



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Salvador, 2002



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Campus de Ondina ☎ 55-71-237-5784 Fax 55-71-235-5166
40170-290 SALVADOR BAHIA BRAZIL



ESTUDO FITOQUÍMICO
BIOMONITORADO DA ESPÉCIE
Poiretia bahiana (LEGUMINOSAE)

Floricéa Magalhães Araújo

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Martins

Dissertação submetida ao Colegiado de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química na área de concentração em Química Orgânica.

Salvador
Junho, 2002

Porque Deus é o que opera em nós
tanto o querer como o efetuar,
segundo a sua vontade.

Filipenses 3:13

Dedico este trabalho aos meus três grandes companheiros: Rebeca e Raquel (minhas filhas) e a Araújo (meu marido).

E com um carinho especial:
A minha avó (Gilda) *in memorium*, minha mãe (Célia) e a minha tia (Floricea).

AGRADECIMENTOS

A Deus porque tem me permitido chegar até aqui.

Ao Prof. Dirceu pela valiosa orientação, apoio, dedicação, paciência e por ter acreditado no meu trabalho.

À professora Nídia Franca Roque pelos conhecimentos adquiridos e pelo empenho em conseguir a referência da revisão taxonômica do gênero *Poiretia*.

Aos professores Jorge David, Frederico Guaré e Leila Aguiar pelos ensinamentos transmitidos.

À professora Maria Lenise Silva Guedes pela identificação botânica e o auxílio na coleta.

A Dr^a Maria Cláudia Marx Young pelos ensaios fungitóxicos.

À professora Anair pela disponibilidade e paciência em ceder-me por diversas vezes a sua sala para copiar os espectros e por todas as dicas na organização desse trabalho.

Aos professores do Departamento de Química Orgânica por todo conhecimento adquirido na minha formação acadêmica, em especial ao professor Miguel Fascio pela convivência agradável.

Aos funcionários da Biblioteca Setorial de Química e em especial a Dona Judite pela gentileza e disposição com que sempre me atendeu.

À Cristovão pelo apoio técnico.

À Josanaide pelas inúmeras contribuições, difíceis de serem citadas na realização deste trabalho e principalmente pela sua valiosa amizade.

A Mayara, Vanessa e Jaquelina pelos momentos agradáveis que passamos juntas durante a execução deste trabalho e pelo incentivo.

A amiga e companheira Edmeire pela sua disponibilidade de sempre.

Aos colegas Luciana, Pedro e Vânia pela ajuda prestada no início deste trabalho.

A Suzi e Torquato pelo apoio e incentivo.

A Sandra, Débora, Martins e Marcus pela troca de conhecimentos, pela agradável convivência e amizade que construímos.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A minha mãe e meus irmãos pelo apoio incondicional e em especial a Cléber pelo grande incentivo.

Ao meu querido marido, amigo e companheiro Araújo, que me deu o apoio fundamental para a realização desse trabalho e pelo grande incentivo para continuar.

A Maria Helena Ferreira, pela grande companheira que foi para Rebeca e Raquel em todos os momentos em que estive ausente.

A Rebeca e Raquel por tentarem compreender os momentos em que estive ausente em suas vidas.

Os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xviii
RESUMO	xx
ABSTRACT	xxi
INTRODUÇÃO	1
A família Leguminosae	1
A subfamília Papilionoideae.....	2
O gênero <i>Poiretia</i>	3
A espécie <i>Poiretia bahiana</i> e seus constituintes químicos.....	9
Constituintes químicos encontrados no extrato hexânico das folhas de <i>Poiretia bahiana</i>	13
Constituintes químicos encontrados no extrato metanólico das folhas de <i>Poiretia bahiana</i>	15
Constituintes químicos identificados no óleo essencial de <i>Poiretia bahiana</i>	16
Flavonóides.....	17
Isoflavonóides.....	17
Distribuição dos flavonóides em Leguminosae.....	20
Propriedades biológicas de isoflavonóides.....	22
Fitoalexinas.....	24

Rotenóides.....	49
PARTE EXPERIMENTAL.....	51
Material Vegetal.....	51
Reagentes, métodos e equipamentos.....	52
Estudo dos componentes fixos da espécie <i>Poiretia bahiana</i>	55
Obtenção dos Extratos.....	55
Bioensaio para verificação de atividades fungitóxicas dos extratos.....	56
Isolamento dos constituintes químicos do extrato hexânico das folhas...	57
Isolamento dos constituintes químicos do extrato metanólico das folhas	60
Fracionamento dos extratos hexânico e metanólico dos galhos.....	61
Estudo dos componentes voláteis das partes aéreas da espécie <i>Poiretia bahiana</i>	71
Obtenção do óleo essencial.....	72
Fracionamento do óleo essencial.....	73
IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.....	75
Identificação dos constituintes químicos do extrato hexânico da folhas de <i>Poiretia bahiana</i>	75
Isoflavonóides.....	75
Identificação de I	77
Identificação de II	82
Identificação de III	88
Identificação de IV	93

Identificação de V e VI	98
Rotenóides.....	109
Identificação de VII	111
Identificação de VIII	117
Triterpenos.....	122
Identificação de IX e X	123
Esteróides.....	127
Identificação de XI e XII	128
Identificação e determinação estrutural dos constituintes químicos do extrato metanólico de <i>Poiretia bahiana</i>	130
Determinação estrutural de XIII	130
Identificação de XIV	139
Identificação de XV	143
Identificação dos constituintes químicos do óleo volátil das partes aéreas de <i>Poiretia bahiana</i>	146
Identificação de XXIII	155
Identificação dos constituintes químicos presentes na emissão natural de <i>Poiretia bahiana</i>	159
CONSIDERAÇÕES FINAIS	162
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	164

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	Distribuição geográfica das espécies de <i>Poiretia</i> que ocorrem no Brasil e épocas de floração.....	5
TABELA 02	-Isoflavonas isoladas de várias espécies de plantas superiores.....	26
TABELA 03	Limites de detecção para III , IV , VII e VIII no ensaio de bioautografia.....	58
TABELA 04	Dados de RMN de ^1H das isoflavonas I – VI [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J (Hz)].....	107
TABELA 05	Dados de RMN de ^{13}C das isoflavonas I – IV [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].....	108
TABELA 06	Intervalos esperados para δ (ppm) dos carbonos C-2, C-3 e C-11 nos espectros de RMN de ^{13}C das rotenonas.....	110
TABELA 07	Dados de RMN de ^1H das rotenonas VII e VIII [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J(Hz)].....	121
TABELA 08	Dados de RMN de ^{13}C das rotenonas VII e VIII [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].....	121
TABELA 09	Dados de RMN de ^{13}C dos triterpenos IX e X [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].....	126
TABELA 10	Dados de RMN de ^{13}C , ^1H e correlações ^{13}C - ^1H a longa distância da substância XIII (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	138
TABELA 11	Dados de RMN de ^{13}C de XIV [300 MHz, 75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ (ppm)]	142
TABELA 12	Dados de RMN de ^{13}C de XV [75 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)].....	144
TABELA 13	Constituintes químicos presentes no óleo essencial das partes aéreas de <i>Poiretia bahiana</i>	148

TABELA 14	Dados de RMN de ^1H , correlações ^1H - ^1H e ^{13}C de XXIII e XVI [300 MHz, 75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].....	158
-----------	--	-----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01	Fotografia de um ramo florido de <i>Poiretia bahiana</i>	11
FIGURA 02	Morro do Pai Inácio.....	11
FIGURA 03	Esquema da origem taxonômica da espécie <i>Poiretia bahiana</i>	12
FIGURA 04	Esquema da biossíntese dos flavonóides.....	18
FIGURA 05	Esquema da biossíntese de uma isoflavona (daidzeína).....	19
FIGURA 06	Origem biossintética dos rotênoides.....	49
FIGURA 07	Ensaio bioautográfico utilizando esporos do fungo <i>Cladosporium sphaerospermum</i> com os extratos hexânicos e metanólicos dos galhos e das folhas de <i>Poiretia bahiana</i> ..	56
FIGURA 08	Ensaio bioautográfico utilizando esporos do fungo <i>Cladosporium sphaerospermum</i> com IV , III , VII e VIII	58
FIGURA 09	Ensaio bioautográfico das frações da partição do extrato metanólico dos galhos, utilizando esporos do fungo <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	61
FIGURA 10	Obtenção dos extratos hexânico e metanólico das folhas de <i>Poiretia bahiana</i>	62
FIGURA 11	Obtenção dos extratos hexânico e metanólico dos galhos de <i>Poiretia bahiana</i>	63
FIGURA 12	Fracionamento do extrato hexânico das folhas e isolamento das substâncias I e II	64
FIGURA 13	Isolamento das substâncias III , IV , VII , VIII	65
FIGURA 14	Isolamento das substâncias V e VI	66
FIGURA 15	Isolamento das substâncias IX , X , XI , XII	67

FIGURA 16	Fracionamento do extrato metanólico das folhas e isolamento da substância XIV	68
FIGURA 17	Isolamento da substância XIII	69
FIGURA 18	Isolamento da substância XV	70
FIGURA 19	Aparelhagem de Clevenger modificada.....	72
FIGURA 20	Obtenção e fracionamento do óleo essencial.....	74
FIGURA 21	Espectro de RMN de ^1H da isoflavona I [300 MHz, CDCl_3]	79
FIGURA 22	Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona I [300 MHz, CDCl_3 ,].....	79
FIGURA 23	Espectro de RMN de ^{13}C da isoflavona I [75 MHz, CDCl_3]	80
FIGURA 24	Espectro DEPT 135° da isoflavona I [75 MHz, CDCl_3].....	80
FIGURA 25	Espectro de massas da isoflavona I [IE, 70 eV].....	81
FIGURA 26	Proposta de fragmentação para o espectro de massas da isoflavona I	81
FIGURA 27	Espectro de RMN de ^1H da mistura de I e II [300 MHz, CDCl_3].....	84
FIGURA 28	Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura de I e II [300 MHz, CDCl_3].....	84
FIGURA 29	Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de I e II [75 MHz, CDCl_3].....	85
FIGURA 30		85
FIGURA 31	Espectro DEPT 135° da mistura de I e II [75 MHz, CDCl_3]	86
FIGURA 32	Expansão do espectro HOMOCOSY (^1H - ^1H) da mistura de I e II na região de 6,4 a 8,5 ppm [300 MHz, CDCl_3].....	86
FIGURA 33	Cromatograma de íons totais da mistura das isoflavonas I e II	87

FIGURA 34	Espectro de massas da isoflavona II [IE, 70 eV].....	87
FIGURA 35	Proposta de fragmentação para a isoflavona II	87
FIGURA 36	Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo a isoflavona III [300 MHz, CDCl_3].....	90
FIGURA 37	Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura contendo a isoflavona III [300 MHz, CDCl_3].....	90
FIGURA 38	Espectro de RMN de ^{13}C da mistura contendo a isoflavona III [75 MHz, CDCl_3].....	91
FIGURA 39	Espectro DEPT 135° da mistura contendo a isoflavona III [75 MHz, CDCl_3].....	91
FIGURA 40	Espectro de massas da mistura contendo a isoflavona III obtido por inserção direta [IE, 70 eV].....	92
FIGURA 41	Espectro de RMN de ^1H da isoflavona IV [300 MHz, CDCl_3].....	95
FIGURA 42	Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona IV [300 MHz, CDCl_3].....	95
FIGURA 43	Espectro de RMN de ^{13}C da isoflavona IV [75 MHz, CDCl_3].....	96
FIGURA 44	Espectro DEPT 135° da isoflavona IV [75 MHz, CDCl_3]....	96
FIGURA 45	Espectro de massas da isoflavona IV obtido por inserção direta [IE, 70 eV].....	97
FIGURA 46	Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo as isoflavonas V e VI [300 MHz, CDCl_3].....	102
FIGURA 47	Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura contendo as isoflavonas V e VI [300 MHz, CDCl_3 , $\delta(\text{ppm})$].....	102
FIGURA 48	Espectro de RMN de ^1H da isoflavona V [300 MHz, CDCl_3].....	103

FIGURA 49	Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona V [300 MHz, CDCl_3].	103
FIGURA 50	Espectro de RMN de ^1H das isoflavonas VI [300 MHz, CDCl_3].	104
FIGURA 51	Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona VI [300 MHz, CDCl_3].	104
FIGURA 52	Espectro de massas da isoflavona V obtido por inserção direta [IE, 70 eV].	105
FIGURA 53	Espectro de massas da isoflavona VI obtido por inserção direta [IE, 70 eV].	105
FIGURA 54	Proposta de fragmentação para a perda de metila nas isoflavonas II , III , IV e VI .	106
FIGURA 55	Proposta de fragmentação para a perda de metoxila nas isoflavonas IV , V e VI .	106
FIGURA 56	Espectro de RMN de ^1H do rotenóide VII [300 MHz, CDCl_3].	114
FIGURA 57	Expansão do espectro de RMN de ^1H do rotenóide VII [300 MHz, CDCl_3].	114
FIGURA 58	Espectro de RMN de ^{13}C do rotenóide VII [75 MHz, CDCl_3].	115
FIGURA 59	Espectro DEPT 135° do rotenóide VII [75 MHz, CDCl_3].	115
FIGURA 60	Espectro de massas do rotenóide VII obtido por inserção direta [IE, 70 eV].	116
FIGURA 61	Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo o rotenóide VIII [300 MHz, CDCl_3].	119
FIGURA 62	Espectro de RMN de ^{13}C da mistura contendo o rotenóide VIII [75 MHz, CDCl_3].	119

FIGURA 63	Espectro de massas da mistura dos rotenóides VII e VIII obtido por inserção direta [IE, 70 eV].....	120
FIGURA 64	Proposta de fragmentação para os espectros de massas de VII e VIII	120
FIGURA 65	Tipos de sistemas de anéis para os triterpenos pentacíclicos.....	122
FIGURA 66	Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo os triterpenos IX e X [300 MHz, CDCl_3].....	124
FIGURA 67	Espectro de RMN de ^{13}C da mistura contendo os triterpenos IX e X [75 MHz, CDCl_3].....	125
FIGURA 68	Espectro DEPT 135° da mistura contendo os triterpenos IX e X [75 MHz CDCl_3].....	125
FIGURA 69	Sistema de anéis para os esteróides.....	127
FIGURA 70	Espectro de RMN de ^1H da mistura dos esteróides XI e XII [300 MHz, CDCl_3].....	129
FIGURA 71	Espectro na região do Infravermelho da isoflavona XIII [KBr].....	132
FIGURA 72	Espectro de RMN de ^1H da isoflavona XIII com supressão do sinal da água [300 MHz, DMSO-d_6].....	133
FIGURA 73	Espectro de RMN de ^{13}C da isoflavona XIII [75 MHz, DMSO-d_6].....	133
FIGURA 74	Espectro DEPT 135° da isoflavona XIII [75 MHz, DMSO-d_6].....	134
FIGURA 75	Espectro HETCOR (^{13}C - ^1H) da isoflavona XIII [140 Hz, DMSO-d_6].....	134
FIGURA 76	Expansões do espectro HETCOR (^{13}C - ^1H) da isoflavona XIII [J=140 Hz, DMSO-d_6].....	135

FIGURA 77	Espectro COLOC (^{13}C - ^1H) da isoflavona XIII [$J=9$ Hz, DMSO- d_6].....	136
FIGURA 78	Espectro de massas da isoflavona XIII obtido por ionização química a pressão atmosférica.....	136
FIGURA 79	Expansões do espectro COLOC (^{13}C - ^1H) da isoflavona XIII [$J=9$ Hz, DMSO- d_6].....	137
FIGURA 80	Espectro de RMN de ^1H de XIV com supressão do sinal da água [300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$].....	140
FIGURA 81	Espectro de RMN de ^{13}C de XIV [75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$].....	140
FIGURA 82	Espectro DEPT 135° de XIV [75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$].....	141
FIGURA 83	Espectro DEPT 90° de XIV [75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$].....	141
FIGURA 84	Espectro de RMN de ^1H de XV [300 MHz, DMSO- d_6].....	144
FIGURA 85	Espectro de RMN de ^{13}C de XV [75 MHz, DMSO- d_6].....	145
FIGURA 86	Espectro DEPT 135° de XV [75 MHz, DMSO- d_6 , $\delta(\text{ppm})$..	145
FIGURA 87	Cromatograma de íons totais do óleo volátil das partes aéreas de <i>Poiretia bahiana</i> obtido no CG/EM [70 eV, IE]	149
FIGURA 88	Espectro de massas de XVI [IE, 70 eV].....	149
FIGURA 89	Espectro de massas de XVII [IE, 70 eV].....	149
FIGURA 90	Espectro de massas de XVIII [IE, 70 eV].....	150
FIGURA 91	Espectro de massas de XIX [IE, 70 eV].....	150
FIGURA 92	Espectro de massas de XX [IE, 70 eV].....	150
FIGURA 93	Espectro de massas de XXI [IE, 70 eV].....	151
FIGURA 94	Espectro de massas de XXII [IE, 70 eV].....	151

FIGURA 95	Espectro de massas de XXIII [IE, 70 eV].....	151
FIGURA 96	Espectro de massas de XXIV [IE, 70 eV].....	152
FIGURA 97	Espectro de massas de XXV [IE, 70 eV].....	152
FIGURA 98	Espectro de massas de XXVI [IE, 70 eV].....	152
FIGURA 99	Espectro de RMN de ^1H do óleo volátil das partes aérea de <i>Poiretia bahaina</i> [300 MHz, CDCl_3].....	153
FIGURA 100	Espectro de RMN de ^{13}C do óleo volátil das partes aérea de <i>Poiretia bahaina</i> [75 MHz, CDCl_3].....	153
FIGURA 101	Espectro DEPT 135° do óleo volátil das partes aérea de <i>Poiretia bahaina</i> [75 MHz, CDCl_3].....	154
FIGURA 102	Espectro de RMN de ^1H de XXIII [300 MHz, CDCl_3].....	156
FIGURA 103	Espectro de RMN de ^{13}C de XXIII [75 MHz, CDCl_3].....	156
FIGURA 104	Espectro DEPT 135° de XXIII [75 MHz, CDCl_3].....	157
FIGURA 105	Expansão do espectro HOMOCOSY (^1H - ^1H) de XXIII na região entre 0,8 e 2,4 ppm [300 MHz, CDCl_3].....	157
FIGURA 106	Cromatograma de íons totais obtido através da técnica denominada “head space” das folhas de <i>Poiretia bahiana</i>	160
FIGURA 107	Espectro de massas do sabineno [IE, 70 eV].....	160
FIGURA 108	Espectro de massas da tujenona [IE, 70 eV].....	160
FIGURA 109	Cromatograma de íons totais do óleo volátil das folhas de <i>Poiretia bahiana</i> obtido no CG/EM [70 eV, IE].....	161

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

δ - Deslocamento químico

4CL – 4-Cumarato:Coa ligase

AcOEt – Acetato de etila

Bz - Benzeno

C4H – Cinamato 4-hidroxilase

CC – Cromatografia em coluna

CCDC – Cromatografia em camada delgada comparativa

CCDP - Cromatografia em camada delgada preparativa

CG/EM – Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas

CHI – Chalcona isomerase

CHS – Chalcona sintase

COLOC – Correlation spectroscopy via long-range couplings [Espectro de correlação heteronuclear (^{13}C - ^1H) a duas e três ligações ($^2\text{J}, \text{J}^3$)]

d – Dupleto

DCM – Diclorometano

dd – Duplo dupleto

DEPT – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Intensificação do sinal sem distorção por transferência de polarização)

DMSO – Dimetilsulfóxido

Glc - glicose

HETCOR – Heteronuclear correlation [espectro de correlação heteronuclear (^{13}C - ^1H) a uma ligação (^1J)].

hep - Hepteto

hex – Hexano

HOMOCOSY – Homonuclear correlation spectroscopy [espectro de correlação homonuclear (^1H - ^1H)]

IFD – 2- Hidroxiisoflavanona desidratase
IFS – 2-Hidroxiisoflavanona sintase
IQPA – Ionização química a pressão atmosférica
IR – Índice de retenção
IR_L - Índice de retenção encontrado na literatura
IV – Infravermelho
J – Constante de acoplamento
m/z – Relação massa carga
MeOH – Metanol
MHz – Megahertz
OEPB – Óleo essencial da espécie *Poiretia bahiana*
PAL – Fenilalanina amônia liase
PKR – Policetideo redutase
RMN de ¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s – Singleto
tl – Tripleto largo
T_R – Tempo de retenção

RESUMO

O presente trabalho descreve o estudo fitoquímico das folhas e galhos de espécimens de *Poiretia bahiana* (Leguminosae) coletados no Morro do Pai Inácio, na Chapada Diamantina, Bahia, em julho de 1997 e em julho de 1999. A espécie *Poiretia bahiana* é endêmica da Chapada Diamantina e até o presente trabalho, nenhum estudo fitoquímico foi relatado para o gênero.

As folhas do espécimen coletado em 1997 foram submetidas à extrações com hexano e a seguir com metanol. Do extrato hexânico foram isoladas seis isoflavonas, duas rotenonas, uma mistura contendo os triterpenos lupeol e β -amirina e uma mistura contendo os esteróides estigmasterol e sitosterol. Do extrato metanólico foram isoladas a 2',4',5'-trimetoxi-7-O- β -D-glicopiranosil isoflavona inédita, o aminoácido prolina e o ciclitol 3-O-metilchiroinositol.

Das partes aéreas do espécime coletado em 1999 foi obtido o óleo essencial através de hidrodestilação, onde foram identificados onze constituintes, sendo nove monoterpenos e dois sesquiterpenos. O constituinte majoritário do óleo essencial foi identificado como o monoterpeno tujenona, que foi posteriormente isolado através de coluna cromatográfica em sílica.

Os fracionamentos dos extratos e os isolamentos das substâncias foram realizados através de técnicas cromatográficas. As identificações das substâncias foram realizadas através de métodos espectrométricos, tais como RMN de ^1H e ^{13}C (incluindo DEPT, HOMOCOSY e HETCOR), espectrometrias de massas e de absorção na região do infravermelho.

Os extratos obtidos foram submetidos a bioensaios para verificação de suas atividades fungitóxicas, utilizando esporos do fungo fitopatogênico *Cladosporium sphaerospermum*, sendo que todos mostraram-se ativos. As substâncias 7,3',4'-trimetoxiisoflavona, 7,2',4',5'-tetrametoxiisoflavona, rotenona e 12a-hidroxirotenona, isoladas do extrato hexânico, foram as responsáveis pela atividade fungitóxica deste extrato.

ABSTRACT

The present work describes the phytochemical study of leaves and stems of *Poiretia bahiana* (Leguminosae) specimens collected on Morro do Pai Inácio, in Chapada Diamantina, Bahia, on July 1997 and July 1999. *Poiretia bahiana* is an endemic species from Chapada Diamantina, and to the best of our knowledge no phytochemical study has been reported to this genus.

The leaves of the specimens collected in 1997 were extracted with hexane followed by methanol. From the hexane extract were isolated six isoflavones, two rotenones, a mixture of the triterpenes lupeol and β -amirin and a mixture of stigmasterol and sitosterol. From the methanolic extract the new 2',4',5'-trimethoxyisoflavone-7-O- β -D-glucopyranoside was isolated, besides of this the proline amino acid and the cyclytol 3-O-methylchiroinositol. From the aerial parts of the specimen collected in 1999, an essential oil was obtained by hydrodistillation, where eleven constituents were identified. Nine of them were monoterpenes and two of them were sesquiterpenes. The major constituent of the essential oil was identified as the monoterpene thujenone, which was isolated later by chromatography column over silica gel.

Chromatographic techniques were used for the fractionation of the extracts and the isolation of the substances. The identification of the substances was accomplished by spectral analysis such as ^1H and ^{13}C NMR (including DEPT, HOMOCOSY and HETCOR), mass and IR spectra.

The extracts obtained were submitted to the bioassays in order to verify its antifungal activities using spores of the phytopathogenic fungus *Cladosporium sphaerospermum*; where both were active. The substances 7,3',4'-trimethoxyisoflavone, 7,2',4',5'-tetramethoxyisoflavone, rotenone e 12a-hydroxyrotenone, isolated from the hexane extract, were responsible for the antifungal activity.

INTRODUÇÃO

A família Leguminosae

A família Leguminosae apresenta cerca de seiscentos gêneros e dezoito mil espécies, estando amplamente distribuída no planeta. Está dividida em três subfamílias: *Caesalpinoideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*. As espécies das subfamílias *Caesalpinoideae* e *Mimosoideae* são encontradas principalmente em regiões tropicais, enquanto a subfamília *Papilionoideae*, conhecida também como *Faboideae*, encontra-se com mais frequência nas regiões temperadas [Barroso et. al., 1991].

De forma geral, as plantas da família Leguminosae são caracterizadas como ervas anuais ou perenes, eretas, prostradas, difusas ou escandentes, subarbustos, arbustos eretos, sarmentosos ou escandentes, árvores de pequeno, médio ou grande porte e sistema radicular bem desenvolvido, com predominância da raiz principal sobre suas ramificações [Barroso et. al., 1991].

A subfamília Papilionoideae

A subfamília *Papilionoideae*, à qual pertence o gênero *Poiretia*, está representada por quatrocentos e oitenta e dois gêneros e cerca de doze mil espécies, com ampla distribuição geográfica, sendo portanto a maior entre as leguminosas. É considerada como o grupo mais evoluído da família Leguminosae, devido a algumas de suas características.

Todos os legumes que consumimos pertencem a esta subfamília, sendo plantas cultivadas; tais como *Phaseolus* (feijão), *Pisum* (ervilha), *Lens* (lentilha), *Vicia* (fava), *Cicer* (grão-de-bico), *Glycine* (soja), *Canavalia* (feijão-de-porco), *Cajanus* (ervilha-de-árvore), *Arachis* (amendoim), etc.. Todos são ricos em óleos ou em proteínas [Joly, 1977].

Na subfamília *Papilionoideae* são encontrados os gêneros *Mellilotus* e *Medicago*, nos quais incluem-se plantas forrageiras conhecidas como a alfafa; *Crotolaria*, *Glycine* e *Dolicho*, que são plantas usadas no enriquecimento do solo (adubo verde); *Indigofera* (anil) e *Astragalus* (goma arábica), usadas na indústria. Além disso as espécies pertencentes aos gêneros *Dalbergia*, *Machaerium* (jacarandá) e *Bowdichia* (sucupira) fornecem madeiras economicamente importantes [Joly, 1977].

O gênero *Poiretia*

Denominado por Ventenat (Vent.) e atribuído a um novo gênero das leguminosas em 1807. O gênero *Poiretia* compreende espécies das regiões tropicais e subtropicais da América extra-andina, desde o México e Antilhas até Buenos Aires, existindo no Brasil todas as espécies, sendo que algumas apresentam caráter endêmico [Müller, 1984].



O gênero *Poiretia*, pertencente a tribo Aeschynomeneae e à subtribo Poiretiinae, é constituído por 12 espécies que se encontram divididas em duas seções: seção *Poiretia* Vent., constituída apenas pela espécie *Poiretia punctata*, e a seção *Virgata* C. Müller, representada pelas espécies: *P. unifoliolata*; *P. longipes*; *P. angustifolia*; *P. coriifolia*; *P. marginata*; *P. crenata*; *P. tetraphylla*; *P. mattogrossensis*; *P. elegans*; *P. latifolia* e *P. bahiana*, estando distribuídas nas Américas do Sul e Central, ocorrendo em locais abertos, preferencialmente em vales e encostas de montanhas, planaltos, planícies e campos naturais [Müller, 1984].




No Brasil, algumas espécies do gênero *Poiretia* são utilizadas pela população com diferentes funções. A espécie *Poiretia tetraphylla* (Poir.) Burkart, considerada tóxica para o gado em Chaco (Argentina), visto que este não a consome, é usada como tônico estomacal, enquanto que as folhas da espécie *Poiretia latifolia* Vog. são usadas no Rio Grande do Sul como aromatizante de chimarrão e são consideradas afrodisíacas através de infusão. Uma outra espécie *Poiretia* Vent. é utilizada por habitantes de Cuiabá e Rosário D'Oeste no Mato Grosso como anti-hemético, principalmente nos casos de febre e meningite, sob a forma de chá e banho de imersão das folhas de tal espécie [Muller, 1984]. As folhas da espécie *Poiretia bahiana* C. Muller apresentam




odor pungente, sendo usadas popularmente no combate a sinusites, através de inalação, e para combater hemorróidas e dores nas articulações, na forma de chá.

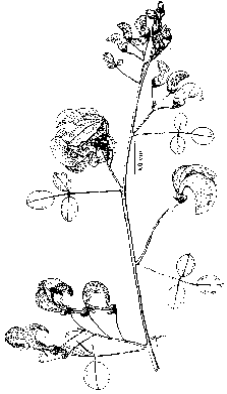

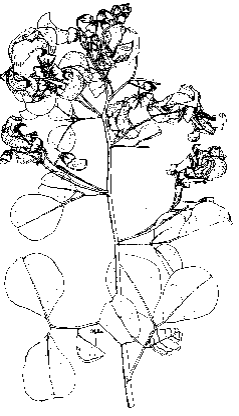
O número de espécies descritas para o Brasil até o momento [Muller, 1984] encontra-se dividido nos seguintes estados: Minas Gerais (7 espécies); São Paulo (5 espécies); Goiás (4 espécies); Paraná (3 espécies); Santa Catarina, Mato Grosso, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Bahia (2 espécies) e Mato Grosso do sul, Pernambuco, Ceará e Paraíba (1 espécie). Esta distribuição pode ser melhor visualizada na Tabela 01 (p.5).

Tabela 01- Distribuição geográfica das espécies de *Poiretia* que ocorrem no Brasil e épocas de floração

ESPÉCIES	OCORRÊNCIA NO BRASIL	ÉPOCAS DE FLORAÇÃO	ASPECTO GERAL DO RAMO
<p><i>P. punctata</i> (Willd) Vent.</p>	<p>Ceará, Pernambuco, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Goiás.</p>	<p>janeiro a dezembro.</p>	
<p><i>P. unifoliolata</i> (Mello Barreto ex. Martins e Pedersolli).</p>	<p>Minas Gerais.</p>	<p>agosto a dezembro</p>	
<p><i>P. longipes</i> (Harms)</p>	<p>São Paulo</p>	<p>abril a julho</p>	<p>-</p>

<p><i>P. angustifolia</i> (Vog.)</p>	<p>São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás e Minas Gerais.</p>	<p>novembro a março</p>	
<p><i>P. coriifolia</i> (Vog)</p>	<p>São Paulo, Goiás e Minas Gerais.</p>	<p>Todo o ano, com máximo entre janeiro e maio.</p>	
<p><i>P. marginata</i> (C. Muller)</p>	<p>Minas Gerais</p>	<p>novembro a janeiro</p>	

<p><i>P. crenata</i> (C.Muller)</p>	<p>Mato Grosso do Sul</p>	<p>fevereiro a outubro</p>	
<p><i>P. tetraphylla</i> (Poir.) Burkart</p>	<p>Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso.</p>	<p>setembro a maio, com máximo em dezembro.</p>	
<p><i>P. mattogrossensis</i> (C. Müller)</p>	<p>Mato Grosso</p>	<p>março a agosto</p>	

<p><i>P. elegans</i> (C. Müller)</p>	<p>Minas Gerais</p>	<p>fevereiro a abril</p>	
<p><i>P. latifolia</i> (Vog.)</p>	<p>Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul</p>	<p>outubro a março</p>	
<p><i>P. bahiana</i> (C. Müller)</p>	<p>Bahia</p>	<p>julho, setembro e novembro</p>	

A espécie *Poiretia bahiana* e seus constituintes químicos

A espécie *Poiretia bahiana* (Figura 01, p.11), pertencente à seção *Virgata*, é a única espécie do gênero que se apresenta com porte arbóreo ou subarbóreo. Sua altura média está em cerca de 4,0 metros de altura, sendo esta uma característica que também diferencia a espécie das demais do gênero, porque nestas a altura máxima alcançada é cerca de 4,0 metros em *Poiretia coriifolia* Vog..

Suas folhas são tetrafolioladas e seus folíolos são membranáceo-cartáceos, sendo os terminais maiores que os laterais. Os folíolos terminais têm a forma obovada a amplamente depresso obovada, com ápice arredondado-mucronado ou retuso mucronado e a base cuneado-aguda. Os folíolos laterais são arredondados a subarredondado-orbiculares com o ápice arredondado e a base obtuso-arredondada.

A espécie apresenta inflorescência paniculada terminal e axilar, sendo a terminal composta por dois racemos que saem aproximadamente do mesmo ponto e, cada racemo lateral da panícula é acompanhado de uma folha. A panícula auxiliar aparece logo abaixo da panícula terminal, ocupando cerca de 1/3 do tamanho do ramo e, seus racemos são simples, sem as ramificações basais da panícula terminal.

Floresce de julho a dezembro e foi encontrada exclusivamente, nos campos rupestres da região da Serra de Lençóis, no Estado da Bahia o que sugere ser a espécie endêmica da região [Müller, 1984].

Até o presente trabalho, nenhum estudo fitoquímico havia sido relatado para o gênero *Poiretia*, sendo este um dos motivos que nos levaram a estudar a espécie *Poiretia bahiana*. Os outros motivos foram tratar-se de uma planta

endêmica da Chapada Diamantina e os seus extratos apresentarem atividade fungitóxica.

Esta planta é popularmente conhecida como arrudinha, arruda da serra ou arruda brava. Os espécimens estudados foram coletados no Morro do Pai Inácio (Figura 02, p.11), localizado no município de Palmeiras, Estado da Bahia (BA) e identificados pela Prof^a Maria Lenise da Silva Guedes, curadora do Herbário Alexandre Leal Costa, do Instituto de Biologia da UFBA. A exsicata deste material encontra-se depositada no HALC sob n^o 032231.

Um esquema sobre a origem taxonômica da espécie está representado na Figura 03 (p.12).



Figura 01- Fotografia de um ramo florido de *Poiretia bahiana*



Figura 02- Morro do Pai Inácio.

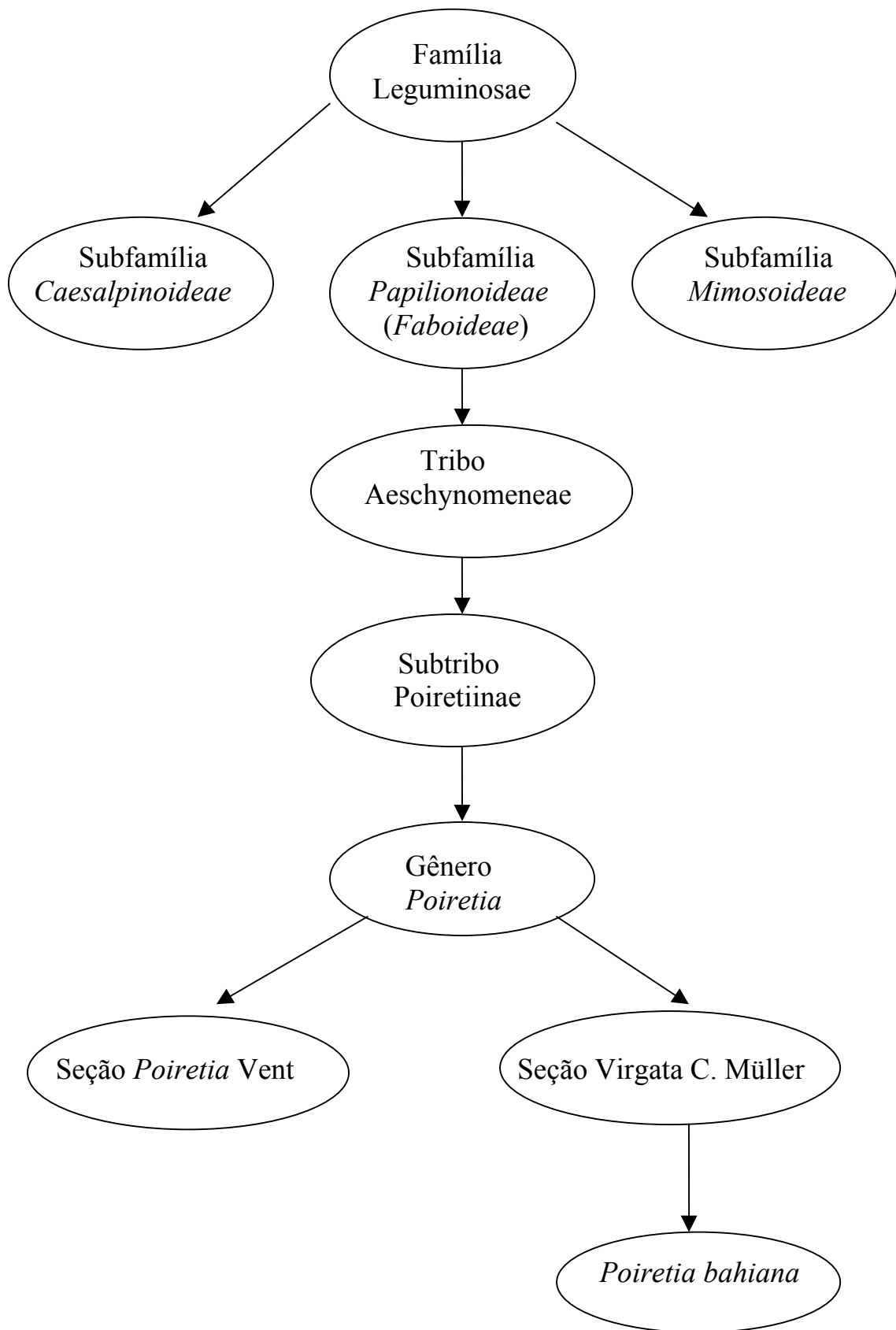
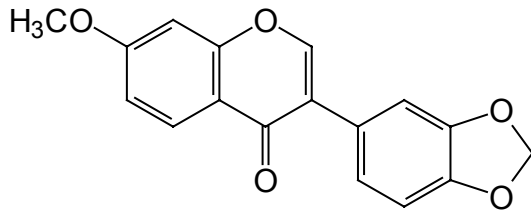


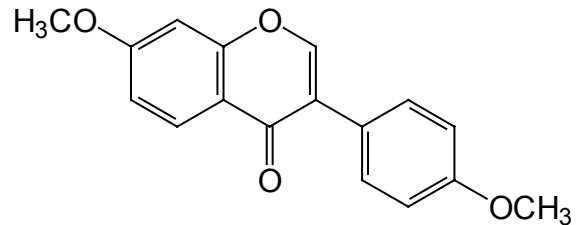
Figura 03 - Esquema da origem taxonômica da espécie *Poiretia bahiana*

Constituintes químicos encontrados no extrato hexânico das folhas de *Poiretia bahiana*



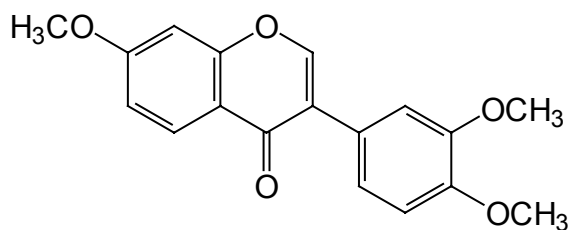
I

7-metoxi-3',4'-metilenodioxiiisoflavona



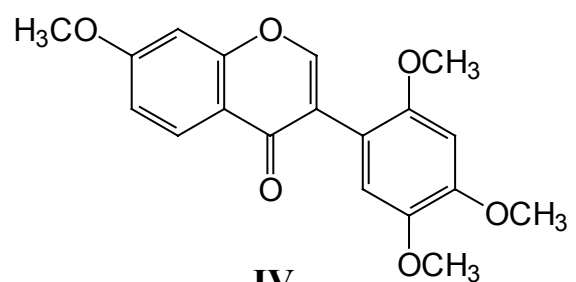
II

7,4'-dimetoxiiisoflavona



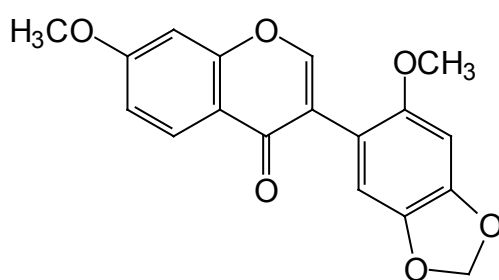
III

7,3',4'-trimetoxiiisoflavona



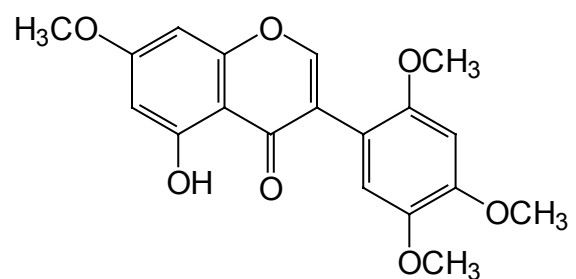
IV

7,2',4',5'-tetrametoxiiisoflavona



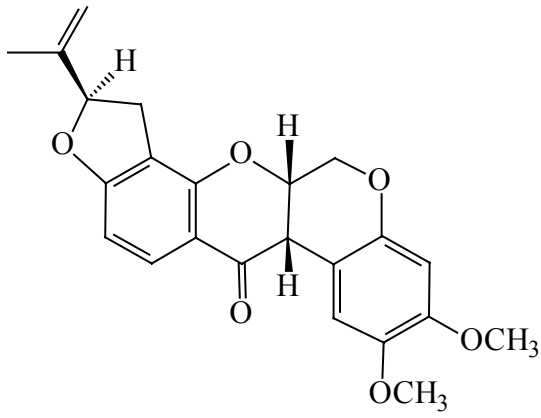
V

7,2'-dimetoxi-4',5'-metilenodioxiiisoflavona

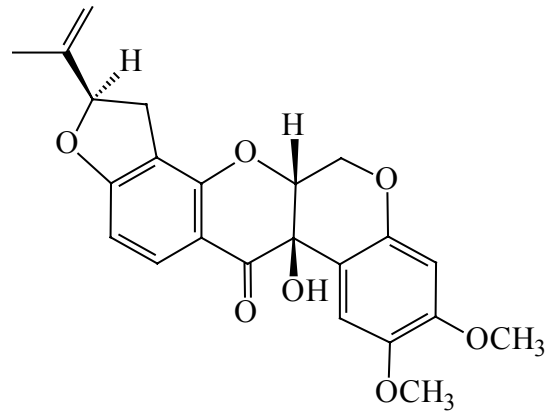


VI

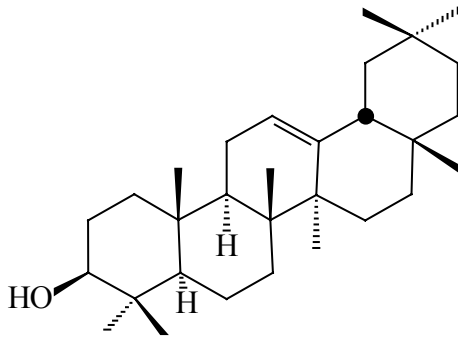
5-hidroxi-7,2',4',5'-tetrametoxiiisoflavona



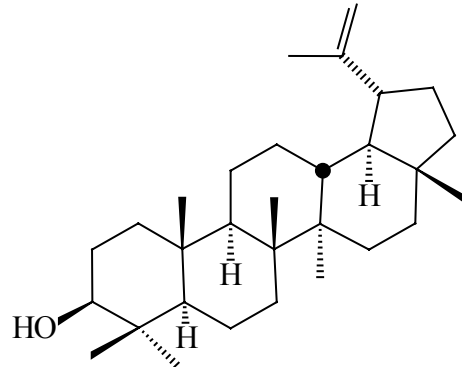
VII
rotenona



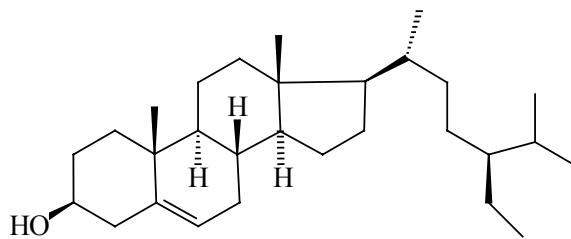
VIII
12a-hidroxirotenona



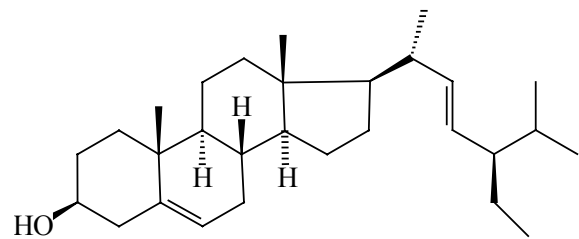
IX
 β -amirina



X
lupeol

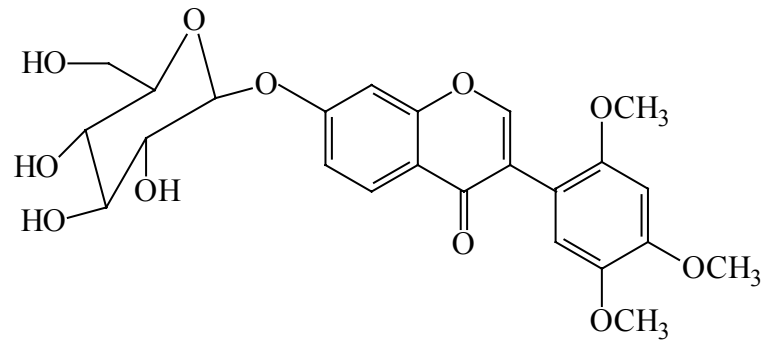


XI
sitosterol

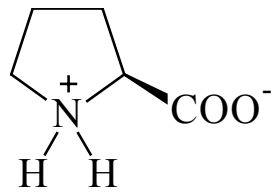


XII
estigmasterol

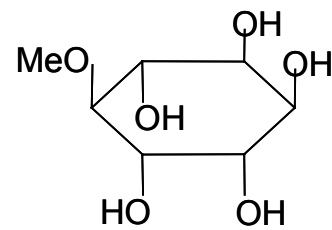
Constituintes químicos encontrados no extrato metanólico das folhas de *Poiretia bahiana*



XIII-2',4',5',-trimethoxy-7-O- β -D-glicopiranosilisoflavona

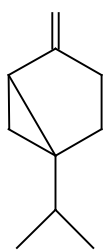


XIV - Prolina

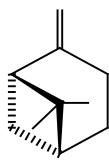


XV - 3-O-metilchiroinositol

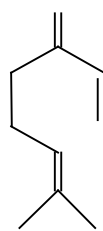
Constituintes químicos identificados no óleo essencial de *Poiretia bahiana*



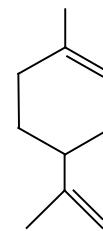
XVI
Sabineno



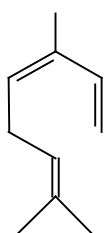
XVII
 β -pineno



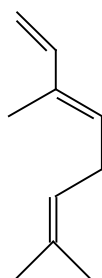
XVIII
Mirceno



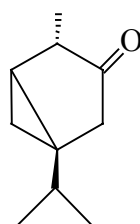
XIX
Limoneno



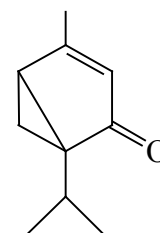
XX
(Z)-Ocimeno



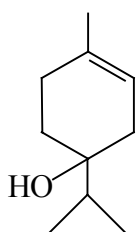
XXI
(E)-Ocimeno



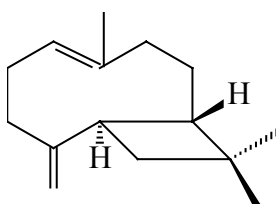
XXII
Tujona



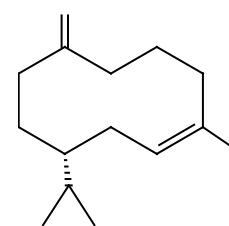
XXIII
Tujenona



XXIV
Terpin-4-ol



XXV
(E)-Cariofileno



XXVI
 γ -Muuroleno

Flavonóides

Os flavonóides são metabólitos secundários que apresentam 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, contendo dois anéis aromáticos unidos por três átomos de carbono. A sua estrutura é formada pela ação de dois caminhos biossintéticos diferentes, sendo o caminho do ácido chiquímico, responsável pela sub-unidade fenilpropânica e o caminho do ácido acético responsável pela origem dos seis átomos de carbono do anel aromático A (Figura 04, p.18).

Os flavonóides encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal, estando bem representados nas Angiospermas, apresentando grande diversidade estrutural. São em sua maioria pigmentos responsáveis pela coloração de numerosas flores e de alguns frutos, atraindo polinizadores e assim favorecendo a reprodução das espécies; alguns flavonóides agem como antioxidantes e outros são inibidores enzimáticos, sendo absorvedores de luz ultravioleta [Bruneton, 1991].

Isoflavonóides:

Os isoflavonóides são um tipo de flavonóides, que se diferenciam dos demais por possuir um esqueleto 1,2-difenil propano. Como os flavonóides, os isoflavonóides são classificados pela variação do grau de oxidação do anel heterocíclico, sendo as reações secundárias como hidroxilação, metilação e prenilação as responsáveis pelas variações adicionais dadas aos grupos arílicos.

A biogênese dos isoflavonóides ocorre de forma semelhante aos flavonóides, envolvendo a migração 1,2-aril do anel B, contando com a participação de uma enzima do tipo hidroxilase [Mann, 1994] (Figura 05, p.19).

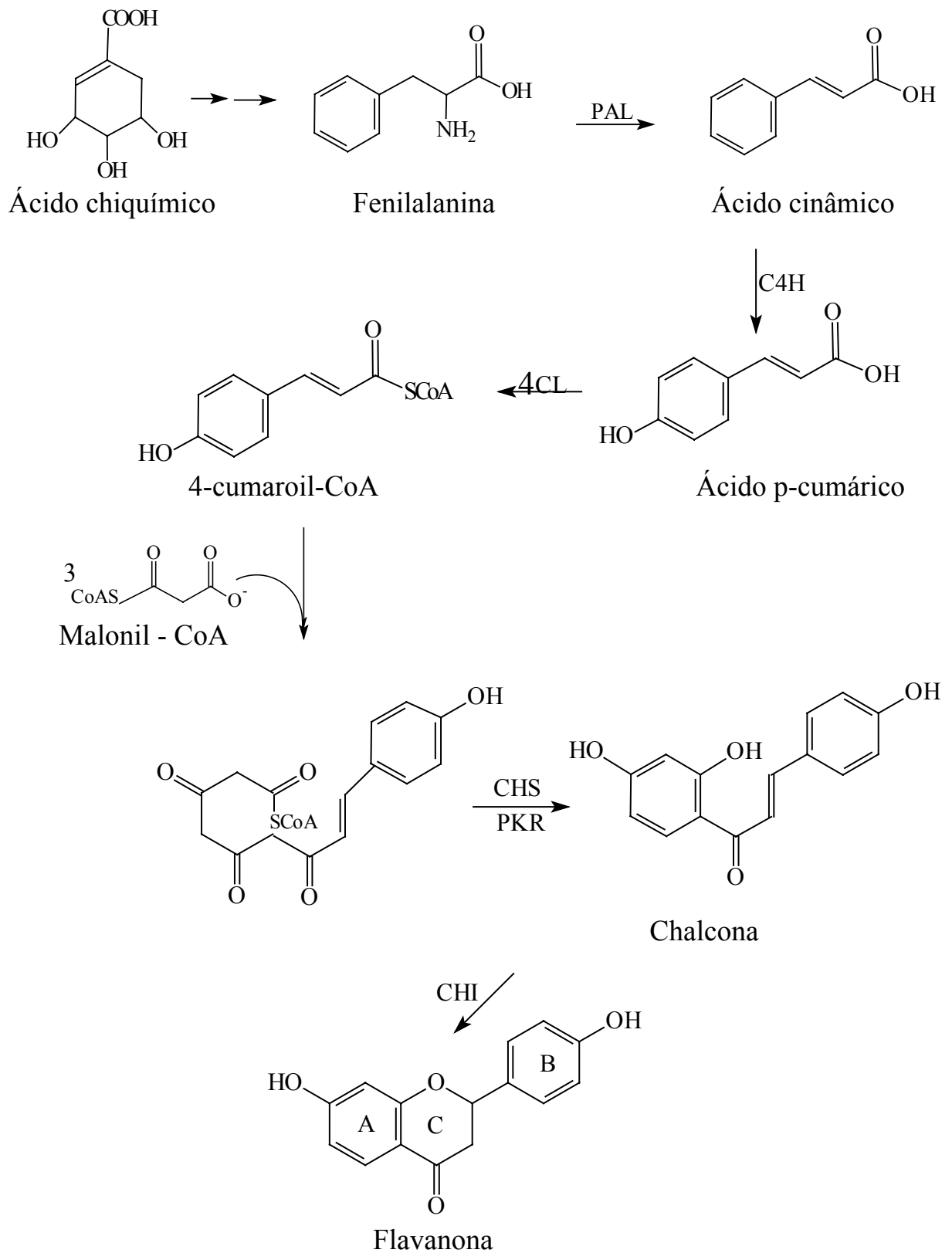


Figura 04-Esquema da biossíntese dos flavonóides

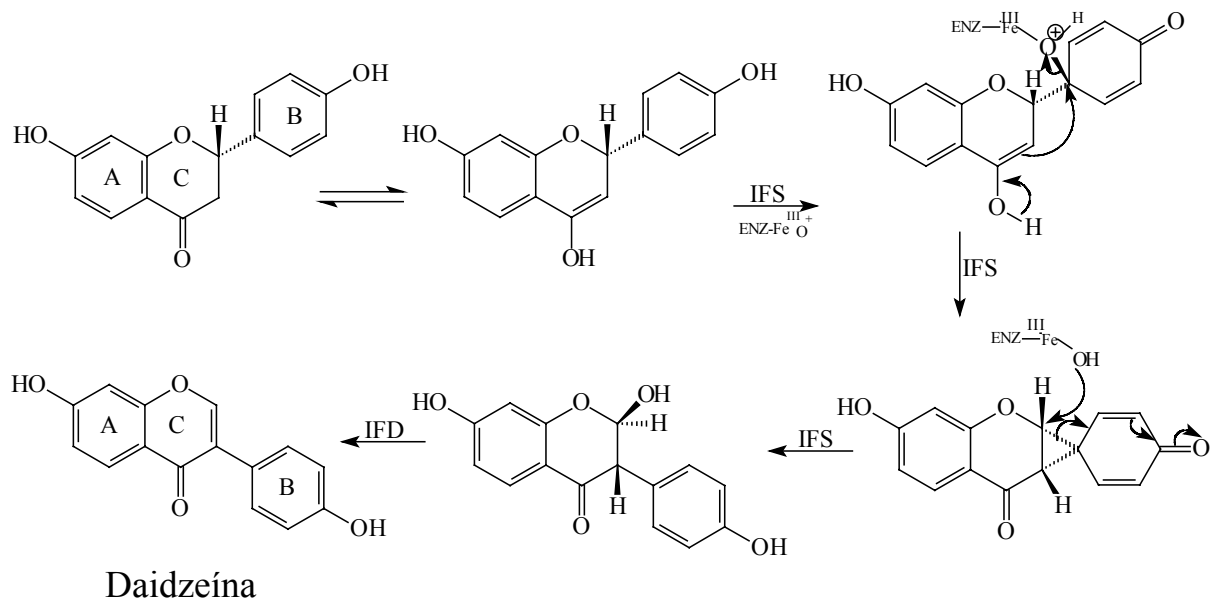


Figura 05-Esquema da biossíntese da isoflavona daidzeína [Mann, 1994].

