

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS EM RESÍDUOS  
MADEIREIROS DE *Inga alba* Willd. E *Inga paraensis* Ducke**

RENAN FEITOSA GOMES

MANAUS-AMAZONAS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RENAN FEITOSA GOMES

**AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS EM RESÍDUOS  
MADEIREIROS DE *Inga alba* Willd. E *Inga paraensis* Ducke**

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima (INPA)

Co-orientadora: Dra. Claudete Catenhede do Nascimento (INPA)

MANAUS-AMAZONAS

2015

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G633a Gomes, Renan Feitosa  
Avaliação dos constituintes químicos em resíduos madeireiros de  
Inga alba Willd. e Inga paraensis Ducke / Renan Feitosa Gomes.  
2015  
132 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria da Paz Lima  
Coorientadora: Claudete Catanhede do Nascimento  
Dissertação (Mestrado em Química - Orgânica) - Universidade  
Federal do Amazonas.

1. Resíduos madeireiros. 2. Inga alba. 3. Inga paraensis. 4.  
Ressonância Magnética Nuclear. I. Lima, Maria da Paz II.  
Universidade Federal do Amazonas III. Título

**“AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS EM RESÍDUOS  
MADEIREIROS DE *Inga alba* Willd. E *Inga paraensis* Ducke”**

Renan Feitosa Gomes

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada em 15 de Dezembro de 2015

**COMISSÃO EXAMINADORA**



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria da Paz Lima

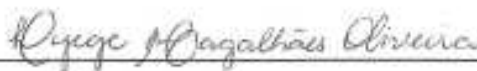
Orientadora - INPA



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Cecília Verônica Nunez

Membro Interno - INPA



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Lyege Magalhães Oliveira

Membro Externo - IFAM

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, 15 de Dezembro de 2015

“... meu Deus, dá-me o que fizeste. Ou já me deste? e sou eu que não posso dar o passo que me dará o que já fizeste? O que fizeste sou eu? e não consigo dar o passo para mim, mim que és Coisa e Tu. Dá-me o que és em mim. Dá-me o que és nos outros, Tu és o ele, eu sei, eu sei porque quando toco eu vejo o ele. Mas o ele, o homem, cuida do que lhe deste e envolve-se num invólucro feito especialmente para eu tocar e ver. E eu quero mais que o invólucro que também amo. Eu quero o que eu Te amo.”

(Clarice Lispector em *“A paixão segundo G.H.”*)

*Aos meus pais, Sérgio e Edinéa, que há 28 anos vêm sacrificando seus sonhos pessoais em favor dos meus, orando por cada átomo de carbono que em mim existe; por me mostrarem que a vida, a despeito das dificuldades e desventuras, sempre vale a pena e por me amarem como ninguém jamais o fará.*

*Ao Jorge Roberto Bandeira Afonso (in memoriam) por, um dia, ter sido meu 'velho-sábio-conselheiro'. 'Renan, você nasceu para ser rei, para ser grande. Conquiste o mundo'. Espero que um dia eu seja digno das tuas palavras e do tempo que você investiu em mim. Esta também dedico a ti, que, de mim, sabia mais que eu mesmo. Por imaginar, juntamente comigo.*

*À Vida e suas diversas formas de me fazer enxergar que há algo maior em todos nós à espera de se revelar em um acordar, em uma refeição, em uma conversa com amigos regada à cerveja, em uma leitura, em uma música, em um andar de mãos dadas, em um beijo profundo.*

*Em estar aqui e agora. 'La vita è adesso*

## AGRADECIMENTOS

Na noite fria do dia 28 de Julho de 2015, verbalizei uma oração. Pedi a Deus que me concedesse luz em algumas áreas da minha vida. Meu primeiro agradecimento é a Deus, que sempre me ouve, independente de eu verbalizar orações e de eu achar que eu tive (ou não) a resposta daquilo que pedi. Obrigado, Deus. Você me deu muito mais que a possibilidade de eu concluir este mestrado. Você me deu uma vida nova este ano.

À minha família: **Sérgio Gomes** e **Edinéa Gomes**, meus pais, e **Diego Gomes**, meu irmão. Há coisas que demoramos a entender, mas, hoje, vejo claramente o Amor que vocês depositam na nossa casa. Obrigado por estarem sempre a me esperar, por me apoiarem, ainda que sem dizer nada, nas minhas decisões, por me financiarem por diversas vezes, por me aguardarem terminar este mestrado e por acreditarem em mim mais do que eu mesmo. Isso é Amor.

À minha orientadora **Dra. Maria da Paz Lima**, por tantas coisas: por me aceitar como seu aluno, desde a Iniciação Científica, até hoje, no mestrado; por me ensinar, através da sua vasta experiência, o caminho para obter um produto natural; por pacientemente me explicar coisas que, sozinho, eu demoraria muito para entender; por me orientar e, nessa parte, vale dizer que suas orientações foram para muito além da Química: foram para a vida. Obrigado pelos inúmeros cafés das tardes alegres, nos quais você ouvia e ria das minhas histórias, pelas brincadeiras, pelos momentos que passamos juntos e por me inspirar profundamente com a seguinte frase *“Se eu tivesse outra vida, eu iria atrás de mais moléculas orgânicas”*. Obrigado. Profundamente.

À minha co-orientadora **Dra. Claudete Catenhede do Nascimento**, por sempre estar disponível quando eu precisei; por me explicar pacientemente sobre aspectos da Engenharia Florestal e da madeira, além de ser uma pessoa cativante e que contagia os outros com o amor que deposita nas coisas que faz.

Ao **Dr. Sérgio Scherrer Thomasi**: um profundo ‘muito obrigado’. Obrigado pela recepção, atenção e *dedicação* em responder a todos os meus emails; pelas análises na LC-SPE/NMR, fundamentais para que eu chegasse até aqui. Sérgio, o mundo precisa de pessoas como você. Você é um *achado*! Como sempre te digo: obrigado por tudo o que você tem feito por mim até aqui.

À **Dra. Lyege Magalhães** por levar as minhas amostras para serem analisadas em LC-SPE/NMR e em Ressonância Magnética Nuclear. Obrigado pela gentileza com que me recebia, pela simplicidade com que me explicava as coisas, pela dedicação em responder minhas mensagens e emails.

Aos meus amigos do Laboratório de Química de Produtos Naturais – **LQPN: Willian Hayasida, Loretta Ennes, Joelma Alcântara, Gabriela Farias, Jhonnis Bentes, Jean Lucas e Samirimi Silva.** Isso tudo não seria o mesmo se não fosse pela convivência que tive com vocês. Ser pesquisador vai para muito além da bancada e análise de resultados: é necessário um ambiente que nos deixe à vontade e que permita o fluxo das ideias. Obrigado por todos os momentos agradáveis e até pelos não tão agradáveis assim, pois amadurecemos juntos. Sucesso a todos nós.

Aos meus queridos amigos da Pós-Graduação que cursaram as disciplinas comigo: **Adriana Cavalcante, Alcilene Dias, Bruna Ribeiro, Edizon Lopes, Elzalina Soares, Fabiana Almeida, Jésyka Aroucha, Raimundo Júnior, Sidney Azevedo** e, em especial, ao **Orlando Paes.** Não haveria turma melhor para estar! Juntos nos estudos, nas pressões, nas cantorias no videokê, nas confissões trocadas... na Vida. Com vocês, não tive medo de ser quem eu sou e nem de me atirar naquilo que eu poderia ser. Vocês foram um profundo mistério que estava escrito para acontecer a mim. Tudo valeu a pena. Se tivesse que cursar as disciplinas outra vez, vocês seriam os meus escolhidos. Sucesso, futuros pesquisadores! Sim, o mundo está aí para ser descoberto por *nós.* *E nós podemos,* nunca aceitem que digam o contrário.

Aos meus amigos do Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia – **LAPAAM: Andréia Montoia, Abraão Alexandre, Lídia Procópio, Rita Cynara, Thiago Barbosa, Viviane Guedes, Kethelen Galeno, Rodrigo Ribeiro, Paula Suellen e Bruna Silva.** Vocês aliviaram os meus dias ruins, aumentaram as alegrias dos dias bons e discutiram bastante Química comigo. Obrigado pelos pequenos favores, por serem sempre tão solícitos e bons para comigo. Sucesso!

Aos técnicos do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais – **LTQPN** – do **INPA: Magno Muniz, Sabrina Kelly e Zelina Torres,** por terem me ensinado a operar um equipamento de RMN, por terem me ensinado a



processar espectros, por me tirarem dúvidas e por sempre me receberem tão bem em seu laboratório. Vocês foram pacientes comigo. Obrigado.

Aos meus amigos **Paulo Mota, Talita Mota, João Ricardo, Thiago Ribeiro, André Martinhão, Victor Neto, Hugo Rafael, Wagner Oliveira, Yara Lins, José Lamak, Noam Gadelha, Tatiana Marialva, Rodrigo Pinheiro, Alcemir Félix e Vicente Rodrigues** que há muitos anos estão do meu lado. Vocês me fazem enxergar que de nada adianta conseguir o que se quer se não há amigos para compartilhar o que se tem. Obrigado por permanecerem comigo, não importa o tempo que passa, e por conhecerem o pior e o melhor de mim e, ainda assim, estarem comigo. Amo vocês.

Aos amigos **Ivana Otto, Alcemir Teixeira e Bruna Caroline Maciel** por me incentivarem a fazer a Pós-Graduação e por estarem abertos a conversar sobre Ciência (e muitas outras coisas) comigo. Nossas discussões são preciosas, meus amigos, me dão novas ideias e me inspiram a continuar na pesquisa. Obrigado por acreditarem em mim. Consegui!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química – **PPGQ** - em especial àqueles que eu tive o prazer de ser aluno nesta etapa: **Prof. Dr. Marcos Machado, Profa. Dra. Rita Nunomura, Prof. Dr. Sérgio Nunomura, Profa. Dra. Maria Lúcia Belém Pinheiro, Profa. Dra. Cecília Verônica Nunez e Prof. Dr. Afonso Duarte**. Obrigado por serem dedicados e excelentes naquilo que fazem; pelas conversas nos corredores, pelo tempo que dedicavam em tirar minhas dúvidas, por instigarem a busca pelo conhecimento e por me incentivarem, cada um do seu modo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – **CAPES** – pela bolsa de estudos concedida, pois, sem ela, esta conquista não seria possível.

E, por fim, gostaria de agradecer à **Mãe-Natureza**, por ter disponibilizado para a humanidade tudo o que precisamos para viver, incluindo as espécies *Inga alba* e *Inga paraensis*, que me permitiram viver essa época de descobertas, crescimento e aprendizagem. Essa história eu jamais esquecerei.

## RESUMO

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do planeta, na qual se destaca a maior floresta tropical úmida do mundo, sendo uma das principais produtoras de madeira tropical. Em 2009, a atividade madeireira na Amazônia brasileira processou cerca de 14,2 milhões de m<sup>3</sup> de madeira, dos quais 8,4 milhões de m<sup>3</sup> foram classificados como resíduos. Dentre as espécies que geram resíduos madeireiros estão inclusas as do gênero *Inga* Mill. (Fabaceae), que são utilizadas nas serrarias, carvoarias, construção civil, geração de energia e produção de papel e que podem ter nos estudos químicos uma alternativa de aproveitamento para os seus resíduos. No presente trabalho, foram realizados estudos fitoquímicos visando o isolamento e identificação dos constituintes químicos em resíduos madeireiros de *Inga alba* Willd. e *Inga paraensis* Ducke. A partir do extrato metanólico de *I. paraensis* foram obtidos, por fracionamentos cromatográficos, os esteroides espinasterol e espinasterona, identificados por Ressonância Magnética Nuclear, que estão sendo relatados pela primeira vez no gênero. Do extrato metanólico de *I. alba* foram obtidos, após cromatografia clássica seguida pela técnica CLAE-EFS/RMN, os flavonoides taxifolina (flavanonol), butina (flavanona), 3-O-metilquercetina (flavonol) e uma substância inédita glicosilada derivada do ácido mentiafólico, nomeada de *dapaznídeo*. A taxifolina e a butina têm, neste trabalho, o primeiro relato para o gênero *Inga*. O estudo sobre os metabólitos secundários nestas espécies é de grande importância para o conhecimento das madeiras de *Inga* da Amazônia, cuja química é desconhecida e que vêm sendo inseridas no mercado para substituir as tradicionalmente utilizadas pelo setor madeireiro.

Palavras-chave: Resíduos madeireiros, *Inga alba*, *Inga paraensis*, Ressonância Magnética Nuclear.

## ABSTRACT

Brazil has one of the greatest biodiversity on the planet, which stresses the largest tropical rainforest in the world, one of the leading producers of tropical timber. In 2009, logging in the Brazilian Amazon has processed about 14.2 million m<sup>3</sup> of timber, of which 8.4 million m<sup>3</sup> were classified as waste. Among the species that generate wood waste are included the genus *Inga* Mill. (Fabaceae), which are used in sawmills, charcoal, construction, paper production and energy generation and chemical studies can have on a recovery alternative for their waste. In this study, it was carried out phytochemical studies aimed at isolating and identification of chemical constituents in timber waste *Inga alba* Willd. and *Inga paraensis* Ducke. From the methanol extract of *I. paraensis* were obtained by chromatographic fractionation, the spinasterol and espinasterona steroids, identified by nuclear magnetic resonance, being reported for the first time in the genre. From the methanol extract of *I. alba* were obtained, after classical chromatography followed by technique LC-SPE/NMR, the flavonoids taxifolin (flavanonol), butin (flavanone), 3-O-methylquercetin (flavonol) and a novel glycosylated derivative of the acid menthiafolic, named *dapaznídeo*. The taxifolin and butin have, in this work, the first report for the genus *Inga*. The study of secondary metabolites in these species is of great importance to the knowledge of *Inga* Woods Amazon, whose chemistry is unknown, and that have been placed on the market to replace the traditionally used by the timber industry.

Keywords: Wood waste, *Inga alba*, *Inga paraensis*, Nuclear Magnetic Resonance.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Substâncias identificadas em folhas do Gênero <i>Inga</i>	<b>32</b>
<b>Tabela 2.</b> Substâncias identificadas em caule de espécies do gênero <i>Inga</i>	<b>41</b>
<b>Tabela 3.</b> Substâncias identificadas em raízes do Gênero <i>Inga</i>	<b>42</b>
<b>Tabela 4.</b> Reunião das frações obtidas de IPM	<b>56</b>
<b>Tabela 5.</b> Reunião das frações obtidas de IPM 6	<b>58</b>
<b>Tabela 6.</b> Reunião das frações obtidas de IAM	<b>60</b>
<b>Tabela 7.</b> Reunião das frações obtidas de IPM 12	<b>66</b>
<b>Tabela 8.</b> Reunião das frações obtidas de IAM 13	<b>68</b>
<b>Tabela 9.</b> Massas e rendimentos dos extratos de <i>Inga alba</i> e <i>Inga paraensis</i>	<b>71</b>
<b>Tabela 10.</b> Dados espectroscópicos de IPM 6.1.5 e da Espinasterona	<b>73</b>
<b>Tabela 11.</b> Dados espectroscópicos de IPM 17.6 e do Espinasterol	<b>81</b>
<b>Tabela 12.</b> Dados espectroscópicos de IAM 12.12-15 (Pico 1) e RMN e $^{13}\text{C}$ da Taxifolina	<b>91</b>
<b>Tabela 13.</b> Dados espectroscópicos de IAM 12.12-15 (Pico 2) e RMN de $^{13}\text{C}$ da Butina	<b>98</b>
<b>Tabela 14 .</b> Dados espectroscópicos de IAM 12.12-15 (Pico 3) e RMN de $^{13}\text{C}$ da 3-O-metilquercetina	<b>106</b>
<b>Tabela 15 .</b> Dados espectroscópicos de IAM 13.31 (Pico único)	<b>115</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribuição de espécies de Mimosoideae no mundo	<b>27</b>
<b>Figura 2.</b> Frutos de <i>Inga spp.</i> e a polpa branca que envolve as sementes	<b>30</b>
<b>Figura 3.</b> Diversidade do tamanho dos frutos de <i>Inga</i>	<b>30</b>
<b>Figura 4.</b> <i>Inga alba</i> e seus frutos	<b>44</b>
<b>Figura 5.</b> <i>Inga paraensis</i>	<b>45</b>
<b>Figura 6.</b> Resíduos madeireiros fornecidos pelo LTM-INPA	<b>52</b>
<b>Figura 7.</b> Sistema CLAE-EFS do Departamento de Química da UFSCar	<b>61</b>
<b>Figura 8.</b> Unidade Prospekt 2	<b>63</b>
<b>Figura 9.</b> Ponto de Intersecção	<b>63</b>
<b>Figura 10.</b> Operação do Gripper	<b>64</b>
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IPM 6.1.5</b> ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz)	<b>75</b>
<b>Figura 12.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IPM 6.1.5</b> nas regiões de 5,25 a 2,07 ppm	<b>76</b>
<b>Figura 13.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IPM 6.1.5</b> na região dos hidrogênios metílicos	<b>77</b>
<b>Figura 14.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>IPM 6.1.5</b> ( $\text{CDCl}_3$ ; 150 MHz)	<b>78</b>
<b>Figura 15.</b> Mapa de contornos HSQC de <b>IPM 6.1.5</b>	<b>79</b>
<b>Figura 16.</b> Estrutura da Espinasterona	<b>74</b>
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IPM 17.6</b> (Acetona- $d_6$ ; 600 MHz)	<b>83</b>
<b>Figura 18.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IPM 17.6</b> nas regiões de 5,26 a 3,40 ppm	<b>84</b>
<b>Figura 19.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IPM 17.6</b> na região dos hidrogênios metílicos	<b>85</b>
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>IPM 17.6</b> (Acetona- $d_6$ ; 150 MHz)	<b>86</b>
<b>Figura 21.</b> Mapa de contornos HSQC de <b>IPM 17.6</b>	<b>87</b>
<b>Figura 22.</b> Estrutura do Espinasterol	<b>82</b>
<b>Figura 23.</b> Cromatograma da amostra IAM 12.12-15 (8 mg)	<b>88</b>
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do pico 1 de <b>IAM 12.12-15</b> (MeOD; 600 MHz)	<b>92</b>
<b>Figura 25.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico 1 de IAM 12.12-15 nas regiões de 7,00 a 4,45 ppm	<b>93</b>
<b>Figura 26.</b> Mapa de contornos HSQC do pico 1 de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>94</b>

<b>Figura 27.</b> Mapa de contornos HMBC do pico 1 de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>95</b>
<b>Figura 28.</b> Estrutura da Taxifolina	<b>90</b>
<b>Figura 29.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do pico 2 de <b>IAM 12.12-15</b> (MeOD; 600 MHz)	<b>99</b>
<b>Figura 30.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico 2 de IAM 12.12-15 nas região de 7,82 a 6,36 ppm	<b>100</b>
<b>Figura 31.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico 2 de IAM 12.12-15 nas região de 5,42 a 2,70 ppm	<b>101</b>
<b>Figura 32.</b> Mapa de contornos HSQC do pico 2 de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>102</b>
<b>Figura 33.</b> Mapa de contornos HMBC do pico 2 de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>103</b>
<b>Figura 34.</b> Estrutura da Butina	<b>97</b>
<b>Figura 35.</b> Espectro de $^1\text{H}$ do pico 3 de <b>IAM 12.12-15</b> (MeOD; 600 MHz)	<b>107</b>
<b>Figura 36.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico 3 de IAM 12.12-15 nas região de 7,70 a 6,20 ppm	<b>108</b>
<b>Figura 37.</b> Mapa de contornos HSQC do pico 3 de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>109</b>
<b>Figura 38.</b> Mapa de contornos HMBC do pico 3 de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>110</b>
<b>Figura 39.</b> Estrutura da 3-O-metilquercetina	<b>105</b>
<b>Figura 40.</b> Cromatograma da amostra IAM 13.31 (10 mg)	<b>111</b>
<b>Figura 41.</b> Espectro de $^1\text{H}$ do pico único de <b>IAM 13.31</b> (MeOD- <i>d</i> <sub>4</sub> ; 600 MHz)	<b>117</b>
<b>Figura 42.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico único de <b>IAM 13.31</b> nas regiões de 6,85 a 5,19 ppm	<b>118</b>
<b>Figura 43.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico único de <b>IAM 13.31</b> nas regiões de 5,07 a 2,20 ppm	<b>119</b>
<b>Figura 44.</b> Ampliação dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ do pico único de <b>IAM 13.31</b> nas regiões de 1,86 a 1,25 ppm	<b>120</b>
<b>Figura 45.</b> Mapa de contornos COSY do pico único de <b>IAM 13.31</b>	<b>121</b>
<b>Figura 46.</b> Mapa de contornos HSQC do pico único de <b>IAM 13.31</b>	<b>122</b>
<b>Figura 47.</b> Mapa de contornos HMBC do pico único de <b>IAM 13.31</b>	<b>123</b>
<b>Figura 48.</b> Estrutura do <i>Cyclopside 2</i>	<b>114</b>
<b>Figura 49.</b> Estrutura do Dapaznídeo	<b>114</b>

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Obtenção dos extratos de <i>Inga paraensis</i>	<b>54</b>
<b>Esquema 2.</b> Fracionamento do cromatográfico de IPM	<b>55</b>
<b>Esquema 3.</b> Fracionamento do cromatográfico de IPM 6, IPM 6.1 e obtenção de <b>IPM 6.1.5</b>	<b>57</b>
<b>Esquema 4.</b> Fracionamento cromatográfico de IPM 17	<b>58</b>
<b>Esquema 5.</b> Fracionamento do cromatográfico de IAM	<b>59</b>
<b>Esquema 6.</b> Fracionamento de IAM 12 e obtenção de <b>IAM 12.12-15</b>	<b>65</b>
<b>Esquema 7.</b> Fracionamento de IAM 13	<b>67</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Substâncias identificadas em folhas do gênero <i>Inga</i>	<b>34</b>
<b>Quadro 2.</b> Substâncias identificadas em caule de espécies do gênero <i>Inga</i>	<b>41</b>
<b>Quadro 3.</b> Substâncias identificadas em raízes de espécies do gênero <i>Inga</i>	<b>42</b>

## LISTA DE LISTAS

<b>Lista 1.</b> Gêneros reconhecidos pelo APG pertencentes à Mimosoideae DC	<b>28</b>
<b>Lista 2.</b> Sinonímias botânicas de <i>Inga alba</i>	<b>44</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$^{13}\text{C}$  – Carbono 13

$^1\text{H}$  – Hidrogênio

A - Acetato de etila

**ACE** - *Automatic Cartridges Exchanger*

**APG** – *Angiosperm Phylogeny Group*

**ATM** - *Automatic Tunning e Matching*

**BSFU-HP** - *Bruker Stopped Flow Unit – High Performance*

**CC** – Cromatografia em Coluna

**CCD** – Cromatografia em Camada Delgada

**$\text{CDCl}_3$**  – Clorofórmio deuterado

**CLAE-EFS/RMN** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência-Extrator em Fase Sólida/Ressonância Magnética Nuclear.

**COSY** - homonuclear COrrrelation SpectroscopY.

D - Diclorometano

**DAD** - *Diode Array Detector control*

d - Dubleto

dd – Duplo Dubleto

**EH** – Extrato Hexânico

**EM** – Extrato Metanólico

H – Hexano

**HMBC** - *Heteronuclear MultipleBond Coherence*

**HPLC** - *High Performance Liquid Chromatography*

**HSQC** - *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

**IAH** – *Inga alba* Hexânico

**IAM** – *Inga alba* Metanólico

**INCT** - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia

**IPH** – *Inga paraensis* Hexânico

**IPM** – *Inga paraensis* Metanólico

J – Constante de acoplamento

**LC** – *Liquid Chromatography*

**LC-SPE/NMR** – *Liquid Chromatography-Solid Phase Extraction/Nuclear Magnetic Resonance*



**LQPN** – Laboratório de Química de Produtos Naturais

**LTM** – Laboratório de Tecnologia da Madeira

**M** - Metanol

**MDP** - *Medium Density Particleboard*

**MeOD** – Metanol deuterado

**mult.** – Multiplicidade

**NP-PEG** – Difenilboriloxietilamina- Polietilenoglicol

**RMN** – Ressonância Magnética Nuclear

**s** - Singleto

**t** – Tripleto

**TCI** - *Triple Resonance Cryoprobe Inverse*

**tr.**- Trapeado

$\delta$  - Deslocamento químico

$\phi$  – Diâmetro

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b>	<b>19</b>
1.1. Resíduos madeireiros: problemática e perspectivas de aproveitamento	20
1.2. A técnica hifenada CLAE-EFS/RMN	22
1.3. A importância dos constituintes químicos da madeira	24
1.4. Família Fabaceae Lindl. e subfamília Mimosoideae DC.	26
1.5. O Gênero <i>Inga</i> Mill.	29
1.6. As espécies <i>Inga alba</i> Willd. e <i>Inga paraensis</i> Ducke	43
<b>2. Objetivos</b>	<b>46</b>
2.1. Objetivo Geral	47
2.2. Objetivos Específicos	47
<b>3. Experimental</b>	<b>48</b>
3.1. Materiais utilizados	49
3.2. Equipamentos	50
3.3. Obtenção dos resíduos madeireiros	52
3.4. Preparação dos extratos brutos de <i>Inga paraensis</i> e <i>I. alba</i> e análise prévia por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	53
3.5. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de <i>Inga paraensis</i> -(IPM)	55
3.5.1. Fracionamento cromatográfico de IPM 6	56
3.5.2. Fracionamento cromatográfico de IPM 17	58
3.6 Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de <i>Inga alba</i> (IAM)	59
3.6.1. Fracionamento cromatográfico de IAM 12	61
3.6.2. Fracionamento cromatográfico de IAM 13	67
<b>4. Resultados e Discussões</b>	<b>69</b>
4.1. Substâncias identificadas/elucidada	70
4.2. Rendimentos dos extratos	71
4.3. Identificação da substância 1 (IPM 6.1.5)	72
4.4. Identificação da substância 2 (IPM 17.6)	80
4.5. Fração IAM 12.12-15: picos trapeados através da CL-EFS	88
4.6. Identificação da substância 3 (IAM 12.12-15 Pico 1)	89
4.7. Identificação da substância 4 (IAM 12.12-15 Pico 2)	96
4.8. Identificação da substância 5 (IAM 12.12-15 Pico 3)	104

4.9. Fração IAM 13.31: pico único trapeado através da CL-EFS	111
4.10. Identificação da substância 6 (IAM 13.31 Pico único)	112
<b>5. Conclusão</b>	<b>124</b>
<b>6. Referências Bibliográficas</b>	<b>126</b>

## 1. INTRODUÇÃO

---

## **1.1. Resíduos madeireiros: problemática e perspectivas de aproveitamento**

O Brasil, com aproximadamente 8,5 milhões de km<sup>2</sup>, representa quase a metade da América do Sul e possui uma das maiores biodiversidades do planeta, na qual se destaca a maior floresta tropical úmida do mundo (MMA, 2015). Em 2006, a floresta amazônica ficava apenas atrás da Indonésia como principal produtora de madeira tropical (OIMT, 2006). No setor industrial brasileiro, a madeira tem uma participação significativa, sendo utilizada nos mais diversos tipos de indústrias, como a química, têxtil, cimento, papel, cerâmica, celulose, siderúrgica (Silva, 2009), além de móveis de madeira processada mecanicamente como produtos de madeira serrada, compensados, painéis reconstituídos, dentre outros (SBS, 2008).

Em Manaus foi realizado um levantamento no setor madeireiro no qual as empresas foram agrupadas de acordo com o produto final das suas atividades em movelarias, fábricas de compensados e serrarias, revelando que há uma perda de cerca de 60% das toras ocasionada pela preservação inadequada e pelo ataque de organismos xilófagos à matéria-prima, além das perdas de 15 a 50% das toras, causadas por desgaste mecânico, rachaduras, costaneiras, aparas, rolos-resto, dentre outros. Também foi detectado o aproveitamento destes resíduos na geração de energia em caldeiras, confecção de tábuas, grades e fabricação de cabos de vassoura (Sales-Campos et al. 2000).

Em 2009 foi registrado que a atividade madeireira na Amazônia brasileira processou cerca de 14,2 milhões de m<sup>3</sup> de madeira. Desse quantitativo, 5,8

milhões de m<sup>3</sup> foram aproveitados pela indústria e 8,4 milhões de m<sup>3</sup> de madeira classificada como resíduo (SFB-AMAZON, 2010).

A disponibilidade desses resíduos oriundos das atividades madeireiras vem despertando o interesse por alternativas para aproveitamento e a partir do conhecimento de como o resíduo é aproveitado, é que podem ser racionalizados os recursos florestais, gerando uma alternativa às empresas, contribuindo para que as mesmas gerenciem adequadamente os seus resíduos sólidos industriais (Cerqueira et al., 2012).

Uma alternativa proposta para o aproveitamento de resíduos madeireiros no Amazonas tem sido o uso destes resíduos na produção de pequenos objetos de madeira (POM), cujos benefícios incluem incentivo à cultura tradicional, atração de pequenos investidores, proporciona geração de renda, além de capacitar alunos da rede pública (Nascimento et al., 2012). Isso faz com que o POM seja uma alternativa favorável que leva em consideração o mínimo impacto ambiental, difundindo a valorização do trabalho artesanal (Abreu et al., 2009).

O Grupo de Pesquisa “Plantas da Amazônia: Química, Quimiossistemática e Atividade Biológica”, coordenado pela Profa. Dra. Maria da Paz Lima do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), tem feito proposta para o aproveitamento dos resíduos madeireiros por meio de estudos fitoquímicos e busca de atividade de princípios ativos, a exemplo de Hayasida & Colaboradores (2008) que avaliou resíduos madeireiros do cerne de pau-rainha (*Brosimum rubescens* Taubert, Moraceae), evidenciando um alto teor extrativo (19,87%), além de constatar a presença de xantilentina, uma substância da classe das cumarinas, que apresenta atividade antiplaquetária (Teng et al., 1992), herbicida (Anaya et al., 2005), dentre outras. Horta e colaboradores (2010) em seu estudo

em resíduos de *Guarea trichilioides* (Meliaceae) constataram a presença do piceatanol, um tetrahidroxiestilbeno que possui propriedades antioxidante e antileucêmica.

Levando em consideração as formas de como os resíduos madeireiros podem ser aproveitados, sejam nos desenvolvimentos dos POM's, que conferem aos resíduos um aproveitamento sócio-econômico, ou nos estudos químicos e biológicos, que lhe conferem um aproveitamento de caráter científico, há perspectivas positivas de aproveitamento para esta madeira.

Os estudos químicos e biológicos realizados em resíduos madeireiros pelo grupo “Plantas da Amazônia: Química, Quimiosistemática e Atividade Biológica” são efetuados utilizando-se de métodos clássicos de fracionamento e isolamento de produtos naturais em suas pesquisas e, há 5 anos, métodos modernos, como a técnica hifenada CLAE-EFS/RMN, têm auxiliado o grupo na busca por princípios ativos.

## **1.2. A técnica hifenada CLAE-EFS/RMN**

Ao acoplamento entre duas ou mais técnicas analíticas que visam à obtenção de uma ferramenta analítica mais eficiente e rápida que as convencionais, aplica-se o termo “técnica hifenada” (Levsen et al., 2000).

A CLAE-EFS/RMN tem os seus primeiros relatos datados do final da década de 70, quando dois cientistas, Watanbe e Niki, em 1978, demonstraram medições de fluxo interrompido (*stopped-flow*), em uma amostra que continha compostos conhecidos. No ano seguinte, Bayer & Colaboradores, operaram sob dois métodos distintos na CLAE-EFS/RMN: fluxo contínuo (*on-flow*) e fluxo interrompido (*stopped-flow*). Os espectros adquiridos nesse experimento

mostraram resolução superior com relação àqueles obtidos após métodos tradicionais de purificação de moléculas orgânicas e, ao longo das décadas 1980 e 1990, a técnica teve grande desenvolvimento (Tomasi, 2014).

Existem, atualmente, vários modos de operação para esta técnica. No método “*On-flow*”, o espectrômetro de RMN é utilizado como detector, uma vez que os espectros são obtidos sem interrupção do fluxo. Este método funciona apenas para componentes majoritários, pois o tempo que a amostra fica na RMN é curto, não permitindo a obtenção de uma relação sinal-ruído adequada para os compostos que estão em menor quantidade. No método “*stopped-flow*”, há a interrupção do fluxo da fase móvel quando a fração de interesse alcança a cela do espectrômetro da RMN. Dessa forma, o processo pode ser repetido para outra fração, sendo possível a análise de diversos picos cromatográficos. Este método é recomendado para amostras que contenham misturas com um número relativamente pequeno de componentes que possuem boa resolução cromatográfica, uma vez que, constantes paradas no modo de operação, podem contaminar a cela em fluxo, causando o “efeito memória”. O método conhecido como “*loop storage mode*” é caracterizado pela não interrupção da corrida cromatográfica e pelo armazenamento das frações em *loops* capilares para posteriores análises na RMN. Os analitos armazenados devem ter estabilidade durante todo o período de aquisição dos espectros. No método “*CapLC-NMR*”, uma microsonda solenóide é introduzida no tubo da amostra promove um aumento considerável na sensibilidade da detecção (esta microsonda é orientada transversalmente ao campo magnético estático). Este modo de operação é economicamente viável, uma vez que há o baixo consumo de solventes na cromatografia, eliminando a necessidade de supressão do sinal do



solvente nos experimentos de RMN. A substância tem que ser solúvel em concentrações elevadas por se tratar de uma técnica capilar (Tomasi, 2014).

### **1.3. A importância dos constituintes químicos da madeira**

A madeira é um material orgânico e suas propriedades estão diretamente relacionadas com os seus constituintes químicos e é de total importância o conhecimento dos mesmos para que a definição do uso do material seja apropriada, sendo tais constituintes classificados em metabólitos primários e secundários (Severo et al., 2006).

Os metabólitos primários são compostos de elevado grau de polimerização como celulose, hemicelulose (ou poliose) e lignina, que são responsáveis pela sua morfologia e estrutura (Silva, 2002). A celulose é o componente majoritário e pode ser caracterizada como sendo um polímero linear de alto peso molecular, constituído exclusivamente de  $\beta$ -D-glucose e é o principal componente da parede celular dos vegetais. As hemiceluloses são compostas principalmente por hexoses e pentoses e algumas contêm ácido urônico. As hemiceluloses são de cadeias mais curtas que as celulosas podendo apresentar ramificações. A lignina é formada por um sistema aromático de unidades de fenilpropano, que quando incorporada à parede celular, enrijece a mesma, fortalecendo-a (Klock et al., 2005).

Os metabólitos secundários participam das interações intra e intercelulares com células de outros organismos e do próprio organismo, contribuindo para a sua resistência através da defesa contra pestes e/ou outras doenças, estabelecendo os ajustes necessários para a convivência e sobrevivência ambiental (Braz-Filho, 2010). Apresentam grande variabilidade e, apesar de

estarem relativamente presentes em pequenas quantidades, os extrativos são responsáveis por propriedades como cor, odor, dentre outras e os mesmos podem sofrer alterações causadas por enzimas, produtos químicos ou radiações eletromagnéticas (Feist & Hon, 1984).

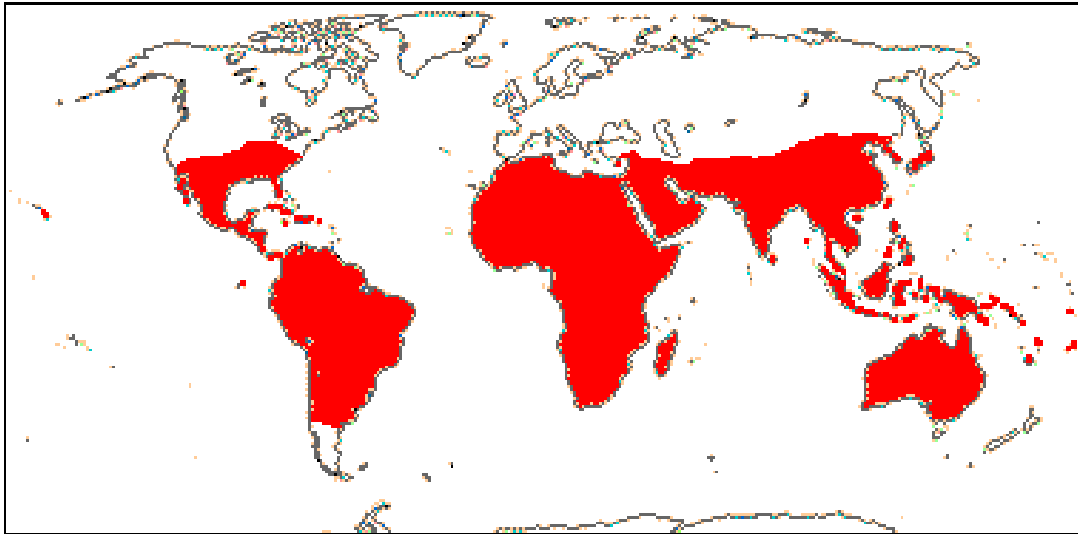
Os metabólitos secundários encontrados na madeira agregam valor à mesma e têm-se buscado aplicações para os rejeitos da indústria madeireira. No entanto, há a necessidade do conhecimento do perfil químico da madeira (Granato et al., 2005). Dentre as espécies que geram resíduos madeireiros estão inclusas as do gênero *Inga* Mill. (Fabaceae) que apresentam como metabólitos secundários reportados flavonóides do tipo glicona, aglicona e dímeros, além de derivados de ácidos, aminoácidos, esteroide e derivado de esteroide, que podem ser aproveitados do descarte do setor madeireiro.

#### 1.4. Família Fabaceae Lindl. e subfamília Mimosoideae DC.

De acordo com o APG (2015), a família Leguminosae Adans (Fabaceae Lindl.) é constituída por cerca de 750 gêneros e 19.560 espécies, sendo a 3ª maior família de Angiospermas do planeta. Compreendendo espécies que possuem todos os tipos de hábitos de crescimento (árvores, arbustos, ervas e lianas), a família Fabaceae possui espécies com alta importância econômica em diversas áreas, a exemplo da agricultura, silvicultura, entre outras. Além disso, as espécies de Fabaceae são conhecidas por formarem simbiose com microrganismos fixadores de N<sub>2</sub>, podendo dispensar a adubação nitrogenada e ainda contribuindo para a adubação do solo, garantindo a auto-sustentabilidade do ecossistema com relação ao nitrogênio (Moreira, 1994).

Andrade (2008) disserta os dois sistemas de classificação para as Fabaceae, feito por Bentham em 1859 que considera a família subdivida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoidea. O outro sistema é de Cronquist, de 1988, que considera a Ordem Fabales com três famílias distintas: Caesalpinaceae, Mimosaceae e Fabaceae. O *Angiosperm Phylogeny Group* (APG) considera a nomenclatura proposta por Bentham ao considerar a família como Mimosoideae de Candolle (Mimosoideae DC.) sendo, portanto, uma subfamília de Fabaceae (APG, 2015).

