

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO
RIO DE JANEIRO**
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ORGÂNICA

DISSERTAÇÃO

ESTUDO QUÍMICO DA MADEIRA DE
Schizolobium parahybae (Vell.) S. F. Blake
(Leguminosae-Caesalpinioideae)

ILDOMAR ALVES DO NASCIMENTO

2003



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

**ESTUDO QUÍMICO DA MADEIRA DE *Schizolobium parahybae* (Vell.)
S. F. Blake (Leguminosae-Caesalpinioideae)**

ILDOMAR ALVES DO NASCIMENTO

Sob a Orientação do Professor
Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Magister Scientiae** Área
de concentração em Química
Orgânica.

Seropédica, RJ
Abril/2003

NASCIMENTO, ILDOMAR ALVES DO

ESTUDO QUÍMICO DA MADEIRA DE *Schizolobium parahybae* (Vell.) S. F. Blake (Leguminosae-Caesalpinioideae).

Seropédica. Rio de Janeiro. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Ciências Exatas. 2002.

Dissertação de Mes trado.

Orientador:

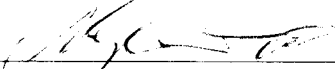
I. Mário Geraldo de Carvalho. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Ciências Exatas. III. Doutor em Ciências.

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

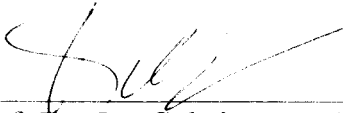
ILDOMAR ALVES DO NASCIMENTO

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica, área de concentração em Química de Produtos Naturais, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae** em Ciências.

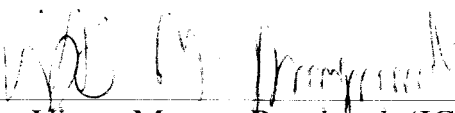
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 11/04/2003.



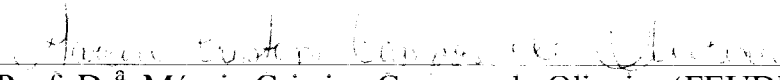
Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (ICE-DQ-UFRRJ)
(Orientador e Presidente)



Prof. Dr. Jan Schripsema (CCT-UENF)



Prof. Dr. Victor Marcos Rumjanek (ICE-DQ-UFRRJ)



Prof. Dr.^a Márcia Cristina Campos de Oliveira (FEUDUC-RJ)
(Suplente)

Dedico esta dissertação a:
meus pais, Antônia Alves da Silva Nascimento e Francisco Garcia do
Nascimento,
e meus irmãos, Itamar Alves do Nascimento, Hilton Jorge Alves da Silva,
Conceição de Maria da Silva Nascimento e Ivan Luis Alves do Nascimento.

Agradecimentos:

A DEUS,

A minha família,

Ao professor Mário pela paciência, confiança e orientação indispensáveis para a concretização desta importante etapa da minha vida.

Ao Professor Doutor Acácio Geraldo de Carvalho pela coleta e identificação do material vegetal.

À doutoranda Patrícia que me auxiliou na iniciação à Fitoquímica.

Aos professores: Aurélio, Ana Cristina e Cayoco pelos trabalhos de iniciação científica realizados na graduação.

Ao professor Horta pelas lições em sala de aula e fora dela.

Aos amigos da casa no 49: André, Ari, Fábio, Júlia e Tatiara pelos bons e maus momentos vividos nesses anos de convivência, e à Luciana.

À turma do curso de Química 1996/I e a todos os amigos e companheiros do campus: Leonardo, Chalita, Marlos, Piu, Ises, Aline, Samantha, Eduardo, Luiz, Abdoulaye, Cacaria, Rogério, Andréia, Rodrigo, Gustavo, Cleber, Vitor, Gustavo (física), Paulo, Anderson e Robson.

Às garotas do F3-406: Bete, Gabriela, Rachel, Cida e Fidel.

Aos amigos do laboratório 37: Juliana, Marli, Mário Sérgio, Cássia, Janaína, Flávia, Bianca, Rogéria, Luciano, Keli e Kedma.

Aos amigos e colegas do curso: Heloisa, Aline, Bauer, Christian, Marcelo, Pierre, Ricardo, Tatiana, Andréia, Regina, Edson, Paulo, Cláudio e Pilha.

A todos os professores do programa: Francisco, Rosane, Marco Edílson, João, Vitor, José Carlos, Anselmo, Sônia, Áurea.

Aos técnicos do ICE-DQ: Francis, Eli, Carlão, Maurício, Áurea, Conceição, Paulinho, Fábio, Rui, Aldir e Eugênio.

Aos meus pais: Antônia Alves da Silva Nascimento e Francisco Garcia do Nascimento.

Aos meus irmãos: Itamar Alves do Nascimento, Hilton Jorge Alves da Silva, Conceição de Maria da Silva Nascimento e Ivan Luis Alves do Nascimento.

A minha avó.

Aos meus tios: Chico, Isidorio, Socorro, Célia, Rogério, Hilda, Magno, Mariinha, Nelson, Daguia, Margarida, Dorinha, Claudete e Floriza.

Aos primos: Luciene, Keli, Kátia, Tony, Alexandre, Alessandra, Cassiano, Catarina, Tônico, Adriana, Camila, Rafael, Carina, Thais, Adriano, Gleisson, Leudiane, Uliane, Fernanda, Jéssica e Gabriele (minha afilhada).

Paz no mundo!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS, TABELAS E ESQUEMAS

ÍNDICE DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

ÍNDICE ANALÍTICO

ÍNDICE DE FIGURAS, TABELAS E ESQUEMAS.....	pag.
Figura 1: A estrutura da Brasileína.....	4
Figura 2: A árvore <i>Schizolobium parahybae</i>	8
Figura 3: Vagens de <i>S. parahybae</i>	9
Figura 4: Sementes de <i>S. parahybae</i>	9
Figura 5: Detalhe do Caule de <i>S. parahybae</i>	10
Figura 6: Flores do guapuruvu.....	11
Figura 7: Polissacarídeos de <i>S. parahybae</i> : (a) galactomanana, (b) xantana e (c)arabinana.....	14
Esquema 1: Fracionamento do extrato diclorometânico.....	23
Esquema 2: Fracionamento do extrato metanólico.....	27
Esquema 3: Fracionamento da EGAC30-59 do extrato metanólico.....	29
Figura 8: Rota biossintética do ácido mevalônico para biossíntese de terpenóides.....	32
Figura 9: Biossíntese do β -sitosterol (S1) e do estigmasterol (S1a).....	33
Figura 10: Formação dos precursores dos lignoides.....	35
Figura 11: Proposta Biossintética para formação de S2.....	36
Figura 12: Núcleo fundamental de um flavonóide.....	37
Figura 13: Biossíntese dos flavonóides S3, S4, S5 e S6.....	38
Figura 14: Espectro de IV das substâncias S1+S1a.....	41
Figura 15: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de S1+S1a.....	42
Tabela 1: Interpretação dos sinais de absorção do espectro na região IV da substância S2.....	43
Tabela 2: Valores dos deslocamentos químicos em ppm dos carbonos de S2 com as respectivas multiplicidades (50 MHz, CDCl_3).....	44
Figura 16: Estruturas parciais de S2.....	45

Figura 17: Propostas estruturais para S2.....	46
Figura 18: Estereoquímica relativa de S2.....	48
Figura 19: Espectro de IV de S2.....	49
Figura 20: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de S2.....	50
Figura 21: Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY (CDCl_3 , 200 MHz) de S2.....	51
Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C [DEPT (A) e PND (B), 200 MHz, CDCl_3] de S2.....	52
Tabela 3: Dados de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de S2 e comparação com os dados de RMN ^1H (100 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (25,05 MHz, CDCl_3) da balonofonina registrados na literatura.....	53
Tabela 4: Interpretação dos sinais de absorção do espectro na região IV da substância S3.....	54
Figura 23: Espectro de absorção na região IV da substância S3.....	57
Figura 24: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) de S3.....	58
Figura 25: Espectro 2D de correlação homonuclear $^1\text{H}, ^1\text{H}$ (200 MHz, acetona- d_6) de S3.....	59
Figura 26: Espectro de RMN ^{13}C [DEPT (A) e PND (B), 50 MHz, acetona- d_6] de S3.....	60
Tabela 5: Dados de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) e RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) de S3 e comparação com valores da literatura.....	61
Figura 27: Espectro de IV S4.....	64
Figura 28: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de S4.....	65
Figura 29: Ampliação dos sinais entre δ_{H} 6,72-7,92 do espectro de RMN ^1H de S4.....	66
Figura 30: Espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}, ^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO-d_6) de S4.....	67

Figura 31: Espectros de RMN ^{13}C de S4 [DEPT a 50 MHz (A) e PND a 100 MHz (B) em DMSO-d_6].	68
Tabela 7: Dados de RMN ^{13}C (100 MHz) e RMN ^1H (400 MHz) de S4 e comparação com valores registrados na literatura para 7,4'-diOH-flavona: $\delta^{13}\text{C}$, 50 MHz (SILVA e col., 2000) e $\delta^1\text{H}$, 500 MHz (KOSHINO e col., 1993).	69
Figura 32 : Espectro de infravermelho de S5	72
Figura 33: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, metanol- d_4) de S5.	73
Figura 34: Ampliação da região entre 7,42 ppm e 7,79 ppm do espectro de RMN ^1H de S5.	74
Figura 35: Ampliação da região entre 6,53 ppm e 6,86 ppm do espectro de RMN ^1H de S5.	74
Tabela 8: Dados de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de S5.	75
Figura 36: Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY (CD_3OD , 200 MHz) de S5.	76
Figura 37: Ampliação da região aromática do espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY (CD_3OD , 200 MHz) de S5.	77
Figura 38: Espectro de RMN ^1H NOESY (500 MHz, CD_3OD) de S5.	78
Figura 39: Ampliação da região entre 6,5-7,8 do espectro de RMN ^1H NOESY de S5.	79
Figura 40: Ampliação do espectro de RMN ^1H NOESY, mostrando a interação espacial entre o H-2' e o grupamento CH_3O .	80
Figura 41: Espectro de infravermelho de S6.	83
Figura 42: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, metanol- d_4) S6.	84
Figura 43: Ampliação da região entre 6,49 ppm e 7,77 ppm do espectro de ^1H de S6.	85
Tabela 9: Dados de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de S6.	86

Figura 44: Espectro de H^1, H^1 COSY de S6 (200 MHz, CD_3OD).....	87
Figura 45: Ampliação dos sinais entre δ_H 6,0-7,8 do espectro de H^1, H^1 COSY de S6.....	88
Figura 46: Experimento de NOEDIFF realizado através da irradiação na frequência do H-3 de S6.....	89

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS:

δ_H = deslocamento químico de hidrogênio.

δ_C = deslocamento químico de carbono.

c.c.= cromatografia em coluna.

c.c.d.= cromatografia de camada delgada.

COSY= COrelated SpectroscopY.

d= dubleto.

dd= dubleto de dubleto.

DEPT= Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.

DMSO- d_6 = dimetilsulfóxido hexadeuterado.

Hz= hertz.

IV= infravermelho.

J= constante de acoplamento em Hertz.

m= multipletto.

MEA= Métodos Espectroscópicos de Análise

MHz= megahertz.

MEA= Métodos Espectroscópicos de Análise.

NOESY= Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy.

PND= Proton Noise Decoupling.

q= quarteto.

RMN 1H = ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1.

RMN ^{13}C = ressonância magnética nuclear de carbono-13.

s= singleto.

sl= singleto largo.

SAM= S-Adenosil Metionina.

t= tripleto.

RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico da madeira da espécie *Schizolobium parahybae* (Vell.) S. F. Blake (Leguminosae-Caesalpinioideae), popularmente conhecida como guapuruvu. Os extratos da madeira da planta obtidos com diclorometano e metanol foram fracionados utilizando partição com solvente e técnicas cromatográficas. A análise das frações usando técnicas cromatográficas e espectrométricas conduziu ao isolamento e identificação do β -sitosterol, do estigmasterol e da 3,3'-dimetoxi-4',9'-diidroxil (4-O-7',5-8')-lignana-7,8-deidro-9-al (balonofonina) no extrato diclorometânico. O extrato metanólico forneceu três flavonóides conhecidos: 3,7,4'-triidroxiflavanona (garbanzol), 7,4'-diidroxiflavona, 7,4'-diidroxil-3'-metoxiflavona (geraldona) e a flavona 7,2',3',4'-tetraidroxiflavona. As estruturas foram determinadas através da análise dos seus dados espectrais de IV, RMN de ^1H (1D e 2D) e ^{13}C (PND e DEPT) e comparação com valores registrados na literatura. Todas essas substâncias estão sendo descritas pela primeira vez no gênero *Schizolobium*. Além da flavona nova, este é o primeiro registro dos dados espectrométricos de RMN ^1H e ^{13}C do garbanzol e da geraldona.

ABSTRACT

The present work describes the phytochemical study of *Schizolobium parahybae* (Vell.) S. F. Blake (Leguminosae-Caesalpinioideae), commonly known as guapuruvu. The solvent partition and chromatographic partition of the extracts from the wood resulted in the isolation of β -sitosterol, stigmasterol 3,3'-dimethoxy-4',9'-dihydroxy-(4-O-7',5-8')-lignan-7,8-dehydro-9-al (balanophonin) from the dichloromethane extract. From the methanolic extract were isolated 3,7,4'-trihydroxyflavanone (garbanzol), 7,4'-dihydroxyflavone, 7,4'-dihydroxy-3'-methoxyflavone (geraldone) and the new flavone 7,2',3',4'-tetrahydroxyflavone. The structures were established by IR, NMR ^1H (1D and 2D) e ^{13}C (PND and DEPT) spectral data analysis and by comparison with literature data. The NMR spectral data of garbanzol and geraldone are reported here for the first time.

ÍNDICE ANALÍTICO

<u>1- INTRODUÇÃO</u>	3
1.1- A FAMÍLIA LEGUMINOSAE JUSS.	3
1.1.1- MIMOSOIDEAE	5
1.1.2- CAESALPINOIDEAE	6
1.1.3- FABOIDEAE (PAPILIONOIDEAE)	6
1.2- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE <i>SCHIZOLOBIUM PARAHYBAE</i> (VELL.) S. F. BLAKE	7
1.3- ESTUDO QUÍMICO DO GÊNERO <i>SCHIZOLOBIUM</i> E DA ESPÉCIE <i>SCHIZOLOBIUM PARAHYBAE</i>	12
1.3.1. ESTUDO QUÍMICO REALIZADO ANTERIOR A ESTE TRABALHO.	12
1.3.2- CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS NESTE TRABALHO.	18
<u>2- OBJETIVOS</u>	19
<u>3- EXPERIMENTAL</u>	20
3.1- EQUIPAMENTOS E REAGENTES	20
3.2- O MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS	21
3.2.1- PROCESSAMENTO DO EXTRATO DICLOROMETÂNICO (EGD)	22
3.2.2- PROCESSAMENTO DO EXTRATO METANÓLICO (EGM)	25
<u>4- CONSIDERAÇÕES BIOSINTÉTICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS</u>	31
4.1- OS ESTEROIDES: b -SITOSTEROL (S1) E ESTIGMASTEROL (S1A)	32
4.2- A 3,3`-DIMETOXI-4` ,9` -DIIDROXI (4-O-7` , 5-8`)-LIGNANA-7,8-DEIDRO-9-AL.	35
4.3- OS FLAVONÓIDES: S3, S4, S5 E S6	38
<u>5- RESULTADOS E DISCUSSÕES</u>	40
5.1- DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES	40
5.1.1- IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS (S1 E S1A)	40
5.1.2- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIAS2	44
5.1.3- IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE S3	55
5.1.4- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIAS4	63
5.1.5- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA S5	71
5.1.6- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIAS6	82

6. CONCLUSÃO **91****7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS** **92**

1- INTRODUÇÃO

1.1- A FAMÍLIA LEGUMINOSAE Juss.

A família Leguminosae é uma das mais extensas dentre as dicotiledôneas com mais de 600 gêneros que aglomeram mais de 13000 espécies, sobretudo nas regiões tropicais e subtropicais. São plantas de hábitos variados, existindo desde grandes árvores das matas tropicais, até arbustos, subarbustos, ervas anuais ou perenes e igualmente, muitas trepadeiras, vivendo nos mais modificados ambientes e em distintas latitudes. Um atributo muito importante apresentado por estas plantas é a aptidão de viver simbioticamente com certas bactérias do gênero *Rhizobium* encontradas nos nódulos das suas raízes e que são capazes de fixar o N₂ do ar (JOLY, 1998).

Nesta família encontram-se plantas que fornecem substâncias químicas com os mais distintos usos: alimentos, tintas, colas, resinas, óleos, essências, remédios, inseticidas, etc.

Uma leguminosa que tem um lugar de destaque na História do Brasil é a espécie *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae) ou, popularmente, pau-brasil. Nesta espécie há uma substância corante chamada brasileína, (**Figura 1**) cuja estrutura foi elucidada por Robert Robinson (1886-1975) e colaboradores (JAEGER e col.; 1974 e CHATTERJEA e col.; 1974). Devido à presença dessa substância, que tingia de vermelho os tecidos da nobreza de Portugal, o pau-brasil foi profundamente explorado nos três primeiros séculos da nossa colonização quase chegando a ser extinto. Seu comércio adquiriu tamanha importância que ela acabou tornando-se a única árvore a batizar uma nação.

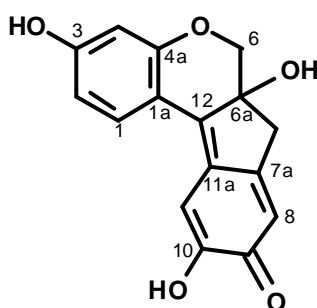


Figura 1: A estrutura da brasileína.

As diferenças morfológicas entre as espécies desta família induziram os botânicos a dividirem-na em três subfamílias que são: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Faboideae (Papilionoideae) (JOLY, 1998).

1.1.1- MIMOSOIDEAE

É a menor subfamília das leguminosas compreendendo cerca de 40 gêneros. Os representantes desta família são abundantes em regiões tropicais. No Brasil destacam-se pela abundância de espécies os gêneros *Mimosa*, *Calliandra*, *Inga*, *Pithecellobium*, *Parkia*, *Piptadenia* e *Stryphnodendron*.

Características: Árvores, arbustos, subarbustos freqüentemente com espinhos. Folhas recompostas, com estípulas. Flores actinomorfas, reunidas em inflorescências geralmente em espigas ou capituliformes, hermafroditas. Corola actinomorfa, gamopétala, tabulosa, prefloração valvar. Androceu gamostêmone; isso, diplo ou polistêmone; com estames geralmente bem maiores que as pétalas. Ovário súpero unicarpelar, unilocular, pluriovulado. Fruto: legume, lomento ou craspélio.

1.1.2- CAESALPINOIDEAE

Conglomera cerca de 150 gêneros sendo muito bem representada no Brasil. O gênero com maior número de espécies é *Cassia*. Outros gêneros freqüentes são: *Caesalpinia*, *Dimorphandra*, *Copaifera*, *Hymenaea*, *Holocalix*, *Swartzia*, *Delonix*, *Tamarindus* e *Schizolobium*

Características: Árvores, arbustos, trepadeiras. Folhas compostas, pinadas (bipinadas são menos freqüentes), unifoliadas ou bifoliadas. Flores zigomorfas, hermafroditas, diclamídeas, pentâmeras, gamossépala, dialipétala. Corola papilionácea. Prefloração vexilar. Estames: 10, (raro mais de 10 estames). Anteras com deiscência rimoso ou poricida. Ovário súpero, unicarpelar, unilocular ou dividido por falsos septos, pluriovulado. Fruto é um legume.

1.1.3- FABOIDEAE (PAPILIONOIDEAE)

Contem perto de 400 gêneros sendo, deste modo, a maior subfamília entre as leguminosas. Pertencem a esta subfamília vários gêneros com espécies que são utilizadas em nossa nutrição: *Phaseolus* (feijão), *Pisum* (ervilha), *Lens* (lentilha), *Vicia* (fava), *Cicer* (grão de bico), *Glycine* (soja) e *Arachis* (amendoim).

Características: Árvores, ervas ou trepadeiras. Folhas compostas trifoliadas (é raro ocorrer unifoliadas ou com mais de três folíolos). Flores zigomorfas, flores isoladas ou reunidas em cachos, hermafroditas. Corola zigomorfa, dialipétala, papilionácea, prefloração vexilar. Androceu diplostêmone, gamostêmone, unilocular, pluriovulado. Fruto legume, lomento, sâmara, folículo ou geocárpico.

1.2- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE *Schizolobium parahybae* (Vell.) S. F. Blake

S. parahybae (**Sinonímia botânica:** *Schizolobium excelsum* Vog.), outrora denominada cientificamente como *S. parahybum* (RODRIGUES, 1997), popularmente é designada pelos seguintes nomes: guapuruvu, guapurubu, fischeira, bacurubu, guapiruvu, garapivu, guarapuvu, pataqueira, pau-de-vintém (BA), bacuruva, birosca (MG), bandarria (RJ), faveira (LORENZI, 1998). A espécie é uma árvore (**Figura 2**, www.arvore.hpg.com.br/guapu1/guapu1.jpg) com altura de 20-30 m, com tronco de 60-80 cm de diâmetro. Ela apresenta folhas compostas bipinadas, de 80-100 cm de comprimento, com 30-50 pinas opostas. Os folíolos são em número de 40-60 por pina de 2-3 cm de comprimento. Floresce a partir do final de agosto com a planta totalmente despida da folhagem, prolongando-

se até meados de outubro. Os frutos amadurecem em abril-julho (**Figura 3 e Figura 4**, LORENZI, 1998).



Figura 2: A árvore *Schizolobium parahybae* (guapuruvu).



Figura 3:
Vagens de *S.*
parahybae.



Figura 4:
Sementes de
S. parahybae.

Esta espécie é encontrada da Bahia até Santa Catarina, na floresta pluvial da encosta atlântica. É uma planta decídua, heliófita, pioneira e seletiva higrófito, característica e exclusiva da mata atlântica. Apresenta dispersão irregular e descontínua; é rara ao longo de encostas íngremes e topos de morros sendo bastante freqüente nas planícies aluviais ao longo de rios. Nas depressões das encostas chega a formar densos agrupamentos.

Prefere as matas abertas e capoeiras, sendo rara na floresta primária densa. É uma das plantas nativas de mais rápido crescimento.

Sua madeira é muito leve (densidade 0,32 g/cm³), macia, superfície irregularmente lustrosa, textura grossa (**Figura 5**, LORENZI, 1998), grã irregular, de baixíssima durabilidade sob condições naturais, alborno e cerne indistintos. É indicado para miolo de painéis e portas, brinquedos, saltos para calçados, formas de concreto, compensados e caixotaria leve e pesada (LORENZI, 1998). É importante também para a indústria de papel porque o lenho e a casca dão mais de 60% de fibras (PIO CORRÊA, 1984) que apesar de curtas, fornecem um papel de boa resistência (RIZZINI, 1995).



Figura 5: Detalhe do Caule de *S. parahybae*.

A planta é bastante ornamental quando está florida, (**Figura 6**, LORENZI, 1998) porém não é recomendada para arborização de lugares muito freqüentados devido aos riscos de acidentes pela queda fácil de ramos em dia de vento. É ótima para reflorestamentos de áreas degradadas de preservação permanente em composições mistas.



Figura 6: Flores do guapuruvu.

CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

CLASSE: Dicotilenoideae

SUBCLASSE: Rosidae

ORDEM: Rosales

FAMÍLIA: Leguminosae

SUBFAMÍLIA: Caesalpinioideae

GÊNERO: *Schizolobium*

ESPÉCIE: *Schizolobium*

parahybae

1.3- ESTUDO QUÍMICO DO GÊNERO *Schizolobium* E DA ESPÉCIE *Schizolobium parahybae*

1.3.1. ESTUDO QUÍMICO REALIZADO ANTERIOR A ESTE TRABALHO.

O gênero *Schizolobium* possui duas espécies. Uma delas é a já citada *S. parahybae* e a outra é *S. amazonicum* Ducke (vulgarmente: pinho cuiabano) espécie nativa da floresta amazônica. O Estudo químico almejando o isolamento e caracterização de substâncias do metabolismo secundário ainda não foram realizados para ambas espécies.

A literatura revela alguns trabalhos sobre estudos químicos referentes ao metabolismo primário. As pesquisas com estas espécies relatam a presença de polissacarídeos, isolados principalmente do endosperma das sementes destas plantas, como por exemplo, galactomananas (**Figura 7a**) [ZAWADZKI-BAGGIO e col. (1992), GANTER e col. (1995), FRANCO e col. (1996), BRESSOLIN e col. (1997) e PETKOWICZ e col. (1998)], xantanas (**Figura 7b**) (BRESSOLIN e col., 1997) e arabinanas (**Figura 7c**) (PETKOWICZ e col. 1998).

As arabinanas possuem o esqueleto principal formado por resíduos de α -L-arabinofuranosil unidos por ligações (1 \rightarrow 6) e são ramificadas por ligações α -(1 \rightarrow 3) deste mesmo açúcar (PETKOWICZ e col. 1998).

As galactomananas são polissacarídeos cuja estrutura é constituída por uma cadeia linear principal formada por unidades de β -D-manopiranosil conctados por meio de ligações (1 \rightarrow 4), sendo ramificada com unidades do grupamento α -D-galactopiranosil através de ligações (1 \rightarrow 6) (PETKOWICZ e col. 1998).

As xantanas são macromoléculas lineares formadas por unidades de D-glucopiranosose reunidas por ligações β -(1 \rightarrow 4). A cada segunda unidade, o C-3 da glucopiranosose é substituído por um trissacarídeo carregado, composto por resíduo de ácido glicurônico entre duas unidades de manose, formando uma cadeia lateral. A unidade manosil terminal pode ser substituída no O-4 e O-6 pelo grupamento acetal-piruvato e, freqüentemente, pode haver também um grupo acetil como substituinte no O6 da manose. Esses polissacarídeos são importantes e usados especialmente na indústria de alimentos como estabilizador, espessante, etc. Ambos polímeros, galactomananas e xantanas, quando misturados sob condições adequadas interagem em solução, causando aumento da viscosidade da solução e formação de gel (BRESSOLIN e col., 1997).

A goma de xantana também é empregada na indústria de cosméticos e de produtos de higiene como estabilizador, espessante e agente de suspensão. Em presença de água, forma suspensões coloidais insolúveis

na maioria dos solventes orgânicos e bastante estáveis em presença de ácidos e sais e ainda resistem bem à degradação enzimática. É utilizada em xampus, cremes, condicionadores, loções e pastas de dente (<http://www.abacovital.com/fichastecnicas/polimeros/carbohidratos/Xanthan.htm>).

