

TESE

ESTUDO QUÍMICO DE
Himatanthus articulata (Vahl) Woodson

ALAJDE DE SÁ BARRETO

Itaguaí

Outubro 1994

TESE

ESTUDO QUÍMICO DE *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson

ALAÍDE DE SÁ BARRETO

Itaguai

Outubro 1994

ESTUDO QUÍMICO DE *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson

ALAÍDE DE SÁ BARRETO

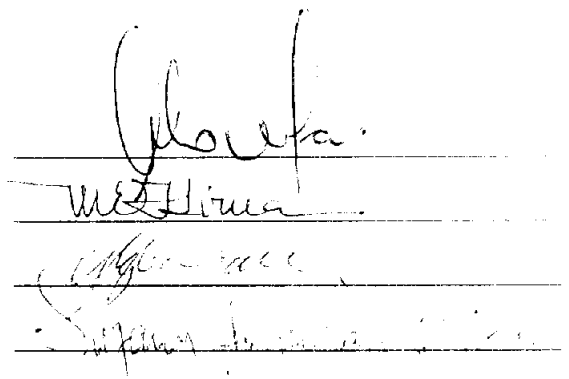
Aprovado em / /

Anselmo Alpandes de Moraes

Marco Edilson Freire de Lima

Mário Geraldo de Carvalho

Suzana Guimarães Leitão



The image shows four horizontal lines, each with a handwritten signature above it. The signatures are: 1. Anselmo Alpandes de Moraes, 2. Marco Edilson Freire de Lima, 3. Mário Geraldo de Carvalho, and 4. Suzana Guimarães Leitão.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

ESTUDO QUÍMICO DE *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson

ALAÍDE DE SÁ BARRETO

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR

Mário Geraldo de Carvalho

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de MESTRE
em Química Orgânica, Área de
Concentração em Fitoquímica

Itaguaí, Rio de Janeiro

Outubro de 1994

Bendize, ó minha alma, ao Senhor!

Senhor, Deus meu, como tu és magnificante!

sobrevestido de glória e majestade, coberto de luz como de um manto. Tu estendes o céu como uma cortina, pões nas águas o vigamento da tua morada, tomas as nuvens por teu carro e voas nas asas do vento. Fazes crescer a relva para os animais, e as plantas para o serviço do homem.

À minha mãe *Lúcia,*
ao meu pai Hélio (in memoriam) e
minha irmã Sônia Maria,
pelo amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus pela oportunidade concedida

Aos professores : Marília Brasil, Nedda Mizuguchi, Anselmo Alpandes Moraes e Sheila Marino Simão, pelo apoio e incentivo fundamental para meu ingresso no mestrado.

Ao professor Mário Geraldo de Carvalho, pela orientação.

Aos professores Hélio de Mattos Alves (Farto - UFRJ) e Raimundo Braz Filho pelo fornecimento do material bibliográfico.

Aos amados amigos Ana Cristina, Lúcia Helena, Viviane Rodrigues Braz, Eduardo Mesquita Mendonça, Jairo da Silva, Sandra Duarte, Aldecir Conrado, Marilene Rosane Rocha, Marcos e Miliane, Paulo Roberto Dias dos Santos, Hélio Aragão dos Santos, Solange Aparecida dos Santos, Edna, Nádia e família Marchiori e Daniela Cranchi.

Aos amigos estagiários Ivanilton Nery e Rogério pela ajuda valiosa.

Aos irmãos amados da ABU.

À Eduardo e Viviane pela digitação, montagem, digitalização das imagens e hospedagem por muitos dias em sua casa. Amo vocês.

Às meninas do F1 19 pela acolhida amorosa.

Aos funcionários Áurea de Almeida Tatagiba, Eli e Carlão.

Aos demais professores e funcionários técnicos e administrativos do curso de pós-graduação em Química Orgânica da UFRRJ, pelo apoio e amizade

Aos meus colegas do curso de pós-graduação.

Ao botânico Benedito Vítor Rabelo, pela coleta e classificação do espécime
Htmatanthus articulata (Vahl) Woodson.

Ao professor doutor David G Kingston pelos testes farmacológicos

Ao CNPq pelo apoio financeiro concedido.

ABREVIATURAS

δ - Deslocamento químico

1D - Unidimensional

2D - Bidimensional

ACOEt - Acetato de Etila

ax - Axial.

C.C.D.A. - Cromatografia de Camada Delgada Analítica

C.C.D.P. - Cromatografia de Camada Delgada Preparativa

CDCl_3 - Clorofórmio Deuterado

COSY - COrrrelation SpectroscopY

dd - Duplo Doblete

D.E.P.T. - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

dl - Doblete Largo

E.M. - Espectro de Massas

eq - Equatorial.

I.V - Infravermelho

J - Constante de acoplamento

m - Multiplete

M^+ - Íon molecular

m/z - massa/carga

MeOH - Metanol

MeOD₄ - Metanol Deuterado

Mod - Modelo

mult. - multiplicidade

P.N.D. - Próton Noise Decoupled

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

q - Quarteto

RMN ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

s- Singleto

sl - Singleto largo

t - Tripleto

T.M.S. - Tetrametilssilano

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE GERAL	x
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE TABELAS	xxi
RESUMO	xxiii
ABSTRACT	xxiv
1. INTRODUÇÃO	1
2, A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES	11
2.1 Aspectos Botânicos da família Apocynaceae	11
2.2. Caracteres gerais da Família ²¹	13
2.3. Caracteres da Sub-família ²¹	14
2.4. Considerações sobre o gênero <i>Himatanthus</i> ^{20,21}	15
2.5. Caracteres do gênero <i>Himatamhus</i> ^{21,22} . Willd ex. R. et S	16
2.6. Características da espécie <i>H. articulata</i> (Vahl) Woodson ²²	17
2.7. Constituintes isolados da Planta	18

3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	19
3.1. Determinação estrutural das substâncias isoladas de <i>Himatanthus articulata</i>	19
3.1.1. Determinação estrutural de HACH-8P (1 + 2)	19
3.1.2. Determinação estrutural de HAL-3 (3)	23
3.1.3. Determinação estrutural de HACH-20/23-3 (4 + 5) e HACH-20/23-1 (5)	26
3.1.4. Determinação estrutural de HAL-4 (6 + 7)	30
3.1.5. Determinação estrutural de HAFM -1 (8) e de seus derivados	34
3.1.6. Determinação estrutural de HAMC-Ac-7 (9) e I-HACM-Ac-3A (9a)	39
3.1.7. Determinação estrutural de COLUNA A-02 (10a) e S-HACM-9/10 Me (11a)	41
4. BIOGÊNESE	45
4.1. Aspectos gerais da biogênese dos compostos isolados em <i>Himatanthus articulata</i> (Vahl) Woodson	45
5. PARTE EXPERIMENTAL	53
5.1. Material Vegetal	53
5.2. Isolamento dos constituintes de <i>Himatanthus articulata</i> (Vahl) Woodson	53
5.3. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos de <i>Himatanthus articulata</i>	54
5.3.1. Isolamento e purificação dos constituintes químicos do extrato clorofórmico do látex de <i>Himatanthus articulata</i> (Esquema 12)	54

5.3.2. Extrato hexânico da casca (HACH)	55
5.3.3. Extrato metanólico da casca (HACM)	57
5.3.4. Extrato metanólico da folha (HAFM)	61
5.4. Reações usadas para obtenções das substâncias naturais isoladas	61
5.4. 1. Reações de Acetilação	61
5.4.2. Reações de Metilação ²⁵	62
6. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS	71
6.1. Características químicas das substâncias isoladas de <i>Himatanthus articulata</i>	71
6.2. Especificação dos materiais e dos instrumentos	73
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	75
8. APÊNDICE	79

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1	Interpretação do espectro de Massas de HACH-SP (1 + 2)	22
Esquema 2	Interpretação do espectro de massas de HACH-20/23-3 (4 + 5) e HACH-20/23-1 (5)	29
Esquema 3	Interpretação do espectro de massas de HAL 1/4 (6 + 7)	33
Esquema 4	Interpretação do espectro de massas de HAFM-I (8)	38
Esquema 5	Ciclização do escaleno e formação de triterpenos pentacíclicos	46
Esquema 6	Formação de triterpenos pentacíclicos a partir do cátion C-1917, 32 e 33	47
Esquema 7	Inclusão do grupo cinamoíla nos terpenóides isolados	48
Esquema 8	Formação do esteróide 24-metileno-cicloartenol (3)	49
Esquema 9	Formações dos esteróides estigmasterol (1) e sitosterol (2)	50
Esquema 10	Caminho provável ^{17, 32,33} para a biogênese de 1-β-D-glicopiranosil plumierato de metila (11) e ácido 1-β-D-glicopiranosil plumierídico (10)	51
Esquema 11	Caminho provável ^{32, 33} de formação do metil-mio-inositol (9)	52
Esquema 12	Fracionamento do látex de <i>Himatanthus articulata</i>	63
Esquema 13	Fracionamento do Extrato Clorofórmico do Látex (HAL)	64
Esquema 14	Elaboração dos extratos das cascas de <i>Himatanthus artlculata</i>	65
Esquema 15	Fracionamento do Extrato Hexânico da Casca (HACH)	66
Esquema 16	Fracionamento do Extrato metanólico da casca (HACM)	67

Esquema 17	Fracionamento da Fase Aquosa do Extrato metanólico da casca	68
Esquema 18	Elaboração dos extratos orgânicos das folhas	69
Esquema 19	Fracionamento do extrato metanólico da folha (HAFM, 8)	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-8P (1 + 2) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	80
Figura 2 : Espectro de RMN de ^{13}C - PND (50,3 MHz) de HACH-8P (1 + 2) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	81
Figura 3 : Espectro de RMN de ^{13}C com DEPT ($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$) de HACH-8P (1 + 2) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	82
Figura 4 : Espectro de massa de HACH-8p (1 + 2)	83
Figura 5 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HAL-3 (3) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	84
Figura 6 : Espectro de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) totalmente desacoplado e com experiências de DEPT ($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$) de HAL-3 (3) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	85
Figura 6a : Espectro de RMN de ^{13}C de HAL-3 (3), expandido entre 10 a 58 ppm, registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	86
Figura 7 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HAL-3 (3) registrado em 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna	87

Figura 8 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-20/23-3 (4 + 5) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	88
Figura 8a : Espectro expandido de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-20/23-3 (4 + 5) entre 0,6 a 2,4 δ registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	89
Figura 9 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-20/23-1 (5) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	90
Figura 10 : Espectro de RMN de ^{13}C com DEPT [(0 - 135°), 50,3 MHz] de HACH-20/23-3 (4 + 5) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	91
Figura 10a: Espectro expandido de RMN de ^{13}C de HACH-20/23-3 (4 + 5) entre 14 a 44 ppm, registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	92
Figura 11 : Espectro de RMN de ^{13}C de HACH-20/23-1 (5) totalmente desacoplado (50,3 MHz), CDCl_3 e TMS como referência interna	93
Figura 12: Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HACH-20/23-3 (4 + 5) registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna	94
Figura 13 : Espectro de massas de HACH 20/23-1 (5)	95
Figura 14: Espectro de massas acoplado e cromatograma de gás obtidos em CG/MS de HACH-20/23-3 (4 + 5)	96
Figura 15 Espectro de I.V de HAL-4 (6 + 7) em KBr	97
Figura 16 Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HAL-4 (6 + 7) em CDCl_3 e TMS como referência interna	98
Figura 16a : Espectro expandido de RMN de ^1H de HAL-4 (6 + 7) entre 0,6 a 2,4 δ , registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	99
Figura 17 Espectro de RMN de ^{13}C (PND) totalmente desacoplado de HAL-4 (6 + 7) em CDCl_3 e TMS como referência interna	100

- Figura 17a: Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com experiências DEPT [($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$), 50,3 MHz] de HAL-4 (6 + 7) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 101
- Figura 17b : Espectro expandido de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com DEPT [($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$), 50,3 MHz] de HAL-4 (6 + 7) entre 15 a 48,5 ppm em CDCl_3 e TMS como referência interna 102
- Figura 18 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HAL-4 (6 + 7), em CDCl_3 e TMS como referência interna 103
- Figura 19 : Espectro de massas HAL-1/4 (6 + 7) e cromatograma de gás obtidos em CG/MS 104
- Figura 20 : Espectro de I.V. de HAFM-1 (8) em KBr 105
- Figura 21 : Espectro de RMN de ^1H de HAFM-1 (8), registrado a 200 MHz em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna 106
- Figura 22 : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com experiências de DEPT [($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$), 50,3 MHz] de HAFM-1 (8) em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna 107
- Figura 23 : Espectro de massas de HAFM-1 (8) 108
- Figura 24 : Espectro de I.V de HAFM-Ac (Ba) em KBr 109
- Figura 25 : Espectro de RMN de ^1H de HAFM-Ac (Ba), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna 110
- Figura 26 Espectro de RMN de ^{13}C de HAFM-Ac (Ba) totalmente desacoplado registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 111
- Figura 27: Espectro expandido de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com experiências de DEPT [($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$), 50,3 MHz] de HAFM-Ac (8a), entre 15 a 55,8 ppm registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 112

- Figura 28 :Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HAFM-Ac (8a), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna 113
- Figura 29 :Espectro bidimensional (2D)de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono-13 ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{C-H}}$ de HAFM-Ac (8a), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 114
- Figura 30 :Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono-13 [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e $n = 3$)] de HAFM-Ac (8a), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 115
- Figura 30a Espectro expandido bidimensional (2D) de correlação heteronuclear hidrogênio-carbono [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e 3)] de HAFM-Ac (8a) entre 15 a 83 ppm registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 116
- Figura 31 Espectro de RMN de ^1H de HAFM-Ac-Me (8b), registrado a 200 MHz e CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna 117
- Figura :32 Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado [P.N.D. (50,3 MHz)] de HAFM-Ac Me (8b) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 118
- Figura 33 Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e 3)] de HAFM-Ac Me (8b), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 119
- Figura 34 Espectro de I.V. de HAFM-Me (8c) em filme (NaCl) 120
- Figura 35 Espectro de RMN de ^1H de HAFM-Me (8c), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna 121
- Figura 36 Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com DEPT [$(\theta - 90$ e $\theta = 135^\circ)$ 50,3 MHz] de HAFM-Me (8c), em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna 122

- Figura 37 : Espectro de RMN de ^1H de HACM-Ac-7 (9), registrado a 200 MHz, em MeOD₄ como solvente e TMS como referência interna 23
- Figura 38 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de S-HACM-Ac-7 (9), registrado a 200 MHz em MeOD₄ e TMS como referência interna 124
- Figura 39 : Espectro de RMN de ^{13}C (P.N.D.) totalmente desacoplado com DEPT [$(\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ)$, 50,3 MHz] de S-HACM-Ac-7 (9), em MeOD₄ e TMS como referência interna 125
- Figura 40 : Espectro de RMN de ^{13}C (P.N.D.) totalmente desacoplado (PND.) de I-HACM-3A (9a), em CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna 126
- Figura 41 : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $^1\text{J}_{\text{C-H}}$) de HACM-Ac-7 (9), em MeOD₄ e TMS como referência interna 127
- Figura 42 : Espectro de I.V de HACM-Ac-7 (9a) em KBr 128
- Figura 43 : Espectro de RMN de ^1H de I-HACM-3A (9a), registrado a 200 MHz, em CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna 129
- Figura 44 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de I-HACM-3A (9a), registrado a 200 MHz em CDCl₃ e TMS como referência interna 130
- Figura 45: Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY) de I-HACM-3A (9a), em CDCl₃ e TMS como referência interna 131
- Figura 45a : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $^n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e $n = 3$, COLOC)] de I-HACM-3A (9a), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna 132
- Figura 46 : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com DEPT [$(\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ)$, 50,3 MHz] de COLUNA-A-02 (10a) registrado a 200 MHz, em MeOD₄ como solvente e TMS como referência interna 133

- Figura 47 : Espectro de RMN de ^1H de COLUNA-A-02 (10a) registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna 134
- Figura 48 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY) de COLUNA-A-02 (10a), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna 135
- Figura 49 : Espectro de RMN de ^1H de S-HACM-9/10-Me (11a) registrado a 200 MHz em CDCl_3 e TMS como referência interna 136
- Figura 50 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de S-HACM-9/10-Me (11a) registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna 137
- Figura 51 : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado (P.N.D.) de S-HACM 9/10-Me (11a) registrado a 200 MHz em CDCl_3 e TMS como referência interna 138
- Figura 52 : Análise espectrográfica qualitativa da fração 24 139

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 : Comparação dos dados de RMN de ^1H (200,13 MHz) do HACH-SP (1 + 2) com os padrões da literatura ^{36,37,38} (Mod. 1 e Mod. 2)	20
Tabela 1a : Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) do HACH-8P (1 + 2) com os padrões da literatura ^{36,37} (Mod I e Mod 2)	21
Tabela 2 : Comparação dos deslocamentos químicos (8) de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) de HAL-3 (3) com os padrões da literatura ⁴² (Mod. 3)	24
Tabela 2a : Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz; CDCl_3) de HAL-3 (3) com os padrões descritos na literatura ⁴² (Mod.3)	25
Tabela 3 Comparação dos deslocamentos químicos (8) dos prótons (200 MHz) de HACH 20/23-3 (4 + 5) e HACH - 20/23-1 (5) comparados com os padrões da literatura (Mod 4, Mod. 6)	27
Tabela 4 Dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) de HACH-20/23-3 (4 + 5) e HACH-20/23-1 (5) comparados com os padrões da literatura ^{17,43,44} (Mod 4 e 6)	28
Tabela 5 Comparação dos deslocamentos químicos dos prótons de HAL-4 (6 + 7) com modelos da literatura ^{44-45,46,47} (Mod 6)	31

Tabela 6 : Comparação dos deslocamentos químicos do espectro de RMN de ^{13}C de HAL-4 (6 + 7) com os dados descritos na literatura ^{44,45} (Mod 6, Mod 7)	32
Tabela7: Identificação dos carbonos mono (CH), di (CH ₂), tri (CH ₃) e não protonados(C) de HAFM-Me (8c) obtido do espectro totalmente desacoplado (P.N.D. e DEPT) em CDCl ₃ e TMS como referência interna	36
Tabela 8 : Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (PND e DEPT), [$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY ($^1\text{J}_{\text{CH}}$) e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3 COLOC)] de 8a e 8c comparados com os padrões da literatura ^{45,46,47} (Mod 8 e 8c)	37
Tabela 9 : Dados espectrométricos de RMN de ^9F registrados em MeOD ₄ comparados com os dados de literatura ^{48,49} (Mod. 9)	40
Tabela 10 : Correlação dos deslocamentos químicos de ^{13}C (50,3 MHz, P.N.D. e DEPT) e ^1H (200 MHz) de 9a registrados em CDCl ₃ , comparados com os dados descritos na literatura ⁴⁸⁻⁴⁹ (Mod. 9a)	41
Tabela 11 : Comparação dos dados de RMN de 1D ^1H e ^{13}C (P.N.D. e DEPT) e 2D: $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de COLUNA A - 02 (10a) e S-HACM 9/10 - Me (11a) com os padrões descritos na literatura ^{15,16,52} . (Mod. 10, Mod. 11a)	44
Tabela 12 : Quantidades de substâncias acetiladas	62
Tabela 13 : Quantidades de substâncias metiladas	62

RESUMO

O estudo químico da casca, folhas e látex de um espécimen de *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson (Apocynaceae) levou ao isolamento de estigmasterol, (1) + sitosterol, (2); 24-metileno cicloartenol, (3); 3 β -O-acetil + 3 β -O-cinamoil lup-20 (29)-eno (acetato + cinamato de lupeol, 4 + 5); 3 β -O-acetil + 3 β -O-cinamoil urs-12-eno e olean-12-eno (acetato e cinamato de α e β amirina 6 + 7), ácido 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-óico (ácido ursólico, 8); O-metil-mio inositol (inositol, 9); ácido 1 β -D-glicopiranosil plumierídico (ácido plumierídico glicosilado, 10) e 1 β -D-glicopiranosil plumierato de metila (plumierídeo glicosilado, 11).

As substâncias 1, 3, 8, 10 e 9, foram isolados pela primeira vez no gênero *Himatanthus* e o 3 β -O-cinamoil lup-20 (29)-en (5) está sendo registrado pela primeira vez na literatura.

As substâncias 8, 9, 10 e 11 foram identificadas através de análise espectrométrica dos derivados acetilados (8a, 9a, 10a e 11a) e ésteres metílicos (8b, 8c e 11a).

O isolamento das substâncias foi feito através da elaboração dos extratos hexânicos, clorofórmicos e metanólicos da planta e posterior fracionamento cromatográfico e cristalização das substâncias naturais e/ou derivados acetilados e metilados.

ABSTRACT

The chemical investigation of the hexane, chloroformic and methanolic extracts of leaves stems and latex of a specimen of *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson lead to the isolation of: stigmasterol, (1) + sitosterol, (2); 24-methylene cycloartenol (cycloartenol, 3); 3 β -O-acetyl + 3 β -O cinnamoyl, 12 ursen and 12 oleanen [α and β amyrin acetate (6) and cinnamate (7)], 3 β -O-acetyl + 3 β -O-cinnamoyl 20 (29)-lupen (lupeol acetate and cinnamate, 4 + 5); 3 β -hydroxy-12-ursen-28 oic acid (ursolic acid, 8); O-methyl myo-inositol (inositol, 9); 1 β -D-glicopyranosil plumieride acid (plumieride acid, 10); 1 β -D-glicopyranosil plumieride) plumieride glucoside, 11).

The identification of compounds 8, 9, 10 and 11 were based on the spectral data of their acetylated derivatives (8a, 9a, 10a and 11a) and methyl esters (8b, 8c and 11a) The remaining spectral analyses were carried out on the natural compounds

This work describes the isolation of novel compound 5 and also the first occurrence triterpenes 1, 3 and 8, iridoid glycoside 11 and sugar 9 in genus *Himatanthus*.

1. INTRODUÇÃO

As plantas possuem a capacidade de produzir substâncias orgânicas micro e macromoleculares. As substâncias macromoleculares (proteínas, ácidos nucleicos, etc) são produzidas pelos processos metabólicos primários e são estudados pelos bioquímicos, enquanto as substâncias micromoleculares (alcalóides, flavonóides, terpenóides, lignóides, etc.), são produtos dos metabólitos secundários, e são estudados pelos químicos de produtos naturais.

A química de produtos naturais contribui para o desenvolvimento de diversas áreas da ciência tais como: farmacologia, botânica, agricultura, química orgânica, evolução e ecologia micro molecular.

Há plantas que vêm sendo utilizadas pelo homem através dos tempos como fonte de recursos para cura de doenças e outras manifestações biológicas. Na medicina popular, tais plantas são utilizadas de forma bastante empírica, através de macerações, infusões e cataplasmas¹. Estes conhecimentos foram transmitidos pelos pais aos filhos, através dos séculos.

Os avanços tecnológicos levaram os cientistas a sintetizarem substâncias medicamentosas, abandonando deste modo as plantas como fonte de cura.

Atualmente o homem tem tentado evitar os produtos sintéticos, acusando-os de

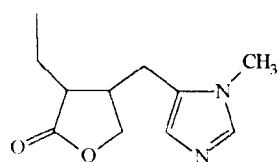
serem economicamente inviáveis e, às vezes prejudiciais à sua saúde. A opção considerada mais razoável tem sido a utilização das plantas, como fonte de cura. Mas, sem dúvida as duas fontes de medicamentos devem ser desenvolvidas simultaneamente.

Deve-se considerar entretanto, que o uso de plantas medicinais sem o acompanhamento científico poderão trazer consequências irreparáveis. Um extrato bruto pode ser efetivo em determinado tratamento, mas pode ter componentes que, acumulados no organismo, causam efeitos colaterais graves. Neste sentido é essencial o conhecimento farmacognóstico da planta. Para isso são necessários os conhecimentos fitoquímicos e fitoterápicos dos extratos das plantas. O conhecimento dos componentes químicos presentes na espécie vegetal, dará uma noção prévia da estrutura e da atividade, além de permitir fazer previsão se ocorrerão efeitos colaterais com o uso do extrato da espécie vegetal.

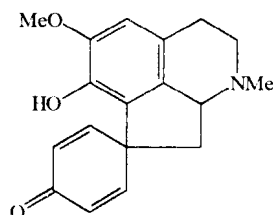
Apesar dos grandes interesses pela flora brasileira, poucos trabalhos têm sido desenvolvidos na área de química de produtos naturais. Alguns dos trabalhos já desenvolvidos no país, têm sido explorados por pesquisadores estrangeiros. Acredita-se que isso se deva principalmente à falta de uma política dirigida no sentido de apoiar os estudos de plantas brasileiras, garantindo recursos financeiros suficientes, pelo tempo necessário para a conclusão dos trabalhos. Em consequência disto, convivemos com uma deficiência quantitativa de pessoal especializado no estudo fitotécnico, químico, farmacológico e clínico das plantas. É necessário ressaltar, também a necessidade do desenvolvimento de metodologias para isolar e identificar os constituintes químicos hidrossolúveis, onde estão incluídos os componentes mais ativos das plantas. Sendo, então, a identificação dos princípios ativos hidrossolúveis de plantas brasileiras, ainda um desafio para os bioquímicos, farmacêuticos e químicos de produtos naturais². Deve-se levar em consideração também, que são necessários manejos adequados das espécies ativas em seu ambiente natural evitando-se, assim, o desaparecimento de espécies que venham a ser exploradas economicamente. Um bom exemplo de planta ameaçada de extinção é o caso do jaborandi

(*Pilocarpus pennatifolius* Lem.), planta nativa do Maranhão e Piauí que constitui a matéria-prima para a produção de sais de pilocarpina (1a), alcalóide usado no tratamento de glaucoma. O uso de plantas sem o controle adequado, vêm contribuindo para o desaparecimento de várias espécies³.

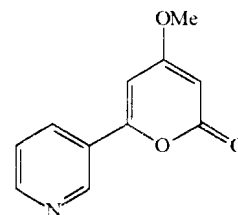
Outro desafio para as instituições brasileiras, é criar meios para evitar que os frutos de pesquisas desenvolvidas com a flora nacional sejam "exploradas" apenas pelas multinacionais. Como exemplo destes casos podemos citar a glaziovina (2a) isolada de *Ocotea glaziovii*, com ação tranqüilizante e ansiolítica, utilizada na composição do Suavedol sob patente do laboratório Simes (Itália); a anibina (3a) extraída de várias espécies de *Aniba* (*A. duckei*, *A. roseadora*, *A. coto* e *A. fragrans*) com ação antiespasmódica em doenças cardíacas e pulmonares e no tratamento do coma por intoxicação morfínica e barbitúrica sob patente francesa (M.2665); o obtusaestireno (4a) e obtusaquinona (5a) obtidos de *Dalbergza obtusifolia* usados como larvicida, microbicida e esterilizante de moscas fêmeas sob patente US Department of Agriculture².



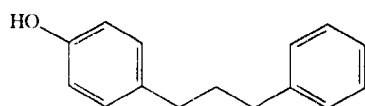
(1a)



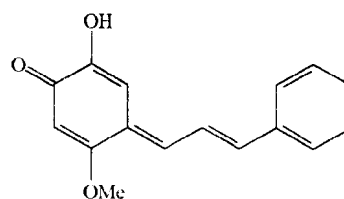
(2a)



(3a)



(4a)



(5a)

Uma família de plantas que têm despenado o interesse dos químicos de produtos naturais, devido ao uso muito difundido na medicina popular, em razão de suas inúmeras

aplicações de caráter terapêutico são as Apocynaceae. Existem cerca de 200 gêneros de Apocynaceae divididas em três subfamílias: *Apocinoideae*, *Echitoideae* e *Plumeroideae*. Esta última sub-família contém cerca de 84 gêneros, dos quais 30, possuem uma grande quantidade de alcalóides indólicos^{4,5}. Algumas espécies estudadas revelaram a presença de terpenóides^{6,8,9,10,11}, iridóides glicosilados^{6,13,14,15}, flavonóides glicosilados⁷, lignóides^{27,28,29} e etc.

Da espécie *Nerium oleander* uma Apocynaceae, coletada na região Karachi no Paquistão, foram isoladas das folhas, o ácido oleanderólico (6c), e um triterpeno fracamente ácido, o Kanerodiona (7c). Esses triterpenos demonstraram significativos potenciais farmacológicos. As frações contendo esses constituintes mostraram-se depressivas ao sistema nervoso central de ratos⁸.



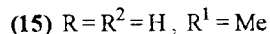
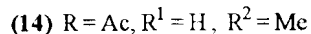
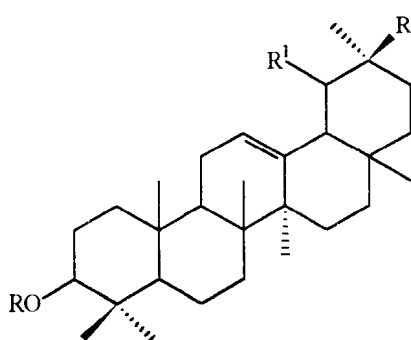
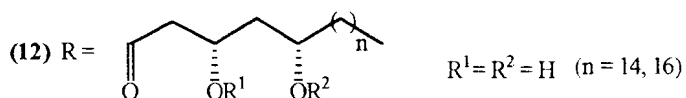
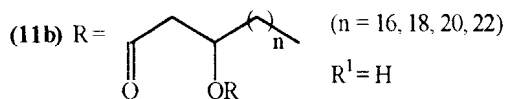
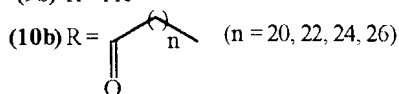
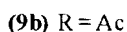
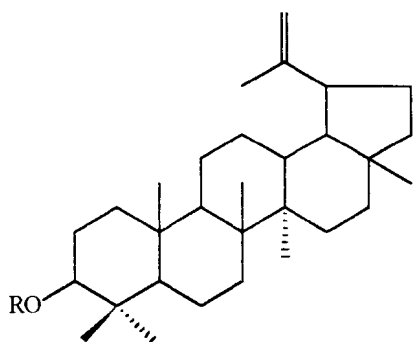
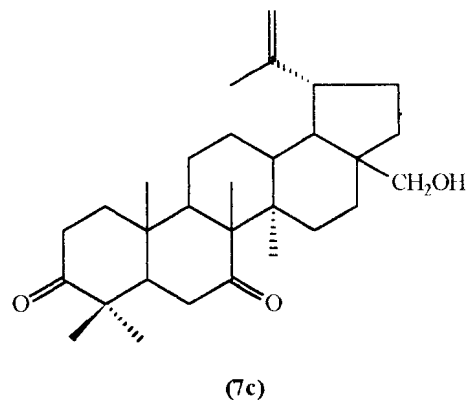
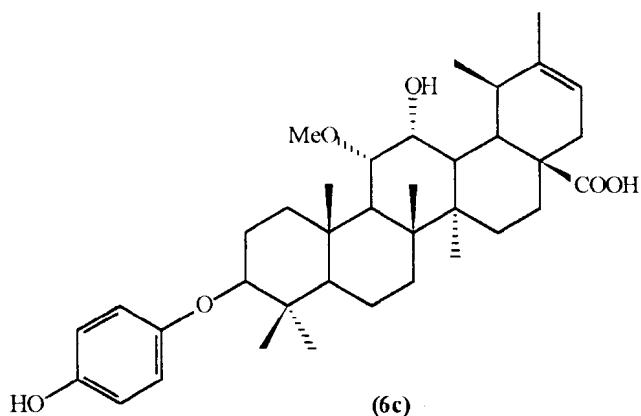
Outra espécie de Apocynaceae, a *Parahancornia amapa* (Huber) Ducke, árvore que ocorre no estado do Amapá, na região amazônica conhecida popularmente como "amapá", é utilizada pela população local (casca e látex) como tônico e anti-sifilítico, foram isolados e identificados do látex os triterpenos pentacíclicos lupeol (8d), β -amirina (13) α -amirina (15) e seus derivados acetilados (9b), (14) e (16), ácidos alifáticos e mistura de ésteres 3-O-aciMupeol (10b - 12)⁹.

A espécie *Plumeria obtusa*, uma Apocynaceae da sub-família plumerioideae, muito confundida com o gênero *Himatanthus* (gênero escolhido para a elaboração desta tese) forneceu vários triterpenóides da série ursano e lupano dos extratos das folhas^{10,11}

A espécie *Plumeria alba* é largamente utilizada na medicina popular por vietnamitas devido as ações antiflogísticas. Esta espécie tem ação inibitória ao crescimento de bactérias gram⁺ e gram⁻. Estas manifestações foram atribuídas ao plumierídeo glicosilado (17)¹².

Este plumierídeo glicosilado (17) foi isolado também do extrato metanólico da casca de *Plumeria obtusifolia*³⁰.

Em 1983, já existia cerca de 210 trabalhos envolvendo o estudo do caule, folhas e raízes de várias espécies de *Plumeria* e *Allamanda*. Os iridóides isolados: isoplumericina (18), plumericina (19), isolado de *Nerium indicum*, plumierídeo (17), plumierídeo cumarato (20), e o plumierídeo cumarato glicosilado (21), apresentaram com exceção do plumierídeo (17), atividade anti-algas e cracas^{13,15}



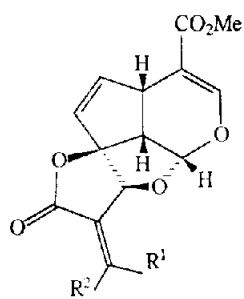
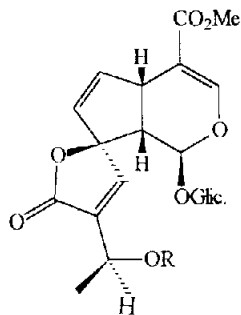
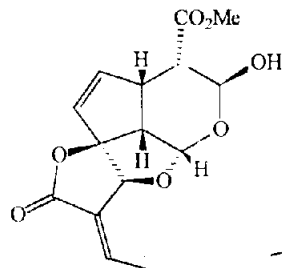
Outro exemplo de importância desta classe de substâncias é o iridóide alamandina (22), isolado do extrato etanólico de *Allamanda cathartica*. Este iridóide apresentou atividade biológica significativa *in vivo*, contra leucemia P-388 em rato e atividade *in vitro* contra células derivadas de carcinoma humana da nasofaringe (K. B.)¹⁴.



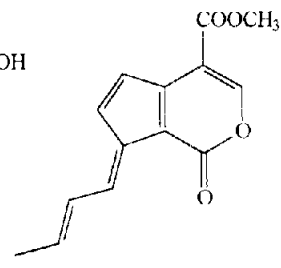
A *Plumeria rubra*, é originária da Indonésia, e é utilizada no tratamento de gonorréia, e nas Filipinas, é utilizada como purgativo, efeito emético e febrífugo. Esta espécie forneceu três iridóides: fulvoplumierina (**23**), alancina (**24**) e alamandina (**22**) e a quinona 2,5-dimetoxi-p-benzoquinona (**25**). Estas substâncias são correspondentes das frações ativas dos extratos, éter de petróleo e CHCl_3 . Foram isolados, também, compostos citotóxicos da fração aquosa das cascas de *Plumeria rubra*. Esta fração forneceu um iridóide, a plumericina (**26**), e a lignana, liri dendrina (**27**). Estas substâncias apresentaram atividade citotóxica, aplicadas a uma linhagem de células de leucemia linfótica (P-388) de ratos, e em vários tipos de células cancerígenas humanas de vários tipos (seios, cólon, fibrosarcoma, melanoma, K.B.). Os iridóides 15-dimetil-plumierídeo (**28**), plumierídeo (19), α -alancidina (**29**), β -alancidina (**30**) e 13-O-trans-plumierídeo cumarato (**20**) foram identificados como os constituintes inativos do extrato¹⁶. O iridóide fulvoplumierina (**23**) isolado, também de *Plumeria rubra* demonstrou potencial atividade no sistema de HIV-1 RT. (IC_{50} 45 mg/ml)³⁴.



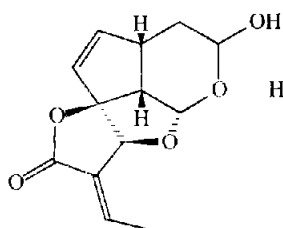
Em relação ao gênero *Himatanthus*, a literatura^{6,17,18,19,35} revelou apenas 5 trabalhos sobre o estudo químico de suas espécies. Da espécie *Himatanthus phagedaenica* foram isolados uma mistura de triterpenos acetilados das séries oleonano, ursano e lupano além do β -sitosterol e três lactonas sesquiterpênicas iridoidais (plumiericina (-), alamandina (-) e isoplumiericina). Do extrato etanólico aquoso acetilado foram isolados dois iridóides glicosilados: octa-O-acetil plumierídeo cumarato glicosídico (31) e penta-O-acetil plumierídeo glicosídico (32) e uma mistura com sacarose acetilada (33).

(17) $R^1 = H, R^2 = Me$ (18) $R^1 = Me, R^2 = H$ (19) $R = H$ (20) $R = -COCH=CH-C_6H_4-OH$ (21) $R = -COCH=CH-C_6H_4-OGl.$ 

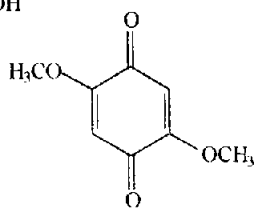
(22)



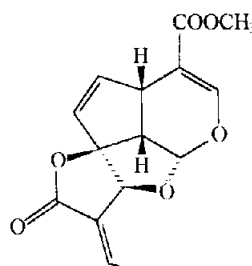
(23)



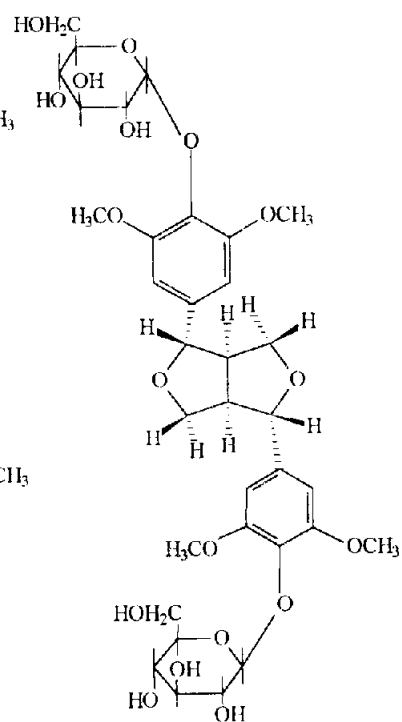
(24)



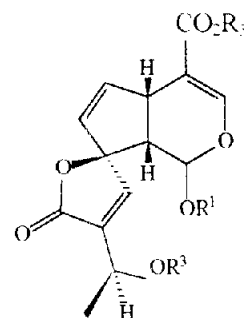
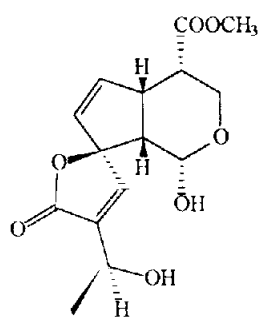
(25)



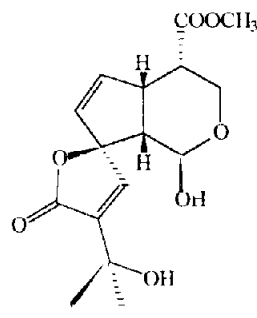
(26)



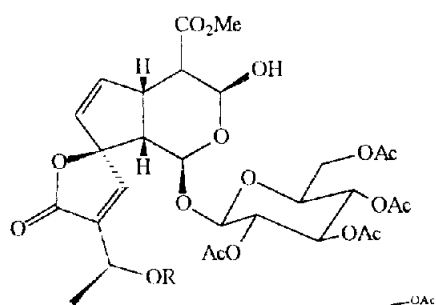
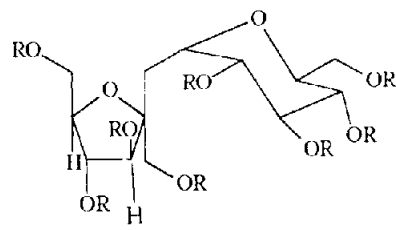
(27)

(28) $R^1 = Gl, R^3 = H$ 

(29)



(30)

(31) $R =$ (32) $R = Ac$ (33) $R = H$ (33 a) $R = Ac$

O presente trabalho consiste no estudo químico de *Himatanthus articulata* através do isolamento e determinação estrutural dos principais componentes do extrato clorofórmico do látex, hexânico e metanólico das cascas e parte do extrato metanólico da folha. A espécie *Himatanthus articulata* é conhecida popularmente na região amazônica por fornecer látex, usado como expectorante, tônico, contra debilidades em geral, resolutive de emplastos em contusões e anti-sifilíticos. A literatura revelou dois trabalhos^{18,19} sobre esta espécie, a tese de mestrado M.A.C. Kaplan e o trabalho de V.N. Ferrigni, onde foram isolados acetato e cinamato de α -amirina.

Foram feitos testes farmacológicos pelo prof Dr. David G Kingston (Dept of Chemistry and State University Blacksburg, Virginia, USA) O extrato metanólico do *H. articulata* apresentou atividade para o IC₁₂^{52y}, sendo considerado um bom nível de atividade para extrato de plantas.



*Himatanthus
articulata*

2. A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

2.1. Aspectos Botânicos da família Apocynaceae

A família Apocynaceae é por natureza interessante sob vários pontos de vista. Ela fornece madeira, flores, gomas elásticas e no interior do Brasil dão frutos como a "Mangaba", "Mucugé" e "Pequiá".



As representantes desta família apresentam o porte variando desde as menores ervas e cipós, até as mais frondosas árvores.

Na história dos povos as Apocynaceas tóxicas tiveram papéis importantes. Na Ásia menor, Palestina, encontramos referências a *Nerium oleander L.*, suas folhas são referidas como arma de crime e suicídios. Acredita-se que a vara que Moisés colocou nas águas de Mara para que esta se tornasse salobre, tenham sido desta árvore.

No continente americano os índios tinham o maior respeito ao "Aouai" (*Thevetia Ahouai* AD.C.). Os hóspedes dos indígenas deveriam ser avisados do perigo que elas apresentavam, nas tabas próximas às aldeias. As mulheres indígenas a utilizaram para fazerem chá, quando queriam se livrar dos seus maridos adúlteros²⁰.

Antes do botânico Tournefort, quase todas as plantas produtoras de látex, eram incluídas indistintamente na designação de *Apocynum*, originário da palavra grega "AÓKUYOY" dada a uma planta da Grécia utilizada no envenenamento de cães selvagens e outros animais. Este grupo abrangia indistintamente as famílias Asclepiadaceae, Euphorbiaceae e Apocynaceae. Coube a Tournefort fazer a primeira separação em três entidades genéricas, apesar de muitas Euphorbiaceae serem retiradas deste grupo principalmente as de gênero *Euphorbia*

Em 1759, B de Jussieu admitiu a existência da família Apocynaceae sob o nome de Apocina, compreendendo também as Asclepiadeae. Neste tempo os gêneros de Apocynaceae estavam dispersos nas Sapoteae, Mursineae, etc.

Em 1810, Robert Brown estabeleceu os rudimentos fundamentais para a classificação da família Apocynaceae, separando-a das Asclepiadaceae, com o nome de *Apocyneae*.

Finalmente em 1836, coube a Lindley empregar pela primeira vez o nome Apocynaceae, que permanece em uso até a presente data²¹.

2.2. Caracteres Gerais da Família²¹

Inflorescência: multivariada: freqüentemente em racemos modificados, cimos, particularmente dicásios escorpióides - cincinus, decásios, helicoidais, racemos, tirso, dicásios agregados, panícula e corimbo.

Posição variada: lateral, axilar ou terminal.

Flores: actinomorfas, gamopétalas, heteroclamídeas, hermafroditas, pentâneras, freqüentemente coloridas e vistosas.

Cálice: gamossépalo, via de regra 5 partido, lacínios iguais ou desiguais, geralmente imbricados, com ou sem escamas na base da face interna. Escamas quando presentes, opostas, alternas ou indefinidamente distribuídas; cálice geralmente caduco, podendo ser, porém persistente.

Corola: tipicamente gamopétala, geralmente hipocrateriforme ou infundibuliforme, raramente campanulada, 5 partida, 5 fendida ou 5 lobada, na pré-antese contorta, com lacínios sinistrorsos (sub-família - Plumerioideae) ou dextrorsos. Abertura superior do tubo da corola muitas vezes com listras longitudinais no tubo; face interna do tubo glabra ou pilosa.

Estames: 5 inseridos em diversas alturas no tubo da corola: na base, na parte média e na parte superior; anteras, geralmente formando um cone, livres (sub-família Plumerioideae) ou soldadas ao estigma; totalmente férteis (sub-família Plumerioideae) ou parcialmente estéreis; introrsas de várias formas: sagitadas (em alguns gêneros de Plumerioideae), ovais, oblongas; pólen granuloso em grãos separados ou grupados em tétrades, filetes curtos ou quase nulos, livres, glabros ou pilosos na face interna.

Estigmas: de formas variadas: cilíndrico, fusiforme (*Himatanthus* Willd ex. R.S.) umbraculiforme, pentagonal-sub-gloquidiano, pentagonal-umbraculiforme, pentagonal-

fusiforme, capitado; o ápice pode ser inteiro ou bicúspide; e a base é, muitas vezes membranaceae; estilete filiforme, geralmente fendido na base.

Ovário: súpero, 2 carpelar, apocarpou ou sincarpou; por exceção ínfero ou sub-ínfero; óvulos em número variável: poucos ou muitos (*Himatanthus* Willd ex. R.S.)

Disco: geralmente presente, outras vezes pouco distinto ou nulo, quando presentes, pode ser livre ou concrecido com o ovário, ou mais ou menos 2-5 lobado: 2 alternando com os carpelos ou 5 lobado, carnosu ou membranáceo.

Fruto: variado, geralmente folículo, em número de dois menos freqüentemente baga, raramente cápsula ou drupa.

