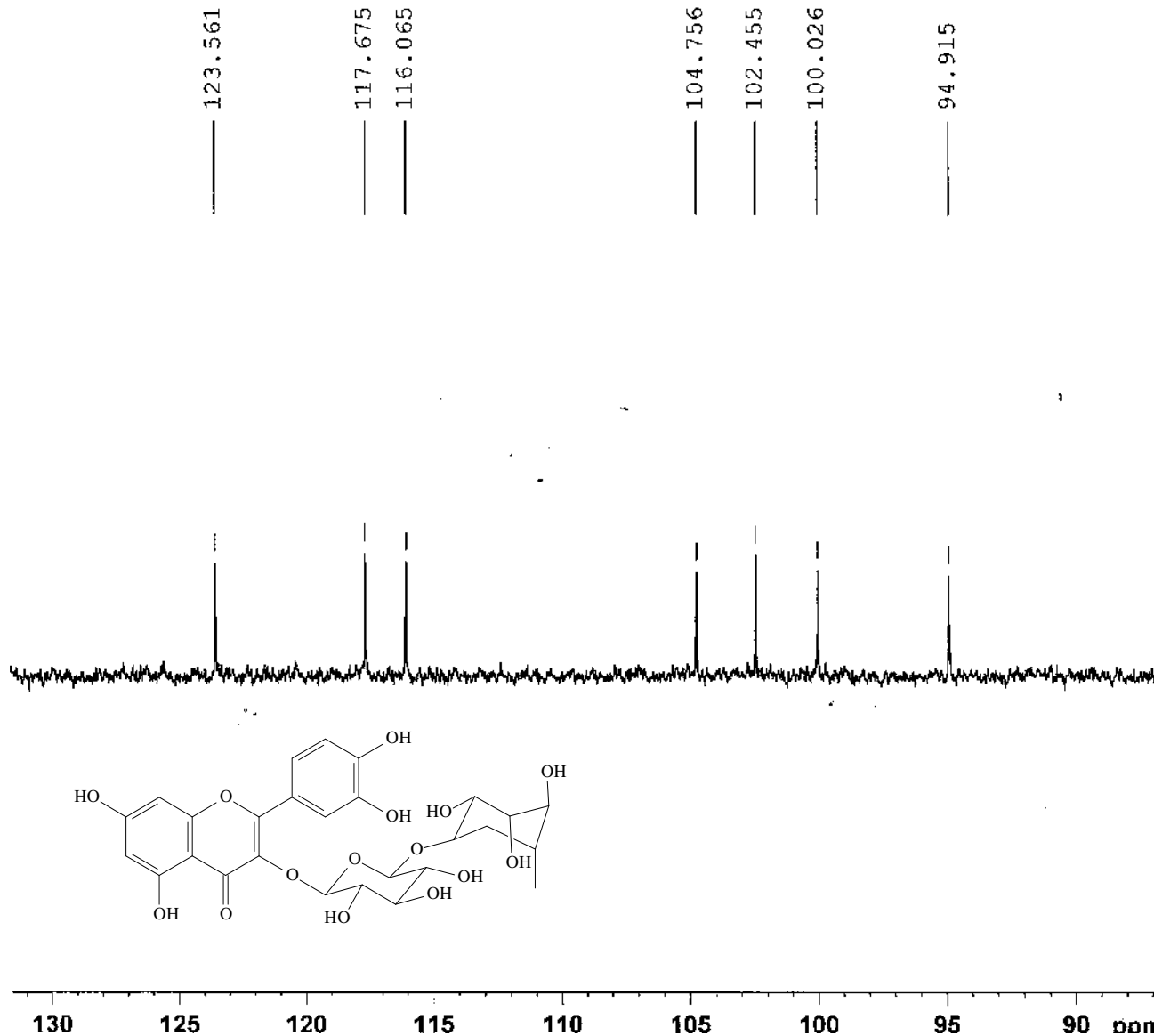
Current Data Parameters  
NAME PREP3  
EXFNO 14  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date 20040616  
Time 16.07  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG dept135  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 8192  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 0.458222 Hz  
AQ 1.0912410 sec  
RG 16384  
DW 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 292.1 K  
CNST2 145.0000000  
D1 2.00000000 sec  
d2 0.00344828 sec  
dL2 0.00002000 sec  
DELTA 0.00001273 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

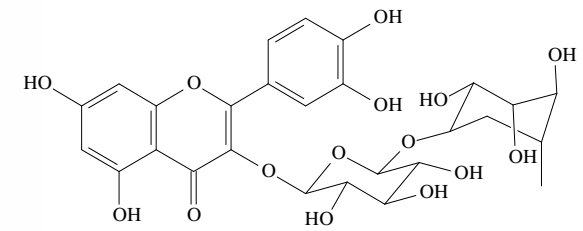
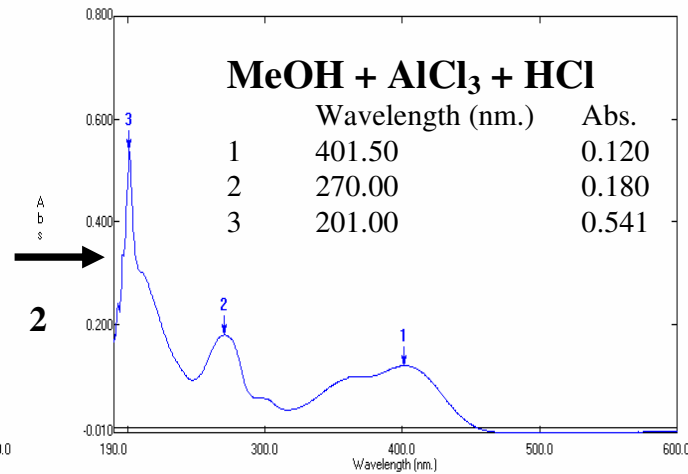
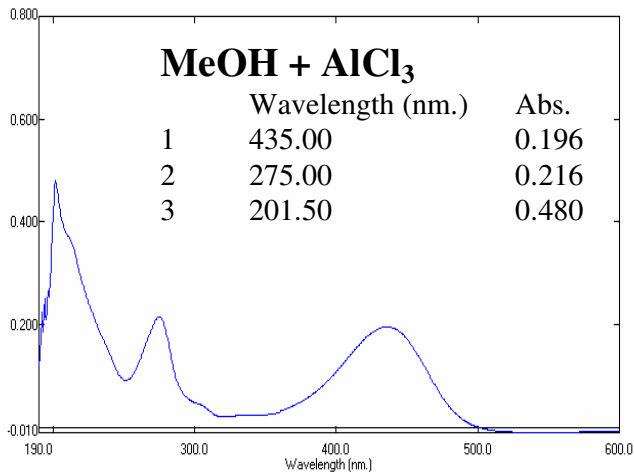
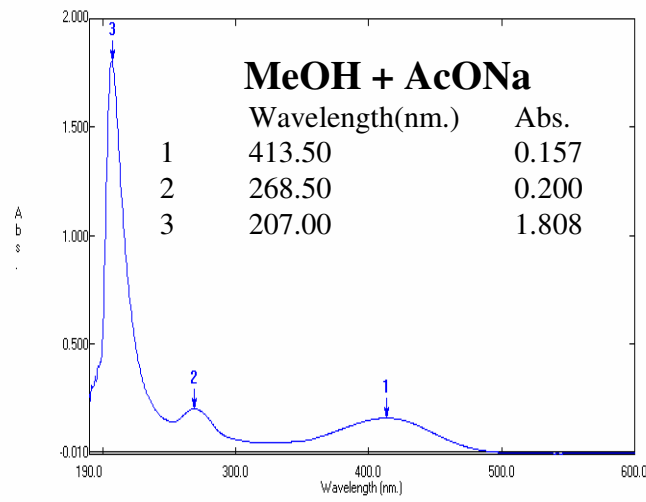
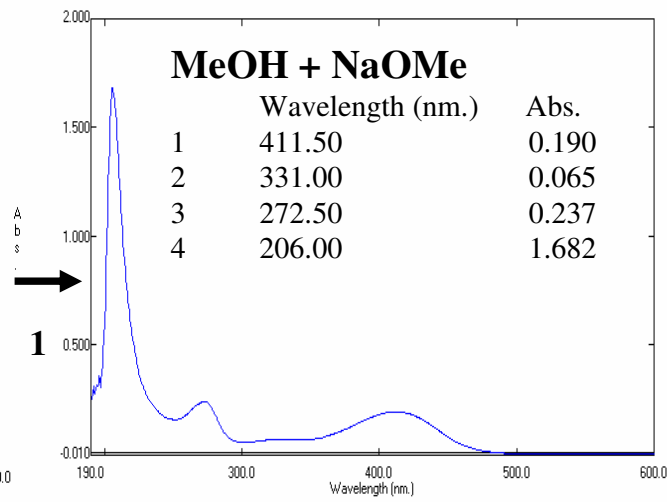
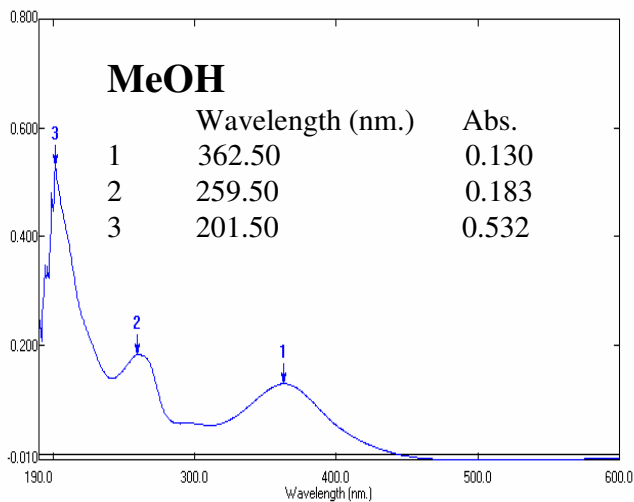
===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
p2 20.00 usec  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
P3 12.75 usec  
p4 25.50 usec  
PCPD2 100.00 uscc  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.89 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

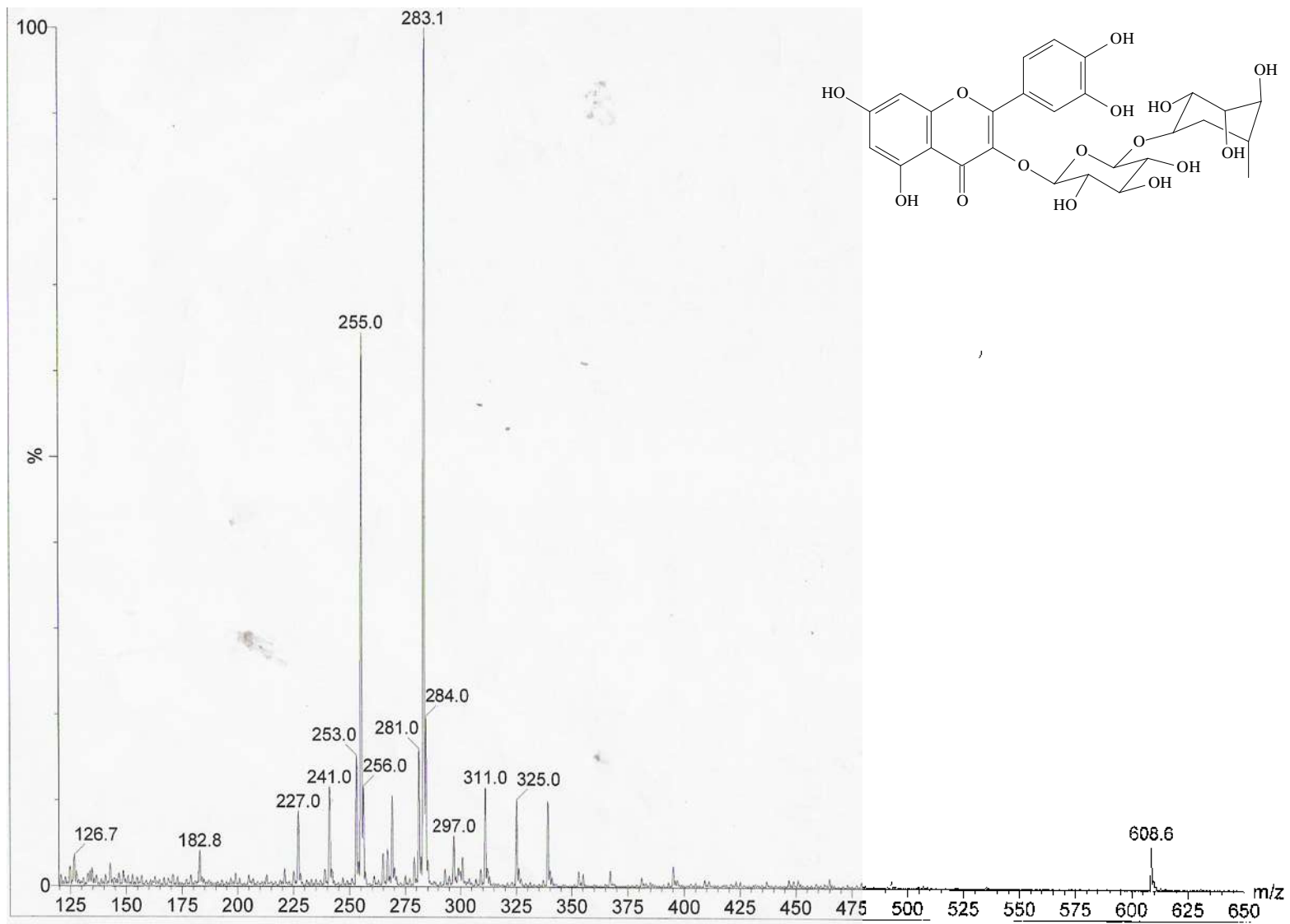
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 125.7576083 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



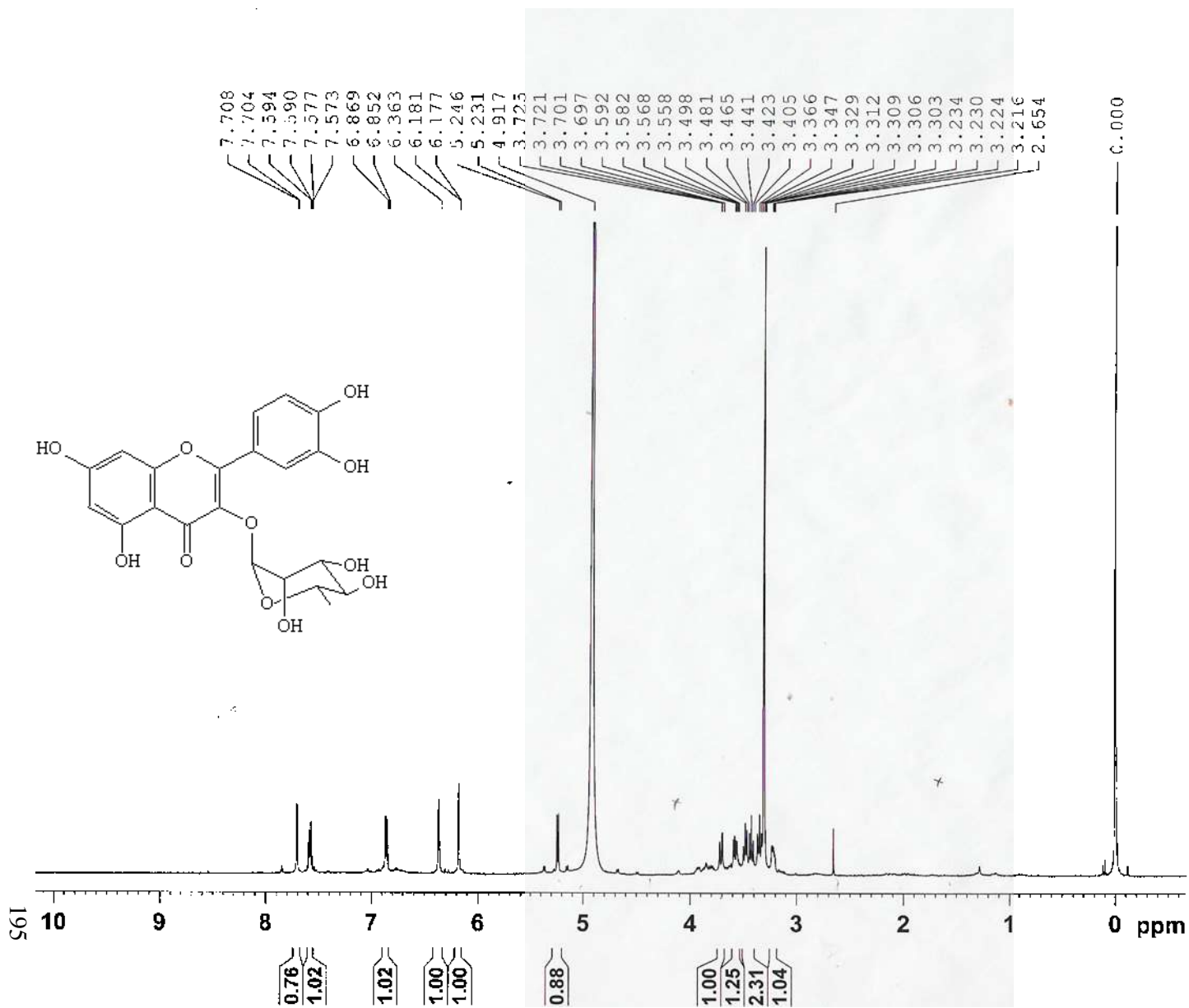
Espectro 95 - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 - 500 MHz da Rutina



Espectro 96 - Espectros de UV (Em MeOH e com reagentes de deslocamento) da Rutina



Espectro 97 - Espectro de massas da rutina



Current Data Parameters  
NAME HOBM128  
EXPNO 10  
PROCNO 1

F2 Acquisition Parameters  
Date\_ 20041220  
Time 10.37  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 64  
DS 2  
SWH 10330.578 Hz  
FIDRES 0.157632 Hz  
AQ 3.1720407 sec  
RG 768  
DW 48.400 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
D1 1.00000000 sec  
MCREST 3.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P1 8.50 usec  
PL1 0.00 dB  
SFO1 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300131 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

