

CONSTITUENTES QUÍMICOS DAS RAÍZES DE *PYROSTEGIA VENUSTA* E CONSIDERAÇÕES SOBRE A SUA IMPORTÂNCIA MEDICINAL

Dalva Trevisan Ferreira, Paulo Sérgio M. Alvares

Departamento de Química - Universidade Estadual de Londrina - Londrina - PR

Peter J. Houghton

Department of Pharmacy - King's College - London University - London - UK

Raimundo Braz-Filho

Setor de Química de Produtos Naturais - LCQUI-CCT - Universidade Estadual do Norte Fluminense - 28015-620 - Campos - RJ

Recebido em 27/1/99; aceito em 29/6/99

CHEMICAL CONSTITUENTS FROM ROOTS OF *PYROSTEGIA VENUSTA* AND CONSIDERATIONS ABOUT ITS MEDICINAL IMPORTANCE. This paper describes the chemical constituents isolated from roots of *Pyrostegia venusta*. From ethanol extract of the roots allantoin, β -sitosterol, 3 β -O- β -D-glucopyranosylsitosterol and hesperidin were isolated. The structures of these natural products were identified on the basis of spectral data, including 2D NMR of the peracetyl derivative of hesperidin.

Keywords: *Pyrostegia venusta*; Bignoniaceae; allantoin; steroids; hesperidin.

INTRODUÇÃO

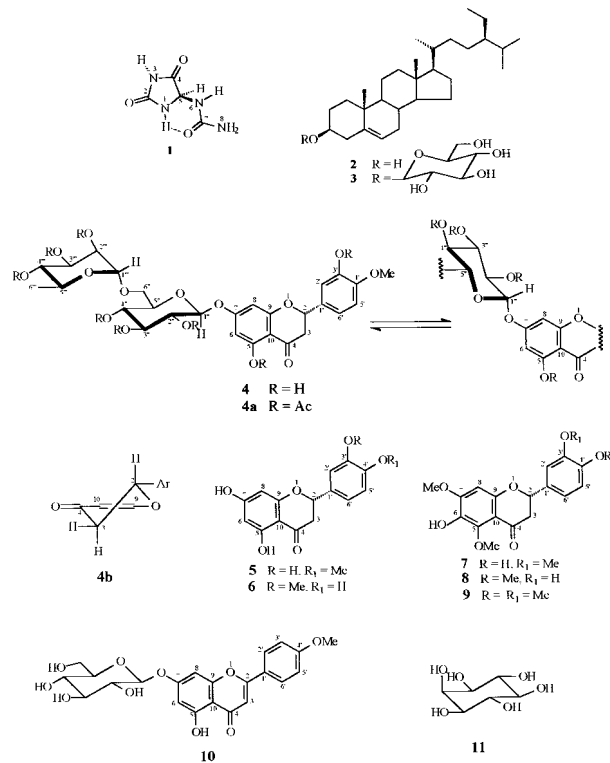
O gênero *Pyrostegia* Presl., família Bignoniaceae, é representado na América do Sul tropical por um máximo de quatro espécies. A espécie *Pyrostegia venusta* (Ker.) Miers (sinônima *Pyrostegia ignea* e *Bignonia venusta*), conhecida popularmente como cipó ou flor de São João, é uma liana trepadeira com expressiva dispersão em quase todo o sul do Brasil, sendo encontrada nas orlas das matas, nos campos, no litoral e na beira das estradas¹. Esta planta é invasora de pastos, onde foram registrados casos de envenenamento de bovinos após a sua ingestão². As suas flores são utilizadas na medicina popular para tratamento de manchas brancas no corpo (leucoderma, vitiligo)³. O caule é utilizado como tônico, anti-diarréico e na confecção de cestos. Trata-se de uma planta ornamental que se multiplica rapidamente, servindo para revestir muros e caramanchões.

A literatura não registra estudo químico das raízes de *Pyrostegia venusta*, encontrando-se relatados estudos fitoquímicos das flores e do caule. Estudos do néctar das flores conduziram ao isolamento de aminoácidos e de açúcares^{4,5}. Das flores foram isolados β -sitosterol, *n*-hentriacontano (*n*-C₃₁H₆₄), 7-O- β -D-glicopiranosilacetina e *meso*-inositol (*myo*-inositol)⁶.

Um artigo avaliando o estudo de 40 espécies de Bignoniaceae, entre elas a *Pyrostegia venusta*, revelou resultados uniformes e compatíveis com a presença de fenóis livres e grupos siringila⁷. O padrão floral contendo antocianinas exibe pequena variação nas plantas da família Bignoniaceae⁸.

