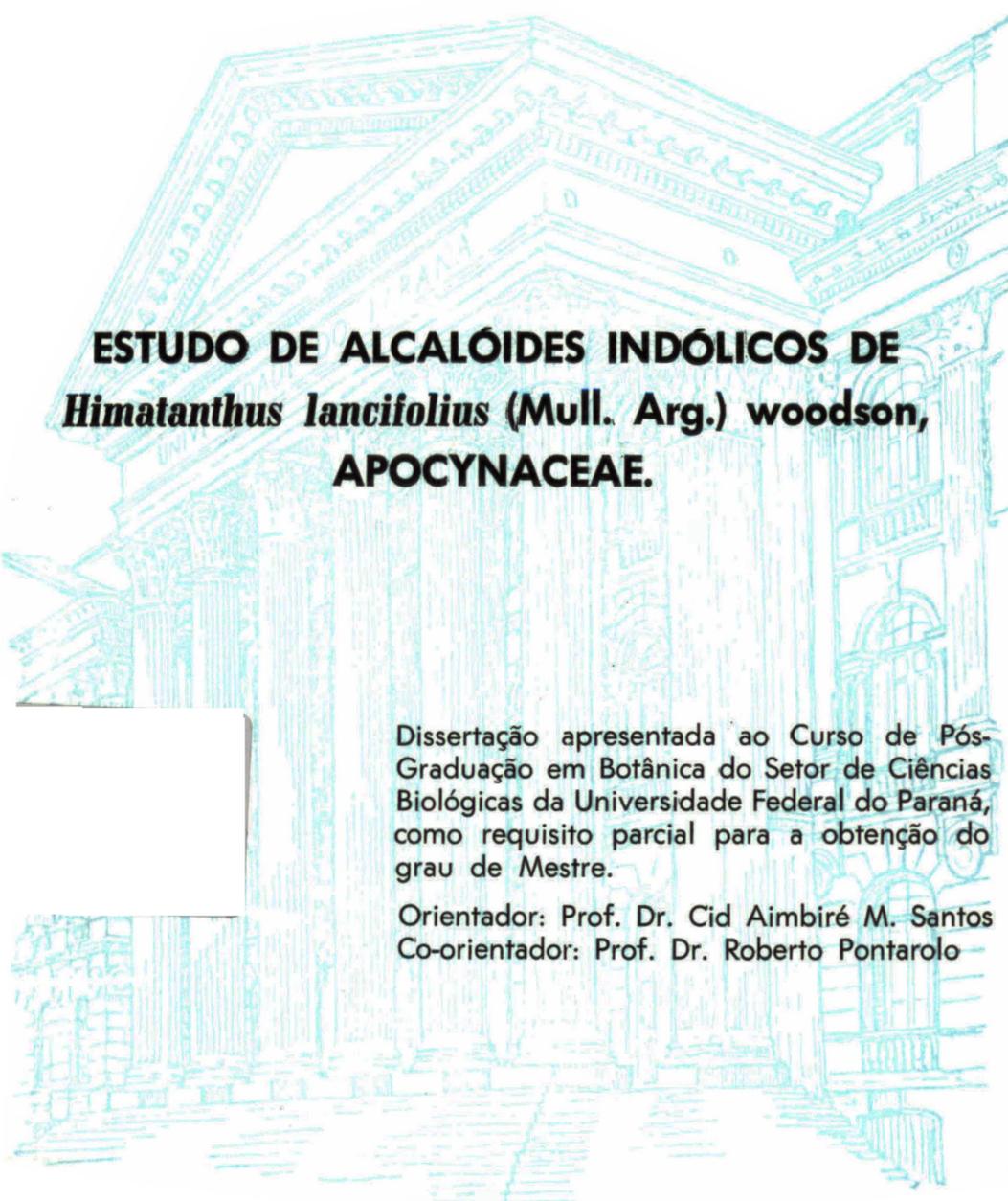


ORLANDO DE OLIVEIRA FRANÇA JUNIOR



ESTUDO DE ALCALÓIDES INDÓLICOS DE
***Himatanthus lancifolius* (Mull. Arg.) woodson,**
APOCYNACEAE.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Cid Aimbiré M. Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo

CURITIBA
1999

ORLANDO DE OLIVEIRA FRANÇA JUNIOR

ESTUDO DE ALCALÓIDES INDÓLICOS DE
***Himatanthus lancifolius* (Mull. Arg.) woodson,**
APOCYNACEAE.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Cid Aimbiré M. Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo

CURITIBA
1999



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

“Estudos de alcalóides indólicos de *Himatanthus lancifolius* (Mull. Arg.) Woodson, APOCYNACEAE”.

por

ORLANDO DE OLIVEIRA FRANÇA JÚNIOR

**Dissertação aprovada como requisito parcial
para obtenção do grau de mestre no Curso de
Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão
formada pelos Professores:**

Prof. Dr. Roberto Pontarolo (Co-orientador)

Prof.^a. Dr.^a. Tomoe Nakashima (Titular)

Prof.^a. Dr.^a. Adriana Contin (Titular)

Curitiba, 26 de novembro de 1999

Para Laís

AGRADECIMENTOS

De modo singular agradeço a amizade, orientação e o constante incentivo do Prof. Dr. Cid Aimbiré de Moraes Santos.

Pela orientação e apoio ao Dr. Roberto Pontarolo.

Ao Dr. Richard T. Brown, Senior Lecturer do Departamento de Química da Universidade de Manchester, Inglaterra, pelos espectros de ^1H RMN 300 MHz da uleína e da demetoxiaspidospermina.

Ao César A. Tischer, do Departamento de Bioquímica da UFPR, pelos espectros ^1H e ^{13}C RMN 400 MHz da uleína.

A Ana Júlia pela paciência, pela análise crítica e por tentar tornar este trabalho legível.

Aos colegas do Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Farmácia da UFPR, por proporcionarem agradável ambiente de trabalho.

Ao Curso de Pós Graduação em Botânica da UFPr pela oportunidade.

A CAPES, pelo parcial apoio financeiro.

A todos que acompanharam e colaboraram direta e indiretamente a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

A Deus, pela vida.

SUMÁRIO

	Página
Resumo	vi
Abstract	vii
Lista de abreviaturas	vii
Lista de esquemas	ix
Lista de figuras e tabelas	x
1. Introdução	1
1.1 Justificativa	2
1.2 Objetivos	3
2. Botânica	4
2.1 <i>Himatanthus lancifolius</i> (Mull. Arg.) Woodson, Apocynaceae	4
2.2 Sobre a Sub-Classe Asteridae	5
2.3 Sobre a Ordem Gentianales	6
2.4 Sobre Família Apocynaceae.	6
2.5 Sobre o diferenciação <i>Himatanthus</i> e <i>Plumeria</i>	7
2.6 Descrição da espécie	8
2.7 Descrição da Droga	9
2.8 Uso popular e atividade farmacológica	10
3. Química	10
3.1 Alcalóides	10
3.2 Alcalóides derivados do triptofano	13
3.3 Reações gerais da biossíntese de alcalóides	14

3.4 Biossíntese dos alcalóides indólicos	17
3.5 Classificação dos alcalóides indólicos	20
3.5.1 Esqueletos do tipo Aspidospermatan	20
3.5.2 Esqueletps com ausência da ponte de triptamina	22
3.6 Revisão Bibliográfica	24
4. Experimental	28
4.1 Materiais e Métodos	28
4.2 Aquisição do material vegetal	29
4.3 Extração método 1	30
4.4 Fracionamento do Extrato 1	31
4.5 Extração método 2	32
4.6 Extração ,método 2	32
4.7 Isolamento dos alcalóides	33
4.8 Sistema de numeração adotado	34
4.9 Cristalização de PL-3	34
5. Resultados e Discussão	35
5.1 O composto PL-3	36
5.2 Dados de PL-3	52
5.3 O composto PL-1	54
5.4 Dados de PL-1	63
6. Conclusão	66
6.1 Trabalhos Futuros	67
7. Referências Bibliográficas	68

RESUMO

Investigação química do conteúdo de alcalóides das cascas de *Himatanthus lancifolius* (Muell Arg.) Woodson (anteriormente classificada como *Plumeria lancifolia* Muell. Arg.), Apocynaceae, planta oficial da Farmacopéia Brasileira conhecida pelo nome de "agoniada", resultou no isolamento de quatro alcalóides de núcleo indólico. Destes dois foram identificados como: uleína e (+)-demetoxiaspidospermina. Os compostos foram isolados da fração alcaloídica basificada e desengordurada do extrato bruto por técnicas cromatográficas e identificados por métodos espectroscópicos.

Este é o primeiro relato do isolamento de composto com o esqueleto da uleína e do enantiômero (+) da demetoxiaspidospermina no gênero *Himatanthus* (*Plumeria*).

ABSTRACT

Investigation of the alkaloid content of the bark of *Himatanthus lancifolius* (Muell Arg.) Woodson (formerly *Plumeria lancifolia* Muell. Arg.), Apocynaceae, an official plant of the Brazilian Pharmacopoeia I, known as "agoniada", resulted in the isolation of four indole alkaloids. These compounds were obtained from the alkaloidal fraction of the basified ethanolic extract by chromatographic techniques and characterised by spectroscopic methods. Two of them were identified as uleine and (+)-demethoxyaspidospermine.

This is the first report of the isolation of the uleine skeleton and of the (+)-enantiomer of demethoxyaspidospermine in the *Himatanthus* (*Plumeria*) genus.

LISTA DE ABREVIATURAS

A.T.	Alcalóides Totais
COSY	COrelated Spectroscopy
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CC	Cromatografia em Coluna
CG	Cromatografia Gasosa
IV	InfraVermelho
M.S	Espectroscopia de Massa
P.A.	Para Análise
PL-3	uleína
PL-1	demetoxiaspidospermina
Rf	Convenção para mobilidade relativa para Cromatografia em Camada Delgada
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
UV	UltraVioleta

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1 Núcleos alcaloídicos e aminoácidos de origem	13
Esquema 2 Reações gerais da biossíntese de alcalóides	15
Esquema 3 Síntese da tropinona	15
Esquema 4 Reação de Mannich	16
Esquema 5 Catálise ácida e básica	17
Esquema 6 Biossíntese de alcalóides indólicos Monoterpenóides (núcleo β -carbolina)	18
Esquema 7 Biossíntese de alcalóides indólicos - rearranjo da porção monoterpênica	20
Esquema 8 Exemplos de alcalóides indólicos	21
Esquema 9 Formação da Uleína	24
Esquema 10 Fragmentação de PL-3	49
Esquema 11 Fragmentação geral de PL-3	51
Esquema 12 Formação do íon m/z 152	61
Esquema 13 Fragmentação geral de PL-1	61
Esquema 14 Fragmentação de PL-1	57

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

		Página
Figura 1	Cromatograma de cromatografia gasosa de PL-3	41
Figura 2	Espectro de IR de PL-3	42
Figura 3	Espectro de UV de PL-3	43
Figura 4	Espectro de massa de PL-3	44
Figura 5	Espectro de ^1H RNM de PL-3	45
Figura 6	Expansões do espectro de ^1H RNM de PL-3	46
Figura 7	Espectro de ^{13}C RNM de PL-3	47
Figura 8	Estruturas tridimensionais da Uleína	48
Figura 9	Espectro de UV de PL-1	56
Figura 10	Espectro de ^1H RNM (300 MHz) de PL-1	57
Figura 11	Espectro de ^1H RNM (300 MHz) COSY de PL-1	58
Figura 12	Espectro de massa de alta resolução de PL-1	60
Tabela 1	Abordagem fitoquímica em <i>H. lancifolius</i>	35
Tabela 2	Dados de ^1H RMN (400MHz) de PL-3	52
Tabela 3	Dados de ^{13}C RMN (100 MHz) de PL-3	53
Tabela 4	Dados de ^1H RMN (300MHz) de PL-1	63

1- Introdução

A fronteira entre a fitoterapia e o uso popular de plantas medicinais, reside na utilização coerente e consistente, do conhecimento científico para utilizar como medicamento um material vegetal.

Um fitoterápico é entendido como um medicamento tecnicamente elaborado tendo o material vegetal como agente ativo. Para se planejar um medicamento segundo este conceito é necessário que se tenha conhecimento sobre as variáveis envolvidas na elaboração deste, para que possam ser controladas. A identificação botânica, a caracterização química, as características físico-químicas, a concentração, a potência e os dados de toxicidade aguda e crônica são informações fundamentais para o planejamento de um produto farmacêutico.

Num cenário de busca pelo conhecimento científico coexistem plantas das quais não se conhece as informações necessárias. Quando uma droga vegetal está inscrita na Farmacopéia Brasileira, o código Farmacêutico do Brasil, fica publicado o "status" de droga oficial. E oficialmente viabiliza o seu uso como medicamento. Não é compatível com a condição de oficial, uma planta que não apresenta evidências científicas para suas potencialidades terapêuticas.

O amplo uso popular, o corrente uso comercial, a completa falta de conhecimento acerca da composição, denunciam a necessidade de se estabelecer evidências que suportem uma condição de droga oficial.

A posição taxonômica indica que o uso popular pode ser parcialmente justificado, estudos etnobotânicos e os estudos quimiotaxonômicos já realizados são valiosos instrumentos de orientação. Mas é fundamental o isolamento, a purificação e a identificação dos compostos ativos, para posteriores ensaios farmacológicos e toxicológicos. Deste modo gerando dados que subsidiem o uso de uma droga vegetal como ferramenta terapêutica.

Dentre os grupos de metabólitos secundários a serem investigados, prioridade pode ser dada ao estudo dos alcalóides, pois sabe-se que: sua administração em humanos promove inexoravelmente enérgica alteração

fisiológica; e também porque tem sido uma abundante fonte de compostos úteis na terapêutica

1.1- Justificativa

Este trabalho está baseado no amplo uso popular de uma planta nativa da Amazônia brasileira, e, diante das informações coletadas, no seu potencial terapêutico; também em virtude desta droga estar oficialmente inscrita no código farmacêutico brasileiro e conhecida popularmente como Agoniada.

A inexistência de evidências científicas quanto a composição química e identidade dos seus metabólitos secundários confirma e potencializa esta justificativa.

1.2- Objetivos

1.2.1- Objetivos Gerais

Contribuir para a caracterização e identificação dos princípios ativos da fração alcaloídica de *Himatanthus lancifolius* (Muell Arg) Woodson, Apocynaceae

1.2.2- Objetivos Específicos

- Realizar avaliação da posição taxônomica,
- Executar ensaios farmacognósticos,
- Realizar a abordagem fitoquímica,
- Proceder o isolamento de compostos da fração alcaloídica,
- Elucidação estrutural dos compostos isolados,
- Produzir material em quantidade suficiente para os ensaios farmacológicos,

2 - Botânica

2.1- *Himatanthus lancifolius* (Mull. Arg.) Woodson, Apocynaceae

A planta utilizada neste trabalho tem a seguinte posição taxonômica:

Classificação botânica

segundo Cronquist:¹

Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliatae
Sub-classe	Asteridae
Ordem	Gentianales
Família	Apocynaceae
Sub-família	Plumeroideae
Tribo	Alstoniae
Gênero	<i>Himatanthus</i>
Espécie	<i>Himatanthus lancifolius</i> (Muell. Arg) Woodson.²
Basionimo	<i>Plumeria lancifolia</i> Muell. Arg.

2.2- Sobre a Sub-classe Asteridae

De acordo com Cronquist, esta subclasse subordina 09 ordens, 43 famílias e cerca de 56.000 espécies.¹

Esta subclasse é muito comum mas bem definida morfologicamente. Caracteriza-se pelas flores simpétalas (muito raramente dialipétalas ou apétalas), com número reduzido de estames (5-2), ovário constituído na maioria dos casos de dois carpelos (raramente por cinco ou mais carpelos), com óvulos providos de um só tegumento ou tenuinucelados.³

A corola simpétala e o número reduzido de estames devem refletir uma especialização das flores para tipos avançados de polinizadores.¹

Os principais compostos químicos encontrados nas Asteridae, são os iridóides e os poliacetilenos. Os iridóides, os quais compreendem um grupo conhecido como “princípios amargos” ou como precursores dos alcalóides indólicos monoterpénóides, estão largamente distribuídos nas Ordens: Gentianales, Rubiales e Lamiales, mas completamente inexistentes nas Campanulales, Asterales, Polemoniales e Boraginaceae (Lamiales). Este constitui um tipo de metabólito secundário, restrito (com poucas exceções) aos “taxa” com óvulos providos de um só tegumento, e sua ampla distribuição entre as famílias das quatro subclasses das dicotiledóneas, sugere que estas evoluíram cedo de um ancestral comum.⁴

Os poliacetilenos são encontrados nas Campanulales e Asterales, também são mencionados para as Araliaceae, Santalaceae, Simaroubaceae e em poucos gêneros das Malvales e Laurales.⁴

As nove ordens da subclasse Asteridae no conceito de Cronquist, são apresentadas a seguir: Gentianales, Polemoniales, Lamiales, Plantaginales, Scrophulariales, Campanulales, Rubiales, Dipsacales e Asterales.

2.3- Sobre a Ordem Gentianales

Composta segundo o conceito de Cronquist pelas famílias: Loganiaceae, Gentianaceae, Apocynaceae e Asclepiadaceae, constituem-se por plantas de hábito bastante diverso. Produzem compostos químicos como os iridóides e alcalóides (indólicos, oxindólicos, piridínicos e esteroidais) e frequentemente produtoras de glicosídeos cardiotônicos.³ As Gentianales possivelmente utilizam a produção de iridóides, glicosídeos cardiotônicos e certos grupos de alcalóides como repelentes de possíveis predadores. Estes grupos de metabólitos ocorrem em grande número nas Gentianales, porém, não estão restritos a esta Ordem já que também aparecem em diversas outras espécies de outras ordens.¹

2.4- Sobre a família Apocynaceae

A família Apocynaceae é dividida nas subfamílias: Plumerioideae, Apocynoideae, Cerberoideae e Echitoideae.^{1,2,5} Consiste em uma família composta por cerca de 300 gêneros e em torno de 3000 espécies. No Brasil ocorrem cerca de 370 espécies subordinadas a 41 gêneros.² São árvores, arbustos, subarbustos, ervas, muitos membros são trepadeiras. Geralmente possuem um sistema lactífero bem desenvolvido, nos gêneros *Alstonia*, *Plumeria*, *Himatanthus* e *Nerium* os lactíferos são do tipo não articulado e ramificado, mas no gênero *Vinca* são não articulados e não ramificados.⁶ Apresentam folhas simples opostas, alternas ou verticiladas, sem estípulas, geralmente com glândulas ou emergências glandulares na base do limbo ou do pecíolo. O cálice se divide, em geral em quatro a cinco lacínios, com segmentos iguais ou desiguais entre si; na base do caule entre os lacínios encontram-se as glândulas ou as emergências glandulares. Corola glabra ou pilosa internamente, de perfloração, hipocrateriforme, campanulácea ou rotácea, glabra ou pilosa internamente. Androceu formado de 5 estames, raramente quatro, sésseis ou com filetes curtos; anteras acuminadas, as vezes com o conectivo prolongado num apêndice caudal, com lóculos totalmente ou parcialmente férteis,

livres ou coniventes com o estigma, de base obtusa, truncada, sagitada ou cordada. Ovário súpero ou semi-infero nos gêneros *Himatanthus* e *Plumeria*, apocárpico ou sincárpico, bicarpelar, bilocular com placentação axial e unilocular com placentação parietal. Óvulos anátropos, geralmente muitos. As *Apocynaceae* subordinam em duas bem demarcadas Subfamílias, que se distinguem pelo tipo de antera, a saber: Subfamília Plumerioideae com anteras totalmente férteis e livres dos estiletos, não modificados com estigma terminal e a Subfamília Apocynoideae com anteras parcialmente férteis, somente a parte superior das anteras possuem pólen.²

Produzem uma diversidade de tipos de iridóides, glicosídeos cardiotônicos, saponinas, triterpenóides e numerosos tipos de alcalóides, principalmente, os com núcleo indólico, mas usualmente não produzem taninos, ácido elágico, proantocianidinas, etc.^{7,8} Muitos alcalóides foram isolados de plantas das três subfamílias de *Plumeria* mas somente alcalóides indólicos foram encontrados na subfamília Plumerioideae.⁹ Os outros tipos de esqueletos alcaloídicos encontrados na família Apocynaceae incluem também os esteroidais, piperidínicos e piperidínicos diméricos.¹

Encontrados em regiões tropicais e subtropicais, com poucos gêneros e espécies em áreas de clima temperado.^{1,2}

2.5- Do Gênero *Plumeria* e da diferenciação *Himatanthus* e *Plumeria*

O trabalho realizado por Woodson em 1937 no Missouri Botanical Garden confirmou a proposta de autoria de Willdenow, que previa a separação dos gêneros *Plumeria* e *Himatanthus*.² Desta forma pôde ser corrigido, o engano cometido por Mueller Argoviensis que classificou como um só gênero as espécies¹⁰:

- com duas amplas e persistentes brácteas circundando a inflorescência e originadas da América Central e do sul da América do Norte, predominantemente;
- e as que possuem brácteas pequenas e são originadas do norte da América do Sul.

Fica evidente no trabalho de Woodson que Mueller Argoviensis não conhecia o sistema que descrevia o gênero *Himatanthus* Wild., proposto anos antes no sistema de Roemer e Schultes. Esta proposta foi baseada em um relatório com descrições satisfatórias gerais e específicas, da análise entre outros de um espécie constituído de amplas brácteas, e que foi coletado no nordeste do Brasil.