Espectro 98 - Espectro RMN<sup>1</sup>H 500 MHz da Isoquercitrina

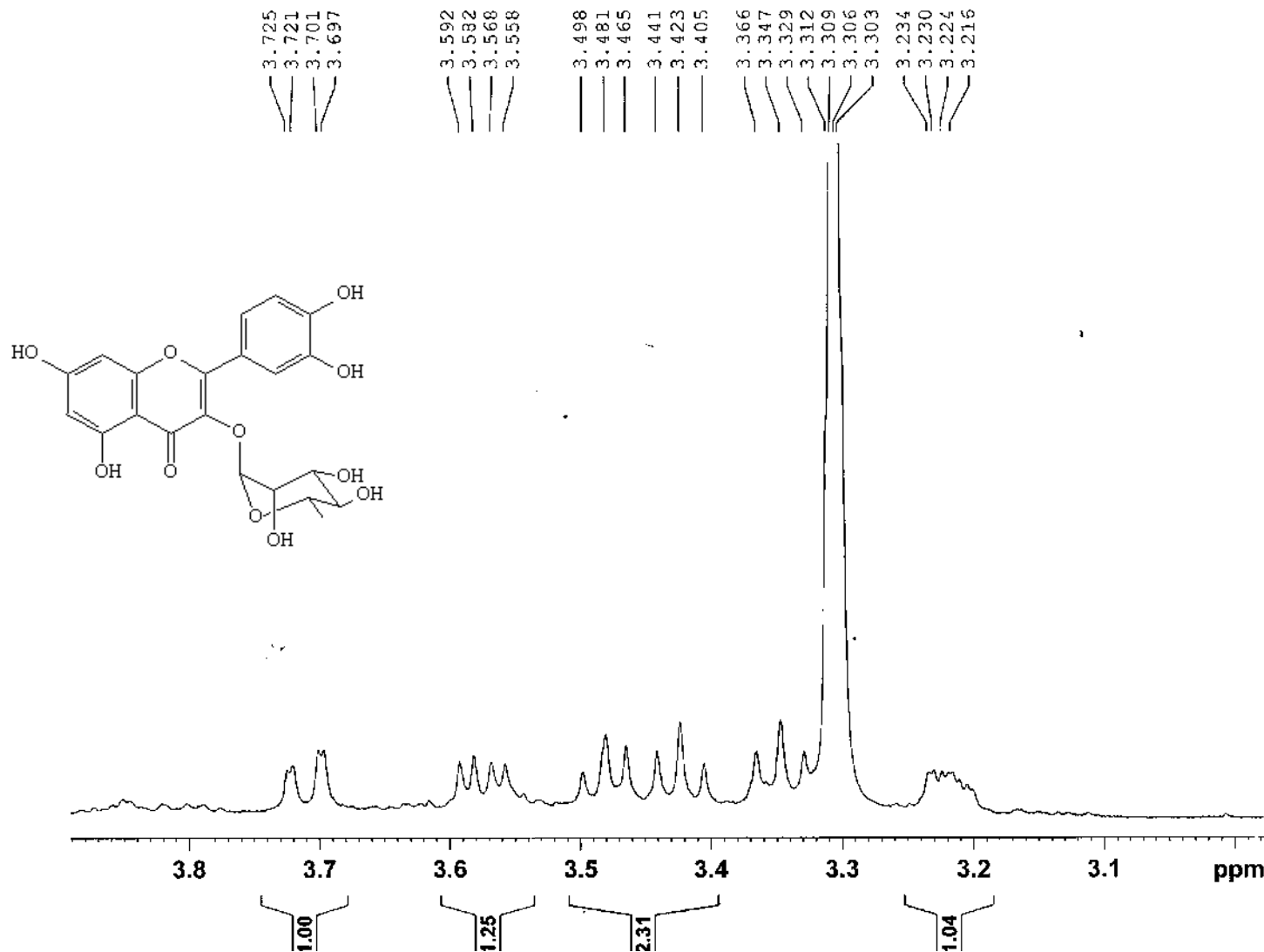


Current Data Parameters  
NAME HOBM128  
EXPNO 10  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20041220  
Time\_ 10.37  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H1  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 64  
DS 2  
SWH 10330.578 Hz  
FIDRES 0.157632 Hz  
AQ 3.1720407 sec  
RG 768  
DW 48.400 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
D1 1.0000000 sec  
MCREST 0.0000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P1 8.50 usec  
PL1 0.00 dB  
SFO1 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300131 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Espectro 99 - 1ªExpansão do espectro de RMN<sup>1</sup>H 500 MHz da Isoquercitrina

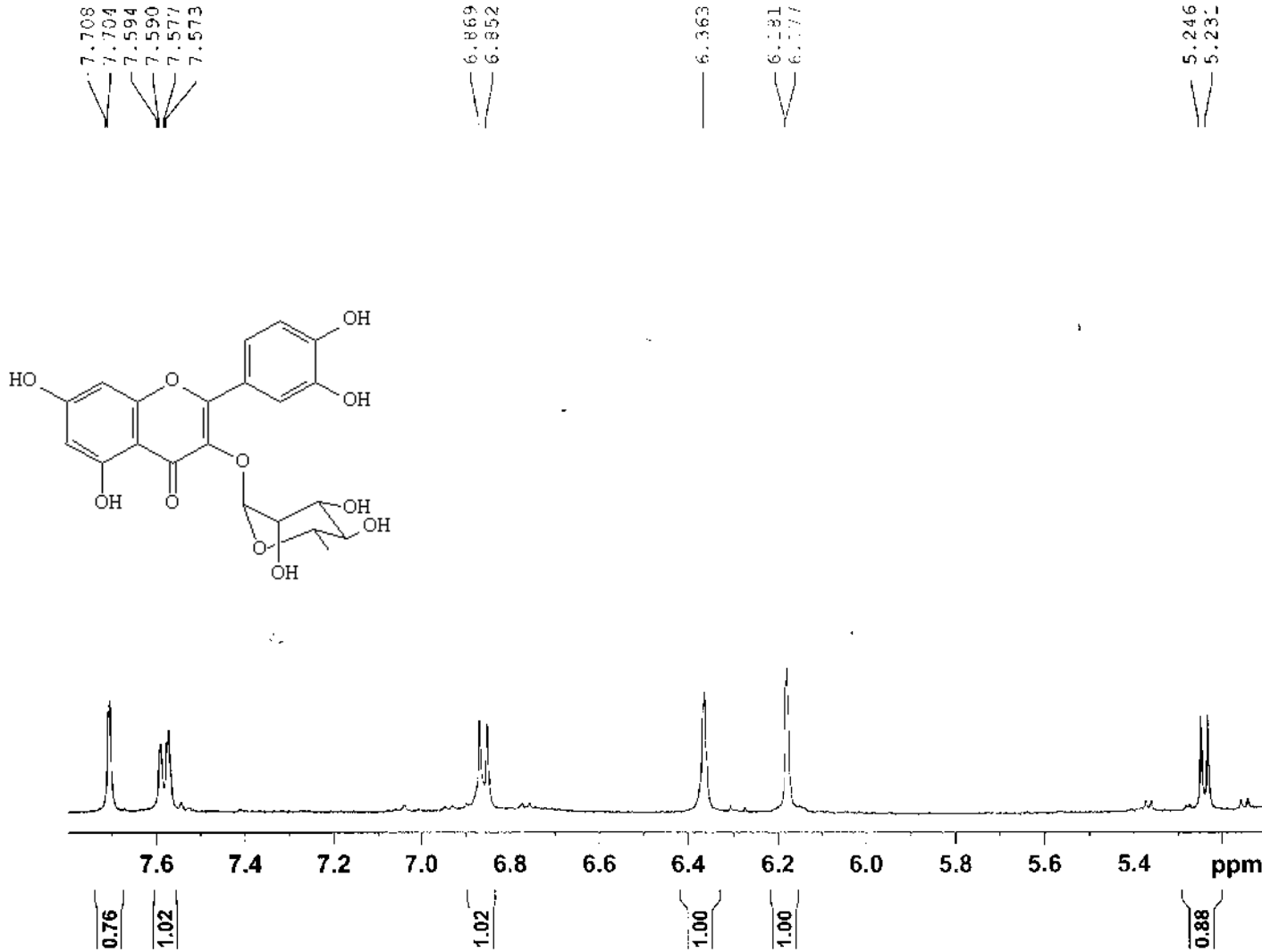


Current Data Parameters  
NAME HOBM128  
EXPNO 10  
PROCNO 1

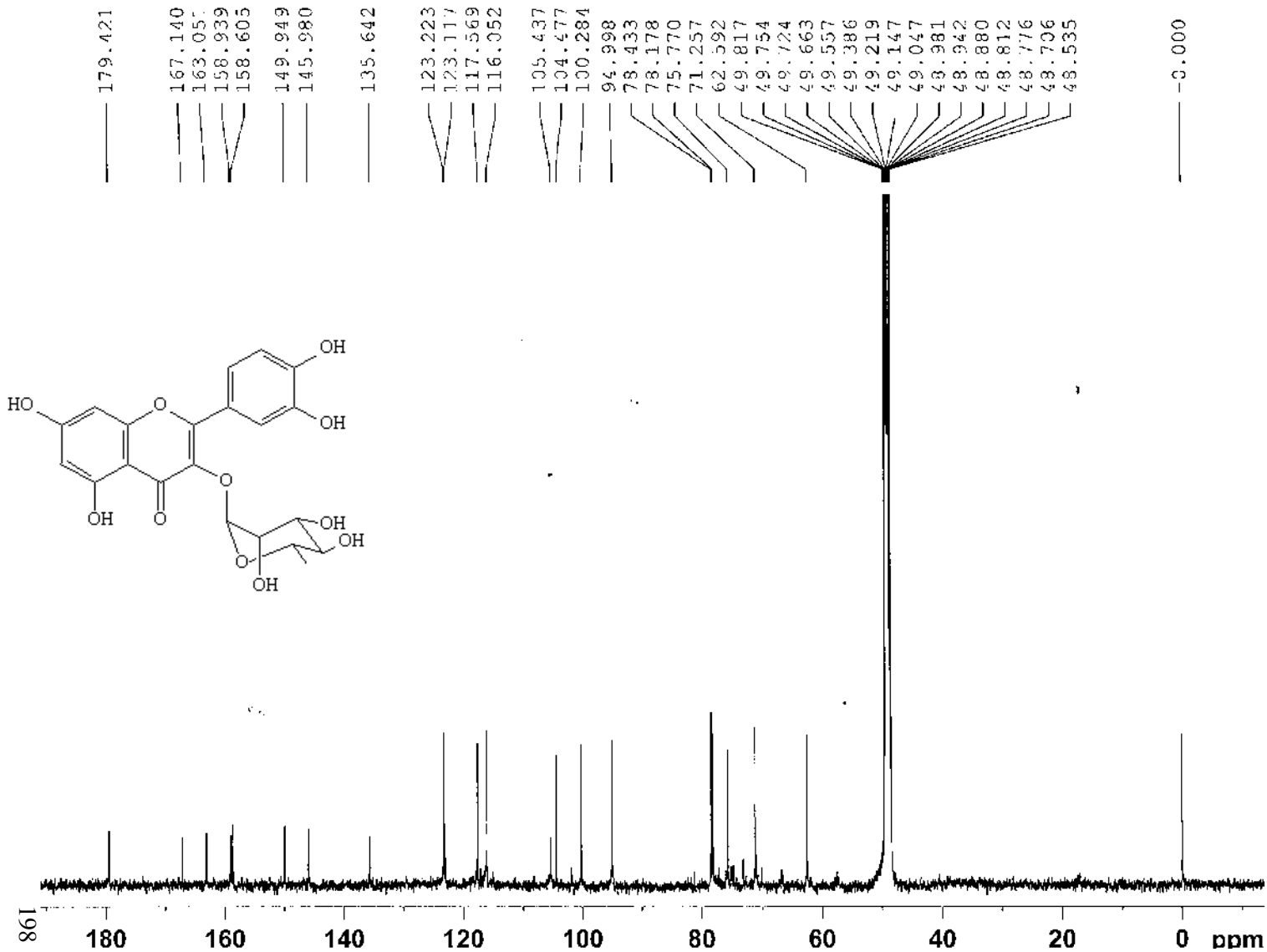
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20041220  
Time\_ 10.37  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm EBO BB-1H  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT MeOD  
NS 64  
DS 2  
SWH 10330.578 Hz  
FIDRES 0.157632 Hz  
AQ 3.1720407 sec  
RG 768  
DW 48.400 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
D1 1.00000000 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 1H  
P1 6.50 usec  
PL1 0.00 dB  
SF01 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300131 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Espectro 100 - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 - 500 MHz da Isoquercitrina



Current Data Parameters  
 NAME HOBM128  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date 20041220  
 Time 10.49  
 INSTRUM spect  
 PROBED 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 42952  
 DS 0  
 SWH 31446.541 Hz  
 FIDRES 1.919345 Hz  
 AQ 0.2605715 sec  
 RG 16384  
 DW 15.900 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.1000000 sec  
 d11 0.0300000 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWRK 0.0150000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1 13C  
 P1 10.00 usec  
 PL1 6.00 dB  
 SFO1 125.7703648 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 100.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PL12 17.89 dB  
 PL13 17.89 dB  
 SFO2 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 125.7576069 MHz  
 WDW EM

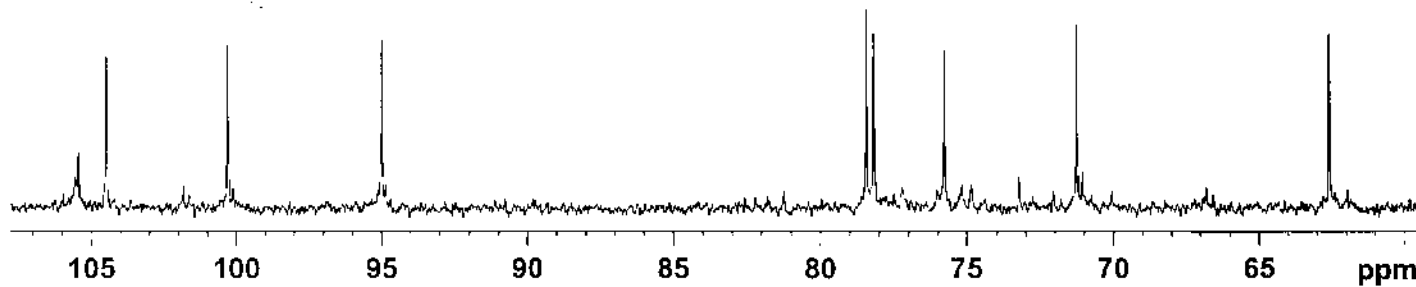
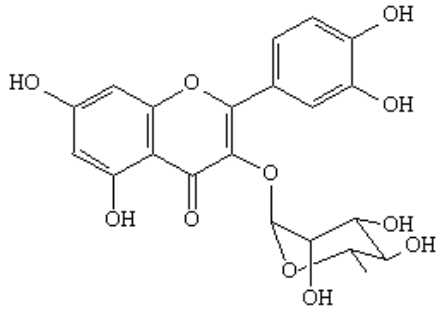
Espectro 101 - Espectro RMN<sup>13</sup>C - 500 MHz da Isoquercitrina

Carla - HOBM 128



Current Data Parameters  
NAME HOBM128  
EXPNO 11  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20041220  
Time\_ 10.49  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zgpg30  
TD 16384  
SOLVENT CDCl3  
NS 42952  
DS 0  
SWH 31446.541 Hz  
FIDRES 1.919345 Hz  
AQ 0.2605715 sec  
RG 16384  
DW 15.900 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
D1 0.10000000 sec  
d11 0.03000000 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec



==== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703648 MHz

==== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
PCPD2 100.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.89 dB  
PL13 17.89 dB  
SFO2 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
SI 16384  
SF 125.7576069 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

Espectro102 -1ª Expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C - 500 MHz da Isoquercitrina



28



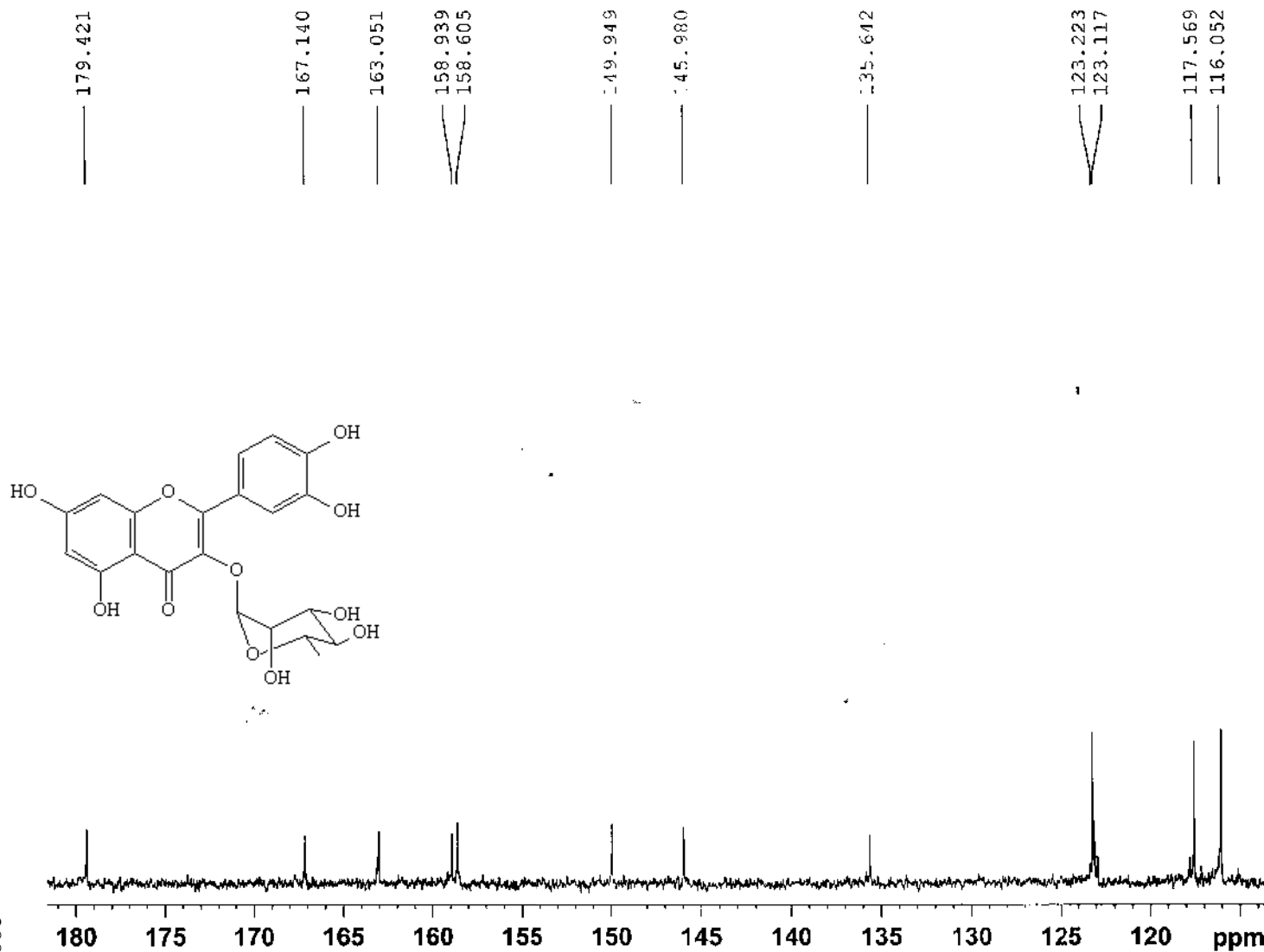
Current Data Parameters  
 NAME HOBM128  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041220  
 Time\_ 10.49  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zgpg30  
 TD 16384  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 42952  
 DS 0  
 SWH 31446.541 Hz  
 FIDRES 1.919345 Hz  
 AQ 0.2605715 sec  
 RG 16384  
 DW 15.900 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 D1 0.10000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 13C  
 P1 10.00 usec  
 PL1 6.00 dB  
 SFO1 125.7703648 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2 1H  
 PCPD2 100.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PL12 17.89 dB  
 PL13 17.89 dB  
 SFO2 500.1330885 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 16384  
 SF 125.7576069 MHz  
 WDW EM  
 GB 0



200

Espectro 103 -2ª Expansão do espectro RMN<sup>13</sup>C - 500 MHz da Isoquercitrina



Current Data Parameters  
NAME HOHM128  
EXPNO 12  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20041220  
Time 18.52  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG dept135  
TD 55536  
SOLVENT MeOD  
NS 2048  
DS 4  
SWH 30030.029 Hz  
FIDRES 0.458222 Hz  
AQ 1.0912410 sec  
RG 16384  
DW 16.650 usec  
DE 6.00 usec  
TE 300 K  
CNST2 145.0000000  
D1 2.00000000 sec  
d2 0.00344828 sec  
d12 0.00002000 sec  
DELTA 0.00001273 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 0.01500000 sec