Dois teses de Mestrado descreveram resultados sobre o padrão de floração associado à biologia e reprodução¹ e palinológicos (estudo do polén)⁹ da espécie *Pyrostegia venusta*.

O estudo químico das raízes de *Pyrostegia venusta* foi desenvolvido em continuidade à investigação fitoquímica que vem sendo realizada com a família Bignoniaceae. O extrato etanólico das raízes forneceu quatro substâncias, que foram identificadas com base na interpretação de dados espectrais, principalmente RMN¹H e ¹³C, como allantoina (1), os esteróides β -sitosterol (2) e 3 β -O- β -D-glicopiranosilsitosterol (3) e a flavanona hesperidina (4). Os dados de RMN uni- (1D) e bidimensional (2D) do derivado peracetilado 4a foram usados para a confirmação estrutural, atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio (δ_H) e carbono (δ_C). Assim, foi possível também identificar a estrutura da flavanona



natural 4 isolada de *Pyrostegia venusta* e confirmar a existência de duas estruturas para esta substância na literatura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A allantoina (1) foi isolada de precipitado fornecido pelo extrato bruto e das frações cromatográficas 607, 614, 629 e 631 eluídas com CH₂Cl₂-AcOEt (2:8). Este constituinte foi identificado com base nos dados espectrais (DMSO-d₆) de RMN¹H e ¹³C comparados com valores descritos na literatura¹⁰. O espectro de RMN¹H revelou três singletos largos correspondentes aos grupos HN-1 (δ_H 10,54), HN-3 (δ_H 8,05) e H₂N-8 (δ_H 5,82) e dois sinais duplos (J=8,1 Hz) em δ_H 6,91 e

5,21 representantes dos hidrogênios HN-6 e H-5, respectivamente. O espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY apresentou picos transversais correspondentes aos acoplamentos vicinais entre H-5 e HN-6 e tipo W entre H-5 e HN-3, em acordo com uma conformação inserindo estes átomos de hidrogênio num mesmo plano (1). A ausência de pico correspondente à interação spin-spin de H-5 (δ_{H} 5,21) e HN-1 (δ_{H} 10,54) sugere conformação mantendo ângulo diedro em torno de 90° entre estes átomos de hidrogênio, já que parece improvável a existência de troca química do hidrogênio do HN-1 (ponte de hidrogênio intramolecular com o átomo de oxigênio do grupo carbonílico localizado no carbono C-7) no solvente utilizado (DMSO- d_6 , ainda sem H_2O), como evidenciado pela interação do HN-6 (sem troca química) e H-5 (*Vide supra*). O espectro de RMN ^{13}C apresentou três sinais correspondentes a átomos de carbono dos grupos carbonílicos C-2 (δ_{C} 157,7), C-4 (δ_{C} 173,4) e C-7 (δ_{C} 156,7) e um de carbono metínico em δ_{C} 62,65 atribuído ao CH-5. Estes dados espectrais revelaram-se em pleno acordo com valores descritos na literatura¹⁰.

O β -sitosterol (2) foi isolado da fração cromatográfica 33-46 eluída com hexano. A identificação deste esteróide foi realizada por comparação direta com amostra autêntica.

A fração cromatográfica 486 eluída com CH_2Cl_2 forneceu o 3β -O- β -D-glicopiranosilsterol (3), que foi caracterizado com base nos dados espectrais de RMN ^1H e RMN ^{13}C , envolvendo

principalmente a comparação dos δ_{C} dos átomos de carbono com valores descritos na literatura¹¹.

A flavanona hesperidina (4, 7-O- β -D-rutinosil-3',5-diidroxi-4'-metoxiflavanona) foi isolada pura (menor quantidade, fração 622) e em uma mistura com alantóina (1). A estrutura deste flavonóide foi identificada com base nos dados fornecidos pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C (PND e DEPT). A confirmação desta estrutura foi obtida através de comparação dos deslocamentos químicos com valores descritos na literatura para os átomos de hidrogênio¹² e carbono¹³ (Tabela 1), após a superação de obstáculos produzidos pela existência na literatura de estrutura errada usando o nome correto (*Vide infra*). Esta situação encontrada na literatura conduziu-nos para uma análise espectral mais detalhada e exigiu a preparação do derivado peracetilado 4a para confirmação estrutural.