Posteriormente o grupo do Laboratoire de Phanerogamie, Museum National D'Histoire Naturelle, em Paris, revisou este estudo.¹² Examinando todas as espécies Tipo e as referências bibliográficas, confirmou a separação dos gêneros em questão, fornecendo informações adicionais baseando-se na pesquisa de abundante material botânico. Ainda foi possível distinguir treze (13) espécies deste novo gênero, entre as quais, várias espécies descritas inicialmente por Mueller d'Argovis e reclassificadas por sinonímia por Woodson, sendo elas: *H. obovatus*, *H. drasticus comb.nov.*, *H. falax comb.nov.*, *H. articulatus*, *H. sucuuba*, *H. phaedaenicus*, *H. bracteatus*, *H. attenuatus*, *H. semilunatus*, *H. phagedaenicus*, *H. tarapotensis comb.nov.*, *H. speciosus comb.nov.*, *H. stenophyllus* e *H. lancifolius*.¹³

Estudos da morfologia das folhas e das flores, levou a distinção de dois subgêneros: Obovate e Lanceolate. O primeiro tem lamina foliares oblongas ou obovadas as quais são obtusas na base, o segundo tem lamina foliares oblanceoladas ou espatuladas as quais são agudas na base.¹¹

Apresentam uma distribuição geográfica que compreende a zona tropical da América do Sul, delimitada pela latitude 10° Norte e o trópico de Capricórnio.^{2,12}

2.6- Descrição Botânica da espécie

A espécie *Plumeria lancifolia* Muell. Arg. , foi identificada por Mueller d'Argovis e publicada em 1860, registrada por Woodson com Tipo, *Sello* 1273, sem data, Brazil(B), depositado no Missouri Botanical Garden.²

Posteriormente reclassificada por sinonímia para *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson.^{2,10} Conhecida popularmente como “sucuuba”, “agoniada”, “quina-mole”, “arapué” ou “tapuoca”.^{13,14} É uma árvore pequena de até 8 m de altura, com raízes muito compridas e caule lactescente; casca acinzentada, folhas

longo-grosso-pecioladas, opostas, lanceoladas, inteiras, agudas, glabras, até 25 cm de comprimento e 3 cm de largura; flores brancas, campanuladas, com a base do tubo amarelada, grandes dispostas no ápice dos ramos em cimeiras de 2 ou 3; frutos folículo geminados, fusiformes, de 9 cm contendo sementes.¹⁴

2.7- Descrição da droga

As cascas apresentam-se em pedaços de forma irregular de 4, 10 ou mais centímetros de comprimento, enrolados quase sempre em cilindros de 1 a 1,5 cm de diâmetro, ou tendo os bordos recurvados. A espessura varia de 1 a 6 mm, conforme sejam provenientes dos ramos ou do tronco. A superfície externa das cascas provenientes dos ramos é de cor parda escura, com manchas pardas mais claras ou amareladas, alongadas no sentido longitudinal, e quase lisa; sua face interna é de cor mais escura, quase preta e lisa. A sua fratura é levemente granulosa. Sua secção transversal apresenta duas camadas de espessura desigual: uma porção externa ou peridérmica, mais espessa e de cor parda amarelada, um pouco mais carregada no exterior, e a parte liberiana, de cor mais escura.¹⁵

2.7.1- Descrição microscópica da droga

Suber bastante espesso, formado de numerosas camadas de células tabulares achatadas, dispostas em filas radiais, parênquima cortical desenvolvido e formado de células poliedricas, irregulares alongadas no sentido tangencial, contendo grande quantidade de células esclerosas de paredes espessas e pontuadas; o líber é formado de um tecido parenquimatoso mais denso, constituído de células poligonais ou retangulares, alongadas tangencialmente e regularmente superpostas, em cujo meio observam-se também células esclerosas de dimensões variáveis de paredes mais ou menos espessas e canaliculadas. Este líber é sulcado

por muitos raios medulares bem visíveis, formados de células alongadas radialmente, e apresenta grande número de feixes fibroliberianos; ele contém, assim como o parênquima cortical, certo número de cristais prismáticos e vasos lactíferos.¹⁵

2.8- Uso popular e atividade farmacológica da agoniada

A agoniada, *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson Apocynaceae, é uma planta oficial¹⁵ da medicina popular brasileira utilizada como antitérmica, anti-inflamatória, emenagoga e purgativa, mas encontram-se também registros de uso popular indicando-a: como possuindo ação direta sobre o útero, auxiliando a concepção; ainda com atividade hormonal regularizando ciclo ovulatório, nos casos de afecções uterinas, artrites, linfites, gastrites, doenças da pele, para o tratamento de todos os tipos de câncer e que a planta exsuda latex antihelmíntico.^{13,14,16,17} A parte usada da droga oficializada pela Farm Bras. I são as cascas.¹⁵ Popularmente encontram-se relatos do uso principalmente das cascas mas também das folhas e o látex extraído das folhas.¹⁸

3.- Química

3.1- Alcalóides

Desde 1806, quando Setürner publicou seu famoso trabalho sobre a morfina, os alcalóides têm despertado grande interesse tanto para químicos, pelas suas propriedades, como a farmacologistas, por suas ações terapêuticas e também para botânicos por suas correlações quimiotaxonômicas. A partir de 1817, Pelletier e Caventou pesquisadores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Paris, começaram a deixar perplexos os farmacêuticos pelas descobertas de diversos

alcalóides oriundos de várias drogas vegetais. Muito do desenvolvimento da química orgânica se deve à química dos alcalóides uma vez que as estruturas moleculares foram elucidadas por degradação e síntese desses compostos. Algumas reações clássicas, como a reação de eliminação de Hofmann, a condensação de Mannich entre outras foram descobertas nesse período.¹⁹

Uma definição precisa do termo alcalóide é por vezes difícil, já que não existe uma fronteira precisa entre alcalóides e outros complexos aminados naturais; também não representam um grupo homogêneo do ponto de vista químico, bioquímico e fisiológico. As plantas superiores são as grandes fontes produtoras de alcalóides, mas também são encontrados em alguns animais, fungos e em bactérias. Todos são compostos orgânicos nitrogenados, apresentam uma distribuição bastante restrita na natureza, marcada atividade fisiológica e suas propriedades químicas são derivadas da presença de um ou mais átomos de nitrogênio, geralmente com propriedades básicas. Desta forma, pode-se tentar definir alcalóides como sendo substâncias naturais básicas, derivadas de aminoácidos, com um ou mais átomos de nitrogênio heterocíclico, com distribuição taxonômica delimitada, e que quando administrados em animais apresentam alguma alteração fisiológica.

Muito se escreveu sobre a possível função dos alcalóides nas plantas e sobre as razões de sua ocorrência. Algumas de suas possíveis funções seriam:

- Agentes tóxicos que protegeriam a planta contra insetos e herbívoros predadores;
- Produtos finais de reações de detoxificação, que representam um bloqueio metabólico de compostos que de outro modo seriam nocivos à planta;
- Fatores reguladores do crescimento;
- Substâncias de reserva, capazes de fornecer nitrogênio ou outros compostos necessários ao metabolismo vegetal;
- Larson sugeriu que os alcalóides podem ter um papel importante na defesa da planta contra oxigênio radicalar ($\cdot O_2$).²⁰

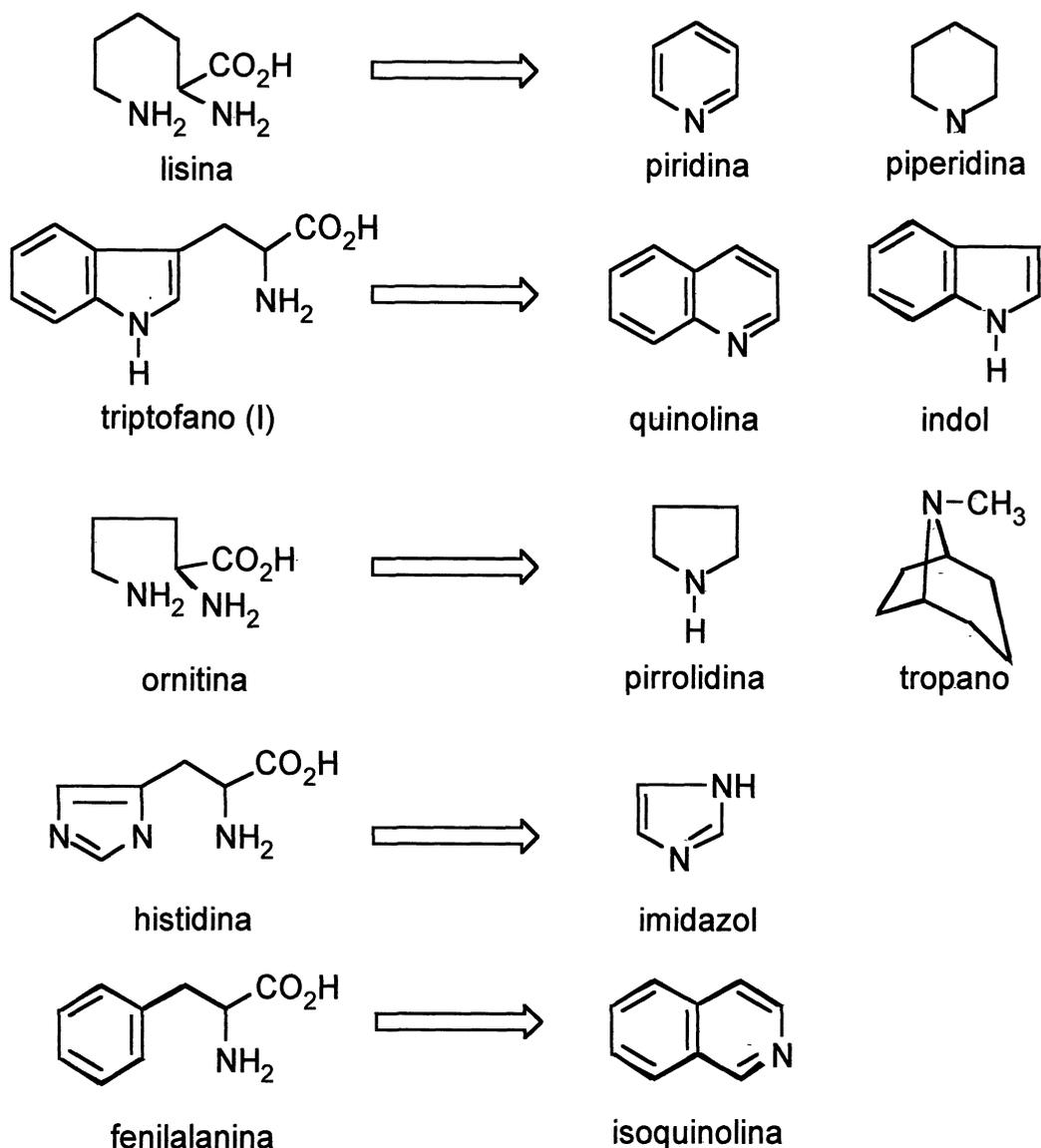
Assim como ocorre com muitos outros metabólitos secundários, pode-se pensar nos alcalóides como produtos de um erro metabólico, que provavelmente desaparecerão quando as plantas chegarem a um estágio de adaptação final e eliminarem todos os processos ineficientes. Os alcalóides são produtos finais de metabolismo, estruturalmente complexos e provenientes de seqüências de reação, onde muita energia é consumida.⁷

Podem ser divididos em três grandes grupos:

- a) **Alcalóides verdadeiros:** derivados de aminoácidos, contêm nitrogênio heterocíclico, subdividido em oito grupos de acordo com o aminoácido que lhe deu origem ou a estrutura do seu núcleo principal. (Ex. Esquema 1)
- b) **Protoalcalóides:** derivados de aminoácidos, não contêm nitrogênio heterocíclico também conhecidos como aminas biológicas. (Ex. efedrina, mescalina)
- c) **Falsos alcalóides:** não derivados de aminoácidos, contêm nitrogênio heterocíclico. (Ex. cafeína, solasodina)

A biogênese de muitas estruturas alcaloídicas pode ser representada através de reações simples com os aminoácidos; destes os mais representativos são: fenilalanina, tirosina, triptofano (I), histidina, lisina e ornitina.

As estruturas dos principais núcleos alcaloídicos, derivados dos respectivos aminoácidos de origem, estão sumarizados no Esquema 1.

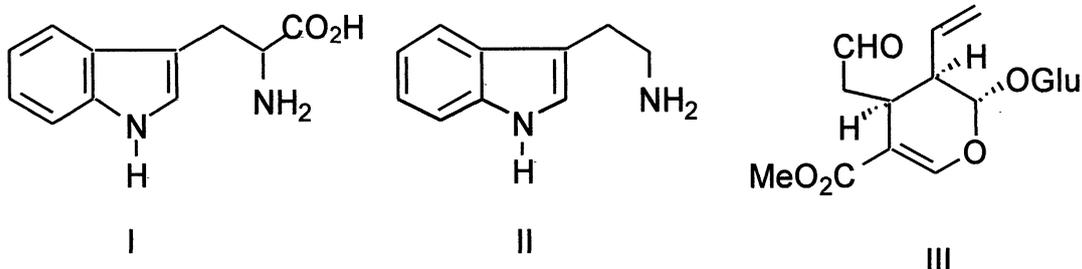


Esquema 1

3.2- Alcalóides derivados do triptofano (I)

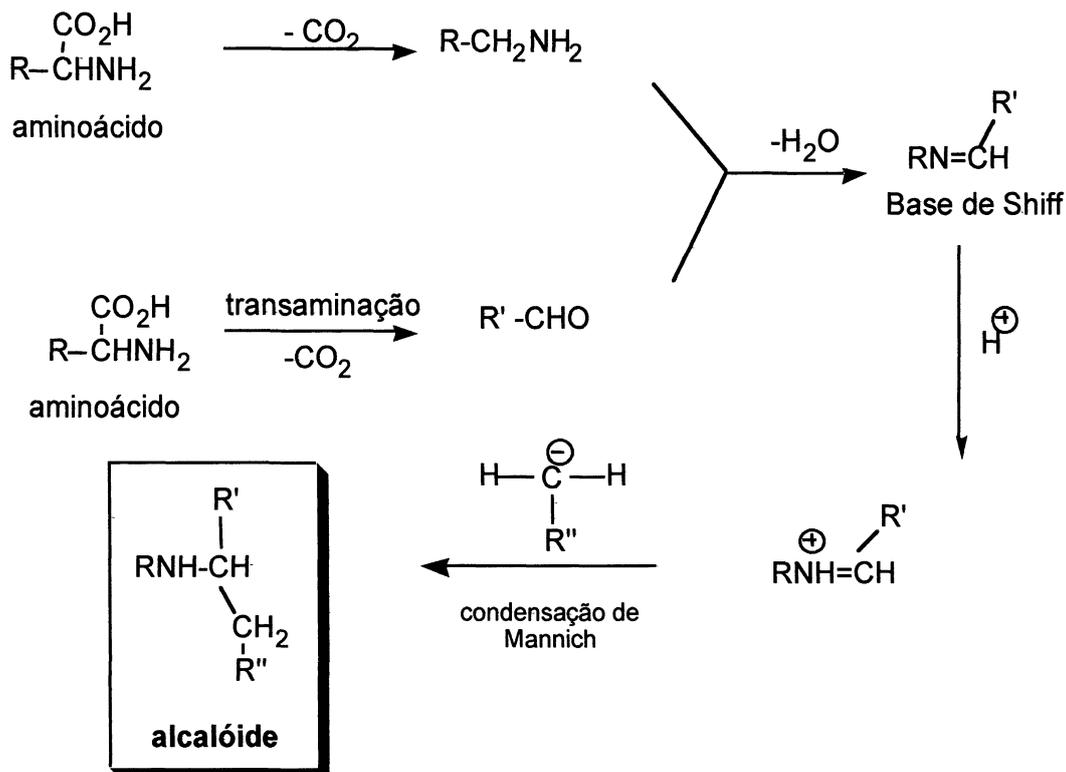
Os alcalóides indólicos são produtos naturais que contêm o núcleo do indol oxidado, reduzido ou com um substituto equivalente, como por exemplo oxindol, pseudoxindol, dihidroindol e o N-acilindol. Podem ser divididos em duas classes principais: primeiro, aqueles alcalóides indólicos mais simples, os quais não apresentam uniformidade estrutural e ocorrem em diversas famílias. Uma segunda classe, aqueles que contêm dois elementos estruturais: a triptamina (II), que é o

produto de descarboxilação do triptofano (I), com núcleo do indol e um monoterpreno com o esqueleto da secologanina (III). Os produtos de condensação destes podem ser classificados em oito tipos de acordo com as características estruturais dos seus esqueletos.¹⁹



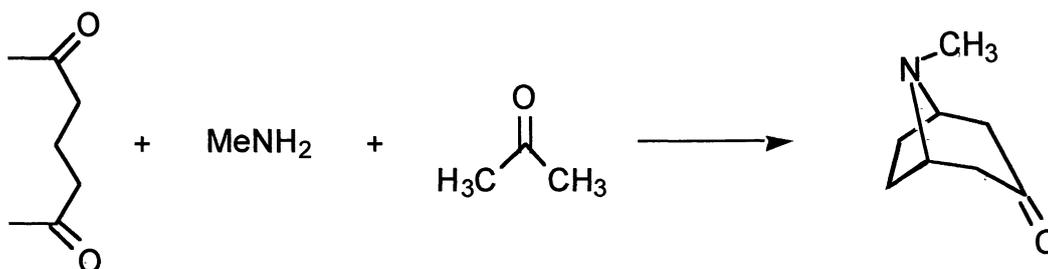
3.3- Reações gerais da biossíntese de alcalóides

As reações de maior importância são a transaminação e a descarboxilação dos aminoácidos que produzem uma amina ou um aldeído correspondente, os quais podem reagir e formar uma base de Schiff. Esta por sua vez, pode reagir com um carbânion numa condensação do tipo Mannich (Esquema 2).



Esquema 2

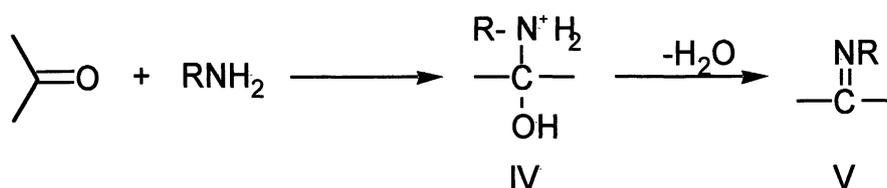
A reação de Mannich é uma das rotas biossintéticas mais importantes para produtos naturais, principalmente alcalóides e algumas destas reações foram repetidas experimentalmente. Um exemplo clássico é a síntese da tropinona por Robinson em 1917, que sintetizou tropinona usando a reação de Mannich envolvendo succindialdeído, metilamina e acetona.²¹ (Esquema 3)



Esquema 3

Na adição de amônia a aldeídos ou cetonas, pode-se esperar que os produtos iniciais sejam hemiaminas(IV) ou iminas (V).

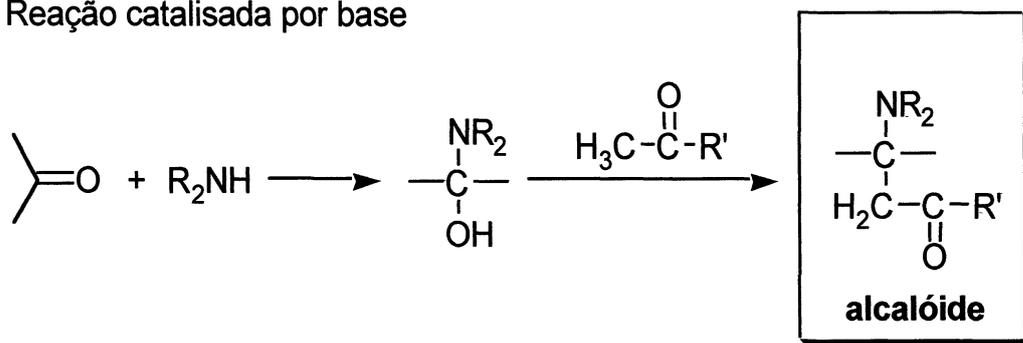
Aminas podem reagir com aldeídos e cetonas, para originar diferentes tipos de produtos. Aminas primárias dão origem a iminas.²² Entretanto em alguns casos, especialmente quando estão ligadas a grupos alquila simples, rapidamente decompõe-se ou polimerizam-se a menos que exista no mínimo um grupamento arila ligado ao nitrogênio ou ao carbono. Quando existe o grupamento arila, os compostos são razoavelmente estáveis e são usualmente chamados bases de Schiff e a reação processa-se com bons rendimentos. A hemiamina N-substituída perde uma molécula de água para formar base de Schiff estável (Esquema 4).²³



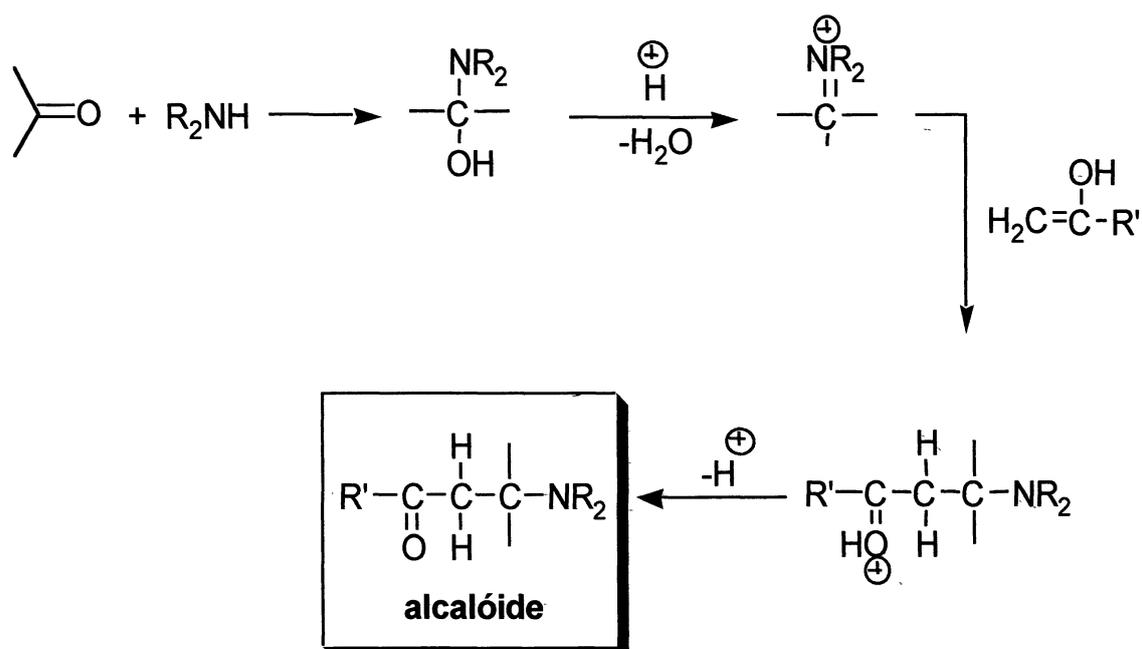
Esquema 4

Na reação de Mannich, o aldeído é condensado com amônia, aminas primárias, secundárias ou ainda com imidas. Estudos cinéticos da reação conduzidos por Cummings,²⁴ mostram duas possibilidades para o mecanismo da reação de Mannich: quando catalisada por base ou por ácido.²³ (Esquema 5).