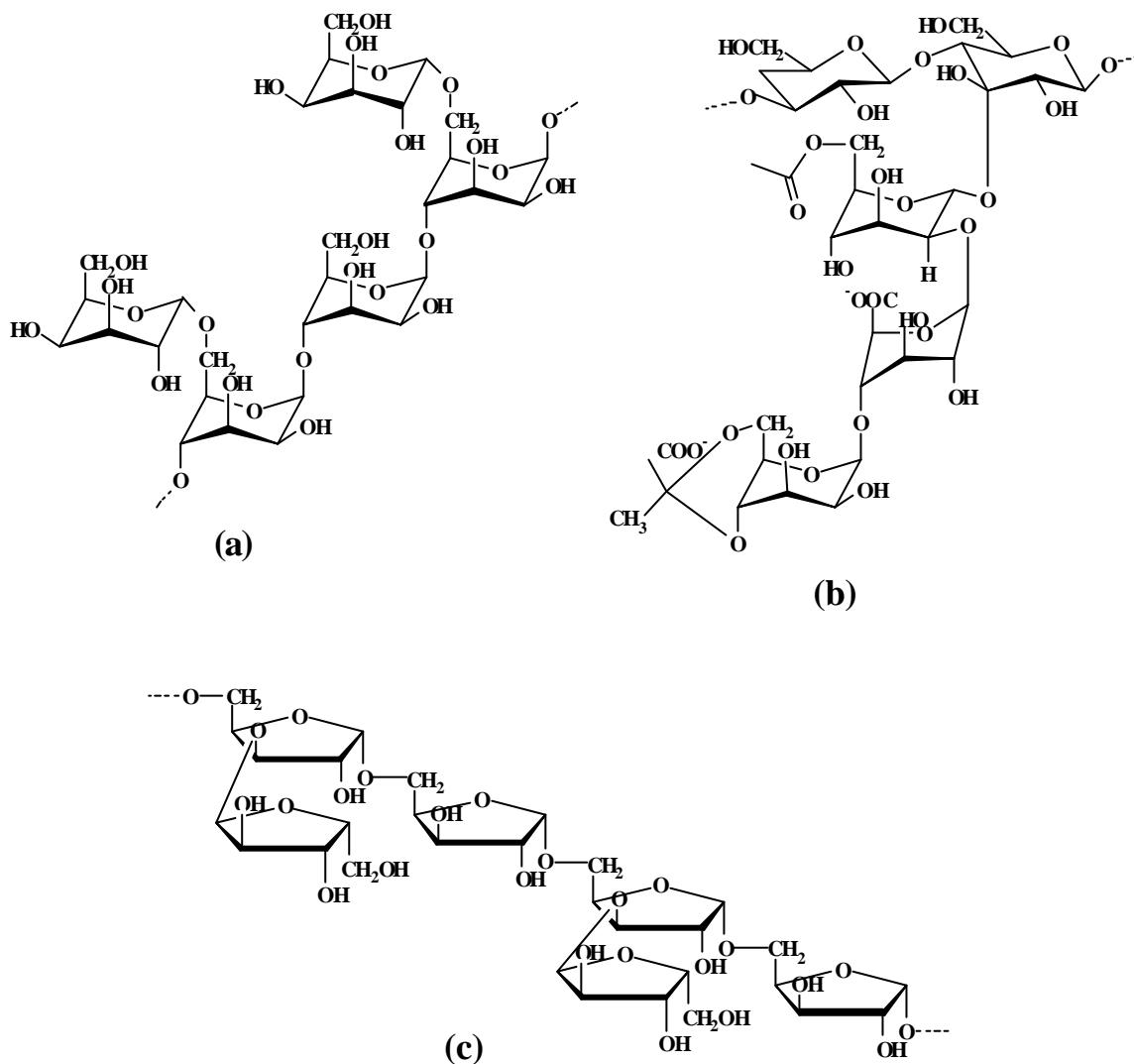


Figura 7: Polissacarídeos de *S. parahybae* e de *S. amazonicum*: (a) galactomanana, (b) xantana e (c) arabinana.

A presença de galactomananas em leguminosas têm sido foco de discussões taxonômicas para alguns pesquisadores. Há quem defenda a

tese de que a quantidade de galactomananas encontradas e a proporção manose:galactose (man:gal) deste polissacarídeo podem ser usadas como marcador taxonômico desta família. Considerando o padrão evolucionário aceito para Leguminosae, no qual Mimosoideae e Faboideae são derivados de Caesalpinioideae, os dados obtidos com o estudo de espécies de leguminosas sugerem que ao longo da evolução houve um decréscimo no conteúdo de galactomananas, junto com um acréscimo na proporção de galactose (BUCKERIDGE e col., 1995).

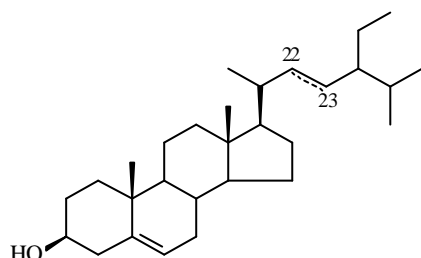
Em outra linha de pesquisa realizada com *S. parahybae* foi verificado que elas são fontes de inibidores de proteinase, que constituem-se numa classe de proteínas que se caracterizam quimicamente por apresentarem ligações dissulfeto. Esses inibidores despertam interesse porque estão envolvidos no controle de atividades proteolíticas, exercendo papel relevante em bio-processos como coagulação sangüínea, crescimento de tumores e metástase. Nas plantas onde ocorrem, estes inibidores possuem ação importante contra os seus predadores naturais (SOUZA, 1995 e TELES, 1999).

Este é o **primeiro trabalho** relacionado ao estudo fitoquímico deste gênero e visa o isolamento e identificação dos metabólitos especiais de *Schizolobium parahybae*. E, além disso, o estudo desta espécie faz parte de

um projeto denominado: “**Avaliação química na resistência de plantas a insetos**” que está sendo desenvolvido pelo Eng. Florestal Dr. Acácio Geraldo de Carvalho, Departamento de Produtos Florestais, Instituto de Florestas da UFRuralRJ em conjunto com o Pr. Dr. Mário Geraldo de Carvalho, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFRuralRJ. O Dr. Acácio observou que o inseto conhecido vulgarmente como cerrador e cientificamente como *Oncideres saga*, provoca o anelamento da madeira desta árvore e constrói galerias no seu interior que lhe servirão como alojamento, causando a destruição da planta. Uma metodologia para avaliar a relação deste inseto com *S. parahybae* deverá ser desenvolvida.

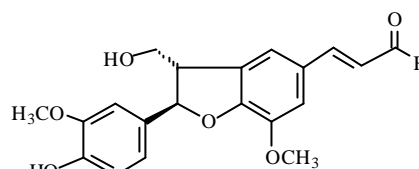
1.3.2- CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS NESTE TRABALHO.

O fracionamento cromatográfico da madeira de *S. parahybae* conduziu ao isolamento e identificação de dois esteróides (**S1** e **S1a**), uma lignana (**S2**), um flavonol (**S3**) e as flavonas (**S4**, **S5** e **S6**). Todos estes constituintes estão sendo registrados pela primeira vez neste gênero.

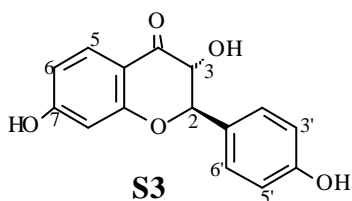


S1: 22,23-diidro

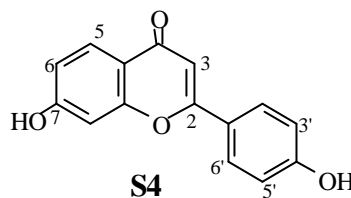
S1a: $\Delta^{22,23}$



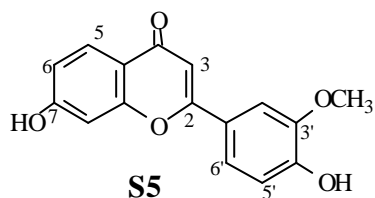
S2



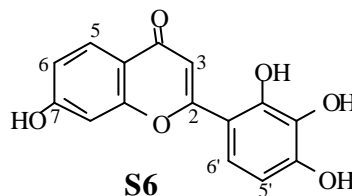
S3



S4



S5



S6

2- OBJETIVOS

- 1- Isolar e identificar metabólitos especiais da madeira de *Schizolobium parahybae*.
- 2- Aplicar técnicas espectrométricas na identificação e verificar a existência de dados na literatura das substâncias isoladas.
- 3- Avaliar a atividade biológica de constituintes isolados da planta.
- 4- Contribuir para o projeto sobre avaliação da influência dos constituintes isolados com o desenvolvimento do cerrador *Oncideres saga*.

3- EXPERIMENTAL

3.1- EQUIPAMENTOS E REAGENTES

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho MEL-TEMP II, Laboratory Devices USA, utilizando capilar e sem correção de valores. Os espectros obtidos na região do infravermelho foram registrados em espectrofotômetro Perkin-Elmer 1600/1605 FT-IR em discos de KBr ou filmes de NaCl. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C (incluindo experimentos 2D) foram obtidos em espectrômetros Bruker ACE-200 [200MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C)] e JEOL ELIPSE JNM-GX-400 (UENF) [400MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C)]. Como padrão interno para referência de deslocamento químico foi usado tetrametilsilano. A medida de atividade ótica foi realizada em Polarímetro Perkin-Elmer 8692 (UENF).

Foi usada cromatografia em coluna de sílica gel (230-400 e 70-230 mesh) da marca VETEC como fase estacionária. A cromatografia em camada delgada preparativa (CCP) foi feita em placas de sílica gel 60 PF₂₅₄, MERCK e VETEC sobre suporte de vidro e espessura de 1 mm. As

substâncias foram detectadas por irradiação ultravioleta de $\lambda = 254$ ou 365 nm. Foram usadas placas de sílica gel 60 PF₂₅₄ Merck para análise cromatográfica em camada fina (CCF) e como reveladores foram usados, além da detecção por radiação ultravioleta, reagentes de Dragendorff (para alcalóides) e Liebermann-Burchard (terpenóides); soluções de AlCl_3 - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (1%) e sulfato cérico (1%)- H_2SO_4 (10%) (para compostos fenólicos).

3.2- O MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

O material vegetal foi coletado no campus da UFRuralRJ, no Instituto de Florestas, em abril de 2000 e identificado pelo Dr. Acácio Geraldo de Carvalho como parte do projeto, usando excicata depositada no herbário da UFRRJ (IB-UFRRJ, nº:1171).

A madeira, após seca e moída (1650g), foi submetida a maceração exaustiva com diclorometano e metanol, consecutivamente, a temperatura ambiente. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida

em evaporador rotativo, obtendo-se 14,0 g de resíduo a partir do extrato diclorometânico denominado **EGD** e 50,0 g de resíduo a partir do extrato metanólico denominado **EGM**.

3.2.1- PROCESSAMENTO DO EXTRATO DE DICLOROMETANO (EGD)

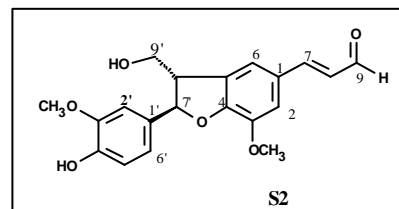
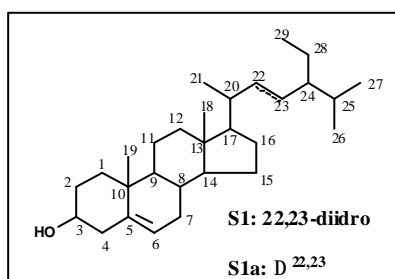
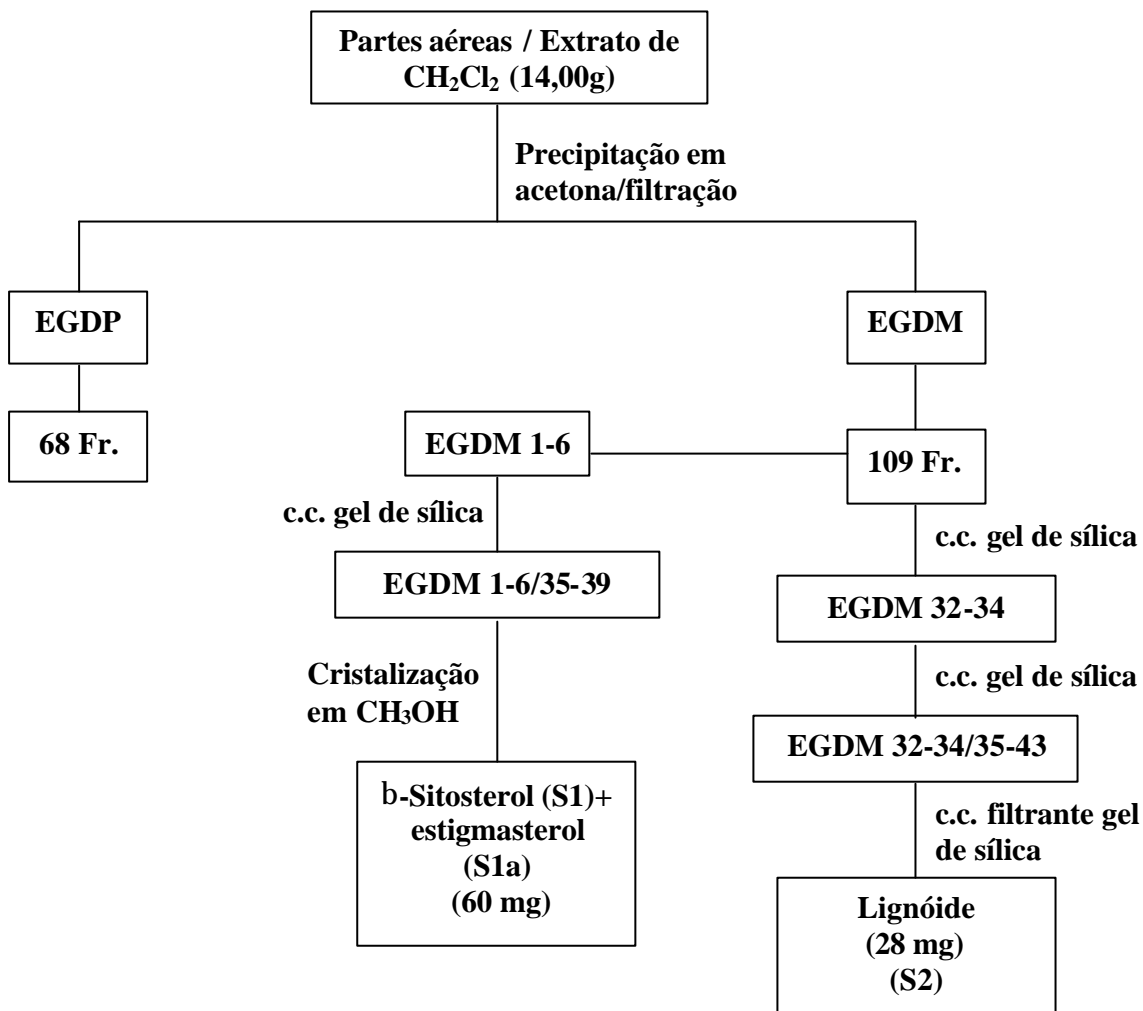
A adição de acetona a esse extrato ocasionou a formação de um precipitado branco. Esse precipitado foi filtrado em funil de Buchner, à pressão reduzida. A água mãe recebeu o código **EGDM** e o precipitado o código **EGDP**.

A água-mãe foi concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi seco em pistola com bomba de vácuo. Este foi fracionado utilizando gel de sílica como fase estacionária e eluído com mistura de solventes em gradiente crescente de polaridade. A fase móvel foi composta por diclorometano, diclorometano:acetato de etila 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70% e acetato de etila puro. Foram recolhidas 109 frações (± 100 ml). Após análise por cromatografia de camada fina, as frações foram reunidas da seguinte forma: as letras **EGDM** seguida pelo grupo de frações reunidas: **1-6; 7-9; 10-22; 23-25; 26-32; 32-34; 35-44; 45-51; 52-61; 62-69; 70-73; 74-98; 99-104 e 105-109**.

As frações EGDM32-34 (110 mg) foram submetidas a fracionamento em coluna de gel de sílica com fase móvel composta por CH_2Cl_2 ; CH_2Cl_2 :acetato de etila 5%; 10%; 20%; 30%, 40%, 50% até acetato de etila 100%. A fração 35-43 forneceu 28mg de um óleo que recebeu o código EGDM32-34/35-43 (**Esquema 1**) e foi identificada como **S2**.

A fração EGDM1-6 forneceu um precipitado com adição de metanol. Esse precipitado foi filtrado, seco, pesado (1,0 g) e submetido a fracionamento em coluna de sílica gel utilizando como fase móvel os solventes: hexano; hexano:acetato de etila 5%; 10%; 20%; 40; 80 e acetato de etila 100%. Obtiveram-se 53 frações. A adição de metanol à EGDM1-6/35-39 originou a formação de um precipitado. Após o acréscimo de 35 gotas de acetato de etila e aquecimento foi observado que o precipitado era solúvel. O frasco foi tampado e deixado em repouso. Com o resfriamento da solução observou-se o desenvolvimento de cristais. A água-mãe foi removida com uma pipeta. Esse processo foi repetido diversas vezes até que os cristais se apresentassem incolores com ponto de fusão 129-131° C. Essa amostra foi codificada como EGDM1-6/35-39a (60mg) (**Esquema 1**) e foi identificada como **S1** e **S1a**.

Esquema 1: Fracionamento do extrato diclorometânico.



3.2.2- PROCESSAMENTO DO EXTRATO METANÓLICO (EGM)

O extrato metanólico foi submetido à partição com acetato de etila:MeOH/H₂O(7/3). Foram realizadas diversas extrações com 200 ml de acetato de etila. O extrato de acetato de etila foi concentrado a pressão reduzida fornecendo 25,0 g de resíduo. Este material foi pulverizado com gel de sílica para aplicá-lo em uma coluna de sílica e como fase móvel foram utilizados: hexano:acetato de etila 30%, 50%, 70% e acetato de etila 100%. Recolheram-se 112 frações (250 ml) com estas misturas e, então, mais quatro frações (500 ml) usando metanol 100%. Após a análise por meio de cromatografia de camada fina, as frações foram agrupadas e codificadas como **EGAC n° das frações**: (1-2), (3-4), (5-6), (7-12), (13-16), (17-21), (22-29), (30-35), (36-41), (42-47), (48-53), (54-59), (60-65), (66-71), (72-73), (74-75), (76-77), (78-84), (85), (86-90), (91-95), (96-101), (102-106), (107-111), (112), (113), (114), (116), (117).

Fez-se triagem para identificar as frações mais fáceis de purificar levando-se em consideração a melhor separação com diferentes sistemas de eluentes na análise cromatográfica em camada fina e aquelas que mostraram a provável presença de determinados grupos funcionais através do uso de reveladores químicos. Entre estes reagentes, a solução de cloreto de alumínio em etanol foi usada para detectar a presença de hidroxila

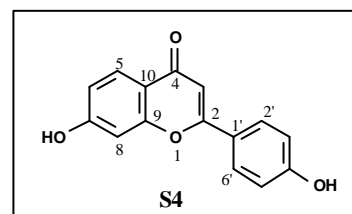
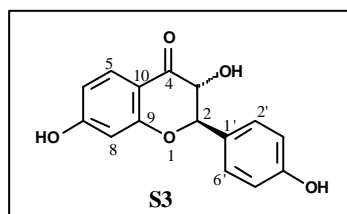
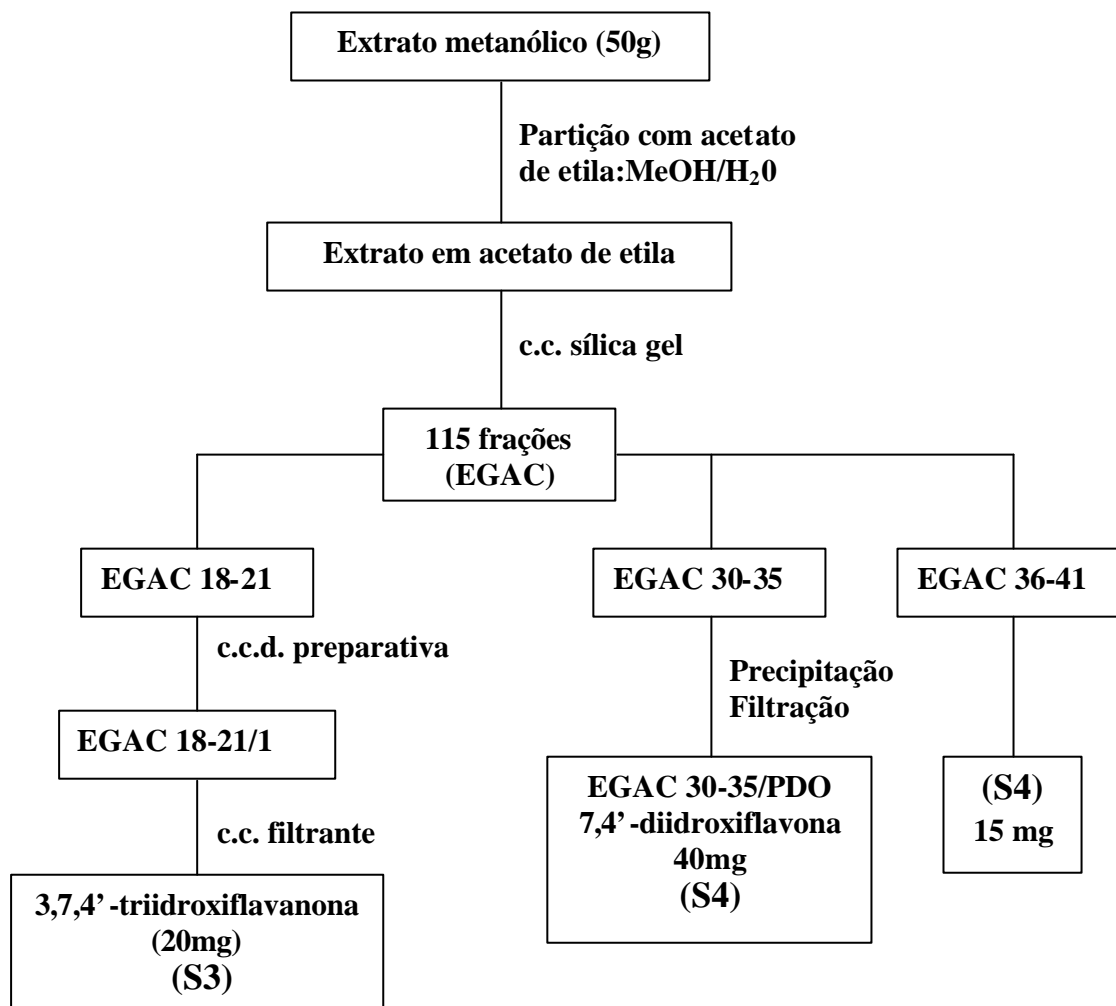
fenólica na fração EGAC 18-21 (65 mg). Após eluição da placa em $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, esta foi imersa na solução alcoólica de AlCl_3 e observou-se a formação de uma mancha verde. Esta mancha apresentara coloração amarela na lâmpada de luz UV, sem o uso de AlCl_3 . Em seguida, esta fração foi submetida a cromatografia de camada delgada preparativa, sendo eluída três vezes com a mistura $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 30%. A placa foi observada na luz UV e a faixa que apresentou coloração amarela foi separada. A substância foi extraída da sílica mediante filtração em funil de Richner, utilizando-se acetato de etila e metanol. Obteve-se uma substância sólida que foi codificada como: EGAC18-21/1 (20mg) (**Esquema: 2**) e identificada como **S3**.

Observou-se a formação de um precipitado amarelo na fração EGAC30-35. Esse foi insolúvel em acetato de etila e acetona, e, pouco solúvel em metanol. Filtrou-se o precipitado em funil simples lavando-o com acetato de etila. O sólido foi seco em dessecador à pressão reduzida. O seu ponto de fusão era 300°C . Este material foi codificado como EGAC30-35/PDO (40 mg) (**Esquema: 2**) e a substância foi identificada como **S4**.

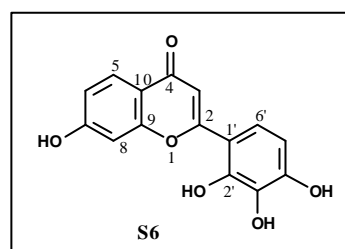
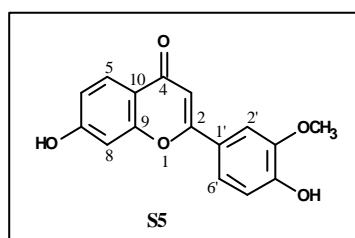
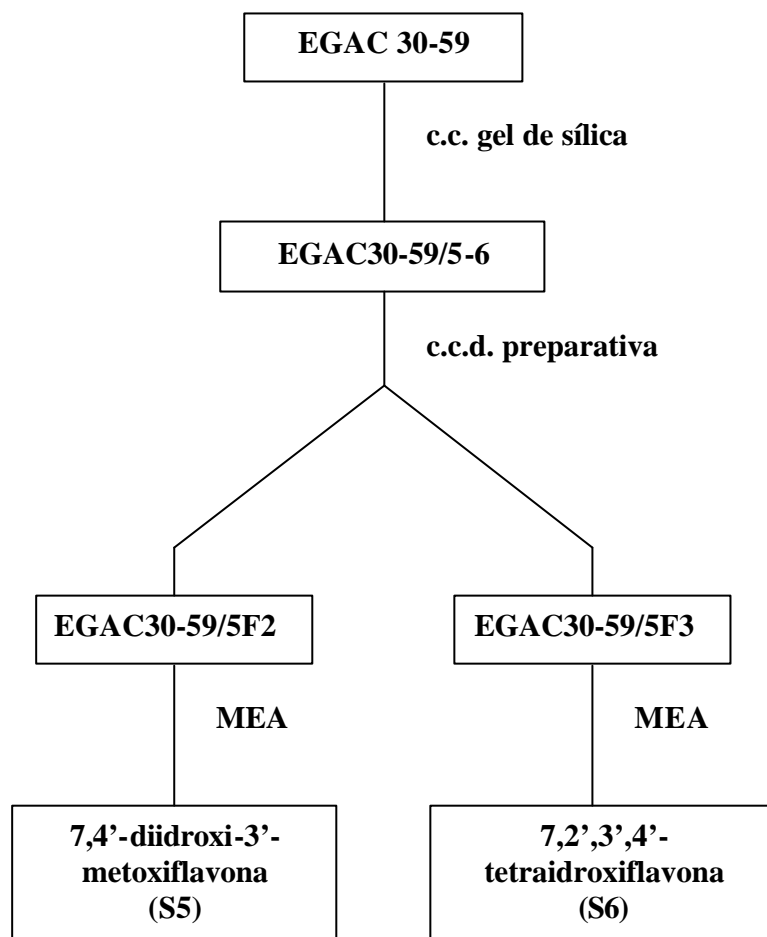
A fração EGAC36-41 também forneceu uma substância sólida amarela com as características físicas (cor, solubilidade e ponto de fusão) semelhantes às observadas em EGAC30-35. Posteriormente, por meio

da análise dos dados espectrais de ambos precipitados, verificou-se que eram constituídas da mesma substância.

Esquema 2: Fracionamento do extrato metanólico.



A água mãe de EGAC30-35, EGAC36-41 e EGAC48-53 e as frações EGAC42-47 e EGAC54-59 foram reunidas (2,0 g) após análise em cromatografia em camada fina e submetidas a cromatografia em coluna. O eluente utilizado foi hexano:acetato de etila 50%, acetato de etila 100%, acetato de etila:metanol 10%, acetato de etila:metanol 50% e metanol 100%. Recolheram-se 30 frações (250 ml). As frações 5 e 6 (codificadas como EGAC30-59/5 e EGAC30-59/6), quando observadas sob radiação UV, exibiram duas substâncias em maior quantidade. Na região de luz visível, ambas apresentaram coloração amarela, e no teste com AlCl_3 para hidroxila fenólica, responderam positivamente (intensificando a coloração). A fração **5** foi submetida a cromatografia de camada delgada preparativa, sendo eluída duas vezes com a mistura $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 20%. Após a eluição, a placa foi seca e observada sob luz UV. Cada uma das manchas vistas foi marcada e raspada. As substâncias foram separadas da sílica por filtração em funil de Richner lavando-se várias vezes com acetato de etila. Obtiveram-se duas substâncias que receberam os códigos EGAC30-59/5F2 e EGAC30-59/5F3 (**Esquema: 3**) e identificadas como **S5** (15 mg) e **S6** (12 mg), respectivamente.

Esquema 3: Fracionamento da EGAC30-59 do extrato metanólico.

4- CONSIDERAÇÕES BIOSSINTÉTICAS SOBRE AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

Na determinação estrutural de substâncias naturais, deve-se sempre levar em consideração a biossíntese dos principais representantes estruturais dos diferentes esqueletos das substâncias de diversas classes de constituintes. Além da análise dos dados espectrométricos, a previsão das unidades precursoras torna possível deduzir estruturas que seria impossível qualquer conclusão. Para isso incluímos este capítulo considerando a formação biossintética das estruturas dos constituintes isolados através deste trabalho.