A presença do anel A 5,7-dioxigenado foi reconhecida pelos dois singletos largos em δ_{H} 6,05 (H-6) e 6,91 (H-8) revelados pelo espectro de RMN ^1H de 4 em DMSO- d_6 . O sinal do grupo metoxila foi observado em δ_{H} 3,85 (s). Os sinais em δ_{H} 4,50 (s) e 4,98 (d, J=8,0 Hz) foram atribuídos aos hidrogênios anoméricos H-1''' e H-1'', respectivamente. O sinal múltiplo entre δ_{H} 6,95 – 6,75 foi correlacionado com os hidrogênios aromáticos H-2', H-5' e H-6', sugerindo anel B 3'-hidroxi-4'-metoxi- ou 4'-hidroxi-3'-metoxi-. Outros sinais observados no espectro foram correlacionados com HO-3' (δ_{H} 9,10), HO-5

Tabela 1. Dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz) e ^1H (200 MHz) de 4 (DMSO- d_6) comparados com valores de δ_{C} descritos na literatura para a hesperidina (DMSO- d_6)^{13,14} e hesperetina (5, em DMSO- d_6), homoeriodictiol (6, em DMSO- d_6), 3',6-diidroxi-4',5,7-trimetoxi- (7, em $\text{CDCl}_3 + \text{MeOH}-d_4$), 4',6-diidroxi-3',5,7-trimetoxi- (8, em CDCl_3)¹⁵ e 6-hidroxi-3',4',5,6-tetrametoxiflavanona (9, em CDCl_3)¹⁴.*

	Hesperidina ^{13,14}		4 (δ_{C} e δ_{H})		5	6	7 ^a	8 ^a	9 ^a
C									
4	196,7	197,6	197,1	-	196,2	196,3			
5	163,0	163,3	163,1	-	163,8	163,5			
7	165,1	165,4	165,2	-	166,9	166,6			
9	162,5	162,8	162,6	-	163,0	162,9			
10	103,5	103,6	103,1	-	102,1	101,8			
1'	131,2	131,1	131,0	-	131,4	129,4	130,6	131,8	131,3
3'	146,7	146,7	146,5	-	146,7	147,5	147,8	146,0	149,4
4'	148,1	148,2	148,0	-	148,1	146,9	146,8	146,9	146,1
CH									
2	78,4	78,7	78,6	5,50 (dl, J=9,0)	78,5	78,7			
6	96,7	96,7	96,3	6,50 (sl)	96,2	95,8			
8	95,8	95,9	95,5	6,91 (sl)	95,4	95,0			
2'	114,3	114,4	114,2	6,75-6,95 (m)	114,3	111,1	110,0	112,6	109,7
5'	112,7	112,4	112,0	6,75-6,95 (m)	112,1	115,2	115,4	110,8	111,3
6'	117,8	118,3	118,0	6,75-6,95 (m)	118,3	119,6	119,5	118,0	118,8
1''	100,7	99,7	100,7	4,98 (d, J=8,0)	-	-	-	-	-
2''	73,3	73,3	73,1	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
3''	76,6	76,6	76,4	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
4''	69,9	69,9	69,7	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
5''	75,8	75,8	75,6	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
1'''	99,8	100,9	99,5	4,50 (s)	-	-	-	-	-
2'''	70,6	70,6	70,4	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
3'''	71,0	71,0	70,8	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
4'''	72,4	72,4	72,2	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
5'''	68,6	68,6	68,4	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
CH₂									
3	42,0	42,0	42,1	2,50-2,90 (m)	42,3	42,1			
6''	66,4	66,4	66,1	3,20-3,90 (m)	-	-	-	-	-
CH₃									
6'''	18,2	18,2	17,9	1,10 (d, J=6,8)	-	-	-	-	-
MeO-3'	-	-	-	-	-	55,6			
MeO-4'	-	56,0	55,7	3,85 (s)	55,9	-			
HO-5	-	-	-	12,00 (s)	-	-	-	-	-
HO-3'	-	-	-	9,10 (s)	-	-	-	-	-

* Deslocamentos químicos em δ (ppm). ^aUsou-se somente os valores considerados úteis para comparação.

