

Identificação de princípios ativos presentes na *Ipomoea carnea* brasileira

Aline Schwarz¹, Rosana Zoriki Hosomi², Breno Schumacher Henrique¹, Isis Hueza², Dale Gardner³, Mitsue Haraguchi⁴, Silvana Lima Górnica², Maria Martha Bernardi², Helenice de Souza Spinosa^{2*}

¹Departamento de Toxicologia e Análises Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, ²Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, ³USDA-ARS Poisonous Plants Research Laboratory, Utah State University, ⁴Centro de Sanidade Animal, Instituto Biológico de São Paulo

Dentre as espécies pertencentes à família das Convolvulaceae destacam-se as *Ipomoeas*, amplamente distribuídas por todo o mundo, bastante conhecidas e cultivadas devido ao aspecto ornamental que suas flores campanuladas e de cores vibrantes oferecem. É sabido porém que espécies de *Ipomoeas* são tóxicas. A *Ipomoea carnea*, espécie de nosso estudo, provoca emagrecimento, apatia, incoordenação motora, fraqueza progressiva e até mesmo a morte em animais de produção, se ingerida por período prolongado. Os alcalóides suainsonina e calisteginas presentes nesta planta são certamente responsáveis por tais efeitos tóxicos, já que inibem a ação das manosidases e glicosidases, enzimas fundamentais para um adequado metabolismo de carboidratos pelo organismo. O presente trabalho teve como objetivo verificar e caracterizar os constituintes químicos da *I. carnea* brasileira. Assim, empregando-se as cromatografias de camada delgada e líquida acoplada a detector de massas, além da ressonância nuclear de prótons e carbono, foram detectados no extrato aquoso obtido das folhas da planta, 0,09% de suainsonina, 0,11% de calistegina B₂, 0,14% de calistegina B₁, 0,06% de calistegina C₁ e o aminoácido não protéico N-metil-trans-4-hidroxi-L-prolina.

Unitermos

- *Ipomoea carnea*
- Suainsonin
- Calisteginas
- Cromatografia

*Correspondência:

H. S. Spinosa
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia – USP
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de
Paiva, 87
05508-900 São Paulo – SP – Brasil
E-mail: hspinosa@usp.br

INTRODUÇÃO

A *Ipomoea carnea* Jacq. subsp. *Fistulosa* (Mart.) Choisy (anteriormente denominada *Ipomoea fistulosa* Mart. ex Choisy, *I. gossypioides* Parodi, *I. texana* Coulter), pertencente à família das Convolvulaceae, é uma planta arbustiva,

leitosa, pouco ramificada, de caules ocos, (Lorenzi, 1991). Esta planta propaga-se rapidamente, inclusive em condições climáticas adversas, devido à sua resistência às secas (Turkey *et al.*, 1987), sendo, portanto, encontrada em diversas regiões do Brasil, onde é conhecida popularmente como canudo, algodão-bravo, mata-cabra, campainha, algodão-

do-pantanal, algodão-do-brejo, canudo-de-lagoa, mata-pinto, salsa-branca, campainha-de-canudo, capa-bode (Lorenzi, 1991; Tokarnia *et al.*, 2000).

Há relatos, no Brasil, de intoxicação de animais de produção que ingeriram a *I. carnea* em condições naturais. Assim, Tokarnia *et al.* (1960) observaram série de sinais clínicos após exposição prolongada *ad libitum* à *I. carnea* em bovinos, ovinos e caprinos. Os bovinos apresentaram emagrecimento, apatia, pêlo áspero e fraqueza. Os ovinos desenvolveram fraqueza, apatia, perda de apetite após períodos variáveis da ingestão da planta. A espécie caprina foi a que apresentou os sinais mais evidentes da intoxicação por *I. carnea*, caracterizado por: apatia, incoordenação motora, paresia dos membros pélvicos, fraqueza progressiva e, por fim, a morte.

Recentemente, Schumacher-Henrique *et al.* (2003) observaram que cabras expostas por período prolongado à *I. carnea* desenvolveram ingestão compulsiva pela planta e quadro clínico semelhante àquele acima descrito, além de alterações hematológicas e histopatológicas.

A *I. carnea* possui os alcalóides suainsonina e calesteginas como principais princípios ativos e, certamente, responsáveis pelos efeitos tóxicos da mesma (De Balogh *et al.*, 1999; Schwarz *et al.*, 2003).