4.1- OS ESTERÓIDES: b-SITOSTEROL (S1) E ESTIGMASTEROL (S1a)

Estas substâncias (**S1** e **S2**) são bastante comuns em espécies de diversas famílias, pertencem à classe dos esteróides. A rota biossintética dos esteróides ocorre através da via do ácido mevalônico. Através desta via, três unidades de AcetilCoA sofrem condensação para formar o isopentenil pirofosfato (IPP) que sofre isomerização para dimetilalilpirofosfato (DMAPP). Estes são os precursores básicos dos terpenóides e esteróides que sofrerão polimerização dando gênese a moléculas de cadeias carbônicas crescentes de cinco em cinco átomos de carbono. A reação de IPP com seu isômero DMAPP formam o *trans*-geranilpirofosfato (GPP), a partir do qual podem ser formados os demais terpenos. Novas ligações cabeça-cauda entre GPP e IPP resultarão em farnesilpirofosfato (FPP) e geranilgeranilpirofosfato (GGPP) com 15 e 20 átomos de carbono, respectivamente. O FPP é intermediário para biossíntese dos sesquiterpenos (C15), triterpenos (C30) e esteróides (C18-C30), enquanto que, GGPP originará os diterpenos (C20), sesterpenos (C25), tetraterpenos e carotenóides (C40) (TORSSSEL, 1997 e DEWICK, 1997). As **Figuras 8 e 9** mostram a biossíntese dos metabólitos **S1** e **S1a**.

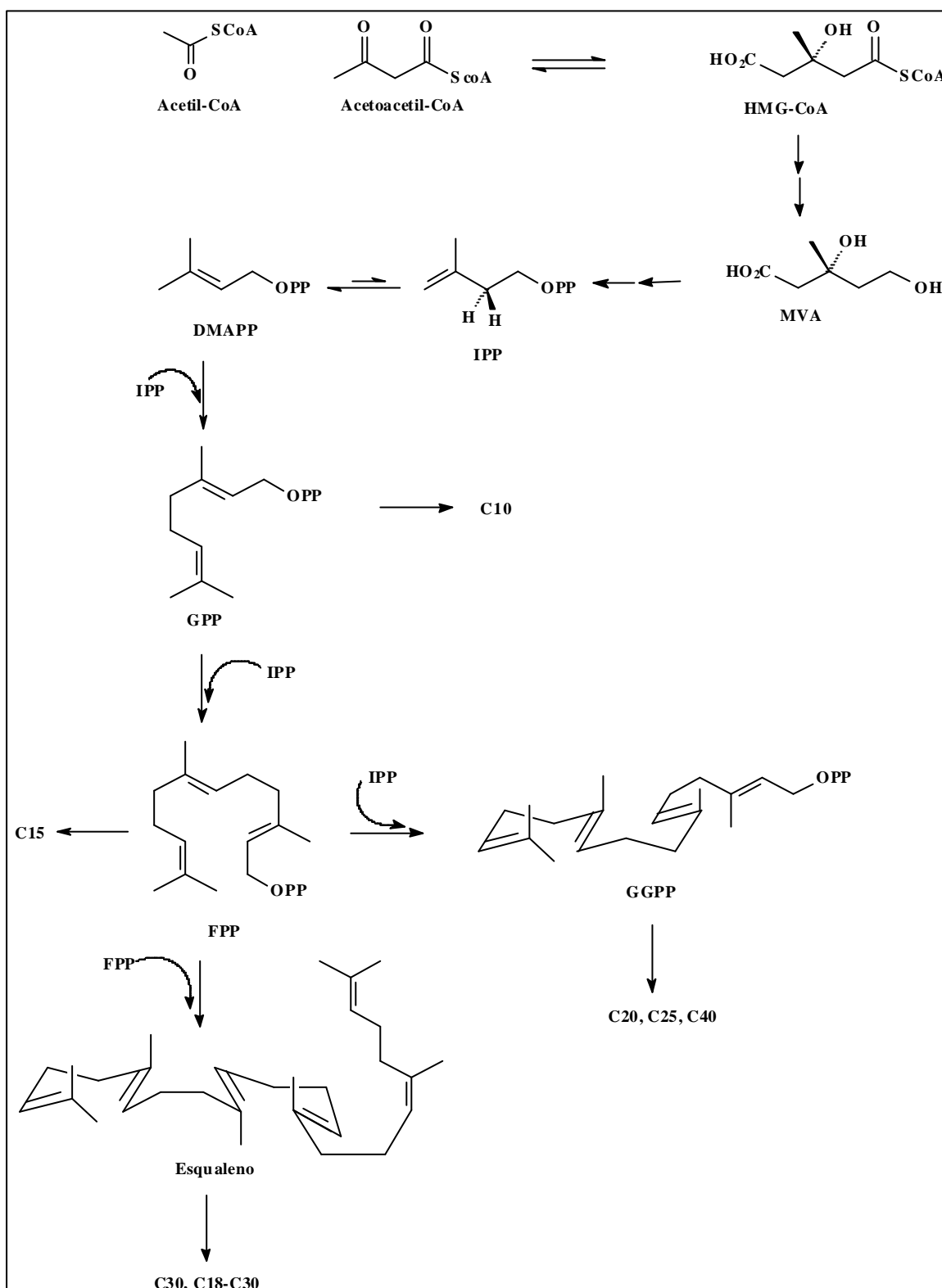


Figura 8: Rota biossintética do ácido mevalônico para biossíntese de terpenóides.

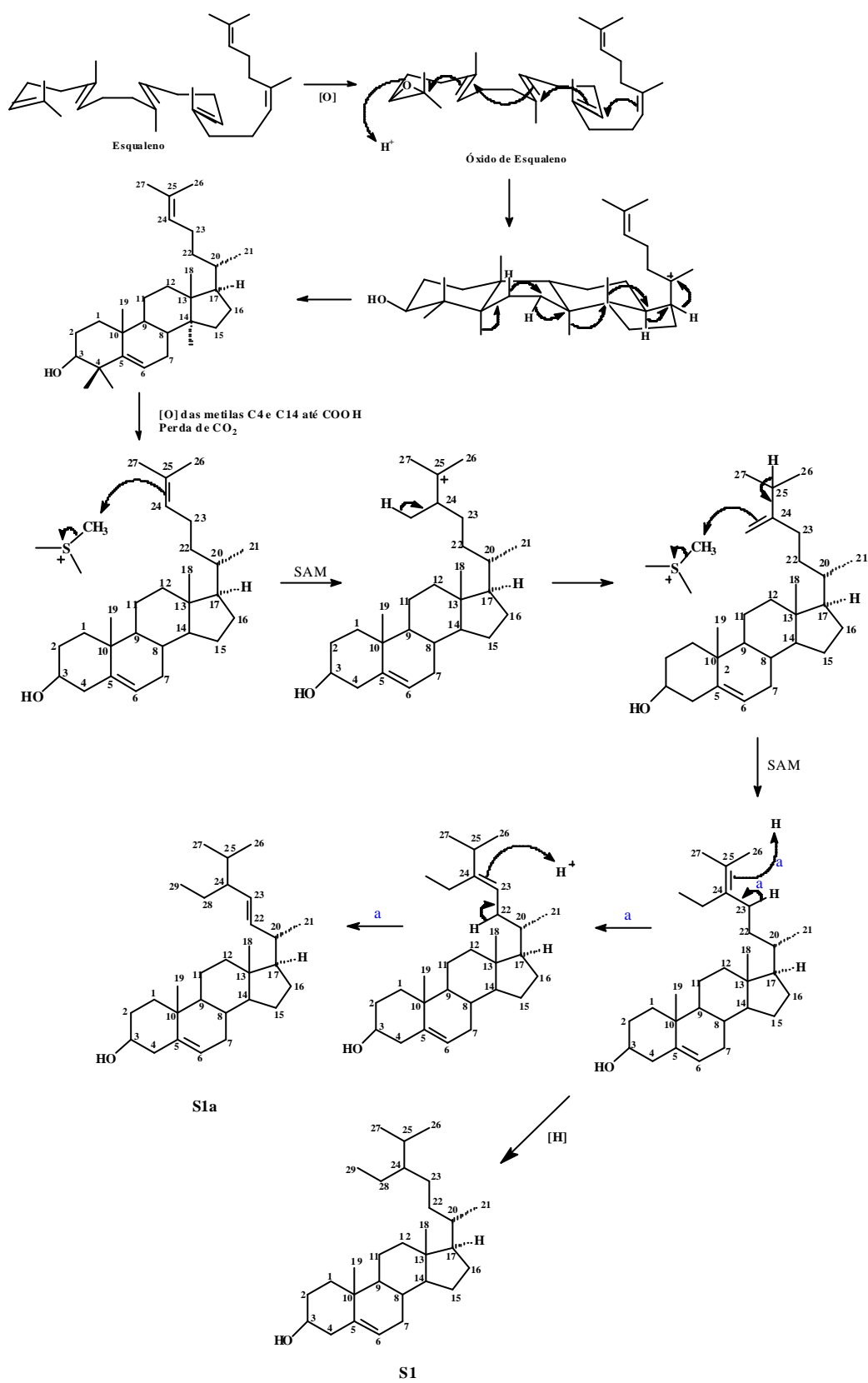


Figura 9: Biossíntese do b-sitosterol S1 e do estigmasterol S1a.

4.2- A 3,3'-DIMETOXI-4',9'-DIIDROXI (4-O-7', 5-8')-LIGNANA-7,8-DEIDRO-9-AL.

Esta substância é classificada como uma lignana. As lignanas apresentam o esqueleto básico formado por unidades fenil propanoídicas (C_6-C_3 : anel aromático possuindo cadeia lateral formada por três átomos de carbono). O caminho que acarreta na biossíntese destes compostos é conhecido como “Via do Ácido Chiquímico”, que é iniciada com a condensação aldólica de dois metabólitos da glicose: o fosfoenol piruvato (FEP) e a eritrose-4-fosfato. Tem início, então, uma seqüência de reações enzimáticas até a formação do ácido chiquímico. Este reage com mais uma molécula de FEP para formar outro intermediário importante, o ácido corísmico, que sofre rearranjo a ácido prefênico. Por meio da perda de CO_2 e H_2O o ácido prefênico é transformado em ácido fenil pirúvico. Outra possibilidade é formação do ácido 4-hidroxi-fenil-pirúvico mediante a oxidação com FAD^+ , (**Figura 10**). Ambos ácidos estão em equilíbrio com seus respectivos aminoácidos, L-fenilalanina e L-tirosina, devido ao cofator piridoxal fosfato (PLP).

Com a perda de NH_3 os aminoácidos são convertidos aos seus ácidos cinâmicos e álcoois cinâmílicos correspondentes (**Figura 10**) (TORSSEL, 1997 e DEWICK, 1997).

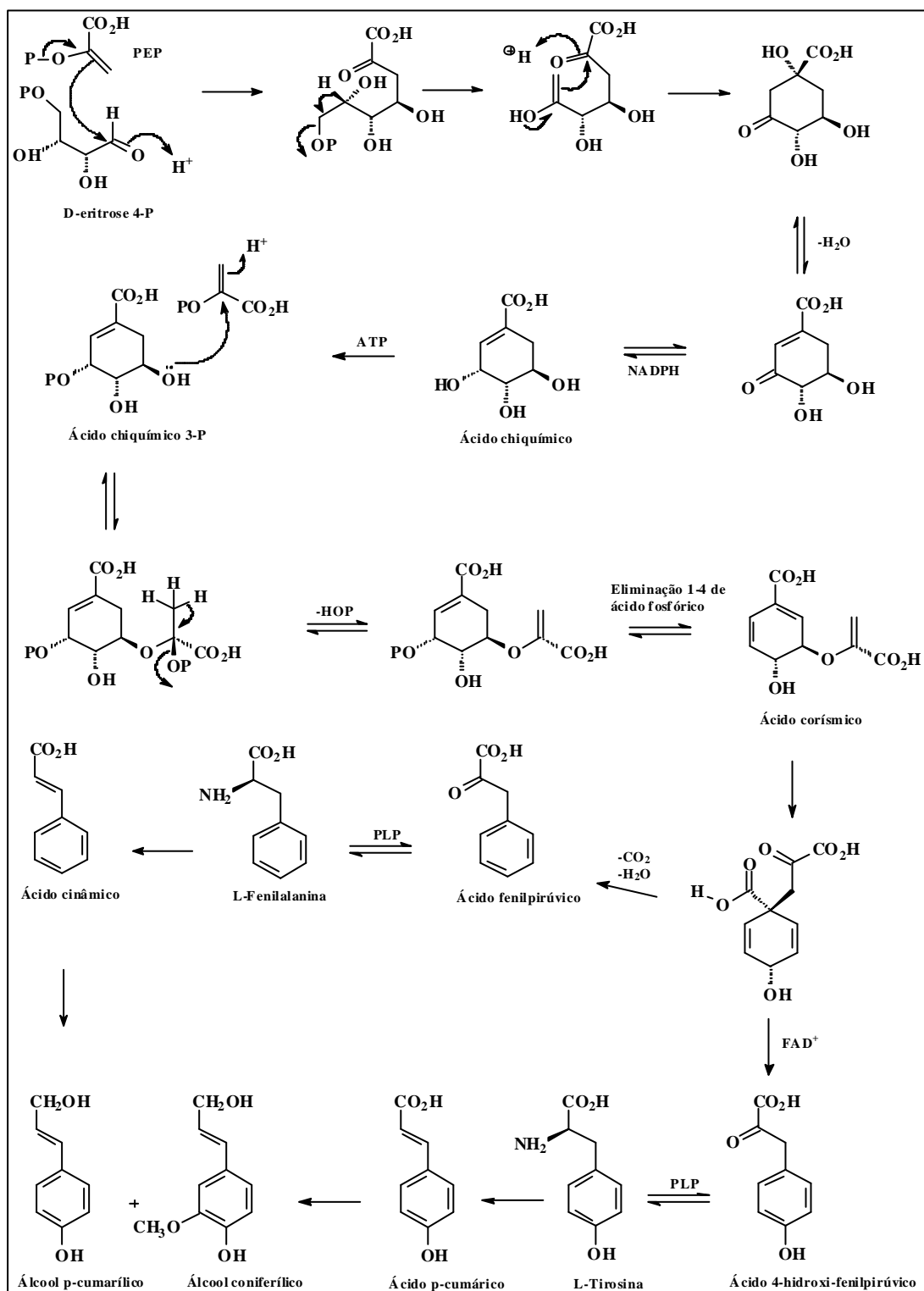


Figura 10: Formação dos precursores dos lignóides.

Uma proposta biogenética para a lignana isolada **S2** pode ser explicada pelo acoplamento oxidativo entre duas unidades monoméricas radicalares de álcoois cinâmílicos entre si ou destes com ácidos cinâmicos. Estes radicais podem apresentar várias estruturas canônicas de ressonância. O tipo estrutural de lignana dependerá da forma como ocorrerá o acoplamento destes radicais. A **Figura 11** mostra uma proposta para a formação de **S2**.

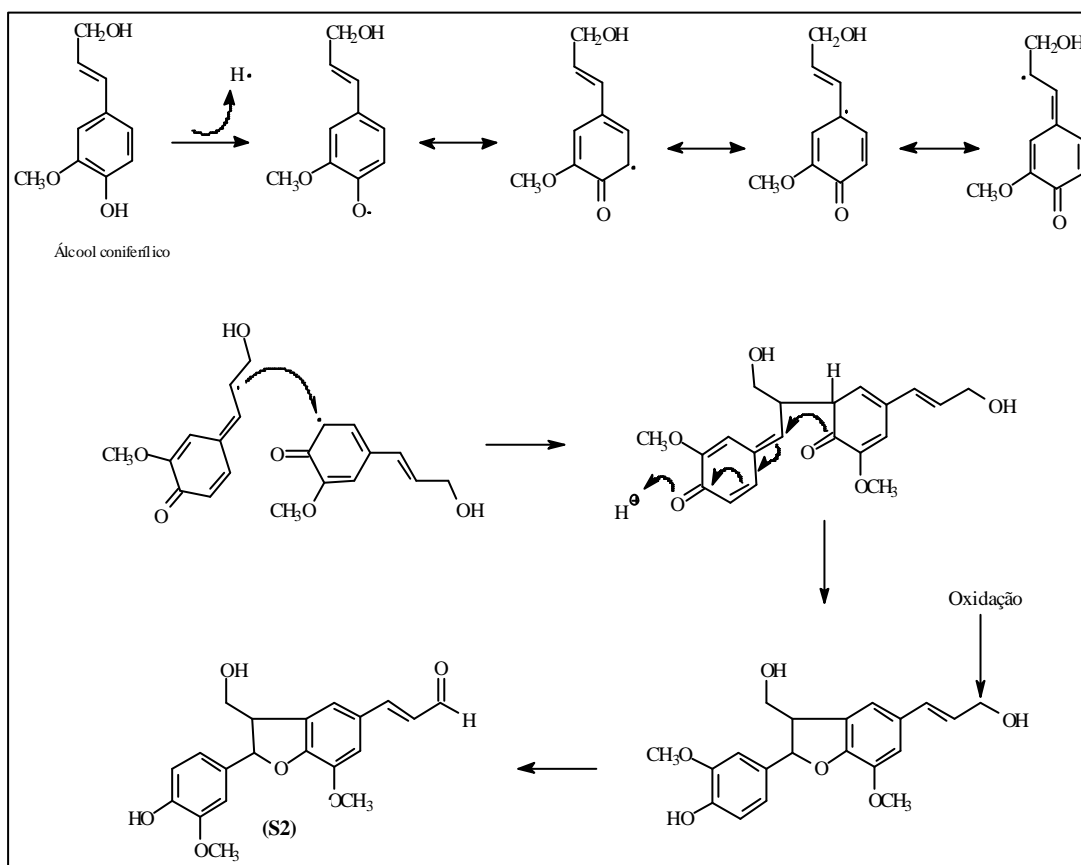


Figura 11: proposta biossintética para a formação de S2.

4.3- OS FLAVONÓIDES: S3, S4, S5 E S6

As substâncias **S3**, **S4**, **S5** e **S6** pertencem à classe dos flavonóides. O núcleo fundamental de um flavonóide está representado na

Figura 12.

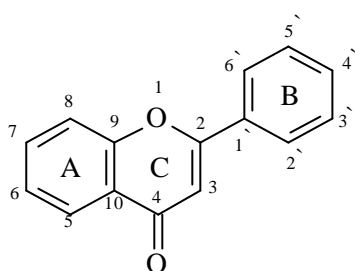


Figura 12: Núcleo fundamental de um flavonóide.

Estes metabólitos especiais são oriundos de duas rotas biossintéticas: a via poliketídica e a via do ácido chiquímico. Esta biossíntese ocorre mediante a reação entre acetil-CoA, malonil-CoA (Via Poliketídica) e 4-cumaril-CoA formando uma chalcona (TORSSEL, 1997 e DEWICK, 1997). Uma reação de adição à ligação dupla do sistema α,β -insaturado, levará ao fechamento do anel formando uma flavanona (naringenina). Esta flavanona pode ser oxidada especificamente formando o diidroflavonol **S3**, o qual pode ser desidratado formando a flavona **S4**.

Oxidação e metilação seletivas no C-3' de **S4** pode produzir **S5**. Por fim, **S6** pode ser originado a partir de **S4** através de oxidações nas posições específicas C-2' e C-3'. A **Figura 13** esquematiza, sucintamente, a possível rota de biossíntese destes flavonóides.

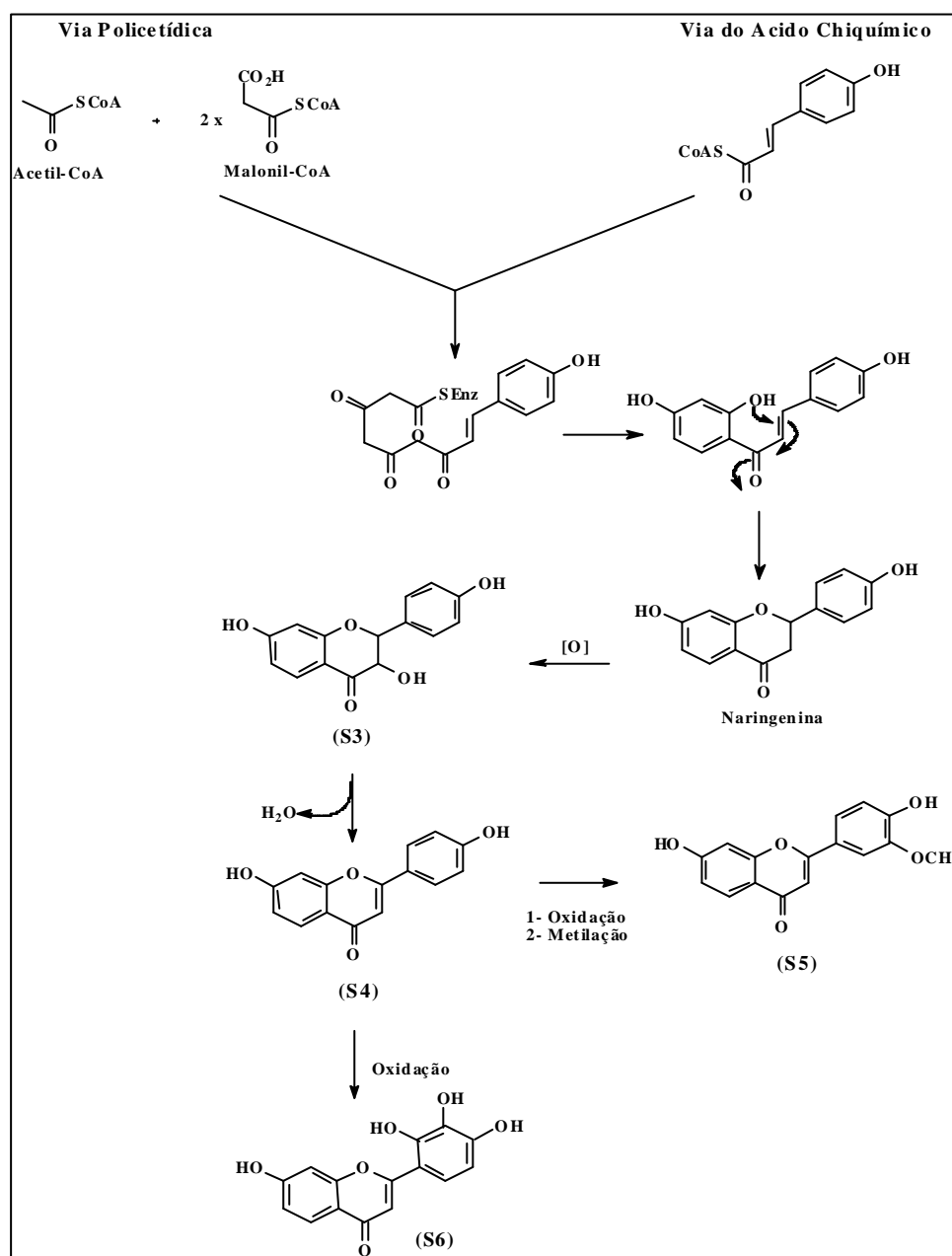


Figura 13: Biossíntese dos flavonóides S3, S4, S5 e S6.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES

5.1.1- IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS (S1 E S1a)

As substâncias **S1** e **S1a** foram isoladas como um sólido cristalino (pf.:129-131°C) e identificadas através de considerações biossintéticas e análise dos espectros de IV e RMN ¹H e comparação do espectro com padrão da literatura (GOVINDAN e col., 1993). Isto permitiu identificar o β-sitosterol (**S1**) para esta substância como o principal constituinte presente nesta amostra. O espectro de infravermelho (**Figura 14**) apresentou absorções em 3429 cm⁻¹, devido a deformação axial de OH e em 2936 cm⁻¹ e 2865 cm⁻¹ atribuídas as CH, CH₂ e CH₃ hibridados sp³.

No espectro de RMN ¹H (**Figura 15**) os sinais entre δ_H 0,8-1,0 são compatíveis a feição de sinais de esteróides. Os singletes em δ_H 0,65 e 0,98 representam os grupos metilas. Os demais sinais múltiplos nesta região representam os outros grupamentos metilas do esteróide. O multiplete em δ_H

3,55 é atribuído ao hidrogênio (H-3) do carbono carbinólico e o singlete largo em δ_H 5,35 representa o hidrogênio olefínico H-6. Os multipletos em δ_H 1,10 a 2,26 correspondem a hidrogênios metilenos e metínicos, do esteróide considerado. Estes dados, comparações dos sinais com valores da literatura (GOVINDAN e col., 1993) e comparação com amostra autêntica de 24-etil-colest-5-em-3 β -ol confirmam a estrutura proposta para **S1**.

O sinal múltiplo em 5,15 ppm permite sugerir a presença do estigmasterol, codificado **S1a**, como um componente adicional na fração analisada. A sua presença é o provável motivo da diferença encontrada no ponto de fusão medido para **S1** e aquele registrado na literatura para o β -sitosterol (136° C).

Este é o primeiro registro destes esteróides nesta espécie vegetal.

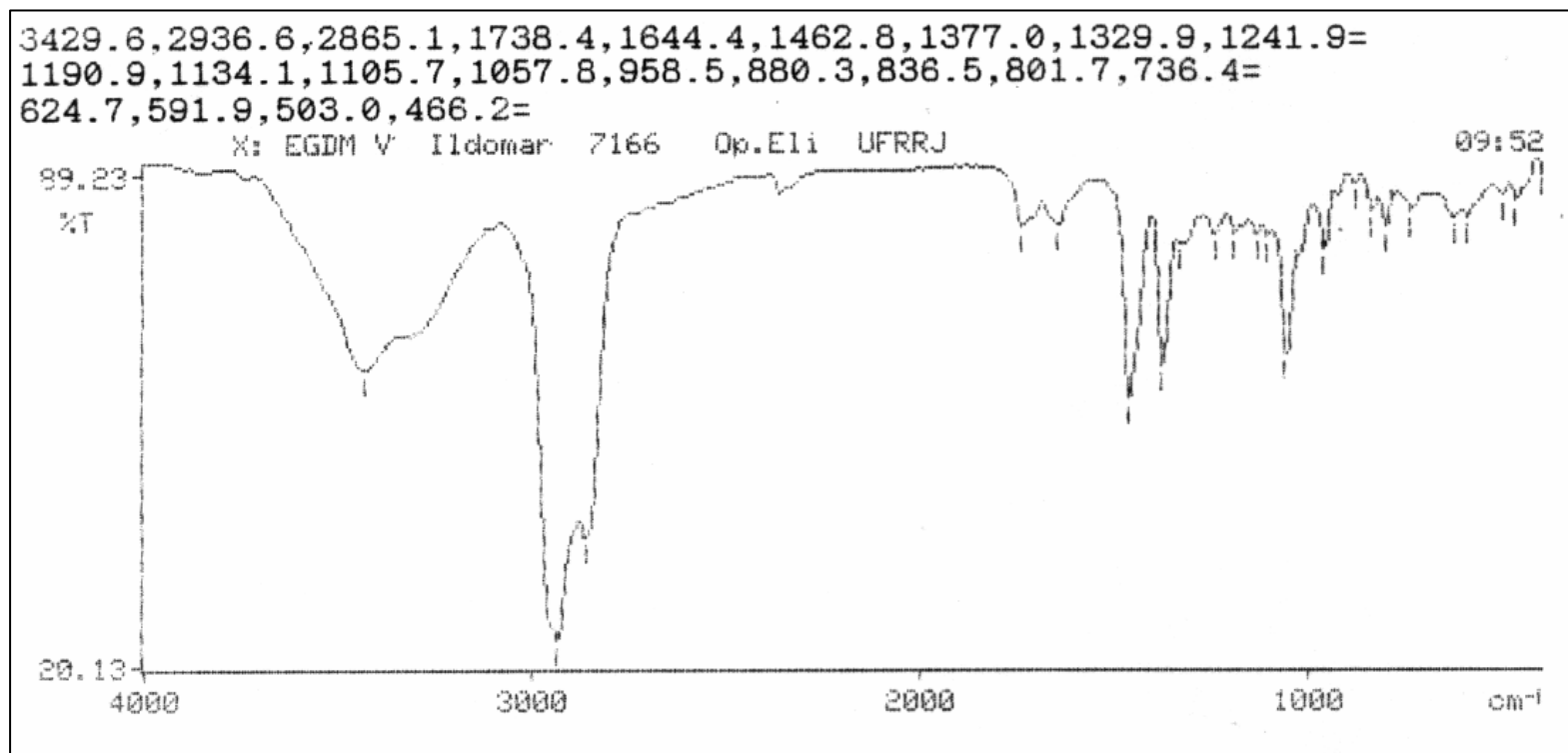


Figura 14: Espectro de IV das substâncias S1+S1a.