(δ_H 12,00, hidroxila quelatogênica), H-2 (δ_H 5,50, dl, $J=9,0$ Hz), 2H-3 (δ_H 2,50 - 2,90, m), 3H-6'' (δ_H 1,10, d, $J=6,8$ Hz) e os demais hidrogênios carbinólicos da unidade glucosídica entre δ_H 3,20 - 3,90. A principal dificuldade enfrentada para caracterizar a estrutura deste flavonóide glucosilado, utilizando principalmente os dados de RMN¹³C (Tabela 1), envolveu a confirmação dos grupos hidroxílicos e metoxílicos nos átomos de carbono C-3' e C-4', podendo a aglicona correspondente ser caracterizada hesperetina (**5**, 3',5,7-triidroxi-4'-metoxiflavanona) ou seu isômero homoeriodictiol (**6**, 4',5,7-triidroxi-3'-metoxiflavanona). A comparação dos δ_C (em DMSO-*d*₆) dos átomos de carbono quaternários C-1' (δ_C 131,0), C-3' (δ_C 146,1) e C-4' (δ_C 148,0) e metínicos CH-2' (δ_C 114,2), CH-5' (δ_C 112,0) e CH-6' (δ_C 118,0) da flavanona glucosídica (Tabela 1) isolada de *Pyrostegia venusta* com dados descritos na literatura para a hesperidina^{13,14} revelou dados praticamente idênticos, sugerindo a mesma substância. No entanto, as estruturas incorporadas nas referências consultadas^{13,14} aparecem com anel B 4'-hidroxi-3'-metoxi- (em tabela contendo também o nome hesperedin¹³ ou a estrutura completa no próprio espectro¹⁴). Em outras palavras, os autores dos capítulos descritos nos livros citados^{13,14} utilizaram equivocadamente a unidade aglicônica homoeriodictiol (**6**) na estrutura da hesperidina, em desacordo com os δ_C C-1', CH-2', C-3', C-4', CH-5' e CH-6' compatíveis com os valores da aglicona hesperetina (**5**). Esta confusão foi esclarecida definitivamente após encontrar a estrutura correta da hesperidina (**4**)^{15,16} e das flavanonas hesperetina (**5**, 3',5,7-triidroxi-4'-metoxiflavanona, aglicona da hesperidina) e homoeriodictiol (**6**, 4',5,7-triidroxi-3'-metoxiflavanona), inclusive os dados de RMN¹³C registrados em DMSO-*d*₆ como solvente¹⁴, o mesmo solvente utilizado para obtenção do espectro do flavonóide glucosilado isolado da *Pyrostegia venusta*. A comparação dos valores dos δ_C dos carbonos C-1', CH-2', C-3', C-4', CH-5' e CH-6' permite assegurar a distinção entre os dois padrões de substituição 3'-hidroxi-4'-metoxi- e 4'-hidroxi-3'-metoxi- do anel B, como revelam os valores descritos para as flavanonas **5** e **6** em DMSO-*d*₆ (Tabela 1). Com base na posição ocupada pelo grupo metoxila (carbono C-3' ou 4') pode-se verificar modificações significativas nos valores dos δ_C dos sinais correspondentes aos átomos de carbono C-1', CH-2', C-3', C-4', CH-5' e CH-6' das flavanonas **5** e **6**: i) desproteção (maior δ_C) nos carbonos *ipso* [$\Delta\delta_C = 147,5$ (**6**) - 146,7 (**5**) = 0,8 ppm no C-3' e $\Delta\delta_C = 148,1$ (**5**) - 146,9 (**6**) = 1,2 ppm no C-4', efeito β] e *para* [$\Delta\delta_C = 131,4$ (**5**) - 129,4 (**6**) = 2,0 ppm no C-1' e $\Delta\delta_C = 119,6$ (**6**) - 118,3 (**5**) = 1,3 ppm no CH-6', atenuação do efeito mesomérico protetor devido a maior eletronegatividade do carbono em relação ao hidrogênio] e proteção (menor δ_C , efeito γ) nos carbonos localizados em posição *orto* [$\Delta\delta_C = 112,1$ (**5**) - 115,2 (**6**) = - 3,1 ppm no CH-5' e $\Delta\delta_C = 111,1$ (**6**) - 114,3 (**5**) = - 3,2 ppm no CH-2']; ii) as diferenças intramoleculares observadas entre os δ_C CH-2' e CH-5' de **5** [$\Delta\delta_C = 114,1$ (CH-2') - 112,1 (CH-5') = 2,0 ppm] e **6** [$\Delta\delta_C = 115,2$ (CH-5') - 111,1 (CH-2') = 4,1 ppm] e C-3' e C-4' de **5** [$\Delta\delta_C = 148,1$ (C-4') - 146,7 = 1,4 ppm] e **6** [$\Delta\delta_C = 147,5$ (C-3') - 146,9 (C-4') = 0,7 ppm]. Dados adicionais referentes aos δ_C destes átomos de carbono nas flavanonas **7**, **8** e **9** (Tabela 1), obtidos de espectros registrados em CDCl₃ + MeOH-*d*₄ (**7**) e CDCl₃ (**8** e **9**), permitem confirmar a validade destas deduções e servem também para a avaliação de efeito de solventes.