A suainsonina – 1,2,8-tri-hidroxi-octo-hidroindolizidina – é um alcalóide indolizidínico, potente inibidor da α -manosidase lisossômica e α -manosidase II do complexo de Golgi. A inibição da α -manosidase lisossômica provoca acúmulo de oligossacarídeos não processados adequadamente em lisossomos e perda da função celular seguida de morte da célula. A inibição da α -manosidase II provoca alterações na síntese, no processamento e no transporte de glicoproteínas, resultando em disfunção na adesão celular à moléculas, hormônios e vários receptores de membrana. A união destes efeitos resulta na constatação clínica de alterações endócrinas, reprodutivas, imunes, embriogenéticas e gastrintestinais (Stegelmeier *et al.*, 1995), além de toda a sintomatologia anteriormente descrita.

A inibição destas duas enzimas pela suainsonina ocorre de forma competitiva, porém, em concentrações mais elevadas (1 mM), este alcalóide inibe também a α -glicosidase, β -glicuronidase, β -galactosidase, β -xilosidase e α -arabinosidase (Cenci Di Bello *et al.*, 1989).

As calisteginas são alcalóides nortropânicos polihidroxilados amplamente distribuídos nas espécies pertencentes às famílias Solanaceae e Convolvulaceae (Watson *et al.*, 2001). Os membros conhecidos desta nova classe de alcalóides foram subdivididos em três grupos de acordo com o número de hidroxilas presentes em sua estrutura: calisteginas A (com três grupos hidroxila), B (com quatro grupos) e C (com cinco grupos) (Asano *et al.*, 2001).

As calisteginas possuem também atividade inibitória sobre as enzimas β -glicosidase, α - e β -galactosidase e β -xilosidase, pois possuem estrutura semelhante à de carboidratos (Asano *et al.*, 1997). Esta inibição competitiva em relação às glicosidases explica a afinidade existente entre as calisteginas e os alcalóides indolizidínicos, como a suainsonina, exacerbando, quando presentes numa mesma planta, a ação tóxica desta última (Watson *et al.*, 2001).

Esta interessante capacidade de inibir glicosidases e manosidases faz da suainsonina e calisteginas importantes ferramentas em estudos de agentes anticancerígenos, antitumores-proliferativos, antimetastáticos (Nemr, 2001), uma vez que o catabolismo e processamento de glicoproteínas pelas glicosidases envolve a transformação de células normais à células cancerígenas. Portanto, em concentrações baixas, estes alcalóides inibem a ação destas enzimas, impedindo a formação destas patologias sem acarretar efeitos tóxicos (Watson *et al.*, 2001).

Tirkey *et al.* (1988) ao realizar estudo fitoquímico com os extratos da *I. carnea* encontrou alcalóides tanto no extrato aquoso como no etéreo, sendo que glicosídeos e taninos também estavam presentes, porém apenas no extrato aquoso da planta. De Balogh *et al.* (1999) detectaram, na *I. carnea* de Moçambique, além da suainsonina, as calisteginas B₂ e C₁. Asano *et al.* (2000) em estudo com a mesma planta observaram, ainda, calistegina B₁ e o alcalóide 2 α -7 β -diidroxinortropano, já anteriormente isolado de seis espécies de plantas da família das Convolvulaceae, como constituintes da *I. carnea*.

O objetivo do presente estudo foi detectar e caracterizar os constituintes químicos da *I. carnea* brasileira, uma vez que esta planta pode ser consumida pelos animais de produção, acarretando prejuízos econômicos na pecuária nacional, além de poder ser fonte destes alcalóides empregados como ferramentas no estudo de agentes anticancerígenos.

MATERIAL E MÉTODOS

Planta

A identificação da *I. carnea* foi realizada pela taxonomista Rosângela Simão Bianchini, do Instituto de Botânica de São Paulo. O plantio da *I. carnea* foi realizado por estaqueamento em uma área de aproximadamente 1.500 m² de terreno no Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX) localizado em Pirassununga-SP. Após o crescimento da planta, as folhas foram colhidas, retirados seus pecíolos, acondicionadas a vácuo em sacos plásticos, congeladas e encaminhadas à cidade de São Paulo em recipientes de isopor adequadamente vedados.

