

**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^a. 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
1. Introdução	1
2. Resultados e discussão	38
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. β -amirina	55
2.3.2.1.B. Acetato de lupeol	56
2.3.2.1.C. Cinamato de β -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
3. Setor de espectros e cromatogramas	94
4. Avaliação da Atividade Farmacológica de <i>Himatanthus</i>	206
5. Ensaio de metabolização <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> do plumierídeo	217
6. Análise Quantitativa do iridóide plumierídeo nas cascas e folhas de <i>Himatanthus drasticus</i> e <i>H. obovatus</i>.	229
7. Análise quantitativa do triterpeno acetato de lupeol nas cascas e folhas de <i>Himatanthus drasticus</i> e <i>H. obovatus</i>.	232
8. Parte Experimental	235
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
9. Conclusão	251
10. Referências Bibliográficas	254

ÍNDICE DE ESPECTROS E CROMATOGRAMAS

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

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

Espectro 79 – Espectro HMBC (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	176
Espectro 80 – 1ª expansão do espectro HMBC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	177
Espectro 81 – 2ª expansão do espectro HMBC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	178
Espectro 82 – 3ª expansão do espectro HMBC do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	179
Espectro 83 – Espectro COSY ¹ Hx ¹ H (MeOD, 400MHz) do HDCA- 5	180
Espectro 84 – 1ª Expansão do Espectro COSY ¹ Hx ¹ H Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	181
Espectro 85 – 2ª Expansão do Espectro COSY ¹ Hx ¹ H Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo	182
Espectro 86 – Espectro RMN ¹ H 500 MHz da Rutina	183
Espectro 87 - 1ª Expansão do espectro de RMN ¹ H 500 MHz da Rutina	184
Espectro 88 - 2ª expansão do espectro de RMN ¹ H 500 MHz da Rutina	185
Espectro 89 - Espectro de RMN ¹³ C 500 MHz da Rutina	186
Espectro 90 - 1ª Expansão do espectro de RMN ¹³ C (500 MHz) da Rutina	187
Espectro 91 - 2ª Expansão do espectro de RMN ¹³ C (500 MHz) da Rutina	188
Espectro 92 - 3ª Expansão do espectro de RMN ¹³ C (500 MHz) da Rutina	189
Espectro 93 - Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Rutina	190
Espectro 94 - 1ª Expansão do Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Rutina	191
Espectro 95 - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Rutina	192
Espectro 96 - Espectros de UV (Em MeOH e com reagentes de deslocamento) da Rutina	193
Espectro 97 - Espectro de massas da rutina	194
Espectro 98 – Espectro RMN ¹ H (500 MHz) da Isoquercitrina	195
Espectro 99 - 1ªExpansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz) da Isoquercitrina	196
Espectro 100 - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Isoquercitrina	197
Espectro 101 - Espectro RMN ¹³ C (500 MHz) da Isoquercitrina	198
Espectro102 - 1ª Expansão do espectro RMN ¹³ C (500 MHz) da Isoquercitrina	199
Espectro 103 -2ª Expansão do espectro RMN ¹³ C (500 MHz) da Isoquercitrina	200
Espectro 104 - Espectro DEPT 135 (500 MHz) da Isoquercitrina	201
Espectro 105 - Espectro COSY ¹ H x ¹ H (500 MHz) da Isoquercitrina	202
Espectro 106 - 1ª Expansão do espectro COSY ¹ H x ¹ H (500 MHz) da Isoquercitrina	203
Espectro 107 - 2ª Expansão do espectro COSY ¹ H x ¹ H (500 MHz) da Isoquercitrina	204
Espectro 108 - 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 ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ 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 ₂ Cl ₂	Diclorometano
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
MeOD	Metanol deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
H ₂ 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 β -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 siccuba*, 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 β -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 Apocyninae¹.

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 Antártida², 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)³ 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*⁴.

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 presentes¹. 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 pêlos⁵.

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 Terapêutica⁴. 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 farmacologia⁴. 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 neuroléptica⁶.



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)⁷, tem sido também designada como *Catharanthus roseus*,

fonte principal dos alcalóides antitumorais citados e de aproximadamente mais de 150 distintos alcalóides⁴.

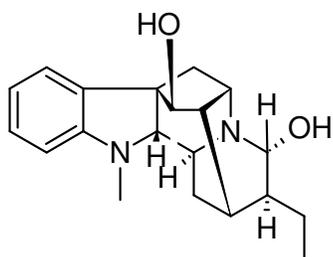


Vinca major

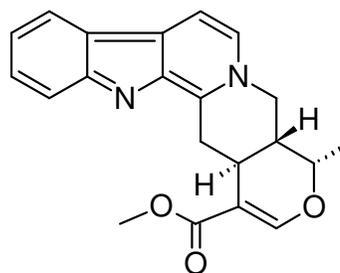


Catharantus roseus

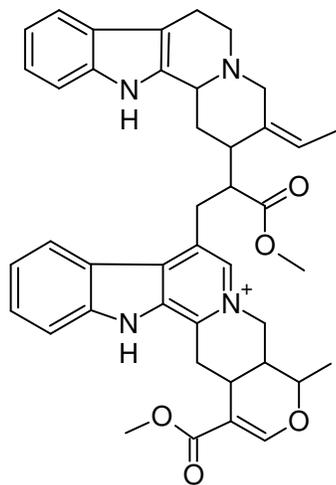
Inúmeros alcalóides bioativos foram também encontrados em espécies do gênero *Alstonia* tais como *Alstonia scholaris* e *A. constricta* e *A. macrophylla*. Dentre eles podemos destacar a alstonina (8), alstonilina (9), alstonerina⁸ (10) e reserpina (4) entre outras.



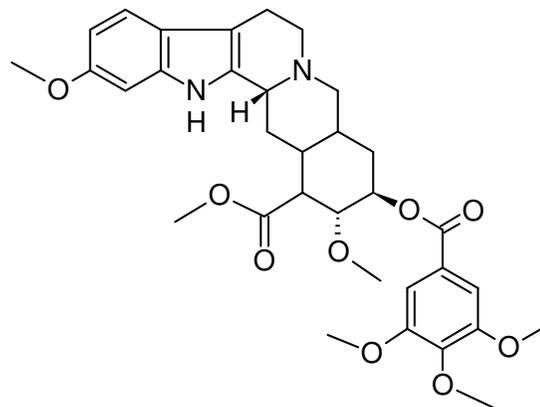
(1)



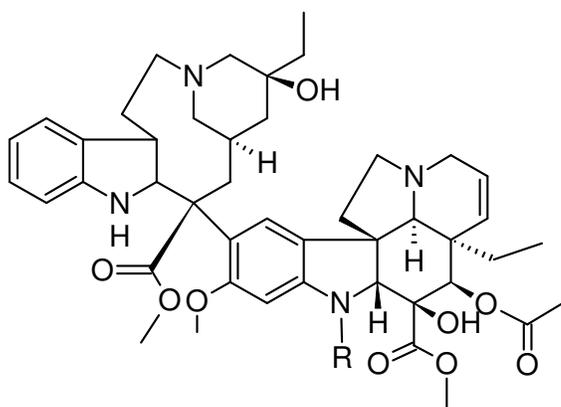
(2)



(3)

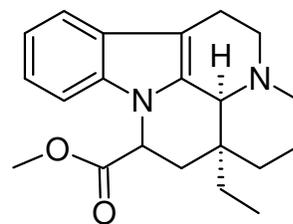


(4)

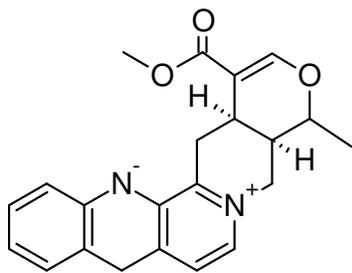


(5) R = CH₃

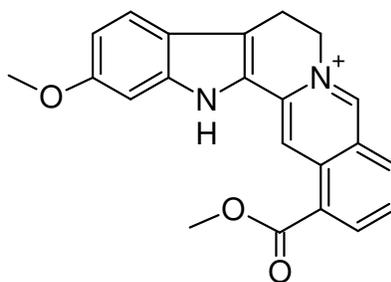
(6) R = CHO



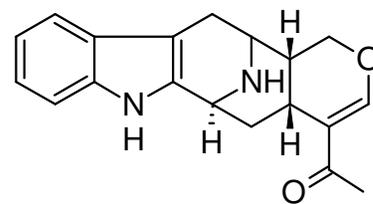
(7)



(8)



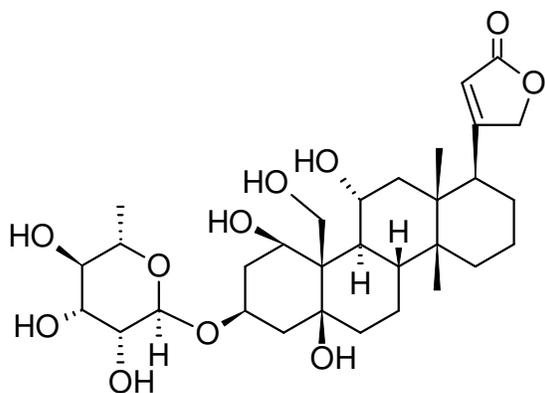
(9)



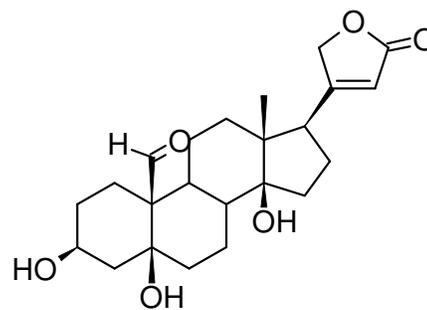
(10)

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*)⁹. 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*)¹⁰. 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⁺/K⁺¹¹.



(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 ornamental⁴.



Strophantus gratus



Nerium olander

1.1.2.3 – Iridóides

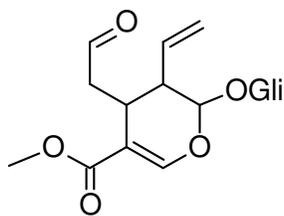
Iridóides são substâncias monoterpnoídicas formadas em plantas por uma ciclização alternativa do pirofosfato de geranila. A estrutura química destas espécies é baseada no esqueleto ciclopentano-[C]-pirano. Embora os iridóides só tenham sido isolados de plantas nos anos de 1800s, o trabalho pioneiro que levou ao conhecimento de estruturas desta classe de compostos ocorreu em meados de 1950 com iridomirmecina e iridodial isolados de formigas australianas *Iridomyrmex* spp¹². O nome dado a estes compostos veio mais tarde ser adaptado para se referir a sua classe estrutural, a maioria deles sendo isolados de vegetais¹³. 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 hipotensivos¹³.

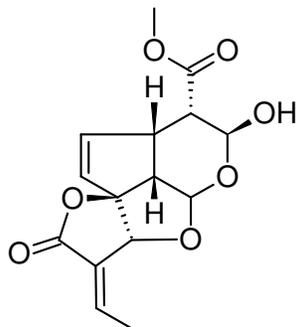
Em 1974, Kupchan¹⁴ e colaboradores reportaram o isolamento de vários novos iridóides do extrato etanólico de raízes de *Allamanda cathartica*. Dentre eles destaca-se a alamandina (**14**) que apresentou significativa atividade *in vitro* contra células derivadas do carcinoma humano (KB)¹⁵. De outras espécies do gênero *Allamanda*, como *A. schottii*, foram isolados do caule os iridóides não glicosilados isoplumericina (**15**), plumericina (**16**) e alamicina (**17**)¹⁶.



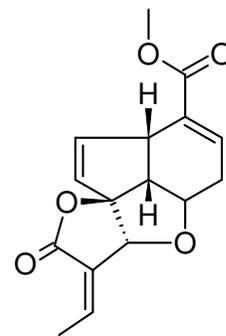
Allamanda schottii



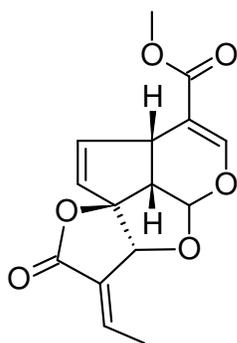
(13)



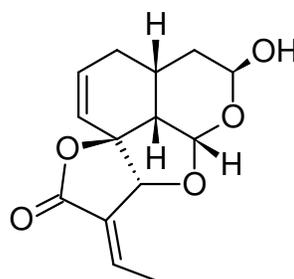
(14)



(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)¹⁷, 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 muscarínico¹⁸. O extrato etanólico das partes aéreas de *A. blanchetii*, conhecida popularmente como orélia produziu atividade anti-espasmódica, anti-hipertensora^{19,20}. A atividade antibiótica foi atribuída a alamandina **(14)** de *A. violacea*²¹ e a plumericina **(16)** e isoplumericina **(15)** isoladas de *A. cathartica* e *A. blanchetii*^{22,23}.



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.

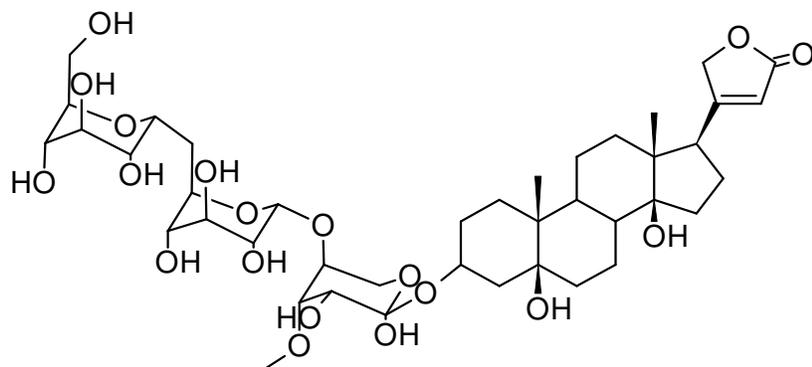
Aspectos botânicos: É um arbusto alto, alcançando até 10 m de altura, com um tronco de casca cinzenta; folhas alternas, simples, linear-lanceoladas, acuminadas, com até 15 cm de comprimento e 7 cm de largura, carnosas e glabras nas duas faces, inflorescências dispostas em cimeiras terminais, contendo 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 maracás¹⁷. 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 inseticida²⁴, enquanto na Índia é comum a utilização da espécie para suicídios².

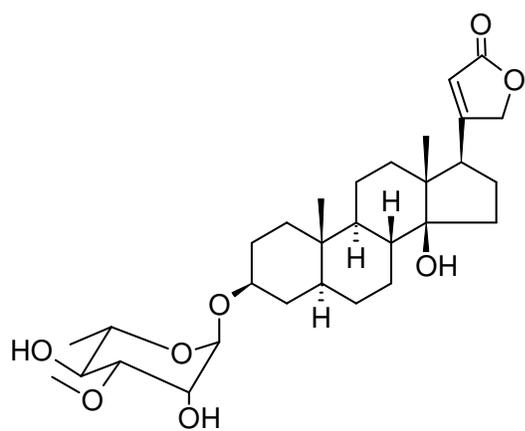
Dados farmacológicos: O glicosídeo tevetina (**18**) isolado de *Thevetia peruviana* possui importante ação estimulante dos músculos lisos do intestino, bexiga, útero e vasos sanguíneos²⁵. Dados clínicos mostraram que tal composto produziu bons resultados em pacientes com descompensação cardíaca²⁶, mas 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 terapêutico²⁷. O neriifosídeo (**20**), isolado dessa espécie, é considerado precursor de outros glicosídeos citados e possui efeitos farmacológicos e tóxicos similares aos apresentados²⁸. Peruvosídeo (**21**) e neriifosídeo (**20**), componentes principais da espécie *Thevetia peruviana*, inibiram a atividade da Na⁺K⁺ATPase por mecanismos similares ao dos digitálicos²⁹. O óleo das sementes de *T. peruviana* apresentou atividade bactericida contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* e outros microorganismos^{30,31}.



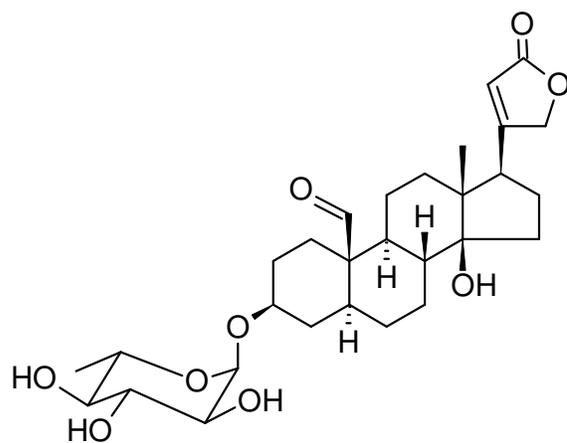
Thevetia peruviana



(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 Hoffmannseg³². 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, Woodson³³ confirmou a separação dos dois gêneros, citando *H. articulatus* como a espécie típica do gênero e realçando suas diferenças. Em 1991, Marcel-Marie Plumel³⁴ 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 treze³⁵.

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

Família: Apocynaceae	
Gênero: <i>Himatanthus</i>	
Sub-gênero: <i>Obovatae</i>	Sub-gênero: <i>Lanceolatae</i>
<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*³⁶. 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-versa³⁶.

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

Família: Apocynaceae
Gênero: <i>Himatanthus</i>
Sub-gênero: <i>Himatanthus</i>
<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.

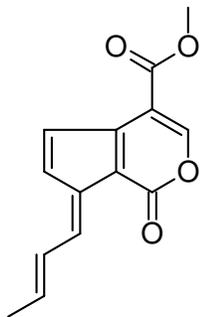
1.2.1. Aspectos botânicos

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 concêntricas³⁶.

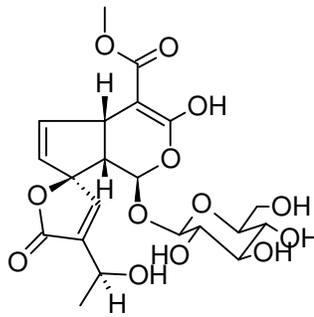
1.2.2. Aspectos químicos e usos medicinais

1.2.2.1. Iridóides

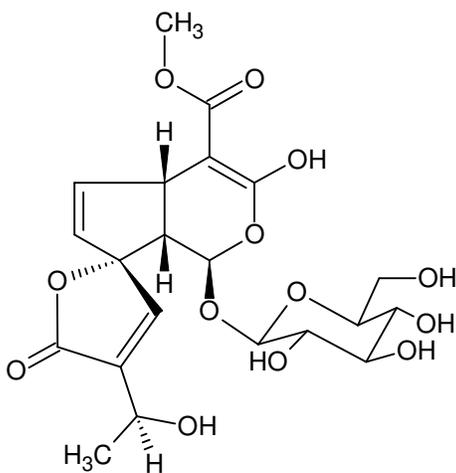
O látex de *Himatanthus sucuuba* é rico nos iridóides fulvoplumierina (**22**), plumericina (**16**), isoplumericina (**15**)³⁷, que possuem atividade antifúngica, antibiótica³⁸ e citotóxica³⁹, além de plumierídeo (**23**), isoplumierídeo (**24**), desmetilplumierídeo (**25**) e desmetilisoplumierídeo (**26**)⁴⁰.



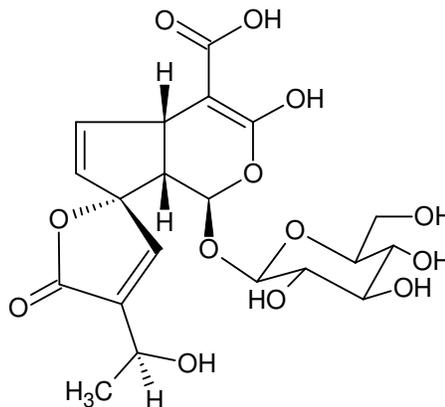
(22)



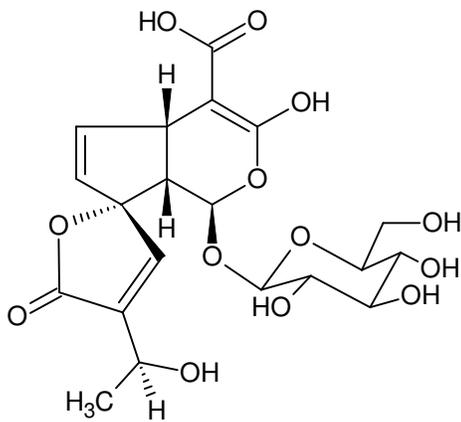
(23)



(24)



(25)

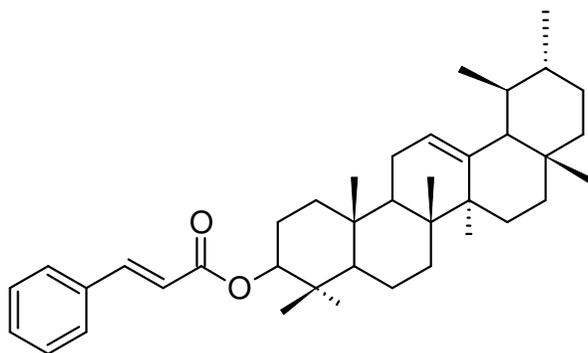


(26)

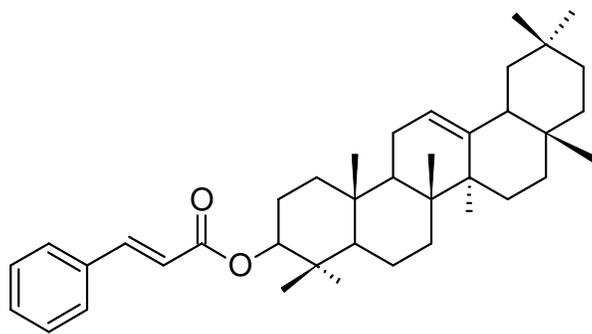
1.2.2.2. Triterpenos

Os triterpenos pentacíclicos tais como, cinamato de α (**27**) e β -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 analgésica⁴¹.

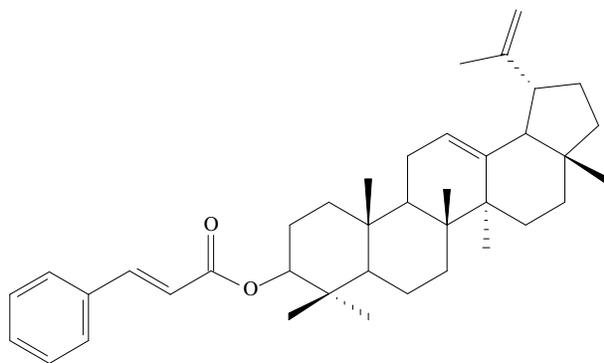
De *H. articulatus* (Vahl.) Woodson, planta utilizada na região amazônica no tratamento da sífilis⁴², foram isolados além dos triterpenos citados acima, ácido ursólico (**31**) e cicloartenol (**32**)⁴³.



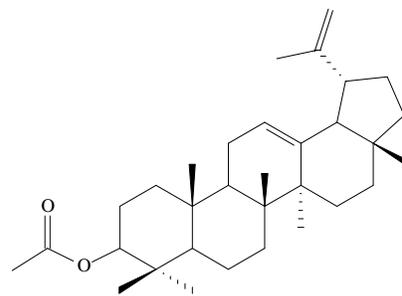
(27)



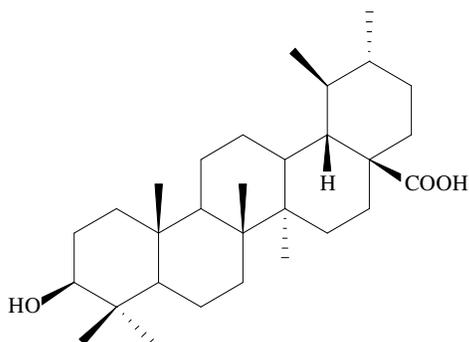
(28)



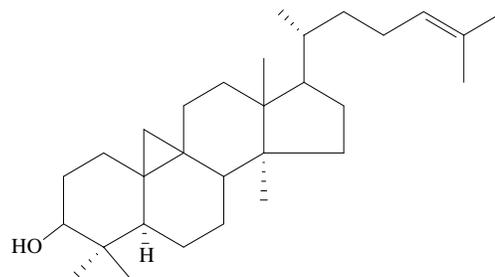
(29)



(30)



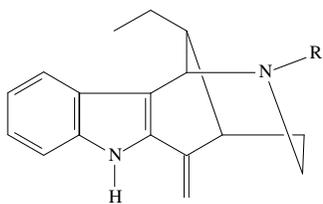
(31)



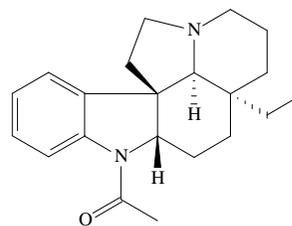
(32)

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 desmetoxiaspidospermina⁴⁴ (34).



(33)

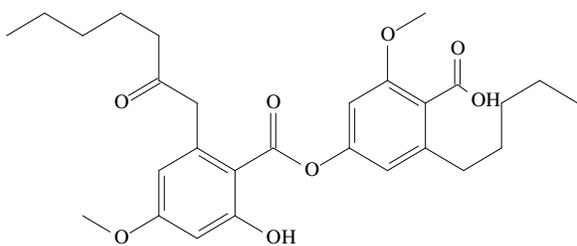


(34)

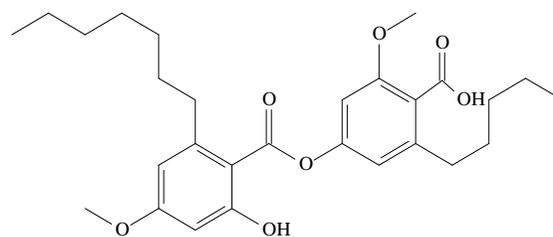
1.2.2.4. Depsídeos e compostos fenólicos

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*- hidroxibenzóico⁴⁵ (39).

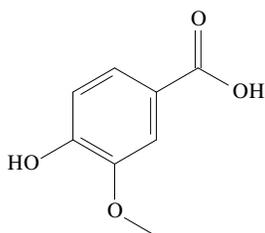
Dentre os compostos fenólicos destacamos os flavonóides miricetrina (40) e quercitrina (41) isolados do látex de *Himatanthus sucuuba*⁴⁰.



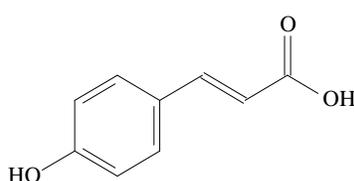
(35)



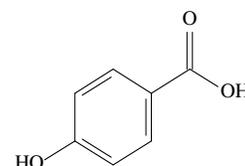
(36)



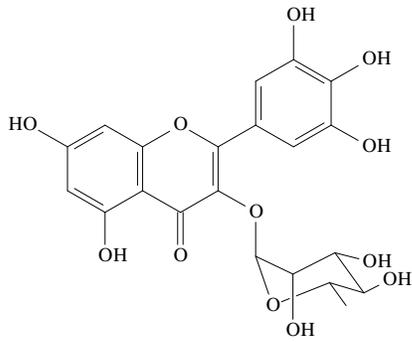
(37)



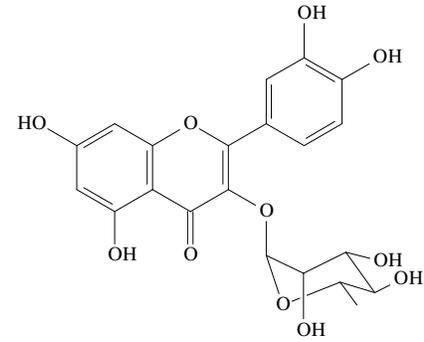
(38)



(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”³⁶.



Himatanthus sucuuba

De seu caule exsuda um látex branco que é utilizado *in natura* como um anti-helmíntico⁴⁶ 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 vermes⁴. 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 laxativo⁴⁷ e como alucinógeno⁴⁸. No Brasil à suas cascas secas são atribuídas propriedades anti-ulcerogênicas e afrodisíacas enquanto seu látex é utilizado como agente anti-tumoral⁴². Suas cascas são também usadas pelos caboclos amazonenses como analgésico e agente antitussígeno⁴⁹. Na Colômbia, suas raízes são conhecidas por serem extremamente venenosas⁵⁰.

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.

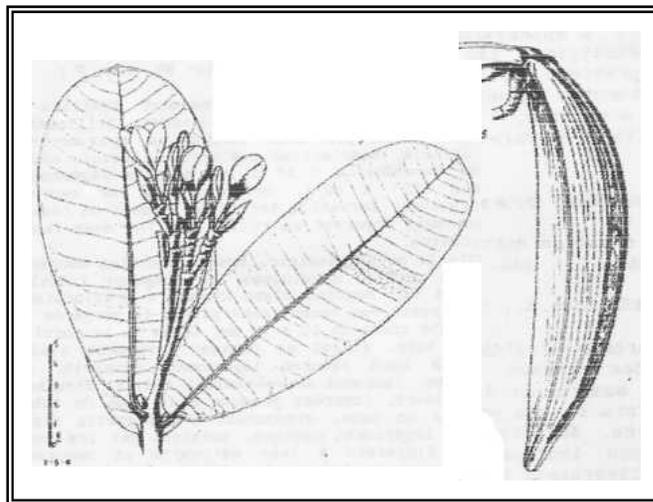


Fig. ___ - Ramo floral com folhas e fruto de *Himatanthus drasticus*

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 vegetais⁵¹⁻⁵⁴. A impressão digital cromatográfica (cromatogramas que representam as características químicas das plantas medicinais) é composta de uma variedade de técnicas cromatográficas incluindo CCD⁵⁵, CLAE/DAD⁵⁶⁻⁶⁰, CG-EM⁶¹, CL-EM, infravermelho e espectrofotometria, entre outras⁶².

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 medicinais⁶².

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 tóxicos⁶.

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 qualidade⁶. 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 espécie⁶.

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 completa⁶.

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 material⁶.

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 final⁶.

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 recentemente⁶³. Este método tem sido amplamente aceito e introduzido pelos órgãos FDA⁶⁴, WHO⁶⁵, EMEA⁶⁶, German Commission E⁶⁷, British Herbal Medicine Association⁶⁸, Indian Drug Manufacturers Association⁶⁹ e algumas outras organizações não oficiais como estratégia ao acesso das plantas medicinais⁶³.

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 analisados⁶.

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 plantas⁷⁰. Neste contexto, devem ser levados em consideração a simplicidade, a rapidez, a reprodutibilidade e o baixo custo dos testes biológicos⁷¹. 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 biológica⁷⁰.

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-bioativos⁶.

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 fitoterápico⁶.

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).

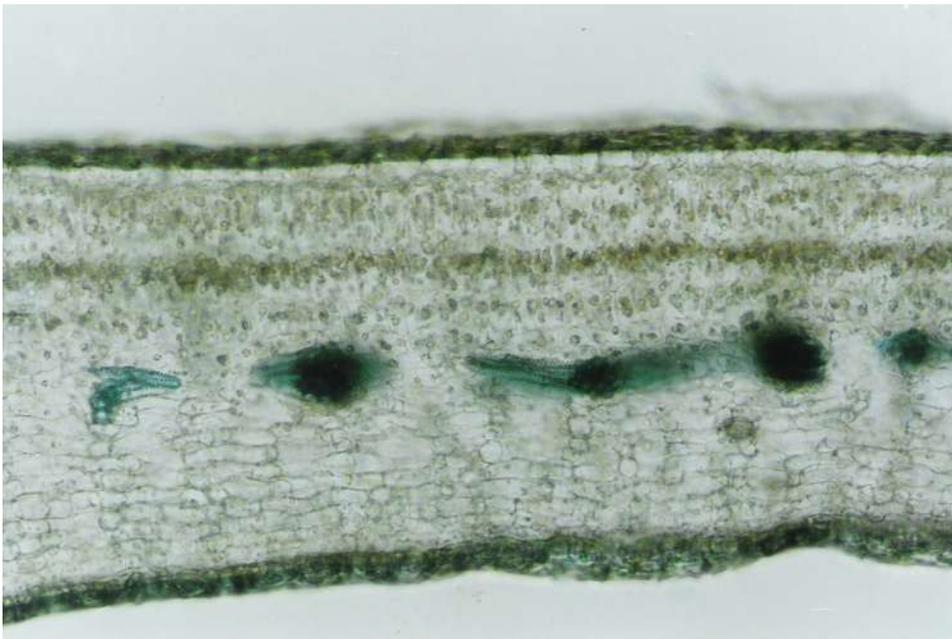


Fig.C: Corte transversal da lâmina foliar de *H. drasticus* em aumento de 150x evidenciando a região do mesófilo;



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.

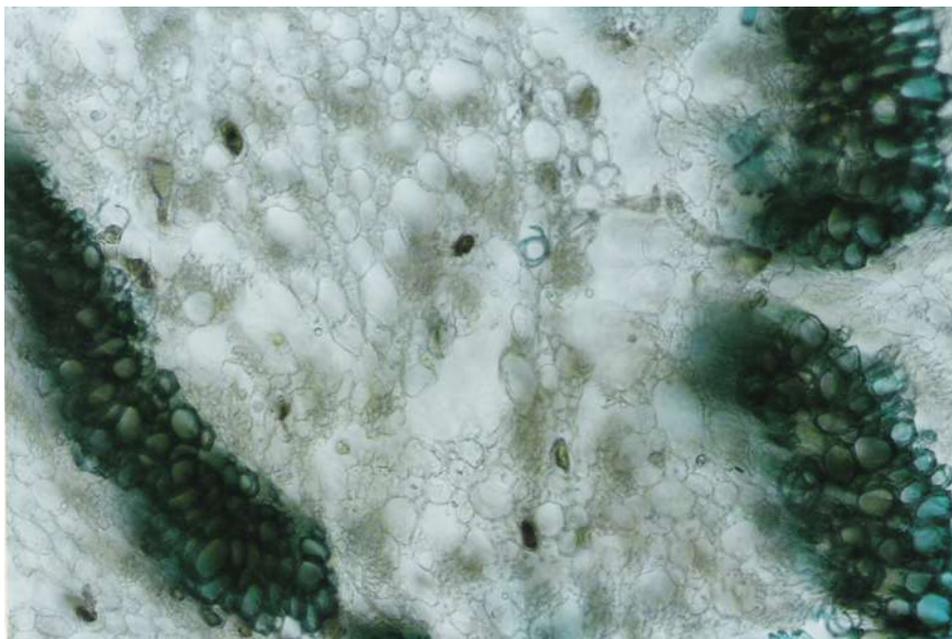


Fig. F: Corte transversal da lâmina foliar de *H. drasticus* em aumento de 150x evidenciando a nervura principal – região vascular.

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).

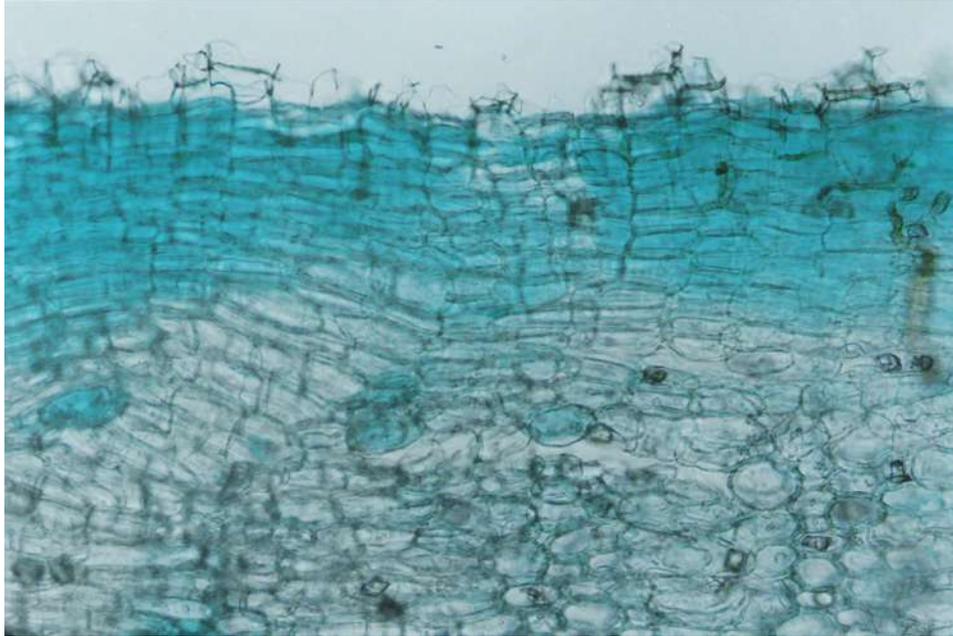


Fig. G: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se região cortical com periderme espessa.

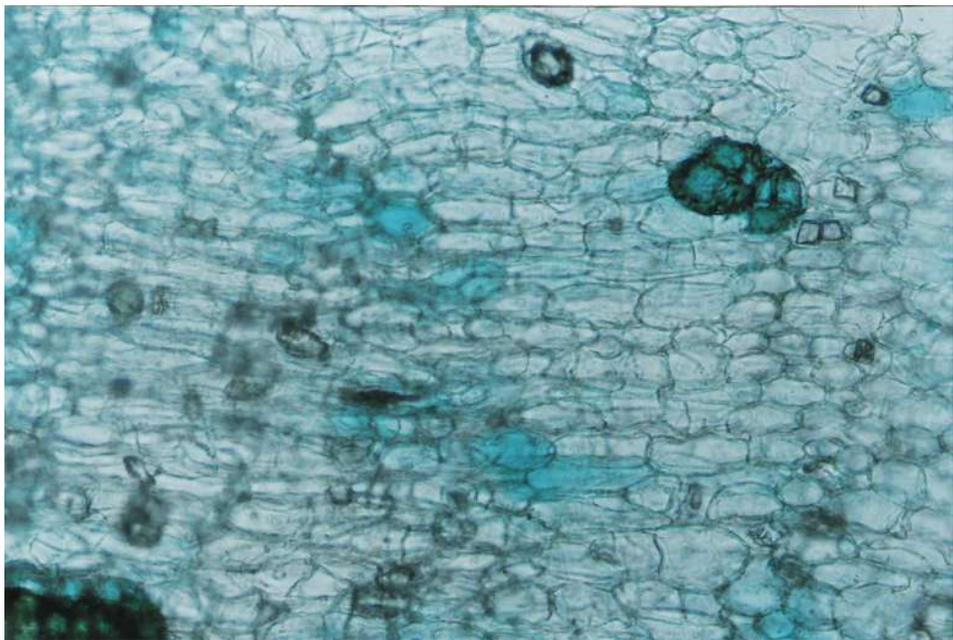


Fig. H: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se região cortical com cristais prismáticos de oxalato de cálcio e células esclerosas.

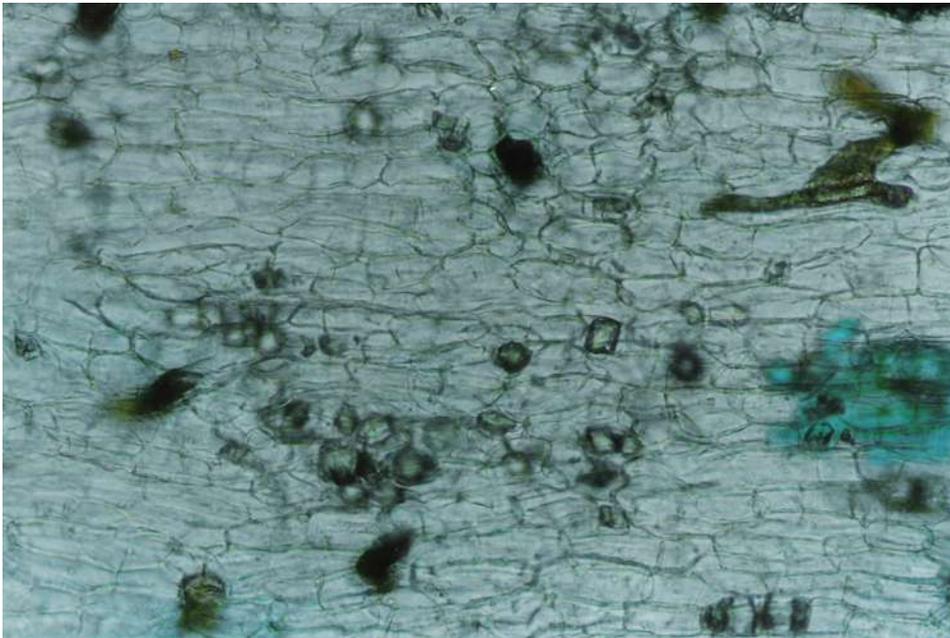


Fig. I: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se região floemática rica em cristais e canais laticíferos

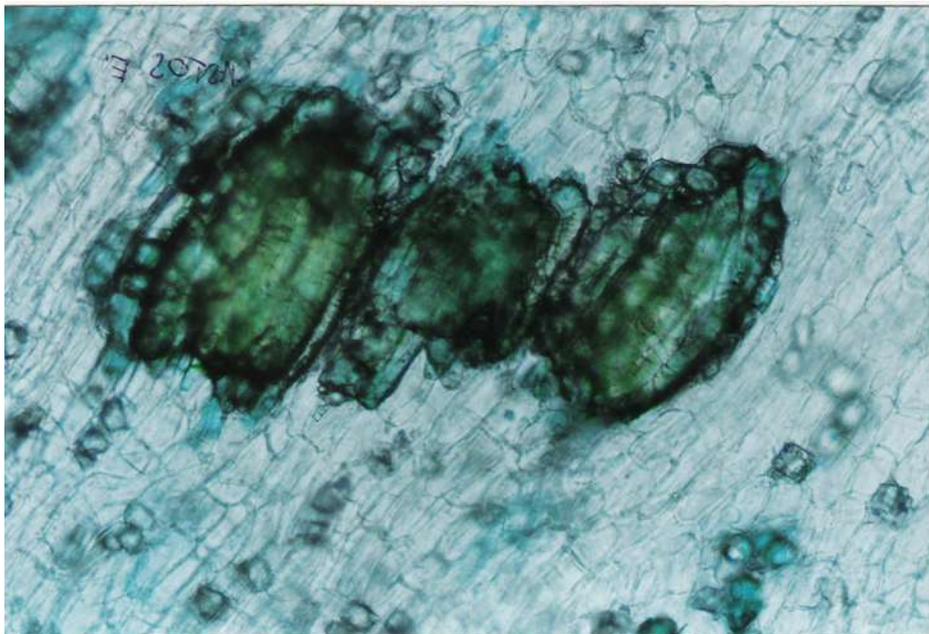


Fig. J: Corte transversal da casca de *H. drasticus* em aumento de 150x, destacando-se maciços esclerosos da região floemática.

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).

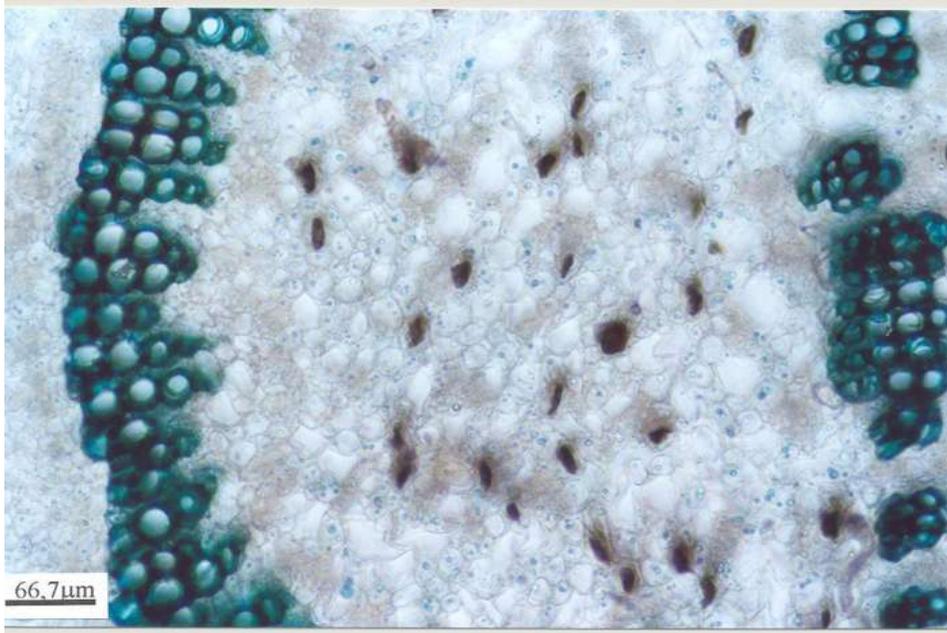


Fig. N- Região vascular da nervura central da lâmina foliar de *H. obovatus* com feixes bicolaterais

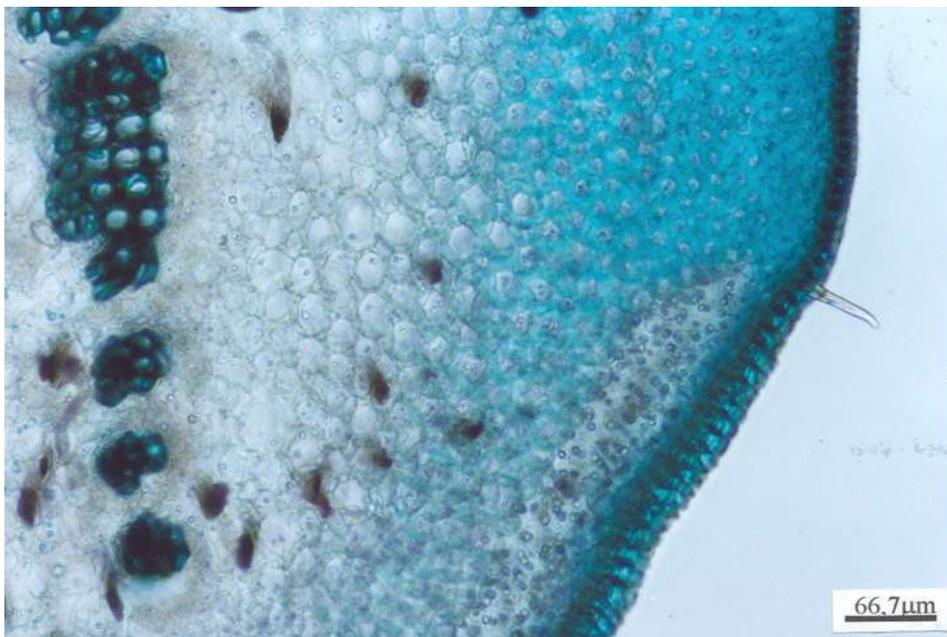


Fig. O - Face adaxial da nervura central da lâmina foliar de *H. obovatus* com colênquima angular

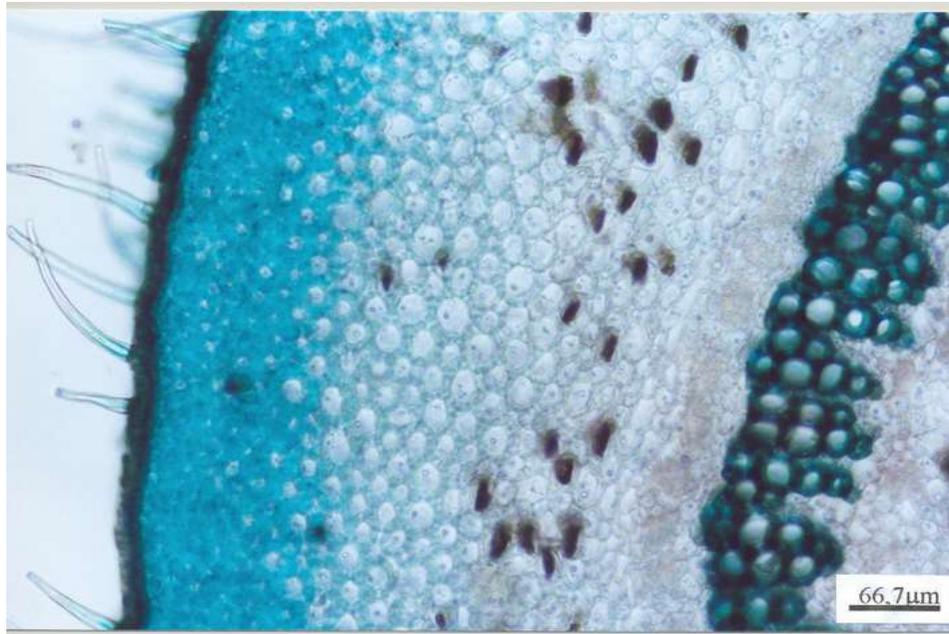


Fig. P - Face abaxial da nervura central da lâmina foliar de *H. obovatus* com tricomas tectores, colênquima e parênquima fundamental



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).

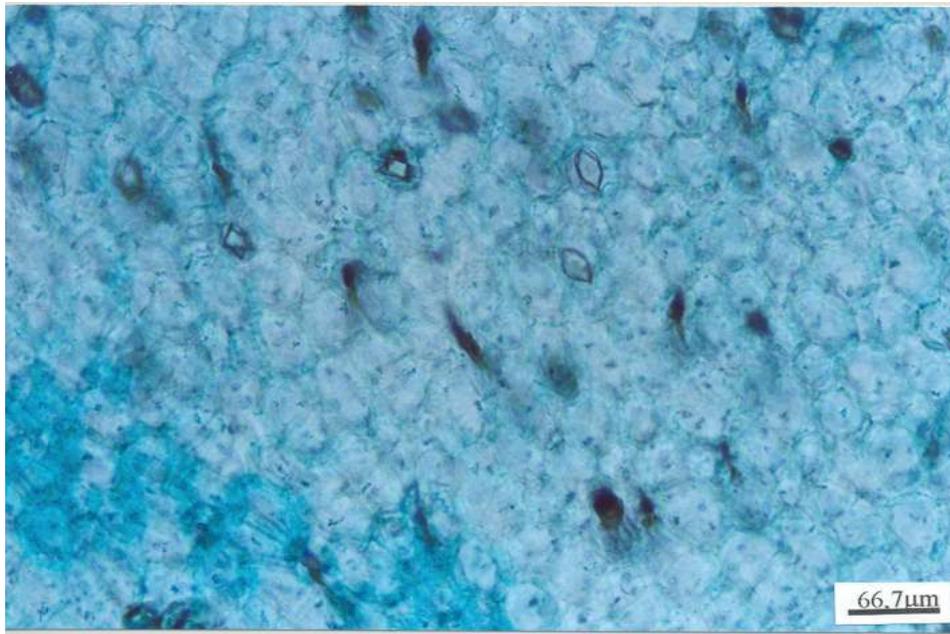


Fig. R – Parênquima da casca de *H. obovatus* com cristais prismáticos de oxalato de cálcio e idioblastos taníferos



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 : H₂O (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 antiinflamatórios⁷² 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 inflamatórias⁷³.

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 Δ^{12} -ursano ou oleanano^{74,75} (218 m/z).

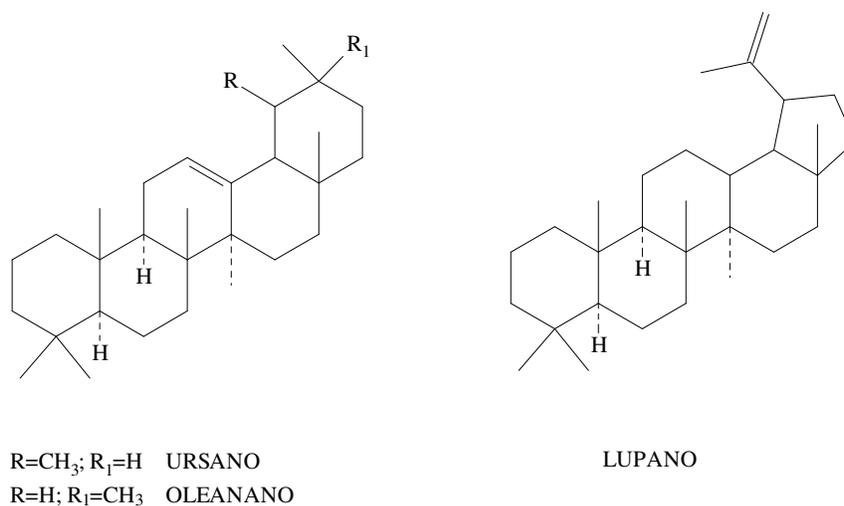


Fig. 5: Esqueletos de triterpenos das séries ursano, oleanano e lupano.

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	β -amirina
	B	56,16	58,86	Acetato de lupeol
CASCA		Área (%)	Tempo de retenção (min)	Substância
	A	18,03	57,93	β -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	β -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	β -amirina
	B	80,85	58,86	Acetato de lupeol

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

2.3.2.1.A. β -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 Δ^{12} -ursano ou oleanano m/z 218, proveniente de um rearranjo do tipo retro-Diels-Alder^{74,75}. 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 McLafferty⁷⁶, proveniente do íon molecular de m/z 486. A figura 5 mostra esquema com os principais fragmentos observados para este triterpeno.

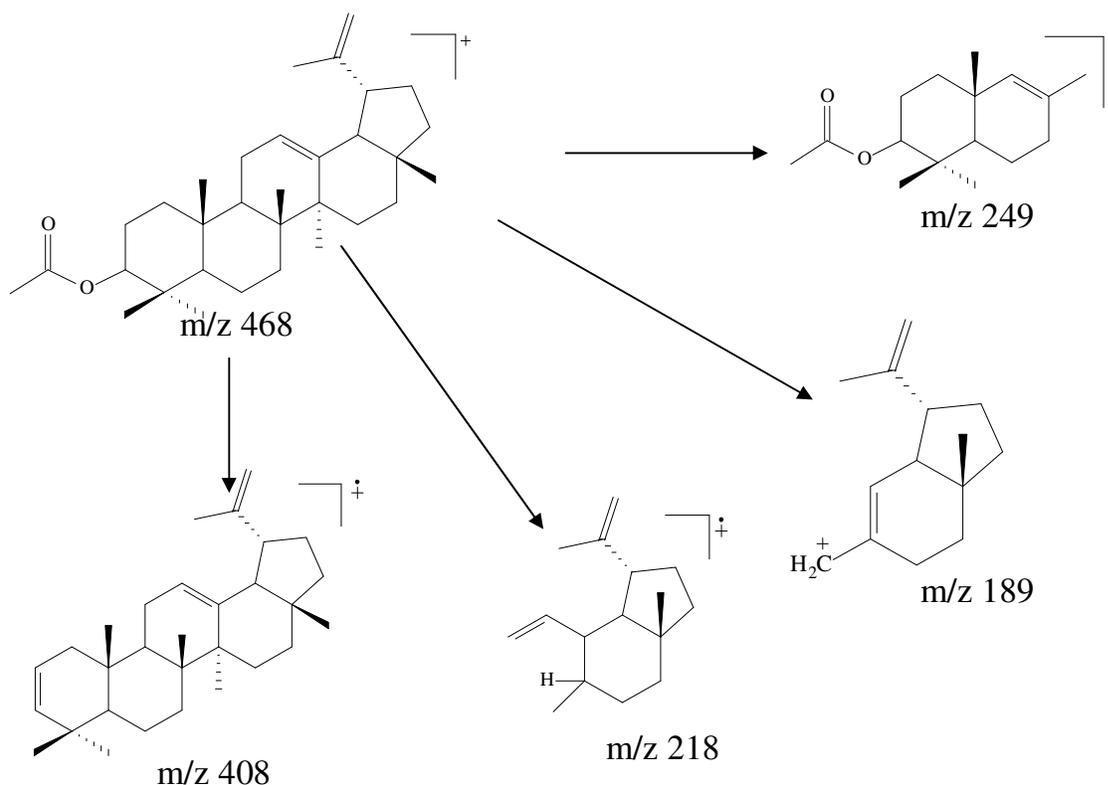


Fig. 5 - Esquema dos principais fragmentos do acetato de lupeol.

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 ($M^{+•}$ -

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^{77,78}.

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-C₁₈, eluídas em AcoEt:MeOH:H₂O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH:H₂O (6:4), respectivamente, após revelação com VS mostraram uma coloração característica de iridóide (verde claro)⁷⁹ e após revelação com orcinol sulfúrico (OS) apresentaram revelação de cor roxa indicando a presença de um glicosídeo⁸⁰.

A análise do espectro de RMN¹H (espectro **4**, p. 101) em CH₃OD, 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 (H₁');

- Um sinal duplo em 5,25 ppm (J=4,8 Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H₁);
- 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 H₆ e H₇ do esqueleto iridóide- Δ ^{6 81,82,83};
- Um sinal simples em 7,35 ppm (1H) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H₃);
- Um sinal duplo em 7,49 ppm (1H, J= 1,2 Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H₁₀).

Os valores descritos na literatura para os deslocamentos químicos dos hidrogênios do plumerídeo (obtidos em C₅D₅N) apresentam algumas diferenças em relação aos valores deste trabalho (obtidos em CD₃OD). Tais diferenças podem ser explicadas a partir das variações existentes nas interações solvente-soluto⁸⁴.

H	δ (ppm) obtido	δ (ppm) literatura
1	5,25 (<i>d</i> , J=4,8 Hz)	5,68 (<i>d</i> , J=4,0 Hz)
3	7,49 (<i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,60 (<i>d</i> , J= 1,0 Hz)
5	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)
6	6,45 (<i>dd</i> , J= 5,6 e 2,4 Hz)	6,47 (<i>dd</i> , J= 6,0 e 3,0 Hz)
7	5,51 (<i>dd</i> , 5,6 e 2,0 Hz)	5,49 (<i>dd</i> , J= 6,0 e 2,0 Hz)
9	2,94 (<i>dd</i> , J=8,0 e 4,4 Hz)	3,17 (<i>dd</i> , J=8,0 e 4,0 Hz)
10	7,35 (<i>d</i> , J= 1,2 Hz)	7,81 (<i>d</i> , J=1,0 Hz)
13	4,55 (<i>q</i> , J= 6,4Hz)	4,96 (<i>q</i> , J= 6,0Hz)
14	1,40 (<i>d</i> , J=6,4 Hz)	1,63 (<i>d</i> , J=6,0 Hz)
COOMe	3,74 (<i>s</i>)	3,62 (<i>s</i>)
1'	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 literatura⁸².

Os valores descritos na literatura para os deslocamentos químicos dos hidrogênios do plumerídeo (obtidos em C₅D₅N) apresentam algumas diferenças em relação aos valores deste trabalho (obtidos em CD₃OD). Tais diferenças podem ser explicadas a partir das variações existentes nas interações solvente-soluto⁸⁴.

O espectro de RMN¹³C (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 RMN¹H foi confirmada pelos sinais 130,0 e 141,4 ppm, correspondentes a dois carbonos sp² do núcleo ciclopentano.

C	δ obtido(ppm)	δ literatura ⁸² (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 ₃
15	168,4	166,6	C
16	51,9	51,1	O-CH ₃
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 ₂

Tab. 6 - Valores dos deslocamentos químicos dos carbonos de HDCA-1 em comparação aos da literatura⁸².

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 γ -lactona não saturada e os sinais em 168,4 ppm (C=O) e 51,9 ppm (O-CH₃) confirmam a presença do éster não saturado nos carbonos α e β . Os sinais da β -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 RMN¹H.

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 RMN¹H e ¹³C, são elas:

Para o HSQC:

	H (δ ppm)	C (δ 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 RMN¹H, ¹³C, 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*^{82, 83, 85, 86, 87}.

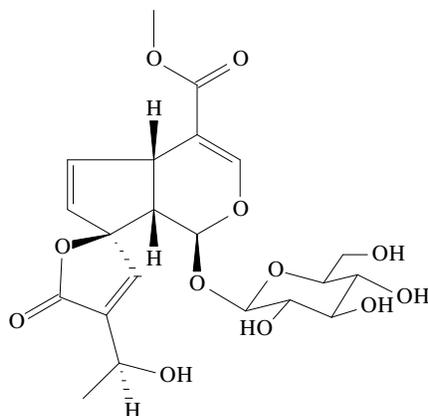


Fig. 6. Estrutura química do iridóide plumierídeo isolado das cascas de *Himatanthus drasticus*.

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-C₁₈, eluídas em AcoEt:MeOH:H₂O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH:H₂O (6:4), respectivamente, após revelação com VS mostrou uma coloração característica de iridóide (verde claro)⁷⁹ 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 ⁻¹)	Observações
3427 cm ⁻¹	Deformação axial de OH
1796 cm ⁻¹	Deformação axial de C=O de γ -lactona não saturada
1311 cm ⁻¹	Deformação axial de C-(C=O)-O do éster
1075 cm ⁻¹	Deformação axial de C-O-C de éter

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

A análise do espectro de RMN¹H (espectro **17**, p. 114) em CD₃OD 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-Δ⁶_{81,82,83}.
- Sinal duplo em 7,41 ppm (1 H, J= 1,2 Hz) referente a hidrogênio de carbono metínico (H₁₀).
- Um sinal duplo em 7,33 ppm (1H, J= 1,2 Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H₃).

Os dados do espectro de RMN¹H 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 RMN¹H de HDCA-2 (isoplumierídeo) com HDCA-1 (plumierídeo) e os valores encontrados na literatura⁸².

H	δ (ppm) Plumierídeo (CD ₃ OD)	δ (ppm) Isoplumierídeo (CD ₃ OD)	δ (ppm) Isoplumierídeo literatura ⁸² (C ₅ D ₅ N)
1	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)
3	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)
5	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)
6	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)
7	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)
9	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)
10	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)
13	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)
14	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)
COOMe	3,74 (<i>s</i>)	3,73 (<i>s</i>)	3,57 (<i>s</i>)
1'	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 RMN¹H de HDCA-2 (isoplumierídeo), HDCA-1 (plumierídeo) e os valores do plumierídeo encontrados na literatura⁸².

O espectro de RMN¹³C (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	δ obtido (ppm)	δ literatura ⁸² (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 ₃
15	168,7	166,8	C
16	51,8	51,0	CH ₃
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 ₂

Tab. 11. Comparação entre os valores dos deslocamentos químicos obtidos para HDCA-2 e os encontrados na literatura⁸².

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 ^1H e ^{13}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 (δ ppm)	C (δ 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*⁸² e *Himatanthus*⁴⁰.

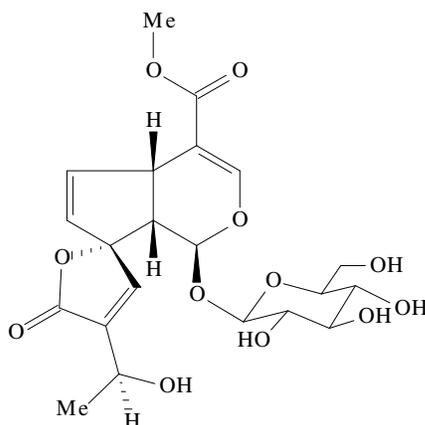


Fig.7. Estrutura química do iridóide isoplumierídeo isolado das cascas de *Himatanthus drasticus*.

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/H₂O (6,5:1,5:2,0)) e CCF-C₁₈ (MeOH:H₂O (6:4)) e revelação com vanilina sulfúrica apresentou uma coloração verde claro indicativa de iridóide glicosilado⁷⁹. A mesma amostra após revelação com orcinol sulfúrico (OS) apresentou revelação arroxeadada caracterizando a presença de um glicosídeo⁸⁰.

A análise do espectro de RMN¹H (esp. **31**, p. 128) em CD₃OD, 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 β -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 H₆ e H₇ do esqueleto iridóide- Δ ^{6 81,82,83}.
- Sinal duplo em 7,51 ppm (1 H, J= 1,2 Hz) referente a hidrogênio de carbono metínico (H₁₀).
- Um sinal simples (singleto largo) em 7,50 ppm (1H) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H₃).
- 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 α - e β - carbonila.

A tabela 14 mostra os valores dos deslocamentos químicos de RMN¹H de HDCA-3 em comparação aos encontrados na literatura para a protoplumericina A⁸⁸.

H	δ (ppm) HDCA-3 (CD ₃ OD)	Protoplumericina A Literatura ⁸⁸ (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)
α	6,46 (<i>d</i> , J=16 Hz)	6,69 (J=16Hz)
β	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 RMN¹H em CH₃OD obtidos para HDCA-3 e os encontrados na literatura⁸⁸.

O espectro de RMN¹³C (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	δ obtido (ppm)	δ 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 ₃
15	167,7	166,6	C
16	52,0	51,2	CH ₃
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 ₂
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 ₂
C=O	168,4	166,4	C
α	116,6	116,3	CH
β	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 RMN¹³C obtidos para HDCA-2 e os encontrados na literatura⁸².

As correlações obtidas nos espectros bidimensionais de COSY ¹H x ¹H (esp. 42, p.139) e HMQC (esp. 45, p. 142) permitiram confirmar as assinalações feitas nos espectros de RMN¹H e ¹³C. São elas:

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

	H (δ ppm)	C (δ 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
α	6,46	116,6
β	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.

- COSY¹Hx¹H (esp. 42, p. 139):

H (δ ppm)	H (δ ppm)
H- α (6,46)	H- β (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 COSY¹Hx¹H 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*^{88,89}.

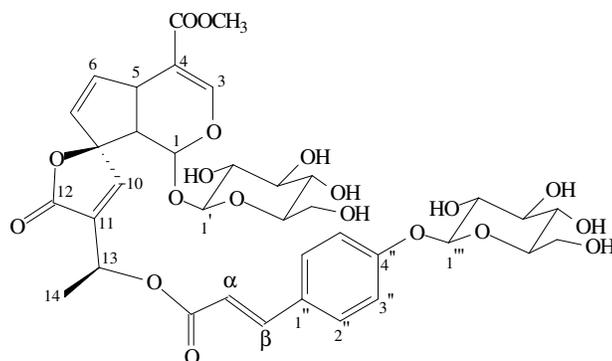


Fig. 8. Estrutura química do iridóide protoplumericina A isolada das cascas de *Himatanthus drasticus*.

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/H₂O (6,5:1,5:2,0)) e CCF-C₁₈ (MeOH:H₂O (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 RMN¹H (esp. **49**, p. 146) em CH₃OD 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 β -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 H₆ e H₇ do esqueleto iridóide- Δ ^{6 82,83,84}.
- Sinal duplo em 7,49 ppm (*sl*, 1H) referente a hidrogênio de carbono metínico (H₁₀).
- Um sinal simples (singleto largo) em 7,51 ppm (1H, *d*, $J=1,2$ Hz) referente ao hidrogênio de carbono metínico (H₃).
- 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 α e β - carbonila.