Os dados de RMN¹H e ¹³C obtidos de espectros uni- (1D: RMN¹H, RMN¹³C-HBBD e RMN¹³C-DEPT) e bidimensionais [2D: ¹Hx¹H-COSY, ¹Hx¹³C-HMQC-¹J_{CH}, ¹Hx¹³C-HMBC-ⁿJ_{CH} (n=2 e 3) e ¹Hx¹H-NOESY] do derivado peracetilado **4a**, registrados em aparelho que trabalha a 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C, permitiram confirmar definitivamente a estrutura **4** para a flavanona isolada de *Pyrostegia venusta* (Tabelas 2 e 3). A comparação dos espectros de RMN¹³C-HBBD (Hydrogen Broad Band Decoupled) e RMN¹³C-DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) foram usados para

reconhecer os sinais correspondentes a átomos de carbono quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos (Tabela 2). O espectro ¹Hx¹³C-HMQC-¹J_{CH} [interação spin-spin de hidrogênio e carbono através de uma (¹J_{CH}) ligação] foi utilizado para a atribuição dos δ_H e δ_C de carbonos hidrogenados e o ¹Hx¹³C-HMBC-ⁿJ_{CH} [n=2 e 3, interação spin-spin de hidrogênio e carbono através de duas (²J_{CH}) e três (³J_{CH}) ligações] dos quaternários e confirmação de hidrogenados (Tabela 2). Os δ_C dos átomos de carbono CH-2' (δ_C 121,2), C-3' (δ_C 140,0), C-4' (δ_C 151,6), CH-5' (δ_C 112,5) e CH-6' (δ_C 124,9) de **4a** (Tabela 2) caracterizaram a presença do grupo acetoxila no carbono C-3' (não em C-4'), já que os δ_C dos átomos de carbono localizados em posição *orto* (CH-2' e C-4') e *para* (CH-6') revelam claramente a atenuação do efeito mesomérico doador de elétrons do grupo acetoxila, como revela a comparação com os δ_C destes carbonos em **4** (Tabela 1). O δ_C do carbono CH-5' (δ_C 112,5), *meta* em relação ao grupo acetoxílico, não revelou modificação significativa como previsto (Tabelas 1 e 2). O valor de $J=11,1$ Hz deduzido do sinal do H-2 (δ_H 5,41, dd, $J=11,1$ e 2,8 Hz) observado no espectro de RMN¹H de **4a** indica interação axial-axial e, consequentemente, pode-se postular a conformação **4b** com H-2 em posição axial.

O espectro ¹Hx¹H-NOESY de **4a** (Tabela 3) revelou a interação espacial (dipolo-dipolo) dos hidrogênios metoxílicos MeO-4' (δ_H 3,81, s) e H-5' (δ_H 6,97, d, $J=8,5$ Hz), confirmando que mantêm entre si relação *orto*; a presença de picos transversais correspondentes às interações espaciais (NOE) do H-1'' (δ_H 5,13) com H-6 (δ_H 6,28) e H-8 (δ_H 6,44) confirmaram a presença da unidade β -D-glicopiranosila (H-1'' em posição axial, δ_H 5,13, d, $J=6,7$ Hz) no átomo de carbono C-7 e permitiu postular a existência das duas conformações mostradas em **4/4a** (duas formas topoméricas médias com interconversão lenta na escala de tempo da RMN), que podem ser justificadas pela reduzida liberdade de rotação em torno da ligação entre o átomo de oxigênio do carbono C-7 e CH-1'' na temperatura e concentração usadas para registro do espectro, justificando-se também a presença de sinais correspondentes nas proximidades dos descritos na Tabela 2; a interação dipolar do hidrogênio H-1'' (δ_H 4,68) com os dois hidrogênios 2H-6'' (δ_H 3,80 e 3,60) confirmaram a localização da unidade α -L-ramnopiranosila no átomo de carbono CH₂-6'' da unidade β -D-glicopiranosila; outras interações espaciais reveladas pelo espectro ¹Hx¹H-NOESY encontram-se resumidas também na Tabela 3.

Com base no $[\alpha]_D + 4,5$ (c 1,76 em CHCl₃) revelado pelo derivado acetilado **4a** pode-se postular a configuração (-)-hesperidina (**4**) isolada de *Pyrostegia venusta*. Esta dedução baseou-se nos resultados de $[\alpha]_D - 37,6$ (c 1,8 em EtOH) para **5** e $[\alpha]_D + 21,1$ (c 1,28 em CHCl₃) para seu derivado triacetilado¹⁶.

Assim, a flavanona isolada de *Pyrostegia venusta* foi caracterizada definitivamente como (-)-hesperidina [**4**, 7-O-rutinosil-3',5-diidroxi-4'-metoxiflavanona = 7-O-[α -L-ramnopiranosil (1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosil]-3',5-diidroxi-4'-metoxiflavanona], substância natural já descrita na literatura (*vide infra*) e registrada pela primeira vez neste artigo como bioproduzida por espécie da família Bignoniaceae. Esta substância natural (**4**), $[\alpha]_D - 47,3$ (piridina)¹⁶, foi isolada de muitas espécies das famílias Rutaceae (e.g. *Citrus* spp e *Roncinus trifoliata*) e Labiatae (e.g. *Mentha longifolia* e *Hussopus* spp)¹⁵.