Sementes: geralmente, comprimidas lateralmente, aladas; com pincel de pelos no ápice, ou sem esse caráter (na maioria da sub-família Plumerioideae); totalmente pilosa ou glabra

Folhas: geralmente opostas e descussadas, menos freqüentemente alternas (*Himatanthus* Willd. ex R.S.) mais raramente verticuladas, simples, inteiras, raramente com o limbo peltado, muito raramente dimorfas sobre a mesma planta.

Estípulas: ausentes (ou muitas vezes substituídas por glândulas intrapeciolares em número variável).

Porte: ervas sub-lenhosas, sub-arbustos eretos, arbustos escandentes, arbustos e árvores, usualmente com látex, nunca parasitas.

2.3. Caracteres da Sub-família²¹.

A família Apocynaceae possui cerca de 200 gêneros, 1300 espécies divididas em 3 subfamílias:

Apocinoideae

Echitoideae

Plumierioideae - Esta apresenta lacínios da corola sinistrorsos. Anteras totalmente férteis, livres (não soldados ao estigma); tecas não basalmente apendiculadas. Sementes sem pincel de pelos no ápice. Ovário apocarpo ou sincarpo, bilocular, ocasionalmente unilocular. Árvores, arbustos, trepadeiras lenhosas, raramente ervas rizomáticas.

Esta sub-família é composta de duas tribos a saber:

I - Tribo *Ardumeae*

II - Tribo *Plumiereae* ovário apocarpo, 2 folículos. Divididas em quatro sub-tribos:

a) Sub-tribo *Alstoniinae*: cálice sem escamas na base da face interna. Fruto seco, muitas sementes em cada lóbulo.

b) Sub-tribo *Tabernaemontaninae*

c) Sub-tribo *Cerberinae*

d) Sub-tribo *Rauwolfiinae*

2.4. Considerações sobre o gênero *Himatanthus*^{20,21}.

O gênero *Himatanthus* Willd foi proposto pela primeira vez por Roemer e Schultes, para espécies do noroeste do Brasil muito próximas de *Plumeria* sp. (Tourn) L.. A separação dessas espécies, das do grupo *Plumeria*, baseava-se no caráter longas brácteas distintas.

Posteriormente Muell-Arg, seguido logo após por K. Schumann, seja por desconhecimento ou por não concordarem com o trabalho de Roemer e Schultes, consideraram o gênero *Himatanthus* Willd como sinônimo de *Plumeria* L.

Em 1938, Robert E Woodson Jr. após observar as profundas diferenças entre as espécies do gênero *Plumeria* L., chegou a conclusões de que o melhor caminho seria separá-las em dois grupos (*Himatanthus* Willd e *Plumeria* L.)

As espécies brasileiras de *Plumeria* (Tourn) L., com exceção das duas espécies *Plumeria rubra* L., e *Plumeria pudica*, passaram a pertencer ao gênero *Himatanthus* Willd, ex R. et S..

O gênero *Himatanthus* é constituído de sete espécies, distribuídas na bacia amazônica e encontrada, também no nordeste do Brasil.

2.5. Caracteres do gênero *Himatanthus*^{21,22} Willd. ex R. et S.

Inflorescência: tisiforme, terminal ou pseudolateral; flores alvas, com numerosas brácteas vistosas, largas, petalóides ou foliáceas, caducas, com numerosas glândulas pectinadas na base.

Cálice: geralmente obsoleto ou formado de um a cinco lacínios agudos ou acuminados, desiguais, sem escamas na base da face interna; ápice não glandular.

Corola: sinistrorsa, hipocrateriforme, tubo sem apêndices internamente.

Estames: de antera não soldadas ao estigma, com tecas totalmente férteis, sem protuberâncias basais.

Estigma: fusiforme, 2 apiculado.

Ovário: 2 carpelar, apocarpo, tipicamente semi-ínfero, com muitos óvulos.

Disco: nulo.

Fruto. 2 folículos apocarpo, deiscente ao longo da sutura ventral.

Sementes: muitas providas de ampla asa papirosa, mais ou menos concêntrica.

Folhas: alternas, de pecioladas até sesséis, sem glândulas na base da nervura principal.

Porte: árvore pequena ou média altura.

2.6. Características da espécie *H. articulata* (Vahl) Woodson²².

As espécies *H. articulata* apresenta como sinonímia: *Plumeria articulata*, *Himatanthus rigida* Willd, ex R. et S., *Plumeria drastica* Mart., *Plumeria fallax* Muell e *Plumeria microcalyx* Standl.

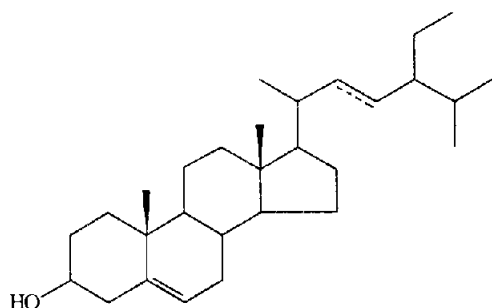
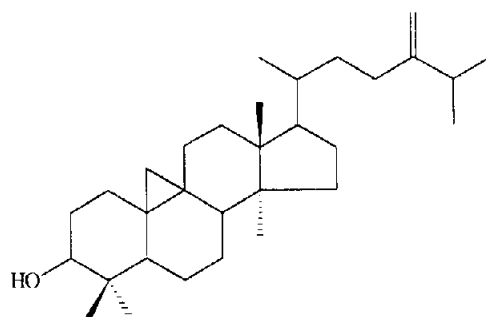
Ocasionalmente as folhas desta espécie assemelham-se à forma sub-sésseis como das *H. obovata*, à partir das quais podem ser facilmente distinguidas, contudo, pela reluzente superfície superior com sua nervura verrugosa, característica.

O porte da *H. articulata* é preferivelmente de árvore delgada com 5 a 25 metros de altura. São conhecidas popularmente como : Santa Maria, Sucuúba, Jauahuba (Lisboa), e no estado do Amapá (Brasil) são confundidas com o "Amapazeiro".

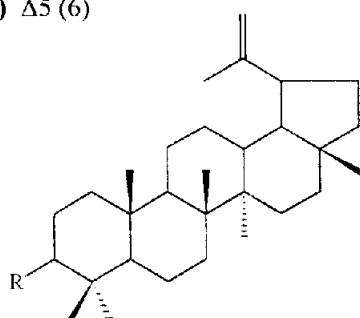
Segundo Conquiste Woodson^{22,23} esta espécie é classificada botanicamente como a tabela abaixo:

Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophiton
Classe	Magnoliatae
Subclasse	Asteridae
Ordem	Gentianales
Família	Apocynaceae
Sub-família	Plumierioideae
Tribo	Plumierae
Sub-tribo	Alstoniinae
Gênero	<i>Himatanthus</i>
Espécie	<i>H. articulata</i> (Vahl) Woodson
Denominação vulgar	Santa Maria, Sucuúba, Jauahuba, Amapazeiro

2.7. Constituintes isolados da Planta

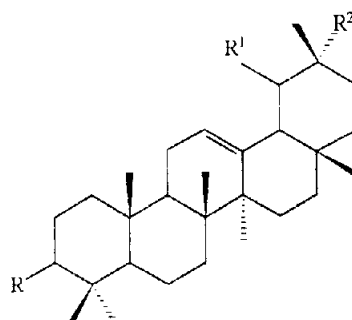
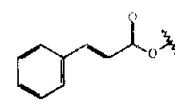
(1) Δ^5 (6) 22 (23)(2) Δ^5 (6)

(3)



(4) R = Acetato

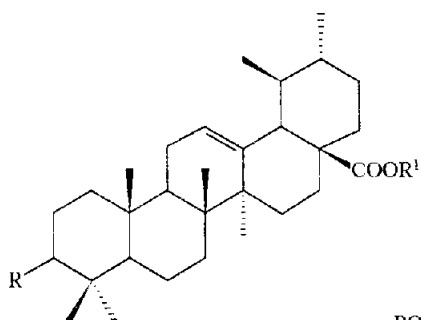
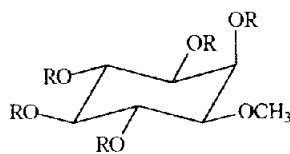
(5) R = Cinamoil

(6) $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$, R = Cinamoil(6a) $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$, R = Acetato(7) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3$, R = Cinamoil(7a) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3$, R = Acetato

Cinamoil

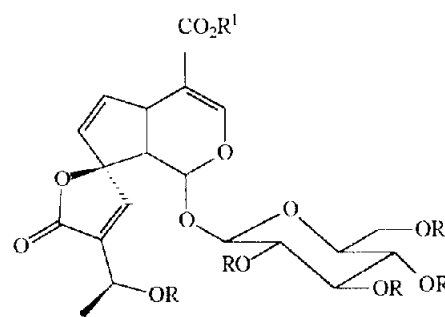


Acetato

(8) R = OH, $R^1 = \text{H}$ (8a) R = Ac, $R^1 = \text{H}$ (8b) R = Ac, $R^1 = \text{Me}$ (8c) R = OH, $R^1 = \text{Me}$ 

(9) R = H

(9a) R = Ac

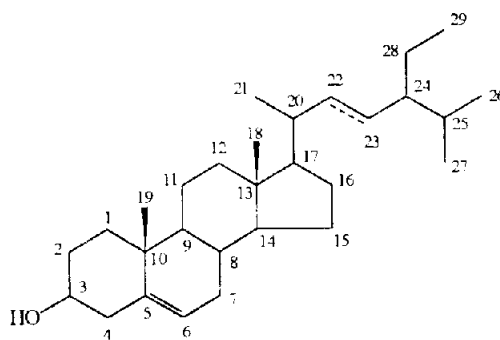
(10) R = $R^1 = \text{H}$ (10a) R = Ac, $R^1 = \text{H}$ (11) R = Ac, $R^1 = \text{Me}$ (11a) R = H, $R^1 = \text{Me}$

3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

3.1. Determinação estrutural das substâncias isoladas de *Himatanthus articulata*

3.1.1. Determinação estrutural de HACH-8P (1 + 2)

O espectro de RMN de ^1H (Figura 1, Tabela 1) revela sinais correspondentes a prótons olefínicos e, 5,35 (m), 5,05 (dd, $J = 15,4$ e $7,0$ Hz) e 5,10 (dd, $J = 15,4$ e $7,0$ Hz), sinal correspondente a prótons carbinólicos em 3,55 (m). Estes dados aliados às feições dos sinais em 0,64 (s), 0,97 (s) e os multipletos entre 0,76 δ e 0,92 δ estão de acordo com a mistura de esteróides. Levando em consideração as observações anteriores e, os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos (CH e C) revelados nos espectros de RMN de ^{13}C PND. (Figura 2) e DEPT (Figura 3) e os picos m/z 414 (18,51%) e 412 (16 %) presentes no espectro de massas (Figura 4, Esquema 1) pode-se propor a mistura de sitosterol e estigmasterol. A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios (Tabela 1 e 1a) de HACH-8P com os padrões da literatura^{36,37,38}, serviu para confirmar as estruturas propostas para HACH-8P como: sitosterol (2) e estigmasterol (I).



(1) Δ 5 (6), 22 (23) Mod 1

(2) Δ 5 (6) = Mod 2

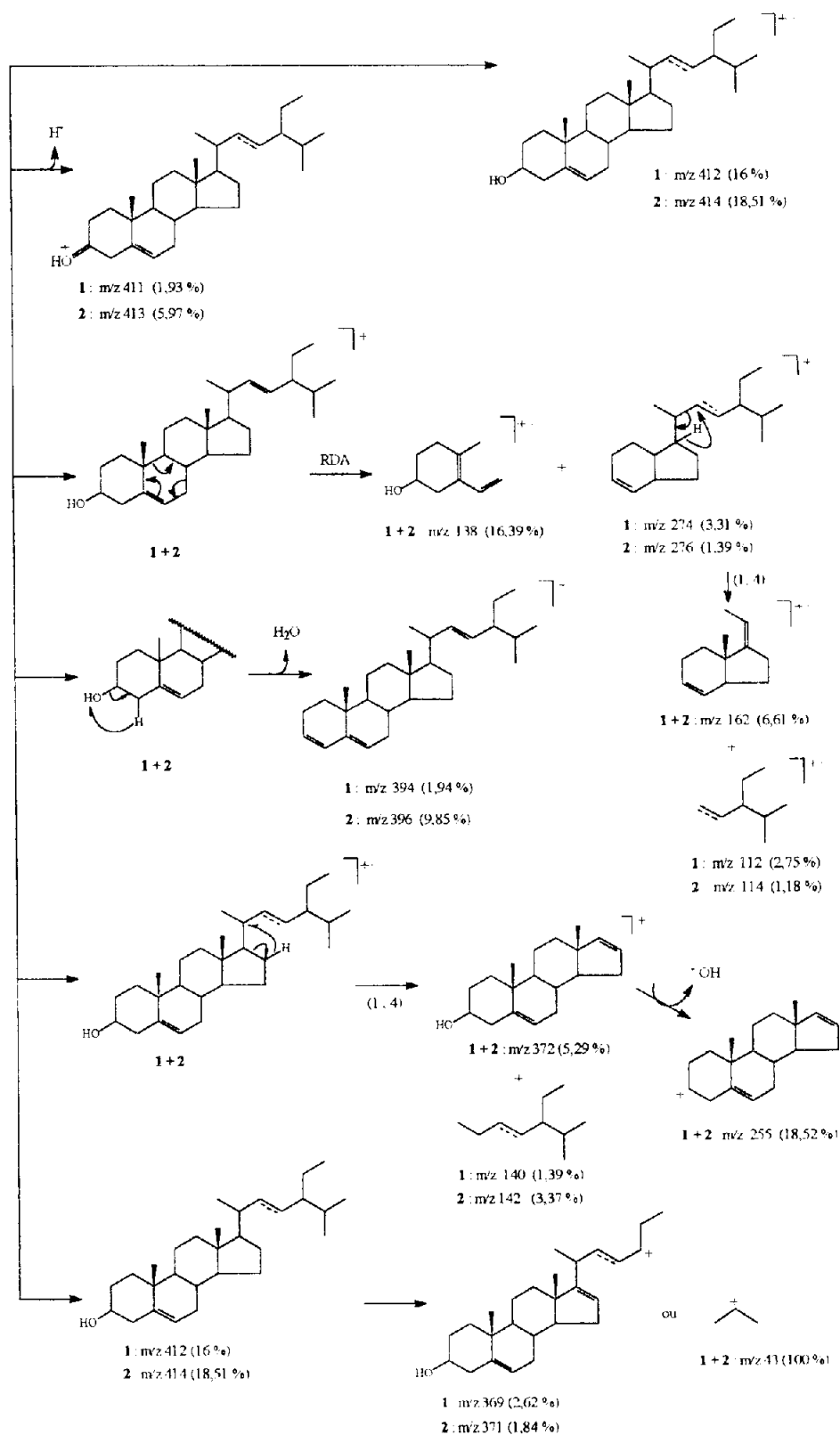
Tabela 1 : Comparação dos dados de RMN de ^1H (200,13 MHz) do HACH-8P (1 + 2) com os padrões da literatura^{36,37,38} (Mod. 1 e Mod. 2).

H	1+2	Mod. 1	Mod. 2
6	5,35 (m)	5,35	5,35
22	5,10 (dd)	5,15	-
23	5,00 (dd)	5,01	-
3	3,55 (m)	3,52	3,52
19	0,99 (s)	1,01	1,01
21	1,03 (d) ^a	1,02	1,02
26	0,84 (d) ^a	0,84	0,83
29	0,81 (t) ^a	0,80	0,84
27	0,79 (d) ^a	0,79	0,81 (d)
18	0,64 (s)	0,69	0,68

^a multiplicidade deduzida após conclusões das análises de RMN de ^{13}C .

Tabela 1a : Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) do HACH-8P (1 + 2) com os padrões da literatura^{36,37} (Mod. 1 e Mod. 2).

C	δ C		Mod. 2
	1+2	Mod. 1	
1	37,2	37,2	37,24
2	31,6	31,6	31,61
3	71,8	71,78	71,78
4	42,2	42,3	42,8
5	140,7	140,7	140,71
6	121,7	121,7	121,72
7	31,9	31,9	31,89
8	31,6	31,9	31,82
9	50,1	50,1	50,11
10	36,5	36,5	36,48
11	21,1	21,1	21,07
12	39,7	39,7	39,77
13	42,2	42,2	42,28
14	56,7	56,8	56,75
15	24,3	24,4	24,28
16	28,2	28,9	28,24
17	55,9	55,9	56,04
18	11,9	12,0	11,85
19	19,4	19,4	19,40
20	39,7	40,5	36,12
21	21,0	21,2	19,02
22	138,3 33,8	138,3	33,92
23	129,2 29,1	129,2	29,13
24	51,2 45,8	51,20	45,80
25	31,9 29,0	31,90	26,06
26	19,8	21,10	18,77
27	18,7	19,00	19,80
28	25,4 23,0	25,40	22,04
29	11,9	12,3	11,97



Esquema 1 : Interpretação do espectro de Massas de HACH - 8P (1 + 2)

3.1.2. Determinação estrutural de HAL-3 (3)

O espectro de RMN ^1H (Figura 5) possui sinais que conduziram às interpretações abaixo:

a) Os dois dubletos em 0,31 δ e 0,53 δ ($J = 4,2$ Hz) são correspondentes a dois prótons metilênicos em anel de 3 membros com acoplamento entre si.

b) O multipeto em 3,28 δ é correspondente ao próton carbinólico localizado no C-3 de um terpenóide

c) Os dois singletos largos em 4,64 δ e 4,69 δ , correspondem a dois prótons olefínicos de um grupo vinílico sem acoplamento vicinal.

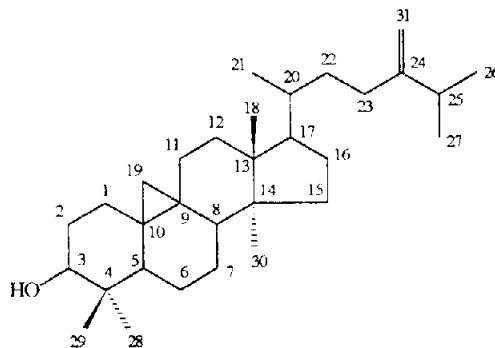
d) O multipeto em 2,12 δ corresponde a um próton alílico que é vizinho a um dos grupos metílicos, que absorve em 1,04 δ (d).

e) A feição dos sinais entre 1,04 δ e 0,73 δ é coerente com um triterpeno tetracíclico.

Os espectros de RMN ^{13}C (P.N.D.) e DEPT ($\theta = 90^\circ$ e 135°) (Figura 6 e 6a) apresentam sinais em 156,86 δ (C), 105,9 δ (CH_2) que estão de acordo com a dupla terminal proposta. O sinal correspondente a CH (78,8 δ) está de acordo com a frequência de carbono carbinólico sofrendo um efeito β de uma metila vizinha, isto confirma a proposta do triterpeno tetracíclico.

As interpretações anteriores permitiram propor a estrutura do 24-metileno cicloartenol registrado na literatura. O espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY) confirmou a dupla terminal [H-31a (4,69 δ) interagindo com H-31b (4,64 δ)] e o anel de 3 membros, através da observação das interações dos hidrogênios do carbono 19a [(0,31 δ , interagindo com H-19b em 0,53 d,) $J = 4,2$ Hz]. (Figura 7)

A comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C com a literatura⁴² [Mod. 3 (Tabela 2 e 2 a)] confirmou a estrutura (3) proposta para HAL-3.



(3) = Mod 3

Tabela 2 : Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) de HAL-3 (3) com os padrões da literatura⁴² (Mod. 3).

H	3	Mod. 3
31a	4,69	4,72
31b	4,64	4,60
3	3,25	3,28
23,25	2,2 - 1,8 (m)	
26	1,04	1,03 (d)
27	1,00	1,03 (d)
18	0,98	0,97 (s)
29	0,96	0,97 (s)
21	0,89	0,90 (d)
28	0,88	0,90 (s)
30	0,80	0,81 (s)
19a	0,31	0,33 (d)
19b	0,53	0,56 (d)

Tabela 2a : Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz; CDCl_3) de HAL-3 (**3**) com os padrões descritos na literatura⁴² (Mod. 3).

C	(3)	Mod. 3	C	(3)	Mod. 3
1	31,9	32,1	17	52,2	52,4
2	30,3	30,4	18	18,2	18,1
3	78,8	78,8	19	29,8	29,9
4	40,4	40,5	20	26,4	26,2
5	47,1	47,2	21	18,3	18,4
6	21,1	21,2	22	34,9	35,2
7	29,9	28,2	23	31,3	31,4
8	47,9	48,0	24	156,9	156,8
9	20,1	20,1	25	33,8	33,9
10	25,4	26,2	26	21,9	21,9
11	26,0	26,1	27	22,0	22,1
12	35,5	35,7	28	19,3	19,4
13	45,2	45,4	29	13,9	14,1
14	48,7	48,9	30	25,4	25,5
15	32,9	33,0	31	105,9	106,1
16	26,4	26,6			

3.1.3. Determinação estrutural de HACH-20/23-3 (4+5) e HACH-20/23-1 (5)

A tabela 3 mostra os sinais observados no espectro de RMN de ^1H de HACH 20/23-3 (Figura 8 e 8a) e HACH 20/23-1 (Figura 9). O espectro de HACH-20/23-3 (4+5) possui sete sinais simples correspondentes às metilas terciárias (1,02 δ , 0,93 δ , 0,88 δ , 0,82 δ , 0,81 δ e 0,76 δ) sendo um sinal em 1,66 δ (s) correspondente à frequência de metila ligada a carbono sp^2 . Os dois singletos largos em 4,55 δ e 4,66 δ são referentes a prótons vínficos. O espectro de RMN de ^1H (Figura 9) de HACH-20/23-1 possui os mesmos sinais citados anteriormente. Estes dados aliados aos sinais em 151,9 (s) e 109,3 (CH_2) presentes no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10, 10a e 11) permitiu sugerir a estrutura de um triterpeno da classe dos lupanos. A ausência do sinal múltiplo em 3,5 ppm e os sinais em 4,55 δ , 4,46 δ (dd), 7,68 δ (d, $J = 16$ Hz), 6,46 δ (d, $J = 16$ Hz), 7,59 δ (m) e 7,37 δ (m) correspondente a uma unidade cinamoíla ligado no C-3 do triterpeno que é responsável pela desproteção no H-3 [4,46 ppm (Figuras 8, 8a e 9)]. A diferença entre os dois espectros (Figura 8, 8a e 9) é apenas na presença do sinal em 2,05 δ (s). Isto permitiu sugerir na amostra um segundo constituinte, o acetato de lupeol. A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos da unidade aglicona de 4 e 5 com os dados do acetato de lupeol (Mod 4) e da unidade cinamoíla do derivado α -amirina (Mod 6) registrados na literatura⁴⁴ (Tabela 4) confirma as estruturas propostas para os constituintes destas frações.

O espectro bidimensional ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HACH 20/23-3 (Figura 12, Tabela 3 e 4) revela os acoplamentos entre os prótons [α (6,46 δ) com β (7,59 δ) e 2', 6' (7,59 δ) com 3', 4', e 5' (7,37 δ)] da unidade cinamoíla, os sinais da aglicona [H-29 (4,66 δ e 4,55 δ com H-30 (1,66 δ) H-3 (4,46 δ)] estão de acordo com as informações observadas no espectro (2D), confirmando as estruturas 4 e 5 para as moléculas (Figura 12).

O espectro de Massas (Figura 13 e 14) acoplado com cromatógrafo à gás de HACH-20/23-3 (4+5) confirma a presença de dois componentes na amostra, através dos

valores do íon molecular (M^+) m/z 468 (**4**) e m/z 556 (**5**) e os demais picos correspondentes aos íons fragmentários (Esquema 2).

Apesar de ser comum a presença de cinamatos de triterpenos^{17,44} em plantas, não foi encontrado na literatura o registro do cinamato de lupeol (Chemical Abstracts).

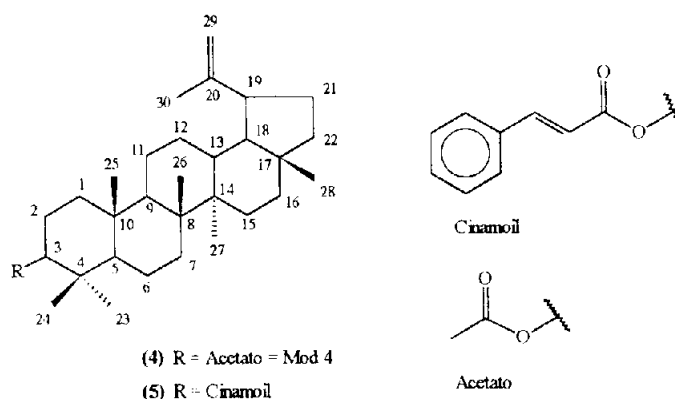


Tabela 3 : Comparação dos deslocamentos químicos (δ) dos prótons (200 MHz) de HACH-20/23-3 (**4+5**) e HACH-20/23-1 (**5**) comparados com padrões da literatura (Mod. 4, Mod. 6)

4 + 5	Mod 4
4,46 (dd, H-3)	4,45 (dd, J = 9 e 3,2 Hz)
2,42 (m, H-19)	a
2,02 (s), MeCO-O	2,05 (s, MeCO ₂)
4,55 (m, H-29a)	4,56 (d, J = 1,5 Hz)
4,66 (m, H-29b)	4,68 (d, J = 1,5 Hz)
1,66 (s, H-30)	1,70 (s, H-30)
1,02, 0,98, 0,89 (s) : CH ₃	0,88, 0,88, 0,88
0,82, 0,81, 0,76 (s) : CH ₃	0,90, 0,96, 0,90
Cinnamoil	Cinnamoil*
7,68 (d, J = 16 Hz, H-7)	7,66 (d, J = 16 Hz 1H)
7,59 (m, H-2', 6')	7,25 - 7,55 (m, 5H)
7,37 (m, H-3', 4' e 5')	
6,46 (d, J = 16 Hz, H-8')	6,16 (d, J = 16 Hz, 1H)

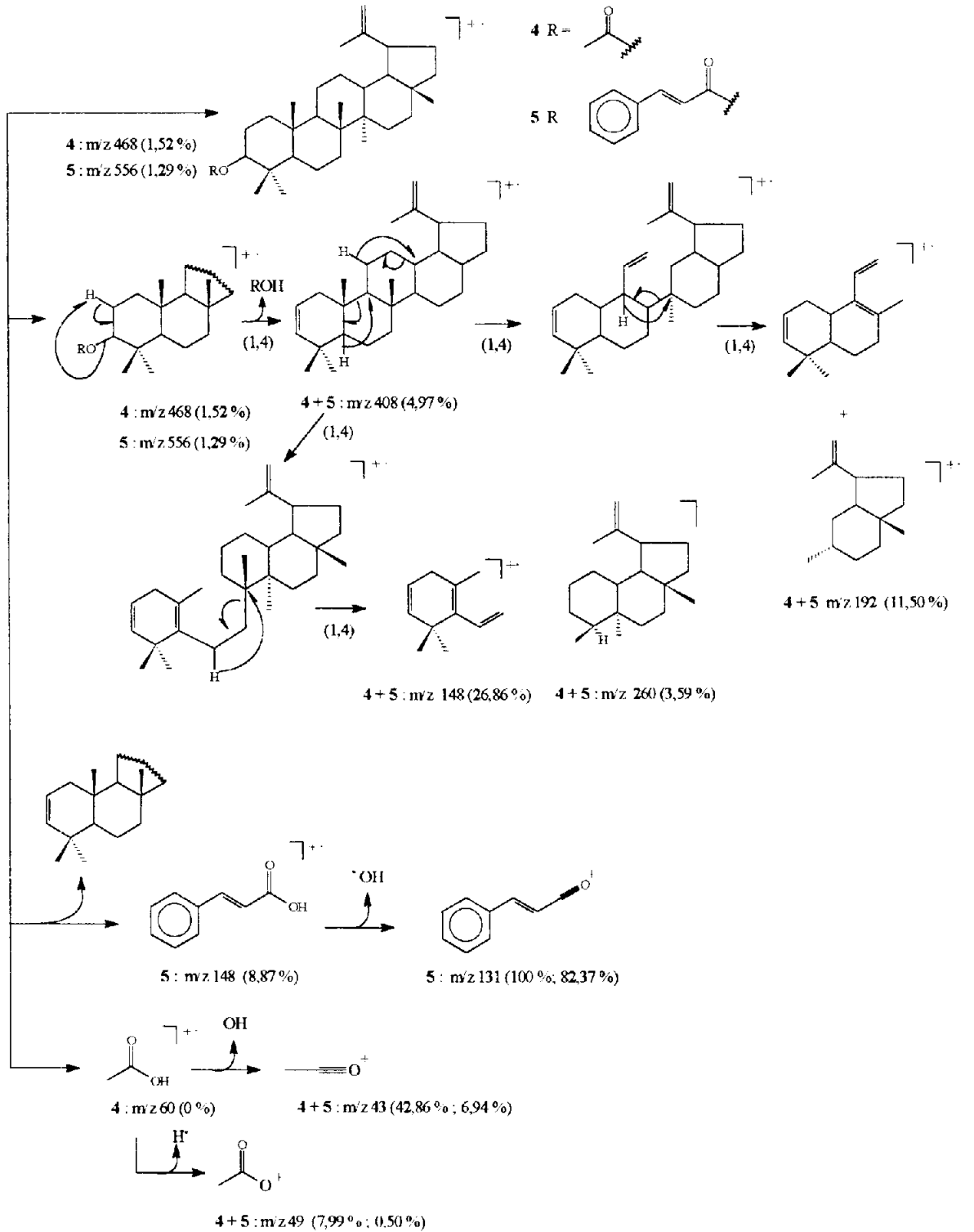
^a Valor não observado

* Valores do Mod 6

Tabela 4 : Dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) de HACH-20/23-3 (4+5) e HACH-20/23-1 (5) comparados com padrões da literatura^{17,43,44} (Mod. 4 e 6).

C	4 + 5	Mod 4	Cinamoil* Mod 6	Acetato Mod 4
1	38,4	38,56	166,0	21,3
2	23,7	21,61	144,5	171,3
3	80,9	80,68	134,5	
4	37,7	37,68	130,5	
5	55,3	55,29	129,0	
6	18,2	17,95	128,0	
7	34,2	34,17	118,7	
8	40,8	40,77		
9	50,3	50,26		
10	37,1	36,98		
11	20,9	20,61		
12	25,1	26,64		
13	38,8	37,96		
14	42,8	42,73		
15	27,4	27,38		
16	35,6	35,50		
17	42,9	42,88		
18	48,2	48,21		
19	48,0	47,89		
20	151,9	150,39		
21	29,8	29,75		
22	39,9	39,94		
23	27,9	28,00		
24	15,9	15,94		
25	16,5	16,14		
26	16,2	16,46		
27	14,5	14,46		
28	18,0	17,49		
29	109,3	109,27		
30	19,2	19,24		

* Não foram encontrados dados espectrométricos do cinamato de lupeol. Por isso usamos o Mod 6 (cinamato de α amirina) para comparação da unidade cinamoíla.



Esquema 2 : Interpretação do espectro de massas de HACH-20/23-3 (4+5) e HACH-20/23-1 (5)

3.1.4. Determinação estrutural de HAL-4 (6+7)

O espectro no I.V. (Figura 15) de HAL-4 (6+7) revela uma forte absorção em 2950 cm^{-1} que corresponde a estiramento C-H alifático e uma forte absorção em 1720 cm^{-1} que corresponde a estiramento C=O de éster conjugado, 1200 cm^{-1} estiramento assimétrico de C-O-C que confirma a função éster, e o estiramento em 1620 cm^{-1} que pode ser atribuído a estiramento de C=C aromático e olefínico.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 16 e 16a, Tabela 5) revela sinal correspondente a próton olefínico em $5,13\ \delta$, singletos intensos de metilas terciárias, e sinais que podem ser atribuídos a metilas secundárias.

A ausência do multipeto em $3,50\ \delta$, a presença de sinal em $4,65\ \delta$ (dd, $J = 10,0$ e $6,0\ \text{Hz}$, H-3), $7,62\ \delta$ (d, $J = 16\ \text{Hz}$, 1 H), $7,52\ \delta$ (m, 2 H), $7,37\ \delta$ (m, 3 H), $6,41\ \delta$ (d, $J = 16\ \text{Hz}$, 1 H) e o sinal simples em $2,02\ \delta$ ($\text{CH}_3\text{-C=O}$) observado em uma amostra posterior a HAL-4 (HAL-1/4 : 6a, 6b, 7a e 7b) (Figura 8 e 8a) revela a presença de 2 grupos ligados ao carbono carbinólico (C-3). Estes dados juntamente com os da literatura nos permitiu identificar a presença do grupo cinamoíla e acetoxila ligados a aglicona^{44,45,46,47}.

O espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado com DEPT (Tabela 6, Figura 17, 17a e 17b), comprova o caráter triterpênico da amostra. Observando-se os sinais dos prótons carbinólicos da mistura triterpênica concluiu-se que, esta amostra é formada de triterpenos da classe dos ursanos e oleananos. As diferenças de absorções deste carbono é devido ao efeito γ (proteção) da metila ligada ao carbono 19, sobre o C-13 da dupla ligação que absorve em campo mais alto ($139,6\ \text{ppm}$) e, também, devido ao efeito β (desproteção) da metila do C-19 sobre o C-18, que sofre um efeito inverso, deslocando-se para campo mais baixo ($58,9\ \text{ppm}$). Subtraindo-se os valores dos $\delta\ \text{C}$ ligados aos prótons da unidade cinamoíla (Figura 18), restam os valores $121,6$, $145,2$, $124,3$ e $134,5$ de carbonos sp^2 , que

após comparações dos δC com modelos da literatura⁴⁵, permitiu identificar os triterpenos α e β -amirina, constituindo a mistura de ésteres na amostra.

O espectro de massa obtido em espectrômetro acoplado a gás (Figura 19) apresenta sinal que confirma a presença do cinamato e acetato de α e β -amirina através dos valores do íon molecular (M^{+}) e os demais picos dos íons fragmentários (Esquema 3).

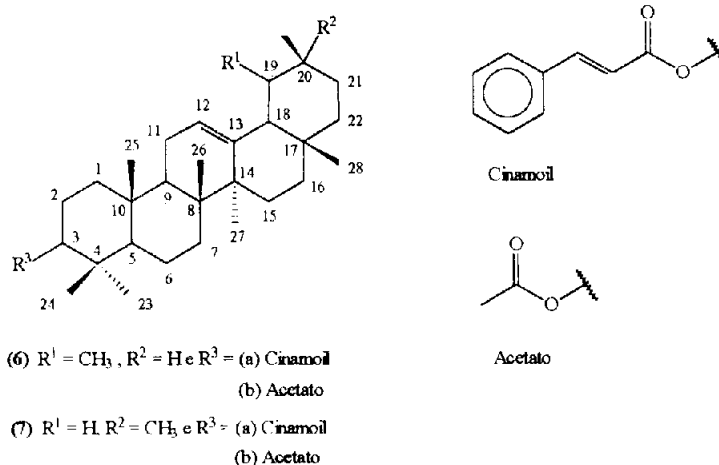


Tabela 5 : Comparação dos deslocamentos químicos dos prótons de HAL-4 (6 + 7) com modelos da literatura^{44,45,46,47} (Mod. 6)

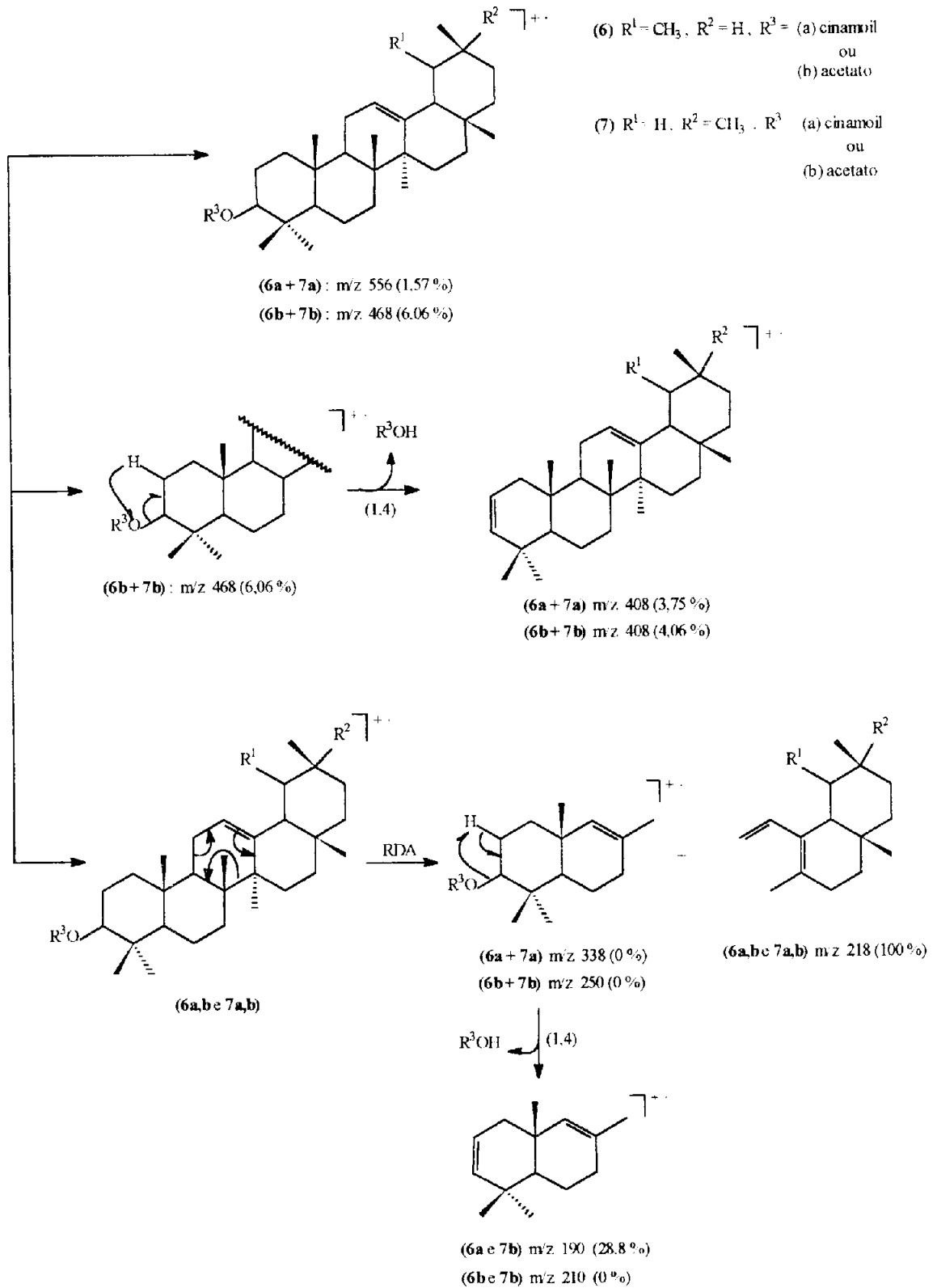
H	6 + 7 δH (mult; J = Hz)	Mod 6 δH (mult; J = Hz)
7	7,62 (d; 16)	7,66 (d; 16); 1H
2', 6'	7,52 (m); 2H	7,25 - 7,55 (m); 5H
3', 4', 5'	7,37 (m); 3H	
8'	6,41 (d; 16)	6,16 (d; 16); 1H
12	5,13 (m)	5,20 (m); 1H
3	4,65 (dd; 10 e 6,0)	4,72 (dd; 11,7); 1H
	1,14	1,02 (s); 3H
	1,08	1,00 (s); 3H
	1,02	0,90 (s); 3H
	1,00	0,89 (s); 3H
	0,99	
	0,95	
	0,92	
	0,87 (s)	
	0,81 (d)	
	0,80 (s)	

Tabela 6 : Comparação dos deslocamentos químicos do espectro de RMN de ^{13}C de HAL-4 (6+7) com os dados descritos na literatura^{44,45} (Mod. 6, Mod. 7).

^{13}C de 6 + 7					^{13}C do Cinamoil		
C	Mod 7	7	Mod 6	6	C	6 + 7	Mod 6 (a) + 7 (a)
1	38,2	38,2	38,4	38,4	1'	134,7	134,5
2	23,6	26,7	23,6	26,5	2', 6'	128,0	127,9
3	80,7	80,9	80,7	80,9	3', 5'	128,2	128,7
4	37,6	37,9	37,6	37,9	4'	130,0	130,1
5	55,3	55,2	55,3	55,2	7'	144,2	144,2
6	18,3	18,2	18,3	18,2	8'	118,8	118,8
7	32,6	32,8	32,8	32,5	9'	166,7	166,7
8	39,7	39,3	40,1	39,9			
9	47,6	47,6	47,6	47,5			
10	36,8	37,1	36,8	36,8			
11	23,4	23,7	17,5	23,5			
12	121,5	121,6	124,1	124,3			
13	144,9	145,2	139,4	134,5			
14	41,7	42,0	42,1	41,6			
15	28,3	26,2	28,7	28,1			
16	26,2	26,7	26,7	26,5			
17	32,5	32,5	33,8	33,7			
18	47,2	47,2	59,0	58,9			
19	46,8	46,7	39,7	39,6			
20	31,1	31,0	39,7	39,8			
21	34,8	34,6	31,3	31,2			
22	37,1	37,2	41,5	41,5			
23	28,1	28,3	28,1	28,0			
24	16,8	15,5	16,8	15,7			
25	15,7	15,7	15,7	15,7			
26	16,8	16,8	16,8	16,8			
27	26,0	25,9	23,2	23,3			
28	27,0	28,3	28,1	28,0			
29	33,4	33,3	23,2	23,2			
30	23,6	23,2	21,4	21,3			

^{13}C do Acetato		
C	6 + 7	Mod 6 (b) + 7 (b)
OCOMe	21,4	21,20
OCOMe	— ^a	170,40

^a Não foi observado



Esquema 3 : Interpretação do espectro de massas de HAL 1/4 (6+7).

3.1.5. Determinação estrutural de HAFM-1 (8) e de seus derivados.

O espectro no I.V. (Figura 20) de 8 revela uma absorção em 3450 cm^{-1} correspondente a estiramento de hidroxila de álcool e ácido (νOH), a absorção em 2850 cm^{-1} corresponde à presença de grupos alquilas (νCH), a absorção fraca em 1620 cm^{-1} correspondente a $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ e a banda em 1040 cm^{-1} sugere a presença de álcool secundário na molécula ($\nu_{\text{C}-\text{O}}$). O sinal de δC (CH) em $79,7\text{ ppm}$ (Figura 22) confirma a presença do álcool secundário.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 21) possui cinco sinais simples correspondentes a metilas terciárias ($0,75, 0,84, 0,96, 0,96$ e $1,11\ \delta$) e dois sinais duplos de metilas secundárias ($0,95$ e $0,89\ \delta$). O sinal duplo em $2,2\ \delta$ ($J = 14\text{ Hz}$) pode ser atribuído a um próton metínico desprotegido. Os sinais em $5,25\ \delta$ (m) e $3,15\ \delta$ (m) podem ser atribuídos respectivamente, a prótons olefínicos e carbinólicos. Estes últimos confirmam as propostas para os sinais revelados no espectro de I.V. (Figura 20). O espectro de massas (Figura 23) de 8, mostra o pico M^{+} 456 compatível com um triterpeno de fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$. A baixa solubilidade desta substância em clorofórmio motivou a preparação de derivados de HAFM-1-(8).

O espectro de I.V. (Figura 24) do derivado acetilado (8a) mostrou além de outros fortes absorções em 1730 cm^{-1} , 1240 cm^{-1} confirmando a função éster no produto. O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 26 e 27) deste derivado possui, entre outros, os sinais correspondentes à absorção de carbonila de ácido ($184,94\text{ ppm}$) e, éster ($171,89$). O grupo ácido deste derivado é responsável pela banda larga em $11,30\text{ ppm}$, e o acetato é confirmado pelo sinal em $2,14$ (s, 3 H) do espectro de RMN de ^1H (Figura 25).

O espectro de RMN de ^{13}C (P.N.D.) e DEPT [$\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$, $50,3\text{ MHz}$ (Figura 26, 27 31 e 36)] permitiu identificar o número C, CH, CH_2 e CH_3 (Tabela 7) e concluir a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, que corresponde à estrutura do triterpeno da série

ursano. Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos são semelhantes aos valores divulgados na literatura para o ácido 3- β -hidroxi-12-ursen-28-óico^{45, 46, 47}.

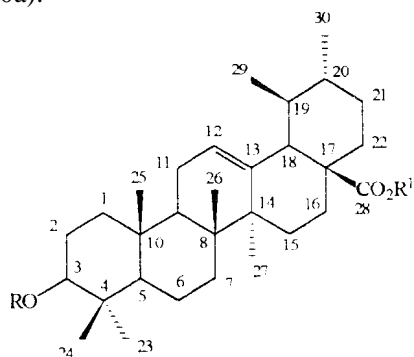
A posição do grupo ácido no C-26 é confirmada com o pico em 248 (100 %) e 208 (11%). Estes íons fragmentários podem ser formados pelas fragmentações via Retro-Diels-Alder do íon molecular (Esquema 4; Figura 23).

O espectro de I.V do derivado metilado 8c revela uma absorção forte em 2920 cm^{-1} , correspondente a estiramento CH de compostos C-CH₃, absorção em 3400 cm^{-1} corresponde a estiramento de hidroxila de álcool (ν_{OH}), absorções em 2835 cm^{-1} e 1720 cm^{-1} correspondentes, respectivamente, a estiramento de CH (alcano) e estiramento de carbonila de éster ($\nu_{\text{C=O}}$). (Figura 34)

O espectro de RMN de ¹H (Figura 31 e 35) mostra o sinal em 3,57 δ (s) correspondente à absorção de metoxila nos derivados 8b e 8c.