Mimosoideae DC. engloba os gêneros listados na lista 1, totalizando cerca de 3330 espécies (APG, 2015), tendo a maior diversidade os gêneros *Acacia*, *Mimosa* e *Inga*. As plantas desta subfamília apresentam árvores, lianas e arbustos que têm folhas verdes e frutos que são legumes em sua totalidade (Hopkins, 1988) e sua distribuição no mundo é mostrada na figura 1.



Fonte: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

**Figura 1.** Distribuição de espécies de Mimosoideae no mundo

O levantamento realizado quanto aos metabólitos secundários das espécies de Mimosoideae revelou que a subfamília é caracterizada pela presença de flavonoides, terpenos, alcaloides, esteroides, lignanas e saponinas, tendo os flavonoides o maior número de relatos na literatura nas diversas partes vegetativas das espécies.

**Lista 1.** Gêneros reconhecidos pelo APG pertencentes à Mimosoideae DC.

---

<i>Abarema</i> Pittier	<i>Lysiloma</i> Benth.
<i>Acacia</i> Mill.	<i>Macrosamanea</i> Britton & Rose
<i>Adenantha</i> L.	<i>Marmaroxylon</i> Killip
<i>Adenopodia</i> C.Presl	<i>Mimosa</i> L.
<i>Affonsea</i> A.St.-Hil.	<i>Mimozyganthus</i> Burkart
<i>Albizia</i> Durazz.	<i>Neptunia</i> Lour.
<i>Amblygonocarpus</i> Harms	<i>Newtonia</i> Baill.
<i>Anadenanthera</i> Speg.	<i>Obolonga</i> Barneby
<i>Archidendron</i> F.Muell.	<i>Parapiptadenia</i> Brenan
<i>Archidendropsis</i> I.C.Nielsen	<i>Pararchidendron</i> I.C.Nielsen
<i>Aubrevillea</i> Pellegr.	<i>Paraserianthes</i> I.C.Nielsen
<i>Calliandra</i> Benth.	<i>Parkia</i> R.Br.
<i>Calliandropsis</i> H.M.Hern. & Guinet	<i>Pentaclethra</i> Benth.
<i>Calpocalyx</i> Harms	<i>Piptadenia</i> Benth.
<i>Cedrelinga</i> Ducke	<i>Piptadeniastrum</i> Brenan
<i>Chloroleucon</i> (Benth.) Record	<i>Piptadeniopsis</i> Burkart
<i>Cojoba</i> Britton & Rose	<i>Pithecellobium</i> Mart.
<i>Cylicodiscus</i> Harms	<i>Prosopidastrum</i> Burkart
<i>Desmanthus</i> Willd.	<i>Plathymentia</i> Benth.
<i>Dichrostachys</i> (A.DC.) Wight & Arn.	<i>Prosopis</i> L.
<i>Dinizia</i> Ducke	<i>Pseudopiptadenia</i> Rauschert
<i>Elephantorrhiza</i> Benth.	<i>Pseudoprosopis</i> Harms
<i>Entada</i> Adans.	<i>Punjuba</i> Britton & Rose
<i>Faidherbia</i> A.Chev.	<i>Schleinitzia</i> Warb.
<i>Fillaeopsis</i> Harms	<i>Schrankia</i> Willd.
<i>Gagnebina</i> Neck. ex DC.	<i>Serianthes</i> Benth.
<i>Goldmania</i> Rose ex Micheli	<i>Stryphnodendron</i> Mart.
<i>Havardia</i> Small	<i>Tetrapleura</i> Benth.
<i>Indopiptadenia</i> Brenan	<i>Wallaceodendron</i> Koord.
<i>Inga</i> Mill.	<i>Xerocladia</i> Harv.
<i>Lemurodendron</i> Villiers & Guinet	<i>Xylia</i> Benth.
<i>Leucaena</i> Benth.	<i>Zapoteca</i> H.M.Hern.

---

### 1.5. O Gênero *Inga* Mill.

*Inga* Mill. faz parte da tribo *Ingeae* (Sousa, 2009), possui cerca de 400 espécies dentre as quais 140 estão distribuídas no Brasil e 93 destas ocorrem no litoral brasileiro (Mata & Félix, 2007). Na Amazônia, *Inga* é considerado como um dos gêneros de árvores de maior importância para a região, tendo potenciais como recurso em sistemas agroflorestais, recuperação de áreas degradadas, além da comercialização dos seus frutos. Abundante em vários ambientes, o gênero ocorre em florestas secundárias ou em florestas de várzea. Muitas espécies de *Inga* são árvores pequenas, mas crescem rapidamente e mostram alta produtividade, contribuindo com a fertilidade dos solos (Shanley & Medina, 2005).

O gênero é facilmente reconhecido por seus frutos que contêm uma polpa branca adocicada que envolve as sementes (Mata, 2009; figura 2). As ingazeiras produzem frutos que são pendentes e, de acordo com a espécie, podem medir desde 5 centímetros até mais de 1 metro de comprimento (figura 3), que são fáceis de abrir com a mão. A maioria dos frutos colhida é na mata (Shanley & Medina, 2005) e são ingeridos pelos animais e pelo homem (Lorenzzi & Souza, 2002).

Algumas espécies de *Inga* são popularmente utilizadas. Para o tratamento contra a congestão nasal, cheiram-se as flores de *I. rubiginosa*. A polpa do fruto de *I. macrophylla* é utilizada na limpeza de dentes. Gotejar no ouvido a decocção das flores de *I. cecropietorum* auxilia na dor de ouvido (Vivot et al., 2001), além de espécies que tem efeito antiinflamatório, antidiarréico (*Inga edulis*) (Silva et al., 2007), no tratamento contra afta (*Inga vera*) (Rodrigues & Carvalho, 2001), dentre outros.



Fonte: <http://formasaudavel.com.br/wp-content/uploads/2013/03/inga.jpg>

**Figura 2.** Frutos de *Inga* spp. e a polpa branca que envolve as sementes



Fonte (1): [www.blog.mcscientifica.com.br](http://www.blog.mcscientifica.com.br)

Fonte (2): [arvoresdesaopaulo.wordpress.com](http://arvoresdesaopaulo.wordpress.com)

Fonte (3): [www.mudasfrutiferas.net/images/inga-2.jpg](http://www.mudasfrutiferas.net/images/inga-2.jpg)

**Figura 3.** Diversidade do tamanho dos frutos de *Inga*.

Outro destaque que as plantas de *Inga* apresentam é a utilização da sua madeira em carvoarias, carpintarias e também em obras civis, além de encontrarem aplicação na arborização urbana (Lorenzzi & Souza, 2002).

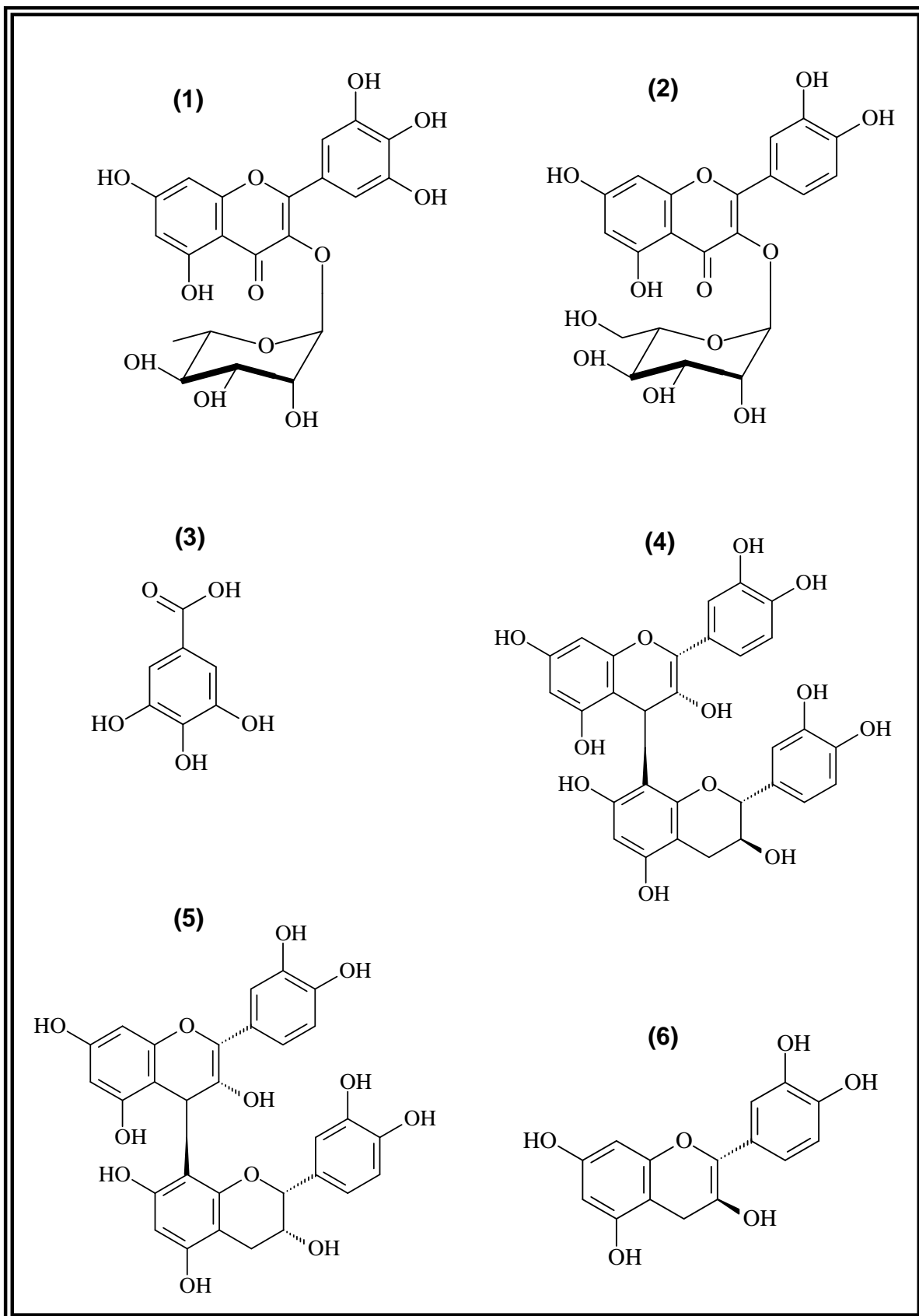
As espécies de *Inga* têm poucos estudos químicos, sendo relatadas na literatura apenas sete espécies nas quais os estudos em folhas permitiram a identificação de flavonoides, incluindo as agliconas, glicosídeos e dímeros, alguns ácidos, aminoácido e seus derivados, conforme mostram a tabela 1 e quadro 1. Em partes madeireiras (caule), a literatura reporta o isolamento de derivados de ácido e glicerol, esteroide e derivado de esteroide (tabela 2, quadro 2), com apenas uma espécie quimicamente estudada. O único estudo no gênero efetuado na raiz de uma espécie permitiu a identificação de 3 flavonoides, incluindo uma auroa (tabela 3, quadro 3).



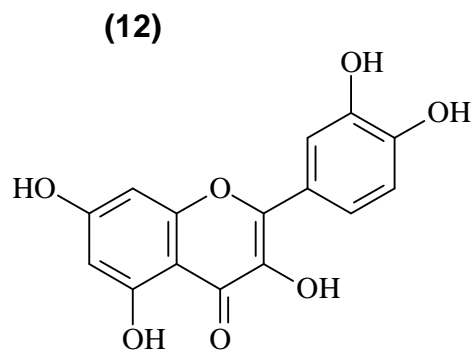
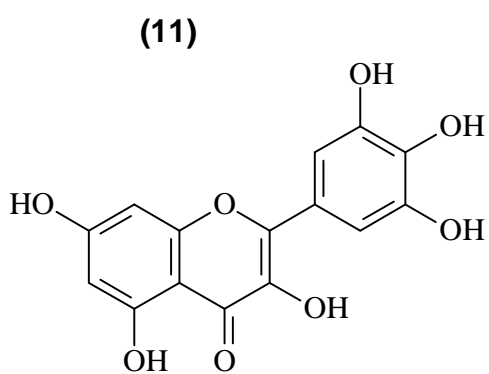
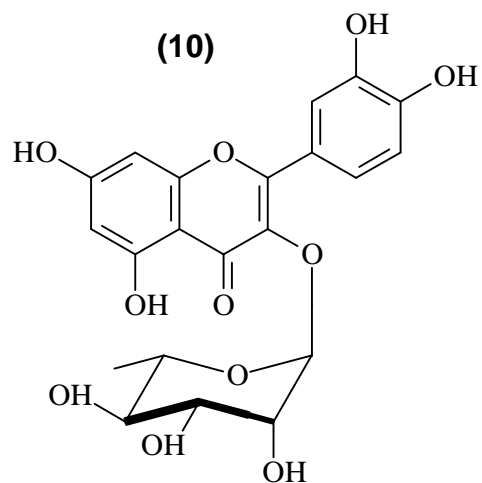
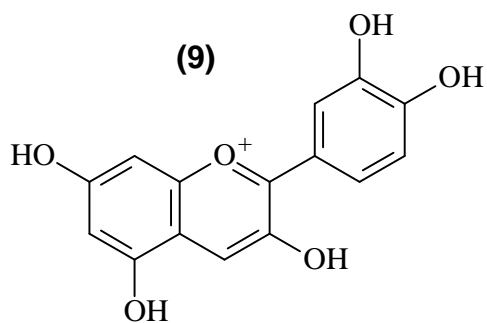
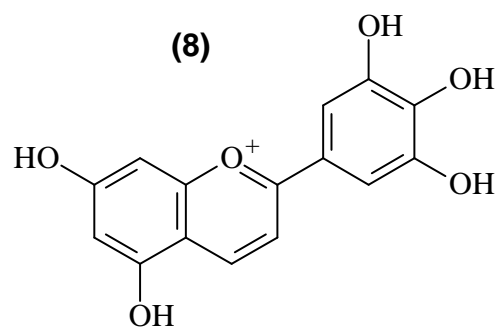
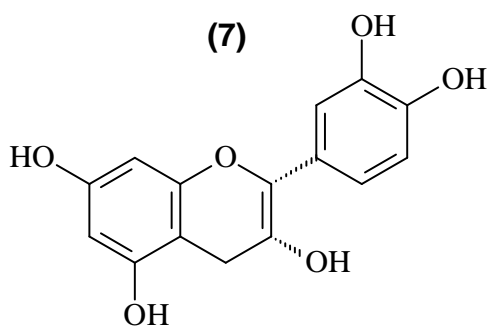
**Tabela 1.** Substâncias identificadas em folhas do Gênero *Inga*

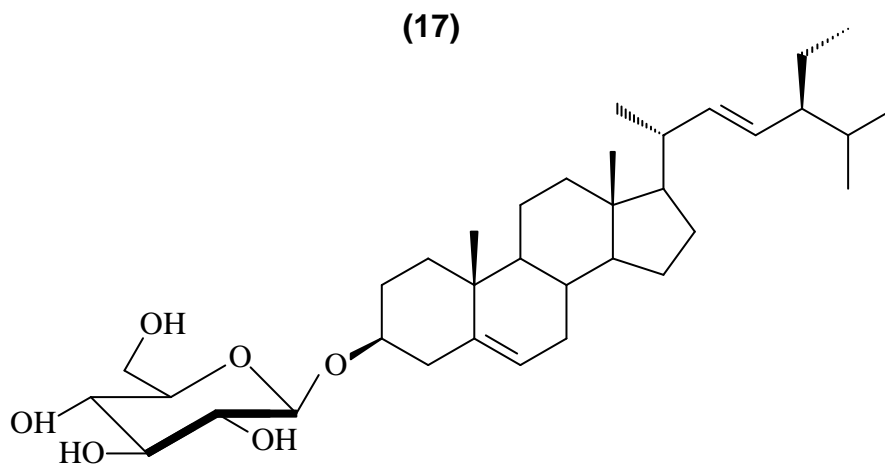
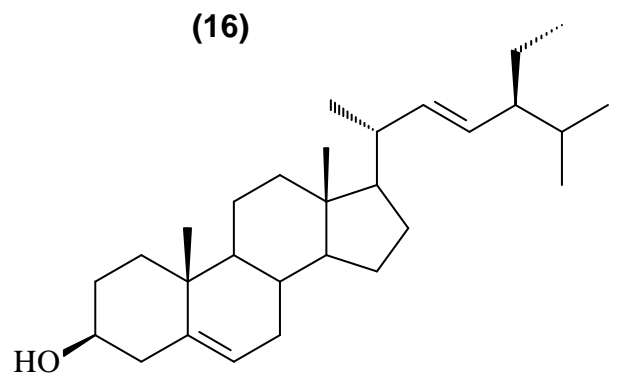
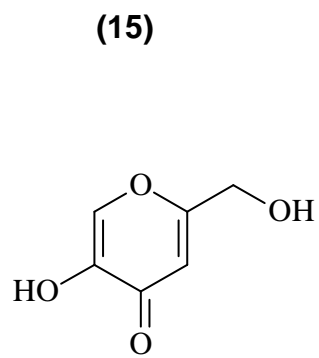
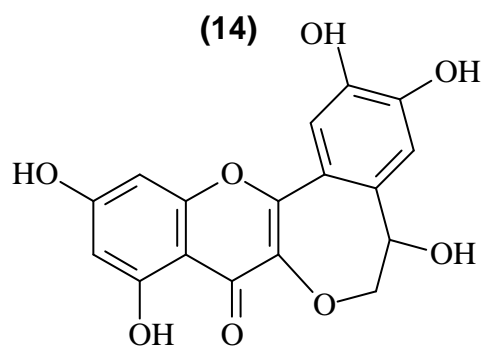
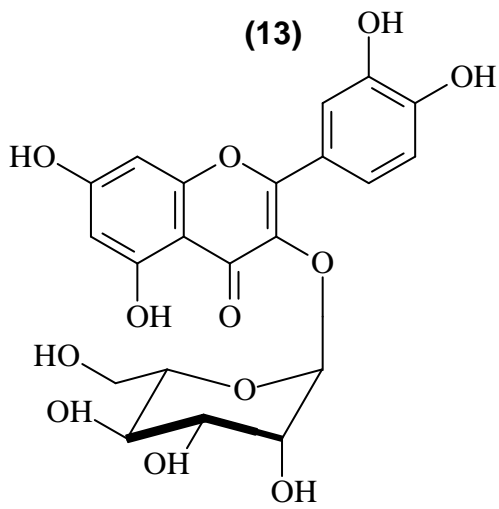
Espécies de ocorrência e substâncias	Referência
<i>Inga edulis</i> Miricetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo (1)	Silva e Rogez (2013) Dias et al. (2010)
Quercetina-3-O- $\alpha$ -L-glicosídeo (2)	Silva e Rogez (2013)
Ácido gálico (3)	Silva e Rogez (2013) Dias et al. (2010) Souza et al. (2007)
Procianidina B1 (4) Procianidina B2 (5)	Dias et al. (2010)
Catequina (6) Epicatequina (7)	Dias et al. (2010) Souza et al. (2007)
Cianidina (8) Delfinidina (9)	Dias et al. (2010)
Quercetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo (10)	Dias et al. (2010) Souza et al. (2007) Tchuenmogne et al. (2013)
Miricetina (11) Quercetina (12)	Dias et al. (2010)
Quercetina-3-O- $\alpha$ -L-glucopiranosídeo (13)	Souza et al. (2007)
Ingacamerounol (14) Ácido kojico (15) Estigmasterol (16) Estigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (17)	Tchuenmogne et al. (2013)
<i>Inga umbellifera</i> Catequina-3-O- $\beta$ -D-glucopirano-D-(2-cinamoil)-piranosídeo (18) Catequina-3-O- $\beta$ -D-glucopirano-D-(6-cinamoil)-piranosídeo (19) Catequina-3-O- $\beta$ -D-glucopirano-(2,6-bis-cinamoil)-piranosídeo (20) Catequina-3-O- $\beta$ -D-glucopirano-(4 $\rightarrow$ 8)-catequina-3-O- $\beta$ -D-glico (2-cinamoil) piranosídeo (21)	Lokvam et al. (2004)
Catequina-3-O- $\beta$ -D-glucopirano-(4 $\rightarrow$ 8)-epicatequina-3-O- $\beta$ -D-glico-(6-cinamoil)-piranosídeo (22)	Lokvam et al. (2004) Coley et al. (2005)
<i>N</i> -metil-4-hidróxiprolina (23)	Coley et al. (2005)

Ácido 5-amino-4-hidroxipentanóico <b>(24)</b>	Coley et al. (2005) Lokvam et al. (2006)
Tirosina <b>(25)</b> Trans-4-hidroxi-N-metil-L-prolina <b>(26)</b>	Coley et al. (2005)
<i>Inga fendleriana</i> Quercetina 3-metiléter <b>(27)</b> Tricetina <b>(28)</b>	Pistelli et al. (2009)
<i>Inga laurina</i> Galoiltirosina <b>(29)</b> Digaloiltirosina <b>(30)</b> Trigaloiltirosina <b>(31)</b>	Lokvam et al. (2007)
<i>Inga punctata / Inga goldmanii</i> Ácido <i>trans</i> -4-hidroxipecólico <b>(32)</b>	Stevenson et al. (1997) Coley et al. (2005)
<i>Inga punctata</i> Ácido <i>cis</i> -5-hidroxipecólico <b>(33)</b>	Stevenson et al. (1997)
<i>Inga paterno</i> Ácido <i>trans</i> -4-metóxi pipecólico <b>(34)</b>	Morton et al. (1991)
<i>Inga goldmanii</i> Ácido 4,5 dihidroxipecólico <b>(35)</b> Epicatequina-4 $\beta$ $\rightarrow$ 8-catequina-4 $\alpha$ $\rightarrow$ 8-epicatequina <b>(36)</b>	Coley et al. (2005)

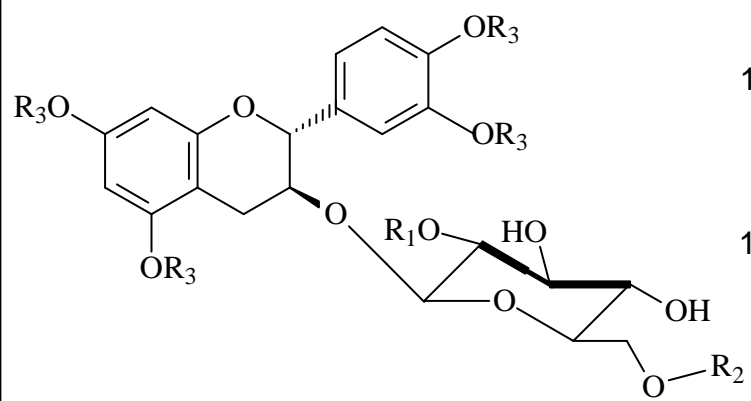


**Quadro 1.** Substâncias identificadas em folhas do gênero *Inga*



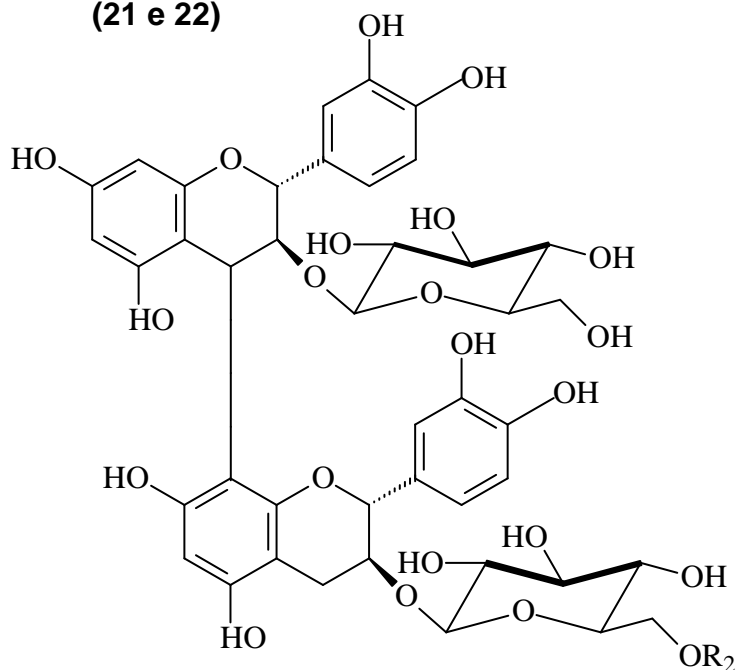


(18,19 e 20)



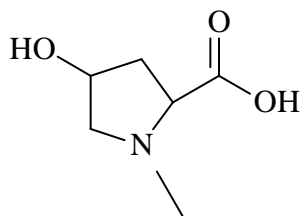
	R1	R2	R3
18	H		H
19		H	H
20			H

(21 e 22)

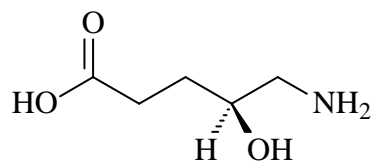


	R1	R2
21		H
22	H	

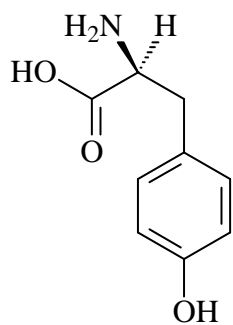
(23)



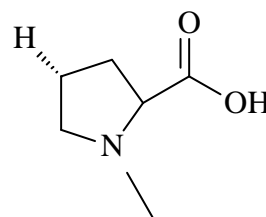
(24)



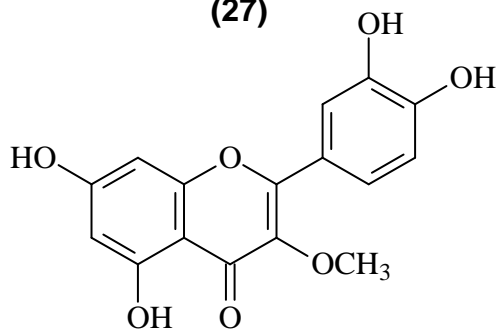
(25)



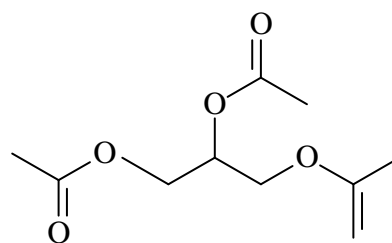
(26)



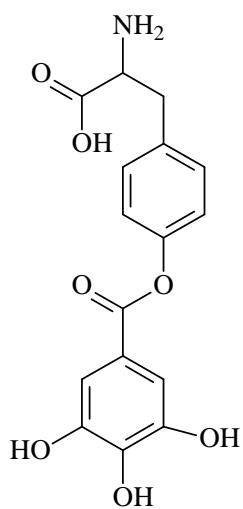
(27)



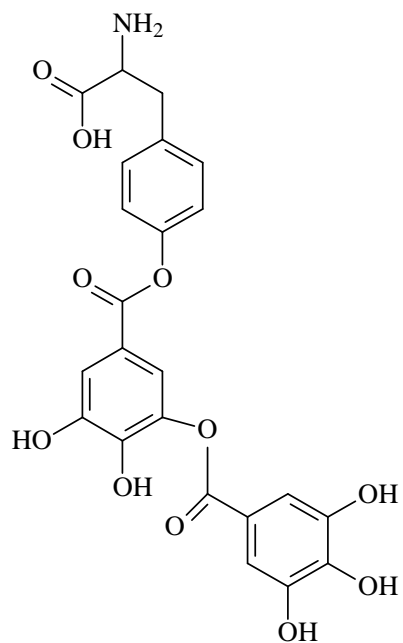
(28)



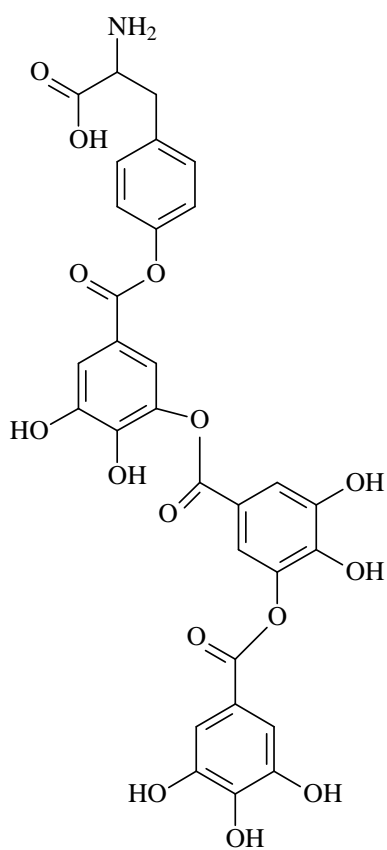
**(29)**



**(30)**

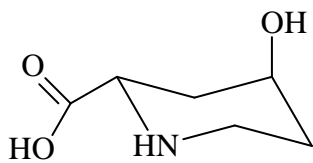


**(31)**

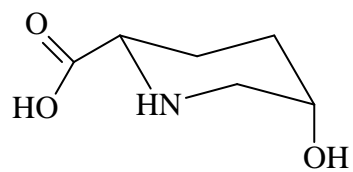




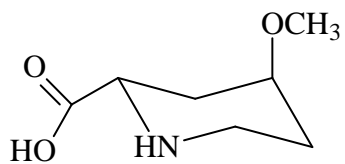
(32)



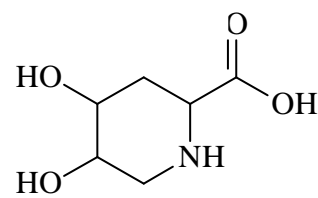
(33)



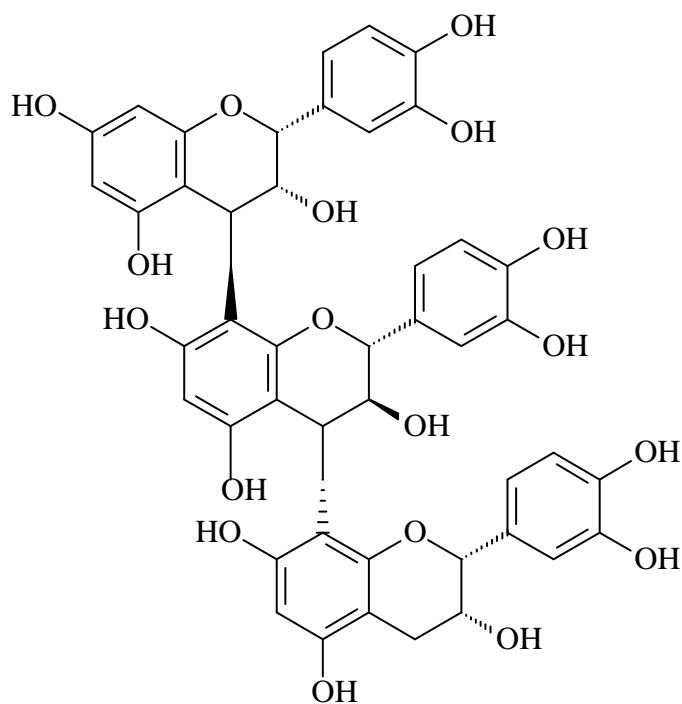
(34)



(35)

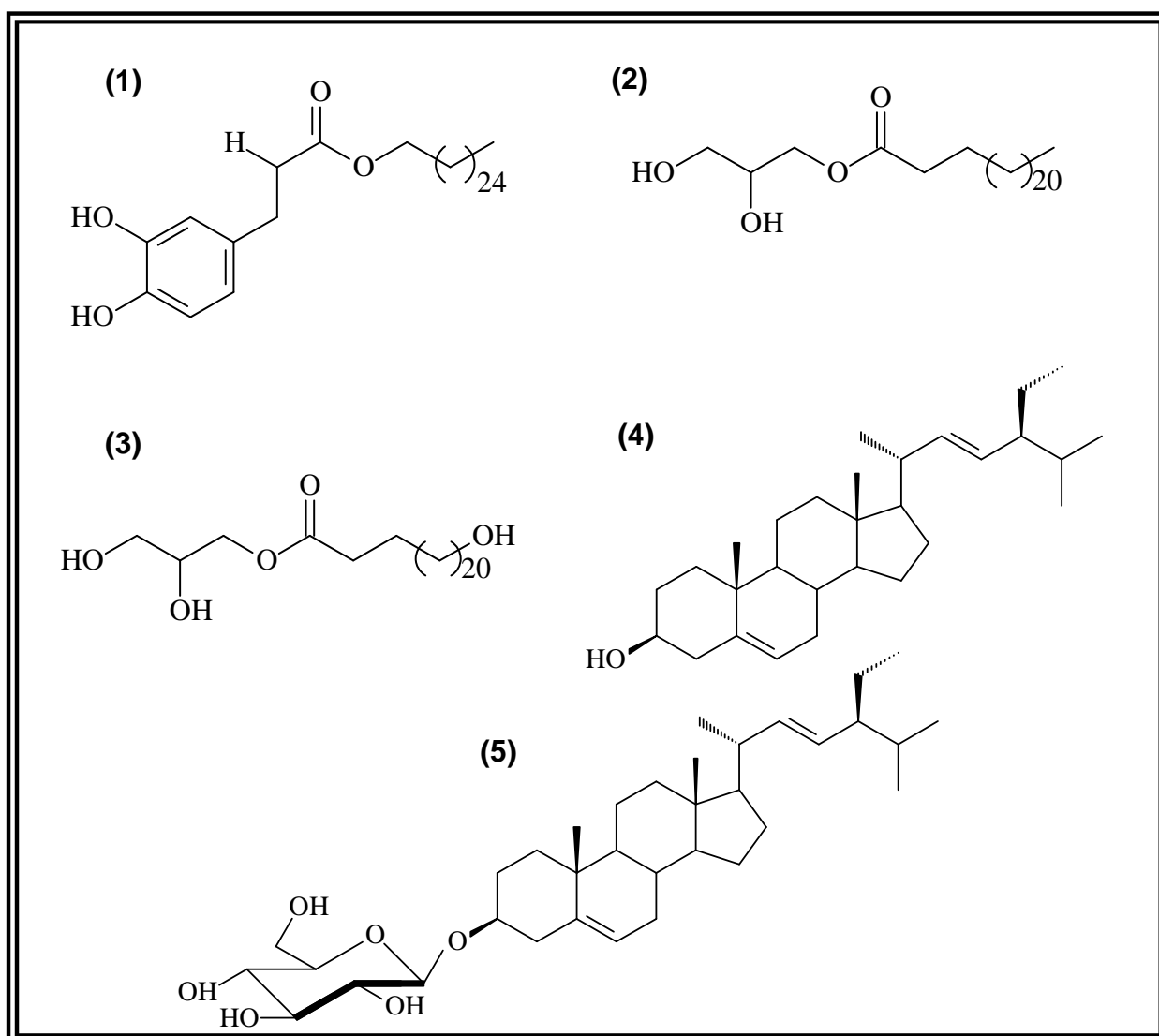


(36)



**Tabela 2.** Substâncias identificadas em caule de espécies do gênero *Inga*.

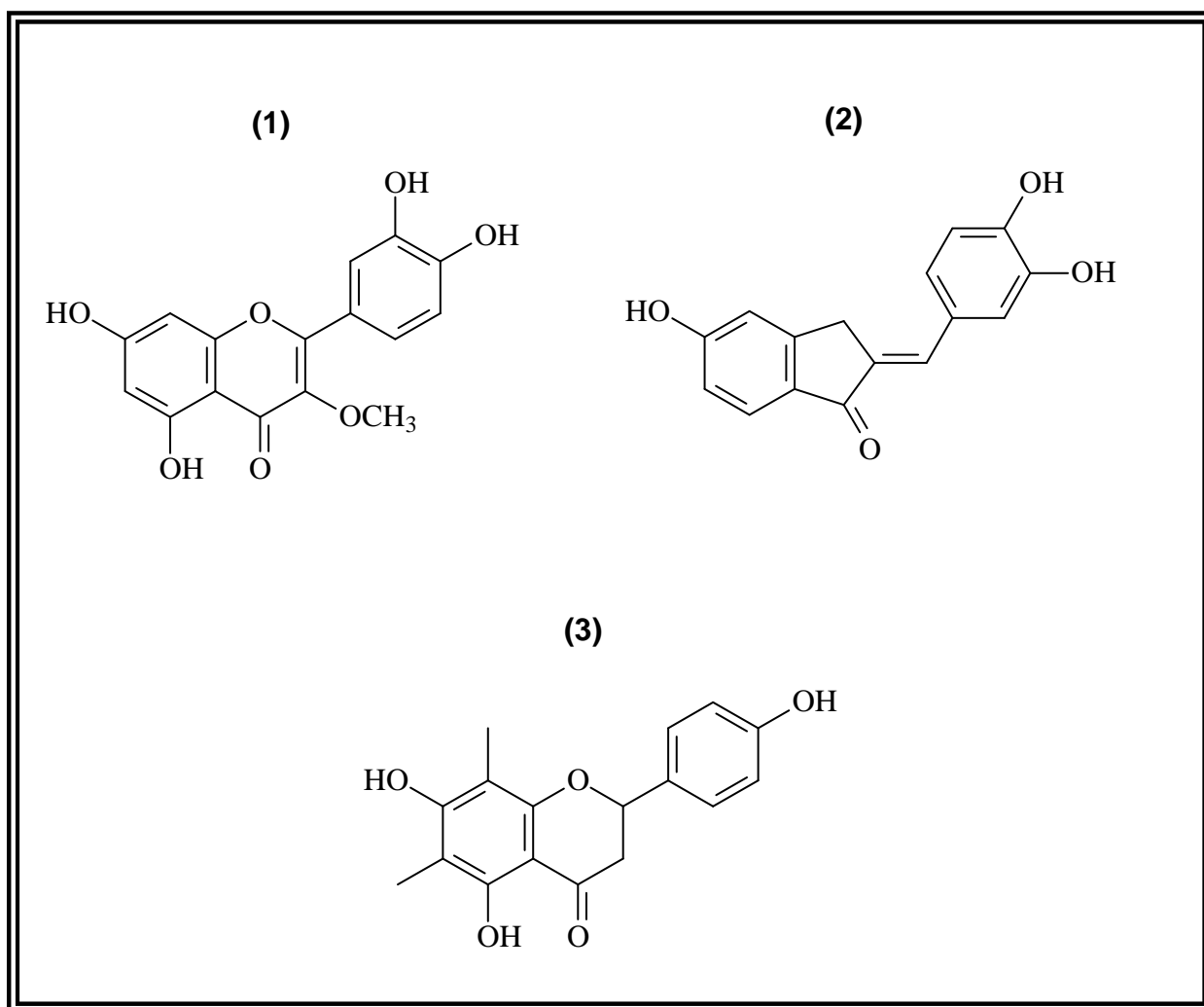
Espécie de ocorrência e substâncias	Referência
<p style="text-align: center;"><b><i>Inga edulis</i></b></p> <p>Cafeato hexacosanil (1)</p> <p>Glicerol 1-tetracosanoil (2)</p> <p>Glicerol 1-(24-hidróxitetracosanoil) (3)</p> <p>Estigmasterol (4)</p> <p>Estigmasterol 3-O-β-D-glucopiranosídeo (5)</p>	<p>Tchuenmogne et al. (2013)</p>



**Quadro 2.** Substâncias identificadas em caule de espécies do gênero *Inga*.

**Tabela 3.** Substâncias identificadas em raízes de espécies do gênero *Inga*.

Espécie de ocorrência e substâncias	Referência
<i>Inga edulis</i> 5,7,3',4'-tetrahidroxi-3-metoxiflavona (1) 6,3',4'-tri-hidroxi-aurona (2) 5,7,4'-trihidroxi-6,8-dimetilflavanona (3)	Correa et al. (1995)



**Quadro 3.** Substâncias identificadas em raízes de espécies do gênero *Inga*.

### **1.6. As espécies *Inga alba* Willd. e *Inga paraensis* Ducke**

*Inga alba* (figura 4) é relatada na literatura como uma árvore que cresce até os 13 m de altura (Souza et al., 2011), possuindo 11 sinônimas botânicas (Tropicos, 2015; lista 2), com alto valor comercial agregado à sua madeira (Alvino et al., 2005). Ribeiro & Colaboradores (2013) relatam que os usos mais comuns para esta espécie estão na alimentação, por meio dos seus frutos, na indústria madeireira, através das serrarias e nas carvoarias. Fonseca & Colaboradores (2005) enfatizaram a utilização da madeira de *Inga alba* na geração de energia e na produção de papel.

