



Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
CCT - Centro De Ciências e Tecnologias
Curso de Licenciatura Em Química
Laboratório de Ciências Químicas -LCQUI

ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DA ESPÉCIE
***Dalbergia glaucences* (FABACEAE)**

ADRIANA MOURA DA SILVA

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OUTUBRO-2005

**ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Dalbergia glaucences*
(FABACEAE).**

ADRIANA MOURA DA SILVA

**Monografia apresentada ao Centro de
Ciência e Tecnologia da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro como requisitos para
obtenção do título de Graduado em
Licenciatura em Química.**

Orientadora: Prof.Dra.Leda Mathias

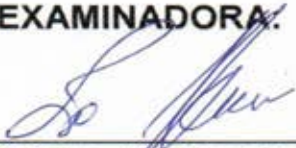
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OUTUBRO – 2005

**ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Dalbergia glaucences*
(FABACEAE).**

ADRIANA MOURA DA SILVA

**Monografia apresentada ao Centro de
Ciência e Tecnologia da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro como requisitos para
obtenção do título de Graduado em
Licenciatura em Química.**


COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Ivo Jose Curcino Vieira (D. Sc. Química Orgânica) _ UENF



Prof. Dr. Carlos Roberto R. de Matos (D. Sc. Química Orgânica) _ UENF



Prof.^a. Dr.^a Leda Mathias (D. Sc. Química de Produtos Naturais) _ UENF
(Orientadora)

RESUMO

SILVA, Adriana Moura da; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, outubro 2005; Estudo fitoquímico da espécie *Dalbergia glaucense* (Fabaceae); Prof(a). Orientadora Leda Mathias.

A planta *Dalbergia glaucences*, família Fabaceae, tem importância econômica pela utilização de suas sementes como fonte de alimento (feijão, ervilha, lentilha, soja, amendoim e outros) e importância comercial, por apresentar durabilidade e beleza. O gênero *Dalbergia* na sua avaliação fitoquímica e biológica verificou-se a presença de flavonóides, isoflavonóides e terpenóides e algumas espécies com atividade biológica significativa como a de antiinflamatório, antioxidante, antibacteriano e corante vermelho (usada na medicina Tailandesa), anti-hemorragico, antiisquêmico, antiinflamatório e antiedema.

Utilizando-se técnicas clássicas de cromatografia no caule *Dalbergia glaucences* permitiu o isolamento e a caracterização das substâncias: xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metil xanten-9-ona (3), isoflavonóides vitexina (4) e 6- β -glicosil isovitexina (5), triterpenos lupeol (1) e lupenona (2).

A determinação estrutural dessas substâncias foi efetuada com base em dados espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C , experimentos bidimensionais (HMQC e HMBC) e resultados dos espectros na região do IV e UV e massas.

E tudo quanto pedires em oração, crendo, receberis.

Matheus 21:22

A minha mãe Maria das Neves;

A minha avó Teresinha;

Aos meus irmãos Carlos Max, Claudio, Sidney, Jarbas e Cristina;

Ao meu pai Jarbas (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

A DEUS "que nos caminhos mais difíceis nos Teus braços me levou".

A minha mãe Maria das Neves, pela companhia nas noites mal dormidas, por me acordar com palavras de incentivo, pelos carinhos, apoio e dedicação.

A minha avó Teresinha, que tanto me apoiou, me incentivou, me financiou nas horas difíceis e me deu tanto amor que agora retribuo lhe dando um motivo de se orgulhar.

Aos meus irmãos Carlos Max, Cláudio, Sidney, Jarbas e Cristina que acreditaram em mim.

A meu pai Jarbas (em memória), pelo amor e carinho.

Ao Maurício, pela amizade e incentivos que não me deixaram desanimar.

Aos amigos, primos e todos que foram um incentivo e inspiração para crescer nos meus objetivos.

Aos amigos de sala de aula, pelas várias horas de estudo, carinho, incentivo e dedicação.

Aos amigos de laboratório, pelos momentos de alegria e descontração.

Aos funcionários da UENF, Maristela e Sr. Roberto pela ajuda e compreensão na procura dos espectros.

Ao professor Ivo, pelo carinho, amizade e ensinamentos.

Ao professor Carlos, por ter me ajudado tanto como professor e amigo na graduação.

Ao professor Raimundo Braz-Filho pela confiança e ajuda.

A professora Leda Mathias, orientadora e amiga, por todo ensinamento, pela confiança, amizade, paciência e aos momentos de descontração e cantorias.

E todos aqueles que de algum modo me apoiaram, me incentivaram e contribuíram para realização desta etapa tão importante da minha vida, muito obrigada.

Índice

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Espectros

Abreviaturas e símbolos Utilizados

Resumo

1.Introdução	1
2.Revisão da Literatura	4
2.1.Família Fabaceae	4
2.1.1.Flavonóides	7
2.2.Gênero <i>Dalbergia</i>	8
2.3.Espécie <i>Dalbergia glaucences</i>	10
3.Objetivo	11
4.Constituintes Químicos isolados do caule de <i>Dalbergia</i>	12
5.Materiais e Métodos	13
6 Metodologia	14
6.1.Levantamento Bibliográfico	14
6.2.Coleta de Material Vegetal	14
6.3.Secagem, Moagem e Preparação dos Extratos Brutos	14
6.4.Teste para flavonóides	15

6.5.Fracionamento do Extrato Bruto	17
6.5.1.Fracionamento do Extrato em hexano	17
6.5.2.Fracionamento do Extrato em diclorometano	17
6.5.3.Fracionamento do Extrato em metanol	18
6.6.Elucidação	19
7.Resultados	20
7.1.Isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina e derivados acetilados	23
7.2.Isoflavonóide vitexina	38
7.3.Triterpeno lupeol	43
7.4.Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona	53
7.5.Triterpeno lupenona	61
8.Dados físicos das substâncias isoladas	69
9.Conclusões	72
10.Referências Bibliográficas	73

LISTAS DE FIGURAS

Figura 01: Esqueleto fundamental dos flavonóides _____	5
Figura 02: Rota biossintética dos isoflavonóides _____	6
Figura 03: Cinamilfenóis isolados do gênero <i>Dalbergia</i> _____	8
Figura 04: Isoflavonas isoladas de <i>Dalbergia frutescens</i> _____	10
Figura 05: Substâncias isoladas da <i>Dalbergia glaucences</i> _____	12
Figura 06: Fluxograma da Preparação dos Extratos Brutos _____	15
Figura 07: Fluxograma de Fracionamento dos Extratos Brutos _____	16
Figura 08: Possíveis fragmentos de massa da Lupeol. _____	44
Figura 09: Possíveis fragmentos de massa da xantona. _____	53

LISTAS DE TABELAS

- Tabela 01:** Classificação botânica da espécie *Dalbergia glaucences*. _____ 10
- Tabela 02:** Deslocamentos químicos do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina. _____ 24
- Tabela 03:** Deslocamentos químicos dos derivados acetilados do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina. _____ 25
- Tabela 04:** Dados espectrais de RMN ^{13}C do Lupeol comparados com os dados da literatura. _____ 45
- Tabela 05:** Dados espectrais de RMN ^{13}C e RMN ^1H do Xantonóide. _____ 54

LISTAS DE FIGURAS

Figura 01: Esqueleto fundamental dos flavonóides	5
Figura 02: Rota biossintética dos isoflavonóides	6
Figura 03: Cinamilfenóis isolados do gênero <i>Dalbergia</i>	8
Figura 04: Isoflavonas isoladas de <i>Dalbergia frutescens</i>	10
Figura 05: Substâncias isoladas da <i>Dalbergia glaucences</i>	12
Figura 06: Fluxograma da Preparação dos Extratos Brutos	15
Figura 07: Fluxograma de Fracionamento dos Extratos Brutos	16
Figura 08: Possíveis fragmentos de massa da Lupeol.	44
Figura 09: Possíveis fragmentos de massa da xantona.	53

LISTAS DE TABELAS

- Tabela 01:** Classificação botânica da espécie *Dalbergia glaucences*. _____ 10
- Tabela 02:** Deslocamentos químicos do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina. _____ 24
- Tabela 03:** Deslocamentos químicos dos derivados acetilados do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina. _____ 25
- Tabela 04:** Dados espectrais de RMN ^{13}C do Lupeol comparados com os dados da literatura. _____ 45
- Tabela 05:** Dados espectrais de RMN ^{13}C e RMN ^1H do Xantonóide. _____ 54

LISTA DE ESPECTROS

- Espectros 01:** Espectro de RMN ^{13}C do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, DMSO-*d*₆) Expansão δ_{C} 40-180 _____ 26
- Espectros 02:** Espectro de RMN ^{13}C do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, DMSO-*d*₆) Expansão δ_{C} 61 – 85 _____ 27
- Espectros 03:** Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (400 MHz, DMSO-*d*₆) _____ 28
- Espectros 04:** Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (400 MHz, DMSO-*d*₆) Expansão δ_{H} 3,4 – 4,8 _____ 29
- Espectros 05:** Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (400 MHz, DMSO-*d*₆) Expansão δ_{H} 6,6 – 7,6 _____ 30
- Espectros 06:** Mapa de correlação 1H- 1H- NOESY da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, DMSO) _____ 31
- Espectros 07:** Espectro de RMN ^{13}C da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, CDCl_3) _____ 32
- Espectros 08:** Espectro de RMN ^{13}C da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, DMSO- *d*₆) HMQC. _____ 33
- Espectros 09:** Espectro de RMN ^{13}C da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{C} 167 – 184. _____ 34
- Espectros 10:** Espectro de RMN ^1H da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, CDCl_3) _____ 35

Espectros 11: Espectro de RMN ^1H da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{H} 3,6 – 4,9. _____	36
Espectros 12: Espectro de RMN ^1H da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{H} 7,0 – 8,4. _____	36
Espectros 13: Espectro de RMN ^{13}C do isoflavonóide vitexina (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) ____	40
Espectros 14: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide vitexina (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) ____	41
Espectros 15: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide vitexina (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) Expansão δ_{H} 3,0 – 5,2 _____	42
Espectros 16: Espectro de RMN ^{13}C do Lupeol (100 MHz, CDCl_3) _____	46
Espectros 17: Espectro de RMN ^{13}C do Lupeol (100 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{C} 14 – 30 _____	47
Espectros 18: Espectro de RMN ^{13}C do Lupeol (100 MHz, CDCl_3) _____	48
Espectros 19: Espectro de RMN ^1H do Lupeol (400 MHz, CDCl_3) _____	49
Espectros 20: Espectro de RMN ^1H do Lupeol (400 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{H} 0,6 – 1,8 _____	50
Espectros 21: Espectro de RMN ^1H do Lupeol (400 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{H} 2,3 – 3,3 _____	51
Espectros 22: Espectroscopia de Massas (70 eV) e Cromatograma CG/EM do Lupeol _____	52

Espectros 23: Espectro de RMN ^{13}C do Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (125 MHz, CDCl_3) _____	55
Espectros 24: Espectro de RMN ^1H do Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (500 MHz, CDCl_3) _____	56
Espectros 25: Espectro de RMN ^1H do Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (500 MHz, CDCl_3) Expansão δ_{H} 6,2– 6,8 _____	57
Espectros 26: Mapa de correlação NOESY (CDCl_3) do Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona _____	58
Espectros 27: Expansão do Mapa de correlação NOESY (CDCl_3) do Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona _____	59
Espectros 28: Espectro de Massas CG/EM (70 eV) e Cromatograma CG/EM do Xantonóide 1-Hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona _____	60
Espectros 29: Espectro de RMN ^{13}C do Triterpeno Lupenona (100 MHz, CDCl_3) _____	63
Espectros 30: Espectro de RMN ^{13}C do Triterpeno Lupenona (100 MHz, CDCl_3) Extensão δ_{C} 22 – 42 _____	64
Espectros 31: Espectro de RMN ^{13}C do Triterpeno Lupenona(100 MHz, CDCl_3) Extensão δ_{C} 11 – 22. _____	65
Espectros 32: Espectro de RMN ^{13}C do Triterpeno Lupenona(100 MHz, CDCl_3) Extensão δ_{C} 42 – 69. _____	66
Espectros 33: Espectro de RMN ^1H do Triterpeno Lupenona (400 MHz, CDCl_3) _____	67

1. INTRODUÇÃO

A flora brasileira destaca-se como uma das mais ricas e extensas do mundo. A grande variedade de árvores nativas, cuja madeira é aproveitável pelo homem, devido a sua beleza e durabilidade, inspira a curiosidade científica no sentido da investigação dos possíveis constituintes químicos responsáveis pela resistência da madeira ao ataque de agentes predadores. Algumas dessas árvores também se destacam pela produção de flores coloridas cujo efeito ornamental muitas vezes é utilizado na arborização de parques e jardins.

A utilização dessas plantas na alimentação, artesanato, carpintaria e principalmente seu uso na medicina vêm sendo estimulado desde o século XIX, quando foram registrados os primeiros estudos sobre plantas com base em dados científicos provenientes desta poderosa arma hoje conhecida como fitoquímica (Braz-Filho, 1994).

A importância dos produtos naturais na terapêutica é reconhecida desde tempos memoriais, como exemplo, as plantas alucinógenas empregadas pelos ameríndios em seus ritos pagãos, bem como as propriedades afrodisíacas de diversas porções preparadas a partir de distintas espécies vegetais (Barreiro, 2001).

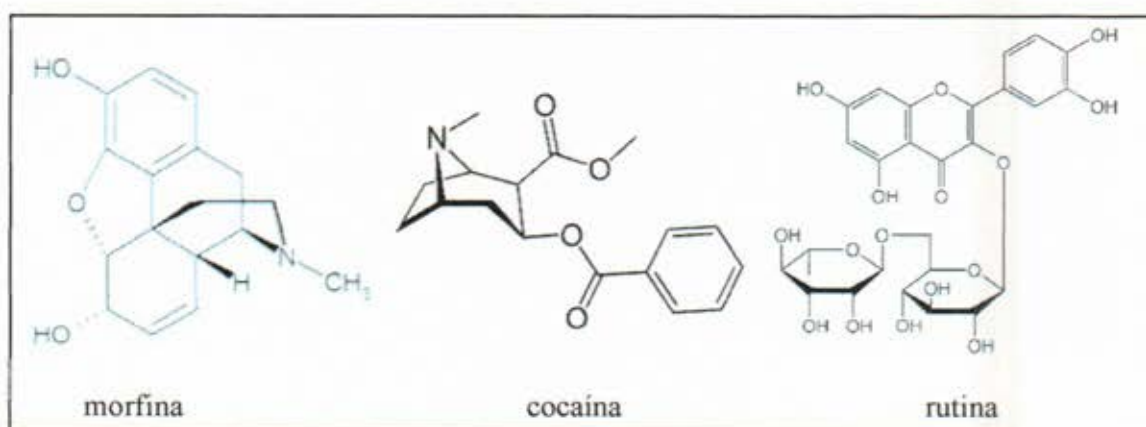
O poder das plantas em curar doenças, conservar a saúde e proporcionar o bem estar vem sendo transmitido a várias gerações e isto precisa ser explorado, pois aprendendo, copiando e imitando, o dinamismo químico dos organismos da flora e da fauna e com a diversidade estrutural oferecida pelos laboratórios químicos celulares, servirá para o avanço científico das nações (Barreiro, 2001).

Atualmente, a grande maioria da população dos países subdesenvolvidos e países em desenvolvimento ainda utilizam a medicina caseira, ou seja, utilizam plantas como sua principal fonte de medicamentos na forma de extratos ou porções. Em vista disto, diversas plantas tropicais populares com utilidades medicinais encontram-se documentadas através de dados etnobotânicos e vem sendo investigadas pelos químicos de produtos naturais (Montanari, 2001).

Devido ao desenvolvimento das técnicas analíticas de separação e elucidação estrutural que vem ocorrendo nas últimas três décadas, substâncias com diversas atividades puderam ser isoladas de organismos vegetais e caracterizadas

estruturalmente, despertando assim o interesse das indústrias farmacêuticas que buscam substâncias com estruturas moleculares complexas, dificilmente obtidas por síntese a custo racional, fornecendo novos fármacos como ginkgo, kava pironas, ginseng que são chamados de fitofármacos ou fitoterápicos.

Essas substâncias se dividem entre os quimioterápicos tendo como exemplo vimblastina, vincristina que são empregados no tratamento da leucemia em crianças; os alcalóides quinina, morfina, cocaína, efedrina; os flavonóides hesperedina e rutina e os monoterpenóides como cânfora e mentol.



As indústrias agroquímicas se interessam por fontes de fungicidas e inseticidas, as indústrias alimentícias por substâncias que dão sabor e cor aos alimentos e a indústria de cosméticos pela necessidade de aromas naturais (Montanari e Bolzani, 2001; Braz-Filho, 1994; Cechinel-Filho, 1997; Barreiro, 2001).

Essas micromoléculas ou metabólitos especiais tem sua origem no metabolismo primário, que produz a maioria das substâncias encontradas nos seres vivos como aminoácidos, proteínas (polímeros naturais), lipídeos, carboidratos (monossacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos) e ácidos nucleicos. No entanto ao contrário do primário, o metabolismo secundário é complexo e diversificado, participando na produção de moléculas que tem certos grupos biológicos característicos, como família, gênero ou espécie (Gottlieb, 1996).

No século XX, com o desenvolvimento marcante dos fármacos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica, logo após a Grande Guerra, houve um considerável decréscimo no interesse pelos fármacos de origem natural. Atualmente é crescente a busca de fonte de novos medicamentos para utilização direta, bem como de matéria prima adequada para preparações semi-sintéticas de produtos úteis, de substâncias que sirvam de modelo para síntese total de produtos com atividade biológica e/ou farmacológica.

A adequada avaliação dessas substâncias pode proporcionar a descoberta de novos produtos naturais bioativos, tais como: antibióticos reguladores do crescimento vegetais, herbicidas, antivirais, antitumorais, imunoestimulantes, antimaláricos, amebicidas, inseticidas, moluscocidas etc. (Montanari, 2001).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A Família Fabaceae

A família Fabaceae (antiga Leguminosea) é uma das maiores famílias entre as dicotiledôneas, sendo superada apenas pela Asteraceae (Heywood, 1971 e Hutchinson, 1967).

A família contém cerca de 650 gêneros e aproximadamente 18000 espécies. Sendo considerado no ponto de vista econômico uma das mais importantes, devido ao fato de que sementes das plantas desta família são utilizadas como fonte de alimentos, como por exemplo, feijão, que faz parte da dieta diária da população brasileira, entre outros (Buckingham, 1994; Heywood, 1971; Rawitscher, 1979).

Várias de suas espécies são utilizadas no pasto como plantas forrageiras, outras são utilizadas, como fonte de taninos (substâncias importantes na curtição do couro e como antioxidantes), resinas, madeiras finas para o fabrico de móveis em geral e utensílios, bem como substâncias aromatizantes e inseticidas (Heywood, 1971; Robbins, 1964).

Taxonomicamente, a família está subdividida em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinoideae e Papilonoideae, sendo que a subfamília Papilionoideae é a mais evoluída dentro da família e de distribuição mundial. Suas folhas são alternas e compostas com 3 folíolos. Há presença de estípulas (estruturas com a forma de escama localizadas no caule de muitas plantas vasculares, junto à bainha das folhas), que podem ser de tamanho variado e muitas vezes transformada em espinho. Na base da folha e dos folíolos existem articulações chamadas, respectivamente, de pulvinos e pulvínulos. Suas flores são zigomórfas, pentamêras, diclamídea, hermafrodita, com cálice gamossépalo. Com corola dalipétala, a sua prefloração é imbricada descendente. Corola vexilar. Os estames são 10, todos livres ou nove soldados e um livre ou os 10 soldados.

Sendo seus representantes arbóreos em sua maioria localizados nos trópicos e nos hemisfério sul, já nas regiões mais temperadas do globo, os arbustivos e herbáceos (Heywood, 1971; Hutchinson, 1967).

A família Leguminosae é caracterizada por seus frutos serem conhecidos como legumes (fruto deiscente, que se desenvolve a partir de um único carpelo e se desdobra em duas valvas, que envolvem as sementes, ou seja, se abrem quando maduros) (Heywood, 1971).

A subfamília Papilonoideae caracteriza-se pela produção de isoflavonóides (Ingham, 1983). Embora sua distribuição restrita no reino vegetal, a variação estrutural encontrada nestes produtos naturais é muito grande e isto se deve tanto ao número e complexidade de substituintes no sistema 2 ou 3-fenilbenzopirano, como também aos diferentes níveis de oxidação no esqueleto básico e à presença de anéis heterocíclicos extras (Dewick, 1998).

O sistema 3-fenilbenzopirano (isoflavonóide) e o 2-fenilbenzopirano (flavonóide), em termos estruturais, são constituídos por dois anéis aromáticos (**A** e **B**), ligados por uma cadeia de três átomos de carbono que se apresenta ramificada, o que diferencia o isoflavonóide de um flavonóide (cadeia de três carbonos na forma linear) (Dewick, 1998) (Figura 1).

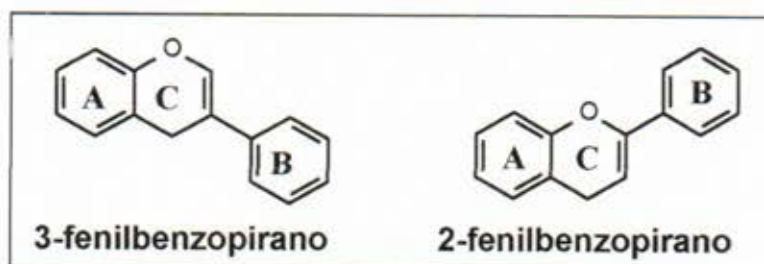


Figura 1- Esqueleto fundamental dos flavonóides

Na sua biogênese, os flavonóides são constituídos por uma unidade C_6 e C_9 . A unidade C_6 que dá origem ao anel **A**, é formada pela condensação de 3 unidades de malonil CoA, (com eliminação de 3 moléculas de CO_2) enquanto que a unidade C_9 , que compõe o anel **B** e os carbonos 2, 3 e 4 que compõem o anel Heterocíclico **C** é derivado do ácido cinâmico ou um de seu derivado oxigenado. A condensação do ácido cinâmico com 3 unidades de malonil CoA, forma como primeiro intermediário a chalcona, que por ciclização, dá origem à flavona correspondente, que através de

modificações em números limitados de etapas leva a diferentes tipos de isoflavonóides (Hendrickson, 1970; Sales, 1989; Geissman, 1969) (Figura 2).

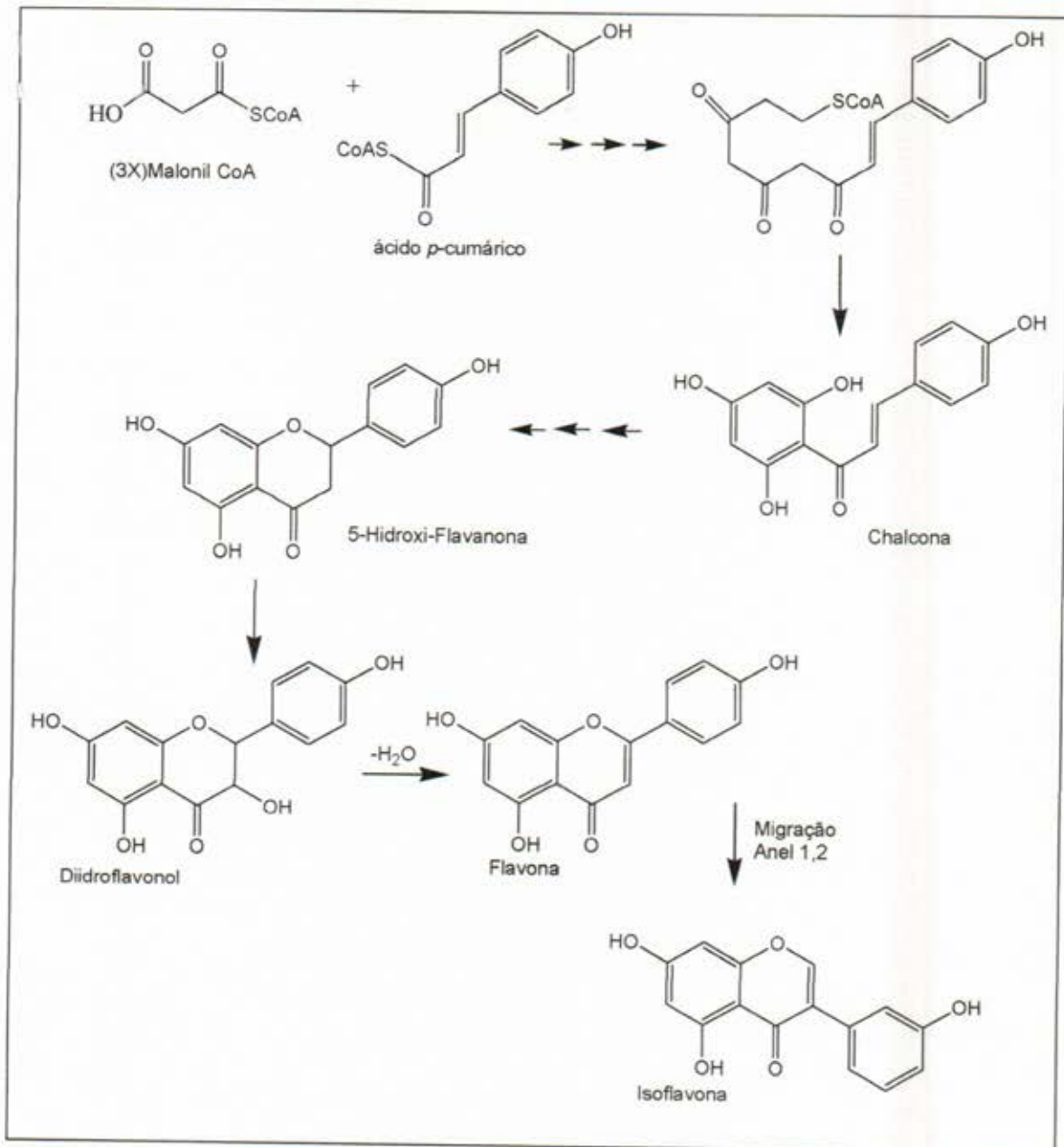


Figura 2: Rota biossintética dos isoflavonóides

2.1.1- Flavonóides

O termo flavonóide vem do Latim (*Flavus*) significando amarelo, cor principal deste pigmento (www.floramedicinal.com.br/info/fitoquim.htm; setembro de 2001).

Parte dos pigmentos das plantas é constituído de flavonóides, quase sempre solúveis em água, dando cor às flores, frutos e algumas folhas. Sua presença nos vegetais também está ligada a funções de defesa (proteção contra raios UV, ação antifúngica e antibacteriana) e de atração de polinizadores, agem também como fagorrepelente para insetos e animais herbívoros (Simões et al., 1999).

