

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE *Swartzia*  
*apetala* VAR. GLABRA**

**Marcelo Francisco de Araújo**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

*AGOSTO de 2007*

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE *Swartzia***

***apetala* VAR. GLABRA**

**Marcelo Francisco de Araújo**

**Tese apresentada ao Centro de  
Ciências e Tecnologias da  
Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro, como  
parte das exigências para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências Naturais.**

***Orientadora: Prof. Dra. Leda Mathias***

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

***AGOSTO de 2007***

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE *Swartzia***

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCT / UENF  
39/2007

Araújo, Marcelo Francisco de

Estudo fitoquímico e avaliação biológica de *Swartzia apetala* var. *glabra* / Marcelo Francisco de Araújo. – Campos dos Goytacazes, 2007.

xvi, 168 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) --Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências Químicas. Campos dos Goytacazes, 2007.

Orientadora: Leda Mathias.

Co-orientadores: Ivo José Curcino Vieira e Raimundo Braz-Filho

Área de concentração: Química de produtos naturais

Inclui bibliografia

1. *Swartzia apetala* 2. *Artemia salina* 3. DPPH 4. Atividade antifúngica 1. Universidade Estadual do Norte Fluminense

CDD 547.7

**Marcelo Francisco de Araújo**

**Tese apresentada ao Centro de  
Ciências e Tecnologias da  
Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro, como  
parte das exigências para  
obtenção do título de Mestre de  
Ciências Naturais.**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

Prof. Mário Geraldo de Carvalho (D. Sc., Química Orgânica) - UFRRJ

---

Prof. Carlos Roberto Ribeiro Matos (D. Sc., Química Orgânica) – UENF

---

Prof. Olney Vieira da Motta (D. Sc., Biociências e Biotecnologia) – UENF

---

Prof.<sup>a</sup> Leda Mathias (D. Sc., Química de Produtos Naturais) – UENF  
(Orientadora)

“Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos por um impulso quase que insano a procurar seus prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e, no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia”.

Johanm Joachim Becher, *Physica Subterrânea* (1667).

## **AGRADECIMENTOS**

Quero deixar a sincera gratidão a todos que colaboraram de uma certa forma na produção deste trabalho.

A Deus por iluminar minha vida e me dar forças para suportar os obstáculos do dia-a-dia

Aos meus pais *in memoriam* Francisco Elias de Araújo e Maria Silva de Araújo, por sempre me implantarem o interesse no estudo

A minha irmã Márcia Araújo de Saavedra pelas palavras de incentivo e compreensão nos momentos difíceis

A minha noiva Débora pela amizade, carinho, companheirismo e paciência

A professora Raquel pela amizade, carinho e pelos ensinamentos

A professora Leda Mathias pela amizade, paciência e pelas instruções valiosas que somaram no meu conhecimento e prazer pela pesquisa

Ao professor Ivo pela amizade e pelas colaborações valiosas durante o trabalho

Ao professor Carlos pelas valiosas ajudas, idéias e amizade

Ao professor Raimundo Braz pela ajuda na elucidação dos espectros

Ao professor Olney Vieira da Motta pela colaboração e ensinamentos em microbiologia

Aos amigos que compõe o grupo de pesquisa de produtos naturais e que fazem a rotina do laboratório ser menos estressante, Aluan, Cecília, Elaine, Graziela, Gustavo, Ildomar, Jucimar, Lanamar, Lara, Leonardo, Luis Fernando, Márcia, Moema, Vinícius, Virginia e Wagner

A amiga Luisa companheira desde a graduação

Aos técnicos do LCQUI Marta e Roberto pelos espectros de IV e RMNAos técnicos do LSA Lurdes e Gina pela ajuda nos ensaios antifúngicos

Ao professor Luciano Canellas do lab. de análises de solos CCTA pela ajuda nas análises estatísticas e por liofilizar algumas amostras

## SUMÁRIO

	Pág.
Lista de Tabelas.....	IV
Lista de Esquemas.....	VI
Lista de Figuras.....	VII
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	XI
Resumo.....	XIII
Abstract.....	XV
Introdução.....	1
Referências Bibliográficas.....	3
Capítulo I: Revisão da Literatura.....	4
1.1. A Família Fabaceae.....	4
1.2. Divisão Taxonômica.....	4
1.3. O gênero <i>Swartzia</i> .....	6
1.4. A espécie <i>Swartzia apetala</i> .....	11
1.5. Considerações sobre os metabólitos secundários encontrados gênero <i>Swartzia</i> .....	12
1.5.1. Saponinas.....	12
1.5.2. Flavonóides.....	14
1.5.3. Isoflavonóides.....	16
1.6. Referências Bibliográficas.....	17
Capítulo II: Extração, Fracionamento e Isolamento das substâncias.....	21
2.0. Constituintes químicos isolados das folhas e madeira de <i>Swartzia apetala</i> .....	21
2.1. Materiais e Reagentes utilizados.....	24
2.2. Procedimento experimental.....	25
2.2.1. Levantamento bibliográfico.....	25
2.2.2. Material botânico: coleta e identificação.....	25
2.2.3. Secagem e moagem do material vegetal.....	25
2.2.4. Preparação dos extratos brutos.....	25
2.2.4.1. Folhas.....	25
2.2.4.2. Madeira.....	26
2.2.5. Testes químicos.....	27
2.2.5.1. Teste para saponinas.....	27

2.2.5.2. Teste para flavonóides.....	28
2.2.6. Reveladores.....	28
2.2.7. Fracionamento dos extratos brutos e purificação das Substâncias.....	29
2.2.7.1. Fracionamento do extrato metanólico das folhas de <i>S. apetala</i> .....	29
2.2.7.2. Fracionamento do extrato hexânico da madeira de <i>S. apetala</i> .....	31
2.3. Referências bibliográficas.....	33
Capítulo III: Resultados e Discussão.....	34
3.1. Determinação Estrutural dos Constituintes Químicos Isolados de Folhas de <i>Swartzia apetala</i> .....	34
3.1.1. Determinação estrutural da substância <b>SAFM-01</b> .....	34
3.1.2. Determinação estrutural da substância <b>SAFM-02</b> .....	53
3.1.3. Determinação Estrutural da substância <b>SAFM-03</b> .....	71
3.1.4. Determinação estrutural da substância <b>SAFM-04</b> .....	78
3.2. Constituintes Químicos Identificados na Madeira de <i>S. apetala</i> .....	95
3.2.1. Determinação estrutural da substância <b>SAMH-01</b> .....	96
3.2.2. Determinação estrutural da substância <b>SAMH-02</b> .....	105
3.2.3. Determinação estrutural da substância <b>SAMH-03</b> .....	115
3.2.4. Determinação estrutural da substância <b>SAMH-04</b> .....	123
3.2.5. Determinação estrutural da substância <b>SAMH-05</b> .....	129
3.3. Constantes Físicas e Dados Espectroscópicos das Substâncias Isoladas.....	139
3.4. Referências bibliográficas.....	145
Capítulo IV: Ensaio Biológicos.....	147
4.0. Introdução.....	147
4.1. Avaliação do Potencial Antioxidante.....	148
4.1.1. Materiais e reagentes utilizados.....	150
4.1.2. Procedimento experimental.....	151
4.1.3. Resultados e discussão.....	153
4.2. Bioensaio de letalidade contra as larvas de <i>Artemia salina</i> Leach .....	155
4.2.1. Materiais e Reagentes utilizados.....	156
4.2.2. Procedimento Experimental.....	156

4.2.3. Resultados e discussão.....	157
4.3. Avaliação da atividade antifúngica.....	158
4.3.1. Fungos.....	159
4.3.2. Materiais e Reagentes utilizados.....	159
4.3.3. Procedimento Experimental.....	160
4.3.4. Resultados e discussão.....	161
4.4. Referências bibliográficas.....	165
Conclusões.....	168

## Lista de Tabelas

	Pág.
Tabela 1 - Substâncias isoladas de espécies de <i>Swartzia</i> .....	7
Tabela 2 - Classificação botânica da espécie <i>Swartzia apetala</i> Raddi var. <i>glabra</i> .....	11
Tabela 3 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H da saponina <b>SAFM-01</b> em Py- <i>d</i> <sub>5</sub> .....	37
Tabela 3' - Dados espectrais da unidade glicosídica da saponina <b>SAFM-01</b> ....	38
Tabela 4 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H da saponina <b>SAFM-02</b> em CD <sub>3</sub> OD.....	55
Tabela 4' - Dados espectrais das unidades glicosídicas da saponina <b>SAFM-02</b> .....	56
Tabela 5 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H do flavonóide <b>SAFM-03</b> em CD <sub>3</sub> OD.....	73
Tabela 6 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H do flavonóide <b>SAFM-04</b> em CD <sub>3</sub> OD.....	80
Tabela 6' - Dados espectrais das unidades glicosídicas do flavonóide <b>SAFM-04</b> .....	81
Tabela 7 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H do estilbeno <b>SAMH-01</b> em CDCl <sub>3</sub> .....	97
Tabela 8 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H da flavanona <b>SAMH-02</b> em CDCl <sub>3</sub> .....	108
Tabela 9 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H do pterocarpano <b>SAMH-03</b> em CDCl <sub>3</sub> .....	117
Tabela 10 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C do triterpeno <b>SAMH-04</b> em CDCl <sub>3</sub> .....	124
Tabela 11 - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup> C dos esteróides <b>SAMH-05a/b/c</b> em CDCl <sub>3</sub> .....	131
Tabela 12 - Valores de CE <sub>50</sub> e dados estatísticos dos extratos de <i>S. apetala</i> . Rutina foi usado como padrão.....	154
Tabela 13 - Resultados do bioensaio com larvas de <i>Artemia salina</i> .....	157
Tabela 14 - Atividade antimicrobiana do fenol e derivados (coeficiente fenólico).....	158
	<b>Pág.</b>
Tabela 15 - Fungos utilizados no ensaio.....	160

Tabela 16 - Inibição do crescimento fúngico dos extratos de <i>S. apetala</i> .....	162
Tabela 17 - Inibição do crescimento fúngico das substâncias isoladas do extrato metanólico das folhas de <i>S. apetala</i> .....	163
Tabela 18 - Inibição do crescimento fúngico das substâncias isoladas do extrato hexânico da madeira de <i>S. apetala</i> .....	164

**Lista de Esquemas**

	Pág.
Esquema 1 - Preparação dos extratos brutos das folhas de <i>S. apetala</i> .....	26
Esquema 2 - Preparação dos extratos brutos da madeira de <i>S. apetala</i> .....	27
Esquema 3 - Fracionamento do extrato em metanol.....	29
Esquema 4 – Purificação das saponinas das folhas de <i>S. apetala</i> .....	30
Esquema 5 - Isolamento dos flavonóides das folhas de <i>S. apetala</i> .....	31
Esquema 6 – Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico.....	32
Esquema 7 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAFM-03</b> .....	72
Esquema 8 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-01</b> .....	98
Esquema 9 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-02</b> .....	107
Esquema 10 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-03</b> .....	118
Esquema 11 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-04</b> .....	128
Esquema 12 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-05a</b> .....	137
Esquema 13 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-05b</b> .....	137
Esquema 14 - Propostas de fragmentação da substância <b>SAMH-05c</b> .....	138
Esquema 15 - Mecanismo de ação do DPPH frente a substâncias fenólicas.....	149
Esquema 16 - Relação estrutura <i>versus</i> atividade antioxidante de flavonóides.....	149
Esquema 17 - Procedimento experimental (análise quantitativa).....	152

## Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 - Substâncias utilizadas como fitofármacos.....	1
Figura 2 - Quinina e análogos sintéticos.....	2
Figura 3 - Estrutura básica de isoflavonóides.....	5
Figura 4 - Flavonóides de <i>Swartzia</i> .....	8
Figura 5 - Saponinas de <i>Swartzia</i> .....	9
Figura 6 - Pterocarpanos de <i>Swartzia</i> .....	10
Figura 7 - Agliconas esteroidais.....	12
Figura 8 - Agliconas de caráter básico.....	13
Figura 9 - Biossíntese das saponinas triterpênicas.....	13
Figura 10 - Biossíntese geral dos flavonóides.....	15
Figura 11 - Classe de isoflavonóides.....	16
Figura 12 - Saponinas isoladas de <i>Swartzia apetala</i> .....	21
Figura 13 - Flavonóides isolados de <i>Swartzia apetala</i> .....	22
Figura 14 - Estilbeno, triterpeno, esteróides e pterocarpano isolados de <i>S. apetala</i> .....	23
Figura 15 - Interações 1,3- <i>sin</i> -di axial da substância <b>SAFM-01</b> .....	36
Figura 16 - Espectro de infravermelho da substância <b>SAFM-01</b> .....	39
Figura 17 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-01</b> .....	40
Figura 18 - Ampliação do espectro RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-01</b> (região de 0,66 a 2,4 ppm).....	41
Figura 19 - Ampliação do espectro RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-01</b> (região de 3,1 a 4,8 ppm).....	42
Figura 20 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-01</b> .....	43
Figura 21 - Ampliação do espectro RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-01</b> (região de 15 a 35 ppm).....	44
Figura 22 - Ampliação do espectro RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-01</b> (região de 36 a 57ppm).....	45
Figura 23 - Ampliação do espectro RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-01</b> (região de 62 a 82 ppm).....	46
Figura 24 - Espectro de HMQC da substância <b>SAFM-01</b> .....	47

Figura 25 - Ampliação do espectro de HMQC da substância <b>SAFM-01</b> (região de 0,7 a 1,8 ppm).....	48
Figura 26 - Ampliação do espectro de HMQC da substância <b>SAFM-01</b> (região de 3,6 a 4,7 ppm).....	49
Figura 27 - Espectro de HMBC da substância <b>SAFM-01</b> .....	50
Figura 28 - Ampliação do espectro de HMBC da substância <b>SAFM-01</b> (região de 0,6 a 1,5 ppm).....	51
Figura 29 - Ampliação do espectro de HMBC da substância <b>SAFM-01</b> (região de 0,7 a 1,7 ppm).....	52
Figura 30 - Espectro de infravermelho da substância <b>SAFM-02</b> .....	57
Figura 31 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-02</b> .....	58
Figura 32 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-02</b> (região de 0,7 a 1,4 ppm).....	59
Figura 33 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-02</b> (região de 1,3 a 2,1 ppm).....	60
Figura 34 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-02</b> (região de 3,3 a 3,9 ppm).....	61
Figura 35 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-02</b> (região de 3,9 a 4,35 ppm).....	62
Figura 36 - Espectro de COSY ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H) da substância <b>SAFM-02</b> .....	63
Figura 37 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-02</b> .....	64
Figura 38 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-02</b> (região de 16 a 50 ppm).....	65
Figura 39 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-02</b> (região de 57 a 84 ppm).....	66
Figura 40 - Espectro de HMQC da substância <b>SAFM-02</b> .....	67
Figura 41 - Ampliação do espectro de HMQC da substância <b>SAFM-02</b> (região de 0,7 a 1,5 ppm).....	68
Figura 42 - Espectro de HMBC da substância <b>SAFM-02</b> .....	69
Figura 43 - Ampliação do espectro de HMBC da substância <b>SAFM-02</b> (região de 0,7 a 2,1 ppm).....	70
Figura 44 - Espectro de infravermelho substância da <b>SAFM-03</b> .....	74
Figura 45 - Espectro de massas da substância <b>SAFM-03</b> .....	75
Figura 46 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-03</b> .....	76

Figura 47 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-03</b> .....	77
Figura 48 - Espectro de massas da substância <b>SAFM-04</b> .....	82
Figura 49 - Espectro de infravermelho da substância <b>SAFM-04</b> .....	83
Figura 50 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-04</b> .....	84
Figura 51 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-04</b> (região de 3,2 a 3,81 ppm).....	85
Figura 52 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAFM-04</b> (região de 3,86 a 4,13 ppm).....	86
Figura 53 - Espectro de COSY ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H) da substância <b>SAFM-04</b> .....	87
Figura 54 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-04</b> .....	88
Figura 55 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-04</b> (região de 64 a 78 ppm).....	89
Figura 56 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAFM-04</b> (região de 91 a 107 ppm).....	90
Figura 57 - Espectro de HMQC da substância <b>SAFM-04</b> .....	91
Figura 58 - Ampliação do espectro de HMQC da substância <b>SAFM-04</b> (região de 3,2 a 4,1 ppm).....	92
Figura 59 - Espectro de HMBC da substância <b>SAFM-04</b> .....	93
Figura 60 - Ampliações do espectro de HMBC da substância <b>SAFM-04</b> .....	94
Figura 61 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-01</b> .....	98
Figura 62 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAMH-01</b> .....	99
Figura 63 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAMH-01</b> (região de 6,9 a 7,6 ppm).....	100
Figura 64 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAMH-01</b> .....	101
Figura 65 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAMH-01</b> (região de 101 a 130 ppm).....	102
Figura 66 - Espectro de HMBC da substância <b>SAMH-01</b> .....	103
Figura 67 - Ampliação do espectro de HMBC da substância <b>SAMH-01</b> (região de 6,6 a 7,6 ppm).....	104
Figura 68 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-02</b> .....	109
Figura 69 - Espectro de infravermelho da substância <b>SAMH-02</b> .....	110
Figura 70 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAMH-02</b> .....	111
Figura 71 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAMH-02</b> .....	112

Figura 72 - Espectro de HMQC da substância <b>SAMH-02</b> .....	113
Figura 73 - Espectro de HMBC da substância <b>SAMH-02</b> .....	114
Figura 74 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-03</b> .....	118
Figura 75 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAMH-03</b> .....	119
Figura 76 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAMH-03</b> .....	120
Figura 77 - Espectro de HMQC da substância <b>SAMH-03</b> .....	121
Figura 78 - Espectro de HMBC da substância <b>SAMH-03</b> .....	122
Figura 79 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância <b>SAMH-04</b> .....	125
Figura 80 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAMH-04</b> .....	126
Figura 81 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT da substância <b>SAMH-04</b> (região de 0 a 60 ppm).....	127
Figura 82 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-04</b> .....	128
Figura 83 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H das substâncias <b>SAMH-05a/b/c</b> .....	132
Figura 84 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT das substâncias <b>SAMH-05a/b/c</b> .....	133
Figura 85 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT das substâncias <b>SAMH-05a/b/c</b> (região de 12 a 58 ppm).....	134
Figura 86 - Espectro de CG das substâncias <b>SAMH-05a/b/c</b> .....	135
Figura 87 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-05a</b> .....	135
Figura 88 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-05b</b> .....	136
Figura 89 - Espectro de massas da substância <b>SAMH-05c</b> .....	136
Figura 90 - Análise qualitativa da atividade antioxidante.....	153
Figura 91 - Avaliação do potencial antioxidante (%AA x concentração).....	154

### Lista de Abreviaturas e Símbolos

AA%	Porcentagem de Atividade Antioxidante
Abs	Absorbância
APT	Attached Proton Test
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
Ax	Axial
CC	Cromatografia em Coluna
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CE <sub>50</sub>	Concentração Efetiva a 50%
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
cm <sup>-1</sup>	Centímetro recíproco (unidade de número de onda)
COSY	Correlation Spectroscopy
DL <sub>50</sub>	Dose Letal suficiente para 50% da população testada
δ	Deslocamento químico (ppm)
<i>d</i>	sinal duplo
<i>dd</i>	duplodupleto
<i>dl</i>	sinal duplo largo
EM	Espectro de Massas
eq	equatorial
eV	elétron volt
Glc	glicose
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (medida em Hertz)
λ	Comprimento de Onda
<i>m</i>	sinal múltiplo
MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub>	Metanol deuterado
nm	nanômetro

<i>m/z</i>	Relação massa/carga
<i>a.</i>	página
ppm	Parte por milhão
RDA	Rearranjo do tipo Diels-Alder
Rha	Raminose
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
<i>s</i>	sinal simples
SAFD	<i>Swartzia apetala</i> Folhas Diclorometano
SAFM	<i>Swartzia apetala</i> Folhas Metanol
SAMH	<i>Swartzia apetala</i> Madeira Hexano
<i>sl</i>	sinal largo
<i>t</i>	sinal triplo
UV	Ultravioleta
Xyl	Xilose

## RESUMO

ARAÚJO, Marcelo Francisco de; Universidade Estadual do Norte Fluminense; agosto de 2007; Estudo Fitoquímico e Avaliação Biológica de *Swartzia apetala*; Orientadora: Leda Mathias; Co-orientadores: Raimundo Braz-Filho, Ivo José Curcino Vieira; Colaborador: Olney Vieira da Motta

O estudo fitoquímico dos extratos de um espécime de *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra* (Fabaceae) coletada na reserva do Vale do Rio Doce em Linhares (ES) em julho de 2002, conduziu ao isolamento e a identificação de constituintes de diferentes classes de metabólitos especiais. Das folhas foram isoladas duas saponinas: 3-hidroxi-olean-12-en-28-acetato de-O- $\beta$ -D-glicopiranosila (**SAFM-01**), 3-O- $\beta$ -D-xilopiranosil-(1<sup>'''</sup>→4<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -D-ramnopiranosil-olean-12-em-28-acetato de - $\beta$ -D-glicopiranosila (**SAFM-02**); dois flavonóides: 3, 5, 7,4'-tetraidroxiflavonol (**SAFM-03**), 5,7,4'-triidróxi-3-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-(1<sup>'''</sup> → 6<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-(1<sup>'''</sup> → 2<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-flavonol (**SAFM-04**). Da madeira foi isolado um flavonóide: 5,7-diidróxiflavanona (**SAMH-02**); um estilbeno: 3-metoxi-5-hidroxiestilbeno (**SAMH-01**); um pterocarpano: 7-hidroxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano (**SAMH-03**); um triterpeno: lupeol (**SAMH-04**); e uma mistura de esteróides: sitosterol, estigmasterol e campesterol (**SAMH-05a/b/c**).

As substâncias **SAFM-01**, **02**, **03**, **04** e **SAMH-01** e **02** estão sendo citadas pela primeira vez no gênero *Swartzia* e pelo melhor do nosso conhecimento as substâncias **SAFM-02** e **04** são inéditas na literatura.

A determinação estrutural das substâncias foi realizada através de técnicas de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C a uma e duas dimensões, infravermelho (IV), cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), espectrometria de massa de baixa e alta resolução, bem como por comparação com dados da literatura.

Paralelo à avaliação fitoquímica foram realizados testes biológicos de citotoxicidade frente às larvas de *Artemia salina* e antioxidante utilizando o método com DPPH, com os extratos brutos; atividade antifúngica foi utilizando o método de difusão em agar frente a nove cepas padrão ATCC do

gênero *Candida*, dos extratos brutos e das substâncias isoladas. A atividade antifúngica foi observada em todos os extratos testados e as substâncias responsáveis pela atividade nos extratos foram as: SAFM-01, 02, 03 e 04 no extrato hexânico foram SAMH-01, 02 e 03.

## ABSTRACT

ARAÚJO, Marcelo Francisco de; Universidade Estadual do Norte Fluminense; agosto de 2007; Phytochemistry study and biological evaluation of *Swartzia apetala*; Orientadora: Leda Mathias; Co-orientadores: Raimundo Braz-Filho, Ivo José Curcino Vieira; Colaborador: Olney Vieira da Motta

The phytochemistry study of extracts of a specimen of *Swartzia apetala* var. *glabra* (Fabaceae) collected in the reserve of the Vale do Rio Doce in Linhares (ES) in July of 2002, lead to the isolation and the constituent identification of different class of special metabolites. Of leaves two saponins had been isolated: acid-3-O- $\beta$ -hydroxi-28- $\beta$ - O-D-glucopyranosyl ester SAFM-01, 3- $\beta$ -D-O-xylopyranosyl- (1''  $\rightarrow$ 4'') [ $\alpha$ -D-ramnopyranosyl] - 28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester SAFM-02; two flavonoids: 3, 5, 7,4' - tetrahydroxiflavonol SAFM-03, 5,7,4' - trihydroxi-3-  $\beta$ -O-D-glucopyranosyl- (1'''  $\rightarrow$  6'') - O- $\alpha$ -L-ramnopyranosyl- (1''''  $\rightarrow$ 2''') - O- $\alpha$ -L-ramnopyranosyl-flavonol SAFM-04. Of the wood was isolated one flavonoid: 5,7-dihydroxiflavanone SAMH-02; a stilbene: 3-methoxi-5-hydroxi stilbene SAMH-01; a pterocarpan: 7-hydroxi-3', 4' - methylenedioxipterocarpan SAMH-03; a triterpen: lupeol SAMH-04 and one mixture of steroids: sitosterol, stigmasterol and campesterol SAMH-05a/b/c.

The substances SAFM-01, 02, 03, 04 and SAMH-01 and 02 were identified for the first time in the *Swartzia* genera and for optimum of our knowledge substances SAFM-02 and 04 they are unknown in literature.

The structural determination of substances was carried through RMN of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  techniques to one and two dimensions, infrared (IV), gas chromatography connected to the mass (CG-EM), spectrometry of mass of low and high resolution, as well as comparison with data of literature. Followed of the phytochemistry evaluation biological tests had been carried through of toxicity against the larvae of *Artemia salina* and antioxidant using the method with DPPH, with crude extracts; antifungal activity using the method of diffusion in gel front nine yeast standard ATCC of the *Candida* genera, crude extracts and isolated substances.

## INTRODUÇÃO

Desde a antecedência de Cristo povos primitivos já utilizavam plantas para cura de certas enfermidades. Como exemplo pode-se citar Hipócrates considerado pai da medicina moderna e que viveu no século 5 a.C, que tomou a natureza como guia na escolha de remédios. Tais plantas possuíam substâncias (princípios ativos) capazes de provocar reações benéficas no organismo, causando desta forma a recuperação do enfermo. Estas propriedades intrigaram os estudiosos por vários anos que passaram a investigar as plantas com a finalidade de identificar esses princípios ativos.

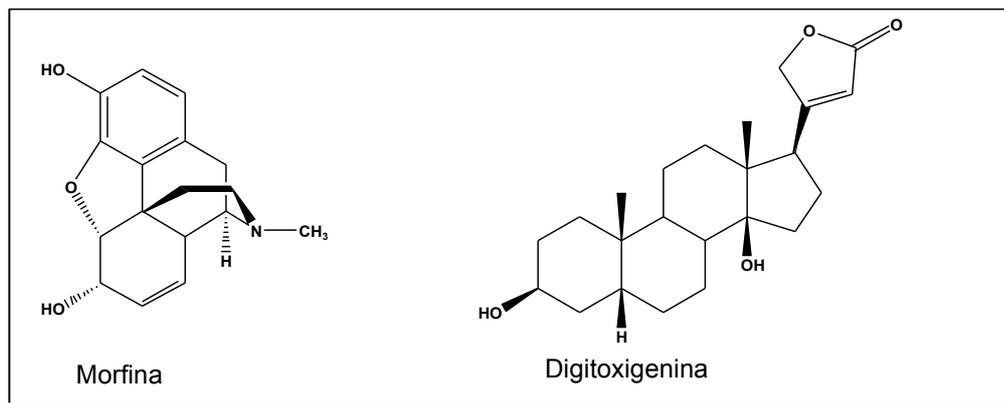
Este trabalho árduo envolve a colaboração de pesquisadores de várias áreas como: botânica, fitoquímica e farmacologia que juntos enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte de medicina natural: a flora mundial.

O Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial conhecido, com destaque para as plantas superiores mais precisamente as angiospermas, nas quais detém aproximadamente 20% da biodiversidade (Lewinsohn & Prado, 2004). Entre os elementos que compõe a biodiversidade, as plantas superiores são as principais matérias-primas para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos.

Em uma planta pode conter uma ou várias substâncias ativas que atuam em conjunto formado um complexo fitoterápico.

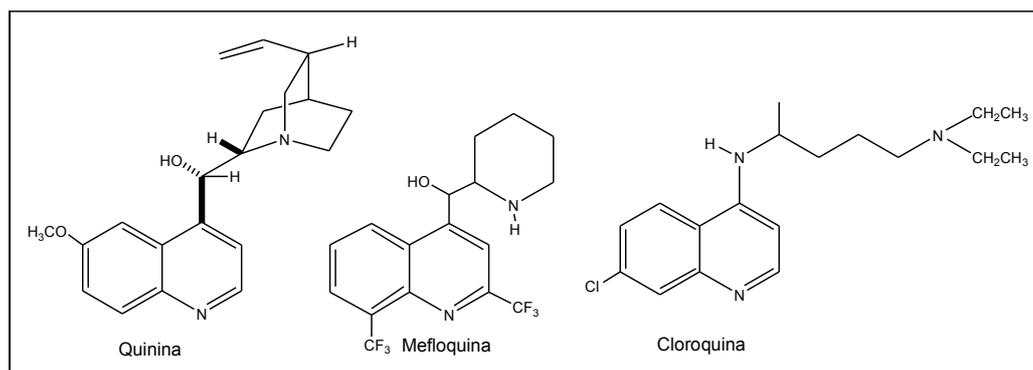
As plantas, além de seu uso na medicina popular com fins terapêuticos, também são importantes para obtenção de fitofármacos, até hoje amplamente utilizados na clínica. Como exemplo citamos o cardenolídeo digitoxigenina (cardiotônico) isolado de espécies de *Digitalis* e o alcalóide morfina (analgésico), isolado de *Papaver Somniferum*, entre outros (Figura 1) (Hostettmann *et al.*, 2003).

Uma vez obtida a substância biologicamente ativa, pode-se lançar mão de estudos relacionando estrutura química e atividade biológica para o planejamento racional de moléculas novas.



**Figura 1** - Substâncias utilizadas como fitofármacos

Dessa forma, essas substâncias ativas funcionam como modelo para síntese ou semi-síntese de substâncias análogas mais potentes e seletivas que podem ser obtidas mais facilmente e, em alguns casos, a custos menores. Um exemplo da aplicação deste trabalho é a síntese, após II Guerra Mundial, dos antimaláricos cloroquina e mefloquina a partir do alcalóide quinina isolado de espécies de *Cinchona* (Figura 2) (Viegas Jr, *et al.*2006).



**Figura 2** – Quinina e análogos sintéticos

Outro aspecto importante dentro da química de produtos naturais é a espetacular diversidade molecular de padrões estruturais que se encontram nas distintas classes de substâncias, como alcalóides, cumarinas, flavonóides, terpenoídes, saponinas, entre outras que representam fontes inesgotáveis de modelos originais que possibilitam sua utilização como matérias-primas na síntese de substâncias bioativas.

No intuito de se identificar a diversidade molecular que possa ser utilizada como fitofármacos ou modelos para síntese ou semi-síntese, foi realizado o estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de um espécime de *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra*.

Referências Bibliográficas.

Hostettmann, K., Queiroz, F.E. Vieira, C.P. (2003). *Princípio Ativo de Plantas Superiores*. São Carlos: Ed.UFSCar, vol. IV. 9 - 44p.

Lewinsohn, T.M., Prado, P.I. (2004). *Biodiversidade Brasileira: Síntese do Estado Atual do Conhecimento*. 2. Ed. - São Paulo: Contexto. 1-10p.

Viegas Jr, C., Bolzani, V.S., Barreiro, E.J. (2006). Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. *Química Nova*. 29(2)



### 1.1. A Família Fabaceae

A família Fabaceae possui uma ampla distribuição geográfica, que é representada por aproximadamente 650 gêneros e mais de 18000 espécies espalhadas em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais (Barroso *et al.*, 1991; Joly, 2002).

A espécie *Swartzia apetala*, pertence à família Fabaceae (ordem Fabales, tribo Swartzieae). Esta família é uma das maiores dentre as dicotiledôneas (Heywood, 1971; Hutchinson, 1971), sendo considerada uma das mais importantes do ponto de vista econômico, visto constituir-se numa inestimável fonte de alimentos, como por exemplo, feijão, ervilha, lentilha, soja, amendoim, entre outros (Buckinghamn, 1994; Heywood, 1971; Rawitscher, 1979).

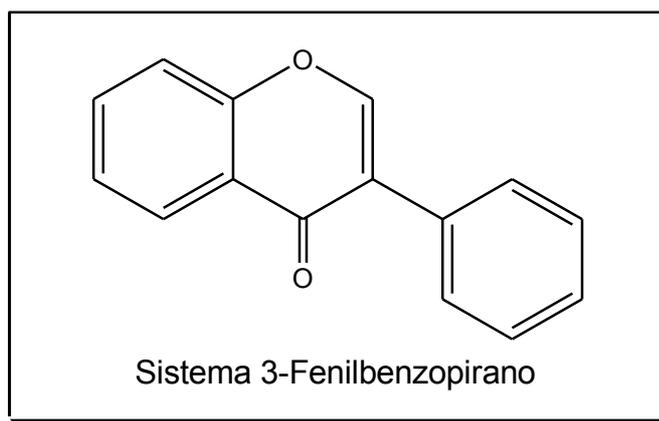
Espécies desta família apresentam a propriedade de aumentar a fertilidade do solo, por meio do mecanismo de fixação de nitrogênio por quimiossíntese de moléculas orgânicas, através de um processo de simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (Joly, 2002).

Outras espécies são usadas como plantas forrageiras, ornamentais, como fonte de taninos, resinas e madeira fina para fabricação de móveis em geral (Heywood, 1971; Robins *et al.*, 1964).

### 1.2. Divisão Taxonômica

A família Fabaceae está subdividida em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinoideae e Papilionoideae. A subfamília Papilionoideae está representada por aproximadamente, 482 gêneros e 12000 espécies de ampla distribuição mundial (Barroso *et al.*, 1991). A maioria de seus representantes arbóreos são encontrados nos trópicos e hemisfério sul e os arbustivos e herbáceos em regiões temperadas do globo (Hutchinson, 1971; Joly, 2002; Heywood, 1971; Cronquist, 1981).

Do ponto de vista fitoquímico, a subfamília Papilionoideae caracteriza-se por conter cerca de 90% dos isoflavonóides de origem vegetal identificados (Ingham, 1983). Apesar da distribuição restrita dos isoflavonóides dentro do reino vegetal, a variação estrutural encontrada nessas substâncias é grande, e isto se deve tanto ao número e complexidade dos substituintes existentes no sistema 3-fenilbenzopirano, como também aos diferentes níveis de oxidação no esqueleto básico e a presença de anéis heterocíclicos extra (Dewick, 1988) (Figura 3).



**Figura 3-** Estrutura básica de isoflavonóides

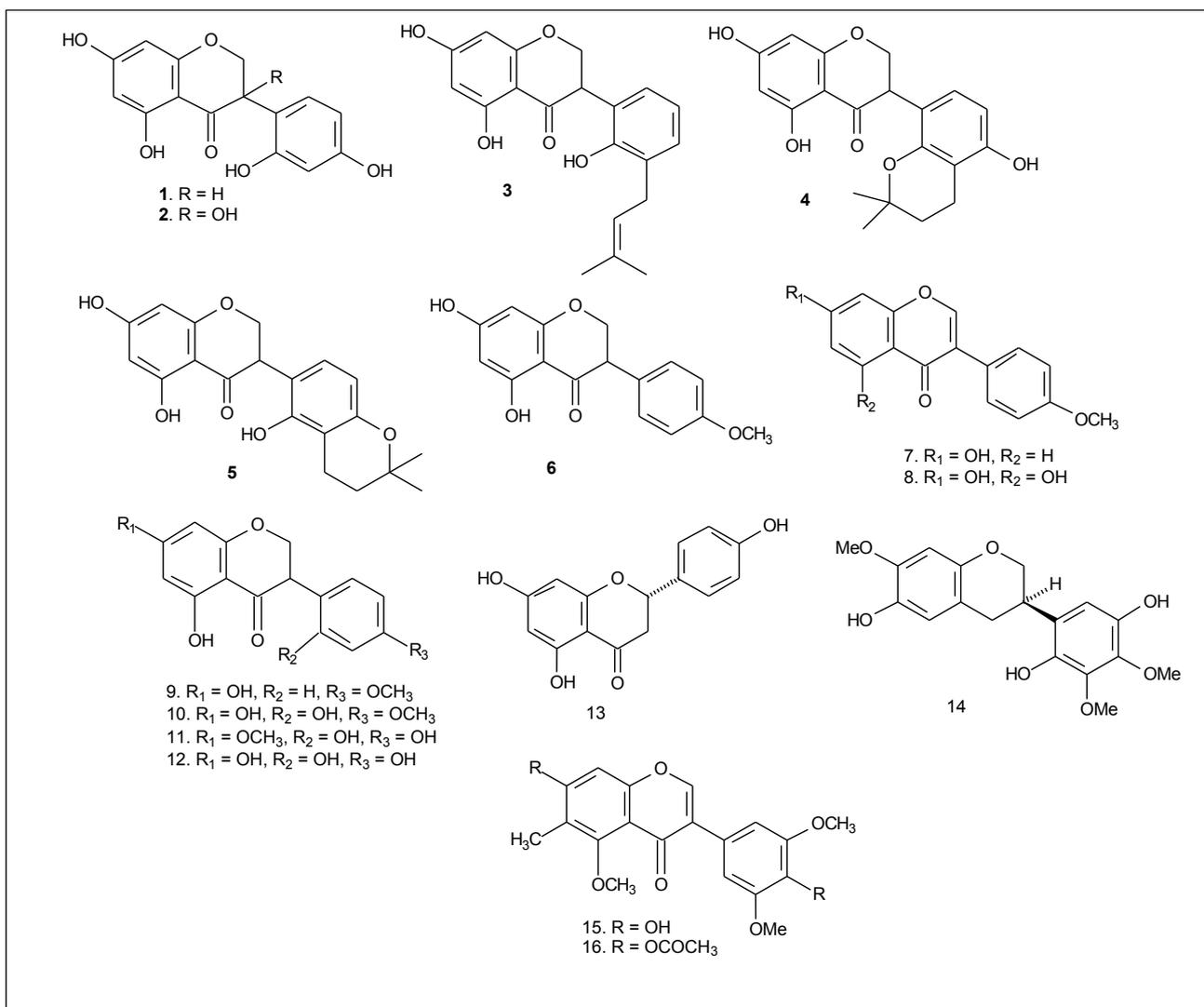
### 1.3. O gênero *Swartzia*

O gênero *Swartzia* compreende aproximadamente 125-150 espécies das quais apenas nove foram estudadas quimicamente (Tabela 1, p. 7). Sua distribuição abrange principalmente a América do Sul e África (Schultes, 1979).

Espécies do gênero estão caracterizadas quimicamente pela produção de flavonóides com atividade larvicida, antibacteriana e antifúngica (Bézanger-Beauquesne & Pinkas, 1967; Osawa *et al.*, 1992; Dubois & Sneden, 1995 e 1996; Sanchez *et al.*, 1999; Rojas *et al.*, 2006) (Figura 4, p. 8), saponinas com atividade moluscocida, larvicida e ictiotóxica (Suter *et al.*, 1986; Minjas *et al.*, 1986; Borel & Hostettmann, 1987; Borel *et al.*, 1987; Lwambo & Moyo, 1991; Sanchez *et al.*, 1999; Abdel-Kader *et al.*, 2000; Magalhães *et al.*, 2003; Neuwinger, 2004) (Figura 5, p. 9) e outros metabólitos especiais bioativos como, por exemplo: os pterocarpanos (Harper *et al.*, 1965 e 1969; Donnelly & Fitzgerald, 1971; Formiga *et al.*, 1975; Braz-Filho *et al.*, 1980) (Figura 6, p. 10).

**Tabela 1** - Substâncias isoladas de espécies de *Swatzia*

Espécies	Material	Metabólito	Subst.	Referências
<i>S. brachyrachis</i>	madeira	flavonóide	15-16	Sanchez <i>et al.</i> , 1999
	madeira	saponina	1 <sup>'''</sup> -2 <sup>'''</sup>	Sanchez <i>et al.</i> , 1999
<i>S. laevicarpa</i>	madeira	flavonóide	14	Braz-Filho <i>et al.</i> , 1980
	madeira	pterocarpano	11-21	Braz-Filho <i>et al.</i> , 1980
<i>S. langsdorffii</i>	raiz	saponina	1-2	Magalhães <i>et al.</i> , 2003
<i>S. leiocalycina</i>	madeira	pterocarpano	24-29	Donnelly & Fitzgerald, 1971
<i>S. madagascariensis</i>	fruto	saponina	1 <sup>'''</sup> -8 <sup>'''</sup>	Borel & Hostettmann, 1987
	madeira	pterocarpano	1-8	Harper <i>et al.</i> , 1965
	madeira	pterocarpano	9-10	Harper <i>et al.</i> , 1969
<i>S. polyphylla</i>	madeira	flavonóide	7-13	Osawa <i>et al.</i> , 1992
	madeira	flavonóide	3-5	Dubois & Sneden, 1995
	madeira	flavonóide	1-2	Dubois & Sneden, 1996
	madeira	flavonóide	6 e 8	Rojas <i>et al.</i> , 2006
<i>S. schomburgkii</i>	folha	saponina	1 <sup>''</sup> -8 <sup>''</sup>	Abdel-Kader <i>et al.</i> , 2000
<i>S. simplex</i>	folha	saponina	1 <sup>'</sup> -7 <sup>'</sup> a	Borel <i>et al.</i> , 1986
<i>S. ulei</i>	madeira	pterocarpano	22-23	Formiga <i>et al.</i> , 1975



**Figura 4** - Flavonóides isolados do gênero *Swartzia*

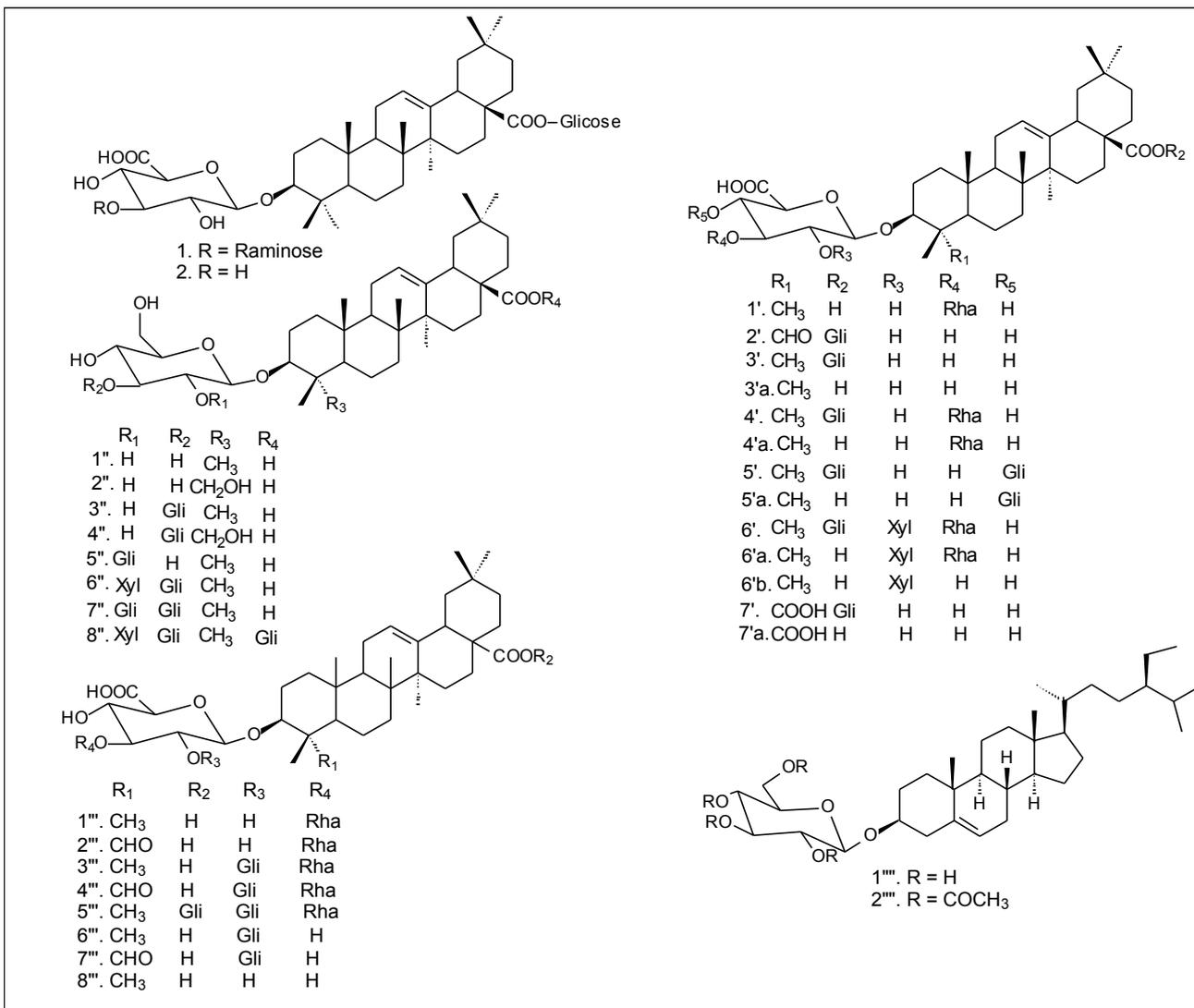
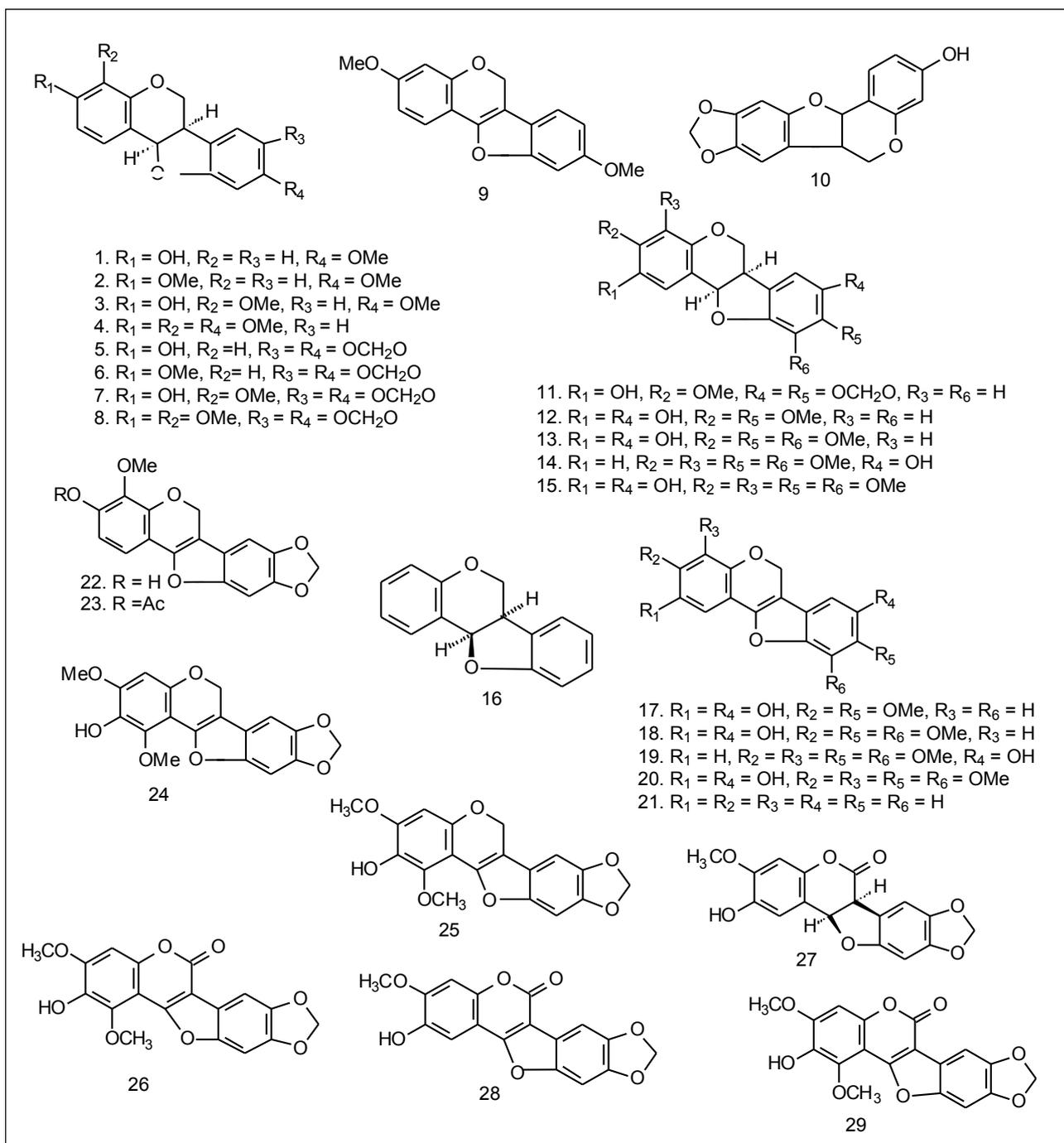


Figura 5 – Saponinas isoladas do gênero *Swartzia*



**Figura 6** – Pterocarpanos isolados do gênero *Swartzia*

#### 1.4. A espécie *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra*

A espécie *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra* é conhecida popularmente como “arruda rajada”, devido à coloração da sua madeira cujo valor comercial reside na sua resistência e durabilidade. A madeira do caule de *S. apetala* apresenta-se dura, pesada, compacta, lisa,

muito resistente a deteriorização, fácil de plainar e adquirindo brilho intenso mediante polimento. Devido a sua durabilidade pode ser usada na fabricação de tacos luxuosos, estacas, vigas, construção civil e obras hidráulicas, visto constar que é impenetrável ao gusano marinho (Rizzini & Mors, 1995).

Sua região original de ocorrência está no leste de Minas Gerais, em Sergipe e na floresta da costa do Espírito Santo. A floração ocorre entre os meses de fevereiro e agosto e a maturação dos frutos ocorre no mês de outubro (Mansano & Tozzi, 1999).

**Tabela 2** – Classificação botânica da espécie *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra*

CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA	
CLASSE	ANGIOSPERMAE
SUBCLASSE	DICOTILEDONEAE
SUPERORDEM	ROSANAE
ORDEM	FABALES
FAMÍLIA	FABACEAE
SUBFAMÍLIA	PAPILONOIDEAE
TRIBO	SWARTZIEAE
GÊNERO	<i>Swartzia</i>
ESPÉCIE	<i>Swartzia apetala</i> Raddi var. <i>glabra</i>

## 1.5. Considerações sobre os metabólitos secundários encontrados no gênero *Swartzia*

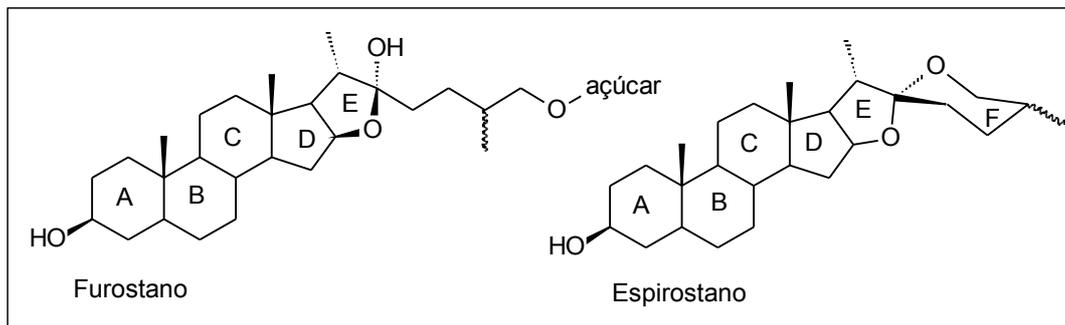
### 1.5.1. Saponinas

São glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. Por possuírem em sua estrutura uma parte lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra hidrofílica (açúcar), estes metabólitos possuem um poder de redução da tensão superficial da água garantindo assim ações detergentes e emulsificantes, que em solução aquosa formam espuma persistente. A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos (Schenkel, 1999).

Saponinas são metabólitos de elevada massa molecular (600 a 2000u), devido à presença de agliconas com um número variado de gliconas. As mesmas também tem sido de grande interesse farmacêutico, sejam como adjuvantes em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou até mesmo, como matéria-prima para a síntese de esteróides (Simões *et al.*, 2001).

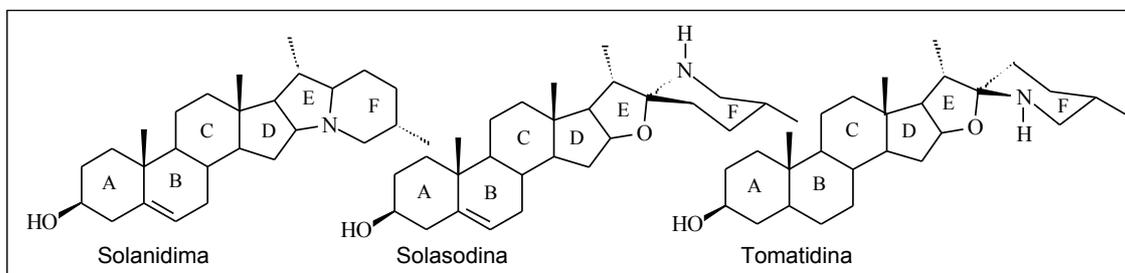
Esses metabólitos podem ser classificados em dois grupos baseados na natureza do esqueleto da aglicona. O primeiro grupo consiste de saponinas esteroidais, os quais são quase exclusivos de monocotiledôneas em angiospermas. O segundo grupo consiste de saponinas triterpenoidais, onde sua ocorrência é mais comum principalmente em dicotiledôneas de angiospermas. Além destes dois grupos, outros autores classificam um terceiro grupo chamado de amins esteroidais, e que são também classificadas como alcalóides esteroidais (Sparg *et al.*, 2004).

As saponinas esteroidais são formadas por um esqueleto de 27 átomos de carbonos dispostos num sistema tetracíclico e apresentam duas estruturas básicas comuns: o espirostanos e o furostanos (Simões *et al.*, 2001) (Figura 7, p. 12).



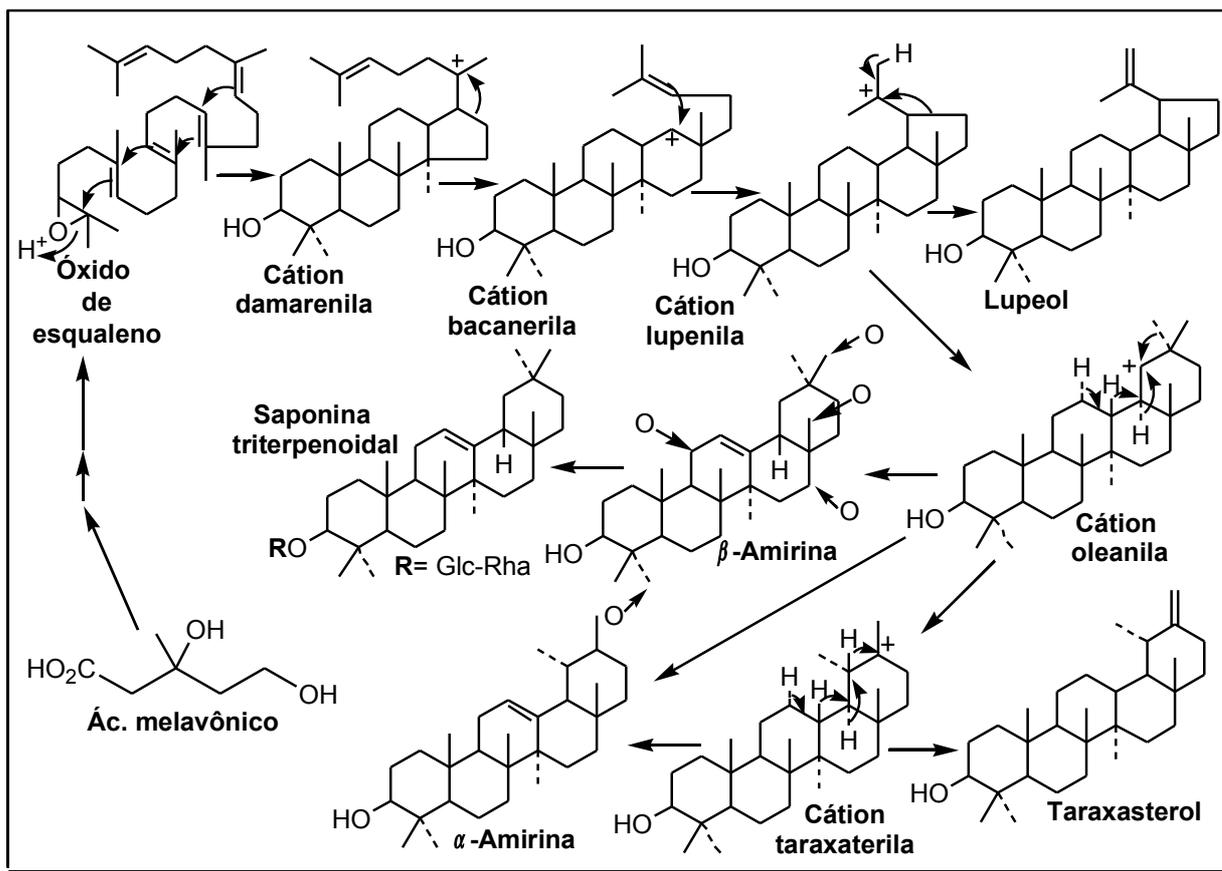
**Figura 7** - Agliconas esteroidais

As saponinas de caráter básico possuem nitrogênio no anel F e são conhecidas por dois tipos de estruturas: o espirosolano (onde o nitrogênio é secundário) e o solanidano (onde o nitrogênio é terciário) (Simões *et al.*, 2001) (Figura 8).



**Figura 8** - Agliconas de caráter básico.

No entanto as mais encontradas na natureza são as triterpênicas. Os triterpenos pentacíclicos podem ser divididos em três classes: oleananos ( $\beta$ -amirina), ursanos ( $\alpha$ -amirina) e o lupanos (lupeol) (Simões *et al.*, 2001). Sua via biossintética deriva do mevalonato (Figura 9).



**Figura 9 - Biossíntese das saponinas triterpênicas**

Com o avanço tecnológico das técnicas cromatográficas e espectroscópicas esta classe de metabólito passou a ser estudada com grande frequência por vários grupos de pesquisa tanto em fitoquímica no isolamento e elucidação estrutural como em microbiologia avaliando diversas propriedades biológicas. O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolípidos de membranas determinam um número variado de propriedades biológicas para essas substâncias, as quais se destacam: atividade hemolítica, ictiotóxica, moluscocida, antiinflamatória, antiviral, microbiana e antiparasitária (Sparg *et al.*, 2004).

### 1.5.2. Flavonóides

São substâncias que contêm um ou mais substituintes aromáticos que são normalmente definidos como fenólicos ou polifenólicos e são conhecidos por constituírem um grupo de metabólitos especiais mais diversos e difundido no reino vegetal.

O interesse sobre estas substâncias resulta particularmente das visíveis e lindas cores desses pigmentos localizados principalmente em plantas vasculares, estando distribuídos nas partes aéreas dos vegetais, como flores, folhas e frutos. Os mesmos atuam na defesa química das plantas contra fungos e bactérias. Esta classe é amplamente distribuída no reino vegetal. Alguns representantes foram identificados em briófitas, também encontrados em pteridófitas,

---

mas a variedade estrutural é pequena. Todavia, estão presentes em abundância em angiospermas, apresentando nesse grupo enorme diversidade estrutural (Simões, et al, 2001).

Em geral, as agliconas flavonoídicas aparecem sob forma de cristais amarelos quase sempre solúveis em água. São responsáveis pelo aroma dos alimentos e possuem propriedades como: antiinflamatórios, antivaricosos, diuréticos, antioxidante e antimicrobiano (Castro *et al.*, 2001).

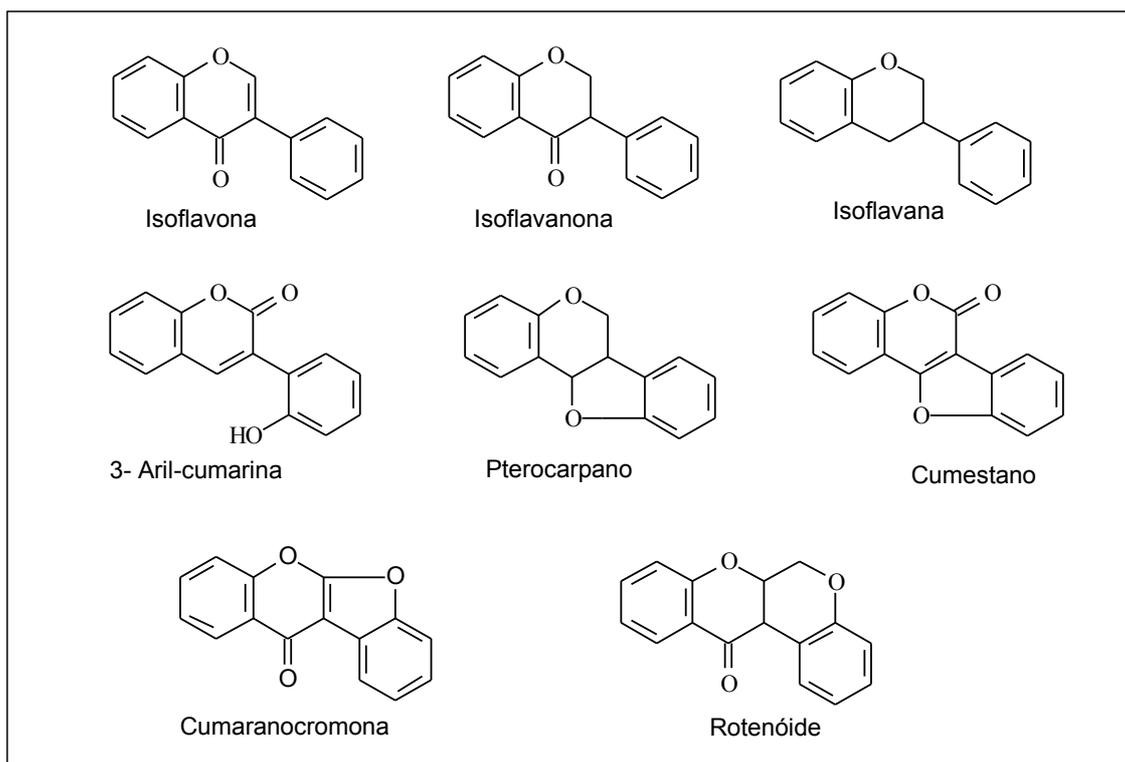
Ocorrem com uma variedade de formas estruturais, todas contendo 15 átomos de carbono em seu esqueleto básico e são arranjados em uma configuração ( $C_6C_3C_6$ ) (Agrawal & Markham, 1989). Sua via biossintética deriva do acetato e chiquimato (Figura 10, p. 15).

A vasta distribuição nas plantas, sua relativa estabilidade química e a facilidade com que são identificados, tem considerado os flavonóides como marcadores taxonômicos na classificação das plantas (Agrawal & Markham, 1989).



botânica, tal classe apresenta uma diversidade estrutural importante: isoflavonas, isoflavanonas, isoflavanas, aril-3-cumarinas, pterocarpanos, cumestanos, cumaronocromonas e rotenóides, os quais possuem um carbono complementar no sistema heterocíclico (Agrawal & Markham, 1989) (Figura 11).

Em vegetais, uma grande parte dos isoflavonóides comporta-se como fitoalexinas (substâncias produzidas pela planta em resposta a uma infecção por um agente patogênico) (Simões, et al, 2001).



**Figura 11** - Classe de isoflavonóides

#### 1.6. Referências Bibliográficas.

Abdel-kader, M.S., Bahler, B.D., Malone, S., Werkhoven, M.C.M., Wisse, J.H., Neddermann, K.M., Bursuker, I., Kingston, D.G.I. (2000). Bioactive saponins from *swartzia schomburgkii* from the Surinami rainforest. *Journal Natural Products*. 63(11): 1461p.

Agrawal, P.K., Markham, K.R. (1989). Carbon-13NMR of Flavonoids. *Studies in Organic Chemistry* n° 39, Ed. Elsevier. 1-39p.

---

Barroso, G.M., Peixoto, A.L., Ichaso, C.L.F., Costa, C.G., Guimarães, E.T. (1991). *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Visoça, UFV. V. 2. 15-97p.

Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M. (1967). On the flavonoside of the fruit of the *Swartzia madagascariensis*. Desv., African leguminous plant. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles*. 264(2): 401p.

Borel, C., Gupta, M. P. & Hostettmann, K. (1986). Molluscicidal saponins from *Swartzia simplex*. *Phytochemistry*. 26 (10): 2685p.

Borel, C., Hostettmann, K. (1987). Molluscicidal saponins from *Swartzia madagascariensis* Desvaux. *Helvetica Chimica ACTA*. 70: 570-576p.

Braz-Filho, R., Moraes, M.P.L. & Gottlieb, O. R. (1980). Pterocarpanes from *Swartzia laevicarpa*. *Phytochemistry*. 19: 2003-2005p.

Buckingham, J. (1994). *Ed. Dictionary of natural products*. Charpan & Hall: London. 1774: 283, 3856p.

