



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Programa de Pós Graduação
em Química

JACKSON NUNES E VASCONCELOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL QUÍMICO E BIOLÓGICO DE
Tephrosia toxicaria Pers.(Fabaceae)

FORTALEZA
2010

JACKSON NUNES E VASCONCELOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL QUÍMICO E BIOLÓGICO DE
Tephrosia toxicaria Pers.(Fabaceae)

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientadora: Profa. Dra. Angela Martha Campos Arriaga

Co-orientador: Prof. Dr. Jair Mafezoli

FORTALEZA
2010

V45a Nunes e Vasconcelos, Jackson
Avaliação do potencial químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers.
(Fabaceae) / Jackson Nunes e Vasconcelos, 2010.
188 f.; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Angela Martha Campos Arriaga

Co-orientadora: Prof. Dr. Jair Mafezoli

Área de concentração: Química Orgânica

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2010.

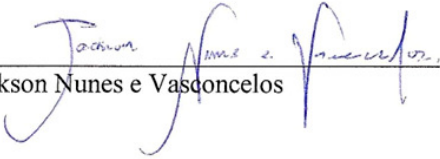
1. Leguminosae. 2. *Aedes Aegypti*. 3. Flavonoide. I. Arriaga, Angela
Martha Campos (Orient.). II. Mafezoli, Jair. III. Universidade Federal do
Ceará – Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDD 547

JACKSON NUNES E VASCONCELOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL QUÍMICO E BIOLÓGICO DE
Tephrosia toxicaria Pers. (Fabaceae)

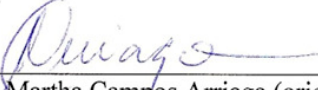
Essa tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia / UFC encontra-se à disposição dos interessados.



Jackson Nunes e Vasconcelos

TESE APROVADA EM: 06/04/2010

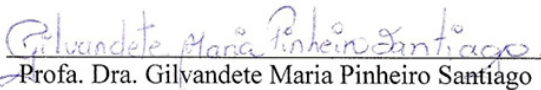
EXAMINADORES:



Prof. Dra. Ângela Martha Campos Arriaga (orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC



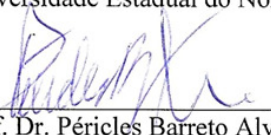
Prof. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Gilyandete Maria Pinheiro Santiago
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Raimundo Braz Filho
Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF



Prof. Dr. Péricles Barreto Alves
Universidade Federal do Sergipe – UFSE

A Deus pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos meus pais, Antônio Portela e Vasconcelos e Maria Tânia Nunes e Vasconcelos, à minha irmã Layr Nunes e Vasconcelos e ao meu amor, Morgana Morais Falcão de Carvalho Vasconcelos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força e oportunidade de realização deste trabalho; e aos meus pais por terem priorizado minha educação, permitindo a realização desse sonho.

À minha esposa, Morgana, pela paciência, amor, carinho, companheirismo e por entender minha ausência nos momentos dedicados à pesquisa.

À Profa. Ângela, mais que minha Orientadora, minha Amiga, pelos conhecimentos transmitidos, confiança, orientação e conselhos; e ao Prof. Jair pela co-orientação e atenção, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao Jefferson, pela amizade, companhia, atenção e ajuda desde a graduação.

À Renata Lopes, pelo empenho no trabalho, sobretudo na revisão bibliográfica.

À Profa. Gilvandete, pela atenção e amizade e às bolsistas Yana, Mariana e Mayara pela realização dos ensaios de atividade larvicida.

À Profa. Telma e ao doutorando Leonardo pela realização dos testes de atividade antioxidante.

Ao Prof. Edilberto pela oportunidade de operar os equipamentos de RMN do CENAUREMN e pela disponibilidade dos mesmos sempre que precisei; e aos colegas Daniel, Glauber, Nirla e Renata, pelos conhecimentos transmitidos.

À Profa. Mary pela disponibilização do aparelho de CLAE, e aos colegas Deda, Elton, Biel e Daniel, pela grande ajuda no isolamento dos compostos.

Aos demais Professores da pós-graduação que contribuíram para a minha formação ou de alguma forma para a realização desse trabalho.

Aos professores (as) Gilvandete M. P. Santiago, Mary Anne, Péricles B. Alves e Raimundo Braz-Filho pelas valiosas considerações, sugestões e correções realizadas.

Ao Nazareno, proprietário da horta orgânica em Guaraciaba do Norte - CE, pelo fornecimento do material botânico; ao Prof. Andrade pela realização da coleta e ao Prof. Edson P. Nunes pela identificação e descrições botânicas da espécie estudada.

Aos amigos do Laboratório de Síntese: Claudinho, Diego, Eduardo, Grazy, Helenicy, Leôncio, Michele, Milena, Patrícia, Roberto e Thaty.

Àqueles que fizeram parte do meu dia-a-dia: Adonay, Andreza, Ayla, Artur, Baby, Barthô, Daniel, Danjo, Farmacinha, Gigi, Guilherme, Guga, Henrique, João Carlos, Jonas, Natália, Neto, Praxedes, Reinaldo, Sammy e Tiago pelos momentos de descontração sejam nos laboratórios, nas salas de aula ou nos corredores e ainda aos

colegas do curso que ajudaram, seja emprestando uma vidraria ou disponibilizando um evaporador rotativo, auxílios essenciais ao desenvolvimento do trabalho.

Aos operadores dos Espectrômetros de massa: Bebel, Ceiça, Chicão, Daniele, Elton e Luciana Bertini.

Aos amigos Ed Carlos (University College Cork), Rafael (UFSCar), Rudy (USP) e Sávio (UNICAMP) pela disponibilidade e envio de diversos artigos.

Aos funcionários do curso: D. Mundinha, Lana, Sr. Paulo, Célia e Orlando.

À Universidade Federal do Ceará e ao curso de pós-graduação em química, por toda a minha formação e por possibilitar que esse trabalho fosse desenvolvido.

Aos órgãos financiadores, que me proporcionaram o apoio financeiro necessário para minha total dedicação: Ao CNPq, pela bolsa concedida durante minha iniciação científica e meu mestrado; e à CAPES, pelo suporte no doutorado.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano por ter me concedido o tempo necessário para a conclusão do trabalho.

*...muito obrigado.
Jackson*

Recordo o passado,
sinto o presente,
contemplo o futuro
e vejo que valeu a pena.

Jackson Nunes e Vasconcelos

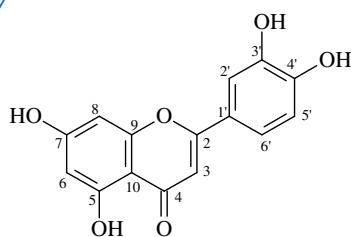
RESUMO

Tephrosia toxicaria Pers. (Fabaceae) popularmente conhecida como “timbó de caiena”, é utilizada na lavoura como defensivo agrícola e na pesca para paralisar peixes, devido sua atividade ictiotóxica. Este trabalho relata o estudo químico de *T. toxicaria* e avaliação das atividades antioxidante e larvicida sobre *Aedes aegypti*. O estudo químico permitiu o isolamento de dez flavonoides (TTP-1 – luteolina, TTP-3 – 6a,12a-desidro- α -toxicarol, TTP-4 – α -toxicarol, TTP-5 – obovatina, TTP-6 – deguelina, TTP-8 – villosinol, TTP-9 – 12a-hidroxi- α -toxicarol, TTP-10 – sumatrol, TTP-11 – 12a-hidroxirotenona e TTP-12 – tephrosina) – sendo oito deles rotenoides – uma cromona (TTP-13 – 6,7-dimetoxicromona) e a mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol, nas suas formas simples e glicosiladas. Ensaio larvicidas e antioxidantes foram realizados com diversos extratos, partições e com alguns dos metabólitos secundários isolados. Devido à presença de rotenoides, compostos que têm sido utilizados no controle de pragas agrícolas desde o século XIX, o estudo de *T. toxicaria* se mostrou bastante promissor, com diversas amostras ativas, apresentando atividade comparável à da rotenona, composto utilizado como padrão positivo do ensaio larvicida. Os resultados dos ensaios antioxidantes sugerem *T. toxicaria* como uma fonte potencial desses agentes, provavelmente devido à presença de flavonoides. As substâncias isoladas foram identificadas por métodos espectrométricos e espectroscópicos (IV, EM, RMN ^1H e RMN ^{13}C), incluindo RMN bidimensional (HMBC, HSQC e COSY) e por comparação com dados da literatura.

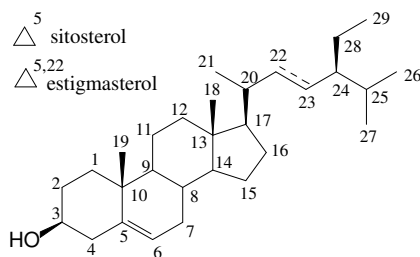
ABSTRACT

Tephrosia toxicaria Pers. (Fabaceae) popularly known as "timbó de caiena" is used as pesticide and fishing poison, because its activity ichthyotoxic. This work reports the chemical study of *T. toxicaria* and its larvicidal and antioxidant activities evaluation. Phytochemical investigation led to the isolation of ten flavonoids (TTP-1 – luteolin, TTP-3 – 6a,12a-dehydro- α -toxicarol, TTP-4 – α -toxicarol, TTP-5 – obovatin, TTP-6 – deguelin, TTP-8 – villosinol, TTP-9 – 12a-hydroxy- α -toxicarol, TTP-10 – sumatrol, TTP-11–12a-hydroxyrotenone and TTP-12 – tephrosin) – eight of them rotenoids – one cromone (TTP-13 – 6,7-dimethoxychromone) and the mixture of steroids sitosterol and stigmasterol, in their simple forms and glycosylated. Antioxidant and larvicidal assays were performed with several extracts, partitions and with some of the secondary metabolites isolated. Due to the presence of rotenoids, compounds have been used to control in agricultural pest since the XIX century, the study of *T. toxicaria* was quite promising, with several active extracts, with activity comparable to that of rotenone, compound used as a positive test. Its antioxidant activity tests shown *T. toxicaria* as a potential source of these agents, probably due to the presence of flavonoids, compounds characteristic for presenting various types of biological activities. The substances were isolated and its structures determined by spectroscopic and spectrometric methods (IR, EM, ^1H NMR and ^{13}C NMR), including two-dimensional NMR (HMBC, HSQC and COSY) and by comparison with literature data.

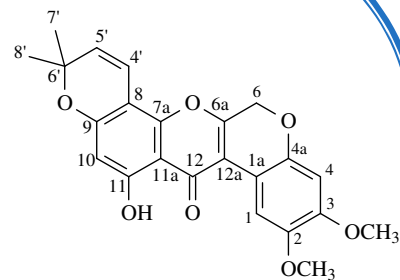
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS



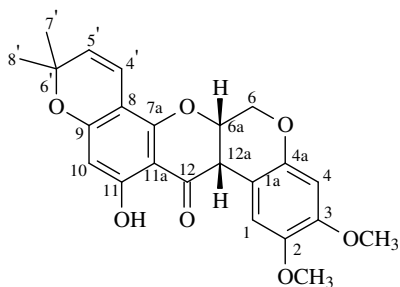
Luteolina
(TTP-1)



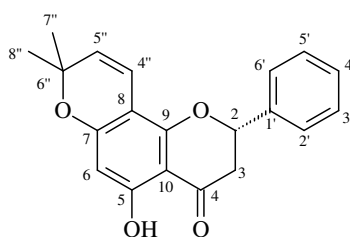
Sitosterol e estigmasterol
(TTP-2)



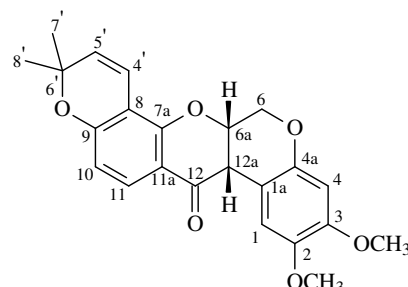
6a,12a-desidro-α-toxicarol
(TTP-3)



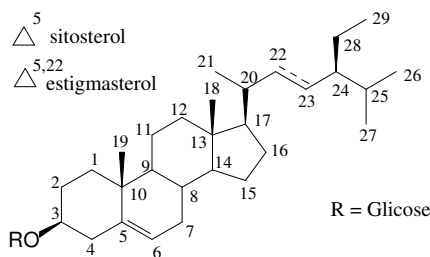
α-toxicarol
(TTP-4)



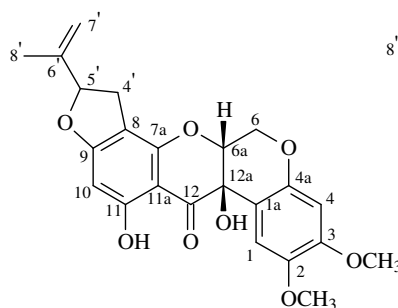
Obovatina
(TTP-5)



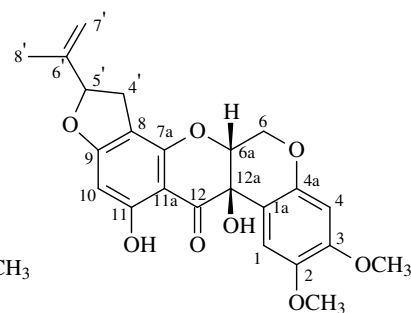
Deguelina
(TTP-6)



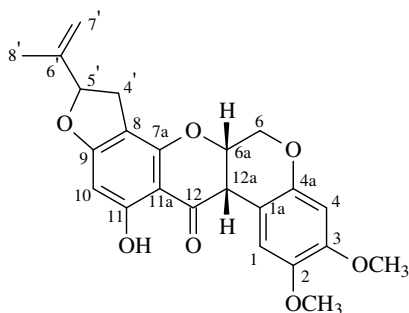
Sitosterol e estigmasterol
glicosilados
(TTP-7)



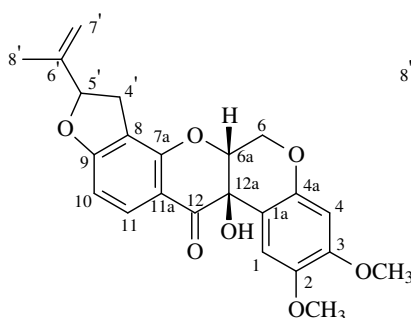
Villosinol
(TTP-8)



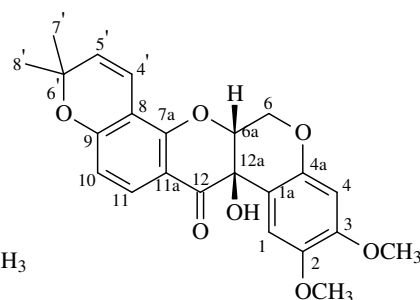
12a-hidroxi-α-toxicarol
(TTP-9)



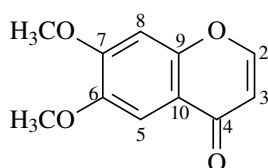
Sumatrol
(TTP-10)



12a-hidroxirotenona
(TTP-11)



Tephrosina
(TTP-12)



6,7-dimetoxicromona
(TTP-13)

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Rotenona	22
Figura 02 – Gráfico das publicações envolvendo o gênero <i>Tephrosia</i>	23
Figura 03 – Desenho técnico de partes de plantas características da subfamília Papilionoideae	26
Figura 04 – Folhas, flores e fruto característicos de plantas da subfamília Papilionoideae	27
Figura 05 – Foto de cultivo de <i>T. toxicaria</i> Pers. em Guaraciaba do Norte - CE	27
Figura 06 – Esqueleto das principais classes de flavonoides	29
Figura 07 – Rotenoides isolados das plantas do gênero <i>Tephrosia</i>	31
Figura 08 – Rota biossintética de formação dos rotenoides deguelina e rotenona	40
Figura 09 – Estrutura de TTP-13 (6,7-dimetoxicromona)	44
Figura 10 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz / CDCl_3) de TTP-13	45
Figura 11 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz / CDCl_3) de TTP-13	46
Figura 12 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-13	46
Figura 13 – Espectro de massa de TTP-13	47
Figura 14 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-13	47
Figura 15 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-13	47
Figura 16 – Estrutura de TTP-1 (3',4',5,7 - tetrahidroxiflavona / luteolina)	50
Figura 17 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de TTP-1	51
Figura 18 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de TTP-1	52
Figura 19 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de TTP-1	52
Figura 20 – Espectro de massa de TTP-1	53
Figura 21 – Espectro no infravermelho de TTP-1	53
Figura 22 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de TTP-1	53
Figura 23 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-1	54
Figura 24 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-1	54
Figura 25 – Expansão do espectro bidimensional – HMBC de TTP-1	55
Figura 26 – Sistema 6'',6'' - dimetilcromeno	57
Figura 27 – Acoplamento da hidroxila fenólica com o carbono hidrogenado nas estruturas angular e linear	58
Figura 28 – Estrutura de TTP-5 (obovatina)	59
Figura 29 – Representação conformacional do anel C de TTP-5	59
Figura 30 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-5	60
Figura 31 – Espectro de massa de TTP-5	60
Figura 32 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-5	61
Figura 33 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-5	61
Figura 34 – Espectro no infravermelho de TTP-5	62
Figura 35 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-5	62
Figura 36 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-5	63