As diferentes propriedades dos flavonóides como, cor dos pigmentos, suas contribuições em nutrição e sabor dos alimentos, sua importância farmacológica exemplificada por atividades antiinflamatória, antialérgica, antiulcerogênica, antivirais entre outras, atribuída a alguns representantes da classe, conferem a essa classe de substâncias um elevado interesse comercial (Simões et al., 1999).

Os isoflavonóides isolados de plantas podem ser classificados em tipo ou classe dependendo da sua formação (Ingham, 1983; Mclure, 1975). Eles podem ocorrer como componentes de tecidos sadios de plantas (constitutivos) ou em tecidos que foram atacados por organismos bióticos ou abióticos (induzidos). Estes últimos são comumente encontrados em Papilionoideae e produzidos como substâncias de defesa da planta. Apresentam ação antimicrobiana e são conhecidos como fitoalexina ou metabólito secundário de plantas com "stress" (Mclure, 1975).

2.2. O Gênero *Dalbergia*

O gênero *Dalbergia* possui aproximadamente 300 espécies, sendo que cerca de 11 destas ocorrem no Brasil, mais precisamente no sudoeste brasileiro.

Desde a colonização do Brasil as madeiras retiradas das espécies de *Dalbergia* destacam-se pela importância econômica na utilização como madeira nobre na fabricação de mobílias em geral devido ao fato de apresentar durabilidade e beleza (Rizzini, 1995, Oliveira, 1971).

As árvores das espécies de *Dalbergia* são muito utilizadas como plantas ornamentais, principalmente pela folhagem delicada e forma aberta de sua copa, sendo empregada no paisagismo em geral, podendo ser aproveitado para o plantio em áreas degradadas junto com outras espécies, visando a recomposição arbórea de áreas de preservação permanente (Lorenzi, 1949).

A avaliação fitoquímica e biológica do gênero têm mostrado um grande número de substâncias ativas, dentre elas destacam-se flavonóides, isoflavonóides e terpenóides.

Algumas espécies possuem atividades biológicas comprovadas e descritas na literatura, sendo aqui exemplificadas por:

- ✓ *D. sisso*, com significativa atividade antiinflamatória (Hajare, 2001).
- ✓ *D. canatensis* usada na medicina Tailandesa, como antibacteriano e como corante vermelho (Yahara, 1989).
- ✓ *D. hupeana* usada na medicina popular chinesa contra escabiose (Yahara, 1989).
- ✓ *D. lanceolaria*, atuando como hospedeira de insetos importantes economicamente, e também usada na medicina popular como antiartrítico (Malhota, 1967; Singh, 1966).
- ✓ *D. odorifera*, usada na medicina tradicional chinesa como anti-hemorrágico, antiisquêmico, antiinflamatório e antiedema (Chan, 1997); possuindo também atividade antioxidante (Wang, 2000).

- ✓ *D. subcymosa*, conhecida popularmente como Verônica é utilizada no Brasil, em forma de cápsulas, como auxiliar no tratamento de inflamações uterinas e anemia, (www.iepa.ap.gov.br/prod-fitoterapicos.htm#44, Setembro 2001).

Teste "in vitro" realizado com os extratos etanólicos das cascas do caule das espécies *Dalbergia cultrata* e *Dalbergia nigrescens*, mostraram ação inibitória dos agentes causadores do tumor provocado pelo vírus Epstein-Bar. A elucidação estrutural das substâncias encontradas nesses extratos mostrou tratar-se de cinamilfenóis (Figura 3) (Chihiro, 2003).

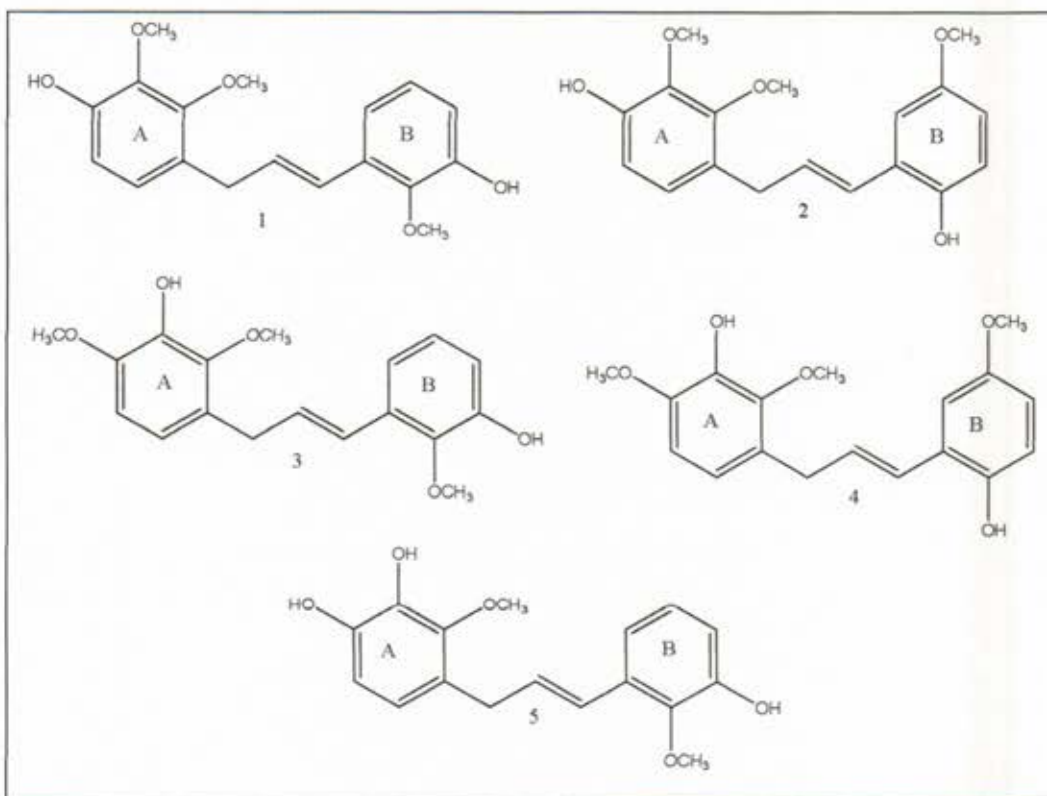


Figura 3: Cinamilfenóis isolados do gênero *Dalbergia*

Da espécie *Dalbergia frutescens* foram isoladas isoflavonas com ação antiprotozoários causadores de infecções intestinais, conhecidas como giardiase (Figura 4) (Khan, 2000).

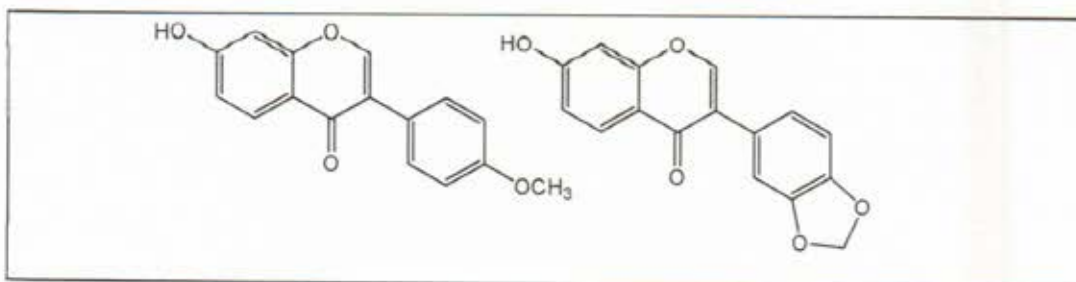


Figura 4: Isoflavonas isoladas de *Dalbergia frutescens*

2.3. Espécie *Dalbergia glaucences*

Dalbergia glaucences pertencente à tribo *Dalbergieae*, possui aproximadamente 300 espécies, sendo que 11 delas ocorrem no Brasil, mais precisamente no sudeste brasileiro e na Mata Atlântica. Popularmente é conhecida como mussutaíba. Esta é a primeira vez que a planta esta sendo estudada.

Tabela 1: Classificação botânica da espécie *Dalbergia glaucences*

classe	Angiosperma
subclasse	Dicotiledônea
superordem	Rosidaeae
ordem	Fabales
família	Fabaceae
subfamília	Papilonoideae
tribo	<i>Dalbergieae</i>
gênero	<i>Dalbergia</i>
espécie	<i>Dalbergia glaucences</i>

3. OBJETIVOS

- ❖ O principal objetivo deste trabalho é o isolamento e a caracterização estrutural de metabólitos secundários isolados de espécie Fabaceae produtoras de madeiras úteis e resistentes;
- ❖ A contribuição ao estudo fitoquímico da espécie *Dalbergia glaucences*;
- ❖ O aprendizado de técnicas usuais de isolamento de produtos naturais através de técnicas básicas, identificação e caracterização estrutural de substâncias orgânicas produzidas pelo metabolismo secundário de plantas brasileiras.

4. CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DO CAULE DE *Dalbergia glaucences*

O estudo fitoquímico do caule da *Dalbergia glaucences* permitiu o isolamento e/ou caracterização de um xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (**3**), dos isoflavonóides vitexina (**4**) e 6- β -glicosilvitexina (**5**), seguido dos triterpenos lupeol (**1**) e lupenona (**2**).

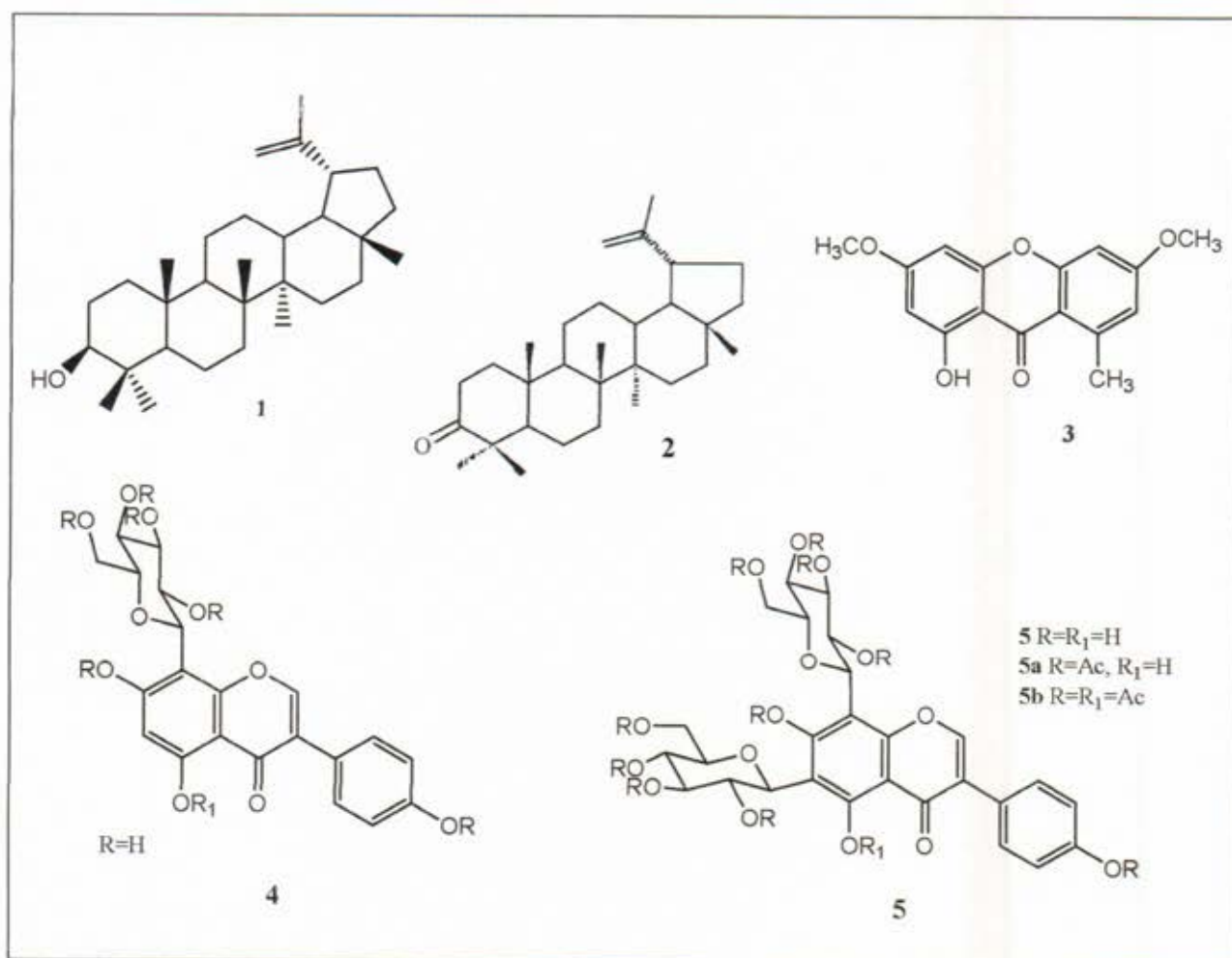


Figura 5: Substâncias isoladas de *Dalbergia glaucences*

5. MATERIAIS E MÉTODOS

- ❖ Nas separações cromatográficas em coluna, foram utilizadas, sílica gel 60G (0,063-0,200 mm) da Merck e da VETEC, sílica gel 60G (0,040-0,063) da MERCK, celulose microcristalina da VETEC, Amberlite XAD-2 (0,3-0,9 mm) da MERCK, Sephadex LH-20 Pharmacia Biotech.
- ❖ Nas análises comparativas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizou-se cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ e RP-18 F₂₅₄ MERCK.
- ❖ Os reagentes utilizados foram das marcas VETEC, MERCK e Sigma – Aldrich.
- ❖ As cromatoplasmas foram reveladas através de irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimento de onda 254 e 366 nm e/ou com revelador cromatogênico (vanilina sulfúrica, orcinol sulfúrico, sulfato cérico, solução etanólica de FeCl₃ a 5%).
- ❖ A concentração dos extratos foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo Buchi B-480 e Fisatom 802. As soluções aquosas foram liofilizadas em liofilizador Thermo Savant.
- ❖ Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em espectrômetros Jeol Eclipse, operando a uma frequência de 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C e espectrômetro Bruker Avance DPX 500 e Varian Unit Plus a uma frequência de 500 MHz para de ¹H e 125 MHz para ¹³C. Os deslocamentos químicos (δ) são indicados em ppm e as constantes de acoplamento (*J*) em Hz.
- ❖ O solvente utilizado foi DMSO *d*6 e CDCl₃.
- ❖ A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) foi obtida em aparelho CGMS-QP 5050 SHIMADZU.

6. METODOLOGIA

6.1. Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado através de pesquisa bibliográfica em periódicos encontrados em bibliotecas especializadas e também através de sítios disponíveis na INTERNET.

6.2. Coleta do Material Vegetal

O caule de *Dalbergia glaucences* foi coletado na Reserva Florestal Vale do Rio Doce em Linhares, ES em setembro de 1997.

6.3. Secagem, Moagem e Preparação dos Extratos Brutos

O material vegetal (o caule), depois de seco à temperatura ambiente, foi moído em moinho do tipo Willey.

O material resultante (580,0 g) foi submetido à maceração exaustiva com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e metanol/água (80:20). Os extratos brutos obtidos foram concentrados à pressão reduzida em evaporador rotatório.



Figura 6: Fluxograma da preparação de extratos

6.4. Teste para Detecção de Flavonóides

Para detecção dos Flavonóides foi utilizado o teste com solução etanólica de FeCl_3 a 5% (Wagner, 1995).

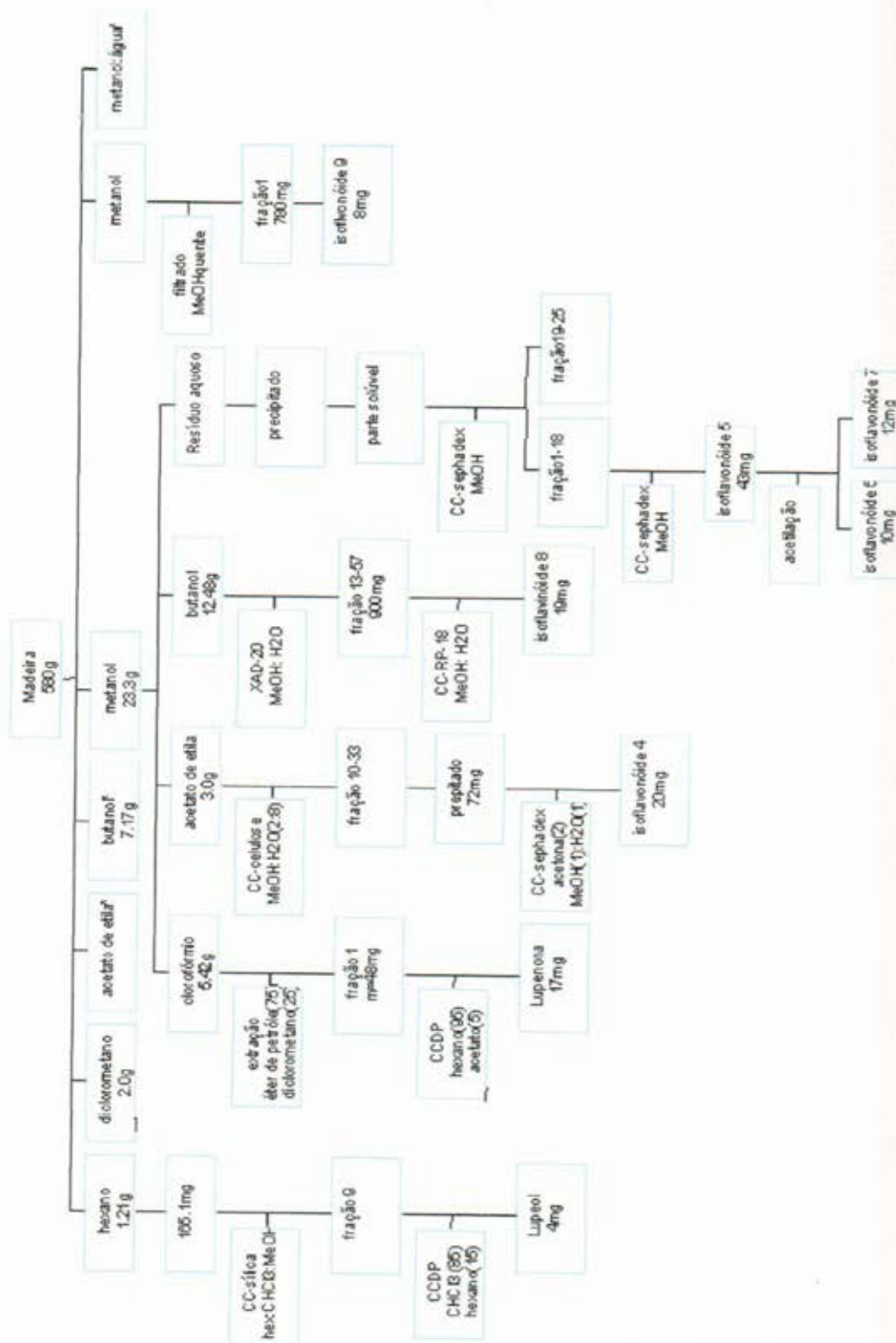


Figura 7: Fluxograma de Fracionamento dos Extratos Brutos

(*)_ extratos não trabalhados

6.5. Fracionamento dos Extratos Brutos

6.5.1. Fracionamento do Extrato em Hexano

Uma alíquota deste extrato (165,1 mg) foi submetida a cromatografia em coluna empacotada com sílica gel e eluída com hexano, diclorometano e metanol (9:1) em gradiente de polaridade. Após este procedimento foram obtidas 18 frações. As análises dessas através de CCDA permitiu (de acordo com a identidade de Rf) reuni-las em 07 subfrações. A subfração 9 foi submetida a CCDP, eluída com CHCl₃:hexano (85:15) resultando no isolamento de um triterpeno lupeol **1** (4mg).

6.5.2. Fracionamento do Extrato em Diclorometano

O extrato de diclorometano (2,0 g) foi filtrado à vácuo em um funil de fundo sinterizado contendo carvão ativo. A eluição seguiu a escala de solventes: diclorometano:hexano (2:1), diclorometano e diclorometano:metanol (até metanol 100%). As frações resultantes foram concentradas a pressão reduzida e reunidas segundo identidades de Rf.

A fração de nº4 (70 mg) foi submetida a adsorção em coluna empacotada com sílica gel e eluída com diclorometano:metanol (9:1). A subfração de nº7 foi novamente submetida a coluna de sílica gel com o mesmo sistema de eluentes, resultando no isolamento de um xantonóide **3** (8 mg).

6.5.3. Fracionamento do Extrato em Metanol

Uma alíquota do extrato metanólico (23,3 g) foi solubilizado em metanol: água (8:2) e fracionado através de partições líquido-líquido com clorofórmio, acetato de etila e butanol. O resíduo aquoso foi deixado em repouso até a formação de um precipitado (0,2 g).

O precipitado foi submetido a sucessivas filtrações em coluna empacotada com Sephadex LH-20 e eluída com metanol até fornecer os isoflavonóides **5** (43 mg). Com a finalidade de se confirmar a estrutura do produto natural **5**, preparou-se um derivado acetilado.

Acetilação do isoflavonóide

Em 25 mg do isoflavonóide **5** foram adicionados aproximadamente 2 mL de uma solução de anidrido acético:piridina (9:1). A mistura reacional foi levemente aquecida e deixada em repouso por 24h. Após esse período a mistura reacional foi colocada em banho de gelo e adicionado água gelada e algumas gotas de ácido clorídrico.

A extração foi feita com CHCl_3 , resultando no isolamento da mistura dos derivados acetilados **5a** e **5b**.

Fração em acetato de etila

Em 3,0 g foi submetida a partição em coluna empacotada com celulose e eluída com metanol:água (2:8). Este procedimento resultou 33 frações que foram concentradas à pressão reduzida em evaporador rotatório, e reunidas segundo identidade de Rf. As frações de nº10 a 33 após a recristalização (72 mg) foram solubilizadas com metanol à quente e submetidas a uma filtração com Sephadex LH-20 eluído com acetona:metanol:água (2:1:1) resultando no isolamento do isoflavonóide **4** (20 mg).

Fração em butanol

Em 12,4 g foi submetida a cromatografia em coluna empacotada com Amberlite XAD-2 e eluída com metanol:água em gradiente de polaridade crescente. Este procedimento resultou 57 frações que foram concentradas a pressão reduzida em evaporador rotatório.

As frações de nº 13 a 57 apresentaram identidade de R_f e foram reunidas (900 mg). A este material foi adicionado metanol e a fração solúvel (30 mg) foi submetida a cromatografia em coluna empacotada com sílica de fase reversa (RP-18) e eluída com metanol:água (2:3). Este procedimento resultou em 11 frações, sendo que as frações de nº 2 a 5 foram novamente submetidas ao mesmo procedimento e resultaram no isolamento do isoflavonóide **8** (19 mg) não identificado devido a insuficiência de dados espectrais.

A fração em clorofórmio (5,42 g) foi submetida a uma partição líquido-líquido em éter de petróleo:diclorometano (75:25). A subfração resultante (48 mg) foi submetida a CCDP o eluída com hexano:acetato de etila (95:5) resultando no isolamento do triterpeno lupenona **2** (17 mg).

Do extrato metanólico bruto, uma amostra de 5 g foi submetida à cromatografia em coluna empacotada com sílica de fase reversa RP-18 eluída com metanol:água (4:6). Das frações resultantes a de nº1 (780 mg) foi submetida a filtração em coluna empacotada com Sephadex LH-20 eluída com metanol:água (2:1), resultando o isoflavonóide **6** (8 mg) não identificado por insuficiência de dados espectrais.

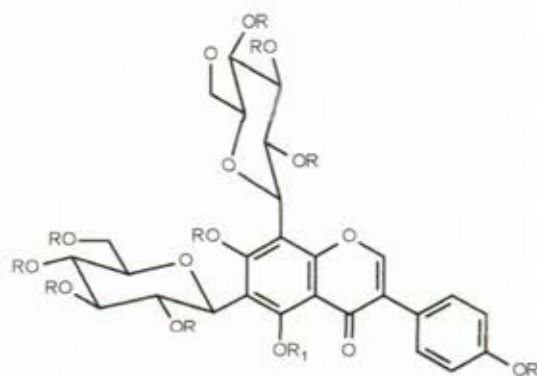
6.6. Elucidação Estrutural das Substâncias

A determinação estrutural das substâncias isoladas e modificadas estruturalmente foi realizada através da obtenção e interpretação de espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C (RMN) a uma (1D) e duas (2D) dimensões, bem como através de informações obtidas pelo CG/EM.

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os extratos em hexano, diclorometano e metanol submetidos às técnicas cromatográficas usuais permitiram o isolamento dos isoflavonóides vitexina (**4**) e 6- β -glicosil vitexina (**5**), dos triterpenos lupeol (**1**) e lupenona (**2**) e do xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (**3**) (Figura 1). A elucidação estrutural das substâncias isoladas baseou-se na interpretação dos dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) uni (1D) e bidimensional (2D), CG/EM e preparação de derivados.

7.1. ISOFLAVONÓIDE 6- β -GLICOSIL VITEXINA

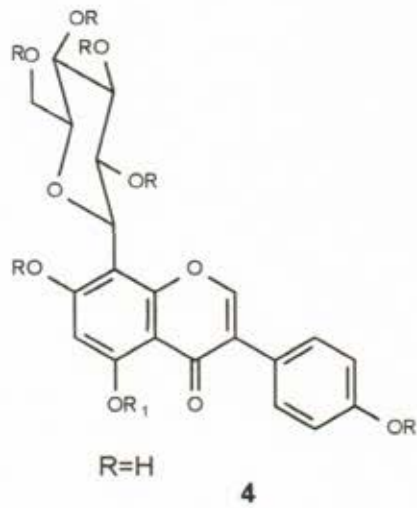


5 R= R₁= H

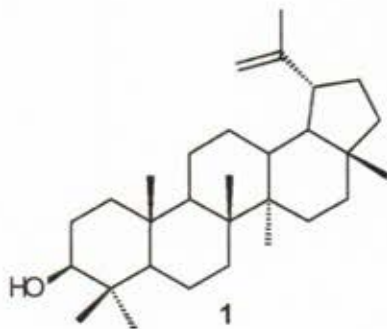
5a R= Ac, R₁= H

5b R= R₁= Ac

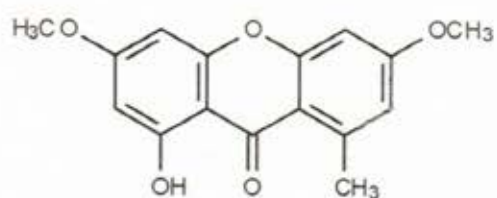
7.2. ISOFLAVONÓIDE VITEXINA



7.3. TRITERPENO LUPEOL

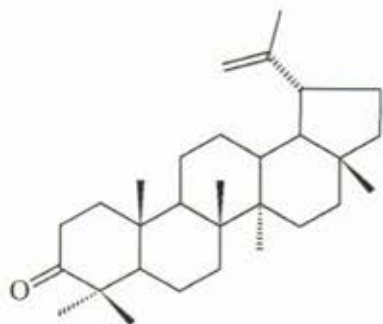


7.4. XANTONÓIDE 1-HIDROXI-3,6-DIMETOXI-8-METILXANTEN-9-ONA



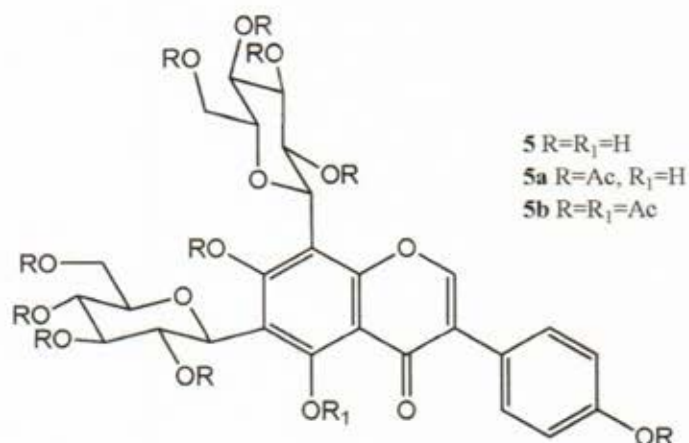
3

7.5. TRITERPENO LUPENONA



2

7.1. Isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina e seus derivados acetilados



O isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina **5** foi isolado do extrato metanólico (resíduo aquoso das partições do extrato metanólico) do caule de *Dalbergia glaucences*.