A Tabela 8 mostra as atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos dos derivados 8a e 8c comparados com a literatura^{45, 46, 47} (Figura 25, 26, 27, 29, 30, 35 e 36), além das atribuições de HOMOCOSY (Figura 28) que permitiu definir as demais frequências de absorções

As frequências de absorção H-1 8 dos carbonos vizinhos pode ser garantido com base no acoplamento deste próton a duas ligações (²J_{CH}) com C-17 (47,73 ppm) e a três ligações (³J_{CH}) com C-19, C-20 e C-29 (38,81, 38,65 e 16,92) respectivamente, revelados no espectro 2D de interação heteronuclear (¹H x ¹³C - COSY) do derivado acetilado (Figura 29, 30 e 30a).



- (8)** R = H; R¹ = H (Mod 8)
- (8a)** R = Ac; R¹ = H (Mod 8a)
- (8b)** R = Ac; R¹ = Me
- (8c)** R = H; R¹ = Me (Mod 8c)

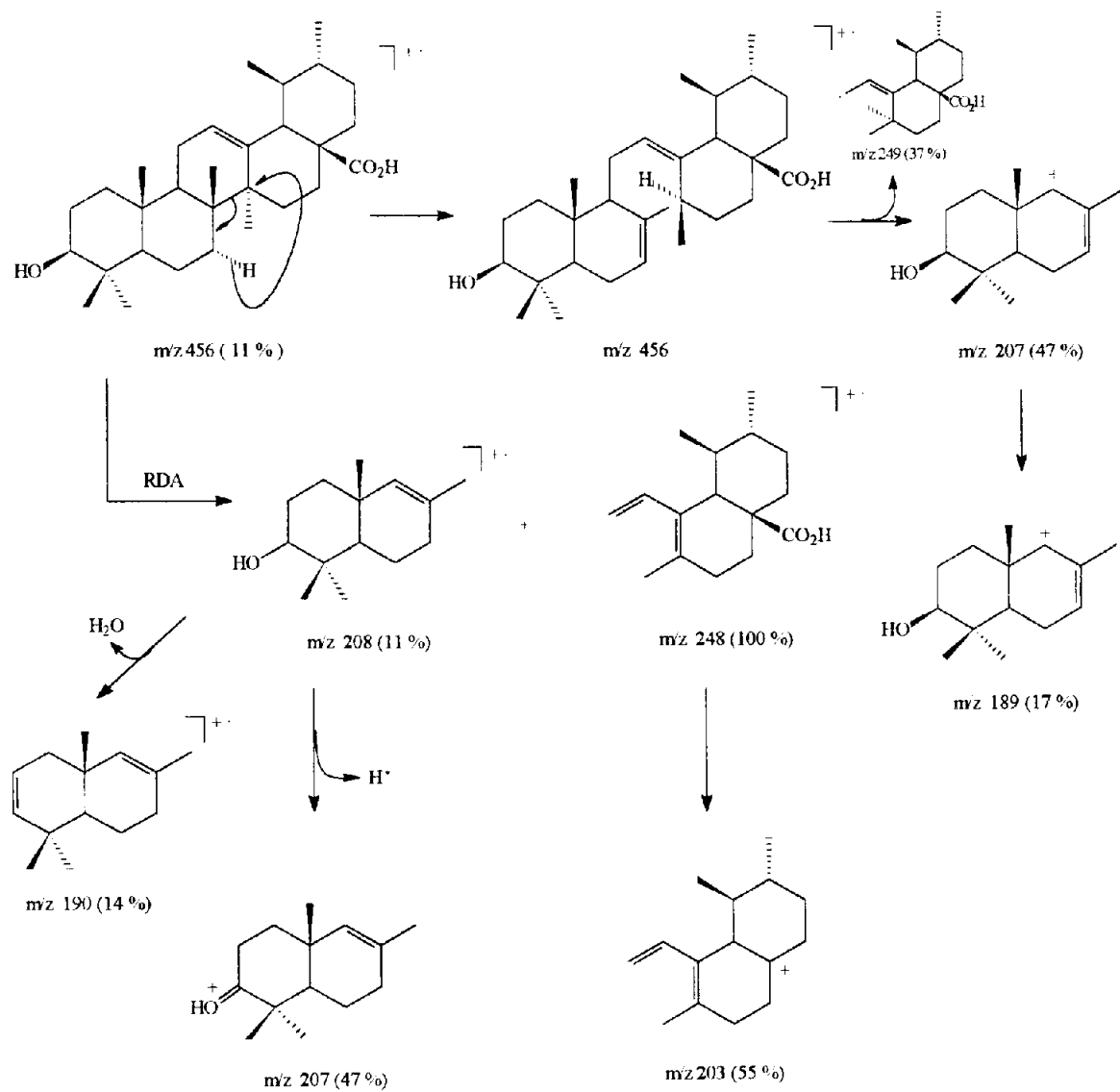
Tabela 7 : Identificação dos carbonos mono(CH), di (CH₂), tri (CH₃) e não protonados (C) de HAFM-Me (**8c**) obtido do espectro totalmente desacoplado (P.N.D. e DEPT) em CDCl₃ e TMS como referência interna.

C	CH	CH ₂	CH ₃
178,03 (CO ₂ R)	125,52 (=CH)	38,70	51,41 (OCH ₃)
138,10 (=C)	78,97 (O-CH)	36,60	28,10
48,04	55,18	32,94	23,59
41,95	52,83	30,61	21,15
39,43	47,52	27,98	17,50
38,58	39,00	27,18	16,99
36,93	38,82	24,18	15,57
C ₇	CH ₇	23,37	15,40
		18,27	(CH ₃) ₇ (OCH ₃)

$$\text{FM: } C_5 + (=C) + (CO_2R) + (CH) + (=CH)_5 + (O-CH) + (CH_2)_9 + (CH_3)_7 + (OCH_3) - OCH_3 = C_{30}H_{46}O_3 + H(OH) + H(CO_2H) = C_{30}H_{48}O_3 = 456 (M^{+})$$

Tabela 8 : Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (PND e DEPT), [$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY ($^1\text{J}_{\text{CH}}$) e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n = 2$ e 3 COLOC)] de **8a** e **8c** comparados com os padrões da literatura^{45, 46, 47} (Mod. 8 e 8c)

8c	8a					δC	Mod 8 δH	Mod 8c δC
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY			
C	δC	δC	$\delta\text{H} (^1\text{J}_{\text{CH}})$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$			
1	38,70	38,00	1,2-1,40		H-5	39,1	0,95-1,52 (β)	38,8
2	27,18	23,10	1,70	II-1		28,1	1,82	27,3
3	78,97	80,75	4,49 (m)		H-23	78,1	3,46	78,8
4	38,50	36,57			H-6	39,5		38,8
5	55,18	52,22	0,85 (m)		H-23	55,8	0,88	55,4
6	18,27	17,90	1,61 (m)			18,8	1,56 (α), 1,33 (β)	18,4
7	32,94	32,62	1,29 (m)		H-5	33,6	1,56 (α), 1,33 (β)	33,0
8	39,43	39,26		H-26 e H-9	H-27	40,0		39,6
9	47,20	47,24	1,56		II-26 e II-25	48,1	1,62	47,5
10	36,90	37,49		H-5		37,3		37,0
11	23,30	23,46	1,6. 1,92 (α)			23,6	1,94	16,9
12	125,52	125,48	5,22		H-18 e H-19	125,7	5,50	125,5
13	138,10	137,76		H-18	H-11	139,3		138,6
14	41,95	41,61		H-27	H-26, 9, 18, 12	42,5		42,0
15	27,98	30,41	1,50			28,7	1,2 (α); 2,33 (β)	28,2
16	24,18	23,81	1,80			24,9	2,12 (α); 1,97 (β)	24,3
17	48,04	47,73		II-18 e II-22	II-15	48,1		48,1
18	52,83	55,08	2,15 (d, $J = 14$ Hz)		H-29	53,6		52,8
19	39,00	38,81	1,29 (m)	H-18		39,5	1,45	39,1
20	38,82	38,65	1,66 (m)		H-22 e H-18	39,4	0,93	38,8
21	30,61	27,91	1,60 (m)	H-20		31,1	1,40	30,0
22	36,60	36,73	1,66 (m)		H-20	37,5	1,95	36,7
23	28,10	27,91	0,84 (s)		H-5 e H-3	28,8	1,23	28,2
24	15,40	16,55	0,85 (s)		H-3, 5	16,5	1,01	15,5
25	15,57	16,9	0,95 (s)		H-5 e H-9	15,7	0,87	15,7
26	16,99	15,38	0,75 (s)		H-9	17,5	1,04	16,9
27	17,50	23,46	1,06 (s)		-	23,9	1,21	23,3
28	178,03	184,29			H-18 e H-16	179,8		177,7
29	17,50	16,92	0,84 (s)		H-18	17,5	0,98	23,6
30	21,15	21,15	0,95 (s)		-	21,4	0,93	21,2
H ₃ C-O	51,41	-			-	-	-	51,4
H ₃ C	21,15	21,08	2,04			-	-	-
CO	171,00	171,89			H-3	-	-	-
H-O			11,30					



Esquema 4 : Interpretação do espectro de massas de HAFM - 1 (8)

3.1.6. Determinação estrutural de HACM-Ac-7 (9) e I-HACM-Ac -3A (9a)

O espectro de RMN de ^1H (200 MHz, MeOD_4) de HACM - Ac-7 (9) possui dois duplos dubletos (2,88 e 3,28 ppm), um tripleto (4,07 ppm) e um multipletto (3,53 ppm), além do tripleto em 3,10 ppm, e dois sinais simples em 3,32 e 1,78 ppm (Figura 37).

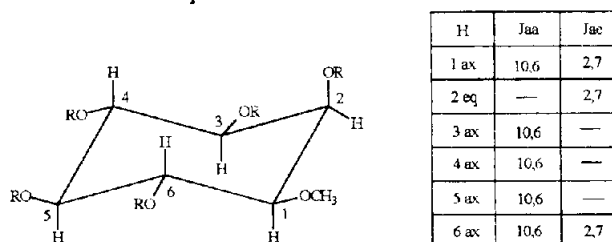
Os dados interpretados acima e o número de carbonos deduzidos dos seis sinais (mais intensos) correspondentes à CH (Figura 39), que permitem propor a estrutura de um ciclitol cuja comparação dos δ C de 9 com modelos da literatura⁴⁸, verificou-se tratar do metil-mio-inositol [com um H equatorial e os demais axiais (Tabela 9)]. Estas deduções foram confirmadas pela análise dos dados de RMN de ^{13}C de 9a (Figura 40).

A análise dos sinais do espectro 2D de interação heteronuclear (^1H x ^{13}C -COSY) a uma ligação ($^1\text{J}_{\text{CH}}$) permitiu identificar os carbonos que estão ligados aos respectivos hidrogênios (Tabela 9, Figura 38). A comparação dos δ C com a literatura^{48,49} e levando em consideração as conclusões anteriores propôs-se a estrutura 9 (metil-mio-inositol) para HACM-Ac-7.

A amostra HACM-Ac-7 (9) foi acetilada com anidrido acético e piridina (1:1) e obteve-se o produto peracetilado (9a). O espectro de I.V. (Figura 42) de HACM-Ac-7 (9a) tem uma forte absorção em 1750 cm^{-1} correspondente a estiramento de carbonila de éster ($\nu_{\text{O}=\text{C}-\text{OR}}$), 1220 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}-\text{O}}$) 1320 cm^{-1} deformação simétrica de CH_3 e 1140 cm^{-1} o estiramento de C-O-C (de éter). O espectro de RMN de ^1H (Figura 43) permite reconhecer quatro sinais simples cuja a integração pode identificar o grupo metoxila (3,32 ppm) e cinco grupos de metilas do acetato [2,16 (CH_3) , 2,02 (CH_3) e 1,98 (3 x CH_3)].

Os sinais em 3,40 δ (dd, J = 10,6 e 2,7 Hz, 4,92 (dd, J = 10,6 e 2,7 Hz) e 5,71 (2,7 Hz) presentes no espectro de RMN de ^1H confirmam as interações de dois prótons em axial com um próton em equatorial. Os demais sinais múltiplos em 5,45 ppm, 5,37 ppm e 5,08 ppm (t, J = 10,6 Hz) correspondem aos prótons com interações ax, ax. O espectro 2D

($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY, Figura 44) de **9a** revela as interações entre estes prótons, permitindo deduzir as configurações relativas representadas abaixo.



O espectro bidimensional (2D) de I-HACM-Ac-3A (**9a**) permite fazer as atribuições dos núcleos que estão ligados aos respectivos carbonos (Tabela 10) através de uma ligação ($^1J_{\text{CH}}$) e alguns núcleos que apresentam $^2J'_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$ (Figura 45 e 45a).

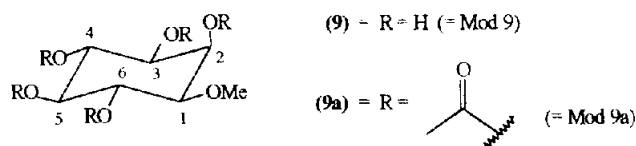


Tabela 9 : Dados espectrométricos de RMN de **9** registrados em MeOD_4 comparados com os dados de literatura^{48,49} (Mod. 9)

C	δC (P.N.D. - DEPT)	Mod. 9	δH ($^1J_{\text{CH}}$ - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY)	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY
1	67,40	67,2	4,07 (t, J = 2,5 Hz)	H-6, H-2
2	80,63	80.1	2,88 (dd, J = 8,0 e 2,5 Hz)	H-3
3	71,84	71.9	3,53 - 3,58 (m)	H-4, H-2
4	73,84	72.8	3,10 (t, J = 8,0 Hz)	H-5, H-3
5	71,16	70,4	3,53-3,58 (m)	H-6, H-4
6	71,01	71,3	3,28 (dd, J = 8.0 e 2.5 Hz)	H-5, H-1
OMe	56,28	56,8	3,22(s)	

Os valores dos deslocamentos químicos (δ) e das constantes de acoplamento (J) foram deduzidos do espectro de RMN ^1H 200 MHz unidimensional.

Tabela 10 : Correlação dos deslocamentos químicos de ^{13}C (50,3 MHz, P.N.D. e DEPT) e ^1H (200 MHz) de 9a registrado em CDCl_3 , comparados com os dados descritos na literatura⁴⁸⁻⁴⁹ (Mod 9a)

9a					Mod 9a	
C	δC	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY	δC	δH (mult: J = Hz)
		$\delta\text{H}^1\text{J}_{\text{CH}}^*$ (mult: J = Hz)	$^2\text{J}_{\text{CH}}$			
1	77,00	3,40 (dd: 10,6 e 2,7)		OCH ₃	69,4	5,08 (dd: 10,5 e 2,8)
2	65,93	5,71 (t: 2,7)			68,1	5,57 (t: 2,8)
3	70,76	4,92 (dd: 2,7 e 10,6)	H-4		69,4	5,08 (dd: 10,5 e 2,8)
4	69,30	5,45 (t: 10,6)		H-2	68,4	5,46 (t: 10,5)
5	70,97	5,08 (t: 10,6)	H-4 e H-6		70,8	5,16 (t: 10,5)
6	69,30	5,34 (t: 10,6)	H-1	H-4	68,4	5,46 (t: 10,5)
MeO	58,08	3,32 (s)				3,17 (s)
C=O	169,77	—			169,6; 169,3	—
CH ₃	20,65 - 20,35	1,98 (x3); 2,03; 2,16	CH ₃	H-3, 4, 5 e 6	20,6; 20,4; 20,37	1,97 (x3); 1,96 (x2)

* Os valores dos deslocamentos químicos (δ) e das constantes de acoplamento (J) foram deduzidos do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) unidimensional

3.1.7. Determinação estrutural de COLUNA A-02 (10a) e S-HACM-9/10-Me (11a)

As substâncias 10a e 11a foram obtidas do fracionamento cromatográfico do produto de acetilação de frações solúveis em água, após partição do extrato metanólico (Esquema 16 e17) e, conseqüentemente, os produtos naturais (10 e 11) foram identificados à partir de análise dos dados espectrométricos do derivado acetilado (10a e 11a).

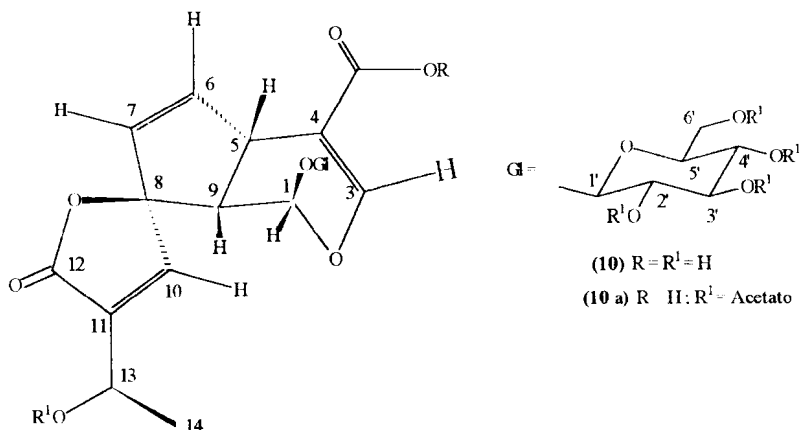
Os espectros de RMN de ^{13}C [PND. e DEPT ($\theta = 90^\circ$ e 135°), (Figura 46) da fração COLUNA A-02 e S-HACM-9/10 (10a) possuem sinais de carbonos carbinólicos correspondentes a uma unidade de glicose tetra-acetilada (CH : 98,18, 72,16, 73,81, 69,61, 73,17 e CH₂ : 62,86) Esta dedução é baseada, também, na análise dos sinais presentes no espectro de RMN de ^1H (1D : Figura 47 e 2D : Figura 48) representados por um dubleto correspondente ao próton anomérico (4,82, J = 8,0 Hz), três tripletos [4,96, 5,16 e 5,03 (J = 8,0 Hz)], um sinal múltiplo em 3,74 6 e dois duplo-dubletos [4,31 (J = 12,6 e 4,4 Hz) e 4.10 (J = 12,5 e 2.0 Hz)].

Os valores de constantes de acoplamento e as interações de acoplamento revelados no espectro 2D ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) de 10a são compatíveis com a unidade 1- β -D-tetra-O-acetil glicopiranosil (Figura 48).

Os demais sinais presentes no espectro de RMN de ^1H (Figura 47) são : quatro sinais de prótons olefínicos 7,41 (sl); 6,96 (sl) e 6,43 (m) que interage com prótons representados pelo sinal em 5,38 (dl, $J = 4,6$ Hz; Figura 48), dois sinais de prótons metínicos: 3,74 (m) e 3,10 [dl, $J = 6,8$ Hz], um singlete largo em 5,10 ppm e um quarteto em 5,63 ($J = 6,6$ Hz) que interage com o grupo metila que absorve em 1,46 ppm [d, $J = 6,6$ Hz (Figura 48; Tabela 11)]. Estes sinais são compatíveis com as absorções de hidrogênios ligados a carbonos monoprotonados [olefínicos. 151,75, 148,50, 128,66 e 144,50; metínicos: 40,90, 50,88, 66,18 e 93,33 e do grupo metila em 19,40 ppm, (Figura 46 e 47)]

Levando em consideração a natureza polar da substância, as feições dos sinais e as frequências de absorções dos prótons e carbonos revelados acima, fez-se comparação dos dados da substância isolada com os modelos da literatura^{15, 16 e 52}, pertencente à classe dos iridóides. Os dados descritos acima e a formação de éster metílico (11a) obtido com tratamento de 10a com diazometano estão de acordo com a estrutura do ácido 1- β -D-penta-O-acetil-glicopiranosil plumierídico [10a (Tabela 11)].

O valor da constante de acoplamento do H-9 [6,6 (10a) e 8,1 e 3,3 Hz (11a)] é compatível com a interação trans H-5 (H-9) e cis H-1 [I-I-9, $J = 3,3$ Hz (11a)]. O próton H-7 possui constante de acoplamento ($J = 5,7$ e $1,5$ Hz) responsáveis pela interação vicinal do H-6 com H-7 e, em W, H-5 com H-7. O valor 144,50 atribuído ao C-7, justifica o efeito β desprotetor do oxigênio da espiro-lactona. Os valores 151,75 e 134,51 são compatíveis com os sinais de CH de carbono olefínico da enona α , β insaturada Estes dados espectrométricos estão coerentes com a estrutura do ácido 1- β -D-glicopiranosil plumierídico 10 com a configuração relativa representada abaixo:



O éster metílico (11) foi isolado posteriormente como produto natural cujos dados espectrométricos foram idênticos ao produto de metilação de 10a (Figura 49, 50 e 51).

Estes iridóides estão registrados na literatura^{6, 16, 52} isolados de espécies de Apocynaceas como por exemplo : *Plumeria rubra*, com exceção de 11, iridóide 10 está sendo revelado pela primeira vez no gênero *Himatanthus*.

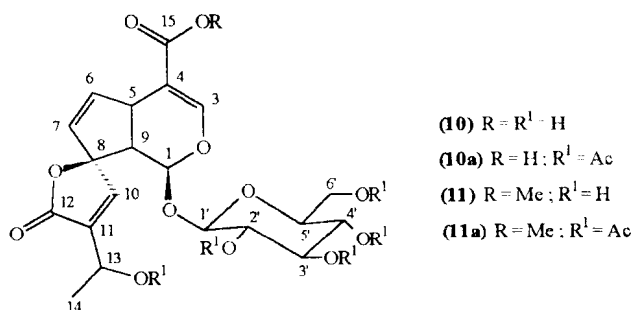



Tabela 11 : Comparação dos dados de RMN de 1D de ^1H e ^{13}C (P.N.D. e DEPT) e 2D : $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de COLUNA A - 02 (**10a**) e S - HACM 9/10 - Me (**11a**) com os padrões descritos na literatura^{15, 16, 52}. (Mod. 10, Mod. 11a).

C	δC	δC	δH (mult., J=Hz)		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY	Mod 10*		Mod 11a	
	10a**	11a	10a	11a	10a/11a	δC	δH (mult., J=Hz)	δC	δH (mult., J=Hz)
1	93.33	92.16	5.10 (s)	5.07		94.03	5,64 (d, 8)	92.44	5,08 (d, 3)
3	148.50	148.38	6,96 (s)	7,36 (d, 1,4)		151.36	7,08 (s)	149.33	7,39 (d, 1,5)
4	116,50	— ^a	—	—		110,74	—	111,56	—
5	40,90	37,67	3,74 (m)	—		40,65	4,20 (m)	37,85	3,77 (ddd, 8,3; 2,8; 1,7 e 1,5)
6	128,66	129,30	6,43 (m)	6,40 (dd, 5,7 e 1,5)		141,70	6,72 (dd, 6,3)	139,01	6,44 (dd, 5,6 e 2,8)
7	144,50	148,38	5,38 [d (1), 6,8]	5,41 (dd, 5,7 e 1,5)		128,69	5,42 (d, 6)	129,33	5,45 (dd, 5,6 e 1,7)
8	97,33	95,77	—	—		96,68	—	95,80	—
9	50,88	48,61	3,10 [d (1); 6,8]	3,11 (dd, 8,1 e 3,3)		50,12	3,12 (m)	48,79	3,15 (dd, 8,3 e 3,3)
10	151,75	149,22	7,41 (s)	6,91 (d, 1,4)		149,70	8,00 (s)	148,46	6,94 (d, 1,4)
11	134,51	135,18	—	—		138,53	—	134,35	—
12	171,34	169,29	—	—		171,41	—	169,71	—
13	66,18	64,99	—	5,63 (dq, 6,6 e 1,3)		62,68	5,02 (q, 6)	65,05	5,66 (dq, 6,7 e 1,4)
14	19,40	19,20	1,48 (d, 6,6)	1,50 (d, 6,6)		23,02	1,66 (d, 6)	19,22	1,92 (d, 6,7)
15	174,50	170,50	—	—		168,81	—	166,22	—
1'	98,18	95,6	4,82 (d, 8,0)	4,77 (d, 8,0)		100,83	5,42 (d, 8)	95,80	4,82 (d, 8,2)
2'	72,16	70,54	4,96 (t, 8,0)	4,94 (t, 16)		74,73	4,18 (m)	70,71	4,97 (dd, 9,4 e 8,2)
3'	73,81	72,30	5,16 (t, 8,0)	5,14 (t, 16)		78,72	3,92 (m)	72,40	5,22 (t, 9,4)
4'	69,61	67,90	5,03 (t, 8,0)	5,07 (t, 16)		70,78	4,42 (m)	68,18	5,10 (dd, 9,4 e 9,5)
5'	73,17	72,18	3,74 (m)	—		78,16	4,28 (m)	72,33	3,73 (ddd, 9,5; 4,5; 2,4)
6' a	62,86	61,48	4,3 (dd, 12,6 e 4,4)	4,21 (dd, 12,5 e 4,1)		62,10	4,42 (m)	61,63	4,25 (dd, 12,4 e 4,5)
b	—	—	4,10 (dd, 12,0 e 2,0)	—		—	—	—	4,11 (dd, 12,4 e 2,4)
MeO	—	51,5	—	3,73 (s)		—	—	51,59	3,75 (s)
	172,35-170,10	170,10-169,29	—	—		—	—	169,99; 21,00	2,10 (s)
	171,34	169,29	—	—		—	—	169,86; 20,53	2,07 (s)
	(20,70) ₅	(20,50) ₅	2,12 (s)	2,14 (s)		—	—	169,63; 20,53	2,03 (s)
	—	—	2,06 (s)	2,08 (s)		—	—	169,30; 20,53	2,00 (s)
	—	—	2,04 (s)	2,06 (s)		—	—	168,88; 20,16	1,92 (s)
CO ₂ H	174,50	—	1,96 (s)	1,96 (s)		—	—	—	—

* solvente utilizado Piridina - d₅

** solvente MeOD₄

^a sinal não observado

4. BIOGÊNESE

4.1. Aspectos gerais da biogênese dos compostos isolados em *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson.

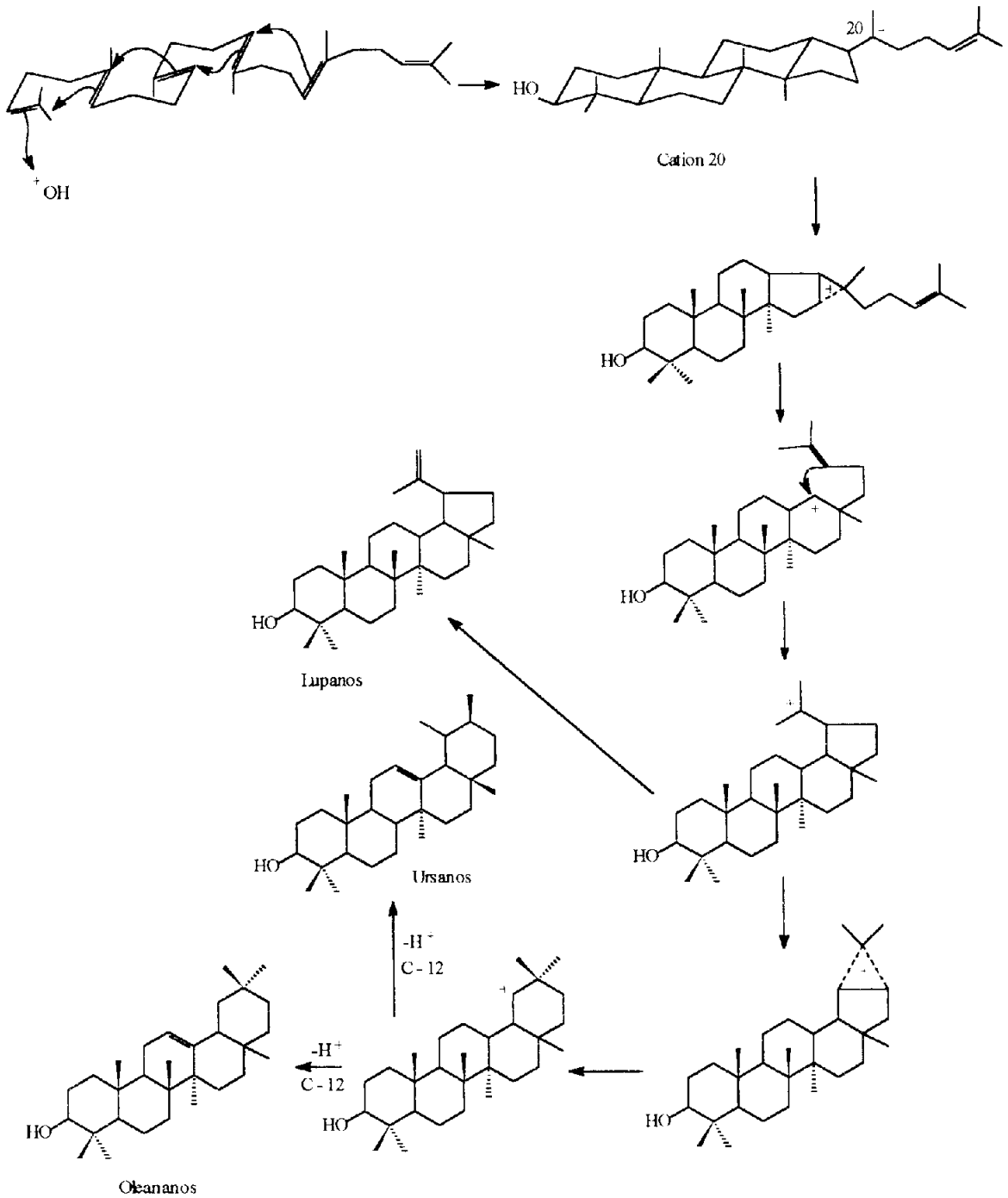
O estudo das funções enzimáticas nas plantas através dos quais elas elaboram os metabólitos secundários, serve de base para o entendimento da fisiologia e evolução dos vegetais.

A fotossíntese, o primeiro processo sintético realizado pelas plantas, o potencial redoxi celular e os níveis de especializações dos esqueletos dos metabólitos secundários, são os caminhos usados para chegar às substâncias responsáveis pela biodiversidade das espécies.

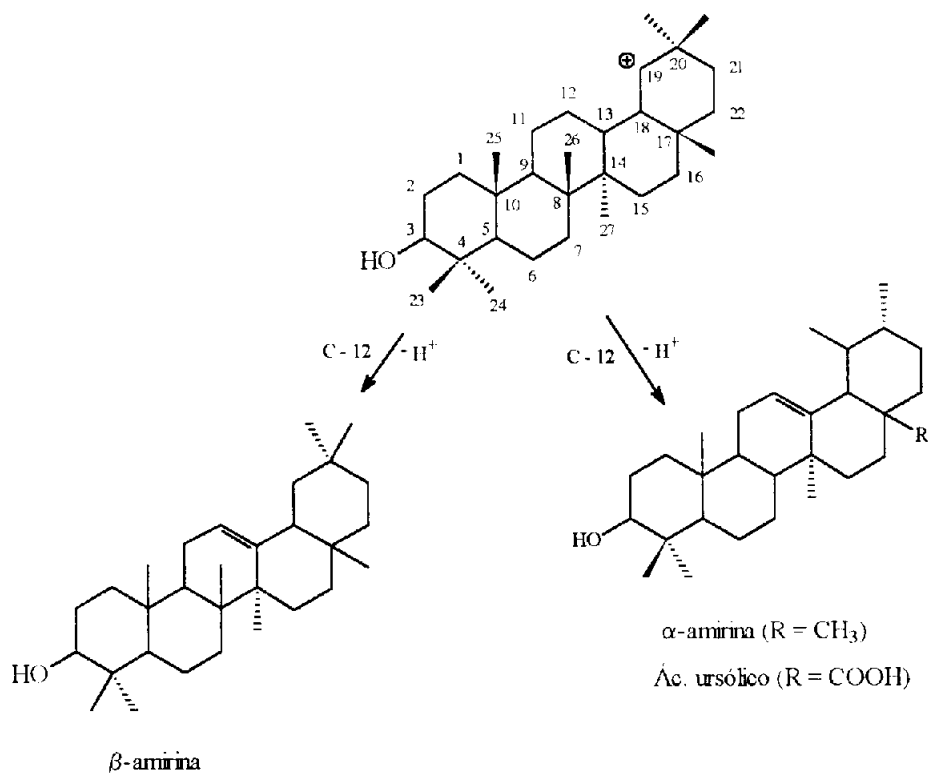
O estudo da biossíntese dos metabólitos de plantas através de marcações isotópicas, permitiu propor mecanismos, para elaboração dos principais representantes das diferentes classes de metabólitos secundários³³.

Para o químico de produtos naturais o conhecimento dos precursores e, às vezes, das etapas necessárias para as elaborações das diferentes classes de substâncias naturais é a base fundamental de raciocínio para a determinação estrutural das substâncias isoladas.

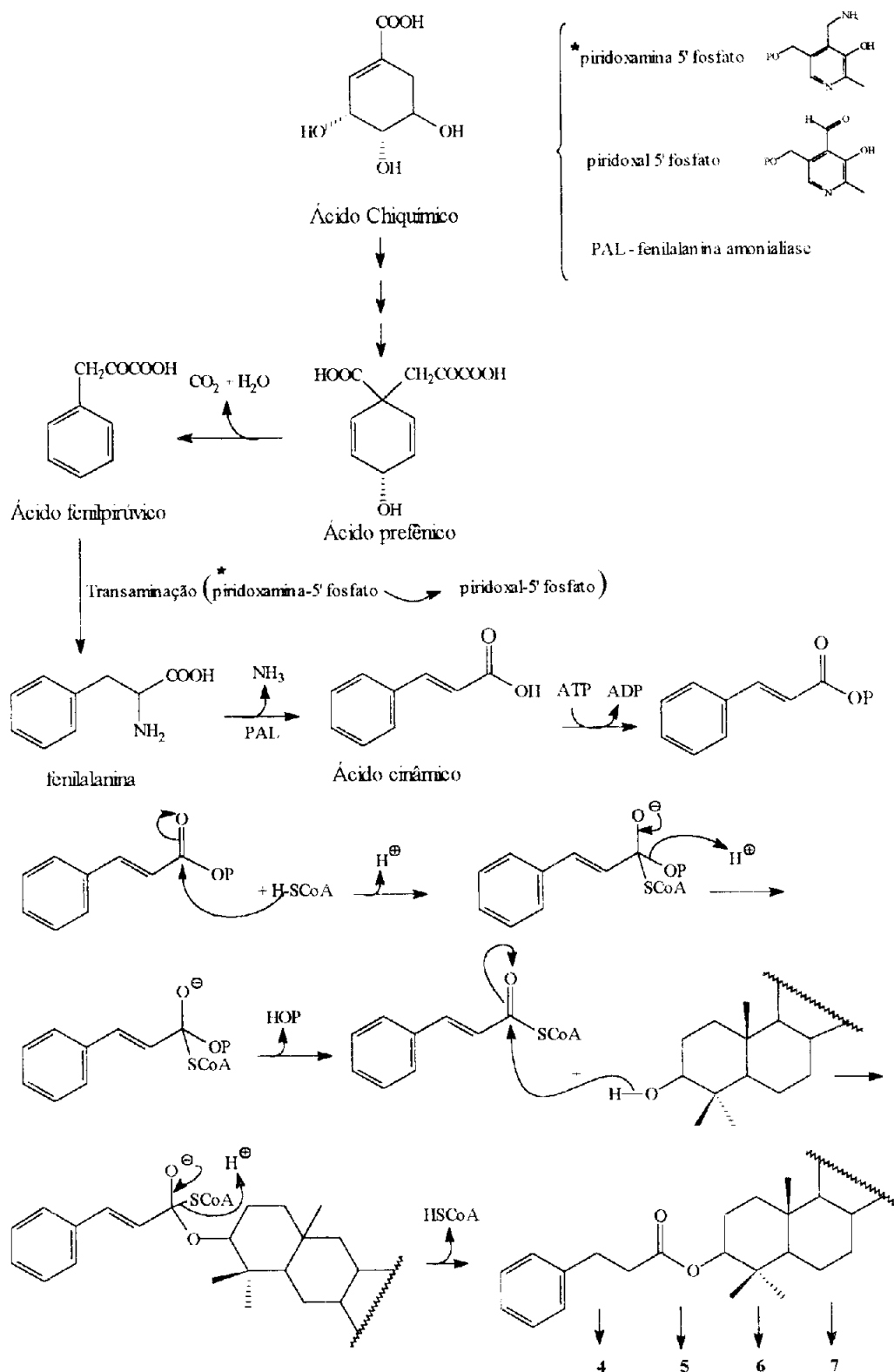
Os esquemas a seguir revelam as propostas biossintéticas que, aliados com os dados físicos obtidos, permitiram chegar às estruturas das substâncias isoladas de *H. articulata*.



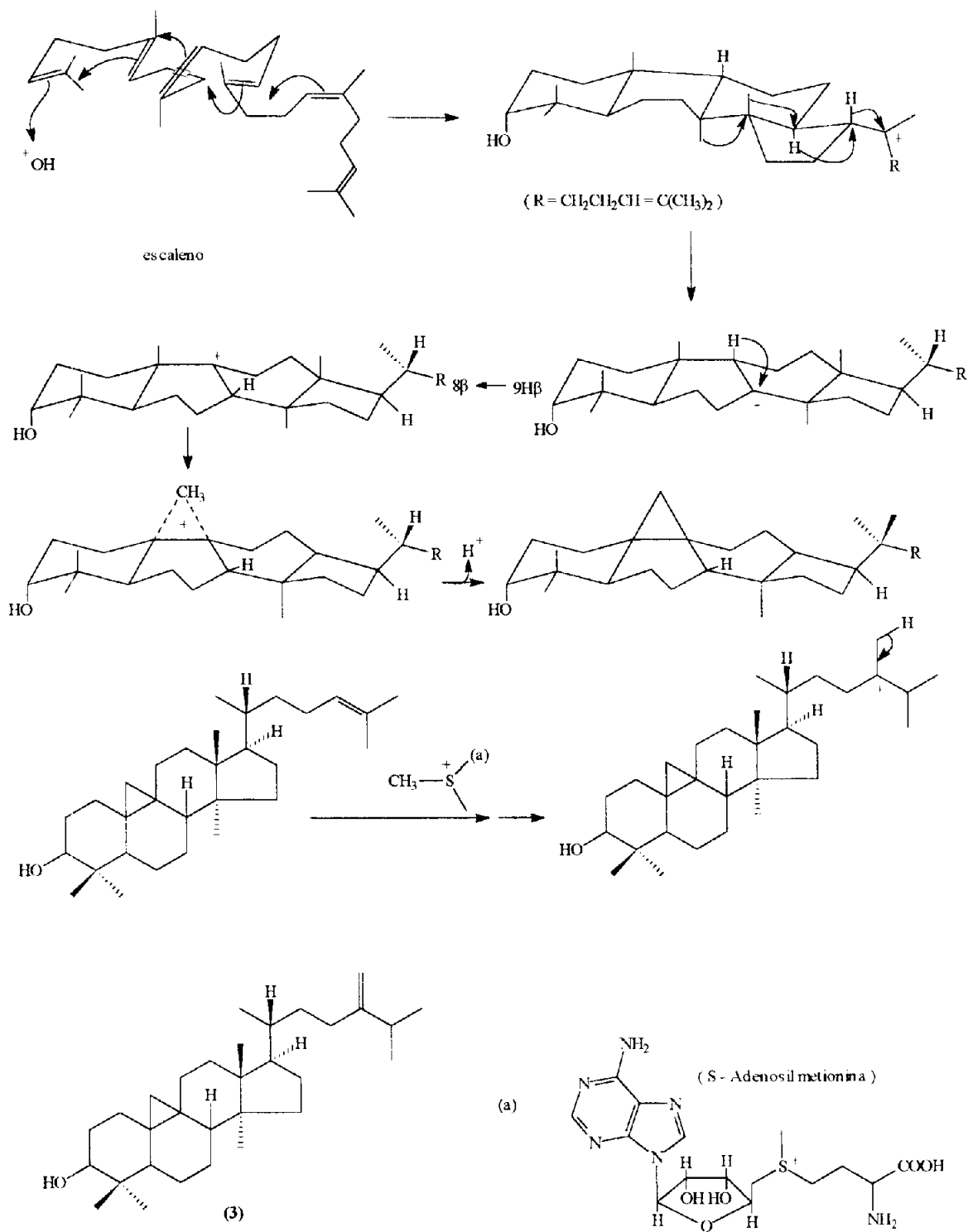
Esquema 5 : Ciclização do escaleno e formação de triterpenos pentacíclicos.



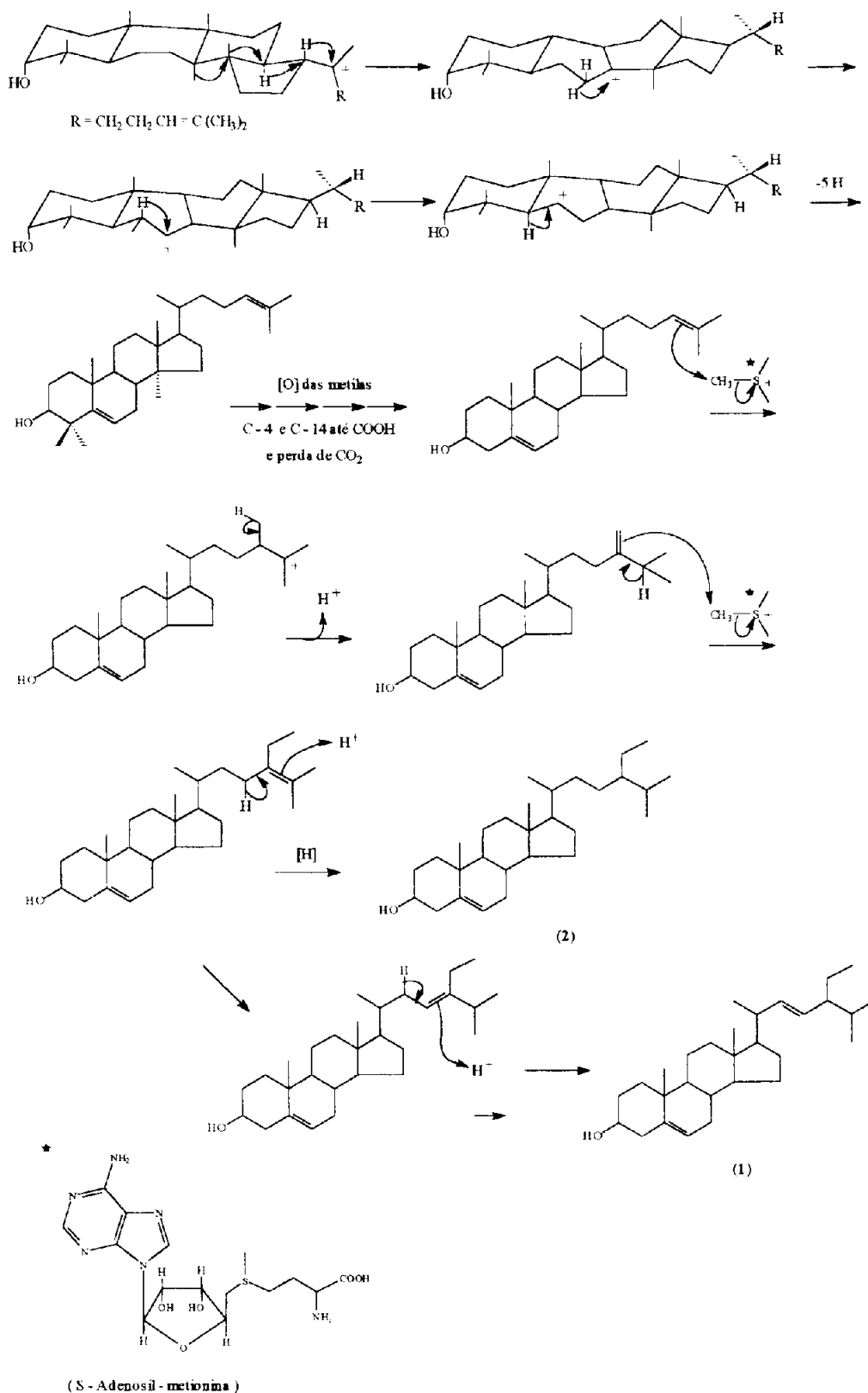
Esquema 6 : Formação de triterpenos pentacíclicos a partir do cátion de C-19^{17, 32 e 33}.