Figura 37 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-5	63
Figura 38 – Unidade estrutural de TTP-6	65
Figura 39 – Estrutura do anel aromático 2,3,5,6 - tetrassubstituído de TTP-6	66
Figura 40 – Estrutura de TTP-6 (deguelina)	66
Figura 41 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-6	67
Figura 42 – Espectro de massa de TTP-6	68
Figura 43 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-6	68
Figura 44 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-6	68
Figura 45 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-6	69
Figura 46 – Espectro no infravermelho de TTP-6	69
Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-6	70
Figura 48 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-6	70
Figura 49 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-6	71
Figura 50 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-6	71
Figura 51 – Unidade estrutural de TTP-4	73
Figura 52 – Estrutura de TTP-4 (α -toxicarol)	74
Figura 53 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-4	75
Figura 54 – Espectro de massa de TTP-4	75
Figura 55 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-4	76
Figura 56 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-4	76
Figura 57 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-4	77
Figura 58 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-4	77
Figura 59 – Espectro no infravermelho de TTP-4	78
Figura 60 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-4	78
Figura 61 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-4	79
Figura 62 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-4	79
Figura 63 – Unidade estrutural de TTP-12	81
Figura 64 – Estrutura de TTP-12 (tephrosina)	82
Figura 65 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-12	83
Figura 66 – Espectro de massa de TTP-12	83
Figura 67 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-12	84
Figura 68 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-12	84
Figura 69 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-12	85
Figura 70 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-12	85
Figura 71 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-12	86
Figura 72 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-12	86
Figura 73 – Estrutura de TTP-9 (12a-hidroxi- α -toxicarol)	88
Figura 74 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-9	89

Figura 75 – Espectro de massa de TTP-9	90
Figura 76 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-9	90
Figura 77 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-9	90
Figura 78 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-9	91
Figura 79 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-9	91
Figura 80 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-9	92
Figura 81 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-9	92
Figura 82 – Estrutura do anel aromático 2,3,5,6 - tetrassubstituído de TTP-3	94
Figura 83 – Estrutura de TTP-3 (6a,12a-desidro- α -toxicarol)	95
Figura 84 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-3	96
Figura 85 – Espectro de massa de TTP-3	96
Figura 86 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-3	96
Figura 87 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-3	97
Figura 88 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-3	97
Figura 89 – Espectro no infravermelho de TTP-3	97
Figura 90 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-3	98
Figura 91 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-3	98
Figura 92 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-3	99
Figura 93 – Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC de TTP-3	99
Figura 94 – Sistema isoprenilfurânico	101
Figura 95 – Correlações de HMBC dos hidrogênios metilênicos (H-4')	101
Figura 96 – Estrutura de TTP-10 (sumatrol)	102
Figura 97 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-10	102
Figura 98 – Espectro de massa de TTP-10	103
Figura 99 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-10	104
Figura 100 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-10	104
Figura 101 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-10	105
Figura 102 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-10	105
Figura 103 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-10	106
Figura 104 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-10	106
Figura 105 – Estrutura de TTP-11 (12a-hidroxirotenona)	108
Figura 106 – Propostas de fragmentações de massa de TTP-11	108
Figura 107 – Espectro de massa de TTP-11	109
Figura 108 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-11	110
Figura 109 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-11	110
Figura 110 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-11	111
Figura 111 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-11	111

Figura 112 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-11	112
Figura 113 – Estrutura de TTP-8 (villosinol / 12a-hidroxisumatrol)	114
Figura 114 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-8	115
Figura 115 – Espectro de massa de TTP-8	116
Figura 116 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-8	116
Figura 117 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-8	116
Figura 118 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-8	117
Figura 119 – Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-8	117
Figura 120 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-8	118
Figura 121 – Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-8	118
Figura 122 – Estruturas dos componentes da mistura TTP-2	120
Figura 123 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-2	121
Figura 124 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-2	121
Figura 125 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-2	122
Figura 126 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-2	122
Figura 127 – Estruturas dos componentes da mistura TTP-7	124
Figura 128 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7	125
Figura 129 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7	125
Figura 130 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7	126
Figura 131 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7	126
Figura 132 – Sistema Soxhlet	137
Figura 133 – Cromatograma de CLAE de TTRASEC (5)/(50-79)/(3-14)	145
Figura 134 – Cromatograma de CLAE de TTRASEC (8-14)/(14-26)	147
Figura 135 – Cromatograma de CLAE de TTRASEC (16-17)/(69-74)	149
Figura 136 – Foto do <i>Aedes aegypti</i>	152
Figura 137 – Estruturas do Temephos [®] e DDT	153
Figura 138 – Fotografia da cromatofolha do teste antioxidante utilizando o β -caroteno	156
Figura 139 – Estruturas do β -caroteno, Trolox [®] , DPPH e vitamina C	157

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Relação dos rotenoides isolados do gênero <i>Tephrosia</i> , suas fontes botânicas (espécie) e as correspondentes referências	34
Tabela 02 – Dados de RMN ^{13}C dos rotenoides isolados de plantas do gênero <i>Tephrosia</i>	37
Tabela 03 – Relação das atividades biológicas demonstradas por rotenoides	42
Tabela 04 – Dados espectroscópicos de TTP-13 (CDCl_3) comparados com a literatura (ROMUSSI, CIARALLO, 1976 – $\text{DMSO}-d_6$)	45
Tabela 05 – Dados espectroscópicos de TTP-1 comparados com a literatura (AGRAWAL, 1989) / CD_3OD	51

Tabela 06 – Dados espectroscópicos de TTP-5 comparados com a literatura (ANDREI <i>et al.</i> , 2000) / CDCl ₃	60
Tabela 07 – Dados espectroscópicos de TTP-6 comparados com a literatura (ANDREI <i>et al.</i> , 1997) / CDCl ₃	67
Tabela 08 – Dados espectroscópicos de TTP-4 comparados com a literatura (ANDREI <i>et al.</i> , 1997) / CDCl ₃	74
Tabela 09 – Dados espectroscópicos de TTP-12 comparados com a literatura (AHMAD <i>et al.</i> , 1999) / CDCl ₃	82
Tabela 10 – Dados espectroscópicos de TTP-9 comparados com a literatura (ANDREI <i>et al.</i> , 1997) / CDCl ₃	89
Tabela 11 – Dados espectroscópicos de TTP-3 comparados com os da literatura (ANDREI <i>et al.</i> , 1997) / CDCl ₃	95
Tabela 12 – Dados espectroscópicos de TTP-10 comparados com os da literatura / CDCl ₃	103
Tabela 13 – Dados espectroscópicos de TTP-11 comparados com os da literatura (PHRUTIVORAPONGKUL <i>et al.</i> , 2002) / *CDCl ₃	109
Tabela 14 – Dados espectroscópicos de TTP-8 comparados com a literatura (KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977)/DMSO- <i>d</i> ₆	115
Tabela 15 – Comparação dos dados de RMN ¹³ C - BB de TTP-2 com os dos esteroides sitosterol e estigmasterol (GOAD, 1991)	120
Tabela 16 – Comparação dos dados de RMN ¹³ C - BB de TTP-7 com os dos esteroides sitosterol e estigmasterol nas formas glicosiladas (ALAM <i>et al.</i> , 1996)	124
Tabela 17 – Dados da obtenção dos extratos etanólicos de <i>T. toxicaria</i>	130
Tabela 18 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTTE	131
Tabela 19 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRE	131
Tabela 20 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVE	132
Tabela 21 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEA	132
Tabela 22 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEA – 4	133
Tabela 23 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEC	134
Tabela 24 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75)	135
Tabela 25 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75) / (23-83)	136
Tabela 26 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRAFA	139
Tabela 27 – Frações resultantes do tratamento cromatográfico de TTRAFA	139
Tabela 28 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)	140
Tabela 29 – Frações resultantes do tratamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)	140
Tabela 30 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43) / (14-30)	141
Tabela 31 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRASE	142
Tabela 32 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRASEC	143
Tabela 33 – Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC	143
Tabela 34 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)	144
Tabela 35 – Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)	144

Tabela 36 – Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5) / (50-79)	145
Tabela 37 – Dados referentes ao fracionamento por CLAE de TTRASEC (5) / (50-79) / (3-14)	146
Tabela 38 – Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (8-14)	147
Tabela 39 – Dados referentes ao fracionamento por CLAE de TTRASEC (8-14) / (14-26)	147
Tabela 40 – Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (16-17)	148
Tabela 41 – Dados referentes ao fracionamento por CLAE de TTRASEC (16-17) / (69-74)	148
Tabela 42 – Resultados dos testes larvídica sobre <i>Aedes aegypti</i>	154
Tabela 43 – Resultados do teste antioxidante utilizando o DPPH	157

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 01 – Isolamento de TTP-1	133
Fluxograma 02 – Isolamento de TTP-2 e TTP-3	136
Fluxograma 03 – Isolamento de TTP-4	137
Fluxograma 04 – Isolamento de TTP-5 e TTP-6	141
Fluxograma 05 – Isolamento de TTP-7, TTP-8, TTP-9, TTP-10 e TTP-4	146
Fluxograma 06 – Isolamento de TTP-8, TTP-9, TTP-11, TTP-12 e TTP-13	149

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CAC	Cromatografia de adsorção em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CENAUREMN	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CL₅₀	Concentração letal capaz de matar 50 % das larvas
COSY	Correlation Spectroscopy
Da	Dalton
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazila
DL₅₀	Dose letal capaz de matar 50 % dos ratos
EUA	Estados Unidos da América
EM	Espectrometria de massa
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
CI₅₀	Concentração inibitória 50%

IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
L	Comprimento
m/z	razão massa carga
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono - 13
TTFE	Extrato etanólico das folhas de <i>T. toxicaria</i>
TTFEM	Partição metanol do extrato etanólico das folhas de <i>T. toxicaria</i>
TTRAF	Extrato aquoso obtido por extração a frio das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRAFA	Partição acetato de etila do extrato aquoso obtido a frio das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRAFE	Extrato etanólico obtido após extração aquosa a frio das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRAS	Extrato aquoso obtido por extração em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRASA	Partição acetato de etila do extrato aquoso obtido em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRASE	Extrato etanólico obtido após extração aquosa em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRASEA	Partição acetato de etila do extrato etanólico obtido após extração aquosa em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRASEC	Partição clorofórmio do extrato etanólico obtido após extração aquosa em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRASEH	Partição hexano do extrato etanólico obtido após extração aquosa em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRASEM	Partição metanol do extrato etanólico obtido após extração aquosa em Soxhlet das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTRE	Extrato etanólico das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTREA	Partição acetato de etila do extrato etanólico das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTREC	Partição clorofórmio do extrato etanólico das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTREH	Partição hexano do extrato etanólico das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTREM	Partição metanol do extrato etanólico das raízes de <i>T. toxicaria</i>
TTTE	Extrato etanólico dos talos de <i>T. toxicaria</i>
TTTEA	Partição acetato de etila do extrato etanólico dos talos de <i>T. toxicaria</i>
TTTEC	Partição clorofórmio do extrato etanólico dos talos de <i>T. toxicaria</i>
TTTEH	Partição hexano do extrato etanólico dos talos de <i>T. toxicaria</i>
TTTEM	Partição metanol do extrato etanólico dos talos de <i>T. toxicaria</i>
TTVE	Extrato etanólico das vagens de <i>T. toxicaria</i>
TTVEA	Partição acetato de etila do extrato etanólico das vagens de <i>T. toxicaria</i>
TTVEC	Partição clorofórmio do extrato etanólico das vagens de <i>T. toxicaria</i>
TTVEH	Partição hexano do extrato etanólico das vagens de <i>T. toxicaria</i>
TTVEM	Partição metanol do extrato etanólico das vagens de <i>T. toxicaria</i>

TTP-1	Luteolina
TTP-2	Sitosterol e estigmasterol
TTP-3	6a,12a-desidro- α -toxicarol
TTP-4	α -toxicarol
TTP-5	Obovatina
TTP-6	Deguelina
TTP-7	Sitosterol e estigmasterol glicosilados
TTP-8	Villosinol
TTP-9	12a-hidroxi- α -toxicarol
TTP-10	Sumatrol
TTP-11	12a-hidroxirotenona
TTP-12	Tephrosina
TTP-13	6,7-dimetoxicromona
t_R	Tempo de retenção
p.f.	Ponto de fusão
UV	Ultravioleta
ϕ	Diâmetro
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	21
2 – CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	24
2.1. Considerações botânicas sobre a família Fabaceae	24
2.2. Considerações botânicas sobre a subfamília Papilionoideae	24
2.3. Considerações botânicas sobre o gênero <i>Tephrosia</i>	25
2.4. Considerações botânicas sobre a espécie <i>Tephrosia toxicaria</i> Pers.	25
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3.1. Flavonoides – Aspectos químicos e relevância	28
3.2. Rotenoides do gênero <i>Tephrosia</i>	30
3.3. Aspectos biossintéticos dos rotenoides	39
3.4. Atividade biológica	41
4 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	43
4.1. Determinação Estrutural de TTP-13	43
4.2. Determinação Estrutural de TTP-1	48
4.3. Determinação Estrutural de TTP-5	56
4.4. Determinação Estrutural de TTP-6	64
4.5. Determinação Estrutural de TTP-4	72
4.6. Determinação Estrutural de TTP-12	80
4.7. Determinação Estrutural de TTP-9	87
4.8. Determinação Estrutural de TTP-3	93
4.9. Determinação Estrutural de TTP-10	100
4.10. Determinação Estrutural de TTP-11	107
4.11. Determinação Estrutural de TTP-8	113
4.12. Determinação Estrutural de TTP-2	119
4.13. Determinação Estrutural de TTP-7	123
5 – PARTE EXPERIMENTAL	127
5.1 Material botânico (<i>Tephrosia toxicaria</i> Pers.)	127
5.2. Métodos cromatográficos	127
5.2.1. Cromatografia de adsorção	127
5.2.2. Cromatografia de exclusão	128
5.2.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	128
5.3. Métodos Espectrométricos	128
5.3.1. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	128
5.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	129
5.3.3. Espectrometria de massa	130
5.4. Método físico de análise	130
5.4.1. Determinação do ponto de fusão (p.f.)	130
5.5. Estudo fitoquímico de <i>Tephrosia toxicaria</i> Pers.	130

5.5.1. Obtenção dos extratos etanólicos das folhas, talos, raízes e vagens de <i>T. toxicaria</i>	130
5.5.2. Fracionamento cromatográfico de TTTE (cromatografia filtrante)	131
5.5.3. Fracionamento cromatográfico de TTRE (cromatografia filtrante)	131
5.5.4. Fracionamento cromatográfico de TTVE (cromatografia filtrante)	132
5.5.4.1. Fracionamento cromatográfico de TTVEA	132
5.5.4.2. Fracionamento cromatográfico de TTVEA-4 e isolamento de TTP-1	133
5.5.4.3. Fracionamento cromatográfico de TTVEC	134
5.5.4.4. Fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75)	134
5.5.4.5. Fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75) / (23-83) e isolamento de TTP-3	135
5.5.5. Obtenção dos extratos aquosos das raízes de <i>T. toxicaria</i>	136
5.5.5.1. Obtenção dos extratos aquosos das raízes por extração em Soxhlet e isolamento de TTP-4	137
5.5.5.2. Obtenção dos extratos aquosos das raízes por extração a frio	138
5.5.5.3. Fracionamento cromatográfico de TTRAFA e isolamento de TTP-5	138
5.5.5.4. Fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)	139
5.5.5.5. Fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43) / (14-30) e isolamento de TTP-6	140
5.5.5.6. Fracionamento cromatográfico de TTRASE e isolamento de TTP-7	141
5.5.5.7. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC	142
5.5.5.8. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)	143
5.5.5.9. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5) / (50-79)	144
5.5.5.10. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5) / (50-79) / (3-14) e isolamento de TTP-8, TTP-9 e TTP-10	145
5.5.5.11. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (8-14)	146
5.5.5.12. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (8-14) / (14-26) e isolamento de TTP-11 e TTP-12	147
5.5.5.13. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (16-17)	148
5.5.5.14. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (16-17) / (69-74) e isolamento de TTP-13	148
5.6. Atividades biológicas	150
5.6.1. Teste de atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i>	150
5.6.2. Teste de atividade antioxidante	150
5.6.2.1. Teste qualitativo (β -caroteno)	150
5.6.2.2. Teste quantitativo (DPPH)	151
6 – ENSAIOS BIOLÓGICOS	152
6.1. Teste de atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i>	152
6.2. Teste de atividade antioxidante	155
7 – CONCLUSÃO	158
8 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS	160
REFERÊNCIAS	173

INTRODUÇÃO

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO

Na natureza, de forma geral, são produzidas a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. O reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado, devido às suas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos. Assim, as plantas podem ser consideradas uma valiosa fonte de produtos naturais, dentre as quais somente uma pequena fração aparece explorada e conhecida, permanecendo uma grande incógnita cujos mistérios começam a ser desvendados (PINTO *et al.*, 2002).