Cavalcanti, M.S.M., Coelho, L.C.B.B. (1990). Isolation and Partial purification of a Lectin from *Swartzia pickellii* Killip (White Jacaranda). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 85(3): 371-372p.

Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: The New York Botanical Garden, Columbia University Press.

Dewick, P.M. (1988). *The flavonoids advances in research. Isoflavonoids*. London: New York, Harbome Chapman and Hall, 621p.

Donnelly, D.M.X. & Fitzgerald, M.A (1971). Pterocarpanoids constituents of *Swartzia leiocalycina*. *Phytochemistry*. 10(12): 3147.

Dubois, J.L., Sneden, A.T. (1995). Dihydrolicoisoflavone, a new isoflavanone

---

from *Swartzia polyphylla*. *Journal of Natural Products*. 58(4): 629p.

Dubois, J.L., Sneden, A.T. (1996). Ferreirinol, a New 3-Hydroxyisoflavanone from *Swartzia polyphylla*. *Journal of Natural Products*. 59: 902-903p.

Formiga, M.D., Gottlieb, O.R., M.P.H., Midori, K., M., Almeida, E.L., Pereira, M. O. S. & Magalhães, M.T. (1974). Constituents of Brazilian Leguminosae. *Phytochemistry*. 14(3): 828p.

Harper, H.S., Kemp, D.A., Underwood, E.G.W. (1965). Heartwood constituents of *Swartzia madagascariensis*, *Chemistry & Industry* 562p.

Harper, H.S., Kemp, D.A., Underwood, E.G.W. (1969). Pterocarpanoid Constituents of the Heartwoods of *Pericopsis angolensis* and of *Swartzia madagascariensis*, *Journal of Chemistry Society*. Section C. 1109-1116p.

Heywood, V.H. (1971). *The Biology and chemistry of the Umbelliferae*, Academic. New York, 438p.

Hutchinson, J. (1971). *The genera of flowering plants*. England: Oxford. University Press.

Ingham, J. (1983). *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe*, 43:1.

Joly, A.B. (2002). *Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal*. Biblioteca universitária. 371-382p.

Lwambo, N.J. & Moyo, H. G. (1991). The molluscicidal activity of seed pods of *Swartzia madagascariensis* on *Marisa cornuarietis*. *East African Medicinal Journal*. 68(10): 827p.

Magalhães, A.F., Tozzi, A.M.G.A., Sntos, C.C., Serrano, D.G., Zanotti-Magalhães, E.M., Magalhães, E.G., Magalhães, L.A. (2003). Saponins from *Swartzia langsdorffii*: Biological Activities. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 98(5):713-718p.

Mansano, F.V., Tozzi, A.G.M.A. (1999). The taxonomy of some Swartzieae (Leguminosae, subfam. Papilionoideae) from southeastern Brazil. *Brittonia*, 51(2): 149-158p.

Minjas, J.N., Sarda, R.K. (1986). Laboratory Observations on the Toxicity of *Swartzia madagascariensis* (Leguminosae) extract to mosquito larvae. *Tradicional of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene*. 80: 460-461p.

Neuwinger, H. D. (2004). Plants used for poison fishing in tropical África. *Toxicon*, 44: 417-430p.

Osawa, K., Yasuda, H., Maruyama, T., Morita, H., Takeya, K. & Itokawa, H. (1992). Isoflavones from the heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 40(11): 2970p.

Rawitscher, F. (1979). *Elementos Básicos de Botânica*. 318-319p.

Rizzini, C.T. & Mors, W.B. (1995). *Botânica Econômica Brasileira*. 2ª ed. Rio de Janeiro, Brasil: Âmbito Cultural.

Robbins, W. W., Weier, T. E., Stocking, C. R., Wiley, J. Sons (1964). In: *An introduction to plant Science*. 3ª Edição. New York: London, Sydney. 562-565p.

Rojas, R., Bustamante, B., Ventosilla, P., Fernández, I., Caviedes, L., Gilman, R.H., Lock, O., Hammond, G.B. (2006). Larvicidal, Antimicrobial and Antifungal Compounds from the Bark of the Peruvian Plant *Swartzia polyphylla* DC. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 54(2):278-279p.

Sanchez, C.S., Rocha, A.F.I., Pinheiro, M.L.B., Andrade, C.H.S., Monte, F.J.Q. (1999). Brachyrachisina: Isoflavona Inédita de *Swartzia* (Leguminosae). *ACTA Amazônica*. 29(3): 419-422p.

Schenkel, E. P. (1999). Saponinas. In Simões, C. M. O., *Farmacognosia: da*

---

*Planta ao Medicamento*, UFRGS/UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 604 p.

Schultes, E. R. (1979). De plantis toxicariis e mundo novo tropicale commentationes. XX Medicinal and toxic uses of *Swartzia* in the northwest Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*. 1(1): 79-87p.

Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (2001) *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*, 3ª edição, UFRGS/UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 597-622p.

Sparg, S.G., Light, M.E., Standen, J.V. (2004). Biological Activities and Distribution of Plant Saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 94: 219-243p.

Suter, R., Tanner, M., Borel, C., Hostettman, K., Freyvogel, T.A. (1986). Laboratory and field trials at ifakara (Kilombero District, Tanzania) on plant *Swartzia madagascariensis*. *Acta Tropica*. 43(1): 69.

Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology*. 126: 485-493p.



## 2.0. Constituintes químicos isolados das folhas e madeira de *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra*

O estudo fitoquímico das folhas e madeira de *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra* permitiu o isolamento e a caracterização de duas saponinas (Figura 12), três flavonóides (Figura 13, p. 22), um estilbeno, um pterocarpano, um triterpeno e três esteróides (Figura 14, p. 23).

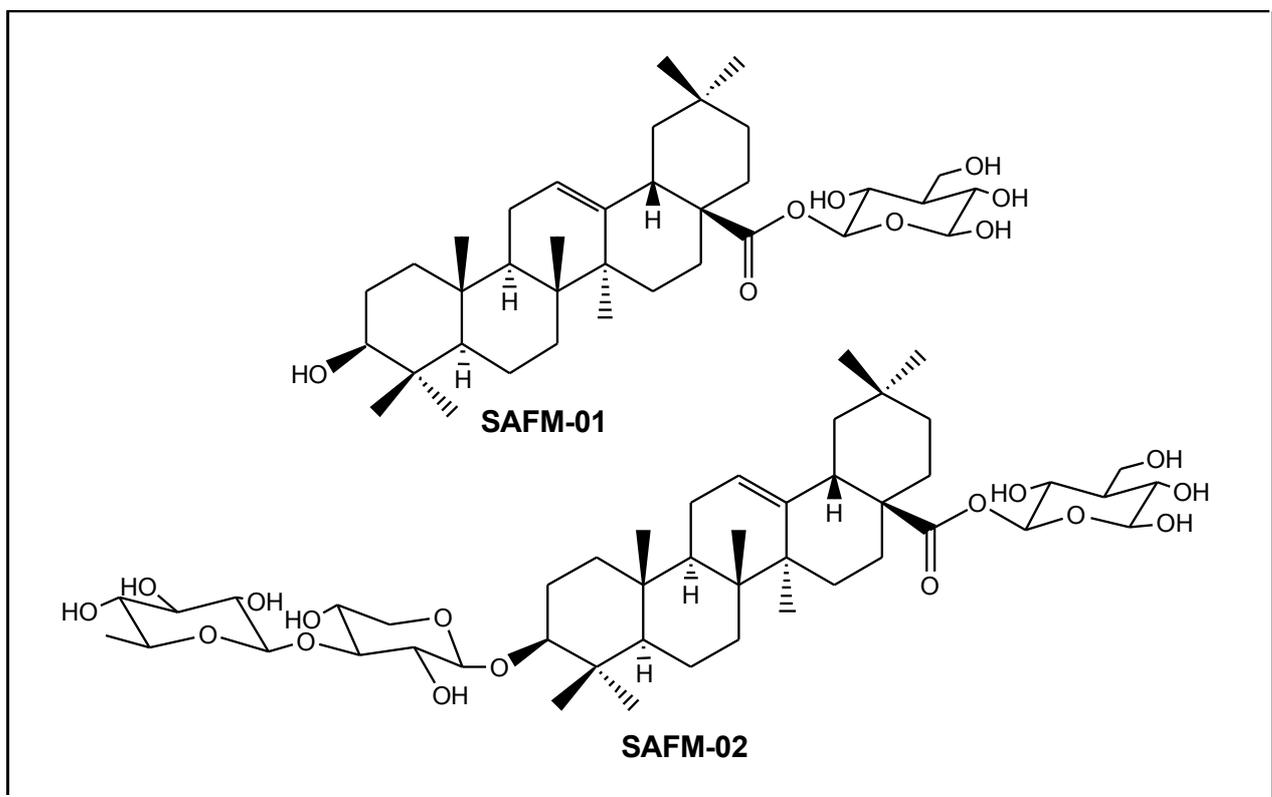


Figura 12 - Saponinas isoladas de *Swartzia apetala*

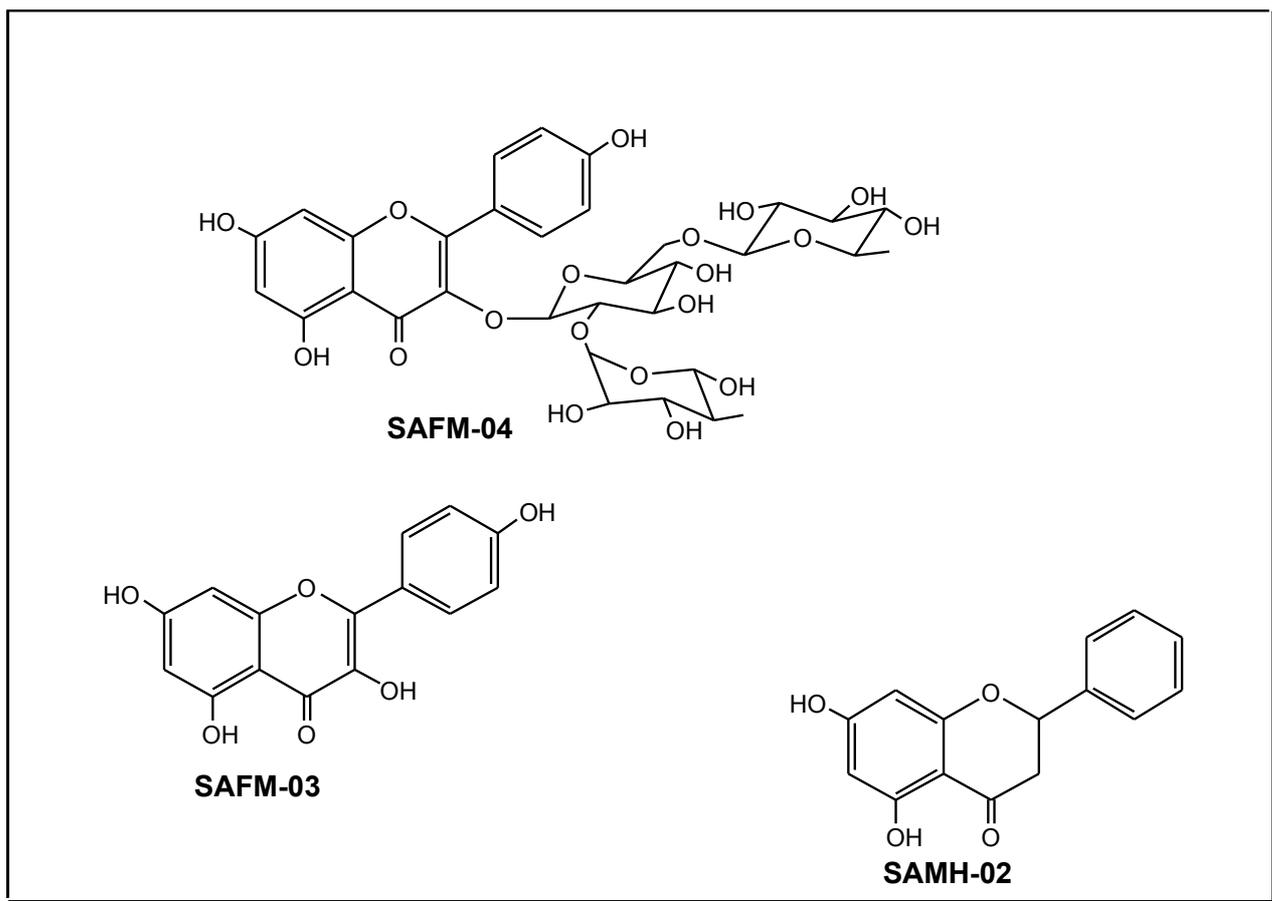
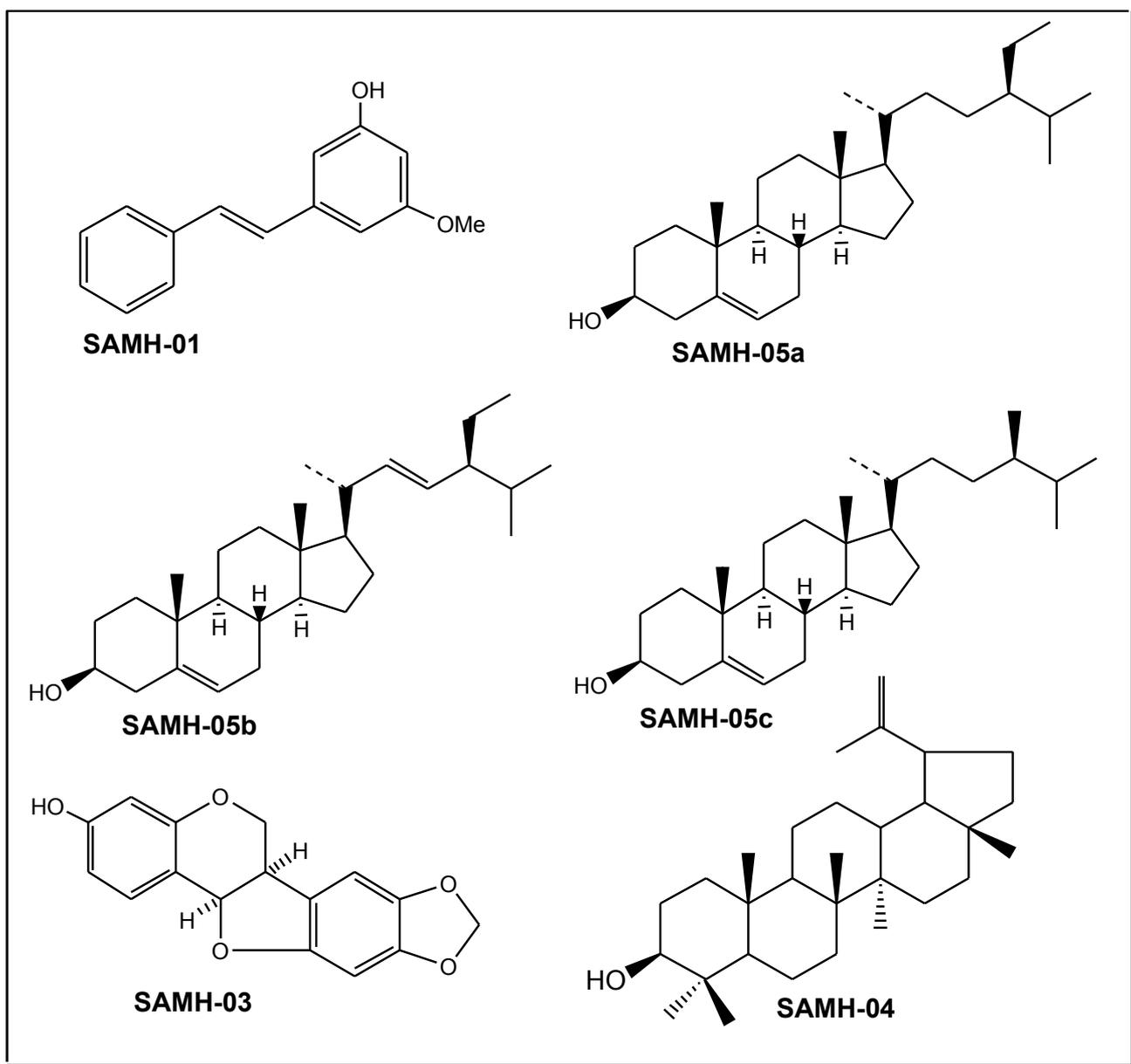


Figura 13- Flavonóides isolados de *Swartzia apetala*



**Figura 14** - Estilbeno, triterpeno, esteróides e pterocarpano isolados de *S. apetala*

## 2.1. Materiais e Reagentes utilizados.

No processo de extração, fracionamento e purificação foram utilizados os seguintes materiais:

- Na etapa de extração bem como no fracionamento e purificação foi utilizado solventes Synth e Vetec;
- A concentração dos extratos foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo, Büchi B-480 e Fisatom 802;
- As soluções aquosas foram liofilizadas em liofilizador Thermo Savant;
- Nas etapas de fracionamento e purificação, foram utilizadas, sílica gel 60G (0,063-0,200 mm) Merck, sílica gel 60 (0,040-0,063 mm) Merck, sílica gel silanizada 60 (0,063-0,200 mm) Merck, Lichrospher RP-18 (12 µm) Merck, Sephadex LH-20 Pharmacia e Amberlite XAD-2 Merck;
- Utilizou como agente dessecante: Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro Vetec;
- Nas análises comparativas através de cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se cromatofolhas de sílica gel 60 F<sub>254</sub> e RP-18 F<sub>254</sub> Merck;
- As cromatoplasmas foram reveladas através de irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimento de onda  $\lambda = 254$  e  $366$  nm e/ou com revelador cromatogênico [vanilina, cloreto férrico, NP/PEG (Difenilboriloxietilamina + PoliEtilenoGlicol)] reagentes Merck;

## 2.2. Procedimento experimental

### 2.2.1. Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado através de pesquisas bibliográficas de periódicos em bibliotecas e em sítios disponíveis na INTERNET.

### **2.2.2. Material botânico: coleta e identificação**

As folhas e a madeira de um espécime de *S. apetala* Raddi var. *glabra* foram coletadas na Reserva Floresta da Cia. Vale do Rio Doce, Linhares – ES em junho de 2002, onde se encontra uma exsicata de nº. 395 no herbário CVRD.

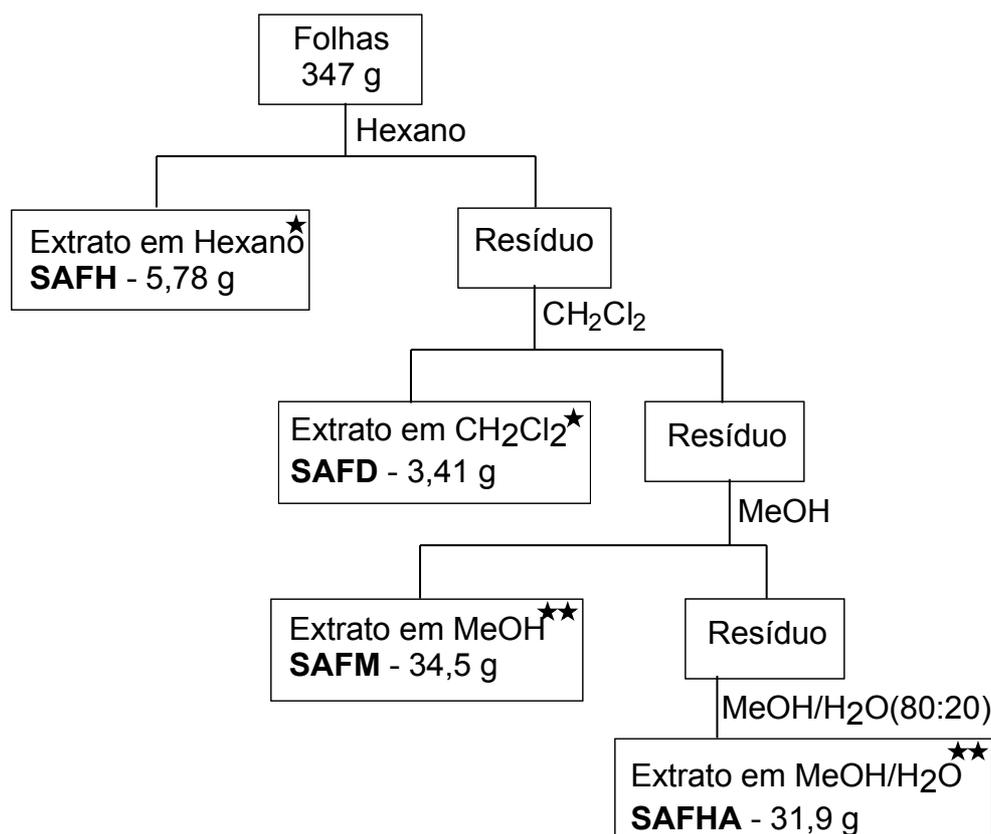
### **2.2.3. Secagem e moagem do material vegetal**

O material vegetal após seco à temperatura ambiente foi moído em moinho do tipo Willey.

### **2.2.4. Preparação dos extratos brutos**

#### **2.2.4.1. Folhas**

As folhas de *S. apetala* Raddi var. *glabra* após secas e moídas foram pesadas obtendo-se uma massa de 347 g. Em seguida foram submetidas à extração por maceração exaustiva em ordem crescente de polaridade utilizando os seguintes solventes e obtendo as respectivas massas de extratos: (hexano 5,78 g, 1,67 % da massa do material seco, diclorometano 3,41 g, 0,100 % da massa do material seco, metanol 34,5 g, 9,94 % da massa do material seco e metanol/água (80:20) 31,9 g, 9,19 % da massa do material seco (Esquema 1, p. 26).



\* Extratos inativos aos testes descritos nos itens (2.2.5 – 1 e 2) p.28-29.

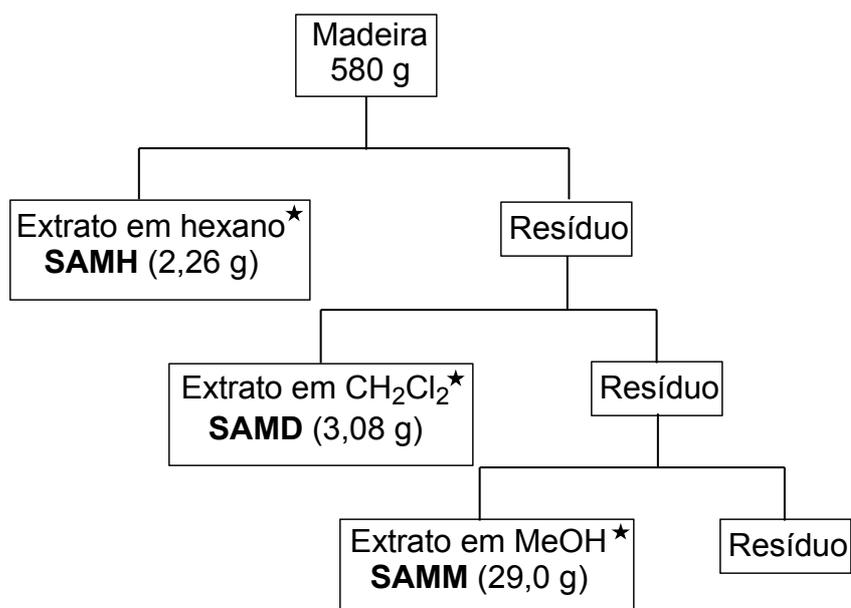
\*\* Extratos ativos aos testes descritos nos itens (2.2.5 – 1 e 2) p. 28-29.

### Esquema 1 - Preparação dos extratos brutos das folhas de *S. apetala*

#### 2.2.4.2. Madeira

A madeira (580 g) após seca e moída foi submetida à maceração exaustiva com os seguintes solventes: hexano 2,26 g de extrato (0,39 % da massa do material seco, diclorometano 3,08 g (0,53 % da massa do material vegetal) e metanol 29,0 g (3,72 % da massa do material vegetal) (Esquema 2, p. 27).

Assim, os extratos brutos obtidos foram submetidos aos ensaios biológicos orientando desta forma o fracionamento cromatográfico na busca de possíveis princípios ativos.



\* Extratos ativos aos testes descritos nos itens (2.2.5 – 1 e 2) p.28-29.

**Esquema 2** - Preparação dos extratos brutos da madeira de *S. apetala*

## 2.2.5. Testes químicos

### 2.2.5.1. Teste para saponinas

Para detecção de saponinas foi realizado o teste da formação de espuma persistente em solução de ácido diluído (Schenkel, 1999).

- Solução Ácida:

Teste específico para saponinas.

Observação de espuma persistente após agitação constante da solução.

Composição:

Solução 1,00 mol/L de HCl em água.

**Modo de usar:**

Diluir 3,00 mg de extrato em 10,0 mL da solução ácida em um tubo de ensaio e em seguida agitar fortemente durante 2 a 3 minutos, observando assim a formação de espuma persistente (colarinho).

### 2.2.5.2. Teste para flavonóides

Para detecção dos flavonóides foi utilizado o teste com solução etanólica 5% de  $\text{FeCl}_3$  e solução metanólica de NP e solução etanólica de PEG [NP/PEG (formação de coloração verde em CCDA e de fluorescência respectivamente)] (Wagner & Blandt, 1995).

- Solução metanólica de NP (Difenilboriloxietilamina) e etanólica de PEG (PoliEtilenoGlicol):

Reveladores específicos para compostos fenólicos com cloração alaranjada em exposição à luz ultravioleta  $\lambda = 356 \text{ nm}$ .

Composição:

Solução 1% de NP em metanol.

Solução 5% de PEG em etanol.

**Modo de usar:**

Imergir a cromatoplaça na solução de NP e em seguida na solução de PEG após imersão, observar a coloração produzida.

- Solução etanólica de Cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ):

Revelador específico para compostos fenólicos.

Coloração específica para flavonóides: marrom escuro.

Composição:

5 % de  $\text{FeCl}_3$  em Etanol

**Modo de usar:**

Borrifar a cromatoplaça com a solução observando a formação bastante característica de manchas verdes escura.

### 2.2.6. Reveladores

- Solução de Vanilina sulfúrica:

Revelador para terpenóides, derivados de fenilpropanóides, compostos fenólicos, etc.

Coloração característica: Para terpenóides e saponinas é violeta após aquecimento.

Para flavonóis é amarelada após aquecimento.

Para derivados de fenilpropanóides e flavanonas é vermelho carmim.

Composição:

3% de vanilina em solução com 45 mL de água, 45 mL de etanol e 10 mL ácido sulfúrico.

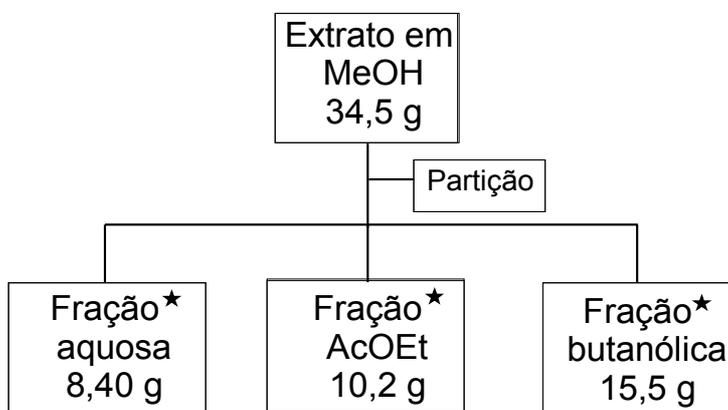
**Modo de usar:**

Borrifar a cromatoplaça com a solução e em seguida levá-la ao aquecimento.

## 2.2.7. Fracionamento dos extratos brutos e purificação das substâncias

### 2.2.7.1. Fracionamento do extrato metanólico das folhas de *S. apetala*

O extrato em metanol (34,5 g) foi solubilizado em água e submetido à partição utilizando acetato de etila seguido de *n*-butanol resultando em três frações. As frações em acetato de etila (10,2 g) e *n*-butanol (15,5 g) foram concentradas em evaporador rotativo e a fração aquosa (8,40 g) foi liofilizada (Esquema 3).



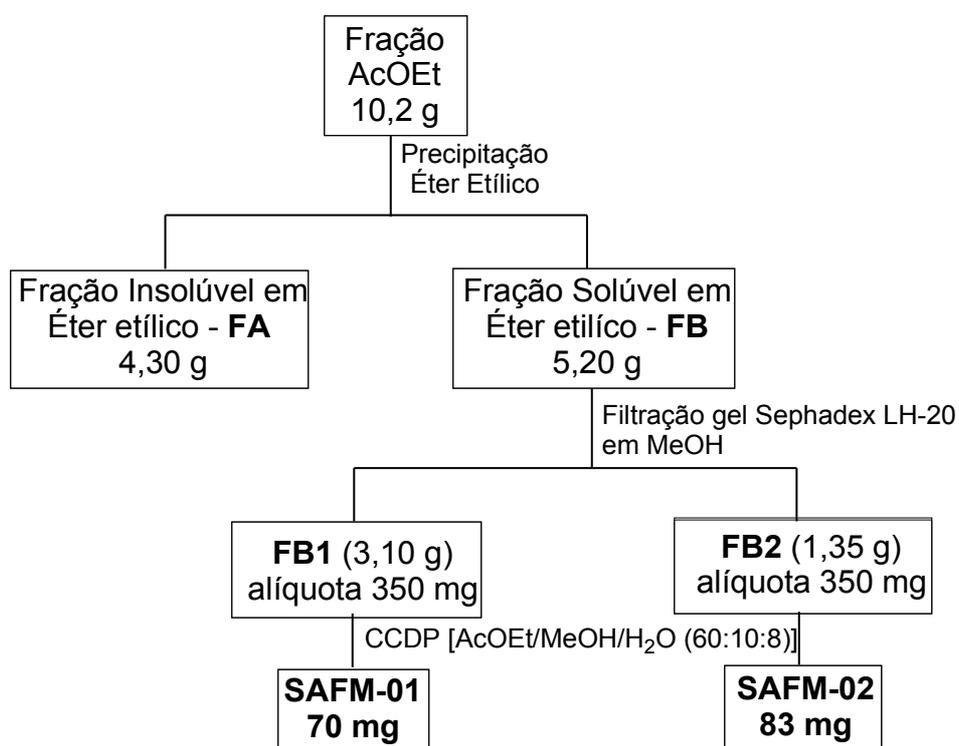
\* Frações ativas aos testes descritos nos ítems (2.2.5 – 1 e 2).

**Esquema 3** - Fracionamento do extrato em metanol.

A fração em AcOEt (10,2 g) foi submetida a processo de precipitação com Éter Etílico. O precipitado (parte insolúvel) foi cuidadosamente separado do sobrenadante (parte solúvel) gerando assim duas frações (**FA** e **FB**) (Esquema 4, p.30).

A fração **FB** solúvel em éter etílico (5,20 g) foi submetida à filtração em

gel Sephadex LH-20 com MeOH como eluente. A filtração gerou duas sub-frações **FB1** (3,10 g) e **FB2** (1,35 g) (Esquema 4). Uma alíquota da sub-fração **FB1** (350 mg) (Esquema 4, p. 30) foi submetida a uma CCDP utilizando o seguinte sistema de eluentes: [AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (60:10:8)] produzindo a saponina (SAFM-01, 70,0 mg) (Figura 12 p.21). Utilizando o mesmo procedimento aplicado para **FB1**, uma alíquota de (350 mg) da sub-fração **FB2**, produziu a saponina (SAFM-02, 83,0 mg, Figura 12 p.21) (Esquema 4).

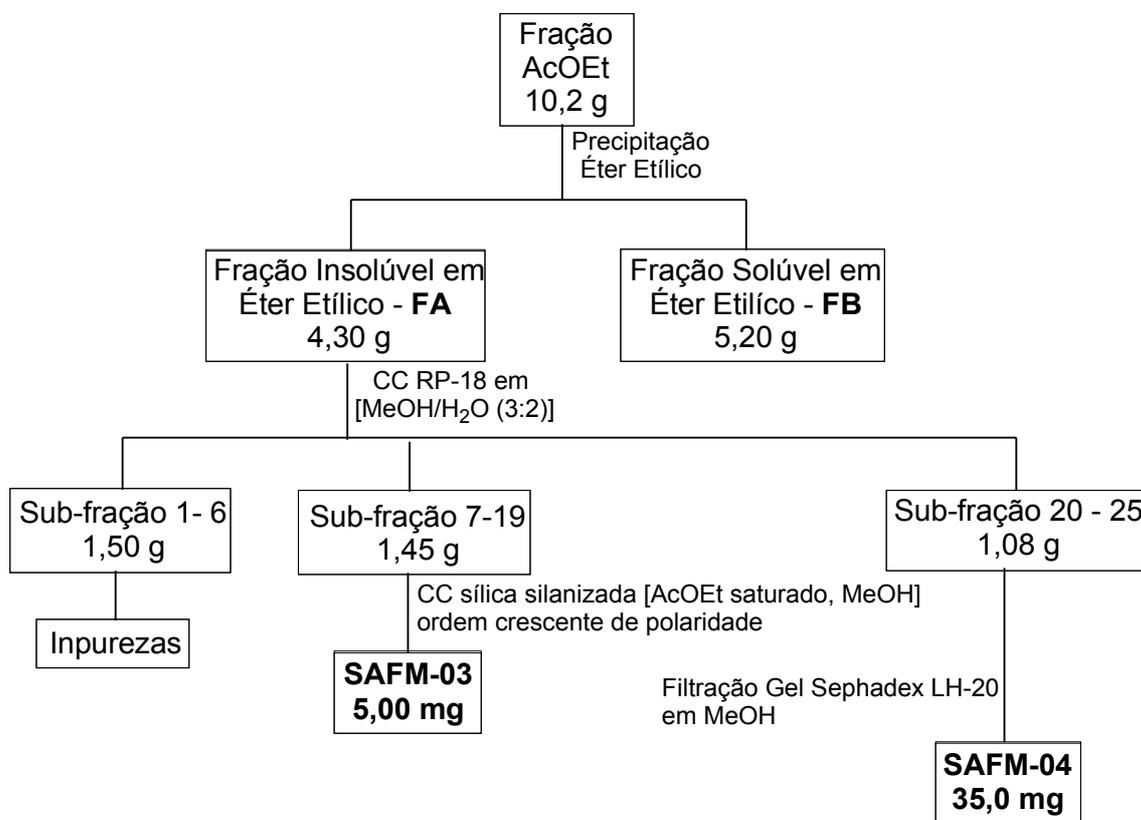


**Esquema 4** – Isolamento das saponinas das folhas de *S. apetala*

A fração **FA** insolúvel em éter etílico (4,30 g) foi cromatografada em sílica gel RP-18 com [metanol/água (3:2)] obtendo 25 frações (Esquema 5, p 31). Após comparação do perfil cromatográfico utilizando CCDA as mesmas foram reunidas gerando assim as sub-frações: 1-6 (1,50 g), 7-19 (1,45 g) e 20-25 (1,08 g).

A sub-fração 7-19 (1,45 g) (Esquema 5, p. 31) após filtração em sílica gel silanizada eluída com AcOEt saturado em água e metanol em ordem crescente de polaridade, possibilitou o isolamento do flavonol [SAFM-03, (5,00 mg)] (Figura 13, p. 22).

A sub-fração 20-25 (1,08 g) (Esquema 5, p. 31) foi submetida à filtração com gel Sephadex LH-20 em MeOH, obtendo desta forma o flavonol [SAFM-04, (35,0 mg)] (Figura 13, p. 22).



**Esquema 5** - Isolamento dos flavonóides das folhas de *S. apetala*

#### 2.2.7.2. Fracionamento do extrato hexânico da madeira de *S. apetala*

O extrato hexânico (2,26 g) foi solubilizado em diclorometano e submetido a processo de precipitação com AcOEt formando duas frações: [F1sobrenadante (1,03 g)] e [F2 precipitado (1,09 g)] ( Esquema 6, p. 32).

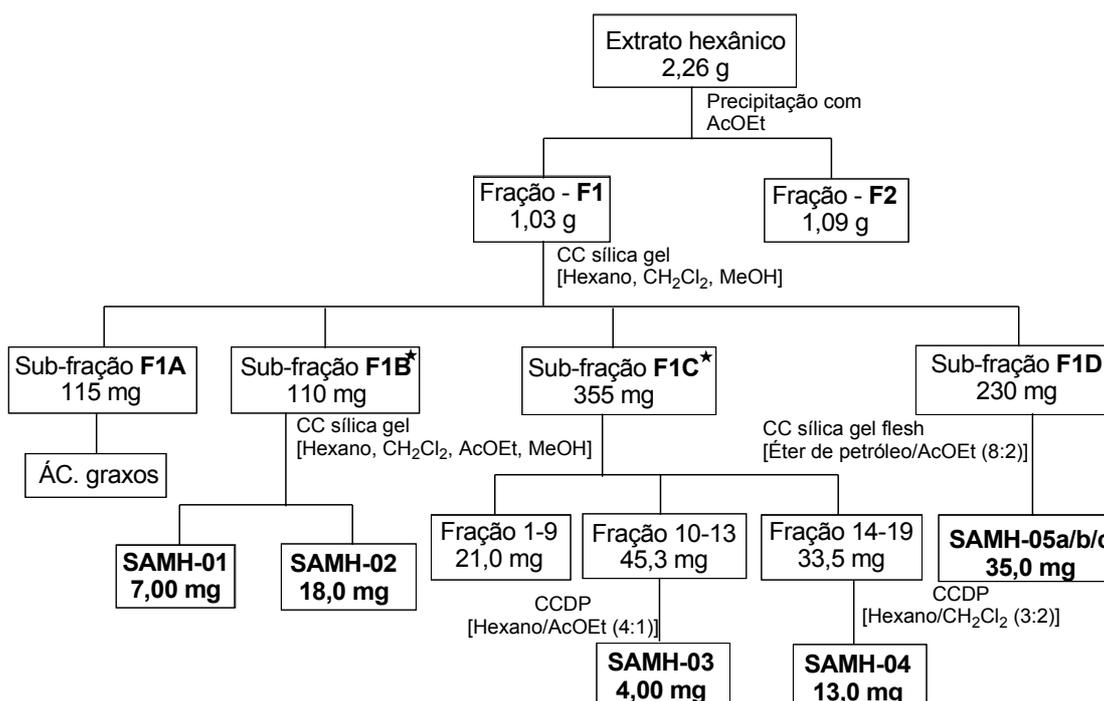
A fração **F1** (1,03 g) foi submetida a cromatografia em coluna com sílica gel em ordem crescente de polaridade (hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH), obtendo assim 47 frações. As mesmas foram analisadas por CCDA e de acordo com perfil cromatográfico foram reunidas formando as seguintes sub-frações: **F1A** (115 mg), **F1B** (110 mg), **F1C** (355 mg) e **F1D** (230 mg) (Esquema 6, p. 32).

A sub-fração **F1B** (110 mg) (Esquema 6, p. 32) após ser submetida à CC com sílica gel em ordem crescente de polaridade usando (hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

AcOEt, MeOH), possibilitou o isolamento de um estilbeno [SAMH-01, (7,00 mg)] (Figura 14, p. 23) e uma flavanona [SAMH-2 (18,0 mg)] (Figura 13, p. 22).

A sub-fração **F1C** (355 mg) (Esquema 6) após ser submetida ao mesmo processo cromatográfico anterior, produziu 19 frações que foram reunidas após análise por CCDA: 1-9 (21,0 mg), 10-13 (45,3 mg) e 14-19 (33,5 mg). A fração **1-9** (21,0 mg) foi submetida a CCDP [hexano:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:2)] o qual possibilitou no isolamento de um triterpeno [SAMH-04 (4,00 mg)] (Figura 14, p. 23). A fração 14-19 (33,5 mg) foi submetida ao mesmo processo cromatográfico da fração (1-9) com o sistema de eluentes: [hexano/AcOEt (4:1)], onde foi possível chegar ao isolamento de um pterocarpano [SAMH-03 (13,0 mg)] (Figura 14, p. 23).

A sub-fração **F1D** (230 mg) (Esquema 7, página 34) após ser submetida CC com sílica gel flash usando [éter de petróleo/AcOEt (8:2)], possibilitou o isolamento de uma mistura de esteróides [SAMH-05a/b/c (35,0 mg)] (Figura 14, p. 23).



\*Sub-frações ativas ao teste descrito no item (2.2.5.2) p.29.

### Esquema 6 – Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico

#### 2.3. Referências bibliográficas.

Schenkel, E. P. (1999). Saponinas. In Simões, C. M. O., *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*, Universidade UFRGS/UFSC, Porto

Alegre/Florianópolis, 604 p.

Wagner, H., Bladt, S. (1995). *Plants Drugs Analysis; a Thin Layer Chromatographic Atlas*. 2<sup>nd</sup> Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 384 p.

### 3.0. Resultados e Discussão

#### 3.1. Determinação Estrutural dos Constituintes Químicos Isolados das Folhas de *Swartzia apetala*

O estudo fitoquímico do extrato metanólico das folhas de *S. apetala* possibilitou o isolamento e a identificação de duas saponinas triterpênicas (**SAFM-01** e **SAFM-02**) (Figura 12, p. 21) e dois flavonóides (**SAFM-03** e **SAFM-04**) (Figura 13, p. 22).

##### 3.1.1. Determinação estrutural da substância **SAFM-01**.

O tratamento cromatográfico (CCDP [AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (60:10:8)]) da fração **FB1** (Item 2.2.7.1, p. 29-30) forneceu uma substância que apresentou-se como um sólido branco amorfo, solúvel em MeOH e com faixa de fusão 219-224 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 16, p. 39), da substância **SAFM-01**, mostra forte absorção em 3416 cm<sup>-1</sup> correspondente a vibração da deformação axial de O-H, uma banda de estiramento de grupo carbonila de éster 1736 cm<sup>-1</sup> e bandas intensas de vibrações assimétricas acopladas (C(=O)-O) e (O-C-C) em 1072 cm<sup>-1</sup> e 1043 cm<sup>-1</sup> respectivamente. A banda em 1608 cm<sup>-1</sup> corresponde ao estiramento (C=C) de grupo olefínico e a banda em 2943 cm<sup>-1</sup> a deformação axial de grupos metilênicos de hidrocarbonetos cíclicos (Silverstein & Webster, 2000).

As evidências espectrais encontradas para **SAFM-01** sugerem tratar-se de uma saponina triterpenoidal, pois dos 36 átomos de carbono assinalados no espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT (Figuras 20-23, p. 43-46), 30 foram atribuídos a unidade aglicona e os 6 restantes para o resíduo de açúcar. Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C-APT da substância apresentaram sinais do resíduo aglicona característico do ácido oleanóico (Tabelas 3 e 3', p. 37-38).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Figura 17-19, p. 40-42) mostra sinais característicos de saponina triterpênica evidenciada pelos sinais relativos aos grupos metila entre  $\delta_H$  0,78-1,24 (Figura 18, p. 41). O sinal largo em  $\delta_H$  5,41 pode ser atribuído ao hidrogênio H-12. O resíduo de açúcar pode ser evidenciado pelo sinal do hidrogênio anomérico da unidade glicopiranosila a  $\delta_H$  6,29 ( $d, J = 7,3$  Hz) que devido ao alto valor da constante de acoplamento foi assinalado como  $\beta$ -glicopiranosil e os sinais distintos dos hidrogênios metilênicos a  $\delta_H$  4,75 ( $d, J = 7,3$ ) e  $\delta_H$  4,71 correspondentes a H-6'a e H-6'b (Figura 19, p. 42). Os sinais restantes do resíduo de açúcar estão sobrepostos no espectro na região entre  $\delta_H$  3,50-4,46.

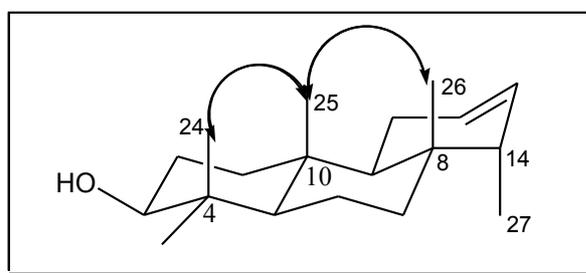
Através da análise dos espectros de RMN <sup>13</sup>C-APT (Attached Proton Test) (Figuras 20-23, p. 43-46) foi possível observar a presença dos onze carbonos metilênicos, dez carbonos metínicos, sete carbonos metílicos e oito átomos de carbonos não hidrogenados, sugerindo uma estrutura triterpênica para a unidade aglicona.

Os triterpenos pertencentes à série olean-12-eno estão caracterizados pela

posição dos deslocamentos químicos de CH-12, C-13 e CH-18, que na substância SAFM-01 aparecem a  $\delta_C$  123,95; 144,01 e 41,62 respectivamente (Mahato & Kundu, 1994). A linha espectral em  $\delta_C$  89,25 é característica de carbono carbinólico e foi atribuída ao carbono CH-3 do esqueleto triterpênica.

O mapa de correlação heteronuclear com detecção no canal de hidrogênio HMQC ( $^1J_{CH}$ ) (Figuras 24-26, p. 47-49) permitiu verificar os deslocamentos químicos dos hidrogênios ligados aos respectivos carbonos, possibilitando desse modo associar inequivocamente a absorção dos carbonos dos grupos metilas com os respectivos hidrogênios, do hidrogênio olefínico e o carbono C-12, do hidrogênio H-3 e o carbono carbinólico C-3. O sinal do hidrogênio anomérico H-1' a  $\delta_H$  (6,29) é observado através do sinal  $^1J_{CH}$  com C-1'  $\delta_{CH}$  (95,63) (Figura 24, p. 47).

A atribuição dos deslocamentos químicos dos grupos metilas também pode ser confirmada considerando-se as interações 1,3-*sin*-diaxiais existentes na molécula conforme observado na figura 15 (Mahato & Kundu 1994). As metilas em conformação axial não estão situadas no dentro do cone de desblindagem provocado pelo efeito anisotópico dos elétrons  $\sigma$  da ligação C-C.

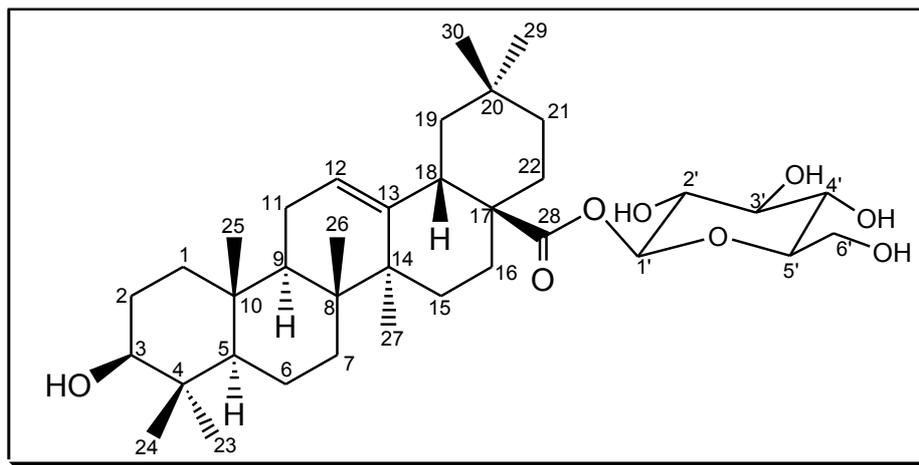


**Figura 15** - Interações 1,3-*sin*-diaxiais da substância SAFM-01

O mapa de correlação heteronuclear a longa distância HMBC ( $^nJ_{CH}$ ,  $n=2$  e  $n=3$ ) (Figuras 27-29, p. 50-52) permitiu definir inequivocamente a posição do resíduo de açúcar em C-28 devido ao acoplamento a longa distância existente entre C-28 a  $\delta_C$  (176,34) da aglicona e H-1' a  $\delta_H$  (6,29) da unidade  $\beta$ -glicopiranosil (Figura 27, p. 50).

Os demais acoplamentos revelados pelo espectro da substância SAFM-01 estão resumidos nas tabelas 3 e 3', p. 37 e 38.

Os dados espectrais apresentados para substância **SAFM-01** e a comparação com dados da literatura (Wen-Cai Ye *et al.*, 2000) possibilitou confirmar a estrutura do 3-hidroxi-olean-12-en-28-acetato de-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosila.



**Tabela 3** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  da saponina **SAFM-01** em  $\text{Py}-d_5$ .  
Deslocamentos químicos em ppm.

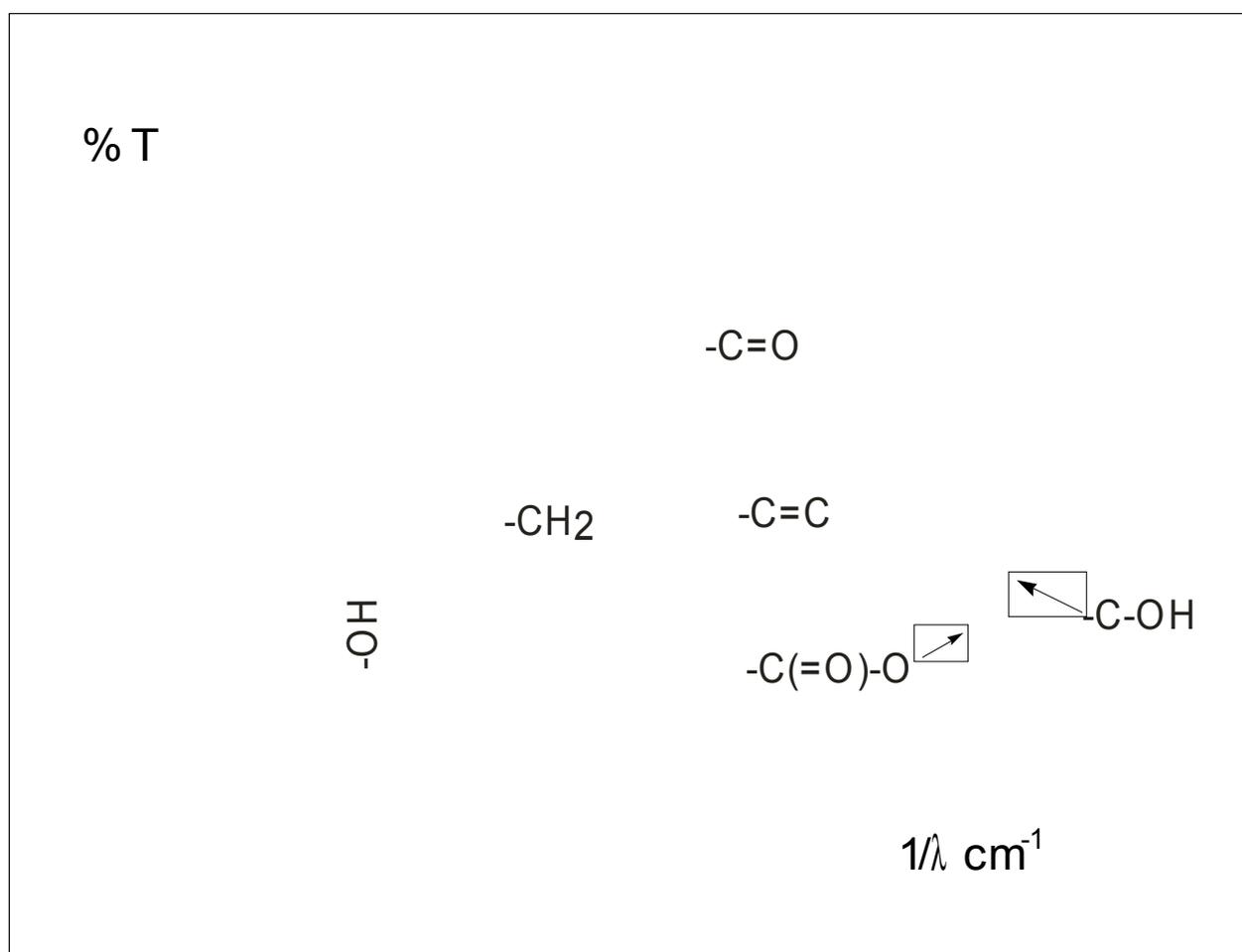
C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Wen-Cai Ye <i>et al.</i> , 2000)	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^{\#3}J_{\text{CH}}$
4	39,31	39,4	-	3H-23; 3H-24	-
8	39,77	39,8	-	3H-26	3H-27
10	36,78	36,9	-	-	-
13	144,01	144,0	-	-	3H-27
14	42,01	42,00	-	3H-27	3H-26
17	46,88	46,9	-	-	-
20	30,61	30,7	-	3H-29; 3H-30	-
28	176,36	176,4	-	-	H-1'
<b>CH</b>					
3	89,25	88,9	3,28 (d, 8,4)	-	3H-23; 3H-24
5	55,66	55,7	0,67 (m)	-	3H-23; 3H-24
9	47,86	47,9	1,56	-	3H-25; 3H-26
12	123,95	122,9	5,41 (s)	-	-
18	41,62	41,6	3,17 (d, 13,2)	-	-
<b>CH<sub>2</sub></b>					
1	38,55	38,8		-	H-5
2	26,21	26,6		-	-
6	18,36	18,4		-	-
7	33,92	33,00		-	3H-26
11	23,30	23,7		-	-
15	28,14	28,2		-	-
16	23,64	23,3		-	-
19	46,12	46,2		-	3H-29; 3H-30

21	31,94	33,9		-	3H-29; 3H-30
22	32,39	32,5		-	-
<b>CH<sub>3</sub></b>					
23	28,09	28,8	1,23 (s)	-	3H-24
24	16,83	17,00	0,90 (s)	-	H-5; 3H-23
25	15,39	15,5	0,78 (s)	-	-
26	18,51	17,4	1,05 (s)	-	-
27	25,97	26,00	1,24 (s)	-	-
29	33,03	33,1	0,88 (s)	-	3H-30
30	23,55	33,6	0,87 (s)	-	3H-29

**Tabela 3'** - Dados espectrais da unidade glicosídica da saponina **SAFM-01**.

C	$\delta_c$	$\delta_c$ literatura	$\delta_H$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
1'	95,63	95,7	6,29 ( <i>d</i> , 7,3)	-	H-5'
2'	73,98	74,1	4,27 ( <i>t</i> , 8,8)	H-3'	-
3'	79,15**	78,8	4,35-4,39	H-2'	-
4'	71,02	71,0	3,61-3,69 ( <i>m</i> )	H-3'	-
5'	78,73**	79,3	4,19	H-4'	-
6'	62,12	62,1	4,75 ( <i>d</i> , 7,3) 4,71 ( <i>sl</i> )	-	-

\*\* Valores intertrocáveis



**Figura 16** - Espectro de infravermelho da substância SAFM-01

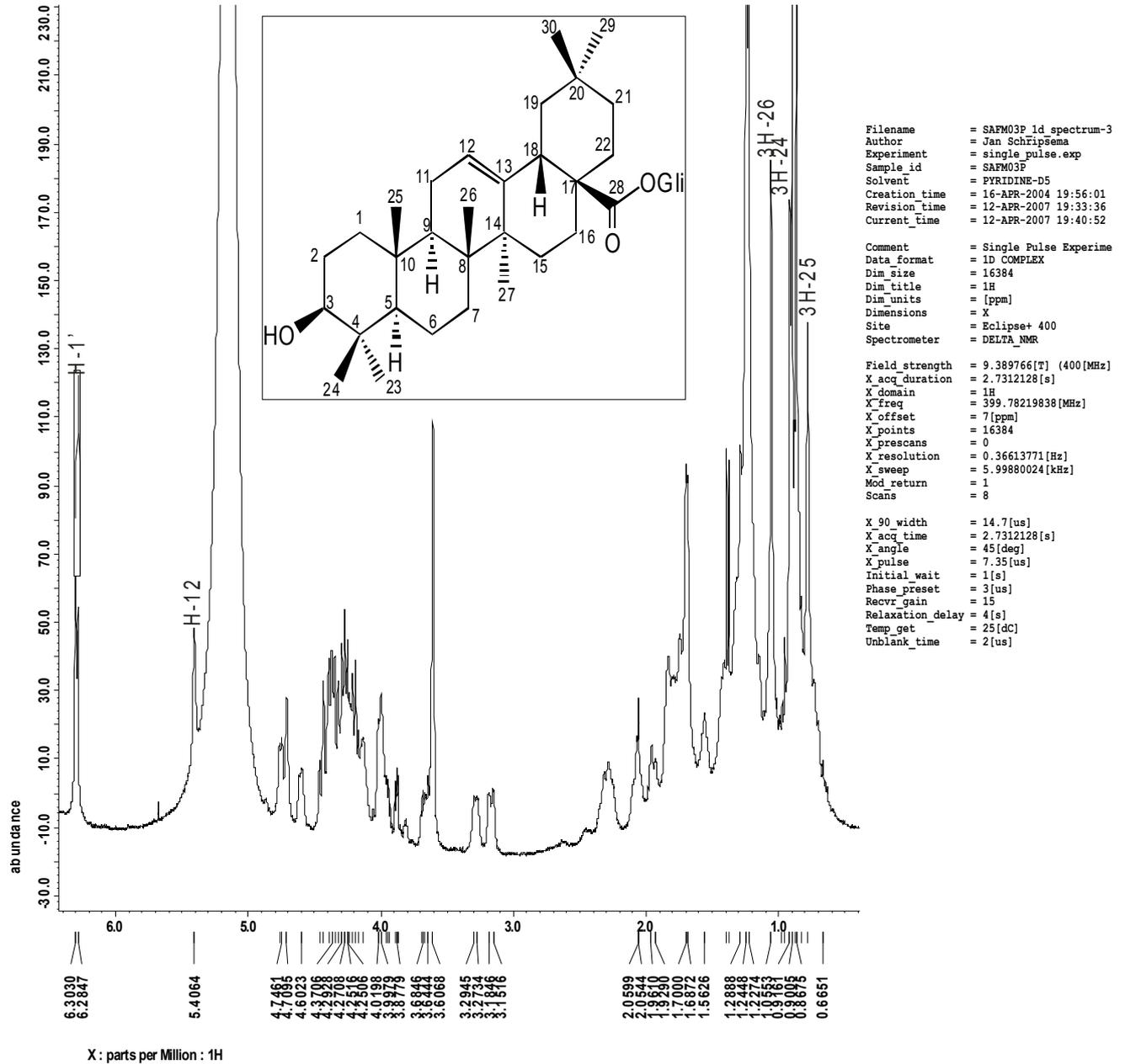
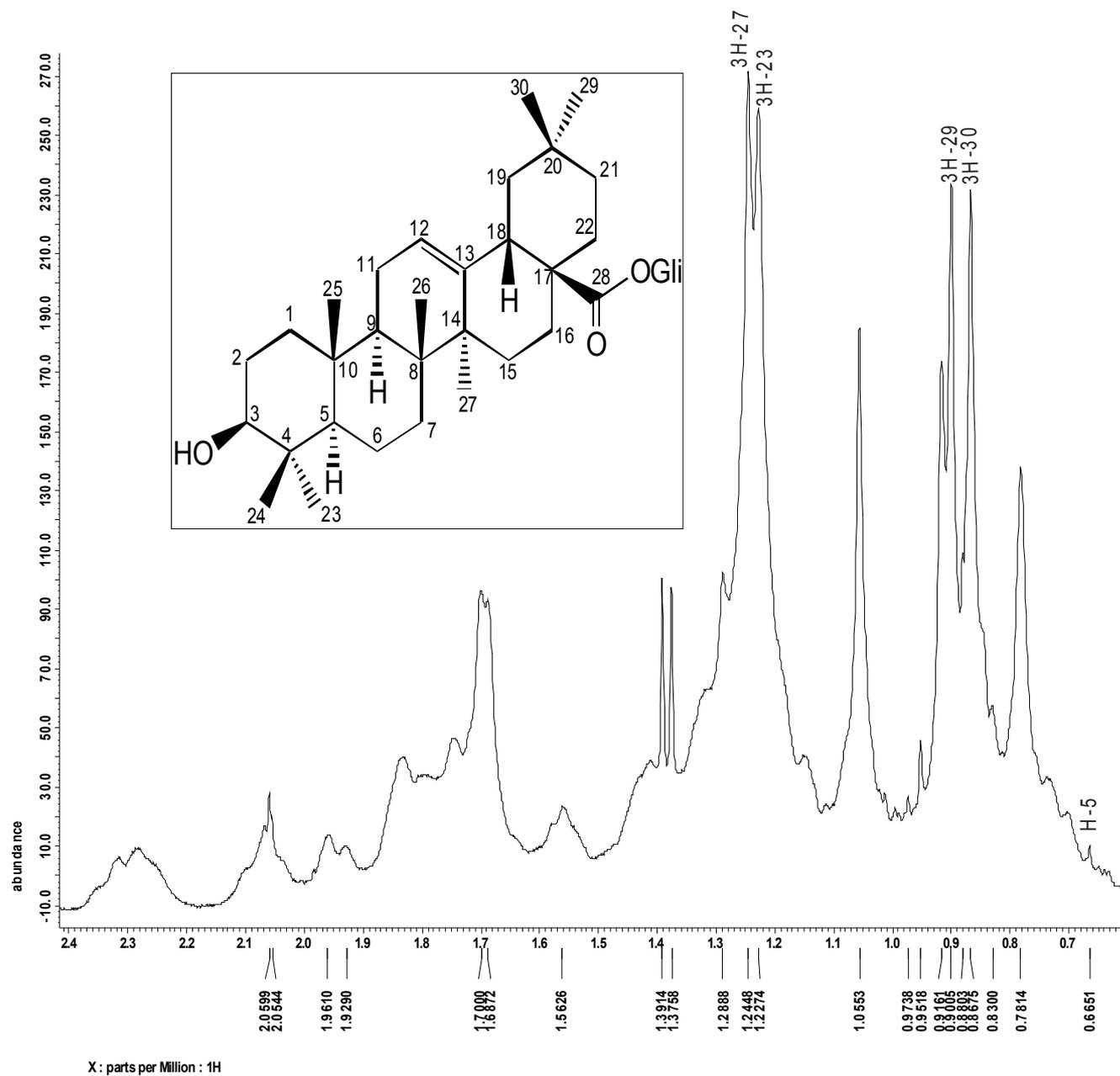


Figura 17- Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-01



**Figura 18** - Ampliação do espectro RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-01 (região de 0,66 a 2,4 ppm)

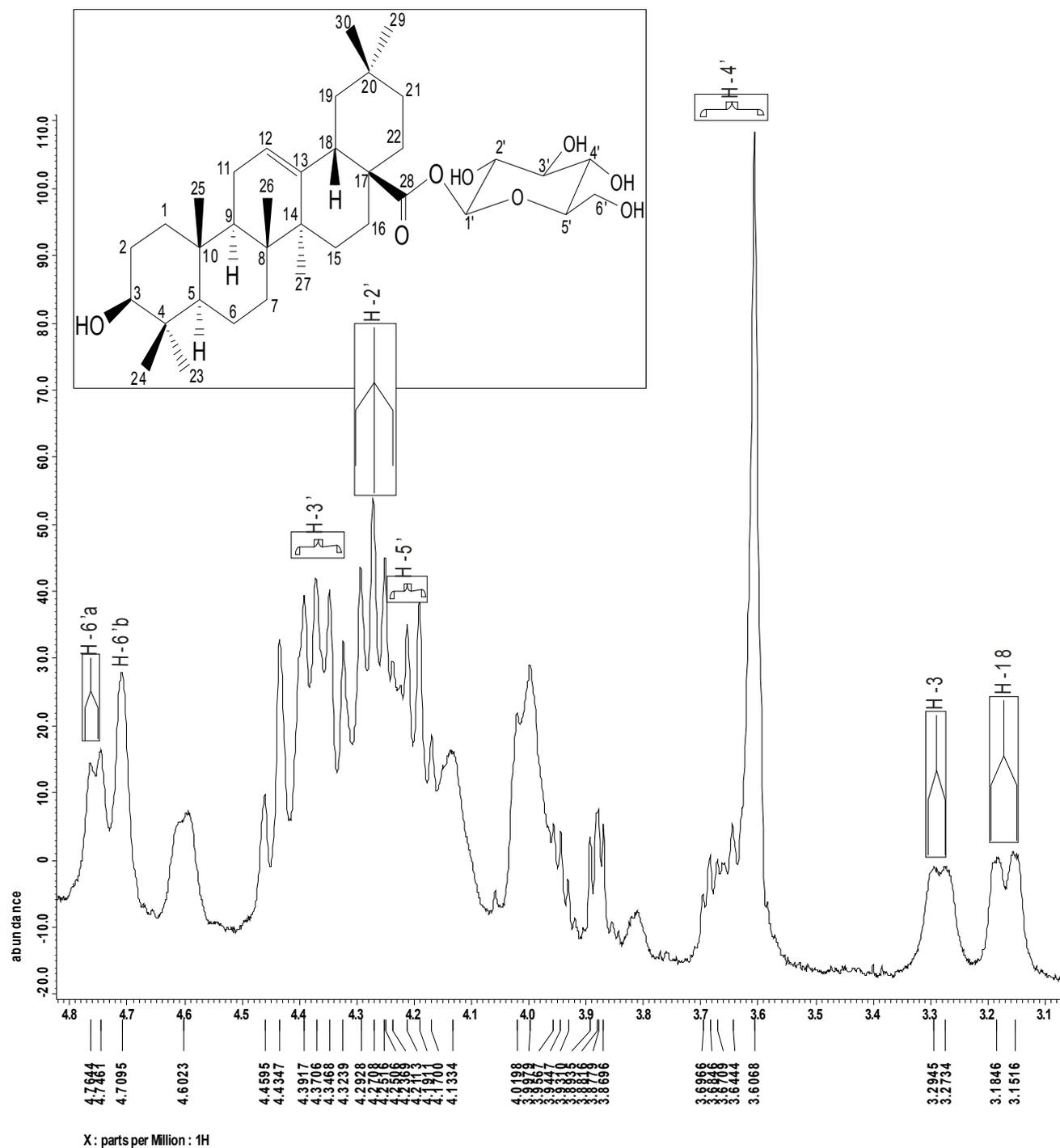


Figura 19 - Ampliação do espectro RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-01 (região de 3,1 a 4,8 ppm)