A migração do grupo arílico foi examinada fornecendo-se soluções contendo as substâncias $[2\text{-}^{14}\text{C}\text{-}3\text{-}^3\text{H}]\text{-}7,4'$ diidroxiflavanona e $[2\text{-}^{14}\text{C}\text{-}2\text{-}^3\text{H}]\text{-}5,7,4'$ triidroxiflavanona a duas porções de sementes de *Cicer arietinum* separadamente. Quando as sementes foram alimentadas com $[2\text{-}^{14}\text{C}\text{-}3\text{-}^3\text{H}]\text{-}7,4'$ diidroxiflavanona, a formononetina (**60**) formada não apresentou ^3H em sua estrutura. Já quando a alimentação ocorreu com a solução contendo $[2\text{-}^{14}\text{C}\text{-}2\text{-}^3\text{H}]\text{-}5,7,4'$ triidroxiflavanona, a biochanina (**78**) formada apresentou ^3H em sua estrutura, demonstrando que o hidrogênio heterocíclico ligado ao C-2 não acompanhou a migração do grupo arílico [Smith e Banks, 1986].

Distribuição dos flavonóides em Leguminosae

A família Leguminosae é particularmente rica em flavonóides, quando comparada com outras famílias. Para todas as agliconas flavonoídicas relatadas para as plantas superiores, 28% dos flavonóides e 95% dos isoflavonóides pertencem à família Leguminosae.

Cerca de 50% dos flavonóides e 66% dos isoflavonóides encontrados nesta família não apresentam o grupo hidroxílico ligado ao C-5 (5-desoxiflavonóides) e 39% dos flavonóides e 51% dos isoflavonóides contêm grupos prenílicos ou variações desses.

A presença de 5-desoxiflavonóides nas três subfamílias de Leguminosae mostra que a habilidade para sintetizá-los pode ter sido originada durante a evolução da família. Embora essas três subfamílias estejam unidas por possuírem também flavonóides sem o grupo 5-hidroxílico, as subfamílias *Caesalpinoideae* e *Mimosoideae* diferem da *Papilionoideae*, pelo número de diferentes flavonóides no seu metabolismo. As duas primeiras contêm flavanóis que não são encontrados na subfamília *Papilionoideae*, onde a presença de isoflavonóides e flavonóides prenilados são característicos, sendo muito rara nas subfamílias *Caesalpinoideae* e *Mimosoideae*, embora algumas *Mimosoideae* produzam outros compostos fenólicos com grupos prenilados, como por exemplo, bifenílicos prenilados encontrados em *Cedrelinga catenaeformis* [Hegnauer e Barkmeijer, 1993].

Já os isoflavonóides, apresentam uma distribuição taxonômica bastante restrita, estando praticamente limitados à subfamília *Papilionoideae*. Esses compostos apresentam uma variação estrutural muito grande, não somente pelo número de substituintes, mas também pelo nível de oxidação do esqueleto, ou até mesmo pela presença de anéis heterocíclicos adicionais.

Muitos isoflavonóides foram isolados de espécies de diferentes gêneros da subfamília *Papilionoideae*, ocorrendo ocasionalmente em outras famílias como: Myristicaceae, Rosaceae, Iridaceae, Chenopodiaceae, Bombacaceae, Moraceae, Nictaginaceae, Asteraceae, Araucariaceae (Tabela 02, p.26). Dos 630 isoflavonóides citados na literatura, provenientes da subfamília *Papilionoideae*, cerca de 234 são isoflavonas [Seigler, 1998].

Propriedades biológicas de isoflavonóides

Os isoflavonóides encontrados nos vegetais apresentam diferentes funções. Grande parte destes são fitoalexinas, que surgem através do mecanismo de resistência a microorganismos patogênicos, em várias plantas pertencentes às leguminosas. Alguns isoflavonóides apresentam atividades estrogênicas, causando problemas de infertilidade em rebanhos que pastam no meio dessas plantas. Eles também têm afetado a população de certos pássaros que se alimentam das sementes de legumes ricos em isoflavonóides, principalmente no período de seca, onde a concentração de isoflavonóides é proporcionalmente alta, diminuindo a produção de ovos [Seigler, 1998].

Nas plantas utilizadas na alimentação, os isoflavonóides influenciam o sistema endócrino dos animais através da interação com hormônios receptores e/ou enzimas metabolizadoras de esteróides [Lapčík et. al., 1999].

Algumas espécies citadas na Tabela 02 (p.26) são utilizadas pela população por apresentarem propriedades medicinais. A espécie *Bowdichia virgilioides* é utilizada no Brasil para o tratamento do reumatismo, artrite e diabetes [Velooso et. al., 1999]; a *Wisteria brachybotrys* é utilizada no Japão como agente antiinflamatório [Kaneko et. al., 1988] e a *Dalbergia sissoo* é utilizada para o tratamento de gonorreia em países Arábes [Frag et. al., 2001].

A espécie *Gliricidia sepium* apresenta atividade inseticida, sendo que a isoflavona afromorsina (68), isolada dessa espécie, apresentou-se como antitumoral [Herath et. al., 1998].

Outras espécies mostraram atividades biológicas, especialmente contra fungos. O extrato em acetato de etila da espécie *Phaseolus coccineus*, conhecida como “feijão mensageiro” na Europa, América Central e África, apresentou atividade fungitóxica contra *Cladosporium cucumerium*. Deste extrato foram

isoladas as isoflavonas: isoprunitina, phaseoliteona (95) e 2'-hidroxiisoprunitina (96) [Adesanya et. al., 1985]. As isoflavonas luteona (55) e winghteona (36), que ocorrem em espécies de *Lupinus*, mostraram-se fungitóxicas contra *Helminthosporium carbonum* [Seigler, 1998].

O extrato clorofórmico das partes aéreas de *Amorpha fruticosa* mostrou-se citotóxico a várias células tumorais, de onde foram obtidas as isoflavonas afromorsina, 7,2',4',5'-tetrametoxiisoflavona e metilretusina [Li et. al., 1993].

Em comum a outros legumes papilionóides, algumas espécies do gênero *Phaseolus* [O'Neill, et. al.1986] e as espécies *Trifolium arvense*, *T. hybridum*, *Astragalus gummifer* e *Astragalus cicer* [Ingham e Dewick, 1980b], *Lotus corniculatus*, *L. uliginosus*, *L. hispidus*, *L. angustissimus*, *L. Edulis* [Ingham e Dewick, 1980a], *Lathyrus nissolia* [Maranduba et. al., 1979] apresentaram isoflavonas como substâncias químicas constitutivas e produziram outros isoflavonóides como fitoalexinas, em resposta a infecções causadas por fungos fitopatogênicos e ao stress causado pela influência de diversos fatores climáticos.

Fitoalexinas

Desde o final do século IX havia uma idéia de que as plantas apresentavam um sistema imunológico semelhante ao dos animais. Porém somente por volta de 1940 surgiram as primeiras evidências de que as plantas respondem ao ataque de microorganismos, alterando seu metabolismo e sintetizando substâncias capazes de protegê-las das doenças [Braga, 2000]. Essas substâncias foram denominadas fitoalexinas (do grego *phyton* = planta e *alexin* = composto que repele) e sua descoberta causou profundas mudanças no conceito de resistência de plantas a patógenos.

As fitoalexinas não são proteínas, não apresentam especificidade e não imunizam as plantas como os anticorpos nos animais. São produtos do metabolismo secundário que podem ser classificadas de acordo com sua produção em compostos pré-infeccionais, que são metabólitos constitutivos presentes em concentrações suficientes para impedir o desenvolvimento de microorganismos ou em concentrações baixas, que aumentam rapidamente após o início da infecção, e em pós-infeccionais, que surgem através de hidrólise ou oxidação de precursores inativos presentes nas células ou que estão totalmente ausentes nos tecidos de plantas sãs, sendo sintetizados “*de novo*” no local da infecção.

As fitoalexinas mais importantes e interessantes do ponto de vista ecológico, são as altamente fungitóxicas. Estas podem ter seu acúmulo induzido não apenas por organismos vivos, mas também por seus produtos (eliciadores), que podem ser carboidratos, lipídios, proteínas ou pedaços de parede celular. Estas substâncias ainda podem ser produzidas devido a condições de estresse como injúria, frio, excesso de luz UV e sais de metais pesados [Dietrich et. al., 1987].

Diversas classes de produtos naturais como terpenoídes, poliacetilenos, alcalóides e isoflavonóides têm sido descritas como fitoalexinas, existindo uma relação entre a natureza química dessas substâncias e a família das plantas que as produzem. Geralmente as leguminosas produzem isoflavonóides, as solanáceas produzem diterpenos, as compositas produzem poliacetilenos e as orchidáceas produzem diidrofenantrenos; podendo ser encontradas algumas exceções, como no caso da família Leguminosae, que caracteriza-se pela produção de isoflavonóides como fitoalexinas, mas nos gêneros *Vicia* e *Lens* foram encontrados furanoacetilenos. Em alguns casos as fitoalexinas podem ser usadas como marcadores taxonômicos [Grisebach e Ebel, 1978].

Um pterocarpano denominado pisatina, foi a primeira fitoalexina caracterizada quimicamente. Esta substância foi isolada de plantas de ervilha (*Pisum sativum*) após a inoculação com o fungo *Sclerotinae fruticola*. Desde a sua descoberta em 1960, várias outras fitoalexinas foram obtidas de plantas agronomicamente importantes como feijão, soja, ervilha, batata, tomate, alface, algodão, arroz, cevada e banana, dentre outras.

Em muitas espécies como ervilha, alfafa, feijão e soja as fitoalexinas possuem estruturas do tipo pterocarpano, que são sintetizados após a infecção por fungos fitopatogênicos [Braga, 2000].

Em 11 espécies do gênero *Lupinus* investigadas, os isoflavonóides presentes não são produzidos após a infecção por fungos, surgindo como substâncias pré-infeccionais, sendo consideradas como fitoantecipadores [Harborne et. al., 1976].

Cerca de 300 fitoalexinas já foram isoladas, entretanto menos de 1% dos vegetais superiores foram analisados quanto a sua capacidade de produzir essas substâncias, sendo em sua maioria espécies cultivadas pelo homem [Braga, 2000].

Tabela 02- Isoflavonas isoladas de várias espécies de plantas superiores

ESPÉCIES	SUBSTÂNCIAS	REFERÊNCIAS
Leguminosae (Papilionoideae)		
<i>Anthyllis hermanniae</i>	36, 13 e 98	Pistelli et. al., 1996
<i>Amorpha fruticosa</i>	30, 67 e 90	Li et. al., 1993.
<i>Apios tuberosa</i>	35 e 57^F	Ingham e Mulheirn, 1982
<i>Bowdichia virgilioides</i>	68	Veloso et al., 1999
<i>Cicer anatolicum</i> , <i>C. arietinum</i> , <i>C. bijugum</i> , <i>C. canariensis</i> , <i>C. chorassanicum</i> <i>C. cuneatum</i> , <i>C. echinospermum</i> , <i>C. judaicum</i> , <i>C. macracanthum</i> , <i>C. microphyllum</i> , <i>C. nuristanicum</i> , <i>C. oxyodon</i> , <i>C. pinnatifidum</i> , <i>C. reticulatum</i> , <i>C. yamashitae</i>	60, 71, 75, 76, e 77	Stevenson e Veitch, 1998
<i>Dalbergia coromandeliana</i>	26	Ramesh e Yuvarajan, 1995
<i>Dalbergia paniculata</i>	27 3, 32 e 61	Rao e Rao, 1991 Radhakrishniah, 1973
<i>Dalbergia riparia</i>	2	Braz Filho, et. al., 1973
<i>Dalbergia ecastophyllum</i>	33 e 60	Donnelly et. al., 1973
<i>Derris spruceana</i>	9	Garcia et. al., 1986.
<i>Derris robusta</i>	31	Chiber e Sharma, 1979
<i>Eriosema tuberosum</i>	37, 38, 39, 40 e 41	Ma et al., 1998

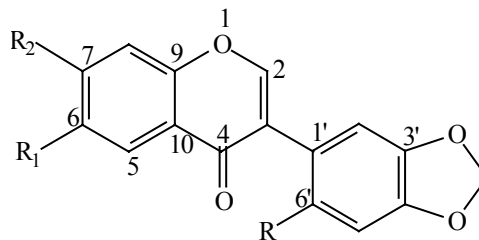
<i>Erythrina latissima</i>	62 e 64	Wanjala e Majinda, 2000
<i>Erythrina indica</i>	18, 19 e 59	Waffo et. al., 2000
<i>Erythrina senegalensis</i>	10 e 56 123 20 e 21	OH et. al., 1999 Wandji et. al., 1995a Wandji et. al., 1995b
<i>Erythrina sacleuxii</i>	28, 63, 64 e 65	Yenesew et. al., 1998a
<i>Eysenhardtia polystachya</i>	29	Alvarez et. al., 1998
<i>Gliricidia sepium</i>	66 60 e 67	Herath e Silva, 2000 Herath et. al., 1998
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	35, 36, 42 e 43	Hayashi et. al., 1996
<i>Laburnum anagyroides</i>	22, 47 e 124	Sato et. al., 1995
<i>Lespedeza homoloba</i>	44 e 97	Miyase et. al., 1999
<i>Lupinus albus</i>	35, 36, 55 e 93^F 14, 16, 17, 117, 118, 119, 120, 121 e 122	Gagnon e Ibrahim, 1997 Tahara et. al., 1989
<i>Lupinus*</i>	55	Harborne, et. al., 1976
<i>Mildbraedeodendron excelsa</i>	4, 5 e 105	Meegan e Donnely, 1975
<i>Millettia griffoniana (Bail)</i>	1 e 2	Yankep et. al., 2001
<i>Millettia usaramensis</i>	1, 6, 7 e 8	Yenesew et. al., 1998b
<i>Millettia thonningii</i>	14 e 15	Perret et. al., 1995
<i>Myroxylon peruiferum</i>	81	Maranduba et. al., 1979
<i>Myroxylon balsamun</i>	67 e 81	De Oliveira, 1978
<i>Ormosia monosperma</i>	23, 24, 25, 35, 48 e 131	Iinuma et. al., 1994
<i>Pisum sativum</i>	33, 42 e 60	Lapcık et. al., 1999
<i>Piscidia erythrina</i>	127, 128, 129 e 130	Moriyama, et. al., 1993 Tahara, et. al., 1993 Tahara, et. al., 1992 Moriyama, et. al., 1992

<i>Phaseolus lunatus</i>	33, 35, 55, 57, e 58^F	O'Neill, et. al. 1986
<i>Phaseolus coccineus</i>	94 e 95	Adesanya, et. al., 1985
<i>Phaseolus vulgaris</i>	99^F	Woodward, 1979
<i>Pueraria lobata</i>	33, 35, 45 e 46^F	Hakamatsuka, et. al., 1991
<i>Pterocarpus marsupium</i>	78, 79 e 108	Mitra e Joshi, 1983
<i>Psoralea corylifolia</i>	100	Gupta et. al., 1978
<i>Sophora secundiflora,</i> <i>S.arizonica e S. gypsophyla</i>	11, 73 e 74	Tanaka et. al., 1998. Inuma et. al., 1995
<i>Sophora fraseri e</i> <i>S. tomentosa</i>	70	Inuma et. al, 1993
<i>Tephrosia bidwilli</i>	125^F	Ingham e Markhan, 1982
<i>Tephrosia maxima</i>	49	Rao, et. al, 1994
<i>Tephrosia polyphylla</i>	12 e 13	Dagne, et. al., 1992
<i>Vigna unguiculata</i>	33, 60 e 106	Martin e Dewick, 1979
<i>Vigna radiata</i>	33, 35 e 40	Lapcík et. al., 1999
<i>Wisteria brachybotrys</i>	34, 69, 70, 71 e 72	Kaneko et. al., 1988

Araucariaceae		
<i>Araucaria angustifolia</i>	81	Fonseca et. al., 2000
Asteraceae		
<i>Sphaeranthus indicus</i>	83	Yadava e Kumar, 1999
Bombacaceae		
<i>Ceiba pentandra</i>	84 e 85	Noreen et al, 1998
Chenopodiaceae		
<i>Salsola somalensis</i>	114, 115 e 116	Abegaz e Woldu, 1991
Iridaceae		
<i>Íris carthaliniae</i>	50, 82, 101 e 102	Farag et. al., 1999
<i>Íris crocea</i>	54, 108, 109 e 110	Shawl e Kumar, 1992
<i>Íris japonica</i>	92 e 93 ^F	Minami et. al., 1996
<i>Íris pseudacorus</i>	35, 103, 104, 111, 112 e 113 ^F	Hanawa et. al., 1991
<i>Patersonia occidentalis var occidentalis</i>	103	Williams, et. al., 1989
Moraceae		
<i>Maclura pomifera</i>	51, 52 e 126	Lee et. al., 1998
Myristicaceae		
<i>Pycnanthus angolensis</i>	86	Omobuwajo et. al., 1992
<i>Virola caducifolia</i>	87, 88 e 89	Braz Filho et. al, 1976
Rosaceae		
<i>Prunus avium e P. cerasus</i>	53	Khalid et. al., 1989

^F= fitoalexinas

*= todas as espécies do gênero avaliadas.

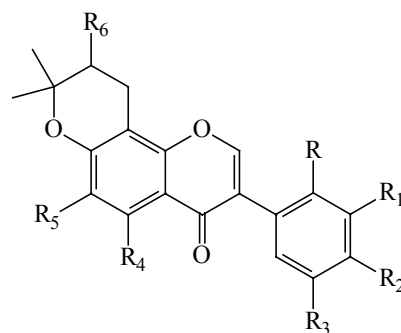


1. $R_1=H$; $R_2=OH$; $R=OCH_3$
Maximaisoflavona G
2. $R_1=OCH_3$; $R_2=OH$; $R=H$
7-hidroxi-6-metoksi-3',4'-metilenodioxiiisoflavona

3. $R_1=CH_3O$; $R_2=OH$; $R=OCH_3$

Dalpatiena

4. $R=R_2=OCH_3$, $R_1=OH$
7,6-dimetoksi-6'-hidroxi-3',4'-metilenodioxiiisoflavona
5. $R=R_1=R_2=OCH_3$
7,6,6'-trimetoksi-3',4'-metilenodioxiiisoflavona



6. $R=R_2=R_3=OCH_3$, $R_1=R_4=R_5=R_6=H$

Barbigerona

7. $R=OCH_3$, $R_1=H$, $R_2,R_3=OCH_2O$, $R_4=R_5=R_6=H$

Jamaicina

8. $R=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1, R_2=OCH_2O$, $R_3=OH$

Norisojamaicina

9. $R_1,R_2=OCH_2O$, $R=R_3=R_5=R_6=H$, $R_4=OH$,

5-hidroxi-3',4'-metilenodioxo-2'',2''dimetilcromeno(5'',6'',7,8,)-isoflavona

10. $R=R_2=R_4=R_6=OH$, $R_1=R_3=H$, $R_5=CH_2CH=C(CH_3)_2$

Erysenegalenseina O

11. $R=R_1=R_2=R_5=R_6=H$, $R_3=R_4=OH$,

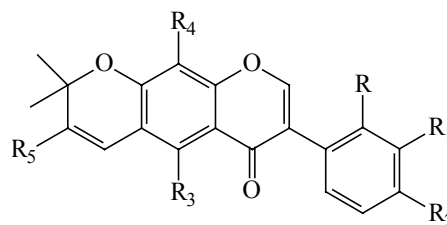
Derrona

12. $R=R_3=OCH_3$, $R_2=R_4=OH$, $R_1=R_5=R_6=H$

4'-desmetiltoxicarol isoflavona

13. $R=R_3=R_2=OCH_3$, $R_4=OH$, $R_1=R_5=R_6=H$

Toxicarol isoflavona

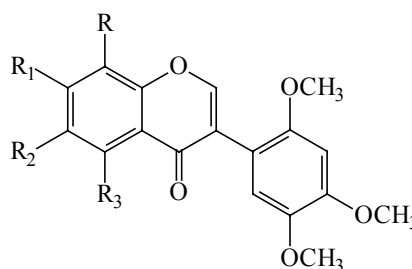


14. $R_2=R_3=OH$, $R=R_1=R_4=R_5=H$
Alpinumisoflavona
15. $R_2=OCH_3$, $R_3=OH$, $R=R_1=R_4=R_5=H$
4'-O-metilalpinumisoflavona
16. $R=R_2=R_3=OH$, $R_1=R_4=R_5=H$
Parvisoflavona B
17. $R=R_2=R_3=OH$, $R_1=CH_2CH=C(CH_3)_2$, $R_4=R_5=H$
Angustona C
18. $R_2=OH$, $R_3=OCH_3$, $R=R_1=R_4=R_5=H$
Indicanina C
19. $R_2=R_3=OCH_3$, $R=R_1=R_4=R_5=H$
5,4'-di-O-metilalpinumisoflavona
20. $R_2=R_3=OH$, $R=R_1=R_5=H$, $R_4=CH_2CH(OH)CCH_2(CH_3)$
Erysenegalenseina M
21. $R=R_2=R_3=OH$, $R_1=R_4=R_5=H$
Erysenegalenseina L
22. $R_2=R_3=R_5=OH$, $R=R_1=R_4=H$
Anagiroidisoflavona A

23. $R_2=R_3=OH$, $R=R_1=R_5=H$, $R_4=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Warangalona

24. $R=R_2=R_3=OH$, $R_1=R_5=H$, $R_4=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Auriculatina

25. $R_1=R_2=R_3=OH$, $R=R_5=H$, $R_4=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Auriculasina



26. $R_1=R_3=OH$, $R=H$, $R_2=OCH_3$
Caviunina

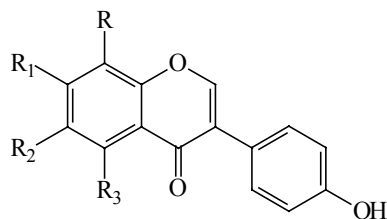
27. $R_1=R_3=OH$, $R=Glc$, $R_2=OCH_3$
Dalpaniculina

28. $R_1=R_3=OH$, $R=R_2=H$
7-desmetilrobustigenina

29. $R_1=OH$, $R=R_2=R_3=H$
7-hidroxi-2',4',5'-trimetoksiisoflavona

30. $R=R_2=R_3=H$, $R_1=OCH_3$
7,2',4',5'-tetrametoksiisoflavona

31. $R=R_2=H$, $R_1=OCH_3$, $R_3=OH$
Robustigenina



- 32.** R=Glc, R₁=OCH₃, R₃=OH, R₂=H
8-C-glicopiranosilprunetina
- 33.** R=R₂=R₃=H, R₁=OH
Daidzeína
- 34.** R=OCH₃, R₁=OGlc, R₃=OH, R₂=H
7-O-β-D-glicopiranosilisotectroigenina
- 35.** R₁=R₃=OH, R=R₂=H
Genisteína
- 36.** R₂=CH₂CH=C(CH₃)₂, R=R₁=R₃=H
Wighteona
- 37.** R₁=O-Glc-apio, R₃=OCH₃, R=R₂=H
7-O-β-D-apiofuranosil-(1→6)-O-β-D- glicopiranosil 5-O- metilgenisteina
- 38.** $R_1 = O\text{-Glc-apio}, R_3 = OH, R = R_2 = H$
7-O-β-D-apiofuranosil-(1→6)-O-β-D- glicopiranosil genisteína
- 39.** $R = R_2 = H, R_1 = OGlc, R_3 = OCH_3,$
7-O-β-D-glicopiranosil-5-O-metilgenisteína
- 40.** R₁=OGlc R₃=OH, R=R₂=H
Genistina

41. $R_1=Orut, R_3=OCH_3, R_2=R_2=H$
Esfaerobiosidina
42. $R=R_2=H, R_1=OCH_3, R_3=OH$.
Prunetina
43. $R=CH_2CH=C(CH_3)_2, R_2=H, R_1=R_3=OH$
Lupiwighteona
44. $R=CH_2CH=C(CH_3)(CH_2CH_2CH=C(CH_3)_2), R_2=H, R_1=R_3=OH$
Lespedezol E₁
45. $R=CH_2CH=C(CH_3)_2, R_3=H, R_1=OH, R_2=H$
8-prenilaidzeína
46. $R=CH_2CHC(CH_3)_2, R_1=R_3=OH, R_2=H$
8-prenilgenisteína
47. $R=H, R_1=R_3=OH, R_2=CH_2CH(OH)CCH_2(CH_3)$
Laburnetina
48. $R_1=OH, R_3=OCH_3, R_2=R_2=H$
5-O-metilgenisteína
49. $R_1=OCH_2CH=C(CH_3)_2, R_2=R_2=R_3=H$
Maxima isoflavona J
50. $R=H, R_1=OGlc, R_2=OCH_3, R_3=OH$
7-O-glicopiranosil-4'-O-metiltectorigenina

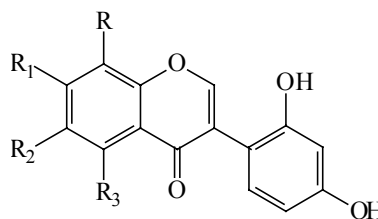
51. $R_1=R_3=OH$, $R=H$, $R_2=CH_2CH(OH)CCH_2(CH_3)$
5,7,4',2''-Tetraidrossi-6-[3''metil-3''butenil]- isoflavona

52. $R_1=R_3=OH$, $R=H$, $R_2=CH_2CH_2C(CH_2)(CH_3)$
5,7,4' -Triidrossi-6-[3''-metilbut-3''enil]- isoflavona

53. $R_1=OCH_3$, $R=R_2=H$, $R_3=OGlc$
Prunetinosideo

54. $R=R_4=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=OCH_3$

Tectorigenina



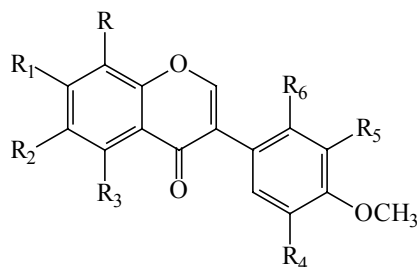
55. $R=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Luteona

56. $R=CH_2CH=C(CH_3)_2$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=CH_2CH(OH)CCH_2(CH_3)$
Erysenegalensein N

57. $R=H$, $R_1=R_2=R_3=OH$
6, 2'-diidrossigenisteina

58. $R=R_1=OH$, $R_2=R_3=H$
7,8,2',4'-tetraidrossiisoflavona

59. $R_1=OCH_3$, $R=R_2=R_3=H$
Cajanina

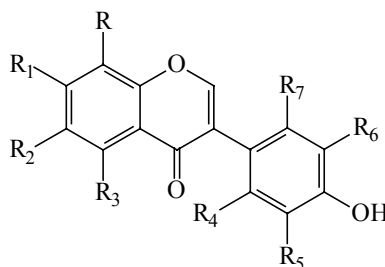


- 60.** $R=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1=OH$
Formononetina
- 61.** $R=R_2=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1=O\text{-rut}$, $R_3=OH$
7-rutinosideo-5-hidroxi-formononetina
- 62.** $R=R_2=R_5=R_6=H$, $R_3=R_1=OH$, $R_4=OCH_3$
5-hidroxi-3'-metoksi-formononetina
- 63.** $R_1=R_3=OH$, $R=R_2=R_6=R_5=H$, $R_4=CH_2CH=C(CH_3)_2$
3'-prenilbiochanina A
- 64.** $R=R_2=R_6=H$, $R_1=R_3=R_5=OH$, $R_4=CH_2CH=C(CH_3)_2$
5'-prenilpratenseina
- 65.** $R_3=R_1=R_5=OH$, $R=R_2=R_6=H$, $R_4=CHO$
5'-formilpratenseina
- 66.** $R_2=OCH_3$, $R_1=R_6=OH$, $R=R_3=R_4=R_5=H$
7,2'-diidroxi-6,4'-dimetoksiisoflavona
- 67.** $R=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1=OH$, $R_2=OCH_3$
Afromorsina

68. $R=R_3=R_4=R_6=H$, $R_1=OGlc$, $R_2=OCH_3$, $R_5=OH$
7-O- β -D-glicopiranosilodoratina
69. $R=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1=OGlc$, $R_2=OCH_3$
Wistina
70. $R=R_2=R_3=R_4=R_6=H$, $R_1=R_5=OH$
Calicosina
71. $R=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1=OGlc$
Ononina
72. $R=R_3=R_4=R_6=H$, $R_1=R_5=OH$, $R_2=OCH_3$
Odoratina
73. $R=R_2=R_3=H$, $R_1=R_5=R_6=OH$, $R_4=C(CH_3)_2CH=CH_2$
Secundiflorol B
74. $R=R_2=H$, $R_1=R_3=R_5=R_6=OH$, $R_4=C(CH_3)_2CH=CH_2$
Secundiflorol C
75. $R_1=OGlc$, $R_3=OH$, $R=R_2=R_4=R_5=R_6=H$
Sissotrina
76. $R_1=R_3=R_4=OH$, $R=R_2=R_5=R_6=H$
Pratenseina

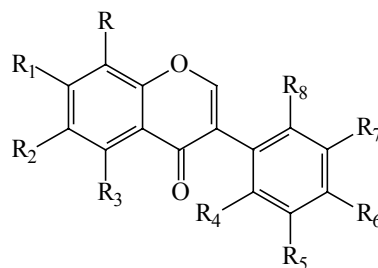
77. $R=R_2=R_4=R_5=H$, $R_1=R_3=OH$
Biochanina A
78. $R=OH$, $R_1=OGlc$, $R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=H$
7- glicopiranosilretusina
79. $R=H$, $R_1=Orha$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OH$, $R_4=R_5=R_6=H$
7-raminosilirisolidona
80. $R=R_2=R_3=R_4=H$, $R_1=R_5=OCH_3$, $R_6=OH$
2'-hidroxi-7,3',4'-trimetoksiisoflavona
81. $R=R_2=R_3=R_4=R_6=H$, $R_1=R_5=OCH_3$
Cabrevina
82. $R_1=OGlc$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OH$, $R_4=R_5=R_6=H$
7-O- β -D-glicopiranosil-4'-O-metiltektorigenina
83. $R=R_2=H$, $R_3=OCH_3$, $R_1=Ogal$, $R_4=H$, $R_5=CH_2=CHCH(CH_3)_2$, $R_6=H$
7-O- β -D-galactosil-5, 4'-dimetoksi-3'prenilbiochanina
84. $R_1=R_4=OCH_3$, $R_3=R_5=OH$, $R_2=R_6=H$
Vavaina
85. $R_1=R_4=OCH_3$, $R_3=OH$, $R_5=OGlc$, $R_2=R_6=H$
3'-O- β -D-glicopiranosilvavaina
86. $R=R_2=R_3=R_4=R_5=H$, $R_1=OCH_3$, $R_6=OH$
7,4'-dimetoksi-2'-hidroxiisoflavona

- 87.** $R=R_2=R_4=R_5=R_6=H$, $R_1=R_3=OH$
7,5-diidroxi-4'-metoksiisoflavona
- 88.** $R=R_2=R_4=R_5=H$, $R_1=R_3=R_6=OH$
7,5,2'-triidroxi-4'-metoksiisoflavona
- 89.** $R=R_2=R_4=R_5=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_6=OCH_3$
7,5-diidroxi-2', 4'-dimetoksiisoflavona
- 90.** $R=OCH_3$, $R_1=OH$, $R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=H$
Metilretusina
- 91.** $R=R_4=H$, $R_2=R_5=R_6=OCH_3$, $R_1=R_3=OH$
6,2',3',4'-tetraidroxi-7,5-diidroxiisoflavona
- 92.** $R=H$, $R_2=R_4=R_5=R_6=OCH_3$, $R_1=R_3=OH$
6,2',3',4',5'-pentaidroxi-7,5-diidroxiisoflavona



- 93.** $R=R_4=R_5=R_7=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=R_6=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Lupalbigeina
- 94.** $R=R_2=R_6=R_7=H$, $R_1=R_3=R_4=OH$, $R_5=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Phaseoluteona
- 95.** $R=R_2=R_5=R_6=R_7=H$, $R_3=OCH_3$, $R_1=R_4=OH$
2'-hidroxiisoprunetina
- 96.** $R=R_2=R_4=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1=R_3=OH$
7,3',4'-triidroxiisoflavona
- 97.** $R_1=R_4=R_6=OH$, $R=R_2=R_3=R_7=H$, $R_5=CH_2CH=C(CH_3)CH_2CH=C(CH_3)_2$
Lespedezol E₂
- 98.** $R=R_4=R_5=R_7=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=R_6=CH_2CH=C(CH_3)_2$
Lupalbigeina
- 99.** $R=CH_2CH=C(CH_3)_2$, $R_1=R_3=R_4=OH$, $R_2=R_5=R_6=R_7=H$
2,3-desidrokievitona
- 100.** $R=R_2=R_3=R_4=R_5=R_7=H$, $R_1=OCH_3$, $R_6=COH$
7-O-metilneobavaisoflavona

- 101.** $R=R_4=R_5=R_7=H$, $R_1=OGlc(1-6)OGlc$, $R_2=R_6=OCH_3$, $R_3=OH$
7-O- β -D-glicopiranosil (1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosiliristectorigenina B
- 102.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1=OGlc$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OH$
7-O- β -D-glicopiranosiltectorigenina
- 103.** $R=R_4=R_5=R_7=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=R_6=OCH_3$,
Iristectorigenina B
- 104.** $R=R_6=R_4=R_5=R_7=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=OCH_3$,
Tectogenina
- 105.** $R=R_2=R_3=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1=OH$, $R_4=OCH_3$
7,5-diidroxi-2'-metoksiisoflavona



- 106.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1, R_2=OCH_2O$, $R_3=OCH_3$, $R_8=OH$
Betavulgarina
- 107.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=R_8=H$, $R_1=O-Rha$, $R_2=OCH_3$, $R_3=OH$
5,4'-diidroxi-6-metoksi-7-O- α -L-raminopiranosilisoflavona
- 108.** $R=R_4=R_5=R_7=R_8=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=OCH_3$, $R_6=OGlc$
4'-O-glicopiranosiltectorigenina
- 109.** $R=R_4=R_5=R_7=R_8=H$, $R_3=OH$, $R_1=O-Glc$, $R_2=OCH_3$, $R_6=OH$
Tectoridina
- 110.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1=R_2=OH$, $R_2=R_8=OCH_3$
5,7-diidroxi-6,2'-dimetoksiisoflavona
- 111.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1=R_2=OCH_3$, $R_3=R_8=OH$
Irilina A
- 112.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=H$, $R_1=R_3=R_8=OH$, $R_2=OCH_3$
Irilina B
- 113.** $R=R_4=R_5=R_6=R_7=R_8=H$, $R_1=R_3=OH$, $R_2=OCH_3$
3'-O-metiloroboltectogenina

114. $R=R_1=R_4=OCH_3$, $R_2=R_6=R_7=R_8=H$, $R_3=R_5=OH$

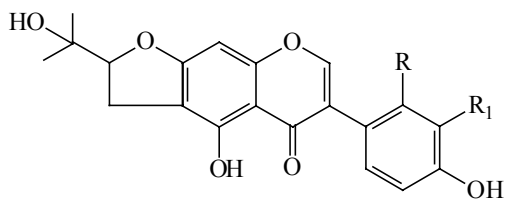
8,7,2'-trimetoksi-5,3'-diidroksiisoflavona

115. $R=R_6=R_7=R_8=H$, $R_1,R_2=OCH_2O$, $R_3=R_5=OH$, $R_4=OCH_3$

7,6-metilenodioxi-5,3'-diidroksi-2'-metoksiisoflavona

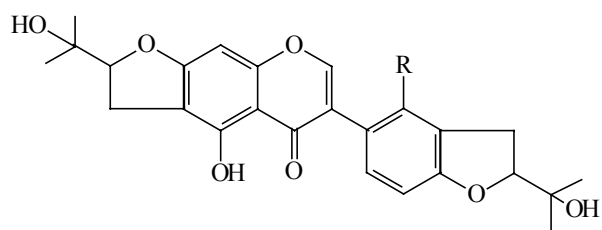
116. $R=R_1=R_2=R_4=OCH_3$, $R_3=R_5=OH$, $R_6=R_7=R_8=H$

8,7,6,2'-tetrametoksi-5,3'-diidroksiisoflavona



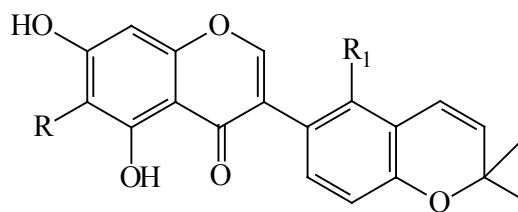
117. R=OH, R₁=H
Lupiniso flavona B

118. R=R₁=H
Eritirinina



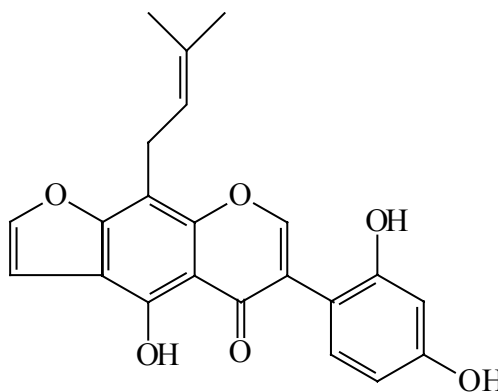
119. R=H
Lupiniso flavona E

120. R=OH
Lupiniso flavona F

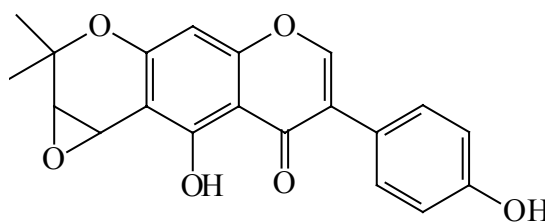


121. R=H, R₁=OH
Licoisoflavona B

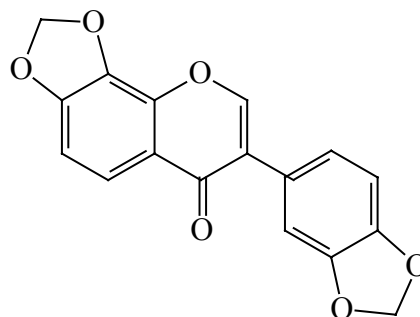
122. R=CH₂CH=C(CH₃)₂, R₁=OH
Angustona B



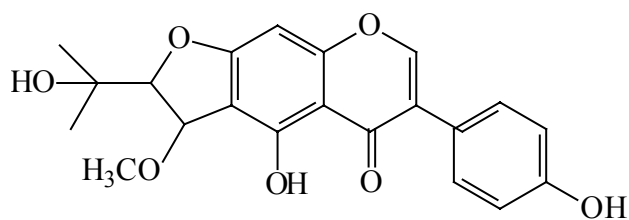
123. 5,2',4'-triidrossi-8-(3'',3''-dimetilalil) furano [4'', 5'': 6,7] isoflavona



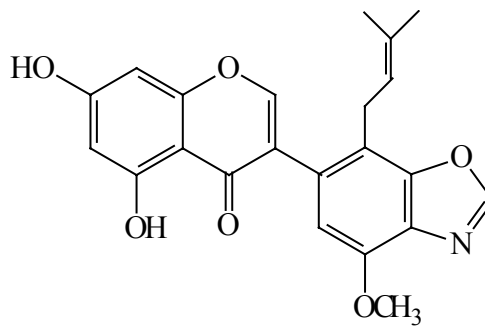
124. Anagiroidiisoflavona B



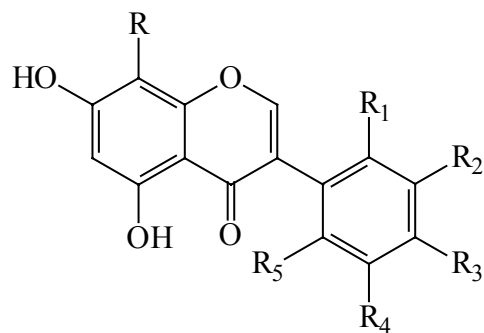
125. 7,8,3',4'-dimetilenodioxiiisoflavona



126. 5,4'-Diidrossi-2''-(1-idrossi-1-metiletil)-3''- metossidididrofurano (4'',5'': 6,7) isoflavona



127. Piscerythoxazol



128. R=H, R₁=R₅=-CH₂CH=C(CH₃)₂, R₂=OH, R₃=NH₂, R₄=OCH₃

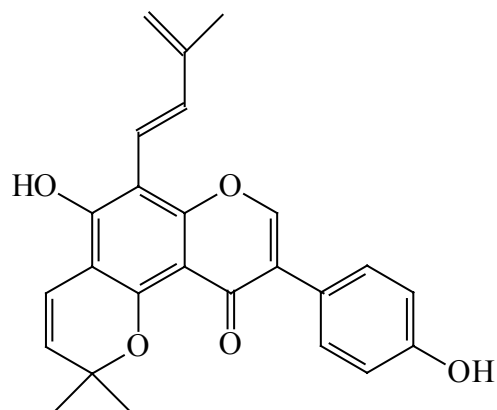
Piscerythramina

129. R=R₁=-CH₂CH=C(CH₃)₂, R₂=OH, R₃=NH₂, R₄=OCH₃, R₅=H

Isopiscerythramina

130. R=H, R₁=R₅=CH₂CH=C(CH₃)₂, R₂=R₃=OH, R₄=OCH₃

Erythbigenina



131. Ormosidina

Rotenóides

Os rotenóides fazem parte de um grupo importante do metabolismo secundário proveniente dos isoflavonóides, sendo derivados da isoflavona. Alguns apresentam incorporação do grupo prenilico na sua estrutura. Os rotenóides são isoflavanonas modificadas com a adição de um carbono extra ao esqueleto C6-C3-C6 (Figura 06). Os rotenóides são conhecidos pelos seus nomes triviais, não existindo nomenclatura sistemática para esse tipo de compostos, que estão subdivididos de acordo com a oxidação dos carbonos da junção dos anéis heterocíclicos em rotenóides, 12a-hidroxirotenóides e desidrorotenóides [Harbone, 1986].

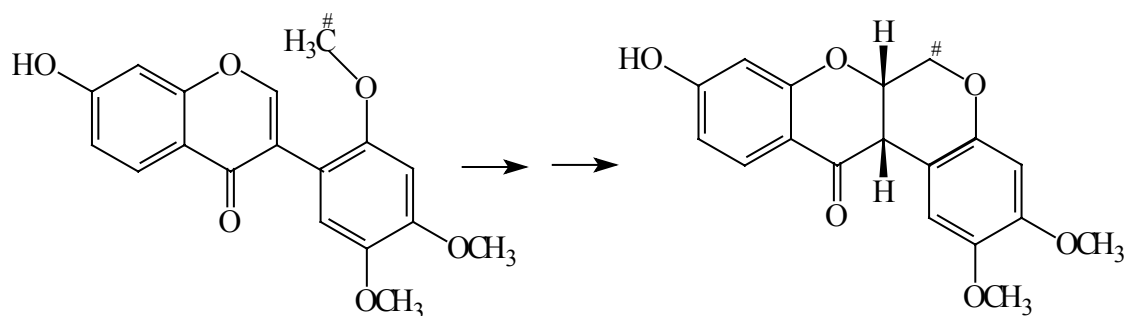


Figura 06 Origem biosintética dos rotenóides [Seigler, 1998]

Assim, os rotenóides ocorrem em plantas que apresentam isoflavonas. Até o momento são conhecidos 60 rotenóides prenilados, que apresentaram atividades inseticidas e piscicidas, tendo sido encontrados em plantas dos gêneros *Derris*, *Lonchocarpus*, *Amorpha*, *Milletia*, *Mundulea*, *Tephrosia*, *Dalbergia* e *Boerhavia* [Seigler, 1998]. As propriedades piscicida dos rotenóides devem-se ao fato destes apresentarem ação inibitória da fosforilação oxidativa da mitocôndria animal [Bruneton, 1991 e Harbone, 1986].

PARTE EXPERIMENTAL

Material Vegetal

O espécimen de *Poiretia bahiana* estudado foi coletado em julho de 1997, no morro do Pai Inácio (12^o 30' S; 41^o 27' W), no Município de Palmeiras, estado da Bahia, período em que a planta encontrava-se florida.

A identificação botânica foi realizada pela Prof^a. Maria Lenise da Silva Guedes, curadora do Herbário Alexandre Leal Costa, do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. A exsicata deste material encontra-se depositada no HALC, catalogada sob o número ALCB - 032231, neste mesmo Instituto.

Para o estudo da composição química dos constituintes voláteis, as partes aéreas (folhas e galhos) de um espécimen de *Poiretia bahiana* foram coletadas em julho de 1999, e nesse mesmo período, no local de coleta, foi realizada a amostragem para o estudo dos constituintes voláteis presentes na emissão natural da planta (“head space”).

Reagentes, métodos e equipamentos.

- O material seco foi triturado no Moinho Thomas Wiley Laboratory Mill-Model 4.
- A concentração dos extratos hexânicos e metanólicos e das frações foi realizada sob pressão reduzida no evaporador rotatório de marca BUCHI, modelo R-3000.
- Os reagentes utilizados nos procedimentos cromatográficos e na preparação dos extratos foram das marcas Merck, VETEC e QUIMEX.
- Nas separações cromatográficas em coluna foi utilizado gel de sílica 70 – 230 mesh (0,210-0,063 mm) e 230 – 400 mesh (0,063-0,040mm) da marca Merck e sephadex LH-20 da Pharmacia.
- Na cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foi utilizado gel de sílica GF₂₅₄ da Merck e na cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) foi utilizado gel de sílica PF₂₅₄₊₃₆₆ da Merck. As cromatoplasmas para CCDC foram preparadas espalhando-se manualmente a suspensão de sílica em água destilada em placa de vidro; enquanto que as cromatoplasmas para CCDP foram preparadas espalhando-se a suspensão de sílica em água destilada sobre placas de vidro através do espalhador mecânico Heidelberg, obtendo-se placas com 1,00 mm de espessura. Foram utilizadas placas de vidro de 2,5 X 7,0 cm, 5,0 X 20,0 cm e 20,0 X 20,0 cm. Depois de secas ao ar livre todas as cromatoplasmas foram ativadas em estufas a 100 °C por um período de aproximadamente uma hora.

- Como reveladores foram utilizadas irradiações com lâmpada ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e vapores de iodo.
- Os espectros de RMN de H^1 e ^{13}C unidimensionais e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros Varian Gemini 300 e Bruker DPX 300, operando com frequências do hidrogênio a 300 MHz e do carbono a 75 MHz, utilizando o pico do clorofórmio (7,27 ppm) como referência interna.
- Os solventes utilizados para dissolução das amostras para obtenção dos espectros de RMN foram clorofórmio deuterado ($CDCl_3$), piridina deuterada (C_5D_5N) e dimetil sulfóxido deuterado ($DMSO-d_6$).
- Os espectros de massas foram obtidos através de ionização por elétrons (IE) a 70 eV em espectrômetro Hewlett Packard (HP), com detetor seletivo de massas (MSD) quadrupolo, modelo 5973 por inserção direta, enquanto o espectro de massa da substância **XIII** foi obtido através do espectrômetro Hewlett Packard (HP) com detetor seletivo de massas (MSD) quadrupolo, modelo 1100, utilizando a técnica de ionização química a pressão atmosférica.
- Os espectros de massas do óleo essencial e do “head space” foram obtidos em espectrômetro HP, modelo 5973 MSD, acoplado ao cromatógrafo a gás Hewlett Packard (HP), modelo 6890, utilizando coluna capilar de sílica fundida HP 5MS (5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura do filme, com temperatura do injetor a 220 °C e programação do forno de 60 °C a 240 °C, com taxa de aquecimento de 3 °C por minuto, permanecendo a 240 °C durante 10 minutos para a análise do óleo essencial sendo que para o “head space” utilizou-se uma programação que

variou de 35 °C a 240 °C, com taxa de aquecimento de 5 °C por minuto, permanecendo a 35 °C durante 2 minutos e a 240 °C durante 3 minutos.

- O espectro na região do infravermelho da substância **XIII** foi registrado no aparelho Jasco Valor-III em pastilha de KBr.

- O ponto de fusão de **XIII** foi obtido utilizando o aparelho digital de ponto de fusão MQAPF – 301 da Micro Quimica.

- Os bioensaios para verificação de atividades fungitóxicas dos extratos foram realizados através de cromatografia em camada delgada, utilizando-se mistura de Hex:AcOEt (6:4) como eluente e suspensão de esporos do fungo *Cladosporium sphaerospermum* em um meio nutriente como revelador [Silva, et. al., 1998]. As cromatoplasmas foram deixadas em atmosfera úmida para incubação por períodos de 48 a 72 horas. Após este período, as placas foram retiradas para verificação das zonas de inibição do crescimento do fungo, observadas através de manchas brancas contra um fundo escuro, nas posições em que estavam localizadas as substâncias fungitóxicas.

- As substâncias isoladas foram submetidas ao mesmo bioensaio, porém sem eluição das placas. Para a determinação dos limites de detecção foram aplicados 100 µg, 50 µg, 20 µg, 10 µg, 5 µg e 1 µg de cada substância, utilizando-se o procedimento sem eluição das cromatoplasmas. Como controle positivo foi utilizado a substância conhecida como nistatina.

Os ensaios fugitóticos foram realizados no Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do estado de São Paulo, sob a supervisão da Dr^a. Maria Cláudia Max Young.

Estudo dos Componentes Fixos da Espécie *Poiretia bahiana*

Os componentes fixos foram estudados utilizando os extratos hexânico e metanólico das folhas do espécimen coletado em 1997.

A composição química dos extratos obtidos foi analisada através de espectrometria de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135⁰, com o auxílio dos dados descritos na literatura e de espectrometria de massas.

Obtenção dos Extratos

As folhas e os galhos do espécimen de *Poiretia bahiana* coletado em julho de 1997 foram secas à temperatura ambiente e em seguida moídos separadamente, obtendo-se 170,0 g e 610,0 g dos respectivos materiais. Ambos foram submetidos a três extrações sucessivas com hexano e a seguir com metanol, obtendo-se 9,2 g do extrato hexânico (PFH) e 28,8 g do extrato metanólico (PFM) das folhas (Figura 10, p.62) e 7,4 g do extrato hexânico (PCH) e 95,3 g do extrato metanólico (PCM) dos galhos (Figura 11, p.63), após eliminação do solvente em evaporador rotatório, sob pressão reduzida à aproximadamente 35 ⁰C.

Bioensaio para verificação de atividades fungitóxicas dos extratos.

Os extratos hexânicos e metanólicos das folhas e dos galhos foram submetidos ao bioensaio para verificação de atividades contra o fungo fitopatogênico *Cladosporium sphaerospermum*, utilizando o método bioautográfico [Silva et al 1998]. Todos mostraram-se ativos, sendo o extrato hexânico das folhas o que mostrou maior atividade (Figura 07).



Eluente: hex/AcOEt (6:4)

- | | |
|---------------------------------|---------------------------------|
| 1- extrato hexânico de galhos | 2- extrato metanólico de galhos |
| 3- extrato metanólico de folhas | 4- extrato hexânico de folhas |

Figura 07- Ensaio bioautográfico utilizando esporos do fungo *Cladosporium sphaerospermum* com os extratos hexânicos e metanólicos dos galhos e das folhas de *Poiretia bahiana*.