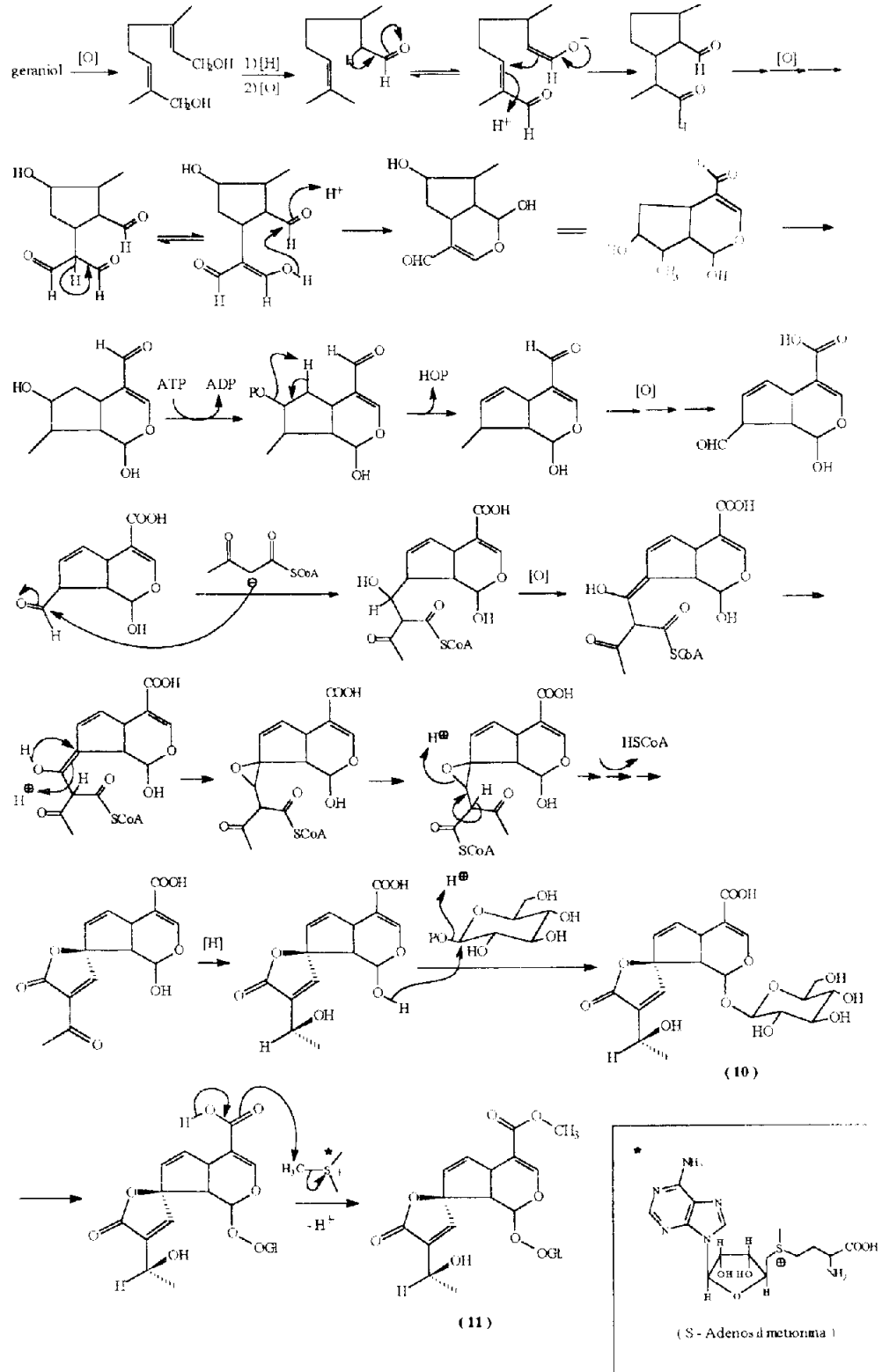
Esquema 7 : Inclusão do grupo cinamoila nos terpenóides isolados.



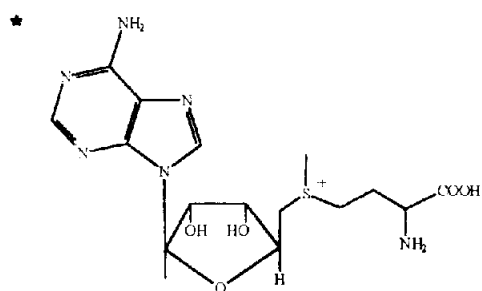
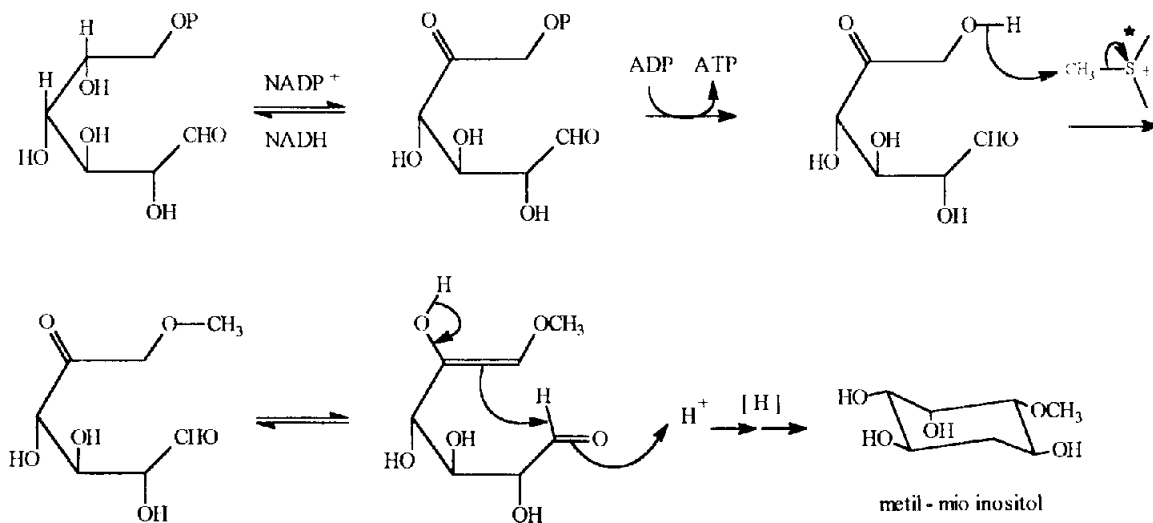
Esquema 8 : Formação do esteróide 24-metileno-cicloartenol (3).



Esquema 9 : Formações dos esteróides estigmasterol (1) e sitosterol (2).



Esquema 10 : Caminho provável^{17, 32, 33} para a biogênese de 1-β-D-glicopiranosil plumierato de metila (11) e ácido 1-β-D-glicopiranosil plumierídico (10).



(S-Adenosil-metionina)

Esquema 11 : Caminho provável^{32,33} de formação do metil-mio inositol (9)

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Material Vegetal

O espécime foi coletado na região amazônica, no estado do Amapá, e classificada pelo botânico Benedito Vitor Rabelo (Museu Angelo Moreira da Costa Lima) no mês de fevereiro de 1991, exsicata registrada no herbário amapaense (HAMAB) sob o n° 0522.

5.2. Isolamento dos constituintes de *Himatanthus articulata* (Vahl) Woodson.

O material foi separado em cascas, folhas e látex. As cascas e as folhas foram secas durante 1 mês, e moídas em um moinho de facas.

O pó da casca (1680 g) e da folha (1404 g) foram submetidos, separadamente a extração contínua com hexano e metanol através de percolação a frio (Esquemas 12, 14 e 18). Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida e foram obtidos os resíduos denominados: HACM (*Himatanthus articulata* casca metanol) e HACH (*Himatanthus articulata* casca hexânico), HAFM (*Himatanthus articulata* folha metanol) e HAFH (*Himatanthus articulata* folha hexânica) e HAL (*Himatanthus articulata* látex).

5.3. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos de *Himatanthus articulata*.

5.3.1. Isolamento e purificação dos constituintes químicos do extrato clorofórmico do látex de *Himatanthus articulata* (Esquema 12)

O extrato clorofórmico do látex (21,5 g) foi submetido a cromatografia em coluna seca utilizando sílica gel como adsorvente e diclorometano como eluente.

As frações iniciais foram coletadas em erlenmeyers de 100 ml cada. Em seguida cortou-se a coluna de nylon ($\phi = 2$ cm) em 15 segmentos (Esquema 13).

As frações 1-4 da coluna seca foram reunidas (4,3717 g) por serem análogas segundo análises cromatográficas em camada fina. Estas frações foram submetidas a coluna flash, utilizando-se sílica gel (Merck grade 60, 230/400 mesh) como adsorvente e Hexano : Diclorometano (1 : 1) como eluente. Foram recolhidas 10 frações. As frações 1-6 desta coluna foram reunidas e submetidas a cromatografia de camada delgada preparativa circular (Chromatotron), usando como eluente, hexano : diclorometano (8 : 2). Foram recolhidas 20 frações, das quais, apenas as frações de 02-06 apresentaram interesses para estudos adicionais. Estas frações de 02 a 06 foram reunidas e submetidas novamente ao uso de cromatografia de camada delgada preparativa circular (Chromatotron) com o eluente hexano : diclorometano (1 : 1). Foram recolhidas 10 frações. As frações de número 03-07 foram reunidas, secas em pistola de Abder Halden e, forneceram material pastoso amarelo denominado HAL-4 (38,5 mg, pf 85-90 °C (6 + 7)). As frações 8-10 (32,5 mg) foram reunidas, e secas através da análise dos espectros de I.V., RMN de ^1H e, constatou-se que tratava-se da mesma substância (HAL-4).

As frações 7 a 10 da coluna flash foram reunidas, após análise em cromatografia de camada delgada preparativa com o eluente clorofórmio : acetato de etila (9 : 1) obtendo-se um sólido branco amorfo denominado HAL-3 (17 mg, pf 167-170 °C; 3)

As frações 05-07 recolhidas da coluna seca foram reunidas (150 mg), submetidas à coluna flash com o eluente diclorometano (100 %) sendo recolhidas 4 frações. As frações 01-03 foram reunidas (113,2 mg) e cristalizadas com o metanol à temperatura ambiente obtendo-se um sólido amorfo denominado HAL-1 (50 mg, pf 130-132 °C). A cromatografia de camada delgada analítica e análise dos espectros de I.V. e RMN de ^1H de HAL-1 permitiram identificar a amostra como mistura de esteróides^{39,40,41}, cujo componente majoritário era o sitosterol. A fração de número 4 continha o mesmo material de HAL-1.

As frações 8-15 são constituídas de misturas de álcoois alifáticos, com pouca quantidade e por isso, difíceis de serem purificadas.

5.3.2. Extrato hexânico da casca (HACH)

Após extração exaustiva da solução das cascas com hexano e concentração à vácuo, obteve-se um resíduo marrom escuro (1682 g). submeteu-se 10,8 g deste resíduo, em processo cromatográfico em coluna de sílica gel utilizando-se como eluente inicial diclorometano e depois aumentando gradativamente a polaridade com quantidades crescentes de metanol. Esta coluna 1 nos forneceu 39 frações (Esquema 15)

A fração 2 da coluna 1, foi submetida a cromatografia em coluna (1,5988 g) utilizando-se hexano como eluente inicial e aumentando a polaridade com quantidades crescentes de metanol. Foram recolhidas 142 frações. Destas 142 frações, as frações 1 a 15 (105 mg) apresentaram-se constituídas de material alifático em pequenas quantidades e, portanto, sem interesses para estudos adicionais.

As frações 20 a 23 (140 mg) foram reunidas e submetidas a um novo fracionamento em cromatografia de camada delgada preparativa circular (chromatotron), utilizando-se como eluente diclorometano : hexano (8 : 2) e, foram recolhidas 80 frações. Deste fracionamento obteve-se um óleo denominado HACH 20/23-1 (5) (resultante da reunião das frações 01 a 03 (15 mg) e HACH 20/23-3 (4 + 5) resultante da reunião das frações 36 a 39 (15 mg). As frações 111-142 (200 mg) por apresentarem muitos componentes em pequenas quantidades e com predominância de substâncias glicosiladas, os estudos posteriores foram considerados inviáveis.

As frações 5-6 foram reunidas (102 mg) com base em análise de cromatografia de camada delgada. Foram submetidas a cromatografia de camada delgada preparativa (80 mg) com o eluente diclorometano : acetato de etila (9 : 1). Foram obtidas 6 frações das quais a número 4 revelou por análise de cromatografia de camada delgada, um bom grau de pureza. Esta amostra foi então seca em pistola de Abder Halden obtendo-se um sólido amorfo denominado HACH-4P (25 mg, $pf_{70-74} \text{ } ^\circ\text{C}$)(1 + 2)

As frações 19-24 (104 mg) foram reunidas com base em cromatografia de camada delgada e sujeitas à filtração em sílica para retirar impurezas. O eluente usado foi acetato de etila : isopropanol (1 : 1) Após esta filtração, parte da amostra (50 mg) foi submetida a cromatografia de camada delgada preparativa circular (chromatotron), de onde foram recolhidas 8 frações. A fração 8 devido ao seu alto grau de pureza, foi seca em pistola de Abder Halden e sujeita a análises espectrais. Foi atribuído o código HACH-8P para esta fração. Posteriormente verificou-se que HACH-8P e HACH-4P (1+2) (15 mg) são as mesmas substâncias.

A análise dos espectros de I.V. e RMN de ^1H das frações 20 a 24, permite verificar que se tratava de misturas alifáticas sem interesses para estudos adicionais.

5.3.3. Extrato metanólico da casca (HACM).

Separou-se 3,0 g do resíduo do extrato metanólico, e fez-se partição com solvente e obteve-se as frações: éter de petróleo (7 mg), clorofórmica (15 mg), butanólica (80 mg), metanólica (100 mg). Estas frações foram submetidas a testes farmacológicos²⁴, e o extrato metanólico apresentou atividade biológica para IC_{12}^{52y} , sendo considerado um bom nível para planta.

Com o restante do material (2,598 g) fracionado para teste farmacológico fez-se teste para alcalóides com os reagentes de Hager, Dragendorf e reativo de Wagner³¹. Após confirmação da eficiência dos reagentes usando a tropina como padrão, fez-se a análise do extrato e, verificou-se a possibilidade de serem encontrados alcalóides nos mesmos.

Submeteu-se 30,0 g deste extrato a extração ácido-base conforme Esquema 16. O fracionamento não foi eficiente. Certamente, a quantidade de alcalóides neste extrato é muito pequena. A maioria do material orgânico ficou solúvel na fração aquosa em $pH = 12$, revelando assim a natureza ácida e extremamente polar deste extrato (Esquema 17). Este material foi congelado e submetido a uma filtração sob vácuo em funil de placa porosa. O material filtrado foi neutralizado com HCl até atingir $pH = 7$. Adicionou-se acetona, e concentrou-se a solução em evaporador rotativo sob vácuo, com temperatura variando entre 40 a 50 °C. Repetiu-se esta operação exaustivamente até obtermos um resíduo marrom oleoso. Este resíduo (8,0 g), após seco em pistola de Abder Halden, foi submetido a fracionamento com metanol seco 25, Obteve-se duas frações: uma fração solúvel e insolúvel em MeOH. Estas frações foram concentradas e secas em pistola de Abder Halden, e submetidas a acetilação com anidrido acético : piridina (1 : 1). (Tabela 15)

O resíduo insolúvel em MeOH acetilado (4 g) (I-HACM-Act - insolúvel *H. articulata* casca metanólico acetilado) foi submetido a fracionamento em coluna de sílica usando $CHCl_3$ como eluente inicial e foram recolhidas 95 frações de 20 ml.

As frações 1 a 14 foram reunidas, após a análise em cromatografia de camada delgada analítica O espectro de I.V. e RMN de ^1H desta fração (15 mg) revelou a presença de misturas de componentes alifáticos, em pequena quantidade, de difícil separação, por isso não mereceu estudos adicionais.

As frações 15 a 17 foram reunidas (30 mg) por terem cromatogramas análogos. Esta fração foi cristalizada em mistura de hexano : tetracloreto de carbono. Obteve-se cristais brancos aciculares denominado I-HAMC-Ac-3A (15 mg, pf 114-116 °C) (9a), e um óleo I-HAMC-Ac-3B. Este último foi analisado por RMN de ^1H , ^{13}C e I.V. e verificou-se a presença de misturas de iridóides, álcoois e ésteres alifáticos de difícil separação.

As demais frações da coluna I-HACM-Ac são constituídas de material polar em pequenas quantidades, de difícil análise por C.C.D.A., de difícil separação e inviáveis para estudos adicionais. Apesar da pequena quantidade, a análise por RMN de ^1H revelou possuírem o I-HACM-Ac-3A (9a) como constituinte majoritário.

O resíduo solúvel em MeOH e acetilado, denominado S-HACM-Ac (solúvel *H. articulata* casca metanólico acetilado) foi trabalhado em 2 etapas:

1ª Etapa

Utilizou-se o fracionamento cromatográfico de 2 g de material usando como eluente inicial CHCl_3 : MeOH (9 : 1), até metanol 100 %; recolheram-se 95 frações.

A fração número 7 forneceu o S-HACM-Ac-7 (=I-HAMC-Act-3A = 9a; 15 mg). A fração número 24 (= HAMC-Ac-4), após cristalização com MeOH, forneceu um cristal branco (50 mg) que foi identificado (na PUC do Rio de Janeiro pelo prof Reinaldo Calixto de Campos da UFRRJ) como sal, cujos os íons principais são o Na^+ e outros elementos < 10 % Si, Al, Ca, Fe, Mg, Cr, Cu, Ni; (Figura 52).

As demais frações apresentaram-se como misturas segundo a análise em cromatografia de camada delgada analítica e, os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e I.V

apresentou sinais que sugerem a presença de iridóides glicosilados em pouca quantidade, a presença de 9a como componente majoritário da mistura de difícil separação.

Uma segunda parte do material (2 g) foi submetida a partição com solvente no cromatógrafo de distribuição contracorrente 26 (Ito) com o eluente CHCl_3 : MeOH : H_2O (35 : 40 : 25), fazendo-se o CHCl_3 como fase móvel. O espectro de RMN de ^1H revelou que o material extraído pela fase móvel era constituído de material alifático sem interesse para estudos adicionais. A fração polar é constituída de mistura de iridóides glicosilados, e, provavelmente de açúcares livres que ficaram retidos na fase estacionária. Uma parte deste material (56 mg) foi seco, e submetida a cromatografia de camada preparativa circular (Chromatroton), usando como eluente inicial Hexano, aumentando gradativamente a polaridade, até atingir MeOH (100 %). Recolheram-se 203 frações de 10 ml cada.

As frações 1-146 correspondiam à misturas de açúcares. O espectro de RMN de ^1H apresentou sinais compatíveis com a presença da substância pura denominada S-HACM-Ac-7 (= I-HACM-Ac-3 A; 9a).

As frações 147-149 foram reunidas segundo análise em cromatografia de camada delgada analítica Logo após a evaporação do solvente obteve-se um sólido amorfo amarelado (15 mg) denominado 2-Chrom-2 (10a).

As demais frações são constituídas de iridóides, misturas de glicosídeo em pequenas quantidades de difícil separação.

2^a Etapa

Da mesma forma descrita anteriormente, extraiu-se outra porção de S-HACM-Ac (4 g). Parte do material (50 mg) foi fracionado usando-se cromatografia em camada preparativa circular (Chromatroton) Obteve-se 80 frações utilizando como eluente a mistura Hexano : Acetato de etila (1 : 1) com aumento da polaridade com adição de MeOH

As frações 1-62 (35 mg) são constituídas de mistura de álcoois alifáticos saturados em pequena quantidade. O espectro de RMN de ^1H revelou sinais compatíveis com a presença do S-HACM-Ac-7 (= I-HACM-Ac-3A; 9a), em todas essas frações

As frações 63-80 foram reunidas por possuírem cromatogramas análogos segundo cromatografia de camada delgada analítica (C.C.D.A). Estas frações forneceram um sólido amorfo denominado S-HACM-Ac 9/10 (15 mg; 11a), como substância natural.

Parte do material (2,5 g) foi submetido a partição com solventes orgânicos, através de filtração em sílica gel e, obteve-se as frações de acordo com o solvente.

Hexano: Forneceu cerca de 10 mg de material oleoso, alifático, sem interesses para estudos adicionais.

Clorofórmio: Forneceu cerca de 180 mg de material que após cristalização com hexano mais tetracloreto de carbono em banho de gelo, obteve-se 30 g de mistura de açúcares de difícil separação e, 150 mg de material cristalino branco aciculares, com o código S-HACM- CHCl_3 (= S-HACM-Ac-7, I-HACM-Ac-3A; 9a).

Intermediário [AcOEt : MeOH (1 : 1)] : Forneceu 1,915 g de material que foi submetido a fracionamento cromatográfico em sílica de coluna flash (Merck, 230-400 mesh). Foram coletadas 371 frações de 10 ml cada.

As frações de 163-171 foram reunidas segundo análise em cromatografia de camada delgada analítica. Após evaporação do solvente, obteve-se um sólido amorfo (15 mg) amarelado denominado COLUNA A-02. A análise em cromatografia de camada delgada analítica e RMN ^1H revelaram a presença da substância, a 10a. Esta fração por ser muito polar foi metilada com diazometano (Tabela 13) e, obteve-se o derivado 11a.

As demais frações são constituídas de iridóides, misturas de glicosídeo em pequenas quantidades de difícil separação (Esquema 17)

5.3.4. Extrato metanólico da folha (HAFM).

Após extração exaustiva da solução metanólica da folha (percolação) e, concentração sob vácuo em evaporador rotativo, forneceu um sólido esverdeado (50 g) (Esquema 18). Após concentração deste extrato houve a formação de um precipitado amarelado (Esquema 19) de alta polaridade (pouco solúvel em MeOH). Este precipitado constitui cerca de 50% do extrato. É um constituinte muito polar e foi difícil analisá-lo por cromatografia em camada delgada analítica.

Uma porção de 2,0 g do precipitado foi aquecido em MeOH e deixado em repouso por 24 horas, obtendo-se um cristal branco denominado HAFM-1 (8), que após análises espectrométricas de I.V., RMN de ^1H e ^{13}C , foi submetido, a acetilação (8 a) com anidrido acético e piridina (1 : 1), acetilação e metilação (HAFM-Ac-Me; 8 b). e metilação com diazometano (HAFM-Me; 8c). O produto foi analisado através das técnicas modernas de RMN.

5.4. Reações usadas para obtenções dos derivados das substâncias naturais isoladas.

5.4.1. Reações de Acetilação

Adiciona-se a quantidade (X) da substância em medidas iguais de anidrido acético e piridina e, deixou-se em repouso por 24 horas. Após 24 horas adicionou-se água destilada gelada, extraiu-se com CHCl_3 ; lavou-se com HCl 5 % e depois com água. Depois da secagem com Na_2SO_4 anidro, evaporou-se o solvente e obteve-se a quantidade (Y) do produto. Se houver necessidade o produto poderá ser filtrado em coluna de sílica para retirar eventuais impurezas (Tabela 12).

5.4.2. Reações de Metilação²⁵.

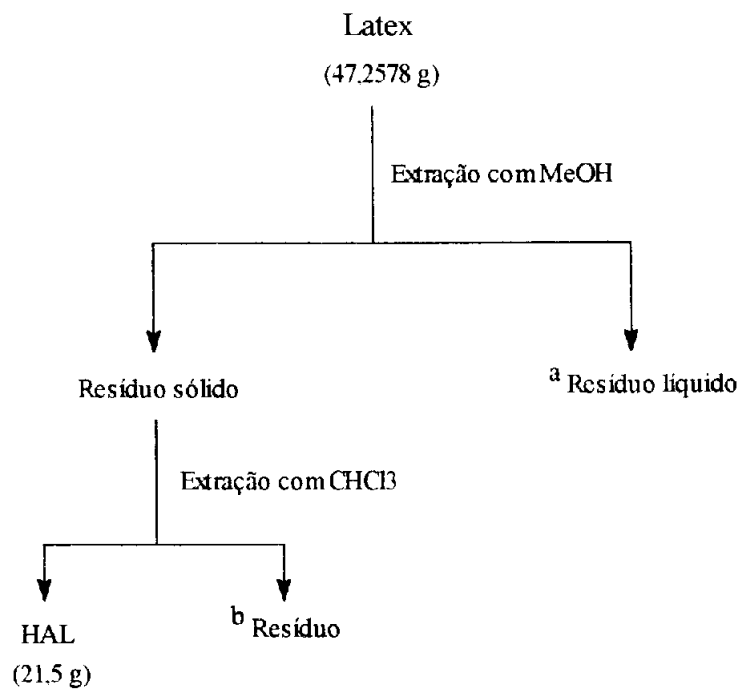
Após a preparação da solução etérea de diazometano a partir do "Diazald" adicionou-se gota a gota da solução sobre (Y) até cessar o desprendimento do gás N₂. O éter foi evaporado em temperatura ambiente. Se houver necessidade o produto poderá ser metilado novamente, de acordo com os dados fornecidos pela cromatografia de camada delgada analítica.(Tabela 13)

Tabela 12 : Quantidades de substâncias acetiladas

Substância	Quantidade do reagente (X)	Quantidade do Produto (Y)
S-HACM	8,5 g	8,0 g; (S-HACM-Ac)
I-HACM	4,4 g	4,0 g; (I-HACM-Ac; 9a)
HAFM-1	2,0 g	1,9 g; (HAFM-Ac; 8a)

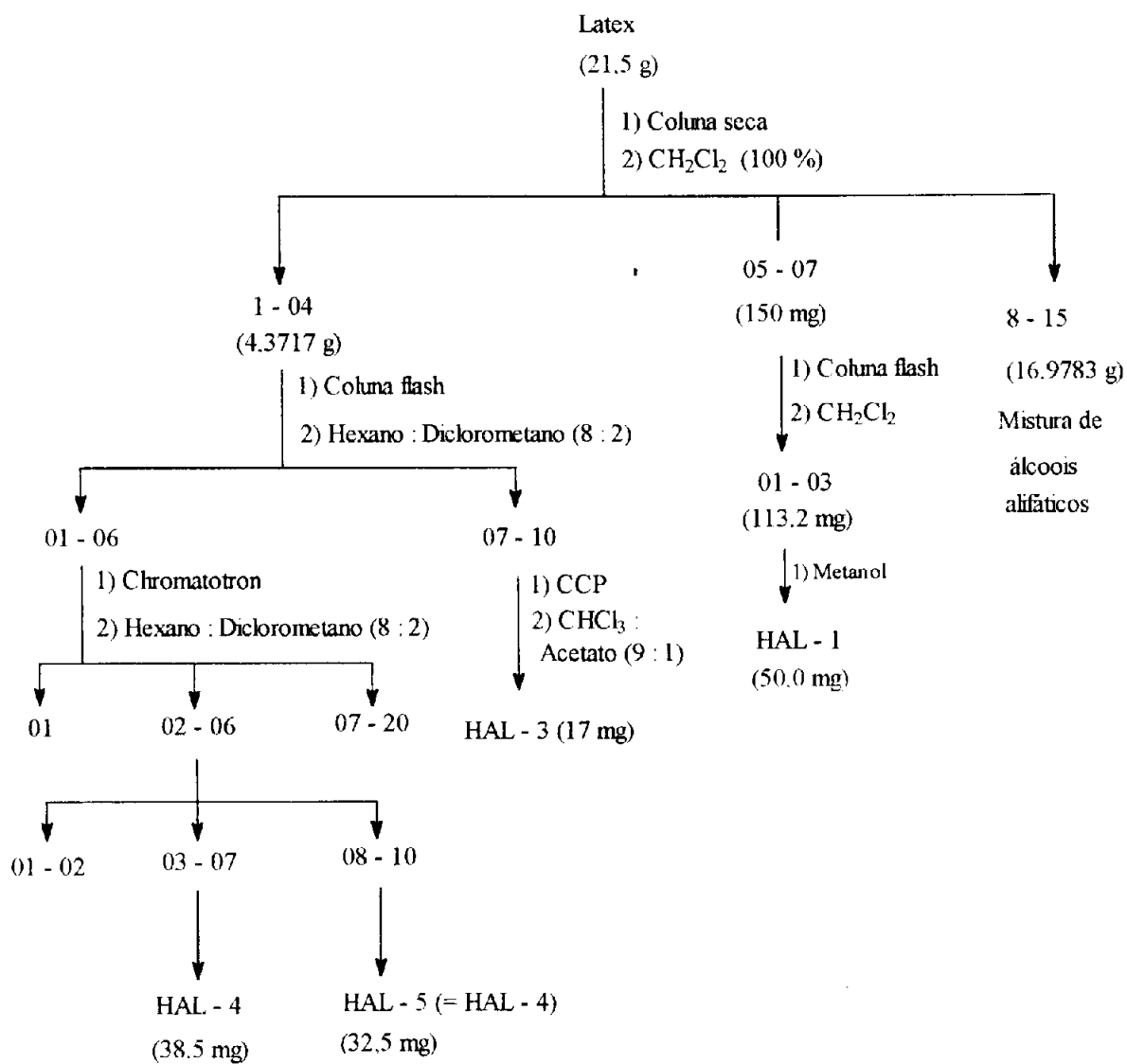
Tabela 13 : Quantidades de substâncias metiladas

Substância	Quantidade do Reagente (X)	Quantidade do Produto (Y)
HAFM-1 (8)	59 mg	59 mg; (HAFM-Ac; 8a)
COLUNA A-02 (10a)	15 mg	15 mg; (COLUNA A-02-Me; 11a)
HAFM-Ac (8a)	1,8 g	1,8 g; (HAFM-Ac-Me; 8b)

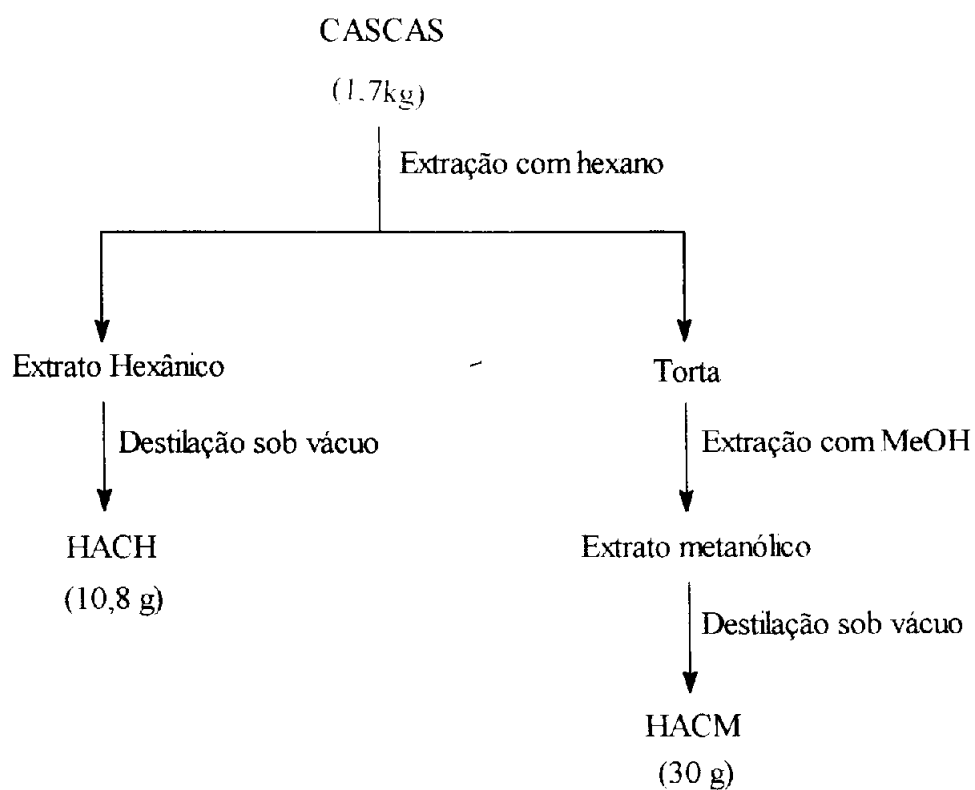


a,b misturas de componentes em pequenas quantidades, não mereceu estudos adicionais.

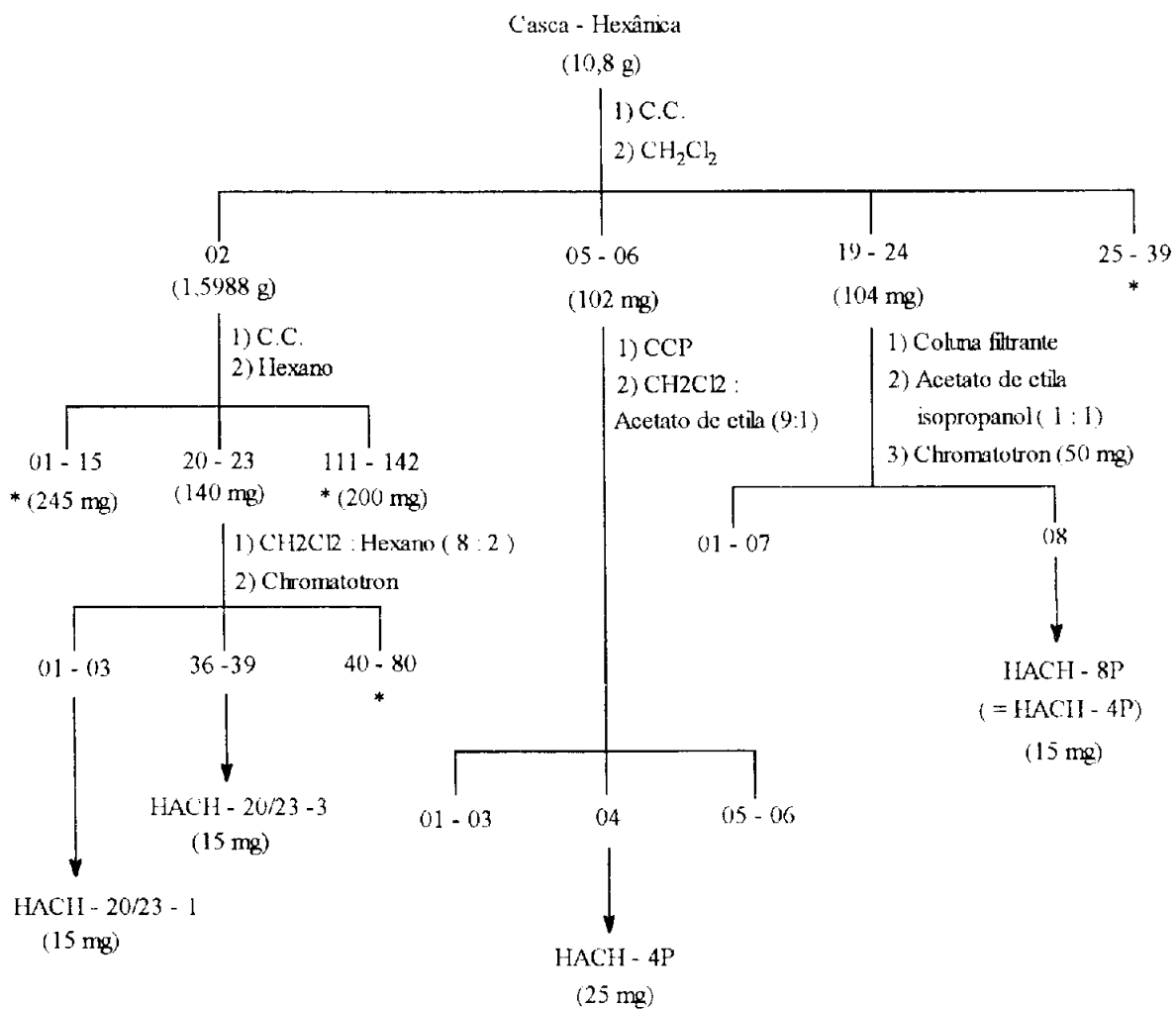
Esquema 12 : Fracionamento do látex de *Himatanthus articulata*



Esquema 13 : Fracionamento do Extrato Clorofórmico do Látex (HAL)

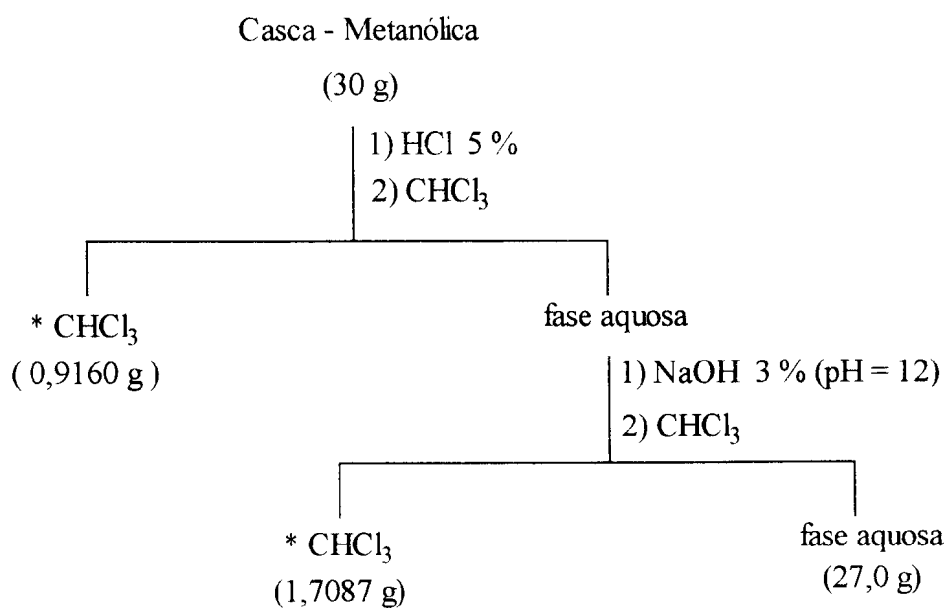


Esquema 14 : Elaboração dos extratos das cascas de *Himatanthus articulata*.



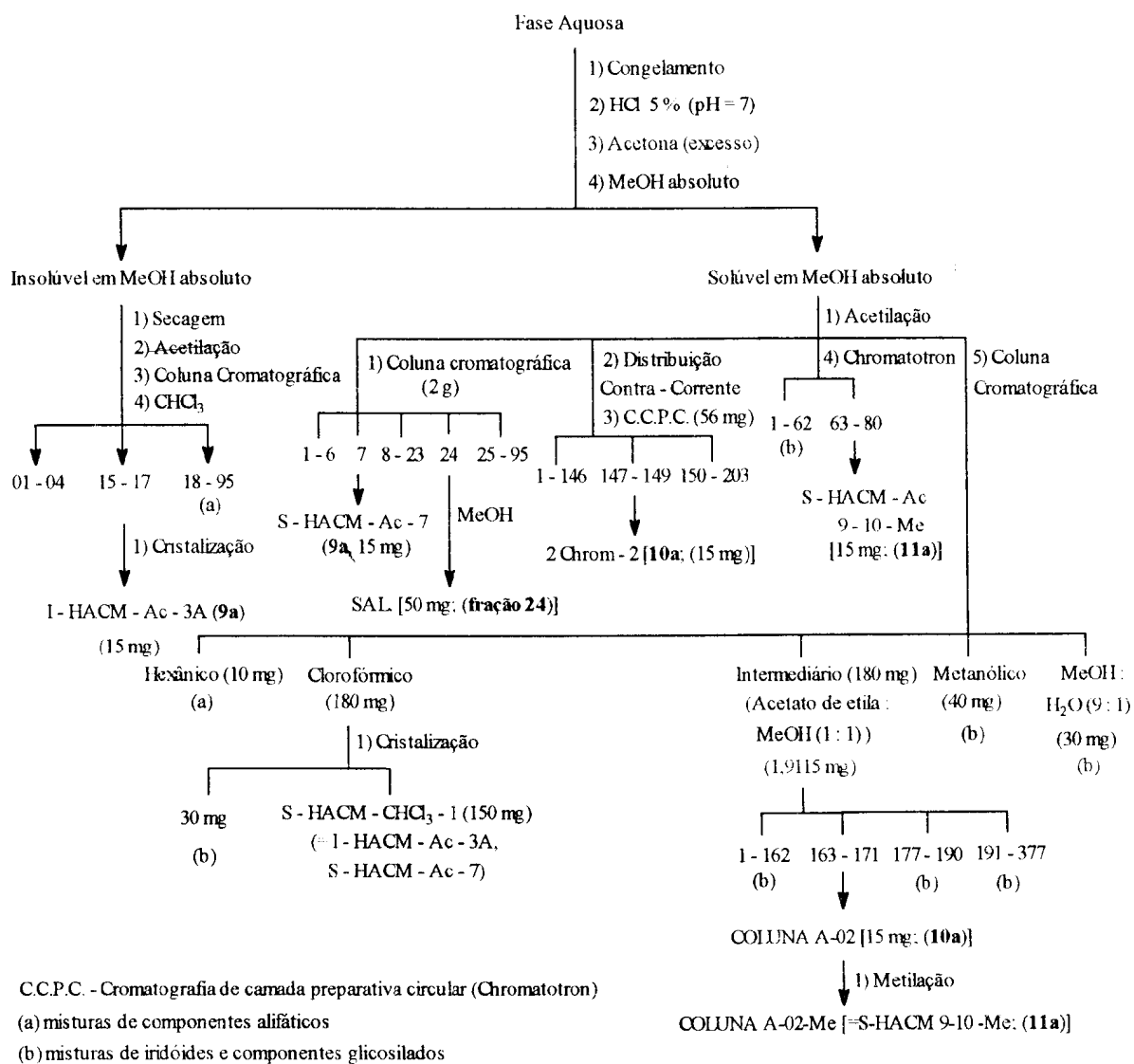
* misturas de alcóois alifáticos

Esquema 15 : Fracionamento do Extrato Hexânico da Casca (HACH)

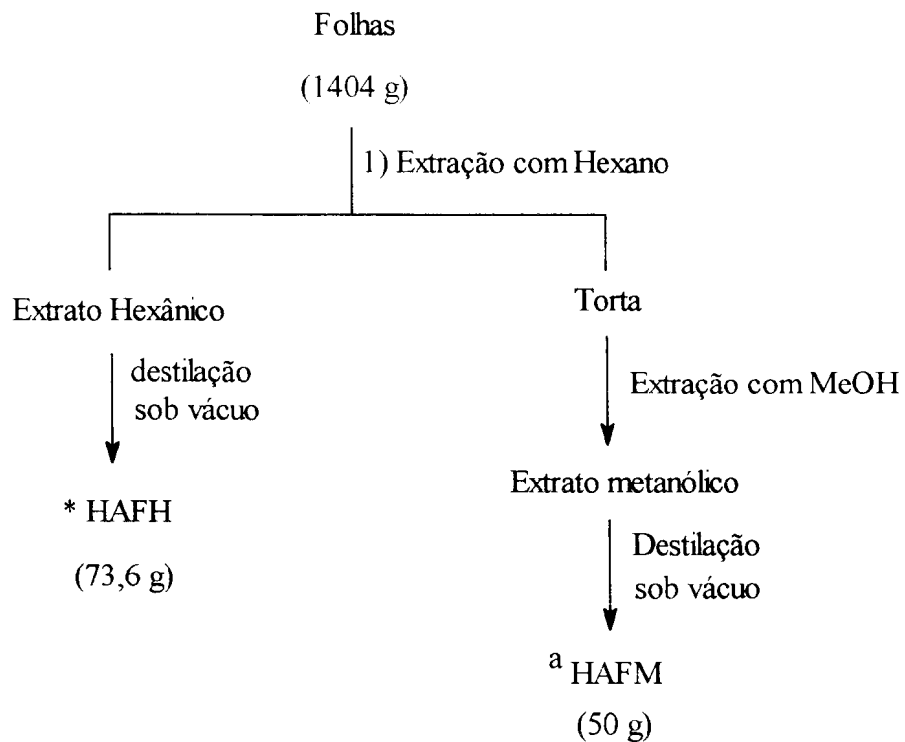


* não foram estudadas

Esquema 16 : Fracionamento do Extrato metanólico da casca (HACM)



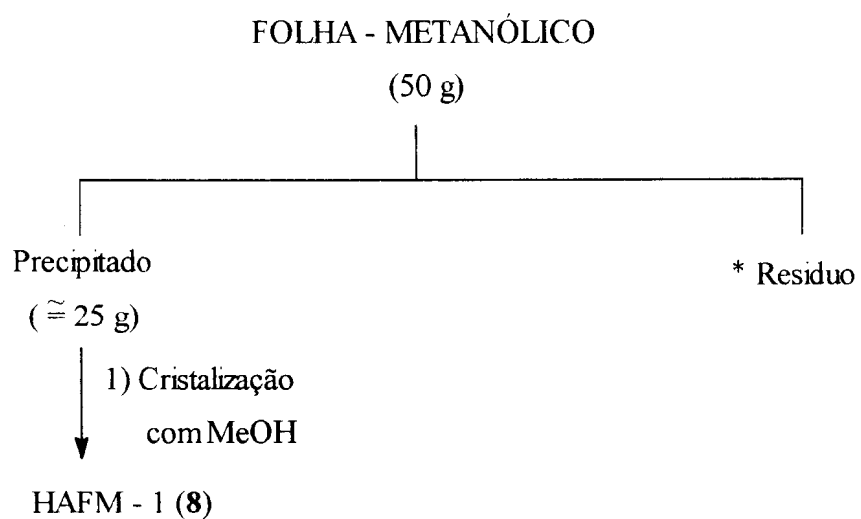
Esquema 17 : Fracionamento da Fase Aquosa do Extrato metanólico da casca



*Aguarda estudos posteriores

a - parcialmente estudado

Esquema 18 : Elaboração dos extratos orgânicos das folhas



* Aguardar estudos posteriores

Esquema 19 : Fracionamento do extrato metanólico da folha (HAFM, **8**)

6. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS

6.1. Características químicas das substâncias isoladas de *Himatanthus articulata*

HACH-8P (1+2) : estigmasterol e sitosterol; p.f. 70-74 °C; RMN de ^1H (Tabela 1, pág. 20 ; Figura 1, pág. 80); RMN de ^{13}C (Tabela 1a, pág. 21 ; Figura 2, 3, pág. 81, 82); E.M. [m/z (%); Esquema 1, pág. 22 ; Figura 4, pág. 83]: 414 ($\text{M}^{+\bullet}$, 18,51), 412 ($\text{M}^{+\bullet}$, 16), 396 (9,85), 394 (1,94), 43 (100).

HAL-3 (3) : 24-metileno cicloartenol; p.f. 167-70 °C; RMN de ^1H (Tabela 2, pág. 24 ; Figura 5, pág. 84); $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (Figura 7, pág. 87) RMN de ^{13}C (Tabela 2a, pág. 25 ; Figura 6 e 6a, pág. 85, 86)

HACH 20/23-3 (4+5), HACH-20/23-1 (5) : 3 β -O-acetil-lup-20(29)-en + 3 β -O-cinamoil-lup-20(29)-en; óleo; RMN de ^1H (Tabela 3, pág. 27 ; Figura 8, 8a e 9, pág. 88, 89, 90); $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (Figura 12, pág. 94), RMN de ^{13}C (Tabela 4, pág. 28 ; Figura 10, 10a e 11; pág. 91, 92, 93); E.M. [m/z (%); Esquema 2; pág. 29 , Figura 13 e 14, pág. 95, 96], 556 ($\text{M}^{+\bullet}$ 1,57, 2,13), 468 ($\text{M}^{+\bullet}$, 1,52); 408 (4,97; 6,10); 189 (75,22; 47,94); 131 (82,37, 100); 95 (100; 19,50).