Em São Paulo, as folhas foram mantidas congeladas em freezer -20 °C, no Laboratório de Toxicologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, para posterior extração dos princípios ativos.

Extração dos princípios ativos das folhas frescas da *Ipomoea carnea*

O procedimento de extração foi baseado naquele descrito por Tulsiani *et al.* (1984). Assim, as folhas frescas da planta foram trituradas com etanol 97 °GL em liquidificador. A seguir, foram maceradas por 72 horas e, após este período, filtradas em gaze. O filtrado foi submetido a concentração parcial em rotaevaporador, sob pressão reduzida à temperatura de 50 °C, até a eliminação do etanol. O solvente recuperado foi novamente adicionado às mesmas folhas trituradas e submetidas à maceração por mais 24 horas, sendo, a seguir, filtrado e evaporado, como descrito anteriormente. Este procedimento foi repetido novamente, por mais duas vezes, num total de quatro extrações. Os extratos obtidos foram reunidos formando o extrato hidroalcoólico. Este foi filtrado em papel de filtro preguado e assim obtidas duas novas frações: fração insolúvel em água (FIA) e fração solúvel em água (FSA). A FSA foi submetida a partição com butanol saturado em água para fornecer duas porções: fração butanólica e fração aquosa. A fração butanólica foi concentrada totalmente através do rotaevaporador, dando origem ao resíduo butanólico e, por sua vez, a fração aquosa foi evaporada parcialmente, fornecendo a fração aquosa final.

Parte desta fração foi precipitada com etanol absoluto exaustivamente e, em seguida, filtrada. Obtiveram-se duas porções: o precipitado (PPT) e o filtrado. O filtrado foi evaporado para eliminação do solvente, obtendo-se a porção não-precipitada (NPPT). Alíquotas de 100 mL da fração NPPT foram fracionadas numa coluna de vidro (12 x 480 mm), contendo resina de troca iônica (AG 50W-X8 (forma NH⁺) catiônica) eluída com solução amoniacal 0,5%. Foram coletadas 40 frações de 10 mL que, posteriormente, foram liofilizadas. A monitoração de cada fração foi realizada através de cromatografia de camada delgada (CCD).

Caracterização dos alcalóides

A caracterização dos alcalóides foi primeiramente realizada por cromatografia de camada delgada (CCD) em sílica-gel G60, desenvolvida no sistema de solventes constituído de clorofórmio, metanol, hidróxido de amônio e água (35:13:1:1) com as frações obtidas da cromatografia de troca iônica. Para a revelação foram empregados

anidrido acético e os reagentes de Erlich modificado e Dragendorff, de acordo com Tulsiani *et al.* (1984), com pequenas modificações. Em seguida, estas mesmas frações foram submetidas à espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons e carbono 13 (RMN de H¹ e RMN de C¹³) para identificação estrutural, na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, e seus espectros foram analisados.

Porções da fração aquosa final foram encaminhadas ao laboratório do Professor Dr. Dale Gardner do Utah State University (USDA-ARS Poisonous Plants Research Laboratory-EUA), onde foram analisadas quantitativamente por cromatografia líquida (LC) acoplada a espectrômetro de massas (EM), como descrito a seguir.

Extração das amostras: Alíquotas de 50 mg da fração aquosa final foram acondicionadas em tubos de vidro de 15 mL. Aos tubos foram adicionados 4 mL de clorofórmio e 5 mL de ácido acético glacial 2%. Agitação mecânica e contínua foi aplicada por 16 horas, seguida de centrifugação (5 minutos) e separação das camadas de solventes da camada de resíduos da planta. A camada superficial de ácido acético foi removida e adicionada a uma coluna de vidro preenchida com resina catiônica Dowex 50 WX8-100. A resina e a solução foram então agitadas por rotação mecânica durante 15 minutos, permitindo a ligação dos cátions de alcalóides à resina. Após centrifugação das colunas, a solução ácida foi retirada e as colunas reservadas. Novamente, adicionaram-se 5 mL de ácido acético glacial 2% à mistura de fração aquosa e clorofórmio e novas amostras foram então extraídas após agitação mecânica (15 minutos) dos tubos. Estas amostras foram centrifugadas e as camadas de ácido acético, separadas e adicionadas às colunas de vidro reservadas. Por fim, as colunas foram lavadas por duas vezes consecutivas com água destilada, centrifugadas e a porção líquida descartada. Para a remoção dos alcalóides poli-hidroxiados da resina, 5 mL de hidróxido de amônio 1 M foram adicionados nas colunas e estas agitadas mecanicamente (15 minutos). A seguir, as amostras foram retiradas e centrifugadas (1 minuto). As amostras aquosas de hidróxido de amônio obtidas foram removidas, acondicionadas devidamente e mantidas a -20 °C até o momento da análise.