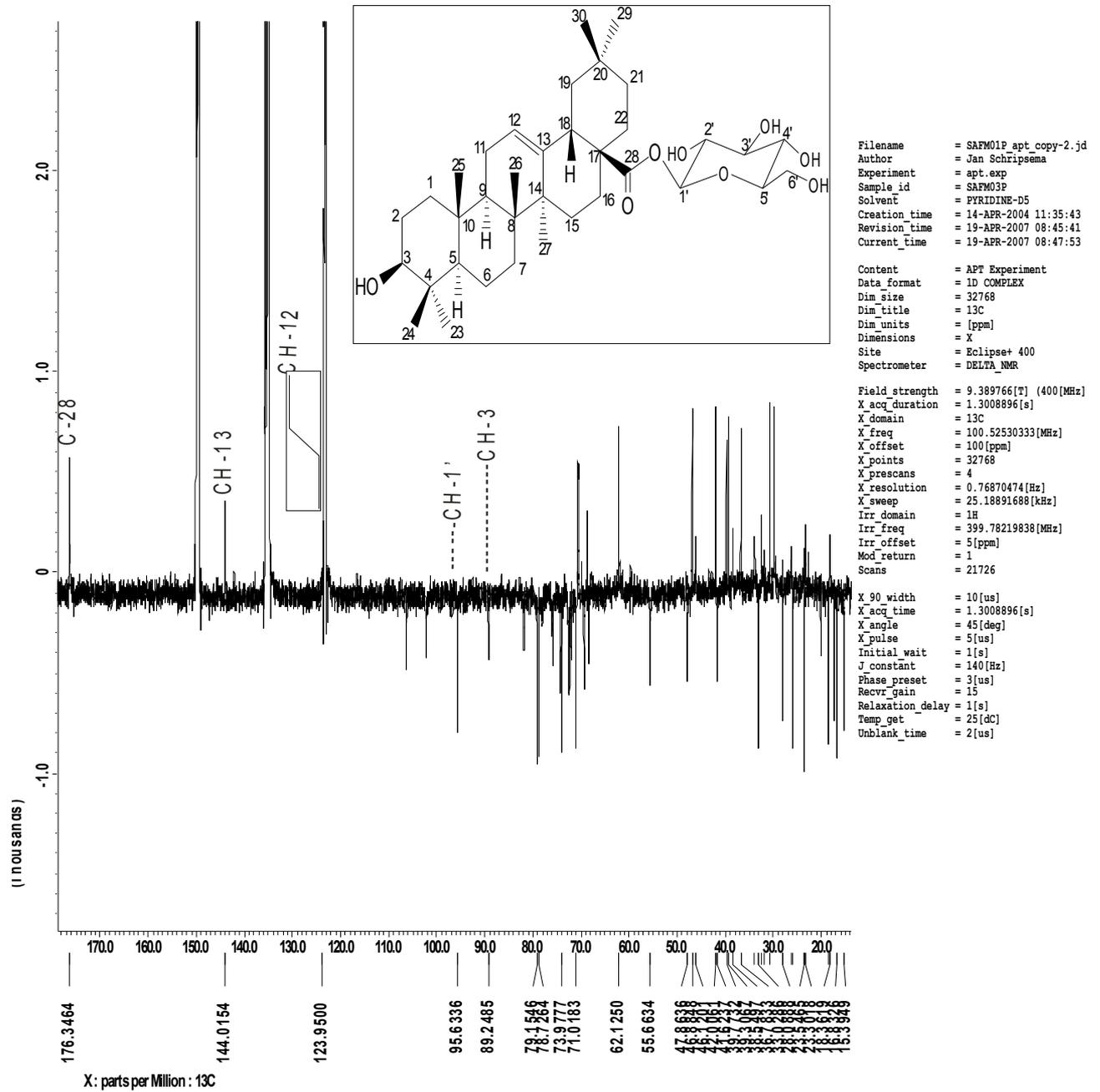
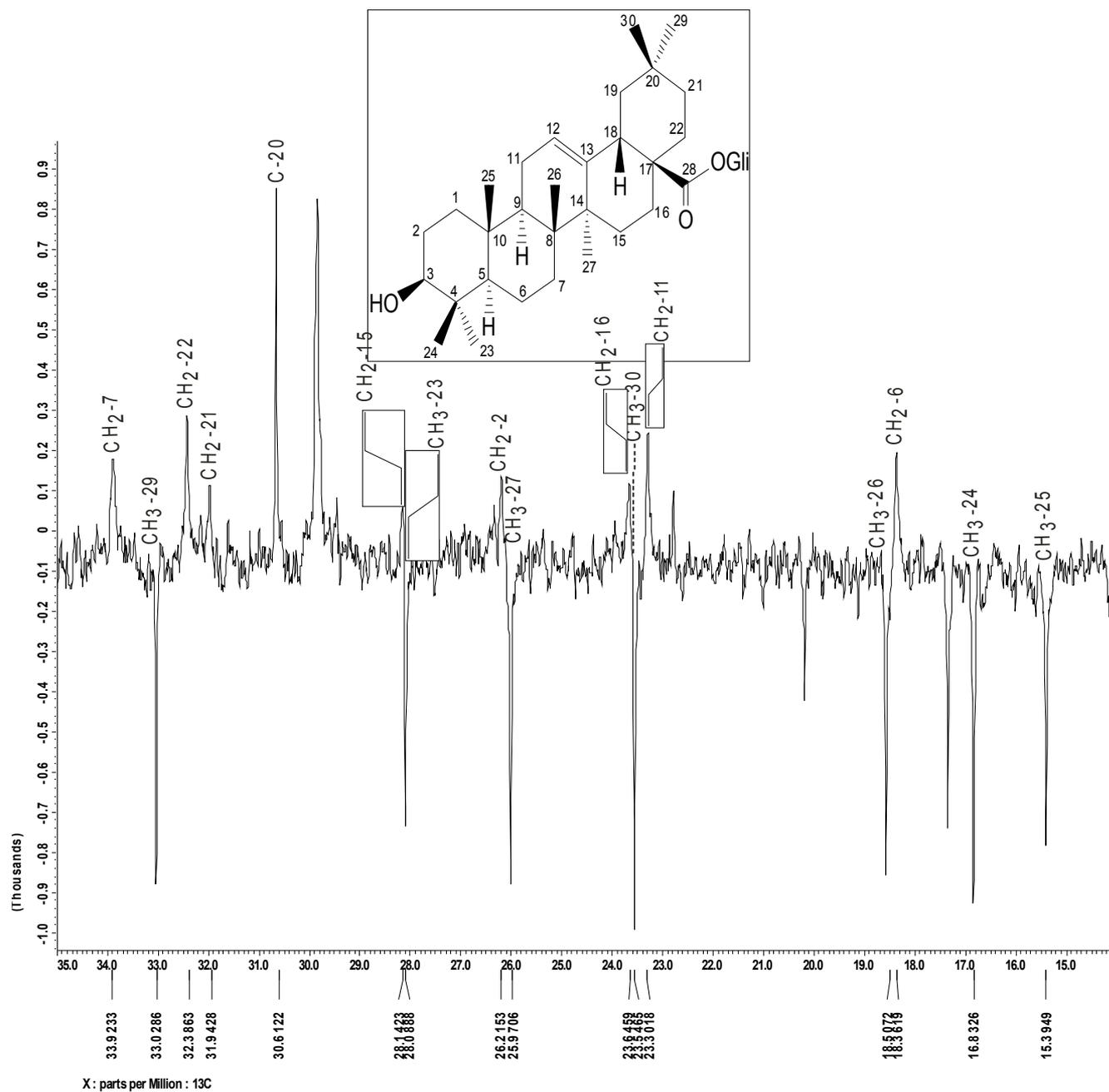
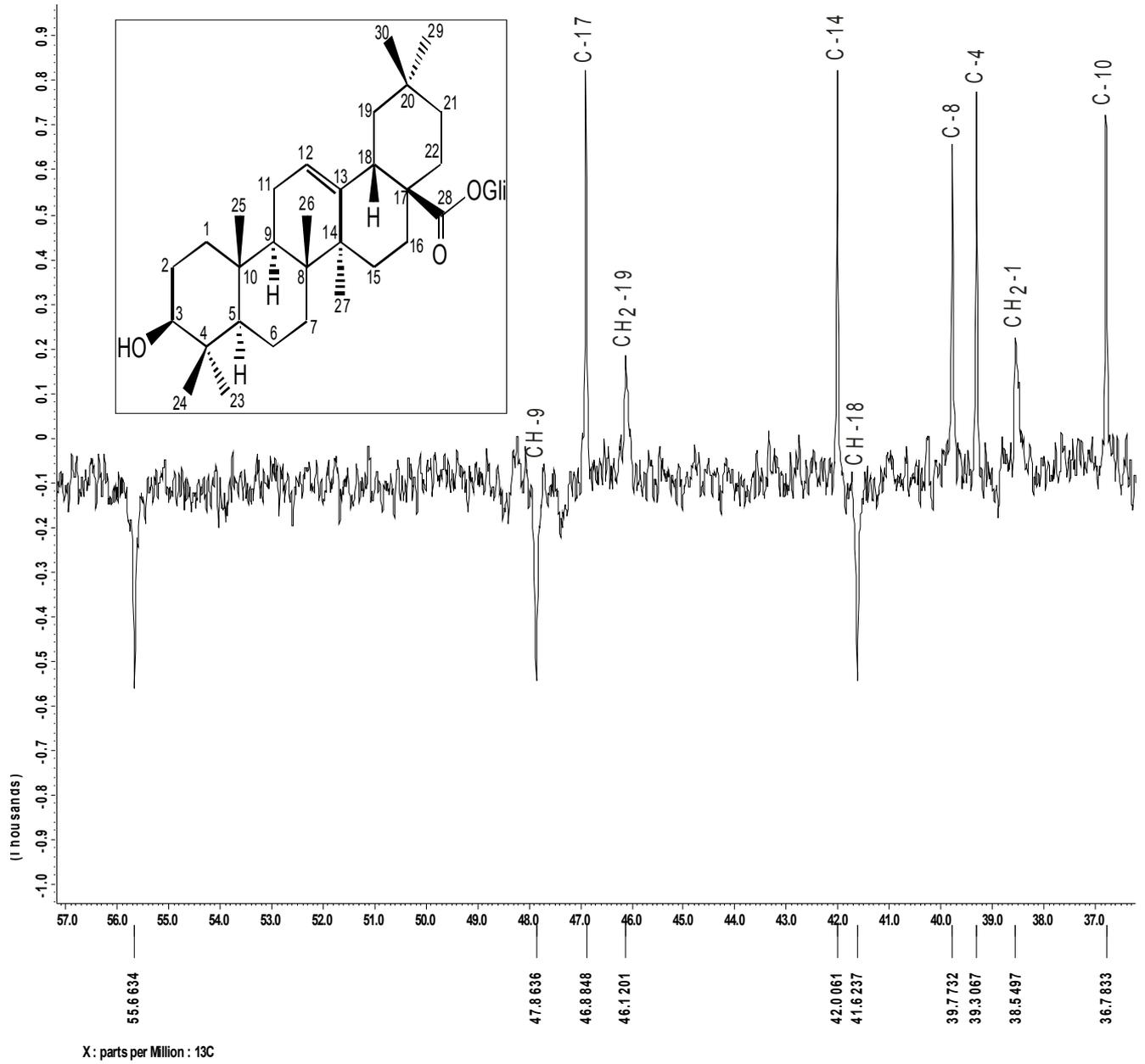


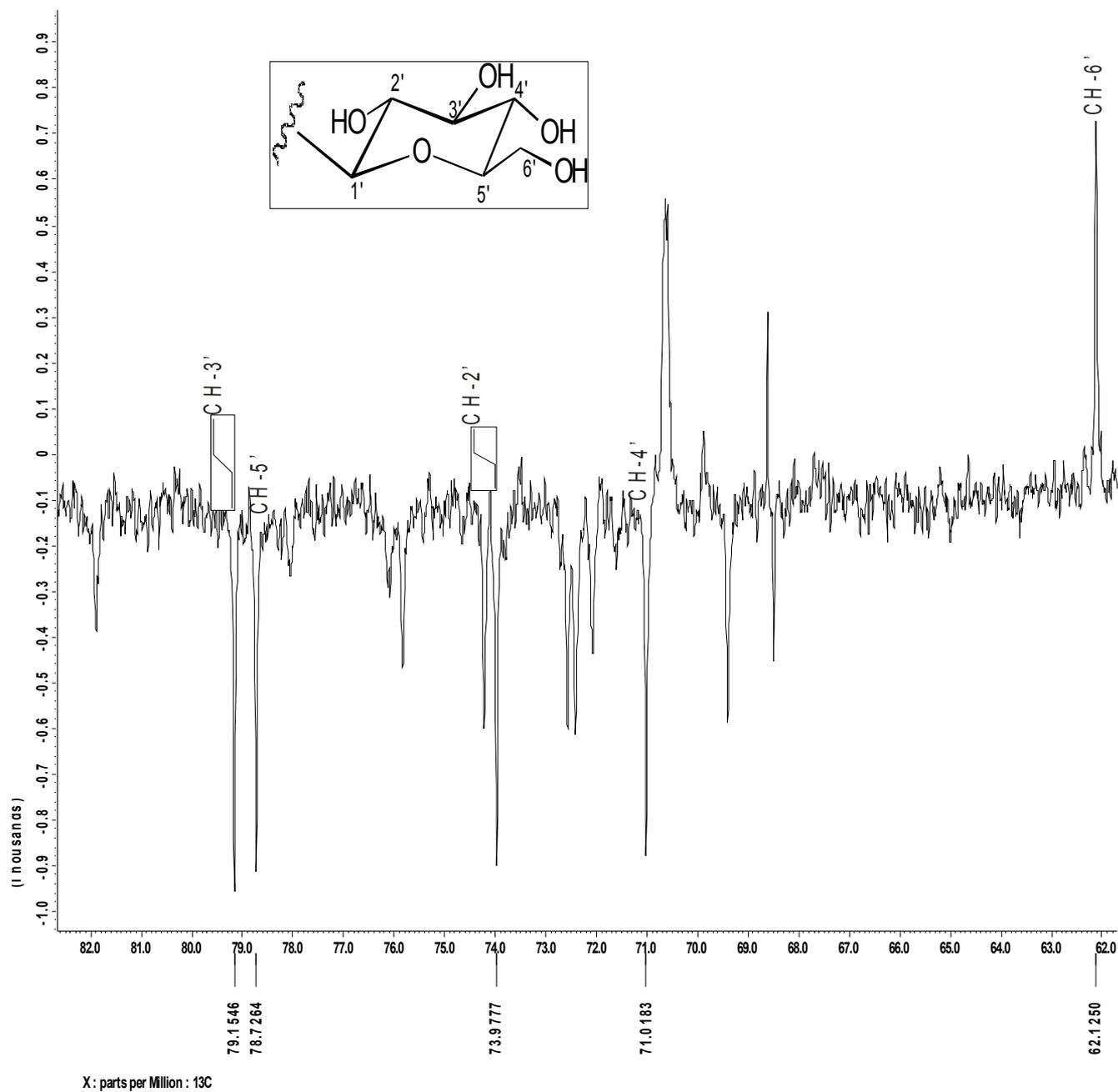
Figura 20 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAFM-01



**Figura 21** - Ampliação do espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância SAFM-01 (região de 15 a 35 ppm)



**Figura 22** - Ampliação do espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância SAFM-01 (região de 36 a 57 ppm)



**Figura 23** - Ampliação do espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância SAFM-01 (região de 62 a 82 ppm)

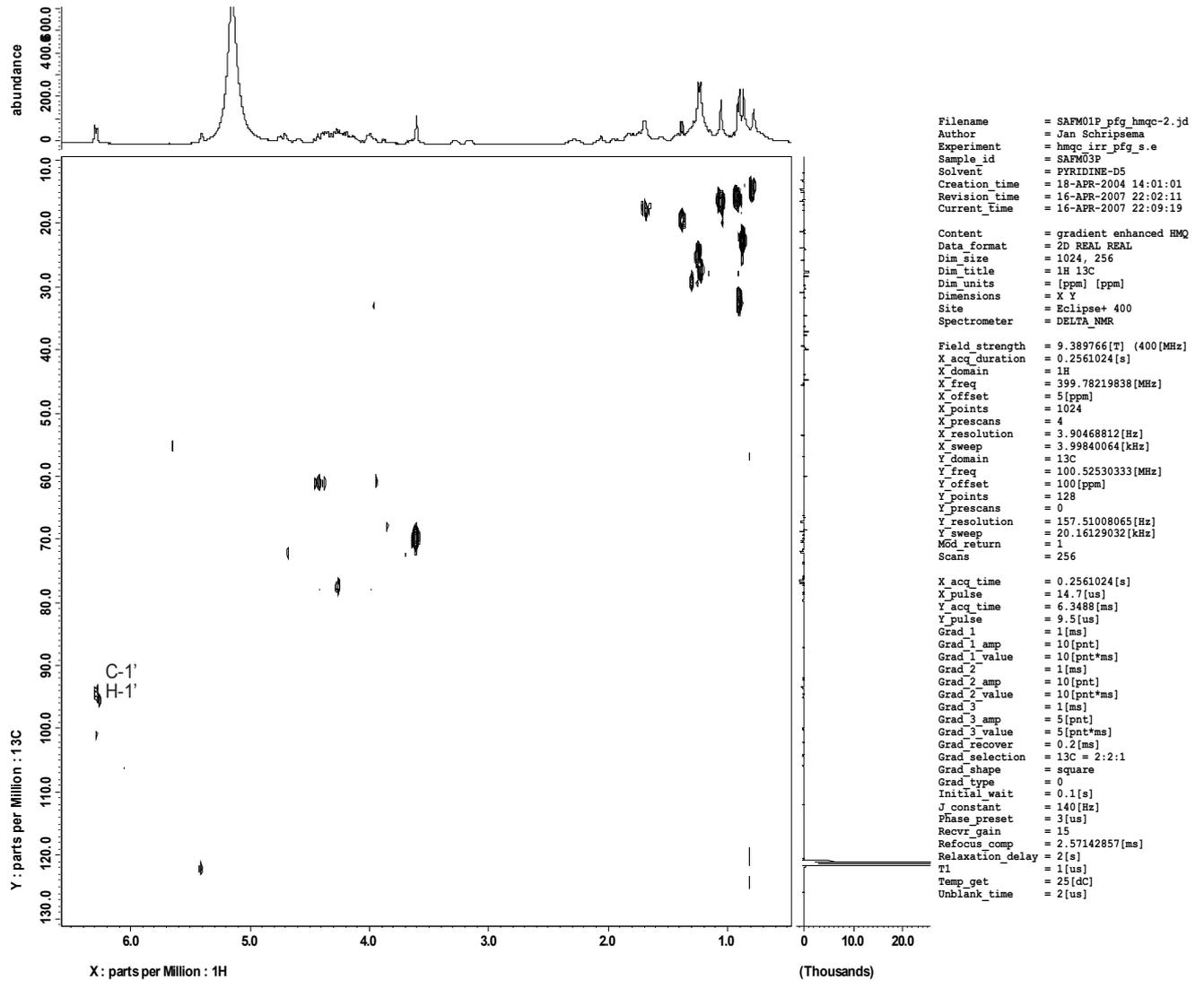
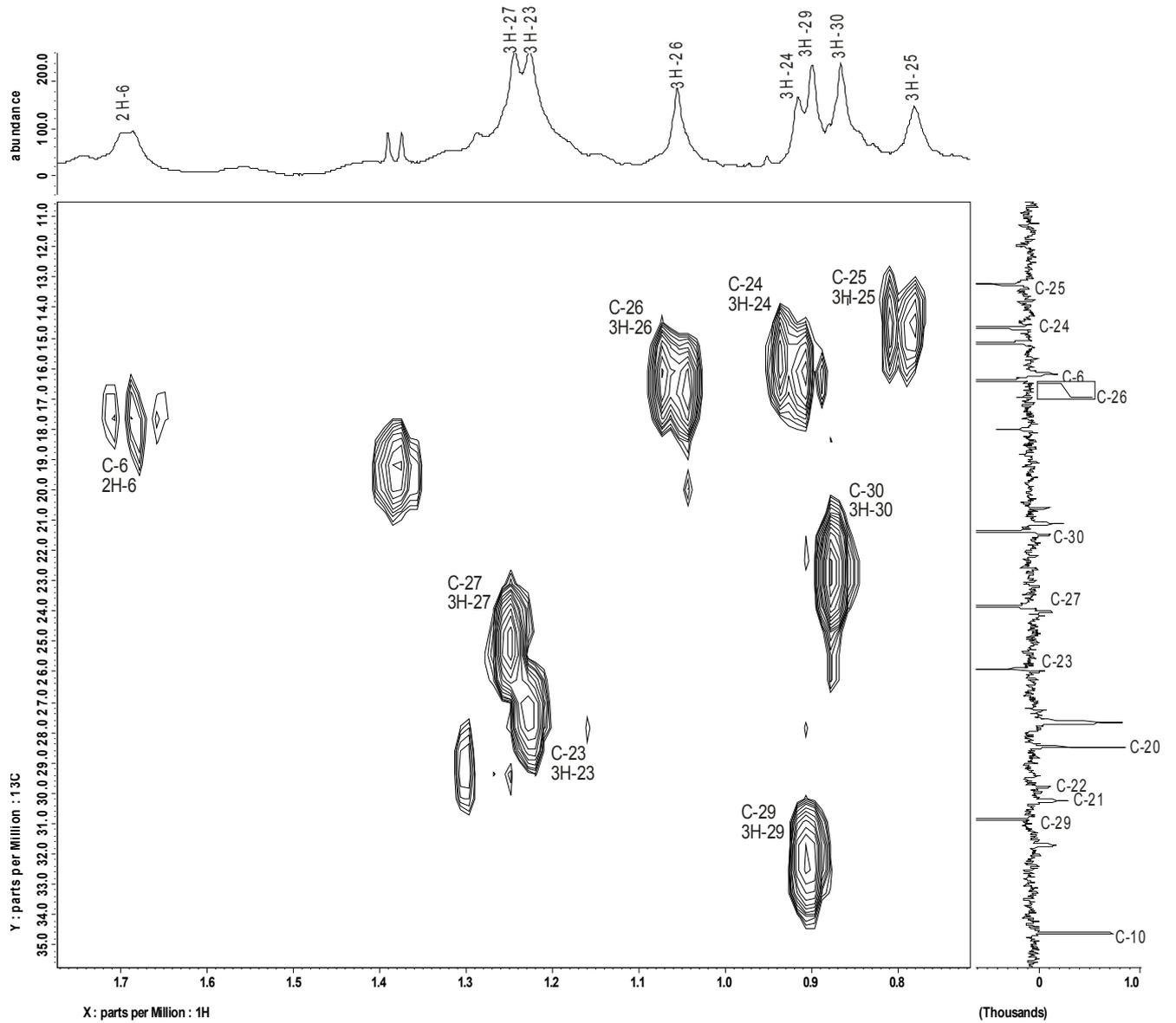
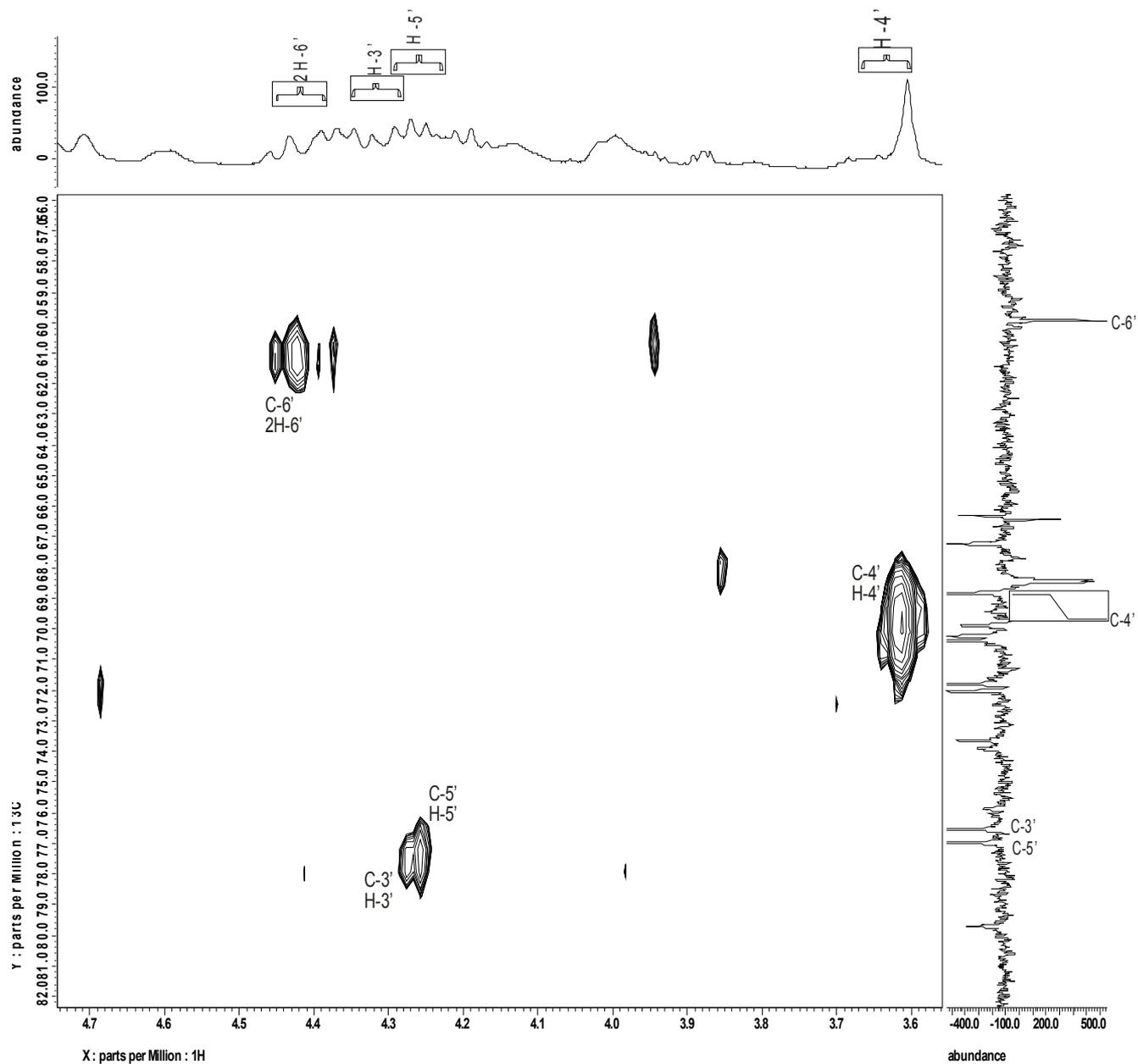


Figura 24 - Espectro de HMQC da substância SAFM-01



**Figura 25** - Ampliação do espectro de HMQC da substância **SAFM-01**  
(região de 0,7 a 1,8 ppm)



**Figura 26** - Ampliação do espectro de HMQC da substância SAFM-01  
(região de 3,6 a 4,7 ppm)

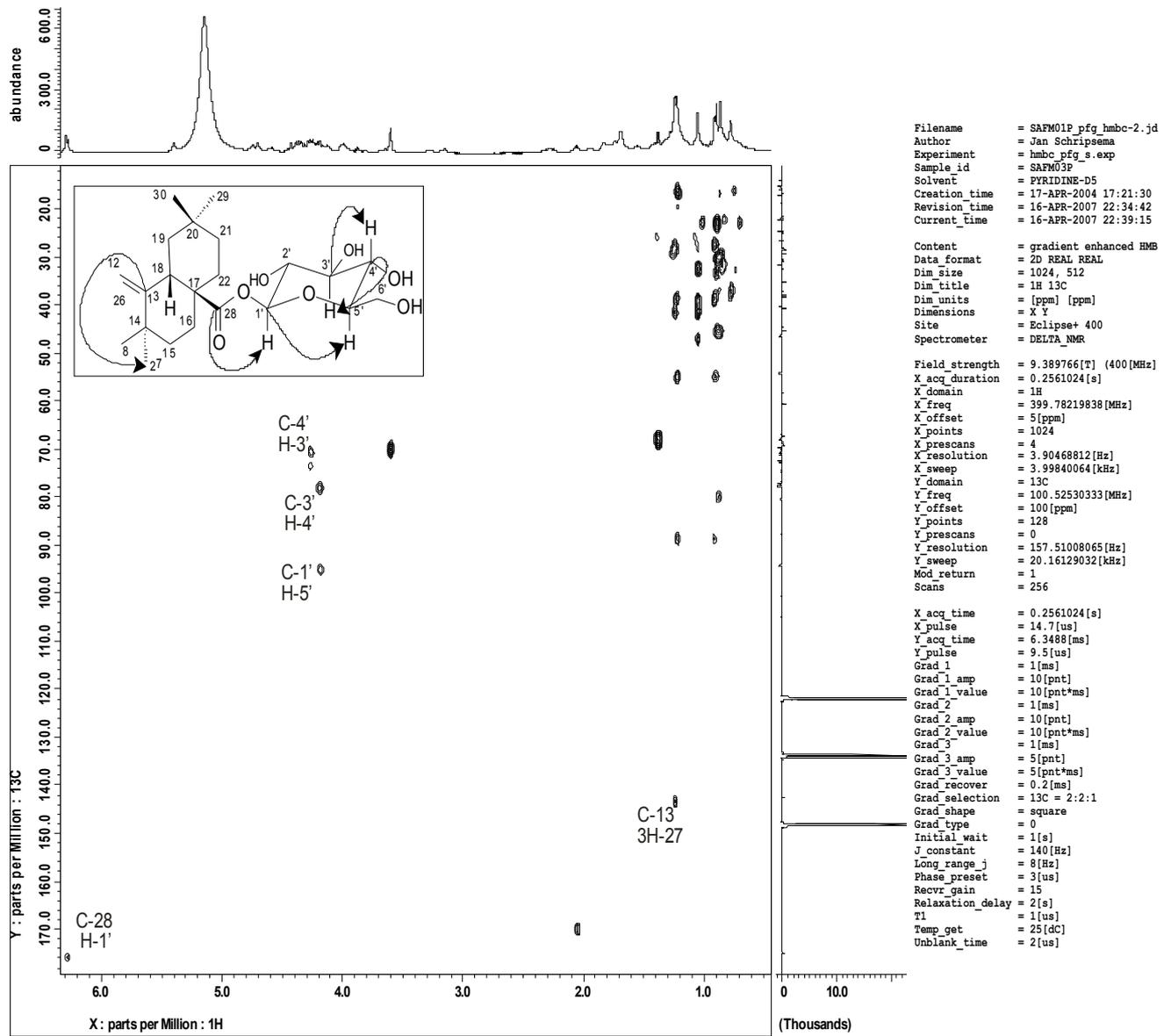
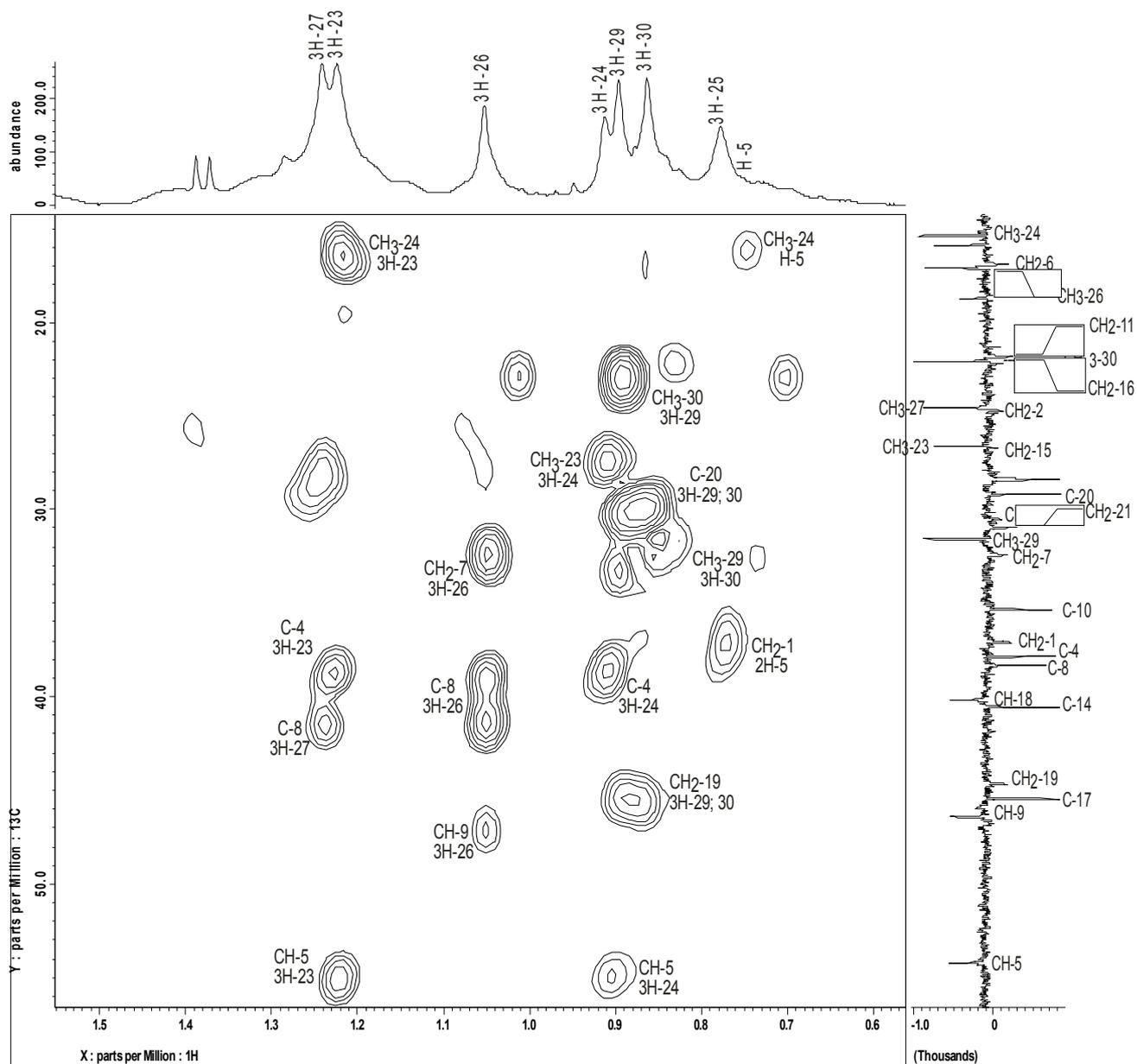
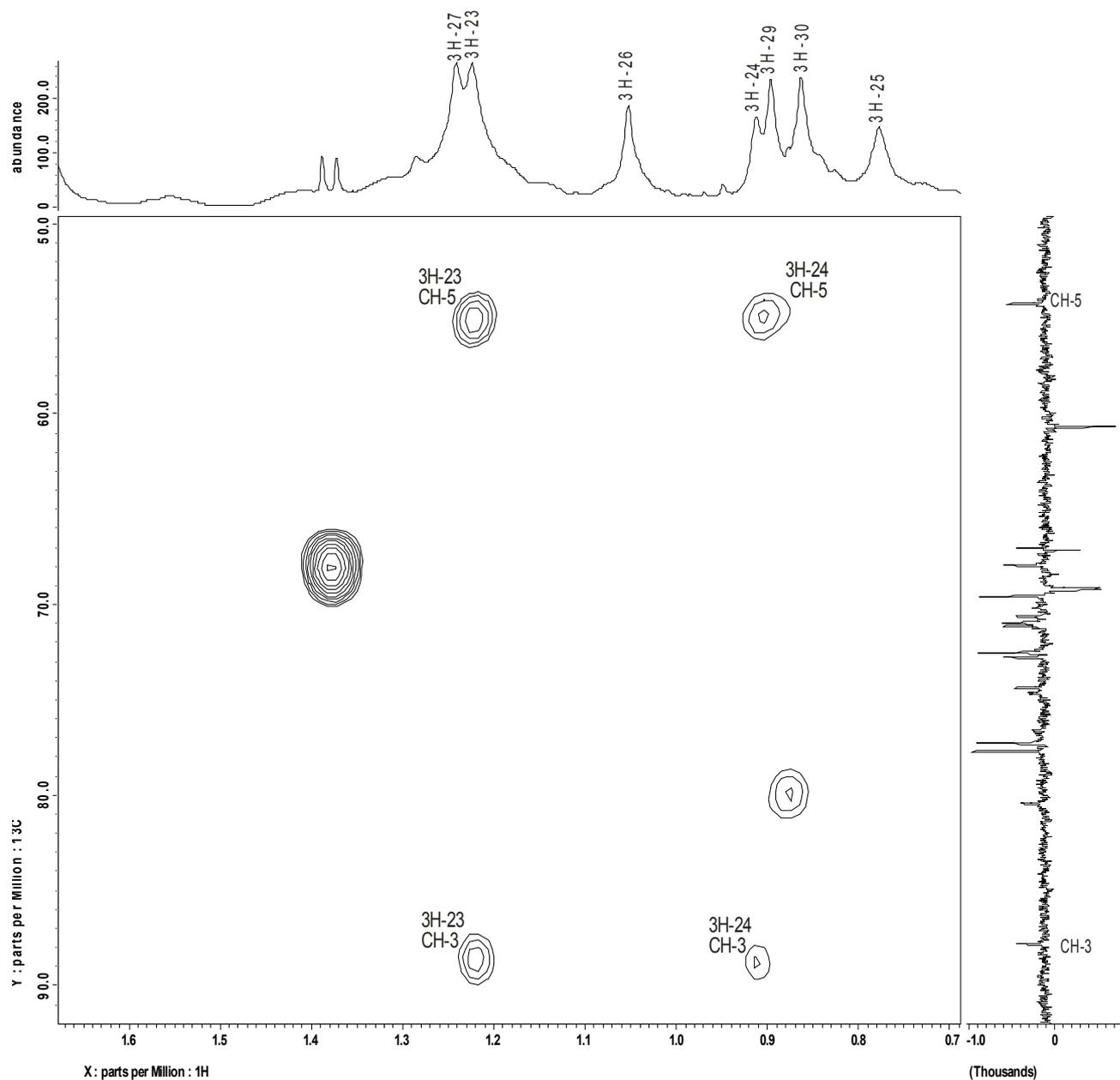


Figura 27 - Espectro de HMBC da substância SAFM-01



**Figura 28** – Ampliação do espectro de HMBC da substância SAFM-01 (região de 0,6 a 1,5 ppm)



**Figura 29** – Ampliação do espectro de HMBC da substância **SAFM-01** (região de 0,7 a 1,7 ppm)

**3.1.2. Determinação estrutural da substância SAFM-02.**

O tratamento cromatográfico (CCDP) da fração **FB2** (Item 2.2.7.1, p. 29-30)

forneceu uma substância que apresentou-se como um sólido branco amorfo, solúvel em MeOH e com faixa de fusão 209-216 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 30, p. 57), da substância **SAFM-02**, mostra forte absorção em 2924 cm<sup>-1</sup> correspondente a vibração da deformação axial de grupo alifático (-C-H), uma banda intensa de estiramento de grupo carbonila de éster em 1755 cm<sup>-1</sup> e bandas intensas de vibrações assimétricas acopladas (C(=O)-O) e (O-C-C) em 1076 cm<sup>-1</sup> e 1039 cm<sup>-1</sup> respectivamente. A banda em 2852 cm<sup>-1</sup> corresponde a deformação axial de grupos metilênicos e metínicos de hidrocarbonetos cíclicos (Silverstein & Webster, 2000).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H de **SAFM-02** (Figuras 31-35, p. 58-62) apresentou sete sinais simples relativos aos hidrogênios dos grupos metila na região de δ<sub>H</sub> (0,78-1,14) revelando o esqueleto triterpênico para a substância e um sinal duplo a δ<sub>H</sub> (1,23; *d*, *J* = 6,6) que foi atribuído aos hidrogênios do grupo metila 3H-6''' do resíduo de ramnose acoplando com o hidrogênio H-5''' a δ<sub>H</sub> (4,07; (*m*)), que foi confirmado através da correlação existente entre esses hidrogênios no mapa de correlação homonuclear COSY (Figura 36, p. 63).

Através do número de linhas espectrais revelado pelo espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT (Figuras 37-39, p. 64-66) foi possível observar a presença de 47 sinais, sendo [7 carbonos não hidrogenados; 19 carbonos metinos CH dos quais 9 são carbinólicos a δ<sub>CH</sub> (90,89; 73,94; 78,29; 69,75; 71,17; 78,67; 72,32; 72,70; 74,16) ; 5 fazendo parte ao grupo éter]; 12 metilênicos CH<sub>2</sub>, sendo dois oximetilênicos a δ<sub>CH<sub>2</sub></sub> (62,45 e 68,56) e 8 metílicos CH<sub>3</sub>.

O sinal a δ<sub>C</sub> 177,97 confirma a função detectada no espectro de infravermelho através da banda forte a 1755 cm<sup>-1</sup> referente a estiramento de grupo C=O de éster (Figura 30, p. 57). As interações 1,3-*sin*-diaxiais observadas nos grupos metilas C-24, C-25 e C-26 de SAFM-01 também aparecem na substância **SAFM-02** confirmando sua estereoquímica.

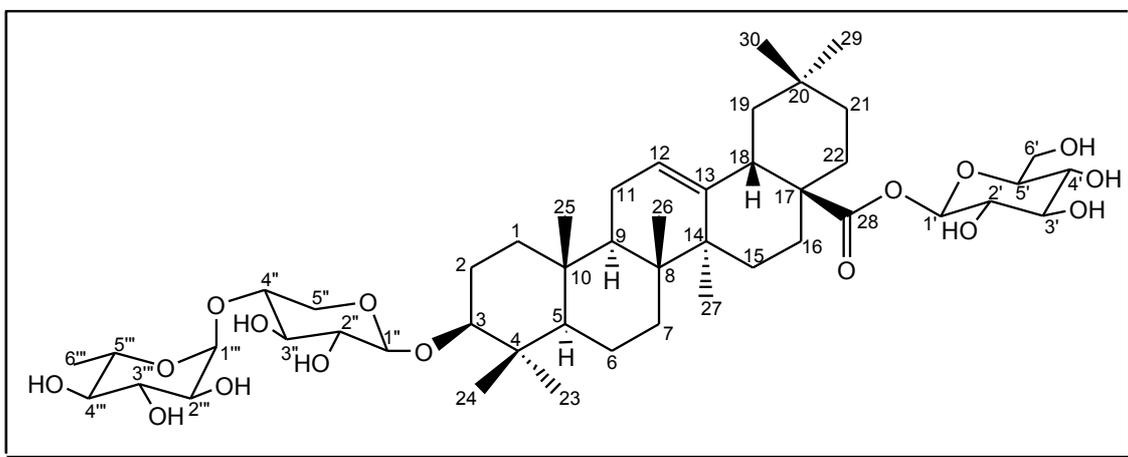
O mapa de correlação heteronuclear a uma ligação HMQC (<sup>1</sup>J<sub>CH</sub>) auxiliou no assinalamento inequívoco dos carbonos metílicos com os respectivos hidrogênios, do carbono olefínico C-12 com o respectivo hidrogênio as demais correlações estão resumidas nas figuras 40-41, p. 67-68.

O mapa de correlação heteronuclear HMBC (Figura 42-43, p. 69-70) nos auxiliou nas atribuições dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono, principalmente os não hidrogenados revelando o acoplamento entre o átomo de carbono não hidrogenado C-28 e o hidrogênio anomérico H-1', o carbono CH-2'' e o hidrogênio anomérico H-1'', o carbono metínico CH-3 e o hidrogênio

anomérico H-1'', o carbono metínico CH-3'' e o hidrogênio H-2'', carbono metínico CH-4'' e os hidrogênios 2H-5'' e H-1'''. Essas correlações confirmam as ligações do resíduo de glicose ao carbono C-28 da aglicona e a ligação do resíduo de ranmose ligado ao CH-4'' de um resíduo de xilose e este ligado ao CH-3 da aglicona.

A análise do conjunto de dados juntamente com a comparação com dados da literatura (Wen-Cai Ye *et al.*, 2000), possibilitou confirmar a estrutura da substância **SAFM-02** como sendo a 3-O- $\beta$ -D-xilopiranosil-(1'' $\rightarrow$ 4'')-O- $\alpha$ -D-ranmopiranosil-olean-12-em-28-acetato de - $\beta$ -D-glicopiranosila.

Pelo melhor do nosso conhecimento, a substância SAFM-02 está sendo citada pela primeira vez na literatura.



**Tabela 4** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  da saponina **SAFM-02** em  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Deslocamentos químicos  $\delta_{\text{C}}$  (em ppm).

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Wen-Cai Ye <i>et al.</i> , 2000)	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
4	40,18	39,4	-	3H-23; 3H-24	
8	40,70	39,8	-	3H-26	3H-27
10	37,88	36,9	-	H-9	
13	144,75	144,0	-	H-18	3H-27
14	42,91	42,00	-	3H-27	H-12; 3H-26
17	48,07	46,9	-		
20	31,52	30,7	-	3H-29; 3H-30	
28	177,97	176,4	-		H-1'''
<b>CH</b>					
3	90,89	88,9	3,17( <i>dd</i> , 11,3; 3,7)		H-1'; 3H-23; 3H-24
5	56,94	55,7	0,77 ( <i>dl</i> )		3H-23; 3H-24; 3H-25
9	48,79	47,9	1,57 ( <i>d</i> , 7,0)		H-12; 3H-25; 3H-26
12	123,86	122,9	5,24 ( <i>sl</i> )		H-18
18	42,62	41,6	2,83 ( <i>dd</i> , 7,0; 3,6)		H-12
<b>CH<sub>2</sub></b>					
1	39,82	38,8			3H-25
2	26,89	26,6	2,01; 1,69		
6	19,35	18,4	1,70; 1,39		
7	34,94	33,00	1,51; 1,49		3H-26
11	24,01	23,7	1,88		
15	28,89	28,2			3H-27
16	24,58	23,3			
19	47,17	46,2	1,72; 1,20		3H-29; 3H-30
21	33,14	33,9			3H-29; 3H-30
22	33,95	32,5			
<b>CH<sub>3</sub></b>					
23	28,57	28,8	1,03 ( <i>s</i> )		3H-24
24	17,04	17,00	0,83 ( <i>s</i> )		3H-23
25	16,04	15,5	0,92 ( <i>s</i> )		
26	17,89	17,4	0,78 ( <i>s</i> )		
27	26,29	26,00	1,14 ( <i>s</i> )		
29	33,47	33,1	0,90 ( <i>s</i> )		
30	23,98	33,6	0,93 ( <i>s</i> )		3H-29

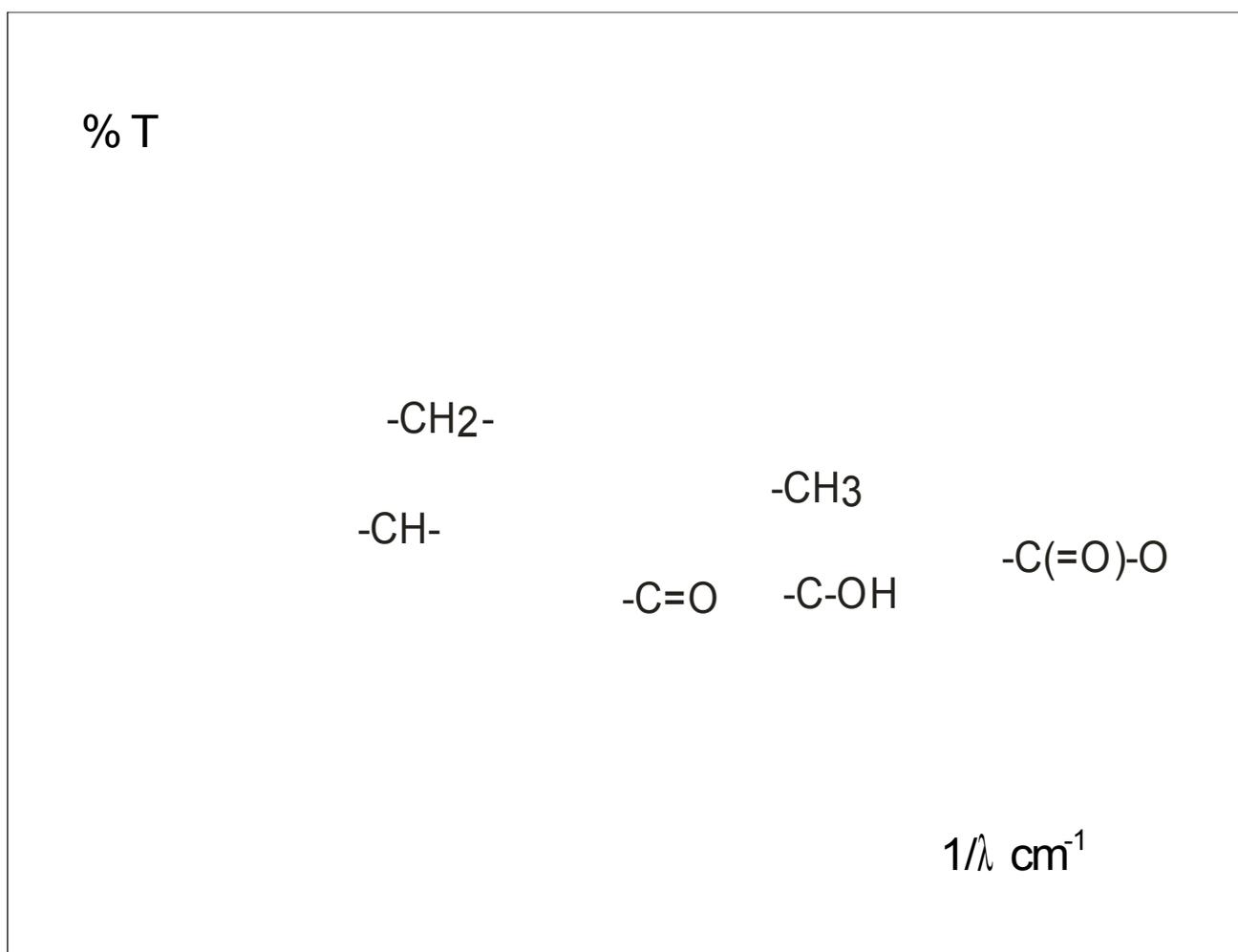
**Tabela 4'** - Dados espectrais das unidades glicosídicas da saponina **SAFM-02**

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Wen-Cai Ye <i>et al.</i> , 2000)	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1'	95,70	95,7	4,33 ( <i>d</i> , 8,04)	H-2'	
2'	73,94	73,9	3,33		
3'	78,29	78,3	3,38	H-2'	
4'	69,75	71,1	3,50	2H-5'	H-1''
5'	76,16	78,7	3,79		
6'	62,45	62,4	3,82		
1''	106,48	105,2	5,17 ( <i>s</i> )		
2''	71,17	75,2	3,93 ( <i>m</i> )	H-1''	
3''	78,67	77,6	3,57		
4''	83,60	71,2	3,69		3H-6''
5''	68,56	66,9	4,08 ( <i>m</i> )	3H-6''	
1'''	102,44		5,37 ( <i>d</i> , 7,7)		

---

2''	72,32	3,30	
3''	72,70	3,71	
4''	74,16	3,36	
5''	69,16	3,64 ( <i>m</i> )	
6''	17,76	1,23 ( <i>d, 6,6</i> )	H-1''

---



**Figura 30** - Espectro de infravermelho da substância **SAFM-02**

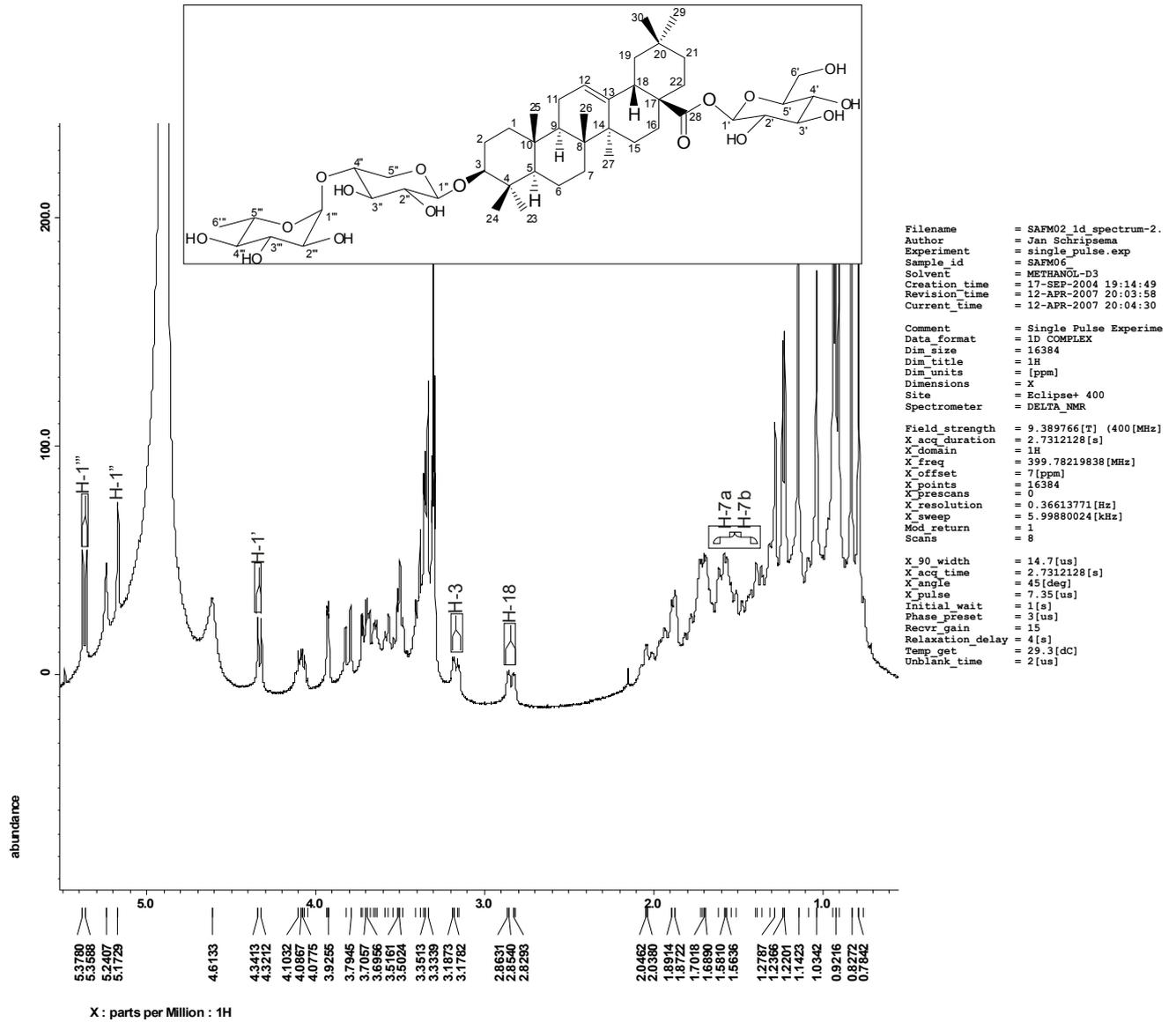
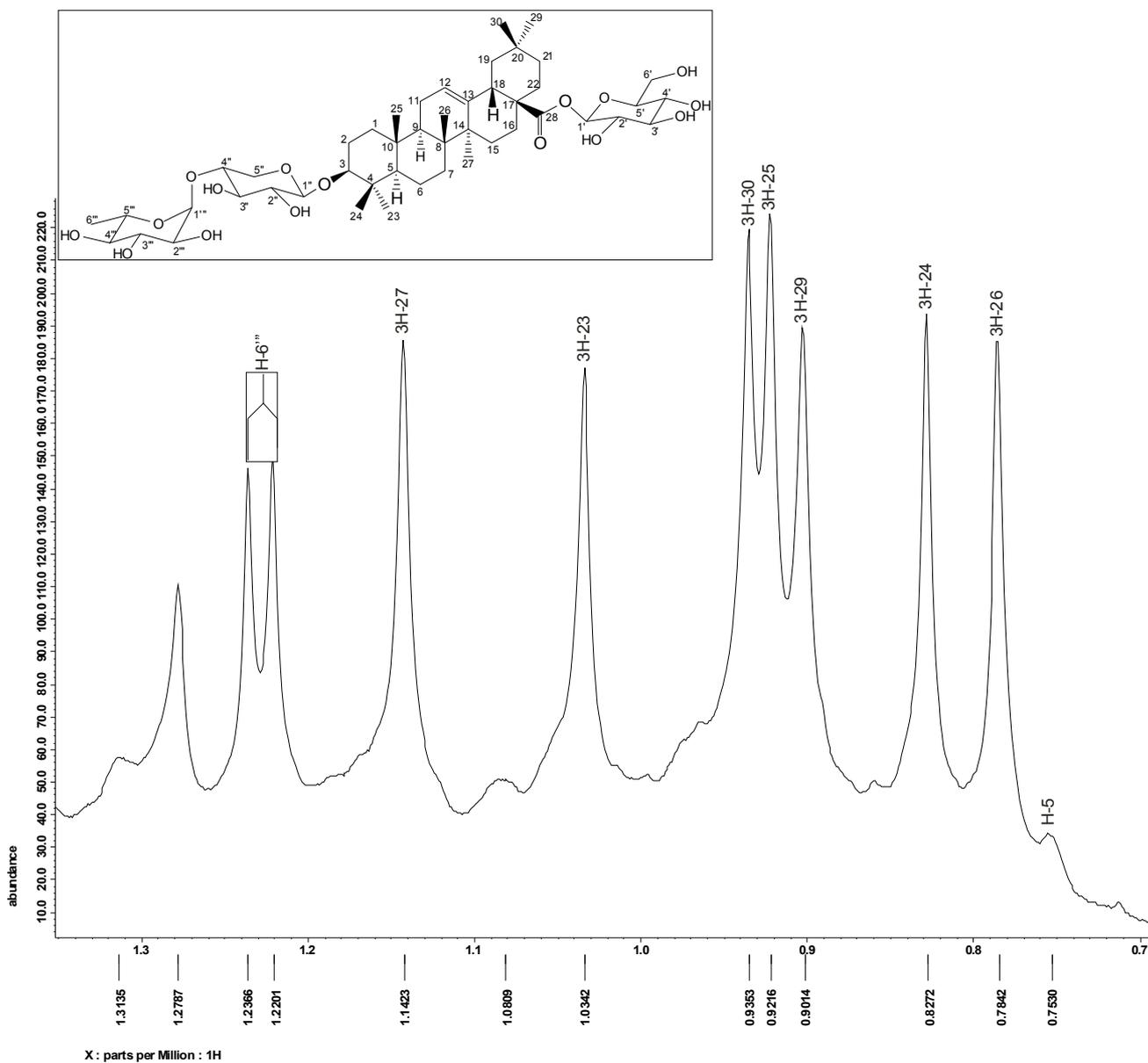
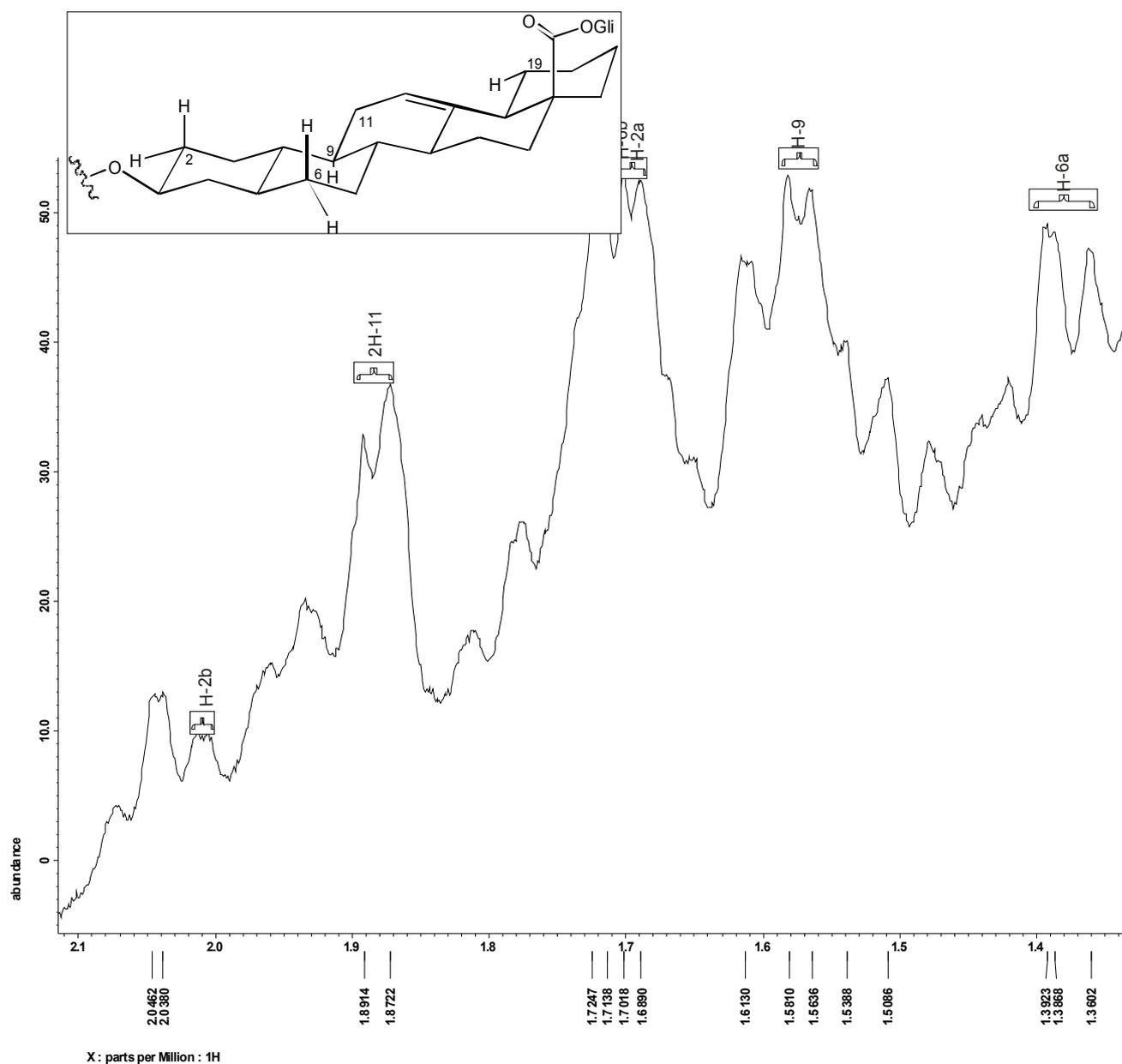