Deste resíduo, após análises em CC, resultou num precipitado que foi submetido a outras análises em CC com sílicagel, obtendo assim um isoflavonóide, que apresentava coloração escura na presença da luz UV de 254 nm e uma mancha preta quando revelada com orcinol sulfúrico.

Com a finalidade de confirmar a estrutura do isoflavonóide **5** foi feita uma acetilação resultando na mistura 5a e 5b. Os dados espectrais do derivado acetilado (5a e 5b) serviram para confirmar as atribuições feitas para **5**.

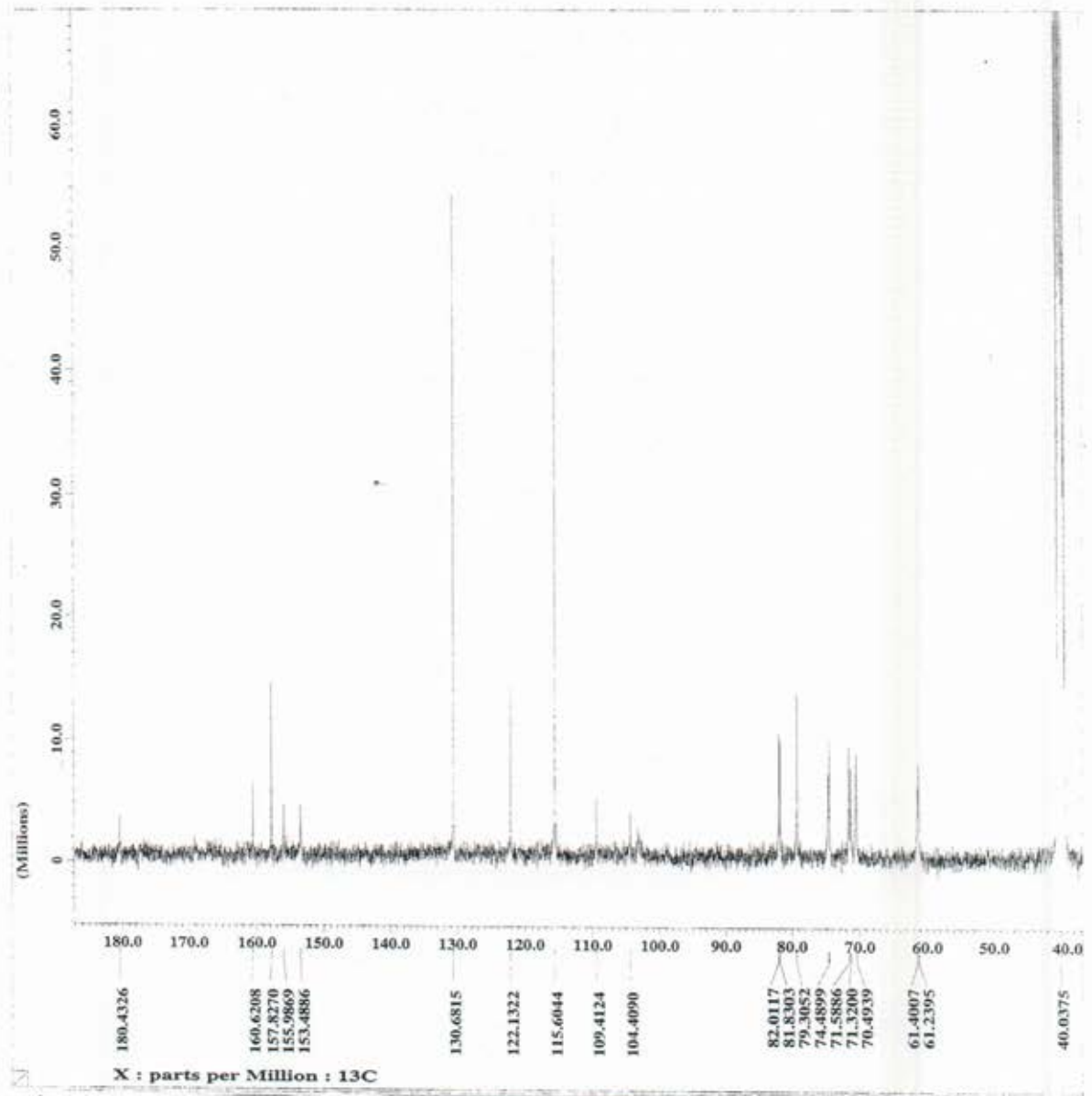
A presença de duas unidades de glicose envolvidas na C-glicosilação dos átomos de carbono C-6 e C-8 do esqueleto isoflavonoídico do C-glicosídeo (**5**) foi reconhecida pelos sinais em δ_c 74,66 e 74,49, respectivamente revelados pelos espectros de RMN ^{13}C , (HBBG e DEPT), atribuídos aos carbonos CH-1'' e CH-1''' através dos espectros 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=1$; $n=2$ e 3). Os dados espectrais do isoflavonóide **5** e seus derivados 5a e 5b estão resumidos nas tabelas 2 e 3 (p. 23 e 24).

Tabela 2: Deslocamentos químicos ^1H -e ^{13}C do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina

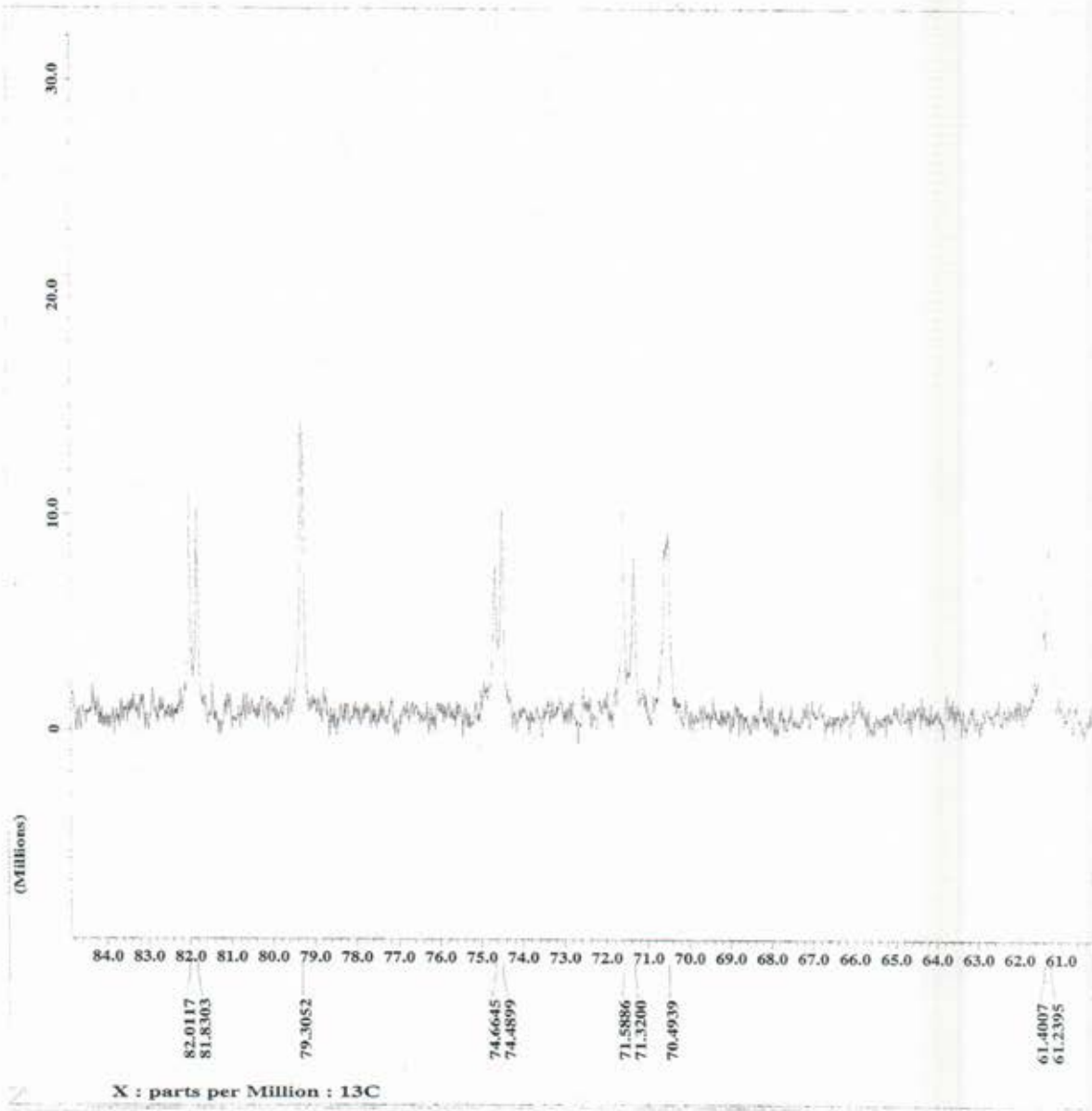
	^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$		^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
3	122,13	-		
4	180,43	-		H-2
5	160,62	-	HO-5	
6	109,41	13,80		HO-5
7	153,48	-		
8	104,41	-		
9	155,99	-		H-2
10	103	-		
1'	122,13	-	2H-2',6'	2H-3',5'
4'	157,83	-		2H-2',6'
CH				
2	157,83	8,26 (s)		
2',6'	130,68	7,37 (d, 8,6)		
3',5'	115,60	6,81 (d, 8,6)		
1''	74,66			
2''	71,59			
3''	82,01			
4''	70,49			
5''	79,30			
1'''	74,49			
2'''	71,32			
3'''	81,83			
4'''	70,49			
5'''	79,30			
CH₂				
6''	61,40			
6'''	61,23			

Tabela 3: Deslocamentos químicos dos derivados acetilados 5a e 5b do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina

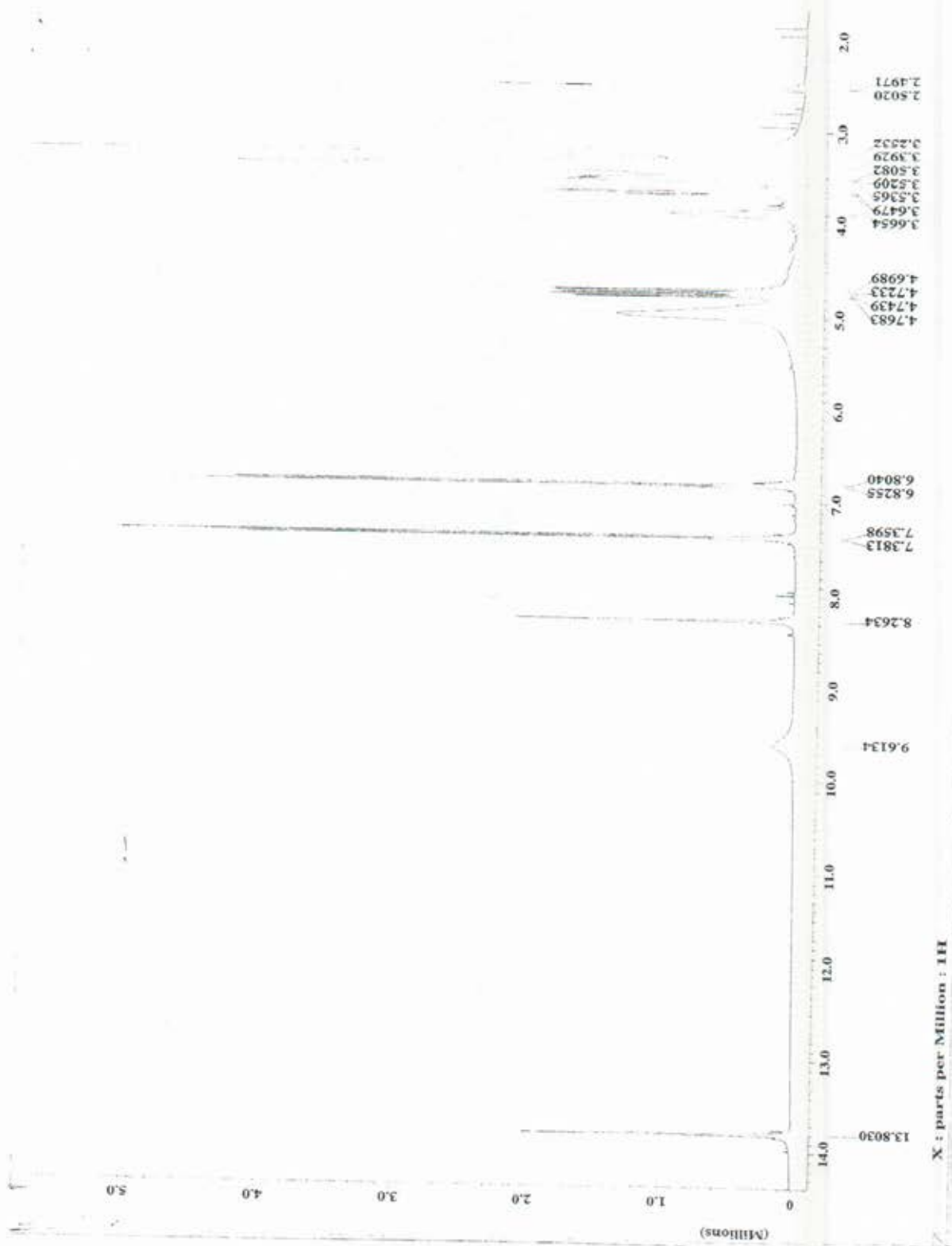
	5a				5b			
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C								
3	123,80	-	H-2		126,07	-	H-2	
4	181,08	-		H-2	173,88	-		H-2
5	161,28	-	HO-5		154,95	-		
6	111,17	-		HO-5	118,90	-		
7	151,39	-			149,74	-		
8	109,32	-			116,89	-		
9	154,95	-		H-2	156,10	-		H-2
10	108,68	-		HO-5	113,67	-		
1'	127,21	-		2H-3',5'	128,39			2H-3',5'
4'	151,05	-		2H-2',6'	150,08	-		2H-2',6'
CH								
2	153,72	8,17 (s)			151,39	8,06 (s)		
2', 6'	129,99	7,58 (d, 8,4)			130,23	7,50 (d, 8,4)		
3', 5'	121,86	7,21 (d, 8,4)			121,62	7,16 (d, 8,4)		
1''	73,06	4,54 (d, 9,9)			72,89	4,37		
2''	69,23	5,87 (t, 9,5)			69,13	5,95 (t, 9,5)		
3''	74,37	5,4 - 5,2			74,48	5,4 - 5,2		
4''	68,22	5,2 - 5,1			68,13	5,2 - 5,1		
5''	77,21	3,81			77,21	3,81		
1'''	72,89	4,37			72,56	4,82 (d, 9,9)		
2'''	70,05	5,60 (t, 9,2)			69,13	5,68 (t, 10,3)		
3'''	74,32	5,4 - 5,2			74,28	5,4 - 5,2		
4'''	68,62	5,2 - 5,1			68,52	5,2 - 5,1		
5'''	76,58	3,72 (m)			76,58	3,72(m)		
CH₂								
6''	62,22	4,21(dd, 12,4, 5,1) 4,13 (d, 12,4)			62,22	4,21 (dd, 12,4, 5,1) 4,13 (d, 12,4)		
6'''	61,91	4,37, 3,95 (d, 12,1)			61,77	4,37, 3,95 (d, 12,1)		



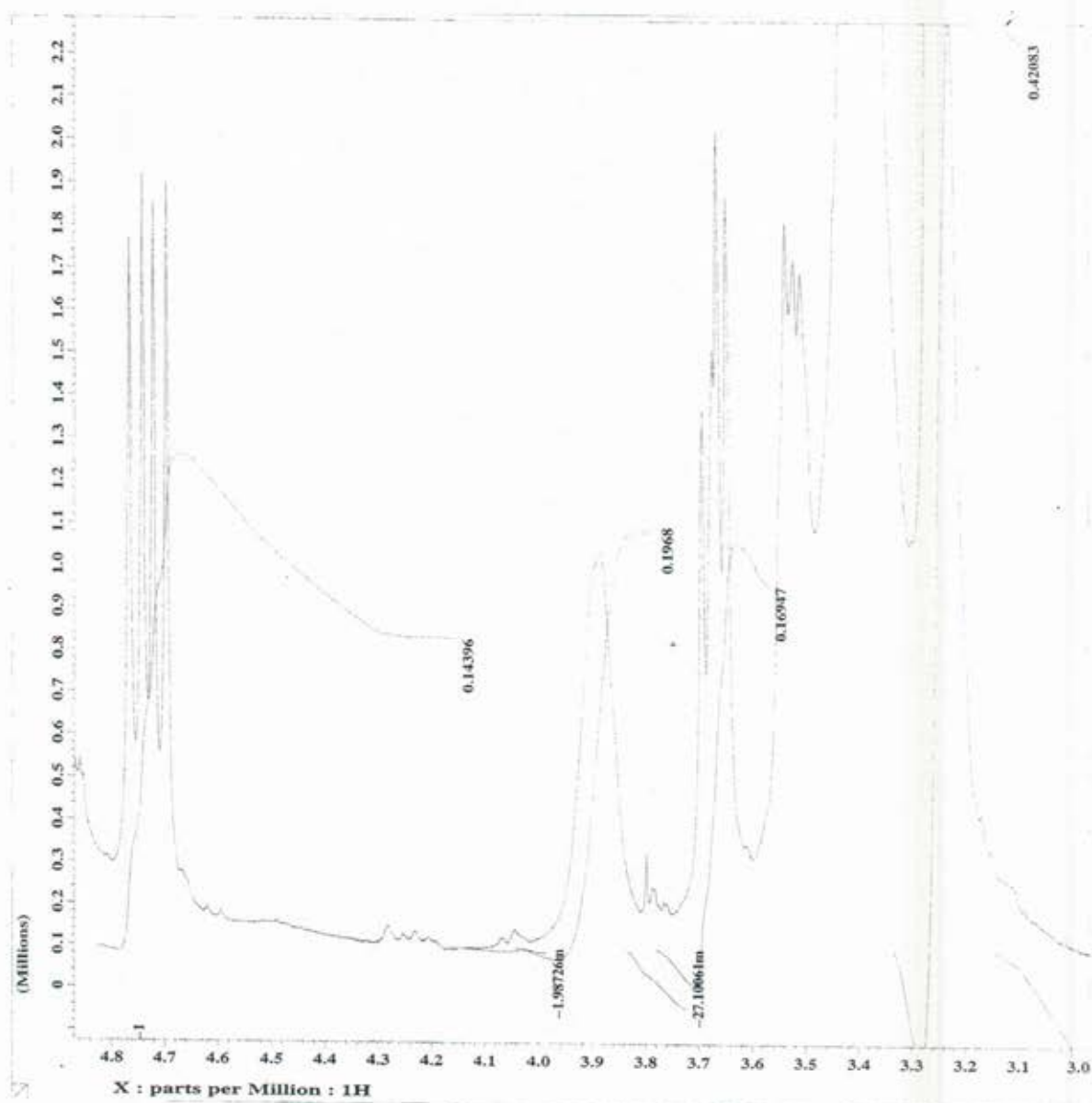
Espectros 01: Espectro de RMN ¹³C do isoflavonóide 6-β-glicosil vitexina (100 MHz, DMSO-d₆) Expansão da região δ_C 40 - 180



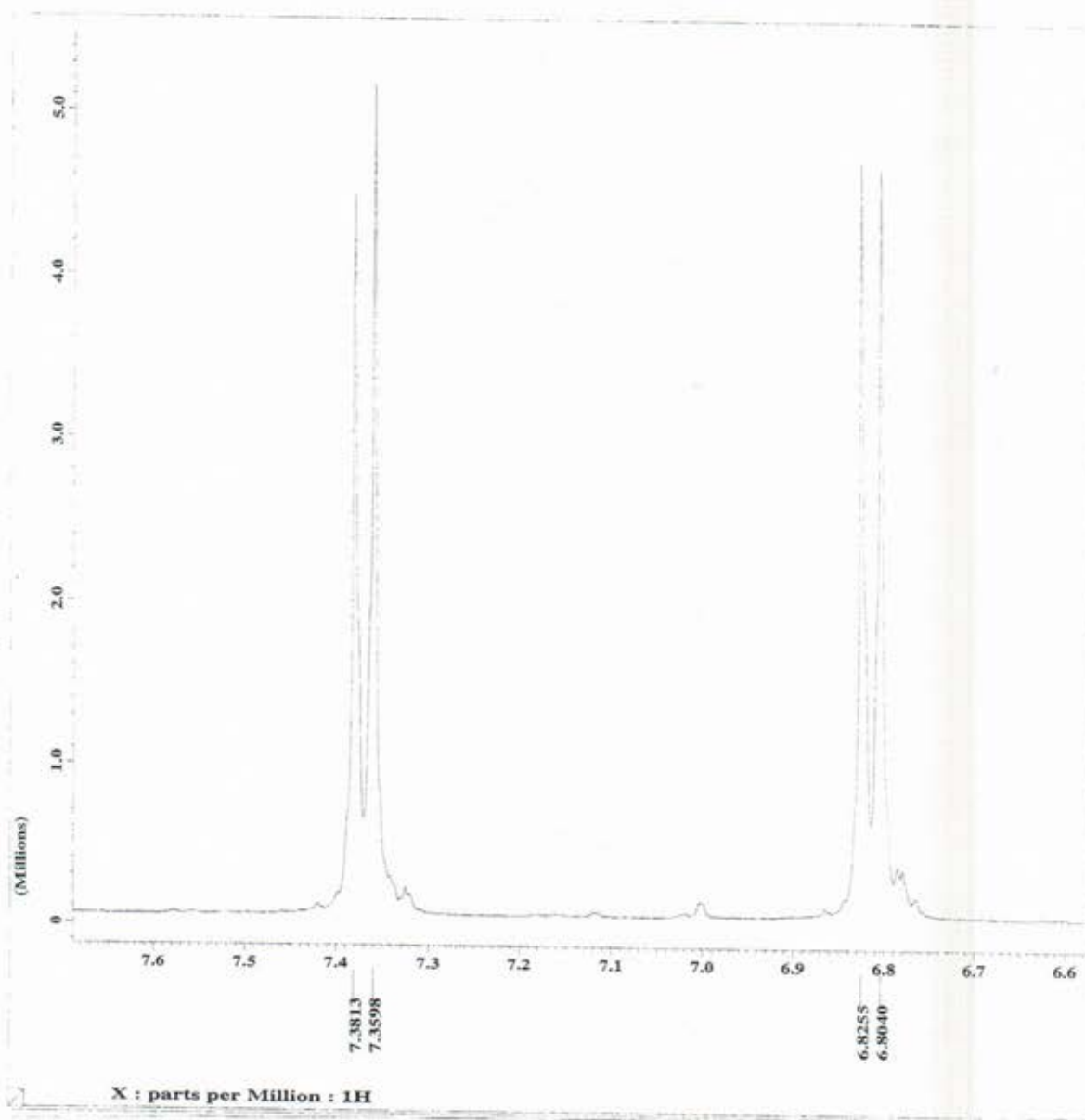
Espectros 02: Espectro de RMN ^{13}C do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, DMSO- d_6) Expansão da região δ_{C} 61 - 85



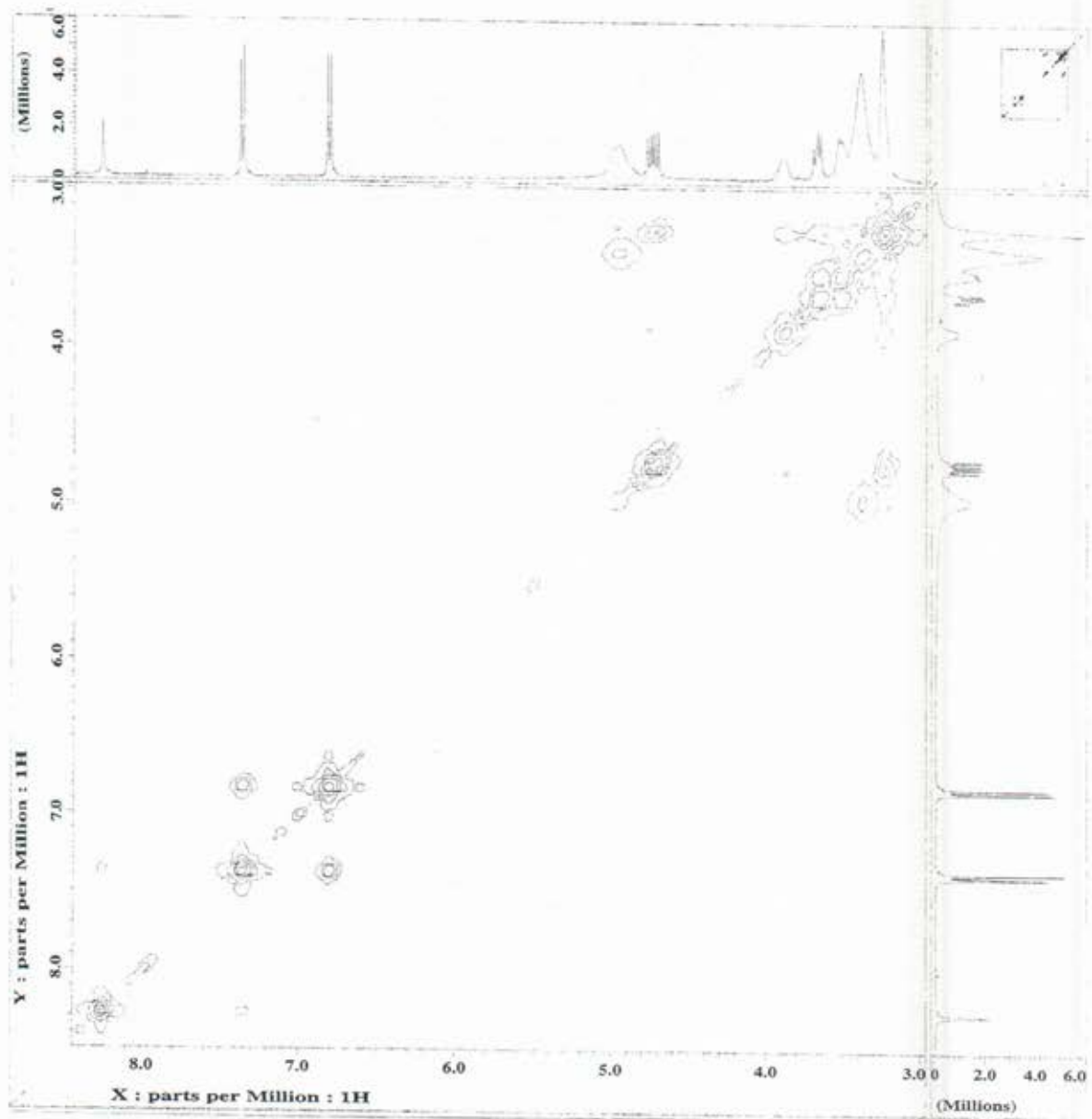
Espectros 03: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (400 MHz, DMSO- d_6)