Análise de suainsonina e calisteginas: Para a detecção dos alcalóides poli-hidroxiados, alíquotas de 0,1 mL do extrato preparado foram evaporadas sob fluxo de nitrogênio a 70 °C. A seguir foram derivatizadas por adição de 0,2 mL de piridina e 0,05 mL de trimetilsililtri-fluoroacetamida (BSTFA) e aquecidas a 70 °C, por 30 minutos. Após a derivação foi realizada análise por CG-EM Finnigan GCQ com coluna capilar (30 m x 0,25 mm) J&W DB-5MS das amostras. Hélio foi empregado como

gás de arraste sob fluxo de 40 cm/s. A injeção das amostras (2 mL) foi feita no modo splitless com injetor a 255 °C. A temperatura da coluna foi programada para atingir 120 °C em 1 minuto, em seguida variar de 120 °C a 200 °C em 5 minutos, de 200 °C a 300 °C em 20 minutos e, por fim, permanecer a 300 °C por 8 minutos, respectivamente. A suainsonina e calisteginas foram identificadas por comparação dos tempos de retenção relativos e espectros de massas obtidos por Gardner *et al.* (2001), Haraguchi *et al.* (2003), Molyneux *et al.* (1993) e Molyneux *et al.* (2002). Para determinação quantitativa de suainsonina e calisteginas, uma segunda alíquota de 0,1 mL foi analisada por LC/MS, como descrito anteriormente (Dale *et al.*, 2001). O sistema consistiu de bomba binária de solventes e autosampler HP-1100, coluna de fase reversa Betasil C18 (100 mm x 2 mm) (Keystone Scientific) e espectrômetro de massas Finnigan LCQ. A suainsonina foi eluída através de método isocrático constituído de 5% de metanol em 20 mM de acetato de amônio sob fluxo de 0,5 mL/min. O volume de amostra injetado foi de 20 µL. A ionização se deu através de fonte de ionização química por pressão atmosférica com temperatura de vaporização a 450 °C e descarga de 5 mA na corona. A temperatura capilar foi de 200 °C e voltagem de 16 V. O espectrômetro de massas correu no modo EM², a janela de observação foi estipulada entre 70 e 300 u.m.a., após fragmentação de molécula de suainsonina protonada (MH⁺=174,2±0,75 u.m.a.), por emprego de energia de colisão relativa a 25%. O tempo máximo de injeção do tipo “ion trap” foi de 500 ms. O tempo de retenção da suainsonina na coluna foi aproximadamente 1,4 minuto. A área do pico foi medida a partir do cromatograma (*m/z*=156) e a quantificação baseada em padrão de calibração externo.

RESULTADOS

A cromatografia de troca iônica revelou componentes alcaloídicos de natureza cristalina e branca nas frações 20 a 33. A CCD foi então empregada nestas frações. Uma mancha de coloração clara no fundo amarelado após revelação com Dragendorff foi observada, indicando a presença de, pelo menos, um composto. Sabe-se, porém, que não se tratam de alcalóides pelo fato de que componentes alcaloídicos coram-se de laranja ou cores de tom aproximado quando na presença deste revelador. Por esta razão, este resíduo branco, proveniente destas porções, foi submetido à ressonância magnética nuclear não revelando sinais de prótons e de carbonos semelhantes aos dos alcalóides em estudo (suainsonina e calisteginas B₂ e C₁). O espectro obtido se sobrepôs ao do iminoácido não protéico *N*-metil-*trans*-4-hidroxi-L-prolina, isolado das

folhas da *Copaifera multijuga* (Caesalpinioideae), e a rotação do iminoácido do presente estudo mostrou-se similar ao da literatura (Figliuolo *et al.*, 1987).

