



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ORGÂNICA

ASPECTOS QUÍMICOS DO ESTUDO DE *Hamelia patens* Jacq.

RAIMUNDO REGIVALDO GOMES DO NASCIMENTO
ORIENTADORA: Dra. MARY ANNE SOUSA LIMA

FORTALEZA - CEARÁ

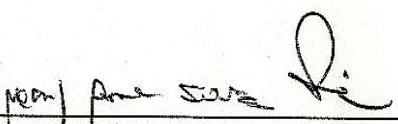
2010

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.


Raimundo Regivaldo Gomes do Nascimento
Raimundo Regivaldo Gomes do Nascimento

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 12/02/2010

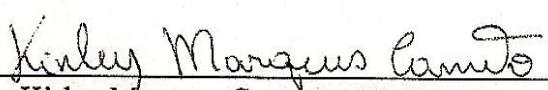
EXAMINADORES:



Prof. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Nilce Viana G. P. de S. Brasil
Universidade Federal do Ceará – UFC



Dr. Kirley Marques Canuto – EMBRAPA

N198a Nascimento, Raimundo Regivaldo Gomes do
Aspectos químicos do estudo de *Hamelia patens* Jacq / Raimundo
Regivaldo Gomes do Nascimento, 2010.
158 f; il. color. enc.

Orientador: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Área de concentração: Química orgânica
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências. Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2010.

1. Alcalóides oxidólicos 2. investigação fitoquímica 3. Química vegetal
I. Lima, Mary Anne Sousa (Orient.) II. Universidade Federal do Ceará –
Pós-Graduação em Química III. Título

CDD 540

*À minha família com
amor, carinho e
gratidão*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter me dado saúde e disposição, e principalmente por ter colocado em meu caminho tantas pessoas importantes para a realização desse trabalho.

À minha família, em especial aos meus pais, Francisco do Nascimento e Luiza Gomes do Nascimento, e aos meus irmãos, Ednaldo, Regineide, Lucineide e Lucileide, pelo apoio e incentivo para continuar minha formação acadêmica.

Ao professor Manoel Andrade Neto, por ter me incentivado a estudar e ingressar no universo da pesquisa, me acolhendo em seu laboratório desde o início da minha formação acadêmica, sendo um amigo, orientador e incentivador.

À professora Mary Anne Sousa de Lima, por ter me recebido em seu laboratório e contribuído com sua orientação, dedicação e carinho na realização desse trabalho.

Ao professor Edilberto Rocha Silveira, pela coleta da planta.

Aos colegas do laboratório LAFIPLAM 1, em especial a Antônia, por ter contribuído significativamente no isolamento das substâncias aqui descritas, ao Artur, Henrique, Renata, Daniel, Elton e Profa. Mary Anne, pelos espectros.

Gostaria de agradecer também a Evilene, por me ajudar a enxergar além das dificuldades, me incentivando e apoiando nos meus projetos de vida.

Finalmente, sou grato aos professores, funcionários, colegas e a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

Agradeço a FUNCAP, CNPq, CAPES, FINEP e PRONEX, pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE QUADROS

LISTAS DE FLUXOGRAMAS

RESUMO

ABSTRACT

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO	14
CAPÍTULO 2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	16
2.1 Considerações Botânicas sobre a Família Rubiaceae.....	16
2.2 Considerações Botânicas sobre o Gênero <i>Hamelia</i>	16
2.3 Considerações Botânicas sobre a Espécie <i>Hamelia patens</i>	17
CAPÍTULO 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	19
CAPÍTULO 4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	31
4.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis das folhas de <i>H. patens</i> (HPFE-D).....	31
4.1.1 Determinação Estrutural de HP-1.....	31
4.1.2 Determinação Estrutural de HP-2.....	46
4.1.3 Determinação Estrutural de HP-3.....	58
4.1.4 Determinação Estrutural de HP-4.....	71
4.1.5 Determinação Estrutural de HP-10.....	80
4.2 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis dos talos de <i>H. patens</i> (HPTE).....	94
4.2.1 Determinação Estrutural de HP-5.....	94
4.2.2 Determinação Estrutural de HP-6.....	104
4.2.3 Determinação Estrutural de HP-7.....	108
4.3 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis do caule de <i>H. patens</i> (HPCE).....	115
4.3.1 Determinação Estrutural de HP-8.....	115
4.3.2 Determinação Estrutural de HP-9.....	120
CAPÍTULO 5 PARTE EXPERIMENTAL	126

5.1 Métodos Cromatográficos.....	126
5.1.1 Cromatografia de Adsorção.....	126
5.1.2 Cromatografia de Exclusão.....	127
5.1.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	127
5.2 Métodos Espectrométricos.....	127
5.2.1 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H) e de Carbono-13 (RMN ¹³ C).....	127
5.2.2 Espectrometria de absorção na região do Infravermelho (IV).....	129
5.2.3 Espectrometria de Massas (EM).....	129
5.3 Métodos Físicos.....	129
5.3.1 Ponto de Fusão.....	129
5.4 Estudo dos Constituintes Químicos Não Voláteis de <i>H. patens</i>	130
5.4.1 Material botânico.....	130
5.4.2 Obtenção do extrato etanólico das folhas de <i>H. patens</i> - HPFE.....	130
5.4.3 Particionamento do extrato etanólico das folhas de <i>H. patens</i> - HPFE.....	130
5.4.4 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D.....	132
5.4.5 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D 1: Isolamento de HP-1.....	132
5.4.6 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D 2: Isolamento de HP-2.....	133
5.4.7 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D 3: Isolamento de HP-3.....	135
5.4.8 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D 4: Isolamento de HP-4.....	135
5.4.9 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-B: Isolamento de HP-10.....	137
5.5 Obtenção do extrato etanólico dos talos de <i>H. patens</i> - HPTE.....	139
5.5.1 Particionamento do extrato etanólico dos talos de <i>H. patens</i> -HPTE.....	139
5.5.2 Fracionamento Cromatográfico de HPTE-D: Isolamento de HP-5.....	139
5.5.3 Fracionamento Cromatográfico de HPTE-H: Isolamento de HP-6 e HP-7.....	140
5.6 Obtenção do extrato etanólico do caule de <i>H. patens</i> - HPCE.....	143
5.6.1 Particionamento do extrato etanólico do caule de <i>H. patens</i> - HPCE.....	143
5.6.2 Fracionamento Cromatográfico de HPCE-D: Isolamento de HP-8.....	143
5.6.3 Recristalização da Fração HPCE-A: Isolamento de HP-9.....	145
CAPÍTULO 6 CONCLUSÃO.....	146
CAPÍTULO 7 CONSTANTES FÍSICAS.....	147
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	156

LISTA DE SIGLAS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HPFE	Extrato Etanólico das Folhas de <i>Hamelia patens</i>
HPCE	Extrato Etanólico do Caule de <i>Hamelia patens</i>
HPTE	Extrato Etanólico dos Talos de <i>Hamelia patens</i>
COSY	Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EM	Espectrometria de Massas
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
IV	Infravermelho
IE	Ionização por Elétrons
T.R.	Tempo de Retenção
F.R.	Fator de Retenção
δ	Deslocamento Químico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotos de <i>H. patens</i> com detalhes para flores e frutos.....	17
Figura 2 – Foto de <i>H. patens</i> em seu habitat natural.....	18
Figura 3 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-1 (NaCl).....	39
Figura 4 – Espectro de massas de HP-1 (70 eV, IE).....	39
Figura 5 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	40
Figura 6 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	40
Figura 7 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	41
Figura 8 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	42
Figura 9 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	43
Figura 10 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	43
Figura 11 – Espectro de ^1H , ^1H – NOESY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	44
Figura 12 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1.....	45
Figura 13 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-2 (NaCl).....	51
Figura 14 – Espectro de massas de HP-2 (70 eV, IE).....	51
Figura 15 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	52
Figura 16 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	52
Figura 17 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	53
Figura 18 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	53
Figura 19 – Expansão do Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2...	54
Figura 20 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	54
Figura 21 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	55
Figura 22 – Espectro de ^1H , ^1H – NOESY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de P-2.....	56
Figura 23 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2.....	57
Figura 24 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-3 (NaCl).....	66
Figura 25 – Espectro de massas de HP-3 (70 eV, IE).....	66
Figura 26 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	67
Figura 27 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	67
Figura 28 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	68
Figura 29 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	68
Figura 30 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	69
Figura 31 – Espectro de ^1H , ^1H – NOESY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	70

Figura 32 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3.....	70
Figura 33 – Espectro de massas de alta resolução de HP-4.....	76
Figura 34 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-4 (NaCl).....	76
Figura 35 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] HP-4.....	77
Figura 36 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4.....	77
Figura 37 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4.....	78
Figura 38 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4.....	78
Figura 39 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4..	79
Figura 40 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4.....	79
Figura 41 – Espectro de massas de HP-10 (70 eV, IE).....	87
Figura 42 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-10 (KBr).....	87
Figura 43 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] HP-10.....	88
Figura 44 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, CD_3OD] de HP-10.....	88
Figura 45 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, CD_3OD] de HP-10.....	89
Figura 46 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10.....	89
Figura 47 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10..	90
Figura 48 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10..	91
Figura 49 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10.....	92
Figura 50 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10...	92
Figura 51 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de HP-10.....	93
Figura 52 – Expansões do Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de HP-10....	93
Figura 53 – Espectro de massas de HP-5 (70 eV, IE).....	100
Figura 54 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-5 (KBr).....	100
Figura 55 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5.....	101
Figura 56 – Expansão do espectro de RMN ^1H [500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5.....	101
Figura 57 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5.....	102
Figura 58 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5.....	102
Figura 59 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-5.....	103
Figura 60 – Expansão do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4...	103
Figura 61 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-6 (NaCl).....	106
Figura 62 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CDCl_3] HP-6.....	106
Figura 63 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, CDCl_3] de HP-6.....	107
Figura 64 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, CDCl_3] de HP-6.....	107

Figura 65 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-7 (NaCl).....	112
Figura 66 – Espectro de massas de HP-7 (70 eV, IE).....	112
Figura 67 – Espectro de RMN ¹ H [500 MHz, CDCl ₃] de HP-7.....	113
Figura 68 – Espectro de RMN ¹³ C – BB [125 MHz, CDCl ₃] de HP-7.....	113
Figura 69 – Espectro de ¹ H, ¹³ C – HMBC [500 x 125 MHz, CDCl ₃] de HP-7.....	114
Figura 70 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-8 (KBr).....	118
Figura 71 – Espectro de RMN ¹ H [500 MHz, C ₅ D ₅ N] de HP-8.....	118
Figura 72 – Espectro de RMN ¹³ C – BB [125 MHz, C ₅ D ₅ N] de HP-8.....	119
Figura 73 – Espectro de RMN ¹³ C – DEPT - 135° [125 MHz, C ₅ D ₅ N] de HP-8.....	119
Figura 74 – Espectro de massas de HP-9 (70 eV, IE).....	123
Figura 75 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-9 (KBr).....	123
Figura 76 – Espectro de RMN ¹ H [500 MHz, CD ₃ OD] de HP-9.....	124
Figura 77 – Espectro de RMN ¹³ C – BB [125 MHz, CD ₃ OD] de HP-9.....	124
Figura 78 – Espectro de RMN ¹³ C – DEPT - 135° [125 MHz, CD ₃ OD] de HP-9.....	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Metabólitos secundários isolados de espécies do gênero <i>Hamelia</i>	20
Tabela 2	Estruturas químicas de metabólitos secundários isolados do gênero <i>Hamelia</i>	21
Tabela 3	Ocorrência de alcalóides oxindólicos.....	23
Tabela 4	Estruturas químicas de alcalóides oxindólicos isolados de outras espécies	25
Tabela 5	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-1 com padrão de hidrogenação [RMN ¹³ C-BB e DEPT 135°, [125 MHz (CD ₃) ₂ CO].....	32
Tabela 6	Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de ¹ H, ¹³ C-HSQC e ¹³ C-HMBC ⁿ J (n=2 e n=3) de HP-1.....	35
Tabela 7	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C de HP-1 [125 MHz, (CD ₃) ₂ CO] com a pteropodina [25 MHz, CDCl ₃].....	38
Tabela 8	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-2 com padrão de hidrogenação [(CD ₃) ₂ CO, (125 MHz)].....	47
Tabela 9	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C [125 MHz, (CD ₃) ₂ CO] de HP-1 e HP-2.....	48
Tabela 10	Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de ¹ H, ¹³ C-HSQC e ¹³ C-HMBC ⁿ J (n=2 e n=3) de HP-2.....	49
Tabela 11	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C de HP-1 [125 MHz, (CD ₃) ₂ CO] com a isopteropodina [25 MHz, CDCl ₃].....	50
Tabela 12	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-3 com padrão de hidrogenação [(CD ₃) ₂ CO, 125 MHz].....	59
Tabela 13	Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de ¹ H, ¹³ C-HSQC e ¹³ C-HMBC ⁿ J (n=2 e n=3) de HP-3.....	61
Tabela 14	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C de HP-1 [125 MHz, (CD ₃) ₂ CO] com a palmirina [25 MHz, CDCl ₃].....	65
Tabela 15	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-4 com padrão de hidrogenação [RMN ¹³ C-BB e DEPT 135°, [125 MHz (CD ₃) ₂ CO].....	72
Tabela 16	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C [125 MHz, (CD ₃) ₂ CO] de HP-3 e HP-4.....	74
Tabela 17	Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de ¹ H, ¹³ C-HSQC e ¹³ C-HMBC ⁿ J (n=2 e n=3) de HP-4.....	75

Tabela 18	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-10 com padrão de hidrogenação RMN ¹³ C-BB e DEPT 135°, [125 MHz, CD ₃ OD].....	81
Tabela 19	Dados de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações de ¹ H, ¹³ C-HSQC e ¹³ C-HMBC ⁿ J (n=2 e n=3) de HP-10.....	85
Tabela 20	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C de HP-1 [125 MHz, CD ₃ -OD] com o canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo [125 MHz, DMSO-d ₆].....	86
Tabela 21	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-5 com padrão de hidrogenação RMN ¹³ C-BB e DEPT 135°, [125 MHz, CD ₃ OD].....	95
Tabela 22	Dados de RMN ¹³ C, [125 MHz, (C ₅ D ₅ N)] de HP-5, em comparação com os dados da literatura.....	99
Tabela 23	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HP-6 em comparação com os dados da literatura.....	105
Tabela 24	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HP- 7 em comparação com os dados da literatura.....	111
Tabela 25	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de HP- 8 e da literatura [ALAM <i>et al.</i> , 1996 (150 MHz, DMSO-d ₆)] [VOUTQUENNE <i>et al.</i> , 1999 (75 MHz, CDCl ₃)].....	117
Tabela 26	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB de HP-9 com padrão de hidrogenação RMN ¹³ C-BB e DEPT 135°, [125 MHz, (CD ₃) ₂ CO].....	121
Tabela 27	Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C de HP-9 [125 MHz, (CD ₃ -OD)] com dados da literatura.....	122
Tabela 28	Particionamento do extrato etanólico HPFE.....	131
Tabela 29	Fracionamento cromatográfico de HPFE-D.....	132
Tabela 30	Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 1.....	133
Tabela 31	Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 2.....	134
Tabela 32	Fracionamento cromatográfico da fração (104-140) (5-23).....	134
Tabela 33	Fracionamento cromatográfica de HPFE-D 3.....	135
Tabela 34	Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 4.....	136
Tabela 35	Fracionamento cromatográfico da fração (36-50) (2-4).....	136
Tabela 36	Fracionamento cromatográfico de HPFE-B.....	138
Tabela 37	Particionamento do extrato etanólico HPTE.....	139
Tabela 38	Fracionamento cromatográfico de HPTE-D.....	140

Tabela 39	Fracionamento cromatográfico de HPTE-H.....	141
Tabela 40	Fracionamento cromatográfico da fração 35-38.....	141
Tabela 41	Particionamento do extrato etanólico HPCE.....	143
Tabela 42	Fracionamento cromatográfico de HPCE-D.....	144
Tabela 43	Fracionamento cromatográfico de HPCE-D (59-61).....	144

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-1	37
Quadro 2	Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-3	63
Quadro 3	Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-5	97
Quadro 4	Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-7	110
Quadro 5	Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-9	121

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1	Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de <i>H. patens</i>	131
Fluxograma 2	Fracionamento cromatográfico de HPFE-D.....	137
Fluxograma 3	Fracionamento cromatográfico de HPFE-B.....	138
Fluxograma 4	Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de <i>H. patens</i>	142
Fluxograma 5	Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico do caule de <i>H. patens</i>	145

RESUMO

Neste trabalho foi realizado a investigação fitoquímica de *Hamelia patens* (Rubiaceae) nativa da Serra de Guaramiranga-CE. A realização de sucessivos tratamentos cromatográficos a partir do extrato etanólico das folhas possibilitou o isolamento dos alcalóides oxindólicos pentacíclicos pteropodina, isopteropodina e palmirina, já citados na literatura para a espécie, do alcalóide isopalmirina de caráter inédito na literatura, além do flavonóide canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo. O estudo do extrato etanólico dos talos possibilitou o isolamento dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol como mistura, do estigmast-4-en-3,6-diona, além do triterpeno ácido ursólico. A partir do extrato etanólico do caule foram obtidos o ácido vanílico e a mistura de esteróides β -sitosterol e estigmasterol glicosilados. Para o isolamento dos metabólitos secundários foram empregadas técnicas cromatográficas convencionais como cromatografia em camada delgada, cromatografia filtrante, cromatografia flash, cromatografia preparativa e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A caracterização estrutural dos compostos isolados foi realizada através de técnicas espectroscópicas como infravermelho, espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear, incluindo técnicas uni (RMN ^1H e RMN ^{13}C e DEPT 135) e bidimensionais (HMBC, HSQC, COSY e NOESY), além de comparação com dados descritos na literatura.

Palavras chaves: *Hamelia patens*, Alcalóides oxindólicos, esteróides, triterpenos, RMN.

ABSTRACT

This work describes the phytochemical investigation of *Hamelia patens* (Rubiaceae) native from Guaramiranga mountain, Ceará, Brazil. Successive chromatographic treatment of the ethanol extract of leaves led to the isolation of the pentacyclic oxindole alkaloids pteropodine, isopteropodine, palmirine, and the new isopalmirine, besides the flavonoid kaempferol 1-3- α -O-rhamnopyranosyl-(1-6)- β -D-galactopyranoside. The study of the ethanol extract of the stems led to the isolation of the steroids β -sitosterol and stigmasterol as mixture, stigmast-4-en-3,6-dione, and the triterpene ursolic acid. The ethanol extract of the trunk yielded vanillic acid and the β -sitosterol and stigmasterol glucosilated. The isolation of the chemical constituents were performed by the use of chromatographic techniques, including flash chromatography, thin layer chromatography, preparative chromatography, and preparative high performance liquid chromatography (HPLC). The structural characterization were performed by the use of infrared, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance, including one (^1H NMR, ^{13}C NMR and DEPT 135) and two-dimensional pulse sequences (HMBC, HSQC, COSY e NOESY), and comparison with literature data.

Keywords: *Hamelia patens*, oxindole alkaloids, steroids, triterpenes, NMR.

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais, com fins de tratamento e cura das doenças e de seus sintomas, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou para a consciência e começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para o seu próprio benefício. Esta prática milenar ultrapassou todos os obstáculos e chegou até os dias atuais, sendo amplamente utilizada por toda a população mundial como fonte de recurso terapêutico eficaz. Certamente, a medicina moderna, composta por um grande número de medicamentos com ações específicas sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria atingido o grau de desenvolvimento atual se não fosse com o auxílio dos produtos naturais, notadamente os derivados de plantas superiores.

O uso de plantas medicinais representa muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações etnofarmacológicas que foram sendo acumuladas durante séculos [BHATTACHARJEE *et al.*, 2005].

O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 a 550.000 [SIMÕES *et al.*, 2000]. Em decorrência desta alta complexidade, sua biodiversidade ainda é pouco conhecida, apesar de representar um grande patrimônio nacional. Além disso, o processo de colonização trouxe ao país muitas espécies utilizadas pelos europeus e africanos.

A família Rubiaceae é uma das maiores famílias de dicotiledôneas da região tropical, com aproximadamente 350 gêneros e 13.000 espécies. Algumas

espécies possuem importância econômica como o café (*Coffea arabica*) e o jenipapo (*Genipa americana*), e outras são amplamente utilizadas na medicina como *Cinchona officinale*, espécie da qual é extraída a quinina. Espécies de *Palicourea* e *Psychotria* são tóxicas para o gado e *Gardênia*, *Ixora* e *Mussaenda* são utilizadas como plantas ornamentais [CORRÊA *et al.*, 1926]. Esta família é largamente representada no Ceará, por arbustos e árvores, divididos em uma grande variedade de gêneros endêmicos e espécies inéditas do ponto de vista botânico.

Hamelia patens Jacq. é uma espécie da família Rubiaceae com ocorrência pantropical e utilizada na medicina tradicional. Uma série de aplicações medicinais tradicionais é conhecida para esta espécie ao longo da América Latina (do México à Argentina). No México, é usada para 42 diferentes fins medicinais, especialmente estancar hemorragias, curar feridas e em perturbações menstruais [REYES *et al.*, 2004]. Estudos químicos anteriores com um espécime nativa na América Central revelou uma fonte prolífica de alcalóides oxindólicos.

Desta forma, o presente trabalho descreve o estudo fitoquímico da espécie *H. patens* nativa do Nordeste do Brasil, visando o isolamento e a caracterização estrutural de seus metabólitos secundários.

Capítulo 2

Considerações Botânicas

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 Considerações Botânicas sobre a Família Rubiaceae

Espécies de Rubiaceae são endêmicas nas regiões mais quentes, principalmente nos trópicos, onde mais de 70% das espécies crescem. Esta vasta família ocupa o quarto lugar de todo o reino vegetal, compreendendo cerca de 13000 espécies distribuídas em 350 gêneros.

Estas espécies estão distribuídas em 25 tribos: Henriquezieae, Catesbaeeae, Cruckshanksieae, Retiniphyllae e Coussareeae existem somente na América, principalmente na América do sul. Por outro lado, só no hemisfério oriental ocorrem Knoxieae, Alberteae e Vanguerieae, enquanto que Naucleaeae, Cinchoneae, Rondeletieae, Condamineae, Hedyotideae, Mussaendeae, Hamelieae, Gardenieae, Guettardeae, Chiococceae, Ixoreae, Morindeae, Psychotrieae, Paederieae, Anthospermeae, Spermacoceae e Stellatae ocorrem na Europa e nas Américas [CHIQUIERI *et al.*, 2004].

No Brasil há ocorrência de várias espécies distribuídas em 18 tribos: Henriquezieae, Retiniphyllae, Coussareeae, Naucleaeae, Cinchoneae, Rondeletieae, Condamineae, Hedyotideae, Mussaendeae, Hamelieae, Gardenieae, Guettardeae, Chiococceae, Ixoreae, Psychotrieae, Paederieae, Spermacoceae e Stellatae [CHIQUIERI *et al.*, 2004].

2.2 Considerações Botânicas sobre o Gênero *Hamelia*

A tribo Hameliceae possui 4 gêneros com ocorrência no Brasil: *Hamelia*, *Coutarea*, *Bertiera* e *Hoffmannia*. O gênero *Hamelia* é composto por sete espécies: *Hamelia axillaris* SW, *Hamelia macrongtha* Little, *Hamelia magnifolia* Wernham,

Hamelia patens Jacq., *Hamelia sanguinea* T. S. Elias, *Hamelia rovisosae* Wernham e *Hamelia xerocarpa* Kuntze [CHIQUIERI *et al.*, 2004].

2.3 Considerações Botânicas sobre a Espécie *Hamelia patens*

A espécie *Hamelia patens* Jacq. é uma planta muito comum na República da Argentina, difundida por toda a América do Sul até as Antilhas e dispersa na região mexicana e península da Flórida [CHIQUIERI *et al.*, 2004]. Pode ser encontrada em vários habitats, no entanto, cresce melhor em locais com boa umidade e pleno sol à sombra parcial.

Na América Tropical, *H. patens* apresenta porte arbusto, podendo chegar a uma altura de 3,6 m. Possui flores em cimpos espiralados e corola de cinco pétalas, sendo desfrutadas por borboletas. Os frutos são arredondados, pequenos e brilhantes, podendo ser comidos por aves [CORRÊA *et al.*, 1926].



Figura 1 – Fotos de *H. patens* com detalhes para flores e frutos

Foto: Prof. PhD Edilberto R. Silveira



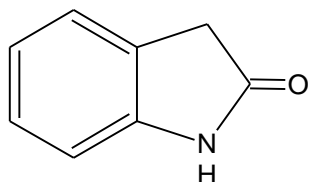
Figura 2 – Foto de *H. patens* em seu habitat natural

Capítulo 3

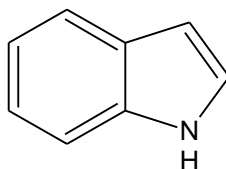
Levantamento Bibliográfico

3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

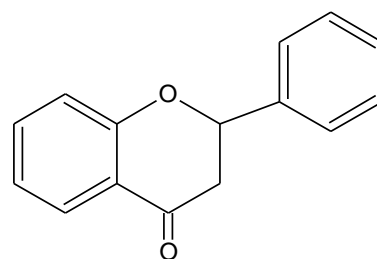
Dentre as espécies do gênero *Hamelia*, somente as espécie *H. magniflora* e *H. patens* foram submetidas à investigação fitoquímica. Nas classes de metabólitos secundários isolados destacam-se os alcalóides do tipo oxindólicos, indólicos, além de flavonóides do tipo flavanona, cujos esqueletos básicos estão representados abaixo:



Alcalóides oxindólicos



Alcalóides indólicos



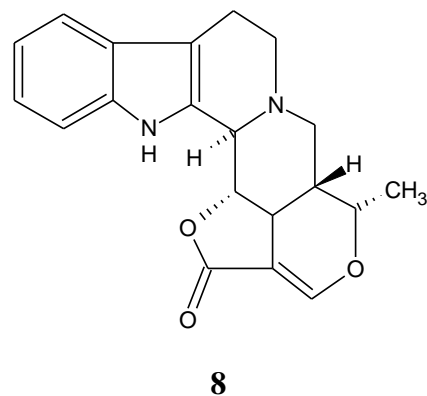
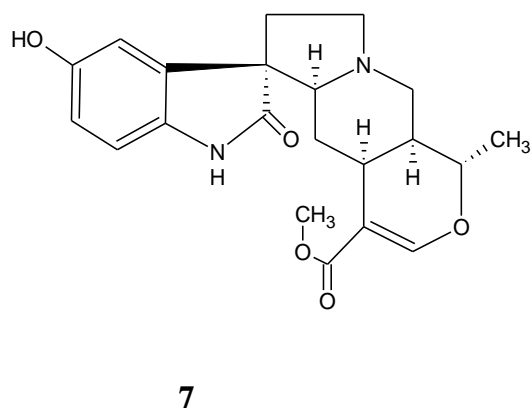
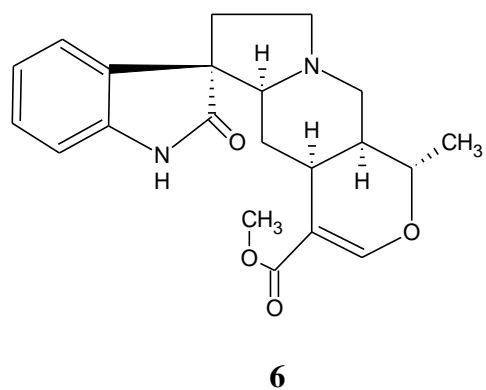
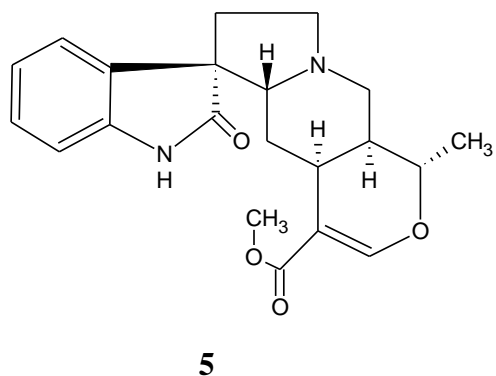
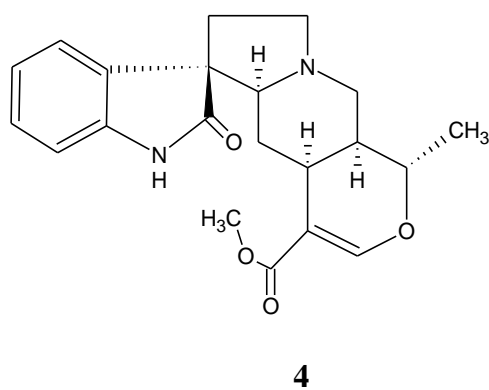
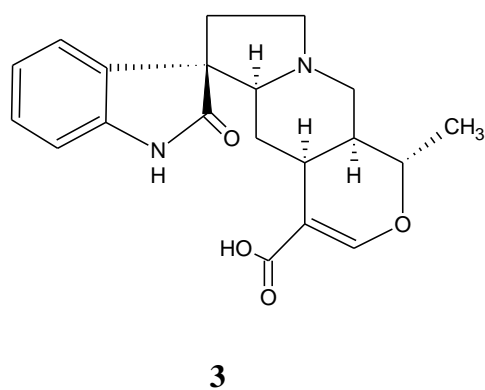
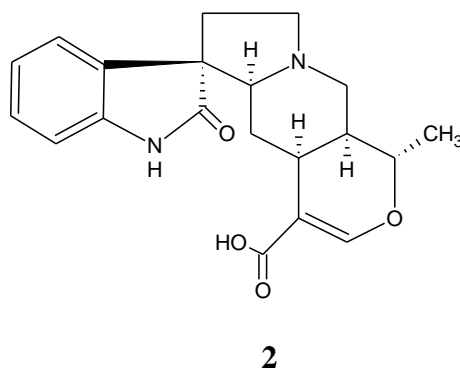
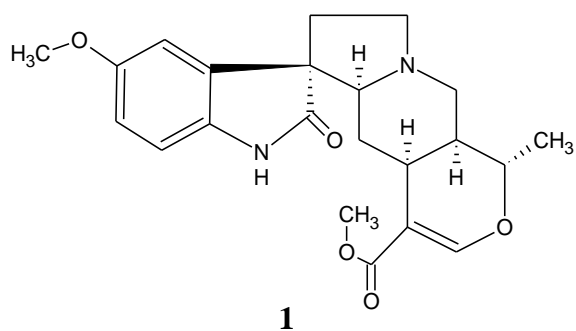
Flavanonas

Dados da literatura revelaram os alcalóides oxindólicos como estimulantes na produção de linfócitos e também na modulação positiva de receptores muscarínicos M1 e 5-HT-2. A fração alcaloídica das folhas de *H. patens* nativa no México demonstrou efeito relaxante do miométrio em teste *in vivo* com ratos [REYES *et al.*, 2004]. Por outro lado, estudos realizados com a pteropodina (4) (Tab. 2, p. 21) revelaram as atividades antioxidante, antígeno tóxica e na indução de linfócitos em ratos [ROGELIO *et al.*, 2008].

A Tabela 1 (p. 20) e a Tabela 2 (p. 21) a seguir apresentam um levantamento bibliográfico acerca dos metabólitos secundários isolados do gênero *Hamelia*, revelando como principais marcadores quimiotaxômicos os alcalóides oxindólicos pentacíclicos. No entanto, além do gênero *Hamelia*, esta classe de alcalóides também pode ser encontrada em espécies de *Uncaria* e *Gelsemium*, como mostrado na Tabela 3 (p. 23) e Tabela 4 (p. 25).

Tabela 1 – Metabólitos secundários isolados em espécies do gênero *Hamelia*.

Alcalóides Oxindólicos		
Substâncias	Espécie	Referência
Palmerina (1)	<i>H. patens</i>	BORGES <i>et al.</i> , 1979
Isomaruquina (2) Maruquina (3)	<i>H. patens</i>	BORGES <i>et al.</i> , 1979
Pteropodina (4)	<i>H. patens</i>	BORGES <i>et al.</i> , 1980
Especiofilina (5)	<i>H. patens</i>	BORGES <i>et al.</i> , 1981
Isopteropodina (6)	<i>H. patens</i>	ADAMS <i>et al.</i> , 1989
Rumberina (7)	<i>H. patens</i>	REYES <i>et al.</i> , 2004
Alcalóides Indólicos		
Magniflorina (8) Ajmalicina (9)	<i>H. magniflora</i>	RUMBERO, 1991
Flavonóides		
(2 <i>S</i>) Narirutina (10) (2 <i>R</i>) Narirutina (11)	<i>H. patens</i>	AQUINO, 1990
Outras classes de metabólitos (Triterpenos e Esteróides)		
β -Sitosterol (12) Ácido Ursólico (13) β -Sitosterol glicosilado (14)	<i>H. patens</i>	SUBRAHMANYAM <i>et al.</i> , 1973
Stigmast-4-en-3,6-diona (15)	<i>H. patens</i>	RIPPERGER, 1978

Tabela 2 – Estruturas químicas dos metabólitos secundários isolados no gênero *Hamelia*.

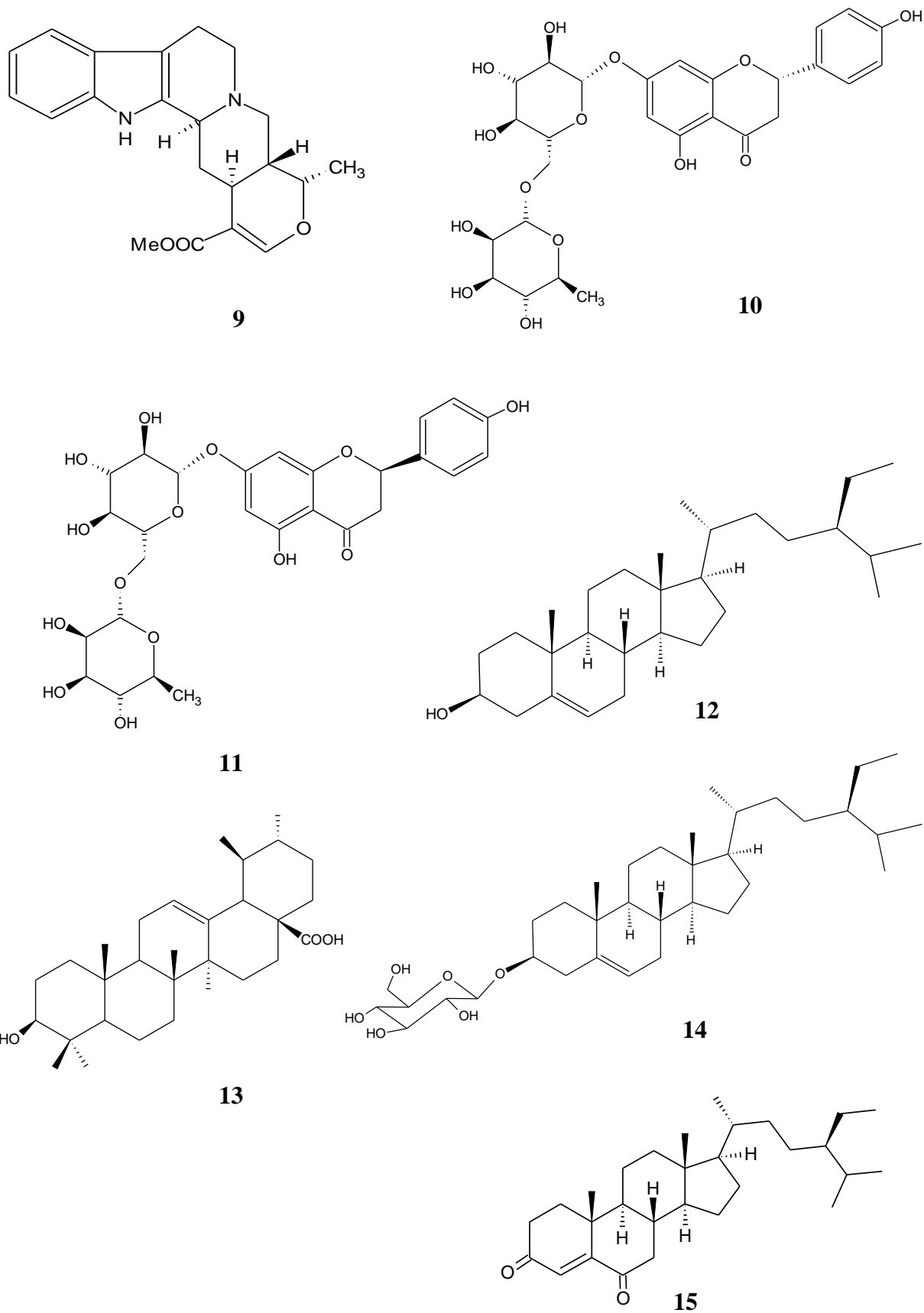
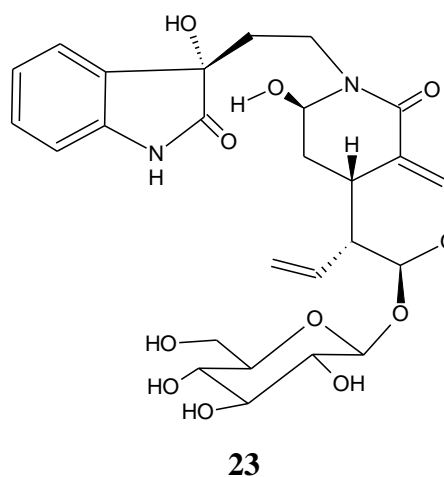
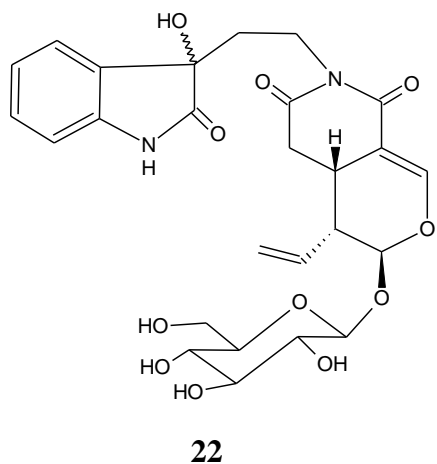
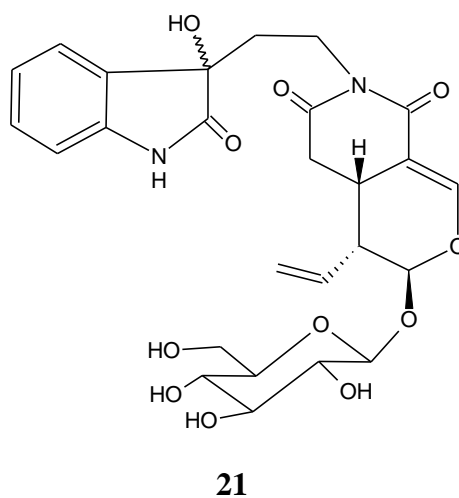
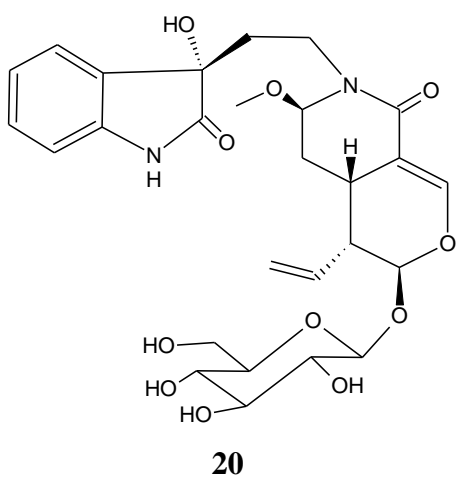
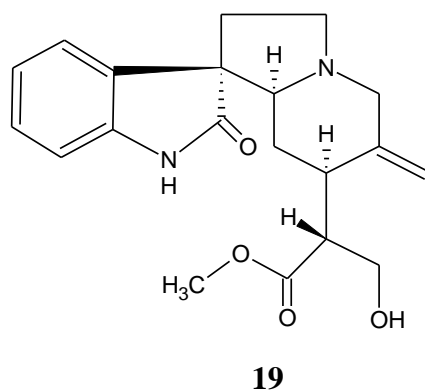
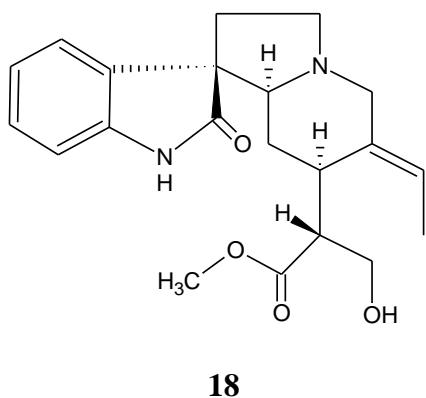
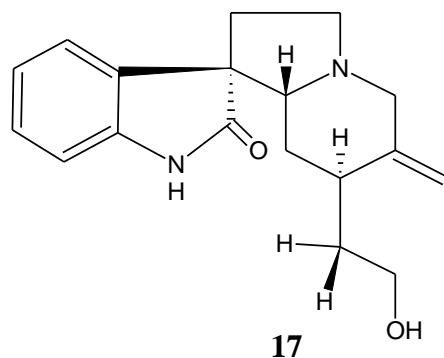
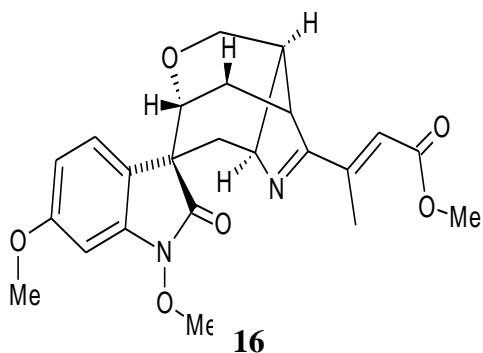
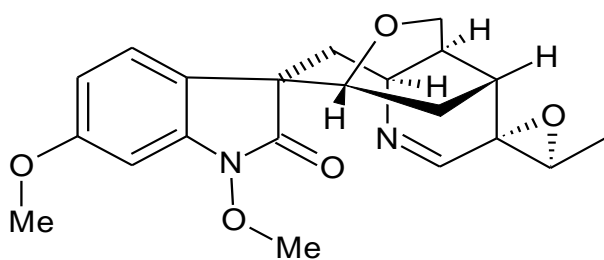


Tabela 3 – Ocorrência de alcalóides oxindólicos.

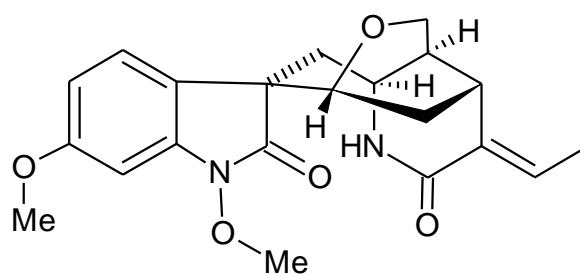
Alcalóides Oxindólicos		
Substâncias	Espécie	Referência
7(R)-Gleissoschizol oxindólico (16)	<i>Tabernaemontana corymbosa</i>	KUAN <i>et al.</i> , 2009
7(S)-Gleissoschizol oxindólico (17)		
7(R), 16(R), 19(E)-Isositsirikina oxindólico (18)		
7(S), 16(R), 19(E)-Isositsirikina oxindólico (19)		
Paratunamida A (20)	<i>Cinnamodendron axillare</i>	KAGATA <i>et al.</i> , 2006
Paratunamida B (21)		
Paratunamida C (22)		
Paratunamida D (23)		
Gelegamina A (24)	<i>Gelsemium elegans</i>	ZHEN <i>et al.</i> , 2009
Gelegamina B (25)		
Gelegamina C (26)		
Gelegamina D (27)		
Gelegamina E (28)		
Matemona (29)	<i>Iotrochota purpurea</i>	CARLETTI <i>et al.</i> , 2000
11-Methoxy-14-hydroxy-19-oxo-gelsenicina (30)	<i>Gelsemium sempervirens</i>	KITAJIMA <i>et al.</i> , 2003
11-Methoxy-14-hydroxygelsenicina (31)		
11-Methoxygelsemoxonina (32)		
N _b -Demethylalstophyllal oxindólico (33)	<i>Alstonia macrophylla</i>	WAH <i>et al.</i> , 1996
Alstonal (34)		
N _b -Demethylalstophyllina oxindólico (35)		
Alstonisina (36)	<i>Ervatamia yunnanensis</i>	YU <i>et al.</i> , 1999
17-Demethoxy-hydroisorhynchophyllina (37)		
17-Demethoxy-isorhynchophyllina (38)		
Gelsecrotonidina (39)	<i>Gelsemium elegans</i>	YAMADA <i>et al.</i> , 2008
14-Hydroxygelsecrotonidina (40)		
11-Methoxygelsecrotonidina (41)		

14-Hydroxygelsedilam (42)		
Neolaugerina (43)	<i>Neolaugeria resinosa</i>	WENIGER <i>et al.</i> , 1993
Isonolaugerina (44)		
15-Hydroxyisonolaugerina (45)		
Ácido Isopteropodico (46)	<i>Uncaria sinensis</i>	HONG <i>et al.</i> , 1993
Ácido Pteropodico (47)		
Ácido Mitraphylico (48)		
Ácido Isorhynchophylico (49)		
Ácido Rhynchophylico (50)		
16, 17-Dihydro-17 β -hydroxy isomitraphyllina (51)	<i>Mitragyna parvifolia</i>	PANDEY <i>et al.</i> , 2006
16, 17- Dihydro-17 β -hydroxy mitraphyllina (52)		
Uncarina C (53)	<i>Uncaria tomentosa</i>	MUHAMMAD <i>et al.</i> , 2001
Uncarina D (54)		
Uncarina E (55)		
Mitraphyllina (56)		
Isomitraphyllina (57)		

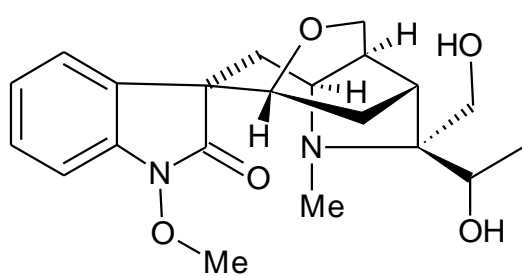
Tabela 4 - Estruturas de alcalóides oxindólicos isolados de outras espécies.



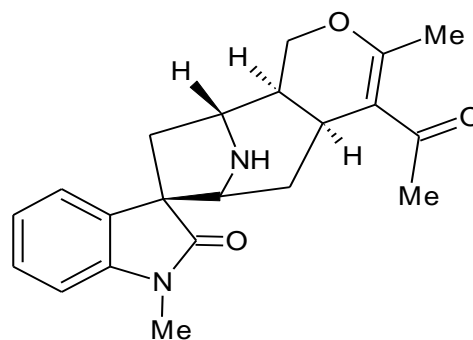
24



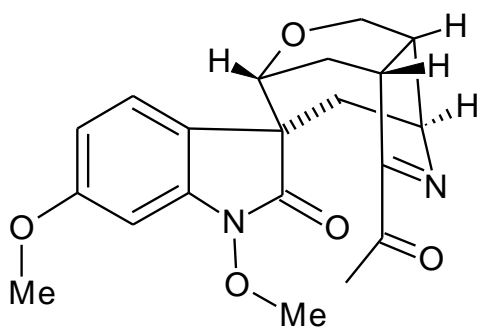
25



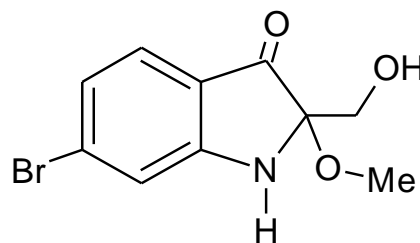
26



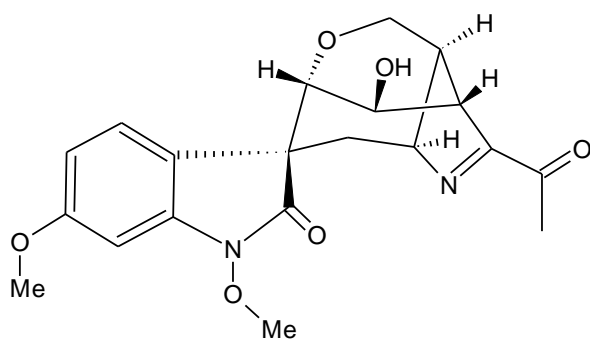
27



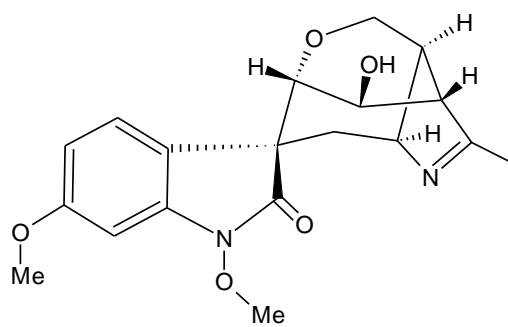
28



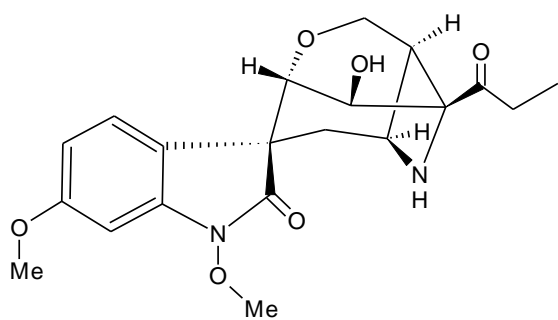
29



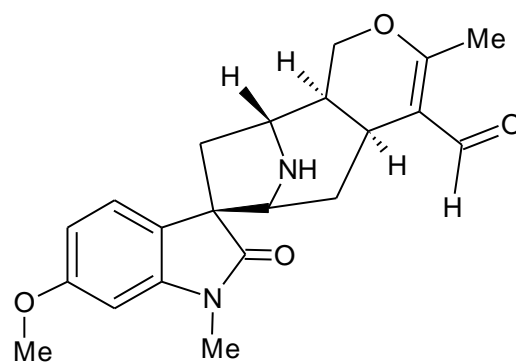
30



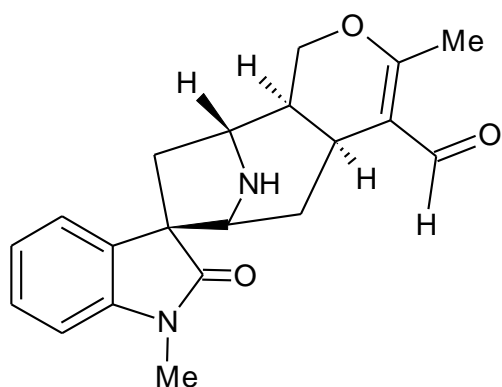
31



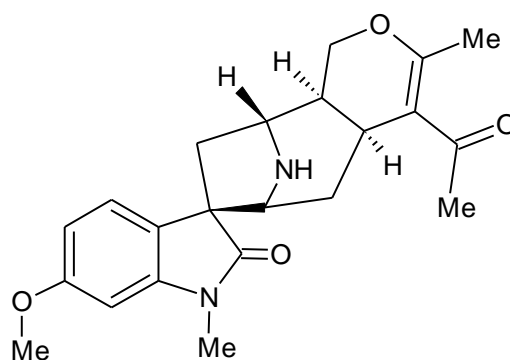
32



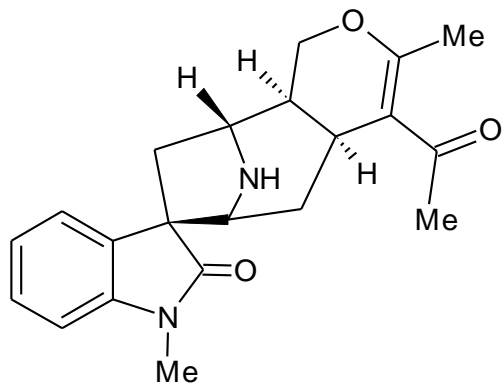
33



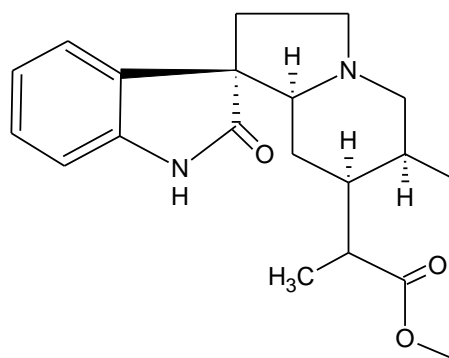
34



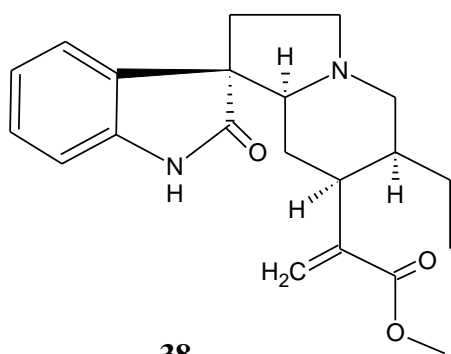
35



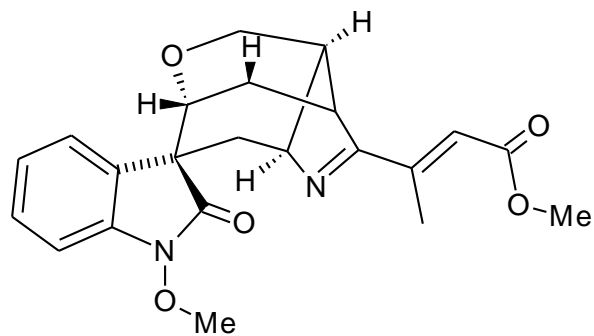
36



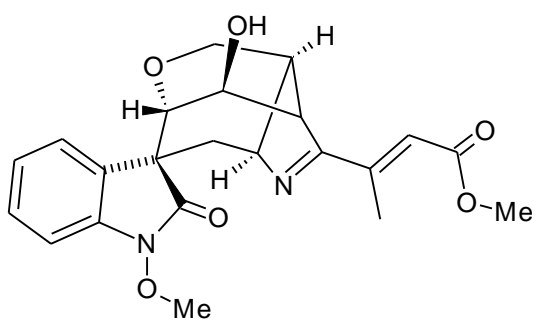
37



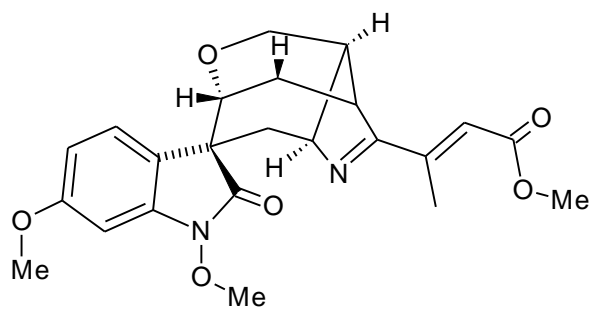
38



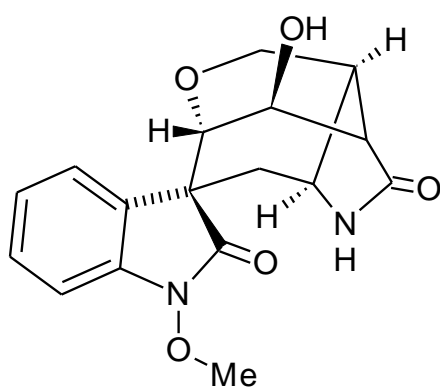
39



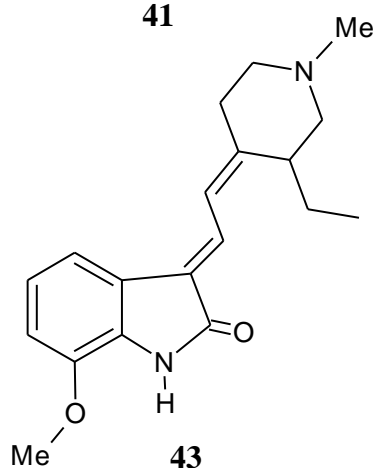
40



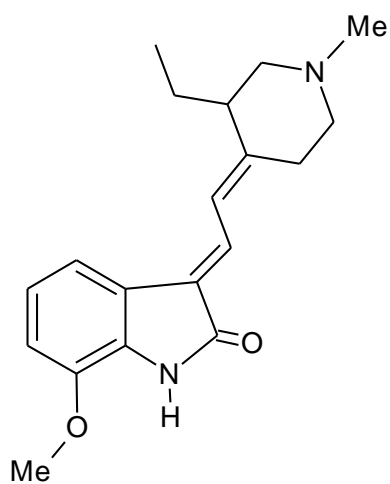
41



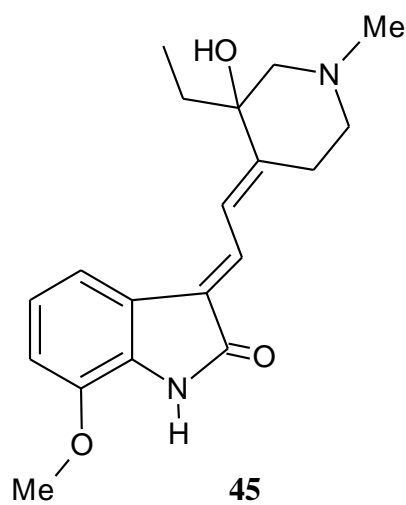
42



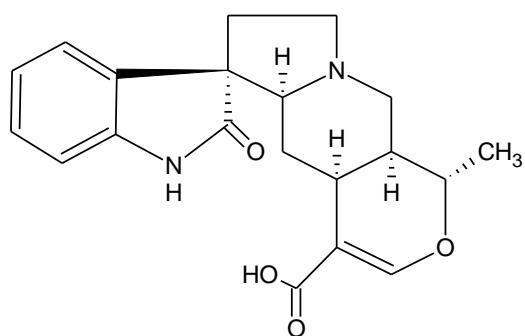
43



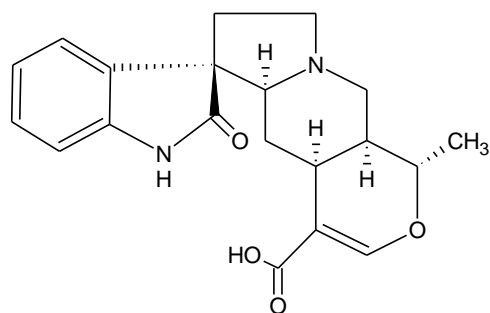
44



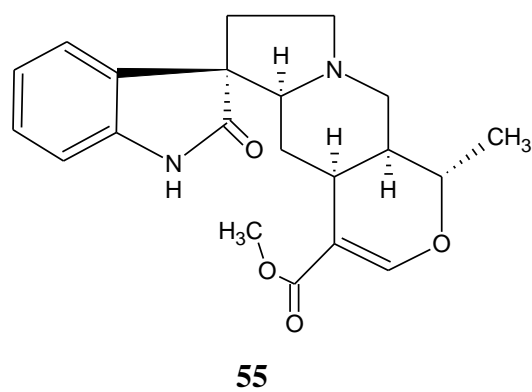
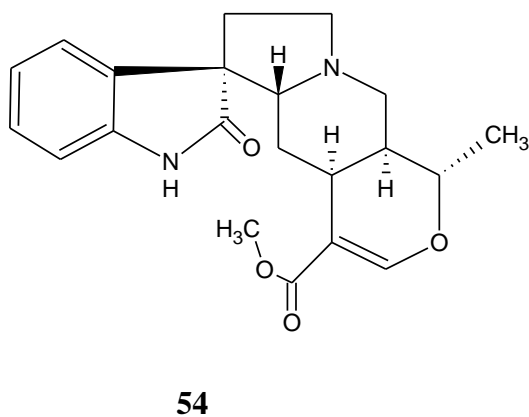
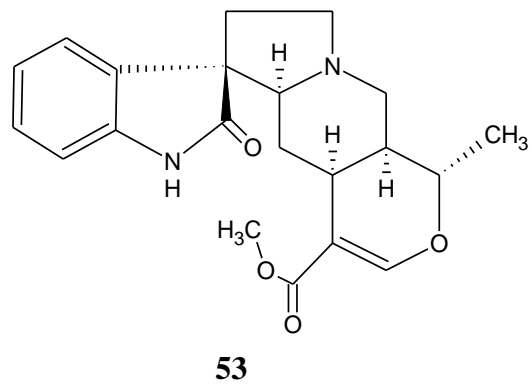
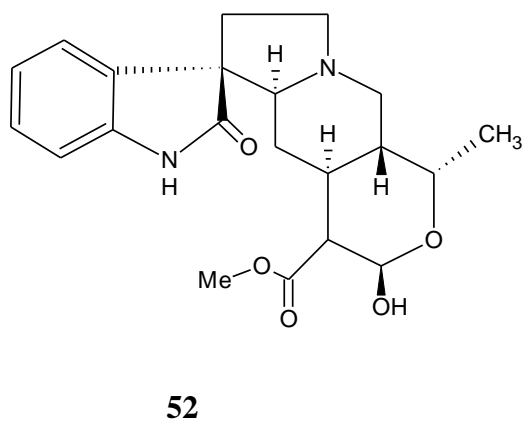
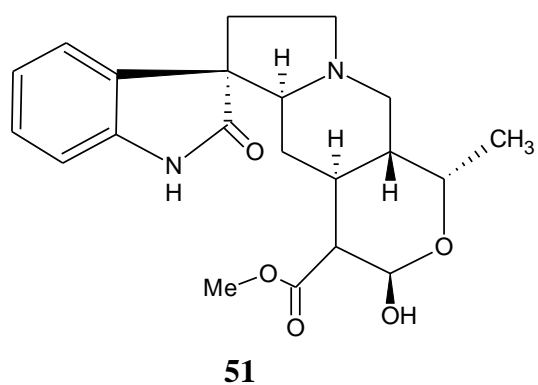
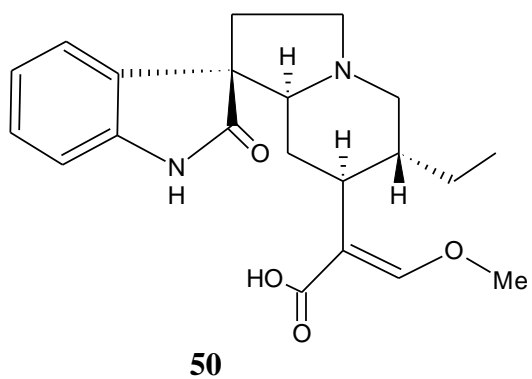
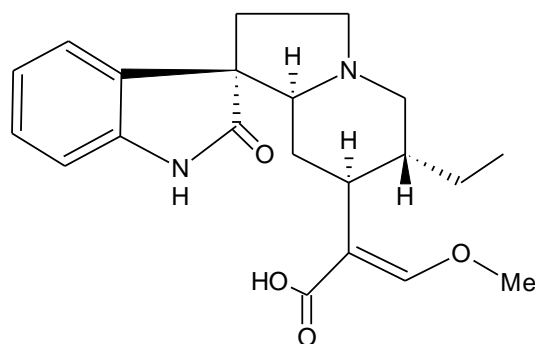
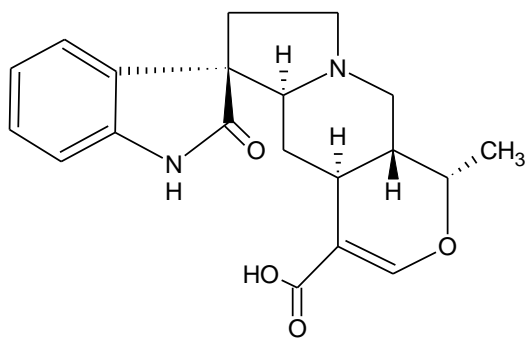
45