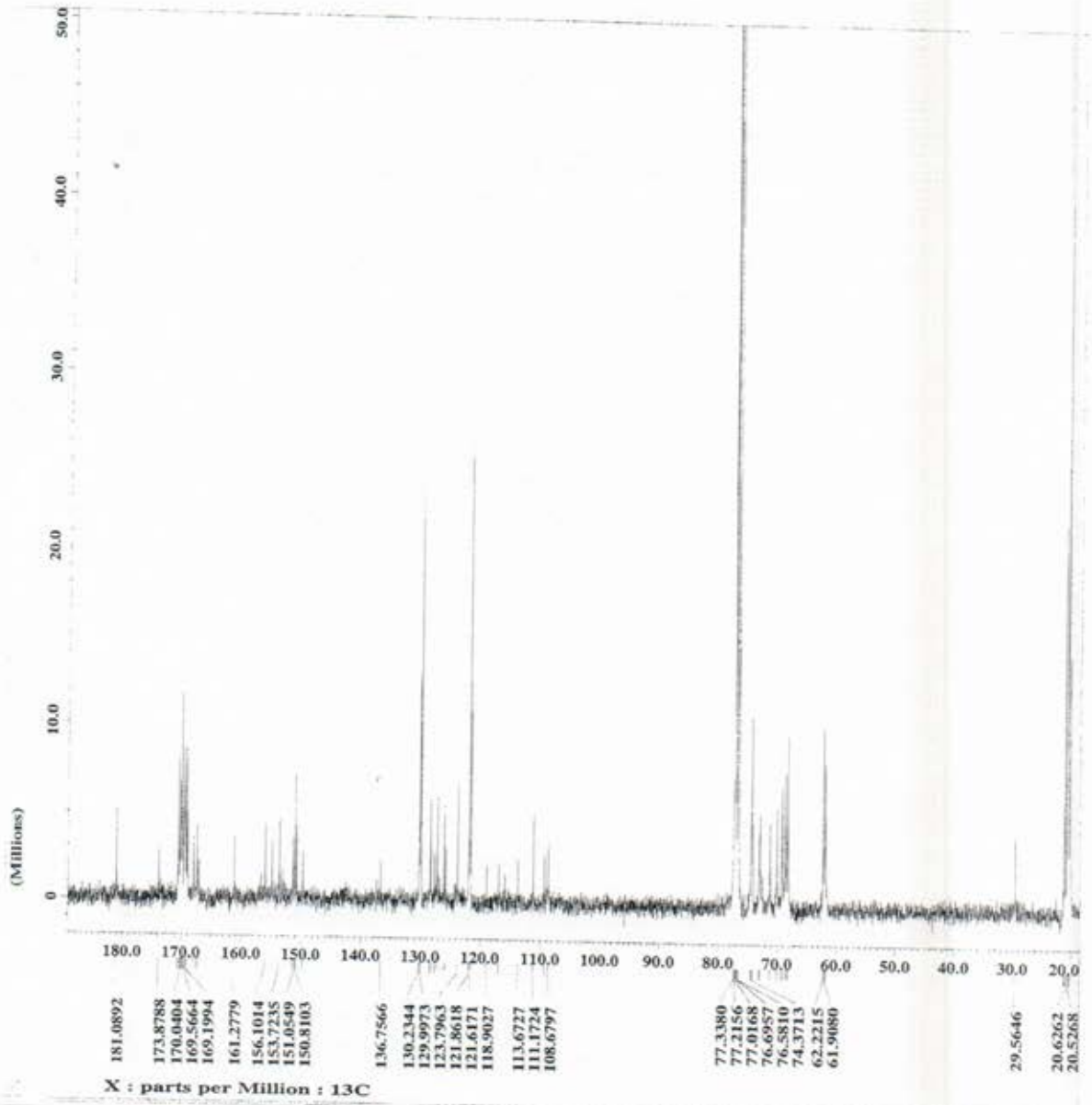
Espectros 04: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (400 MHz, DMSO- d_6) Expansão da região δ_{H} 3,4 – 4,8



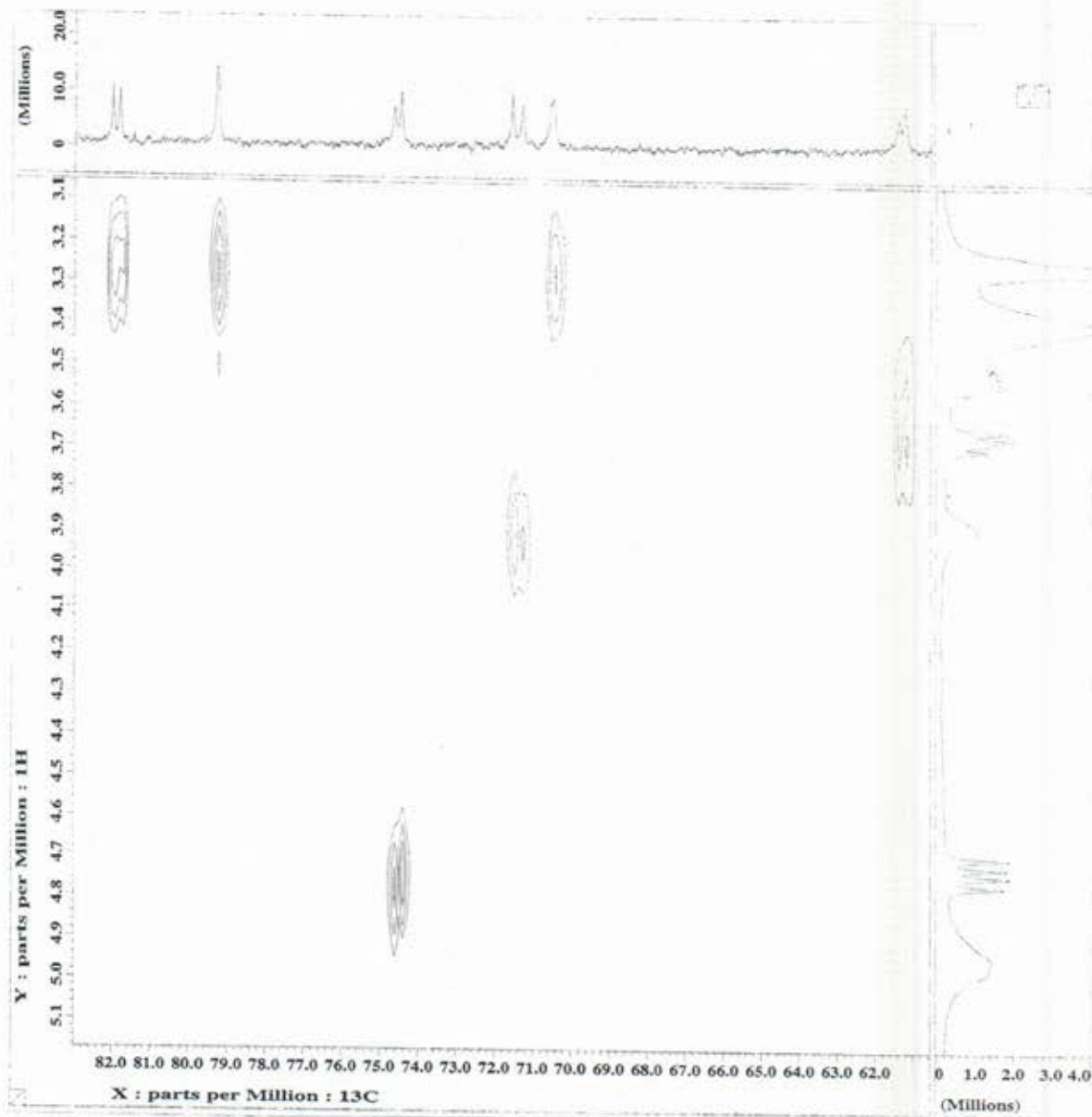
Espectros 05: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (400 MHz, DMSO- d_6) Expansão da região δ_{H} 6,6 – 7,6



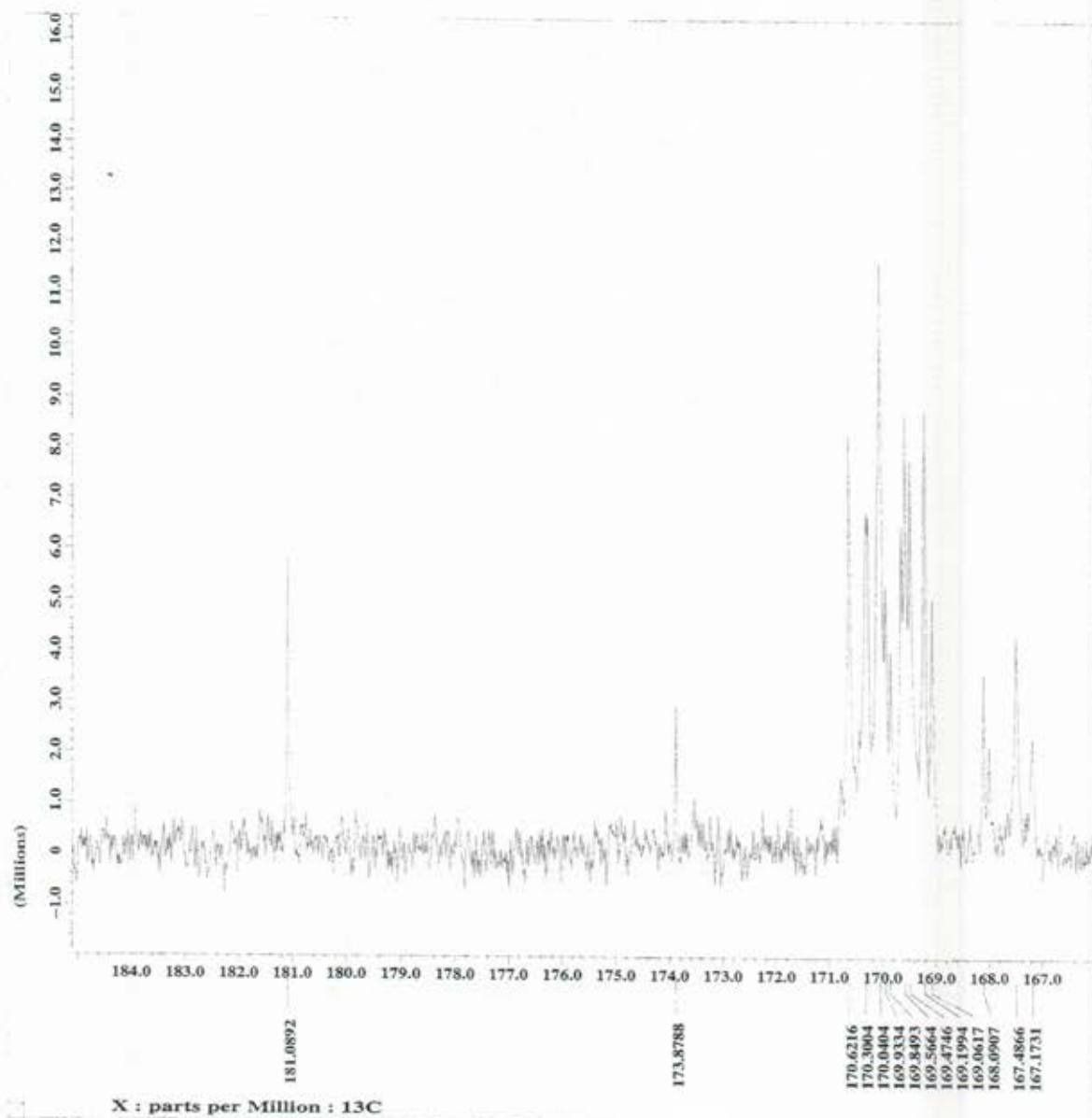
Espectros 06: Mapa de correlação ^1H - ^1H -NOESY da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, DMSO)



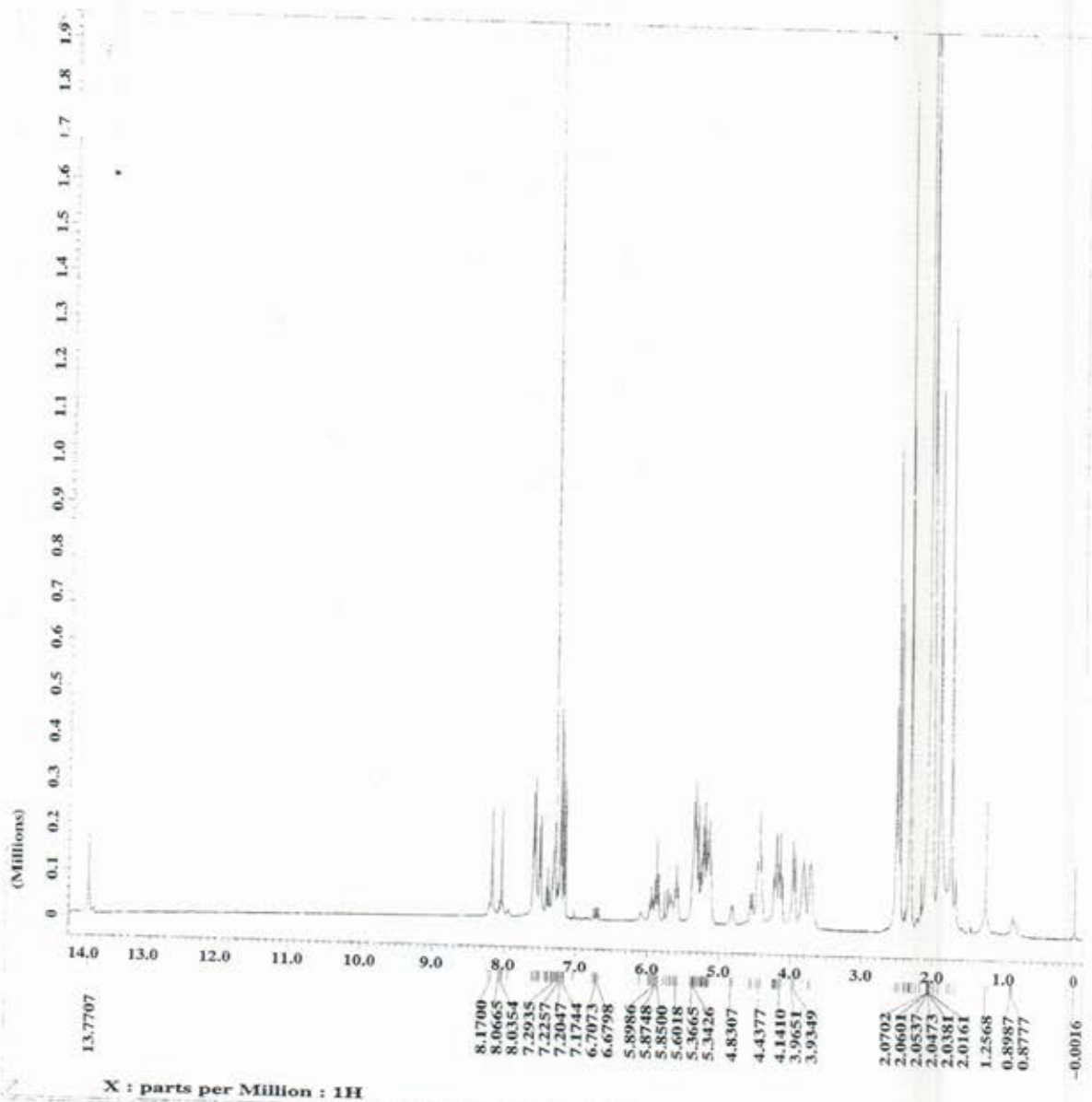
Espectros 07: Espectro de RMN ^{13}C da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina (100 MHz, CDCl_3)



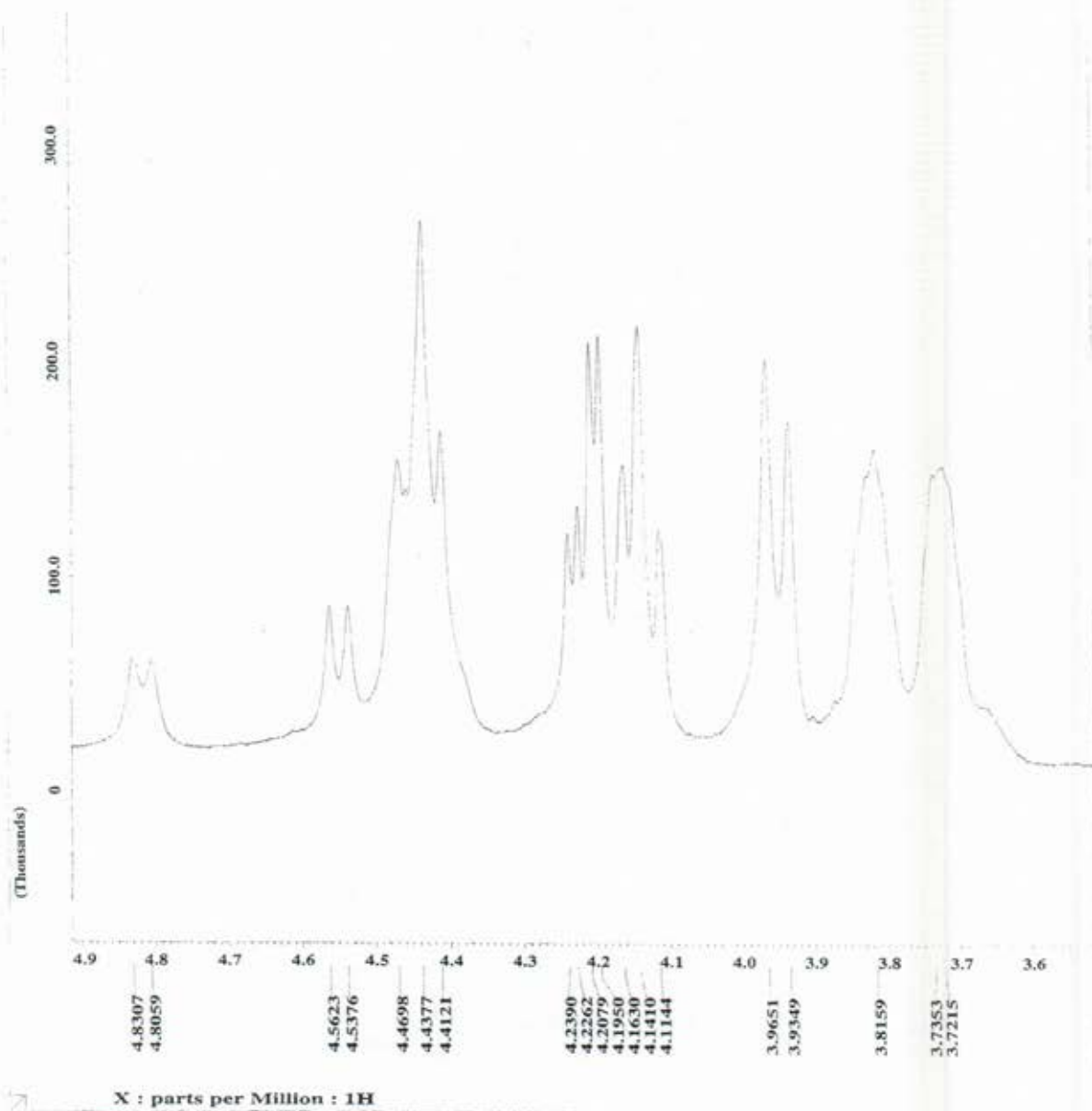
Espectros 08: Espectro de RMN ^{13}C da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (100 MHz, DMSO- d_6) HMQC.



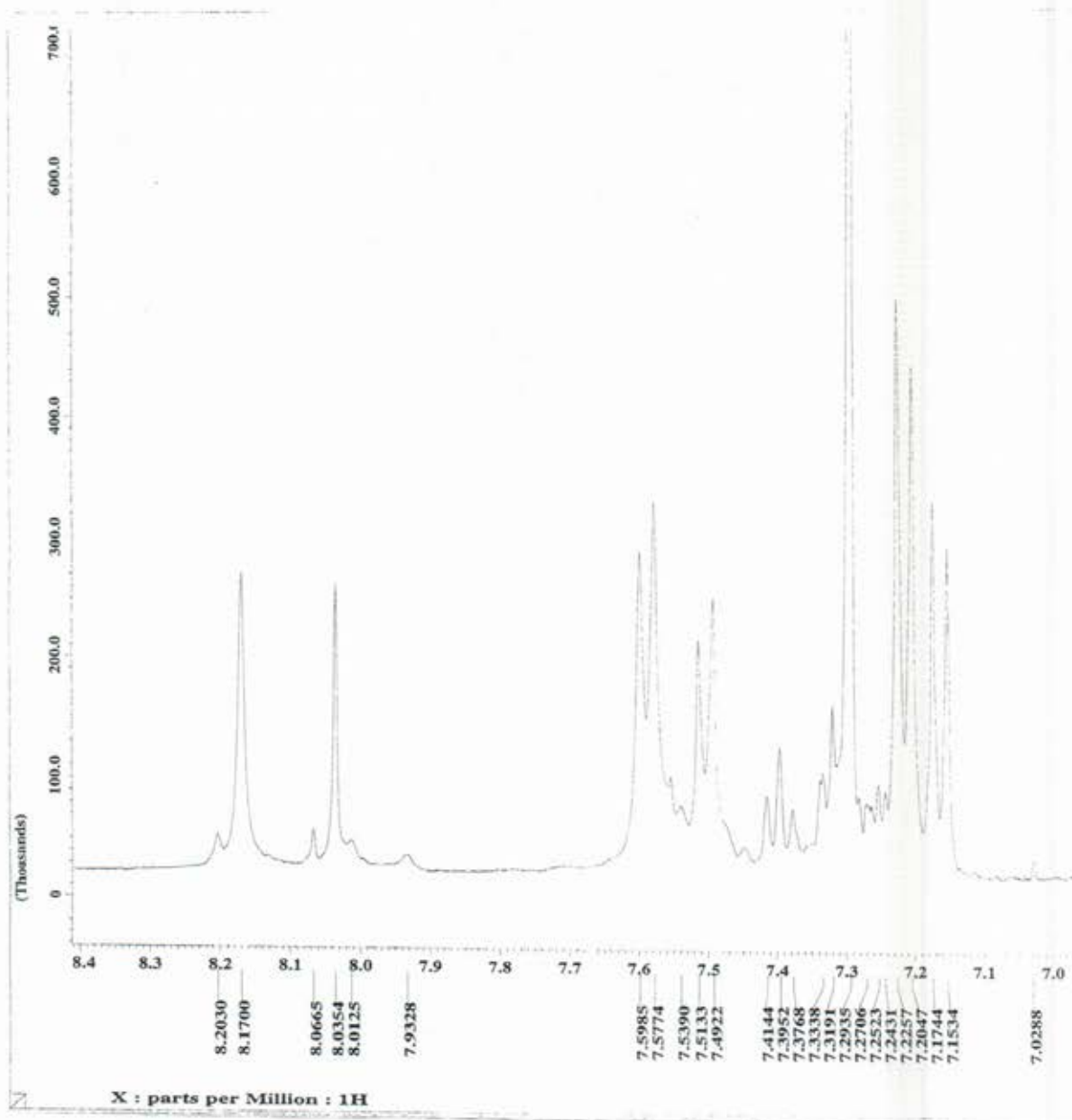
Espectros 09: Espectro de RMN ^{13}C da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (100 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{C} 167 – 184



Espetros 10: Espectro de RMN ^1H da mistura do isoflavonóide 6- β -glucosil vitexina acetilado (400 MHz, CDCl_3)

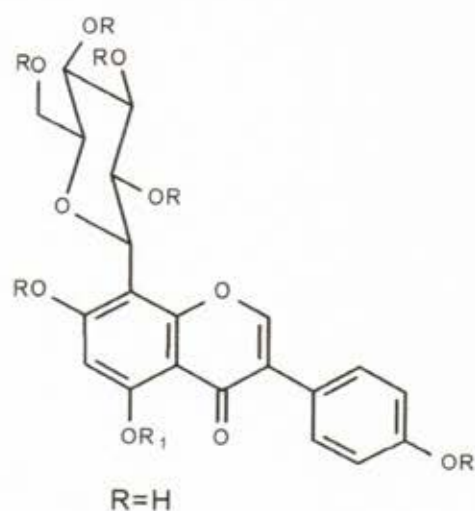


Espectros 11: Espectro de RMN ^1H da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{H} 3,6 – 4,9



Espectros 12: Espectro de RMN ^1H da mistura do isoflavonóide 6- β -glicosil vitexina acetilado (400 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{H} 7,0 – 8,4

7.2 Isoflavonóide vitexina (4)



A partição em acetato de etila após várias análises em CC com sílica gel e CC em Sephadex, obteve-se cristal de coloração amarelo que quando revelado com solução de cloreto férrico, apresentava coloração escura, constatando a presença de flavonóide.