Devido à não-caracterização dos alcalóides em estudo pela ressonância magnética nuclear, porções da fração aquosa final foram analisadas por LC-MS. Foram, então, detectadas e quantificadas na fração aquosa das folhas da planta, comparando-se com os padrões disponíveis, as seguintes substâncias: 0,09% de suainsonina, 0,11% de calistegina B₂, 0,14% de calistegina B₁ e 0,06% de calistegina C₁, conforme mostrado na Figura 1.

DISCUSSÃO

A *I. carnea* vem sendo extensivamente estudada e seus componentes (alcalóides poliidroxilados) identificados quali- e quantitativamente por atuarem inibindo a função de enzimas participantes do complexo metabolismo dos carboidratos. Das folhas da *I. carnea* de Moçambique somente a suainsonina (31%) e as calisteginas B₂ (50%) e C₁ (7%) foram detectadas através de cromatografia gasosa e espectrômetro de massas (De Balogh *et al.*, 1999). Asano *et al.* (2001) detectaram por cromatografia de camada delgada e espectrômetro de massas a calistegina B₁ (39 mg) e o composto 2α-7β-diidroxinortropano (20 mg), além da suainsonina (86 mg) e da calistegina B₂ (146 mg), nas folhas da *I. carnea* cultivada em herbário no Japão. Haraguchi *et al.* (2003) detectaram, além destes alcalóides anteriormente relatados, as calisteginas B₁ e B₃ e o iminoácido *N*-metil-*trans*-4-hidroxi-L-prolina como constituintes da *I. carnea* brasileira. No presente estudo constatou-se, por LC-MS, a presença dos alcalóides suainsonina (0,09%) e calisteginas B₁ (0,14%), B₂ (0,11%) e C₁ (0,06%) e da calistegina C₂ (traços) até então não detectada nesta planta. Por ressonância magnética nuclear os componentes alcaloídicos não foram constatados, mas sim o iminoácido não-protéico *N*-metil-*trans*-4-hidroxi-L-prolina.

Estudos anteriores realizados em nosso laboratório mostraram que a mesma *I. carnea* brasileira analisada no presente estudo foi capaz de provocar efeitos tóxicos em cabras (Schumacher-Henrique *et al.*, 2003) e na prole de ratas exposta à planta durante a gestação (Schwarz *et al.*, 2003). Estes efeitos tóxicos podem ser atribuídos à presença dos alcalóides poliidroxilados detectados nesta planta, que, quando ingerida por animais de produção, pode acarretar prejuízos econômicos na pecuária, uma vez que a *I. carnea* pode ser consumida em condições de campo. Ainda não se sabe quanto à possibilidade do iminoácido não protéico *N*-metil-*trans*-4-hidroxi-L-prolina ser ou não tóxico e, portanto, de sua contribuição no quadro clínico resultante da intoxicação pela ingestão da *I. carnea*.