Apesar do intenso uso da madeira desta espécie para os mais diversos fins, são recentes os estudos que justificam a sua utilização. Trianoski & Colaboradores (2015) comprovaram o potencial da sua madeira na fabricação de painéis aglomerados (MDP), estando apta para adentrar no mercado moveleiro.

A literatura não reporta estudos químicos na espécie, estando, neste trabalho, os primeiros relatos de substâncias químicas feitos à mesma.

*Inga paraensis* Ducke (figura 5), por sua vez, conta com apenas uma sinônimo botânica, *Inga oerstediana* Benth. (Tropicos, 2015), e também encontra usos na alimentação, devido aos seus frutos, nas serrarias, construção civil (Ribeiro et al., 2013) e nas carvoarias (Alvino et al., 2005). Estudos recentes comprovaram o potencial que a madeira da espécie possui para ser inserida no mercado moveleiro, através de painéis aglomerados MDP (Trianoski et al., 2015). Não há, na literatura, relatos sobre os seus constituintes químicos, sendo este estudo o pioneiro com relação à química da espécie.



Fonte: <http://selosdefruta.blogspot.com>

**Figura 4.** *Inga alba* e seus frutos

**Lista 2.** Sinonímias botânicas de *Inga alba*.

---

*Feuilleea aggregata* (G. Don) Kuntze

*Feuilleea alba* (Sw.) Kuntze

*Inga aggregata* G. Don

*Inga altissima* Ducke

*Inga carachensis* Pittier

*Inga fraxinea* Willd.

*Inga parviflora* Sagot ex Benth.

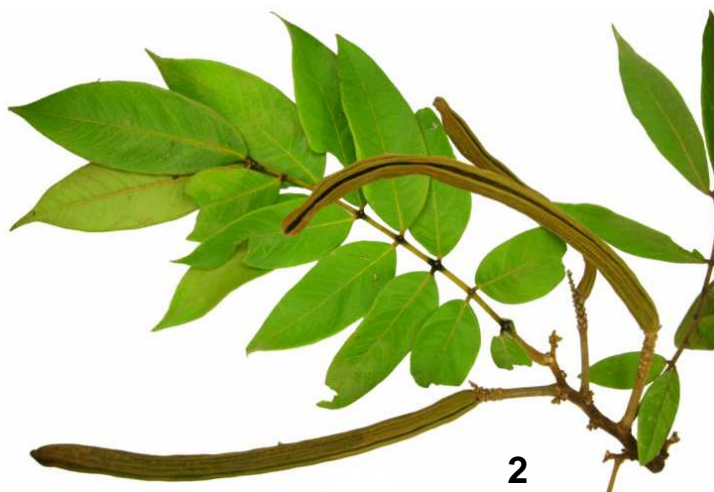
*Inga spruceana* Benth.

*Inga thyrsoides* Desv.

*Mimosa alba* Sw.

*Mimosa fraxinea* Poir.

---



Fonte (1) :[http://pdbff.inpa.gov.br/cursos/efa/livro/2009/pdf/km41/carine\\_apresent\\_final.pdf](http://pdbff.inpa.gov.br/cursos/efa/livro/2009/pdf/km41/carine_apresent_final.pdf)

Fonte (2): <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Inga+oerstediana>

**Figura 5.** *Inga paraensis* e seus frutos

Assim, este projeto, realizado em parceria com a Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA (ZF-2) no âmbito do Projeto INCT - Madeiras da Amazônia, que vem catalogando diversas espécies em área de manejo, visa os estudos fitoquímicos das espécies catalogadas *Inga alba* e *Inga paraensis*, que, devido à escassez de estudos químicos, torna promissora a busca dos seus perfis quanto aos metabólitos secundários, a fim de agregar valores e conhecimento às espécies e ao gênero.

## **2. OBJETIVOS**

---

## 2.1 Geral

- ✓ Realizar o estudo químico dos resíduos madeireiros *Inga alba* e *I. paraensis* (Fabaceae).

## 2.2 Específicos

- ✓ Realizar os fracionamentos cromatográficos dos extratos para isolamento de substâncias;
- ✓ Identificar e/ou elucidar as estruturas das substâncias isoladas;
- ✓ Contribuir para o conhecimento químico dos resíduos madeireiros das espécies *Inga alba* e *Inga paraensis*.



### **3. EXPERIMENTAL**

---

### 3.1. Materiais utilizados

**Cromatografia em Camada Delgada (CCD)** - Foram utilizadas cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60 (Merck), com indicador de fluorescência  $F_{254}$ , e sílica gel C-18 (Merck), quando análise em fase reversa.

**Reveladores para a CCD** - Os reveladores empregados foram as radiações ultravioleta (254 e 365 nm), vanilina sulfúrica, NP-PEG (difetilboriloxietilamina 1,0% em metanol, seguida de solução de polietilenoglicol 4000 5,0% em etanol), vapores de amônia e iodo ressublimado.

**Cromatografia em Coluna (CC)** – Na cromatografia em coluna, foram utilizadas colunas de vidro de diversos tamanhos. A escolha da coluna dependia das quantidades de amostras a serem fracionadas.

**Fases estacionárias para Cromatografia em Coluna** – As fases estacionárias utilizadas foram Sílica gel 60 (70-230 mesh e 230-400 mesh) da Merck e Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich) e Celulose Microcristalina (Merck)

**Fases estacionárias usadas nos cartuchos Hysphere:** Hysphere<sup>TM</sup> – resin *General Phase*, 10 mm x 2 mm, 10  $\mu$ m, fase estacionária de polidivinilbenzeno;

**Solventes** – Nos procedimentos cromatográficos, utilizaram-se solventes comerciais (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) destilados no LQPN-INPA e, para a obtenção dos espectros de RMN, foram empregados solventes deuterados (Sigma-Aldrich)

### 3.2. Equipamentos

**Evaporador Rotativo** – Buchi, modelo R-3, equipado com banho Marconi MA 184.

**Balança Analítica** – Tecnal, modelo B TEC, com capacidade até 210g.

**Chapa de Aquecimento** – Fisatom, modelo 753 A.

**Marcro Moinho** (tipo Willey) – Marconi, modelo MA-340.

**Equipamento acoplado CLAE-EFS** – Localizado na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), este equipamento é constituído de um cromatógrafo Agilent (1200 series), que é acoplado a uma unidade Prospekt 2. O sistema de HPLC é constituído por:

- Bomba quaternária (*Agilent Pump Control*, Bruker, Daltonik GmbH©, G 1311A), degaseificador (G 1322A);
- Detetctor de arranjo de diodos com variável comprimento de onda (*DAD Diode Array Detector Control*, G 1315D); e
- Amostrador automático (*LC Autosampler Control*, Bruker Daltonik GmbH©, G 1329A).

**Unidade Prospekt 2** – Esta unidade é constituída por:

- Bomba extra (K120 Knauer Smartline Pump Control 100, Bruker Daltonik GmbH©, V01.11);
- Organizador, onde são alocados os frascos com solventes deuterados e não deuterados usados nos cartuchos de extração em fase sólida;
- Unidade trocadora automática de cartuchos (*ACE – Automatic Cartridges Exchanger* - LC-SPE-NMR Interface, Prospekt 2, Bruker Biospin GmbH©);
- Unidade de *Stopped-Flow* (BSFU-HP- *Bruker Stopped Flow Unit – High Performance* Bruker Biospin GmbH©); e
- Válvulas VALCO.

As análises na CLAE-EFS foram realizadas pelo Dr. Sérgio Scherrer Tomasi, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

**Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear** - Os espectros de RMN foram obtidos a partir de um equipamento Bruker Avance III – 14,1 Tesla (600,23 MHz para obtenção de espectros de hidrogênio) com um magneto blindado (*Ultrashield Plus*®). A sonda do equipamento é criogênica TCI (*Triple Resonance Cryoprobe Inverse*), de 5 mm, bobinas para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , com pré-amplificador refrigerados a uma temperatura de  $\sim 77$  K. Por fim, a sonda possui bobina de gradiente de campo no eixo Z e unidade de ajuste automático de sintonia - ATMA® (*Automatic Tuning e Matching*). As análises em RMN foram efetuadas na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pelos doutores Antônio Gilberto Ferreira e Sérgio Scherrer Tomasi.

### 3.3. Obtenção dos resíduos madeireiros

Os resíduos madeireiros, pedaços de madeira (figura 6), de *Inga paraensis* e *I. alba* foram fornecidos pelo Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) do INPA. A identificação das espécies foi realizada com base na Xiloteca do LTM, tendo como responsável Jorge Alve de Freitas, anatomista de madeiras.

Após a obtenção dos resíduos foi realizada a trituração do material, em moinho do tipo 4 facas, descrito no item “equipamentos”.



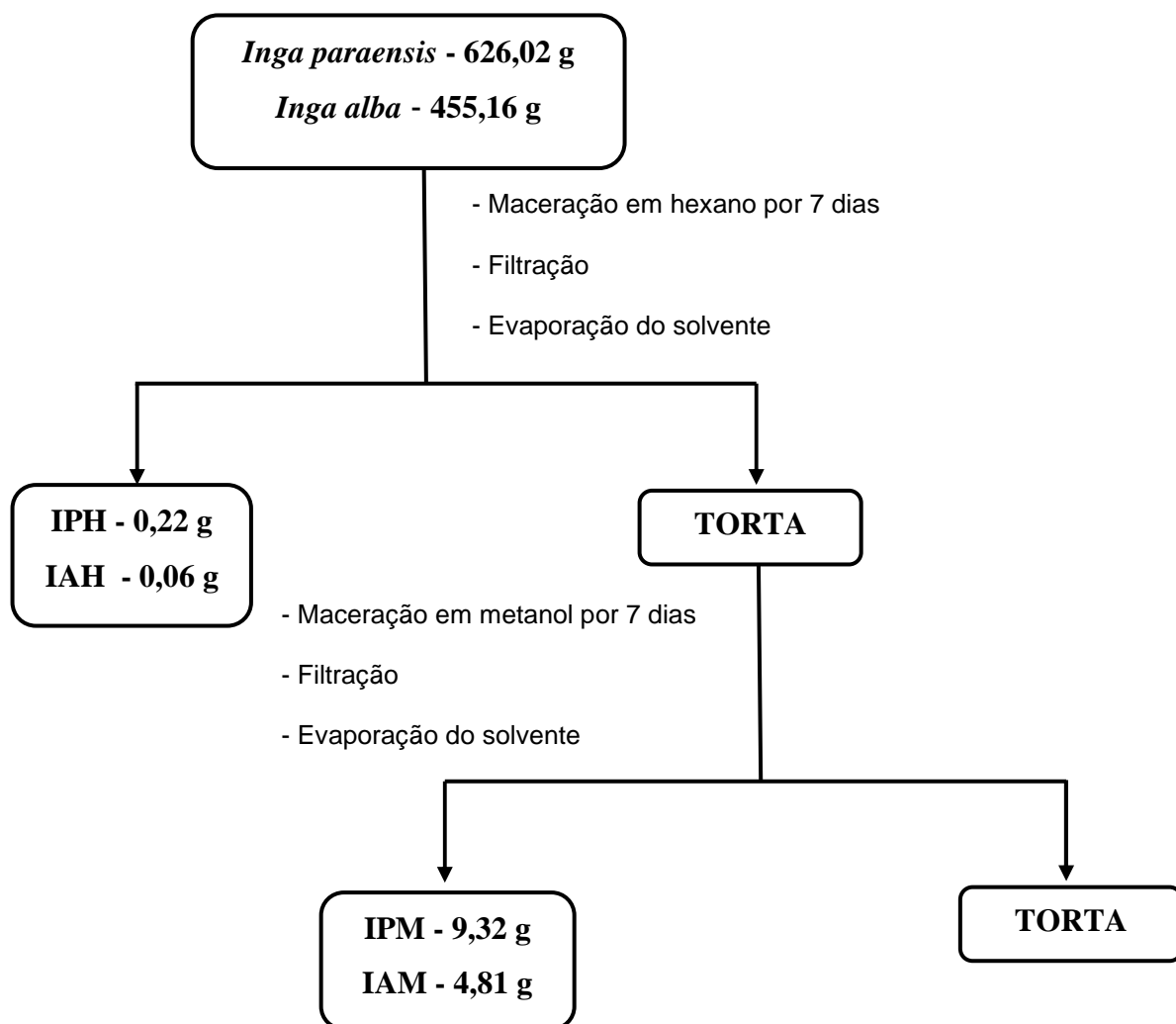
Fonte: arquivo pessoal

**Figura 6.** Resíduos madeireiros fornecidos pelo LTM-INPA

### **3.4. Preparação dos extratos brutos de *Inga paraensis* e *I. alba* e análise prévia por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)**

A extração dos materiais foi realizada através da maceração a frio em frasco tipo mariote, com sucessivas extrações em hexano e metanol, durante 7 dias em cada solvente. Após a filtração das soluções resultantes, foi realizada a concentração das mesmas em evaporador rotativo, sendo obtidos os extratos brutos, de acordo com o esquema 1. A torta, após ser submetida às extrações em hexano e metanol, foi descartada.

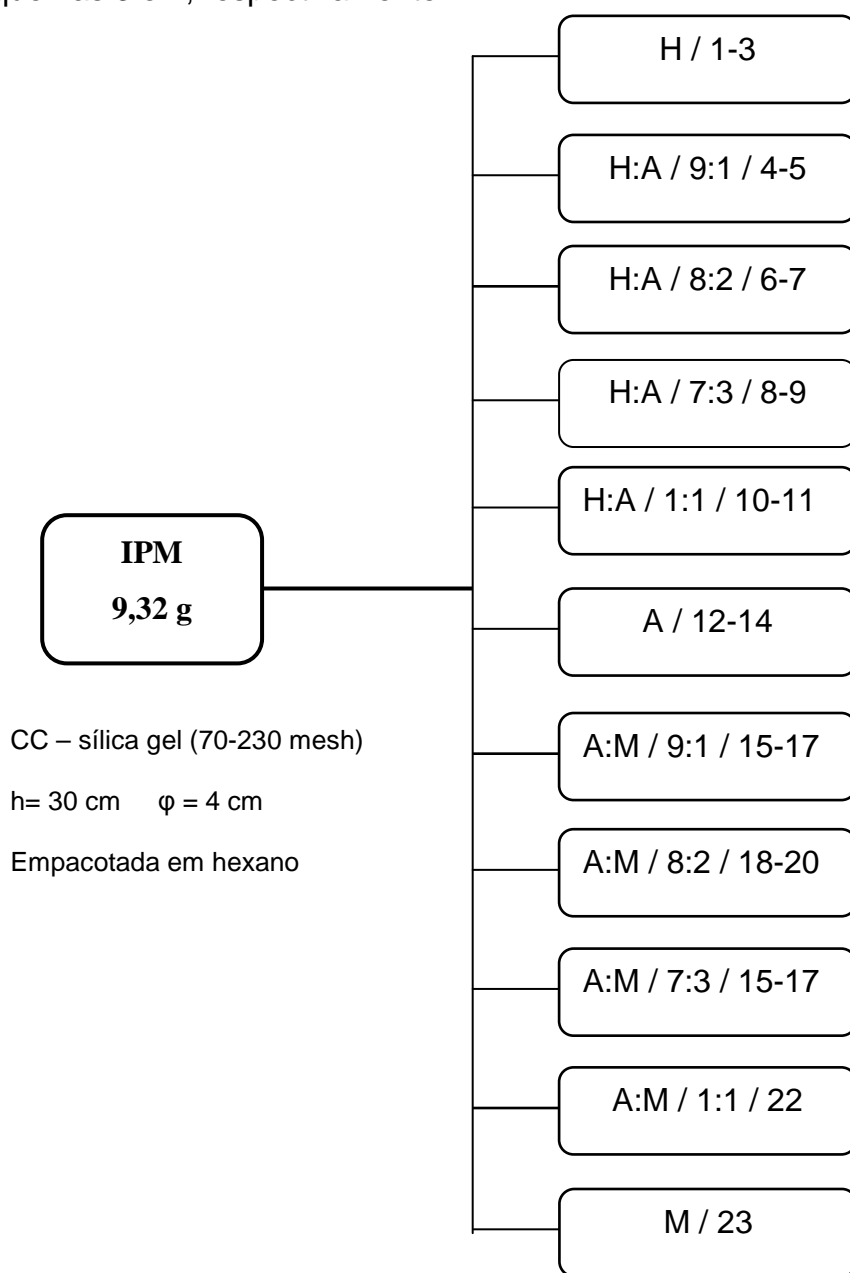
O extrato hexânico de *I. alba* (IAH) apresentou baixo rendimento e o extrato de *I. paraensis* (IPH) mostrou predominância de  $\beta$ -sitosterol quando analisado em CCD com amostra padrão. Assim, os extratos metanólicos das duas espécies foram submetidas a fracionamentos cromatográficos por mostrarem ser promissores nas análises em CCD.



**Esquema 1.** Obtenção dos extratos dos resíduos de *Inga paraensis* e *I. alba*

### 3.5. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de *Inga paraensis* (IPM)

O extrato metanólico (IPM) foi submetido a um fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel do tipo filtrante (70-230 mesh), eluída em hexano, gradientes de hexano:acetato de etila, acetato de etila e metanol, de acordo com o esquema 2. Após a análise em CCD, as frações foram reunidas, pesadas e codificadas (tabela 3), optando-se por trabalhar as frações promissoras IPM 6 e IPM 17, esquemas 3 e 4, respectivamente.



Legenda: A- Acetato de etila; H – Hexano; M - Metanol

**Esquema 2.** Fracionamento do cromatográfico de IPM

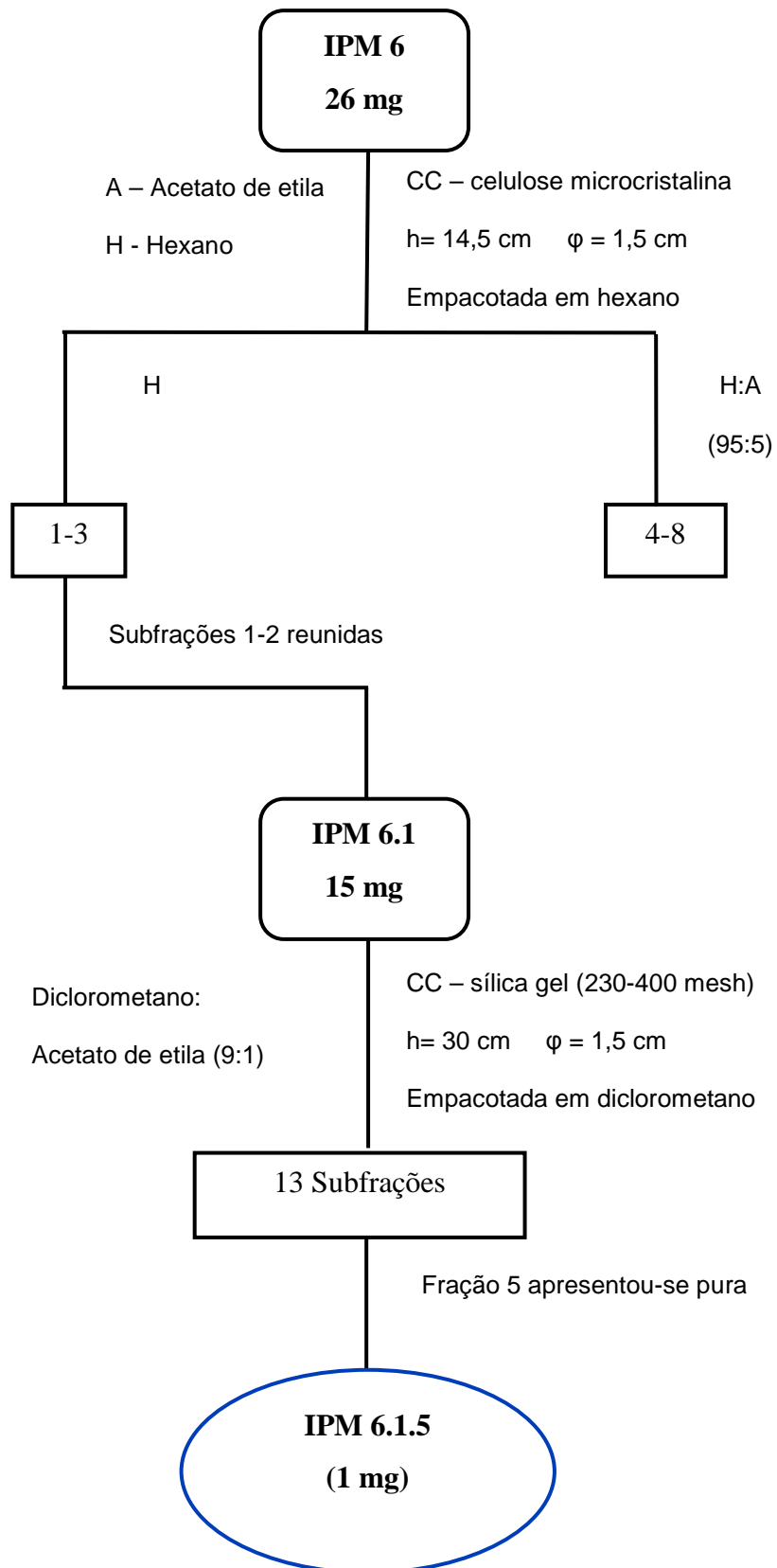


**Tabela 4.** Reunião das frações obtidas de IPM

<b>Frações Reunidas</b>	<b>Códigos</b>	<b>Massa</b>
1-5	IPM 1	-
6-8	IPM 6	26 mg
9-11	IPM 9	81 mg
12-16	IPM 12	139 mg
17-20	IPM 17	581 mg
21-23	IPM 21	5,23 g

### 3.5.1. Fracionamento cromatográfico de IPM 6

A fração IPM 6 (26 mg) foi submetida a coluna de celulose microcristalina, eluída em hexano e gradiente de hexano:acetato de etila (95:5), gerando 8 frações (esquema 3). Após análise em CCD, as frações foram reunidas e codificadas (tabela 4), optando-se por fracionar as subfrações 1-2 (IPM 6.1) em coluna de sílica gel (230-400 mesh) em sistema isocrático de hexano:acetato de etila (9:1), gerando 13 subfrações (esquema 3) das quais a subfração 5 apresentou-se purificada após avaliação em CCD, sendo codificada como **IPM 6.1.5** (1 mg) e analisada por RMN.



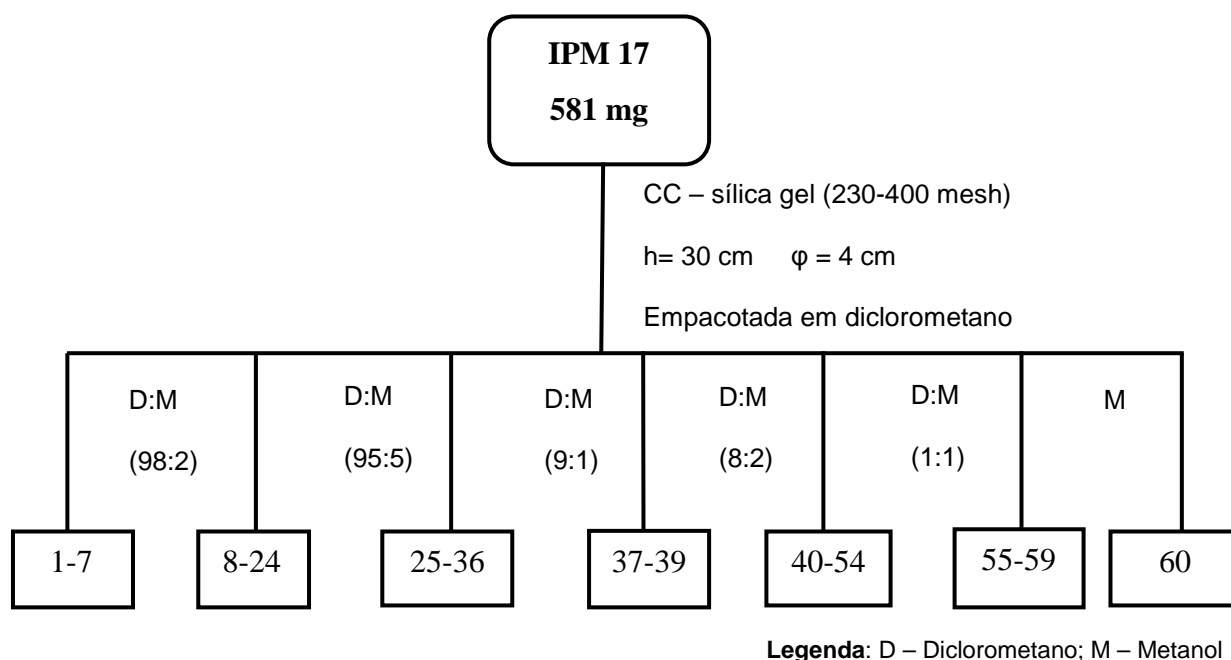
**Esquema 3.** Fracionamento do cromatográfico de IPM 6, IPM 6.1 e obtenção de **IPM 6.1.5**

**Tabela 5.** Reunião das frações obtidas de IPM 6

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1-2	IPM 6.1	15
3-8	IPM 6.3	10

### 3.5.2. Fracionamento cromatográfico de IPM 17

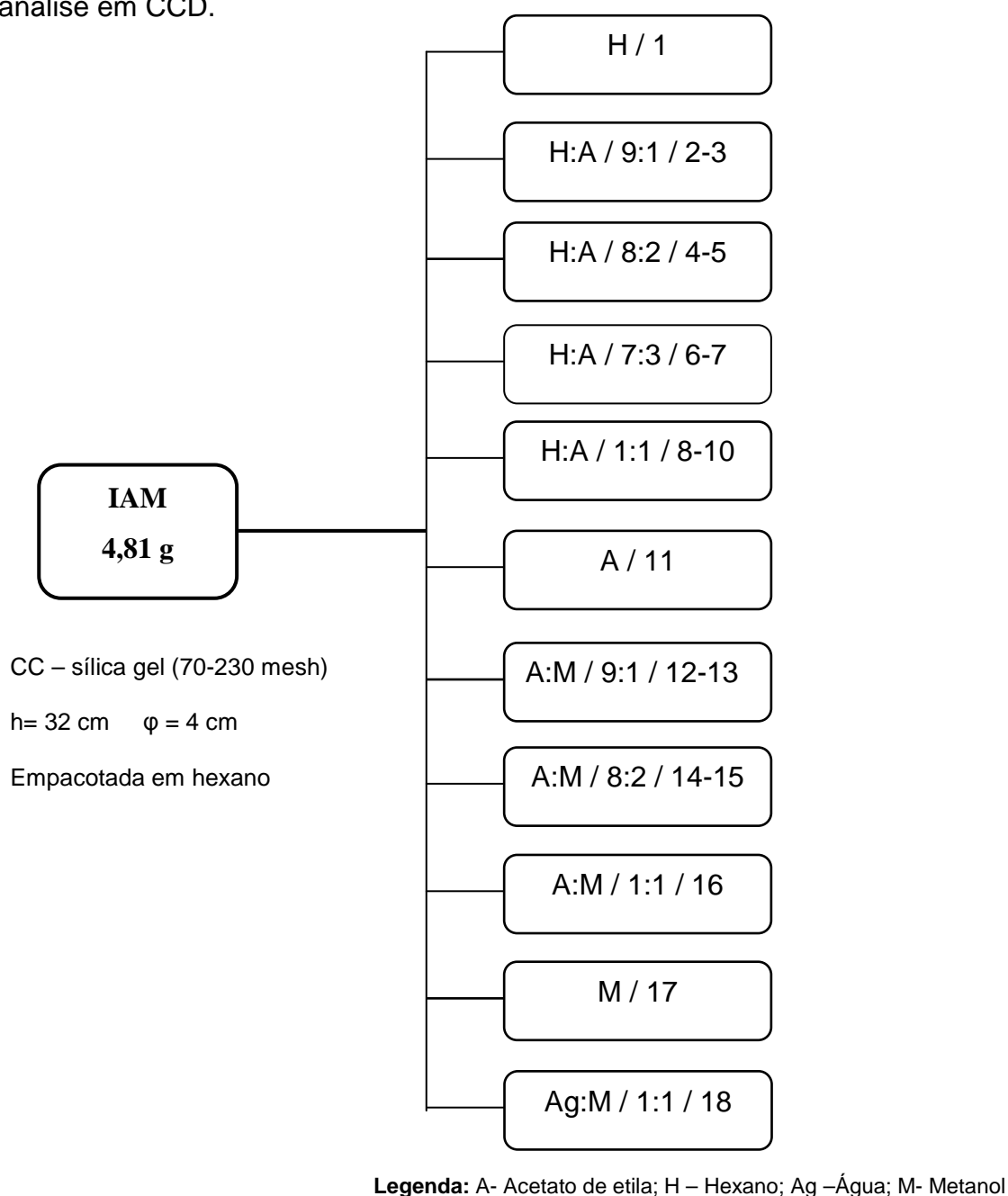
A fração IPM 17, após coluna de sílica gel eluída em diclorometano, gradientes diclorometano:metanol e metanol, originou 60 subfrações (esquema 4) que foram analisadas e reunidas baseadas em CCD. Dessas, a subfração **IPM 17.6** (1 mg) apresentou-se isolada, sendo enviada para RMN



**Esquema 4.** Fracionamento cromatográfico de IPM 17

### 3.6. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de *Inga alba* (IAM)

O extrato metanólico de *Inga alba* (IAM) foi submetido a uma coluna de sílica gel (70-230 mesh), tipo filtrante, eluída com hexano, gradientes de hexano:acetato de etila, acetato de etila, gradientes de acetato de etila:metanol, metanol e finalizada com gradiente de metanol:água, de acordo com o esquema 6. O fracionamento de IAM forneceu 18 frações que foram reunidas, pesadas e codificadas (tabela 6) após a análise em CCD.



**Esquema 5.** Fracionamento do cromatográfico de IAM

**Tabela 6.** Reunião das frações obtidas de IAM

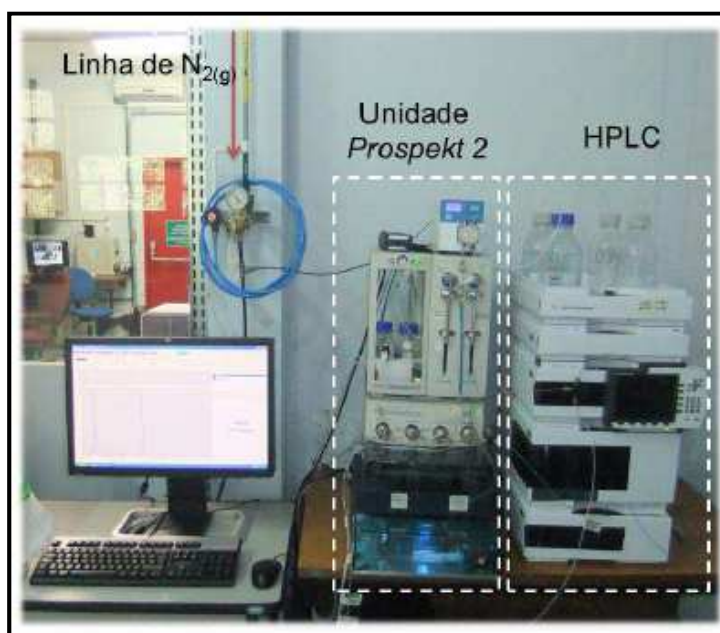
<b>Frações Reunidas</b>	<b>Códigos</b>	<b>Massa (mg)</b>
1-2	IAM 1	--
3-4	IAM 3	14
5	IAM 5	10
6-7	IAM 6	69
8-11	IAM 8	64
12	IAM 12	42
13	IAM 13	73
14-16	IAM 14	376
17	IAM 17	421
18	IAM 18	Não liofilizada

Das frações obtidas no esquema 5, forneceram substâncias isoladas a reunião de 12 (IAM 12) e 13 (IAM 13) conforme os procedimentos descritos a seguir.

### 3.6.1. Fracionamento cromatográfico de IAM 12

A fração IAM 12 (42 mg) foi submetida a uma coluna de Sephadex LH-20, eluída em metanol, gerando 18 subfrações (esquema 6) reunidas por CCD, pesadas e codificadas, conforme mostra a tabela 7. Após a reunião, a fração 12-15 (**IAM 12.12-15**) apresentou-se promissora em CCD, do tipo fase reversa em sistema metanol:água (7:3), para ser analisadas em CLAE-EFS/RMN.

A técnica hifenada Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Extrator de Fase Sólida utilizando a Ressonância Magnética Nuclear como detector adquiriu uma enorme importância nos últimos anos, devido ao fato de que os extratos brutos contêm, geralmente, um número grande de substâncias biologicamente ativas e de difícil separação. A técnica vem auxiliar no trabalho de isolamento e identificação/elucidação destes compostos, sendo um procedimento rápido e simples (Tomasi, 2014). O equipamento utilizado neste trabalho é representado na figura 7

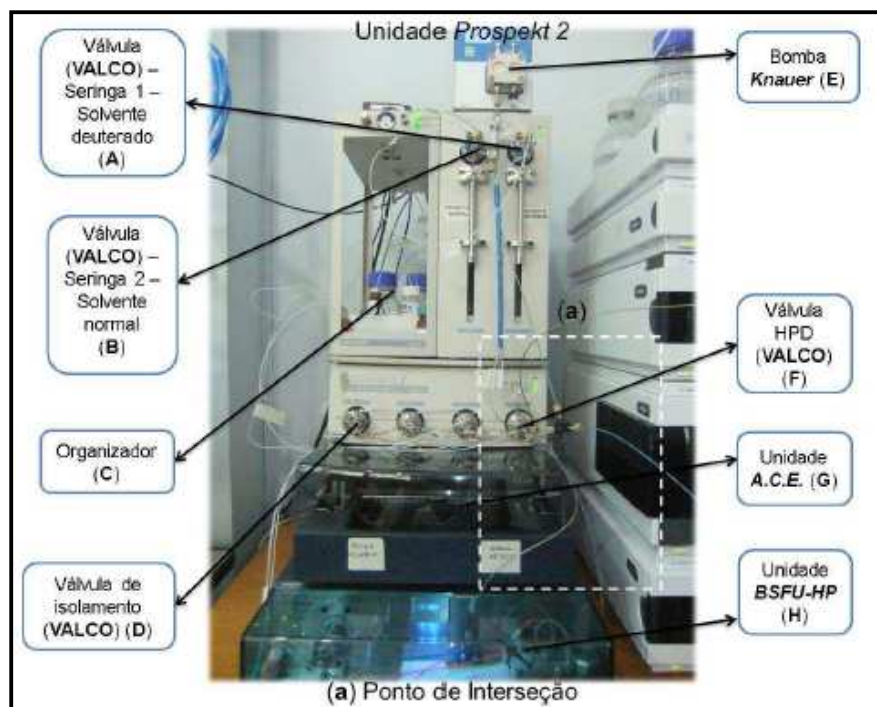


Fonte: Tomasi, 2014

**Figura 7.** Sistema CLAE-EFS do Departamento de Química da UFSCar

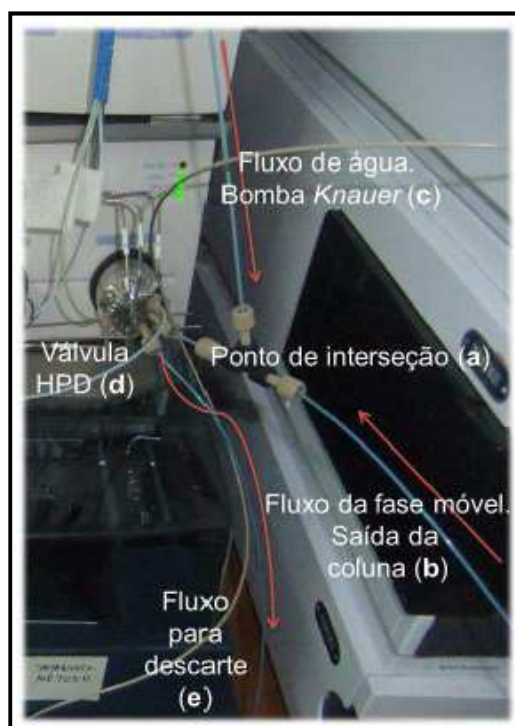
Quanto ao funcionamento da Unidade Prospekt 2 (figura 8), a válvula A controla a seringa 1, que injeta o solvente não deuterado nos cartuchos quando das etapas de condicionamento e equilíbrio. A válvula B, que controla a seringa 2, injeta o solvente deuterado, caso conecte o equipamento com o espectrômetro de RMN, por exemplo. A área tracejada na figura 8 contém o 'ponto de intersecção' (assinalado pela letra 'a') (figura 9), onde de fato ocorre a adsorção dos compostos de interesse nos cartuchos (Tomasi, 2014).

No ponto de intersecção (figura 9), enquanto não houver compostos de interesse que saem do fluxo que sai da coluna cromatográfica (**b**), a válvula HPD (**d**) é acionada e direciona o fluxo para o descarte (**e**). Quando há compostos de interesse que estão saindo da coluna cromatográfica, a válvula HPD desvia o fluxo na direção dos cartuchos de EFS e também aciona a bomba *Knauer* (**c**). A bomba *Knauer* aumenta a quantidade de água na fase móvel, na proporção de 3:1, fazendo com que haja diminuição de força da eluição, ocasionando maior retenção dos compostos nas fases estacionárias dos cartuchos de EFS (Tomasi, 2014).