Isolamento dos constituintes químicos do extrato hexânico das folhas

O extrato hexânico das folhas (9,2 g) foi submetido a uma coluna cromatográfica filtrante em gel de sílica (0,210-0,063 mm), empacotada a seco, utilizando-se misturas de hex:AcOEt em gradiente de polaridade crescente como eluentes, obtendo-se 25 frações denominadas PFH-01 a PFH-25.

Após a evaporação do solvente, todas as frações da coluna filtrante foram submetidas a CCDC e após análise dos resultados as frações PFH15 a PFH18 e PFH23 a PFH24 foram reunidas e submetidas a outros fracionamentos cromatográficos.

Após evaporação do solvente, a fração PFH19 (169 mg) apresentou-se como cristais brancos e definidos, sendo submetida a solubilização em CCl₄, seguida de filtrações, levando ao isolamento da substância **I** (110 mg) e de uma mistura contendo as substâncias **I** e **II** (39 mg) (Figura 12, p.64).

As frações PFH23-24 reunidas (595 mg), foram submetidas à coluna cromatográfica em sílica (0,063-0,040mm) utilizando-se misturas de hex:AcOEt em gradiente crescente de polaridade como eluentes. Foram obtidas 45 frações denominadas PFH23-24:A01-A45. Algumas frações foram reunidas, após a análise dos resultados obtidos por CCDC. Das frações PFH23-24:A15, PFH23-24:A20, PFH23-24:A44 foram isoladas as substâncias **VIII** (16 mg), **VII** (50 mg) e **IV** (23 mg) respectivamente. As frações PFH23-24:A36 a A39 foram agrupadas e nelas foi identificada a substância **III** (22 mg) (Figura 13, p.65). Todas essas substâncias foram submetidas ao bioensaio contra o fungo fitopatogênico *Cladosporium sphaerospermum*, mostrando-se ativas (Figura 08, p.58). Os limites de detecção para cada uma delas estão mostrados na tabela 03.

Tabela 03- Limites de detecção para III, IV, VII e VIII no ensaio de bioautografia.

Substância	III	IV	VII	VIII	Nistatina (padrão)
Limite de detecção (μg)	20	5	20	5	5

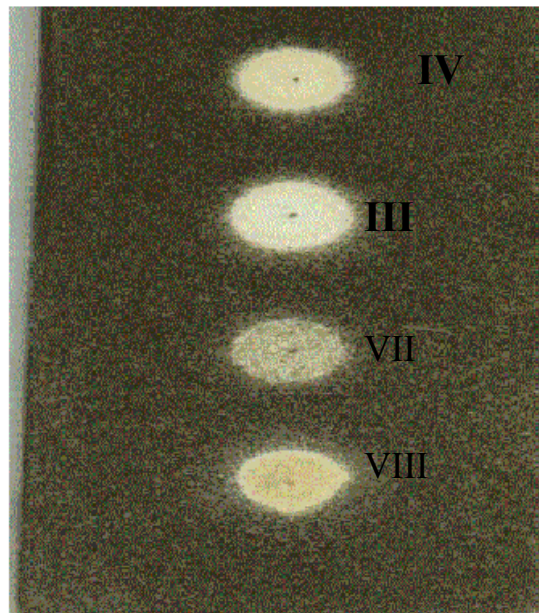


Figura 08- Ensaio bioautográfico utilizando esporos do fungo *Cladosporium sphaerospermum* com as substâncias IV, III, VII e VIII (concentração: 200 μg)

As frações PFH23-24:A16 a A19 (99 mg) foram reunidas e submetidas a CCDP, usando como eluente benzeno:acetona (9:1), obtendo-se 4 frações. Através de seus espectros de RMN de ^1H , constatou-se que as duas frações de menor polaridade eram constituídas por misturas ricas em dois componentes. As frações de menor polaridade A16-19:P1 (15 mg) e A16-19:P2 (17 mg) foram então submetidas, separadamente, a CCDP, utilizando como eluente benzeno:acetona (9:1). As frações de menor polaridade obtidas em cada CCDP A16-19:P1¹ (11 mg) e A16-19:P2¹ (9 mg) foram reunidas e submetidas a fracionamento em coluna de Sephadex LH-20, obtendo-se 11 frações (A16-A19:P1-P2:01-11). Na fração A16-A19:P1-P2:05 foi identificada a substância **VI** (6 mg). As frações A16-A19:P1-P2:07 a 08 foram agrupadas, após análise dos resultados obtidos por CCDC, obtendo-se a substância **V** (8 mg) (Figura 14, p.66).

As frações PFH15-18 (781 mg) foram reunidas e submetidas à coluna cromatográfica em sílica (0,063-0,040mm), utilizando-se misturas de hex:AcOEt, em gradiente crescente de polaridade como eluentes, sendo obtidas 50 frações (PFH15-18B01-B50). Na fração PFH15-18B20 foi identificada uma mistura das substâncias **IX** e **X** (22 mg). Nas frações PFH15-18B37 (16 mg) e PFH15-18B39 (22 mg) foram identificadas as substâncias **XI** e **XII** em mistura (Figura 15, p.67).

Isolamento dos constituintes químicos do extrato metanólico das folhas

O extrato metanólico das folhas (28,8 g) foi submetido a coluna cromatográfica filtrante em gel de sílica (0,210-0,063 mm), empacotada a seco, utilizando-se misturas de DCM:MeOH, em gradiente de polaridade crescente como eluentes, obtendo-se 29 frações denominadas PFM-01 a PFM-29.

Após a evaporação do solvente sob pressão reduzida, todas as frações da coluna filtrante foram submetidas a CCDC e após análise dos resultados as frações PFM15 e PFM29 foram submetidas a novos fracionamentos cromatográficos. Na fração PFM26 (237 mg) foi identificada a substância **XIV** (Figura 16, p.68)

A fração PFM15 (100 mg) foi submetida à coluna de Sephadex LH-20, utilizando-se MeOH como eluente, obtendo-se 41 frações denominadas PFM15:D01 a D41.

A fração PFM15:D12 foi submetida a um novo fracionamento em coluna de sílica (0,063-0,040mm), utilizando-se $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (85:15) como eluente, obtendo-se 27 frações denominadas D12:01 a D12:27. Nas frações reunidas D12:14-17 foi identificada a substância **XIII** (11 mg) (Figura 17, p.69).

A fração PFM29 (323 mg) foi submetida à coluna cromatográfica em sílica (0,063-0,040mm), utilizando-se misturas de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ em gradiente crescente de polaridade como eluentes, obtendo-se 13 frações denominadas PFM29:C01 a C13. Nas frações reunidas PFM29:C7-8 foi identificada a substância **XV** (148 mg) (Figura 18, p.70).

Fracionamento dos extratos hexânico e metanólico dos galhos

O extrato hexânico dos galhos foi submetido a fracionamentos cromatográficos semelhantes aos descritos para o extrato hexânico das folhas. Através de espectrometria de RMN de ^1H observou-se que os constituintes químicos presentes nas frações obtidas apresentavam as mesmas características que os encontrados no extrato hexânico das folhas, sendo que a substância **IV** estava presente em maior proporção.

O extrato metanólico dos galhos foi dissolvido em água/MeOH e submetido à partição com hexano. A fase hidroalcoólica, após eliminação do metanol, foi submetida a partições sucessivas com clorofórmio, acetato de etila e butanol. As frações orgânicas resultantes foram submetidas ao bioensaio contra o fungo fitopatogênico *Cladosporium sphaerospermum*, utilizando a técnica descrita na página 55, sendo que três delas apresentaram atividade fungitóxica, conforme mostrado na Figura 09.



Eluente: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 97:3

1=Hexano, 2=AcOEt, 3=BuOH, 4= CHCl_3

Figura 09- Ensaio bioautográfico das frações provenientes da partição do extrato metanólico dos galhos, utilizando esporos do fungo *Cladosporium sphaerospermum*

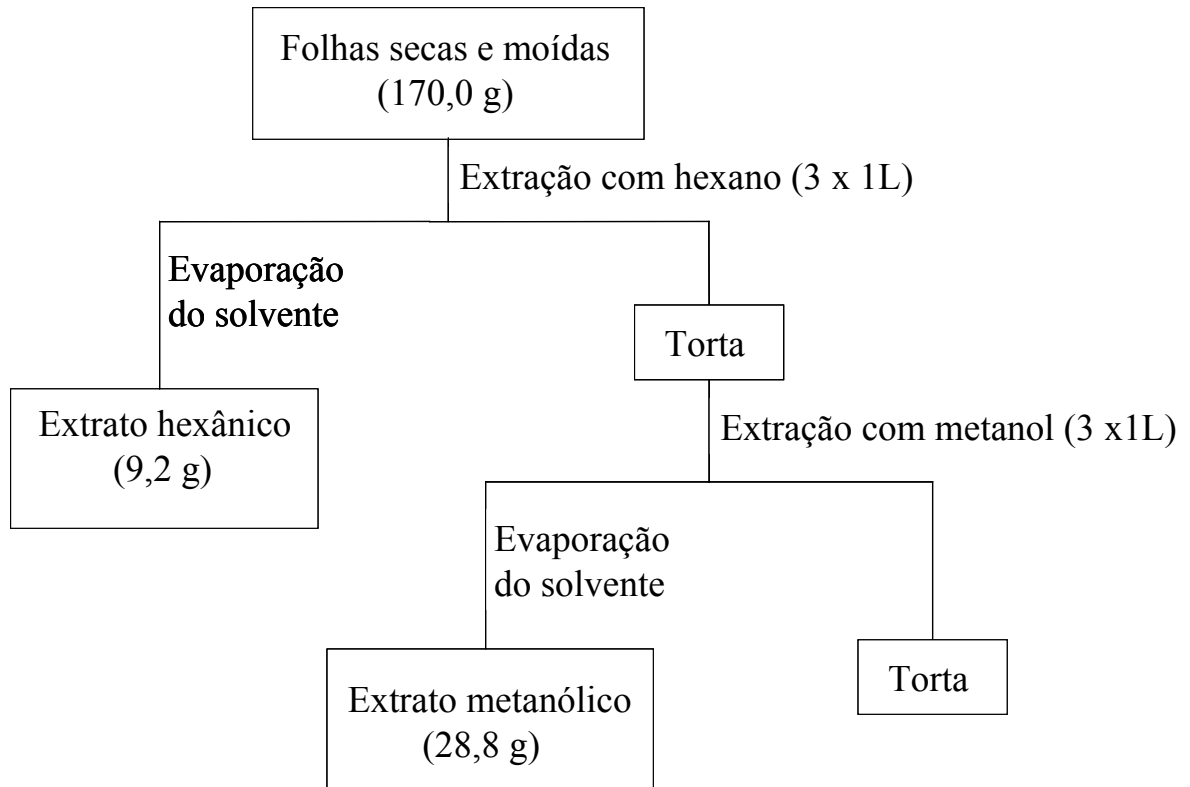


Figura 10- Obtenção dos extratos hexânico e metanólico das folhas de *Poiretia bahiana*

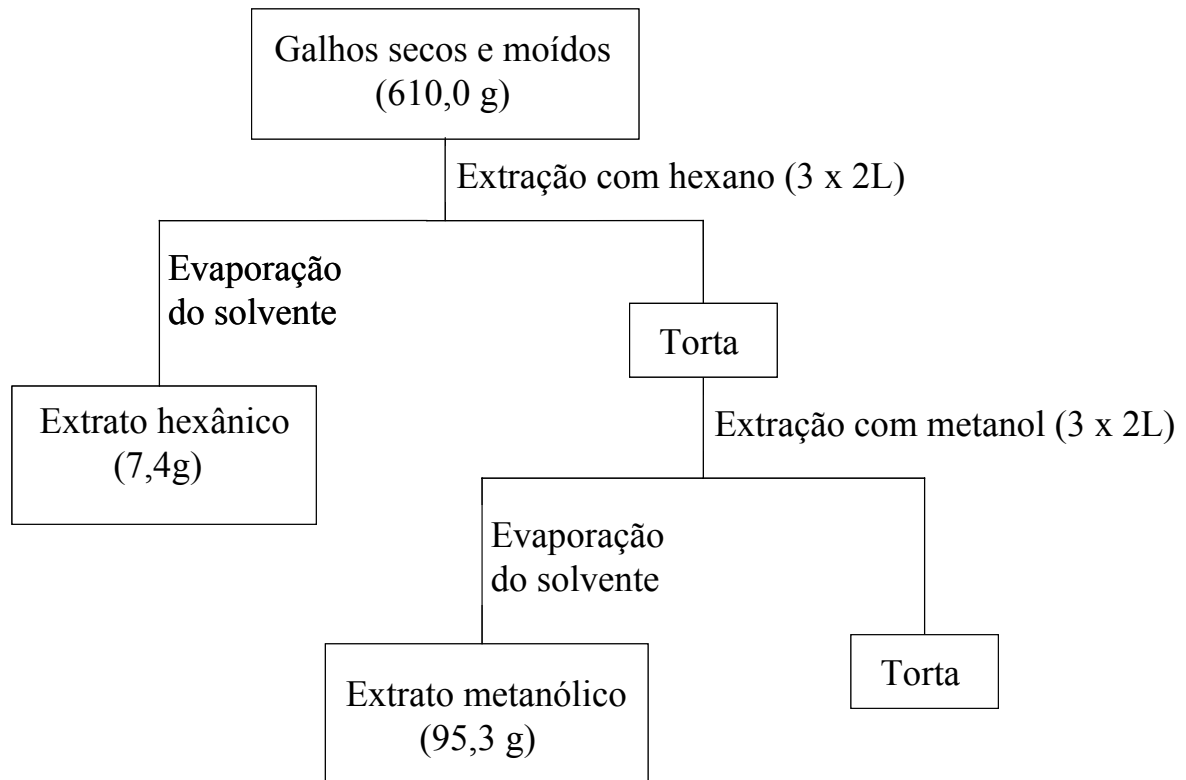


Figura 11- Obtenção dos extratos hexânico e metanólico dos galhos de *Poiretia bahiana*

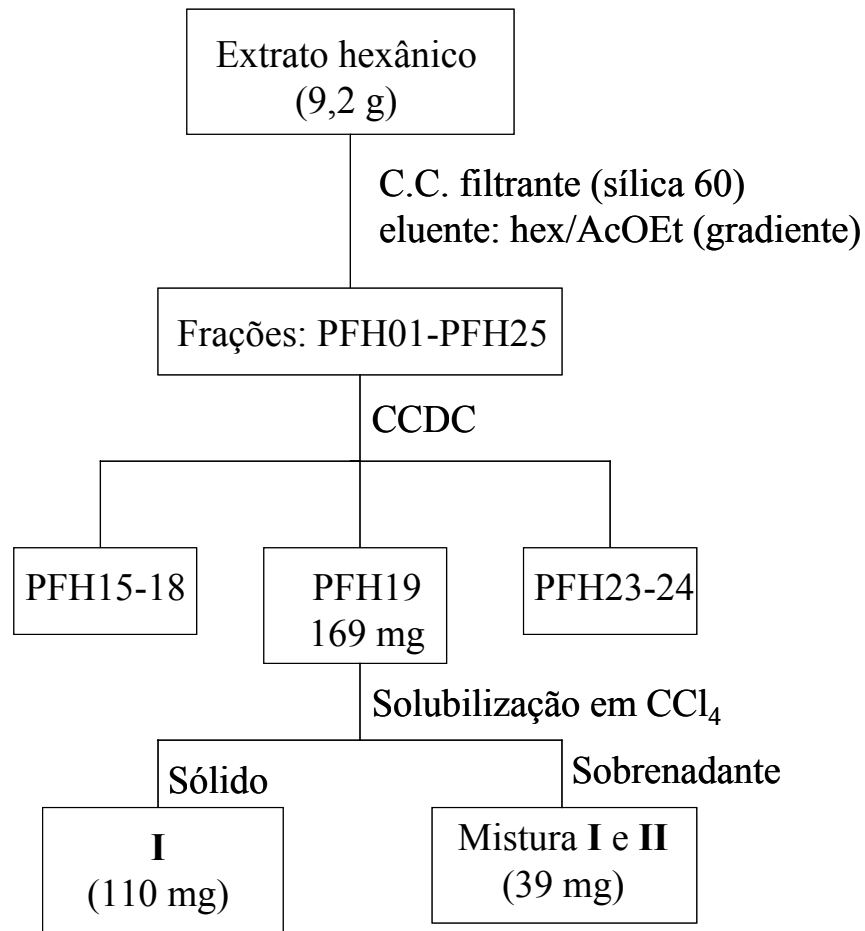


Figura 12– Fracionamento do extrato hexânico das folhas e isolamento das substâncias **I** e **II** .

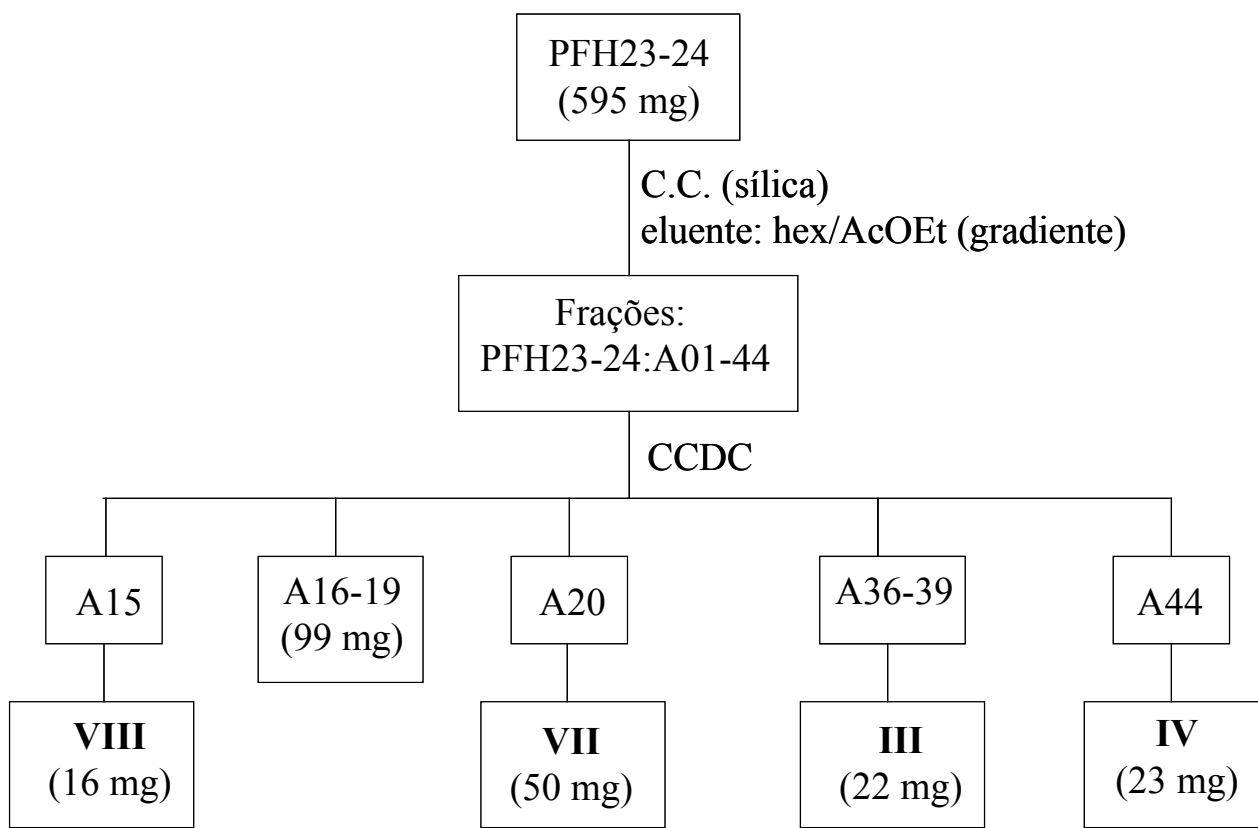


Figura 13– Isolamento das substâncias **III**, **IV**, **VII**, **VIII**.

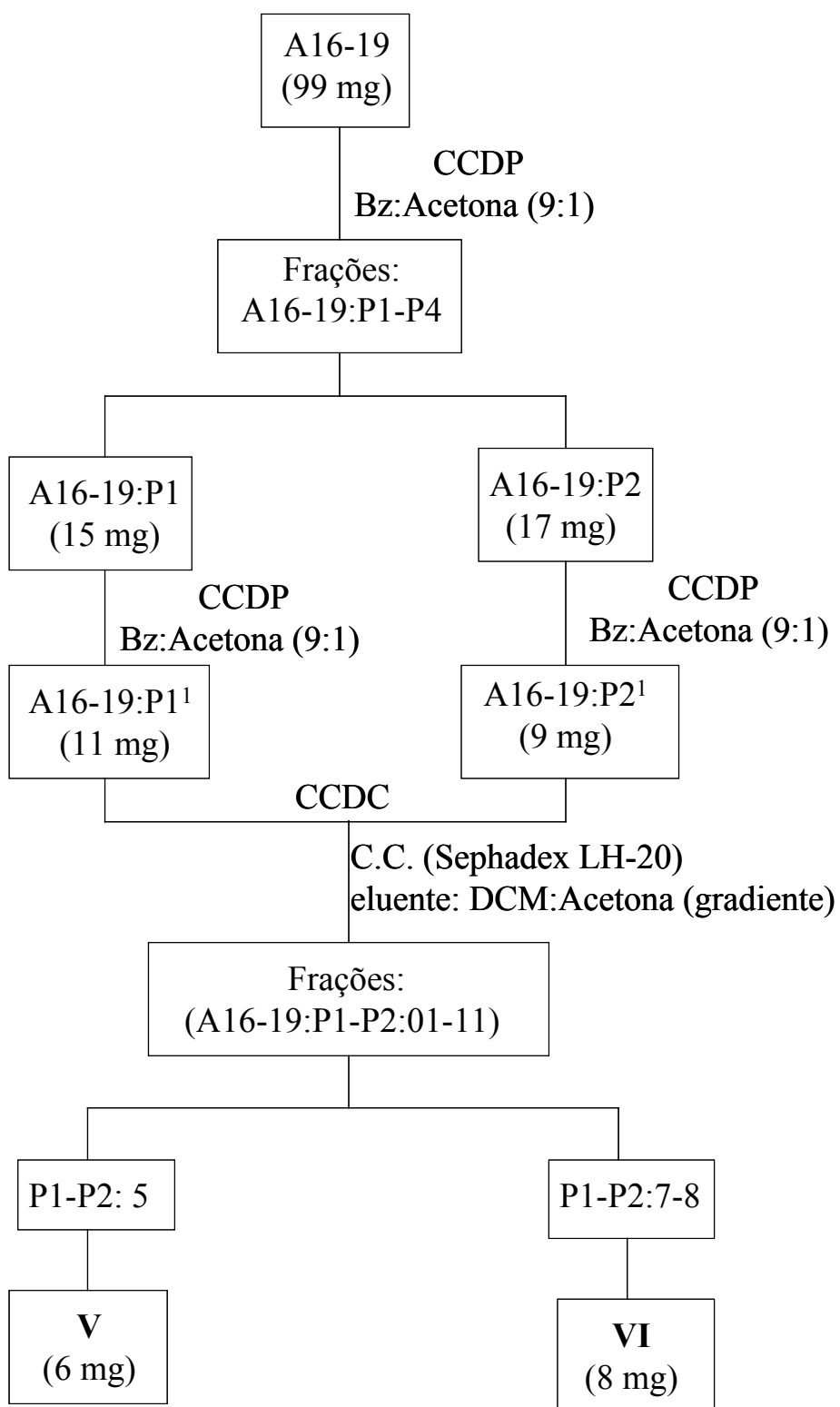


Figura 14- Isolamento das substâncias V e VI.

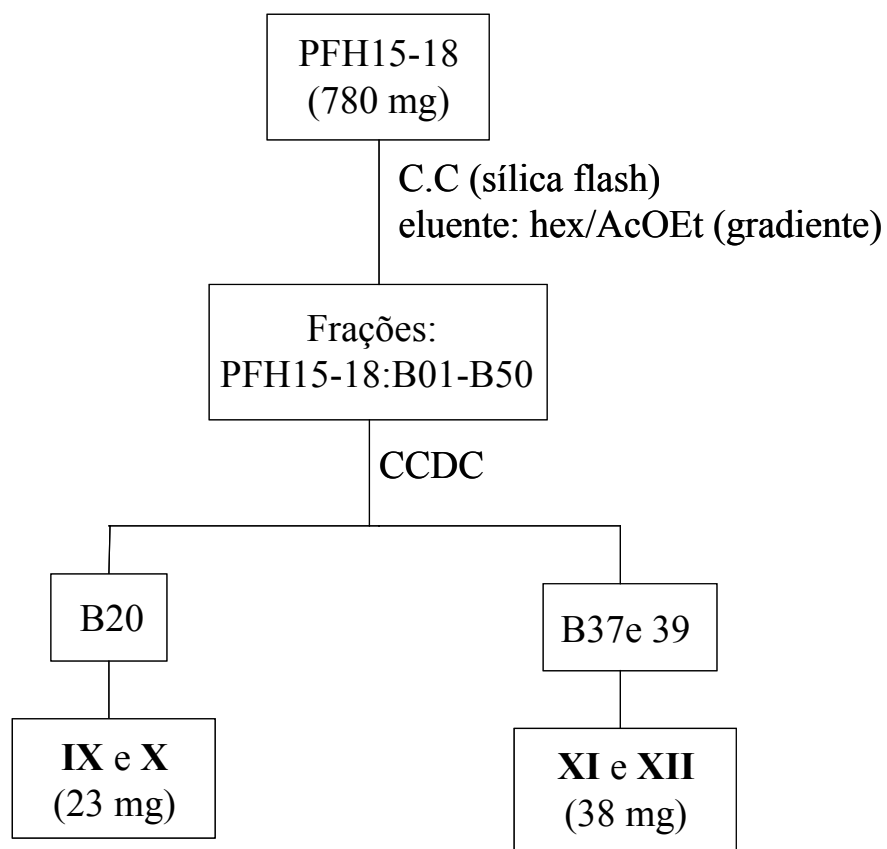


Figura 15– Isolamento das substâncias **IX**, **X**, **XI**, **XII**.

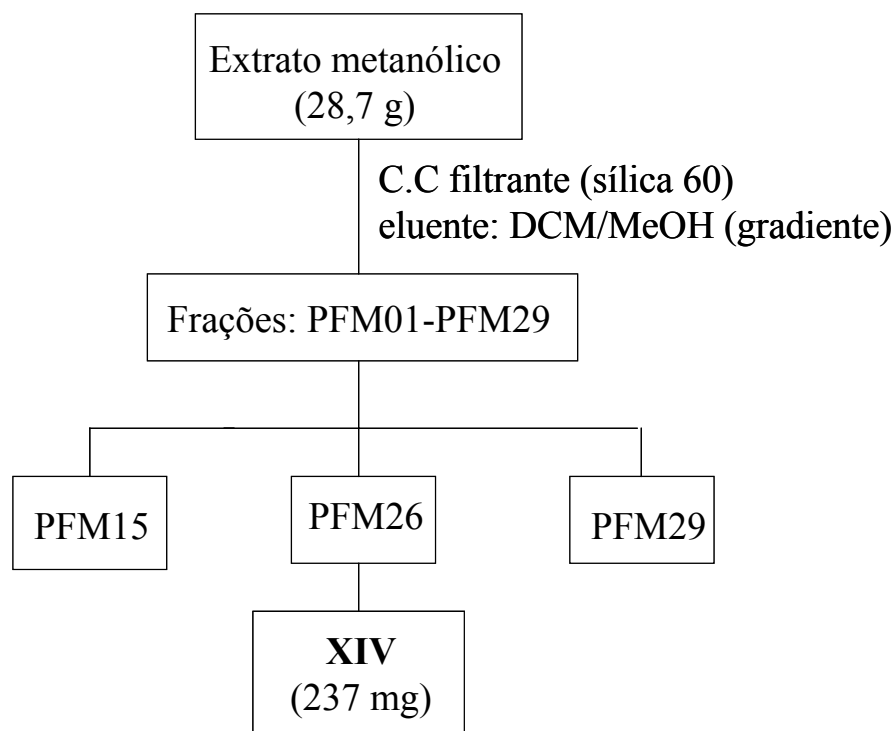


Figura 16– Fracionamento do extrato metanólico das folhas e isolamento da substância **XIV**

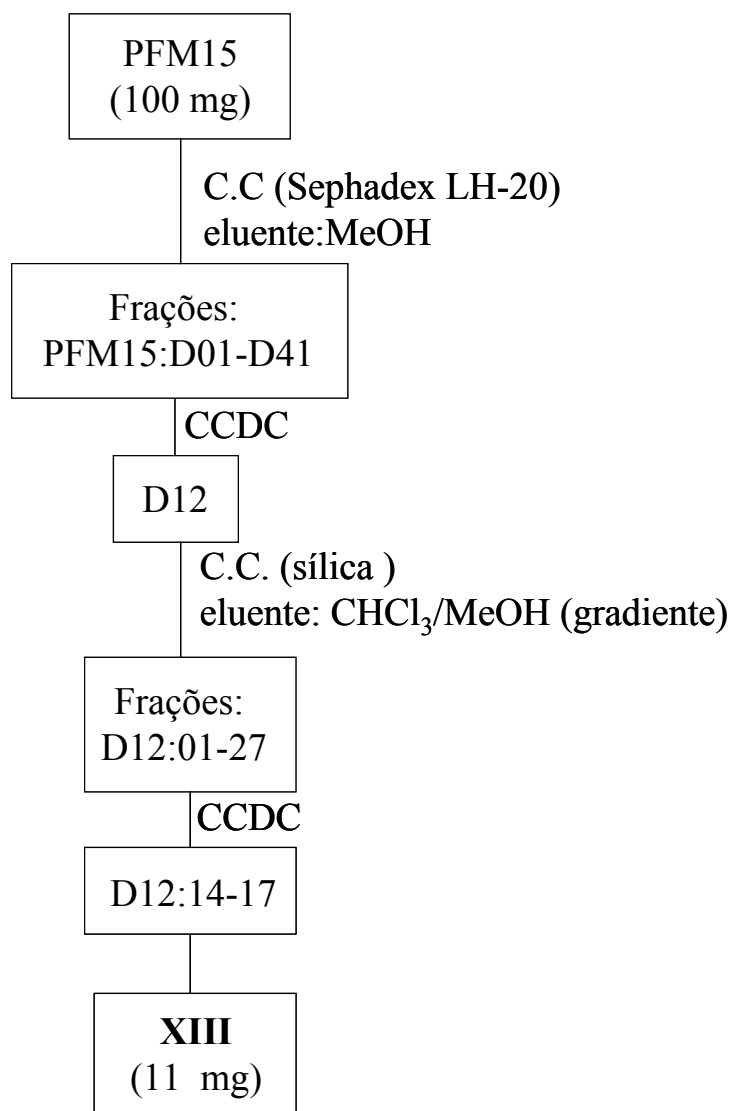


Figura 17–Isolamento da substância **XIII**

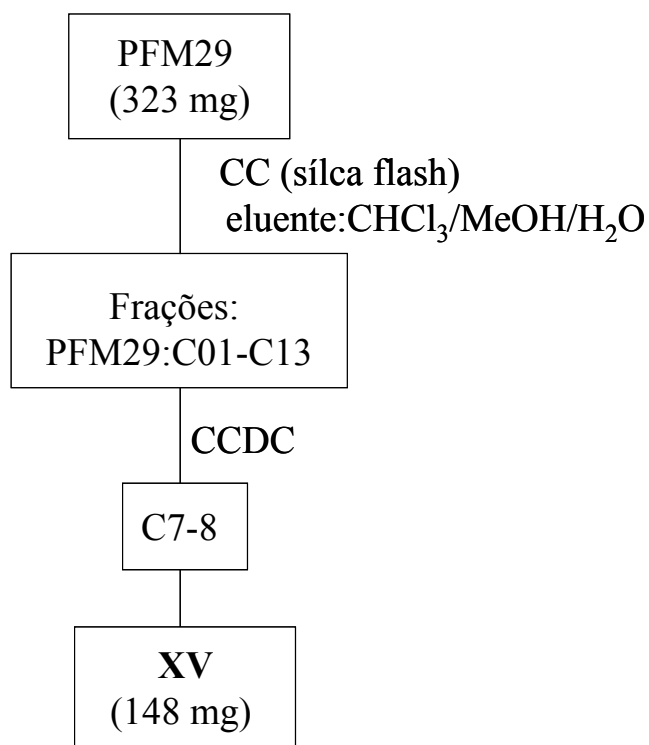


Figura 18–Isolamento da substância XV.

Estudo dos componentes voláteis das partes aéreas da espécie *Poiretia bahiana*

O estudo dos componentes voláteis foi realizado através da obtenção do óleo essencial das partes aéreas da planta e através da análise da emissão natural.

O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, utilizando-se um aparelho doseador de óleos essenciais do tipo Clevenger modificado (Figura 19, p.72).

A composição química do óleo assim obtido foi analisada através de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), com o auxílio da espectroteca e por RMN de ^1H e ^{13}C .

Os constituintes voláteis emitidos pela planta para o meio ambiente foram analisados através do armazenamento das folhas em um erlenmeyer vedado com um septo de borracha. Depois a mistura de ar com as substâncias emitidas pelas folhas contida no erlenmeyer (“head space”) foi então injetada no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas.

A identificação dos constituintes voláteis presentes no óleo essencial foi realizada através da determinação dos índices de Kóvats [Lanças, 1993] e com o auxílio da biblioteca de espectros NIST Mass Spectral Library e de um programa de busca (NIST Mass Spectral Search Program 1.6), comparando-se com os dados disponíveis na literatura [Adams, 1995], além da análise de seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135 e DEPT-90. Os resultados estão descritos na Tabela 13 (p.148).

Obtenção do óleo essencial

As partes aéreas da planta foram secas ao ar à temperatura ambiente e depois moídas, obtendo-se 124,0 g de material, que foi submetido a hidrodestilação, por um período de quatro horas, obtendo-se 1,7 g de óleo essencial, correspondendo a um teor de 1,4% do material seco (Figura 20, p.74).



Figura 19–Aparelhagem de Clevenger modificada

Fracionamento do óleo essencial

O óleo essencial obtido (1,7 g) foi submetido à coluna cromatográfica de sílica (0,063-0,040mm) utilizando-se misturas de pentano/ diclorometano/ acetona, em gradiente crescente de polaridade como eluentes, obtendo-se 71 frações denominadas OEP 01 a OEP71.

Nas frações OEP 56 a OEP 69 foi obtida a tujenona, em grande quantidade (1,1 g) na forma pura, correspondendo a 65% do óleo bruto (Figura 20, p.74).

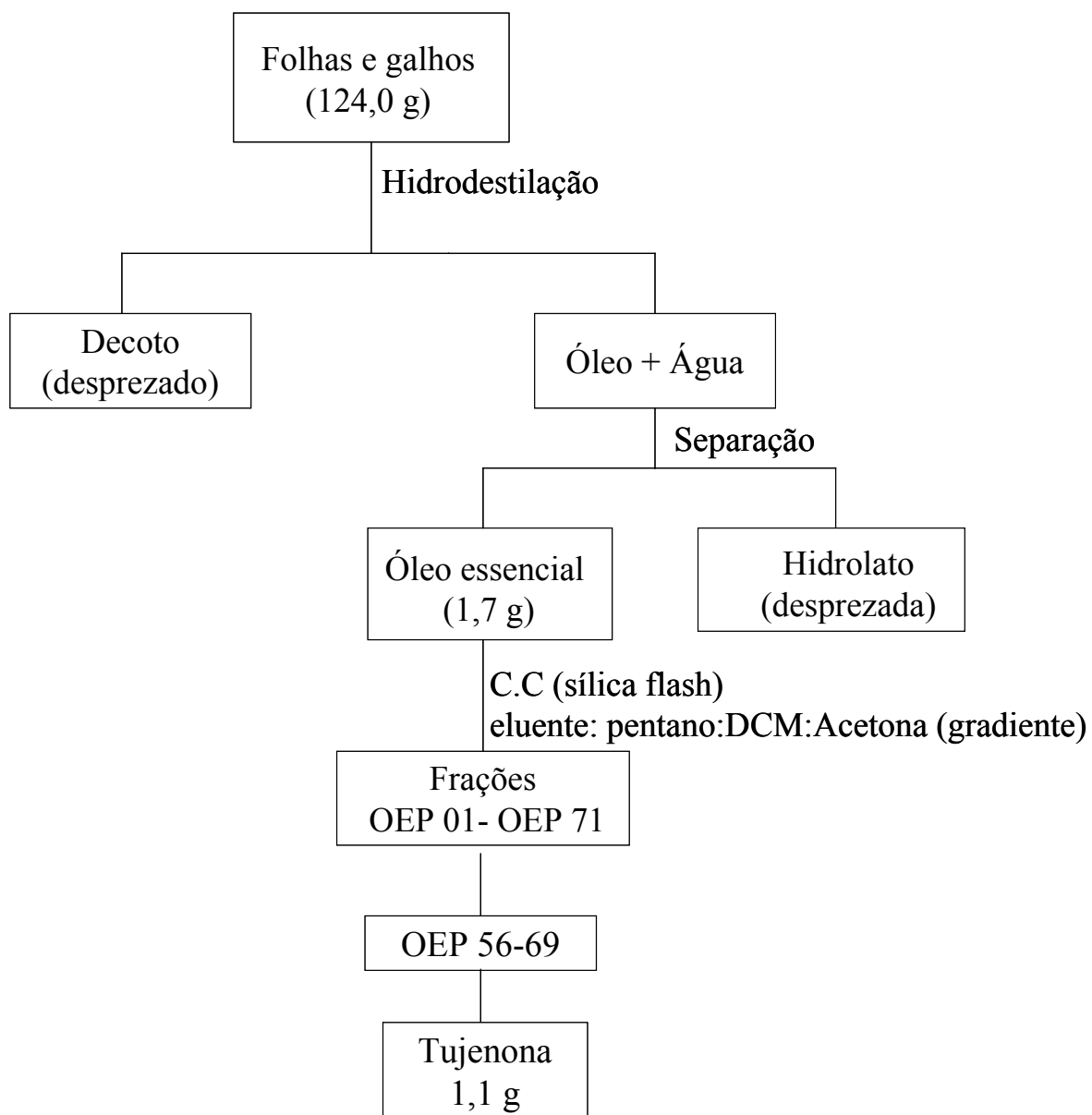
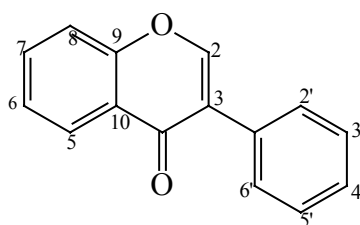


Figura 20– Obtenção e fracionamento do óleo essencial

IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

Identificação dos constituintes químicos do extrato hexânico da folhas de *Poiretia bahiana*

ISOFLAVONÓIDES



As identificações dos isoflavonóides foram realizadas através das análises de seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135°.

Dos sete isoflavonóides identificados, seis já haviam sido isolados de outras fontes. Portanto, suas identificações foram confirmadas através da comparação com os dados descritos na literatura. Até o momento, não foram encontrados relatos na literatura para a substância **XIII**, sendo apresentado aqui pela primeira vez. A determinação da sua estrutura foi realizada através da análise de seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT 135°, HOMOCOSY, HETCOR, COLOC e de massas.

Os isoflavonóides isolados de *Poiretia bahiana* apresentaram esqueleto do tipo isoflavona, que pode ser identificado através dos deslocamentos químicos observados para o hidrogênio H-2, que ocorre como singlete entre 7,5 e 8,0 ppm no espectro de RMN de ^1H e para os carbonos C-2, C-3, C-4, que ocorrem entre

150 e 155 ppm, 122 e 126 ppm e 174 e 181 ppm, respectivamente, no espectro de RMN de ^{13}C .

Os deslocamentos químicos destes carbonos são também importantes para prever as substituições nos carbonos C-5 e C-2'. A presença de substituintes oxigenados como OH e OCH_3 em C-2' causa uma desproteção de aproximadamente 2,0 ppm no deslocamento químico do carbono C-2 e uma proteção de aproximadamente 3,0 ppm no deslocamento químico do carbono C-3. A substituição do hidrogênio ligado ao C-5 pelo grupo hidroxílico causa uma desproteção de 5 a 7 ppm no carbono C-4 [Agrawal e Bansal 1989].

Identificação de I

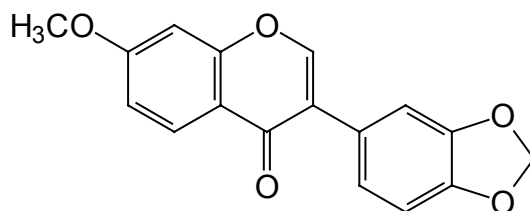
A substância **I** foi identificada através das análises dos seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e de massas, e por comparação com os dados descritos na literatura [Agrawal e Bansal, 1989].

O espectro de RMN de ^1H de **I** (Figura 21, p.79) apresentou um singlete em 3,92 ppm, referente aos hidrogênios metoxílicos, um singlete em 6,00 ppm, característico de hidrogênios metilenodioxílicos e um singlete em 7,92 ppm, atribuível ao hidrogênio H-2. Entre 6,8 e 8,3 ppm o espectro mostrou ainda cinco sinais característicos de hidrogênios ligados a anel aromático. Os sinais em 8,21 ppm (d, J=9,0 Hz) e 6,86 ppm (d, J=2,2 Hz), correspondentes aos hidrogênios H-5 e H-8, respectivamente, mostraram acoplamentos *orto* e *meta* com um duplo dubleto centrado em 7,0 ppm, atribuível ao hidrogênio H-6. Os sinais em 7,10 ppm (d, J=1,7 Hz) e 6,88 ppm (d, J=7,4 Hz), correspondentes aos hidrogênios H-2' e H-5', respectivamente, mostraram acoplamentos *meta* e *orto* com um duplo dubleto centrado em 6,97 ppm, atribuível ao hidrogênio H-6' (Tabela 04, p.107).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 23, p.80) apresentou 17 sinais atribuíveis aos carbonos da isoflavona **I**. Através da comparação com o espectro DEPT 135° (Figura 24, p.80) foi possível identificar sete sinais referentes a carbonos metínicos, um referente a carbono metoxílico, um referente a carbono metilênico e oito a carbonos não hidrogenados. O sinal que ocorreu em 175,66 ppm (C), referente a carbono carbonílico e os sinais em 152,20 ppm (CH) e 125,00 ppm (C) foram atribuídos aos carbonos C-4, C-2 e C-3, respectivamente. O sinal que ocorreu em 55,79 ppm confirmou a presença de um carbono metoxílico e o sinal em 101,11 ppm confirmou a presença do grupo metilenodioxílico (Tabela 05, p.108).

O espectro de massas de **I** (Figura 25, p.81), obtido através da ionização por elétrons (70 eV), apresentou como pico do íon molecular o sinal com m/z 296 (100%), confirmando a fórmula molecular $C_{17}H_{12}O_5$ proposta para a substância **I**. Além disso, apresentou um pico com m/z 146 (47%), atribuível ao fragmento **B** (Figura 26, p.81)

A comparação de todos esses dados com os encontrados na literatura [Agrawal e Bansal, 1989] confirmou a identificação da substância **I** como 7-metoxi-3',4'-metilenodioxiflavona.



I - 7-metoxi-3',4'-metilenodioxiflavona

A isoflavona **I**, conhecida como pseudobaptigenina metil éter foi anteriormente isolada das sementes de *Calopogonium mucunoides* [Ingham, 1983].

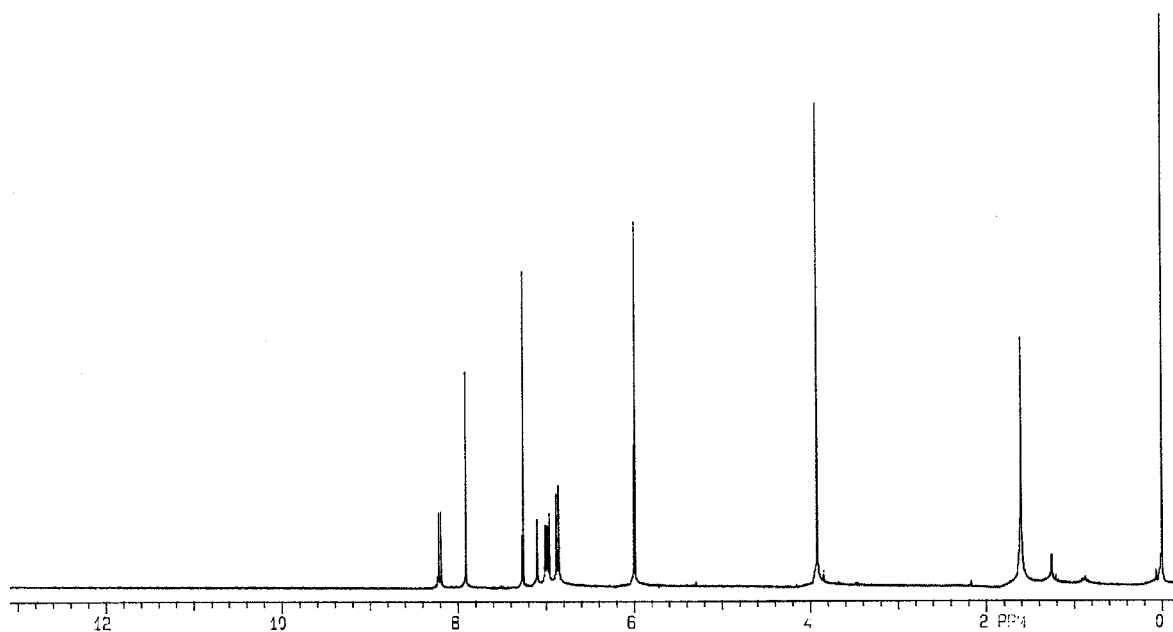


Figura 21- Espectro de RMN de ^1H da isoflavona I [300 MHz, CDCl_3]

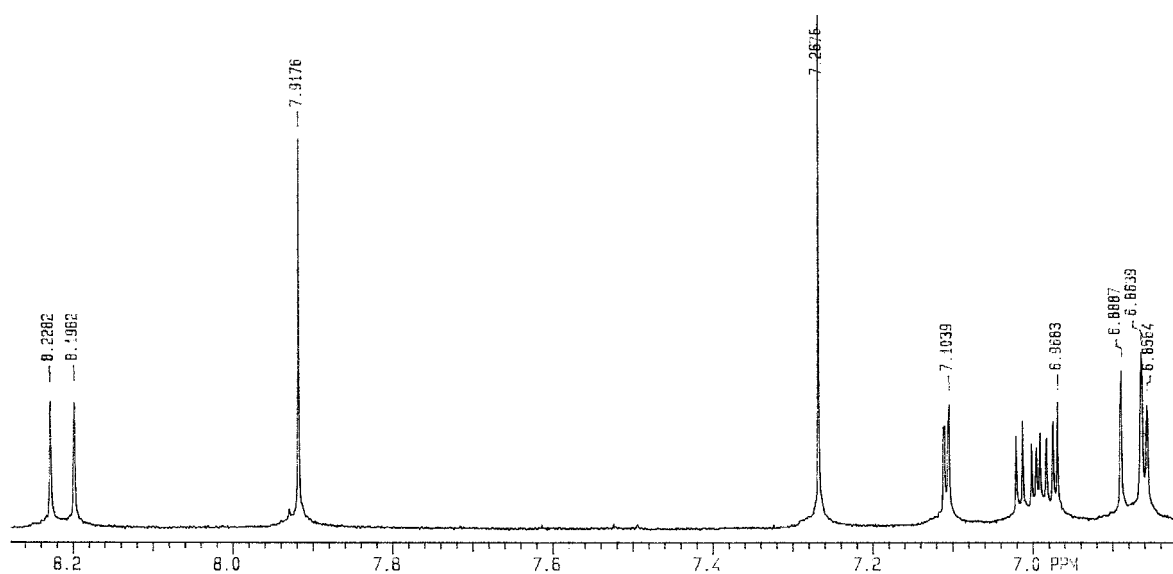


Figura 22- Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona I [300 MHz, CDCl_3]

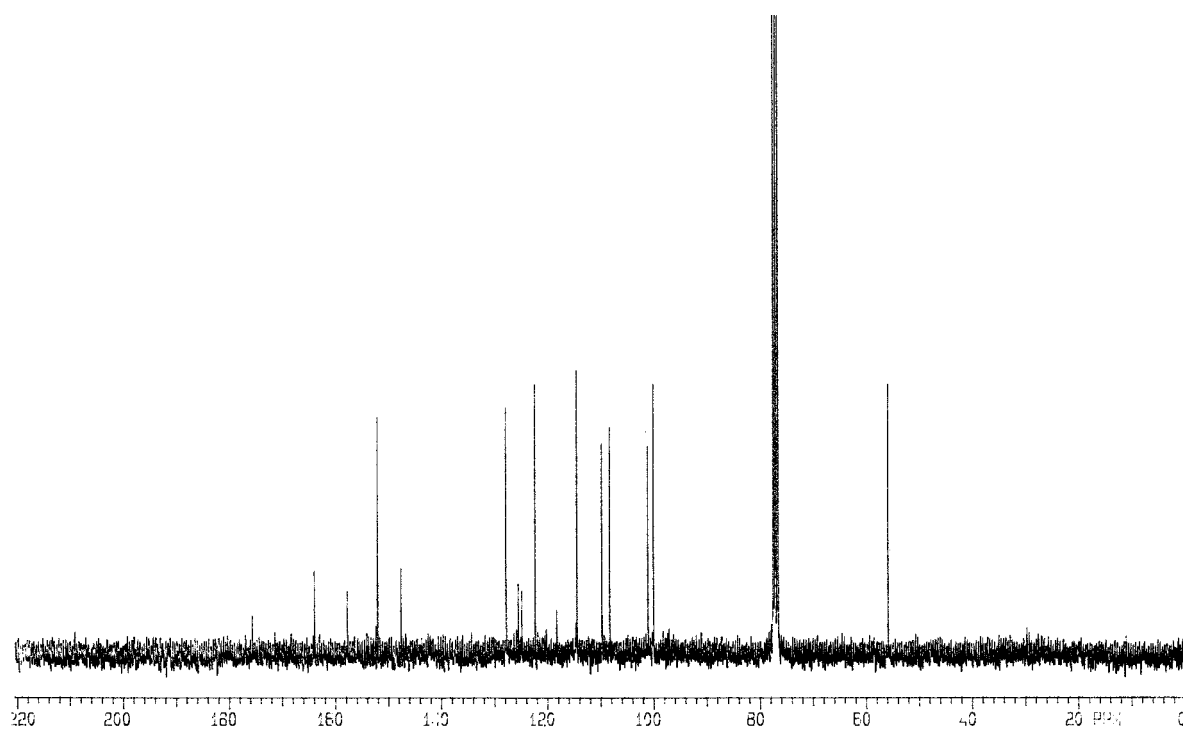


Figura 23- Espectro de RMN de ^{13}C da isoflavona I [75 MHz, CDCl_3]

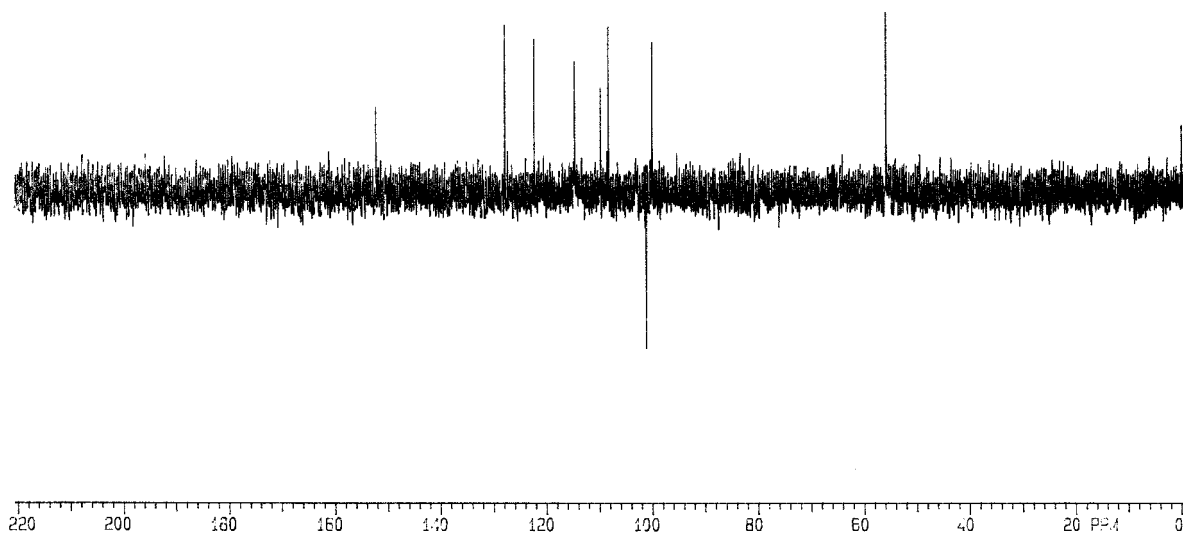


Figura 24- Espectro de DEPT 135^o da isoflavona I [75 MHz, CDCl_3]

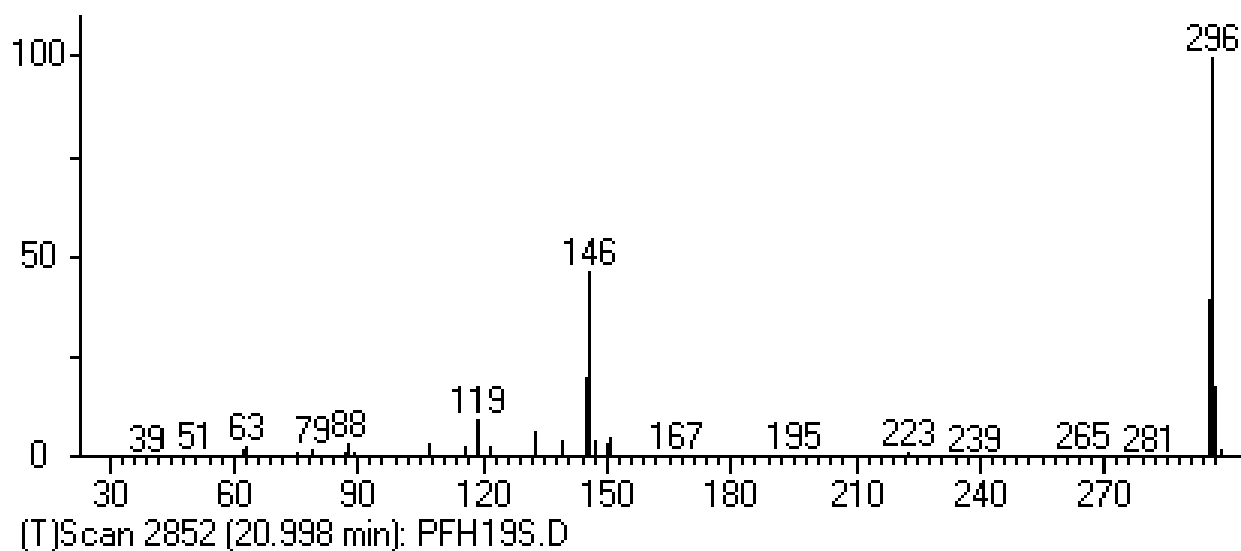


Figura 25- Espectro de massas da isoflavona I [I.E., 70 eV]

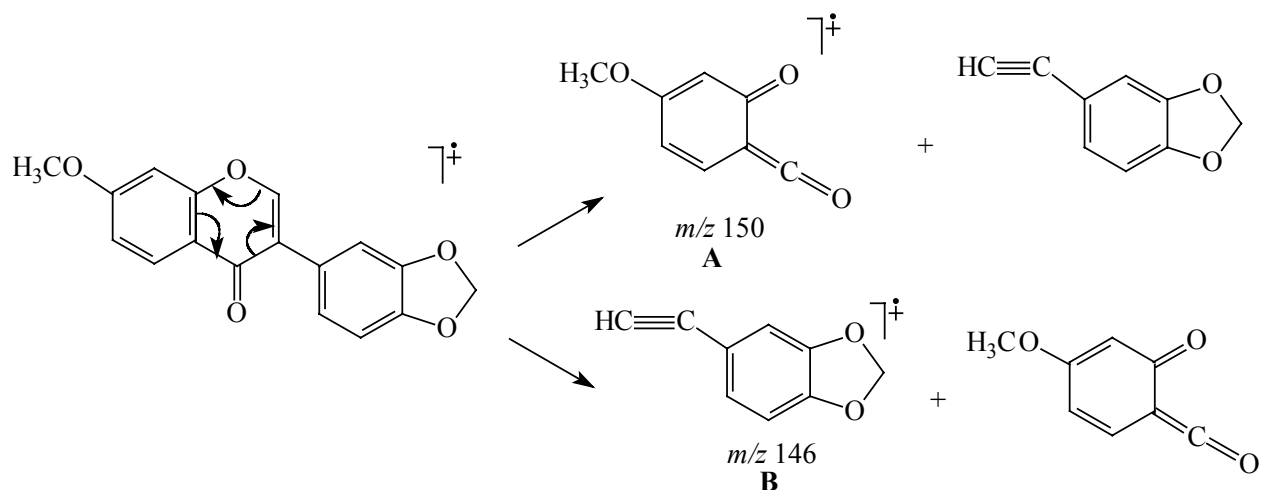


Figura 26- Proposta de fragmentação para o espectro de massas da isoflavona I

Identificação de II

A substância **II** foi obtida em mistura com a substância **I** e foi identificada através das análises dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e HOMOCOSY da mistura, comparando com os dados descritos na literatura [Agrawal e Bansal, 1989], além da análise do espectro de massas, obtido através de CG/EM.