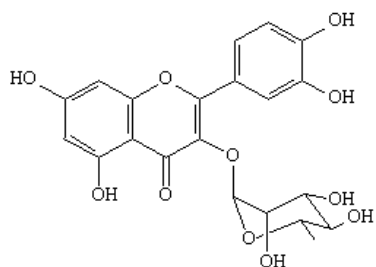
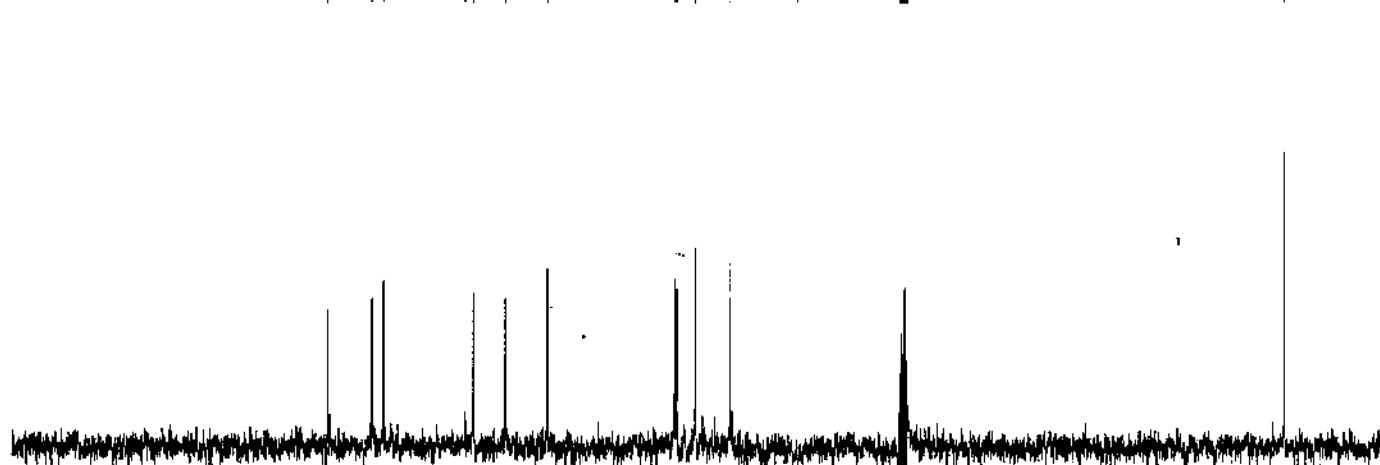
===== CHANNEL f1 =====  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
p2 20.00 usec  
PL1 6.00 dB  
SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====  
CPDPRG2 waltz16  
NUC2 1H  
P3 13.75 usec  
p4 27.50 usec  
PCPD2 100.00 usec  
PL2 0.00 dB  
PL12 17.23 dB  
SFO2 500.1320005 MHz

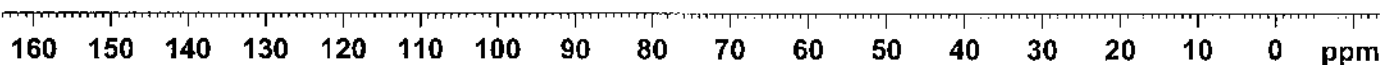
F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 125.7576083 MHz  
WDW EX  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

8

123.204  
117.541  
116.031  
105.519  
104.431  
100.265  
94.977  
78.426  
78.161  
75.754  
71.232  
62.569  
49.495  
49.324  
49.199  
49.153  
49.058  
49.028  
48.855  
48.683  
48.509  
-0.003

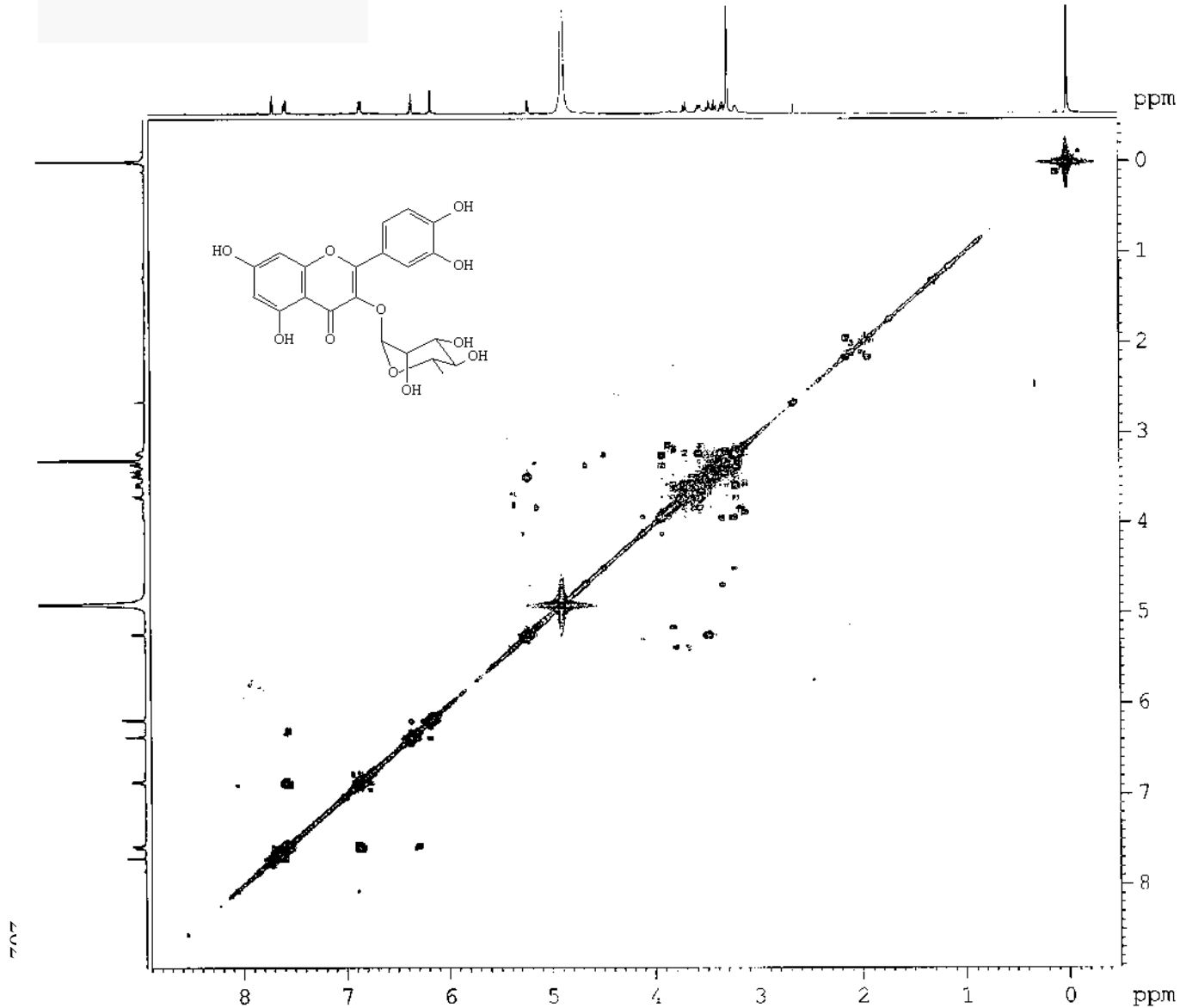


201



Espectro 104 - Espectro DEPT 135 - 500 MHz da Isoquercitrina

C



Current Data Parameters  
 NAME HORM128a  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20041220  
 Time 15.45  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG cosyq2  
 TD 2048  
 SOLVENT MeOH  
 NS 16  
 DS 16  
 SWH 7002.801 Hz  
 FIDRES 3.419337 Hz  
 AQ 0.1463486 sec  
 RG 322.5  
 DW 71.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 0.0 K  
 SO 0.0000000 sec  
 DI 1.0000000 sec  
 INO 0.0001428 sec  
 MCREST 0.0000000 sec  
 MCWRR 1.0000000 sec

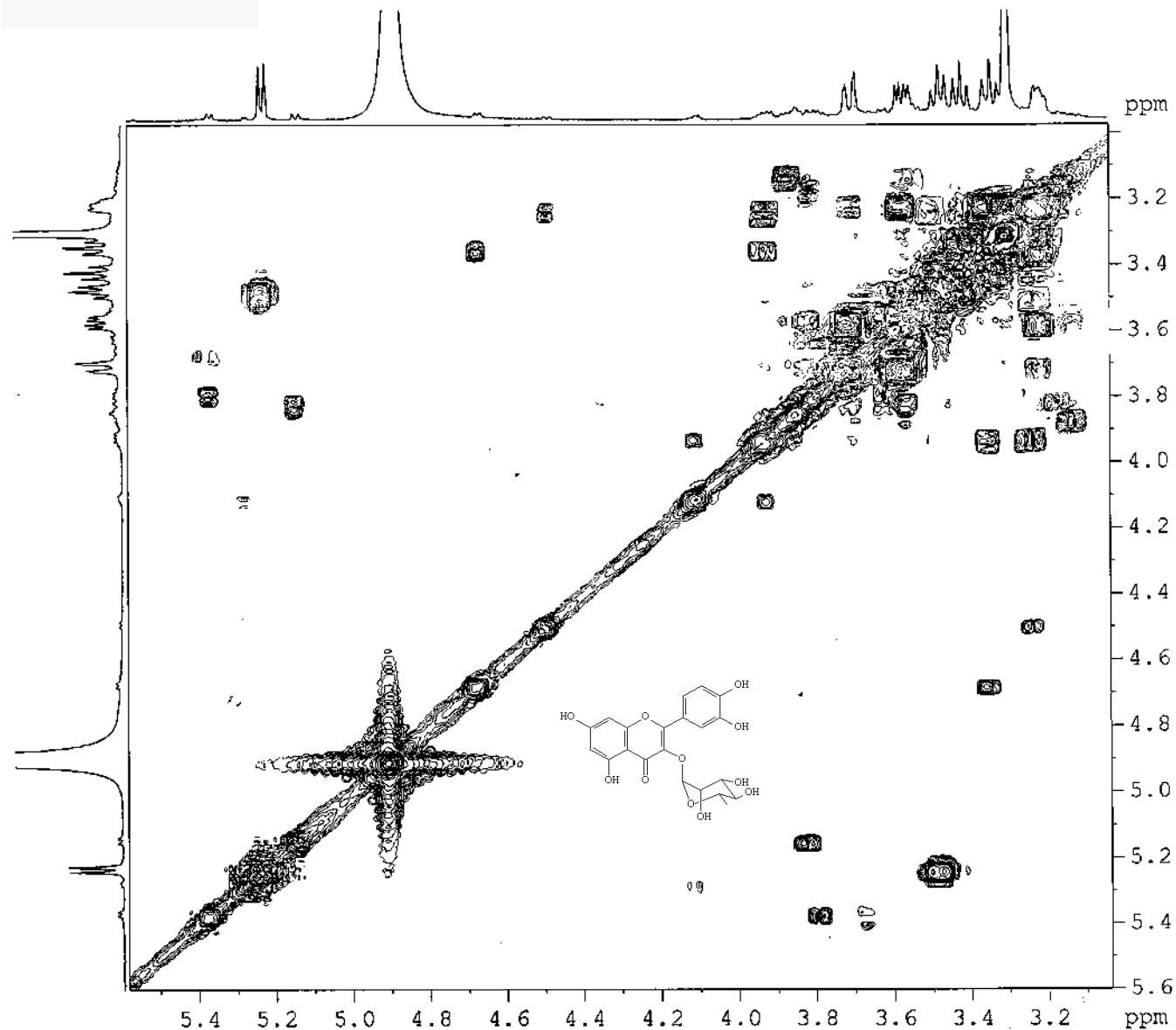
----- CHANNEL f1 -----  
 NUCL1 1H  
 P0 13.75 usec  
 P1 13.75 usec  
 PL1 0.00 dB  
 SFO1 500.1330883 MHz

F1 - Acquisition parameters  
 ND0 1  
 TD 256  
 SFO1 500.1323 MHz  
 FIDRES 27.354692 Hz  
 SW 14.002 ppm  
 FMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 2048  
 SF 500.1300104 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

F1 - Processing parameters  
 SI 2048  
 MC2 QF  
 SF 500.1292024 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0

Espectro 105 - Espectro COSY  $^1\text{H} \times \text{H}$  - 500 MHz da Isoquercitrina



Current Data Parameters  
NAME HOBM128a  
EXPNO 11  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20041220  
Time 15.45  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG cosyqf  
TD 2048  
SOLVENT MeOD  
NS 16  
DS 16  
SWH 7002.801 Hz  
FIDRES 3.419337 Hz  
AQ 0.1463486 sec  
RG 322.5  
DM 71.400 usec  
DE 6.00 usec  
TE 0.0 K  
d0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
IN0 0.00014280 sec  
MCREST 0.00000000 sec  
MCWRK 1.00000000 sec

----- CHANNEL f1 -----  
NUC1 1H  
P0 13.75 usec  
P1 13.75 usec  
PL1 0.00 dB  
SFO1 500.1330883 MHz

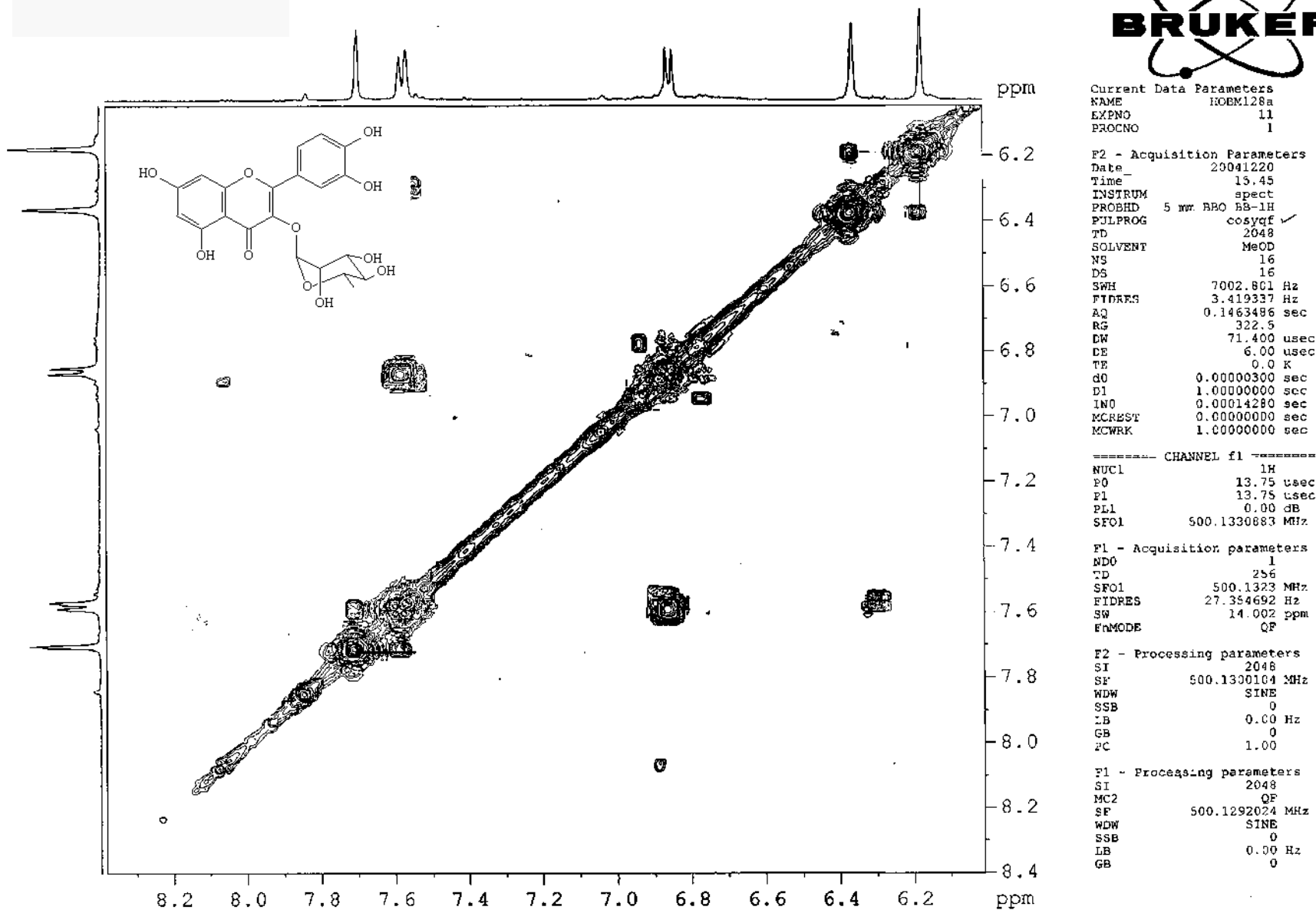
F1 - Acquisition parameters  
ND0 1  
TD 256  
SFO1 500.1323 MHz  
FIDRES 27.354692 Hz  
SW 14.002 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 2048  
SF 500.1300104 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

F1 - Processing parameters  
SI 2048  
MC2 QF  
SF 500.1292024 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0

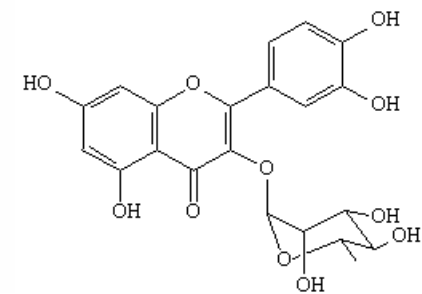
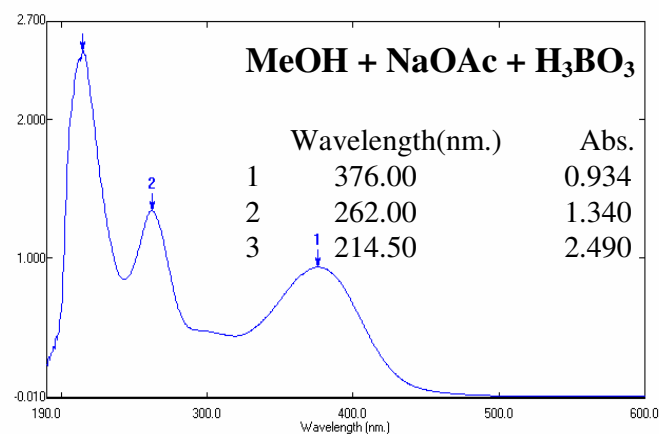
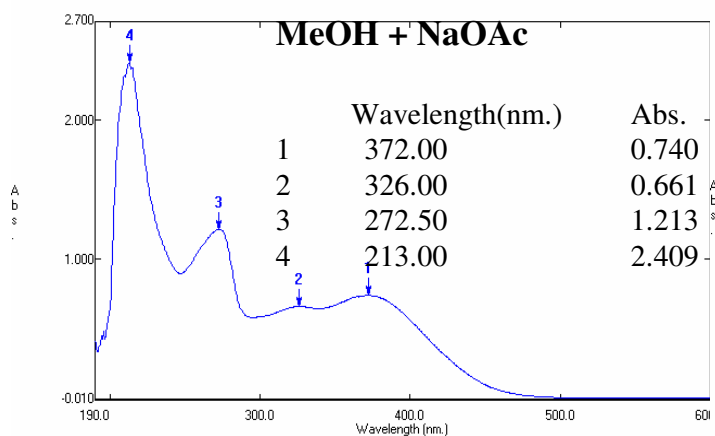
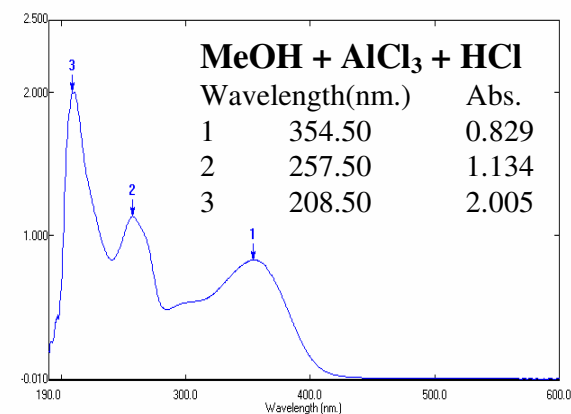
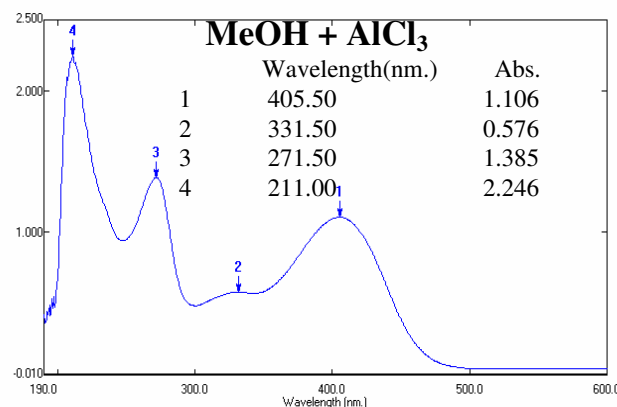
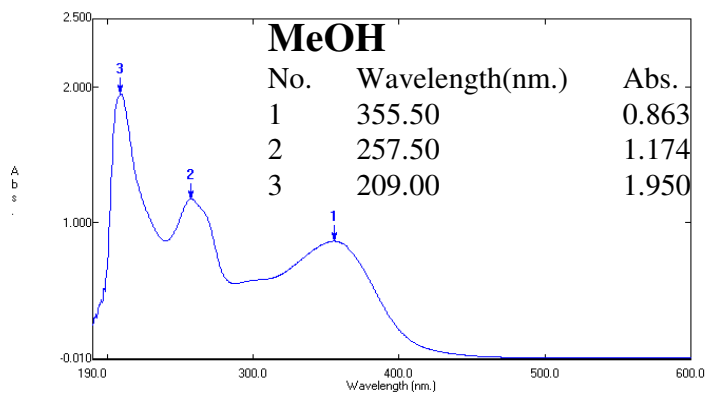
Espectro 106 - 1ª Expansão do espectro COSY  $^1\text{H} \times \text{H}$  - 500 MHz da Isoquercitrina

Cz



204

Espectro 107- 2ª Expansão do espectro COSY  $^1\text{H} \times \text{H}$  - 500 MHz da Isoquercitrina



Espectro 108 - Espectro UV (em MeOH e reagentes de deslocamento da Isoquercitrina)

## 4. Avaliação da Atividade Farmacológica de *Himatanthus*

### 4.1. Avaliação da atividade antiinflamatória de *Himatanthus*.

Algumas espécies do gênero *Himatanthus* são relatadas na medicina tradicional por sua atividade antiinflamatória. Testes realizados com o látex de *Himatanthus sucuuba* por Miranda e colaboradores<sup>73</sup> verificaram inibição da inflamação em 35,9% na dose de 200mg/Kg para a fração hexânica, rica nos triterpenos acetato de lupeol,  $\alpha$ -amirina e cinamato de lupeol.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiinflamatória das cascas de *Himatanthus sucuuba*, bem como de seu componente majoritário, o iridóide plumierídeo e sua associação com a mistura de triterpenos que compõem a fração em hexano do látex.