A tabela 18 mostra os valores dos deslocamentos químicos de RMN¹H de HDCA-4 (13-*O* – cafeoilplumierídeo)⁸².

H	δ (ppm) 13- <i>O</i> -cafeoil plumierídeo(CD ₃ OD)	Literatura ⁸² (em Piridina-d ₅ , 400MHz) (ppm)
1	5,27 (<i>d</i> , J=5Hz)	5,62 (<i>d</i> , J=5,2 Hz)
3	7,51 (<i>d</i> , J=1,2 Hz)	7,63 (<i>d</i> , J=1,0 Hz)
5	3,93 (<i>dd</i> , J=8,0 e 2,0)	3,99 (<i>td</i> , J=7,0 e 2,0)
6	6,47 (<i>dd</i> , J=5,6 e 2,4 Hz)	6,43 (<i>dd</i> , J= 5,0 e 2,0 Hz)
7	5,52 (<i>dd</i> , J=5,6 e 2,4 Hz)	5,38 (<i>dd</i> , 5,0 e 2,0 Hz)
9	2,93 (<i>dd</i> , J= 7,6 e 5,2)	3,04 (<i>dd</i> , J=7,0 e 6,0 Hz)
10	7,49 (<i>sl</i>)	7,97 (<i>s</i>)
13	5,69 (<i>q</i> , J=7,2 Hz)	6,07 (<i>q</i> , J= 6,0Hz)
14	1,55 (<i>d</i> , J=6,8)	1,61 (<i>d</i> , J=6,0 Hz)
COOMe	3,74 (<i>s</i>)	3,63 (<i>s</i>)
1'	4,70 (<i>d</i> , J=8,0 Hz)	5,39 (<i>d</i> , J=8,0 Hz)
α	6,37 (J=16Hz)	6,68 (<i>d</i> , J=16 Hz)
β	7,65 (J=16 Hz)	8,02 (<i>d</i> , J=16 Hz)
2''	7,45 (<i>s</i>)	7,61 (<i>d</i> , J=1,0 Hz)
5''	6,81 (<i>d</i> , J=8,4 Hz)	7,19 (<i>d</i> , J=8,0)
6''	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 RMN¹H em CH₃OD obtidos para HDCA-4 e os encontrados na literatura.

O espectro de RMN¹³C (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 COSY¹Hx¹H (espectro **62**, p. 159) e HMQC (esp. **65**, p. 162) estão relacionadas nas tabelas 20 e 21, respectivamente.

C	δ obtido (ppm)	δ 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 ₃
15	168,2	166,6	C
16	52,1	51,2	CH ₃
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 ₂
C=O	168,5	166,5	C
α	116,0	116,6	CH
β	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 RMN¹³C obtidos para HDCA-4 com suas multiplicidades e os encontrados na literatura⁸²

- COSY¹Hx¹H (esp. 62, p. 159):

H (δ ppm)	H (δ ppm)
H- α (6,37)	H- β (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 COSY¹Hx¹H de HDCA-4.

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

	H (δ ppm)	C (δ 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
α	6,37	116,0
β	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)⁸².

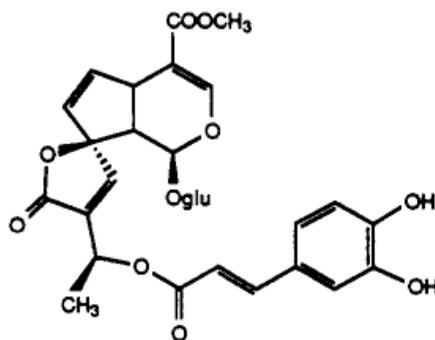


Fig. 9. Estrutura química do iridóide 13-O – cafeoilplumierídeo isolada das cascas de *Himatanthus drasticus*.

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/H₂O (6,5:1,5:2,0) e CCF-C₁₈ (MeOH:H₂O (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 RMN¹H (esp. **68**, p. 165) em CH₃OD 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:

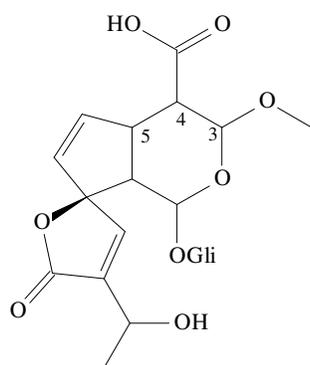
- A presença de apenas um sinal simples na região entre 7,0 e 8,0 ppm indicou a existência de somente um hidrogênio metínico (H-10), enquanto o plumierídeo apresentou dois destes sinais referentes aos hidrogênios H-3 e H-10. Isto nos levou a concluir que não há no HDCA-5, a dupla ligação entre C-3 e 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 α -carbonila como no plumierídeo.

A tabela abaixo compara os valores de deslocamentos químicos de RMN¹H de HDCA-5 com os do plumierídeo.

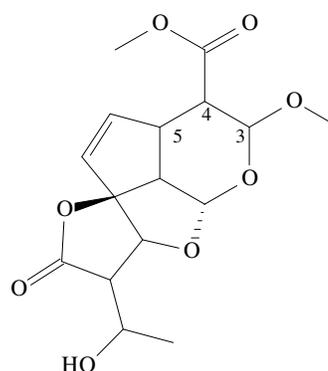
H	δ (ppm) Plumierídeo (HDCA-1)	δ (ppm) HDCA-5
1	5,25 (<i>d</i> , J=4,8 Hz)	5,17 (<i>sl</i>)
3	7,49 (<i>d</i> , J=1,2 Hz)	5,11 (<i>d</i> , J=9,0 Hz)
4	-	2,76 (<i>dd</i> , J=8,0 e 3,0 Hz)
5	3,92 (<i>dd</i> , J=8,0 e 1,6 Hz)	3,35 (<i>m</i>)
6	6,45 (<i>dd</i> , J= 5,6 e 2,4 Hz)	6,29 (<i>d</i> , J=2,5 Hz)
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 RMN¹H 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*⁸³.



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 RMN¹H de HDCA-5 com os da 3-O-metil-alamancina.

O espectro de RMN¹³C (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.

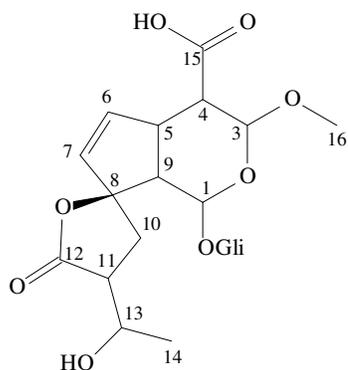
C	δ obtido (ppm)	Multiplicidade
1	93,6	CH
3	99,3	CH
4	50,0	CH
5	45,6	CH
6	141,4	CH
7	130,9	CH
8	100,3	C
9	56,3	CH
10	149,6	CH
11	139,2	C
12	173,0	C
13	63,9	CH
14	22,1	CH ₃
15	179,2	C
OMe	56,9	CH ₃
1'	98,2	CH
2'	74,8	CH
3'	71,3	CH
4'	77,9	CH
5'	78,2	CH
6'	62,3	CH ₂

Tab. 24. Valores dos deslocamentos químicos de RMN¹³C obtidos para HDCA-5 e suas multiplicidades.

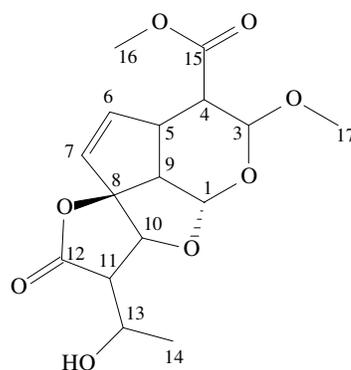
Os valores encontrados para os carbonos C-3, C-4, C-5 e MeO também foram comparados aos encontrados na literatura para a 3-O-metil-alamancina, como observamos na tabela abaixo:

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

Tab. 25. Valores de alguns deslocamentos químicos de RMN¹³C 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 RMN¹H e ¹³C 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 ¹H x ¹H (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 COSY¹Hx¹H 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.

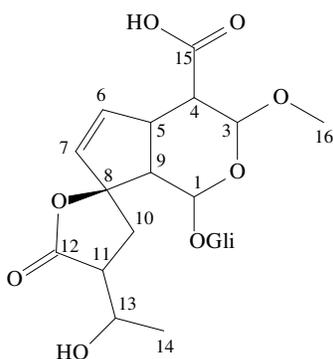


Fig. 10. Estrutura proposta para a substância HDCA-5 isolada das cascas de *Himatanthus drasticus*.

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:H₂O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH: H₂O (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 quercetina⁹⁰.

O espectro de RMN¹H (esp. 86, p. 183) em CH₃OD, 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*.

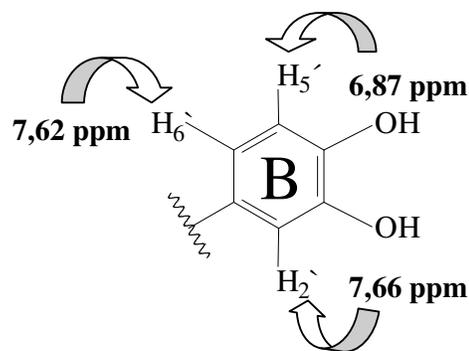


Fig. 11 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel B.

- 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.

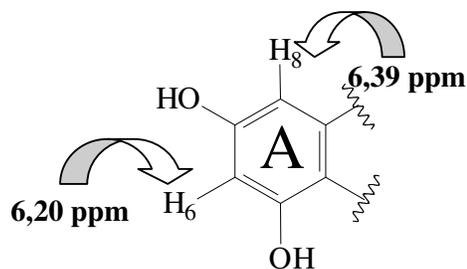


Fig. 12 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel A.

- 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 RMN¹³C (espectro 89, p. 186) e DEPT (espectro 93, p. 190) permitiu identificar após comparação com os dados da literatura⁹¹ a presença dos sinais cujos deslocamentos químicos e multiplicidades estão descritos na tabela 29.

C	Obtido (ppm)	Literatura ⁹¹ (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 ₂
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 ₃

n.o. – não observado

Tab. 29. Comparação entre os valores de deslocamentos químicos de RMN¹³C obtidos e os relatados na literatura.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono treze é muito útil na determinação das ligações interglicosídicas em diglicosídeos⁹¹.

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).

	Rutina (diglicosídeo)	Isoquercitrina (monoglicosídeo)
C-6	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 flavonóides⁹¹.

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 AlCl₃ promoveu um deslocamento batocrômico da banda I para 435 nm (+73 nm) resultante da formação de complexos quelantes do AlCl₃ 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).

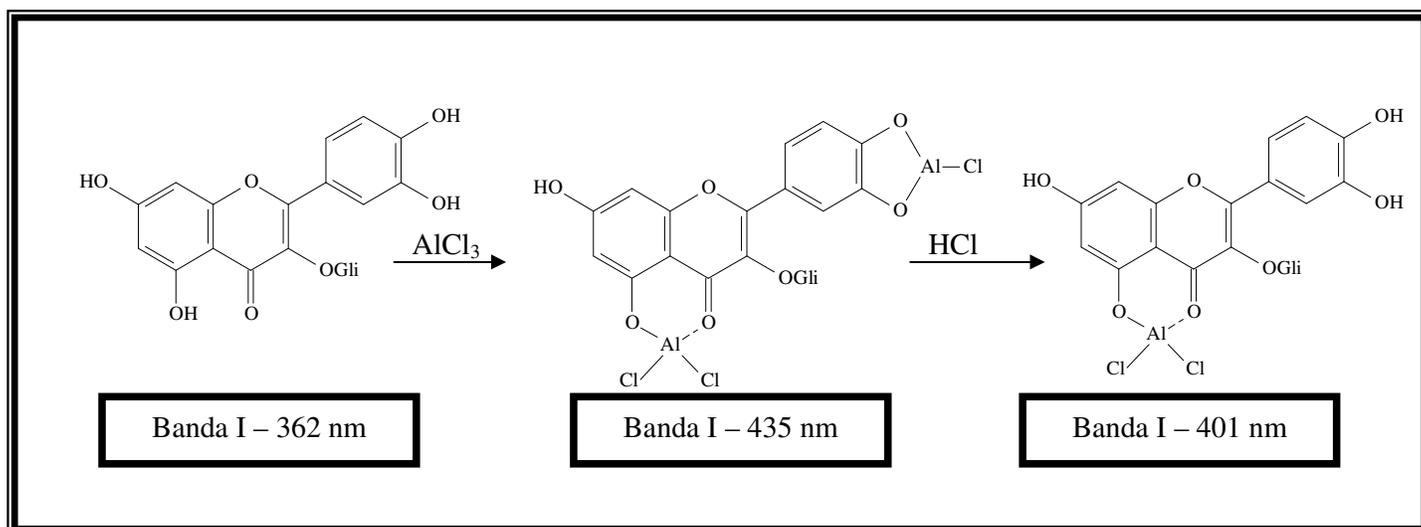


Fig. 13. Esquema ilustrativo dos tipos de complexos formados pelo AlCl₃ com a substância HDFD-33 na presença e na ausência de ácido e os deslocamentos decorrentes.

Os deslocamentos observados acima com adição de AlCl₃ 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 C₁₅H₉O₇ (aglicona) + C₆H₁₀O₅ (glicose) + C₆H₁₀O₄ (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).

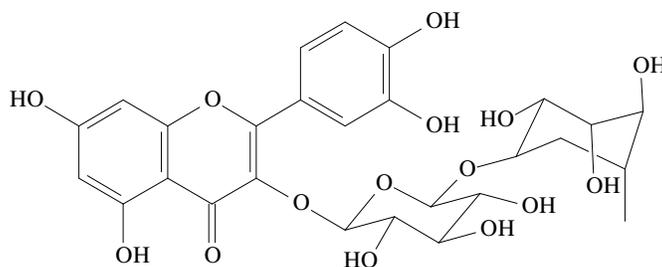


Fig. 14 - Estrutura da Rutina (HDFD-33) isolada das folhas de *H. drasticus*.

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:H₂O (6,5:1,5; 2,0) e MeOH: H₂O (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 RMN¹H (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*.

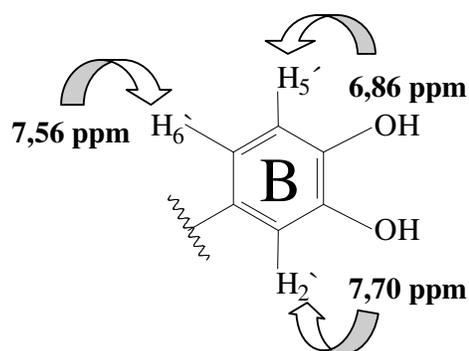


Fig. 15 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel B.

- 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.

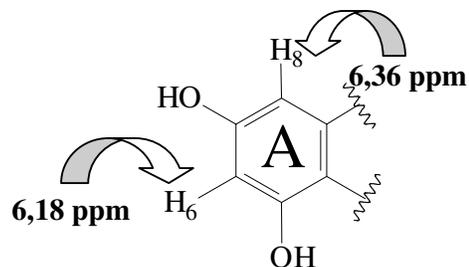


Fig. 16 - Deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos – anel A.

- 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 RMN¹³C (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 C₂₁H₁₅ (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 ₂

Tab. 30 - Valores dos deslocamentos químicos obtidos no espectro de RMN¹³C e suas multiplicidades obtidas pela técnica DEPT.

O espectro COSY¹Hx¹H (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)

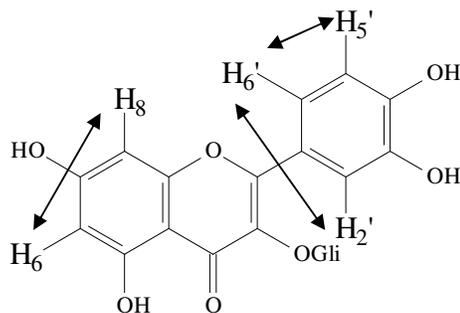


Fig. 17 - Correlações observadas no espectro COSY H¹x¹H de HDFD-33.

O espectro ultravioleta (esp. 108 p. 205) da substância HOFA-1 apresentou absorções em 355 nm (relativa à metade cinamoíla da molécula – banda I) e 257 nm (referente ao sistema benzoíla – banda II), característica de flavonóides⁹¹.

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 AlCl₃, 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 AlCl₃ 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).

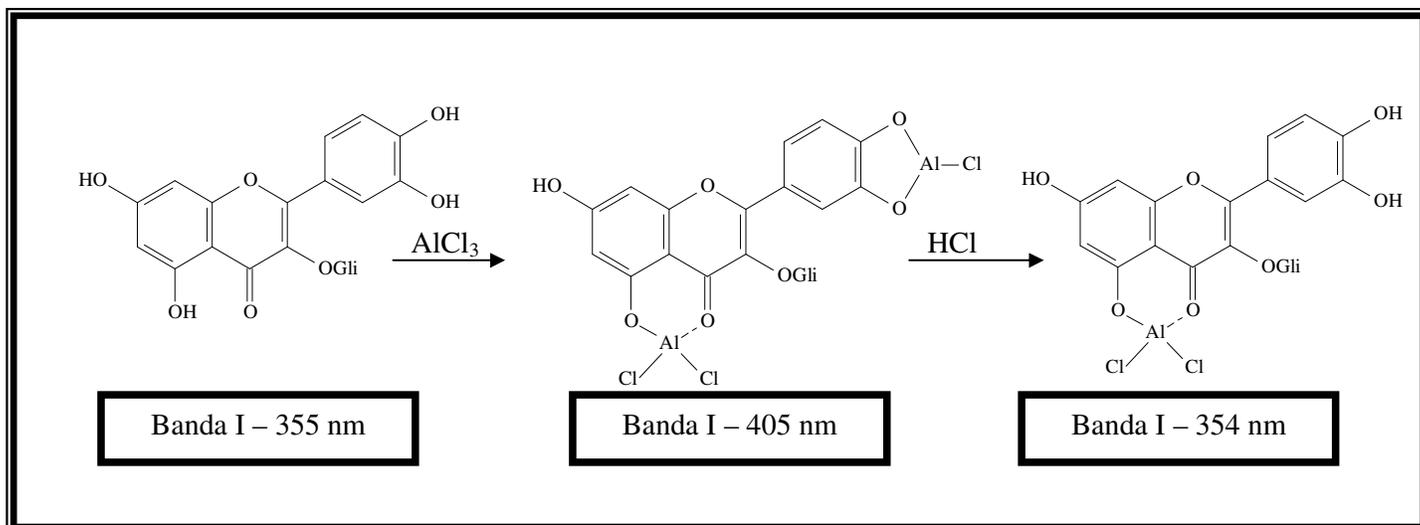


Fig. 18. Esquema ilustrativo dos tipos de complexos formados pelo AlCl₃ com a substância HDFD-33 na presença e na ausência de ácido e dos deslocamentos decorrentes.

Os dados obtidos com os deslocamentos do espectro de UV após adição de AlCl₃ e 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 C₁₅H₉O₇ (aglicona) + C₆H₁₁O₅ (glicose). Outros picos importantes são relacionados abaixo:

- ❖ m/z (463) = [M-1] – perda de hidrogênio
- ❖ m/z (465) = [M+1] – adição de hidrogênio
- ❖ m/z (301) = [M (464) – C₆H₁₁O₅ (163)] = aglicona

Os resultados obtidos em comparação com os descritos na literatura permitiram identificar a substância codificada por HOFA-1 como o flavonol isoquercitrina⁹¹ (Fig. 19).

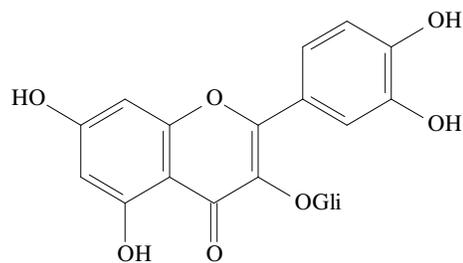
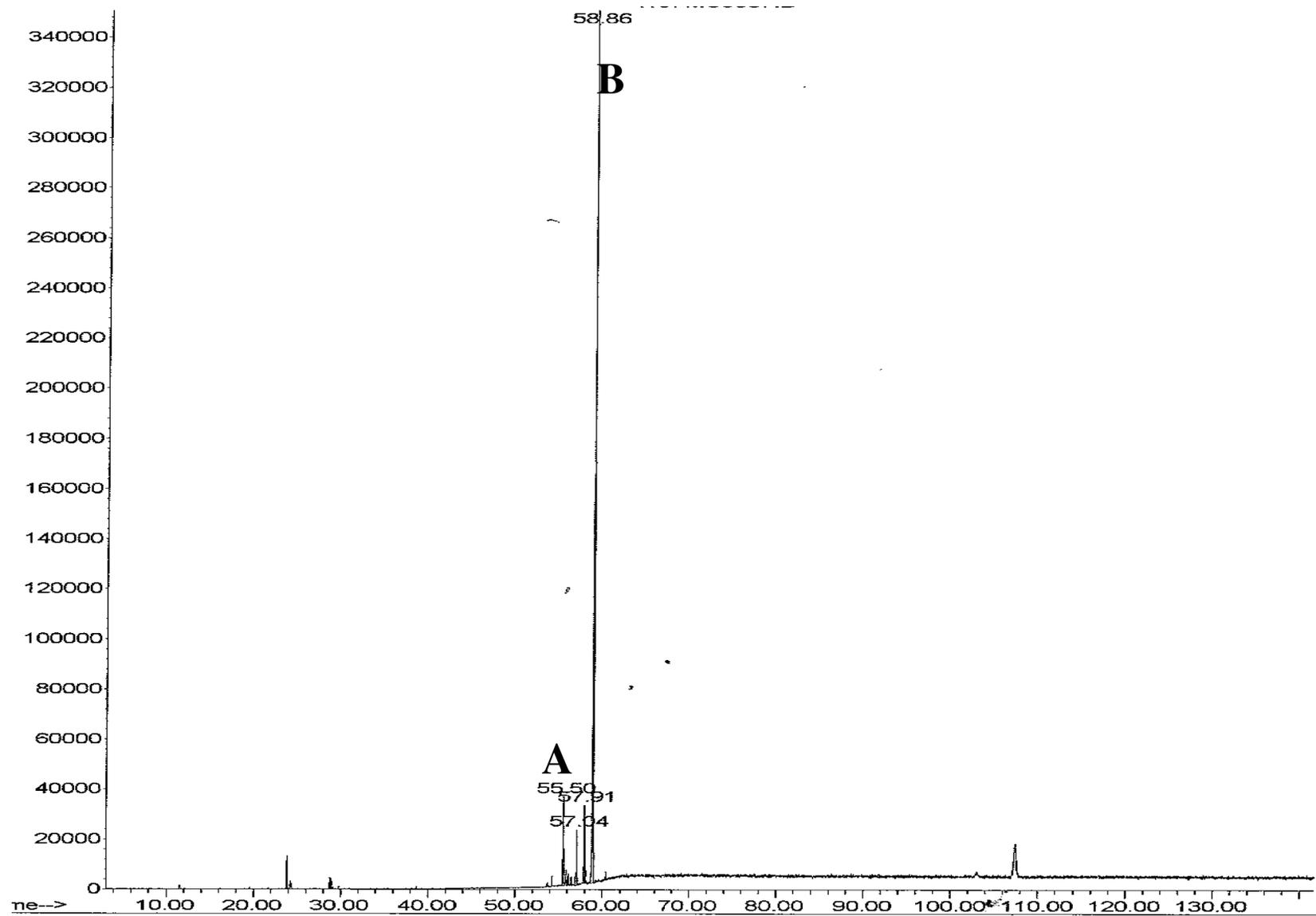
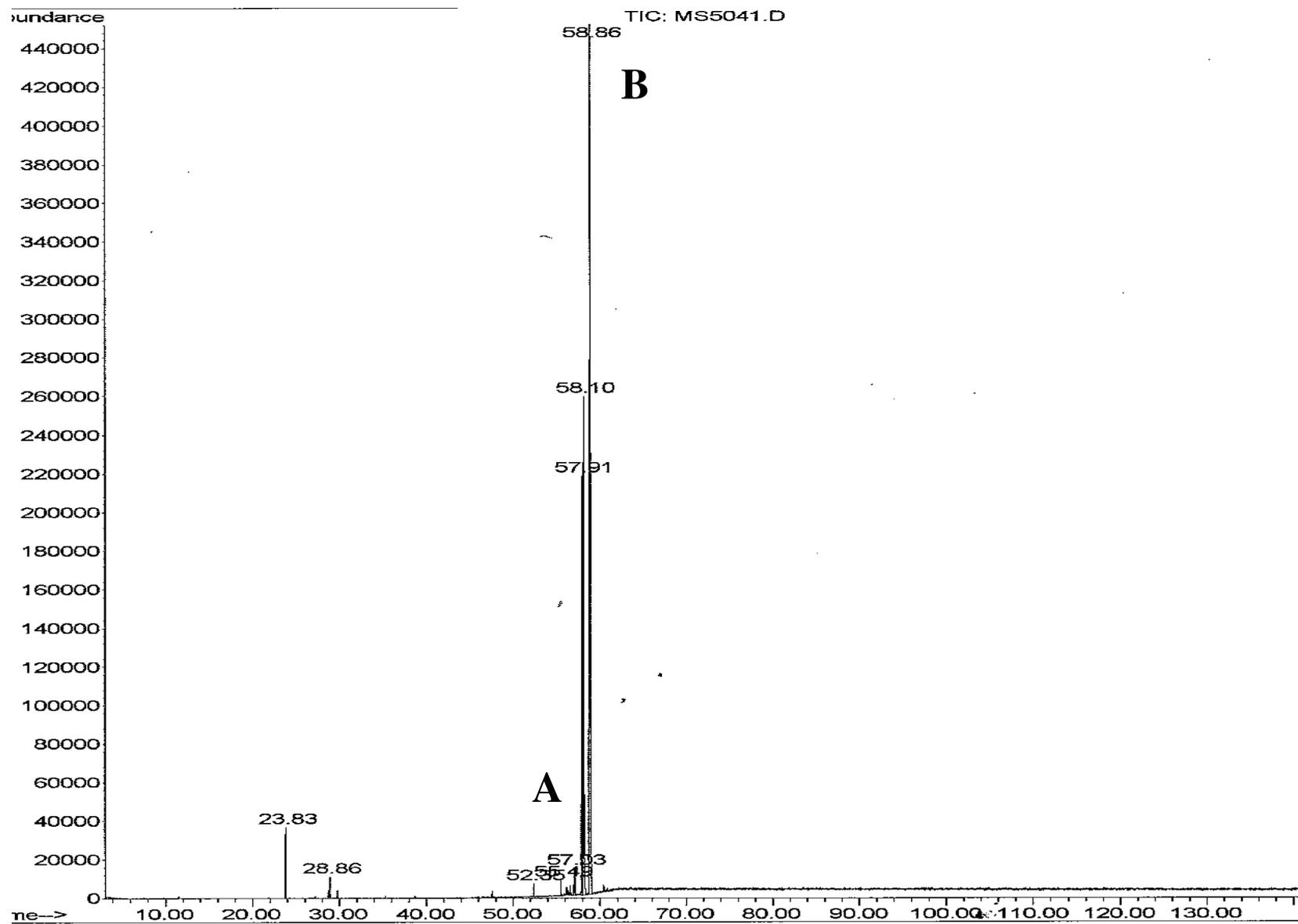


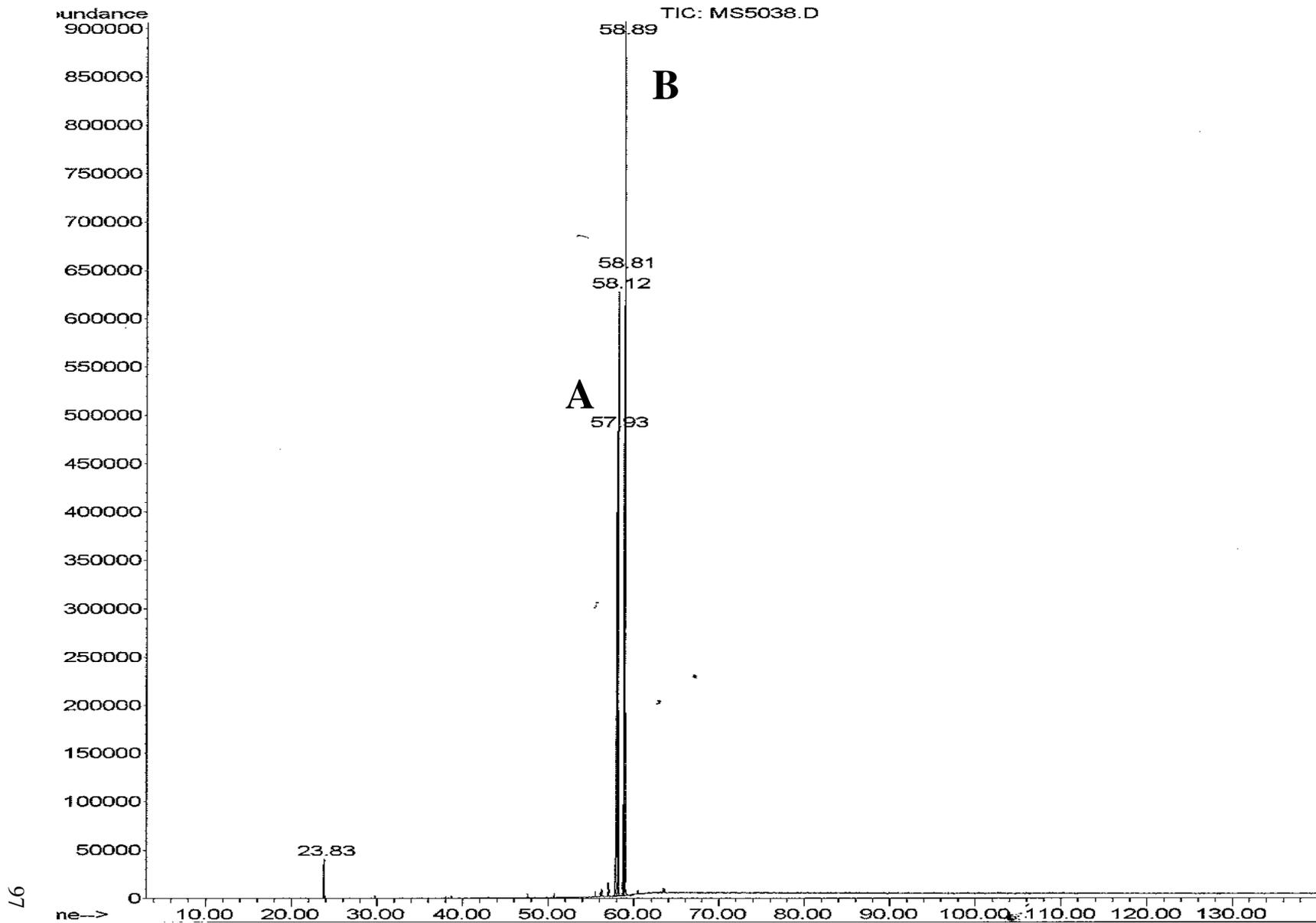
Fig. 19. Estrutura química da isoquercitrina (HOFA-1)



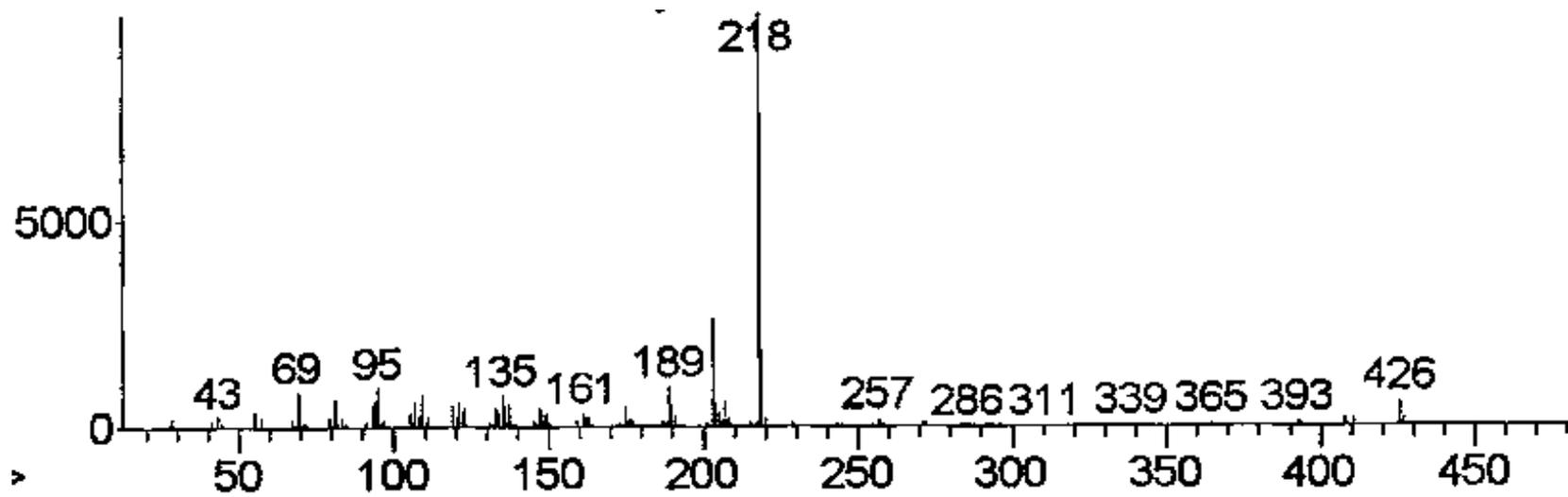
Cromatograma 2 – Cromatograma da fração em hexano das cascas de *H. drasticus*



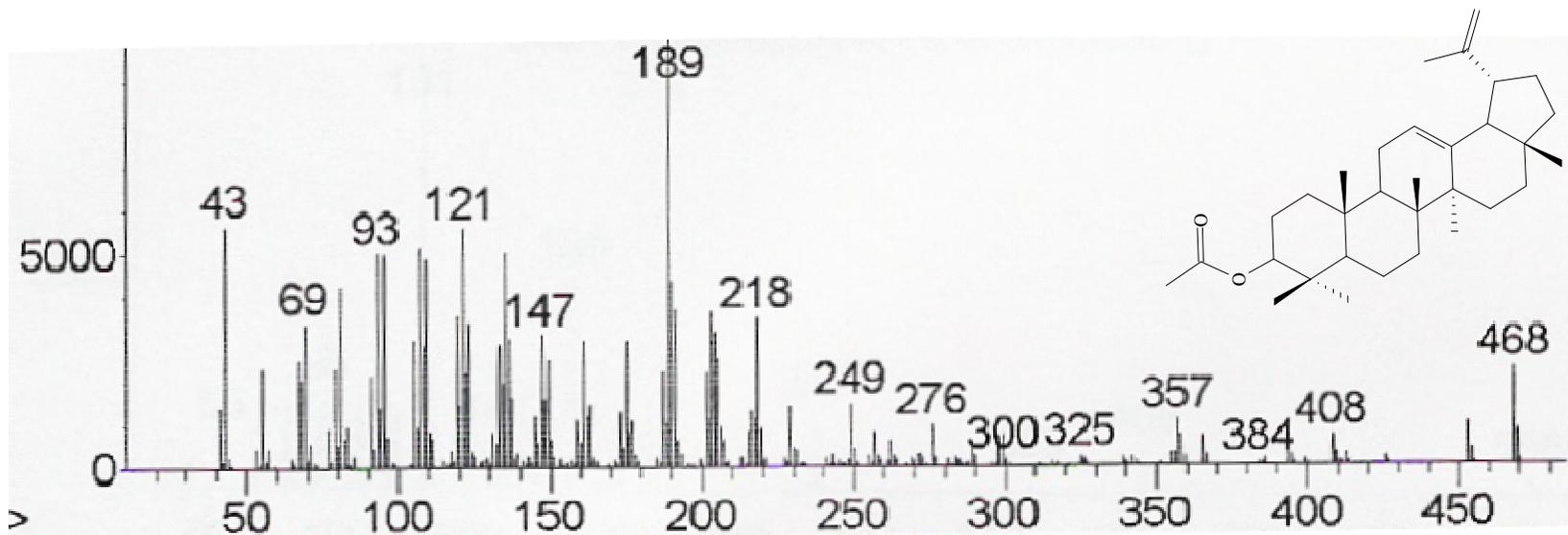
Cromatograma 3 – Cromatograma da fração em hexano das folhas de *H. obovatus*



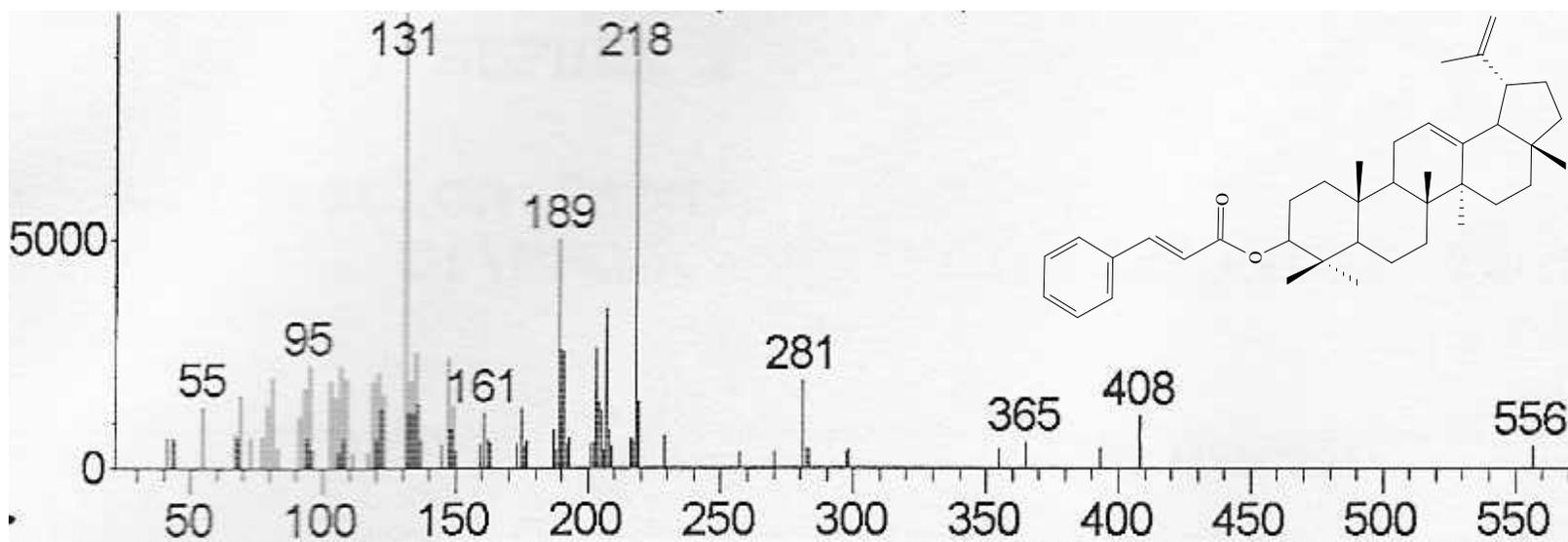
Cromatograma 4 – Cromatograma da fração em hexano das cascas de *H. obovatus*



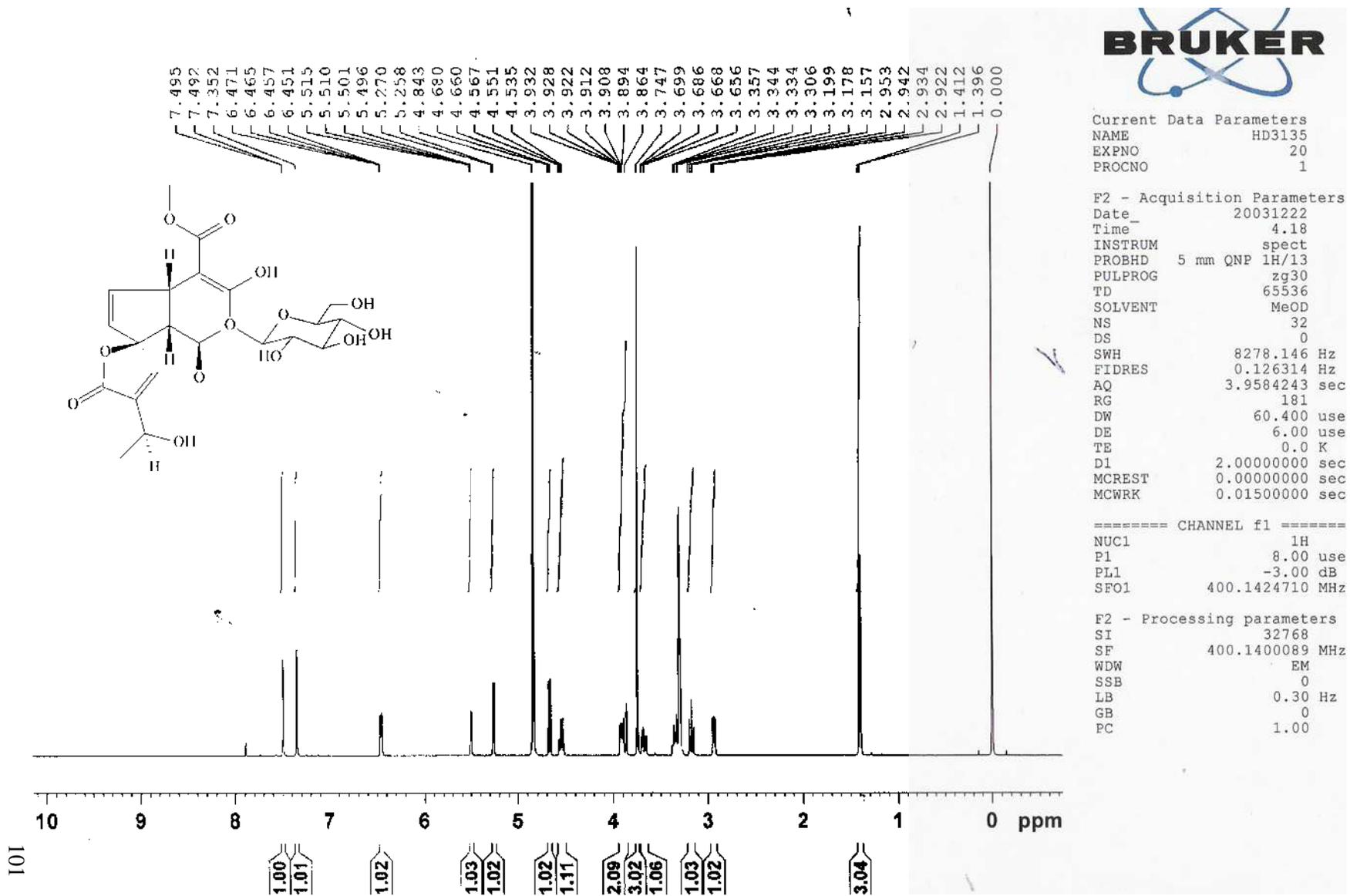
Espectro 1 – Espectro de massas (impacto de elétrons) da β -amirina



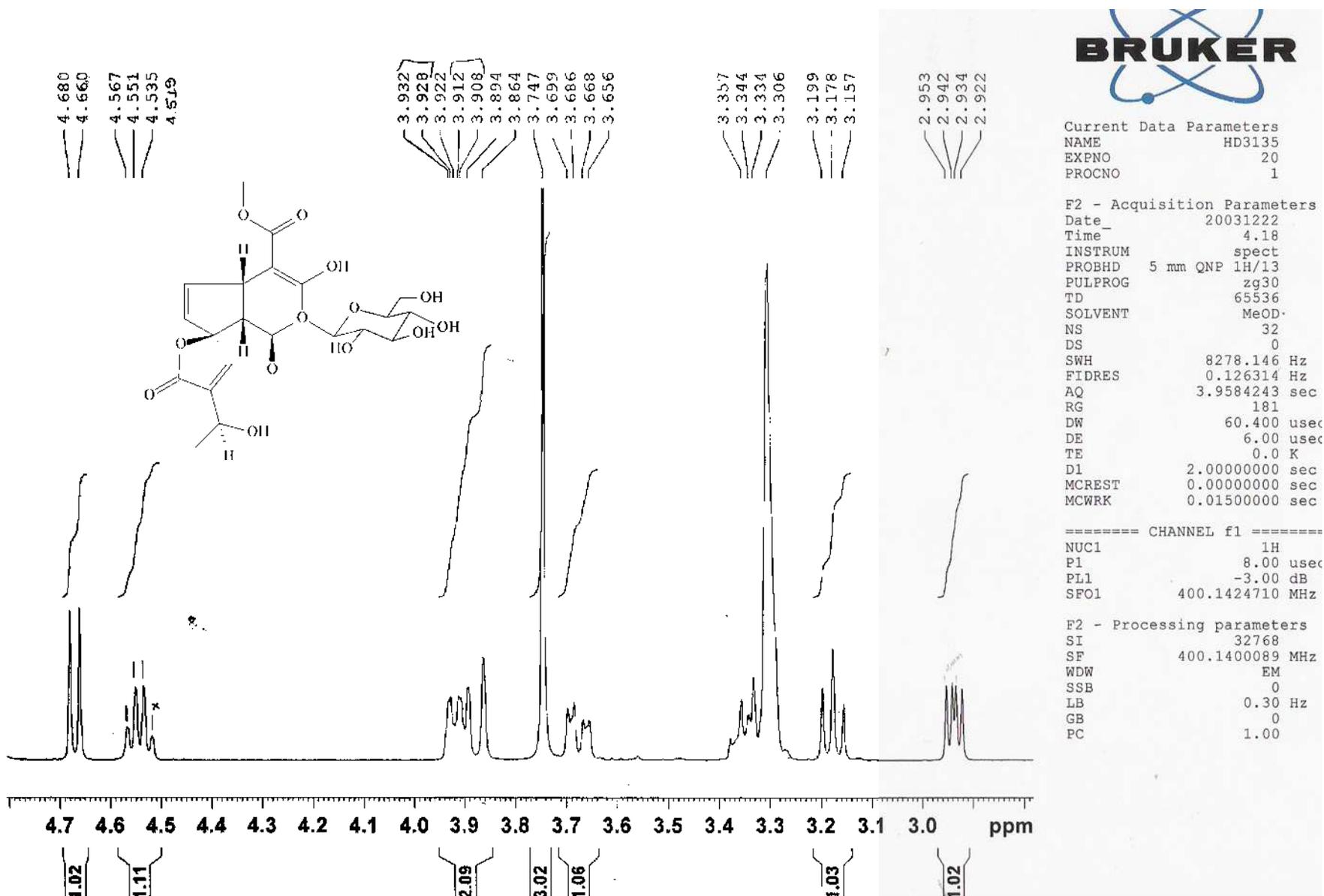
Espectro 2 – Espectro de massas (impacto de elétrons) do acetato de lupeol



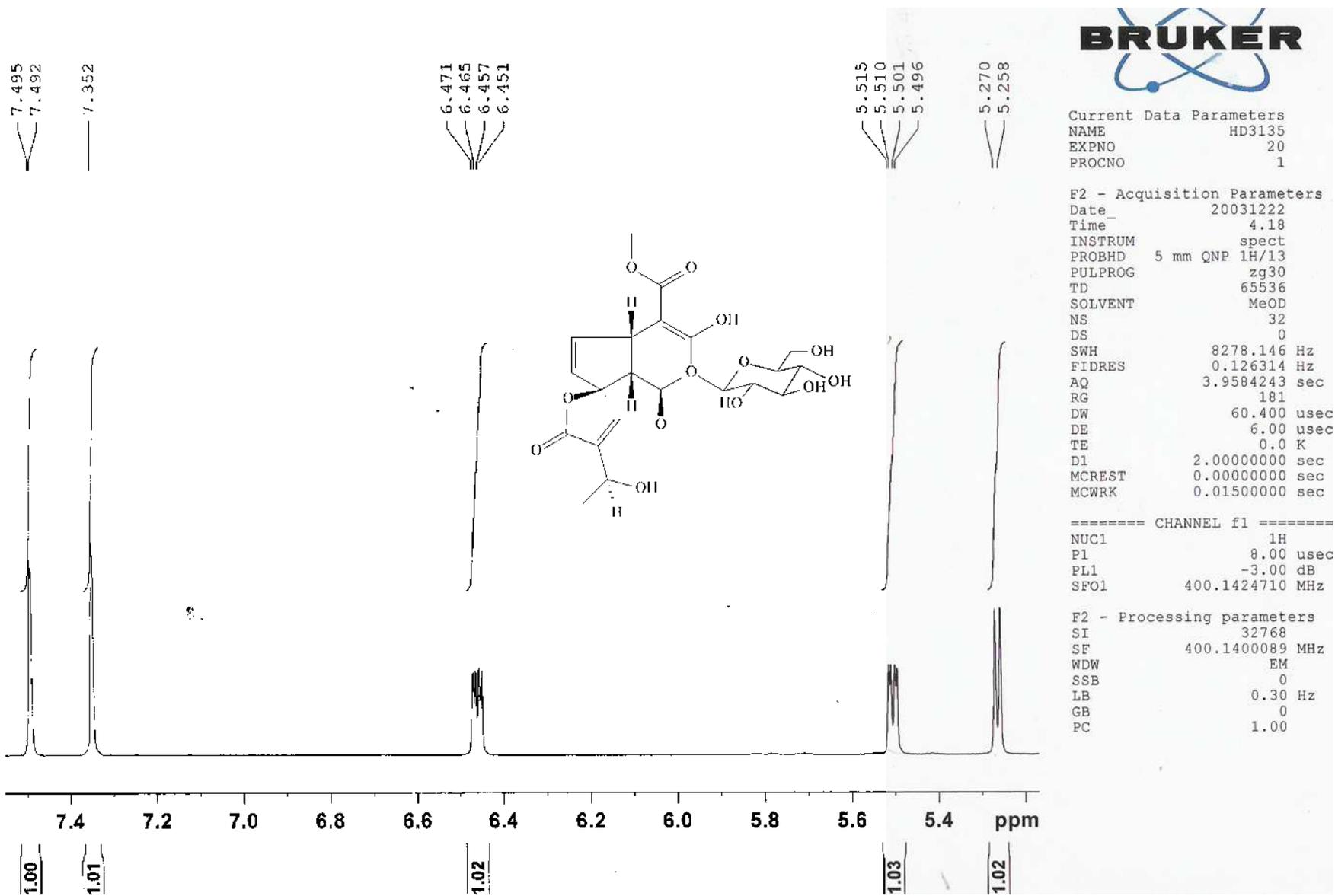
Espectro 3 – Espectro de massas (impacto de elétrons) do cinamato de lupeol



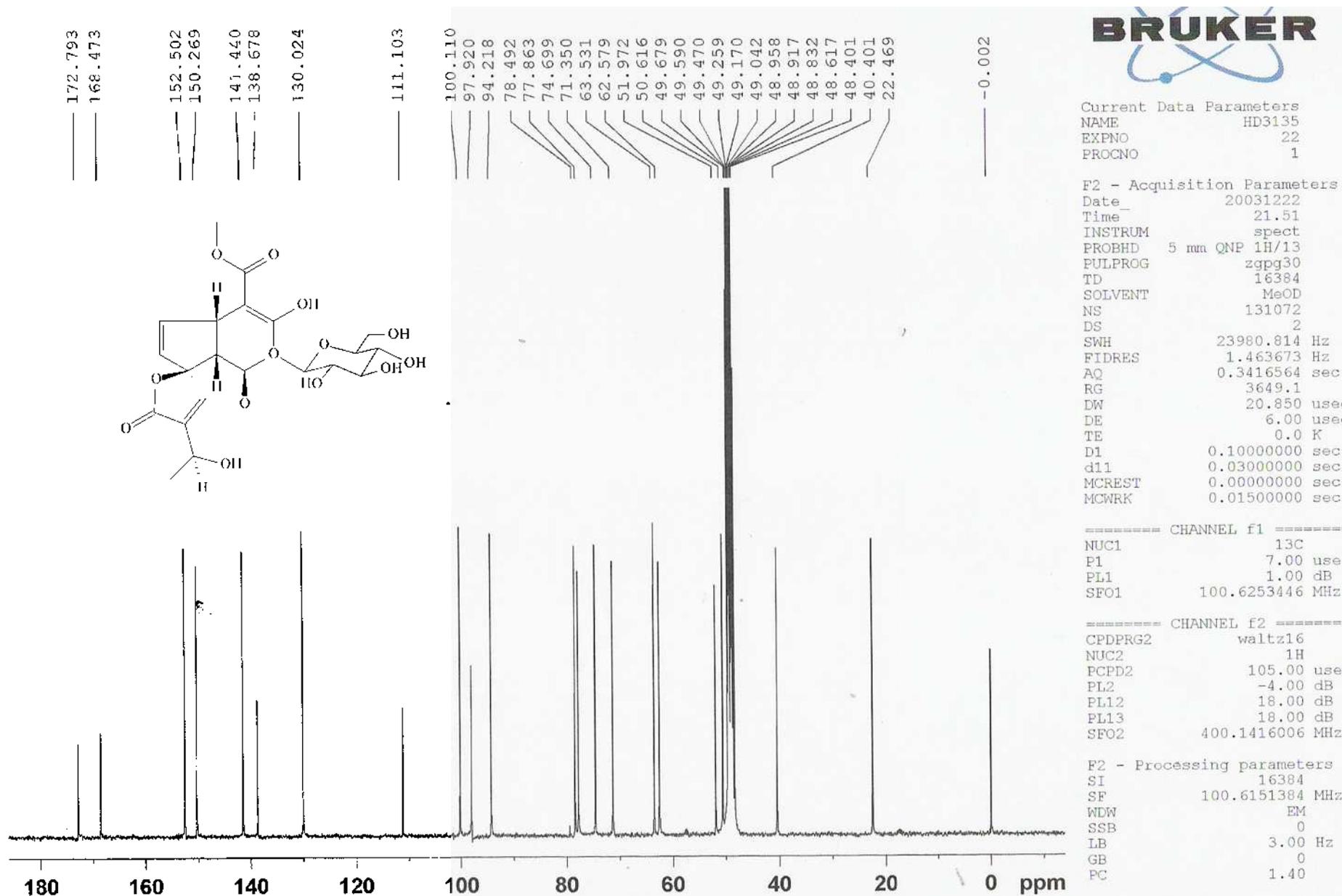
Espectro 4 – Espectro de RMN¹H (MeOD, 400MHz)¹H do plumierídeo (HDCA-1)



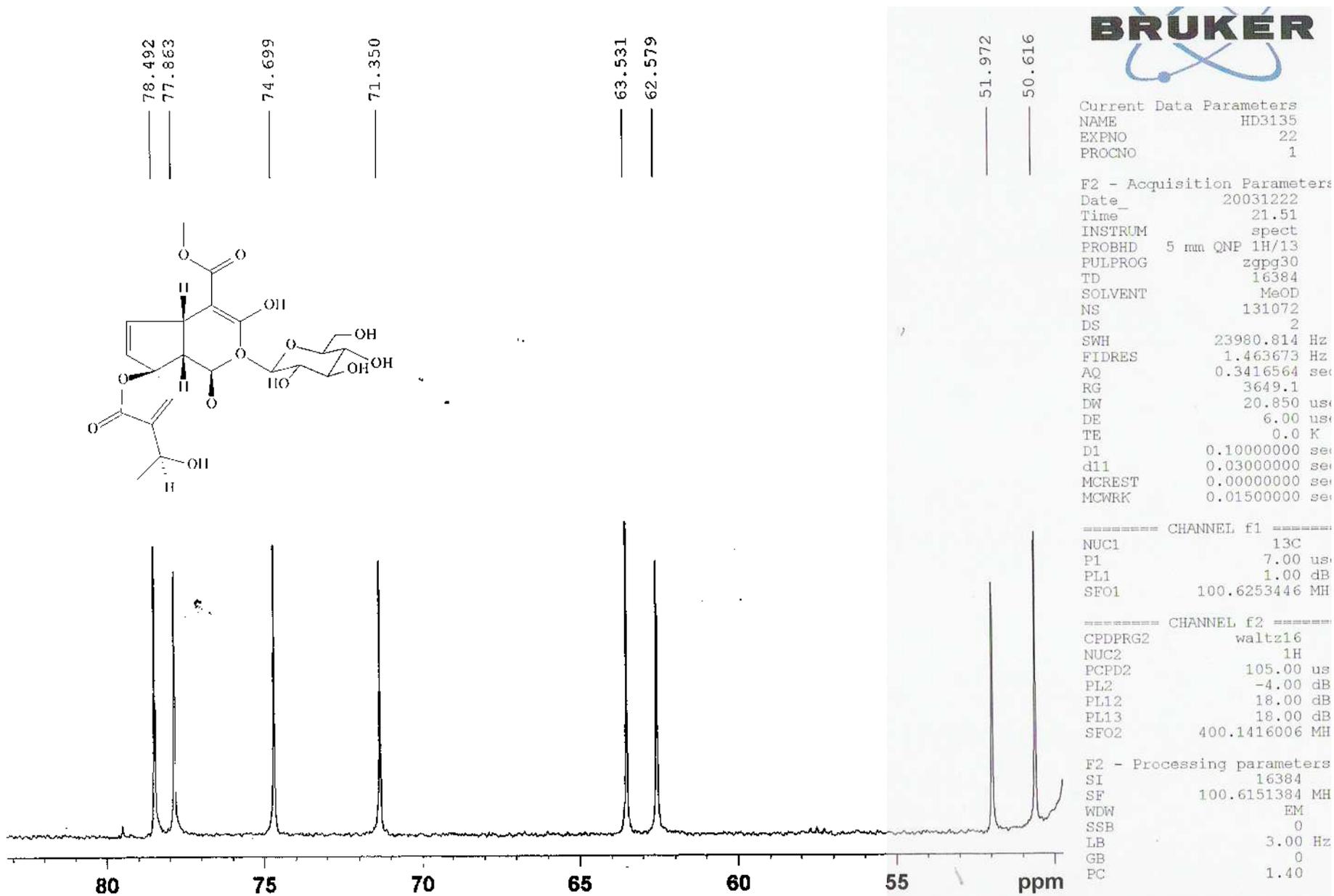
Espectro 5 – 1ª expansão do espectro de RMN¹H (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



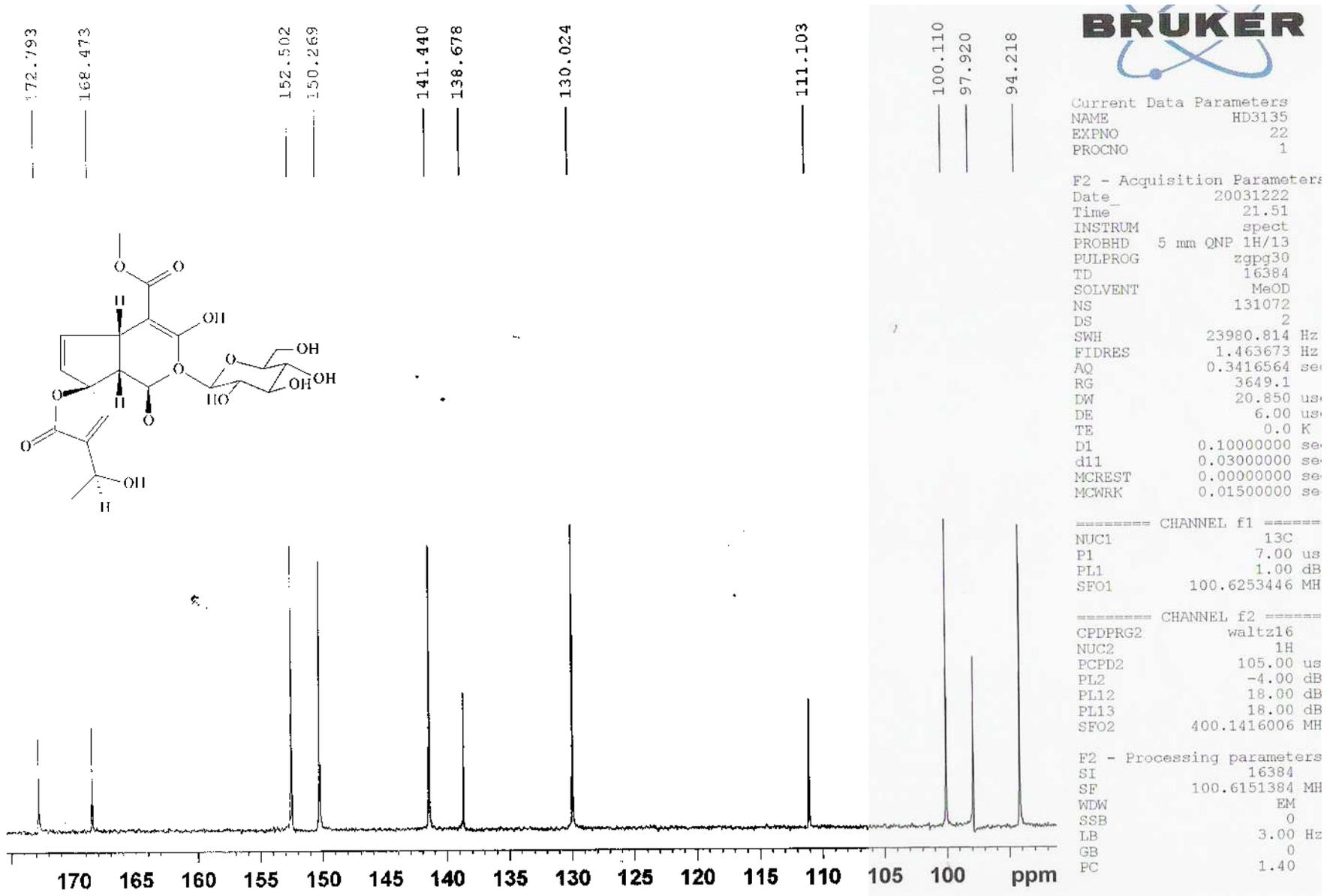
Espectro 6 – 2ª expansão do espectro de RMN¹H(MeOD, 400MHz) do plumierídeo(HDCA-1)



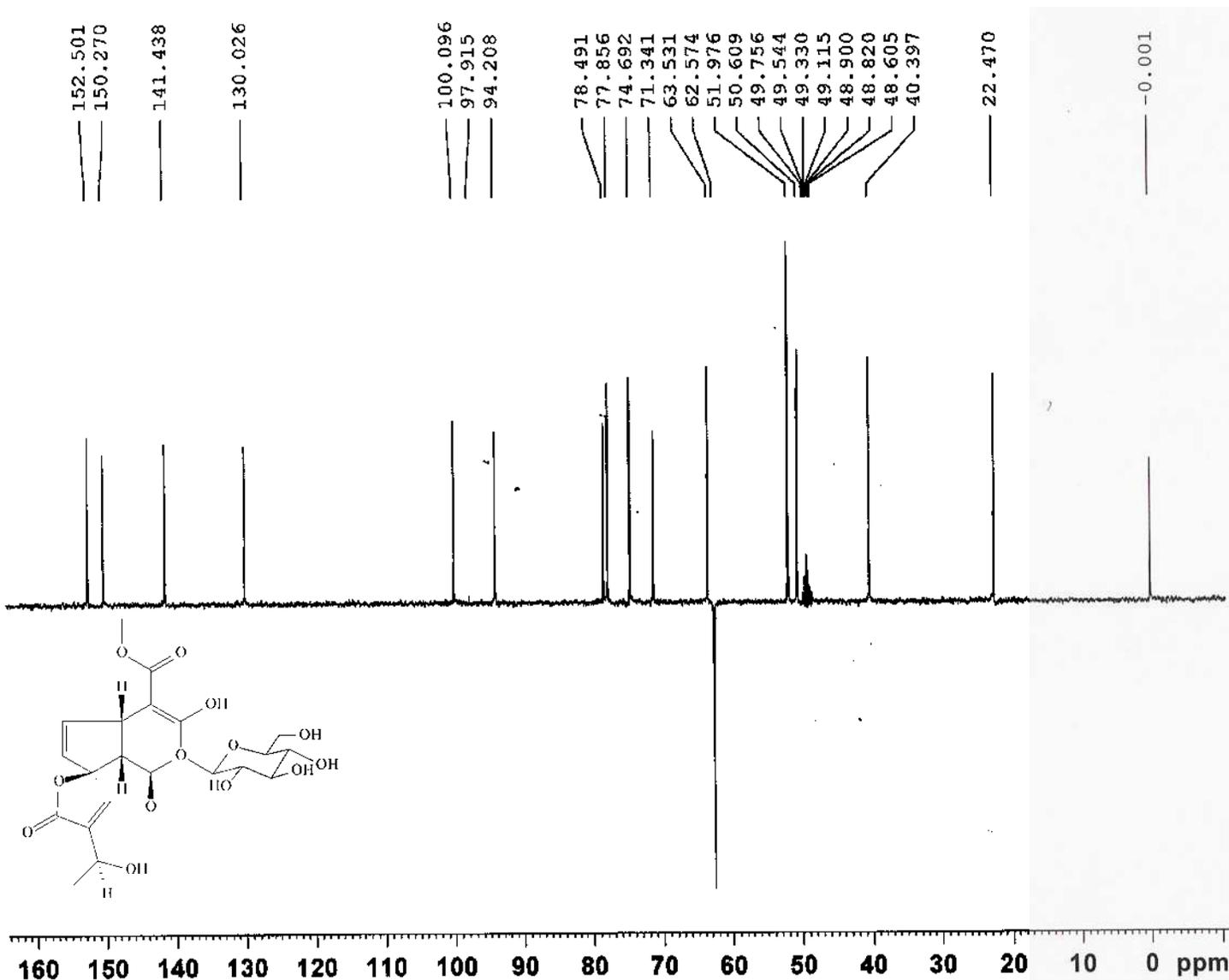
Espectro 7- Espectro de RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Espectro 8- 1ª expansão do espectro de RMN¹³C(MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Espectro 9- 2ª expansão do espectro de RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (HDCA-1)