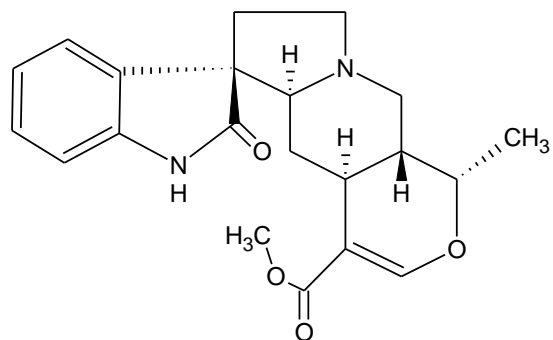


46

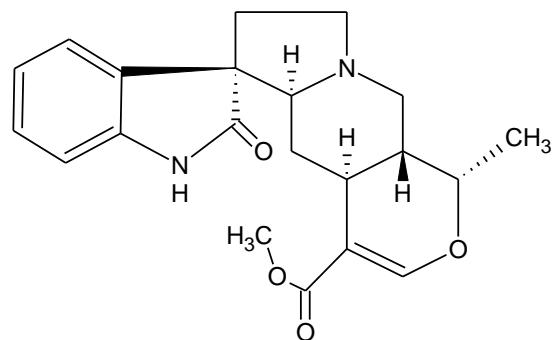


47





56



57

Capítulo 4

Determinação Estrutural

4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis das folhas de *Hamelia patens*

4.1.1 Determinação Estrutural de HP-1

Os sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano, obtida a partir da partição do extrato etanólico das folhas de *Hamelia patens*, resultaram no isolamento de um sólido amorfo branco denominado de HP-1 (p.f. 211,7-212,3 °C).

A análise do espectro no infravermelho (Fig. 3, p. 39) revelou bandas características de deformações axiais da ligação N-H em 3260 cm^{-1} e de ligações C-N de amins terciárias em 1086 cm^{-1} . Observaram-se também duas bandas relativas a deformações axiais de ligação C-O em 1212 e 1192 cm^{-1} , além de vibrações de deformações axiais da ligação C=O de éster α,β -insaturado e de γ -lactamas em 1707 cm^{-1} . Foram observadas ainda absorções características de ligações C=C conjugada em 1627 cm^{-1} ; uma banda larga em 751 cm^{-1} relativa à deformação angular fora do plano de C-H de anel aromático, além de deformações axiais em 2949 e 2791 cm^{-1} de C-H alifáticos.

O espectro de RMN ^{13}C -BB [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1 (Fig. 6, p. 40) apresentou 21 linhas espectrais. Sendo dois sinais de grupamentos de carbonila em δ 180,5 (C-2) e 167,8 (C-22) referente às funções amida e éster conjugado, respectivamente. Em adição, observaram-se oito sinais em [δ 155,5 (C-17), 110,9 (C-16), 134,9 (C-8), 124,2 (C-9), 122,9 (C-10), 128,8 (C-11), 109,9 (C-12) e 142,9 (C-13)] que foram relacionados a carbonos sp^2 , dos quais o carbono em δ 155,5 encontra-se oxigenado. O espectro revelou ainda dois sinais, um de carbono

oxigenado e o outro de carbono nitrogenado [δ 75,2 (C-3) e 73,2 (C-19)], além de um grupamento metoxila em δ 51,1 (C-23).

Posterior comparação dos espectros RMN ^{13}C -BB e DEPT 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] (Fig. 7, p. 41) revelou a presença de nove carbonos metínicos, quatro carbonos metilênicos, dois carbonos metílicos e seis carbonos não-hidrogenados. Estas informações, em adição ao valor do pico do íon molecular em m/z 368 no espectro de massas (Fig. 4, p. 39), possibilitaram inferir a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ para HP-1 (Tab. 5).

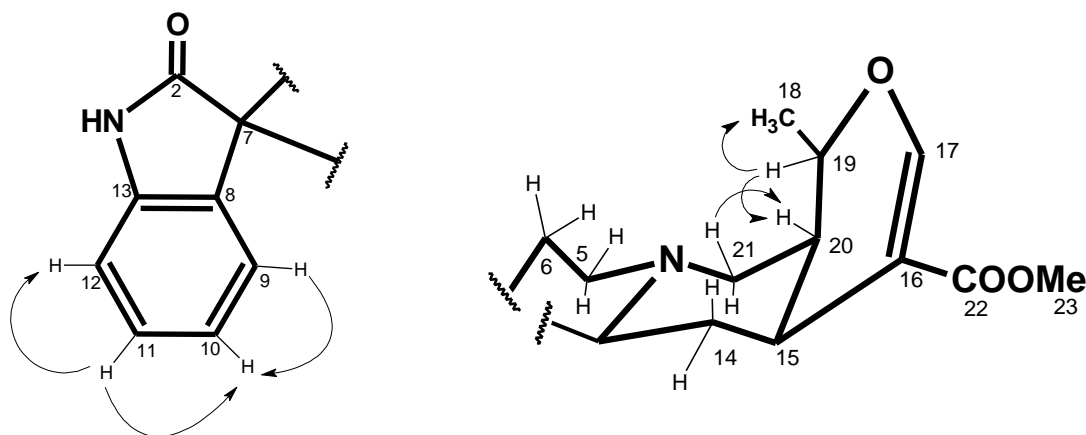
Tabela 5 – Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de HP-1 com padrão de hidrogenação [RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$].

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
180,5	155,5	55,7	51,1	
167,8	128,8	54,0	18,9	
142,9	124,2	35,4		
134,9	122,9	30,9		
110,9	109,9			
56,9	75,2			
	73,2			
	38,9			
	32,1			
C₄	C₉H₉	C₄H₈	C₂H₆	C₂₁H₂₃
C₂O₄	N₂H			C₂₁H₂₄N₂O₄

Análise detalhada do espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1 (Fig. 5, p. 40), mostrou um total de 19 sinais. Neste espectro foram observados cinco sinais na região de hidrogênios olefínicos em δ 7,40 (s, 1H, H-17); 7,30 (d, $J=7,4$ Hz, 1H, H-9); 7,18 (dt, $J=7,7$; 1,0 Hz, 1H, H-11); 7,01 (dt, $J=7,7$; 0,9 Hz, 1H, H-10) e 6,88 (d, $J=7,7$ Hz, 1H, H-12), um multiplete em δ 4,49 (m, 1H, H-19) de um hidrogênio oximetínico, e um singleto característico de metoxila em δ 3,54 (s, 3H, H-23). Em adição, foram observados ainda vários conjuntos de multipletos em δ 3,20 (m, 2H, H-5a) e 3,33 (m, 2H, H-21a), na faixa de δ 2,44 - 2,29, e em δ 1,64 (m, 1H, 14b) e 1,47

(m, 1H, 14a). Em δ 1,36 (d, $J=6,2$ Hz, 3H, H-18), foi observado um dubleto intenso referente a hidrogênios de grupamento metila ligado a carbono mono-hidrogenado.

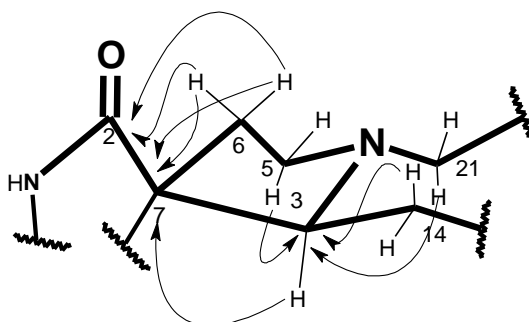
O espectro de correlação homonuclear ^1H , ^1H -COSY de HP-1 (Fig. 8, p. 42) revelou o acoplamento do hidrogênio em δ 7,30 (H-9) com o hidrogênio em δ 7,01 (H-10), e do hidrogênio em δ 7,18 (H-11) com os dois hidrogênios em δ 7,01 (H-10) e 6,88 (H-12), respectivamente. Foram observados ainda os acoplamentos do hidrogênio em δ 4,49 (H-19) com os hidrogênios em δ 1,36 (H-18) e 1,61 (H-20); e do hidrogênio em δ 3,33 (H-21) com os hidrogênios δ 1,61 (H-20). De acordo com estes dados foi possível sugerir as seguintes subestruturas para HP-1:



Analisando o Espectro de Correlação Heteronuclear ^1H , ^{13}C -HSQC de HP-1 (Fig. 12, p. 45) foi possível estabelecer inequivocadamente a correlação de todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos.

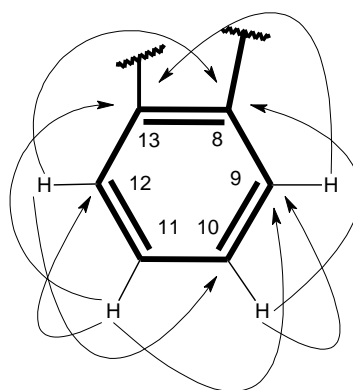
Através da análise detalhada do espectro bidimensional de correlação homonuclear à longa distância ^1H , ^1H -HMBC da substância HP-1 (Fig. 9 e 10, p. 43) foi possível visualizar as correlações dos hidrogênios em δ 1,64 (H-6b) e 1,47 (H-6a) com o carbono δ 180,5 (C-2); dos hidrogênios em δ 3,33 (H-5a), 3,20 (H-21a) e 1,95 (H-14a) acoplado com o carbono δ 75,2 (C-3) e dos hidrogênios em δ 2,34 (H-3),

1,64 (H-6b) e 1,47 (H-6a) com o carbono δ 56,9 (C-7), de acordo com a subestrutura 1.



Subestrutura 1

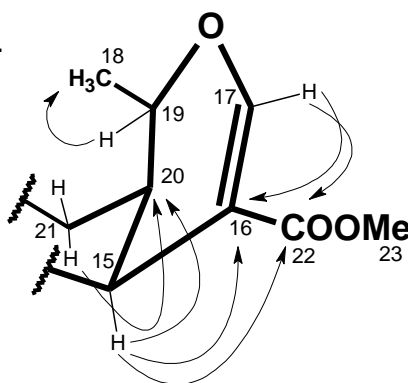
Neste espectro verificaram-se os acoplamentos dos hidrogênios em δ 6,88 (H-12) e 7,01 (H-10) com o carbono δ 134,9 (C-8); dos hidrogênios em δ 7,18 (H-11) e 7,01 (H-10) com o carbono em δ 124,2 (C-9); e do hidrogênio em δ 6,88 (H-12) com o carbono δ 122,9 (C-10). Em adição, foram observados os acoplamentos do hidrogênio em δ 7,18 (H-11) com o carbono δ 109,9 (C-12) e dos hidrogênios δ 7,18 (H-11) e 7,30 (H-9) com o carbono δ 142,9 (C-13), de acordo com a subestrutura 2.



Subestrutura 2

Por outro lado, os acoplamentos dos hidrogênios δ 2,40 (H-15) e 7,4 (H-17) com o carbono δ 110,9 (C-16); dos hidrogênios δ 4,49 (H-19) com o carbono δ 18,9 (C-18); dos hidrogênios δ 2,40 (H-15) e 3,20 (H-21a) com o carbono δ 38,9 (C-20) e dos hidrogênios δ 7,4 (H-17) e 2,40 (H-15) com o carbono δ 167,8 (C-22),

sugeriram a construção do núcleo diidrofurano contendo uma carbometoxila em C-16, conforme a subestrutura 3.

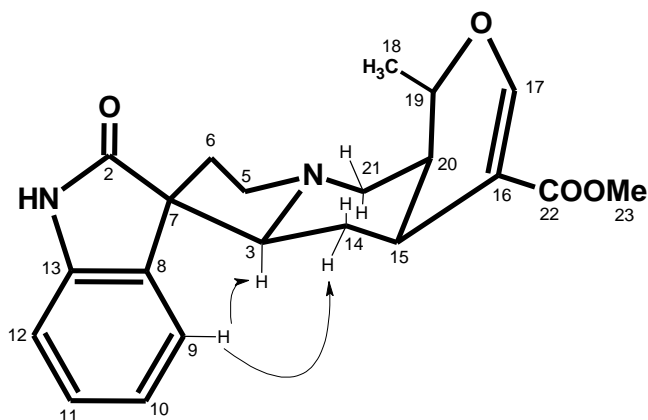


Subestrutura 3

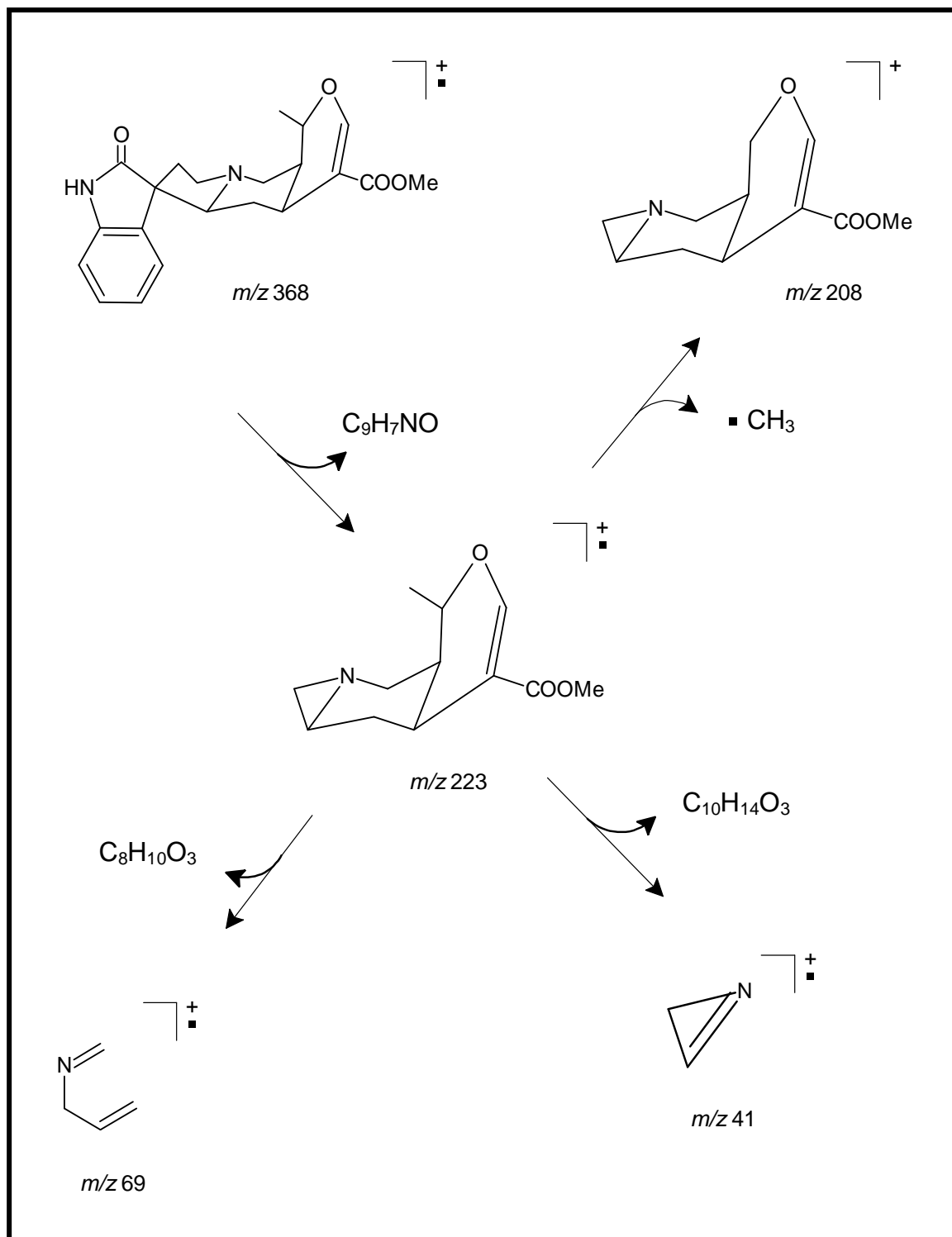
Tabela 6 – Dados de RMN¹H, ¹³C e correlações de ¹H, ¹³C-HSQC e ¹³C-HMBC ⁿJ (n=2 e n=3) de HP-1.

C	HSQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
2	180,5	-	-	H-3, H-6a, H-6b
3	75,2	2,34 (m)	H-14a	H-5a, H-5b, H-21a, H-21b
5	55,7	2,34 (m) 3,20 (m)	H-6b	H-21b
6	35,4	1,95 (ddd, $J = 7,6; 5,1; 0,84$ Hz), 2,29 (m)	H-5a	H-3
7	56,9	-	H-6a, H-6b, H-3	H-5a, H-5b, H-6b, H-14a
8	134,9	-	-	H-6a, H-10, H-12
9	124,2	7,30 (d, $J = 7,4$ Hz)	H-10	H-11
10	122,9	7,01 (dt, $J = 7,7; 0,85$ Hz)	-	H-12
11	128,8	7,18 (dt, $J = 7,7; 1,0$ Hz)	H-10	H-9
12	109,9	6,88(d, $J = 7,7$ Hz)	H-11	H-10
13	142,9	-	-	H-9, H-11
14	30,9	1,64 (m) 1,47 (m)	H-15	-
15	32,1	2,40 (m)	H-14a	H-21a
16	110,9	-	H-17, H-15	H-14a
17	155,5	7,40 (s)	-	H-15
18	18,9	1,36 (d, $J = 6,2$ Hz)	H-19	-
19	73,2	4,49 (m, 1H)	-	H-17, H-21a, H-21b, H-15
20	38,9	1,61(m, 1H)	H-21a, H-15	H-14b
21	54,0	2,34 (m) 3,33 (m)	-	H-5a, H-5b
22	167,8	-	-	H-17, H-15
23	51,1	3,54 (s)	-	-

As interações dipolo-dipolo à longa distância do espectro de correlação homonuclear ^1H , ^1H – NOESY de HP-1 (Fig. 11, p. 44), foram decisivas para a confirmação da estrutura final, através dos importantes acoplamentos do hidrogênio em δ 7,30 (H-9) com os hidrogênios em δ 2,34 (H-3) e 1,95 (H-14a).



O espectro de massa (Fig. 4, p. 39), além de fornecer o pico do íon molecular m/z 368, apresentou importantes sinais com razão massa/carga de 223, 208, 69 e 41, que sugeriram a proposta mecanística para os fragmentos do quadro 1, p. 37.



Quadro 1 – Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massas de HP-1

A posterior comparação dos dados de RMN ^{13}C de HP-1 com dados descritos na literatura para alcalóides oxindólicos (Tab. 7), possibilitou caracterizar HP-1 como sendo a pteropodina, um alcalóide oxindólico já isolado anteriormente das partes aéreas de *H. patens* [ADAMS *et al.*, 1979].

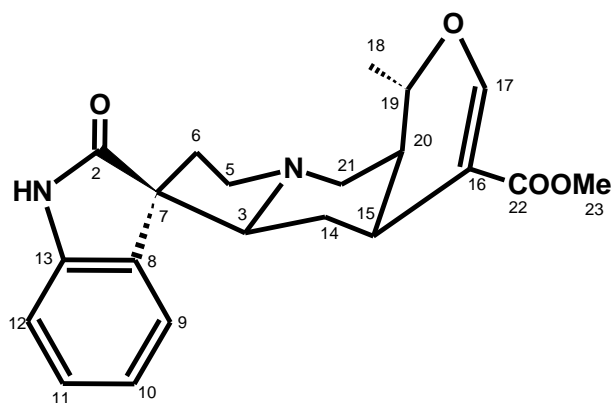


Tabela 7 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C de HP-1 [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] com a pteropodina [25 MHz, CDCl_3].

C	HP-1	Pteropodina [ADAMS <i>et al.</i> , 1989]
	δ_{C}	δ_{C}
2	180,5	181,9
3	75,2	74,0
5	55,7	53,0
6	35,4	29,0
7	56,9	56,0
8	134,9	133,5
9	124,2	123,0
10	122,9	122,2
11	128,8	128,8
12	109,9	109,0
13	142,9	141,0
14	30,9	34,0
15	32,1	31,0
16	110,9	109,8
17	155,5	155,0
18	18,9	18,5
19	73,2	72,0
20	38,9	37,9
21	54,0	55,0
22	167,8	168,0
23	51,1	50,5

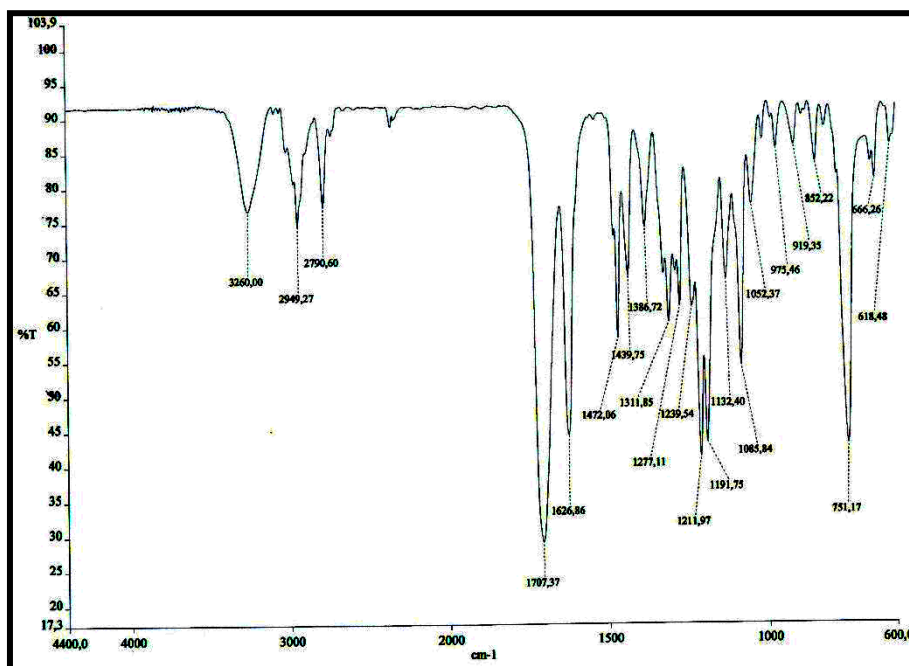


Figura 3 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-1 (NaCl)

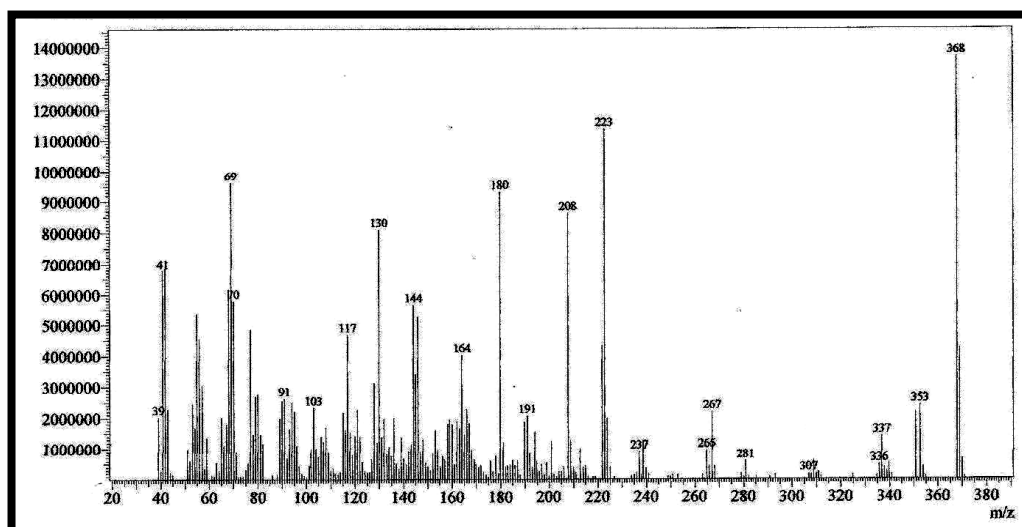


Figura 4 – Espectro de massas de HP-1 (70 eV, IE)

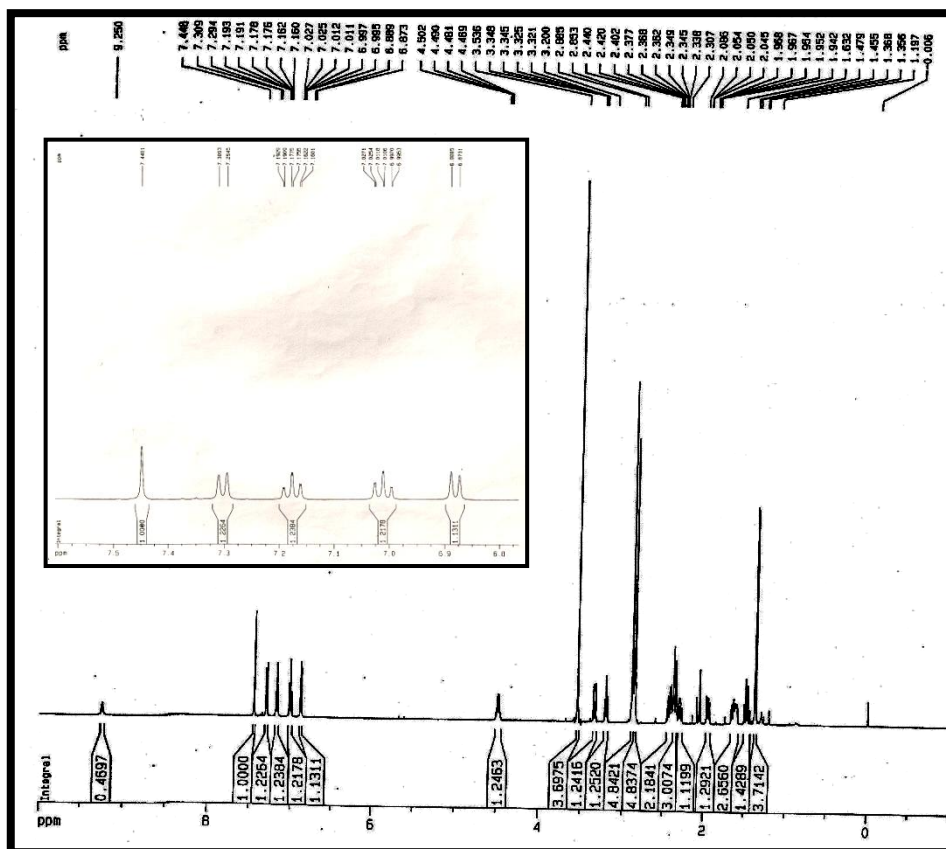


Figura 5 – Espectro de RMN ¹H [500 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-1

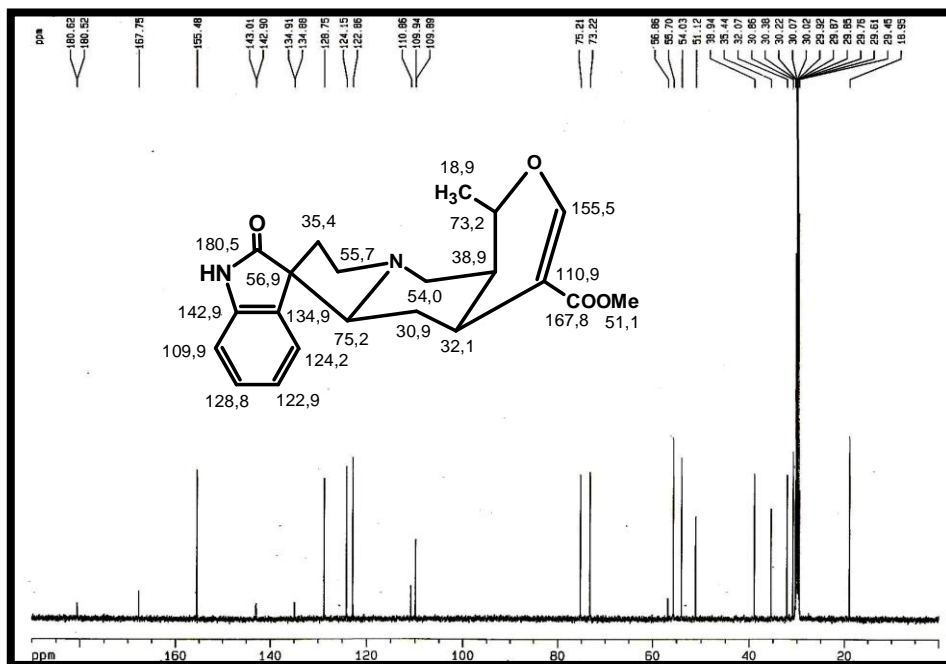


Figura 6 – Espectro de RMN ¹³C – BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] de HP- 1

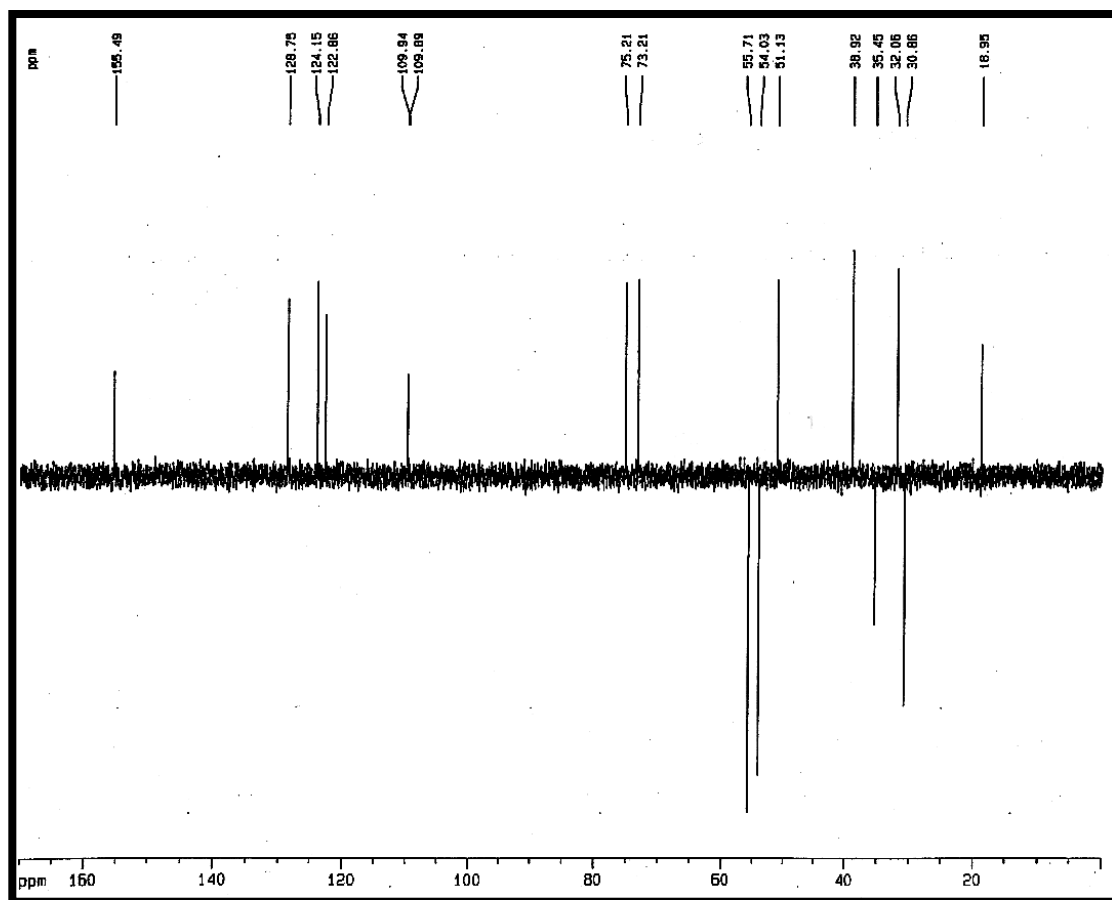


Figura 7 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1

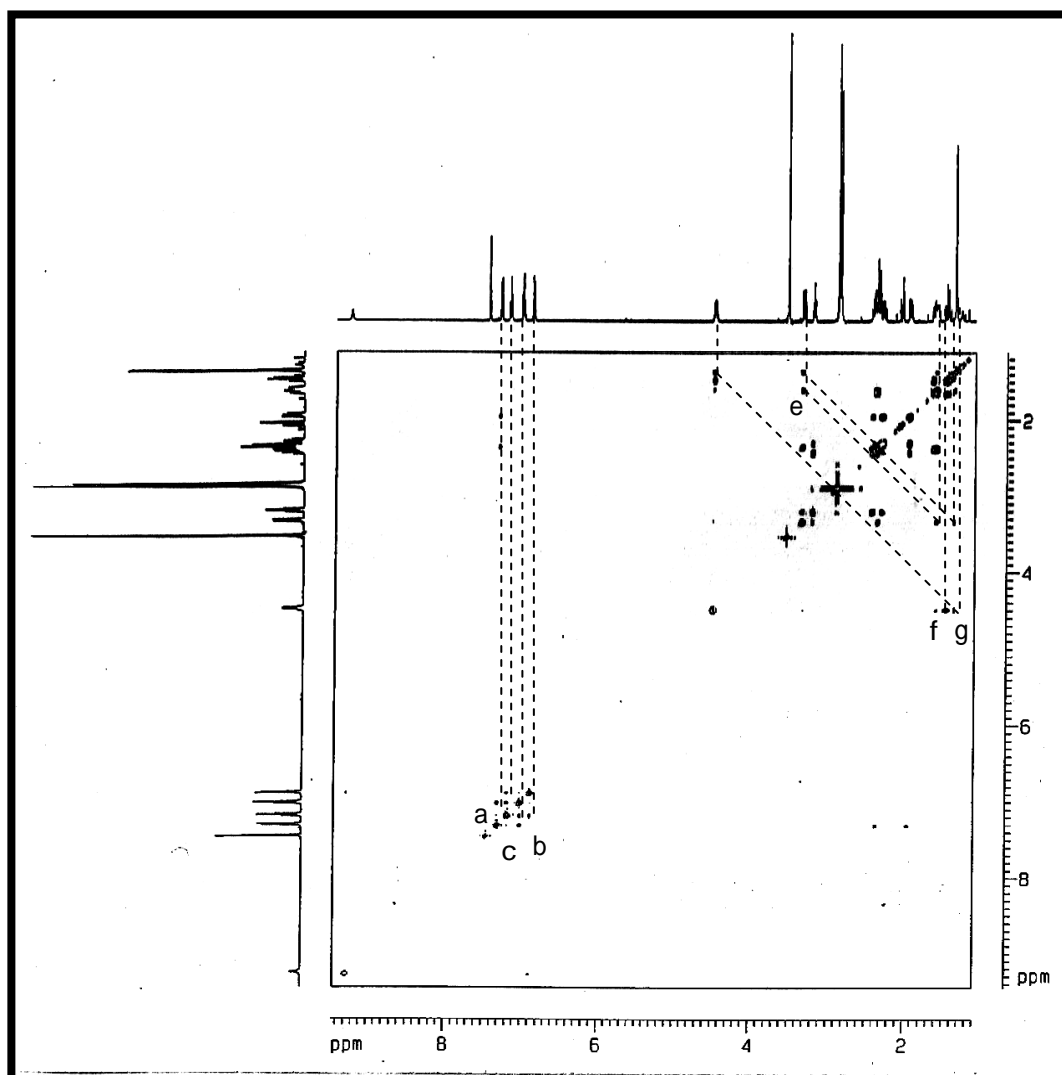
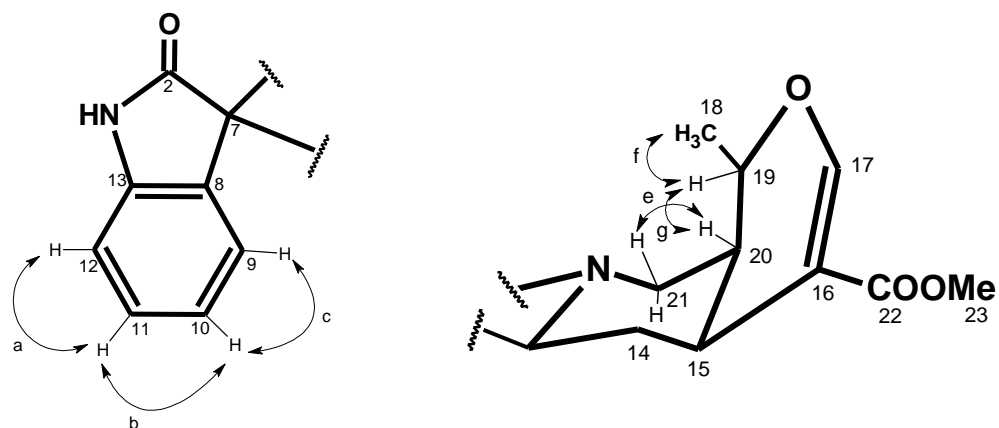


Figura 8 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1



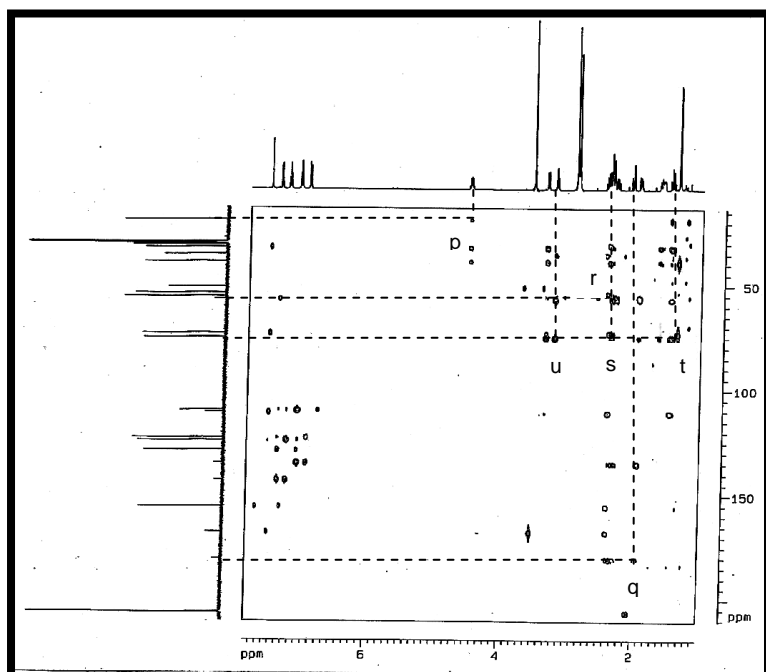


Figura 9 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1

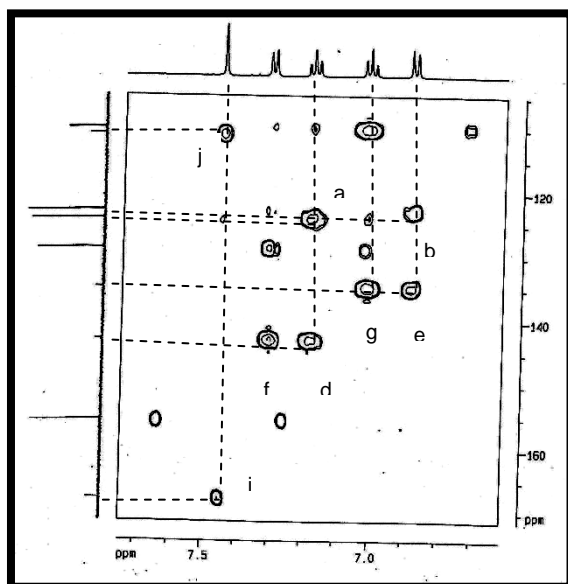
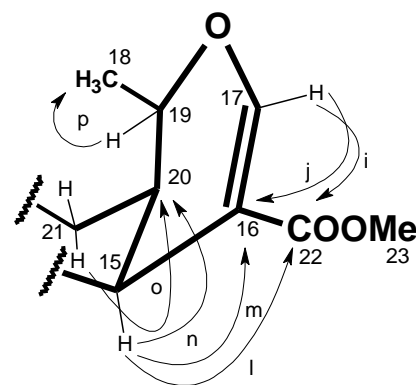
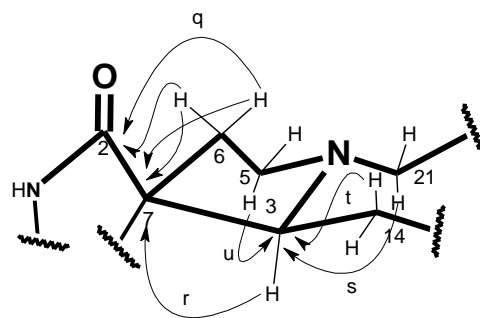
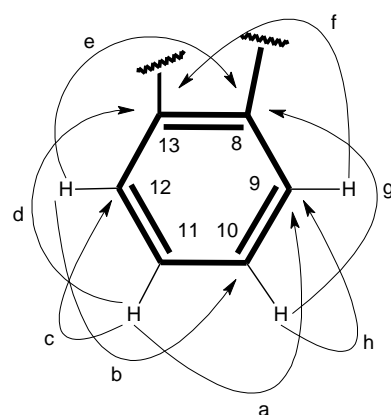


Figura 10 - Expansão do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1



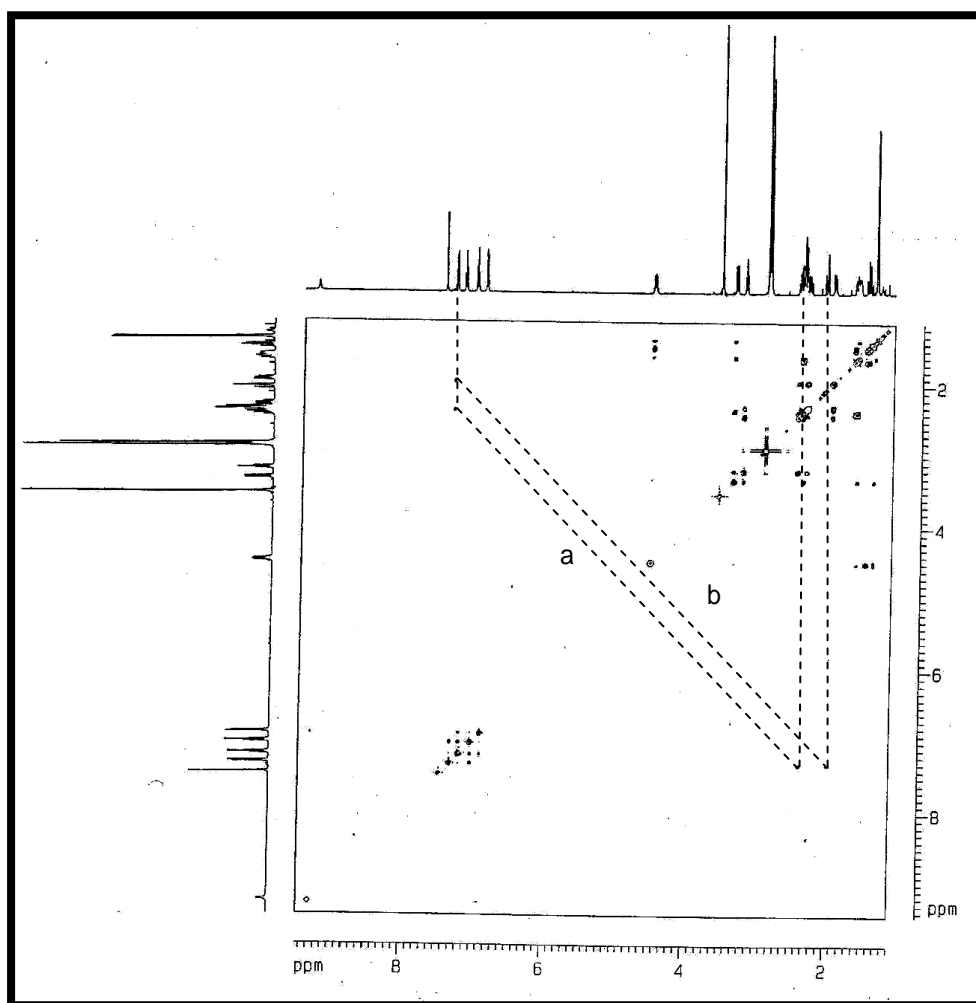
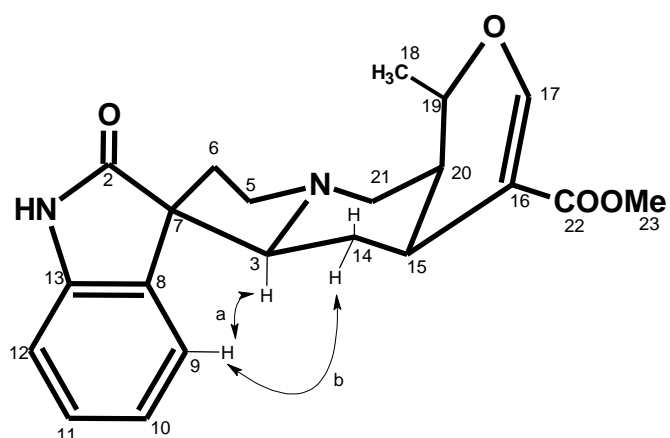


Figura 11 – Espectro de ^1H , ^1H – NOESY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1



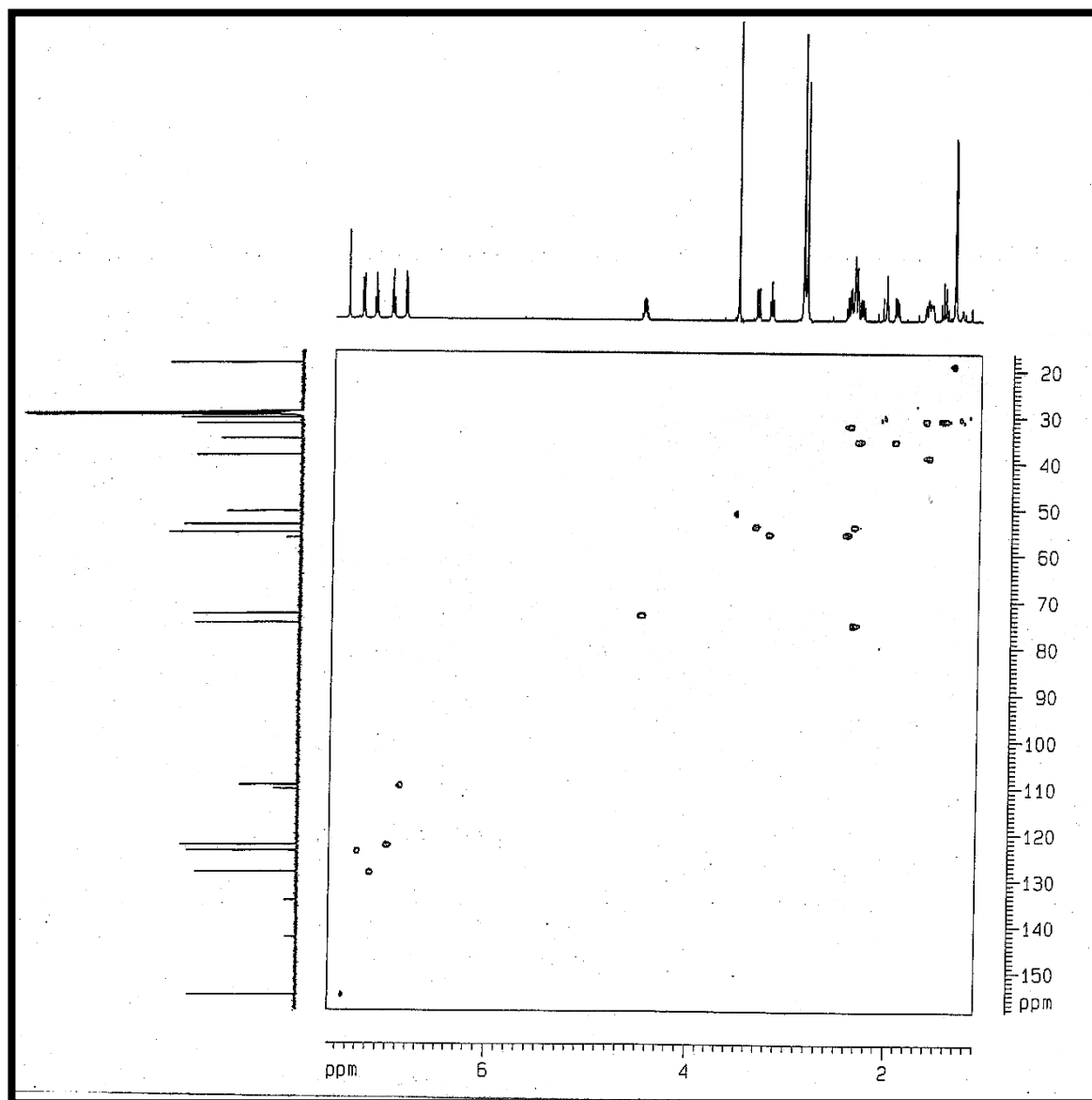


Figura 12 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1

4.1.2 Determinação Estrutural de HP-2

Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano, obtida a partir da partição do extrato etanólico das folhas de *H. patens*, levaram ao isolamento de um sólido amorfo branco denominado de HP-2 (p.f. 204,3-205,5 °C).