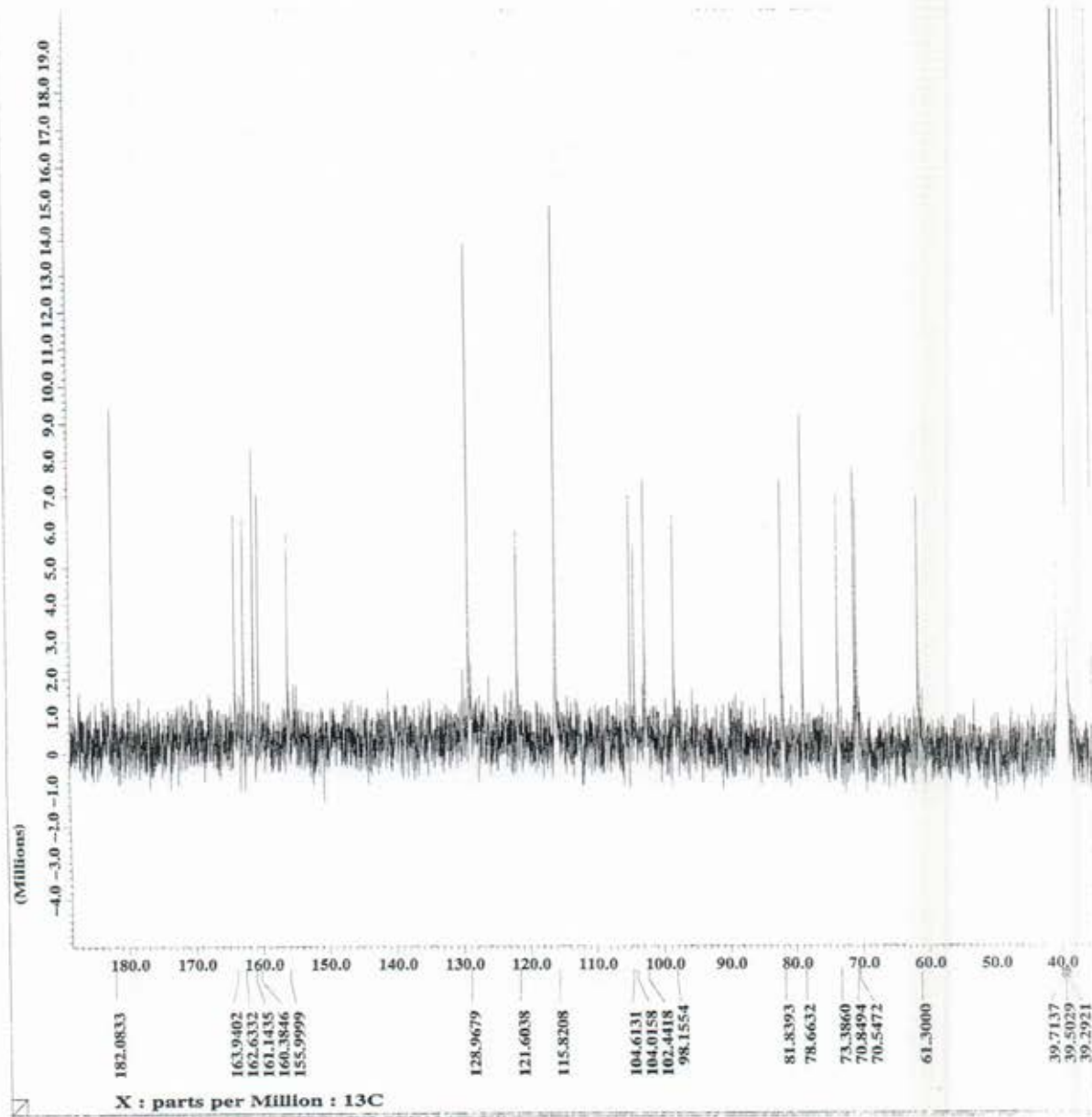
Os isoflavonóides oxigenados nas posições 5 e 7 no anel A, apresentam sinais na região entre δ 155-163, sendo que o C-7 é o que se apresenta em campo baixo. Os carbonos 6 e 8 apresentam seus sinais na região entre δ 90-100, por encontrarem-se protegidos em *orto* e *para* a substituintes oxigenados.

A presença da carbonila do C-4 em presença de hidroxila C-5 próximo a região δ 180.

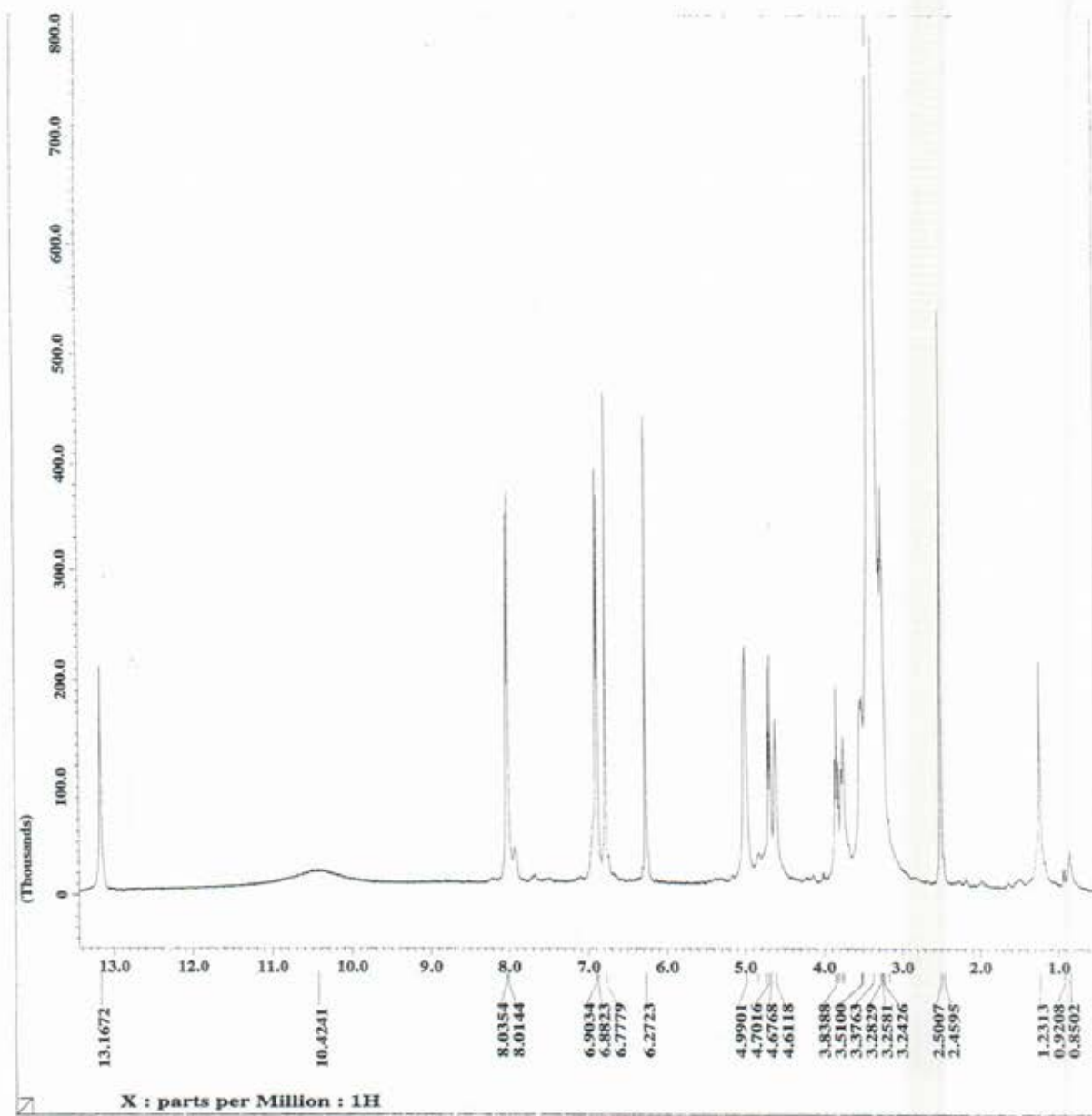
A posição da unidade de glicose no anel A de isoflavonóides, é evidenciada pelo deslocamento do sinal referente ao carbono substituído para campo mais baixo, enquanto que o sinal do carbono não substituído permanece inalterado.

Tabela 3: Deslocamentos químicos ^1H - e ^{13}C do isoflavonóide vitexina

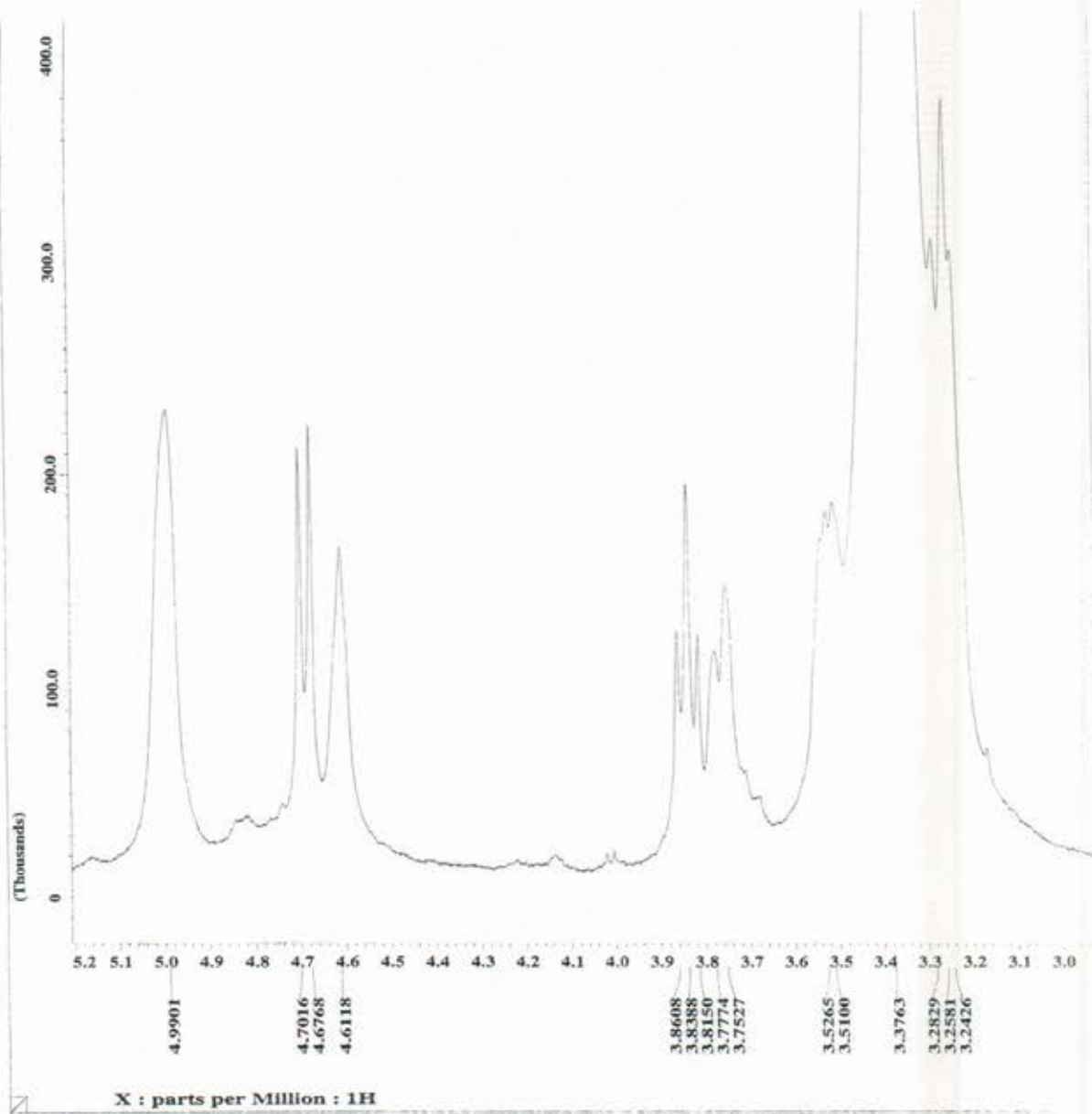
C	δ_{C}	δ_{H}
4	182,08	
5	161,14	13,16 (s)
2	163,94	
7	162,63	
8	104,01	
9	156,0	
10	104,61	
1'	121,60	
4'	160,38	
CH		
3	102,44	
6	98,15	
1"	73,39	
2"	70,84	
3"	78,66	
4"	70,55	
5"	81,84	
CH ₂		
6"	61,30	



Espectros 13: Espectro de RMN ^{13}C do isoflavonóide vitexina (100 MHz, DMSO- d_6)

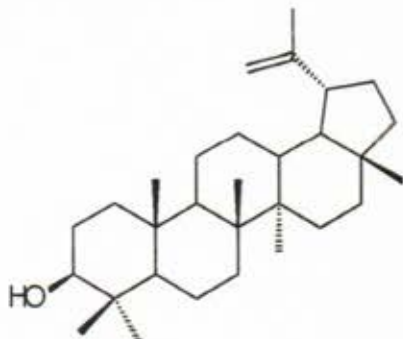


Espectros 14: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide vitexina (400 MHz, DMSO- d_6)



Espectros 15: Espectro de RMN ^1H do isoflavonóide vitexina (400 MHz, DMSO-d_6)
 Expansão da região δ_{H} 3,0 – 5,2

7.3. Triterpeno Lupeol



O triterpeno Lupeol 1 foi isolado do extrato hexânico do caule da *Dalbergia glaucences*, através de técnicas cromatográficas usuais. Sua estrutura foi elucidada através de espectros de RMN ^1H e ^{13}C , espectroscopia de massas e comparação com a literatura.

A análises de RMN ^1H revelam a presença de sete sinais singletos, relativos aos grupos metilas, sendo que um deles em δ_{H} 1,68 (Me-30), é atribuído a um grupo metila ligado a um carbono sp^2 . Também foram observados dois dubletos largos na região de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 4,68 (*d*, $J= 1,8$ Hz, H-29a) e 4,56 (*d*, $J= 1,0$ Hz, H-29b), confirmando a existência de um grupo metilênico terminal.

O sinal em δ_{H} 3,17 (*dd*, $J= 10,9$ e $5,3$ Hz, H-2ax), caracteriza a presença de um grupo hidroxila HO- β ligado ao átomo de C-3 e ainda a presença de um sinal triplodoubleto em δ_{H} 2,36 (*td*, $J=5,7$ e $11,4$ Hz, H-19 β) relativo ao hidrogênio da olefina.

Na análise do espectro de RMN ^{13}C foi observado a presença de dois carbonos olefínicos (sp^2) em δ_{C} 50,41 (C-20) e 109,30 (C-29), um carbono oxigenado em δ_{C} 78,96 (C-3), e outros sinais de carbonos sp^3 quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos.

No espectro de massa o triterpeno apresentou pico do íon molecular a m/z 426, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$. Também foram observados os picos a m/z 189, 190 e 203 quando submetida à fragmentação de massas.

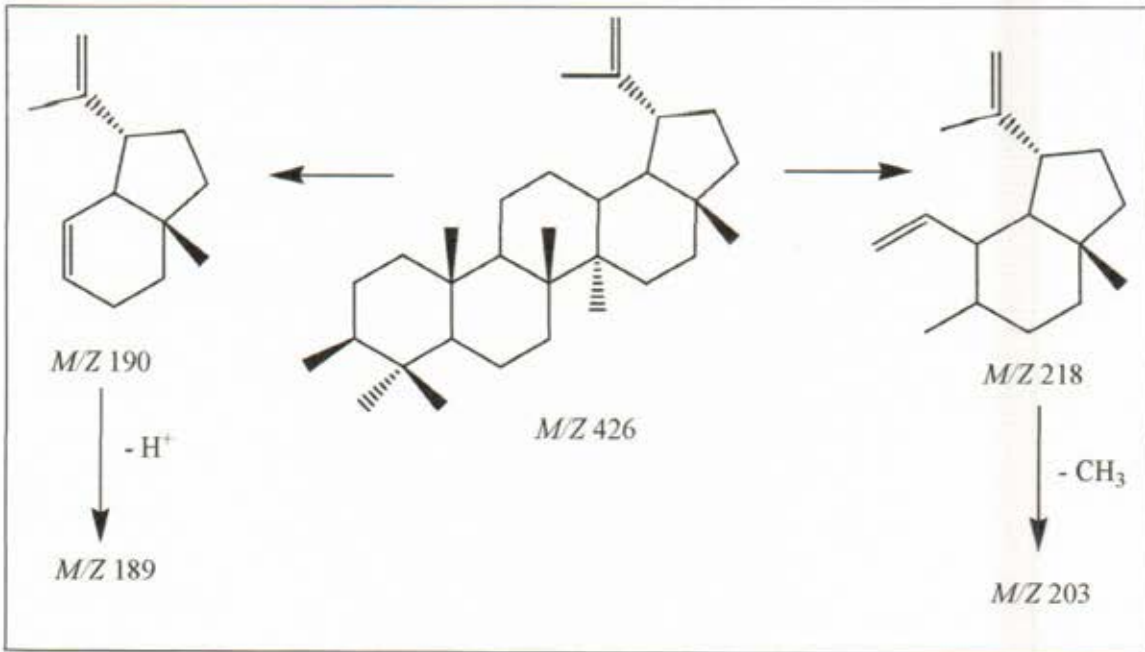
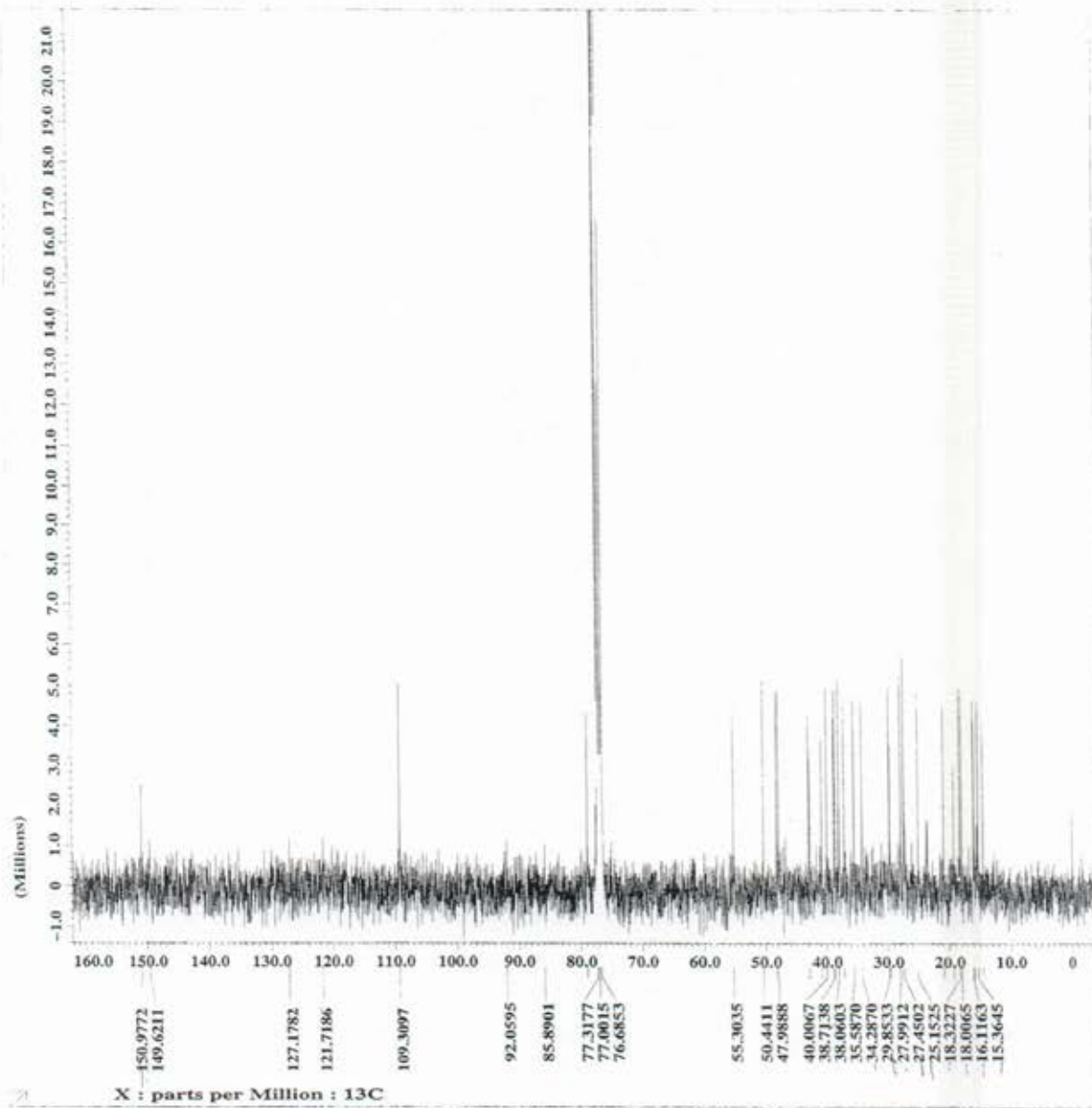


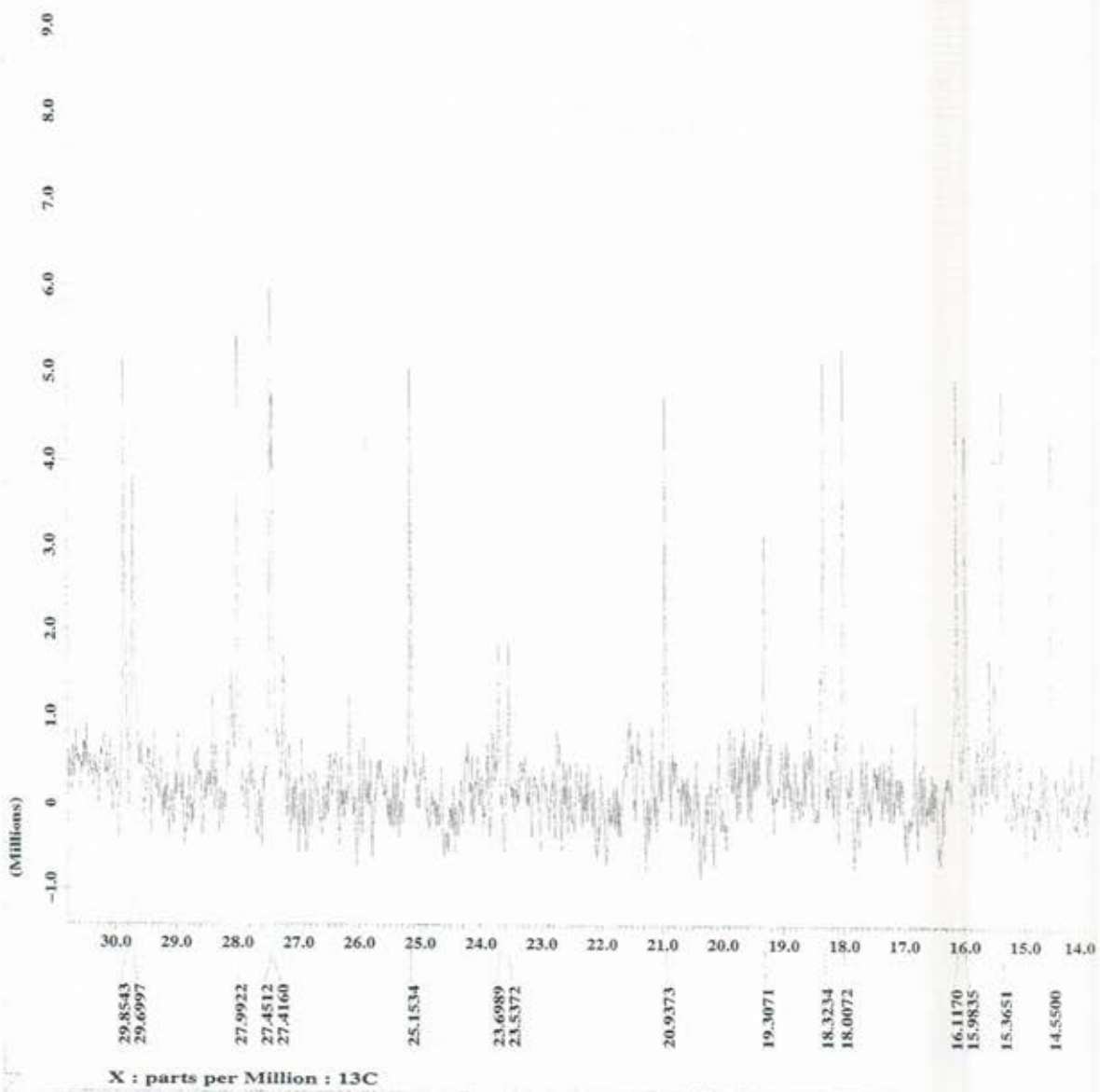
Figura 8: Possíveis fragmentos de massa do lupeol

Tabela 4: Dados espectrais do RMN ^{13}C solvente CDCl_3 comparados com a literatura
(Mahato e Kundu, 1994)

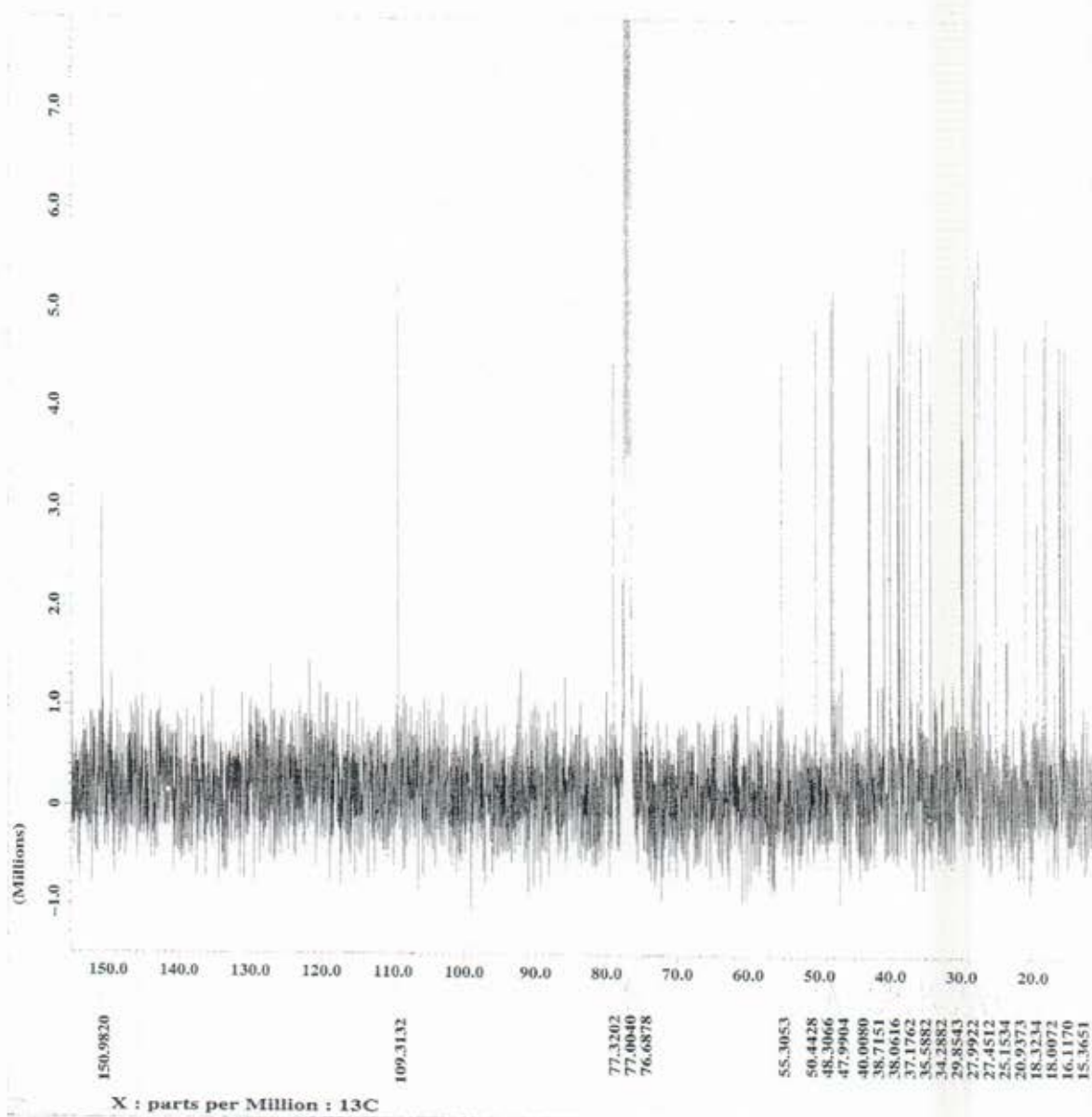
C	Lupeol	Literatura
4	38,86	38,80
8	40,83	40,70
10	37,17	37,10
14	42,83	42,70
17	43,00	42,90
20	150,97	150,80
CH		
3	79,00	78,90
5	55,30	55,20
9	50,44	50,30
13	38,06	38,00
18	48,30	48,20
19	47,98	47,90
CH ₂		
1	38,71	38,60
2	27,23	27,30
6	18,32	18,20
7	34,28	34,20
11	20,93	20,90
12	25,15	25,00
15	27,45	27,40
16	35,58	35,50
21	29,85	29,80
22	40,00	39,90
29	109,30	109,30
CH ₃		
23	27,99	27,90
24	15,36	15,30
25	16,11	16,10
26	15,98	15,90
27	14,54	14,50
28	18,00	17,90
30	19,30	19,20