A utilização de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antiga quanto a espécie humana; e observações populares contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos (MACIEL *et al.*, 2002). Nos dias atuais, mesmo com a grande evolução das drogas obtidas por síntese orgânica, elas continuam desempenhando um papel de destaque na saúde pública (VIEIRA, 2008). Com o desenvolvimento da tecnologia, aliado ao interesse em se confirmar o conhecimento em medicina popular e estudar a sua composição química, as plantas medicinais têm sido objeto de pesquisas e de grandes investimentos nos últimos 40 anos (ARNOUS; SANTOS; BEINNER, 2005).

O gênero *Tephrosia* possui aproximadamente trezentas espécies, existentes em regiões tropicais e subtropicais (SINHA; NATU; NANAVATI, 1982), e apresenta compostos com grande diversidade estrutural como esteroides, aminoácidos e flavonoides. Dentre estes últimos, destacam-se os isoflavonoides rotenoides, compostos tóxicos a peixes, que agem na inibição da cadeia respiratória mitocondrial (MASCARO, *et al.*, 1998), facilitando assim a sua captura. A literatura relata diversas atividades para as plantas deste gênero, dentre as quais atividade hepatoprotetora, anti-câncer, anti-tumoral, anti-viral, inseticida, antimicrobiana, anti-fúngica e ictiotóxica (CROMBIE; WHITING, 1998; SALEEM *et al.*, 2001; JANG *et al.*, 2003; JAIN; SINGHAI; DIXIT, 2006; GANAPATY *et al.*, 2008a; VIJAYAN; GURUPRASAD; KIRTI, 2008; KHATRI; GARG; AGRAWAL, 2009).

A busca por inseticidas naturais ganhou enorme impulso depois da descoberta dos efeitos indesejáveis aos ecossistemas de compostos sintéticos como o DDT (Fig. 137, p. 153). Com a intenção de se descobrir alternativas para o controle ou a erradicação de doenças transmitidas por insetos, extratos vegetais e substâncias puras podem ser fontes de agentes inseticidas (YENESEW *et al.*, 2003b). Muitos rotenoides são bioativos, matam insetos e suas larvas e, por serem biodegradáveis e pouco tóxicos, podem ser uma dessas alternativas (ANDEL, 2000).

A rotenona (Fig. 01), um rotenoide isolado de várias espécies do gênero *Tephrosia* (VASCONCELOS, 2006), é um dos inseticidas naturais mais utilizados e possui alta capacidade larvicida sobre *Aedes aegypti* (YENESEW *et al.*, 2003b); é também usada no controle de piolhos e carrapatos em animais, e ictiotóxica, o que permite sua utilização em limpeza de lagos, córregos e represas. Tem baixa toxicidade em mamíferos e o valor de sua DL_{50} em ratos, é 132 mg/kg (AGUIAR-MENEZES, 2005; YU, 2008). A partir dos anos 50, mais de 3,5 mil toneladas anuais de raízes de *Derris*, *Lonchocarpus* e *Tephrosia spp* foram importadas pelos EUA para uso no combate a insetos e a ectoparasitas em animais (JÚNIOR, 2003).

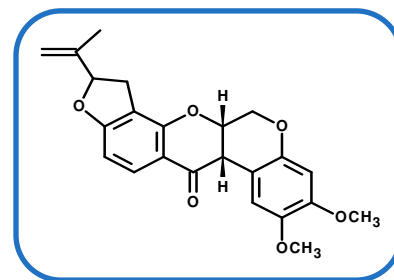


Figura 01 - Rotenona

A literatura mostra mais de 600 publicações envolvendo estudos químicos ou biológicos de plantas do gênero *Tephrosia*. A Figura 02 (p. 23) mostra um gráfico onde é observado um aumento significativo da quantidade de publicações na última década, fato atribuído à grande variedade de metabólitos secundários presentes nessas espécies – geralmente flavonoides – e às diversas atividades que eles apresentam.

Foram encontrados relatos sobre estudos de *T. toxicaria* (CLARK, 1930; CLARK, 1931; JONES; SULLIVAN, 1937; HARPER, 1940; JANG *et al.*, 2003; RIBEIRO, 2004), onde são descritos isolamentos de flavonoides, principalmente rotenoides; e o conhecimento da sua importância nos levou a dar continuidade à sua prospecção química.

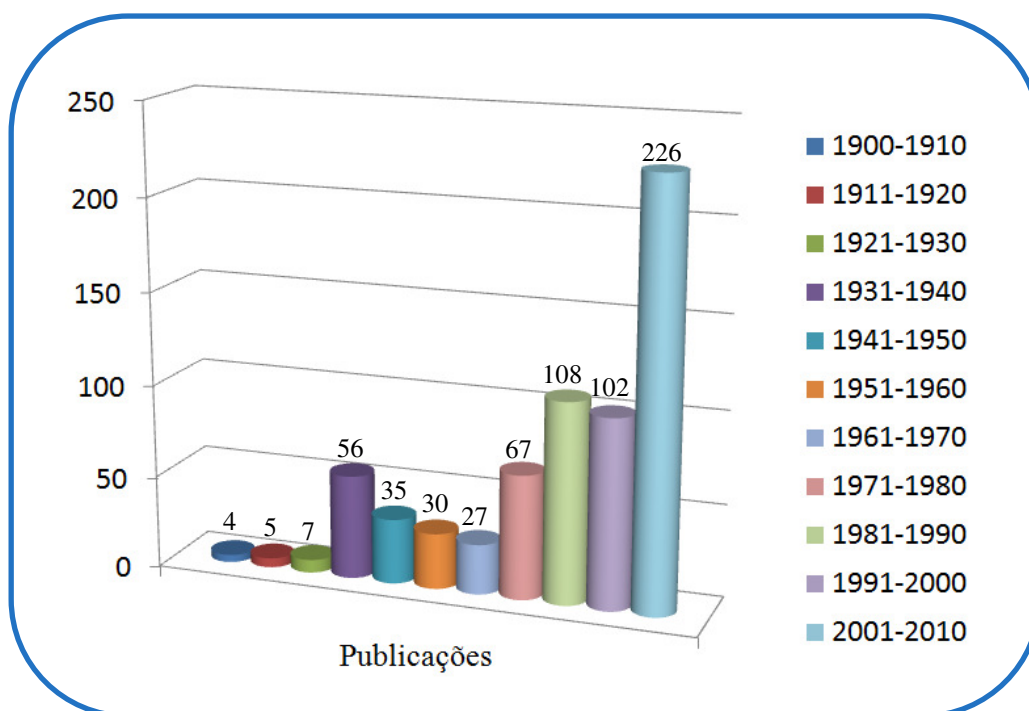


Figura 02 – Gráfico das publicações envolvendo o gênero *Tephrosia*

O presente trabalho teve como objetivo o estudo químico, o qual compreende o isolamento, a purificação e a determinação estrutural de metabólitos secundários da espécie *Tephrosia toxicaria* Pers. (Fabaceae), conhecida popularmente como “timbó de caiena”, utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas modernas, e ainda o estudo biológico dos extratos, frações e substâncias isoladas através de testes de atividade larvídica sobre *Aedes aegypti* e atividade antioxidante em relação ao radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila).

*CONSIDERAÇÕES
BOTÂNICAS*
Capítulo 2

2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1. Considerações botânicas sobre a família Fabaceae

A família Fabaceae ou Leguminosae – também denominada família das Leguminosas – é uma das maiores dentre as dicotiledôneas pertencentes à ordem Fabales. Compreende cerca de 630 gêneros que reúnem cerca de 18.000 espécies, espalhadas em todo o mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. Alguns autores costumam dividi-la em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae, estando incluída nesta última a espécie estudada neste trabalho, *Tephrosia toxicaria* Pers. (JOLY, 1985; MARTÍN, 2005; ZIPCODEZOO, 2010).

As plantas desta família apresentam-se como grandes árvores nas matas tropicais, arbustos, subarbustos, ervas anuais ou perenes e também como trepadeiras, vivendo nos mais variados ambientes, em diferentes latitudes e altitudes (JOLY, 1985).

2.2. Considerações botânicas sobre a subfamília Papilionoideae

Esta subfamília compreende cerca de quatrocentos (400) gêneros, sendo, portanto, a maior entre as Leguminosas. As folhas são em geral trifolioladas (exceto as primárias que são simples), sendo raras com um ou mais do que três folíolos, excepcionalmente afilas; têm flor fortemente zigomorfa com uma grande pétala, superior, externa. A flor é pentâmera, diclamídea, hermafrodita, com cálice gamossépalo, em geral com dois dentes (Figuras 03 e 04 p. 26 e 27). O fruto é em geral legume, raramente indeiscente (JOLY, 1985).

Muitos dos nossos legumes pertencem a esta subfamília, a maioria constituída por plantas cultivadas pertencentes aos gêneros *Phaseolus* (feijão), *Psium* (ervilha), *Lens* (lentilha), *Vicia* (grão-de-bico), *Lupinus* (tremoço), *Glycine* (soja), *Cajanus* (ervilha-de-árvore), *Arachis* (amendoim).

São variadas as utilizações de espécies desta subfamília. Dentre elas, algumas são empregadas como forrageiras (*Melitus* e *Medicago*, ambas conhecidas como alfafa), outras são destinadas à recuperação de solos empobrecidos (espécies de *Crotalaria*,

Glycine e de *Dolichos*) por sua característica de fixarem o nitrogênio pela presença de bactérias nitrificantes em simbiose.

Têm-se ainda gêneros produtores de substâncias utilizadas na indústria como, por exemplo, *Indigofera* (anil) e os produtores de resinas, tais como a goma-arábica, obtida de *Acacia senegal* e *Acacia seyal*. Como madeiras importantes destacam-se a cabriúva (*Myroxylon*) e o jacarandá (*Dalbergia*, *Machaerium*) (WATSON; DALL WITZ, 2005).

2.3. Considerações botânicas sobre o gênero *Tephrosia*

O gênero *Tephrosia* é constituído por aproximadamente 300 espécies (SINHA; NATU; NANAVATI, 1982) e totaliza cerca de 679 espécies, subespécies ou variedades. É originário da África e ocorre praticamente em todo mundo, principalmente na América Tropical e na Austrália (LEITÃO FILHO, 2009; ZIPCODEZOO, 2010).

Suas plantas são herbáceas, sub-arbustivas ou arbustivas, nas condições xerofíticas com xilopódio bem desenvolvido. Possuem folhas compostas imparipinadas com folíolos opostos, lineares ou elípticos com nervuras laterais paralelas e nurosas; inflorescência terminal ou axilar; pétalas unquiculadas, estandarte sub-orbicular, geralmente sericeo-viloso em sua porção externa; asas obovais ou oblongas; quilha recurvada, obtusa ou aguda; estames diadelfos; ovário séssil, pluriovulado; estigma apical com ou sem um pequeno pincel de pêlos e geralmente com sementes pequenas (LEITÃO FILHO, 2009).

2.4. Considerações botânicas sobre a espécie *Tephrosia toxicaria* Pers.

Tephrosia toxicaria Pers. (Figura 05, p. 27) é conhecida popularmente por “timbó de caiena”. Pertence à família Leguminosae e à subfamília Papilonoideae. Apresenta-se como arbusto com folhas imparipinadas, folíolos de dez a vinte jugos, peciolados, oblongos e seríceos. Suas flores são brancas ou amareladas com a base lilás e dispostas em racemos axilares ou terminais. Seu fruto apresenta-se na forma de vagem com oito centímetros de comprimento, curva ou reta, ferrogíneo-viloso. Toda a planta e principalmente as sementes são ictiotóxicas (CORRÊA, 1974).

É cultivada na localidade de Guaraciaba do Norte - CE, onde foi feita a coleta do espécime estudado neste trabalho; e o extrato aquoso de suas raízes moídas é utilizado como defensivo agrícola natural nas lavouras.

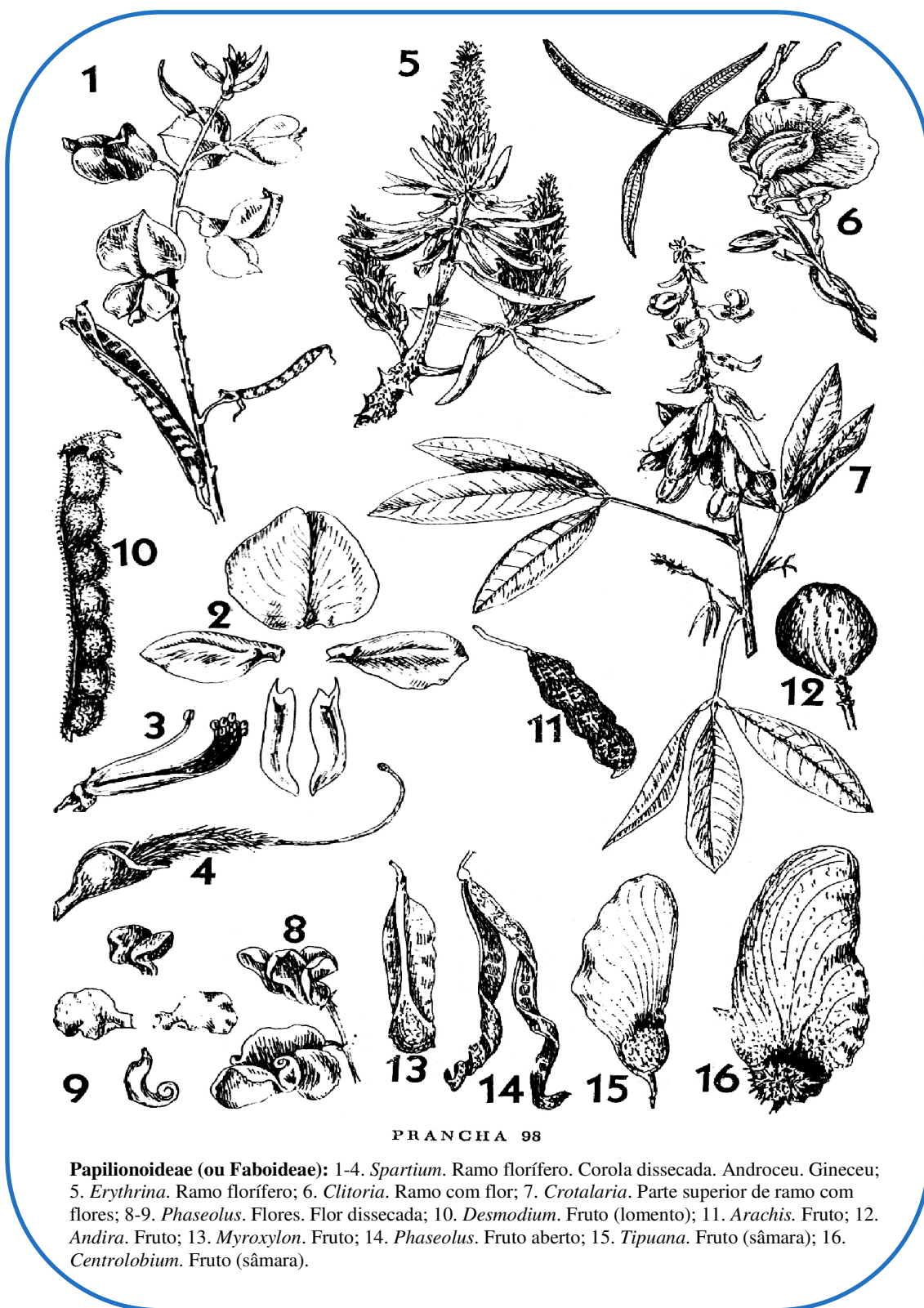


Figura 03 – Desenho técnico de partes de plantas características da subfamília Papilionoideae (JOLY, 1985)



Figura 04 – Folhas, flores e fruto característicos de plantas da subfamília Papilionoideae (WATSON; DALL WITZ, 2005)



Figura 05 – Foto de cultivo de *T. toxicaria* em Guaraciaba do Norte - CE (Fonte: Profa. Telma L. G. de Lemos)

REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA
Capítulo 3

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Flavonoides – Aspectos químicos e relevância

Os flavonoides, uns dos maiores e diversos grupos de produtos naturais possuem estrutura química facilmente reconhecida devido à presença de um esqueleto aromático C₆-C₃-C₆ (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997). Apresentam-se geralmente como sólidos amarelos, justificando o emprego do termo *flavus*, porém também são encontrados com coloração vermelha, azul ou incolor (SIMÕES *et al.*, 1999); além disso possuem relativa estabilidade química e são úteis como marcadores taxonômicos na classificação das plantas (AGRAWAL, 1989).