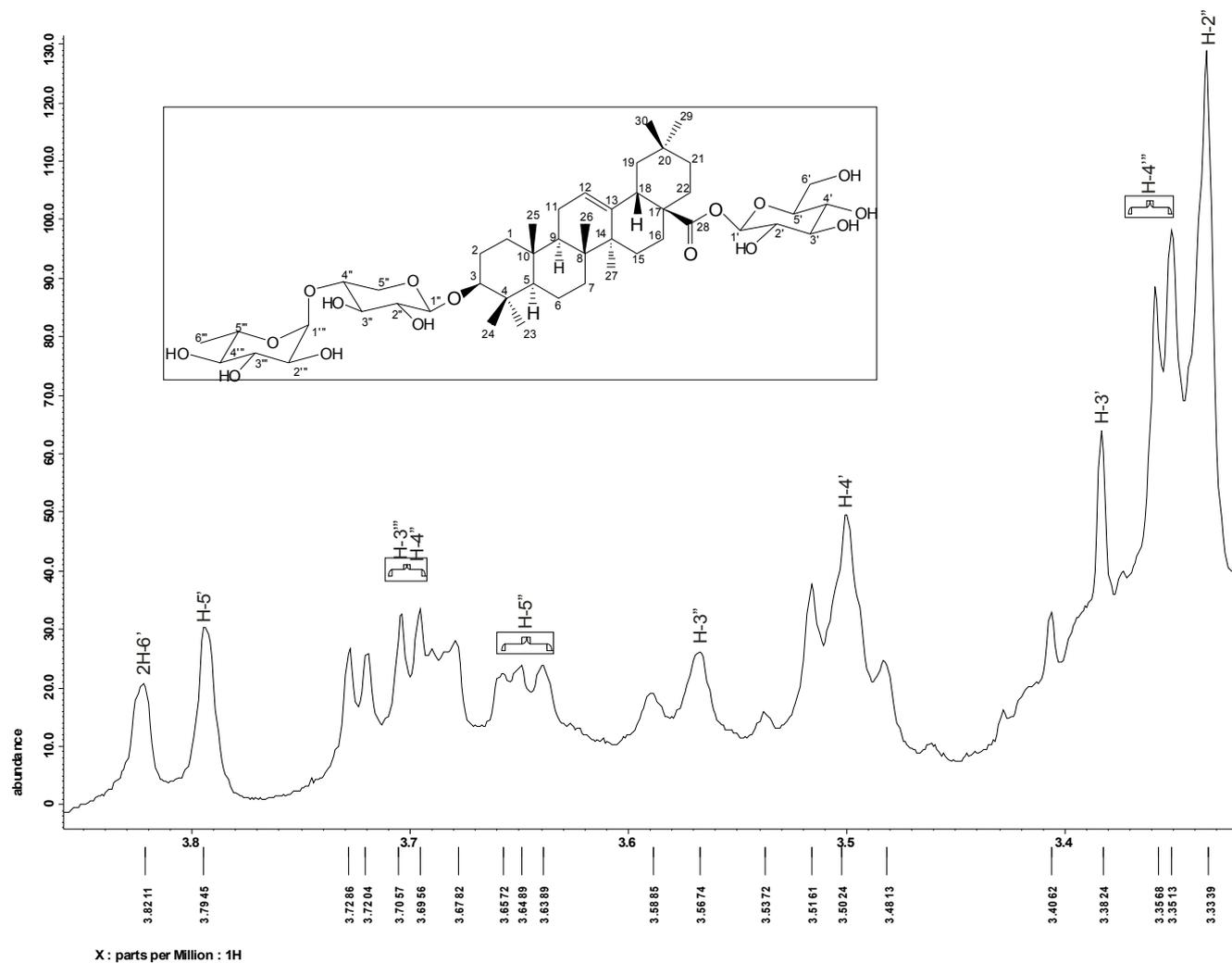
Figura 31 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-02



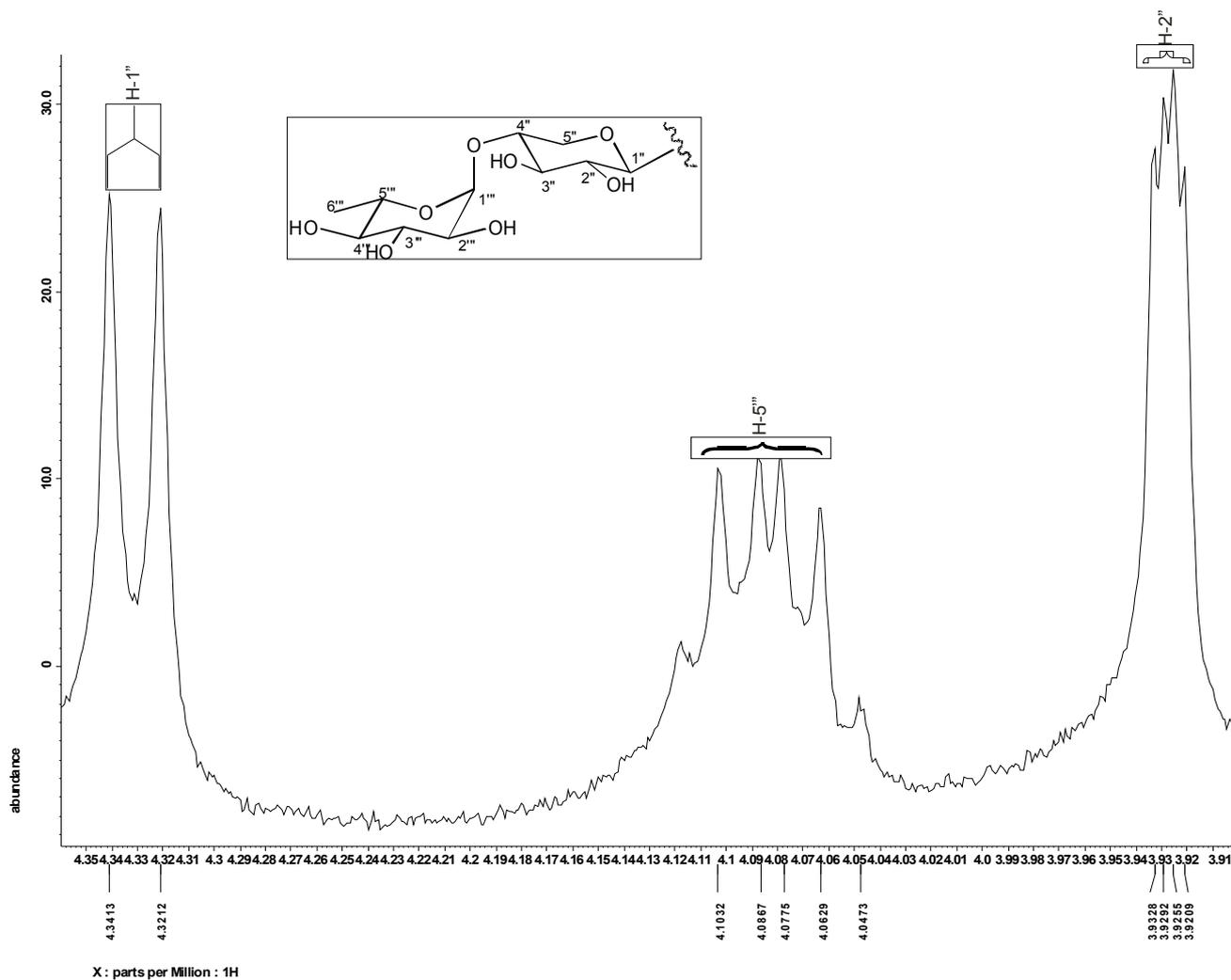
**Figura 32** - Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância SAFM-02  
(região de 0,7 a 1,4 ppm)



**Figura 33** – Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância SAFM-02  
(região de 1,3 a 2,1 ppm)



**Figura 34 -** Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-02 (região de 3,3 a 3,9 ppm)



**Figura 35** - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-02  
(região de 3,9 a 4,35 ppm)

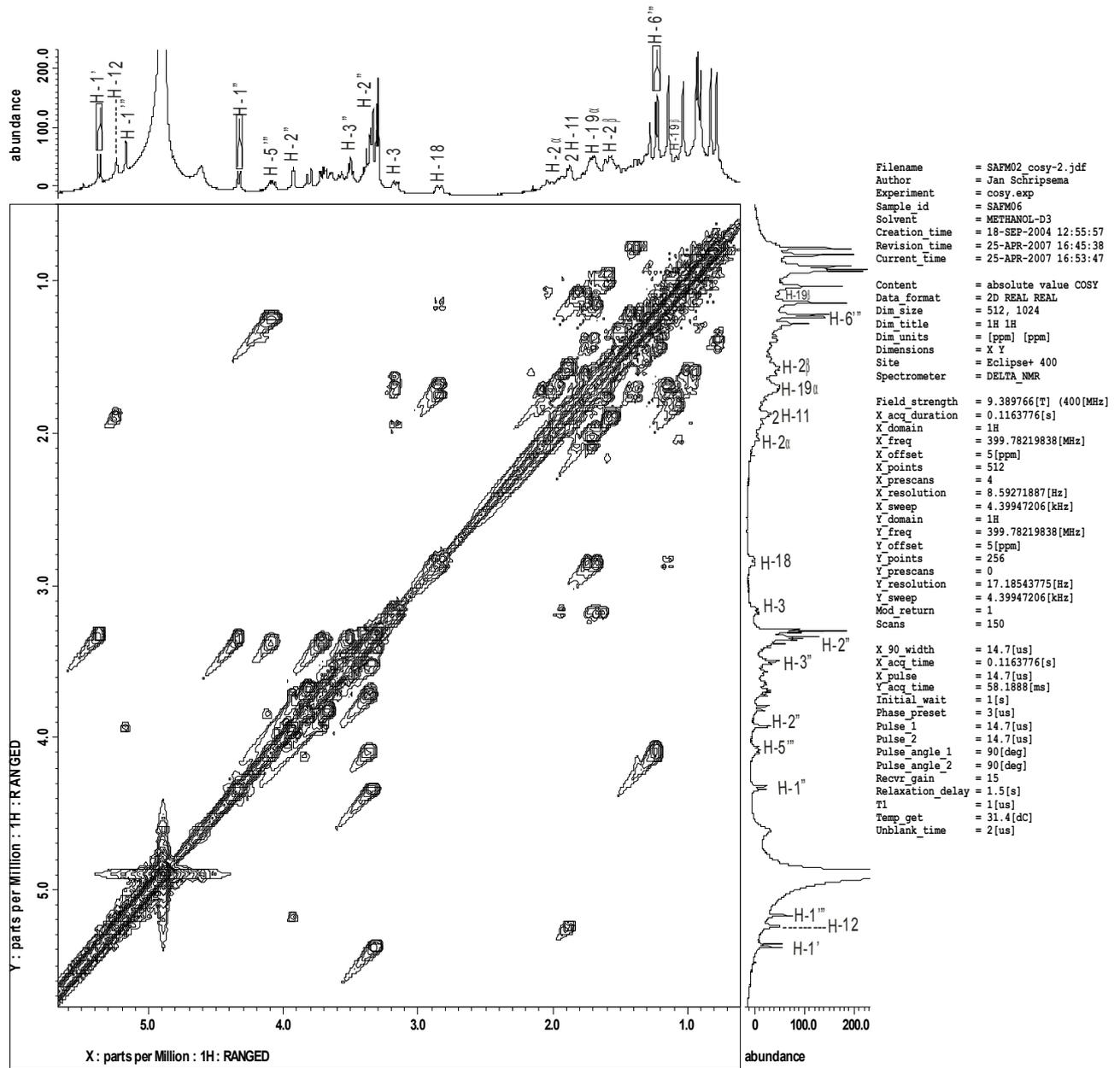


Figura 36 - Espectro de COSY ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ ) da substância SAFM-02

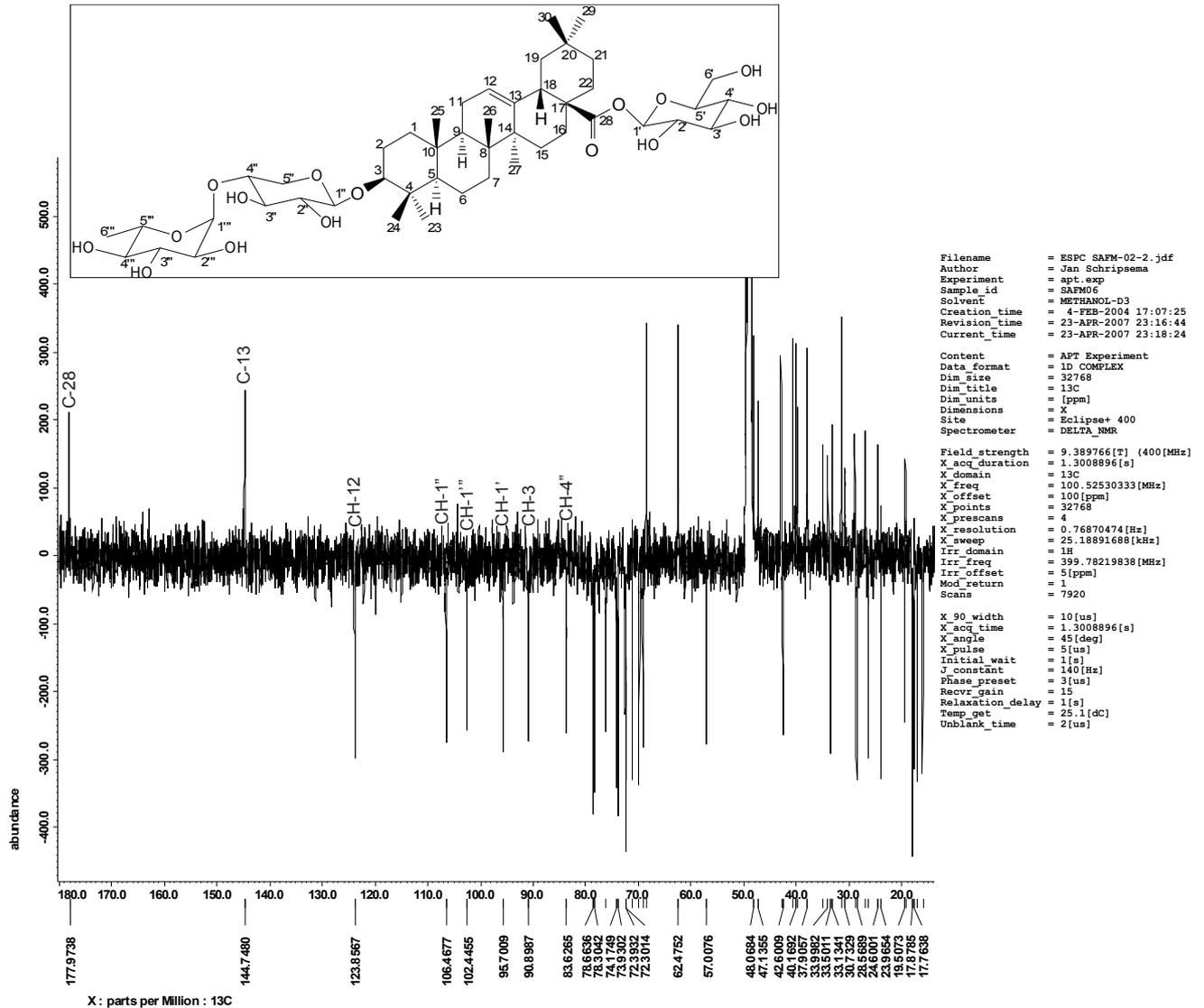
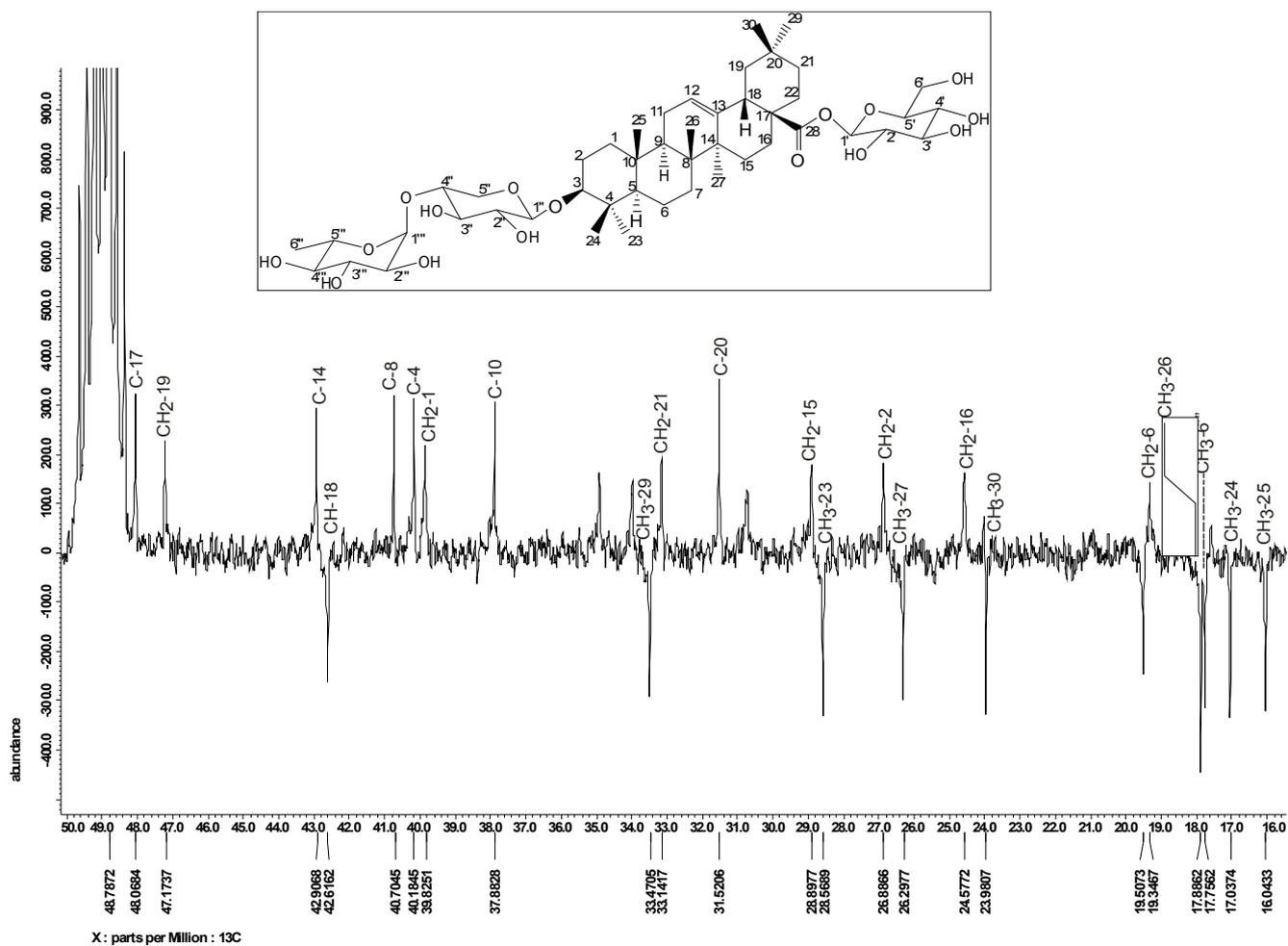
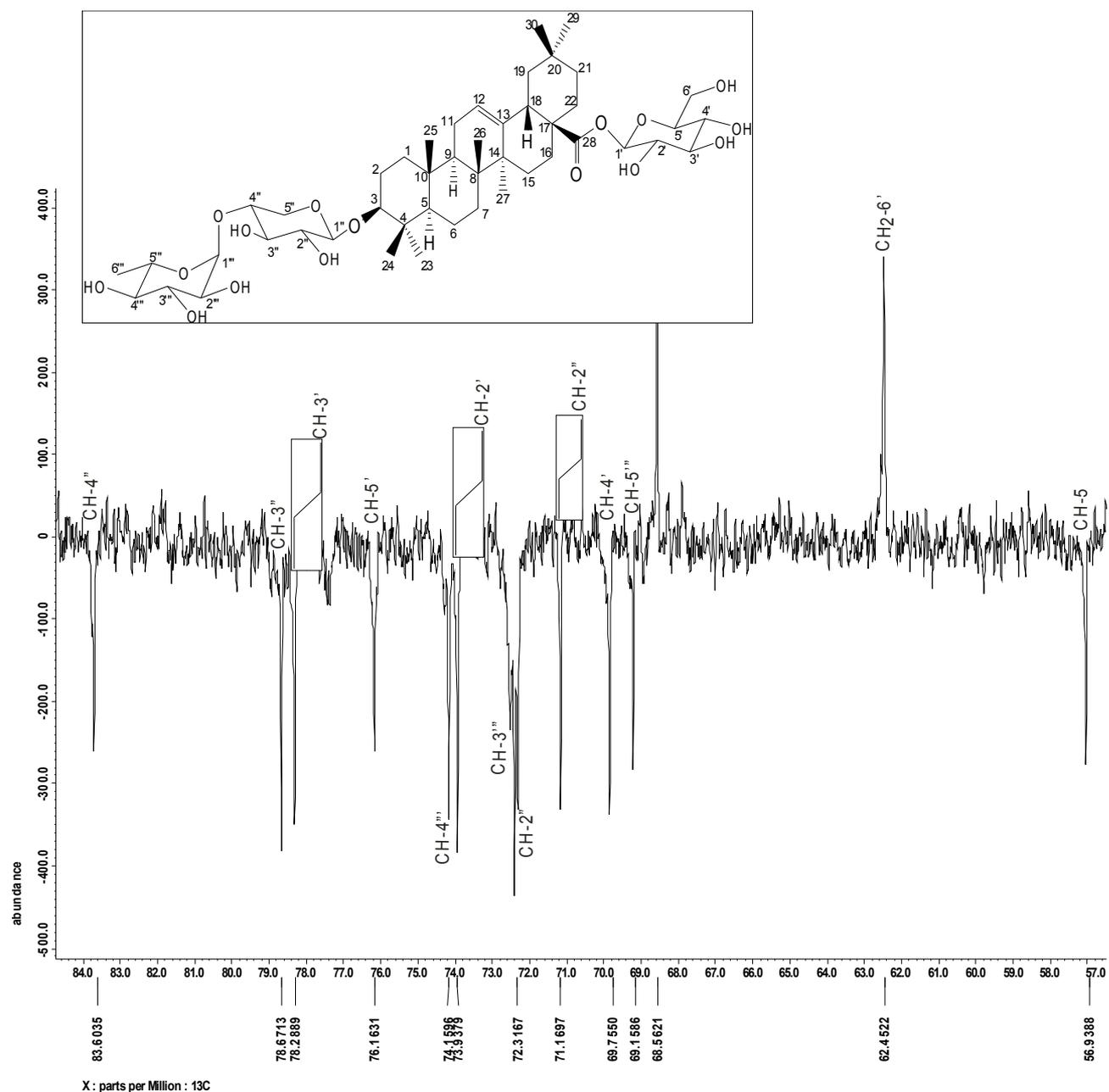


Figura 37 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAFM-02



**Figura 38** - Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância SAFM-02 (região de 16 a 50 ppm)



**Figura 39** - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAFM-02 (região de 57 a 84 ppm)

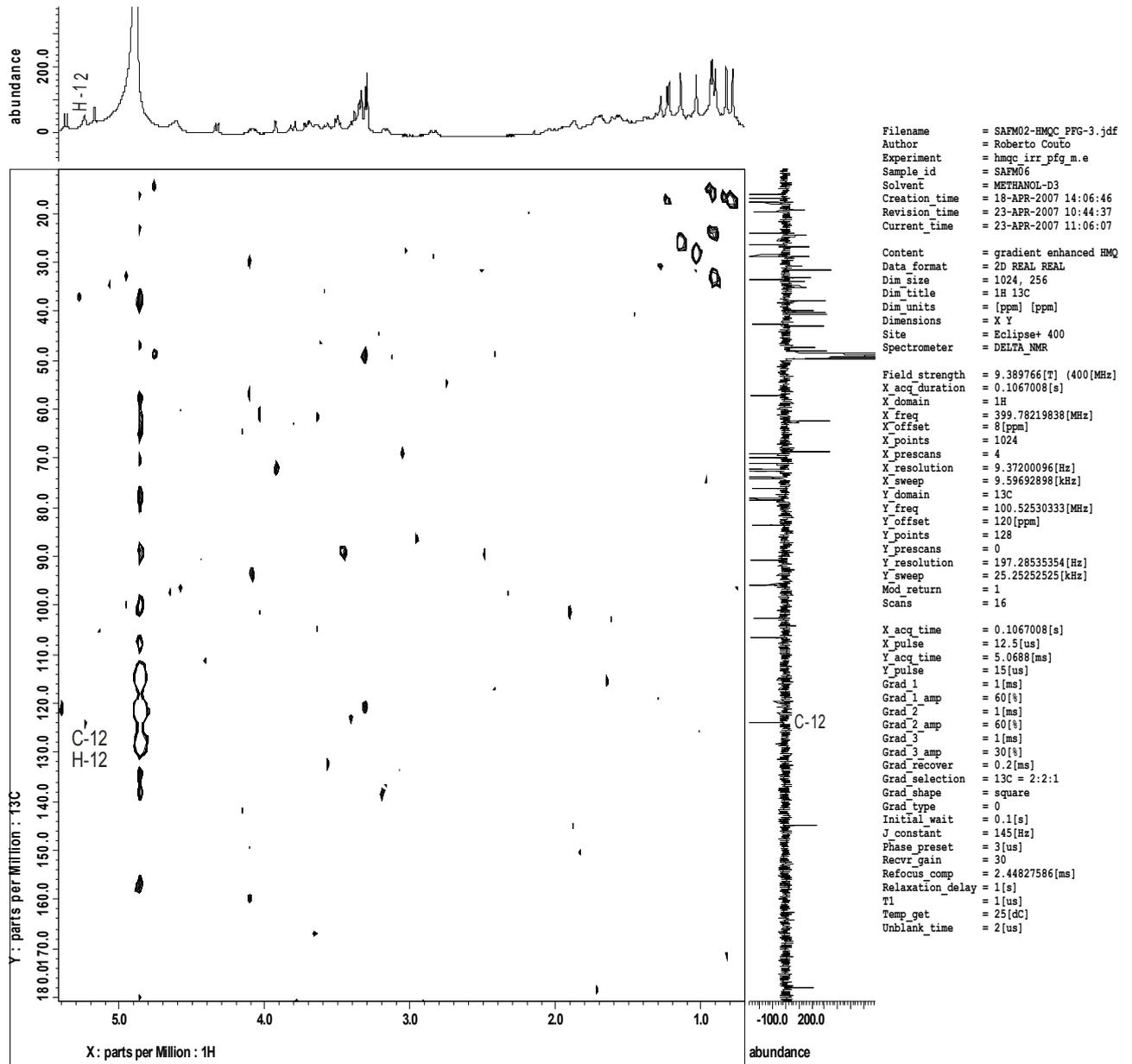
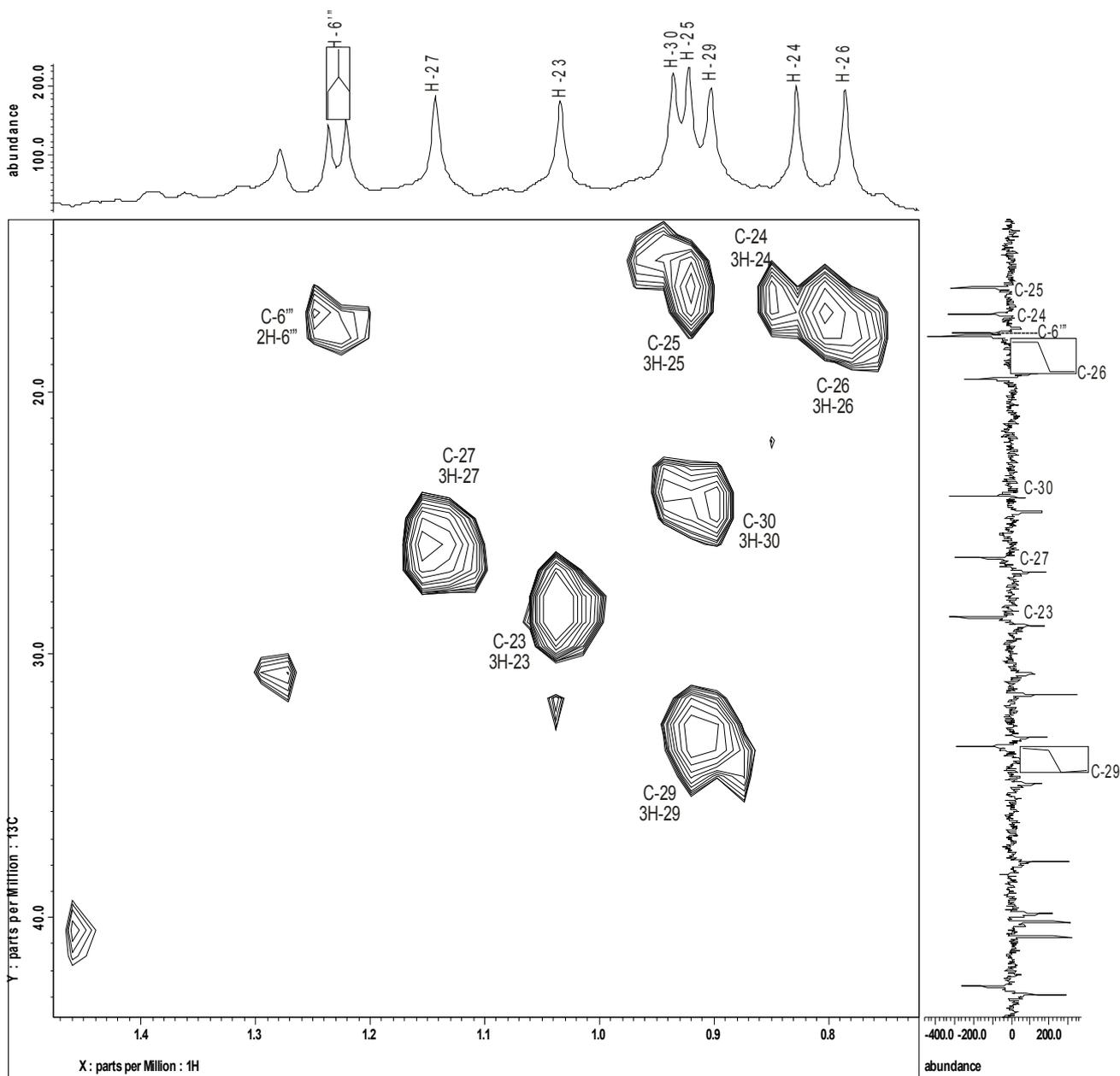


Figura 40 - Espectro de HMQC da substância SAFM-02



**Figura 41** - Ampliação do espectro de HMQC da substância SAFM-02 (região de 0,7 a 1,5 ppm)

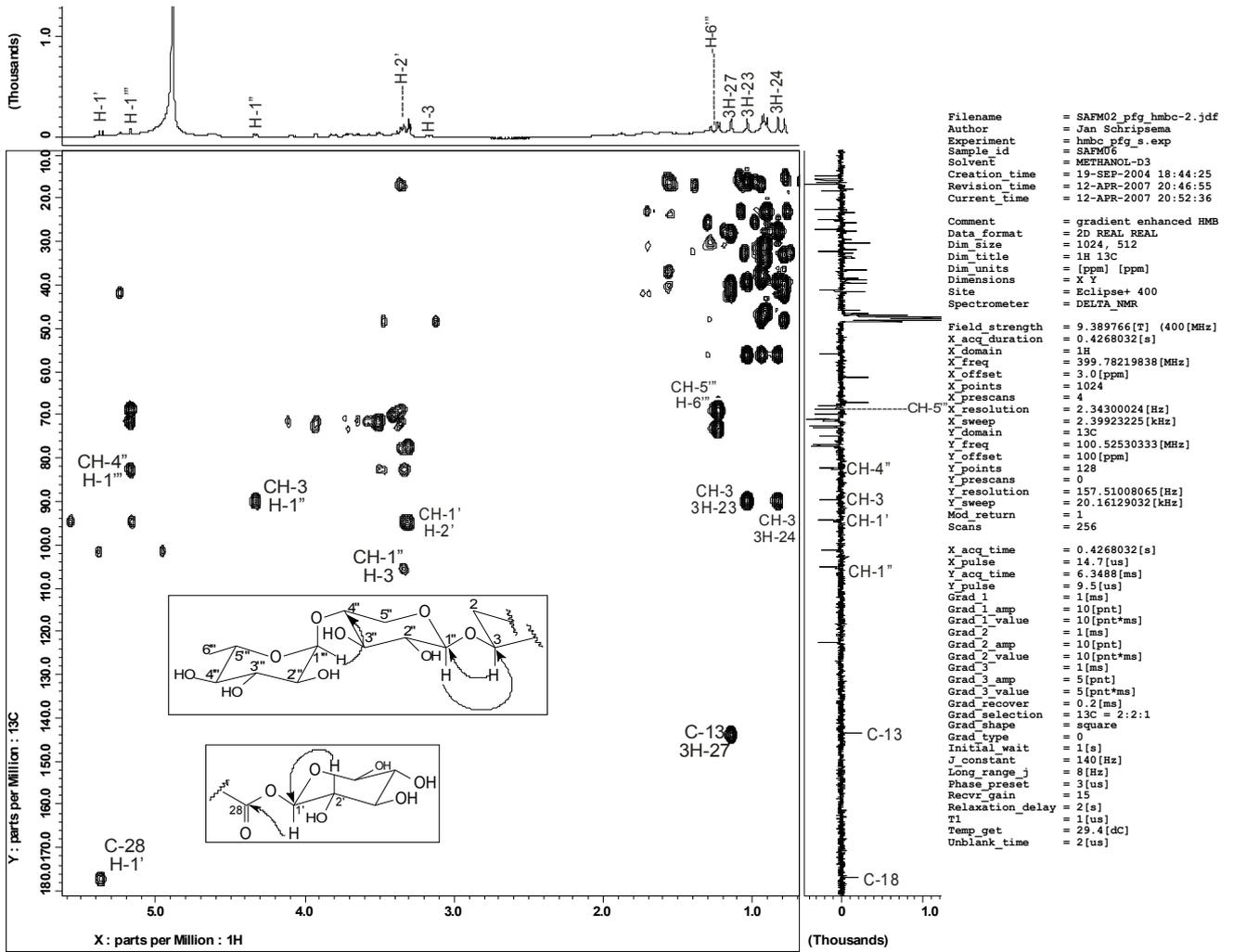


Figura 42 - Espectro de HMBC da substância SAFM-02

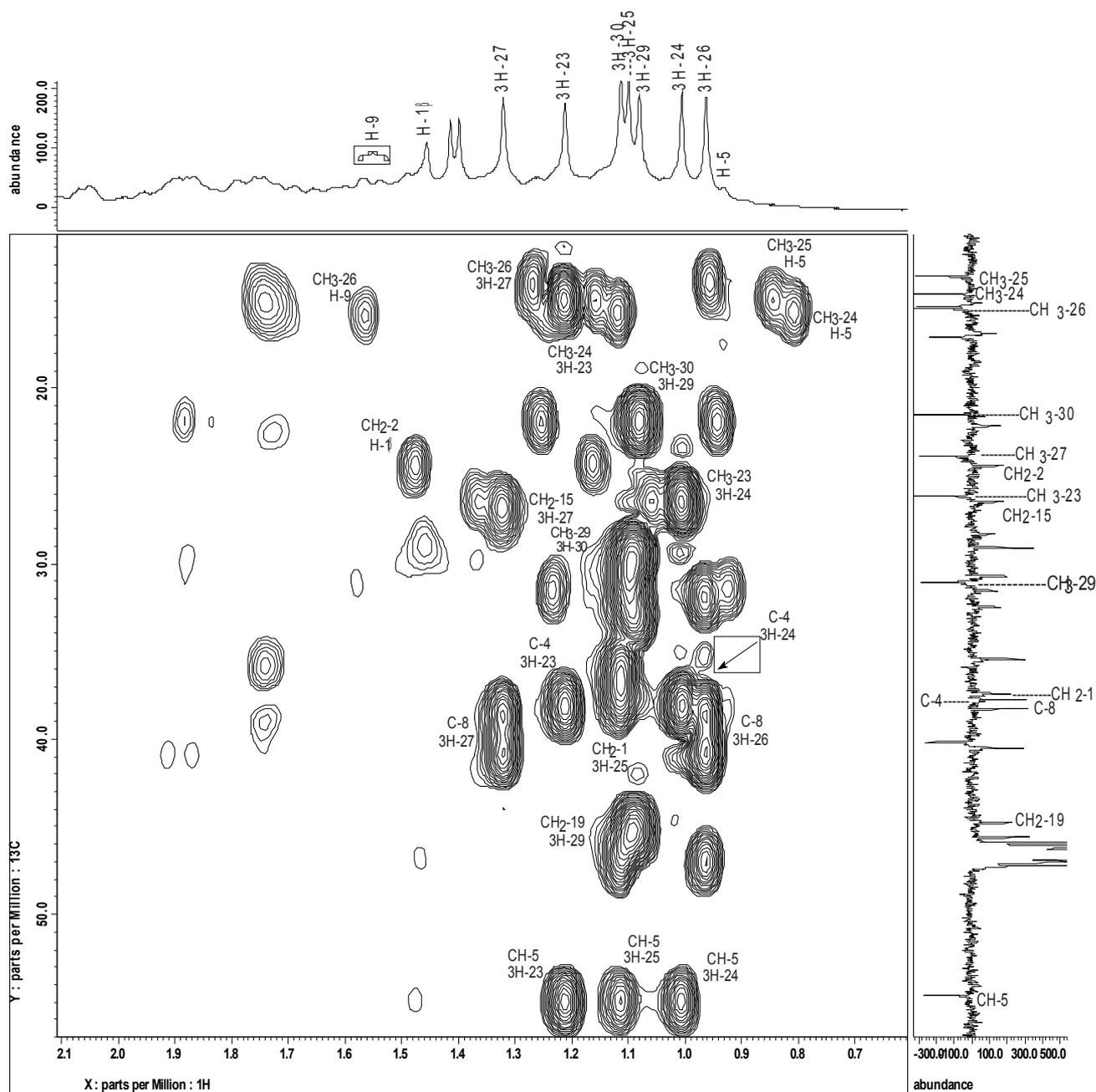


Figura 43 - Ampliação do espectro de HMBC da substância **SAFM-02**  
(região de 0,7 a 2,1 ppm)

### 3.1.3. Determinação Estrutural da substância **SAFM-03**.

O tratamento cromatográfico (CC-sílica silanizada) da sub-fração 7-19 oriunda da fração **FA** (Item 2.2.7.1, p. 30) forneceu uma substância que se apresentou como um sólido amarelo amorfo, solúvel em MeOH e com coloração verde escura na presença de solução alcoólica de cloreto férrico (Item 2.2.5.2, p. 28).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 44, p. 74), da substância **SAFM-03**, mostra forte absorção em  $3321\text{ cm}^{-1}$  correspondente a vibração da deformação axial de O-H, uma banda intensa de estiramento de grupo carbonila de cetonas em  $1614\text{ cm}^{-1}$  e uma banda a  $1506\text{ cm}^{-1}$  atribuída a carbonos (C=C) do anel aromático. As bandas em  $1176$  e  $1009\text{ cm}^{-1}$  correspondem a deformações axiais assimétrica e simétrica do sistema (C-O-C) de grupo éter respectivamente. (Agrawal, 1989 e Silverstein & Webster, 2000).

O espectro de massas (Figura 45, p. 75) da substância **SAFM-03** apresentou pico do íon molecular a  $m/z$  286. Este valor aliado às informações do espectro de RMN  $^1\text{H}$  permitiu deduzir a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ .

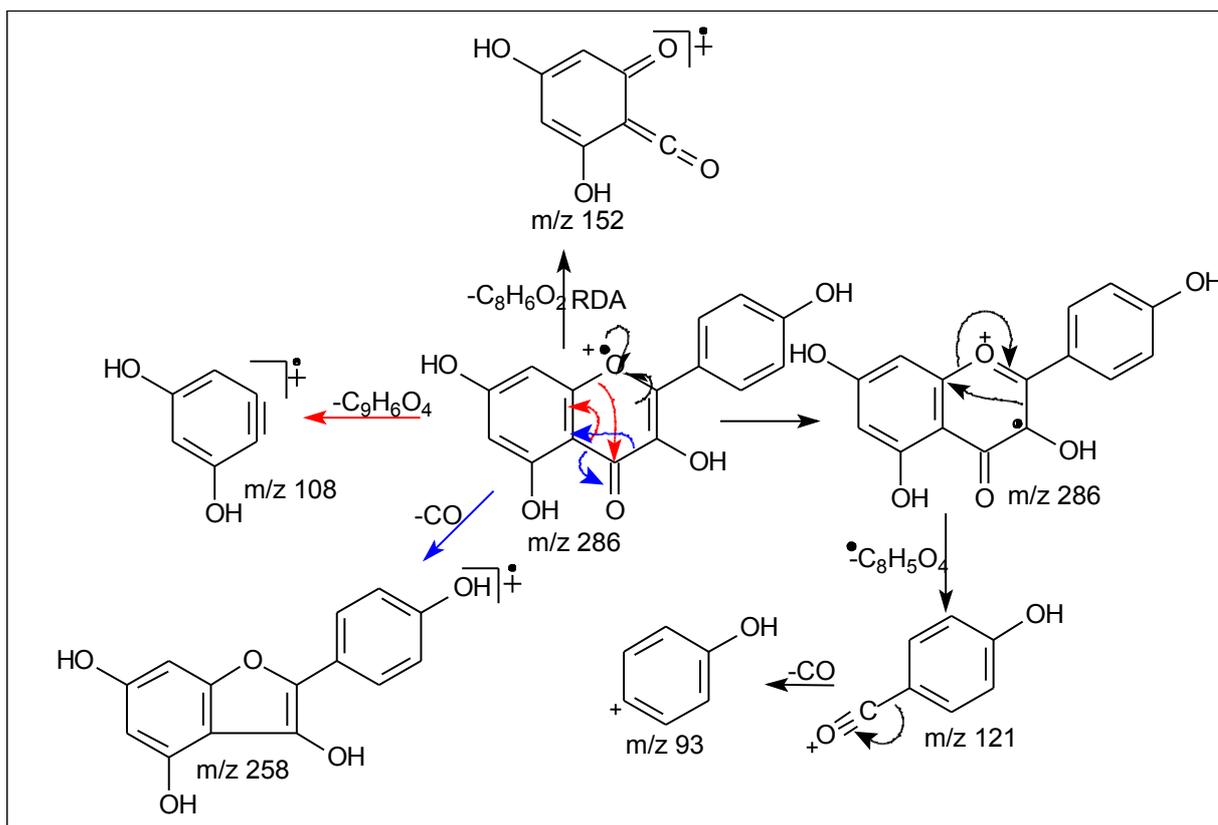
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 46, p. 76) apresenta sinais típicos de substituição para padrão de flavonol, evidenciado por dois sinais duplos e duplos sinais duplos em  $\delta_{\text{H}}$  [6,17 (*d*,  $J= 1,9$ ); 6,39 (*d*,  $J= 2,1$ )] que são característicos de hidrogênios com acoplamento *meta* no anel **A** de flavonóides.

Os sinais a  $\delta_{\text{H}}$  [8,08 (*dd*,  $J= 9,1; 2,2$ ) e 6,89 (*dd*,  $J= 9,1; 2,2$ )] são característicos de sistema **AA' BB'** do anel **B** do flavonol. A ausência de um sinal simples na região de  $\delta_{\text{H}}$  (6,3) que seria atribuído ao H-3 sugere para a substância **SAFM-03** a estrutura de um flavonol (Markham & Mabry, 1975). A análise desse resultado juntamente com os padrões de fragmentação do espectro de massas  $m/z$  152 e 108 [relativos a fragmentação retro Diels-Alder do anel **C** ( Budzikiewicz *et al.*, 1964)] e o sinal  $m/z$  258 (relativo a perda da carbonila do anel **C**), confirmam para **SAFM-03** a estrutura de um flavonol (Esquema 7, p. 72).

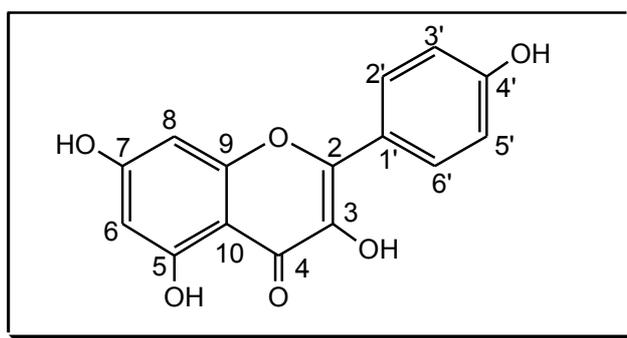
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Figura 47, p. 77) revelou a presença de quatro sinais de carbonos metínicos que estão de acordo com o padrão de substituição do anel **A** deste flavonol. O sistema **AA' BB'** do anel **B** está representado pelo deslocamento a  $\delta_{\text{C}}$  (129,30) para os CH-2'/6' e em  $\delta_{\text{C}}$  (115,02) para os CH-3'/5' que juntamente com os resultados obtidos no espectro de hidrogênio e massas confirmaram a identificação deste produto natural como sendo um flavonol onde o anel **A** encontra-se dissubstituído  $\delta_{\text{C}}$  [(93,12 CH-8) e (97,96 CH-6)] e o anel **B** monosubstituído  $\delta_{\text{C}}$  [129,30 (CH-2'/6') e 115,02 (CH-3'/5')]. Os sinais do anel heterocíclico **C** aparecem a  $\delta_{\text{C}}$  [147,19 (C-2); 134,96 (C-3) e 177,60 (C-4)]. Os carbonos C-5, C-7, C-9, C-10, C-1' e C-4' aparecem a  $\delta_{\text{C}}$  (160,49; 164,36; 156,97; 100,96; 122,43 e 159,48)

respectivamente. O conjunto desses dados, aliados a comparação com dados da literatura (Markham & Chari, 1976), confirmam que a substância **SAFM-03** corresponde ao flavonol (3, 5, 7,4'-tetraidroxiflavonol), conhecido como canferol.

A substância **SAFM-03** está sendo citada pela primeira vez no gênero *Swartzia*.



**Esquema 7 -** Propostas de fragmentação da substância **SAFM-03**



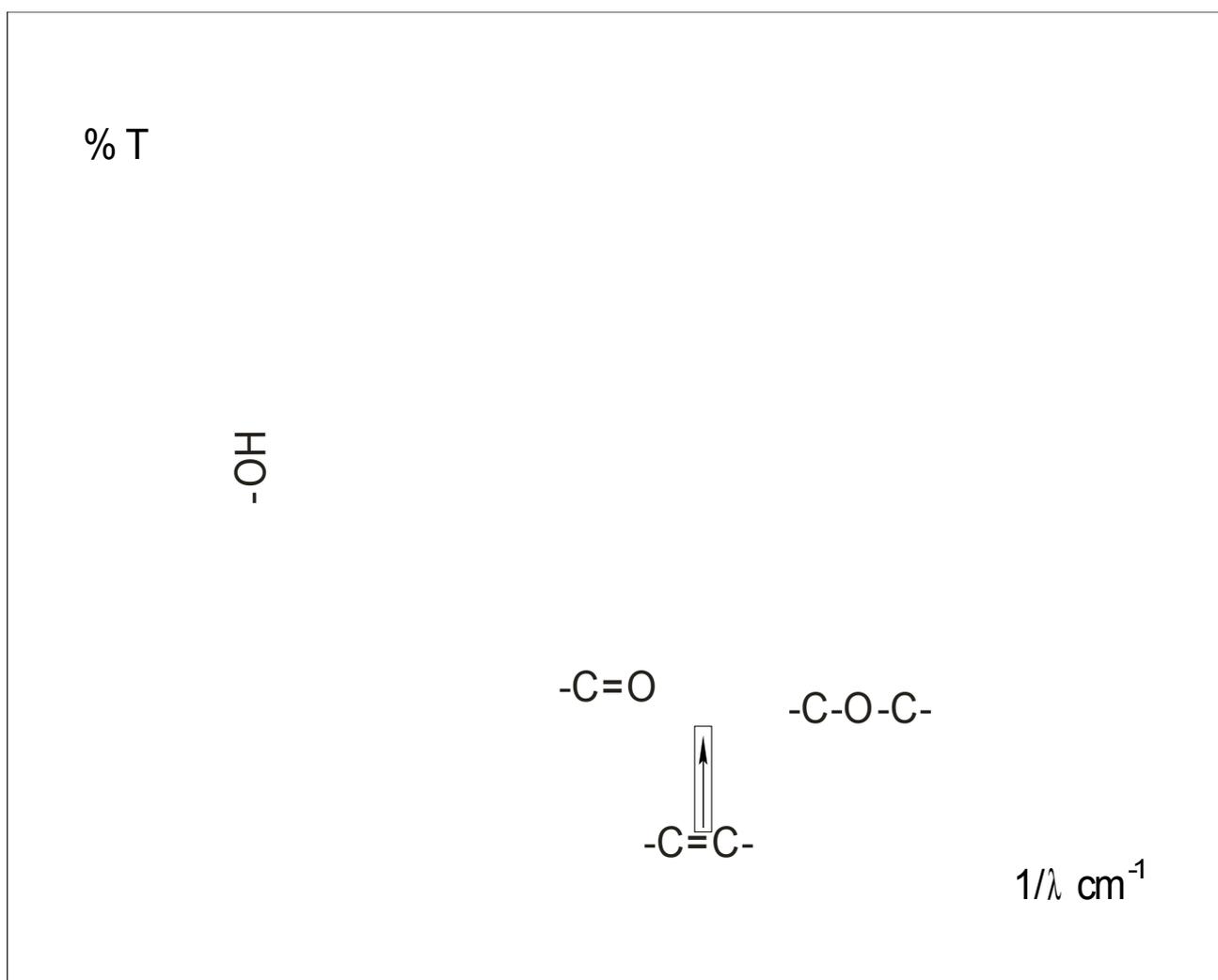
**Tabela 5 -** Dados espectrais de RMN <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H do flavonóide **SAFM-03** em CD<sub>3</sub>OD.

C	δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub> literatura (DMSO)	δ <sub>H</sub>
---	----------------	----------------------------------	----------------

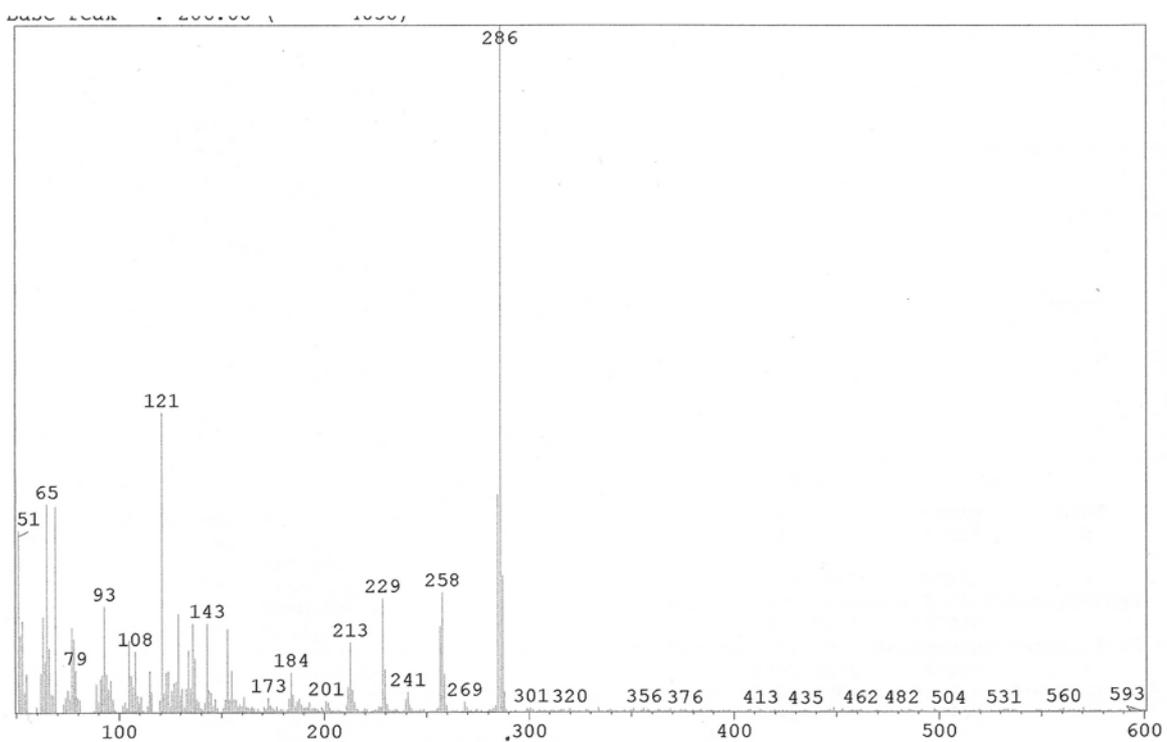
---

2	147,19	146,8	-
3	134,96	135,6	-
4	177,60	175,9	-
5	160,49	160,7	-
7	164,36	163,9	-
9	156,97	156,2	-
10	100,96	103,1	-
1'	122,43	121,7	-
4'	159,48	159,2	-
CH			
6	97,96	98,2	6,17 ( <i>d</i> , 1,9)
8	93,12	93,5	6,39 ( <i>d</i> , 2,1)
2'/6'	129,30	129,5	8,08 ( <i>d</i> , 9,1; 2,2)
3'/5'	115,02	115,4	6,89 ( <i>d</i> , 9,1; 2,2)

---



**Figura 44** - Espectro de infravermelho substância da SAFM-03

**Figura 45 - Espectro de massas da substância SAFM-03**

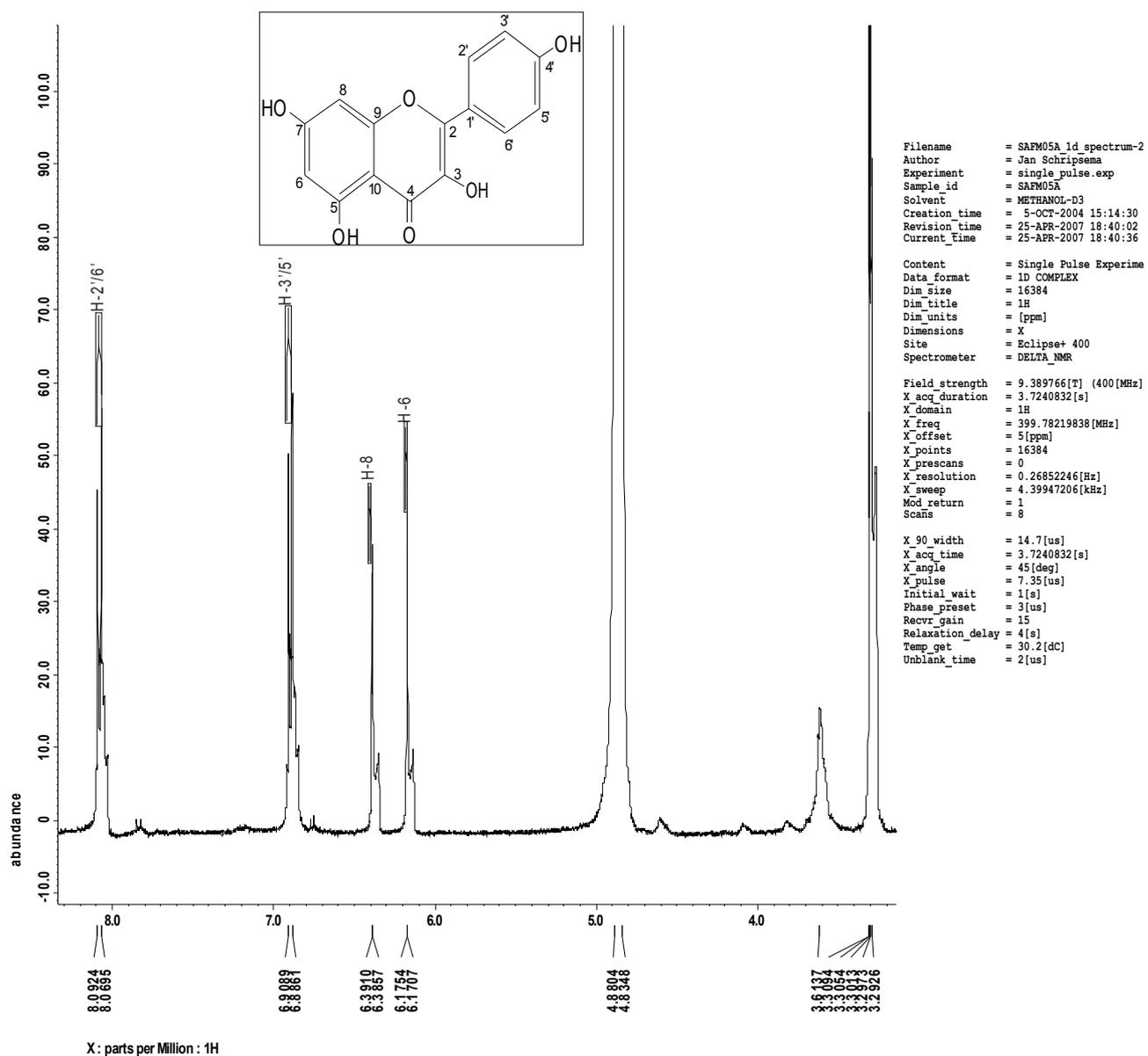


Figura 46 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-03

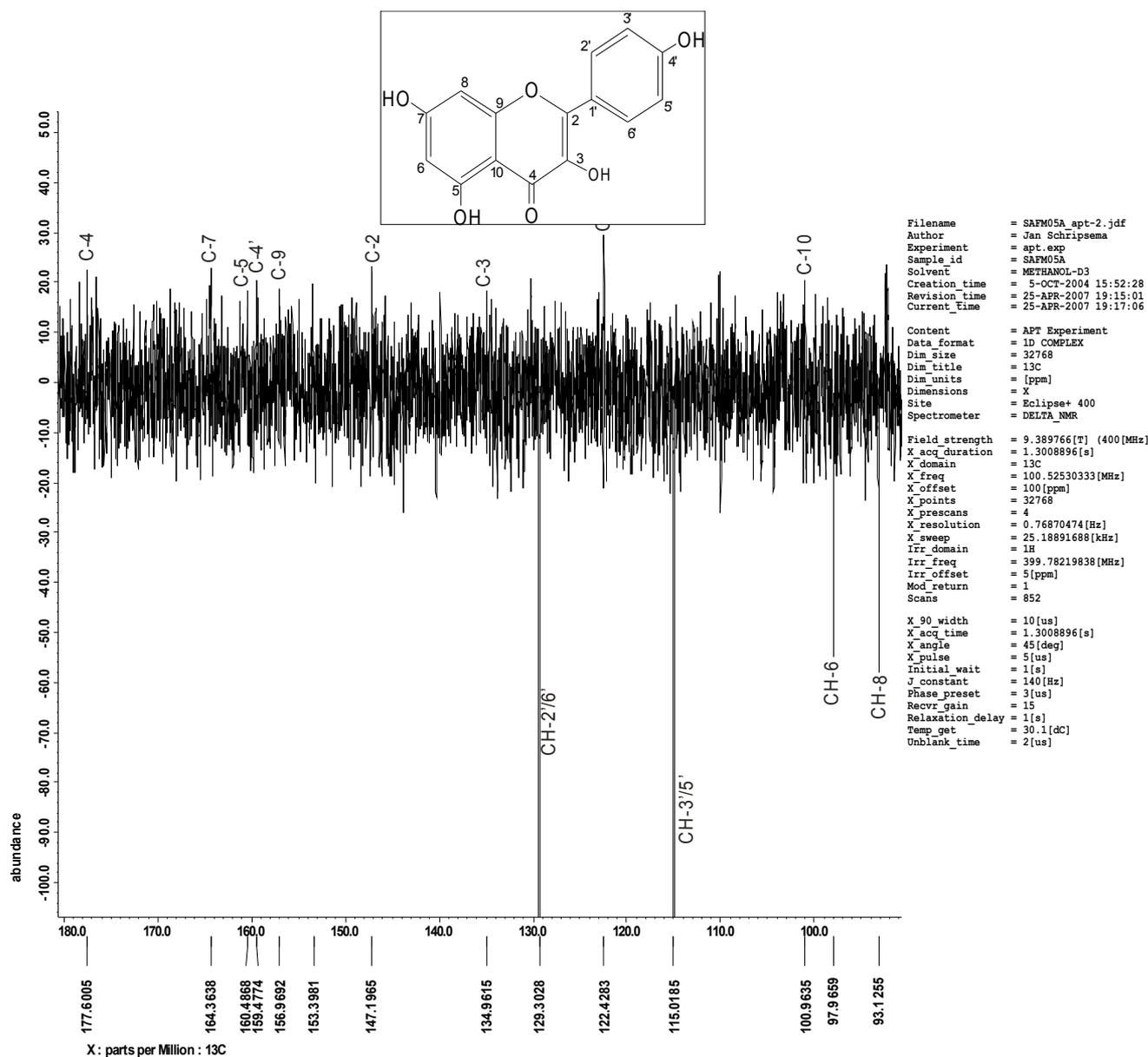


Figura 47 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAFM-03

### 3.1.4. Determinação estrutural da substância SAFM-04.

O tratamento cromatográfico (CC-Sephadex LH-20/MeOH) da sub-fração 20-25 oriunda da fração **FA** (Item 2.2.7.1, p. 30) forneceu uma substância que apresentou-se como um sólido amarelo amorfo, com faixa de fusão de 157-169 °C, solúvel em MeOH e com coloração verde escura na presença de solução alcoólica de cloreto férrico (Item 2.5.5.2, p. 28).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 49, p. 83), da substância **SAFM-04**, mostra forte absorção em 3392 cm<sup>-1</sup> correspondente a

vibração da deformação axial de O-H, uma banda em  $2933\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial de grupo metila, uma banda de estiramento de grupo carbonila de cetonas em  $1662\text{ cm}^{-1}$  e bandas a  $1608$  e  $1508\text{ cm}^{-1}$  atribuída a anéis aromáticos. As bandas em  $1209$  e  $1051\text{ cm}^{-1}$  correspondem a deformação axial assimétrica do sistema (C-O-C) de grupo éter. (Agrawal, 1989 e Silverstein & Webster, 2000).

O espectro de massas de alta resolução QTOF com análise em módulo negativo [M-H] (Figura 48, p. 82) da substância **SAFM-04** exibiu pico do íon molecular a  $m/z$  739,2065 apresentando para fórmula  $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$  uma margem de erro de apenas (2,84 ppm) em relação ao valor calculado de 740,2164 confirmando a formula para a substância.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do flavonol **SAFM-03** (Figura 46, p. 76; Tabela 5 p. 73) foi utilizada para comparação e, a partir deste, percebemos a existência de sinais adicionais na região de  $\delta_{\text{H}}$  (5,60-3,34) que sugerem a presença de resíduos de açúcar. Os sinais a  $\delta_{\text{H}}$  5,59 (1H, *d*,  $J = 7,5$ ), 5,21 (1H, *s*) e 4,49 (1H, *s*) foram atribuídos a hidrogênios anoméricos dos resíduos de açúcar. O valor elevado da constante de acoplamento do hidrogênio anomérico da glicose ( $J > 6\text{ Hz}$ ), permite sugerir um  $\beta$ -glicopiranosil. Os hidrogênios anoméricos dos resíduos de raminose aparecem como sinais simples sugerindo tratar-se de resíduos  $\alpha$ -raminosil (Figura 50-52, p. 84-86).

Na região de hidrogênios de anéis aromáticos observamos dois pares de sinais duplos a  $\delta_{\text{H}}$  [6,17 (*d*, 1,9) e 6,37 (*d*, 1,9)] atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-8 *meta* acoplados, característicos do anel **A** e  $\delta_{\text{H}}$  [8,05 (*d*, 9,1) e 6,89 (*d*, 8,8)] que foram atribuídos ao sistema **AA'BB'** dos hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5' do anel **B**. Esses dados mostram que o padrão de substituição dos anéis **A**, **B** e **C** são idênticos àqueles verificados para substância anterior **SAFM-03**.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Figuras 54-56, p. 88-90) apresentou 31 sinais sendo que 13 deles compatíveis com aglicona de esqueleto flavonoídico. Os deslocamentos químicos a  $\delta_{\text{C}}$  [179,40 (atribuído a carbonila de cetona C-4 em ligação de hidrogênio com a hidroxila HO-5); 158,68 e 134,46 atribuídos aos carbonos C-2 e C-3 do anel heterocíclico **C**]. Para o anel **A** foram observados os sinais a  $\delta_{\text{C}}$  [99,74 e 94,66 (atribuídos aos carbonos metínicos CH-6 e CH-8) e 163,07; 165,55; 158,39 e 105,85 (atribuídos aos carbonos não hidrogenados C-5, C-7, C-9 e C-10)]. Para o anel **B** foram observados os sinais

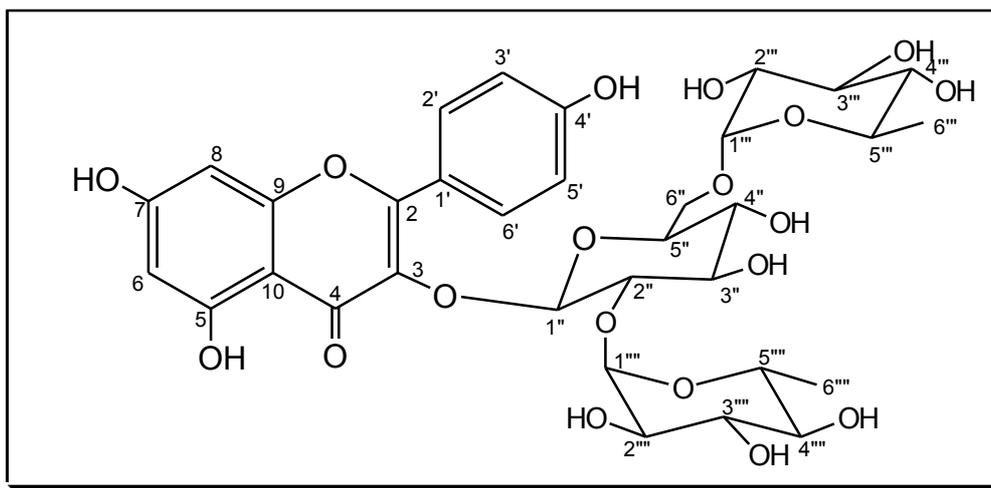
a  $\delta_C$  [132,17 e 116,15 (atribuídos ao sistema **AA'BB'** dos carbonos metínicos CH-2'/6' e CH-3'/5') e 123,05 e 161,27 (atribuídos aos carbonos não hidrogenados C-1' e C-4')]. Os 18 sinais restantes foram atribuídos aos três resíduos de açúcar. Os sinais observados a  $\delta_C$  (100,84; 102,56 e 101,80) foram atribuídos aos carbonos anoméricos CH-1", CH-1'" e CH-1'''' respectivamente. Os sinais a  $\delta_C$  (17,47 e 17,93) foram atribuídos aos carbonos metílicos CH<sub>3</sub>-6'''/6'''' dos resíduos de raminose e o sinal a  $\delta_C$  (67,12) foi atribuído ao carbono metilênico CH<sub>2</sub>-6'' do resíduo de glicose.