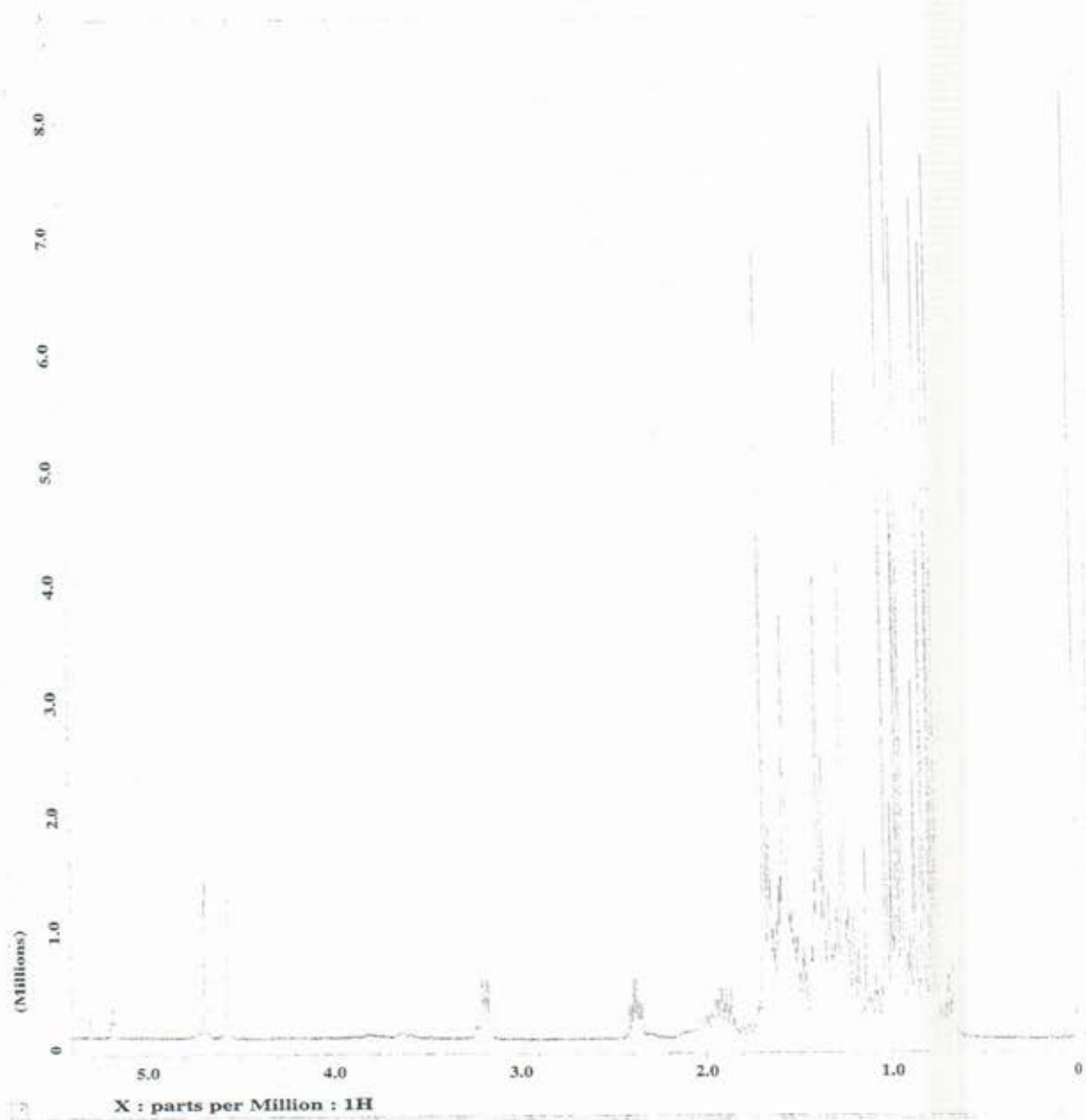
Espectros 16: Espectro de RMN ^{13}C do lupeol (100 MHz, CDCl_3)



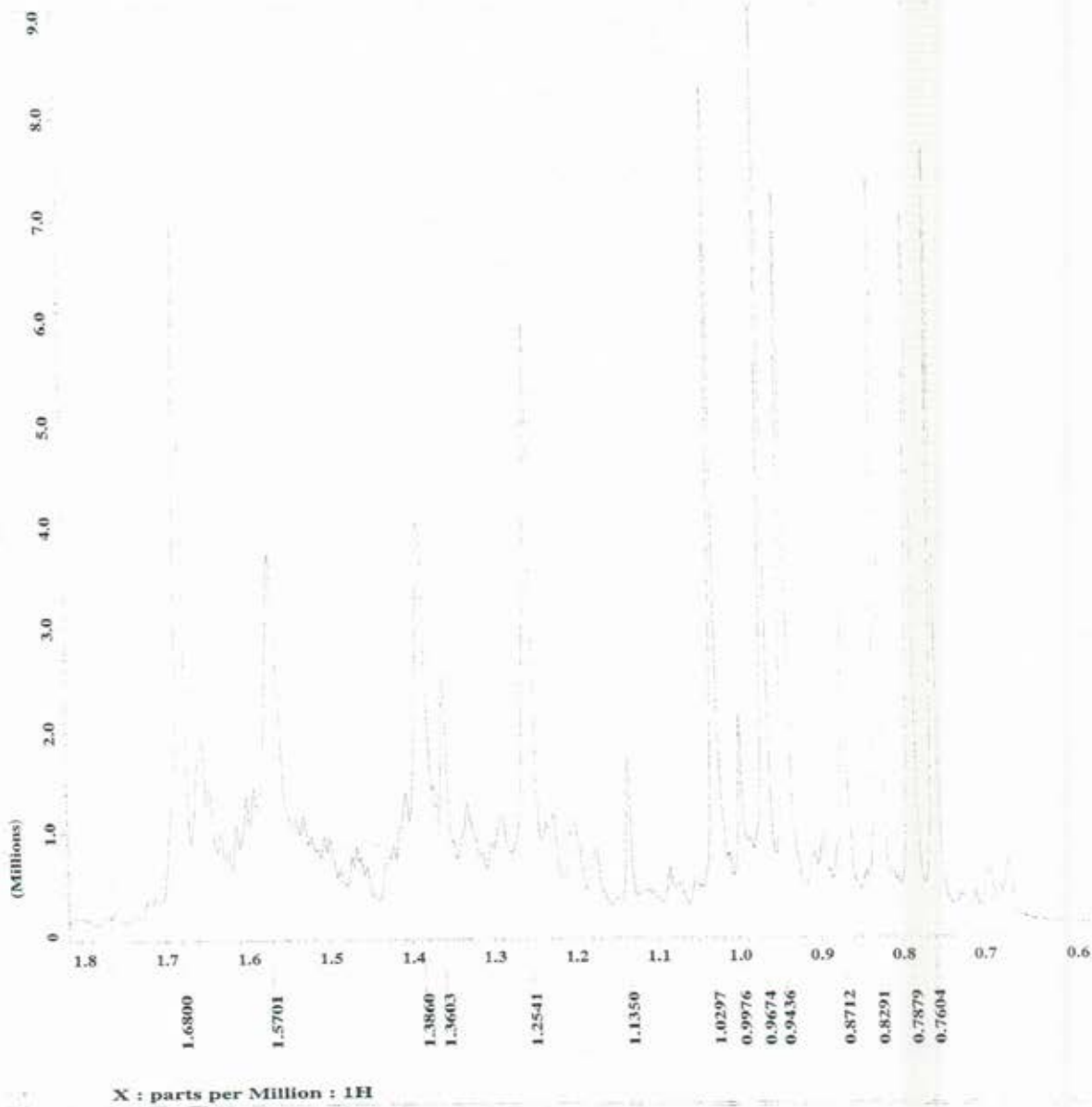
Espectros 17: Espectro de RMN ^{13}C do lupeol (100 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{C} 14 - 30



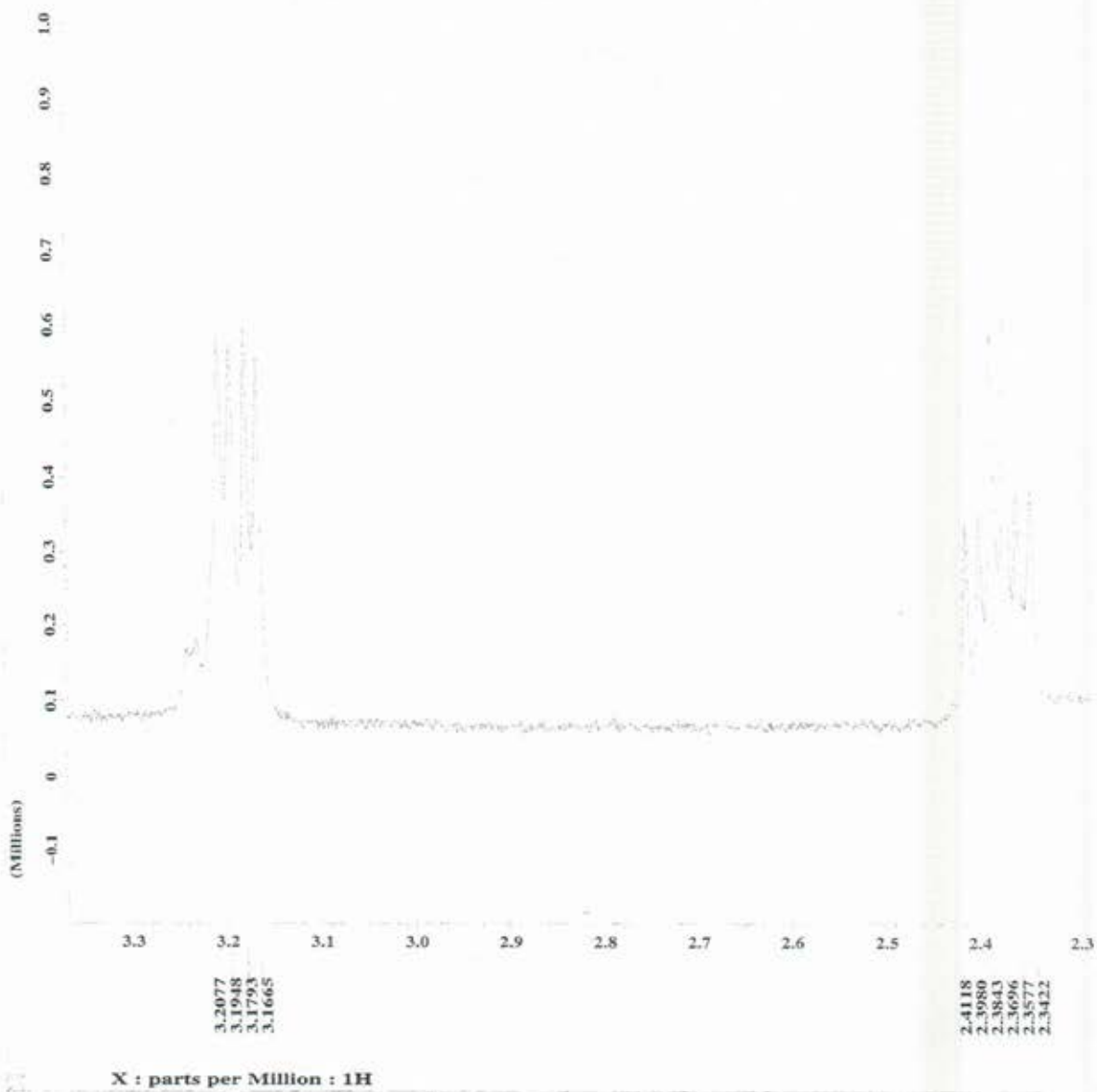
Espectros 18: Espectro de RMN ^{13}C do lupeol (100 MHz, CDCl_3)



Espectros 19: Espectro de RMN ^1H do lupeol (400 MHz, CDCl_3)

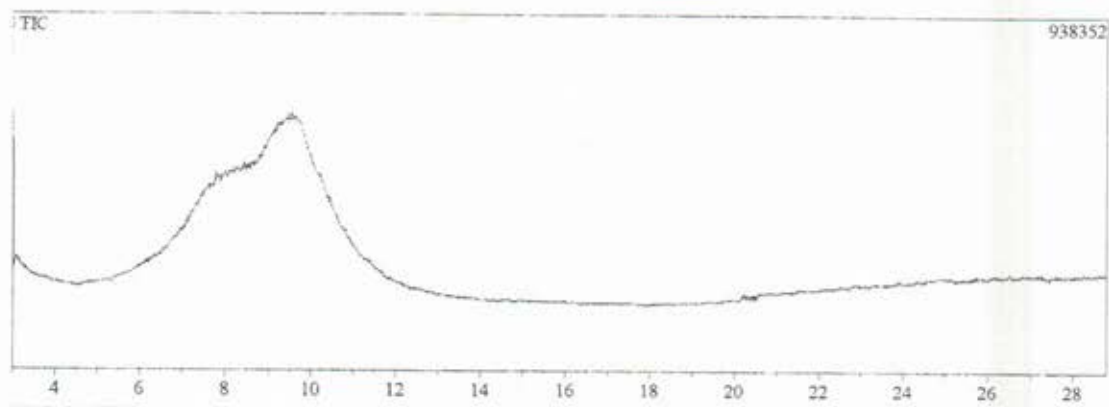
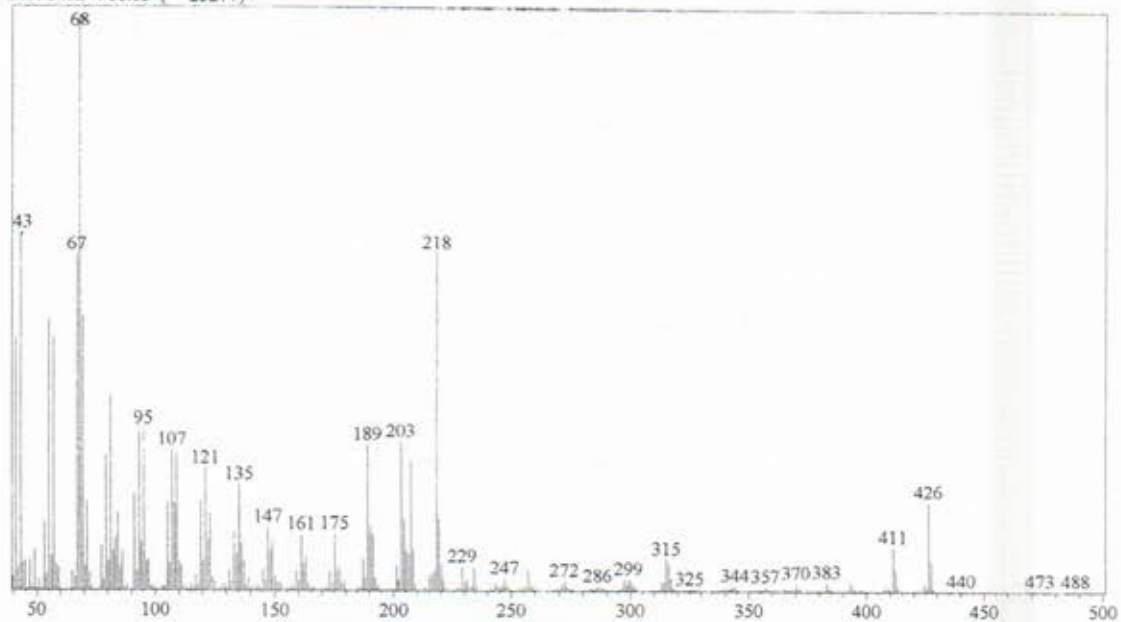


Espectros 20: Espectro de RMN ^1H do lupeol (400 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{H} 0,6 – 1,8



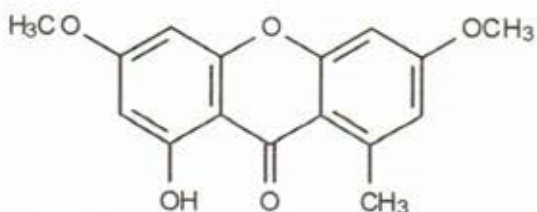
Espectros 21: Espectro de RMN ^1H do lupeol (400 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{H} 2,3 – 3,3

Scan # : (553 - 899) B.G. Scan # : (1081 - 1356)
Mass Peak # : 412 Ret. Time : (7.600 - 10.483)
Base Peak : 68.05 (25277)



Espectros 22: Espectro de Massas (70 eV) e cromatograma de gás do lupeol

7.4 Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (3)



A substância 3 foi obtida na forma de agulhas amarelas. O espectro de CG-EM apresentou íon molecular $[M]^+$ 286 correspondente a fórmula molecular $C_{16}H_{14}O_5$ (Figura 9). Os espectros de correlação heteronuclear (HMBC e HMQC) permitiram assimilar as correlações existentes entre o H-2 $[\delta_H 6,29 (d, J=2,1 \text{ Hz})]$ e o C-2 $[\delta_C 97,16]$, H-4 $[\delta_H 6,32 (d, J=2,1 \text{ Hz})]$ e o C-4 $[\delta_C 92,45]$, H-5 $[\delta_H 6,67 (d, J=2,3 \text{ Hz})]$ e o C-5 $[\delta_C 98,85]$, H-7 $[\delta_H 6,65 (d, J=2,3 \text{ Hz})]$ e o C-7 $[\delta_C 115,84]$, MeO-8 $[\delta_H 2,84 (s)]$ e $[\delta_C 23,83]$, MeO-3 $[\delta_H 3,87 (s)]$ e $[\delta_C 56,04]$ e MeO-6 $[\delta_H 3,90]$ e $[\delta_C 59,09]$. Os dados obtidos permitiram deduzir o esqueleto e o padrão de substituição dos anéis A e B do xantonóide 3.

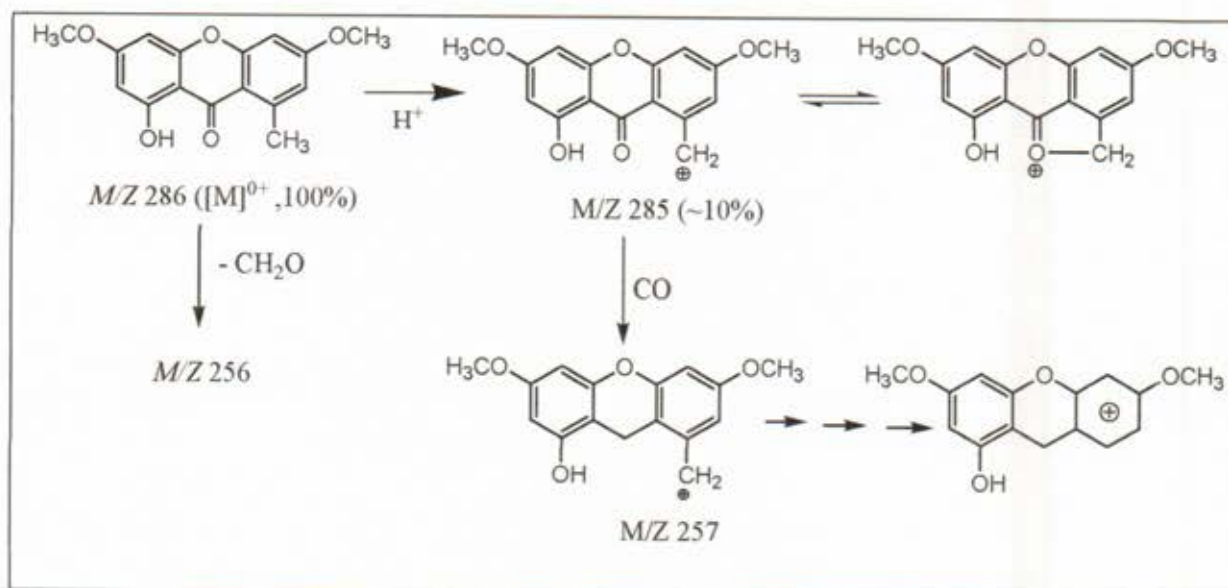
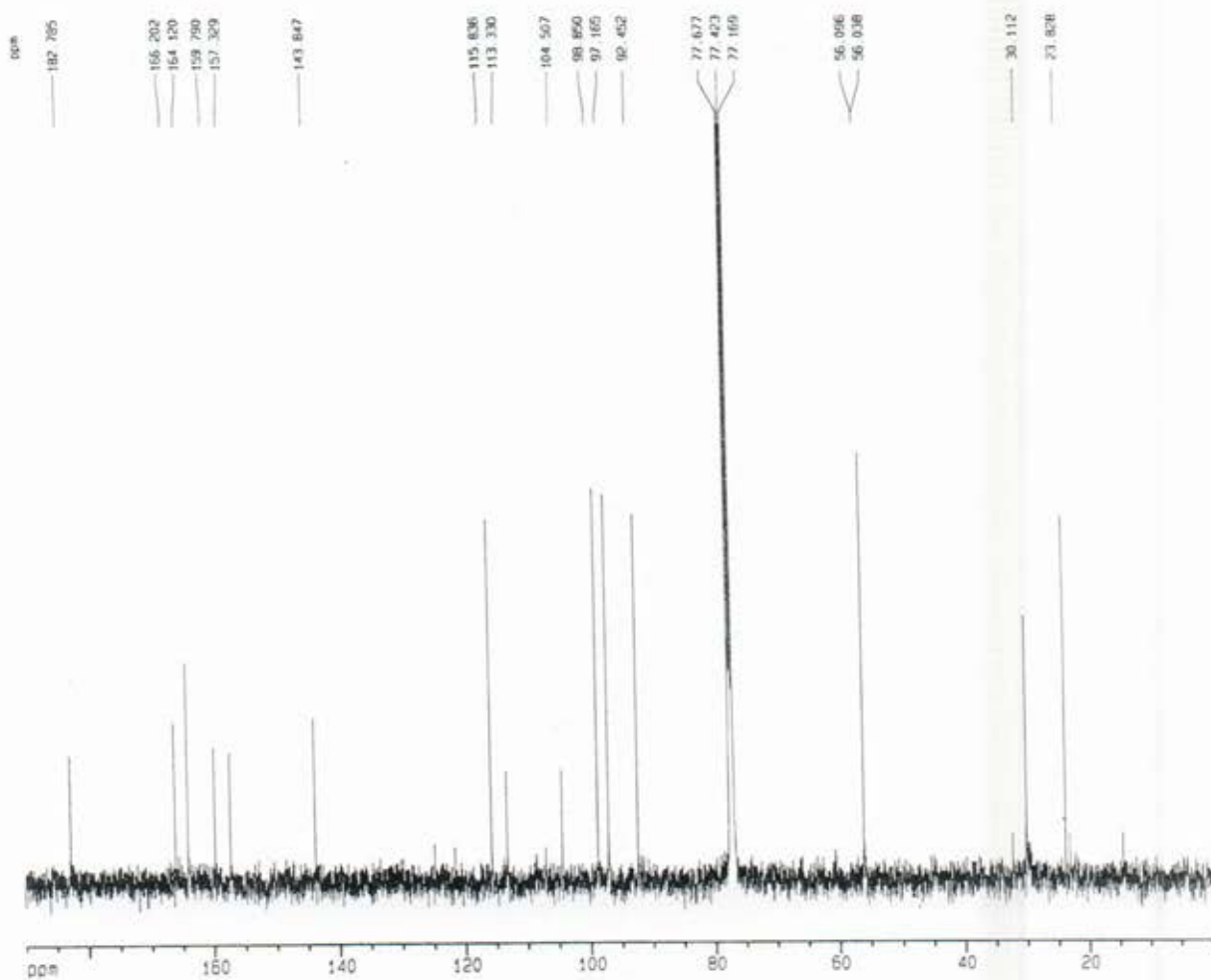