Estes compostos despertam o interesse comercial por parte das indústrias alimentícias, de corantes e, sobretudo farmacêutica (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009). Essa atenção considerável deve-se às várias atividades biológicas e farmacológicas que eles apresentam, dentre as quais destacam-se antioxidante, anticancerígena, vasodilatadora, antiinflamatória, antibacteriana, anticatarata, antifúngica, anti-HIV e citotóxica (COSTA, 2001).

Um grande número de publicações relata o isolamento e o uso de plantas ricas em flavonoides em várias farmacopéias no mundo. Um exemplo é o uso do extrato das folhas de *Ginkgo biloba* L. como fitoterápico eficaz no tratamento de arteriopatas crônicas e captura de radicais livres, cuja composição do extrato padronizado é de cerca de 24% de flavonoides (SIMÕES *et al.*, 1999; LIN *et al.*, 2001).

A grande diversidade estrutural destes compostos levou a uma subdivisão da classe em sub-grupos. As principais subdivisões são descritas na Figura 06 (p. 29). As estruturas distinguem-se pela posição do anel B (ligado ao carbono 2 e/ou carbono 3) no esqueleto básico dos flavonoides, e pela presença ou ausência de insaturação entre os carbonos 2 e 3 do anel C. São freqüentemente hidroxilados nas posições 3, 5 e/ou 7. Os pterocarpanos, também chamados de fitoalexinas, são produzidos pelas plantas como defesa a possíveis ataques microbianos ou de herbívoros e possuem quatro anéis fundidos em seu esqueleto base. Os rotenoides possuem um novo anel de seis membros situado entre o anel B e o anel C da isoflavona (MANN, 1987; RIJKE *et al.*, 2006).

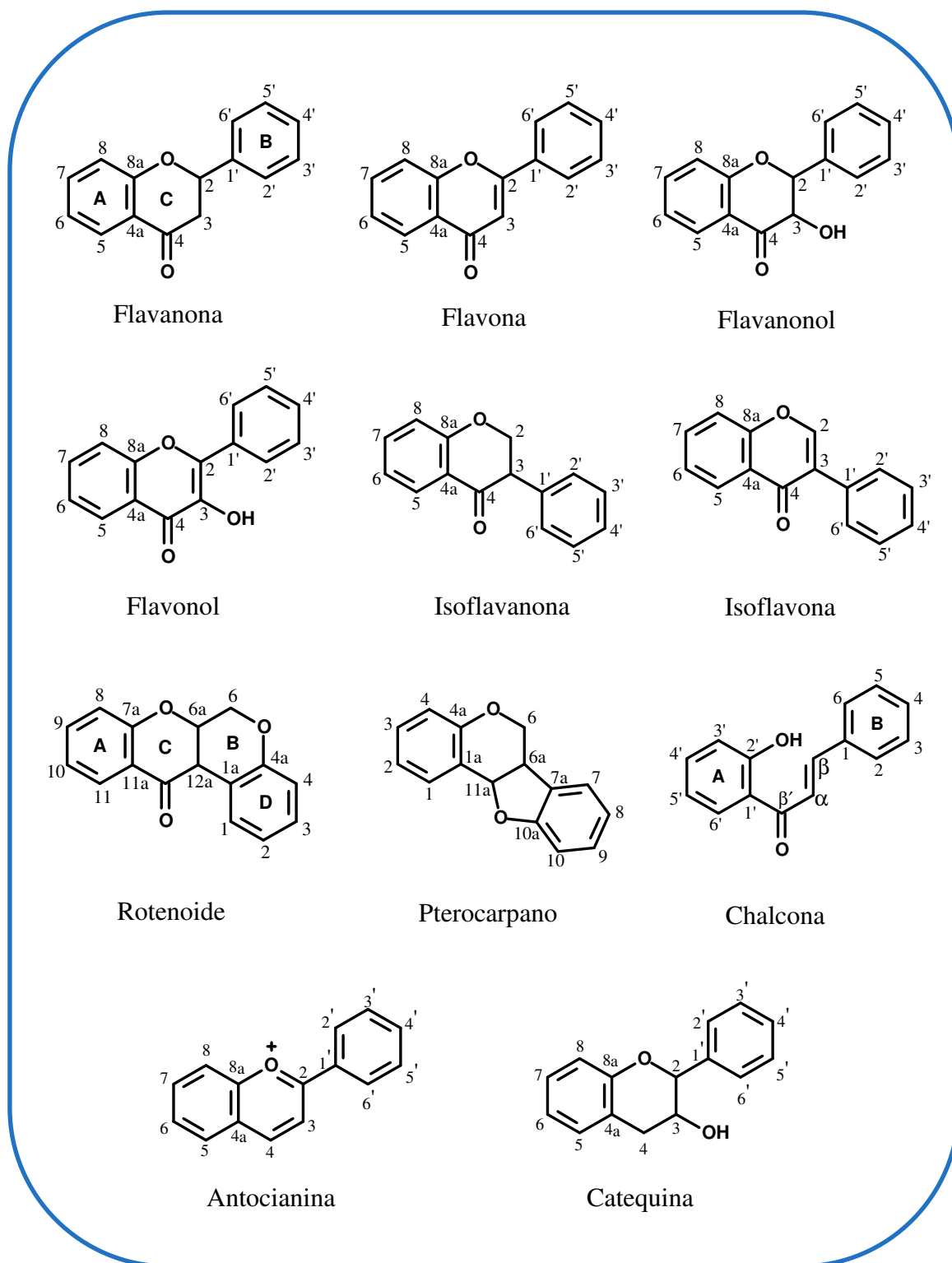


Figura 06 – Esqueletos das principais classes de flavonoides

A diversidade estrutural dos flavonoides acarreta a ocorrência de um grande número de flavonoides. Estes compostos contabilizam cerca de 6500 exemplares, sendo mais de 3000 flavonas e em torno de 700 isoflavonas. Correspondem a um dos maiores

grupos de metabólitos secundários, e realizam um papel importante na defesa das plantas. Estão envolvidos com mecanismos de resposta das espécies vegetais contra tensão, como a causada por elevados índices de radiação UV-B; na resposta contra a infecção causada por microrganismos ou no ataque de herbívoros. Também participam na produção de nódulos na raiz como um sistema de fixação de nitrogênio depois de infecção por bactérias. São importantes na dieta humana devido à suas propriedades antioxidantes (RIJKE *et al.*, 2006).

Lima (2005), realizou uma revisão sobre os metabólitos secundários isolados de diferentes espécies pertencentes ao gênero *Tephrosia* e verificou que, dentre os compostos identificados, destacam-se os flavonoides como os constituintes predominantes neste gênero.

3.2. Rotenoides do gênero *Tephrosia*

Os rotenoides são encontrados principalmente na família Leguminosae, particularmente nos gêneros *Tephrosia*, *Derris*, *Lonchocarpus*, *Milletia*, *Neorautanenia*, e em outras famílias como Nyctaginaceae e Iridaceae (CROMBIE; WHITING, 1998). São substâncias solúveis em solventes orgânicos como clorofórmio e acetona. Em geral, são isolados por cromatografia em gel de sílica, Sephadex e CLAE utilizando coluna em fase normal ou reversa.

A rotenona foi utilizada pela primeira vez como inseticida em 1848 na Malásia, embora seu estudo químico tenha se iniciado somente em 1892. Na agricultura, um dos primeiros relatos da utilização de rotenoides data de 1919, na Guiana Holandesa, no combate às formigas saúvas (*Dolichorus bidens*) (SANTOS, 2006; VIEIRA; FERNANDES, 1999).

Tephrosia toxicaria Pers. é uma planta tropical, utilizada no envenenamento de peixes e é bastante comum no Sri Lanka e na América do Sul, conhecida como fonte de rotenoides (JANG *et al.*, 2003). A importância das atividades biológicas destes compostos e sua grande ocorrência em *T. toxicaria* nos levou a fazer esta investigação bibliográfica.

A revisão bibliográfica dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de flavonoides existentes na literatura compreende análises efetuadas somente até o ano de 1989, com o livro intitulado “Carbon-13 of flavonoids” (AGRAWAL, 1989). Nosso trabalho (Tab. 02, p. 37 e 38 / Fig. 07, p. 31-33) acrescenta dados recentes aos já descritos nesta revisão.

Utilizando como ferramenta de pesquisa o SciFinder Scholar (*American Chemical Society*), foi realizada uma revisão bibliográfica dos dados de RMN ^{13}C dos rotenoides já isolados das espécies do gênero *Tephrosia*, visando adquirir um banco de dados atualizado que pudesse ajudar em futuras determinações estruturais destes compostos.

Observou-se que os rotenoides isolados das plantas do gênero *Tephrosia* (**01-34**) são do tipo piranocromenos (dimetilcromenos ou benzocromenos) (**01-10**) ou furanocromenos (**11-23**). Estes isoflavonoides prenilados, originados da ciclização do grupo 3,3-dimetilalila (isoprenila), ocorrem frequentemente nas espécies da família Leguminosae. Também foram encontrados rotenoides com apenas substituintes simples como metoxilas e/ou hidroxilas nos carbonos C-6, C-9, C-11 e C-12a (**25-31**). Com exceção do composto **03**, todos são metoxilados nos carbonos C-2 e C-3. Novos espirorotenoides (**32-34**) foram encontrados e também apresentam nas suas estruturas os anéis citados anteriormente.

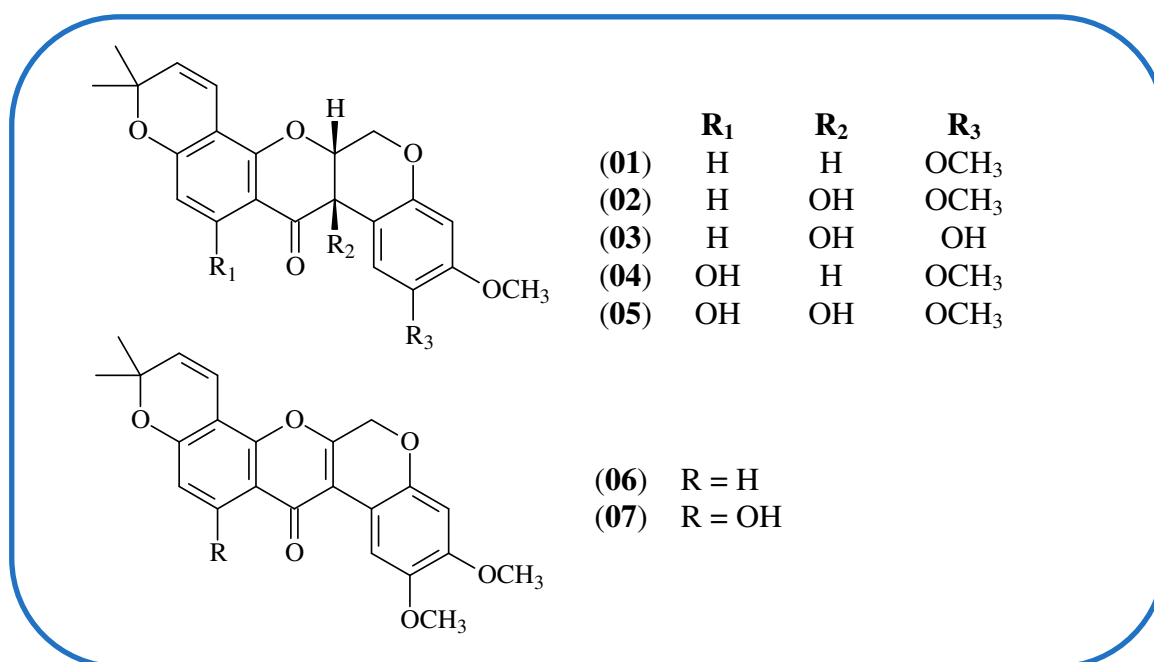


Figura 07 – Rotenoides isolados das plantas do gênero *Tephrosia*

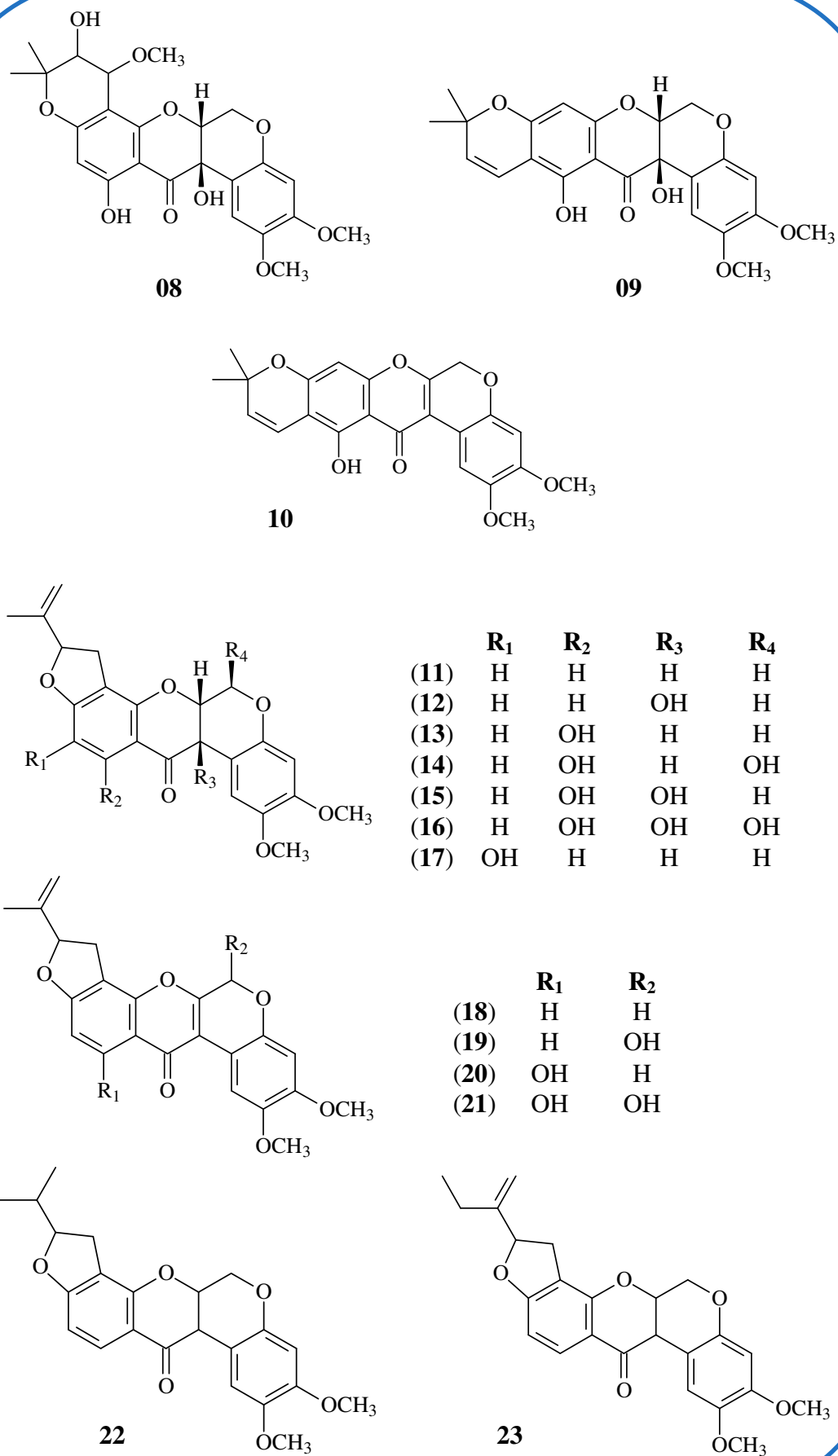


Figura 07 – Rotenoides isolados das plantas do gênero *Tephrosia* (continuação)