A análise do espectro no infravermelho (Fig. 13, p. 46) revelou banda característica de deformação axial de ligação N-H em 3263 cm⁻¹, além de banda em 1210 cm⁻¹ relativa a deformação axial de ligação C-O e vibrações de deformações axiais de ligações C=O de éster α,β -insaturado e de γ -lactama em 1708 cm⁻¹. Foi observada ainda absorção característica de ligações duplas conjugadas em 1625 cm⁻¹; uma banda larga em 754 cm⁻¹ relativa à deformação angular fora do plano de C-H do anel aromático, além de deformações axiais em 2949, 2925 e 2800 cm⁻¹ de C-H alifáticos.

O espectro de RMN ¹H [500 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-2 (Fig. 15, p. 52) mostrou-se bastante semelhante ao de HP-1, onde foram observados sinais de hidrogênio aromáticos em δ 7,30 (d, $J=6,6$ Hz, 1H, H-9); 7,16 (dt, $J=7,7$; 1,3 Hz, 1H, H-11); 6,97 (dt, $J=7,7$; 0,9 Hz, 1H, H-10) e 7,70 (d, $J=7,7$ Hz, 1H, H-12) e um sinal de hidrogênio olefínico em 7,37 (s, 1H, H-17). Observou-se ainda um multiplete em δ 4,37 (m, 1H, H-19) relativo a um hidrogênio oxi-metílico, e um singlete característico de metoxila em δ 3,54 (s, 3H, H-23). Em δ 1,41 (d, 3H, H-18), foi observado um dubleto intenso, que foi relacionado a hidrogênios de carbono metílico ligado a carbono mono-hidrogenado.

No espectro de RMN ¹³C-BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] (Fig. 16, p. 52) foram observadas 21 linhas espectrais. De maneira análoga a HP-1 foram identificados 2 carbonos metílicos, 9 metínicos, 4 metilênicos e 6 carbonos não-hidrogenados após

comparação com o espectro de DEPT 135° [125 MHz, (CD₃)₂CO] (Fig. 17, p. 53 e Tab. 8).

Tabela 8 – Deslocamentos químicos de RMN ¹³C-BB de HP-2 com padrão de hidrogenação [RMN ¹³C-BB e DEPT 135°, (CD₃)₂CO, 125 MHz].

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
180,5	155,4	54,8	51,1	
167,7	128,6	54,3	18,9	
142,5	125,4	35,5		
134,8	122,7	31,3		
112,0	110,2			
57,7	73,2			
	72,3			
	39,1			
	31,7			
C₄ C₂O₄	C₉H₉ N₂H	C₄H₈	C₂H₆	C₂₁H₂₃ C₂₁H₂₄N₂O₄

A posterior construção de uma tabela de comparação entre os dados de RMN ¹³C de HP-1 e HP-2 permitiu visualizar que as principais diferenças estão relacionadas aos deslocamentos do carbono C-3, que se encontra em δ 72,3 (C-3) em HP-2, e portanto mais desprotegido em HP-1 em δ 75,2 (C-3), Tab. 9 (p. 48), a seguir.

Tabela 9 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) deRMN ^{13}C [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-1 e HP-2.

C	HP-1	HP-2
	δ_{C}	δ_{C}
2	180,5	180,5
3	75,2	72,3
5	55,7	54,8
6	35,4	35,5
7	56,9	57,7
8	134,9	134,8
9	124,2	125,4
10	122,9	122,7
11	128,8	128,6
12	109,9	110,2
13	142,9	142,5
14	30,9	31,3
15	32,1	31,7
16	110,9	112,0
17	155,5	155,4
18	18,9	18,9
19	73,2	73,2
20	38,9	39,1
21	54,0	54,3
22	167,8	167,7
23	51,1	51,1

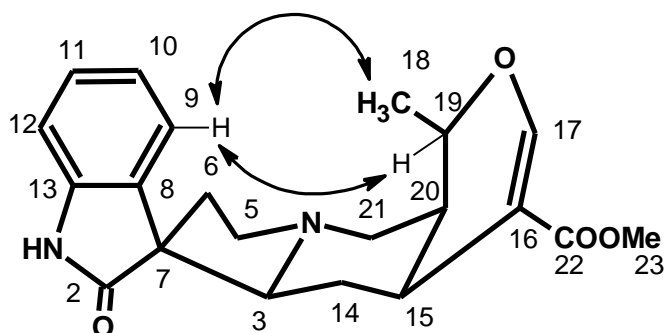
De acordo com estes dados foi observado que HP-2 é um isômero estrutural de HP-1, já que possuem a mesma fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$. Este dado foi confirmado pelo espectro de massas que mostrou o pico do íon molecular em m/z 368 (Fig. 14, p. 51).

Os espectros de correlação bidimensional heteronuclear - HSQC (Fig. 23, p. 57) e HMBC (Fig. 20, p. 54 e Fig. 21, p. 55) de HP-2 também demonstram semelhanças com a análise feita para HP-1, e determinou a correlação inequívoca de cada carbono e seu respectivo hidrogênio, de acordo com a Tab. 10 (p. 49), a seguir.

Tabela 10 – Dados de RMN¹H, ¹³C e correlações de ¹H, ¹³C-HSQC e ¹³C-HMBC ⁿJ (n=2 e n=3) de HP-2.

C	HSQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
2	180,53	-	-	H-3
3	72,3	2,36 (m, 1H)	-	H-21a, H-5a
5	54,8	3,27 (m, 2H) e 2,44 (m, 2H)	-	H-3
6	35,5	1,94 (m, 1H); 2,29 (m, 1H)	H-5b	-
7	57,7	-	H-6a	H-9, H-5a, H-14a
8	134,8	-	-	H-10, H-12
9	125,4	7,30 (d, $J=6,6$ Hz, 1H)	-	H-11
10	122,7	6,97 (dt, $J=7,7$; 0,9 Hz, 1H)	-	H-12
11	128,6	7,16 (dt, $J=7,7$; 1,3 Hz, 1H)	H-10	H-9
12	110,2	7,70 (d, $J=7,7$ Hz, 1H)	H-11	H-10
13	142,5	-	-	H-9, H-11
14	31,3	0,87 (m, 1H) e 1,56 (m, 1H)	H-3	-
15	31,7	2,46 (m, 1H)	-	H-17, H-21a, H-19
16	112,0	-	H-17, H-15	-
17	155,3	7,37 (s, 1H)	-	H-15
18	18,9	1,41 (d, $J=6,2$ Hz, 3H)	H-19	-
19	73,2	4,37 (m, 1H)	H-18	H-17, H-21b
20	39,1	1,63 (dt, $J=13,1$; 3,7 Hz, 1H)	H-21a, H-15	H-18
21	54,3	3,39 (dd, $J=13,1$; 3,7 Hz, 2H) e 2,41 (m, 2H)	-	H-3
22	167,7	-	-	H-17, H-15, H-23
23	51,1	3,54 (s, 3H)	-	-

Porém, após a análise detalhada no espectro homonuclear - NOESY (Fig. 22, p. 56) de HP-2, foram observados importantes acoplamentos à longa distância entre o hidrogênio aromático H-9 em δ 7,30 (H-9) com os hidrogênios em δ 1,36 (H-18), e 4,37 (H-19).



De posse dessa análise e após comparação com dados de RMN ¹³C descritos na literatura (Tab. 11, p. 50), HP-2 foi caracterizado como o epímero de

HP-1 denominado de isopteropodina. Este alcalóide já foi isolado anteriormente da parte aérea de *H. patens* [ADAMS *et al.*, 1989].

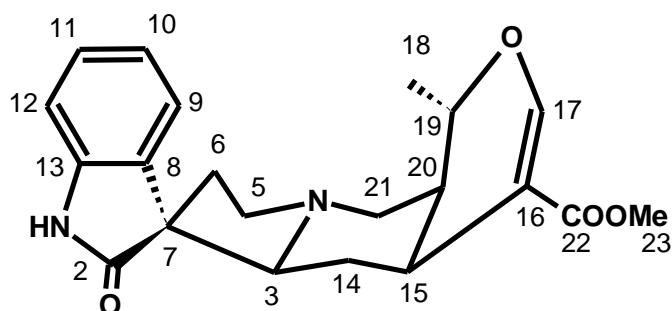


Tabela 11 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C de HP-2 [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] com a isopteropodina [25 MHz, CDCl_3].

C	HP-2	Isopteropodina [ADAMS <i>et al.</i> , 1989]
	δ_c	δ_c
2	180,53	181,6
3	72,3	72,2
5	54,8	53,6
6	35,5	30,3
7	57,7	57,1
8	134,8	133,8
9	125,4	124,5
10	122,7	122,5
11	128,6	127,7
12	110,2	109,8
13	142,5	140,5
14	31,3	34,9
15	31,7	30,6
16	112,0	109,9
17	155,4	155,0
18	18,9	18,6
19	73,2	71,2
20	39,1	38,0
21	54,3	54,1
22	167,7	167,6
23	51,1	51,0

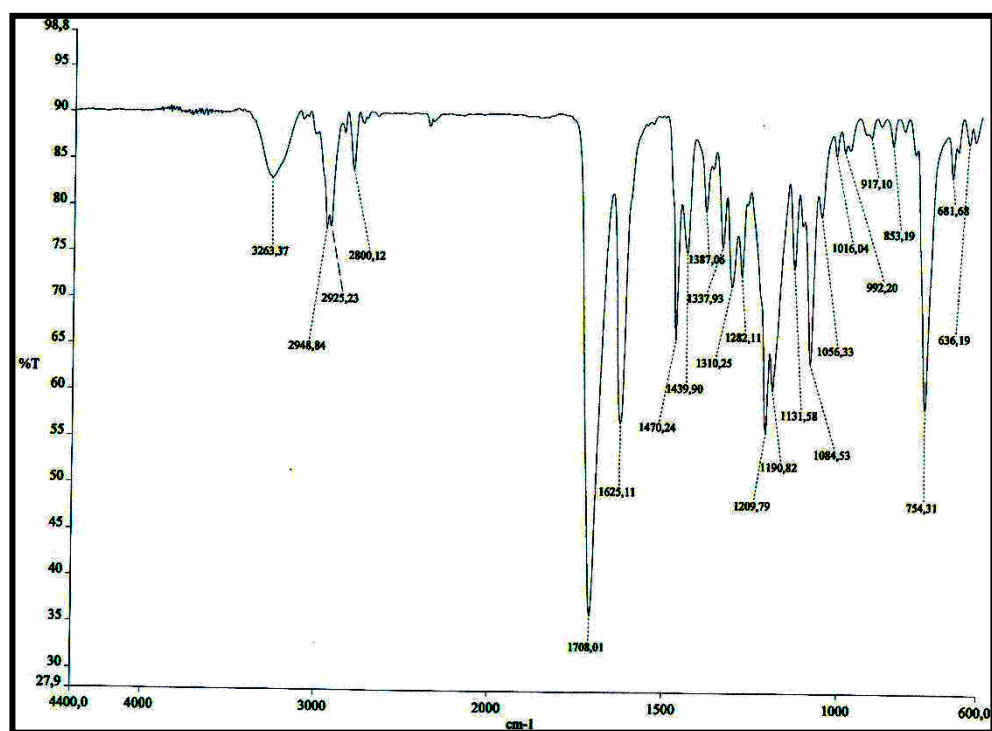


Figura 13 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-2 (NaCl)

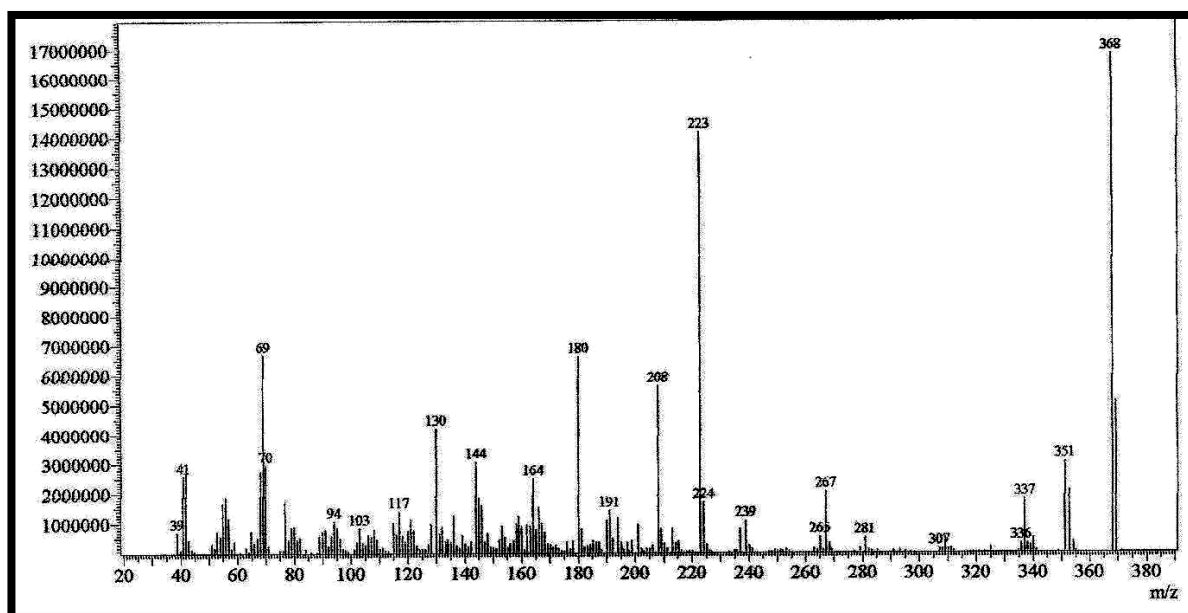


Figura 14 – Espectro de massas de HP-2 (70 eV, IE)

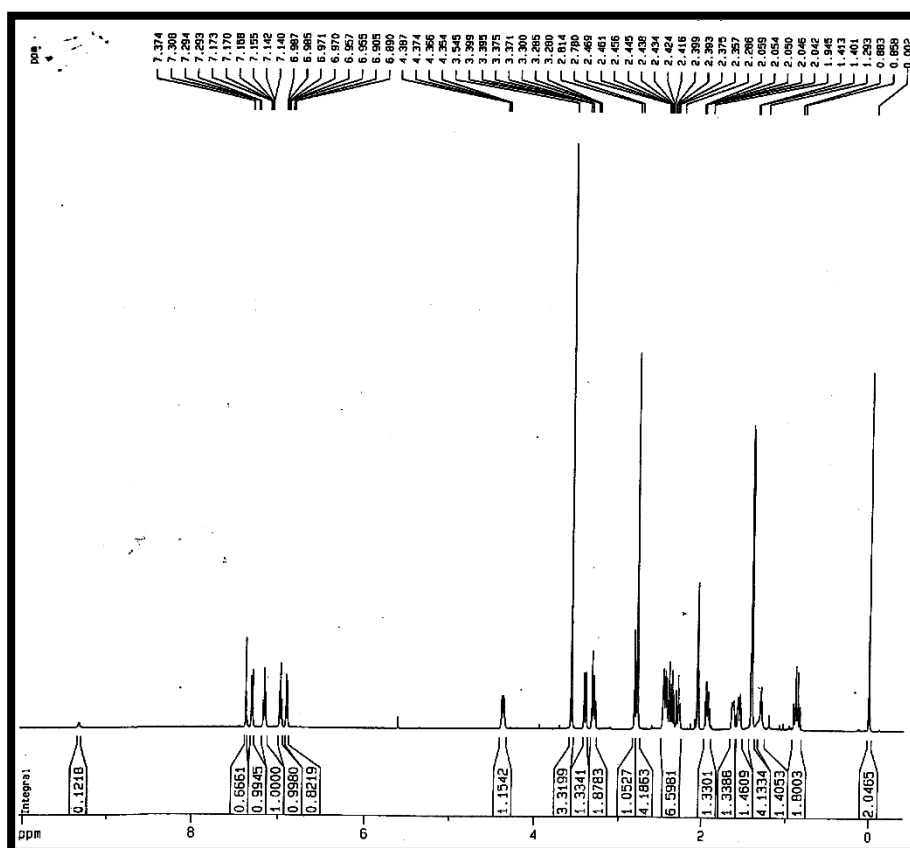


Figura 15 – Espectro de RMN ¹H [500 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-2

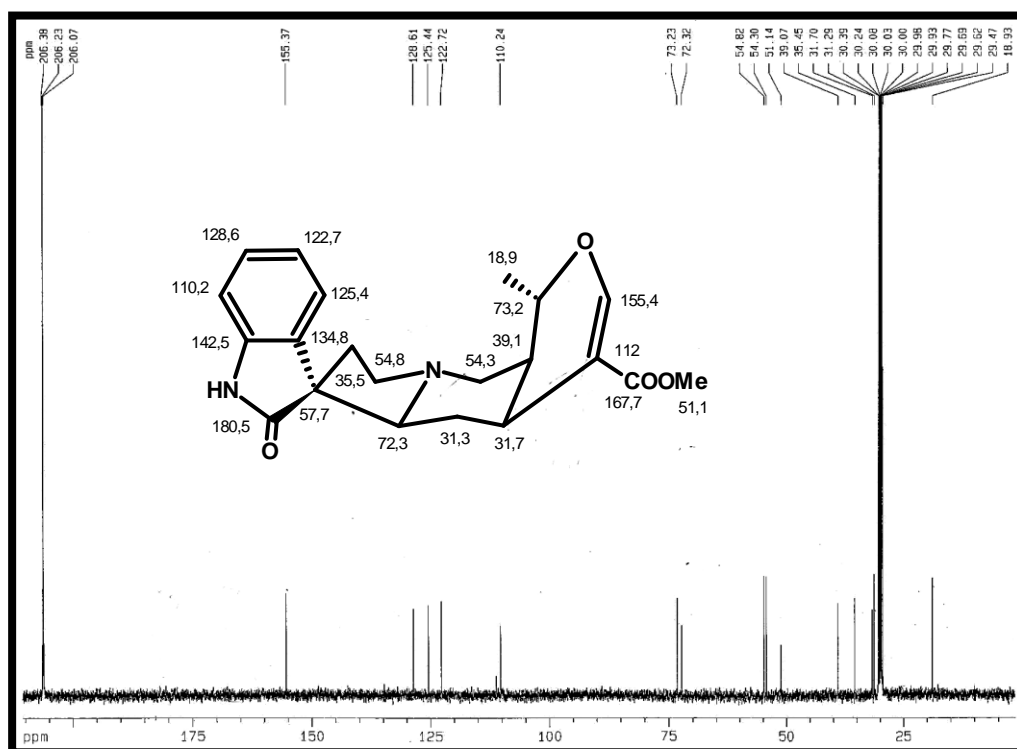


Figura 16 – Espectro de RMN ¹³C – BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-2

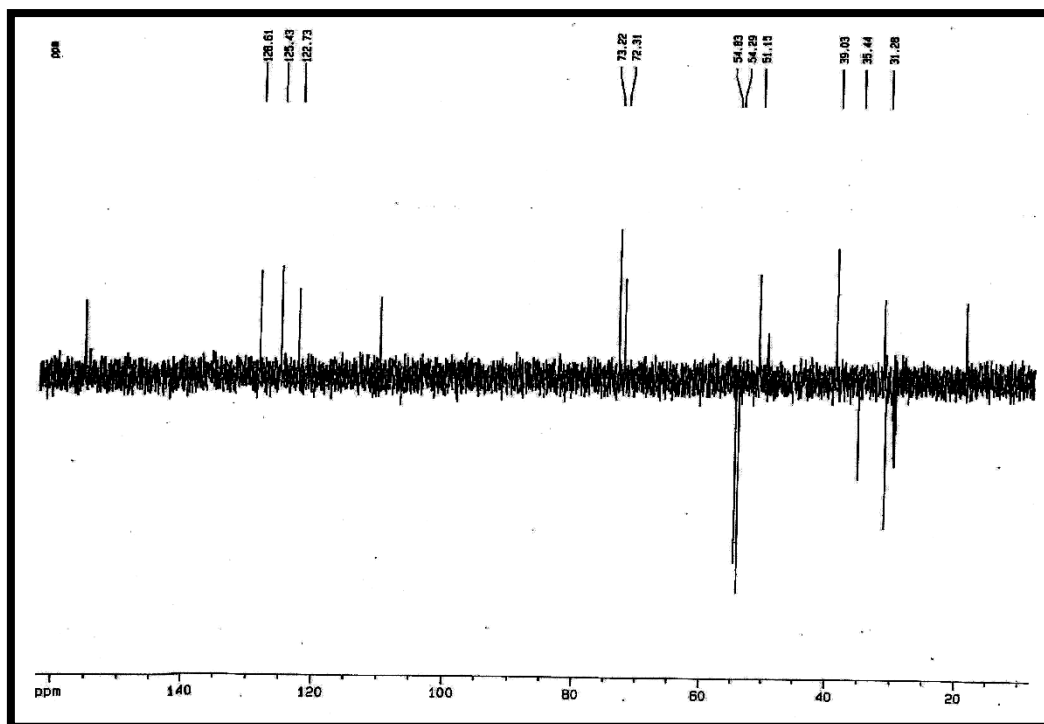


Figura 17 - Espectro de RMN^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2

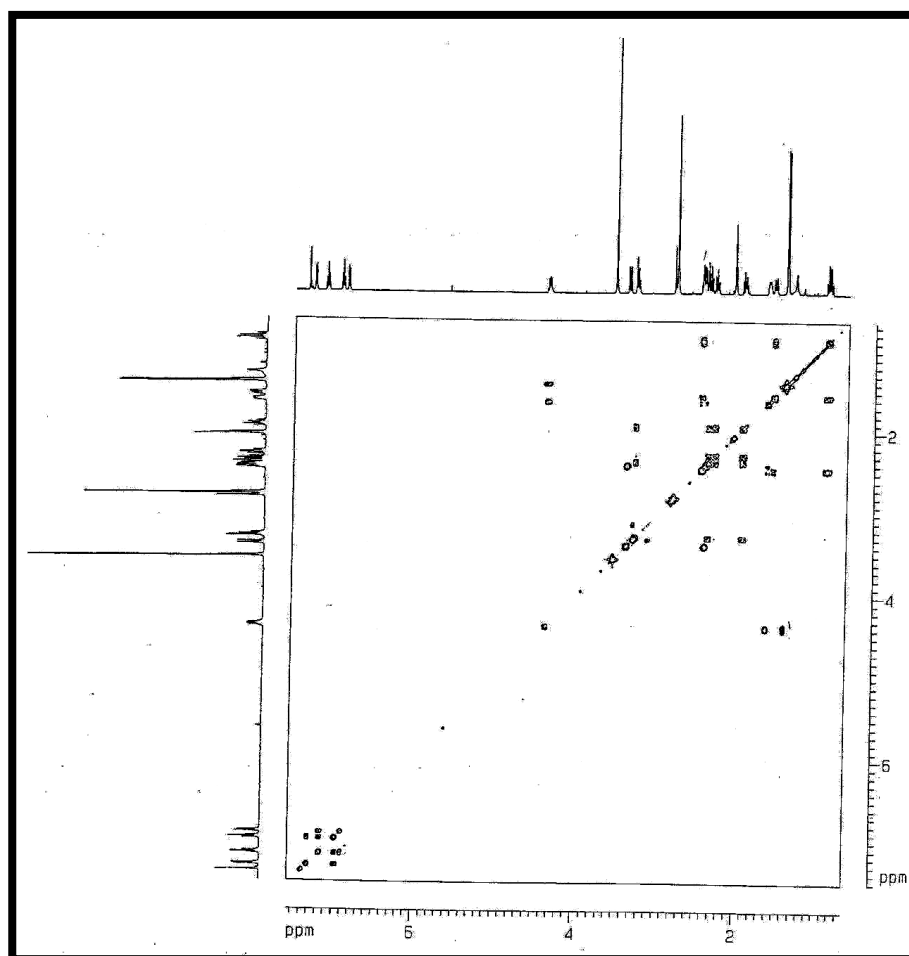


Figura 18 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2

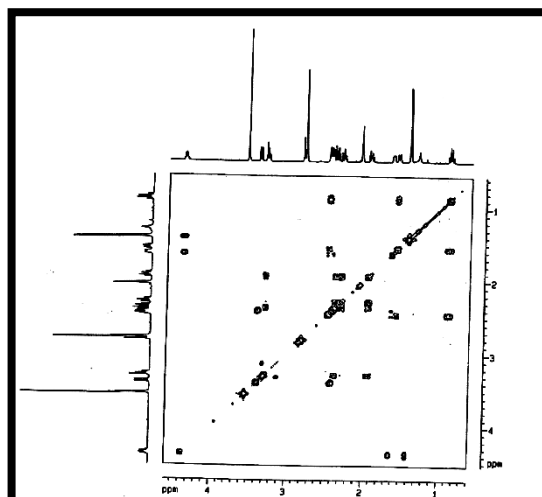


Figura 19 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY - [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2 – Expandido

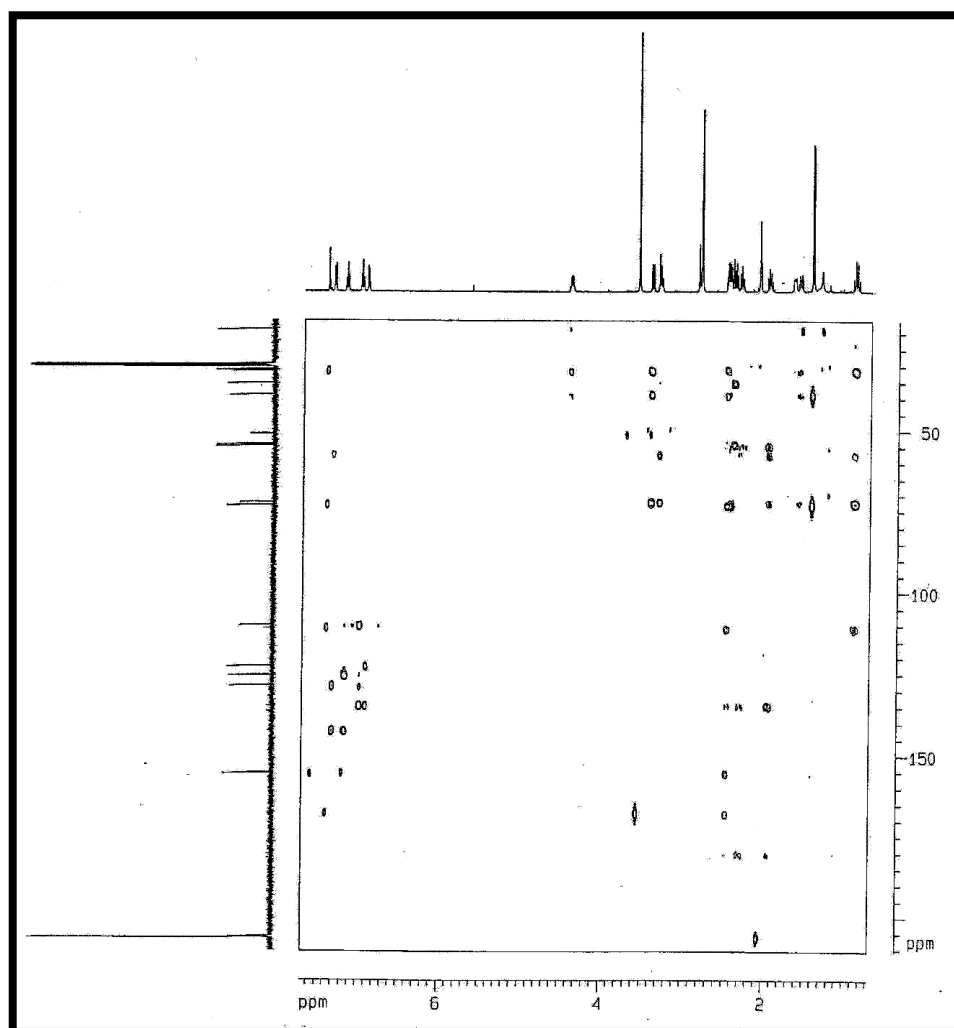


Figura 20 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBSC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2

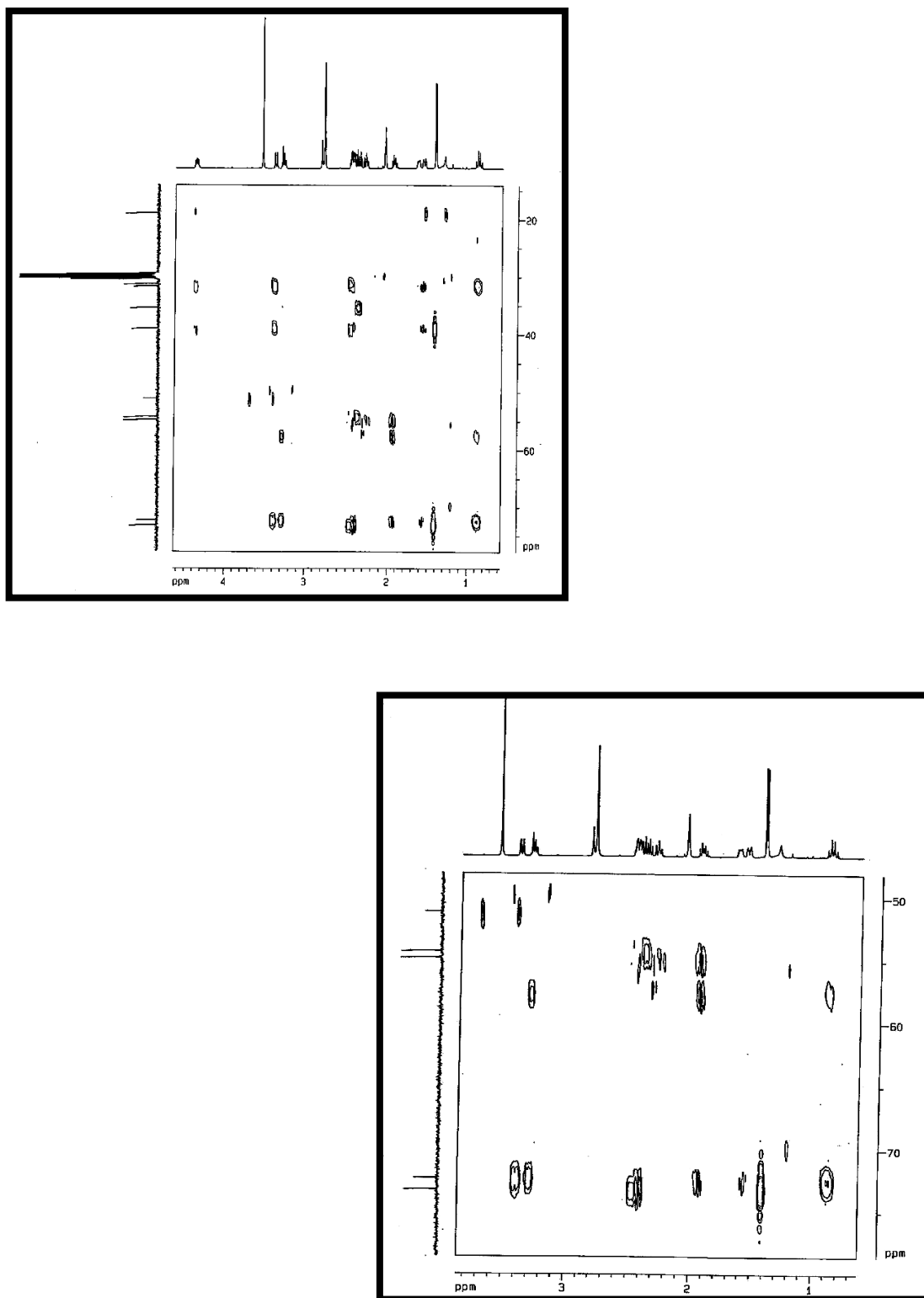


Figura 21 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2

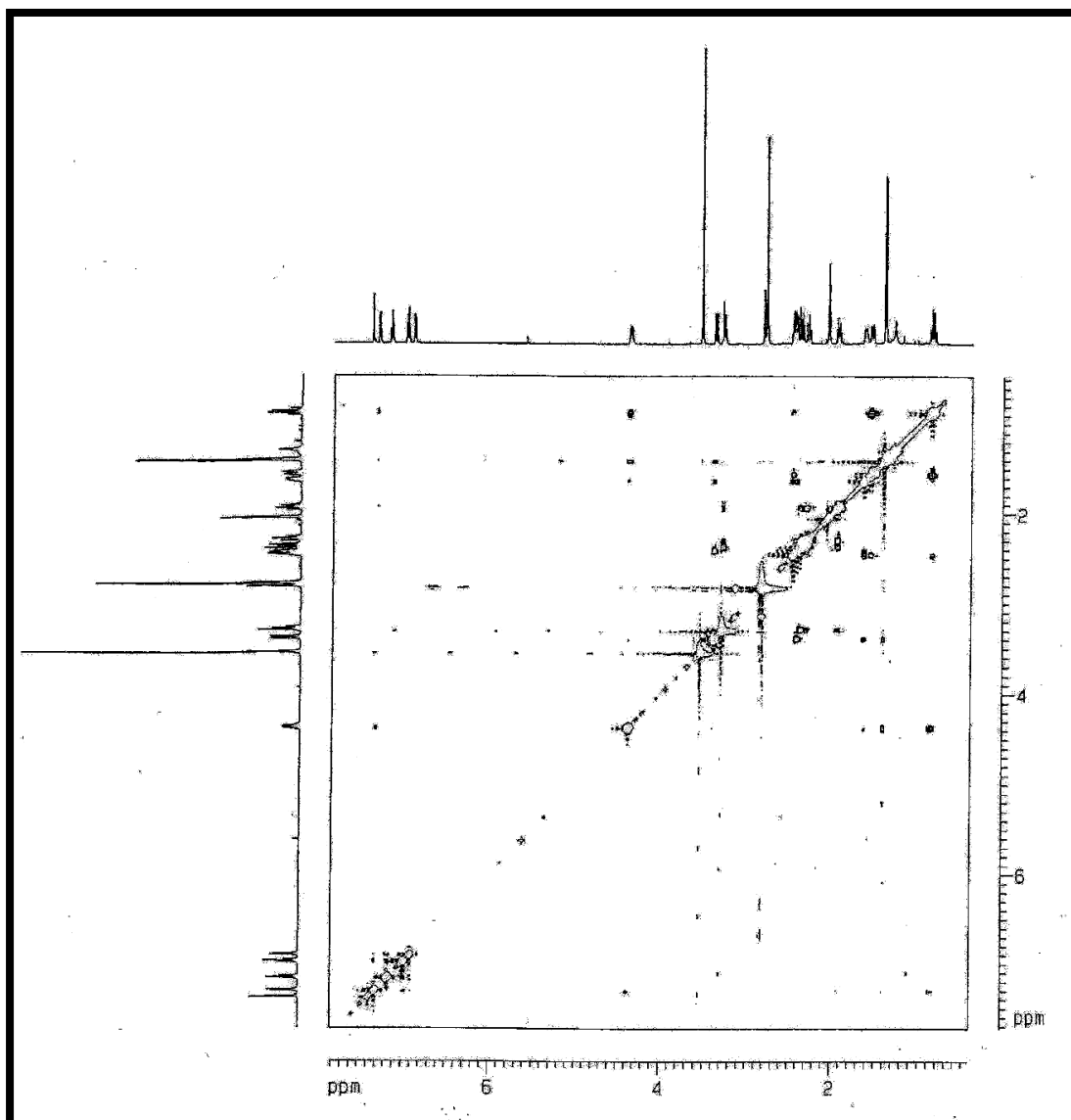
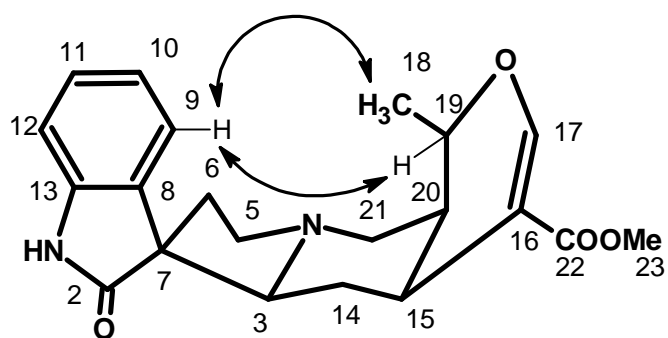


Figura 22 – Espectro de ¹H, ¹H – NOESY [500 x 500 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-2



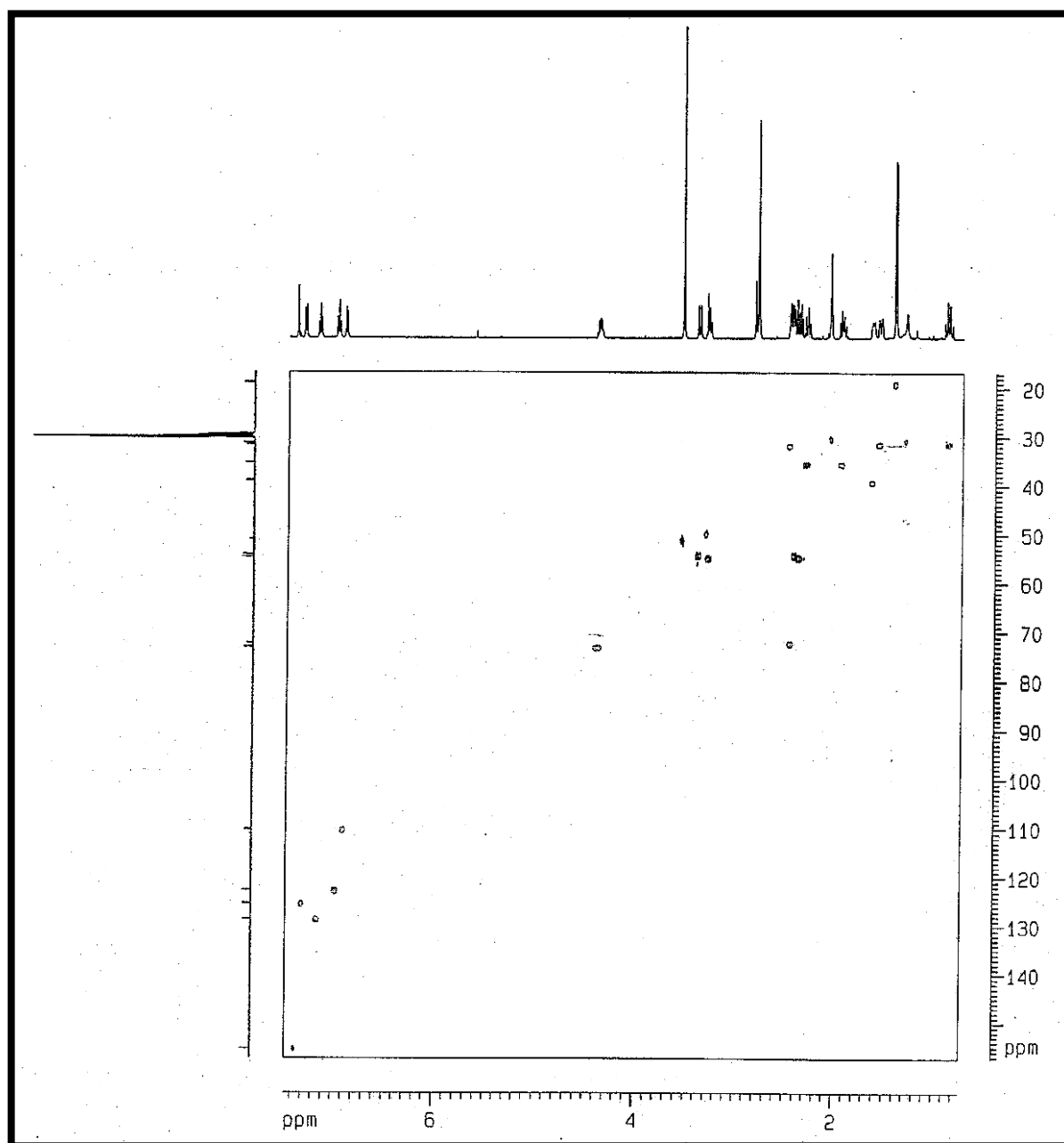


Figura 23 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-2

4.1.3 Determinação Estrutural de HP-3

Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano, obtida a partir da partição do extrato etanólico das folhas de *H. patens*, resultaram no isolamento de um sólido amorfo branco denominado de HP-3 (p.f. 100,3-101,1 °C).

A análise do espectro no infravermelho de HP-3 (Fig. 24, p. 66) revelou banda característica de deformação axial N-H em 3259 cm⁻¹ e de ligações C-N de aminas terciárias em 1086 cm⁻¹. Observaram-se também uma banda em 1209 cm⁻¹ de ligação C-O, e vibrações de deformações axiais C=O de éster α,β -insaturado e de γ -lactamas em 1706 cm⁻¹. Foi observada ainda absorção característica de ligação dupla conjugada em 1630 cm⁻¹; uma banda em 755 cm⁻¹ relativa à deformação angular fora do plano de C-H de anel aromático, além de deformações axiais em 2948 e 2791 cm⁻¹ de C-H alifáticos.

O espectro de RMN ¹³C-BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-3 (Fig. 27, p. 67) apresentou 22 linhas espectrais. De modo semelhante a HP-1 e HP-2, a análise detalhada deste espectro revelou dois sinais em δ 180,5 (C-2) e 167,8 (C-22) característicos de carbonilas de amida e de éster conjugado, respectivamente. Foram observados ainda oito sinais referentes a carbonos sp² [δ 110,9 (C-16), 136,2 (C-8), 110,2 (C-9), 155,5 (C-17) 156,7 (C-10), 113,2 (C-11), 111,4 (C-12) e 133,8 (C-13)], dos quais os carbonos em δ 155,5 (C-17) e 156,7 (C-10) encontram-se oxigenados. Outra diferença observada no espectro de HP-3 foi a presença de um carbono adicional relativo a um grupamento metoxila em δ 56,0 (C-24). Comparando os espectros RMN ¹³C-BB e DEPT 135° [125 MHz, (CD₃)₂CO] (Fig. 28, p. 68), observaram-se oito linhas espectrais referentes a carbonos metínicos; quatro carbonos metilênicos, três carbonos metílicos e sete carbonos não-hidrogenados.

A partir destas informações foi possível elucidar a fórmula molecular de HP-3 como sendo $C_{22}H_{26}N_2O_4$ (Tab. 12), em acordo com o pico do íon molecular em m/z 398 no espectro de massa (Fig. 25, p. 66).

Tabela 12 – Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de HP-3 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, 125 MHz $(CD_3)_2CO$).

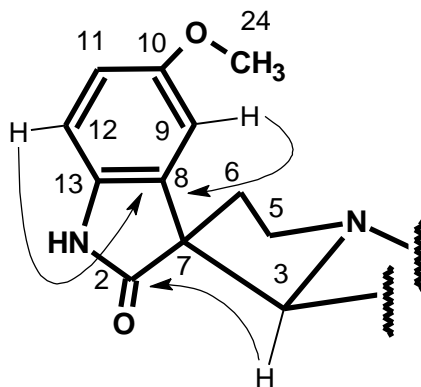
C	CH	CH ₂	CH ₃	TOTAL
156,7	155,5	55,7	56,0	
136,2	113,1	54,0	51,1	
133,8	111,4	35,4	18,9	
110,9	110,2	30,9		
57,4	75,3			
	73,2			
	37,6			
	32,1			
C₅ C₂O₅	C₈H₈ N₂H	C₄H₈	C₃H₉	C₂₀H₂₅ C₂₂H₂₆N₂O₅

O estudo do espectro de RMN 1H [500 MHz, $(CD_3)_2CO$] de HP-3 (Fig. 26, p. 67) revelou quatro sinais de hidrogênios em δ 7,46 (s, 1H, H-17), 6,80 (m, 1H, H-9), 6,76 (m, 1H, H-11), 6,95 (d, $J=2,4$ Hz, H-12), além de dois sinais simpleto e intensos em δ 3,55 (s, 3H, H-23) e 3,78 (s, 3H, H-24), e um outro duplete em δ 1,37 (d, $J=6,2$ Hz, 3H, H-18), relacionados a hidrogênios de grupamentos metoxilas e metila, respectivamente. De maneira análoga aos espectros de HP-1 e HP-2, o espectro de HP-3 mostrou ainda conjuntos de multipletos em δ 2,46-2,31, 1,48 (m, 2H, H-6a) e 1,96 (m, 2H, H-6b).

O Espectro de Correlação Heteronuclear – HSQC de HP-3 (Fig. 32, p. 70) permitiu a associação de cada carbono ao seu respectivo hidrogênio de forma inequívoca.

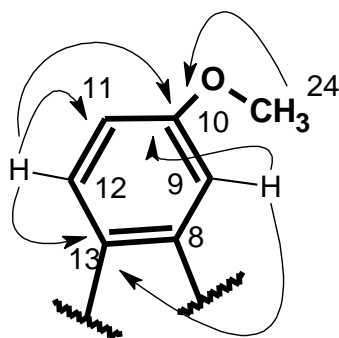
Por outro lado, a análise do espectro bidimensional HMBC (Fig. 30, p. 69) revelou acoplamentos do hidrogênio em δ 2,37 (H-3) com carbono em δ 180,5 (C-2);

e dos dois hidrogênios aromáticos em δ 6,95 (H-12) e 6,80 (H-9) com o carbono em δ 136,2 (C-8), subestrutura 1.



Subestrutura 1

A posição relativa do grupo metoxila adicional foi determinada através dos acoplamentos dos hidrogênios δ 6,95 (H-12), 6,80 (H-9) e 3,78 (H-24) com o carbono δ 156,72 (C-10). Em adição, foram observados os acoplamentos do hidrogênio em δ 6,95 (H-12) com o carbono δ 113,20 (C-11) e dos hidrogênios em δ 6,80 (H-9), 6,95 (H-12) com o carbono (C-13), conforme subestrutura 2.



Subestrutura 2

Ainda analisando este espectro, observaram-se os acoplamentos dos hidrogênios em δ 7,46 (H-17) e 2,42 (H-15) com o carbono em δ 110,9 (C-16); o acoplamento do hidrogênio δ 4,50 (H-19) com o carbono δ 18,9 (C-18) e dos hidrogênios δ 3,55 (H-23), 7,46 (H-17) e 2,42 (H-15) com o carbono em δ 167,8 (C-22), levando à proposição da subestrutura 3, p. 61.

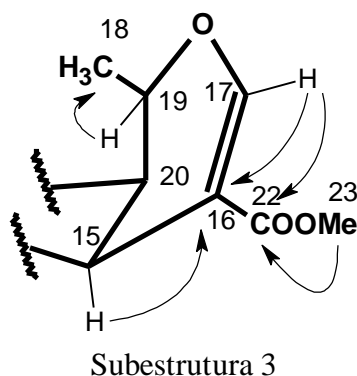
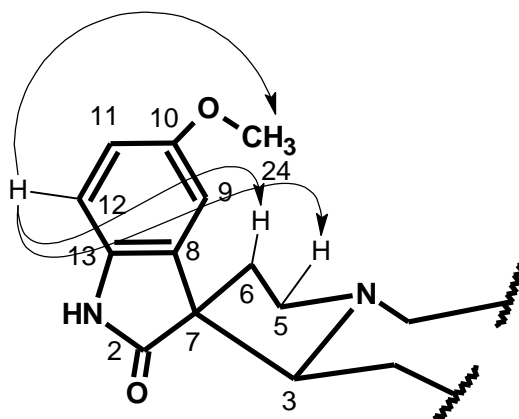


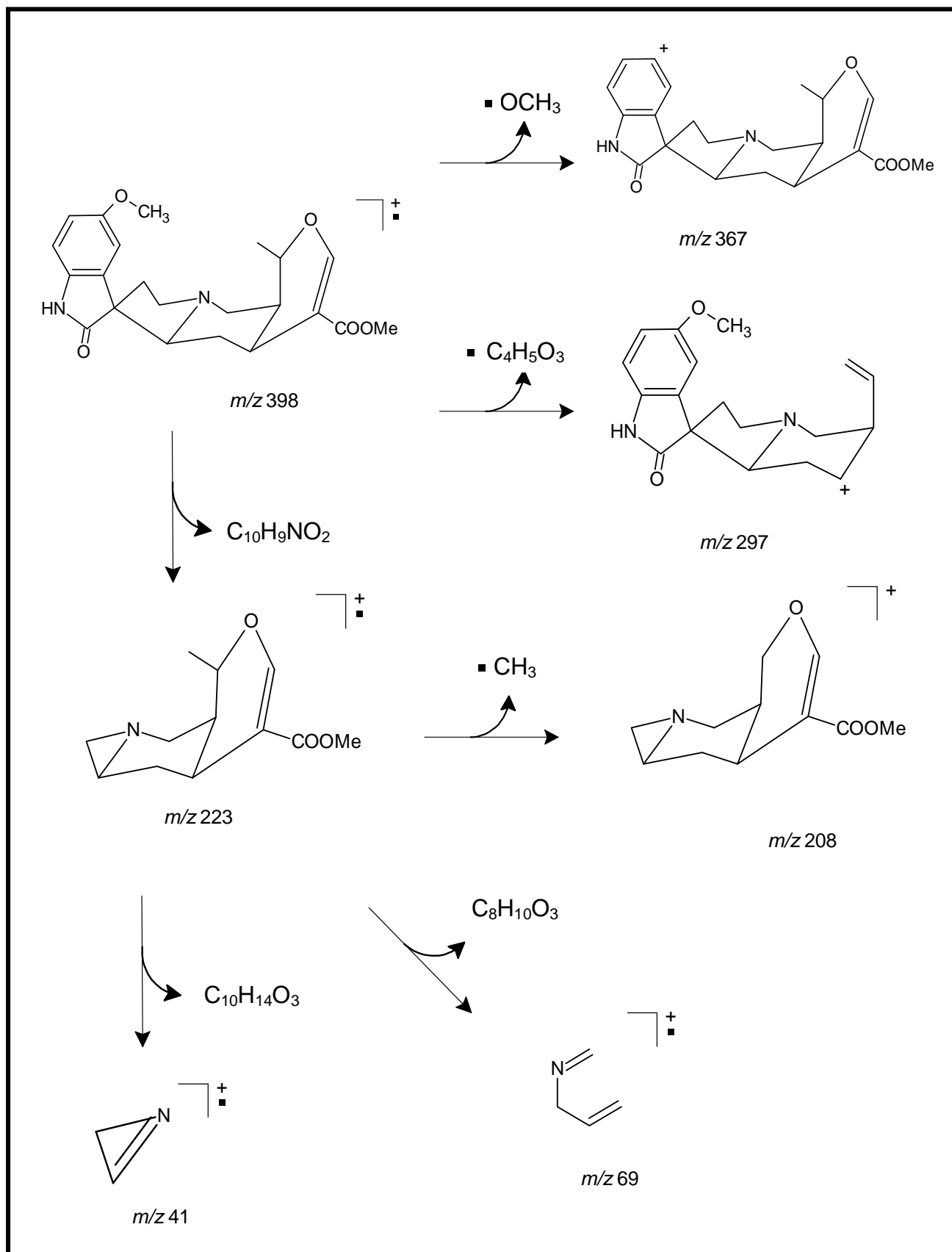
Tabela 13 – Dados de RMN¹H, ¹³C e correlações de HSQC e HMBC ⁿJ (n=2 e n=3) de HP-3.

C	HSQC		HMBC	
	δ_c	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
2	180,5	-		H-3
3	73,3	2,37 (m)	H-5a, H-6a e H-14a	-
5	55,7	3,19 (dd, $J=11,9$; 1,8 Hz) 2,46 (m)	H-6a	-
6	35,4	1,96 (ddd, $J=6,85$; 5,0; 0,85 Hz) ; 2,31 (m)	H-5b	-
7	57,4	-	-	H-14b
8	136,2	-	H-9	H-12
9	110,2	6,80 (m)	-	-
10	156,7	-	H-9	H-12 e H-24
11	113,2	6,76 (m)	H-12	-
12	111,4	6,95 (d, $J=2,35$ Hz)	H-11	-
13	133,8	-	H-12	H-9
14	30,9	1,48 (m) 1,66 (m)	H-15	H-20
15	32,1	2,42 (m)	H-20 e H- 14a	H-17, H-19 e H-21a
16	110,9	-	H-17 e H-15	-
17	155,5	7,46 (s)	-	H-15 e H-19
18	18,9	1,37 (d, $J=6,2$ Hz)	H-19	-
19	73,2	4,50 (m)	-	H-17
20	37,6	1,61 (m)	H-19, H-15 e H-21a	H-18
21	54,0	3,34 (m) 2,37 (m)	-	-
22	167,8	-	-	H-17, H-23 e H-15
23	51,1	3,55 (s)	-	-
24	56,0	3,78 (s)	-	-

Adicionalmente, o espectro homonuclear ^1H , ^1H – NOESY de HP-3 (Fig. 31, p. 70), revelou importantes acoplamentos dipolo-dipolo a longa distância do hidrogênio em δ 6,95 (H-12) com os hidrogênios da metoxila em δ 3,76 (H-24), 2,46 (H-5b) e 1,96 (H-6a), conforme o fragmento mostrado abaixo.

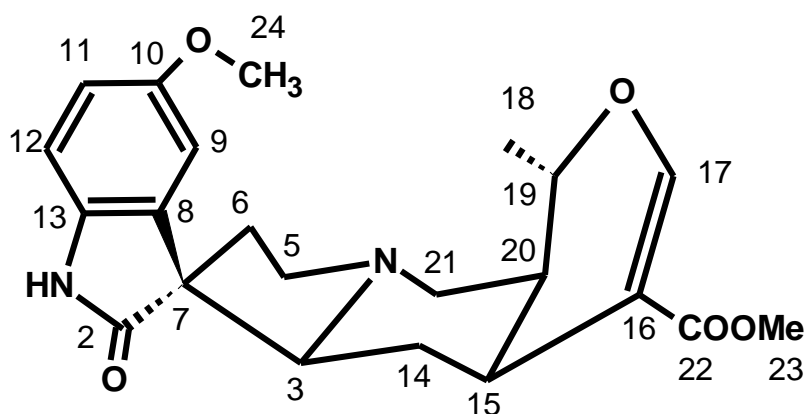


O espectro de massa (Fig. 25, p. 66) apresentou picos semelhantes a HP-1 (m/z 223, 208, 41 e 60), com o surgimento de dois picos (m/z 367 e 297) caracterizando a presença da metoxila adicional, como mostrado na proposta mecanística no quadro 2, p. 63.