HAL-4 (6+7) : 3 β -O-acetil + 3 β -O-cinamoil-urs-12-eno-3 e 3 β -O-acetil e 3 β -O-cinamoil-olean-12-eno-3; p.f. 85-90 °C; I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Figura 15, pág. 97); 2950, 1720, 1620, e 1200; RMN de ^1H (Tabela 5, pág. 31; Figura 16 e 16a, pág. 98, 99); $^1\text{H} \times ^1\text{H}$

- COSY (Figura 18, pág. 103); RMN de ^{13}C (Tabela 6, pág. 32 ; Figura 17, 17a e 17b; pág. 100, 101, 102); E.M. [m/z (%); Esquema 3; pág. 33, Figura 19, pág. 104]; 556 ($\text{M}^{+\bullet}$, 1,57), 468 ($\text{M}^{+\bullet}$, 0,44), 408 (3,75); 218 (100); 190 (19,70); 131 (84,96).

HAFM-1 (**8**) : 3 β -O-hidroxi-urs-12-en-28-óico (ácido ursólico); p.f. 226 °C; I.V. em $\text{V}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Figura 20; pág. 105); 3450, 2850, 1620, 1004; RMN de ^1H (Figura 21, pág. 106) RMN de ^{13}C (Figura 22, pág. 107); E.M. [m/z (%); Esquema 4, pág. 38, Figura 23, pág. 108] 456 ($\text{M}^{+\bullet}$, 11), 248 (100); 408 (3,75); 208 (11); 207 (47); 203 (55), 190 (14) e 189 (17); I.V. $\text{V}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) [do derivado acetilado (**8a**) Figura 24, pág. 109 e I.V. do derivado metilado (**8c**) filme (NaCl) Figura 34, pág. 120]; RMN de ^1H e ^{13}C de **8a**, **8b** e **8c** (Tabela 7 e 8, pág. 36 e 37, Figura 25, 26, 27, 31, 32, 35 e 36, pág. 110, 111, 112, 117, 118, 121, e 122), $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Tabela 7 e 8, pág. 36 e 37, Figura 28, pág. 113); $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY de **8a** e **8b** [$^1\text{J}_{\text{C-H}}$ e $^n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e 3), Tabela 7 e 8, pág. 36 e 37, Figuras 29, 30, 30a e 33, pág. 114, 115, 116 e 119)

S-HACM-Ac-7 (**9**) : metil-mio-inositol p.f. 114-116 °C; RMN de ^1H (Figura 37, pág. 123); $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Tabela 9, pág. 40, Figura 38, pág. 124) ; RMN de ^{13}C (Tabela 9, pág. 40, Figura 39, pág. 125); I.V. $\text{V}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) [derivado acetilado (Figura 41, pág. 128)]; RMN de ^1H e ^{13}C de **9a** (Tabela 10, pág. 41, Figura 42, 43 e 40, pág. 128, 129 e 126); $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (Tabela 10, pág. 41, Figura 44, pág. 130); $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY [$^1\text{J}_{\text{C-H}}$ e $^n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e 3), Tabela 10, pág. 41, Figura 45 e 45a, pág. 131, 132].

S-HACM-9/10a (**10a**) e S-HACM 9/10-Me (**11a**) : ácido 1 β -D-tetra-O-acetil glicopiranosil plumierídico e 1 β -D-tetra-O-acetil glicopiranosil plumierato de metila ; material amorfo, RMN de ^1H , ^{13}C e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (Tabela 11, pág. 44 ; Figura 46, 47, 48, 49, 50 e 51, pág. 133, 134, 135, 136, 137 e 138).

Fração n° 24 : (Figura 52, pág. 139).

6.2. Especificação dos materiais e dos instrumentos.

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Kofler com microscópio e não foram corrigidos.

Os espectros de absorção na região do I.V. foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer modelo 1420, utilizando como solvente CHCl_3 ou pastilha de KBr. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de número de ondas (cm^{-1}) e os espectros calibrados com filme de poliestireno de 0,5 mm de espessura e a absorção em 1601 foi utilizada como referência.

Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em espectrômetros modelo Finnigan 3100D existente na Central Analítica do NPPN (Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais), UFRJ e, o CG/MS modelo HP5988A, existente no Instituto de Química da USP. A coluna usada é de 12 m x 0,02 mm, temperatura programada de 100 a 300 °C (20 por min), gás de arraste He (20 ml por min) e obtido a 70 ev.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN de ^1H) foi obtido no aparelho AC-200 da Brücker (^1H : 200 MHz; ^{13}C : 50,3 MHz) foram usados solventes deuterados e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades ppm (δ) da frequência aplicada e as áreas relativas dos picos de absorção obtidos por integração eletrônica. As constantes de acoplamento (J) foram medidos em Hertz (Hz).

As separações por cromatografia em coluna foram efetuadas usando-se sílica gel Merck (Art. 7734) e 60 H (Art. 7736) para cromatografia em camada fina, utilizou-se sílica gel Merck grade 60, 230/400 mesh 60A para coluna flash.

As separações por cromatografia de camada circular preparativa foram efetuadas usando-se sílica gel para camada fina de Aldrich (Art. 28,8551). As revelações dos cromatogramas foram feitas com irradiação de U.V. (254 nm e 360 nm) em cuba saturada

com iodo ressublimado e/ou solução alcoólica de ácido fosfomolibídico. Adotou-se como critério de pureza a nitidez do ponto de fusão e/ou observação de mancha única em cromatografia em camada delgada analítica (C.C.D.A.) variando sistema de solventes. A identificação de substância por comparação direta envolveu CCD.A utilizando no mínimo três sistemas de solventes. As misturas foram feitas volume por volume (v/v). As reduções dos volumes de solventes nos extratos e frações foram feitas através de destilação sob pressão reduzida em evaporador rotativo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 WAGNER, H. and WOLFF, "New natural Products and Plant Drug with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity", Springer-Verlag, Berlin (1977).
- 2 MATOS, F.J. de A., Anais 1, "Revista de Extensão", UFC, Fortaleza-CE. (1990).
- 3 TELLES, M., "Boletim Informativo do Ministério da Ciência e Tecnologia", Ano II, Nov/Dez, nº 24, RJ (1989).
- 4 RAFFAUF, R. F., "Lloydia" 27 |4| 286-98.(1964).
- 5 GANZINGER, D., MANFRED, H., "Lloydia" 39 |5| 326-49 (1976).
- 6 VANDERLEI, M. de F., SILVA, M. S., GOTTLIEB, H.E., BRAZ-FILHO, R. "Journal of the Brazilian Chemical Society" 2 |2| 51-55 (1991).
- 7 KARDONO, L.B.S., TSAURI, S., PADMAWINATA, K. KINGHORN, A.D., "Phytochemistry" 29 |9| 2995-97 (1990).
- 8 SIDDIQUI, S., BEGUM, S., HAFEEZ, F. SIDDIQUI, B., "Phytochemistry" 28 |4| 1187-91 (1989).
- 9 SOBRINHO, D.C., HAUPTLI, M.B., APPOLINÁRIO, E.V., KOLLENZ, C.L.M., CARVALHO, M. G. de, BRAZ-FILHO, R.; "J. Braz. Chem. Soc," 2 |1| 15-20 (1991).
- 10 SIDDIQUI, S., SIDDIQUI, B. S., NAEED, A. BEGUN, S. "Phytochemistry" 29, |11| 3615-20 (1990).

- 11 SIDDIQUI, S., SIDDIQUI, B. S., NAEED, A. and BEGUM, S. "*Journal of Natural Products*" 53 |5| 1332-36 (1990).
- 12 HARRINSON, J., SANTISTEBAN, A.S., ROJAS, B.R. "*Boletim de la Sociedad Quimica del Peru*" 39 |2| 89-92 (1973).
- 13 COPPEN, J.J.W., COBB, A.L., "*Phytochemistry*" 22 |1| 125-8 (1983).
- 14 KUPCHAN, S.M., DESSERTINE, A.L., BLAYLOCK, B.T., BRYAN, R.F., "*The Journal of Organic Chemistry*" 39 |17| 2477-82 (1974).
- 15 COPPEN, J. J. W., "*Phytochemistry*" 22 |1| 179-82 (1983).
- 16 KARDONO, L.B.S., TSAURI, S., PADMAWINATA, K., PEZZUTO, J.M., KINGHORN, A.D., "*Journal of Natural Products*" 53 |6| 1447-55. (1990).
- 17 VANDERLEI, M.F., *Tese de Mestrado* U.F.Pb., João Pessoa-Pb (1985)
- 18 FERRIGNI, V., NELSON, R., HASEGAWA, M. "*Rev. Latinoamer. Quim.*" |7| 146 (1976).
- 19 KAPPLAN, M.A.C., *Tese de Mestrado* UFRuRJ, Rio de Janeiro (1967).
- 20 HOEHNE, F.C. "*Plantas e Substâncias vegetais tóxicas e medicinais*" 237-40 (1937).
- 21 AZAMBUJA, D., "*Arquivo do Serviço Florestal*" 3 n° único 13-24, 31-38 e 41-42 (1947).
- 22 WOODSON, R.E. Jr "*Ann. of the Missouri Botanical Garden*" 25, 189-97 (1938).
- 23 CRONQUIST, A., "*The evolution and classification of the flowering plants*". Willian, C. Steere, The New York Botanical Garden and H.B. Glass, S. V. of N. Y at Sony Brook pág. 284-85 (1968).
- 24 KINGSTON, D.G., Department of Chemistry, Virginia Polytechnic Institute, State University, Backsburg, Virginia, 24067-2 USA.
- 25 VOGEL, A.I., "*Análise Orgânica Quantitativa*", vol I pág. 186; vol II pág. 1021-22 (1979).

- 26 HOSTETTMANN, K., KALDAS-HOSTETTMANN M. STICHER, O. "*Helvetica Chimica Acta*" 62 |7| 2079-85 (1975).
- 27 ACHENBACH, H., WAIBEL, R., MENSAH, J.A., "*Phytochemistry*" 22 |3| 749-53 (1983).
- 28 NISHIBE, S., HISADA S., INAGAKI, I., "*Phytochemistry*", 11|1| 3084-3085 (1972).
- 29 INAGAKI, I., HISADA, S. NISHIBE, S., "*Phytochemistry*" 10|1| 211-13 (1971).
- 30 ADAM, G., KHOI, N.H., BERGNER. C. LIEN, N.T., "*Phytochemistry*" 18|1| 1399-40 (1979).
- 31 MATOS ABREU, F.J., "*Introdução à Fitoquímica Experimental*" Ed. UFC, Fortaleza-CE, (1988) pág. 55-56.
- 32 TORSSELL, K.B.G., "*Natural product Chemistry*" John Wiley & Sons Limited pág. 172-223. (1983).
- 33 GEISSMAN, T.A., CROUT, D.H.G., "*Organic Chemistry of Secondary plant metabolism*" Freeman Cooper & Company, (1969).
- 34 TAN, G.T., PEZZUTO, J.M., KINGHORN, A.D., "*Journal of Natural Products*" 54|1| 143-54 (1991).
- 35 PLUMMEL, M.M., "*Compte Rendu des Seances de la Societe de biogeographie*" 66|3| 103-27 (1990).
- 36 KOJIMA, H., SATO, N., HATANO, A. OGURA, H., "*Phytochemistry*" 29|7| 2351-55 (1990).
- 37 RUBINSTEIN, L., GOAD, L.J., CLAGUE A.D.H., MULHEIRN, L.J. "*Phytochemistry*" 15|1| 195-200 (1976).
- 38 ITOH, T., YOSHIDA, K., TAMURA, T., MATSUMOTO, T., "*Phytochemistry*" 21|3| 727-30 (1982).
- 39 BLUNT, J.W., STOLLHER, D.B., "*Org. Magn. Reson*" 9|8| 439-440 (1977).
- 40 SINGH, B., AGRAWAL, P.K., THAKUR, R.S., "*Phytochemistry*" 28|7| 1980-81 (1989).

- 41 GOAD, L.J., GARNEAU, J.L., SIMARD, J.W., APSIMON, J.W. GIRARD, M.
"Tetrahedron Letters" 26|29| 3513-16 (1985).
- 42 TERESA, J. de P., URONES, J.G., MARCOS, I.S., BASABE, P., SEXMERO
CUADRADO, MARIA J., FERNANDES MORO, R., "Phytochemistry" 26|6| 1767-
76 (1987).
- 43 DANTANARAYANA, A.P., SAVITRI KUMAR, N., MANGALA, MUTHUKUDA, P.
WAZEER, M.I.M., "Phytochemistry" 21|8| 2065-68 (1982).
- 44 BHATTACHARYYA, J. BARROS, C.B., "Phytochemistry" 25|1| 274-76 (1986).
- 45 SEO, S., TOMITA, Y. TORI, K., "Tetrahedron Letters" 1|1| 7-10 (1975).
- 46 NOZAKI, H., SUZUKI, H., HIRAYAMA, T., KASAI, R., WU, R., Y., LEE, K.H.
"Phytochemistry" 25|2| 479-85 (1986).
- 47 MATSUNANGA, S., TANAKA, R. AKAGI, M., "Phytochemistry" 27|2| 535-37 (1988).
- 48 BRUTMAIER, E., VOELTER, N., "Carbon 13 - NMR Spectroscopy" 3 ed., V.C.H.
publishers, N.Y. (USA) pág. 401 (1987).
- 49 DUTRA, N.N., ALVES, H. de M., GERALDO, M.G. de, BRAZ-FILHO, R., "Química
Nova" 15|1| 10-14 (1992).
- 50 ARAÚJO, F.W.L., LEMOS, T.L.G., MILITÃO, J.S.L., BRAZ-FILHO, R., "Química
Nova" 17|2| 128-136 (1994).
- 51 KIWACK, R.W., PITNER, T.P., "Pharmaceutical Research" 6|7|, 531-35 (1989).
- 52 BOROS, C.A. STERMITZ, F.R., "Journal of Natural Products" 53|5| 1055-1147
(1990).

8. APÊNDICE

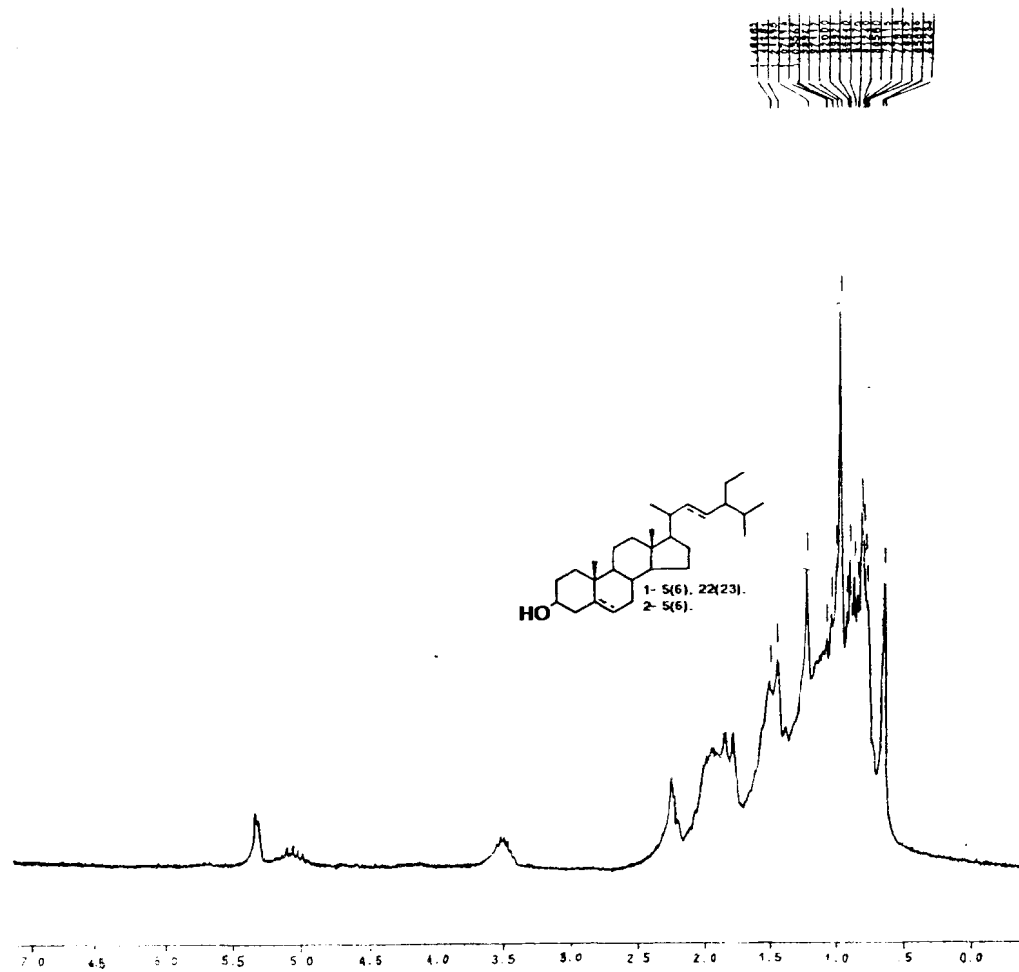


Figura 1 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-8P (1 + 2) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

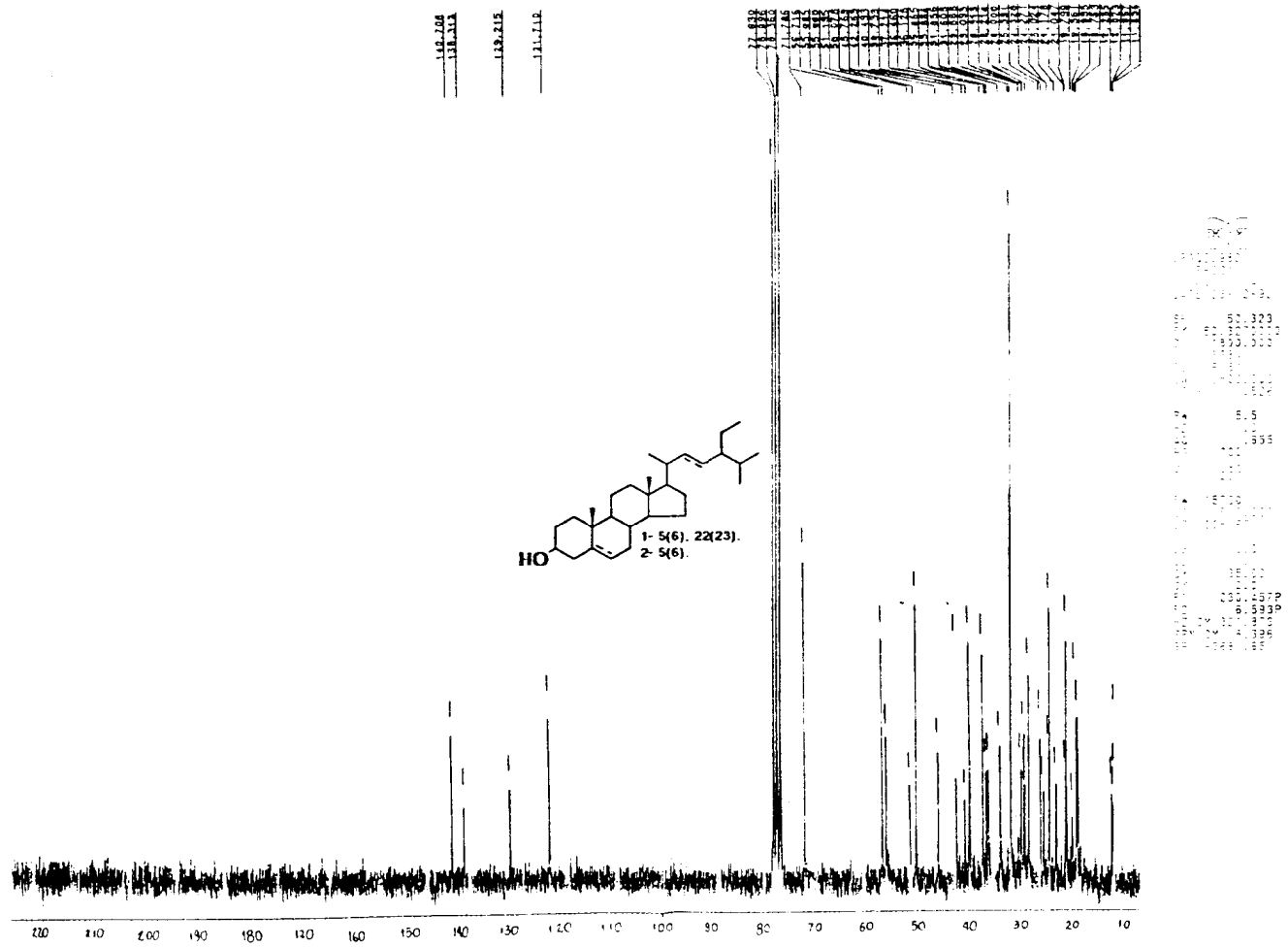


Figura 2 : Espectro de RMN de ¹³C - PND (50,3 MHz) de HACH-8P (1 + 2) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

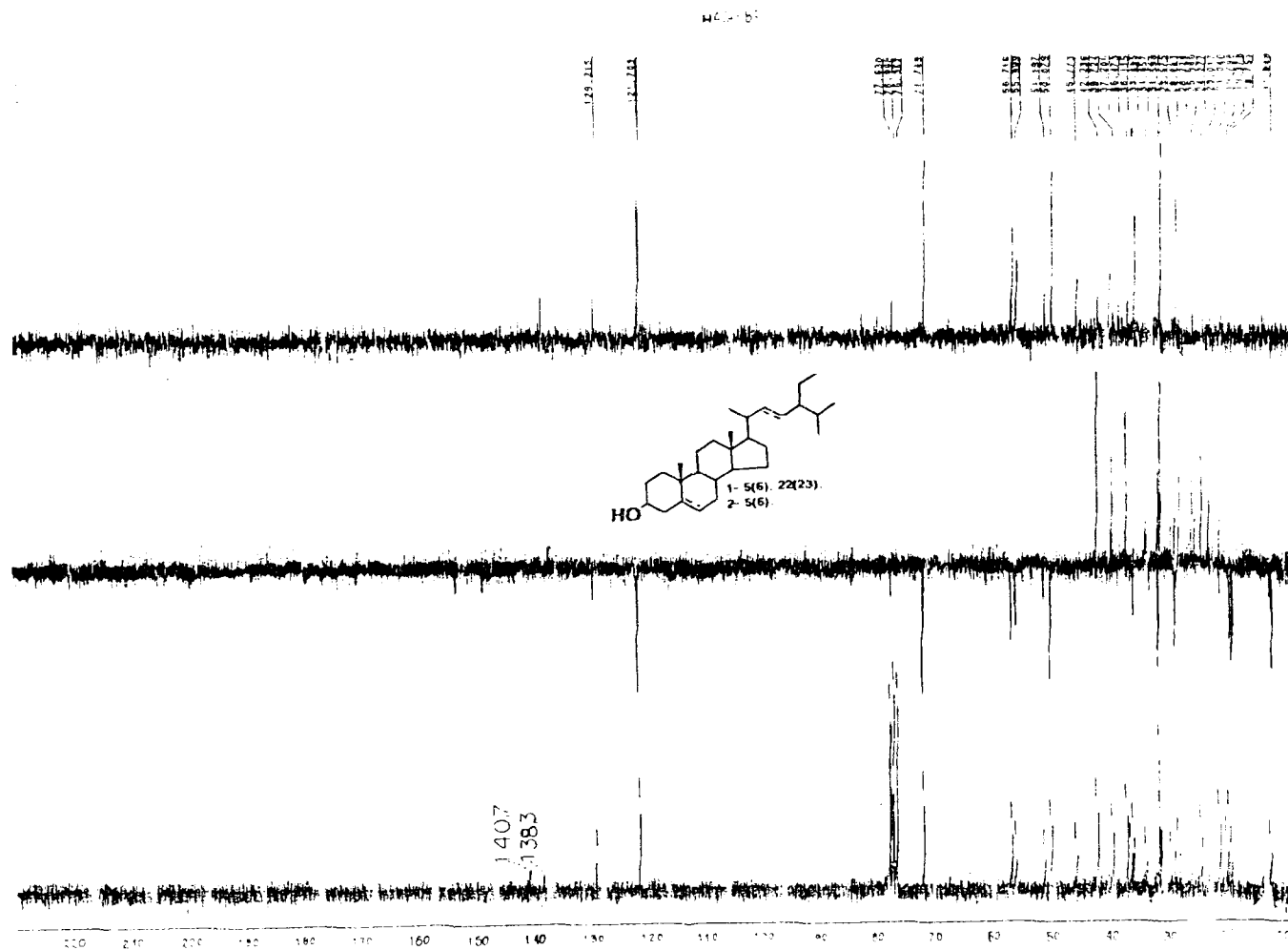


Figura 3 : Espectro de RMN de ^{13}C com DEPT ($\theta = 90$ e $\theta = 135^\circ$) de HACH-8P (1 + 2) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

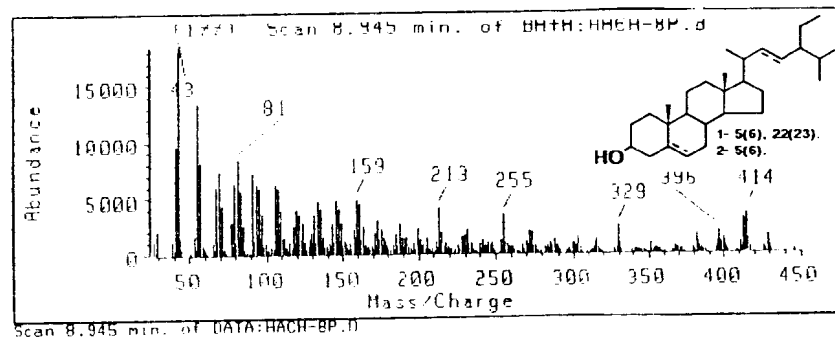


Figura 4 : Espectro de massa de HACH-8P (1 + 2).

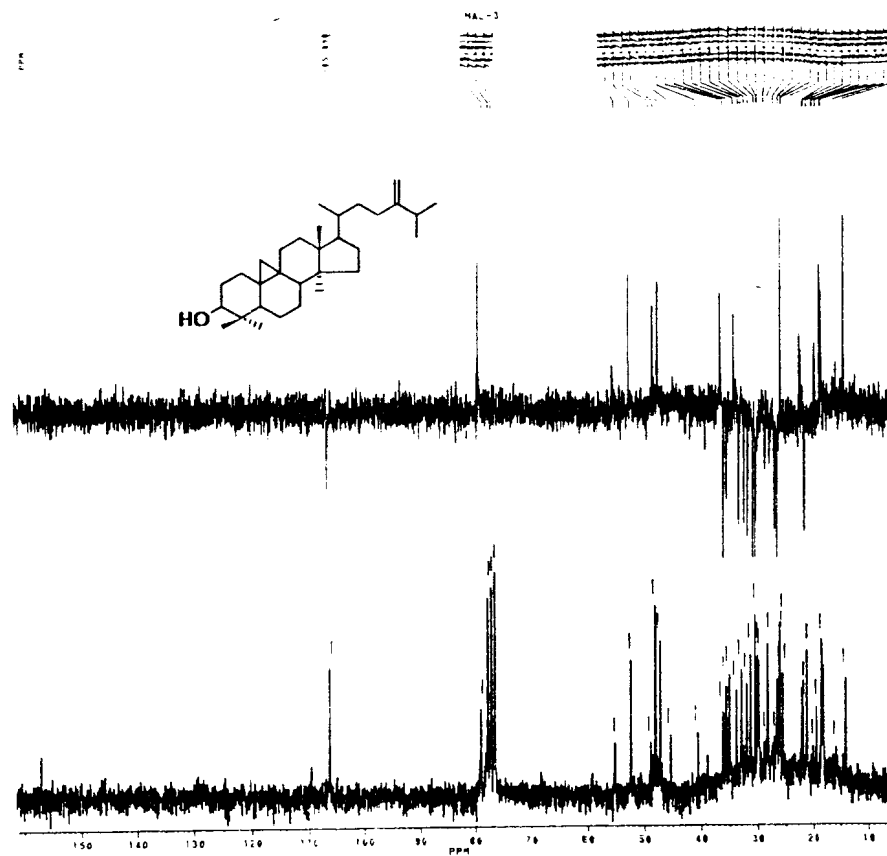


Figura 6 : Espectro de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) totalmente desacoplado e com experiências de DEPT ($\theta = 90$ e $\theta = 135^\circ$) de HAL-3 (3) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

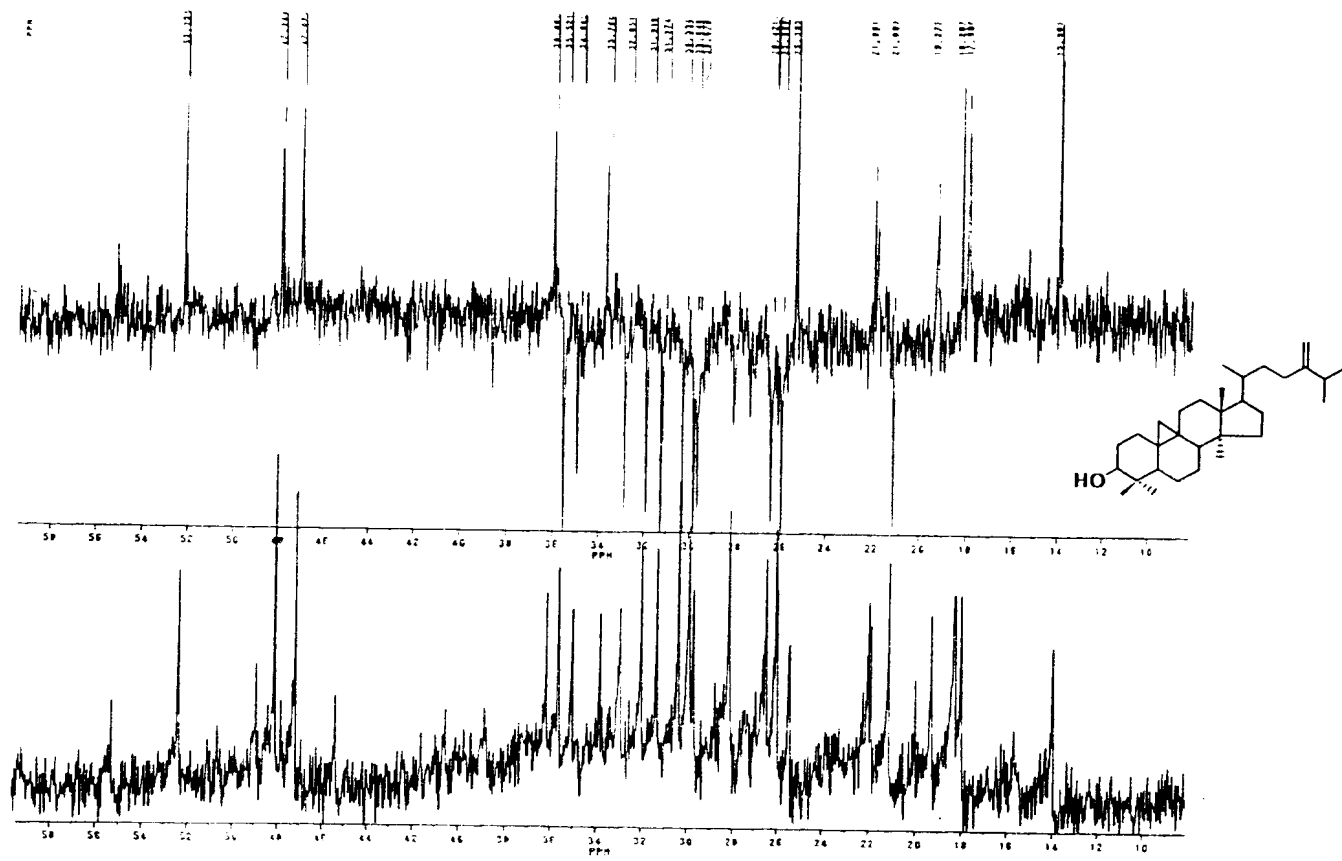


Figura 6a : Espectro de RMN de ^{13}C de HAL-3 (3), expandido entre 10 a 58 ppm, registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

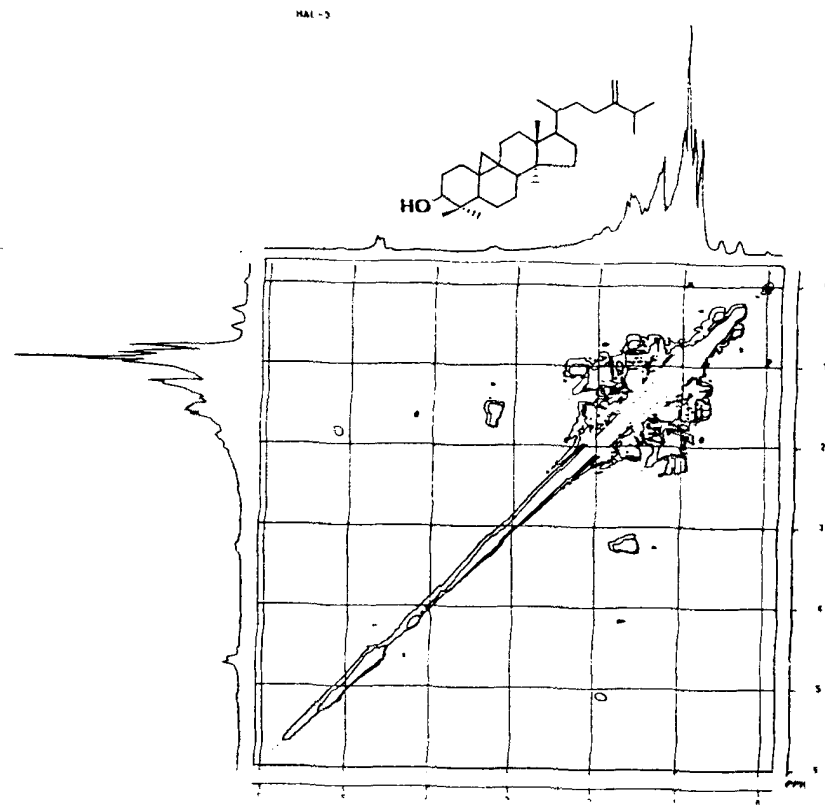


Figura 7 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HAL-3 (3) registrado em 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

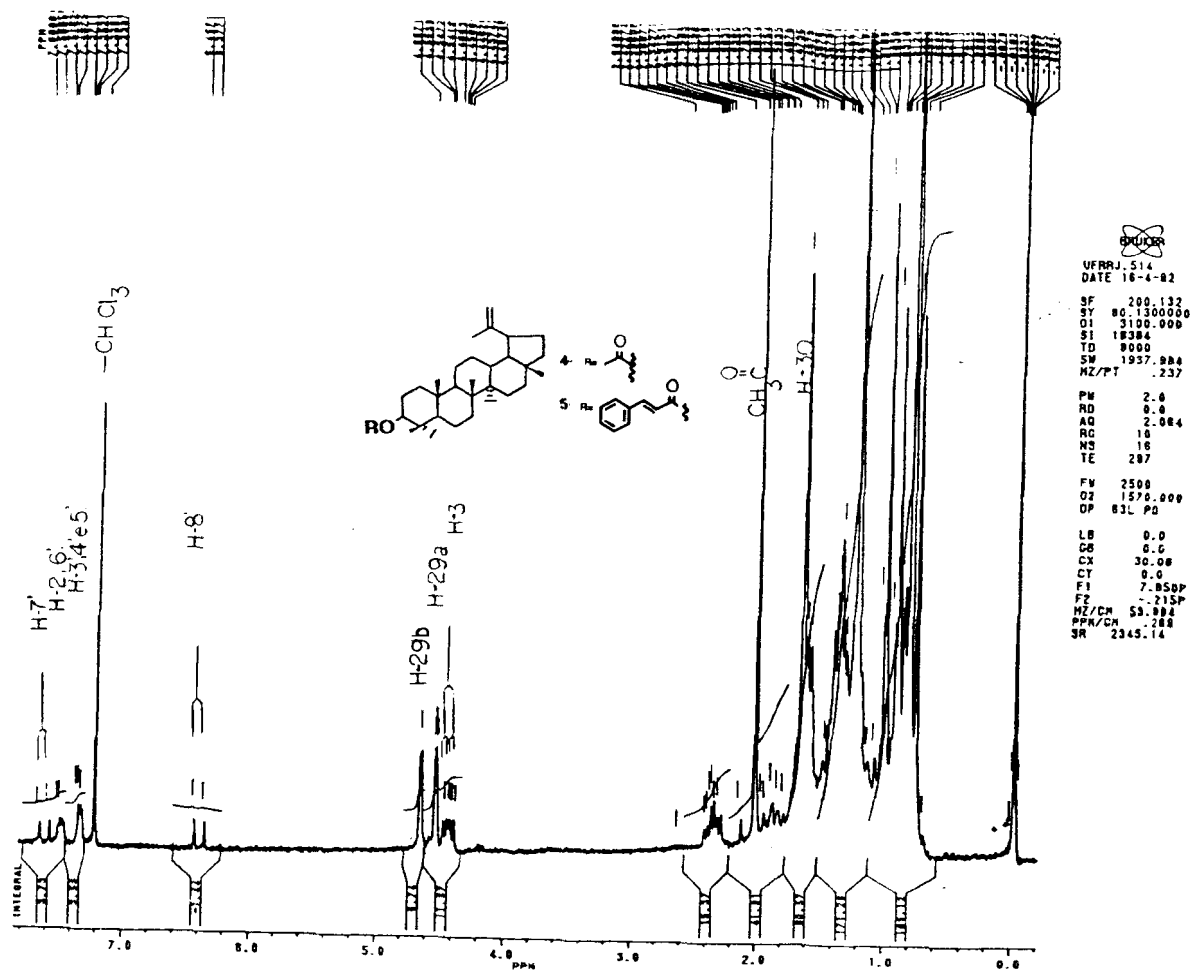


Figura 8 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-20/23-3 (4 + 5) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna

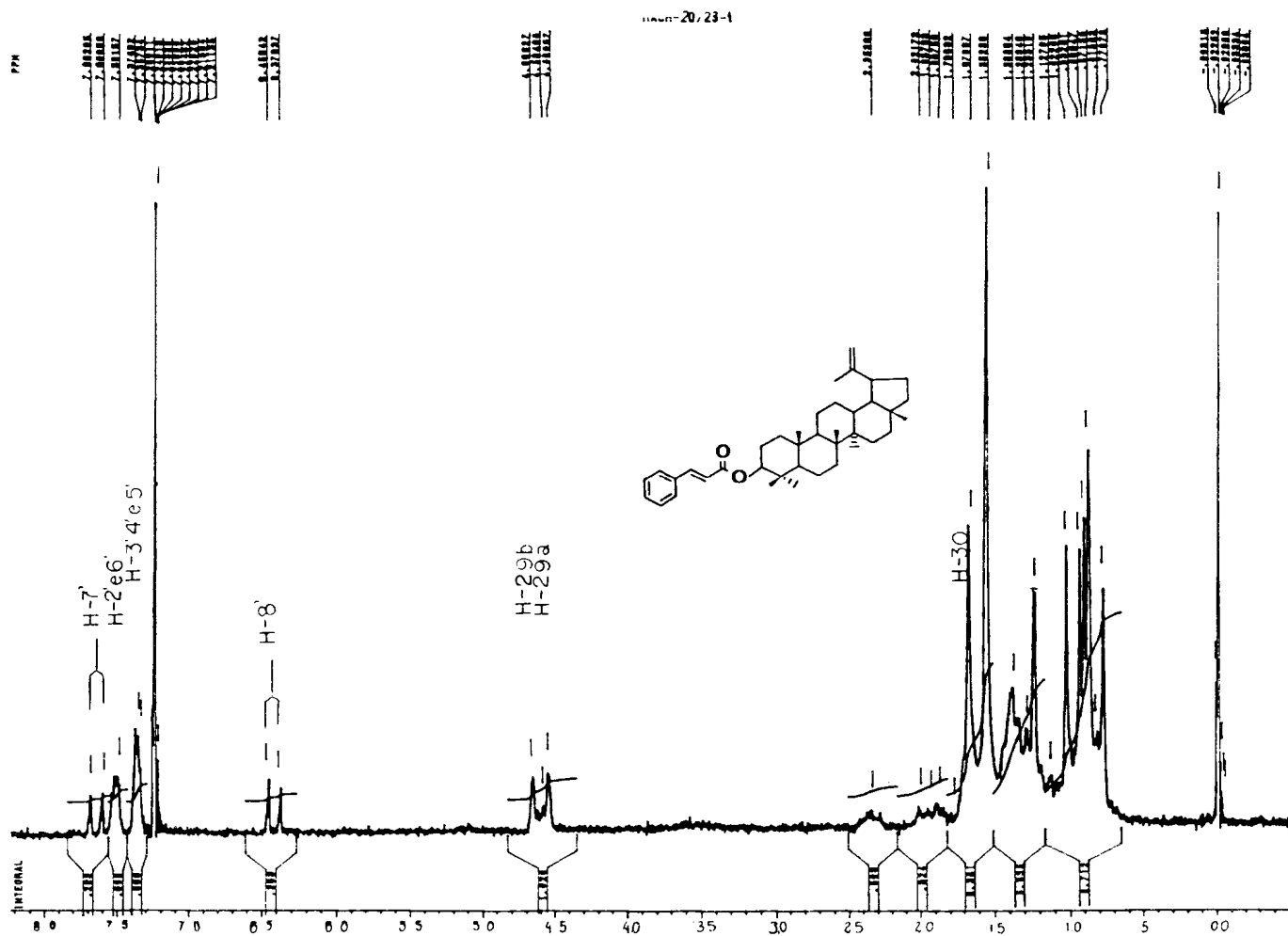


Figura 9 : Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de HACH-20/23-1 (5) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

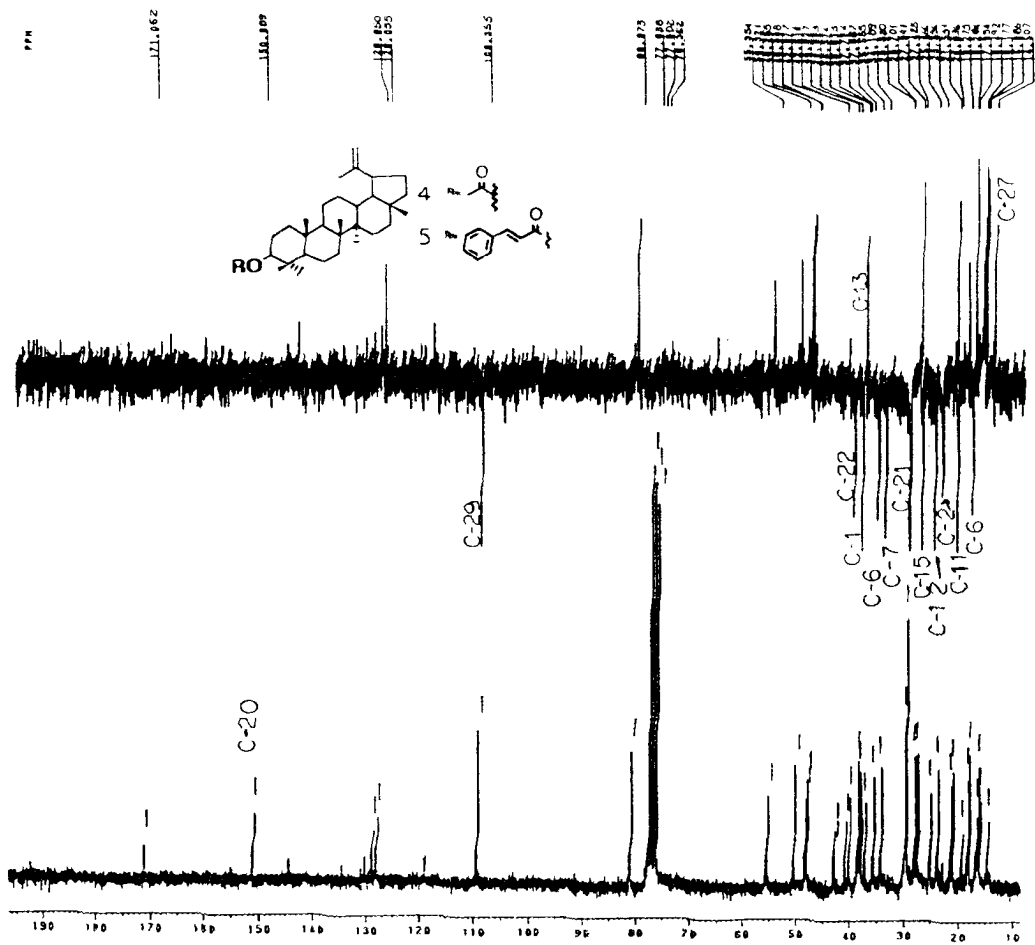


Figura 10 : Espectro de RMN de ^{13}C com DEPT [$(\theta = 135^\circ)$, 50,3 MHz] de HACH-20/23-3 (4 + 5) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