Reação catalisada por base



Reação catalisada por ácido



Esquema 5

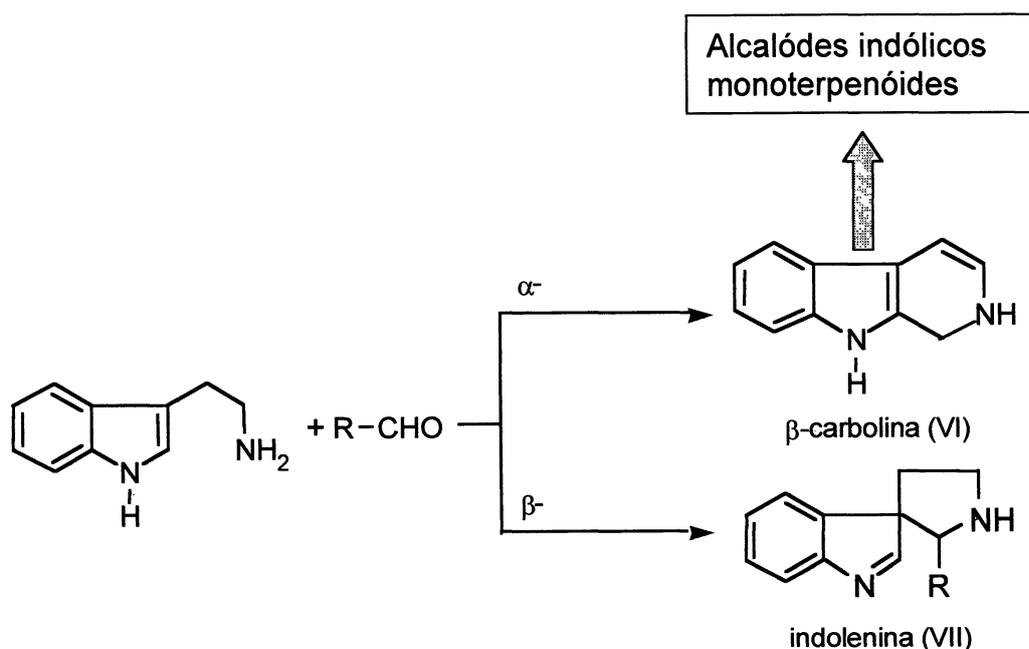
3.4- Biossíntese dos alcalóides indólicos

Nas últimas décadas do presente século, este grupo de bases orgânicas contendo núcleo indol recebeu muita atenção por diversos grupos de pesquisadores. Esse interesse iniciou-se com a descoberta das propriedades farmacológicas do ácido lisérgico e da reserpina, chegando até nossos dias com a introdução dos alcalóides da *Vinca* na terapêutica, certamente compostos com

altíssimo potencial farmacêutico. Estes têm sido isolados principalmente das famílias Apocynaceae, Loganiaceae e Rubiaceae embora sejam encontrados em diversas outras famílias vegetais.¹⁹

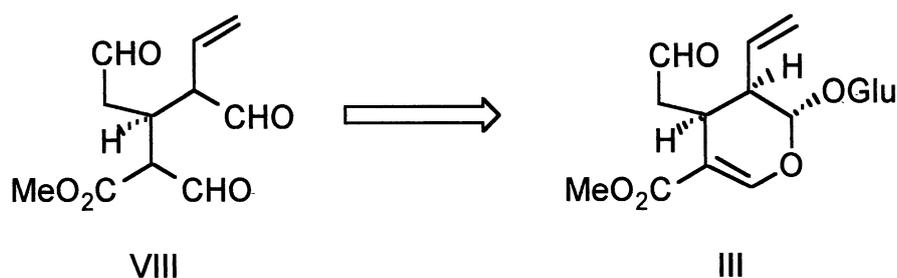
Existem poucas áreas na química de produtos naturais que tenham sido tão intensamente estudadas quanto a biossíntese dos alcalóides indólicos. Com um grupo de estruturas tão diversas quanto às destes compostos, ainda será necessário algum tempo antes de haver uma unificação de idéias em relação a classificação e origem biossintética.

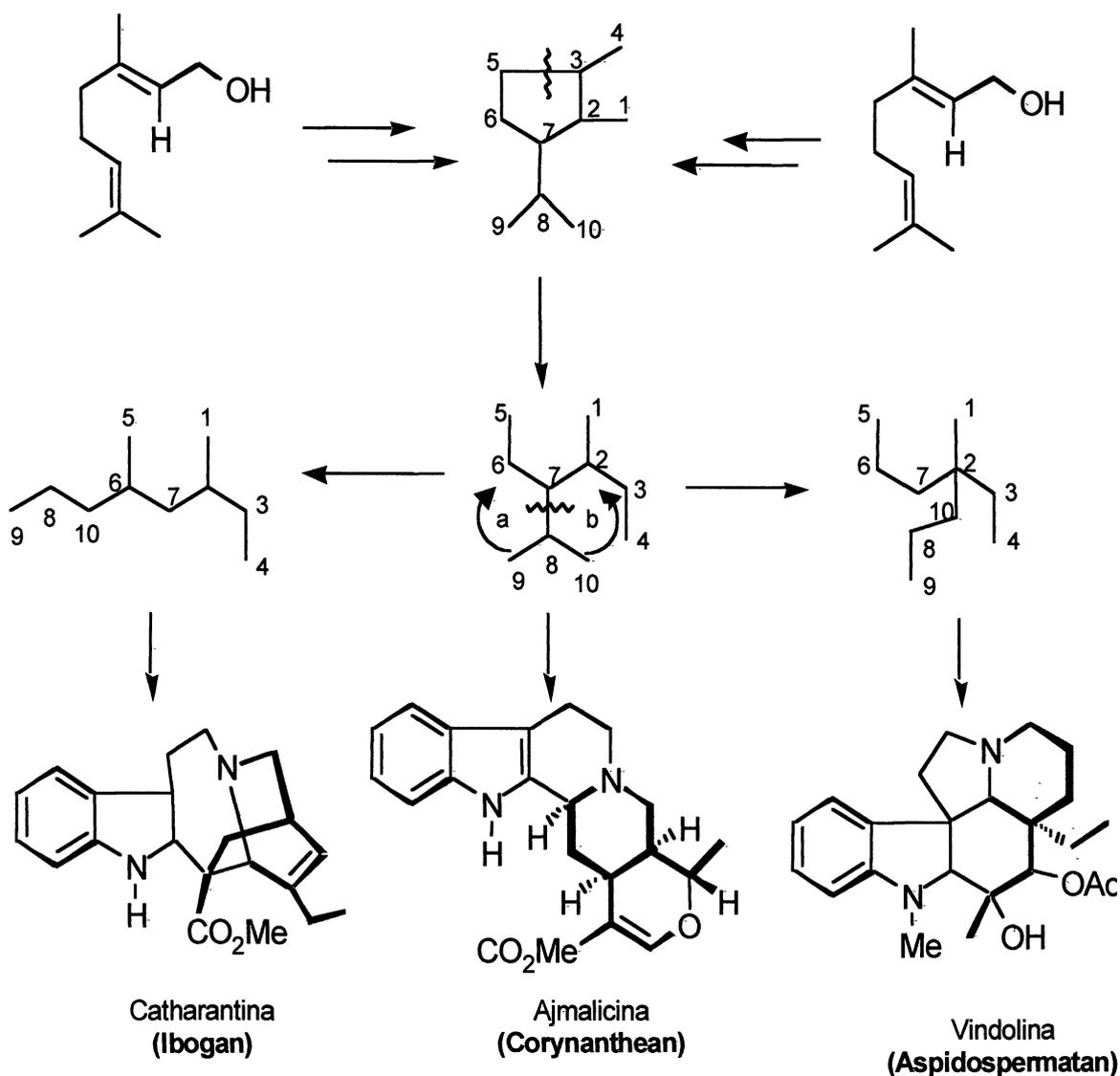
O triptofano (I) e seu produto de descarboxilação, triptamina (II), dão origem à maior parte dos alcalóides indólicos. Esta base usualmente contém dois átomos de nitrogênio; um é o nitrogênio do núcleo indólico e o outro encontra-se ligado dois átomos de carbono distantes da posição β do anel indólico. A reação de Mannich envolvendo o carbono α do núcleo indólico gera derivados de β -carbolina (VI); reação envolvendo a posição β dará origem a indolenina (VII) (Esquema 6).



Esquema 6

A teoria monoterpênica, rota do ácido mevalônico, proposta independentemente por Thomas e Wenkert, tem sido demonstrada experimentalmente.^{25,26} Culturas de células de *Catharanthus roseus* indicam que a rota partindo do geraniol até a loganina e secologanina (III), processa-se via um número de derivados do hidroxigeraniol. Recentemente foi proposta a rota alternativa para formação da porção monoterpênica via 1-deoxyxylulose até Isopentenil difosfato (IPP).²⁷ A secologanina (III) é uma estrutura complexa, comumente encontrada em plantas produtoras de alcalóides indólicos, apropriada para ser o precursor biológico de centenas desses alcalóides. Na forma de glicosídeo, possui três centros estereogênicos e cinco grupos funcionais reativos: três aldeídos, dois deles mascarados na forma enólica e um acetal ligado à glucose, um grupo carbometóxi e um vinílico. Essencialmente esse composto comporta-se como o trisaldeído (VIII). O esquema 7 mostra como vários destes alcalóides podem ser formados.



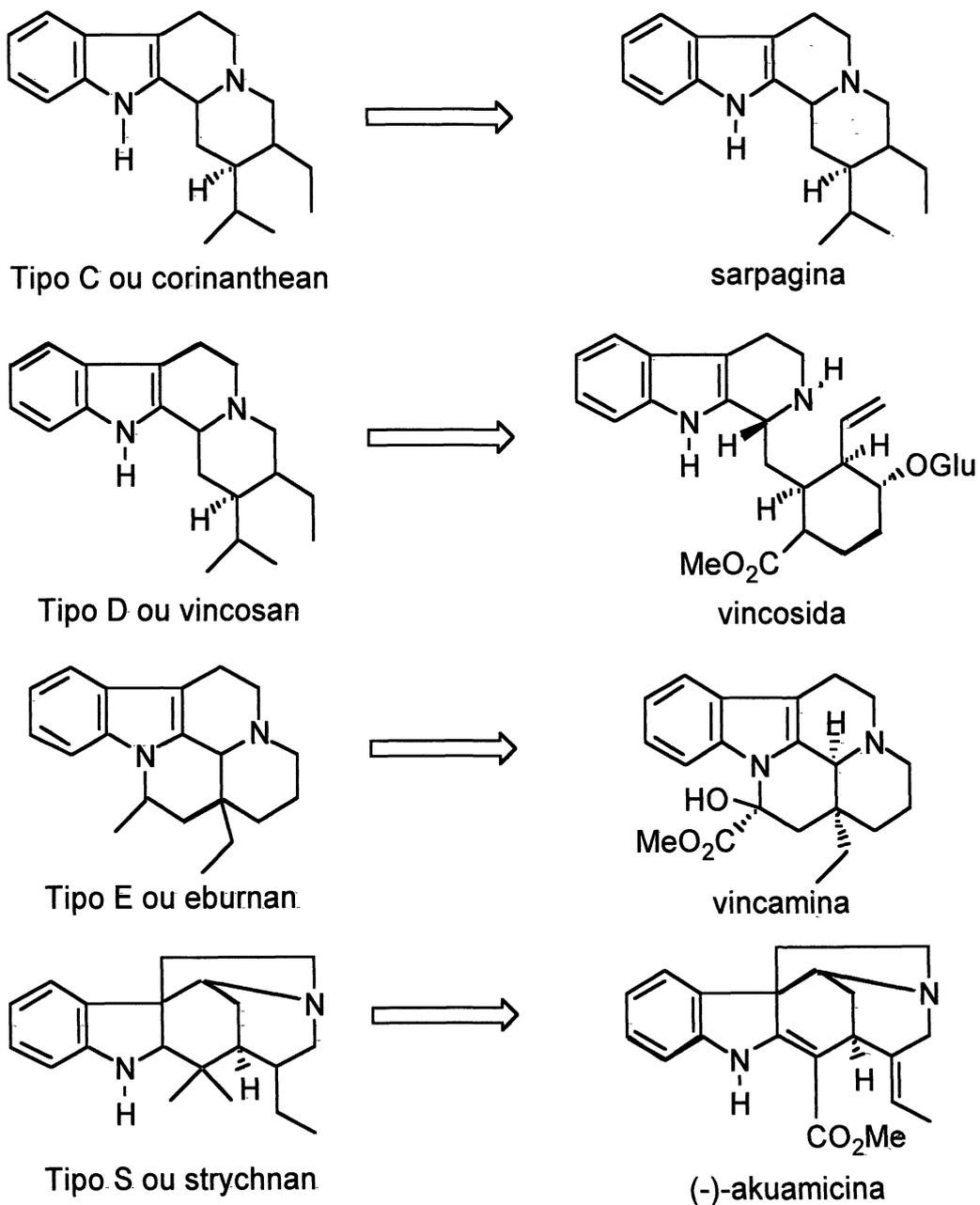


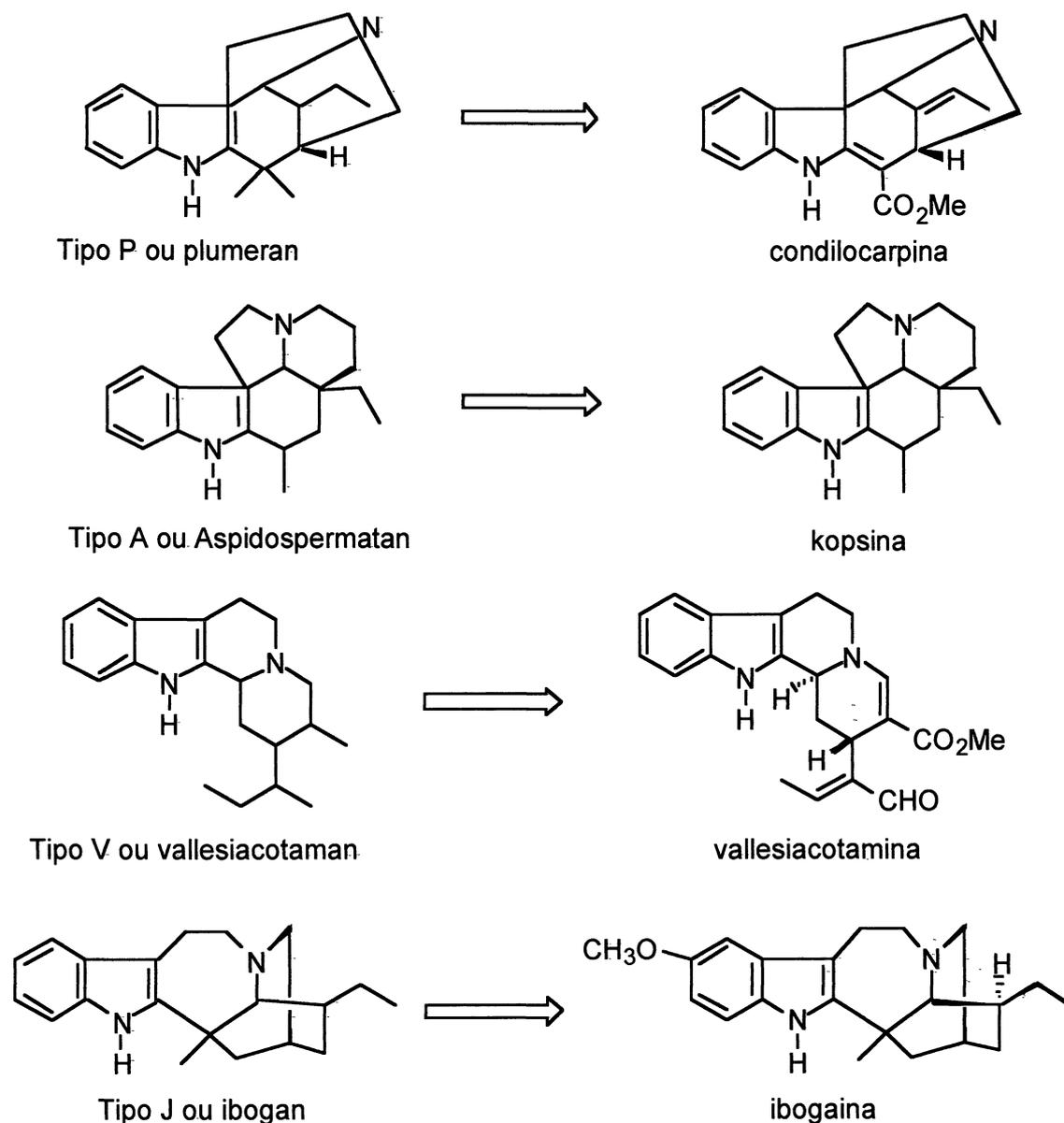
Esquema 7

3.5- Classificação de alcalóides indólicos e exemplos

Kompis e Hesse, em 1971,¹⁹ propuseram uma classificação diferente da tradicional divisão dos alcalóides indólicos (*Iboga*, *Corinanthé*, *Aspidosperma*). Basearam-se na biossíntese, e os dividiram em cinco classes. Mais recentemente, Kisakürek e Hesse classificaram os alcalóides indólicos em oito classes de acordo com características estruturais de seu esqueleto.⁵

O esquema abaixo mostra a classificação dos esqueletos de alcalóides indólicos segundo Kisakürek e Hesse, assim como alguns exemplos.





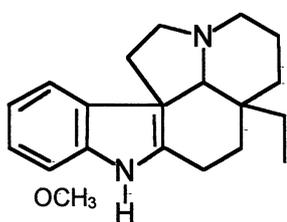
Esquema 8

3.5.1- Esqueletos tipo Aspidospermatan

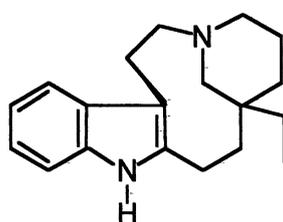
Cerca de 1200 alcalóides indólicos são conhecidos, compreendem a maior classe de alcalóides. Uma característica vantajosa no estudo dos alcalóides com esqueleto tipo Aspidospermatan está relacionado com um grande número de representantes, onde foram relatados aproximadamente 515 isolamentos, de 250 estruturas em 110 plantas diferentes.⁸ Adicionalmente, variações na estrutura nos

esqueletos de alcalóides do tipo Apidospermina fornecem grande base para um estudo quimiotaxonômico efetivo.

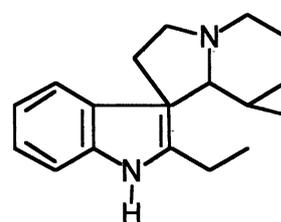
Neste tipo de esqueleto estão incluídos (-)-aspidospermina (IX), (-)-quebramichamina (X), tetrahidrosecodina (XI), (-)-secodina, (+)-pandolina, (-)-pleiocarpina, vindolinina entre outros.



aspidospermina (IX)



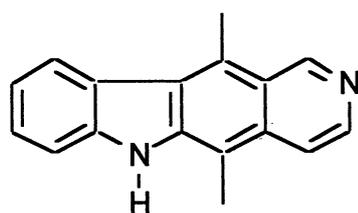
quebramichamina (X)



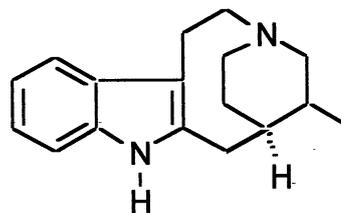
tetrahidrosecodina (XI)

3.5.2- Alcalóides com ausência de dois carbonos na ponte de triptamina

Existem raros exemplos de alcalóides indólicos com esqueleto do tipo Aspido-permatan em que na porção monoterpênica estão faltando 2 átomos de carbono da ponte de triptamina. Isso pode ser explicado pela proposta de biogênese desses alcalóides feita por Potier e colaboradores.¹⁹ Esta rota biossintética sumarizada no Esquema 9 que unifica a formação dos alcalóides com o esqueleto da uleína (XVII) com aqueles da elipticina (XXV) por meio de duas ciclizações alternativas derivadas da estemadenina (XXVI). Essa proposta envolve a quebra da ligação de N_b/C-21 seguida de rotação da ligação C-15/20 e ciclização para um intermediário XXVII para formar uleína.