Os flavonóides têm sido reconhecidos como responsáveis por atividade antialérgica, antiinflamatória, antiviral, antiproliferativa e anticarcinogênica, além de afetar alguns aspectos do metabolismo de mamíferos¹⁷. Uma mistura de hesperetina (**5**) e homoeriodictiol (**6**), conhecida como citrin, revelou atividade vitamínica, sendo por isto denominada vitamina P durante algum tempo¹⁷. Algumas indústrias farmacêuticas utilizam flavonóides puros, inclusive hesperidina (**4**), isolados de citrus (citroflavonóides)¹⁸. Os resultados de estudo da relação estrutura - atividade de flavonóides como inibidores de xantina oxidase e eliminadores de superóxidos foram publicados recentemente¹⁹.

Tabela 2. Dados de RMN¹H (500 MHz) e RMN¹³C (125 MHz), em CDCl₃, do derivado acetilado da hesperidina (**4a**), inclusive as interações de átomos de hidrogênio e carbono através de uma ligação (¹J_{CH}) e a longa distância (²J_{CH} e ³J_{CH}) observadas nos espectros bidimensionais de correlação heteronuclear. Deslocamentos químicos em δ (δ_C e δ_H) e constantes de acoplamento (J, entre parênteses) em Hz.*

C	¹ Hx ¹³ C-HMQC- ¹ J _{CH}		¹ Hx ¹³ C-HMBC- ⁿ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
4	188,7	-	2H-3	H-2
5	151,9	-	H-6	
7	161,9	-	H-6, H-8	H-1''
9	164,0	-	H-8	
10	109,7	-		H-6, H-8
1'	130,8	-	H-2	H-5', H-3a
3'	140,0	-	H-2'	H-5'
4'	151,6	-	H-5'	H-2', H-6', MeO-4'
CH				
2	78,7	5,41 (dd, 11,1, 2,8)	H-3ax	H-2', H-6'
6	105,9	6,28 (d, 2,4)		H-8
8	102,1	6,44 (d, 2,4)		H-6
2'	121,2	7,13 (d, 2,4)		H-6'
5'	112,5	6,97 (d, 8,5)		
6'	124,9	7,22 (dd, 8,5, 2,4)		H-2'
1''	97,6	5,13 (d, 6,7)		H-3''
2''	70,9	5,19	H-3''	H-4'
3''	72,5	5,26 (t, 9,2)		H-1'', H-5''
4''	69,4	5,22 (t, 9,2)	H-3'', H-5''	
5''	73,3	3,85		
1'''	98,1	5,13		
2'''	68,7	4,68		H-4'''
3'''	69,0	5,19 (dd, 9,7, 2,0)	H-4'''	
4'''	70,9	4,99 (t, 9,7)	H-5'''	H-2''', 3H-6'''
5'''	66,7	3,80	3H-6'''	H-1'''
CH₂				
3	44,8	2,98 (dd, 11,1, 16,6) 2,73 (dd, 2,8, 16,6)		
6''	66,2	3,80 3,60		
CH₃				
MeO-4''	56,1	3,81 (s)		
6'''	17,3	1,12 (d, 6,1)		

*Os sinais de carbonos quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos foram reconhecidos pela análise comparativa dos espectros de RMN¹³C- HBBDD e RMN¹³C - DEPT. Os valores de δ_H (ppm) e J (entre parenteses, em Hz) foram deduzidos do espectro unidimensional (1D) de RMN¹H (sinais superpostos estão indicados sem multiplicidade e foram deduzidos pelo HMQC). O espectro ¹Hx¹H-COSY foi também usado na atribuição dos deslocamentos químicos. A presença de oito grupos acetoxílicos foi reconhecida pelos sinais: δ_H 2,35 (s), 2,30 (s), 2,06 (6H, s), 2,05 (s), 2,02 (s) e 2,01 (6H, s); δ_C 170,02, 170,17, 169,78, 169,76, 169,41, 169,40, 169,14, 168,83 (carbonos carbonílicos), 21,31 - 20,62 (carbonos metílicos).