Fonte: Tomasi, 2014

**Figura 8.** Unidade Prospekt 2



Fonte: Tomasi, 2014

**Figura 9.** Ponto de Intersecção

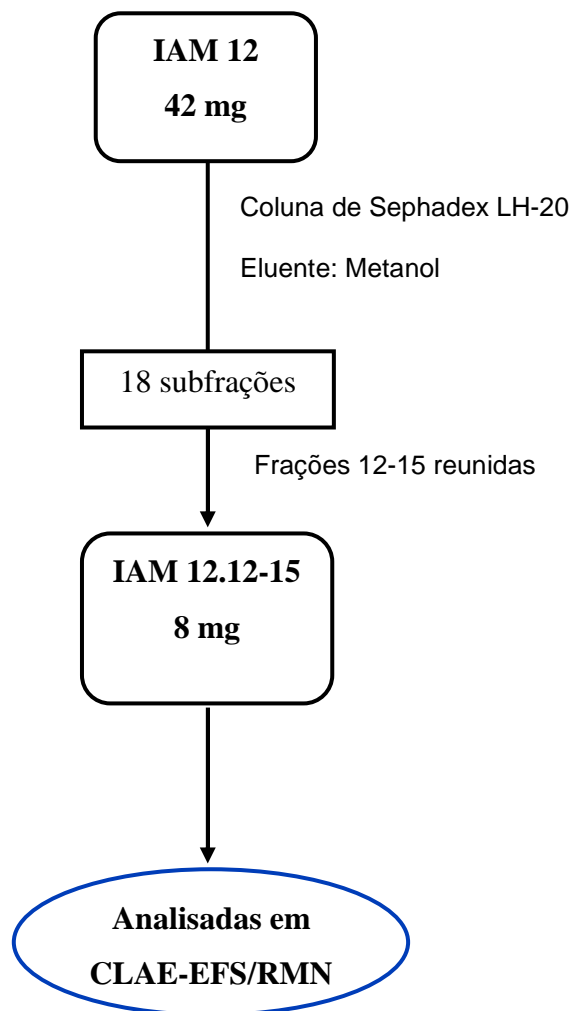


A unidade trocadora automática de cartuchos ACE (*Automatic Cartridges Exchanger* - LC-SPE-NMR Interface, Propesket 2, Bruker Biospin GmbH©) é a parte do sistema que controla a extração por fase sólida, que é equipada com duas linhas de fluxo onde os cartuchos são posicionados, um braço mecânico (*Gripper*) cuja função é transportar os cartuchos para as linhas de fluxo e para as bandejas. A figura 10 mostra o momento em que o *Gripper* vai até a bandeja de cartuchos, retira um deles e o transporta para a linha de fluxo, na qual a fase móvel irá passar (Tomasi, 2014).



Fonte: Tomasi, 2014

**Figura 10.** Operação do *Gripper*



**Esquema 6.** Fracionamento de IAM 12 e obtenção de **IAM 12.12-15**

**Tabela 7.** Reunião das frações obtidas de IAM 12

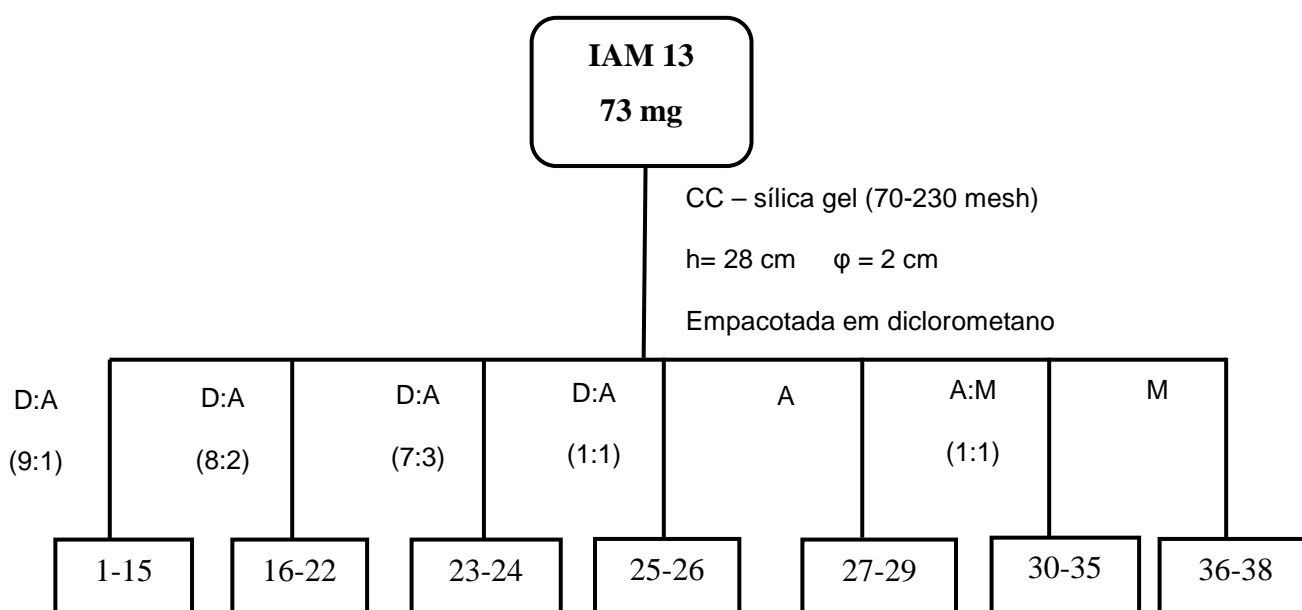
<b>Frações Reunidas</b>	<b>Códigos</b>	<b>Massa (mg)</b>
1-5	IAM 12.1	11
6-11	IAM 12.6	11
12-15	IAM 12.12-15	8
16-18	IAM 12.16	10

Os parâmetros para esta corrida cromatográfica foram os seguintes:

- Volume de injeção = 20 µl, fluxo: 1,0 mL/min.; comprimento de onda monitorado: 280 nm; eluente A (água mili-Q+ 0,05% de TFA); eluente B (Metanol + 0,05% de TFA); eluição gradiente 5-68% de B durante 40 minutos. Após a eluição cromatográfica, foi realizada a limpeza da coluna com 100% de B durante 5 minutos, acompanhado de retorno ao gradiente inicial em 5 minutos (100-5 % de B). A coluna foi condicionada por 5 minutos nessa condição, totalizando 55 minutos por análise. A corrida foi repetida 15 vezes, sendo as substâncias isoladas em cartuchos de fase estacionária de polidivinilbenzeno.

### 3.6.2. Fracionamento cromatográfico de IAM 13

A fração IAM 13 (73 mg), após ser fracionada em coluna de sílica gel em gradientes de diclorometano:acetato de etila, acetato de etila, gradientes de acetato de etila:metanol e metanol, forneceu 38 subfrações, de acordo com o esquema 7 e tabela 7. As subfrações 31-34 (**IAM 13.31**) apresentaram-se promissoras em CCD, do tipo fase reversa em sistema metanol:água (7:3), para ser analisadas em CLAE-EFS/RMN.



**Legenda:** A- Acetato de etila ; D- Diclorometano; M –Metanol

**Esquema 7.** Fracionamento de IAM 13

**Tabela 8.** Reunião das frações obtidas de IAM 13

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1	IAM 13.1	6
2-3	IAM 13.2	2
4-6	IAM 13.4	7
7-11	IAM 13.7	5
12-17	IAM 13.12	3
18-26	IAM 13.18	5
27-30	IAM 13.27	26
31-34	IAM 13.31	10
35-38	IAM 13.1	2

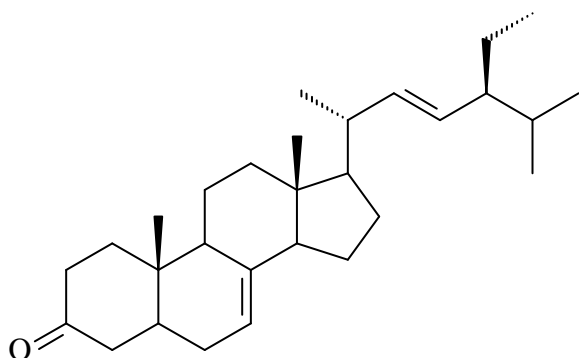
Os parâmetros para esta corrida cromatográfica foram os seguintes:

- Volume de injeção = 20 µl, fluxo: 1,0 mL/min.; comprimento de onda monitorado: 280 nm; eluente A (água mili-Q+ 0,05% de TFA); eluente B (Metanol + 0,05% de TFA); eluição gradiente 5-68% de B durante 40 minutos. Após a eluição cromatográfica, foi realizada a limpeza da coluna com 100% de B durante 5 minutos, acompanhado de retorno ao gradiente inicial em 5 minutos (100-5 % de B). A coluna foi condicionada por 5 minutos nessa condição, totalizando 55 minutos por análise. A corrida foi repetida 15 vezes, sendo a substância isolada em cartuchos de fase estacionária de polidivinilbenzeno.

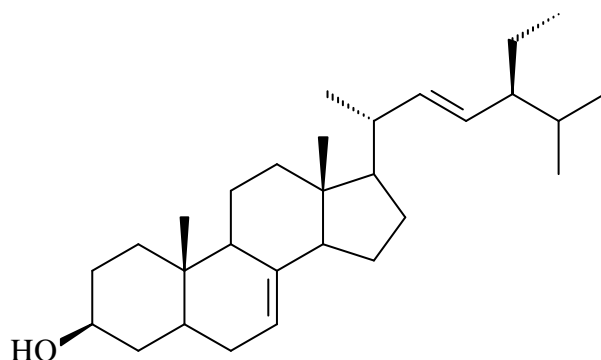
## **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

---

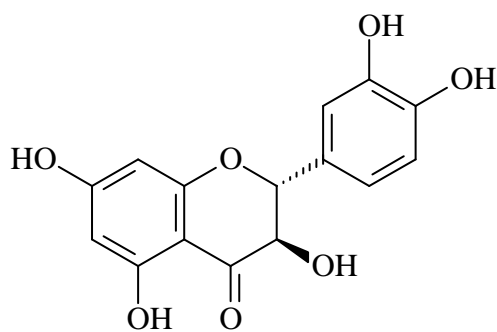
#### 4.1. Substâncias identificadas/substância elucidada



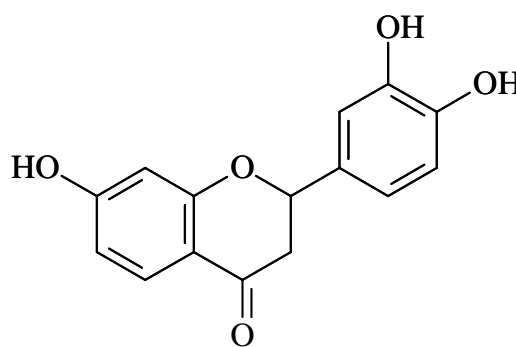
1 - Espinasterona



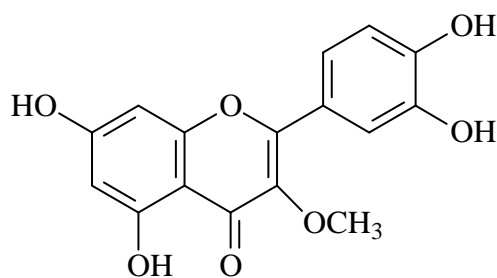
2 - Espinasterol



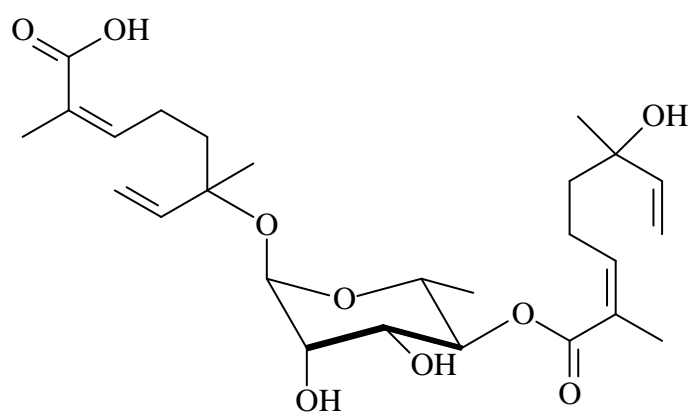
3 - Taxifolina



4 - Butina



5 - 3-O-metilquercetina



6 - Dapaznídeo

## 4.2. Rendimentos dos extratos

Conforme mostra a tabela 9, os rendimentos dos extratos obtidos em hexano foram baixos. Este resultado, aliado à predominância de ácidos graxos observada pela análise em CCD, foi importante na decisão de não prosseguir com os estudos fitoquímicos destes extratos.

**Tabela 9.** Massas e rendimentos dos extratos de *Inga alba* e *Inga paraensis*

<b>Espécie</b>	<b>Massa do resíduo</b>	<b>Extrato hexânico</b>	<b>Extrato metanólico</b>	<b>Rendimento</b>
<i>Inga alba</i>	455,16 g	0,06 g	4,81 g	0,01 % (EH)
				1,05 % (EM)
<i>Inga paraensis</i>	626,02 g	0,22 g	9,32 g	0,03 % (EH)
				1,49 % (EM)

legenda: (EH) Extrato Hexânico; (EM) Extrato Metanólico



### 4.3. Identificação da substância 1 (IPM 6.1.5)

Isolamento: Esquema 2 e 3

A substância 1 apresentou-se sob a forma de sólido amorfo, de cor branca, revalando-se de cor roxa em vanilina sulfúrica e com o  $R_f = 0,5$  quando eluída em hexano:acetato de etila (9:1). Esta substância foi identificada com base nos espectros unidimensionais ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e bidimensional (HSQC). O espectro de  $^1\text{H}$  (figuras 11-13) sugeriu tratar-se de um esteroide devido à presença de seis grupos metílicos com sinais nas regiões entre  $\delta$  1,01-0,55 [ $\delta$  1,01; 0,83; 0,78 (d; 6,6-6,4 Hz)], 0,85 (t; 7,0 Hz), 0,99 e 0,55 (s), além de sinais em  $\delta$  5,16, 5,14 e 5,01, característicos de hidrogênios olefínicos (tabela 10).

O espectro de  $^{13}\text{C}$  (figura 14) mostra o sinal em  $\delta$  212,2, típico de carbonila, atribuída à posição C-3 da estrutura do esteroide. Os carbonos olefínicos têm deslocamentos químicos observados em  $\delta$  139,7; 138,2; 129,7 e 117,2, atribuídos aos C-8, C-23, C-22 e C-7, respectivamente. O mapa de contornos HSQC (figura 15) mostra as correlações entre os hidrogênios em  $\delta$  5,14 e 5,01 com os carbonos C-22 e C-23, respectivamente, além da correlação entre o hidrogênio em  $\delta$  5,16 com o carbono em  $\delta$  117,2 (C-7).

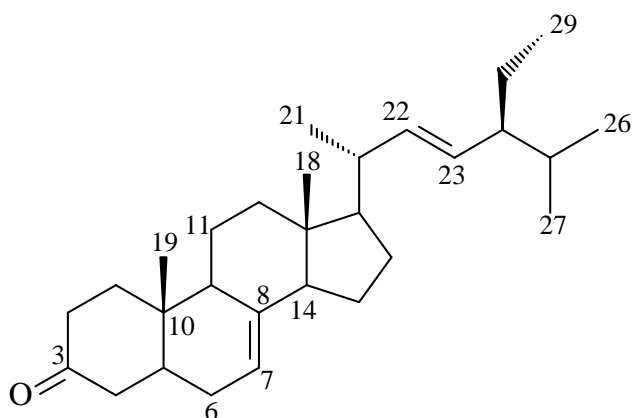
Os dados espectrais permitiram identificar a substância 1 como sendo a Espinasterona (figura 16), cujos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram similares aos relatados por Thuy & Colaboradores (2008).

**Tabela 10.** Dados espectroscópicos de IPM 6.1.5 e da Espinasterona

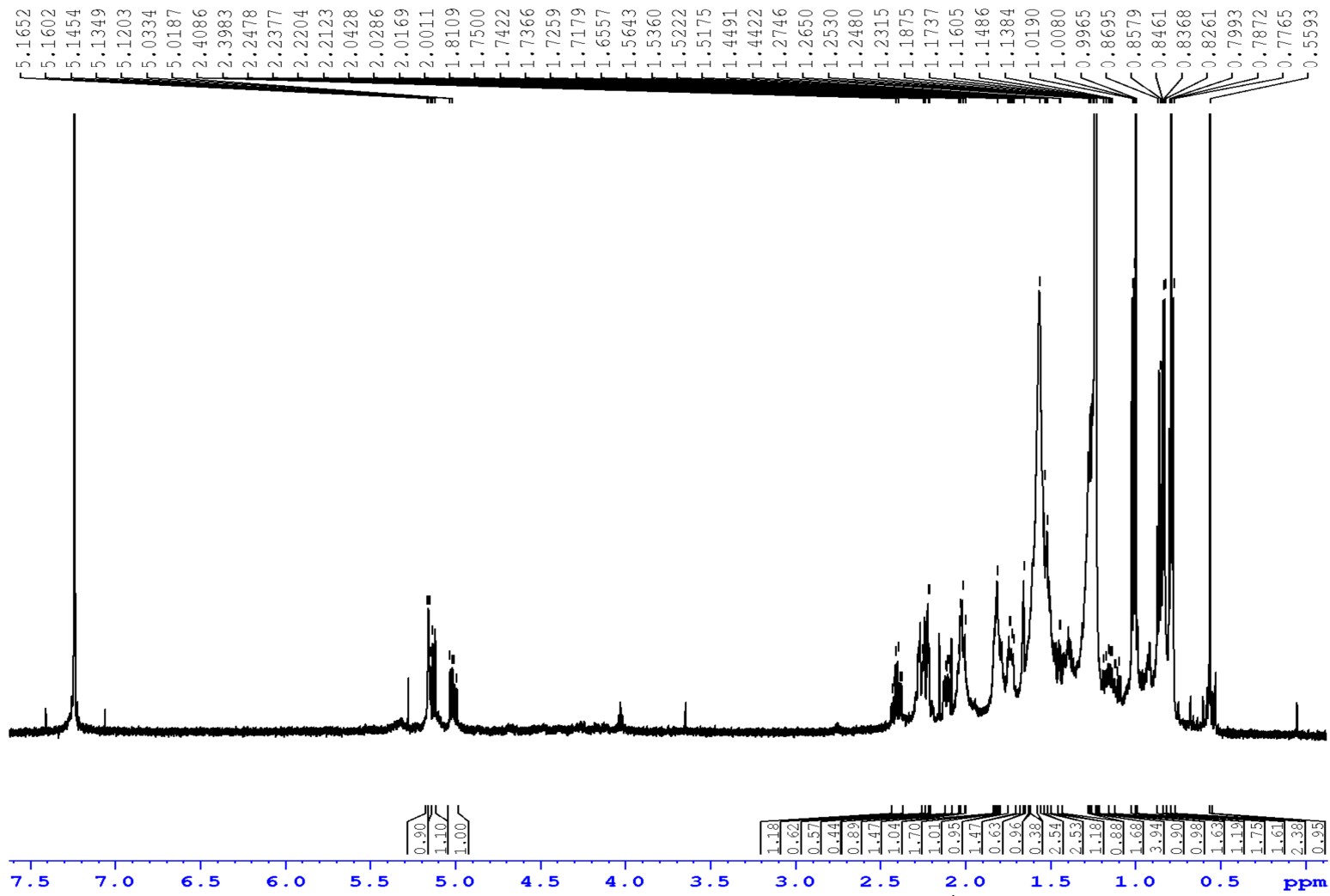
N <sup>o</sup>	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
	δ (ppm) <sup>A</sup>	δ (ppm); mult. J (Hz) <sup>B</sup>	δ (ppm) <sup>C</sup>	δ (ppm); mult. J (Hz) <sup>D</sup>
				Thuy et al. (2008)
1	38,9	1,46-1,43(m) 2,11 (ddd; 2,0; 6,0 e 13,0) 2,26-2,24 (m)	38,7	1,47 (m) 2,12 (ddd; 6,1; 14,6 e 14,6)
2	38,3	2,40 (m)	38,1	1,39; 1,77
3	212,2	2,22 (m)	211,6	
4	44,3	2,24 (m)	44,2	2,23 (m)
5	43,0	1,82-1,80 (m) 1,23 (m)	42,8	1,81 (m)
6	29,9	1,84-1,80 (m)	30,1	1,82 (m)
7	117,2	5,16 (t; 3,0)	116,8	5,18 (m)
8	139,7		139,3	
9	49,0	1,75-1,70 (m)	48,8	1,76 (m)
10	34,6		34,2	
11	21,9	1,58-1,56 (m) 1,65-1,62 (m)	21,7	1,55 1,75 (m)
12	39,5	1,28-1,23 (m) 2,04-2,00 (m)	39,3	1,27 2,04 (m)
13	43,4		43,3	
14	55,2	1,83-1,80 (m)	55,0	1,83 (m)
15	23,2	1,63-1,62 (m) 1,68-1,67 (m)	23,0	1,40 (m) 1,52 (m)
16	28,7	1,28-1,23 (m)	28,5	1,29 (m) 1,67 (m)

17	56,0	1,27-1,24 (m)	55,8	1,30 (m)
18	12,3	0,55 (s)	11,9	0,58 (s)
19	12,6	0,99 (s)	12,3	1,02 (s)
20	41,0	2,03-2,00 (m)	40,8	2,05 (m)
21	21,6	1,01 (d; 6,6)	21,7	1,03 (d; 6,7)
22	138,2	5,14 (dd; 15,0; 8,8)	137,9	5,16 (dd; 15,2; 8,5)
23	129,7	5,01 (dd; 15,0; 8,8)	129,3	5,02 (dd; 15,3; 8,8)
24	51,5	1,52-1,50 (m)	51,2	1,56 (m)
25	32,0	1,54-1,50 (m)	31,9	1,57 (m)
26	21,3	0,83 (d; 6,4)	19,0	0,82 (d; 6,1)
27	19,2	0,78 (d; 6,4)	21,4	0,84 (d; 6,7)
28	25,6	1,16-1,12 (m)		1,18 (m)
		1,41-1,39 (m)	25,4	1,42 (m)
29	12,4	0,85 (t; 7,0)	12,3	0,81 (t; 7,3)

<sup>A</sup>150 MHz, CDCl<sub>3</sub>; <sup>B</sup>600 MHz, CDCl<sub>3</sub>; <sup>C</sup>75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; <sup>D</sup>400 MHz, CDCl<sub>3</sub>



**Figura 16.** Estrutura da Espinasterona



```

Current Data Parameters
NAME      IPM 6.1.5_Espinassterona Processado_Definitivo
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150503
Time     10.22
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm CP1CI 1H-
PULPROG  zg
TD        65536
SOLVENT  CDCl3
NS        1
DS         0
SWH      7352.941 Hz
FIDRES   0.112197 Hz
AQ       4.456481 sec
RG        64
DW       68.000 usec
DE       10.00 usec
TE       298.0 K
D1       1.00000000 sec
TD0      1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1    600.2333048 MHz
NUC1     1H
P1       7.25 usec
PLW1    8.39999962 W

F2 - Processing parameters
SI       65536
SF       600.2300269 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.00

```

Figura 11. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de IPM 6.1.5 (CDCl<sub>3</sub>; 600 MHz)

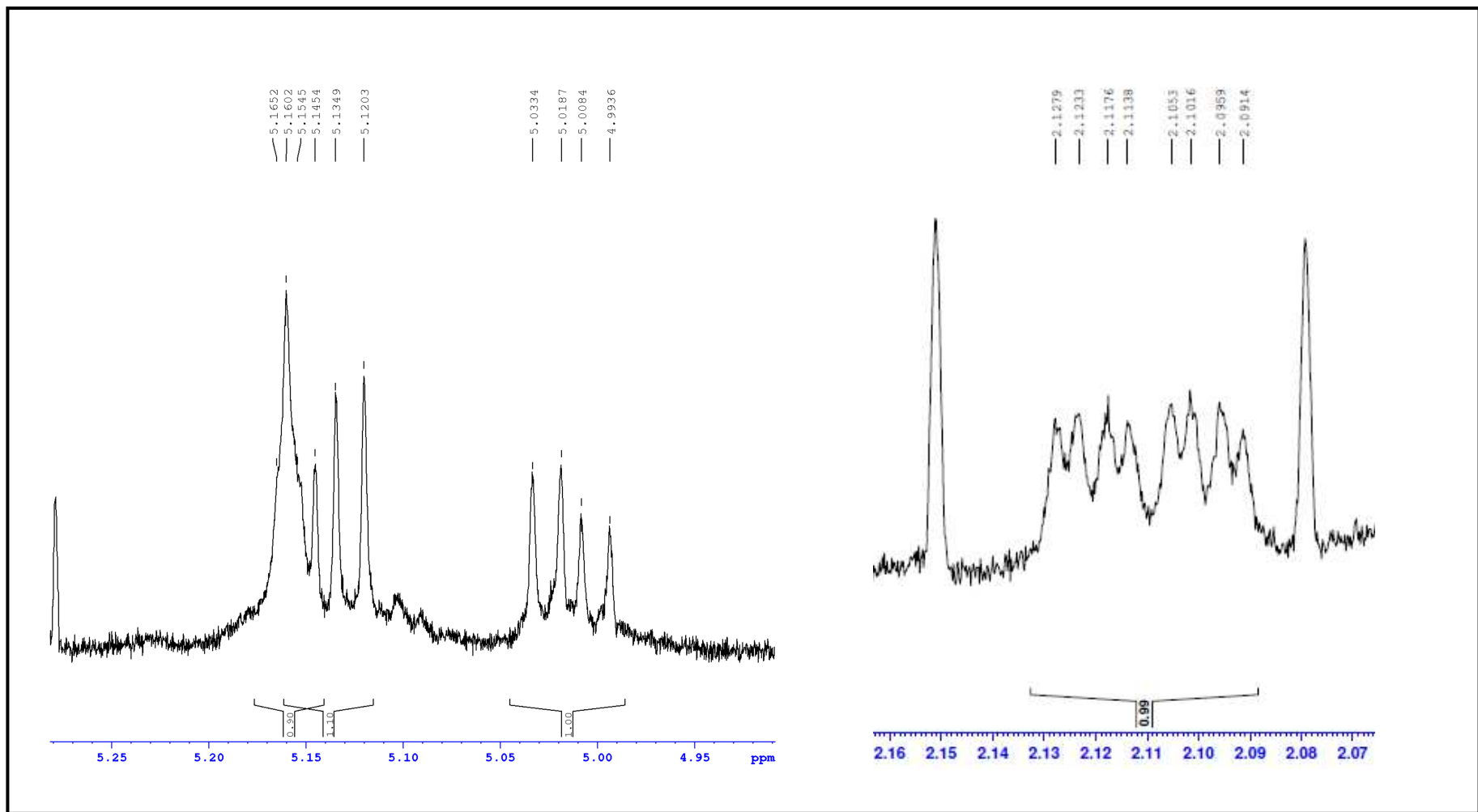
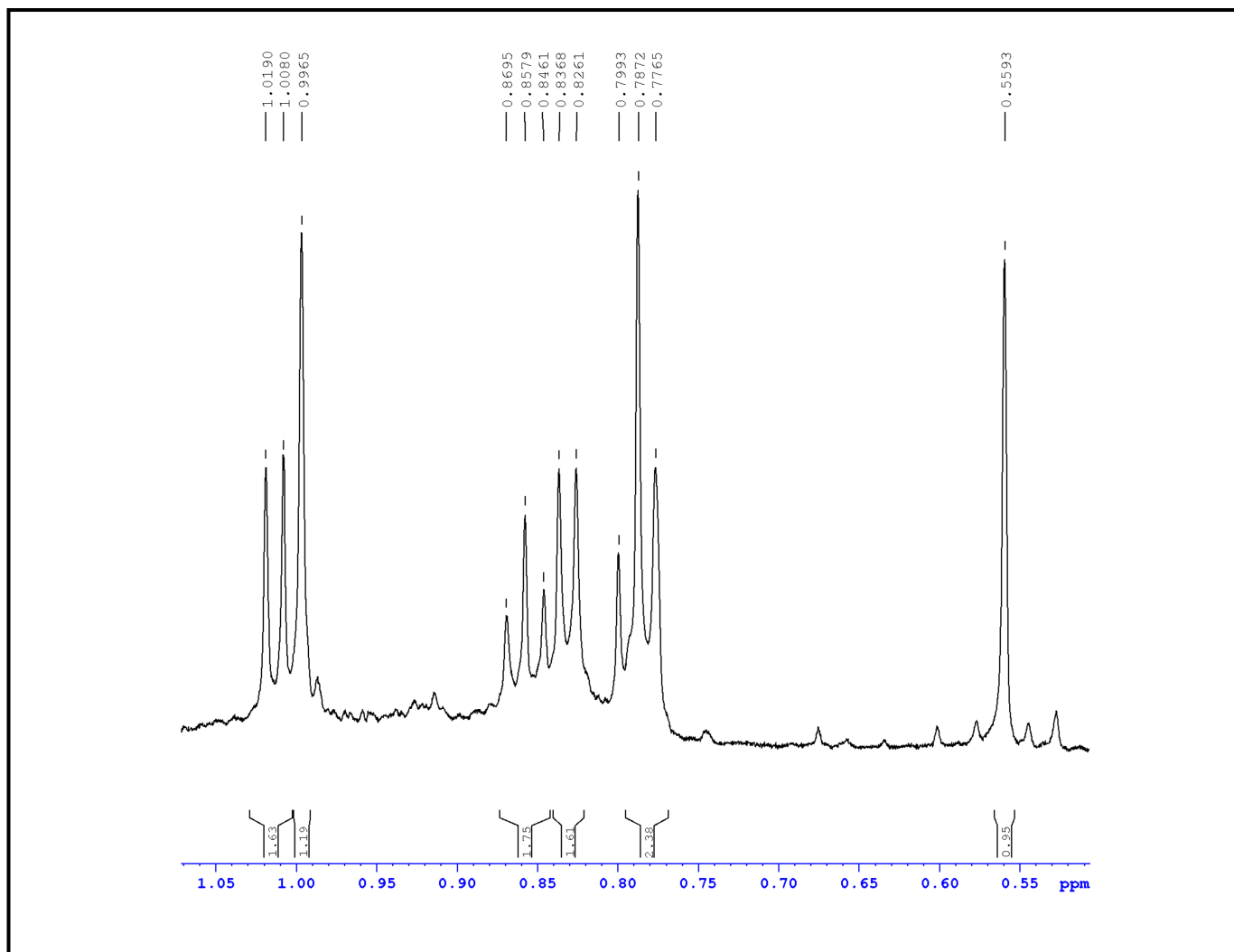
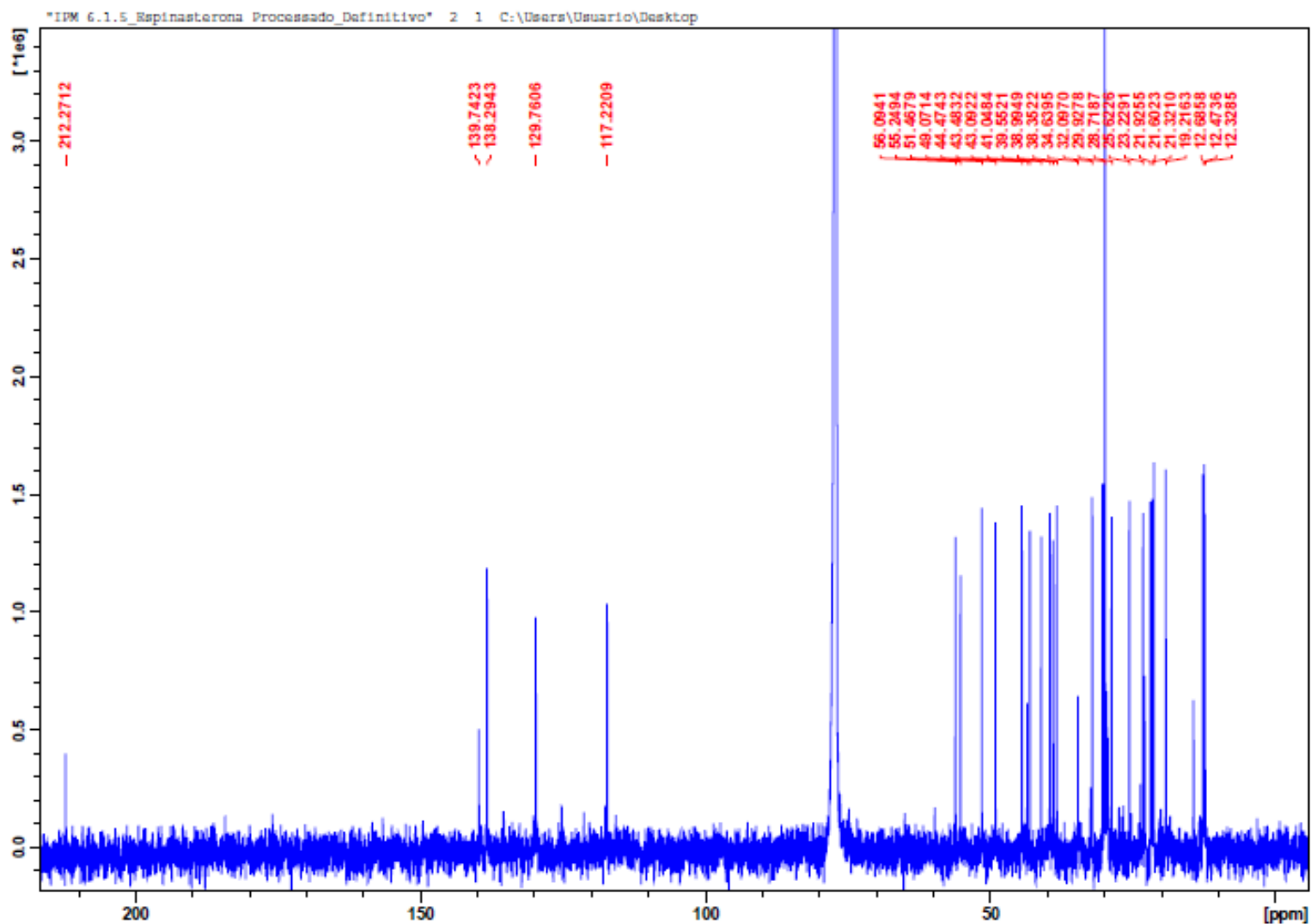


Figura 12. Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de IPM 6.1.5 nas regiões de 5,25 a 2,07 ppm



**Figura 13.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de IPM 6.1.5 na região dos hidrogênios metílicos



```

Current Data Parameters
NAME      IPM 6.1.5_Espinasterona Processado_Definitivo
EXPNO     2
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20150502
Time      10.12
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm CPTCI 1H-
PULPROG   zgpg30
TD        32588
SOLVENT   CDCl3
NS        47085
DS        0
SWH       34722.223 Hz
FIDRES    1.065491 Hz
AQ        0.4692672 sec
RG        293
DW        14.400 usec
DE        18.00 usec
TE        298.0 K
D1        0.10010000 sec
D11       0.03000000 sec
TDO       1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1      150.9437536 MHz
NUC1      13C
P1        10.10 usec
PLW1      127.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2      600.2324009 MHz
NUC2      1H
CPDPRG[2] waltz16
PCPD2     70.00 usec
PLW2      8.39999962 W
PLW12     0.08886900 W
PLW13     0.04354600 W

F2 - Processing parameters
SI        32768
SF        150.9279214 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        3.00 Hz
GB        0
PC        1.40

```

Figura 14. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de IPM 6.1.5 (CDCl<sub>3</sub>; 150 MHz)

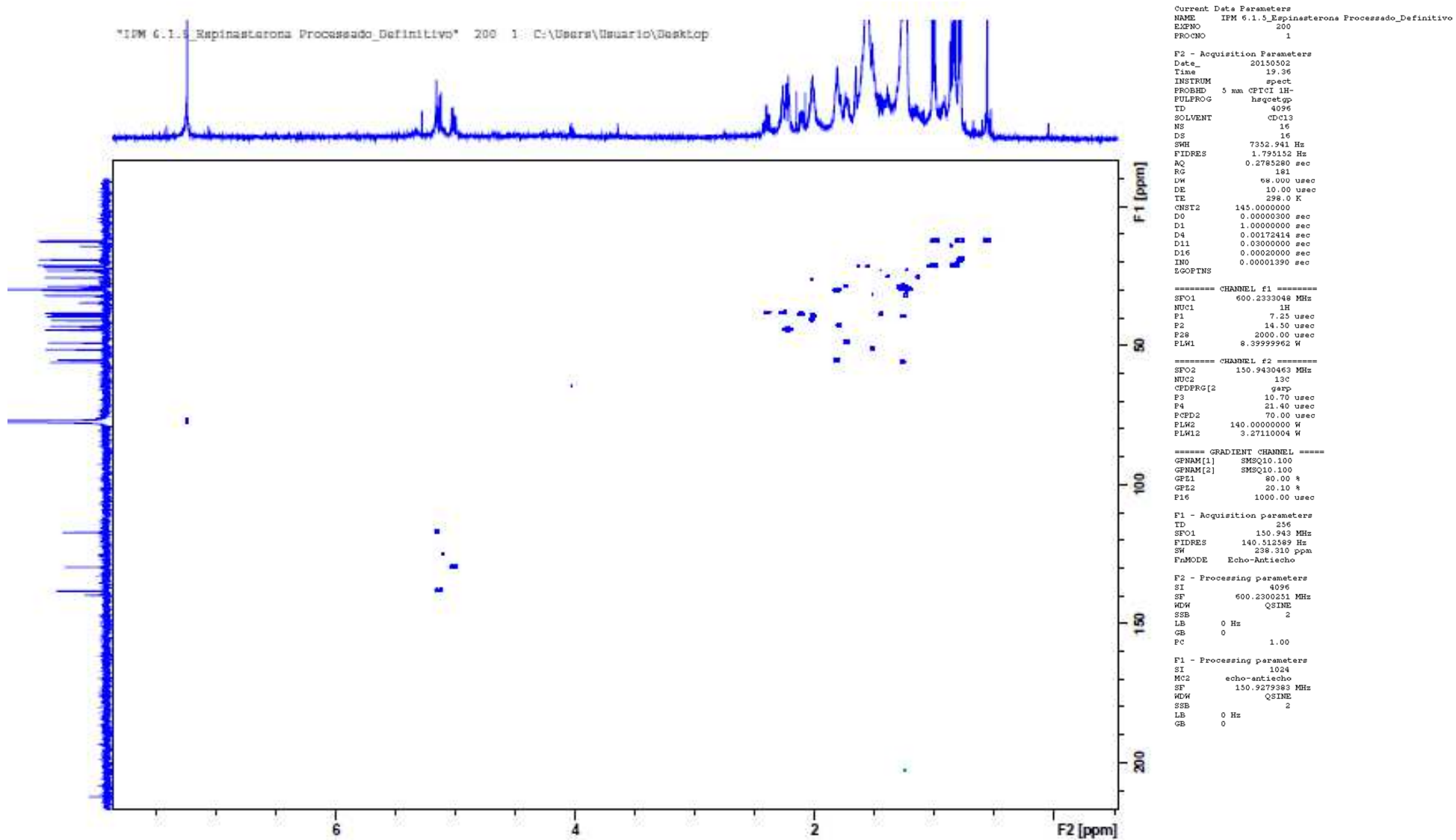


Figura 15. Mapa de contornos HSQC de IPM 6.1.5



#### 4.4. Identificação da substância 2 (IPM 17.6)

Isolamento: Esquema 2 e 4

A substância 2 apresentou-se sob a forma de sólido amorfo, de cor branca, revalando-se incolor em vanilina sulfúrica e com o  $R_f = 0,5$  quando eluída em diclorometano. A partir do espectro de  $^1\text{H}$  (figuras 17-19) surgiu a hipótese de que a substância 2 seria outro esteroide. As seis metilas da estrutura são observadas nas regiões entre  $\delta$  1,06-0,60 [ $\delta$  1,06; 0,87; 0,83; 0,81 (d; 7,3-6,5 Hz)], 0,60 (s) e 0,80(s), além de sinais típicos de hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,21, 5,16 e 5,08 (tabela 11). Um sinal característico de hidrogênio oximetínico é observado em  $\delta$  3,48.