O mapa correlação heteronuclear a uma ligação HMQC ( $^1J_{CH}$ ) (Figuras 57-58, p. 91-92) permitiu confirmar a atribuição feita para o CH-6  $\delta_C$  (99,74) através da correlação com o hidrogênio H-6  $\delta_H$  (6,17); do carbono CH-8  $\delta_C$  (94,66) com o hidrogênio H-8  $\delta_H$  (6,37); do carbono CH-3'/5'  $\delta_C$  (116,15) com os hidrogênios H-3'/5'  $\delta_H$  (6,89), do carbono CH-1"  $\delta_C$  (100,84) com o hidrogênio H-1"  $\delta_H$  (5,59), do carbono CH-1'"  $\delta_C$  (102,56) com o hidrogênio H-1'"  $\delta_H$  (5,21) e do carbono CH-1''''  $\delta_C$  (101,80) com o hidrogênio H-1''''  $\delta_H$  (4,49).

O mapa de correlação heteronuclear a longa distância HMBC ( $^nJ_{CH}$ , n=2 e n=3) permitiu, confirmar inequivocamente os pontos de ligação dos resíduos de açúcar através das seguintes correlações: C-3  $\delta_C$  (134,46) com o H-1"  $\delta_H$  5,59 (*d*, *J*= 7,5); o CH-1'"  $\delta_C$  (102,56) com o H-2"  $\delta_H$  (3,88) e o CH<sub>2</sub>-6''  $\delta_C$  (67,12) com o H-1''''  $\delta_H$  (4,49). As demais correlações encontradas para a molécula estão resumidas nas figuras 59-60, p. 93-94.

Com base na discussão acima, e dos dados descritos na literatura (Markham & Chari, 1976) foi proposto para a substância **SAFM-04** a estrutura da 5,7,4'-trihidroxi-3-*O*- $\beta$ -*D*-glicopiranosil-(1''''  $\rightarrow$  6'')- $\alpha$ -*O*-*L*-raminopiranosil-(1''''  $\rightarrow$  2''')- $\alpha$ -*O*-*L*-raminopiranosil-flavonol.

Pelo melhor do nosso conhecimento, a substância **SAFM-04** está sendo citada pela primeira vez na literatura.



**Tabela 6** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do flavonóide **SAFM-04** em  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Markham & Chari, 1976)	$\delta_{\text{H}}$
2	158,68	156,6	-
3	134,46	133,5	-
4	179,40	177,5	-
5	163,07	161,3	-
7	165,55	164,2	-
9	158,36	156,9	-
10	105,85	104,2	-
1'	123,05	121,1	-
4'	161,27	159,9	-
<b>CH</b>			
6	99,74	98,8	6,17 (s)
8	94,66	93,8	6,37 (s)
2'/6'	132,17	130,9	8,05 (d, 9,1)
3'/5'	116,15	115,2	6,89 (d, 8,8)

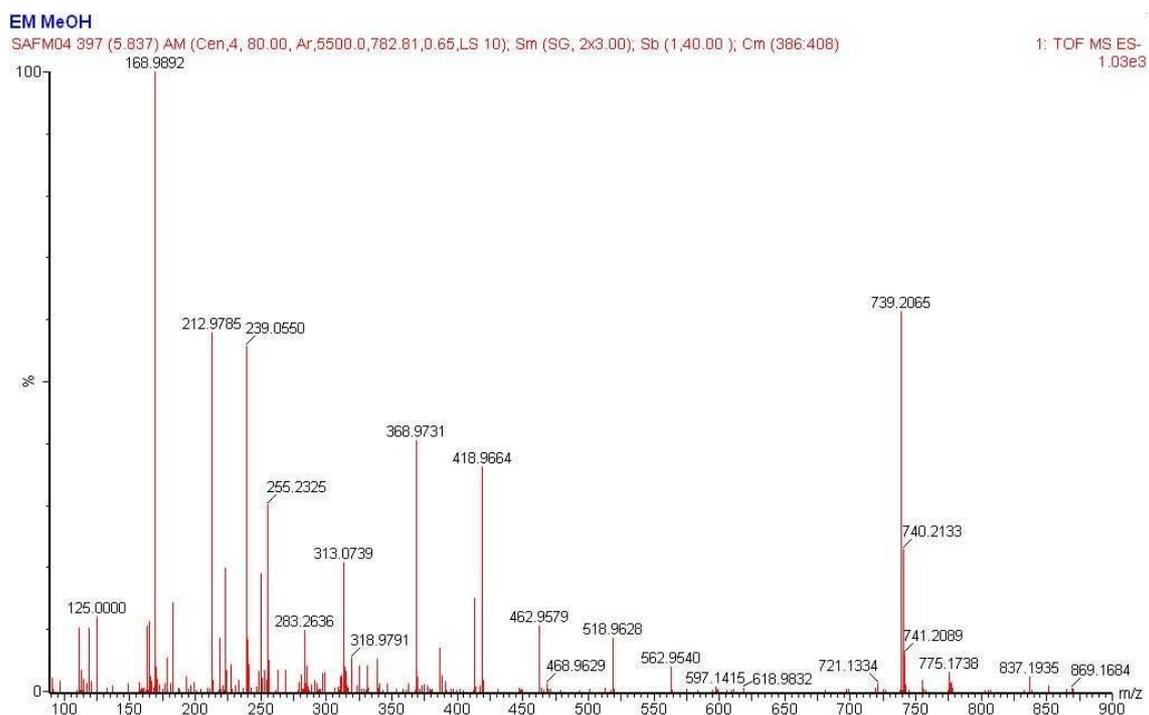
**Tabela 6'** - Dados espectrais das unidades glicosídicas do flavonóide **SAFM-04**.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Pizzolatti <i>et al.</i> , 2003)	$\delta_{\text{H}}$
1''	100,84	101,4	5,59 (d, 7,5)
2''	77,54	81,5	3,88 (m)
3''	75,68	77,5	3,78 (m)
4''	69,83	71,9	3,72 (m)
5''	75,23	77,7	3,64 (t, 6,4)
6''	67,12	63,3	3,72; 3,44 (m)
1'''	102,56	101,8	5,21 (s)
2'''	72,27	72,6	3,92 (dd, 9,2; 7,8)
3'''	72,36	71,8	3,69
4'''	74,04	73,8	3,34 (t, 9,6)
5'''	70,70	71,5	3,99 (m)

---

6'''	17,93	17,1	0,97 ( <i>d</i> , 5,8)
1''''	101,80		4,51 ( <i>s</i> )
2''''	72,05		3,57 ( <i>m</i> )
3''''	72,31		3,52
4''''	73,86		3,24
5''''	69,68		3,51 ( <i>m</i> )
6''''	17,47		1,17 ( <i>d</i> , 6,5)

---



**Figura 48 - Espectro de massas da substância SAFM-04**



**Figura 49** - Espectro de infravermelho da substância **SAFM-04**

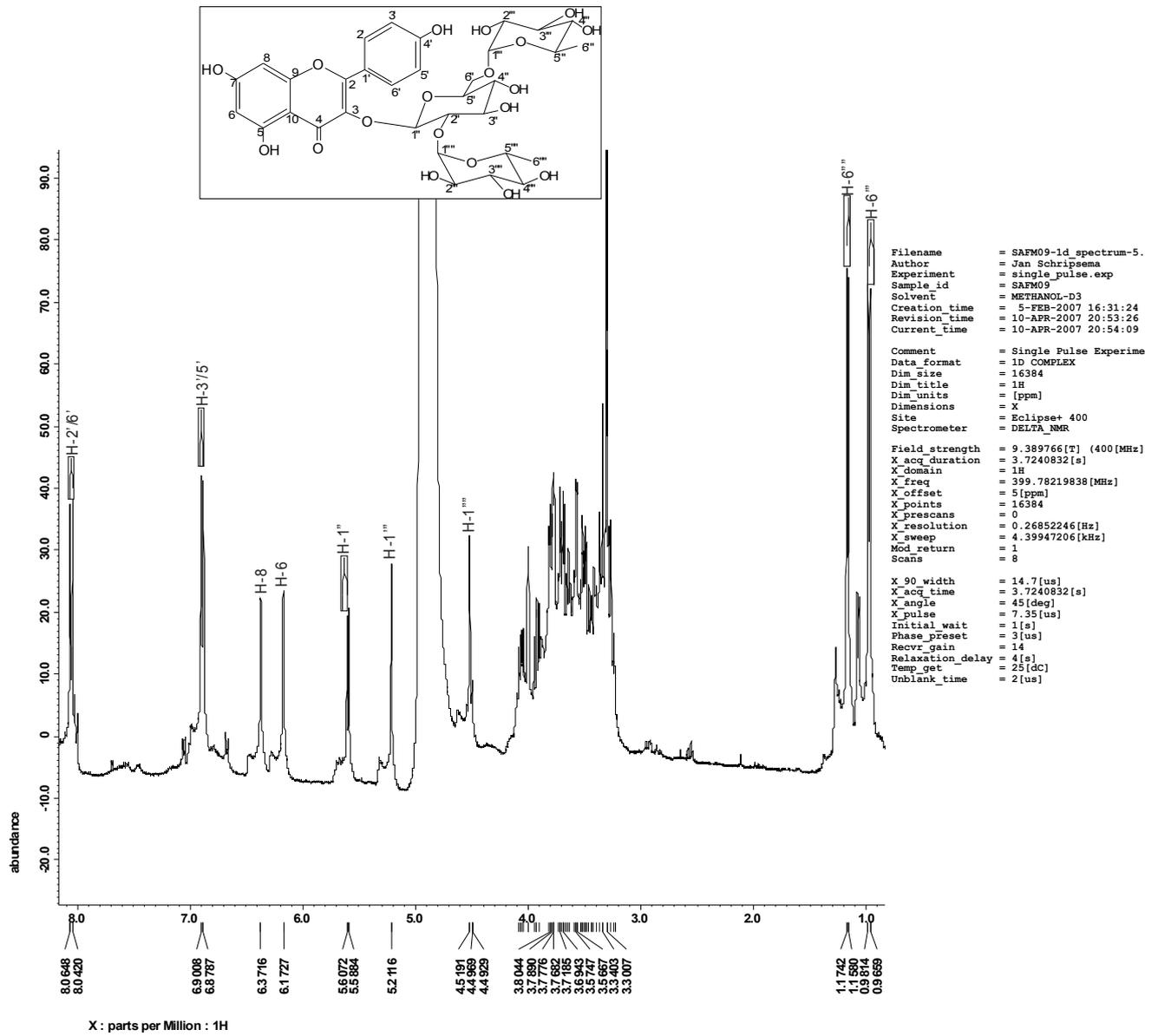
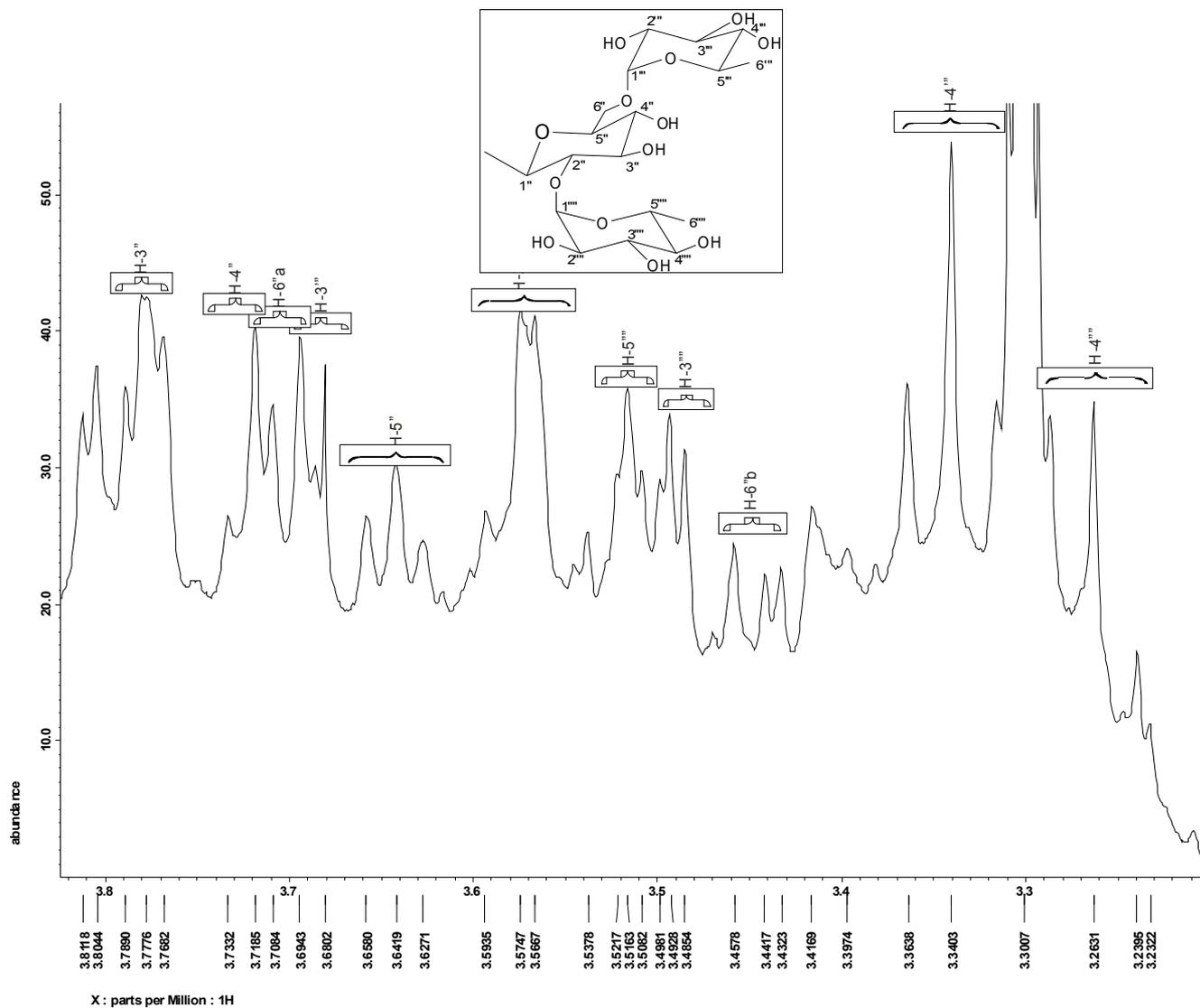
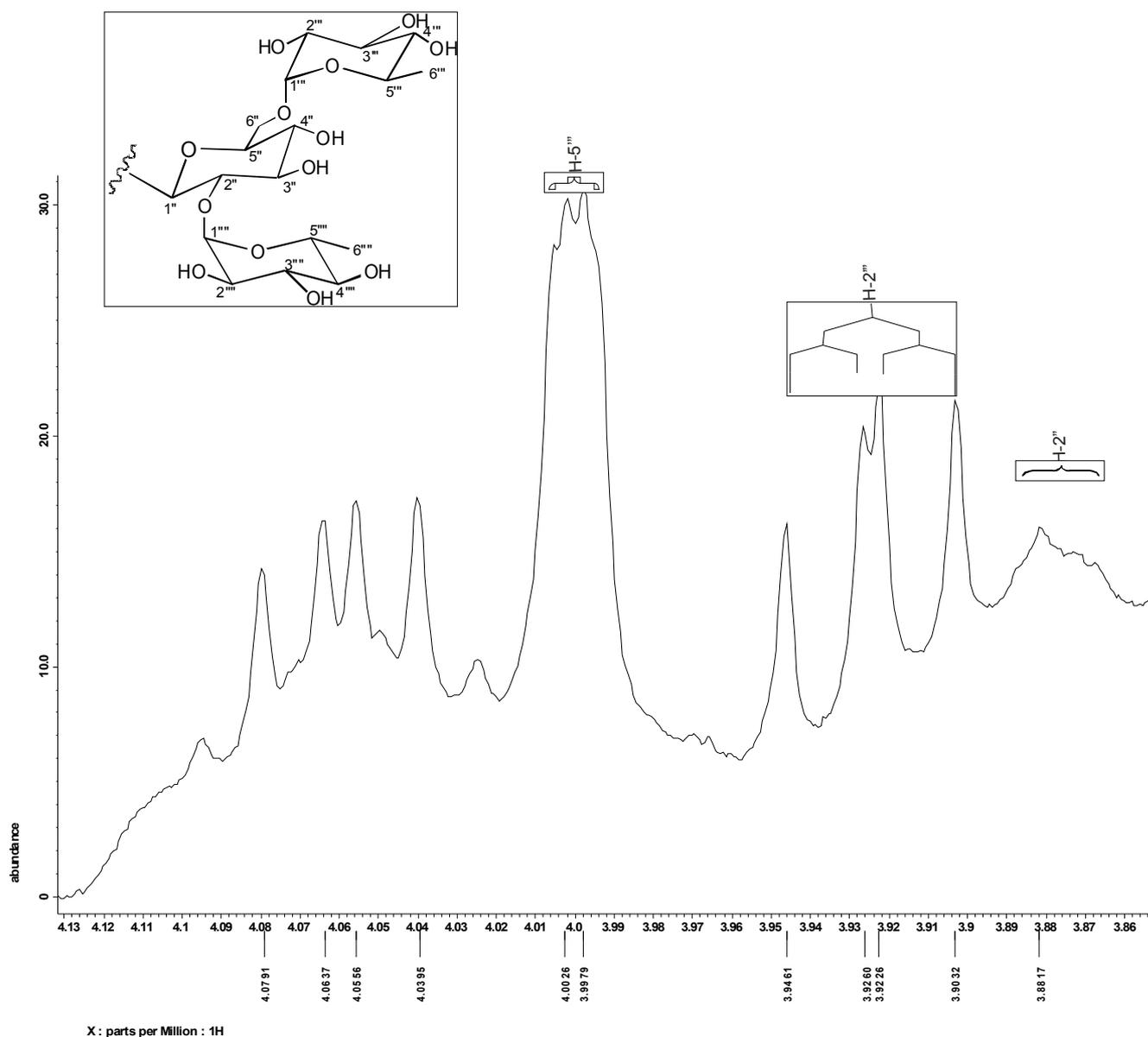


Figura 50 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-04



**Figura 51** – Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAFM-04 (região de 3,2 a 3,81 ppm)



X : parts per Million : 1H

Figura 52 - Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância SAFM-04

(região de 3,86 a 4,13 ppm)

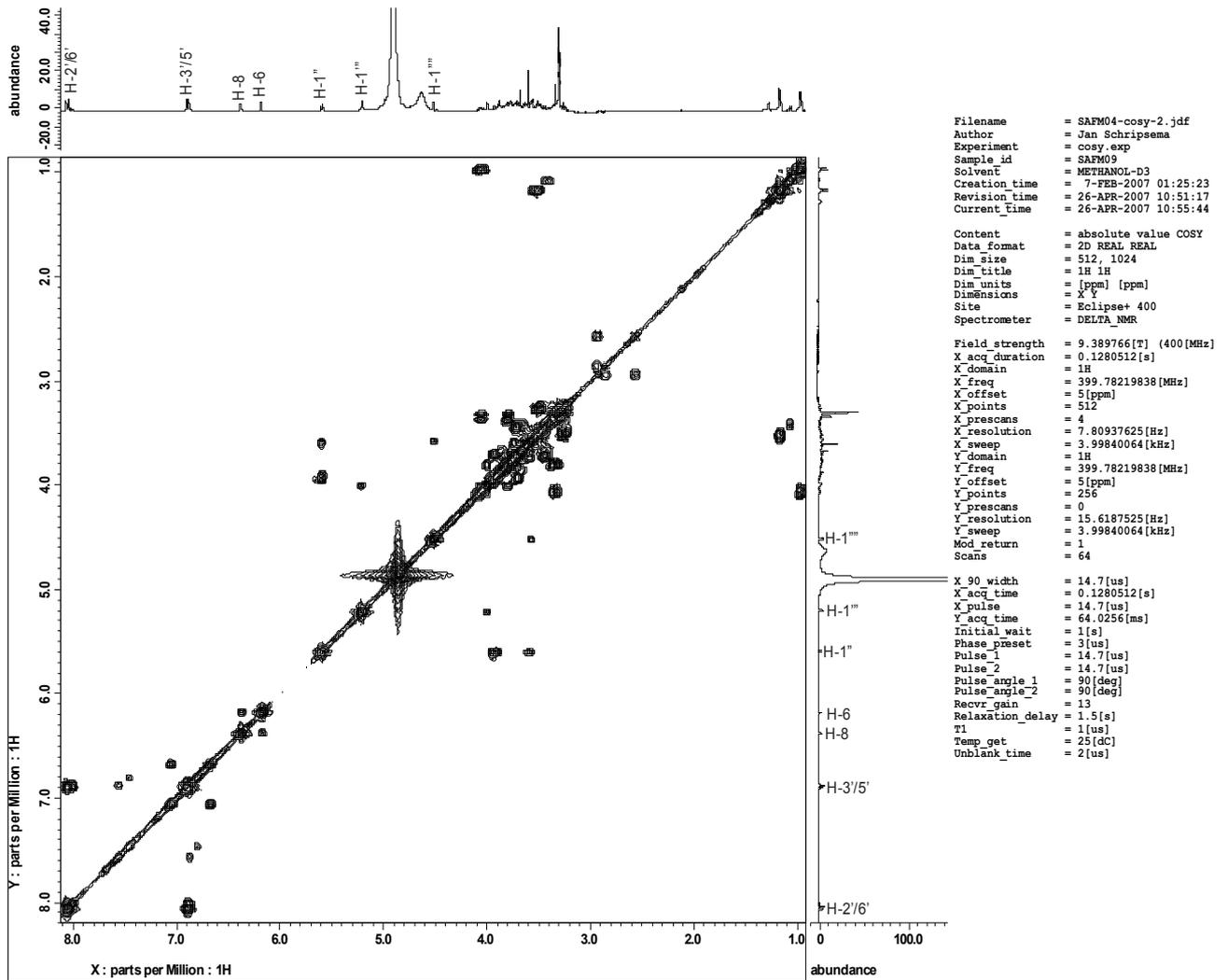


Figura 53 - Espectro de COSY ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ ) da substância SAFM-04

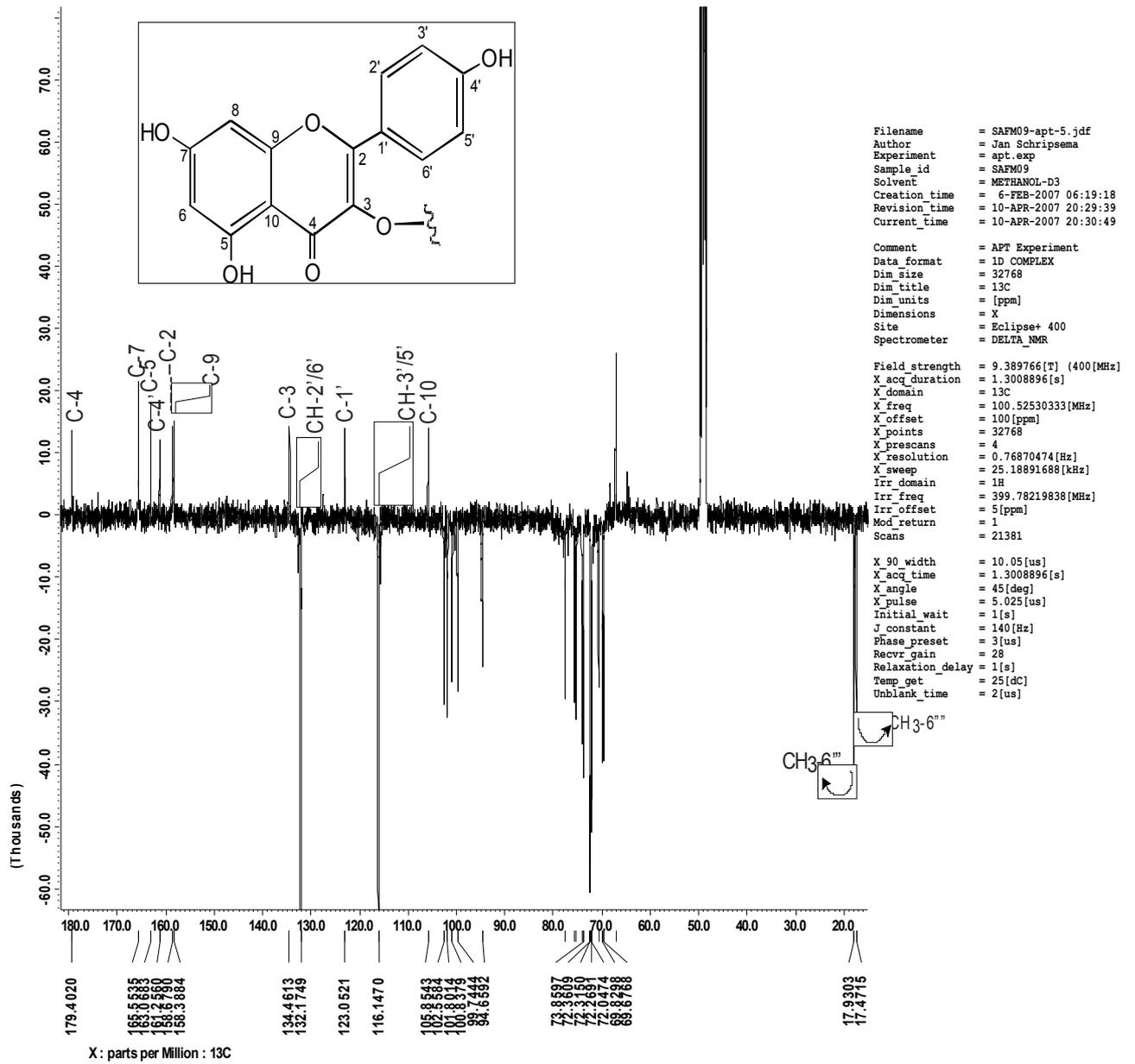
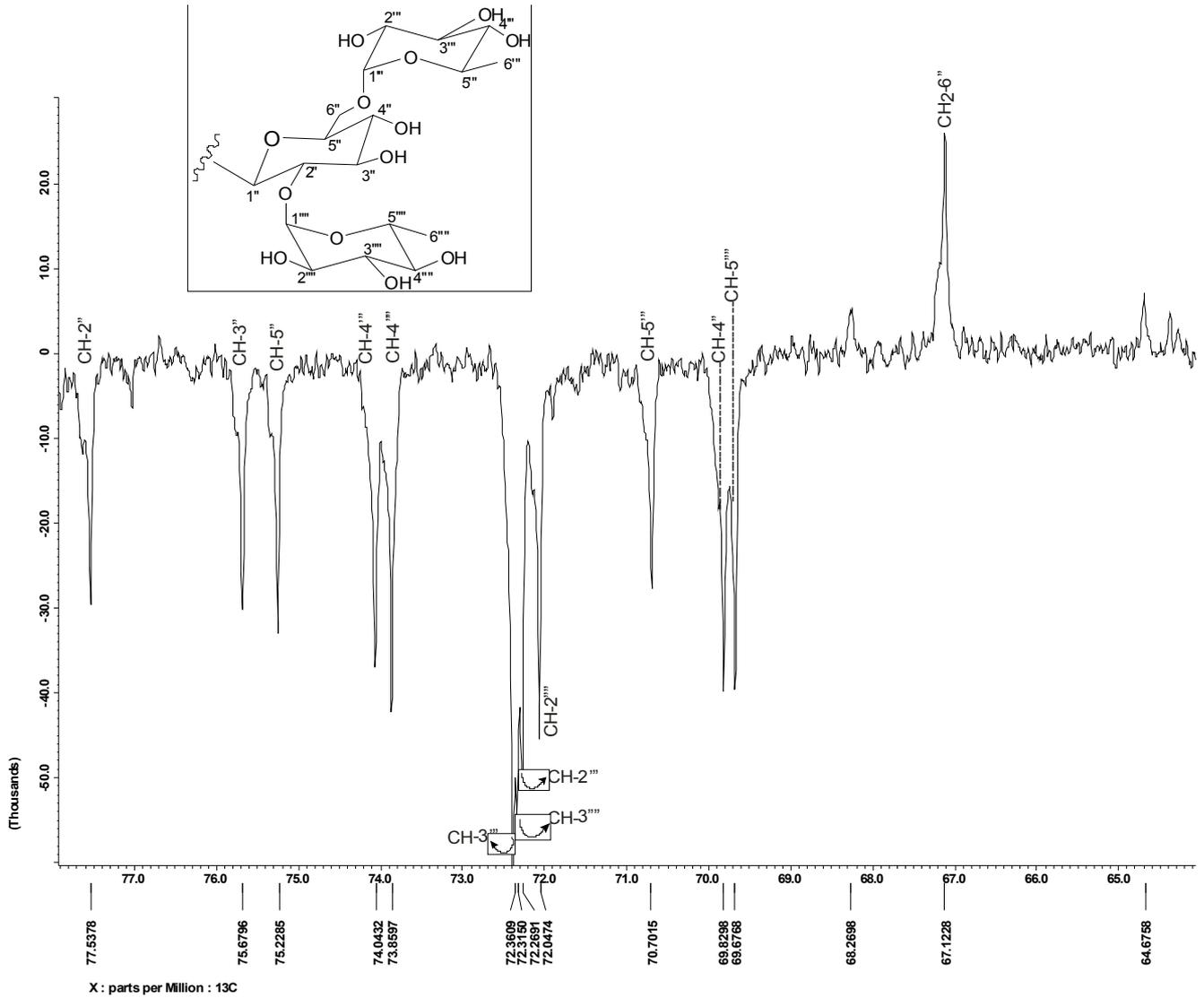
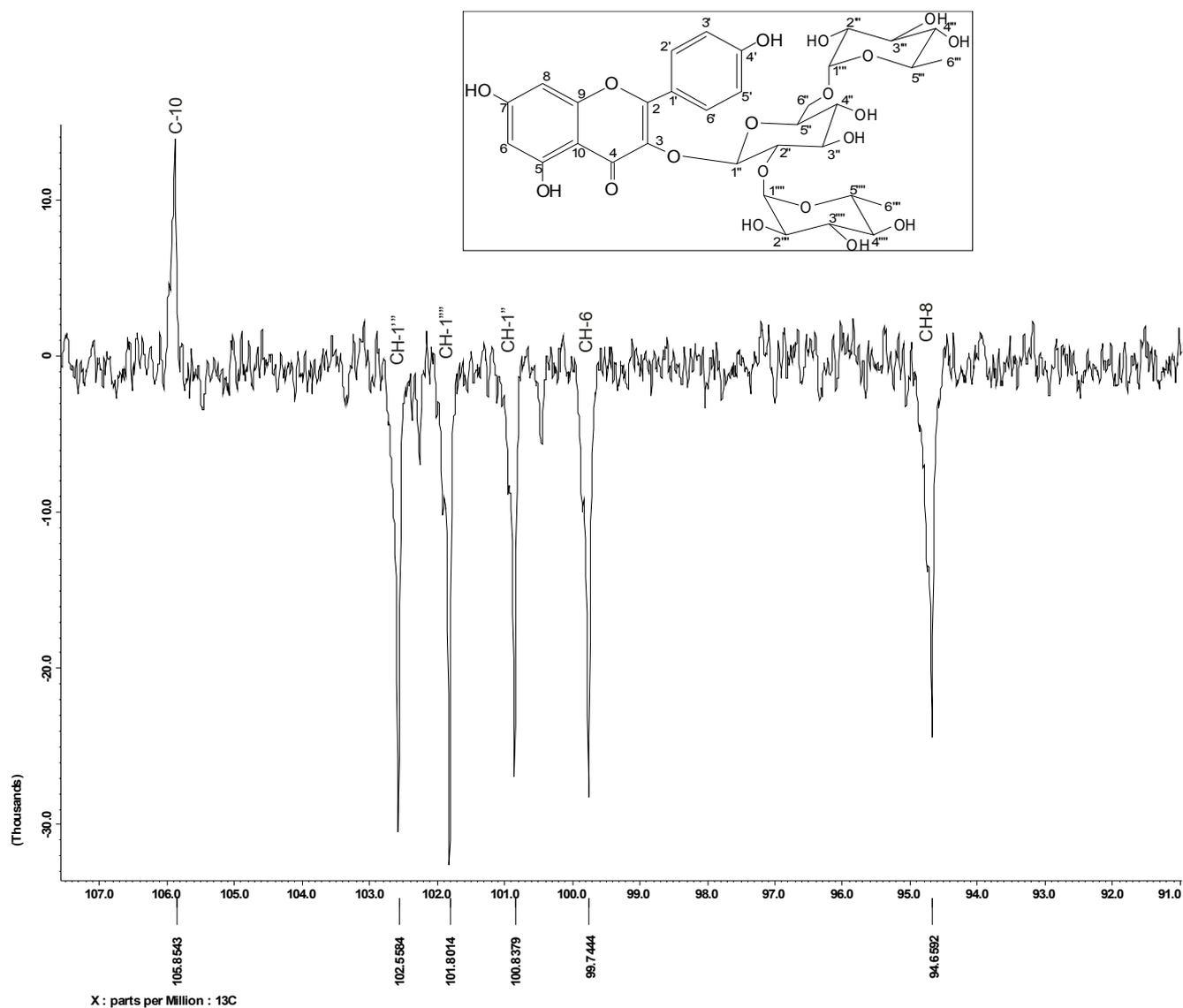


Figura 54 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAFM-04



**Figura 55** - Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância **SAFM-04** (região de 64 a 78 ppm)



**Figura 56** – Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância **SAFM-04** (região de 91 a 107 ppm)

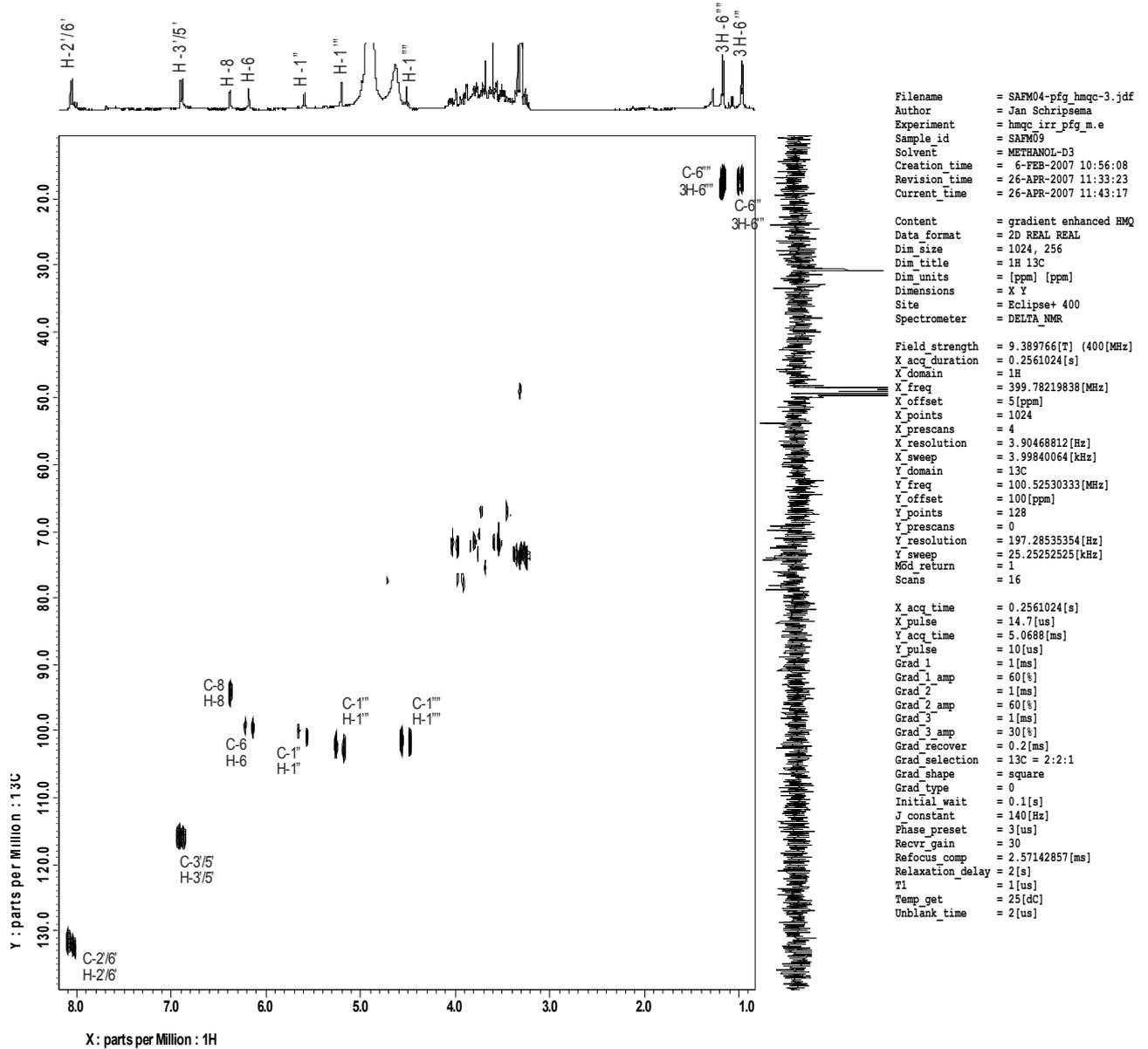
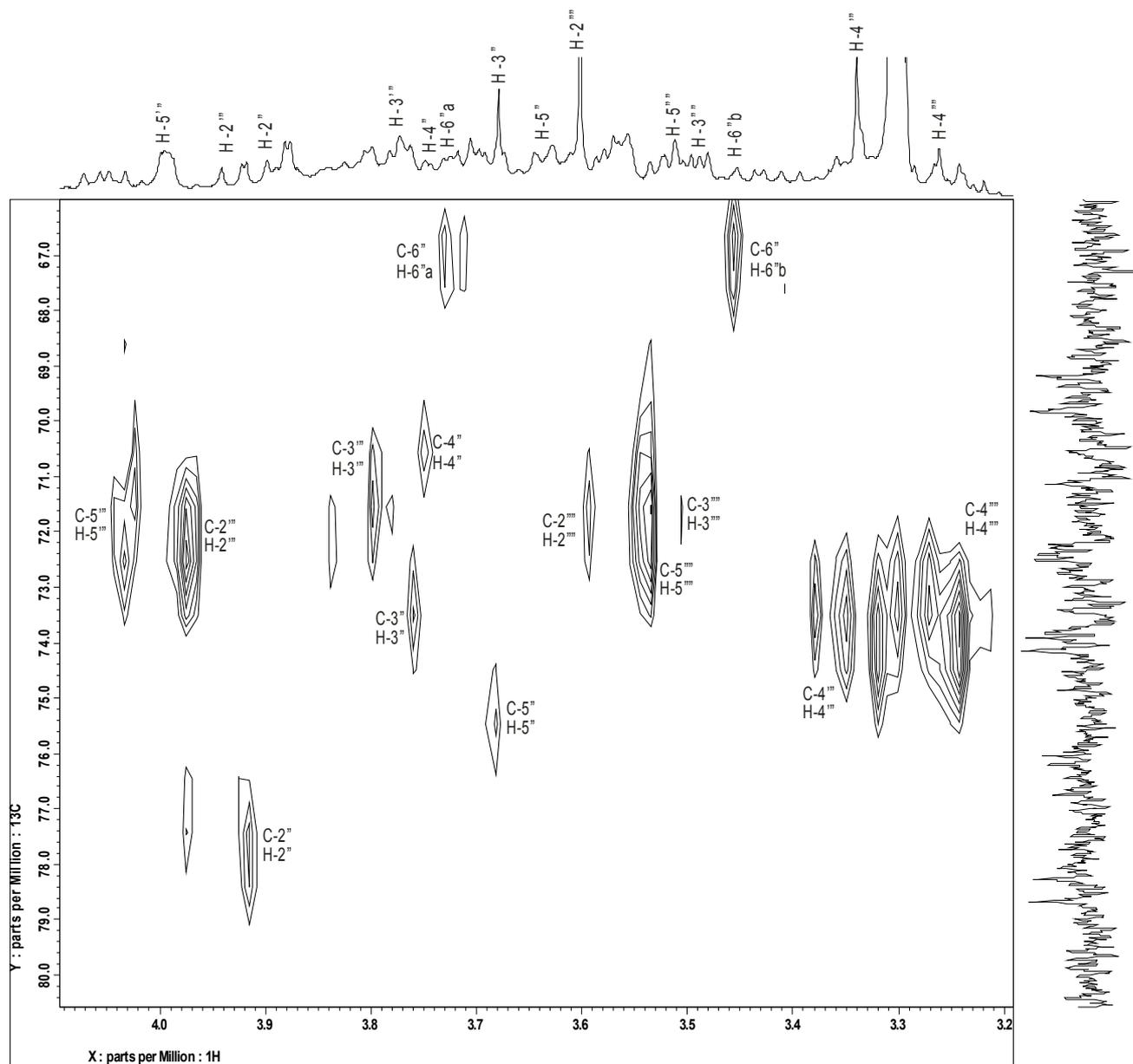


Figura 57 - Espectro de HMQC da substância SAFM-04



**Figura 58** – Ampliação do espectro de HMQC da substância **SAFM-04** (região de 3,2 a 4,1 ppm)

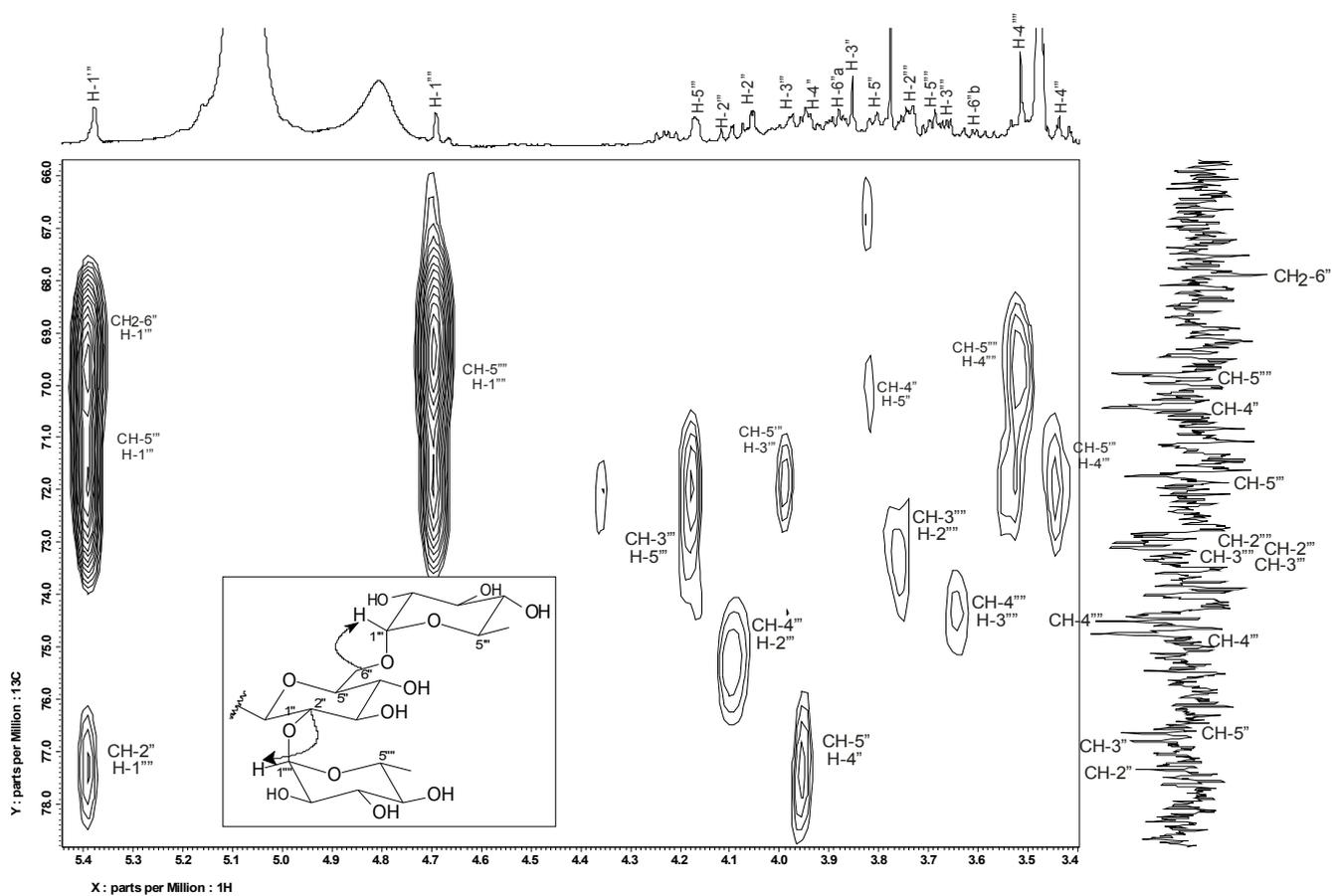
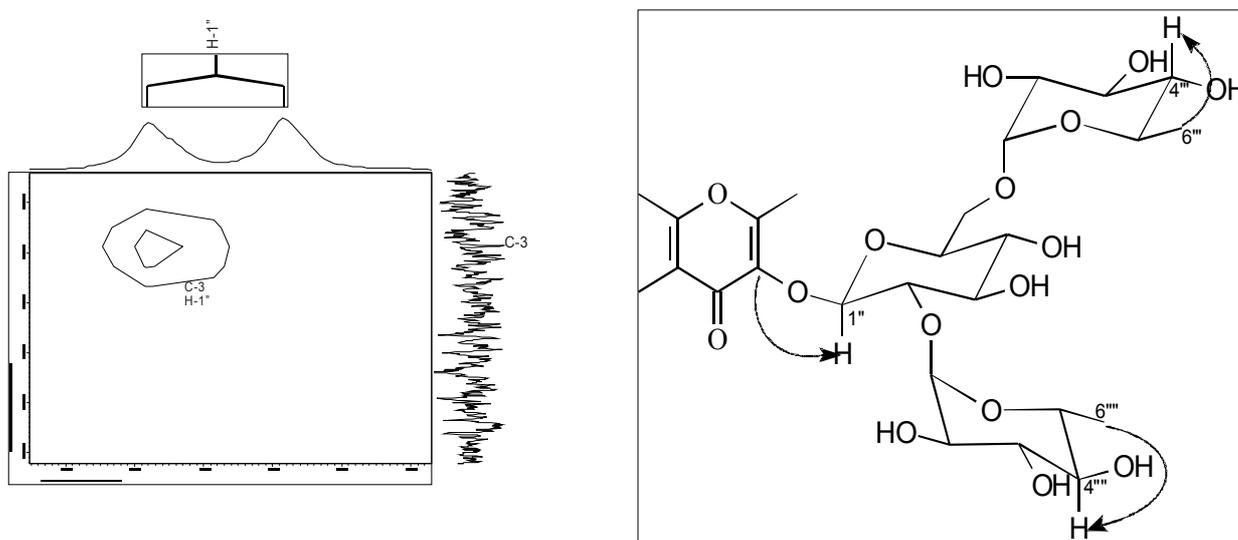
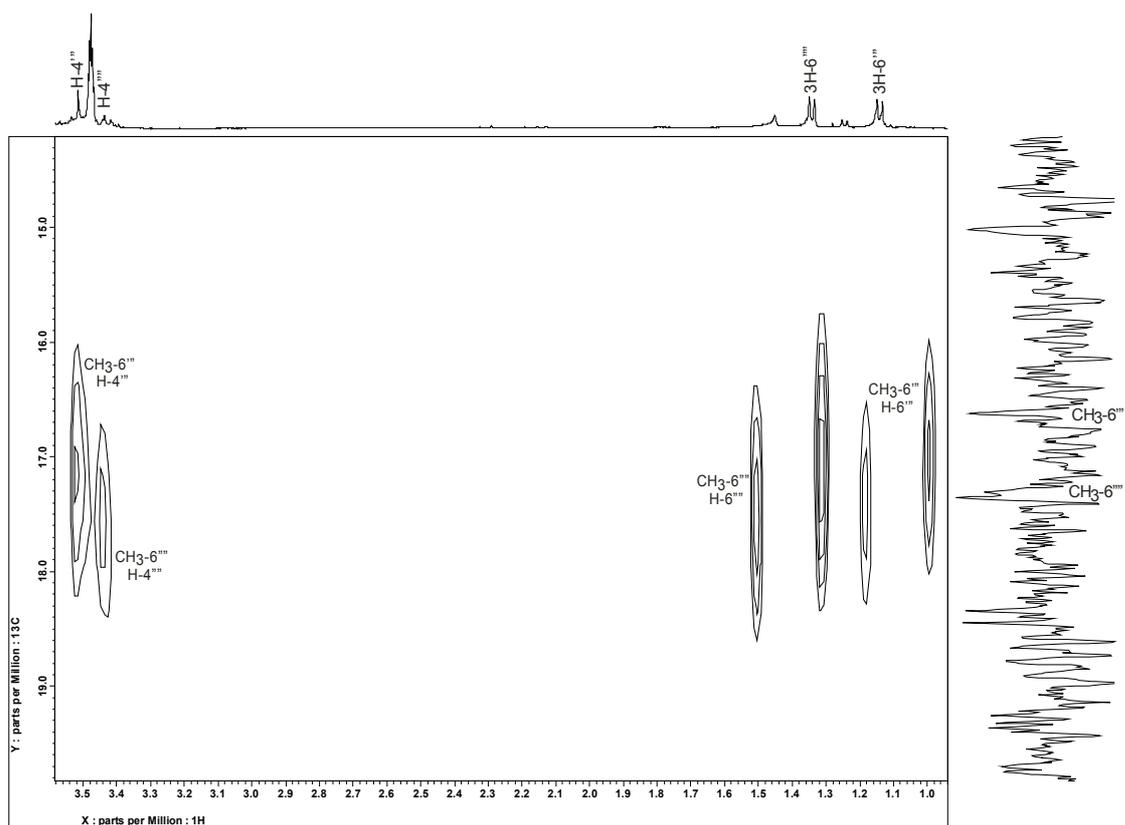


Figura 59 - Espectro de HMBC da substância SAFM-04



**Figura 60** - Ampliações do espectro de HMBC da substância **SAFM-04**

### 3.2. Determinação Estrutural dos Constituintes Químicos Isolados da Madeira de *S. apetala*

---

O estudo fitoquímico do extrato hexânico da madeira de *S. apetala* possibilitou o isolamento de um estilbeno (**SAMH-01**), uma flavanona (**SAMH-02**) e um pterocarpano (**SAMH-03**), um triterpeno (**SAMH-04**) e mistura de três esteróides (**SAMH-05a/b/c**) (Figura 13-14, p. 22-23).

### 3.2.1. Determinação estrutural da substância **SAMH-01**.

A fração **F1B** (Item 2.2.7.2, p. 31) após fracionamento em (CC-sílica gel) forneceu uma substância que apresentou-se como um sólido branco amorfo, solúvel em  $\text{CHCl}_3$  e com coloração verde escura na presença de solução alcoólica de cloreto férrico e vermelho carmim quando revelado em CCDA com solução de vanilina sulfúrica (Itens 2.5.5.2 e 2.5.6, p. 28).

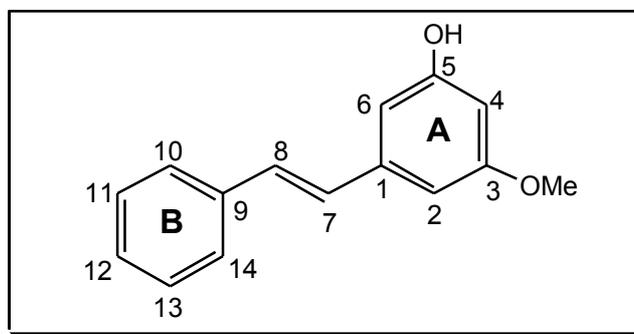
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figuras 62-63, p. 99-100) apresentou um sinal simples a  $\delta_{\text{H}}$  (3,82) característico de hidrogênios de grupo metoxila e um sinal largo a  $\delta_{\text{H}}$  (4,89) atribuído a hidrogênio de hidroxila. A presença de sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  (7,50-6,33) são indicativos da presença de anéis aromáticos na substância. Os sinais duplos a  $\delta_{\text{H}}$  [6,99 (*d*,  $J= 17,2$ ) e 7,06 (*d*,  $J= 15,8$ )], que devido ao valor das constantes de acoplamento caracterizam uma olefina *trans* conjugada com o sistema aromático (Silverstein & Webster, 2000).

O padrão de substituição (1,3,5-trissubstituído) do anel aromático **A** foi estabelecido com base na multiplicidade dos sinais dos hidrogênios a  $\delta_{\text{H}}$  [6,64 (*s*) H-4; 6,33 (*s*) H-2 e 6,60 (*s*) H-6]. Os sinais a  $\delta_{\text{H}}$  [7,49 (*d*,  $J= 7,3$ ); 7,25 e 7,35 (*t*,  $J= 9,52$ )] foram atribuídos ao anel aromático **B**.

O espectro de  $^{13}\text{C}$ -APT (Figuras 64-65, p. 101-102) apresentou 13 sinais sendo um atribuído a carbono metílico *sp*<sup>3</sup>, oito a carbonos metínico *sp*<sup>2</sup> e quatro a carbonos não hidrogenados *sp*<sup>2</sup>. A análise desses resultados juntamente com a análise do espectro de massas de baixa resolução (Figura 61, p. 98) que exibiu pico do íon molecular a  $m/z$  226 e fragmentos com  $m/z$  211 (relativo a perda de metila) e a  $m/z$  194 (relativo a perda de  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (Esquema 8, p. 98) sugerem para a substância **SAMH-01** a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_2$ , correspondente a estrutura de um *trans*-estilbeno.

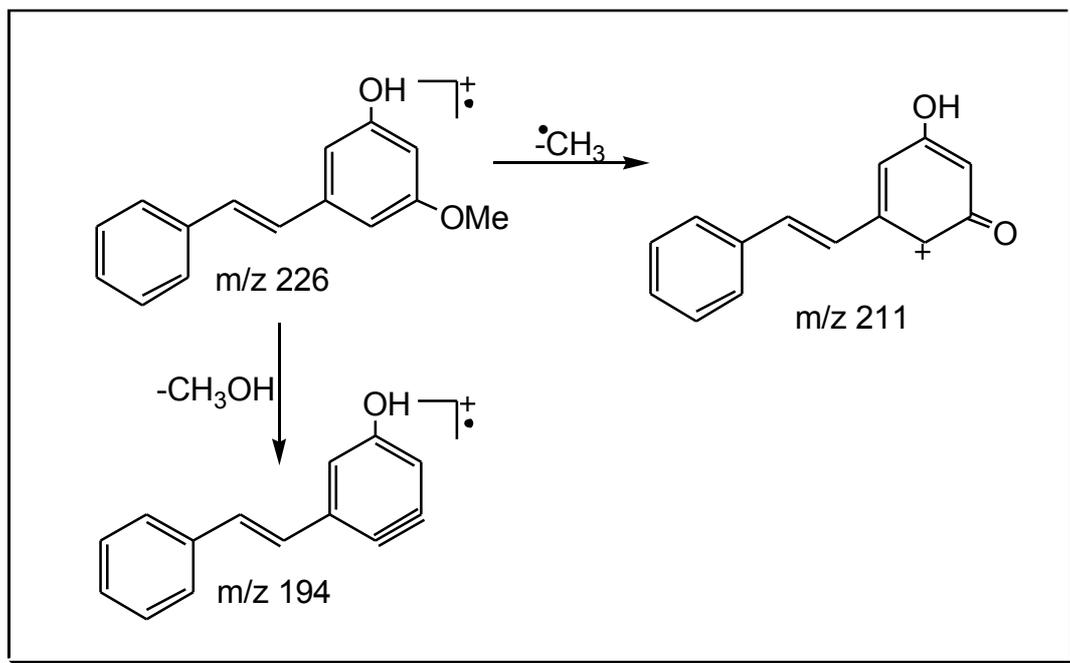
O sinal a  $\delta_{\text{C}}$  (55,46) foi atribuído ao carbono do grupo metoxila e os sinais a  $\delta_{\text{C}}$  (149,38 e 156,94) foram atribuídos aos carbonos C-5 ( $\underline{\text{C}}\text{-OH}$ ) e C-3 ( $\underline{\text{C}}\text{-OCH}_3$ ) do anel aromático **A**. Os demais sinais estão listados na tabela 6, p. 97. O mapa de correlação heteronuclear a longa distância HMBC ( $^nJ_{\text{CH}}$ ) (Figuras 66-67, p. 103-104) auxiliou nas atribuições feitas para a molécula, através da correlação existente entre o carbono C-3 a  $\delta_{\text{C}}$  (156,94) e os hidrogênios da metoxila a  $\delta_{\text{H}}$  (3,82); do carbono CH-7 a  $\delta_{\text{C}}$  (128,39) e o hidrogênio H-6 a  $\delta_{\text{H}}$  (6,61); do carbono C-1 a  $\delta_{\text{C}}$  (139,66) e o hidrogênio H-8 a  $\delta_{\text{H}}$  (6,99); dos carbonos CH-10/14 a  $\delta_{\text{C}}$  (126,69) e o hidrogênio H-12 a  $\delta_{\text{H}}$  (7,25). As demais correlações encontradas para a molécula estão ilustradas nas

figuras 66-67, p. 103-104. O conjunto desses dados comparados com a literatura (Ngo & Brown, 1998), confirmam que a substância **SAMH-01** trata-se do estilbeno (3-metoxi-5-hidroxiestilbeno) conhecido como pinosilvina-monometil éter citado pela primeira vez no gênero.



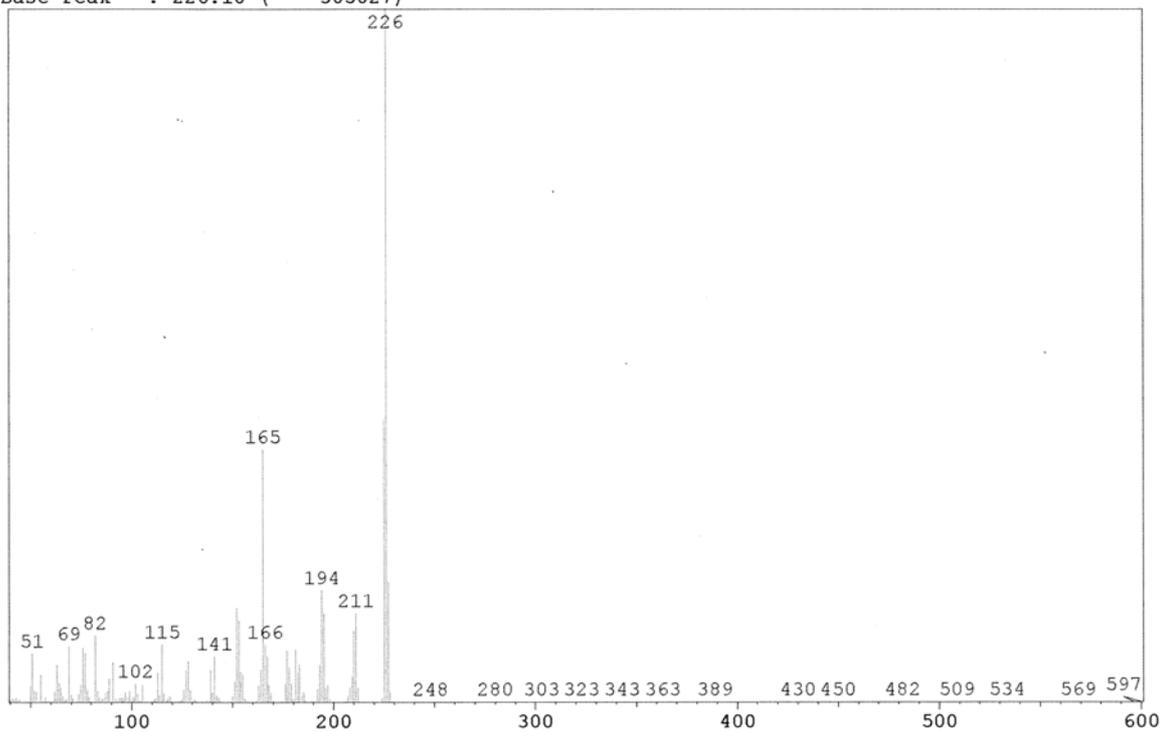
**Tabela 7** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do estilbeno **SAMH-01** em  $\text{CDCl}_3$ .