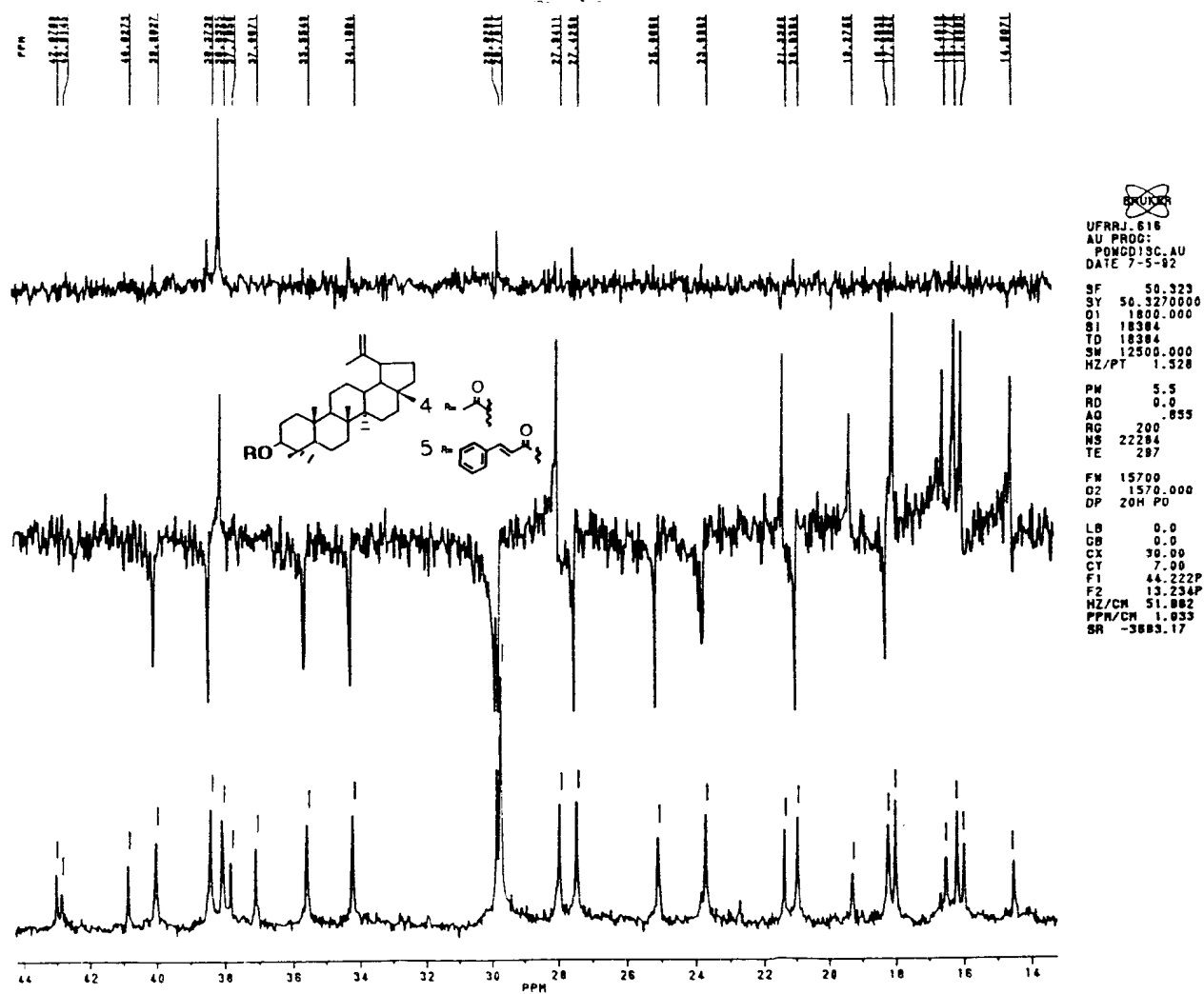


Figura 10a : Espectro expandido de RMN de ¹³C de HACH-20/23-3 (4 + 5) entre 14 a 44 ppm, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

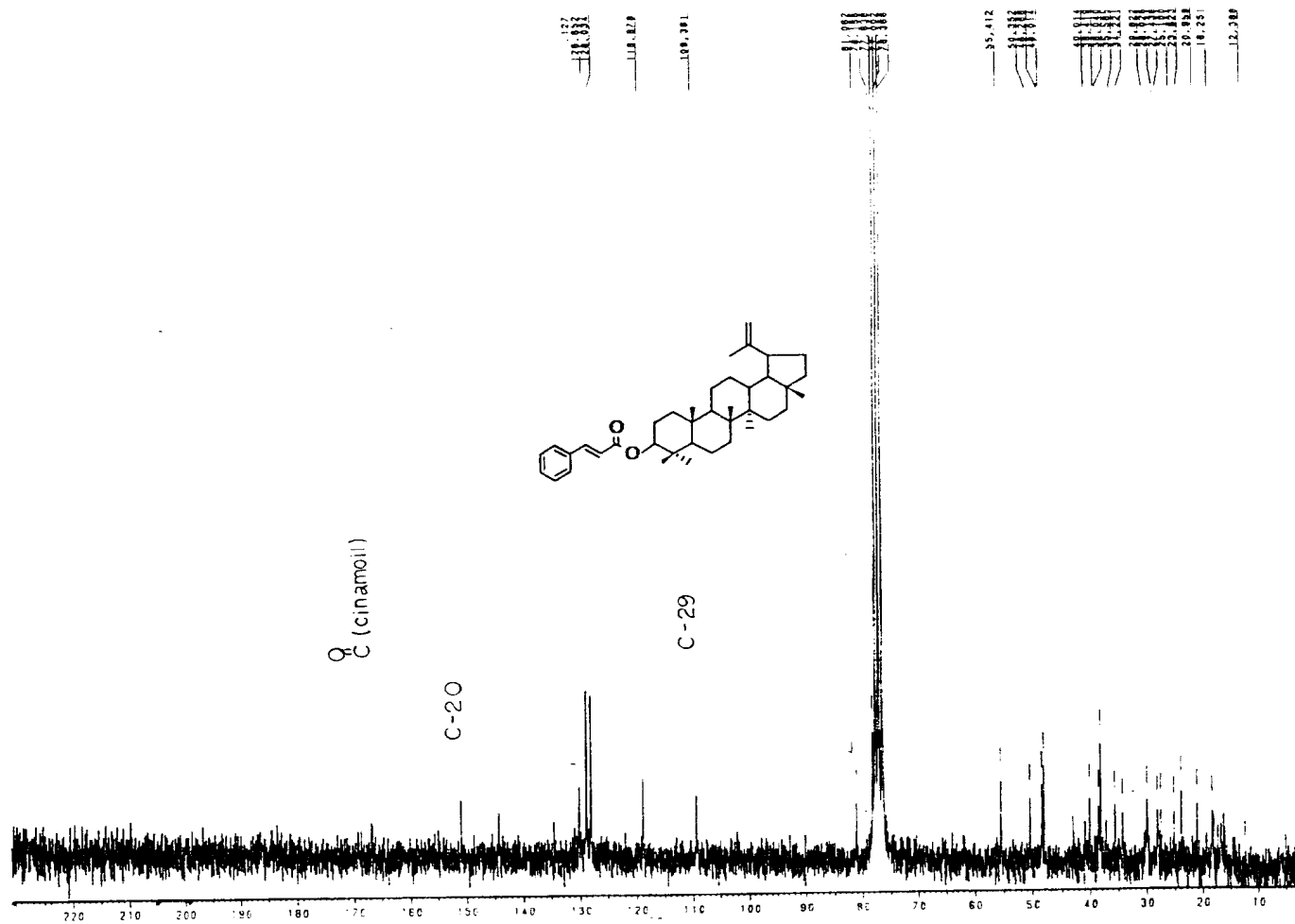


Figura 11 : Espectro de RMN de ^{13}C de HACH-20/23-1 (5) totalmente desacoplado (50,3 MHz), CDCl_3 e TMS como referência interna.

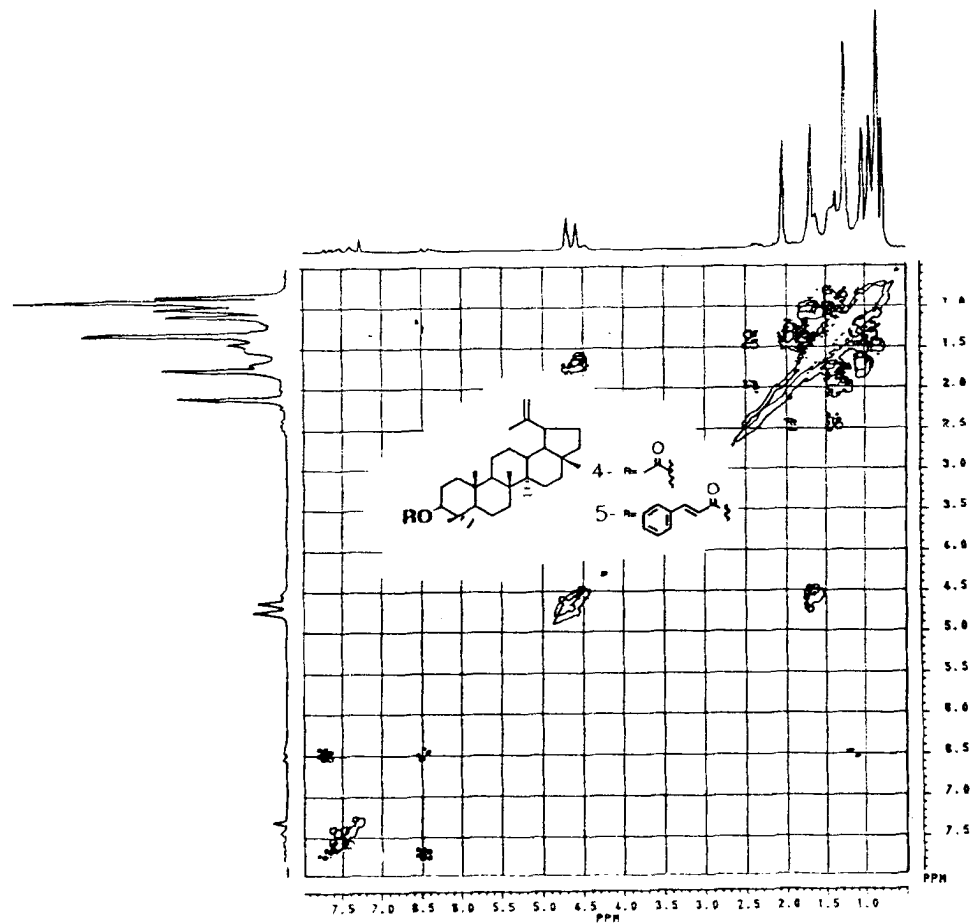


Figura 12 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HACH-20/23-3 (4 + 5) registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

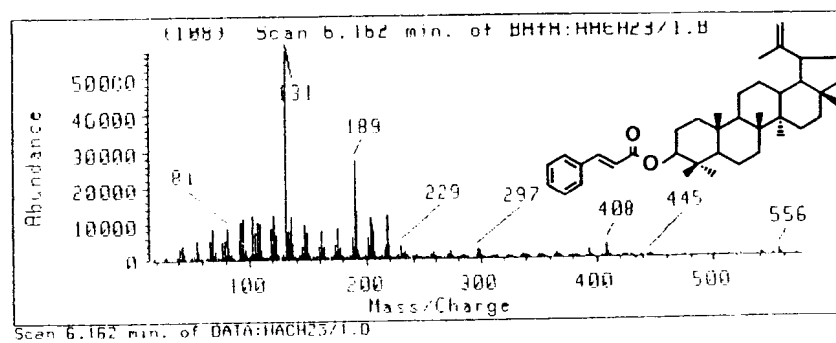


Figura 13 : Espectro de massas de HACH 20/23-1 (5).

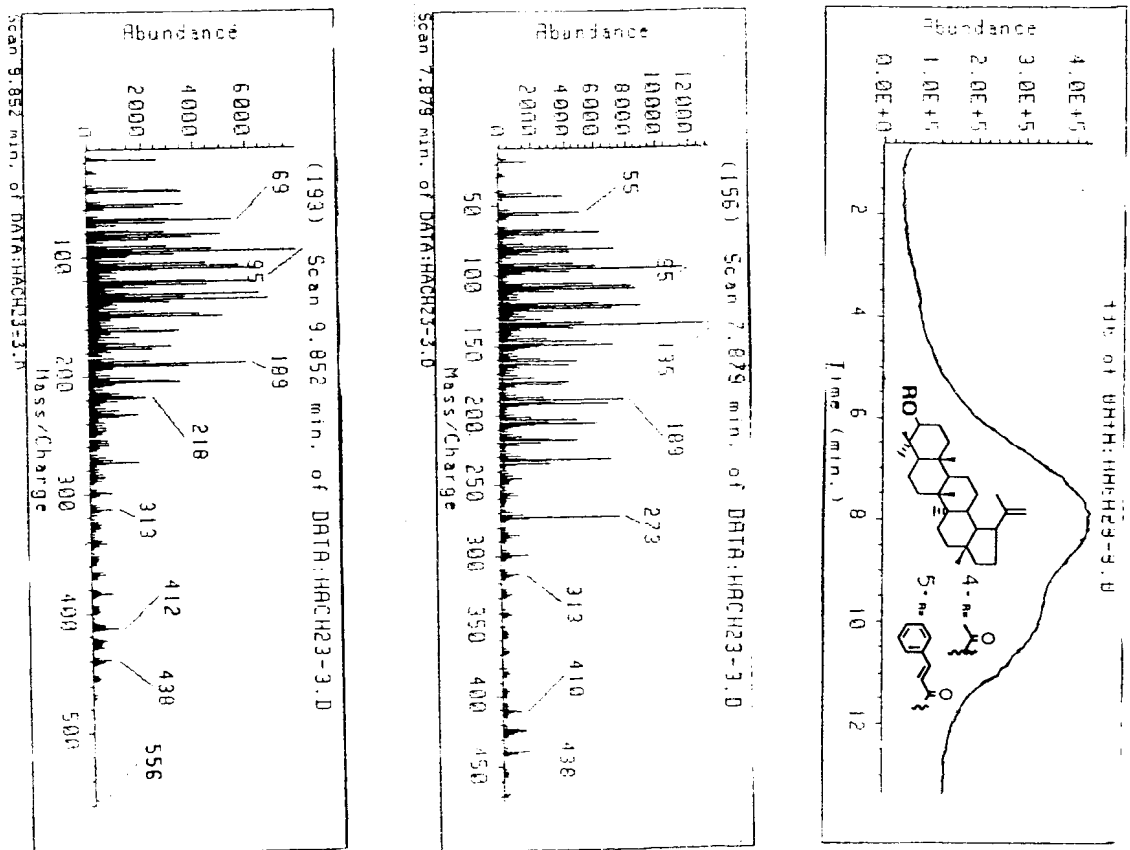
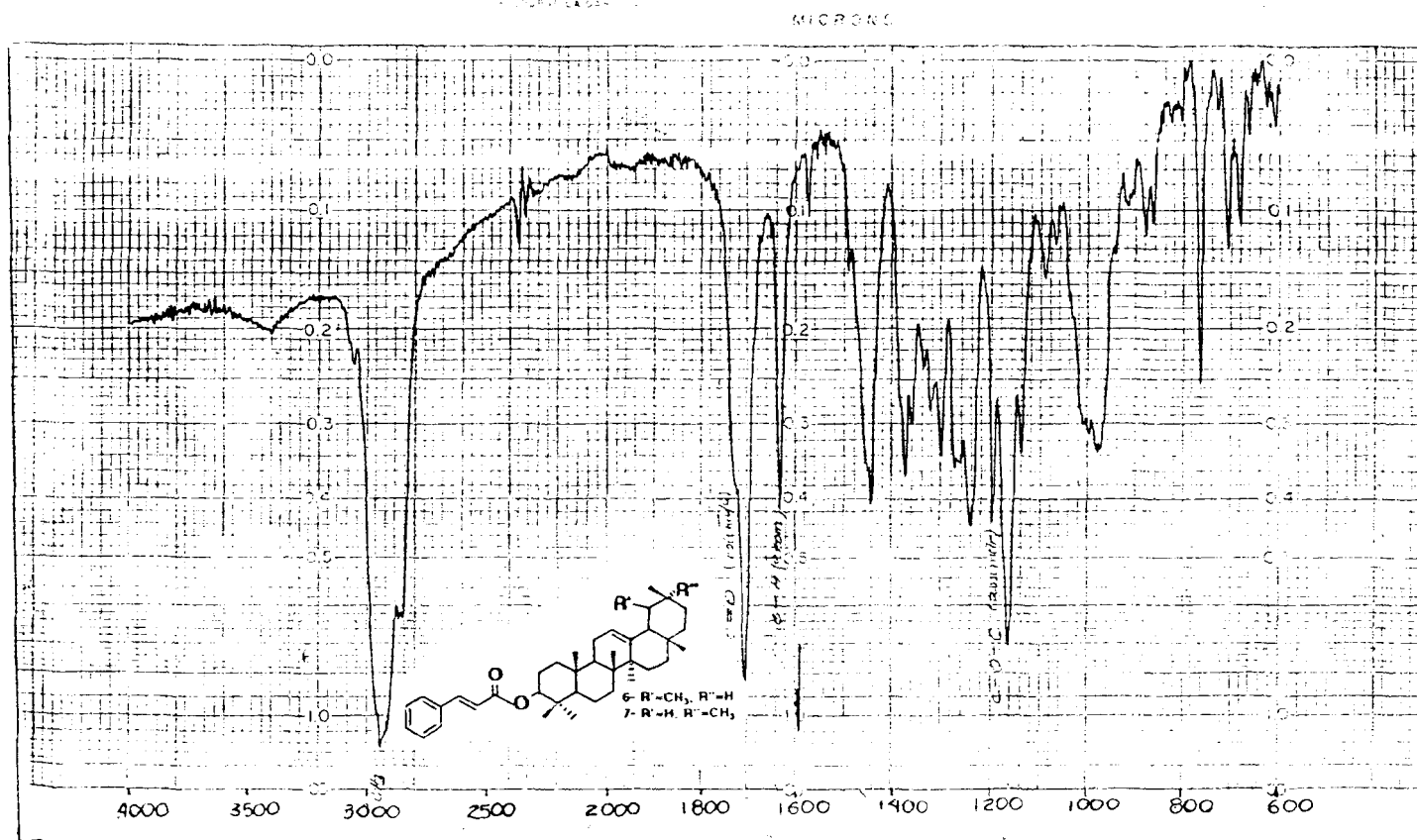


Figura 14 : Espectro de massas acoplado e cromatograma de gás obtidos em CG/MS de HACH-20/23-3 (4 + 5).



HAL-4	cp Cl ^o	ce. 24
Past. (RZ)	01/09/93	T. 65%
Nov. de Ind. S. C.	U ^o 129	T ₁₀₀ 2...

Figura 15 : Espectro de I.V. de HAL-4 (6 + 7) em KBr.

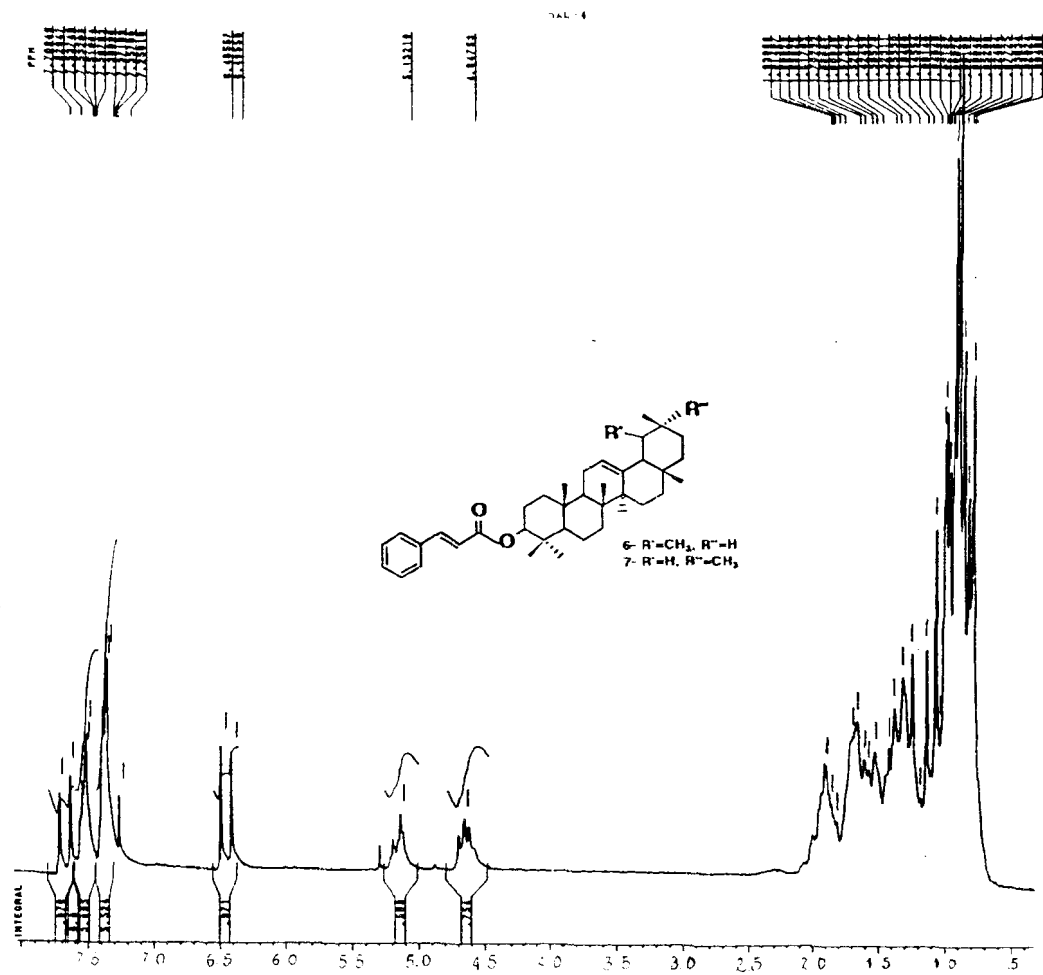


Figura 16 : Espectro de RMN de 1H (200 MHz) de HAL-4 (6 + 7) em $CDCl_3$ e TMS como referência interna.

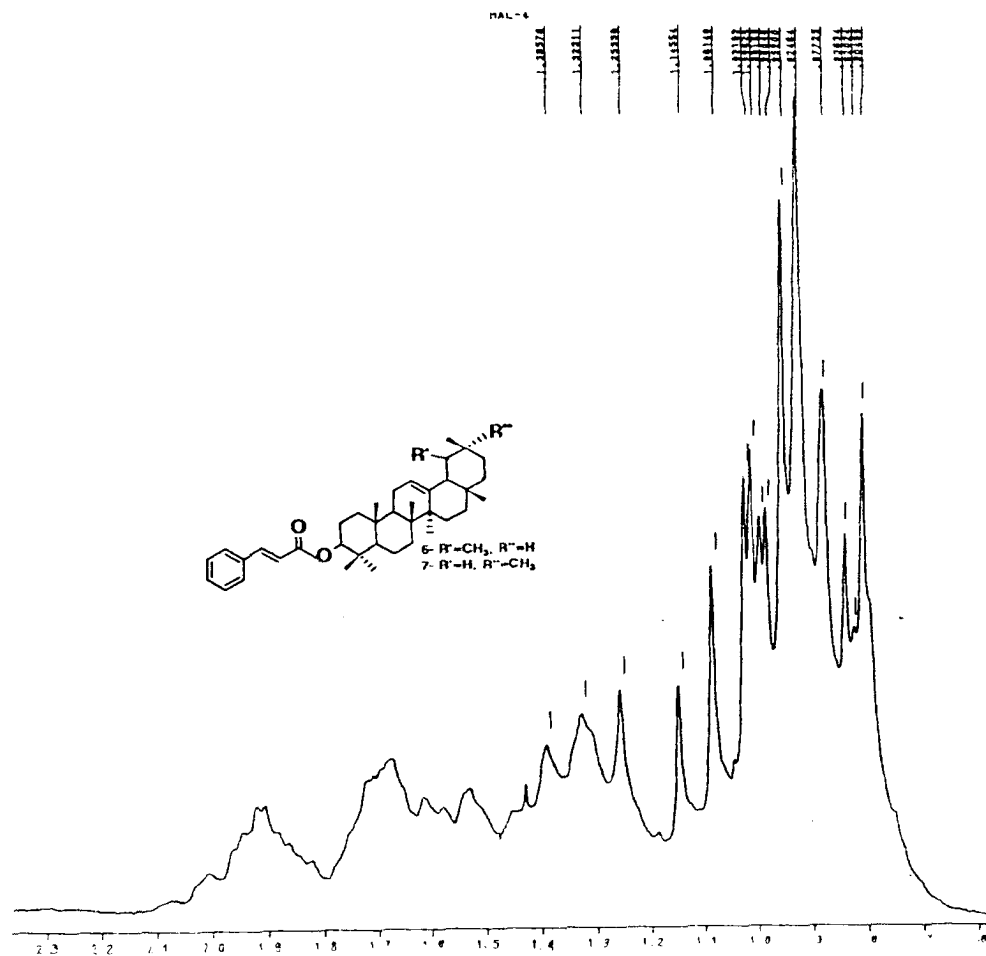


Figura 16a : Espectro expandido de RMN de ¹H de HAL-4 (6 + 7) entre 0,6 a 2,4 δ, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

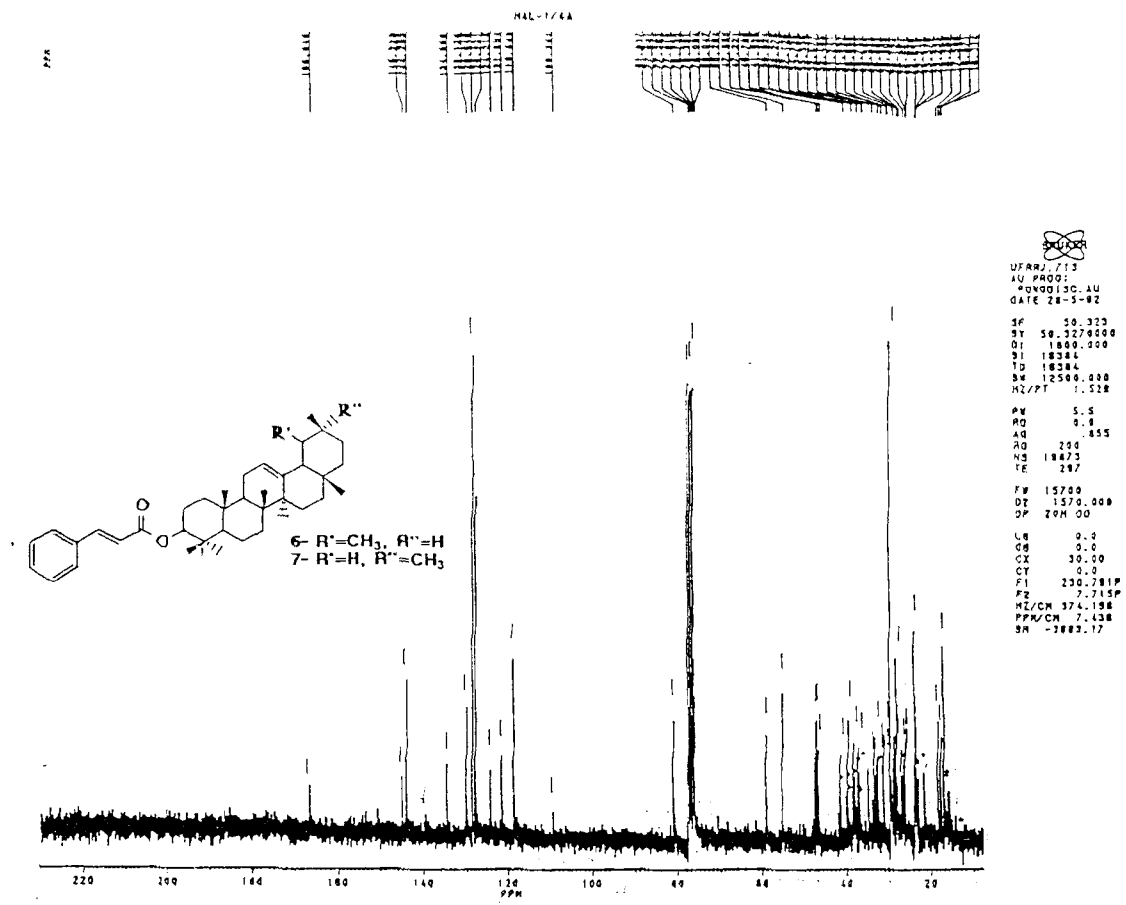


Figura 17 : Espectro de RMN de ¹³C (P.N.D.) totalmente desacoplado de HAL-4 (6 + 7) em CDCl₃ e TMS como referência interna.

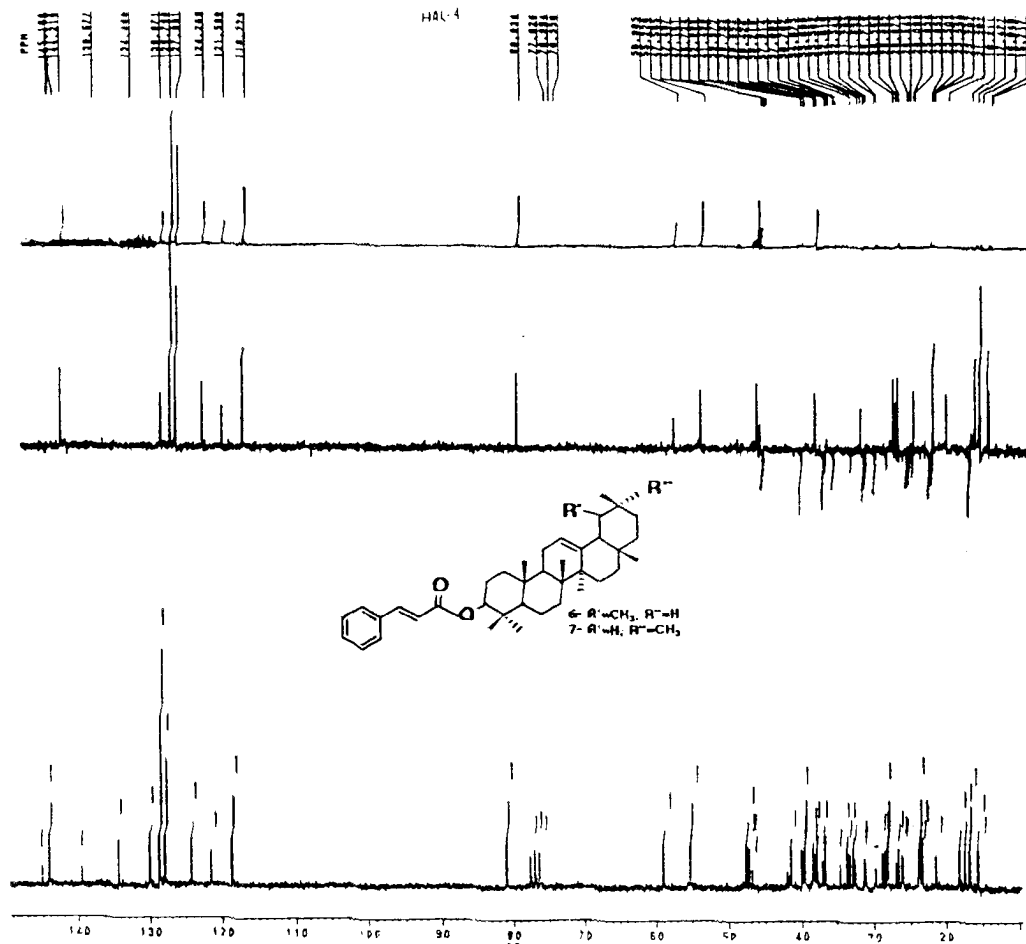


Figura 17a : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com experiências DEPT [($\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$) 50,3 MHz] de HAL-4 (6 + 7) registrado em $CDCl_3$ e TMS como referência interna.

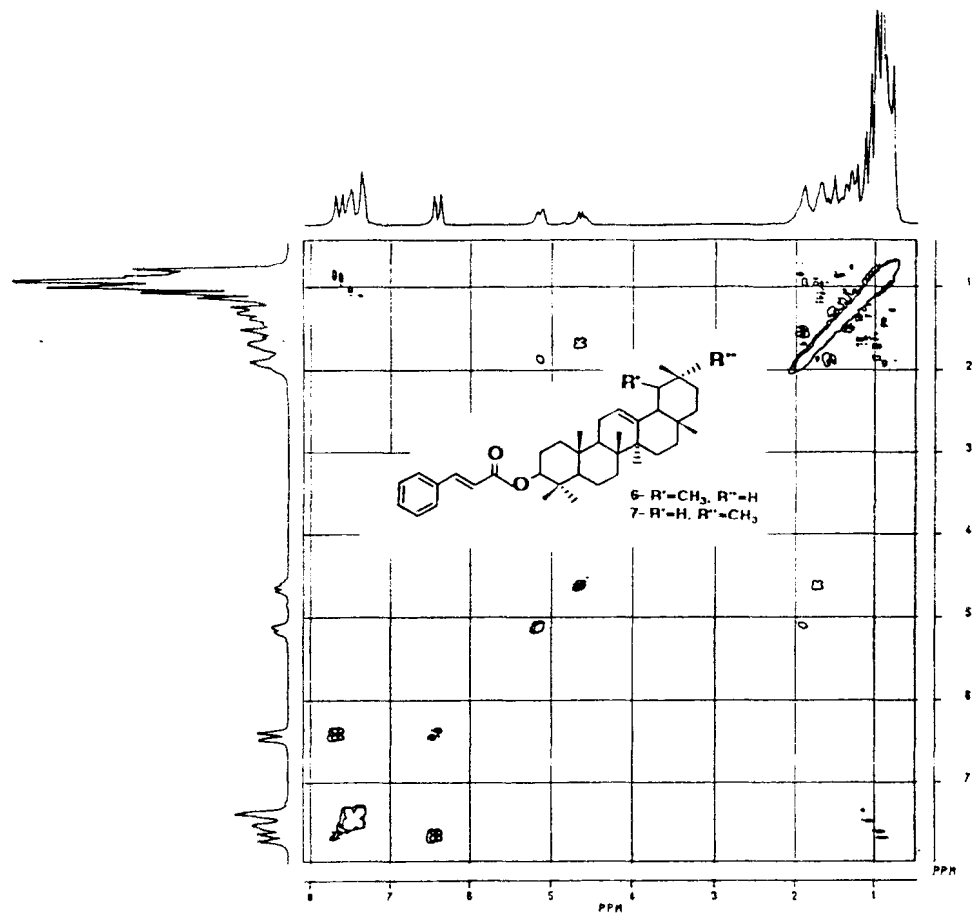


Figura 18 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HAL-4 (6 + 7), em CDCl_3 e TMS como referência interna.

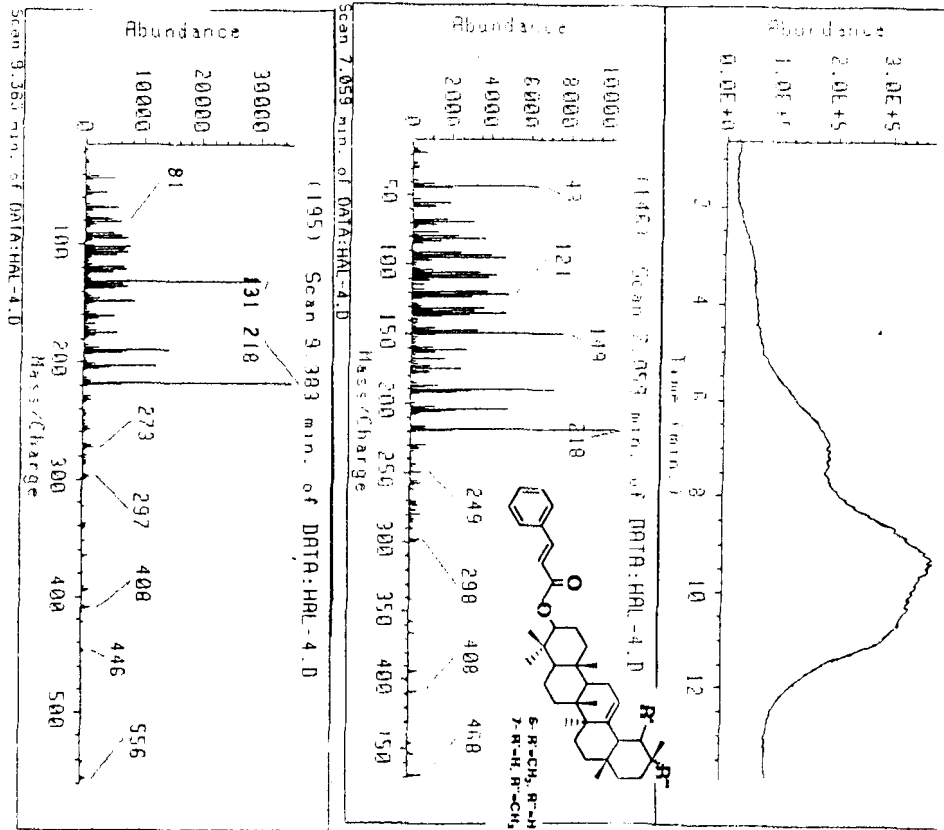
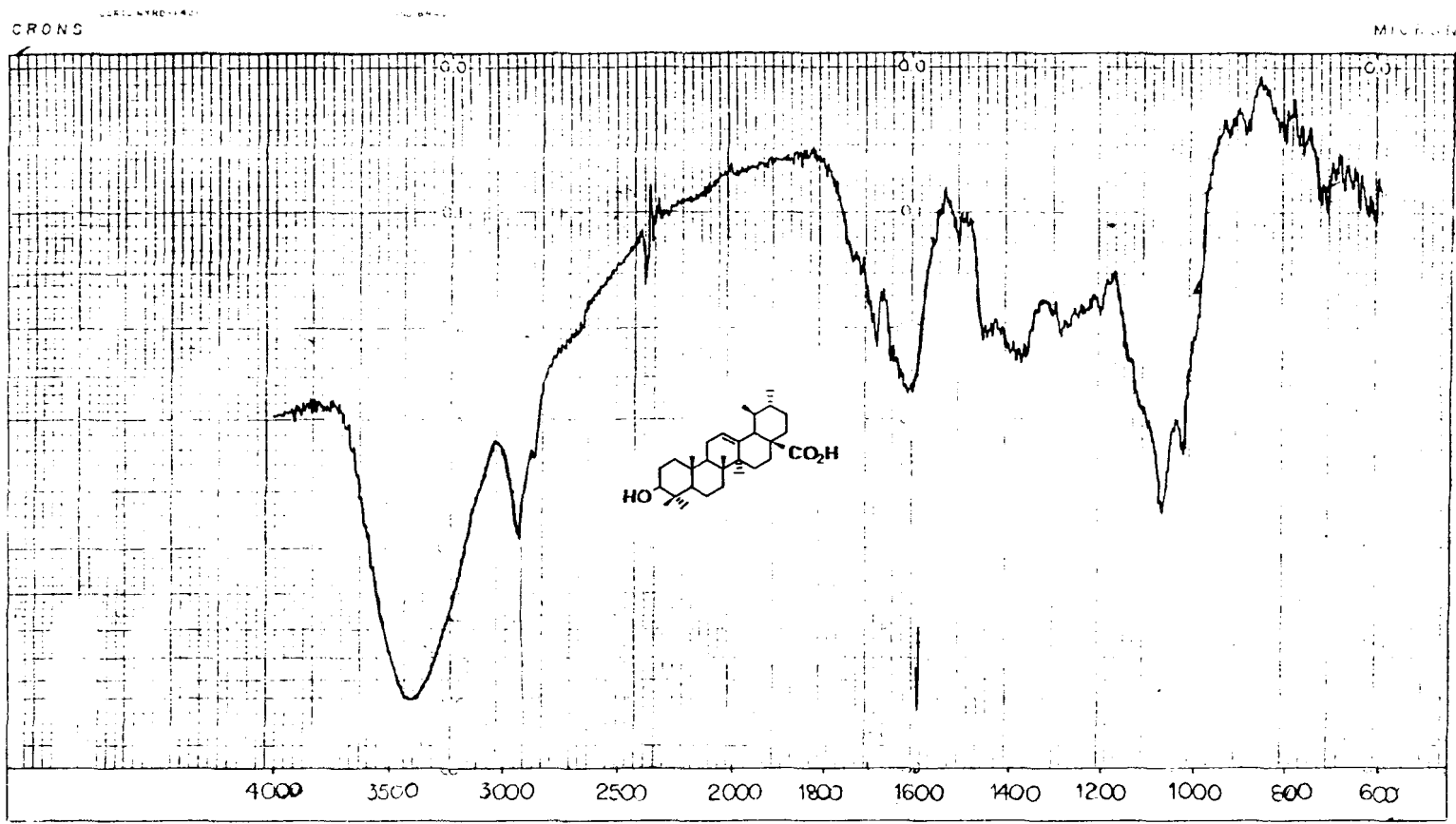


Figura 19 : Espectro de massas HAL-1/4 (6 + 7) e cromatograma de gás obtidos em CG/MS.



HAF *op* (li) *OC* - 26
 Post (KBr) 18/8/91 T - 50%
 1.1.1. 11.º 274 *T_{max}* - 50.41

Figura 20 : Espectro de I.V. de HAFM-1 (8) em KBr.

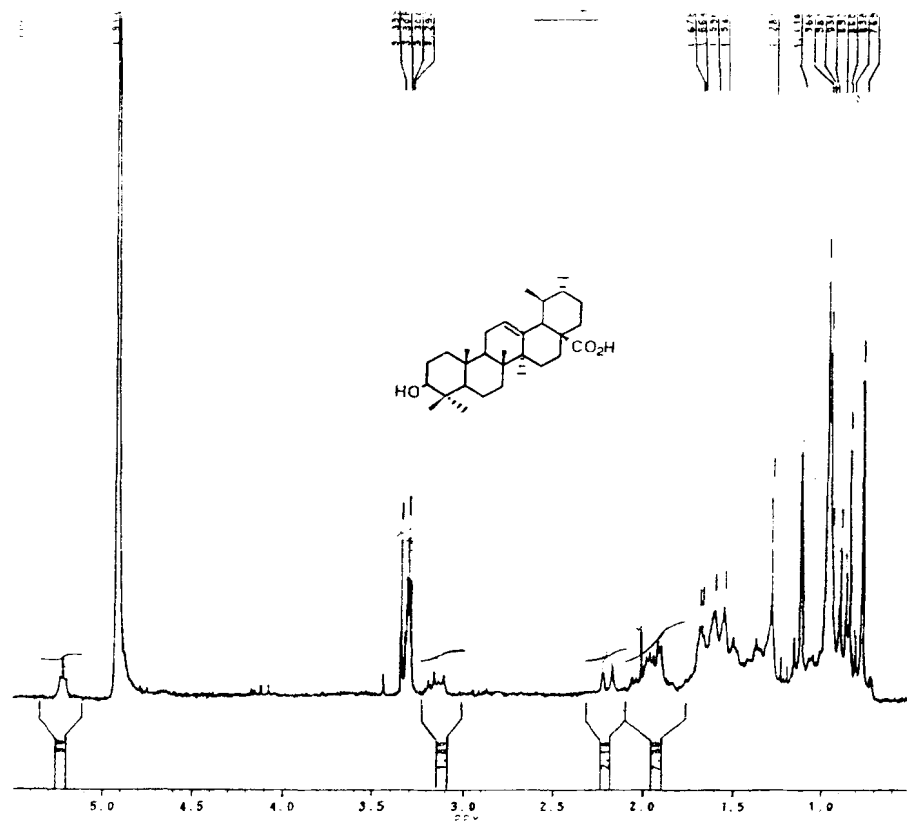


Figura 21 : Espectro de RMN de ^1H de HAFM-1 (**8**), registrado a 200 MHz em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

File:GER2909 Ident:2198 Acq:29-SEP-1993 10:33:54 +1:21:26 Cal:PFK2909
AutoSpecQ EI+ Magnet BpI:16389605 TIC:185111792 Flags:HALL

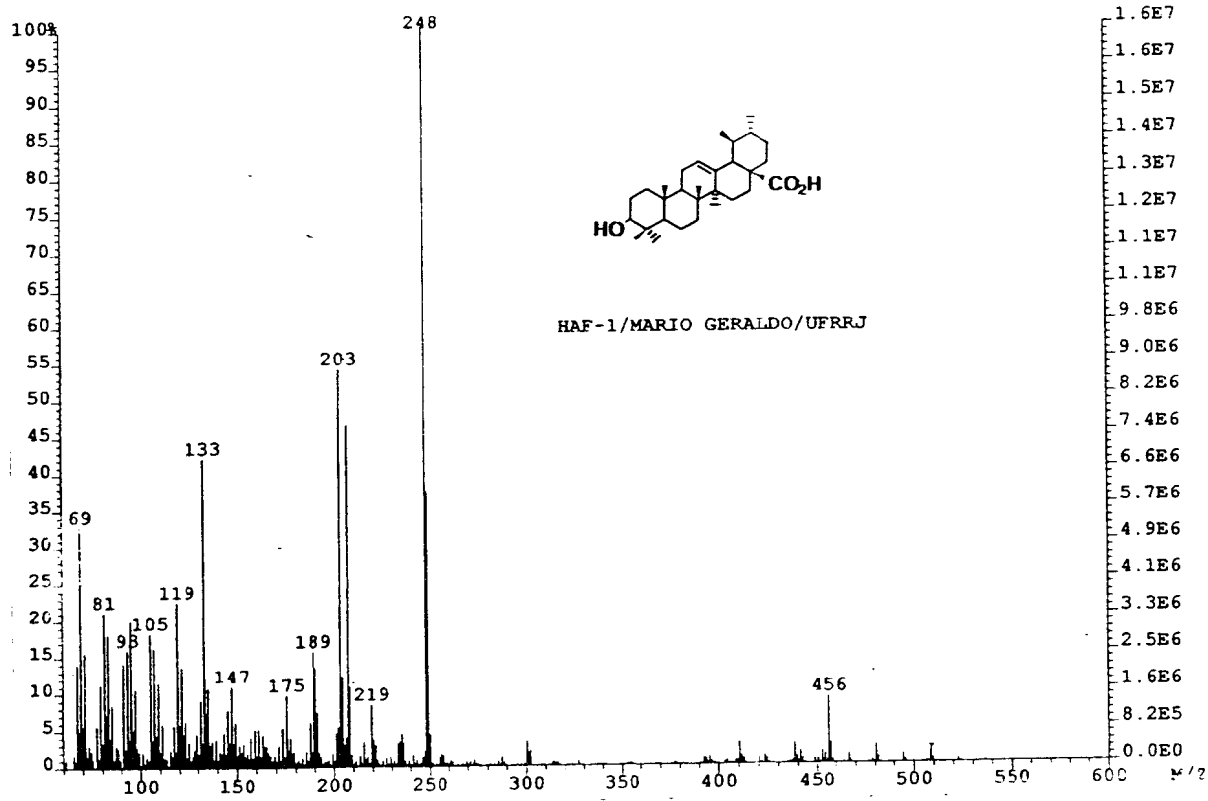


Figura 23 : Espectro de massas de HAFM-1 (8).