#### 4.1.1. Introdução

A inflamação tem sido intensamente investigada desde o início da era Cristã, quando Celsus (30 a.C.) definiu os quatro sinais cardinais da inflamação: calor, rubor, dor e tumor (edema) – “*Signa inflammationis quatuor sunt: rubor et tumor, cum calor et dolor*”. A estes sinais, Galeno, médico da Antiguidade, segundo alguns autores, ou Virchow, segundo outros, no século XIX, acrescentou um quinto sinal, a perda de função (*functio lesae*) da parte afetada. As fases que correspondem a uma resposta

inflamatória estão bem definidas, observando-se inicialmente uma fase aguda (20 a 60 minutos) onde ocorre a vasodilatação local e aumento da permeabilidade capilar, seguida de uma segunda fase caracterizada por uma infiltração de leucócitos e células fagocíticas com posterior regeneração tecidual. O edema induzido por carragenina corresponde à fase aguda da inflamação, mediada por histamina, bradicinina e prostaglandinas<sup>92</sup>.

Assim como os triterpenos de *Himatanthus sucuuba* já tiveram sua atividade antiinflamatória relatada na literatura<sup>73</sup>, alguns iridóides também foram testados para esta mesma atividade, demonstrando ser esta uma classe de substâncias bastante ativa contra a inflamação. Em 1994, Recio e colaboradores<sup>93</sup> realizaram um estudo com alguns iridóides, tais como aucubina, harpagosídeo, loganina, ácido logânico, entre outros, na dose de 100 mg/Kg e encontrou resultados significativos de inibição do edema de pata induzido por carragenina.



#### 4.1.2. Ensaio do edema de pata induzido por carragenina.

O ensaio do edema de pata induzido por carragenina foi inicialmente descrito por Winter e colaboradores<sup>94</sup>.

#### 4.2.2. Metodologia:

##### 4.2.2.1. Animais:

Foram utilizados ratos albinos Wistar de ambos os sexos, pesando entre 150 e 200 g. Todos os animais foram mantidos nas condições padrão e alimentados apenas com água *ad libitum* nas 12 horas que precederam os experimentos. Para cada experimento foi utilizado um “n” de 6 a 10 animais.

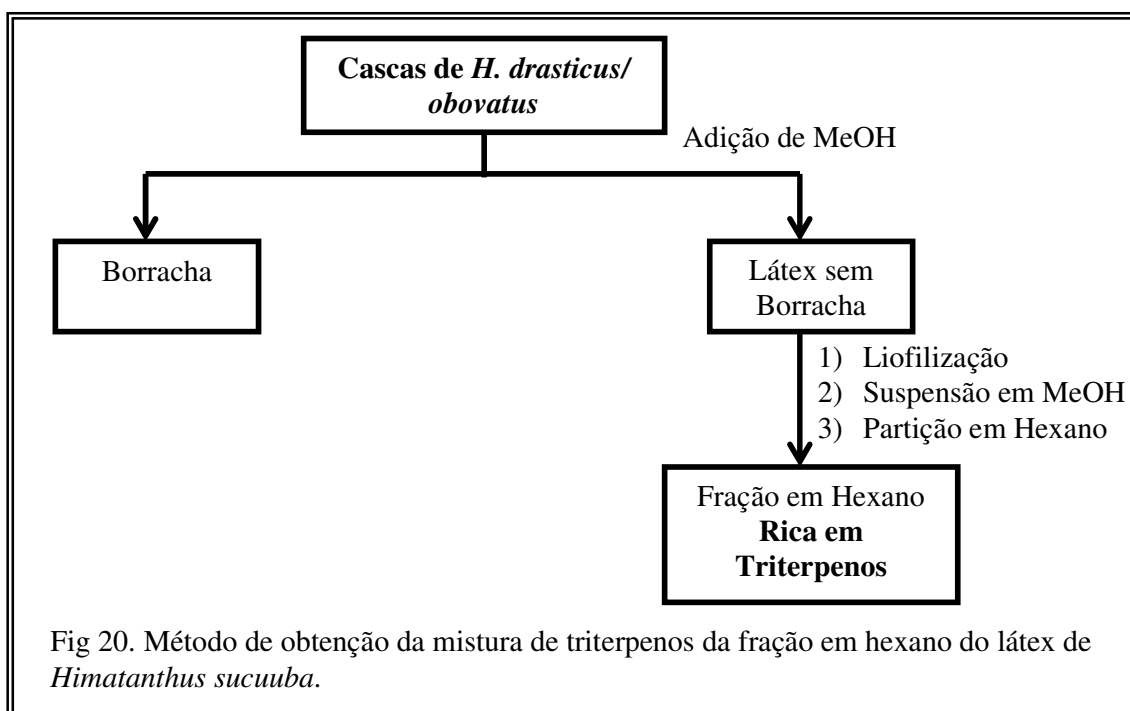
##### 4.2.2.2. Preparo das amostras:

As cascas de *Himatanthus sucuuba* foram testadas sob a forma de um chá preparado a partir da infusão de 100g de cascas frescas em 500 ml de água destilada, forma na qual esta planta é utilizada pela população. O liofilizado do chá foi testado nos animais nas doses de 100 e 500 mg/Kg.

O iridóide plumierídeo foi isolado das cascas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus* conforme já descrito anteriormente. Este iridóide teve sua

atividade testada por via oral e intraperitoneal nas doses de 100 e 200 mg/Kg.

A mistura de triterpenos foi obtida da fração hexânica das cascas de *H. drasticus* e/ou *H. obovatus* a partir do procedimento de precipitação da borracha como descrito a seguir:



Esta mistura de triterpenos, cuja atividade antiinflamatória já havia sido relatada na literatura<sup>73</sup>, foi adicionada ao iridóide plumierídeo em diferentes proporções na presença ou ausência de lipossomas. Foram testadas as seguintes proporções:

- a) Plumierídeo + triterpenos (3:1) na dose de 100 mg/Kg;
- b) Plumierídeo + triterpenos (1:3) na dose de 100mg/Kg;
- c) Plumierídeo + triterpenos (1:3) na dose de 200mg/Kg;
- d) Plumierídeo + triterpenos (1:3) com lipossomas na dose de 100 mg/Kg;
- e) Plumierídeo + triterpenos (1:3) com lipossomas na dose de 200 mg/Kg;
- f) Plumierídeo + triterpenos (1:1) com lipossomas na dose de 100 mg/Kg;
- g) Plumierídeo + triterpenos (1:1) com lipossomas na dose de 200 mg/Kg;

#### 4.2.2.2.1. Os lipossomas

Como ilustrado na Figura 21, os lipossomas são vesículas esféricas, constituídas de uma ou várias bicamadas concêntricas de lipídeos, que isolam um ou vários compartimentos aquosos internos do meio externo. Uma grande vantagem dos lipossomas, com relação a outros sistemas transportadores de medicamento, é a sua elevada biocompatibilidade, especialmente quando estes são formados de lipídeos pertencentes às famílias de lipídeos naturais. Além disso, são sistemas altamente versáteis,

cujo tamanho, lamelaridade, superfície, composição lipídica, volume e composição do meio aquoso interno podem ser manipulados em função dos requisitos farmacêuticos e farmacológicos<sup>95</sup>. Os lipossomas foram preparados a partir do método de filme<sup>96</sup> a partir da dissolução de fosfolídeos, no caso a fosfatidilcolina, em um solvente orgânico contendo a mistura das substâncias testadas. O solvente orgânico é retirado a partir de um evaporador rotatório, formando na parede do balão um filme lipídico, o qual é hidratado a partir da adição de salina. Este procedimento gerou uma população heterogênea de vesículas multilamelares de tamanho aproximado de 1 $\mu$ m.

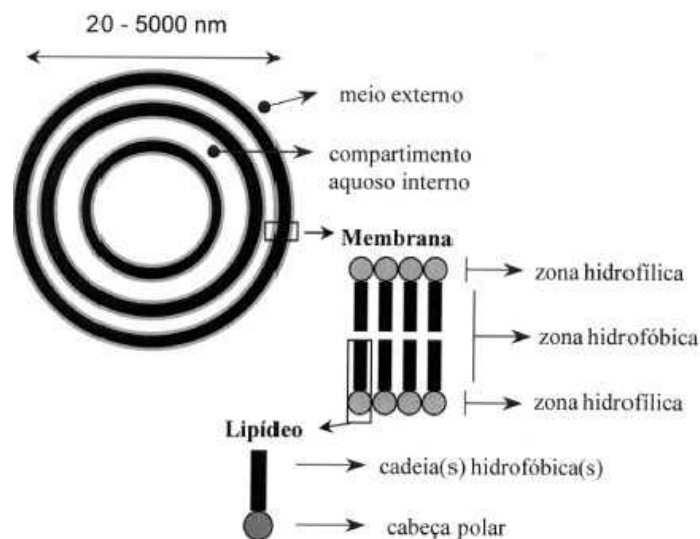


Fig. 21. Representação esquemática de um lipossoma

#### 4.2.2.3. Descrição do experimento

A indução do edema foi realizada a partir da injeção de carragenina 1% (1000 µg/pata) na região subplantar de uma das patas posteriores, e a pata contra-lateral foi tratada com igual volume de salina estéril (NaCl 0,9%). A cada intervalo de 1 hora, ou seja, nos tempos 1h, 2h e 3h, os volumes das patas foram medidos por meio de um pletismógrafo de vidro acoplado a uma bomba peristáltica e o edema ou a variação de volume foi avaliado pela diferença entre o volume da pata tratada com carragenina e a tratada com salina. Os compostos foram administrados via oral ou intraperitoneal (0,1ml/20g de peso animal) uma hora antes da indução do edema. O grupo controle foi tratado com igual volume do veículo utilizado na dissolução do composto - H<sub>2</sub>O ou Tween/EtOH/H<sub>2</sub>O (2:2:20, v/v/v). A atividade antiinflamatória foi expressa em percentagem de inibição quando comparada com o grupo controle.

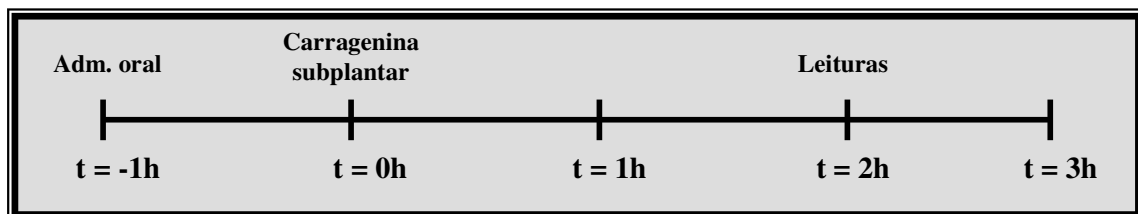
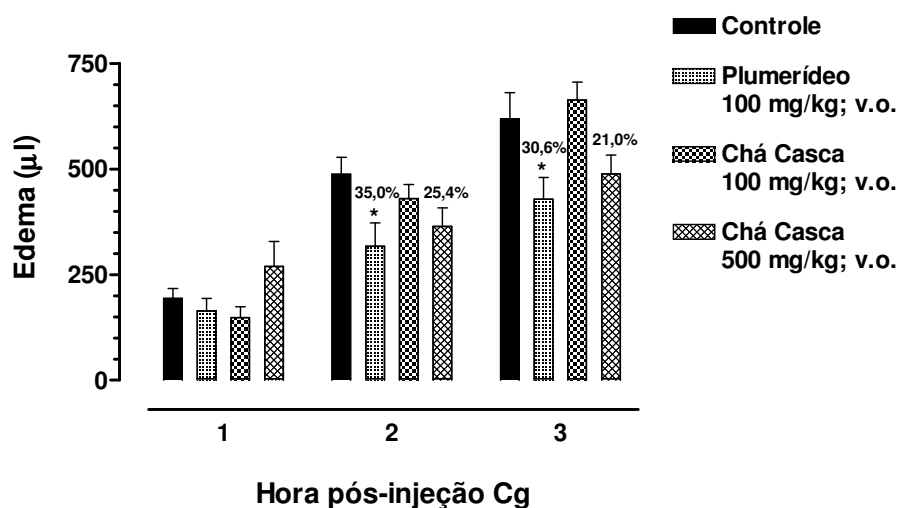


Fig. 22. Esquema representativo do ensaio do edema de pata induzido por carragenina<sup>97</sup>.

### 4.3. Resultados e discussão

Foram realizados ensaios em diferentes concentrações do chá das cascas de *Himatanthus sucuuba*, do iridóide plumierídeo, componente majoritário destas cascas e de uma associação entre este iridóide e uma mistura de triterpenos presentes na fração em hexano das cascas e do látex de *H. drasticus* e *H. obovatus*.

O resultado dos ensaios com as cascas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus* sob a forma de chá nas doses de 100 e 500 mg/Kg e do iridóide plumierídeo (100 mg/Kg) podem ser observados no gráfico 1. Quando administrado por via oral na dose de 100mg/Kg, o chá da casca não apresentou atividade antiinflamatória estatisticamente significativa, porém na dose de 500 mg/Kg foi observada uma tendência à inibição em torno de 25,4% e 21,0% na segunda e terceira horas após indução do edema.



**Gráfico 1.** Efeito antiinflamatório dos chás das cascas e do iridóide plumierídeo isolado de *Himatanthus sucuuba*. Resultados expressos em média  $\pm$  EPM; (n = 6-10 animais/grupo); Valor em % corresponde a inibição obtida pela comparação com o grupo controle veículo; \* p < 0,05 (teste t-Student e ANOVA one-way).

O plumierídeo, administrado por via oral na dose de 100 mg/Kg, mostrou atividade antiinflamatória significativa inibindo a formação do edema em 35% e 30% nos tempos de 2h e 3h respectivamente, após a indução do mesmo. A dose de 200 mg/Kg também foi testada, porém não apresentou inibição estatisticamente significativa do edema.

Os ensaios realizados com as associações de plumierídeo e os triterpenos da fração em hexano do látex tiveram o objetivo de verificar se havia algum tipo de efeito sinérgico entre eles, já que ambos demonstraram atividade quando testados isoladamente. Além disso, são os principais constituintes dos extratos elaborados das cascas e do látex de espécies do gênero *Himatanthus*. Estes ensaios produziram os resultados demonstrados nos gráfico 2 e 3.

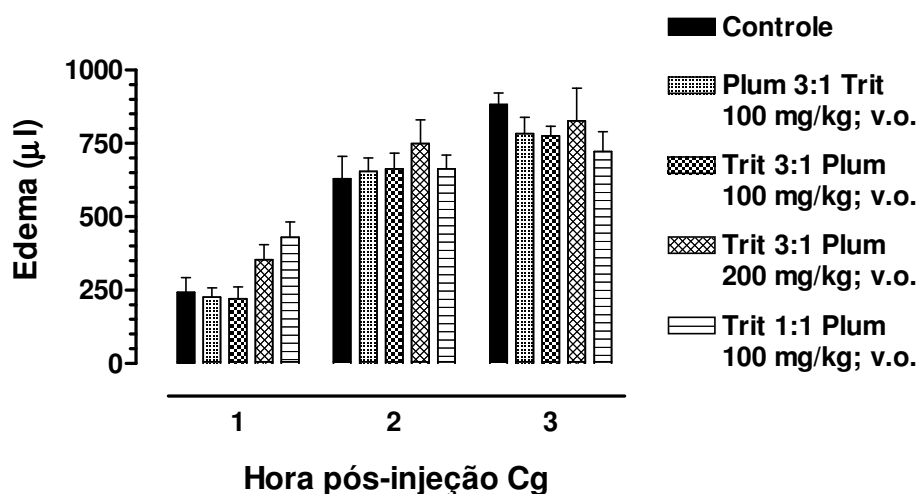


Gráfico 2. Efeito antiinflamatório de diferentes associações de plumierídeo e triterpenos de *Himatanthus* sem lipossomas. Resultados expressos em média  $\pm$  EPM; (n = 6-10)

animais/grupo); Valor em % corresponde a inibição obtida pela comparação com o grupo controle veículo; \* p < 0,05 (teste t-Student e ANOVA one-way).

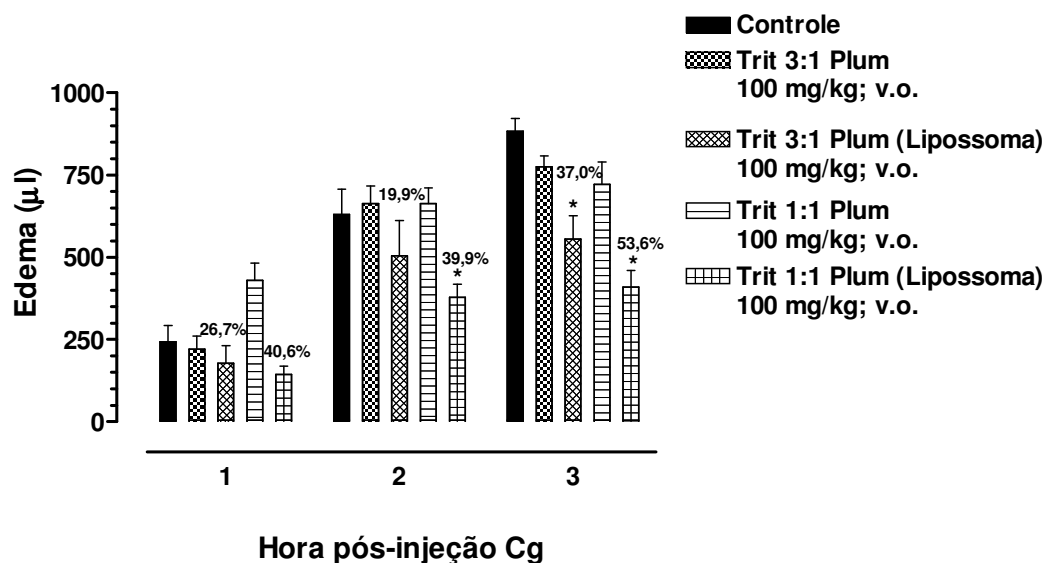


Gráfico 3. Efeito antiinflamatório de diferentes associações de plumierídeo e os triterpenos isolados de *Himatanthus* sob a forma de lipossomas. Resultados expressos em média ± EPM; (n = 6-10 animais/grupo); Valor em % corresponde a inibição obtida pela comparação com o grupo controle veículo; \* p < 0,05 (teste t-Student e ANOVA one-way).