O rendimento obtido de alantoína (6,89%), isolando-se 6,30 g de 91,44 g de extrato bruto, revelou-se significativo quando comparado com o produzido pelas raízes e folhas da espécie *Symphytum officinale* (Linn.). Esta espécie, conhecida como confrei, é muito utilizada como fitofármaco, contendo como um dos princípios ativos a alantoína (**1**) numa concentração de 0,6 a 0,8%²⁰, rendimento muito menor do que o encontrado nas raízes de *Pyrostegia venusta*. A alantoína (**1**) possui atividade antiinflamatória, antipéptica, antipsoríase, antiúlcera, imunoestimulante e queratolítica, além de ser muito utilizada em dermatologia^{21,22}.

Assim, a quantidade de alantoína (**1**) isolada das raízes da *Pyrostegia venusta* permite sugerir esta espécie vegetal como fonte natural para comercialização desta substância, além de possibilitar outras investigações práticas e científicas. As raízes desta planta poderiam ser testadas e utilizadas no tratamento do vitiligo, além de oferecer oportunidade adicional para investigar o seu provável mecanismo de ação. O vitiligo é uma doença que ocorre com frequência significativa e permanece ainda com a causa precisa desconhecida, podendo ocorrer com

a participação de fatores genéticos, imunológicos e neurais na sua etiopatogenia²³. Essa enfermidade apresenta-se também associada à falta de melanina, substância dependente da presença de melanócitos funcionais nos seres humanos²⁴. A (S)-alantoína (**1**), encontrada entre os metabólitos da *Pyrostegia venusta*, foi também isolada de *Platamus orientalis*¹⁶.

O isolamento de 7-O-β-D glicopiranosilacetina (**10**) e meso-inositol (**11**) das flores de *Pyrostegia venusta*⁶, também requer atenção especial dos pesquisadores envolvidos em investigações de atividade biológica de produtos naturais. A flavona acetina, aglicona de **10**, revelou atividade antiinflamatória, protetora capilar e espasmolítica^{16a}.

Publicação relativamente recente¹⁷ relata a utilização clínica do meso-inositol (**11**) para minimizar neurite diabética e formação de catarata, sem revelar toxicidade. Investigações adicionais revelaram que esta substância natural também inibe a formação de adenoma (tumor geralmente benigno, formado pela proliferação dos elementos próprios de uma glândula) pulmonar em camundongos A/J¹⁷.

Tabela 3. Dados de interação dipolo-dipolo de átomos de hidrogênio revelada pelo espectro $^1\text{Hx}^1\text{H}$ -NOESY do derivado peracetilado **4a***.

NOE observado			
H	δ_{H}	H	δ_{H}
6'	7,22	5'	6,97
5'	6,97	MeO-4'	3,81
1''	5,13	6	6,28
		8	6,44
		3''	5,26
		5''	3,85
1'''	4,68	2'''	5,19
		6''a	3,80
		6''b	3,60
3''	5,26	5''	3,85
4'''	4,99	6'''	1,12
5'''	3,80	6'''	1,12

*Os dados registrados na Tabela 2 foram também usados na interpretação deste espectro bidimensional (2D).

EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais. Os espectros de RMN ^1H (200 e 500 MHz) e de ^{13}C (50 e 125 MHz) uni- (1D) e bidimensional (2D) foram obtidos nos espectrômetros Bruker AC-200 e Avance DRX 500 existentes, respectivamente, no Curso de Pós-graduação em Química Orgânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, e no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

Material vegetal. As raízes de *Pyrostegia venusta* foram coletadas por Celso Magri, na cidade de Cambé, Paraná, Brasil. A espécie foi identificada pela Professora Dra. M. C. Dias, Departamento de Biologia Animal e Vegetal da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil. Uma exsiccata foi catalogada (FUEL - n $^{\circ}$ 11599) e depositada no Herbário desse Departamento.

Extração e isolamento de constituintes. As raízes (1,7 kg) foram secas em estufa (60 $^{\circ}$ C), trituradas e submetidas a extração exaustiva com etanol 95 % na temperatura ambiente. O solvente foi destilado em evaporador rotatório sob vácuo, obtendo-se 91,44 g de resíduo. O resíduo (91,44 g) foi cromatografado em coluna de sílica gel (274 g), utilizando-se hexano, misturas de hexano- CH_2Cl_2 com polaridades crescentes, CH_2Cl_2 , misturas de CH_2Cl_2 -AcOEt com polaridades crescentes, AcOEt, misturas de AcOEt-MeOH com polaridades crescentes e MeOH como eluentes. Foram coletadas 1500 frações de 500 mL cada uma. O β -sitosterol (**2**, 0,50 g), p. f. 125 $^{\circ}$ C, foi isolado das frações 33-46 eluídas com hexano. A fração 486, eluída com CH_2Cl_2 -EtOAc(1:1), forneceu **3** (1,10 g). As frações 607, 614 (eluídas com CH_2Cl_2 -AcOEt, 2:8), 629 e 631 (eluídas com (AcOEt), forneceram a alantoina (**1**, 6,30 g), p. f. 240 $^{\circ}$ C. Da fração 622, eluída com AcOEt, foi isolada a hesperidina (**4**, 1,03 g). A fração 623, eluída com AcOEt, forneceu uma mistura (1,02 g) contendo a alantoina (**1**) e a flavanona hesperidina (**4**).