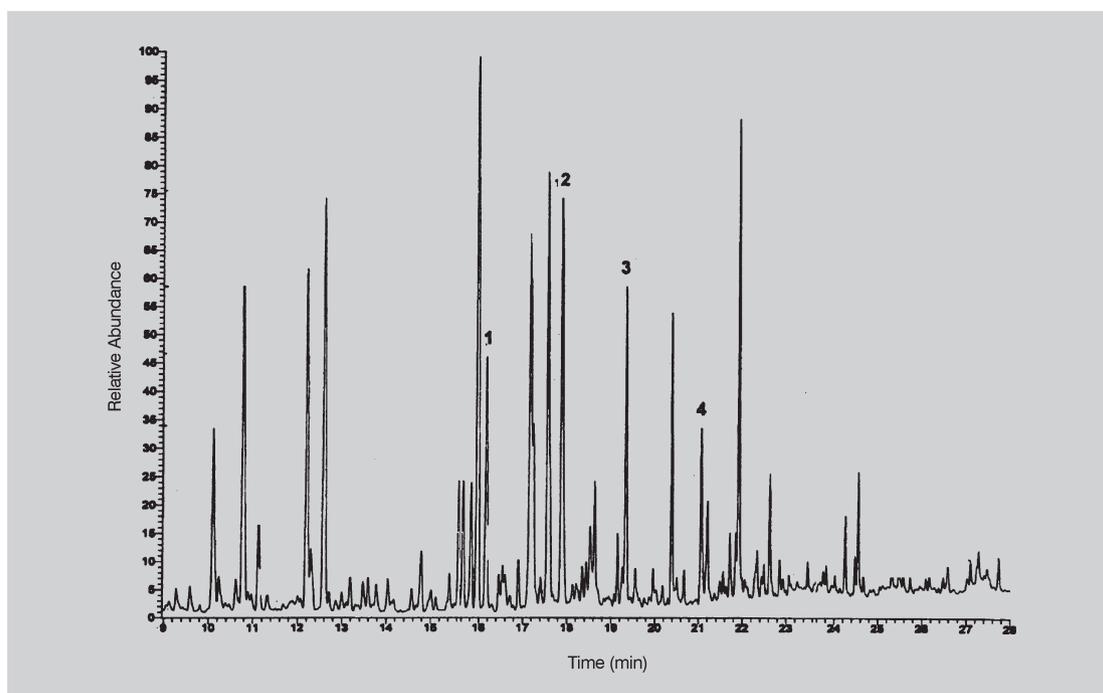


FIGURA 1 – Cromatograma da fração aquosa final da *Ipomoea carnea* por LC-EM (1- suainsonina, 2- calistegina B₁, 3- calistegina B₂ e 4- calistegina C₁).

Vale ressaltar, ainda, que os alcalóides presentes na *I. carnea* podem ser empregados também como ferramentas para o estudo de agentes anticancerígenos. Neste sentido, Watson *et al.* (2001) relataram que a suainsonina inibiu o crescimento de células cancerosas e a disseminação destas células pelo organismo, mesmo quando empregada em concentrações muito baixas.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e é parte das dissertações de Mestrado apresentadas por Aline Schwarz à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e por Rosana Zoriki Hosomi ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

ABSTRACT

Identification of Brazilian *Ipomoea carnea* toxic compounds

In the Convolvulaceae family, the Ipomoeas species are cultivated and found in all regions of the world because of their ornamental bright coloured flowers. It is well known that some Ipomoeas species are toxic. Ipomoea carnea,

*species of this study, causes depression, general weakness, loss of body weight, staggering gait and death of animals after prolonged periods of plant intake. These toxic effects are attributed to the alkaloids swainsonine and calystegines present in the plant, which promotes inhibition of galactosidases and manosidases, important enzymes for an adequate metabolism of carbohydrates in the organism. The objective of the present study was to detect and characterize the chemical components of the Brazilian plant. For that, thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography coupled to mass spectrometry detector and nuclear resonance of protons and carbon were used. The aqueous extract of *I. carnea* presented 0.09% swainsonine, 0.11% calystegine B₂, 0.14% of calystegine B₁, 0.06% calystegine C₁ and the non-proteinic imino acid N-methyl-trans-4-hydroxy-L-proline.*

UNITERMS: *Ipomoea carnea. Swainsonine. Calystegines. HPLC/MS.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASANO, N.; KATO, A.; KIZU, H.; MATSUI, K.; GRIFFITHS, R. C.; JONES, M. G.; WATSON, A. A.; NASH, R. J. Enzymatic synthesis of the glycosides of calystegines B₁ and B₂ and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydr. Res.*, v. 304, p. 173-178, 1997.