Current Data Parameters
 NAME HD3135
 EXPNO 23
 PROCNO 1

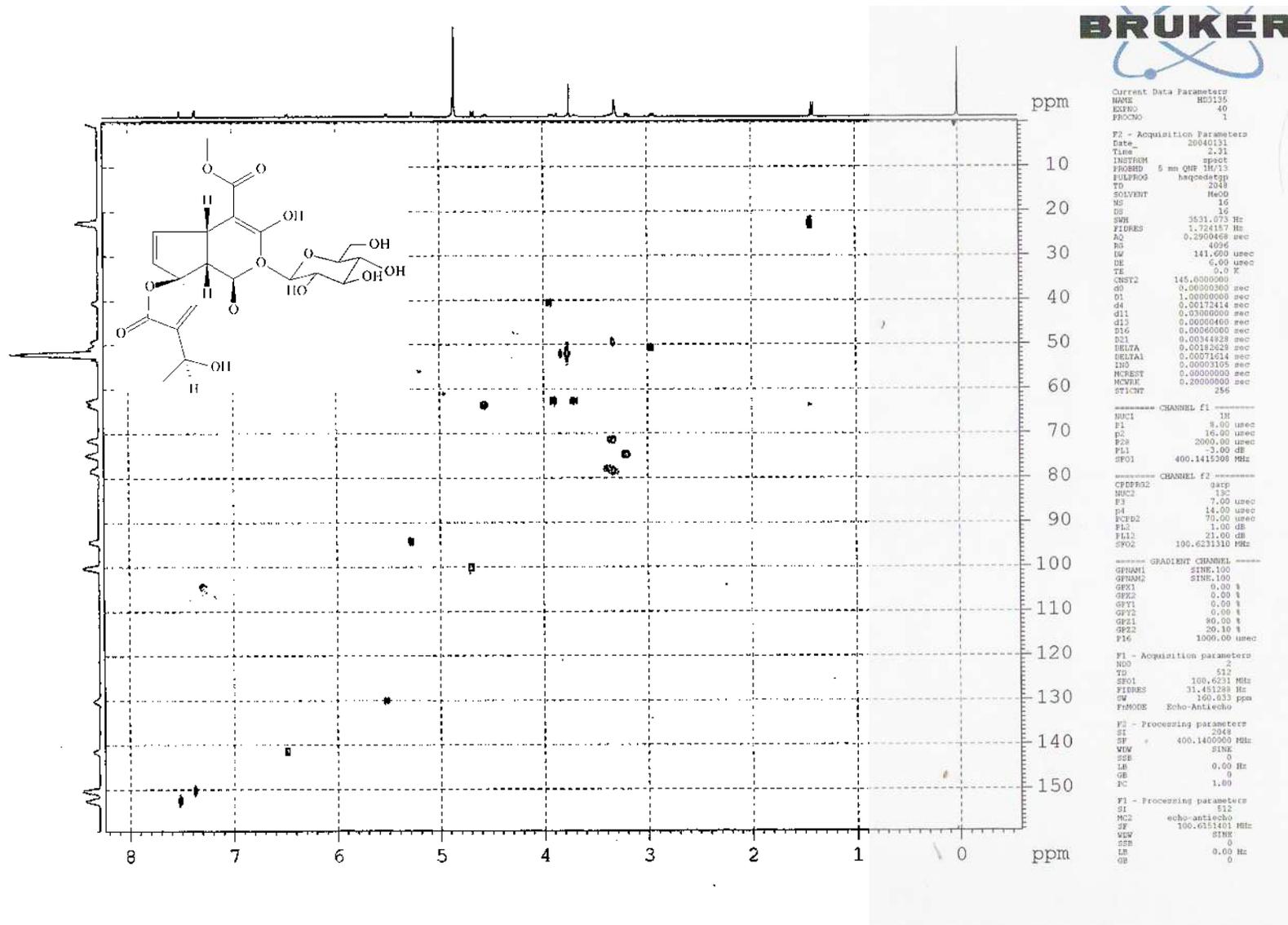
F2 - Acquisition Parameters
 Date 20031223
 Time 11.17
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT MeOD
 NS 14175
 DS 4
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 0.365918 Hz
 AQ 1.3664756 sec
 RG 16384
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 d2 0.00344828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

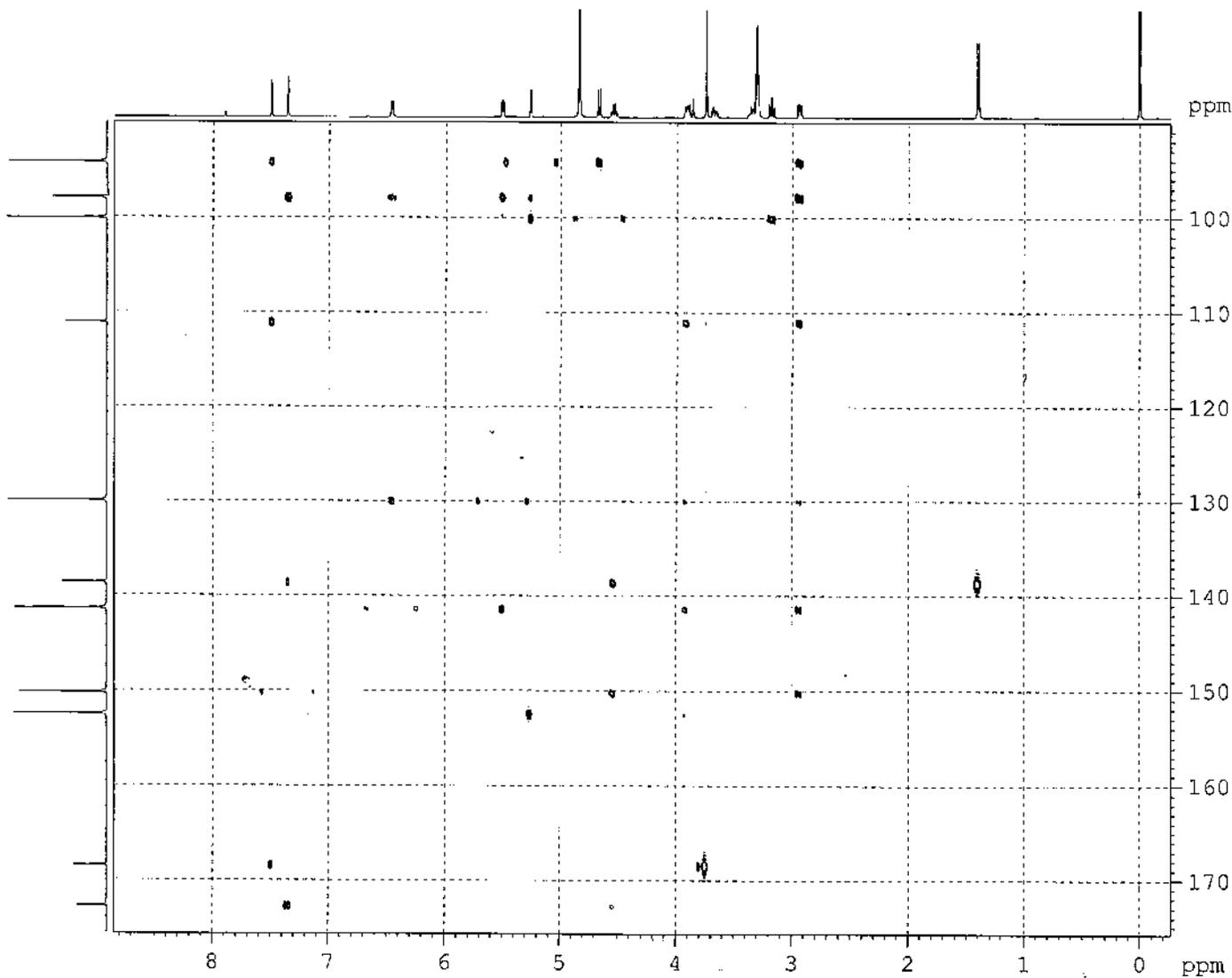
===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 P3 9.30 usec
 p4 18.60 usec
 PCPD2 105.00 usec
 PL2 -4.00 dB
 PL12 18.00 dB
 SFO2 400.1416006 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.6151384 MHz
 WDW EM

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



Espectro 11 – Espectro HSQC (MeOD, 400MHz) do plumierídeo (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 hbhcgpp.prdgkz
TD 2948
SOLVENT MeOD
NS 16
DS 26
SWH 4401.409 Hz
FIDRES 2.149125 Hz
AQ 0.2327826 sec
RG 3251
DW 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 400.1415408 MHz

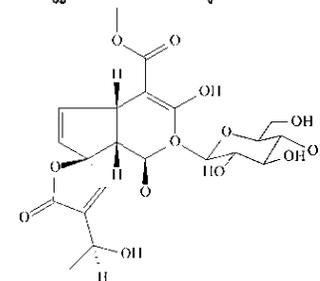
----- CHANNEL F2 -----
NUC2 13C
P3 7.00 usec
PL2 1.00 dB
SFO2 100.6251433 MHz

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPRM1 SINE 100
GPRM2 SINE 100
GPRM3 SINE 100
GPX1 0.00 %
GPX2 0.00 %
GPX3 0.00 %
GPY1 0.00 %
GPY2 0.00 %
GPY3 0.00 %
GPZ1 50.00 %
GPZ2 30.00 %
GPZ3 40.00 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ND0 2
TD 512
SFO1 100.6251 MHz
FIDRES 39.298290 Hz
SW 189.957 ppm
F0MODE 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
EXPNO 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 300.2 K
CNS23 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
IN0 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

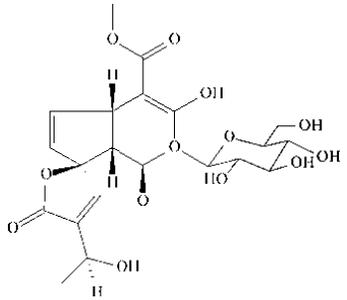
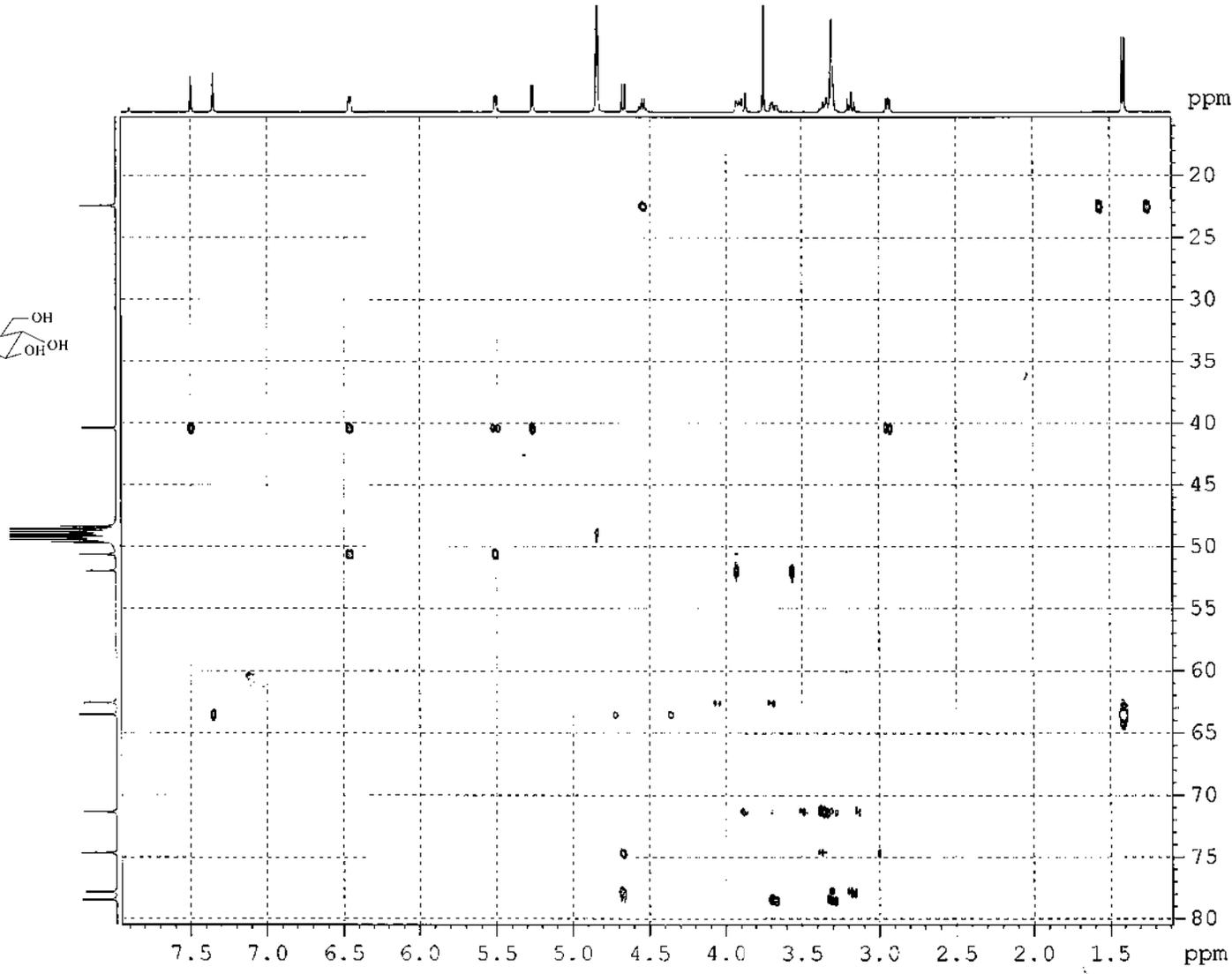
***** CHANNEL f2 *****
NUC2 13C
P3 7.00 usec
PL2 1.00 dB
SFO2 100.6251433 MHz

***** 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

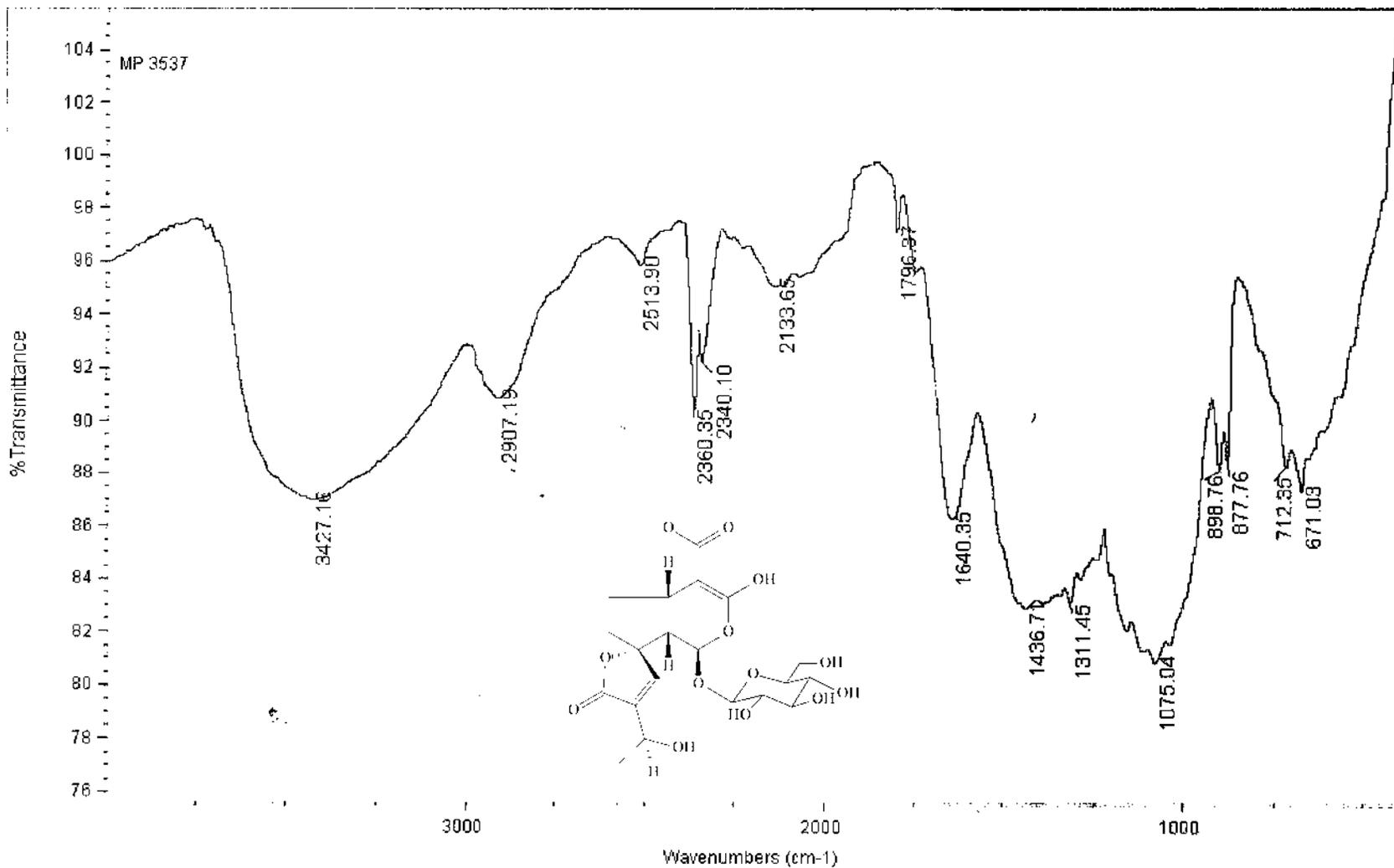
F1 - Acquisition parameters
ND0 2
TD 512
SFO1 100.6251 MHz
FIDRES 39.298290 Hz
SW 199.957 ppm
FMODE QF

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

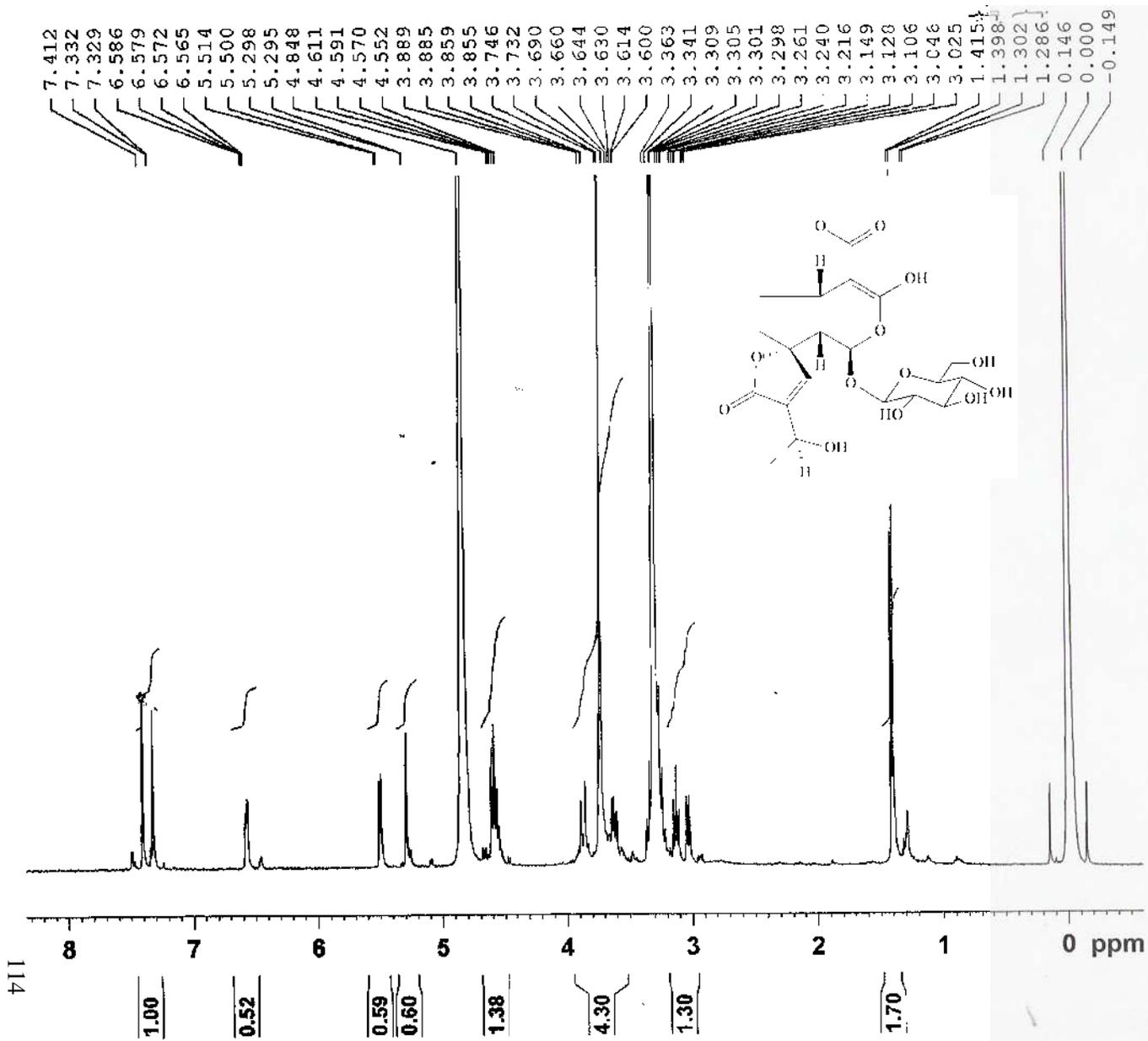
F1 - Processing parameters
SI 2048
SF 100.6151401 MHz
WCM SINE
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0



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



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



BRUKER

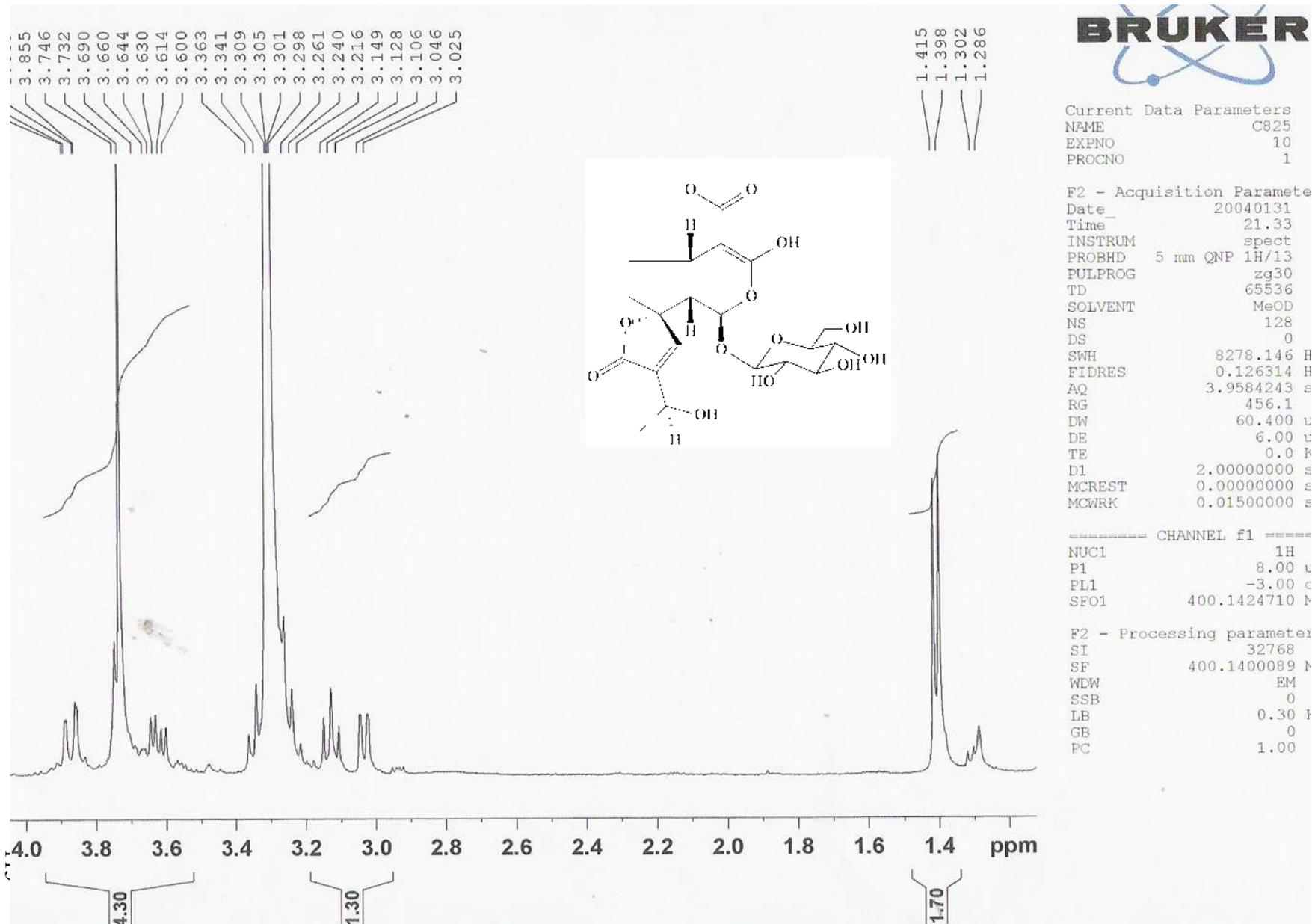
Current Data Parameters
 NAME C825
 EXPNO 10
 PROCNO 1

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

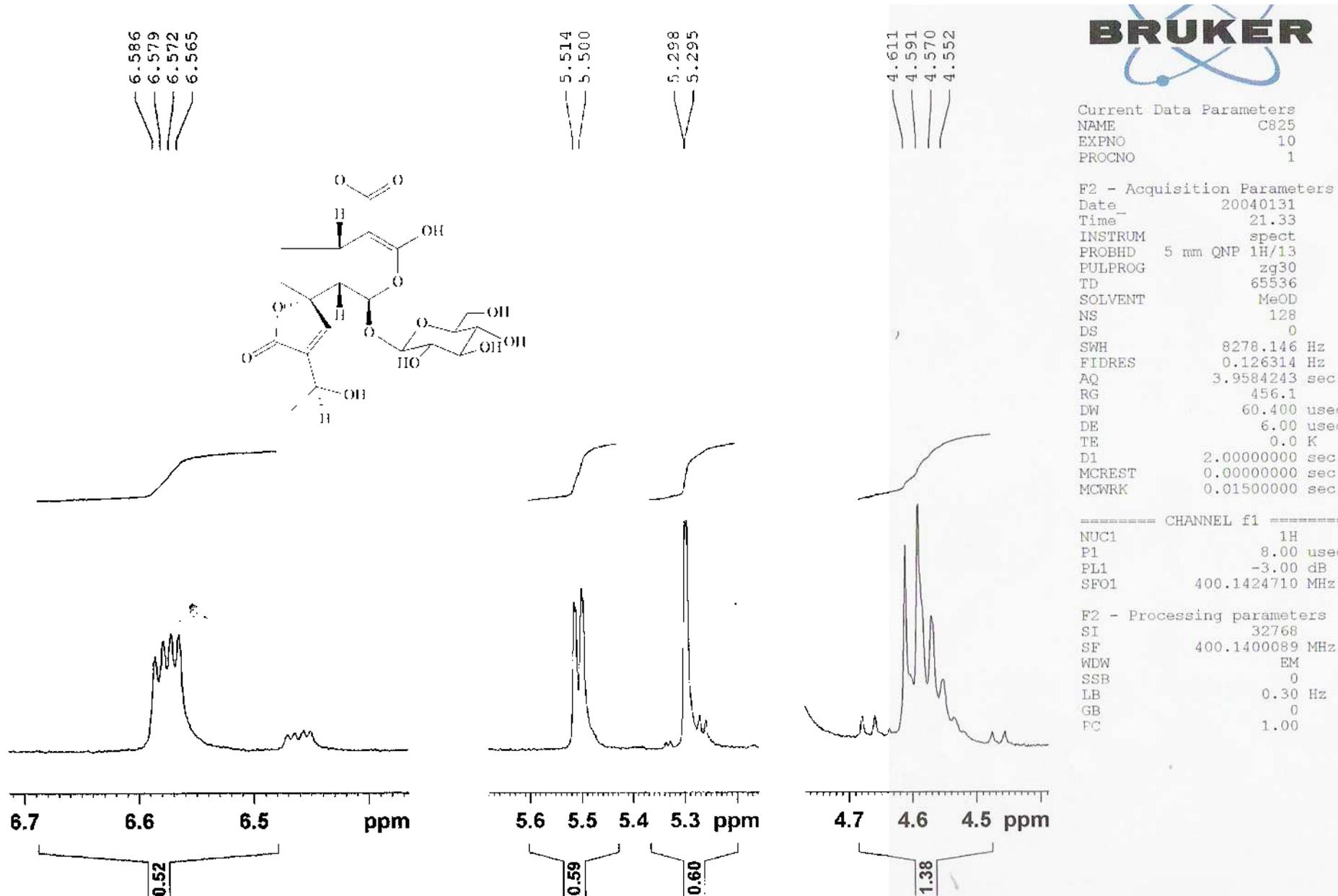
===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 8.00 usec
 PL1 -3.00 dB
 SFO1 400.1424710 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.1400089 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

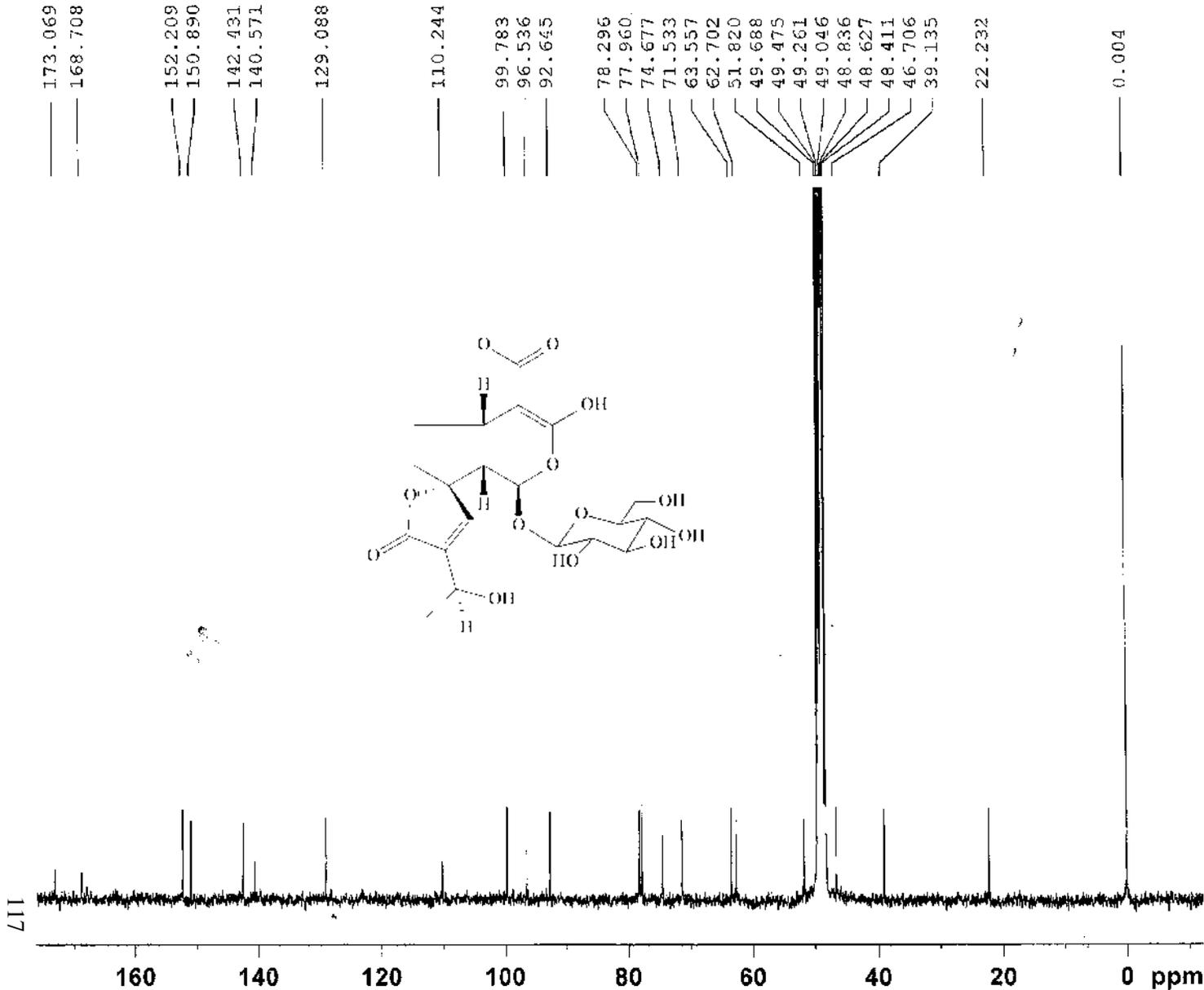
Espectro 17 – Espectro de RMN¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 18 – 1ª Expansão do espectro de RMN¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 19 – 2ª Expansão do espectro de RMN¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Current Data Parameters
NAME KP3537
EXFNO 20
PROCNO 1

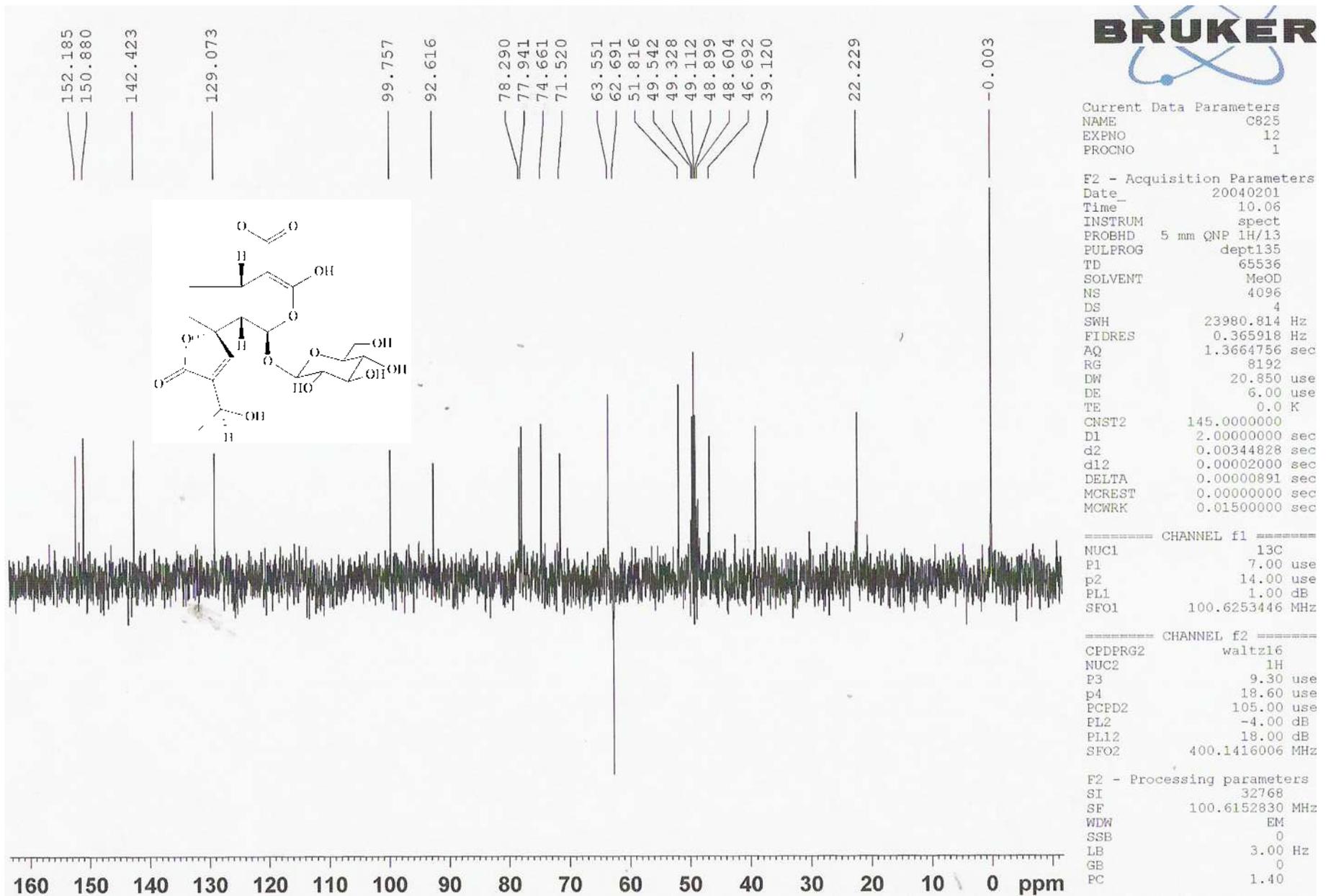
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20040202
Time 15.09
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 16384
SOLVENT MeOD
NS 65536
DS 2
SWE 23980.814 Hz
FIDRES 1.463673 Hz
AQ 0.3416564 sec
RG 3649.1
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 0.0 K
DL 0.1000000 sec
d11 0.0300000 sec
MCRBST 0.0000000 sec
MCWRK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

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

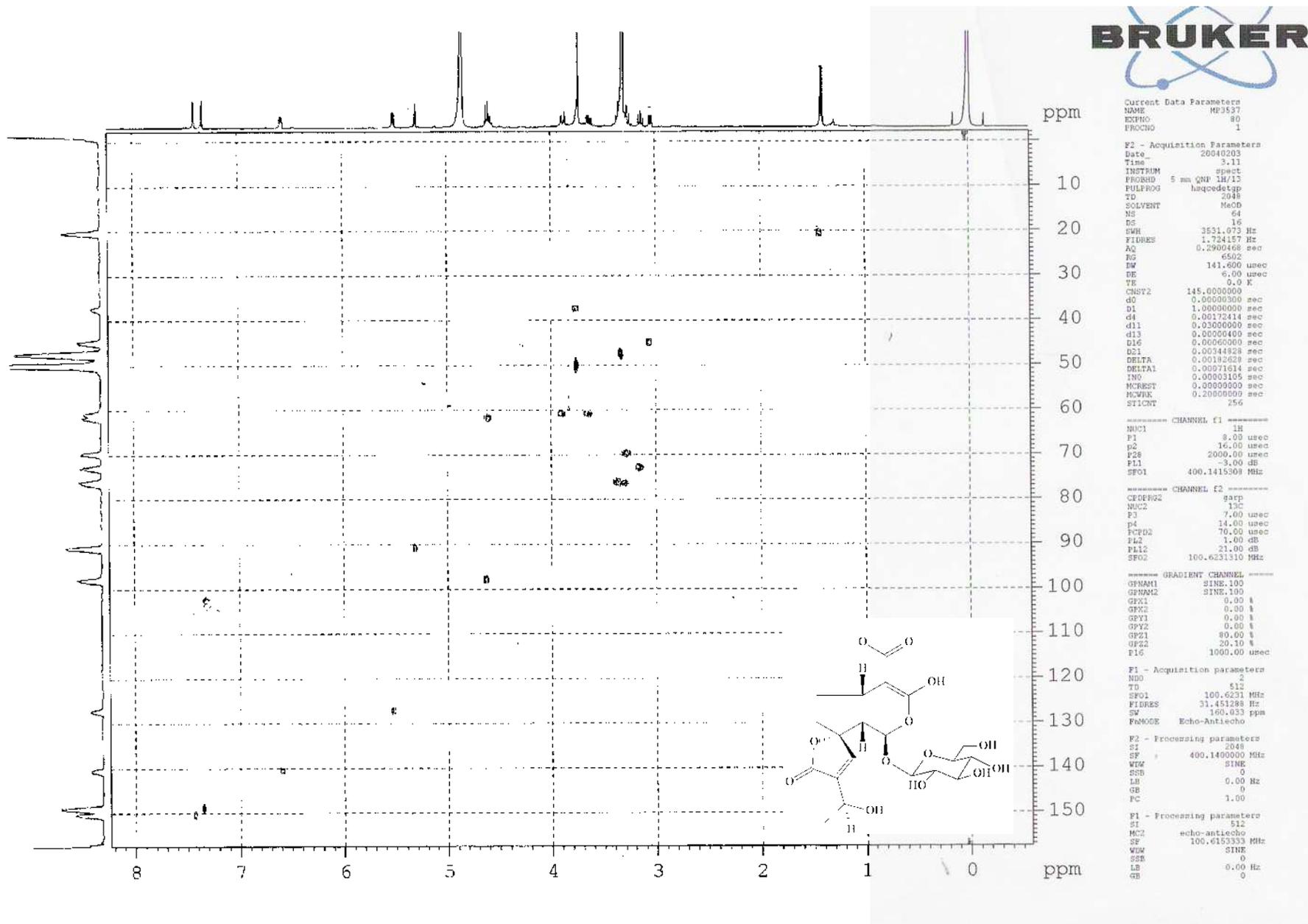
==== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 105.00 usec
PL2 -4.00 dB
PL12 18.00 dB
PL13 18.00 dB
SFO2 400.1416006 MHz

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

Espectro 20 – Espectro de RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Spectro 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

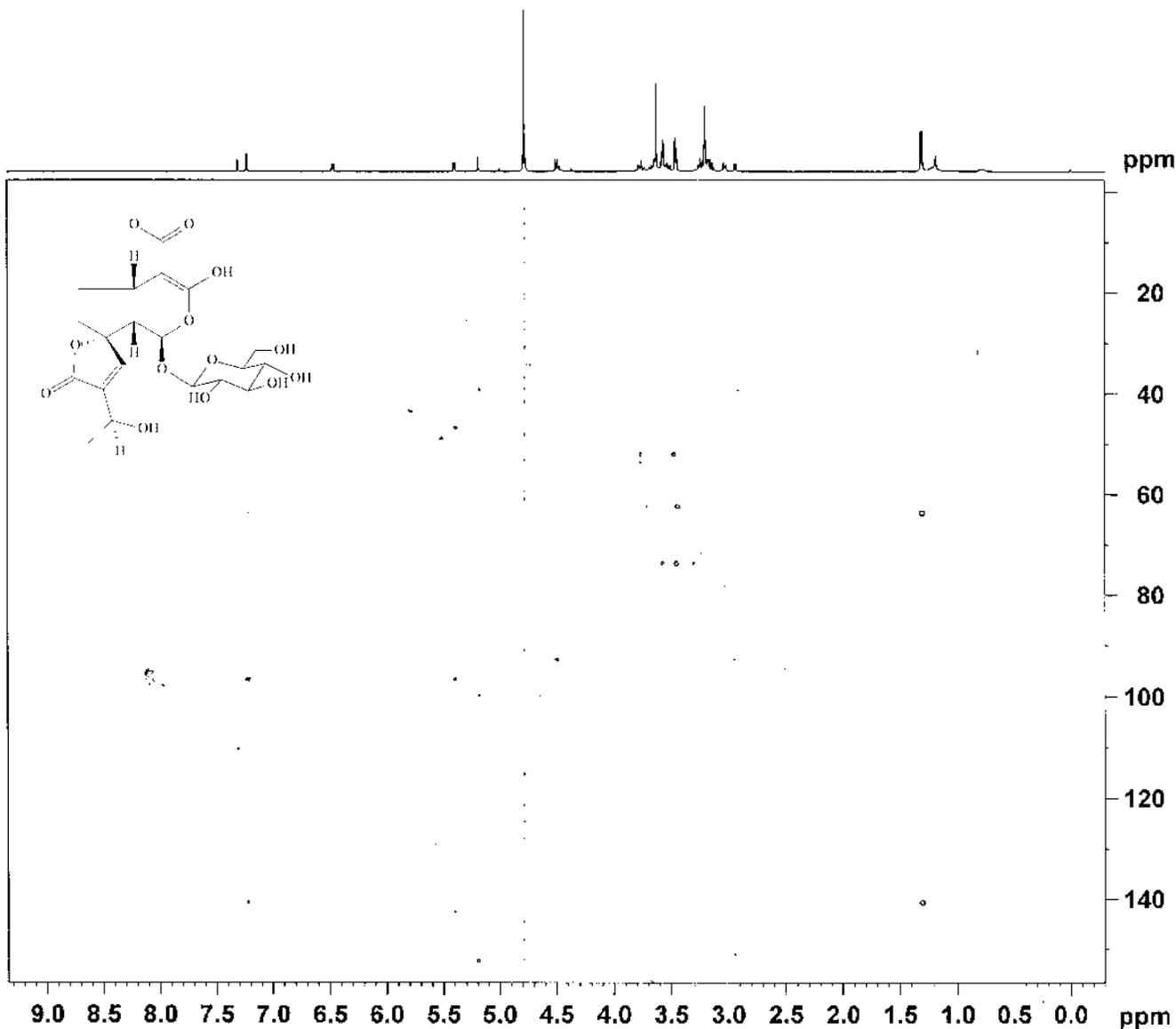
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20050701
Time_ 14.48
INSTRUM spect
PROBHD 2.5 mm DUL 13C
PULPROG hmbzdprqf
TD 4096
SOLVENT MeOD
NS 128
DS 16
SWH 750.1307 Hz
FIDRES 1.832888 Hz
AQ 0.2729102 sec
RG 2048
EW 56.600 usec
LE 6.00 usec
TE 294.2 K
CKST13 8.0000000
dc 0.0000000 sec
d1 1.5000000 sec
d6 0.06250000 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

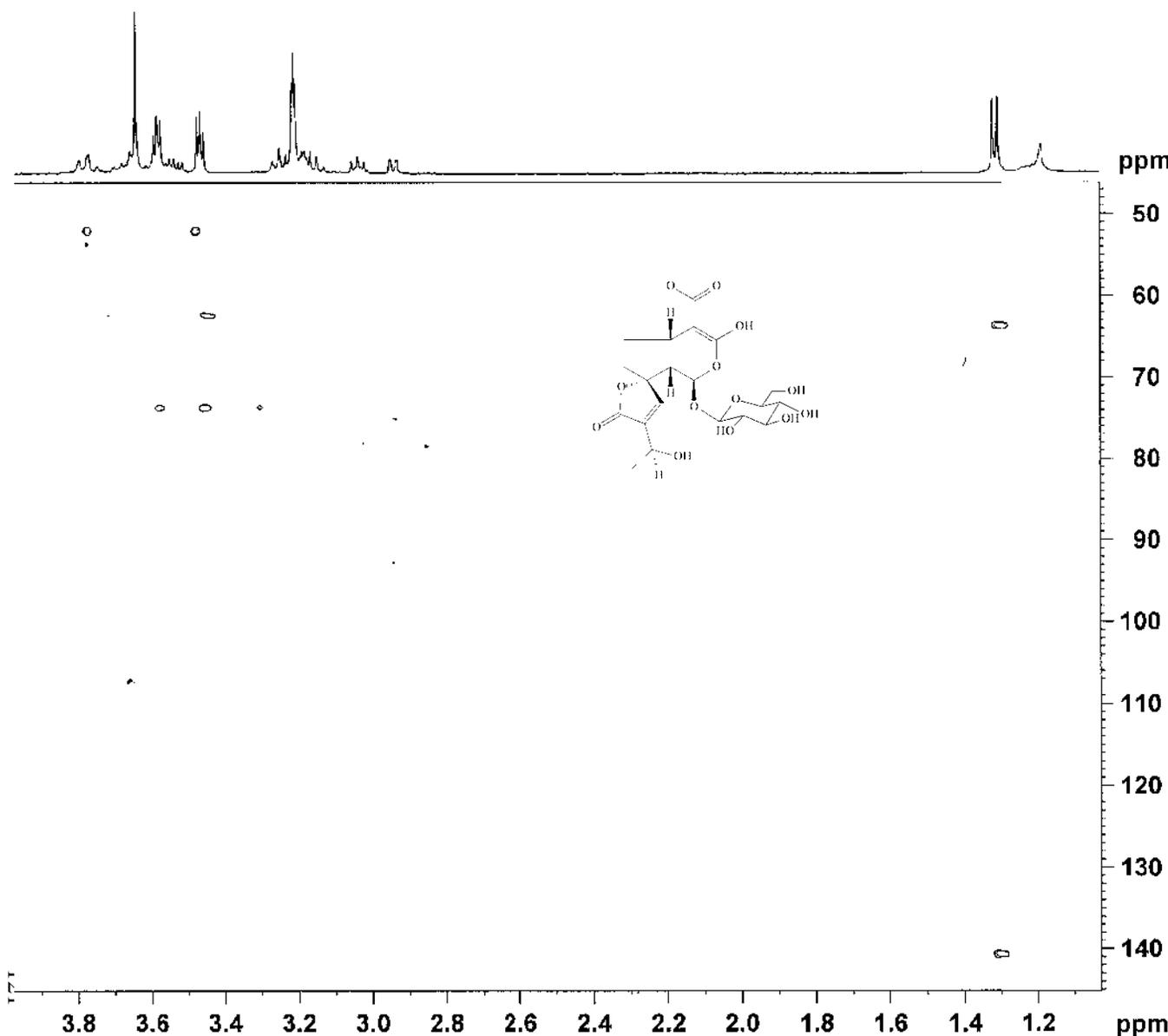
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 1H
P1 9.00 usec
P2 18.00 usec
PL1 3.00 dB
PL2 57.89 dB
SFO1 500.1324006 MHz

----- 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

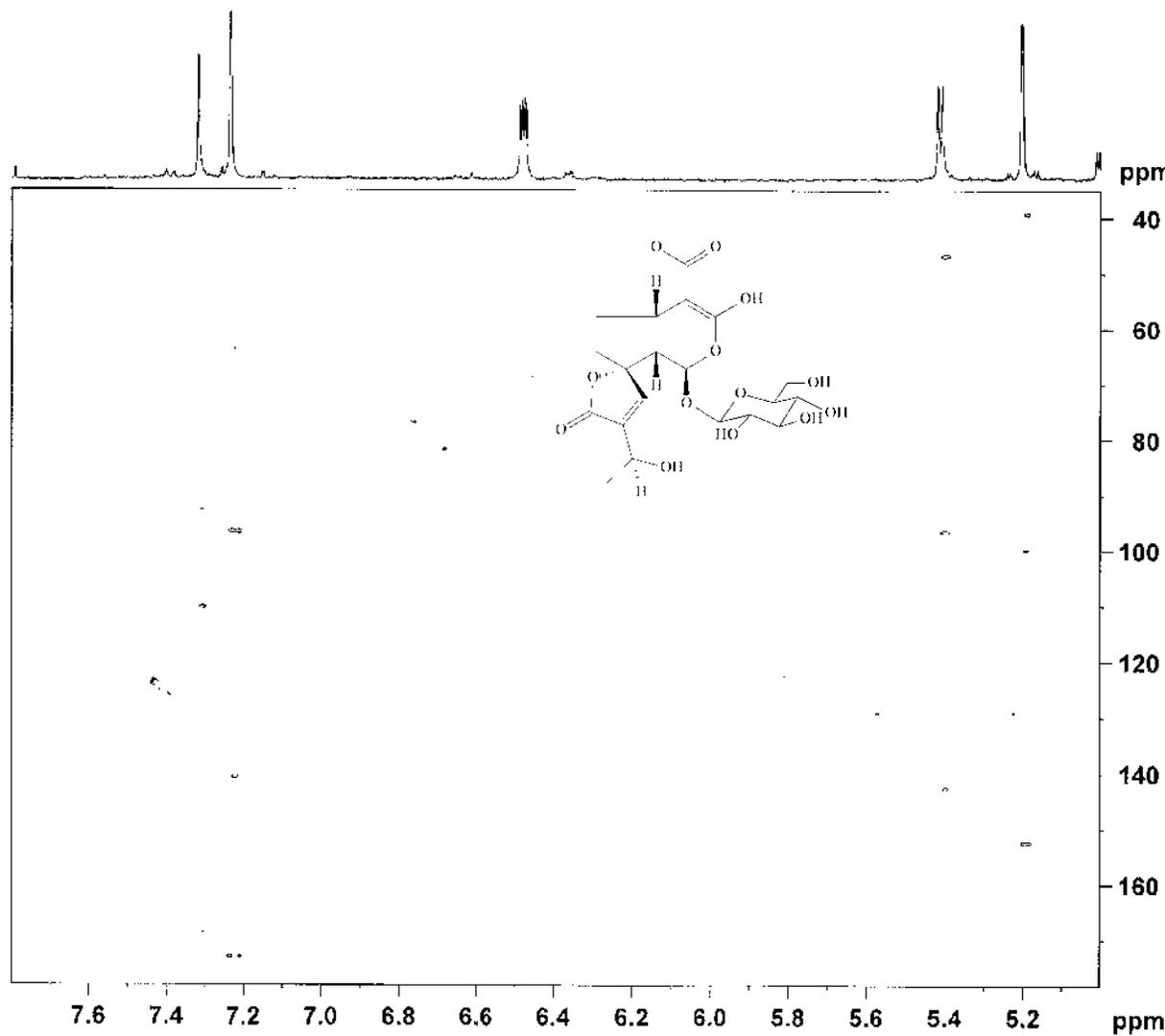
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 9.00 usec
p2 18.00 usec
PL1 3.00 dB
PL2 57.89 dB
SFO1 500.1324006 MHz

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

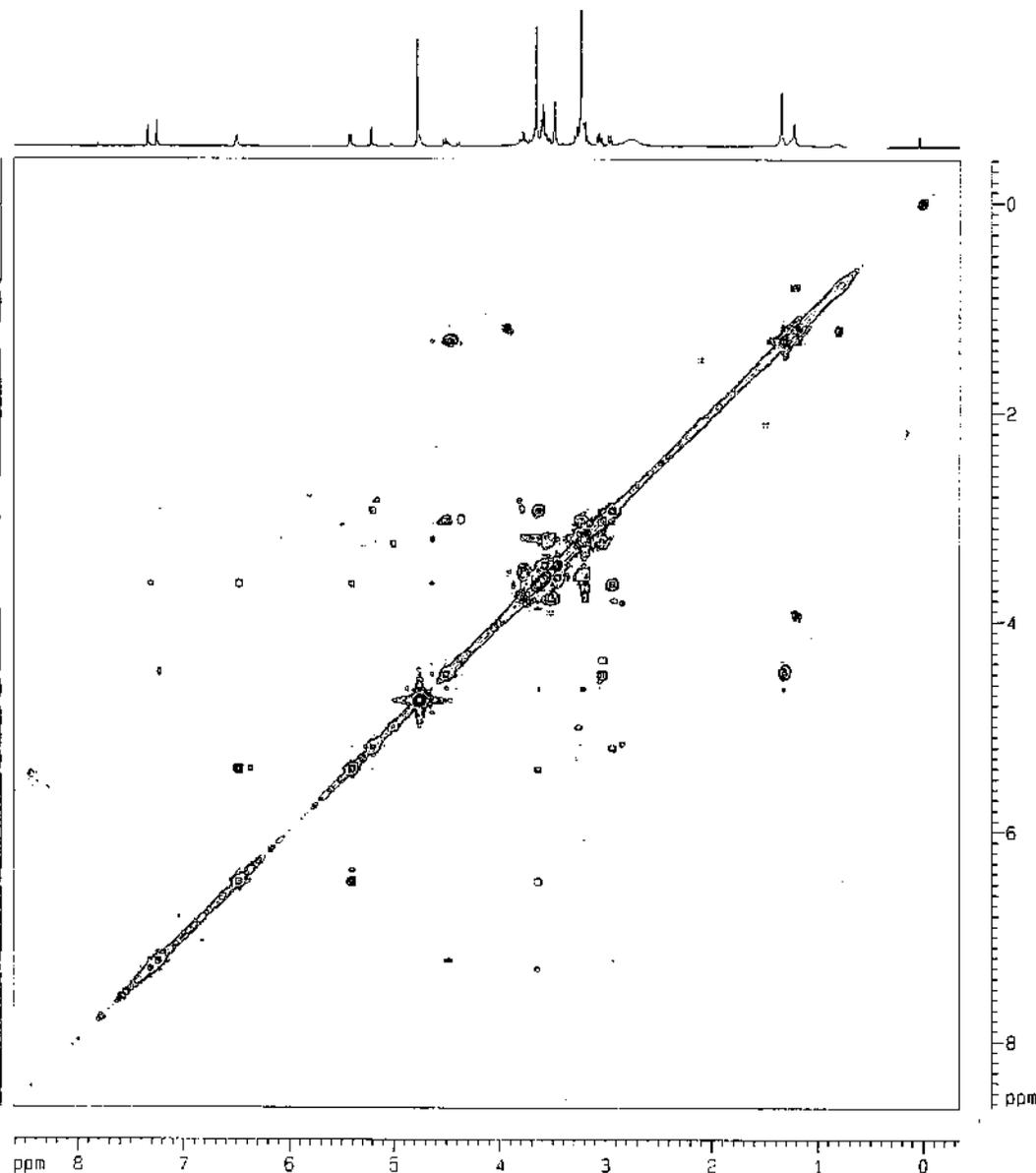
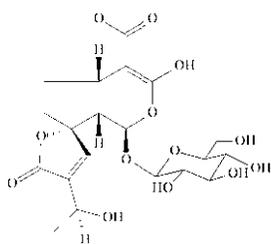
F1 - Acquisition parameters
NUC 2
TD 512
SFO1 125.7703 MHz
FIDRES 54.556564 Hz
SW 222.095 ppm
FnMODE QF

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: p01250710
 EXPNO: 11
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20050707
 Time: 15:43
 INSTRUM: spect
 PROBRD: 5 mm QNP 1H/1
 PULPROG: zgpg30
 TD: 65536
 SOLVENT: H2O
 NS: 64
 DS: 4
 SWH: 5200.333 Hz
 FIDRES: 2.543132 Hz
 AQ: 0.1966580 sec
 RG: 600
 DW: 96.000 usec
 DE: 6.00 usec
 TE: 0.0 K
 SR: 0.0000000 sec
 SI: 2.0000000 sec
 SFO1: 0.0300000 sec
 SFO2: 0.0002000 sec
 SFO3: 0.0000400 sec
 SFO4: 0.00015224 sec
 SFO5: 0.0000000 sec
 SFO6: 0.0000000 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

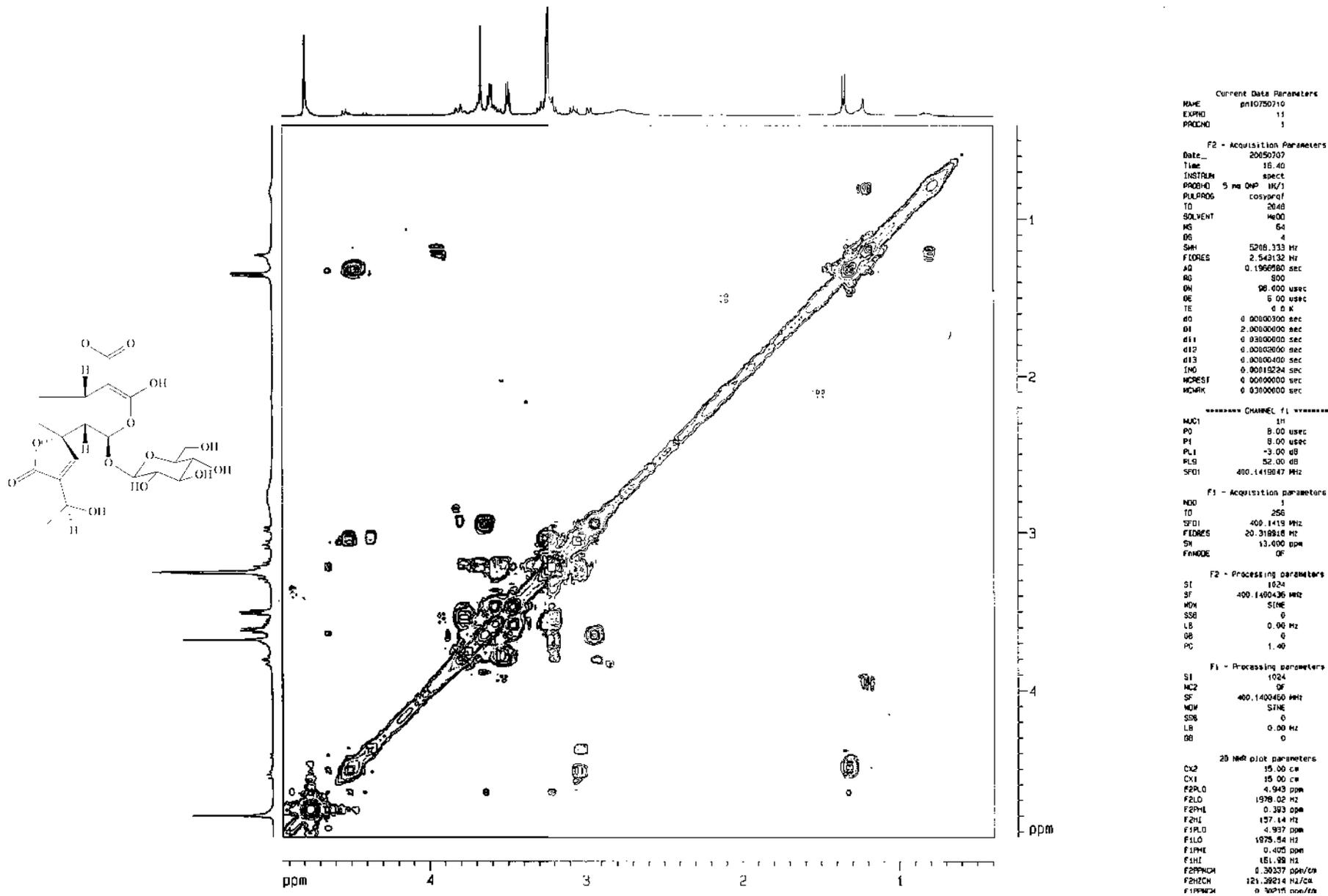
F1 - Acquisition parameters
 MD: 1
 TD: 256
 SFO1: 400.1418 MHz
 FIDRES: 20.318818 Hz
 SA: 13.000 ppm
 FWHM: 0 Hz

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

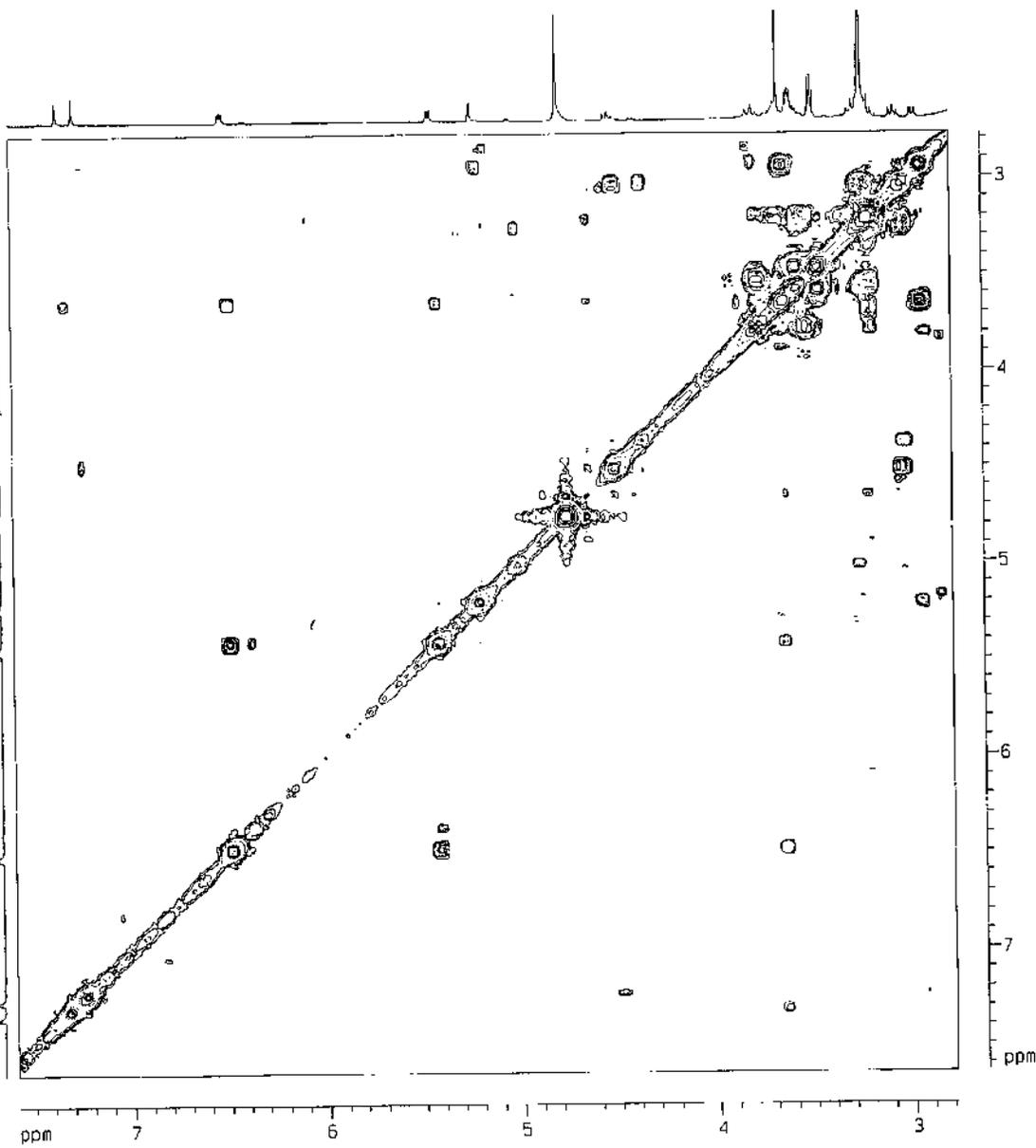
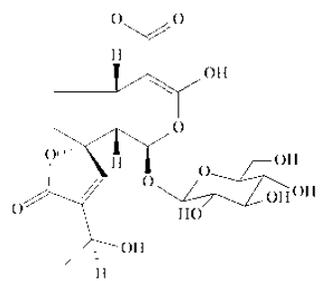
F1 - Processing parameters
 SI: 1024
 SF: 0 Hz
 MH: SINE
 SSB: 0
 LB: 0.00 Hz
 GB: 0