Quadro 2 – Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-3

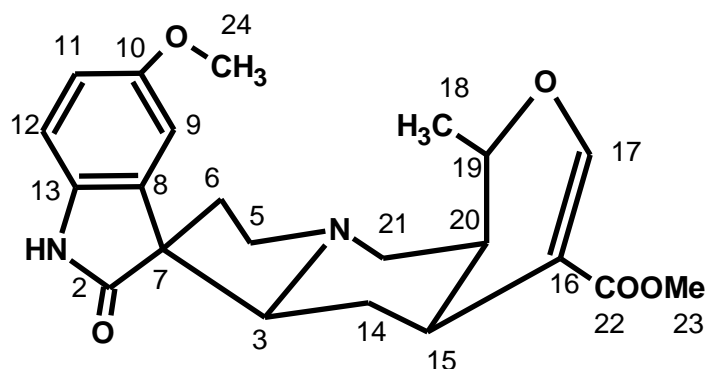
Os dados acima discutidos e a posterior comparação com dados de RMN ^{13}C descritos na literatura (Tab. 14, p. 65) para o alcalóide oxindólico palmirina, revelou a semelhança entre as duas substâncias. Este alcalóide também já foi isolado a partir da parte aérea de *H. patens* [BORGES et al., 1979].



Palmirina

Tabela 14 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C de HP-3 [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] com a palmirina (25 MHz, CDCl_3).

C	HP-3	Palmirina [BORGES, 1979]
	δ_c	δ_c
2	180,5	181,0
3	73,3	72,3
5	55,7	53,6
6	35,4	34,9
7	57,4	57,6
8	136,2	135,3
9	110,2	109,9
10	156,7	156,0
11	113,2	112,2
12	111,4	111,9
13	133,8	133,8
14	30,9	30,3
15	32,1	30,7
16	110,9	110,0
17	155,5	155,1
18	18,9	18,6
19	73,2	71,3
20	37,6	38,2
21	54,0	54,1
22	167,8	167,6
23	51,1	51,0
24	56,0	55,7



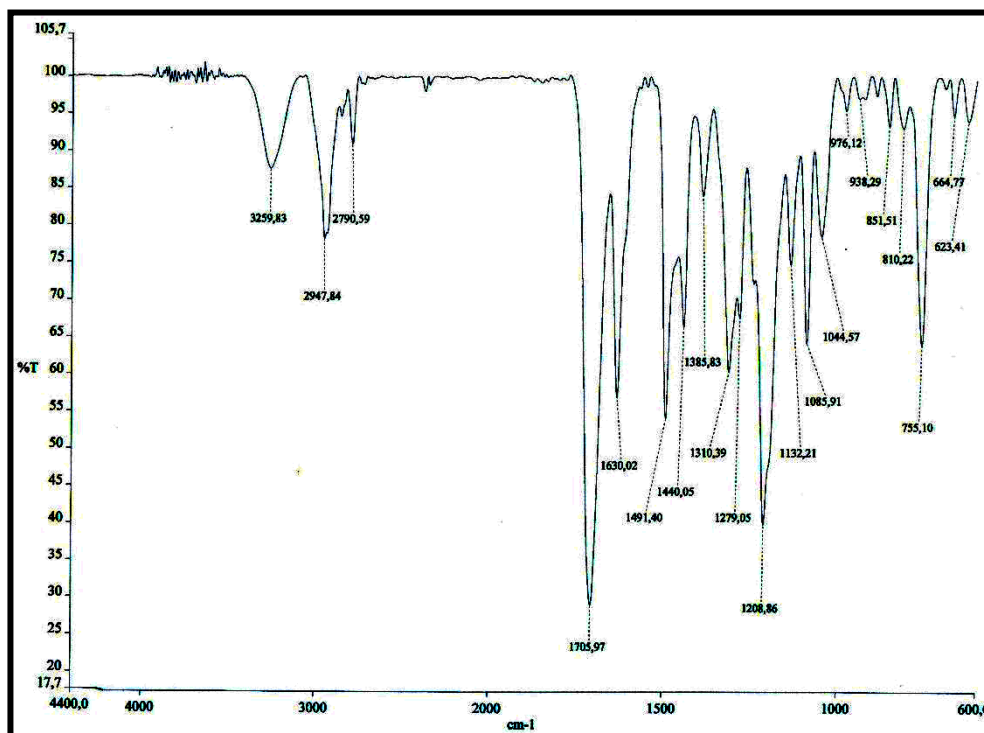


Figura 24 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-3 (NaCl)

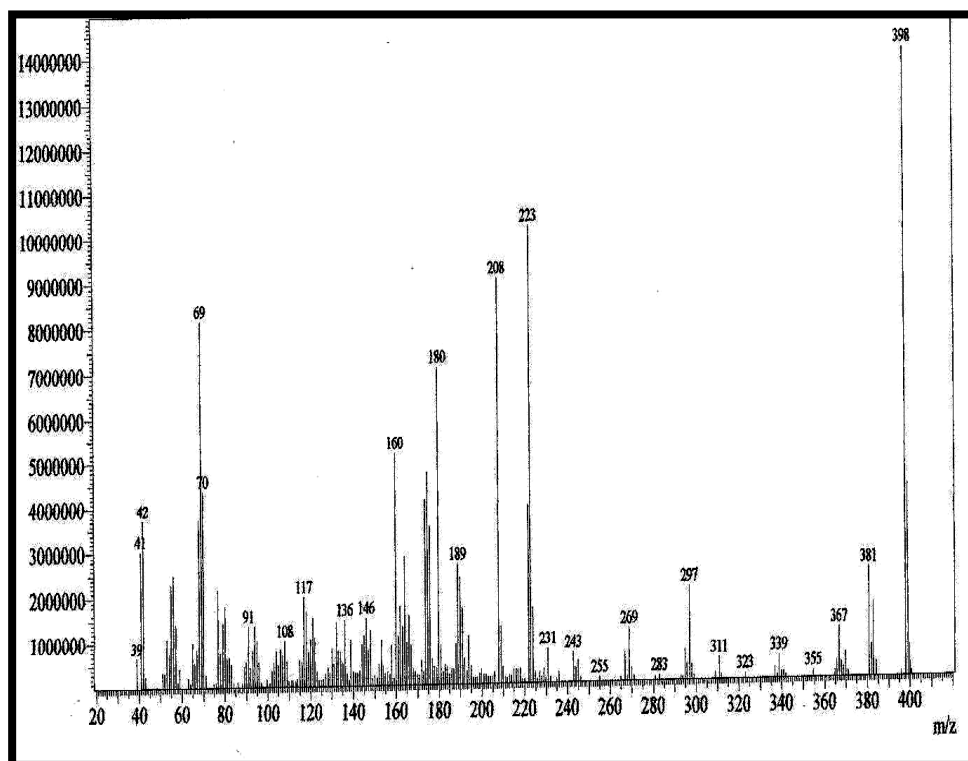


Figura 25 – Espectro de massas de HP-3 (70 eV, IE)

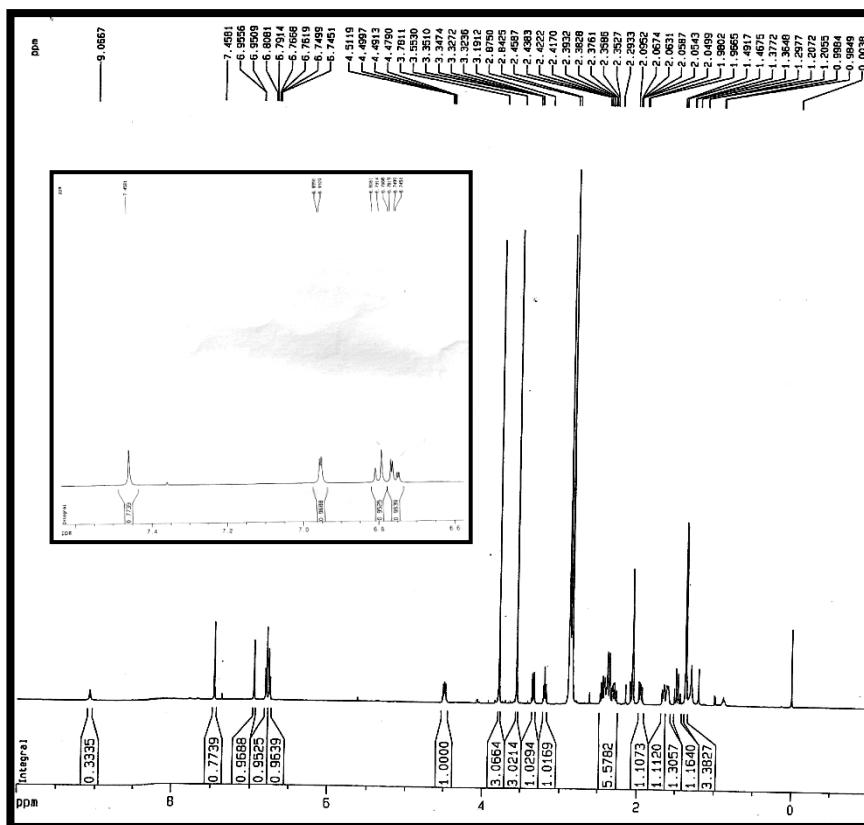


Figura 26 – Espectro de RMN ¹H [500 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-3

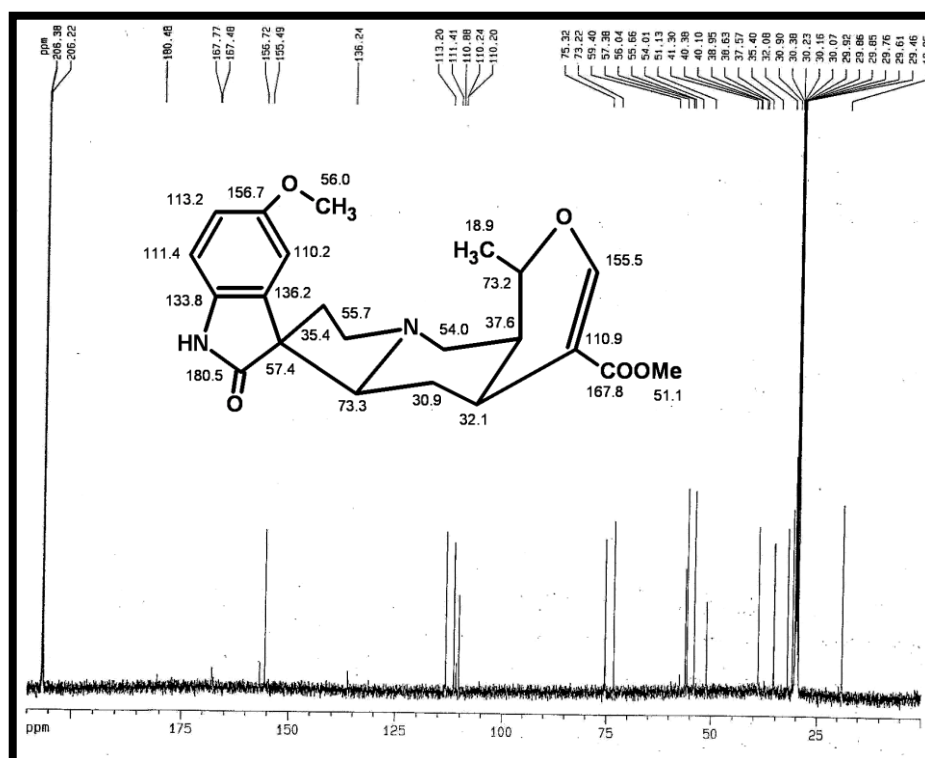


Figura 27 – Espectro de RMN ¹³C – BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-3

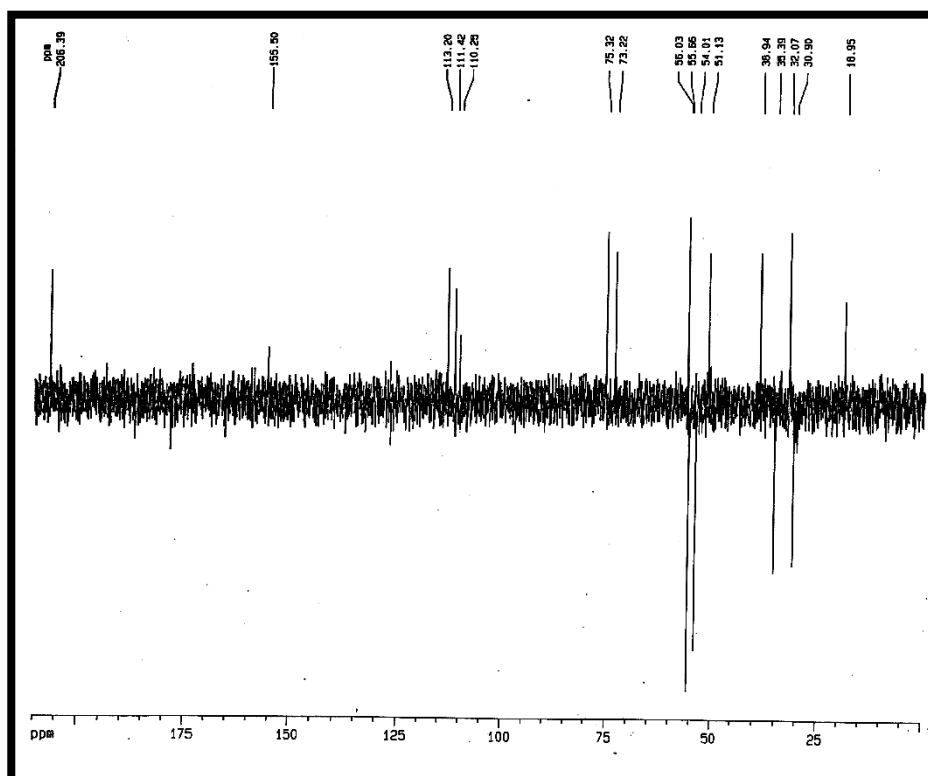


Figura 28 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3

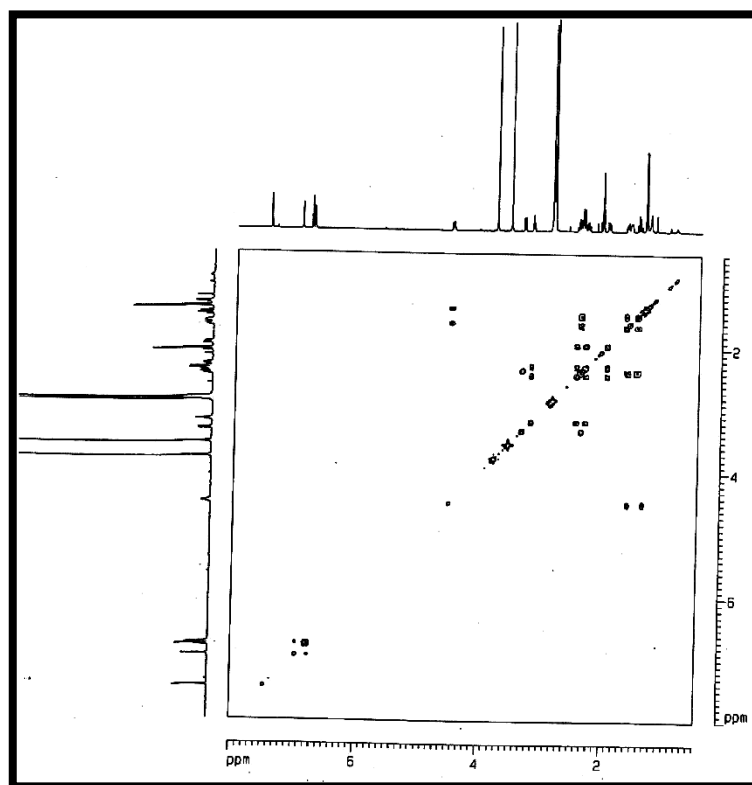


Figura 29 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3

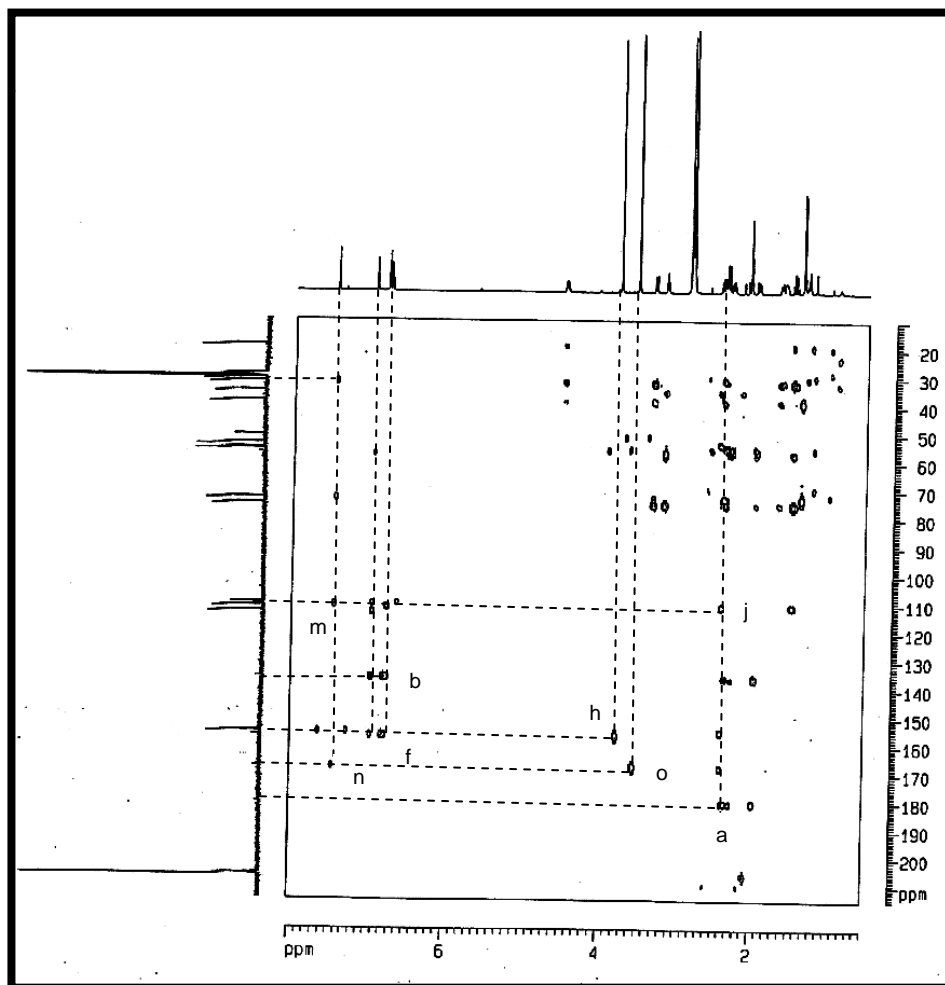
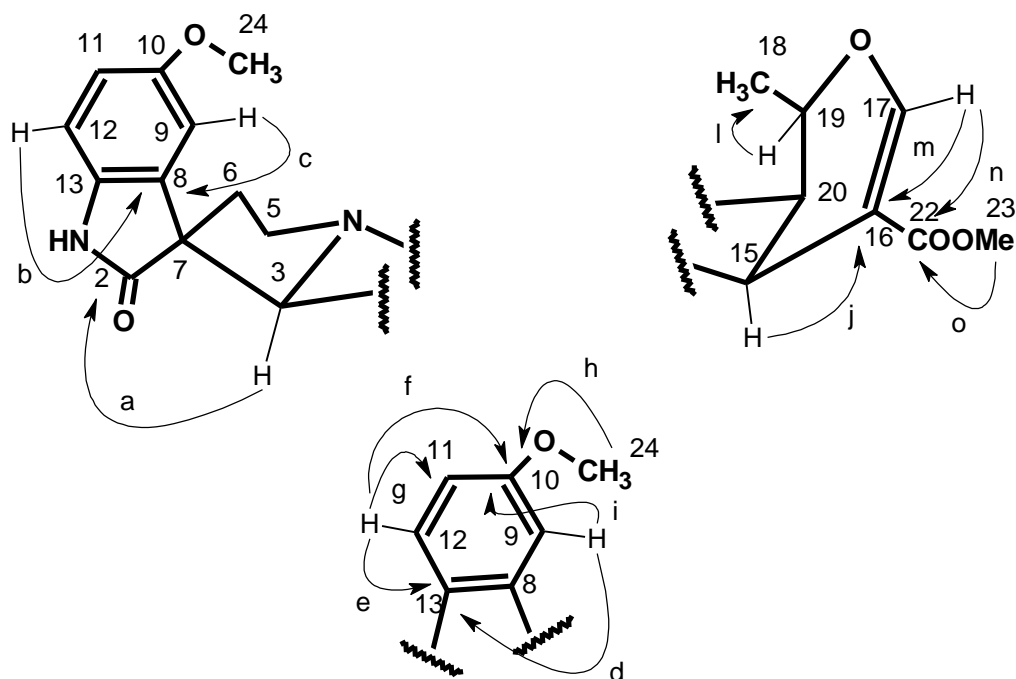


Figura 30 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3



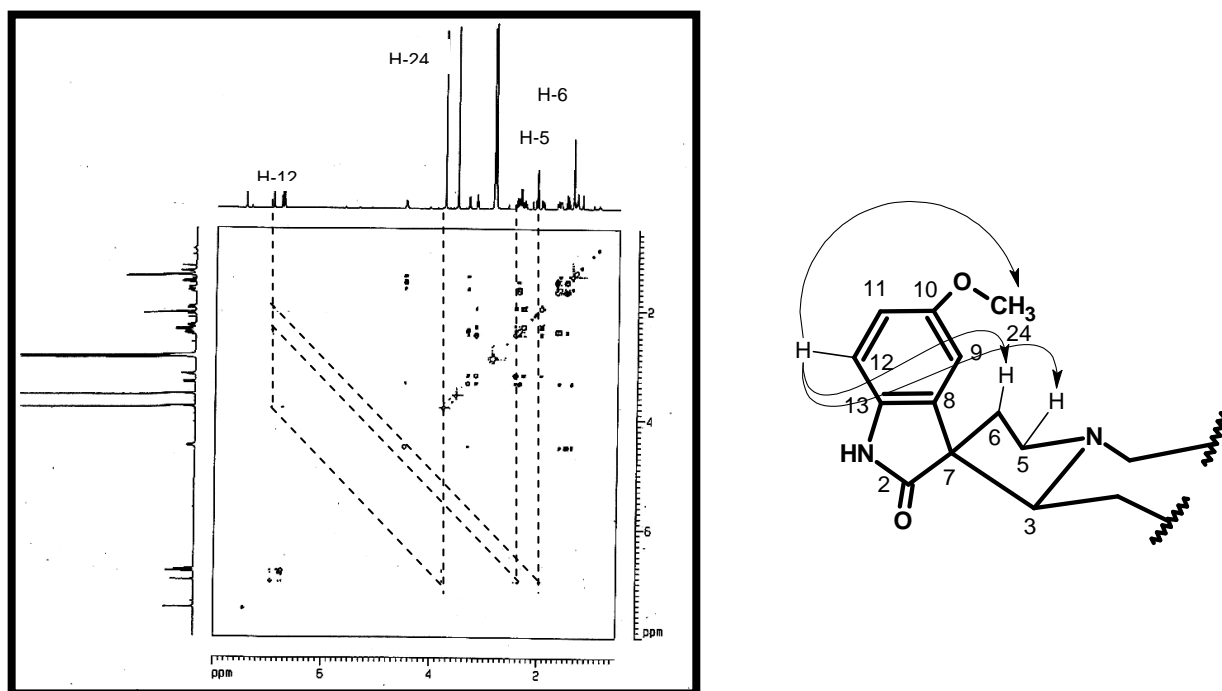


Figura 31 – Expansão do Espectro de ^1H , ^1H – NOESY [500 x 500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3

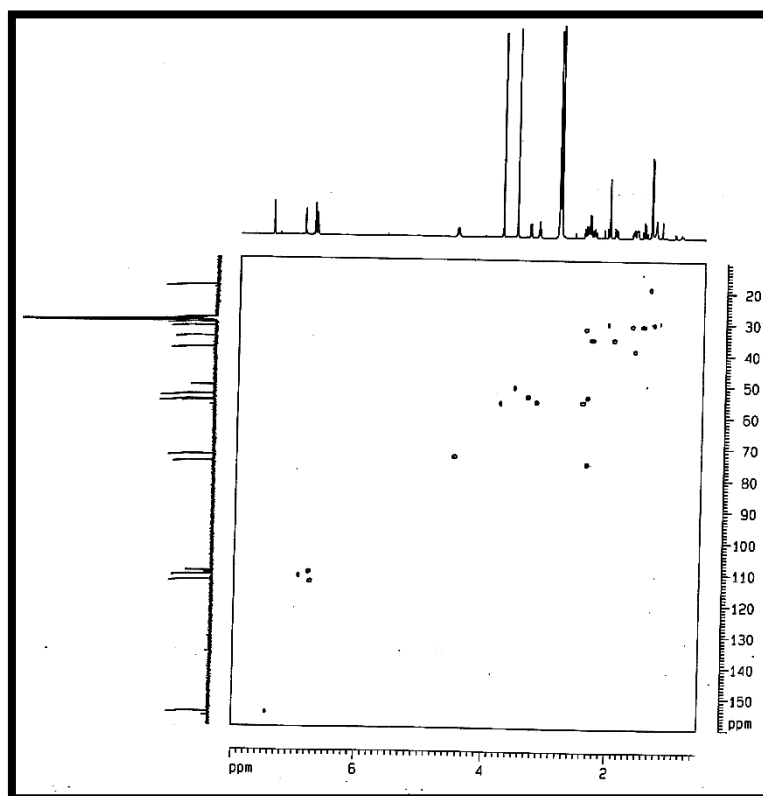


Figura 32 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3

4.1.4 Determinação Estrutural de HP-4

Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano, obtida a partir da partição do extrato etanólico das folhas de *H. patens*, resultaram no isolamento de um sólido amorfo amarelo denominado de HP-4 (p.f. 111,7-113,0 °C).

A análise do espectro no infravermelho (Fig. 34, p. 76) revelou banda característica de deformação axial de ligação N-H em 3289 cm⁻¹, e de ligações de C-N de aminas terciárias em 1088 cm⁻¹. Observou-se também uma banda relativa a deformação axial de ligação C-O em 1216 cm⁻¹, além de vibrações de deformações axiais de ligação C=O de éster α,β -insaturado e de γ -lactamas em 1706 cm⁻¹. Em adição, foi observada absorção característica de deformação axial de ligações C=C conjugada em 1630 cm⁻¹; duas bandas largas em 825 cm⁻¹ e 770 cm⁻¹ relativa a deformação angular fora do plano de C-H do anel aromático, além de deformações axiais de C-H alifáticos em 2926 e 2854 cm⁻¹.

O espectro de RMN ¹³C-BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-4 (Fig. 36, p. 77) apresentou 22 linhas espectrais. A análise detalhada deste espectro revelou dois sinais em δ 175,0 (C-2) e 167,0 (C-22) característicos de carbonilas de amida e de éster, respectivamente. Foram observados ainda sete sinais referentes a carbonos sp² [δ 110,1 (C-16), 136,0 (C-8), 100,0 (C-9), 154,8 (C-17), 153,9 (C-10), 110,3 (C-11), 111,4 (C-12) e 133,0 (C-13)], dos quais os carbonos em δ 154,8 (C-17) e 153,9 (C-10) encontram-se oxigenados. Semelhante a HP-3, foi observado a presença de um carbono de grupo metoxila em δ 56,04 (C-24). Comparando-se os espectros RMN ¹³C-BB e DEPT 135° [125 MHz, (CD₃)₂CO] (Fig. 37, p. 78), observaram-se oito linhas espectrais referentes a carbonos metínicos; quatro carbonos metilênicos, três carbonos metílicos e sete carbonos não-hidrogenados.

A partir destas informações foi possível elucidar a fórmula molecular de HP-4 como sendo $C_{22}H_{26}N_2O_5$ (Tab. 15), em concordância com o pico do íon quasi-molecular $[M + H]^+$ em m/z 399,1749 no espectro de massas de alta resolução (Fig. 33, p. 76).

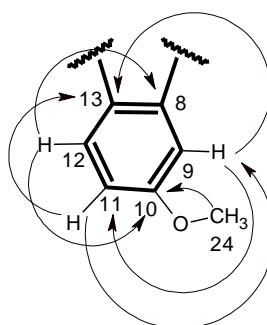
Tabela 15 – Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de HP-4 com padrão de hidrogenação [RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, 125 MHz (CD_3) $_2CO$,].

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
153,9	154,8	56,1	55,1	
133,0	111,4	53,4	50,0	
136,1	110,3	34,1	17,7	
110,1	100,0	24,8		
56,1	72,3			
	60,2			
	38,5			
	31,4			
C₅ C₂O₅	C₈H₈ N₂H	C₄H₈	C₃H₉	C₂₀H₂₅ C₂₂H₂₆N₂O₅

O estudo do espectro de RMN 1H [500 MHz, (CD_3) $_2CO$] de HP-4 (Fig. 35, p. 77) revelou quatro sinais de hidrogênios em δ 7,50 (s, 1H, H-17), 6,89 (d, 1H, $J=2,0$ Hz, H- 9), 6,68 (dd, 1H, $J=9,0$; 2,5 Hz, H-11), 7,18 (d, 1H, $J=8,5$ Hz, H-12), referentes a hidrogênios ligados a carbonos sp^2 ; além de dois sinais simples e intensos em 3,77 (s, 3H, H-23) e 3,68 (s, 3H, H-24), e um outro duplo em δ 1,37 (d, $J=6,5$ Hz, 3H, H-18), relacionados a hidrogênios de grupamentos metoxilas e metila, respectivamente. De maneira análoga aos espectros de HP-1, HP-2 e HP-3, o espectro de HP-4 mostrou ainda conjuntos de multipletos no intervalo de δ 3,18-1,43, que foram relacionados a hidrogênio ligados a carbonos metilênicos.

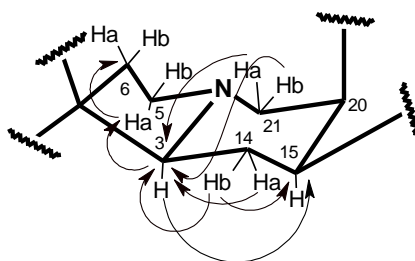
O Espectro de Correlação Heteronuclear – HSQC de HP-4 (Fig. 40, p. 79) permitiu a associação de cada carbono ao seu respectivo hidrogênio de forma inequívoca.

No espectro bidimensional ^1H , ^{13}C -HMBC de HP-4 (Fig. 38, p. 78), foram observados os acoplamentos do hidrogênios em δ 6,68 (H-11) com o carbono em δ 100,0 (C-9); dos hidrogênios δ 6,68 (H-11) e 6,89 (H-9) com o carbono em δ 133,0 (C-13); do hidrogênio δ 7,18 (H-12) com os carbonos em δ 133,0 (C-13) e 153,9 (C-10). Observou-se ainda o acoplamento do hidrogênio δ 3,68 (C-24) com o carbono δ 153,9 (C-10), que foi importante para definir a posição da metoxila, como mostra a subestrutura 1.



Subestrutura 1

Verificaram-se ainda acoplamentos dos hidrogênios em δ 3,77 (H-23) e 7,50 (H-17) com o carbono δ 167,0 (C-22); os acoplamentos dos hidrogênios δ 3,01 (H-21a), 2,84 (H-21b), 1,43 (H-14b) e 3,18 (H-5a) com o carbono em δ 60,2 (C-3) e do hidrogênio δ 3,29 (H-3) com o carbono em δ 31,4 (C-15), conforme subestrutura 2.



Subestrutura 2

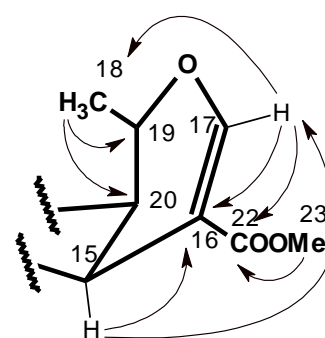
Tal como nos outros compostos isolados, o núcleo diidrofurano foi revelado através do acoplamento do hidrogênios em δ 2,72 (H-15) e 7,50 (H-17) com o carbono em δ 110,1 (C-16); do hidrogênio δ 7,50 (H-17) com os carbonos em

δ 17,7 (C-18) e 167,0 (C-22) e dos hidrogênios em δ 1,37 com os carbonos em δ 72,3 (C-19) e 38,5 (C-20), como mostrado na subestrutura 3.

Tabela 16 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de

RMN ^{13}C [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-3 e HP-4.

C	HP-3	HP-4
	δ_{C}	δ_{C}
2	180,5	175,0
3	73,3	60,2
5	55,7	56,1
6	35,4	34,1
7	57,4	56,1
8	136,2	136,0
9	110,2	100,0
10	156,7	153,9
11	113,2	110,3
12	111,4	111,4
13	133,8	133,0
14	30,9	24,8
15	32,1	31,4
16	110,9	110,1
17	155,5	154,8
18	18,9	17,7
19	73,2	72,3
20	37,6	38,5
21	54,1	53,4
22	167,8	167,0
23	51,1	51,1
24	56,0	55,1

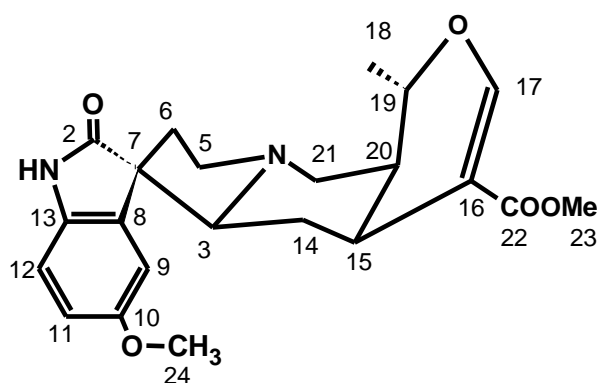


Subestrutura 3

A comparação dos dados de deslocamentos químicos de ^{13}C de HP-3 e HP-4, (Tab. 16) mostrou como principais diferenças as mudanças nos deslocamento dos carbonos C-3 e C-9, que se encontram mais desprotegidos em HP-3 [δ 73,3 (C-3) e δ 110,2 (C-9)] quando comparados com os deslocamentos de HP-4 [δ 60,2 (C-3) e 100,0 (C-9)]. De posse da análise acima descrita, foi possível elucidar a estrutura de HP-4 como sendo o epímero de HP-3. Este composto está sendo relatado pela primeira vez na literatura e foi denominado de Isopalmirina.

Tabela 17 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC nJ ($n=2$ e $n=3$) de HP-4.

C	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	175,0	-	-	-
3	60,2	3,29 (m)	H-14b	H-21a, H-5b, H-21b
5	53,4	3,01 (m) 2,51 (m)	-	-
6	34,1	2,91 (m) 2,26 (m)	H-5a	-
7	56,1	-	-	-
8	136,0	-	-	H-12
9	100,0	6,89 (d, $J=2,0$ Hz)	-	H-11
10	153,9	-	-	H-24, H-10
11	110,3	6,68 (dd, $J=9,0$; 2,5 Hz)	-	H-9
12	111,4	7,18 (d, $J=8,5$ Hz)	-	-
13	133,0	-	-	H-11, H-9
14	34,1	2,26 (m) 1,43 (m)	H-15	-
15	31,4	2,72 (m)	H-14b	H-17, H-3 e H-21a
16	110,1	-	H-17 e H-15	H-14b
17	154,8	7,50 (s)	-	H-15
18	17,7	1,37 (d, $J=6,5$ Hz)	-	H-20
19	72,3	4,50 (m)	H-18	H-17, H-15
20	38,5	1,72 (m)	H-21a	H-18
21	56,1	3,18 (d, $J=12,5$ Hz) 2,84 (m)	-	-
22	167,0	-	H-23	H-17
23	51,13	3,77 (s)	-	-
24	55,1	3,68 (s)	-	-



Isopalmirina

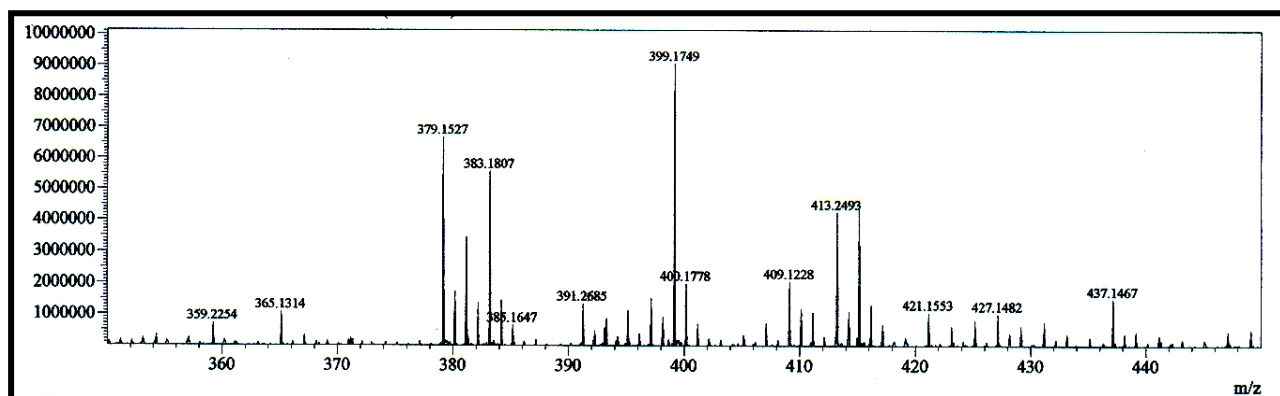


Figura 33 – Espectro de massas de alta resolução HP-4

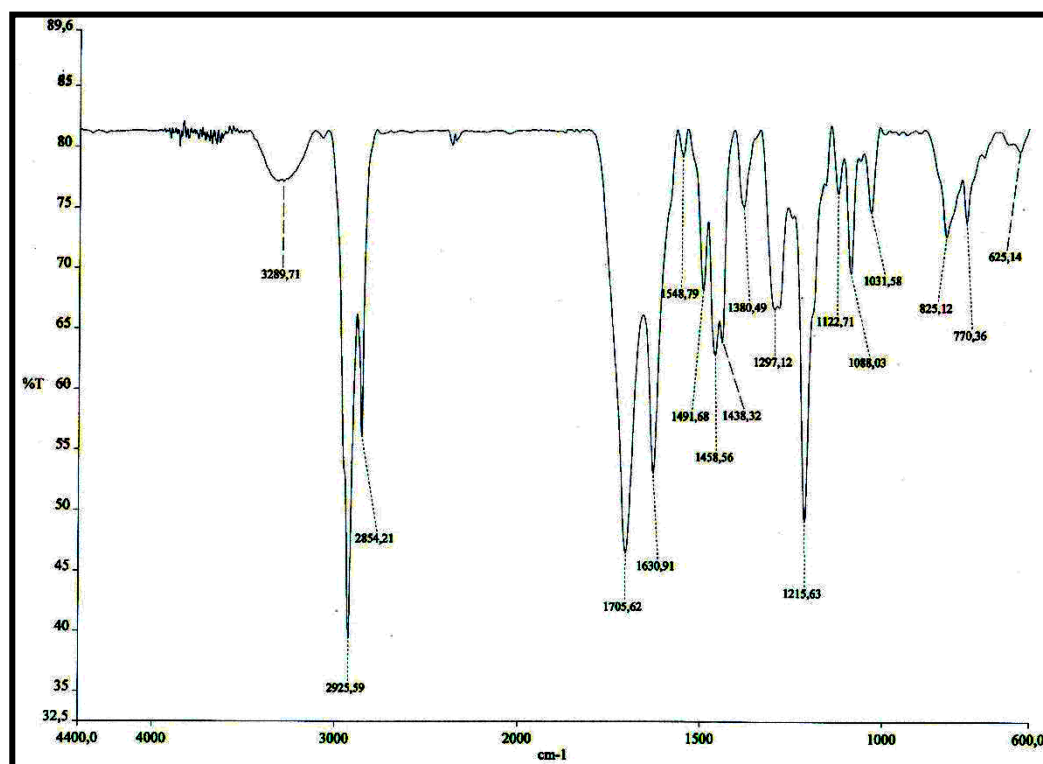


Figura 34 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-4 (NaCl)

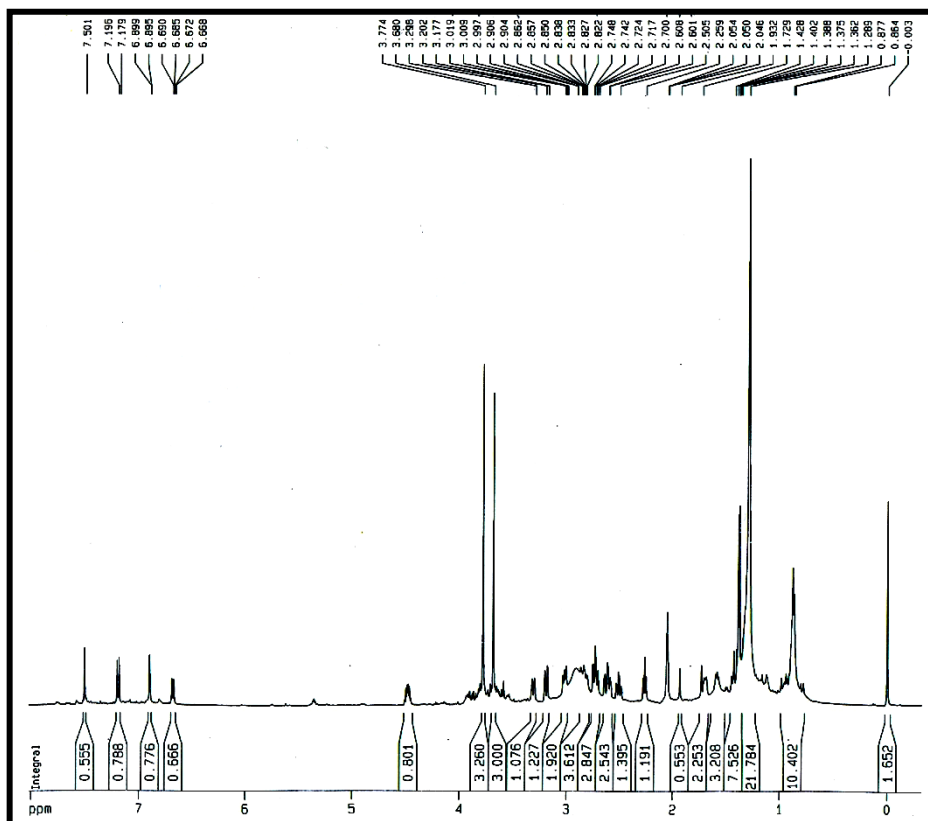


Figura 35 – Espectro de RMN ¹H [500 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-4

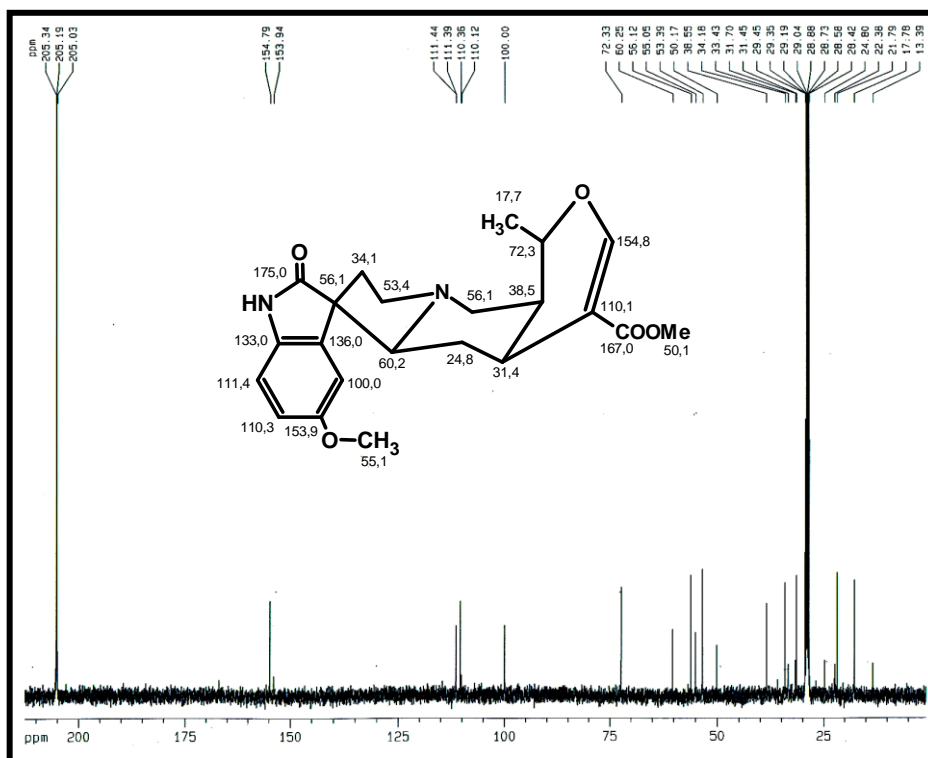


Figura 36 – Espectro de RMN ¹³C – BB [125 MHz, (CD₃)₂CO] de HP-4

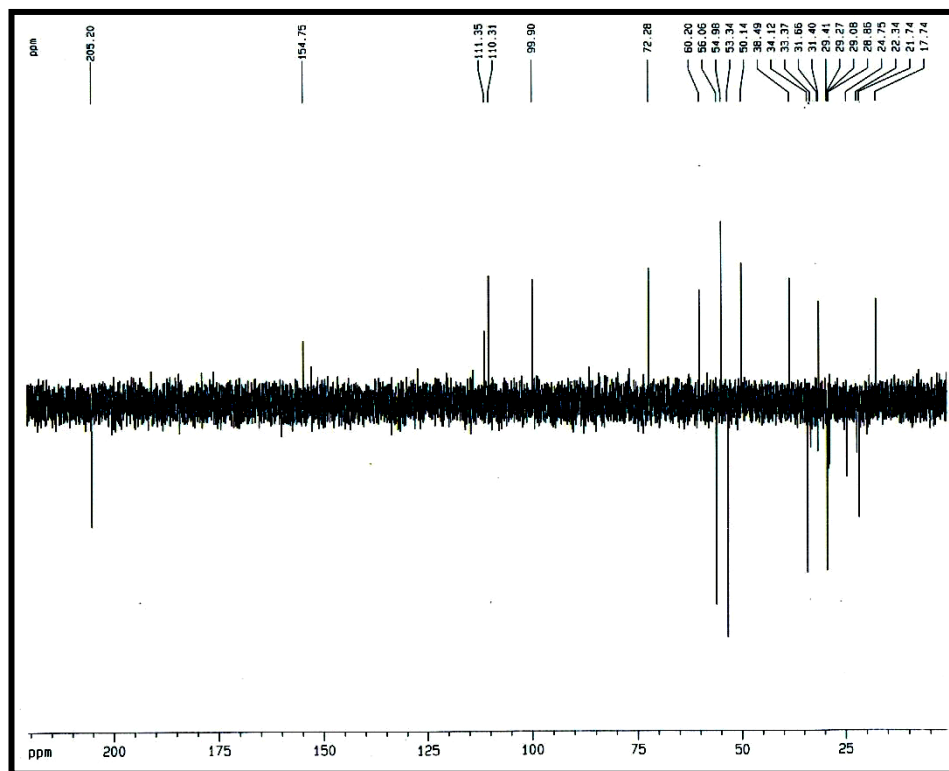


Figura 37 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4

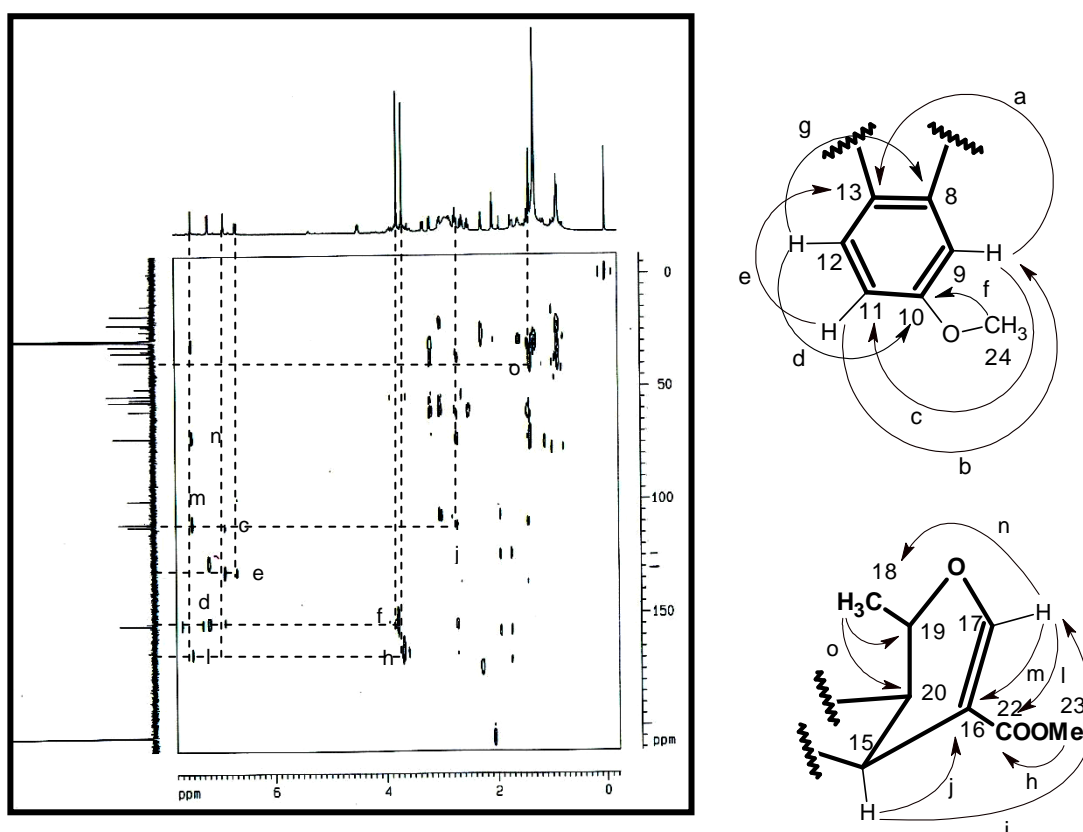


Figura 38 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4

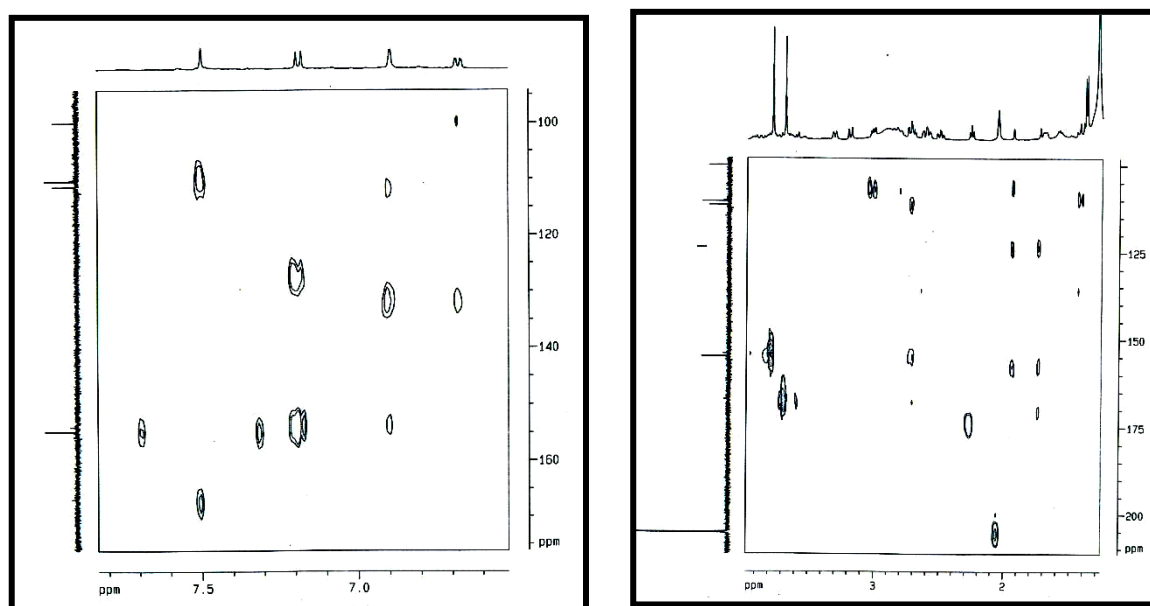


Figura 39 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4

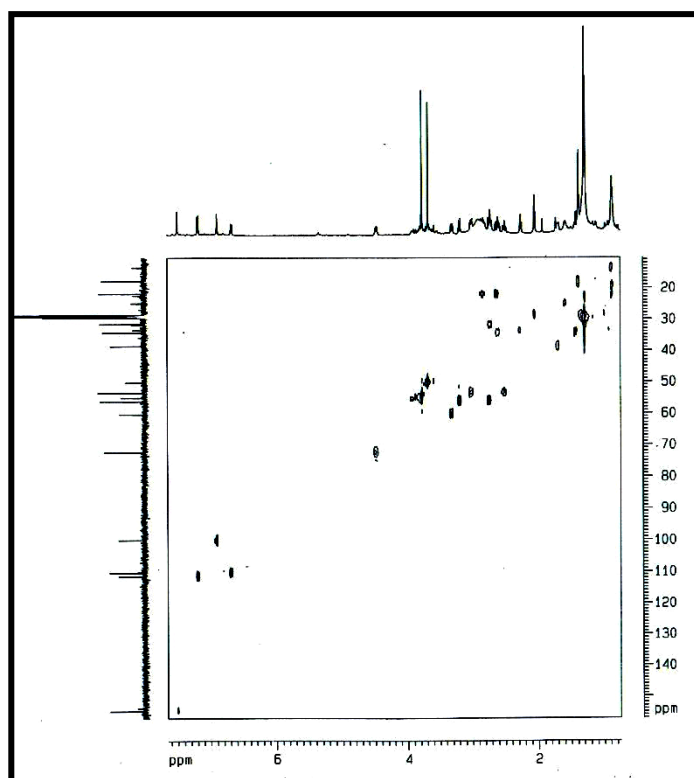


Figura 40 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HP-4

4.1.5 Determinação Estrutural de HP-10

A fração n-butanólica do extrato etanólico das folhas, após tratamento cromatográfico incluindo CLAE, forneceu 8,3 mg de um sólido marrom amorfo, denominado de HP-10.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de HP-10 (Fig. 42, p. 87) mostrou uma banda larga em 3417 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de ligações O-H, caracterizando a presença de hidroxila. A banda de absorção em 1647 cm^{-1} foi associada à deformação axial da ligação C=O de uma carbonila, e as bandas em 1634 , 1614 cm^{-1} foram correspondentes a deformações axiais da ligação C=C de alqueno. As bandas em 1466 , 1452 , 1416 e 1385 cm^{-1} corresponderam a vibrações de deformação axial das ligações C=C de anéis aromáticos e as bandas de absorção entre 1257 e 1049 cm^{-1} a deformações axiais de ligações C-O.

A análise do espectro de RMN ^1H [CD_3OD , 500 MHz] de HP-10 (Fig. 43, p. 88) revelou a presença de quatro sinais na região de hidrogênios aromáticos em δ 8,09 (d, $J=8,5\text{ Hz}$, 2H, H-2'/H-6'), 6,89 (d, $J=8,5\text{ Hz}$, 2H, H-3'/H-5'), 6,42 (s, 1H, H-8) e 6,22 (s, 1H, H-6); nove sinais na região de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em δ 3,80 (m, 1H, H-2''), 3,78 (m, 1H, H-4''), 3,72 (dd, $J=10,5$; 6,0 Hz, 1H, H-6''b), 3,60 (m, 2H, H-5''/H-3''), 3,53 (m, 1H, H-3''), 5,52 (m, 1H, H-5'''), 3,50 (m, 1H, H-2'''), 3,39 (dd, $J=10,5$; 7,5 Hz, 1H, H-6''a), 3,30 (m, 1H, H-4''') e dois sinais relativos a hidrogênios ligados a carbonos dioxigenados em δ 5,04 (d, $J=7,5\text{ Hz}$, 1H, H-1''), 4,61 (s, 1H, H-1''').