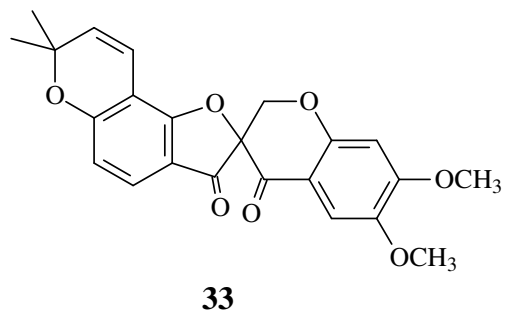
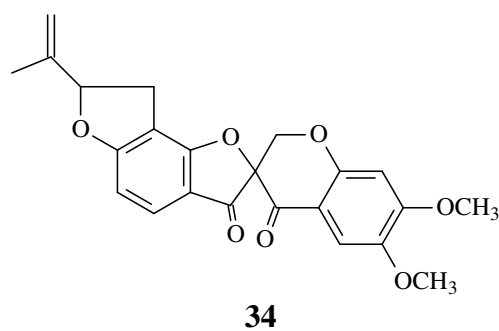
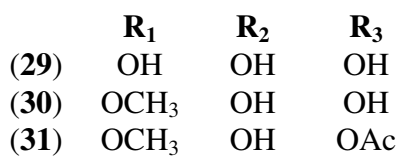
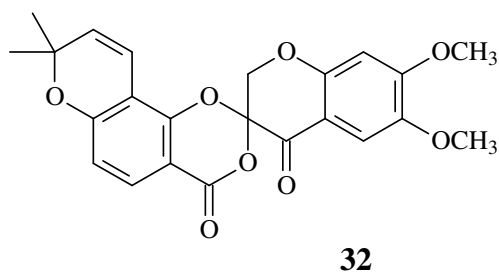
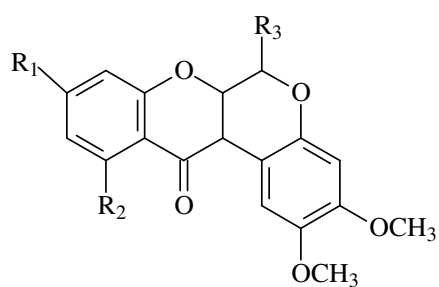
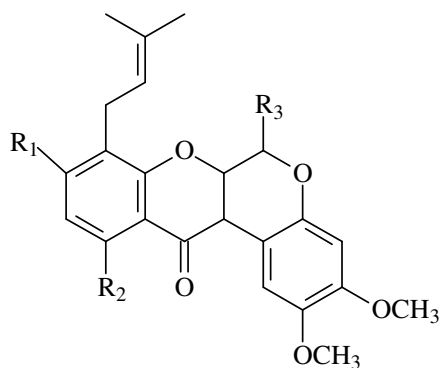
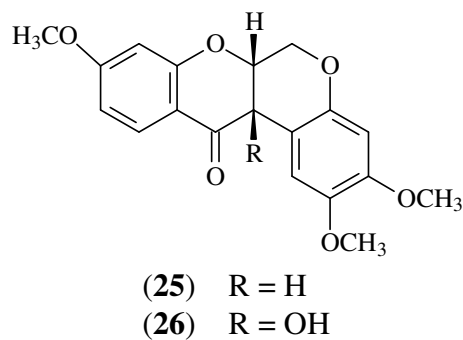
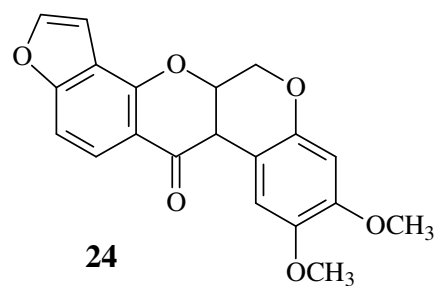


Figura 07 – Rotenoides isolados das plantas do gênero *Tephrosia* (continuação)

Tabela 01 – Relação dos rotenoides isolados do gênero *Tephrosia*, suas fontes botânicas (espécie) e as correspondentes referências

SUBST.	NOME(S)	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
01	deguelina	<i>T. candida</i> <i>T. linearis</i> <i>T. fulvinervis</i> <i>T. purpurea</i> <i>T. abbotiae</i> <i>T. nitens</i> <i>T. strigosa</i> <i>T. falciformis</i> <i>T. vogelli</i>	ANDREI <i>et al.</i> , 1997* WERE <i>et al.</i> , 1990 DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989 KIUCHI <i>et al.</i> , 1989 GOMEZ-GARIBAY <i>et al.</i> , 1986 GOMEZ <i>et al.</i> , 1984 KAMAL; JAIN, 1980 KAMAL; JAIN, 1978 CROMBIE; ROSSITER; WHITING, 1986 BEGLEY <i>et al.</i> , 1986 MARSTON; MSONTHI; HOSTETTMAN, 1984 HAGEMANN <i>et al.</i> , 1972 DELFEL <i>et al.</i> , 1970 RANASWAMI; SASTRY, 1956
02	tephrosina	<i>T. linearis</i> <i>T. hamiltonii</i> <i>T. falciformis</i> <i>T. obovata</i> <i>T. purpurea</i> <i>T. cândida</i> <i>T. elata</i> <i>T. vogelli</i>	WERE <i>et al.</i> , 1990 HUSSAINI; SHOEB, 1987 KAMAL; JAIN, 1978 CHEN; HSU, 1958 KIUCHI <i>et al.</i> , 1989 AHMAD <i>et al.</i> , 1999* PARMAR <i>et al.</i> , 1988 ANDREI <i>et al.</i> , 1997 LWANDE; GREENE; BENTLEY, 1985 BENTLEY <i>et al.</i> , 1987 MARSTON; MSONTHI; HOSTETTMAN, 1984 RANASWAMI; SASTRY, 1956 HANRIOT, 1907
03	2-hidroxi-tephrosina	<i>T. tinctoria</i>	GANAPATY <i>et al.</i> , 2009
04	α -toxicarol	<i>T. major</i> <i>T. candida</i> <i>T. linearis</i> <i>T. fulvinervis</i> <i>T. purpurea</i> <i>T. nitens</i> <i>T. obovata</i> <i>T. toxicaria</i>	GOMEZ-GARIBAY <i>et al.</i> , 2002 ANDREI <i>et al.</i> , 1997 WERE <i>et al.</i> , 1990 DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989 KIUCHI <i>et al.</i> , 1989 GOMEZ <i>et al.</i> , 1984 CHEN; HSU, 1958 CLARK, 1930 JANG <i>et al.</i> , 2003 VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2009*
05	12a-hidroxi- α -toxicarol / 11-hidroxi-tephrosina	<i>T. candida</i> <i>T. toxicaria</i> <i>T. villosa</i> <i>T. viridiflora</i>	ANDREI <i>et al.</i> , 1997* JANG <i>et al.</i> , 2003 PRASHANT; KRUPADANAM, 1993a GOMEZ <i>et al.</i> , 1985
06	6a,12a-desidro-deguelina	<i>T. purpurea</i> <i>T. tinctoria</i> <i>T. vogelli</i> <i>T. candida</i>	KIUCHI <i>et al.</i> , 1989 REDDY; KHALIVULLA; GUNASEKAR, 2007 RANASWAMI; SASTRY, 1956 ANDREI <i>et al.</i> , 1997* CHIBBER <i>et al.</i> , 1981
07	6a,12a-desidro- α -toxicarol	<i>T. candida</i> <i>T. toxicaria</i>	ANDREI <i>et al.</i> , 1997 JANG <i>et al.</i> , 2003 VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2009*
08	4',5'-dihidro-11,5'-dihidroxi-4'-metoxitephrosina	<i>T. toxicaria</i>	JANG <i>et al.</i> , 2003*

09	12a-hidroxi- β -toxicarol	<i>T. candida</i>	ANDREI <i>et al.</i> , 1997*
10	6a,12a-desidro- β -toxicarol	<i>T. candida</i> <i>T. toxicaria</i>	ANDREI <i>et al.</i> , 1997 VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2009*
11	rotenona	<i>T. tinctoria</i> <i>T. linearis</i> <i>T. purpurea</i> <i>T. elata</i> <i>T. hamiltonii</i> <i>T. abbottiae</i> <i>T. nitens</i> <i>T. strigosa</i> <i>T. virginia</i> <i>T. falciformis</i> <i>T. obovata</i> <i>T. toxicaria</i> <i>T. deflexa</i> <i>T. procumbens</i> <i>T. candida</i> <i>T. villosa</i> <i>T. vogelli</i>	GANAPATY <i>et al.</i> , 2009 WERE <i>et al.</i> , 1990 KIUCHI <i>et al.</i> , 1989 BENTLEY <i>et al.</i> , 1987 HUSSAINI; SHOEB, 1987 GOMEZ-GARIBAY <i>et al.</i> , 1986 GOMEZ <i>et al.</i> , 1984 KAMAL; JAIN, 1980 MORING; MCCHESENEY, 1979 KAMAL; JAIN, 1978 CHEN; HSU, 1958 JONES; SULLIVAN, 1937 HARPER, 1940 KARE <i>et al.</i> , 2006 NIASSY <i>et al.</i> , 2005 ARUNA <i>et al.</i> , 1999 VENKATARATNAM; RAO; VILAIN, 1987 KOLE <i>et al.</i> , 1992 ROY <i>et al.</i> , 1987 ANDREI <i>et al.</i> , 2002* GANAPATY <i>et al.</i> , 2008 CHANDRASEKHARAN <i>et al.</i> , 1983 KRUPADANAM; SRIMANNARAYANA; RAO, 1978 HUANG <i>et al.</i> , 2006 ZHANG <i>et al.</i> , 2000 HAGEMANN <i>et al.</i> , 1972 DELFE <i>et al.</i> , 1970
12	12a-hidroxi-rotenona	<i>T. deflexa</i> <i>T. vogelli</i> <i>T. uniflora</i> <i>T. linearis</i> <i>T. purpurea</i>	KARE <i>et al.</i> , 2006 ZHANG <i>et al.</i> , 2000 ABREU; LUIS, 1996 WERE <i>et al.</i> , 1990 KIUCHI <i>et al.</i> , 1989 PHRUTIVORAPONGKUL <i>et al.</i> , 2002*
13	sumatrol / 11-hidroxi-rotenona	<i>T. deflexa</i> <i>T. toxicaria</i> <i>T. major</i> <i>T. vogelli</i> <i>T. procumbens</i>	KARE <i>et al.</i> , 2006 JANG <i>et al.</i> , 2003 GOMEZ-GARIBAY <i>et al.</i> , 2002 ZHANG <i>et al.</i> , 2000 ARUNA <i>et al.</i> , 1999 VENKATARATNAM; RAO; VILAIN, 1987 BLATT <i>et al.</i> , 2002*
14	villosina / 6-hidroxi-rotenona	<i>T. villosa</i> <i>T. pentaphylla</i>	KRUPADANAM; SRIMANNARAYANA; RAO, 1978 KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977 DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989*
15	villosinol / 12a-hidroxi-sumatrol	<i>T. viridiflora</i> <i>T. villosa</i>	GOMEZ <i>et al.</i> , 1985 KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977 SARMA; SRIMANNARAYANA; RAO, 1976
16	villol	<i>T. villosa</i>	KRUPADANAM; SRIMANNARAYANA; RAO, 1978 KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977
17	10-hidroxi-rotenona	<i>T. vogelli</i>	ZHANG <i>et al.</i> , 2000
18	6a,12a-desidrorotenona	<i>T. egregia</i> <i>T. vogelli</i> <i>T. falciformis</i> <i>T. villosa</i>	ARRIAGA <i>et al.</i> , 2009a* ZHANG <i>et al.</i> , 2000 GHANIM; JAYRAMAN, 1979 GANAPATY <i>et al.</i> , 2008 CHANDRASEKHARAM <i>et al.</i> , 1983

18	6a,12a-desidrorotenona	<i>T. villosa</i>	KRUPADANAM; SRIMANNARAYANA; RAO, 1978 KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977
19	amorpholona / 6a,12a-desidrovillosina / 6-hidroxi-6a,12a- desidrorotenona	<i>T. candida</i>	KOLE <i>et al.</i> , 1992
20	villosol / 6a,12a-desidrosumatrol	<i>T. pentaphylla</i> <i>T. villosa</i>	RAO; PRASAD, 1992 PRASHANT; KRUPADANAM, 1993b KRUPADANAM; SRIMANNARAYANA; RAO, 1978 KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977 SARMA; SRIMANNARAYANA; RAO, 1976
21	6a,12a-desidrovillosina	<i>T. villosa</i>	PRASHANT; KRUPADANAM, 1993b* KRUPADANAM; SRIMANNARAYANA; RAO, 1978 KRUPADANAM <i>et al.</i> , 1977
22	dihidrorotenona	<i>T. candida</i>	ROY <i>et al.</i> , 1987 CROMBIE; KILBEE; WHITING, 1975*
23	wallichina	<i>T. wallichii</i>	BOSE; GANGULY, 1981
24	elliptona / derride	<i>T. strigosa</i> <i>T. falsiformis</i>	KAMAL; JAIN, 1980 KAMAL; JAIN, 1978 CROMBIE; KILBEE; WHITING, 1975*
25	munduserona	<i>T. fulvinervis</i>	DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989 GRANADOS-COVARRUBIAS; MALDONADO, 2009*
26	12a-hidroxi- munduserona	<i>T. fulvinervis</i>	DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989 GRANADOS-COVARRUBIAS; MALDONADO, 2009*
27	ácido rotenônico	<i>T. vogelli</i>	CROMBIE; ROSSITER; WHITING, 1986 BEGLEY <i>et al.</i> , 1986 CROMBIE; KILBEE; WHITING, 1975*
28	6a,12a-desidro-2,3,6- trimetoxi-8- (3',3'- dimetilalil)-9,11- hidroxirotenona	<i>T. villosa</i>	PRASHANT; KRUPADANAM, 1993a
29	9- demetildihidrostemonal	<i>T. pentaphylla</i>	DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989*
30	dihidrostemonal		
31	6- acetoxidihidrostemonal		
32	tephrospirolactona	<i>T. candida</i>	ANDREI <i>et al.</i> , 2002*
33	tephrospirocetona I		
34	tephrospirocetona II		

* Referência onde foram encontrados os dados de RMN ¹³C descritos na Tabela 02 (p. 37)

Tabela 02 - Dados de RMN ^{13}C dos rotenoides isolados de plantas do gênero *Tephrosia*

Tabela 02 – Dados de RMN ^{13}C dos rotenoides isolados de plantas do gênero *Tephrosia* (Continuação)

C	14	18	21	22	24	25*	27	30	31	32	33	34
1 ^a	104,0	110,2	109,5	104,7	103,0	112,7	104,7	104,9	104,0	109,8	106,4	107,0
1	110,1	110,8	112,5	110,2	109,1	110,6	110,4	110,2	109,5	107,1	106,9	106,6
2	144,0	144,3	142,5	143,9	141,7	143,9	143,6	144,5	144,7	145,5	145,2	145,3
3	144,1	149,1	150,0	149,3	147,4	147,4	149,3	144,3	143,8	157,4	157,2	157,3
4	101,7	100,6	110,0	100,8	99,6	101,0	100,8	101,9	101,5	100,0	100,1	100,2
4a	149,6	146,5	144,5	147,4	145,2	149,5	147,6	150,0	149,8	157,7	158,2	158,3
6	87,9	65,8	88,5	66,2	65,1	66,2	66,3	90,1	87,6	71,7	71,0	71,0
6a	72,6	156,2	155,5	72,2	71,8	72,4	72,1	72,9	71,2	95,6	86,7	86,7
7a	155,5	152,5	157,0	157,9	157,6	162,7	162,2	161,5	160,9	150,5	161,8	168,8
8	104,9	113,1	102,0	112,5	111,7	100,6	112,6	95,6	95,5	108,8	112,2	113,1
9	165,5	165,0	166,5	167,7	159,0	166,5	160,1	165,0	164,7	159,3	169,0	169,7
10	91,8	109,0	95,0	104,7	104,9	104,7	110,8	94,4	94,1	112,3	113,3	109,5
11	169,1	128,1	163,0	129,9	121,9	129,3	127,0	168,1	168,3	130,0	125,1	126,5
11a	101,7	119,2	104,0	113,3	115,0	110,4	114,7	104,8	101,7	106,9	113,2	114,2
12	193,6	174,6	180,5	188,9	186,6	189,2	188,9	194,5	193,4	159,6	182,9	183,0
12a	39,8	111,9	105,0	44,6	44,0	44,5	44,2	40,2	40,2	181,3	193,0	192,7
4'	31,1	31,6	30,0	29,3	103,0		22,1			114,5	114,4	31,5
5'	89,7	88,1	88,0	90,8	142,5		121,1			130,0	129,2	88,3
6'	142,6	143,0	143,0	33,2			134,3			77,9	78,3	142,6
7'	112,5	113,1	107,0	17,9			17,8			28,2	28,4	112,2
8'	16,8	17,2	16,5	17,6			25,8			28,5	28,5	17,1
OCH ₃ (2)	56,2	56,5	55,5	55,8	54,9	55,8	55,8	55,4	55,6	56,2	56,2	56,3
OCH ₃ (3)	55,7	56,1	56,5	56,3	55,5	56,3	56,2	56,2	55,8	56,5	56,4	56,5
OCH ₃ (4')												
OCH ₃ (7/9)						55,6		56,6	56,6			
Ac(CO)									168,7			
Ac(Me)									20,8			

Com exceção do composto **08**, obtido em acetona- d_6 , todos os espectros foram obtidos utilizando CDCl_3 como solvente.