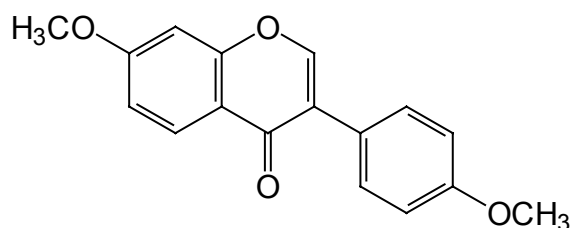
O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 27, p.84) mostrou-se muito parecido com o da substância **I**, diferindo apenas pelo surgimento de um singlete em 3,84 ppm, atribuível aos hidrogênios metoxílicos e de um dubleto em 7,50 ppm ($J=8,8$ Hz) atribuível aos hidrogênios H-2' e H-6' da isoflavona **II**. Através do espectro HOMOCOSY pode-se observar acoplamento entre o sinal em 7,50 ppm e o conjunto de sinais que ocorreu entre 6,95 e 7,00 ppm (Figura 32, p.86), mostrando que o dubleto correspondente ao par hidrogênios H-3': H-5' coincide com os sinais correspondentes a alguns dos hidrogênios da substância **I**. (Tabela 04, p.107).

O espectro de RMN de ^{13}C da mistura (Figura 29, p.85) apresentou 25 sinais, Alguns sinais foram coincidentes com os da substância **I** e outros apresentaram deslocamentos químicos próximos, porém com intensidades menores que os encontrados para a substância **I**. Através da comparação dos espectros da mistura e da substância **I** pura, foi possível atribuir os sinais correspondentes aos carbonos da substância **II**. Através da análise do espectro DEPT 135° (Figura 31, p.86) foi possível atribuir o sinal que ocorre em 130,08 ppm (CH) aos carbonos C-2' e C-6' e o sinal que ocorre em 113,89 ppm (CH) aos carbonos C-3' e C-5' da substância **II**. O aparecimento do sinal em 55,29 ppm, confirmou a presença de um outro carbono metoxílico na malécula (Tabela 05, p.108).

Através de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas pôde-se confirmar a presença das substâncias **I** e **II** na mistura, numa proporção de 85:15 (**I** : **II**) (Figura 33, p.87).

O espectro de massas de **II** (Figura 34, p.87), obtido através da ionização por elétrons (70 eV), apresentou como pico do íon molecular o sinal com m/z 282 (100%), sinais com m/z 132 (47%) e m/z 150 (8,6%), correspondentes aos fragmentos **C** e **A** respectivamente (Figura 35, p.87), além do sinal com m/z 267 (11%) correspondente ao fragmento mostrado na Figura 54 (p.106), originado através da perda de um radical metílico, confirmando a fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_4$ proposta para a substância **II**.

A comparação desses dados com os apresentados na literatura [Agrawal e Bansal, 1989] confirmou a identificação da substância **II** como 7,4'-dimetoxiisoflavona.



II - 7,4'-dimetoxiisoflavona.

A isoflavona **II**, conhecida como 7,4'-dimetildaidzeína foi encontrada nos caules das espécies *Dalbergia violaceae* e *Pterodon apparicioi* [Ingham, 1983].

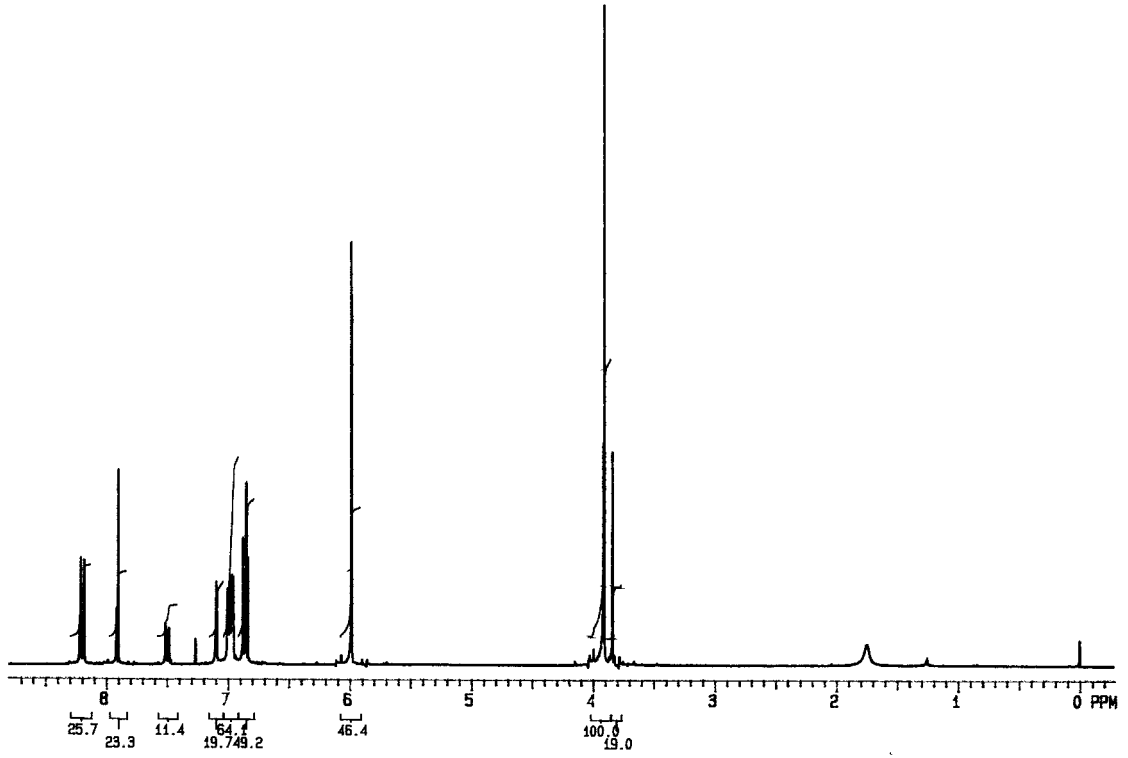


Figura 27- Espectro de RMN de ^1H da mistura de **I** e **II** [300 MHz, CDCl_3]

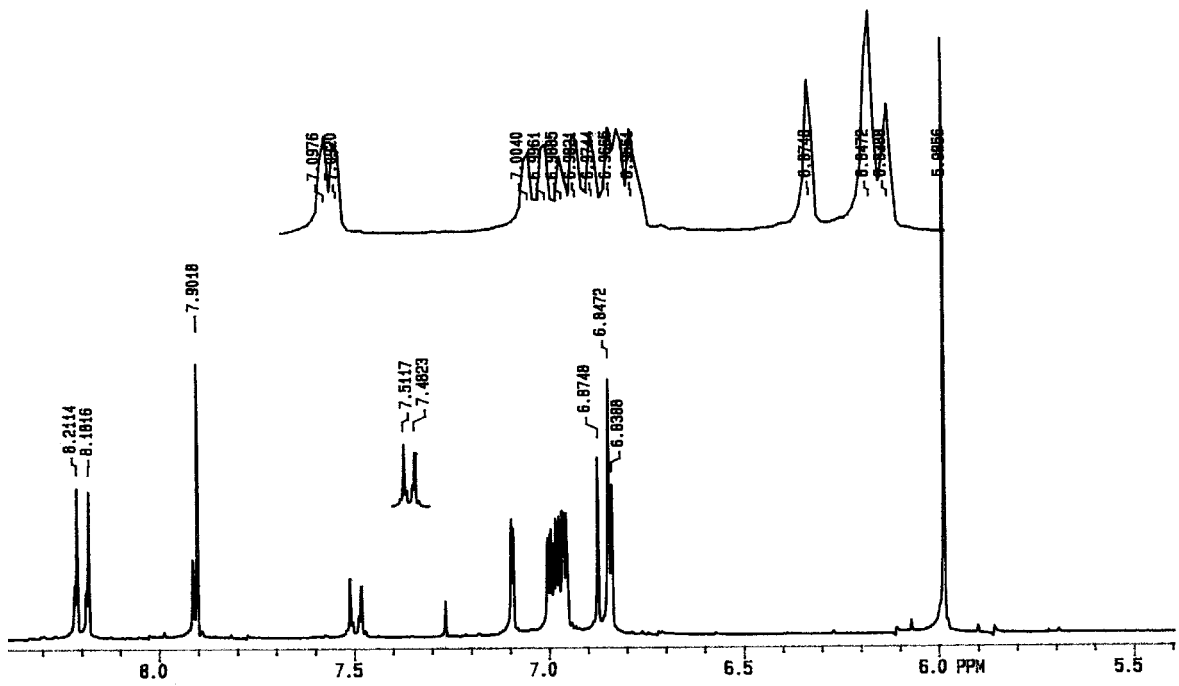


Figura 28- Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura de **I** e **II**
[300
MHz, CDCl_3].

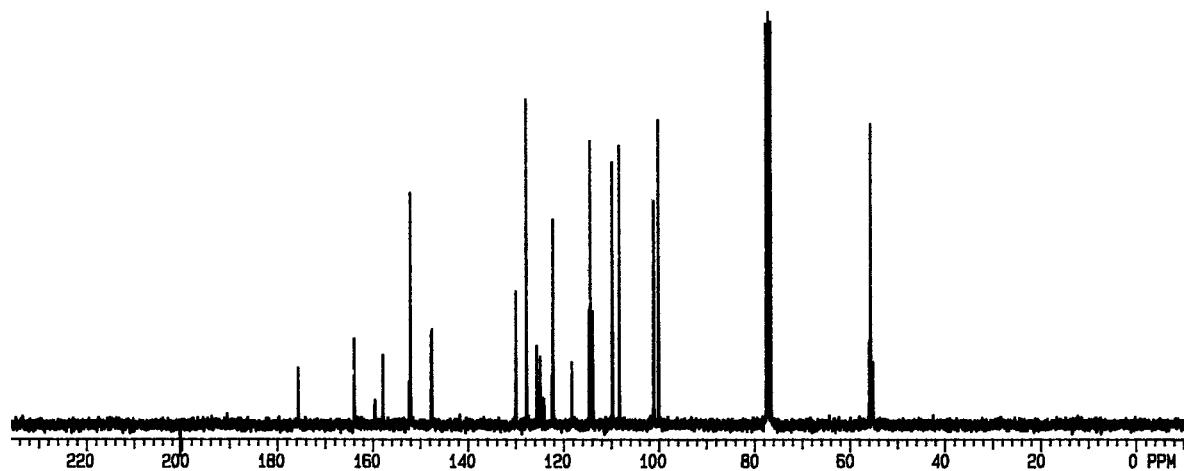


Figura 29- Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de I e II [75 MHz, CDCl_3]

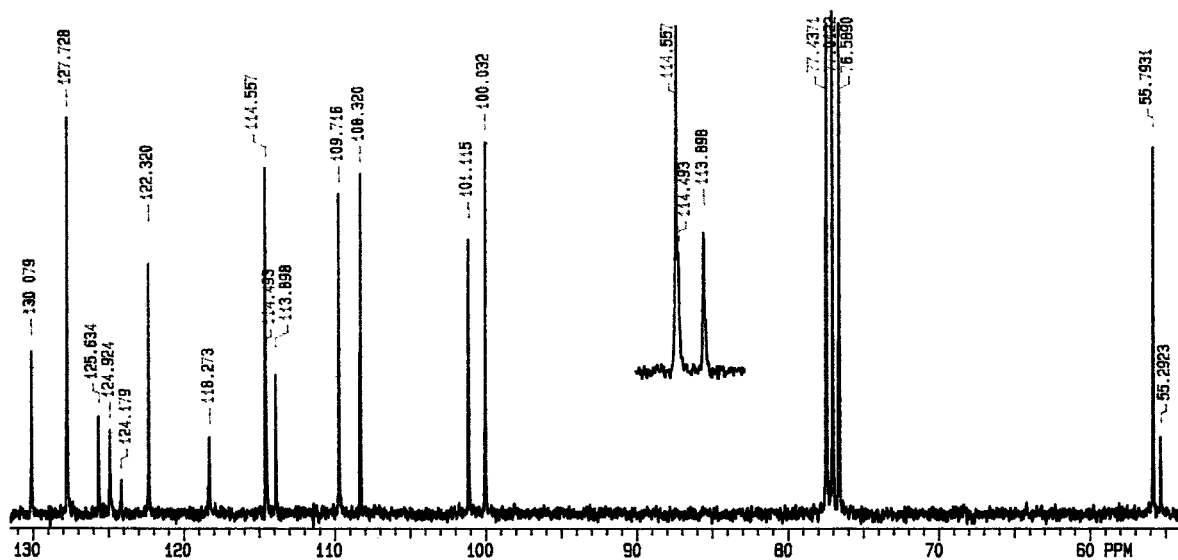


Figura 30- Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura de I e II [75 MHz, CDCl_3]

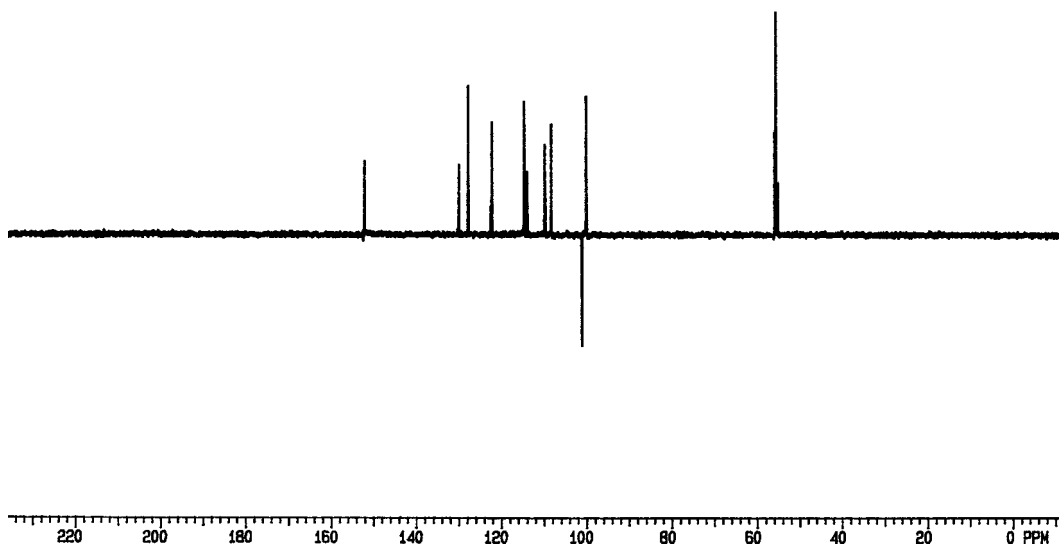


Figura 31- Espectro DEPT 135° da mistura de **I** e **II** [75 MHz, CDCl₃]

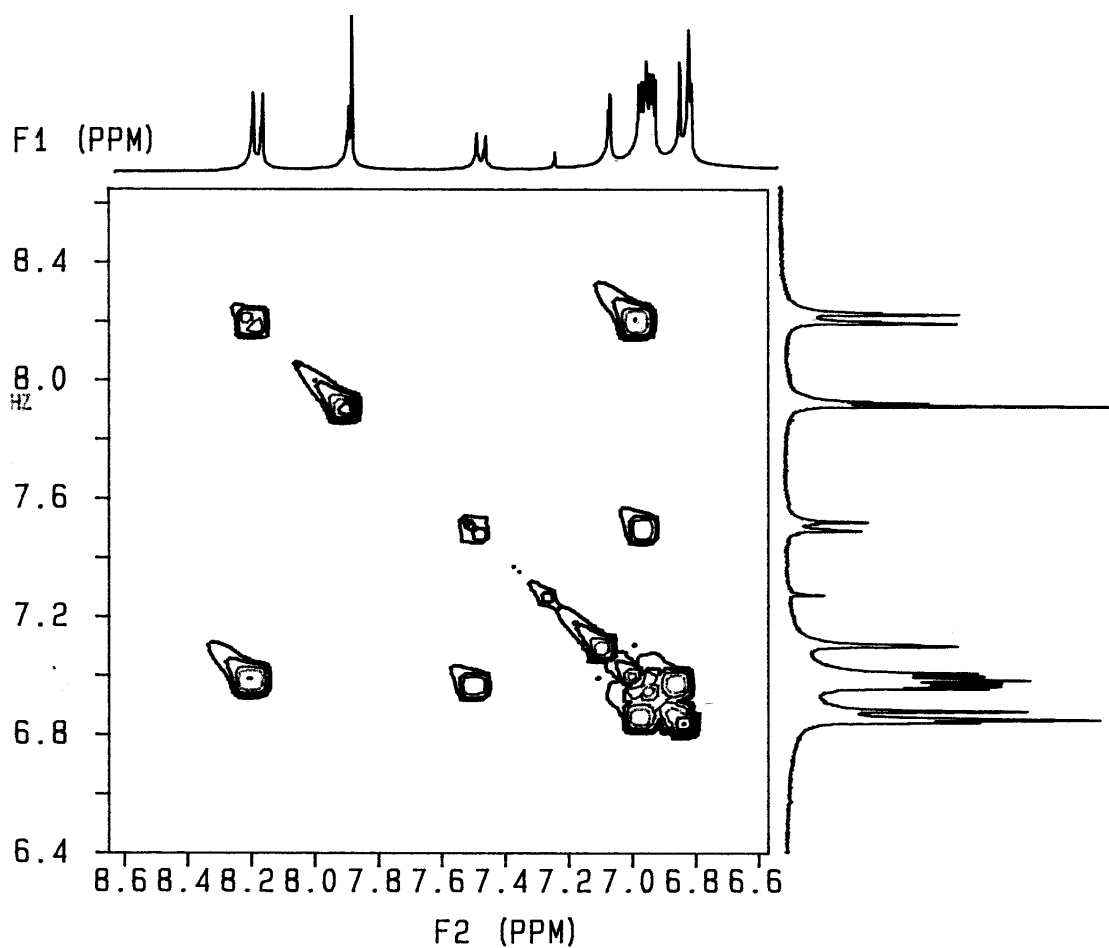


Figura 32- Expansão do espectro HOMO COSY (¹H-¹H) da mistura de **I** e **II** na região de 6,4 a 8,5 ppm [300 MHz, CDCl₃]

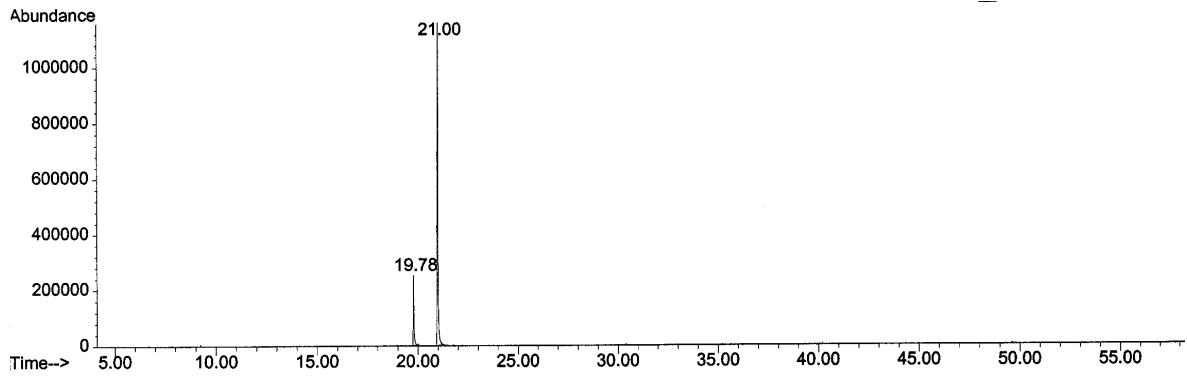


Figura 33- Cromatograma de íons totais da mistura das isoflavonas I e II

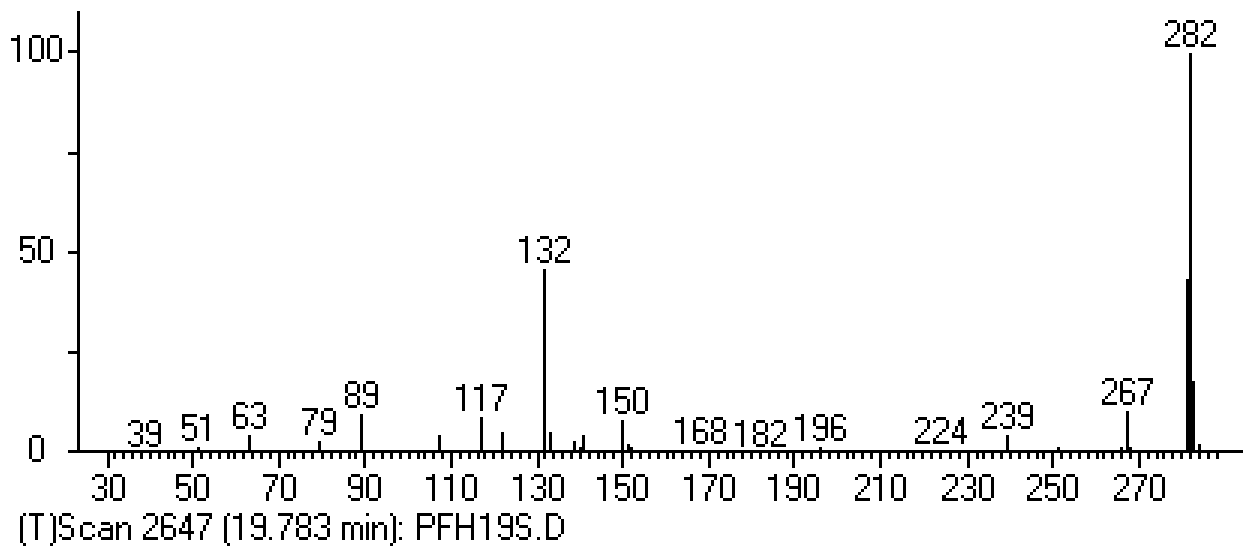


Figura 34- Espectro de massas da isoflavona II [I.E., 70 eV].

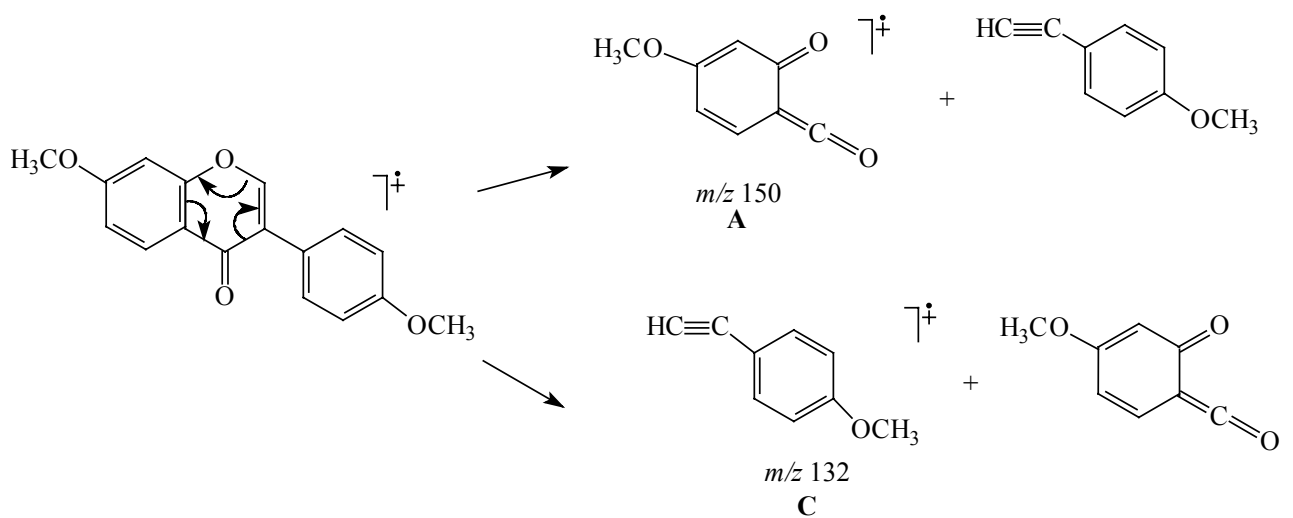


Figura 35- Proposta de fragmentação para a isoflavona II

Identificação de III

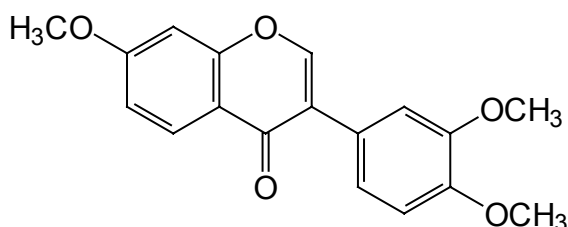
A substância **III** foi identificada através das análises dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e de massas da mistura que a continha comparando os dados com os descritos na literatura [Agrawal e Bansal 1989; Fonseca et. al., 2000].

O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 36, p.90) apresentou três singletos em 3,88 ppm, 3,89 ppm e 3,90 ppm, atribuíveis aos hidrogênios metoxílicos e um singleto em 7,92 ppm, atribuível ao hidrogênio H-2 da isoflavona **III**. Entre 6,8 e 8,2 ppm o espectro mostrou ainda sinais atribuíveis aos seis hidrogênios pertencentes aos anéis A e B da isoflavona **III**. Os sinais em 8,18 ppm (d, $J=9,0$ Hz) e 6,83 ppm (d, $J=2,4$ Hz) correspondentes aos hidrogênios H-5 e H-8, respectivamente, mostraram acoplamentos *orto* e *meta* com um duplo dubleto centrado em 7,02 ppm, atribuível ao hidrogênio H-6. Os dubletos em 7,18 ppm ($J=2,0$ Hz) e 6,90 ppm ($J=8,3$ Hz), referentes aos hidrogênios H-2' e H-5', respectivamente, mostraram acoplamento *meta* e *orto* com um duplo dubleto centrado em 6,97 ppm, atribuível ao hidrogênio H-6' (Tabela 04, p.107).

O espectro de RMN de ^{13}C da mistura (Figura 38, p.91) apresentou 18 sinais atribuíveis aos carbonos da isoflavona **III**. A comparação deste espectro com o espectro DEPT 135° (Figura 39, p.91) permitiu identificar sete sinais referentes a carbonos metínicos, três sinais referentes a carbonos metoxílicos e oito sinais correspondentes a carbonos não hidrogenados. O sinal em 175,91 ppm (C), referente ao carbono carbonílico e os sinais em 152,23 ppm (CH) e 124,62 ppm (C) são característicos dos carbonos C-4, C-2 e C-3. Os sinais em 55,80 ppm, 55,92 ppm e 55,94 ppm confirmaram a presença das três metoxilas (Tabela 05, p.108).

O espectro de massas da mistura (Figura 40, p.92), obtido por inserção direta (IE,70 eV), apresentou sinais com m/z 312 (100%) e m/z 297 (27%), atribuíveis ao pico do íon molecular e a perda de metila mostrada na Figura 54 (p.106), respectivamente, confirmando a fórmula molecular $C_{18}H_{16}O_5$ proposta para a substância **III**.

A comparação dos dados acima descritos com os apresentados na literatura [Agrawal e Bansal 1989 e Fonseca et. al., 2000] confirmou a identificação da substância **III** como 7,3',4'-trimetoxiisoflavona.



III - 7,3',4'-trimetoxiisoflavona

A isoflavona **III**, conhecida como cabrevina, foi anteriormente isolada das espécies *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) [Fonseca et al, 2000] e *Myroxylon peruiferum* (Leguminosae) [Ingham, 1983].

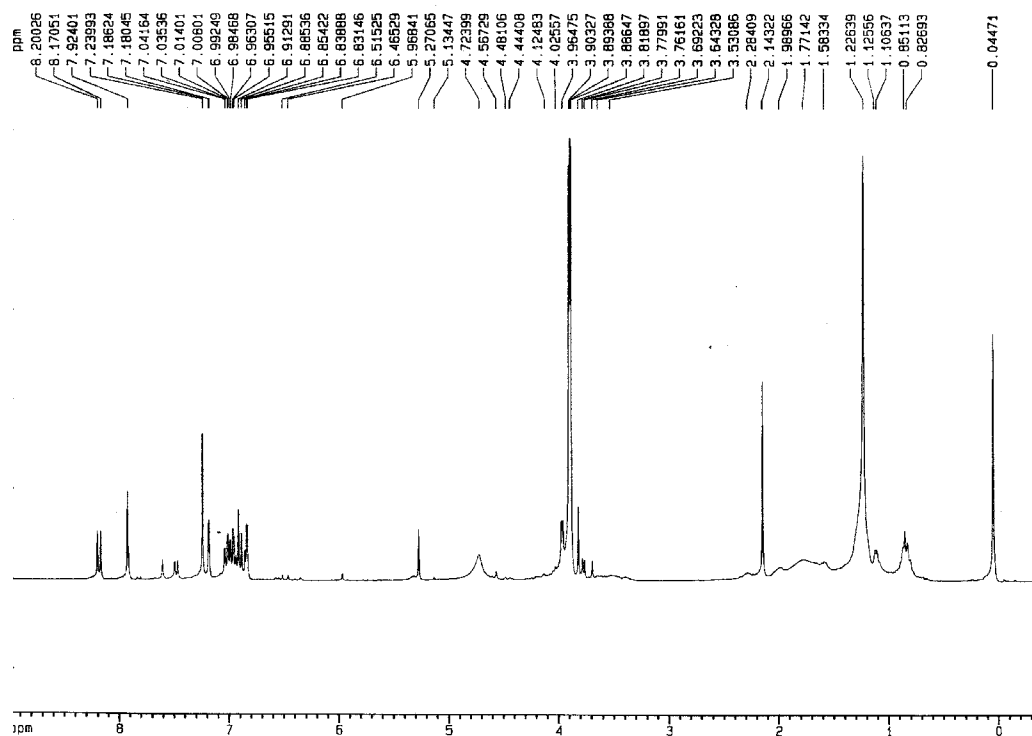


Figura 36- Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo a isoflavona **III** [300 MHz, CDCl_3]

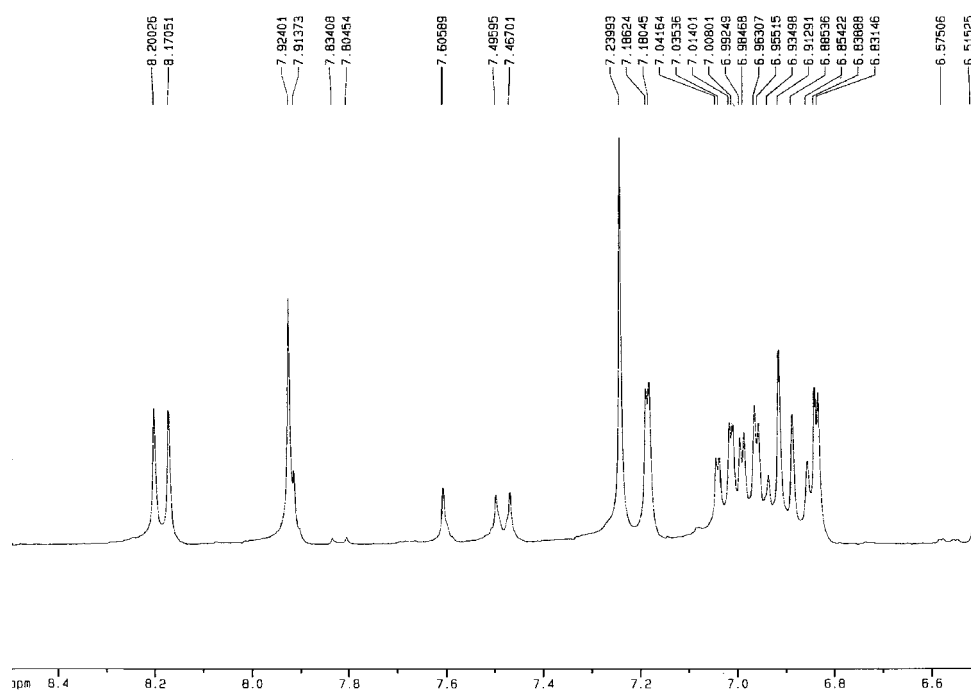


Figura 37- Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura contendo a isoflavona **III** [300 MHz, CDCl_3]

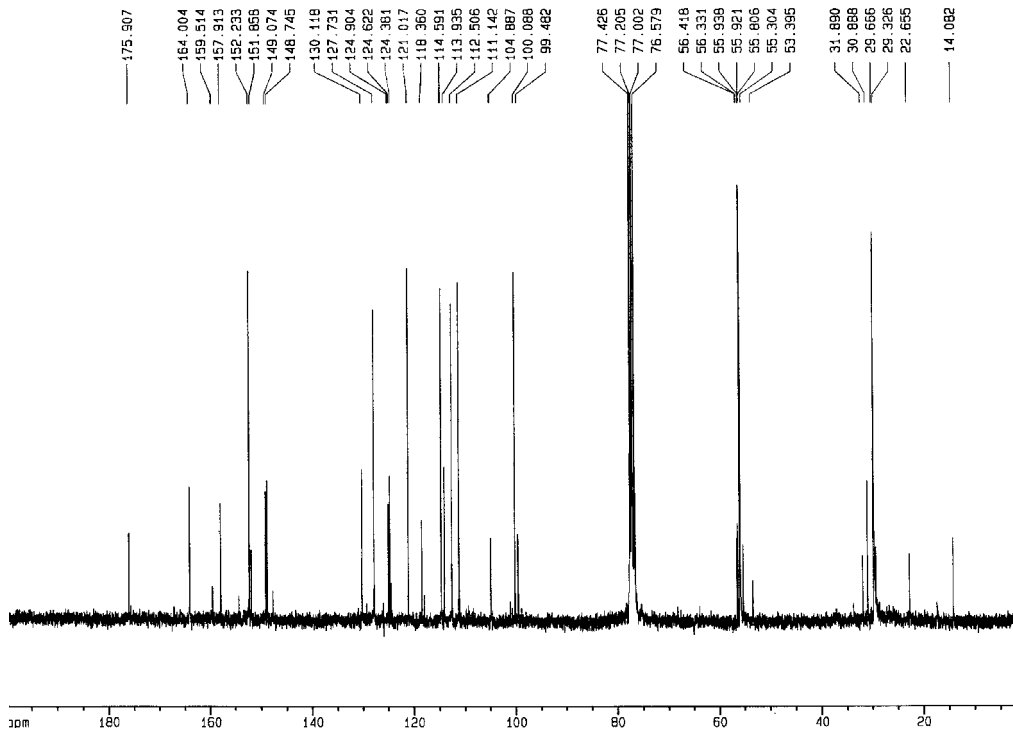


Figura 38- Espectro de RMN de ^{13}C da mistura contendo a isoflavona **III** [75 MHz, CDCl_3]

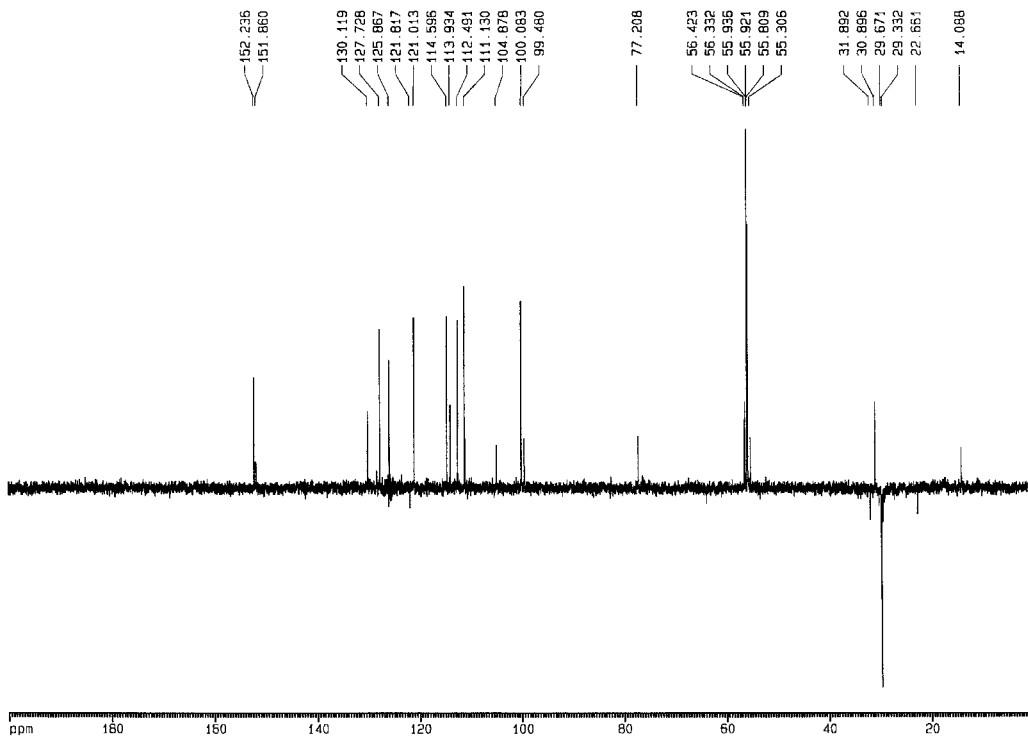


Figura 39- Espectro DEPT 135° da mistura contendo a isoflavona **III** [75 MHz, CDCl_3]

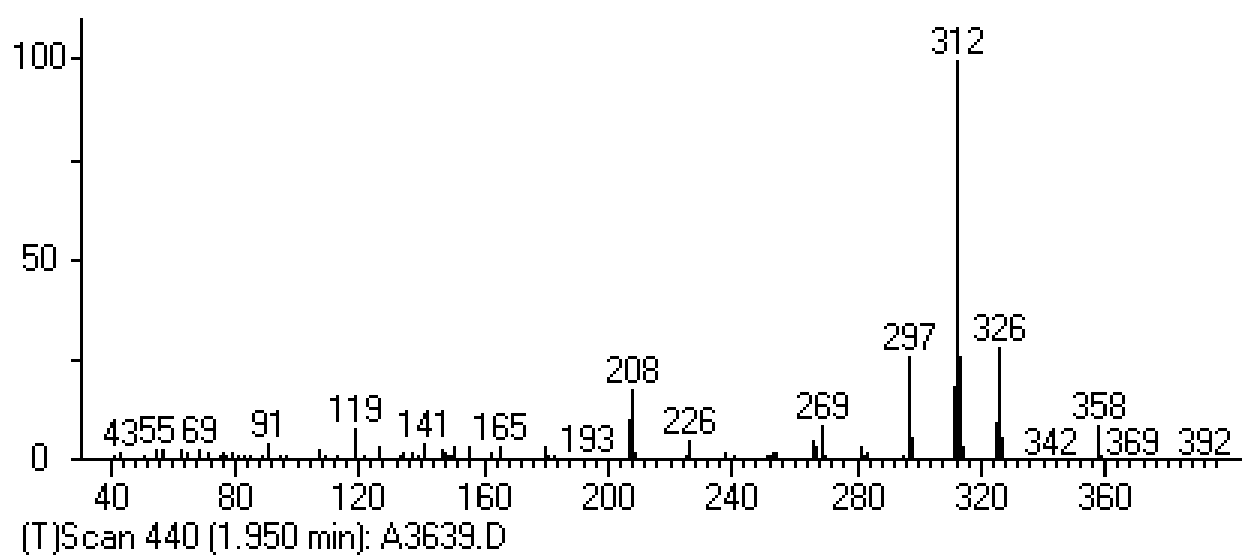


Figura 40- Espectro de massas da mistura contendo a isoflavona **III** obtido por inserção direta [I.E., 70 eV].

Identificação de IV

A substância **IV** foi identificada através das análises dos seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e de massas, e por comparação com os dados descritos na literatura [Agrawal e Bansal, 1989].

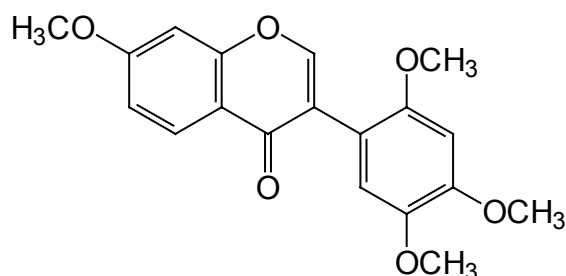
O espectro de RMN de ^1H da substância **IV** (Figura 41, p.95) apresentou quatro singletos em 3,78 ppm, 3,86 ppm, 3,92 ppm e 3,93 ppm, referentes aos hidrogênios metoxílicos e seis sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo um singlete em 7,96 ppm atribuível ao hidrogênio H-2, um dubleto centrado em 8,20 ppm ($J=9,0$ Hz), referente ao hidrogênio H-5, apresentando acoplamento *orto* com um duplo dubleto centrado em 6,99 ppm ($J= 9,0$ e $2,4$ Hz), referente ao hidrogênio H-6, que mostrou acoplamento *meta* com o dubleto centrado em 6,87 ppm ($J= 2,4$ Hz), referente ao hidrogênio H-8. Os singletos em 6,63 ppm e 6,94 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-3' e H-6', respectivamente (Tabela 04, p.107).

O espectro de RMN de ^{13}C de **IV** (Figura 43, p.96) apresentou 20 sinais, sendo 19 atribuíveis aos carbonos da isoflavona **IV**. Por comparação com o espectro DEPT 135° (Figura 44, p.96) foi possível identificar seis sinais referentes a carbonos metínicos, quatro sinais referentes a carbonos metoxílicos e nove a carbonos não hidrogenados. Os sinais que ocorreram em 175,75 ppm (C); 154,24 ppm (CH) e 121,82 ppm (C) são característicos dos carbonos C-4, C-2, C-3 de isoflavonas. Os sinais em 55,80 ppm; 56,28 ppm; 56,71 ppm e 57,00 ppm confirmaram a presença das quatro metoxilas (Tabela05, p.108).

O espectro de massas (Figura 45, p.97), obtido através da ionização por elétrons (70 eV), apresentou o pico do íon molecular com m/z 342 (100%) e os sinais com m/z 327 (33%) e m/z 311 (60%), correspondentes aos fragmentos

mostrados nas Figuras 54 (p.106) e 55 (p.106), devido às perdas dos radicais metílicos e metoxílicos respectivamente, confirmando a fórmula molecular $C_{19}H_{18}O_6$ proposta para a substância **IV**.

A comparação dos dados obtidos com os apresentados na literatura confirmou a identificação da substância **IV** como 7,2',3',4'-tetrametoxiisoflavona.



IV - 7,2',4',5'-tetrametoxiisoflavona

A isoflavona **IV** foi anteriormente encontrada nas sementes da espécie *Calopogonium mucunoides* [Ingham, 1983] e nos frutos de *Amorpha fruticosa* [Li et. al., 1993].

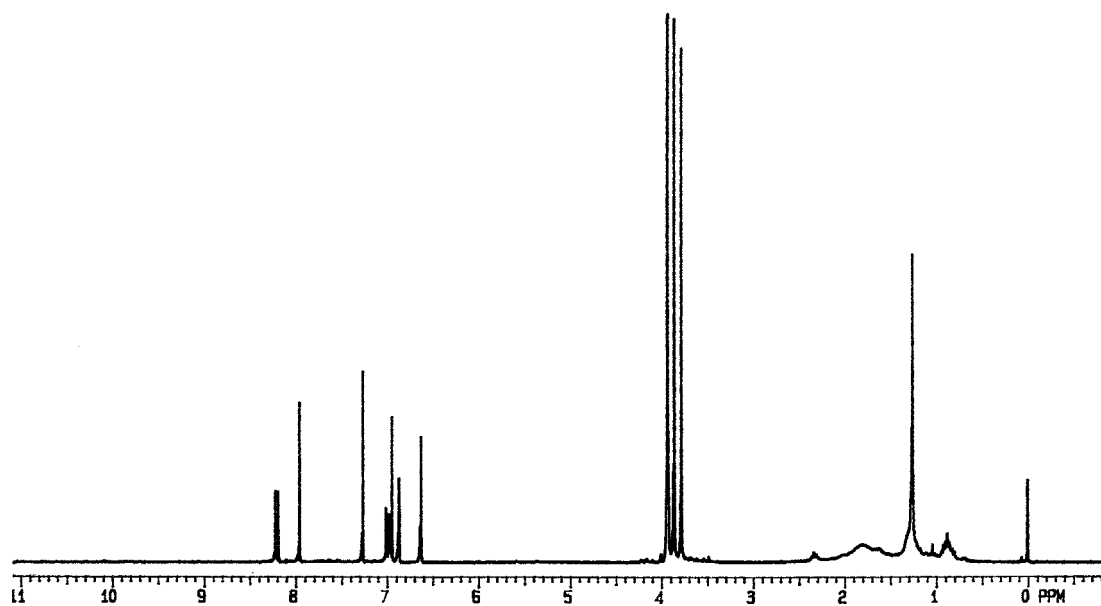


Figura 41- Espectro de RMN de ^1H da isoflavona IV [300 MHz, CDCl_3]

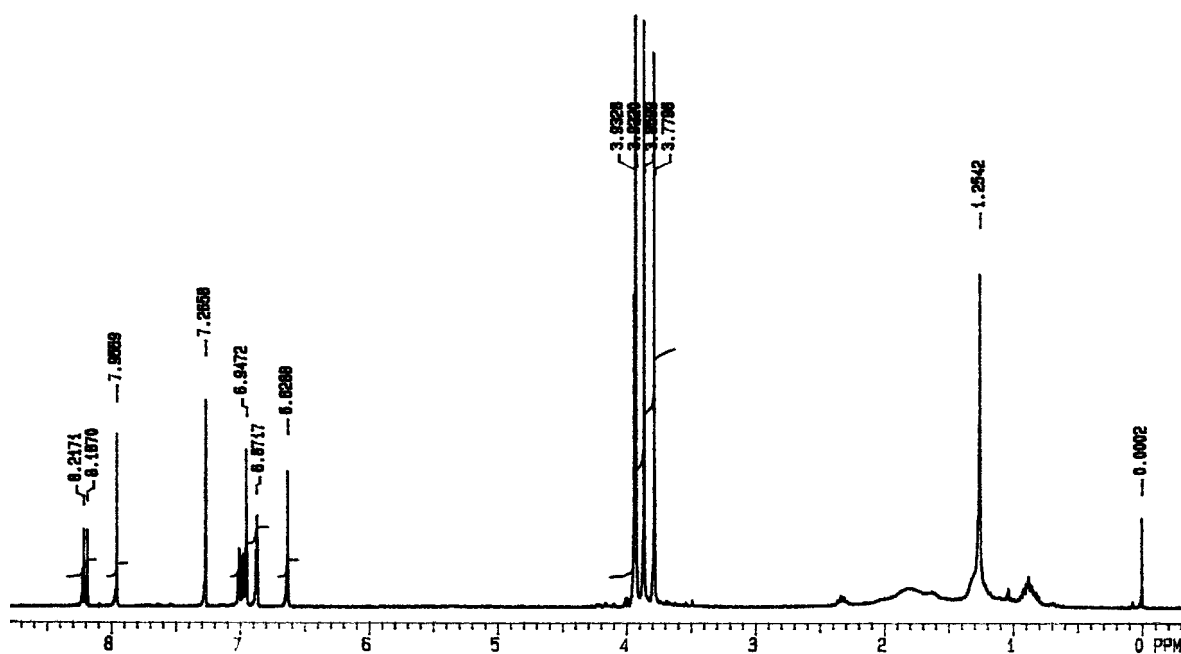


Figura 42- Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona IV [300 MHz, CDCl_3]

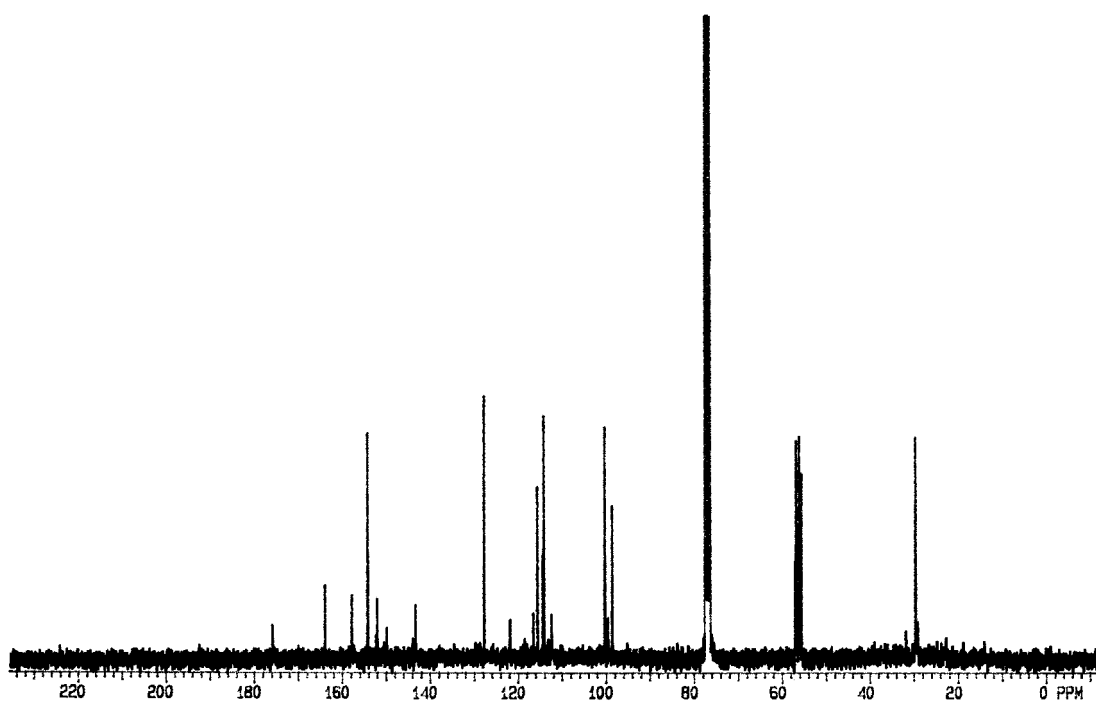


Figura 43- Espectro de RMN de ^{13}C da isoflavona IV [75 MHz, CDCl_3]

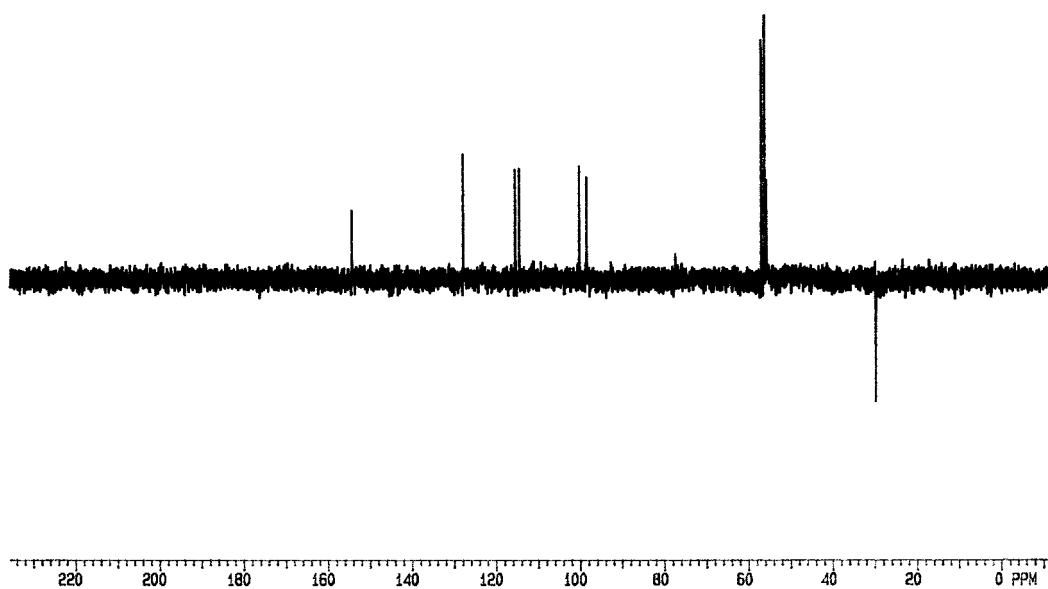


Figura 44- Espectro DEPT 135° da isoflavona IV [75MHz, CDCl_3]

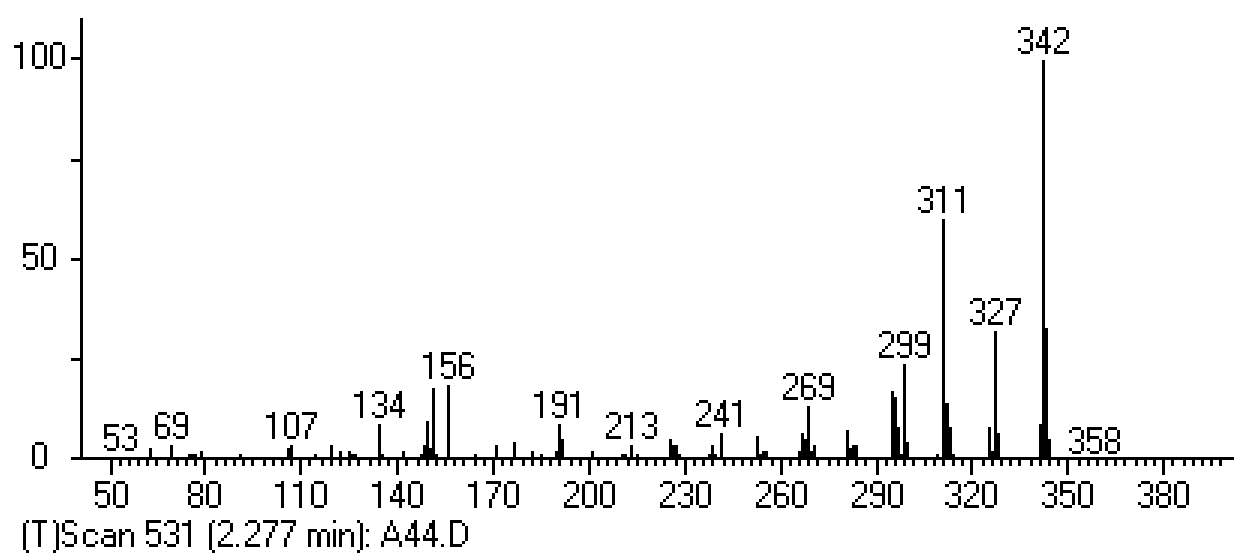


Figura 45- Espectro de massas da isoflavona **IV** obtido por inserção direta [I.E., 70 eV].