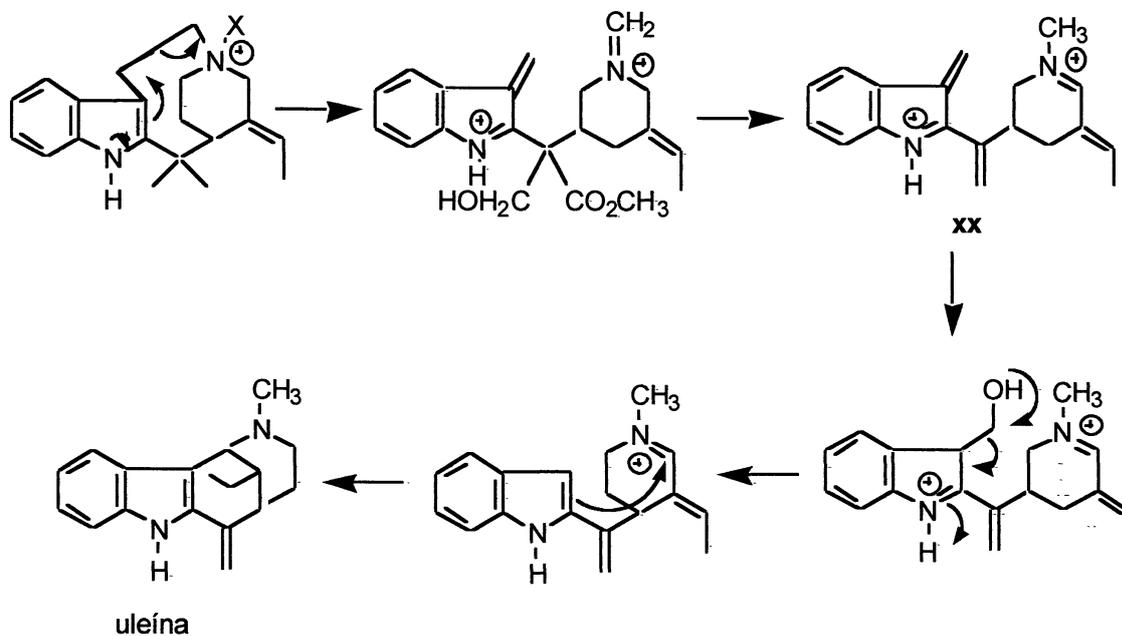


(XXV)



(XXVI)

Embora não exista nenhuma evidência para essa proposta, os trabalhos de Potier na área de química de produtos naturais e em especial, alcalóides indólicos, conferem a ele autoridade para propor tal rota.



Esquema 10

Pequenos subgrupos de alcalóides indólicos, como tipo Plumerano, são encontrados apenas em uma família, como nas Apocynaceae; diferenciando-se dos que pertencem ao tipo *Yoimbane*, por exemplo, os quais foram isolados de plantas que vêm das famílias Apocynaceae, Euphorbiaceae e Rubiaceae; analogamente o tipo *Corynanthé* que ocorre nas famílias Apocynaceae, Loganiaceae e Rubiaceae.

3.6- Revisão Bibliográfica

Os constituintes da sub-família Plumeroideae incluem uma vasta gama de alcalóides indólicos; foram encontrados mais de 500 relatos nos gêneros: *Alstonia*, *Aspidosperma*, *Catharanthus*, *Hunteria*, *Pleiocarpa*, *Tabernaemontana* e *Rauwolfia*. Outros constituintes presentes são glicosídeos cardioativos, glicosídeos

cianogênicos, leucoantocianidinas, saponinas, cumarinas, ácidos fenólicos e triterpenóides.⁷

As mais recentes pesquisas referentes às espécies dos gêneros *Plumeria* e *Himatanthus*, as quais são evolutivamente muito próximas, afirmam:

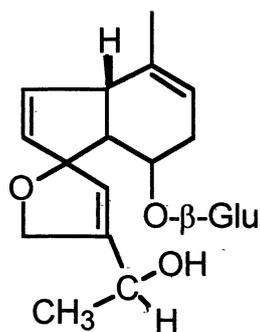
Que a fração hexânica extraída de *P. lancifolia* não apresentou atividade estrogênica.²⁸

Estudos farmacológicos preliminares no látex de *Himatanthus sucuuba* mostram que este possui atividade antiinflamatória e antitérmica.¹⁶

Em outro estudo, um grupo de pesquisadores, durante estudos de avaliação da capacidade antineoplásica da *H. sucuuba*, demonstrou que a mesma foi efetiva na inibição do crescimento das diferentes linhagens neoplásicas testadas.¹⁷ Posteriormente durante estudos de identificação dos componentes bioativos da mistura, demonstrou-se que o látex de *H. sucuuba* apresenta forte inibição de linhagens mutantes, a qual indica ação sobre o DNA de reparo. Dentre as substâncias da fração ativa foi identificado o iridóide plumericina entre outros presentes.¹⁸

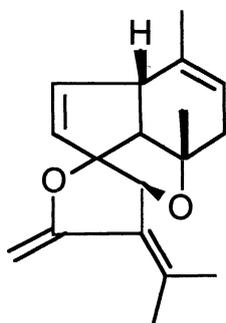
Também da fração hexânica do extrato de *H. sucuuba*, foi isolada a lactona fulvoplumierina.²⁹ Este mesmo composto foi encontrado nas cascas de *P. rubra*.³⁰

Os pesquisadores indianos Siddiqui e Naeed relataram o isolamento de cinco iridóides das folhas frescas de *Plumeria obtusa* sendo inéditos os 6''-O-acetilplumerídeo-*p*-Z-cumarato e 6''-O-acetilplumerídeo-*p*-E-cumarato, e os conhecidos plumierídeo, plumierídeo *p*-Z-cumarato e plumierídeo-*p*-E-cumarato.³¹ Também, das cascas de *Plumeria lancifolia* foi isolado o iridóide plumierida (XII),³² encontrado também em *P. acutifolia* e *P. rubra*.³³



plumierida (XII)

Foi relatada a presença dos iridóides plumericina (XIII), isoplumericina (XIV) e cumarato de plumierina nas folhas, caules e cascas de *Plumeria* spp. sendo estes raramente encontrados nas partes aéreas³⁴



isoplumericina (XIII) R=H R¹=Me
plumericina (XIV) R=Me R¹=H

Também de *P. obtusa* foram isolados dois novos triterpenos: obtusina e ácido obtusílico; além de identificados alguns compostos conhecidos, como canerosídeo, oleandrina, β -amirina, ácido neriucoumarico, ácido alfitolico, escopoletina.³⁵

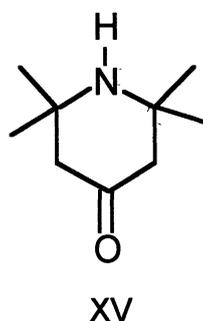
Comunicou-se a presença de glicosídeos cardiotônicos em *P. rubra*,³⁶ e nas flores de *P. alba* foram isolados os glicosídeos hiperosídeo e rutina.³⁷

Em estudo sobre a distribuição taxonômica de flavonóides e ácidos fenólicos nas folhas de vinte e duas plantas da família Apocynaceae, revelou-se que o kampferol foi mais frequentemente encontrado na sub-família Plumeroideae, as glicoflavonas e leucoantocianidinas na sub-família Echitoideae.³⁸

No que se refere aos alcalóides, conhece-se o relato do isolamento de vincubina (XV) das cascas de *P. sericifolia*,³⁹ também o isolamento do novo

alcalóide plumerinina, como sendo o primeiro relato de um alcalóide de um tipo Lupine na subfamília *Plumeroidea*.⁴⁰

Foi comunicado o isolamento e identificação do novo alcalóide com o raro esqueleto da uleína nas cascas de *Alstonia undulifolia*.⁴¹



Estudos de triagem em 100 plantas de 73 gêneros selecionados com base em dados bibliográficos levaram a conclusão de que o extrato de *P. rubra* apresenta atividade contra o vírus coxsachie e contra o vírus da poliomielite; sugerindo que estes extratos podem ser úteis na terapêutica.⁴²

A tribo Alstoniae tem sido a mais extensivamente investigada com 58 espécies quimicamente caracterizadas entre nove gêneros. Esta tribo, entretanto, é a menos uniforme com respeito a distribuição dos tipos de esqueleto.⁵

4- Experimental

4.1- Materiais e Métodos

Os espectros de ultra violeta (UV) foram obtidos em espectrômetro Shimadzu UV 1601 com cubetas de sílica fundida de 1 cm de espessura. Os espectros de infravermelho (IV) foram gerados em espectrômetro Bomem série MB modelo B-100 em pastilhas de KBr.

Os espectros de ^1H RMN foram gerados em espectrômetro Bruker DRX400 400 MHz e Varian Inova 300 MHz em CDCl_3 , sendo que os deslocamentos químicos estão descritos em δ em relação ao tetrametilsilano (TMS). Os espectros de ^{13}C RMN foram também adquiridos em espectrômetro Bruker DRX400 a 100 MHz.

Os espectros de massa foram obtidos em um espectrômetro Kratos Concept, sendo registrados e discutidos os valores m/z dos fragmentos obtidos com ionização por impacto eletrônico. A atividade ótica foi determinada em polarímetro AA-100 Optical Activity.

O experimento de cromatografia gasosa (CG) foi realizado em cromatógrafo Shimadzu, utilizando coluna capilar n. 4704257DB-1 com 30 m, 0.249 mm de diâmetro interno, 0.25 μm de espessura fase estacionária, temperatura do forno de coluna em 60°C (mantido 1 minuto) até 200°C, programação de temperatura de 1°C/min. Foi utilizado como gás de arraste o hidrogênio com velocidade linear de 40 cm/s, detector: FID à 180°C

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando placas pré-montadas em suporte de alumínio Merck GF₂₅₄ e em placas de vidro utilizando sílica gel 60G e GF₂₅₄ Merck, ativadas à 105°C por uma hora em estufa. A fase móvel utilizada foi *n*-hexano/acetato de etila/metanol (5:4:1). Como adjuvante

foi utilizado hidróxido de amônio na fase vapor para melhor resolução das manchas referentes às frações mais polares. Foi usado como revelador específico para alcalóides o reagente de Dragendorff acético, também lâmpada de UV. Dados de mobilidade relativa foram registrados de acordo com a convenção R_f .⁴³

Para as cromatografias em coluna foram utilizadas sílica gel 60G Merck 70-230 mesh e Aldrich 100-200 mesh como fase estacionária e como fase móvel foi utilizado gradiente de polaridade, *n*-hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, metanol. Para cromatografias preparativas foram utilizadas placas de sílica gel GF₂₅₄ Merck pré-montadas em suporte de vidro, com espessura de camada de 300 μm .

A abordagem fitoquímica foi efetuada baseada em reações clássicas de detecção de grupos de metabólitos secundários de plantas.⁴⁴

Os solventes e reagentes, todos P.A., foram purificados quando necessário por métodos padrões.⁴⁵ As soluções orgânicas foram secas por repouso sobre sulfato de sódio anidro.

As estruturas tridimensionais foram desenhadas em microcomputador Apple Macintosh®, processador MC68030 CPU, co-processador matemático MC68882 FPU e foram submetidas a minimização de energia sob parâmetros MM2 usando "software" Chem3DPlus™ 3.0.

4.2- Aquisição do material botânico

As cascas dessecadas de *Himatanthus lancifolius* (Mull. Arg.) Woodson foram adquiridas no mercado formal de plantas medicinais na região metropolitana de Curitiba e a droga identificada segundo a Farm. Bras I, por análise macroscópica e

microscópica e comparação com amostra autêntica do laboratório da Disciplina de Farmacognosia do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná. Foi depositada amostra da droga na herboteca do laboratório de Farmacognosia/UFPR.

Foram adquiridos 5 kg de cascas dessecadas que após limpas e moídas pesaram 4 kg.

4.3- Extração método 1

A droga (3,5 kg) foi deixada em maceração por 48 horas em solução aquosa de ácido clorídrico 1%, e extraída até reação negativa frente ao reativo de Dragendorff,⁴⁴ o extrato assim obtido foi filtrado e então concentrado em rota-evaporador (40°C) até aproximadamente 1/5 do volume inicial. Foi então alcalinizado com amônia diluída até pH 10. Paralelamente, foi alcalinizado também até pH 10, uma pequena porção do extrato com carbonato de sódio para verificar a possibilidade do aparecimento de artefatos oriundos da reação da amônia com alcalóides indólicos. A análise das fases aquosa e orgânica por CCD, não evidenciou diferenciação entre os dois métodos de alcalinização testados. O extrato bruto foi sucessivamente particionado com clorofórmio até reação negativa frente ao reativo de Dragendorff, fornecendo aproximadamente 12 g de extrato clorofórmico. Novamente realizou-se partição líquido-líquido por 3 vezes com o objetivo de obter a fração clorofórmica purificada.

4.4- Fracionamento do extrato 1

A fração clorofórmica concentrada em rota-evaporador e purificada por partição líquido-líquido forneceu 6,8 g do extrato clorofórmico, na forma de goma de coloração marron avermelhado. Deste total foram retirados 3,5 g para percolação em 90 g de sílica, eluindo-se com *n*-hexano, *n*-hexano: diclorometano (1:1), diclorometano, diclorometano:clorofórmio (1:1), clorofórmio, clorofórmio: acetato de etila (4:1), clorofórmio: acetato de etila (2:1), clorofórmio: acetato de etila (1:1), acetato de etila, acetato de etila:metanol (9:1), acetato de etila: metanol (4:1), acetato de etila: metanol (2:1) , acetato de etila: metanol (1:1) e metanol.

Desta percolação resultaram 140 frações, monitoradas por CCD, onde não foi possível obter separação eficiente, uma vez que as frações que apresentavam reação positiva para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff apresentavam-se gomosas ou pastosas.

Com o objetivo de eliminar possíveis interferentes procedeu-se o desengorduramento da droga, em aparelho de Soxhlet usando *n*-hexano como solvente. Foram retirados 2,4% p/p de material gorduroso, cujo procedimento contribui para eliminação de possível interferência sobre o comportamento cromatográfico da mistura de alcalóides.

4.5- Extração método 2

A droga previamente desengordurada (3,0 kg) foi deixada em maceração por 48 horas em solução aquosa de ácido clorídrico 1%, e extraída até reação negativa frente ao reativo de Dragendorff. O extrato assim obtido foi filtrado, então concentrado em rota-evaporador (40°C) até aproximadamente 1/5 do volume inicial. Foi então alcalinizado com amônia diluída até pH 10, e então extraído com clorofórmio até reação negativa frente ao reativo de Dragendorff, fornecendo aproximadamente 6 g de extrato clorofórmico. Novamente realizou-se partição líquido-líquido por 3 vezes com solução de amônia diluída.

4.6- Fracionamento do extrato 2

A fração clorofórmica concentrada em rota-evaporador e purificada por partição líquido-líquido, forneceu 4,2 g do extrato alcaloídico. Foram retirados 3,0 g para percolação em sílica (90 g), eluindo-se com: *n*-hexano, *n*-hexano:diclorometano (1:1), diclorometano, diclorometano:clorofórmio (1:1), clorofórmio, clorofórmio:acetato de etila (4:1), clorofórmio: acetato de etila (2:1), clorofórmio: acetato de etila (1:1), acetato de etila, acetato de etila:metanol (9:1), acetato de etila: metanol (4:1), acetato de etila: metanol (2:1), acetato de etila: metanol (1:1) e metanol.

Desta percolação resultaram 180 frações, monitoradas por CCD, a partir da fração número 60 observou-se reação positiva quando reveladas com UV ou Dragendorff, indicando a presença de alcalóides. As frações coletadas até o número

59 foram desprezadas, por não apresentarem dados de interesse para este estudo. As frações de números 60 a 120 que apresentaram basicamente o mesmo comportamento cromatográfico foram reunidas e denominadas fração P.

A avaliação da fração P por CCD indicou a presença de oito manchas com reação positiva frente ao reativo de Dragendorff, no entanto sem apresentar separação eficiente. O fracionamento do extrato clorofórmico foi repetido por mais três vezes, até atingir quantidade de material (0,8 g) que viabilizasse a continuidade do estudo.

A fração P foi cromatografada em coluna de sílica (25 g), utilizando gradiente de polaridade, iniciando com diclorometano até acetato de etila; passando por clorofórmio. Foram coletadas 100 frações, as de números 1 a 15 foram desprezadas, nas de números 16 até 75 foram detectados compostos com grau de pureza variável, denominadas fração P2. O único composto isolado, PL-3 foi, coletado das frações 39 até 43.

4.7- Isolamento dos alcalóides

A fração P2 foi submetida a cromatografia preparativa em placas de sílica gel (20 X 20 cm), utilizando a fase móvel já mencionada, obteve-se quatro linhas bem distintas entre outras, que representam aparentemente 4 alcalóides em maior quantidade produzidos por *H. lancifolius*.

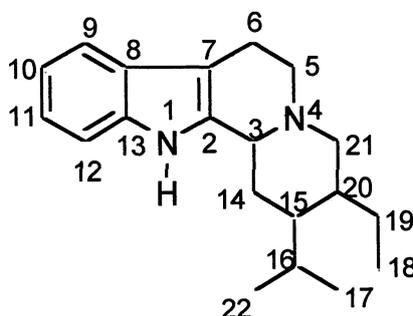
Foram isolados PL-1, PL-2, PL-3 e PL-4. Compostos cromatograficamente puros. Os compostos PL-1 e PL-3 foram submetidos à análise espectroscópica para

sua identificação. Os compostos PL-2 e PL-4 não foram obtidos em quantidade suficiente para sua correta identificação.

4.8- Sistema De Numeração

Para os alcalóides indólicos derivados da triptamina, a numeração é baseada no sistema biogenético proposto por Le Men & Taylor⁴⁶

Neste trabalho, como na convenção para esteróides, α indica abaixo e β acima do plano do anel.



4.9- Cristalização de PL-3

O alcalóide PL-3 foi cristalizado após a fração cromatograficamente pura ser dissolvida em metanol aquecido até aproximadamente 50°C seguido de resfriamento lento e atrito com bastão de vidro contra as paredes do frasco, então deixado em repouso.

5- Resultados e discussão

O material vegetal obtido no mercado na forma de droga, foi identificado positivamente segundo a Farm. Bras. I, por análises macroscópicas e microscópicas e por análise comparação com amostra de referência do Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná, como sendo as cascas do caule de *Himatanthus lancifolius* (Müll. Arg.) Woodson Apocynaceae, popularmente conhecida como agoniada.

A abordagem fitoquímica realizada para identificar a presença dos grupos de metabólitos secundários na amostra, mostrou os seguintes resultados (Tabela 1):

Tabela 1. Abordagem fitoquímica das cascas de *H. lancifolius* (Müll. Arg.) Woodson Apocynaceae.

Metabólito secundário pesquisado	Método	Resultado
Glicosídeos flavônicos e livres	Reações de Shinoda e cloreto de alumínio	Negativo
Alcalóides	Reações gerais de alcalóides	Positivo
Glicosídeos cardiotônicos	Reação de Pesez Reação de Kedde	Positivo (fracamente)
Glicosídeos saponosídicos	Formação de espuma	Negativo
Antraquinonas livres e glicosídicas	Reação de Bornträger direta e com hidrólise ácida	Negativo
Princípios polifenólicos tânicos	Reações clássicas de identificação: gelatina, acetato de chumbo e cloreto férrico ⁴⁴	positivo

O resultado da abordagem fitoquímica realizada está de acordo com os resultados divulgados por estudos quimiotaxonômicos anteriormente realizados, onde fica evidenciada a presença de alcalóides em espécies da família Apocynaceae.⁵

Dados da literatura mostram que é comum na família Apocynaceae a ocorrência de alcalóides indólicos de vários tipos, a sub-família Plumerioideae, tribo Alstoniae, a qual *H. lancifolius* pertence, é uma das mais estudadas e apresenta uma diversidade muito grande de estruturas elucidadas, basicamente esqueletos do tipo aspidospermina.^{5,47}

Para o estudo da fração alcaloídica procedeu-se a obtenção do extrato bruto segundo a Farm. Bras. II, o qual foi alcalinizado e posteriormente particionado com CHCl_3 . Esta fração foi submetida a procedimentos cromatográficos, entre eles CC e CCD, permitindo o isolamento de dois compostos que inicialmente foram denominados PL-1 e PL-3.