<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Ngo & Brown, 1997)	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	140,66	139,6	-	-	-
3	156,94	160,9	-	OMe	-
5	149,38	157,3	-	-	H-8
9	137,65	137,1	-	-	H-11/13
CH					
2	105,05	104,7	6,33 (s/)	-	H-6
4	101,08	101,2	6,64 (s/)	-	H-6
6	106,00	106,3	6,60 (s/)	-	-
7	128,39	128,4	7,06 (d, 15,8)	-	H-6
8	129,49	129,2	6,99 (d, 17,2)	-	-
10/14	126,69	126,6	7,49 (d, 7,3)	-	H-12
11/13	128,78	128,6	7,35 (t, 7,9)	H-11/14	-
12	127,88	127,7	7,25	H-11/13	-
MeO	55,46	55,3	3,82 (s)	-	-



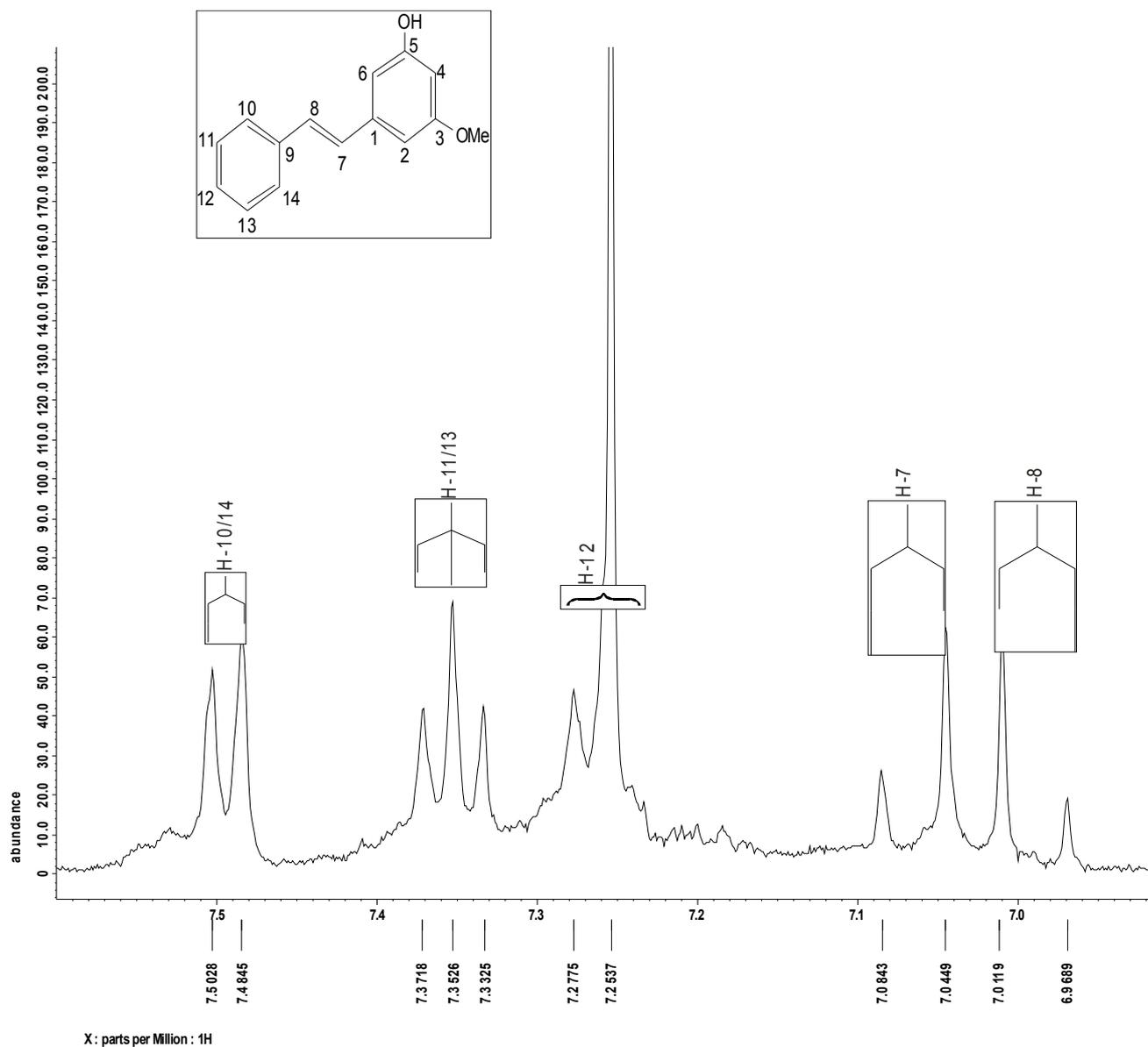
**Esquema 8** - Propostas de fragmentação da substância **SAMH-01**

Mass Peak # : 378 Ret. Time : 10.933  
 Base Peak : 226.10 ( 305027)



**Figura 61** - Espectro de massas da substância **SAMH-01**





**Figura 63** - Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **SAMH-01**  
(região de 6,9 a 7,6 ppm)

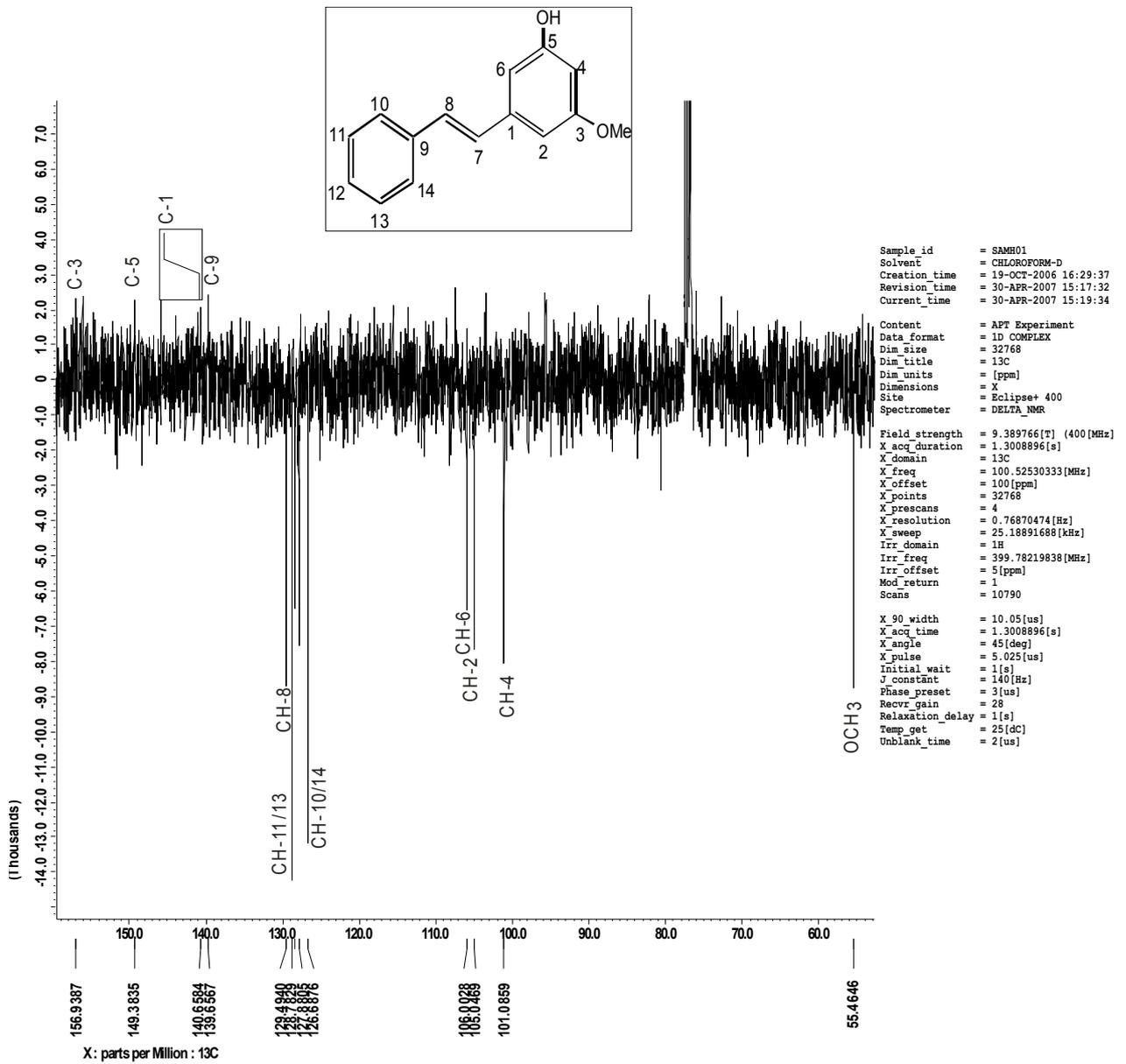
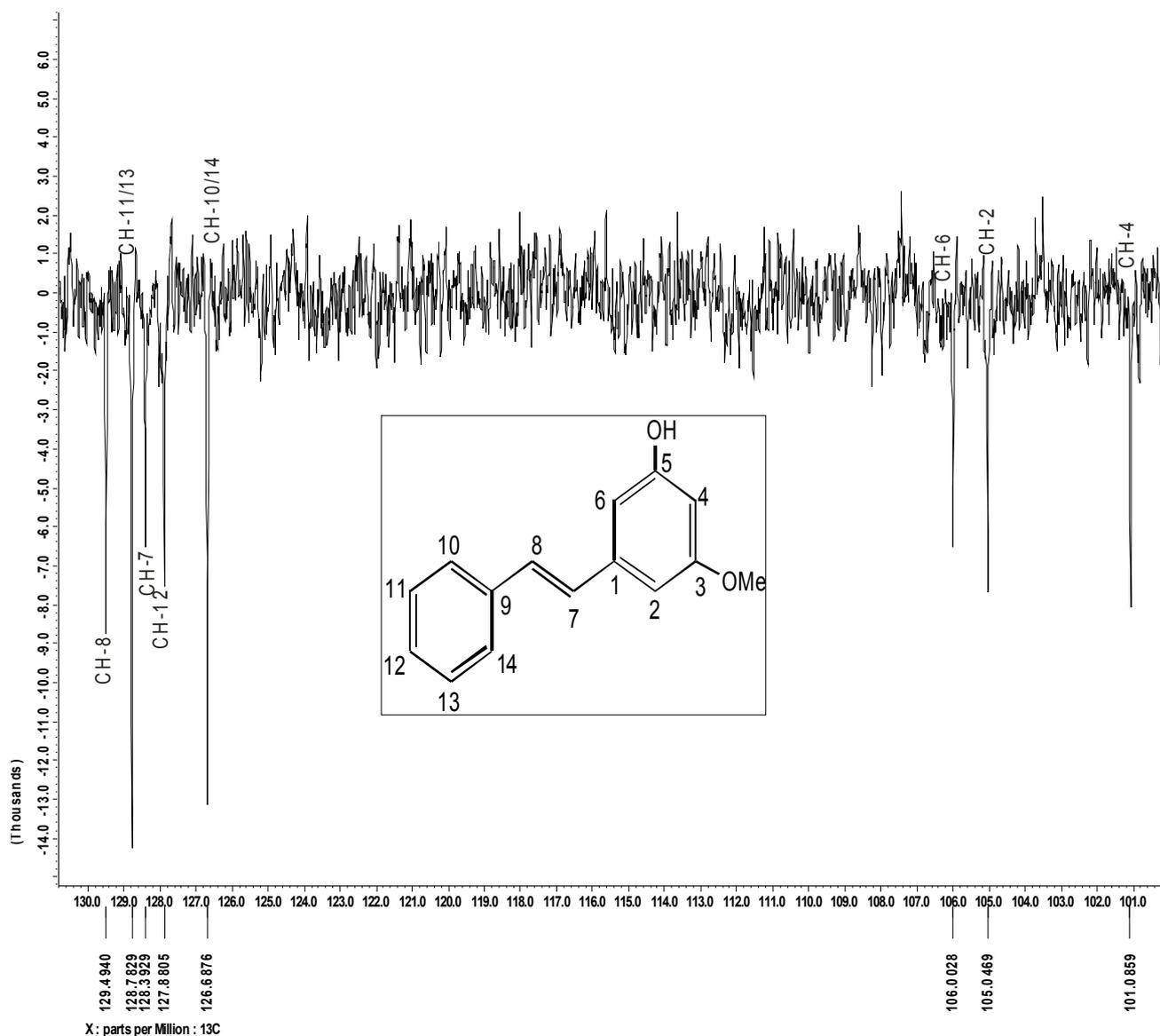


Figura 64 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAMH-01.



**Figura 65** - Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da substância **SAMH-01** (região de 101 a 130 ppm).

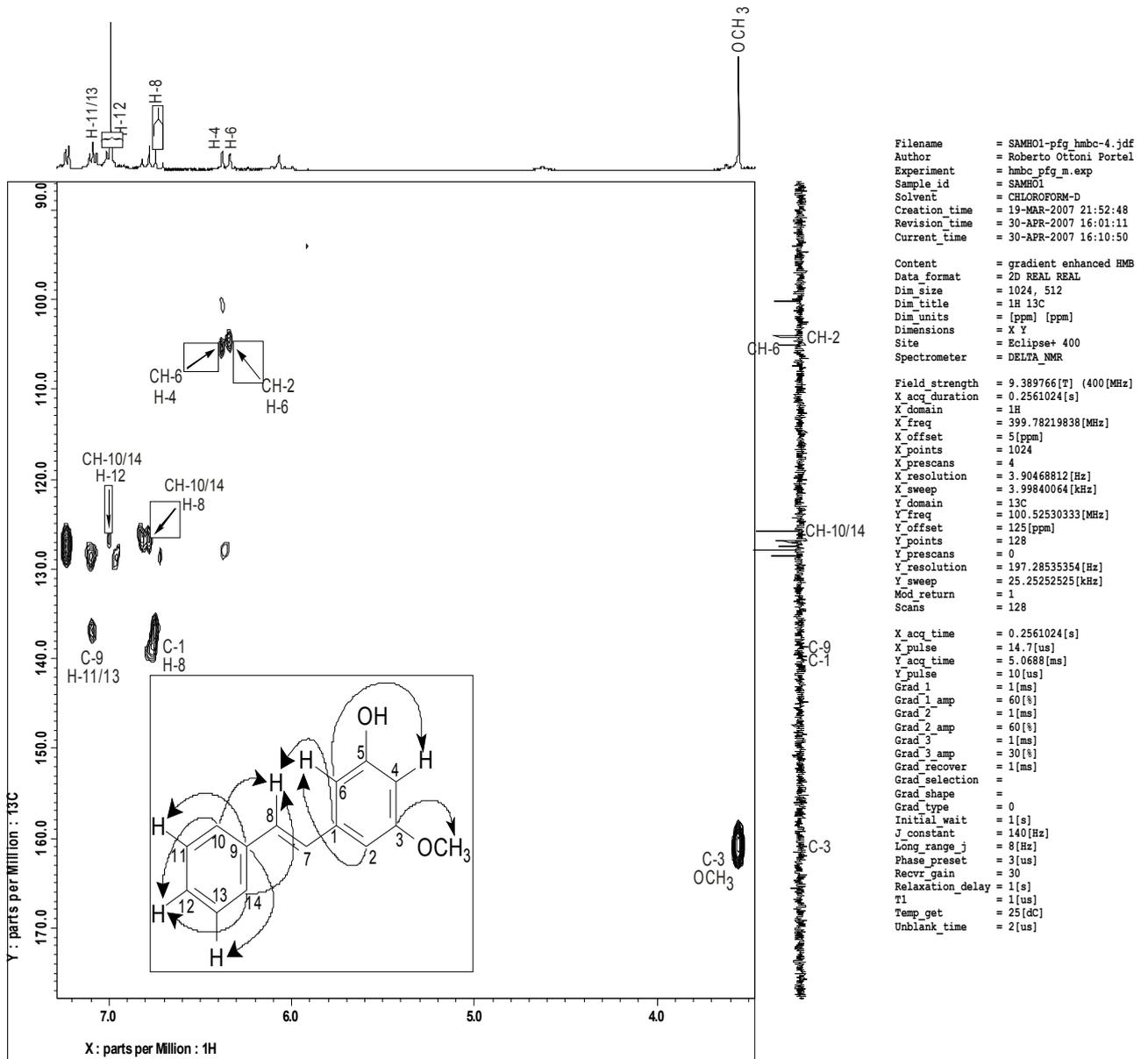
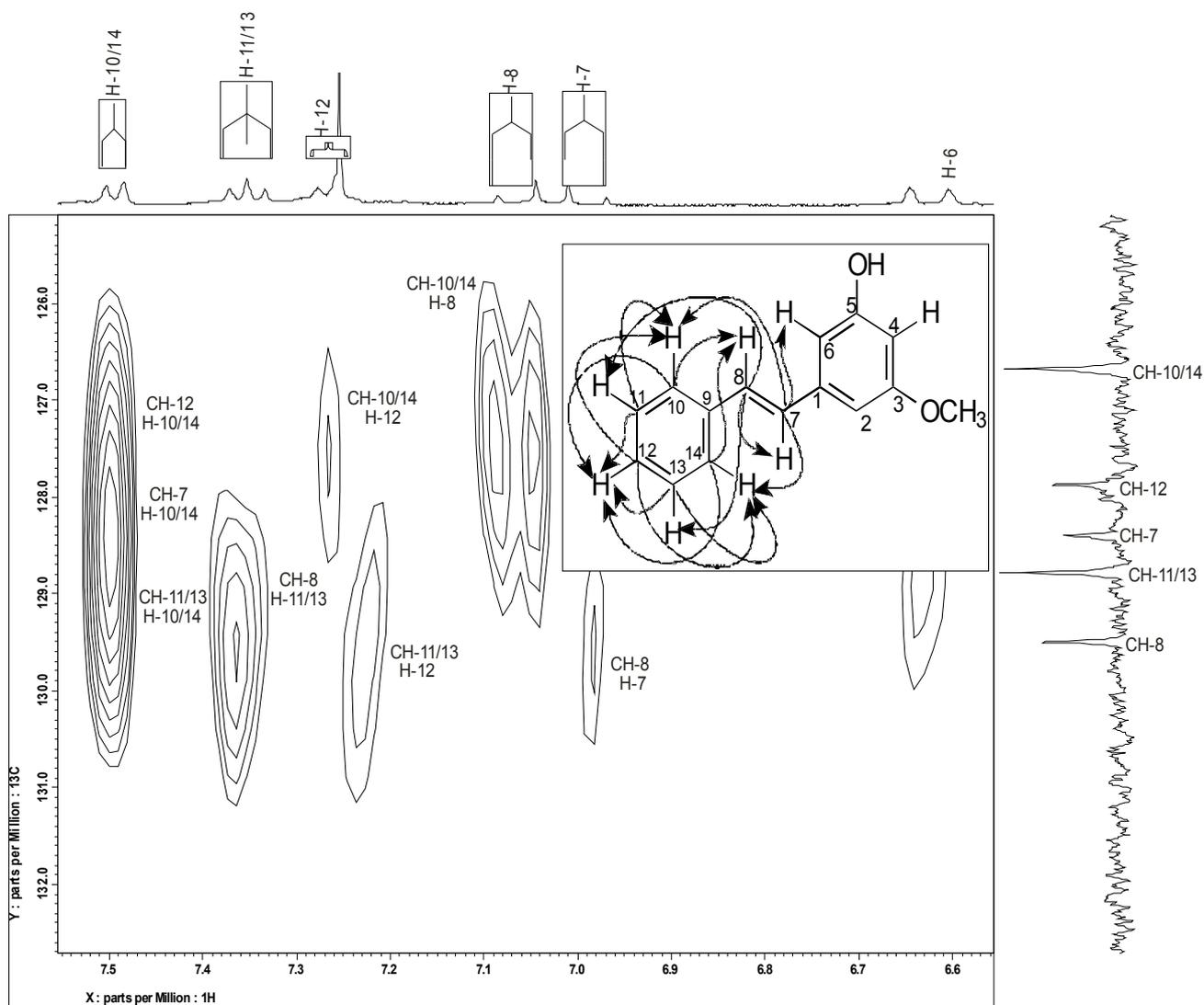


Figura 66 - Espectro de HMBC da substância SAMH-01.



**Figura 67** - Ampliação do espectro de HMBC da substância **SAMH-01** (região de 6,6 a 7,6 ppm).

### 3.2.2. Determinação estrutural da substância **SAMH-02**.

A segunda substância obtida do fracionamento em coluna (CC-sílica gel)

da fração **F1B** (Esquema 6, p. 32) apresentou-se como um sólido amarelo escuro, amorfo, solúvel em  $\text{CHCl}_3$  e com coloração verde escura em presença de solução alcoólica de cloreto férrico (Item 2.2.5.2, p. 28).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 69, p. 110), da substância **SAMH-02** mostra banda de deformação axial em  $2924\text{ cm}^{-1}$  característico de grupo metino de hidrocarbonetos alifáticos e  $1466\text{ cm}^{-1}$  atribuída a estiramento ( $\text{C}=\text{C}$ ) de aromáticos, uma banda intensa de estiramento de grupo carbonila conjugada ( $=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ ) em  $1632\text{ cm}^{-1}$ . As bandas de absorção em  $1302$  e  $1169\text{ cm}^{-1}$  que foram atribuídas a deformação axial ( $\text{C}-\text{O}$ ) de fenóis e ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ) de éteres, respectivamente (Silverstein & Webster, 2000).

O espectro de massas de baixa resolução da substância **SAFM-02** (Figura 68, p. 109) exibiu pico do íon molecular a  $m/z$  256 correspondente a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ .

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 70, p. 111) apresentou um sinal duplo em  $\delta_{\text{H}}$  [5,4 ( $J= 13,6$ )] atribuído ao hidrogênio oximetínico H-2 que acopla com os hidrogênios metilênicos H-3 $\alpha$ ,  $\delta_{\text{H}}$  [2,8 ( $d, J= 17,2$ )] e H-3 $\beta$ ,  $\delta_{\text{H}}$  [3,09 ( $t, J= 16,5$ )] característicos de flavanonas (Mabry *et al.*, 1970). A presença um sinal simples a  $\delta_{\text{H}}$  [6,0 (H-6/8) e um sinal simples de intensidade maior a  $\delta_{\text{H}}$  [7,4 (H-2'/3'/4'/5'/6')] indicam um padrão dissustituído para o anel **A** e a ausência de substituintes no anel **B**. O sinal simples a  $\delta_{\text{C}}$  (12,04) foi atribuído ao hidrogênio fenólico OH-5 em ligação hidrogênio com o carbono carbonílico C-4.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Figura 71, p. 112) apresentou doze sinais sendo um sinal de carbono metilênico, cinco de carbonos metínicos e seis de carbonos não hidrogenados. A presença dos sinais a  $\delta_{\text{C}}$  [79,3 (CH-2); 43,4 (CH<sub>2</sub>-3) e 195,9 (C-4)] atribuídos ao anel heterocíclico **C** confirmam a estrutura de uma flavanona para a substância **SAMH-02** (Mabry *et al.*, 1970; Markham & Chari, 1976). Os sinais a  $\delta_{\text{C}}$  (126,2 e 128,9) atribuídos aos carbonos (CH-2'/6') e (CH-3'/4'/5') respectivamente confirmam a ausência de substituintes no anel **B**. A presença dos sinais a  $\delta_{\text{C}}$  [96,8 (CH-6) e 95,5 (CH-8)] confirmam o padrão de substituição do anel **A**. Os demais carbonos não hidrogenados C-5, C-7, C-9, C-10 e C-1' aparecem a  $\delta_{\text{C}}$  (164,6; 164,5; 163,2; 103,3 e 138,4) respectivamente.

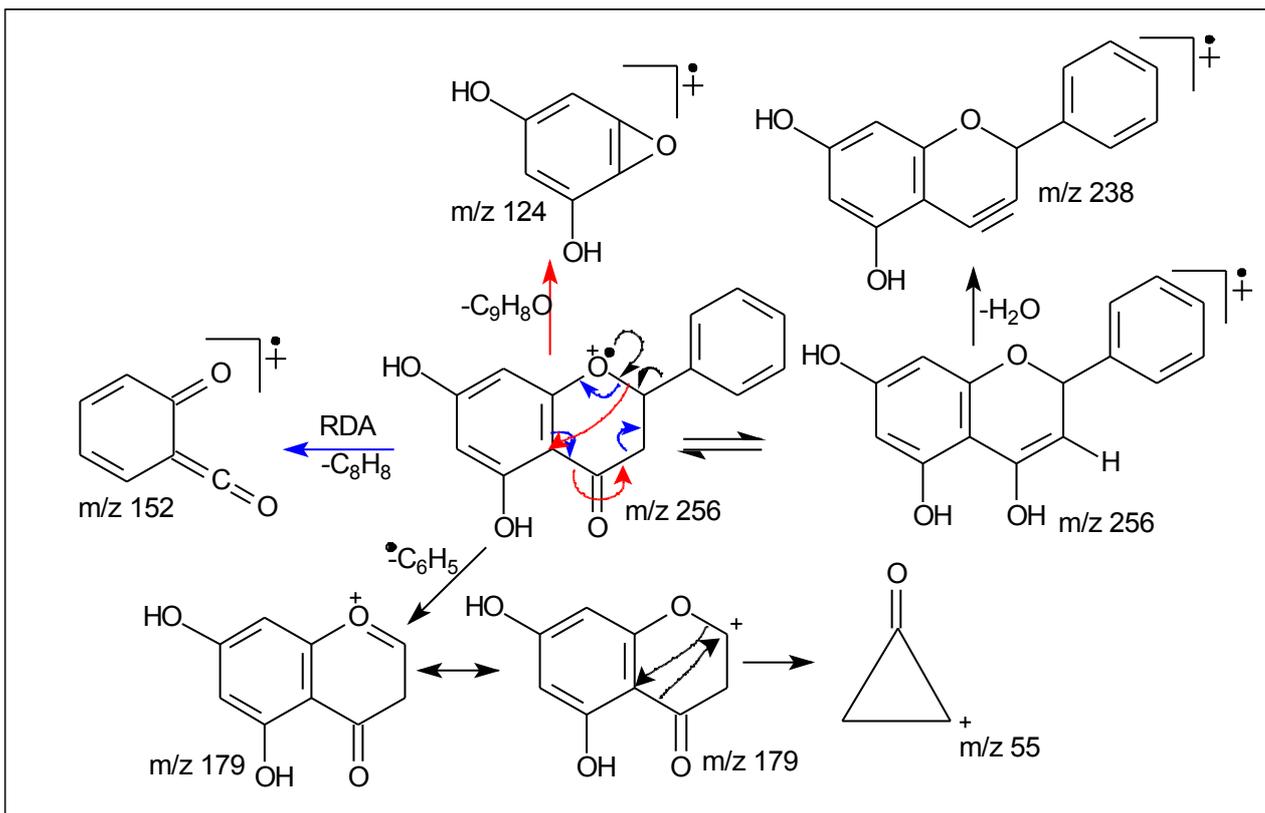
O mapa de correlação heteronuclear a uma ligação HMQC ( $^1J_{\text{CH}}$ ) (Figura 72, p. 113) permitiu confirmar as atribuições feitas com base nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT, através das correlações existentes entre o carbono CH<sub>2</sub>-3 a  $\delta_{\text{C}}$  (43,4) com os hidrogênios H-3 $\alpha$  a  $\delta_{\text{H}}$  (2,8) e H-3 $\beta$  a  $\delta_{\text{H}}$  (3,09); o carbono CH-2

a  $\delta_C$  (79,3) com o hidrogênio H-2 a  $\delta_H$  (5,43); os carbonos C-6 a  $\delta_C$  (96,8) e C-8 a  $\delta_C$  (95,5) com os hidrogênios H-6/8 a  $\delta_H$  (6,0); os carbonos C-2'/6' a  $\delta_C$  (126,2) e C-3'/4'/5' a  $\delta_C$  (128,9) com os hidrogênios H-2'/3'/4'/5'/6' a  $\delta_H$  (7,4).

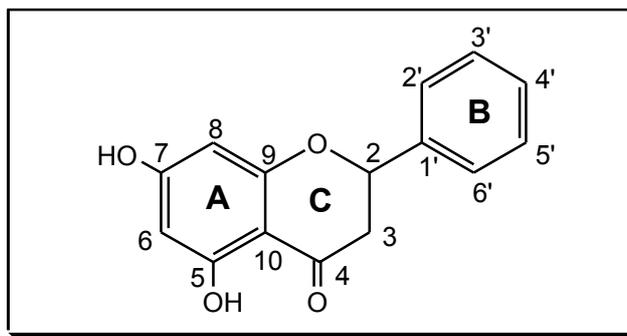
O mapa de correlação heteronucliar a longa distância HMBC ( $^nJ_{CH}$ ) permitiu correlacionar de forma inequívoca os pontos de ligação da substância através das correlações do carbono CH-2 a  $\delta_C$  (79,3) com os hidrogênios H-2'/6' a  $\delta_H$  (7,4); do carbono C-4 a  $\delta_C$  (195,9) com o hidrogênio H-3 $\alpha$  a  $\delta_H$  (2,8); do carbono C-10 a  $\delta_C$  (103,3) com os hidrogênios H-6/H-8 a  $\delta_H$  (6,0). As demais correlações encontradas na substância estão na figura 73, p. 114.

Os sinais relativos ao hidrogênio oximetínico H-2 a  $\delta_H$  [5,4 ( $J=13,6$ )] e a  $\delta_H$  (5,3) e os sinais dos hidrogênios metilênicos H-3 $\alpha$ , a  $\delta_H$  [2,8 ( $d, J=17,2$ )] e H-3 $\beta$ , a  $\delta_H$  [3,09 ( $t, J=30,4$ )] juntamente com a análise dos dados de RMN  $^{13}C$ -APT e do espectro de massas que exibiu sinal do íon molecular a  $m/z$  256 e padrões de fragmentação a  $m/z$  152 e 124 relativos a decomposição do tipo retro Diel-Alder do anel **C** (Budzikiewicz et al., 1964) e o sinal  $m/z$  179 relativo a perda do anel B (Esquema 9, p. 107) permitiram confirmar a estrutura da substância **SAMH-2** como sendo a da flavanona (5,7-diidróxiflavanona) conhecida como pinocembrina (Markham & Chari, 1976).

A substância está sendo citada pela primeira vez no gênero *Swartzia*.



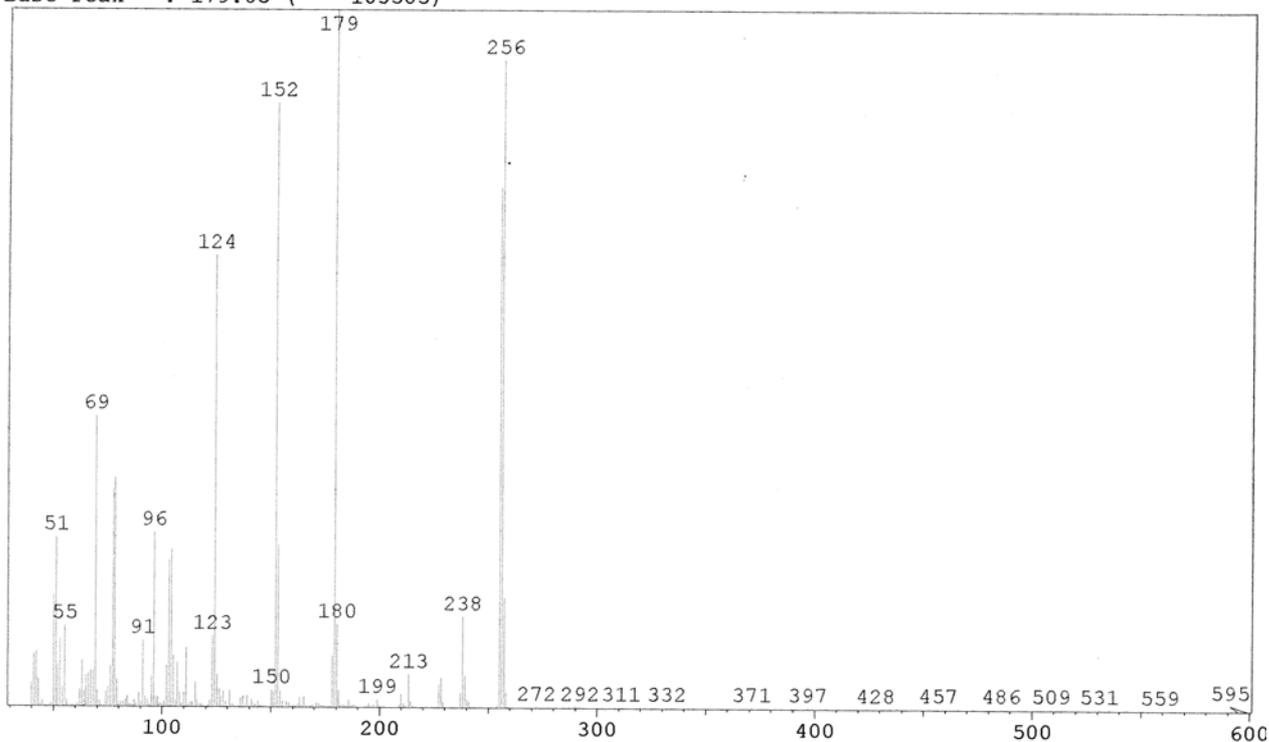
**Esquema 9 -** Propostas de fragmentação da substância **SAMH-02**



**Tabela 8** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  da flavanona **SAMH-02** em  $\text{CDCl}_3$ .

C	$\bar{\delta}_\text{C}$	$\bar{\delta}_\text{C}$ (Markham & Mabry, 1975)	$\bar{\delta}_\text{H}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
4	195,8	195,8	-	H-3a	
5	164,6	163,6	-		
7	164,5	166,6	-	H-6 e H-8	OH
9	163,2	162,7	-	H-8	
10	103,3	101,9	-	OH	H-6 e H-8
1'	138,4	138,0	-		
CH					
2	79,3	78,4	5,3 (s) 5,43 (d, 17,2)		H-2' e H-6'
6	96,8	96,1	6,00 (s)	OH	
8	95,5	95,1	6,00 (s)		
2'/6'	126,2	126,5	7,43		
3'/4'/5'	128,9	128,5	7,43		
CH <sub>2</sub>					
3	43,4	42,2	3,09 (t, 16,5) 2,83 (d, 17,2)		

Mass Peak # : 355 Ret. Time : 11.967 B.G. Time : ( 12.050 - 12.587 )  
 Base Peak : 179.05 ( 103585)



**Figura 68** - Espectro de massas da substância **SAMH-02**.

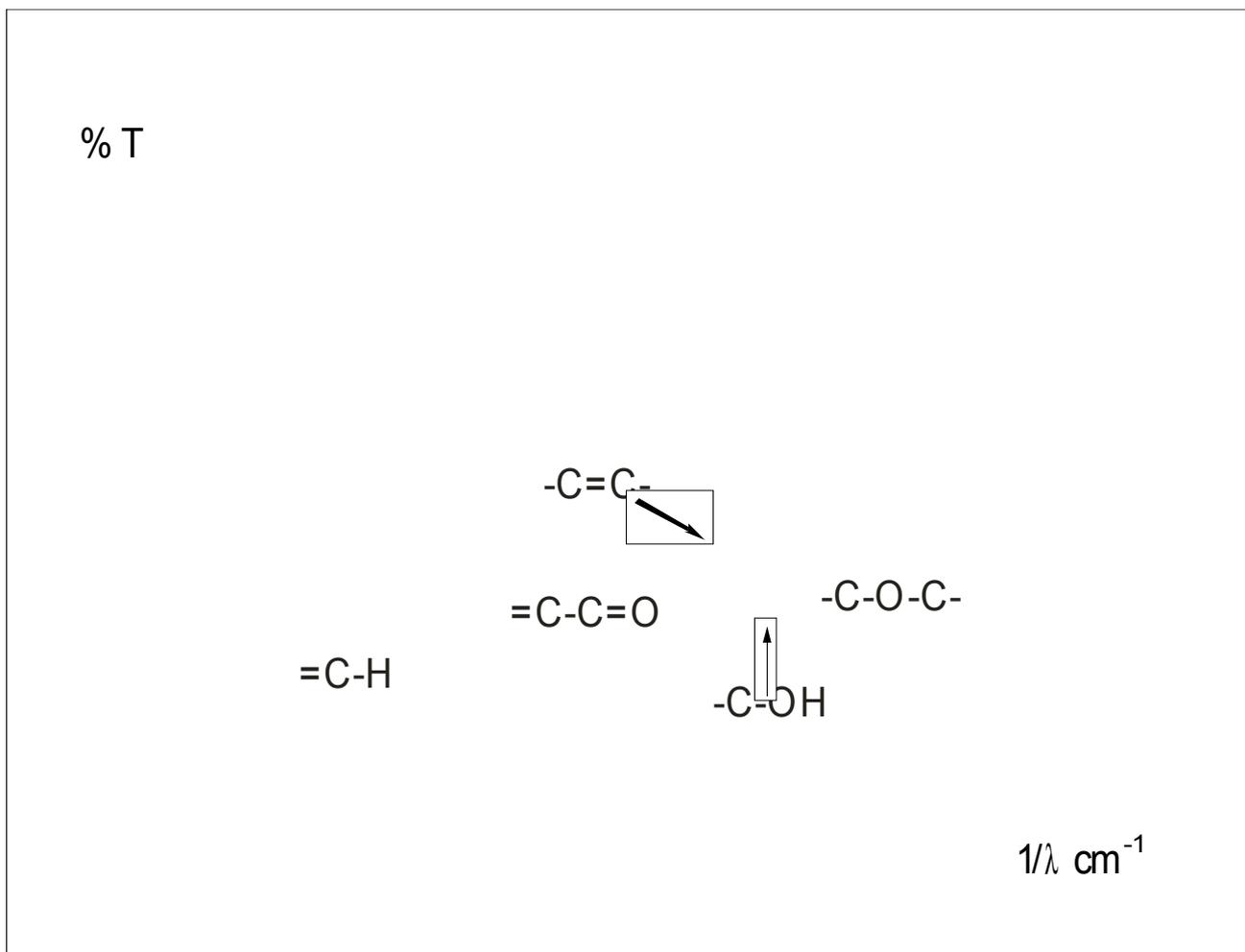
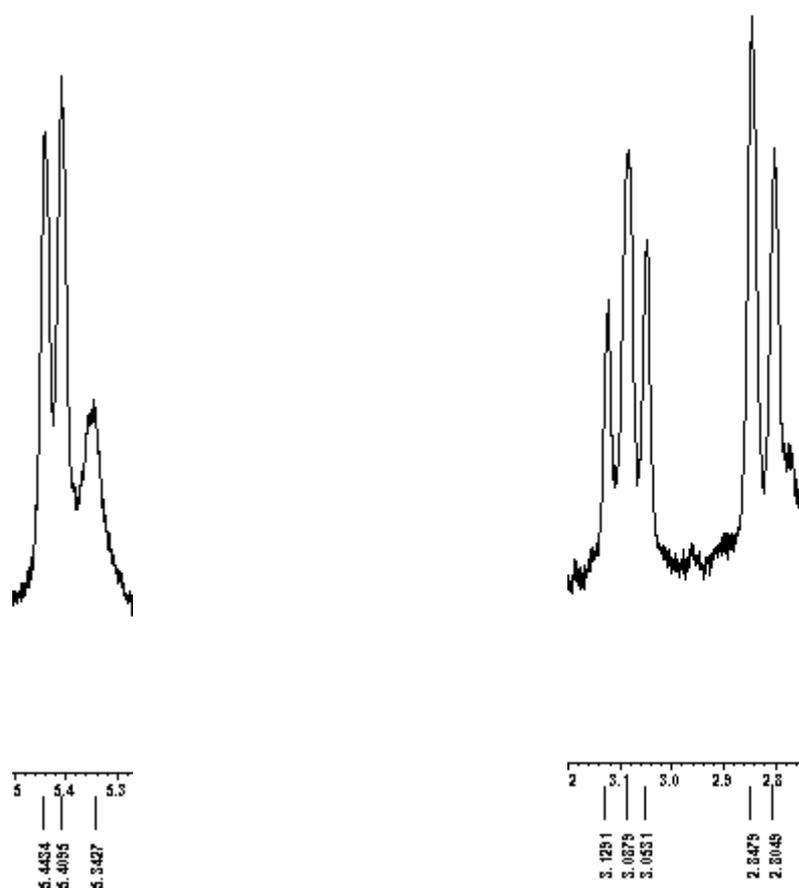


Figura 69 - Espectro de infravermelho da substância SAMH-02.



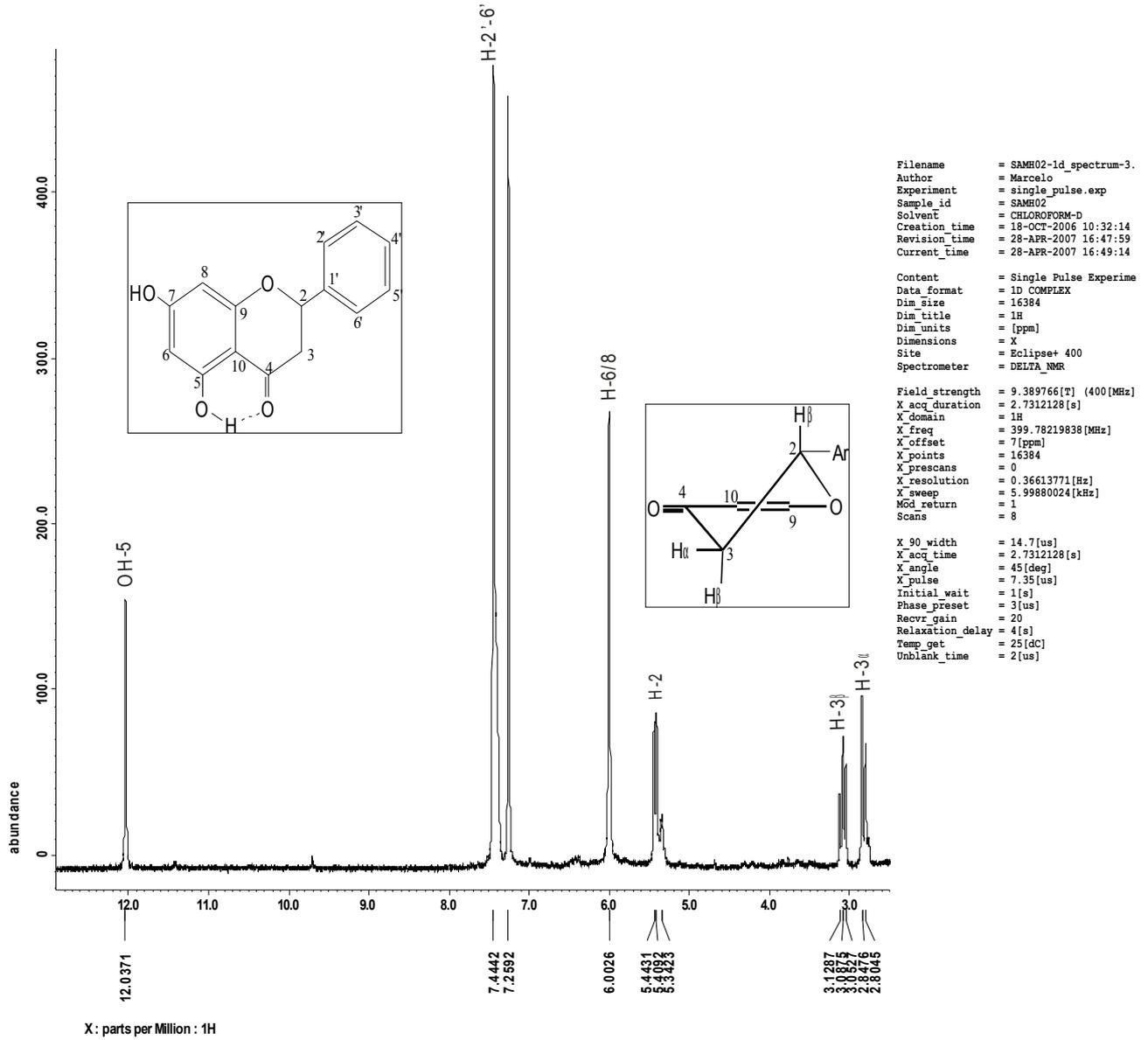


Figura 70 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAMH-02

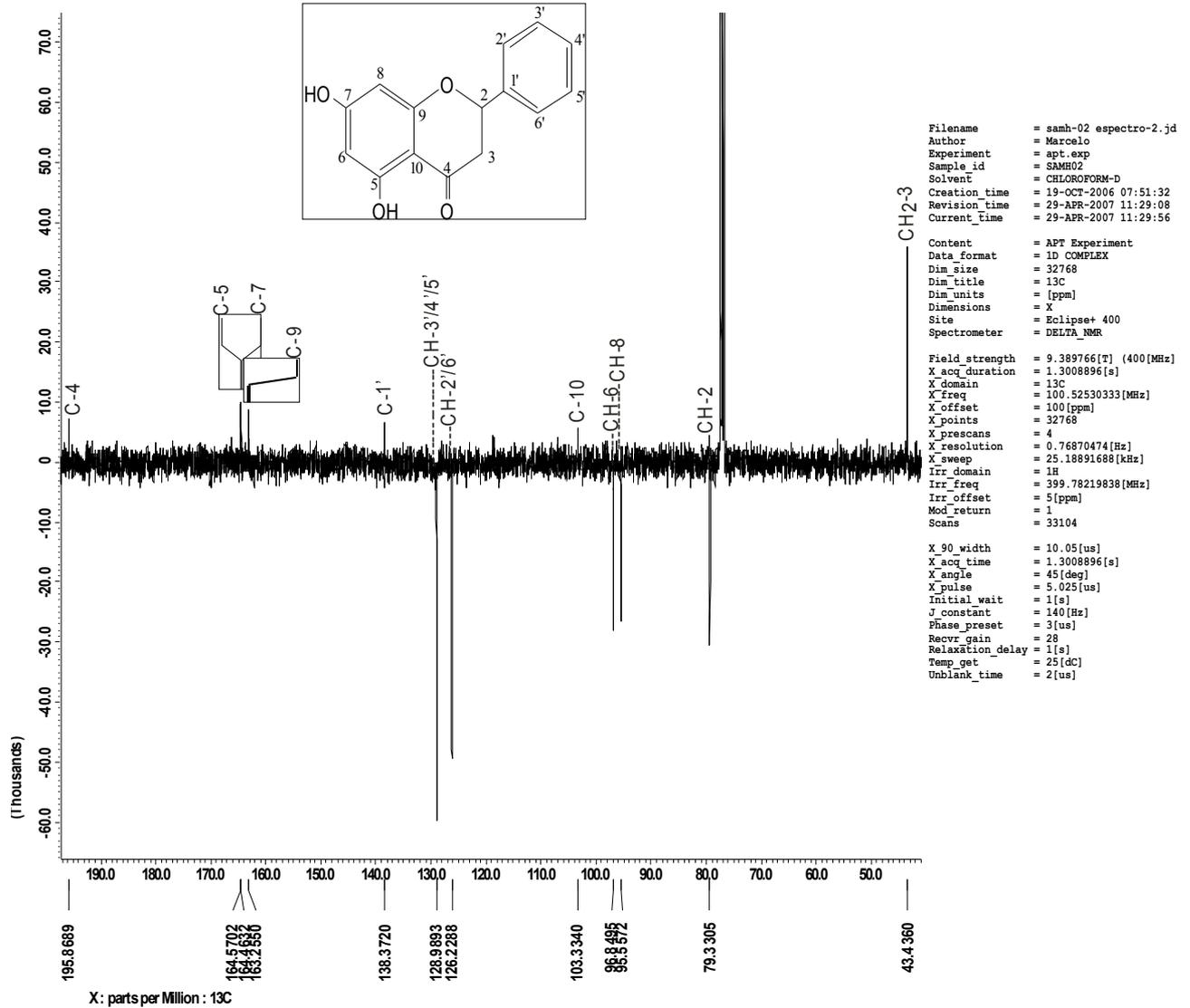


Figura 71 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAMH-02.

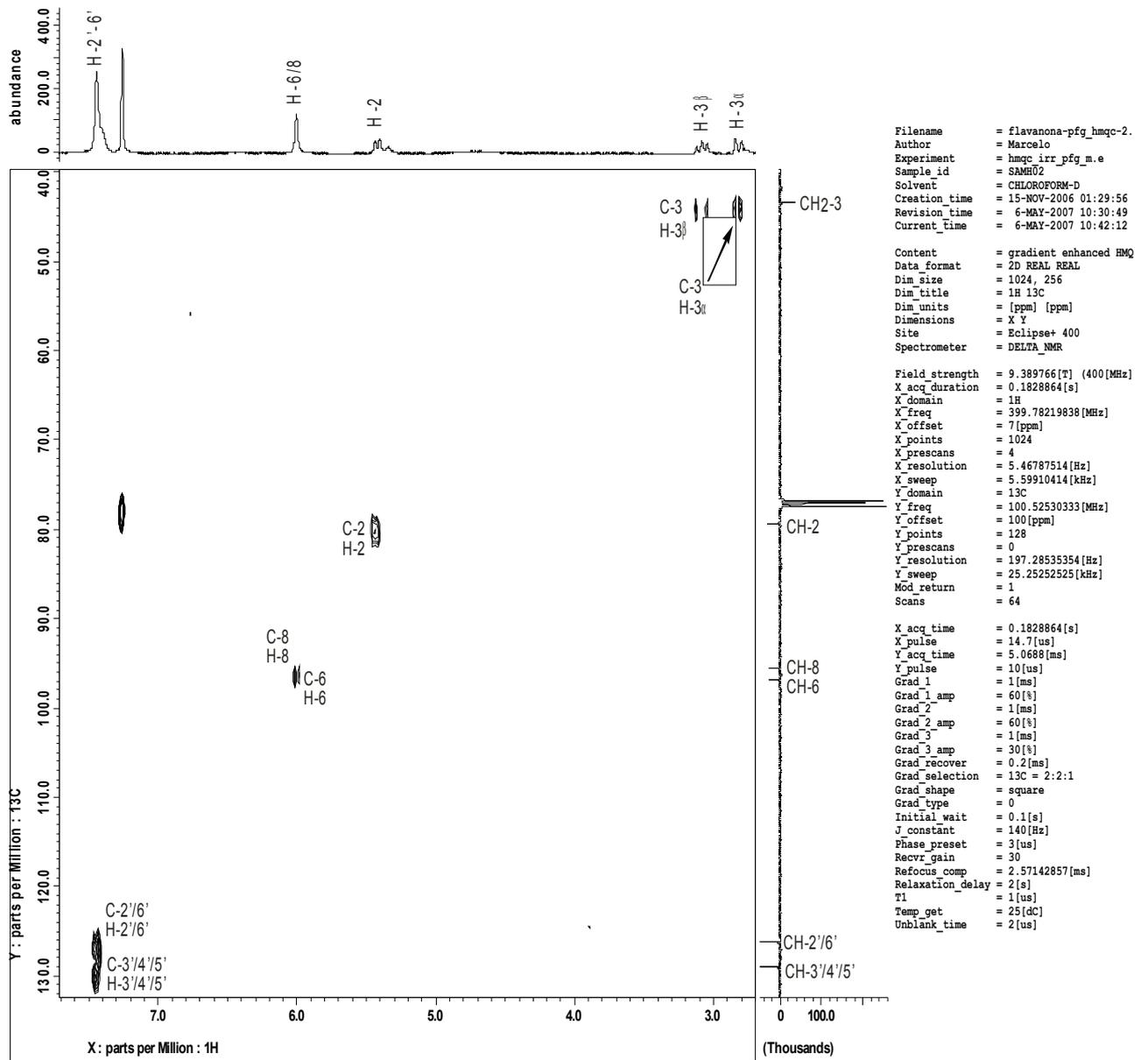


Figura 72 - Espectro de HMQC da substância SAMH-02

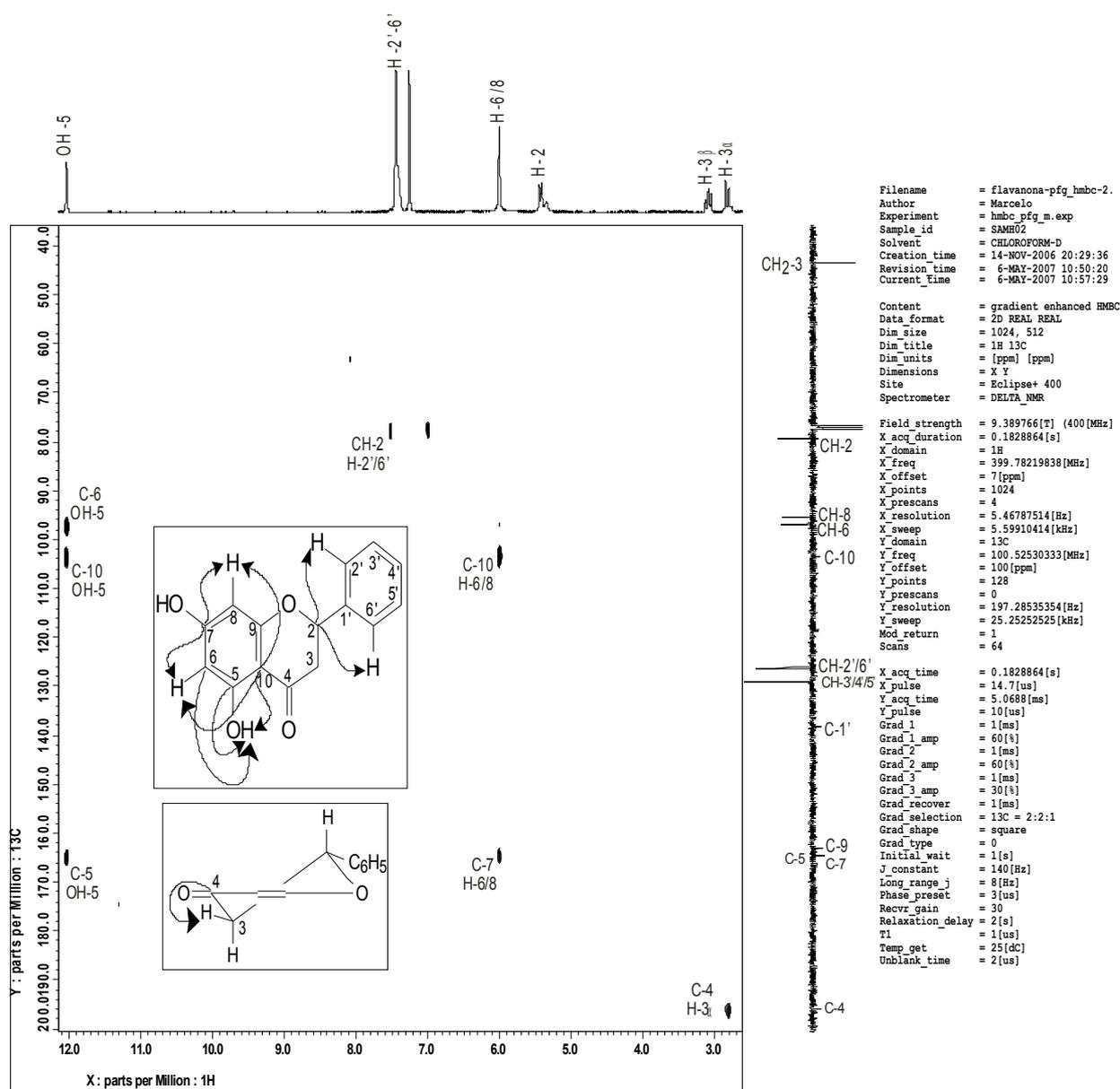


Figura 73 - Espectro de HMBC da substância **SAMH-02**

### 3.2.3. Determinação estrutural da substância **SAMH-03**

O tratamento cromatográfico [CCDP-hexano:AcOEt (4:1)] da fração 14-19 oriunda da sub-fração **F1C** (item 2.2.7.2, p. 31) resultou no isolamento de um sólido amarelo escuro, amorfo, solúvel em  $\text{CHCl}_3$ , com coloração verde escura em presença de solução alcoólica de cloreto férrico e vermelho carmim quando revelado com solução ácida de vanilina em CCDA (Item 2.2.6, p. 28).

O espectro de massas da substância **SAMH-03** (Figura 74, p. 118)

apresentou pico do íon molecular a  $m/z$  284 e sinais no espectro de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  característico para estrutura de pterocarpano (Braz-Filho *et al.*, 1980).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 75, p. 119) apresentou sinais característicos do anel heterocíclico **C** a  $\delta_{\text{H}}$  [3,63 (*t*,  $J= 11$  Hz) e 4,22 (*dd*,  $J= 11$  e 4,8 Hz)] relativos aos hidrogênios metilênicos 2H-2;  $\delta_{\text{H}}$  [3,46 (*m*)] relativo ao hidrogênio de carbono metínico H-3 e a  $\delta_{\text{H}}$  [5,47 (*d*,  $J= 6,9$  Hz)] relativo ao hidrogênio de carbono metino H-4. Sabe-se que pterocarpanos naturais ocorrem em duas formas enantioméricas, 3*S*, 4*S* e 3*R*, 4*R* e comparando os valores das constantes de acoplamento dos hidrogênios do grupo metileno  $\text{CH}_2$ -2 e os hidrogênios do grupos metínicos CH-3 e CH-4 conclui-se que a substância possui uma junção-*cis* do anel **C** com o anel **D** (Máximo & Lourenço, 1998). Os hidrogênios do grupo metilenodioxo ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ) aparecem a  $\delta_{\text{H}}$  (5,89 e 5,93). Os anéis aromáticos estão caracterizados pelos sinais a  $\delta_{\text{H}}$  [7,36 (H-5, *d*,  $J= 8,4$ ); 6,55 (H-6, *d*,  $J= 8,04$ ) 6,42 (*s*) H-8] atribuídos ao anel **A** e [6,72 (*s*) H-2' e 6,43 (*s*) H-5'] atribuídos ao anel **B**.

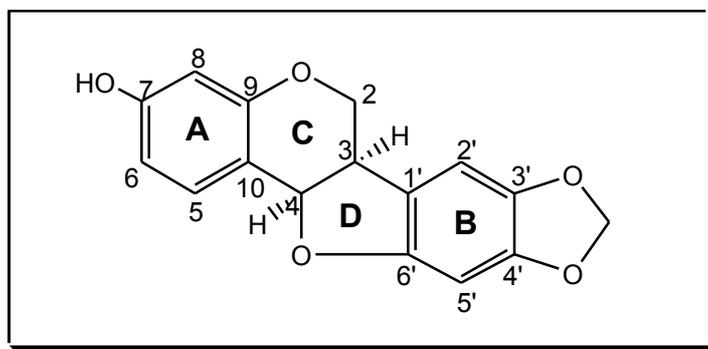
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Figura 76, p. 120) apresentou 16 sinais, sendo dois grupos metilênicos a  $\delta_{\text{C}}$  [66,44 ( $\text{CH}_2$ -2) e 101,28 ( $\text{O}-\text{CH}_2\text{O}$ )] e dois carbonos metínicos  $sp^3$  a  $\delta_{\text{C}}$  [40,14 (CH-3) e 78,44 (CH-4)]. Os sinais restantes foram atribuídos aos anéis aromáticos **A** e **B** através dos deslocamentos a  $\delta_{\text{C}}$  [132,10 (CH-5); 109,76 (CH-6); 157,04 (CH-7); 103,66 (CH-8); 156,62 (C-9); 112,62 (C-10); 117,90 (C-1'); 104,72 (CH-2'); 141,71 (C-3'); 148,09 (C-4'); 93,82 (CH-5') e 154,31 (C-6')].

O mapa de correlação heteronuclear a uma ligação HMQC ( $^1J_{\text{CH}}$ ) (Figura 77, p. 121) permitiu confirmar as atribuições feitas anteriormente nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -APT, através das correlações existentes entre o carbono CH-4 a  $\delta_{\text{C}}$  (78,44) com o hidrogênio H-4 a  $\delta_{\text{H}}$  (5,47); o carbono CH-5' a  $\delta_{\text{C}}$  (93,82) com o hidrogênio H-5' a  $\delta_{\text{H}}$  (5,92); o carbono C-2' a  $\delta_{\text{C}}$  (104,72) com o hidrogênio H-2' a  $\delta_{\text{H}}$  (6,72); o carbono C-6 a  $\delta_{\text{C}}$  (109,76) com o hidrogênio H-6 a  $\delta_{\text{H}}$  (6,55); o carbono metilenodioxo ( $\text{O}-\text{CH}_2\text{O}$ ) a  $\delta_{\text{C}}$  (101,28) com seus respectivos hidrogênios a  $\delta_{\text{H}}$  (5,89 e 5,93).

O mapa de correlação heteronuclear a longa distância HMBC ( $^nJ_{\text{CH}}$ ) permitiu correlacionar de forma inequívoca os pontos de ligação da substância através das correlações do carbono C-7 a  $\delta_{\text{C}}$  (157,04) com os hidrogênios [H-5

a  $\delta_H$  (7,4); OH-7 a  $\delta_H$  (5,11)]; do carbono CH-3 a  $\delta_C$  (40,14) com os hidrogênios [H-2 $\alpha$  a  $\delta_H$  (3,63) e H-2 $\beta$  a  $\delta_H$  (4,22)]; do carbono C-4' a  $\delta_C$  (148,09) com os hidrogênios do grupo metilenodioxi a  $\delta_H$  (5,89 e 5,93). As demais correlações encontradas na substância estão assinaladas na figura 78, p. 122.

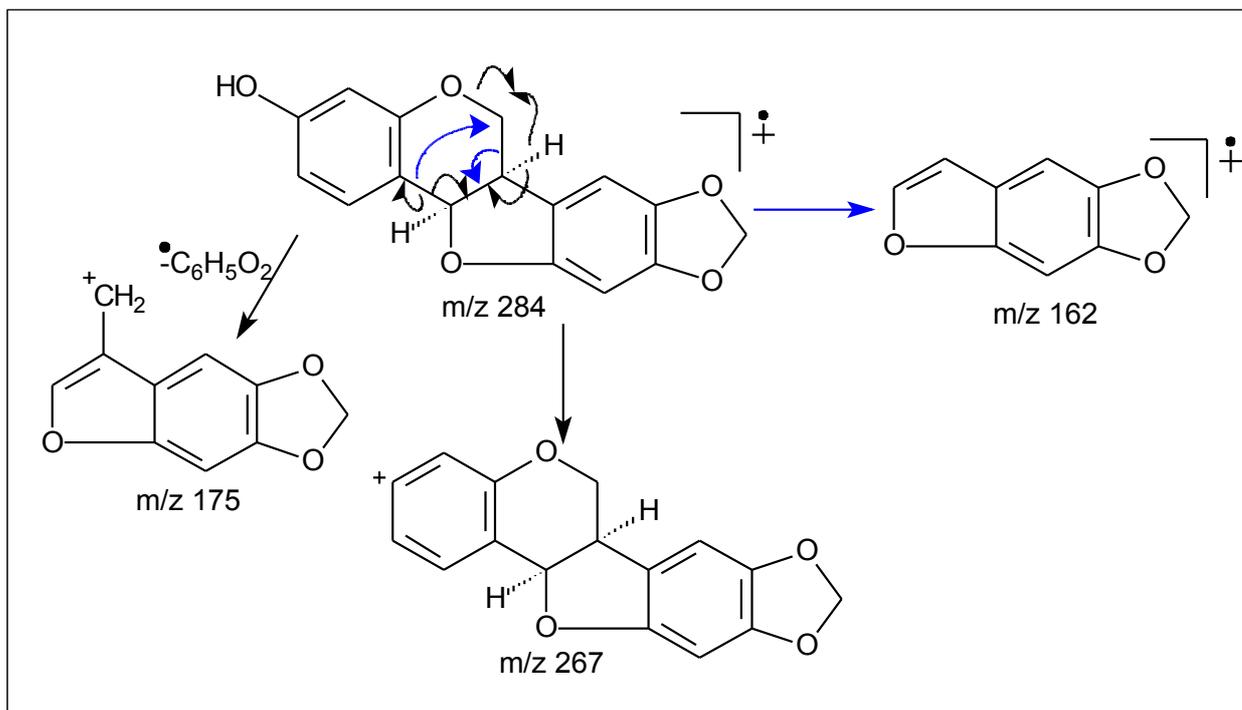
O conjunto dos dados de RMN analisados da substância **SAMH-03** juntamente com espectro de massas que exibiu sinal do íon molecular a  $m/z$  284 e fragmentações em  $m/z$  267 relativo a perda de radical hidroxila e  $m/z$  162 relativo a decomposição do tipo retro Diel-Alder do anel **C** (Budzikiewicz et al., 1964) (Esquema 10, p. 118) mostraram similaridade com aqueles descritos para (7-hidroxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano) conhecida como maackiaina descrita no gênero (Bedir *et al.*, 1999; Braz-Filho *et al.*, 1980).