Verificamos que dentre as associações testadas, aquelas que se apresentavam sob a forma de lipossomas, demonstraram uma atividade antiinflamatória significativa, diferentemente daquelas onde não havia o lipossoma. Pelo gráfico 3 notamos uma tendência à inibição da inflamação com a mistura composta de triterpeno : plumierídeo (3:1) na dose de 100 mg/Kg sob a forma de lipossoma que foi de 26,7% na primeira hora, 19,9% na segunda e 37,0% na terceira hora. A mesma mistura foi testada na proporção de 1:1 e a inibição observada foi maior, sendo 40,6% na primeira hora, mantendo-se na segunda hora (39,9%) e aumentando na terceira hora (53,6%).



#### 4.4. Conclusão:

Com base nos resultados apresentados, as seguintes conclusões foram delineadas: os triterpenos de *Himatanthus*, já relatados como agentes antiinflamatórios, eram tidos como principais responsáveis por esta atividade. No presente trabalho, porém destacamos o iridóide majoritário das cascas de três espécies de *Himatanthus*, o plumierídeo, cuja atividade antiinflamatória de 35% e 30% nas segunda e terceira horas, respectivamente, corroborou para justificar o uso desta planta pela população com esta finalidade.

As associações entre os triterpenos e este iridóide tiveram a intenção de avaliar um possível efeito sinérgico entre as substâncias, o que não foi verificado. A associação simples não apresentou o efeito esperado e nenhuma delas apresentou inibição do edema.

A utilização dos lipossomas como encapsuladores dos princípios ativos pareceu ser eficaz, promovendo uma proteção dos mesmos de uma eliminação ou degradação rápida. Suas propriedades de liberação lenta possivelmente levaram à redução da concentração de princípio ativo na forma livre, e à prolongação de sua presença no organismo. Com este provável aumento na biodisponibilidade dos princípios ativos houve uma elevação da potenciação de sua ação biológica, neste caso, antiinflamatória.

Este fato justifica os melhores resultados encontrados na ação antiinflamatória dos princípios ativos sob a forma de lipossomas.

A atividade antiinflamatória observada para as associações de plumierídeo e triterpenos nas concentrações de (1:3) e (1:1) na presença do lipossoma assemelham-se as observada no uso popular desta planta, já que o látex da mesma, utilizado sob a forma diluída em água, apresenta uma constituição rica em polímeros<sup>37</sup>, os quais podem atuar como carreadores e/ ou protetores de substâncias, de maneira semelhante ao que ocorre com os lipossomas.

## 5. Ensaio de metabolização *in vivo* e *in vitro* do plumierídeo

### 5.1. Introdução

Os iridóides representam um grande grupo de monoterpenóides ciclopentano [c] pirânicos que são encontrados como constituintes naturais de um grande número de famílias de plantas, usualmente sob a forma glicosilada<sup>98</sup>. A esta classe de compostos são atribuídas algumas atividades tais como antimicrobiana<sup>99</sup>, antitumoral<sup>100</sup>, hemodinâmica<sup>101</sup>, clorética<sup>102</sup>, hepatoprotetora<sup>103</sup> e antiinflamatória<sup>104</sup>. Entretanto, relatos da literatura apontam alguns exemplos de iridóides glicosilados que funcionam como pró-drogas<sup>105</sup> que são metabolizadas no trato gastrointestinal. É o caso do iridóide geniposídeo metabolizado *in vivo* em camundongos, na aglicona genipina, encontrada em todos os segmentos do intestino, especialmente no ceco e cólon<sup>106</sup>. Ensaio de metabolização de iridóides por bactérias intestinais são relatados com os iridóides gardenosídeo e geniposídeo, convertidos em suas agliconas<sup>107</sup>. De forma similar, a aucubina<sup>108</sup> e o secoiridóide swertiamarina<sup>109</sup> foram transformados em suas agliconas correspondentes. A formação de alcalóides monoterpeno-piridínicos (PMTA) a partir do tratamento de iridóides glicosilados com ácido ou  $\beta$ -glicosidases na presença de uma fonte de  $\text{NH}_3$ , normalmente íons amônio, é também descrita na literatura<sup>110</sup>. A partir destes dados, o iridóide aucubina foi transformado por bactérias intestinais humanas em dois novos

alcalóides<sup>108</sup>, geniposídeo e gardenosídeo foram convertidos nos compostos nitrogenados genipinina e gardenina<sup>107</sup> e swertiamarina foi metabolizada a gentianina<sup>109</sup>. É importante ressaltar que vários dos alcalóides monoterpêno-piridínicos formados mostraram efeitos antiinflamatórios, de relaxamento muscular, sedativos, anti-histamínicos, hipoglicêmicos e hipotensores<sup>111</sup> paralelos aos efeitos atribuídos aos iridóides.

Poucas informações estão disponíveis na literatura a respeito da farmacocinética dos iridóides glicosilados. No entanto, estudos de biodisponibilidade, ligação a proteínas plasmáticas, absorção gastrointestinal e metabolismo na mucosa gastrointestinal e no fígado<sup>112</sup> indicam que o desaparecimento do iridóide nos órgãos e no sangue não corresponde necessariamente a uma diminuição do efeito farmacológico, ao contrário, se ocorrem reações de hidrólise, os intermediários dialdeído-hemiacetais formados são muito mais reativos e provavelmente mais potentes biologicamente<sup>113</sup>.

## 5.2. Biotransformação do plumierídeo *in vitro* – Proposta de modelo experimental.

Os ensaios de biotransformação *in vitro* procuraram mimetizar as condições encontradas pelo plumierídeo ao chegar ao intestino para ser metabolizado. Para isto foram utilizadas colônias da bactéria anaeróbia facultativa *Bacteroides fragilis*. Os ensaios foram realizados em duplicata.

O protocolo para este ensaio baseou-se em um modelo da literatura no qual os iridóides geniposídeo e gardenosídeo eram biotransformados nas substâncias nitrogenadas genipinina e gardenina, respectivamente, na presença de bactérias intestinais humanas<sup>107</sup>.

#### 5.2.1. Bactérias

Foram utilizadas as bactérias anaeróbias facultativas *Bacteroides fragilis*, cepa 25285 do Laboratório de Anaerobiose da Universidade Federal do Rio de Janeiro. As bactérias foram cultivadas em meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) por 24 horas, a 37°C para crescimento.

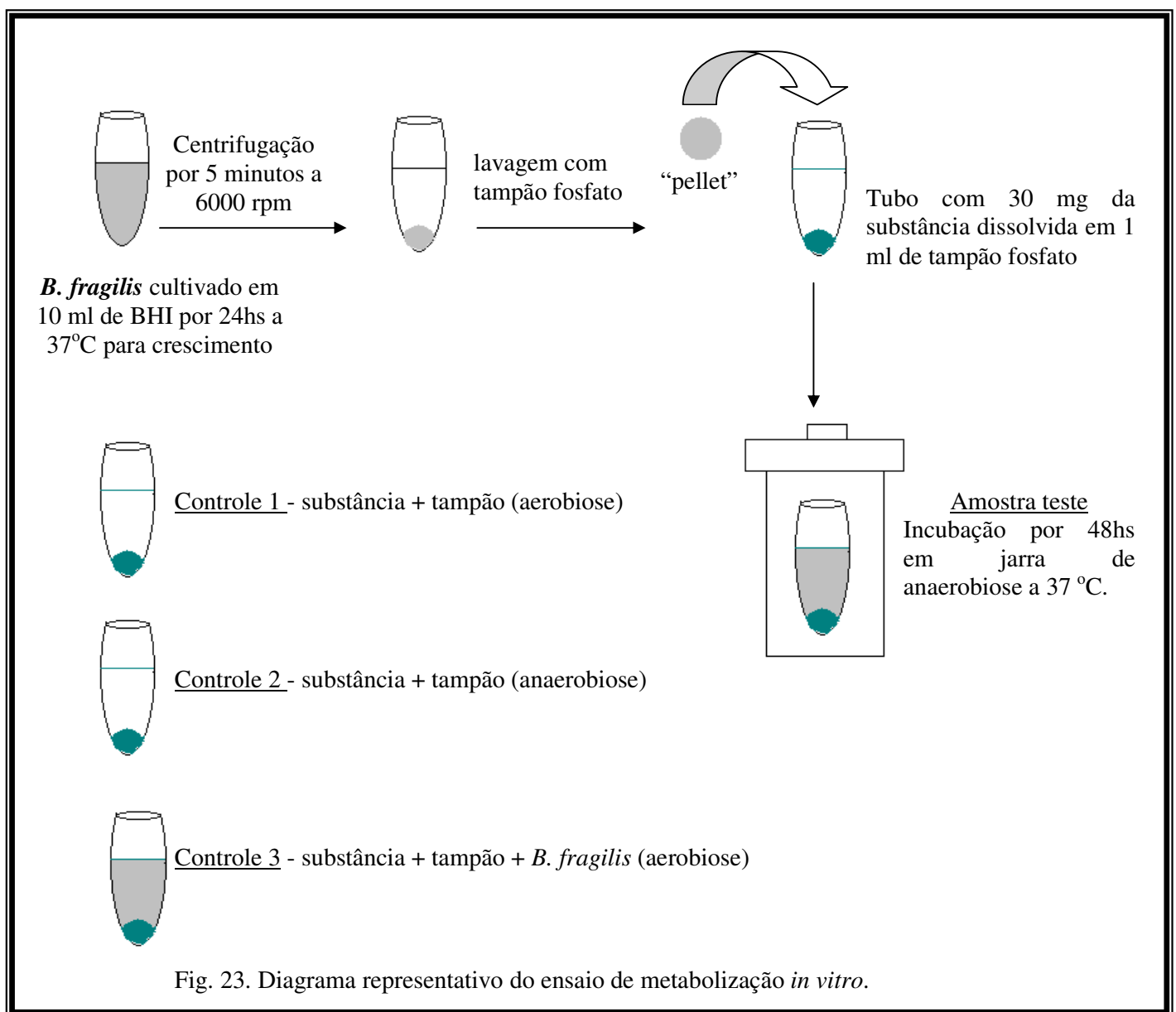
#### 5.2.2. Descrição do modelo experimental:

Depois de cultivadas, as bactérias foram centrifugadas a 6000 rpm por um período de cinco minutos para a formação de um *pellet* que foi posteriormente lavado com uma solução contendo tampão fosfato 100 mM (pH=7,3). O *pellet* de bactérias foi adicionado a um tubo de ensaio contendo 30 mg da substância testada (plumierídeo) dissolvido em 1 ml do mesmo tampão fosfato e incubado em condições de anaerobiose a 37°C por 48 horas. A este tubo deu-se o nome de amostra teste. Foram realizados três ensaios controle em tubos de ensaio contendo:

Controle 1: 30 mg da substância em 1 ml de tampão fosfato (sem a presença do *B. fragilis*) incubado em aerobiose.

Controle 2: 30 mg da substância em 1 ml de tampão fosfato (sem a presença do *B. fragilis*) incubado em anaerobiose.

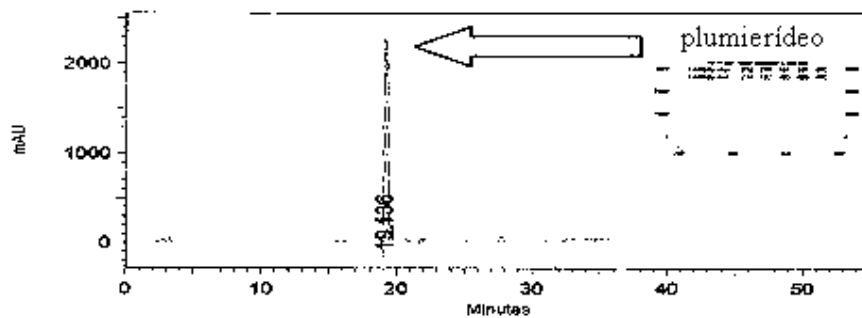
Controle 3: 30 mg da substância em 1 ml de tampão fosfato (na presença do *B. fragilis*) incubado em aerobiose.



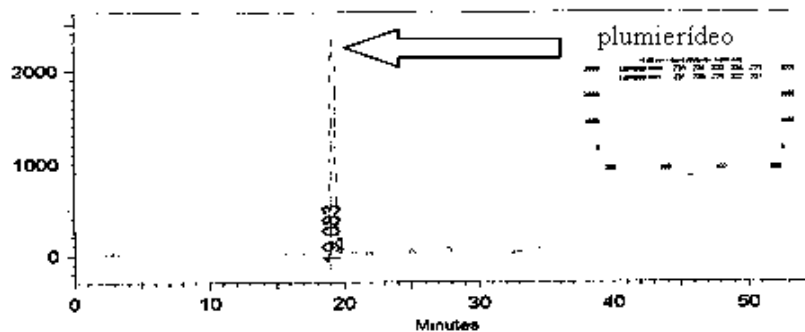
Após a incubação, a amostra teste e as três amostras controle foram particionadas em acetato de etila, evaporadas em evaporador rotatório e analisadas por CLAE/DAD.

### 5.2.3. Resultados e discussão:

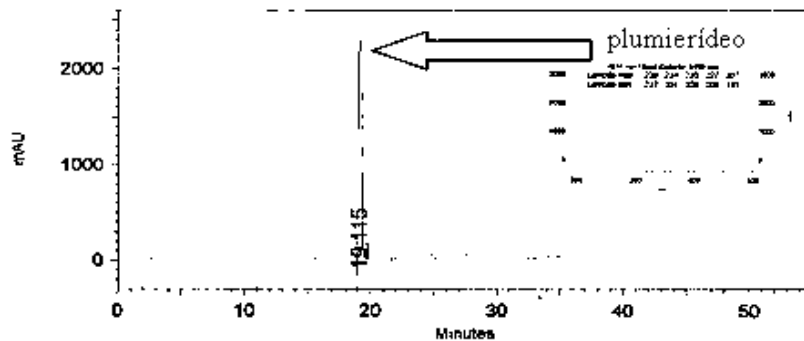
Após análise por CLAE/DAD foram obtidos os seguintes cromatogramas:



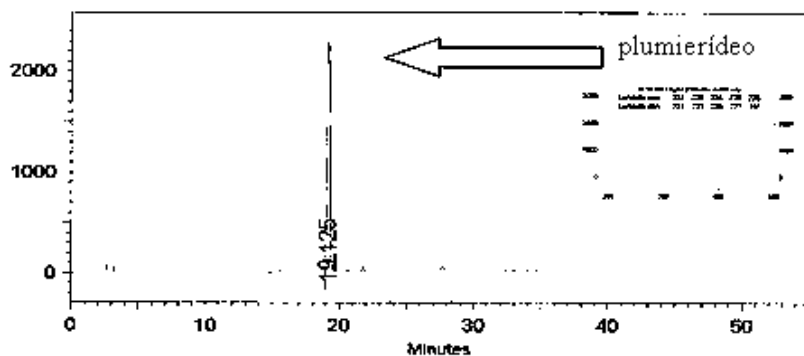
Cromatograma A - **amostra teste** – Substância + tampão fosfato + *Bacteroides fragilis* + anaerobiose por 48 horas a 37°C.



Cromatograma B - **Controle 1** – Substância + tampão fosfato + aerobiose por 48 horas a 37°C.



Cromatograma C - **Controle 2** – Substância + tampão fosfato + anaerobiose por 48 horas a 37°C.



Cromatograma D - **Controle 3** – Substância + tampão fosfato + *Bacteroides fragilis* + aerobiose por 48 horas a 37°C.

Em todos os cromatogramas acima o plumierídeo (tempo de retenção de 19,08 a 19,13 minutos) foi recuperado após o período de incubação na presença ou ausência de *B. fragilis* e na presença ou ausência de anaerobiose. A tabela abaixo mostra as concentrações relativas deste iridóide em cada uma das situações:

	Tempo de retenção (min.)	Área (%)
<b>Amostra teste</b>	19,13	70,64
<b>Controle 1</b>	19,08	94,34
<b>Controle 2</b>	19,12	90,58
<b>Controle 3</b>	19,12	75,11

Tab. 31. Tempo de retenção x área encontrados nos cromatogramas



O plumierídeo foi recuperado em maior concentração nas amostras controle 1 e 2. A menor recuperação do plumierídeo na amostra teste (70,64 %) pode indicar seu consumo ou sua transformação em algum outro composto.

#### 5.2.4. Conclusão

O ensaio de biotransformação *in vitro* do plumierídeo na presença de *Bacteroides fragilis* em meio anaeróbio não foi eficiente para avaliar uma possível biotransformação deste composto. A tentativa de mimetizar o ambiente intestinal não foi satisfatória e por isso a alternativa encontrada para avaliar esta propriedade do iridóide foi realizar o ensaio de biotransformação *in vivo*.

### 5.3. Biotransformação do plumierídeo *in vivo*.

Neste experimento foram utilizados modelos animais para avaliação da propriedade de biotransformação do plumierídeo *in vivo*. A droga foi administrada por via oral e os animais depois de sacrificados na primeira e segunda hora de experimento, tiveram seu fígado, intestino e sangue avaliados por CLAE-DAD quanto a concentração de plumierídeo presente.

#### 5.3.1. Animais:

Foram utilizados ratos albinos Wistar de ambos os sexos, pesando entre 150 e 200 g. Todos os animais foram mantidos nas condições padrão e alimentados apenas com água *ad libitum* nas 12 horas que precederam os experimentos. Um “n” de três animais foi utilizado para os ensaios.

#### 5.3.2. Preparo das amostras:

O plumierídeo, isolado conforme o descrito no capítulo 3 desta tese, foi pesado (100mg) e diluído em 5 ml de uma solução contendo H<sub>2</sub>O:EtOH (9:1). Cada animal foi tratado oralmente, por gavagem, com 1ml da solução para cada 200g de peso corpóreo.

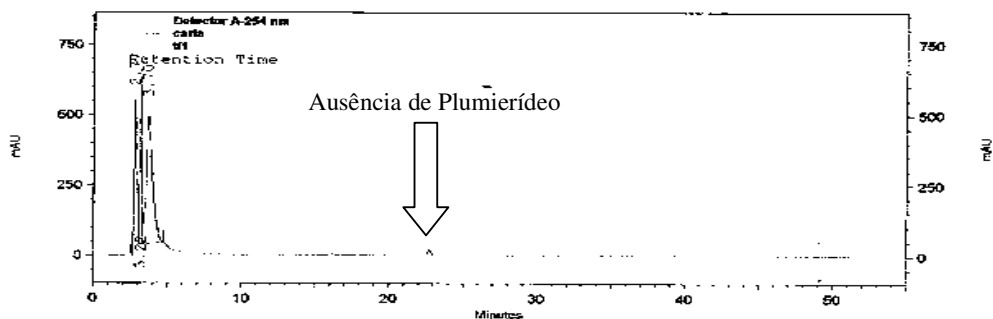
### 5.3.3. Descrição do experimento:

Os animais testados tiveram o edema induzido a partir da injeção de carragenina 1% (1000 µg/pata) na região subplantar de uma das patas posteriores. A pata contra-lateral foi tratada com igual volume de salina estéril (NaCl 0,9%). Uma hora antes da indução do edema, os animais foram tratados com a solução de plumierídeo, por via oral, na dose de 100mg/Kg. Na primeira hora após a indução do edema os animais foram sacrificados e tiveram coletados seu sangue, fígado e intestinos. O mesmo ocorreu na segunda hora, sendo sacrificados os animais restantes. Os órgãos e o sangue foram imediatamente congelados, tendo este último recebido o tratamento com 0,3 ml de citrato de amônio para evitar a coagulação<sup>92</sup>.

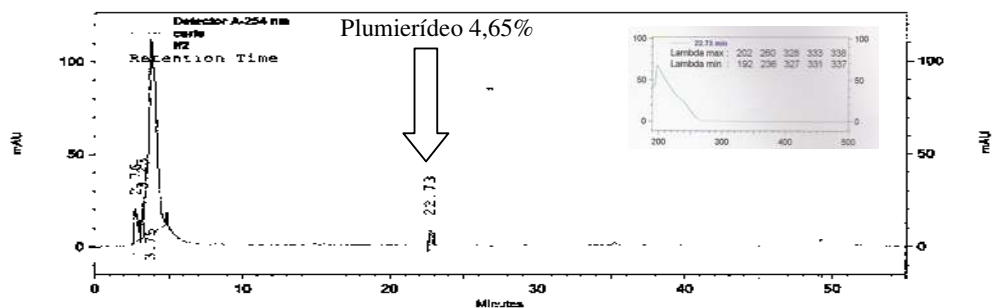
O sangue, fígado e intestino extraídos dos animais foram tratados com uma solução aquosa de citrato de amônio (1:10), triturados em liquidificador, centrifugados a 4000 rpm por 30 minutos e extraídos em funil de separação com acetato de etila (3 x 50 ml). As frações obtidas foram evaporadas em evaporador rotatório e analisadas por cromatografia em camada delgada de gel de sílica (CCD-Si) utilizando-se uma solução de AcOEt:MeOH:H<sub>2</sub>O como eluente e vanilina sulfúrica (VS) como revelador e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE/DAD).