Identificação de V e VI

Os isoflavonóides **V** e **VI** foram identificados através da análise do espectro de RMN de ^1H da mistura que os continha, sendo estas atribuições confirmadas através das análises dos espectros de massas e de RMN de ^1H de cada um deles separadamente, e por comparação com os dados publicados na literatura [Chibber e Sharma, 1979].

O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 46, p.102) apresentou os seguintes sinais:

a – seis singletos entre 3,73 ppm e 3,95 ppm, correspondentes a hidrogênios metoxílicos, sendo que dois destes sinais apresentaram intensidades relativas de 3:1 em relação aos outros quatro, evidenciando que um dos constituintes existentes na mistura apresentava dois grupos metoxílicos, enquanto que o outro possuía quatro grupos metoxílicos

b – um singlete em 5,96 ppm, característico de hidrogênios metilenodioxílicos.

c - seis sinais na região de hidrogênios pertencentes a anel aromático, com alguns sinais sobrepostos, portanto comuns as duas substâncias.

d - um singlete em 12,88 ppm; característico de hidrogênio hidroxílico em ponte intramolecular com o oxigênio carbonílico.

A presença de dois singletos sobrepostos em 7,89 ppm, referentes aos hidrogênios H-2 das duas substâncias, evidenciou a presença de isoflavonas na mistura.

Apenas um dubleto centrado em 8,19 ppm ($J=8,9$ Hz), correspondente ao hidrogênio H-5, foi observado, indicando a ausência do grupo hidroxílico ligado ao carbono C-5 em uma das substâncias. O sinal referente ao hidrogênio H-6 de um dos constituintes da mistura apareceu como um duplo dubleto centrado em

6,98 ppm; mostrando acoplamentos *orto* com o dubleto em 8,19 ppm (H-5) e *meta* com um dubleto centrado em 6,86 ppm ($J=2,3$ Hz), atribuível ao hidrogênio H-8. Esses sinais demonstraram que um dos constituintes da mistura apresentava o anel A com padrão de substituição semelhante aos já descritos para as substâncias **I**, **II**, **III** e **IV** e que o outro constituinte apresentava uma hidroxila como substituinte no C-5.

Os sinais acima descritos sugeriram que para um dos constituintes da mistura, o anel B encontrava-se substituído por um grupo metilenodioxílico e por um metoxílico, enquanto que o outro constituinte apresentava três grupos metoxílicos como substituintes do anel B.

Essas atribuições foram confirmadas através das análises dos espectros de RMN de ^1H , de cada um dos constituintes separadamente (Figura 48, p.103 e Figura 50, p.104) As atribuições dos sinais correspondentes aos hidrogênios das duas substâncias estão descritas na Tabela 04 (p.107).

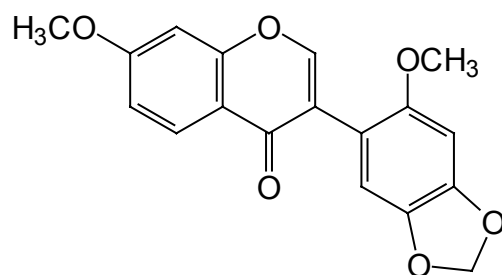
O espectro de RMN de ^1H (Figura 48, p.103) da isoflavona **V** apresentou dois singletos em 3,73 ppm e 3,92 ppm, correspondentes aos hidrogênios metoxílicos, um singlete em 5,96 ppm, atribuível aos hidrogênios metilenodioxílicos e cinco sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo um singlete em 7,89 ppm, atribuível ao hidrogênio H-2, um dubleto centrado em 8,20 ppm ($J=9,0$ Hz), referente a H-5, apresentando acoplamento *orto* com um duplo dubleto centrado em 6,99 ppm ($J= 9,0$ e $2,4$ Hz), referente ao H-6, que mostrou acoplamento *meta* com o dubleto centrado em 6,86 ppm ($J= 2,4$ Hz), referente ao hidrogênio H-8. Os singletos em 6,63 ppm e em 6,83 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-3' e H-6', respectivamente (Tabela04, p.107).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 50) da isoflavona **VI**, ainda em uma mistura contendo a substância **V**, apresentou quatro singletos em 3,80 ppm, 3,87 ppm, 3,88 ppm e 3,94 ppm, correspondentes aos hidrogênios metoxílicos, um singlete em 12,88 ppm, atribuível ao hidrogênio hidroxílico e cinco sinais na

região de hidrogênios aromáticos, sendo um singlete em 7,89 ppm atribuível ao H-2, um dubleto centrado em 6,39 ppm ($J= 2,0$ Hz), referente ao H-6, que mostrou acoplamento *meta* com o dubleto centrado em 6,42 ppm ($J= 2,0$ Hz), referente ao hidrogênio H-8. Os singletos em 6,64 ppm e 6,89 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-3' e H-6', respectivamente (Tabela 04, p.101).

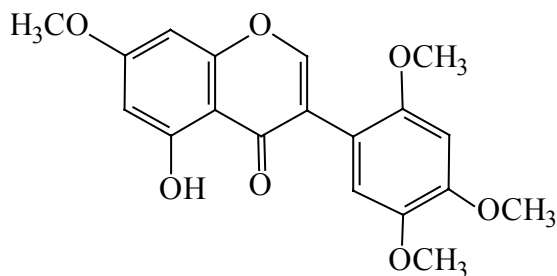
O espectro de massas de **V** (Figura 52, p.105), apresentou o pico do íon molecular com m/z 326 (90%) e o pico base com m/z 295 (100%), resultante da perda de uma metoxila (Figura 55, p.106), confirmando a fórmula molecular $C_{18}H_{15}O_6$ proposta. O espectro de massas de **VI** (Figura 53, p.105) apresentou o pico do íon molecular com m/z 358 (100%), além de sinais com m/z 343 (21%) e m/z 327 (31%), correspondentes às perdas de metila e metoxila, mostradas nas Figuras 54 (p. 106) e 55 (p. 106) respectivamente, confirmando a fórmula molecular $C_{19}H_{18}O_7$ proposta para a substância **VI**.

A comparação dos dados acima descritos com os apresentados na literatura [Agrawal e Bansal, 1989 e Chibber e Sharma, 1979] confirmou a identificação da substância **V** como 7,2'-dimetoxi-3',4'-metilenodioxiiisoflavona e da substância **VI** como 5-hidroxi-7,2',4',5'-tetrametoxiiisoflavona.



V-7,2'-dimetoxi-3',4'-metilenodioxiiisoflavona

A isoflavona **V**, conhecida como cuneatina metil éter, foi encontrada no caule de *Pterodon apparicioi* [Ingham, 1983].



VI-5-hidroxi-7,2',4',5'-tetrametoxiisoflavona

A isoflavona **VI**, conhecida como robustigenina, foi encontrada nas cascas da semente da espécie *Derris robusta* [Chibber e Sharma, 1979 e Ingham, 1983].

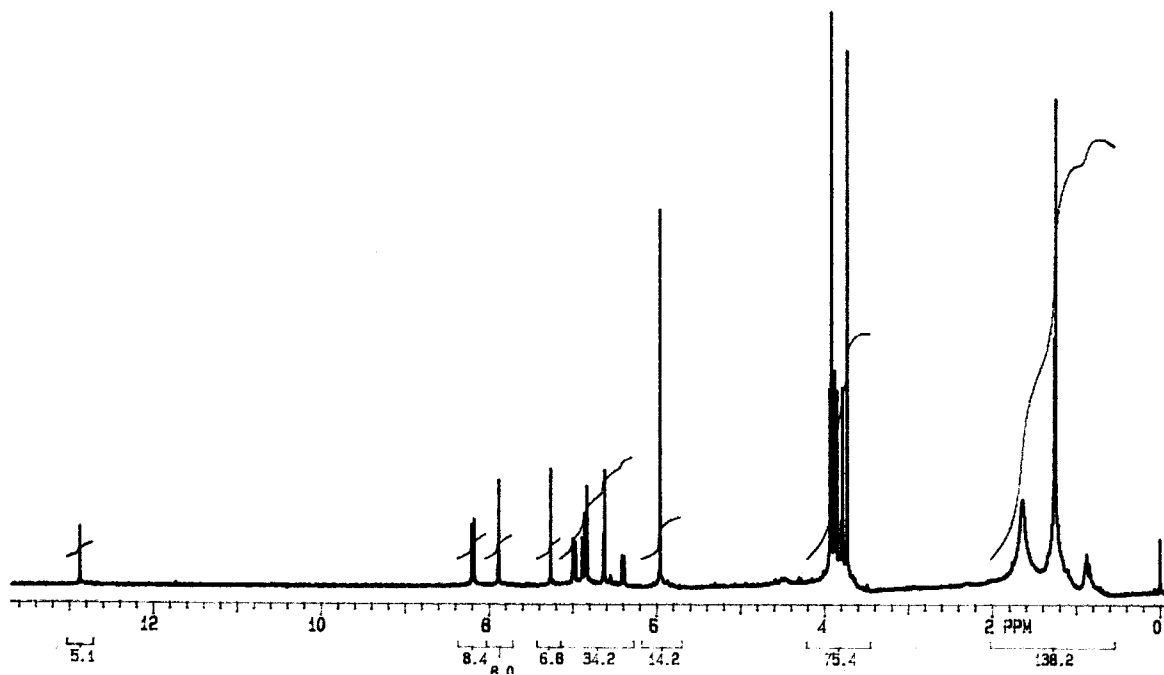


Figura 46- Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo as isoflavonas V e VI [300 MHz, CDCl_3]

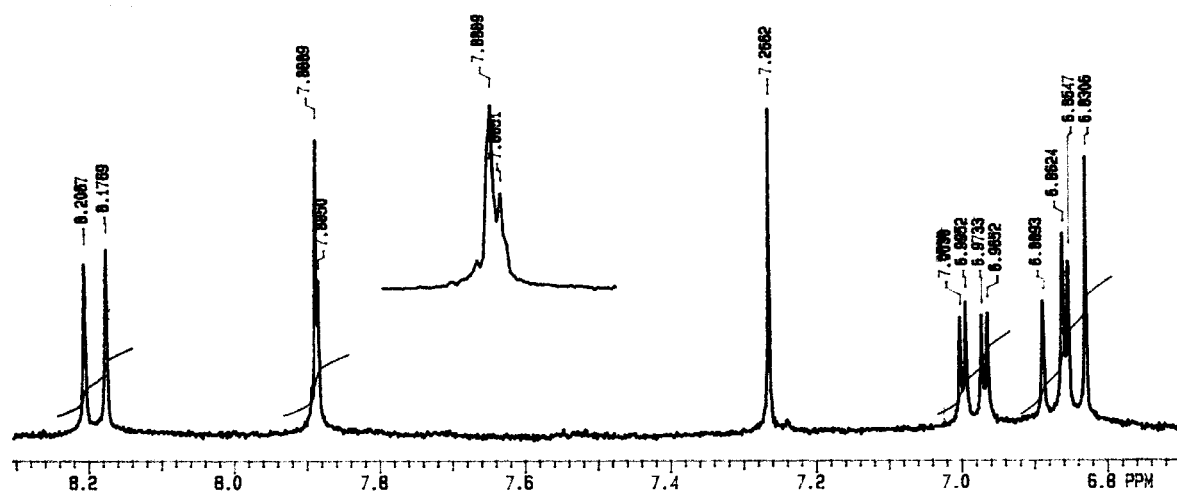


Figura 47- Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura contendo as isoflavonas V e VI [300 MHz, CDCl_3].

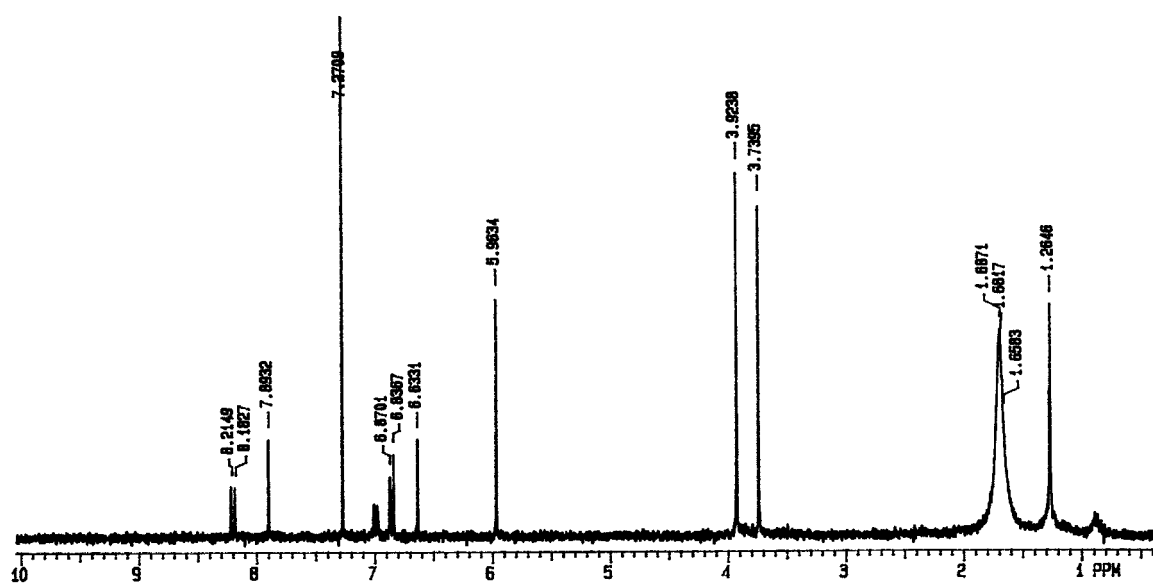


Figura 48- Espectro de RMN de ¹H da isoflavona V [300 MHz, CDCl₃]

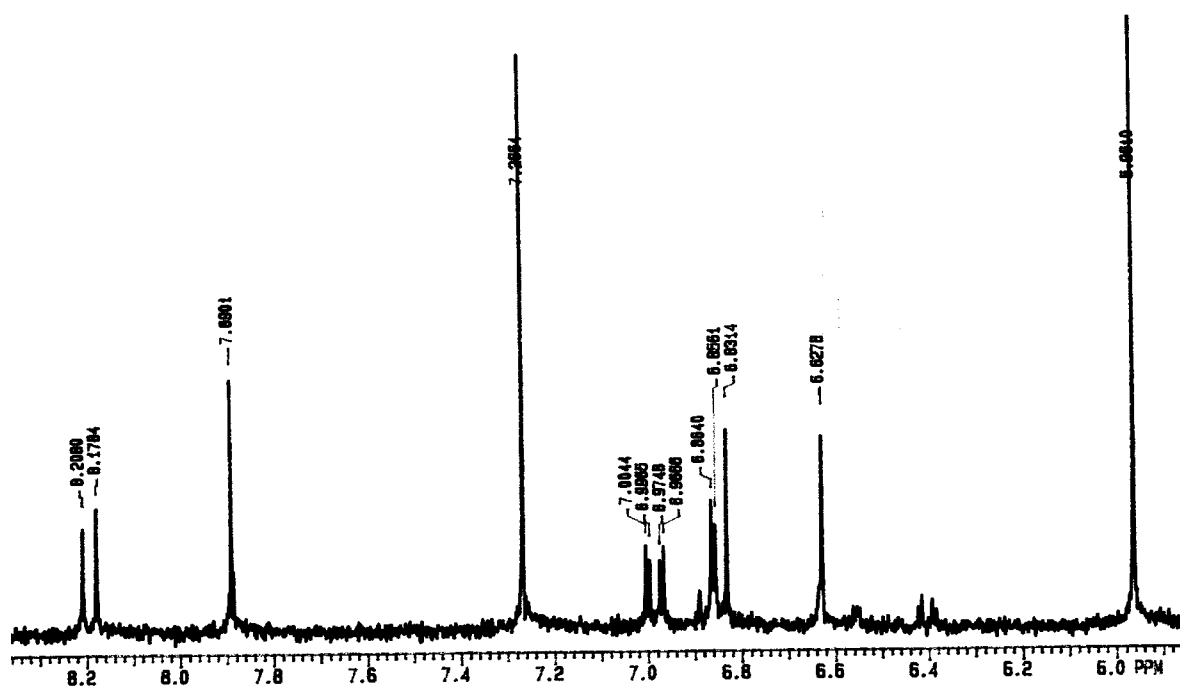


Figura 49- Expansão do espectro de RMN de ¹H da isoflavona V [300 MHz, CDCl₃]

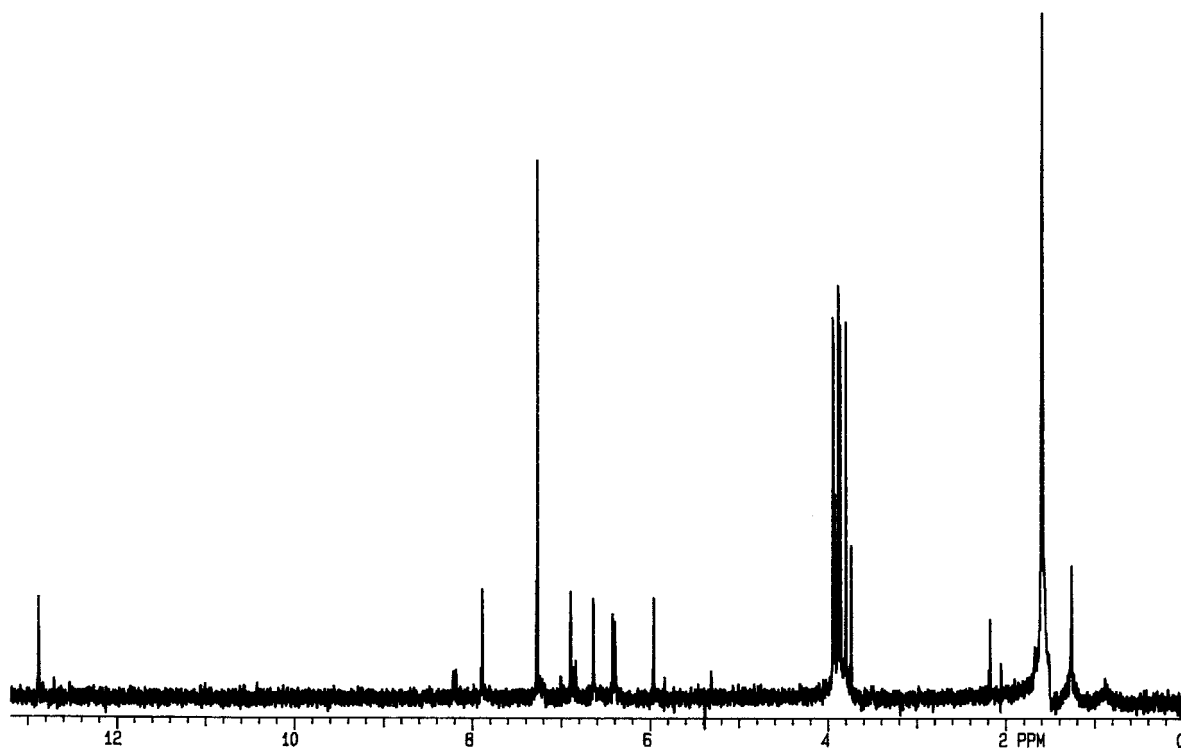


Figura 50- Espectro de RMN de ^1H da isoflavona VI [300 MHz, CDCl_3]

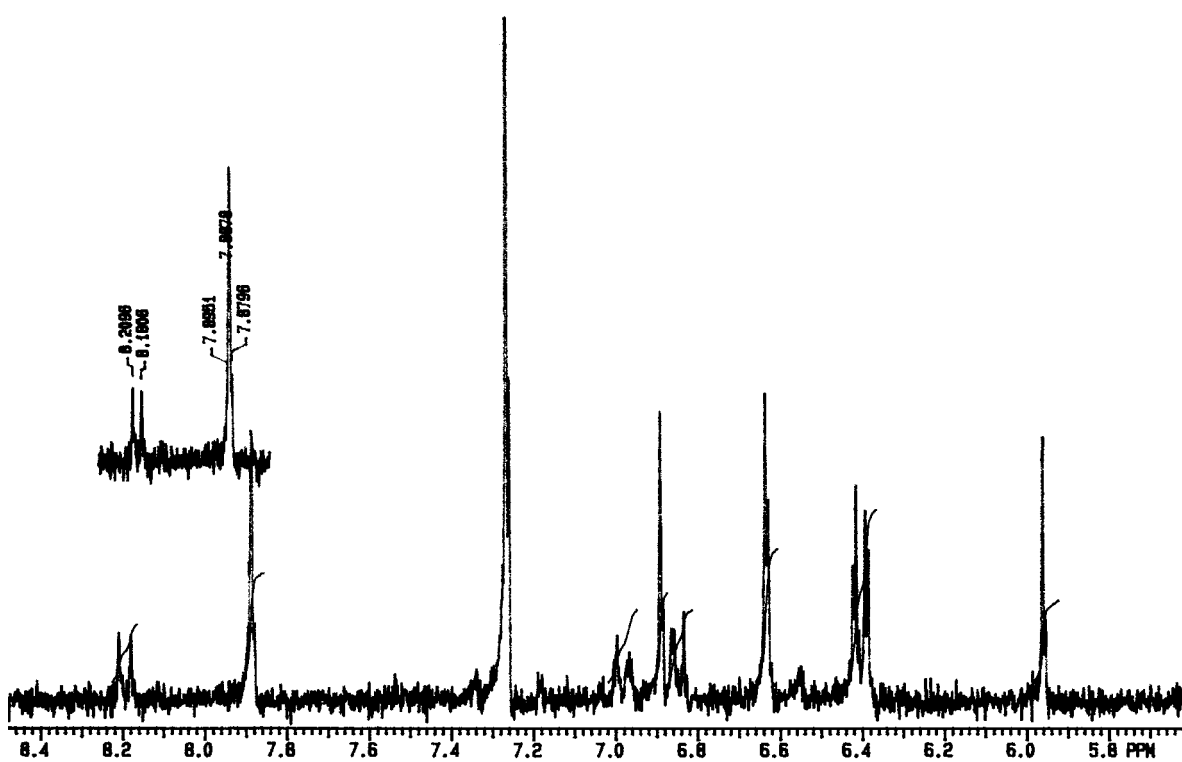


Figura 51- Expansão do espectro de RMN de ^1H da isoflavona **VI** [300 MHz, CDCl_3]

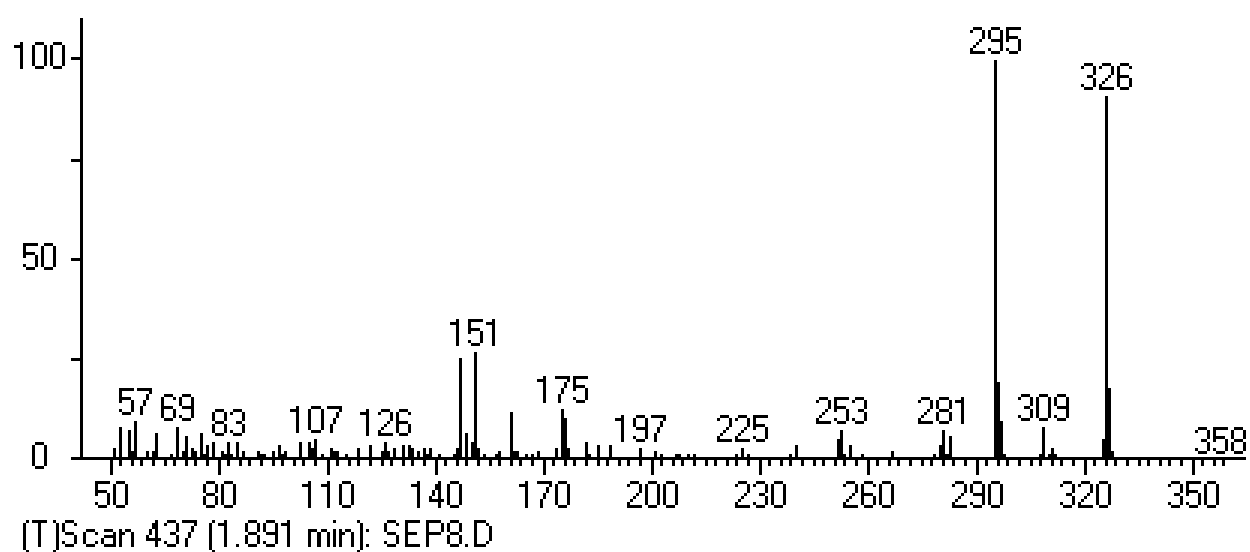


Figura 52- Espectro de massas da isoflavona V obtido por inserção direta [I.E., 70 eV]

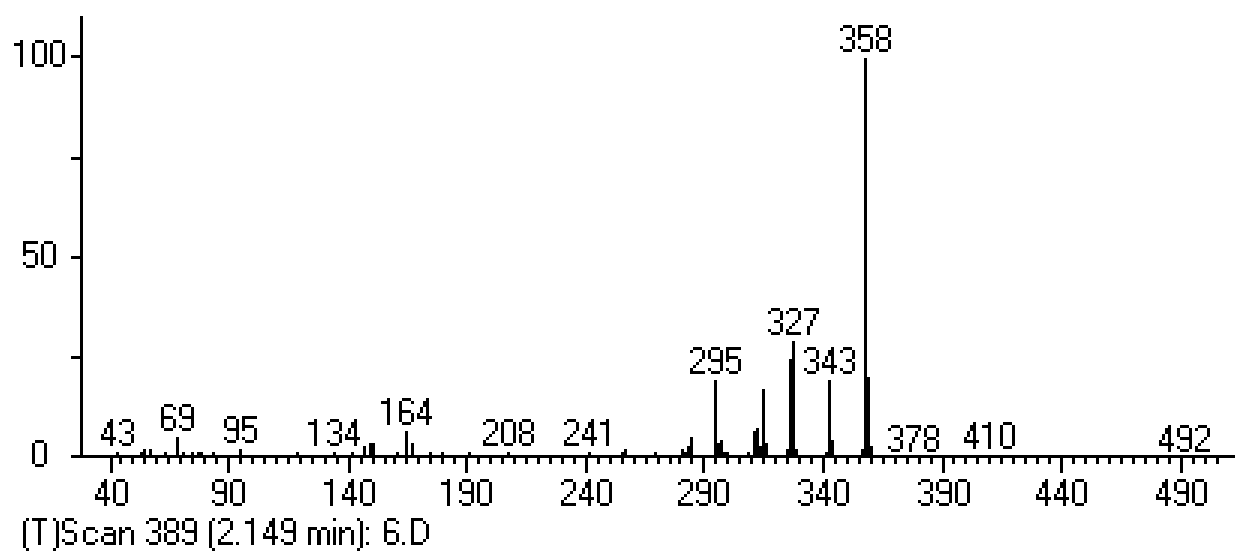


Figura 53- Espectro de massas da isoflavona VI obtido por inserção direta [I.E., 70 eV].

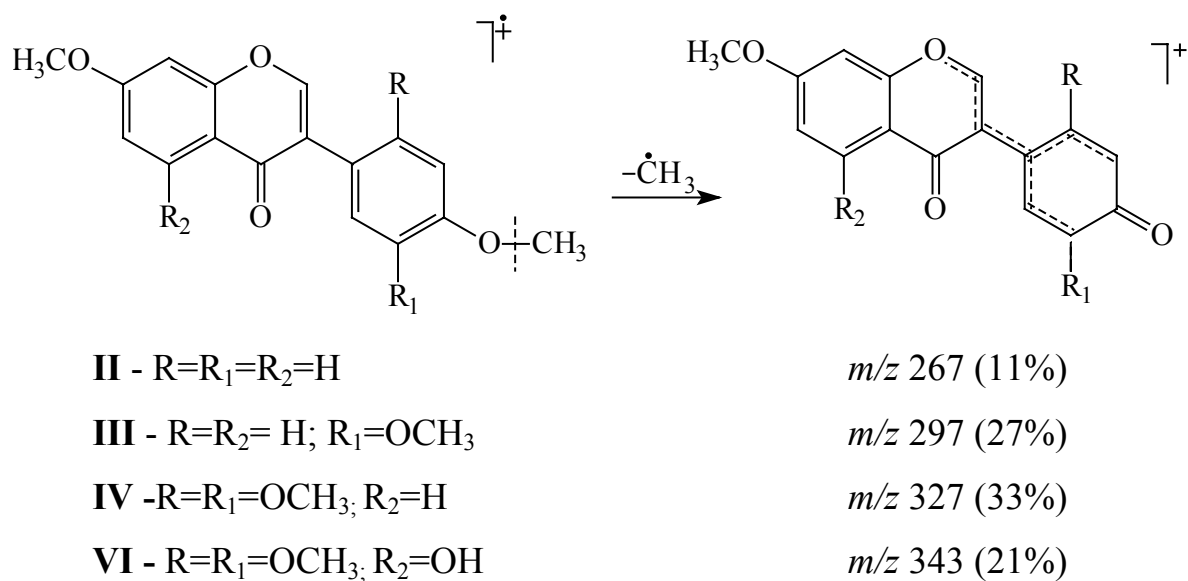


Figura 54– Proposta de fragmentação para a perda de metila nas isoflavonas **II, III, IV e VI**

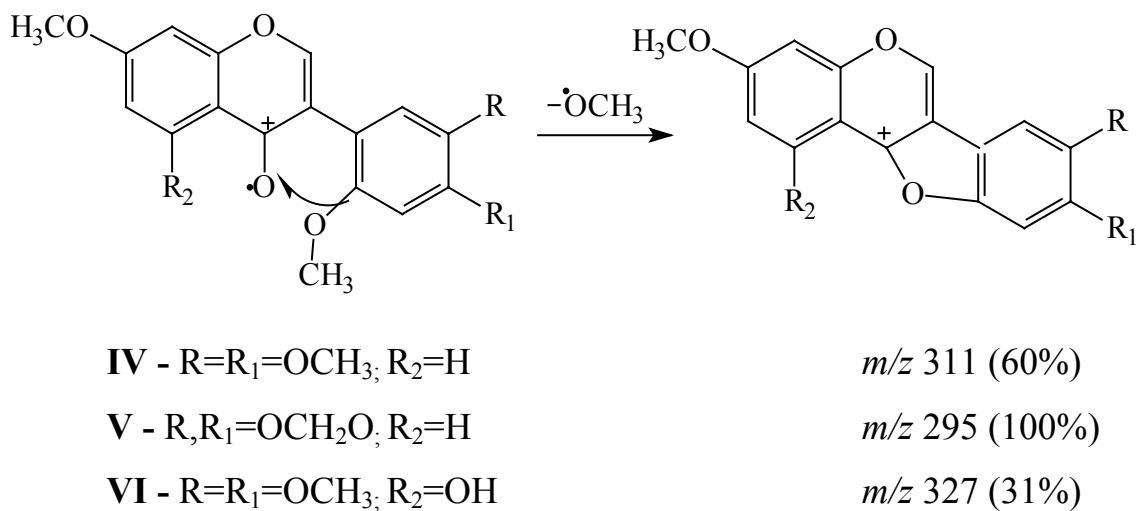


Figura 55–Proposta de fragmentação para a perda de metoxila nas isoflavonas **IV, V e VI.**

Tabela 04- Dados de RMN de ^1H das isoflavonas I – VI [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J (Hz)].

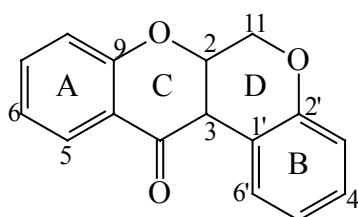
H	I	II	III	IV	V	VI
2	7,92 s	7,90 s	7,92 s	7,96 s	7,89s	7,89s
5	8,21 d (9,0)	8,19 d (8,9)	8,18 d (9,0)	8,20 d (9,0)	8,20 d (9,0)	-
6	7,00 dd (2,2, 9,0)	6,99 dd (2,5, 8,9)	7,02 dd (2,4, 9,0)	6,99 dd (2,4, 9,0)	6,99 dd (9,0, 2,4)	6,39d (2,0)
8	6,86 d (2,2)	6,84 d (2,5)	6,83 d (2,4)	6,87 d (2,4)	6,86 d (2,4)	6,42d (2,0)
2'	7,10 d (1,7)	7,50 d (8,8)	7,18 d (2,0)	-	-	
3'	-	6,97 d (8,8)	-	6,63 s	6,63 s	6,64 s
5'	6,88 d (7,4)	6,97 d (8,8)	6,90 d (8,3)	-	-	
6'	6,97 dd (1,7, 7,4)	7,50 d (8,8)	6,98 dd (2,0, 8,3)	6,94 s	6,83 s	6,89 s
OCH ₃	3,92 s	3,83 s 3,90 s	3,88 s 3,89 s 3,90 s	3,78 s 3,86 s 3,92 s 3,93 s	3,73 s 3,92 s	3,80 s 3,87 s 3,88 s 3,94 s
OCH ₂ O	6,00 s	-	-	-	5,96 s	
OH	-	-	-	-	-	12,88s

Tabela 05- Dados de RMN de ^{13}C das isoflavonas I–IV [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].

C	I	II	III	IV
2	152,20	152,01	152,23	154,24
3	125,00	124,92	124,62	121,82
4	175,66	175,65	175,91	175,75
5	127,73	127,72	127,73	127,81
6	114,56	114,49	114,59	114,36
7	163,96	163,89	164,00	163,95
8	100,02	100,03	100,08	100,33
9	157,86	157,86	157,91	158,02
10	118,27	118,27	118,36	118,62
1'	125,66	124,79	124,90	112,73
2'	109,72	130,08	112,51	152,14
3'	147,56	113,89	148,75	99,07
4'	147,61	159,51	149,07	150,08
5'	108,32	113,89	111,14	143,42
6'	122,32	130,08	121,02	115,41
OMe	55,79	55,29	55,80	55,80
	-	55,79	55,92	56,28
	-	-	55,94	56,71
	-	-	-	57,00
OCH ₂ O	101,11	-	-	-

ROTENÓIDES

Conhecidos também como 2-metileno-2'-epoxiisoflavonóides, os rotenóides são constituídos por um sistema cíclico de quatro anéis, sendo dois anéis aromáticos e dois heterocíclicos.



A junção dos anéis heterocíclicos C e D ocorre usualmente na forma *cis*. O carbono metilênico C-11 apresenta deslocamento químico na faixa de 62,4 a 67,7 ppm enquanto o carbono C-4 apresenta deslocamento entre 183,9 ppm e 195,6 ppm; dependendo do substituinte ligado ao carbono C-5 [Agrawal e Bansal, 1989].

Todos os rotenóides encontrados na natureza possuem em sua estrutura um grupo metoxílico ligado ao carbono C-4'. Assim o carbono C-1' fica protegido devido aos efeitos *orto* e *para* dos substituintes oxigenados em C-2' e C-4' [Agrawal e Bansal, 1989].

Os rotenóides isolados de *Poiretia bahiana* são conhecidos como rotenona e 12a-hidroxirotenona. Estes rotenóides podem ser distinguidos através dos deslocamentos químicos apresentados pelos carbonos C-2, C-3 e C-11 no espectro de RMN de ^{13}C , conforme mostrado na Tabela 06 (p.110)

Tabela 06-Intervalos esperados para δ (ppm) dos carbonos C-2, C-3 e C-11 nos espectros de RMN de ^{13}C das rotenonas

	C-2	C-3	C-11
rotenona	71,6 – 72,2 (CH)	43,5 – 45,3 (CH)	65,1 – 66,8 (CH ₂)
12a-hidroxirotenona	75,6 – 77,2 (CH)	67,7 – 68,4 (C)	63,2 – 64,0 (CH ₂)

Identificação de VII

A substância **VII** foi identificada através das análises dos seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e de massas e por comparação com os dados da literatura [Agrawal e Bansal, 1989; Messana et al, 1986; Carlson et. al., 1973; Braz Filho et. al., 1975; Li et. al.,1993].

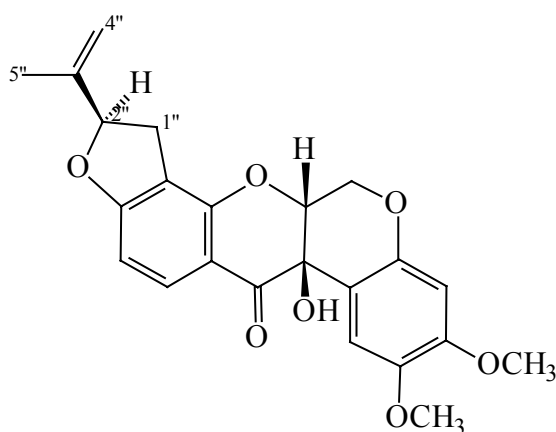
O espectro de RMN de ^1H da substância **VII** (Figura 56, p.114) apresentou dois singletos em 3,65 ppm e 3,75 ppm, referentes aos hidrogênio metoxílicos, um dubleto centrado em 6,46 ppm ($J=8,6$ Hz), atribuível ao hidrogênio H-6, mostrando acoplamento com um dubleto em 7,77 ppm ($J=8,6$ ppm), correspondente ao hidrogênio H-5 e dois singletos em 6,54 ppm e 6,43 ppm, que foram atribuídos aos hidrogênios H-6' e H-3' respectivamente. Este espectro apresentou ainda um singlete em 1,75 ppm (3H) atribuível aos hidrogênios metílicos (H-5'') e singletos em 4,88 ppm (1H) e 5,01 ppm (1H) atribuíveis aos hidrogênios metilênicos (H-4''a e H-4''b) do grupo prenílico. Os sinais dos hidrogênios ligados ao carbono C-1'' apareceram como duplos dubletos, centrados em 2,88 ppm ($J=15,8$ Hz e $J=8,1$ Hz) e 3,24 ppm ($J=15,8$ Hz e $J=9,7$ Hz). O sinal correspondente ao hidrogênio H-2'' apareceu como um tripleto largo em 5,18 ppm ($J=8,8$ Hz). O sinal referente ao hidrogênio H-2 apareceu como um dubleto largo centrado em 4,56 ppm ($J=2,3$ Hz) e os sinais referentes aos hidrogênios ligados ao C-11 apareceram como um dubleto largo em 4,45 ppm ($J=11,2$ Hz) e um duplo dubleto centrado em 4,55 ($J= 11,2$ e $J=2,3$) (Figura57, p.114) (Tabela 07, p.121).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 58, p.115) apresentou 24 sinais, sendo 23 atribuíveis aos carbonos da substância **VII** e um sinal em 29,6 ppm, atribuível a uma impureza de natureza graxa. Através da comparação com o DEPT 135° (Figura 59, p.115) foi possível atribuir seis sinais referentes a

carbonos metínicos, um sinal referente a carbono metílico, dois sinais referentes a carbonos metoxílicos, três sinais referentes a carbonos metilênicos e onze sinais referentes a carbonos não hidrogenados. O sinal em 191,03 ppm (C), referente a carbono carbonílico e os sinais em 75,87 ppm (CH), 67,48 ppm (C) e 63,65 ppm (CH₂) corroboraram com a hipótese de rotenóide do tipo 12a-hidroxirotenona. As atribuições dos sinais correspondentes a todos os carbonos da substância **VII** são mostradas na Tabela 08 (p.121)

O espectro de massas de **VII** (Figura 60, p.116), obtido através da ionização por impacto de elétrons (70 eV), apresentou como pico do íon molecular o sinal com m/z 410 (15,9%) e o pico base com m/z 208 (100%) correspondente ao fragmento mostrado na Figura 64, (p.120), confirmando a fórmula molecular C₂₃H₂₁O₇, proposta para a estrutura.

A comparação dos dados acima descritos, com os apresentados na literatura [Agrawal e Bansal, 1989; Messana et al, 1986] confirmou a identificação da substância **VII** como 12a-hidroxirotenona.



VII- 12a-hidroxirotenona

Este rotenóide foi anteriormente encontrado nas espécies *Derris floribunda*, *Derris amazonica*, *Derris urucu* [Braz Filho et. al.,1975], *Piscidia mollis* [Ingham, 1983] e em espécies dos gêneros *Lonchocarpus* e *Tephrosia* [Ingham, 1983]. Esta substância apresentou atividades inseticidas descritas na literatura [Harbone e Baxter, 1993].

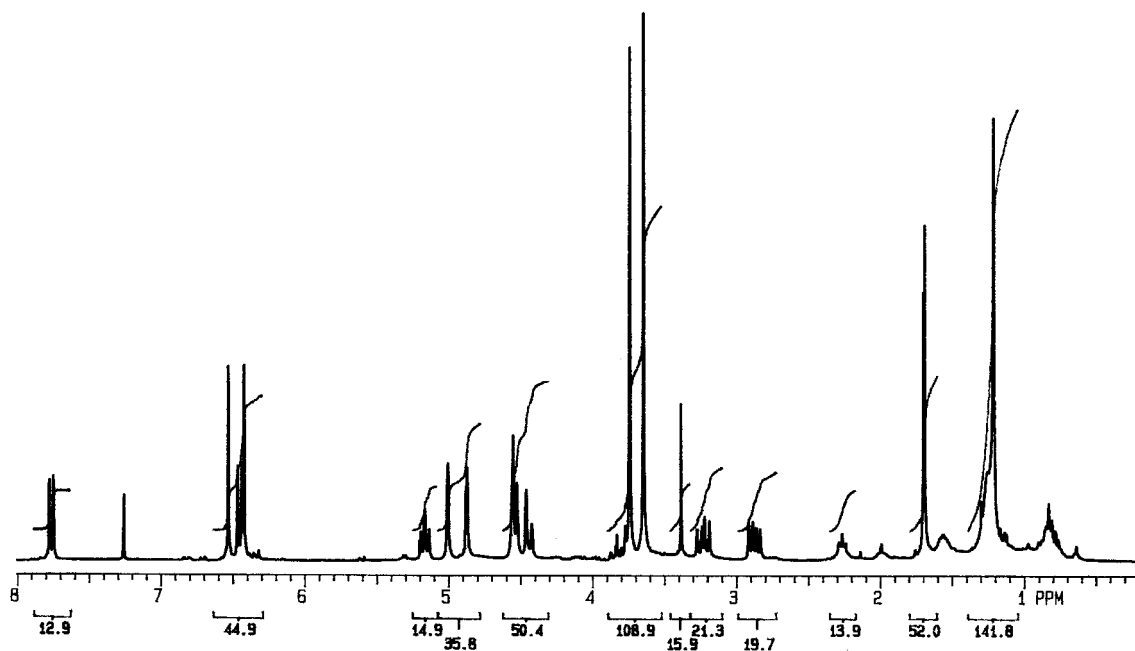


Figura 56- Espectro de RMN de ^1H do rotenóide VII [300 MHz, CDCl_3]

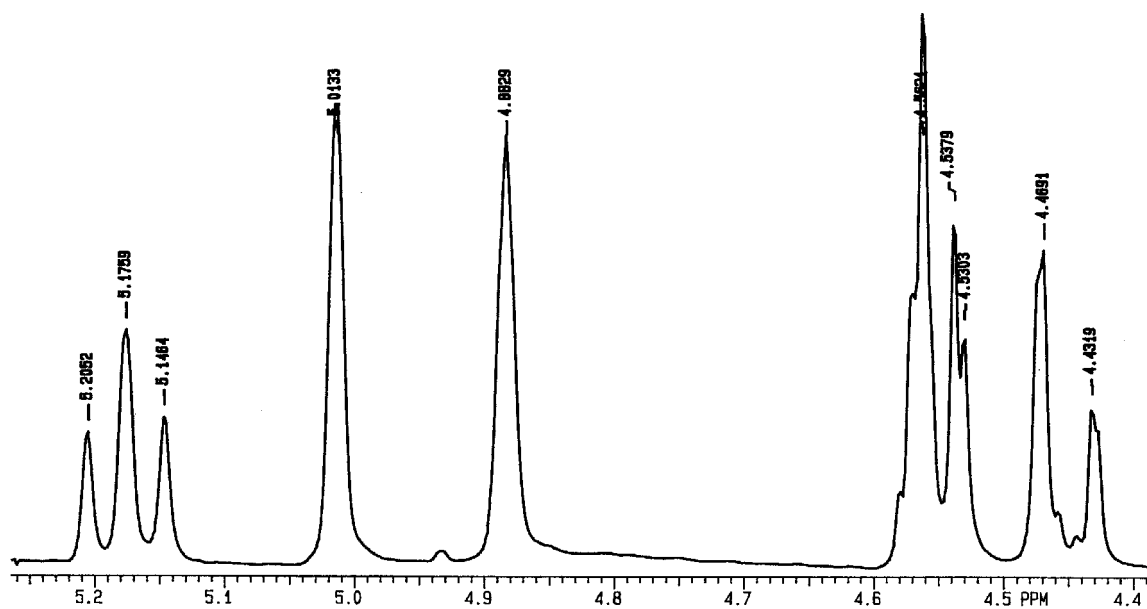


Figura 57- Expansão do espectro de RMN de ^1H do rotenóide **VII** [300
MHz,
 CDCl_3]

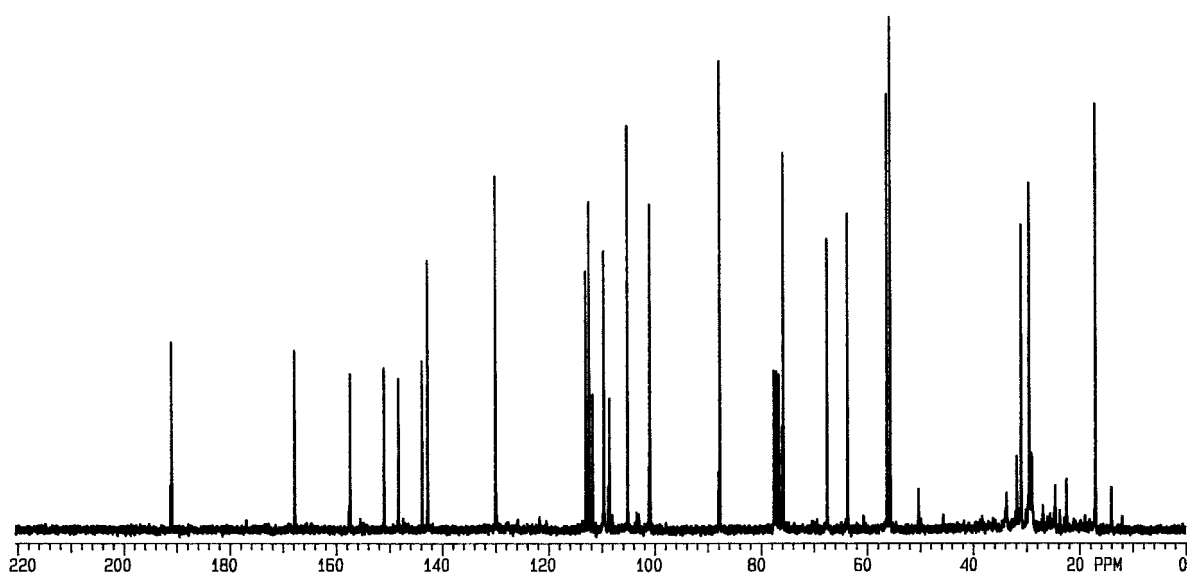


Figura 58- Espectro de RMN de ^{13}C do rotenóide VII [75 MHz, CDCl_3]

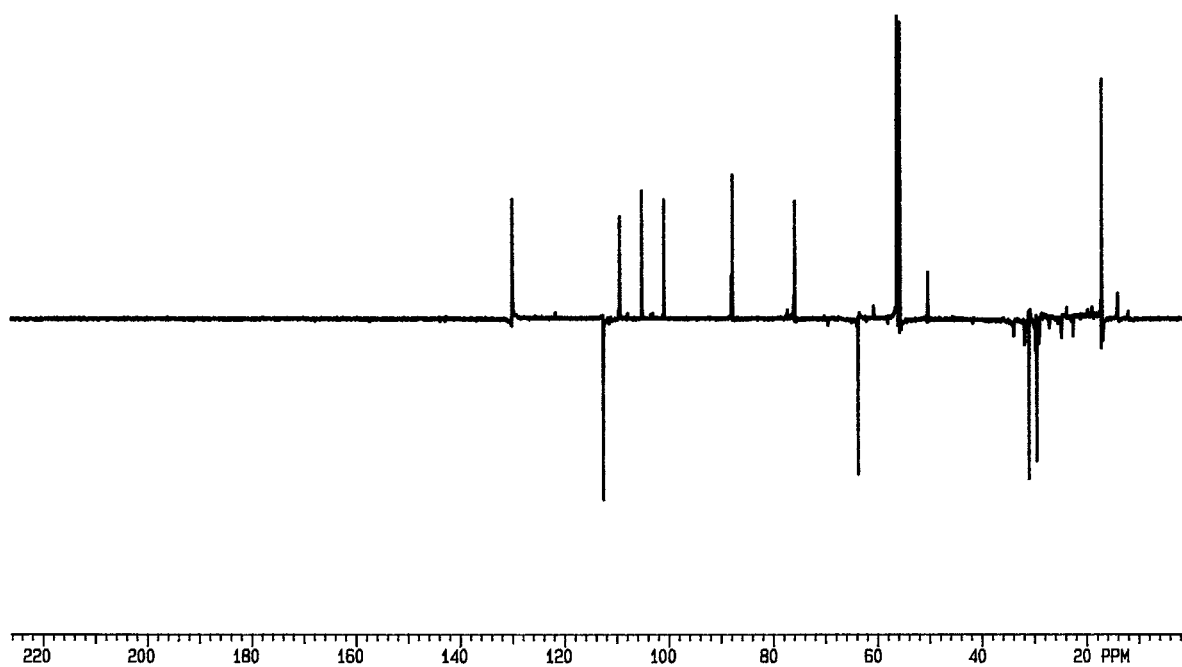


Figura 59- Espectro DEPT 135^o do rotenóide VII [75 MHz, CDCl_3]

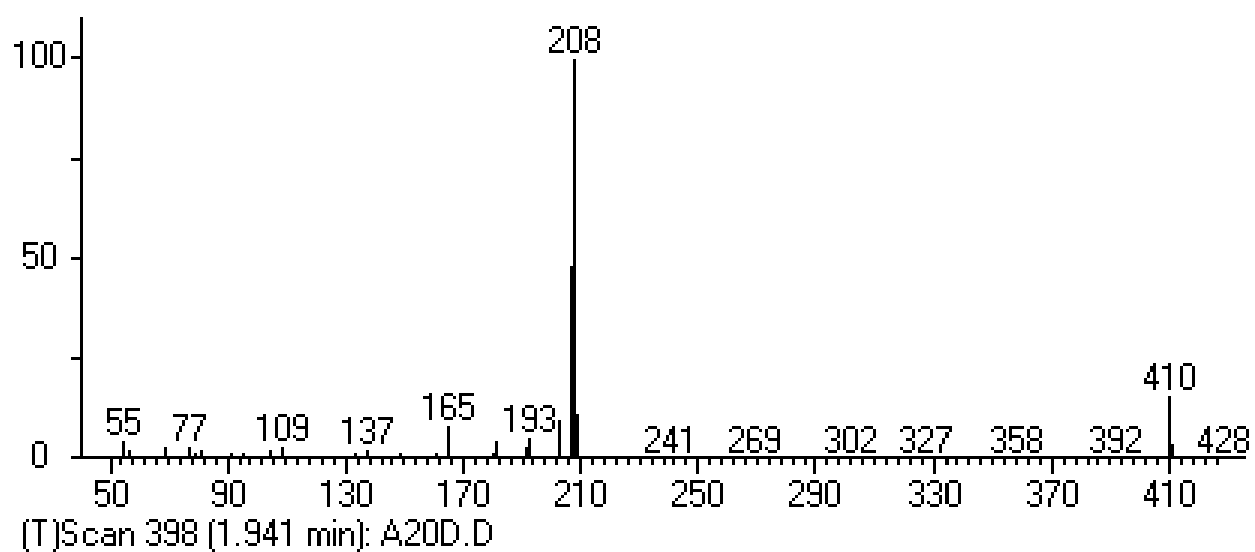


Figura 60- Espectro de massas do rotenóide **VII** obtido por inserção direta
[I.E., 70 eV]

Identificação de VIII

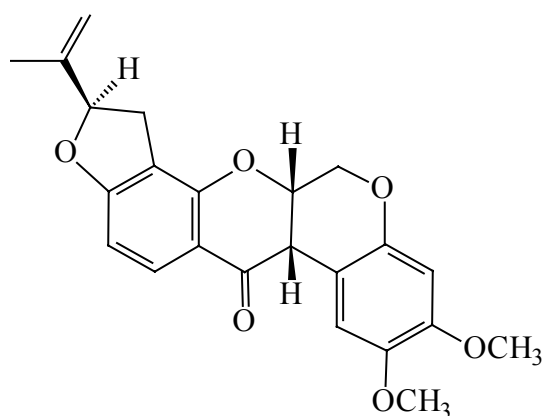
A substância **VIII** foi obtida em uma mistura de difícil separação e foi identificada através das análises dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° da mistura, pelo seu espectro de massas e por comparação com os dados descritos na literatura [Agrawal e Bansal 1989; Braz Filho et. al.,1975].