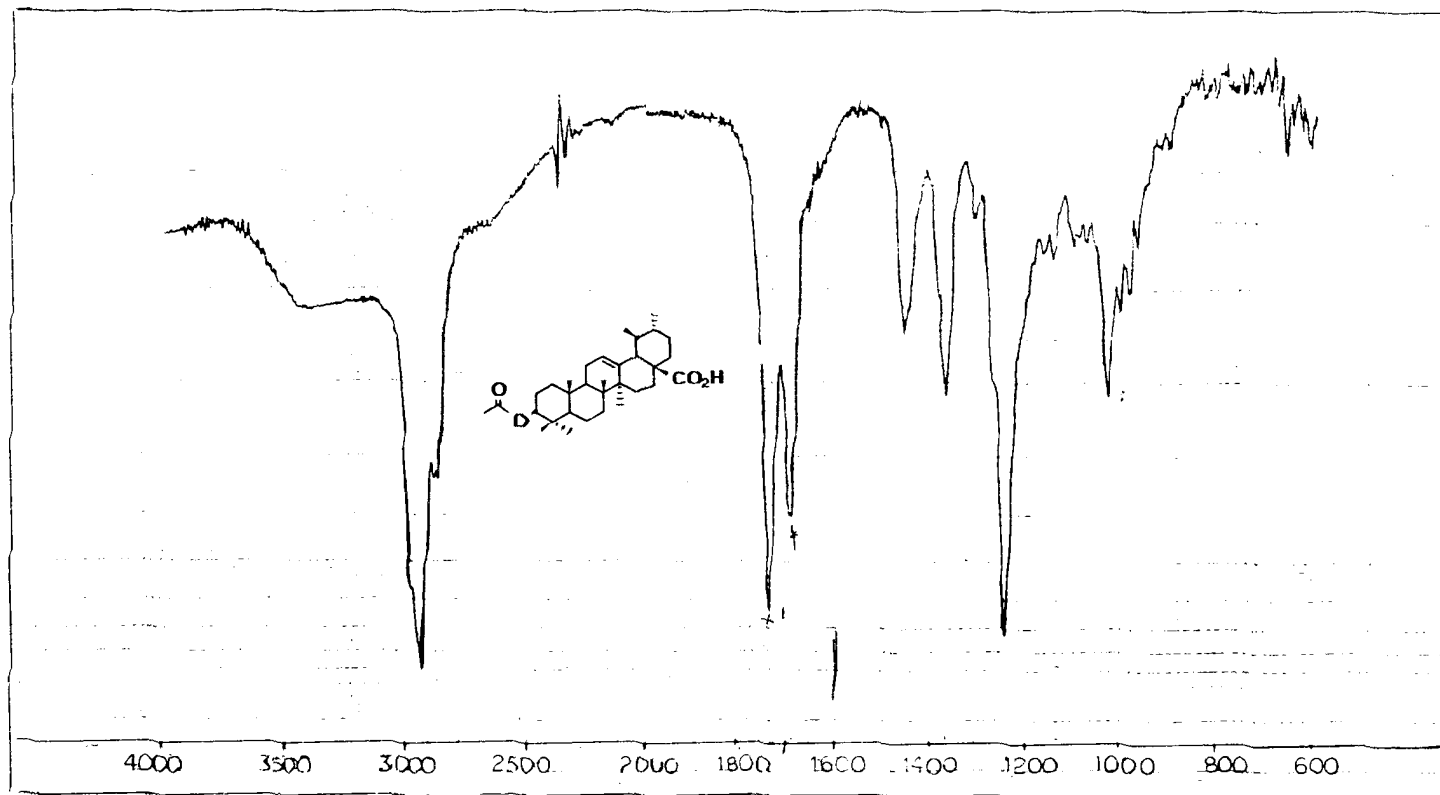


Figura 24 : Espectro de I.V. de HAFM-Ac (8a) em KBr.

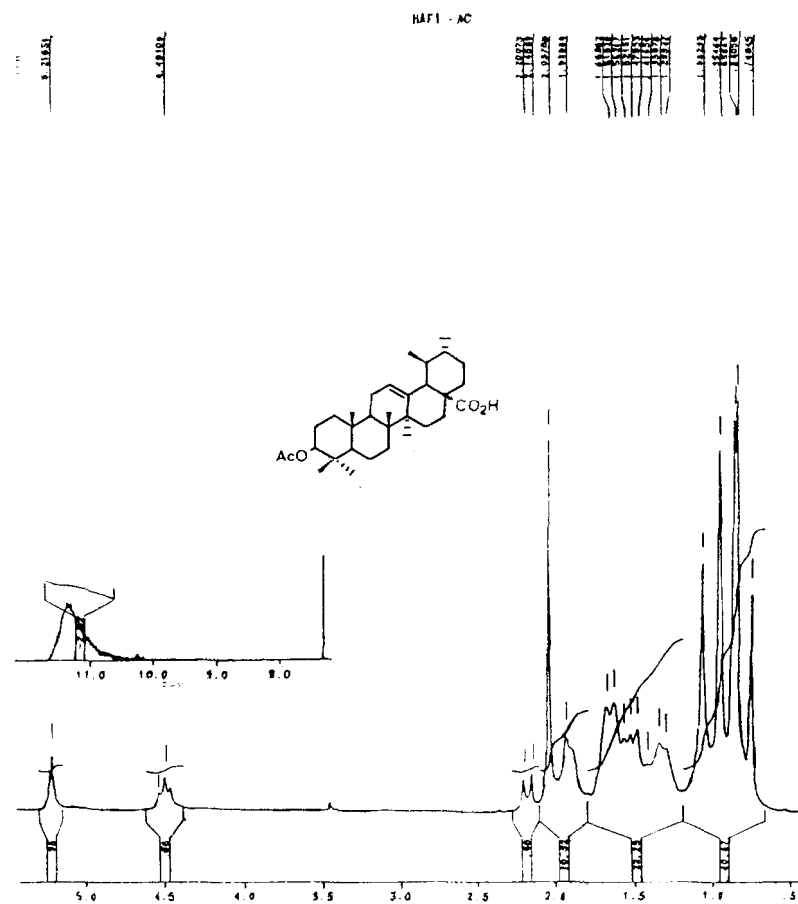


Figura 25 : Espectro de RMN de ¹H de HAFM-Ac (**8a**), registrado a 200 MHz, em CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

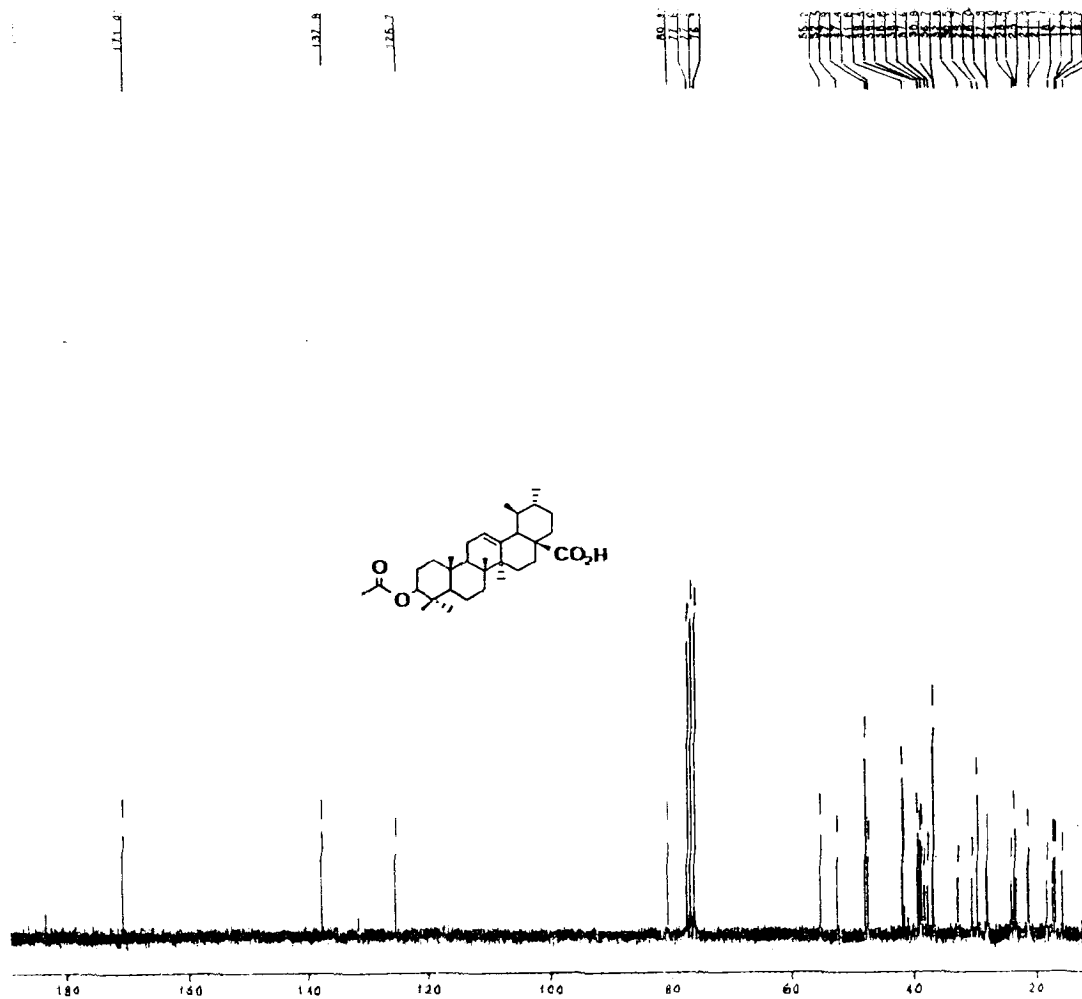


Figura 26 : Espectro de RMN de ^{13}C de HAFM-Ac (8a) totalmente desacoplado registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

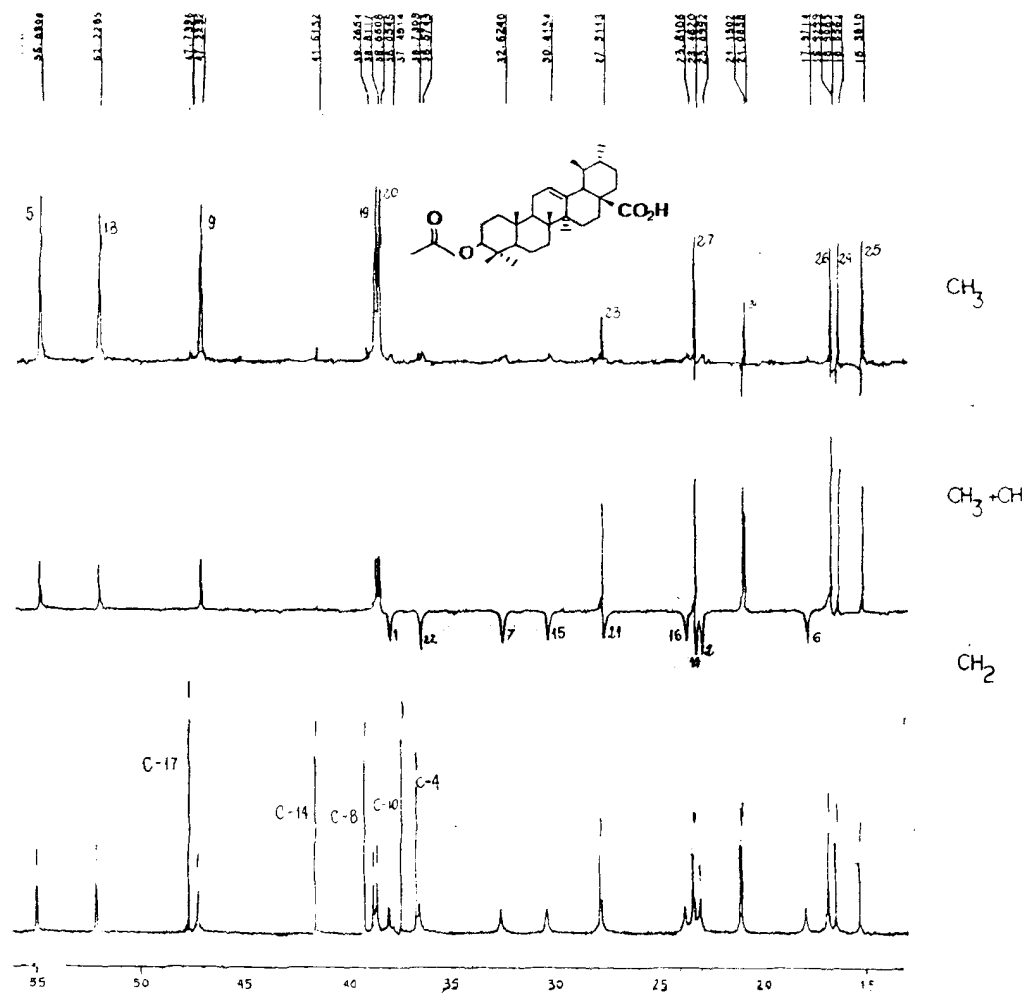


Figura 27 : Espectro expandido de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com experiências de DEPT [$(\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ)$, 50,3 MHz] de HAFM-Ac (**8a**), entre 15 a 55,8 ppm registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

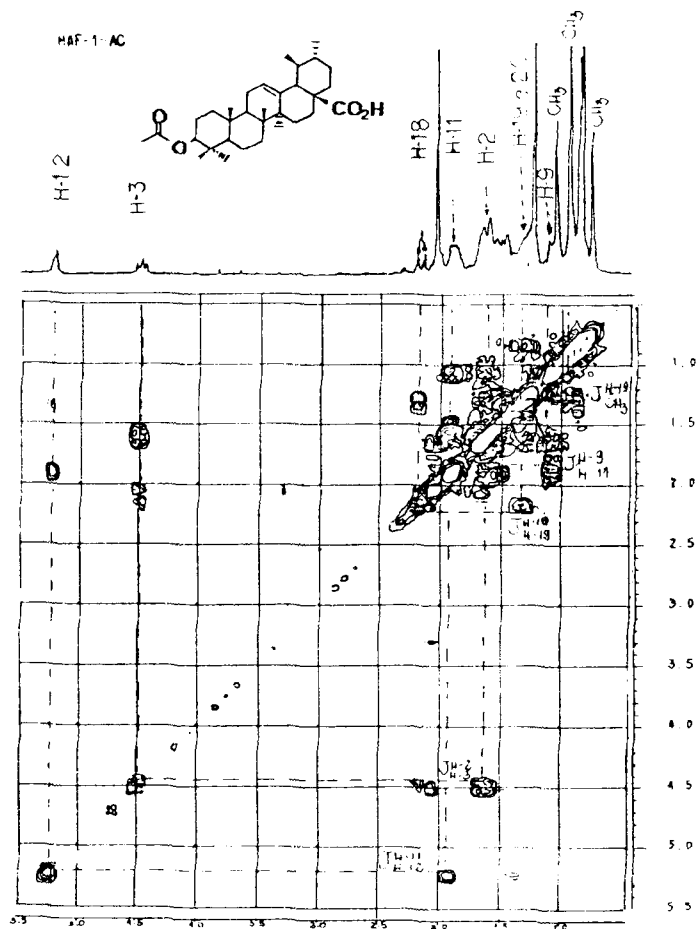


Figura 28 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de HAFM-Ac (**8a**), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

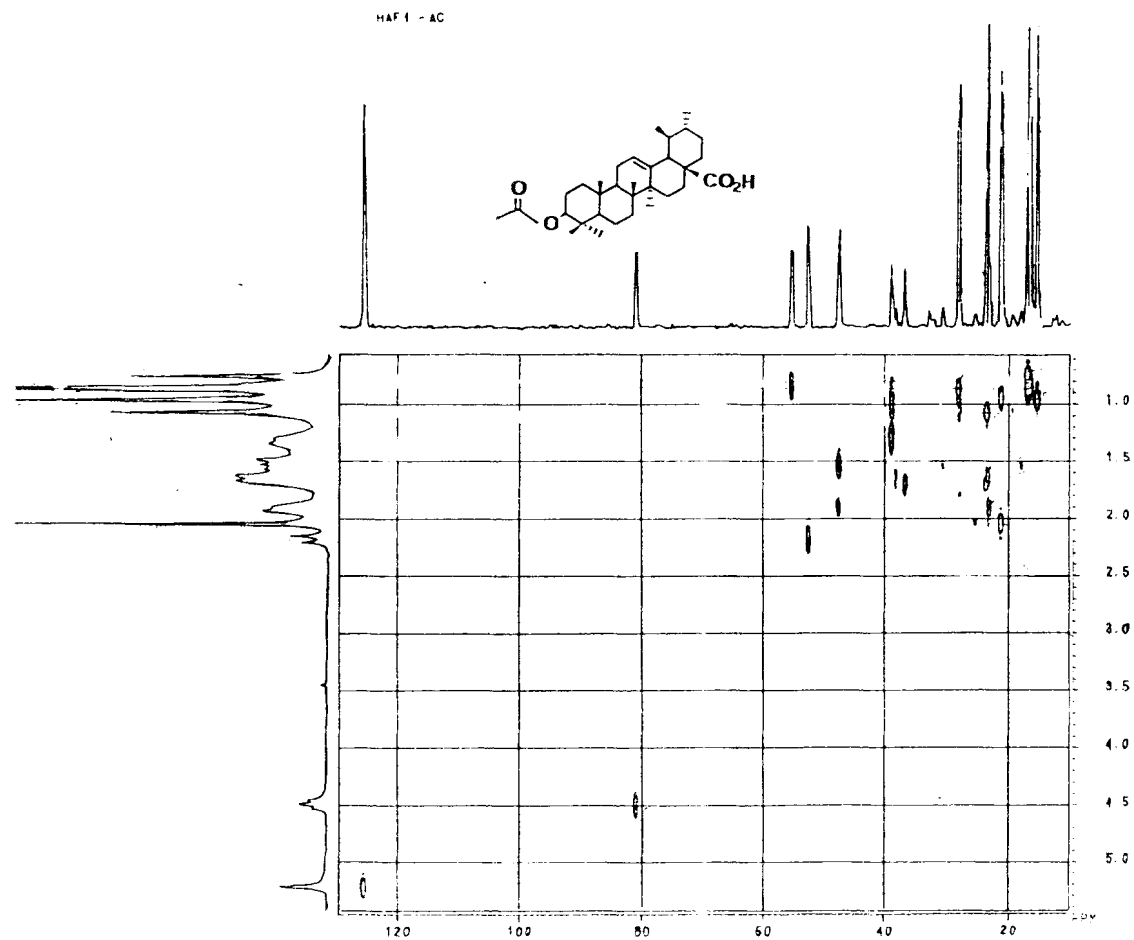


Figura 29 : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono-13 ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{C-H}}$ de HAFM-Ac (**8a**), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

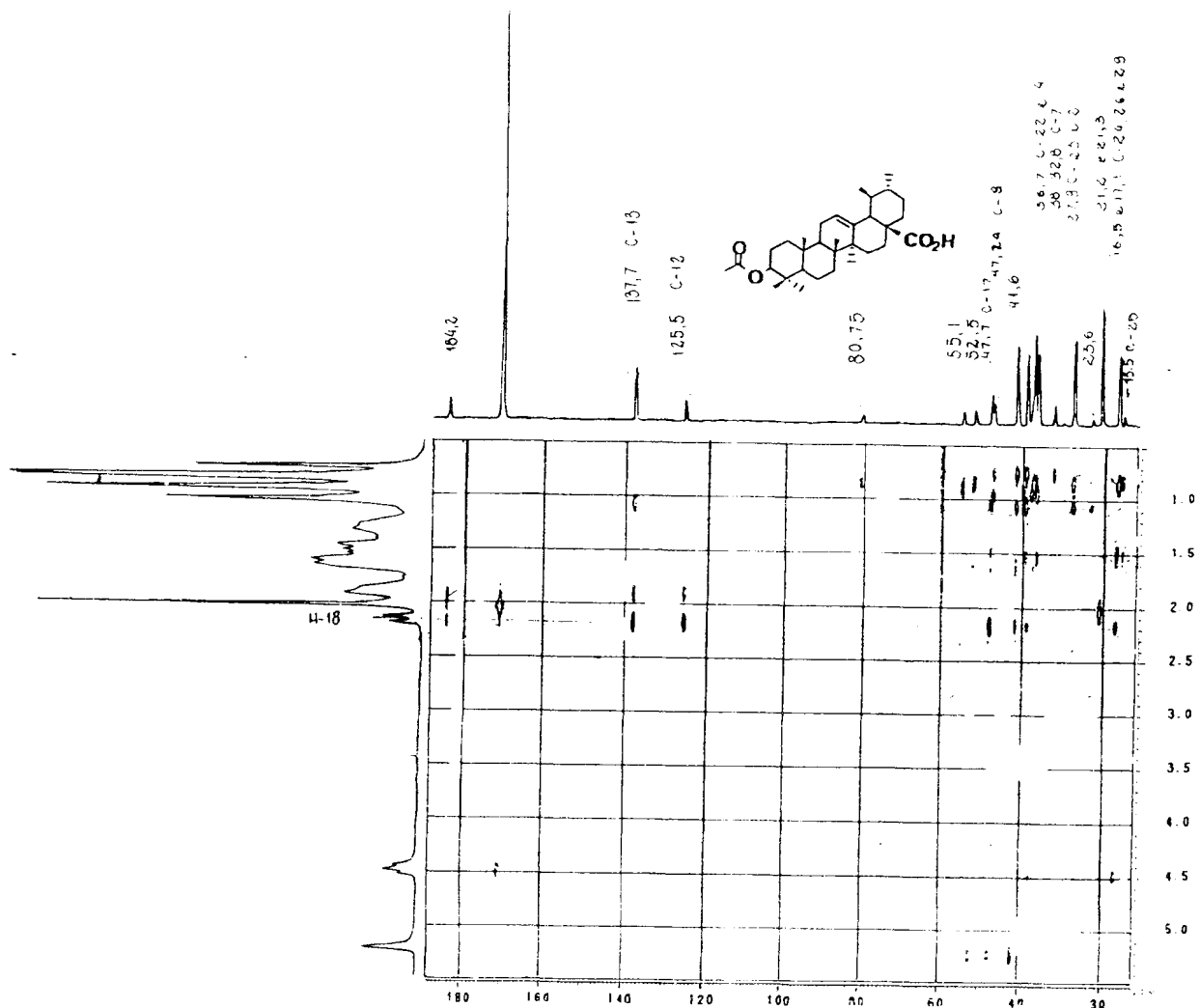


Figura 30 : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear de hidrogênio-carbono-13 [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e $n = 3$)] de HAFM-Ac (**8a**), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

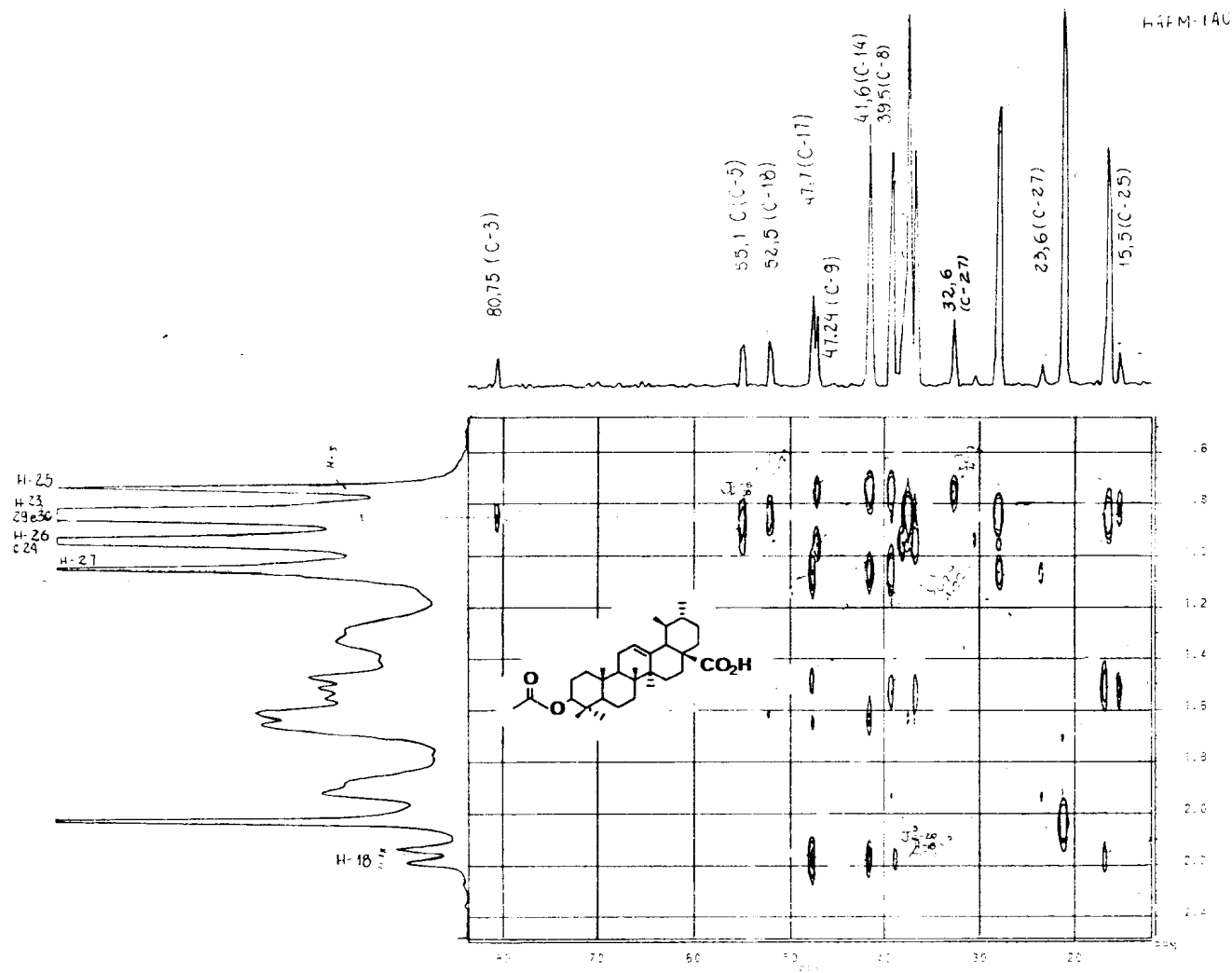


Figura 30a : Espectro expandido bidimensional (2D) de correlação heteronuclear hidrogênio-carbono [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e 3)] de HAFM-Ac (**8a**) entre 15 a 83 ppm registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna

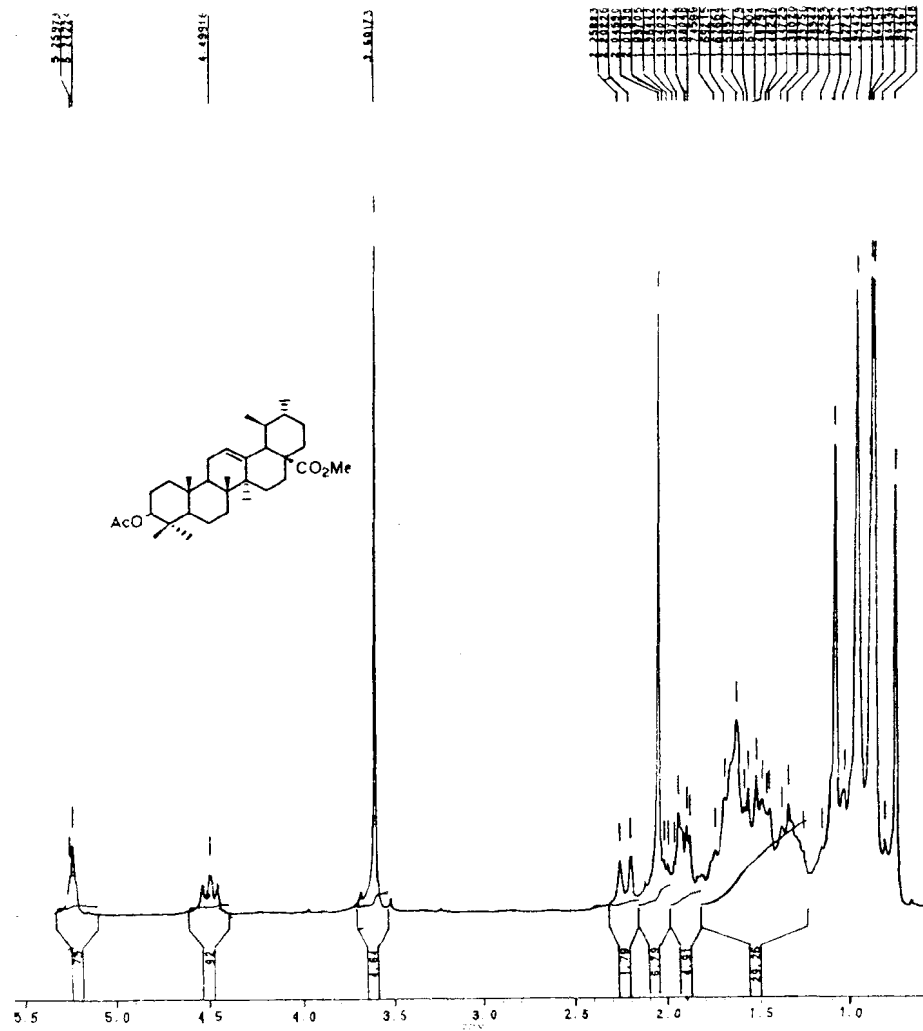


Figura 31 : Espectro de RMN de ¹H de HAFM-Ac-Me (**8b**), registrado a 200 MHz e CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

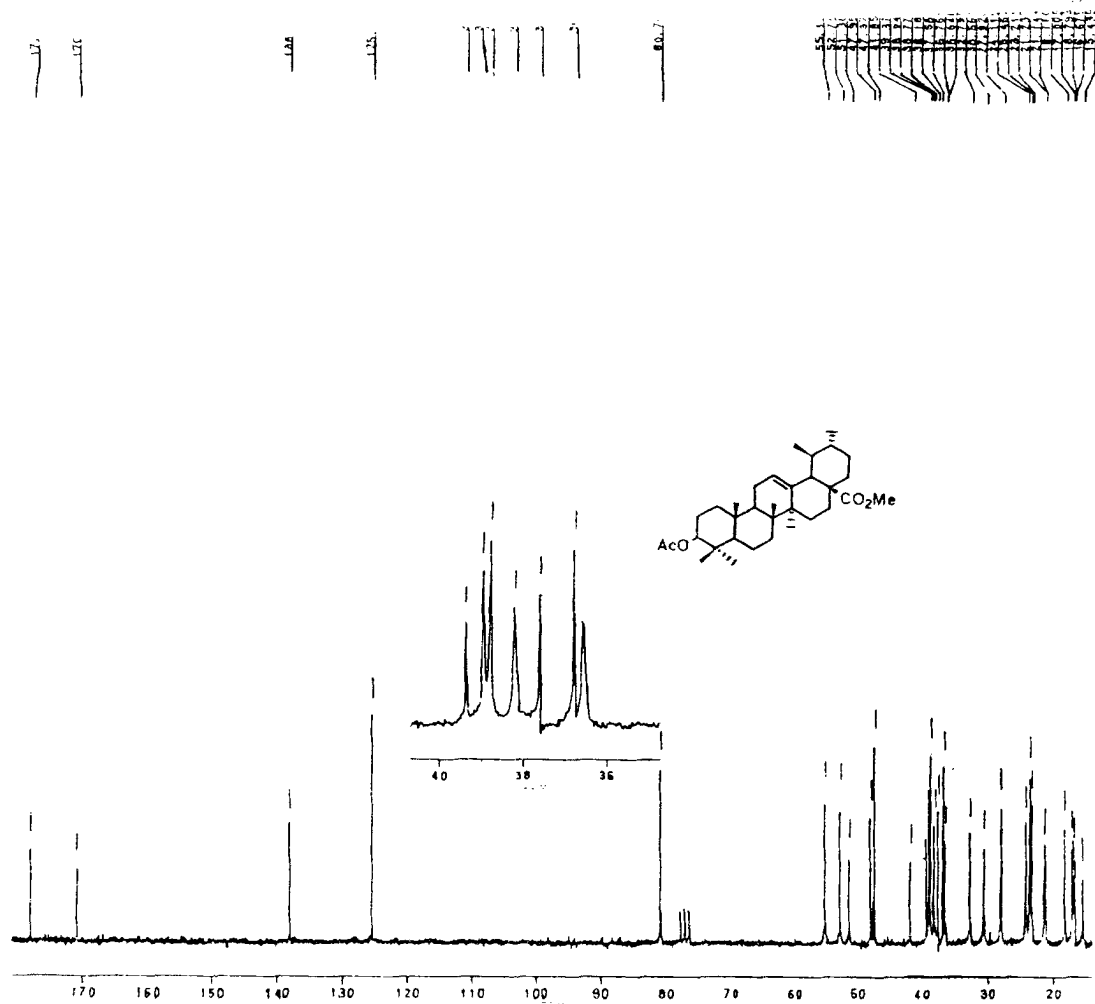


Figura 32 : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado [P.N.D. (50,3 MHz)] de HAFM-Ac Me (**8b**) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

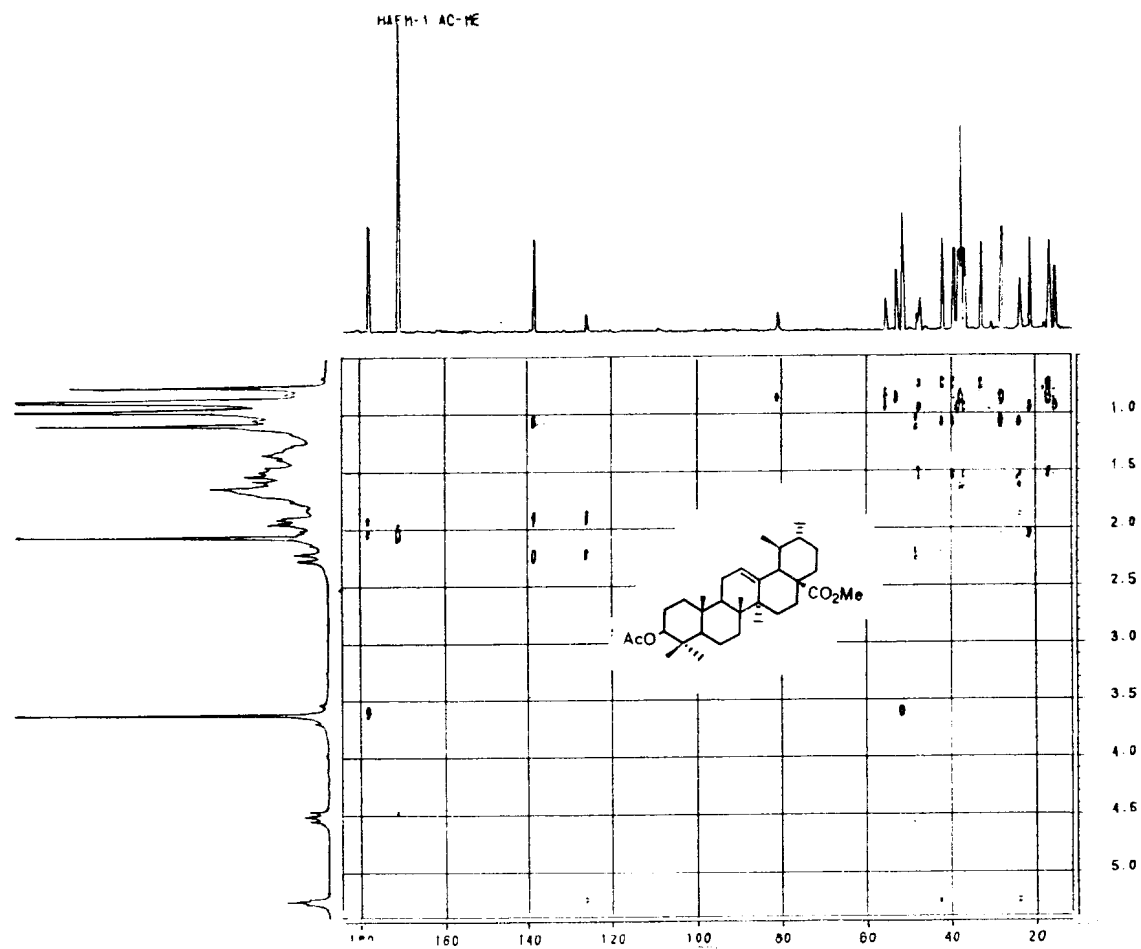
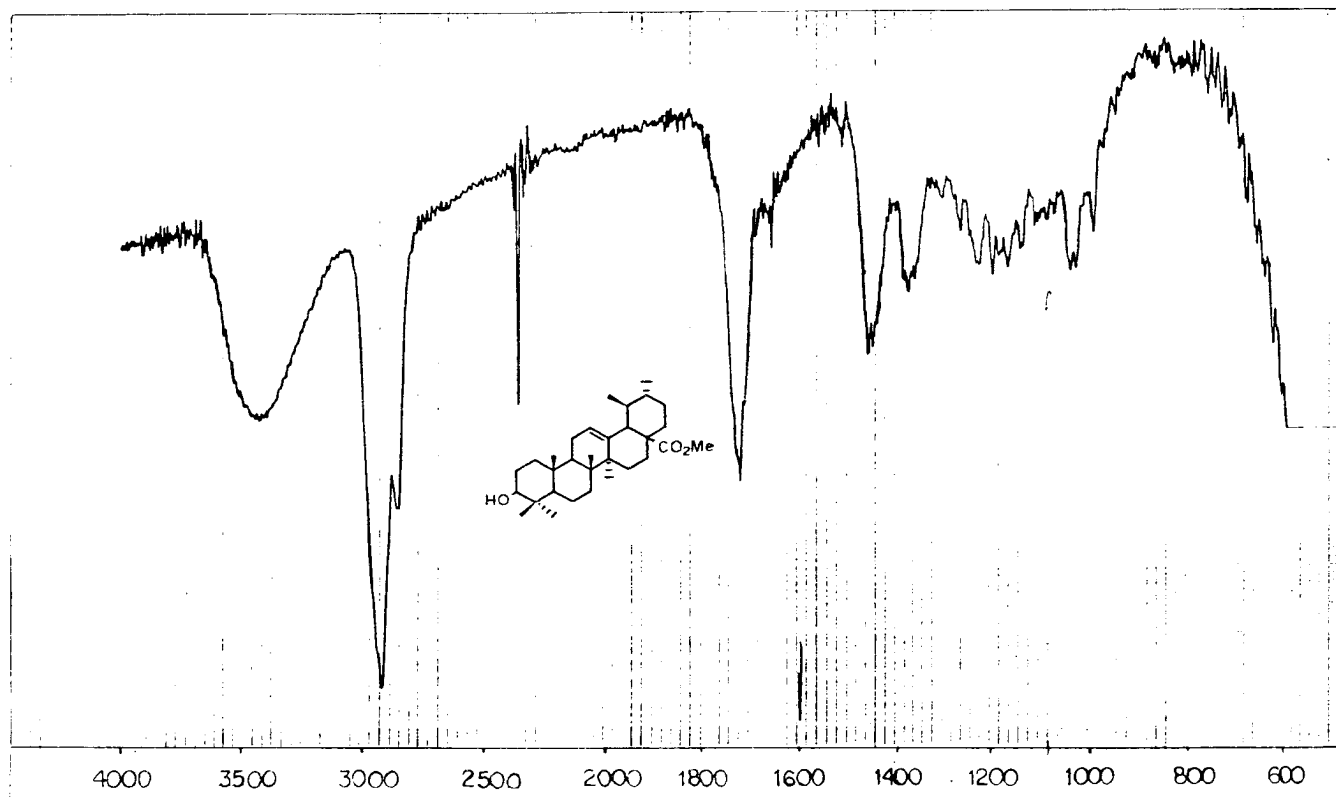


Figura 33 : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e 3)] de HAFM-Ac Me (**8b**), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



HAF-Me cf. (1)
 (100 mg/ml) 22/1/90
 A. J. ...

Figura 34 : Espectro de I.V. de HAFM-Me (8c) em filme (NaCl).

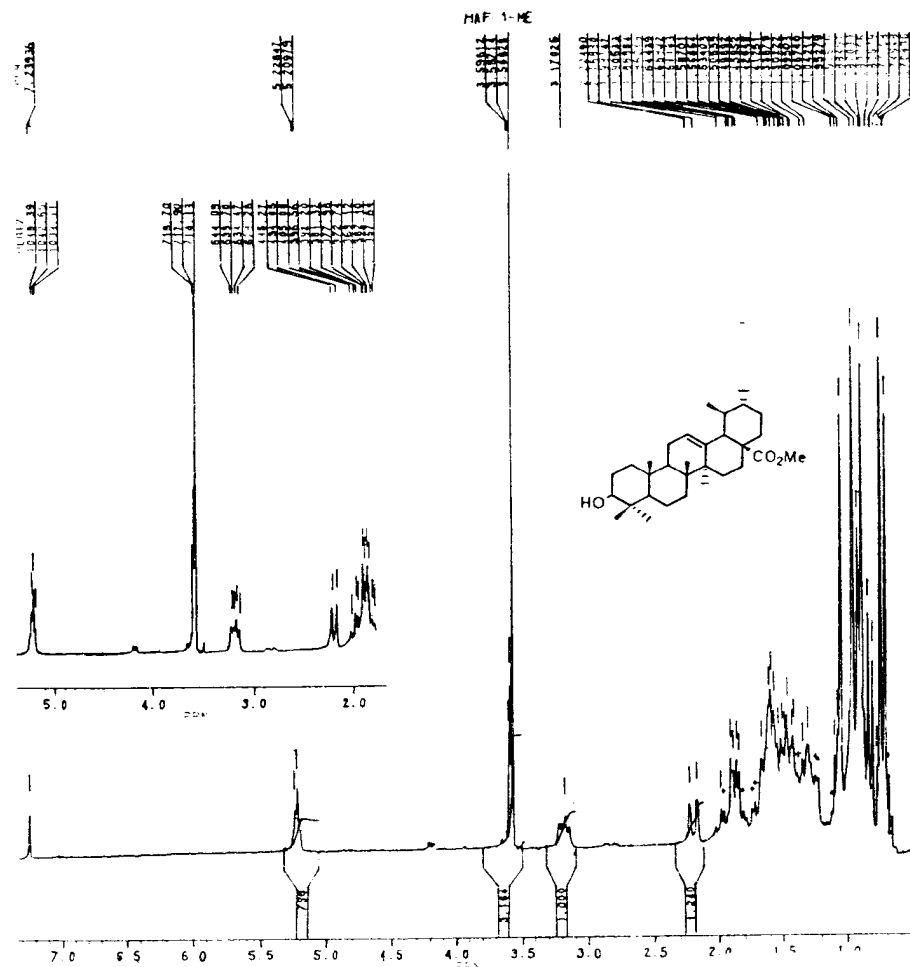


Figura 35 : Espectro de RMN de ^1H de HAFM-Me (8c), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

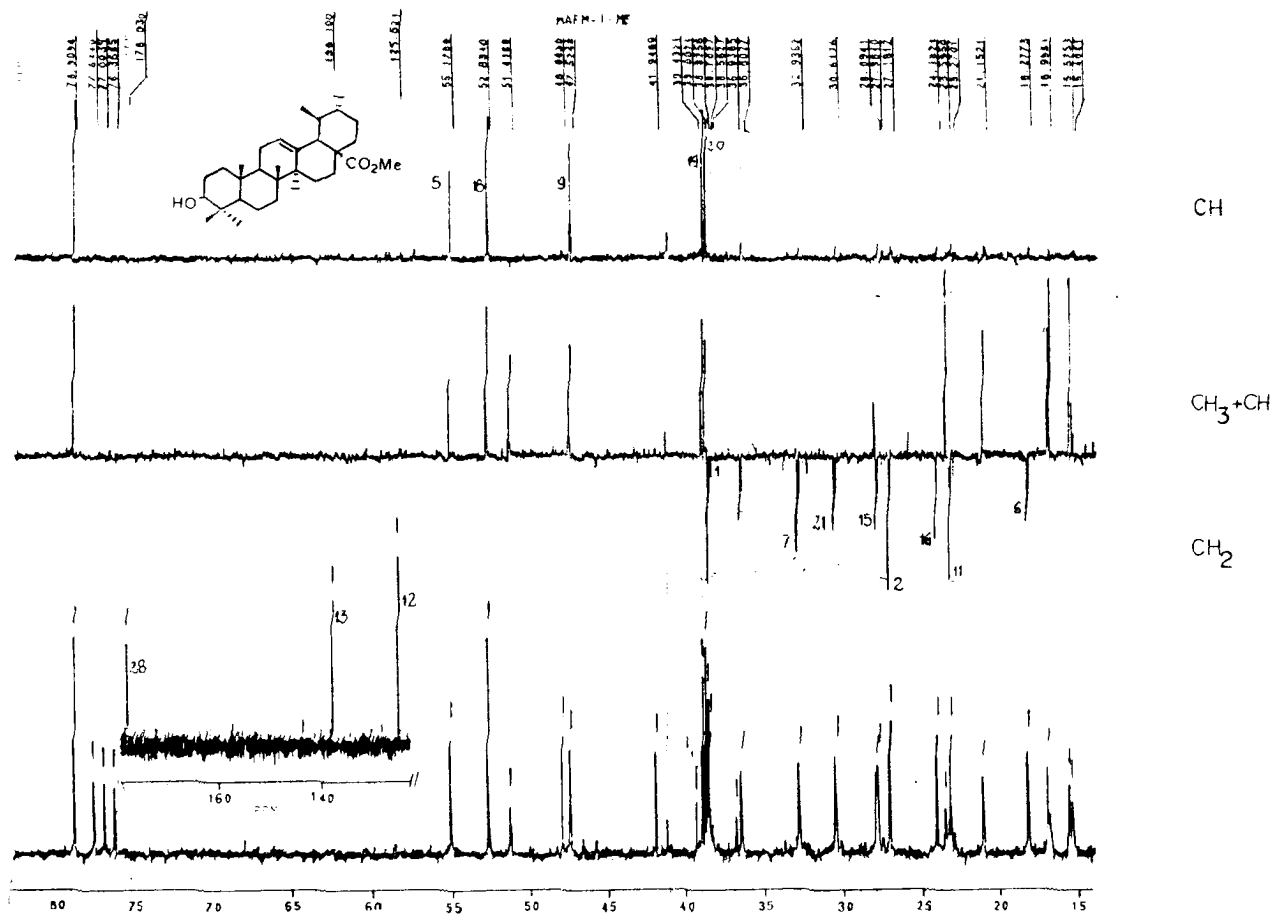


Figura 36 : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com DEPT [$(\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ)$ 50,3 MHz] de HAFM-Me (8c), em CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

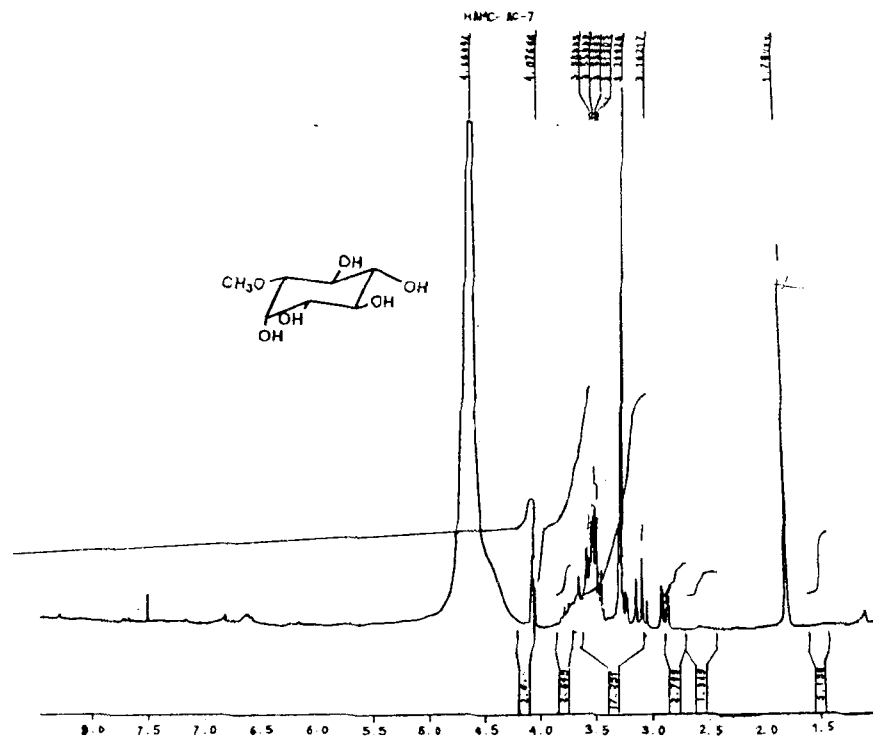


Figura 37 : Espectro de RMN de ^1H de HACM-Ac-7 (9), registrado a 200 MHz, em MeOD_4 como solvente e TMS como referência interna.