O espectro de  $^{13}\text{C}$  (figura 20) apresenta os sinais dos quatro carbonos olefínicos do esteroide em  $\delta$  140,2 (C-8); 139,3 (C-22); 130,3 (C-23) e 118,4 (C-7), além do sinal do carbinólico em  $\delta$  70,8 (C-3). Adicionalmente, o mapa de contornos HSQC (figura 21) mostra a correlação entre o hidrogênio oximetínico e o carbono em  $\delta$  70,8 (C-3), do hidrogênio em  $\delta$  5,16 com o carbono  $\delta$  118,4 (C-7), além das correlações dos hidrogênios  $\delta$  5,21 e 5,08 com os carbonos olefínicos C-22 e C-23, respectivamente.

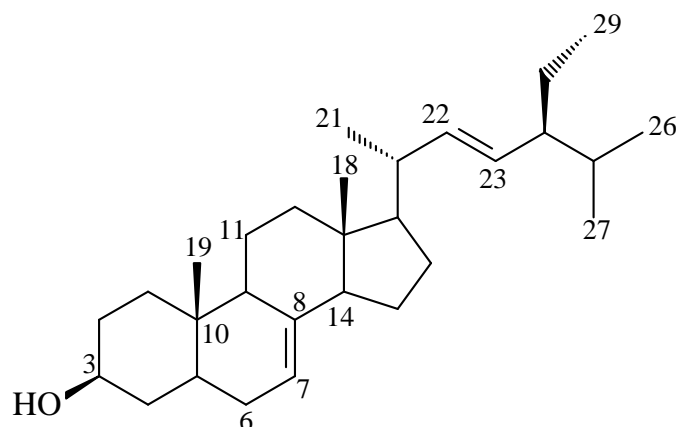
A partir dos dados obtidos através dos espectros, foi possível a identificação da substância 2 como sendo o Espinasterol (figura 22). Ragasa & Lima (2005) apresentam dados de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  que concordam com os deste trabalho.

**Tabela 11.** Dados espectroscópicos de IPM 17.6 e do Espinasterol

N <sup>o</sup>	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
	δ (ppm) <sup>A</sup>	δ (ppm); mult. J (Hz) <sup>B</sup>	δ (ppm) <sup>C</sup>	δ (ppm); mult. J (Hz) <sup>D</sup>
	Ragasa & Lima (2005)			
1	38,1	1,11-1,09(m) 1,84-1,82 (m)	37,2	1,09; 1,82
2	32,4	1,34-1,33 (m) 1,75-1,70 (m)	31,5	1,39; 1,77
3	70,8	3,48 (m)	71,1	3,59
4	39,0	1,25-1,21 (m) 1,66-1,63 (m)	38,0	1,27; 1,70
5	41,2	1,36 (m)	40,3	1,40
6	30,5	1,29-1,26 (m) 1,76-1,70 (m)	29,7	1,22; 1,74
7	118,4	5,16 (m)	117,5	5,15
8	140,2		139,6	
9	50,5	1,65 (m)	49,5	1,65
10	35,0		34,2	
11	22,3	1,51-1,47 (m)	21,6	1,48
12	40,3	1,30-1,25 2,05-2,00 (m)	39,6	1,23; 2,02
13	44,0		43,3	
14	55,9	1,85 (m)	55,1	1,81
15	23,7	1,48-,145 (m) 1,54-1,52 (m)	23,0	1,40; 1,52
16	30,5	1,34-1,28 (m)	28,5	1,25
17	56,8	1,32 (m)	55,9	1,25
18	12,5	0,60 (s)	12,0	0,55
19	12,6	0,80 (s)	13,0	0,80
20	41,7	2,07 (m)	40,8	2,05
21	22,3	1,06 (d; 6,6)	21,4	1,03
22	139,3	5,21 (dd; 15,1; 8,9)	138,1	5,16 (dd; 15,2; 8,8)
23	130,3	5,08 (dd; 15,1; 8,8)	129,5	5,02 (dd; 15,2; 8,4)
24	52,2	1,55 (m)	51,2	1,55
25	32,7	1,54 (m)	31,9	1,55

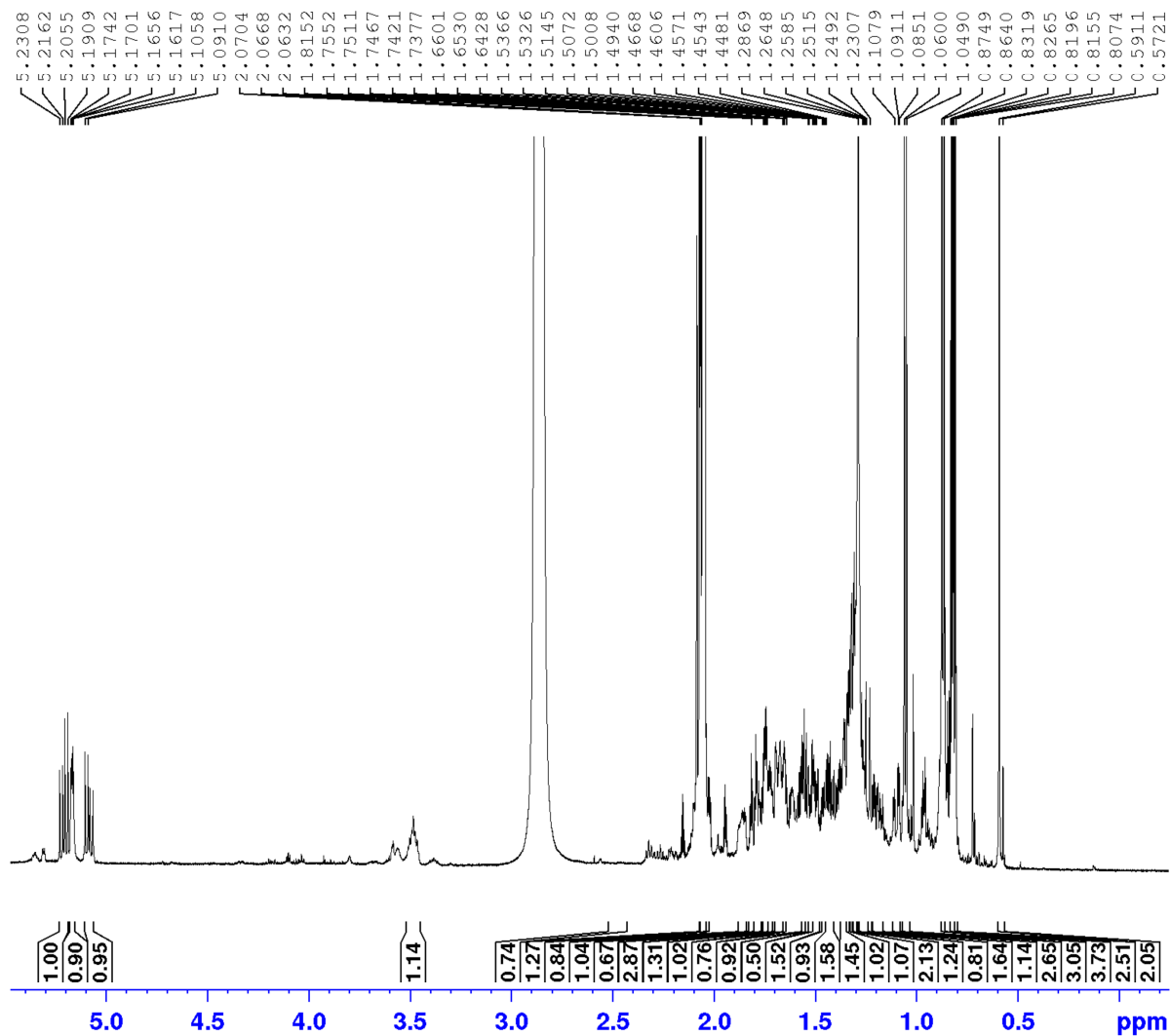
26	21,9	0,87 (d; 6,5)	21,1	0,85 (d; 6,4)
27	19,4	0,83 (d; 6,6)	19,0	0,84 (d; 6,0)
28	26,1	1,23-1,16 (m) 1,45-1,40	25,4	1,18; 1,42
29	13,5	0,81 (d; 7,3)	12,2	0,81 (t; 7,2)

<sup>A</sup>125 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>; <sup>B</sup>600 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>; <sup>C</sup>100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; <sup>D</sup>400 MHz, , CDCl<sub>3</sub>



**Figura 22.** Estrutura do Espinasterol

O gênero *Inga*, apesar de possuir cerca de 400 espécies, tem apenas uma com relato da presença de esteroides. Tchienmogne & Colaboradores (2013) identificaram nas folhas e no caule de *I. edulis* o estigmasterol e o estigmasterol 3-O-β-D-glucopiranosídeo. Assim, este é o primeiro relato da espinasterona e do espinasterol no gênero.



```

Current Data Parameters
NAME          IPM-17.6
EXPNO         1
PROCNO        1

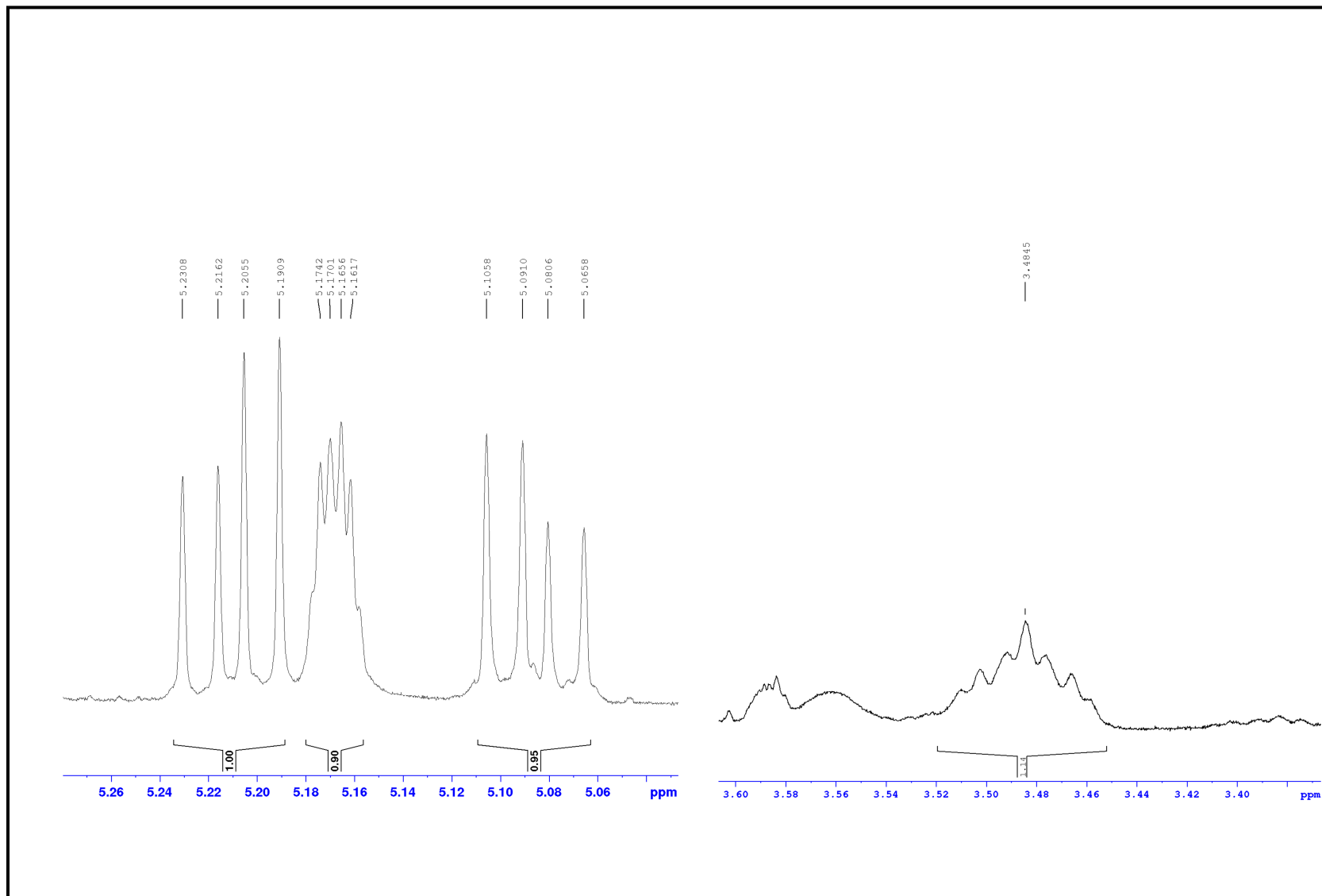
F2 - Acquisition Parameters
Date_         20150504
Time          19.11
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm CPTCI 1H-
PULPROG       zg
TD            65536
SOLVENT       Acetone
NS            16
DS            0
SWH           7352.941 Hz
FIDRES        0.112197 Hz
AQ            4.4564481 sec
RG            64
DW            68.000 usec
DE            10.00 usec
TE            298.0 K
D1            1.00000000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1          600.2333048 MHz
NUC1          1H
P1            7.25 usec
PLW1          8.39999962 W

F2 - Processing parameters
SI            65536
SF            600.2300103 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0 Hz
GB            0
PC            1.00

```

Figura 17. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de IPM 17.6 (Acetona-d<sub>6</sub>; 600 MHz)



**Figura 18.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de IPM 17.6 nas regiões de 5,26 a 3,40 ppm

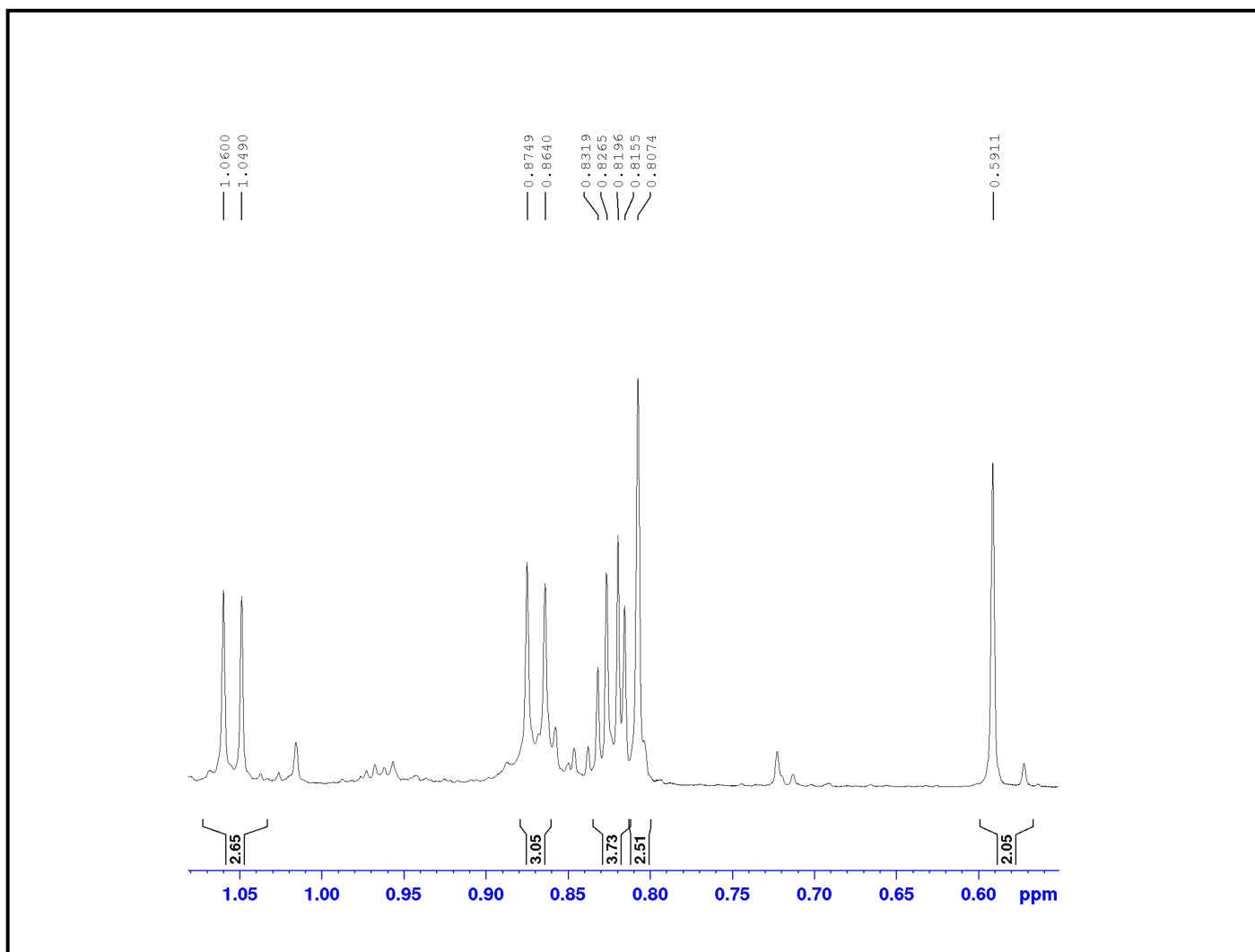
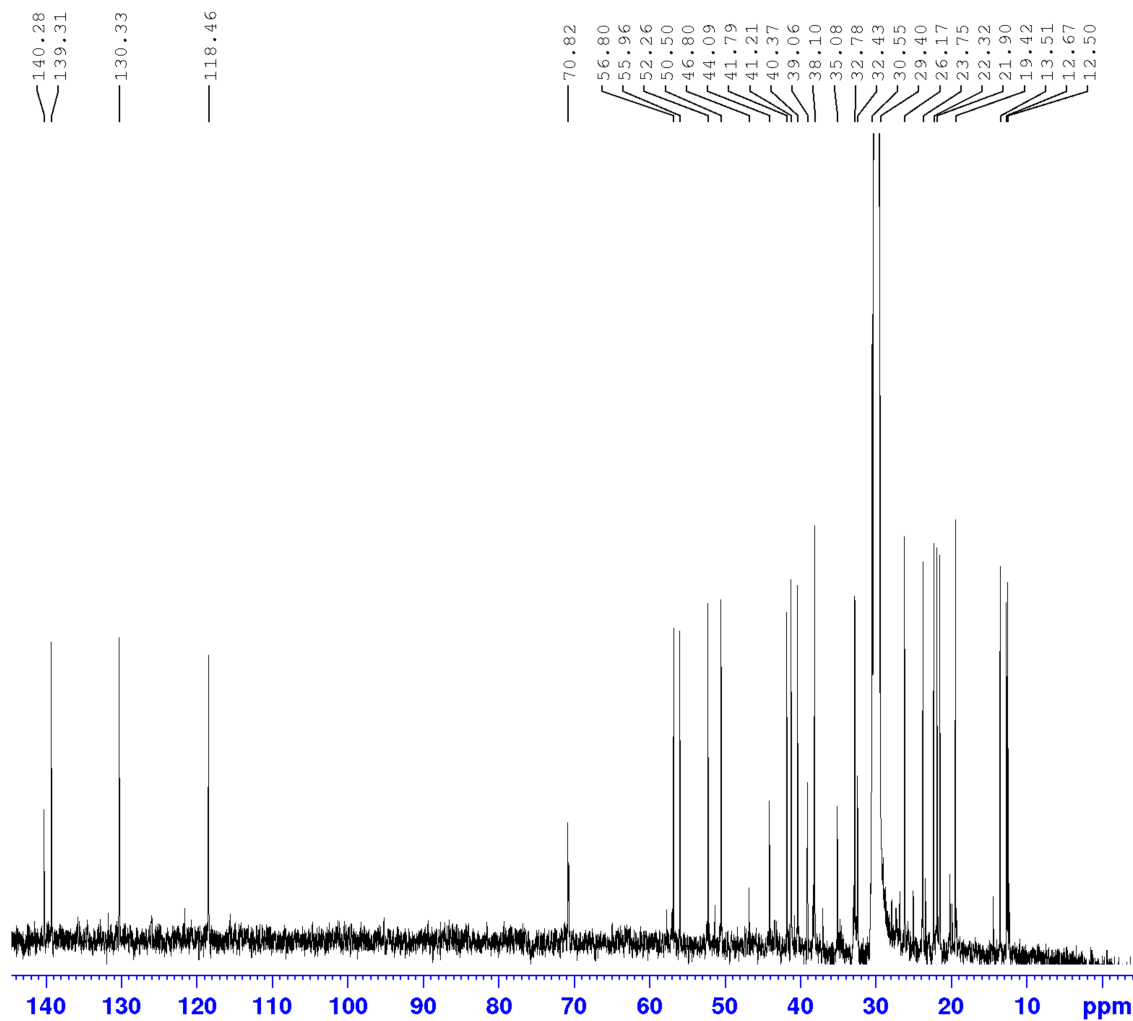


Figura 19. Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de IPM 17.6 na região dos hidrogênios metílicos



Current Data Parameters  
 NAME IPM-17.6  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

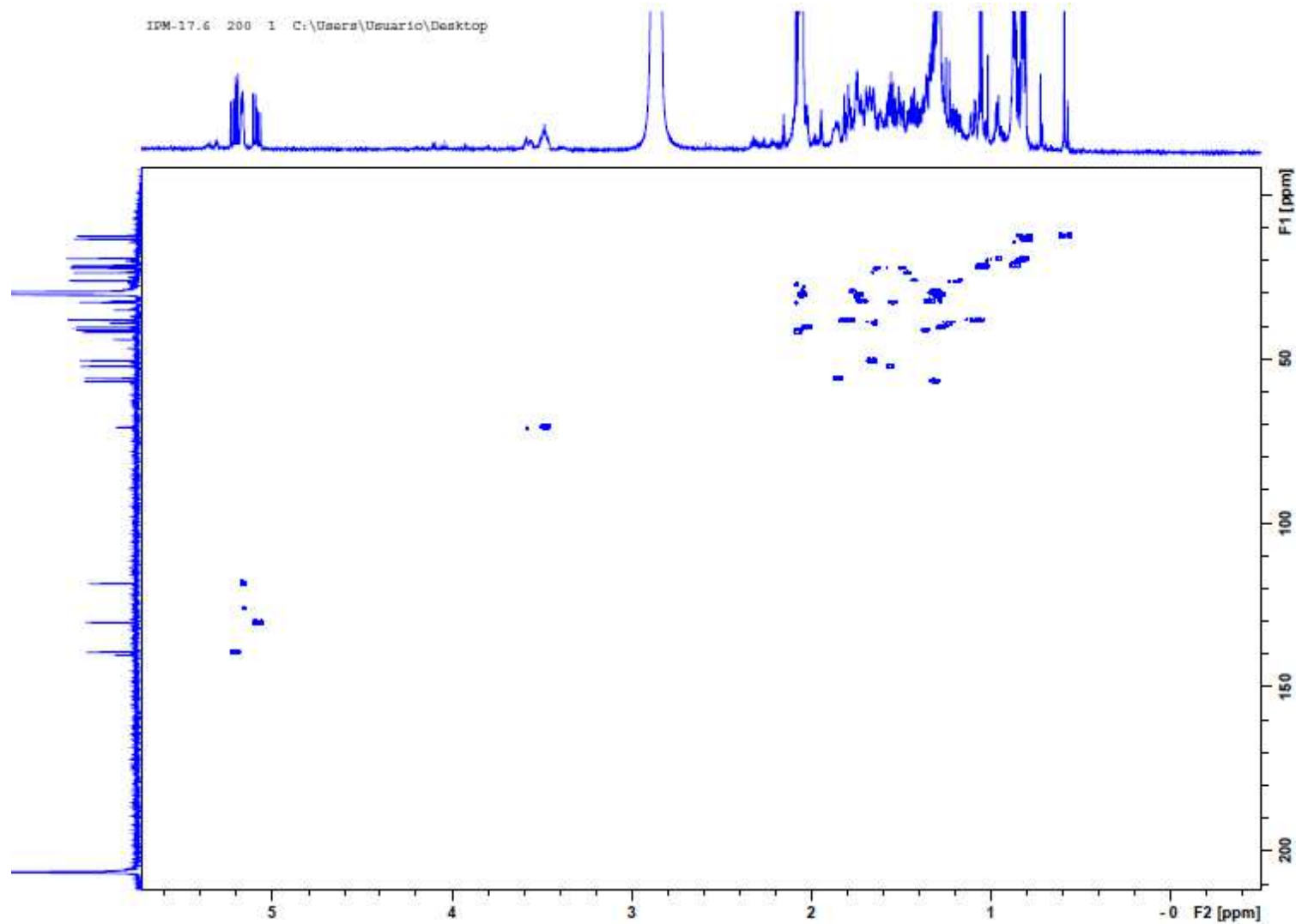
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20150505  
 Time 10.01  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm CPTCI 1H-  
 PULPROG zgpg30  
 TD 32588  
 SOLVENT Acetone  
 NS 55666  
 DS 0  
 SWH 34722.223 Hz  
 FIDRES 1.065491 Hz  
 AQ 0.4692672 sec  
 RG 203  
 DW 14.400 usec  
 DE 18.00 usec  
 TE 298.0 K  
 D1 0.10010000 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 150.9437536 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 10.10 usec  
 PLW1 127.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 600.2324009 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 PCPD2 70.00 usec  
 PLW2 8.39999962 W  
 PLW12 0.08886900 W  
 PLW13 0.04354600 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 150.9278067 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 20. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de IPM 17.6 (Acetona- $d_6$ ; 150 MHz)



```

Current Data Parameters
NAME      IPM-17.6
EXPNO    200
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150504
Time     20.43
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm CPTCI 1H-
PULPROG  hsqcetgp
TD       4096
SOLVENT  Acetone
NS       16
DS       16
SWH      7352.941 Hz
FIDRES   1.795152 Hz
AQ       0.2785280 sec
RG       181
DW       68.000 usec
DE       10.00 usec
TE       298.0 K
CHST2    145.0000000
D0       0.00000300 sec
D1       1.00000000 sec
D4       0.00172414 sec
D11      0.03000000 sec
D16      0.00020000 sec
IN0      0.00001390 sec
ZGOPTNS

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     600.2333048 MHz
NUC1     13C
P1       7.25 usec
P2       14.50 usec
P28      2000.00 usec
PLW1     8.39999962 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     150.9430463 MHz
NUC2     13C
CPDPRG2  garp
P3       10.70 usec
P4       21.40 usec
PCPD2    70.00 usec
PLW2     140.0000000 W
PLW12    3.27110004 W

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SMSq10.100
GPNAM[2] SMSq10.100
GPZ1     80.00 %
GPZ2     20.10 %
PL6      1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD       256
SFO1     150.943 MHz
FIDRES   140.512539 Hz
SW       238.310 ppm
FMODE    Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI       4096
SF       600.2300123 MHz
WDW      Q3SINE
SSB      2
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.00

F1 - Processing parameters
SI       1024
WC2     echo-antiecho
SF       150.9277875 MHz
WDW      Q3SINE
SSB      2
LB       0 Hz
GB       0

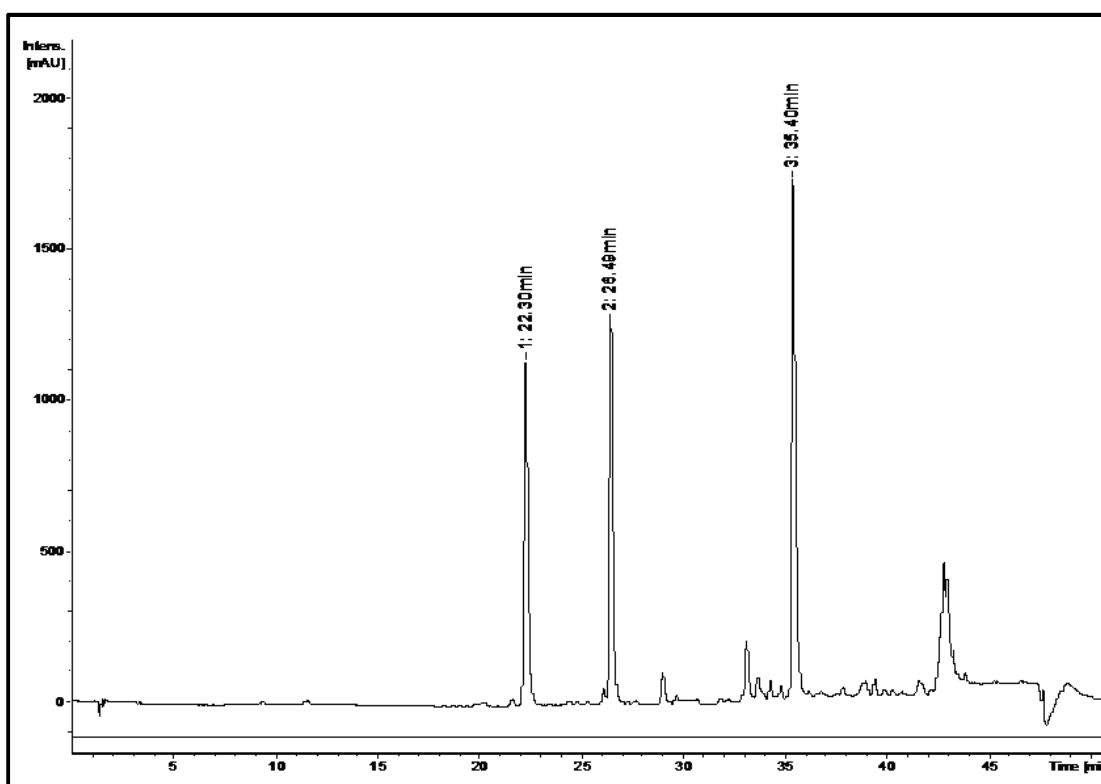
```

Figura 21. Mapa de contornos HSQC de IPM 17.6



#### 4.5. Fração IAM 12.12-15: picos trapeados através da CL-EFS

A partir da técnica CL-EFS aplicada à fração IAM 12.12-15, foi possível o trapeamento de três picos, de acordo com o cromatograma da figura 23. Os três picos, nomeados pico 1, pico 2 e pico 3, foram adsorvidos em cartuchos de EFS, com os seguintes tempos de retenção: pico 1 ( $t_r = 22,30$  min); pico 2 ( $t_r = 26,49$  min) e pico 3 ( $t_r = 35,40$  min).



**Figura 23** – Cromatograma da amostra IAM 12.12-15 (8 mg)

#### 4.6. Identificação da substância 3 (IAM 12.12-15 Pico 1)

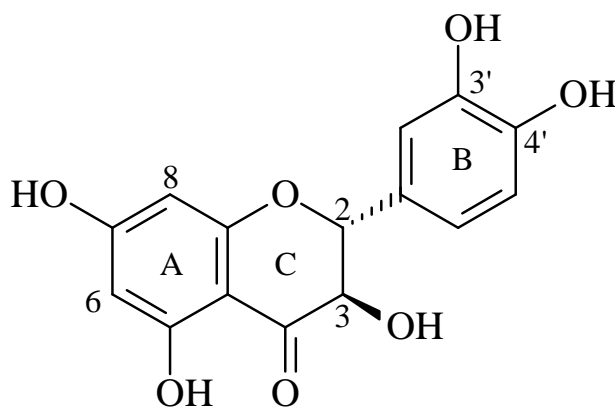
**Isolamento:** Esquema 6

A estrutura da substância do Pico 1 da fração IAM 12.12-15 foi definida com base nos espectros de RMN (600 MHz) uni e bidimensionais, além de comparação com dados da literatura. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figuras 24 e 25) é possível identificar a presença 5 sinais de hidrogênios característicos de sistemas aromáticos. Um par de dubletos em  $\delta$  5,92 (d; 2,1 Hz) e em  $\delta$  5,88 (d; 2,1 Hz) evidencia um acoplamento em meta, sendo compatível com anéis A de benzenos 5,7,9,10-tetrassubstituídos. Os outros três sinais de sistemas aromáticos em  $\delta$  6,95 (d; 2,0 Hz),  $\delta$  6,84 (dd; 8,0 Hz; 2,0 Hz) e  $\delta$  6,80 (d; 8,0 Hz), corroboram com o padrão 1',3'4'-trissubstituído de um anel B flavonoídico. O par de dubletos em  $\delta$  4,91 (d; 11,4 Hz) e  $\delta$  4,49 (d; 11,4 Hz) sugere um acoplamento do tipo axial-axial, levando à conclusão de que a estrutura era um flavanonol, estando, portanto, nas posições H-2 e H-3 do anel C.

No mapa de contorno HSQC (figura 26) é possível verificar as correlações dos hidrogênios do anel A  $\delta$  5,92 e 5,88 com os carbonos em  $\delta$  97,1 (C-6) e  $\delta$  96,0 (C-8), respectivamente. No mapa de contornos HMBC (figura 27), verifica-se a correlação do H-8 ( $\delta$  5,88) com os carbonos oxigenados C-7 ( $\delta$  168,4), C-9 ( $\delta$  164,5) e C-10 ( $\delta$  101,4). Outras correlações do anel são verificadas na tabela 12.

Para o anel B, o mapa de contorno HSQC mostra as correlações dos hidrogênios  $\delta$  6,95, 6,84 e 6,80 com os carbonos C-2' ( $\delta$  115,7), C-6' ( $\delta$  120,8) e C-5' ( $\delta$  116,0), respectivamente. Com os dados obtidos a partir do mapa de contornos HMBC e após comparação com a literatura (tabela 12), é possível, então, identificar o pico 1 como sendo a Taxifolina (figura 28).

Os flavonoides são constantemente relatados nas folhas de espécies de *Inga*. Entretanto, não há relato no gênero desta classe de substâncias em partes madeireiras, sendo este trabalho o primeiro relato. Ressalta-se ainda que a Taxifolina é inédita em *Inga*.