O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 61, p.119) apresentou vários sinais correspondentes às substâncias presentes, sendo possível atribuir alguns sinais aos hidrogênios substância da **VIII** (Tabela 07, p.121).

Dentre os sinais apresentados pelo espectro de RMN de ^{13}C da mistura, (Figura 62, p.119) alguns foram coincidentes com os correspondentes a carbonos da substância **VII**, exceto os atribuíveis aos carbonos C-2 (72,18 ppm); C-3 (44,57 ppm) e C-11 (66,25 ppm), característicos de rotenóides do tipo rotenona. Através da comparação com o espectro DEPT-135° foi possível identificar três carbonos metilênicos, sete metínicos, um metílico e dois metoxílicos. As atribuições dos sinais correspondentes aos carbonos da substância **VIII** são mostrados na Tabela 08 (p.121).

O espectro de massas da substância **VIII** (Figura 63, p.120), obtido através ionização por elétrons (70 eV), apresentou como pico do íon molecular o sinal com m/z 394 (18,1%) e o pico base com m/z 192 (100%), correspondente ao fragmento mostrado na Figura 64, (p.120), confirmando a fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{O}_6$ proposta para a substância. Esta atribuição foi confirmada pela comparação com a espectroteca existente no equipamento.

A comparação desses dados com os apresentados na literatura [Agrawal e Bansal, 1989; Braz Filho et al,1975] confirmou a identificação da substância **VIII** como rotenona.



VIII – Rotenona

Este rotenóide foi encontrado em espécies dos gêneros *Derris*, *Lonchocarpus*, *Milletia* e *Tephrosia*, apresentando atividades inseticidas e antiprotozoárias. Para o homem, esta substância é mais tóxica quando inalada que quando ingerida [Harbone e Baxter, 1993].

A junção dos anéis C/D das rotenonas **VII** e **VIII** foi atribuída como *cis* com base nos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-6' [Crombie, 1962]. Nos compostos em que a junção é *trans* o hidrogênio H-6' apresenta deslocamento químico próximo de 7,8 ppm; enquanto que nos compostos com junção *cis* o hidrogênio H-6' apresenta deslocamento em torno de 6,7 ppm.

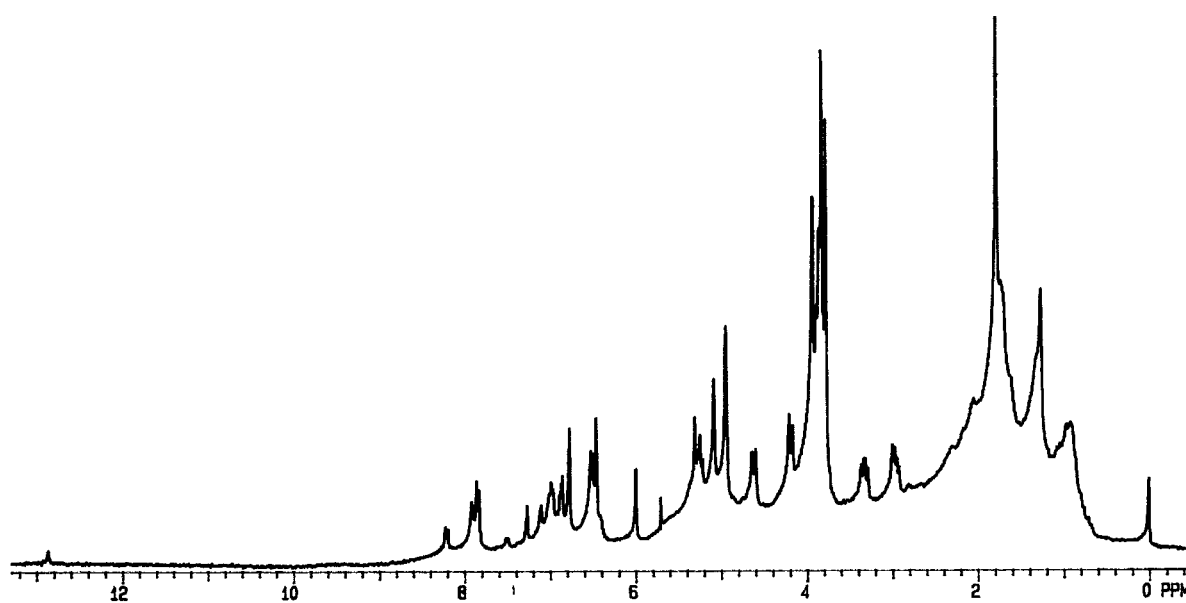


Figura 61- Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo o rotenóide **VIII** [300 MHz, CDCl_3]

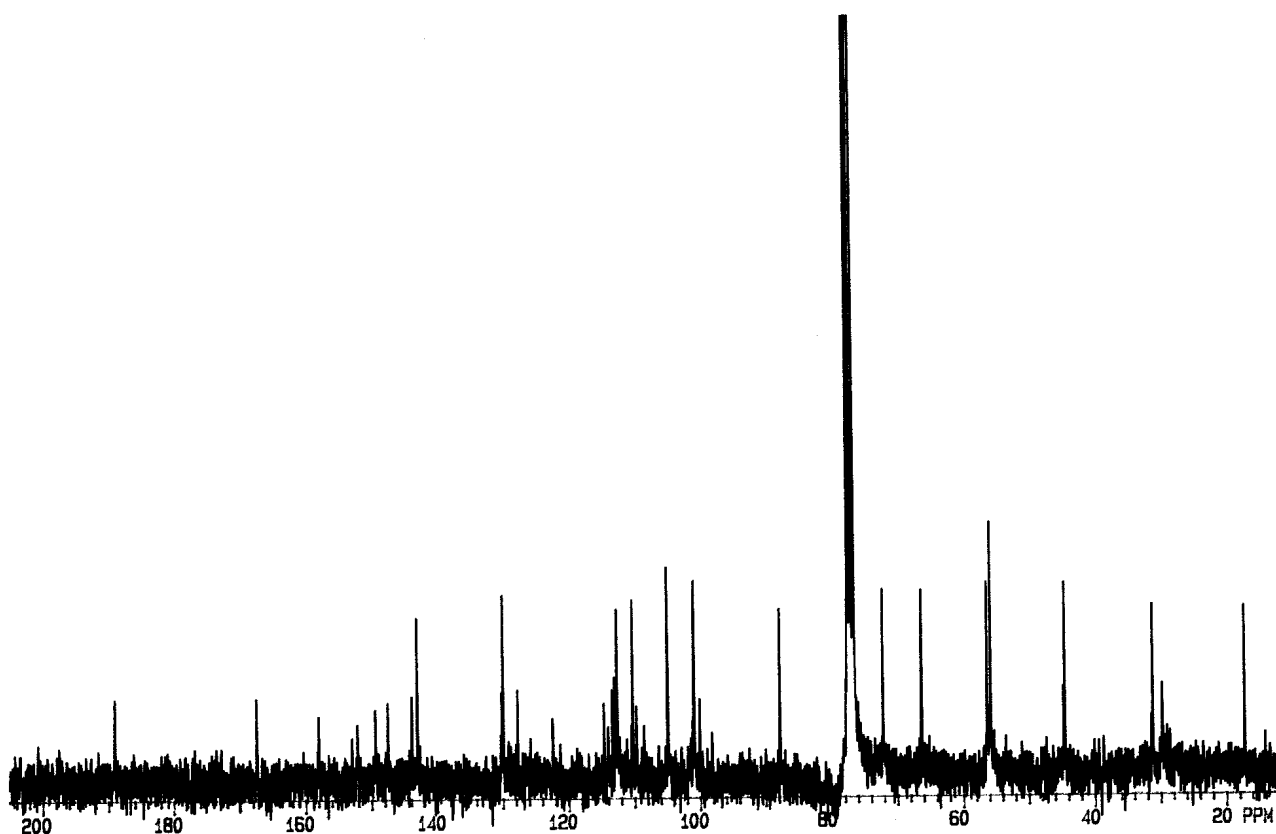


Figura 62- Espectro de RMN de ^{13}C da mistura contendo o rotenóide **VIII** [75 MHz, CDCl_3]

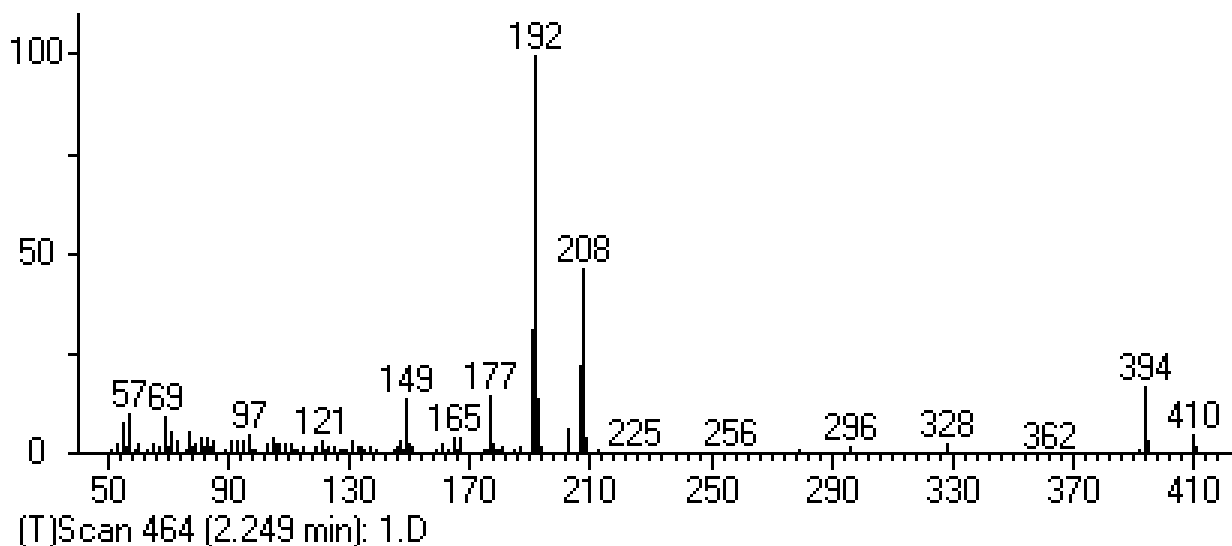


Figura 63- Espectro de massas da mistura dos rotenóides **VII** e **VIII** obtido por inserção direta [I.E., 70 eV]

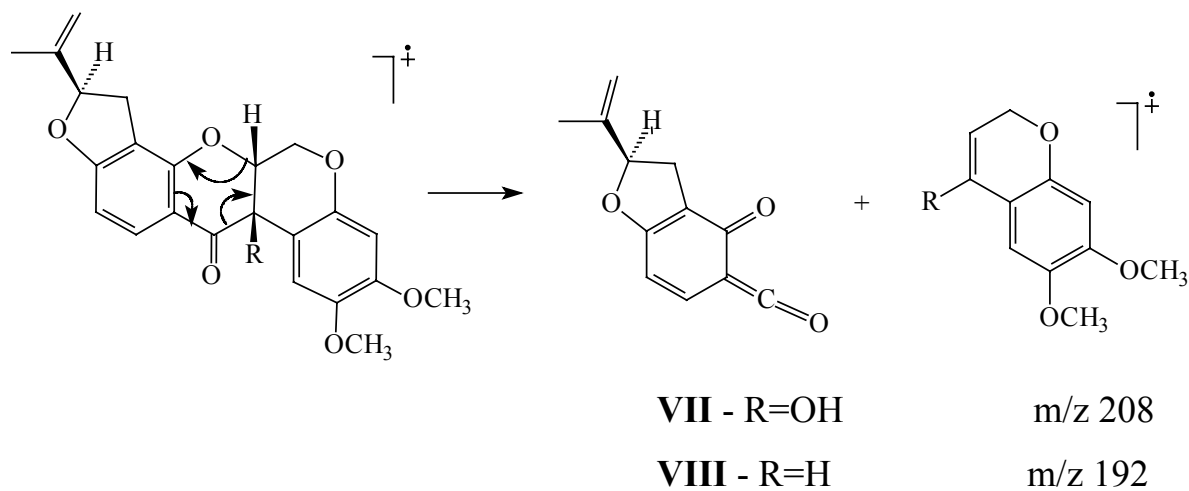


Figura 64 –Proposta de fragmentação para os espectros de massas de **VII** e **VIII**

Tabela 07- Dados de RMN de ^1H das rotenonas **VII** e **VIII** [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm), J(Hz)].

H	VII	VIII	H	VII	VIII
2	4,56 dl (2,3)	*	1''	2,88 dd (8,1 ; 15,8) 3,24 dd (9,7 ; 15,8)	2,95 dd (8,5 ; 15,5) 3,32 dd (9,9 ; 15,5)
5	7,77 d (8,6)	7,84 d (8,3)	2''	5,18 tl (8,8)	5,26 dd (8,5 ; 9,9)
6	6,46 d (8,6)	6,51 d (8,3)	4''	4,88 s 5,01 s	4,94 s 5,07 s
11	4,45 dl (11,2) 4,55 dd (11,2 ; 2,3)	*	5''	1,77 s	1,77s
3'	6,43 s	6,46 s	OCH ₃	3,65 s	3,77 s
6'	6,54 s	6,77 s		3,75 s	3,81 s

* Sinais não observados

Tabela 08- Dados de RMN de ^{13}C dos rotenóides **VII** e **VIII** [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

C	VII	VIII	C	VII	VIII
2	75,87	72,18	2'	148,29	147,32
3	67,48	44,57	3'	100,93	100,85
4	191,03	188,94	4'	150,99	149,43
5	129,89	129,96	5'	142,71	143,83
6	105,06	104,87	6'	109,61	110,27
7	167,76	167,34	1''	30,92	31,23
8	112,96	112,94	2''	87,75	87,80
9	157,45	157,91	3''	142,70	142,99
10	111,72	114,59	4''	112,40	112,56
11	63,65	66,25	5''	16,88	17,11
1'	108,60	104,76	OCH ₃	55,61	55,82
				56,19	56,28

TRITERPENOS

Os triterpenos são metabólitos secundários que ocorrem nas floras terrestre e marinha e na fauna. O uso medicinal dessa classe de compostos tem sido limitado. No entanto, trabalhos recentes indicaram o seu grande potencial como medicamento [Mahato e Kundu, 1994].

Os triterpenos apresentam trinta átomos de carbono, sendo na sua maioria compostos policíclicos, podendo ser tetra ou pentacíclicos. Nos triterpenos pentacíclicos existem dois sistemas de anéis, conforme mostrado na Figura 65. Substância contendo esses dois tipos de sistemas de anéis foram encontradas nas folhas de *Poiretia bahiana*.

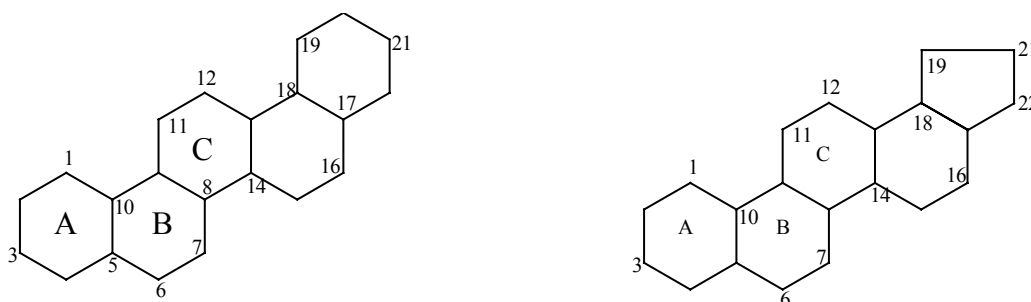


Figura 65- Tipos de sistemas de anéis para os triterpenos pentacíclicos

Identificação de IX e X

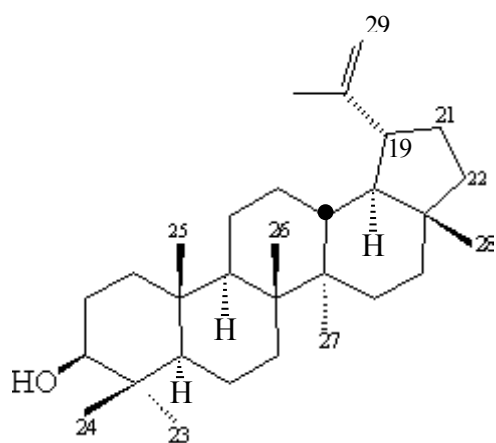
As substâncias **IX** e **X** foram obtidas em mistura e identificadas através das análises dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135° da mistura.

O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 66, p.124) apresentou vários sinais correspondentes a hidrogênios metílicos na região entre 0,77 ppm e 1,14 ppm; além de um sinal em 1,60 ppm atribuível a hidrogênios de grupo metílico ligado a carbono olefínico, um multiplete em 3,19 ppm, correspondente a hidrogênios carbinólicos ligados ao C-3, comum às duas substâncias; um triplete em 5,19 ppm, atribuível ao hidrogênio olefínico da β -amirina e dois singletos largos em 4,57 ppm e 4,62 ppm, atribuíveis aos hidrogênios ligado ao C-29 do lupeol.

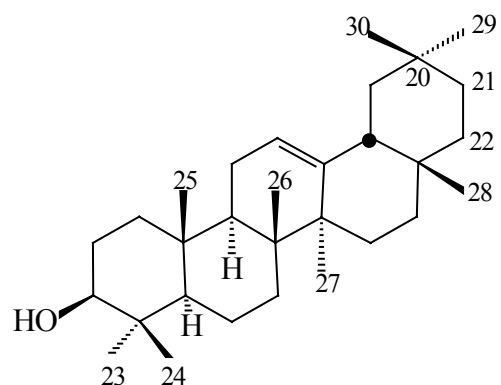
O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 67, p.125) apresentou uma grande quantidade de sinais, principalmente na região entre 14,0 ppm e 63,0 ppm, indicando uma mistura de triterpenos. Através da análise do espectro DEPT 135° (Figura 68, p.125) foi possível identificar os sinais correspondentes aos carbonos metílicos, metilênicos e metínicos e por comparação com o espectro de RMN de ^{13}C , atribuir os sinais correspondentes aos carbonos não hidrogenados.

Utilizando os valores dos deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos e por comparação com os descritos na literatura [Mahato e Kundu, 1994] foi possível identificar os dois triterpenos presentes na mistura. Os sinais que ocorreram em 145,18 ppm (C) e 121,71 ppm (CH) são característicos de triterpenos oleananos, que possuem insaturação entre os carbonos 12 e 13, e os sinais que apareceram em 150,96 ppm (C) e 109,31 ppm (CH₂) são característicos de triterpenos lupano com insaturação entre os carbonos C-20 e C-29 respectivamente (Tabela 09, p.126).

A comparação de todos esses dados com os descritos na literatura permitiu identificar os componentes da mistura como β -amirina e lupeol.



X - lupeol



IX - β -amirina

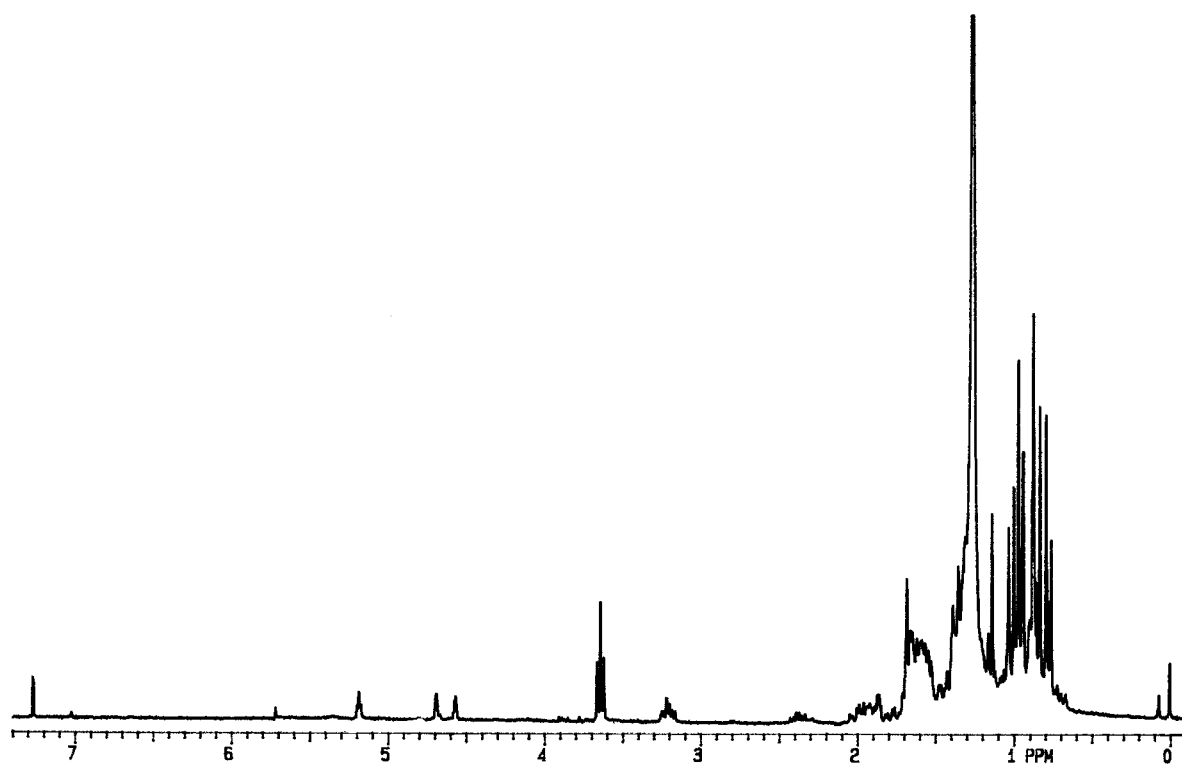


Figura 66- Espectro de RMN de ^1H da mistura contendo os triterpenos

IX e X

[300 MHz, CDCl_3]

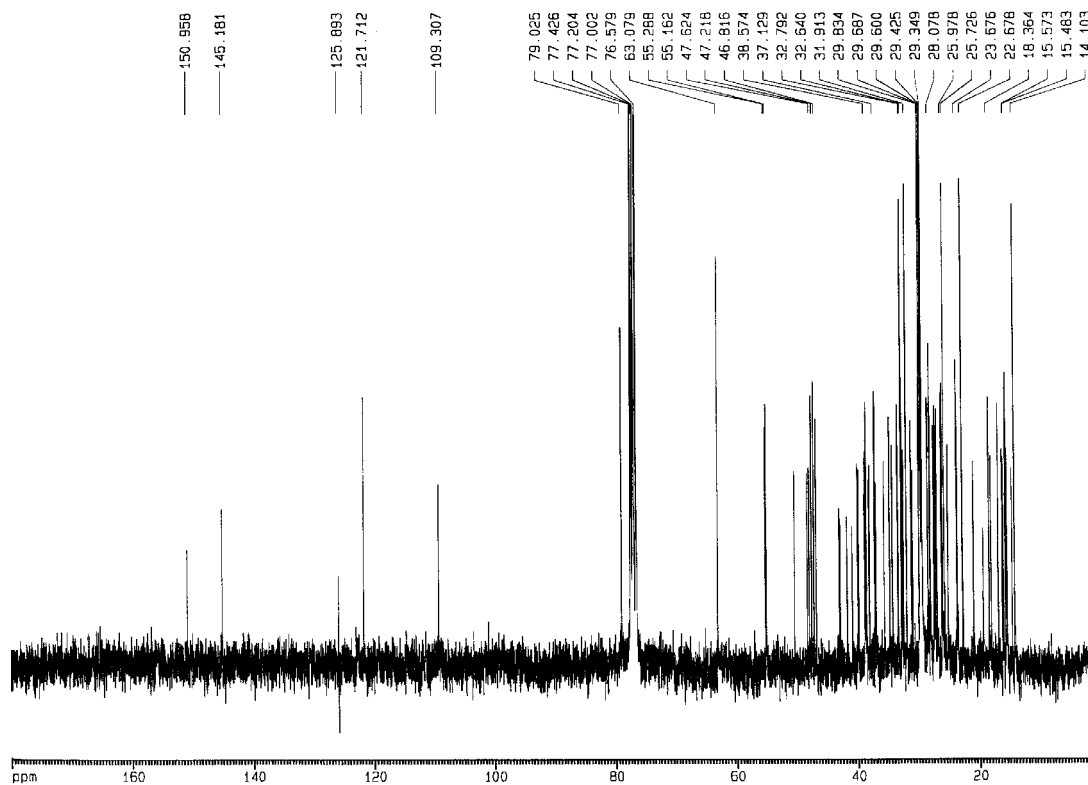


Figura 67- Espectro de RMN de ^{13}C da mistura contendo os triterpenos IX e X [75 MHz, CDCl_3]

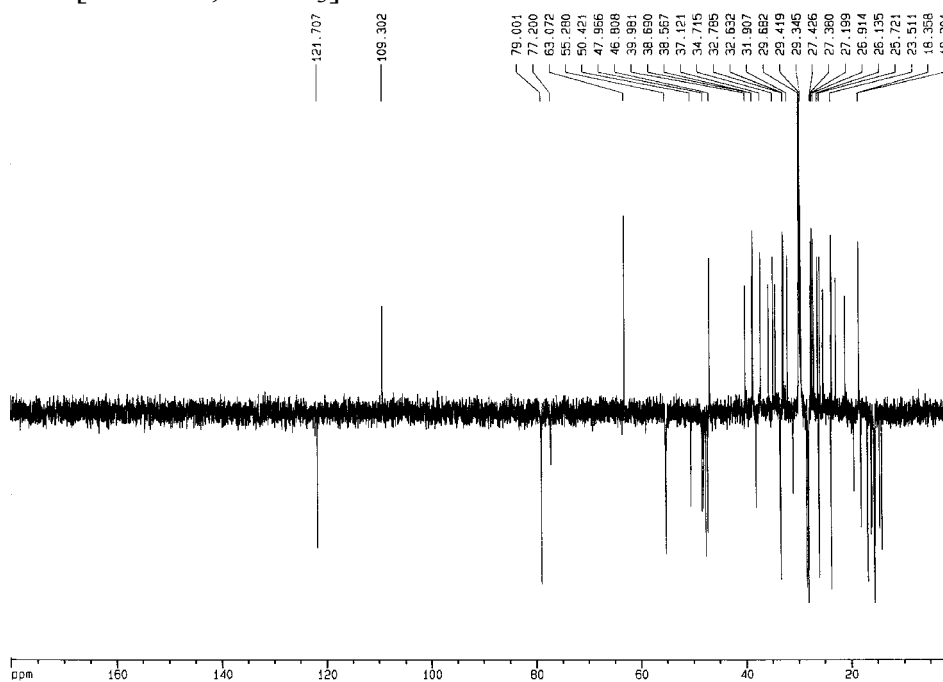


Figura 68- Espectro DEPT 135° da mistura contendo os triterpenos IX e X [75 MHz, CDCl_3].

Tabela 09- Dados de RMN de ^{13}C dos triterpenos **IX** e **X** [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].

C	β- amirina	Lupeol	C	β- amirina	Lupeol
1	38,69	38,69	16	26,92	35,57
2	27,30	27,29	17	32,48	42,99
3	79,02	79,02	18	47,21	48,29
4	38,78	38,79	19	46,82	47,97
5	55,29	55,16	20	31,07	150,96
6	18,36	18,31	21	34,72	29,83
7	32,79	34,27	22	37,13	39,99
8	38,84	39,99	23	27,97	28,08
9	47,22	50,43	24	15,48	15,35
10	36,94	37,13	25	15,57	16,10
11	23,52	20,92	26	16,79	15,96
12	121,71	25,13	27	26,14	14,53
13	145,18	38,04	28	28,39	17,99
14	41,70	42,82	29	33,32	109,31
15	26,14	27,43	30	23,67	19,29

ESTERÓIDES

Os esteróides estão largamente distribuídos na natureza, sendo encontrados em plantas e animais vertebrados e invertebrados. Nos humanos são encontrados esteróides como o estradiol (hormônio feminino) e a testosterona (hormônio masculino) [Heftmann, 1975].

Os esteróides apresentam esqueletos contendo 27 a 29 átomos de carbono, compostos por estruturas tetracíclicas. Geralmente o carbono C-17 do anel D encontra-se substituído por uma cadeia lateral, que pode conter de 7 a 10 átomos de carbono e a posição 3 do anel A pode ou não estar substituída por grupos funcionais como hidroxílico ou carbonílico.

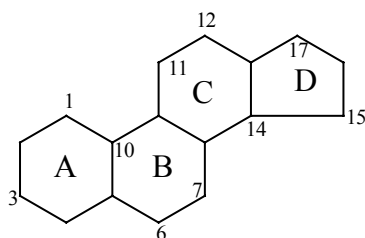


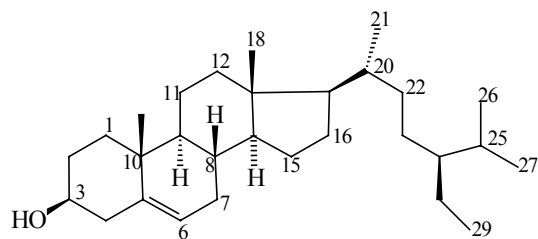
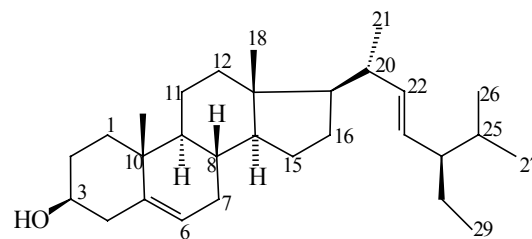
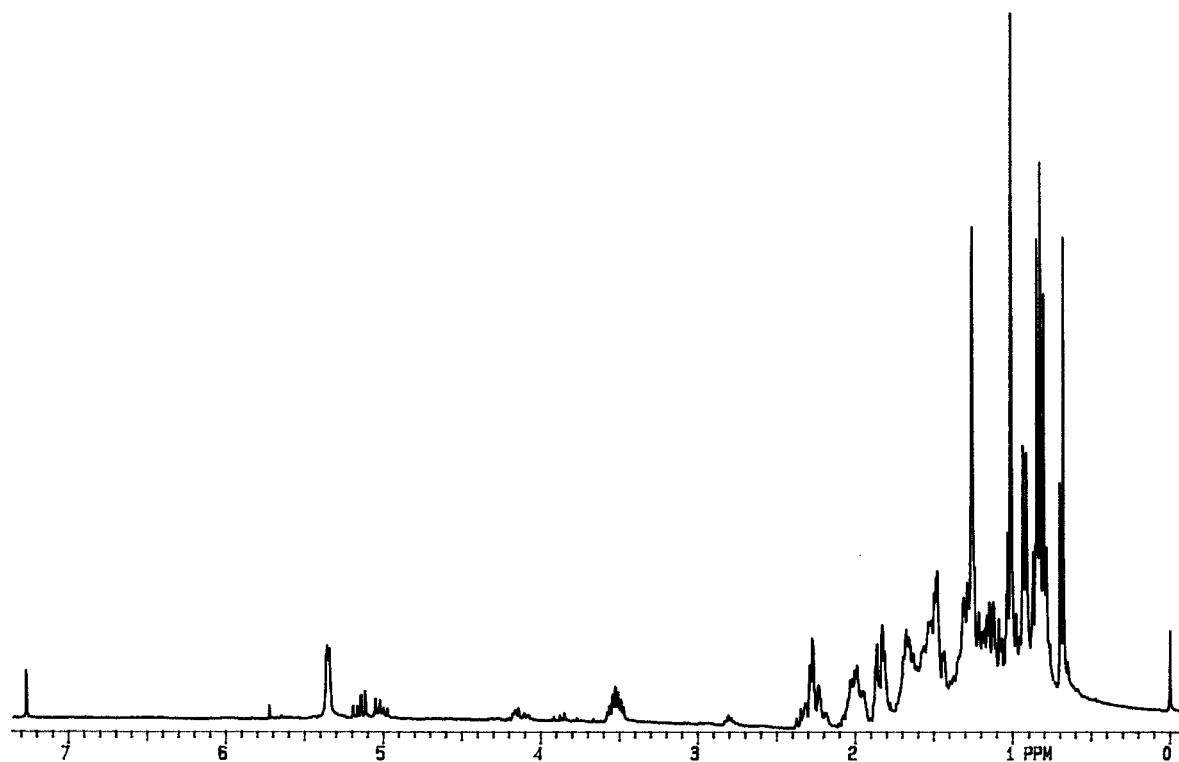
Figura 69 - Sistema de anéis para os esteróides

Identificação de XI e XII

As substâncias **XI** e **XII** foram obtidas em mistura de difícil separação, apresentando uma única mancha em CCDC, mesmo quando desenvolvida com vários eluentes.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 70, p.129) dessa mistura foi bastante característico de esteróides, apresentando alguns sinais comuns às duas substâncias, tais como os sinais entre 0,6 ppm e 1,0 ppm, correspondentes a grupos metílicos, um multiplete próximo de 3,5 ppm, referente aos hidrogênios carbinólicos H-3 e um dubleto largo próximo de 5,3 ppm, correspondente aos hidrogênios olefinicos H-6. O espectro mostrou ainda dois múltiplos entre 4,9 e 5,2 ppm, correspondentes aos hidrogênios H-22 e H-23 da substância **XII**. A comparação desses dados com os obtidos na literatura [Núñez, 1996; Ribeiro, 1999] permitiu identificar o β -sitosterol e o estigmasterol como os constituintes da mistura.

Estas identificações foram confirmadas após comparações em CCDC com amostras autênticas dos dois esteróides, desenvolvidas com vários eluentes e reveladas com vapores de iodo e com solução de sulfato cérico em ácido sulfúrico.

**XI – sitosterol****XII - estigmasterol****Figura 70 - Espectro de RMN de ^1H da mistura dos esteróides XI e XII**

[300

MHz, CDCl_3]

Identificação e determinação estrutural dos constituintes químicos do extrato metanólico de *Poiretia bahiana*.

Determinação estrutural de XIII

A substância **XIII** teve sua estrutura determinada com base nas análises de seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT 135° , HOMOCOSY, HETCOR, COLOC, IV e de massas.

O espectro de absorção na região do infravermelho da substância **XIII** (Figura 71, p.132) apresentou uma banda larga e intensa em 3400 cm^{-1} , referente à deformação axial da ligação O-H, bandas em 2919 cm^{-1} , referentes a deformação axial das ligações C-H alifáticos, 1642 cm^{-1} , referente à deformação axial da ligação C=O; 1615 cm^{-1} , 1523 cm^{-1} e 1448 cm^{-1} , referentes às deformações axiais das ligações C=C dos anéis aromáticos e bandas entre 1000 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} , relativas à deformação axial de C-O.

O espectro de RMN de ^1H de **XIII** (Figura 72, p.133) mostrou um singlete em 8,24 ppm com integração para um hidrogênio, atribuível ao hidrogênio H-2 de isoflavona. A substituição no anel A foi deduzida pela presença de um duplo dubleto em 7,16 ppm (1H, $J=8,9$ e $J=2,2$ Hz) atribuível ao hidrogênio H-6, que apresentou acoplamentos em *orto* com um dubleto em 8,02 ppm (1H, $J=8,9$ Hz), correspondente ao hidrogênio H-5, e em *meta* com um dubleto em 7,24 ppm (1H, $J=2,2$ Hz), referente ao hidrogênio H-8. O espectro apresentou ainda dois singletos em 6,77 ppm (1H) e 6,89 ppm (1H), atribuíveis aos hidrogênios H-3' e H-6', respectivamente e três singletos em 3,69 ppm (3H), 3,70 ppm (3H) e 3,83 ppm (3H), atribuíveis aos hidrogênios metoxílicos ligados ao anel B. A

ocorrência de sinais entre 3,10 e 5,11 ppm sugeriram a presença de uma unidade de açúcar ligada à molécula.

O espectro de RMN de ^{13}C de **XIII** (Figura 73, p.133) apresentou vinte e quatro sinais, que por comparação com o espectro DEPT 135° (Figura 74, p.134) foi possível identificar três sinais referentes a carbonos metoxílicos, um sinal referente a carbono metilênico, onze sinais referentes a carbonos metínicos, e nove sinais referentes a carbonos não hidrogenados. Este espectro apresentou um conjunto de sinais entre 60,0 a 80,0 ppm, que reforçaram a presença de uma unidade de açúcar na molécula. A observação de um sinal correspondente a CH_2 em 60,8 ppm no espectro DEPT-135° sugeriu que o carboidrato deveria ser glicose ou galactose.

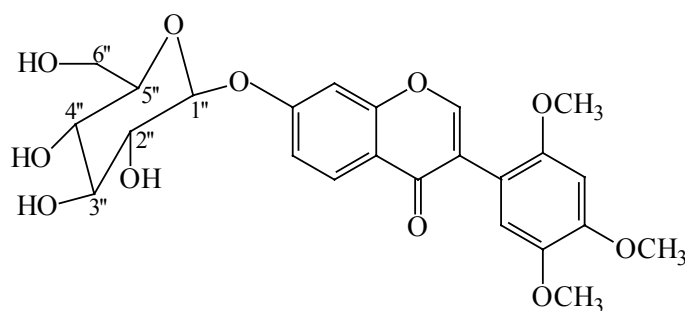
O espectro de massas obtido através de ionização química a pressão atmosférica (Figura 78, p.136) apresentou como pico do íon quasi molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ com m/z 491 e um sinal com m/z 329, correspondente a perda da molécula de açúcar (162 daltons). Comparando-se os dados do espectro de RMN de ^{13}C com os encontrados na literatura [Noreen et al, 1998] foi possível confirmar o carboidrato como glicose. O hidrogênio anomérico da glicose ocorreu como dubleto em 5,11 ppm com uma constante de $J=7,2$ Hz, indicando a configuração β para o carbono anomérico [Mabry et al, 1970].

As atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios da glicose foram realizadas através da análise do espectro HETCOR (140 Hz) (Figura 75 e 76, p.134 e 135), como mostra a Tabela 10 (p.138). A ligação da glicose ao carbono C-7 da aglicona foi deduzida através da observação de correlações no espectro COLOC (9 Hz) (Figura 77, p.136) entre os seguintes sinais: 152,0 ppm (C-2') com 3,70 ppm (OCH_3) e 6,89 ppm (H-6'), 149,8 ppm (C-4') com 3,83 ppm (OCH_3) e 6,89 ppm (H-6') e 142,4 ppm (C-5') com 3,69 ppm (OCH_3) e 6,77 ppm (H-3'), confirmando a localização das metoxilas nos carbonos 2', 4' e

5' do anel B, estando portanto a glicose ligada ao carbono C-7 (161,50 ppm) do anel A.

Estas atribuições, sumarizadas na Tabela 10 (p.138), mostram que os três grupos metoxílicos estão localizados no anel B. Assim a glicose deve estar localizada no carbono C-7.

Assim, a substância **XIII** foi identificada como 2',4',5'-trimetoxi-7-O- β -D-glicopiranosilisoflavona. Este composto, obtido como um sólido cristalino incolor de PF=154-155⁰C, apresentou atividade ótica $\{[\alpha]_D -66,7$ (c 0,07, MeOH)}. Até o momento, não encontramos dados na literatura sobre esta substância, o que sugere que a mesma seja inédita.



XIII - 2',4',5',-trimetoxi-7-O- β -D-glicopiranosilisoflavona

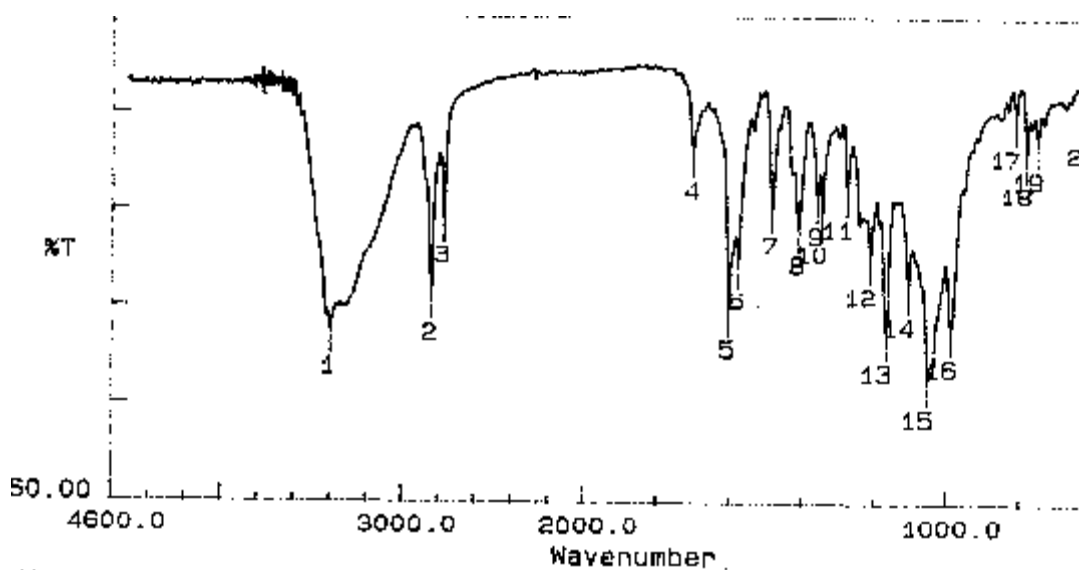


Figura 71- Espectro na região do Infravermelho da isoflavona **XIII** [KBr]

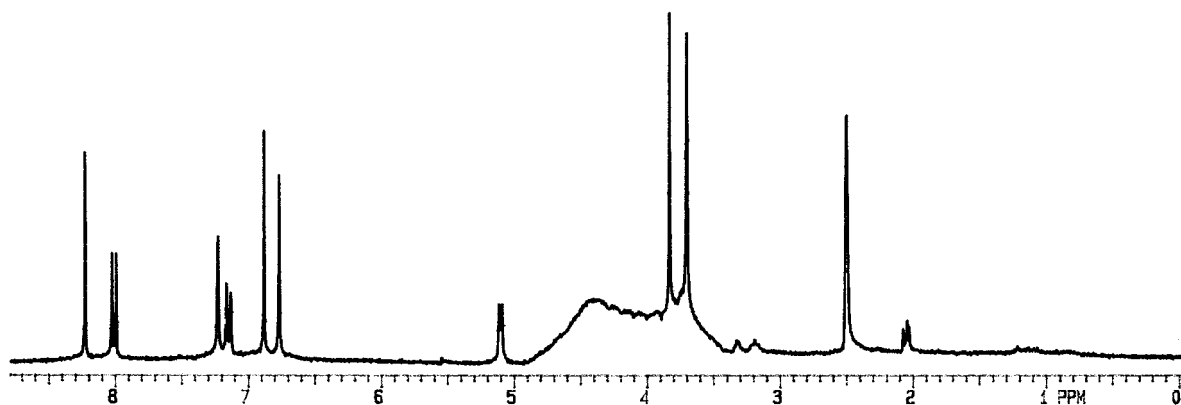


Figura 72- Espectro de RMN de ^1H da isoflavona XIII, com supressão do sinal da água [300 MHz, DMSO- d_6]

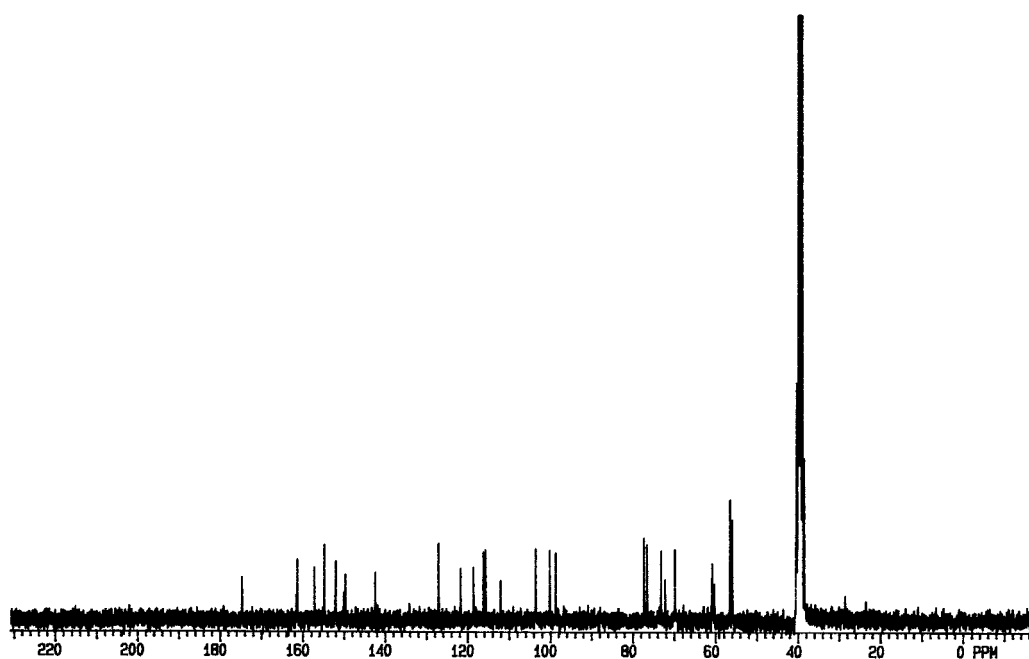


Figura 73- Espectro de RMN de ^{13}C da isoflavona XIII [75 MHz, DMSO- d_6]

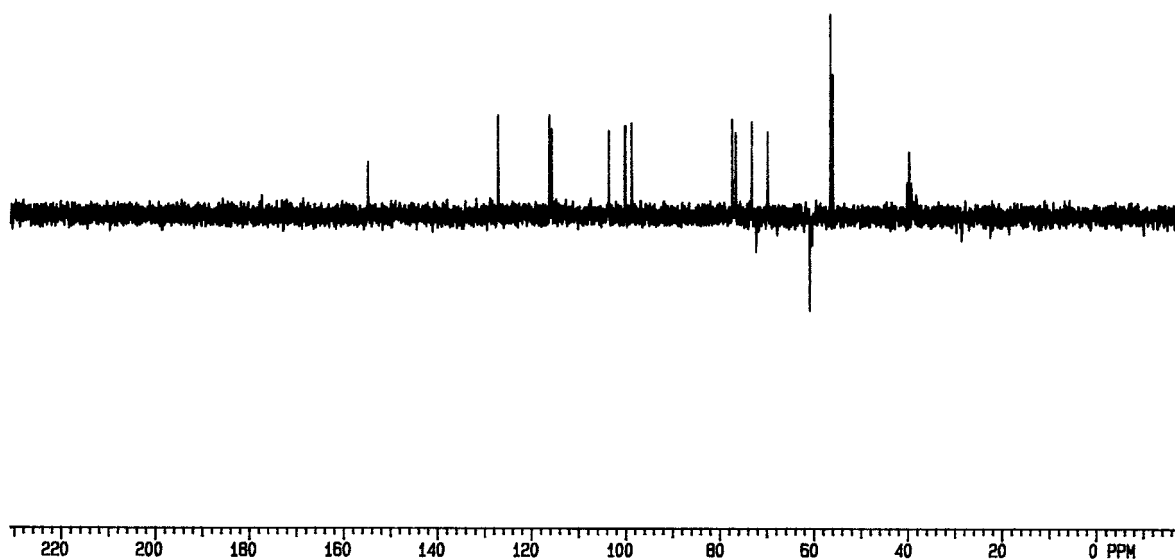


Figura 74- Espectro DEPT 135^o da isoflavona XIII [75 MHz, DMSO-d₆]