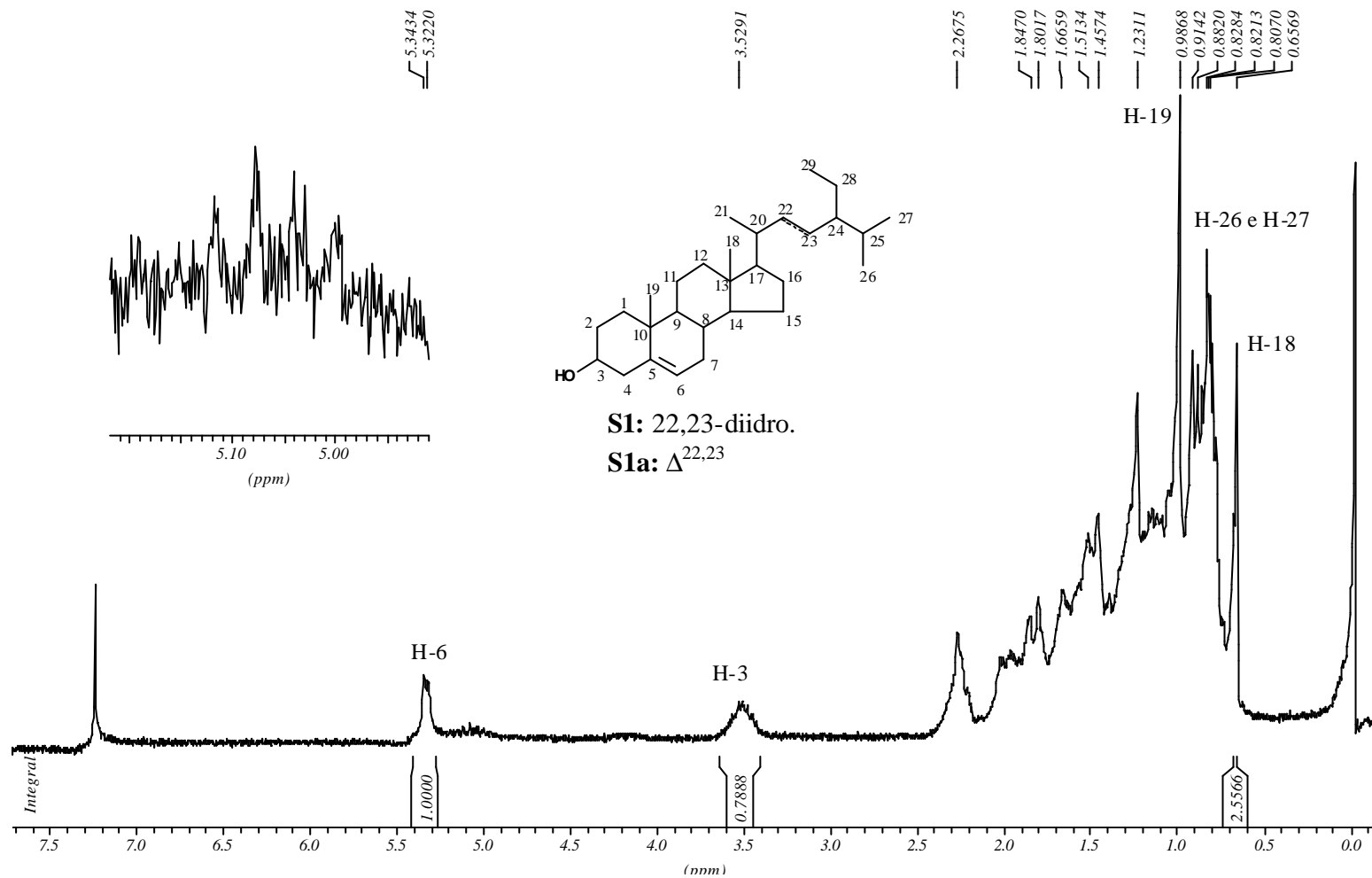


Figura 15: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de S1+S1a.

5.1.2- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA S2

Na **Figura 19** (espectro de IV de **S2**) e na **Tabela 1** estão atribuídas as principais bandas de absorção da substância. A análise destas informações aliadas às obtidas com os espectros de RMN ^1H (1D e 2D) e RMN ^{13}C (PND e DEPT) conduziu à identificação de **S2** como 3,3'-dimetoxi-4',9'-diidroxil (4-O-7', 5'-8')-lignana-7,8-deidro-9-al.

Tabela 1: Interpretação dos sinais de absorção do espectro na região IV da substância S2.

ν (cm^{-1})	Atribuição
3435	deformação axial do grupamento hidroxila
2920 e 2851	deformação axial dos CH, CH ₂ e CH ₃ sp ³
1711	deformação axial do grupo carbonila
1662, 1596, 1515 e 1492	deformação axial da ligação C=C dos dois anéis aromáticos.
965 e 828	Deformação angular de C-H aromático

A comparação entre os espectros PND e DEPT (**Figura 22**) permitiu assinalar o número de carbonos metínico, metilênico, metílico e quaternário. Considerando-se que os carbonos metílicos são de grupo metoxila, pode-se deduzir a formulação

parcial $\text{CH}_2(\text{CH})_{10}\text{C}_7$ perfazendo um total de 18 carbonos o que sugere duas unidades C_6C_3 de lignana. As informações do espectro de IV, a correlação dos valores de deslocamentos químicos e a natureza dos carbonos na estrutura permitiram ampliar esta formulação para $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH})(\text{CH}-\text{O})(=\text{CH})_5(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O})(=\text{C}-\text{O})_4(\text{OCH}_3)_2$.

Tabela 2: Valores dos deslocamentos químicos (em ppm) dos carbonos de S2 com as respectivas multiplicidades (50 MHz, CDCl_3).

CH_3	CH_2	CH	C
56,0	63,9	52,9	128,1
55,9		88,9	129,0
		108,7	132,2
		112,2	144,8
		114,4	145,9
		118,2	145,9
		119,4	146,7
		126,4	
		153,1	
		193,6	
$(\text{OCH}_3)_2$	CH_2-O	$(\text{CH})_{10}$	C_7

Considerando a natureza dos carbonos aromáticos (C_6) e da porção C_3 da molécula pode-se propor a estrutura parcial **I** e ampliar para **II** (**Figura 16**).

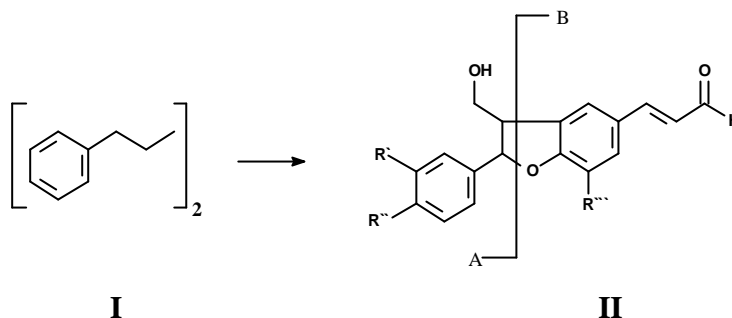


Figura 16 : Estruturas parciais de S2.

A estrutura **II** possui 5 CH aromáticos (**Tabela 2, Figura 22**). O espectro de RMN 1H (**Figura: 20**) possui dois singletos de 1H e um singlete de 3H na região de hidrogênio aromático correspondentes aos 2H (7,03; 1H e 7,12; 1H) do anel B e aos 3H do anel A, representado pelo singlete em δ_H 6,9, o que é confirmado pelos δ_C aromáticos (**Figura 22, Tabela 3**).

Os espectros de RMN 1H 1D (**Figura 20**) e 2D (**Figura 21**) de **S2** revelaram acoplamento entre os sinais múltiplos em δ_H 7,4 (d; 16,0 Hz; 1H); 6,61 (dd; 16,0 Hz e 7,7 Hz; 1H) e 9,66 (d; 7,7 Hz; 1H) confirmando a unidade ($-CH=CH-CH=O$).

O sinal em 3,66 ppm (m, 1H) acopla com os hidrogênios em δ_{H} 3,9 (m, 2H) e com o sinal em 5,66 ppm (d; 7,0; Hz; 2H). Este sistema é compatível com a unidade $-\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$ representada pelos carbonos δ_{CH_2} 63,9 e δ_{CH} : 88,9 e 52,9.

Considerando as multiplicidades dos sinais dos espectros de RMN foi possível fazer as propostas **IIa**, **IIb** e **IIc** contendo dois grupos metoxílicos ($\delta_{\text{OCH}_3} = 3,85$; s; 3H e 3,92; s; 3H). A comparação dos deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C de **S2** e os valores atribuídos para **IIa** conduziu à opção por esta estrutura para **S2**. As estruturas **IIb** e **IIc** foram descartadas, com base também nas considerações biossintéticas (Capítulo 3, item 3.2) e com base nos δ_{CH} dos carbonos 2, 2' e 5' (**Figura 17**) [(HARUNA e col., 1982), (HASHIMOTO e col., 1994), (YOSHIKAWA e col., 1995)], **Tabela 3**.

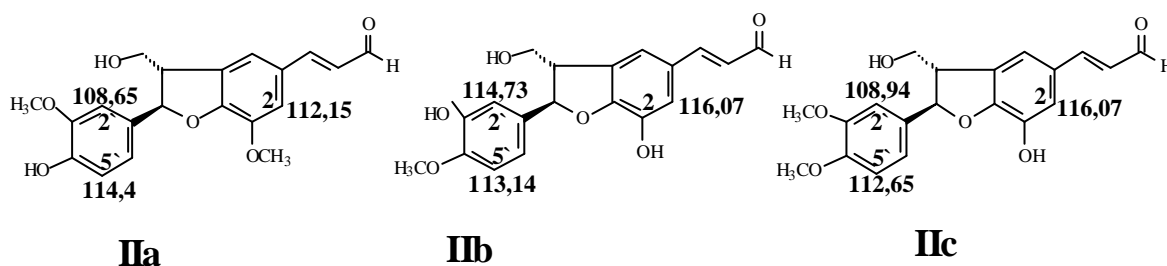


Figura 17: Propostas estruturais para S2.

Conforme as deduções acima e a semelhança dos dados espectroscópicos permitiu identificar **S2** como a lignana balonofonina (3,3'-dimetoxi-4',9'-diidroxí-(4-O-7',5-8')-lignana-7,8-deidro-9-al) isolada anteriormente de *Balanophora japonica* Makino (HARUNA e col., 1982) e de *Chosenia arbutifolia* A. Skvortz (HASHIMOTO e col., 1994).

A estereoquímica relativa *trans* (**Figura 18**) HOCH₂-9 e Ar-7 do anel diidrobenzofurano foi proposta com base no valor da constante de acoplamento $J=7,2$ Hz calculada para o dubleto do H-7. O valor de J_{trans} para os H-8 e H-7 registrado na literatura, é 7,1 Hz. O valor do deslocamento químico do C-7 ($\delta_C= 89,9$) encontrado para esta proposta é compatível com valor registrado na literatura. Este átomo de carbono sofre efeito β desprotetor do CH₂-9.

A medida da atividade ótica de **S2** foi determinada com $[\alpha]_D^{25} = +1$ ($c= 2,044$ g.100 ml⁻¹, CHCl₃). Considerando a existência do estereoisômero *trans*-(7S,8R)-(-)-3,3'-dimetoxi-4',9'-diidroxí-(4-O-7',5-8')-lignana-7,8-deidro-9-al $[\alpha]_D = -115$ ($c= 1,3$ g.100 ml⁻¹, CHCl₃) na literatura (HARUNA e col., 1982) foi possível propor para **S2** a estrutura da *trans*-(7R,8S)-(+)-3,3'-dimetoxi-4',9'-diidroxí-(4-O-7',5-8')-lignana-7,8-deidro-9-al.

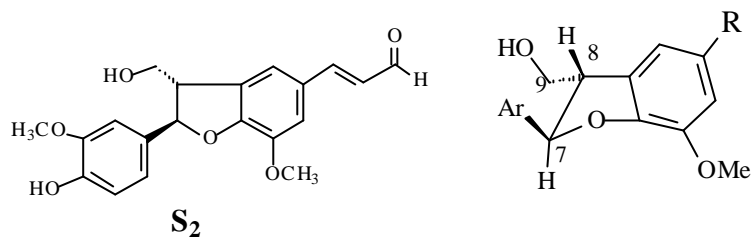


Figura 18: Estereoquímica relativa de S₂.

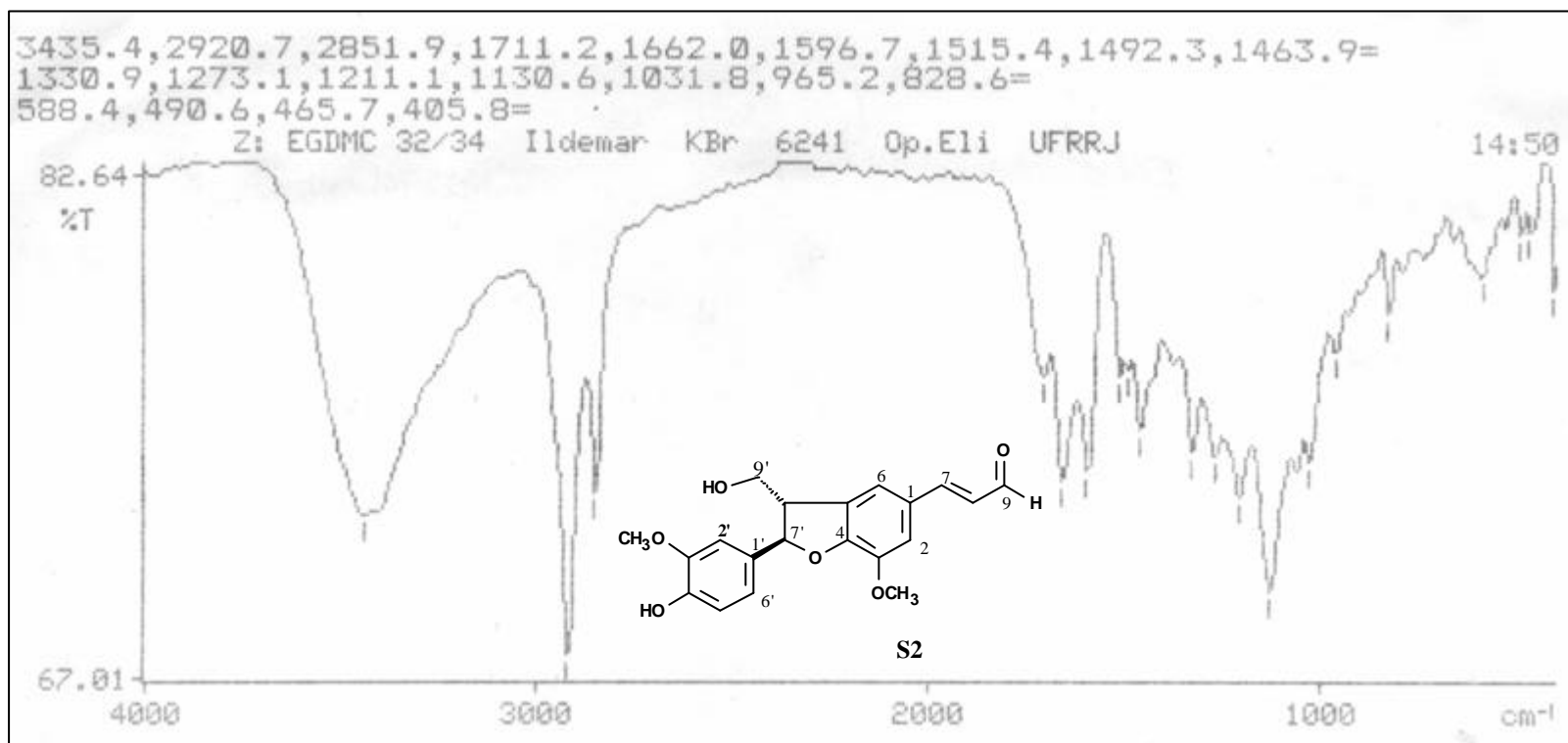


Figura 19: Espectro de IV de S2.

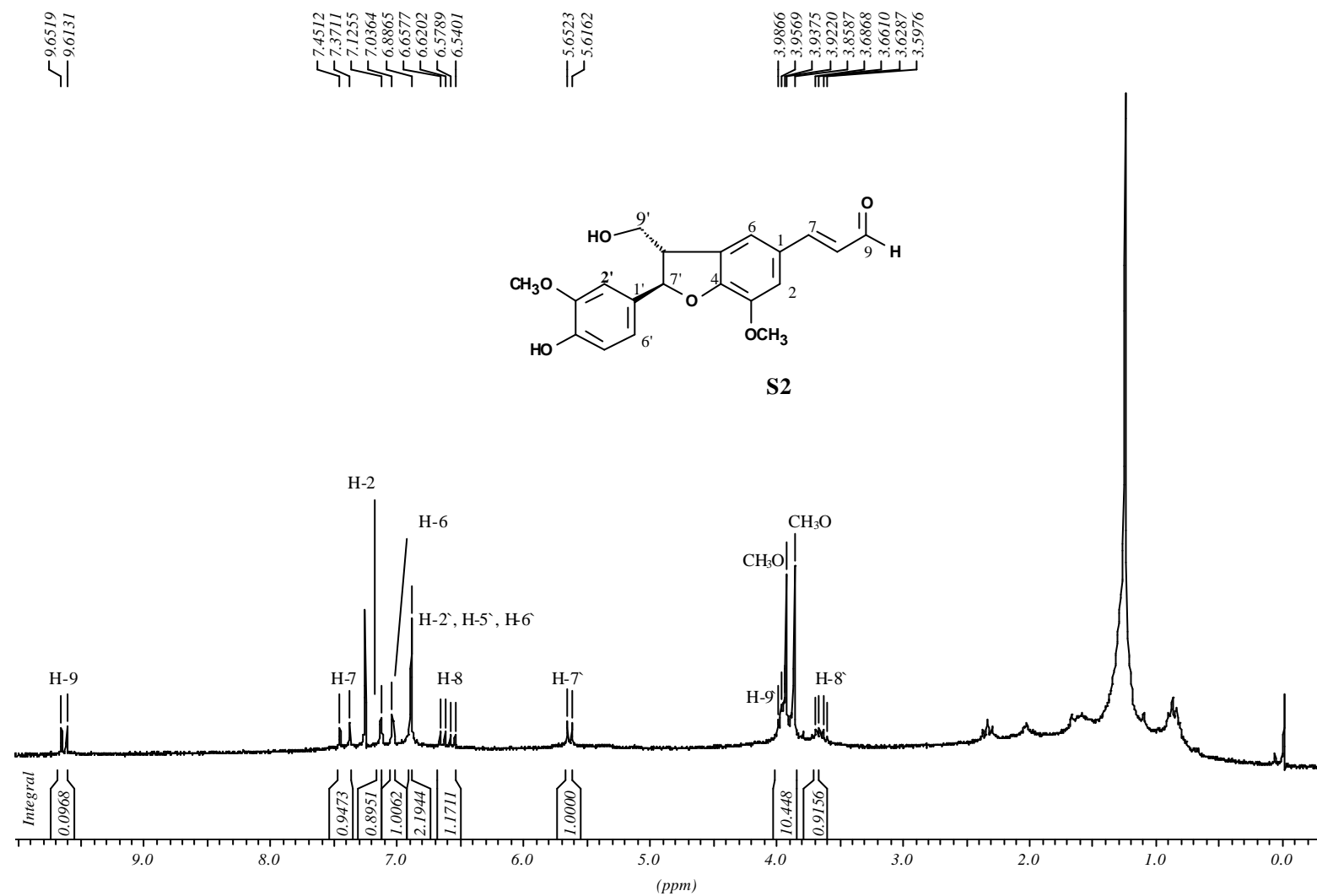


Figura 20: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de S2.

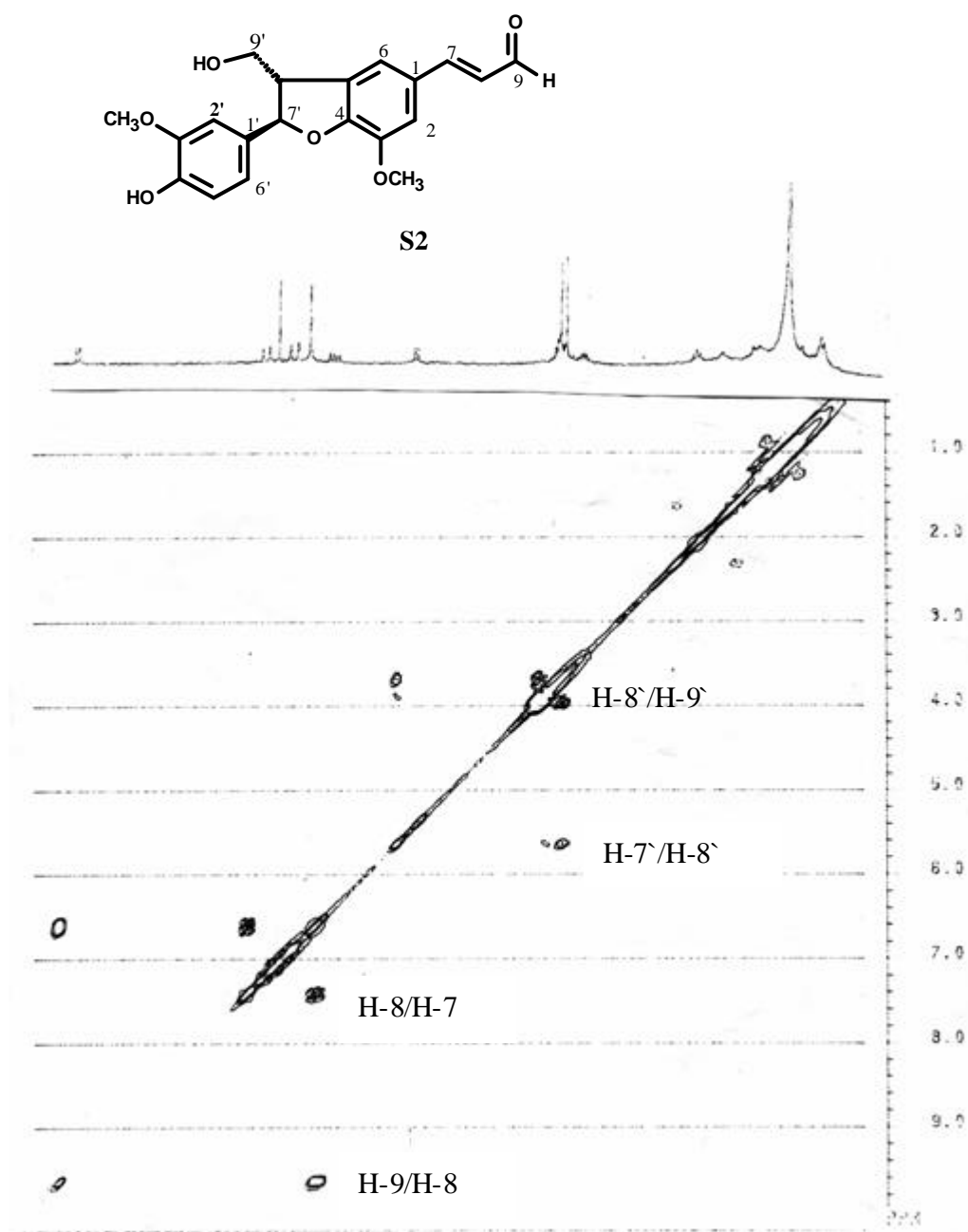


Figura 21: Espectro de ^1H , ^1H COSY (CDCl_3 , 200 MHz) de S2.

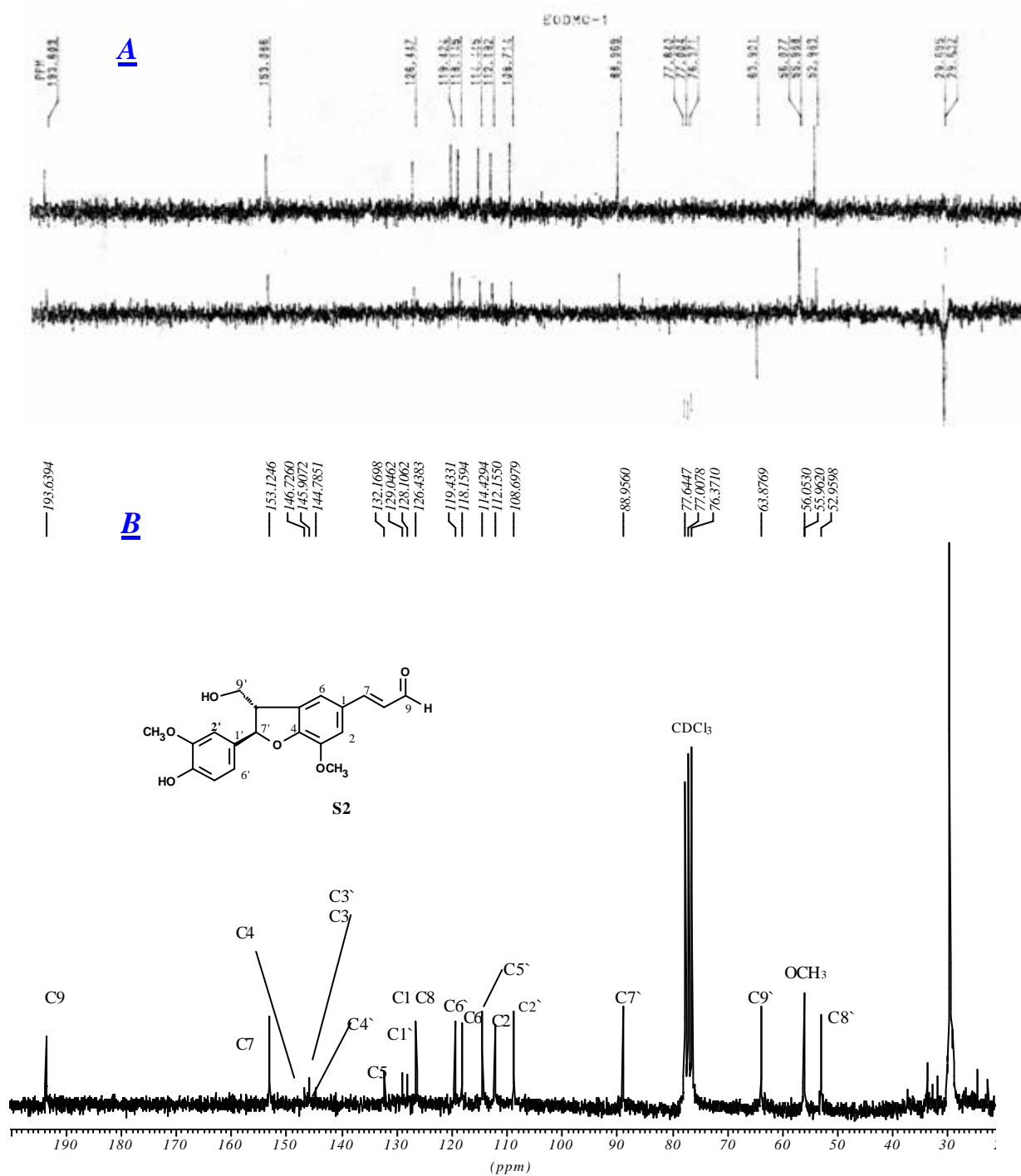


Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C [DEPT (**A**) e PND (**B**), 200 MHz, CDCl_3] de S2.