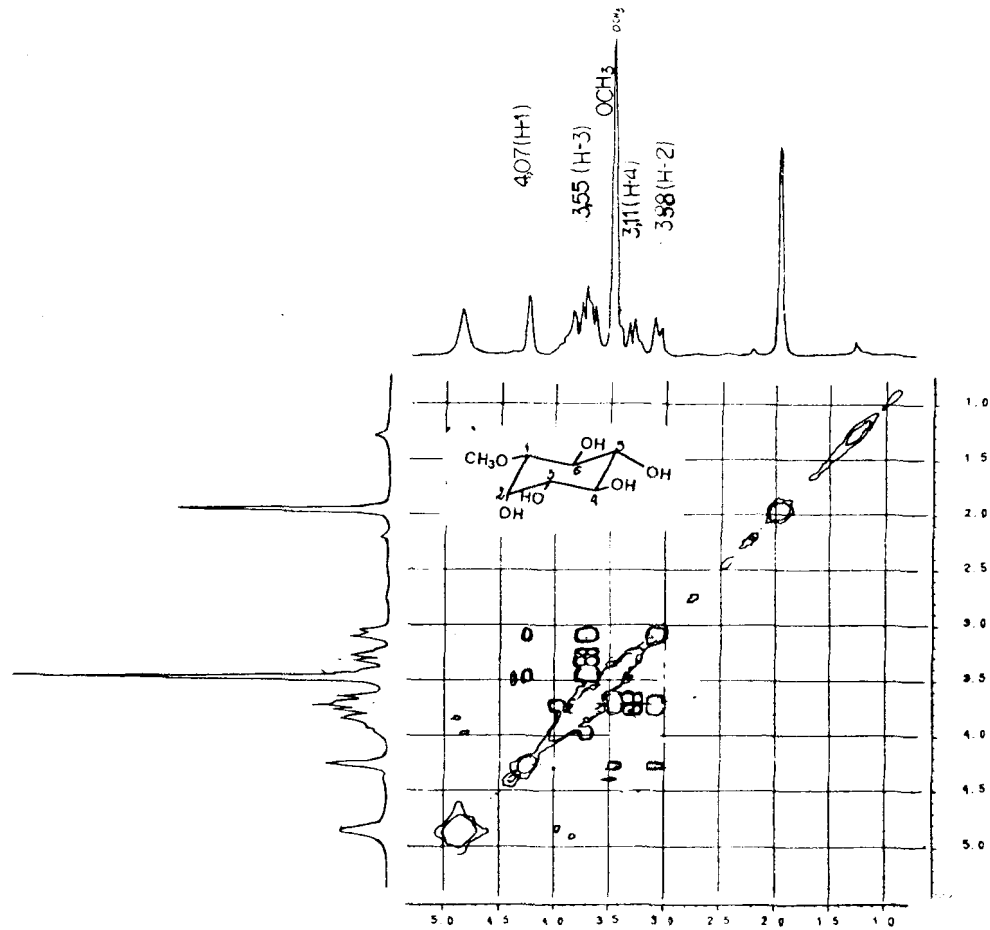


Figura 38 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de S-HACM-Ac-7 (**9**), registrado a 200 MHz em MeOD_4 e TMS como referência interna.

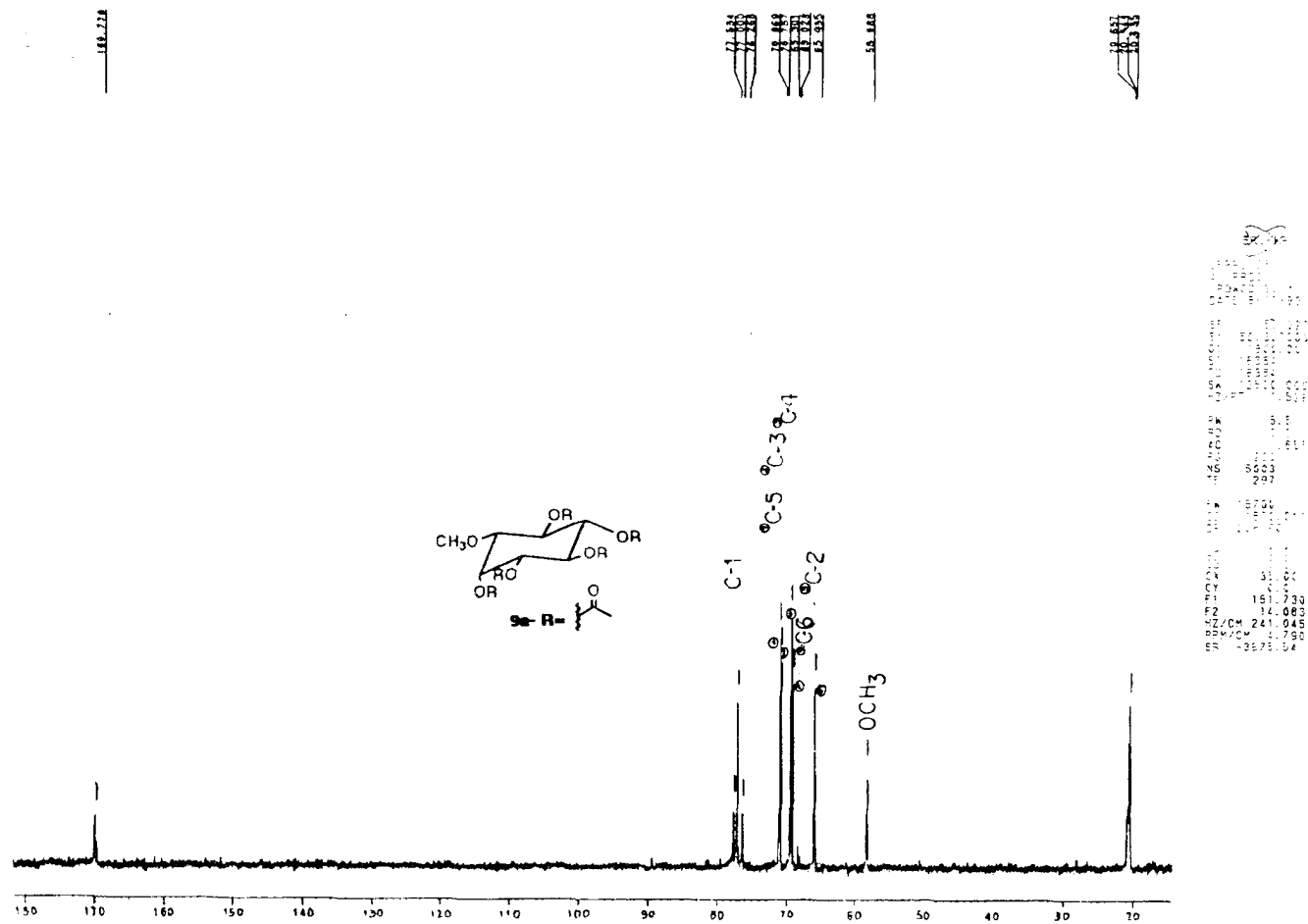


Figura 40 : Espectro de RMN de ¹³C (P.N.D.) totalmente desacoplado (P.N.D.) de I-HACM-3A (**9a**), em CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

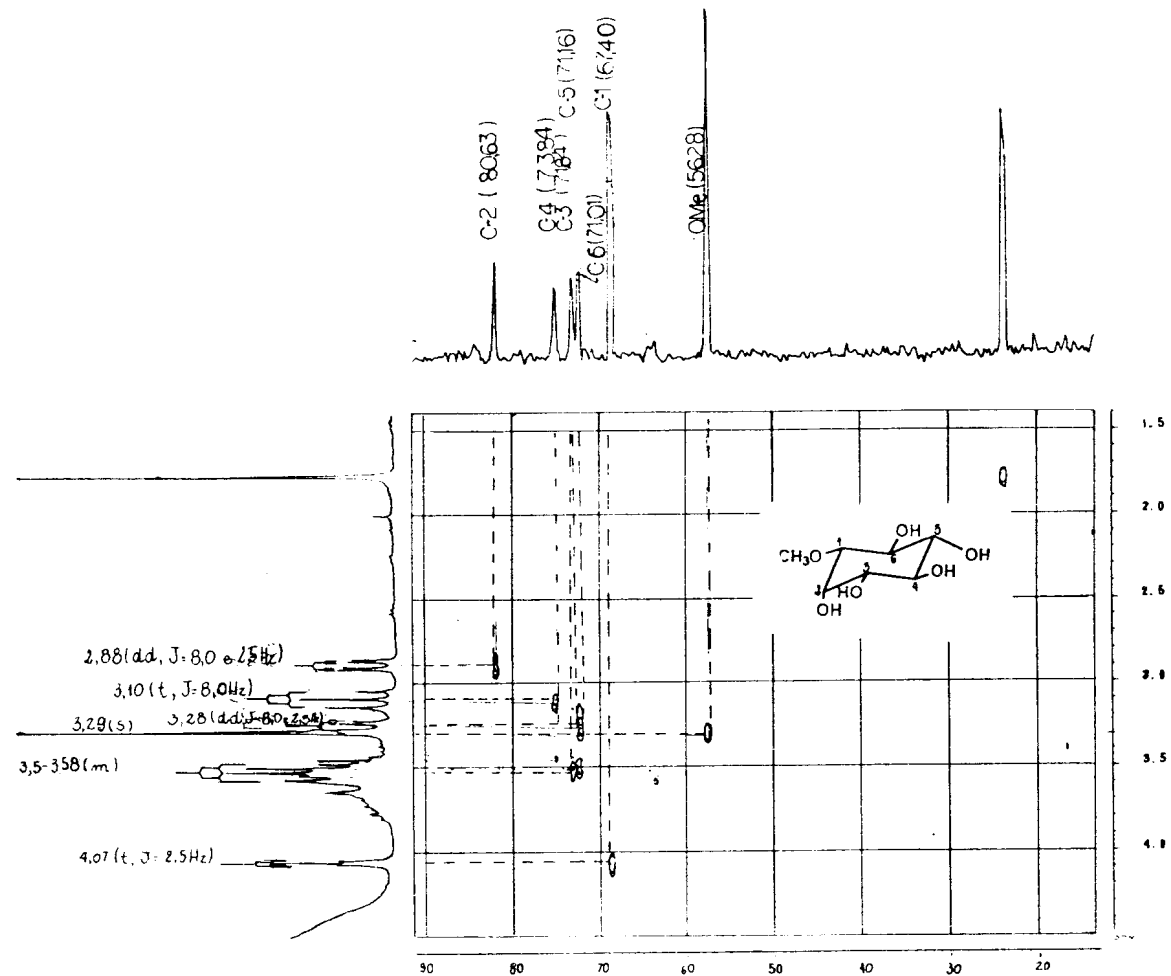
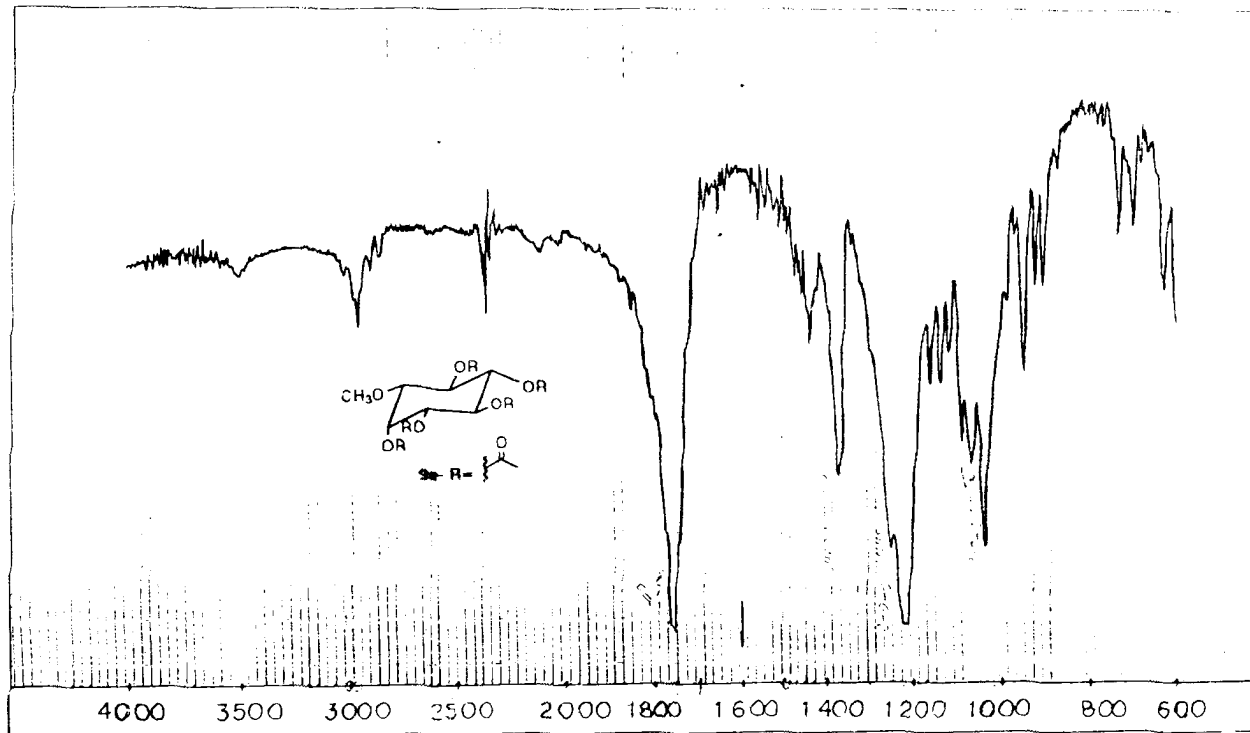


Figura 41 : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY $^1\text{J}_{\text{C-H}}$) de HACM-Ac-7 (9), em MeOD_4 e TMS como referência interna..



S. HANC - Ac - de - de of. Cl.
 P/KBr ou (100%) 22.02.99
 Laboratório de Química 47824

Figura 42 : Espectro de I.V. de HACM-Ac-7 (9a) em KBr.

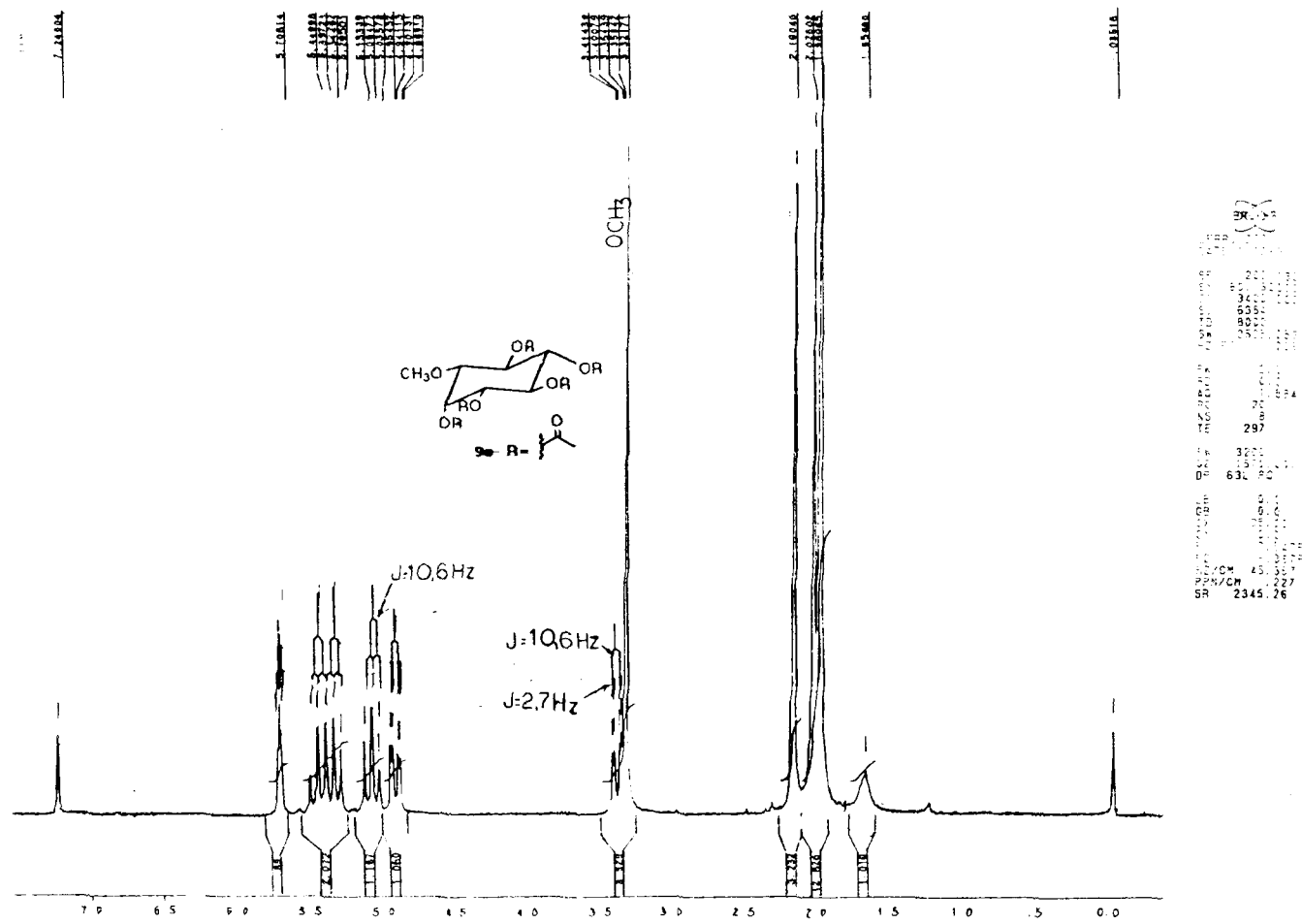


Figura 43 : Espectro de RMN de ¹H de I-HACM-3A (9a), registrado a 200 MHz, em CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

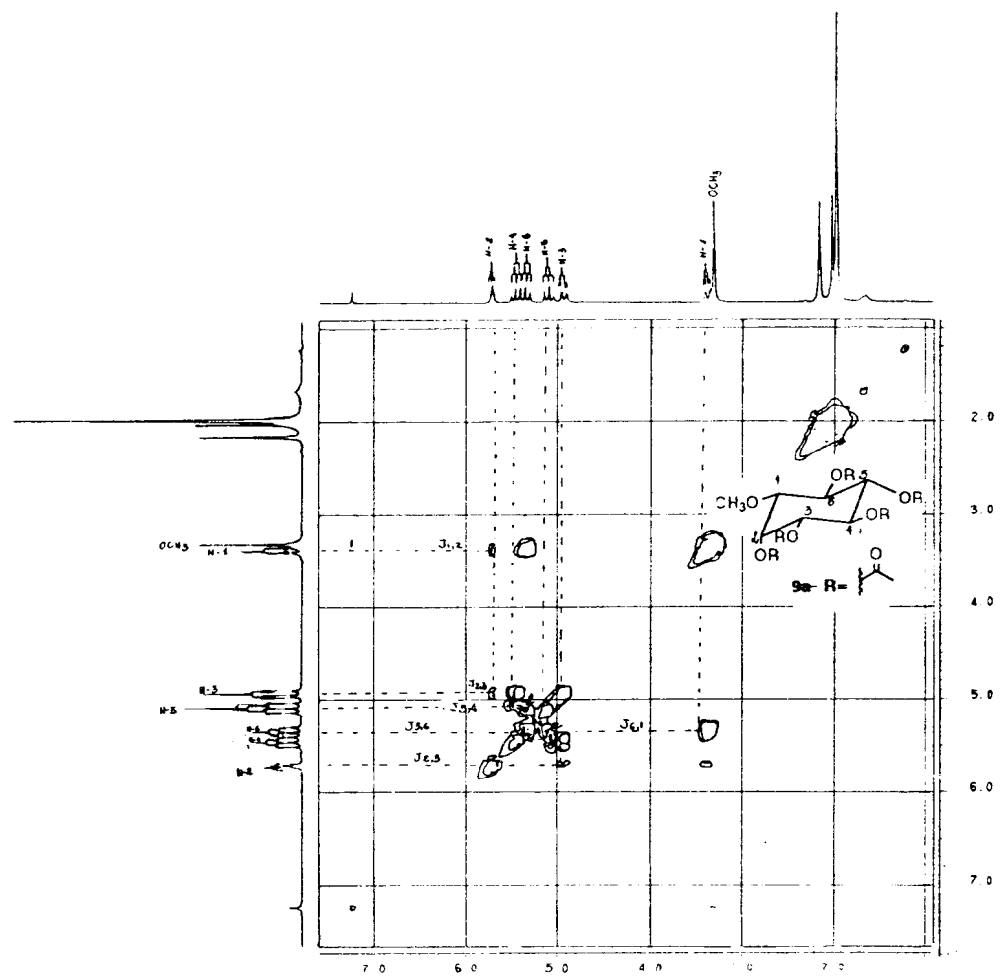


Figura 44 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de I-HACM-3A (**9a**), registrado a 200 MHz em CDCl_3 e TMS como referência interna.

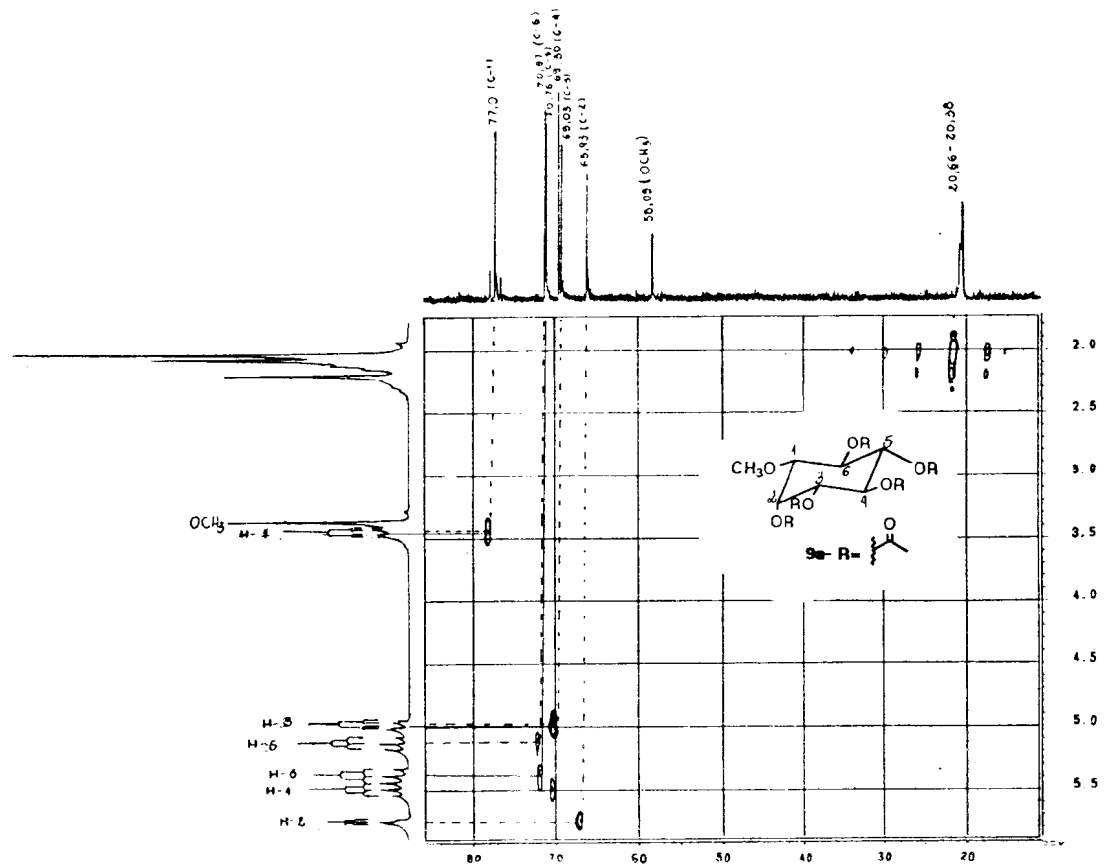


Figura 45 : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY) de I-HACM-3A (**9a**), em CDCl_3 e TMS como referência interna.

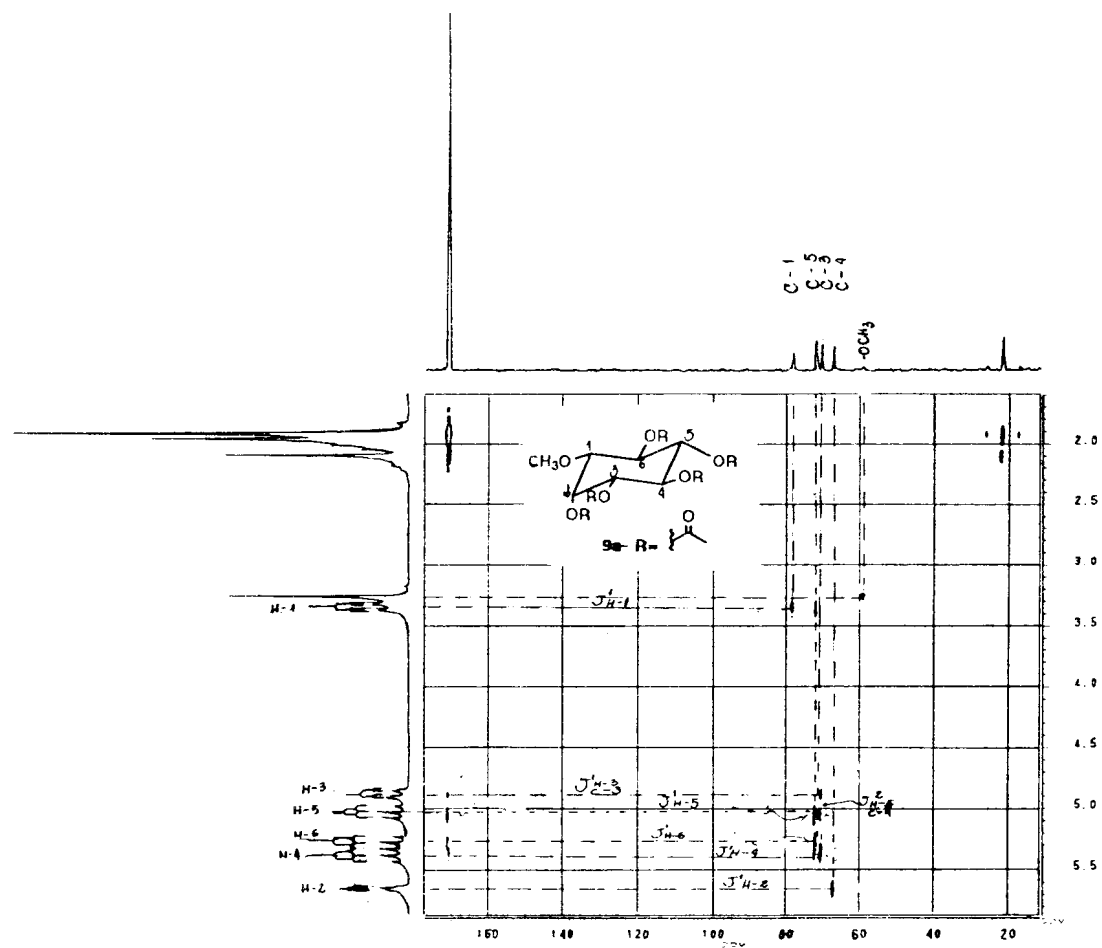


Figura 45a : Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $^n\text{J}_{\text{C-H}}$ ($n = 2$ e $n = 3$, COLOC)] de I-HACM-3A (**9a**), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

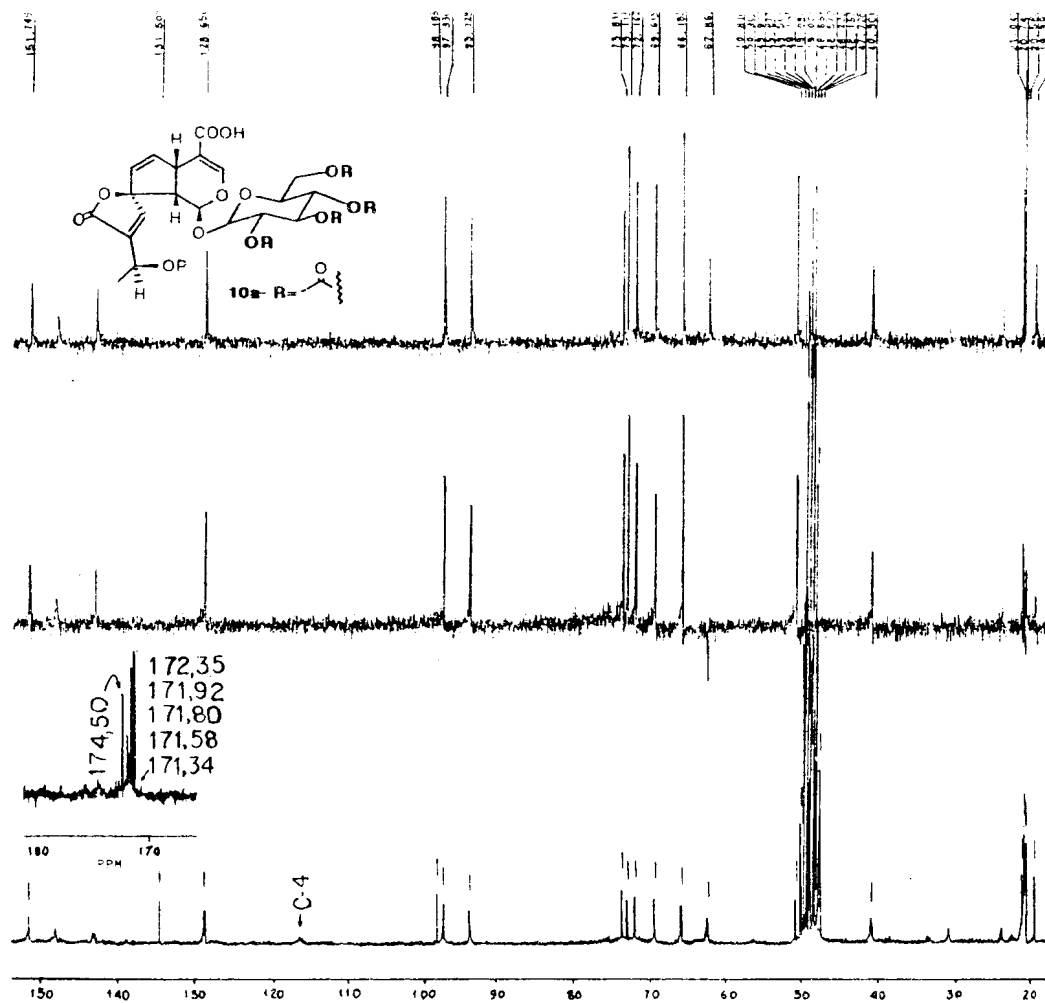


Figura 46 : Espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado e com DEPT [$(\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ)$, 50,3 MHz] de COLUNA-A-02 **(10a)** registrado a 200 MHz, em MeOD_4 como solvente e TMS como referência interna.

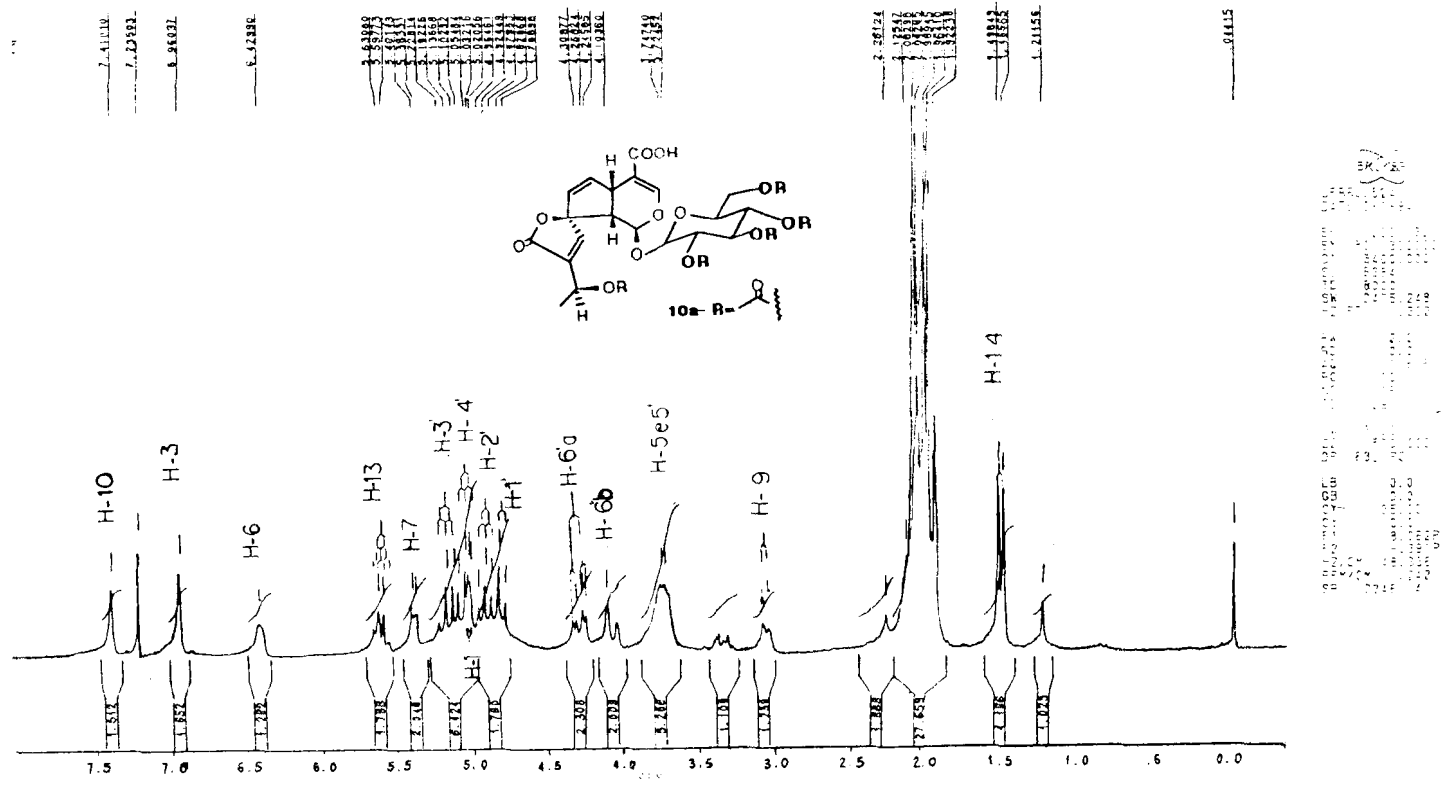


Figura 47 : Espectro de RMN de ¹H de COLUNA-A-02 (10a) registrado a 200 MHz, em CDCl₃ e TMS como referência interna.

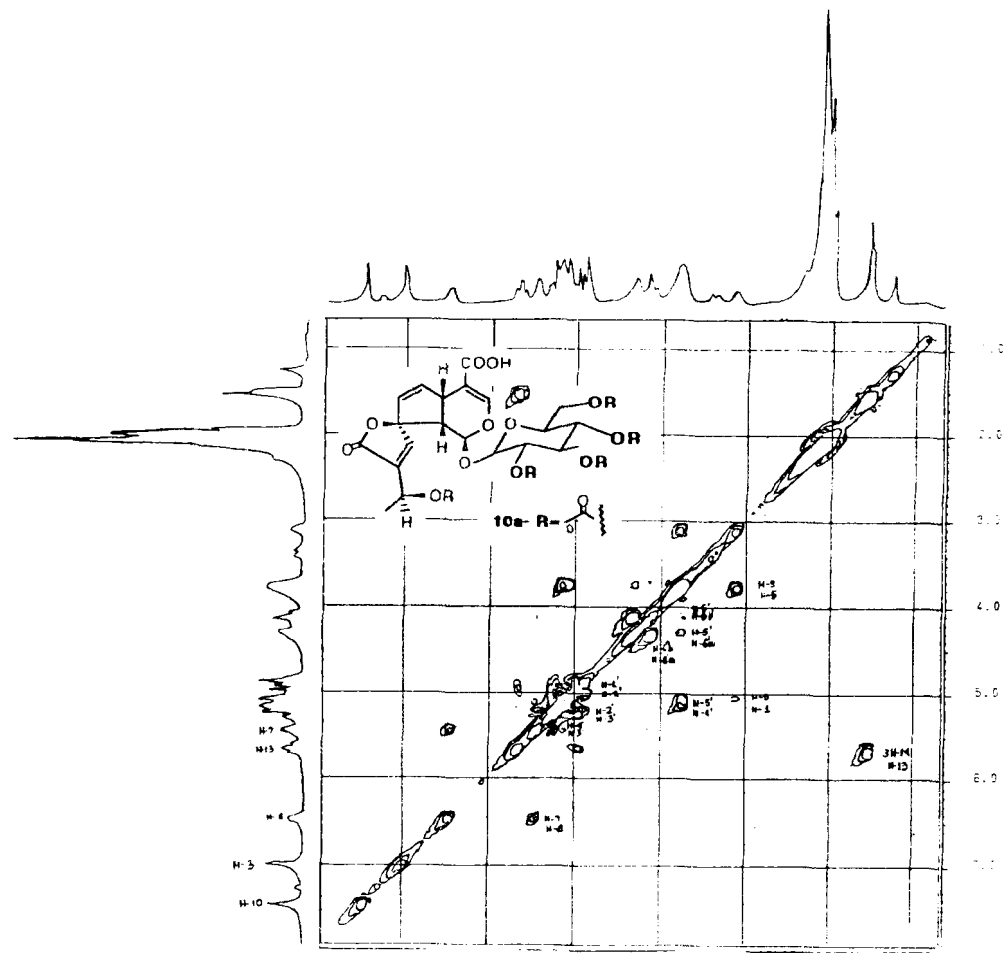


Figura 48 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY) de COLUNA-A-02 (10a), registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

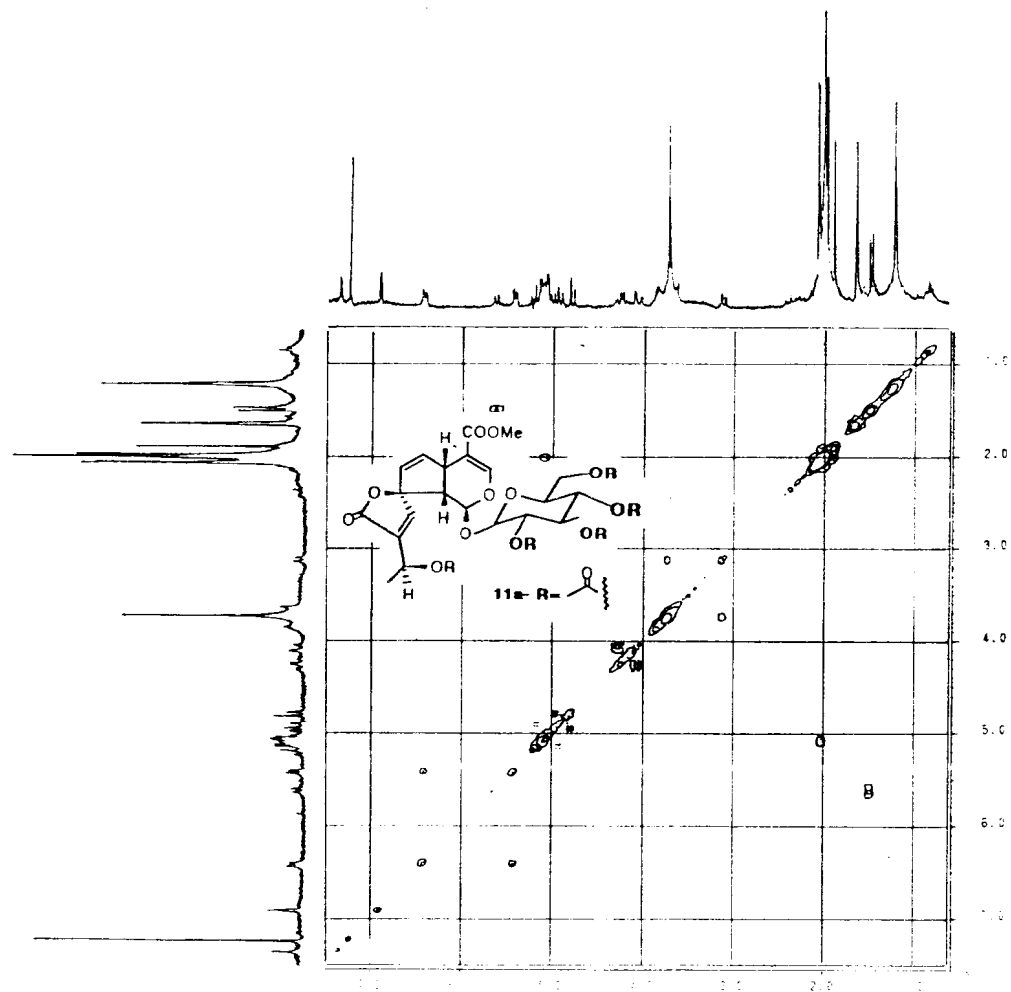


Figura 50 : Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) de S-HACM-9/10-Me (**11a**) registrado a 200 MHz, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO DE JANEIRO

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

LABORATÓRIO DE ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO ATÔMICA

ANÁLISE ESPECTROGRÁFICA QUALITATIVA

RESULTADOS

AMOSTRAS	ELEMENTOS PRINCIPAIS	OUTROS ELEMENTOS (< 10 %)
H.A.M.C Acet. (Alaide/Mário) 4	Na Cl, SO ₄ , NO ₃ , Br, S, Cl.	Si, Al, Ca, Fe, Mg, Cr, Cu, Ni

Figura 52 : Análise espectrográfica qualitativa da fração 24.