* Os $\delta^{13}\text{C}$ de **25** foram atribuídos com base na teoria do deslocamento químico (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

3.3. Aspectos biossintéticos dos rotenoides

O gênero *Tephrosia* tem como característica fitoquímica principal a presença de substâncias flavonoídicas, dentre as quais destacamos os rotenoides. A biogênese destes compostos tem como unidade de partida o ácido cinâmico, através da cinamoil coenzima A. Uma posterior condensação com três unidades de malonil coenzima A, produz um policetídeo, que por ação enzimática de uma isomerase e da chalcona sintase leva à formação das chalconas, compostos precursores de vários tipos de flavonoides. A formação da flavanona e a posterior migração 1,2 do grupo aril-chiquímico para o carbono adjacente do anel heterocíclico, catalisada enzimaticamente, leva à formação de uma isoflavona. Este rearranjo é raro na natureza e a presença de isoflavonas é quase restrita à família Fabaceae. A ciclização do anel da isoflavona após uma série de reações enzimáticas origina os rotenoides, e a subsequente introdução de grupos isoprênicos, cuja unidade estrutural é o pirofosfato de isopentenila, leva à formação do ácido rotenônico. O co-fator que catalisa a ciclização da unidade isoprênica determina a formação do anel isoprenilfurano ou dimetilpirano (benzopirano) e, por consequência, a formação da rotenona ou da deguelina, respectivamente (Fig. 08, p. 40) (CROMBIE; GREEN; WHITING, 1968; CROMBIE; DEWICK; WHITING, 1970; DEWICK, 2003).

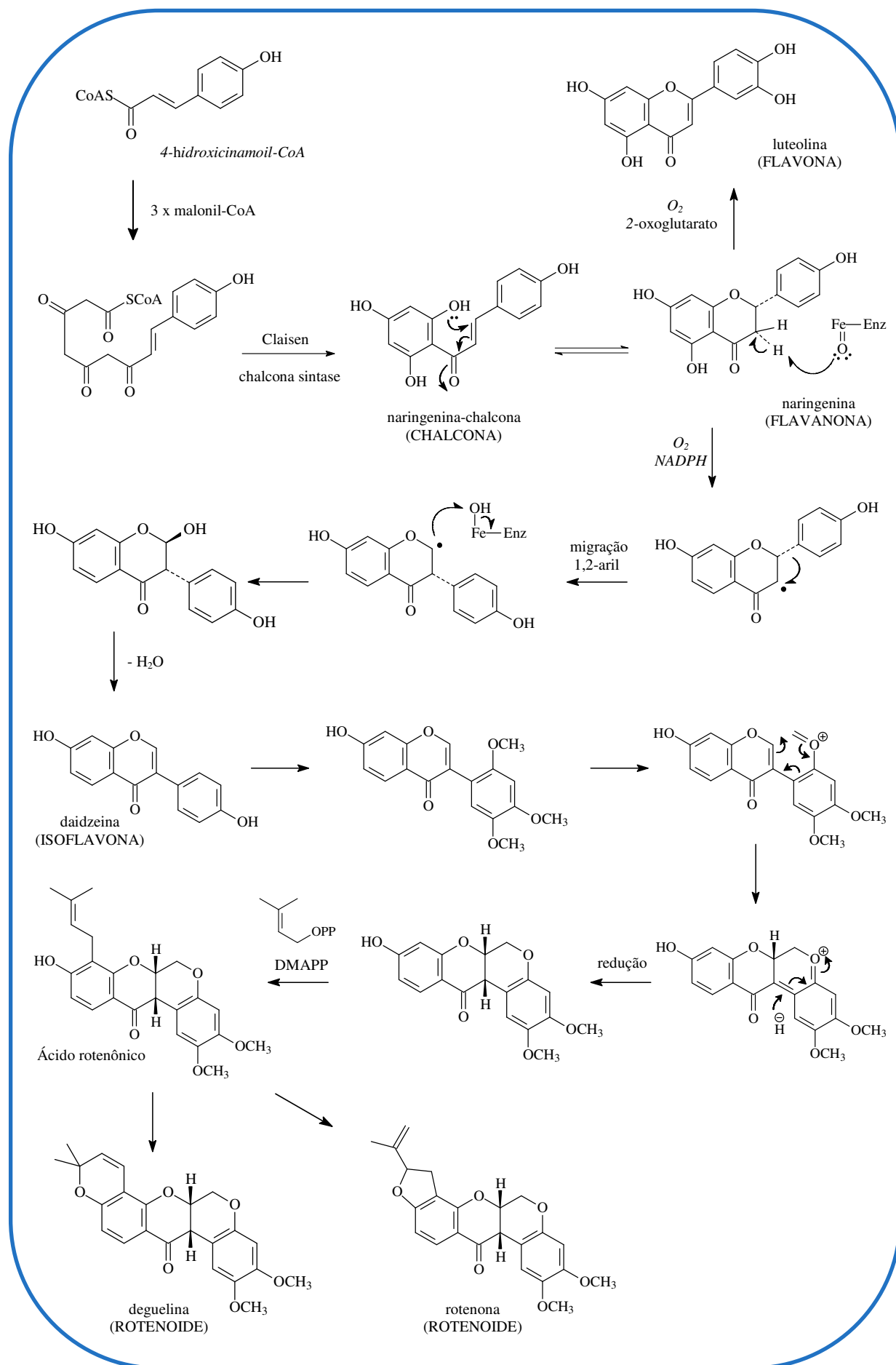


Figura 08 – Rota biossintética de formação dos rotenoides deguelina e rotenona

3.4. Atividade Biológica

Os rotenoides são compostos reconhecidos por mostrarem alta atividade inseticida e ictiotóxica. Atividades anticarcinogênica, fungicida, bactericida e citotóxica também foram atribuídas a essas substâncias (HARBORNE, 1988; ANDREI *et al.*, 2002; CHEENPRACHA *et al.*, 2007). Dentre os rotenoides, merecem destaque a rotenona (**11**) – o primeiro rotenoide identificado – composto usado como inseticida antes do surgimento dos inseticidas organossintéticos (ANDREI *et al.*, 2002), a tephrosina (**02**), substância que se mostrou potencialmente ativa contra tumores inclusive contra o câncer de pele (KONOSHIMA *et al.*, 1993 e LI *et al.*, 1993), e a deguelina (**01**), rotenoide que inibiu o crescimento e induziu apoptose em lesões pré-malignas e malignas do epitélio brônquico humano (CHUN *et al.*, 2003). Outras diversas atividades são mostradas na Tabela 03 (p. 42).

Tephrosia toxicaria tem sido usada como defensivo agrícola e muitas plantas deste gênero têm uso medicinal relatado na literatura química, dentre elas podemos citar a *T. villosa*, cujo suco das folhas é utilizado no tratamento de hidropsia e do diabetes (PRASHANT; KRUPADANAM, 1993b).

Tabela 03 - Relação das atividades biológicas demonstradas por rotenoides

Atividade Biológica	Referência	Espécie
Antiamebiana	KAMAL; MATHUR, 2007	<i>Parkinsonia aculeata</i>
Antibacteriana	KARE <i>et al.</i> , 2006	<i>Tephrosia deflexa</i>
	SIMIN <i>et al.</i> , 2002	<i>Pongamia pinnata</i>
	MARTHUR <i>et al.</i> , 2007	<i>Derris indica</i>
	MITSCHER <i>et al.</i> , 1979	<i>Amorpha fruticosa</i>
	TAKASHIMA <i>et al.</i> , 2002	<i>Derris malaccensis</i>
Anticancerígena	AHMED-BELKACEM <i>et al.</i> , 2007	<i>Boerhaavia diffusa</i>
Antifúngica	MARTHUR <i>et al.</i> , 2007	<i>Derris indica</i>
Anti-inflamatória	TEWTRAKUL; CHEENPRACHA; KARALAI, 2009	<i>Derris trifoliata</i>
	PANCHAROEN <i>et al.</i> , 2008	<i>Millettia brandisiana</i>
	KAMAL; MATHUR, 2007	<i>Parkinsonia aculeata</i>
	SILVA; PARENTE, 2002	<i>Clitoria fairchildiana</i>
Antimalárica	YENESEW <i>et al.</i> , 2003a	<i>Millettia usaramensis</i>
Antioxidante	WANGENSTEEN <i>et al.</i> , 2006	<i>Sarcolobus globosus</i>
Antitumoral	MATSUDA <i>et al.</i> , 2007	<i>Erycibe expansa</i>
Antiviral	PHRUTIVORAPONGKUL <i>et al.</i> , 2002	<i>Pachyrrhizus erosus</i>
	PANCHEVA <i>et al.</i> , 1982	<i>Amorpha fruticosa</i>
Citotóxica	MATSUDA <i>et al.</i> , 2007	<i>Erycibe expansa</i>
	BLATT <i>et al.</i> , 2002	<i>Lonchocarpus aff. Fluvialis</i>
	LIN <i>et al.</i> , 1992	<i>Clitoria macrophylla</i>
Espasmolítica	BORRELLI <i>et al.</i> , 2006	<i>Boerhaavia diffusa</i>
	BORRELLI <i>et al.</i> , 2005	<i>Boerhaavia diffusa</i>
Hepatoprotetora	CHAKRABORTI; HANDA, 1989	<i>Boerhaavia diffusa</i>
	MORS <i>et al.</i> , 1973	<i>Derris urucu</i>
		<i>Derris nicou</i>
		<i>Derris sericea</i>
		<i>Derris araripensis</i>
Inibidor de NADH	FANG; CASIDA, 1999	<i>Lonchocarpus utilis</i>
		<i>Lonchocarpus urucu</i>
Inseticida	LI; XU, 2007	<i>Derris cavaleriei</i>
	ZHANG <i>et al.</i> , 2000	<i>Tephrosia vogelii</i>
	CHIU; LIN; CHUI, 1942	<i>Millettia pachycarpa</i>
Larvicida	YENESEW <i>et al.</i> , 2005	<i>Derris trifoliata</i>
	YENESEW <i>et al.</i> , 2003b	<i>Millettia dura</i>
Nematicida	KIUCHI <i>et al.</i> , 1989	<i>Tephrosia purpurea</i>
	ITO <i>et al.</i> , 2004	<i>Derris trifoliata</i>
	JANG <i>et al.</i> , 2003	<i>Tephrosia toxicaria</i>
	UDEANI <i>et al.</i> , 1997	<i>Mundulea sericea</i>

*DETERMINAÇÃO
ESTRUTURAL*
Capítulo 4

4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

A determinação estrutural dos metabólitos secundários isolados de *T. toxicaria* não foi escrita de acordo com a ordem cronológica de isolamento dos compostos, mas de acordo com suas semelhanças estruturais.

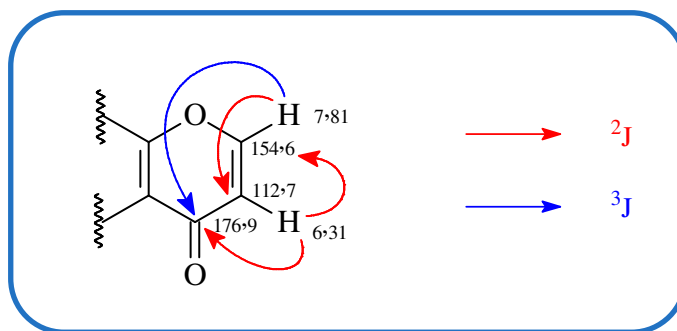
4.1. Determinação estrutural de TTP-13

Sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica, Sephadex e CLAE (item 5.5.5.14. p. 148) forneceram um sólido alaranjado de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 171,1 - 172,4 °C, denominado TTP-13. Seu espectro de massa (Fig. 13, p. 47) mostrou pico íon molecular com m/z igual a 206 Da.

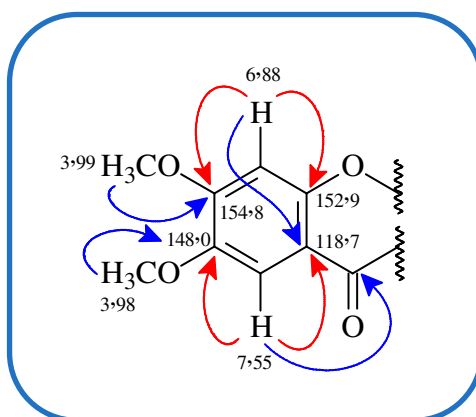
O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ da TTP-13, obtido em CDCl_3 (Fig. 11, p. 46), exibiu 11 sinais espectrais, sendo nove deles referentes a carbonos sp^2 e dois a sp^3 . A presença de uma carbonila foi confirmada pelo sinal em δ 176,9. Os sinais em δ 100,0; 104,9; 112,7 e 118,7 foram atribuídos a carbonos sp^2 não oxigenados; outras quatro absorções entre δ 148,0 e 154,8 foram relacionadas a carbonos sp^2 oxigenados e observou-se ainda um sinal em δ 56,6, atribuído a dois grupos metoxílicos.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 10, p. 45) mostrou dois sinais em δ 6,88 e 7,55 (1H, s), atribuídos a hidrogênios ligados a anel aromático. O experimento de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H} - \text{COSY}$ (Fig. 12, p. 46) mostrou correlações entre os dupletos centrados em δ 6,31 e δ 7,81 (1H, $J = 5,5$ Hz), cujo valor da constante de acoplamento (J) evidenciou tratar-se de hidrogênios olefínicos *cis* posicionados, em um sistema carbonílico α,β -insaturado.

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear a mais de uma ligação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMBC}$ (Fig. 15, p. 47), mostrou correlações entre o sinal em δ 6,31 e os carbonos em δ 154,6 e 176,9 a duas ligações (^2J); e entre o hidrogênio em δ 7,81 e os carbonos em δ 112,7 (^2J) e 176,9 (^3J). Essas correlações permitiram propor a seguinte unidade estrutural:



A análise do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC, (Fig. 14, p. 47) permitiu a associação dos sinais de carbonos em δ 56,6 aos sinais de hidrogênios em δ 3,98 e δ 3,99 (3H, s), que foram atribuídos a sinais de duas metoxilas. Uma outra unidade estrutural foi proposta com base em outras correlações observadas, no espectro HMBC, dos hidrogênios ligados a anel aromático em δ 6,88 e 7,55:



A análise dos dados espectroscópicos conduziram à estrutura da cromona dimetoxilada, 6,7-dimetoxicromona (Fig. 09). Dados de RMN ^1H estão descritos na literatura, entretanto foram obtidos em DMSO- d_6 , sendo diferentes dos de TTP-13. Seus dados de RMN ^{13}C ainda não foram relatados, mas o estudo detalhado do espectro de HMBC possibilitou atribuir de forma inequívoca os deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios (Tab. 04, p. 45).

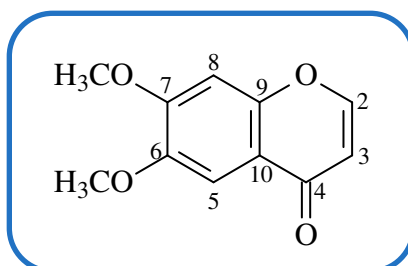


Figura 09 – Estrutura de TTP-13 (6,7-dimetoxicromona)

A literatura relata a síntese da cromona 6,7-dimetoxicromona (ROMUSSI; CIARALLO, 1976) e o seu isolamento como produto natural de plantas (*Acicarpa tribuloides*) foi descrito pela primeira e única vez em 2006 (MERAGELMAN *et al.*, 2006). Portanto, este é o primeiro relato de uma cromona no gênero *Tephrosia*.