2D NMR plot parameters
 CR2: 15.00 cm
 CR1: 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
 F2PH5: 0.55743 ppm/cm
 F2PH6: 239.05437 Hz/cm
 F2PH7: 0.60346 ppm/cm
 F2PH8: 0.46276 Hz/cm

Espectro 26 – Espectro COSY¹Hx¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 27 – 1ª expansão do espectro COSY¹Hx¹H (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
MERCHEST  0.0000000 sec
MERMK     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

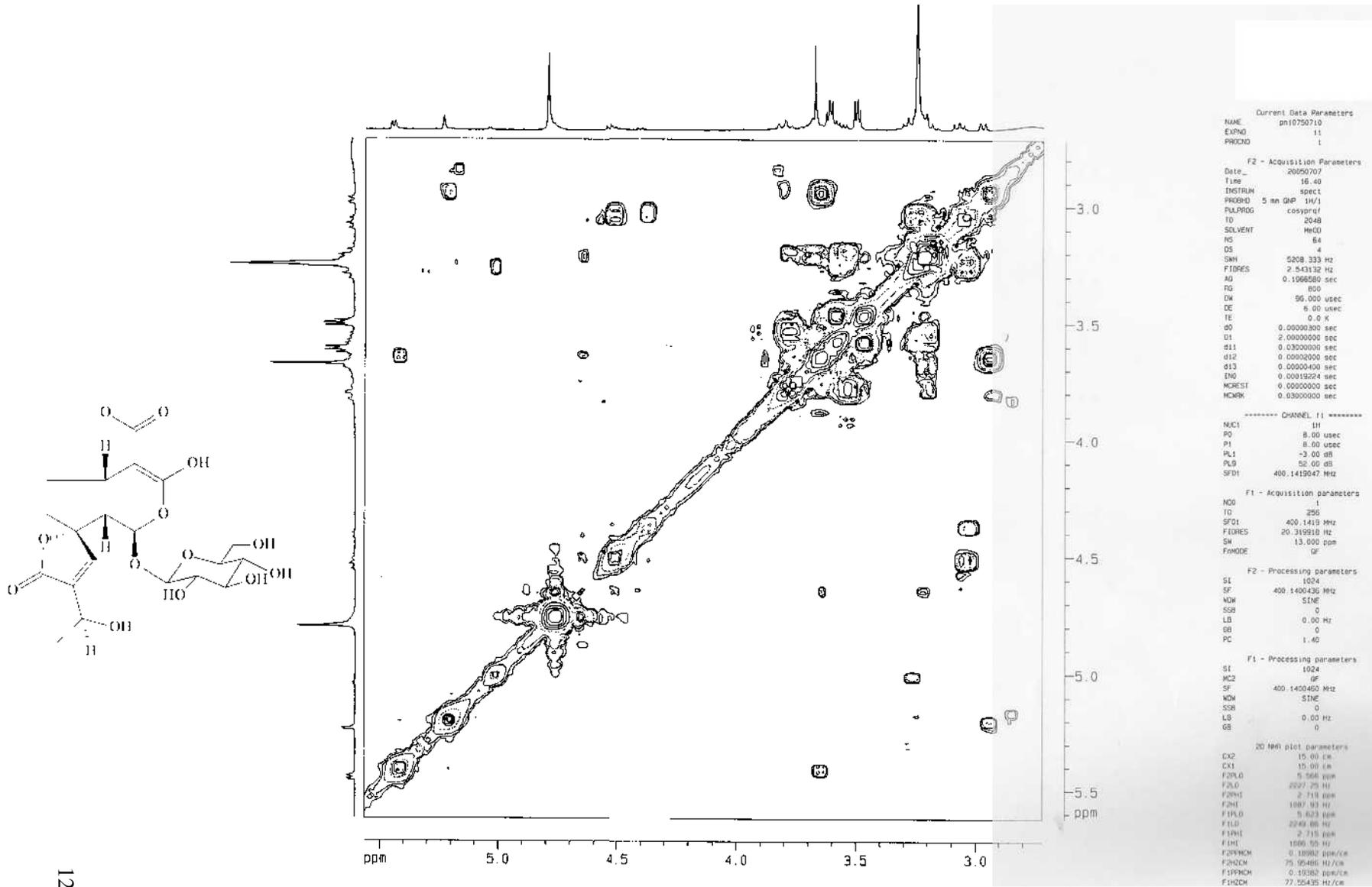
F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         400.1400436 MHz
WDW        SINC
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.40

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

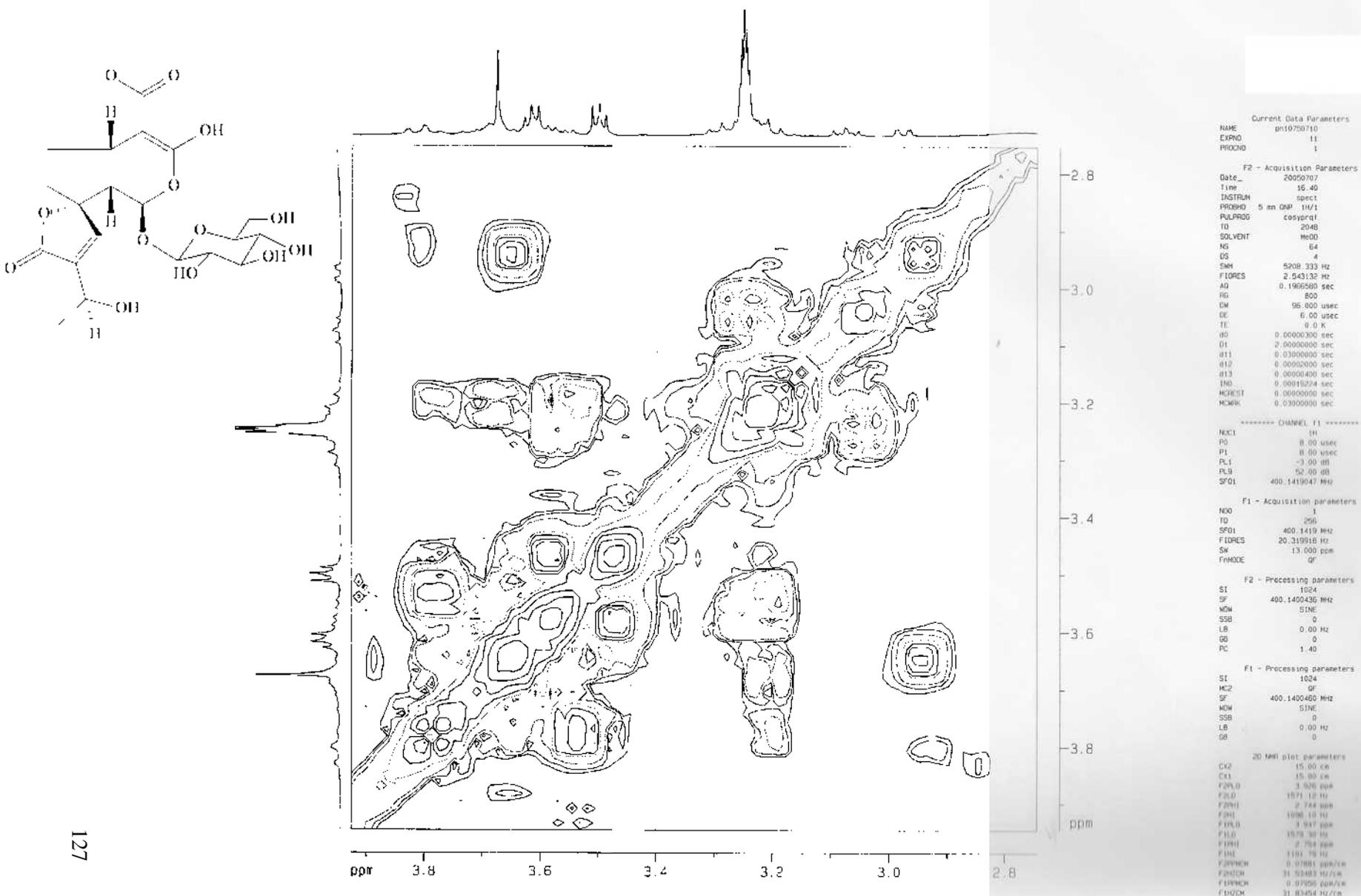
2D NMR plot parameters
CX2        15.00 cm
CX1         9.00 cm
F2PLD      7.584 ppm
F2L0       3038.78 Hz
F2PH1     2.739 ppm
F2H1       1116.17 Hz
F2L0L     7.646 ppm
F2L1L     3060.11 Hz
F2PH1L    2.773 ppm
F2H1L     1109.40 Hz
F2PHCH    0.32032 ppm/cm
F2H2CH    120.17384 Hz/cm
F2PHCH    0.32500 ppm/cm
F2H2CH    130.04749 Hz/cm

```

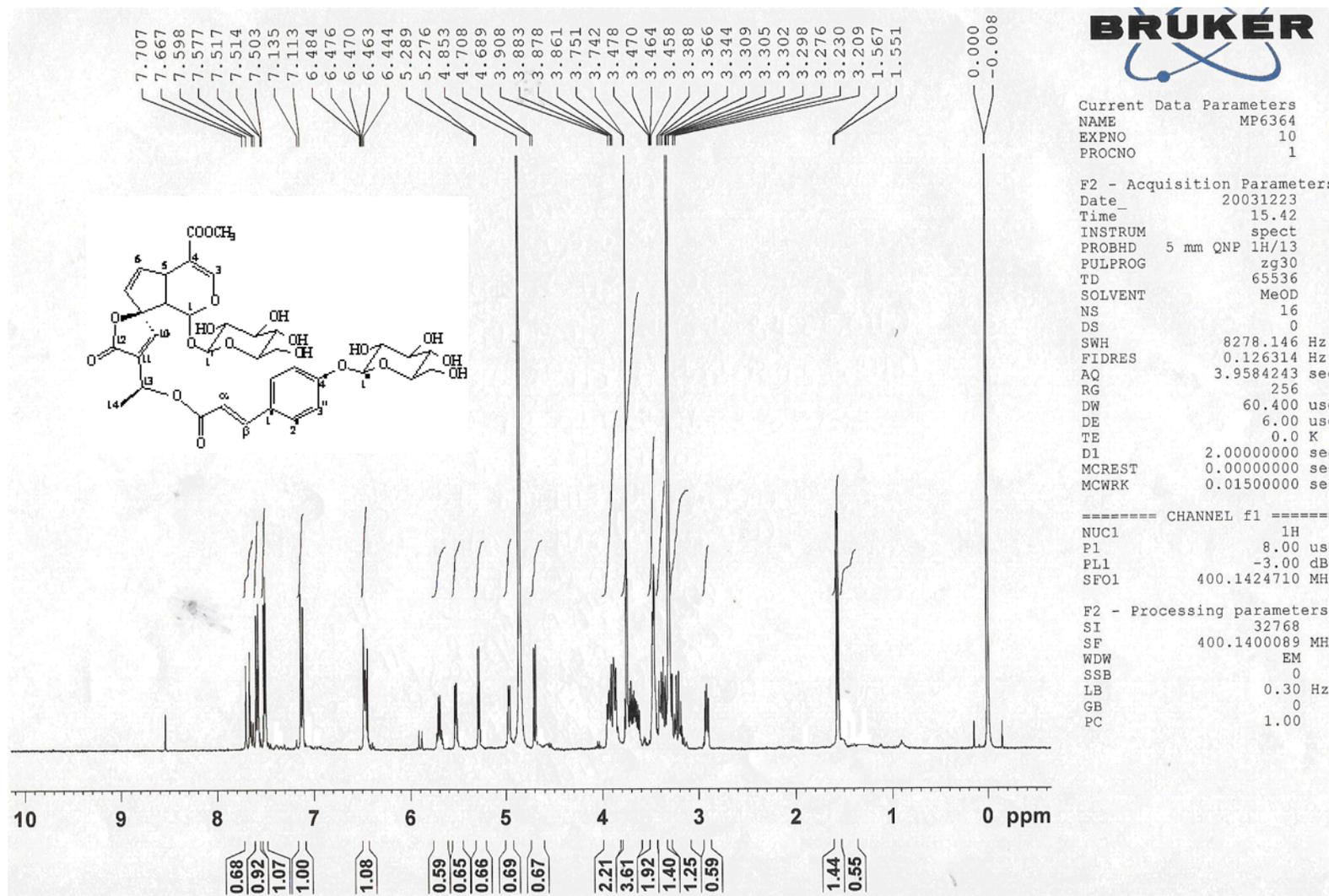
Espectro 28 – 2ª expansão do espectro COSY¹Hx¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



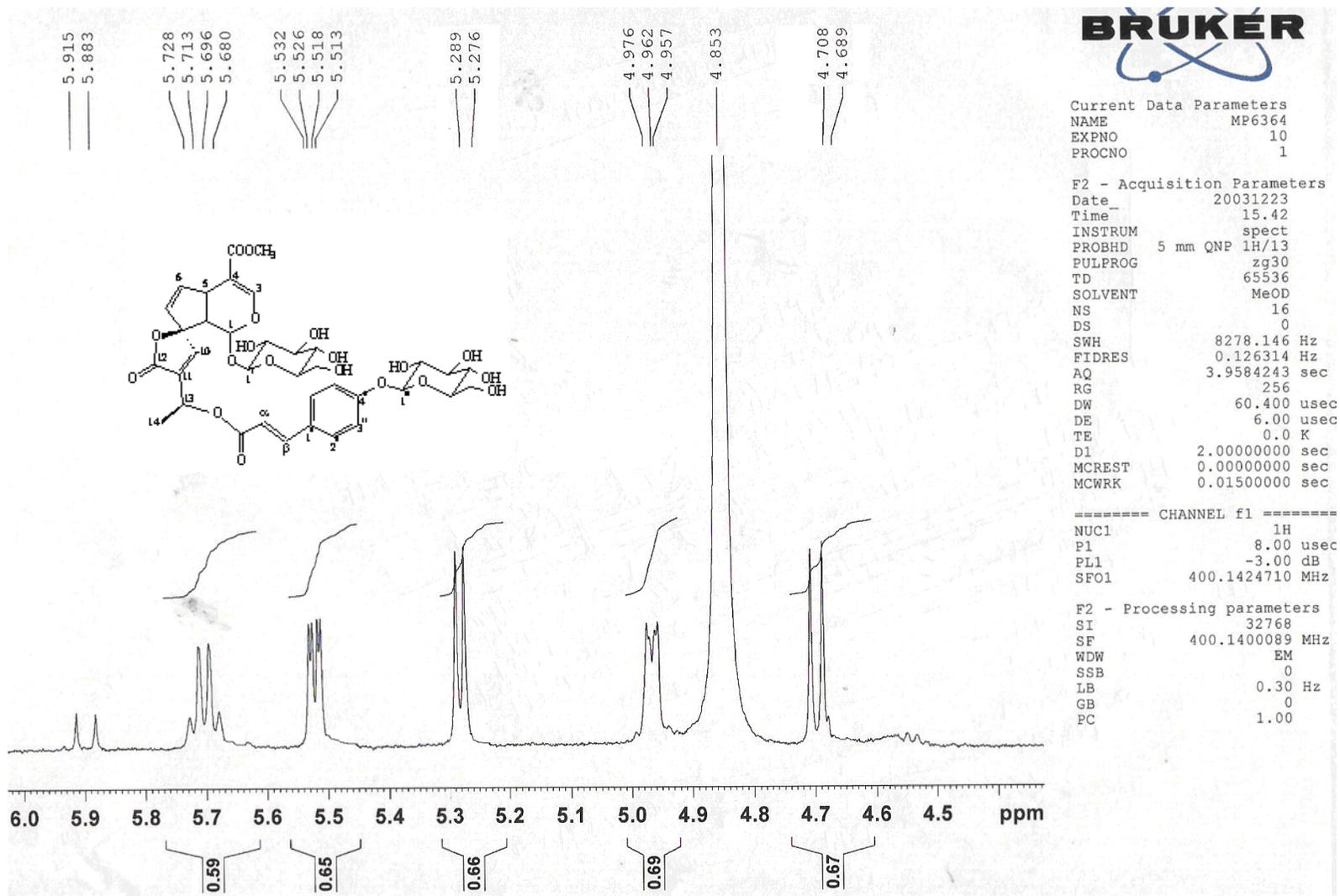
Espectro 29 – 3ª expansão do espectro COSY¹Hx¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



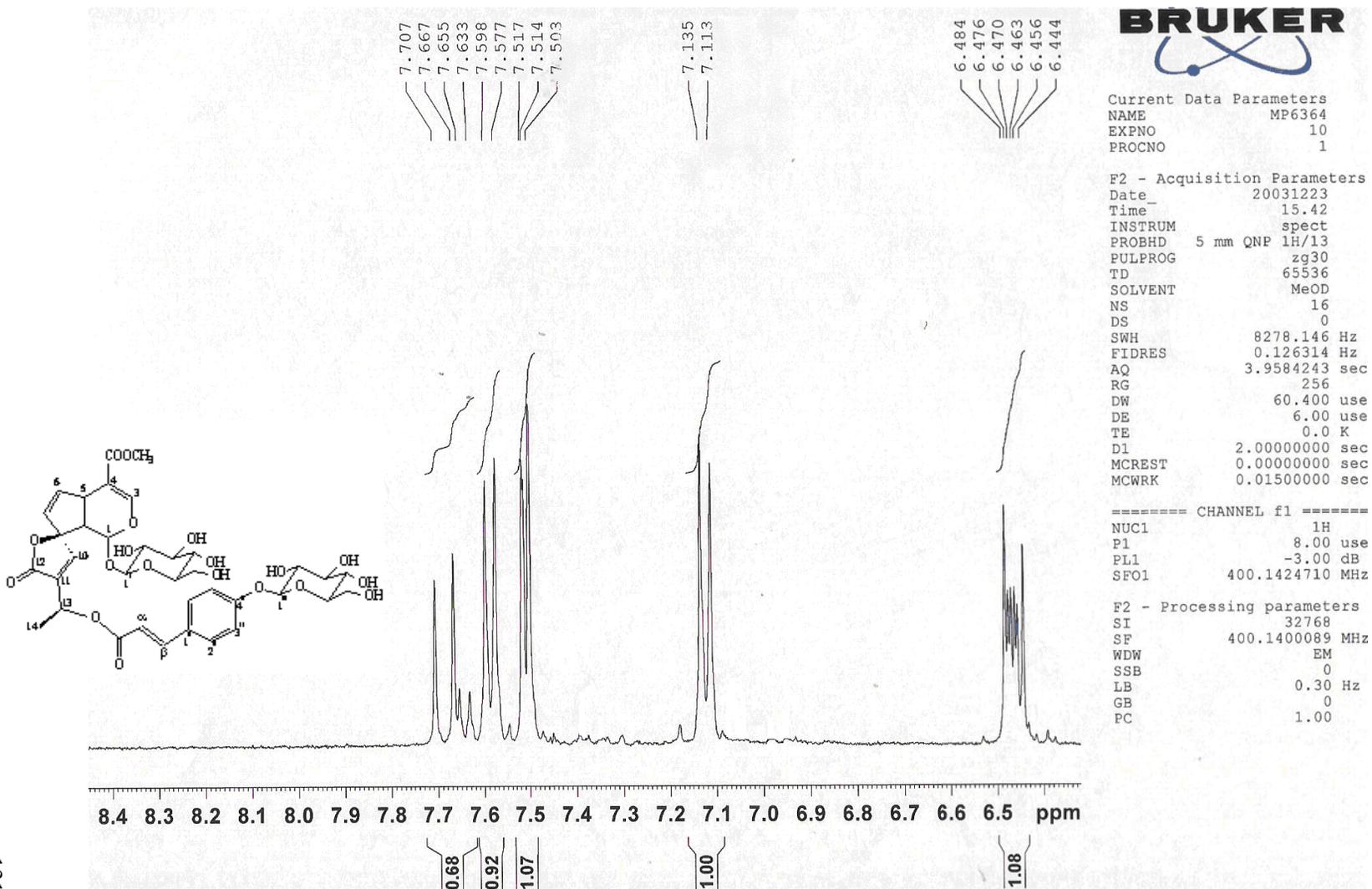
Espectro 30 – 4ª expansão do espectro COSY¹Hx¹H (MeOD, 400MHz) do isoplumierídeo (HDCA-2)



Espectro 31 – Espectro RMN¹H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)

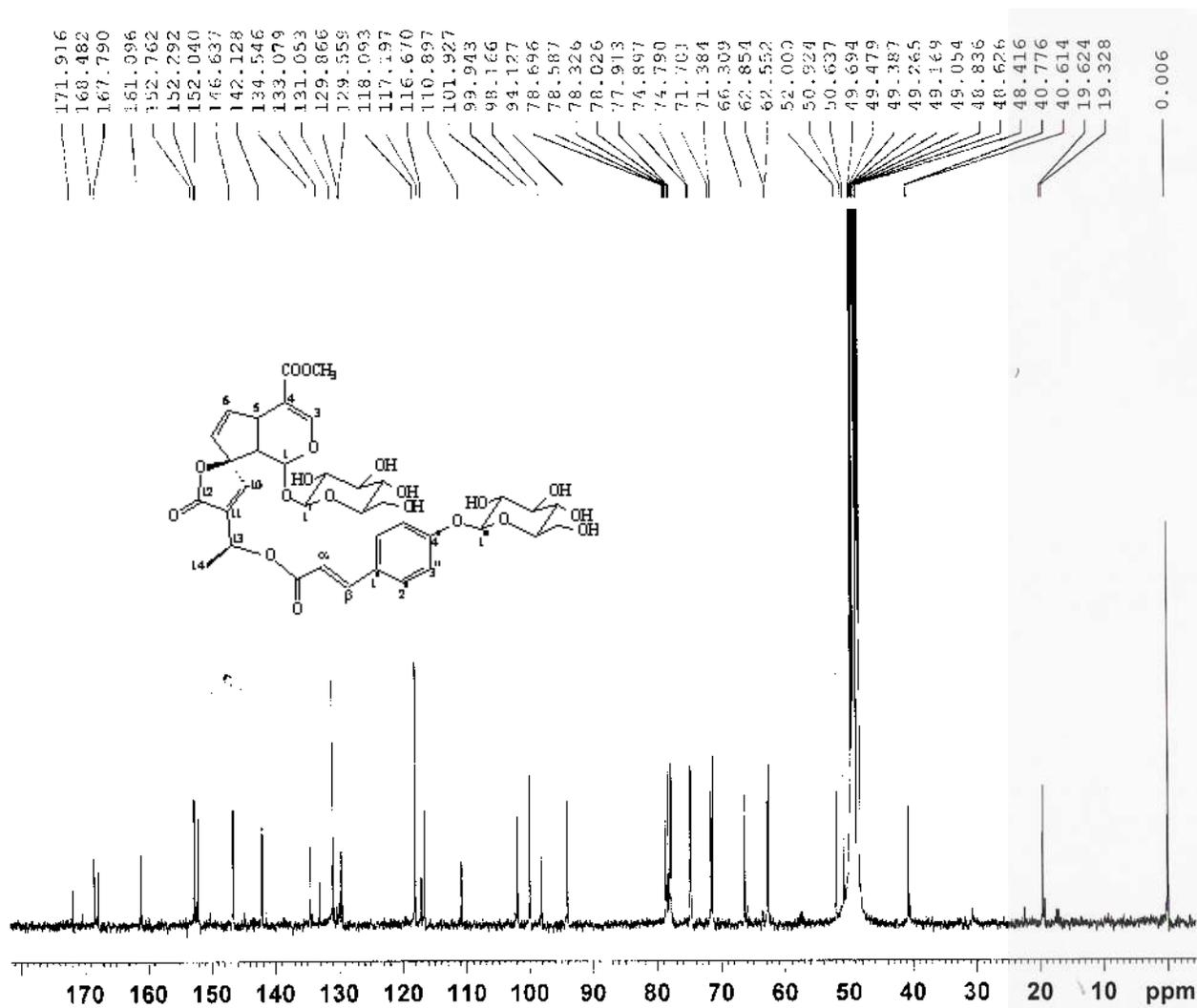


Espectro 33 – 2ª Expansão do espectro RMN¹H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



131

Espectro 34 – 3ª Expansão do espectro RMN¹H (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



BRUKER

Current Data Parameters
 NAME MP6364
 EXPNO 12
 PROCNO 1

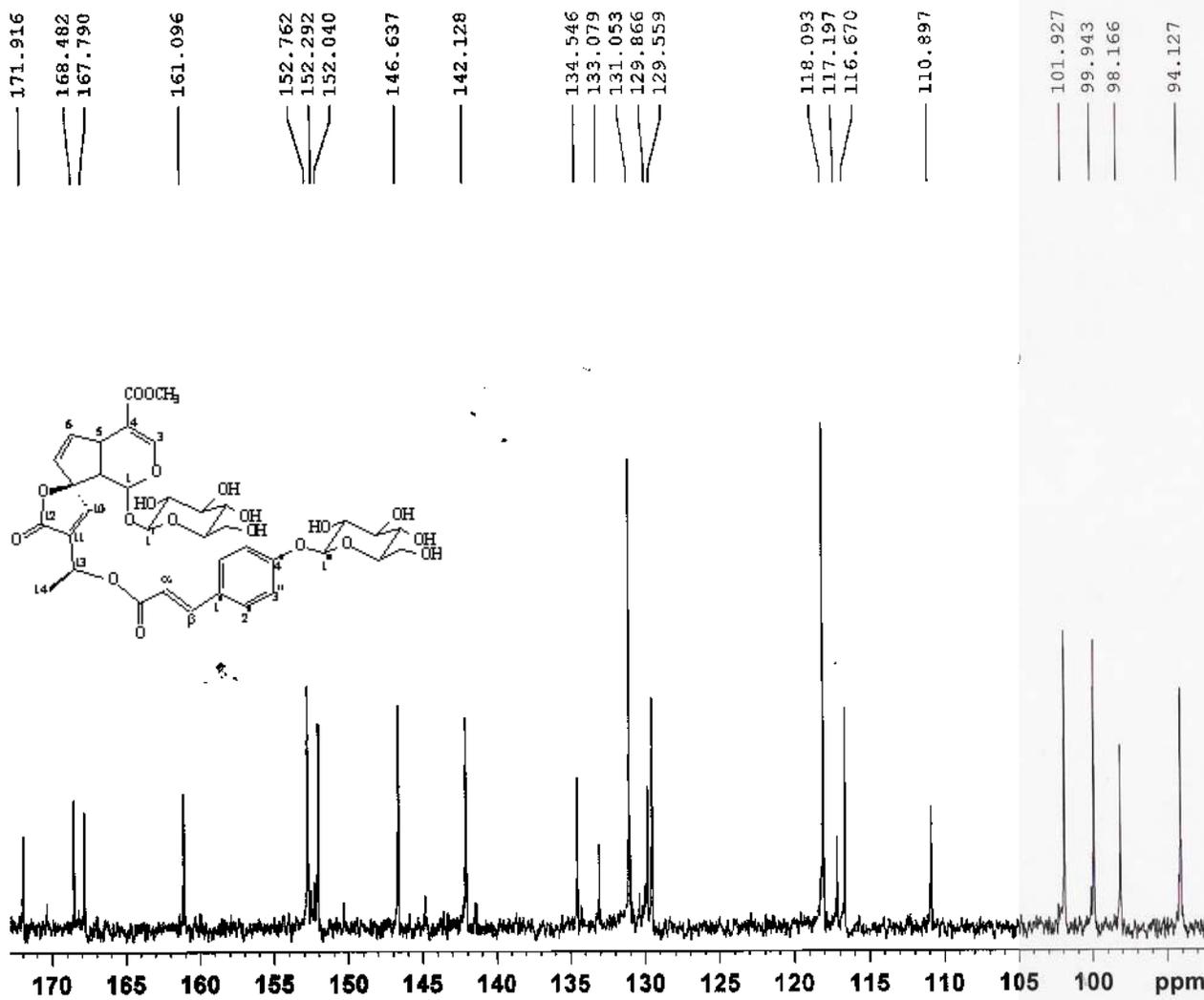
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20031224
 Time_ 9.15
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 16384
 SOLVENT MeOD
 NS 131072
 DS 2
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 1.463673 Hz
 AQ 0.3416564 sec
 RG 3649.1
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 0.10000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 MCREST 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 RMN¹³C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



BRUKER

Current Data Parameters
 NAME MP6364
 EXPNO 12
 PROCNO 1

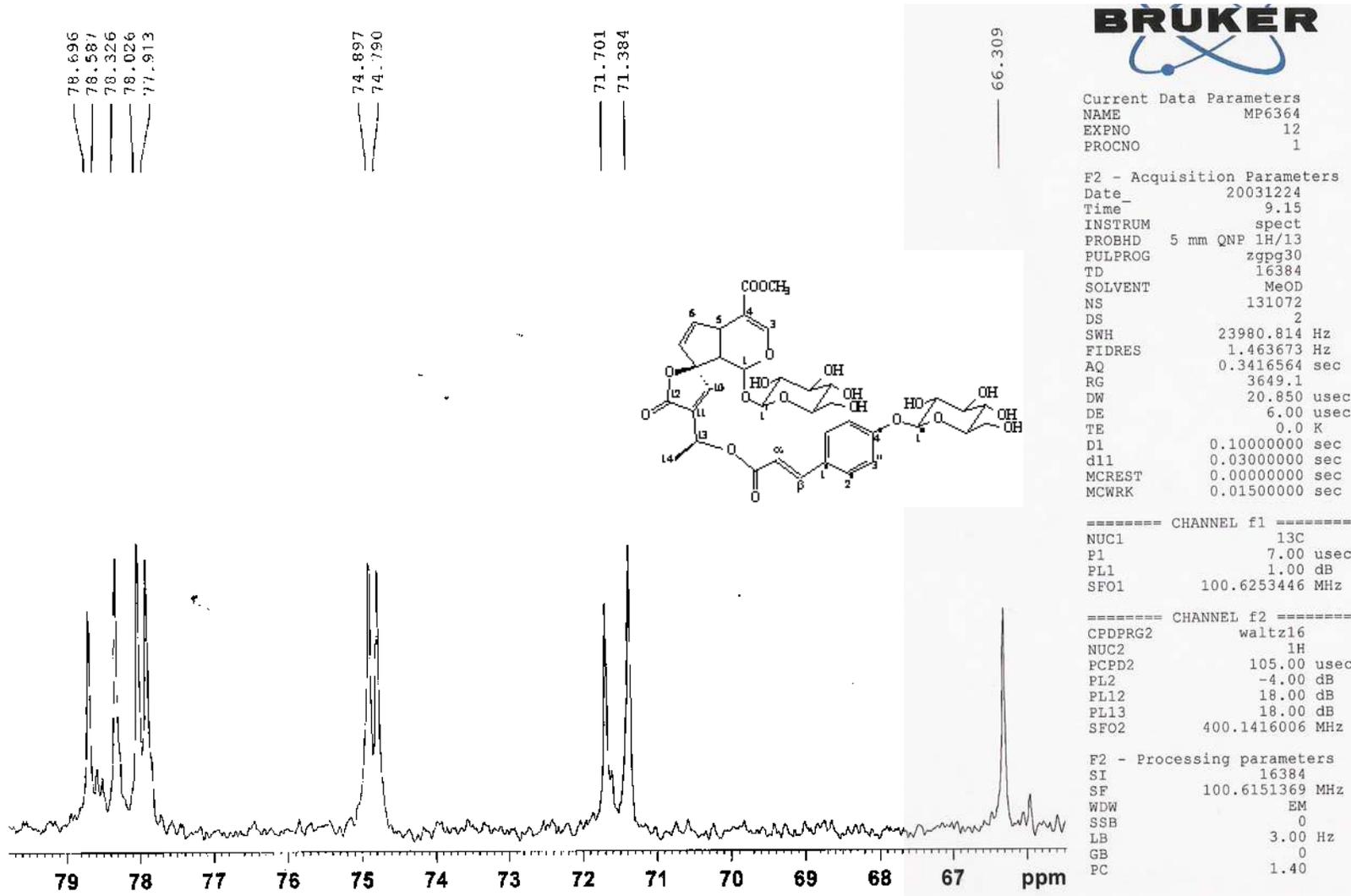
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20031224
 Time_ 9.15
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 16384
 SOLVENT MeOD
 NS 131072
 DS 2
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 1.463673 Hz
 AQ 0.3416564 sec
 RG 3649.1
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 0.10000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 MCREST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

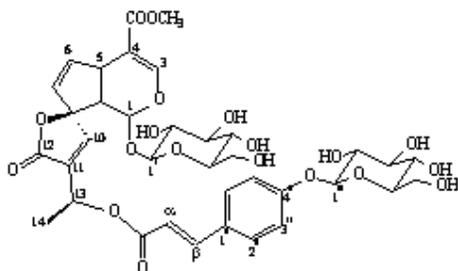
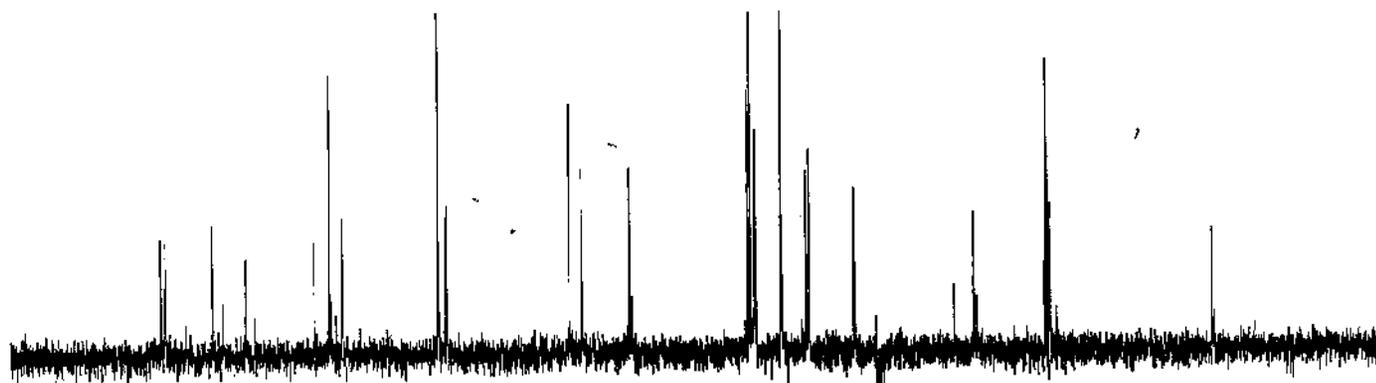
F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 100.6151369 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 3.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Espectro 36 – 1ª expansão do espectro RMN¹³C (MeOD, 400MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



Espectro 37 – 2^a expansão do espectro RMN¹³C (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



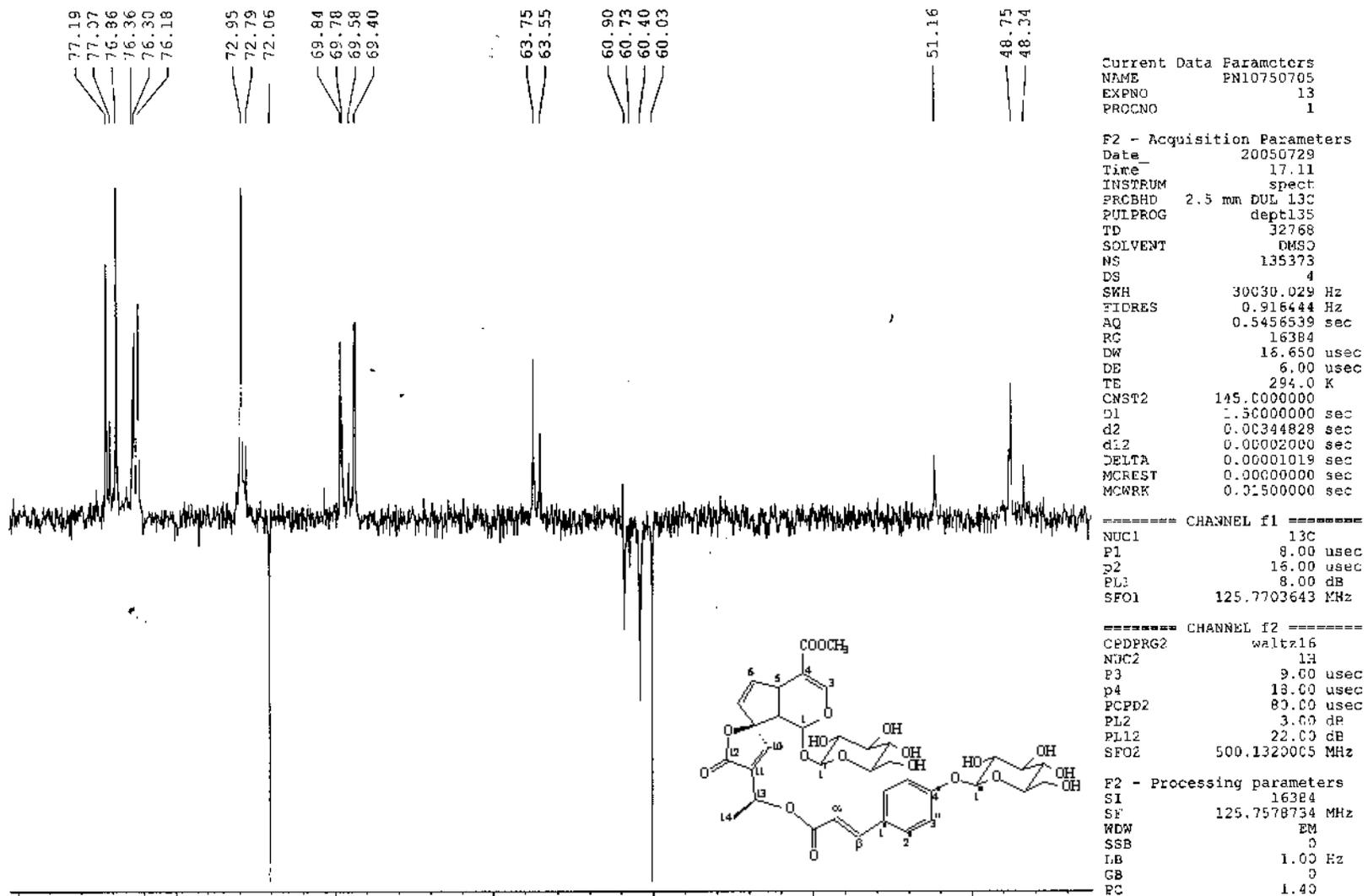
Current Data Parameters
NAME FN10750705
EXPNO 13
PROCNO 1

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

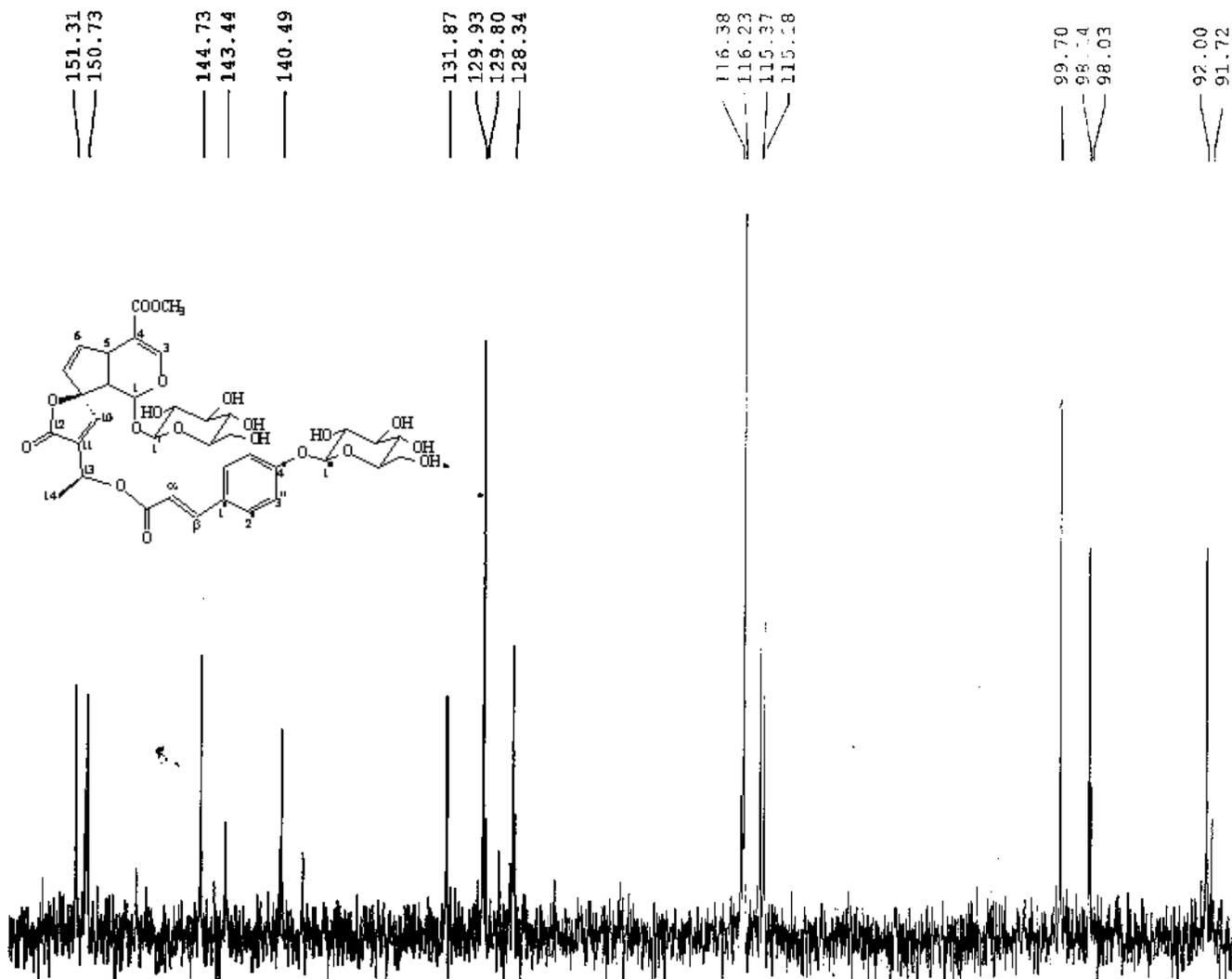
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 8.00 usec
p2 16.00 usec
PL1 9.00 dB
SFO1 125.7703643 MHz

===== 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
 EXPNO 13
 PROCNO 1

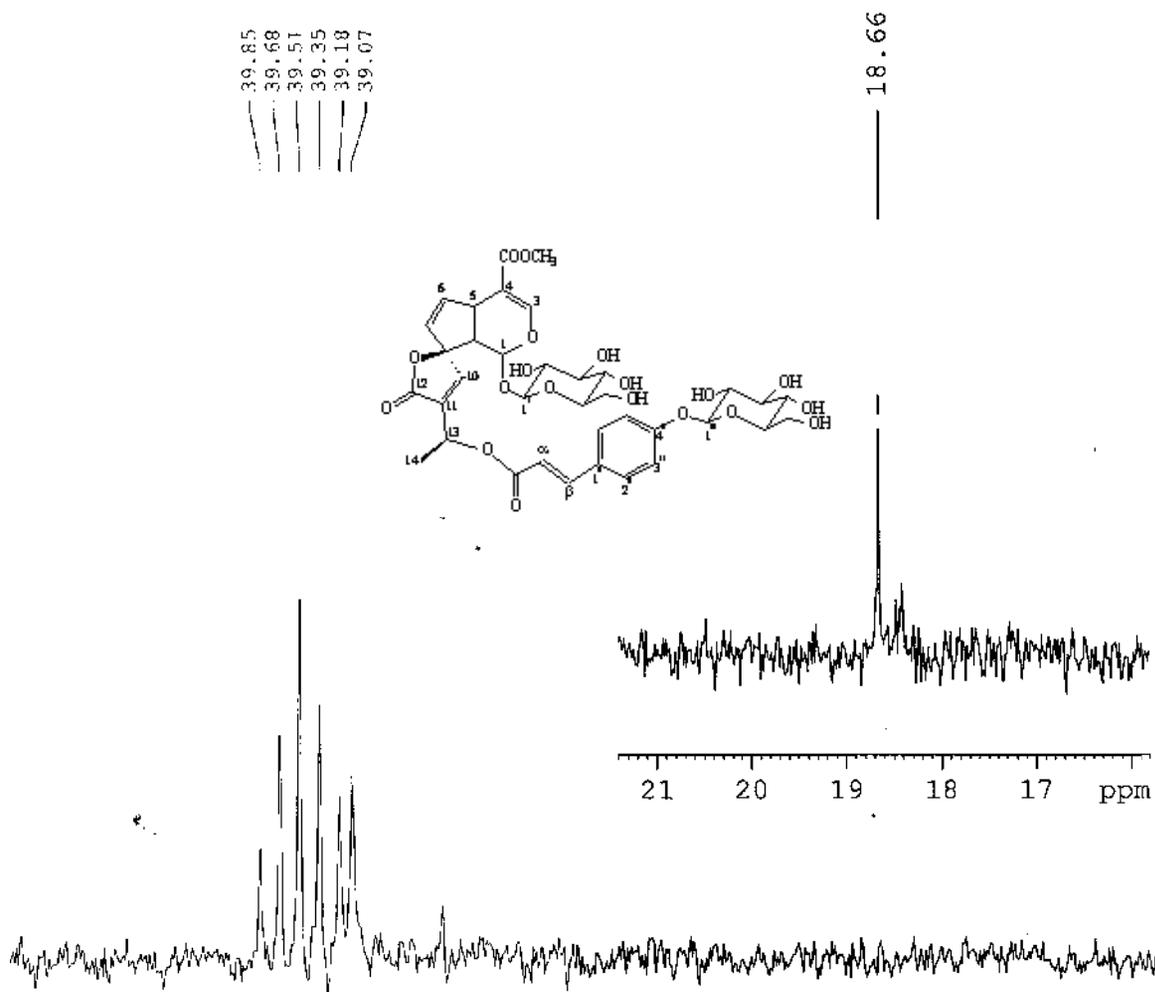
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050729
 Time 17.11
 INSTRUM spect
 PROBHD 2.5 mm DUL 13C
 PULPROG dept135
 TD 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 135373
 DS 4
 SWH 30030.029 Hz
 FIDRES 0.916444 Hz
 AQ 0.5436539 sec
 RG 16384
 DW 16.650 usec
 DE 6.00 usec
 TE 294.0 K
 CNST2 145.0000000
 DL 1.50000000 sec
 c2 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
 SF 500.1320005 MHz

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



Current Data Parameters
 NAME FN10750705
 EXPNO 13
 PROCNO 1

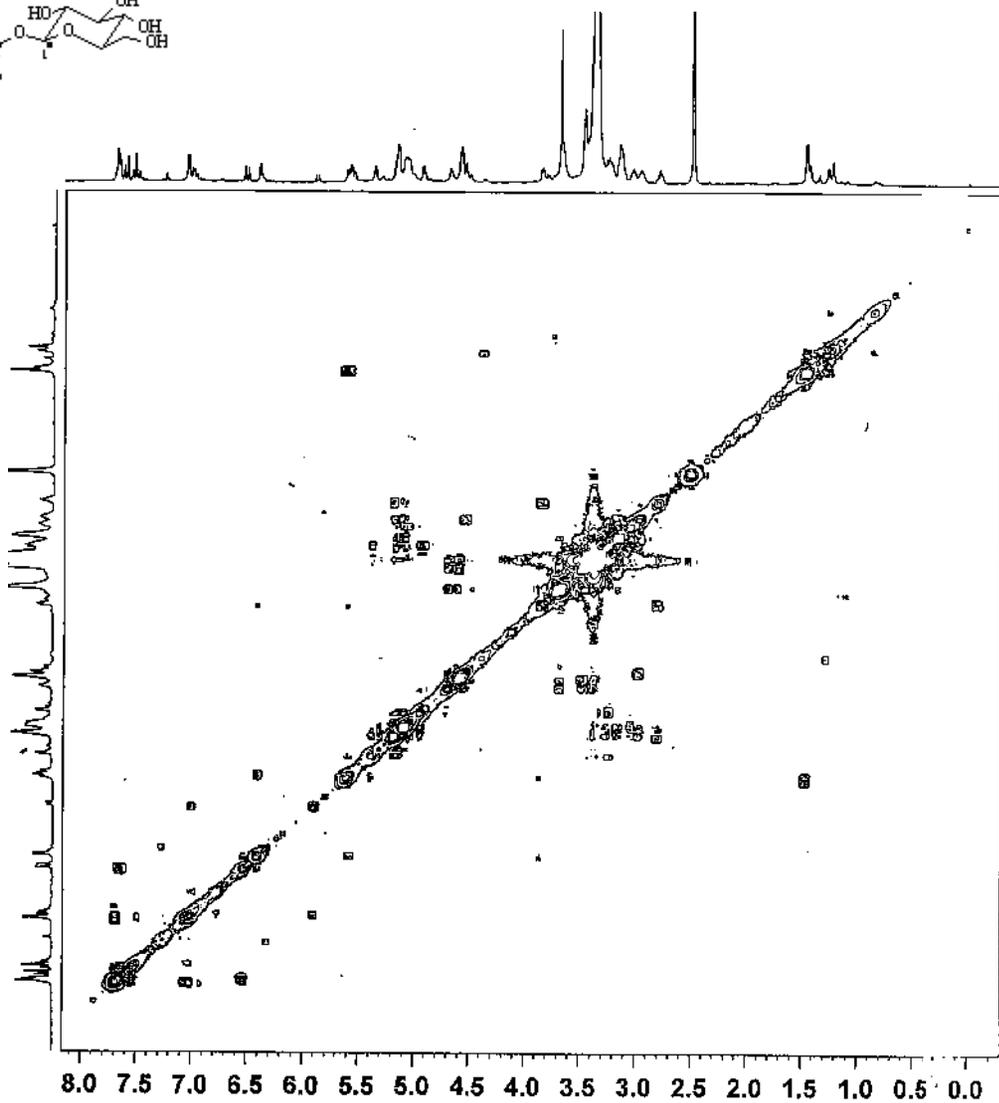
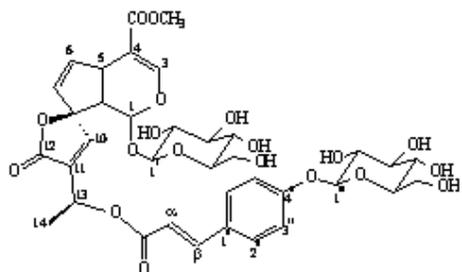
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050729
 Time_ 17.11
 INSTRUM spect
 PROBHD 2.5 mm JYL 13C
 PULPROG dept135
 ID 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 135373
 DS 4
 SWH 30030.029 Hz
 FIDRES 0.916444 Hz
 AQ 0.5456539 sec
 RG 16384
 DW 16.650 usec
 DE 6.00 usec
 TE 294.0 K
 CNST2 145.0000000
 d1 1.50000000 sec
 d2 0.00344828 sec
 d_2 0.00002000 sec
 DELTA 0.00001019 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUCL1 13C
 P1 8.00 usec
 P2 16.00 usec
 PL1 8.00 dB
 SFO1 125.7703643 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUCL2 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 – 3^a 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
IN0        0.00018178 sec
MCREST     0.0000000 sec
MCWRK     1.0000000 sec

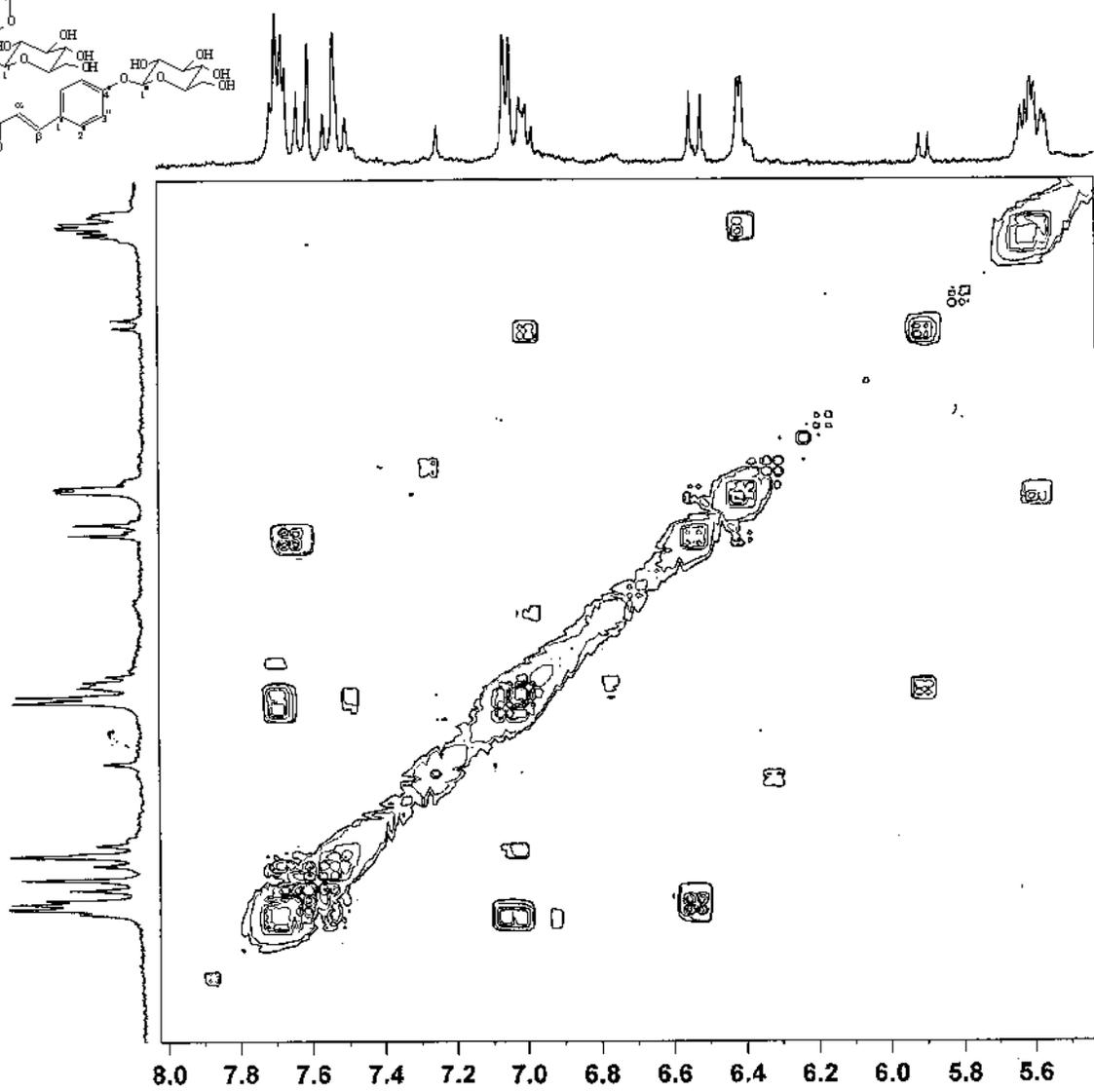
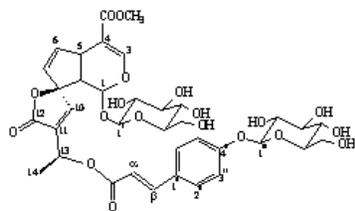
----- CHANNEL f1 -----
NUC1       1H
P1         9.00 usec
PL1        3.00 dB
SFO1       500.1323164 MHz

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 $^1\text{H}\times^1\text{H}$ (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

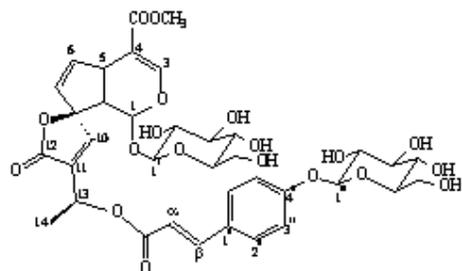
==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 9.00 usec
 PLL 3.00 dB
 SFO1 500.1323164 MHz

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 ¹Hx¹H (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



```

Current Data Parameters
NAME      PK10750795
EXPNO    11
PROCNO   1

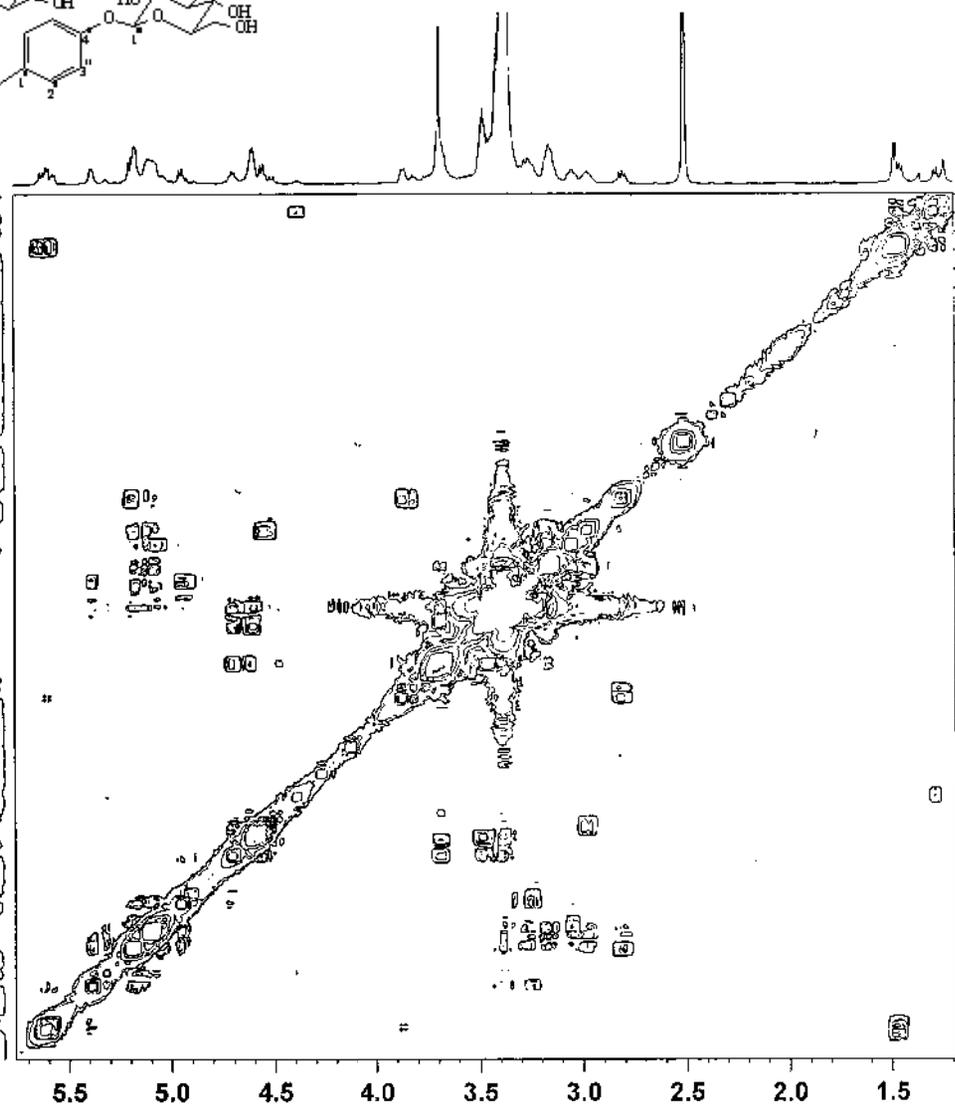
ppmF2 Acquisition Parameters
Date_    20050728
Time     13.41
INSTRUM  spect
PROBHD   2.5 mm QNP 13C
PULPROG  cosyqf9c
TD       2048
SOLVENT  DMSO
NS       32
DS       4
SWH      5482.456 Hz
FIDRES   2.675260 Hz
AQ       0.1869188 sec
RG       1024
DW       91.200 usec
DE       6.00 usec
TE       294.1 K
d0       0.0000000 sec
d1       1.0000000 sec
IN0      0.00018178 sec
MCREST   0.0000000 sec
MCMRK    1.0000000 sec

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

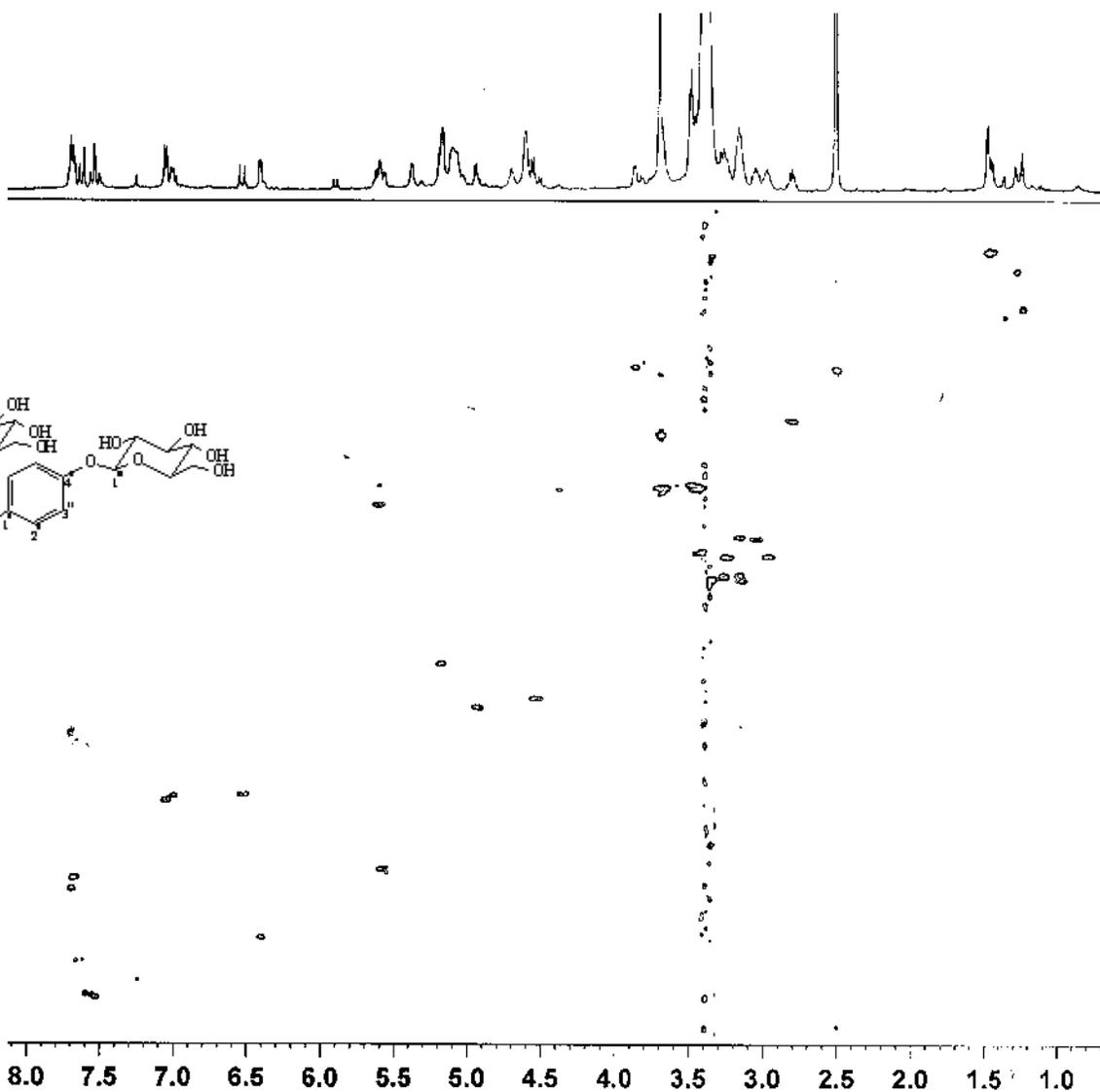
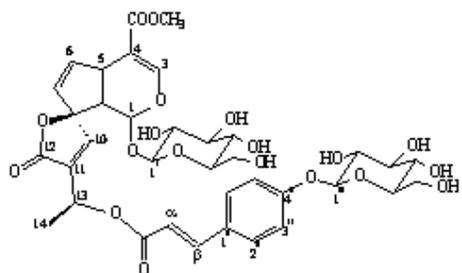
F1 - Acquisition parameters
N2       1
TD       92
SFO1     500.1323 MHz
FIDRES   59.796810 Hz
SW       11.000 ppm
RGMOCE   QF