A análise do espectro de RMN ^{13}C -BB (CD_3OD , 125 MHz) de HP-10 (Fig. 44, p. 88) mostrou a presença de vinte e cinco linhas espectrais. Avaliando-se os valores dos deslocamentos químicos pôde-se atribuir que o sinal em δ 179,8 (C-4)

trata-se de um carbono carbonílico conjugado. Os doze sinais compreendidos na faixa entre δ 95,1-166,3 foram associados a carbonos sp^2 , enquanto que os carbonos em δ 105,7 e 102,1 foram relacionados a dois carbonos anoméricos, e os nove sinais na faixa entre δ 75,5 - 67,6 foram atribuídos a carbonos sp^3 oxigenados.

A associação do espectro de RMN ^{13}C -BB (Fig. 44, p. 88) com o espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (Fig. 45, p. 89) revelou que dos 27 carbonos presentes, 1 era metílico, 16 metínicos, 1 metilênico e 9 não-hidrogenados (Tabela 18).

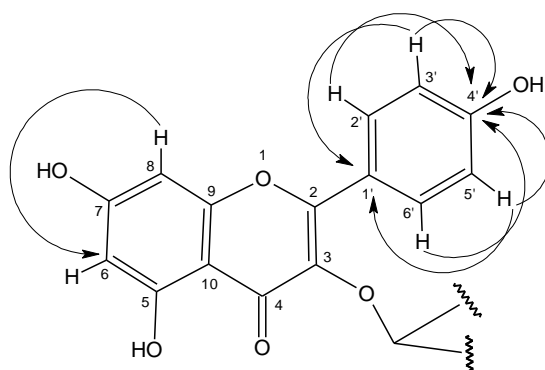
Tabela 18 – Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de HP-10 com padrão de hidrogenação [RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, 125 MHz, CD_3OD].

C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
179,5	132,6	67,6	18,1	
166,3	132,6			
163,1	116,3			
161,8	116,3			
159,5	105,7			
158,7	102,1			
135,8	100,2			
122,8	95,1			
105,8	75,5			
	75,2			
	74,0			
	73,1			
	72,4			
	72,2			
	70,3			
	69,8			
C₈ C=O	C₁₆H₁₆ 9 (-OH)	CH₂ 5 (-O-)	CH₃	C₂₆H₂₁ C₂₇H₃₀O₁₅

A reunião dos dados espectroscópicos de HP-10 permitiu sugerir então a fórmula molecular $C_{27}H_{30}O_{15}$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a vinte e seis, em acordo com o pico do íon molecular em m/z 594 no espectro de massas (Fig. 41, p. 87).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear - HSQC (Fig. 49 e 50, p. 92) permitiu a associação inequívoca dos sinais dos hidrogênios aos seus respectivos carbonos (Tabela 19, p. 85).

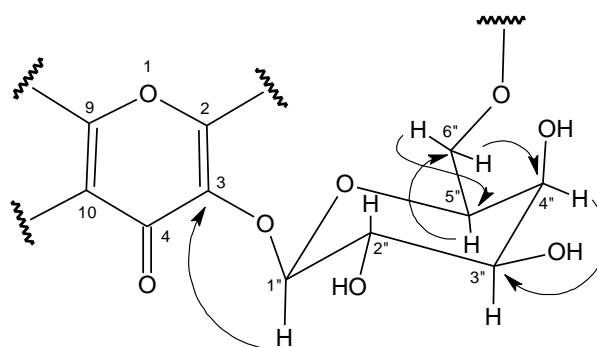
O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear – HMBC à longa distância (Fig. 46, p. 89; Fig. 47, p. 90; Fig. 48, p. 91), mostrou os acoplamentos a mais de uma ligação entre hidrogênios e carbonos ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$). A análise dos acoplamentos referentes aos hidrogênios da aglicona flavonoídica, apresentou correlação do sinal do hidrogênio em δ 6,42 (H-8) com o carbono em δ 100,2 (C-6); dos hidrogênios em δ 8,09 (H-2'/H-6'), 6,89 (H-3'/H-5') com o carbono em δ 161,8 (C-4') e dos hidrogênios em δ 6,89 (H-3'/H-5') com o carbono em δ 122,8 (C-1') de acordo com a subestrutura 1.



Subestrutura 1

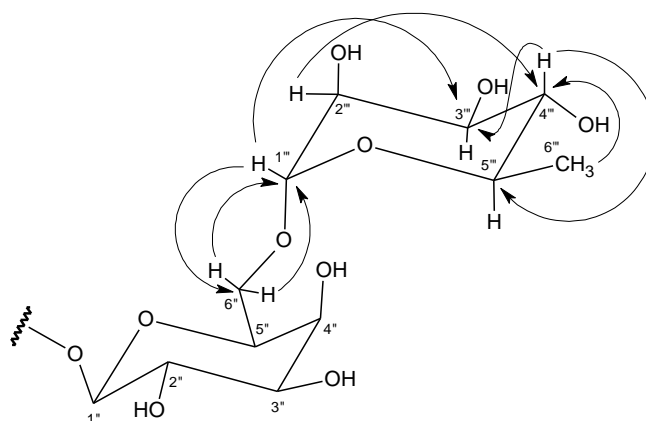
Neste espectro observou-se também o importante acoplamento do hidrogênio anomérico em δ 5,04 (H-1'') da unidade galactose com o carbono em δ 135,8 (C-3) da estrutura flavonoídica, permitindo estabelecer inequivocamente que a hexose encontra-se ligada no carbono 3 da estrutura flavanoidica. Observaram-se ainda o acoplamento do hidrogênio em δ 3,78 (H-4'') com o carbono em δ 75,2 (C-3''); dos hidrogênios em δ 3,72 (H-6'') e 3,53 (H-6'') com os carbonos em δ 75,5

(C-5'') e 70,3 (C-4''); do hidrogênio δ 3,60 (H-5'') com o carbono δ 67,6 (C-6'') de acordo com a subestrutura 2.



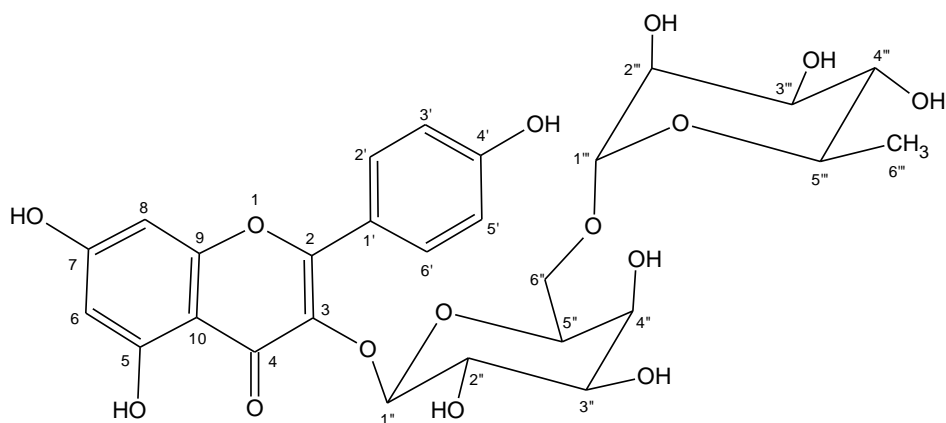
Subestrutura 2

O acoplamento do hidrogênio anomérico em δ 4,61 (H-1'') da unidade ramnose com o carbono em δ 67,6 (C-6'') permitiu definir a ligação da segunda unidade de açúcar através do carbono C-6''. Observaram-se ainda acoplamentos dos hidrogênios em δ 4,61 (H-1'') e 3,30 (H-4'') com o carbono em 72,4 (C-3''); dos hidrogênios em δ 3,72 (H-6'') e 3,53 (H-6'') com o carbono em δ 102,1 (C-1''); dos hidrogênios em δ 3,50 (H-2''), 3,60 (H-3'') e 0,93 (H-6'') com o carbono em δ 74,0 (C-4'') e dos hidrogênios em δ 3,30 (H-4'') e δ 0,93 (H-6'') com o carbono em δ 69,8 (C-5'') de acordo com a subestrutura 3.



Subestrutura 3

Desse modo a reunião dos dados espectroscópicos e a posterior comparação destes com dados registrados na literatura [AGRAWAL, 1989], Tab. 20, p. 86, confirmaram que HP-10 trata-se do composto canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo. Este composto está sendo relatado pela primeira vez para o gênero *Hamelia*.



Canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo

Tabela 19 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C -HSQC e ^{13}C -HMBC nJ (n=2 e n=3) de HP-10

C	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	158,7	-	-	-
3	135,8	-	-	H-1''
4	179,8	-	-	-
5	163,1	-	-	-
7	166,3	-	-	-
9	159,5	-	-	-
10	105,8	-	-	-
1'	122,8	-	-	H-3'/H-5'
4'	161,8	-	H-3'/H-5'	H-2'/H-6'
6	100,2	6,22 (d, $J=1,5$ Hz)	-	H-8
8	95,1	6,42 (d, $J=1,5$ Hz)	-	-
2'/6'	132,6	8,09 (d, $J=8,5$ Hz)	-	-
3'/5'	116,3	6,89 (d, $J=8,5$ Hz)	-	-
1''	105,7	5,04 (m, 1H)	-	-
2''	73,1	3,80 (m, 1H)	-	-
3''	75,2	3,53 (m, 1H)	H-4''	-
4''	70,3	3,78 (m, 1H)	-	2H-6''
5''	75,5	3,60 (m, 1H)	H-6''b	-
6''	67,6	3,72 (dd, $J=10,5; 6,0$ Hz) 3,39 (dd, $J=10,5, 7,5$ Hz)	H-5''	H-1''
1'''	102,1	4,61 (s)	-	2H-6'''
2'''	72,2	3,50 (m, 1H)	H-1'''	-
3'''	72,4	3,60 (m, 1H)	H-4'''	H-1'''
4'''	74,0	3,30 (m, 1H)	H-3'''	H-2'''/3H-6'''
5'''	69,8	3,52 (m, 1H)	H-4'''/3H-6'''	-
6'''	18,1	0,93 (d, $J=6,5$ Hz)	-	-

Tabela 20 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN¹³C de HP-10 [125 MHz, CD₃OD] com o canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo [125 MHz, DMSO-d₆].

C	HP-10	Canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo [AGRAWAL, 1989]	
	δ_c	δ_c	$\Delta\delta$
2	158,7	156,5	2,2
3	135,8	133,3	2,5
4	179,8	177,5	2,3
5	163,1	161,2	1,9
7	166,3	164,0	2,3
9	159,5	156,5	3,0
10	105,8	103,8	2,0
1'	122,8	120,9	1,9
4'	161,8	160,0	1,8
6	100,9	98,8	1,4
8	95,1	93,8	1,3
2'/6'	132,6	131,0	1,6
3'/5'	116,3	115,1	1,2
1''	105,7	102,2	3,5
2''	73,1	71,5	1,6
3''	75,2	73,4	1,8
4''	70,3	68,4	1,9
5''	75,5	73,9	1,4
6''	67,6	65,9	1,7
1'''	102,1	100,0	2,1
2'''	72,2	71,0	1,2
3'''	72,4	70,3	2,1
4'''	74,0	72,6	1,4
5'''	69,8	68,8	1,0
6'''	18,1	17,6	0,5

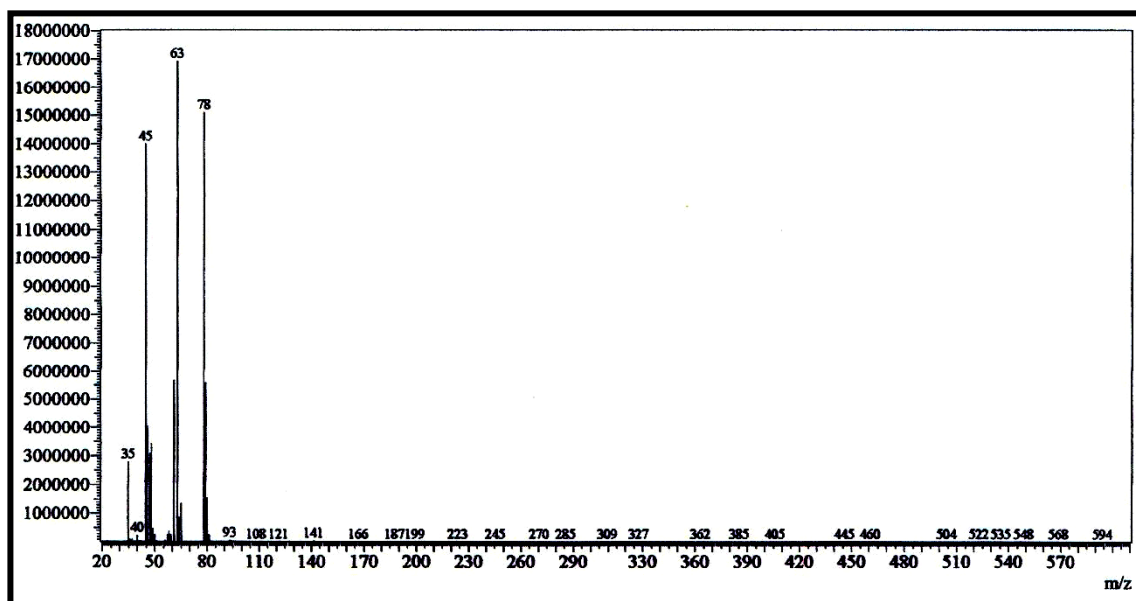


Figura 41 – Espectro de massas de HP-10 (70 eV, IE)

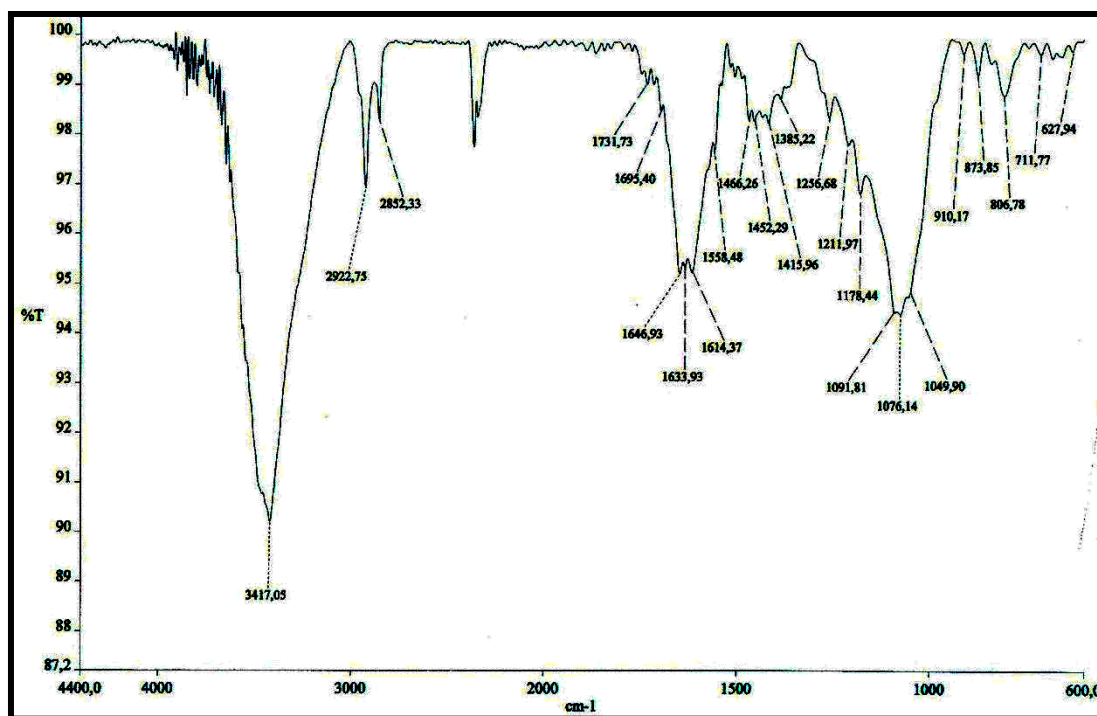


Figura 42 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-10 (KBr)

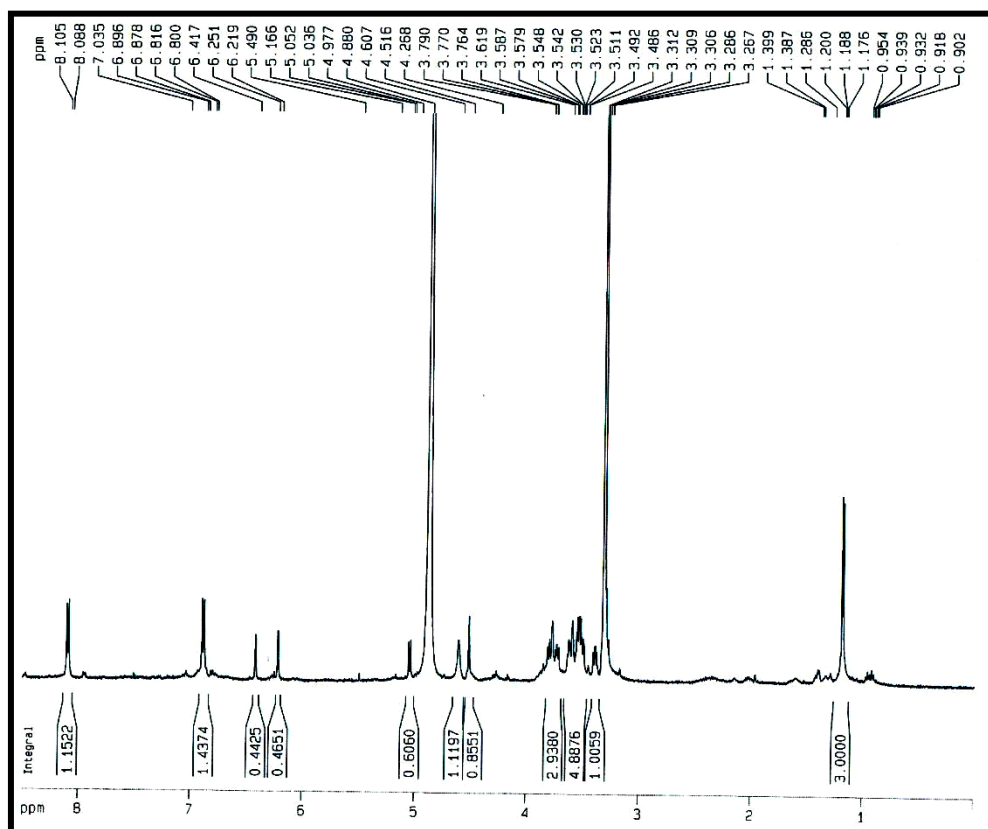


Figura 43 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CD_3OD] de HP-10

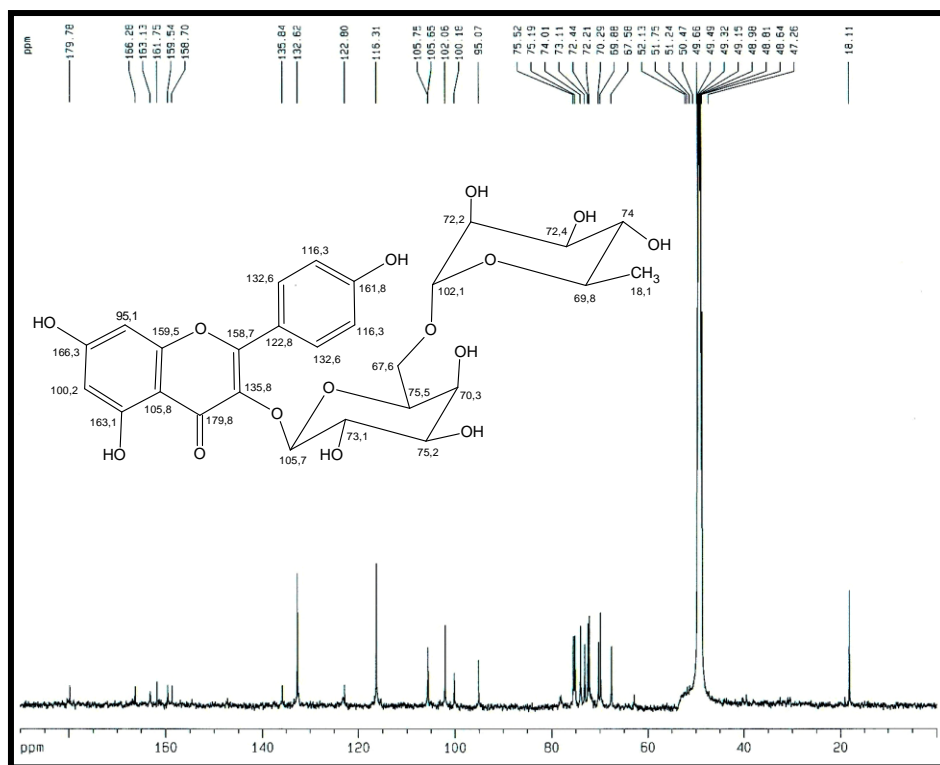


Figura 44 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, CD_3OD] de HP-10

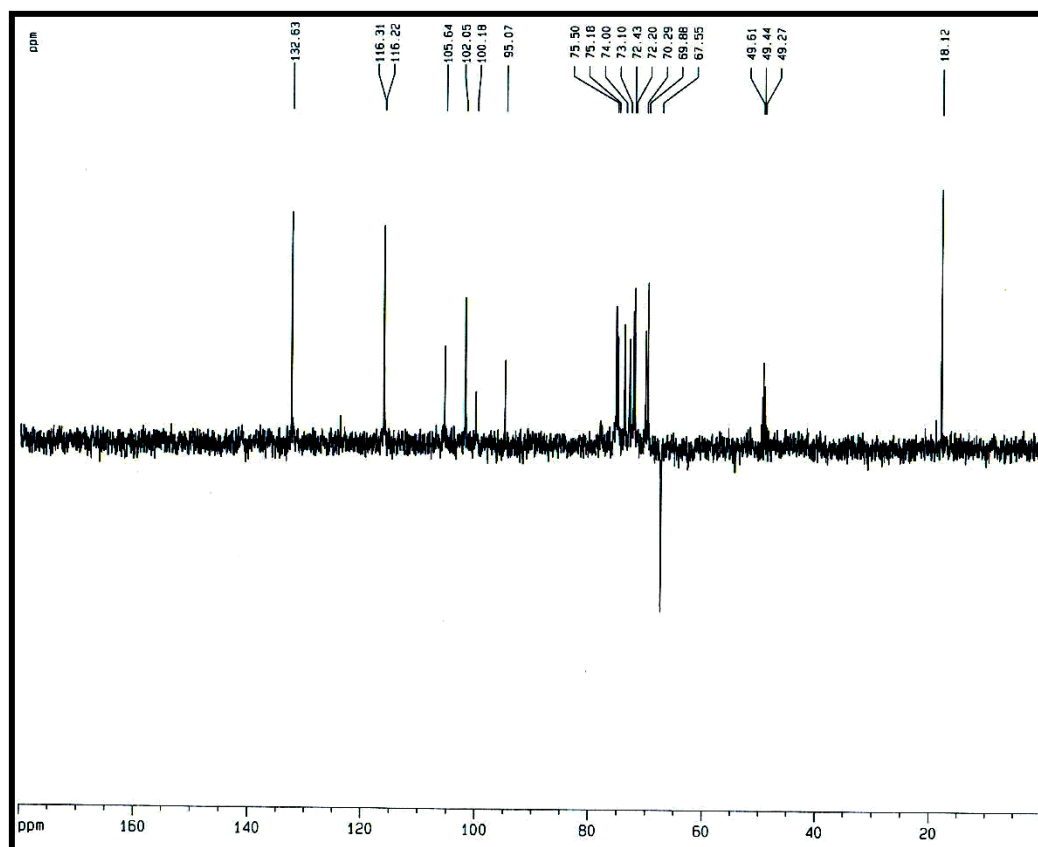


Figura 45 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, CD_3OD] de HP-10

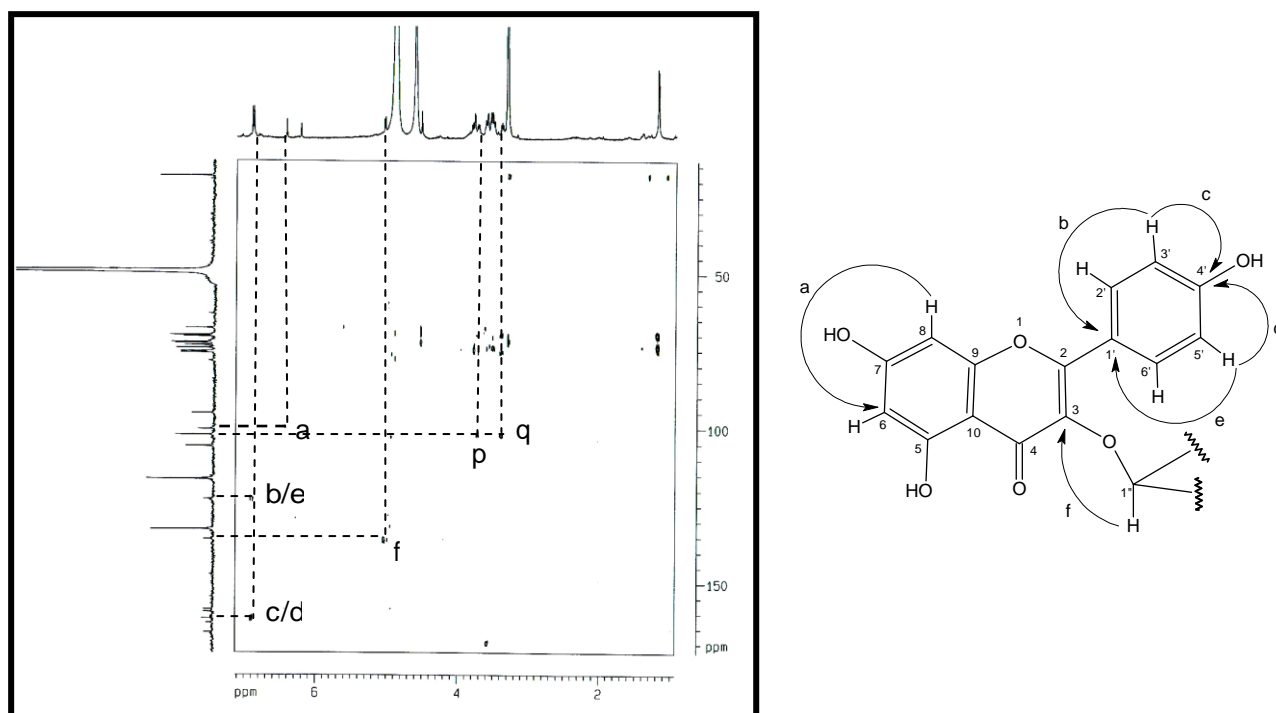


Figura 46 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10

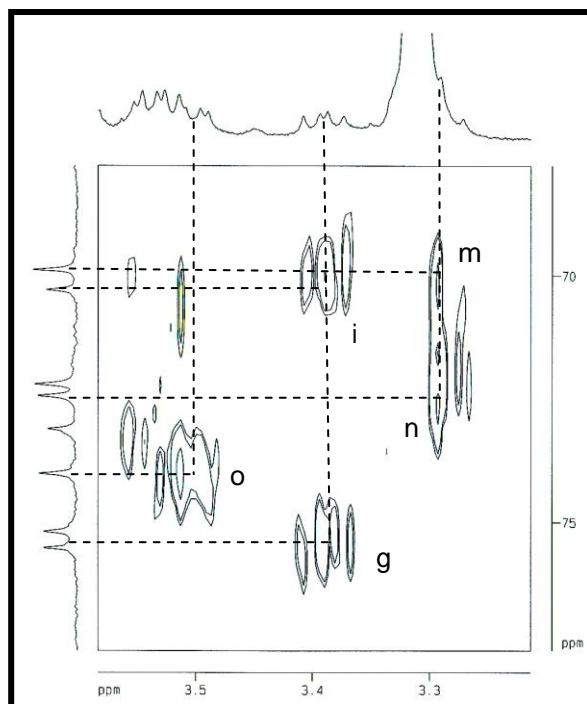
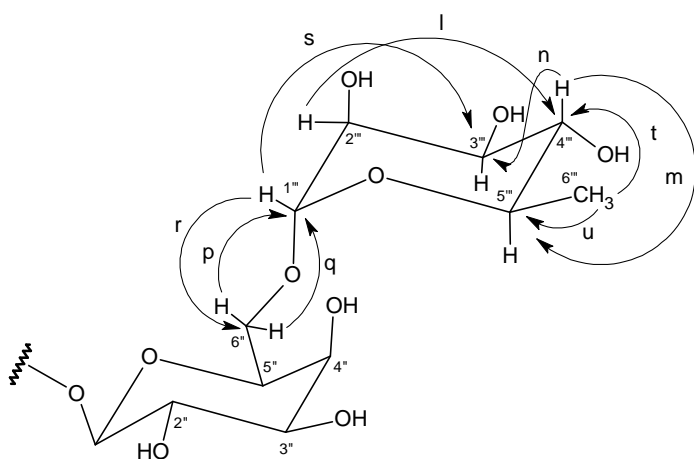
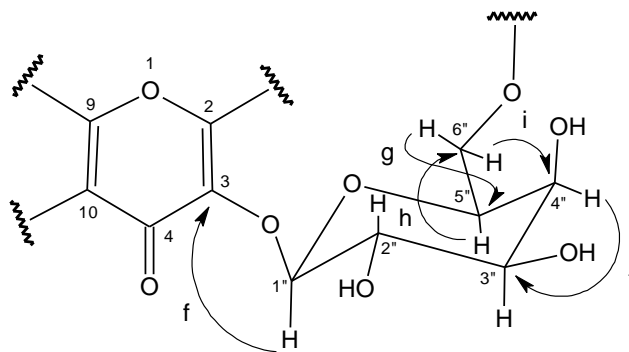
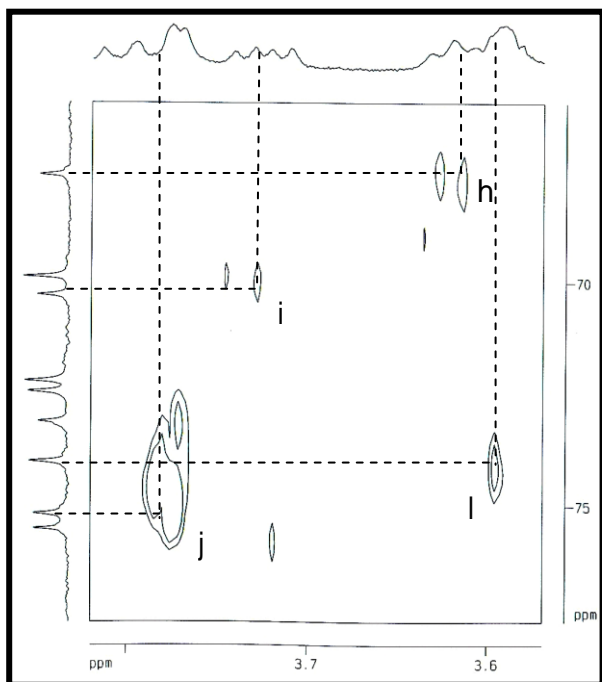


Figura 47 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10

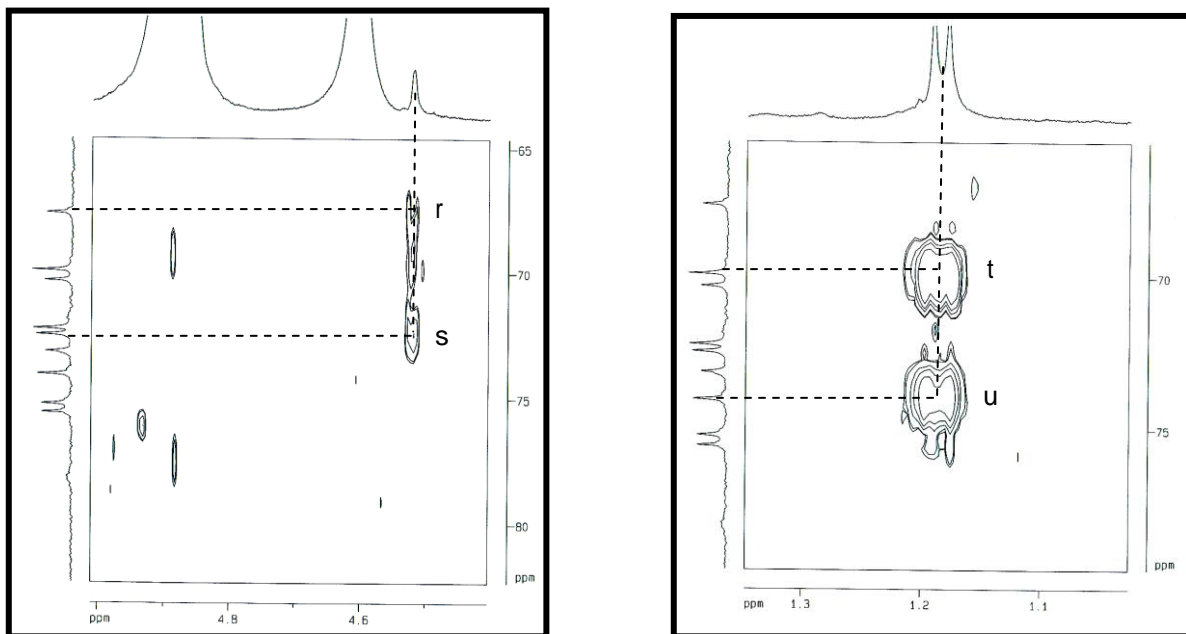
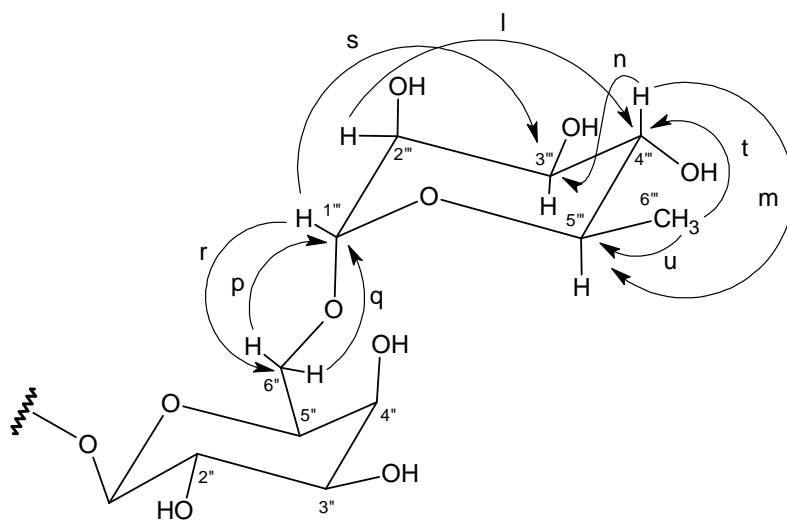


Figura 48 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10



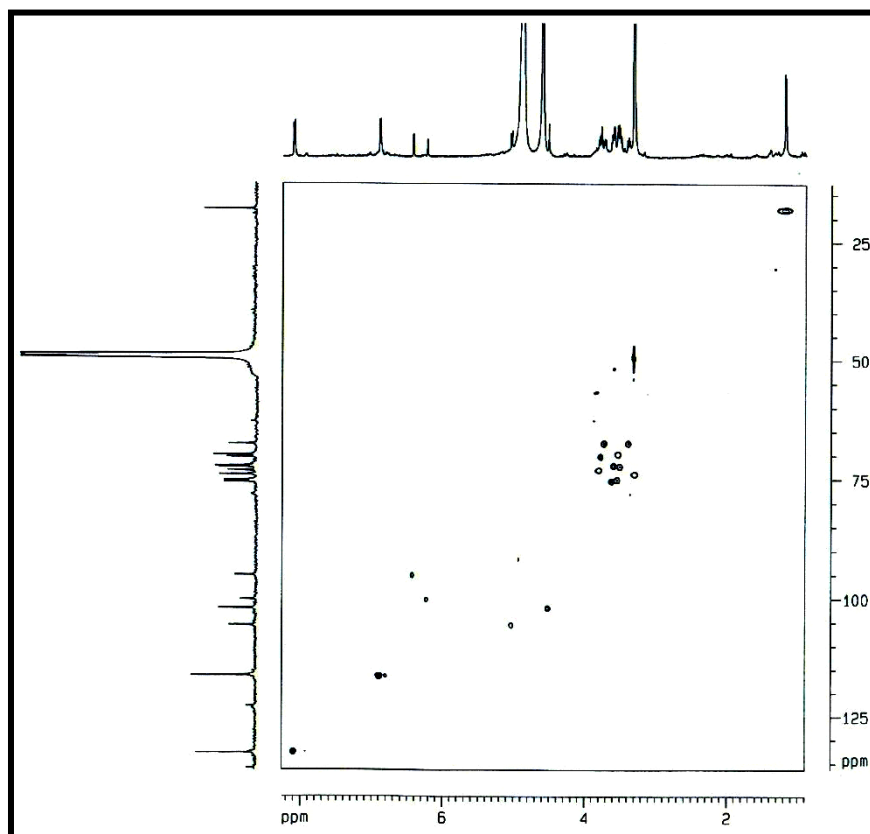


Figura 49 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10

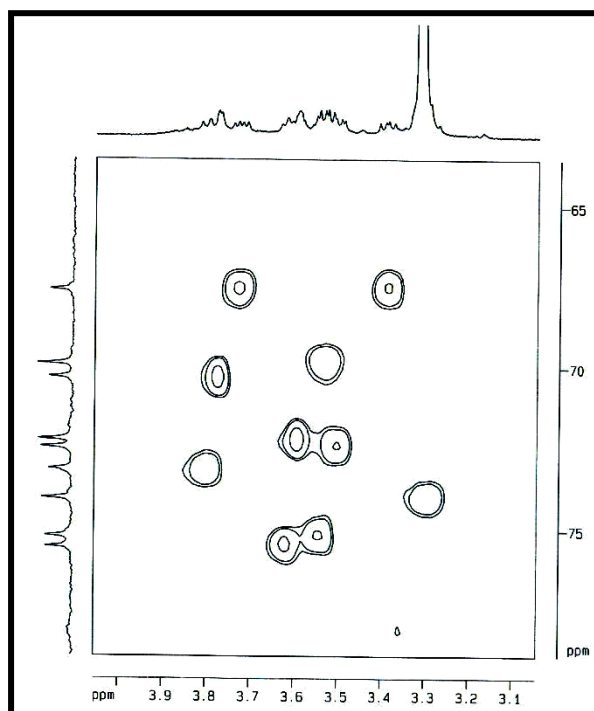


Figura 50 – Expansões do Espectro de ^1H , ^{13}C – HSQC [500 x 125 MHz, CD_3OD] de HP-10

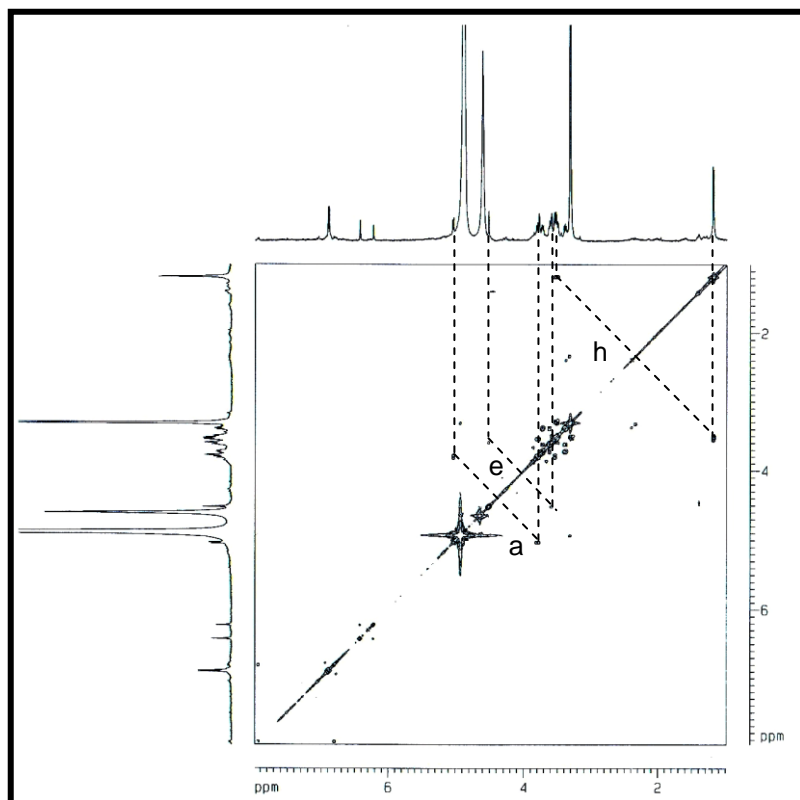


Figura 51 – Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de HP-10

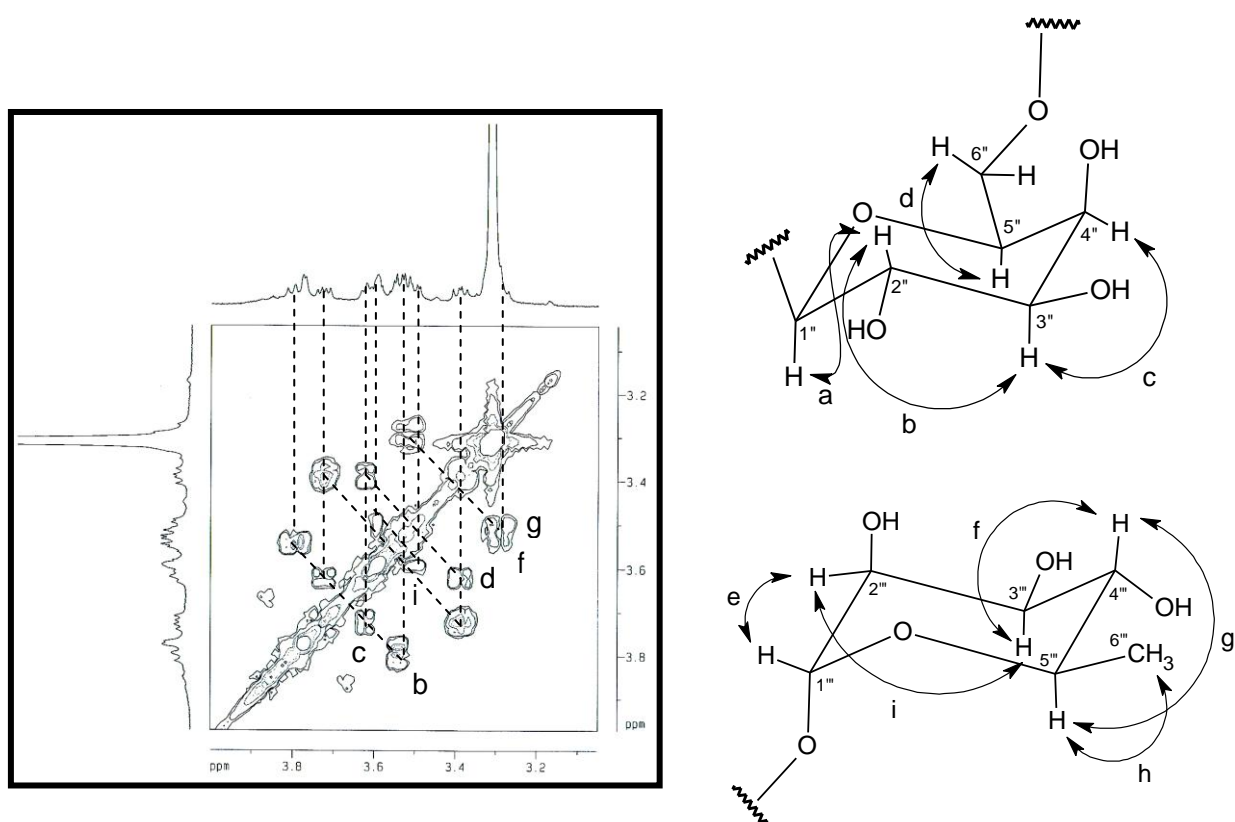


Figura 52 – Expansões do Espectro de ^1H , ^1H – COSY [500 x 500 MHz, CD_3OD] de HP-10

4.2 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis dos talos de *H. patens*

4.2.1 Determinação Estrutural de HP-5

Após sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano, obtida a partir da partição do extrato etanólico dos talos de *H. patens*, isolou-se um sólido amorfo branco denominado de HP-5 (p.f. 259,7-260,5 °C).

O espectro de absorção na região do IV (Fig. 54, p. 100) de HP-5 revelou a presença de uma deformação axial de ligação C=O em 1692 cm⁻¹, além de uma banda larga em 3424 cm⁻¹ relativa a deformação axial de O-H e deformações axiais em 2927 e 2869 cm⁻¹ de ligações de C-H alifáticos.

O espectro de RMN ¹H [500 MHz, C₅D₅N] (Fig. 55 e 56, p. 101) de HP-5 mostrou sinais referentes a dois grupos metila ligados a carbono mono-hidrogenado em δ 1,01 (d, $J=5,80$ Hz, 3H, H-29) e 0,96 (d, $J=5,75$ Hz, 3H, H-30), cinco grupos metilas ligados a carbono não-hidrogenado em δ 0,89 (d, 3H, H-25), 1,03 (s, 3H, H-24), 1,05 (s, 3H, H-26), 1,23 (s, 3H, H-23) e 1,25 (s, 3H, H-27), além de um hidrogênio olefínico em δ 5,49 (m, 1H, H-12), e um hidrogênio ligado a um carbono oxigenado em δ 3,46 (m, 1H, H-3).

O espectro de RMN ¹³C-BB [125 MHz, C₅D₅N] (Fig. 57, p. 102) apresentou trinta linhas espectrais, das quais os sinais em δ 139,6 (C-13) e 126,0 (C-12) se mostraram característicos de triterpenos pentacíclicos de esqueleto urs-12-eno, além de um carbono carbonílico em δ 180,3 (C-28).

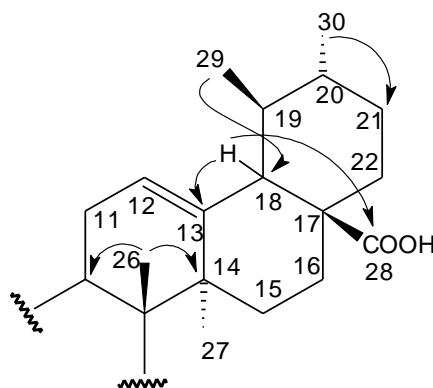
A análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C-BB [125 MHz, C₅D₅N] (Fig. 57, p. 102) e RMN ¹³C-DEPT 135° (Fig. 58, p. 102) permitiram identificar sete carbonos metílicos (7-CH₃), nove metilênicos (9-CH₂) e sete metínicos (7-CH), além de sete carbonos não-hidrogenados (7-C). A partir destas informações foi possível

elucidar a fórmula molecular de HP-5 como sendo $C_{30}H_{48}O_3$ (Tab. 21), em concordância com o pico do íon molecular em m/z 456 no espectro de massas (Fig. 53, p. 100).

Tabela 21 – Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de HP-5 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, [125 MHz, C_5D_5N]).

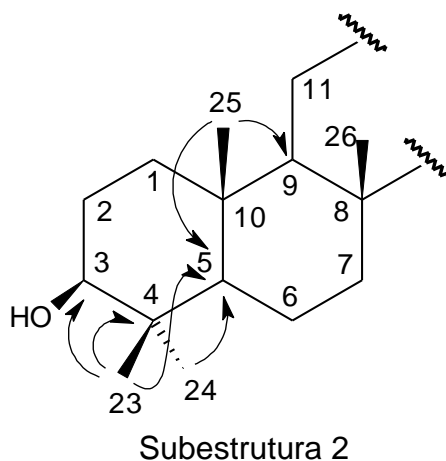
C	CH	CH ₂	CH ₃	Fórmula Molecular
180,3	126,0	39,4	29,1	
139,6	78,5	37,8	24,2	
48,4	56,1	33,9	21,7	
42,8	53,9	31,4	17,8	
40,3	48,4	29,0	17,8	
39,7	39,8	28,4	16,9	
37,8	39,7	25,2	16,0	
		23,9		
		19,1		
C₆ CO₂H	C₇H₇ OH	C₉H₁₈	C₇H₂₁	C₃₀H₄₈O₃

Através da análise detalhada do espectro bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância HMBC de HP-5 (Fig. 59 e 60, p. 103), foi possível visualizar importantes correlações do hidrogênio em δ 3,46 (d, $J=9,3$ Hz, H-18) com os carbonos em δ 180,3 (C-28) e 139,6 (C-13); dos hidrogênios em δ 1,05 (s, H-26) com os carbonos em δ 42,8 (C-14) e 48,4 (C-9); hidrogênios em δ 1,01 (d, $J=5,80$ Hz, H-29) com o carbono em δ 53,9 (C-18) e dos hidrogênios em δ 0,96 (d, $J=5,75$ Hz, H-30) com o carbono em δ 31,4 (C-21), conforme subestrutura 1.

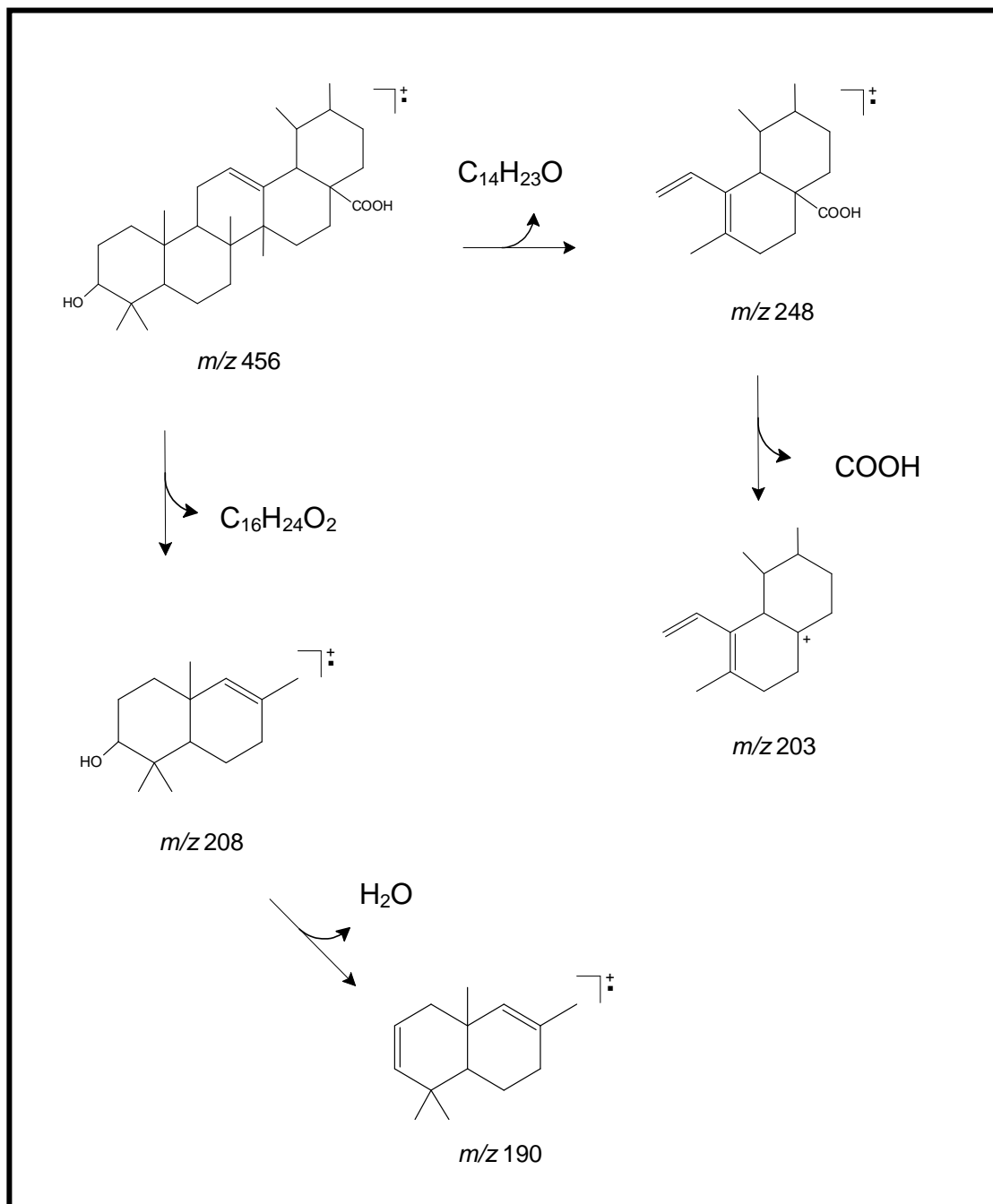


Subestrutura 1

Em adição, verificaram-se ainda acoplamentos do hidrogênio em δ 1,23 (s, H-23) com os carbonos em δ 39,7 (C-4), 56,1 (C-5) e 78,5 (C-3); do hidrogênio em δ 1,03 (s, H-24) com o carbono em δ 56,1 (C-5) e do hidrogênio δ 0,89 (s, H-25) com os carbonos δ 48,4 (C-9) e 56,1 (C-5), conforme mostra a subestrutura 2.

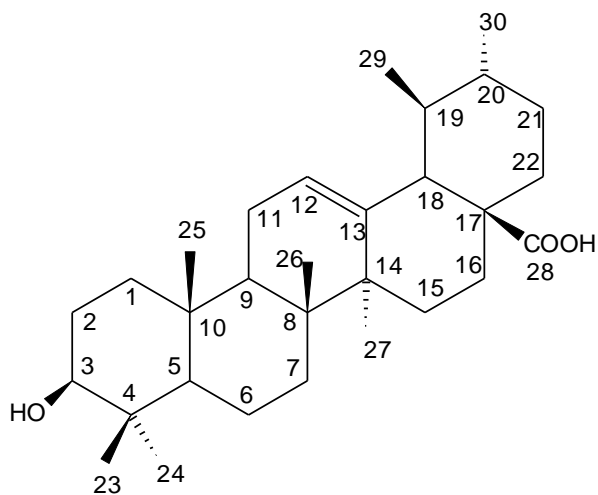


O espectro de massas de HP-5 (Fig. 53, p. 100), apresentou o pico íon molecular m/z 456 e os sinais com m/z 248, 208, 203 e 190, que nos levaram a proposta mecanística para justificar esses fragmentos como descrita no quadro 3, p. 97.



Quadro 3 – Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-5

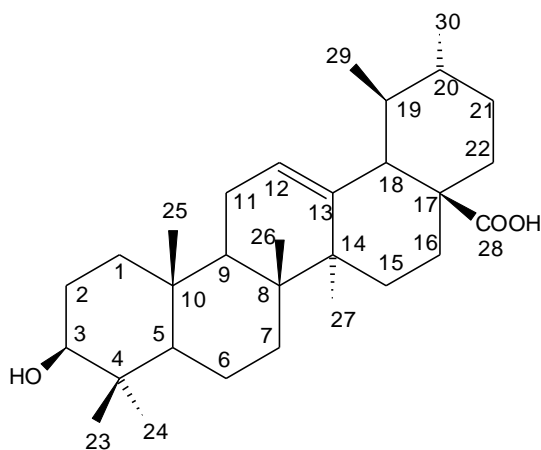
A posterior comparação com dados da literatura (Tab. 22, p. 99), confirmou HP-5 como sendo o ácido ursólico [ALVES et al., 2000], já isolado anteriormente da parte aérea de *Hamelia patens* [SUBRAHMANYAM et al, 1973].



Ácido ursólico

Tabela 22 – Dados de RMN ^{13}C , [125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5, em comparação com os dados da literatura.