5.1- O composto PL-3

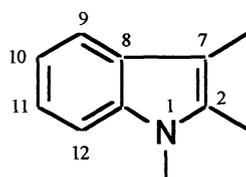
O primeiro composto PL-3 foi purificado por cromatografia de camada delgada preparativa (8 mg, R_f 0,35 *n*-hexano: acetato de etila :metanol(5:4:1)) na forma amorfa e posteriormente cristalizado em metanol. O experimento de cromatografia gasosa mostrou pureza de 87,5% (Fig. 1) do material isolado. O composto cristalizado apresentou ponto de fusão entre 74-79 °C e o espectro de

ultra-violeta mostrou uma banda característica do núcleo α -vinil indol (λ_{max} 305 nm)⁴⁸ (Fig. 2) e o espectro de infravermelho (Fig. 3) evidenciou sinais em 3394 (deformação axial N-H), 2921 e 2820 (deformação axial simétrica de CH₂), 1633 (anel aromático) e sinais menores em 1555, 1459 (deformação angular simétrica no plano) e 725 cm⁻¹.^{48,49}

O espectro de massa de PL-3 (Fig 4) apresentou íon molecular em m/z 267 ($M^+ + 1$), 266 (M^+), correspondendo a um composto de fórmula molecular C₁₈H₂₂N₂ [calcd. para C₁₈H₂₂N₂: 266.1783; encontrado: 266.1781]. Fragmentos em m/z 251 ($M^+ - 15$) e m/z 237 ($M^+ - 29$) indicam a presença de um grupo etila terminal, como também o aparecimento de sinais de derivados do carbazol (m/z 167) confirmam novamente a possibilidade de que PL-3 seja um alcalóide do grupo indol.^{47,49,50}

A principal fonte de informações com relação à estrutura de PL-3 foi o espectro de ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) (Fig 5), que apresentou em δ 0,88 um triplete ($J = 7,36$ Hz) com integração para três prótons, correspondendo a um grupo metila ligado a um metileno com sinal em δ 1,15 ($J = 7,40$ Hz), confirmando a presença do grupo etila na estrutura. Um singlete com integração para três prótons aparece em δ 2,59, cujo deslocamento sugere a presença de um grupo N-CH₃. A presença de dois singletes em δ 5,21 e 5,59, com integral para um próton cada, característico de prótons em carbono sp², corresponde a presença de um grupo H₂C=C exocíclico.^{49,51} Uma série de sinais na região alifática do espectro pode ser assinalada para prótons metínicos e metilênicos. Um duplete ($J = 1,51$) para um

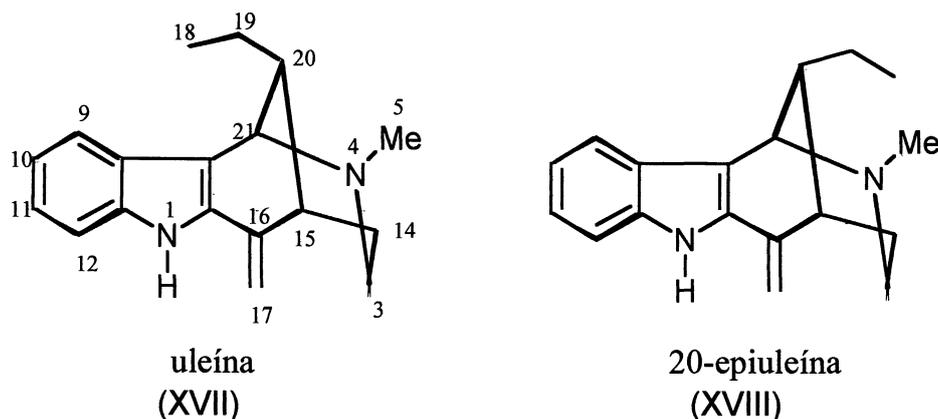
próton em 4,55 ppm pode ser assinalado para o próton do carbono que faz ponte entre o núcleo indol e Nb (C-21), este por acoplamento a longa distância ($J = 1,51$) com o hidrogênio ligado a C15.^{49,51} No entanto, é característico na região aromática do espectro o padrão para compostos derivados indólicos não-substituídos (XVI) um sinal correspondente a NH entre δ 8 e 9, um duplo duplete para os prótons H-9 e H-12 em torno de δ 7,3 - 7,5 e, abaixo do sinal do clorofórmio residual, dois tripletes superpostos para os prótons H-10 e H-11, conforme figura abaixo:⁵²



(XVI)

Pode-se observar que na região aromática do espectro de PL-3 aparecem dois tripletes com integração para um próton cada δ 7,18 e 7,26 ($J = 7,37$ e 7,38, respectivamente), um duplo duplete em δ 7,50 para dois prótons e um singlete largo em δ 9,0, correspondendo ao padrão de espectro de XVI.⁵²

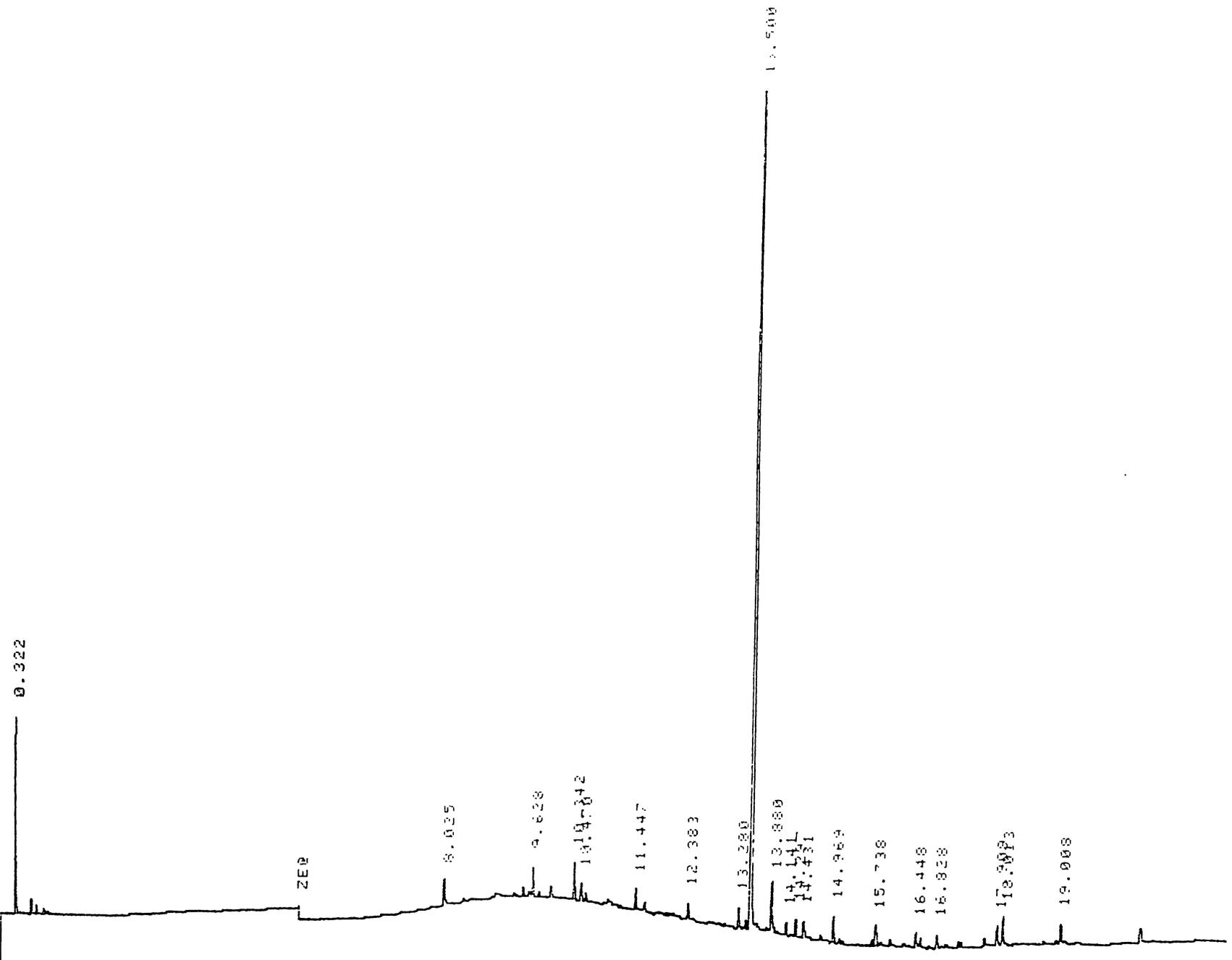
Baseados nos dados apresentados até o momento e analisando os dados da literatura o alcalóide indólico com fórmula molecular $C_{18}H_{21}N_2$ [M^+ 266],^{19,47,52,53} poderia-se sugerir que a estrutura de PL-3 correspondesse a uleína (XVII) ou 20-epiuleína (XVIII).



Para diferenciar entre as estruturas propostas, o espectro de ^{13}C RMN de PL-3 (Fig. 7) e os dados na literatura para 20-epiuleína (XVIII) foram bastante significativos.⁵⁴ Os valores assinalados para as ressonâncias de C-8, C-9, C-10, C-11 e C-12 foram feitas por analogia com os dados da literatura para compostos com núcleo indólico não-substituído. O sinal em 12,059 ppm foi assinalado para o grupo metila C-18, cuja ressonância em campo alto é presumível por ser o carbono mais blindado da estrutura. O sinal em 24,8 ppm pode ser atribuído ao C-19. Nesse caso, há uma diferença entre os valores para a uleineína com a 20-epiuleína. Na 20-epiuleína, o dado da literatura para esse carbono apresenta-se deslocado em δ 23,3 uma vez que a cadeia lateral etila está axial em relação ao anel piperidínico (Fig 8) enquanto que na uleineína, está equatorial. Assim, a interação 1,3 axial é esperada ocorrer entre o grupo etila e o próton em C-14. Isso resultaria em uma compressão estérica de C-14, C-20 e, em menor extensão, em C-18 e C-19 na 20-epiuleína, o que levaria esse carbono a aparecer em campo mais alto na 20-epiuleína que na uleineína. Dessa forma, o sinal em δ 32,4 pode ser atribuído ao C-14 da uleineína, que mostra um efeito gama devido a compressão estérica de cerca de 5 ppm, enquanto que na 20-epiuleína, o C-14 aparece em δ 27,8.

Para confirmar essa distinção, o deslocamento químico da metila terminal em PL-3 (Fig. 5 e 6) em δ 0,86 aparece de forma blindada por encontrar-se acima do núcleo aromático, enquanto que na 20-epi-uleína esse sinal é observado em 1,08 ppm.¹⁹

Baseado nesses dados, sugere-se a estrutura da uleína (XVII) para o composto PL-3. Com essa proposta, pode-se explicar melhor o espectro de massa de PL-3, no qual o fragmento m/z 251 indica a perda de um grupo metila (C-18), enquanto o fragmento m/z 237 indica a perda de C₂H₅ (C-18/19). O processo de fragmentação leva ao aparecimento de alguns sinais derivados do 3-etil-1-metil-2-(2-metilaminoetil) carbazol, o qual é isômero da estrutura proposta e pode ser derivado do mesmo por impacto eletrônico, estes sinais podem ser apresentados como: m/z 266, 223, 222, 208, 207, 204.⁴⁶



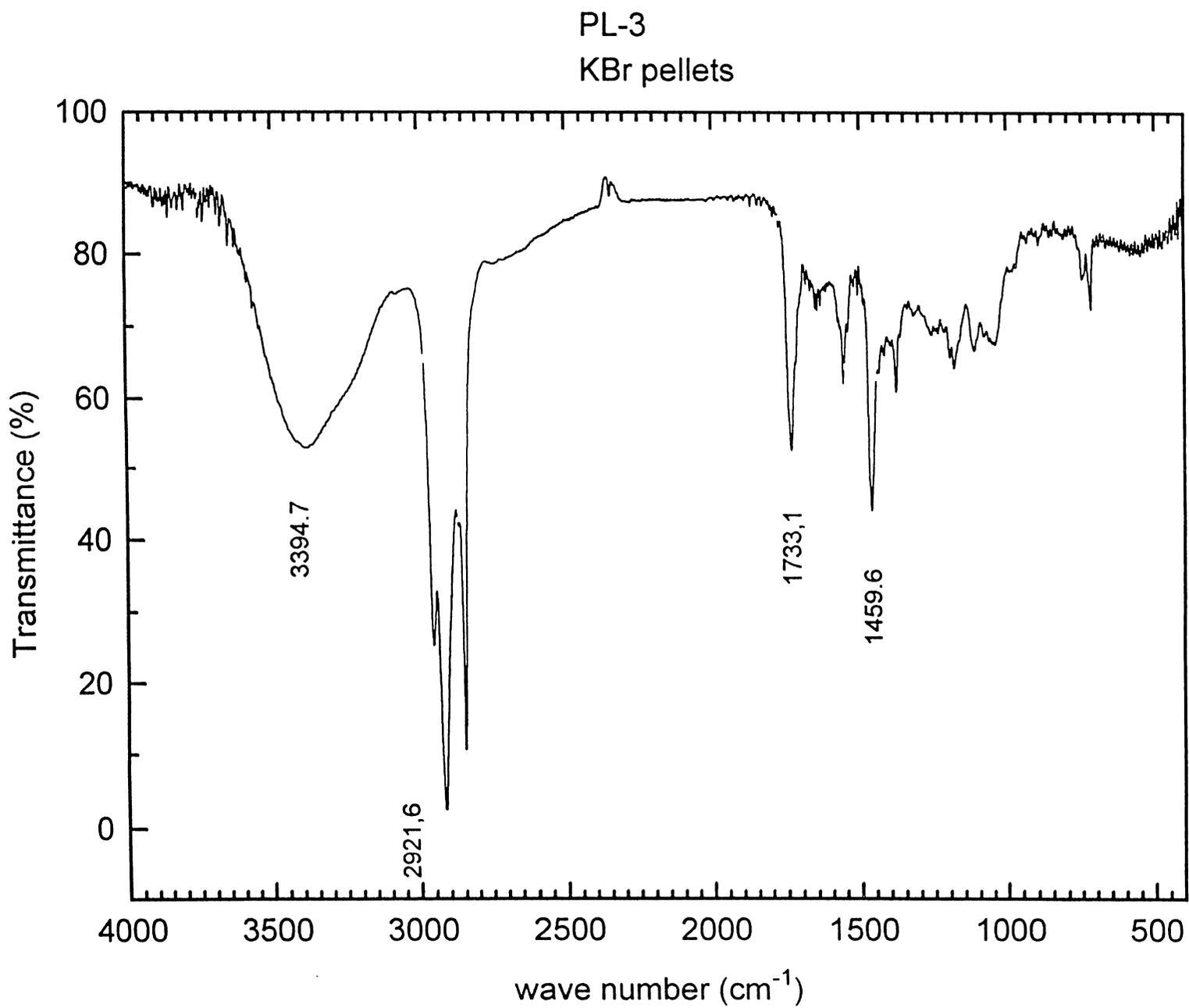


Figura 2. Espectro de infravermelho de PL-3

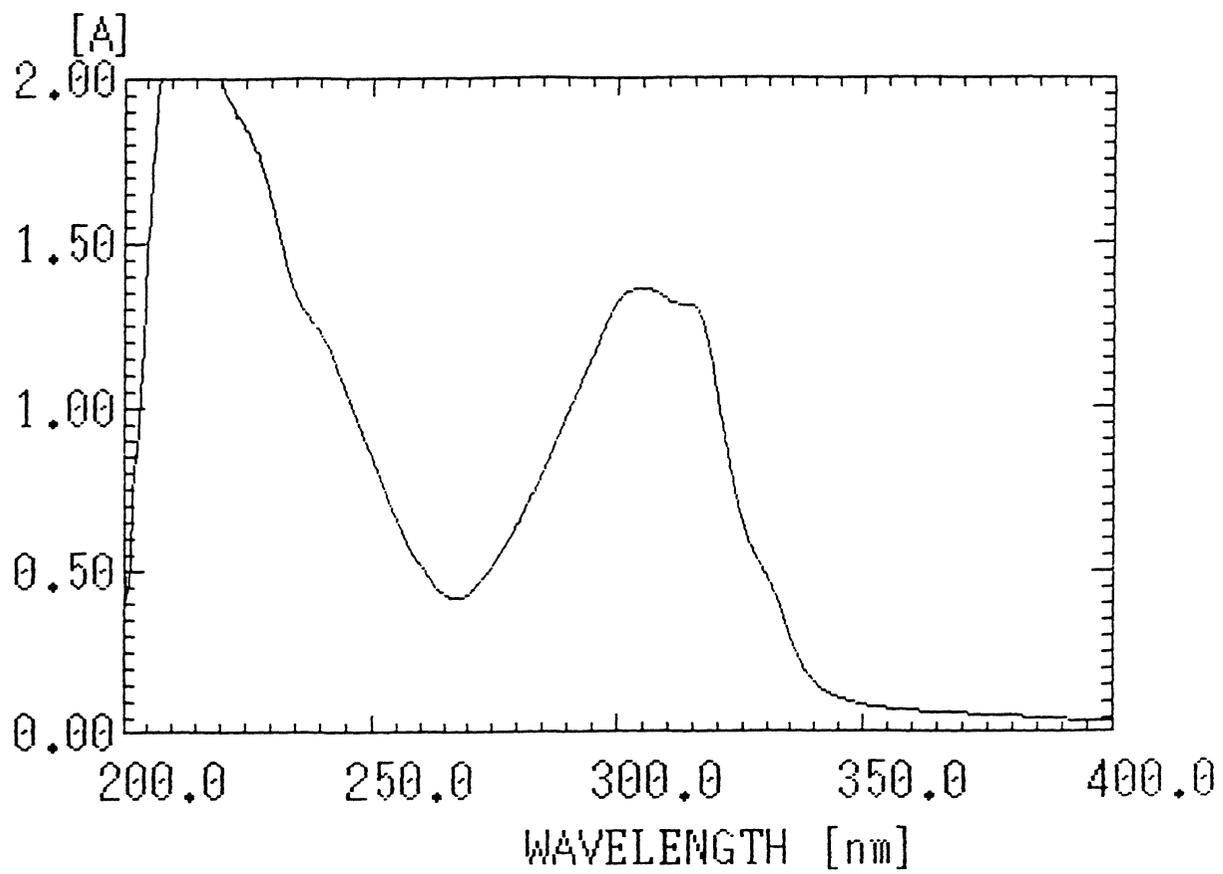
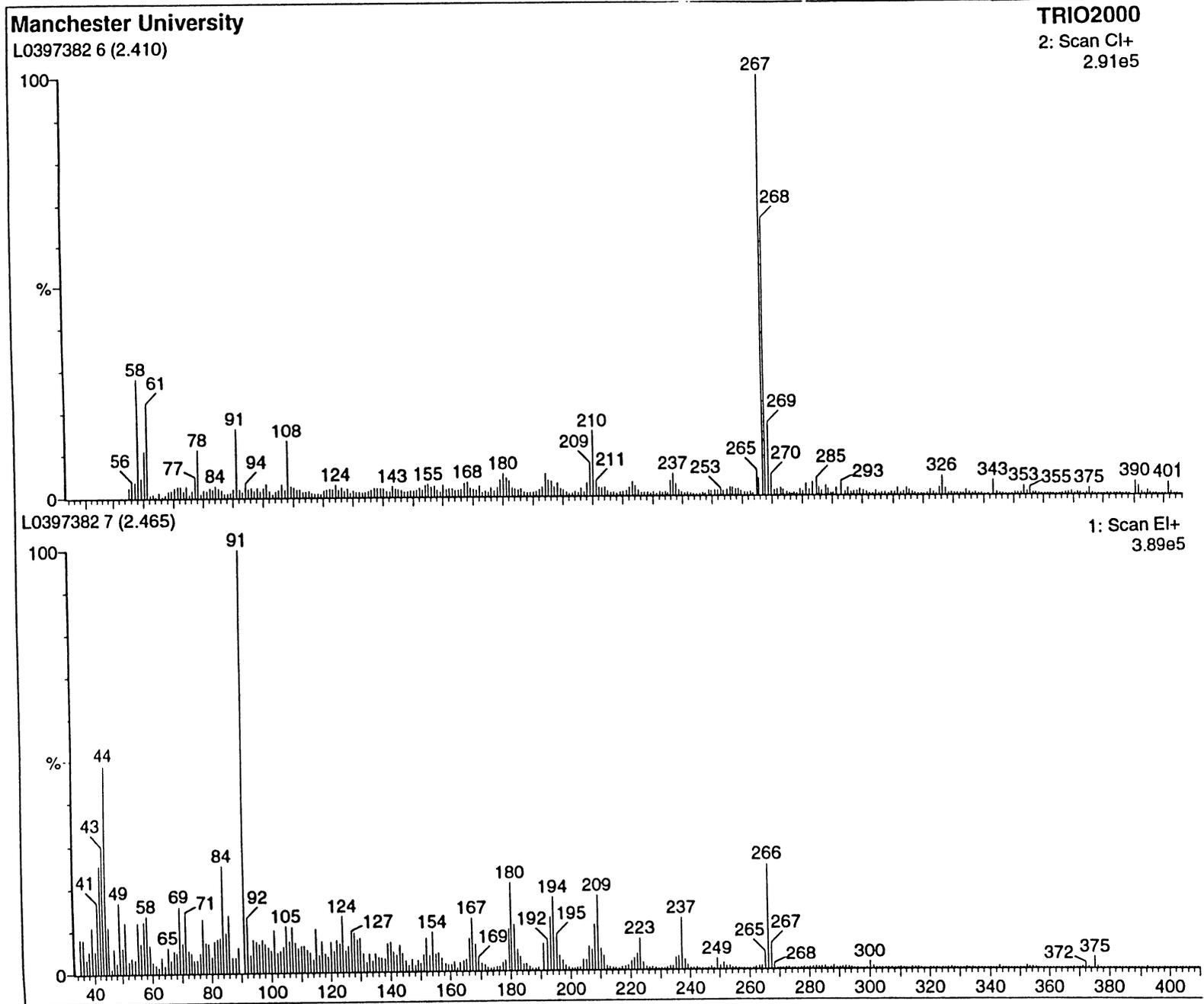