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

F1 - Processing parameters
SI       1024
MC2      QF
SF       500.1259925 MHz
WLW      SINE
SSP      0
LB       0.00 Hz
GB       0
  
```



Espectro 44 – 2ª Expansão do espectro COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (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
 STICNT 128

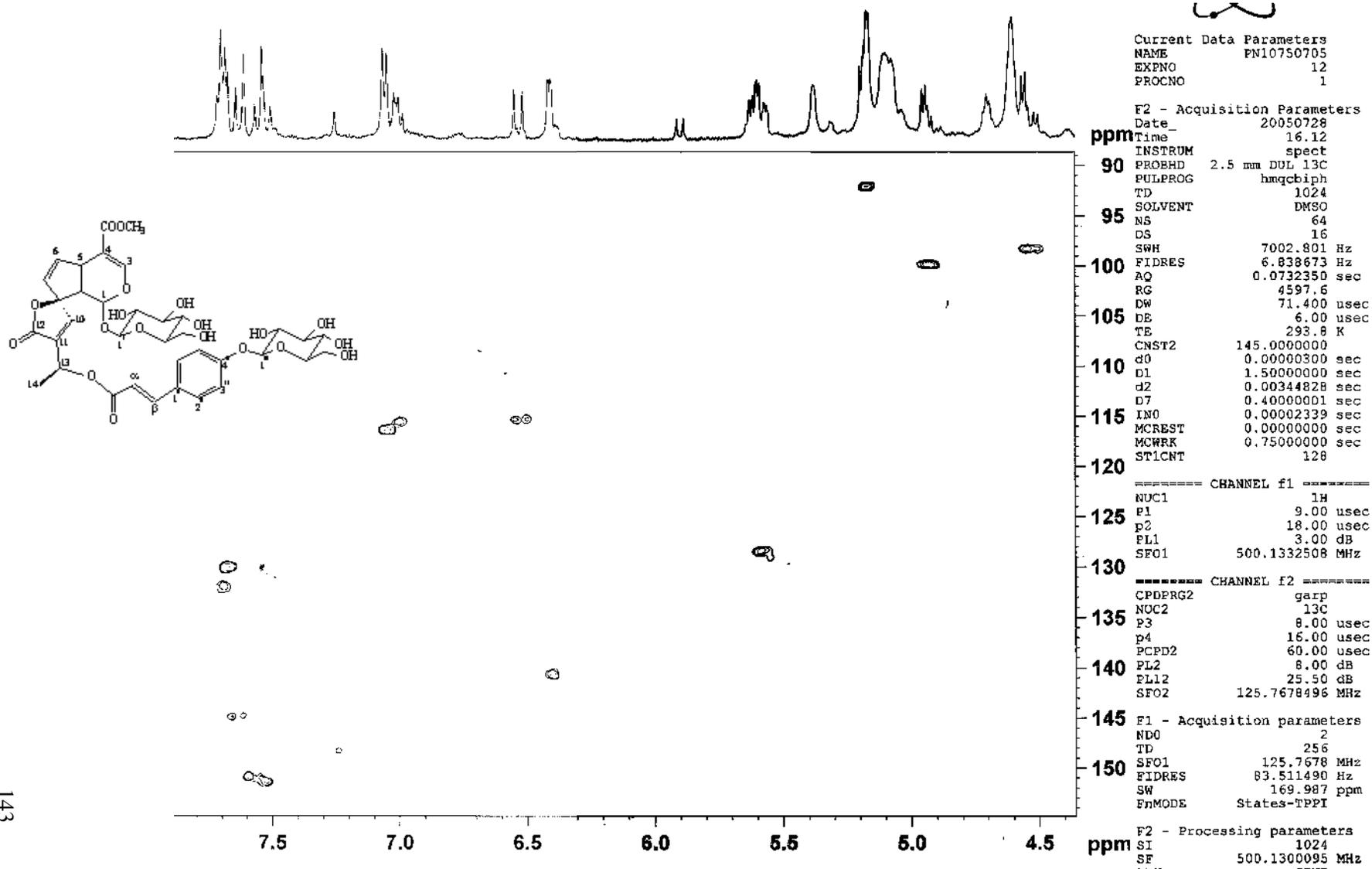
===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 9.60 usec
 p2 18.00 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 500.1332508 MHz

===== 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

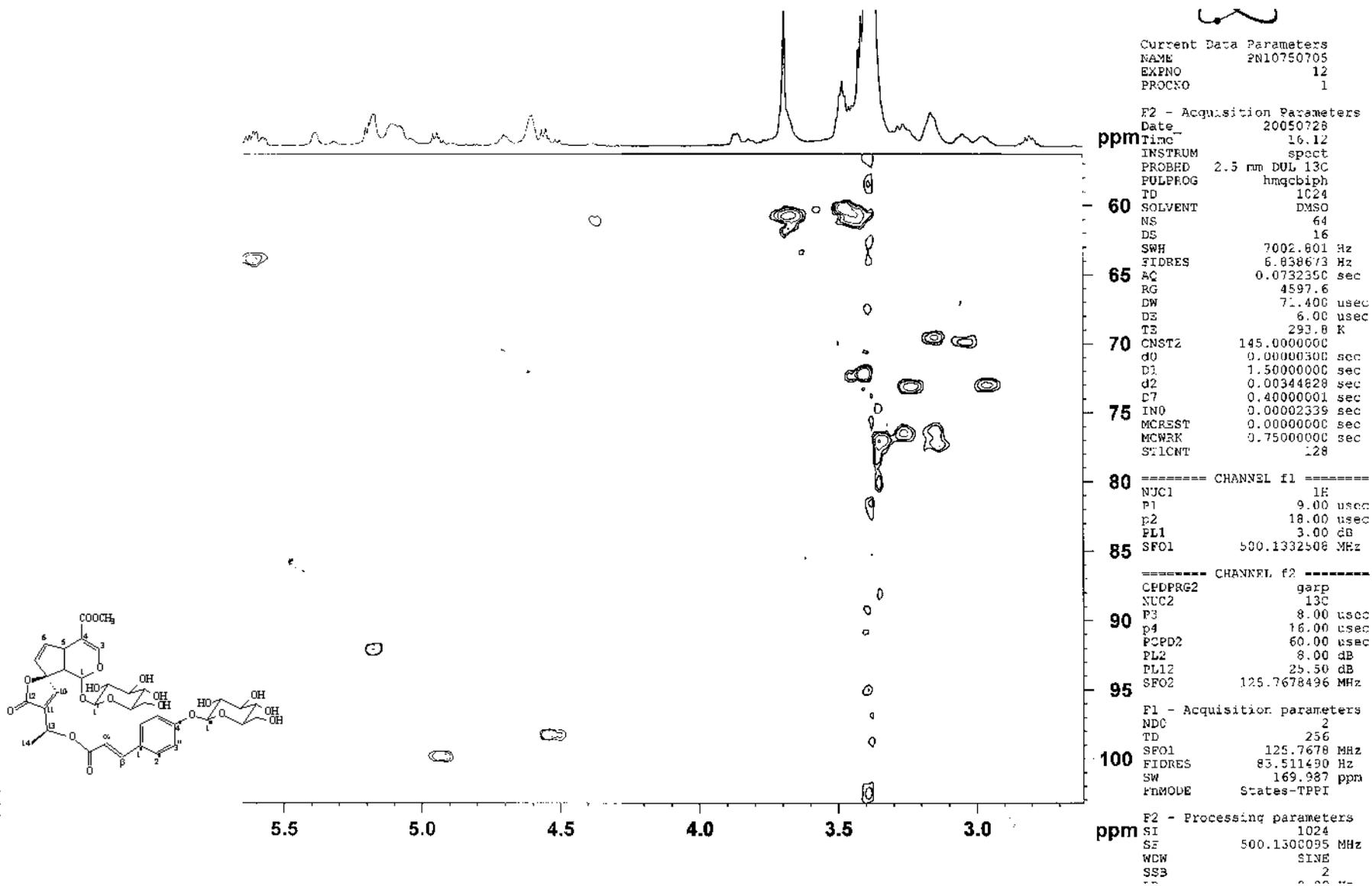
F2 - Acquisition parameters
 NUC 2
 TD 256
 SFO1 125.7678 MHz
 FIDRES 83.511490 Hz
 SW 169.987 ppm
 FNMODE States-TPPI

F2 - Processing parameters
 SI 1024
 SF 500.1332508 MHz

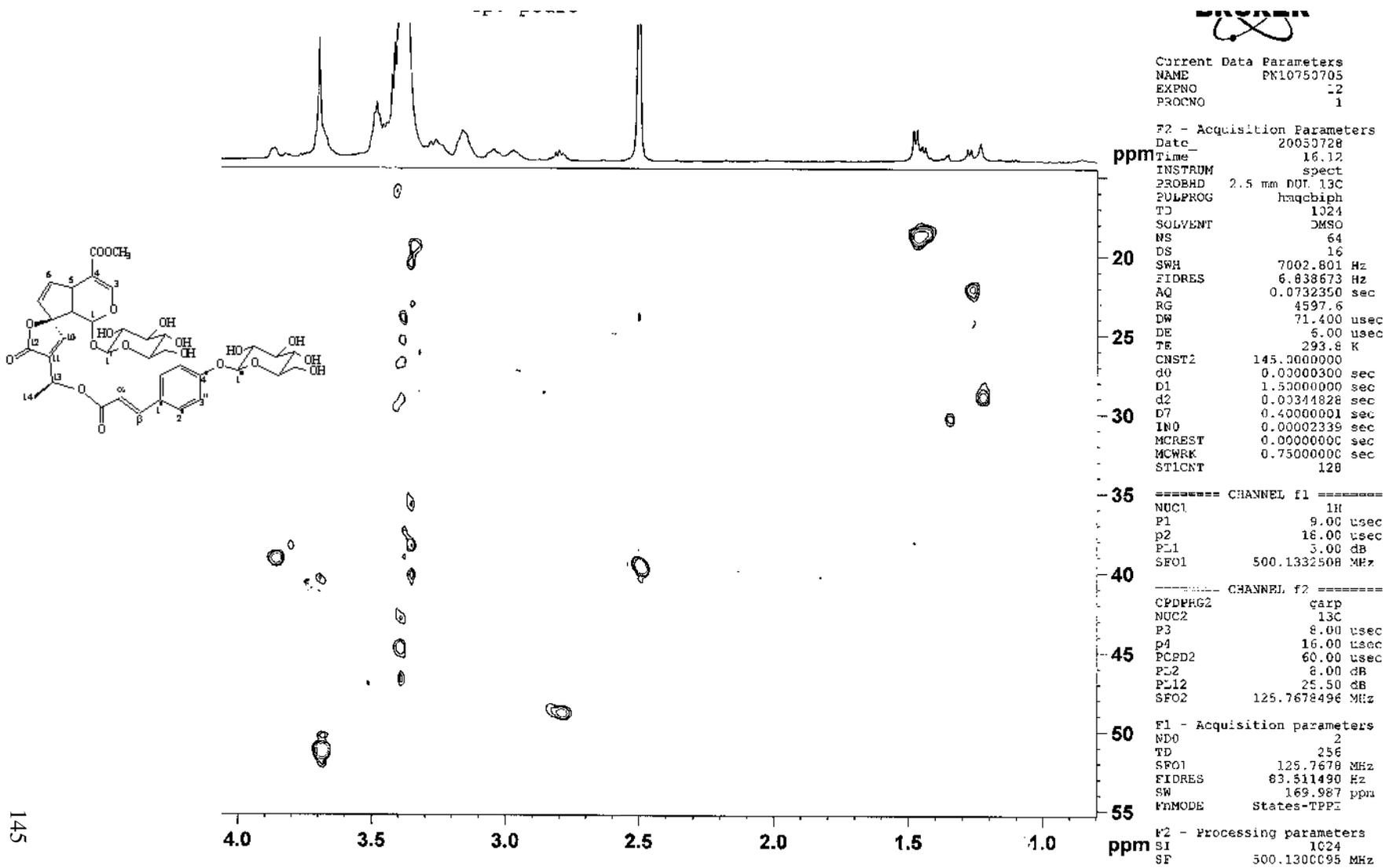
Espectro 45 – Espectro HMQC (DMSO, 500MHz) da protoplumericina A (HDCA-3)



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

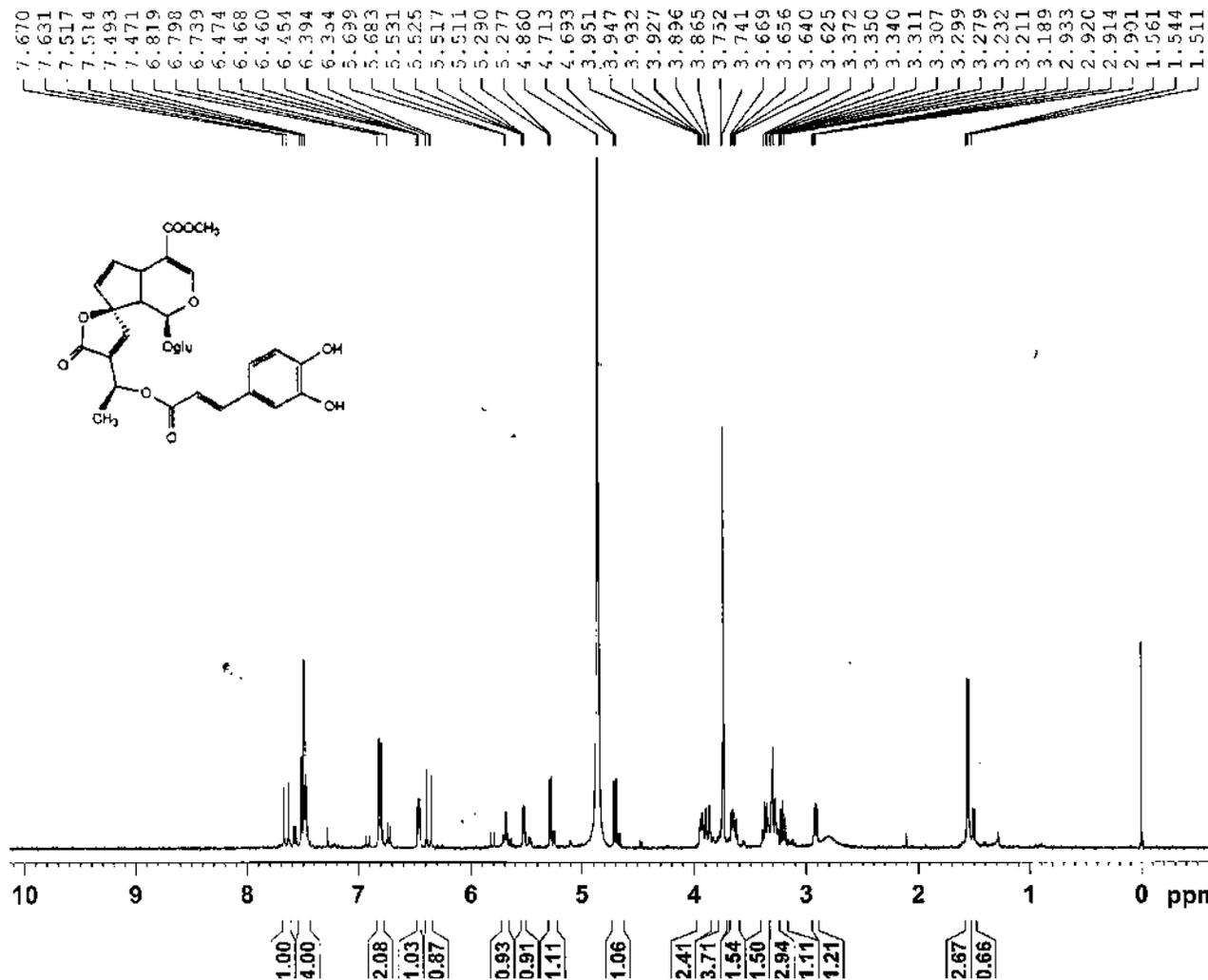
==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 9.00 usec
 p2 18.00 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 500.1332508 MHz

==== 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
 PROBED 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

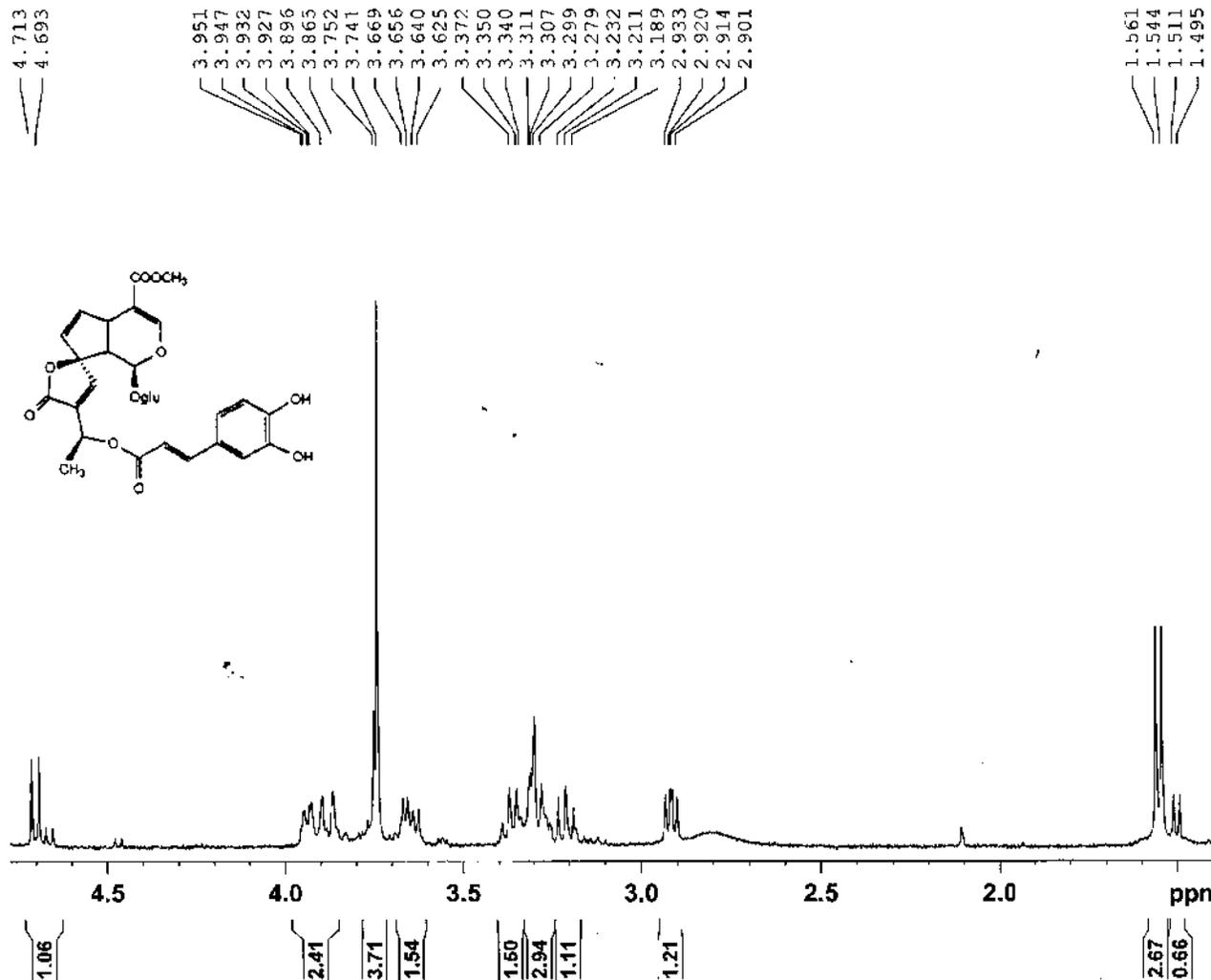
----- CHANNEL f1 -----
 NUCL1 1H
 P1 8.00 usec
 PL1 -3.00 dB
 SF01 400.1424710 MHz

F1 - Acquisition parameters
 NDO 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
 NDM EM
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

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

Espectro 49 – Espectro RMN¹H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (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
MCWFK     0.01500000 sec

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

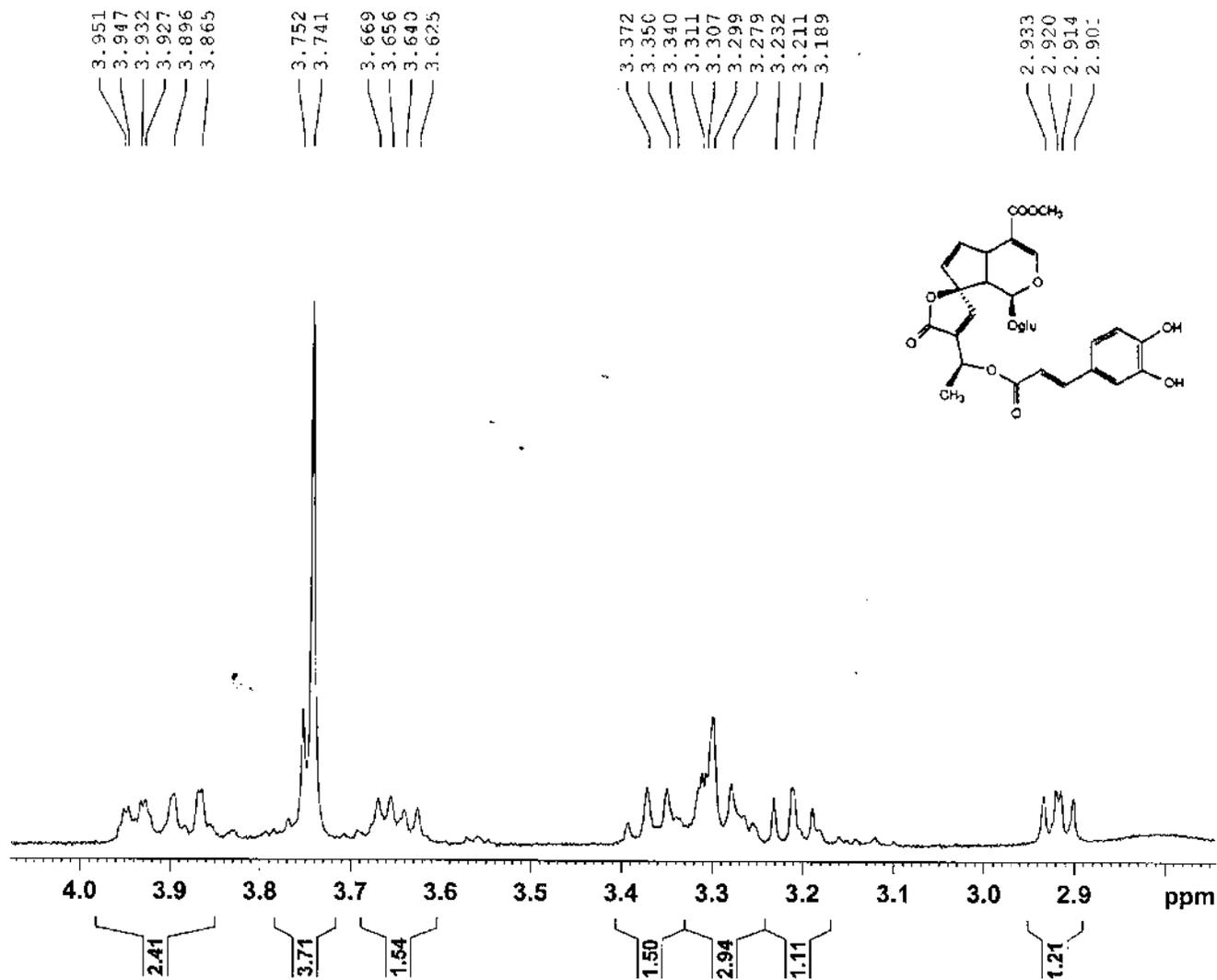
F1 - Acquisition parameters
ND0        2
TD         200
SFO1      100.6203 MHz
FIDRES    83.011726 Hz
SK        165.000 ppm
FrMODE     undefined

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-antiho
SF         100.6127117 MHz
WDW        no
SSB        2
LB         0.30 Hz
GB         0.1

```

Espectro 50 – 1ª Expansão do espectro RMN¹H (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
 DM 6.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 2.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

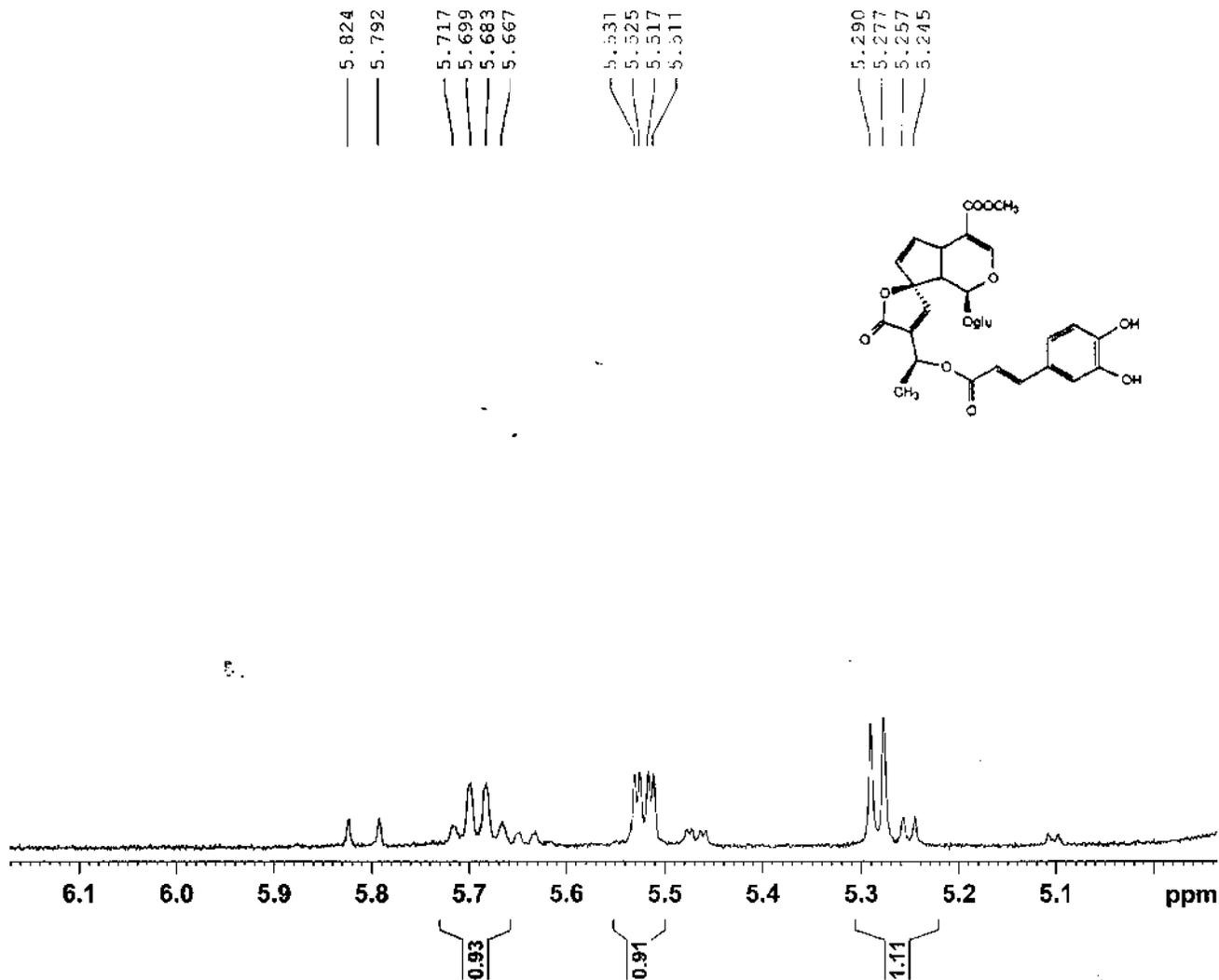
===== CHANNEL f1 =====
 NUCL1 1H
 P1 0.00 usec
 PL1 -3.00 dB
 SF01 400.1424710 MHz

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 RMN¹H (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

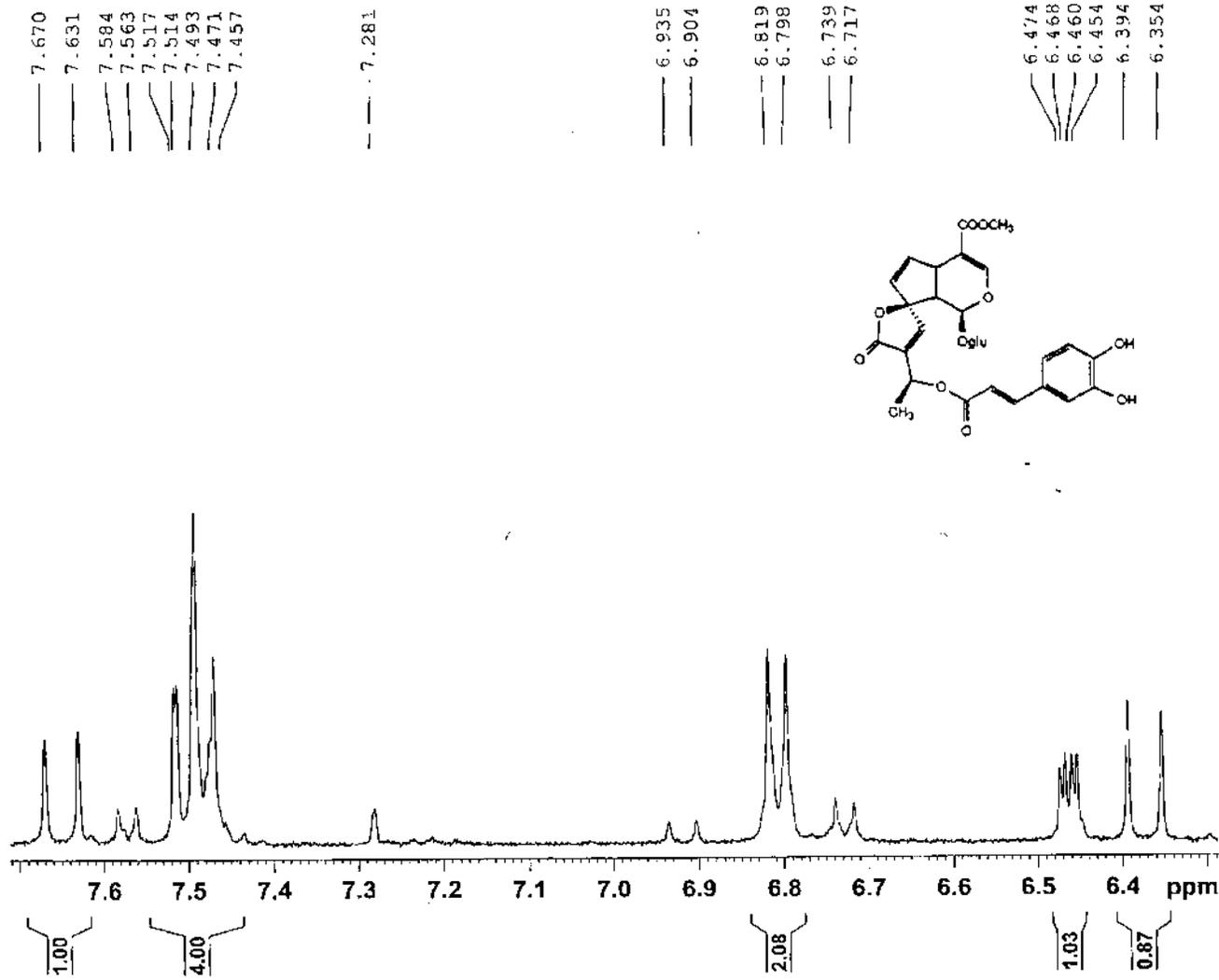
===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 8.00 usec
 PLL -3.00 dB
 SFO1 400.1424710 MHz

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 RMN¹H (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

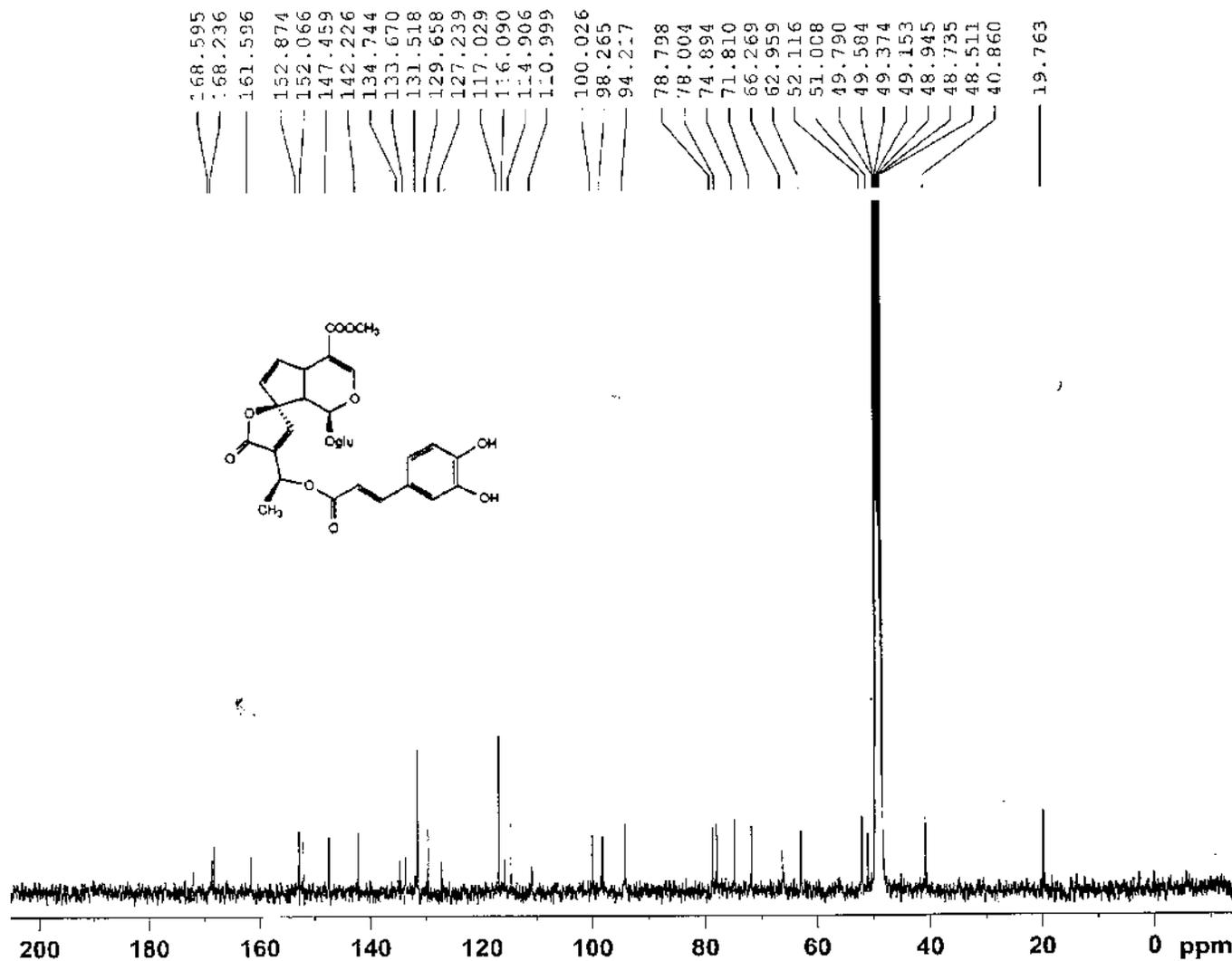
F1 - Acquisition parameters
ND0        2
TD         200
SFO1       100.6203 MHz
FIDRES     03.011726 Hz
SW         165.000 ppm
EnMODE     undefined

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 – 4^a Expansão do espectro RMN¹H (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



168.595
168.236
161.596
152.874
152.066
147.459
142.226
134.744
133.670
131.518
129.658
127.239
117.029
116.090
114.906
110.999
100.026
98.265
94.217
78.798
78.004
74.894
71.810
66.269
62.959
52.116
51.008
49.790
49.584
49.374
49.153
48.945
48.735
48.511
40.860
19.763

```

Current Data Parameters
NAME          HS610-2
EXPNO         11
PROCNO        1

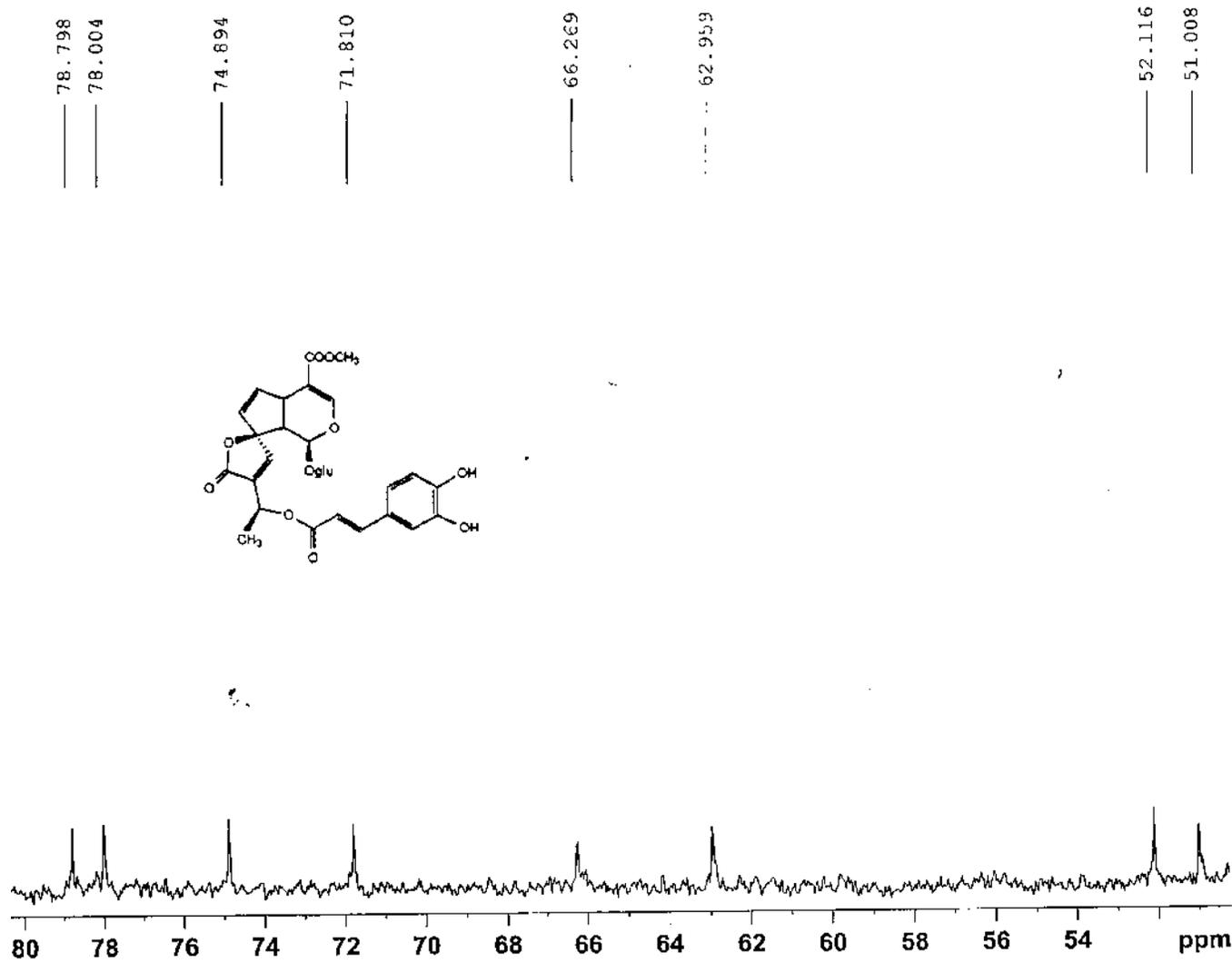
F2 - Acquisition Parameters
Date_         20050318
Time          16.49
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zgpg30
TD            16384
SOLVENT       CDCl3
NS            481501
DS            0
SWH           23980.814 Hz
FIDRES        1.463673 Hz
AQ            0.3416564 sec
RG            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
SSB           0
    
```

Espectro 54 – Espectro RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



Current Data Parameters
 NAME HS610-2
 EXPNO 11
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

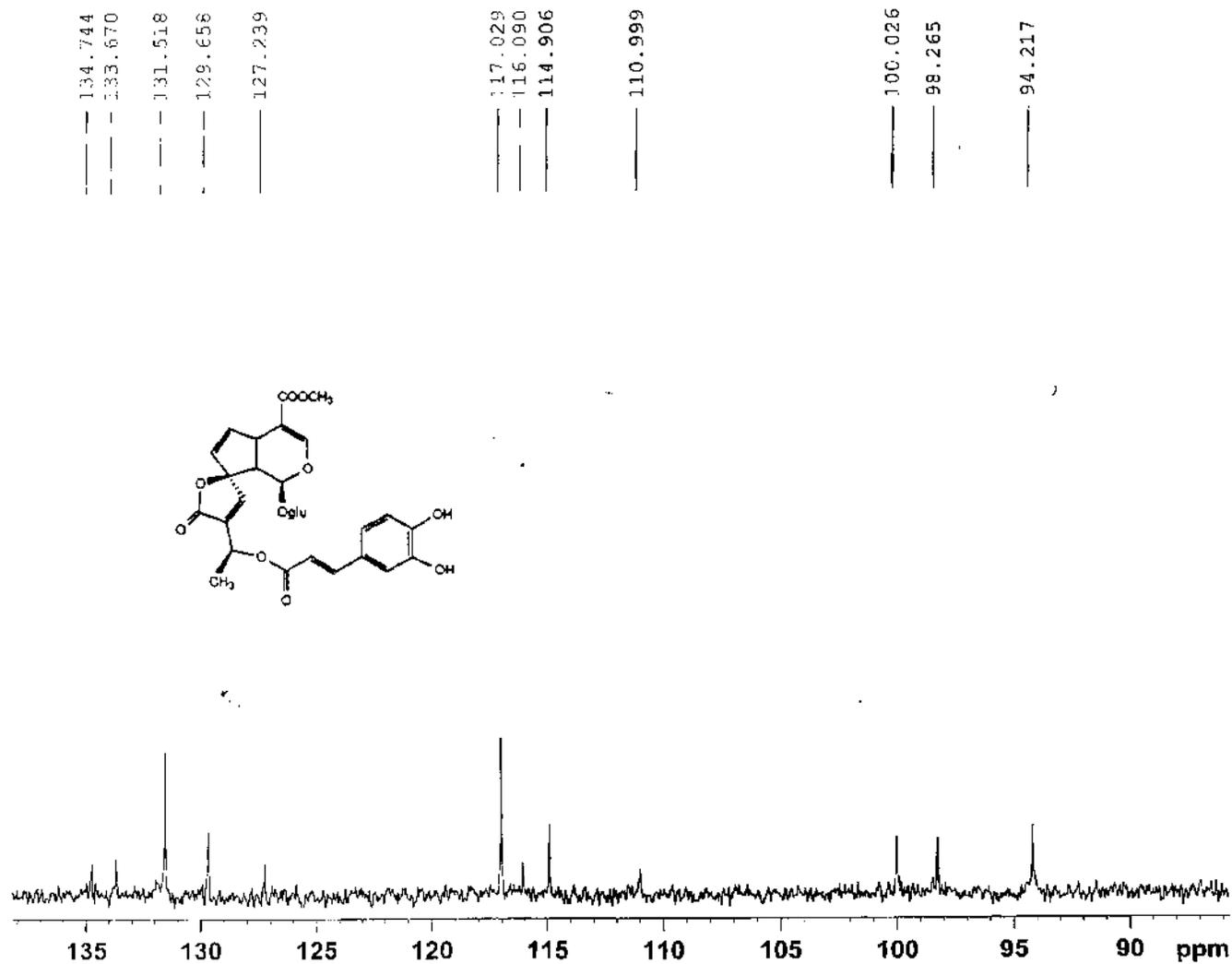
Date_ 20050318
 Time 16.49
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 16384
 SOLVENT CDCl3
 NS 481501
 DS 0
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 1.463673 Hz
 AQ 0.3416564 sec
 RG 16384
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 0.10000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 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 RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA-4)



Current Data Parameters
 NAME HS610-2
 EXPNO 11
 PROCNO 1

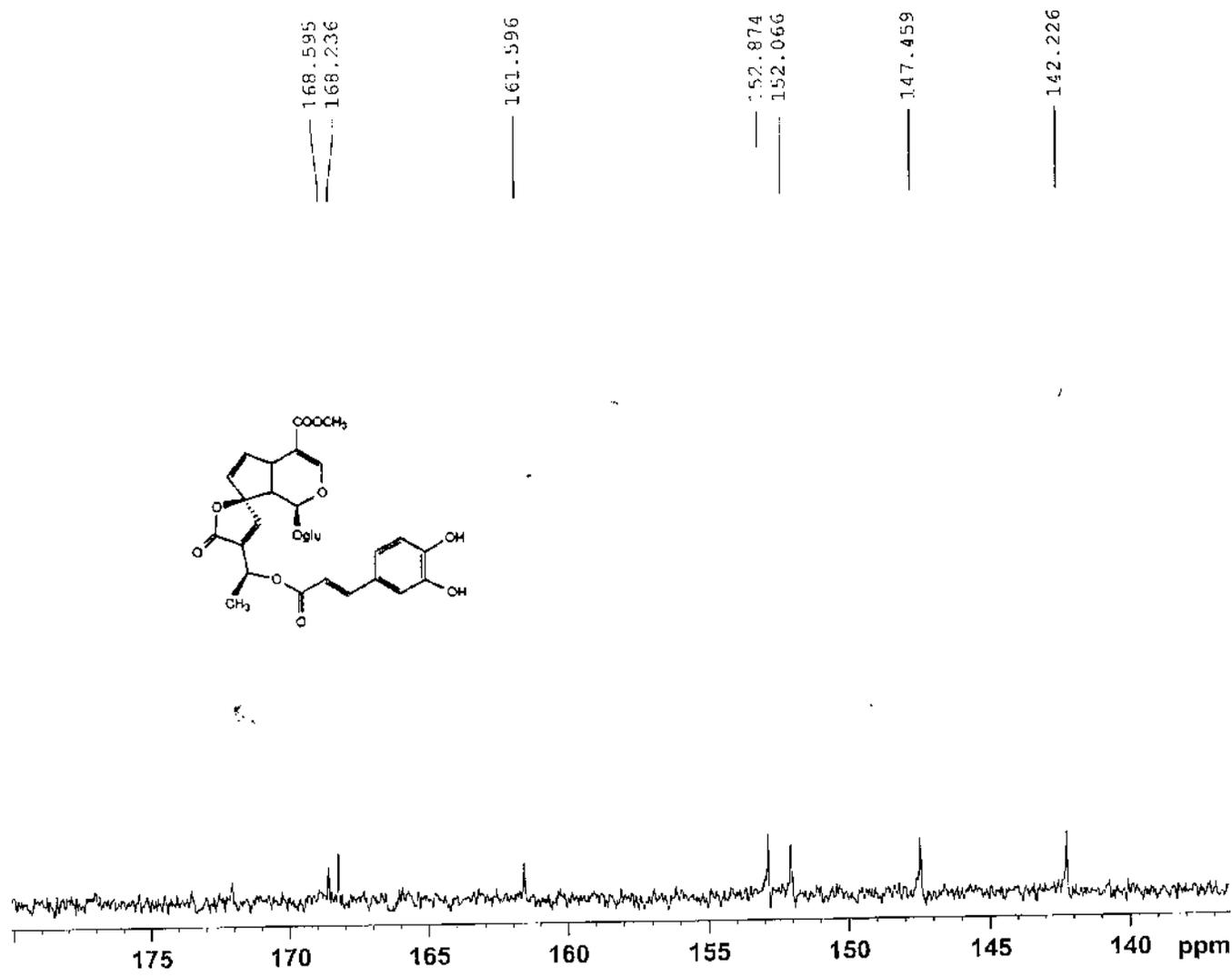
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050318
 Time_ 16.49
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 16384
 SOLVENT CDCl3
 NS 481501
 DS 0
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 1.463673 Hz
 AQ 0.3416564 sec
 RG 16384
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 0.10000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 MCREST 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^a Expansão do espectro RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA-4)



Current Data Parameters
 NAME HS610-2
 EXPNO 11
 PROCNO 1

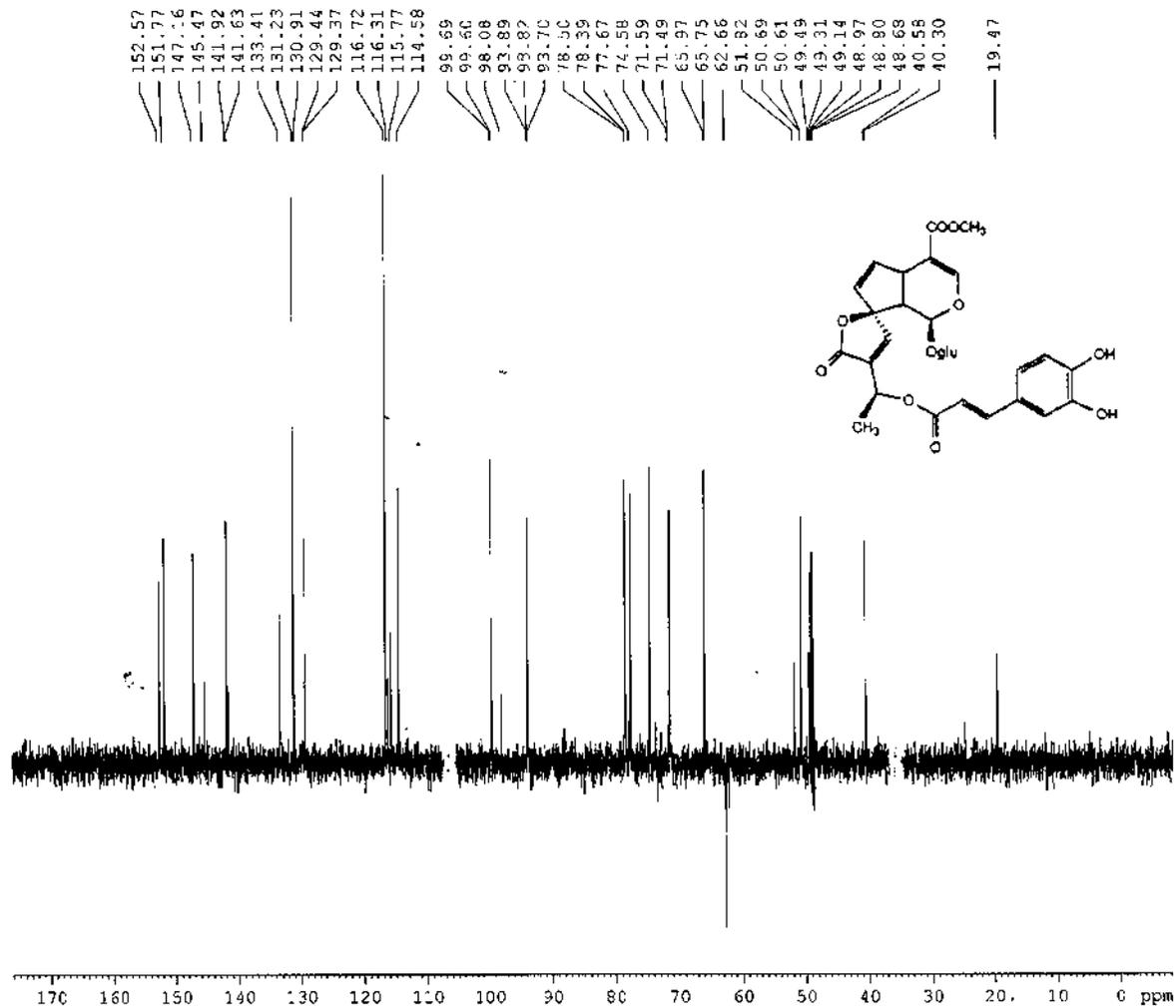
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050318
 Time 16.49
 INSTRUM spect
 PROBPD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG zgpg30
 TD 16384
 SOLVENT CDCl3
 NS 481301
 DS 0
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 1.463673 Hz
 AQ 0.3416564 sec
 RG 16384
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 DL 0.10000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 MCREST 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 RMN¹³C (MeOD, 400MHz) do 13-O-caffeoil plumierídeo (HDCA-4)



Current Data Parameters
NAME pn10561115p
EXPNO 11
PROCNO 1

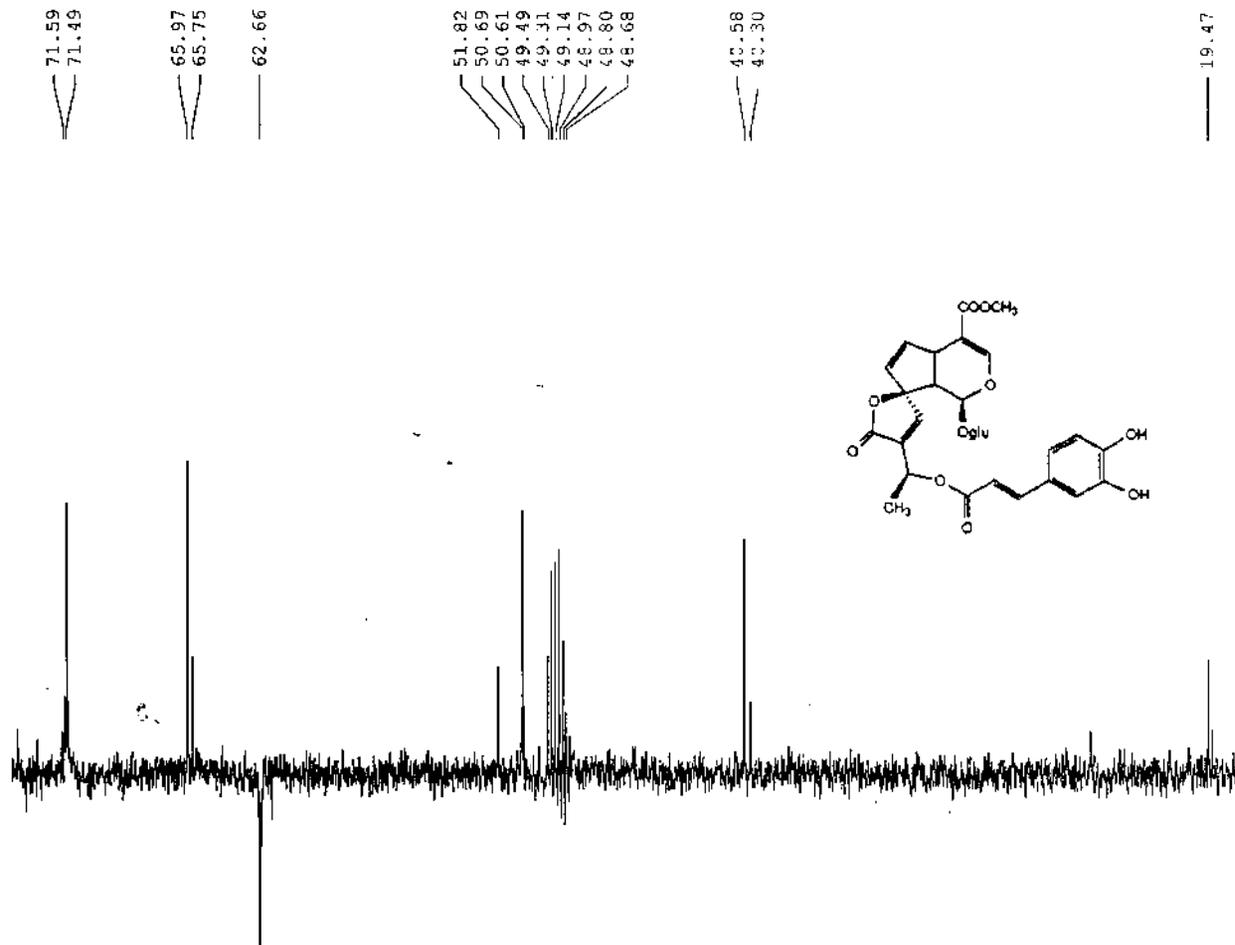
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20060515
Time 9.47
INSTRUM spect
PROBHD 2.5 mm CUL 13C
PULPROG dept135
TD 32768
SOLVENT MeOD
NS 35681
DS 4
SWH 30030.029 Hz
FIDRES 0.916444 Hz
AQ 0.5456539 sec
RG 16384
DW 16.650 usec
DE 6.00 usec
TE 295.3 K
CNST2 14 0000000
d1 1.5000000 sec
d2 0.00344828 sec
d12 0.0002000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



```

Current Data Parameters
NAME      pn10561115p
EXPNO     11
PROCNO    1

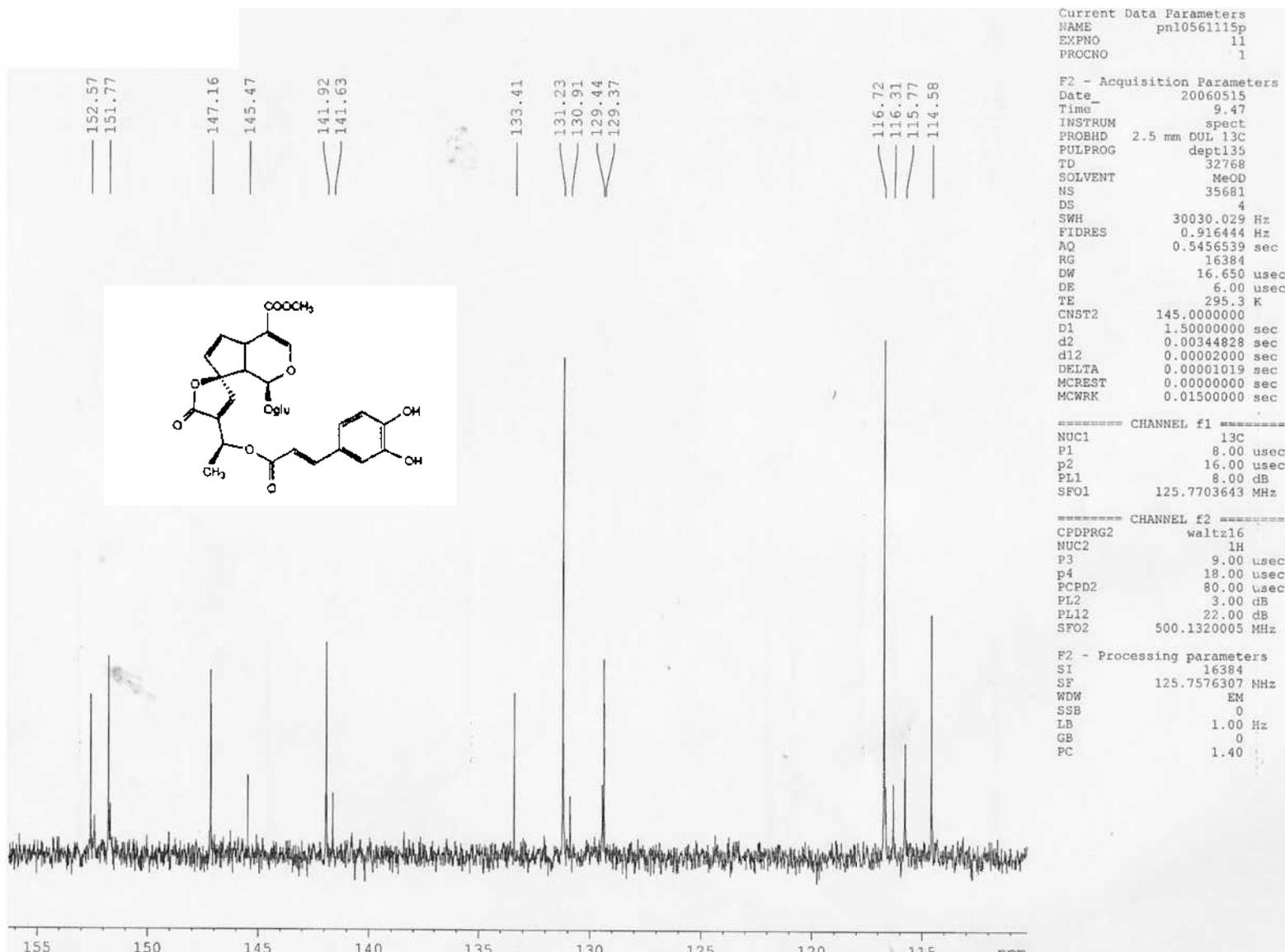
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20060315
Time      9.47
INSTRUM   spect
PROBHD    2.5 mm DUL 13C
PULPROG   dept135
TD         32768
SOLVENT   MeOD
NS         25561
DS         4
SWH        30030.029 Hz
FIDRES     0.916444 Hz
AQ         0.5456539 sec
RG         16384
DW         16.550 usec
DE         6.00 usec
TE         293.3 K
CNST2     145.000000
D1         1.5000000 sec
d2         0.00344828 sec
d12        0.0002000 sec
DELTA     0.0001019 sec
MCREST    0.0000000 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

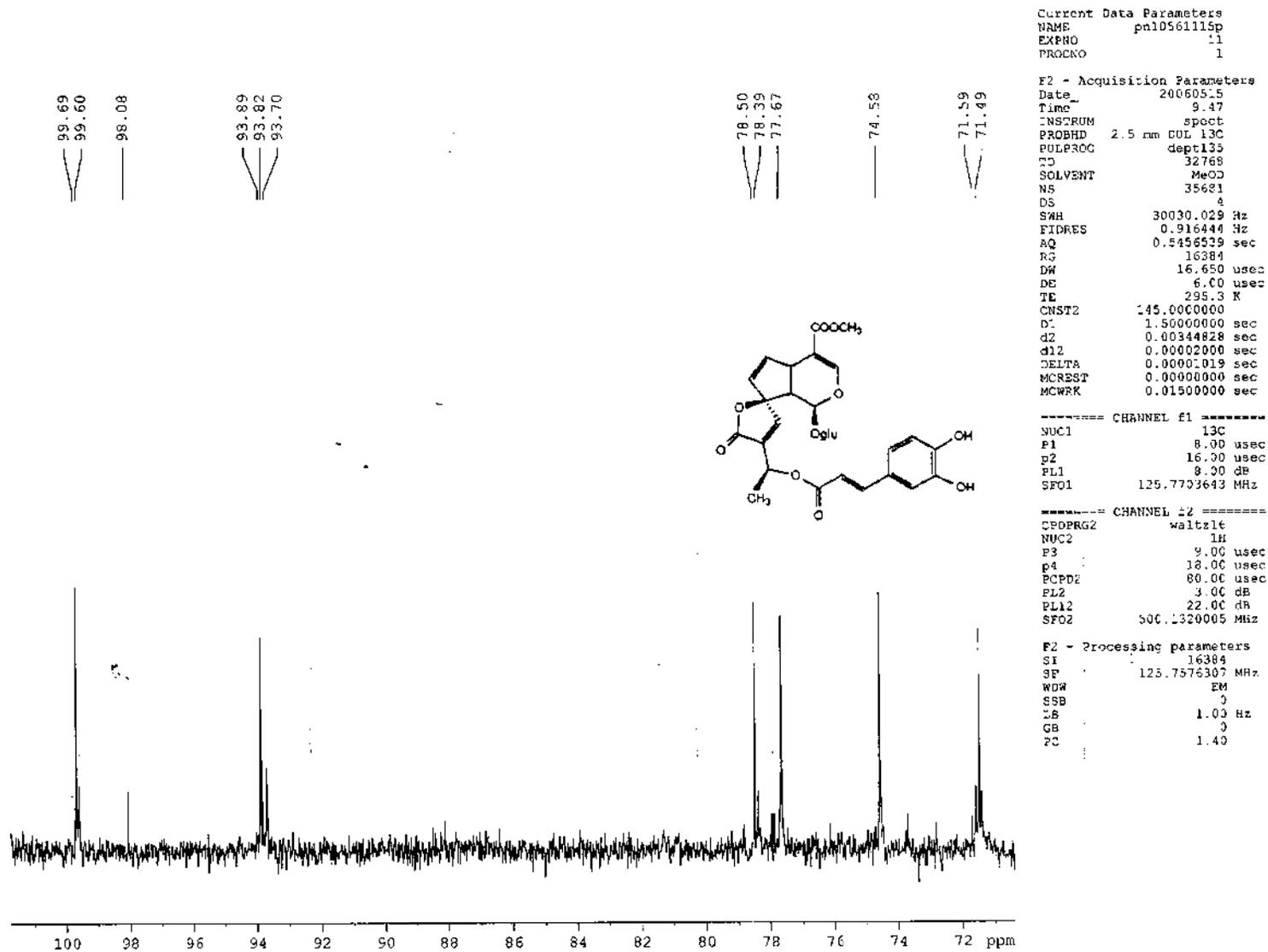
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2    waltz16
NUC2       1H
P3         9.00 usec
P4         18.00 usec
PCPD2      80.00 usec
PL2        3.00 dB
PL12       22.00 dB
SFO2       500.1320005 MHz

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

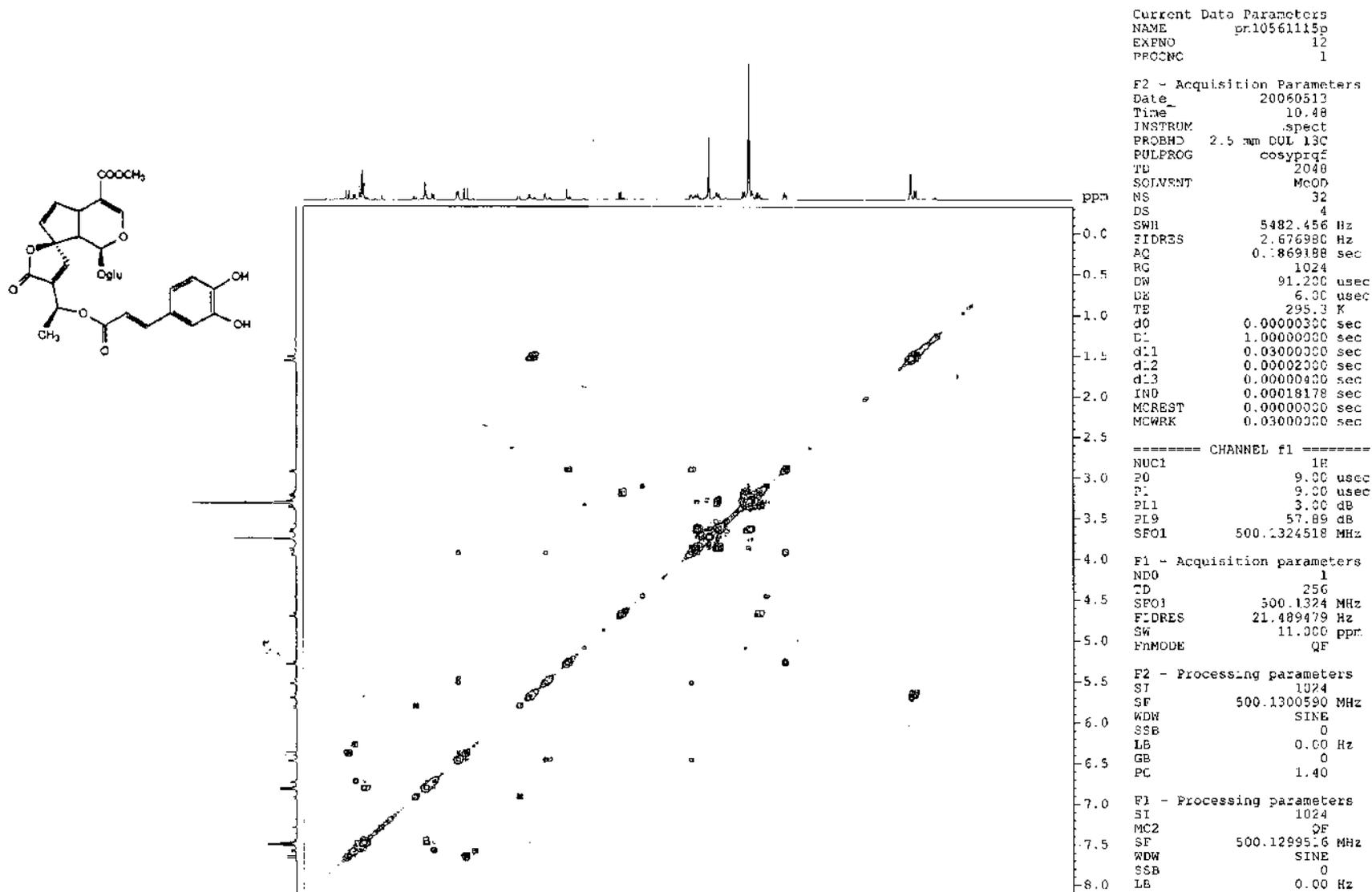
Espectro 59 – 1ª Expansão do Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



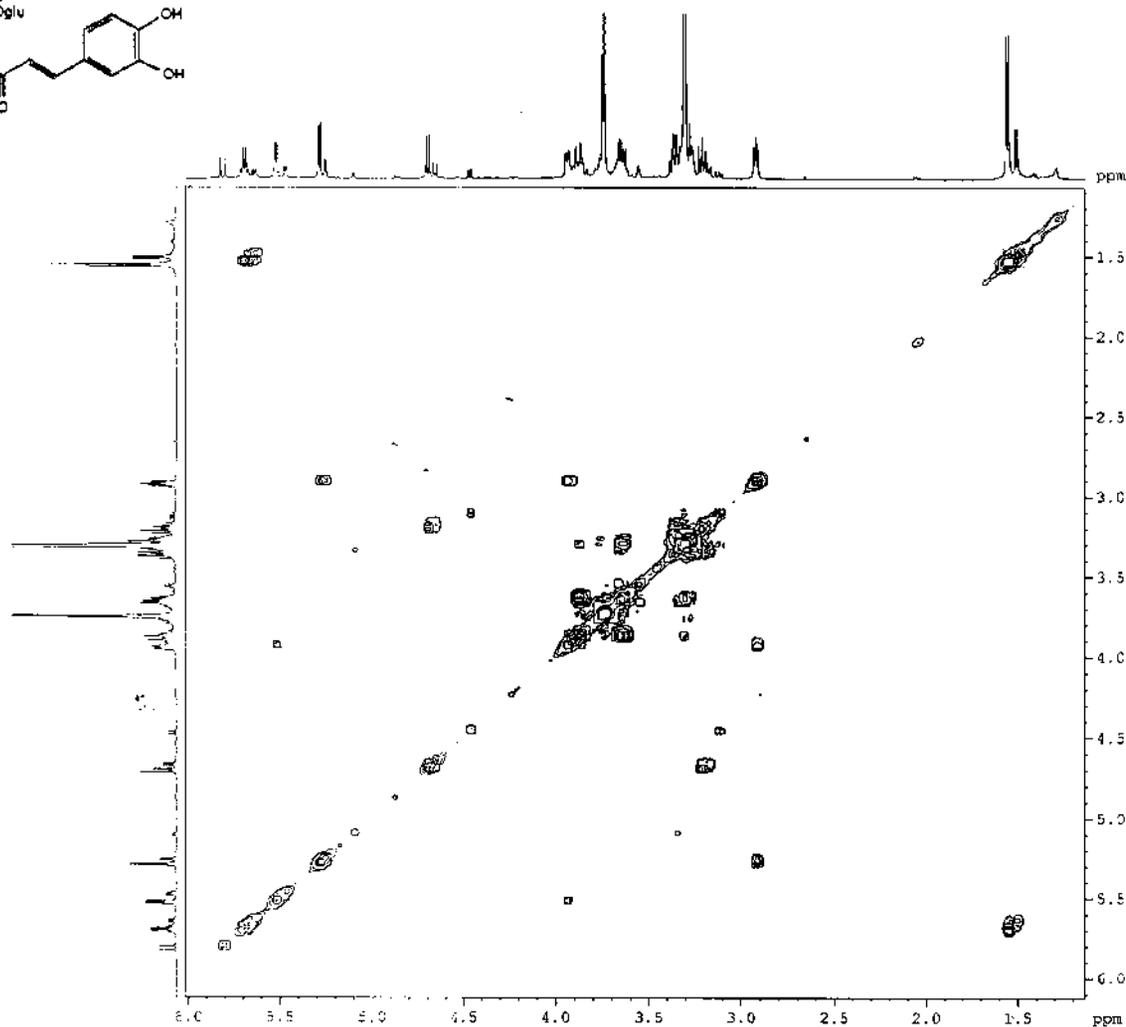
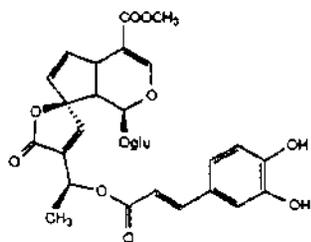
Espectro 60 – 2ª Expansão do Espectro DEPT (MeOD, 400MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



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



Espectro 62 – Espectro COSY¹H x ¹H (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil plumierídeo (HDCA- 4)