Tabela 3: Dados de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de S2 e comparação com os dados de RMN ^1H (100 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (25,05 MHz, CDCl_3) da balonofonina registrados na literatura.

S2				BALONOFONINA	
C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY	^{13}C	$\delta^1\text{H}$
1	128,1			127,8	
2	112,2	7,12 (1H; s)		112,3	7,12
3	145,9			144,4	
4	146,7			151,2	
5	132,2			132,0	
6	118,1	7,03 (1H; s)		118,0	7,02
7	153,1	7,40 (1H; d; J= 16,0 Hz)	H-7/H-8	152,9	7,98
8	126,4	6,61 (1H; dd; $J_1=16,0$ Hz e $J_2= 7,7$ Hz)	H-8/H9	126,0	6,56
9	193,6	9,63 (1H; d; J= 7,7 Hz)		193,2	9,55
1 \prime	129,0			129,1	
2 \prime	108,7	6,65 (1H; s)		108,6	6,86
3 \prime	145,9			146,5	
4 \prime	144,8			145,6	
5 \prime	114,4	6,65 (1H, s)		114,3	6,86
6 \prime	119,4	6,65 (1H, s)		119,1	6,86
7 \prime	88,9	5,63 (1H; d; J= 7,2 Hz)	H-7 \prime /H-8 \prime	88,8	5,62
8 \prime	52,9	3,66 (1H; m)	H-8 \prime /H-9 \prime	52,9	3,5-4,0
9 \prime	63,8	3,95 (2H; m)		63,7	3,5-4,0
3 \prime -OCH ₃	56,0	3,88 (3H; s)		56,0	3,89
3-OCH ₃	55,9	3,92 (3H; s)		55,9	3,89

5.1.3- IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE S3

O espectro de absorção de infravermelho de **S3** está representado na **Figura 23**. Na **Tabela 4** são feitas as atribuições das principais bandas de absorção.

Tabela 4: Interpretação dos sinais de absorção do espectro na região IV da substância S3.

ν (cm ⁻¹)	Atribuições
3381	Deformação axial do grupo OH.
2921 e 2852	Deformação axial de CH sp ³ .
1703	Deformação axial do grupamento C=O.
1608, 1513 e 1462	Deformação axial da ligação C=C do anel aromático.
840	Deformação angular da ligação C-H do anel aromático

O espectro de RMN ¹H (**Figura 24**) possui cinco sinais na região de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos. O deslocamento químico, a multiplicidade e os valores da constante de acoplamento permitiram sugerir um flavonóide. O par de dubletos em δ_H 7,42 (J= 8,0 Hz; 2H) e em δ_H 6,88 (J= 8,0 Hz; 2H) representam os hidrogênios de um sistema AA`BB` do anel B de um flavonóide, sendo atribuídos aos H-2`, 6` e H-3`,

5', respectivamente. Os sinais de acoplamento entre os hidrogênios destes sinais (**Figura 25**) confirmam a proposta deste sistema.

Os dubletes em δ_H 5,04 (J= 12,0 Hz; 1H) e δ_H 4,56 (J= 12,0 Hz; 1H) são característicos dos hidrogênios H-2/H-3 *trans* de um flavanono. Os sinais de acoplamento entre estes hidrogênios revelados no espectro 2D de correlação homonuclear $^1H, ^1H$ -COSY (**Figura 25**) confirma a vizinhança entre esses hidrogênios do anel C do flavanono. O sinal simples em δ_H 6,41 (s, 1H) é atribuído ao H-8, o dubleto em δ_H 6,62 (J=8,0 Hz; 1H) que acopla ao sinal em δ_H 7,72 (J=8,0 Hz; 1H) permitiram propor o sistema ABC para o anel A um com um grupo OH em 7. O sinal em δ_H 7,72 é compatível com o H-5 orto à carbonila.

A análise dos espectros de RMN ^{13}C (PND e DEPT, **Figura 26**) permitiu identificar o $\delta_{C=O}$ em 193,2 compatível com carbonila conjugada e os sinais em δ_C 165,9; 164,5 e 158,7 correspondem aos carbonos quaternários aromáticos oxigenados. Os demais sinais em δ_C 129,9; 115,8; 112,9; 111,8 e 103,6 de carbonos aromáticos e os δ_{CH} de carbonos sp^3 ($\delta_{CH} = 84,8$ e $73,8$) são compatíveis com os carbonos metínicos do anel C do flavonóide (**Figura 26, Tabela 5**). Esta análise permitiu propor a estrutura 3,7,4'-triidroxi flavanona. Esta substância está registrada na

literatura e é conhecida como garbanzol. Foi isolada de *Cicer arietinum* L. (Leguminosae) (WONG e col., 1965; WONG, 1965), de *Onobrychis viciifolia* Scop. (Leguminosae) (INGHAM, 1978), de *Pterocarpus marsupium* Roxb. (Leguminosae) (ADINARAYANA e col., 1982) e de *Rhus succedanea* L. (Anacardiaceae) (HILLIS e INOUE, 1965). O 3-O-glucopiranosil-garbanzol, conhecido como lecontina, foi isolado de *Baptisia lecontei* (Leguminosae) (MARKHAM e MABRY, 1967). O espectro de RMN ^1H desse glicosídeo foi utilizado para comparação com o espectro de RMN ^1H de **S3** e confirmação da estrutura proposta. Este é o primeiro relato da atribuição completa dos H e C do garbanzol.

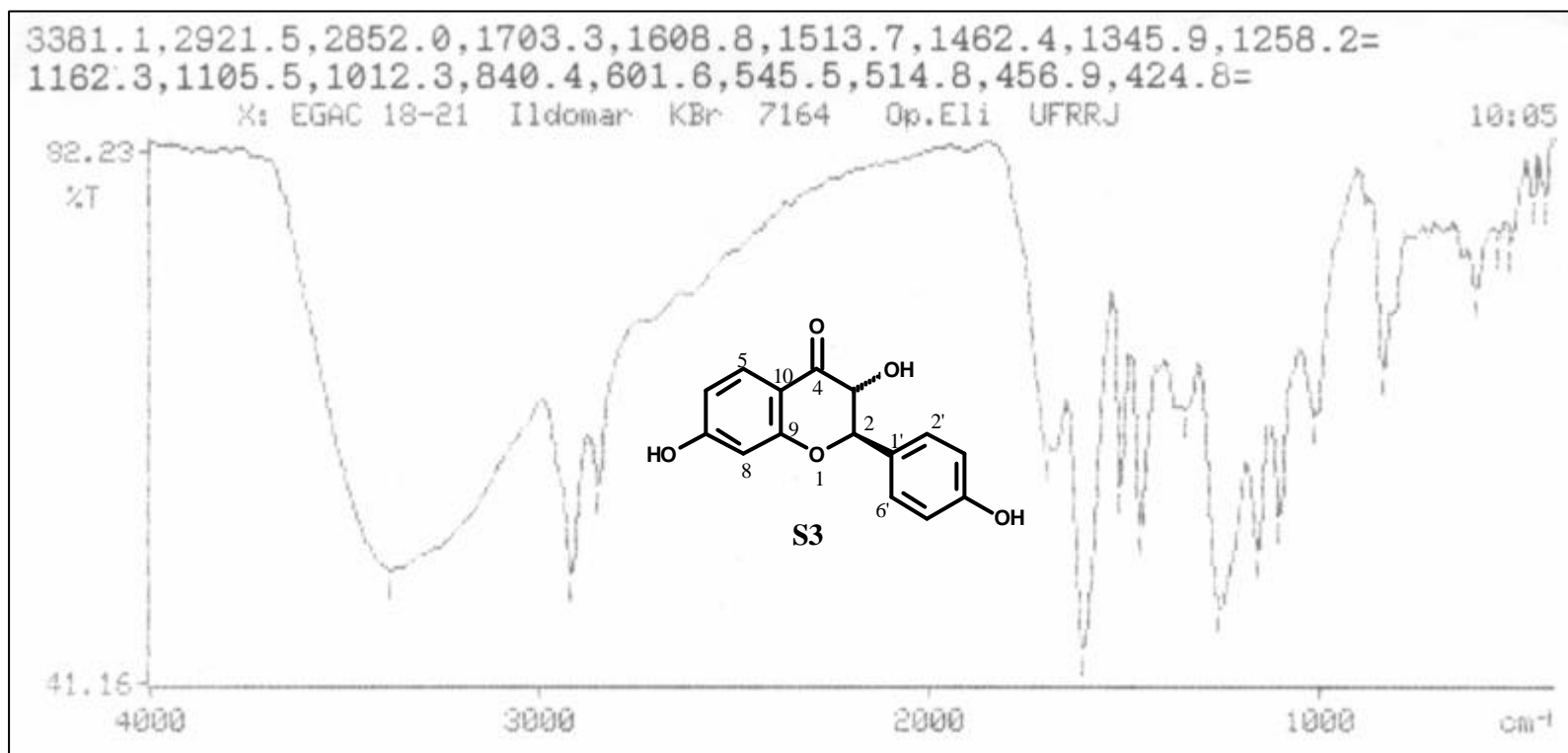


Figura 23: Espectro de absorção na região IV da substância S3.

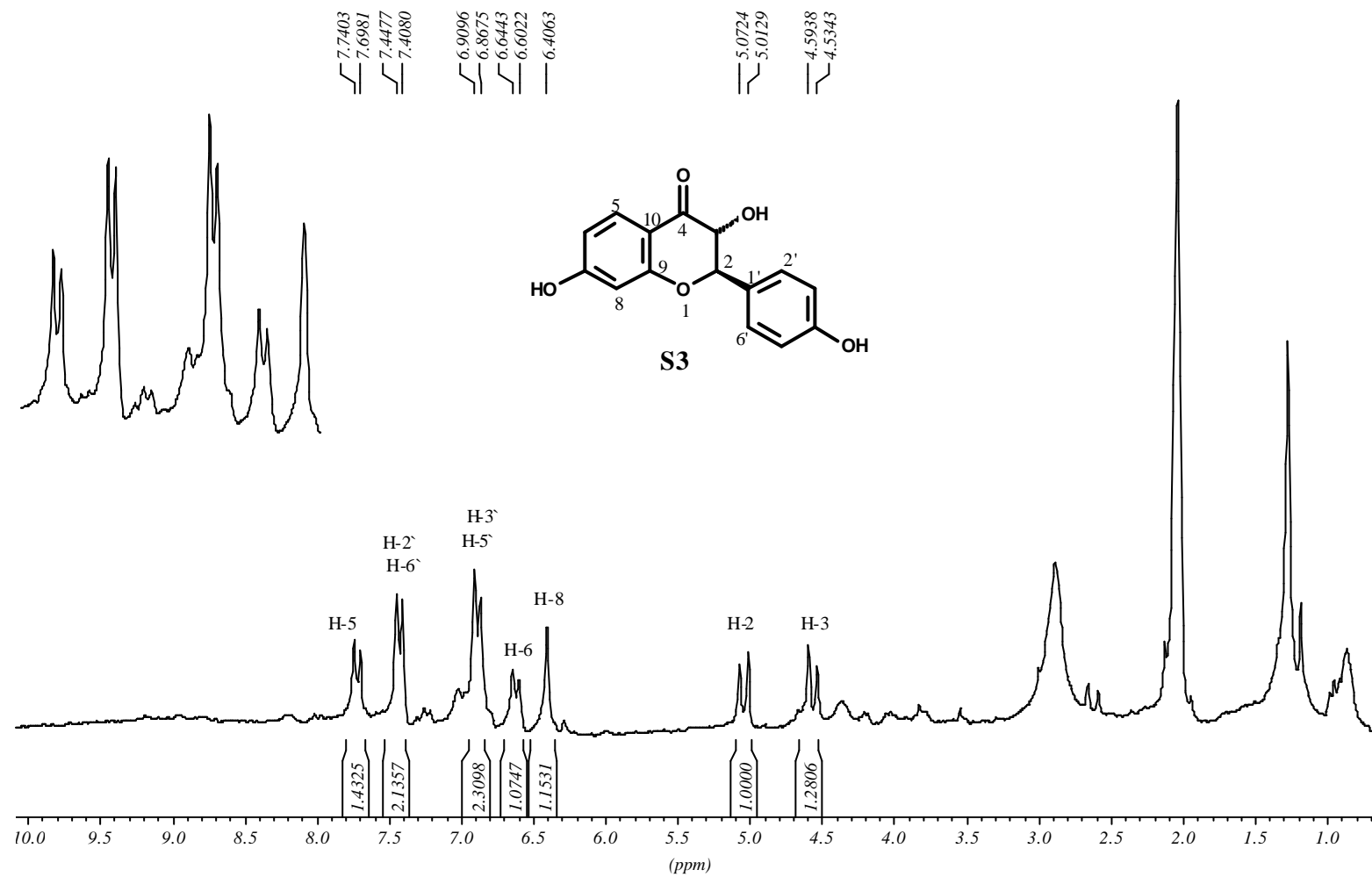


Figura 24: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) de S3.

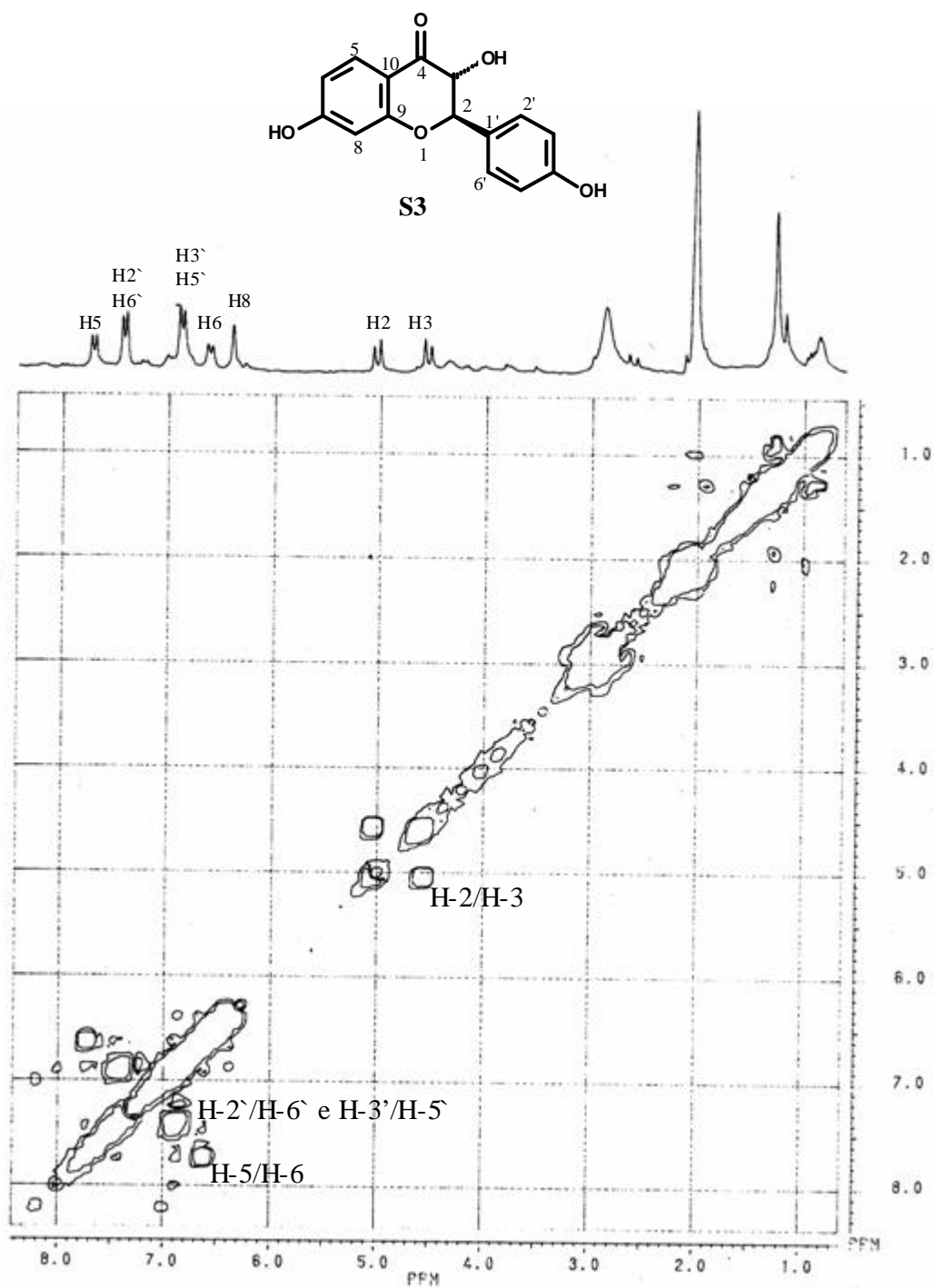


Figura 25: Espectro 2D de correlação homonuclear ^1H , ^1H (200 MHz, acetona- d_6) de S3.

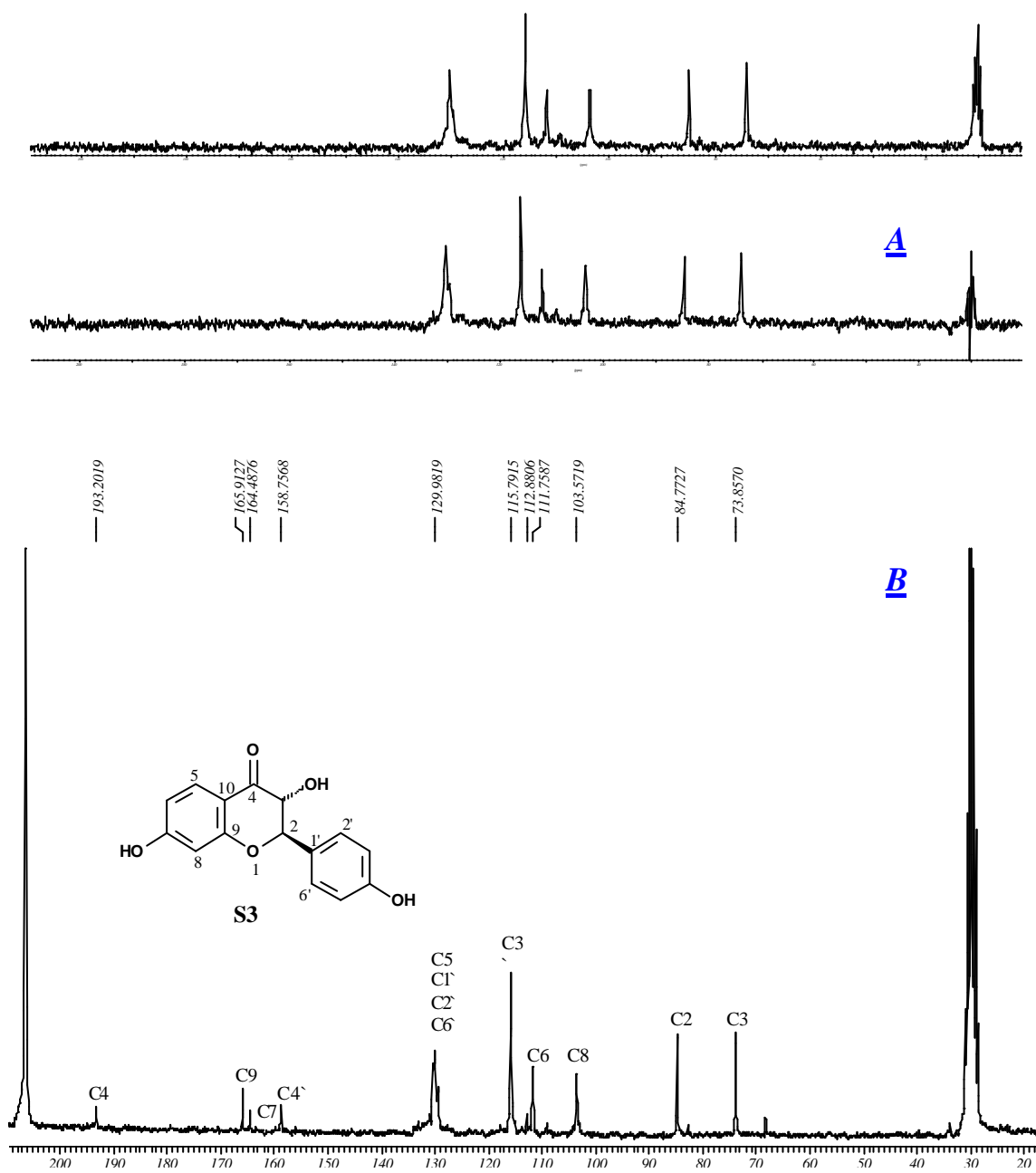


Figura 26: Espectro de RMN ^{13}C [DEPT (A) e PND (B), 50 MHz, acetona- d_6] de S3.

Tabela 5: Dados de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) e RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) de S3 e comparação com valores de d_{H} (60 MHz, metanol- d_4) da literatura (MARKHAM e MABRY, 1967).

S3				Lecontina (3-O-Glu- garbanzol)
C	d_{C}	d_{H}	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY	d_{H}
2	84,8	5,04 (1H; d; J= 12,0 Hz)	H-2/H-3	5,5
3	73,8	4,56 (1H; d; J= 12,0 Hz)		4,52
4	193,2		H-5/H-6	
5	129,9	7,72 (1H; d; J= 8,0 Hz)		7,7
6	111,8	6,62 (1H; d; J= 8,0 Hz)		6,5
7	164,5			
8	103,5	6,40 (1H; s)		6,38
9	165,9			
10	112,9			
1'	129,9			
2'	129,9	7,42 (2H; d; J= 8,0 Hz)	H-2'/H-6'	7,38
3'	115,8	6,88 (2H; d; J= 8,0 Hz)	H-3'/H-5'	6,8
4'	158,7			
5'	115,8	6,88 (2H; d; J= 8,0 Hz)		6,8
6'	129,9	7,42 (2H; d; J= 8,0 Hz)		7,38

5.1.4- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA S4

A substância **S4** apresentou-se como um sólido amarelo (pf.: 300°). O seu espectro no infravermelho (**Figura 27**) apresentou bandas de absorção em 3188 cm⁻¹ (deformação axial de OH), 1627 cm⁻¹ (deformação axial de C=O), 1603, 1551 e 1503 cm⁻¹ (deformação axial de C=C do anel aromático) e 954, 909 e 827 cm⁻¹ (deformação angular da ligação C=C do anel aromático).

O seu espectro de RMN de ¹H (**Figura 28** e **Figura 29**) apresenta sinais cujos valores de deslocamento químico, multiplicidade e valores de constante de acoplamento sugeriram a presença de um sistema AA`BB` no anel B de um flavonóide. O δ_H 6,92 (d, J= 8,8 Hz, 2H) foi atribuído aos H-3', 5' devido ao fato destes encontrarem-se em posição orto ao grupamento HO-4' e, então, sofrem efeito de proteção por mesomeria. O δ_H 7,91 foi atribuído aos H-2', 6' (d, J= 8,8 Hz, 2H) orto a ligação dupla do anel C de uma flavona. O espectro de correlação homonuclear ¹H,¹H-COSY (**Figura 30**) mostra sinal de acoplamento entre estes hidrogênios permitindo a proposta do sistema AA`BB` do anel B de uma flavona. Os sinais em δ_C 128,9 e 115,97 presentes no espectro de RMN ¹³C (**Figura 31**) são intensos por representarem 2 CH cada um. Isto também confirma o sistema *p*-dissubstituído confirmando a proposta acima. Os sinais em δ_C 160,75 e 121,85 representam os carbonos quaternários 4' e 1', respectivamente, desta unidade. O singlete em δ_H 6,72 no espectro de RMN¹H e δ_{CH} 104,52 no espectro de RMN¹³C (**Figura 31**) são característicos dos núcleos H-3 e C-3, respectivamente, no anel C de flavonas. O anel A está representado no

espectro de RMN ^1H (**Figura 29**) pelos δ_{H} 7,86 (d, $J= 8,8$ Hz, 1H), 6,97 (d, $J=2,2$ Hz, 1H) e 6,91 (dd, $J= 8,8$ Hz e $J= 2,2$ Hz; 1H) que acoplam entre si (**Figura 24**) formando um sistema ABC dos H-5, H-8 e H-6, respectivamente (**Tabela 7**). Os deslocamentos químicos dos CH-5, 6 e 8 são 126,53, 114,87 e 102,53, respectivamente. Estes valores são compatíveis com os δ_{CH} para este padrão de substituição do anel A em flavonas. Os demais deslocamentos químicos de carbono em δ_{C} 176,41 (C-4), 162,55 (C-7), 157,45 (C-9) e 116,14 (C-10) aliados aos dados descritos acima justificam a proposta da 4',7-diidroxiflavona para **S4** e são semelhantes aos valores registrados na literatura para esta substância (SILVA e col., 2000; KOSHINO e col., 1993). Esta substância foi isolada de espécies do gênero *Baptisia* (MARKHAM e col., 1970), do caule de *Piptadenia rígida* (SILVA e col., 2000), da raiz de *Mendicago sativa* (KOSHINO e col., 1993) e da cultura de células de *Glycyrrhiza echinata* (AYABE e col., 1980).

Assim como as demais substâncias descritas neste trabalho, este é o primeiro registro desta flavona neste gênero.

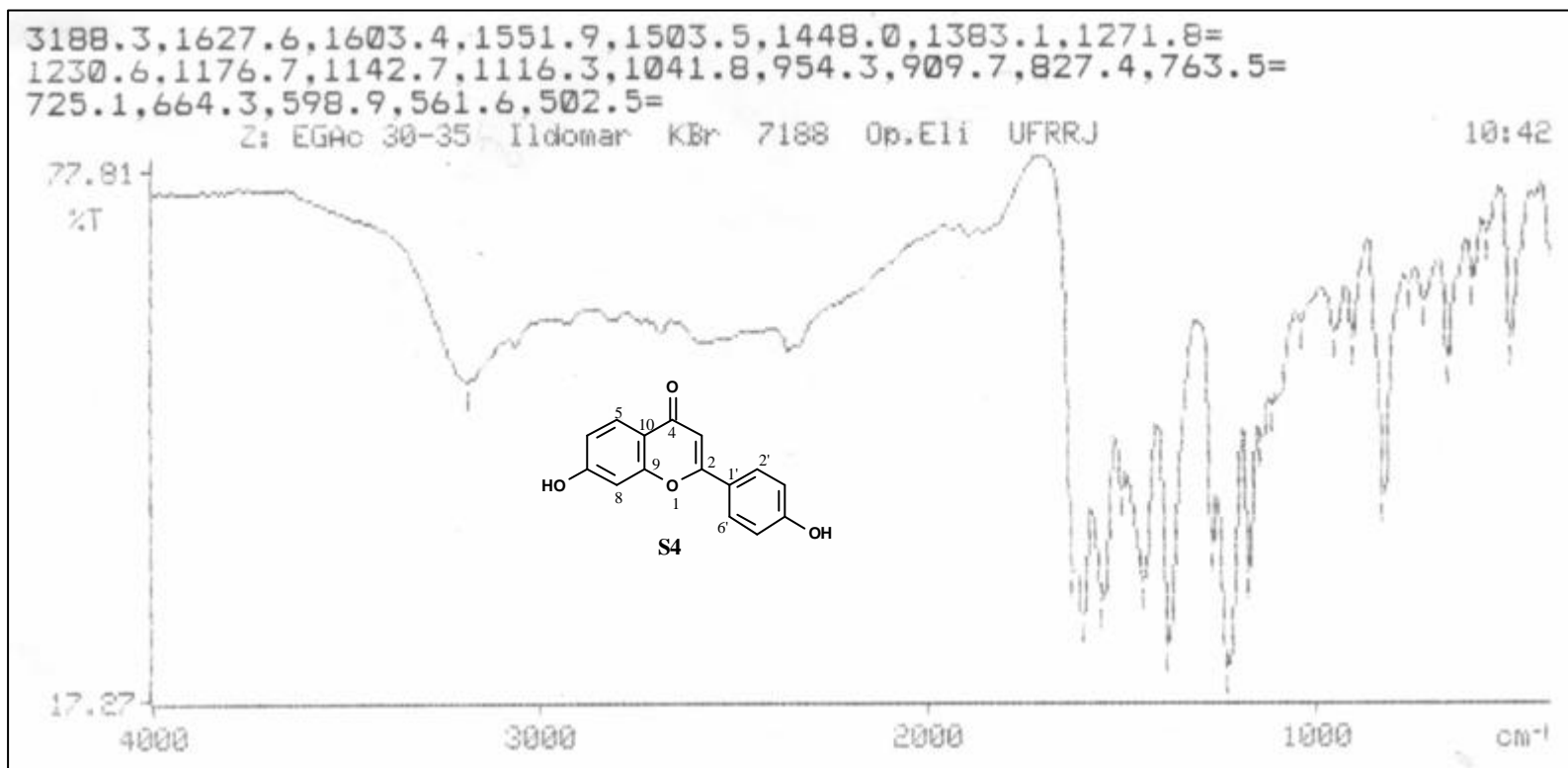


Figura 27: Espectro de IV de S4.