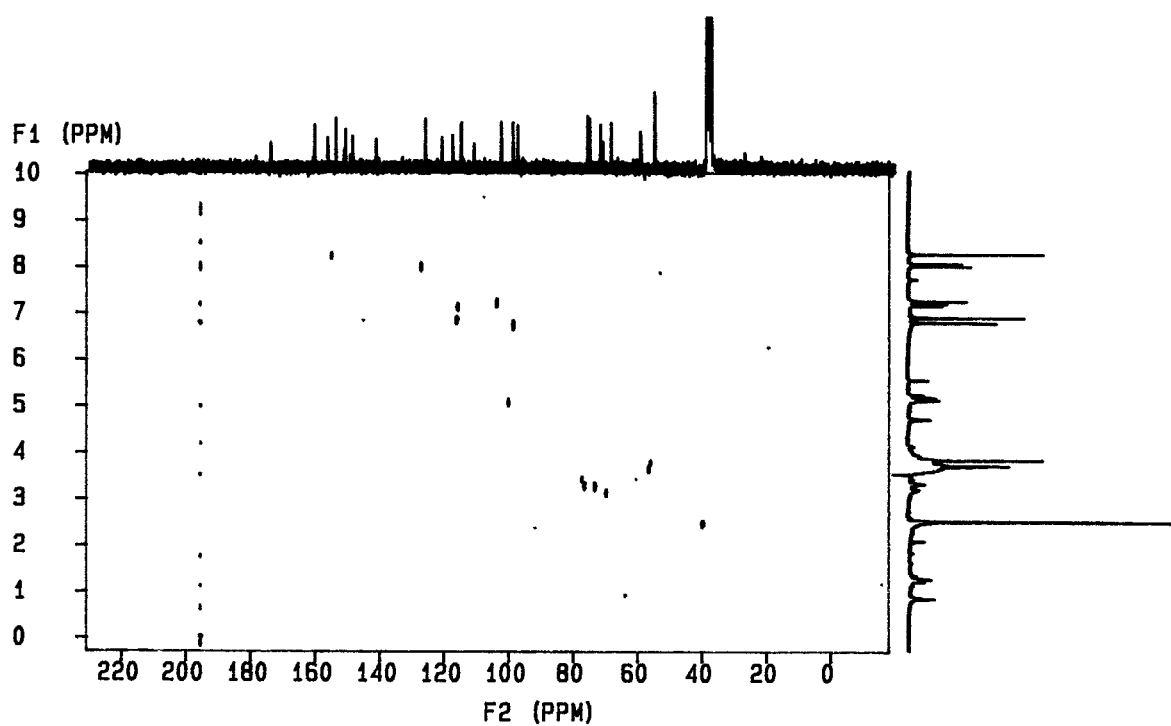


Figura 75- Espectro HETCOR (¹³C-¹H) da isoflavona XIII [J=140 Hz, DMSO-d₆]

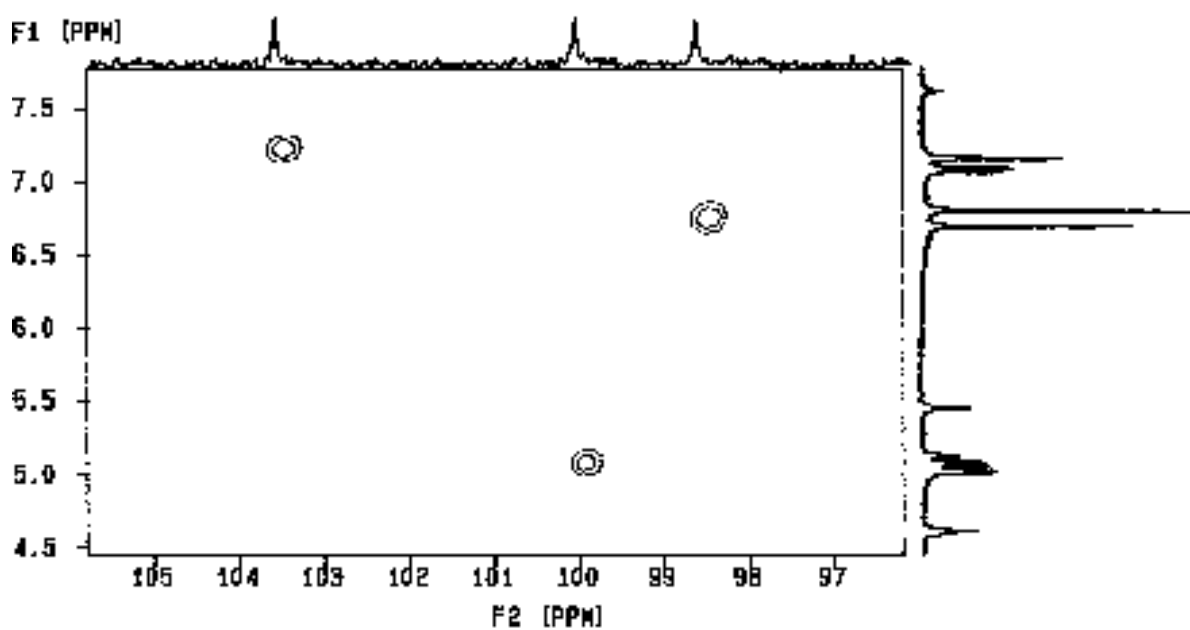
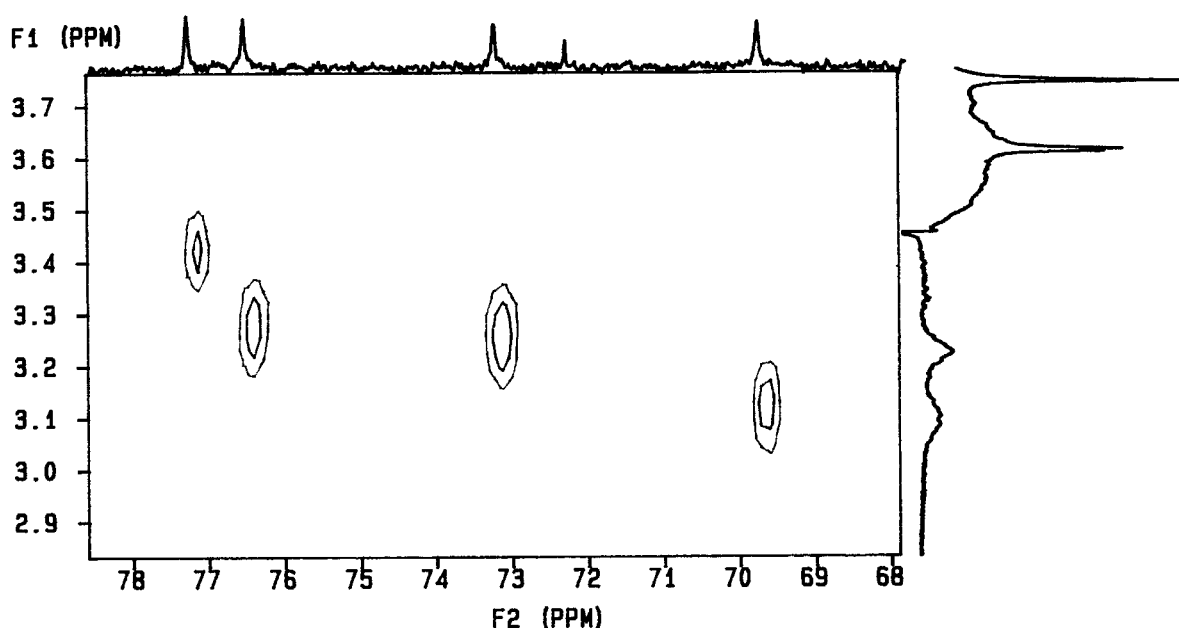


Figura 76- Expansões do espectro HETCOR (^{13}C - ^1H) da isoflavona XIII
[$J=140$ Hz, DMSO- d_6]

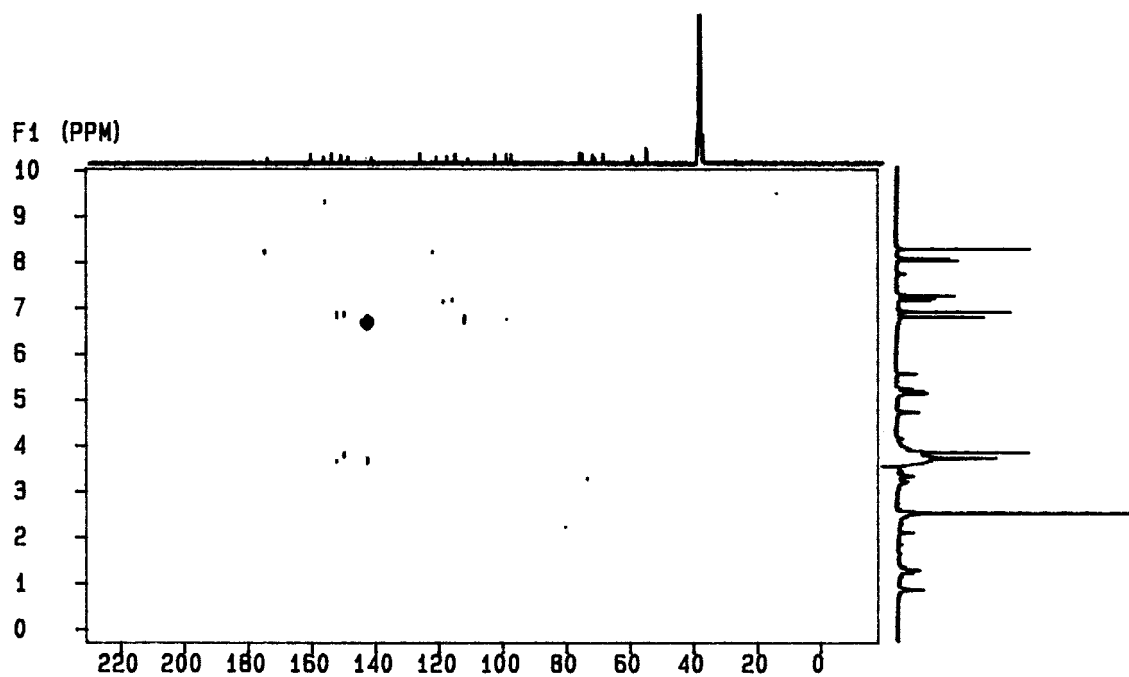


Figura 77- Espectro COLOC (¹³C-¹H) da isoflavona XIII [J=9 Hz, DMSO-d₆]

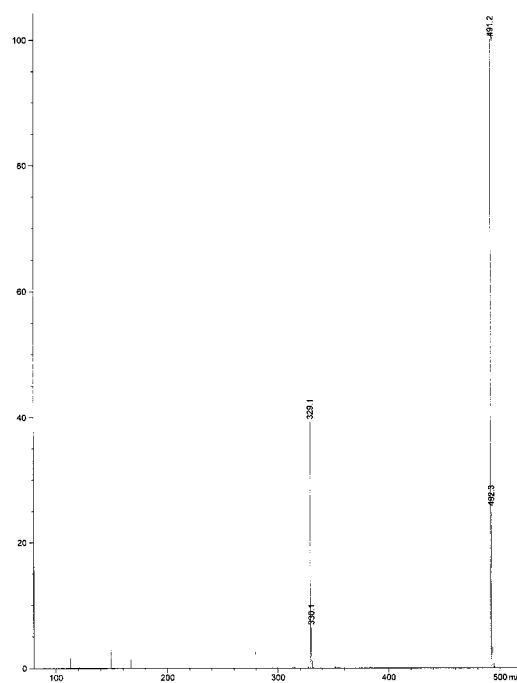


Figura 78- Espectro de massas da isoflavona XIII obtido por IQPA

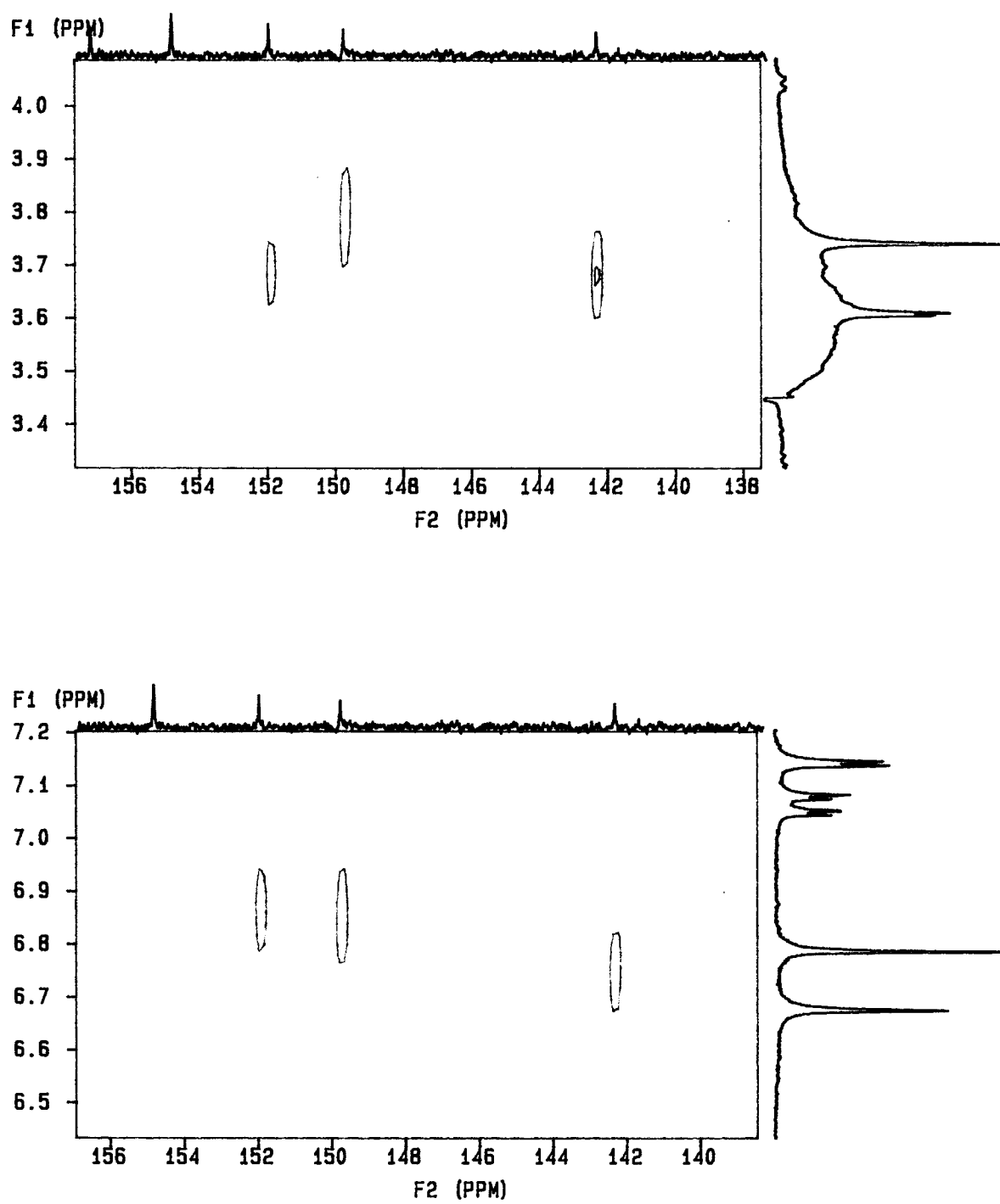


Figura 79- Expansões do espectro COLOC (^{13}C - ^1H) da isoflavona XIII
[J=9 Hz, DMSO- d_6]

Tabela 10- Dados de RMN de ^{13}C , ^1H e correlações ^{13}C - ^1H a longa distância da substância **XIII** (DMSO- d_6 , 300 MHz)

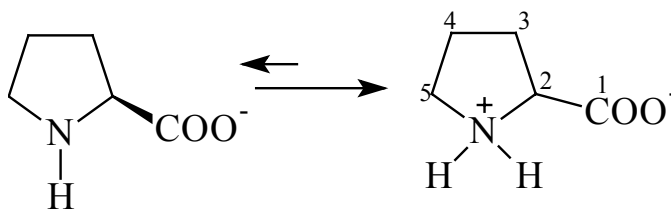
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	^{13}C - ^1H ($^{2,3}\text{J}$)		^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	^{13}C - ^1H ($^{2,3}\text{J}$)
2	154,88	8,24 s	-	4'	149,85	-	3,83; 6,89
3	121,87	-	8,24	5'	142,45	-	3,69; 6,77
4	174,67	-	8,24	6'	116,19	6,89 s	-
5	127,07	8,02 d (8,9)	-	1''	100,12	5,11	-
6	115,74	7,16 dd (8,9 ; 2,2)	7,24	2''	73,28	3,23	-
7	161,50	-	-	3''	77,31	3,43	-
8	103,63	7,24 d (2,2)	-	4''	69,82	3,10	-
9	157,25	-	-	5''	76,56	3,28	-
10	118,57	-	7,16	6''	60,83	3,40	-
1'	112,00	-	6,77	OMe	56,60	3,70	-
2'	152,04	-	3,70;6,89		56,52	3,69	-
3'	98,70	6,77 s	-		56,02	3,83	-

Identificação de XIV

O aminoácido **XIV** foi identificado através das análises dos seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e DEPT-90°, comparando-se os dados com os descritos na literatura.

O espectro de RMN de ^1H de **XIV** (Figura 80, p.140) apresentou multipletos na região de hidrogênio alifáticos, que foram atribuídos comparando-os com os dados encontrados na literatura [Blunden et. al., 1986] (Tabela 11, p.142).

O espectro de RMN de ^{13}C de **XIV** (Figura 81, p.140) apresentou cinco sinais, que por comparação com os espectros DEPT 135° (Figura 82, p.141) e DEPT 90° (Figura 83, p.141) foi possível identificar três sinais referentes a carbonos metilênicos, um sinal referente a carbono metínico e um sinal referente a carbono não hidrogenado (Tabela 11, p.142). Esta análise, juntamente com os dados encontrados na literatura [Pretsch et. al., 1989], permitiu identificar a substância **XIV** como prolina.



XIV – Prolina

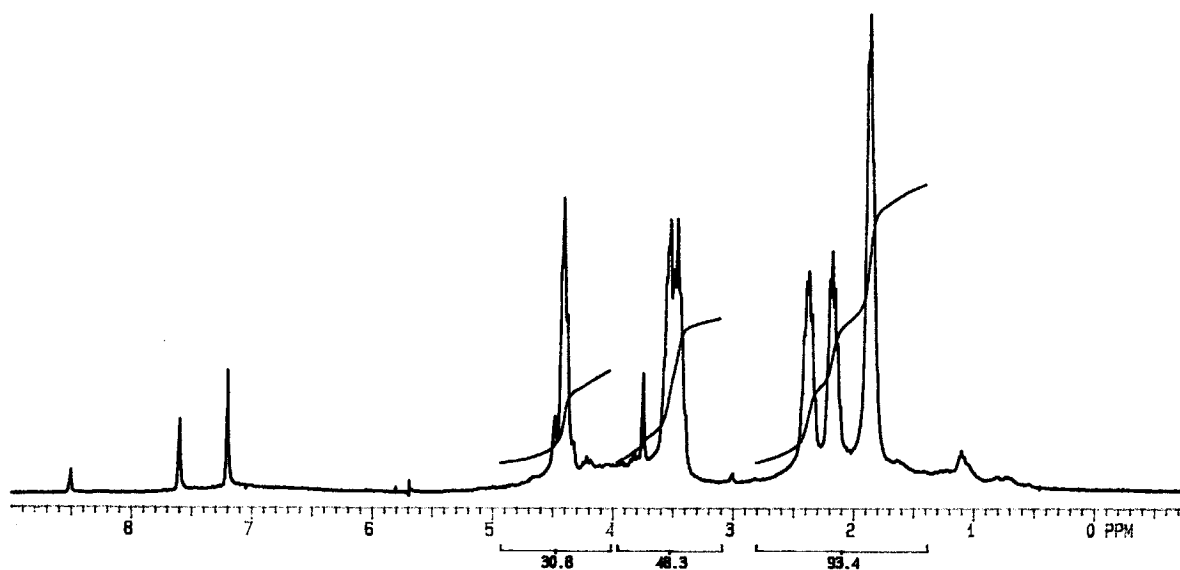


Figura 80- Espectro de RMN de ^1H de XIV com supressão do sinal da água
[300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$]

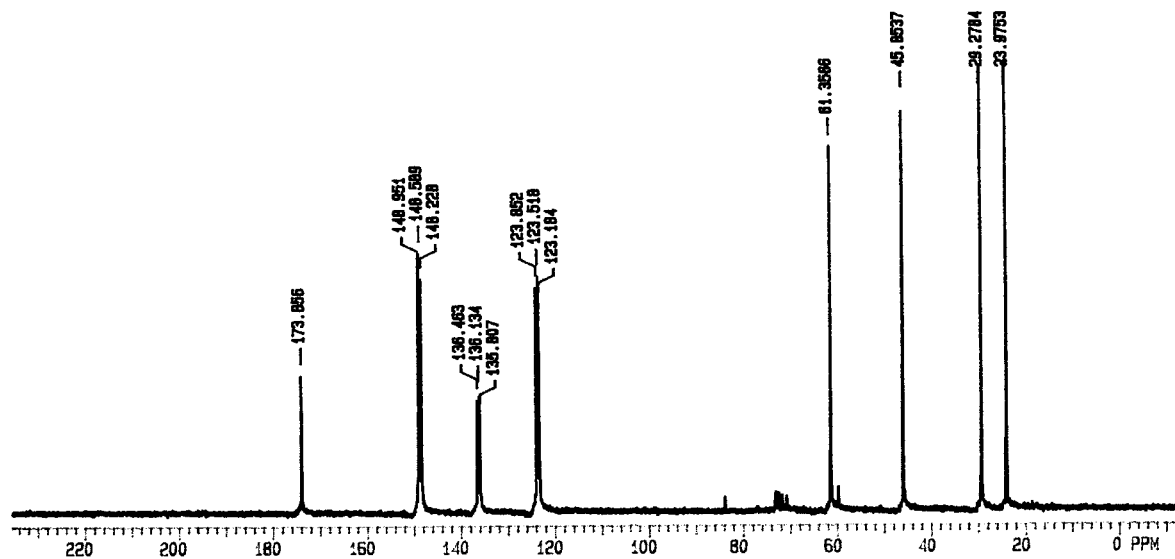


Figura 81- Espectro de RMN de ^{13}C de XIV [75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$]

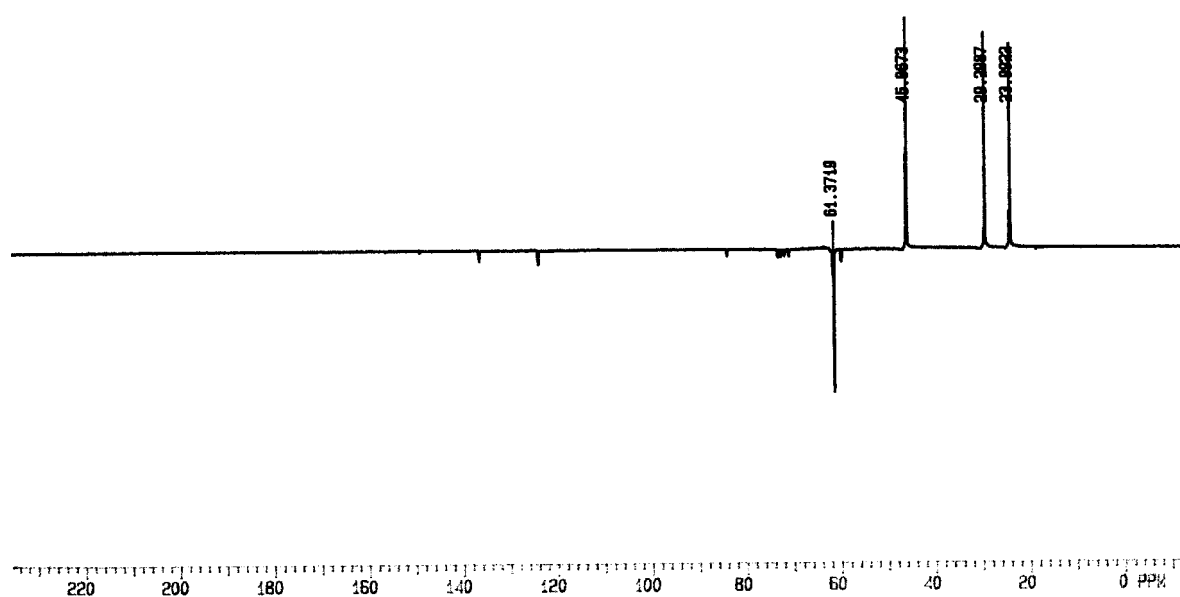


Figura 82- Espectro DEPT 135^o de XIV [75 MHz, C₅D₅N]

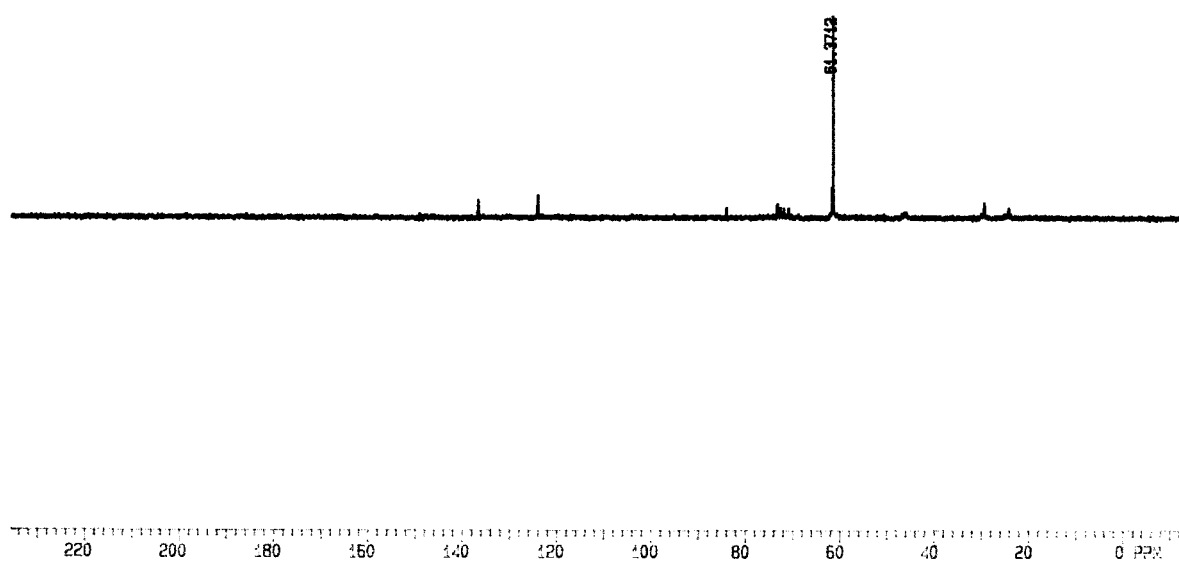


Figura 83- Espectro DEPT 90^o de XIV [75 MHz, C₅D₅N]

Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **XIV** [300 MHz, 75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ (ppm)].

	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
1	-	173,86
2	4,39 (t)	61,36
3	2,36 (m) 1,85 (m)	29,28
4	2,15 (m) 1,85 (m)	23,96
5	3,45 (m) 3,51 (m)	45,85

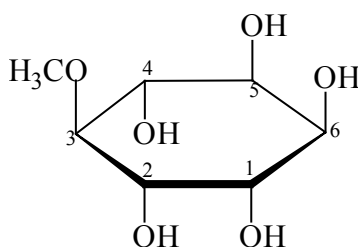
Identificação de XV

A substância **XV** foi identificada através das análises dos seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135° e por comparação com os dados descritos na literatura [Breitmaier e Voelter, 1987].

O espectro de RMN de ^1H de **XV** (Figura 84, p.144) apresentou sinais apenas na região entre 3,0 ppm e 4,0 ppm característicos de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 85, p.145) mostrou sete sinais atribuíveis à substância **XV**, que por comparação com o espectro DEPT 135° (Figura 86, p.145) foi possível identificar um sinal referente a carbono metoxílico e seis sinais referentes a carbonos metínicos. O sinal em 60,71 ppm foi atribuído ao carbono metoxílico e o conjunto de sinais entre 70,92 ppm e 73,23 ppm aos seis carbonos metínicos do anel ciclohexânico. A Tabela 12 mostra as atribuições dos dados de RMN de ^{13}C da substância **XV**.

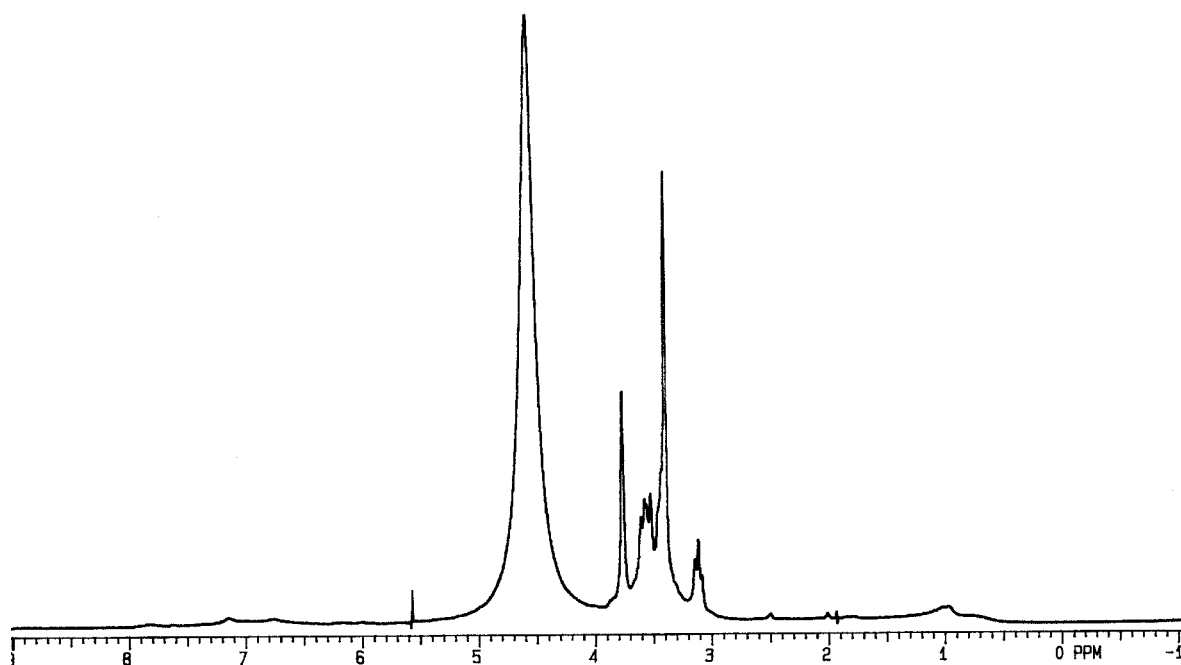
A análise dos dados acima descritos juntamente com os encontrados na literatura [Breitmaier e Voelter, 1987], permitiu identificar a substância **XV** como 3-O-metilchiroinósitol.



XV - 3-O-metilchiroinósitol

Tabela 12- Dados de RMN de ^{13}C de **XV** [75 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)].

C-1 (ppm)	C-2 (ppm)	C-3 (ppm)	C-4 (ppm)	C-5 (ppm)	C-6 (ppm)	OCH₃ (ppm)
72,97	70,92	83,89	73,23	71,78	72,65	60,71

**Figura 84-** Espectro de RMN de ^1H de **XV** [300 MHz, DMSO- d_6]

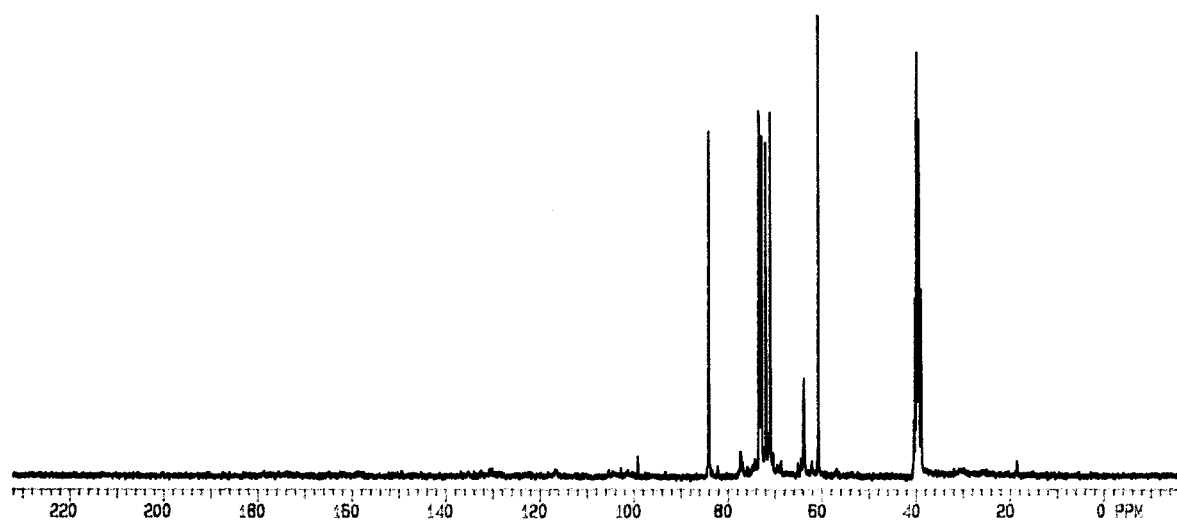


Figura 85- Espectro de RMN de ^{13}C de XV [75 MHz, DMSO- d_6]

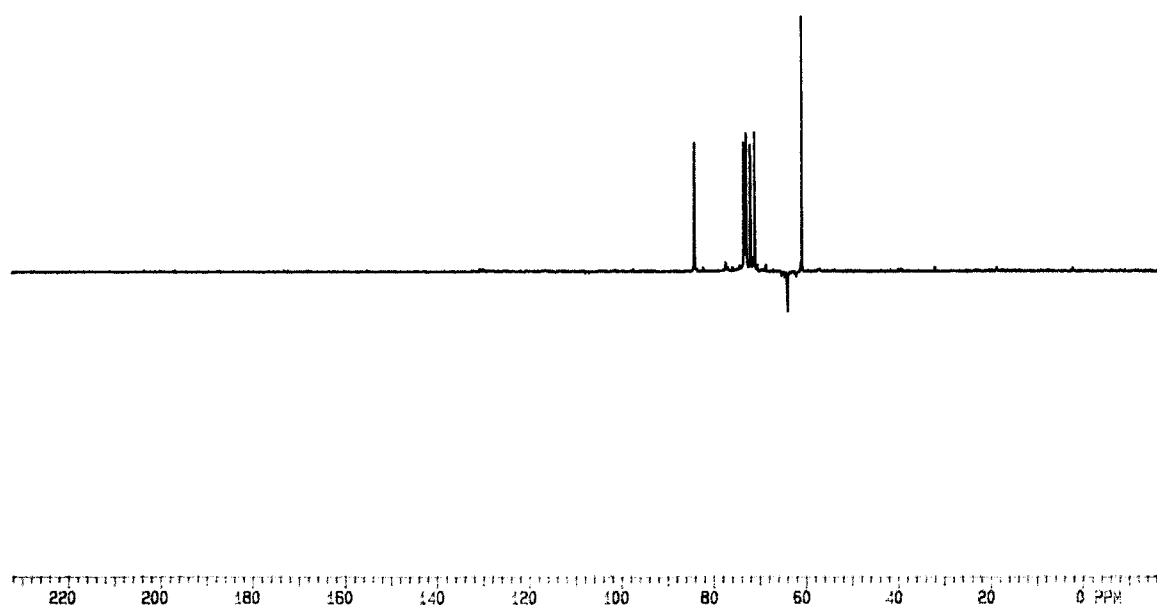


Figura 86- Espectro DEPT 135^o de XV [75 MHz, DMSO- d_6]

Identificação dos constituintes químicos do óleo volátil das partes aéreas de *Poiretia bahiana*

A identificação dos constituintes presentes no óleo volátil das partes aéreas da planta foi realizada através das análises dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135° e espectros de massas obtidos por CG/EM.

Os espectros de massas obtidos foram comparados com os padrões contidos no banco de dados da biblioteca de espectros, NIST Mass Spectral Library, utilizando um programa de busca NIST Mass Spectral Search Program 1.6 instalado no equipamento e com os espectros registrados na literatura [Adams, 1995].

Além da comparação dos índices de retenção calculados com os tabelados. Os índices de retenção foram determinados através de uma modificação do algoritmo proposto por Kováts, como apresentado na expressão (1) [Lanças, 1993], utilizando a série homóloga de hidrocarbonetos lineares de C_9H_{20} a $\text{C}_{18}\text{H}_{38}$ como padrões.

$$I=100m \frac{t'_{\text{Rx}} - t'_{\text{Rz}}}{t'_{\text{Rz}+m} - t'_{\text{Rz}}} + 100Z \quad (1)$$

onde

$$t'_{\text{Rz}} < t'_{\text{Rx}} < t'_{\text{Rx}+m}$$

t'_{Rx} = tempo de retenção da substância x

t'_{Rz} = tempo de retenção do hidrocarboneto de menor massa molecular

$t'_{\text{Rz}+m}$ = tempo de retenção do hidrocarboneto de maior massa molecular

m = diferença entre o número de átomos de carbono do dois hidrocarbonetos envolvidos.

Z = número de carbonos do hidrocarboneto com tempo de retenção t'_{Rz}

Através da análise por CG/EM (Figura 87 a 98, p.149 a 152) foram identificados como constituintes do óleo volátil os monoterpenos sabineno (10,32%), β -pineno (0,69%), mirceno (1,34%), limoneno (0,86%), (Z)-ocimeno (3,02%), (E)-ocimeno (1,26%), tujona (1,30%), tujenona (75,33%), 4-terpineol (1,65%) e os sesquiterpenos (E)-cariofileno (1,30%) e γ -muuroleno (2,92%). A Tabela 13 (p.148) mostra os dados dos constituintes voláteis do OEPB com os seus respectivos índices de retenção, percentagens e tempos de retenção.

O espectro de RMN de ^1H do óleo volátil (Figura 99, p.153) apresentou-se como o de uma mistura, com um conjunto de sinais na região entre 0,5 e 2,3 ppm, característicos de hidrogênios alifáticos e três singletos em 4,61 ppm, 4,80 ppm e 5,32 ppm, característicos de hidrogênios olefínicos, atribuíveis aos hidrogênios dos dois constituintes presentes em maior proporção.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 100, p.153) apresentou vários sinais, que por comparação com o espectro DEPT 135° (Figura 101, p.154) foi possível constatar a presença de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e carbonos não hidrogenados, atribuíveis aos dois componentes majoritários. Os sinais em 177,4 ppm (C), 123,7 ppm (CH) e 207,51 ppm (C) foram atribuídos ao constituinte majoritário, enquanto que os sinais em 153,8 ppm (C) e 101,28 (CH₂) foram atribuídos ao segundo constituinte presente em maior proporção. Estas atribuições encontram-se sumarizadas na Tabela 14 (p.158)

A análise dos dados acima descritos e a comparação com os encontrados na literatura [Ferreira, et. al., 1998] confirmou que o componente majoritário do óleo tratava-se da Tujenona (substância **XXIII**) e que o segundo constituinte em maior proporção tratava-se do Sabineno (substância **XVI**), como já havia sugerido a comparação com a espectroteca disponível no equipamento do CG/EM.

Tabela 13- Constituintes químicos presentes no óleo essencial das partes aéreas de *Poiretia bahiana*

Tr(min)	IR	IR_L	(%)	Constituinte
5,940	971	976	10.323	Sabineno (XVI)
6,069	976	980	0.694	β-pineno (XVII)
6,386	989	991	1.342	Mirceno (XVIII)
7,529	1026	1031	0.863	Limoneno (XIX)
7,820	1035	1040	3.015	(Z)-ocimeno (XX)
8,163	1045	1050	1.262	(E)-ocimeno (XXI)
10,621	1115	1114	1.303	Tujona (XXII)
12,953	1174	1171	75.329	Tujenona (XXIII)
13,039	1176	1177	1.649	4-terpineol (XXIV)
22,875	1415	1418	1.302	(E)-Cariofileno (XXV)
25,350	1477	1480	2.918	γ-Muuroleno (XXVI)
Total	Identificado		100	

IR= índice de retenção

IR_L= índice de retenção descrito na literatura

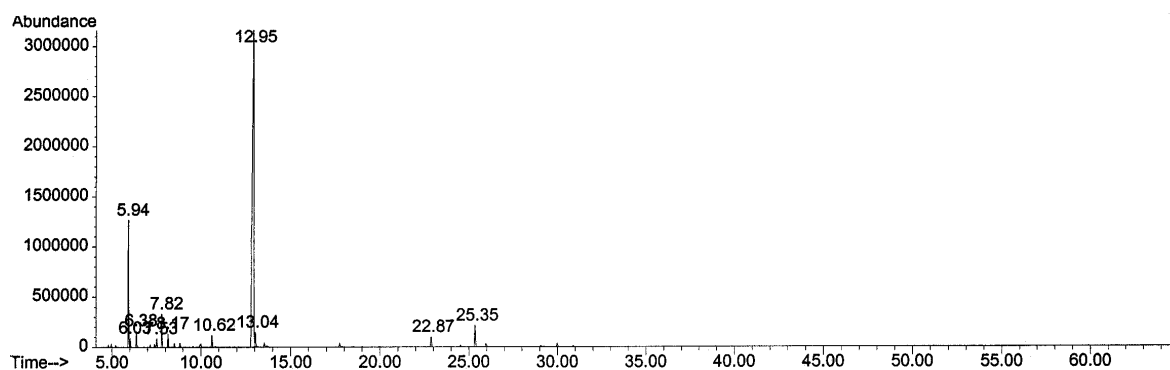


Figura 87- Cromatograma de íons totais do óleo volátil das partes aéreas de *Poiretia bahiana* obtido no CG/EM [70 eV, IE]

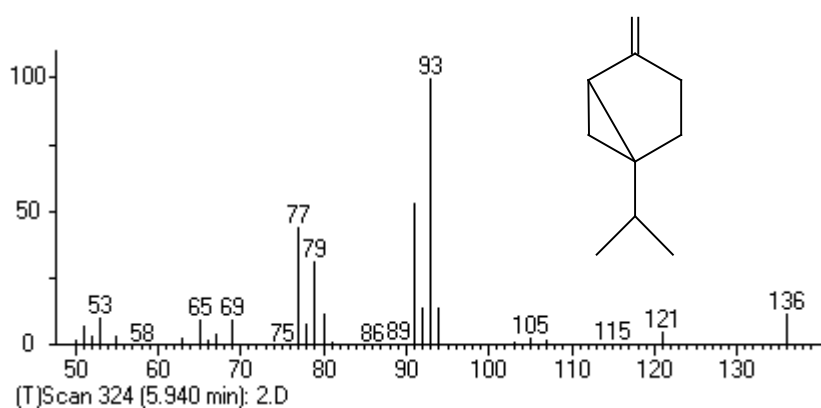


Figura 88- Espectro de massas do Sabineno (XVI) [IE, 70 eV]

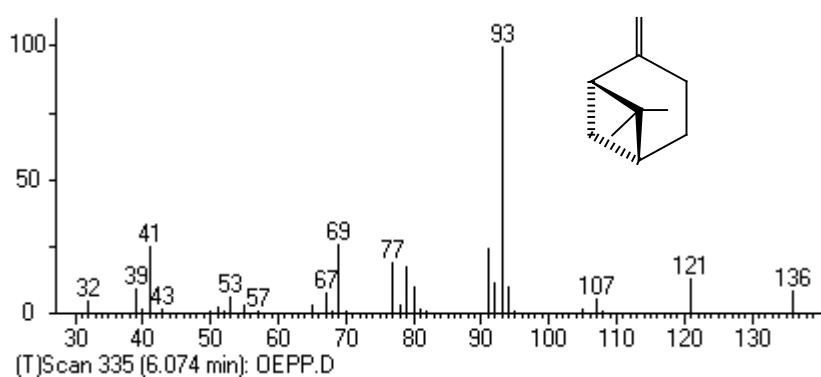


Figura 89- Espectro de massas do β -pineno (XVII) [IE, 70 eV]

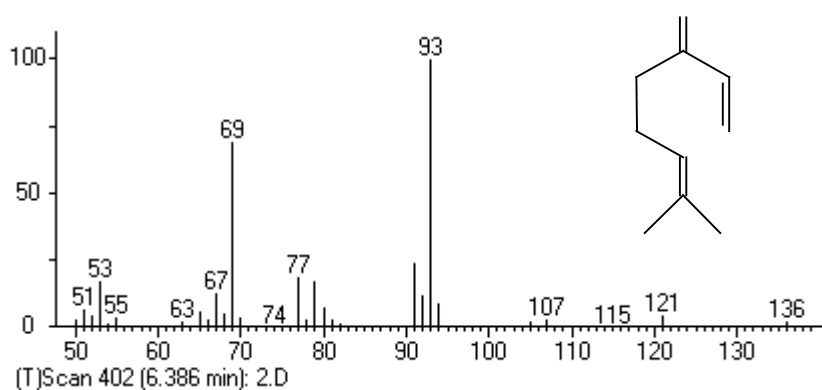


Figura 90- Espectro de massas do Mirceno (XVIII) [IE, 70 eV]

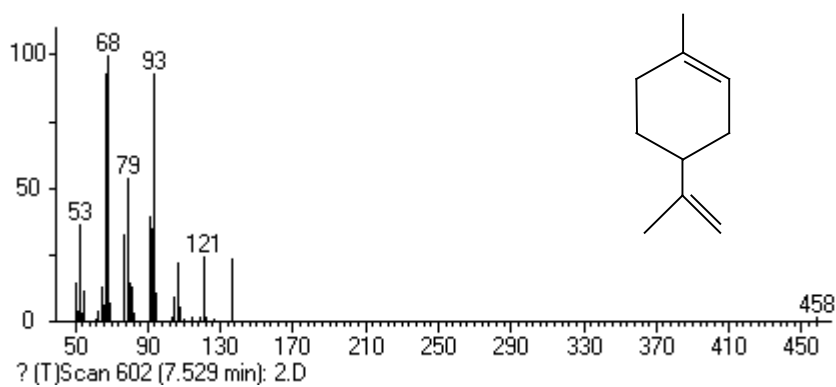


Figura91- Espectro de massas do Limoneno (XIX) [IE, 70 eV]

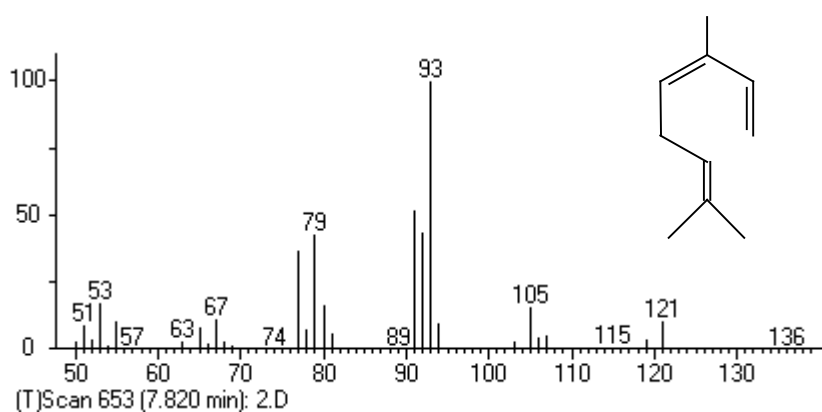


Figura 92- Espectro de massas do (Z)-ocimeno (XX) [IE, 70 eV]

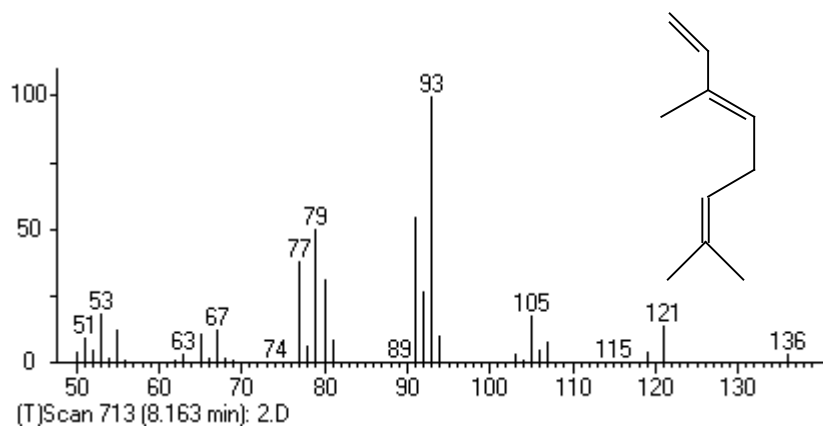


Figura 93- Espectro de massas do (E)-ocimeno (XXI) [IE, 70 eV]

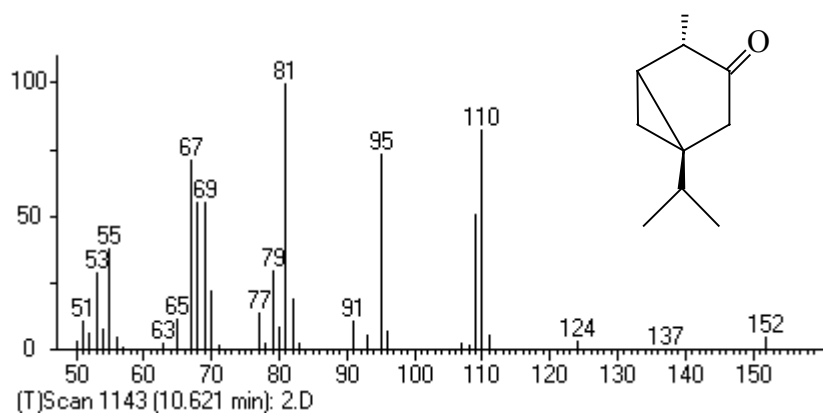


Figura 94- Espectro de massas da Tujona (XXII) [IE, 70 eV]

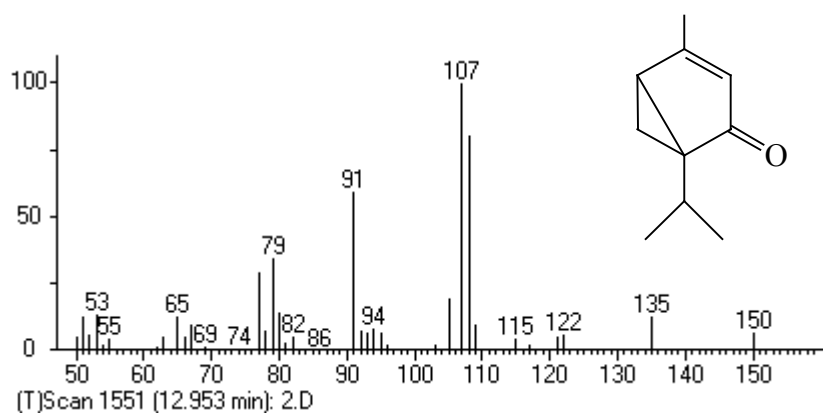


Figura 95- Espectro de massas da Tujenona (XXIII) [IE, 70 eV]

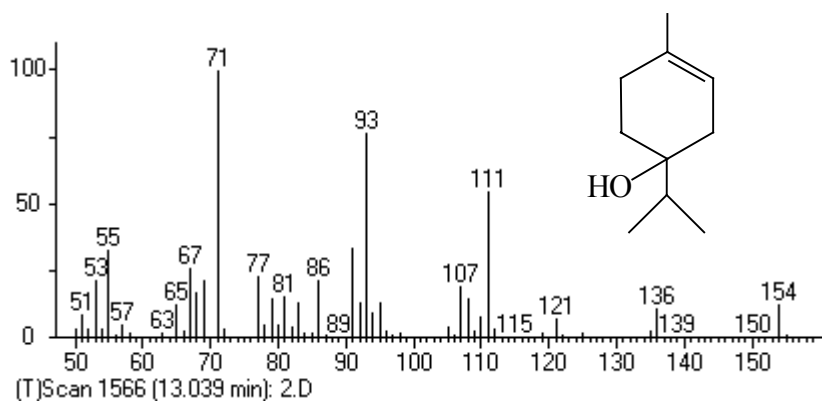


Figura 96- Espectro de massas do 4-terpineol (XXIV) [IE, 70 eV]

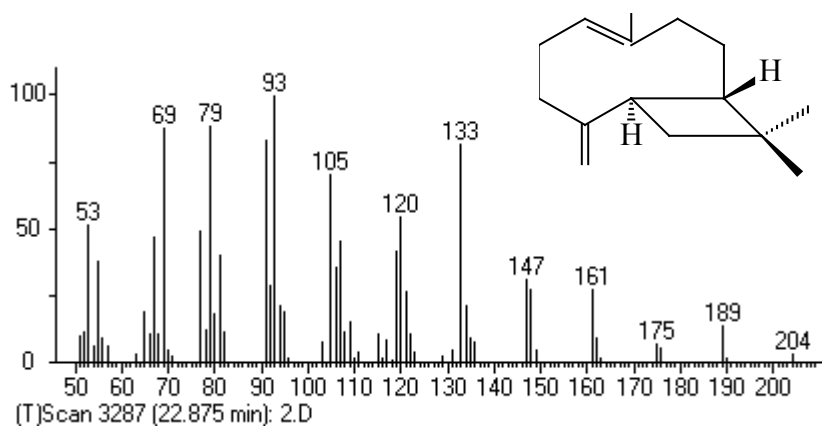


Figura 97- Espectro de massas do (E)-Cariofileno (XXV)[IE, 70 eV]

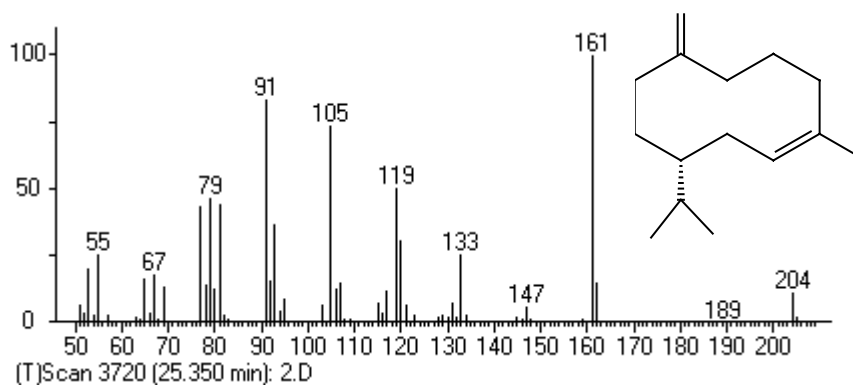


Figura 98 Espectro de massas do γ -Muuroleno (XXVI) [IE, 70 eV]

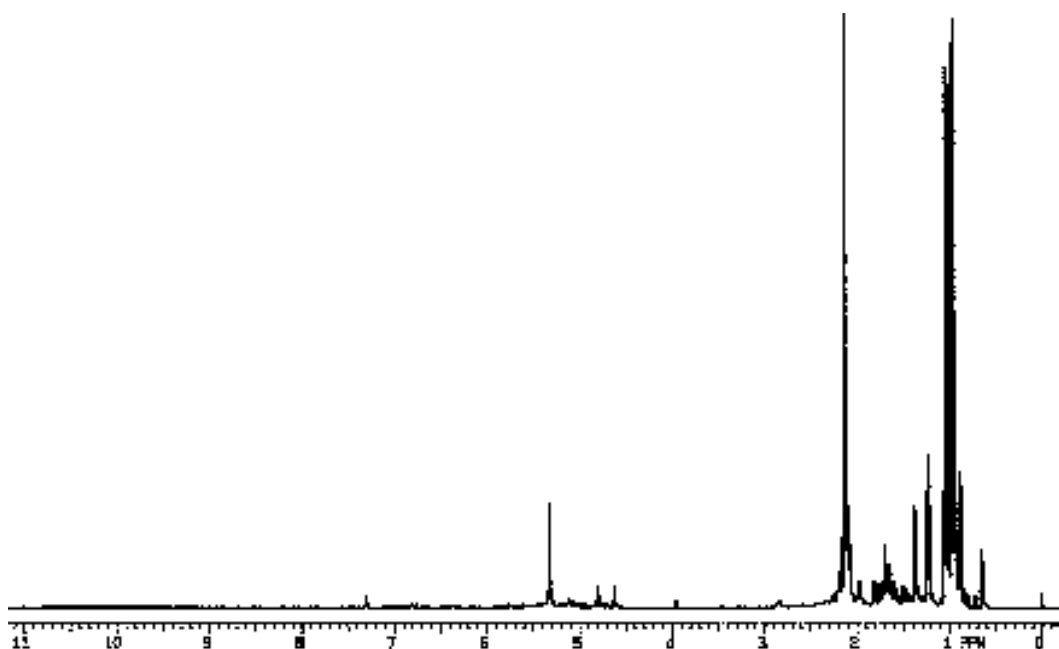


Figura 99- Espectro de RMN de ^1H do óleo volátil das partes aéreas de *Poiretia bahiana* [300 MHz, CDCl_3]

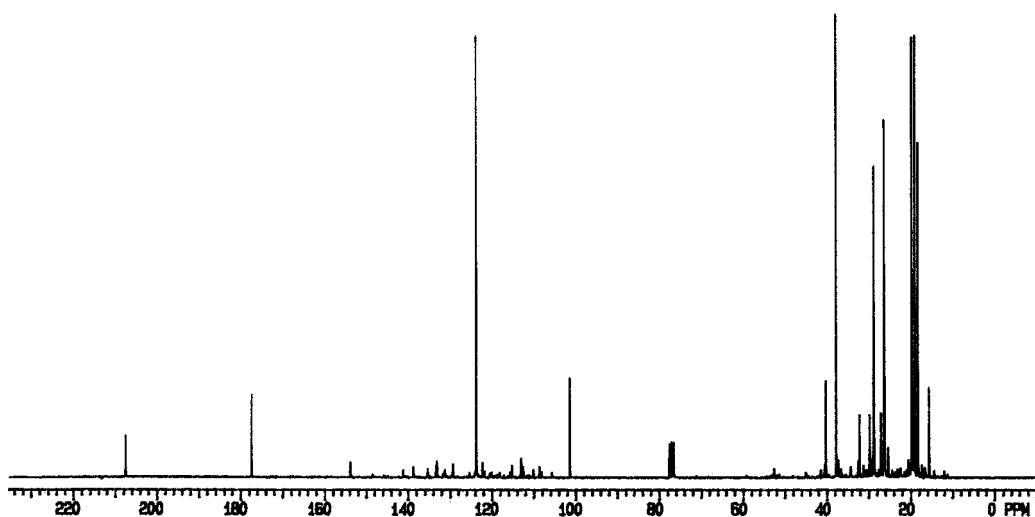


Figura 100- Espectro de RMN de ^{13}C do óleo volátil das partes aéreas de *Poiretia bahiana* [75 MHz, CDCl_3]

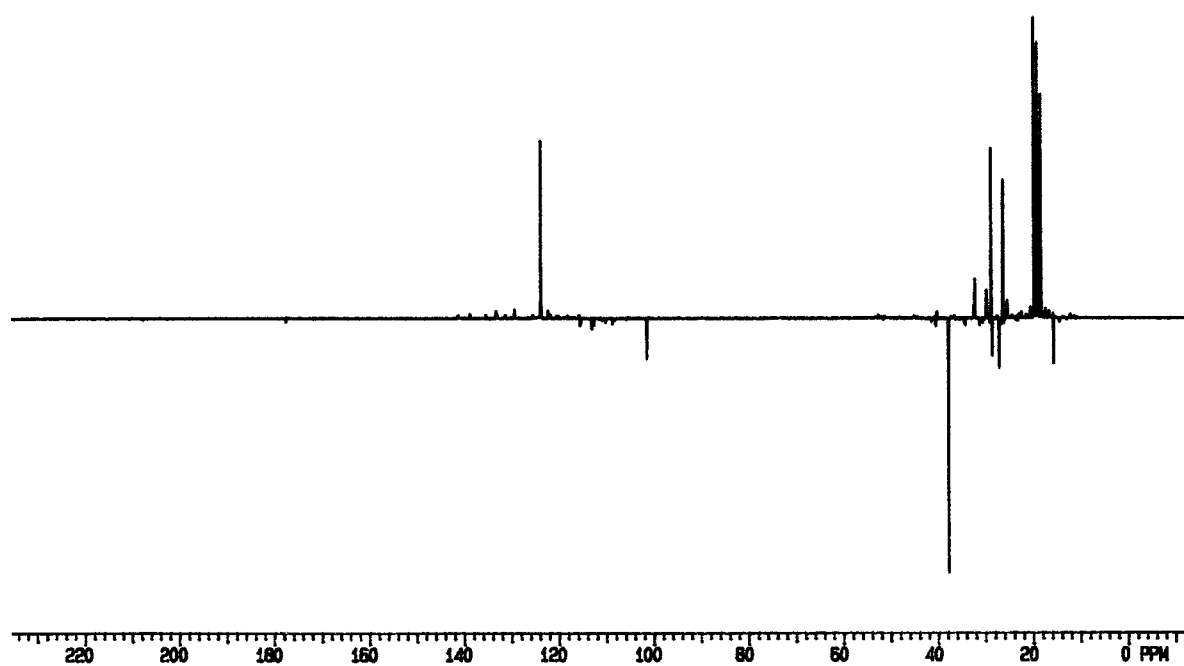


Figura 101- Espectro DEPT 135^o do óleo volátil das partes aéreas de *Poiretia bahiana* [75 MHz, CDCl₃]

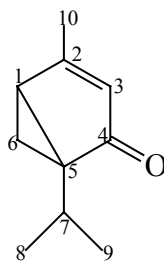
Identificação de **XXIII**

A substância **XXIII** foi isolada através de CC em sílica flash e identificada através das análises dos seus espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135⁰ e por comparação com os dados descritos na literatura [Holden et. al., 1974 e Ferreira et. al., 1998].