Figura 3. Espectro de UV de PL-3

Figura 4. Espectro de massa de PL-3



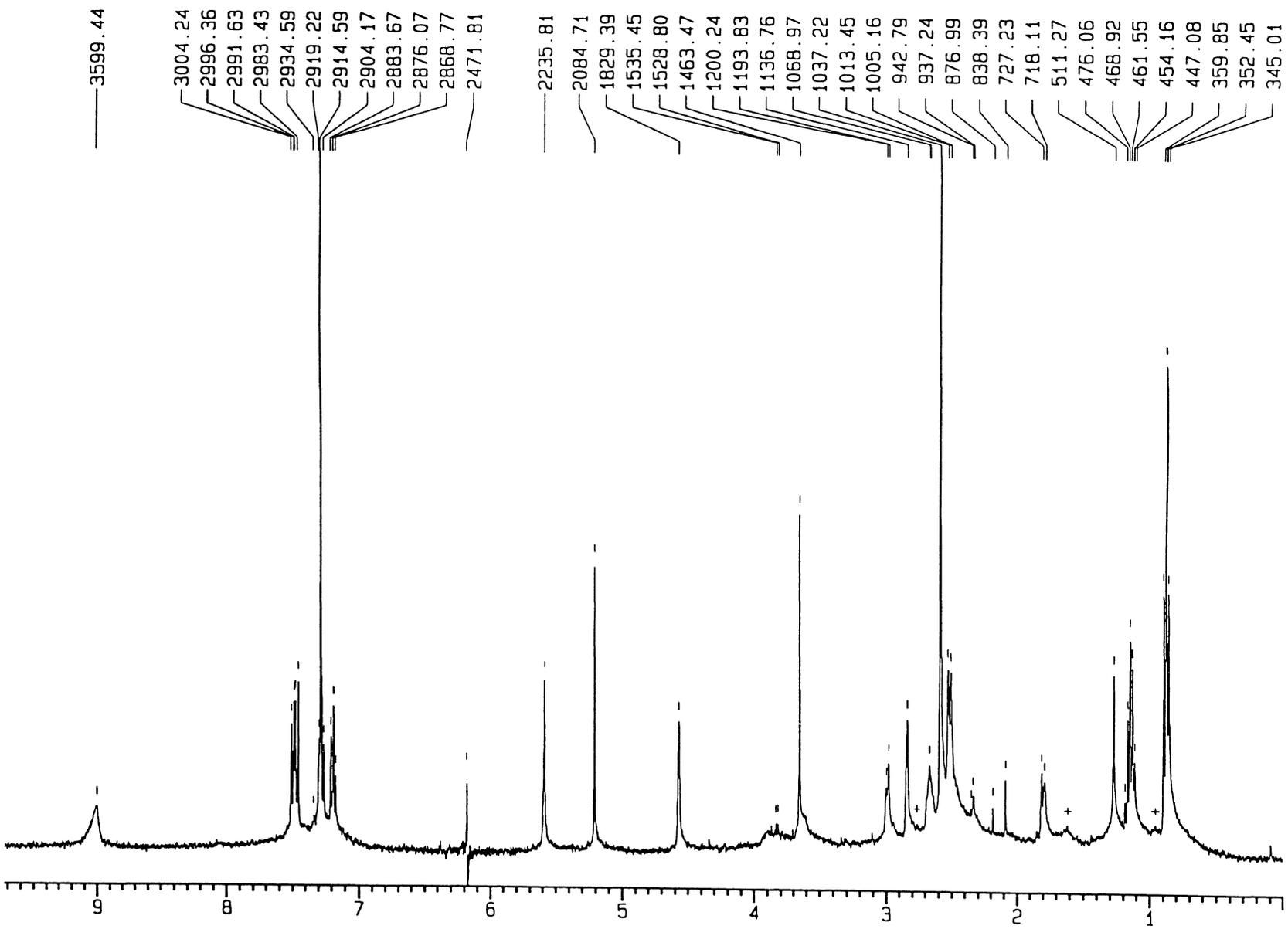


Figura 5. Espectro de ^1H RMN (400 MHz) de PL-3, em CDCl_3

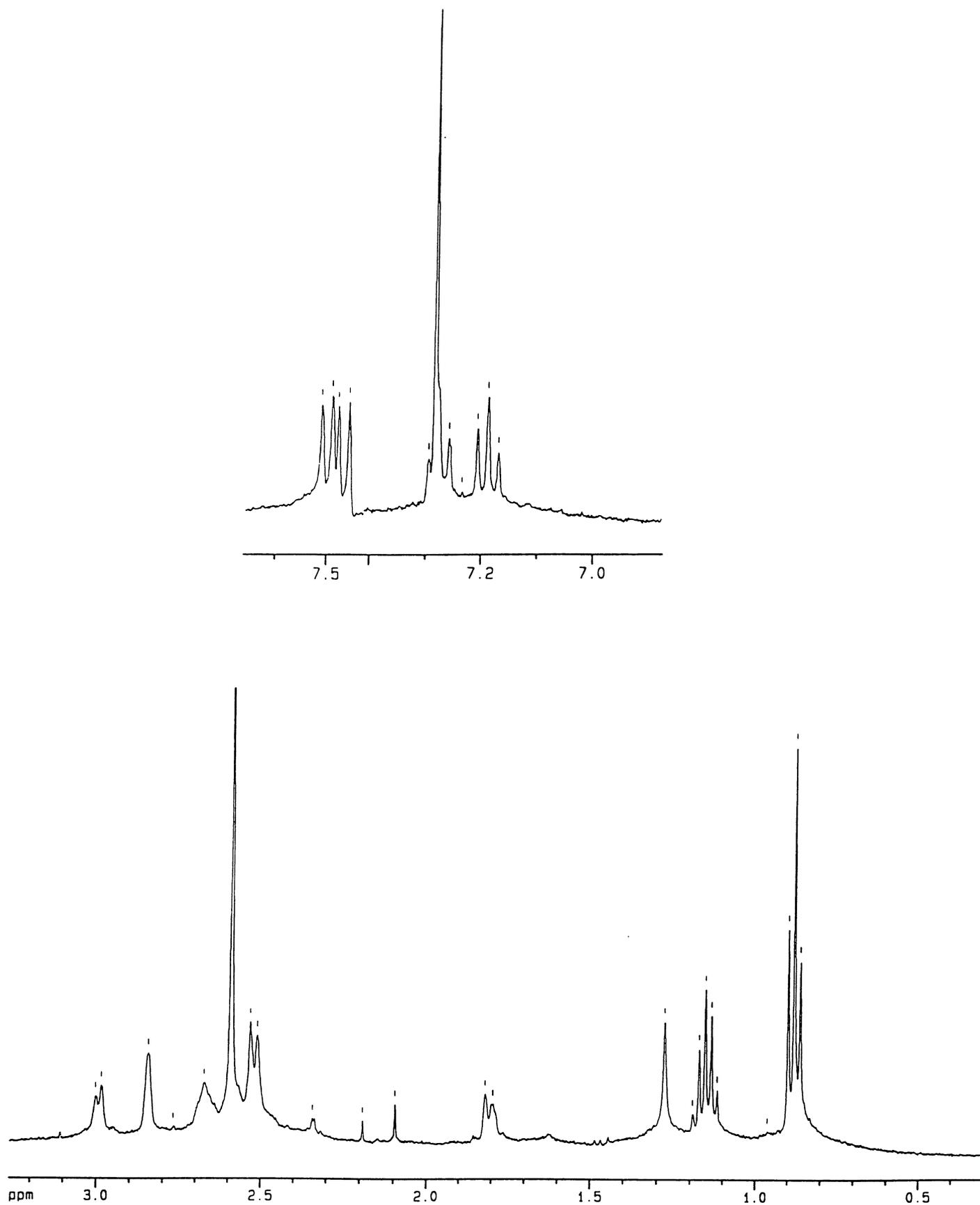


Figura 6. Expansões do espectro de ^1H RMN (400 MHz) de PL-3.

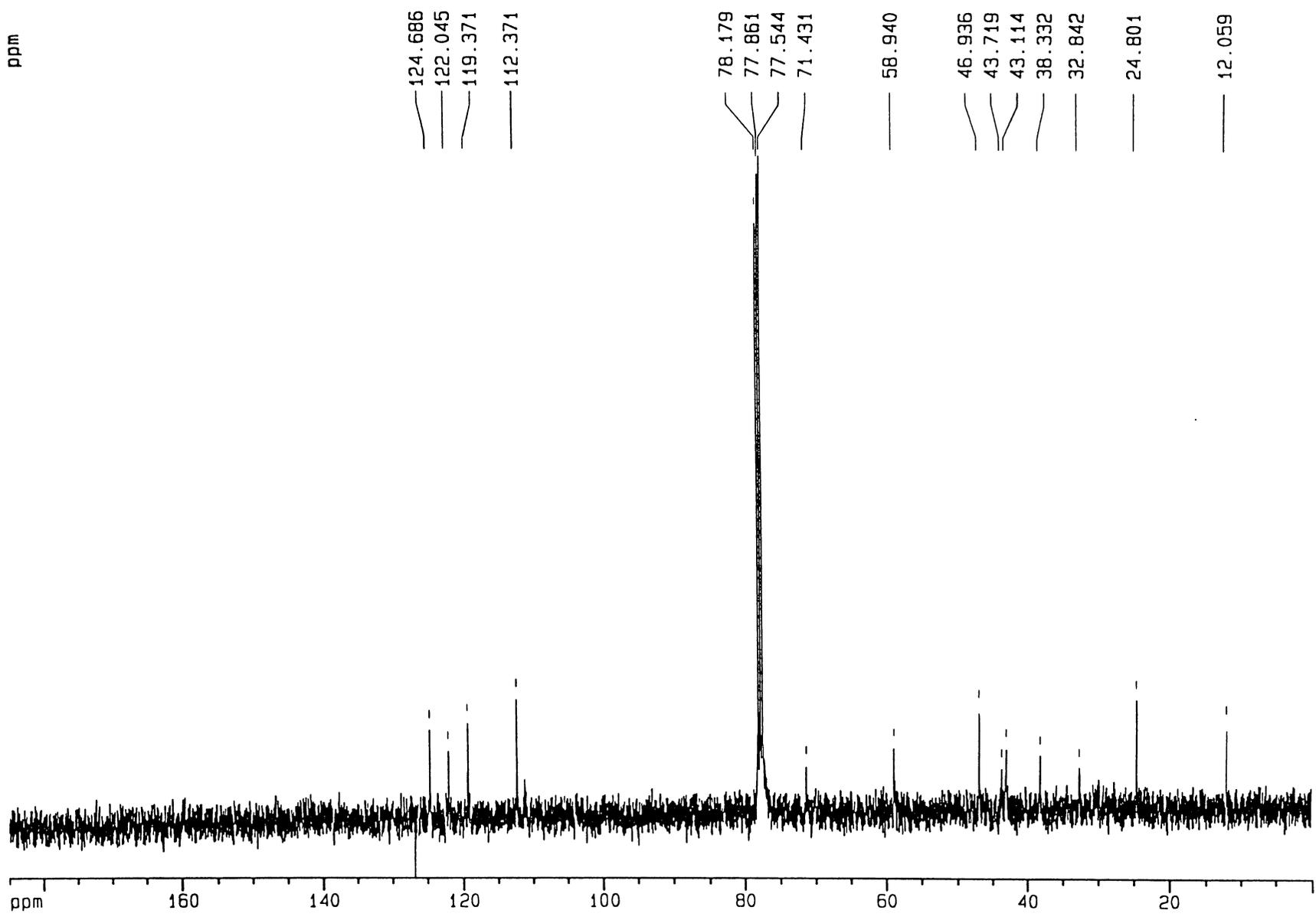
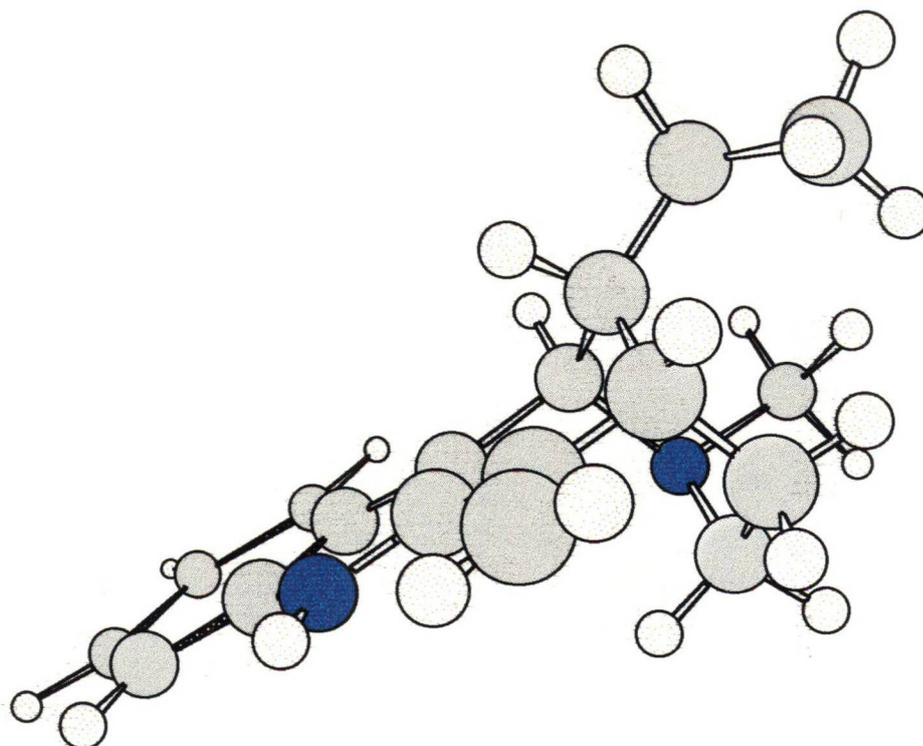


Figura 7. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz) de PL-3.



uleína (XVII)

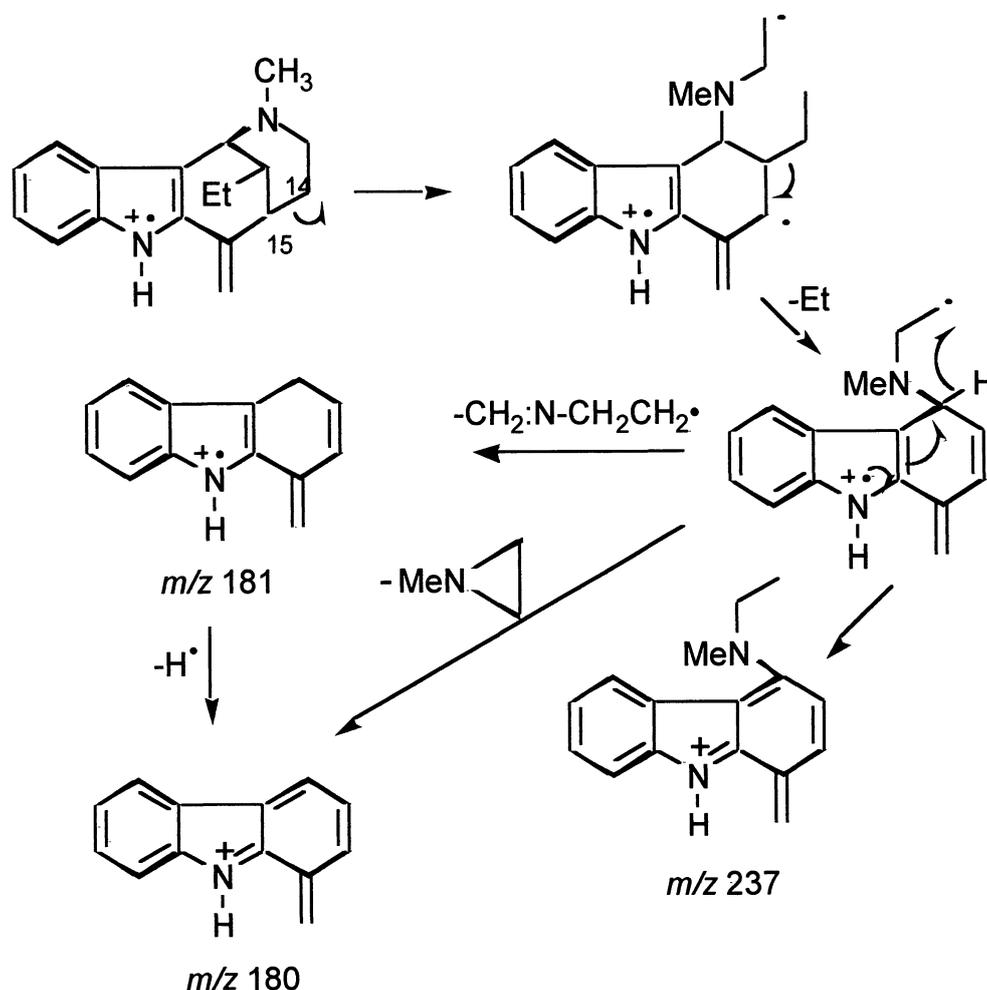


20-epiuleína (XVIII)

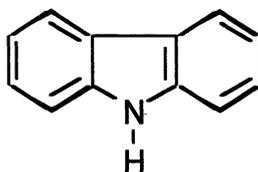
Figura 8- Estruturas tridimensionais da uleína (XVII) e da 20-epiuleína (XVIII) a minimização de energia.

O fragmento M-C₂H₅ pode ser explicado pela localização de íon na ligação C-14/15, que é ativada pela posição alila, e ocorrendo a quebra da ligação e perda de radical etila com formação subsequente de **XX**, o qual permite a formação eventual de *m/z* 237.⁴⁷

Alternativamente, a perda do substituinte de C-21 com transferência de um hidrogênio N-metil de **XX** pode ocorrer a formação de *m/z* 181 (**XXI**) e subsequente perda de hidrogênio benzílico de *m/z* 181 ou a perda da cadeia lateral amina formando a espécie totalmente conjugada *m/z* 180 (**XXII**) (Esquema 8).



O sinal do espectro de massa de m/z 167 é provavelmente sinal do íon carbazol (**XIX**).⁵⁰

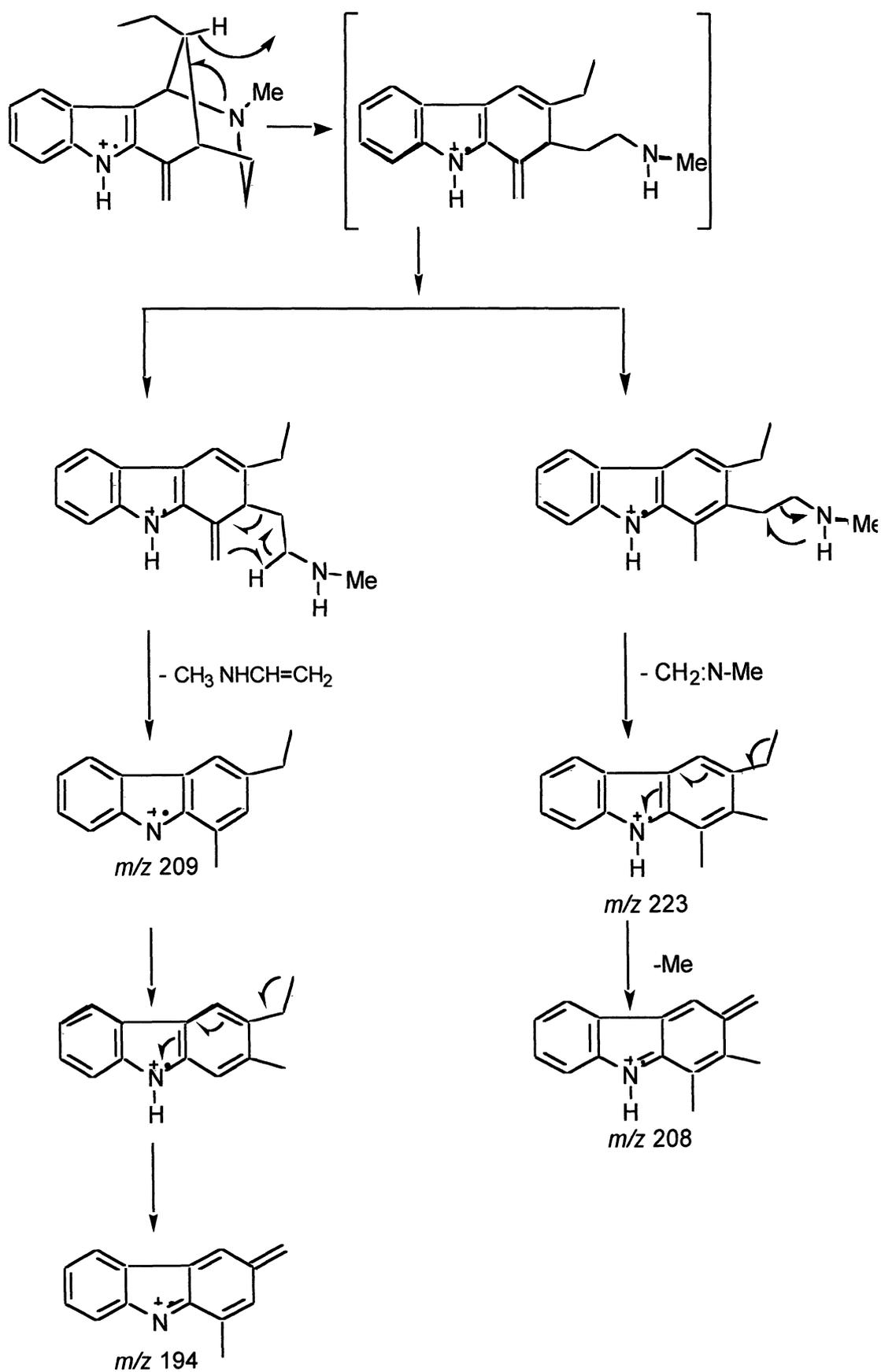


carbazol

(XIX)

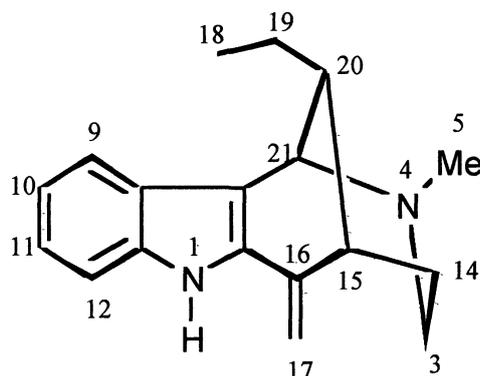
O importante íon m/z 209 (**XXIII**) pode ser formado por rearranjo de hidrogênio através de um intermediário de seis membros, adicional quebra da ligação benzílica com perda de um radical metila origina o íon de m/z 194. (**XXIV**) (Esquema 9)

A uleína é um dos raros exemplos de alcalóides indólicos que contém a unidade monoterpênica mas falta a ponte de dois carbonos da triptamina (**II**).⁵⁴



Esquema 11

5.2- Dados de PL-3



pf 74-89°C

[M⁺] 266; C₁₈H₂₁N₂

CCD: *n*-hexano:EtOAc:MeOH (5:4:1) R_f = 0,35

U.V.: λ_{max} (MeOH) 305 nm

I.V.: ν_{max} (KBr) 3394,7; 2970; 2921,6; 1733,1; 1555,0; 1459,6; 725,0
cm⁻¹

MS: *m/z* (%) 267 (M⁺+1, 8) 266 (M⁺, 25), 237 (12), 233 (9), 209 (18),
194 (18), 180 (22), 91 (100), 44 (50)

Rendimento: 0.003%

Tabela 1: ¹³C RMN 100 MHz (CDCl₃) δ de PL-3.