- ASANO, N.; NASH, R. J.; MOLYNEUX, R. J.; FLEET, G. W. J. Sugar-mimic glycosidase inhibitors: natural occurrence, biological activity and prospects for therapeutic application. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 11, p. 1645-1680, 2000.
- ASANO, N.; YOKOYAMA, K.; SAKURAI, M.; IKEDA, K.; KIZU, H.; KATO, A.; ARISAWA, M.; HOKE, D.; DRÄGER, B.; WATSON, A. A.; NASH, R. J. Dihydroxynortropane alkaloids from calystegine-producing plants. *Phytochemistry*, v. 57, p. 721-726, 2001.
- CENCI DI BELLO, I.; FLEET, G.; NAMGOONG, S. K.; TADANO, K.; WINCHESTER, B. Structure-activity relationship of swainsonine. *Biochem. J.*, v. 259, p. 855-861, 1989.
- De BALOGH, K. I. M.; DIMANDE, A. P.; Van der LUGT, J. J.; MOLYNEUX, R. J.; NAUDÉ, T. W.; WELMAN, W. G. A lysosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 11, p. 266-273, 1999.
- FUGLIUOLO, R.; NAYLOR, S.; WANG, J.; LANGENHEIM, J. H. Unusual non protein imino acid and its relationship to phenolic and nitrogenous compounds in *Copaifera*. *Phytochemistry*, v.26, p. 3255-3259, 1987.
- GARDNER, D. R.; MOLYNEUX, R. J.; RALPHS, M. H. Analysis of swainsonine: Extraction methods, detection, and measurement in populations of locoweeds (*Oxytropis* spp.). *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p.4573-4580, 2001.
- HARAGUCHI, M.; GÓRNICA, S. L.; IKEDA, K.; MINAMI, Y.; KATO, A.; WATSON, A. A.; NASH, R. J.; MOLYNEUX, R. J.; ASANO, N. Alkaloidal components in the poisonous plant, *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p. 4995-5000, 2003.
- LORENZI, H. Ervas daninhas. In: _____. *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais*. 2. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1991. p. 125.
- MOLYNEUX, R. J.; PAN, Y. T.; GOLDMAN, A.; TEPFER, D. A.; ELBEIN, A. D. Calystegins, a novel class of alkaloid glycosidase inhibitors. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 304, p. 81-88, 1993.
- MOLYNEUX, R. J.; GARDNER, D. R.; JAMES, L. F.; COLEGATE, S. M. Polyhydroxy alkaloids: Chromatographic analysis. *J. Chromatogr.*, v. 967, p. 75-78, 2002.
- NEMR, A. E. Synthetic methods for the stereoisomers of swainsonine and its analogues. *Tetrahedron*, v. 56, p. 8579-8629, 2000.
- SCHUMACHER-HENRIQUE, B.; GÓRNICA, S. L.; DAGLI, M. L. Z.; SPINOSA, H. S. The Clinical, Biochemical, Haematological and Pathological Effects of Long-Term Administration of *Ipomoea carnea* to Growing Goats. *Vet. Res. Commun.*, v.27, n.4, p. 311-319, 2003.
- SCHWARZ, A.; GÓRNICA, S. L.; BERNARDI, M. M.; DAGLI, M. L. Z.; SPINOSA, H. S. Effects of *Ipomoea carnea* aqueous fraction intake by dams during pregnancy on the physical and neurobehavioral development of rat offspring. *Neurotoxicol. Teratol.*, v.25, p. 615-626, 2003.
- STEGELMEIER, B. L.; MOLYNEUX, R. J.; ELBDEIN, A. D.; JAMES, L. F. The lesions of locoweed (*Astragalus molissimus*) swainsonine and castanospermine in rats. *Vet. Pathol.*, v. 32, p. 289-298, 1995.
- TIRKEY, K. ; YADAVA, K. P.; MANDAL, T. K. Effect of aqueous extract of *Ipomoea carnea* on the haematological and biochemical parameters in goats. *Indian J. Animal Sci.*, v. 57, p. 1019-1023, 1987.
- TIRKEY, K. ; YADAVA, K. P.; MANDAL, T. K.; BANERJEE, N. C. Pharmacological study of *Ipomoea carnea*. *Indian Vet. J.*, v. 65, p. 206-210, 1988.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C. Estudo experimental sobre a toxidez do "canudo" (*Ipomoea fistulosa* Mart.) em ruminantes. *Arq. Inst. Biol. Anim.*, v. 3, p. 59-71, 1960.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Plantas que causam perturbações nervosas. In: TOKARNIA, C. H. *Plantas tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. p. 120-123.

- TULSIANI, D. R. P.; BROQUIST, H. P.; JAMES, L. F.; TOUSTER, O. The similar effects of swainsonine and locoweed on tissue glycosidases and oligosaccharides of the pig indicate that the alkaloid is the principal toxin responsible for the induction of locoism. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 232, p. 76-85, 1984.
- WATSON, A. A.; FLEET, G. W. J.; ASANO, N.; MOLYNEUX, R. J.; NASH, R. J. Polyhydroxylated alkaloids – natural occurrence and therapeutic applications. *Phytochemistry*, v. 56, p. 265-295, 2001.

Recebido para publicação em 10 de julho de 2003.