Tabela 04 – Dados espectroscópicos de TTP-13 (CDCl₃) comparados com a literatura (ROMUSSI, CIARALLO, 1976 – DMSO-*d*₆)

C	HSQC	HMBC		LIT.
	δ H (mult., J / Hz)	TTP-13	$^2J_{C-H}$ $^3J_{C-H}$	
2	7,81(1H, d, 5,5 Hz)	154,6	C-3	8,20 (1H, d, 6 Hz)
3	6,31(1H, d, 5,5 Hz)	112,7	C-2; C-4	6,28 (1H, d, 6 Hz)
4	-	176,9		
5	7,55(1H, s)	104,9	C-6; C-10	7,35 (1H, s)
6	-	148,0		-
7	-	154,8		-
8	6,88(1H, s)	100,0	C-7; C-9	7,13 (1H, s)
9	-	152,9		-
10	-	118,7		-
OMe(6)	3,98 (3H, s)	56,6	C-6	3,95 ou 3,89 (3H, s)
OMe(7)	3,99 (3H, s)	56,6	C-7	3,95 ou 3,89 (3H, s)

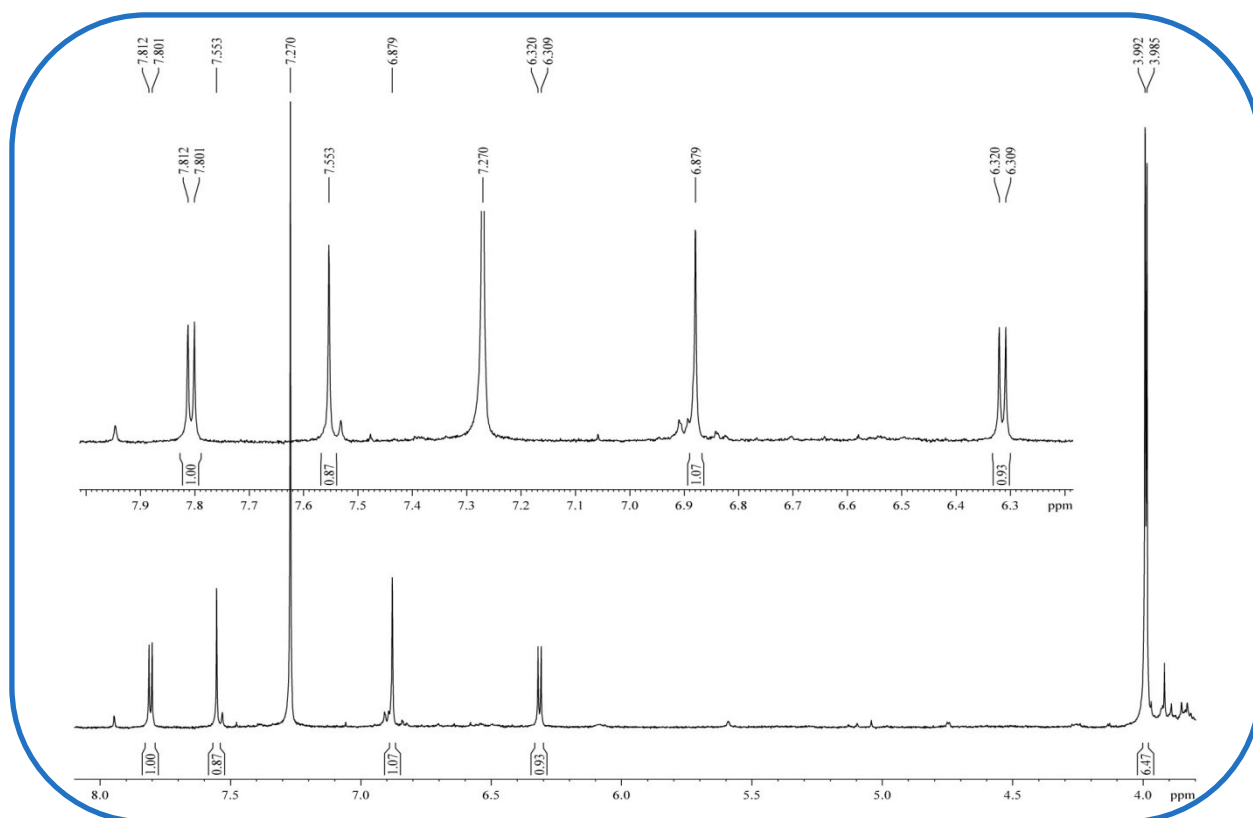


Figura 10 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de TTP-13

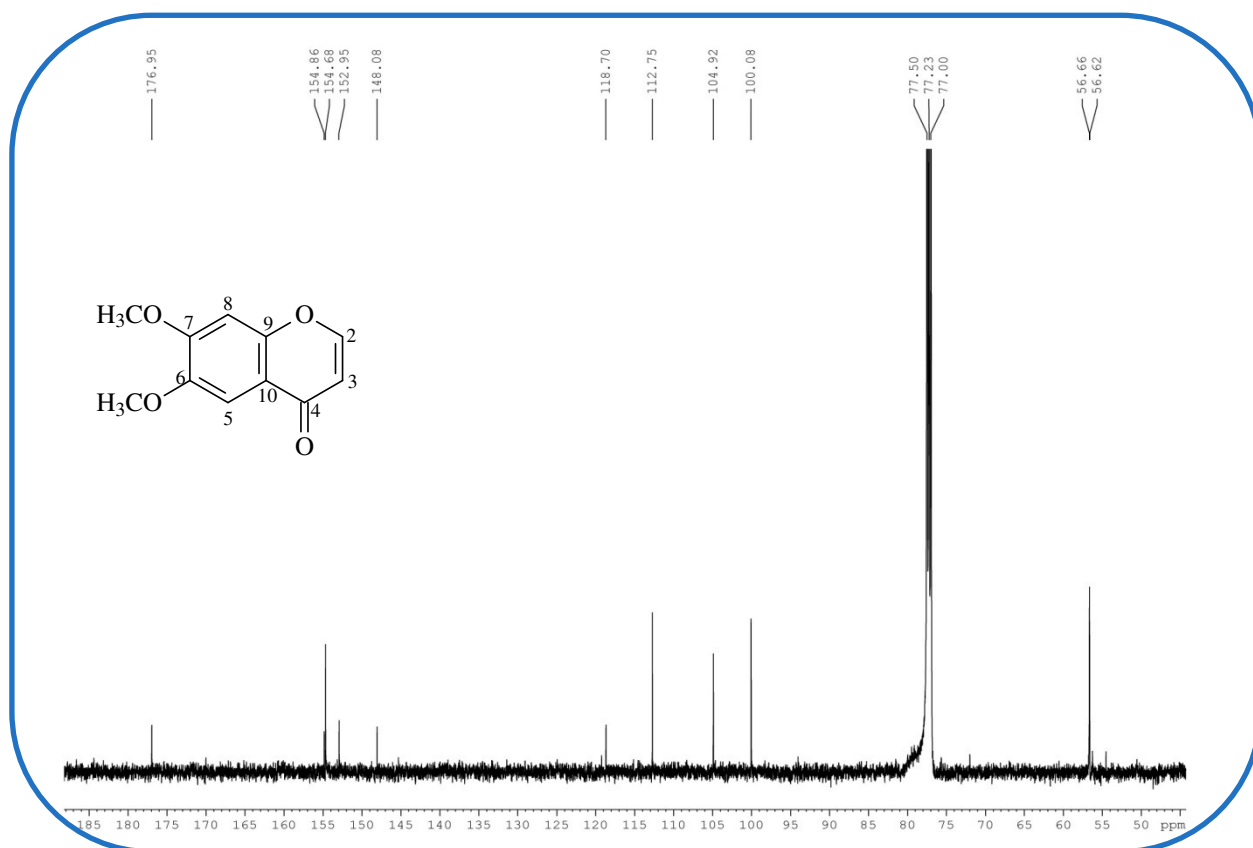


Figura 11 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-13

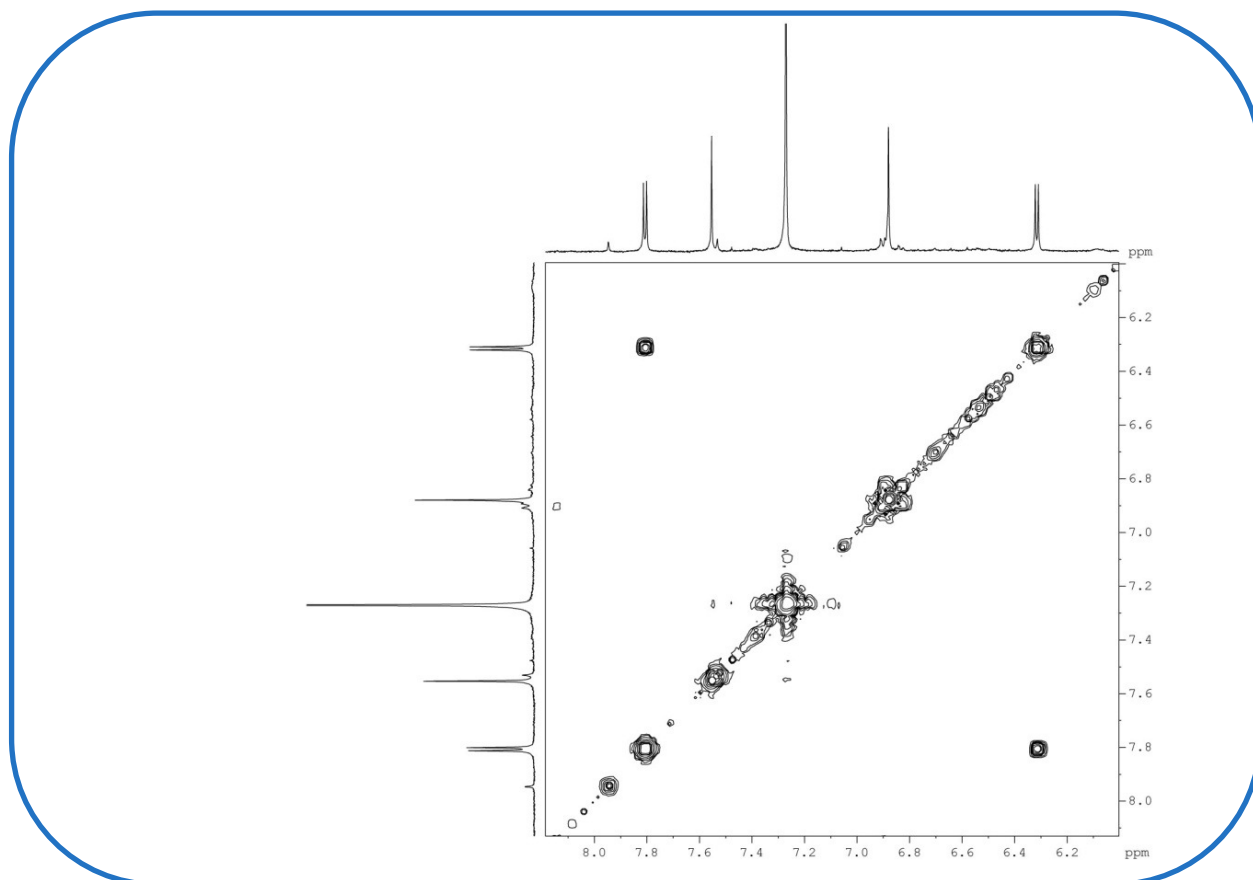
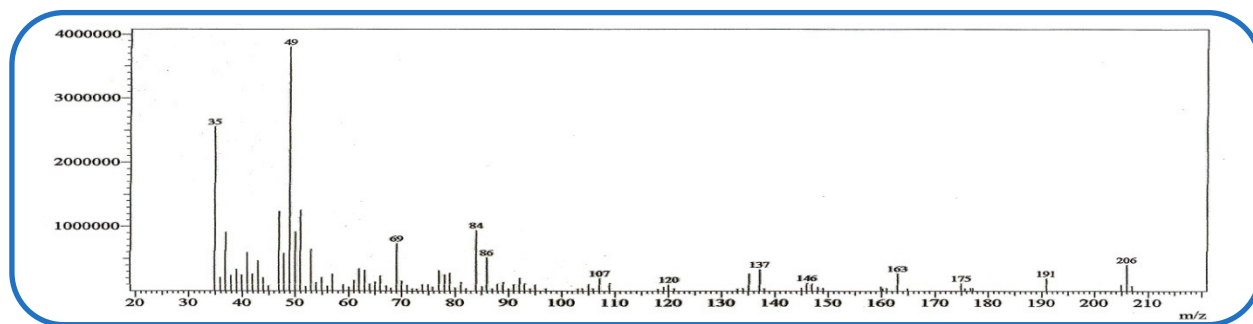
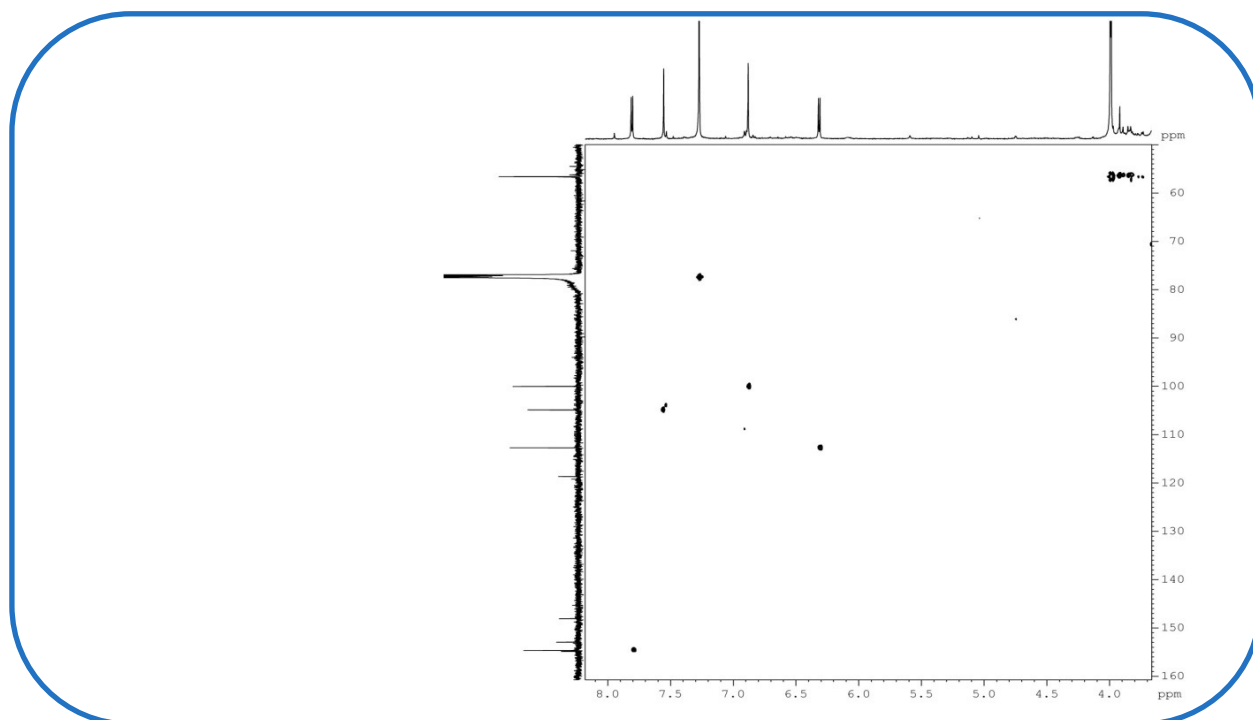
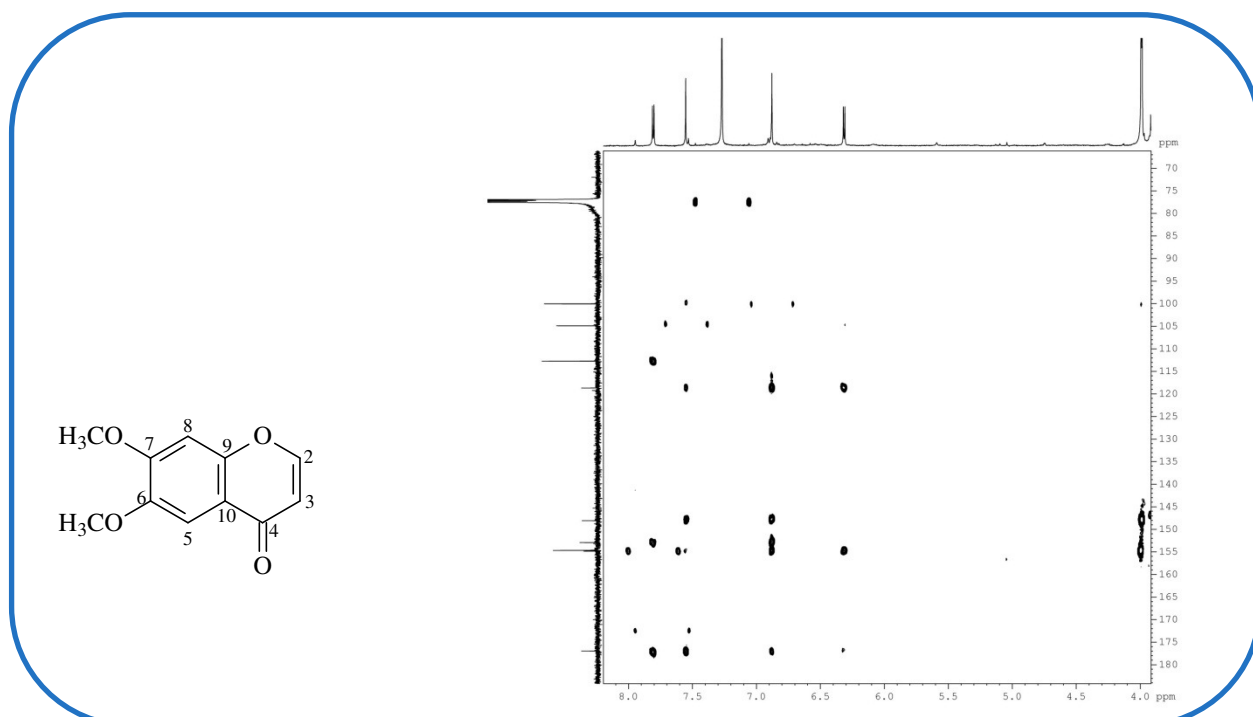


Figura 12 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-13

**Figura 13** - Espectro de massa de TTP-13**Figura 14** - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-13**Figura 15** - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-13

4.2. Determinação estrutural de TTP-1

Tratamentos cromatográficos sucessivos em Sephadex e gel de sílica de TTVEA (item 5.5.4.2. p. 133) forneceram um sólido amarelo amorfo, solúvel em metanol, com faixa de fusão 315,3 - 317,6 °C denominado TTP-1.