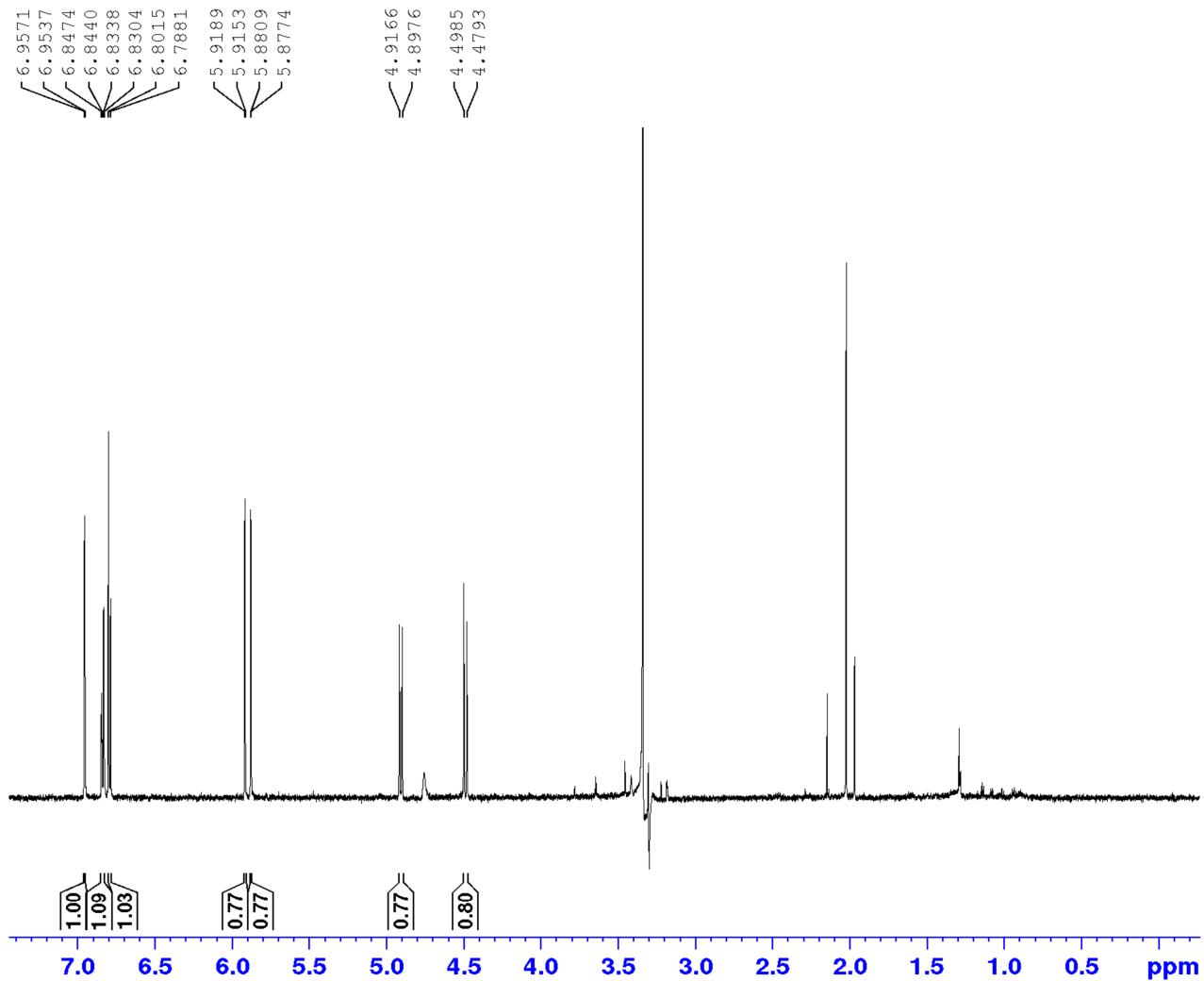


**Figura 28.** Estrutura da Taxifolina

**Tabela 12 .** Dados espectroscópicos de IAM 12.12-15 (Pico 1) e RMN de  $^{13}\text{C}$  da Taxifolina

Posição	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm); mult. <i>J</i>	$\delta$	Joo et al. (2014)	
	(Hz)*	(ppm)**	$\delta$ (ppm)***	
2	4,91 (d; 11,4)	84,9	85,0	C-2, C-3, C-1' e C-6'
3	4,49 (d; 11,4)	73,5	73,5	C-2, C-4 e C-1'
4		198,1	198,1	
5		165,3	165,1	
6	5,92 (d; 2,1)	97,1	97,2	C-5 e C-10
7		168,4	168,5	
8	5,88 (d; 2,1)	96,0	96,1	C-7, C-9 e C-10
9		164,5	164,2	
10		101,4	100,4	
1'		129,7	129,6	
2'	6,95 (d; 2,0)	115,7	115,9	C-4' e C-6'
3'		147,0	146,1	
4'		146,2	146,9	
5'	6,80 (d; 8,0)	116,0	115,7	C-1' e C-3'
6'	6,84 (dd; 8,0; 2,0)	120,8	120,7	C-2' e C-4'

\*600 MHz, MeOD-*d*4; \*\*dados obtidos através do HSQC e HMBC; \*\*\* 100 MHz, MeOD-*d*4



Current Data Parameters  
 NAME IAM 12.12-15 (8mg) Pico 1  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

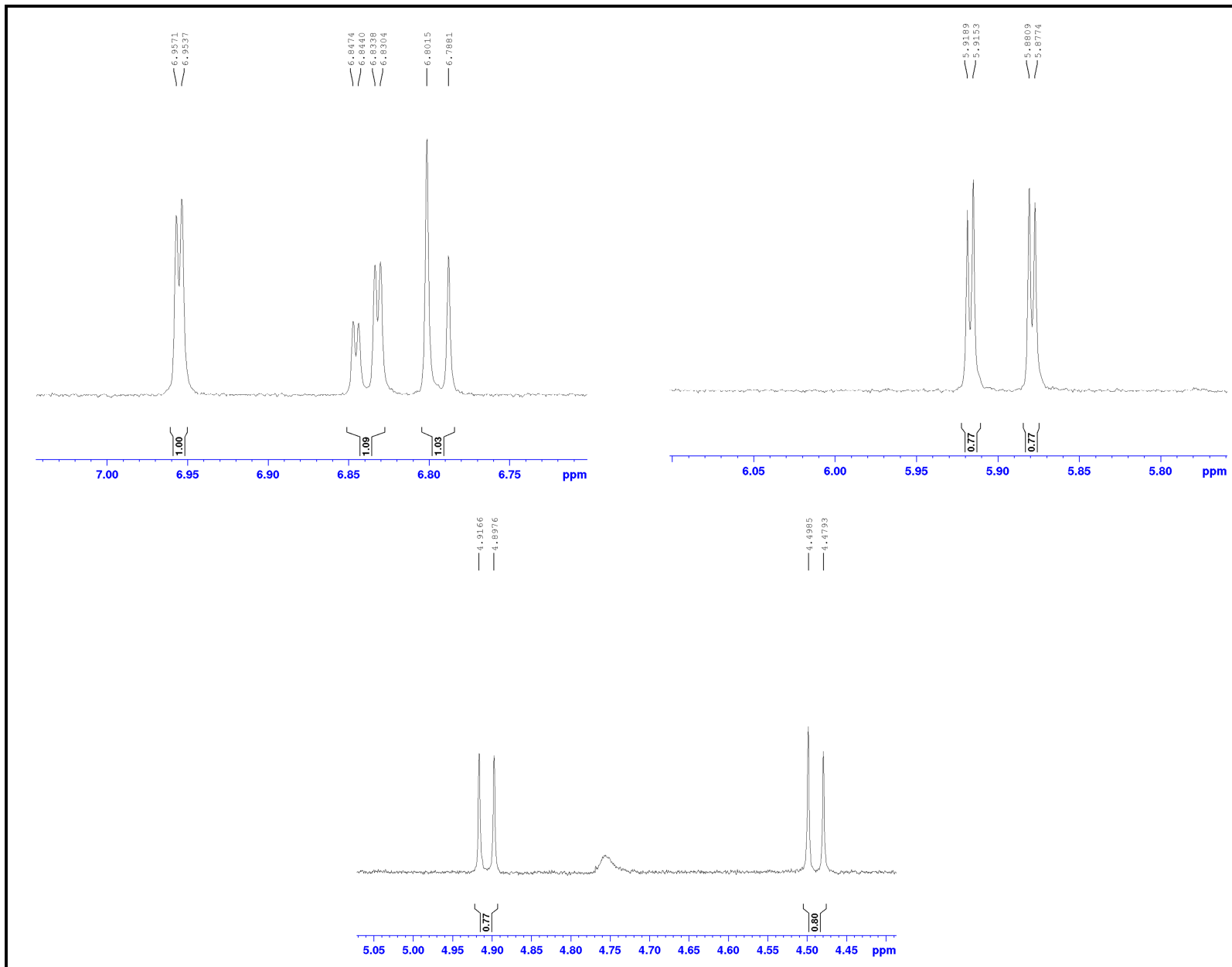
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20150827  
 Time 9.50  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm PATXI 1H/  
 PULPROG lclipnf2  
 TD 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32  
 DS 4  
 SWH 7211.539 Hz  
 FIDRES 0.110039 Hz  
 AQ 4.5438294 sec  
 RG 57  
 DW 69.333 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 298.0 K  
 D1 2.40000010 sec  
 D8 0.01000000 sec  
 D12 0.00002000 sec  
 D13 0.00000400 sec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 600.2328803 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.00 usec  
 PLW1 8.39999962 W  
 PLW9 0.00001646 W

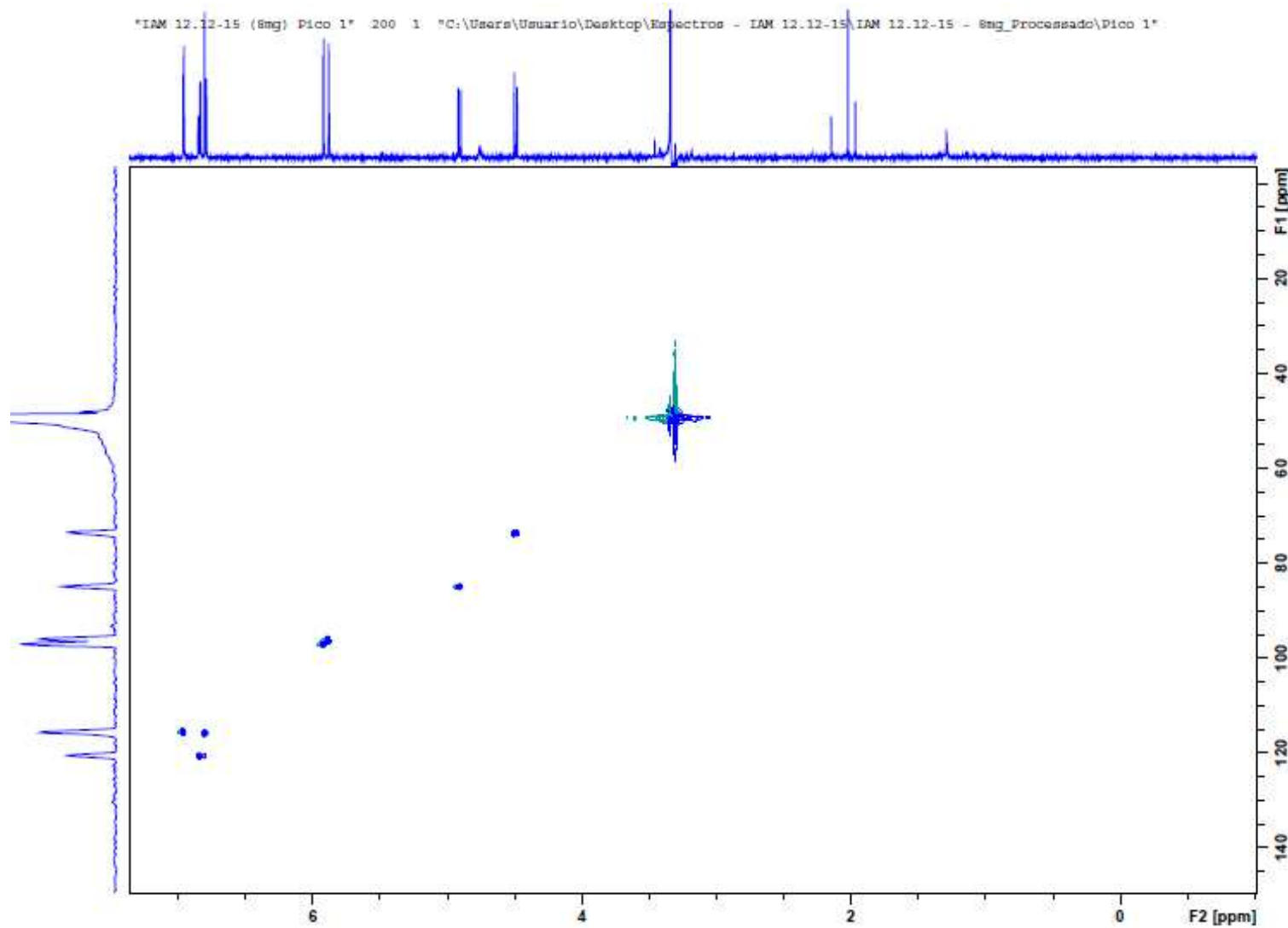
===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 600.2319981 MHz  
 NUC2 1H  
 PLW2 8.39999962 W  
 PLW21 0.00001742 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 600.2300171 MHz  
 WDW FM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 24. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do pico 1 de IAM 12.12-15 (MeOD; 600 MHz)



**Figura 25.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico 1 de IAM 12.12-15 nas região de 7,00 a 4,45 ppm



```

Current Data Parameters
NAME IAM 12.12-15 (8mg) Pico 1
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150827
Time 10.37
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm FATHI 1H/
PULPROG hsqcetwprisp2.3
TD 2048
SOLVENT MeOD
NS 16
DS 16
SWH 7211.539 Hz
FIDRES 3.521259 Hz
AQ 0.1419947 sec
RG 203
DM 69.333 usec
DE 6.50 usec
TE 298.3 K
CNST2 145.0000000
CNST17 -0.5000000
D0 0.00000300 sec
D1 2.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D16 0.00020000 sec
D21 0.00360000 sec
D24 0.00089000 sec
INO 0.00002010 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 600.2328211 MHz
NUC1 1H
P1 8.27 usec
P2 16.54 usec
P28 1000.00 usec
PLW1 15.25199986 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 150.9383185 MHz
NUC2 13C
CPDPRG2 garp
P3 12.00 usec
P14 500.00 usec
P24 2000.00 usec
P31 1730.00 usec
PCPD2 60.00 usec
PLW0 0 W
PLW2 188.1399939 W
PLW12 7.52549982 W
SFXM[3] Crp60,0.5,20.1
SFOAL3 0.500
SFOFFS3 0 Hz
SFX3 41.39300156 W
SFXM[7] Crp60comp.4
SFOAL7 0.500
SFOFFS7 0 Hz
SFX7 41.39300156 W
SFXM[10] Crp60_kfitt.2
SFOAL18 0.500
SFOFFS18 0 Hz
SEW18 11.96300030 W

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SMSQ10.100
GPNAM[2] SMSQ10.100
GPNAM[3] SMSQ10.100
GPNAM[4] SMSQ10.100
GPE1 80.00 %
GPE2 20.10 %
GPE3 11.00 %
GPE4 -5.00 %
P16 1000.00 usec
P19 500.00 usec

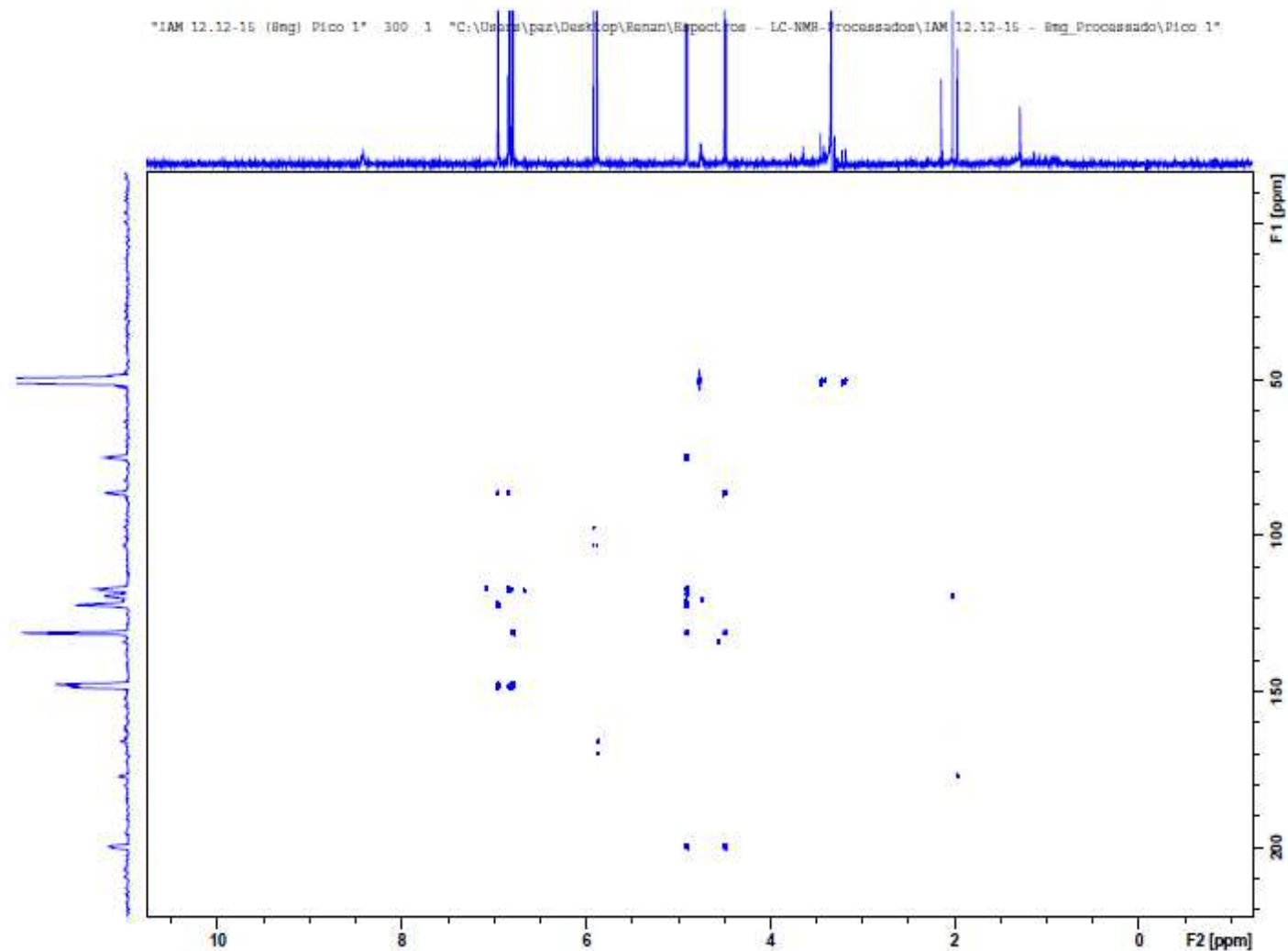
F1 - Acquisition parameters
TD 194
SFO1 150.9383 MHz
FIDRES 128.224834 Hz
SW 104.806 ppm
FnMODE Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 600.2300067 MHz
MDW Q5INE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 echo-antiecho
SF 150.9277711 MHz
MDW Q5INE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0

```

Figura 26. Mapa de contornos HSQC do pico 1 de IAM 12.12-15



```

Current Data Parameters
NAME      IAM 12.12-15 (8mg) Pico 1
EXPNO    300
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150827
Time     12.53
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm PATXI 1H/
PULPROG  hmbcgp1pdqf
TD       4096
SOLVENT  MeOD
NS       200
DS       16
SWH      7211.539 Hz
FIDRES   1.760630 Hz
AQ       0.2839893 sec
RG       203
DW       69.333 usec
DE       6.50 usec
TE       297.9 K
CONST2   145.0000000
CONST3   10.0000000
D0       0.00000300 sec
D1       1.00000000 sec
D2       0.00344828 sec
D6       0.05000000 sec
D16      0.00020000 sec
IN0      0.00001390 sec

----- CHANNEL f1 -----
SFO1     600.2328803 MHz
NUC1     1H
P1       8.27 usec
P2       16.54 usec
PLW1     15.25199986 W

----- CHANNEL f2 -----
SFO2     150.9430463 MHz
NUC2     13C
P3       12.00 usec
PLW2     188.13999939 W

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1] SMSQ10.100
GPNAM[2] SMSQ10.100
GPNAM[3] SMSQ10.100
GP21     50.00 %
GP22     30.00 %
GP23     40.10 %
P16      1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD       256
SFO1     150.943 MHz
FIDRES   140.512589 Hz
SW       238.310 ppm
F1MODE   QF

F2 - Processing parameters
SI       4096
SF       600.2300180 MHz
WDW      SINE
SSB      0
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.00

F1 - Processing parameters
SI       1024
MC2      QF
SF       150.9275060 MHz
WDW      SINE
SSB      0
LB       0 Hz
GB       0

```

Figura 27. Mapa de contornos HMBC do pico 1 de IAM 12.12-15



#### 4.7. Identificação da substância 4 (IAM 12.12-15 Pico 2)

##### Isolamento: Esquema 6

A substância do pico 2 da fração IAM 12.12-15 apresenta no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figuras 29-31) seis sinais de hidrogênios típicos de sistemas ABX que, aliados aos sinais observados em  $\delta$  5,32; 3,00 e 2,70 como duplos dubletos com constantes largas (tabela 13), sugeriram tratar-se de uma flavanona.

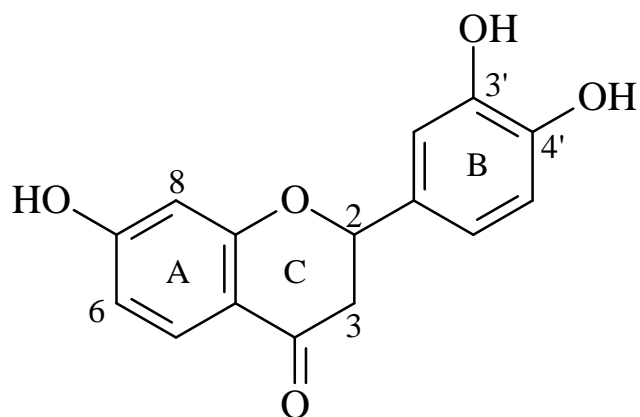
No mapa de contornos HSQC (figura 32), os hidrogênios de um dos sistemas ABX em  $\delta$  7,71; 6,48 e 6,35 correlacionam com os carbonos  $\delta$  129,5 (C-5); 110,2 (C-6) e 105,2 (C-8) respectivamente. O mapa de contornos HMBC (figura 33, tabela 13) mostra a correlação do H-5 ( $\delta$  7,71) com os carbonos C-4 ( $\delta$  195,0), C-7 ( $\delta$  168,0) e C-9 ( $\delta$  167,0), caracterizando, assim, o anel A.

No anel B, os hidrogênios em  $\delta$  6,92 (H-2'), 6,78 (H-5') e 6,80 (H-6') exibem correlação no mapa de contornos HSQC com os carbonos em  $\delta$  113,3; 117,9 e 119,6 (figura 32), respectivamente. O hidrogênio na posição 5' correlaciona com o C-1' ( $\delta$  133,4) e com o C-3' ( $\delta$  147,9) no mapa de contornos HMBC (figura 33). As correlações com o C-4' ( $\delta$  148,1) estão na tabela 13.

Para o anel C da flavanona, o mapa de contornos HSQC (figura 32) mostra as correlações entre o hidrogênio  $\delta$  5,32 com o carbono em  $\delta$  82,4 (C-2) e os hidrogênios em  $\delta$  3,00 e 2,70 com o carbono em  $\delta$  44,7 (C-3).

Os dados espectrais obtidos possibilitaram a identificação da substância 4 como sendo a Butina (figura 34) cujos dados foram comparados com

os relatados por Lee & Colaboradores (2006). Esta flavanona está sendo relatada pela primeira vez em *Inga*.

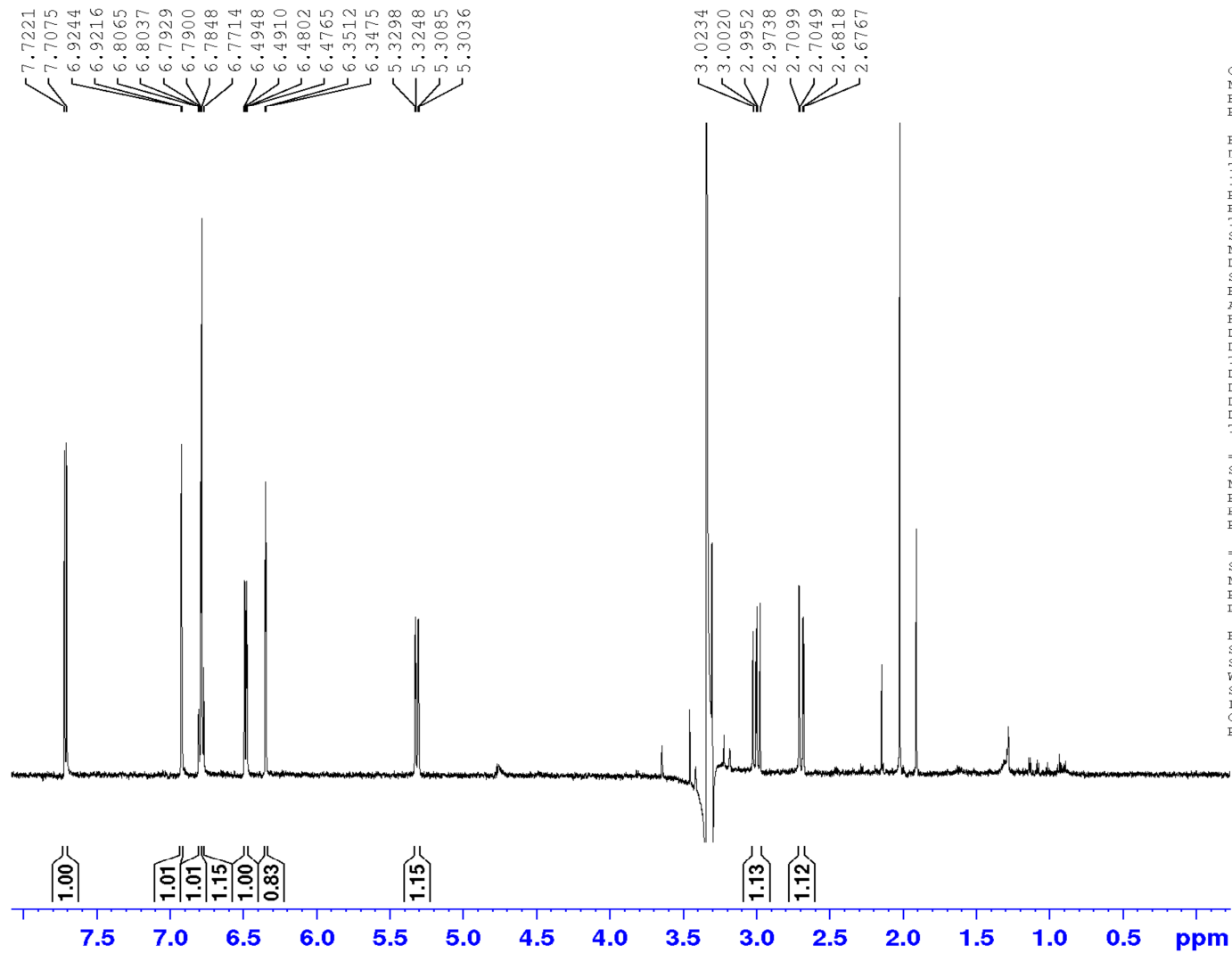


**Figura 34.** Estrutura da Butina

**Tabela 13.** Dados espectroscópicos de IAM 12.12-15 (Pico 2) e RMN de  $^{13}\text{C}$  da Butina

Posição	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm); mult. <i>J</i>	$\delta$	Lee et al. (2006)	
	(Hz)*	(ppm)**	$\delta$ (ppm)***	
2	5,32 (dd; 12,8; 3,0)	82,4	80,9	C-4 e C-1'
3	2,70 (dd; 16,9; 3,0);	44,7	44,8	$\delta$ 2,70 - C-4 e C-1'
	3,00 (dd; 12,8; 16,9)			$\delta$ 3,00 - C-2, C-4 e C-1'
4		195,0	193,6	
5	7,71 (d; 8,7)	129,5	129,8	C-4, C-7 e C-9
6	6,48 (dd ; 8,7; 2,2)	110,2	111,7	C-8 e C-10
7		168,0	166,7	
8	6,35 (d; 2,2)	105,2	103,8	C-9 e C-10
9		167,0	165,5	
10		116,3	114,9	
1'		133,4	131,9	
2'	6,92 (d; 1,7)	113,3	114,7	C-2, C-4' e C-6'
3'		147,9	146,4	
4'		148,1	146,4	
5'	6,78 (d; 8,1)	117,9	116,2	C-1' e C-3'
6'	6,80 (dd; 8,1; 1,7)	119,6	119,2	C-2, C-1', C-2' e C-4'

\*600 MHz, MeOD-*d*4; \*\*dados obtidos através do HSQC e HMBC; \*\*\*125 MHz, MeOD-*d*4



```
Current Data Parameters
NAME      IAM 12.12-15 (8mg) Pico 2
EXPNO    11
PROCNO   1
```

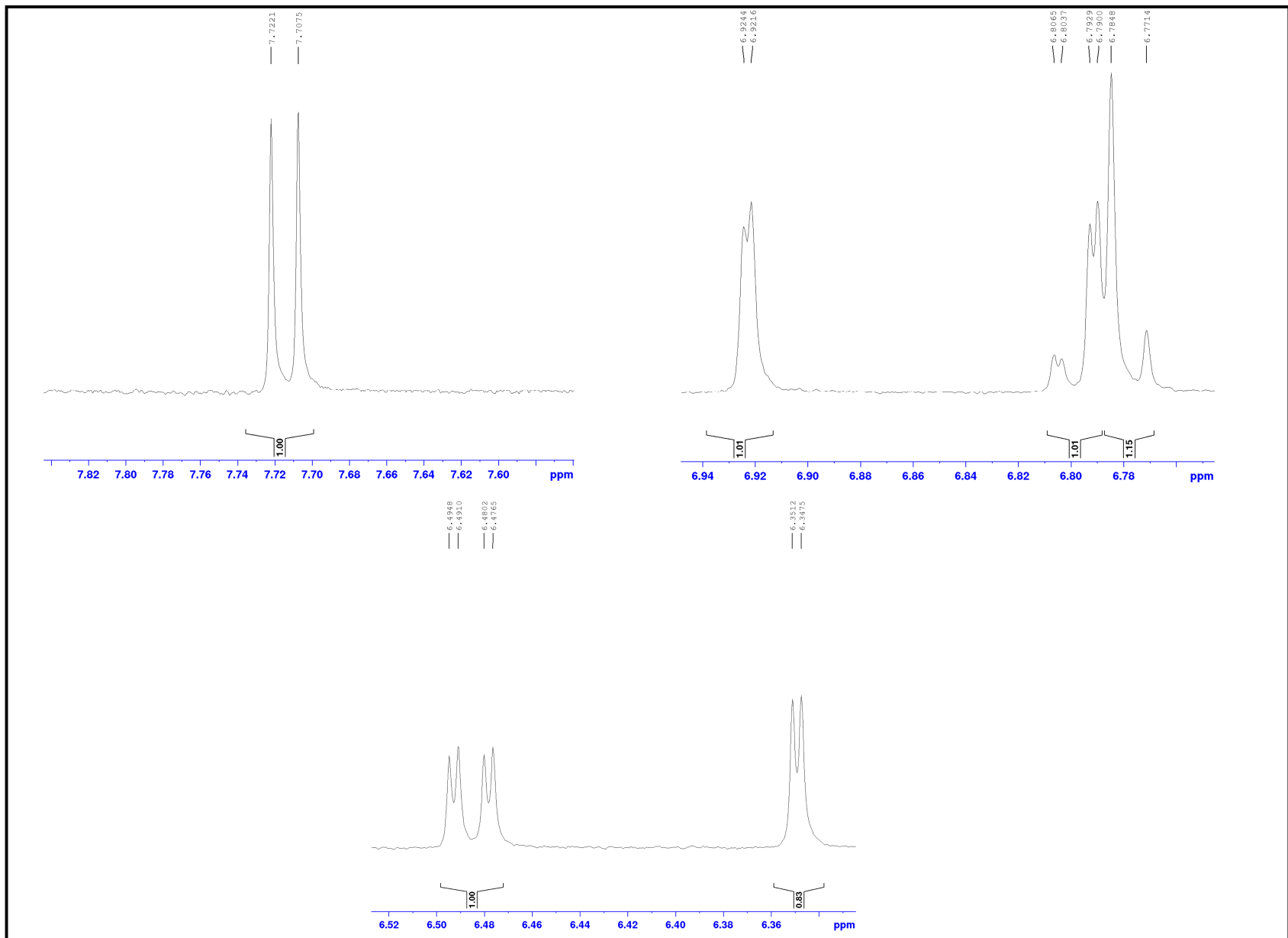
```
F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150826
Time     10.47
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm PATXI 1H/
PULPROG  lclprf2
TD       65536
SOLVENT  MeOD
NS       32
DS       4
SWH      7211.539 Hz
FIDRES   0.110039 Hz
AQ       4.5438294 sec
RG       57
DW       69.333 usec
DE       10.00 usec
TE       298.0 K
D1       2.40000010 sec
D8       0.01000000 sec
D12      0.00002000 sec
D13      0.00000400 sec
TD0      1
```

```
===== CHANNEL f1 =====
SFO1    600.2328803 MHz
NUC1     1H
P1       7.00 usec
PLW1    8.39999962 W
PLW9    0.00001646 W
```

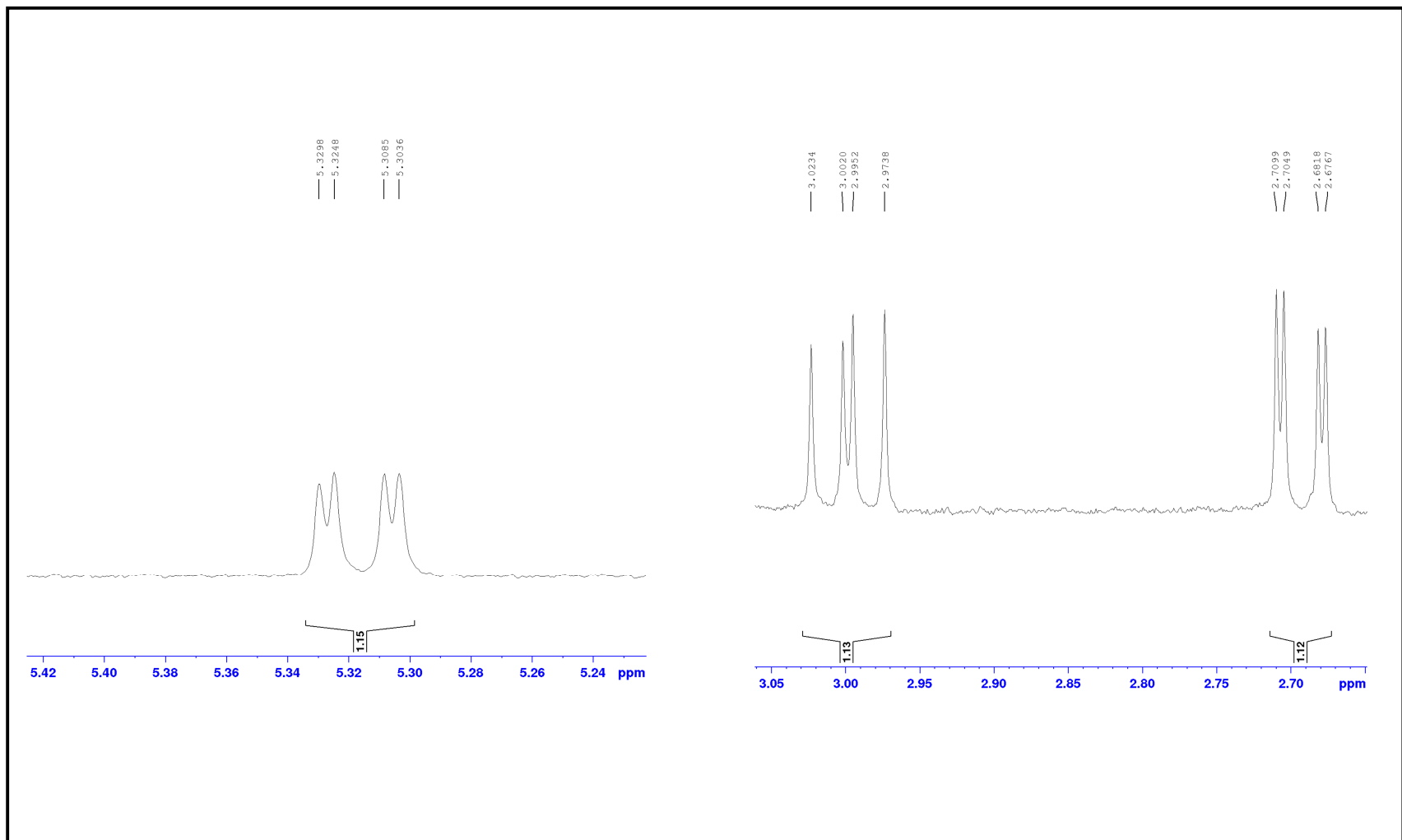
```
===== CHANNEL f2 =====
SFO2    600.2319981 MHz
NUC2     1H
PLW2    8.39999962 W
PLW21   0.00001742 W
```

```
F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       600.2300171 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0.50 Hz
GB       0
PC       1.00
```

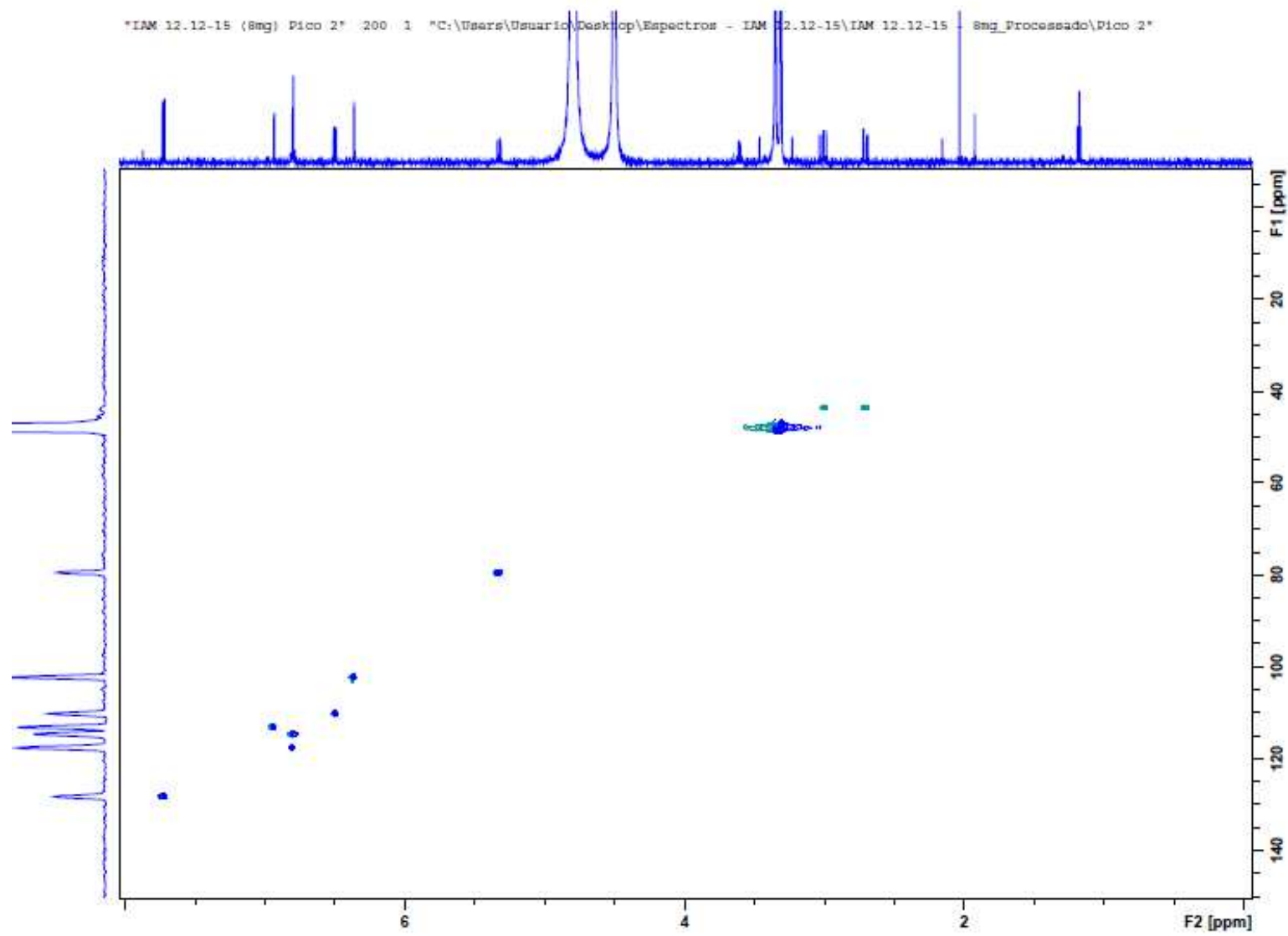
Figura 29. Espectro de <sup>1</sup>H do pico 2 de IAM 12.12-15 (MeOD; 600 MHz)