Derivado peracetilado 4a. O flavonóide **4** (20 mg) foi acetilado com anidrido acético (1,5 mL) na presença de piridina (1,5 mL) como usual para obter o derivado peracetilado **4a** (18 mg), após filtração em coluna de sílica gel.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e PADCT/FINEP pelos auxílios e bolsas concedidas. Agradecemos também aos

Professores Mário Geraldo de Carvalho, Curso de Pós-graduação em Química Orgânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, e Edilberto Rocha Silveira, Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, pela obtenção dos espectros de RMN uni- (1D) e bidimensionais (2D) e à Professora Telma L. G. Lemos, Curso de Pós-graduação em Química Orgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, pela leitura da rotaçãõ ótica específica.

REFERÊNCIAS

- De Sampaio, E. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Paraná: Paraná, 1991.
- Pereira, M. S. N.; *Remédios Caseiros*, Imprensa Universitária, Universidade Federal de Minas Gerais: Minas Gerais, Brasil, 1984.
- Lorenzi, H.; *Plantas Daninhas do Brasil*, Nova Odessa: São Paulo, 1982.
- Gottsberger, G.; Schrauwen, J.; Linskens, H. F.; *Plant. Syst. Evol.* **1984**, *145*, 55.
- Gowda, D. C.; Anjaneyalu, Y. V., *Curr. Sci.* **1979**, *48*, 398
- Dubey, R.; Misra, K.; *J. Indian Chem. Soc.* **1976**, *53*, 378.
- Satyavathi, M.; Radhakrishnaiah, M.; Narayana, L. L.; *Curr. Sci.* **1984**, *53*, 711.
- Scogin, R.; *Biochem. Syst. Ecol.* **1980**, *8*, 273
- Silvestre, M. S. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Campinas: São Paulo, 1984.
- Coxan, B.; Fatiada, J.; Sriegsk, L.; Hertz, H. S.; Shaffer, J.; *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3132.
- Pessoa, O. D. L.; Lemos, T. L. G.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1777.
- Mabry, T. J.; Markham, K. R.; Thomas, M. B.; *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag: Berlim, 1970.
- Agraval, P. K.; Bansal, M. C.; In *Carbon-13 NMR of Flavonoids*; Agraval, P. K., Ed.; Elsevier; Amesterdam, 1989; pp 283-364.
- Markham, K. R.; Chari, V. M.; In *The Flavonoids: Advances in Research*; Harborne, J. B.; Mabry, T. J., Eds.; Chapman and Hall; London, 1982; pp 19-132.
- Harborne, J. B.; Baxter, H., Eds.; In *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compound of Plants*; Taylor & Francis; London, 1993; p 377.
- Buckingham, J.; Macdonald, F. M.; Bradley, H. M., Eds.; *Dictionary of Natural Products*, vol. 5; Chapman and Hall; London, 1994; p 5811 (in T-02341). a) Vol.2, p. 1700 (D-02257).
- Wattenberg, L.; *J. Celular Biochem* **1995**, *Supplement 22*, 162.
- Bruneton, J.; *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*; Intercept Limited; Andover, 1995; p 280.
- Cos, R.; Ying, L.; Calomme, M.; Hu, J. P.; Cimanga, K.; Poel, B. V.; Pieters, L.; Vlietinck, A. J.; Berghe, D. V.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 71.
- Grieve, M.; *A Modern Herbal Botanical* [on line disponível na internet via [www.URL:http://botanical.com/botanical/mginh/c/comfre92html](http://botanical.com/botanical/mginh/c/comfre92html), arquivo capturado em 12.01.99]
- Martindale; *The Extra Pharmacopoeia* (30 $^{\text{th}}$ Edn.); James; E. F.; Reynolds, Eds.; The Pharmaceutical Press; London, 1993.
- Joanne, M. M., Ed.; *Cosmetic Ingredient Handbook* (1 $^{\text{th}}$ Edn.); Washinhton, 1988. p. 108
- Reyes, J. J.; Barrios, M. J.; Herrada, C. G.; *Actas Dermosifiliogr.* **1996**, *87*, 217.
- Mary-Margaret; David, R.; In *As Bases Farmacológicas da Terapêutica* (8 $^{\text{a}}$ ed), Guanabara - Koogan; Rio de Janeiro, 1991.