```

Current Data Parameters
NAME      pn12561115p
EXPNO     12
PROCNO    1

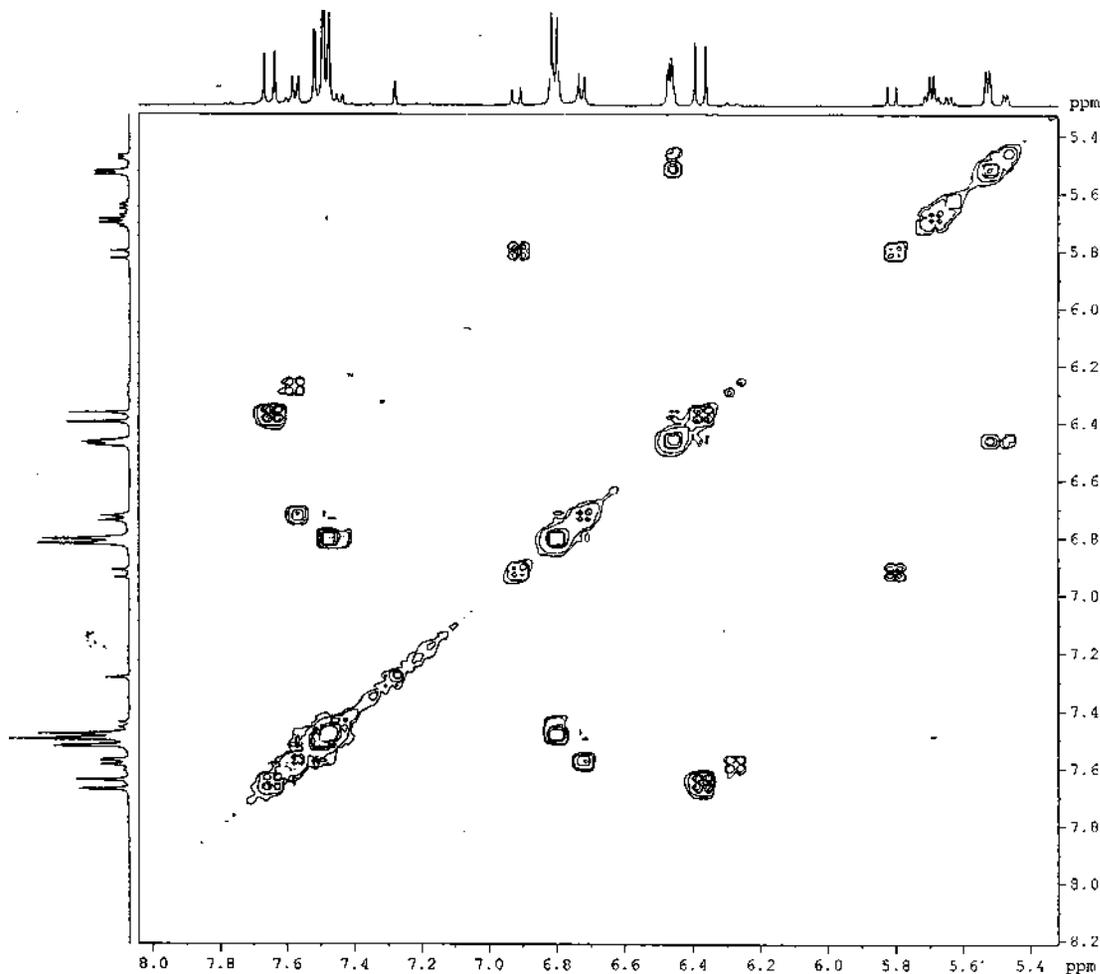
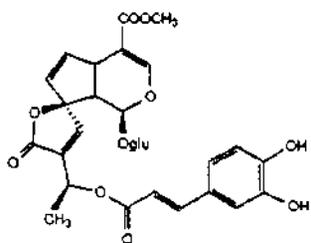
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20060513
Time      10.48
INSTRUM   spect
PROBHD    2.5 mm DUL 13C
PULPROG   cosyprgf
TD         2048
SOLVENT   MeOD
NS         32
DS         4
SWH        5482.456 Hz
FIDRES     2.676980 Hz
AQ         0.1869188 sec
RG         1024
DW         91.200 usec
DE         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
  
```



```

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
c0         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

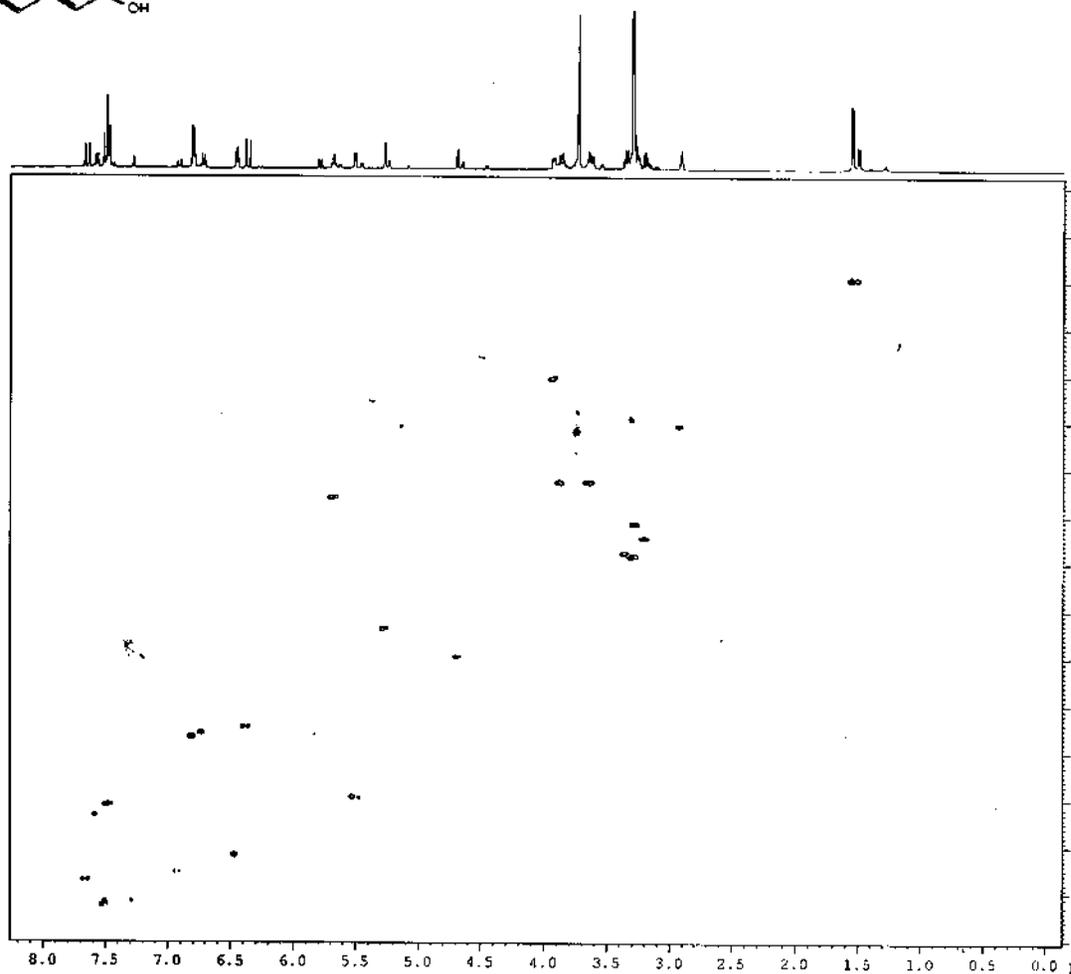
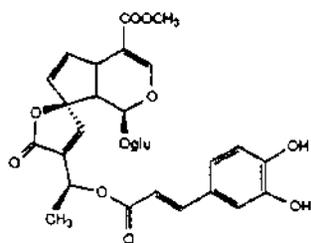
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P0         9.00 usec
P1         9.00 usec
PL1        3.00 dB
PL9        57.89 dB
SFO1       500.1324518 MHz

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 COSY¹H x ¹H (MeOD, 500MHz) do 13-O-cafeoil 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       0.40000001 sec
d11      0.03000000 sec
d12      0.00002000 sec
d13      0.00004000 sec
IN0      0.00002339 sec
MCREST   0.00000000 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

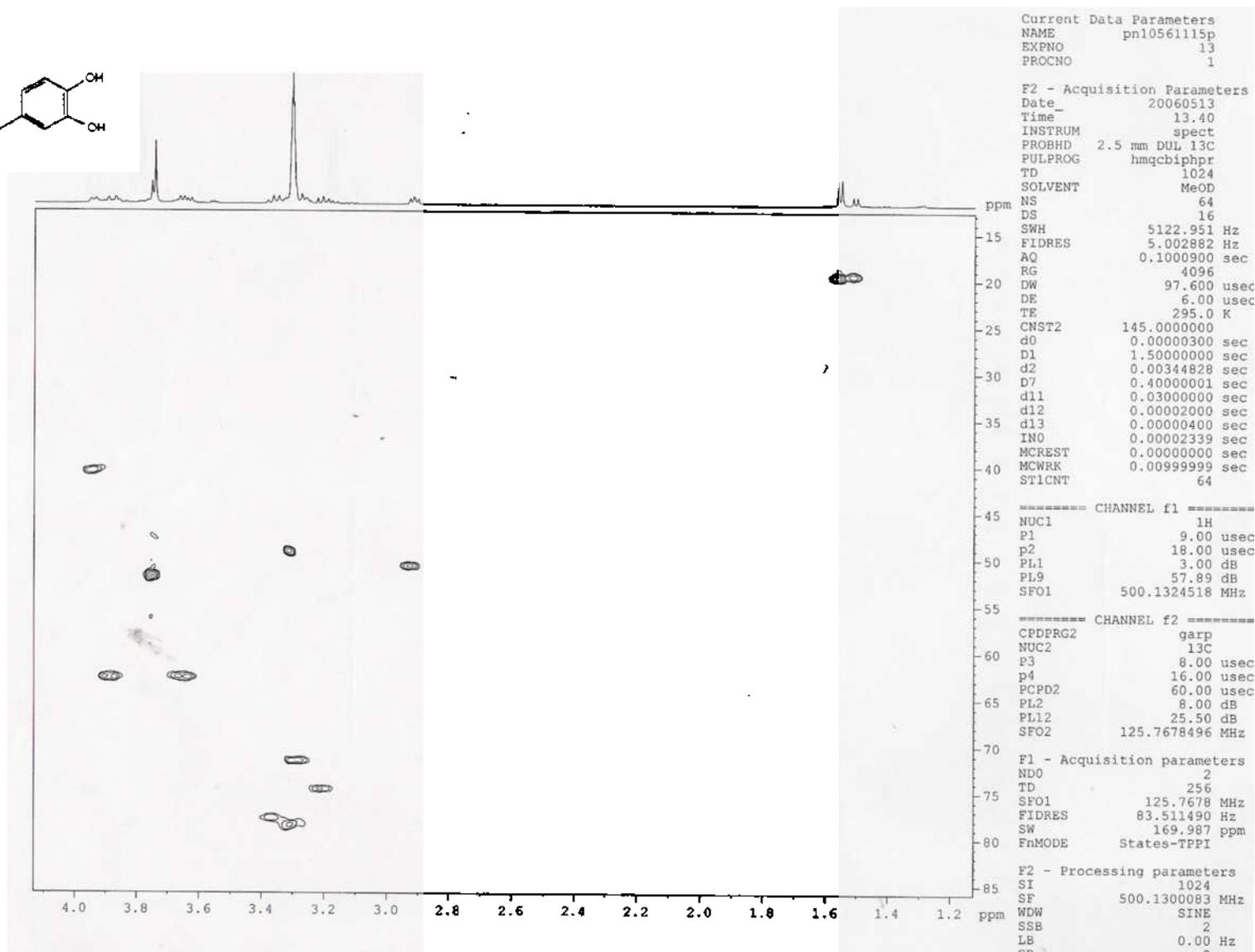
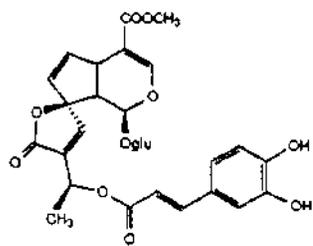
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  garp
NUC2     13C
P3       8.00 usec
p4       16.00 usec
PCPD2    60.00 usec
PL2      8.00 dB
PL12     25.50 dB
SFO2     125.7678496 MHz

F1 - Acquisition parameters
K00      2
TD       256
SFO1    125.7678 MHz
FIDRES   83.511490 Hz
SW       169.987 ppm
F0MODE   States-TPPI

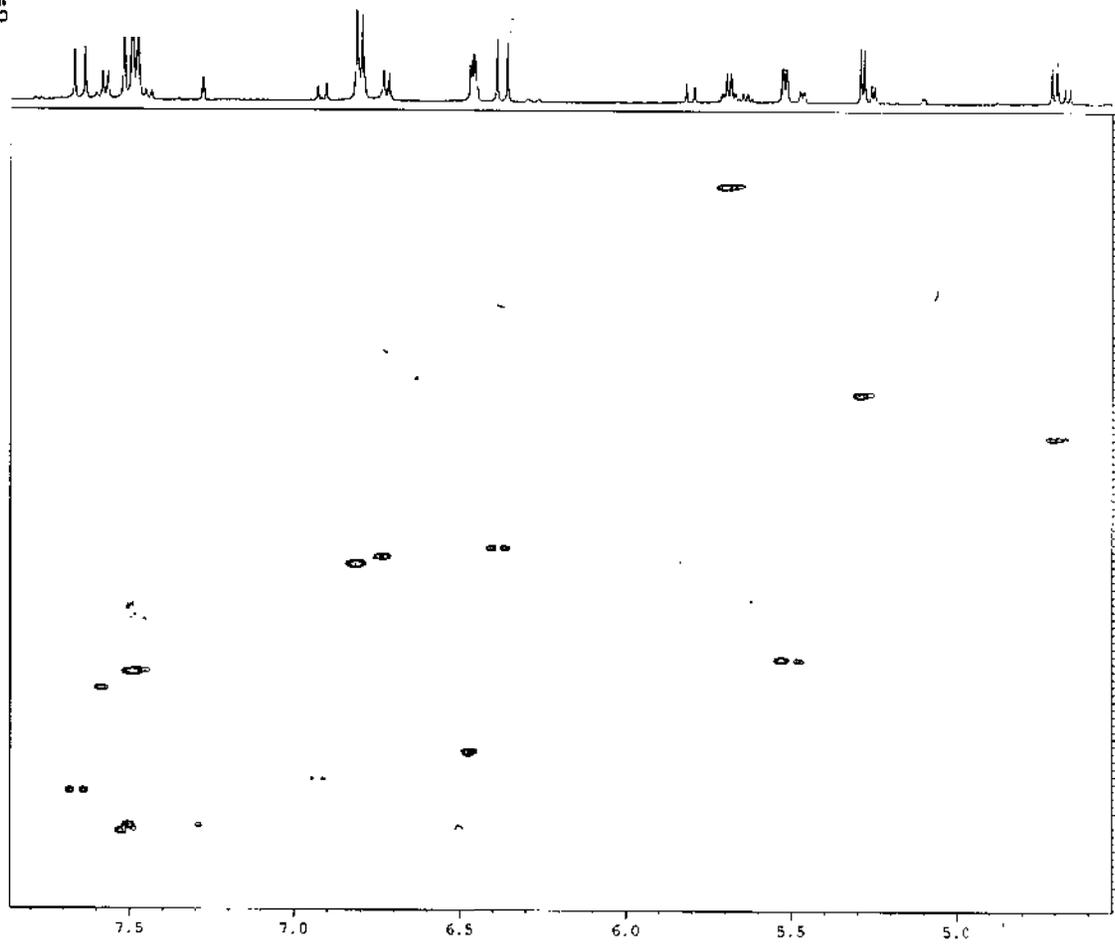
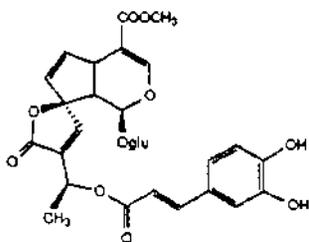
F2 - Processing parameters
SI       1024
SF       500.130083 MHz
WDW      SINE
SSB      2
GB       0
CB       0

```

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        0.0002339 sec
XCFIRST   0.0000000 sec
XCFIRK    0.0000000 sec
ST100     64

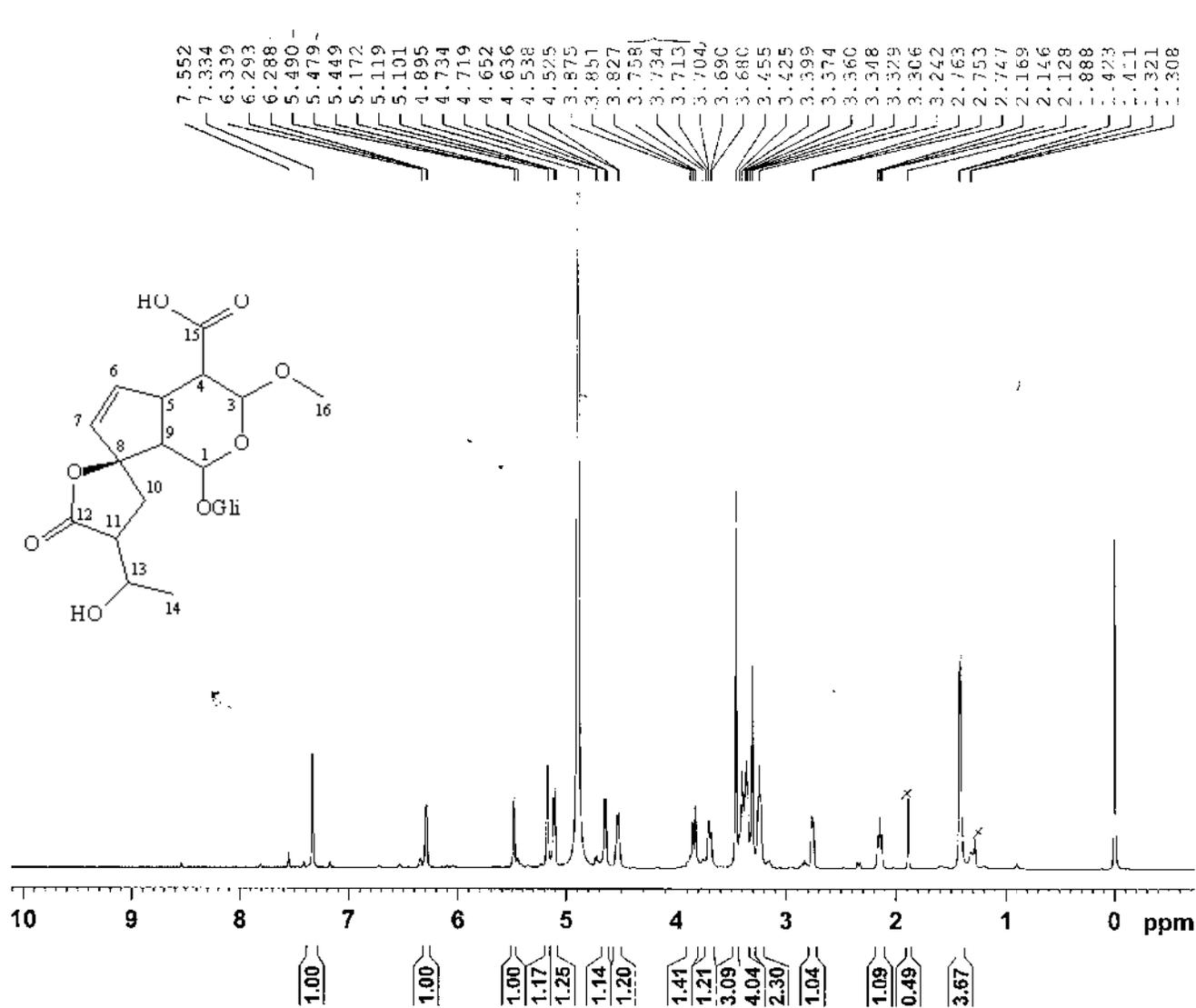
===== CHANNEL f1 =====
105 NUC1      1H
    F1         9.00 usec
    P2        18.00 usec
    PL1        3.00 dB
    PL2        57.89 dB
115 SFO1     500.1324518 MHz

===== 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 N2D     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-caffeoyl plumericídeo (HDCA-4)



BRÜKER

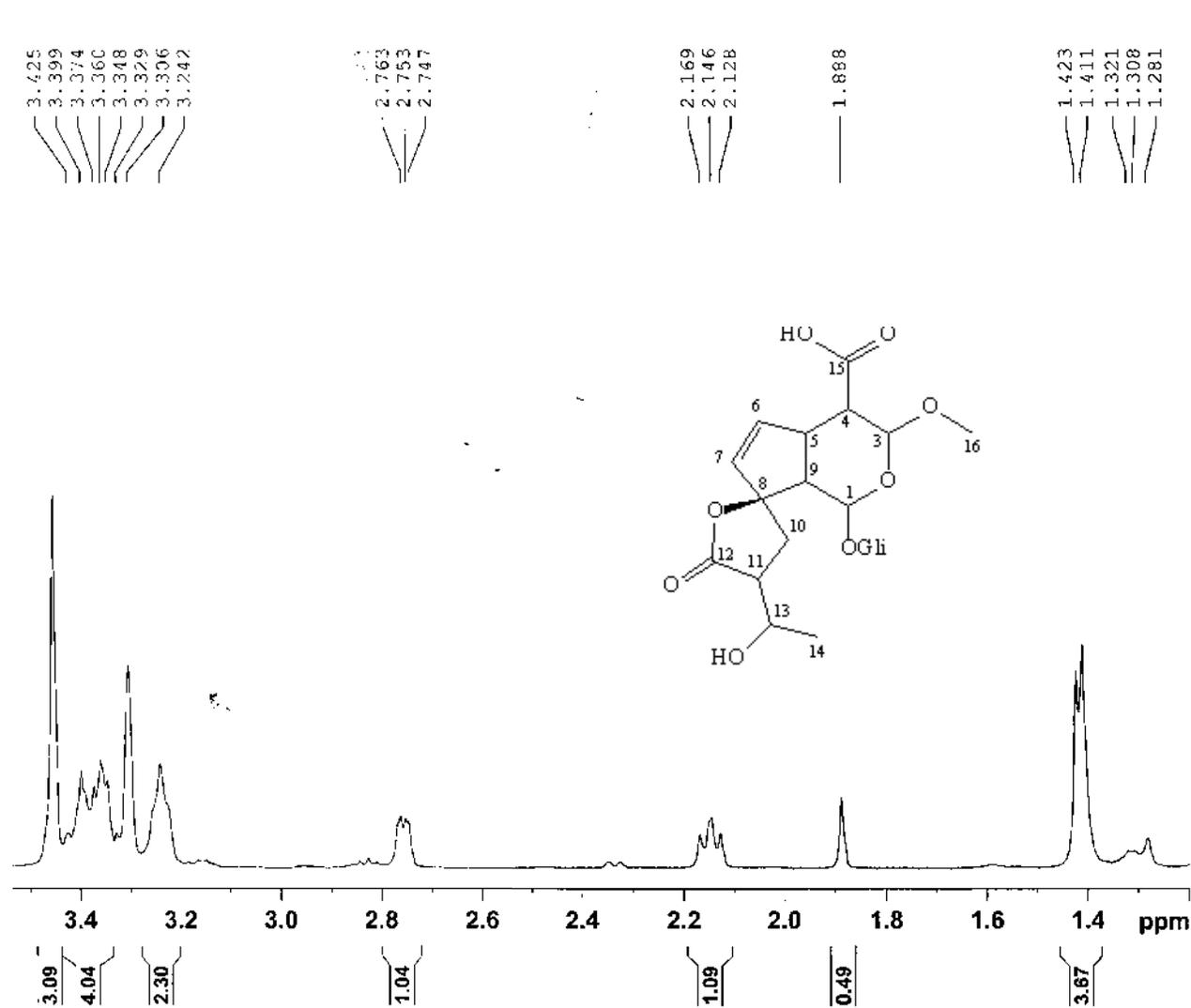
Current Data Parameters
 NAME H0CD06
 EXPNO 10
 PROCNO 1

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
 SWH 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 RMN¹H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



BRÜKER

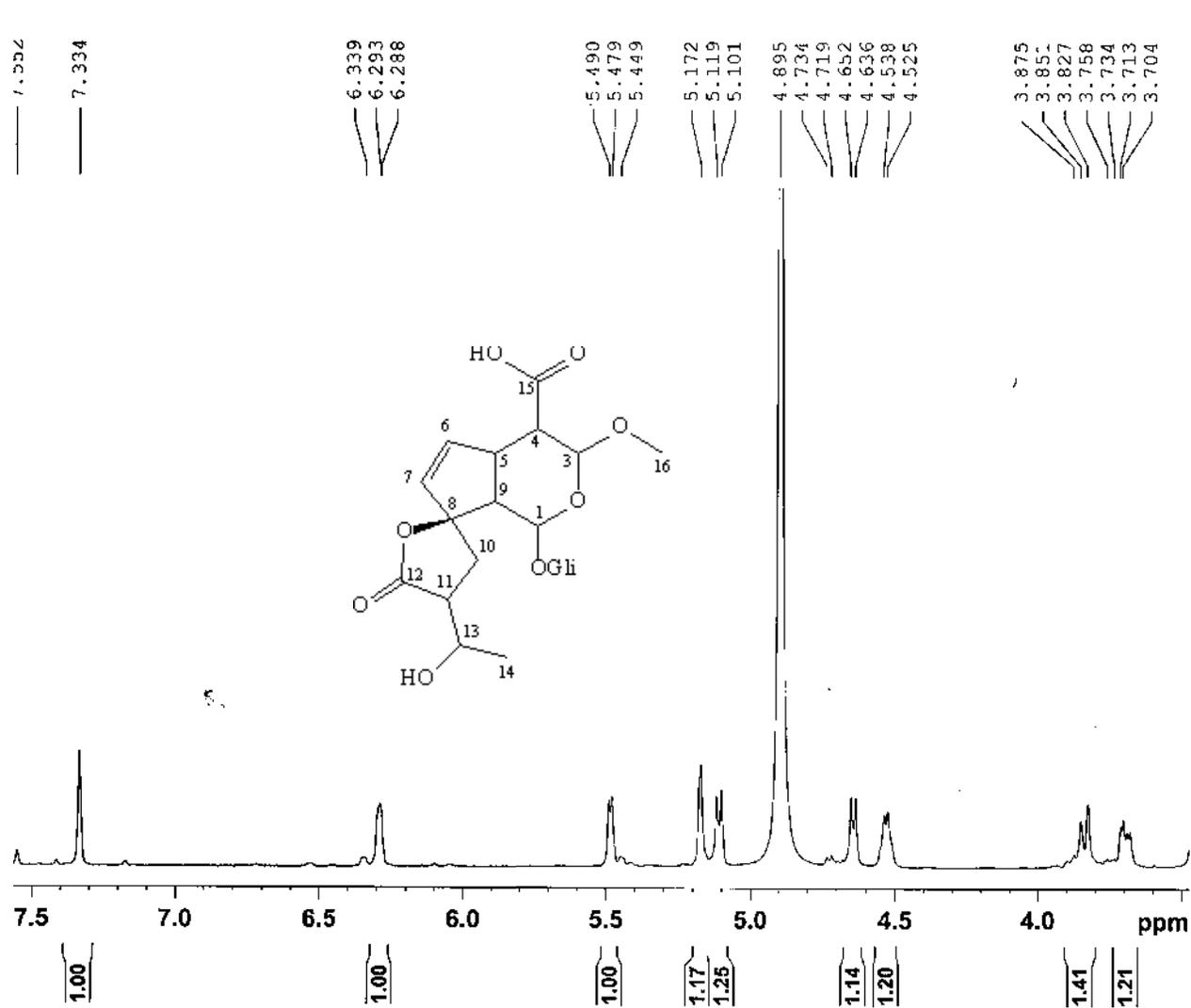
Current Data Parameters
 NAME HDCD6
 EXPNO 10
 PROCNO 1

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 RMN¹H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



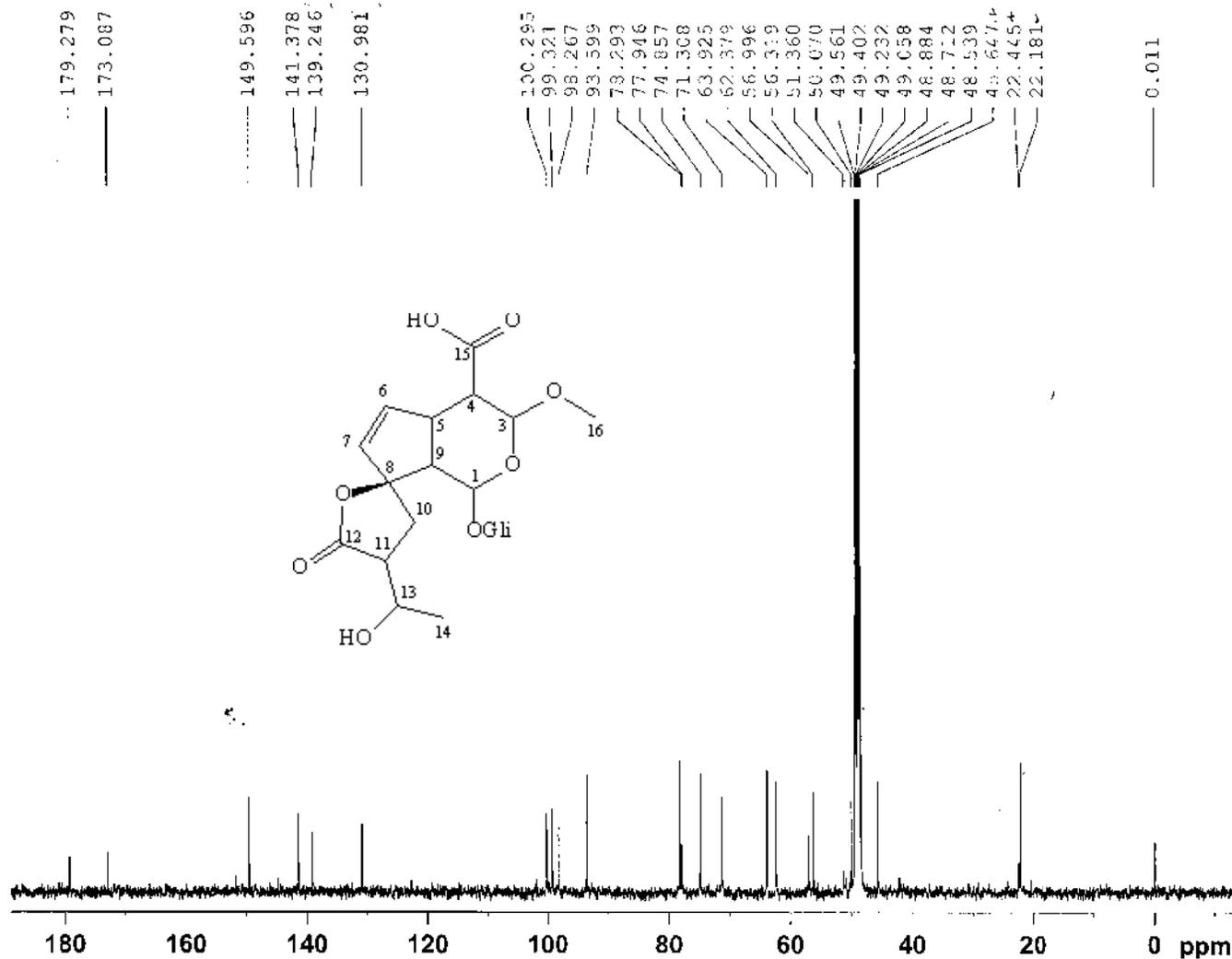
Current Data Parameters
 NAME HJCD6
 EXPNO 10
 PROCNO 1

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
 SFO1 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 RMN¹H (MeOD, 500MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



BRUKER

Current Data Parameters
 NAME HCCD6
 EXPNO 20
 PROCNO 1

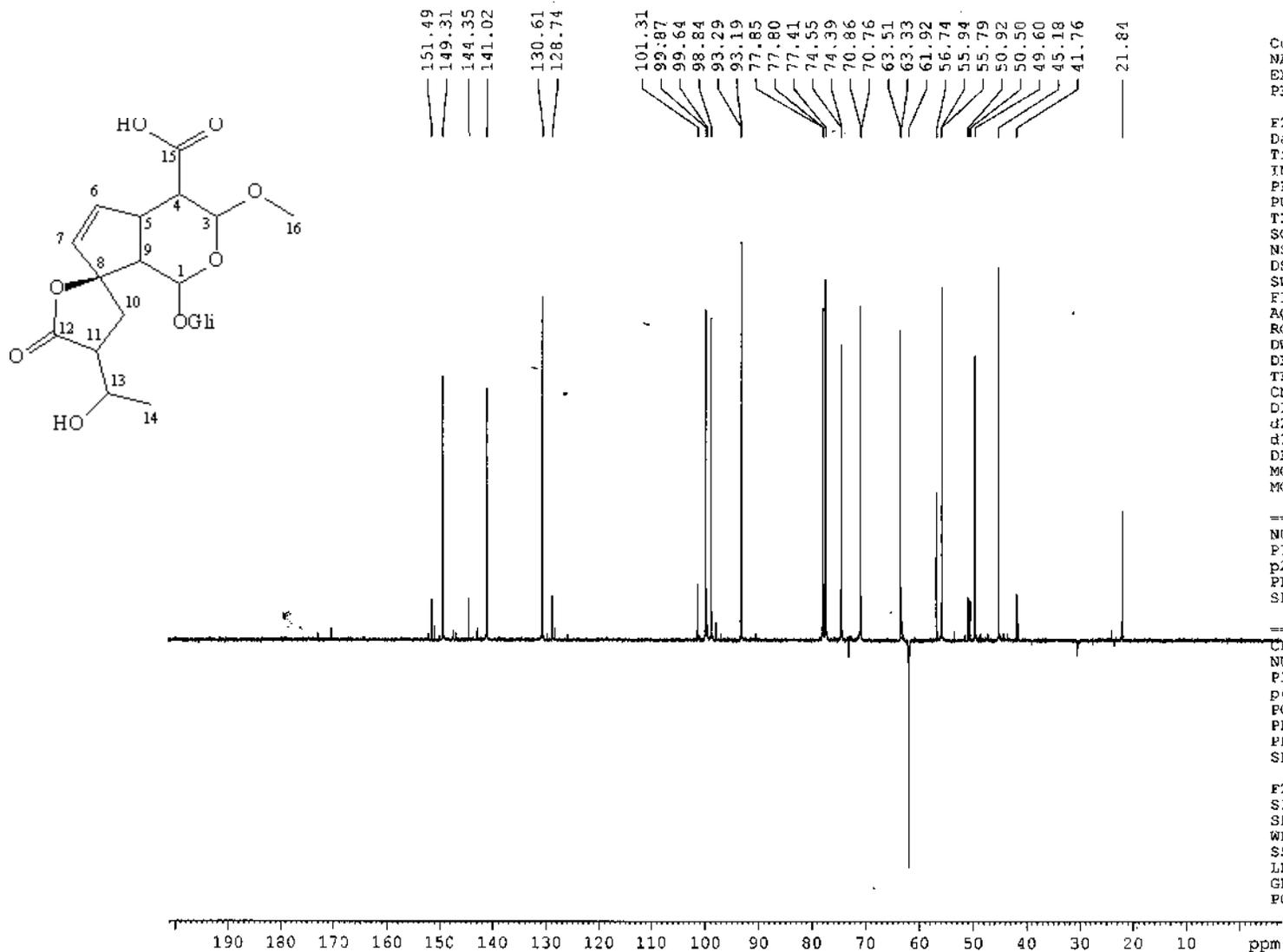
F2 - Acquisition Parameters
 Date 20041209
 Time 20.09
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H
 PULPROG zgpg30
 TD 16384
 SOLVENT MeOD
 NS 4096
 DS 4
 SWH 30030.029 Hz
 FIDRES 1.832888 Hz
 AQ 0.2728603 sec
 RG 32768
 DW 16.650 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 0.1000000 sec
 d11 0.0300000 sec
 MCREST 0.0000000 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
 SSB 0

Espectro 71 – Espectro RMN¹³C (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

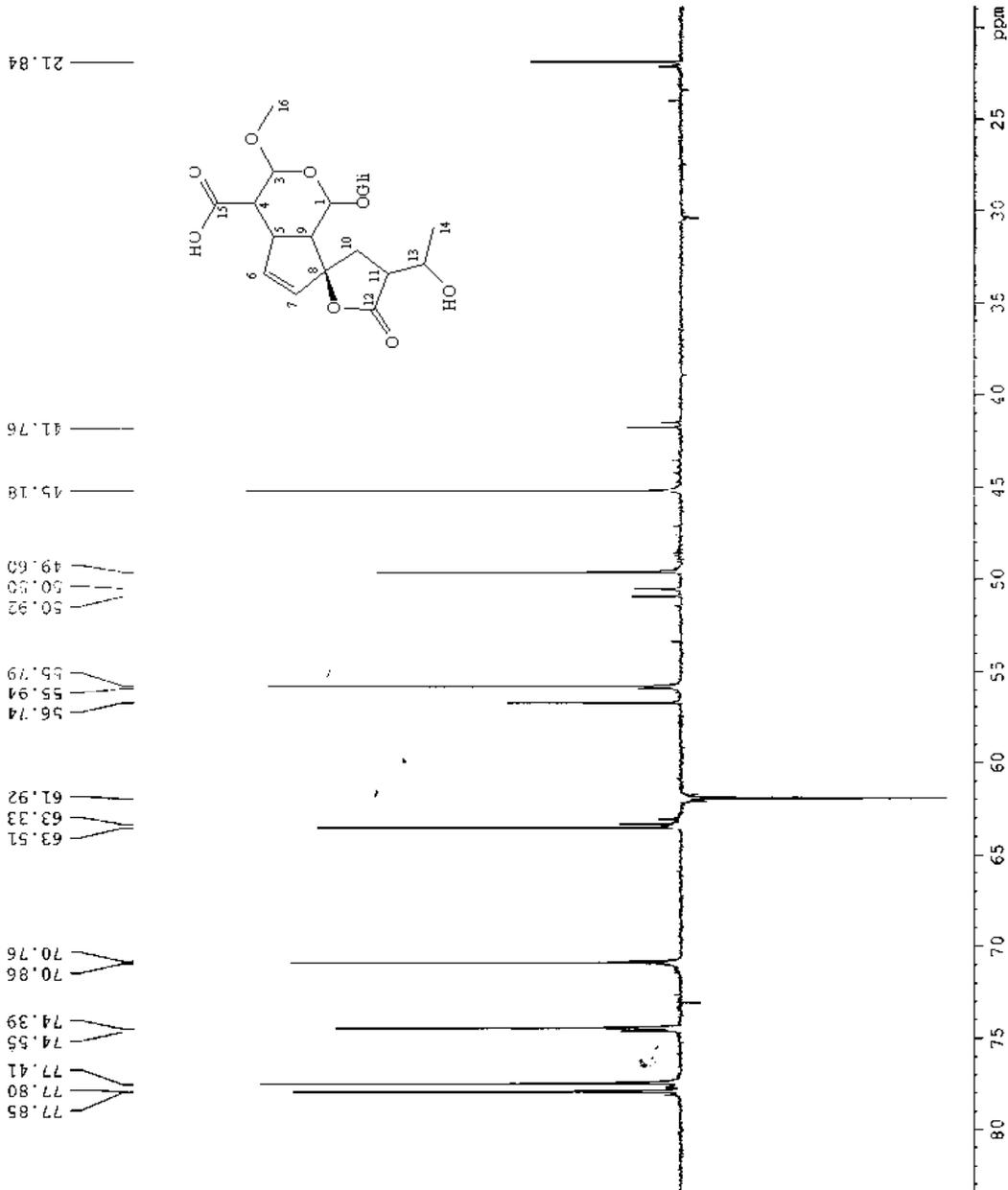
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050625
 Time_ 15.17

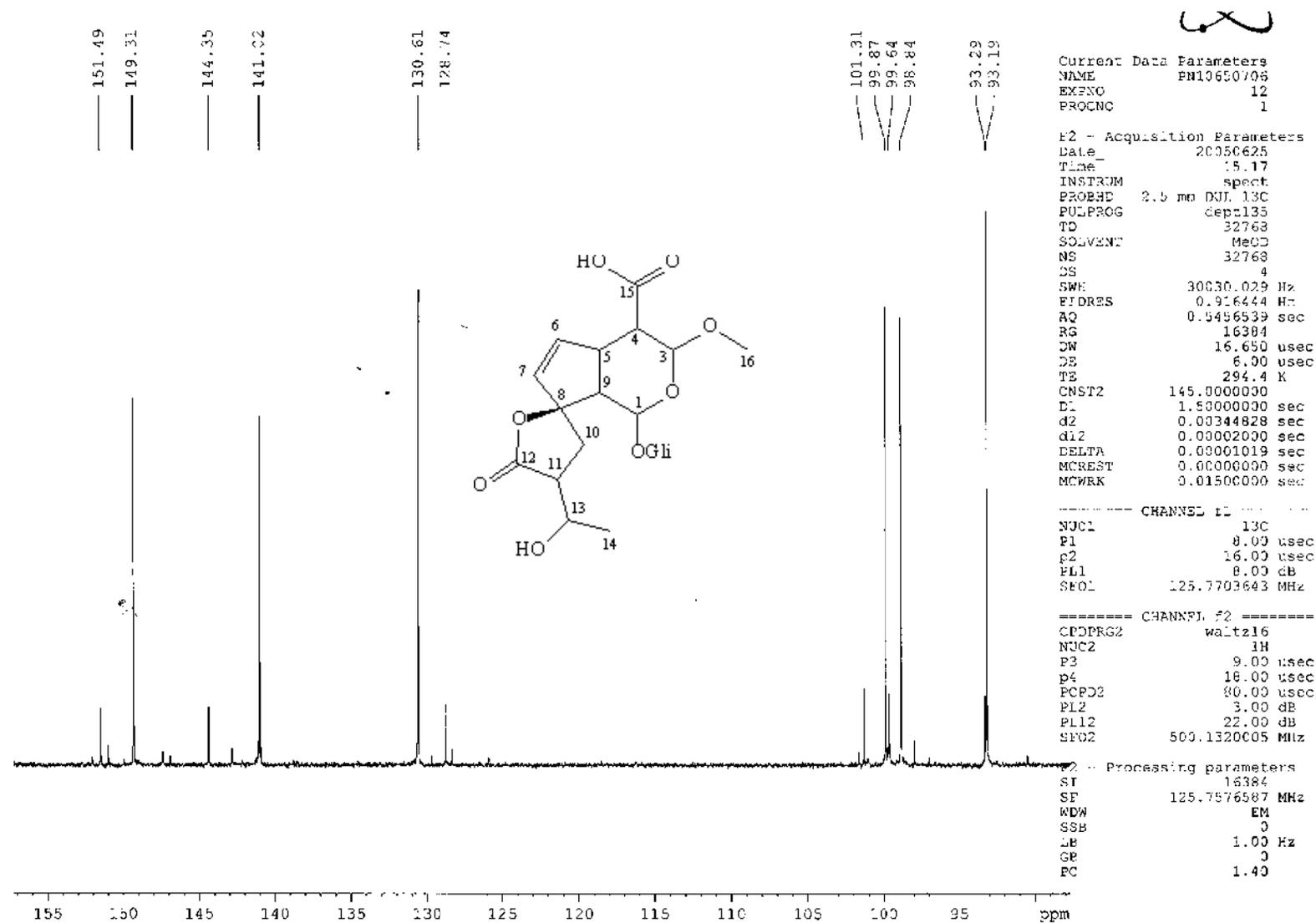
INSTRUM Spect
 PROBHD 2.5 mm DUL 13C
 PULPROG dept135
 TD 32768
 SOLVENT MeOD
 NS 32768
 DS 4
 SWH 30030.029 Hz
 FIDRES 0.1916444 Hz
 AQ 0.5456539 sec
 RG 16384
 DW 16.650 usec
 DE 6.00 usec
 TE 294.4 K
 CNST2 145.0000000
 D1 1.50000000 sec
 d2 0.0034828 sec
 g12 0.00002000 sec
 DELTA 0.0001019 sec
 MCREST 0.0000000 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

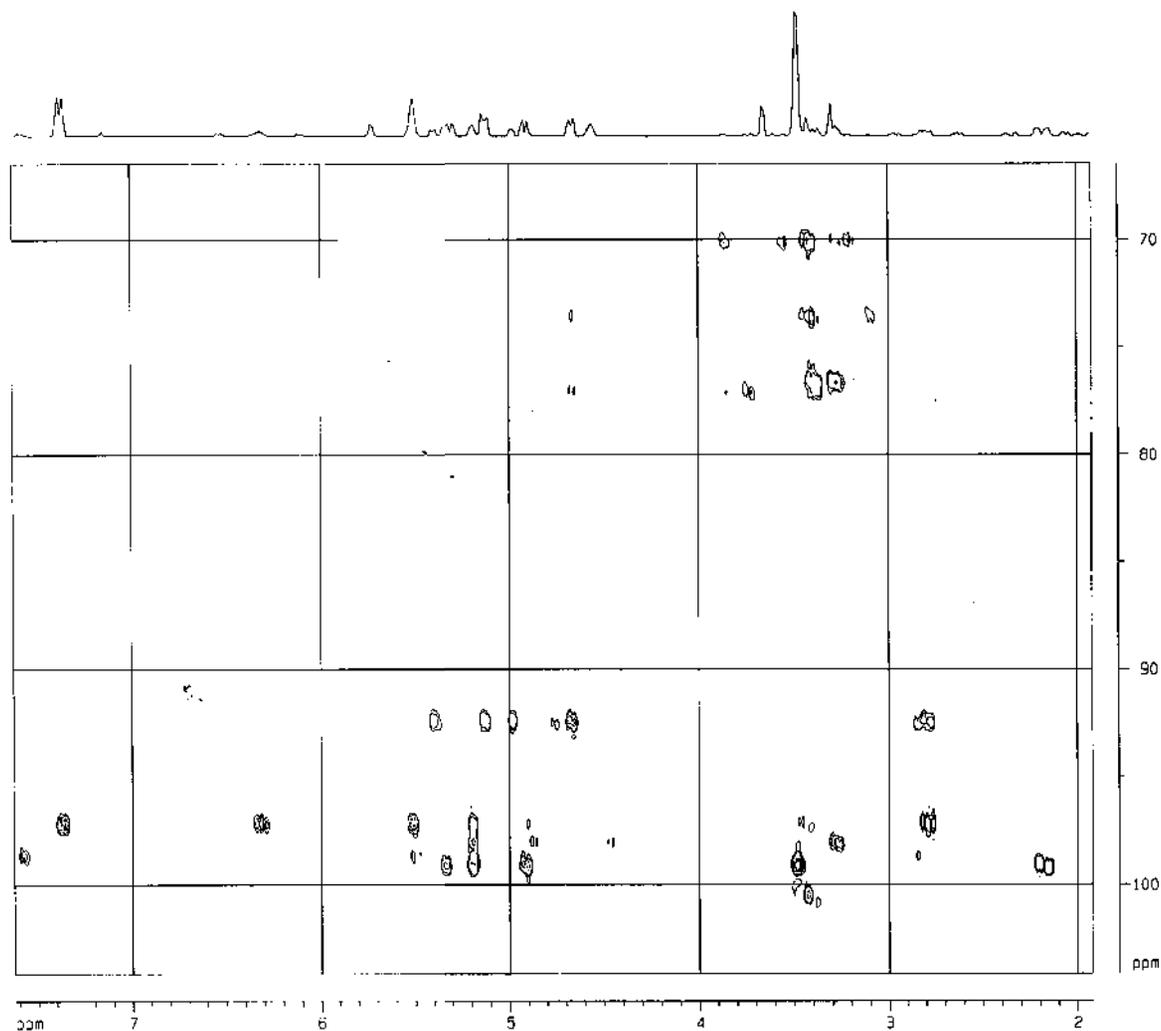
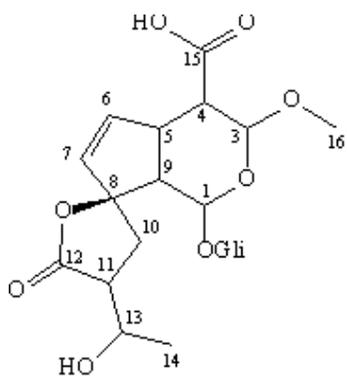
F2 - Processing parameters
 SI 16384
 SF 125.7576587 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 FC 1.40





171

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

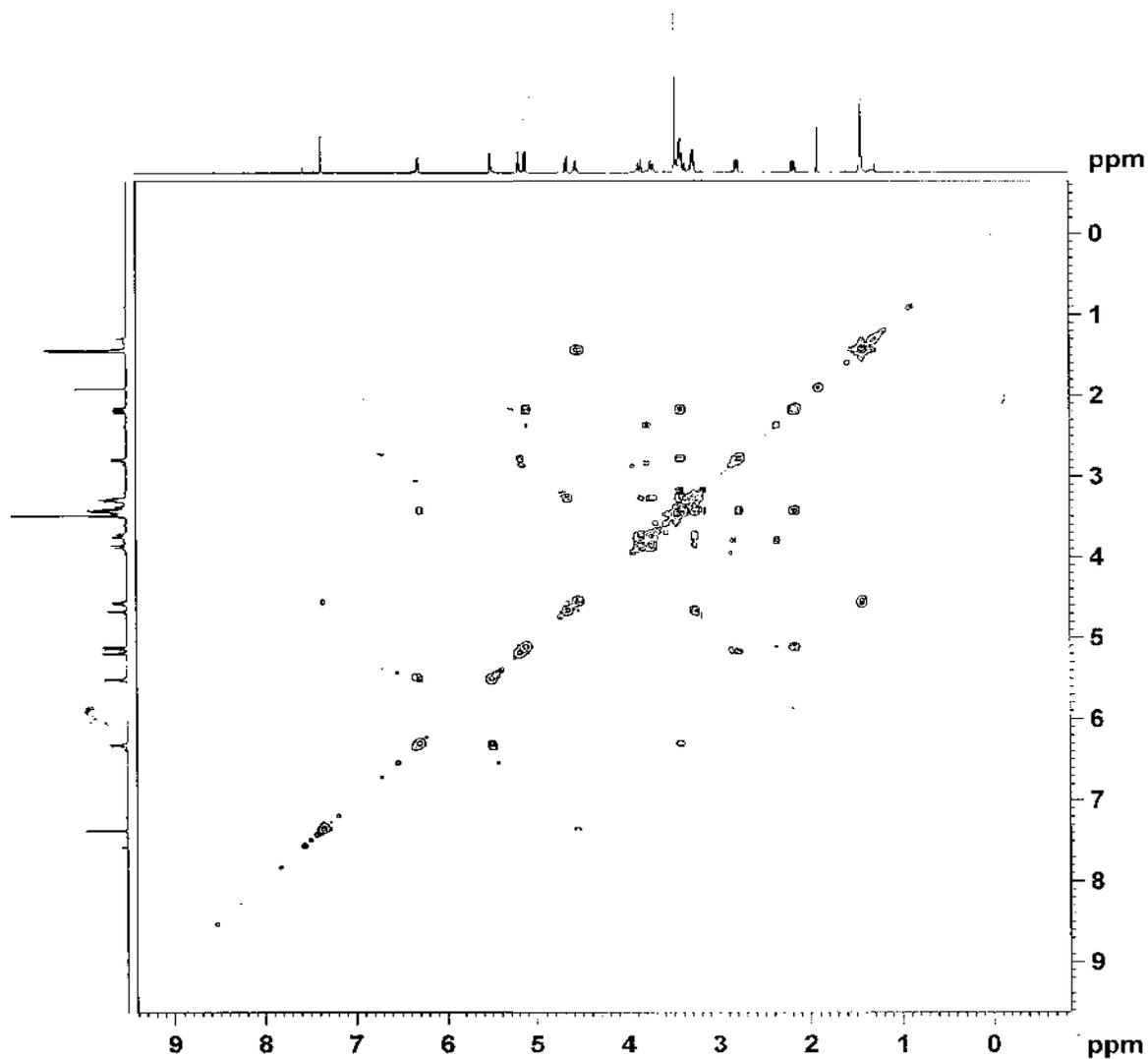


```

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          1188.202 MHz
FREQS        125.762500 MHz
AQ           0.429724 sec
RG           3248
DE           104.480 uS
TE           300.2 K
CARET        0.000000
AQ           0.0200000 sec
SI           1.0000000 sec
SS           0.0025000 sec
DLE          0.0001000 sec
SFO          0.0000000 sec
RG          0.0000000 sec
RG          0.0000000 sec
RG          0.0000000 sec
RG          1.5000000 sec
-----
NUC1          CHANNEL 1
NUC1         13C
P1           6.00 uS
PR           38.00 dB
PL1          -2.00 dB
SFO1         101.625300 MHz
-----
NUC2          CHANNEL 2
NUC2         1H
P2           7.00 uS
PR           19.00 dB
PL2          -10.00 dB
SFO2         500.1362500 MHz
-----
===== CHANNEL Coupling =====
SFO1         101.625300 MHz
SFO2         500.1362500 MHz
SFO3         500.1362500 MHz
SFO4         500.1362500 MHz
SFO5         500.1362500 MHz
SFO6         500.1362500 MHz
SFO7         500.1362500 MHz
SFO8         500.1362500 MHz
SFO9         500.1362500 MHz
SFO10        500.1362500 MHz
SFO11        500.1362500 MHz
SFO12        500.1362500 MHz
SFO13        500.1362500 MHz
SFO14        500.1362500 MHz
SFO15        500.1362500 MHz
SFO16        500.1362500 MHz
SFO17        500.1362500 MHz
SFO18        500.1362500 MHz
SFO19        500.1362500 MHz
SFO20        500.1362500 MHz
-----
F1 - Processing parameters
SI           65536
SF           500.1362500 MHz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.000000
PC           1.00
-----
F2 - Processing parameters
SI           65536
SF           101.625300 MHz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.000000
PC           1.00
-----
F3 - Processing parameters
SI           65536
SF           101.625300 MHz
WDW          EM
SSB           0
GB           0.000000
PC           1.00
-----
2D NMR parameters
NUC1         13C
NUC2         1H
F2P1         101.625300 MHz
F2P2         500.1362500 MHz
F2P3         500.1362500 MHz
F2P4         500.1362500 MHz
F2P5         500.1362500 MHz
F2P6         500.1362500 MHz
F2P7         500.1362500 MHz
F2P8         500.1362500 MHz
F2P9         500.1362500 MHz
F2P10        500.1362500 MHz
F2P11        500.1362500 MHz
F2P12        500.1362500 MHz
F2P13        500.1362500 MHz
F2P14        500.1362500 MHz
F2P15        500.1362500 MHz
F2P16        500.1362500 MHz
F2P17        500.1362500 MHz
F2P18        500.1362500 MHz
F2P19        500.1362500 MHz
F2P20        500.1362500 MHz
-----

```

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



Current Data Parameters
 NAME pn10650706
 EXPNO 11
 PROCNO 1

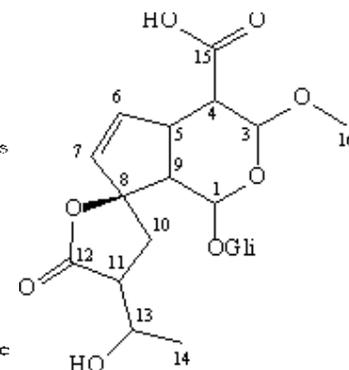
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20050622
 Time 15.37
 INSTRUM spect
 PROBMU 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG cosygpprqf
 TD 2048
 SOLVENT MeOD
 NS 32
 DS 4
 SWH 5208.333 Hz
 FIDRES 2.543132 Hz
 AQ 0.1966580 sec
 RG 812.7
 CW 96.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE C.C K
 d0 0.0000300 sec
 d1 2.0000000 sec
 d11 0.0300000 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

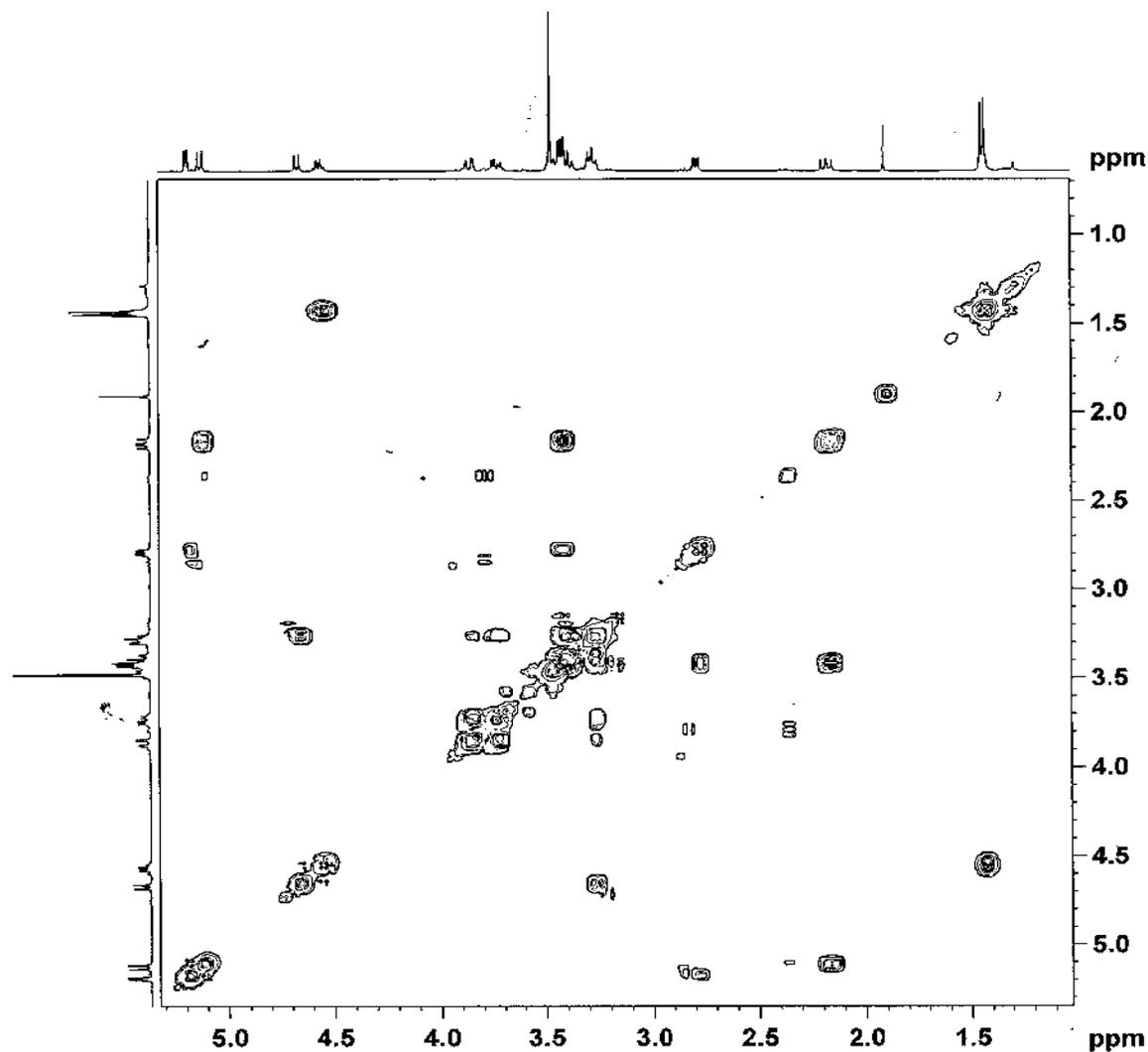
----- GRADIENT CHANNEL -----
 GPNAM1 SINE.100
 GPX1 0.00 %
 GPY1 0.00 %
 GPZ1 80.00 %
 P16 1000.00 usec

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 COSY¹ Hx¹H (MeOD, 400MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



Current Data Parameters
 NAME pnl0650706
 EXPNO 11
 PROCNO 1

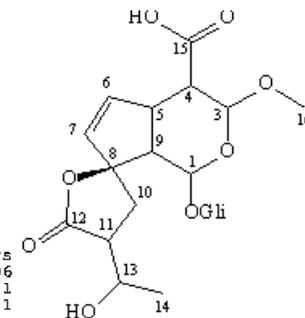
F2 - Acquisition Paramet
 Date_ 20050622
 Time 15.37
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG cosygpprqf
 TD 2048
 SOLVENT MeOD
 NS 32
 DS 4
 SWH 5208.333 Hz
 FIDRES 2.543132 Hz
 AQ 0.1966580 sec
 RG 812.7
 DW 96.000 usec
 DE 6.00 usec
 TE 0.0 K
 d0 0.00000300 sec
 D1 2.00000000 sec
 D11 0.03000000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

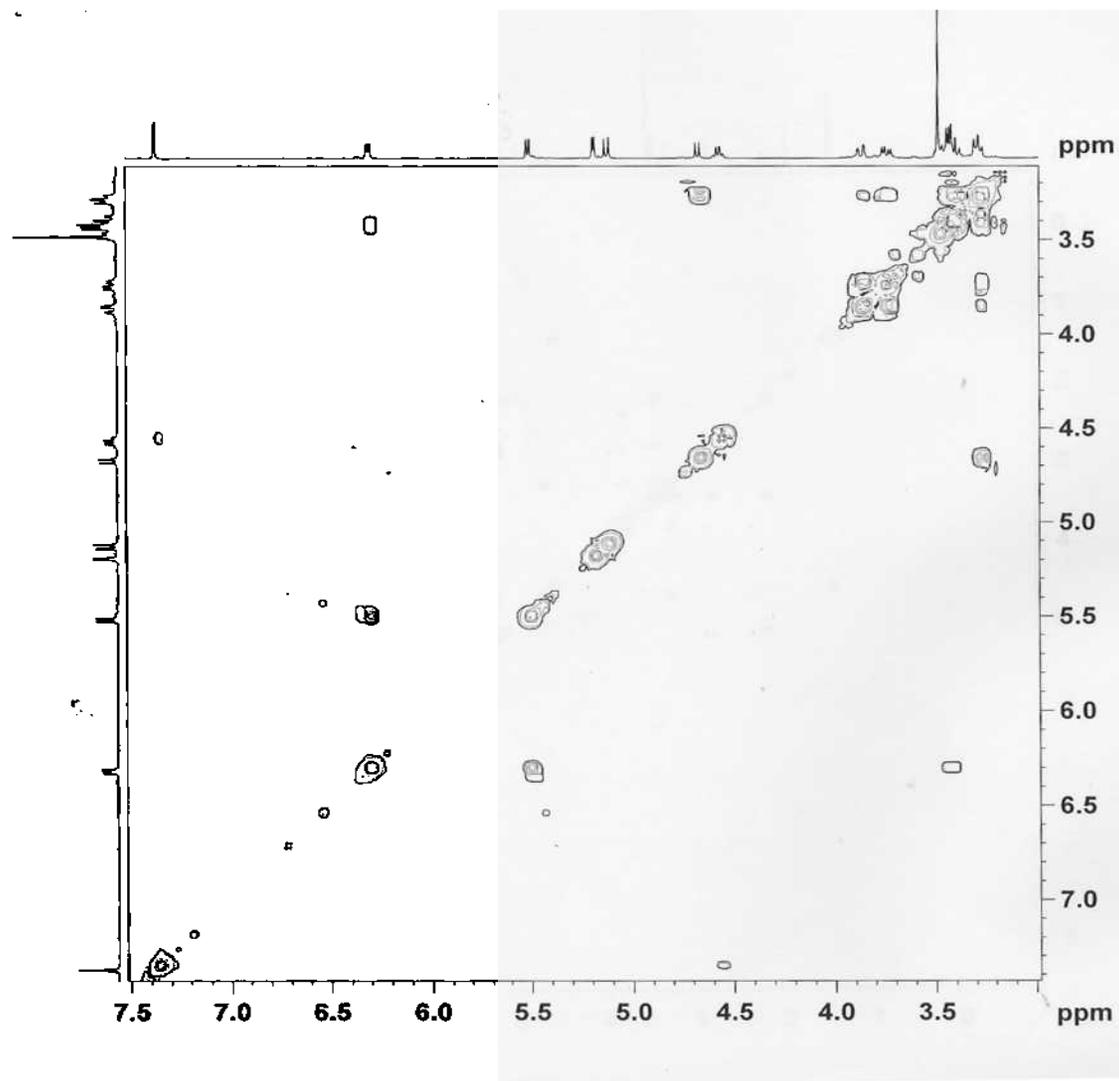
----- GRADIENT CHANNEL -----
 GPNAM1 SINE.100
 GPX1 0.00 %
 GPY1 0.00 %
 GPZ1 80.00 %
 P16 1000.00 usec

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 COSY¹ Hx¹H (400MHz) do Ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo