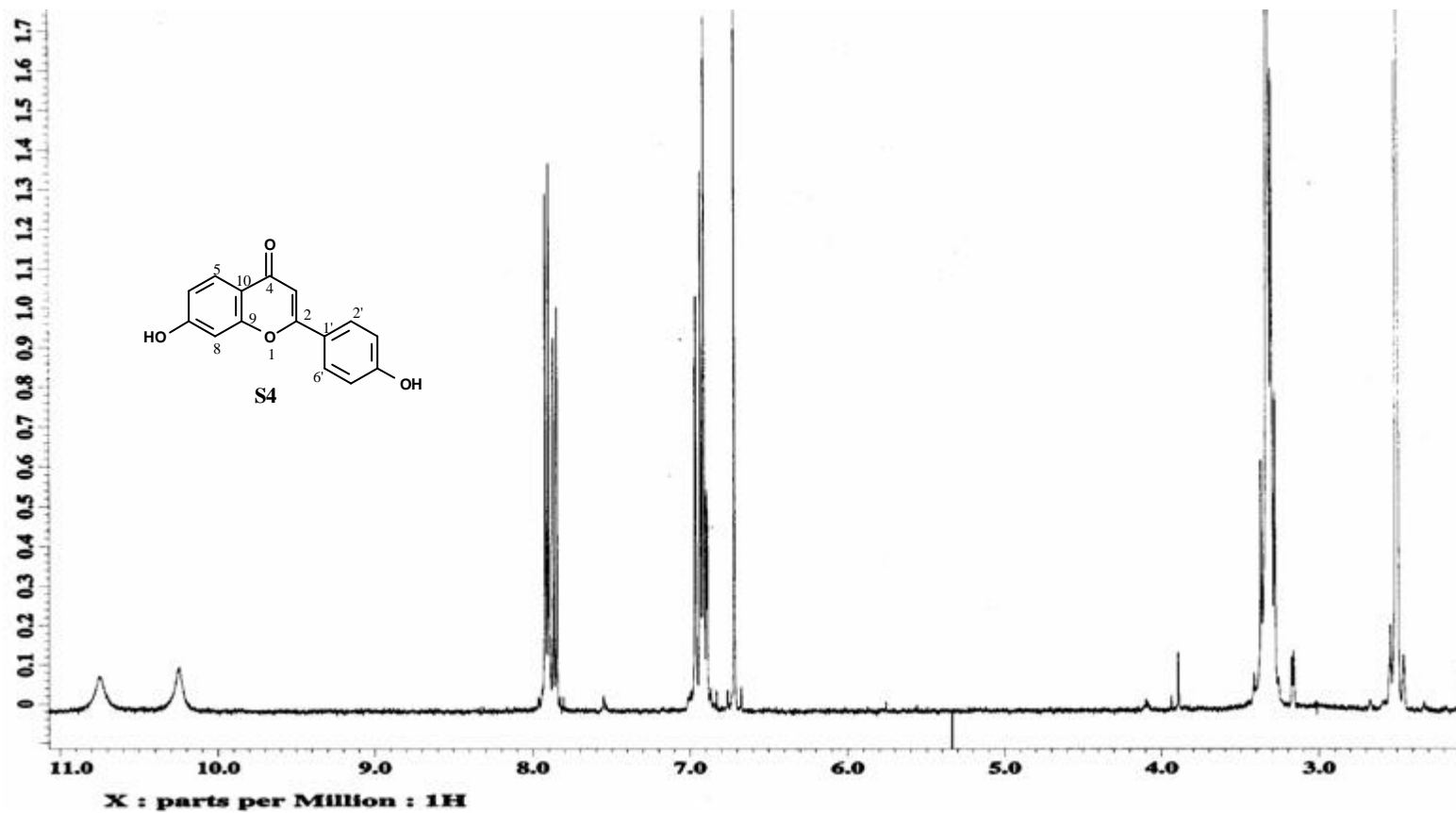


Figura 28: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de S4.

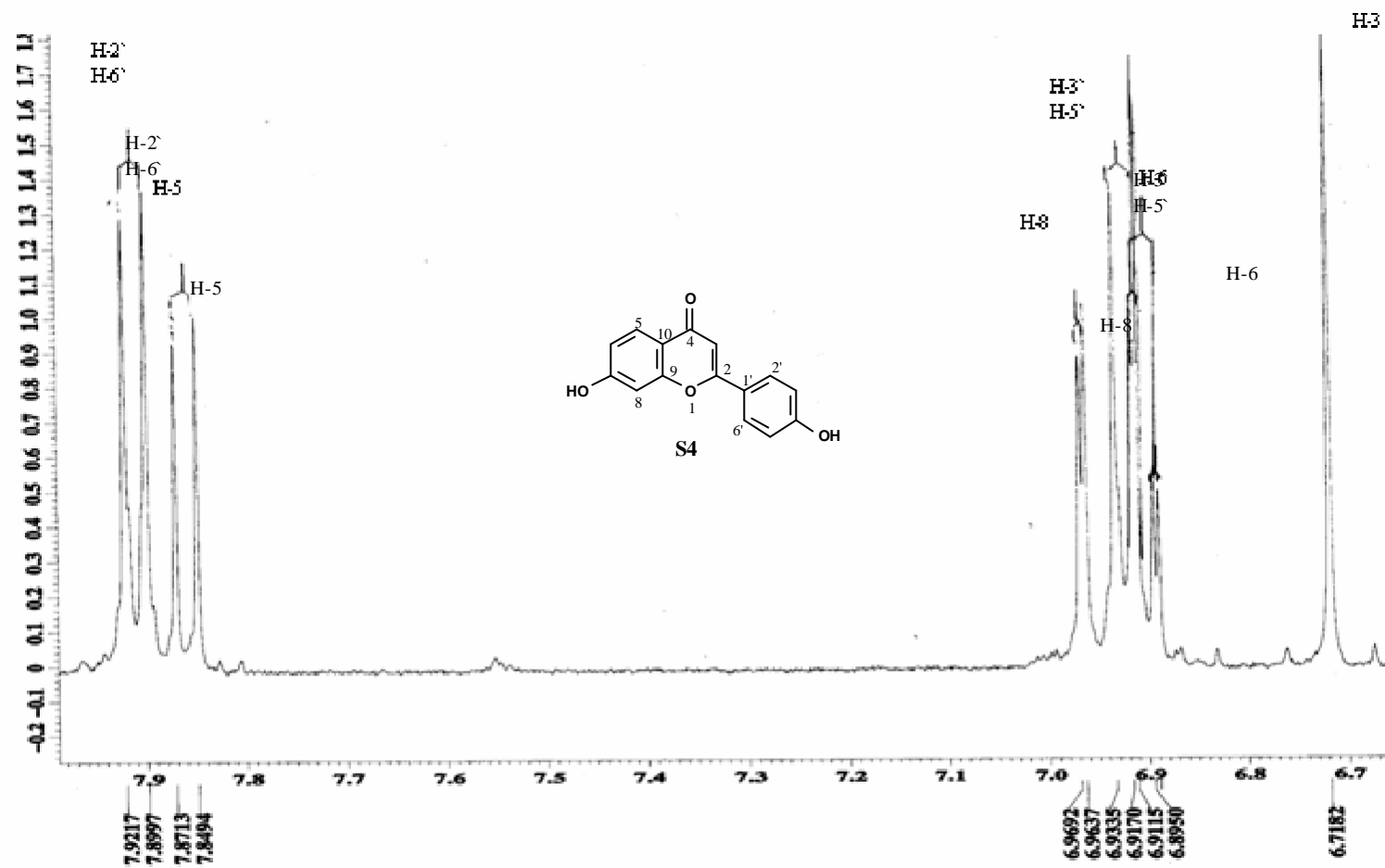


Figura 29: Ampliação dos sinais entre δ_{H} 6,72-7,92 do espectro de RMN ^1H de S4.

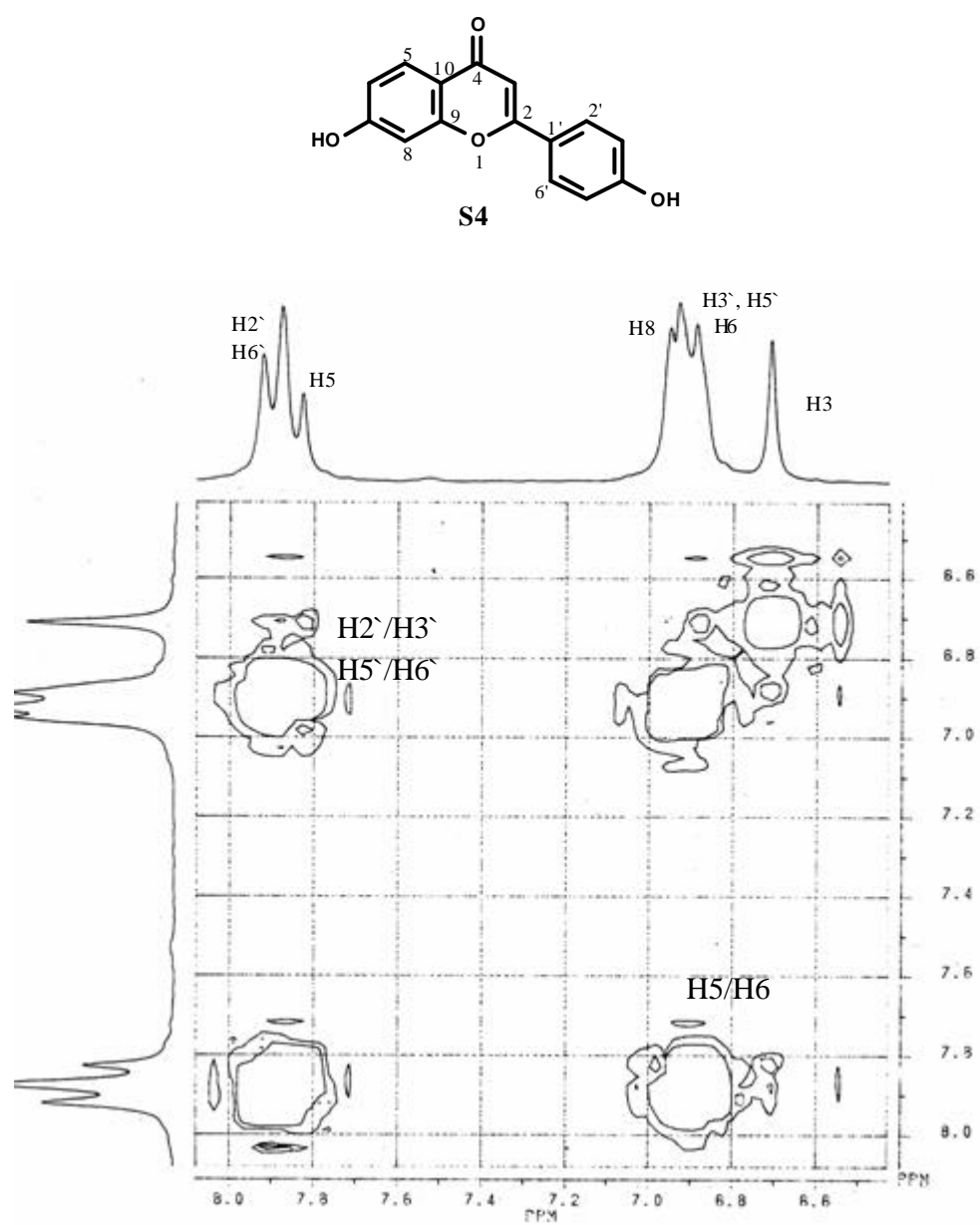


Figura 30: Espectro de correlação homonuclear ^1H , ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) de S4.

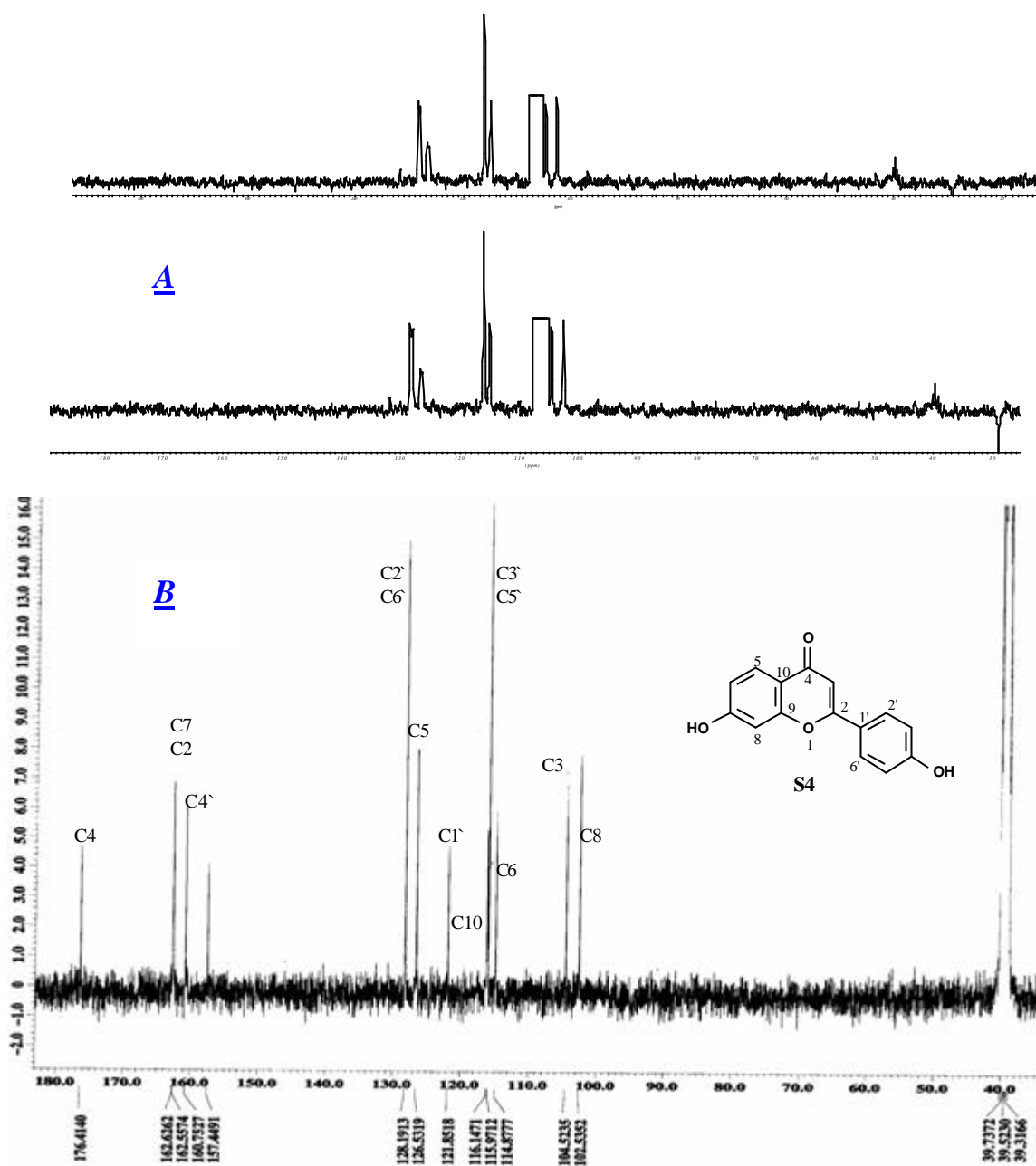


Figura 31: Espectros de RMN ^{13}C de S4 [DEPT a 50 MHz (**A**) e PND a 100 MHz (**B**) em DMSO- d_6].

Tabela 3: Dados de RMN ^{13}C (100 MHz) e RMN ^1H (400 MHz) de S4 e comparação com valores registrados na literatura para 7,4'-diOH-flavona: $\delta^{13}\text{C}$, 50 MHz (SILVA e col., 2000) e $\delta^1\text{H}$, 500 MHz (KOSHINO e col., 1993).

S4 (DMSO- d_6)				7,4'-di-OH-flavona (CD $_3$ OD)	
C	δ_{C}	δ_{H}	$^1\text{H}, ^1\text{H-COSY}$	δ_{C}	δ_{H}
2	162,63			165,20	
3	104,52	6,72 (1H; s)		105,11	6,66
4	176,41			180,0	
5	126,53	7,86 (1H; d; J= 8,8 Hz)	H-5/H-6	127,78	7,94
6	114,87	6,91 (1H; dd; J= 8,8 e 2,2 Hz)		116,42	6,89
7	162,55			162,64	
8	102,53	6,97 (1H;d; J= 2,2 Hz)		103,53	6,91
9	157,45			159,0	
10	116,14			117,03	
1'	121,85			121,09:	
2'	128,19	7,91 (1H; d; J= 8,8 Hz)	H-2'/H-3'	129,38	7,87
3'	115,97	6,92 (1H; d; J= 8,8 Hz)		116,42	6,93
4'	160,75			166,0	
5'	115,97	6,92 (1H; d; J= 8,8 Hz)	H-5'/H-6'	116,42	6,93
6'	128,19	7,91 (1H; d; J= 8,8 Hz)		129,38	7,87

5.1.5- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA S5

O espectro de IV (**Figura 32**) mostra bandas de estiramento de carbonila ($\nu_{\text{máx}}$: 1623), hidroxila fenólica ($\nu_{\text{máx}}$: 3196) e de esqueleto aromático ($\nu_{\text{máx}}$: 1605, 1558, 1508 e 1450).

O espectro de RMN ^1H de **S5** apresenta um singlete em δ_{H} 6,53 característico do H3 do anel C de flavonas. O anel A está representado pelos δ_{H} 7,78 (d, $J= 8,84$ Hz, 1H), 6,62 (d, $J=2,16$ Hz, 1H) e 6,99 (dd, $J= 8,84$ Hz e $J= 2,16$ Hz; 1H) que acoplam entre si formando um sistema ABC (H-5, H-8 e H-6, respectivamente) (**Figuras 33, 34 e 35, Tabela 8**). Os sinais em δ_{H} 7,43 (d, $J= 2,16$ Hz; 1H), 6,85 (d, $J= 8,36$ Hz; 1H) e 7,56 (dd, $J_1= 8,36$ Hz e $J_2= 2,16$ Hz) foram assinalados para os H-2', 5' e 6', respectivamente.

No espectro de RMN 2D COSY assinalou-se o acoplamento entre os hidrogênios aromáticos (**Figura 36, 37**).

O singlete em δ_{H} 3,93 (s, 3H) foi atribuído ao grupamento metoxila em C-3' (**Figura 33**). O espectro RMN ^1H 2D NOESY confirmou a posição deste grupo em 3' por apresentar sinais de interação espacial do mesmo com o H-2'. Este espectro também foi útil para assinalar as posições relativas dos demais hidrogênios na estrutura (**Figuras 38, 39 e 40; Tabela 8**).

Estes dados permitiram propor para **S5** a estrutura 7,4'-diidroxiflavona, conhecida como geraldona. Esta substância foi isolada de *Trifolium subterraneum* L. (Leguminosae-Fabaceae) (WONG and FRANCIS, 1968) e identificada em *Trifolium repens* (REDMOND e col., 1986). Foi detectada a sua presença, também, em sementes de *Vicia faba* (Leguminosae-Fabaceae) através de cromatografia líquida de alta eficiência (TOMÁS-BABERÁN e col., 1991). A ocorrência desta substância e dos demais flavonóides descritos neste trabalho justifica o metabolismo das Leguminosas produzindo 7-hidroxiflavonas como auxiliares no processo de fixação de nitrogênio (REDMOND e col., 1986). A sua forma glicosilada, 7-O-glicosil-geraldol, foi sintetizada por GUPTA e col. (1971). Além desta substância esta sendo registrada pela primeira vez no gênero *Schizolobium*, os dados de RMN ¹H desta substância pura não estão relatados na literatura.

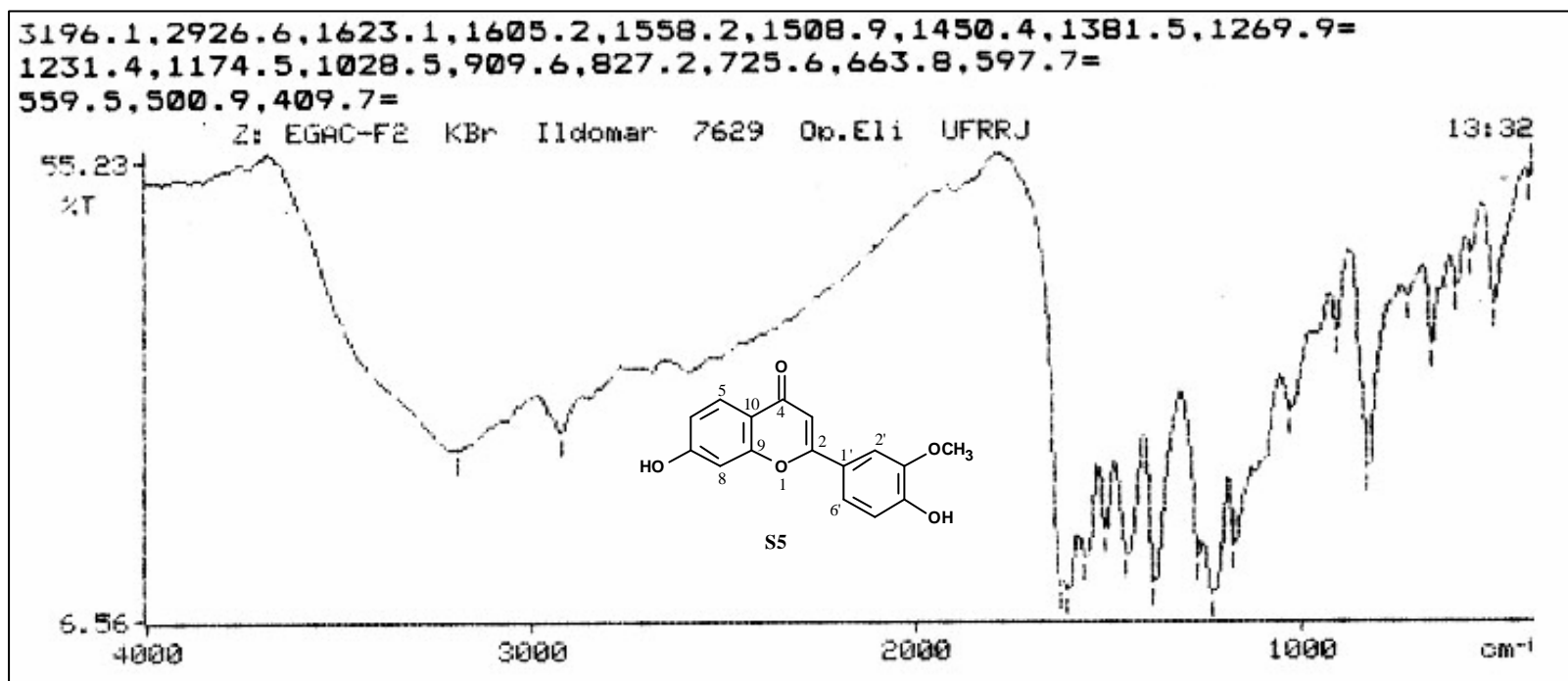


Figura 32 : Espectro de infravermelho de S5 .

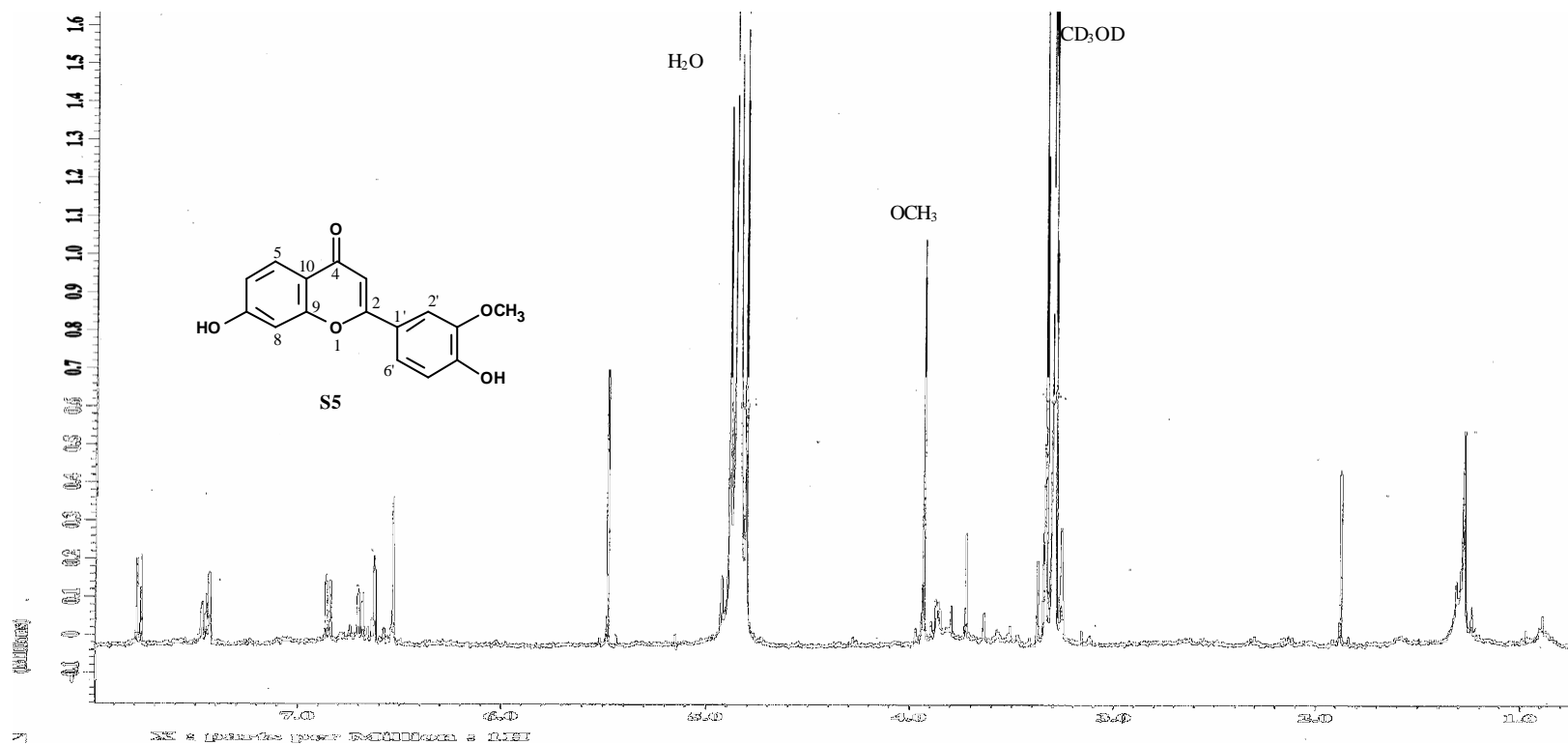


Figura 33: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, metanol- d_4) de S5.