C	HP-5	Ácido ursólico [ALVES et al., 2000]
	δ_{C}	δ_{C}
1	39,4	39,8
2	28,4	28,6
3	78,5	78,6
4	39,7	39,5
5	56,1	56,3
6	19,1	19,2
7	33,9	34,0
8	40,3	40,4
9	48,4	48,5
10	37,8	37,7
11	23,9	24,1
12	126,0	126,1
13	139,6	139,7
14	42,8	43,0
15	29,0	29,1
16	25,2	25,4
17	48,4	48,5
18	53,9	54,0
19	39,8	39,9
20	39,7	39,9
21	31,4	31,5
22	37,8	37,9
23	29,1	29,3
24	16,9	17,0
25	16,0	16,1
26	17,8	17,9
27	24,2	24,4
28	180,3	180,0
29	17,8	18,0
30	21,7	21,9



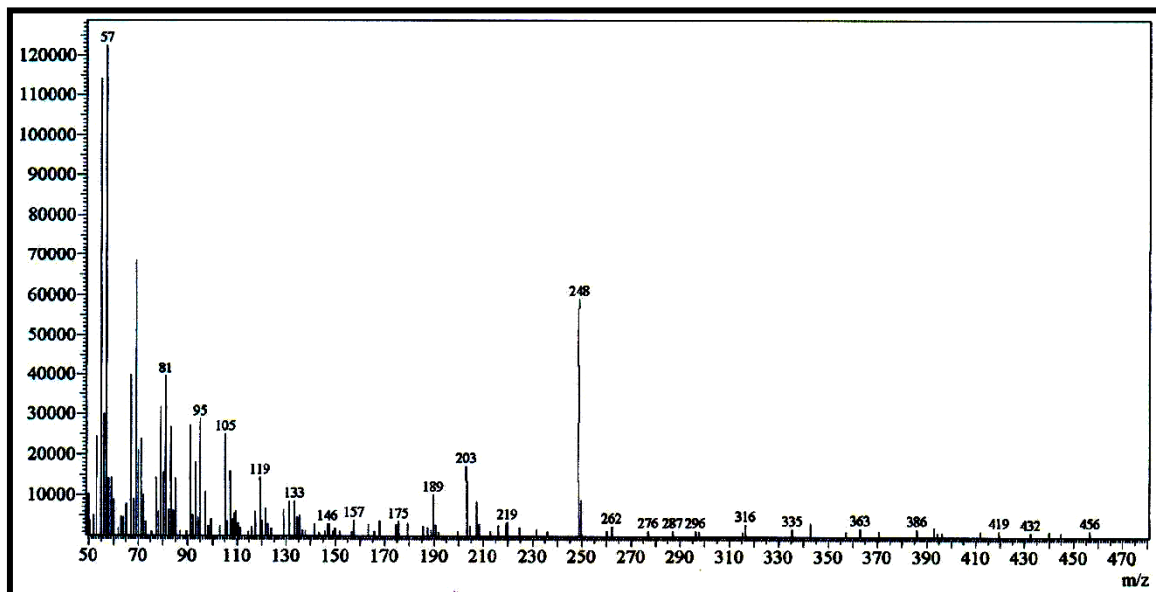


Figura 53 – Espectro de massas de HP-5 (70 eV, IE)

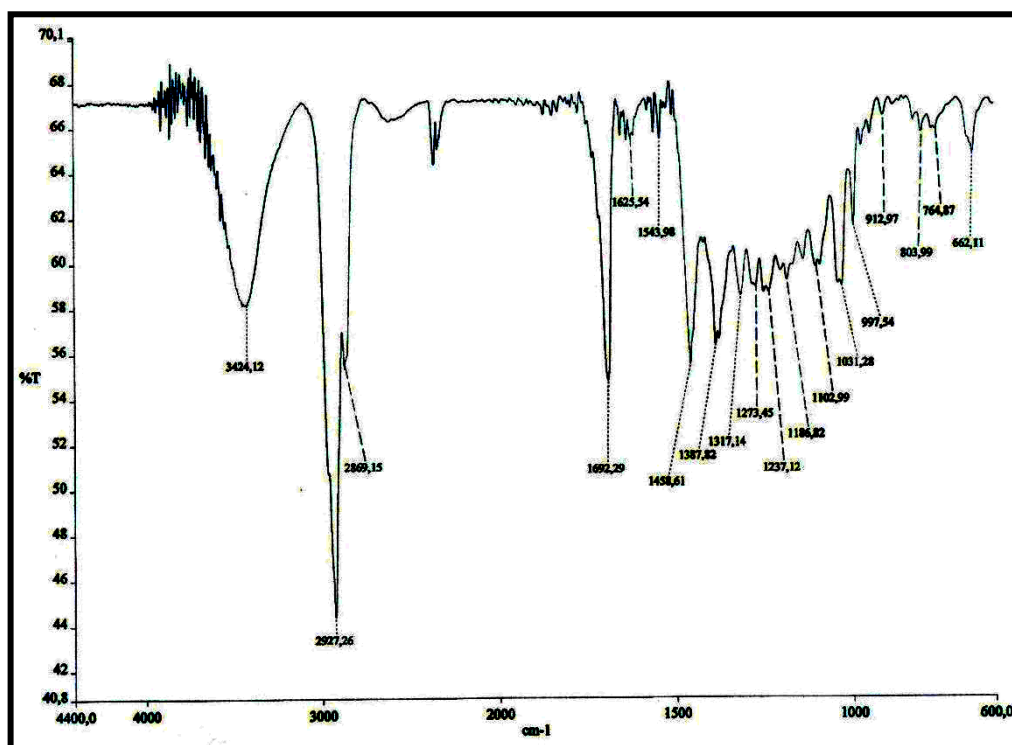


Figura 54 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-5 (KBr)

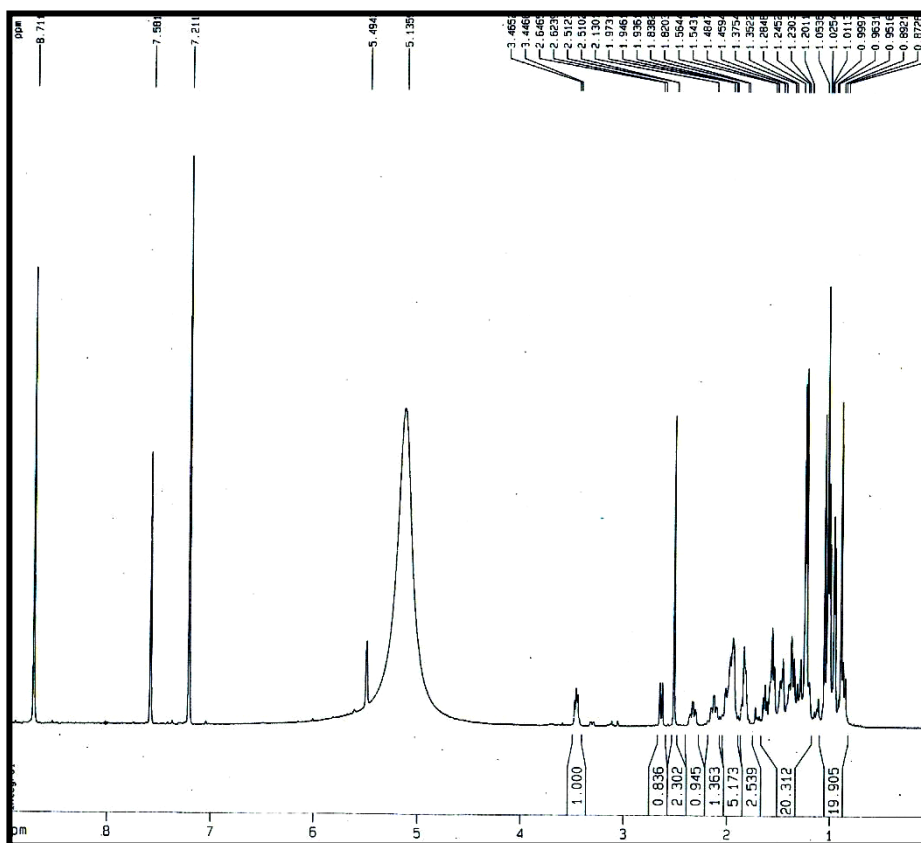


Figura 55 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5

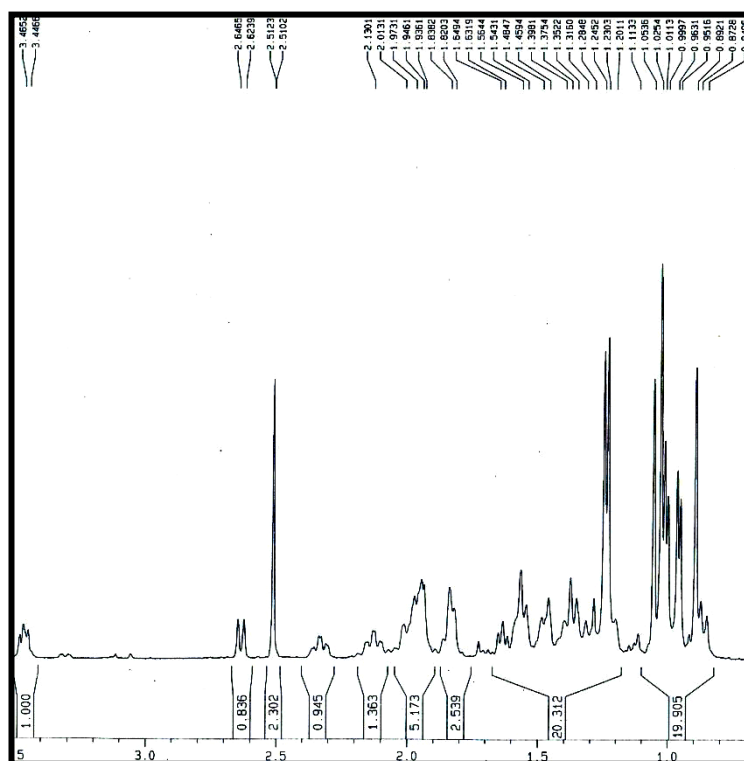


Figura 56 – Expansão do Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5

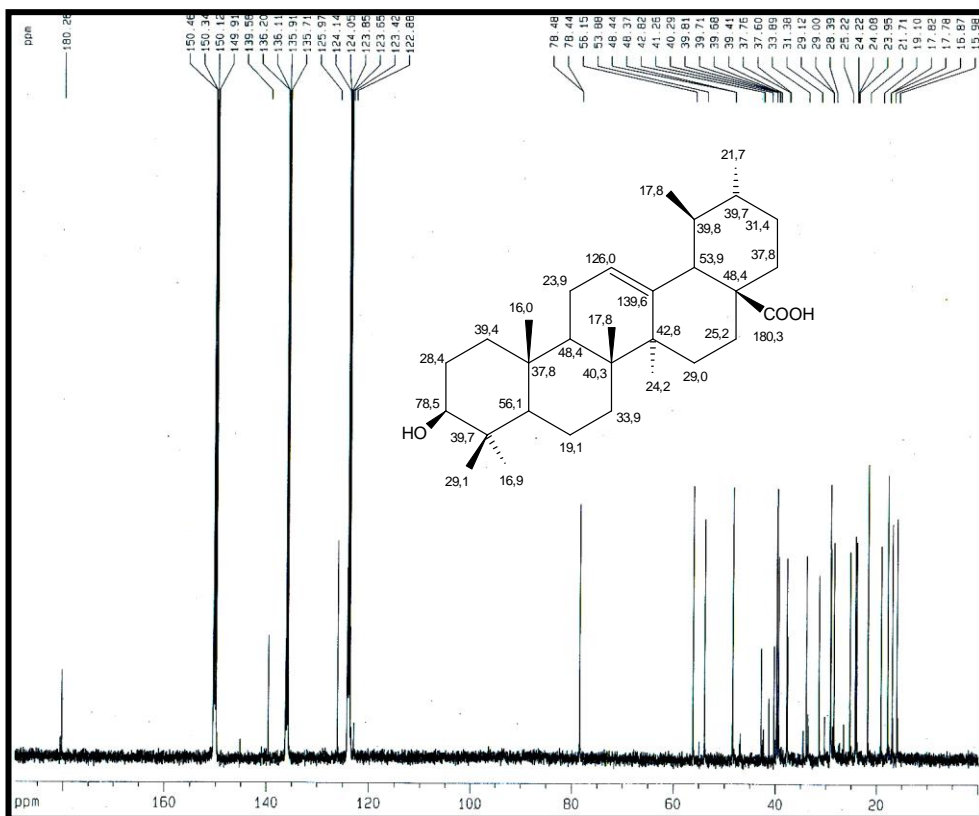


Figura 57 – Espectro de RMN ¹³C – BB [125 MHz, C₅D₅N] de HP-5

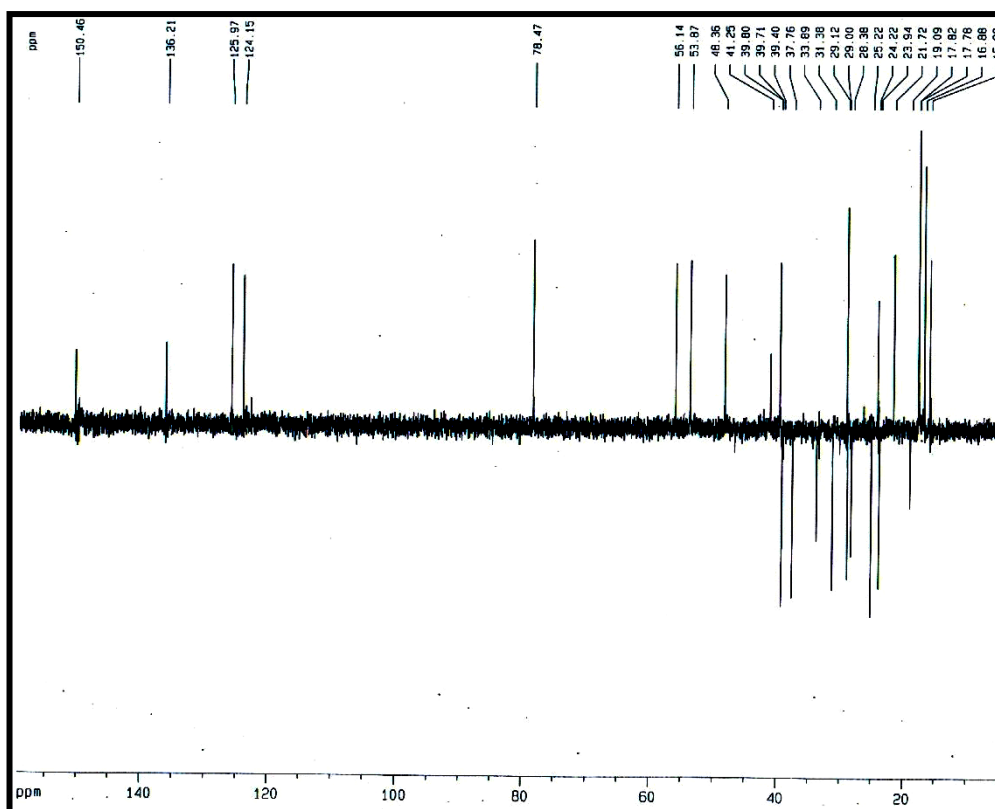


Figura 58 – Espectro de RMN ¹³C – DEPT - 135° [125 MHz, C₅D₅N] de HP-5

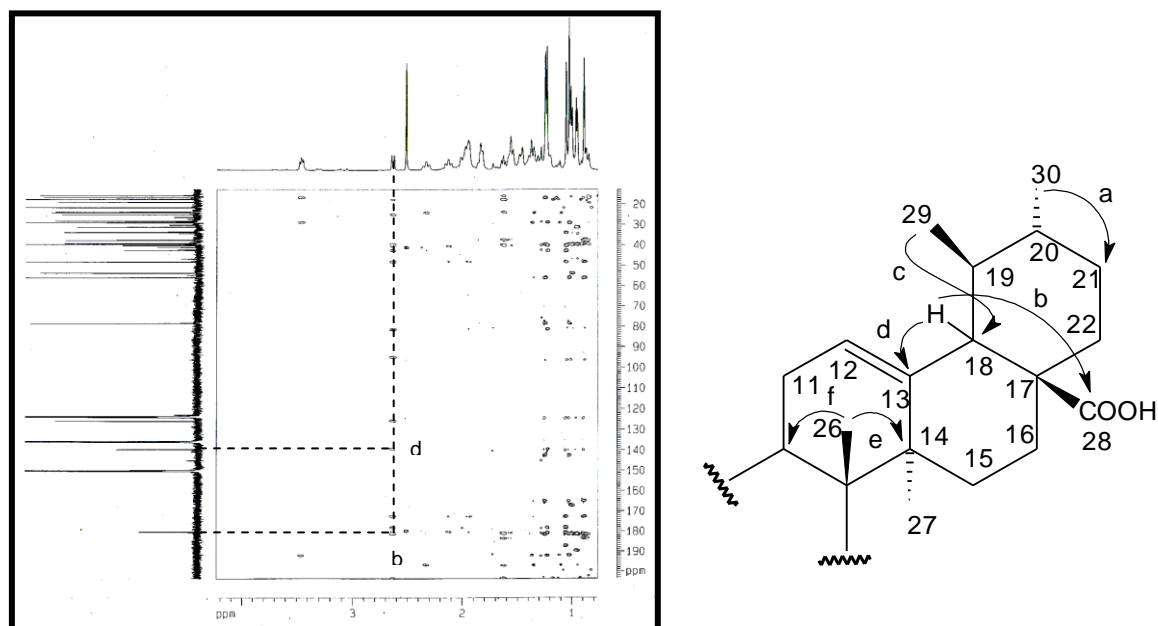


Figura 59 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5

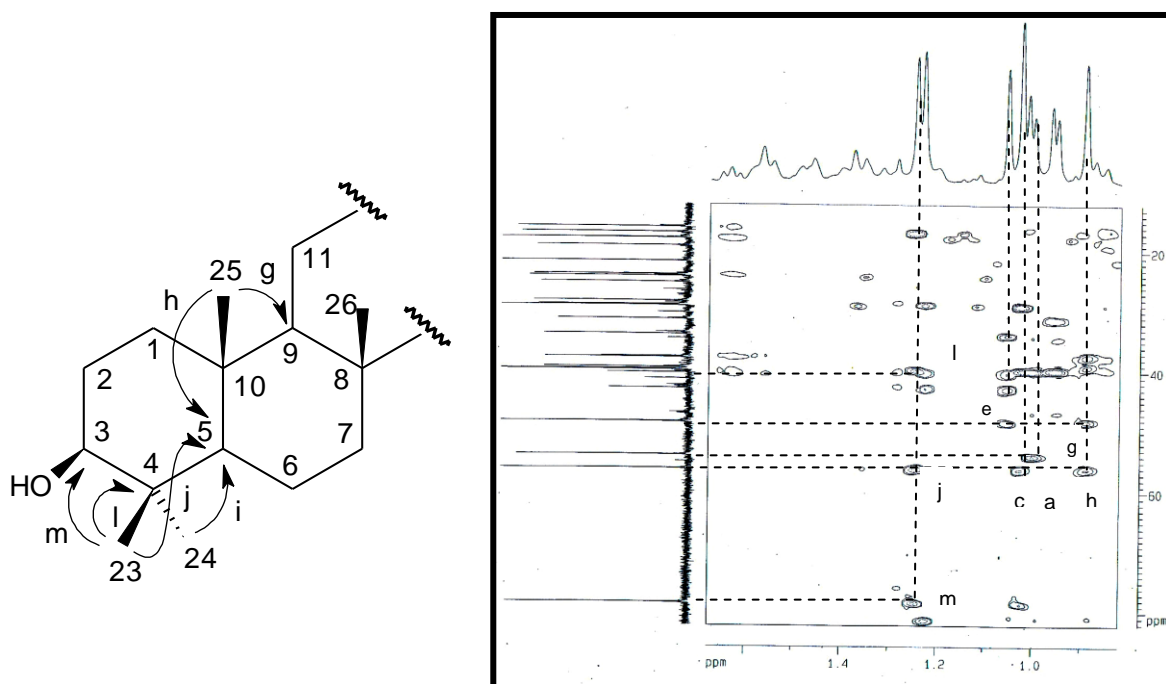


Figura 60 – Expansão do Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP-5

4.2.2 Determinação Estrutural de HP-6

O fracionamento cromatográfico da fração hexânica, proveniente do extrato etanólico dos talos de *H. patens*, forneceu um composto sólido branco denominado de HP-6.

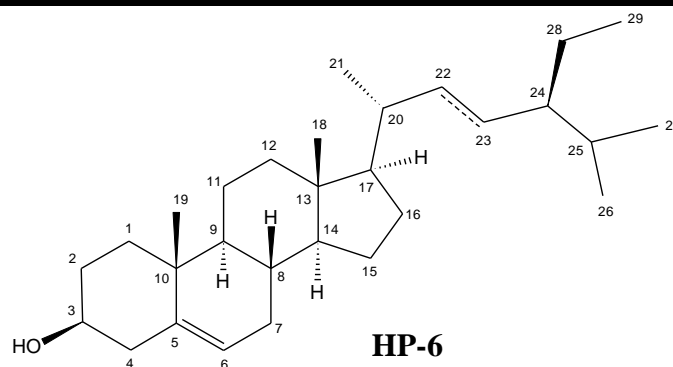
No espectro de RMN ^1H de HP-6 (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 62, p. 106), verificou-se a presença de dois sinais característicos de hidrogênios olefínicos em δ 5,35 (H-6) e 5,31 (H-22/H-23) e um sinal em δ 3,53 (m, H-3) relativo a hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Foi observado ainda um conjunto de sinais no intervalo δ 0,69-2,29 típicos de hidrogênios alifáticos de esqueletos terpênicos ou esteroídicos [SILVERSTEIN et al., 2007].

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) (Fig. 63, p. 107) apresentou 41 linhas espectrais. Destas, foram visualizadas um sinal em δ 72,1 (C-3) referente a um carbono sp^3 oxigenado, além de quatro sinais em δ 121,9 (C-6), 129,5 (C-23), 138,5 (C-22) e 141,0 (C-5) referentes a carbonos olefínicos.

O espectro de absorção na região do IV (Fig. 61, p. 106) confirmou os grupos funcionais presentes, através de uma banda larga em 3391 cm^{-1} relativa a deformação axial de O-H, e de absorções axiais em 2958, 2934 e 2870 cm^{-1} de deformações C-H alifáticos. A posterior análise comparativa com dados da literatura (Tab. 23, p. 105) permitiu caracterizar HP-6 como sendo a mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol, [MACARI et al., 1990] e [MOREIRA, 2001], isolado anteriormente das flores de *H. patens* [SUBRAHMANYAM et al., 1973].

Tabela 23 – Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP- 6 e da literatura [MACARI et al., 1990] [MOREIRA, 2001 (75 MHz, CDCl_3)].

C	HP-6	β -sitosterol [MACARI et al., 1990]	Estigmasterol [MOREIRA, 2001]
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	37,5	37,2	37,5
2	31,9	31,6	31,9
3	72,1	71,7	72,0
4	42,5/40,0	42,3	38,5
5	141,0	140,7	141,0
6	121,9	121,6	121,9
7	32,2	31,8	32,1
8	32,1/31,9	31,8	31,9
9	50,4	50,1	50,2
10	36,7	36,4	36,7
11	21,3	21,1	21,2
12	40,0	39,7	39,9
13	42,5	42,3	42,4
14	57,0	56,7	57,1
15	24,5	24,2	24,5
16	28,5/29,4	28,1	29,0
17	56,4/56,3	56,1	56,3
18	12,1	11,9	12,3
19	19,6/20,3	19,3	19,4
20	36,4/41,0	36,0	40,7
21	18,9/19,0	18,7	21,3
22	34,2/ 138,5	33,9	138,5
23	26,3/ 129,5	26,4	129,5
24	46,1	45,8	51,5
25	29,4	29,1	31,9
26	20,4/20,0	19,6	19,0
27	19,3/21,3	18,9	21,3
28	23,3/24,5	23,0	25,4
29	12,2	11,9	12,4



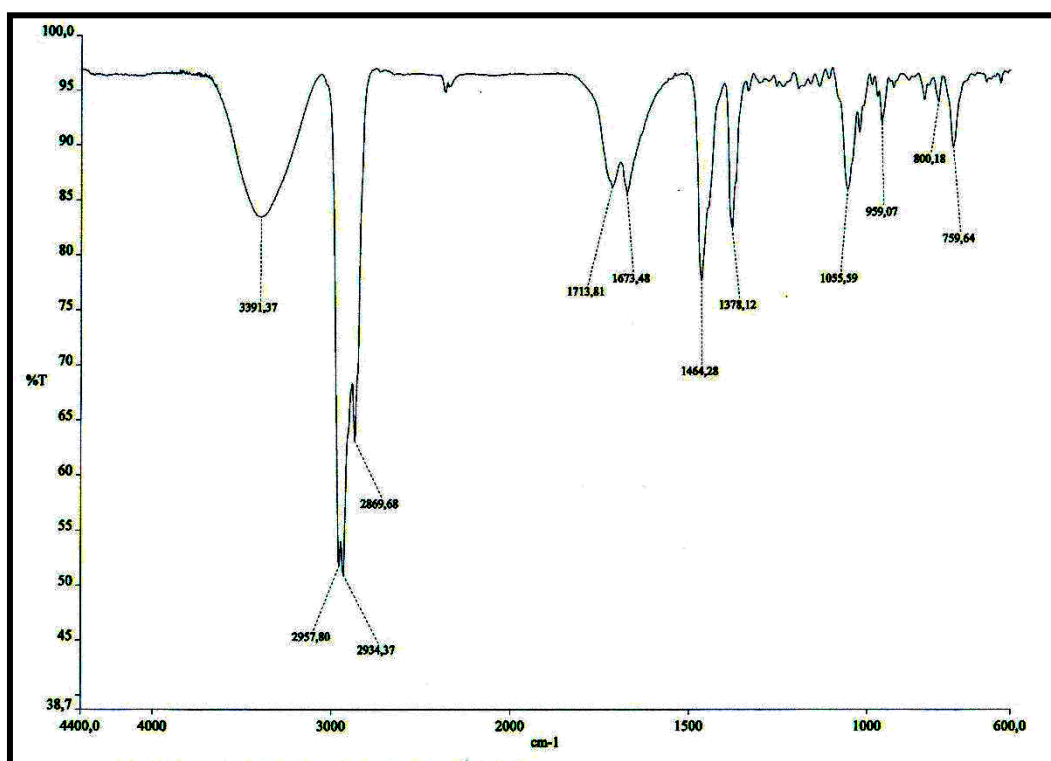


Figura 61 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-6 (NaCl)

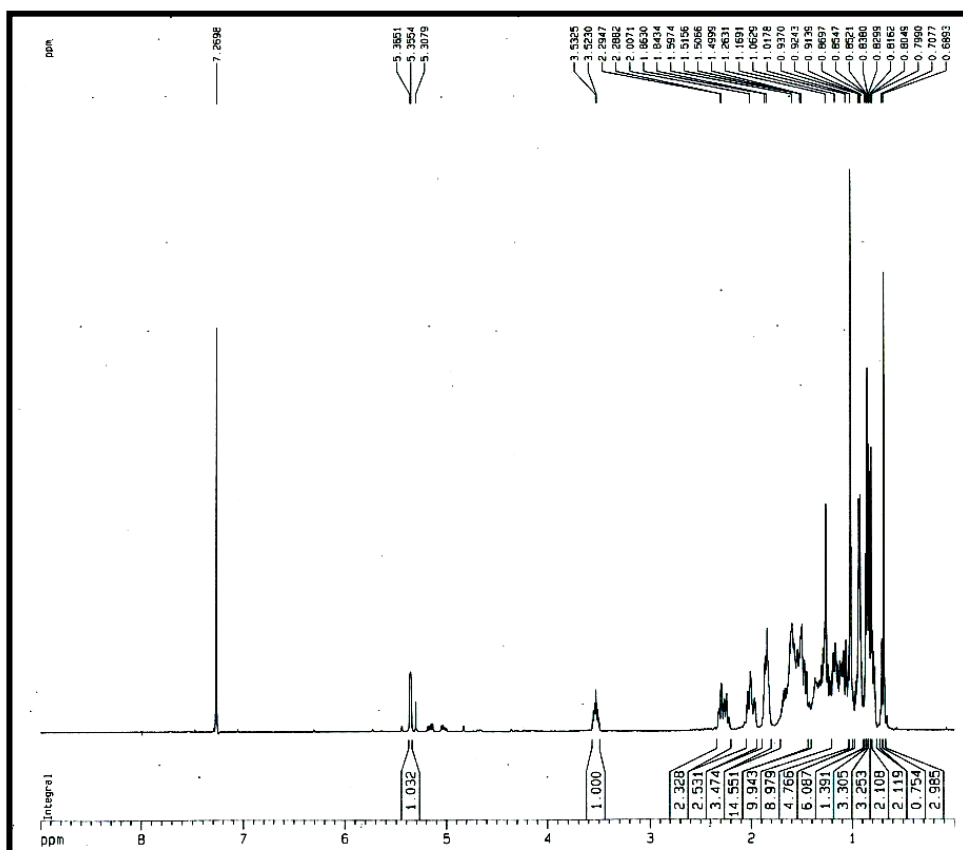


Figura 62 – Espectro de RMN ¹H [500 MHz, CDC₃] de HP-6

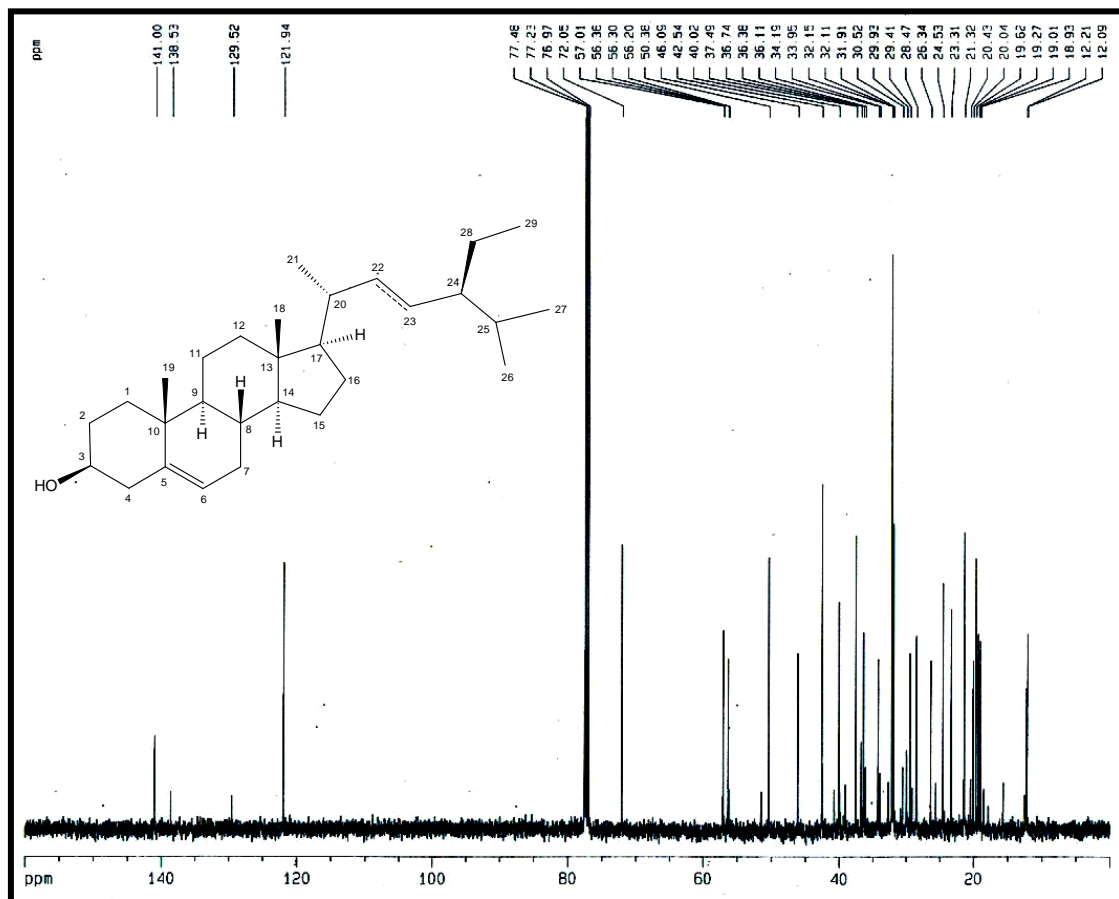


Figura 63 – Espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, CDCl_3] de HP-6

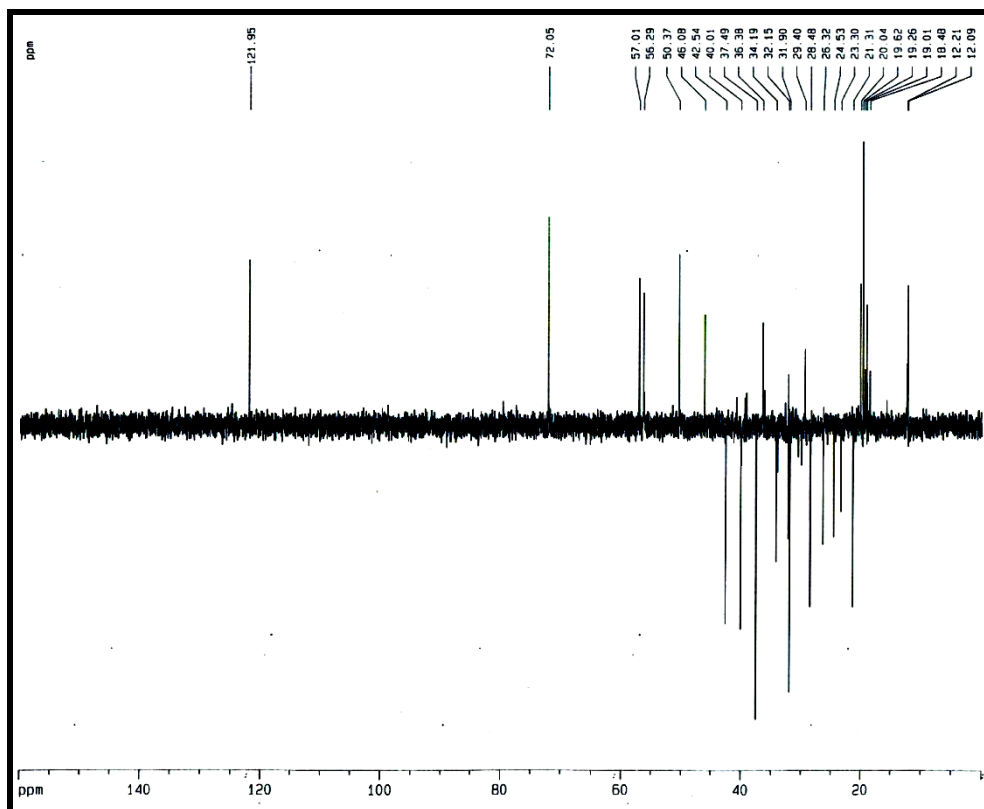


Figura 64 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, CDCl_3] de HP-6

4.2.3 Determinação de Estrutural de HP-7

O fracionamento cromatográfico da fração hexânica, proveniente do extrato etanólico dos talos de *H. patens*, forneceu um composto sólido amarelo denominado de HP-7.

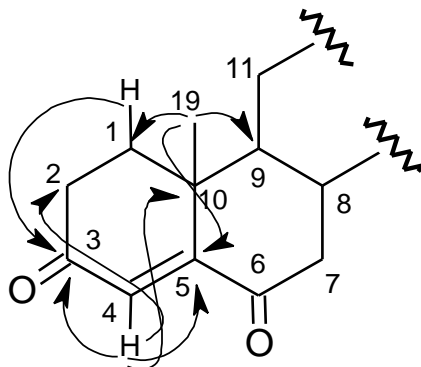
No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 67, p. 113), verificou-se a presença de um sinal em δ 6,18 (s, H-4), característico de hidrogênio ligado a carbono sp^2 . Foram observados ainda sinais no intervalo δ 0,73-2,71 típicos de esqueleto esteroidal, além de sinais em δ 1,18 (s, H-19), 1,27 (s, H-27), 0,18 (s, H-18), 0,95 (d, $J=5,7$ Hz, H-21) e 0,87 (m, H-26 e H-27), que foram relacionadas a hidrogênios de grupamentos metilas ligados a carbonos sp^3 [SILVERSTEIN et al., 2007].

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) (Fig. 68, p. 113), apresentou dois sinais em δ 199,7 (C-6) e 202,5 (C-3), característicos de carbonilas conjugadas, que foram confirmadas pela presença de dois sinais em δ 125,7 (C-4) e 161,3 (C-5) referentes a carbonos sp^2 .

O espectro de absorção na região do IV (Fig. 65, p.112) confirmou os grupos funcionais presentes na estrutura de HP-7, através de duas bandas em 1726 cm^{-1} e 1690 cm^{-1} de carbonilas de cetona conjugada; além de uma banda larga em 3444 cm^{-1} de deformação axial O-H, deformações axiais em 2955, 2931 e 2869 cm^{-1} de C-H alifáticos, e deformação axial de ligação C=C em 1462 cm^{-1} .

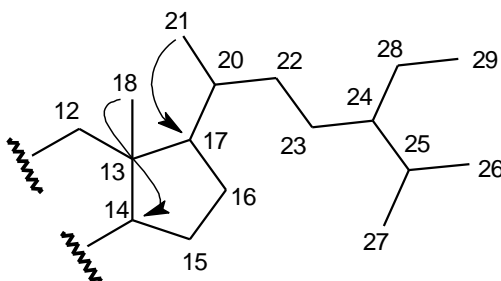
Através da análise detalhada do espectro bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância HMBC [500 MHz, CDCl_3] de HP-7 (Fig. 69, p. 114), foi possível visualizar as correlações do hidrogênio em δ 1,18 (s, H-19) com os carbonos em δ 35,8 (C-1), 40,0 (C-10), 51,2 (C-9) e 161,3 (C-5); além dos

acoplamento do hidrogênio em δ 6,18 (s, H-4) com os carbonos em δ 34,0 (C-2), 40,0 (C-10), 161,3 (C-5) e 202,5 (C-3), conforme subestrutura 1.



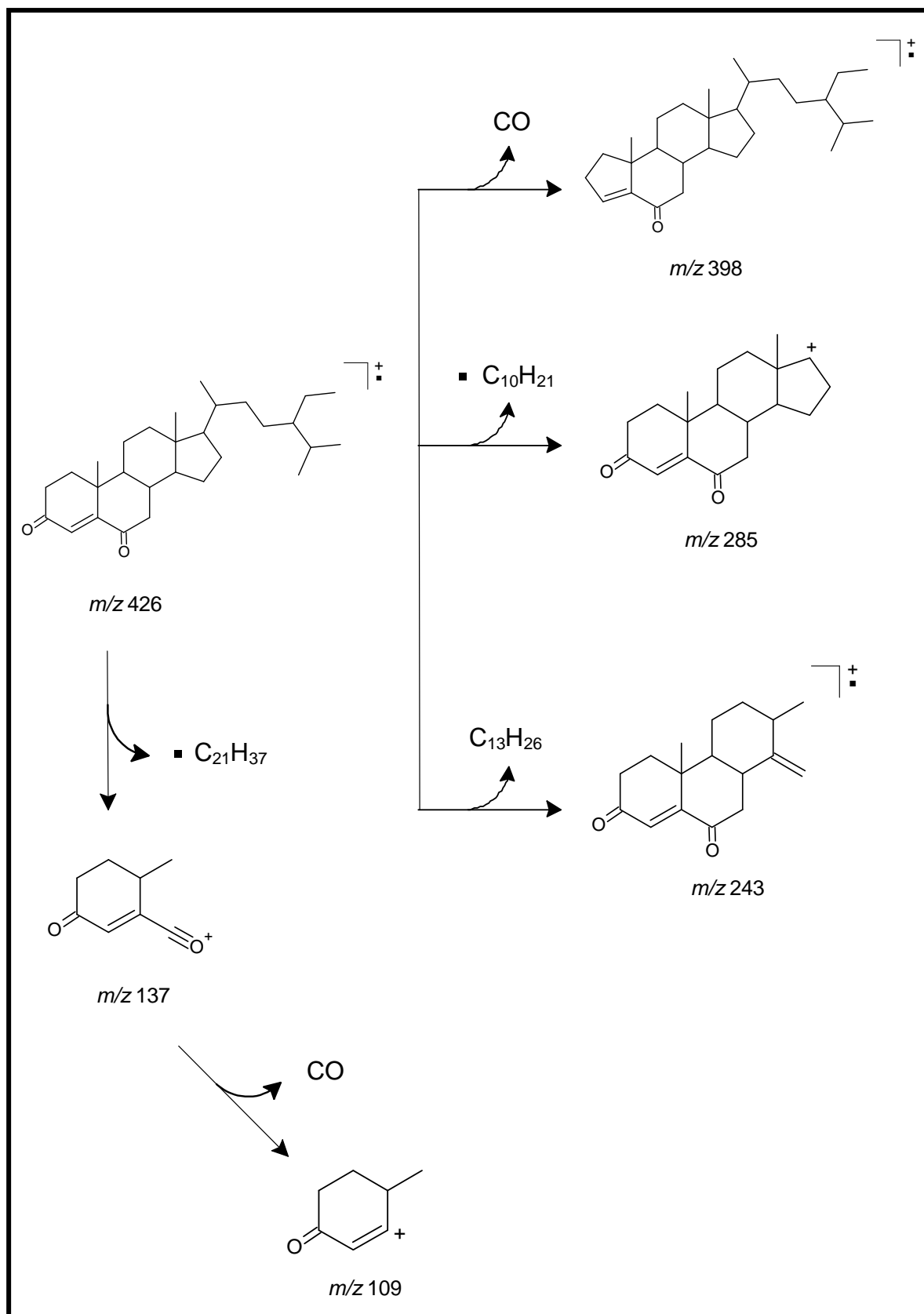
Subestrutura 1

Neste espectro verificou-se ainda acoplamentos do hidrogênio em δ 0,95 (d, $J=5,7$ Hz, H-21) com carbono em δ 56,1 (C-17) e do hidrogênio em δ 0,73 (s, H-18) com o carbono em δ 56,7 (C-14), conforme mostra a subestrutura 2.



Subestrutura 2

Através da análise do espectro de massa de HP-7 (Fig. 66, p. 112), foi possível observar o pico do íon molecular em m/z 426, que juntamente com os picos com razão m/z 398, 285, 243, 137 e 109, permitiram a elaboração da proposta mecanística para justificar os fragmentos do quadro 4, p. 110.

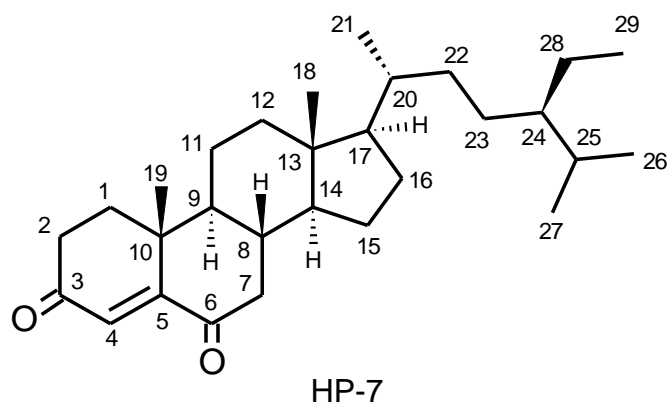


Quadro 4 – Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-7

Estas informações, aliadas a posterior análise comparativa com dados de RMN ^{13}C descritos na literatura (Tab. 24), possibilitaram caracterizar HP-7 como sendo o esteróide estigmast-4-en-3,6-diona, [LIM et al., 2005], cujo isolamento já foi citado anteriormente para *H. patens* [RIPPERGER, 1978].

Tabela 24 – Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP- 7, em comparação com os dados da literatura.

C	HP-7	Estigmast-4-en-3,6-diona [LIM et al., 2005]
	δ_{C}	δ_{C}
1	35,8	35,5
2	34,0	33,8
3	202,5	202,4
4	125,7	125,5
5	161,3	161,1
6	199,7	199,2
7	47,0	46,8
8	34,4	34,2
9	51,2	51,0
10	40,0	39,8
11	21,0	20,9
12	39,3	39,1
13	42,7	42,7
14	56,7	56,5
15	24,2	24,0
16	28,2	28,0
17	56,1	55,8
18	12,1	11,9
19	17,7	17,5
20	36,2	36,0
21	18,9	18,7
22	34,2	34,0
23	26,2	26,0
24	45,9	45,8
25	29,3	29,1
26	20,0	19,8
27	19,2	19,0
28	23,3	23,1
29	12,2	12,0



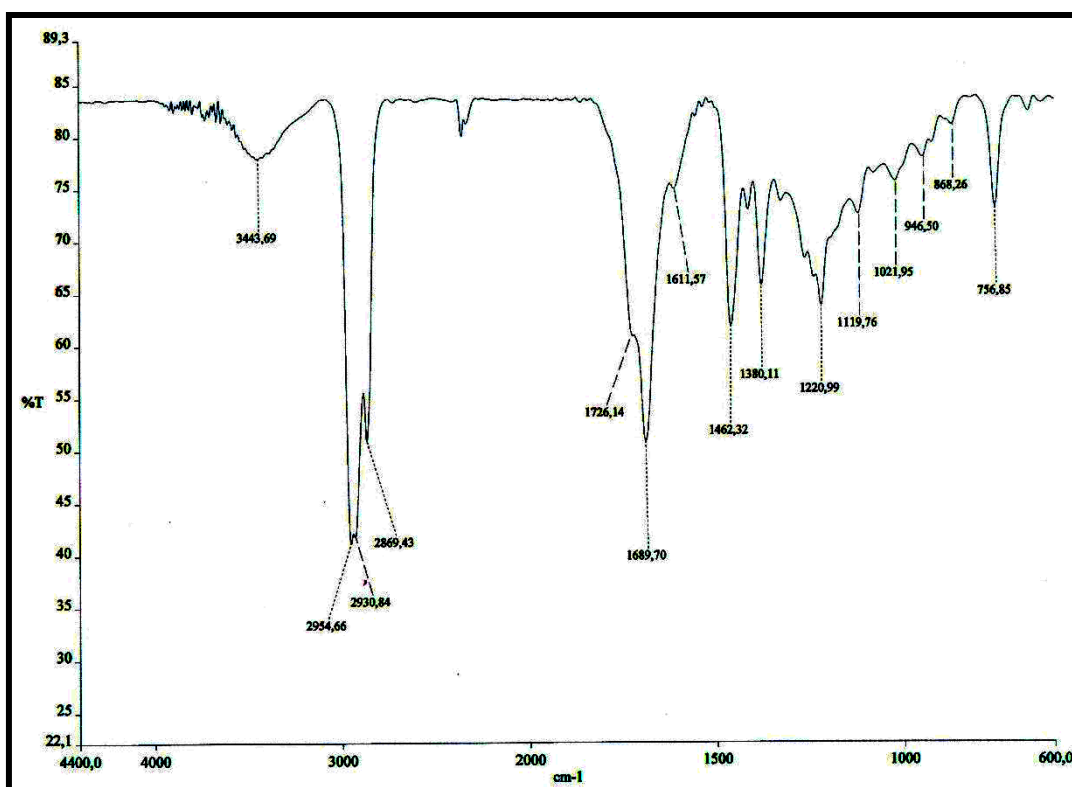


Figura 65 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP-7 (NaCl)

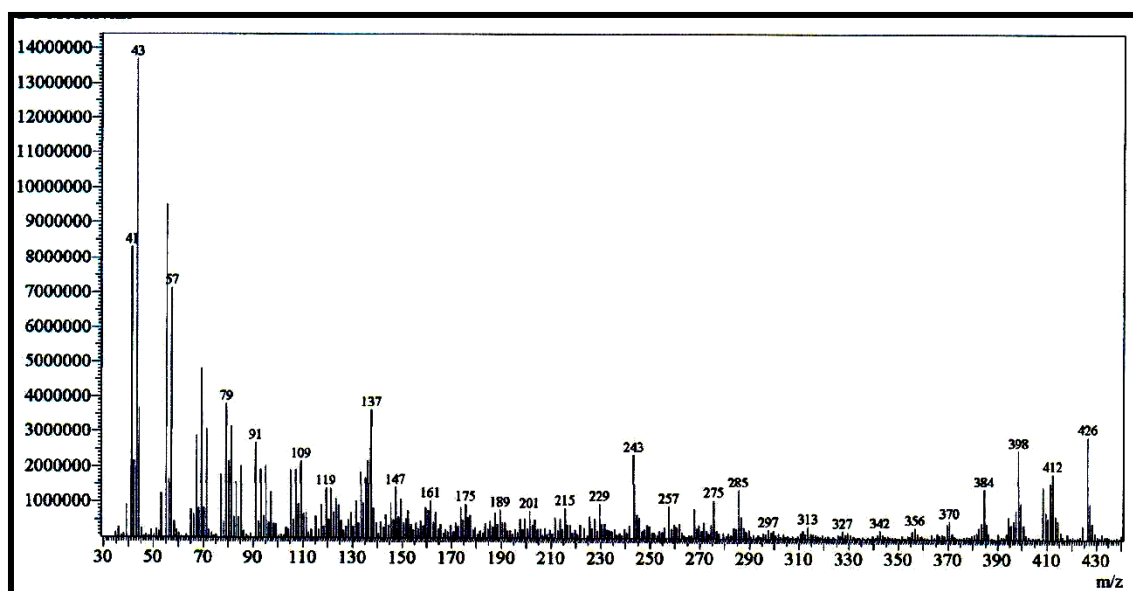


Figura 66 – Espectro de massas de HP-7 (70 eV, IE)

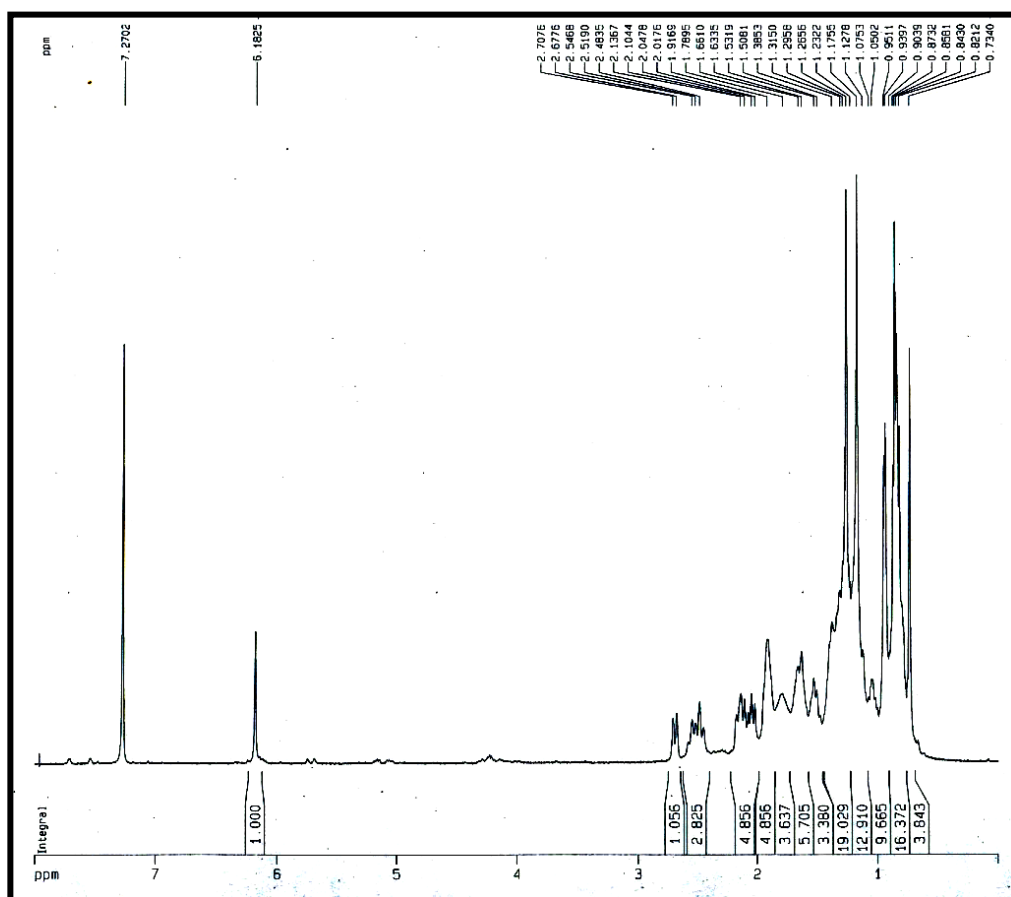


Figura 67 – Espectro de RMN ¹H [500 MHz, CDCl₃] de HP-7

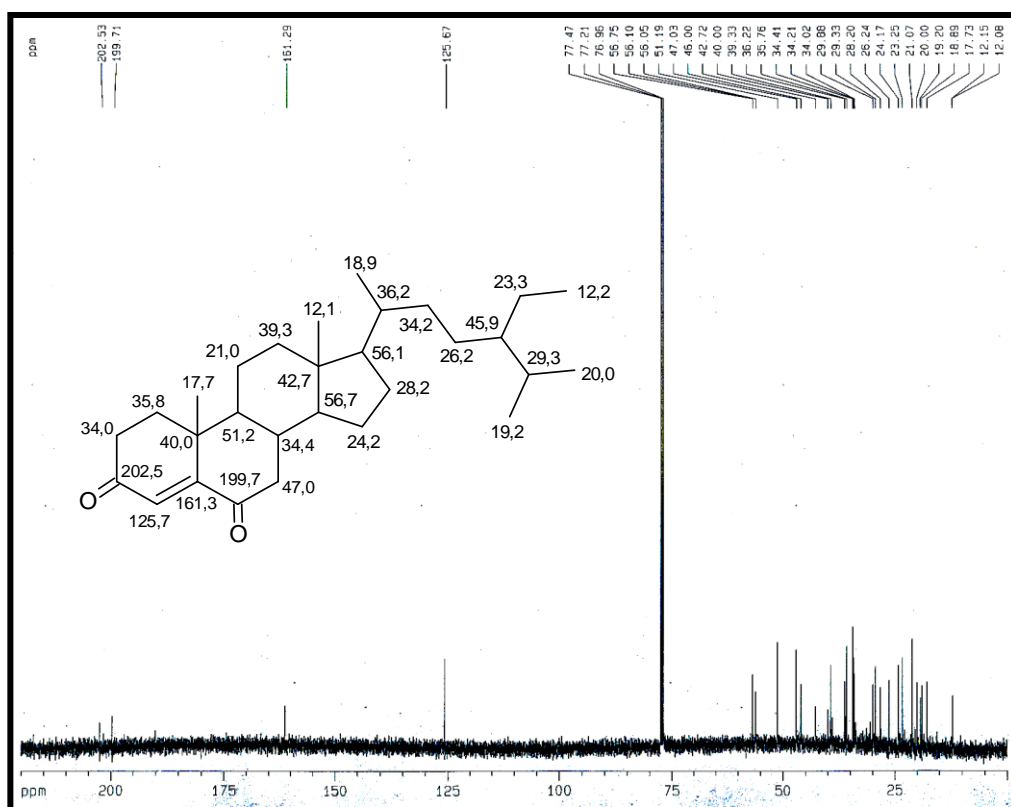


Figura 68 – Espectro de RMN ¹³C [125 MHz, CDCl₃] de HP-7

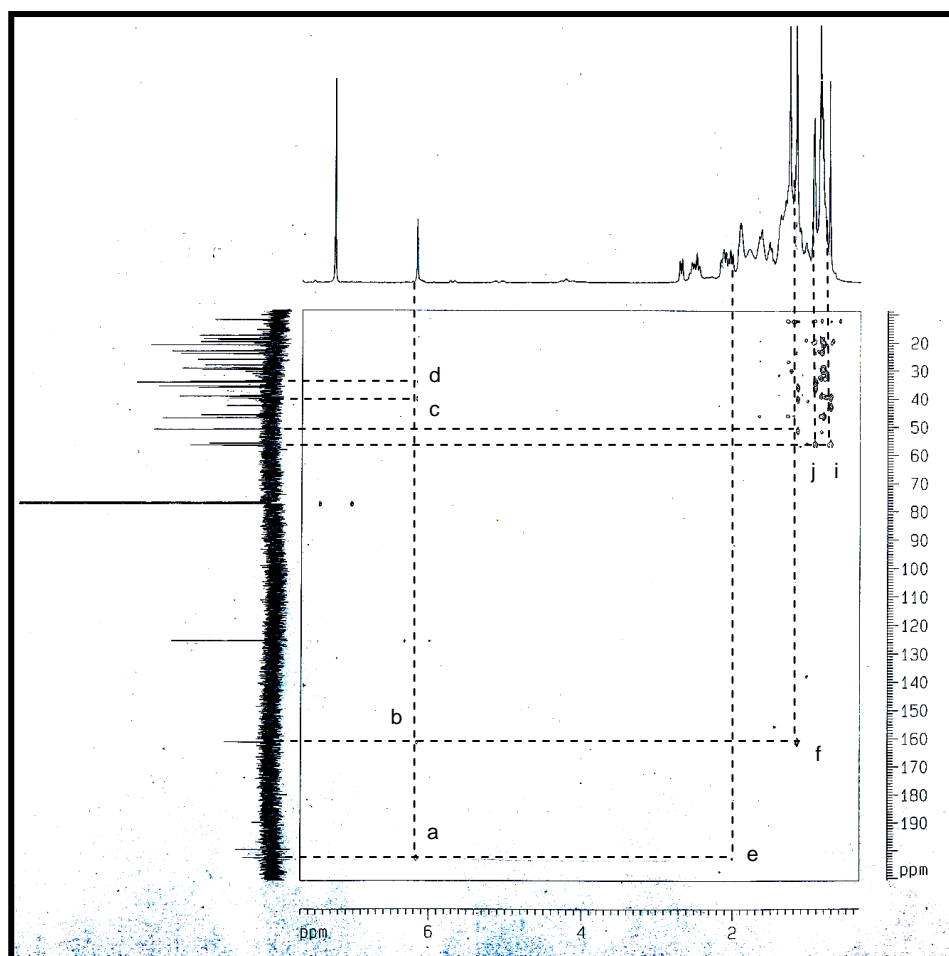
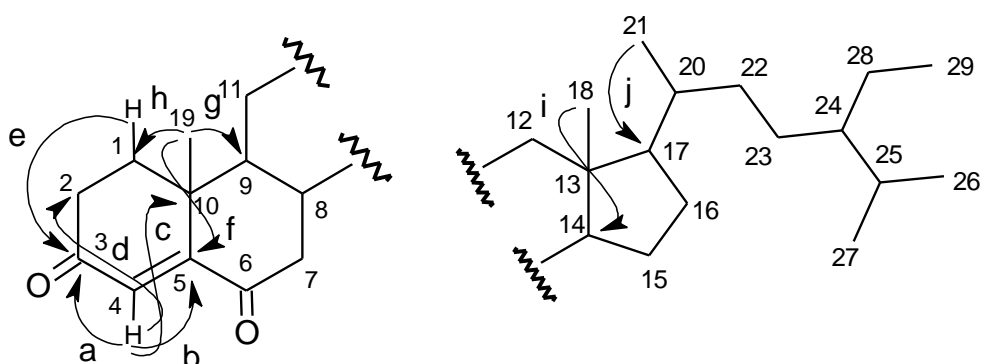


Figura 69 – Espectro de ^1H , ^{13}C – HMBC [500 x 125 MHz, CDCl_3] de HP-7



4.3 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis do caule de *H. patens*

4.3.1 Determinação Estrutural de HP-8

O fracionamento cromatográfico da fração diclorometano, proveniente do extrato etanólico do caule de *H. patens*, forneceu um composto sólido branco denominado de HP-8.

No espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Fig. 71, p. 118), verificou-se a presença de três sinais em δ 5,34 (m, H-6), 5,05 e 5,03 (H-22 e 23), ambos característicos de hidrogênio ligado a carbono sp^2 . Foram observados ainda no intervalo de δ 0,66-2,47, sinais típicos de esqueletos terpênicos ou esteróidicos, além de absorções na região de δ 3,95-4,57 relacionadas a hidrogênios ligados a carbonos sp^3 oxigenados [SILVERSTEIN et al., 2007].

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Fig. 72, p. 119) apresentou 52 linhas espectrais. Neste espectro foram observados um sinal em δ 78,9 (C-3) referente a um carbono sp^3 oxigenado; 4 linhas em δ 122,2 (C-6), 129,8 (C-23), 139,1 (C-22) e 141,2 (C-5) referentes a carbonos olefínicos, um sinal em δ 102,9 (C-1') característico de carbono anomérico de unidades glicosídicas, além de 6 carbonos oxigenados em δ 63,1 (C-6'), 72,0 (C-4'), 75,6 (C-2'), 78,5/78,9 (C-5') e 78,7 (C-3').

A comparação dos espectros de RMN ^{13}C e RMN ^{13}C -DEPT 135° (Fig. 73, p. 119) contribuiu para conclusão de que HP-8 contém na sua estrutura duas duplas ligações, uma di e outra trissubstituída, em acordo com as informações observadas para os carbonos olefínicos em δ 122,2 (C-6), 129,8 (C-23), 139,1 (C-22) e 141,2 (C-5). A partir destes dados, pôde-se também concluir que os sinais em δ 63,1 (C-6'),

72,0 (C-4'), 75,6 (C-2'), 78,5/78,9 (C-5') e 78,7 (C-3') eram correspondentes a uma unidade glicosídica.

As linhas espectrais observadas no espectro de RMN ^{13}C referentes a carbonos olefínicos apresentaram valores muito próximos aos verificados na literatura (Tab. 25, p. 117) para a mistura de esteróides β -sitosterol e estigmasterol glicosilados. Desta forma, a comparação dos dados obtidos permitiu caracterizar HP-8 como a mistura dos esteróides glicosilados estigmast-5-en-3-O-glicopiranosídeo (β -sitosterol glicosilado) e estigmast-5,22-dien-3-O-glicopiranosídeo (estigmasterol glicosilado), [VOUTQUENNE et al., 1999]. Identificados previamente nas flores de *H. patens* [SUBRAHMANYAM et al., 1973].

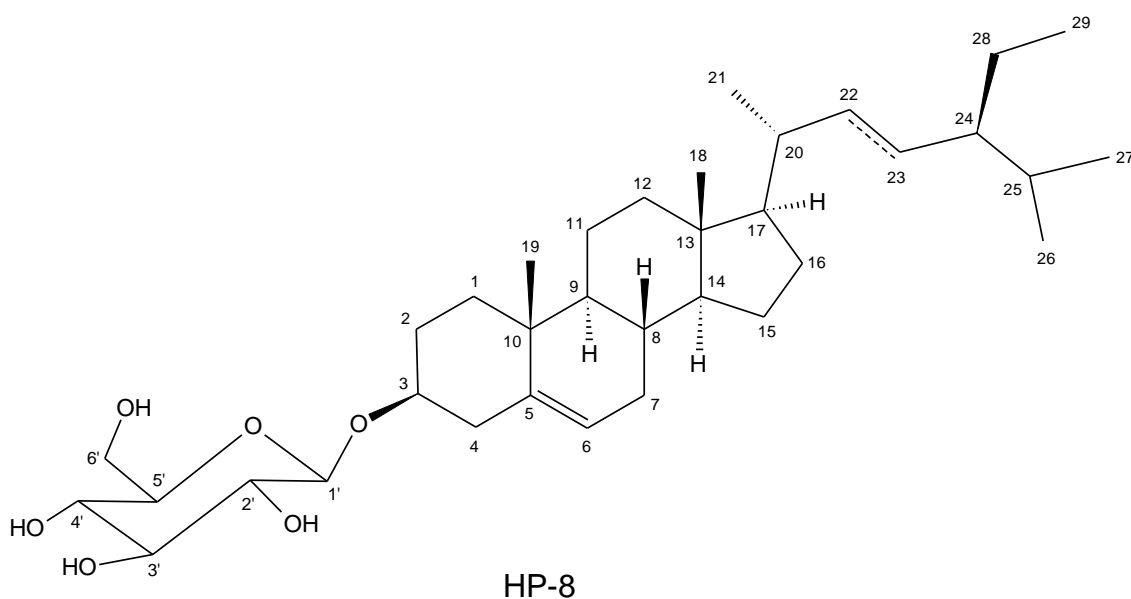


Tabela 25 – Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP- 8 e da literatura [ALAM *et al.*, 1996 (150 MHz, DMSO-d_6)] [VOUTQUENNE *et al.*, 1999 (75 MHz, CDCl_3)].

C	HP-8	β -Sitosterol glicosilado [VOUTQUENNE <i>et al.</i> , 1999]	Estigmasterol glicosilado [ALAM <i>et al.</i> , 1996]
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	37,8	37,0	38,3
2	32,5/32,9	31,6	33,0
3	78,9	79,0	76,7
4	39,8/37,9	39,5	36,8
5	141,2	141,4	140,4
6	122,2	122,2	121,1
7	32,4/30,6	31,6	31,3
8	32,5/32,4	31,7	31,4
9	50,7	50,0	49,6
10	37,2/36,7	36,5	36,2
11	20,3/21,6	20,8	22,6
12	37,8/39,6	38,5	39,6
13	42,8/40,3	42,1	40,0
14	57,2/56,6	56,5	56,2
15	24,8	24,5	24,8
16	28,9/29,8	28,7	29,2
17	56,4/56,6	55,8	56,1
18	12,5/12,3	12,0	11,8
19	19,5	19,0	19,0
20	36,7	36,0	35,4
21	19,3	18,5	18,8
22	34,5/ 139,1	34,0	137,9
23	28,9/ 129,8	28,0	128,8
24	46,4	45,7	45,1
25	29,8/30,6	28,9	31,3
26	20,3	19,5	19,6
27	19,7	18,7	18,9
28	23,7	22,8	23,8
29	12,5/12,3	12,0	11,6
1'	102,9	100,9	100,8
2'	75,6	73,3	73,4
3'	78,7	76,2	76,7
4'	72,0	70,0	70,1
5'	78,5/78,9	75,4	76,7
6'	63,1	61,7	61,0

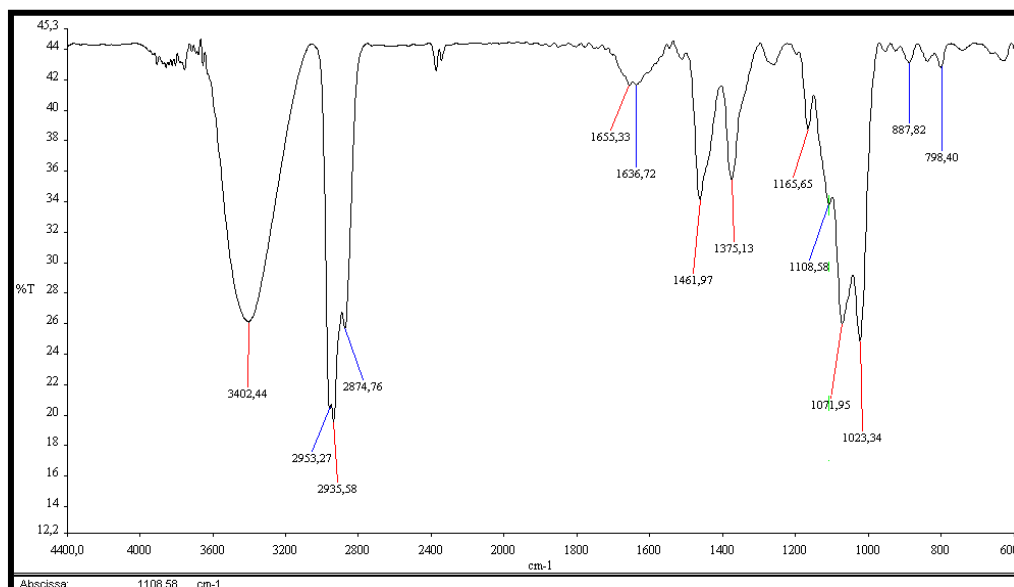


Figura 70 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP- 8 (KBr)

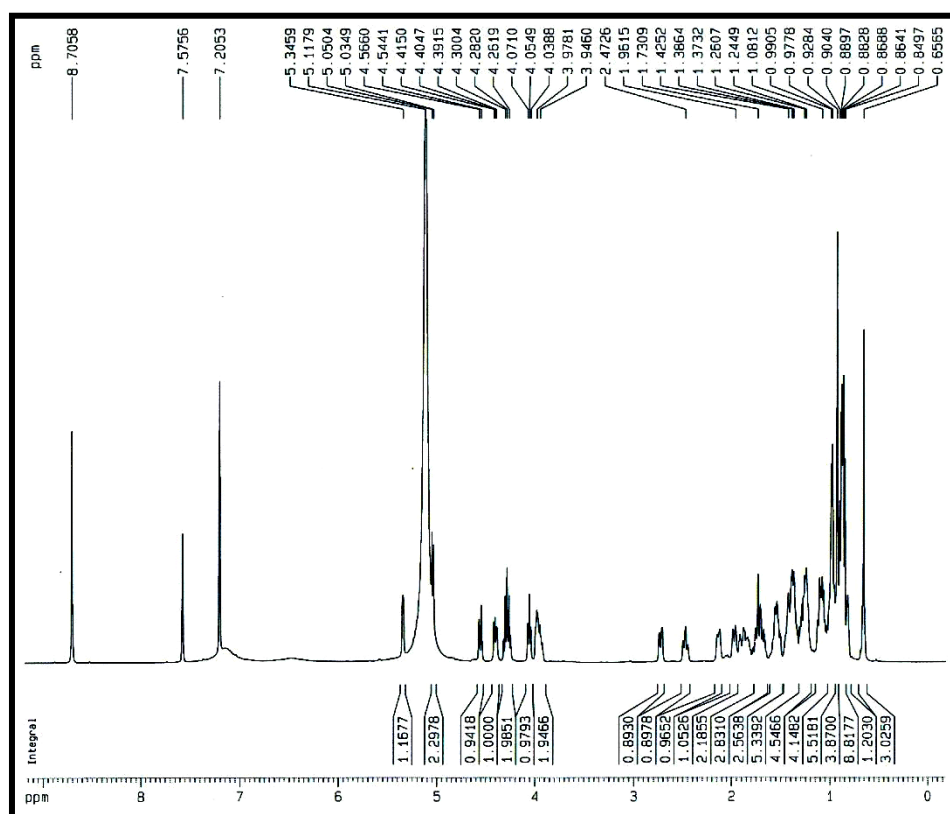


Figura 71 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP- 8

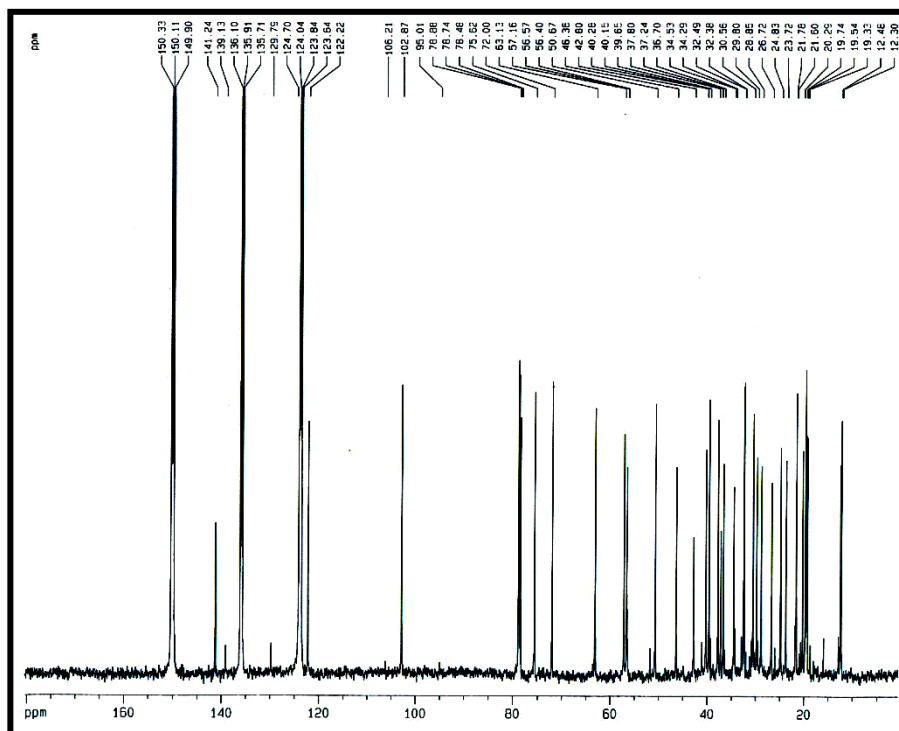


Figura 72 – Espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP- 8

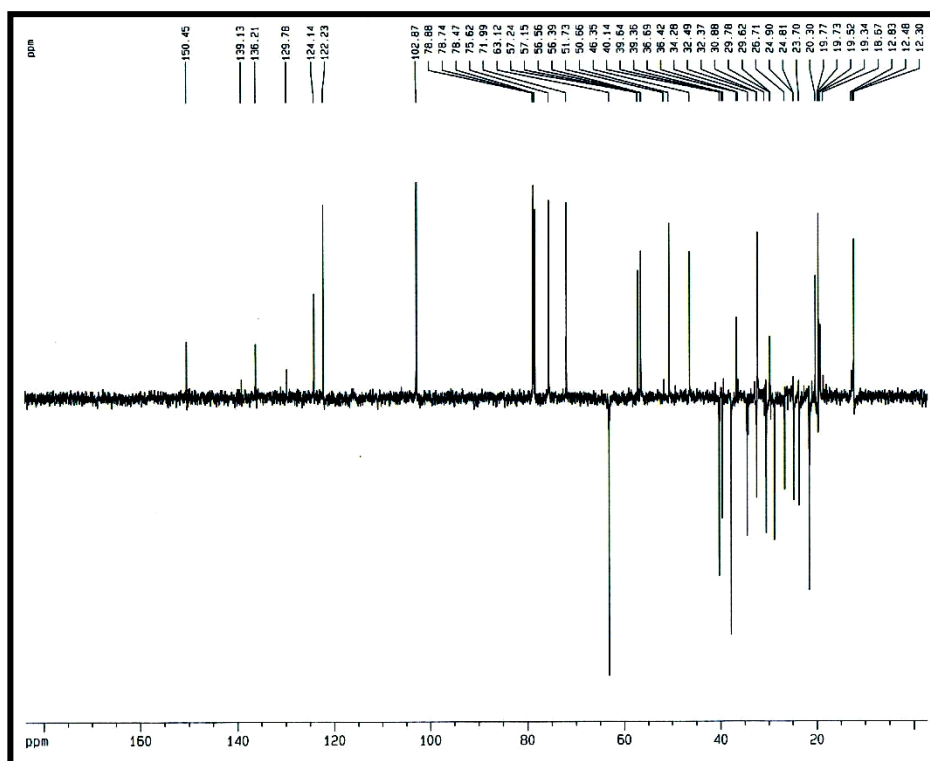


Figura 73 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$] de HP- 8

4.3.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE HP-9

O fracionamento cromatográfico da fração diclorometano, proveniente do extrato etanólico do caule de *H. patens*, forneceu um composto sólido amarelado, que foi obtido por recristalização em acetato de etila/diclorometano e denominado de HP-9.

O espectro de RMN ^1H de HP-9 (500 MHz, CD_3OD) (Fig. 76, p. 124), apresentou um sinal em δ 7,55, correspondente a dois hidrogênios equivalentes, os quais, juntamente com um duplete em δ 6,84 (1H, $J = 6$ Hz, H-5) foram associados a um anel aromático trissubstituído. Foi observado ainda um sinal simples e intenso em δ 3,89 (3H, H-8), que foi relacionado a um grupo metoxila.

No espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) (Fig. 77, p. 124) foram registradas oito linhas espectrais, das quais uma foi atribuída a um carbonila de ácido em δ 170,1 (C-7), e duas absorções foram relacionadas a carbonos aromáticos oxigenados em δ 152,7 (C-4) e 148,7 (C-3).

O espectro de absorção na região do IV (Fig. 75, p. 123) confirmou os grupos funcionais presentes na estrutura de HP-9, através da banda em 3487 cm^{-1} , característica de deformação axial de O-H e da vibração em 1681 cm^{-1} relativa a deformação axial da ligação C=O de carbonila conjugada. Também foram observadas vibrações em 1598, 1523 e 1434 cm^{-1} relacionadas a deformação axial das ligações C=C do anel aromático; além de bandas intensas características de deformação axial da ligação C-O em 1282, 1237, 1204 e 1112 cm^{-1} .

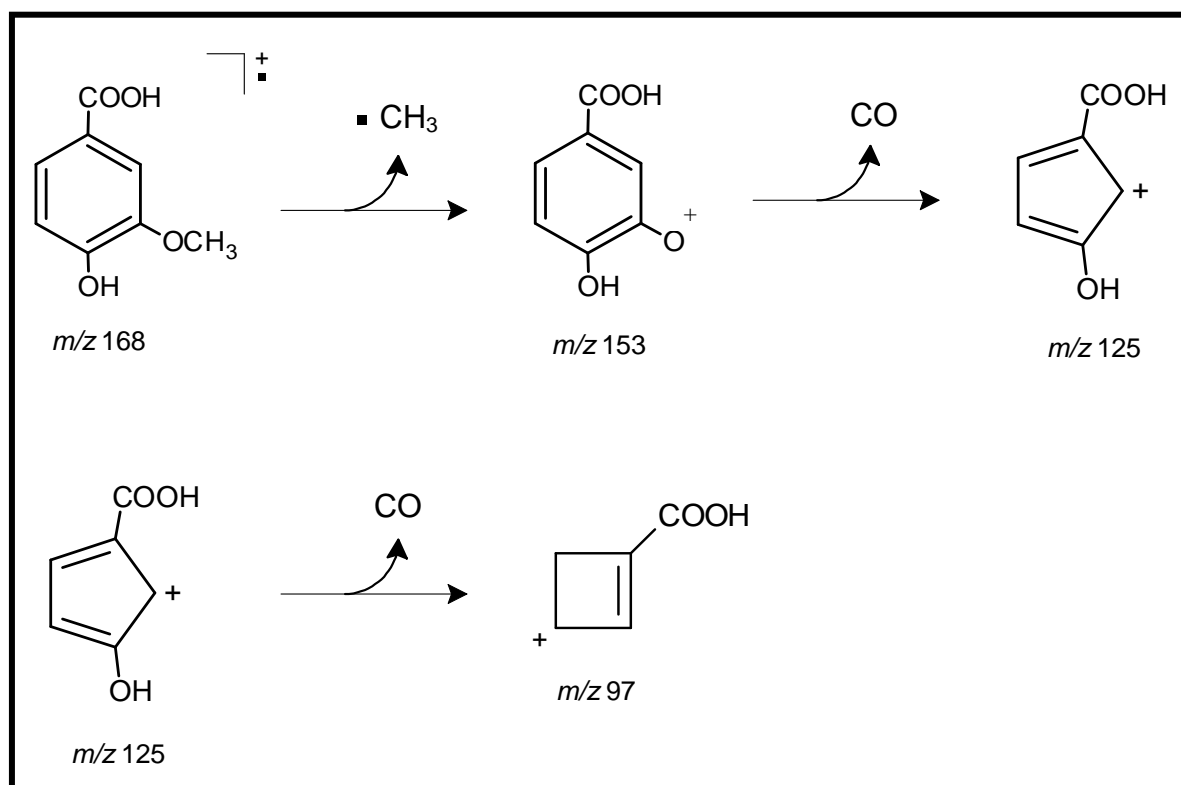
A posterior comparação dos espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) (Fig. 78, p. 125) revelou a presença de três carbonos metínicos, um carbono metílico e quatro carbonos não-hidrogenados. Estas informações, em

adição ao valor do pico do íon molecular em m/z 168 no espectro de massa (Fig. 74, p. 123), possibilitaram inferir a fórmula molecular $C_8H_8O_4$ para HP-9 (Tab. 26).

Tabela 26 – Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de HP-9 com padrão de hidrogenação RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, [125 MHz, CD_3OD].

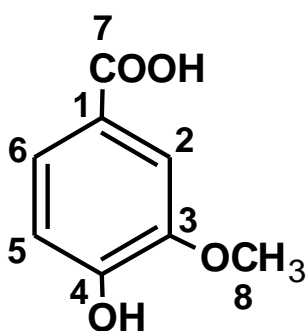
C	CH	CH ₃	Fórmula Molecular
170,1	125,3	56,4	
152,7	115,9		
148,7	113,8		
123,1			
C ₃ CO ₂ H, OH	C ₃ H ₃	CH ₃ O	C ₇ H ₆ C ₈ H ₈ O ₄

No espectro de massa, observaram-se também picos com m/z 153, 125, 125 e 97, que foram justificados pela proposta mecanística descrita no quadro 5, abaixo.



Quadro 5 – Proposta mecanística para as fragmentações que justificam os principais picos registrados no espectro de massa de HP-9

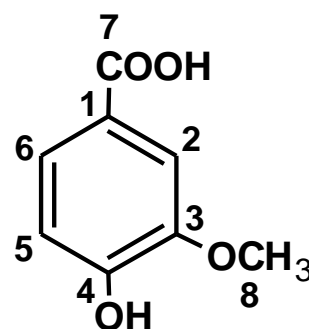
A reunião de todos os dados obtidos e a posterior comparação com dados de RMN ^{13}C descritos na literatura (Tab. 27) possibilitaram a caracterização de HP-9 como sendo o ácido vanílico [POUCHERT e BEHNK,1993]. Este composto está sendo citado pela primeira vez para *Hamelia*.



Ácido vanílico

Tabela 27 – Análise comparativa dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C de HP-9 [125 MHz, ($\text{CD}_3\text{-OD}$)] com dados da literatura.

C	HP-9	Ácido vanílico [POUCHERT e BEHNK, 1993]
	δ_{C}	δ_{C}
1	123,1	123,2
2	113,8	114,0
3	148,7	148,8
4	152,7	152,8
5	115,9	116,0
6	125,3	125,4
7	170,1	170,2
8	56,4	56,5



Ácido vanílico

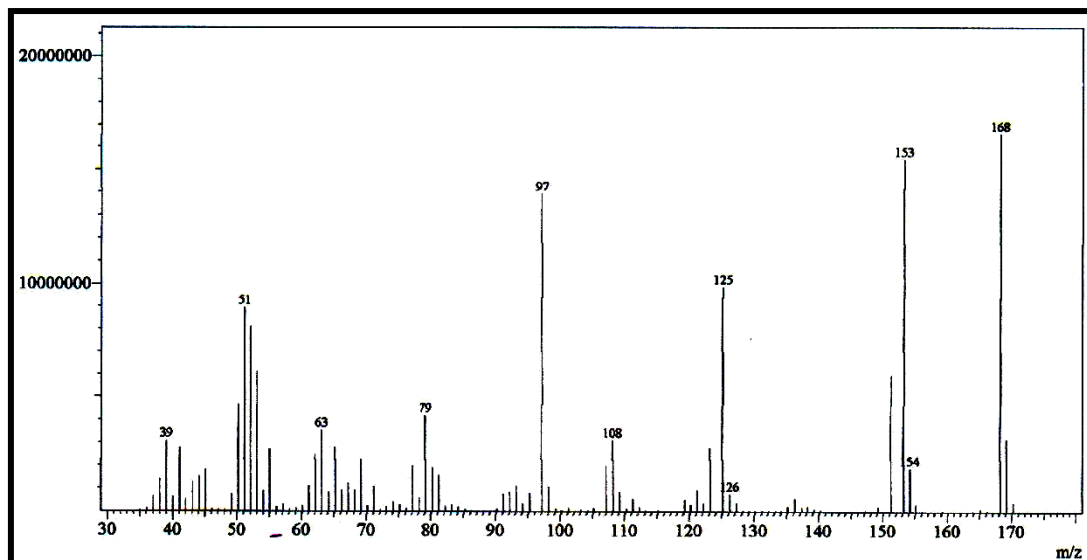


Figura 74 – Espectro de massa de HP-9 (70 eV, IE)

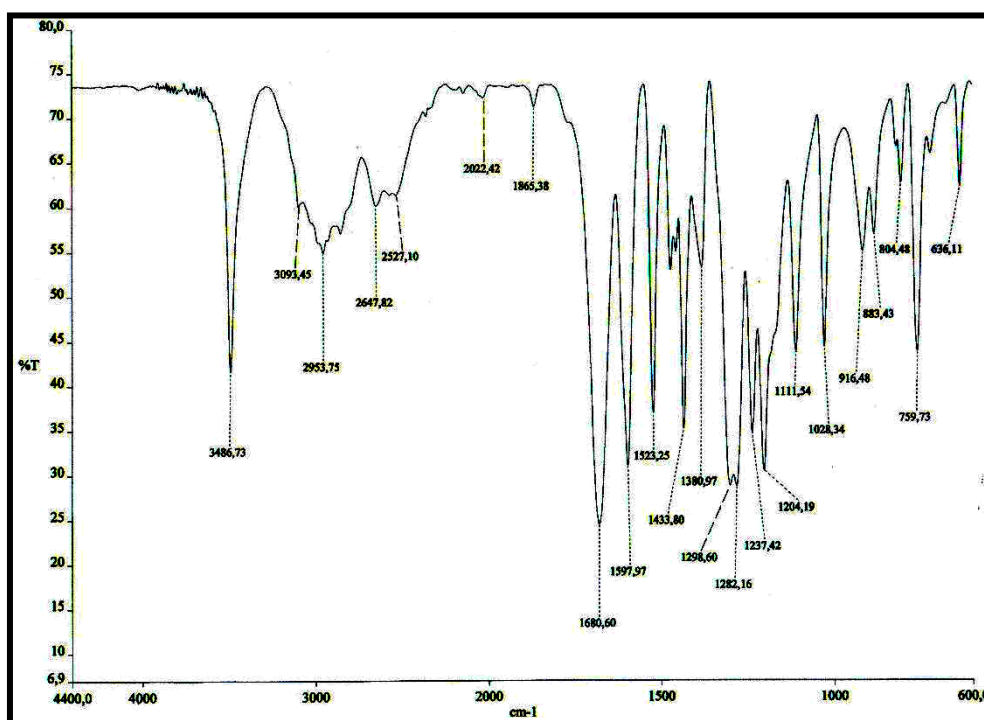


Figura 75 – Espectro de absorção na região do infravermelho de HP- 9 (KBr)

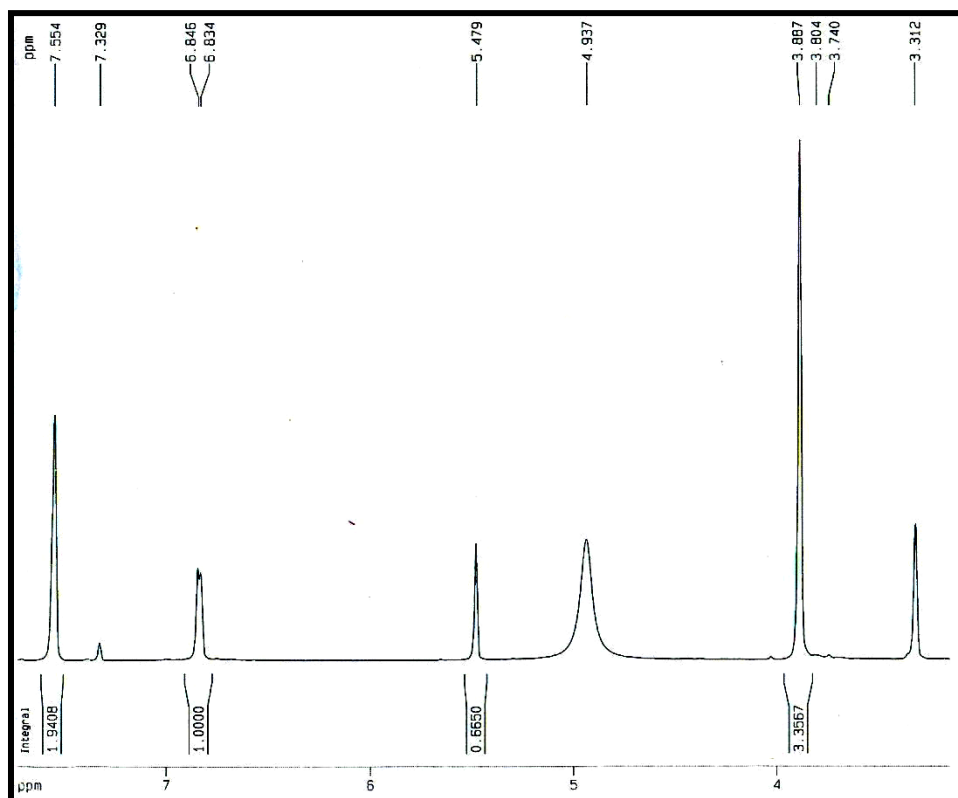


Figura 76 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, (CD_3OD)] de HP-9

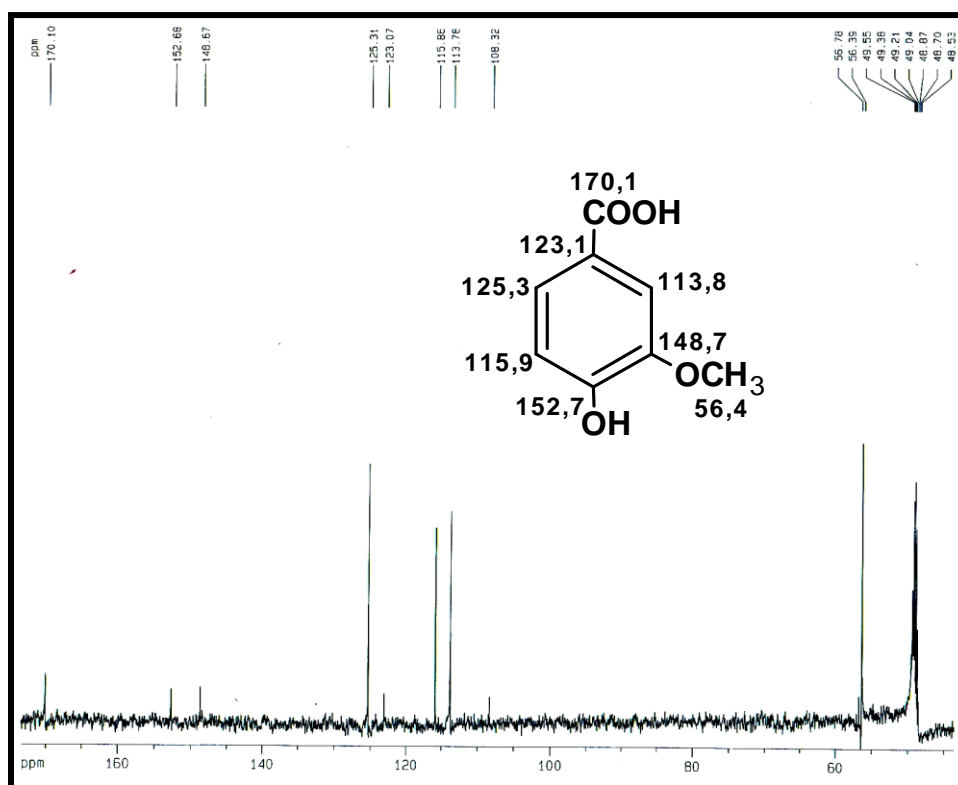


Figura 77 – Espectro de RMN ^{13}C – BB [125 MHz, (CD_3OD)] de HP-9

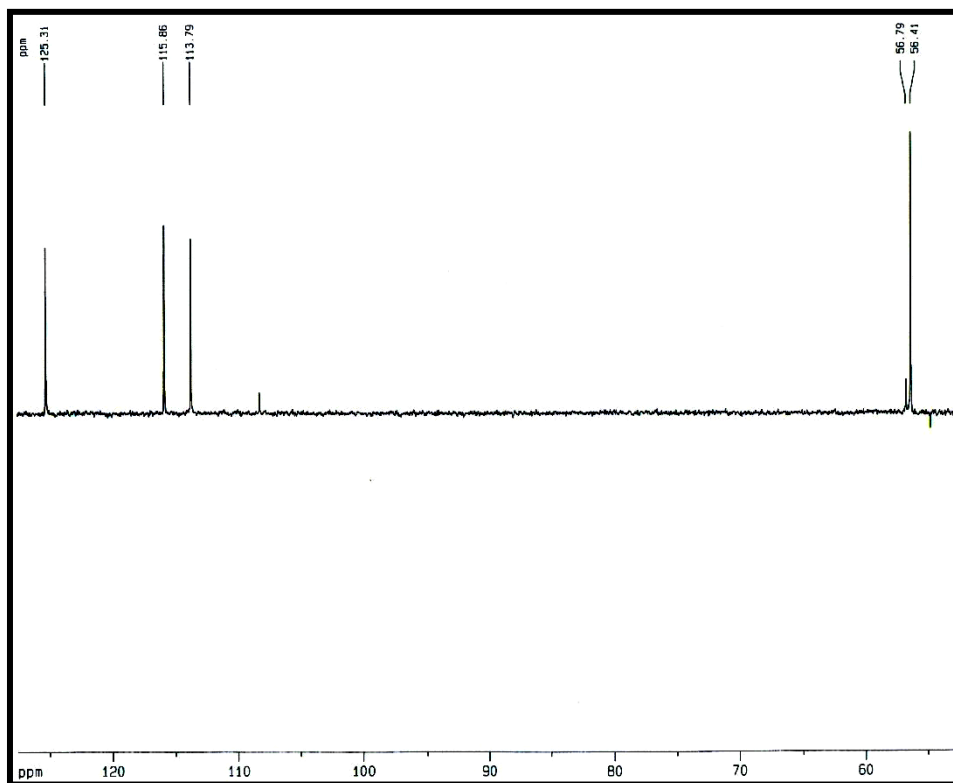


Figura 78 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT - 135° [125 MHz, (CD $_3$ OD)] de HP-9

Capítulo 5

Parte Experimental

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Métodos Cromatográficos

5.1.1 Cromatografia de Adsorção

As cromatografias de adsorção foram realizadas utilizando-se colunas de gel de sílica 60 (\varnothing 63-200 μm) e de sílica 60 para cromatografia “flash” (\varnothing 40-63 μm), da Merck. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e a quantidade de gel sílica utilizada. As colunas utilizadas nas cromatografias de adsorção sob média pressão (cromatografia flash) foram de vidro resistente à pressão e providas de bulbos no ápice, para armazenamento de solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact N° 4724059 de Ind. de Aparelhos Médicos Ltda.

Para a cromatografia de camada delgada (CCD) utilizou-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 (\varnothing 2- 25 μm) sobre alumínio da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm). As placas preparativas empregadas foram feitas utilizando-se placas de vidro de dimensões 20x20 cm com gel de sílica 60 (\varnothing 2-25 μm).

Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, acetato de etila, puros ou combinados em proporções crescentes de polaridade. Os eluentes utilizados nos tratamentos por cromatografia de adsorção sobre pressão média foram escolhidos após análise prévia das frações por CCD, a fim de permitir ao constituinte desejado (ou aquele de menor R_F) apresentar R_F próximo de 0,3. Estes eluentes escolhidos foram utilizados no empacotamento da sílica nas colunas e como eluentes de partidas no procedimento cromatográfico.

A revelação das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm),

utilizando-se aparelho Spectroline modelo ENF 240 C/F e/ou por aspersão com o Revelador de Dragendorff e solução de vanilina (C₈H₈O₃). Foi efetivado aquecimento em estufa a 100 °C por aproximadamente 5 minutos, quando o revelador era vanilina.

5.1.2 Cromatografia de exclusão

Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram efetuados em colunas contendo gel de dextrana Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals), utilizando metanol como fase móvel.

5.1.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi realizada em aparelho de marca SHIMADZU, constituído de uma bomba ternária modelo Shimadzu LC-20AT e um dectetor modelo Shimadzu SPD-M20A. Utilizando coluna Phenomenex RP-18 (250 x 10 mm, 5 µm).

Os solventes empregados como fase móvel, foram água ultra pura e metanol com grau HPLC, que foram filtrados em membrana de nylon com poros de 0,45 µm. As amostras foram dissolvidas com os solventes usados na fase móvel e filtradas num sistema manual de membrana de teflon com poros de 0,45 µm (Waters).

5.2 Métodos Espectrométricos

5.2.1 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN

¹H) e de Carbono-13 (RMN ¹³C)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 ou modelo Avance DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência do hidrogênio a 300,13 Mz e a 500,13 Mz, e na frequência do carbono a 75,47 Mz a 125,75 Mz, respectivamente.

Os solventes deuterados utilizado nas dissoluções das amostras para obtenção dos espectros foram: acetona ($\text{CD}_3)_2\text{CO}$), metanol (CD_3OD) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: acetona (δ 2,05), metanol (δ 3,31) e piridina (δ 8,74; 7,58; 7,22). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: acetona (δ 202,68; 29,92), metanol (δ 49,17) e piridina (δ 150,35; 135,91; 123,87).

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), q (quarteto), qt (quinteto) e m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C segundo a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico), CH_3 (carbono metílico).

5.2.2 Espectrometria de absorção na região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando filme de NaCl e partilha de KBr para análises das amostras.

5.2.3 Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massa de baixa resolução das substâncias isoladas foram obtidos em um espectrômetro de massa Shimadzu modelo QP5050, por impacto eletrônico a 70 eV (DQOI-UFC). O espectro de alta resolução foi adquirido usando um espectrômetro de massa Shimadzu modelo LCMS-IT-TOF (225-07100-34), equipado com fonte de ionização por *electrospray*, pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste da Universidade Federal do Ceará (LEMANOR- UFC).

5.3 Métodos Físicos

5.3.1 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram obtidos em equipamento de Microdeterminação digital da Mettler Toledo com placa aquecedora FP82HT e uma central de processamento FP90. As determinações foram realizadas a uma velocidade de 3 °C/min e não foram corrigidas.

5.4 Estudo dos Constituintes Químicos Não Voláteis de *Hamelia patens*.

5.4.1 Material botânico

Hamelia patens foi coletada no Pico Alto, município de Guaramiranga – CE, em abril de 2007, pelo professor Edilberto Rocha Silveira, pertencente ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

A identificação botânica foi realizada pelo professor Edson de Paula Nunes, do Departamento de Biologia da Universidade do Ceará. A exsicata referente à coleta encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, sob o número 39828.

5.4.2 Obtenção do extrato etanólico das folhas de *H. patens* - HPFE

As folhas de *H. patens* (330 g), depois de secas e trituradas, foram extraídas exaustivamente com etanol. Após a destilação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obteve-se um extrato de coloração esverdeada denominado HPFE (37,9 g).

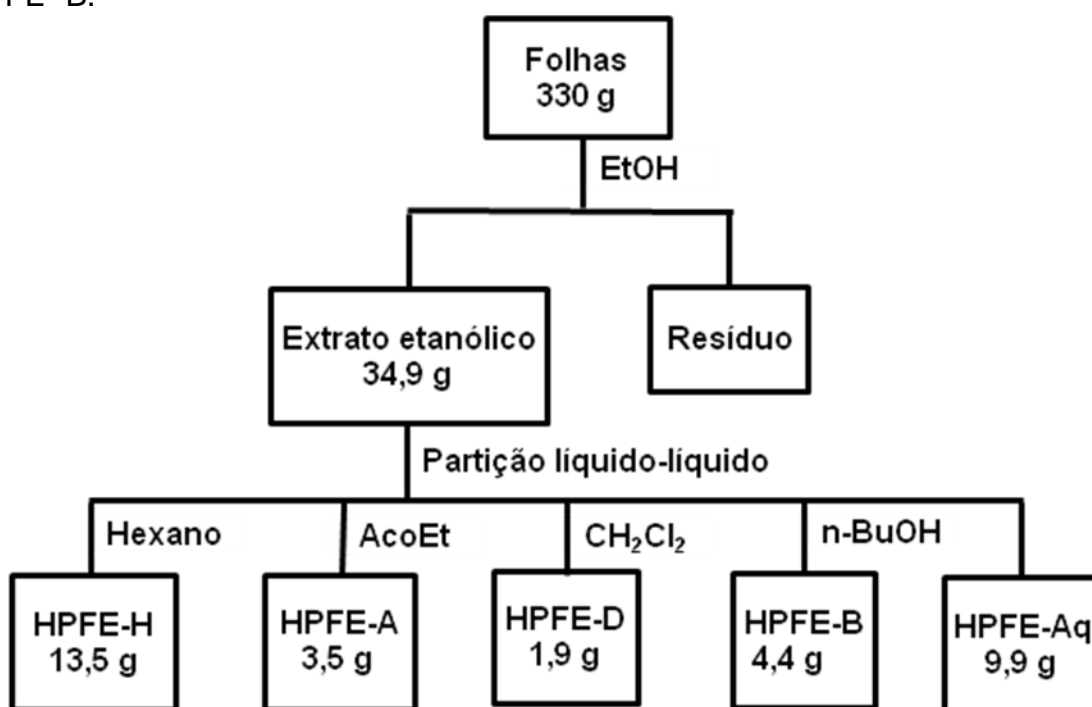
5.4.3 Particionamento do extrato etanólico das folhas de *H. patens* - HPFE

34,9 g de HPFE foram dissolvidos em 90 mL de metanol e acrescentados 300 mL de água. A solução foi submetida a uma partição líquido/líquido utilizando os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. As frações obtidas foram denominadas HPFE-H, HPFE-D, HPFE-A, HPFE-B, respectivamente (Tab. 28, Fluxograma 1, p 131).

Tabela 28 – Particionamento do extrato etanólico HPFE.

SOLVENTE	VOLUME	MASSA (g)	DENOMINAÇÃO
Hexano	600 mL	13,5	HPFE-H
Diclorometano	800 mL	1,9	HPFE-D
Acetato de etila	1150 mL	3,5	HPFE-A
<i>n</i> -Butanol	280 mL	4,4	HPFE-B
Fase aquosa	300 mL	9,9	HPFE-Aq.

A análise em CCD das frações obtidas e a posterior revelação com o reagente de Dragendorff revelaram a presença de alcalóides nas frações HPFE-D e HPFE- B.

**Fluxograma 1** - Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de *H. patens*

5.4.4 Fracionamento cromatográfico de HPFE-D

A fração HPFE-D (1,96 g) foi cromatografada em aproximadamente 27,3 g de gel de sílica 60 (\varnothing 40-63 μ m) em uma coluna de 3,0 cm de diâmetro. Para a eluição foi utilizada como eluente uma mistura binária dos solventes hexano/acetato de etila, em ordem crescente de polaridade. Deste procedimento foram obtidas 222 frações que após a análise comparativa em CCD, foram reunidas em 10 frações resultantes, conforme as suas semelhanças. (Tab. 29).

Tabela 29 – Fracionamento cromatográfico de HPFE-D .

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
HPFE-D 5	1-35	Esverdeado	15,7
HPFE-D 4	36-50	Amarelo	122,2
HPFE-D 6	51-103	Esverdeado	179,5
HPFE-D 2	104-140	Esverdeado	106,7
HPFE-D 7	141-155	Esverdeado	19,4
HPFE-D 1	156-169	Esverdeado	240,0
HPFE-D 8	170-183	Esverdeado	52,2
HPFE-D 3	184-197	Esverdeado	116,1
HPFE-D 9	198-222	Marrom	136,8
RESIDUAL	-	Verde	709,7

RENDIMENTO: 86,5%

5.4.5 Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 1: Isolamento de HP-1

A fração HPFE-D 1 (240,0 mg) foi recromatografada em 7,4 g de gel de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. Para a eluição foi utilizada uma mistura binária de hexano/acetato de etila 20%, juntamente com 5 mL hidróxido de amônio para cada 100 mL da mistura. A partir deste procedimento foram obtidas 72 frações, que foram reunidas de acordo com as suas semelhanças em 5 frações resultantes, após a análise em CCD. (Tab. 30, p. 133).

Tabela 30 – Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 1.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(156-169) 1-15	Esverdeado	9,6
(156-169) 16-32	Esverdeado	10,5
(156-169) 33-53	Esverdeado	31,8
(156-169) 54-72	Esverdeado	11,8
Residual	Esverdeado	91,3

RENDIMENTO: 64,8%

A fração 156-169 (33-53) (31,8 mg) foi submetida à cromatografia preparativa utilizando como eluente uma mistura de diclorometano/acetato de etila 50%, juntamente com 5 mL de hidróxido de amônio para cada 100 mL da mistura. Desse procedimento, obteve-se um sólido branco (10,9 mg) denominado HP-1, que foi caracterizado como sendo o alcalóide pteropodina após a análise espectroscópica (Fluxograma 2, p. 137).

5.4.6 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D 2: Isolamento de HP-2

106,7 mg da fração HPFE-D 2 foram adsorvidas sobre 7,6 g de gel de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. A coluna foi eluída com uma mistura binária de hexano/acetato de etila 25% de forma isocrática, para a obtenção de 34 frações. A posterior análise por CCD permitiu a reunião das frações semelhantes, como descrito na Tabela a seguir (Tab. 31, p. 134).

Tabela 31 - Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 2.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(104-140) 1-4	Esverdeado	6,9
(104-140) 5-23	Esverdeado	38,6
(104-140) 24-34	Esverdeado	5,3
Residual	Verde	38,4

RENDIMENTO: 83,60%

A fração 104-140 (5-23) (38,6 mg) foi recromatografada em 14,2 g de gel de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro, e utilizando como eluente uma mistura binária de hexano/acetato de etila 20%. A análise em CCD permitiu a posterior reunião das frações semelhantes como mostrado na tabela a seguir, Tab. 32.

Tabela 32 – Fracionamento cromatográfico da fração 104-140 (5-23).

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(104-140) (5-23) 1-21	Esverdeado	4,6
(104-140) (5-23) 22-42	Esverdeado	15,0
(104-140) (5-23) 43-62	Esverdeado	4,2
Residual	Verde	10,2

RENDIMENTO: 88,1%

Cromatografia preparativa da fração HPFE-D 2.1.1(15,0 mg) por eluição com uma mistura binária de hexano/acetato de etila 50%, levou à obtenção de um sólido branco (6,3 mg) denominado HP-2. A análise espectroscópica revelou HP-2 como sendo o alcalóide isopteropodina (Fluxograma 2, p. 137).

5.4.7 Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 3: Isolamento de HP-3

A fração HPFE-D 3 (116,1 mg) foi adsorvida em 10,4 g de gel de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. Após a eluição com uma mistura de diclorometano/acetato de etila 20% e 5 mL de hidróxido de amônio, foram obtidas 39 frações. A posterior análise em CCD permitiu a reunião das frações semelhantes, como descrito a seguir (Tab. 33).

Tabela 33 – Fracionamento cromatográfica de HPFE-D 3.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(184-197) 1-7	Esverdeado	3,4
(184-197) 8-18	Esverdeado	28,9
(184-197) 19-30	Esverdeado	19,0
(184-197) 31-39	Esverdeado	4,0
Residual	Marrom	14,4

RENDIMENTO: 60,0%

A fração 184-197 (8-18) (28,9 mg) foi adsorvida sob uma cromatoplaça preparativa e eluída com uma mistura dos solventes diclorometano/acetato de etila 30% contendo 5 mL de hidróxido de amônio, levando à obtenção de um sólido branco (5,4 mg) denominado de HP-3 (Fluxograma 2, pag. 137). Após a análise espectroscópica HP-3 que foi caracterizado como sendo o alcalóide palmirina.

5.4.8 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-D 4: Isolamento de HP-4

A fração HPFE-D 4 (122,2 mg), foi recromatografada em aproximadamente 8,5 g de gel de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. Para a eluição foi utilizada uma mistura binária de hexano/acetato de etila 30%. Ao final deste procedimento foram obtidas 10 frações, que após a análise

em CCD foi possível à reunião de frações semelhantes em 4 frações resultantes, como detalhado a seguir (Tab. 34).

Tabela 34 – Fracionamento cromatográfico de HPFE-D 4.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(36-50) 1	Esverdeado	3,0
(36-50) 2-4	Amarelo	33,1
(36-50) 5-7	Esverdeado	1,4
(36-50) 8-10	Esverdeado	5,7
Residual	Marrom	77,9

RENDIMENTO: 93,1%

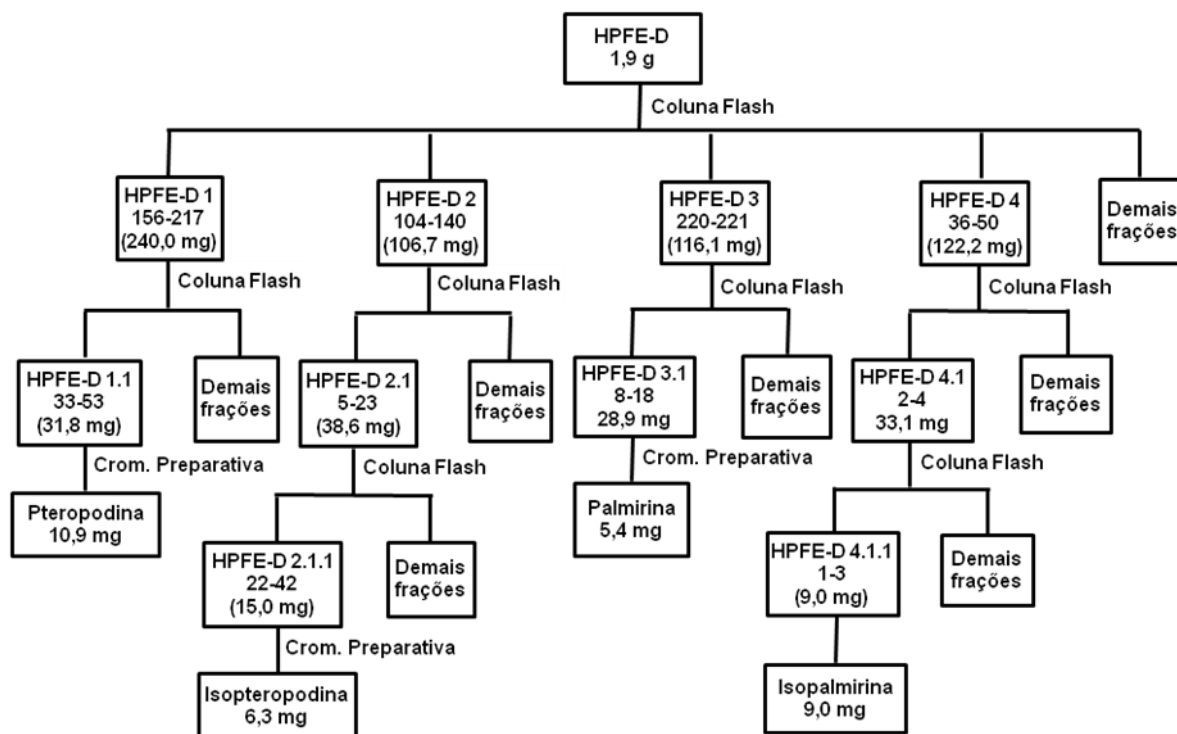
A fração 36-50 (2-4) (33,1 mg) foi recromatografada em 7,4 g de gel de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro, e utilizando como eluente uma mistura binária de hexano/acetato de etila 20%. A análise em CCD permitiu a posterior reunião das frações semelhantes como mostrado na tabela a seguir, Tab. 35.

Tabela 35 – Fracionamento cromatográfico da fração 36-50 (2-4).

FRAÇÕES REUNIDAS	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(36-50) (2-4) 1-3	Amarelo	9,0
(36-50) (2-4) 4-7	Esverdeado	7,9
(36-50) (2-4) 8-10	Esverdeado	2,1
(36-50) (2-4) 11-14	Esverdeado	0,2
Residual	Esverdeado	13,2

RENDIMENTO: 97,9%

A fração (36-50) (2-4) 1-3 (9,0) mg, um sólido amarelo, foi denominado de HP-4, e caracterizado como o alcalóide isopalmirina (Fluxograma 2).