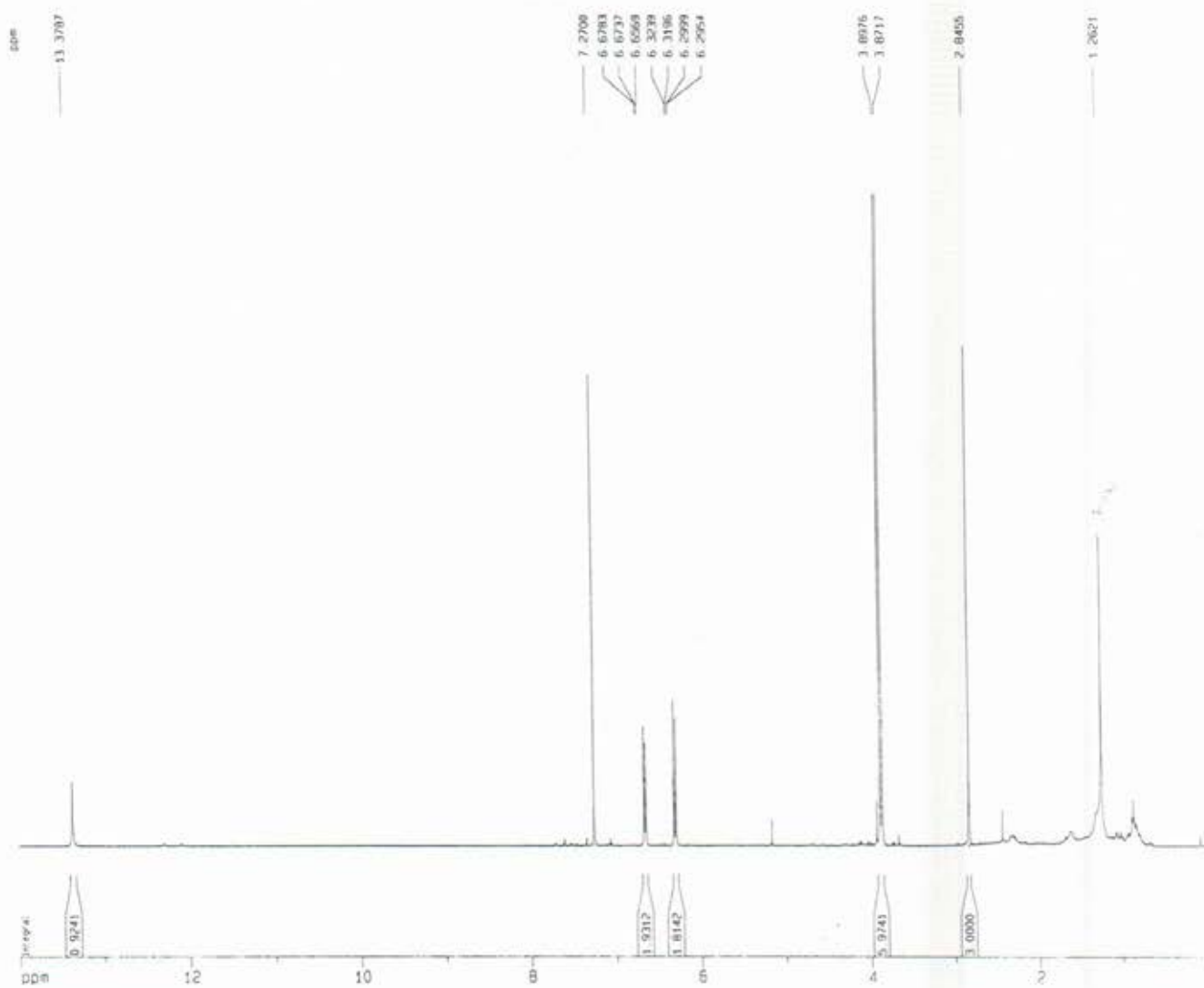
Figura 9: Possíveis fragmentos de massa da Xantona

Tabela 5 : Espectros de RMN ^{13}C e RMN ^1H , (CDCl_3)

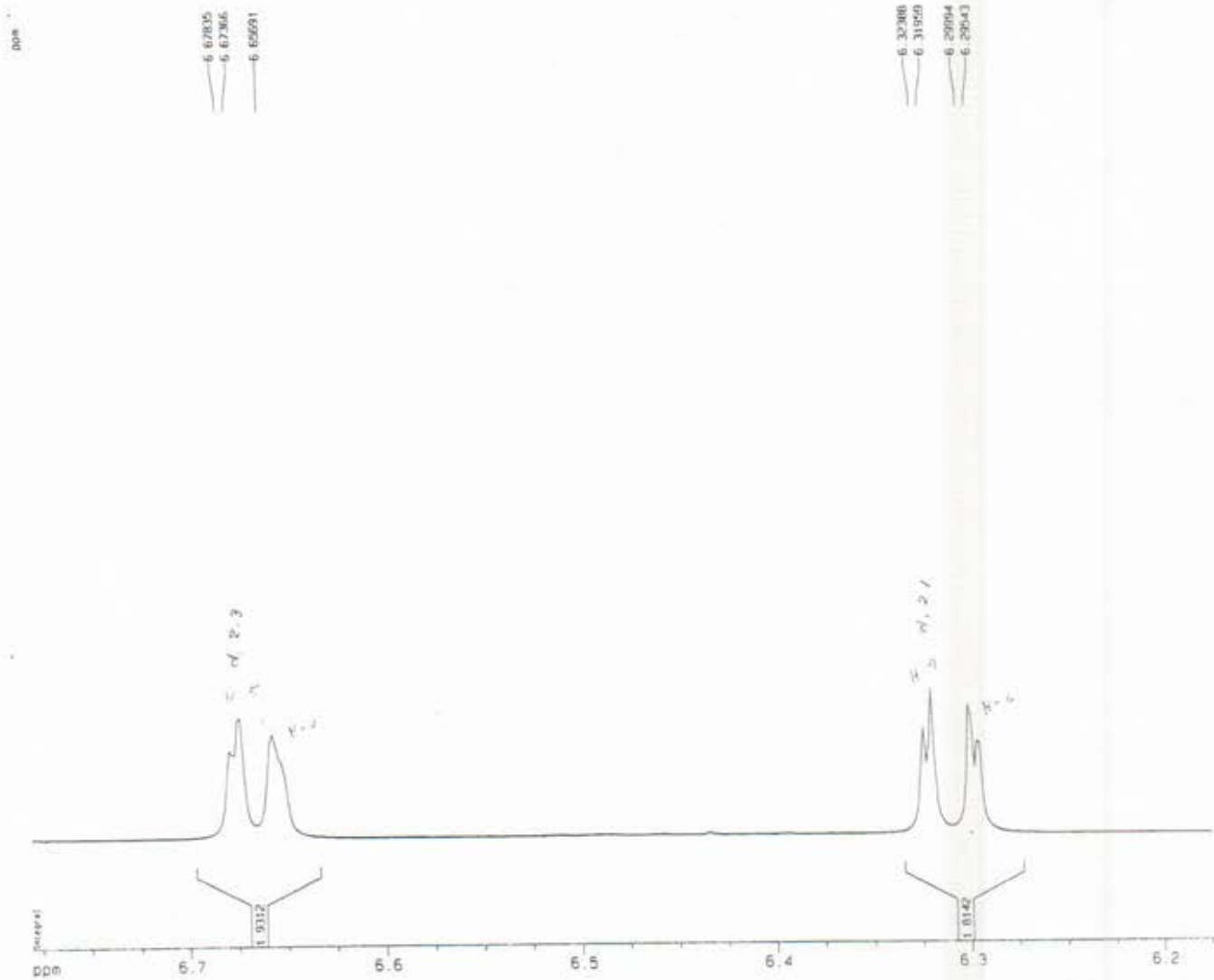
	HMQC		HMBC		
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
C					
1	164,12	-	HO-1, H-2		
3	166,20	-	H-2, H-4	MeO-3	
6	164,10	-	H-5, H-7	MeO-6	
8	143,85	-	Me-8		
9	182,78	-			
10	104,51	-		HO-1, H-2, H-4	
11	157,33	-	H-4		
12	159,79	-	H-5		
13	113,33	-		H-5, H-7, Me-8	
CH					$^1\text{H}-^1\text{H}$ -NOESY
2	97,16	6,29 (d, 2,1)		HO-1, H-4	MeO-3
4	92,45	6,32 (d, 2,1)		H-2	MeO-3
5	98,85	6,67 (d, 2,3)		H-7	MeO-6
7	115,84	6,65 (d, 2,3)		H-5, Me-8	MeO-6, Me-8
CH₃					
Me-8	23,83	2,84 (s)		H-7	H-7
MeO-3	56,04	3,87 (s)			H-2, H-4
MeO-6	56,09	3,90 (s)			H-5, H-7
OH-1	-	13,38 (s)	-	-	



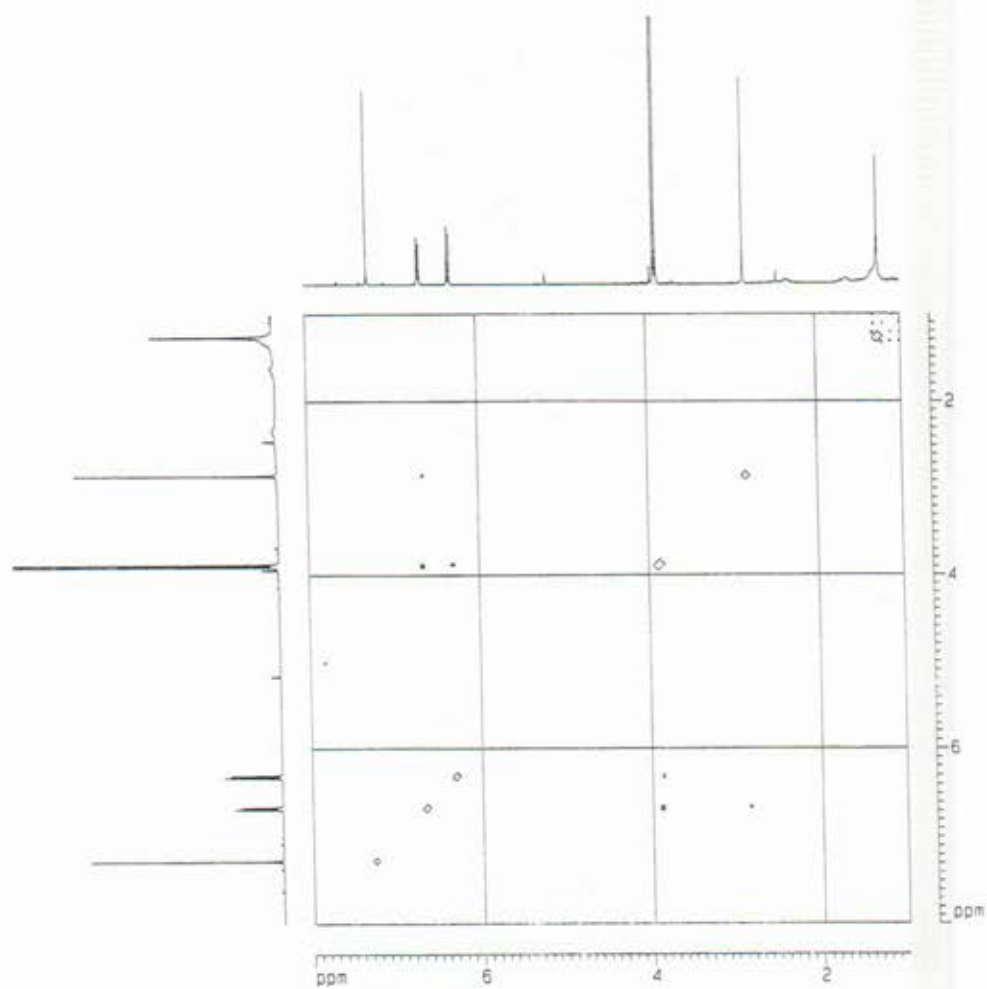
Espectros 23: Espectro de RMN ^{13}C Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (125 MHz, CDCl_3)



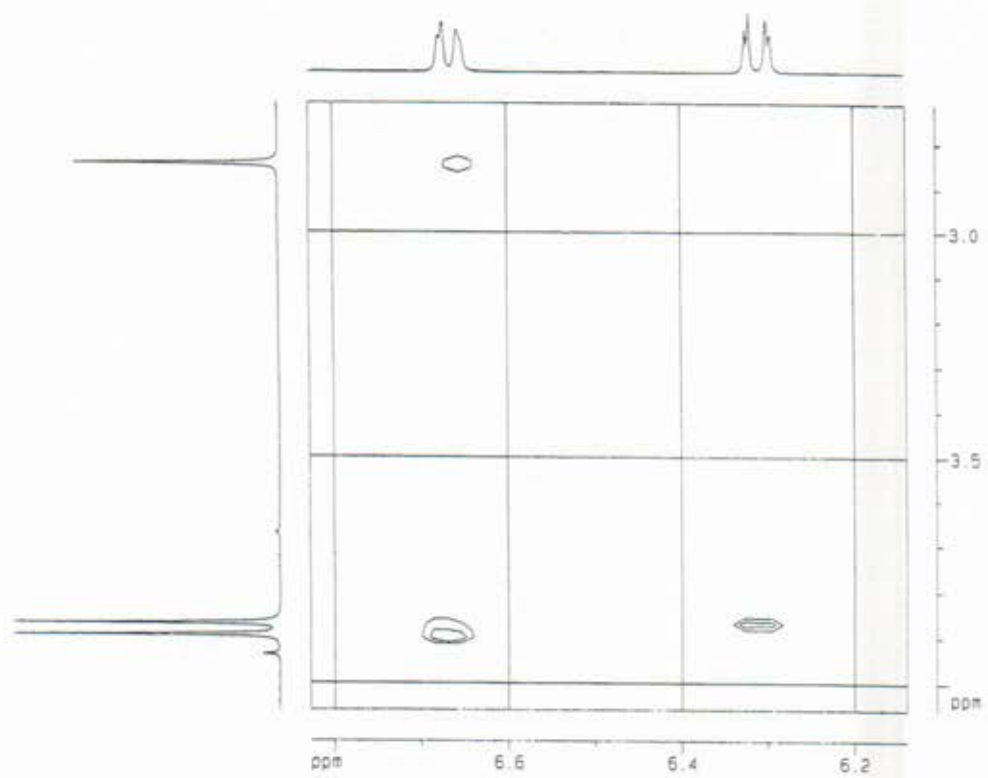
Espectros 24: Espectro de RMN ^1H Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (500 MHz, CDCl_3)



Espectros 25: Espectro de RMN ^1H Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (500 MHz, CDCl_3) Expansão da região δ_{H} 6,2 – 6,8

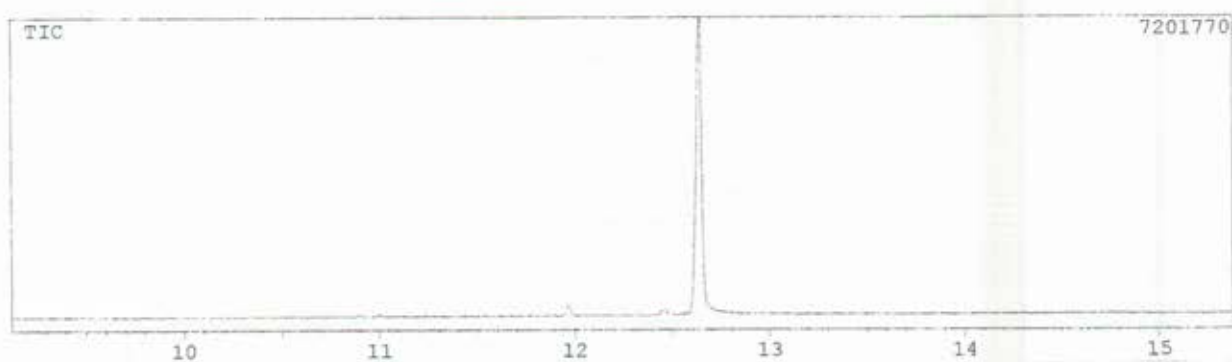
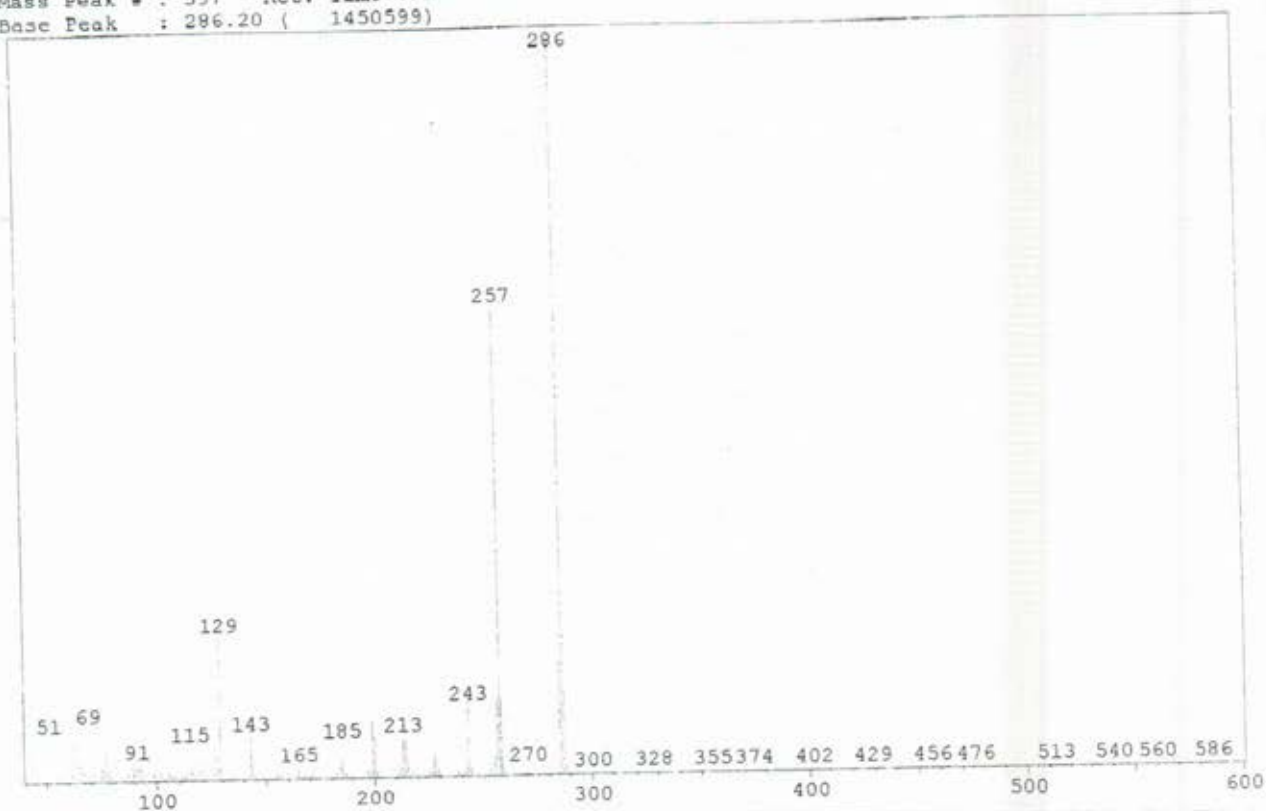


Espectros 26: Espectro de NOESY (CDCl₃) Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona



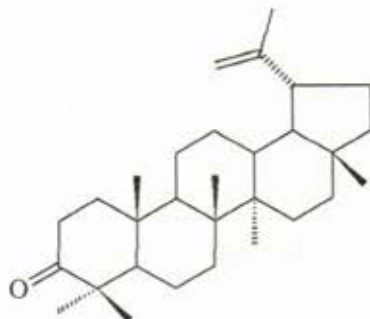
Espectros 27: Expansão do espectro de NOESY (CDCl₃) Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona

Scan # : 1158 B.G. Scan # : (1165 - 1172)
Mass Peak # : 397 Ret. Time : 12.642
Base Peak : 286.20 (1450599)



Espectros 28: Cromatograma de gás e Espectro de Massas (70 eV) Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona

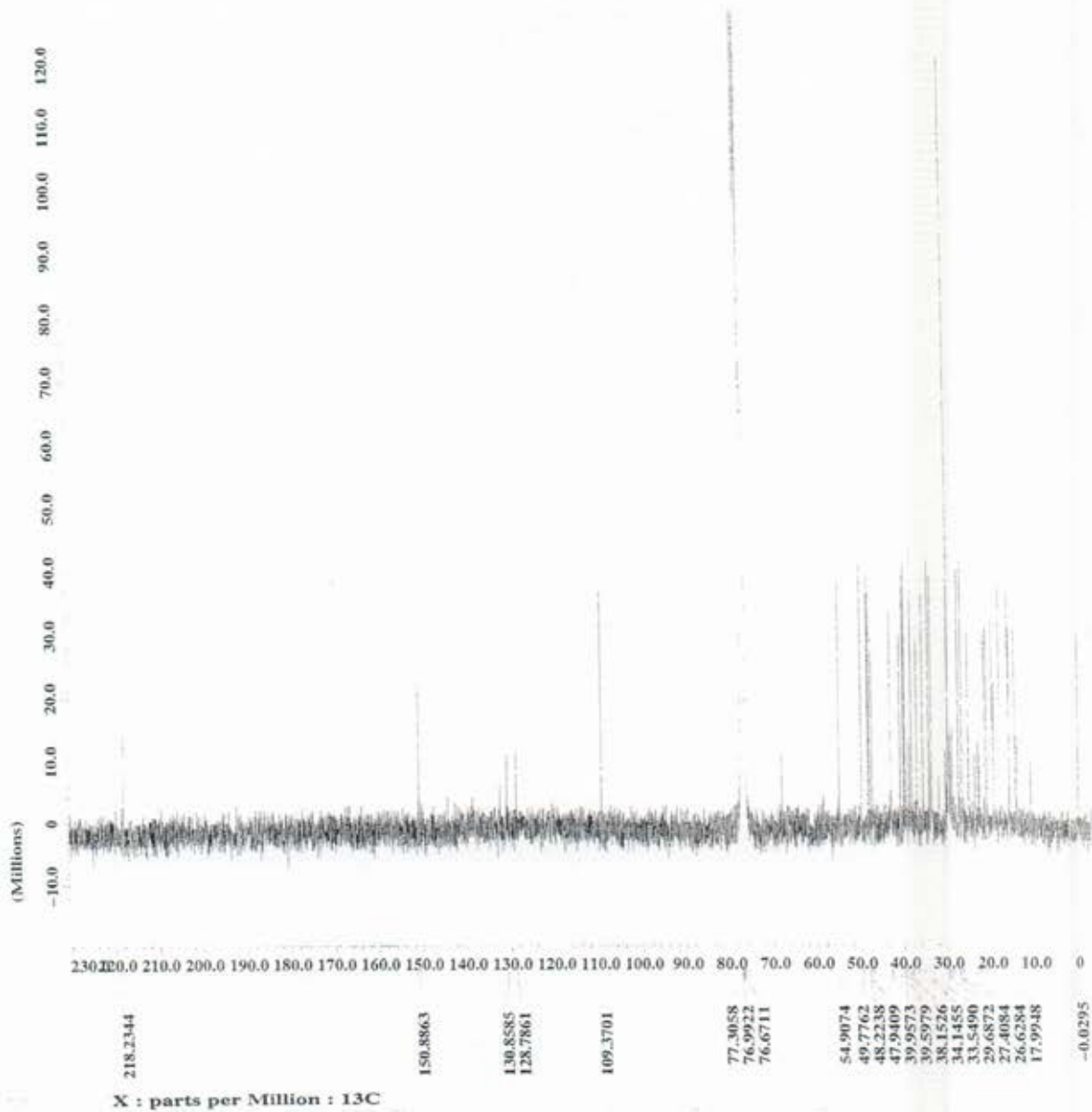
7.5 Lupenona (2)



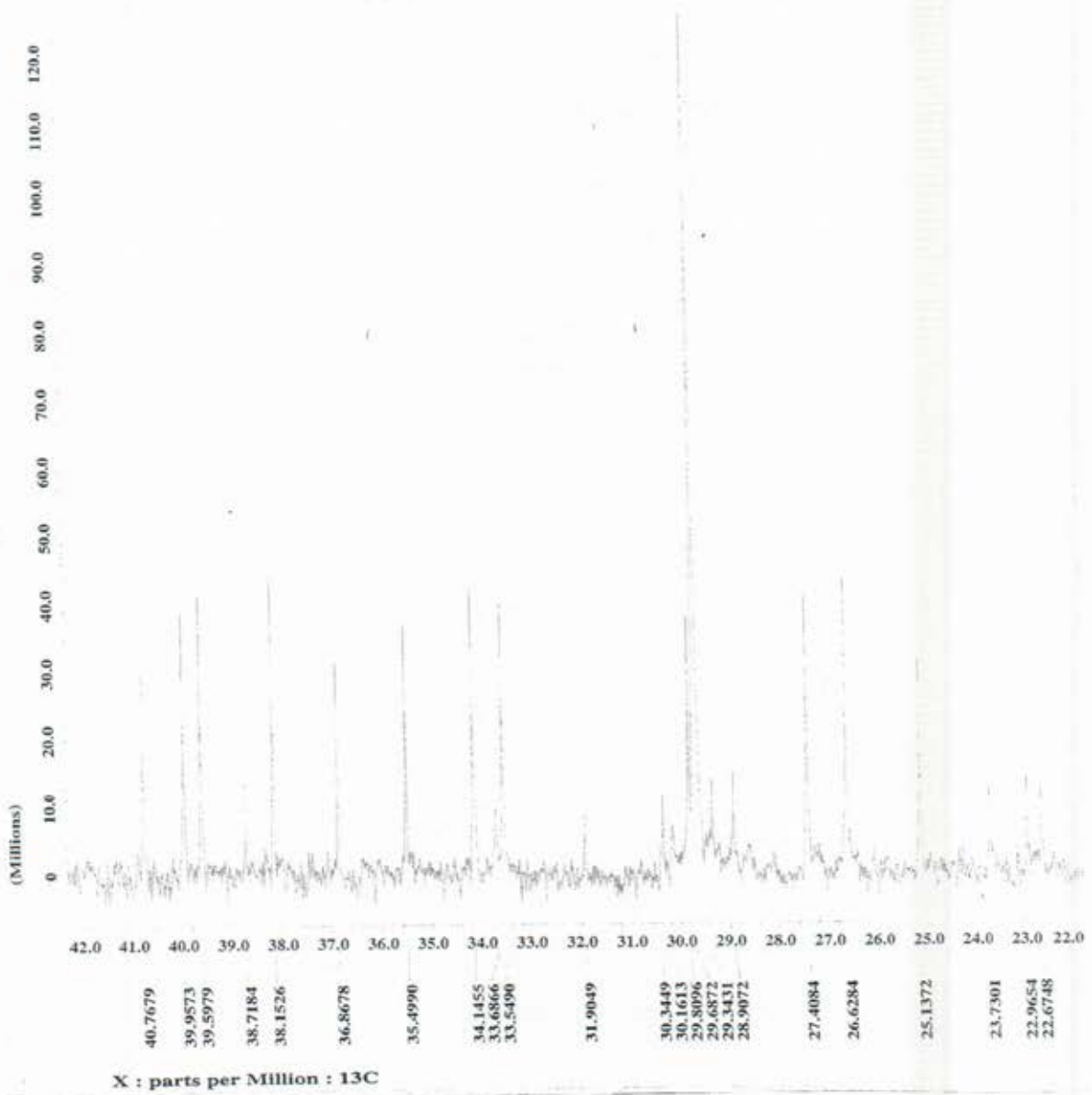
A substância 2 apresentou um pico de íon molecular $M^+ 422,35$ e os fragmentos M/Z 229 (100), 191 (42), 150 (73), 137 (63) que corresponde a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O$. O espectro de RMN 1H mostrou sinais característicos de sete grupos metilas, um isopropenil (δ 4,5, 4,7 e 1,59), dois dubletos ($J=10$ Hz) para δ 7,5 e 7,1. O espectro de RMN ^{13}C confirma com sinal δ 218,2 característico de carbonila em triterpenos relativa ao C-3 e em região olefina sinais em δ 109,4 (CH_2) e δ 150,9 (C).