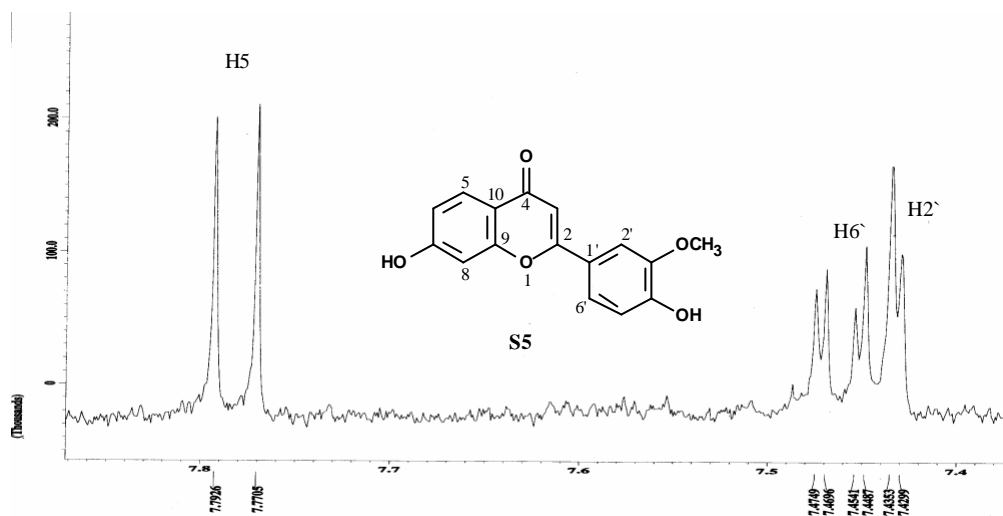


Figura 34: Ampliação da região entre 7,42 ppm e 7,79 ppm do espectro de RMN ^1H de S5.

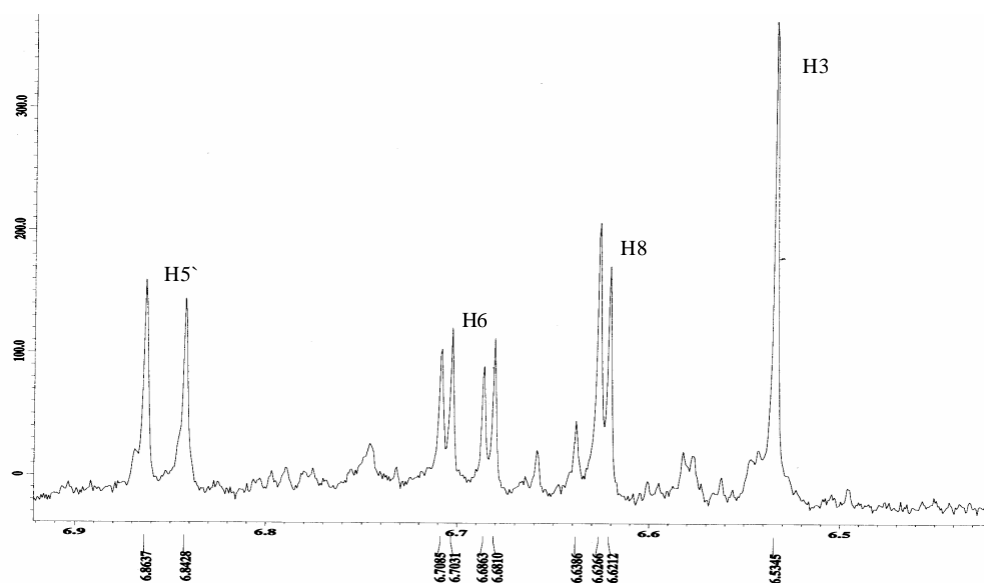


Figura 35: Ampliação da região entre 6,53 ppm e 6,86 ppm do espectro de RMN ^1H de S5.

Tabela 8: Dados de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de S5.

C	δ ^1H	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ NOESY
2		
3	6,53 (1H, s)	H-3/H2`
4		H-5/H-6
5	7,78 (1H, d, J= 8,84)	
6	6,69 (1H, dd, J ₁ = 8,84 Hz e J ₂ = 2,16 Hz)	
7		
8	6,62 (1H, d, J= 2,16 Hz)	
9		
10		
1`		
2`	7,43 (1H, d, J= 2,16 Hz)	
3`		
4`		
5`	6,85 (1H, d, J= 8,36 Hz)	H-5`/H-6`
6`	7,56 (1H, dd, J ₁ = 8,36 Hz e J ₂ = 2,16 Hz)	
3`-CH ₃ O	3,93 (3H, s)	OCH ₃ /H-2`

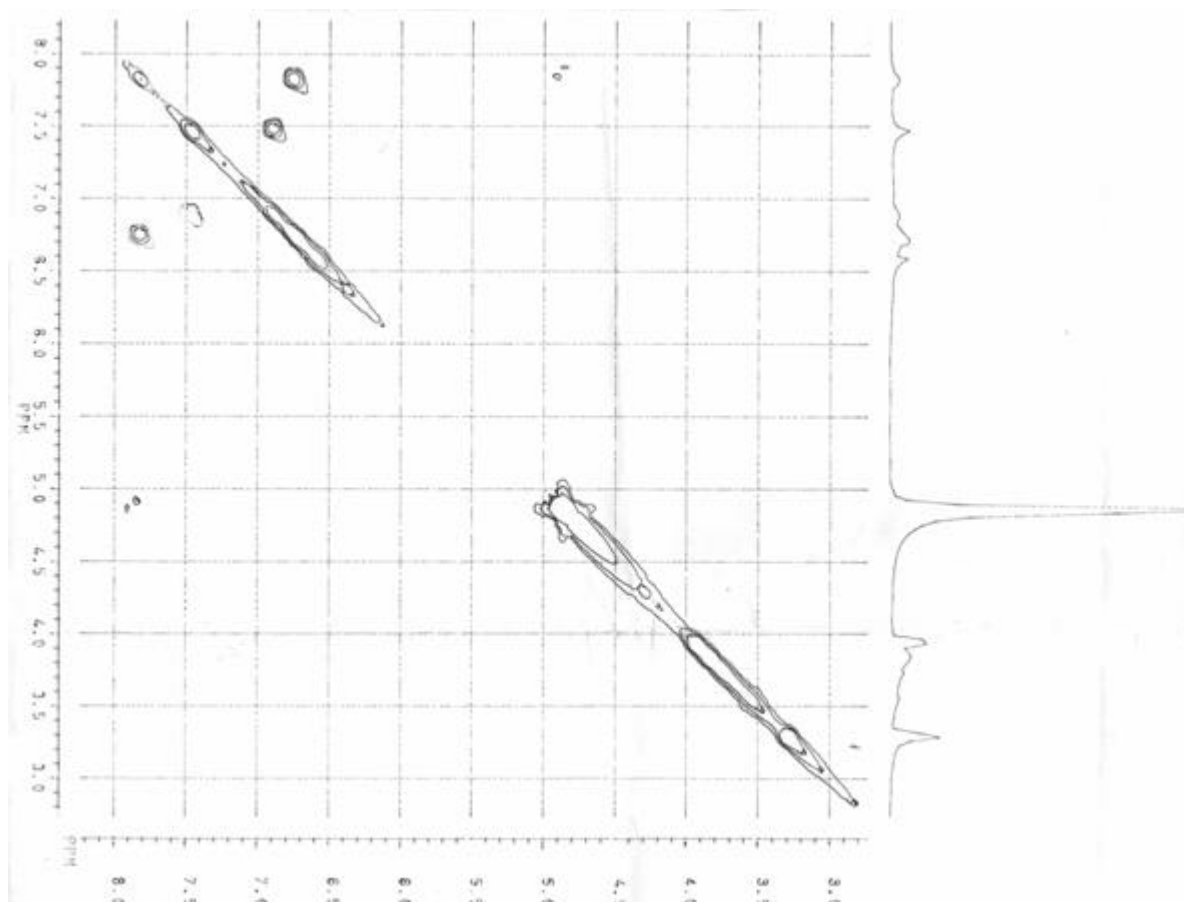
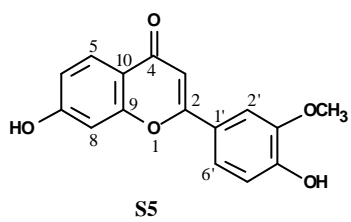


Figura 36: Espectro de ^1H , ^1H COSY (CD_3OD , 200 MHz) de S5.



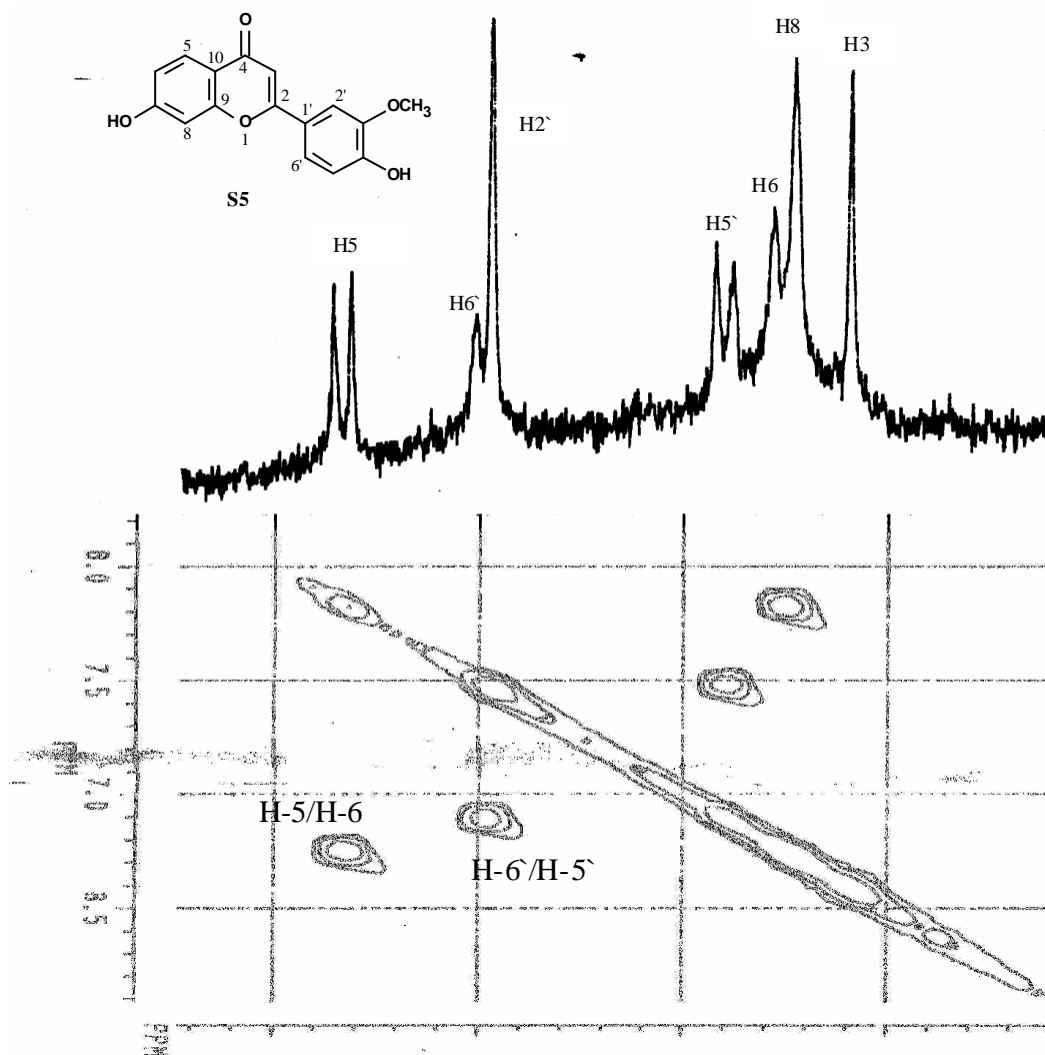


Figura 37: Ampliação da região entre d_{H} 6,5-8,0 do espectro de ^1H , ^1H COSY (CD_3OD , 200 MHz) de S5.

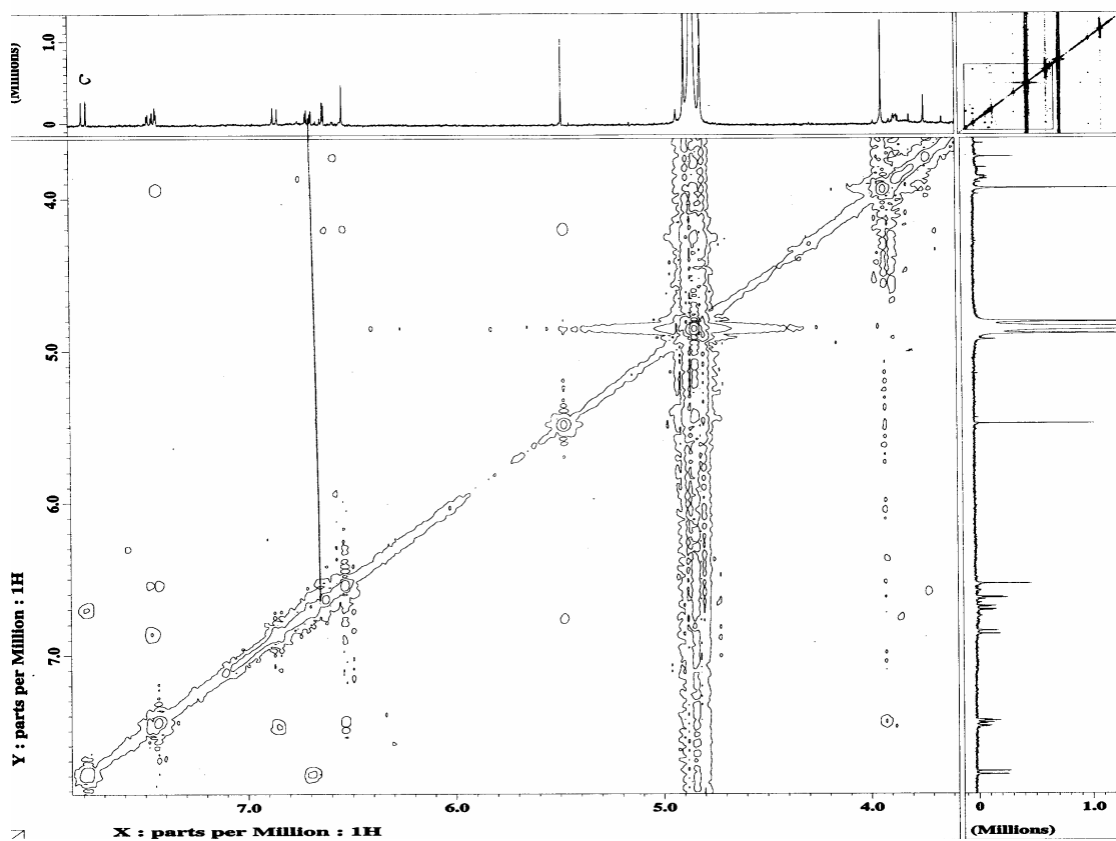
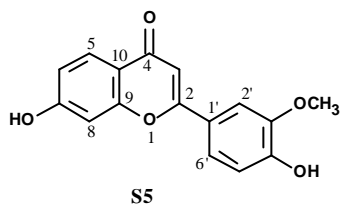


Figura 38: Espectro de RMN ^1H NOESY (500 MHz, CD_3OD) de S5.

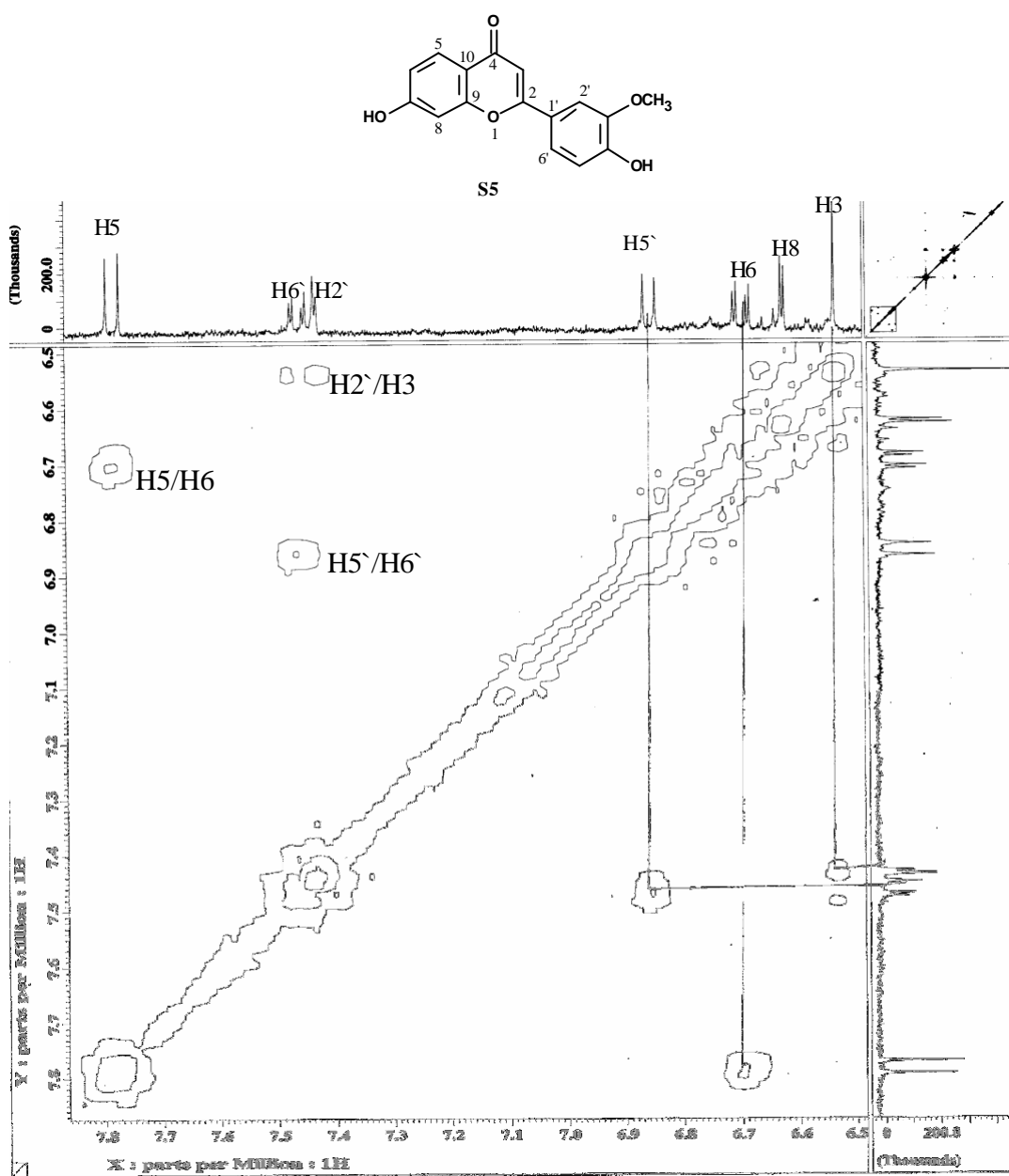


Figura 39: Ampliação da região entre 6,5-7,8 do espectro de RMN ^1H NOESY de S5.

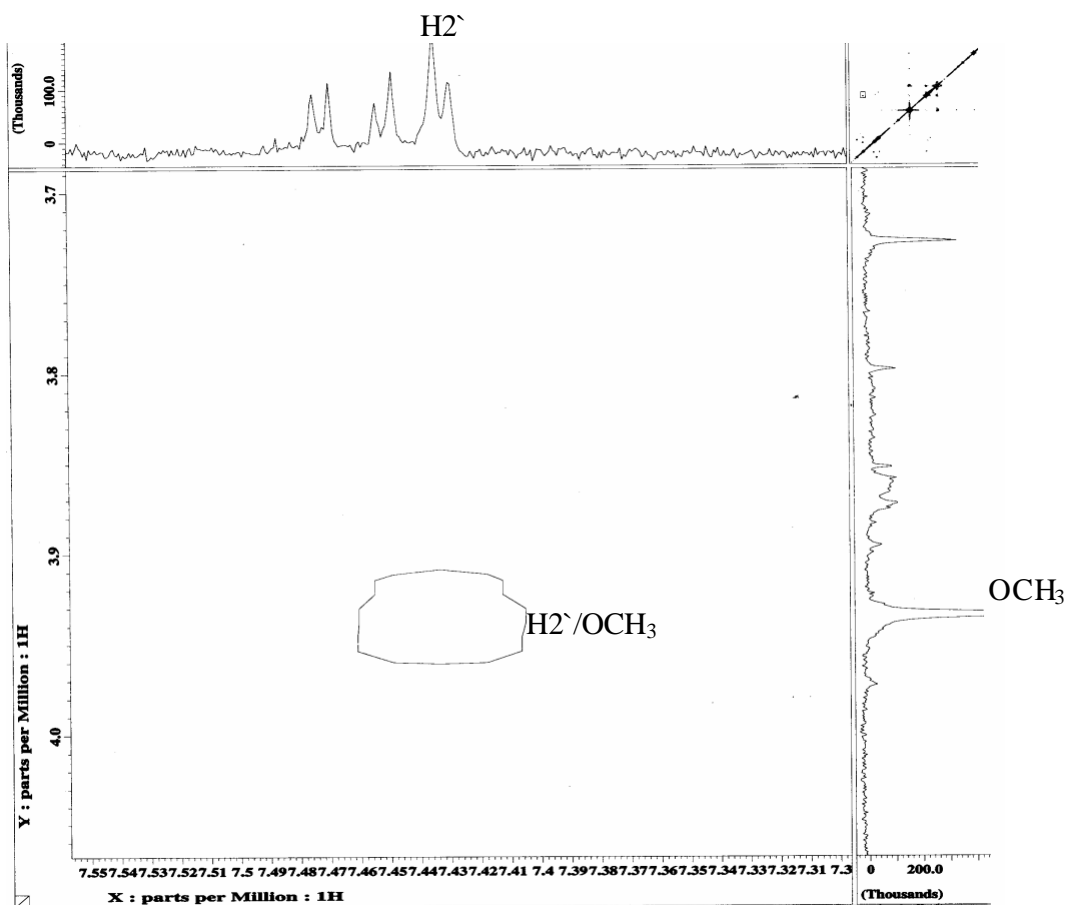
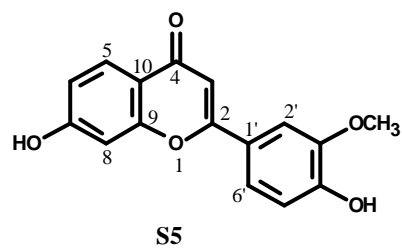


Figura 40: Ampliação do espectro de RMN ^1H NOESY, mostrando a interação espacial entre o H-2' e o grupamento CH_3O .

5.1.6- IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA S6

O espectro de IV (**Figura 41**) mostra bandas de estiramento de carbonila ($\nu_{\text{máx}}$: 1619), hidroxila fenólica ($\nu_{\text{máx}}$: 3381) e de esqueleto aromático ($\nu_{\text{máx}}$: 1508 e 1448).

O espectro de RMN¹H (**Figuras 42, 43**) mostra sinais em δ_{H} 6,49(s, H-3) e dois dubletos (1H, 8,8 Hz) em δ_{H} 7,75 (H-6[^]) e 6,81 (H-5[^]). Estes dados são compatíveis com um anel aromático trissubstituído de uma flavona com a posição 3 livre. Os demais sinais presentes no espectro de RMN¹H δ_{H} 6,60 (d, 2,0 Hz, H-8), 6,67(dd, 8,8 e 2,0 Hz, H-6) e 7,76 (d, 8,8 Hz, H-5) podem ser atribuídos a um sistema ABC do anel A da flavona (**Tabela 9**). A multiplicidade dos sinais e os valores de δ_{H} conduziram à constatação de que o padrão de substituição neste anel é idêntico ao observado para o anel A das flavonas **S4** e **S5** e que por esse motivo serviram como modelos para as atribuições dos sinais de δ_{H} de **S6**. O δ_{H} em 7,76 é compatível com um hidrogênio orto a grupo retirador de elétrons do anel e que acopla com o hidrogênio representado pelo dd em δ_{H} 6,67 que sofre efeito σ - e ρ - de grupo hidroxila conforme representado em **S6**.

O espectro de $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY (**Figura 44, 45**) de **S6** revela acoplamento entre o sinal em 7,76 ppm (d, H-5) e o sinal em 6,66-6,69 ppm (dd, H-6), restando para o outro par de hidrogênios os sinais em δ_{H} 7,75 (d, H-6') e 6,81 (d, H-5') que acoplam entre si. O experimento de NOEDIFF (**Figura 46**) em que o sinal do H-3 (δ_{H} 6,49) irradiado revelou NOE no sinal duplo em δ_{H} 7,75 (H-6'). Estes dados permitiram a proposta da 7,2',3',4'-tetraidroxiflavona, **S6**. Esta substância está sendo registrada pela primeira vez na literatura.

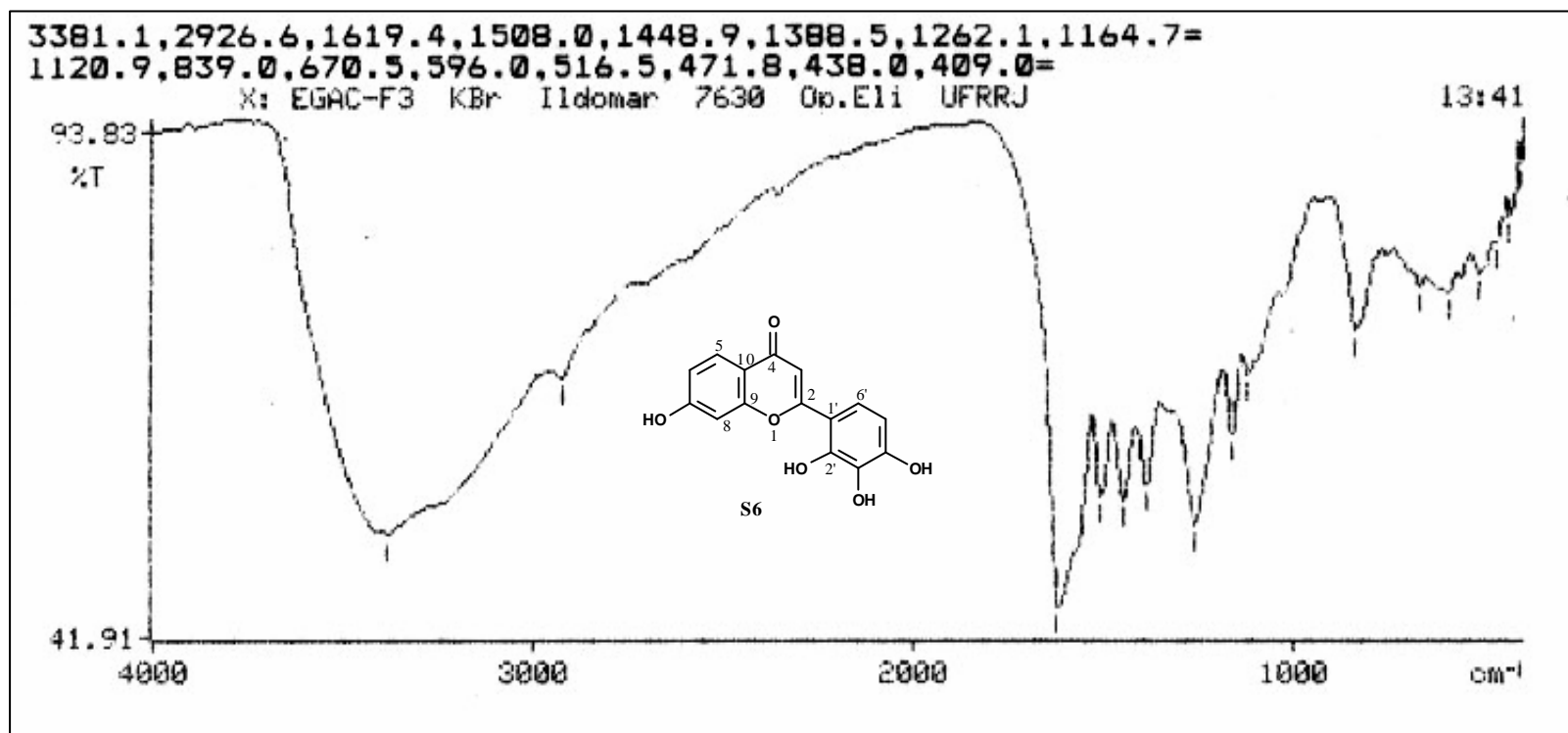


Figura 41: Espectro de infravermelho de S6.