O espectro de RMN de ^1H de **XXIII** (Figura 102, p.156) apresentou três sinais atribuíveis a hidrogênios metílicos, sendo dois dubletos em 0,97 ppm ($J=6,8$ Hz) e 1,04 ppm ($J=6,8$ Hz), correspondentes aos hidrogênios H-8 e H-9 e um singlete em 2,13 ppm, correspondente ao hidrogênio H-10. Além disso, apresentou um triplo em 1,23 ppm ($J=3,4$ Hz), que foi atribuído ao H-1, dois duplos dubletos centrados em 1,38 ppm ($J=3,4$ Hz e 6,8 Hz) e 2,10 ppm ($J=3,4$ Hz e 6,8 Hz) atribuíveis aos hidrogênios H-6, um hepteto em 2,14 ppm ($J=6,8$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-7 e um singlete em 5,32 ppm, atribuível ao hidrogênio H-3. Através do espectro HOMOCOSY (Figura 105, p.157) pôde-se observar as correlações mostradas na Tabela 14 (p. 158).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 103, p.156) apresentou 10 sinais atribuíveis ao monoterpeno **XXIII**, que por comparação com o espectro DEPT-135⁰ (Figura 104, p.157) foi possível identificar três sinais referentes a carbonos metílicos, um referente a carbono metilênico, três sinais referentes a carbonos metínicos e três a carbonos não hidrogenados. Os sinais que ocorreram em 177,64 ppm (C), 123,67 ppm (CH) e 207,87 ppm (C) foram atribuídos aos carbonos olefínicos e carbonílico, respectivamente. (Tabela 14, p.158)

A análise dos dados obtidos e a comparação com os descritos na literatura permitiu identificar a substância **XXIII** como tujenona [Ferreira et. al., 1998].



XXIII - tujenona

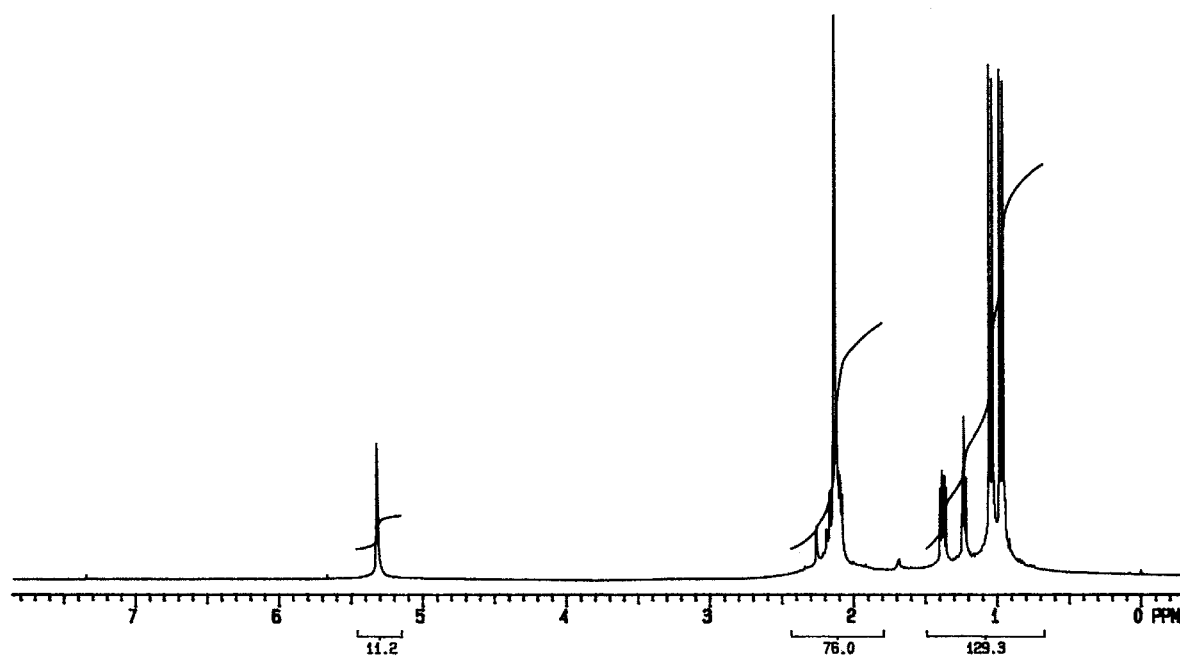


Figura 102- Espectro de RMN ^1H de **XXIII** [300 MHz, CDCl_3]

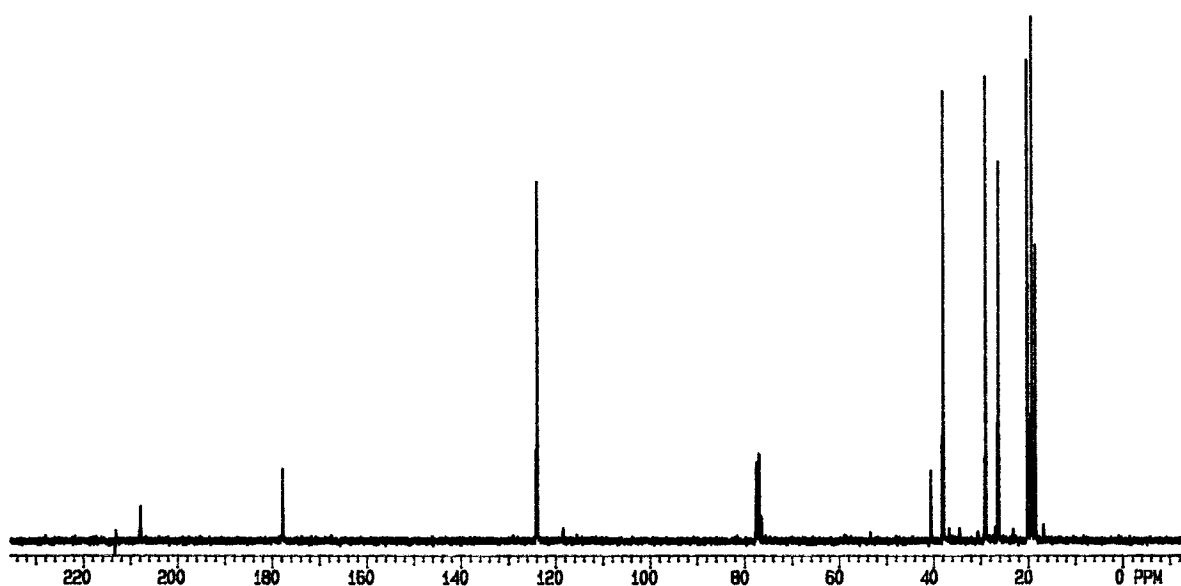


Figura 103- Espectro de RMN ^{13}C de **XXIII** [75 MHz, CDCl_3]

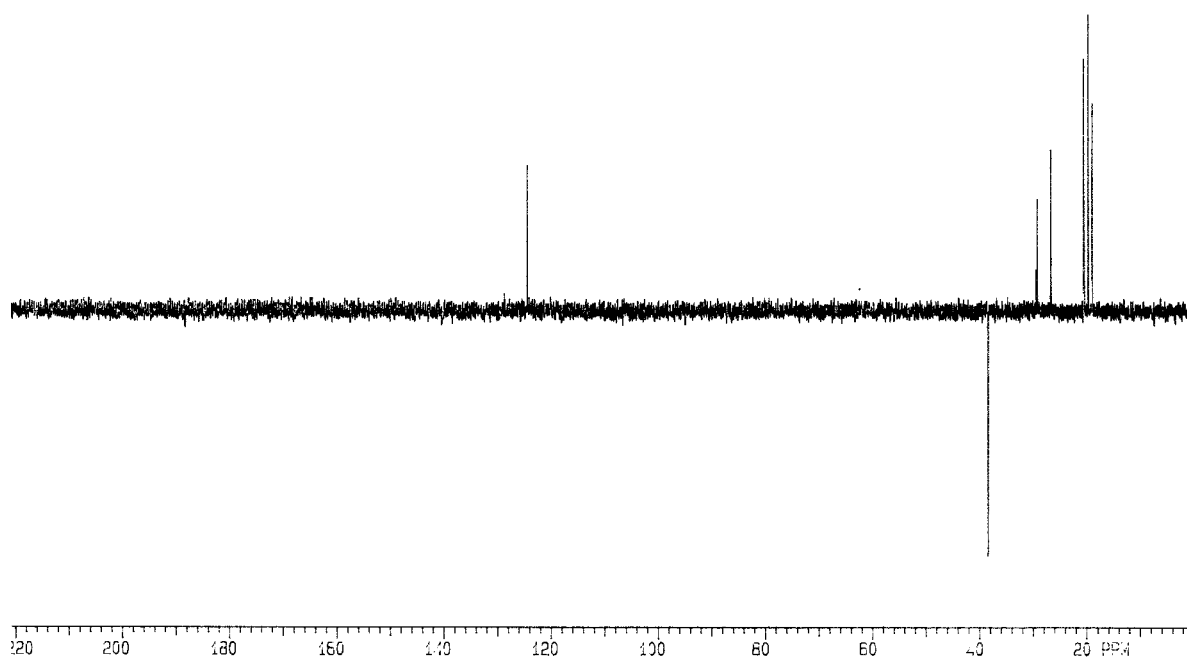


Figura 104- Espectro DEPT 135° de **XXIII** [75 MHz, CDCl₃]

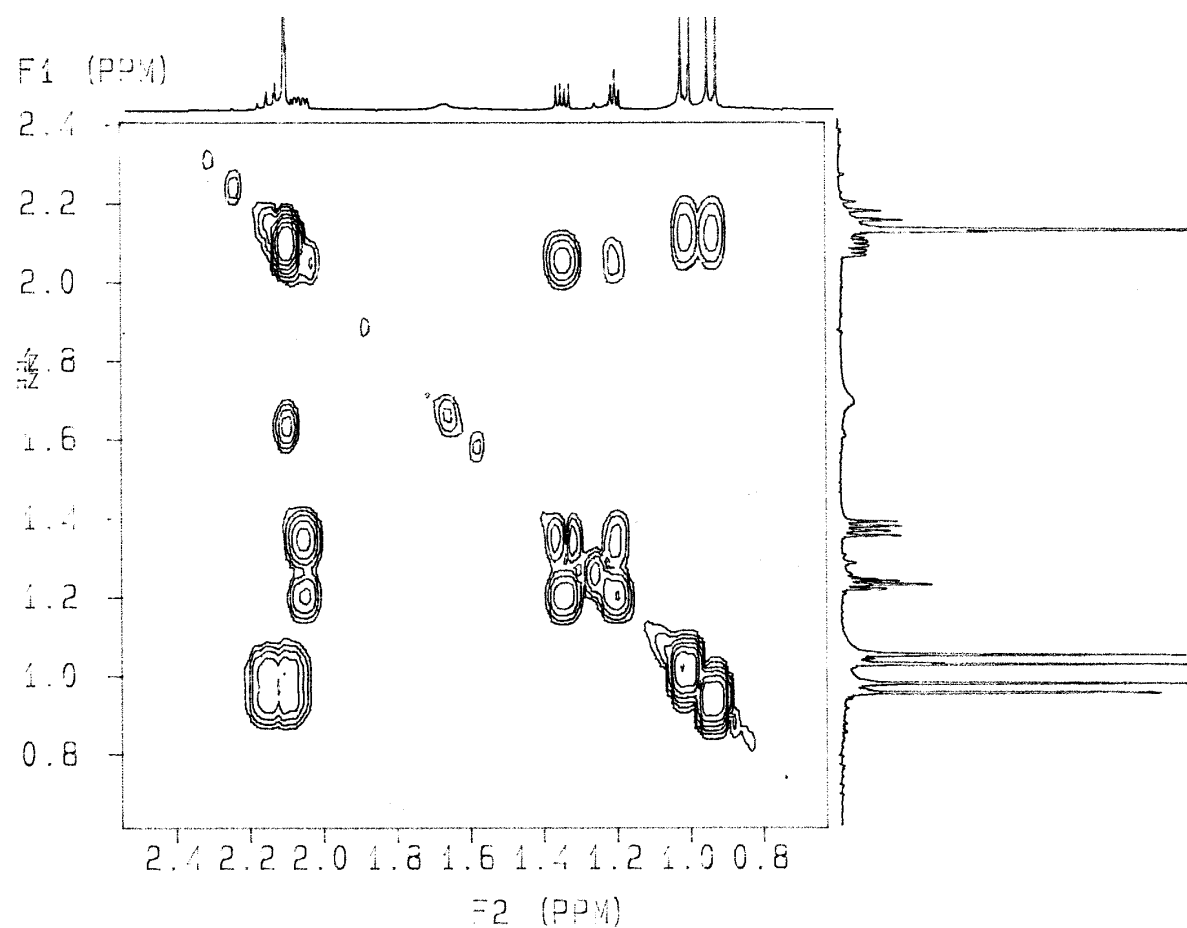


Figura 105- Expansão do espectro HOMO COSY (¹H-¹H) de **XXIII** na região entre 0,8 e 2,4 ppm [300 MHz, CDCl₃]

Tabela 14- Dados de RMN de ^1H , correlações ^1H - ^1H e ^{13}C de **XXIII** e **XVI** [300 MHz, 75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)].

	XXIII			XVI
	^1H (ppm)	^1H - ^1H	^{13}C (ppm)	^{13}C (ppm)
1	1,23 t (3,4)	1,38 ; 2,10	28,88	29,76
2	-	-	177,64	153,8
3	5,32s	-	123,67	28,58
4	-	-	207,87	27,05
5	-	-	40,48	37,19
6	1,38 dd (6,8; 3,4)	1,23 ; 2,10	37,91	15,65
	2,10 dd (6,8; 3,4)	1,23 ; 1,38		
7	2,14 hep (6,8)	0,97 ; 1,04	26, 27	32,25
8	1,04 d (6,8)	2,14	19,23	19,34
9	0,97 d (6,8)	2,14	19,99	19,41
10	2,13 s	-	18,48	101,28

Identificação dos constituintes químicos presentes na emissão natural de *Poiretia bahiana*.

A identificação dos constituintes químicos presentes na emissão natural da planta foi realizada através da análise dos espectros de massas obtidos por CG/EM, com o auxílio da biblioteca de espectros, através da técnica denominada “head space”.

O cromatograma de íons totais obtido através desta técnica (Figura 106, p.160) apresentou nove sinais atribuíveis aos constituintes químicos emitidos pela planta, sendo que os sinais correspondentes aos principais componentes apresentaram tempos de retenção (TR) em 10,34 e 16,59 minutos (as condições de análise estão descritas na página 53).

Os espectros de massas desses dois componentes (Figura 107 e 108, p.160) foram comparados com os dados da biblioteca de espectros e as substâncias responsáveis pelos sinais em 10,34 e 16,59 minutos foram identificadas como os monoterpenos sabineno (73,03%) e tujenona (14,81%), respectivamente.

O cromatograma de íons totais obtido através do “head space” apresentou a mesma feição que o obtido para o óleo volátil nas mesmas condições (Figura 109, p.161), com alterações nas concentrações dos constituintes majoritários. Enquanto a tujenona (TR=15,73 min, Figura109) foi o constituinte majoritário no óleo volátil, o sabineno (TR=9,50 min, Figura109) foi o constituinte presente em maior concentração na emissão natural.

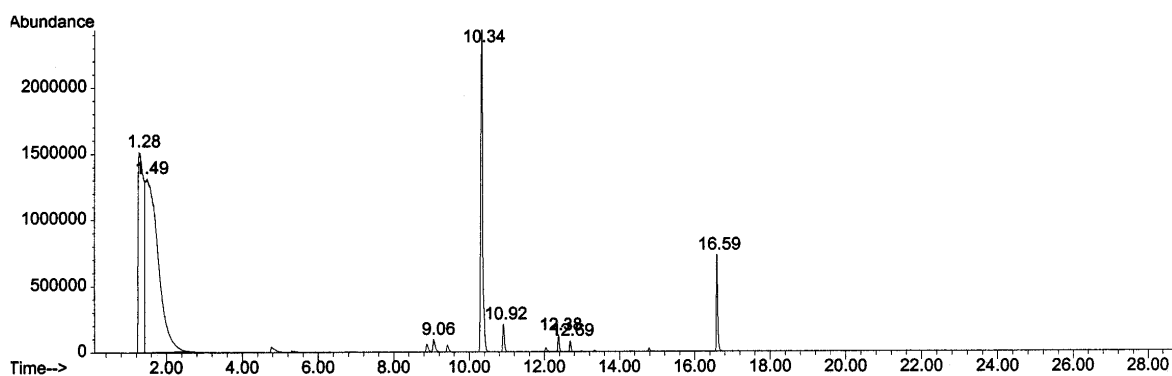


Figura 106- Cromatograma de íons totais obtido através da técnica denominada “head space” das folhas de *Poiretia bahiana*

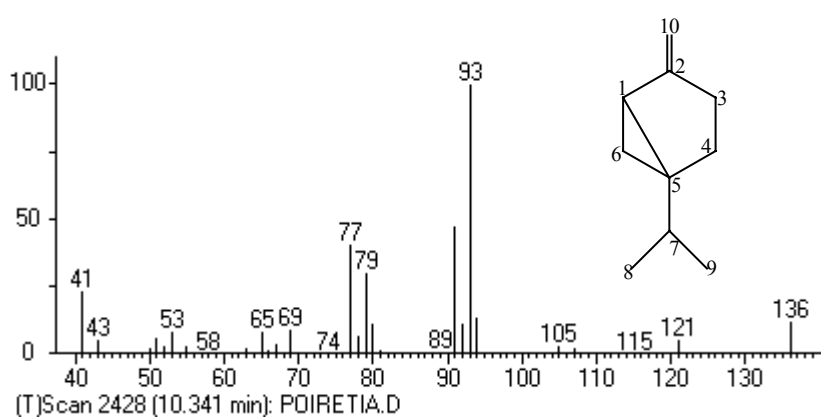


Figura 107- Espectro de massas do sabineno [IE, 70 eV]

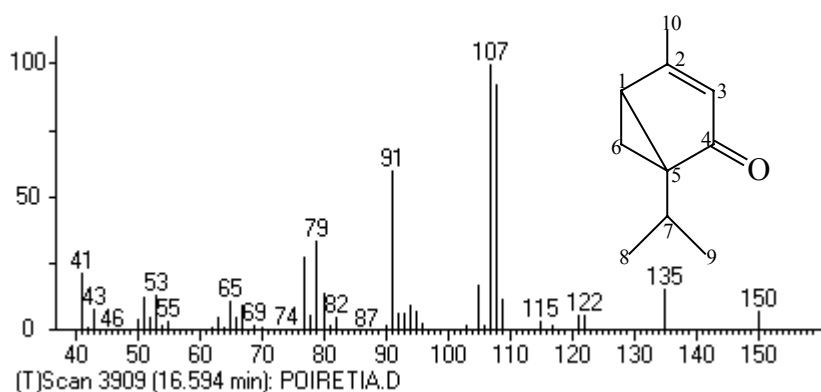


Figura 108- Espectro de massas da tujenona [IE, 70 eV]

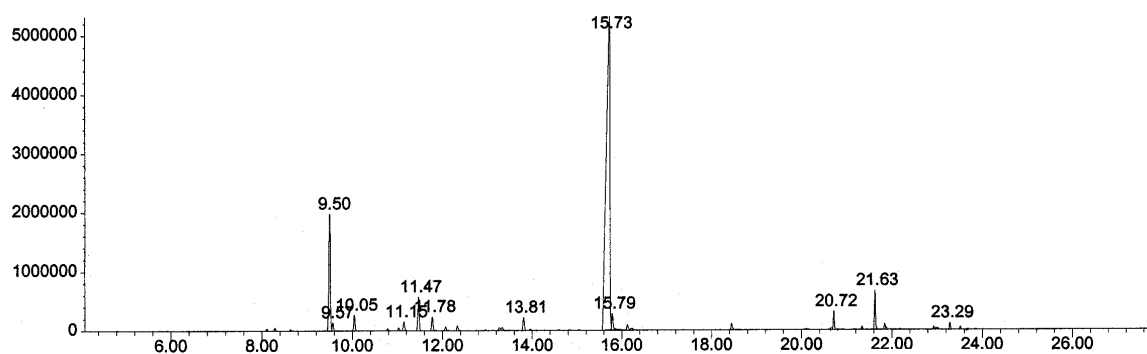


Figura 109- Cromatograma de íons totais do óleo volátil das folhas de *Poiretia bahiana* obtido no CG/EM [IE, 70 eV]

Condições de análise: Temperatura do injetor = 220 °C
Temperatura inicial = 35 °C (2 minutos)
Temperatura final = 240 °C (3 minutos)
Razão = 5 °C/minuto

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No estudo fitoquímico dos extratos hexânico e metanólico da espécie *Poiretia bahiana* foram identificados 15 metabólitos secundários; sendo sete isoflavonas, duas rotenonas, dois esteróides, dois triterpenos, um amino-ácido e um ciclitol.

A isoflavona **XIII** encontrada no extrato metanólico está sendo relatada pela primeira vez neste trabalho, sendo portanto inédita.

Através do estudo dos constituintes voláteis das partes aéreas do espécimen de *Poiretia bahiana* coletado ficou constatado que o sabineno era o principal componente da emissão natural que a planta liberava para o meio ambiente, enquanto a tujenona foi o constituinte majoritário do óleo essencial.

Muitas isoflavonas encontradas em diversos gêneros da família Leguminosae apresentam atividades antifúngicas descritas na literatura [Harbone, 1993]. Os rotenóides encontrados da espécie *Poiretia bahiana* já foram isolados de diversas espécies da família Leguminosae, tendo apresentado atividades inseticidas, antiprotozoários e piscicidas.

As substâncias **III**, **IV**, **VII** e **VIII** foram as responsáveis pela atividade fungitóxica do extrato hexânico contra o fungo fitopatogênico *Cladosporium sphaerospermum* o que demonstra o seu potencial como um provável biofungicida, que poderá vir a ser usado contra outros fungos causadores de prejuízos à agricultura.

Algumas isoflavonas descritas na literatura apresentaram atividades estrogênicas e tem sido utilizadas durante a menopausa, com o objetivo de evitar os sintomas desagradáveis que ocorrem neste período. A espécie *Poiretia bahiana* tem sido utilizada pela população da Chapada Diamantina na forma de chá e através de inalação, para combater algumas doenças, tais como sinusite, hemorróidas e dores nas articulações. Esta prática deve ser desaconselhada, visto

que foram encontradas substâncias nesta espécie tóxicas para o homem, como a rotenona que apresenta uma $DL_{50} = 2,8 \text{ mg Kg}^{-1}$ em ratos, sendo mais perigosa quando inalada que quando ingerida, e a tujona, que é neurotóxica, causando transtornos mentais ao homem [Mann, 1994], que foi encontrada no óleo volátil da planta.

Assim, o uso indiscriminado de partes desta planta para fins medicinais pode representar sérios riscos à população, tornando-se necessário um estudo detalhado dos pontos de vista químico, farmacológico e toxicológico desta e de outras espécies do gênero *Poirertia*, antes que sejam recomendados os seus usos.

Devido ao potencial químico-biológico apresentado pela espécie estudada, o estudo de outras espécies pertencentes a este gênero deve ser incentivado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEGAZ, B. M. and WOLDU, Y. (1991) *Isoflavonoids from the *Salsola somalensis** Phytochemistry, **30**, 1281.
- ADAMS, R., P. (1995) *Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography / Mass spectroscopy*, Carol Stream: Allured Publishing.
- ADESANYA, S. A.; O'NEILL, M. J. and ROBERTS, M. F. (1985) *Isoflavonoids from *Phaseolus coccineus** Phytochemistry, **24**, 2699.
- AGRAWAL, P.K. and BANSAL, M.C. (1989) in *Carbon-13 NMR of Flavonoids* (Agrawal, P.K., ed.), Elsevier, Amsterdam, pp183-235.
- ALVAREZ, L.; RIOS, M. Y.; CHAVES, M. I.; DELGADO, G.; AGUILAR, M. I.; VILLAREAL, M. L. and NAVARRO, V. (1998) *Cytotoxic Isoflavans from *Eysenhardtia polystachya** Journal of Natural Products, **61**, 767.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C.,G., GUIMARÃES, E., F. e LIMA, H., C. (1991) *Sistemática de Angiospermas do Brasil*, V.2, Impr. Univ., Viçosa, p. 15.
- BLUNDEN, G.; GORDON S. M.; CRABB, T. A.; ROCH, O. G.; ROWAN, M. G. and WOOD, B.(1986) *NMR Spectra of Betaines from Marine Algae* Magnetic Resonance in Chemistry, **24**, 965
- BRAGA, M. R. (2000) *Fitoalexinas e a defesa das plantas* <http://www.sbgq.org.br/PN-NET/texto5/defesa.htm>. acessada em 08/10/2001
- BRAZ FILHO, R.; ALMEIDA, M. E. L. and GOTTLIEB, O. R (1973) *Iso- and Neo- Flavonoids from *Dalbergia Riparia** Phytochemistry, **12** 1187.

BRAZ FILHO, R.; GOTILIEB, O. R.; MOURÃO, A. P.; ROCHA, A. I. and OLIVEIRA, F. S. (1975) *Flavonoids from Derris Species* Phytochemistry, **14**, 1454.

BRAZ FILHO, R.; PEDREIRA, G.; GOTILIEB, O. R. and MAIA, J. G. S. (1976) *Isoflavones from Virola caducifolia*, Phytochemistry, **15**, 1029.

BREITMAIER, E. and VOELTER, W. (1987) *Carbon-13 NMR Spectroscopy – High Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry* 3^a ed. VCH, Germany, p 401.

BRUMMITT, R., K. (1992) *Vascular Plant Families and Genera*, Royal Botanic Gardens, Kew, p 598.

BRUNETON, J., (1991) *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*. Ed. Acribia S.A, Zaragaza, p 157.

CARLSON, D. G.; WEISLEDER, D. and TALLENT, W. H., (1973) NMR Investigation of rotenoids Tetrahedron, **29**, 2731.

CHIBBER, S. S. and SHARMA, R. P. (1979) *Robustigenin, a New Isoflavone from Derris robusta Seed Shells* Phytochemistry, **18**, 1082.

CROMBIE, L. and LOWN, J. W. (1962) *Proton Magnetic Studies of Rotenone and Related Compounds* J. Chem. Soc., 755

DAGNE, E.; MAMMO W. and STERNER, O. (1992.) *Flavonoids of Tephrosia Polyphylla* Phytochemistry, **31**, 2969.

De OLIVEIRA, A. B; IRACEMA, M.; MADRUGA, L. M. and GOTTLIEB, O. R. (1978) *Isoflavonoids from Myroxylon balsamum* Phytochemistry, **17**, 593.

- DIETRICH, S. M. C.; YOUNG, M. C. M.; NACCACHE, V. M.; BRAGA, M. R e GOTTLIEB, O. R. (1987) *Fitoalexinas* Ciência e cultura **39**, 149.
- DONNELLY, D. M. X.; KEENAN, P. J. and PRENDERGAST, J. P. (1973) *Isoflavonoids of **Dalbergia ecastophyllum*** Phytochemistry, **12**, 1157.
- FARAG, S. F.; AHMED, A. S.; TERASHIMA, K.; TAKAYA, Y. and NIWA, M. (2001) *Isoflavonoid glycosides from **Dalbergia sissoo***. Phytochemistry, **57** 1263.
- FARAG, S. F.; BACKHEET, E. Y.; EL-EMARY, N. A. and NIWA, M (1999) *Isoflavonoids and flavone glycosides from rhizomes of **Iris carthaliniae*** Phytochemistry, **50**, 1407.
- FERREIRA, M. J. P.; EMERENCIANO, V. P.; LINIA, G. A. R.; ROMOFF, P.; MACARI, P. A. T. e RODRIGUES, G. V. (1998) *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* São Paulo, pp 153-206.
- FONSECA, F. N.; FERREIRA, A. J. S.; SARTORELLI, P.; LOPES, N. P.; FLOH, E. I., S.; HANDRO, W. and KATO, M. J. (2000) *Phenylpropanoids Derivatives and Biflavones at Different Stages of Diferentiation and Development of **Araucaria angustifolia*** Phytochemistry, **55**, 575.
- GAGNON, H. and IBRAHIM, R. K. (1997) *Effects of various elicitors on the accumulation and secretion of isoflavonoids in White **Lupin*** Phytochemistry, **44**, 1463.
- GARCIA, M.; KANO, M. H. C.; VIEIRA, D. M.; NASCIMENTO, M. C. and MORS, W. B. (1986) *Isoflavonoids from **Derris spruceana*** Phytochemistry, **25** 2425.

GRISEBACH, H. and EBEL, J. (1978) *Phytoalexins, Chemical Defense Substances of Higher Plants?* Angew. Chem. Ed. Int. Engl. **17**, 635.

GUPTA, G. K.; DHAR, K. L. and ATAL, C. K. (1978) *Corylinal: A new Isoflavone from seeds of *Psoralea corylifolia** Phytochemistry, **17**, 164.

HAKAMATSUKA, T.; EBIZUKA, Y. and SANKAWA, U.

(1991) *Induced Isoflavonoids from Copper Chloride Treated stems of *Pueraria lobata Phytochemistry, **30**, 1481.**

HANAWA, F.; TAHARA, S. and MIZUTANI, J. (1991) *Isoflavonoids Produced by *Iris pseudacorus* Leaves Treated with Cupric Chloride* Phytochemistry, **30**, 157.

HARBORNE, J. B. and BAXTER, H. (1993) *Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants* Taylor & Francis, London

HARBORNE, J. B.; INGHAM, J. L.; KING, L. and PAYNE, M. (1976) *The Isopentenyl Isoflavone Luteone as a Pré- Infectional Antifungal Agent in the Genus *Lupinus** Phytochemistry, **15**, 1485.

HARBORNE, J., B. (1986) *The Flavonoids*. Ed. Chapman and Hall, London, p 171.

HAYASHI, H.; YASUMA, M.; HIRAOKA, N.; IKESHIRO, Y.; YAMAMOTO, H.; YESILADA, E.; SEZIK, E.; HONDA, G. and TABATA, M. (1996) *Flavonoid Variation in the leaves of *Glycyrrhiza glabra** Phytochemistry, **42**, 701.

HEFTMANN, E. (1975) *Functions of Steroids in Plants* Phytochemistry, **14**, 891.

- HEGNAUER, R. and BARKMEIJER., R. J. G. (1993) *Relevance off Seed Polysaccharides and Flavonoids for the Classification of the Leguminosae: A Chemotaxonomic Approach* Phytochemistry, **34**, 3.
- HERATH, H. M. T. B. and SILVA, S. (2000) *New Constituents from **Gliricidia sepium*** Fitoterapia, **71**, 722.
- HERATH, H. M. T. B.; DASSANAYAKE, R. S.; PRIYADARSHANI, A. M. A.; SILVA, S.; WANNIGAMA, G. P. and JAMIE, J. (1998) *Isoflavonoids and a Pterocarpan from **Gliricidia sepium*** Phytochemistry, **47**, 117.
- HOLDEN, C. M.; REES, J. C; SCOTT, S. P. and WHITTAKER, D. (1974) *Stereochemistry of Reduction of Umbellulone (Thuj-3-em-2ona) and Isodihydroumbellulona (4 β H-Thujan-2-one)* J.C.S.Perkin II, 1342
- IINUMA, M.; OKAWA, Y.; TANAKA, T.; HO, F.; KOBAYASHI, Y. and MIYAUCHI, K. (1994) *Anti-Oral Microbial Activity of Isoflavonoids in Root Bark of **Ormosia monosperma*** Phytochemistry, **37**, 889.
- IINUMA M.; OHYAMA, M.; TANAKA, T.; SHIRATAKI Y. and BURANDT, C. L. (1995) *Isoflavonoids in Roots of **Sophora secundiflora***. Phytochemistry, **39**, 907.
- IINUMA M.; OHYAMA, M.; TANAKA, T.; HEGARTY, M. P. and HEGARTY, E. E. (1993) *Isoflavonoids in Roots of **Sophora fraseri*** Phytochemistry, **34**, 1654.
- INGHAM, J. L. (1983) *Naturally Occurring Isoflavonoids (1855-1981)* Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe, **4**, p.01. Ed. Hers, W.; Grisebach, H.; Kiby, G. W. Springer Verlag, New York.

INGHAM, J. L. and DEWICK, P. M. (1980a) *Isolation of a New Isoflavan Phytoalexin from two Lotus species* Phytochemistry, **19**, 2799.

INGHAM, J. L. and DEWICK, P. M. (1980b) *Astraciceran: A new isoflavan Phytoalexin from Astragalus cicer* Phytochemistry, **19**, 1767.

INGHAM, J. L. and MARKHAN, K. R. (1982) *Tephrocarpin, a Pterocarpan Phytoalexin from Tephrosia bidwilli and a Structure proposal for Acanthocarpan*, Phytochemistry, **21**, 2969.

INGHAM, J.L. and MULHEIRN, L., J. (1982) *Isoflavonoid Phytoalexinas from Fungus-Inoculated Leaves of Apios Tuberosa* Phytochemistry, **21**, 1409.

JOLY, A. B. (1977) *Botânica – Introdução à Taxonomia Vegetal* 4^a ed, Editora Nacional, São Paulo, p. 371.

KANEKO, M.; NAKATA, H.; TAKATA, F.; MATSUMURA, M.; KITAGAWA, C.; SAKASHITA, S.; NUNO, M. and SAITOH, T. (1988) *Isoflavones from the Gall and Wood of Wisteria brachybotrys* Phytochemistry, **27**, 267.

KHALID, S. A.; GELLÉRT, M.; SZENDREI, K. and DUDDECK, H. (1989) *Prunetin 5-O-β-D-Glucopyranoside, an Isoflavone from the Penducle of Prunus avium and P. cerasus* Phytochemistry, **28**, 1560.

LANÇAS, F. M. (1993) *Cromatografia em Fase Gasosa*. ACTA, São Paulo, p112.

LAPCÍK, O.; HILL, M.; CERNÝ, I.; LACHMAN, J.; AL-MAHARIK, N.; ADLERCREUTZ, H. and HAMPL, R. (1999) *Immunoanalysis of Isoflavonoids in Pisum sativum and Vigna radiata* Plant Science, **148**, 111.

LEE, S.; WOOD, A. R.; MAIER, C. G.; DIXON, R. A. and MABRY, T. J. (1998) *Prenylated Flavonoids from Maclura Pomifera* Phytochemistry, **49** 2573.

LI, L.; WANG, H.; CHANG, J.; McPHAIL, A. T.; McPHAIL, D. R.; TERADA, H.; KONOSHIMA, T.; KOKUMAI, M.; KOZUCA, M.; ESTES, J. R. and LEE, K. (1993) *Antitumor Agents, 138. Rotenoids and Isoflavones as Cytotoxic Constituents from Amorpha fruticosa* Journal of Natural Products, **56** (5), 690.

MA, W.G.; FUKUSHI, Y.; HOSTETTMANN, K. and TAHARA, S. (1998) *Isoflavonoid Glycosides from Eriosema tuberosum* Phytochemistry, **49**, 251.

MABRY, T.; MARKHAM, K. R. and THOMAS, M. B. (1970) *The systematic identification of flavonoids* Springer Verlag, New York.

MAHATO, S. B. and KUNDU, A. P. (1994) *¹³C NMR Spectra of Pentacyclic triterpenoids – A Compilation and some salient features* Phytochemistry, **37** 1517.

MANN, J. (1994) *Chemical Aspects of Biosynthesis*. Ed. Oxford, New York, p 60.

MARANDUBA, A.; de OLIVEIRA, A. B.; de OLIVEIRA, G. G.; REIS, J. E. P. and GOTTLIEB, O. R. (1979) *Isoflavonoids from Myroxylon peruiferum* Phytochemistry, **18**, 815.

MARTIN, M. and DEWICK, P. M. (1979) *Biosynthesis of the 2-arilbenzofuran Phytoalexin Vignafuran in Vigna Unguiculata* Phytochemistry, **18**, 1309.

MEEGAN, M. J. and DONNELLY, D. M. X. (1975) *Isoflavonoids of Milbraedeodendron excelsa* Phytochemistry, **14**, 2283.

MESSANA, I.; FERRARI, F. and SANT'ANA A. E. G. (1986) *Two 12a-Hydroxyrotenoids from Boerhaavia coccinea* Phytochemistry, **25**, 2688

- MINAMI, H.; OKUBO, A.; KODAMA, M and FUKUYAMA, Y. (1996) *Highly Oxigenated Isoflavones from **Iris japonica*** *Phytochemistry*, **41**, 1219.
- MITRA, J. and JOSHI, T. (1983) *Isoflavonoids from the Heartwood of **Pterocarpus marsupium*** *Phytochemistry*, **22**, 2326.
- MIYASE, T.; SANO, M.; YOSHINO, K. and NONAKA, K. (1999) *Antioxidants from **Lespedeza homoloba*** *Phytochemistry*, **52**, 311.
- MORIYAMA, M.; TAHARA, S.; INGHAM, J. L. and MIZUTANI, J. (1993) *Isoflavonoid Alkaloids from **Piscidia erythrina*** *Phytochemistry*, **32**, 1317.
- MORIYAMA, M.; TAHARA, S.; INGHAM, J. L. and MIZUTANI, J. (1992) *Isoflavones from the Root Bark of **Piscidia erythrina*** *Phytochemistry*, **31**, 683.
- MÜLLER, C. (1984) *Revisão Taxonômica do Gênero **Poiretia** Vent. (Leguminosae) para o Brasil* Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, p150.
- NOREEN, Y.; EL-SEEDI, H.; PERERA, P. and BOHLIN, L. (1998) *Two New Isoflavones from **Ceiba pentandra** and Their Effect on Cyclooxygenase-Catalyzed Prostaglandin Biosynthesis* *Journal of Natural Products*, **61**, 8.
- NÚÑES, C. V. (1996) *Sesquiterpenos e Esteróides da Casca do Tronco de **Guarea guidonia** (L.) Sleumer (Meliaceae)* Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 118.
- OH, W.K.; LEE, H. S.; AHN, S. C.; AHN, J. S.; MBAFOR, J. T.; WANDJI, J.; FOMUM, Z. T.; CHANG, H. K. and KIM, Y. H. (1999) *Prenylated Isoflavonoids from **Erythrina senegalensis*** *Phytochemistry*, **51**, 1147.

OMOBUWAJO, O. R.; ADESANYA, S. A. and BABALOLA, G. O. (1992) *Isoflavonoids from Pycnanthus angolensis and Baphia nitida* Phytochemistry, **31**, 1013.

O'NEILL, M. J.; ADESANYA, S. A.; ROBERTS, M. F. and PANTRY, I. R. (1986) *Inducible Isoflavonoids from the Lima Bean, Phaseolus lunatus* Phytochemistry, **25**, 1315.

PARTHASARATHY, M. R.; SESHADRI T. R. and VARMA, R. S. (1976) *New Isoflavonoid Glycosides from Dalbergia paniculata* Phytochemistry, **15**, 1025.

PERRET, S.; WHITFIELD, P. J.; SANDERSON, L. and BARTLETT, A. (1995) *The plant molluscicide Millettia thonningii (Leguminosae) as a topical antischistosomal agent.* Journal of Ethnopharmacology, **47**, 49.

PISTELLI, L.; SPERA, K.; MELE, S. and MORELLI, I. (1996) *Isoflavonoids and Chalconas from Anthyllis hermanniae* Phytochemistry, **42**, 1455.

PRESTSCH, E.; SEIBL, J.; SIMON, W. and CLERC, T. (1989) *Tables of spectral data for structure determination of organic compounds*, 2^a ed. Springer-Verlag, Berlin, p. c206.

RADHAKRISHNIAH, M. (1973) *Isoflavonoids of Dalbergia paniculata seeds* Phytochemistry, **12**, 3003.

RAMESH, P. and YUVARAJAN, C. R. (1995) *Chemical Examination of Roots of Dalbergia coromandeliana Prain.* Indian Journal of Heterocyclic Chemistry, **4**, 315.

RAO, E. V.; PRASAD, Y. R. and MURTHY, M. S. R. (1994) *A prenylated Flavanone from Tephrosia maxima* Phytochemistry, **37**, 111.

- RAO, J. R. and RAO, R. S. (1991) *Dalpaniculin, A C-Glycosylisoflavone from Dalbergia paniculata Seeds* Phytochemistry, **30**, 715.
- RIBEIRO, J. S. (1999) *Benzofenonas, Triterpenos e Esteróides de Clusia Obdeltifolia (Clusiaceae)* Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, p. 181.
- SATO, H.; TAHARA, S.; INGHAM, J. L. and DZIEDZIC, S. Z. (1995) *Isoflavones from Pods of Laburnum anagyroides* Phytochemistry, **39**, 673.
- SEIGLER, D. S. (1998) *Plant Secondary Metabolism*. Ed. Kluwer Academic Publisher, London, p. 151.
- SHAWL, A. S. and KUMAR, T. (1992) *Isoflavonoids from Iris crocea* Phytochemistry, **31**, 1399.
- SILVA, J. R. A.; REZENDE, C.M.; PINTO, A C.; PINHEIRO, M.L.B.; CORDEIRO, M.C.; TAMBORINI, E.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, C. M. (1998). *Ésteres Triterpênicos de Himatanthus sucuuba (Spruce) Woodson* Química Nova **21**, 702.
- SMITH, D. A. and BANKS, S. A. (1986) *Biosynthesis, Elicitation and Biological Activity of Isoflavonoid Phytoalexins* Phytochemistry, **25**, 979.
- STEVENSON, P. C. and VEITCH, N. C. (1998) *The distribution of Isoflavonoids in Cicer* Phytochemistry, **48**, 995.
- TAHARA, S.; ORIHARA, S.; INGHAM, J.,L. and MIZUTANI, J. (1989) *Seventeen Isoflavonoids from Lupinus albus Roots* Phytochemistry, **28**, 901.
- TAHARA, S.; MORIYAMA, M.; INGHAM, J. L. and MIZUTANI, J. (1993) *Isoflavone Atropisomers from Piscidia erythrina* Phytochemistry, **34**, 545.

TAHARA, S.; MORIYAMA, M.; INGHAM, J. L. and MIZUTANI, J. (1992) *Structure Revision of Piscidone, a major Isoflavonoid in the Root Bark of **Piscidia erythrina*** Phytochemistry, **31**, 679.

TANAKA, T.; OHYAMA, M.; IINUMA M.; SHIRATAKI Y.; KOMATSU, M. and BURANDT, C. L. (1998) *Isoflavonoids from **Sophora secundiflora**, **S. arizonica** and **S. gypsophyla*** Phytochemistry, **48**, 1187.

VELOSO L. S. M.; SILVA, B. P.; BERNARDO, R. R. and PARENTE, J. P. (1999) *Odoratin 7-O- β -D-glucopyranoside from **Bowdichia virgilioides*** Phytochemistry, **52**, 1473.

WAFFO, A. K.; AZEBAZE, G. A.; NKENGFACK, A. E.; FOMUM, Z. T.; MEYER, M.; BODO, B. and HEERDEN, F. R. (2000) *Indicanines B and C, two Isoflavonoid Derivatives from the Root Bark of **Erythrina indica*** Phytochemistry, **53**, 981.

WANDJI, J.; AWANCHIRI, S. S.; FOMUM, Z. T.; TILLEQUIN, F. and DANIWICZ, S. M. (1995a) *Prenylated Isoflavonoids from **Erythrina senegalensis*** Phytochemistry, **38**, 1309.

WANDJI, J.; AWANCHIRI, S. S.; FOMUM, Z. T.; TILLEQUIN, F. and LIBOT, F. (1995b) *Isoflavones and alkaloids from the Stem Bark and Seeds of **Erythrina senegalensis*** Phytochemistry, **39**, 677.

WANJALA, C. C. and MAJINDA, R. R. (2000) *A new isoflavanone from the stem bark of **Erythrina latissima*** Fitoterapia, **71**, 400

WEHRLI, F. W. (1983) *The Use of Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Natural Products Chemistry* Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe, **4**, p.01. Ed. Hers, W.; Grisebach, H.; Kiby, G. W. Springer Verlag, New York.

WILLIAMS, C. A.; HARBORNE, J. B and EAGLES, J. (1989) *Leaf Flavonoid Diversity in the Australian Genus **Patersonia*** Phytochemistry, **28**, 1891.

WOODWARD, M. D. (1979) *New Isoflavonoids Related to Kievitone from **Phaseolus vulgaris*** Phytochemistry, **18**, 2007.

YADAVA, R. N. and KUMAR, S. (1999) *A novel Isoflavone Glycoside from the leaves of **Araucaria angustifolia*** Fitoterapia, **70**, 127.

YANKEP, E.; MBAFOR, T.; FOMUM, Z. T.; STEINBECK, C.; MESSANGA, B. B.; NYASSE, B.; BUDZIKIEWICZ, H.; LENZ, C. and SCHMICKLER, H. (2001) *Further Isoflavonoid Metabolites from **Milletia griffoniana** (Bail)*. Phytochemistry, **56**, 363.

YENESEW, A.; MIDIWO, J. O; HEYDENREICH, M. and PETER, M. G. (1998 a) *Four Isoflavones from the Stem Bark of **Erythrina sacleuxii*** Phytochemistry, **49** 247.

YENESEW A.; MIDIWO, J. O. and WATERMAN, P. G. (1998 b) *Rotenoids, Isoflavones and Chalcones from the stem Bark of **Milletia usaramensis** subespecies *usaramensis** Phytochemistry, **47**, 295.