Fluxograma 2 - Fracionamento cromatográfico de HPFE-D

5.4.9 Fracionamento Cromatográfico de HPFE-B: Isolamento de HP-10

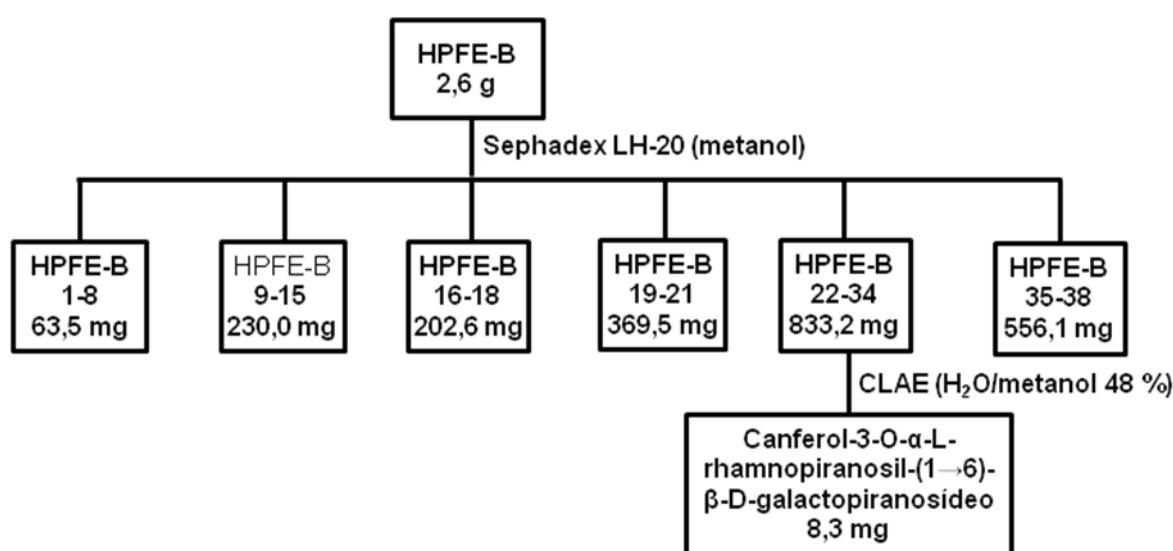
A fração HPFE-B (2,57 g) foi cromatografada em uma coluna ($\varnothing = 5$ cm e $h = 21$ cm) contendo Sephadex LH-20, usando metanol como eluente. A partir desse fracionamento foram coletadas 38 frações que após a análise comparativa por CCD, as frações semelhantes foram reunidas em seis frações resultantes (Tab. 36, p. 138).

Tabela 36 – Fracionamento cromatográfico de HPFE-B.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
1-8	Marrom	63,5
9-15	Marrom	230,0
16-18	Marrom	202,6
19-21	Marrom	369,5
22-34	Marrom	833,2
35-38	Marrom	556,1

REDIMENTO: 87,5 %

A fração 22-34 (833,2 mg) foi recromatografada em CLAE, utilizando uma coluna em fase reversa Phenomenex e uma fase móvel composta por uma solução de H₂O/metanol 48%, em um fluxo de 4,72 mL/min. Este procedimento resultou no isolamento de 8,3 mg de um sólido marrom denominado de HP-10 e caracterizado como sendo o flavonóide Canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo (Fluxograma 3).

**Fluxograma 3** - Fracionamento cromatográfico de HPFE-B

5.5 Obtenção do extrato etanólico dos talos de *H. patens* - HPTE

Os talos de *H. patens* (320 g), depois de secos e triturados, foram extraídos exaustivamente com etanol. Após a destilação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obteve-se um extrato de coloração esverdeada denominado HPTE (7,3 g).

5.5.1 Particionamento do extrato etanólico dos talos de *H. patens* - HPTE

7,3 g de HPTE foram dissolvidos em 10 mL de metanol e acrescentados 80 mL de água. A solução foi submetida a uma partição líquido/líquido utilizando os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. As frações obtidas foram denominadas HPTE-H, HPTE-D, HPTE-A, HPTE-B, respectivamente (Tab. 37).

Tabela 37 – Particionamento do extrato etanólico HPTE.

SOLVENTE	VOLUME	MASSA (mg)	DENOMINAÇÃO
Hexano	150 mL	1395	HPFE-H
Diclorometano	250 mL	856	HPFE-D
Acetato de etila	400 mL	241	HPFE-A
n-Butanol	280 mL	490	HPFE-B
Fase aquosa	120 mL	3219	HPFE-Aq.

5.5.2 Fracionamento cromatográfico de HPTE-D: Isolamento de HP-5

A fração HPTE-D (856 mg) foi cromatografada em aproximadamente 20,5 g de gel de sílica 60 (\emptyset 40-63 μ m) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. Foi utilizada como eluente uma mistura binária de hexano/acetato de etila, em ordem crescente de polaridade. Ao final deste procedimento foram obtidas 154 frações, que após a análise comparativa em CCD, foram reunidas em 10 frações resultantes. (Tab. 38, p. 140).

Tabela 38 – Fracionamento cromatográfico de HPTE-D.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
1-6	Esverdeado	31,6
7-9	Amarelo	21,9
10-15	Esbranquiçado	56,4
16-41	Branco	11,6
42-51	Amarelo	14,0
52-64	Amarelo	15,2
65-90	Amarelo	15,4
91-119	Esverdeado	107,2
120-154	Marrom	99,4
Residual	Verde	231,8

RENDIMENTO: 74,1%

Da fração HPTE-D (16-41) obteve-se um sólido amorfo branco (11,6 mg) denominado de HP-5, que após análise espectroscópica foi caracterizado como sendo o ácido ursólico (Fluxograma 4, p. 142).

5.5.3 Fracionamento Cromatográfico de HPTE-H: Isolamento de HP-6 e HP-7

A fração HPTE-H (1395 mg) foi cromatografada em aproximadamente 49,8 g de gel de sílica 60 (\varnothing 40-63 μ m) em uma coluna de 3,0 cm de diâmetro. Para a eluição foi utilizado o solvente diclorometano de forma isocrática. Ao final deste procedimento foram obtidas 192 frações, que após a análise comparativa em CCD, foram reunidas em 10 frações resultantes (Tab. 39, p. 141).

Tabela 39 – Fracionamento cromatográfico de HPTE-H.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
1-18	Esverdeado	136,2
19-34	Amarelo	54,6
35-38	Amarelo	39,9
39-47	Verde	208,7
48-82	Amarelo	109,7
83-119	Amarelo	33,3
120-154	Esverdeado	24,5
155-185	Esverdeado	13,2
186-192	Esverdeado	6,4
Residual	Verde	489,7

RENDIMENTO: 80,0%

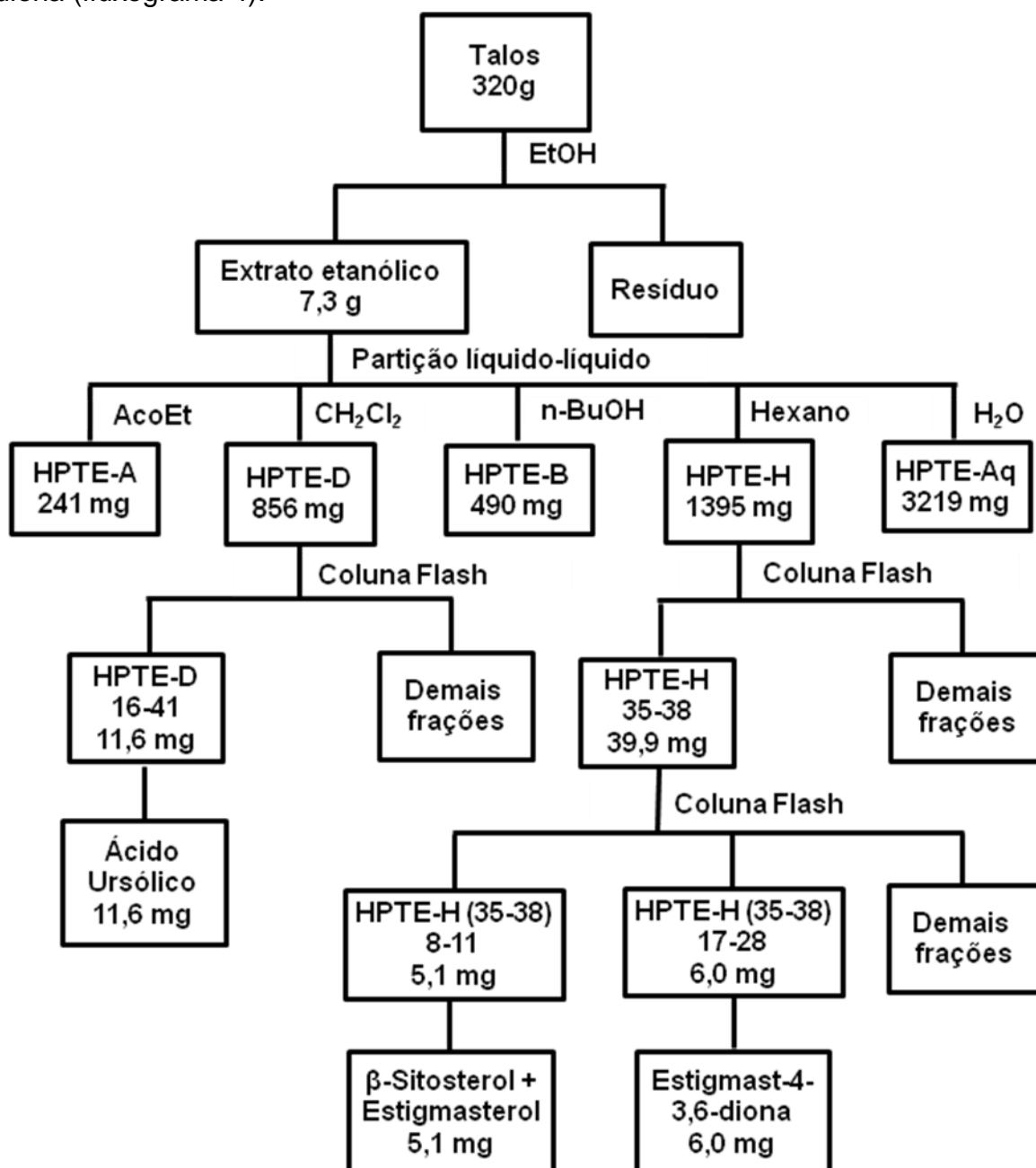
A fração 35-38 (39,9 mg) foi recromatografada em 8,9 g de gel de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro, e utilizando diclorometano como eluente. A análise em CCD permitiu a posterior reunião das frações semelhantes como mostrado na tabela a seguir, Tab. 40.

Tabela 40 – Fracionamento cromatográfico da fração 35-38.

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(35-38) 1-7	Branco	2,1
(35-38) 8-11	Amarelo	5,1
(35-38) 12-16	Amarelo	5,6
(35-38) 17-28	Branco	6,0
(35-38) 29-31	Branco	1,4
(35-38) 32-37	Branco	1,9
Residual	Esverdeado	16,5

RENDIMENTO: 80,0%

A fração 35-38 (8-11), contendo um sólido branco (5,1 mg), foi denominada de HP-6 e caracterizada como sendo a mistura de esteróides β -sitosterol e stgmasterol. Da fração HPTE-H (35-38) (17-28), obteve-se um sólido amarelo (6,0 mg), que foi denominado de HP-7 e caracterizado como sendo o Estigmast-4-en-3,6-diona (fluxograma 4).



Fluxograma 4 - Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de *H. patens*

5.6 Obtenção do extrato etanólico do caule de *H. patens* - HPCE

2,6 Kg de caule de *H. patens*, depois de secos e triturados, foram extraídos exaustivamente com etanol. Após a destilação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obteve-se um extrato de coloração vermelha denominado HPCE (71,7 g).

5.6.1 Particionamento do extrato etanólico do caule de *Hamelia patens*-HPCE

71,7 g de HPCE foram dissolvidos em 30 mL de metanol e acrescentados 200 mL de água. A solução foi submetida a uma partição líquido/líquido utilizando os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. As frações obtidas foram denominadas HPCE-H, HPCE-D, HPCE-A, Tab. 41.

Tabela 41 – Particionamento do extrato etanólico HPCE.

SOLVENTE	VOLUME	MASSA (g)	DENOMINAÇÃO
Hexano	900 mL	3,940	HPCE-H
Diclorometano	1000 mL	1,657	HPCE-D
Acetato de etila	1100 mL	0,836	HPCE-A
Fase aquosa	400 mL	52,6	HPFC-Aq.

5.6.2 Fracionamento Cromatográfico de HPCE-D: Isolamento de HP-8

A fração HPCE-D (1657 mg) foi cromatografada em aproximadamente 28,8 g de gel de sílica 60 (\varnothing 40-63 μ m) em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro. Foi utilizada como eluente uma mistura binária de clorofórmio/metanol, em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 109 frações, que após a análise comparativa em CCD, apresentaram a reunião de frações semelhantes. Estas se encontram detalhadas a seguir (Tab. 42, p. 144).

Tabela 42 – Fracionamento cromatográfico de HPCE-D .

FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
1-14	Amarelo	67,0
15-19	Esverdeado	96,3
20-32	Esverdeado	243,0
33-43	Esverdeado	102,1
44-52	Esverdeado	45,8
53-56	Esverdeado	14,6
59-61	Esverdeado	318,0
62-77	Marron	129,6
78-109	Marron	122,1
Residual	Verde	14,2

RENDIMENTO: 69,5%

A fração 59-61 (318,0 mg) foi recromatografada em 18,3 g de gel de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro, e utilizando como eluente uma mistura binária diclorometano/metanol 5%, de forma isocrática. A análise em CCD permitiu a posterior reunião das frações semelhantes como mostrado na tabela a seguir, Tab. 43.

Tabela 43 – Fracionamento cromatográfico da fração 59-61.

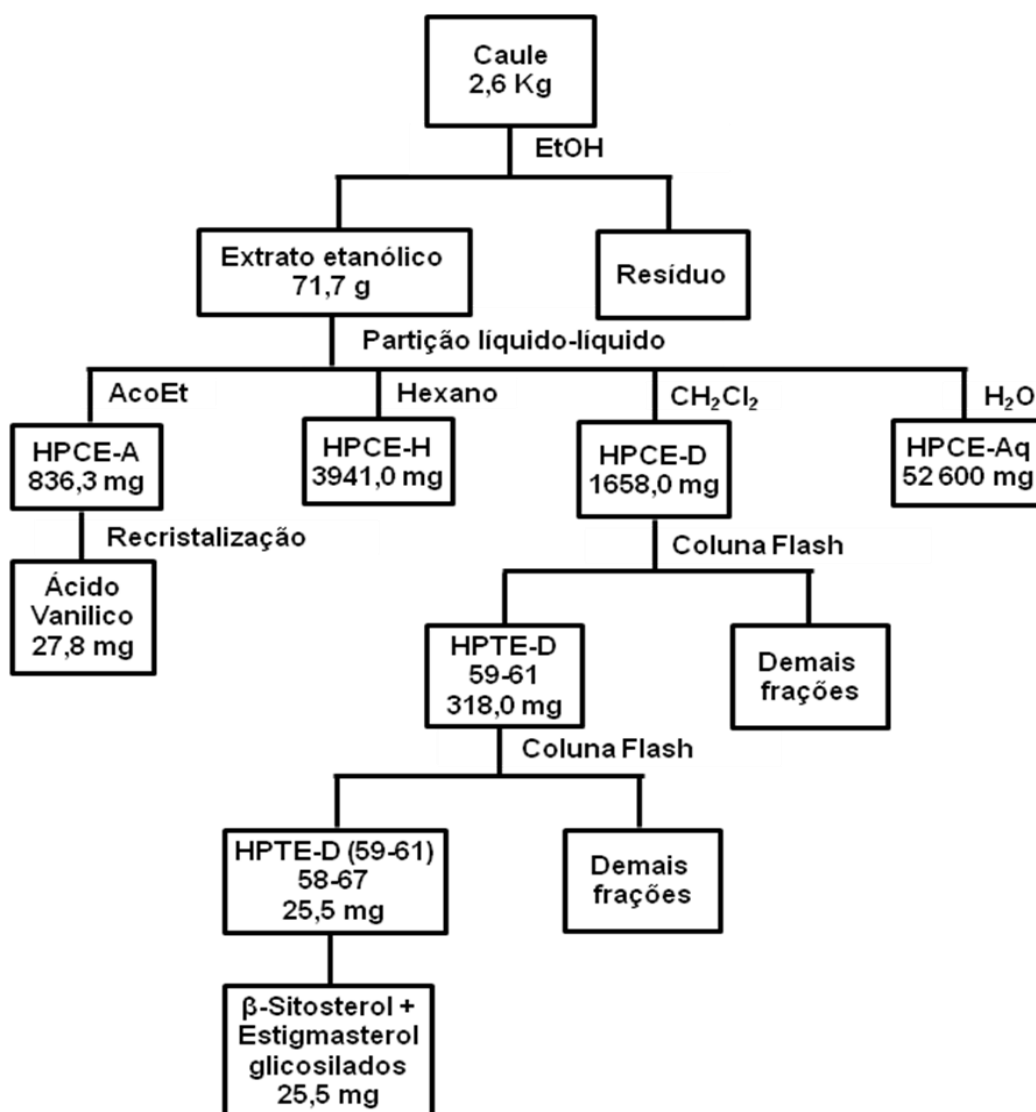
FRAÇÕES	COLORAÇÃO	MASSA (mg)
(59-61) 1-3	Branco	2,5
(59-61) 4-21	Esverdeado	4,8
(59-61) 22-30	Esverdeado	3,0
(59-61) 31-57	Amarelo	29,7
(59-61) 58-67	Branco	25,5
(59-61) 68-85	Esbranquiçado	29,6
Residual	Marron	137,5

RENDIMENTO: 73,2%

A fração HPCE-D(59-61)(58-67), contendo um sólido branco (25,5 mg), foi denominada de HP-8 e caracterizada como sendo a mistura do β -Sitosterol e estigmasterol glicosilados, conforme fluxograma 5.

5.6.3 Recristalização da Fração HPCE-A: Isolamento de HP-9

Da partição líquido-líquido do extrato etanólico do caule com acetato de etila (HPCE-A), obteve-se um sólido marrom escuro (836,3 mg), que foi recristalizado em $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 50%. Este composto foi denominado de HP-8 e caracterizado como sendo a ácido vanílico, conforme fluxograma 5.



Fluxograma 5 - Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico do caule de *H. patens*

Capítulo 6

Conclusão

6 CONCLUSÃO

O estudo dos constituintes químicos não-voláteis das folhas de *Hamelia patens* possibilitou o isolamento de quatro alcalóides oxindólicos pentacíclicos: isopteropodina, pteropodina, palmirina e isopalmerina, sendo que os três primeiros já possuem relato para esta espécie, porém, a isopalmirina está sendo relatada pela primeira vez na literatura. O estudo das folhas, possibilitou ainda o isolamento do flavonóide canferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopiranosídeo de caráter inédito para o gênero *Hamelia*.

O estudo dos constituintes não-voláteis dos talos de *Hamelia patens* levou ao isolamento do esteróide estigmast-4-en-3,6-diona e da mistura de esteróides β -sitosterol e estigmasterol, além do triterpeno de esqueleto ursano (ácido ursólico). A investigação preliminar do caule resultou no isolamento de esteróides β -sitosterol e estigmasterol glicosilados e de um ácido fenólico, caracterizado como ácido vanílico.

Dados da literatura revelam a pteropodina como uma droga estimulante na produção de linfócitos e também na modulação positiva de receptores muscarínicos M1 e 5-HT-2. Por outro lado, a fração alcaloídica das folhas de vários espécimens de *H. patens*, demonstraram efeito relaxante do miométrio em teste *in vivo* com ratos [BORGES et al., 1981].

Capítulo 7

Constantes Físicas

7 CONSTANTES FÍSICAS

HP-1

Nome: Pteropodina

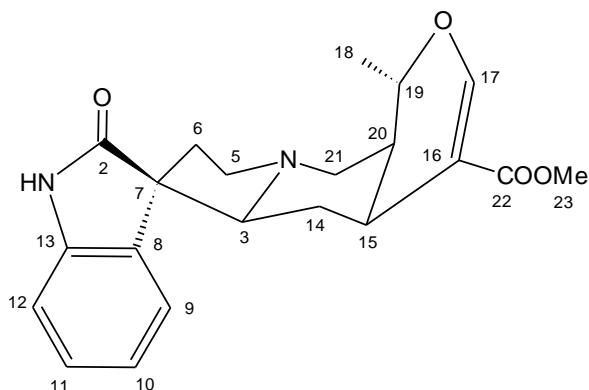
Fórmula molecular: C₂₁H₂₄N₂O₄

Massa Molecular: 368

Solubilidade: (CD₃)₂CO

Ponto de Fusão: 211,7 – 212,3 °C

Aspecto: Sólido branco amorfo

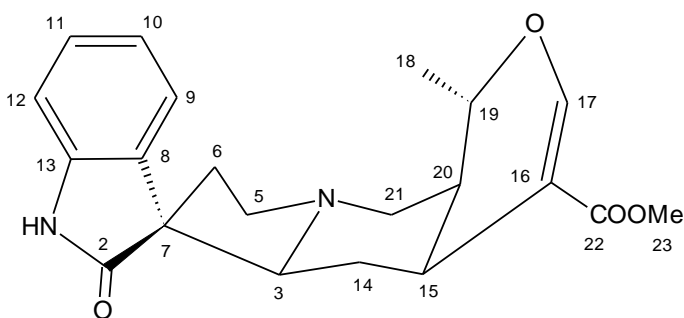


Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) - δ (multiplicidade, constante de acoplamento, correlações estruturais):

δ 1,36 (d, *J* = 6,2 Hz, H – 18), δ 1,47 (m, H – 14), δ 1,61 (m, H – 20), δ 1,64 (m, H-14) δ 1,95 (ddd *J* = 7,6; 5,1; 0,84 Hz, H – 6), δ 2,29 (m, H – 6), δ 2,34 (m, H – 3), δ 2,34 (m, H – 5), δ 2,40 (m, H – 15), δ 2,44 (m, 1H – 21), δ 3,20 (m, H – 15), δ 3,33 (m, H – 21), δ 3,54 (s, H – 23), δ 4,49 (m, H – 19), δ 6,88 (d, *J* = 7,7 Hz, H – 12), δ 7,01 (dt, *J* = 7,7; ,85 Hz, H – 10), δ 7,18 (dt, *J* = 7,7; 1,0 Hz, H – 11), δ 7,30 (d, *J* = 7,4 Hz, H-9), δ 7,40 (s, H – 17).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, (CD₃)₂CO) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ 18,9 (CH₃, C – 18), δ 30,9 (CH₂, C – 14), δ 32,1 (CH, C – 15), δ 35,4 (CH₂, C – 6), δ 38,9 (CH, C – 20), δ 51,1 (CH₃, C – 23), δ 54,0 (CH, C – 5), δ 55,7 (CH₂, C – 21), δ 56,9 (C, C – 7), δ 73,2 (CH, C – 19), δ 75,2 (CH, C – 3), δ 109,9 (CH, C – 12), δ 110,9 (C, C – 16), δ 122,9 (CH, C – 10), δ 124,2 (CH, C – 9), δ 128,8 (CH, C – 11), δ 134,9 (C, C – 8), δ 142,9 (C, C – 13), δ 155,5 (CH, C – 17), δ 167,8 (C, C – 22), δ 180,5 (C, C – 2).

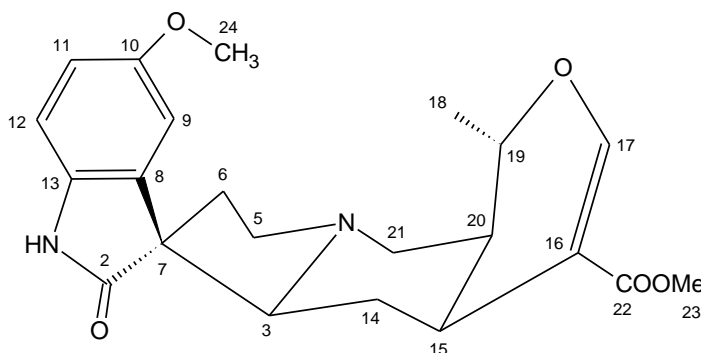
HP-2**Nome:** Isopteropodina**Fórmula molecular:** C₂₁H₂₄N₂O₄**Massa Molecular:** 368**Solubilidade:** (CD₃)₂CO**Ponto de Fusão:** 204,3 – 205,5 °C**Aspecto:** Sólido branco amorfo

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) - δ (multiplicidade, constante de acoplamento, integração):

δ0,87 (m, H – 14), δ1,41 (d, *J* = 6,2 Hz, H – 18), δ1,56 (m, H – 14), δ1,63 (dt, *J* = 13,1; 3,7 Hz, H – 20), δ1,94 (m, H – 6), δ2,29 (m, H – 6), δ2,36 (m, H – 3), δ2,41 (m, H – 5), δ2,44 (m, H – 21), δ2,46 (m, H – 15), δ3,27 (m, H – 21), δ3,39 (dd, *J* = 13,1; 3,7 Hz, H – 5), δ3,54 (s, H – 23), δ4,37 (m, H – 19), δ6,97 (dt, *J* = 7,7; 0,9 Hz, H – 10), δ7,16 (dt, *J* = 7,7; 1,3 Hz, H – 11), δ7,30 (d, *J* = 6,6 Hz, H – 9), δ7,37 (s, H – 17), δ7,70 (d, *J* = 7,7 Hz, H – 12).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, (CD₃)₂CO) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ18,9 (CH₃, C – 18), δ31,3 (CH₂, C – 14), δ31,7 (CH, C – 15), δ35,5 (CH₂, C – 6), δ39,1 (CH, C – 20), δ51,1 (CH₃, C – 23), δ54,3 (CH₂, C – 21), δ54,8 (CH, C – 5), δ57,7 (C, C – 7), δ72,3 (CH, C – 3), δ73,2 (CH, C – 19), δ110,2 (CH, C – 12), δ112,0 (C, C – 16), δ122,7 (CH, C – 10), δ125,4 (CH, C – 9), δ128,6 (CH, C – 11), δ134,8 (C, C – 8), δ142,5 (C, C – 13), δ155,3 (CH, C – 17), δ167,7 (C, C – 22), δ180,5 (C, C – 2).

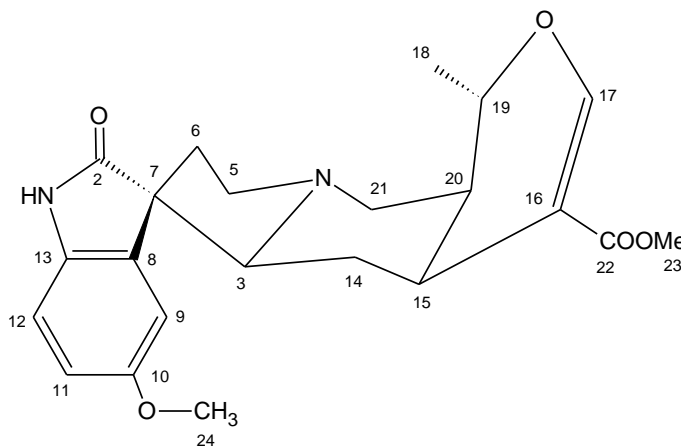
HP-3**Nome:** Palmirina**Fórmula molecular:** C₂₂H₂₆N₂O₅**Massa Molecular:** 398**Solubilidade:** (CD₃)₂CO**Ponto de Fusão:** 100,3 – 101,1 °C**Aspecto:** Sólido branco amorfo

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) - δ(multiplicidade, constante de acoplamento, integração):

δ 1,37 (d, *J* = 6,2 Hz, H – 18), δ 1,48 (m, H – 14), δ 1,61 (m, H – 20), δ 1,66 (m, H – 14), δ 1,96 (ddd, *J* = 6,85; 5,0; 0,85, H – 6), δ 2,31, (m, H – 6), δ 2,37 (m, H – 3), δ 2,37 (m, H – 21), δ 2,42 (m, H – 15), δ 2,46 (m, H – 5), δ 3,19 (m, H – 21), δ 3,34 (dd, *J* = 11,9; 1,8 Hz, H – 5), δ 3,55 (s, H – 23), δ 3,78 (s, H – 24), δ 4,50 (m, H – 19), δ 6,76 (m, H – 11), δ 6,80 (m, H – 9), δ 6,95 (d, *J* = 2,4 Hz, H -12), δ 7,46 (s, H – 17).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, (CD₃)₂CO) - δ(padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ 18,9 (CH₃, C – 18), δ 30,9 (CH₂, C – 14), δ 32,1 (CH, C – 15), δ 35,4 (CH₂, C – 6), δ 37,6 (CH, C – 20), δ 51,1 (CH₃, C – 23), δ 54,0 (CH₂, C – 21), δ 55,7 (CH, C – 5), δ 56,0 (CH₃, C – 24), δ 57,4 (C, C – 7), δ 73,2 (CH, C – 19), δ 73,3 (CH, C – 3), δ 110,2 (CH, C – 9), δ 110,9 (C, C – 16), δ 111,4 (CH, C – 12), δ 113,2 (CH, C – 11), δ 133,8 (C, C – 13), δ 136,2 (C, C – 8), δ 155,5 (CH, C – 17), δ 156,7 (CH, C – 10), δ 167,8 (C, C – 22), δ 180,5 (C, C – 2).

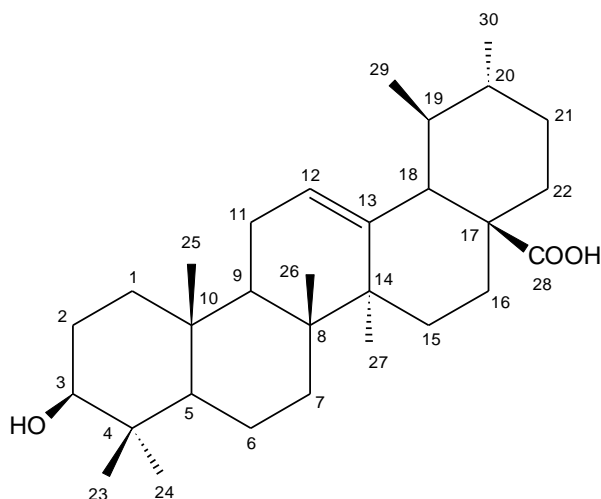
HP-4**Nome:** Isopalmirina**Fórmula molecular:** C₂₂H₂₆N₂O₅**Massa Molecular:** 398**Solubilidade:** (CD₃)₂CO**Ponto de Fusão:** 111,7-113,0 °C**Aspecto:** Sólido amarelo amorfo

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) - δ (multiplicidade, constante de acoplamento, integração):

δ 1,37 (d, J = 6,5 Hz, H - 18), δ 1,43 (m, H - 14), δ 1,72 (m, H - 20), δ 2,26 (m, H - 14), δ 2,26 (m, H - 6), δ 2,51 (m, H - 5), δ 2,84 (m, H - 21), δ 2,84 (m, H - 15), δ 2,91, (m, H - 6), δ 3,01 (m, H - 5), δ 3,18 (d, J = 12,5 Hz, H - 21), δ 3,29 (m, H - 3), δ 3,68 (s, H - 24), δ 3,77 (s, H - 23), δ 4,50 (m, H - 19), δ 6,68 (dd, J = 9,0; 2,5 Hz, H - 11), δ 6,89 (d, J = 2,0 Hz, H - 9), δ 7,18 (d, J = 8,5 Hz, H - 12), δ 7,50 (s, H - 17).

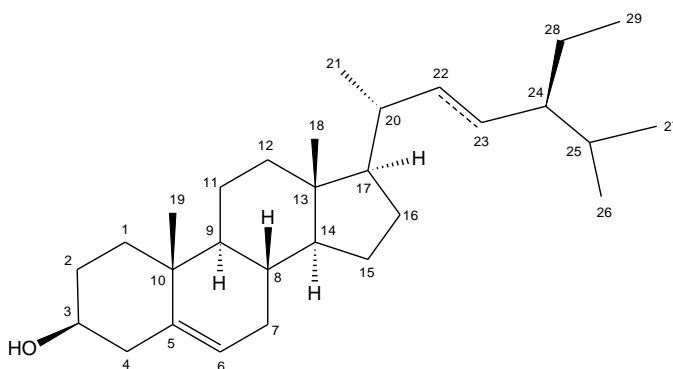
Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, (CD₃)₂CO) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ 17,7 (CH₃, C - 18), δ 31,4 (CH, C - 15), δ 34,1 (CH₂, C - 6), δ 24,8 (CH₂, C - 14), δ 38,5 (CH, C - 20), δ 51,1 (CH₃, C - 23), δ 56,1 (CH₂, C - 21), δ 53,3 (CH, C - 5), δ 55,1 (CH₃, C - 24), δ 56,1 (C, C - 7), δ 60,2 (CH, C - 3), δ 72,3 (CH, C - 19), δ 100,0 (CH, C - 9), δ 110,1 (C, C - 16), δ 111,4 (CH, C - 12), δ 110,3 (CH, C - 11), δ 133,0 (C, C - 13), δ 136,0 (C, C - 8), δ 154,8 (CH, C - 17), δ 153,9 (CH, C - 10), δ 167,0 (C, C - 22), δ 175,0 (C, C - 2).

HP-5**Nome:** Ácido ursólico**Fórmula molecular:** C₃₀H₄₈O₃**Massa Molecular:** 456**Solubilidade:** C₅D₅N**Ponto de Fusão:** 259,7 – 260,5 °C**Aspecto:** Sólido branco amorfo

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ 16,0 (CH₃, C – 25), δ 16,9 (CH₃, C – 24), δ 17,8 (CH₃, C – 26), δ 17,8 (CH₃, C – 29),
 δ 19,1 (CH₂, C – 6), δ 21,7 (CH₃, C – 30), δ 23,9 (CH₂, C – 11), δ 24,2 (CH₃, C – 27),
 δ 25,2 (CH₂, C – 16), δ 28,4 (CH₂, C – 2), δ 29,0 (CH₂, C – 15), δ 29,1 (CH₃, C – 23),
 δ 31,4 (CH₂, C – 21), δ 33,9 (CH₂, C – 7), δ 37,8 (CH₂, C – 22), δ 37,8 (C, C – 10),
 δ 39,4 (CH₂, C – 1), δ 39,7 (CH, C – 20), δ 39,7 (C, C – 4), δ 39,8 (CH, C – 19),
 δ 40,3 (C, C – 8), δ 42,8 (C, C – 14), δ 48,4 (CH, C – 9), δ 48,4 (C, C – 17),
 δ 53,9 (CH, C – 18), δ 56,1 (CH, C – 5), δ 78,5 (CH, C – 3), δ 126,0 (CH, C – 12),
 δ 139,6 (C, C – 13), δ 180,3 (C, C – 28).

HP-6**Nome:** β-sitosterol e estigmasterol**Solubilidade:** CDCl₃**Aspecto:** Sólido branco amorfo

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

$\delta_{12,1}$ (CH₃, C – 18), $\delta_{12,2}$ (CH₃, C – 29), $\delta_{18,9}$ (CH₃, C – 21), $\delta_{19,0}$ (CH₃, C – 21), $\delta_{19,3}$ (CH₃, C – 27), $\delta_{19,6}$ (CH₃, C – 19), $\delta_{20,0}$ (CH₃, C – 26), $\delta_{20,3}$ (CH₃, C – 19), $\delta_{20,4}$ (CH₃, C – 26), $\delta_{21,3}$ (CH₃, C – 27), $\delta_{31,3}$ (CH₂, C – 11), $\delta_{23,3}$ (CH₂, C – 28), $\delta_{24,5}$ (CH₂, C – 15), $\delta_{24,5}$ (CH₂, C – 28), $\delta_{26,4}$ (CH₂, C – 23), $\delta_{28,5}$ (CH₂, C – 16), $\delta_{29,4}$ (CH₂, C – 16), $\delta_{29,4}$ (CH, C – 25), $\delta_{31,9}$ (CH₂, C – 2), $\delta_{31,9}$ (CH, C – 8), $\delta_{32,1}$ (CH, C – 8), $\delta_{32,2}$ (CH₂, C – 7), $\delta_{34,2}$ (CH₂, C – 22), $\delta_{36,4}$ (CH, C – 20), $\delta_{36,7}$ (C, C – 10), $\delta_{37,5}$ (CH₂, C – 1), $\delta_{40,0}$ (CH₂, C – 4), $\delta_{40,0}$ (CH₂, C – 12), $\delta_{40,1}$ (CH, C – 20), $\delta_{42,5}$ (CH₂, C – 4), $\delta_{42,5}$ (C, C – 13), $\delta_{46,1}$ (CH, C – 24), $\delta_{50,4}$ (CH, C – 9), $\delta_{56,3}$ (CH, C – 17), $\delta_{56,4}$ (CH, C – 17), $\delta_{57,0}$ (CH, C – 14), $\delta_{72,1}$ (CH, C – 3), $\delta_{121,9}$ (CH, C – 6), $\delta_{129,5}$ (CH, C – 23), $\delta_{138,5}$ (CH, C – 22), $\delta_{141,0}$ (C, C – 5).

HP-7

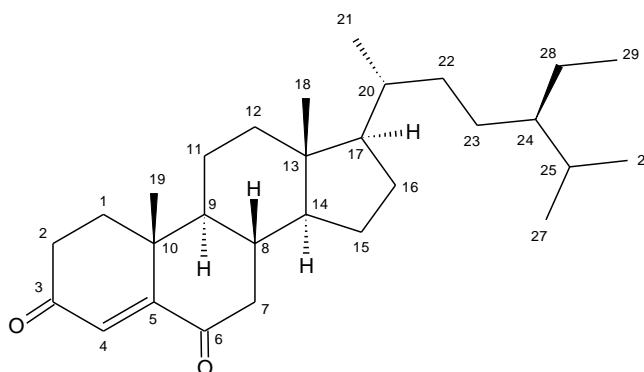
Nome: Estigmast-4-en-3,6-diona

Fórmula molecular: C₂₉H₄₆O₂

Massa Molecular: 426

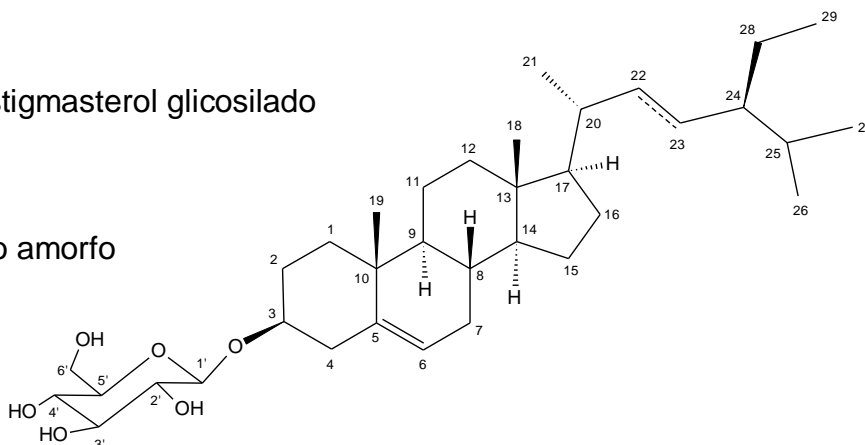
Solubilidade: CDCl₃

Aspecto: Sólido amarelo amorfo



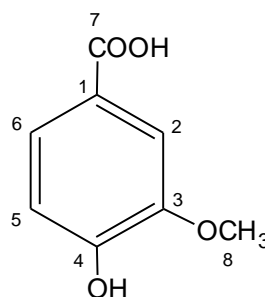
Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

$\delta_{12,1}$ (CH₃, C – 18), $\delta_{12,2}$ (CH₃, C – 29), $\delta_{17,7}$ (CH₃, C – 19), $\delta_{18,9}$ (CH₃, C – 21), $\delta_{19,2}$ (CH₃, C – 27), $\delta_{20,0}$ (CH₃, C – 26), $\delta_{21,0}$ (CH₂, C – 11), $\delta_{23,3}$ (CH₂, C – 28), $\delta_{24,2}$ (CH₂, C – 15), $\delta_{26,2}$ (CH₂, C – 23), $\delta_{28,2}$ (CH₂, C – 16), $\delta_{29,3}$ (CH, C – 25), $\delta_{34,4}$ (CH, C – 8), $\delta_{34,0}$ (CH₂, C – 2), $\delta_{34,2}$ (CH₂, C – 22), $\delta_{35,8}$ (CH₂, C – 1), $\delta_{36,2}$ (CH, C – 20), $\delta_{39,3}$ (CH₂, C – 12), $\delta_{40,0}$ (C, C – 10), $\delta_{42,7}$ (C, C – 13), $\delta_{45,9}$ (CH, C – 24), $\delta_{47,0}$ (CH₂, C – 7), $\delta_{51,2}$ (CH, C – 9), $\delta_{56,1}$ (CH, C – 17), $\delta_{56,7}$ (CH, C – 14), $\delta_{125,7}$ (CH, C – 4), $\delta_{161,3}$ (C, C – 5), $\delta_{199,7}$ (C, C – 6), $\delta_{202,5}$ (C,C – 3).

HP-8**Nome:** β -sitosterol e estigmasterol glicosilado**Solubilidade:** C₅D₅N**Aspecto:** Sólido branco amorfo

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ 12,3 (CH₃, C – 18), δ 12,3 (CH₃, C – 29), δ 12,5 (CH₃, C – 18), δ 12,5 (CH₃, C – 29),
 δ 19,3 (CH₃, C – 21), δ 19,5 (CH₃, C – 19), δ 19,7 (CH₃, C – 27), δ 20,3 (CH₃, C – 26),
 δ 20,3 (CH₂, C – 11), δ 21,6 (CH₂, C – 11), δ 23,7 (CH₂, C – 28), δ 24,8 (CH₂, C – 15),
 δ 28,9 (CH₂, C – 16), δ 28,9 (CH₂, C – 23), δ 29,8 (CH₂, C – 16), δ 29,8 (CH, C – 25),
 δ 30,6 (CH₂, C – 7), δ 30,6 (CH, C – 25), δ 32,4 (CH₂, C – 7), δ 32,4 (CH, C – 8),
 δ 32,5 (CH, C – 8), δ 32,5 (CH₂, C – 2), δ 32,9 (CH₂, C – 2), δ 34,5 (CH₂, C – 22),
 δ 36,7 (CH, C – 20), δ 37,2 (C, C – 10), δ 37,8 (CH₂, C – 1), δ 37,8 (CH₂, C – 12),
 δ 37,9 (CH₂, C – 4), δ 39,6 (CH₂, C – 12), δ 39,8 (CH₂, C – 4), δ 40,3 (C, C – 13),
 δ 42,8 (C, C – 13), δ 46,4 (CH, C – 24), δ 50,7 (CH, C – 9), δ 56,4 (CH, C – 17),
 δ 56,6 (CH, C – 17), δ 56,6 (CH, C – 14), δ 57,2 (CH, C – 14), δ 63,1 (CH₂, C – 6'),
 δ 72,0 (CH, C – 4'), δ 75,6 (CH, C – 2'), δ 78,5 (CH, C – 5'), δ 78,7 (CH, C – 3'),
 δ 78,9 (CH, C – 5'), δ 78,9 (CH, C – 3), δ 102,9 (CH, C – 1'), δ 122,2 (CH, C – 6),
 δ 129,8 (CH, C – 23), δ 139,1 (CH, C – 22), δ 141,2 (C, C – 5).

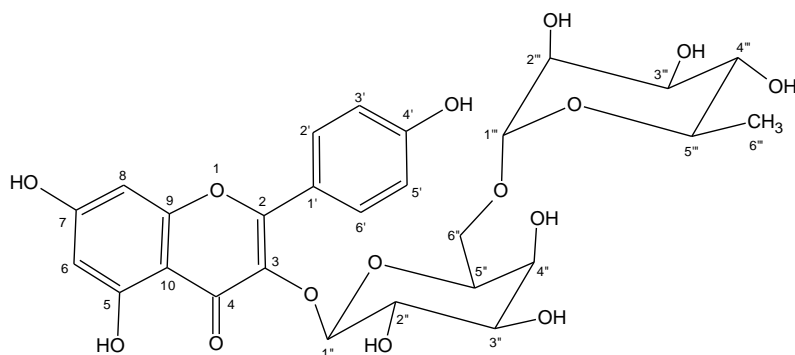
HP-9**Nome:** Ácido vanílico**Fórmula molecular:** C₈H₈O₄**Massa Molecular:** 168 Daltons**Solubilidade:** CD₃OD**Aspecto:** Sólido branco cristalino

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) - δ (multiplicidade, constante de acoplamento, integração):

δ3,89 (s, H – 8), δ6,84 (d, J=6,0 Hz, H – 5), δ (s, H – 2/6)

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, (CD₃OD) - δ(padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ56,4 (CH₃, C – 8), δ113,8 (CH, C – 2), δ115,9 (CH, C – 5), δ123,1 (C, C – 1), δ125,3 (CH, C – 6), δ148,7 (C, C – 3), δ152,7 (C, C – 4), δ170,1 (C, C – 7).

HP-10**Nome:** Canferol-3-O-α-L-rhamnopiranosil-(1→6)-β-D-galactopiranosídeo**Fórmula molecular:** C₂₇H₂₇O₃₀**Massa Molecular:** 594**Solubilidade:** CD₃OD**Aspecto:** Sólido marrom amorfo

Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) - δ (multiplicidade, constante de acoplamento, integração):

δ 0,93 (d, $J = 6,5$ Hz, H - 6'''), δ 3,30 (m, H - 4'''), δ 3,39 (dd, $J=10,5; 7,5$ Hz, H - 6''), δ 3,50 (m, H - 2'''), δ 3,52 (m, H - 5'''), δ 3,53 (m, H - 3''), δ 3,60 (m, H - 5''), δ 3,60 (m, H - 3'''), δ 3,72 (dd, $J=10,5; 6,0$ Hz, H - 6''), δ 3,78 (m, H - 4''), δ 3,80 (m, H - 2''), δ 4,61 (s, H - 1'''), δ 5,04 (d, $J=7,5$ Hz, H - 1''), δ 6,22 (s, H - 6), δ 6,42 (s, H - 8), δ 6,89 (d, $J=8,5$ Hz, H - 3'/5'), δ 8,09 (d, $J=8,5$ Hz, H - 2'/6').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) - δ (padrão de hidrogenação, correlações estruturais):

δ 18,1 (CH_3 , C - 6'''), δ 67,6 (CH_2 , C - 6''), δ 69,8 (CH, C - 5'''), δ 70,3 (CH, C - 4''), δ 72,2 (CH, C - 2'''), δ 72,4 (CH, C - 3'''), δ 73,1 (CH, C - 2''), δ 74,0 (CH, C - 4'''), δ 75,2 (CH, C - 3''), δ 75,5 (CH, C - 5''), δ 95,1 (CH, C - 8), δ 100,2 (CH, C - 6), δ 102,1 (CH, C - 1'''), δ 105,7 (CH, C - 1''), δ 105,8 (CH, C - 10), δ 116,3 (CH, C - 3'/5'), δ 122,8 (CH, C - 1'), δ 132,6 (CH, C - 2'/6'), δ 135,8 (CH, C - 3), δ 158,7 (CH, C - 2), δ 159,5 (CH, C - 9), δ 161,8 (CH, C - 4'), δ 163,1 (CH, C - 5), δ 166,3 (CH, C - 7), δ 179,8 (C, C - 4).

*Referências
Bibliográficas*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A. A.; LEE, E. F.; MABRY, T. J. HPLC study of oxindole alkaloids from *Hamelia patens*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 20, n. 2, p. 71-72, 1989.

AGRAWAL, P. K. Carbono-13 NMR of flavanoids. **Elsevier Science Publisher B. V.**, Amsterdam Netherlands, 1989.

AQUINO, R.; CIAVATTA, M. L.; SIMONE, F.; PIZZA, C. A flavanone glycoside from *Hamelia patens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2358-2360, 1990.

ALAM, M. S.; CHOPRA, N.; ALI, M.; NINA, M. Oleanen and stigmasterol derivatives from *Ambroma augusta*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 4, p. 1197-1200, 1996.

ALFREDO, G. B.; JAMES, C. R.; MICHAEL, J. B.; CAMILLE, T. Double incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. **Journal of ethnopharmacology**, v. 88, p. 169-173, 2003.

ALVES, J. S.; CASTRO, J. C. M.; FREIRE, M. O.; DA-CUNHA, E. V.; SILVA, M. S. Complete assignment of the ^1H and ^{13}C NMR Spectra of four triterpenes of the ursane, artane, lupane and friedelane groups. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 38, p. 201-206, 2000.

BORGES, J.; MANRESA, M. T.; RAMÓN, J. L. M.; PASCUAL, C.; RUMBERO, A. Two new oxindole alkaloids isolated from *Hamelia patens* Jacq. **Tetrahedron Letters**, v. 34, p. 3197-3200, 1979.

BORGES, C. J.; MANRESA, F. M. T.; MARTIN, R. J. L.; RODRIGUEZ, L. F.; VAZQUEZ, B. P. Estudio de los alcalóides oxindólicos de la *Hamelia patens* Jacq. por RMN de carbono-13. **Anales de química**, v. 78, p. 126-128, 1980.

BORGES, C. J.; MANRESA, F. M. T.; RODRIGUEZ, L. F. Oxindole alkaloids from *Hamelia patens* Jacq. **Int. Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Act. Nat. Prod.**, V. 3, n.1, p. 70-73, 1981.

BHATTACHARJEE, I.; GHOSH, A.; CLANDRA, G. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cestrum diurnum* (L.) (Solanales: Solanaceae). **African Journal of Biothecnology**, v. 4, n. 4, p. 371-374, 2005.

CARLETTI, I.; BANAIGS, B.; AMADE, P. Matemone, a new bioactive bromine-containing oxindole alkaloid from the indian ocean sponge *Iotrochota purpurea*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 981-983, 2000.

CHIQUEIRI, A.; DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L. A distribuição geográfica da família Rubiácea Juss. na Flora Brasiliensis de Martius. **Rev. do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 55, n. 84, p. 47-57, 2004.

HONG, M. L.; XIAO, Z. F. Oxindole alkaloids from *Uncaria sinensis*. **Phytochemistry**, v. 33, n. 3, p. 707-710, 1993.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro, v. 2, p. 369, 1926.

KAGATA, T.; SAITO, S.; SHIGEMORI, H.; OHSAKI, A.; ISHIYAMA, H.; KUBOTA, T.; KOBAYASHI, J. Paratunamides A-D, oxindole alkaloids from *Cinnamodendron axillare*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1517-1521, 2006.

KITAJIMA, M.; URANO, A.; KOGURE, N.; TAKAYAMA, H.; AIMI, N. New oxindole alkaloids and iridoid from Carolina jasmine (*Gelsemium sempervirens* Ait. f.). **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, n. 10, p. 1211-1214, 2003.

KUAN, H. L.; KOOI, M. S.; GUAN, H. T.; TOH, S. K. Four tetracyclic oxindole alkaloids and a taberpsychine derivative from a Malayan *Tabernaemontana*. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1182-1186, 2009.

LIM, J. C.; PARK, J. H.; BUDESINSKY, M.; KASAL, A.; HAN, Y. H.; KOO, B. S.; LEE, S. I.; LEE, D. U. Antimutagenic Constituents from the Thorns of *Gleditsia sinensis*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 5, p. 561-564, 2005.

MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. S. Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador, **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 260-262, 1990.

MOREIRA, J. F. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Cordia curassavica* Jacq. R & S e *Cordia piauhiensis* Fresen.** Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

- MUHAMMAD, I.; DUNBAR, D. C.; KHAN, R. A.; GANZERA, M.; KHAN, I. A. Investigation of uña de gato I. 7-deoxyloganic acid and ^{15}N NMR spectroscopic studies on pentacyclic oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa*. **Phytochemistry**, v. 57, p. 781-785, 2001.
- PANDEY, R.; SINGH, S. C.; GUPTA. Heteroyohimbinoid type oxindole alkaloids from *Mitragyna parvifolia*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2164-2169, 2006.
- PEREIRA, R. C. A.; LOPES, J. V. M. Aspectos botânicos, etnobotânicos, agrônômicos e fitoquímicos de unha-de-gato. **Documentos** 105, p. 1-35, 2006.
- POUCHERT, C.J.; BEHNK, J.; The Aldrich Library of ^{13}C , ^1H FT NMR spectra, 1st ed., Milwaukee: **Aldrich Chemical Company**, v. 2, 1993.
- REYES, C., R.; RIVERA, J.; OROPEZA, M.; MENDOZA, P.; AMEKRAZ, B.; JANKOWSKI, C.; CAMPOS, M. Methanol extracts of *Hamelia patens* containing oxindole alkaloids relax KCl-induced contraction in rat myometrium. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 10, p. 1617-1620, 2004.
- RIPPERGER, H. Isolation of stigmast-4-en-3,6-dione from *Hamelia patens* and *Clitoria ternatea*. **Pharmazie**, v. 33, p. 79-82, 1978.
- ROGELIO, P. P.; EDUARDO, M. B.; DOLORES, M. J.; SUSANA, R. C.; ISELA, A. G.; LAURA, S. C.; JAVIER, P. G. Antigenotoxic, antioxidant and lymphocyte induction effects produced by Pteropodine. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 104, p. 222-227, 2008.
- RUMBERO, A.; VÁZQUEZ, P. Structure and stereochemistry of magniflorine, a new indole alkaloid from *Hamelia magniflora* Wernha. **Tetrahedron Letters**, v. 32, n. 38, p. 5153-5154, 1991.
- SEKI, H.; TAKAYAMA, H.; AIMI, N.; SAKAI, S. PONGLUX, D. A Nuclear Magnetic Resonance study on the eleven stereoisomers of heteroyohimbine-type oxindole alkaloids. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 12, p. 2077-2086, 1993.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X; Kiemle, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7^a Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 2ªed., Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Editora da UFSC, 2000.

SUBRAHMANYAM, K.; MADHUSUDHANA RAO, J.; JAGANNADHA RAO, K. V.; Chemical Examination of *Hamelia patens* (Rubiaceae). **Short scientific notes**, v. 42, n. 23, p. 841, 1973.

VOUTQUENNE, L.; LAVAUD, C.; MASSIOT, G.; SEVENET, T.; HADI, H. A. Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long. Chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*. **Phytochemistry**, v. 50, p. 63-69, 1999.

WAH, H. W.; PEK, B. L.; CHENG, H. C. Oxindole alkaloids from *Alstonia macrophylla*. **Phytochemistry**, v. 41, p. 313-315, 1996.

WENIGER, B.; JIANG, Y.; ANTON, R.; BASTIDA, J.; VAREA, T.; QUIRION, J. C. Oxindole alkaloids from *Neolaugeria resinosa*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 6, p. 1587-1590, 1993.

YAMADA, Y.; KITAJIMA, M.; KOGURE, N.; TAKAYAMA, H. Four novel gelsedine-type oxindole alkaloids from *Gelsemium elegans*. **Tetrahedron**, v. 64, p. 7690-7694, 2008.

YU, Y.; GAO, J. M.; LIU, J. K. Two new oxindole alkaloids from *Ervatamia yunnanensis*. **Chinese Chemical Letters**, v. 10, n. 7, p. 575-578, 1999.

ZHEN, Z.; YING, T. D.; YUE, H. W.; ZHEN, Z.; SHU, Z. M.; XIN, F.; YU, Z.; CHENG, J. T.; QIANG, Z.; XIAO, H. Y.; JIE, G.; CHUN, S. L.; XIAO, J. H. Gelegamines A-E: five new oxindole alkaloids from *Gelsemium elegans*. **Tetrahedron**, v. 65, p. 4551-4556, 2009.