#### 5.3.4. Resultados e discussão:

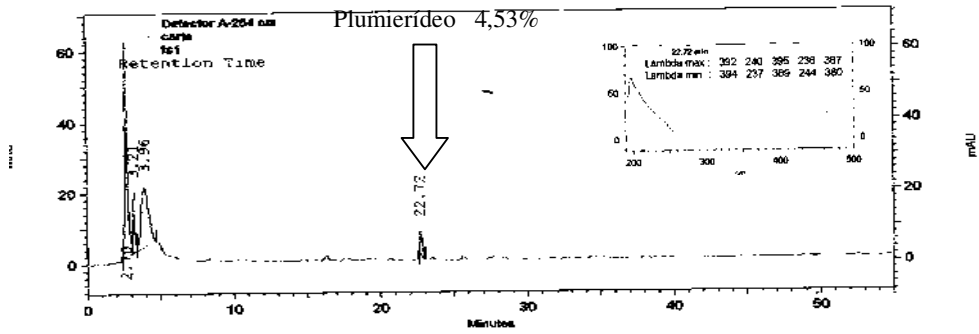
Os cromatogramas obtidos nas análises por CCD-Si e CLAE/DAD demonstram que os animais sacrificados após a primeira hora da administração do plumierídeo (tempo de retenção = 22,66 minutos) demonstravam a ausência deste no fígado, presença de 4,53% no sangue e 55,44 % no intestino. Na segunda hora após administração do plumierídeo foi constatada a presença de 4,65% deste no fígado, 7,59% no sangue e 48,54% no intestino. O único órgão onde o plumierídeo diminuiu em proporção foi o intestino, na segunda hora, coincidentemente com o aparecimento de um outro componente, provavelmente da classe dos iridóides devido à semelhança do espectro de UV.



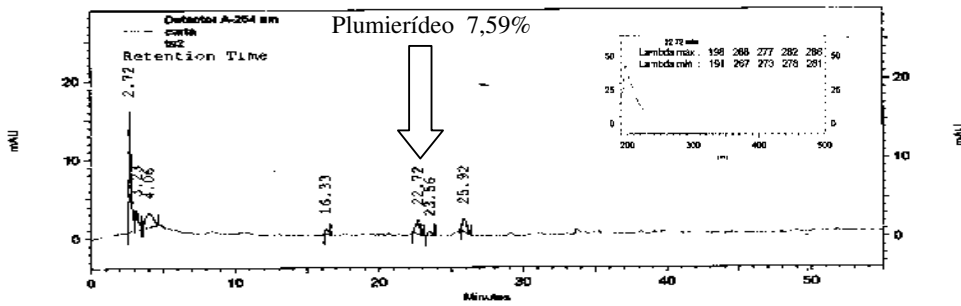
Cromatograma E – Amostra de fígado uma hora após administração de plumierídeo.



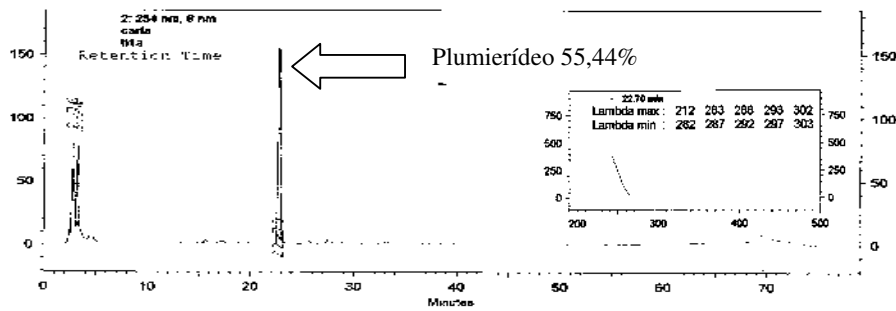
Cromatograma F – Amostra de fígado duas horas após administração de plumierídeo.



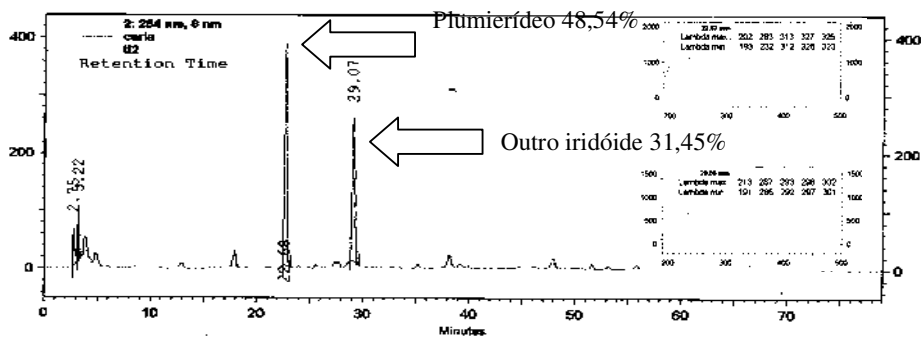
Cromatograma G – Amostra de sangue uma hora após administração de plumierídeo.



Cromatograma H – Amostra de sangue duas horas após administração de plumierídeo.



Cromatograma I – Amostra de intestino uma hora após administração de plumierídeo.



Cromatograma J – Amostra de intestino duas horas após administração de plumierídeo.

### 5.3.5. Conclusão:

A presença do plumierídeo no intestino (55,44%) e no sangue (4,53%) na primeira hora após administração oral indicou que o plumierídeo, após ser absorvido no intestino passou para a corrente sanguínea em baixas concentrações (4,53%). Na segunda hora de experimento, porém esta concentração quase não sofreu alteração no sangue e apareceu também em baixas concentrações no fígado. Entretanto, no intestino foi notada uma diminuição da concentração do plumierídeo (48,54%) e o surgimento de um composto cujo espectro UV indica que provavelmente pertence à classe dos iridóides (31,45%). É importante ressaltar, que a atividade antiinflamatória do plumierídeo, avaliada neste trabalho, ocorreu após a segunda hora da administração oral. Coincidentemente no mesmo período que o plumierídeo diminuiu em concentração e surgiu o outro iridóide. Assim, podemos inferir que o plumierídeo pode ter sofrido alguma transformação intestinal, se transformando em outro iridóide possivelmente mais ativo contra a inflamação.

## 6. Análise Quantitativa do iridóide plumierídeo nas cascas e folhas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus*.

### 6.1. Quantificação por CLAE/UV

Determinações quantitativas do principal iridóide glicosilado isolado das cascas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus* foram realizadas utilizando-se CLAE/DAD. O plumierídeo foi isolado destas espécies e serviu como padrão para a realização das curvas de calibração. Sua estrutura foi elucidada pelas técnicas espectrométricas RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, DEPT, HSQC e HMBC que estão apresentadas nesta tese. Todos os experimentos cromatográficos foram realizados à temperatura ambiente.

#### 6.1.1. Condições cromatográficas:

A análise por CLAE foi efetuada em um sistema integrado a um detector de feixe de diodos (DAD – Shimadzu SPD – M10A) na região de 200-500 nm e fluxo de 1 ml/min em coluna Hibar de fase reversa (RP-18) com dimensões de 25cm x 4,6mm x 5 µm utilizando-se acetonitrila : H<sub>2</sub>O + TFA 0,05% como sistema eluente. O volume das injeções foi de 10 µl (injetor automático) e os constituintes foram detectados a 208nm. A concentração do plumierídeo foi determinada comparando-se área de cada

pico com a curva padrão gerada pelas injeções em triplicata do padrão em concentrações conhecidas.

#### 6.1.2. Procedimentos gerais para o preparo dos padrões

1,0 mg do plumierídeo padrão foi pesado em balão volumétrico de 1,0 ml e solubilizado em MeOH. Diluições foram preparadas pela transferência de alíquotas da solução “stock” para balões volumétricos de 1,0 ml.

#### 6.1.2. Procedimentos gerais para preparo das amostras

As frações em acetato de etila das cascas, folhas e talo de *Himatanthus drasticus*, *H. obovatus* e *H. succuba* foram pesadas (15mg) e diluídas em 1 ml de MeOH. A solução final foi analisada em triplicata.

#### 6.1.3. Curva de calibração

A curva de calibração foi construída a partir de injeções em triplicata do padrão nas concentrações de 100, 250, 500, 750 e 1000  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  e traçada em relação à área contra a concentração. A resposta do detector foi linear com a série de concentração usada. Cinco pontos foram usados para a obtenção da curva de calibração cujo coeficiente de correlação (R) foi calculado e relacionado ao padrão.



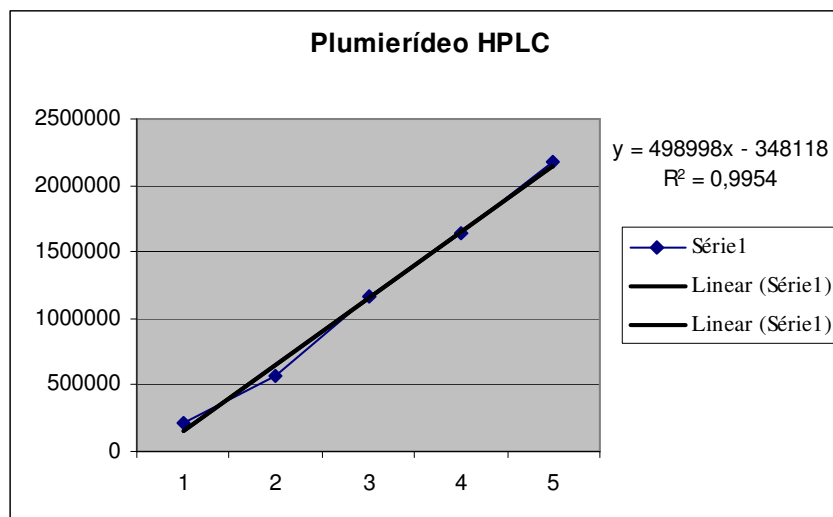


Gráfico 4. Curva de calibração do plumierídeo

#### 6.1.4. Resultados e conclusão

A concentração do plumierídeo foi determinada comparando-se a área de cada pico com as curvas dos padrões de concentração conhecida.

	Área (y)	Concentração (x) ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )
HDF	559444	1,82
HDC	33129518	67,09
HOT	9729605	20,19
HOF	642228	1,98
HOC	26358225	53,52
HSC	36169793	73,18
HSF	35370516	71,58

Tab. 32. Área x concentração do plumierídeo

De acordo com os resultados descritos na tabela acima, podemos observar a presença majoritária do iridóide plumierídeo na fração acetato das cascas de *Himatanthus drasticus*, *H. obovatus* e *H. sucuuba*, estando neste último também presente de forma majoritária nas folhas.

7. Análise quantitativa do triterpeno acetato de lupeol nas cascas e folhas de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus*.

7.1. Quantificação pelo método da densitometria em HPTLC.

O acetato de lupeol é um dos principais triterpenos isolados de espécies do gênero *Himatanthus*<sup>114</sup>. Este triterpeno foi analisado quantitativamente com objetivo de verificar sua concentração nas frações em hexano das cascas, folhas e talo de *Himatanthus drasticus*, *H. obovatus* e *H. sucuuba*, devido a importância dessa classe de substâncias na atividade antiinflamatória.

7.1.1. Condições cromatográficas

A quantificação foi feita em cromatoplaça de vidro HPTLC RP-18 (10x10cm) utilizando-se hexano: tolueno (3:7) como sistema eluente. A cromatoplaça foi eluída em uma cuba horizontal. A aplicação das amostras foi realizada com aplicador automático LINOMAT 4. A varredura das substâncias a 208 nm foi realizada a partir do TLC Scanner 3.

### 7.1.2. Preparo das amostras:

As amostras dos padrões nas cinco concentrações distintas foram pesadas e diluídas em 1 ml de metanol. Foi pesado 1 mg dos extratos brutos das cascas, folhas e talo de *Himatanthus drasticus* e *H. obovatus* e diluídos em 1 ml de metanol grau espectroscópico.

### 7.1.3. Curva de calibração

Para essa análise o método de padrão externo foi utilizado<sup>115</sup>. A curva de calibração foi construída por aplicações em triplicata na cromatoplaça das soluções do acetato de lupeol (1ml) nas concentrações de 1, 3, 5, 7 e 9 mg/ml e traçada em relação a área *versus* a concentração. A resposta do detector foi linear com a série de concentração usada. Pelo menos cinco pontos foram usados na obtenção da curva de calibração cujo coeficiente de correlação (R) foi calculado e encontra-se relacionado junto à mesma.

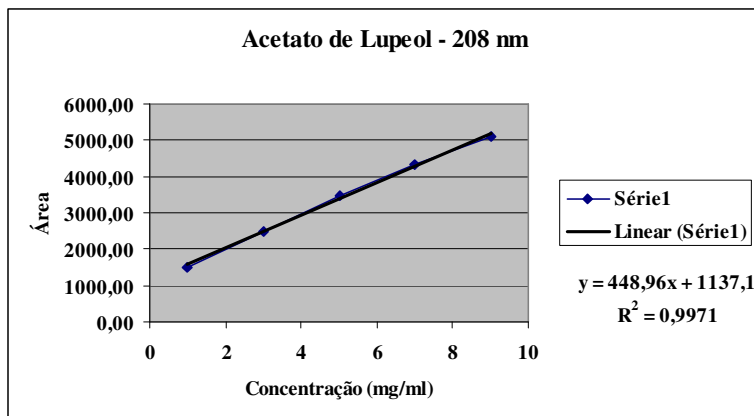


Gráfico 5. Curva de calibração do acetato de lupeol

#### 7.1.4. Resultados e discussão:

A concentração do acetato de lupeol nas frações em hexano das cascas, folhas e talo de *Himatanthus drasticus*, *H. obovatus* e *H. sucuuba* foi determinada comparando-se a área de cada pico com a curva do padrão de concentrações conhecidas.

Fração	Área (média)	Concentração ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )
<i>H. drasticus</i> – casca	1532,91	0,88
<i>H. drasticus</i> – folha	1278,567	0,32
<i>H. obovatus</i> – casca	2308,57	2,61
<i>H. obovatus</i> – folha	1687,20	1,23
<i>H. obovatus</i> – talo	3464,62	5,18
<i>H. sucuuba</i> – casca	2708,46	3,5
<i>H. sucuuba</i> – folha	n.d.	n.d.

Tab. 33. Área x concentração do plumierídeo

#### 7.1.5. Conclusão

A partir da análise da fração em hexano concluiu-se que a casca é a parte das espécies de *Himatanthus* estudadas onde o triterpeno acetato de lupeol está presente em maior concentração: 2,61 (*H. obovatus*) e 0,88% (*H. drasticus*) e 3,5% (*H. sucuuba*). Nas folhas, esta concentração é um pouco menor, sendo de 0,32% para *H. drasticus*, 1,23% para *H. obovatus* e não detectável para o *H. sucuuba* utilizado neste estudo.

## 8. Parte Experimental

### 8.1. Material e Métodos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) foram registrados em espectrômetros Bruker (400 MHz e 500 MHz), com os solventes deuterados, utilizando-se o trimetilsilano (TMS) ou o próprio solvente como referência interna, sendo os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) expressos em unidades ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN<sup>13</sup>C) foram registrados nos aparelhos descritos acima nas frequências de absorção apropriadas e nos solventes indicados, utilizando-se TMS ou o próprio solvente como referência interna. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em unidades ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Nicolet de feixe duplo, com transformada de Fourier, modelo Magna IR-760. As análises foram feitas usando-se pastilhas comprimidas em brometo de potássio anidro (KBr). Os comprimentos de onda das absorções estão expressos em centímetros recíprocos (cm<sup>-1</sup>).

Os espectros de absorção na região do ultravioleta foram registrados em espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 no solvente indicado.

Os espectros de massas foram obtidos a através de íons de 70 eV, Waters ZMD 2000 com gás N<sub>2</sub> e Probe APCI no modo de ionização positivo e CLAE acoplado a espectrômetro de massas modo de ionização por impacto de elétrons com interface “thermabeam”, marca Waters.

As cromatografias em camada fina (CCF) analítica foram feitas em cromatofolhas de gel de sílica 60 F<sub>254</sub> (Merck) de fase normal e fase reversa (RP-18) em alumínio com 0,2 mm de espessura.

As cromatografias em camada fina preparativa e analítica para densitometria foram feitas em placas cromatográficas de vidro (20 x 20 cm ou 10 x10 cm) em fases normal (Si-60 F<sub>254</sub>) e reversa (RP-18).

As cromatoplasas de camada fina analítica foram analisadas a partir de exposição à lâmpada ultravioleta ( $\lambda = 254$  e 365 nm) e/ou mediante borrifação das seguintes soluções reveladoras:

**Vanilina Sulfúrica (VS):**

- Revelador para óleos essenciais, terpenóides, derivados de fenilpropanóides, derivados fenólicos, etc.
- Coloração para terpenóides: arroxeadada após aquecimento
- Coloração para iridóides: esverdeada após aquecimento.
- Composição:

**Solução I :** Solução a 5% de ácido sulfúrico em etanol.

**Solução II:** Solução a 1% de vanilina em etanol.

- Modo de usar:

Borrifar a cromatoplaca com a solução I seguida da borrifação da solução II e leva-la ao aquecimento.

**Orcinol Sulfúrico (OS):**

- Revelador para compostos glicosilados.

- Modo de usar:

Dissolver 2g de orcinol em 100 mL de ácido sulfúrico concentrado e adicionar lentamente a 900 mL de etanol, com resfriamento em banho de gelo. O cromatograma é borrifado e aquecido a 100°C por alguns minutos.

**NP/PEG (Natural Products + Polietilenoglicol)**

- Revelador para flavonóides e substâncias aromáticas.
- Coloração para flavonóides: amarelo
- Composição:

Solução I: 0,5g de NP (difenilboroxietilamina) dissolvido em 10 ml de etanol.

Solução II: 1g de PEG (polietilenoglicol 400) dissolvido em 10 ml de etanol.

- Modo de usar:

Inicialmente a cromatoplaça é borrifada com a solução I e após sua secagem natural com a solução II. A cromatoplaça é observada em lâmpada ultravioleta a 365nm<sup>116</sup>.

As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas com suporte de Sephadex LH-20 (Pharmacia).

Nas cromatografias em coluna sob média pressão foi utilizada sílica de fase reversa Lichroprep RP-18 – Merck. O fracionamento por cromatografia líquida de média pressão (CLMP) foi realizado em aparelho Büchi modelo 687 gradiente com bomba Büchi 688 e as substâncias foram observadas a partir do registrador C-R6A Chromatopac-Shimadzu.

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/UV) analíticas foram efetuadas em um sistema integrado a um detector de feixe de diodos (DAD – Shimadzu SPD – M10A) na região de 200-500 nm e fluxo de 1 ml/min e as preparativas em CLAE/UV fixo (UV-VIS Detector-Shimadzu) a 210 ou 254nm. Todas as análises de CLAE foram realizadas



em fase reversa (RP-18) coluna Hibar de dimensões 25cm x 4,6mm x 5  $\mu$ m (analíticas e preparativas) utilizando-se acetonitrila : H<sub>2</sub>O + TFA 0,05% como sistema eluente.

Os solventes, metanol ou acetonitrila, utilizados nas diversas análises por CLAE foram de alta qualidade – grau CLAE/UV – Merck ou Vetec. A água foi obtida por destilação em sistema Milli-Q. Os solventes foram filtrados em filtro 0,45  $\mu$ m (marca Millipore) antes da utilização.