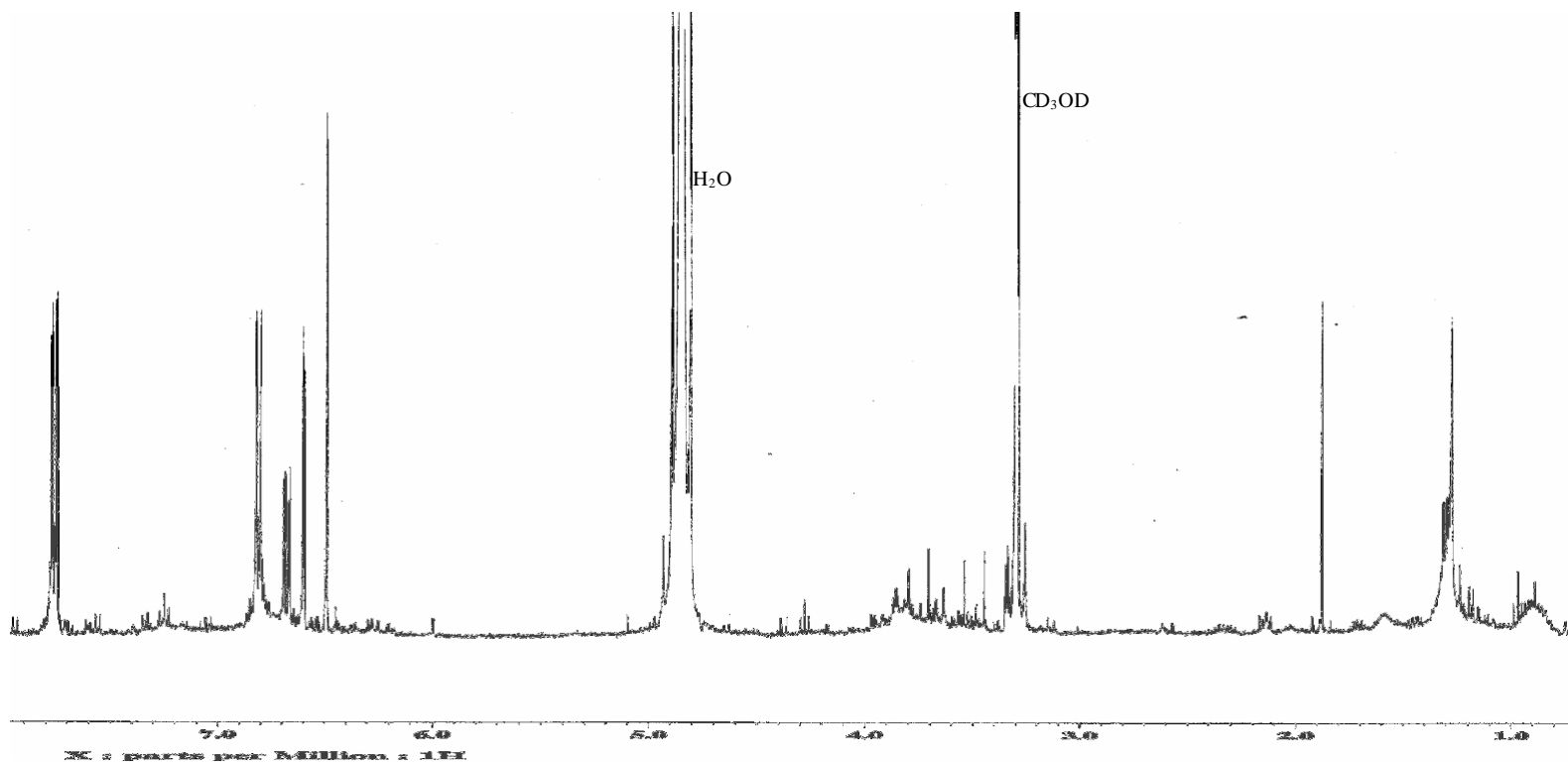


Figura 42: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, metanol- d_6) de S6.

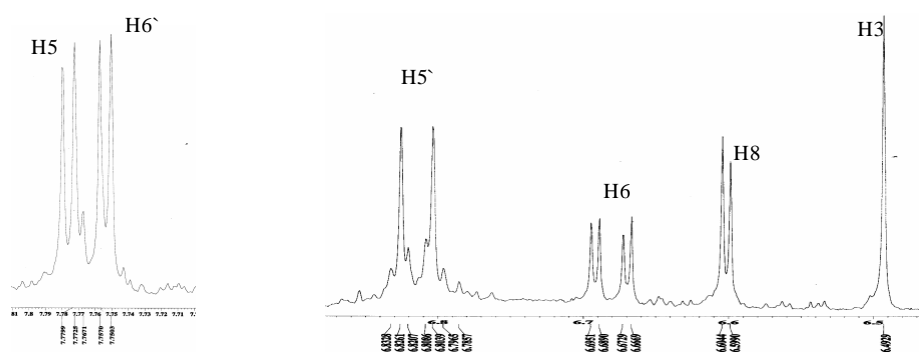
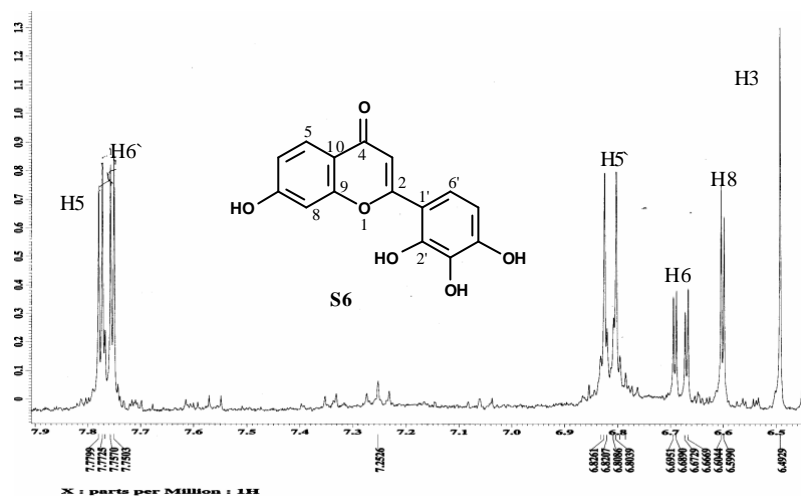


Figura 43: Ampliações da região entre 6,49 ppm e 7,77 ppm do espectro de ^1H de S6.

Tabela 9: Dados de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de S6.

C	d_{H}	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY
2		
3	6,49 (1H, s)	
4		
5	7,76 (1H, d, J= 8,8 Hz)	H-5/H-6
6	6,67 (1H, dd, J= 8,8 Hz e J= 2,0 Hz)	
7		
8	6,60 (1H, d, J= 2,0 Hz)	H-8/H-6
9		
10		
1`		
2`		
3`		
4`		
5`	6,81 (1H, d, J= 8,8 Hz)	H-5`/H-6`
6`	7,75 (1H, d, J=8,8 Hz)	

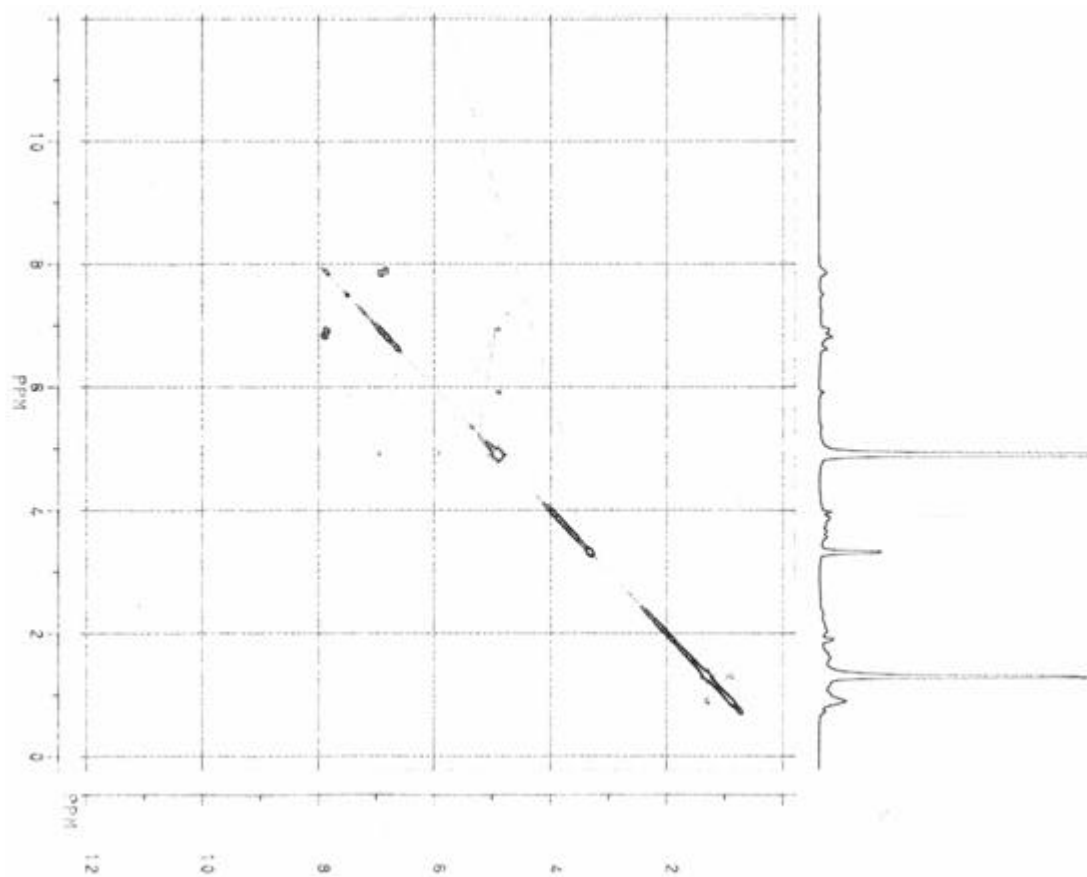
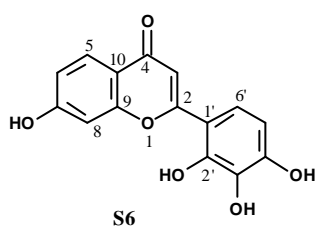


Figura 44: Espectro de H^1, H^1 COSY de S6 (200 MHz, CD_3OD).



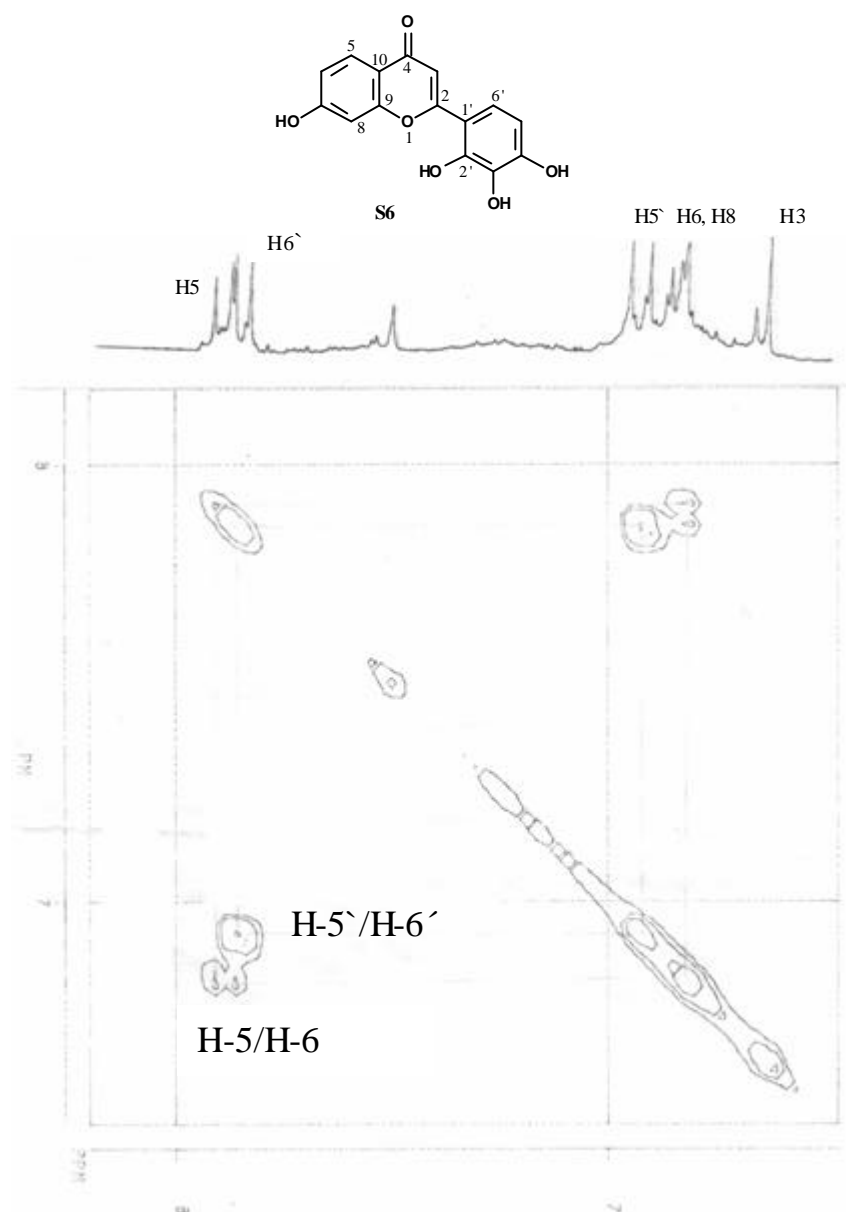


Figura 45: Ampliação dos sinais entre δ_{H} 6,0-7,8 do espectro de $^1\text{H},^1\text{H}$ COSY de S6.

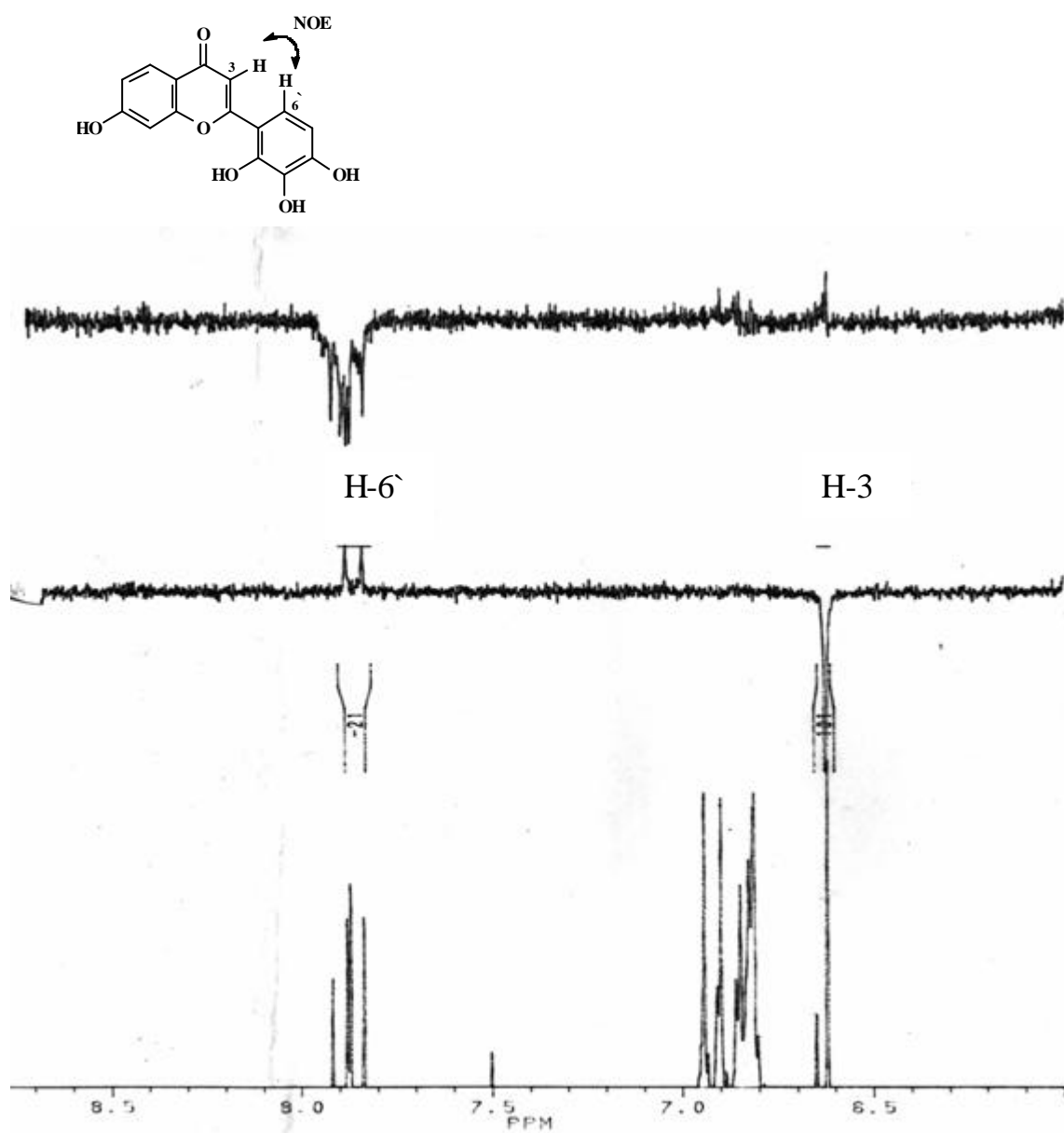


Figura 46: Espectro de NOEDIFF obtido por irradiação na frequência do H-3.

6. CONCLUSÃO

No primeiro estudo fitoquímico desta espécie vegetal, foram identificadas seis substâncias: dois esteróides, um lignóide e quatro flavonóides. Das quais as substâncias **S2**, **S3**, **S5** estão sendo registradas pela primeira vez em Caesalpinaceae e a substância **S6** é nova na literatura.

Os dados espectrométricos de RMN ^1H de **S3** e **S5** e RMN ^{13}C de **S3** estão sendo registrados pela primeira vez na literatura.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADINARAYANA, D.; SYAMASUNDAR, K. V.; SELIGMANN, OTTO and WAGNER, HILDEBERT. Structure Elucidation of Pterosupin From *Pterocarpus marsupium*, the First Naturally Occuring C-Glycosyl- β -hydroxy-dihydrochalcone. *Zeitschrift Naturforschung C-A: Journal of Biosciences*. **37c**, 145-147 (1982).

AYABE, S-I.; KOBAYASHI, M.; HIKICHI, M.; MATSUMOTO, K. and FURUYA, T. Flavonoids From the Cultured Cells of *Glycyrrhiza echinata*. *Phytochemistry*. **19**, 2179-2183, (1980).

BUCKERIDGE, M. S.; PANEGASSI, V. R.; ROCHA, D. C. and DIETRICH, S. M. C. Seed Galactomannan in the Classification and Evolution of the Leguminosae. *Phytochemistry*. **38**, N^o 8, 871-875 (1995).

BRESOLIN, T. M. B.; MILAS, M; RINAUDO, M.; GANTER, J. L. M. Xanthan-galactomannan Interactions as Related to Xanthan Conformations. *International Journal of Biological Macromolecules*. **23**, 263-275 (1998).

BRESOLIN, T. M. B.; MILAS, M.; RINAUDO, M.; REICHER, F.; GANTER, J. L. M. R Role of Galactomannan Composition on the Binary Gel Formation With Xantan. *International Journal of Biological Macromolecules*. **26**, 225-231 (1999).

BRESOLIN, T. M. B.; SANDER, P. C.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.- R.; RINAUDO, M.; GANTER, J. L. M. S. Viscometric Studies on Xanthan and Galactomannans Systems. *Carbohydrate Polymers*. **33**, 131-138 (1997).

CHATTERJEA, J. N.; ROBINSON, R. and TOMLINSON, M. L. Syntheses in Brasilin Group by Way of Indeno-coumarins. *Tetrahedron*. **30** (3) 507-512 (1974).

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products- A Biosynthetic Approach*. John Wiley e Sons Ltd. England, (1997).

FRANCO, T. T.; RODRÍGUEZ, N. R.; SERRA, G. E.; PANEGASSI, V. R., BUCKERIDGE, M. S. Characterization of Storage Cell Wall Polysaccharides From Brazilian Legume Seeds and the Formation of

Aqueous Two-Phase Systems. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*. **680**, 255-261 (1996).

GANTER, J. L. M. S.; HEYRAUD, A.; PETKOWICZ, C. L. O., RINAUDO, M.; REICHER, F. Galactomnans From Brazilian Seeds: Characterization of the Oligosaccharides Produced by Mild Acid Hydrolysis. *International Journal of Biological Macromolecules*. **17**, n° 1, 13-19 (1995).

GOVINDAN, M.; MCCLEAN, A. E. and BROWN, A. C. Chemical Constituents of the Caribbean Marine Alga *Bryopsis plumose*. *Microchemical Journal*. **47**, 193-196 (1996).

GUPTA, S. R.; RAVINDRANATH, B. and SESHADRI, T. R. Synthesis of Some Flavonoid of Glucosides of *Trifolium subterraneum*. *Phytochemistry*. **10**, 877-882 (1971).

HARUNA, M.; KOUBE, T.; ITO, K. and MURATA, H. Balonophonin, a New-Neolignan From *Balanophora japonica* Makino. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **30** (4) 1525-1527 (1982).

HASHIMOTO, Y.; OZAWA, S. AND SASAYA, T. Extractives of *Chosenia arbutifolia* A. Skvortz II. New neolignans from the Wood of *Chosenia arbutifolia*. *Mokuzai Gakkaishi*. **40**, nº 5, 549-553 (1994).

HILLIS, W. E. and INOUE, T. The Formation of Polyphenols in Trees-III. The Effect of Enzyme Inhibitors. *Phytochemistry*. **5** 483-490 (1966).

INGHAM, J. L. Flavonoid and Isoflavonoid Compounds From Leaves of Sainfoin (*Onobtychis viciifolia*). *Zeitschrift Naturforschung C-A: Journal of Biosciences*. **33c**, 146-148 (1978).

JAEGER, R. H.; LEWIS, P. M. E. and ROBINSON, R. Reduction of Brasilein-Occurrence of Reductive Coupling. *Tetrahedron*. **30** (10) 1295-1300 (1974).

JOLY, A. B. *Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal*. 12^a edição - São Paulo-SP: Companhia Editora Nacional (1998).

KOSHINO, H.; MASAOKA, Y. and ICHIHARA, A.. A Benzofuran Derivative Released by Fe-Deficient *Mendicago sativa*. *Phytochemistry*. **33**, N° 5, 1075-1077 (1993).

LORENZI, H. *Árvores Brasileiras-Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Áboreas Nativas do Brasil*. Vol. **1**, 2^a Ed.- Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, (1998).

MARKHAM, K. R.; MABRY, T. J. and SWIFT JR., W. T. Distribution of Flavonoids in the Genus *Baptisia* (Leguminosae). *Phytochemistry*. **9**, 2359-2364 (1970).

MARKHAM, K. R and MABRY, T. J. The Structure and Stereochemistry of Two New Dihydroflavonol Glycosides. *Tetrahedron*. **24**, 823-827 (1968).

PETKOWICZ, C. L. O., SIERAKOWSKI, M.- R.; GANTER, J. L. M. S.; REICHER, F. Galactomannans and Arabinans From Seeds of Caesalpinaceae. *Phytochemistry*. **49**, n° 3, 737-743, (1998).

PIO CORRÊA, M. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Vol. 1. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro (1984).

REDMOND, J. W.; BATLEY, M.; DJORDJEVIC, M. A.; INNES, R. W.; KUEMPEL, P. L. and ROLFE, B. G. Flavones Induce Expression of Nodulation Genes in *Rhizobium*. *Nature*. **323**, 632-635 (1986).

RIZZINI, C. T. *Árvores e Madeiras Úteis do Brasil-Manual de Dendrologia Brasileira*. Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo-SP, (1995).

RODRIGUES, W. A. Correção Ortográfica no Nome Científico do Guapuruvu (*Schizolobium parahybae* (Vell.) S. F. Blake) in *XLVIII Congresso Nacional de Botânica*, (Crato-CE), pp. 304 (1997).

SILVA, C. J. da; OLIVEIRA, M. C. C. de e CARVALHO, M. G. de. Flavonóides Isolados de *Piptadenia rígida*. 23^o Reunião Anual da SBQ. Livro de Resumos, PN-041. 2000.

SOUZA, E. M. T.; MIZUTA, K.; SAMPAIO, M. U. and SAMPAIO, C. A. M. Purification and Partial Characterization of a *Schizolobium parahyba* Chymotrypsin Inhibitor. *Phytochemistry*. **39**, 3, 521-525 (1995)

TELLES, R. C. L.; FREITAS, S. M.; KAWANO, Y.; SOUZA, E. M. T. and ARÊAS, E. P. G. Vibrational Spectroscopic Analysis of a Chymotrypsin Inhibitor Isolated from *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo Seeds. *Spectrochimica Acta-Part A*. **55** 1279-1289 (1999).

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GARCÍA-GRAU, M. M. and TOMÁS-LORENTE, F. Flavonoid Concentration Changes in Maturing Broad Bean Pods. *Journa of Agricultural and Food Chemistry*. **39**, 255-258, (1991).

TORSSELL, K. B. G. *Natural Product Chemistry- A Mechanistic Biosynthetic and Ecological Aproach*. 2nd edition. Apotekarsocieteten, Stockholm, Sweden (1997).

WONG, E.; MORTIMER, P. I. and GEISSMAN, T. A. Flavonoids Constituents of *Cicer arietinum*. *Phytochemistry*. **4**, 89-95 (1965).

WONG, E. Flavonoid Biosynthesis in *Cicer arietinum*. *Biochimica et Biophysica Acta*. **111**, 358-363 (1965).

WONG, E. and FRANCIS, C. M. Flavonoids in Genotypes of *Trifolium subterraneum*-I. *Phytochemistry*. **7**, 2123-2129 (1968).

YOSHIKAWA, K.; KINOSHITA, H.; KAN, Y. and ARIHARA, S. Neolignans and Phenylpropanoids from the Rhizomes of *Coptis japonica* var. *dissecata*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. **43** (4), 578-581 (1995).

ZAWADZKI-BAGGIO, S. F.; SIERAKOWSKI, M.- R., CORRÊA, J. B. C.; REICHER, F. A linear (1 \rightarrow 5)-Linked α -L-arabinofuranan From the Seeds of Guapuruvu (*Schizolobium parahybum*) *Carbohydrate Research*. **223**; 265-269 (1992).