Tabela 6 : Dados espectrais parciais do RMN ^{13}C comparados com a literatura (Mahato e Kundu, 1994)

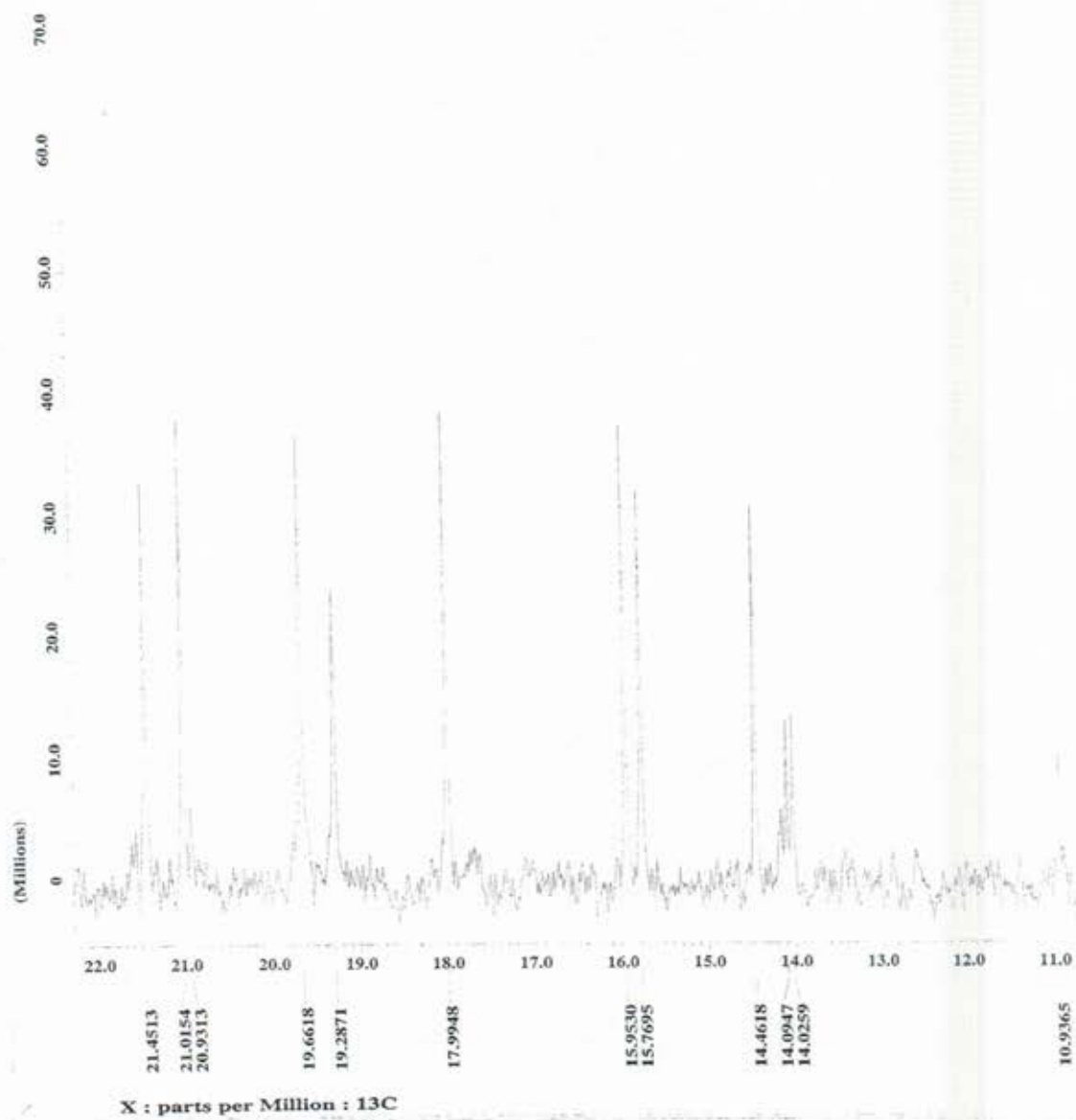
C	Lupenona	Literatura
3	218,2	217,9
20	150,9	150,7
29	109,4	109,2
8	40,8	40,9
22	39,9	40,0
1	39,6	39,6
13	38,2	38,2
20	36,9	36,9
16	35,5	35,6
2	34,1	34,1
7	33,6	33,6
21	29,8	29,9
15	27,4	27,4
23	26,6	26,6
12	25,1	25,1
11	21,45	21,5



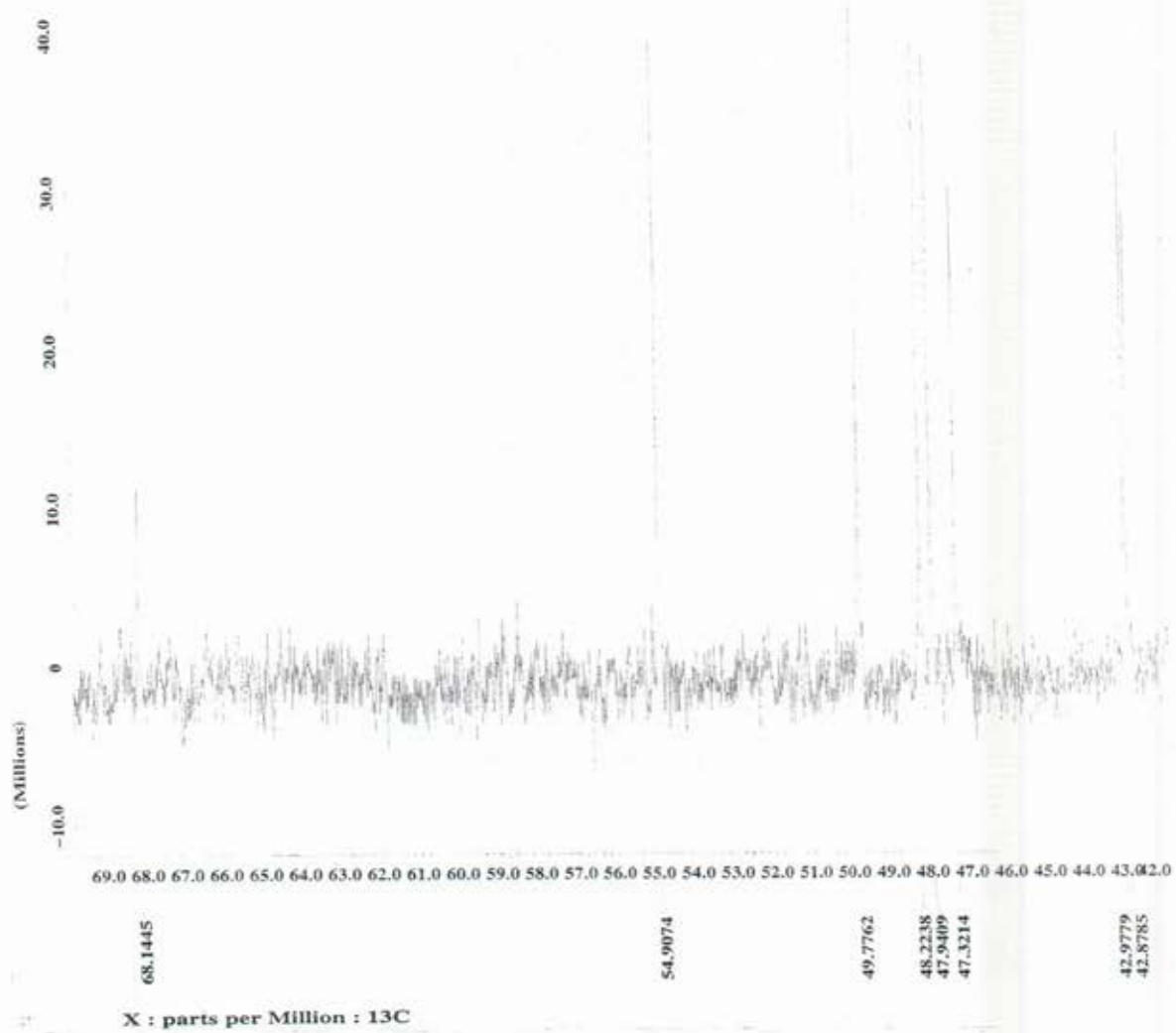
Espectros 29: Espectro de RMN ^{13}C do triterpeno lupenona (100 MHz, CDCl_3)



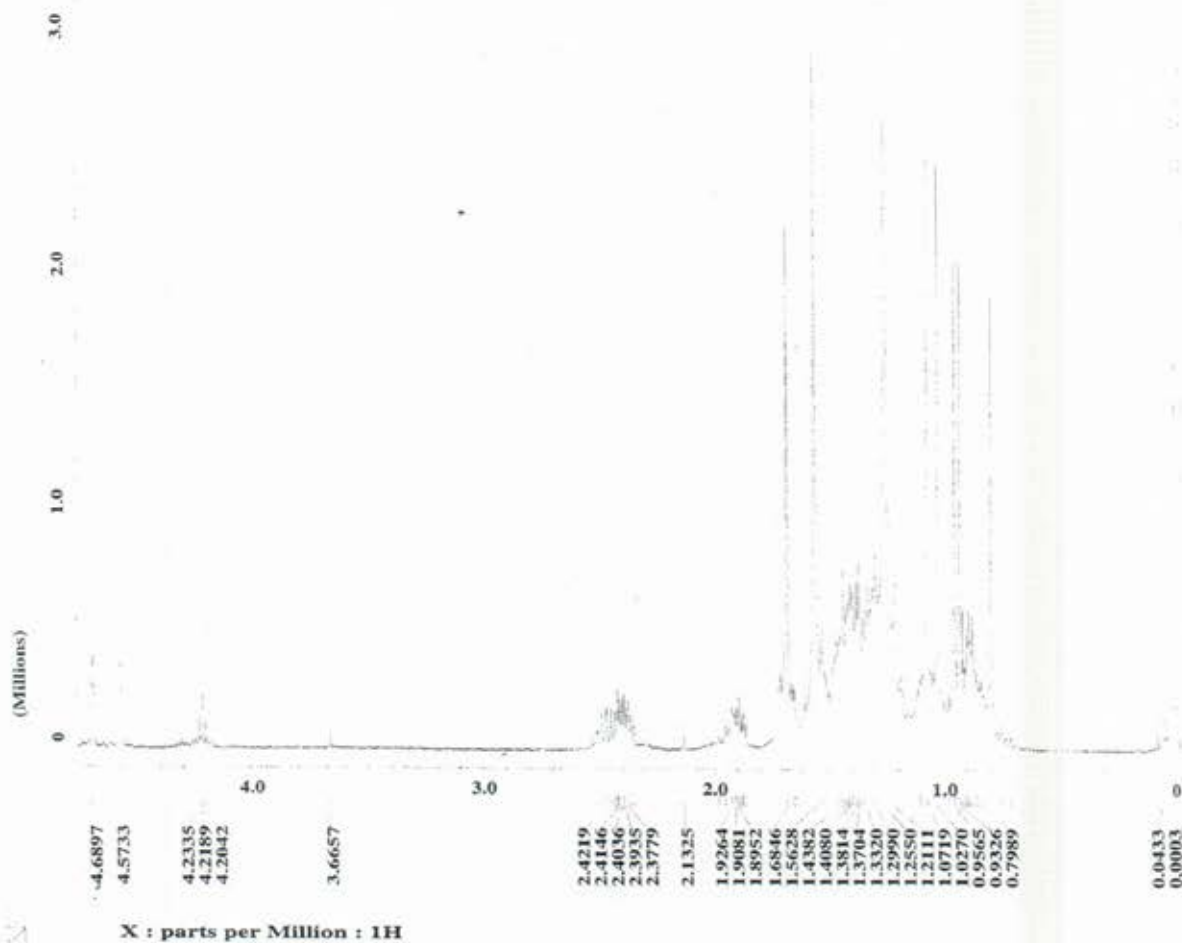
Espectros 30: Espectro de RMN ¹³C do triterpeno lupenona (100 MHz, CDCl₃)
 Expansão da região δ_c 22 -42



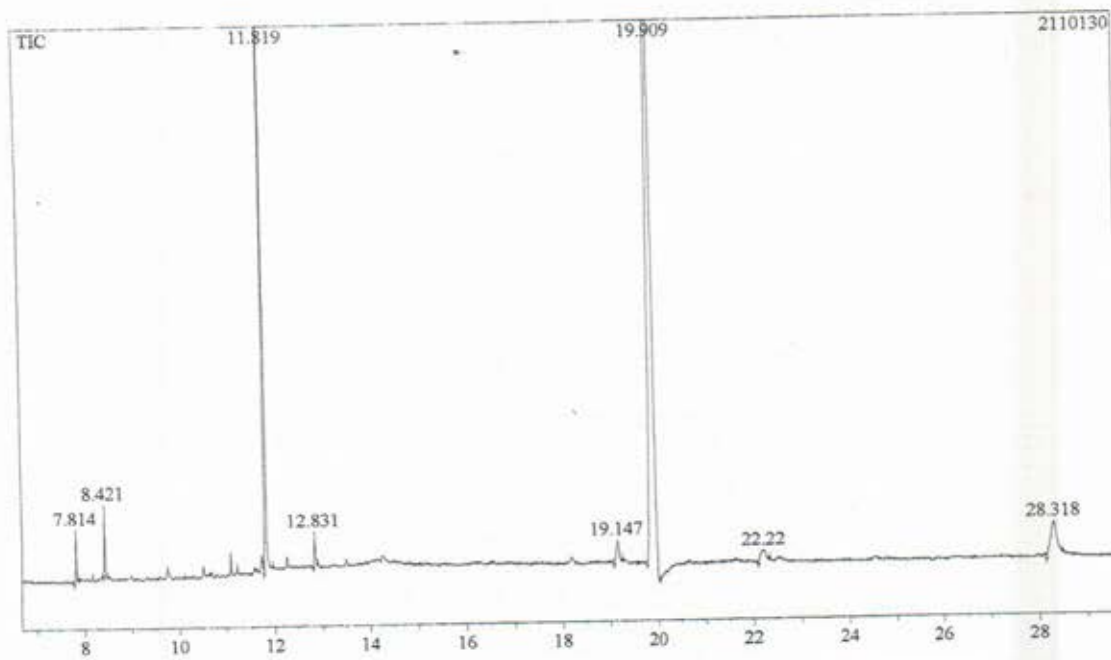
Espectros 31: Espectro de RMN ^{13}C do triterpeno lupenona (100 MHz, CDCl_3)
 Expansão da região δ_{C} 11 - 22



Espectros 32: Espectro de RMN ^{13}C do triterpeno lupenona (100 MHz, CDCl_3)
Expansão da região δ_{C} 42 - 69



Espectros 33: Espectro de RMN ^1H do triterpeno lupenona (500 MHz, CDCl_3)



Espectros 34: Cromatograma de gás do triterpeno lupenona

8. DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

❖ **Substância:** triterpeno lupeol (1)

F.M= C₃₀H₅₀O

P.M.= 426 u.m.a

P. Fusão= 143 – 154°C

Aspecto= sólido branco cristalino

Solubilidade= CHCl₃

Espectrometria de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, Hz):

38,86 (C-4), 40,83 (C-8), 37,17 (C-10), 42,83 (C-14), 43,00 (C-17), 150,97 (C-20), 79,00 (C-3), 55,30 (C-5), 50,44 (C-9), 38,06 (C-13), 48,30 (C-18), 47,98 (C-19), 38,71 (C-1), 27,23 (C-2), 18,32 (C-6), 34,28 (C-7), 20,93 (C-11), 25,15 (C-12), 27,45 (C-15), 35,58 (C-16), 29,85 (C-21), 40,00 (C-22), 109,30 (C-29), 27,99 (C-23), 15,36 (C-24), 16,11 (C-25), 15,98 (C-26), 14,54 (C-27), 18,00 (C-28), 19,30 (C-30)

Espectrometria de massa (70eV) m/z: 426 (M⁺, 24), 189 (100), 190 (33), 203 (43), 218 (71).

❖ **Substância:** triterpeno lupenona (2)

F.M= C₃₀H₄₈O

P.M.= 422 u.m.a

Aspecto= cristal

Solubilidade= CHCl₃

Espectrometria de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃, Hz): 218,2 (C-3), 150,9 (C-20), 109,4 (C-29), 40,8 (C-8), 39,9 (C-22), 39,6 (C-1), 38,2 (C-13), 36,9 (C-20), 35,5 (C-16), 34,1 (C-2), 33,6 (C-7), 29,8 (C-21), 27,4 (C-15), 26,6 (C-23), 25,1 (C-12), 21,45 (C-11).

❖ **Substância:** Xantonóide 1-hidroxi-3,6-dimetoxi-8-metilxanten-9-ona (3)

F.M= C₁₆H₁₄O₅

P.M.= 286 u.m.a

Aspecto= cristal em forma de agulhas amarelo

Solubilidade= CHCl₃

Espectrometria de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃):

164,12 (C-1), 166,20 (C-3), 164,10 (C-6), 143,85 (C-8), 182,78 (C-9), 104,51 (C-10), 157,33 (C-11), 159,79 (C-12), 113,33 (C-13), 97,16 (C-2), 92,45 (C-4), 98,85 (C-5), 115,84 (C-7).

Espectrometria de Massas (70eV) m/z: M⁺ 286(100), 285, 257, 129.

❖ **Substância:** Isoflavonóide vitexina (4)

F.M= C₂₁H₂₀O₁₀

P.M.= 432 u.m.a

Aspecto= cristal amarelo

Solubilidade= MeOH

Espectrometria de RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃):

149,2 (C-2), 102,44 (C-3), 182,08 (C-4), 161,14 (C-5), 98,15 (C-6), 162,63 (C-7), 104,01 (C-8), 156,0 (C-9), 104,61 (C-10), 121,60 (C-1'), 127,5 (C-2', 6'), 112,8 (C3', 5'), 156,7 (C-4'), 70,84 (C-2''), 78,66 (C-3''), 70,55 (C-4''), 81,84 (C-5''), 61,3 (C-6''), 77,7 (C-1'''), 72,7 (C-2'''), 69,0 (C-3'''), 68,4 (C-4'''), 79,0 (C-5'''), 59,0 (C-6''').

❖ **Substância:** isoflavonóide 6-β-glicosil vitexina (5)

F.M= C₂₇H₃₀O₁₅

P.M.= 594.52 u.m.a

Aspecto= cristal amarelo

Solubilidade= MeOH

Espectrometria de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl₃, Hz):

122,13 (C-3), 180,43 (C-4), 160,62 (C-5), 109,41 (C-6), 153,48 (C-7), 104,41 (C-8), 155,99 (C-9), 103,00 (C-10), 122,13 (C-1'), 157,83 (C-4'), 157,83 (C-2), 130,68 (C-6'), 115,60 (C-5,3'), 74,66 (C-1''), 71,59 (C-2''), 82,01 (C-3'''), 70,49 (C-4''), 79,30 (C-5''), 74,49 (C-1'''), 71,32 (C-2'''), 81,83 (C-3'''), 70,49 (C-4'''), 79,30 (C-5'''), 61,40 (C-6''), 61,23 (C-6''').

❖ **Substância:** isoflavonóide 6-β-glicosil vitexina (5) acetilado (5a)

Espectrometria de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl₃, Hz):

153,72 (C-2), 123,80 (C-3), 181,08 (C-4), 161,28 (C-5), 111,17 (C-6), 151,39 (C-7), 109,32 (C-8), 154,95 (C-9), 108,68 (C-10), 127,21 (C-1'), 151,05 (C-4'), 129,99 (2', 6'), 121,86 (C-3',5'), 73,06 (C-1''), 69,23 (C-2''), 74,37 (C-3''), 68,22 (C-4''), 77,21 (C-5''), 72,89 (C-1'''), 70,05 (C-2'''), 74,32 (C-3'''), 68,62 (C-4'''), 76,58 (C-5'''), 62,22 (C-6''), 61,91 (C-6''').

❖ **Substância:** isoflavonóide 6-β-glicosil vitexina (5) acetilado (5b)

Espectrometria de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl₃, Hz):

151,39 (C-2), 126,07 (C-3), 173,88 (C-4), 154,95 (C-5), 118,90 (C-6), 149,74 (C-7), 116,89 (C-8), 156,10 (C-9), 113,67 (C-10), 128,39 (C-1'), 150,08 (C-4'), 130,23 (2', 6'), 121,62 (C-3',5'), 72,89 (C-1''), 69,13 (C-2''), 74,48 (C-3''), 68,13 (C-4''), 77,21 (C-5''), 72,56 (C-1'''), 69,13 (C-2'''), 74,28 (C-3'''), 68,52 (C-4'''), 76,58 (C-5'''), 62,22 (C-6''), 61,77 (C-6''').

9. CONCLUSÕES

A avaliação fitoquímica dos extratos hexano, diclorometano e metanol do caule da espécie *Dalbergia glaucences* levou ao isolamento de dois triterpenos, uma xantona e dois isoflavonóides.

Constatou-se que de fato a *Dalbergia glaucences* possui isoflavonóides como se era esperado. Visto que pela literatura a família Leguminosae caracteriza-se pela produção de isoflavonóides.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ BARREIRO, E.J.; Fraga, C.A.M. (2001). *Química Medical. As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*. Editora Artmed. P.53-55.
- ❖ BRAZ-FILHO, R. (1994). Química de Produtos Naturais: Importância, Interdisciplinaridade, Dificuldades e Perspectivas. A Peregrinação de um Pacatubano. *Química Nova*, 17 (5): 405-445.
- ❖ BUCKINGHAM, J. (1994). *Dictionary of Natural Products*. Chapman & Hall; London. 1774: 283, 3856 p.
- ❖ CECHINEL-FILHO, V.. Yunes, R. (1997). Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a Partir de Plantas Medicinais. Conceitos Sobre Modificação Estrutural para Otimização da Atividade. *Química Nova*, 21 (1): 99-105.
- ❖ CHAN, S.C., Chang, Y.S. and Kuo, S.C. (1997) Neoflavonoids from *Dalbergia odorifera*. *Phytochemistry*. 46:5, 949.
- ❖ CHIHURO, I.; Itoigawa, M. (2003). New Cinnamylphenols from *Dalbergia* Species with Cancer Chemopreventive Activity. *J. Nat. Prod.*, 66. 1574 - 1577.
- ❖ DEWICK, P. (1998). *The Flavonoids Advances in Research. Isoflavonoids*. London: New York, Harbone Chapman and Hall. P.621.
- ❖ GOTTLIEB, O.R., Kaplan, M.A., Borin, M.R. (1996). Biodiversidade um Enfoque Químico-biológico. Editora de UERJ. Rio de Janeiro, RJ.
- ❖ HAJARE, S. W., Chandra, S.; Sharma, J. Tandan, S.K. Lal, J. and Telang G. (2001) Anti-inflammatory activity of *Dalbergia sisso* leaves. *Fitoterapia*; 72(2) 131-139.

- ❖ HEYWOOD, V.H. (1971). *The Biology and Chemistry of The Umbelliferae*. Academic. New York, Press, 438.
- ❖ HENDRICKSON, J. B.; Cram, D. J.; Hammond, G. S. (1970). *Organic Chemistry*, Cap. 16. McGraw-Hill. Kogakusha, Tokyo.
- ❖ HUTCHINSON, J. (1967). *The genera of flowering plants*. England: Oxford. University Press, England.
- ❖ INGHAM, J. (1983). *Fortschr. Chemistry Organic Naturst.* 43:1.
- ❖ JOLY, A. B. (1975). *Introdução à Taxonomia Vegetal*. P.382.
- ❖ KHAN, A.; M.A. (2000). *Antigiardial Activity of Isoflavones from Dalbergia frutescens Bark*. *J. Natural Products*, 63. 1414-1416.
- ❖ LORENZI, Harri, (1949) "Árvores brasileiras. Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil". Vol.1 _ Instituto Plantarum de Estudos da Flora 3ª Edição.
- ❖ MAHATO, S. B., Kundu, A. P. (1994). *¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids a compilation and some salient facture*. 37 (6): 1517-1575.
- ❖ MALHOTA, A., Murti, V.V.S., Seshadri, T.R. (1967). *Lanceolarin, A New Isoflavone Glycoside of Dalbergia lanceolaria*. *Tetrahedron*, 23 (1):405-409.
- ❖ MCLURE, J. W. (1975). *Physiology and functions of flavonóides*. In: Harbone, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. *The Flavonoids*, v. 2. Chapman and Hall, London.
- ❖ MONTANARI, C. A., Bolzani, V. S. (2001). *Planejamento Racional de Fármacos Baseados em Produtos Naturais*. *Química Nova*, 24 (1): 105-111
- ❖ MORS, W. B. Rizzini, C.T., Pereira. *Medicinal Plants of Brazil*. 2000 Algonac, Michigan. Edited by Robert De Filipps.

- ❖ OLIVEIRA, A.B., Gottlieb, O R.; Ollis, W. D. e Rizzini, C. T (1971). A Phylogenetic Correlation of the Genera *Dalbergia* and *Machaerium* Phytochemistry. 10: 1863-1876.
- ❖ RAWITSCHER, F. (1979). *Elementos Básicos de Botânica*. P. 318-319.
- ❖ RIZZINI, C.T., Mors, W.B. (1995). *Botânica Econômica Brasileira*. 2ª edição. Rio de Janeiro, Brasil: Âmbito Cultural.
- ❖ ROBBINS, W.W., Weier, T.E., Stocking, C.R., Wiley, J. Son (1964). In: An Introduction to Plant Science. 3ª Edição. New York: London, Sydney. P.562-565.
- ❖ YAHARA, S.; Emura, S.; Feng, H. and Nohara, T. (1989), Studies on the Constituents of the *Dalbergia hupeana*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 337:8, 2138.
- ❖ SINGH, R.H., Chaturvedi, G.N. (1966). Further Studies on the Antiarthritic Effect of Indigenous Drug *Dalbergia lanceolaria*. *Indian Journal of Medical Research*, 54(4): 363-367.
- ❖ SIMÕES, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (1999). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2ª Edição, Editora da Universidade.
- ❖ TORSSELL, K.B.G.(1983) *Natural Product Chemistry – A Mechanistic, Biosynthetic and Ecological Approach*. 138-145.
- ❖ WAGNER, H.; Blatt, S. (1995). *Plant drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas*, Alemanha: Springer – Verlag Berlin Heidelberg, P.22, 195, 212.

- ❖ WANG, W., Weng, X., Chen, D. (2000). Antioxidant activities of natural phenolics components from *Dalbergia odorifera*. *Food Chemistry*, 71: 45-49.
- ❖ "<http://www.floramedicinal.com.br/info/fitoquim.htm>"; (setembro de 2001).
- ❖ "<http://www.iepa.ap.gov.br/prod-fitoterapicos.htm#44>"; (setembro de 2001).
- ❖ "http://www.plantasmedicinales.org/etno/sept2002/especies_brasil.htm".