**Tabela 9** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do pterocarpano **SAMH-03** em  $\text{CDCl}_3$ .

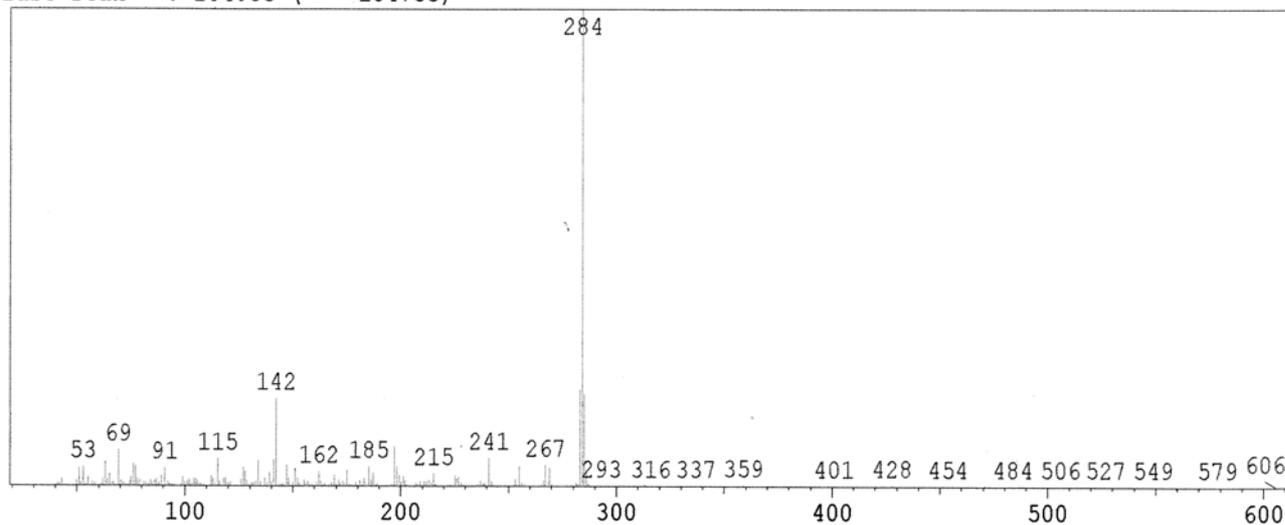
C	$\delta_C$	* $\delta_C$ Bedir <i>et al.</i> , 1999	$\delta_H$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
---	------------	---	------------	-------------------	-------------------

7	157,04	159,7	-	HO-7	H-5
9	156,62	157,2	-	H-8	H-2 $\beta$ ; H-4
1'	117,90	118,0	-	-	H-5'
3'	141,71	141,8	-	H-2'	H-5'
4'	148,09	148,2	-	H-5'	H-2'; OCH <sub>2</sub> O
6'	154,31	154,3	-	-	H-2'
10	112,62	112,6	-	-	H-6
CH					
5	132,10	132,2	7,36 ( <i>d</i> , 8,4)	-	H-4
6	109,76	109,8	6,55 ( <i>d</i> , 8,04)	-	H-8
8	103,66	103,8	6,42 ( <i>s</i> )	-	H-6
3	40,14	40,2	3,44-3,49 ( <i>m</i> )	H-2 $\alpha$ ; H-2 $\beta$	H-2'
2'	104,72	104,8	6,72 ( <i>s</i> )	-	-
5'	93,82	93,9	5,92 ( <i>s</i> )	-	-
4	78,44	78,6	5,47 ( <i>d</i> , 6,9)	-	H-5
CH <sub>2</sub>					
2	66,44	66,6	3,63 ( <i>t</i> , 11)	-	H-4
			4,22 ( <i>dd</i> , 11; 4,8)		
OCH <sub>2</sub> O	101,28	101,4	5,89 ( <i>s</i> )	-	-
			5,93 ( <i>s</i> )		



**Esquema 10** - Propostas de fragmentação da substância **SAMH-03**

Mass Peak # : 389 Ret. Time : 13.467 B.G. Time : ( 13.285 - 13.405 )  
 Base Peak : 284.05 ( 104755)



**Figura 74** - Espectro de massas da substância **SAMH-03**.

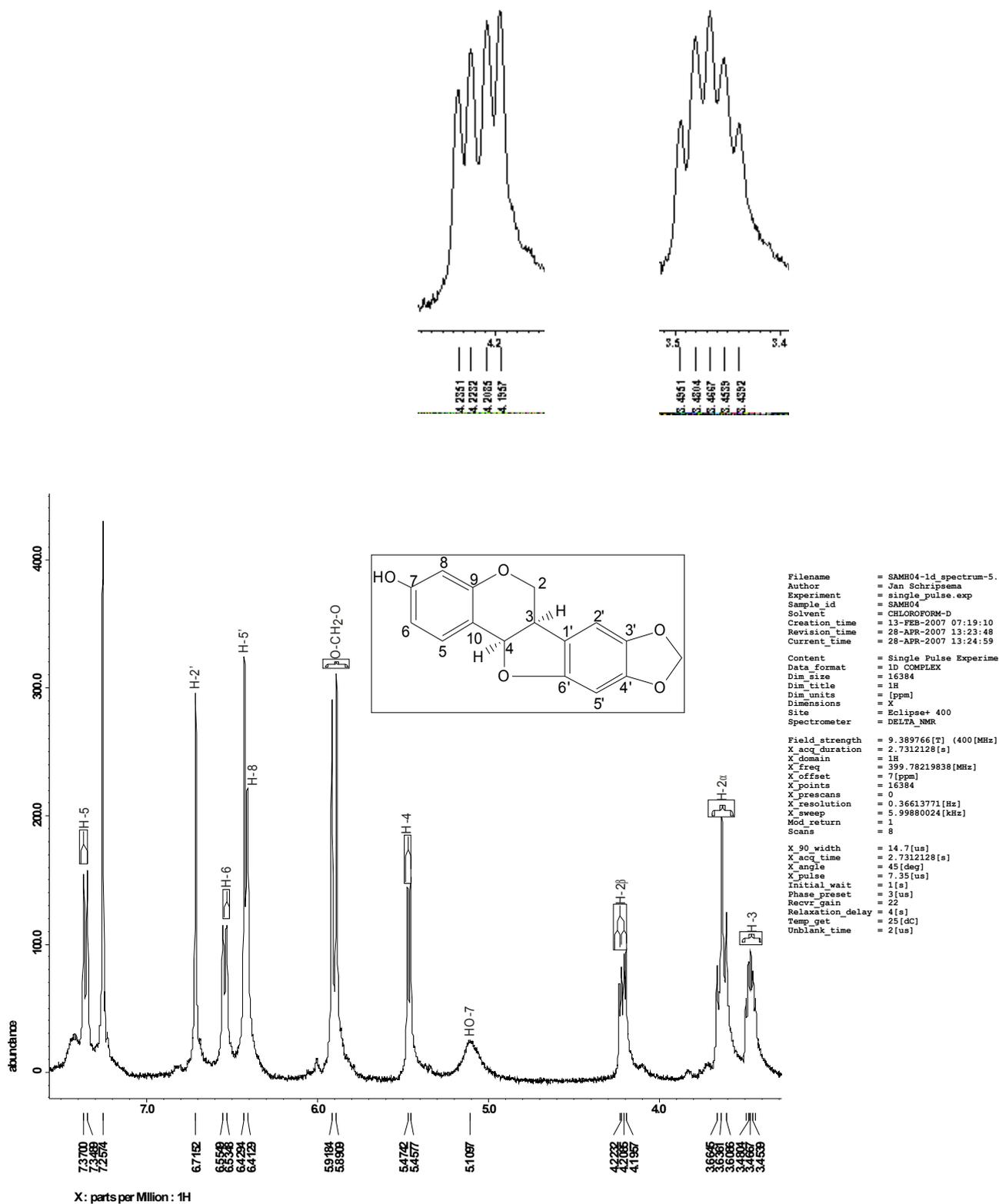


Figura 75 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAMH-03

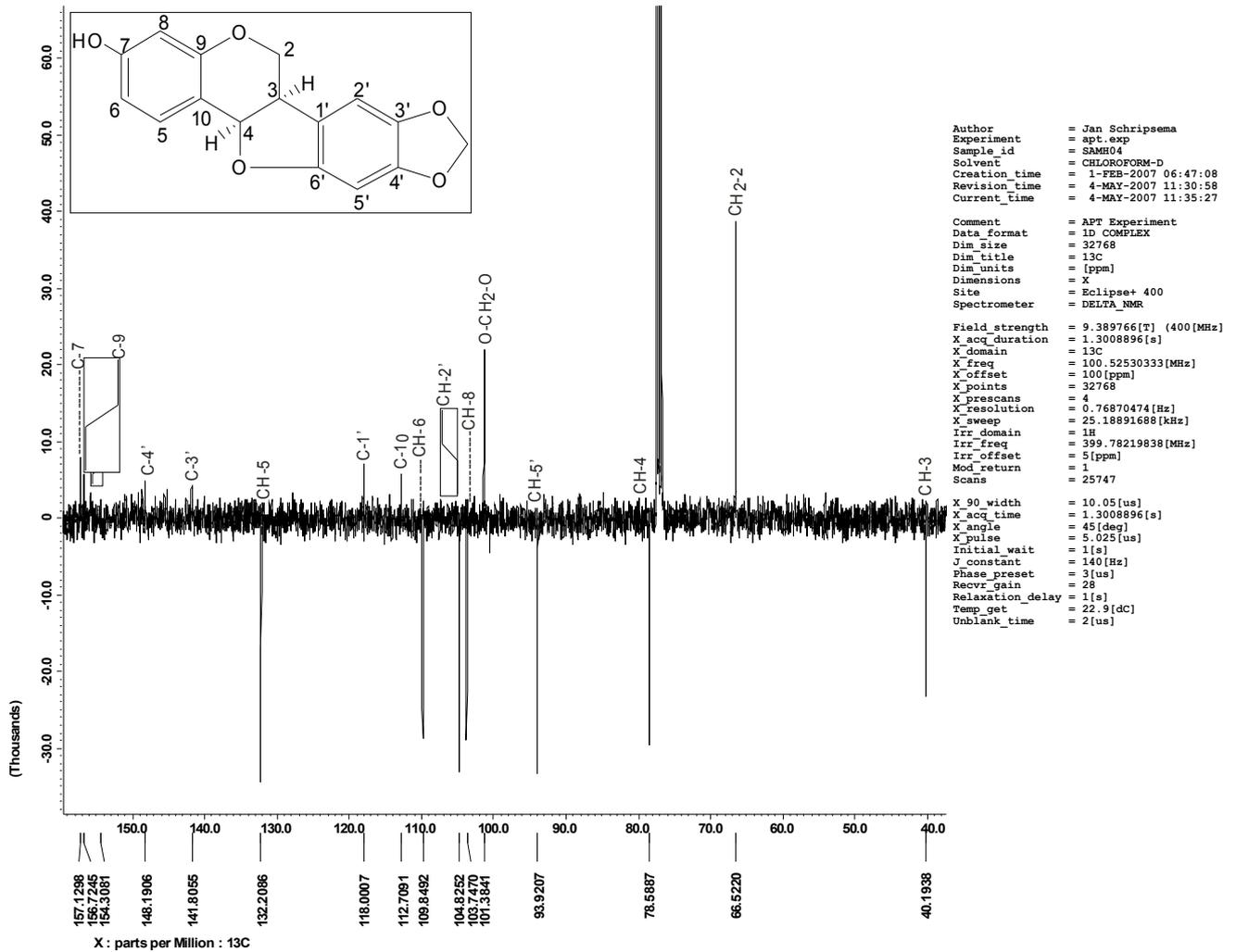


Figura 76 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAMH-03

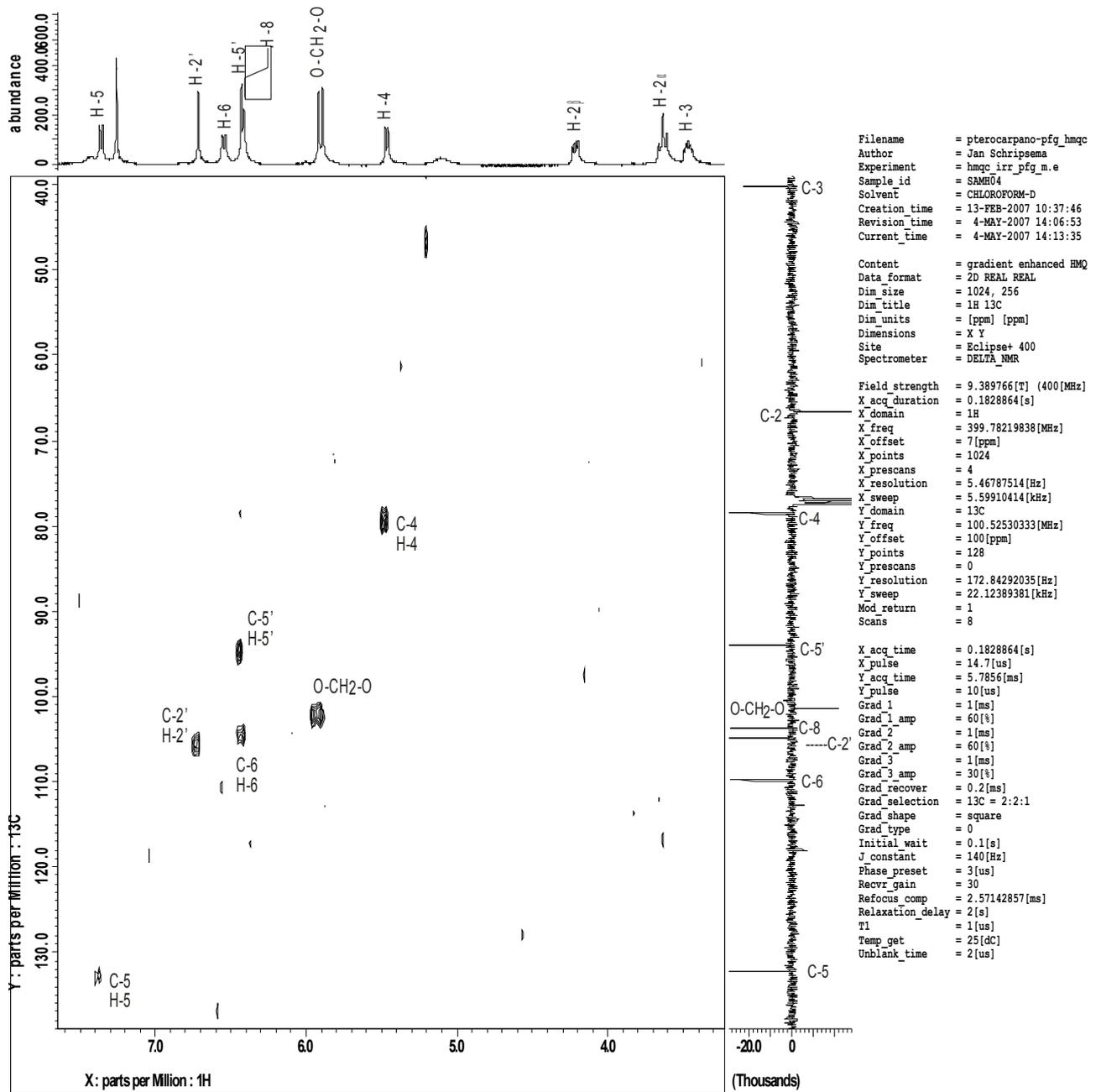


Figura 77 - Espectro de HMQC da substância SAMH-03

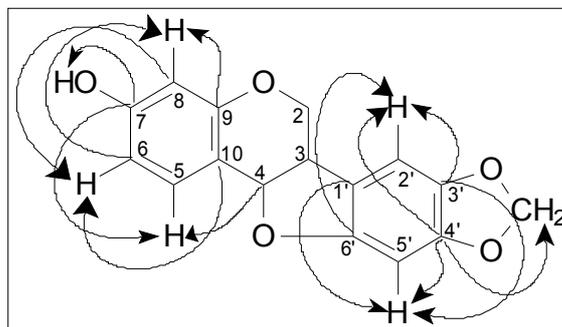
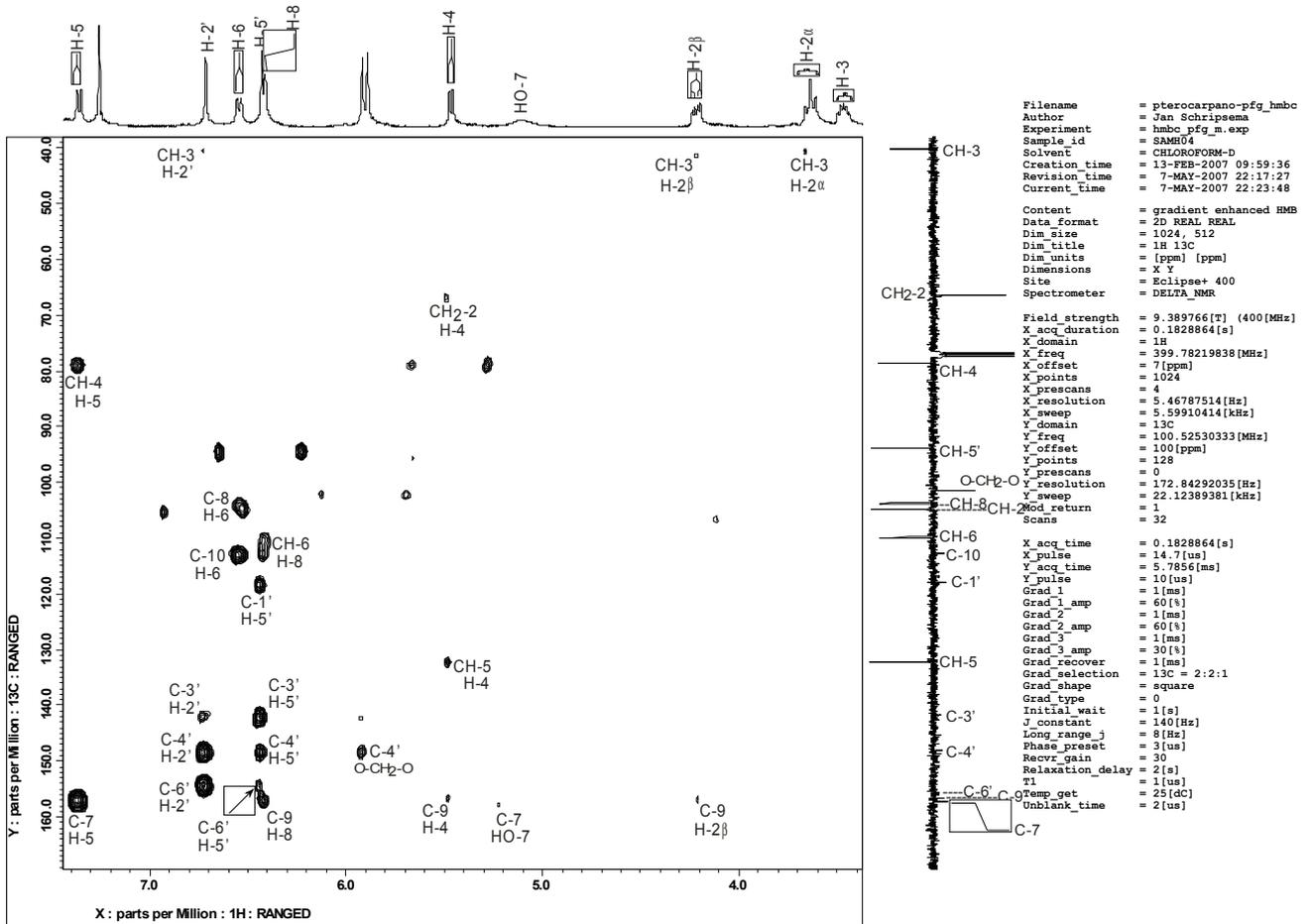


Figura 78 - Espectro de HMBC da substância SAMH-03

3.2.4. Determinação estrutural da substância SAMH-04.

O tratamento cromatográfico da fração 1-9 [CCDP hexano:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:2)] originária da sub-fração **F1C** (item 2.5.7.2, p. 31) possibilitou o isolamento de um sólido branco e amorfo, solúvel em CHCl<sub>3</sub>.

A elucidação estrutural da substância **SAMH-04** foi feita com base na análise dos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C-APT, CG-EM e comparação com dados da literatura (Campos *et al.*, 1991; Arisawa, *et al.*, 1980)

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Figura 79, p. 125) mostra sinais característicos de triterpenos com o aparecimento de sinais simples a  $\delta_H$  (0,75-1,67), sendo que o sinal a  $\delta_H$  (1,67) foi atribuído aos hidrogênios da metila CH<sub>3</sub>-30 que aparece em frequência mais alta pelo fato de estar ligada a um carbono com hibridização *sp*<sup>2</sup>. Na região de hidrogênios carbinólicos foi observado um duplo sinal duplo a  $\delta_H$  [3,18 (*dd*, *J*=10,4 e 4,8 Hz)] relativo ao hidrogênio do carbono metínico CH-3. A presença do metileno terminal foi confirmada através dos sinais na região de hidrogênios olefínicos a  $\delta_H$  [4,68 (*d*, *J*=2,2 Hz) e 4,59] cujo valor da constante de acoplamento confirma a ocorrência de um acoplamento geminal (Silverstein & Webster, 2000). Podemos observar ainda o sinal múltiplo a  $\delta_H$  (2,36 *m*) relativo ao hidrogênio H-19.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT (Figuras 80 e 81, p. 126 e 127) confirmou as atribuições feitas no espectro RMN <sup>1</sup>H. Neste podemos notar a presença dos carbonos *sp*<sup>2</sup> de vinila em  $\delta_C$  [153,31(CH-20) e 109,40 (CH-29)], um carbono oxigenado em  $\delta_C$  [79,08 (CH-3)]. As demais atribuições feitas para a molécula estão resumidas na tabela 10, p. 124.

O espectro de massas (Figura 82, p. 128) que apresentou o pico do íon molecular a *m/z* 426 e em *m/z* 218 relativo a fragmentação do anel **C** e em *m/z* 411 relativo a perda de grupo metila (-CH<sub>3</sub>) (Budzikiewicz *et al.*, 1967) confirmam a estrutura do triterpeno lupeol para a substância **SAMH-04**, as demais fragmentações estão ilustradas no esquema 11, p. 128.

**Tabela 10** - Dados espectrais de RMN <sup>13</sup>C do triterpeno **SAMH-04** em CDCl<sub>3</sub>.

	SAMH-04	Lupeol*
C	$\delta_C$	$\delta_C$ (Campos <i>et al.</i> , 1991 e Arisawa, <i>et al.</i> , 1980)

---

1	38,80	38,6
2	26,02	27,3
3	79,08	78,9
4	38,96	38,8
5	55,39	55,2
6	18,40	18,2
7	34,37	34,2
8	41,09	40,7
9	50,52	50,3
10	39,34	37,1
11	21,01	20,9
12	25,22	25,0
13	37,20	38,0
14	43,08	42,7
15	27,51	27,4
16	35,67	35,5
17	42,40	42,9
18	48,07	48,2
19	47,49	47,9
20	150,31	150,8
21	29,45	29,8
22	40,08	39,9
23	28,07	27,9
24	15,44	15,3
25	16,19	16,1
26	16,19	15,9
27	14,20	14,5
28	18,09	17,9
29	109,40	109,3
30	19,65	19,2

---

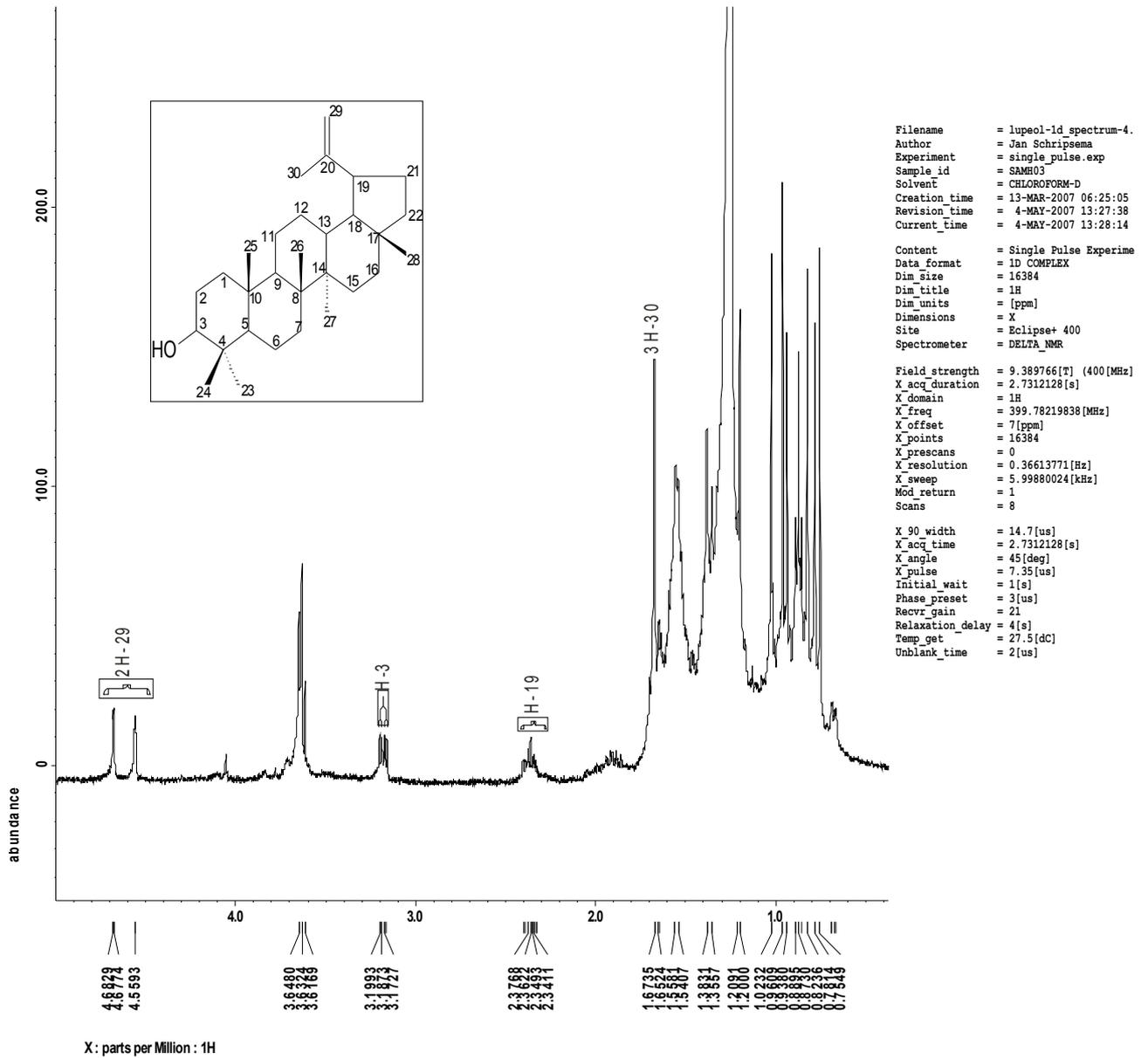


Figura 79 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância SAMH-04

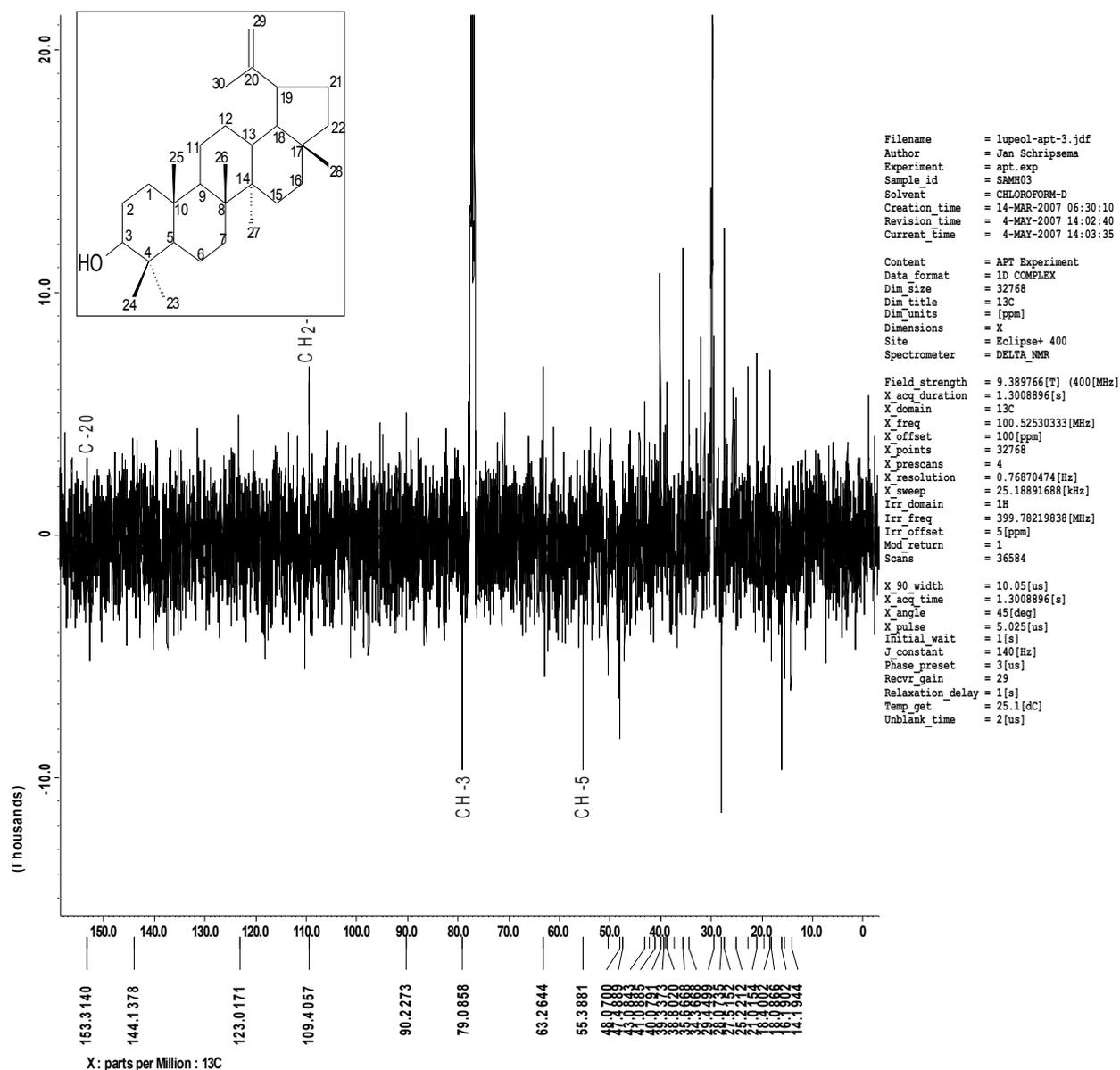


Figura 80 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAMH-04

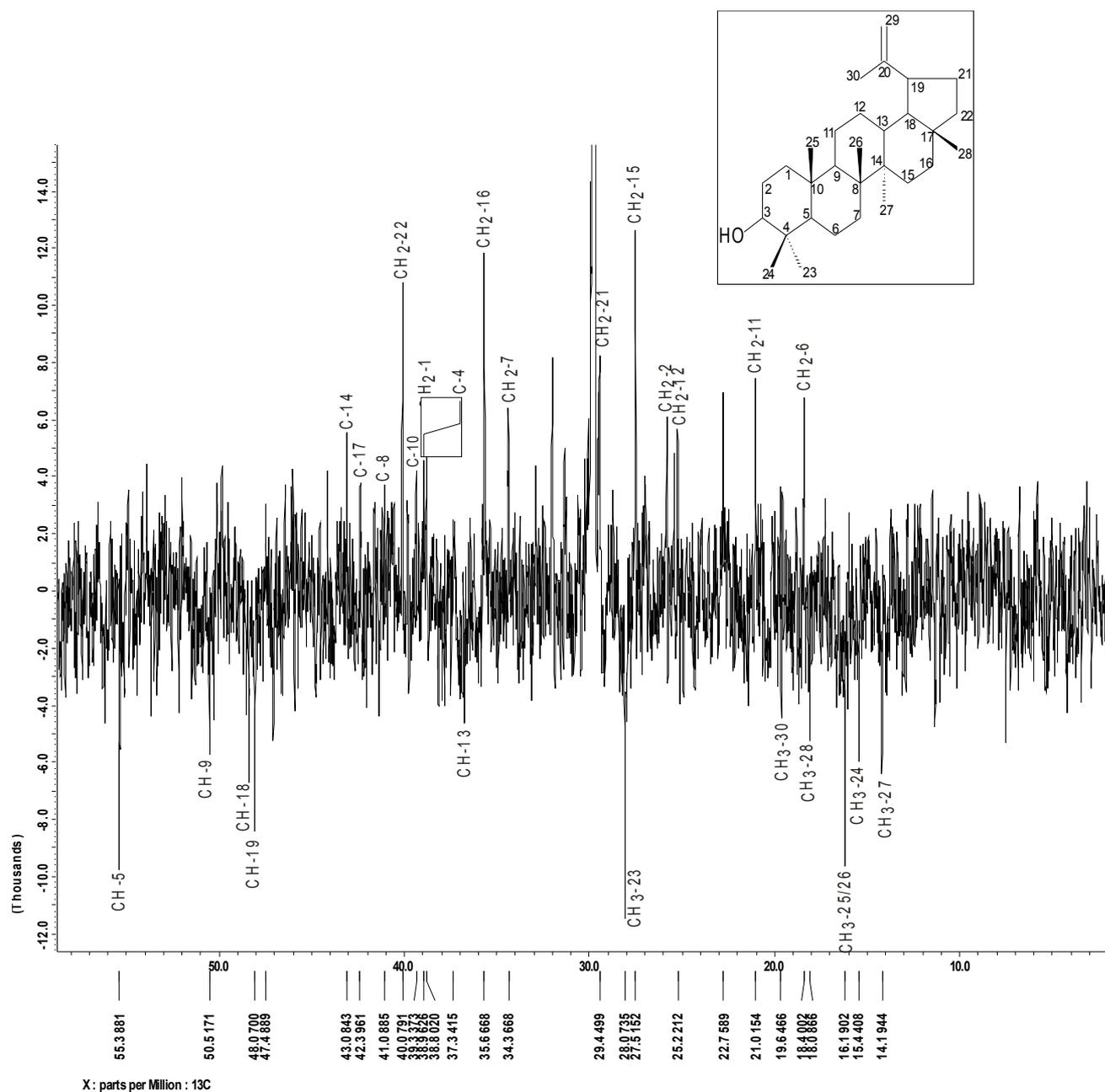
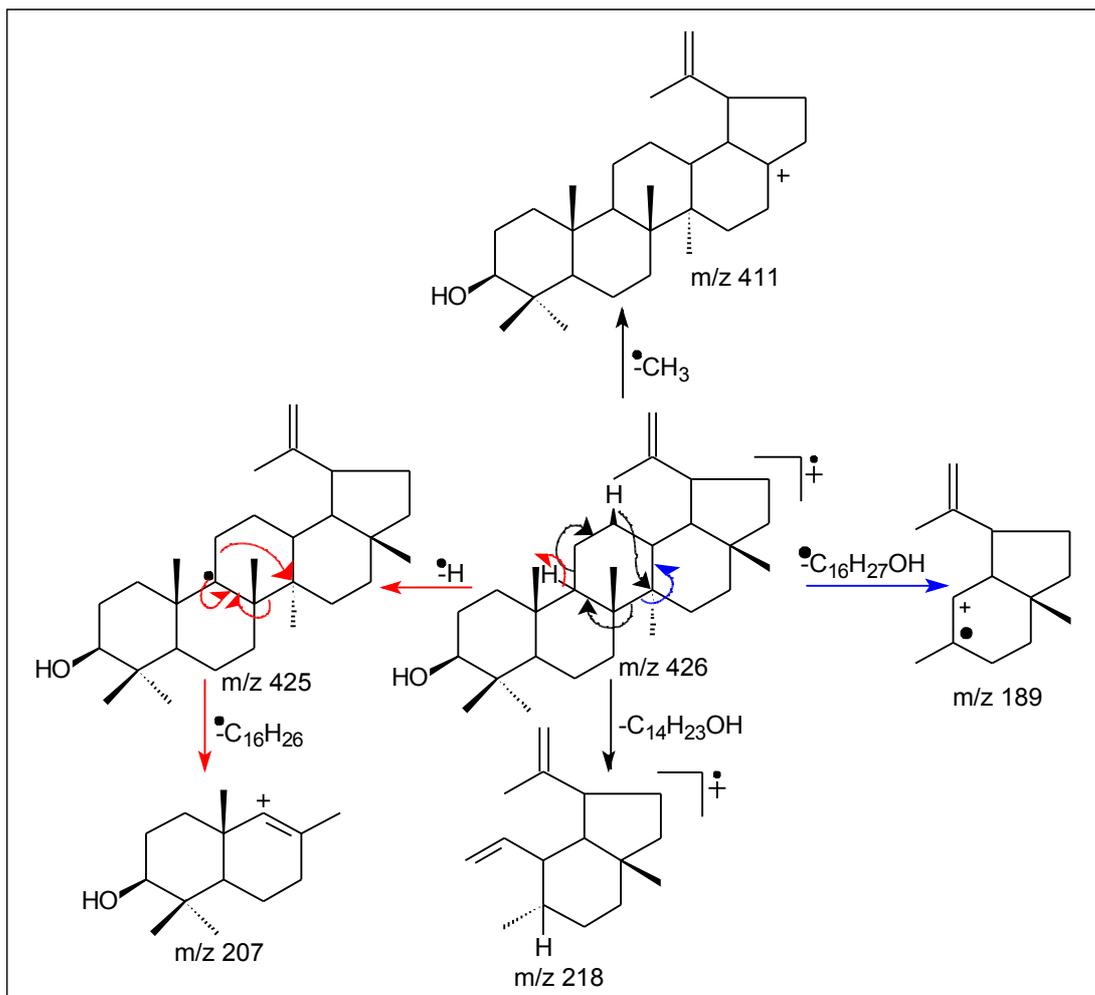
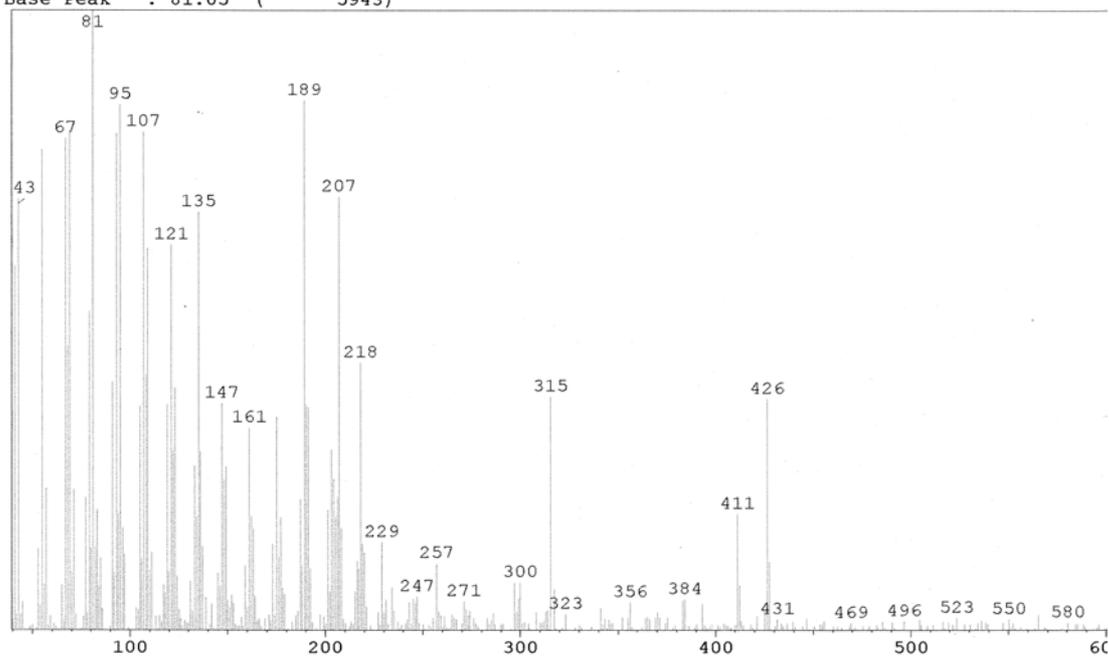


Figura 81 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT da substância SAMH-04 (região de 0 a 60 ppm).



**Esquema 11 - Padrões de fragmentação da substância SAMH-04**

Mass Peak # : 375 Ret. Time : 22.342  
 Base Peak : 81.05 ( 5943)



**Figura 82 - Espectro de massas da substância SAMH-04**

### 3.2.5. Determinação estrutural da substância **SAMH-05**

Os fitoesteróides ocorrem amplamente no reino vegetal. Normalmente aparecem em mistura de difícil separação, pois apresentam propriedades espectroscópicas semelhantes.

Misturas contendo estigmasterol são facilmente identificadas nos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , pelos sinais referentes aos hidrogênios vinílicos (H-22 e H-23) que aparecem como dois duplos dupletos entre  $\delta$  5,00 e 5,20.

Na determinação do número de fitoesteróides em uma mistura, bem como sua identificação, a técnica de CG-EM é muito útil. Esta técnica foi utilizada primeiramente para identificar a mistura de fitoesteróides presentes em **SAMH-05** isolada da sub-fração **F1D** (Esquema 6, p. 32) como um sólido cristalino, solúvel em  $\text{CHCl}_3$ .

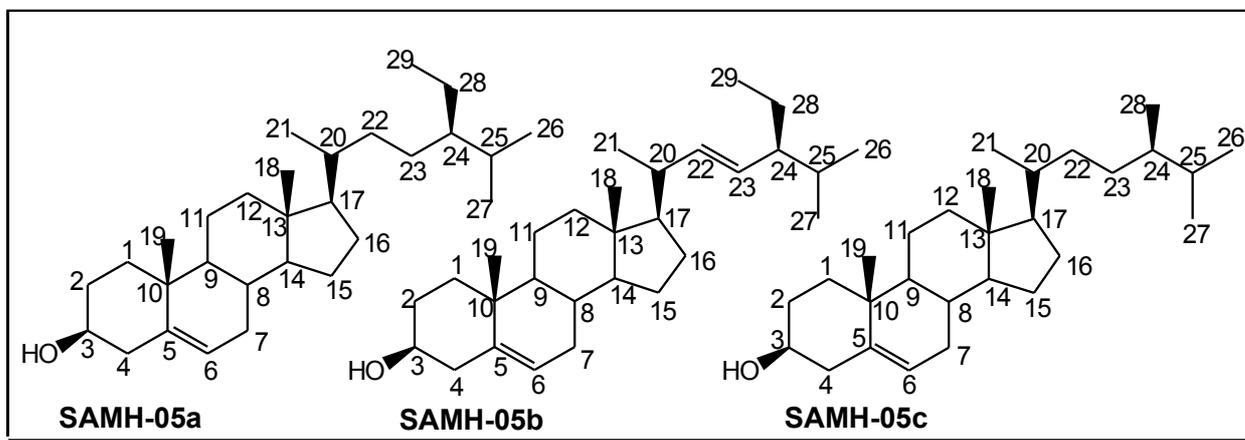
A análise do cromatograma (Figura 86, p. 135) da substância **SAMH-05** mostrou tratar-se de uma mistura de esteróides. O espectro de massas de cada componente confirmou a presença do  $\beta$ -sitosterol, pico do íon molecular a  $m/z$  414, estigmasterol a  $m/z$  412 e campesterol a  $m/z$  400 (Figura 87-89, p. 135-136).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) da mistura (Figura 83, p. 132), apresentou dois sinais largos a  $\delta_c$  (3,53), atribuído ao hidrogênio do carbono carbinólico H-3 e a  $\delta_c$  (5,35) referente ao hidrogênio olefínico H-6. Foram ainda observados um grande acúmulo de sinais na região de  $\delta_c$  (0,68 a 1,01) relativo aos hidrogênios dos grupos metílicos esqueleto esteroidal. Os dois duplos duplos a  $\delta_c$  5,01 ( $dd$ ,  $J= 8,08$ ; 14,5 Hz, H-22) e 5,15 ( $dd$ ,  $J= 8,4$ ; 14,8 Hz, H-23) foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos da cadeia lateral da estrutura do estigmasterol.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT da mistura (Figuras 84-85, p. 133-134), possibilitou distinguir as substâncias **SAMH-05a** e **b** através dos sinais a  $\delta_c$  (121,70 e 140,72) (CH-6 e CH-5) presentes no  $\beta$ -sitosterol e no estigmasterol e  $\delta_c$  (129,24 e 138,30) (CH-23 e CH-22), presente apenas no estigmasterol (Seo, S., et al., 1988).

O outro esteróide detectado na mistura, o campesterol **SAMH-05c**, apresentou grande semelhança com o  $\beta$ -sitosterol, com a exceção de um grupo metilênico a menos em CH-24 na cadeia lateral, o que torna praticamente

indistinguível do  $\beta$ -sitosterol no espectro de RMN  $^1\text{H}$ . A distinção entre as substâncias foi feita principalmente pela análise de CG/EM, cujos fragmentos estão ilustrados nos esquemas 12, 13 e 14, p. 137 e 138.



**Tabela 11** - Dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  dos esteróides **SAMH-05a/b/c** em  $\text{CDCl}_3$ .

	SAMH-05a	Sitosterol	SAMH-05b	Stigmasterol	SAMH-05c	Campesterol
C	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$
1	37,34	37,3	37,34	37,3	37,34	37,3
2	31,74	31,9	31,74	31,9	31,74	31,9
3	71,90	71,8	71,90	71,8	71,90	71,8
4	42,37	42,2	42,37	42,2	42,37	42,2
5	140,83	140,7	140,83	140,7	140,83	140,7
6	121,81	121,7	121,81	121,7	121,81	121,7
7	34,02	33,9	34,02	33,9	34,02	33,9
8	31,97	31,9	31,97	31,9	31,97	31,9
9	50,23	50,1	50,23	50,1	50,23	50,1
10	36,60	36,1	36,60	36,1	36,60	36,1
11	21,16	21,1	21,16	21,1	21,16	21,1
12	39,77	39,8	39,77	39,8	39,77	39,8
13	42,37	42,3	42,37	42,3	42,37	42,3
14	56,95	56,8	56,95	56,8	56,95	56,8
15	24,46	24,3	24,46	24,3	24,46	24,3
16	29,01	28,9	29,01	28,9	29,01	28,9
17	56,03	56,0	56,03	56,0	56,03	56,0
18	12,35	12,3	12,35	12,3	12,35	12,3
19	19,48	19,4	19,48	19,4	19,48	19,4
20	40,60	39,8	40,60	39,8	36,23	37,3
21	19,07	18,8	19,91	20,5	19,07	14,1
22	31,74	32,0	138,41	138,3	31,74	32,0
23	26,14	26,0	129,36	129,3	28,34	31,6
24	45,91	45,8	51,33	51,2	45,91	45,8
25	29,22	29,0	31,97	31,9	31,97	31,9
26	19,91	19,8	21,31	21,2	21,31	21,2
27	19,48	19,8	19,48	19,8	21,18	20,2
28	23,15	23,0	23,15	25,4	18,87	18,2
29	11,95	11,8	12,14	11,9	-	-

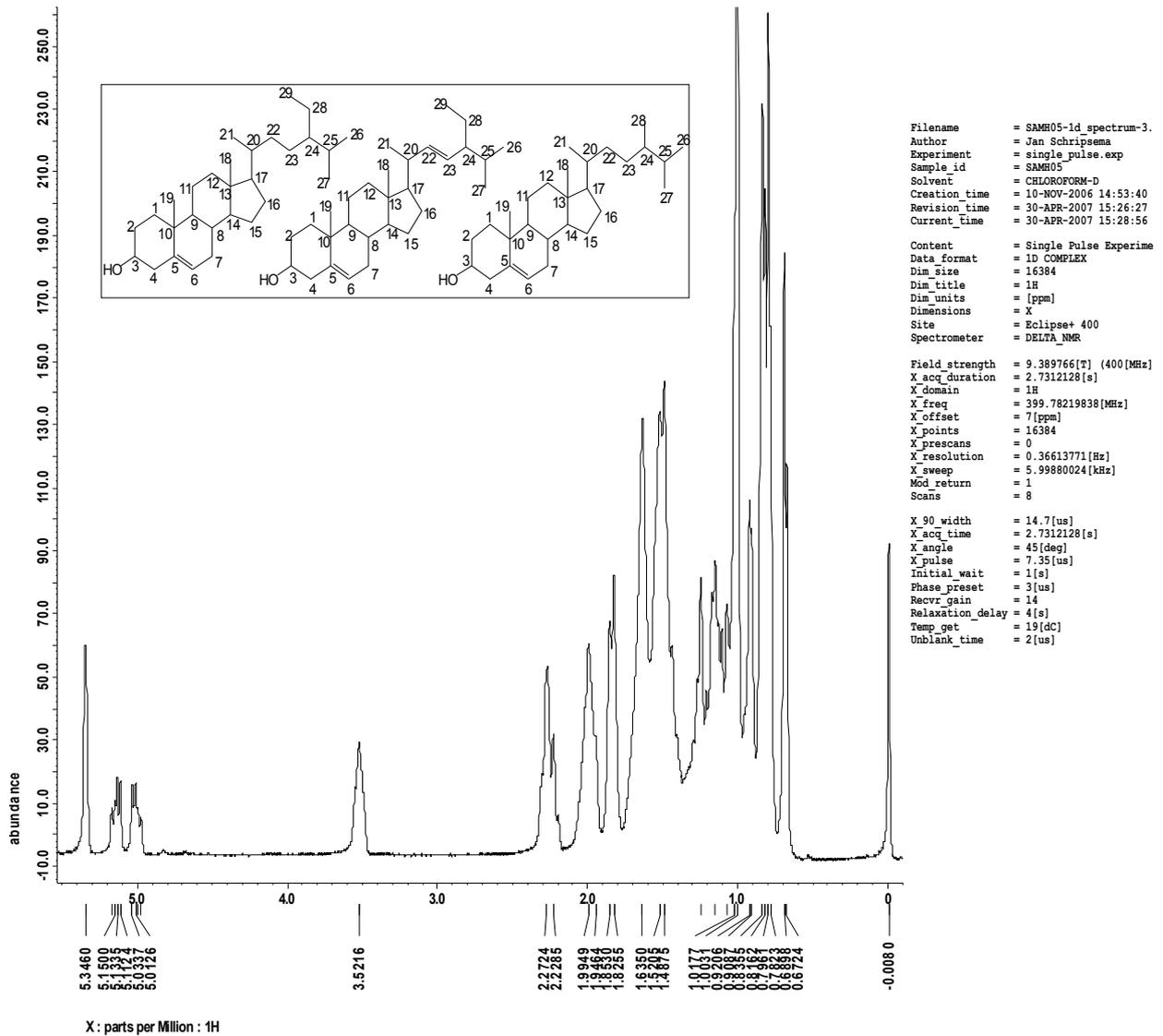


Figura 83 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H das substâncias SAMH-05a/b/c

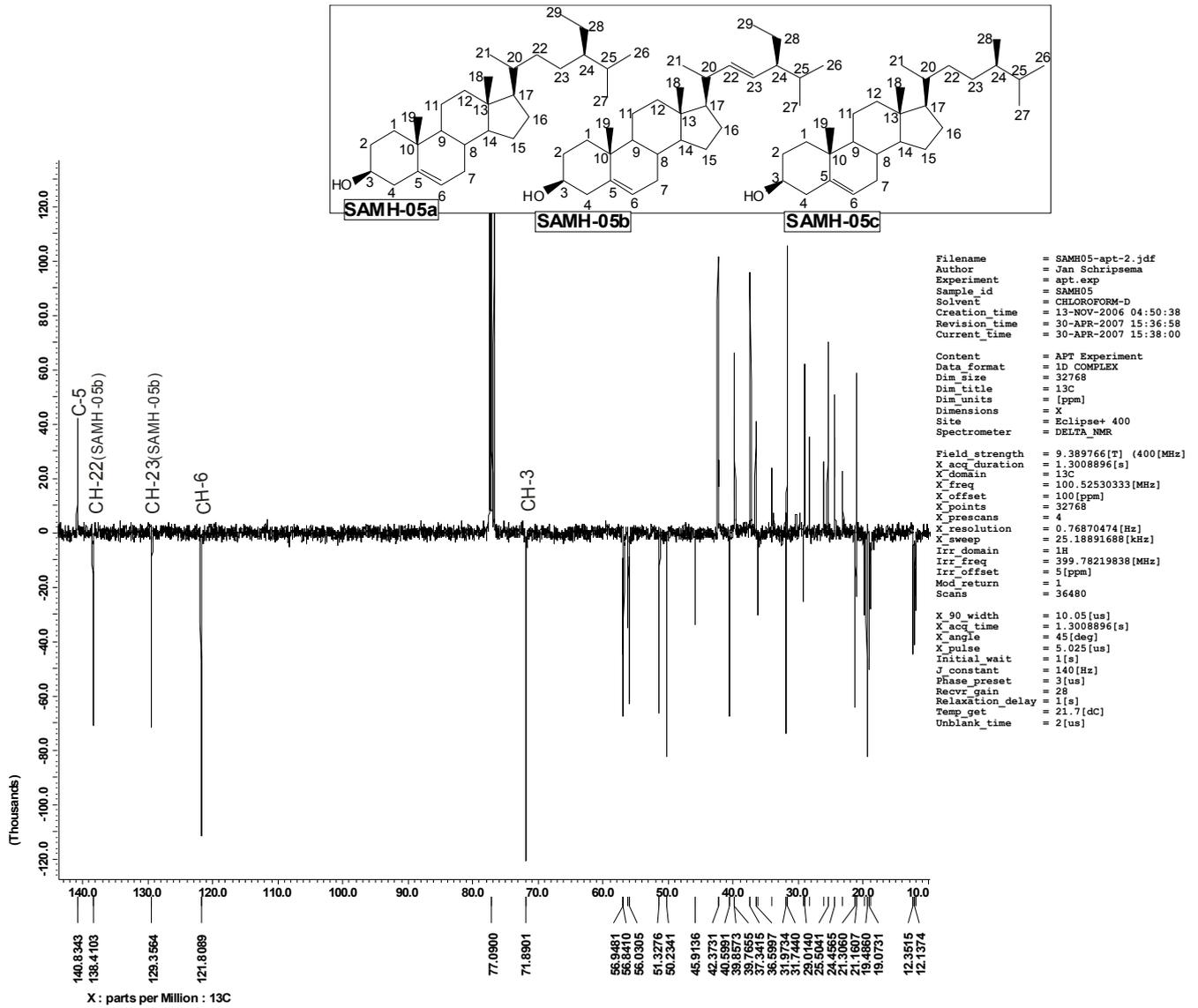


Figura 84 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT das substâncias SAMH-05a/b/c

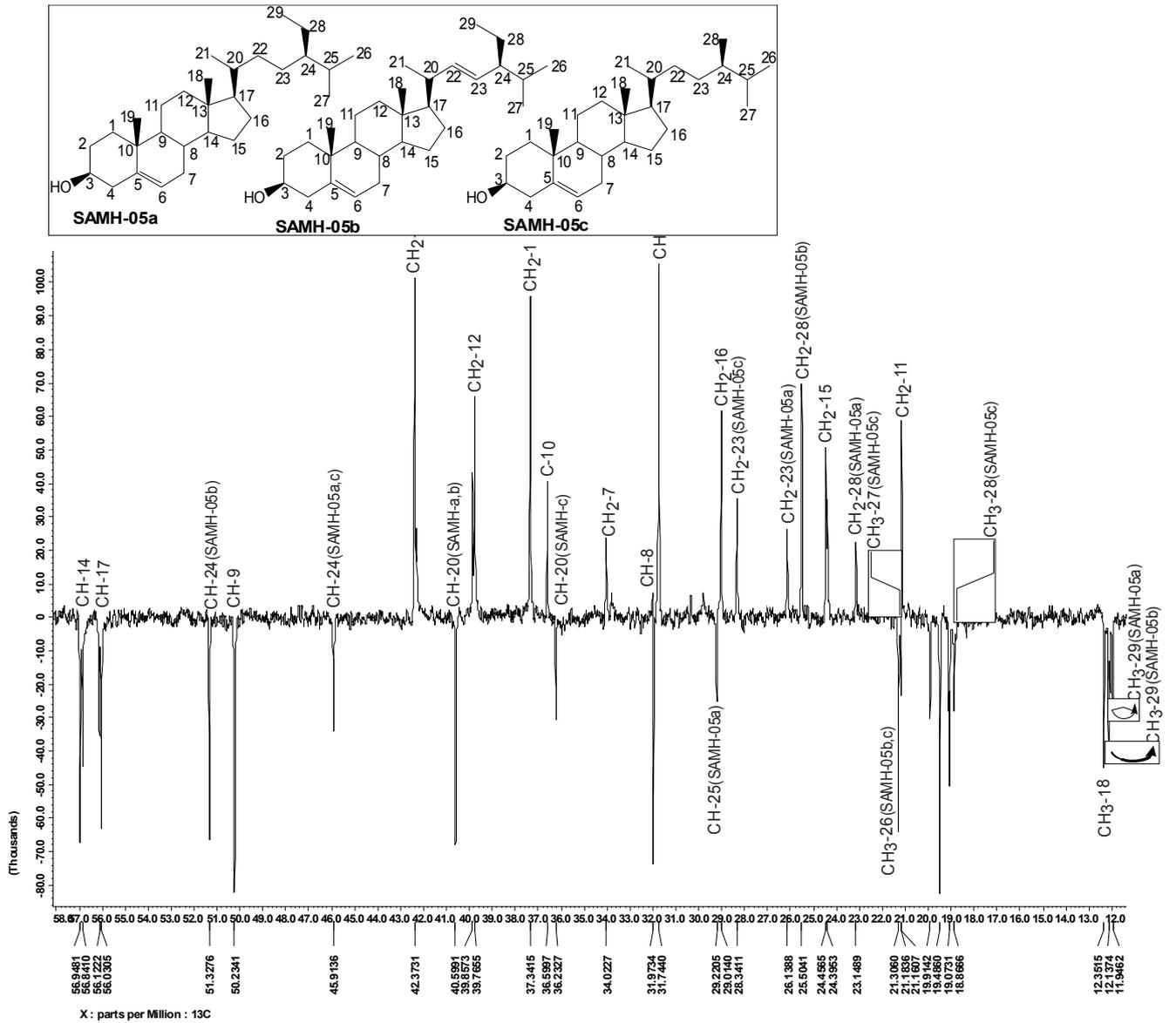
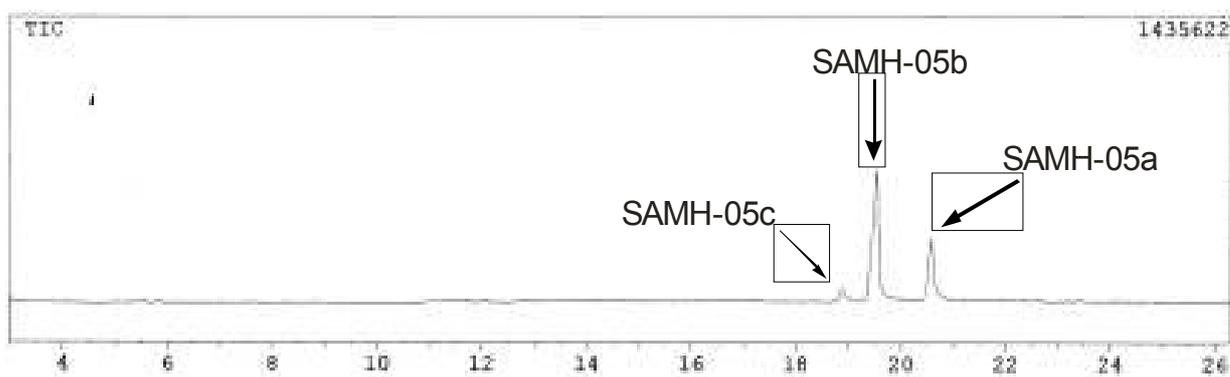
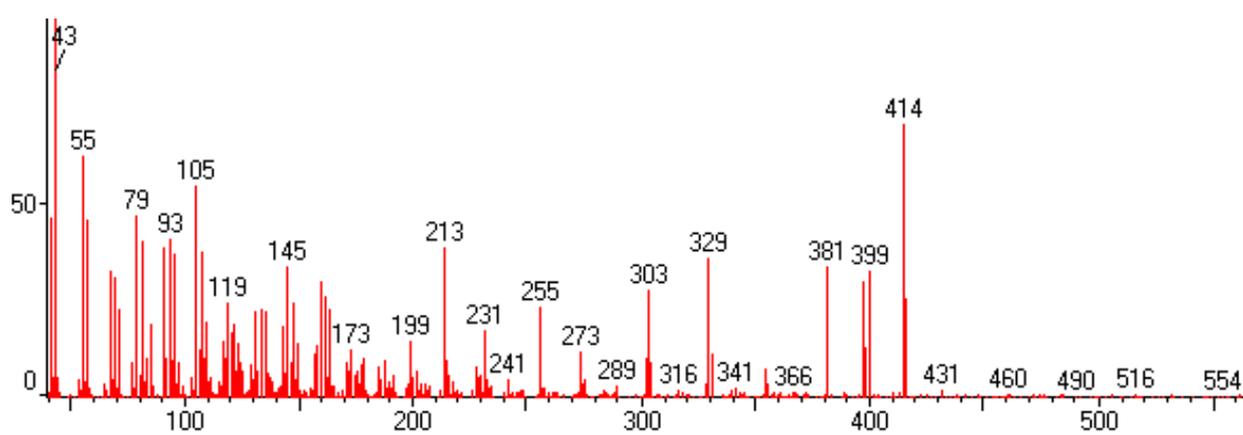


Figura 85 - Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT das substâncias SAMH-05a/b/c (região de 12 a 58 ppm).