A análise por cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) foi realizada em cromatógrafo HP-6890 agilent. Condições: injetor: 260°C; detector por ionização de chama (DIC) 250°C; gás carreador H<sub>2</sub>; vazão: 2ml/min; temperatura programada: 200-320°C (5°C/min), 320°C (40 min), injeção com divisão de fluxo (20:1) e sem divisão de fluxo; coluna capilar de sílica fundida, fase estacionária SE-54, 30m,  $d_{ext}$ = 0,3 mm,  $d_{fase}$ =0,2 nm.

A análise por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrometria de massas (CGAR-EM) foi realizada com um cromatógrafo à gás HP-5880 acoplado a um espectrômetro de massas computadorizado HP-5897 A com analisador de íons quadrupolo e ionização por impacto de elétrons, 70 eV. Temperatura programada: 40-320°C (10°C/min); injeção: *on column*, coluna capilar de sílica fundida, fase estacionária Silarem-30, 10m.

As substâncias medidas por espectrometria de massas com a técnica de ionização por “eletrospray” em aparelho LC Micromass 4000 triplo-

quadrupolo foram analisadas em modo positivo e negativo, conforme informações estruturais. Voltagens de 20-35V e inserção direta da amostra diluída em solução apropriada.

As medidas de rotação óptica foram realizadas em polarímetro Perkin-Elmer 234B (caminho óptico de 0,1 dm) à temperatura ambiente.

As reações de deslocamento com NaOMe, NaOAc, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> e AlCl<sub>3</sub>/HCl foram efetuados segundo o procedimento proposto por Mabry<sup>91</sup>.

## **8.2. Coleta e identificação das espécies de *Himatanthus***

As cascas do caule e as folhas de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel foram coletadas na Floresta Nacional do Araripe, no município de Crato, estado do Ceará (CE) em Setembro de 2002.

Esta Floresta Nacional é situada na Região Nordeste do Brasil, no extremo sul do Estado do Ceará, na Chapada do Araripe, abrangendo parte dos municípios de Santana do Cairiri, Crato e Barbalha. Possui uma área de cerca de 40 ha abrangendo uma cobertura florestal caracterizada por floresta úmida semiperenifolia (10,95%), transição floresta úmida/cerrado (48,53%), cerrado (27,49%), carosca (1,52%), floresta úmida degradada pelo fogo (11,52%).

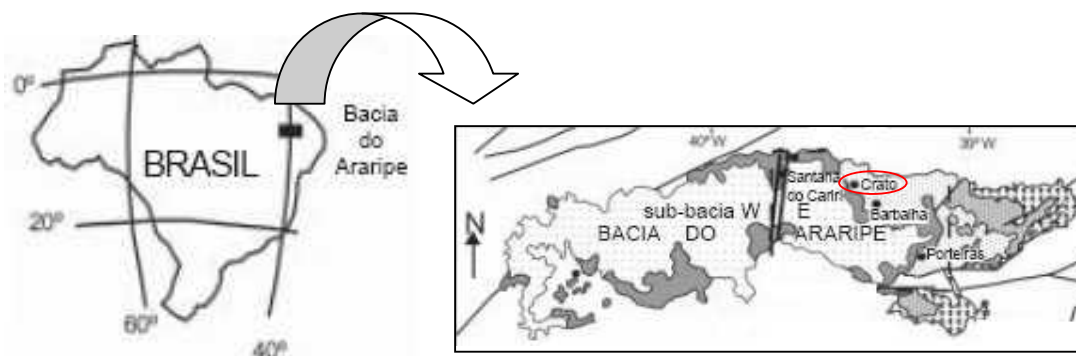


Fig. 24. Localização da Chapada do Araripe – local de coleta do *Himatanthus drasticus*

Sua exsicata encontra-se depositada no Herbário “Prisco Bezerra” da Universidade Federal do Ceará sob o registro nº 31685.

As cascas do caule e as folhas de *H. obovatus* foram coletados no campus da Universidade Estadual de Feira de Santana, Estado da Bahia, Brasil. Sua exsicata encontra-se depositada no Herbário Estadual de Feira de Santana sob registro nº 6203.

### 8.3. Preparo do Material Vegetal

As cascas e folhas foram trituradas manualmente e submetidas à secagem em estufa, sob temperatura de 60°C, por um período de 24 horas, obtendo-se:

	Material Pulverizado	
<i>H. drasticus</i>	<b>Cascas</b>	<b>1007,59g</b>
	<b>Folhas</b>	<b>988,43g</b>
<i>H obovatus</i>	<b>Cascas</b>	<b>561,66 g</b>
	<b>Folhas</b>	<b>940 g</b>
	<b>Talo</b>	<b>655,16 g</b>

Tab. 34. rendimento do material vegetal após secagem e moagem.

#### 8.4. Obtenção e Fracionamento dos Extratos:

Após secas e moídas, parte do material vegetal foi submetido à extração por maceração em etanol por um período de 96 horas, sob agitação constante e outra parte submetido à extração por decocção. O extrato etanólico obtido após filtração foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório e o extrato aquoso foi liofilizado, resultando:

	Extrato Etanólico		Extrato Aquoso	
<i>H. drasticus</i>	<b>Cascas</b>	<b>3,81g</b>	<b>Cascas</b>	<b>6,6g</b>
	<b>Folhas</b>	<b>6,41g</b>	<b>Folhas</b>	<b>3,58g</b>
<i>H. obovatus</i>	<b>Cascas</b>	<b>22,87g</b>	<b>Cascas</b>	<b>7,5g</b>
	<b>Folhas</b>	<b>28,5g</b>	<b>Folhas</b>	<b>7,0g</b>
	<b>Talo</b>	<b>21,19g</b>	<b>Talo</b>	<b>3,89g</b>

Tab. 35. Rendimento do material vegetal após extração por maceração e evaporação.

##### 8.4.1. Extração líquido-líquido

Os extratos etanólicos e aquosos de *H. drasticus* e *H. obovatus* foram suspensos em EtOH/H<sub>2</sub>O (2:8, 300 ml) e submetidos a sucessivas extrações com solventes de polaridades crescentes: hexano (3x 200ml); diclorometano (3x 200ml) e acetato de etila (3x 200ml) (**esquema 1**) obtendo-se os seguintes rendimentos:

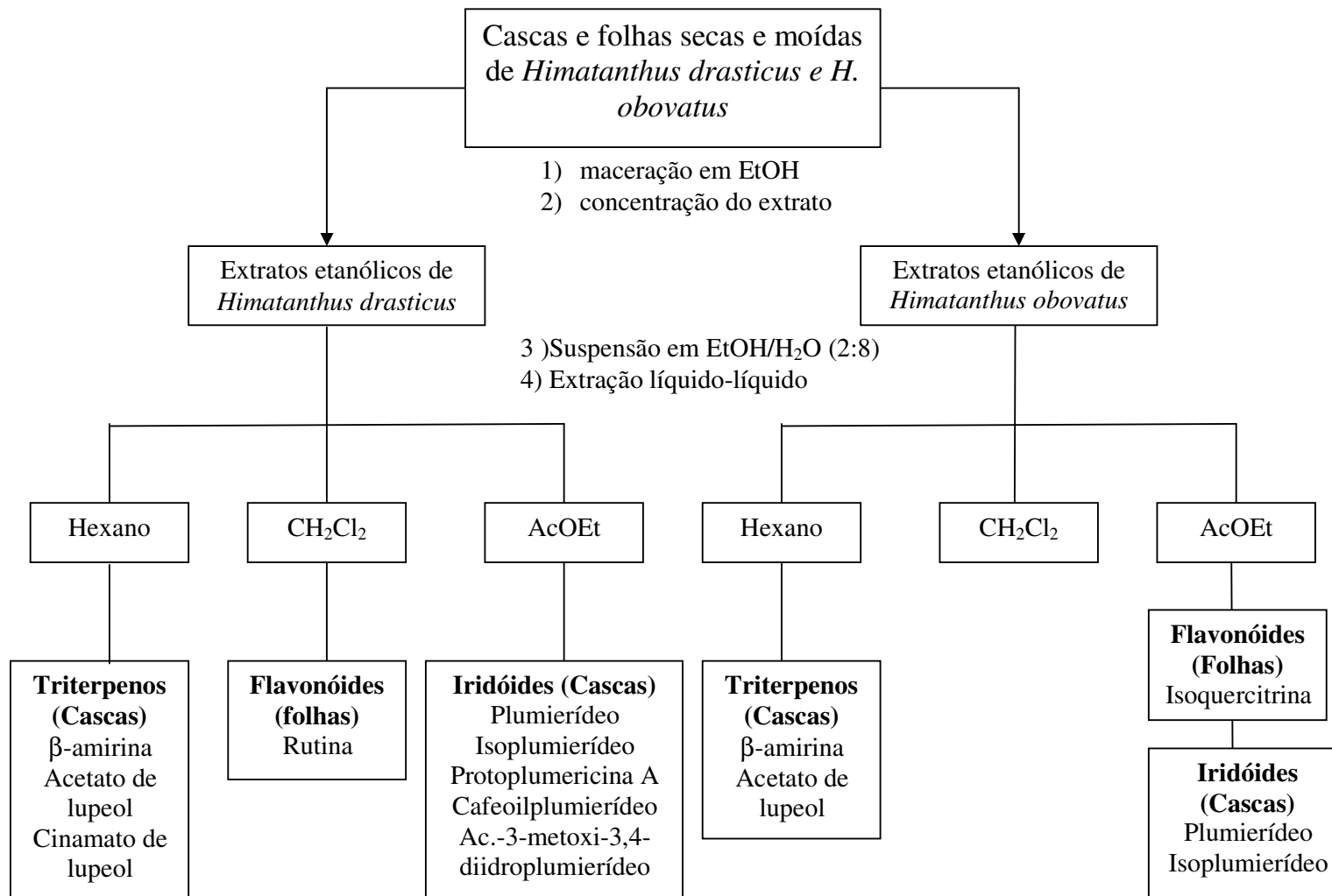
<i>H. drasticus</i>	Extrato etanólico (g)		Extrato aquoso (g)	
Fração Hexano	<b>Casca</b>	2,15	<b>Casca</b>	6,64
	<b>Folha</b>	5,80	<b>Folha</b>	0,328
Fração CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	<b>Casca</b>	1,04	<b>Casca</b>	0,08
	<b>Folha</b>	3,72	<b>Folha</b>	0,09
Fração AcOEt	<b>Casca</b>	0,30	<b>Casca</b>	0,598
	<b>Folha</b>	0,24	<b>Folha</b>	0,30

Tab. 36. Rendimento do *H. drasticus* após extração líquido-líquido.

<i>H. obovatus</i>	Extrato etanólico (g)		Extrato aquoso (g)	
Fração Hexano	<b>Casca</b>	2,0	<b>Casca</b>	2,5
	<b>Folha</b>	1,3	<b>Folha</b>	0,5
Fração CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	<b>Casca</b>	1,5	<b>Casca</b>	1,0
	<b>Folha</b>	0,9	<b>Folha</b>	1,3
Fração AcOEt	<b>Casca</b>	1,3	<b>Casca</b>	2,1
	<b>Folha</b>	2,5	<b>Folha</b>	0,5

Tab. 37. Rendimento do *H. obovatus* após partição líquido-líquido.

Esquema 1 – Organograma



A análise prévia dos constituintes por CCF-Si demonstrou a presença de triterpenos e iridóides revelados com vanilina sulfúrica e flavonóides revelados com NP-PEG.

## **8.5. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos orgânicos**

As frações hexano, diclorometano e acetato de etila foram analisadas por CCF-Si a partir da eluição com o sistema eluente MeOH: H<sub>2</sub>O (8:2) e os cromatogramas obtidos foram analisados pela absorção de seus constituintes em lâmpada de ultravioleta (254 e 366nm) e por sua revelação com VS e NP-PEG.

### **8.5.1. Desenvolvimento de Metodologia para Separação dos Metabólitos Secundários**

#### **8.5.1.1. *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel.**

##### **8.5.1.1.a. Cascas**

- **Fração Hexânica**

Parte da fração em hexano (200 mg) foi submetida à análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas o que resultou na identificação por comparação com o banco de espectros do aparelho de três triterpenos como componentes majoritários desta fração para o

*Himatanthus drasticus* e dois deles também se encontravam como majoritários de *H.*

*obovatus*.

<i>Himatanthus obovatus</i>	<i>Himatanthus drasticus</i>
$\beta$ -amirina	$\beta$ -amirina
Acetato de lupeol	Acetato de lupeol
-	Cinamato de lupeol

Tab. 38. Triterpenos identificados das espécies de *H. drasticus* e *H. obovatus*.

- **Fração acetato de etila**

Parte da fração em acetato de etila do decocto das cascas de *H. drasticus* (226,9 mg) foi cromatografada em coluna de sílica de fase reversa C-18 em média pressão utilizando-se um gradiente de metanol em água como sistema eluente. Este procedimento resultou em 120 frações que foram reunidas de acordo com a semelhança apresentada após análise por CCF-Si com AcOEt: MeOH: H<sub>2</sub>O (6,5:1,5:2,0) como eluente e revelação em lâmpada ultravioleta e VS. Desta forma obteve-se o isolamento das substâncias HDCA-1, HDCA-2, HDCA-3 e HDCA-4, que foram identificadas como plumerídeo, isoplumerídeo e protoplumericina A e 13-O-cafeoilplumerídeo, respectivamente.



Amostra	Massa (mg)	Característica
HDCA-1	120	Sólido branco cristalino
HDCA-2	5,0	Sólido branco amorfo
HDCA-3	8,3	Sólido branco amorfo
HDCA-4	18,6	Sólido branco amorfo

Tab. 39. Rendimento dos iridóides isolados de *H. drasticus*.

Parte da fração em acetato de etila (789 mg) do extrato etanólico de *H. drasticus* foi cromatografada em coluna de Sephadex LH-20 utilizando-se metanol como eluente. Este procedimento resultou em 15 frações que foram analisadas por CCF-Si e reveladas com VS. Desta forma foi isolada a substância HDCA-5, com revelação esverdeada em VS, indicativa de iridóides.

Amostra	Massa (mg)	Característica
HDCA-5	5,0	Sólido branco amorfo

Tab. 40. Rendimento do iridóide inédito isolado de *H. drasticus*.

#### 8.5.1.1.b. Folhas

- **Fração diclorometano**

Parte da fração em diclorometano (79,4 mg) foi submetida a cromatografia em coluna de sephadex LH-20 utilizando-se metanol como eluente. Este procedimento resultou em 53 frações que após análise em CCF-Si e CCF-RP-18, utilizando-se AcOEt: MeOH: H<sub>2</sub>O (6,5:1,5:2,0) e MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) respectivamente, como eluentes foram reveladas com VS e reunidas em 8

novas frações. (HDFD-1-8). A fração HDFD-3 foi submetida à nova cromatografia de camada fina preparativa em fase reversa (RP-18) utilizando-se MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) como eluente. Desta forma obteve-se o isolamento da substância HDFD-33, um sólido de coloração amarelo-intensa que ao ser revelada com NP-PEG apresenta-se laranja sob luz UV e que foi identificada como o flavonóide rutina.

Amostra	Massa (mg)	Característica
HDFD-33	7,2	Sólido amarelo amorfo

Tab. 40. Rendimento do flavonóide rutina isolado das folhas de *H. drasticus*.

### 8.5.1.2. *Himatanthus obovatus* (Mart.) Plumel.

#### 8.5.1.2.a Folhas

- **Fração acetato de etila**

A fração acetato de etila (2,86g) das folhas de *H. obovatus* foi cromatografada em coluna de Sephadex LH-20, eluída com metanol e resultou no isolamento da substância HOFA-1, um óleo amarelo intenso que quando analisado por CCD-Si ou CCF-RP-18, eluídas com AcOEt: MeOH: H<sub>2</sub>O (6,5:1,5:2,0) e MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1), respectivamente, apresentou revelação alaranjada com VS. Este composto foi identificado como a isoquercitrina.

Amostra	Massa (mg)	Característica
HOFA-1	3,0	Óleo amarelo

Tab. 41. Rendimento do flavonóide isoquercitrina isolado das folhas de *H. obovatus*.

## 9. Conclusão

Este trabalho procurou analisar química e farmacologicamente duas espécies do gênero *Himatanthus*, *H. drasticus* e *H. obovatus* que são utilizados pela população para os mesmos fins terapêuticos de *Himatanthus sucuuba*.

Das cascas de *Himatanthus drasticus* foram isolados os iridóides já conhecidos plumierídeo, isoplumierídeo, protoplumericina A, cafeoilplumierídeo e o iridóide inédito ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo, além dos triterpenos acetato e cinamato de lupeol e a  $\beta$ -amirina. Das folhas de *H. drasticus* foi isolado o flavonóide rutina.

Das cascas de *Himatanthus obovatus* também foram observados os triterpenos descritos para *H. drasticus*, à exceção do cinamato de lupeol, os iridóides plumierídeo e isoplumierídeo e das folhas foi obtido o flavonóide isoquercitrina.

O iridóide plumierídeo, bem como sua associação com a mistura de triterpenos presentes na cascas e no látex das espécies estudadas, foram testados quanto sua atividade antiinflamatória. O plumierídeo puro, na dose de 100 mg/Kg apresentou uma atividade significativa de 35% e 30% de inibição nas segunda e terceira horas, respectivamente. Já sua associação à mistura de triterpenos, quando administrada sob a forma *in natura* não

pareceu produzir efeitos de inibição da inflamação. Porém, quando estas mesmas associações de triterpenos e plumierídeo foram testadas sob a forma de lipossomas foi verificada uma tendência à inibição da inflamação. Isto ocorreu para as associações nas quais ambas as classes de substâncias estavam na mesma proporção (1:1), havendo uma tendência à inibição de 40,6% na primeira hora, mantendo-se na segunda hora (39,9%) e aumentando na terceira hora (53,6%), e para as associações nas quais os triterpenos estavam em maiores proporções que o plumierídeo (3:1), havendo uma tendência à inibição da inflamação de 26,7% na primeira hora, 19,9% na segunda e 37,0% na terceira hora. A utilização dos lipossomas como encapsuladores dos princípios ativos pareceu ser eficaz, promovendo uma proteção dos mesmos de uma eliminação ou degradação rápida. Suas propriedades de liberação lenta possivelmente levaram à redução da concentração de princípio ativo na forma livre, e à prolongação de sua presença no organismo. Com este provável aumento na biodisponibilidade dos princípios ativos houve uma elevação da potenciação de sua ação biológica, neste caso, antiinflamatória. Este fato justifica os melhores resultados encontrados na ação antiinflamatória dos princípios ativos sob a forma de lipossomas.

A capacidade de biotransformação do iridóide plumierídeo em outra substância foi verificada *in vitro* e *in vivo*. O modelo *in vivo* foi o que

proporcionou resultados mais conclusivos indicando uma possível transformação do plumierídeo após a segunda hora de administração oral.

As análises quantitativas do plumierídeo e do acetato de lupeol por CLAE/UV e densitometria por HPTLC foram úteis para confirmar a semelhança química entre as espécies estudadas e a mais popularmente utilizada, o *Himatanthus sucuba*.

## 10. Referências Bibliográficas

1. Nicholas, A. and Baijnath, H. A consensus classification for the order Gentianales with additional details on the suborder Apocyninae. **The Botanical Review**, 60 (4); 441-482, 1994.
2. Mabberley, D.J. **The plant-book: a portable dictionary of vascular plants**. 2<sup>nd</sup> Ed., Cambridge University Press. Cambridge – ISBN 0521414210, 1997.
3. Joly, A.B. **Botânica: Introdução a taxonomia vegetal**. Edusp. São Paulo, 1998.
4. Di stasi, C.L. and Hiruma-lima, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Ed. Unesp, 375. (2002)
5. Van den Berg, M.E. (1993) Plantas medicinais da Amazônia: Contribuição ao seu conhecimento sistemático. **Coleção Adolpho Ducke**, Belém, Pará, 135.
6. Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 5<sup>a</sup> edição. Ed. UFSC, p. 824, 2003.
7. Evans, W.C. **Pharmacognosy**, Ed.London, UK, Saunders Company Ltd, 499-500, 1996.