C	δ		
		12	112.4
3	46.9	14	32.8
5	43.7	15	38.3
8	124.7	18	12.0
9	119.1	19	24.8
10	119,3	20	43.1
11	122.0	21	58.9

Tabela 2: ^1H RMN 400 MHz (CDCl_3) de PL-3

δ	J	Multiplicidade/ Integração	H
0,88	7,36	triplete/3H	18
1,15	7,40	quinteto/2H	19
1,27	-	singlete largo/1H	14 ^a
1,80	9,4	duplete largo/1H	3a
2,52	8,47	duplete/1H	14b
2,59	-	singlete/3H	5
2,82	1,51	duplete/1H	15
2,99	6,9	duplete largo/1H	20
4,55	1,51	duplete/1H	21
5,21	-	singlete/1H	17 ^a
5,59	-	singlete/1H	17b
7,18	7,37	triplete/1H	10
7,26	7,38	triplete/1H	11
7,46	8	duplo duplete/1H	12
7,50		duplo duplete/2H	9 e 12
9,00	-	largo singlete/1H	N-H

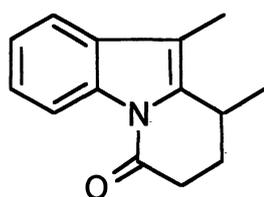
5.3- O composto PL-1

O composto PL-1 foi isolado da fração P2 por cromatografia preparativa (5 mg), *n*-hexano:acetato de etila:metanol (5:4:1); $R_f=0,25$, na forma amorfa.

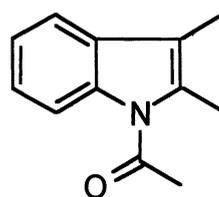
A estrutura e a configuração absoluta do composto, foram estabelecidas por comparação dos dados físicos e espectrais com os da literatura, os quais estão sumarizados na página 61 deste trabalho.

O composto PL-1 apresentou reação positiva com Reativos de Mayer e Dragendorff e absorção no ultravioleta (λ_{max} 253, 280 e 289 nm) típico de cromóforo N-acil-diidroindol⁴⁸ (XXIX) sem substituição no anel benzênico e nenhuma absorção de NH ou OH foi detectada no espectro de infravermelho.

Os compostos N-acil substituídos podem aparecer em dois grupos distintos: aqueles em que a carbonila está fixa em uma posição de maneira que o sinal para H-12 está presente na região desblindada (XXVIII) e aqueles em que a carbonila é parte de um grupo acetil com rotação livre (XXIX) e nesse caso pode haver modificações nos sinais de alguns prótons.⁵²



XXVIII



XXIX

A região aromática do espectro de ^1H RMN (300 MHz) (Fig. 10) de PL-1 apresentou o padrão, em princípio, similar ao do indol normal, mas sem o sinal de

NH do núcleo indólico (normalmente um singlete largo em torno de δ 5-6). A posição dos sinais para H-9 e H-11, os quais apareceram em δ 7,14 (m, 2H) e um triplete em δ 6,96 (1H, $J = 7,42$), foi atribuído a H-10, enquanto que o sinal para H-12, influenciado pelo substituinte do nitrogênio do núcleo indólico, uma vez que estão espacialmente próximos, apareceu como um duplete em δ 8,01 ($J = 7,83$). Esses valores, comparados com dados da literatura, demonstram que PL-1 tem a estrutura **XXIX**, com o grupo acetil de rotação livre.

O aparecimento de um duplo duplete com integração para um próton centrado em δ 3,99 ($J = 11,26$ e $6,32$) foi atribuído ao H-2 do núcleo diidroindol enquanto que um singlete em δ 2,2 para um próton indicou a presença de um carbono terciário ligado a N_b da porção monoterpênica dos alcalóides indólicos, correspondendo a C-21. Um triplete centrado em 0,56 (3H, $J = 7,27$) demonstra mais uma vez a presença de um grupo etila na estrutura atribuído a H-18. Um singlete em δ 2,19 (3H) foi atribuído à metila do grupo acila.

O espectro de COSY (Fig. 11) mostrou acoplamentos de H-18 com dois multipletes centrados em δ 0,80 para H-19a e δ 1,50 para H-19b. Também acoplamentos de H-2 mostram a posição para H-16a e 16b em multipletes centrados em δ 1,6 e 1,4, respectivamente. Outros acoplamentos também podem ser vistos no espectro de COSY.

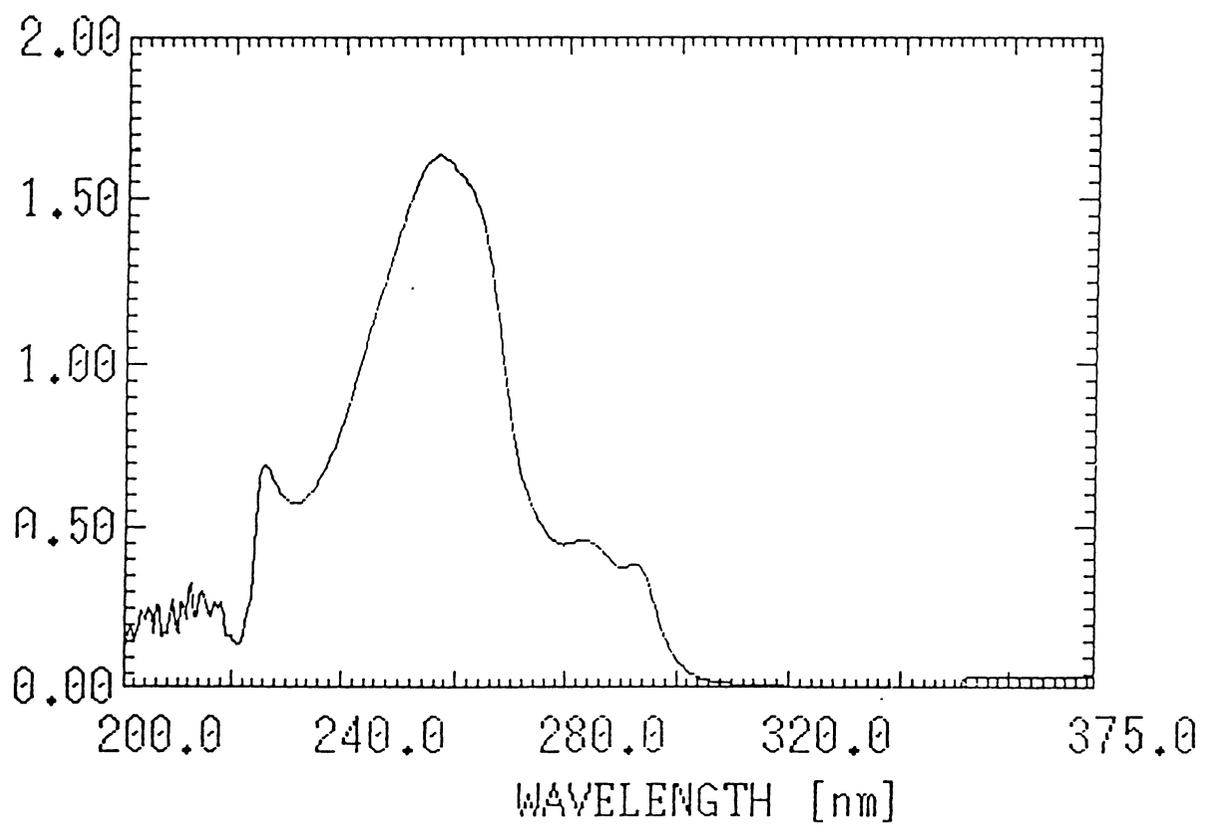


Figura 9. Espectro de UV de PL-1

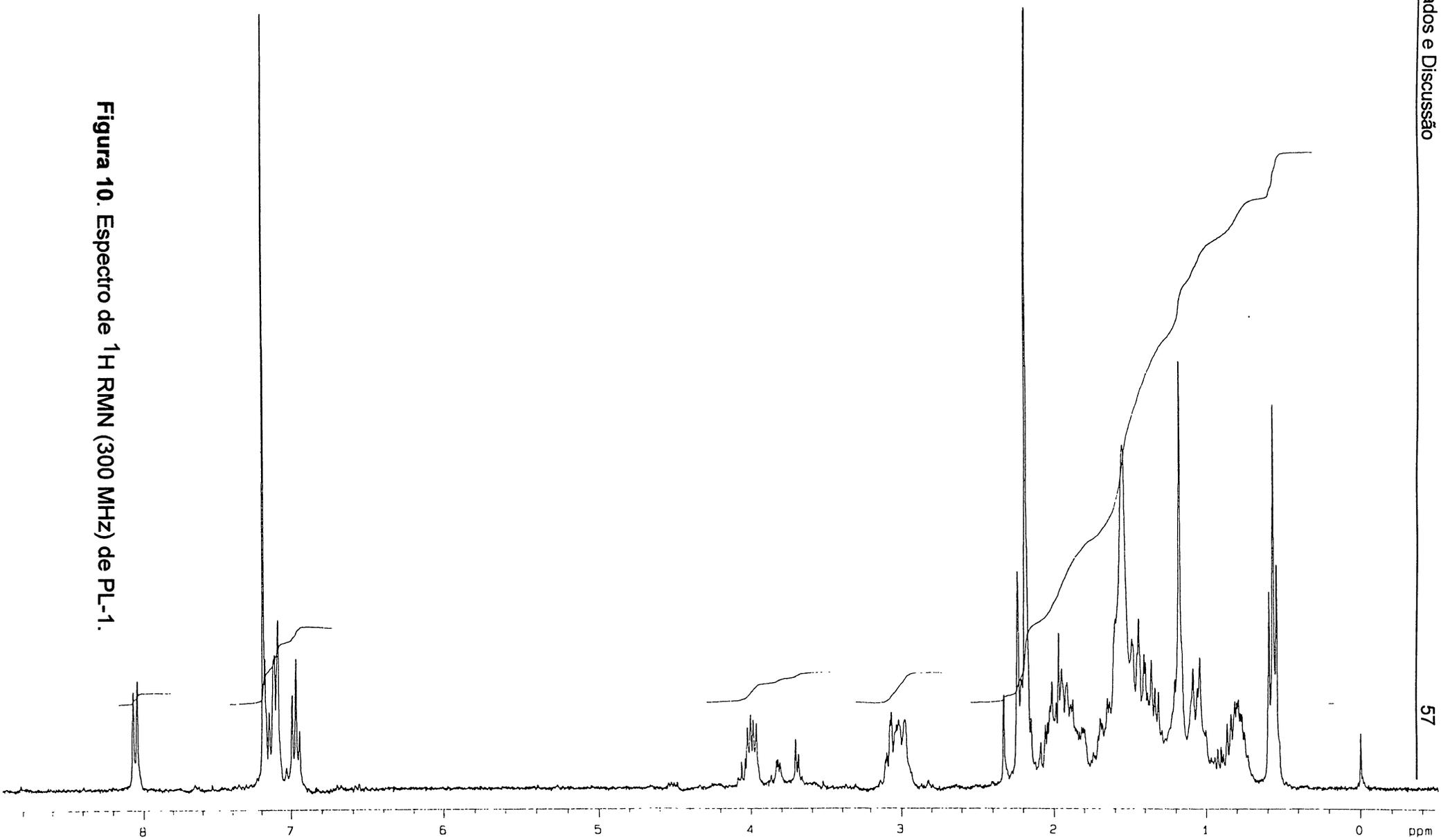


Figura 10. Espectro de ^1H RMN (300 MHz) de PL-1.

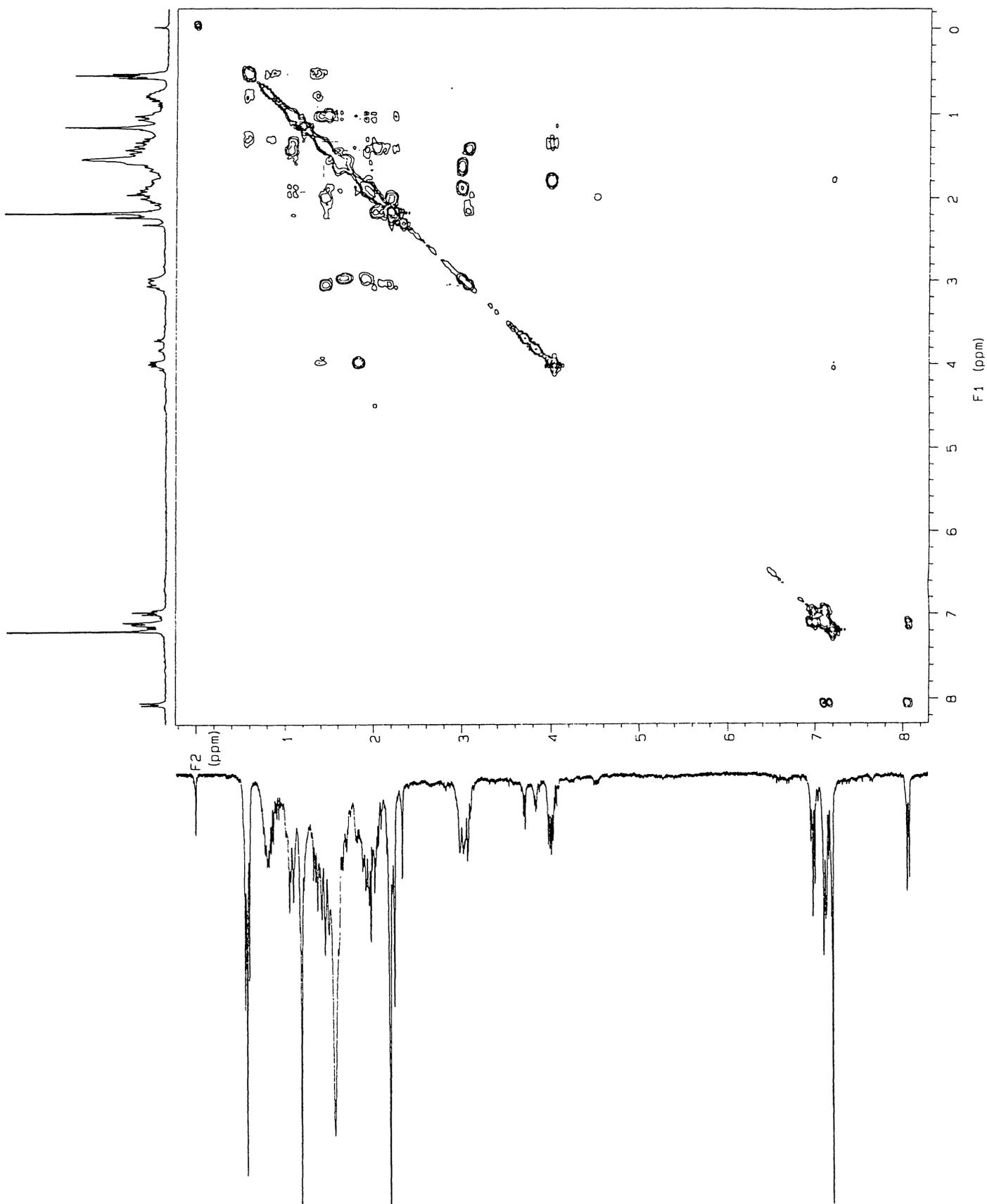
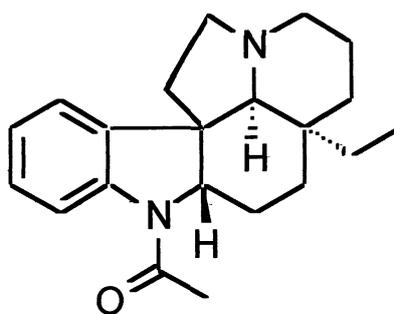


Figura 11. Espectro de ¹H RMN (300 MHz) COSY de PL-1.

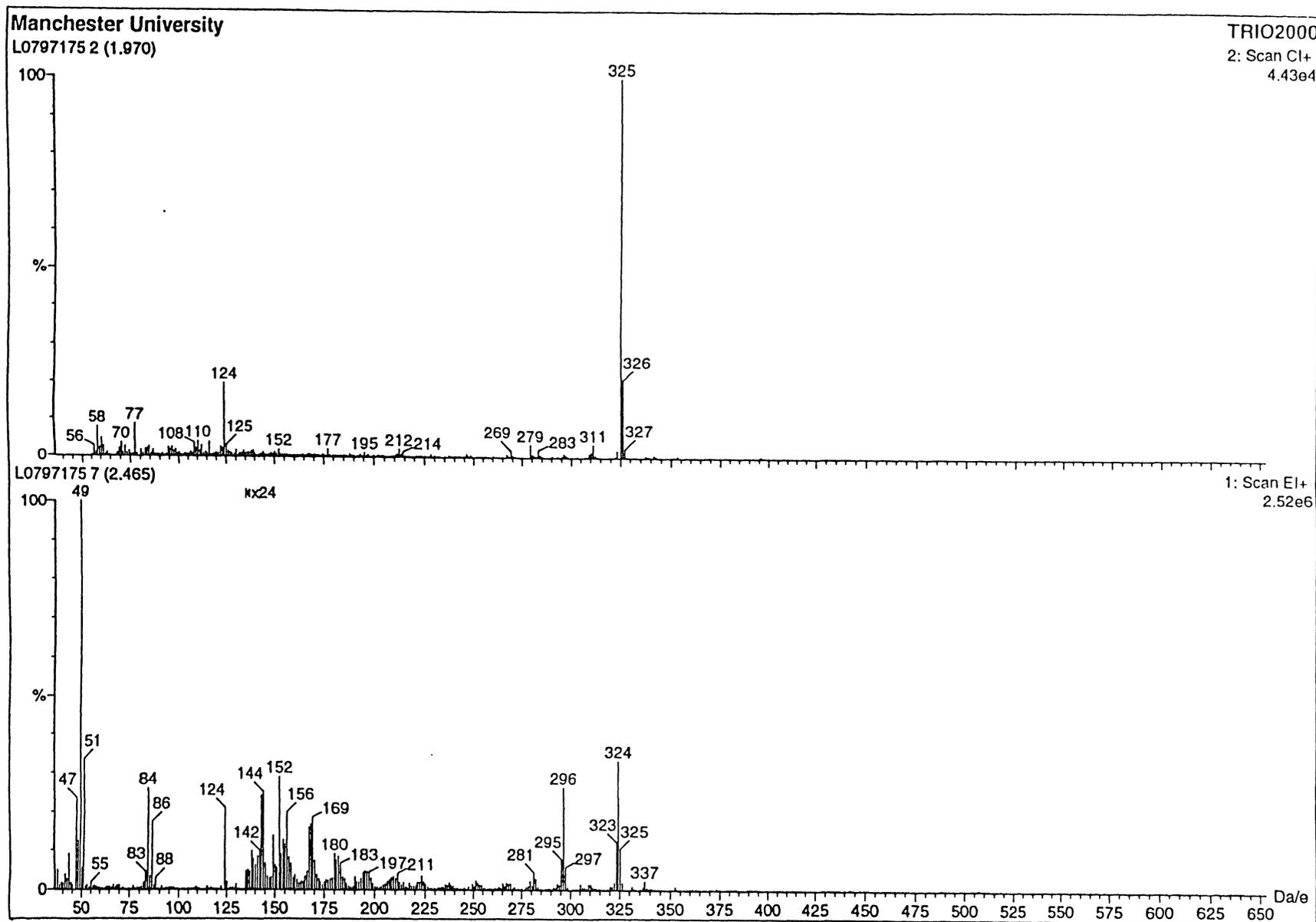
Os dados obtidos em concordância com a orientação quimiotaxonômica da família Apocynaceae, tenham fornecido evidências de um esqueleto do tipo Aspidospermatan para PL-1, o espectro de massa (Fig. 12),⁵⁰ por analogia com o tipo de fragmentação da própria aspidospermina (IX) e alcalóides análogos, mostrou as informações fundamentais para elucidar a estrutura. A ionização por impacto eletrônico do composto, que possui um nitrogênio alicíclico e também um nitrogênio envolvido no sistema aromático, ocorre predominantemente pela perda de um dos elétrons não ligantes do nitrogênio alicíclico. (Esquema 11) Uma ruptura na ligação C-7/21 favorece a formação de um imônio Nb, resultando na espécie m/z 152 que posteriormente se decompõe pela expulsão de etileno (M-28) e subsequente fissão da ligação altamente ativada, C-10/11, para dar o fragmento XXXI m/z 124.