**Figura 86** - Espectro de CG das substâncias **SAMH-05a/b/c**



**Figura 87** - Espectro de massas da substância **SAMH-05a**

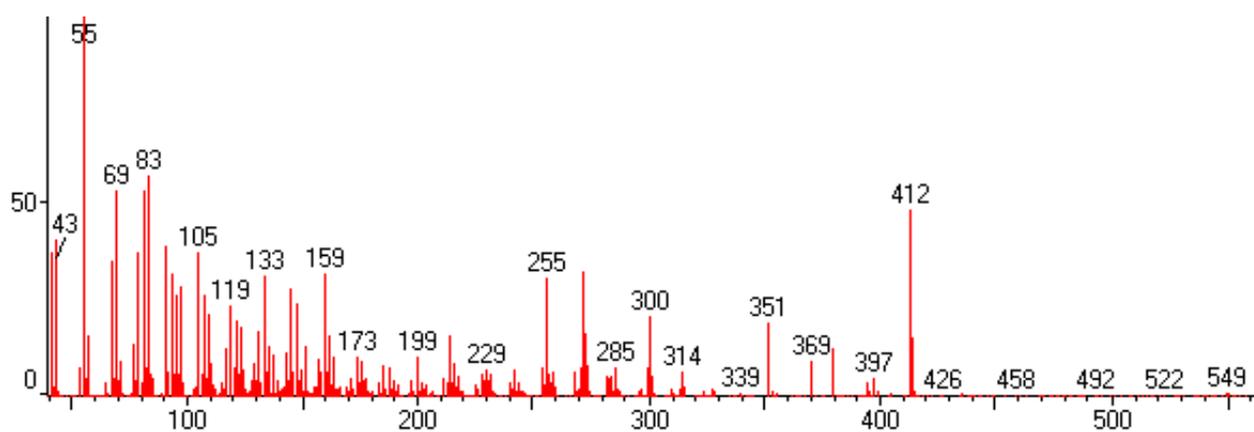


Figura 88 - Espectro de massas da substância **SAMH-05b**

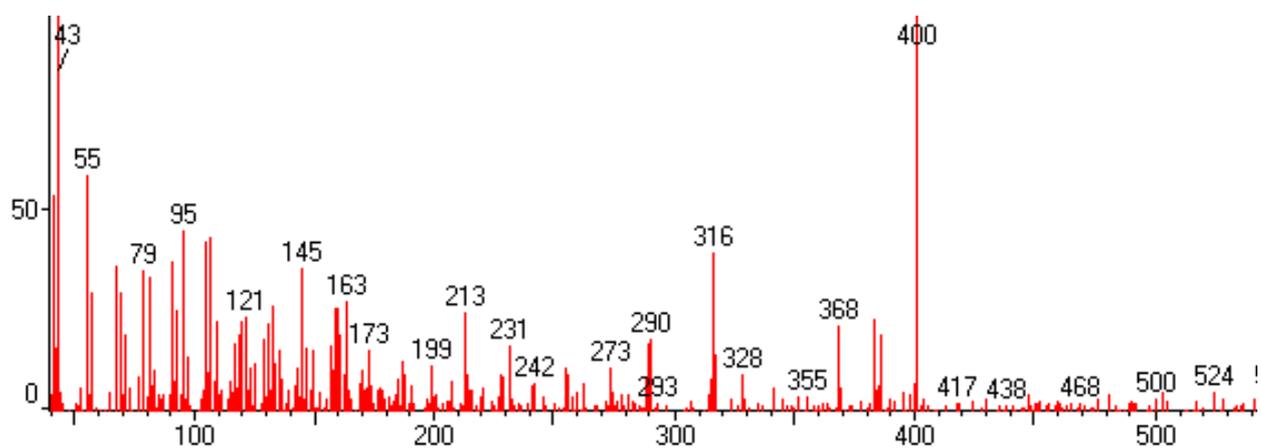
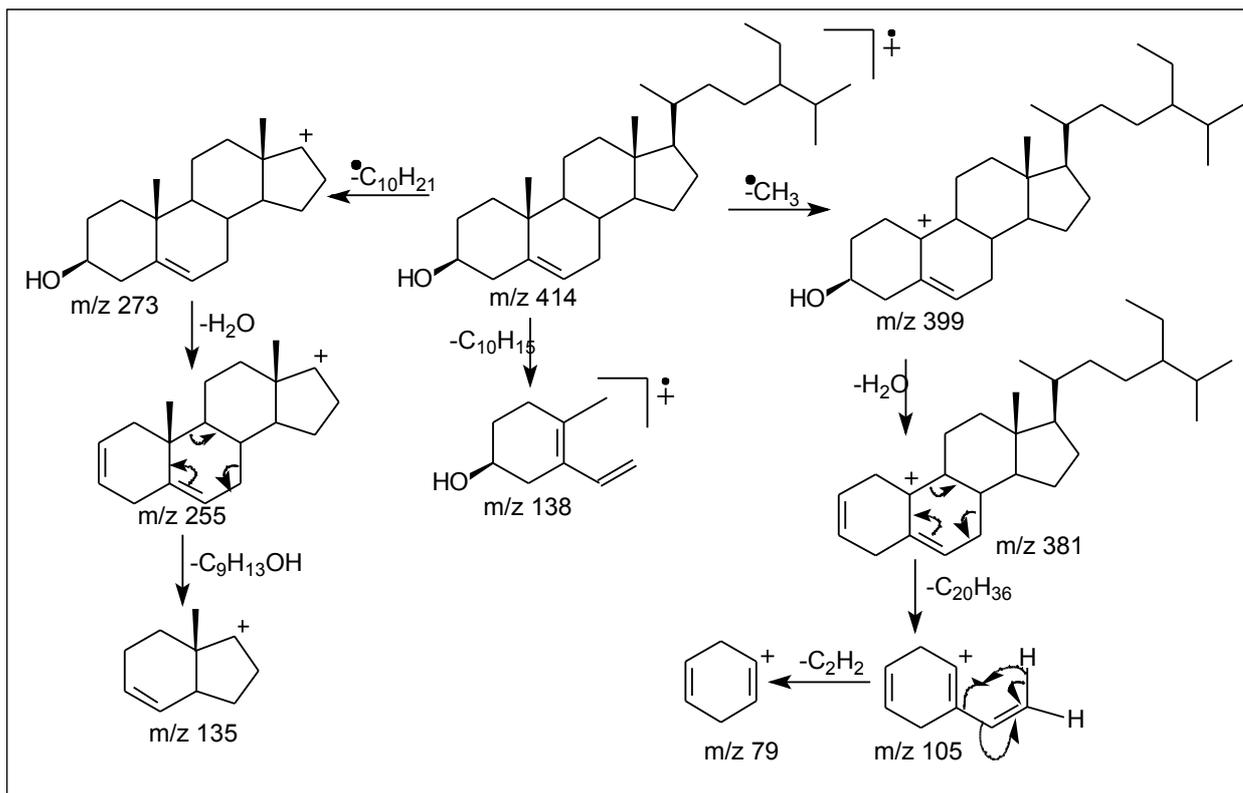
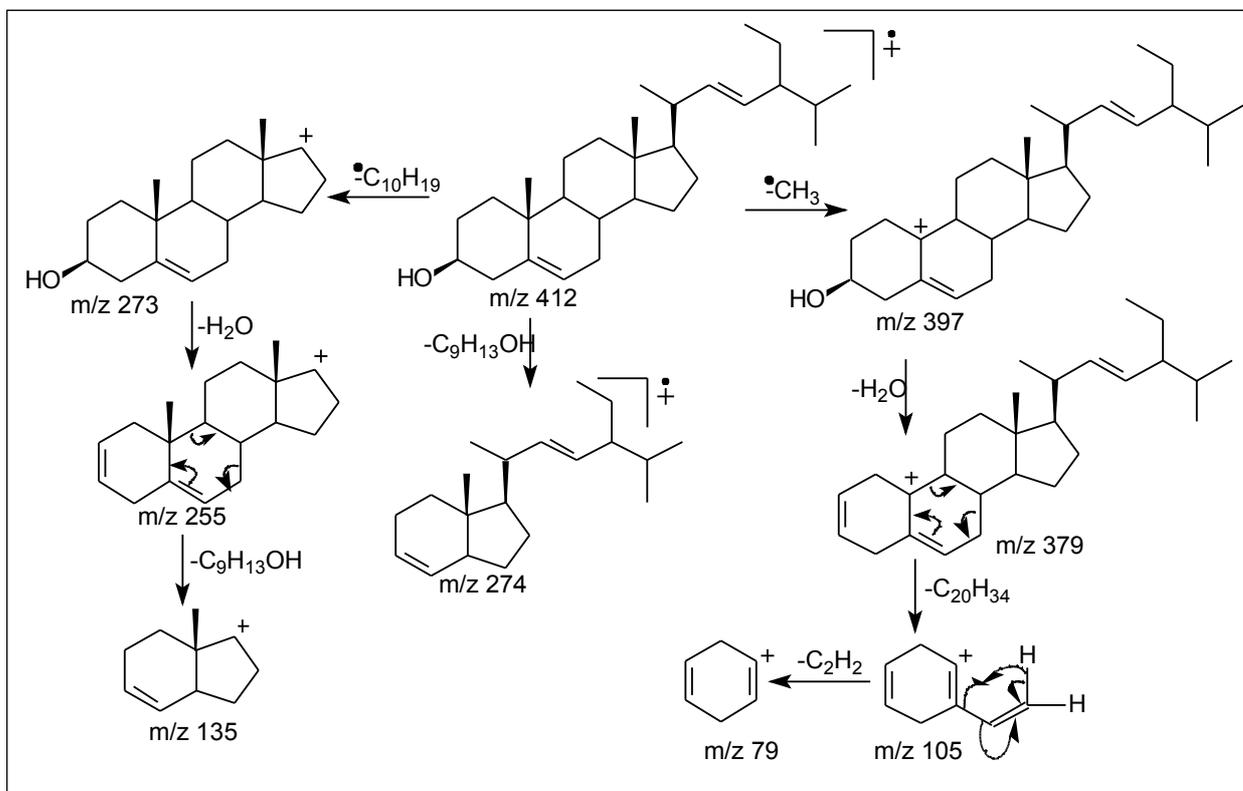


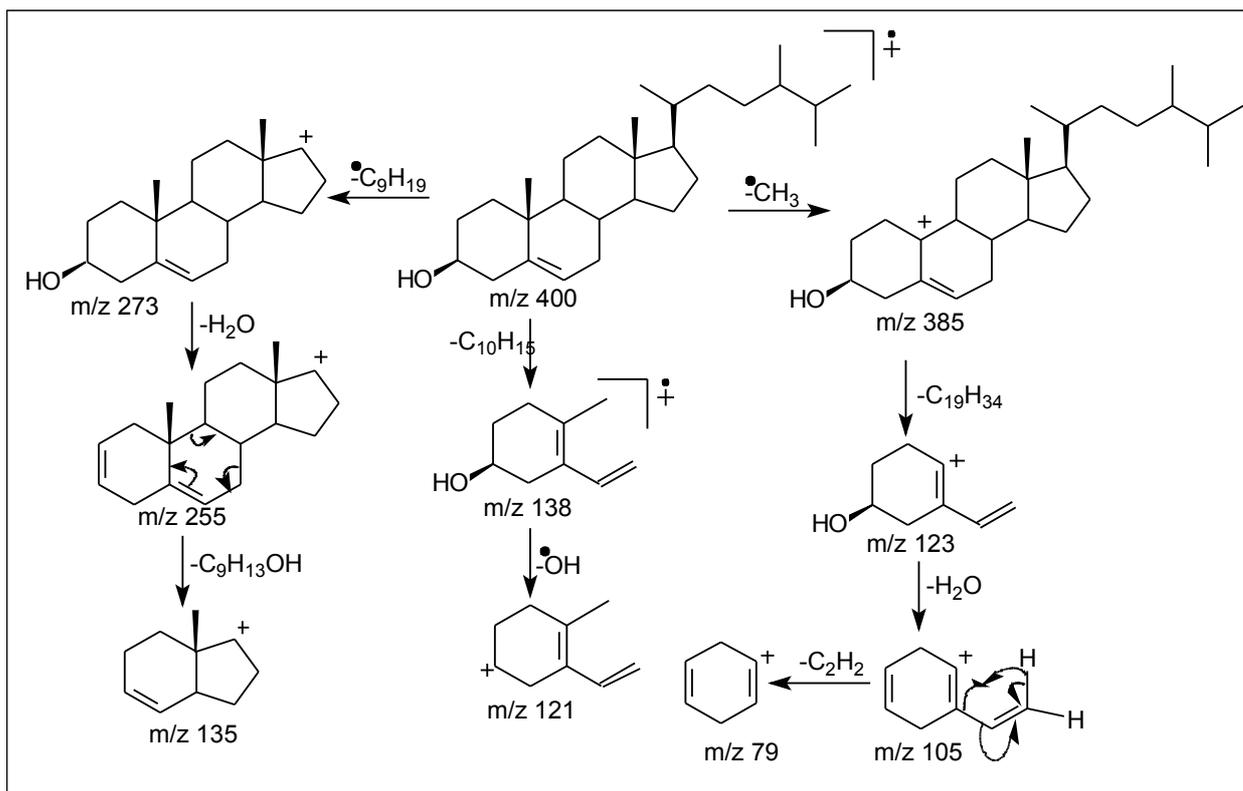
Figura 89 - Espectro de massas da substância **SAMH-05c**



Esquema 12 - Propostas de fragmentação da substância SAMH-05a



Esquema 13 - Propostas de fragmentação da substância SAMH-05b



**Esquema 14** - Padrões de fragmentação da substância SAMH-05c

### 3.3. Constantes Físicas e Dados Espectroscópicos das Substâncias Isoladas

#### Saponina (SAFM-01)

ácido-3-O-β-hidroxi-28-β-O-D-glicopiranosil éster

F.M. = C<sub>36</sub>H<sub>58</sub>O<sub>8</sub>

P.M. = 618 u.m.a.

Pf = 219-224 °C

**Aspecto** = sólido branco

**Solubillidade** = metanol

**Espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, Piridina-d<sub>5</sub>, Hz):** δ (3,28, *d* 8,4, H-3); (0,67, *m*, H-5); (1,56, H-9); (5,41, *s*, H-12); (3,17, *d* 13,2, H-18); (1,23, *s*, H-23); (0,90, *s*, H-24); (0,78, *s*, H-25); (1,05, *s*, H-26); (1,24, *s*, H-27); (0,88, *s*, H-29); (0,87, *s*, H-30); (6,29, *d* 7,3, H-1'); (4,27, *t* 16,5, H-2'); (4,35-4,39, *m*, H-3'); (3,61-3,69, *m*, H-4'); (4,19, H-5'); (4,57, *d* 7,3; 4,71, *sl*; 2H-6').

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, Piridina-d<sub>5</sub>, Hz):** δ 38,55 (CH<sub>2</sub>-1); 26,21 (CH<sub>2</sub>-2); 89,25 (CH-3); 39,31 (C-4); 55,66 (CH-5); 18,36 (CH<sub>2</sub>-6); 33,92 (CH<sub>2</sub>-7); 39,77 (C-8); 47,86 (CH-9); 36,78 (CH-10); 23,30 (CH<sub>2</sub>-11); 123,95 (CH-12); 144,01 (C-13); 42,01 (C-14); 28,14 (CH<sub>2</sub>-15); 23,64 (CH<sub>2</sub>-16); 46,88 (C-17); 41,62 (CH-18); 46,12 (CH<sub>2</sub>-19); 30,61 (C-20); 31,94 (CH<sub>2</sub>-21); 32,39 (CH<sub>2</sub>-22); 28,09 (CH<sub>3</sub>-23); 16,83 (CH<sub>3</sub>-24); 15,39 (CH<sub>3</sub>-25); 18,51 (CH<sub>3</sub>-26); 25,97 (CH<sub>3</sub>-27); 176,36 (C-28); 33,03 (CH<sub>3</sub>-29); 23,55 (CH<sub>3</sub>-30); 95,63 (CH-1'); 73,98 (CH-2'); 79,15 (CH-3'); 71,02 (CH-4'); 78,73 (CH-5'); 62,12 (CH<sub>2</sub>-6').

**Espectroscopia na região do infravermelho: IV<sub>max</sub> KBr (cm<sup>-1</sup>):** 3616, 2943, 1736, 1608, 1414, 1385, 1072, 1043.

### Saponina (SAFM-02)

**3-β-D-O-xilopiranosil-(1'''→4'')[α-D-ramnopiranosil]-28-O-β-D-glicopiranosil éster**

**F.M.** = C<sub>47</sub>H<sub>76</sub>O<sub>16</sub>

**P.M.** = 897 u.m.a.

**Pf** = 209-216 °C

**Aspecto** = sólido branco

**Solubillidade** = metanol

**Espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>, Hz):** δ (3,17, *dd* 11,3; 3,7; H-3); (0,77, *dl*, H-5); (1,57, *d* 7,0, H-9); (5,24, *sl*, H-12); (2,83, *dd* 7,0; 3,6; H-18); (2,01; 1,69; 2H-2); (1,70; 1,39; 2H-6); (1,51; 1,49; 2H-7); (1,88, 2H-11); (1,72; 1,20; 2H-19); (1,03, *s*, H-23); (0,83, *s*, H-24); (0,92, *s*, H-25); (0,78, *s*, H-26); (1,14, *s*, H-27); (0,90, *s*, H-29); (0,93, *s*, H-30); (4,33, *d* 8,04, H-1'); (3,33, H-2'); (3,38, H-3'); (3,50, H-4'); (3,79, H-5'); (3,82, 2H-6'); (5,17, *s*, H-1''); (3,93, *m*, H-2''); (3,57, H-3''); (3,69, H-4''); (4,08, *m*, 2H-5''); (5,37, *d* 7,7, H-1'''); (3,30, H-2'''); (3,71, H-3'''); (3,36, H-4'''); (3,64, *m*, H-5'''); (1,23, *d* 6,6, 3H-6''').

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  39,82 (CH<sub>2</sub>-1); 26,89 (CH<sub>2</sub>-2); 90,89 (CH-3); 40,18 (CH-4); 56,94 (CH-5); 19,35 (CH<sub>2</sub>-6); 34,94 (CH<sub>2</sub>-7); 40,70 (C-8); 48,79 (CH-9); 37,88 (C-10); 24,01 (CH<sub>2</sub>-11); 123,86 (CH-12); 144,75 (C-13); 42,91 (C-14); 28,89 (CH<sub>2</sub>-15); 24,58 (CH<sub>2</sub>-16); 48,07 (C-17); 42,62 (CH-18); 47,17 (CH<sub>2</sub>-19); 31,52 (C-20); 33,14 (CH<sub>2</sub>-21); 33,95 (CH<sub>2</sub>-22); 28,57 (CH<sub>3</sub>-23); 17,04 (CH<sub>3</sub>-24); 16,04 (CH<sub>3</sub>-25); 17,89 (CH<sub>3</sub>-26); 26,29 (CH<sub>3</sub>-27); 33,47 (CH<sub>3</sub>-29); 23,98 (CH<sub>3</sub>-30); 95,70 (CH-1'); 73,94 (CH-2'); 78,29 (CH-3'); 69,75 (CH-4'); 76,16 (CH-5'); 62,45 (CH<sub>2</sub>-6'); 106,48 (CH-1''); 71,17 (CH-2''); 78,67 (CH-3''); 83,60 (CH-4''); 68,56 (CH<sub>2</sub>-5''); 102,44 (CH-1'''); 72,32 (CH-2'''); 72,70 (CH-3'''); 74,16 (CH-4'''); 69,16 (CH-5'''); 17,76 (CH<sub>3</sub>-6''').

**Espectroscopia na região do infravermelho: IV<sub>max</sub> KBr (cm<sup>-1</sup>):** 2924, 2852, 1755, 1464, 1373, 1225, 1076, 1039.

#### **Flavonóide (SAFM-03)**

##### **3,5,7,4'-tetraidroxiflavonol**

**F.M.** = C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>

**P.M.** = 286 u.m.a.

**Aspecto** = sólido amarelo

**Solubilidade** = metanol

**Espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  (6,17, *d* 1,9, H-6); (6,39, *d* 2,1, H-8); (8,08, *dd* 9,1; 2,2; H-2'/6'); (6,89, *dd* 9,1; 2,2; H-3'/5').

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  147,19 (C-2); 134,96 (C-3); 177,60 (C-4); 160,49 (C-5); 97,96 (CH-6); 164,36 (C-7); 93,12 (CH-8); 156,97 (C-9); 100,96 (C-10); 122,43 (C-1'); 159,48 (C-4'); 129,30 (CH-2'/6'); 115,02 (CH-3'/5').

**Espectroscopia de massas: (70 eV) *m/z* (int. rel):** 286 (M<sup>+</sup>, 100), 121 (45), 65 (32), 51 (27), 258 (18), 229 (16), 93 (15), 143 (14), 213 (11).

**Espectroscopia na região do infravermelho: IV<sub>max</sub> KBr (cm<sup>-1</sup>):** 3321, 1614, 1506, 1176, 1009, 819.

#### **Flavonóide (SAFM-04)**

##### **5,7,4'-triidroxil-3- $\beta$ -O-D-glicopiranosil-(1'''' → 6'')-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-(1'''' → 2''')-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-flavonol**

**F.M.** = C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>19</sub>

**P.M.** = 740 u.m.a.

**Pf** = 157-169 °C

**Aspecto** = sólido amarelo

**Solubilidade** = metanol

**Espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, Hz):**  $\delta$  (6,17, *s*, H-6); (6,37, *s*, H-8); (8,05, *d* 9,1, H-2'/6'); (6,89, *d* 8,8, H-3'/5'); (5,59, *d* 7,5, H-1'"); (3,88, *m*, H-2'"); (3,78, *m*, H-3'"); (3,72, *m*, H-4'"); (3,64, *t* 12,4, H-5'"); (6,72 *m*; 3,44 *m*; 2H-6'"); (5,21, *s*, H-1''"); (3,92, *dd* 9,2; 7,8; H-2''"); (3,69, H-3''"); (3,34, *t* 9,6, H-4''"); (3,99, *m*, H-5''"); (0,97, *d* 5,8, 3H-6''"); (4,51, *d* 8,9, H-1''"); (3,57, *m*, H-2''"); (3,52, H-3''"); (3,24, H-4''"); (3,51, *m*, H-5''"); (1,17, *d* 6,5, 3H-6''").

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, Hz):**  $\delta$  158,68 (C-2); 134,46 (C-3); 179,40 (C-4); 163,07 (C-5); 99,74 (CH-6); 165,55 (C-7); 94,66 (CH-8); 158,36 (C-9); 105,85 (C-10); 123,05 (C-1'); 161,27 (C-4'); 132,17 (CH-2'/6'); 116,15 (C-3'/5'); 100,84 (CH-1'"); 77,54 (CH-2'"); 75,68 (CH-3'"); 69,83 (CH-4'"); 75,23 (CH-5'"); 67,12 (CH<sub>2</sub>-6'"); 102,56 (CH-1''"); 72,27 (CH-2''"); 72,36 (CH-3''"); 74,04 (CH-4''"); 70,70 (CH-5''"); 17,93 (CH<sub>3</sub>-6''"); 101,80 (CH-1''"); 72,05 (CH-2''"); 72,31 (CH-3''"); 73,86 (CH-4''"); 69,68 (CH-5''"); 17,47 (CH<sub>3</sub>-6''").

**Espectroscopia na região do infravermelho: IV<sub>max</sub> KBr (cm<sup>-1</sup>):** 3416, 2943, 1608, 1385, 1072, 669.

**Estilbeno (SAMH-01)**

**3-metoxi-5-hidroxiestilbeno**

**F.M.** = C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>

**P.M.** = 226 u.m.a.

**Aspecto** = sólido branco

**Solubilidade** = clorofórmio

**Espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, Hz):**  $\delta$  (6,33, *sl*, H-2); (6,64, *sl*, H-4); (6,60, *sl*, H-6); 7,06, *d* 15,8, H-7); (6,99, *d* 17,2, H-8); (7,49, *d* 7,3, H-10/14); (7,35, *t* 7,9, H-11/13); (7,25, H-12); (3,82, *s*, MeO).

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, Hz):**  $\delta$  140,66 (C-1); 105,05 (CH-2); 156,94 (C-3); 101,08 (CH-4); 149,38 (C-5); 106,00 (CH-6); 128,39 (CH-7); 129,49 (CH-8); 137,65 (C-9); 126,69 (CH-10/14); 128,78 (CH-11/13); 127,88 (CH-12); 55,46 (OMe).

**Espectroscopia de massas: (70 eV) *m/z* (int. rel):** 226; 221; 194; 165.

**Flavanona (SAMH-02)**

**5,7-diidroxiflavanona**

**F.M.** = C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>

**P.M.** = 256 u.m.a.

**Aspecto** = sólido amarelo

**Solubilidade** = clorofórmio

**Espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  (5,43, *s*/ 17,2, H-2); (6,00, *s*, H-6/8); (7,43, *s*, H-2'-6'); (3,07, *dd* 15,0, H-3 $\beta$ ); (2,83, *dd* 17,2, H-3 $\alpha$ ).

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  79,3 (CH-2); 43,4 (CH<sub>2</sub>-3); 195,8 (C-4); 164,6 (C-5); 96,8 (CH-6); 164,5 (C-7); 95,5 (CH-8); 163,2 (C-9); 103,3 (C-10); 138,4 (C-1'); 126,2 (CH-2'/6'); 128,9 (CH-3'/4'/5').

**Espectroscopia de massas: (70 eV)  $m/z$  (int. rel):** 256; 238; 213; 179; 152; 124; 69.

**Espectroscopia na região do infravermelho:  $\text{IV}_{\text{max}}$  KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2924, 1632, 1466, 1302, 1169.

### **Pterocarpano (SAMH-03)**

#### **7-hidroxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano**

**F.M.** = C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>

**P.M.** = 284 u.m.a.

**Aspecto** = sólido amarelo

**Solubilidade** = clorofórmio

**Espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  (7,36, *d* 8,4, H-5); (6,55, *d* 6,6, H-6); (6,42, *d* 6,2, H-8); (3,44-3,49, *m*, H-3); (6,72, *s*, H-2'); (5,92, *s*, H-5'); (5,47, *d* 6,9, H-4); (3,63, H-2 $\alpha$ ); (4,22, *dd* 15,8; 4,8; H-2 $\beta$ ); (5,89; 5,93; OCH<sub>2</sub>O).

**Espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  66,44 (CH<sub>2</sub>-2); 40,14 (CH-3); 78,44 (CH-4); 132,10 (CH-5); 109,76 (CH-6); 157,04 (C-7); 103,66 (CH-8); 156,62 (C-9); 112,62 (C-10); 117,90 (C-1'); 104,72 (CH-2'); 141,71 (C-3'); 148,09 (C-4'); 93,82 (CH-5'); 154,31 (C-6'); 101,28 (OCH<sub>2</sub>O).

**Espectroscopia de massas: (70 eV)  $m/z$  (int. rel):** 284, 267, 162, 134, 175.

### **Triterpeno (SAMH-04)**

#### **Lupeol**

**F.M.** = C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O

**P.M.** = 426 u.m.a.

**Aspecto** = sólido branco

**Solubilidade** = clorofórmio

**Espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOH- $d_4$ , Hz):**  $\delta$  38,80 (CH<sub>2</sub>-1); 26,02 (CH<sub>2</sub>-2); 79,08 (CH-3); 38,96 (C-4); 55,39 (CH-5); 18,40 (CH<sub>2</sub>-6); 34,37 (CH<sub>2</sub>-7); 41,09 (C-8); 50,52 (CH-9); 39,34 (C-10); 21,01 (CH<sub>2</sub>-11); 25,22 (CH<sub>2</sub>-12); 37,20 (CH-13); 43,08 (C-14); 27,51 (CH<sub>2</sub>-15); 35,67 (CH<sub>2</sub>-16); 42,40 (C-17); 48,07 (CH-18); 47,49 (CH-19); 150,31 (C-20); 29,45 (CH<sub>2</sub>-21);

40,08 (CH<sub>2</sub>-22); 28,07 (CH<sub>3</sub>-23); 15,44 (CH<sub>3</sub>-24); 16,19 (CH<sub>3</sub>-25); 16,19 (CH<sub>3</sub>-26); 14,20 (CH<sub>3</sub>-27); 18,09 (CH<sub>3</sub>-28); 109,40 (CH<sub>2</sub>-29); 19,65 (CH<sub>3</sub>-30).

**Espectrometria de massas: (70 eV) m/z (int. rel):** 426, 411, 315, 218, 207, 189, 135, 107, 95, 81.

### 3.4. Referências bibliográficas.

Agrawal, P.K. (1989). *Studies in Organic Chemistry 39: Carbon-13 NMR of Flavonoids*. Oxford, New York, Tokyo: Elsevier 564p.

Arisawa, M., Fujita, A., Morita, N., Cox, P.S., Howie, R.A., Cordell, G.A. (1987). *Triterpenes from Simaba multiflora*. *Phytochemistry*. 26. 3301-3303p.

Braz-Filho, R., Moraes, M.P.L. & Gottlieb, O. R. (1980). Pterocarpanes from *Swartzia laevicarpa*. *Phytochemistry*. 19: 2003-2005p.

Bedir, E., Çalis, I., Aquino, R., Piacente, S., Pizza, C. (1999). *Trojanoside H: a cycloartane-type glycoside from the aerial parts of Astragalus trojanus*. *Phytochemistry*. 51. 1017-1020p.

Budzikiewicz, H., Williams, D.H., Djerassi, C. (1964). *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. Vol. II: Steroids, triterpenoids, sugars and miscellaneous classes*. Holden-Day, INC. San Francisco, London, Amsterdam. 262-263p.

Campos, A.M., Oliveira, F.S., Machado, M.I.L., Braz-Filho, R., Mattos, F.J.A. (1991). *Triterpenes from Cedrela odorata*. *Phytochemistry*. 30. 1225-1226p.

Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of Flavonoids*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 268p.

Markham, K.R., Chari, V.M. (1976). *Carbon-13 NMR Spectroscopy of Flavonoids. The Flavonoids Advances research*. London: (ed. By Harbolne, J.H. & Mabry, T.J.), Chapman and Hill, (83), (113)p.

Mahato, S.B., Kundu, A.P. (1994). *<sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids a compilation and some salient features*. 37(6): 1517-1575p.

Markham, K.R., Mabry, T.J. (1975). *Ultraviolet Visible and Magnetic Resonance Spectrometry of Flavonoids. The Flavonoids*. London: (ed. By Harbolne, J.H., Mabry, T.J. & Mabry, H.), Chapman and Hill, 45-77p.

Máximo, P., Lourenço, A. (1998). A Pterocarpan from *Ulex parviflorus*. *Phytochemistry*. 48(2): 359-362p.

Ngo, K., Brown, G.D. (1998). *Stilbenes, Monoterpenes, Diarylheptanoids, Labdanes and Chalcones from Alpinia katsumadai*. *Phytochemistry*, 47(6): 1117-1123p.

Pizzolatti, G.M., Szpoganicz, B.J.C.A., Sousa, E., Braz-Filho, B., Schripsema, J. (2003). Flavonóides Glicosilados das Folhas e Flores de *Bauhinia forticata* (Leguminosae). *Química Nova*, 26(4):466-469p.

Seo, S., Uomori, A., Yoshimura, Y., Takeda, K., Seto, H., Ebizuka, Y., Noguhi, H., Sankava, V. (1988). Biosyntheses of sitosterol, cycloartenol, an 24-methylenecycloartenol in tissue cultures of higher and of ergosterol in yeast from [1,2-<sup>13</sup>CH<sub>2</sub>] and [2-<sup>13</sup>CH<sub>3</sub>] acetate and [5-<sup>13</sup>CH<sub>2</sub>]. *Journal Chemistry Society. Perkin. Trans. I*, 2407-2412p.

Silverstein, R.M., Webster, F.X. (2000). *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6ª Edição, Editora LTC, (67-88), 166p.

Wen-Cai Ye, Quing-Wen Z., Xin L., Chun-Tao C., Shou-Xun Z. (2000). Oleanane saponins from *Gymnema sylvestre*, *Phytochemistry*.53: 893-899p.



---

#### 4.0. Introdução

A biodiversidade da vegetação dos países tropicais está sendo pouco explorada. Os produtos naturais do terceiro mundo é um recurso valioso o qual existe uma grande diversidade de plantas e uma medicina folclórica inexplorada.

O aparecimento de resistência a antibióticos e outras drogas antimicrobianas, foi e continuará sendo um dos grandes problemas da medicina, pois é causado pelo que há de mais natural e essencial para a origem e evolução dos microrganismos: “mutação espontânea e recombinação de genes (reprodução), que criam variabilidade genética sobre a qual atua a seleção natural, dando vantagem aos mais aptos” (Souza, 1998).

Um dos objetivos de muitos fitoquímicos das nações do terceiro mundo é simplesmente isolar, caracterizar e publicar um grande número de novas substâncias de origem natural, sem se importar muito com as possíveis atividades biológicas que estas substâncias possam apresentar.

O emprego de bioensaios sensíveis para estudar, fracionar e isolar novos protótipos de drogas é um dos objetivos do químico de produtos naturais da atualidade, o qual combina três técnicas essenciais para este trabalho que são: técnicas de separação (cromatografia), métodos de elucidação estrutural e bioensaios simples.

Visando este enfoque atual utilizou-se ensaios químico e biológicos paralelos ao estudo fitoquímico de um espécime de *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra* em busca de substâncias bioativas.

---

#### 4.1. Avaliação do Potencial Antioxidante

O uso de plantas com fins terapêuticos parece ser tão antigo quanto à própria espécie humana. Entretanto, o conhecimento de suas propriedades antioxidantes é relativamente recente, especialmente nas últimas décadas observou-se um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo.

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo humano e, desse modo, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. Esses radicais livres possuem espécies que apresentam elétrons desemparelhados principalmente nos átomos de oxigênio e nitrogênio sendo classificados pelas siglas ERO (Espécies Reativas de Oxigênio) e ERN (Espécies Reativas de Nitrogênio) (Barreiros *et al.*, 2006).

Essas espécies encontram-se no organismo envolvidos com a produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular e síntese de substâncias biológicas. Seu excesso apresenta efeitos prejudiciais, tais como: peroxidação de lipídios de membranas, enzimas, carboidratos e DNA (Babior, 2000).

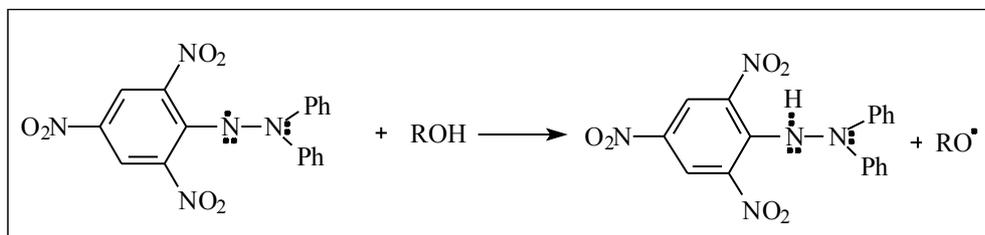
A ocorrência desses efeitos está relacionada a várias patologias tais como: artrite, choque hemorrágico, doenças cardiovasculares, catarata, disfunções cognitivas e câncer (Barreiros *et al.*, 2006).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvido da dieta. Antioxidantes são substâncias que dificultam ou retardam a oxidação de outras substâncias, dificultando desse modo o início da propagação de reações em cadeia (Bergman, 2001).

Antioxidantes naturais constituem uma larga gama de substâncias incluindo nitrogenadas, fenóis, carotenóides, terpenóides, saponinas entre outras. Existem vários relatos sobre a correlação de substâncias antioxidantes com outros efeitos biológicos como: ação antibacteriana, doenças cardiovasculares, antiviral, envelhecimento precoce (Yunes & Calixto, 2001).

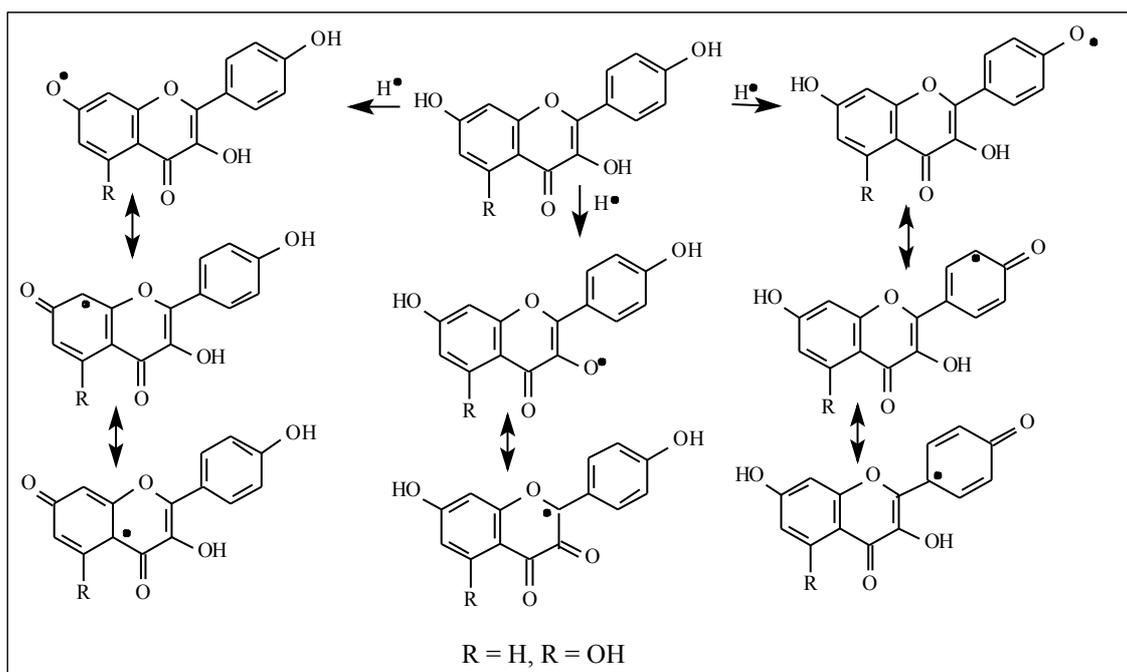
A técnica para avaliação do potencial antioxidante, que utiliza o DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) como radical livre, baseia-se em um ensaio qualitativo e quantitativo do grau da atividade antioxidante e na habilidade das substâncias de agirem como seqüestrantes de radicais livres.

DPPH é um radical livre estável a temperatura ambiente com produção de uma solução de coloração violeta em etanol (Mensor *et al.*, 2001). Devido ao seu elétron ímpar, a solução etanólica de DPPH exibe uma forte banda de absorção na faixa de 515-518 nm. Sua função no ensaio é a captura dos radicais hidrogênio em substâncias estáveis avaliando-se desse modo o comportamento das substâncias como radical livre (Esquema 15).



**Esquema 15** - Mecanismo de ação do DPPH frente a substâncias fenólicas

Estudos recentes demonstram que a relação do potencial antioxidante com DPPH depende da conformação estrutural, da posição e do número de grupos hidroxilas presentes na molécula analisada (Mensor *et al.*, 2001) (Esquema 16).



**Esquema 16** - Relação estrutura *versus* atividade antioxidante de flavonóides

#### 4.1.1. Materiais e reagentes utilizados

Na análise qualitativa foram utilizados os seguintes reagentes e materiais:

- DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil);
- Metanol;
- Balão volumétrico (5,0 mL);
- Pipetas volumétricas (0,5 e 2,0 mL);
- Cromatofolha de sílica gel;
- Capilares;
- Recipiente de plástico (30X10X5 cm);
- Rutina.

Na análise quantitativa foram utilizados os seguintes reagentes e materiais:

- DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil);
- Etanol absoluto;
- Balões volumétricos (10, 20 e 25 mL);
- Pipetas volumétricas (0,5, 1,0, 2,5 mL);
- Espectrofotômetro;
- Tubos de ensaio;
- Rutina.

#### 4.1.2. Procedimento experimental

As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais (fitoquímica) e Química Analítica LCQUI-UENF.

Na análise qualitativa e quantitativa foi empregado o método com o

---

DPPH como radical livre (Mensor *et al.*, 2001; Argolo *et al.*, 2004).

No método qualitativo foi feita uma solução estoque 5,00 mg/mL em etanol com as amostras e com o controle positivo que foram diluídas nas seguintes concentrações: 2,50; 1,25; 0,625; 0,312 e 0,156 mg/mL. Aplicou-se 2µL de cada concentração das amostras, do controle positivo e do negativo em uma cromatofolha de sílica gel 60 e em seguida imergiu-se a cromatofolha em uma solução etanólica 0,3 mM de DPPH durante 15 segundos. A observação da atividade antioxidante foi confirmada com a mudança de coloração das amostras aplicadas na placa de sílica e comparação com o controle positivo. Como controle negativo foi utilizado metanol, solvente onde amostras foram solubilizadas.

No método quantitativo uma solução estoque de concentração 1,00 mg/mL foi preparada com 10,0 mg de amostra em 10,0 mL de etanol, a qual foi submetida a uma série de diluições de: 25,0; 50,0; 125 e 250 µg/mL. A análise foi realizada reagindo-se 1,00 mL de uma solução etanólica 0,30 mM de DPPH com 2,50 mL de cada concentração das amostras em triplicata. Após 30 minutos, fez-se a leitura em um espectrofotômetro de luz ultravioleta a 518 nm (Esquema 17, p. 152).

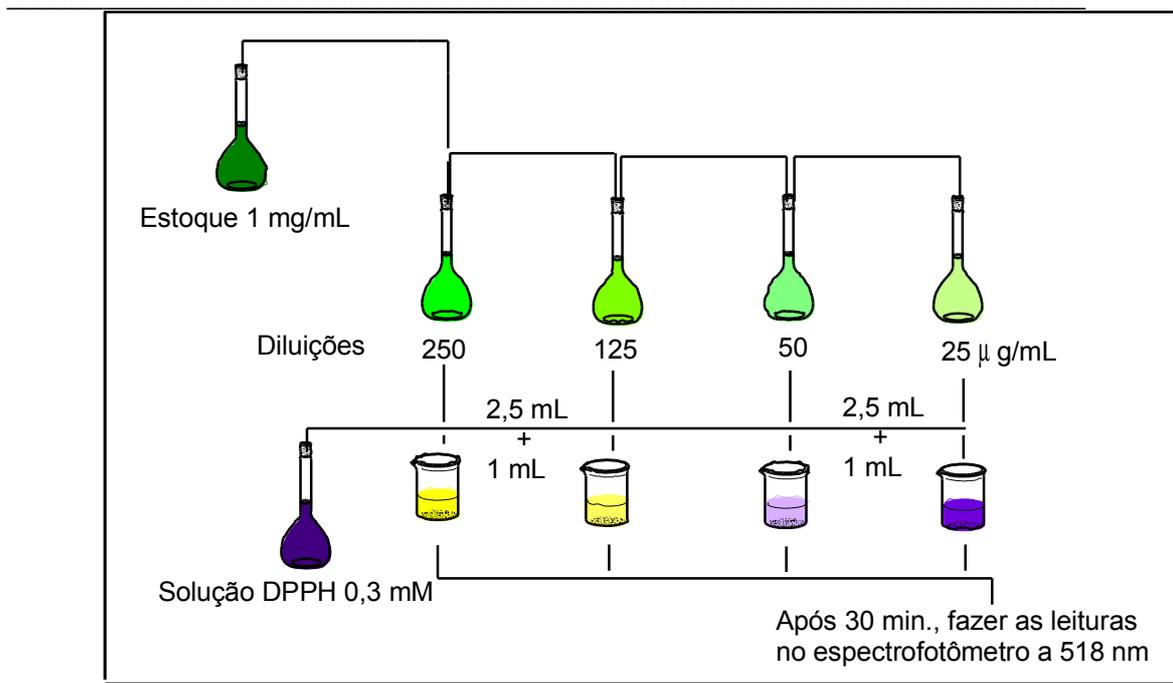
Os valores das absorbâncias foram convertidos para porcentagem de Atividade Antioxidante (AA%) usando a seguinte fórmula:

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100]}{Abs_{controle}} \right\}$$

O valor da concentração efetiva necessária para se obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado em 100% (EC<sub>50</sub>) foi calculado através de uma regressão linear para cada extrato onde a abscissa representa as concentrações da amostra e a ordenada a porcentagem de Atividade Antioxidante (AA%).

Como controle positivo foi utilizando o flavonóide rutina Merk® utilizando o mesmo procedimento feito para as amostras. Esse controle foi utilizado para comparação dos valores de (EC<sub>50</sub>) das amostras analisadas, onde valores menores ou próximos aos obtidos para o controle indica que as amostras são ativas.

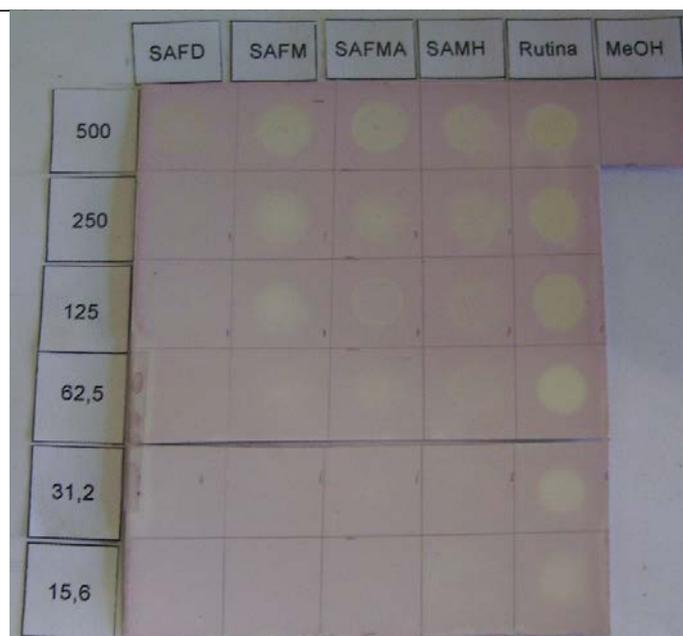
Como controle negativo foi utilizado 1 mL de solução de DPPH e 2,5 mL de etanol. A leitura do branco foi feita com 2,5 mL de cada diluição das amostras mais 1 mL de etanol.



**Esquema 17** - Procedimento experimental (análise quantitativa)

#### 4.1.3. Resultados e discussão

A análise qualitativa indicou a presença de atividade antioxidante nos extratos metanólico (SAFM) e hidroalcoólico (SAFMA) das folhas e hexânico da madeira quando comparados ao controle positivo (Rutina) que mostrou atividade em quase todas as concentrações. Observando o controle negativo (MeOH), conclui-se que o mesmo não interferiu na análise (Figura 90).



**Figura 90** - Análise qualitativa da atividade antioxidante.

Com os resultados obtidos na análise qualitativa, realizou-se a análise quantitativa onde os resultados da  $CE_{50}$  de cada extrato estão ilustrados tabela 12 com os respectivos desvios padrão (s) e coeficiente de variação (C.V.). Os extratos mais polares foram os que apresentaram maior capacidade de seqüestrar radicais livres na metodologia testada, provavelmente pela presença de substâncias fenólicas (Cotelle *et al.*, 1996).

Os valores de  $CE_{50}$  (tabela 12) foram comparados por análise de variância pelo teste ANOVA, seguido do teste de TuKey-Kramer, sendo estatisticamente significativo quando  $p < 0,05$ .

**Tabela 12** - Valores de  $CE_{50}$  e dados estatísticos dos extratos de *S. apatala*. Rutina foi usado como padrão.

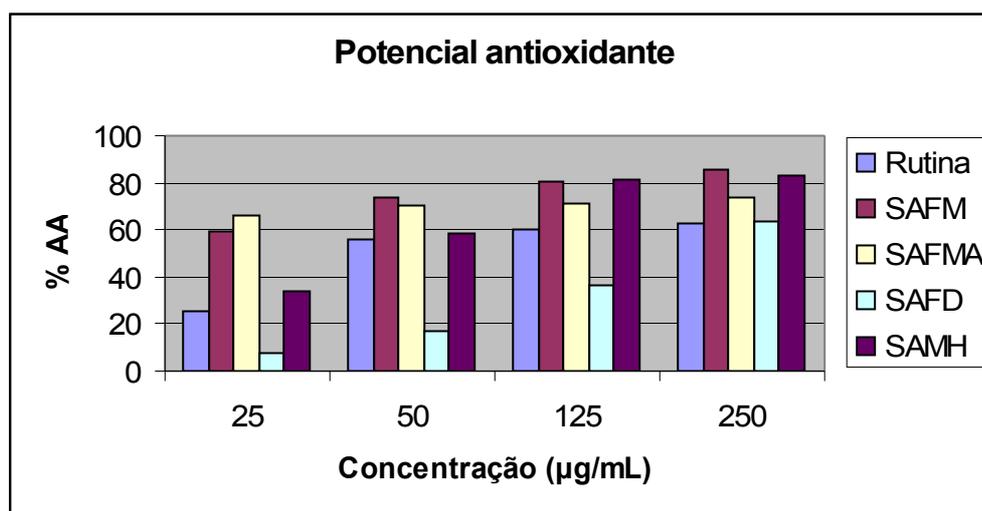
Extratos	$CE_{50} \pm s$	Coeficiente de Variação
SAFD	56,54 $\pm$ 0,32 $\mu$ g/mL	0,57 %
SAFM	15,54 $\pm$ 0,07 $\mu$ g/mL	0,45 %
SAFMA	5,36 $\pm$ 0,03 $\mu$ g/mL	0,56 %
SAMH	29,49 $\pm$ 0,16 $\mu$ g/mL	0,54 %
RUTINA	26,96 $\pm$ 0,19 $\mu$ g/mL	0,70 %

Os valores de  $CE_{50}$  indicam a Concentração Efetiva suficiente para obter

50% do máximo da eficiência estimada em 100% para reduzir o radical livre DPPH. Os valores baixos de (s) e (C.V.) mostram a alta precisão das análises que confirmam a influência mínima de fatores não controlados, o que se chama de variação do acaso.

O extrato hexânico da madeira apesar de ser um extrato apolar, mostrou uma atividade antioxidante bastante acentuada  $CE_{50} = 29,49 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$ , quando comparado com o controle positivo rutina  $CE_{50} = 26,96 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$  confirmando mais uma vez a correlação da atividade com substâncias fenólicas presentes no extrato (capítulo 2, p. 22-23).

Observando a figura 91, pode-se concluir que ocorre um aumento linear da porcentagem de atividade antioxidante com o aumento da concentração. Somente o extrato hidroalcoólico das folhas (SAFMA) permaneceu quase que constante em todas as concentrações analisadas.



**Figura 91** - Avaliação do potencial antioxidante (%AA x concentração).

#### 4.2. Bioensaio de letalidade contra as larvas de *Artemia salina* Leach

O bioensaio que utiliza larvas de camarão de água salgada (*A. salina*) foi proposto por McLaughlin e é caracterizado como um ensaio simples para determinar a  $DL_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) para substâncias puras e extratos. (McLaughlin *et al.*, 1995).

*Artemia salina* é um microcrustáceo de água salgada que é utilizado como alimento para peixes e seus ovos podem ser facilmente encontrados em lojas de piscicultura. A praticidade e simplicidade que envolve o bioensaio favorecem sua utilização sistemática dentro de um laboratório de pesquisa. A técnica tem a vantagem de apresentar baixo custo, rapidez e não exigir técnicas assépticas (Meyer *et al.*, 1982).

Então com o objetivo de se identificar substâncias bioativas presentes na espécie *S. apetala* foi realizado neste trabalho a investigação da atividade citotóxica dos extratos brutos das folhas e madeira frente às larvas de *A. salina*.

O teste baseia-se no princípio da toxicidade que as substâncias bioativas apresentam em altas doses. Deste modo, a mortalidade *in vivo* de organismo de maior simplicidade na escala zoológica pode indicar a bioatividade de novas substâncias. Na literatura há vários trabalhos que tentam relacionar a toxicidade sobre as larvas de *Artemia salina* com atividades, tais como: antifúngica, viruscida, antimicrobiana, parasiticida e tripanossomocida (Siqueira *et al.*, 1998).

A literatura também mostra a correlação existente entre a toxicidade sobre o crustáceo e a citotoxicidade para células cancerosas do tipo P-388 (Meyer *et al.*, 1982).

Segundo McLaughlin, valores de  $DL_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$  são considerados ativos para extratos brutos e  $< 30 \mu\text{g/mL}$ , muito ativos para substâncias puras.

#### 4.2.1. Materiais e Reagentes utilizados

- Ovos de *Artemia salina*;
- NaCl (24,0 mg),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (1,50 mg), KBr (0,10 mg), KCl (0,70 mg),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (4,00 mg),  $\text{NaHCO}_3$  (0,20 mg) e  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (11,0 mg) (Para 2,00 L de solução de água do mar artificial);
- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (50,0 mg);
- DMSO;
- $\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pipeta automática (100  $\mu\text{L}$ );
- Pipeta Pasteur;
- Recipiente (10X5X3 cm);
- Balão volumétrico (5,00 mL);
- Tubos de ensaio
- Luminária.

#### 4.2.2. Procedimento Experimental

As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais (fitoquímica) LCQUI-UENF.

Na análise foi utilizado 50 mg de cada extrato que foram diluídos em um volume de 5 mL no seguinte sistema de solventes: [H<sub>2</sub>O:DMSO (3:2)], formando soluções estoque de 10 mg/mL.

Foram adicionados em tubos de ensaio alíquotas de: 50, 100, 200, 300 e 500 µL que foram diluídas a um volume final de 5 mL com água do mar artificial. As concentrações finais das alíquotas foram de: 100, 200, 400, 600 e 1000 µg/mL. O teste foi realizado em quaduplicata.

Em cada tubo foram adicionadas aproximadamente 15 larvas de *A. salina* com as diluições descritas acima, após 24 horas em presença de luz foi realizada a contagem dos indivíduos vivos e mortos. A quantificação dos resultados foi realizada através do programa Finey Probit que forneceu a (DL<sub>50</sub>), dose letal para 50% da população de microcrustáceos presente nos tubos nas concentrações definidas.

Para o controle positivo foi utilizado uma solução de dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), nas mesmas concentrações das amostras.

Para o controle negativo foi utilizado o sistema de solventes H<sub>2</sub>O:DMSO (3:2) a uma concentração de 100 µg/mL.

#### 4.2.3. Resultados e discussão

Segundo McLaughlin, valores de DL<sub>50</sub> ≤ 10<sup>3</sup> µg/mL são considerados ativos para extratos brutos.

Os resultados obtidos no ensaio estão ilustrados na tabela 12, onde se pode observar que os extratos diclorometânico das folhas (SAFD) e hexânico da madeira (SAMH) apresentaram DL<sub>50</sub> >> 10<sup>3</sup> µg/mL sendo considerados desta forma inativos. Os extratos hidroalcoólico das folhas (SAFMA) (DL<sub>50</sub>= 467,4 µg/mL) e o metanólico das folhas (DL<sub>50</sub>= 289,8 µg/mL) foram ativos frente as larvas, o que pode se associado a detecção uma grande concentração de saponinas.

**Tabela 13** - Resultados do bioensaio com larvas de *Artemia salina*.

Extratos	Porcentagem de mortos após 24 H					DL <sub>50</sub> µg/mL	Intervalo de confiança a 95%
	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	600 µg/mL	1000 µg/mL		
SAMH	1,92	1,92	7,69	11,54	36,54	>1000	-
SAFD	1,92	3,47	5,77	7,69	9,61	>1000	-
SAFM	5,77	11,54	40,38	48,09	80,77	289,8	(217,2-432,5)
SAFMA	3,85	13,46	15,38	23,07	48,08	467,4	(349,1-757,6)

### 4.3. Avaliação da atividade antifúngica

Nas últimas duas décadas houve um considerável aumento nos casos de infecções causadas por microrganismos, que pode ser associado a imunodeficiências causadas pelo HIV, quimioterapias e transplantes.

A descoberta de novas substâncias com atividade antimicrobiana constitui uma necessidade urgente devido ao aumento da incidência de enfermidades infecciosas novas e emergentes e também, devido à alta capacidade dos microrganismos de desenvolverem resistência aos antibióticos usados clinicamente (Mallavarapu, 2001).

Diversos microrganismos são patógenos aos seres vivos. Nos homens, esses microrganismos causam várias doenças.

O gênero *Swartzia* é caracterizado pela produção de flavonóides, substâncias que possuem grupos fenólicos (Bézanger-Beauquesne & Pinkas, 1967; Osawa *et al.*, 1992; Dubois & Sneden, 1995 e 1996; Sanchez *et al.*, 1999; Rojas *et al.*, 2006). Fenóis são grupos químicos que se caracterizam como anti-sépticos pelo fato de lesionarem as células microbianas pela alteração da permeabilidade seletiva da membrana citoplasmática, causando o extravasamento das substâncias intracelulares vitais (Pelczar Jr. *et al.*, 1997) (Tabela 14). Dependendo da concentração utilizada, eles podem atuar como bactericidas ou bacteriostáticos.

**Tabela 14** - Atividade antimicrobiana do fenol e derivados (coeficiente fenólico)

Microrganismos/substâncias	<i>Salmonella typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
Fenol	1,0	1,0	1,0
o-Cresol	2,3	2,3	2,0
m-Cresol	2,3	2,3	2,0
p-Cresol	2,3	2,3	2,0
Etilfenol	6,3	6,3	7,8
2,4-Dimetilfenol	5,0	4,4	5,0

#### 4.3.1. Fungos

São organismos eucariotos que possuem parede celular rígida e podem ser uni ou multicelulares. Podem ser classificados em bolores ou leveduras.

Espécies de *Candida* são reconhecidas como as leveduras mais usualmente envolvidas na etiologia de infecções micóticas. A candidíase caracteriza-se como uma infecção

fúngica mais comum, sendo *C. albicans* seu agente etiológico mais freqüente. Esta levedura tem um papel relevante no desencadeamento de infecções bucais, porém espécies consideradas patogênicas como *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, entre outras tem sido em casos de candidose principalmente em indivíduos relacionados a imunodepressão (Anaissie, 1992).

#### 4.3.2. Materiais e Reagentes utilizados

- Placas de Petri
- Cloreto de Sódio
- Meio Saboraud dextrose (agar)
- Suabe
- Nitrato de Miconazol (Vodol®)
- Tubos de ensaio
- Fotômetro
- Alça de Drigalsky

**Tabela 15** - Fungos utilizados no ensaio

Espécies	Descrição
<i>Candida albicans</i>	ATCC 36802
<i>Candida inconspícua</i>	ATCC 16783
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 2001
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803
<i>Candida krusei</i>	ATCC 34135
<i>Candida guilliermondii</i>	ATCC 6260
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019
<i>Candida lusitanae</i>	ATCC 34449
<i>Candida spp.</i>	ATCC 34147

#### 4.3.3. Procedimento Experimental

As análises foram realizadas no Laboratório de Sanidade Animal LSA-UENF.

---

Para a realização deste ensaio, foi empregada a técnica de difusão em agar (Hadaceck & Greger, 2000).

#### Difusão em agar

Como meio de cultura foi utilizado Ágar Sabouraud dextrose (Acumedia, EUA) que foi adicionado em placas de Petri de 14 cm de diâmetro até atingir uma espessura de 5 mm de agar.

Com o auxílio de um suabe foi semeada sobre o meio uma alíquota de 100µL do inóculo das leveduras (Tabela 15) previamente preparada com uma suspensão de células em solução salina. A padronização da solução foi realizada pela Escala de McFarland nº 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  células/mL). Após a semeadura do microrganismo, foram feitas perfurações (poços no meio de cultura), que receberam um volume de 50 µL das amostras analisadas. Foi utilizado uma concentração de 25 mg/mL para extratos e 3 mg/mL para substâncias puras isoladas. Como controle positivo foi utilizado uma solução 20 µg/mL de Nitrato de Miconazol (Vodol® lote 606401, União Química, Brasil).

Após aplicação das amostras e do controle as placas foram incubadas em estufa por um período de 24-36 h à 37 °C.

Uma distância de aproximadamente 1,5 cm foi mantida para que não ocorresse sobreposição dos halos.

A leitura dos resultados foi realizada medindo-se o diâmetro dos halos de inibição, considerando ativas as amostras que apresentaram um halo de inibição  $\geq 1,00$  cm de diâmetro (Lima *et al.*, 2006). O ensaio foi realizado em triplicata.

#### 4.3.4. Resultados e discussão

Foram testados os extratos metanólico (**SAFM**), diclorometânico (**SAFD**) e hidroalcoólico (**SAFMA**) das folhas e o extrato hexânico (**SAMH**) da madeira. Todas as substâncias isoladas também foram testadas, os dados relativos avaliação da atividade antifúngica dos extratos e substâncias isoladas através da formação do halo de inibição do crescimento fúngico em diâmetro (cm) estão compilados nas tabelas (16-18, p. 161-163).

---

Os resultados mostraram uma discreta atividade dos extratos comparada aos valores obtidos para o controle positivo frente às leveduras. Destacam-se entre os extratos o diclorometânico das folhas (**SAFD**) com melhor reação frente a *C. albicans* (**2,2**) e *C. parapsilosis* (**1,4**) e o extrato hexânico da madeira (SAMH) com melhores valores de halos de inibição frente a *C. guillermondii* (**1,85**) e *C. inconspícua* (**1,7**). Os resultados obtidos para os extratos metanólico (SAFM) e hidroalcoólico (SAFMA) estão descritos na tabela 16, p.162.

**Tabela 16** - Inibição do crescimento fúngico dos extratos de *S. apetala*

Dentre as substâncias isoladas no extrato destacam-se os resultados obtidos para os flavonóides **SAFM-03** frente às leveduras *C. albicans* (**2,00**), *C. parapsilosis* (**1,50**) e *C. Krusei* (**1,20**) e **SAFM-04** frente a *C. albicans* (**2,10**), *C. spp.* (**1,10**), *C. parapsilosis* (**1,10**), *C. guillermondii* (**1,10**). A saponina **SAFM-01** apresentou uma discreta atividade frente a apenas três cepas *C. tropicalis* (**1,00**), *C. parapsilosis* (**1,00**) e *C. glabrata* (**1,20**) e a saponina **SAFM-02** apresentou atividade apenas em *C. spp.* (**1,10**) e *C. glabrata* (**1,20**). A atividade dos flavonóides apesar de discreta a maioria das leveduras deve-se a presença de grupos fenólicos que caracterizam esta classe de substâncias (Pelczar Jr. *et al.*, 1997). Os demais resultados estão ilustrados na tabela 17, p. 163.

**Tabela 17** - Inibição do crescimento fúngico das substâncias isoladas do extrato metanólico das folhas de *S. apetala*

Os resultados obtidos para as substâncias isoladas no extrato hexânico da madeira mostrou que a atividade encontrada neste extrato deve-se a presença de três substâncias fenólicas no extrato. O estilbeno SAMH-01 e o flavonóide SAMH-02 mostraram atividade frente a todas as cepas analisadas destacando os valores de  $(1,5 \pm 0,45)$  *C. albicans*,  $(1,6 \pm 0,66)$  *C. parapsilosis* e  $(1,6 \pm 0,85)$  *C. guillermondii* para SAMH-01 e  $(1,4 \pm 0,51)$  *C. albicans* e  $(1,5 \pm 0,60)$  *C. parapsilosis* para SAMH-02. Dentre os resultados para o pterocarpano SAMH-03 destaca-se  $(1,3 \pm 0,53)$  obtido frente à cepa de *C. guillermondii*. Os demais resultados estão ilustrados na tabela 18, p. 164.

**Tabela 18** - Inibição do crescimento fúngico das substâncias isoladas do extrato hexânico da madeira de *S. apetala*

#### 4.4. Referências bibliográficas

Anaissie, E. (1992). *Oportunistic mycoses in the immunocompromised host: Experience at a cancer center and review*. CID 14: 43-53p.

Argolo, A.C.C., Sant'Ana, A.E.G., Pletsch, M., Coelho, L.C.B.B. (2004). Antioxidant activity of leaves from *Bauhinia monandra*. *Bioresource Technology*. 95: 229-233p.

Babior, B.M. (2000). Phagocytes and Oxidative Stress. *The American Journal of Medicine*. 33-44p.

Barreiros, A.L.B.S., David, J.M., David, J.P. (2006). Estresse Oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*. 29(1): 113-123p.

Bergman, M., Varshavsky, L., Gottlieb, E.H., Grossman, S. (2001). The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochemistry*. 58: 143-152p.

Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M. (1967). On the flavonoside of the fruit of the *Swartzia madagascariensis*. Desv., African leguminous plant. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles*. 264(2): 401p.

Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteal, J.P., Pommery, J. Wallet, J.C., Gaydou, E.M. (1996). Antioxidant properties of hydroxyl-flavones. *Free Radical Biology & Medicine*. 20(1): 35-43p.

Dubois, J.L., Sneden, A.T. (1995). Dihydrolicoisoflavone, a new isoflavanone from *Swartzia polyphylla*. *Journal of Natural Products*. 58(4): 629p.

Hadacek, F., Greger, H. (2000). *Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice*. *Phytochemical Analysis*. 11: 137-147p.

Lima, I.O., Oliveira, R.A.G., Lima, E.O., Farias, N.M.P., Souza, E.L. (2006). Atividade Antifúngica de Oleos essenciaissobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 197-201p.

Mallavarapu, G.O., (2001). Contribution of medicinal plants to modern medicine. *Journal of Medicinal Plants to Modern Medicine*. 22: 572-578p.

---

McLaughlin, J. L. Colman-Saizarbitoria, T. e Anderson J.E. (1995). Tres bioensayos Simples para Químicos de Productos Naturales. *Revista de la Sociedad Venezolana de Química*, 18,13-18p.

Mensor, L.L., Menezes, S.F., Leitão, G.G., Reis, S.A., Dos Santos, C.T., Coube, S.C., Letão, G.S. (2001). Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15, 127p.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.F., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. (1982). Brine Shrimp a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45,31p.

Osawa, K., Yasuda, H., Maruyama, T., Morita, H., Takeya, K. & Itokawa, H. (1992). Isoflavones from the heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 40(11): 2970p.

Pelczar Jr., M.J., Chan, E.C.S., Krieg, N.P. (1997). Microbiologia: conceitos e aplicações. 2ª Ed., volume 1. Editora Pearson Education. 213p.

Rojas, R., Bustamante, B., Ventosilla, P., Fernández, I., Caviedes, L., Gilman, R.H., Lock, O., Hammond, G.B. (2006). Larvicidal, Antimicrobial and Antifungal Compounds from the Bark of the Peruvian Plant *Swartzia polyphylla* DC. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 54(2):278-279p.

Sanchez, C.S., Rocha, A.F.I., Pinheiro, M.L.B., Andrade, C.H.S., Monte, F.J.Q. (1999). Brachyrachisina: Isoflavona inédita de *Swartzia* (Leguminosae). *ACTA Amazônica*. 29(3): 419-422p.

Souza, E.C. (1998). Bactérias ultra-resistentes. *Ciência Hoje*, 23,138, 26-35p.

Siqueira, M.J., Bomm, D.M., Pereira, G.F.N., Garcez, S.W., Boaventura, D.A. M. (1998). Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii*-Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. *Química Nova*. 21(5).

Yunes, R.S., Calixto, J.B. (2001). Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna. UNOESC, SC- Chapecó, ARGOS Editora Universitária, 320 p.



## Conclusões

O estudo fitoquímico do extrato metanólico das folhas (**SAFM**) e haxânico da madeira (**SAMH**) de *Swartzia apetala* var. *glabra* resultou no isolamento de duas saponinas: 3-hidroxi-olean-12-en-28-acetato de-O- $\beta$ -D-glicopiranosila **SAFM-01**, 3-O- $\beta$ -D-xilopiranosil-(1<sup>'''</sup>→4<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -D-ramnopiranosil-olean-12-em-28-acetato de - $\beta$ -D-glicopiranosila (**SAFM-02**); três flavonóides: 3, 5, 7,4'-tetraidroxiflavonol (**SAFM-03**), 5,7,4'-triidróxi-3-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-(1<sup>'''</sup>→6<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-(1<sup>'''</sup>→2<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-flavonol (**SAFM-04**), 5,7-diidróxiflavanona (**SAMH-02**); um estilbeno: 3-metoxi-5-hidroxiestilbeno (**SAMH-01**); um pterocarpano: 7-hidroxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano (**SAMH-03**); um triterpeno: lupeol (**SAMH-04**); e uma mistura de esteróides: sitosterol, stigmasterol e campesterol (**SAMH-05a/b/c**).

A revisão bibliográfica da espécie mostrou que até o momento não há estudo fitoquímico com a mesma. Embora existam referências na literatura com o isolamento de saponinas, flavonóides e pterocarpanos em espécies do gênero, encontramos referências que descrevem apenas o isolamento do pterocarpano 7-hidroxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano (**SAMH-03**) sendo as saponinas (**SAFM-01** e **02**), os flavonóides (**SAFM-03** e **04** e **SAMH-02**) e o estilbeno (**SAMH-01**) descritos pela primeira vez no gênero.

As substâncias 3-O- $\beta$ -D-xilopiranosil-(1<sup>'''</sup>→4<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -D-ramnopiranosil-olean-12-em-28-acetato de - $\beta$ -D-glicopiranosila (**SAFM-02**) e 5,7,4'-triidróxi-3-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-(1<sup>'''</sup>→6<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-(1<sup>'''</sup>→2<sup>''</sup>)-O- $\alpha$ -L-raminopiranosil-flavonol (**SAFM-04**), pelo melhor do nosso conhecimento, são inéditas na literatura.

A avaliação da citotoxicidade com larvas de *Artemia salina* indicou os extratos polares (**SAFM** e **SAFMA**) como ativos de acordo com a metodologia proposta por McLaughlin.

A avaliação do potencial antioxidante dos extratos usando o método com o radical livre DPPH, confirmou a correlação existente entre a atividade e a

presença de substâncias fenólicas no extrato. Os extratos que apresentaram maior potencial foram os extratos metanólico (**SAFM**) e hidroalcoólico (**SAFMA**) das folhas apresentando atividade superior ao do controle **rutina** e o hexânico da madeira que apresentou atividade próxima ao do controle (**SAMH**).

A análise da atividade antifúngica dos extratos e substâncias isoladas frente a cepas padrão de espécies *Candida*, apresentou os extratos diclorometânico das folhas (**SAFD**) e hexânico da madeira (**SAMH**) como os que demonstraram melhor desempenho frente a maioria das cepas. Entre as substâncias isoladas as que apresentaram maior desempenho foram as substâncias fenólicas isoladas da madeira (**SAMH-01, 02 e 03**) e os flavonóides isolados das folhas (**SAFM-03 e 04**).

O presente trabalho contribuiu para o conhecimento da composição química da espécie *Swartzia apetala* var. *glabra* e da avaliação da atividade biológica dos extratos e substâncias isoladas incentivando desta forma ao estudo dos demais extratos e avaliação de outros testes biológicos, já que as substâncias isoladas se apresentam estruturalmente semelhantes a outras descritas na literatura com atividades biológicas já definidas.