```

Current Data Parameters
NAME          pml0650706
EXPNO         11
PROCNO        1

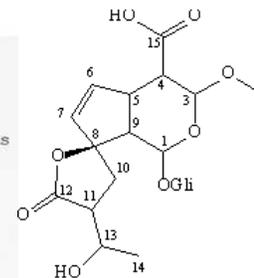
F2 - Acquisition Parameters
Date_         20050622
Time          15.37
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       cosygpprqf
TD            2048
SOLVENT       MeOD
NS            32
DS            4
SWH           5208.333 Hz
FIDRES        2.543132 Hz
AQ            0.1966580 sec
RG            812.7
DW            96.000 usec
DE            6.000 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 =====
GPNAME1       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

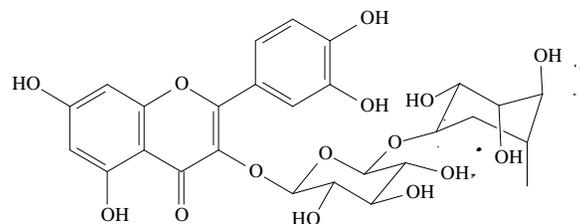
F2 - Processing parameters
SI            1024
SF            400.1400046 MHz
WDW           SINE
SSB           0
LB            0.00 Hz
GB            0
  
```



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

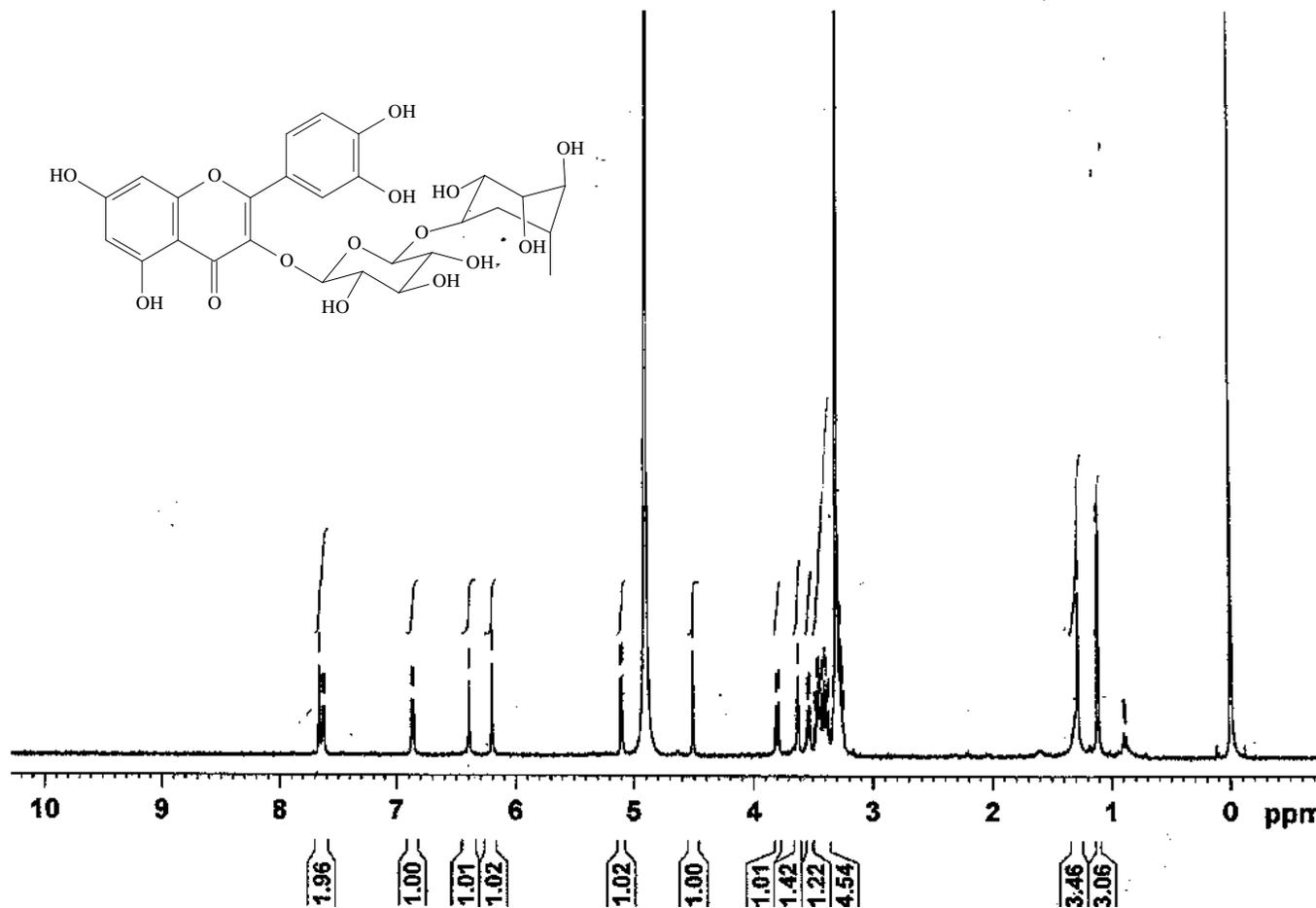


Current Data Parameters
NAME PREP3
EXPNO 10
PROCNO 1

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

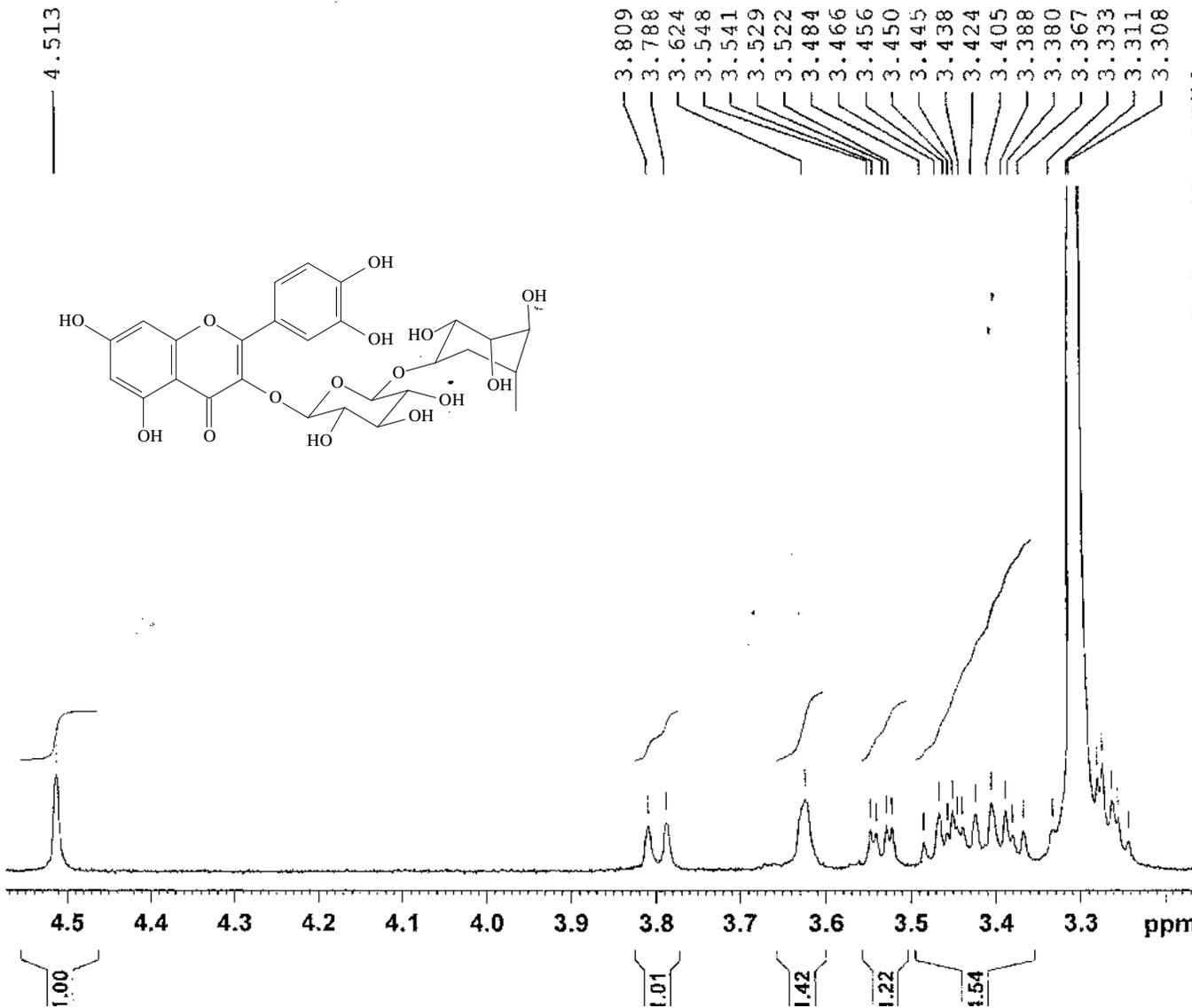
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 500.1300137 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00



181

Espectro 86 - Espectro RMN¹H 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 RMN¹H 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

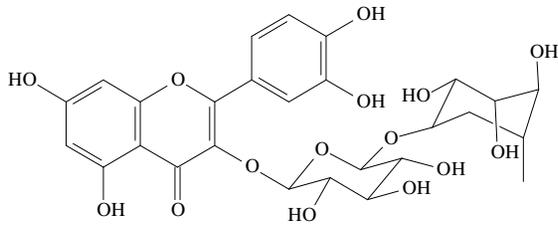
7.663
7.641
7.625
7.621

6.878
6.861

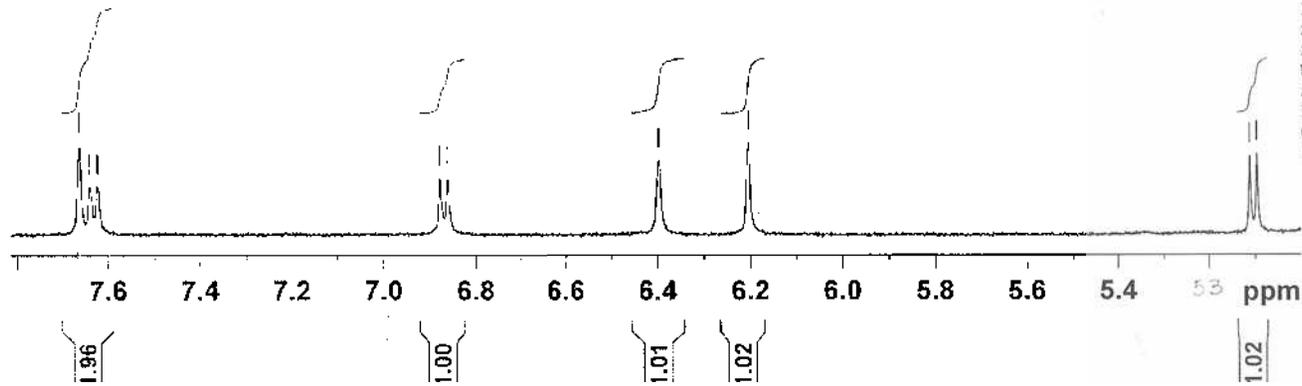
6.398

6.205

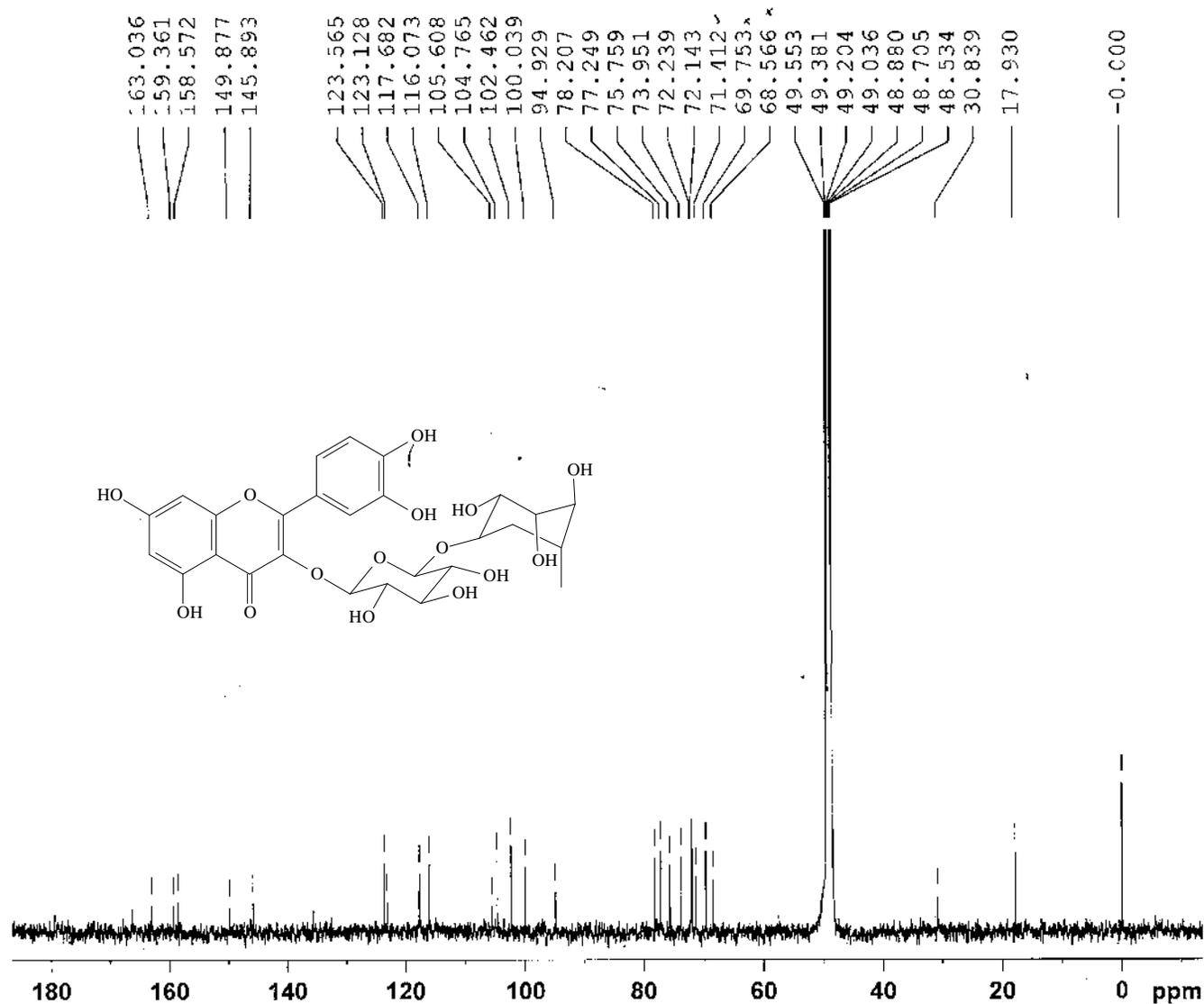
5.112
5.097



581



Espectro 88- 2ª expansão do espectro de RMN¹H 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       20030.029 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
MCHRGST   0.00000000 sec
MCWRRK    0.01500000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      13C
P1        10.00 usec
PL1       0.00 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        8152
SF        125.7576074 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        3.00 Hz
GB        0
PC        1.40

F1 - Processing parameters
SI        512
NUC2      13C
SF        500.1300000 MHz
WDW       SINE
SSB       0
LB        0.10 Hz
GB        0.1
  
```

Espectro 89 - Espectro de RMN¹³C 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

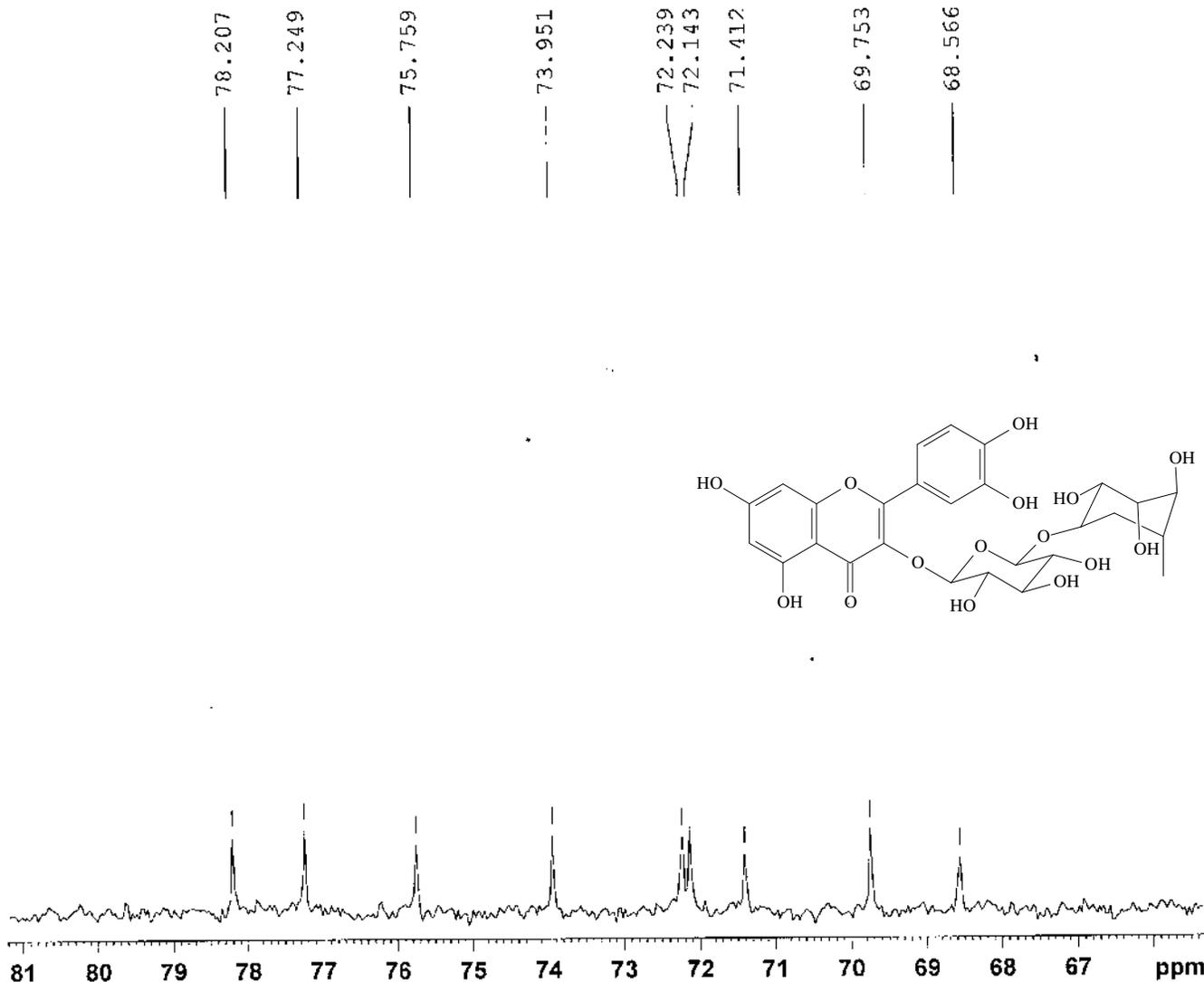
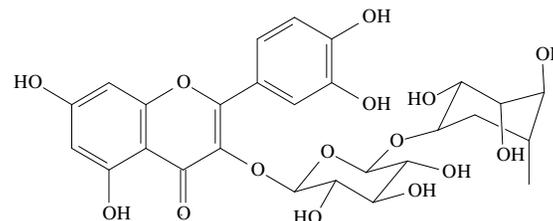
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 10.00 usec
PL1 6.00 dB
SFO1 125.7703643 MHz

===== 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
SW 14.002 ppm
F1MODE QF

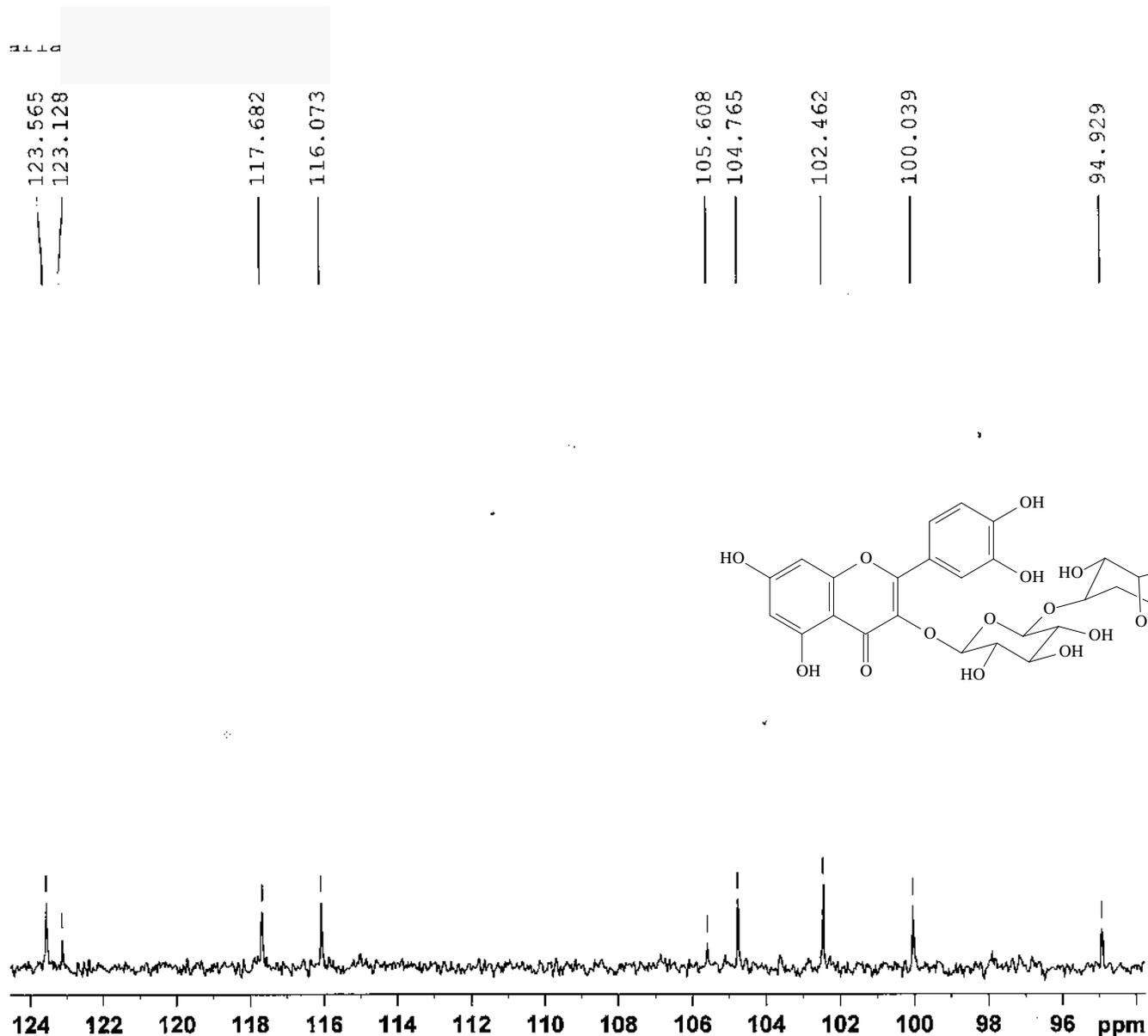
F2 - Processing parameters
SI 8192
SF 125.7576074 MHz
WDW EM
SSR 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40

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 RMN¹³C 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 30030.029 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
PL1 10.00 usec
PL1 6.00 dB
SFO1 125.7703643 MHz

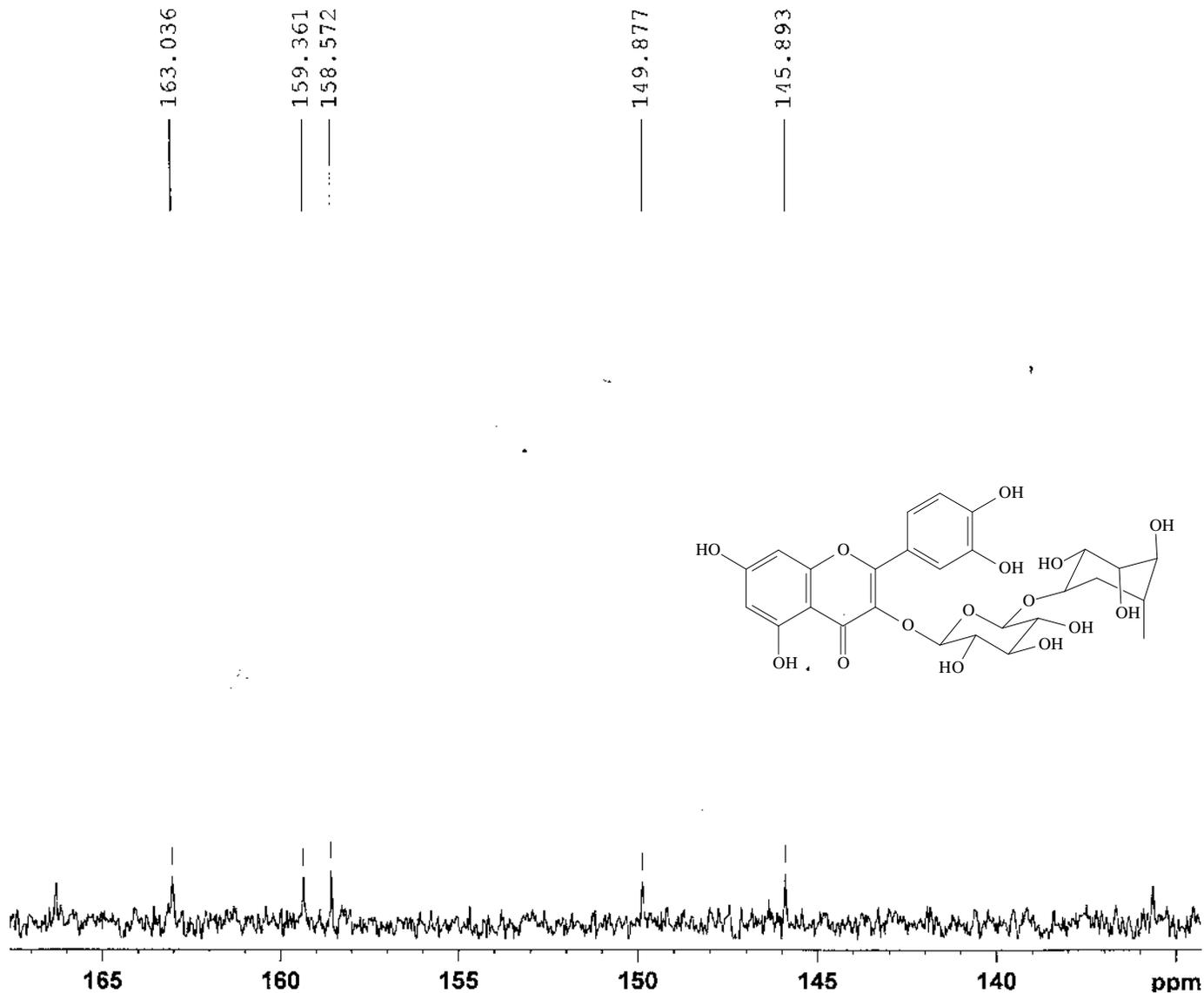
===== CHANNEL f2 =====
CTDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 0.00 dB
PL12 17.89 dB
PL13 17.89 dB
SFO2 500.1320005 MHz

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 RMN¹³C 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

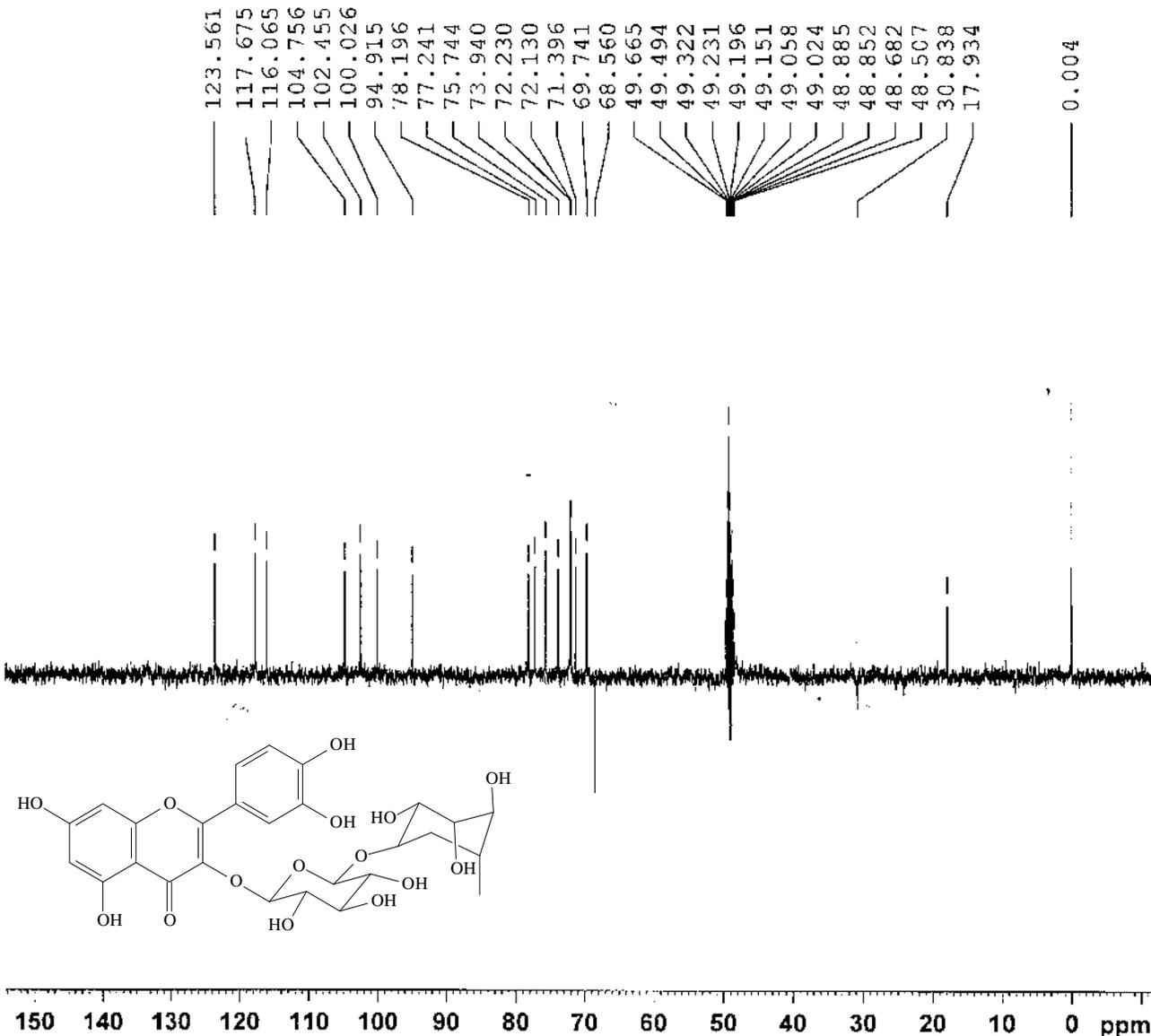
----- CHANNEL f2 -----
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 100.00 usec
 PL2 0.00 dB
 PL12 17.89 dB
 PL13 17.59 dB
 SFO2 500.1320005 MHz

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 RMN¹³C 500 MHz da Rutina



Current Data Parameters
NAME PRFP3
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 2.00000000 sec
d2 0.00344878 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 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



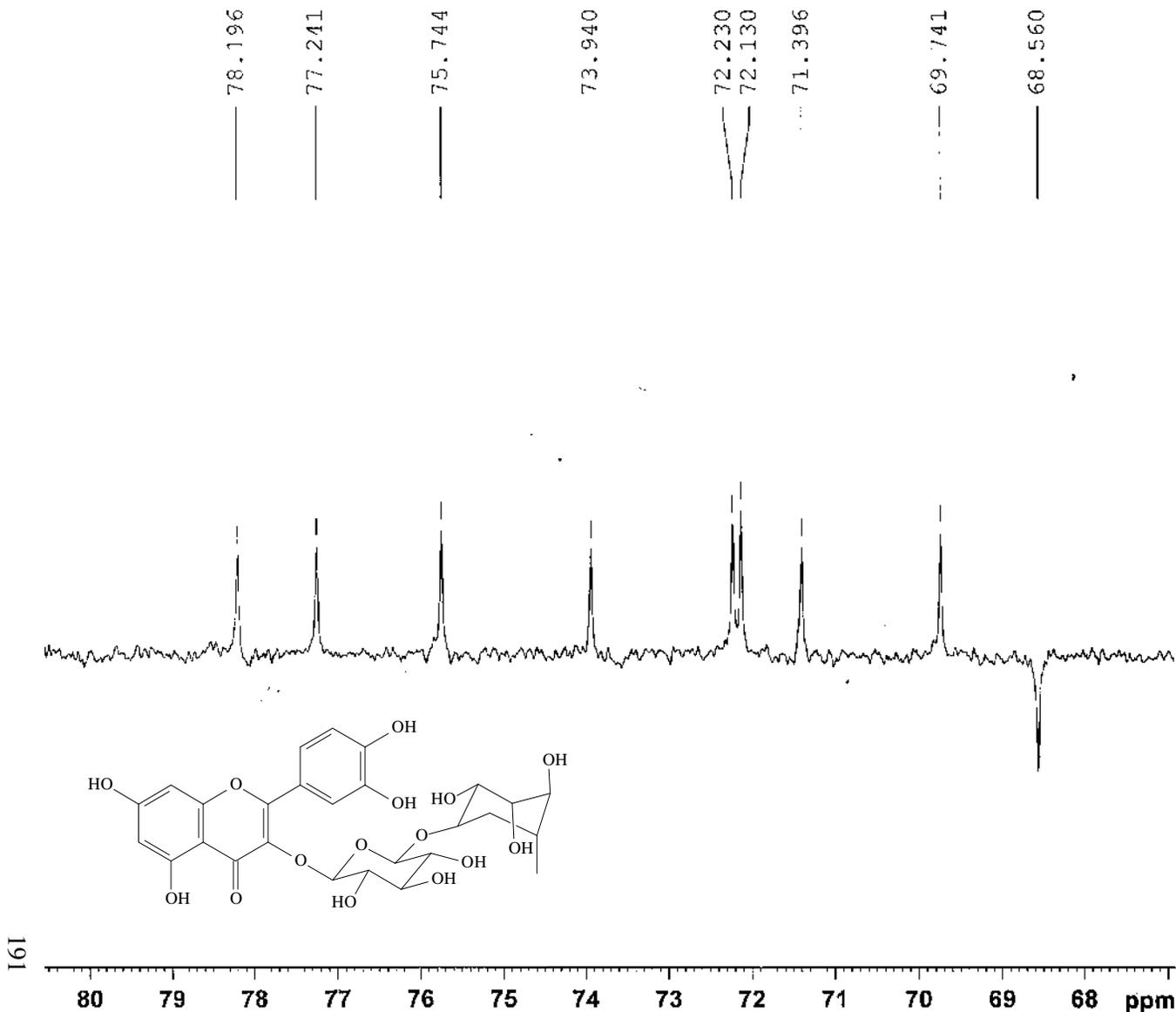
Current Data Parameters
NAME PREP3
EXENO 14
PROCNO 1

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



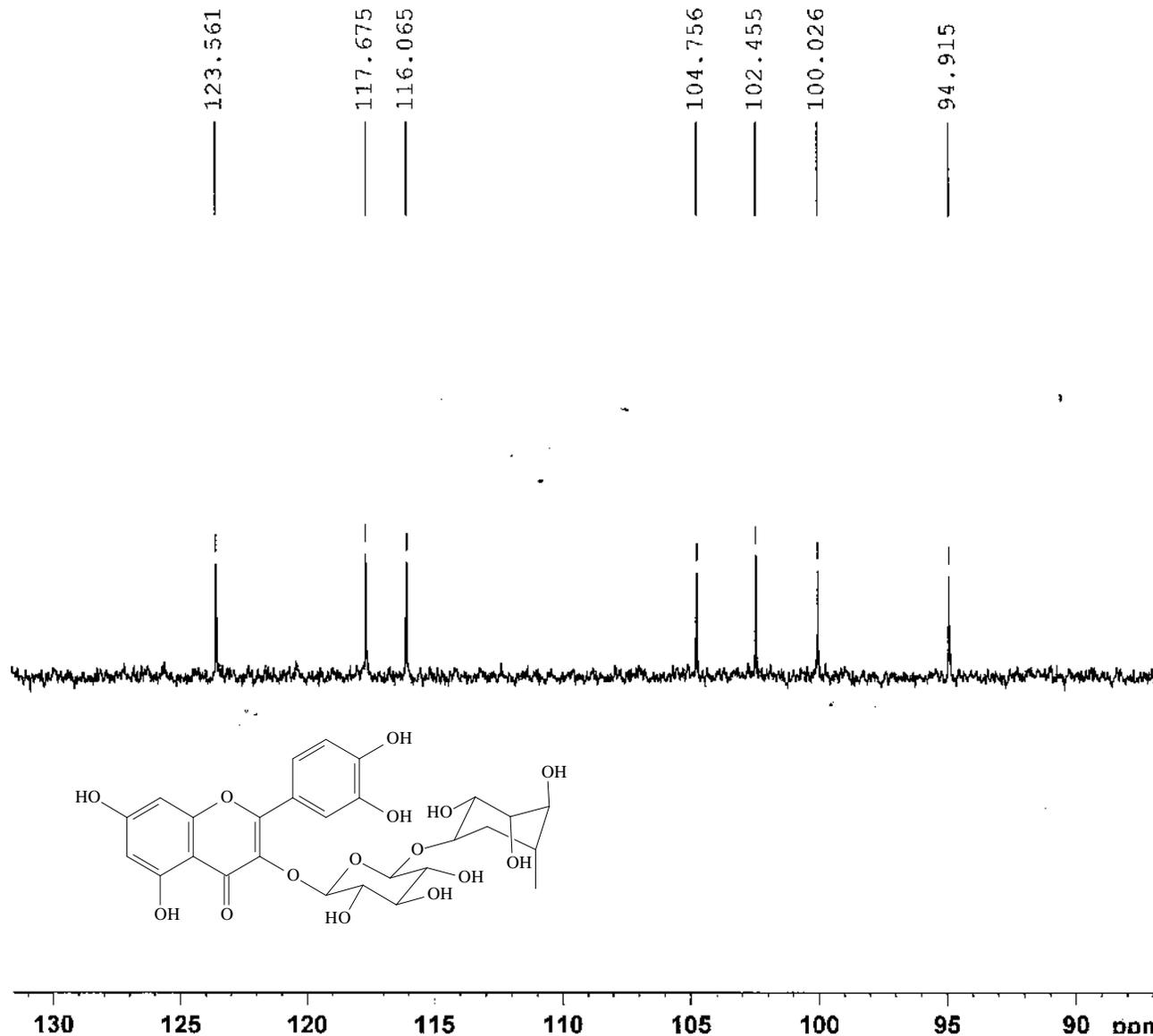
Current Data Parameters
NAME PREP3
EXFNO 14
PROCNO 1

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

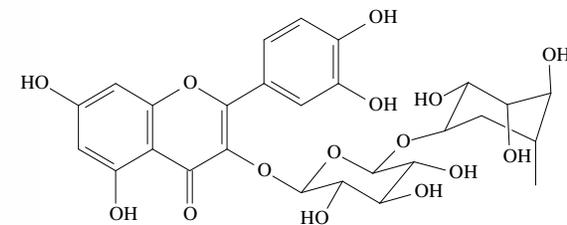
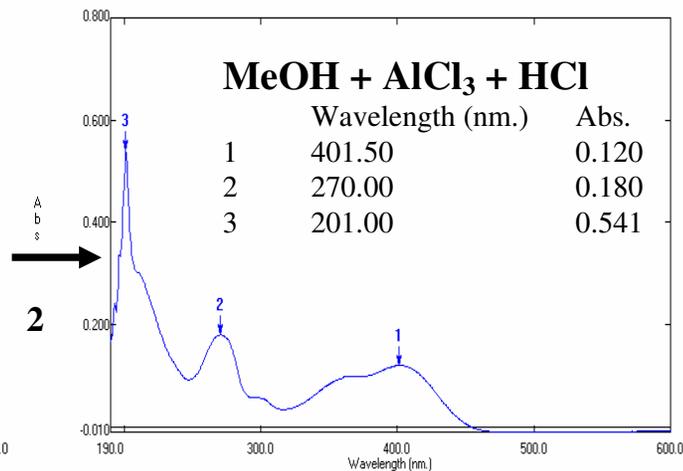
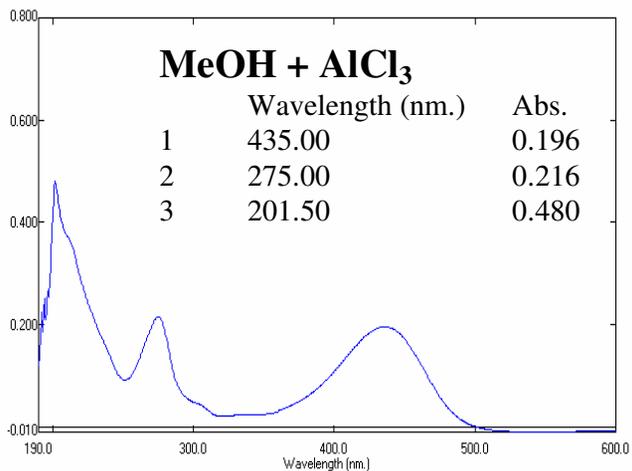
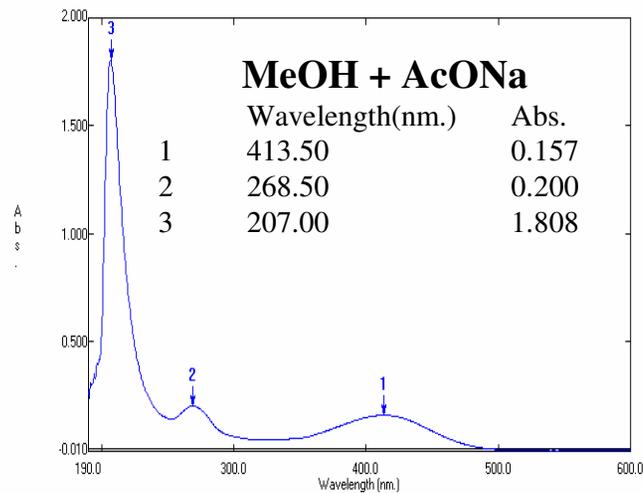
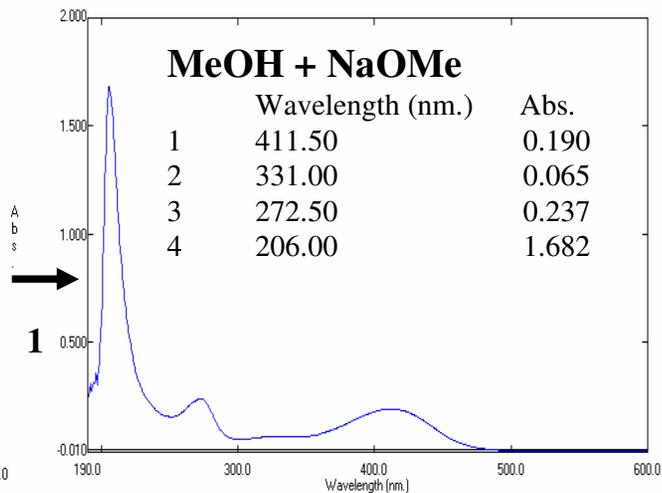
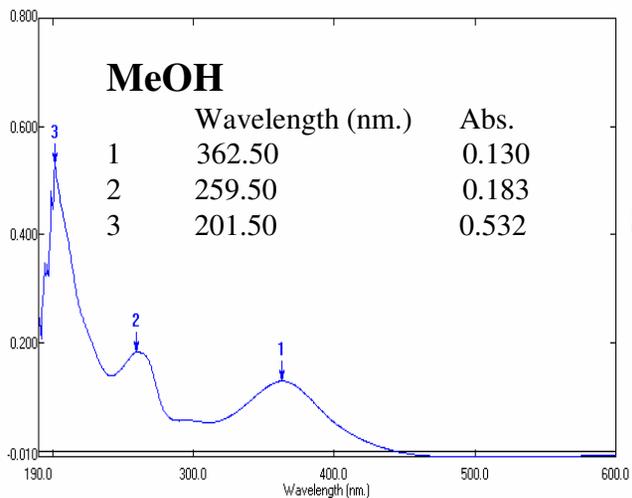
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 10.00 usec
p2 20.00 usec
PL1 6.00 dB
SFO1 125.7703643 MHz

===== 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

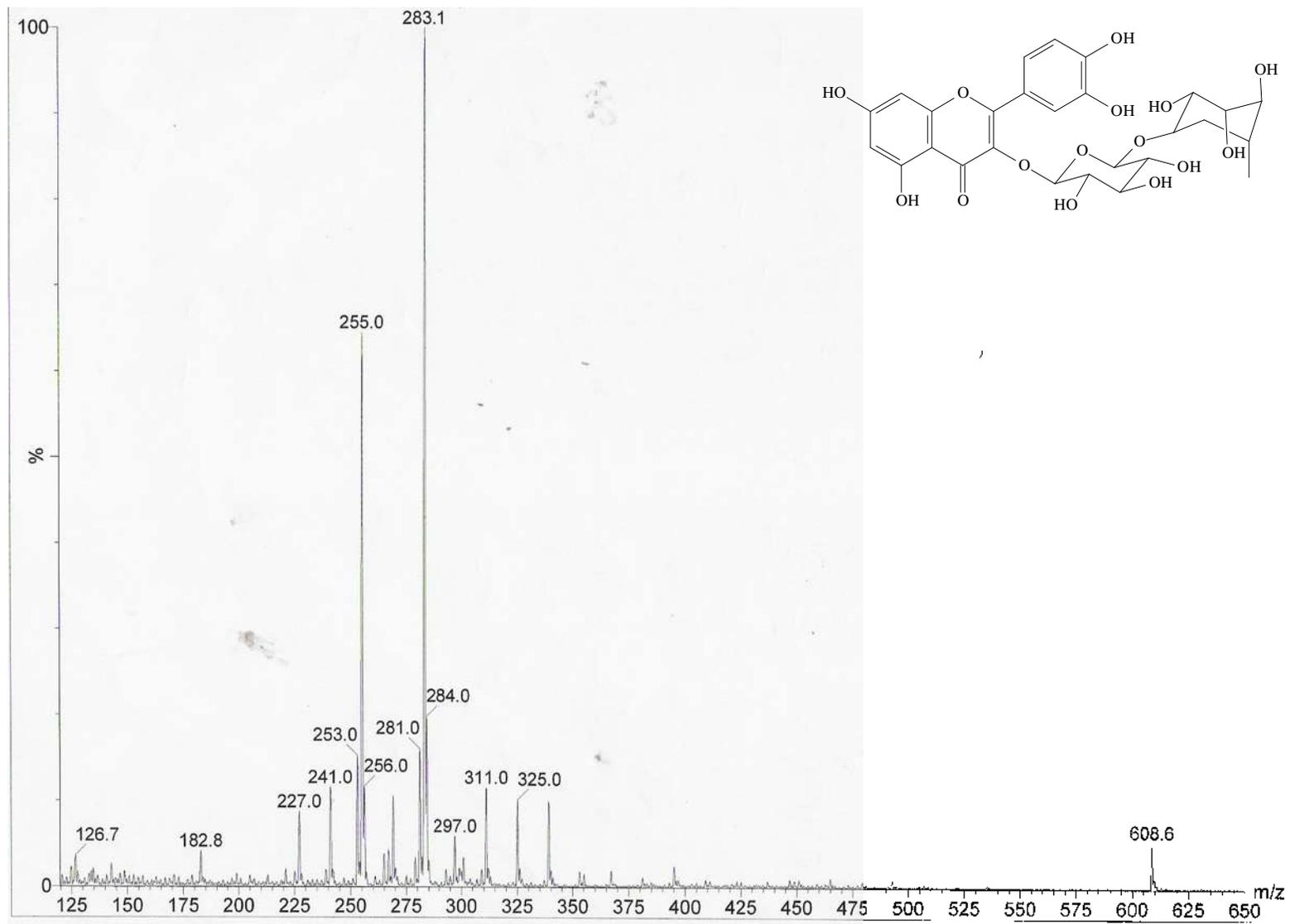
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 125.7576083 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40



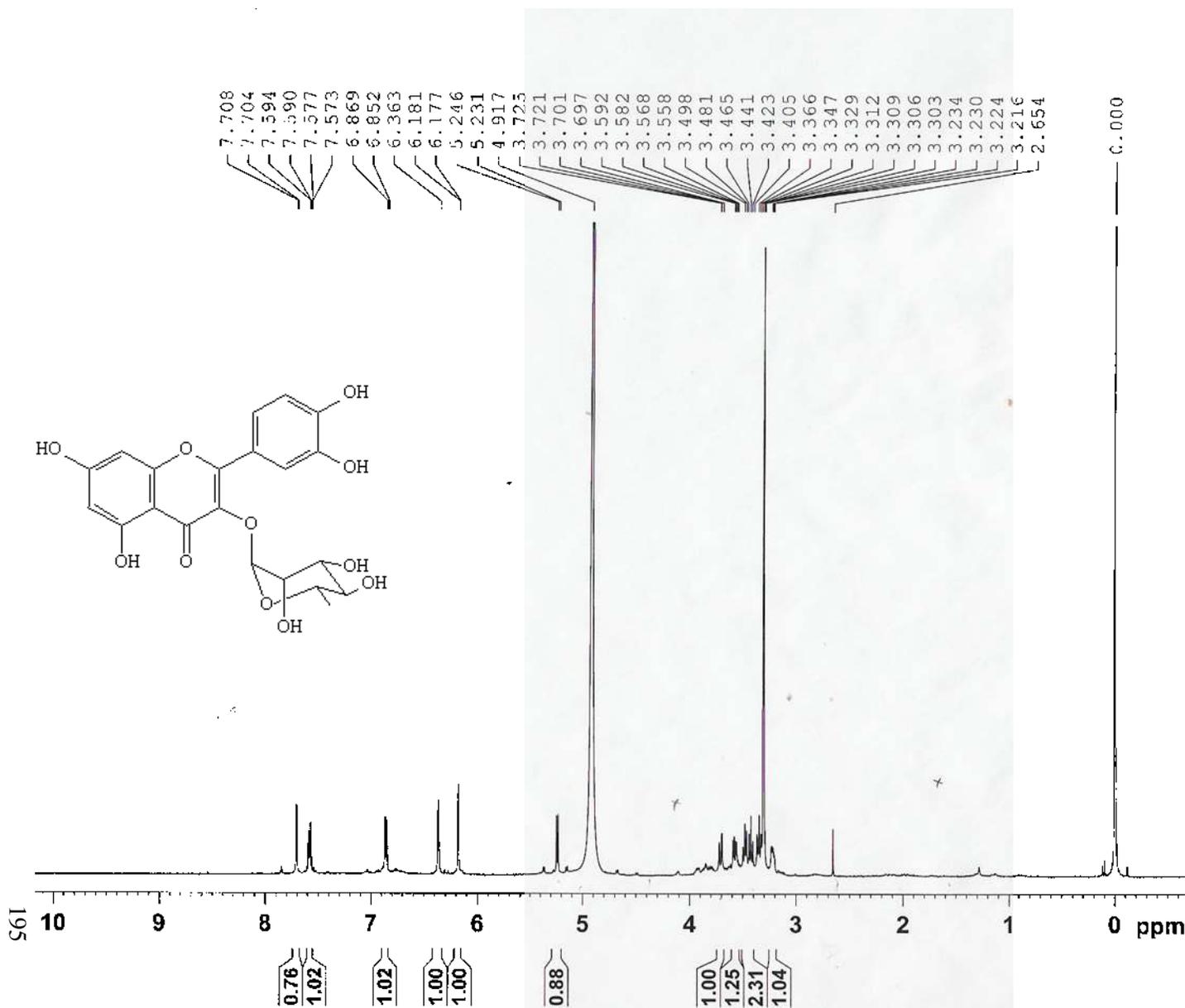
Espectro 95 - 2ª Expansão do Espectro DEPT 135 - 500 MHz da Rutina



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 RMN¹H 500 MHz da Isoquercitrina

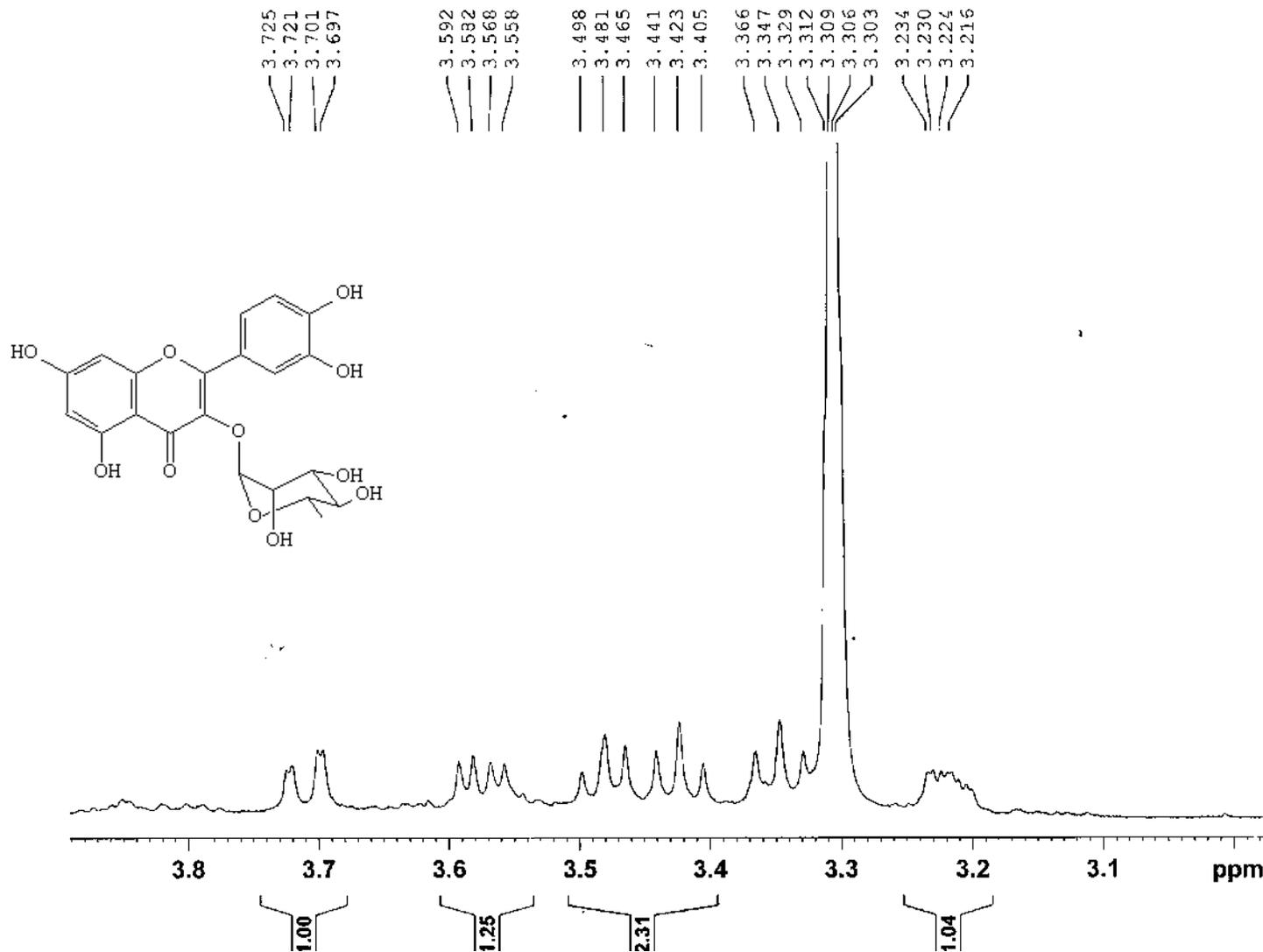


Current Data Parameters
NAME HOBM128
EXPNO 10
PROCNO 1

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 RMN¹H 500 MHz da Isoquercitrina

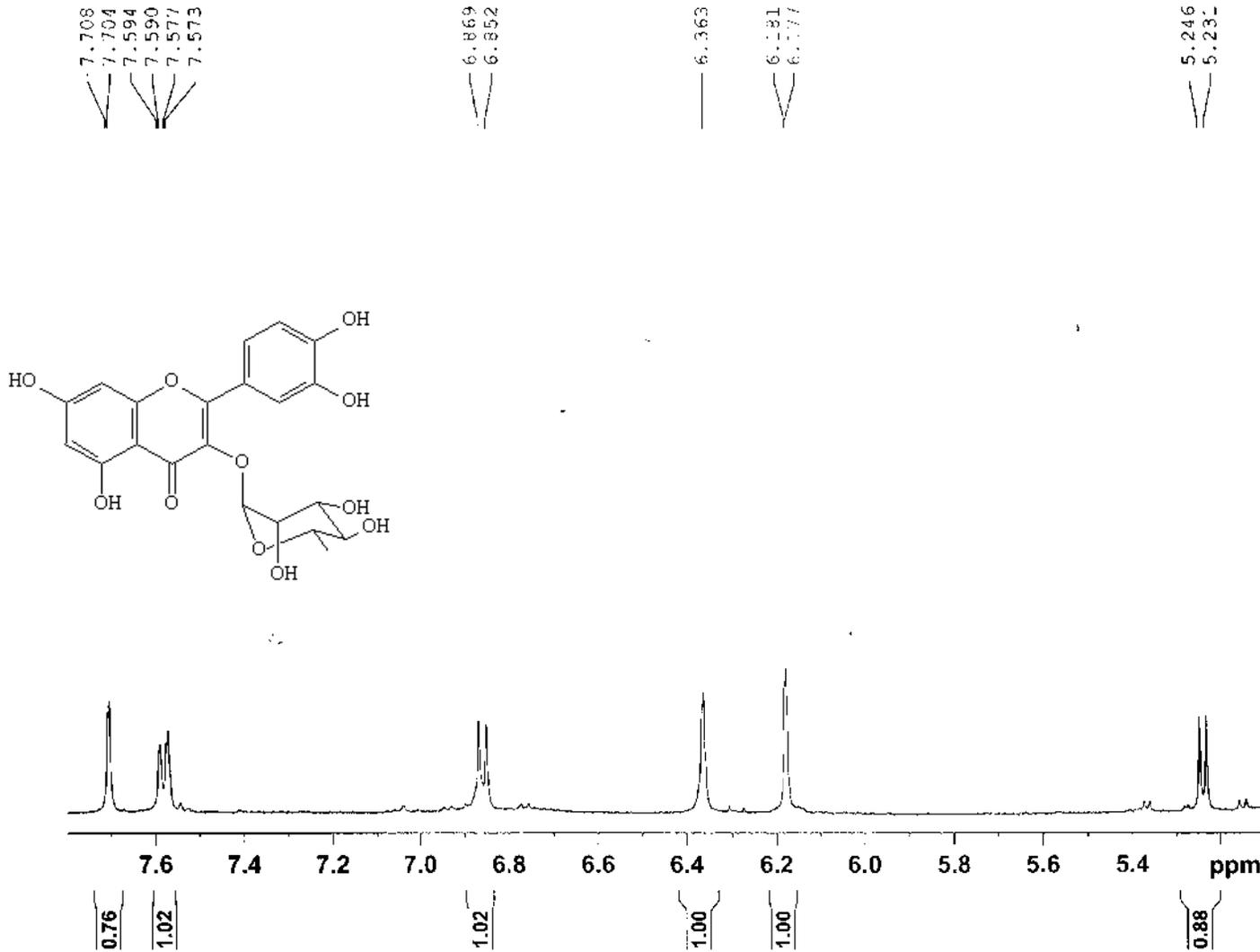


Current Data Parameters
NAME HOBM128
EXPNO 10
PROCNO 1

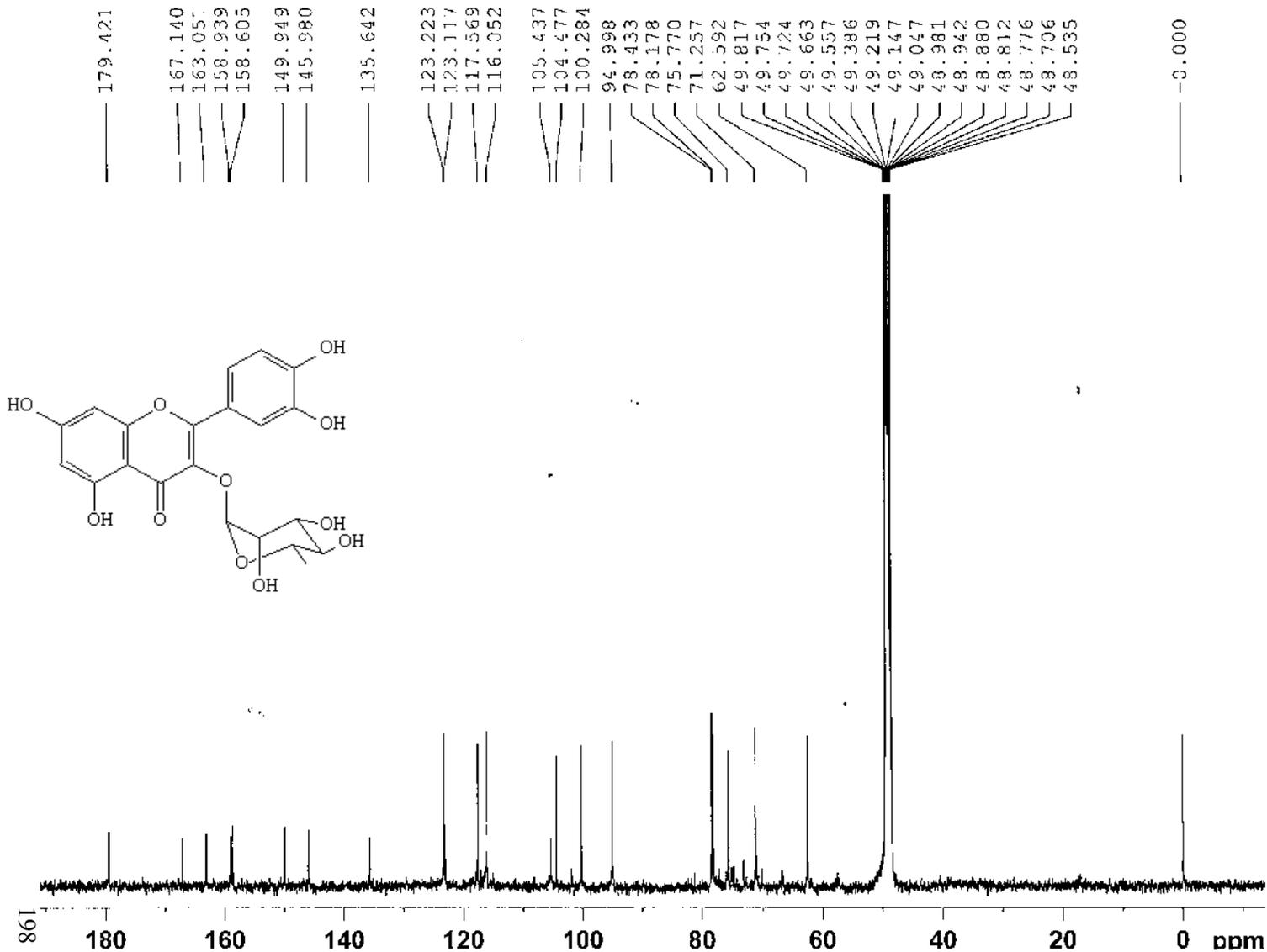
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20041220
Time_ 10.37
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm EBO BB-1H
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 64
DS 2
SWH 10330.578 Hz
FIDRES 0.157632 Hz
AQ 3.1720407 sec
RG 768
DW 48.400 usec
DE 6.00 usec
TE 0.0 K
D1 1.00000000 sec
MCREST 0.00000000 sec
MCWRK 0.01500000 sec