8. Bruneton, J. **Eléments de phytochimie et pharmacognosie**, Paris, Lavosier, 1993.
9. Kam T.-S.; Iek I.-H.; Choo Y.-M. Alkaloids from the stem-bark of *Alstonia macrophylla*. **Phytochemistry**, 51(6) 839-844, 1999.
10. **Pharmacopée Française**. 9 ed. Paris : Masson, 1976.
11. Reynolds, J.E.F. (ed.) **Martindale – the extra pharmacopeia**. 29 ed. London: Pharmaceutical, 1989.
12. Briggs, L.H., Cain B.F.; Leuquesne, P.W.; Shoolery, J.N. The structure of asperuloside. **Tetrahedron letters** (2):69-74, 1963.
13. Ghisalberti, E.L., Biological and pharmacological activity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. **Phytomedicine**, 5(2), 147-163, 1998.
14. Kupchan S.M., Dessertine A.L., Blaylock B.T., Bryan R.F. Isolation and structural elucidation of allamandin, an antileukemic iridoid lactone from *Allamanda cathartica*. **Journal of Organic Chemistry**, 39(17) 2477-82, 1974.
15. Barry M. Trost and James M. Balcovec. The total synthesis of Allamandin. **Tetrahedron letters**, 26(15), 1807-1810, 1985.



16. Anderson J.E., Chang C.J., Mc'Laughlin J.L. Bioactive components of *Allamanda schottii*. **Journal of Natural Products**, 51, 307-308, 1988.
17. Corrêa, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Vol I, Imprensa Nacional (ed.), Rio de Janeiro, p. 458-459, 1984.
18. Akah, P.A. & Offiah, V. N. (1992). Gastrointestinal effects of *Allamanda cathartica* leaf extracts. **International Journal of the Pharmacognosy**, 30(3): 213-217.
19. Navarro, D.F., Yunes, R.A., Schaab, E.H., Malheiros, A., Filho, V.C., Franchi Jr., G.C., Nowil, A.E., Cardoso, A.A., Yunes, J.A. Evaluation of the anti-proliferative effect the extracts os *Allamanda blanchetii* and *A. schotii* on the growth of leukemic and endothelial cells. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 9(2), 200-208, 2006.
20. Tiwari, T.N., Pandey, V.B. Dubey, N.K. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. **Phytoterapy Research**, 16, 393-394, 2002.
21. Abdel-Kader, M.S., Wisse, J., Evans, R., Van der Werff, H., Kigston, D.G. Biooative iridoids and new lignan from *Allamanda cathartica* and *Himatanthus fallax* from the Suriname rainforest. **Journal of Natural Products**, 60, 1294-1297, 1997.

22. Melo, S. J.; Mélo, J. F. Desmethylplumericin of *Allamanda cathartica*. **Fitoterapia**, Italia, v. LXVIII, n. 5, p. 478-478, 1997.
23. Bhattacharyya J., Morais M.S.Q. 5,6-dimethoxy-7-hydroxycoumarin (unckalin) from *Allamanda blanchettii*, isolation and <sup>13</sup>C-NMR characteristics. **Journal of Natural Products**, 49: 354, 1986.
24. Watt, J.M. & M.G. Breyer-Brandwijk. **The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa**. E. & S. Livingstone, Edinburgh, 1962.
25. Chopra, R.N., Mukerjee, B. The pharmacological action of an alkaloid obtained from *Rauwolfia serpentina* Benth.: a preliminary note. **Indian Journal of Medical Research**, 20, 903, 1933.
26. Arnold, H.L., Middleton, W.S., Chen, K.K. The action of Thevetin, a cardiac glycoside and its clinical application. **American Journal of Medical Science**, 189-193, 1935.
27. Frerejacque, M. La neriifolin, nouvel heteroside digitalique de *Thevetia neriifolia*. **Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences**, 221:645, 1945.
28. Frerejacque, M. **Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences**. 225: 695, 1947.

29. Ye, Y.X., Yang X.R. Inhibitory action of peruvoside and neriifolin on Na<sup>+</sup>, K<sup>(+)</sup>-ATPase. **Acta Pharmacologica Sinica**. Nov; 11(6):491-4, 1990.
30. Saxena, V.K. & Jain, S.K. Thevetia peruviana Kernel oil: a potential bactericidal agent. **Fitoterapia**, 61, 186, 1990.
31. Obasi, N.B. & Ibeochi, A.C. Seed oil distillates of Thevetia peruviana (Syn. T. neriifolia): Analysis and antibacterial activity. **Fitoterapia**, 64: 235–238, 1991.
32. Roemer, J.J. & Schultes, J.A. **Systema Vegetabilum** 5: 2211, 1819.
33. Woodson, R.E. & Moore, J.A. The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceous flowers. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 65:135-165, 1938.
34. Plummel, M.M. Répartition géographique du genre *Himatanthus* en Amérique tropicale. **Comptes Rendus de la Société de Biogéographie**. 66(3), 103-127, 1990.
35. Plumel, M.M. Le genre *Himatanthus* (Apocynaceae): Révision taxonomique. **Boletim do Herbarium Bradeanum** (BRADEA), vol. V, 1991.
36. Spina, A.P. **Estudos taxonômico, micro-morfológico e filogenético do gênero *Himatanthus* Wild. Ex. Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae-Plumeriaceae)**. Universidade Estadual de Campinas, Tese de doutorado, 2004.

37. Silva, J.R.A, Amaral, A.C.F., Siani, A.C., Rezende, C.M., Felcman, J., Pinto, A.C. Contribution to the study of *Himatanthus sucuuba*: latex macromolecule, microfilaments and carbohydrates. **Acta Amazônica**, 33(1), 105-110, 2003.
38. Vilegas, J.H.Y., Hachich, E.M., Garcia, M.; Brasileiro, A.; Carneiro, M.A.G.; Campos, V.L.B. Antifungal compounds from Apocynaceae species. **Revista Latinoamericana de Química**, 23: 44-45, 1992.
39. Hamburger, M.O.; Cordell, G.A. Ruangrunsi, N. 1991. Tradicional medicinal plants of Thailand. XVII. Biologically active constituents of *Plumeria rubra*. **Journal of Ethnopharmacology**, 33, 289-292, 1991.
40. Silva, J.R.A. **Contribuição ao estudo do látex de *Himatanthus sucuuba*: aspectos químicos e farmacológicos**. Tese de doutorado, UFRJ/NPPN, 2000.
41. Miranda, A.L.P., Silva, J.R.A., Rezende, C.M., Neves, J.S., Parrini, S.C., Pinheiro, M.L.B., Cordeiro, M.C., Tamborini, E., Pinto, A.C. Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuuba*. **Planta Medica**, 66, 284-286, 2000.
42. Van Den Berg, M.A. **Ethnobotany in the Neotropics. Advances in economic Botany**. Ed. By France, G. T., Kallunki, J.A., New York Botanical Gardens, NY, 1984, pp140-149.

43. Barreto, A.S., Carvalho, M.G., Nery, I.A., Kaplan, M.A.C. Chemical constituents from *Himatanthus articulata*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 9 (5), 430-434, 1998.
44. França, O.O., Brown, R.T., Santos, C.A.M. Uleine and demethoxiaspidospermine from the bark of *Plumeria lancifolia*. **Fitoterapia**, 71, 208-210, 2000.
45. Endo, Y., Hayashi, H., Sato, T., Maruno, M., Ohta, T., Nozoe, S. Confluent acid and 2'-O- Methylperlatolic Acid, Monoamine Oxidase B Inhibitors in a Brazilian Plant, *Himatanthus sucuuba*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 42 (6), 1198-1201, 1994.
46. Corrêa, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Imprensa Nacional, vol. VI, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasil, 1975.
47. Perdue, G.P., Blomster, R.N. South American plants. III. Isolation of fulvoplumierin from *Himatanthus sucuuba* (Apocynaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**; 67: 1322-1323, 1978.
48. Luna, L.E., The concept of plants as teachers among four mestizo shamans of Iquitos, northeastern Peru. **Journal of Ethnopharmacology**, 11, 135-156, 1984.

49. Elisabetsky E., Castilhos, Z.C. Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. **International Journal of Crude Drug Research**, 28: 309-320, 1990.
50. Schultes, R.E. De plantis toxicariie e mundo novo tropicale commentationes. XIX Biodynamic Apocynaceous plants of the Nothwest Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, 1(2), 165-192, 1979.
51. D. Normile, **Asian Medicine: The New Face of Traditional Chinese Medicine. Science**, 299, 5604, 188-190, 2003.
52. Astin, J.A. Why patients use alternative medicine: Results of a national study. **Journal of the American Medical Association**, 279(19):1548-1553, 1998.
53. Eisenberg, D.M., Davis, R.B., Ettner, S.L., Appel, S., Wilkey, S., van Rompay, M., Kessler, Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997. **Journal of the American Medical Association**, 280, 1569-1575, 1998.
54. Jonas, W.B. Alternative medicine -- learning from the past, examining the present, advancing to the future. **Journal of the American Medical Association**,; 280: 1616-1618, 1998.
55. Xie, P.S., Yan, Y.Z. [Application of HPTLC Fringerprint Analysis to stability Evaluation of Ginseng Preparations](#) **Journal of Planar Chromatography Modern TLC**. 1; 258, 1998.

56. Goppel, M., Franz, G. Stability control of senna leaves and senna extracts. **Planta Medica**, 70, 432-436, 2004.
57. Zhang, Z., Cui, Z., Wang, D., Zhou, H.Y. **Journal of Asian Natural Products Research**, 5, 1068-1076, 2003.
58. Hasler, A. Sitcher, O., Meier, B. Identification and determination of the flavonoids from *Ginkgo biloba* by high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatography A**, 605, 41-48, 1992.
59. Pietta, P., Mauri, P, Bruno, A., Rava, A., Manera, E., Ceva, P. Identification of flavonoids from *Ginkgo biloba* L., *Anthemis nobilis* L. and *Equisetum arvense* L. by high-performance liquid chromatography with diode-array UV detection. **Journal of chromatography A**, 553, 223-231, 1991.
60. Gu, M., Fan, O.Y., Su, Z.G. Comparison of high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography on fingerprinting of Chinese traditional medicine. **Journal of chromatography A**, 1022, 139-144, 2004.
61. Yuan, M., Zeng, Z., Song, L.F., Yang, T., Liu, X.X., Cao, C., Zeng, H.P., **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 31,455-458, 2003.

62. Choi, D.W., Kim, J.H., Cho, S.Y., Kim, D.H., Chang, S.Y. Regulation and quality control of herbal drugs in Korea. **Toxicology**, 181-182, 581, 2002.
63. Fan, X., Cheng, Y., Ye, Z., Chao Lin, R., Qian, Z. Multiple chromatographic fingerprinting and its application to the quality control and herbal medicines. **Analytica Chimica Acta**, 555, 217-224, 2006.
64. **FDA Guidance for Industry – Botanical Drug Products** (Draft Guidance). US Food and Drug Administration, 2000.
65. **General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine**, World Health Organization, Geneva, 2000.
66. **Final Proposals for Revision of the Note for Guidance on Quality of Herbal Remedies**, EMEA, 1999.
67. Calixto, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 33 (2), 179-189, 2000.
68. Newall, C.A., L.A. Anderson, J.D. Phillipson. 1996. **Herbal Medicines: A Guide for Health-Care Professionals**. London: The Pharmaceutical Press, 1996.
69. Indian Drug Manufacturers Association, Vedams Books International, 1998.



70. Filho, V.C., Yunes, R. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural, para otimização da atividade. **Química Nova**, 21(1),99-105, 1998.
71. Hamburger, M., Hostettman, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, 30, 3864-3874, 1991.
72. Recio, M. C., Giner, R.M., Mánez, S, Rios, J.L. Structural Considerations on the Iridoids as Anti-inflammatory Agents. **Planta Medica**, 60, 232-234, 1994.
73. Miranda, A.L.P., Silva, J.R.A., Rezende, C.M., Neves, J.S., Parrini, S.C., Pinheiro, M.L.B., Cordeiro, M.C., Tamborini, E., Pinto, A.C. Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuuba*. **Planta Medica**, 66, 284-286, 2000.
74. Budzikiewics, H., Wilson, J.M., Djerassi, C. Mass spectra of pentacyclic triterpenes. **Journal of American Chemical Society**. 85, 3688-3699, 1963.
75. Ogunkoya, L. Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes. **Phytochemistry**, 20, 121-126, 1981.

76. Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C. **Espectrometria de massas. Cap. 2 in Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** Editora Guanabara S.A. Rio de Janeiro, 1979.
77. Delgado, M.C.C., Silva, M.S., Braz-Filho, R. Ácido 3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-Glicopiranosil-21- $\beta$ -E- cinamoiloxiolean-12-em-28-óico, um novo triterpeno glicosídico de *Enterolobium contorstisiliquum* (Vell) Morong. **Química Nova** 9, 119-122 (1986).
78. Misra, G. Mitra, C.R., *Mimusops hexandra* – III. Constituents of root, leaves and mesocarp. **Phytochemistry** 7, 2173-2176 (1968).
79. Pieretti, S., Nicoletti, M., Foddai, S., Bianco, A. Iridoid reactivity with amino acids. Preliminary results and use for specific detection. **Revista Latinoamericana de Química** 22, 35-36, 1991.
80. Shriner, R.L., Curtin, D.Y., Fuson, R., Morrill, T.C. (1979) The detection and confirmation of functional groups: complete structure determination. Cap. 6 in **The Systematic Identification of Organic Compounds**, John Wiley & Sons, New York.
81. Kardono, L.B.S., Tsauri, S., Padmawinata, K., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D., Citotoxic constituents of the bark of *Plumeria Rubra* collected in Indonesia. **Journal of Natural Products**, 53, 1447-1455, 1990.

82. Abe, F., Chen, R.F., Yamauchi, T. Minor iridoids from the roots of *Plumeria acutifolia*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 36, 2784-2789, 1988.
83. Abe, F., Mori, T., Yamauchi, T. Iridoids of Apocynaceae. III. Minor iridoids from *Allamanda neriifolia*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 32, 2947-2956, 1984.
84. Agrawal, P.K., NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. **Phytochemistry**, 31, 3307-3330, 1992.
85. Vanderlei, M.F., Silva, M.F., Gottlieb, H.E., Braz-Filho, R. Iridoids and triterpenes from *Himatanthus phagedaenica*: The complete assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  nmr spectra of two iridóide glycosides. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 2, 51-55, 1991.
86. Adam, G., Khoi, N.H., Bergner, C., Lien, N.T. Plant growth inhibiting properties of plumieride from *Plumeria obtusifolia*. **Phytochemistry**, 18, 1399-1400, 1979.
87. Veloso, M.P., Nagem, T.J., Oliveira, T.T.,  $\beta$ -dihidroplumericinic acid from *Himatanthus phagedaenicus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 27, 669-671, 1999.
88. Coppen, J.J.W. Iridoids with algicidal properties from *Allamanda cathartica* **Phytochemistry**, 22, 179-182, 1983.

89. Yamauchi, T., Abe, F., Taki, M., .Protoplumericin an iridoid bis-glucoside in Allamanda neriifolia. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 29(10):3051 - 3055, 1981.
90. Wagner, H.; Bladt, S, Zgins, E.M. **Plant drug analysis, a thin layer chromatography Atlas**, Springer, Berlin, 321p, 1984.
91. Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. **The systematic identification of flavonóides**, Springer-Verlag, Berlim, 1970.
92. Vinegar, R., Truax, J.F., Selph, J.L. Quantitative studies of the pathway to acute carrageenan inflammation. **Federal Proceedings**, 35, 2447-2456, 1976.
93. Recio, M.C., Giner, R.M., Manez, S., Rios, J.L. Structural considerations on the iridoids as anti-Inflammatory agents. **Planta Medica**, 60, 132-234, 1994.
94. Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W. Carragenin-induced edema in hind paw of the rats as na assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine**, 111, 544-547, 1962.
95. Frézard, F. Lipossomes: from biophysics to the design of peptide vaccines. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 32, 181-189, 1999.

96. Bangham, A.D., Standish, M.M., Watkins, J.C. Difusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. **Journal of molecular biology**,13, 238-252, 1965.
97. Ferreira, S.H., Vane, J.R. Mode of action of anti-inflammatory agents wich are prostaglandins synthetase inhibitory, in: Vane, J.R., Ferreira, S.H. – **Anti-inflammatory Drugs**. New York, Springer-Verlag, 348-398, 1979.
98. Recio, M.C., Giner, R.M., Manez, S., Rios, J.L. Structural considerations on the iridoids as anti-Inflammatory agents. **Planta Medica**, 60, 132-234, 1994.
99. Sticher, O. (1977) In: **New natural products and plant drugs with pharmacological, biological and therapeutical activity**. Wagner, H., Wolff, P. eds., pp. 137-176, Springer Verlag, Berlin.
100. Ishiguro, K., Yamaki, M., Takayi, S., Ikeda, Y., Kawakani, K., Ito, K., Nose, T. Studies on iridoid-related compounds. IV. Antitumor activity of iridoid aglycones. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 34 (6), 2375-9, 1986.
101. Circosta, C., Occhiuto, F., Ragusa, S., Trovato, A., Tumino, G., Briguglio, F., De Pasquale, A. Drug used in traditional medicine: Harpagophytum procumbens DC. II. Cardiovascular activity. **Journal of Ethnopharmacology**, 11 (3), 259-274, 1984.

102. Miyagoshi, M., Amagaya, S., Ogihara, Y. Choleric action of iridoid compounds **Journal of pharmacobio-dynamics**, 11, 186-190, 1988.
103. Chang, I.M., Ryu, J.C., Park, I.C., Yun, H.S., Yang, K.H. Protective activities of aucubin against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. **Drug and chemical toxicology**, 6, 443-453, 1983.
104. Lanhers, M.C., Fleurentin, J., Mortier, F., Vinche, A., Yonous, C. Anti-inflammatory and analgesic effects of an aqueous extract of *Harpagophytum procumbens*. **Planta Medica**, 58, 117-123, 1992.
105. Nishibe, S. Bioactive phenolic compounds in traditional medicines. **Pure and Applied Chemistry** 66: 2263-2266, 1994.
106. Yamauchi, K., Fujimoto, N., Kuwano, S., Inouye, N., Inouye, K., The mechanism of purgative action of geniposide, an iridoid glucoside of the fruit of *Gardenia*, in mice. **Planta Medica**, 30:39-47, 1976.
107. Kawata Y., Hattori M., Akao T., Kobashi K. and Namba T.: Formation of Nitrogen-Containing Metabolites from Geniposide and Gardenoside by Human Intestinal Bacteria. **Planta Medica**, 57, 536-542, 1991.
108. Hattori M., Kawata Y., Inoue K., Shu Y. Z., Che Q. M., Namba T. and Kobashi, K.: Transformation of Aucubin to New Pyridine Monoterpene

- Alkaloids, Aucubinines A and B, by Human Intestinal Bacteria. **Phytotherapy Research.**, 4, 66-70, 1990.
109. El-Sedawy AI, Shu YZ, Hattori M, Kobashi K, Namba T. Metabolism of swertiamarin from *Swertia japonica* by human intestinal bacteria. **Planta Medica**, 55(2):147-50, 1989
110. Fredericksen, S. M. and Stermitz, F. R. Pyridine Monoterpene Alkaloid (PMTA) Formation from Iridoid Glycosides. A Novel PMTA Dimer from Geniposide. **Journal of Natural Products**, 59, 41-46, 1996.
111. Cordell, G.A. Changing strategies in natural products chemistry. **Phytochemistry**, 40: 1585-1612, 1995.
112. Suh, N.J., Shim, C.K., Lee, M.H., Kim, S.K., Chang, I.M. Pharmacokinetic study of an iridoid glucoside: aucubin. **Pharmaceutical Research**, 8(8):1059-63, 1991.
113. Ghisalberti. E.L. Biological and pharmacological activity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. **Phytomedicine**, 5, 147-163, 1998.
114. Silva, J.R.A., Rezende, C.M., Pinto, A.C., Pinheiro, M.L.B., Cordeiro, M.C., Tamborini, E., Young, C.M.Bolzani, V.S. Ésteres triterpênicos de *Himatanthus sukuuba* (Spruce) Woodson. **Química Nova**, 21(6), 1998.

115. Snyder, L.R., Kirkland, J.J., Glajch, J.L., **Practical HPLC method development.** Ed. John Wiley & Sons, New York, USA, 1997.
116. Wagner, H., Bladt, S., Zgings, E.M. **Plant drug analysis, a thin layer chromatography atlas,** Springer, Berlin, 1984.



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)