**Figura 30.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico 2 de IAM 12.12-15 nas região de 7,82 a 6,36 ppm



**Figura 31.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico 2 de IAM 12.12-15 nas região de 5,42 a 2,70 ppm



```

Current Data Parameters
NAME      IAM 12.12-15 (8mg) Pico 2
EXPNO    200
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150826
Time     10.53
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm PAKXI 1H/
PULPROG  hsgcdeatppisp2.3
TD       2048
SOLVENT  MeOD
NS       16
DS       16
SWH      7211.539 Hz
FIDRES   3.321239 Hz
AQ       0.141997 sec
RG       203
DM       69.333 usec
DE       6.30 usec
TE       298.5 K
CST2     145.000000
CST17    -0.300000
D0       0.0000300 sec
D1       2.0000000 sec
D4       0.0017344 sec
D11      0.0300000 sec
D15      0.0020000 sec
D21      0.0036000 sec
D24      0.0008900 sec
IN0      0.0002010 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     600.2328211 MHz
NUC1     13C
P1       8.27 usec
P2       16.54 usec
P3       1000.00 usec
PLW1     15.25199986 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     150.9385185 MHz
NUC2     13C
CPCPRG2  garrp
P3       12.00 usec
P14      500.00 usec
P24      2000.00 usec
P31      1730.00 usec
PCPD2    60.00 usec
PLW0     0 W
PLW2     188.13999939 W
PLW12    7.52549982 W
SFMAM[3] Crp60_0.3_20.1
SFOAL3   0 Hz
SFOFF33  0 Hz
SFM3     41.39300156 W
SFMAM[7] Crp60comp.4
SFOAL7   0 Hz
SFOFF37  0 Hz
SFM7     41.39300156 W
SFMAM[18] Crp60_xfilt.2
SFOAL18  0 Hz
SFOFF18  0 Hz
SFM18    11.96300030 W

===== GRADIENT CHANNEL =====
GNAM[1]  SMSQ10.100
GNAM[2]  SMSQ10.100
GNAM[3]  SMSQ10.100
GNAM[4]  SMSQ10.100
GE1      80.00 A
GE2      20.10 A
GE3      11.00 A
GE4      -3.00 A
P16      1000.00 usec
P19      500.00 usec

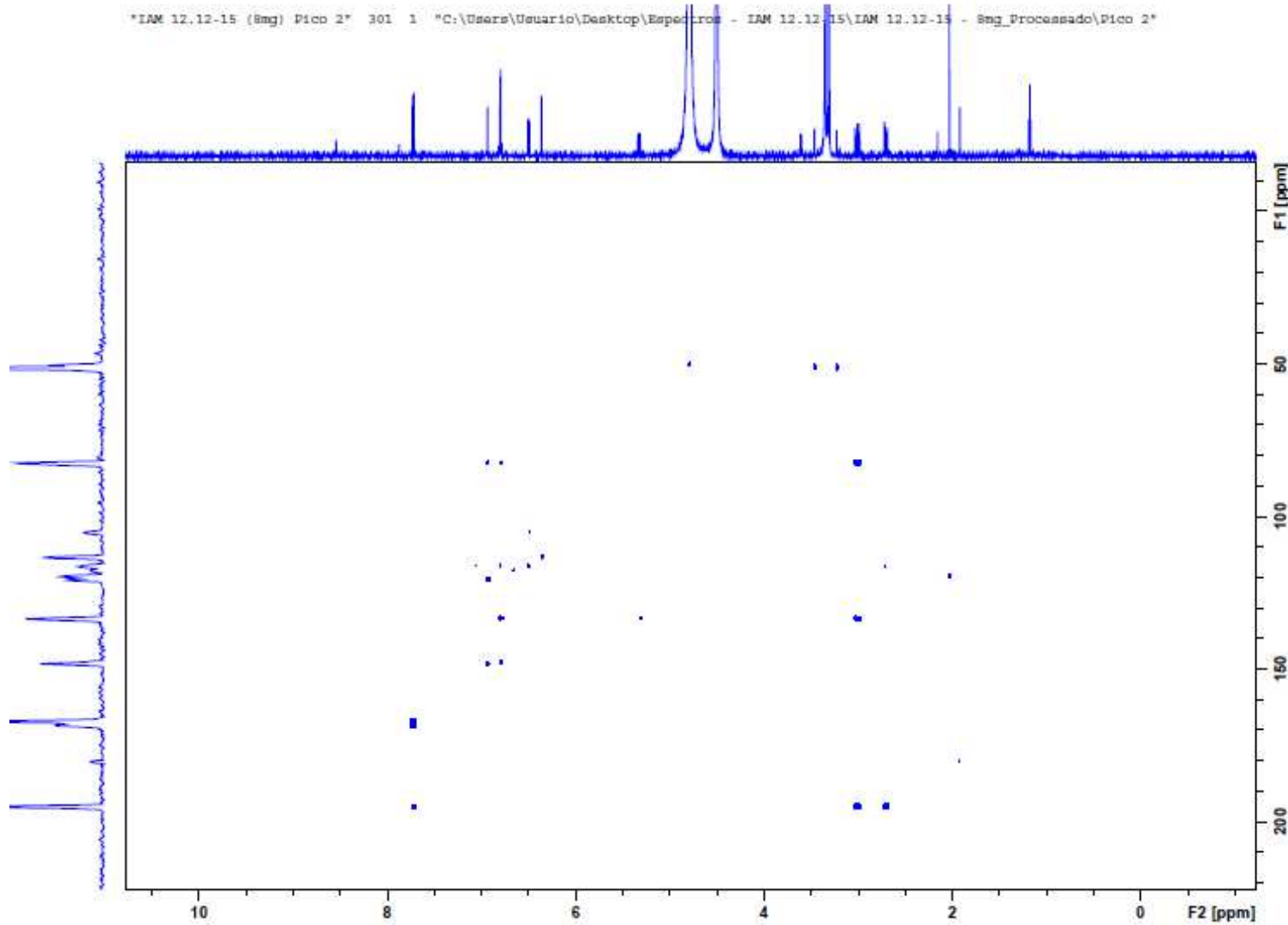
F1 - Acquisition parameters
TD       202
SFO1     150.9385 MHz
FIDRES   123.146645 Hz
SH       184.806 ppm
PaMODE   Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI       1024
SF       600.2299993 MHz
WDW      QSIINE
SFB      2
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.00

F1 - Processing parameters
SI       1024
MC2      echo-antiecho
SF       150.9279623 MHz
WDW      QSIINE
SFB      2
LB       0 Hz
GB       0

```

Figura 32. Mapa de contornos HSQC do pico 2 de IAM 12.12-15



```

Current Data Parameters
NAME      IAM 12.12-15 (8mg) Pico 2
EXPNO    301
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150931
Time     16.36
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm PATXI 1H/
PULPROG  hmbcgp1pndqf
TD       4096
SOLVENT  MeOD
NS       200
DS       16
SWH      7211.539 Hz
FIDRES   1.760630 Hz
AQ       0.2839893 sec
RG       203
DW       69.333 usec
DE       6.50 usec
TE       298.0 K
CNST2    145.0000000
CNST13   10.0000000
D0       0.00000300 sec
D1       1.00000000 sec
D2       0.00344828 sec
D6       0.05000000 sec
D16      0.00020000 sec
IN0      0.00001390 sec

----- CHANNEL f1 -----
SF01     600.2328803 MHz
NUC1     1H
P1       8.27 usec
P2       16.54 usec
PLW1     15.25199986 W

----- CHANNEL f2 -----
SF02     150.9430463 MHz
NUC2     13C
P3       12.00 usec
PLW2     188.1399989 W

----- GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1] SMSQ10.100
GPNAM[2] SMSQ10.100
GPNAM[3] SMSQ10.100
GPZ1    50.00 %
GPZ2    30.00 %
GPZ3    40.10 %
P16     1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD      256
SF01    150.943 MHz
FIDRES  140.512589 Hz
SW      238.310 ppm
F1MODE  QF

F2 - Processing parameters
SI      4096
SF      600.2300124 MHz
WDW     SINE
SSB     0
LB      0 Hz
GB      0
PC      1.00

F1 - Processing parameters
SI      1024
MC2     QF
SF      150.9275215 MHz
WDW     SINE
SSB     0
LB      0 Hz
GB      0

```

Figura 33. Mapa de contornos HMBC do pico 2 de IAM 12.12-15



#### 4.8. Identificação da substância 5 (IAM 12.12-15 Pico 3)

**Isolamento:** Esquema 6

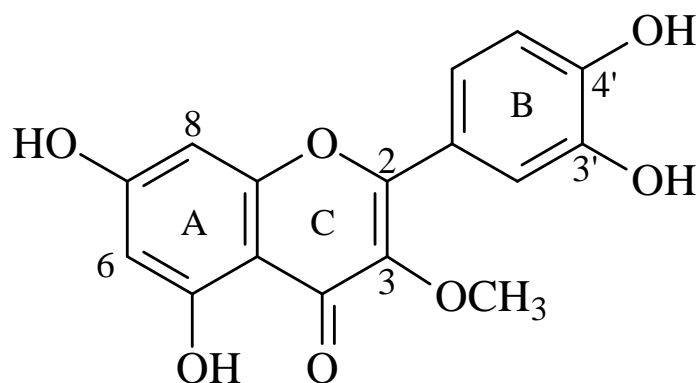
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figuras 35 e 36) apresenta 5 sinais característicos de sistemas aromáticos. Os dubletos em  $\delta$  6,20 e 6,40 (d; 2,0 Hz) evidenciam um acoplamento em *meta*, típico do sistema AB. Os sinais em  $\delta$  7,61; 6,90 e 7,52 mostraram constantes de acoplamentos típicas de sistemas ABX (tabela 14). O sinal observado em  $\delta$  3,78, típico de metoxila, leva à conclusão de que a substância 5 é um flavonol metoxilado.

O mapa de contornos HSQC (figura 37) mostra as correlações dos hidrogênios do anel A em  $\delta$  6,20 e 6,40 com os carbonos em  $\delta$  99,1 (C-6) e 95,0 (C-8), respectivamente. O hidrogênio na posição 6 ( $\delta$  6,20) correlaciona no mapa de contornos HMBC (figura 38) com os carbonos em  $\delta$  163,2 (C-5), 165,2 (C-7) e 105,4 (C-10). A tabela 14 mostra as outras correlações vistas no mapa de contornos HMBC.

Para o anel B do flavonoide, o mapa de contornos HSQC apresentou correlações entre os hidrogênios em  $\delta$  7,61, 6,90 e 7,52 com os carbonos C-2' ( $\delta$  115,8), C-5' ( $\delta$  115,8) e C-6' ( $\delta$  122,2), respectivamente. O hidrogênio em 6,90 (H-5') correlaciona no mapa de contornos HMBC (figura 38) com os carbonos C-3' ( $\delta$  145,9), C-4' ( $\delta$  149,3) e C-6' ( $\delta$  122,2). Outras correlações são verificadas na tabela 14.

A ausência de correlações no mapa de contornos HMBC entre os hidrogênios dos anéis A e B com o carbono em  $\delta$  139,0 evidenciou que a metoxila está na posição C-3, no anel C. Os hidrogênios em  $\delta$  3,78 correlacionam com o carbono  $\delta$  139,0 (C-3) no mapa de contornos HMBC. Tais dados espectroscópicos são compatíveis com a estrutura da 3-O-metilquercetina (figura 39). A comparação dos dados foi feita com base na estrutura proposta por Doucoré & Colaboradores (2010).

No gênero *Inga*, há dois registros de 3-O-metilquercetina, que foi identificada nas folhas de *Inga fendleriana* (Pistelli et al., 2009) e nas raízes de *I. edulis* (Correa et al., 1995), estando, neste estudo, o primeiro relato em madeira.

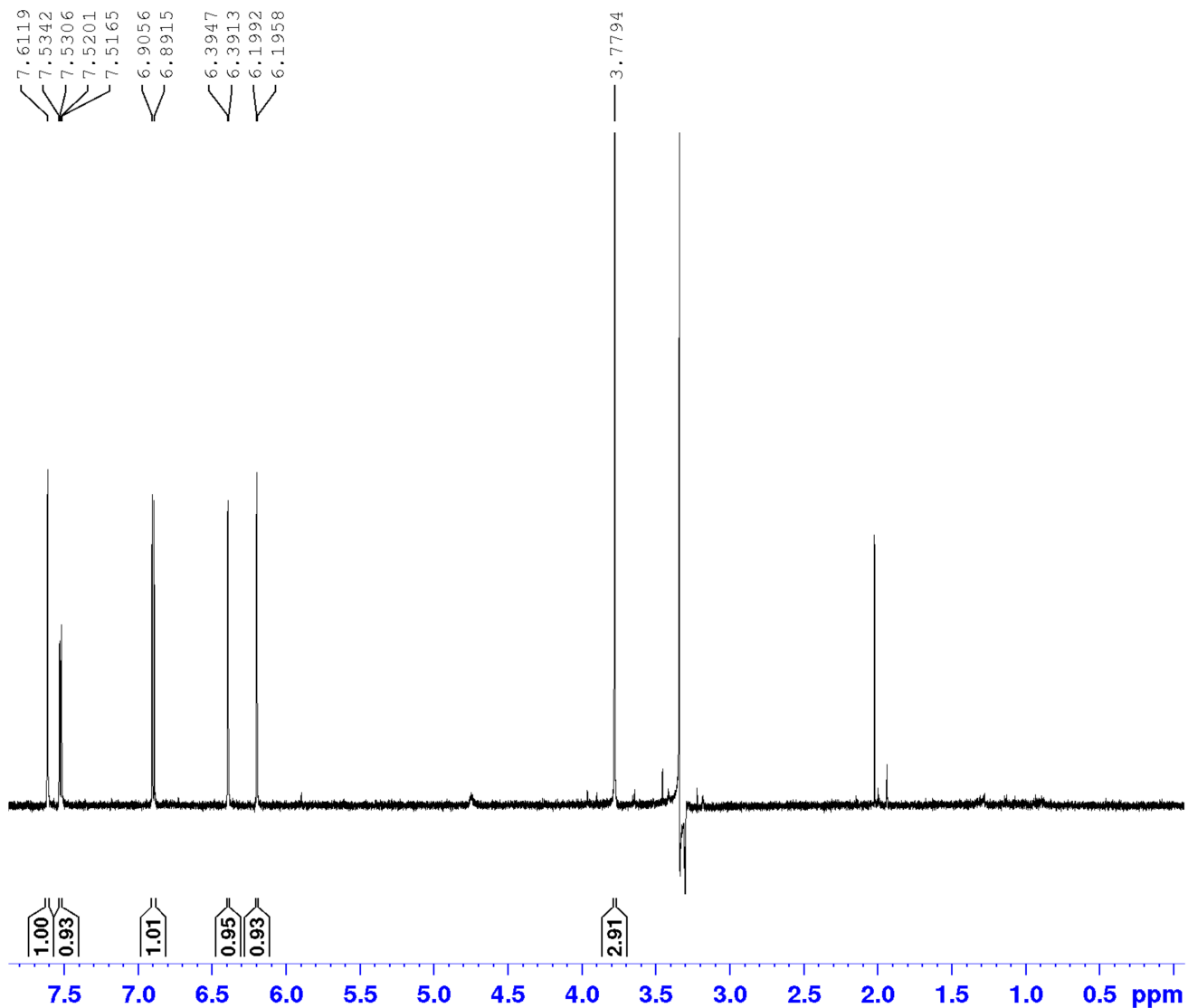


**Figura 39.** Estrutura da 3-O-metilquercetina.

**Tabela 14 .** Dados espectroscópicos de IAM 12.12-15 (Pico 3) e RMN de  $^{13}\text{C}$  da 3-O-metilquercetina

Posição	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm); mult. <i>J</i>	$\delta$	Doucoré et al. (2010)	
	(Hz)*	(ppm)**	$\delta$ (ppm)***	
2		157,0	156,7	
3		139,0	139,3	
4		-	179,4	
5		163,2	163,2	
6	6,20 (d; 2,0)	99,1	99,3	C-5, C-7 e C-10
7		165,2	164,8	
8	6,40 (d; 2,0)	95,0	94,4	C-7, C-9 e C-10
9		157,7	157,8	
10		105,4	105,9	
1'		121,9	123,0	
2'	7,61 (d; 2,2)	115,8	116,3	C-2, C-1', C-3' e C-4'
3'		145,9	145,8	
4'		149,3	149,1	
5'	6,90 (d; 8,5)	115,8	116,3	C-3', C-4' e C-6'
6'	7,52 (dd; 8,5; 2,2)	122,2	122,1	C-2 e C-4'
OCH <sub>3</sub>	3,78 (s)	59,0	60,0	C-3

\*600 MHz, MeOD-*d*4; \*\*dados obtidos através do HSQC e HMBC; \*\*\*125 MHz, Acetona-*d*6



```

Current Data Parameters
NAME                Pico 3
EXPNO                11
PROCNO              1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                20150825
Time                 14.22
INSTRUM              spect
PROBHD               5 mm PATXI 1H/
PULPROG              lclpnr2
TD                   65536
SOLVENT              MeOD
NS                   32
DS                   4
SWH                  7211.539 Hz
FIDRES               0.110039 Hz
AQ                   4.5438294 sec
RG                   57
DW                   69.333 usec
DE                   10.00 usec
TE                   298.0 K
D1                   2.40000010 sec
D8                   0.01000000 sec
D12                  0.00002000 sec
D13                  0.00000400 sec
TD0                  1

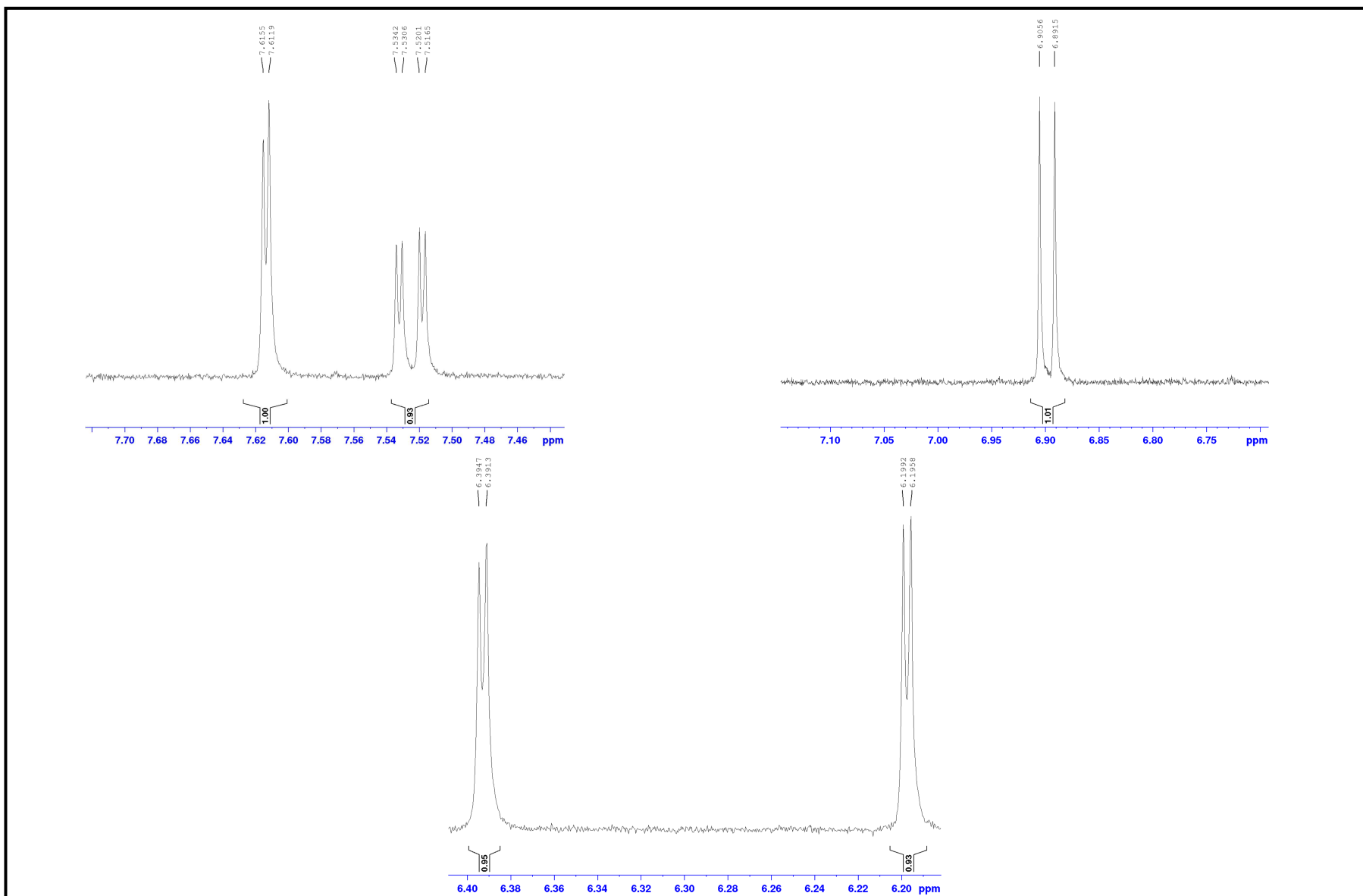
===== CHANNEL f1 =====
SFO1                 600.2328799 MHz
NUC1                 1H
P1                   7.00 usec
PLW1                 8.39999962 W
PLW9                 0.00001646 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2                 600.2319981 MHz
NUC2                 1H
PLW2                 8.39999962 W
PLW21                0.00001742 W

F2 - Processing parameters
SI                   32768
SF                   600.2300171 MHz
WDW                  EM
SSB                  0
LB                   0 Hz
GB                   0
PC                   1.00

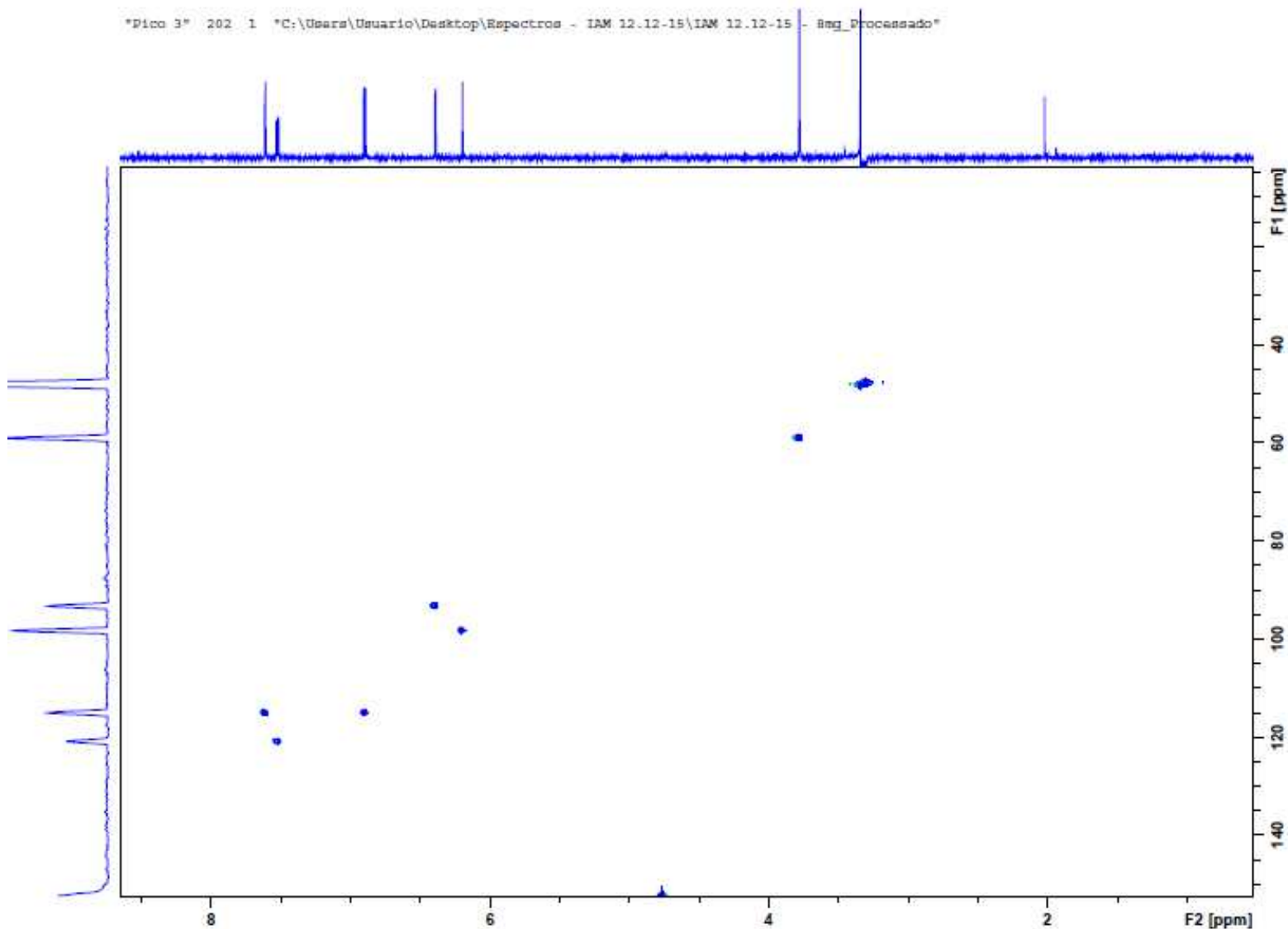
```

Figura 35. Espectro de  $^1\text{H}$  do pico 3 de IAM 12.12-15 (MeOD; 600 MHz)



**Figura 36.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico 3 de IAM 12.12-15 nas região de 7,70 a 6,20 ppm

"Pico 3" 202 1 "C:\Users\Usuario\Desktop\Espectros - IAM 12.12-15\IAM 12.12-15 - Rmq\_Processado"



```
Current Data Parameters
NAME      Pico 3
EXPNO    202
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20150826
Time     9:55
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm FATHI IH/
PULPROG  hsgedetqpsp2.3
TD       2048
SOLVENT  MeOD
NS       4
DS       16
SWH      7211.539 Hz
FIDRES   3.521259 Hz
AQ       0.1419747 sec
RG       303
DM       69.333 usec
DE       6.50 usec
TE       298.3 K
CONST2   145.0000000
CONST17  -0.5000000
D0       0.0000000 sec
D1       2.0000000 sec
D4       0.00172414 sec
D11      0.03000000 sec
D15      0.00020000 sec
D21      0.00380000 sec
D24      0.00080000 sec
IN0      0.00002010 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     600.2328211 MHz
NUC1     1H
P1       8.27 usec
P2       16.54 usec
P22      1000.00 usec
PLW1     15.25199986 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     150.9385185 MHz
NUC2     13C
CQPRG[2]  garrp
P3       12.00 usec
P14      500.00 usec
P24      2000.00 usec
P31      1730.00 usec
PQED2    60.00 usec
PLW0     0 W
PLW2     188.13999939 W
PLW12    7.32349982 W
SPNAM[3] Crp60,0.5,20.1
SFOAL3   0 Hz
SFOFF3   0 Hz
SPW3     41.39500156 W
SPNAM[7] Crp60comp,4
SFOAL7   0.500
SFOFF7   0 Hz
SPW7     41.39500156 W
SPNAM[18] Crp60_kfile,2
SFOAL18  0.500
SFOFF18  0 Hz
SPW18   11.96300030 W

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SMSQ10.100
GPNAM[2] SMSQ10.100
GPNAM[3] SMSQ10.100
GPNAM[4] SMSQ10.100
GFE1     80.00 %
GFE2     20.10 %
GFE3     11.00 %
GFE4     -5.00 %
P16      1000.00 usec
P19      500.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ID       216
SFO1     150.9385 MHz
FIDRES   115.164917 Hz
SW       144.806 ppm
PwMODE   Echo-Antiecho

F2 - Processing parameters
SI       1024
SF       600.2300071 MHz
WVW      QSINE
SSB       2
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.00

F1 - Processing parameters
SI       1024
MC2     echo-antiecho
SF       150.927853 MHz
WVW      QSINE
SSB       2
LB       0 Hz
GB       0
```

Figura 37. Mapa de contornos HSQC do pico 3 de IAM 12.12-15

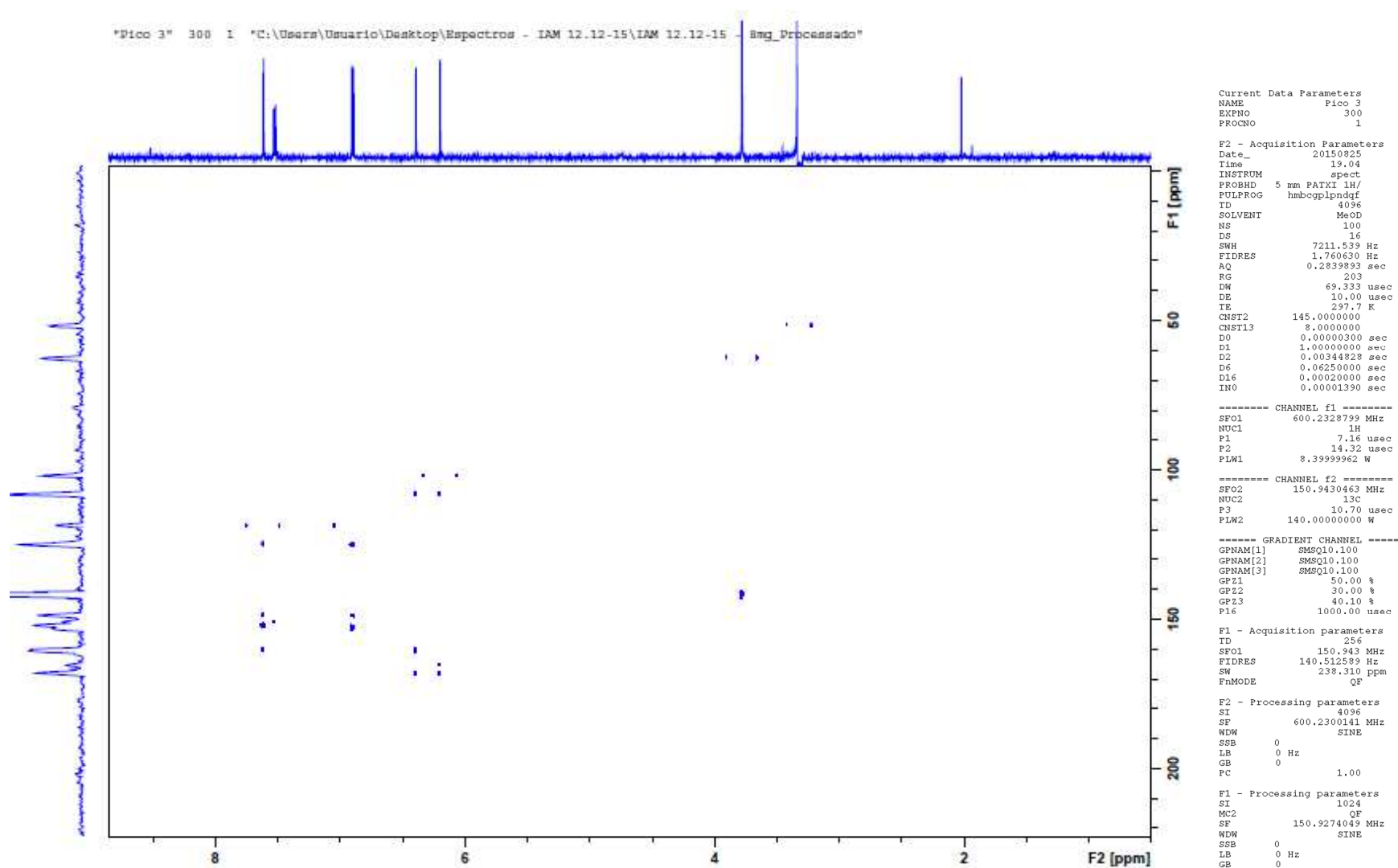
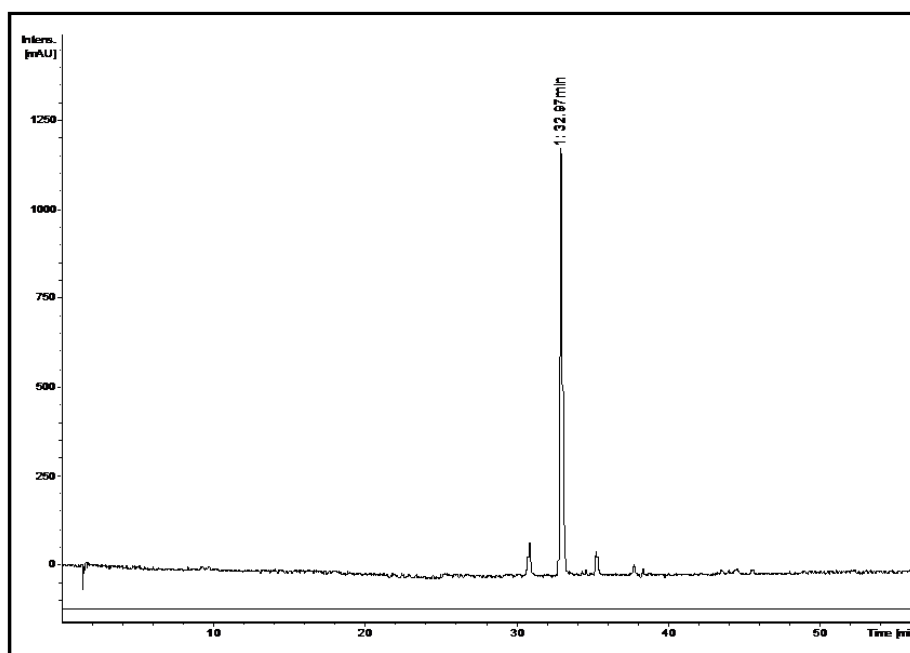


Figura 38. Mapa de contornos HMBC do pico 3 de IAM 12.12-15

#### 4.9. Fração IAM 13.31: pico único trapeado através da CL-EFS.

A fração **IAM 13.31**, obtida conforme esquema 8, foi submetida à técnica CL-EFS, sendo possível o trapeamento de um único pico, de acordo com o cromatograma da figura 40. O pico foi adsorvido em cartuchos de EFS, com o tempo de retenção de aproximadamente 33 minutos.



**Figura 40.** Cromatograma da amostra IAM 13.31 (10 mg)



#### 4.10. Identificação da substância 6 (IAM 13.31 Pico único)

**Isolamento:** Esquema 7

A substância 6 foi elucidada a partir de espectro unidimensional ( $^1\text{H}$ ) e bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC). O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figuras 41-44) apresenta 4 grupos metílicos em singletos ( $\delta$  1,84; 1,78; 1,37 e 1,26), 8 hidrogênios metilênicos ( $\delta$  2,26-1,60), 8 sinais de hidrogênios olefínicos, que têm multiplicidades e deslocamentos químicos que sugerem a presença de 2 monoterpenos na molécula:  $\delta$  6,81 e 6,76 (dt); 5,04, 5,22 (dd) e 5,20, 5,28 (dd); 5,90 e 5,93 (dd), cujas constantes de acoplamentos estão disponibilizadas na tabela 15.

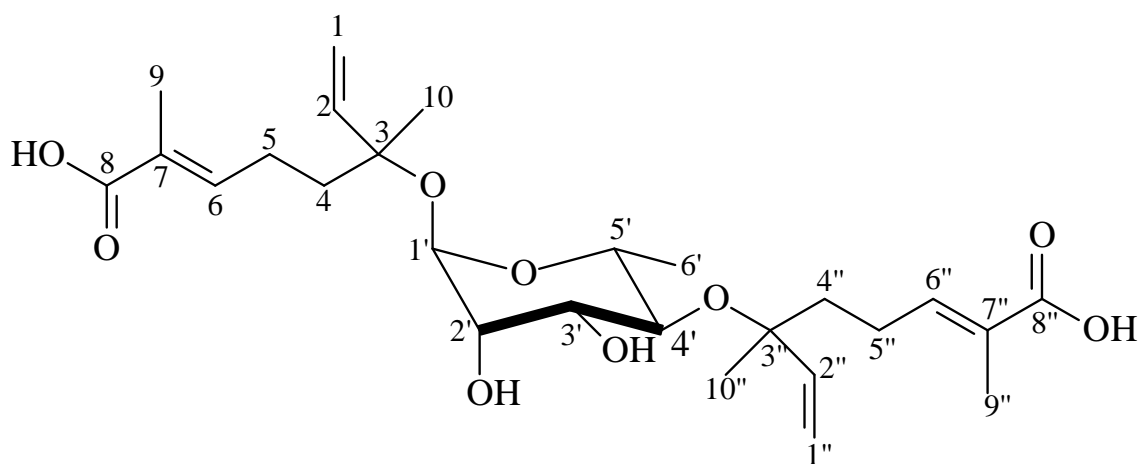
O espectro também sugere a presença de uma unidade de açúcar devido ao sinal de hidrogênio anomérico em  $\delta$  4,45 (d; 7,8 Hz) e dos sinais entre  $\delta$  4,90-3,15, além de uma metila em dubleto observada em  $\delta$  1,25 (6,1 Hz). O mapa de contornos COSY (figura 45) mostrou as correlações entre o hidrogênio anomérico com o hidrogênio em  $\delta$  3,35 (H-2') e do  $\delta$  3,33 com o sinal da metila em  $\delta$  1,25. Os dados espectrais obtidos são compatíveis com os reportados para a  $\alpha$ -L-ramnose (Jelassi et al., 2014)

No mapa de contornos HSQC (tabela 15, figura 46), as correlações dos hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,22 e 5,04 com o carbono em  $\delta$  112,6 e dos hidrogênios em  $\delta$  5,28 e 5,20 com o carbono em  $\delta$  115,8, confirmam os metilenos terminais na molécula. Os demais hidrogênios olefínicos em  $\delta$  6,81 e 6,76 correlacionam com os carbonos em  $\delta$  143,8 e 145,7, respectivamente.

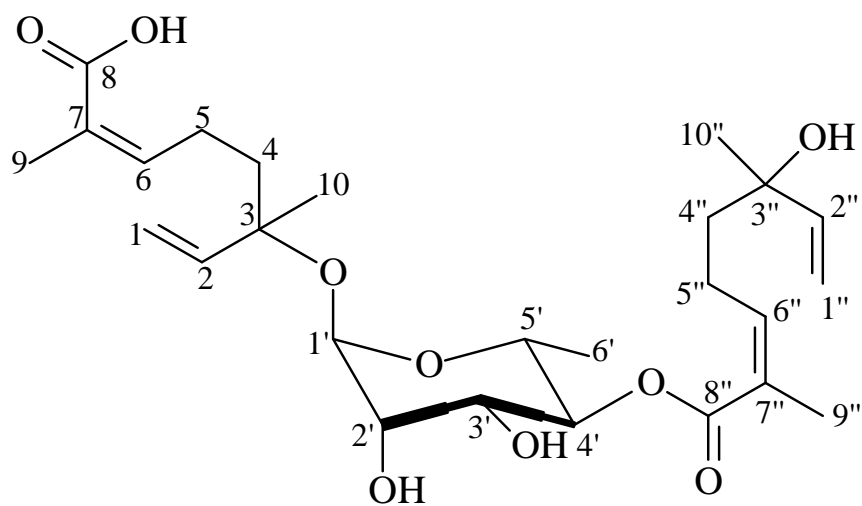
O mapa de contornos HMBC (tabela 15, fig 47) mostra a correlação entre os hidrogênios metílicos em  $\delta$  1,78 (H-9) com o carbono em  $\delta$  145,7 (C-6) e com a carbonila em  $\delta$  171,4 (C-8), típica de ácido carboxílico. Os hidrogênios da metila em  $\delta$  1,84 (H-9'') exibem correlação com o carbono em  $\delta$  143,8 (C-6'') e com a carbonila em  $\delta$  169,3 (C-8''), típica de éster. A correlação do hidrogênio da ramnose em  $\delta$  4,90 (H-4') com esta carbonila (C-8''), evidencia a ligação  $\beta$  entre o açúcar, na posição C-4', com o grupamento éster do monotерpeno. A partir das correlações exibidas entre os hidrogênios em  $\delta$  5,04 e 5,22; 1,61 e 1,26 com o carbono em  $\delta$  73,4 e dos hidrogênios em  $\delta$  5,20 e 5,28; 1,69 e 1,37 com o carbono em  $\delta$  80,8, foi possível atribuir os dois carbonos oxigenados C-3 e C-3'', respectivamente.

A ausência de molécula na literatura que fosse idêntica a esta instigou a busca por estruturas semelhantes, sendo possível a comparação com a substância elucidada por Jelassi & Colaboradores (2014). Nesta estrutura, denominada *Cyclopside 2* (figura 48), existem dois grupamentos ácidos carboxílicos, ao passo que, nas análises dos dados espectroscópicos de Ressonância Magnética Nuclear, ficou evidenciada a ligação entre o glicosídeo e o éster. Assim, esta molécula foi nomeada neste trabalho como *Dapaznídeo* (figura 49) que está sendo relatada pela primeira vez na literatura.

Em algumas espécies pertencentes à subfamília Mimosoideae tem sido detectada a presença de monotерpenos ácidos (ácido mentiafólico) ligados a saponinas triterpenoídicas em semente de *Albizia procera* (Yoshikawa et al, 1998) e folhas de *Calliandra pulcherrima* (Silva & Parente, 2013), além dos ácidos monotерpênicos glicosilados identificados nas vagens de *Acacia cyclops* (Jelassi et al., 2014). Assim, o registro do derivado do ácido mentiafólico em *Inga alba* sugere uma tendência da formação destes derivados em Mimosoideae.