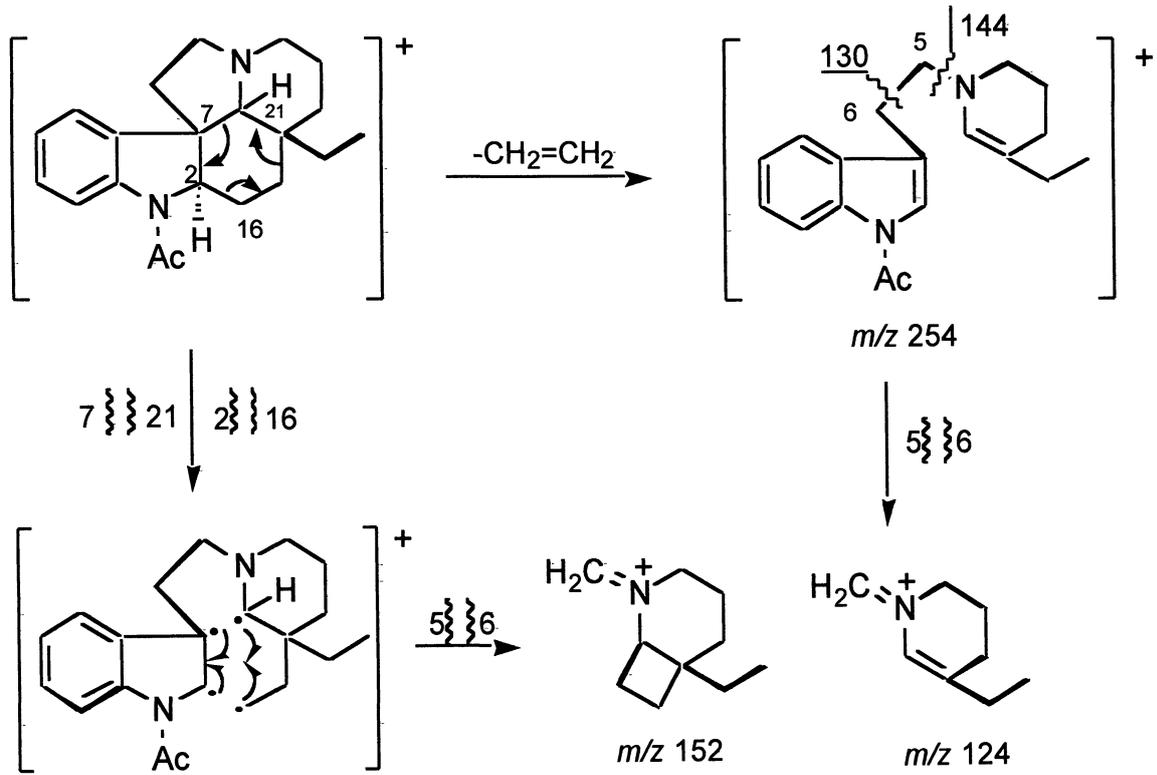


(XXX)

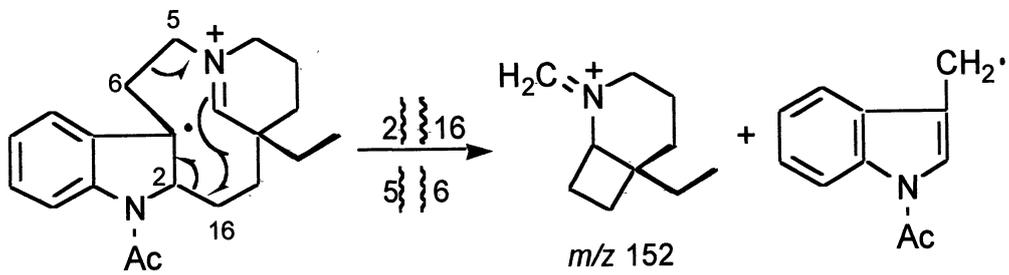
Uma segunda possibilidade ainda mais favorável consiste na ruptura da ligação 7/21. A espécie resultante é ainda o íon radical, mas o radical é benzílico e, conseqüentemente bem estabilizado. A perda de etileno e fissão da ligação 5/6 formará o fragmento mais abundante e característico desse tipo de esqueleto, m/z 124 (Esquema 11). Uma terceira rota menos importante envolve a quebra de apenas duas ligações (2-3 e 10-11), ao invés de três para fornecer o íon m/z 15 (Esquema 12).

Figura 12. Espectro de massa de alta resolução de PL-1

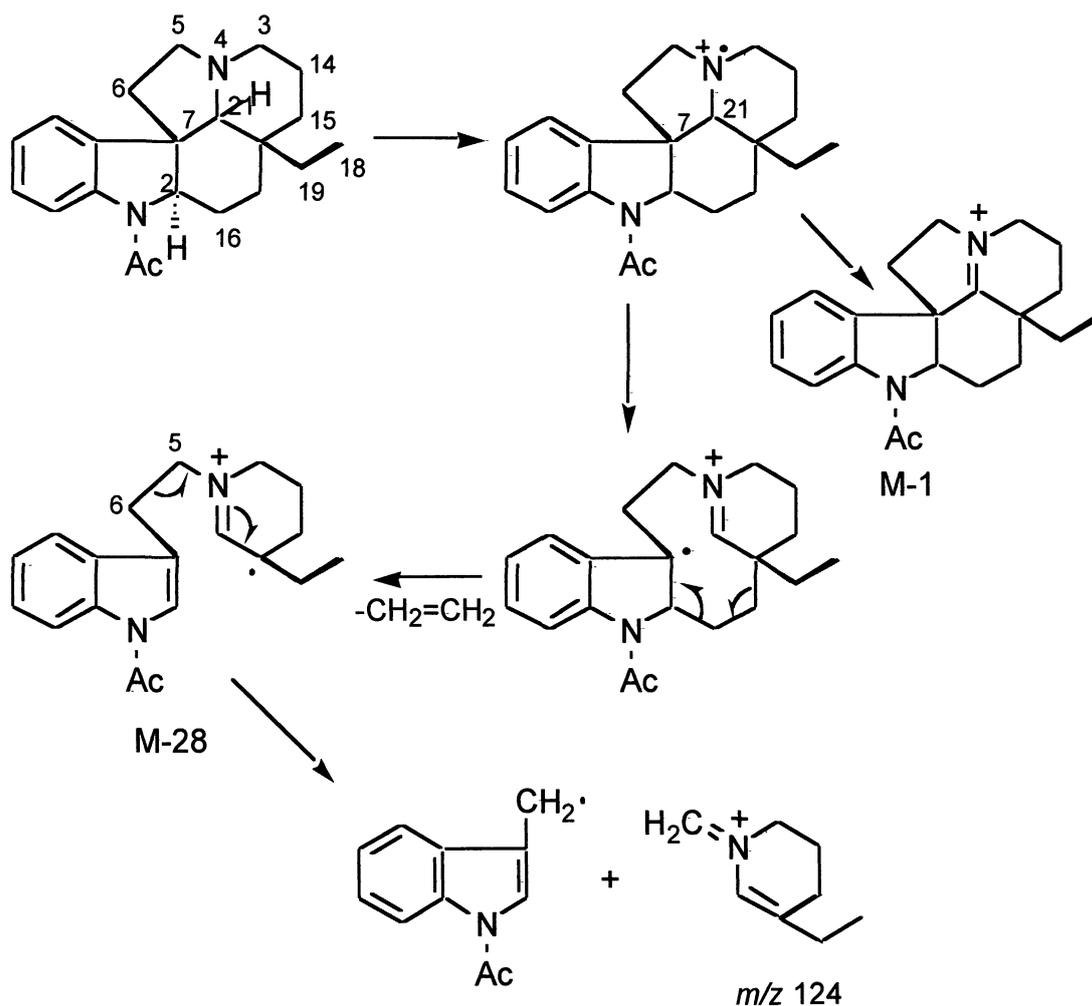




Esquema 12



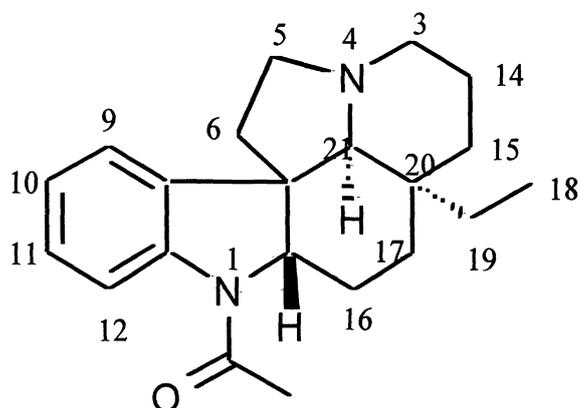
Esquema 13



O espectro de massa de PL-1 mostra sinais em m/z 325 ($M^+ + 1$), 324 (M^+), 296 (M-28), 152, 124, que correspondem ao alcalóide aspidoespermina, apenas com a diferença de menos m/z 31, o que poderia ser devido a ausência de um radical -OCH₃ em relação à aspidoespermina. Dessa forma, a rota de fragmentação de PL-1 poderia ser racionalizada seguindo o padrão para a aspidoespermina, como descrito nos esquemas mencionados acima.

Os dados espectroscópicos de PL-1 coincidem com os valores publicados para demetoxiaspidoespermina (XXX), possibilitando deste modo uma associação de identidade.^{48, 50, 55}

5.4- Dados de PL-1



[α]_D (CHCl₃, c 0,009g/ml) +10°

[M⁺] 324; C₂₁H₂₈N₂O

CCD: *n*-hexano:EtOAc:MeOH (5:4:1); R_f=0,25

U.V.: λ_{max} (MeOH) 253, 280, 289 nm

I.V.: ν_{max} (KBr) 3364 cm⁻¹

MS: *m/z* (%) 325 (M+1); 324 (M⁺), 296 (29), 281 (5), 156 (21), 152 (30), 144 (27), 124 (20), 84 (26), 51 (32), 49 (100), 47 (24)

Rendimento: 0,0015%

Tabela 3: ¹H RMN 300 MHz (CDCl₃) de PL-1.

δ	<i>J</i>	Multiplicidade/ Integração	H
0,56	7,27 Hz,	tripleto/3H	H-18
0,80	14,3 e 7,2 Hz	duplo quarteto/1H	H-16 ^a
0,86	13,74 Hz	duplete/1H	H-19 ^a
1,08	13,4 e 4,4	duplo duplete/1H	15 ^a
1,15	-	1H	6a

1,40	14,28 e 3,4	duplo duplete/2H	16a/19b
1,50	-	multiplete/3H	6a, 14a,b, 17a
1,60	-	multiplete/1H	15,16
1,91		multiplete/2H	3a, 16b
2,01	13,34 e 3,98	duplo duplete/1H	17b
2,19	-	singlete/3H	Ac
2,22	-	singlete/1H	21
2,99	-	multiplete/1H	3b
3,07	8,7 e 2,5	duplo triplete	5b
3,99	11,26 e 6,32	duplo duplete/1H	2
6,96	7,4	triplete/1H	10
7,14	-	multiplete/2H	9,11
8,01	7,83	duplete/1H	12

Rotação ótica de PL-1/demetoxiaspidospermina (CHCl_3 , c 0,009) foi de $+10^\circ$. Assim, este é o primeiro relato do isolamento do enantiômero (+) uma vez que o isômero (-) foi apenas apresentado por Hesse em 1980.⁵

H. lancifolius (Mull. Arg) Woodson. Apocynaceae é uma planta que pertence à sub-família Plumerioideae, tribo Alstoniae, a qual é conhecida por conter alcalóides indólicos com o esqueleto da aspidospermina. No entanto, este é também o primeiro relato de um alcalóide com o esqueleto da uleína nos gêneros *Plumeria* e *Himathantus*

Muitas equipes de pesquisa distribuídas por todo o mundo investigam os alcalóides indólicos da família Apocynaceae, onde tem-se detectado constantemente dois tipos de problemas distintos: um botânico e outro químico.

O problema botânico está relacionado com a existência de uma grande variedade de plantas em áreas tropicais, tornando difícil obter certas partes da planta em quantidade e qualidade suficientes para o estudo.

Também existe a possibilidade de não haver material vegetal depositado em herbário oficial. O segundo problema reside na vasta quantidade de registros de isolamentos e identificações incompletos, onde em algumas situações somente uma pequena quantidade de material vegetal foi disponível, o que dificulta o isolamento de material suficiente para caracterização completa.

6- Conclusão

No estudo fitoquímico de *H. lancifolius* (Muell Arg.) Woodson Apocynaceae, verificou-se a presença de alguns alcalóides com núcleo indólico. A fração alcaloídica purificada do extrato bruto mostrou, através dos métodos cromatográficos utilizados, pelo menos oito compostos, dos quais quatro foram isolados neste trabalho. Dois destes compostos puderam ser identificados através de dados espectroscópicos usuais, e por comparação com os dados descritos na literatura. Os outros alcalóides não puderam ser identificados até o momento, devido à pequena quantidade encontrada na planta.

Para o primeiro alcalóide (PL-3), após análise dos espectros de massa, ultravioleta, infravermelho e ressonância nuclear magnética, é proposta a estrutura do raro esqueleto da uleína, sendo este o primeiro relato do isolamento desse tipo de esqueleto no gênero *Himatanthus* ou no gênero *Plumeria*.

A Uleína foi primeiramente identificado por Schmutz et al, isolada do extrato clorofórmico de *Aspidosperma ulei*.⁵⁶ Estudos farmacológicos realizados relatam efeitos sobre o aparelho cardiovascular e na musculatura lisa, bloqueando completamente a serotonina e a histamina e parcialmente a acetilcolina.⁵⁷ Também amostras do extrato bruto, da fração alcaloídica e do alcalóide isolado (PL-3) de *H. lancifolius*, foram submetidas a ensaios farmacológicos preliminares ficando evidente a coerência dos resultados obtidos. Estes sugerem que o alcalóide isolado, a fração alcaloídica e o extrato bruto apresentam a mesma ação bloqueadora dos canais de Ca^{++} e ação despolarizante.⁵⁸ Pode-se assim verificar semelhança na farmacologia da agoniada e do alcalóide Uleína.

O segundo alcalóide (PL-1) apresentou a estrutura da demetoxiaspidospermina. Até o presente havia sido relatado, em diversas

plantas, apenas o isolamento do enantiômero (-) sendo este o primeiro relato do isolamento do enantiômero (+)-demetoxiaspidospermina.

Adicionalmente foi evidenciada a reclassificação botânica desta planta.

Com este trabalho inicia-se o estudo de uma droga oficial da medicina brasileira conhecida popularmente como agoniada.

6.1- Trabalhos futuros

A planta em estudo mostra grande potencial não somente pelo seu conteúdo em alcalóides do grupo indol, os quais têm sido ao longo do tempo fonte de moléculas úteis na terapêutica, mas também pela atividade antiulcerogênica apresentada nos estudos farmacológicos preliminares da fração alcaloídica.⁵⁹

De posse destes dados, ainda faz-se necessário a identificação dos outros alcalóides isolados, bem como o isolamento de compostos em quantidade suficiente para possibilitar estudos mais avançados, visando o aproveitamento do potencial farmacológico destes.

De modo bastante preliminar a indicação do uso popular vem sendo confirmada, mas cabe ressaltar que existem outros alcalóides e outros metabólitos ainda não identificados na planta, o que indica a necessidade da continuidade dos estudos fitoquímicos e farmacológicos, uma vez que diferentes propriedades terapêuticas são atribuídas à droga em questão, mas alguns dos princípios ativos continuam desconhecidos.

7- Referências Bibliográficas*

- (1) Cronquist, A. *The Evolution And Classification Of Flowering Plants*. Nelson Ltda., **1986**. 396p
- (2) Woodson, R.E..*Annals Of Missouri Botanical Garden* **1938**, 25(1):200.
- (3) Barroso, G.M. *Sistemática De Angiospermas Do Brasil*. Imprensa Universitária/Ufv, Viçosa. **1991**. Vol 3
- (4) Dahlgreen, R. A Revised System Of Classification Of The Angiosperms. *Bot. Journal Of Linnean Soc.* **1964**, 80:91-124
- (5) Kisakurek, M. V.; Hesse, M. *Chemotaxonomic Studies Of The Apocynaceae*; Academic Press: London, **1980**.
- (6) Harsimran, K.,Sironi, S. *Acta Botanica Indica*. **1995**,23(2), 211-213
- (7) Robbers, J. E.; Speedie, M. K.; Tyler, V. E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*; Williams & Wilkins: Baltimore, **1996**, pp 337.
- (8) Evans, W. C. *Pharmacognosy*; 14th ed.; WB Saunders: London, **1996**, pp 612.
- (9) Hesse, M.; Ganzinger, D. *Lloydia* **1976**, 39, 327-49.
- (10) Martius, C.F.P. *Flora Brasilliensis*. **1860**, 6(1), 41,
- (11) Plumel, M. *The Genus Himatanthus Apocynaceae Taxonomic Revision*. *Bradea* 5 (Suppl.) **1991**, 1-118
- (12) Plumel, M.. *Compte Rendus des Seances de la Societe de Biogeographie* **1990**, 66(3), 103-127, Paris

* Segundo International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) e Chemical Abstract Service (CAS), bem como de acordo com as normas da editora Elsevier, onde este trabalho foi aceito para publicação

- (13) Coimbra, R. *Manual de fitoterapia*; 2 ed.; CESUP: Belem, **1994**.
- (14) Correa, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*; Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, **1952**; Vol. I.
- (15) Santos, R. A. D. *Farmacopeia Brasileira I*; 1 ed.; Companhia Editora Nacional: São Paulo, **1926**, pp 1017.
- (16) Silva, J.R.A. et al. Composição e atividades antiinflamatória e analgésica do látex de *Himathantus sucuuba* (Spruce) Woodson. In: XV Simp. De Plantas Med. Brasileiras. Água de lídóia. **1998**
- (17) Ribeiro, R. et al. Avaliação da capacidade antineoplásica in vitro de duas espécies medicinais da amazonia: *Himatanthus sucuuba* e *Arrabidaea chica*. In: XV Simp. De Plantas Med. Brasileiras. Água de lídóia. **1998**
- (18) Silva, J.R.A. et al. Atividade citotóxica seletiva do látex de *Himatanthus sucuuba*. In: XV Simp. De Plantas Med. Brasileiras. Água de lídóia. **1998**
- (19) Cordell, G. A. *Introduction to alkaloids - A biogenetic approach*; John Wiley & Sons: New York, **1981**, pp 1055.
- (20) Larson, A. *Phytochemistry* **1988**, 27, 969.
- (21) Robinson, J. J. *Chem Soc* **1917**, 111, 762.
- (22) Layer, I. *Chem.Rev.* **1963**, 63, 489-510.
- (23) March, J. *Advanced organic chemistry-reaction, mechanisms and structure*; 3th ed.; John Willey: New York, **1984**.
- (24) Cummings, A.; Shelton, C. *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 419.
- (25) Thomas, R. *Tetrahedron Lett.* **1961**, 84, 544.
- (26) Wenkert, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 98.

- (27) Lichtenthaler, H. K., Rohmer, M., *Physiologia Plantarum*. **1997**, 101, 643.
- (28) Acco, A.; Rieck, L.; Coehler, H. S.; Trebien, H. A. Avaliação da atividade estrogênica da Agoniada. In *FESBE*; Caxambu, **1996**
- (29) Perdue, G.P., Blomster, R.N. *J Pharm Sci*, **1978** Sep;67(9):1322-3
- (30) Kardono, L.B.S., Et All. *J Natural Products* 53(6).**1990**.1447-1455
- (31) Siddiqui, B. S.; Naeed, A.; Begun, S. *Phytochemistry* **1994**, 3, 769-71.
- (32) Albers, G.; Schmid, H. *Helv. Chim. Acta* **1961**, 44, 1447.
- (33) Peckolt, T. *Arch. Pharm.* **1870**, 2, 40.
- (34) Coppen, J. W.; Cobb, A. L. *Phytochemistry* **1983**, 1, 125-8.
- (35) Siddiqui, B. S.; Naeed, A.; Begun, S. *Phytochemistry* **1992**, 12, 4279-83.
- (36) Radford, D.; A.D, G.; Hinds, J. A.; Duffy, P. *Med. J. Aust.* **1986**, 10, 540-4.
- (37) Gunassingh, C. B. G.; Nagarajan, S. *Indian J. Pharm. Sci.* **1980**, 6, 178-9.
- (38) Daniel, M.; Sabnis, S. D. *Indian J. Exp. Biol.* **1978**, 4, 512-513.
- (39) Cuellar, A.; O'farril, H. *Rev. Cub. Farm.* **1976**, 10, 25-30.
- (40) Kazmi, S.N.U.H. Et All. *Heterocycles*, Tokyo, **1989**, 29(10), 1901-1906
- (41) Massiot, G. Et All. *Phytochemistry* **1992**, 31(3), 1078-1079
- (42) Berghe, D. A. V. D.; Ieven, M.; Martens, F.; Wilrjk, A. *Lloydia* **1978**, 5, 463-71.
- (43) Stahl, E.; Dumont, E.; Jork, H.; Kraus, L.; Rozumek, K.-E.; Schorn, P. J. *Analyse chromatographique et microscopique des drogues*; Enterprise Moderne Edition: Geneve, **1975**, pp 251.

- (44) Caetano, N. N.; Duarte, M. R.; Santos, C. A. M. *Farmacognosia Prática*; Laboratório de Farmacognosia da UFPr: Curitiba, **1996**, pp 78.
- (45) Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press: Oxford, 1966.
- (46) Le-Men, J.; Taylor, W. I. *Experientia* **1965**, 21, 508.
- (47) Joule, J. A.; Djerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 2777-2789.
- (48) Sangster, A. W.; Stuart, K. L. *Chemical Reviews* **1965**, 65, 69-130.
- (49) Williams, D. H.; Fleming, I. *Spectroscopic methods in organic chemistry*; 4th ed.; McGraw-Hill: London, **1987**, pp 246.
- (50) Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. H. *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry*; Holden-Day: San Francisco, **1964**; Vol. 1, pp 233.
- (51) Breitmaier, E. *Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry*; John Wiley & Sons: New York, **1993**, pp 265.
- (52) Verpoorte, R.; Schripsema J. *Rapid identification of trace amounts of indole alkaloids: analysis of the aromatic pattern from the H-NMR spectrum*; Elsevier Science Publishers: Amsterdam, **1991**; Vol. 9, pp 183-199.
- (53) Pelah, Z.; Kielczewski, M. A.; Wilson, J. M.; Budzikiewicz, H.; Djerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2470-81.
- (54) Cordell, G. A.; P.Borris, R.; Lankin, D. C. *J. of Nat. Prod.* **1983**, 46, 200-5.
- (55) Bombardelli, E.; Bonati, A.; Danieli, B. *Experientia* **1975**, 31, 139-40.
- (56) Schmuz, J., Hunzicher, F., Hirt, E. **1957**, *Helv Chim Acta*, 40:1189

- (57) Pereira, N., Moura, R.S., Sollero, L., Conde, E. *Ciência e Cultura*. **1973**
25(8):738
- (58) Terluk, M.R., Santos, J.E.S., Corrêa, G.C., Santos, C.A.M., Marques, M.C.A., Rieck, L. Atividade do alcalóide isolado da *Plumeria lancifolia* sobre a musculatura lisa não vascular e esquelética. In *FESBE*, Caxambu, 1997
- (59) Finau, J.; Anguinoni, M.; Santos, J. E. S.; Terluck, M. R.; Santos, C. A. M.; Rieck, L.; Marques, M. C. A. Ação antiulcerogênica da fração alcaloídica da *Plumeria lancifolia* (Agoniada). In *FESBE*; Caxambu, 1996.