===== 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 - 2^a 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 RMN¹³C - 500 MHz da Isoquercitrina

Carla - HOBM 128



103.437
104.477

100.284

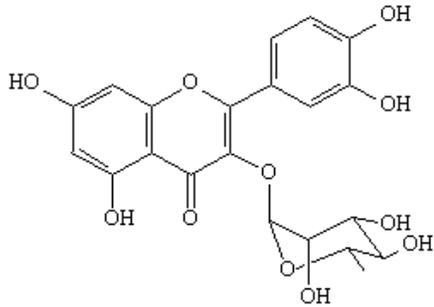
94.998

78.433
78.778

75.770

71.257

62.592



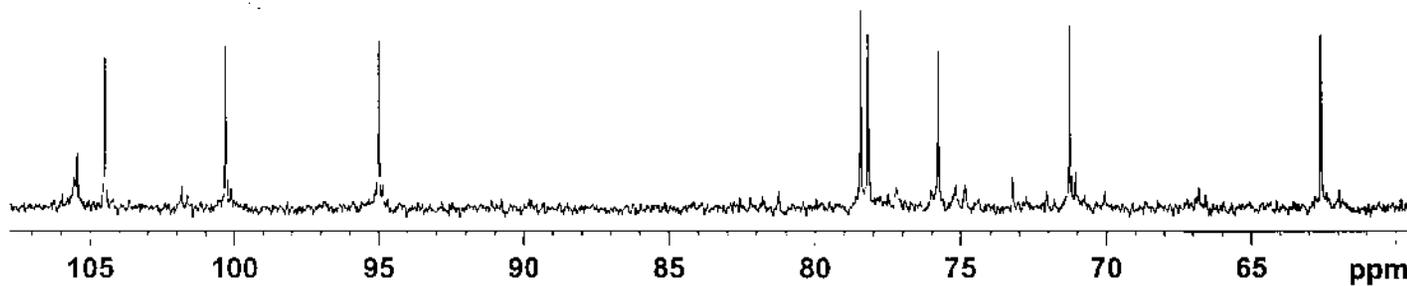
Current Data Parameters
NAME HOBM128
EXPNO 11
PROCNO 1

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 RMN¹³C - 500 MHz da Isoquercitrina

28



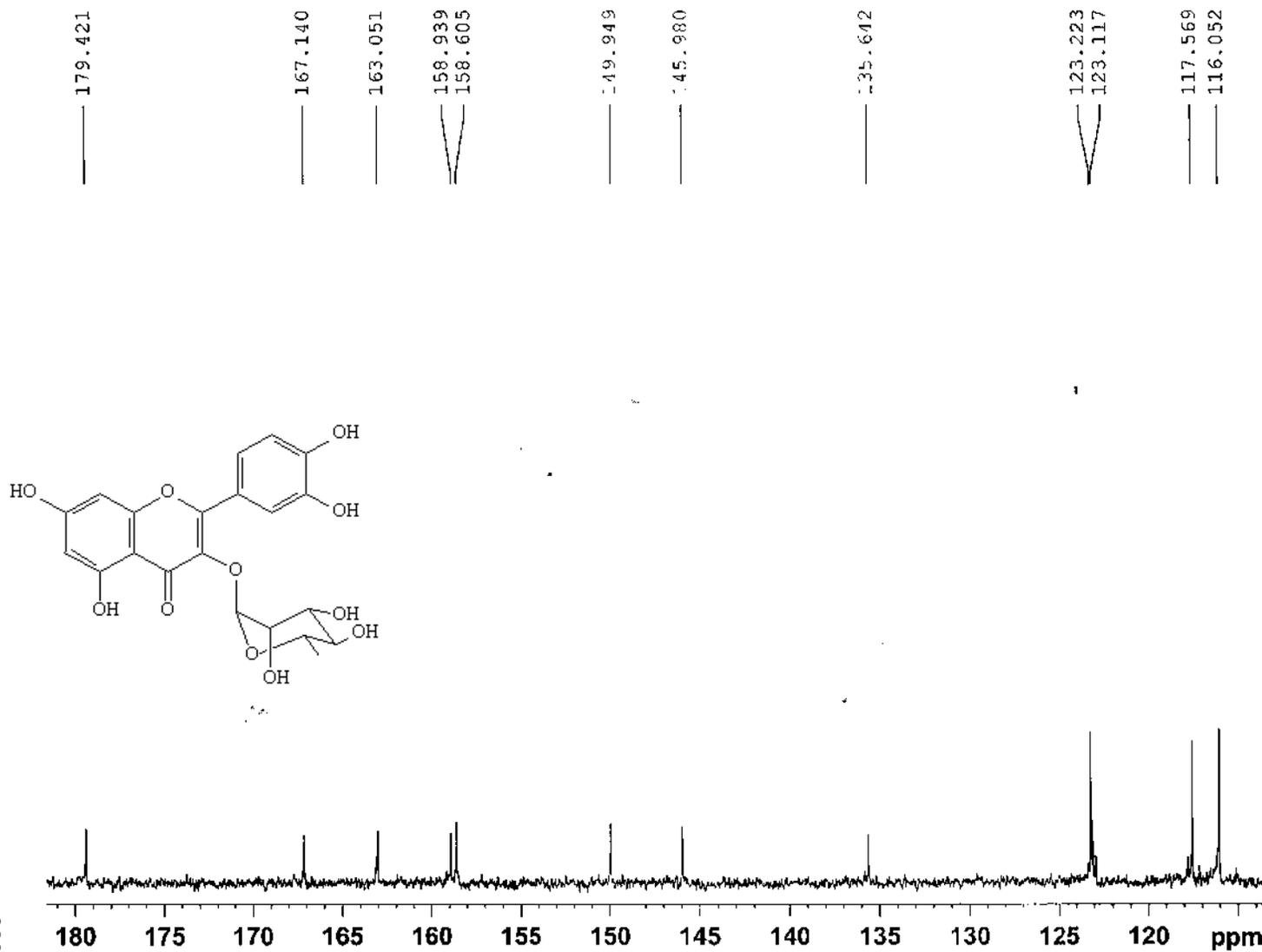
Current Data Parameters
 NAME HOBM128
 EXPNO 11
 PROCNO 1

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 RMN¹³C - 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 2.0000000 sec
d2 0.00344828 sec
d12 0.00002000 sec
DELTA 0.00001273 sec
MCREST 0.00000000 sec
MCWRK 0.01500000 sec

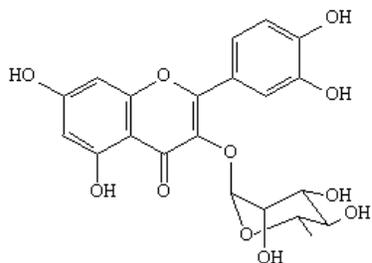
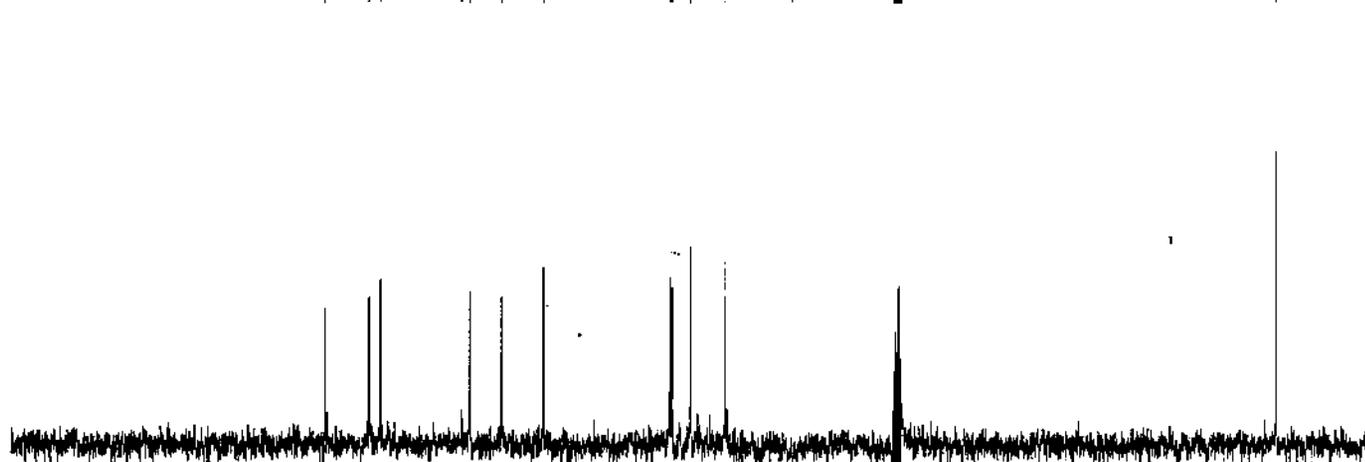
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 10.00 usec
p2 20.00 usec
PL1 6.00 dB
SFO1 125.7703643 MHz

===== 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

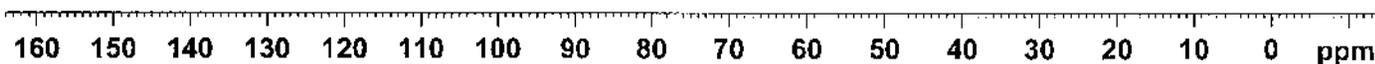
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 125.7576083 MHz
WDW EX
SSB 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40

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

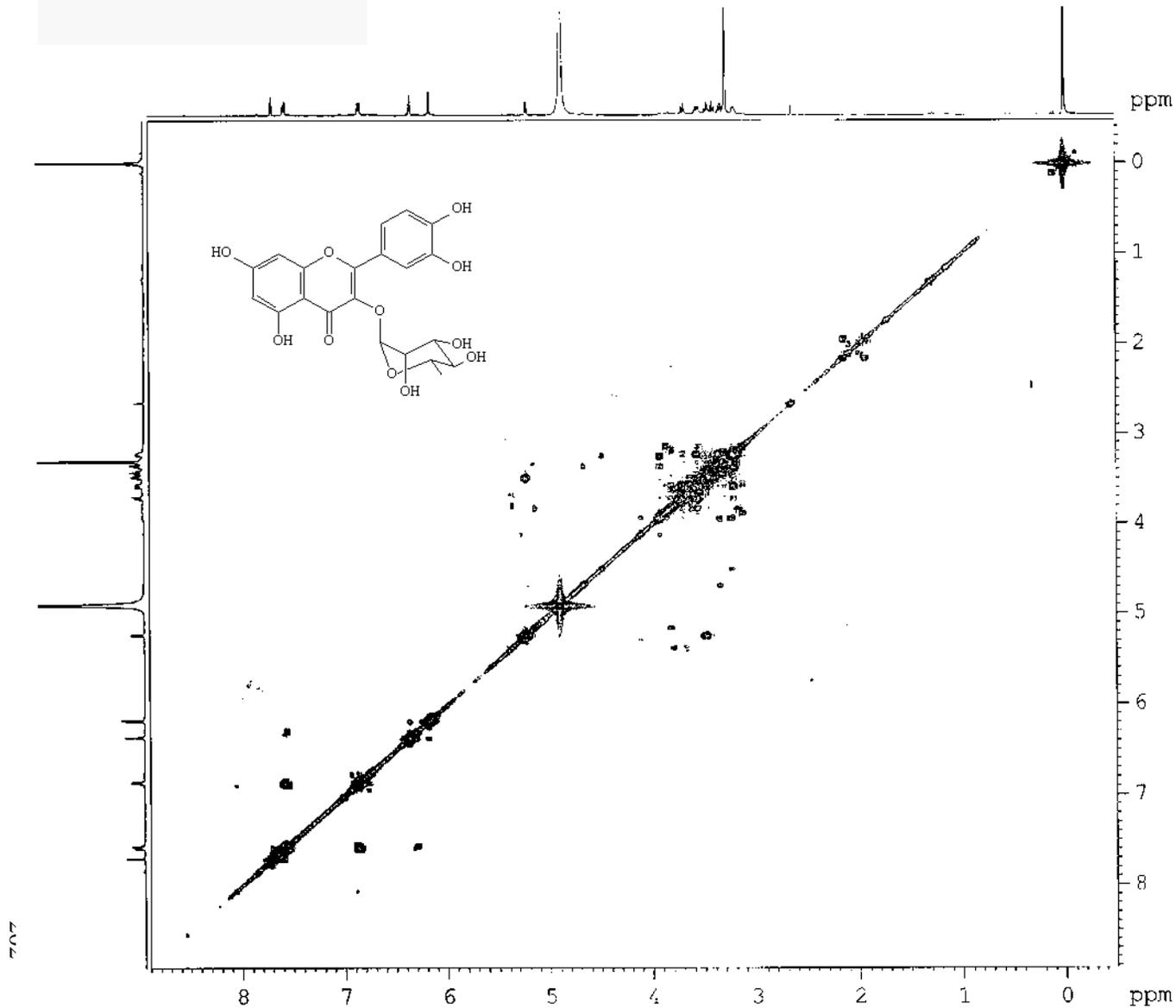


201



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 0.0000300 sec
 DI 1.0000000 sec
 INO 0.0001428 sec
 MCREST 0.0000000 sec
 MCWRR 1.0000000 sec

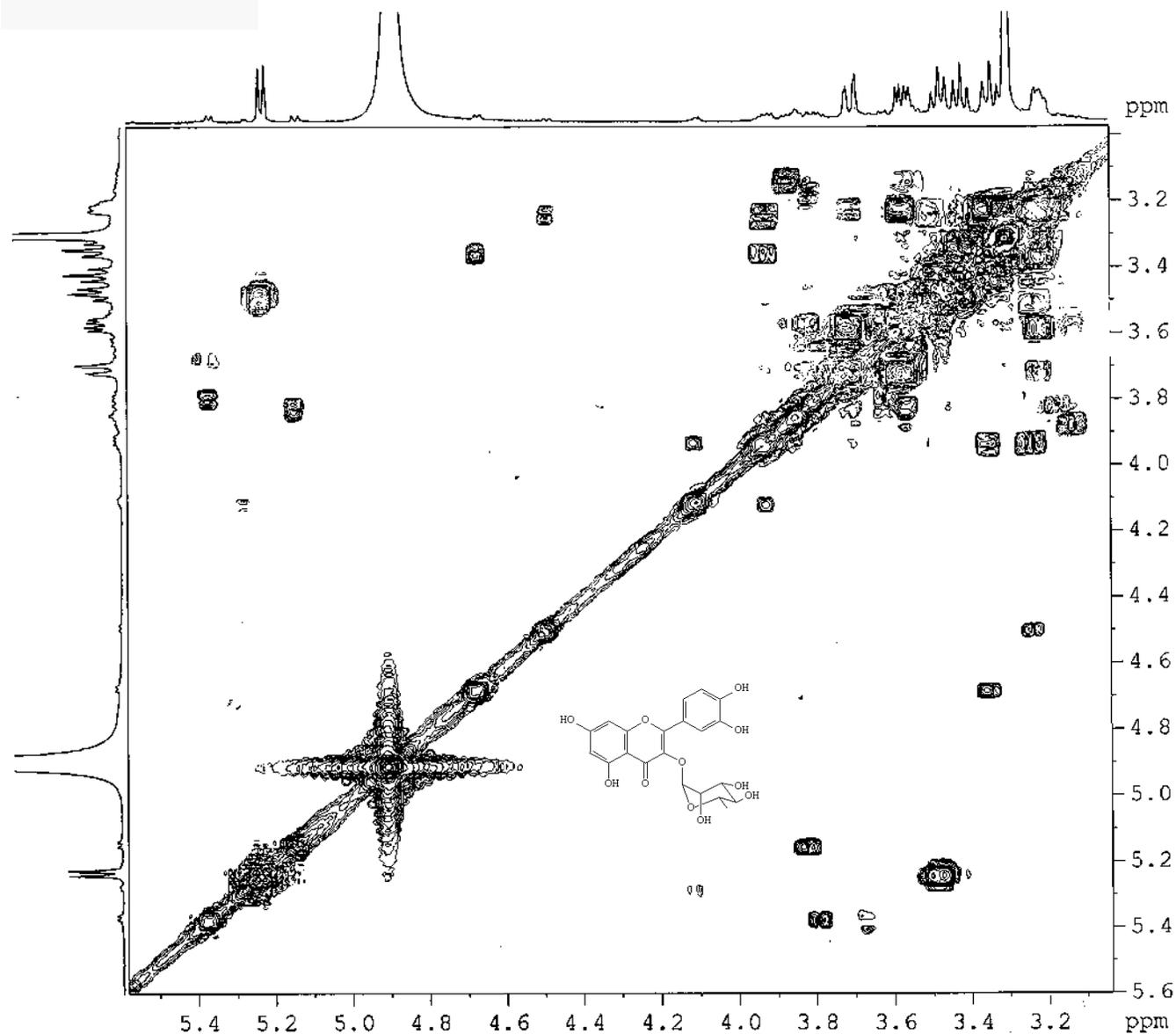
----- CHANNEL f1 -----
 NUCL1 1H
 P0 13.75 usec
 P1 13.75 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 500.1330883 MHz

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

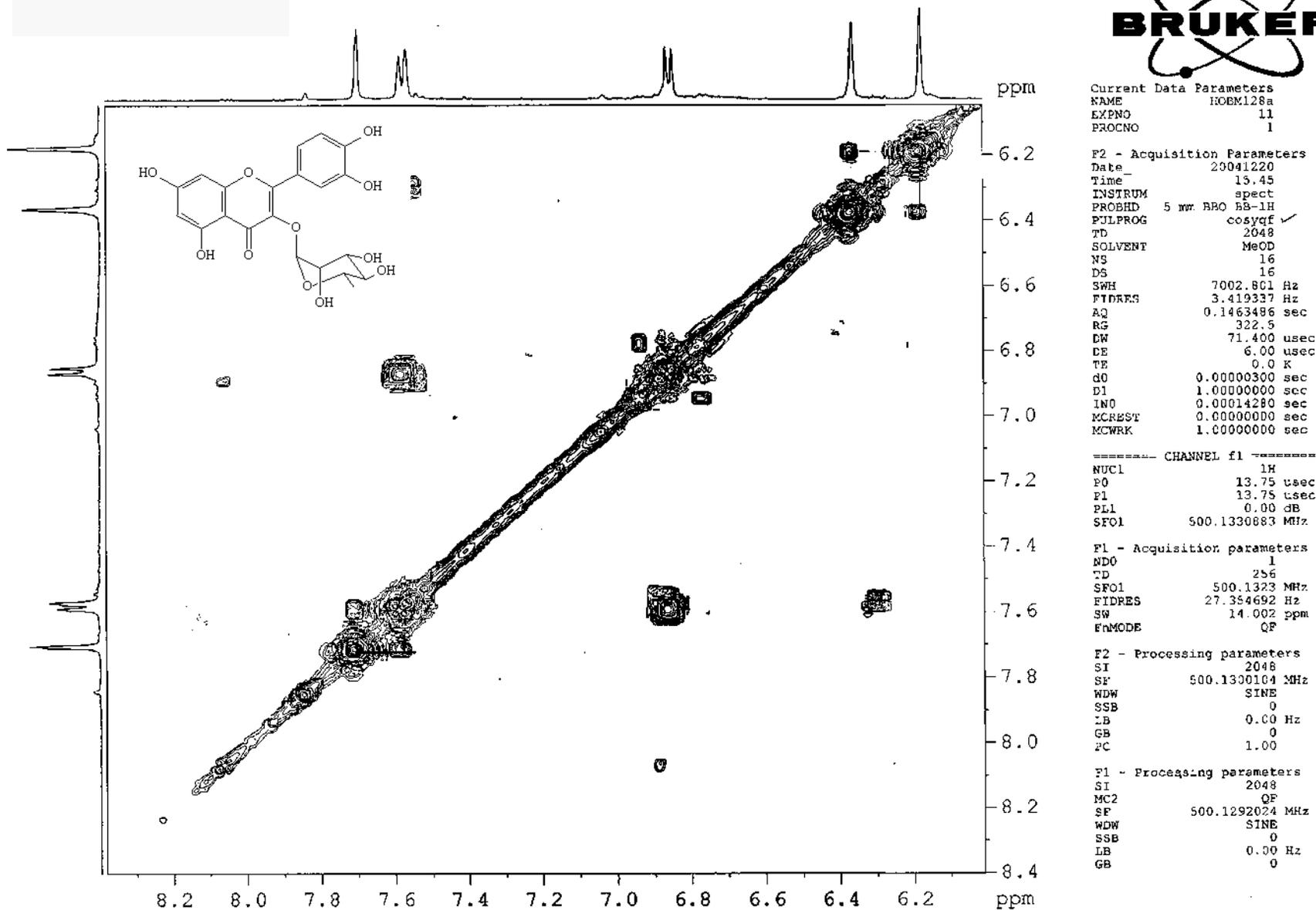
F1 - Acquisition parameters
ND0 1
TD 256
SFO1 500.1323 MHz
FIDRES 27.354692 Hz
SW 14.002 ppm
FnMODE QF

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

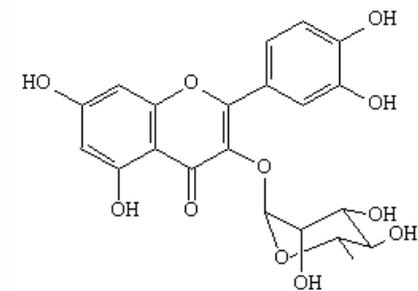
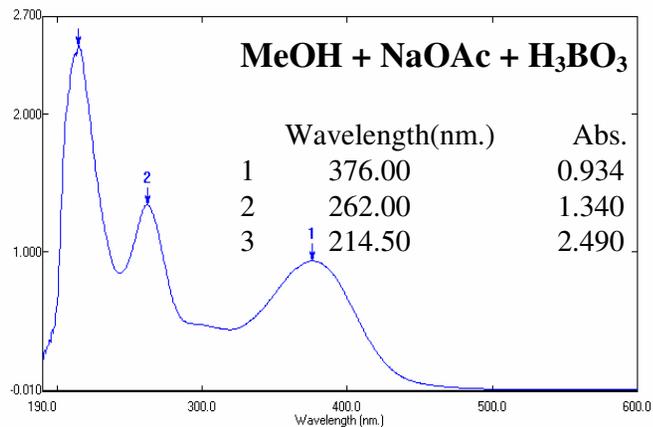
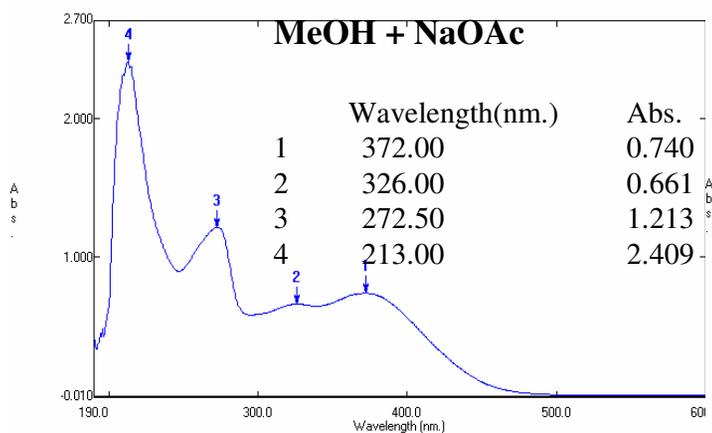
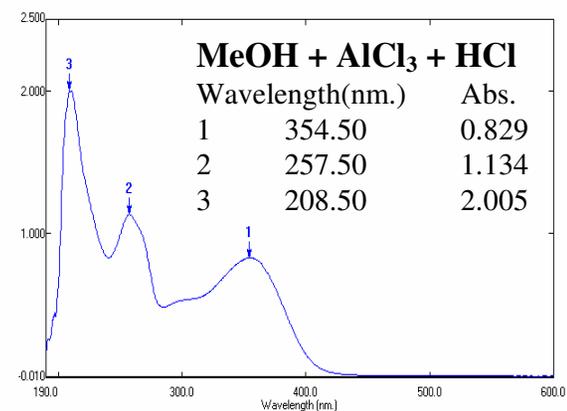
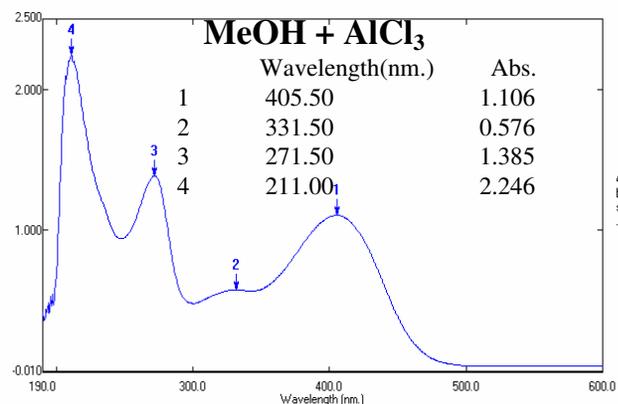
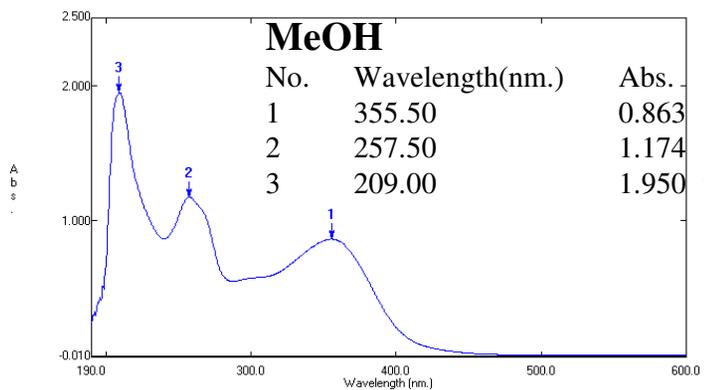
Espectro 106 - 1ª Expansão do espectro COSY $^1\text{H} \times \text{H}$ - 500 MHz da Isoquercitrina

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 colaboradores⁷³ verificaram inibição da inflamação em 35,9% na dose de 200mg/Kg para a fração hexânica, rica nos triterpenos acetato de lupeol, α -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 prostaglandinas⁹².

Assim como os triterpenos de *Himatanthus sucuuba* já tiveram sua atividade antiinflamatória relatada na literatura⁷³, 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 colaboradores⁹³ 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 colaboradores⁹⁴.

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.

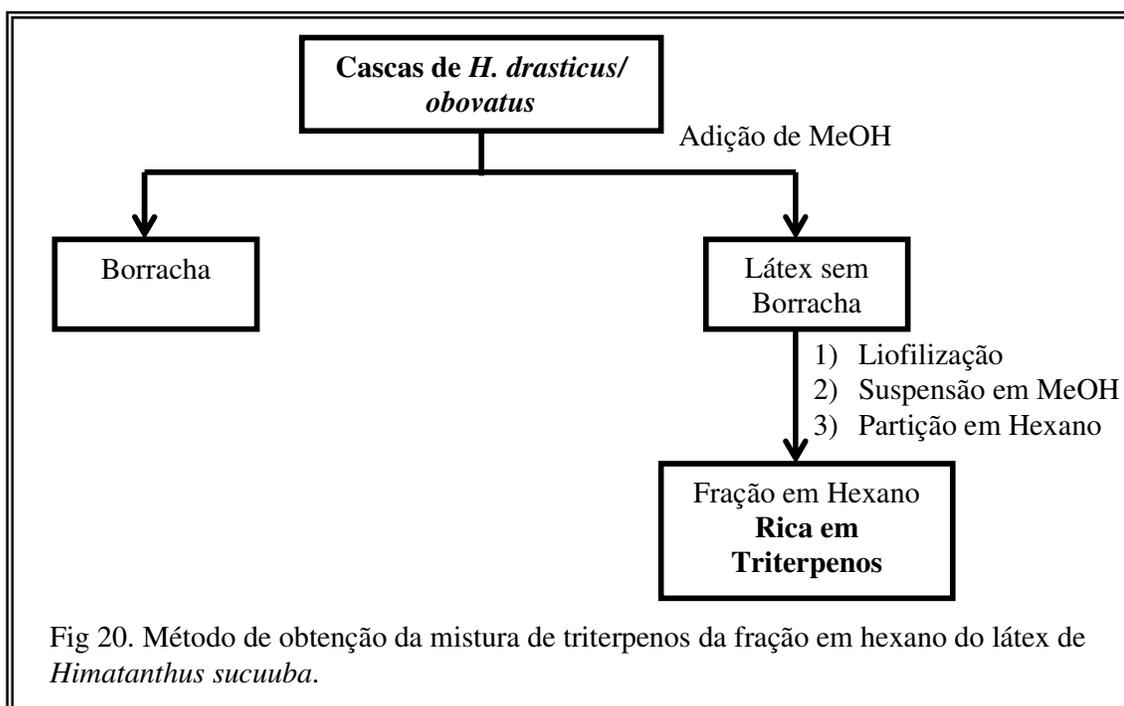
4.2.2.2. Preparo das amostras:

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 literatura⁷³, 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 farmacológicos⁹⁵. Os lipossomas foram preparados a partir do método de filme⁹⁶ 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 μ m.

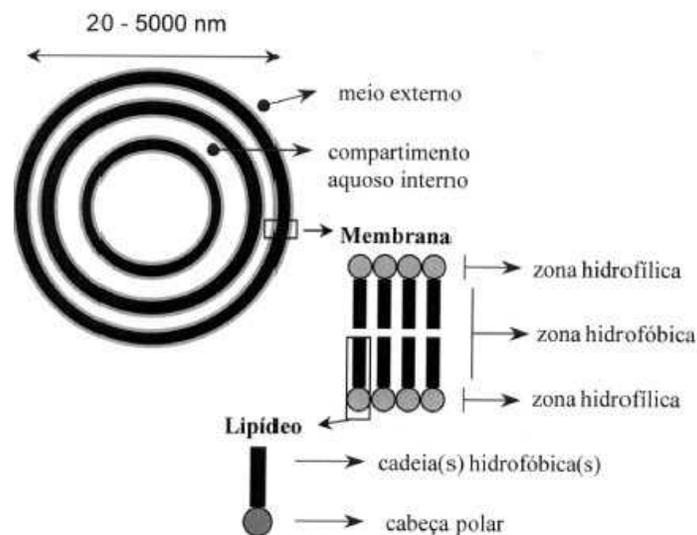


Fig. 21. Representação esquemática de um lipossoma

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 - H₂O ou Tween/EtOH/H₂O (2:2:20, v/v/v). A atividade antiinflamatória foi expressa em percentagem de inibição quando comparada com o grupo controle.

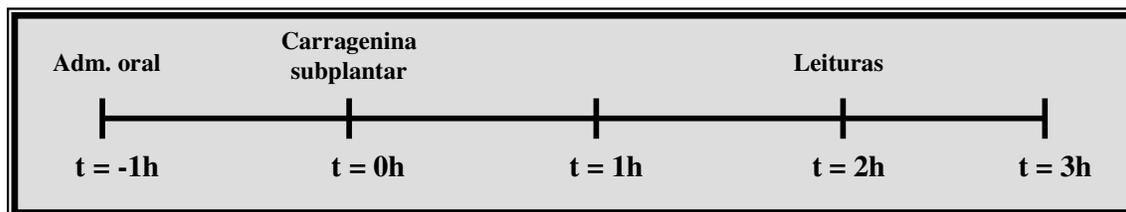


Fig. 22. Esquema representativo do ensaio do edema de pata induzido por carragenina⁹⁷.

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.

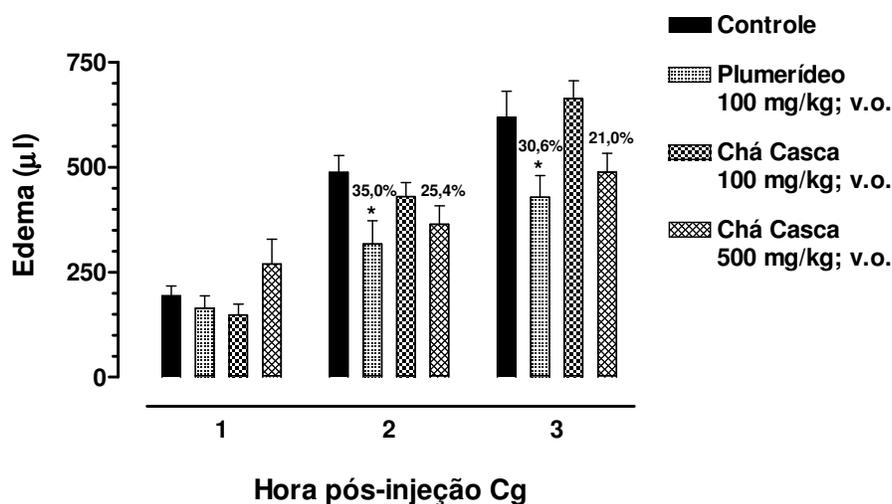


Gráfico 1. Efeito antiinflamatório dos chás das cascas e do iridóide plumierídeo isolado de *Himatanthus sucuuba*. Resultados expressos em média \pm EPM; (n = 6-10 animais/grupo); Valor em % corresponde a inibição obtida pela comparação com o grupo controle veículo; * p < 0,05 (teste t-Student e ANOVA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

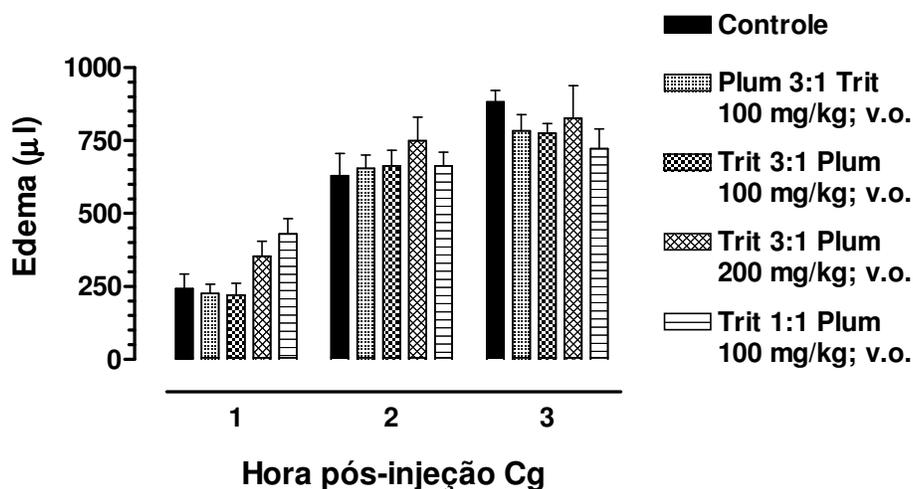


Gráfico 2. Efeito antiinflamatório de diferentes associações de plumierídeo e triterpenos de *Himatanthus* sem lipossomas. Resultados expressos em média \pm EPM; (n = 6-10)

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).

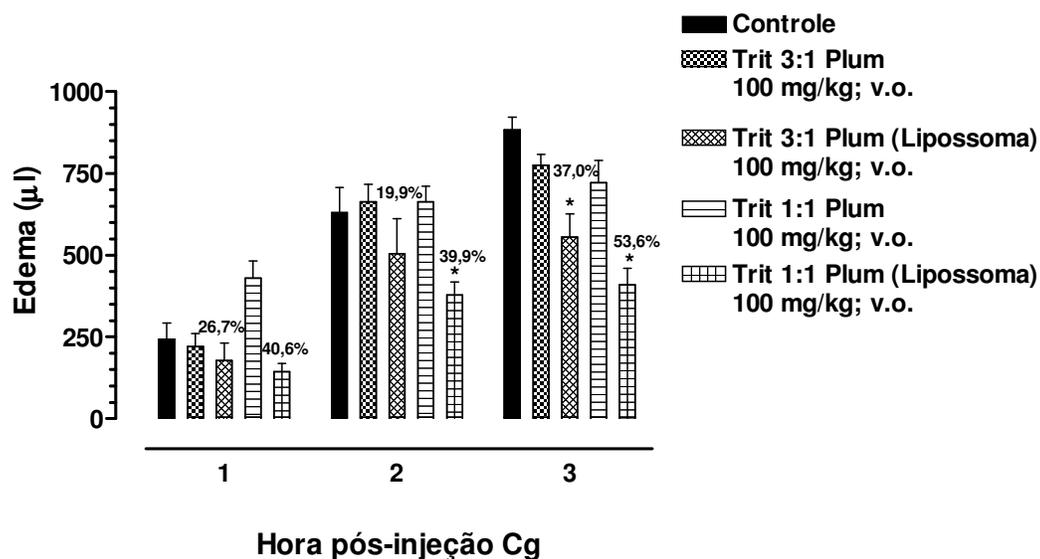


Gráfico 3. Efeito antiinflamatório de diferentes associações de plumierídeo e os triterpenos isolados de *Himatanthus* sob a forma de lipossomas. Resultados expressos em média ± EPM; (n = 6-10 animais/grupo); Valor em % corresponde a inibição obtida pela comparação com o grupo controle veículo; * p < 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 polímeros³⁷, 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 glicosilada⁹⁸. A esta classe de compostos são atribuídas algumas atividades tais como antimicrobiana⁹⁹, antitumoral¹⁰⁰, hemodinâmica¹⁰¹, clorética¹⁰², hepatoprotetora¹⁰³ e antiinflamatória¹⁰⁴. Entretanto, relatos da literatura apontam alguns exemplos de iridóides glicosilados que funcionam como pró-drogas¹⁰⁵ 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 cólon¹⁰⁶. Ensaio de metabolização de iridóides por bactérias intestinais são relatados com os iridóides gardenosídeo e geniposídeo, convertidos em suas agliconas¹⁰⁷. De forma similar, a aucubina¹⁰⁸ e o secoiridóide swertiamarina¹⁰⁹ foram transformados em suas agliconas correspondentes. A formação de alcalóides monoterpeno-piridínicos (PMTA) a partir do tratamento de iridóides glicosilados com ácido ou β -glicosidases na presença de uma fonte de NH_3 , normalmente íons amônio, é também descrita na literatura¹¹⁰. A partir destes dados, o iridóide aucubina foi transformado por bactérias intestinais humanas em dois novos

alcalóides¹⁰⁸, geniposídeo e gardenosídeo foram convertidos nos compostos nitrogenados genipinina e gardenina¹⁰⁷ e swertiamarina foi metabolizada a gentianina¹⁰⁹. É importante ressaltar que vários dos alcalóides monoterpêno-piridínicos formados mostraram efeitos antiinflamatórios, de relaxamento muscular, sedativos, anti-histamínicos, hipoglicêmicos e hipotensores¹¹¹ 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 fígado¹¹² 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 biologicamente¹¹³.

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 humanas¹⁰⁷.

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.

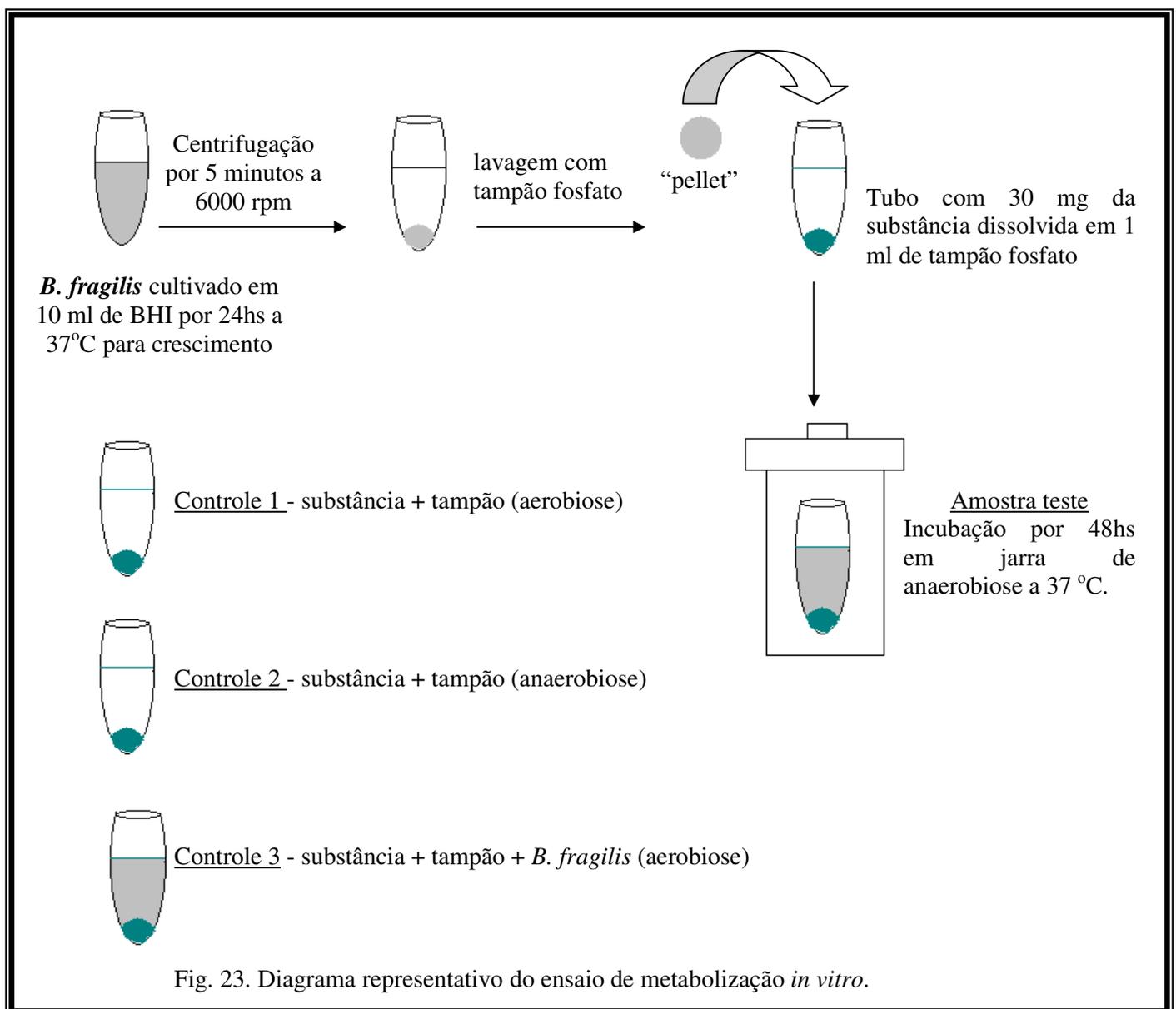
5.2.2. Descrição do modelo experimental:

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.

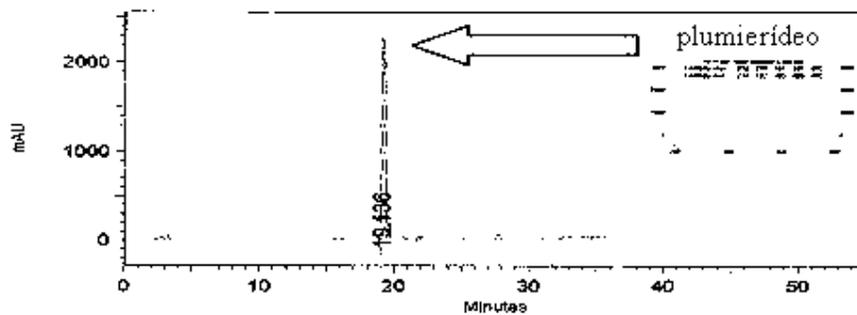
Controle 3: 30 mg da substância em 1 ml de tampão fosfato (na presença do *B. fragilis*) incubado em aerobiose.



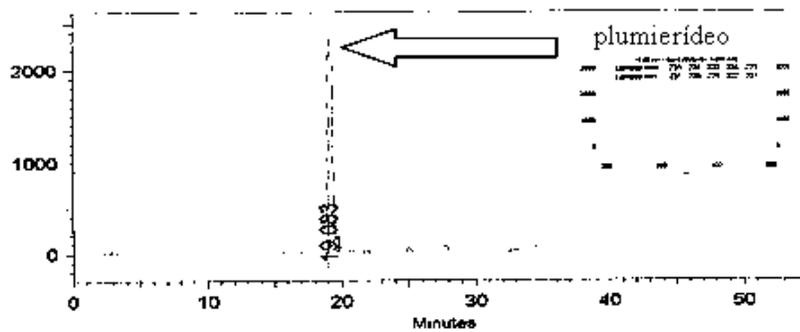
Após a incubação, a amostra teste e as três amostras controle foram particionadas em acetato de etila, evaporadas em evaporador rotatório e analisadas por CLAE/DAD.

5.2.3. Resultados e discussão:

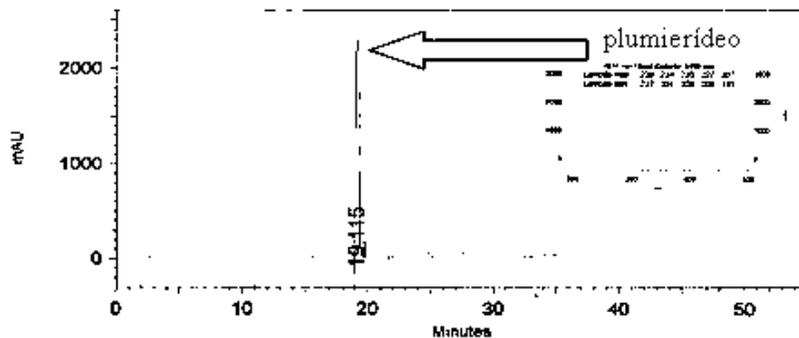
Após análise por CLAE/DAD foram obtidos os seguintes cromatogramas:



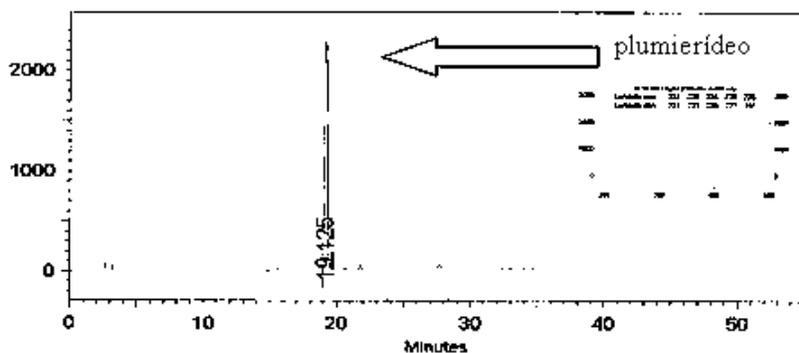
Cromatograma A - **amostra teste** – Substância + tampão fosfato + *Bacteroides fragilis* + anaerobiose por 48 horas a 37°C.



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 (%)
Amostra teste	19,13	70,64
Controle 1	19,08	94,34
Controle 2	19,12	90,58
Controle 3	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 anaeróbico 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 H₂O:EtOH (9:1). Cada animal foi tratado oralmente, por gavagem, com 1ml da solução para cada 200g de peso corpóreo.

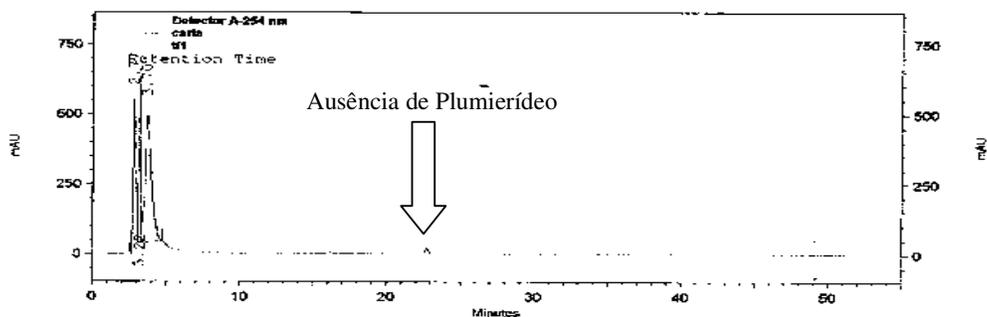
5.3.3. Descrição do experimento:

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 coagulação⁹².

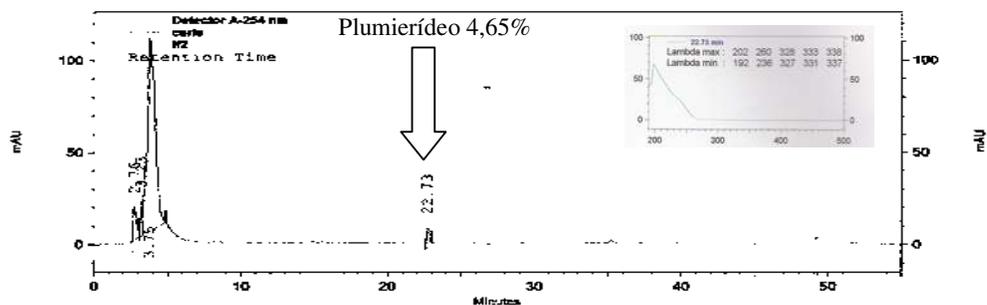
O sangue, fígado e intestino extraídos dos animais foram tratados com uma solução aquosa de citrato de amônio (1:10), triturados em liquidificador, centrifugados a 4000 rpm por 30 minutos e extraídos em funil de separação com acetato de etila (3 x 50 ml). As frações obtidas foram evaporadas em evaporador rotatório e analisadas por cromatografia em camada delgada de gel de sílica (CCD-Si) utilizando-se uma solução de AcOEt:MeOH:H₂O 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:

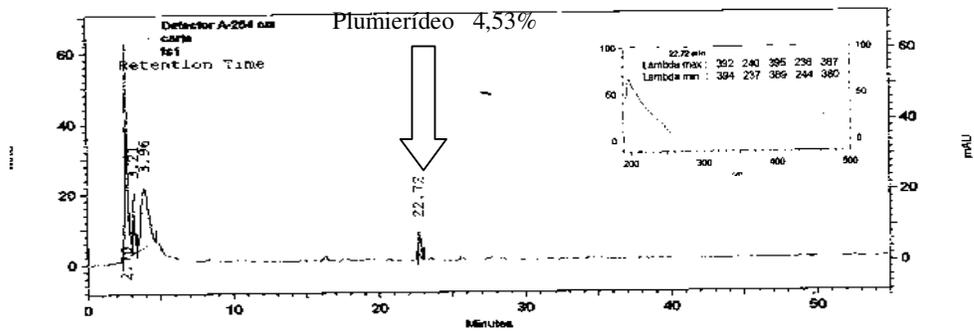
Os cromatogramas obtidos nas análises por CCD-Si e CLAE/DAD demonstram que os animais sacrificados após a primeira hora da administração do plumierídeo (tempo de retenção = 22,66 minutos) demonstravam a ausência deste no fígado, presença de 4,53% no sangue e 55,44 % no intestino. Na segunda hora após 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.



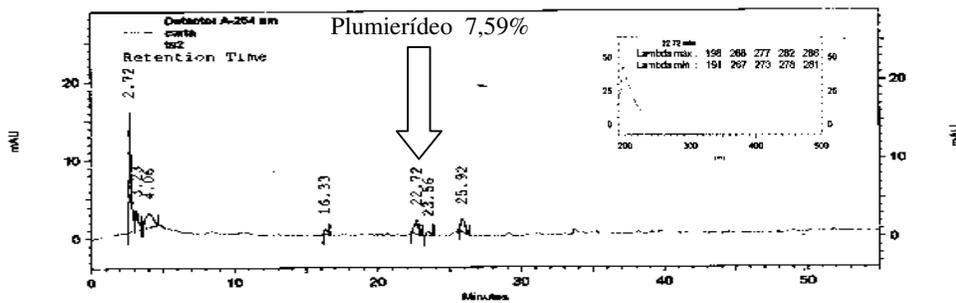
Cromatograma E – Amostra de fígado uma hora após administração de plumierídeo.



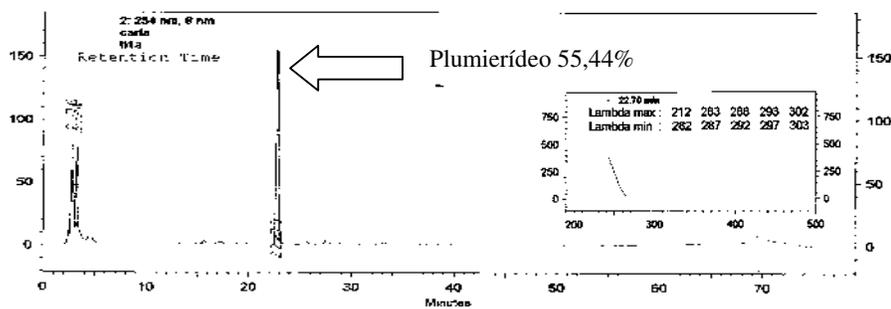
Cromatograma F – Amostra de fígado duas horas após administração de plumierídeo.



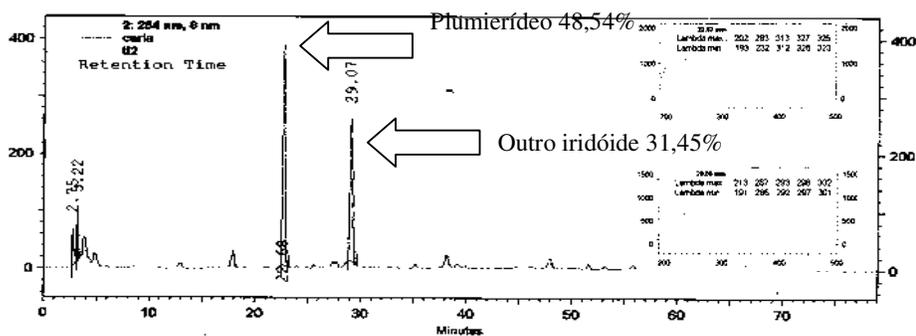
Cromatograma G – Amostra de sangue uma hora após administração de plumierídeo.



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 RMN¹H e ¹³C, 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 : H₂O + 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.

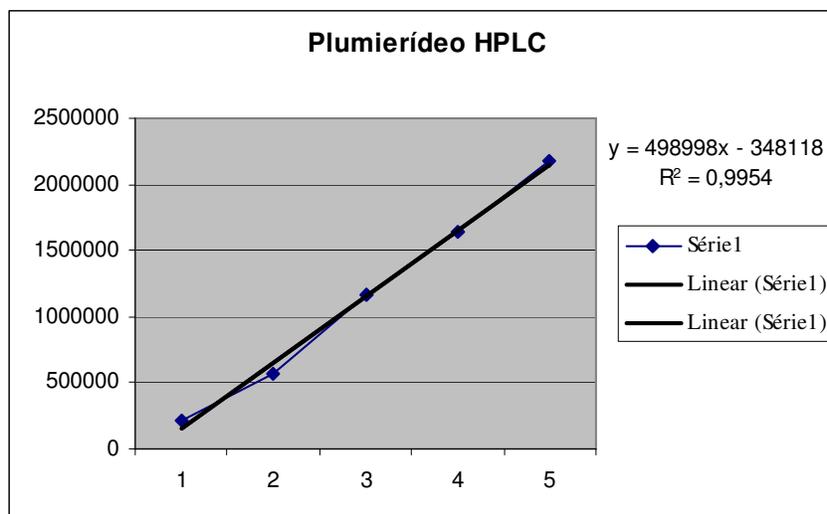


Gráfico 4. Curva de calibração do plumierídeo

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*¹¹⁴. 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 utilizado¹¹⁵. 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.

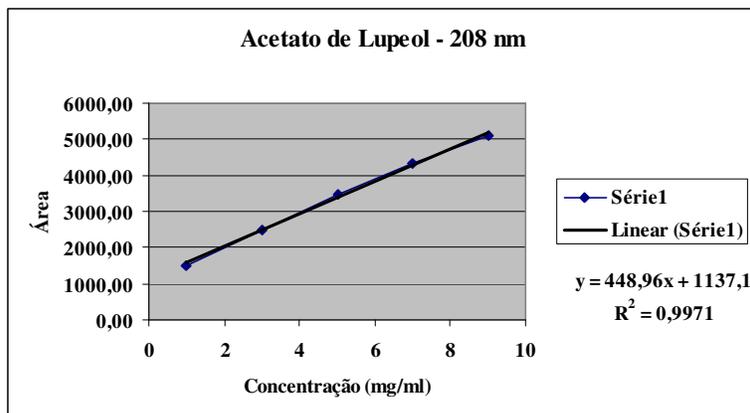


Gráfico 5. Curva de calibração do acetato de lupeol

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 (RMN¹H) 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 (δ) expressos em unidades ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN¹³C) 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 (δ) 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⁻¹).

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 N₂ 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 F₂₅₄ (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 F₂₅₄) 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 365nm¹¹⁶.

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 μ m (analíticas e preparativas) utilizando-se acetonitrila : H₂O + 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 μ 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 H₂; 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/H₃BO₃, AlCl₃ e AlCl₃/HCl foram efetuados segundo o procedimento proposto por Mabry⁹¹.

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%).

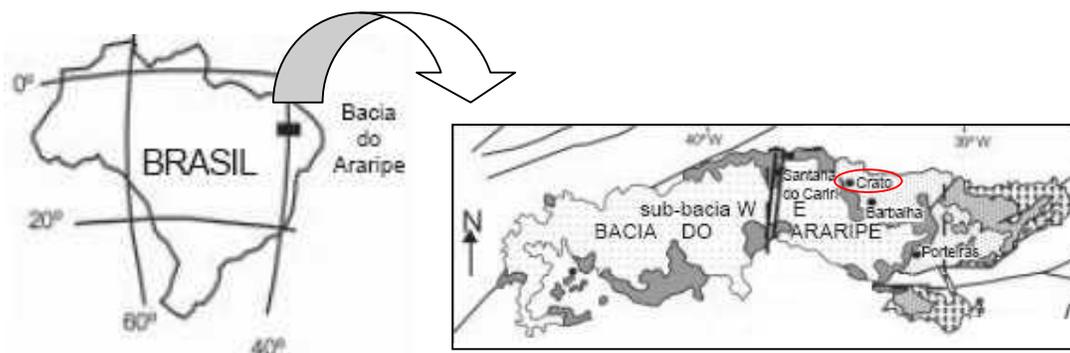


Fig. 24. Localização da Chapada do Araripe – local de coleta do *Himatanthus drasticus*

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>	Cascas	1007,59g
	Folhas	988,43g
<i>H obovatus</i>	Cascas	561,66 g
	Folhas	940 g
	Talo	655,16 g

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>	Cascas	3,81g	Cascas	6,6g
	Folhas	6,41g	Folhas	3,58g
<i>H. obovatus</i>	Cascas	22,87g	Cascas	7,5g
	Folhas	28,5g	Folhas	7,0g
	Talo	21,19g	Talo	3,89g

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/H₂O (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:

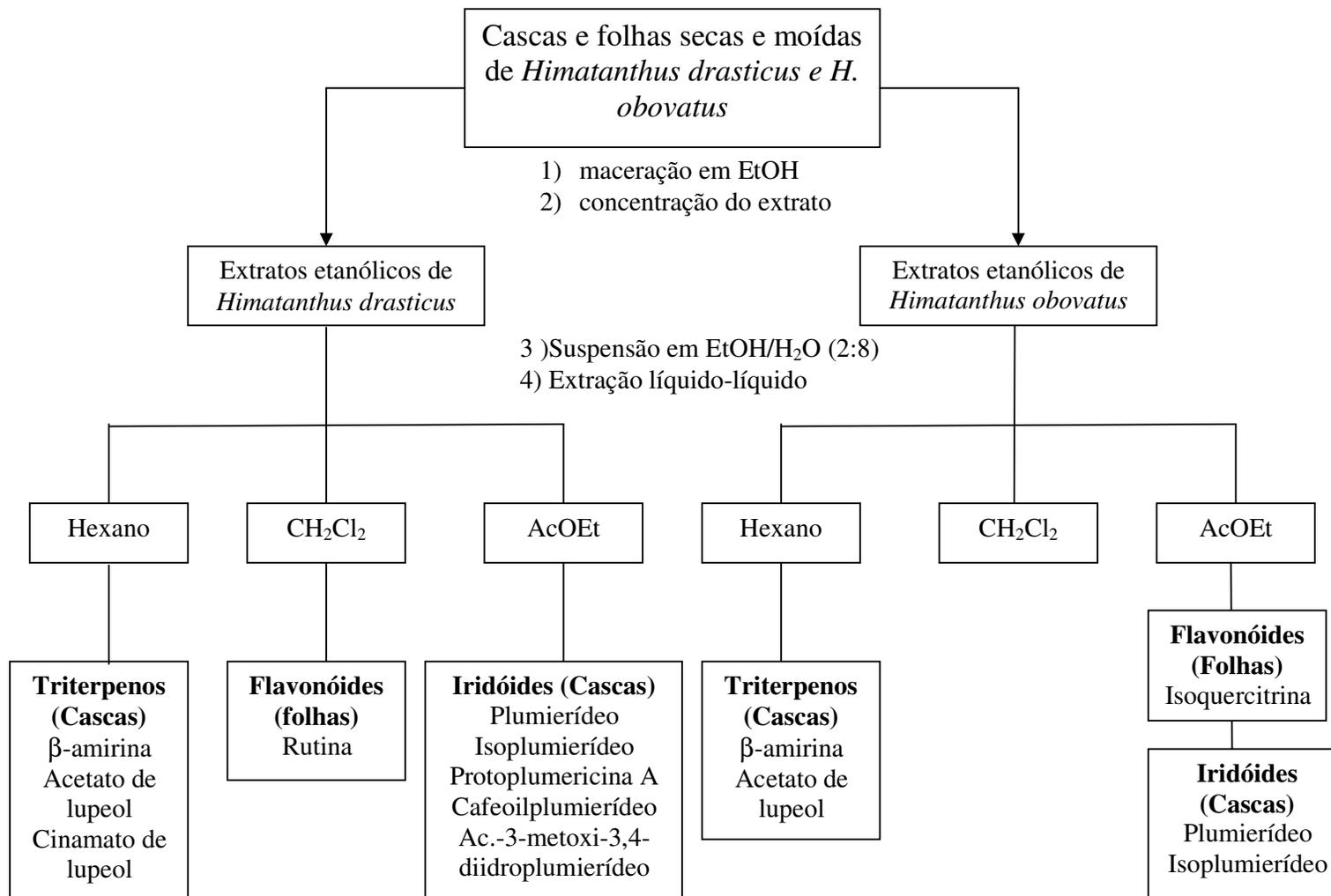
<i>H. drasticus</i>	Extrato etanólico (g)		Extrato aquoso (g)	
Fração Hexano	Casca	2,15	Casca	6,64
	Folha	5,80	Folha	0,328
Fração CH ₂ Cl ₂	Casca	1,04	Casca	0,08
	Folha	3,72	Folha	0,09
Fração AcOEt	Casca	0,30	Casca	0,598
	Folha	0,24	Folha	0,30

Tab. 36. Rendimento do *H. drasticus* após extração líquido-líquido.

<i>H. obovatus</i>	Extrato etanólico (g)		Extrato aquoso (g)	
Fração Hexano	Casca	2,0	Casca	2,5
	Folha	1,3	Folha	0,5
Fração CH ₂ Cl ₂	Casca	1,5	Casca	1,0
	Folha	0,9	Folha	1,3
Fração AcOEt	Casca	1,3	Casca	2,1
	Folha	2,5	Folha	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: H₂O (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>
β -amirina	β -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: H₂O (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: H₂O (6,5:1,5:2,0) e MeOH:H₂O (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:H₂O (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: H₂O (6,5:1,5:2,0) e MeOH:H₂O (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 β -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**. 2nd 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^a 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 ¹³C-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⁺, K⁽⁺⁾-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-Plumerieae)**. 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 β -O- β -D-Glicopiranosil-21- β -E- cinamoiloxiolean-12-em-28-óico, um novo triterpeno glicosídico de *Enterolobium contortisiliquum* (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 ^1H and ^{13}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., β -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-Inflamatory 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 sucuba* (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](#)