**Figura 48.** Estrutura do *Cyclopside 2*



**Figura 49.** Estrutura do *Dapaznídeo*

**Tabela 15 .** Dados espectroscópicos de IAM 13.31 (Pico único)

Nº	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C	HMBC
	δ (ppm); mult. J (Hz) <sup>A</sup>	δ (ppm) <sup>B</sup>	
1	5,04 (dd; 10,8; 1,4)	112,6	C-3
	5,22 (dd; 17,2; 1,4)		
2	5,90 (dd; 17,6; 10,8)	145,7	
3		73,4	
4	1,61 (m)	41,5	C-3, C-5 e C-6
5	2,26 (m)	24,5	C-4, C-6 e C-7
6	6,76 (dt; 7,5; 1,3)	145,7	C-8 e C-9
7		128,6	
8		171,4	
9	1,78 (s)	12,3	C-6, C-7 e C-8
10	1,26 (s)	27,5	C-2, C-3 e C-4
1'	4,45 (d; 7,8)	99,0	C-2' e C-4'
2'	3,35 (área de supressão)	72,6	
3'	3,15 (t; 9,4)	75,1	C-2', C-4' e C-6'
4'	4,90 (t; 9,4)	78,8	C-2', C-3' e C-8
5'	3,33 (área de supressão)	72,6	
6'	1,25 (d; 6,1)	18,0	
1''	5,20 (dd; 17,6; 1,0)	115,8	C-2'' e C-3''
	5,28 (dd; 17,6; 1,0)		
2''	5,93 (dd; 18,0; 11,0)	145,7	

3''		80,8	
4''	1,69 (m)	40,8	C-2'', C-3'' e C-5''
5''	2,26 (m)	24,5	C-4'', C-6'' e C-7''
6''	6,81 (dt; 7,62; 1,40)	143,8	C-8'' e C-9''
7''		128,6	
8''		169,3	
9''	1,84 (s)	12,3	C-6'', C-7'' e C-8''
10''	1,37 (s)	23,4	C-2'', C-3'' e C-4''

<sup>A</sup>600 MHz, MeOD-*d*4; <sup>B</sup>dados obtidos através do HSQC e HMBC

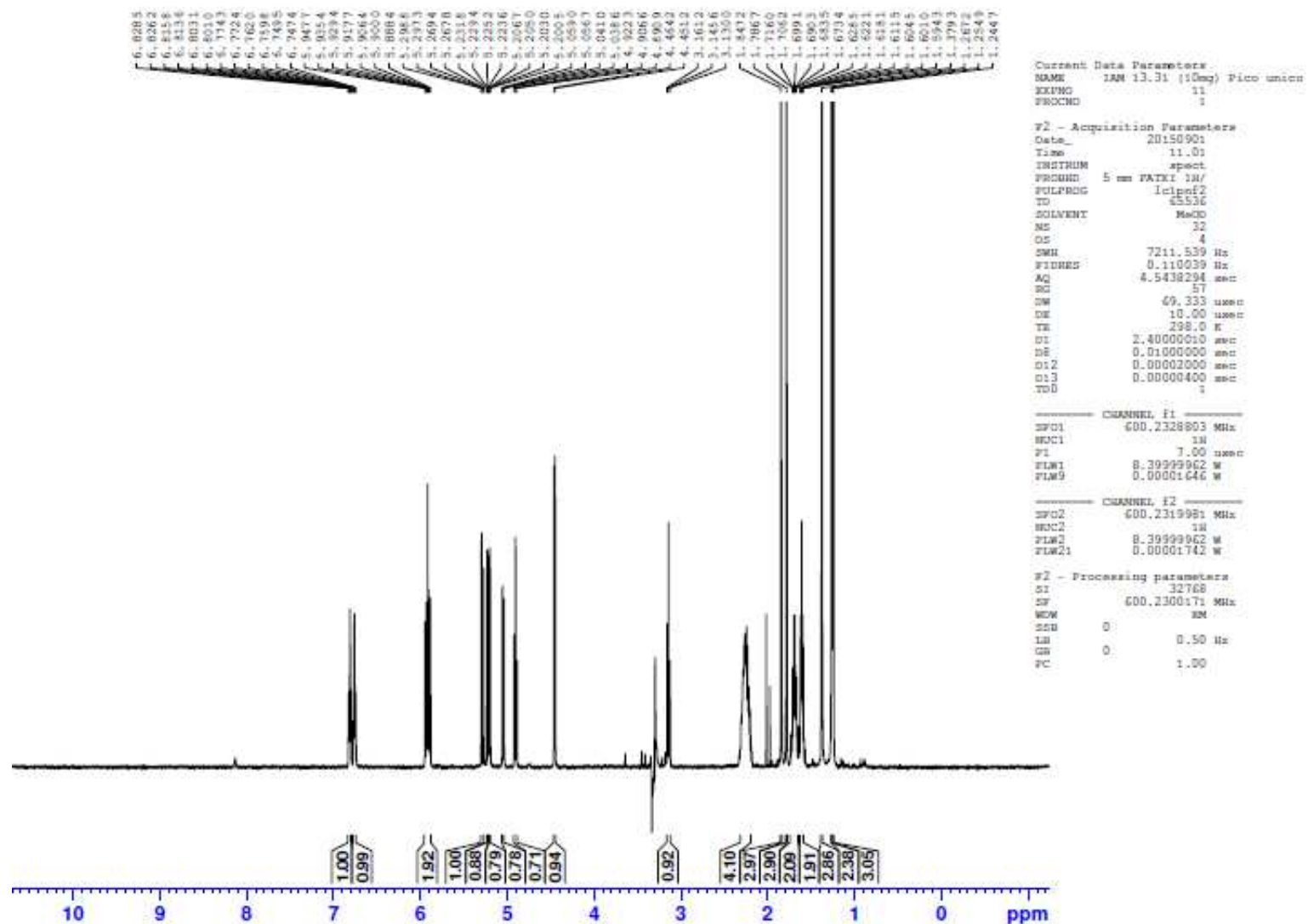
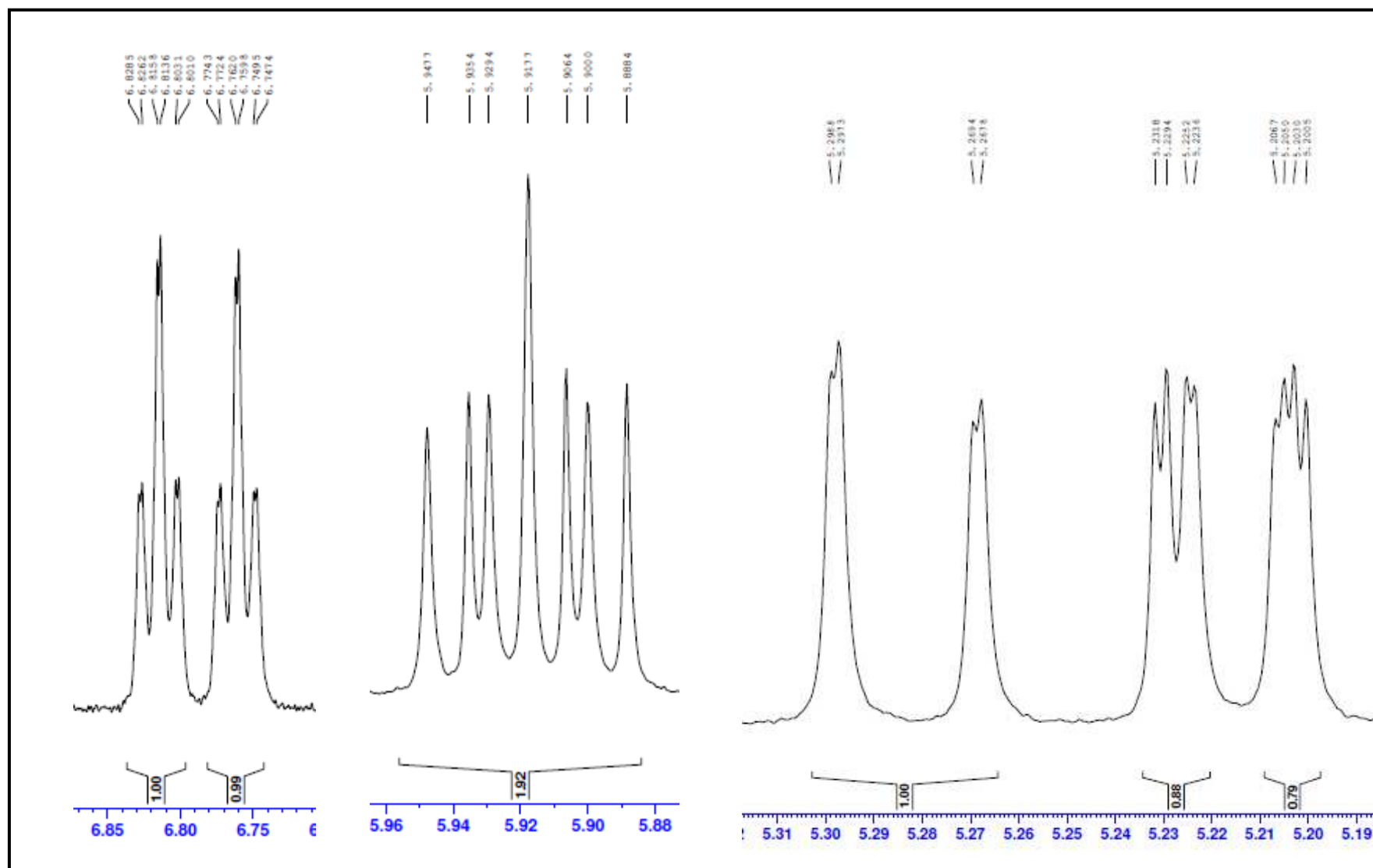
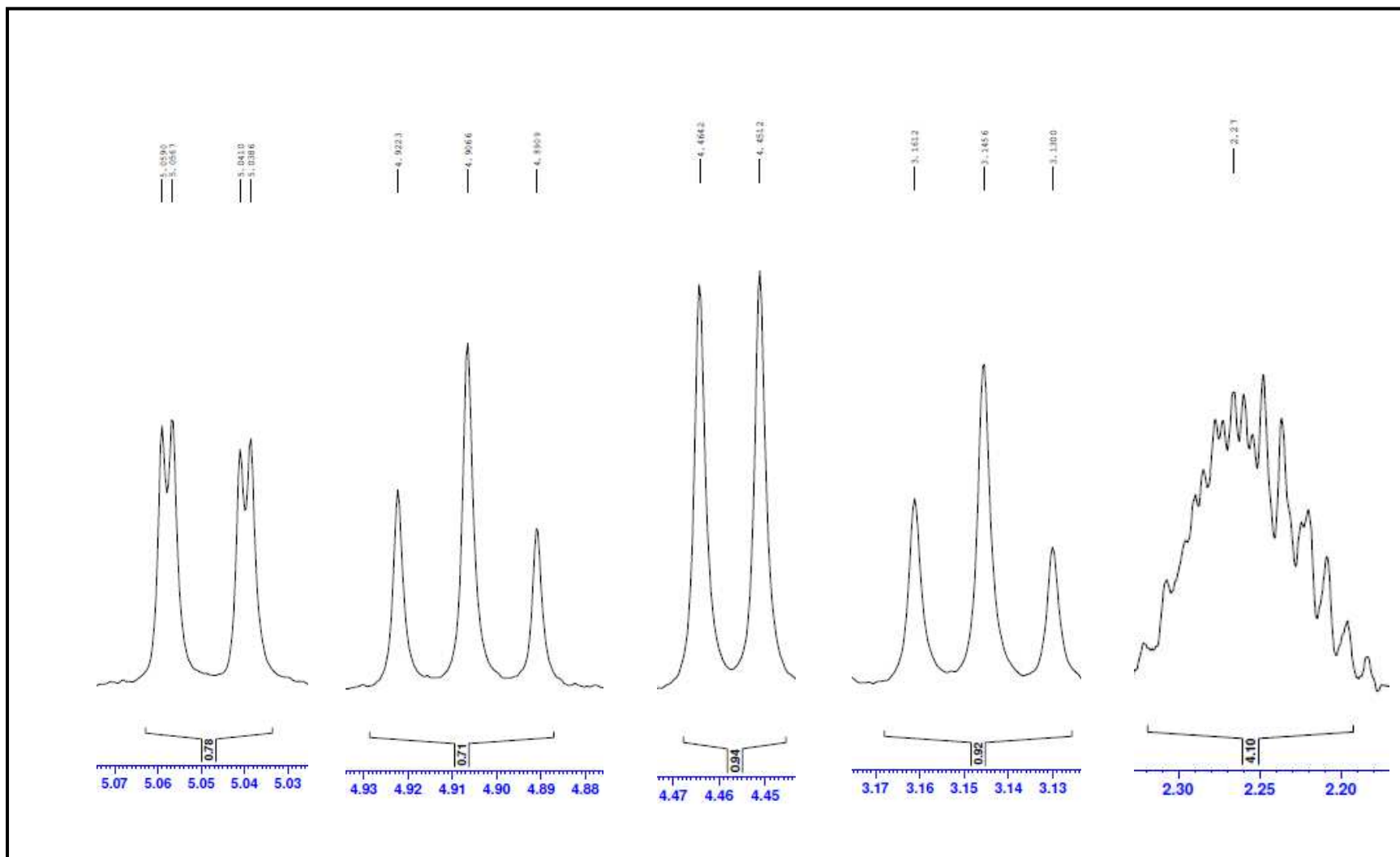


Figura 41. Espectro de  $^1\text{H}$  do pico único de IAM 13.31 (MeOD- $d_4$ ; 600 MHz)

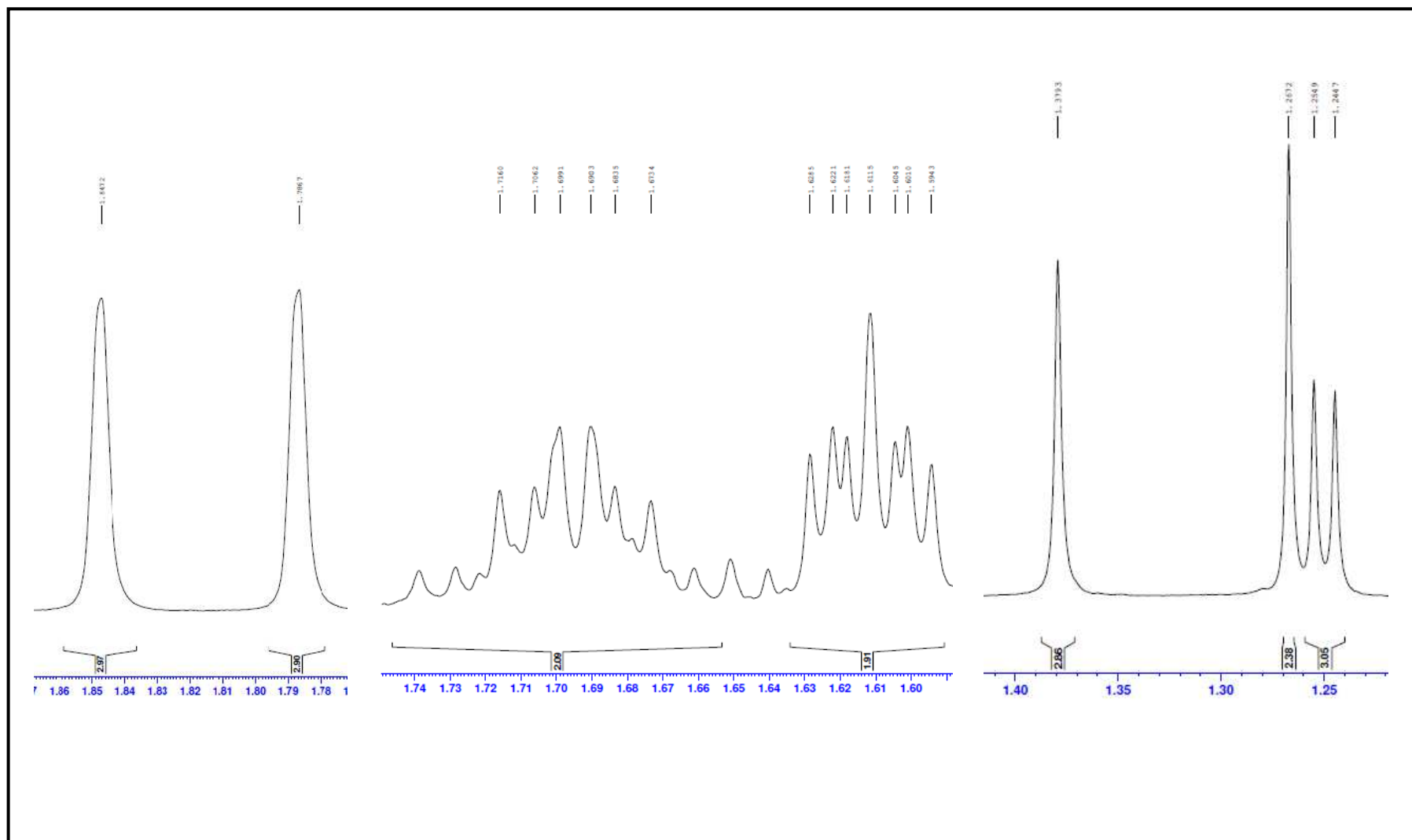


**Figura 42.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico único de **IAM 13.31** nas regiões de 6,85 a 5,19 ppm



**Figura 43.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico único de IAM 13.31 nas regiões de 5,07 a 2,20 ppm





**Figura 44.** Ampliação dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  do pico único de **IAM 13.31** nas regiões de 1,86 a 1,25 ppm

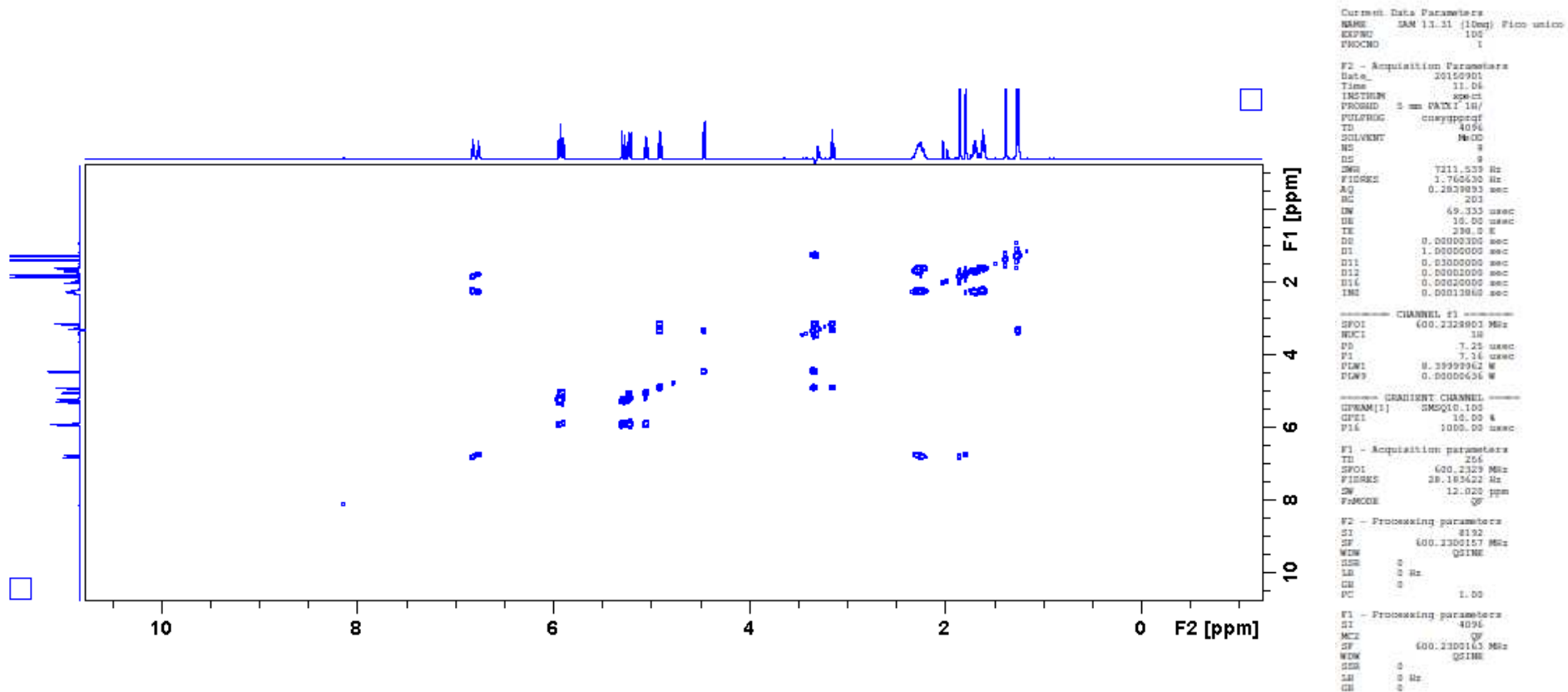


Figura 45. Mapa de contornos COSY do pico único de IAM 13.31



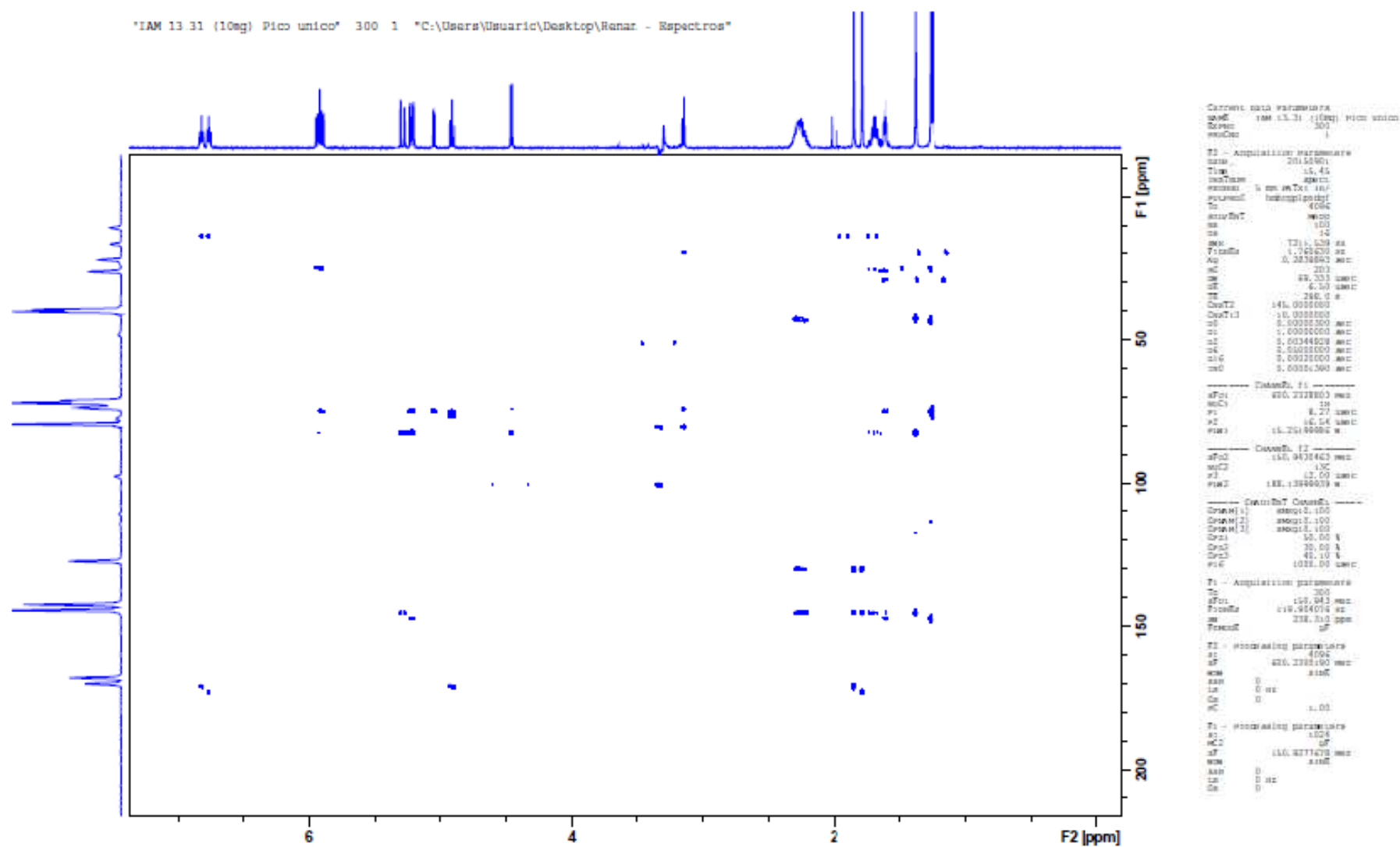


Figura 47. Mapa de contornos HMBC do pico único de IAM 13.31

## **5. CONCLUSÃO**

---

Com o estudo químico realizado neste trabalho em resíduos madeiros (caule) nas espécies *Inga alba* e *Inga paraensis*, este trabalho contribui para o conhecimento do perfil químico do gênero *Inga*, bem como para as espécies estudadas, uma vez que não há na literatura registros de estudos fitoquímicos realizados nas mesmas. A partir de técnicas tradicionais e modernas de cromatografia, foi possível fracionar extratos e frações, podendo ser identificadas 5 substâncias e elucidada uma. Os esteroides identificados (espinasterona e espinasterol) são reportados pela primeira vez em *Inga*. Os flavonoides em *Inga* são relatados unicamente em folhas e, neste trabalho, foram identificados em partes madeiras de espécie do gênero, sendo estes a taxifolina, butina e 3-O-metilquercetina. O derivado do ácido mentiafólico, denominado neste trabalho de *Dapaznídeo*, é reportado pela primeira vez na literatura, sugerindo que, em Mimosoideae, há uma tendência para a formação destes compostos, uma vez que substâncias similares foram identificadas em duas espécies pertencentes a esta subfamília.

O estudo sobre os metabólitos secundários nestas espécies é de grande importância para o conhecimento das madeiras de *Inga* da Amazônia, cuja química é desconhecida e que vêm sendo inseridas no mercado para substituir as tradicionalmente utilizadas pelo setor madeireiro.

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

Abreu, L.B., Mendes, L.M., Silva, J.R.M. 2009. Aproveitamento de resíduos de painéis de madeira gerados pela indústria moveleira na produção de pequenos objetos. *Revista Árvore*, 33: 171-177.

Alvino, F.O., Silva, M.F., Rayol, B.P. 2005. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na Zona Bragantina, Pará, Brasil. *Acta Amazonica*, 35: 413-420.

Anaya, A. L., Rubalcava, M.M., Ortega, R.C., Santana, C.G. Monterrubio, P.N.S.; Bautista, B.E.H.; Rachel, M.R. 2005. Allelochemicals from *Stauranthus perforatus*, a Rutaceous tree of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Phytochemistry*, 66: 487-494.

Andrade, A.L.P. A Subfamília Faboideae (Fabaceae Lindl.) no Parque Estadual do Guartelá, Município de Tibagi, Estado do Paraná. 2008. 2 pp. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Paraná.

APG (Angiosperm Phylogeny Group). <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 08/08/2015.

Braz-Filho, R. 2010. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, 33: 229-239.

Cerqueira, P.H.A., Vieira, G.C., Barbarena, L.C.M., Freitas, L.C. 2012. Análise dos resíduos madeiros gerados pelas serrarias do município de Eunápolis-BA. *Floresta e Ambiente*, 19: 506-510.

Coley, P.D., Lokvam, J., Rudolph, K., Bromberg, K., Sackett., T.A., Wright, L., Brenes-Arguedas, T., Dvoretz, D., Ring, S., Clark, A., Baptiste, C., Pennington, T., Kursar, T.A. 2005. Divergent defensive strategies of young leaves in two species of *Inga*. *Ecology*, 86: 2633–2643.

Dias, A.L.S., Souza, J.N.S., Rogez, H. 2010. Enriquecimento de compostos fenólicos de folhas de *Inga edulis* por extração em fase sólida: quantificação de seus compostos majoritários e avaliação da capacidade antioxidante. *Química Nova*, 33: 38-42.

Doucoré, A., Garcia, J., Koné, D., Aliou, A.K., Keïta., J.N. 2010. Isolement de la 3-O-méthylquercétine des fleurs de *Vernonia galamensis* (Cass.) Less. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 30: 93-102.

Feist WC, Hon DN-S. 1984. Chemistry of weathering and protection. In: Rowell R, editor. *The chemistry of solid wood*. Washington, DC: American Chemical Society. 402 pp.

Fonseca, C.N., Lisboa, P.L.B., Urbinati, C.V. 2005. A Xiloteca (Coleção Walter A. Egler) do Museu Paraense Emílio Goeldi. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*, 1: 65-140.



Granato, D., Nunes, D.S., Mattos, P.P., Rios, E.M., Glinski, A., Rodrigues, L.C., Júnior, G.Z. 2005. Chemical and biological evaluation of rejects from the wood industry. *Brazilian archives of biology and technology*, 48: 237-241.

Hayasida, W., Sousa, A.S., Lima, M.P., Nascimento, C.C., Ferreira, A.G. 2008. Proposta de aproveitamento em resíduos de pau-rainha (*Brosimum rubescens*) descartados pelo setor madeireiro. *Acta Amazonica*, 38: 749-752.

Hopkins, H.C.F. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). Flora Neotropica 43. New York: New York Botanical Garden. 1988. In: Ribeiro, J.E.L.S., Hopkins, M.J.G., Vicentini, A., Sothers, C.A., Costa, M.A.S., Brito, J.M., Martins, L.H.P., Lohmann, L.G., Assunção, P.A.C.L., Pereira, E.C., Silva, C.F., Mesquita, M.R., Procópio, L (Org.). Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firma na Amazônia Central. Manaus: FTD, 1999. 362 pp.

Horta, M.K.S., Lima, M.P., Nascimento, C.C., Ferreira, A.G. 2010. Investigação dos constituintes químicos de serragens descartadas pelo setor madeireiro. In: XIX Jornada de Iniciação Científica do INPA. Manaus, AM. 2010 v, CDROOM p, 4pp.

Jelassi, A., Zarda-Bergaoui, A., Nejma, A.B., Belaiba, M., Bouajila, J., Jannet, H.B. 2014. Two new unusual monoterpene acid glycosides from *Acacia cyclops* with potential cytotoxic activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24: 3777-3781.

Joo, S-J., Park, H-J., Park, J-H., Cho, J-G., Kang, J-H., Jeong, T-S., Kang, H-C., Lee., D-Y., Kim, H-S., Byun, S-Y., Baek, N-I. 2014. Flavonoids from *Machilus japonica* stems and their inhibitory effects on LDL oxidation. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 16418-16429.

Klock, U., Muñiz, G.I.B., Hernandez, J.A., Andrade. A.S. 2005. Química da madeira. Curitiba, PR: Universidade Federal do Paraná. 22 pp.

Lee, M-H., Lin, Y-P., Hsu, F-L., Zhan, G-R., Yen, K-Y. 2006. Bioactive constituents of *Spatholobus suberectus* in regulating tyrosinase-related proteins and mRNA in HEMn cells. *Phytochemistry*, 67: 1262-1270.

Lokvam, J., Brenes-Arguedas, T., Lee, J.S., Coley, P.D., Kursar, T.A. 2006. Allelochemic function for a primary metabolite: the case of L-tyrosine hyperproduction in *Inga umbellifera* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, 93: 1109–1115.

Lokvam, J., Clausen, T.P., Grapory, D., Coley, P.D., Kursar, T.A. 2007. Galloyl depsides of tyrosine from young leaves of *Inga laurina*. *Journal of Natural Products*, 70: 134-136.

Lokvam, J., Coley, P.D., Kursar, T.A. 2004. Cinnamoyl glucosides of catechin and dimeric procyanidins from young leaves of *Inga umbellifera* (Fabaceae). *Phytochemistry*, 65: 351-358.

Lorenzzi, H., Souza, V.C. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 639 pp. In: Caramori, S.S., Souza, A.A., Fernandes, K.F. 2008. Caracterização bioquímica de frutos de *Inga alba* (Sw.) Willd. e *Inga cylindrica* Mart. (Fabaceae). *Revista Saúde e Ambiente*, 9: 16-23.

Mata, M.F. O Gênero *Inga* (Leguminosae, Mimosoideae) no Nordeste do Brasil: citogenética, taxonomia e tecnologia de sementes. 2009. 229 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal da Paraíba, Areia.

Mata, M.F., Félix, L.P. 2007. Flora da Paraíba, Brasil: *Inga* Mill. (Leguminosae - Mimosoideae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 135-137.

Melo, J.C.P., Petereit, F., Nahrstedt, A. 1996. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, 41: 807-813.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade Brasileira. <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>. Acesso em 07/10/15.

Moreira, F.M.S. Fixação biológica do nitrogênio em espécies arbóreas. In: Araujo, R.S., Hungria, M. (Ed.). Microrganismos de importância agrícola. Brasília: Embrapa, 1994. 121 pp.

Morton, T.C., Zektzer, A.S., Rife, J.P., Romeos, J.T. 1991. Trans-4 methoxypipelic acid, an amino acid from *Inga paterno*. *Phytochemistry*, 30: 2397-2399.

Nascimento, C. C., Lima, M. P., Brasil, M. M., Araujo, R. D., Paula, E. V. C. M. 2012. Desenvolvimento de (Bio) Tecnologias para Aproveitamento de Recursos Naturais no Ato Rio Negro. In: Ehoy Castelo, Luis Augusto de Souza (Org.). Desvendando as Fronteiras do Conhecimento na Região Amazônica do Alto rio negro. Manaus, AM: 1-354 pp.

OIMT (Organização Internacional de Madeiras Tropicais) 2006. Reseña anual y evaluación de la situación mundial de las maderas. 2006. Organización Internacional de las Maderas Tropicales. Yokohama, Japón. OIMT. 210 p.

Pistelli, L., Bertoli, A., Noccioli, C., Mendez, J., Musmanno, R.A., Di Maggio, T., Coratza, G. 2009. Antimicrobial Activity of *Inga fendleriana* Extracts and Isolated Flavonoids. *Natural Product Communications*, 4: 1679-1683.

Ragasa, C.Y., Lima, K. 2005. Sterols from *Cucurbita maxima*. *Philippine Journal of Science*, 134: 83-87.

Reis, M.G., Faria, A.D., Santos, I.A., Amaral, M.C., Marsaioli, A.J. 2007. Byronic acid-the clue to floral mimicry involving oil-producing flowers and oil-collecting bees. *Journal of Chemical Ecology*, 33: 1421-1429.

Ribeiro, R.B.S., Gama, J.R.V., Martins, S.V., Moraes, A., Santos, A.A., Carvalho, A.N. 2013. Estrutura florestal em projeto de assentamento, comunidade São Mateus, município de Placas, Pará, Brasil. *Revista Ceres*, 60: 610-620.

Rodrigues, V.E.G., Carvalho, D.A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio Grande - Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, 25: 102-123

Sales-Campos, C.; Abreu, R.L.S.; Vianez, B.F. 2000. Indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 30: 319-331.

SBS (Sociedade Brasileira de Silvicultura) 2008. Fatos e números do Brasil florestal. São Paulo, SP: SBS, 25 pp.

Severo, E. T.D., Calonego, F. W., Sansígolo, C. A. 2006. Composição química da madeira de *Eucalyptus citriodora* em função das direcções estruturais. *Silva Lusitana*, 14: 113-126.

SFB; IMAZON, 2010. A atividade madeireira na Amazônia brasileira: produção, receita e mercados. Belém, PA: Serviço Florestal Brasileiro (SFB), Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia (Imazon), 8 pp.

Shanley, P., Medina, G. (Ed.). Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. Belém: Imazon, 2005. 231 pp.

Silva, B.P., Parente, J.P. 2013. A new complex triterpenoid saponin from *Calliandra pulcherrima* with haemolytic activity and adjuvant effect. *Phytochemistry Letters*, 6: 633–639.

Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees J.F., Larondelle, Y. 2007. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101: 1012-1018.

Silva, J.C. Caracterização da madeira de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden, de diferentes idades, visando a sua utilização na indústria moveleira. 2002. 181 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Silva, J.J.M., Rogez, H. 2013. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais Amazônicos. *Química Nova*, 36: 400-406.

Silva, R.F. Análise energética e exergética de uma micro central de cogeração inserida em uma planta de carbonização de madeira reflorestada. 2009. 22p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.

Sousa, J.S., Bastos, M.N.C., Gurge, E.S.C. 2011. O gênero *Inga* (Leguminosae-Mimosoideae) na Província Petrolífera de Urucu, Coari, Amazonas, Brasil. *Rodriguésia*, 62: 283-297.

Sousa, M.S. 2009. Adiciones al género *Inga* (Ingeae, Mimosoideae, Leguminosae) para la flora mesoamericana. *Acta Botanica Mexicana*, 89: 25-41.

Souza, J.N.S., Silva, E.M., Silva, M.N., Arruda, M.S.P., Larondelle, Y., Rogez, H. 2007. Identification and antioxidant activity of several flavonoids of *Inga edulis* Leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18: 1276-1280.

Stevenson, P.C., Kite, G.C., Simmonds, M.S.J. 1997. Pipecolic acid methyl esters as artefacts from the ion-exchange chromatography of *Inga punctata* foliar extracts. *Journal of Chromatography A*, 766: 267-269.

Tchuenmogne, A.M.T., Donfack, E.V., Kongue, M.D.T., Lenta, B.N., Ngouela, S., Tsamo, E., Sidhu, N., Dittrich, B., Laatsch, H. 2013. Ingacamerounol, a new flavonol and other chemical constituents from leaves and stem bark of *Inga edulis* Mart. *Bull Korean Chemical Society*, 34: 3859-3862.

Teng, C.M., Li, H.L., Wu, T.S., Huang, S.C., Huang, T.F. 1992. Antiplatelet actions of some coumarin compounds isolated from plant sources. *Thrombosis Research*, 66: 549-557.

Thuy, T.T., Sung, T.V., Frank, K., Wessjohann., L. 2008. Triterpenes from the roots of *Codonopsis pilosula*. *Journal of Chemistry*, 46: 515-520.

Tomasi, S.S. Aplicação de LC-SPE/NMR na caracterização de substâncias isoladas de cultivos da bactéria marinha *Streptomyces cebimarensis* SS99BA-2. 2014. 215 pp. Tese (Doutorado em Ciências – Química). Universidade Federal de São Carlos.

Trianoski, R., Iwakirin, S., Nascimento, C.C., Bila, N.F. 2015. Painéis aglomerados produzidos com quatro espécies de madeiras tropicais da Amazônia. *Scientia Forestalis*, 43: 445-452.

Tropicos. <http://www.tropicos.org/>. Acesso em 10/10/2015.

Vivot, E., Muñoz, J.D., Cruañes, M.C., Cruañes, M.J., Tapia, A., Hirschmann, G.S., Martínez, E., Gattuso, M., Zacchino, S. 2001. Inhibitory activity of xanthine-oxidase and superoxide scavenger properties of *Inga verna* subsp. affinis. Its morphological and micrographic characteristics. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 65-71.

Yoshikawa, K., Satou, Y., Tokunaga, Y., Tanaka, M., Arihara, S., Nigam, S.K. 1998. Four Acylated Triterpenoid Saponins from *Albizia procera*. *Journal of Natural Products*, 61: 440-445.