O espectro de absorção na região do infravermelho IV de TTP-1 (Fig. 21, p. 53) apresentou uma banda intensa em 3423 cm^{-1} referente a deformação axial de ligação $\nu_{\text{O-H}}$; uma absorção em 2914 cm^{-1} relacionada a deformação axial ($\nu_{\text{C-H}}$); uma banda de absorção forte em 1655 cm^{-1} , associada a deformação axial da ligação C=O, sugerindo a presença de carbonila α,β -insaturada ($\nu_{\text{C=O}}$); uma banda em 1611 cm^{-1} referente a deformação axial de ligação C=C de anel aromático ($\nu_{\text{C=C}}$); bandas em 1366 e 1267 cm^{-1} associadas à deformações angulares de CH_3 ; e em 1165 e 1120 cm^{-1} bandas características de deformação axial de ligação C–O ($\nu_{\text{C-O}}$).

O espectro de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ de TTP-1, obtido em CD_3OD (Fig. 19, p. 52) exibiu 15 sinais espectrais, sendo todos pertencentes a carbonos sp^2 . Um sinal em δ 184,0 veio a confirmar a presença da carbonila de cetona conjugada já sugerida pelo espectro no IV. Observou-se seis sinais em δ 147,2; 151,2; 159,6; 163,3; 166,2 e 166,5 que foram atribuídos a carbonos sp^2 oxigenados; e as oito absorções entre δ 95,2 e 123,8 foram relacionadas a sinais de carbonos sp^2 não oxigenados.

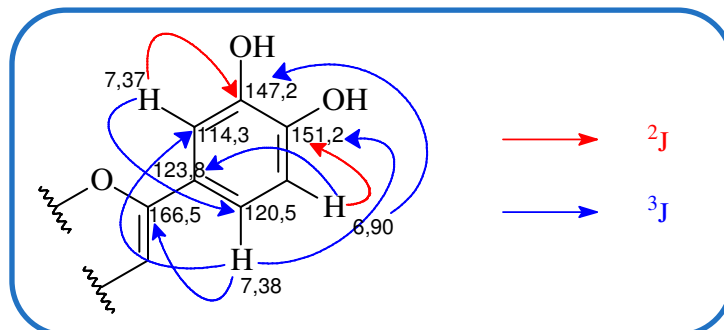
A análise comparativa do espectro de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ com o de RMN ^{13}C - DEPT 135° (Fig. 22, p. 53) possibilitou a atribuição dos carbonos em δ 95,2; 100,3; 104,0; 114,3; 116,9 e 120,5 a carbonos sp^2 monohidrogenados. Não foram observados sinais com amplitude negativa. A análise do espectro de correlação heteronuclear ^1H x ^{13}C - HSQC, (Fig. 23, p. 54) permitiu relacionar, de forma inequívoca, cada sinal de hidrogênio ao seu respectivo sinal de carbono (Tab. 05, p. 51).

O espectro de RMN ^1H de TTP-1 (Fig. 17, p. 51) mostrou dois dupletos em δ 6,20 e 6,44 (1H, J = 2,1 Hz), compatíveis com hidrogênios aromáticos *meta*-posicionados. Observou-se também sinais em δ 6,90 (1H, d, J = 9,0 Hz), 7,37 (1H, d, J = 2,1 Hz) e 7,38 (1H, dd, J = 9,0 e 2,1 Hz) e um sinal simples em δ 6,56 (1H, s).

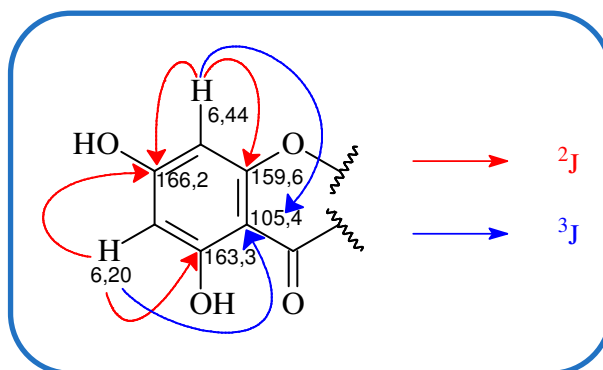
A existência de 15 carbonos na estrutura de TTP-1, todos sp^2 , e de uma carbonila de cetona conjugada permitiu sugerir tratar-se de um flavonoide, classe de substâncias presente em várias espécies do gênero *Tephrosia* (LIMA, 2005).

O fato de terem sido observados seis carbonos oxigenados em TTP-1, e sinais para apenas seis hidrogênios, sugeriu a possibilidade da existência de troca química entre hidrogênios de possíveis grupos hidroxila com o deutério do solvente e da água presente, que implica no não aparecimento dos sinais de tais hidrogênios.

A determinação inequívoca da estrutura de TTP-1 foi realizada através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1H \times ^{13}C$ - HMBC (Fig. 24, p. 54), que mostrou correlações entre o sinal em δ 7,37 (1H, d, $J = 2,1$ Hz) com os sinais de carbono em δ 147,2 a duas ligações (^2J); e δ 120,5 a três ligações (^3J). Mostrou também correlações entre o hidrogênio centrado em δ 6,90 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) e os carbonos em δ 151,2 (^2J); 147,2 e 123,8 (^3J). O sinal de hidrogênio em δ 7,38 (1H, dd, $J = 2,1$ e $9,0$ Hz) correlacionou com os carbonos em δ 114,3; 151,2; e 166,5 (^3J), permitindo sugerir a seguinte unidade estrutural:



Uma outra unidade estrutural pôde ser proposta com base nas correlações observadas entre o sinal em δ 6,44 (1H, d, $J = 2,1$ Hz) e os carbonos em δ 166,2 e 159,6 (^2J) e 105,4 (^3J); e ainda pelas correlações entre o sinal em δ 6,20 (1H, d, $J = 2,1$ Hz) e os carbonos em δ 166,2 e 163,3 (^2J); e 105,4 (^3J), como mostrado ao lado.



Os dados espectroscópicos obtidos conduziram à estrutura da flavona tetrahidroxilada, luteolina (Fig. 16). Dados de RMN ^{13}C da literatura, para o flavonoide, dão suporte à proposição estrutural (AGRAWAL, 1989) (Tab. 05, p. 51).

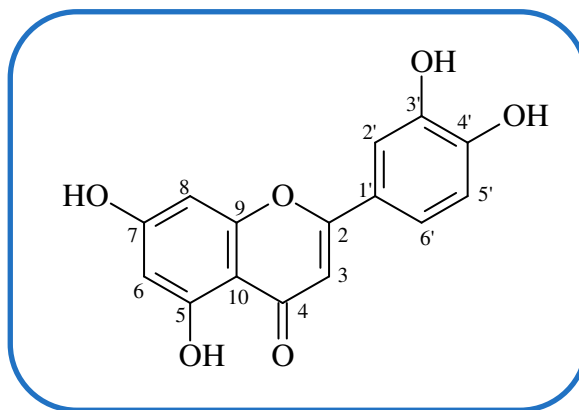


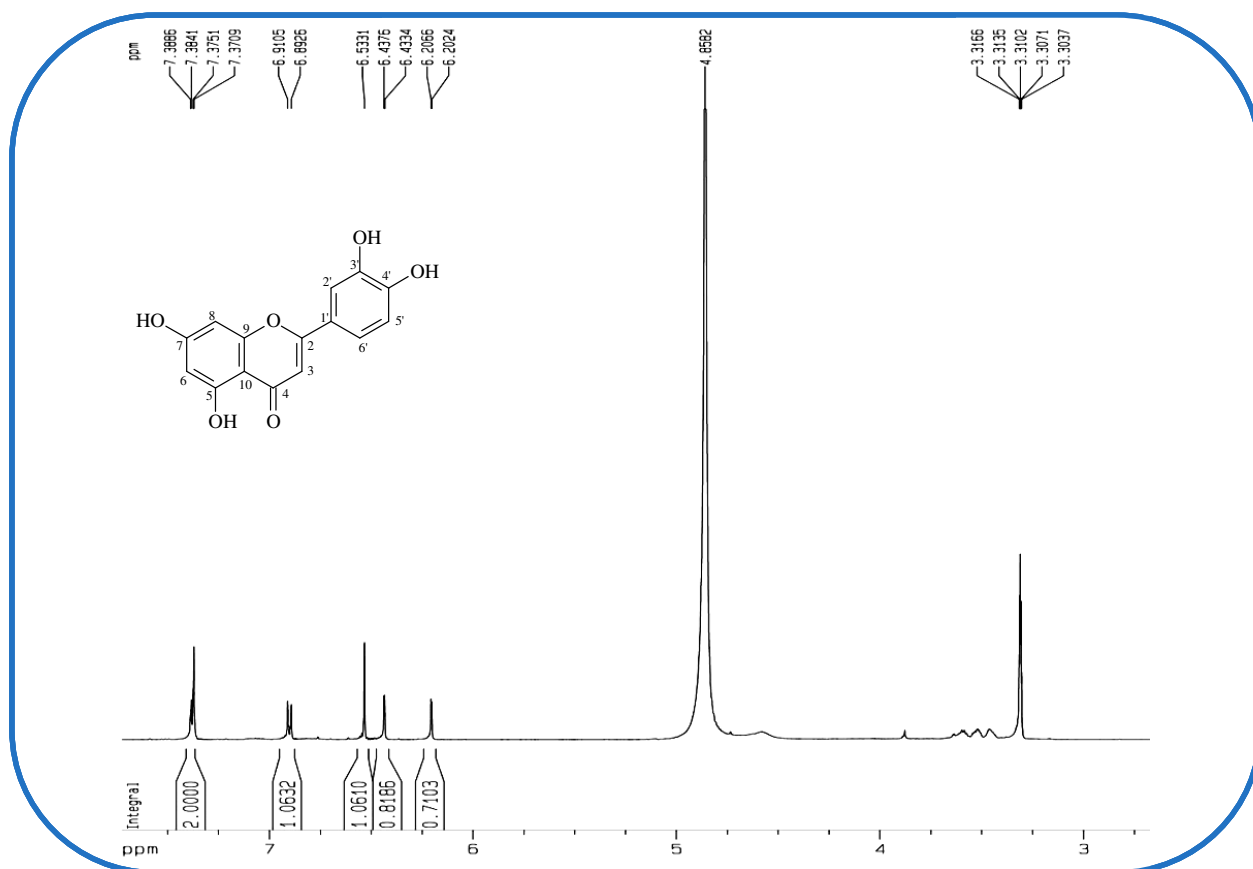
Figura 16 – Estrutura de TTP-1 (3',4',5,7 - tetrahidroxiflavona / luteolina)

Entretanto, seria esperado o aparecimento de um sinal na região de δ 12 ppm referente à hidroxila quelatogênica, que devido à existência de ligação de hidrogênio com o oxigênio da carbonila, não deveria ter sofrido troca química com o solvente. A não existência desse sinal levou a crer na possibilidade da substância TTP-1 ser um dímero. O seu espectro de massa, obtido no modo negativo $[\text{M-H}]^-$ com ionização por *electrospray* (Fig. 20, p. 53), mostrou o pico do composto desprotonado em 285.0439 Da, o que confirmou a troca química e descartou a hipótese dimérica.

A luteolina é uma flavona bastante conhecida pela sua potente atividade antioxidante (OWEN *et al.*, 2003; SUDJAROEN *et al.*, 2005), anticancer (LIN *et al.*, 2008), antimicrobiana (GANAPATY *et al.*, 2008b) e anti-inflamatória (GOMES *et al.*, 2008), dentre outras. Seu isolamento está sendo relatado pela primeira vez em uma espécie do gênero *Tephrosia*.

Tabela 05 - Dados espectroscópicos de TTP-1 comparados com a literatura (AGRAWAL, 1989) / CD₃OD

HSQC		$\delta^{13}\text{C}$	HMBC		$\delta^{13}\text{C}$
C	$\delta\text{ H (mult., } J / \text{ Hz)}$	TTP-1	$^2J_{\text{C-H}}$	$^3J_{\text{C-H}}$	LIT.
2	-	166,5			164,5
3	6,56 (s)	104,0	C-2; C-4	C-10; C-1'	103,3
4	-	184,0			182,2
5	-	163,3			162,1
6	6,20 (d, 2,1)	100,3	C-5; C-7	C-10	99,2
7	-	166,2			164,7
8	6,44 (d, 2,1)	95,2	C-9; C-7	C-10; C-6	94,2
9	-	159,6			157,9
10	-	105,4			104,2
1'	-	123,8			122,1
2'	7,37 (d, 2,1)	114,3	C-3'	C-6'; C-4'; C-2	113,8
3'	-	147,2			146,2
4'	-	151,2			150,1
5'	6,90 (d, 9,0)	116,9	C-4'	C-3'; C-1'	116,4
6'	7,38 (dd, 9,0 e 2,1)	120,5		C-2'; C-4'; C-2	119,3

**Figura 17** - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de TTP-1

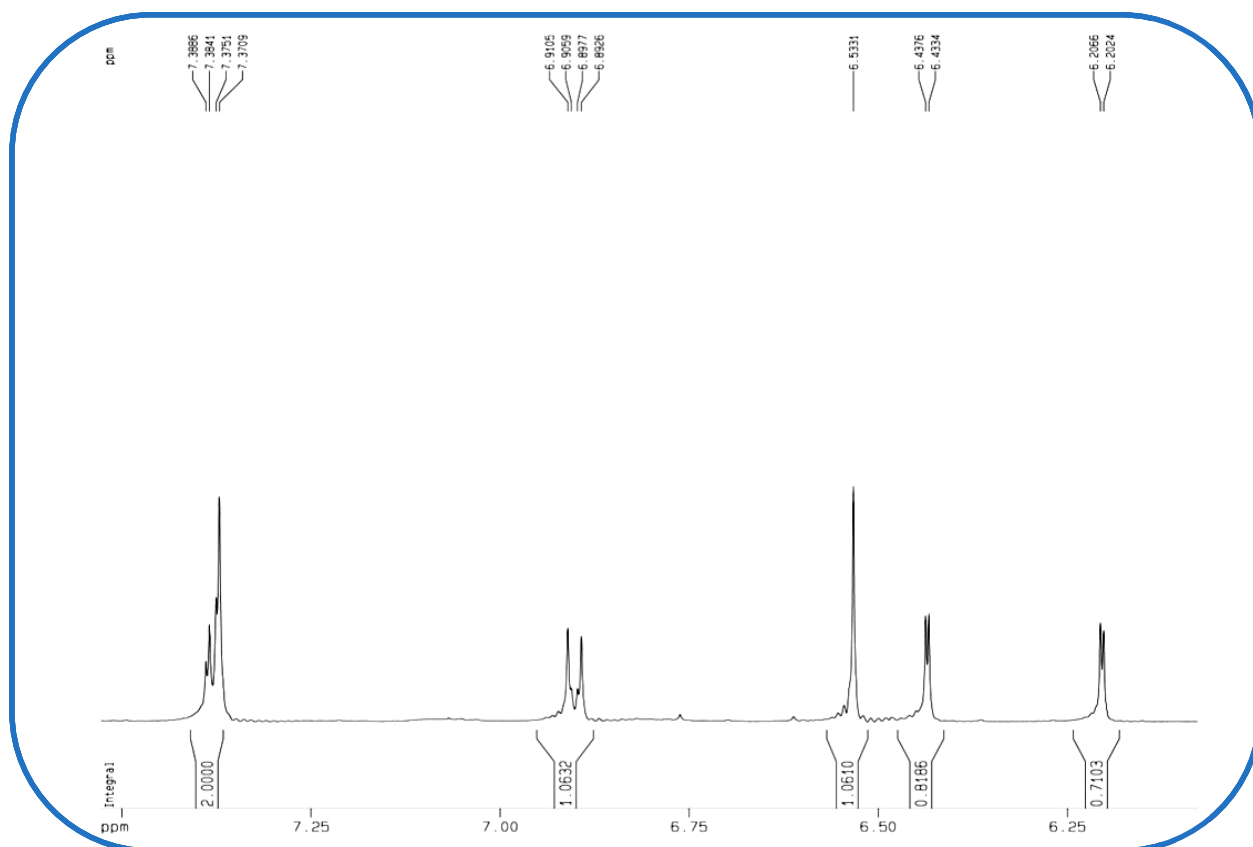


Figura 18 - Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de TTP-1

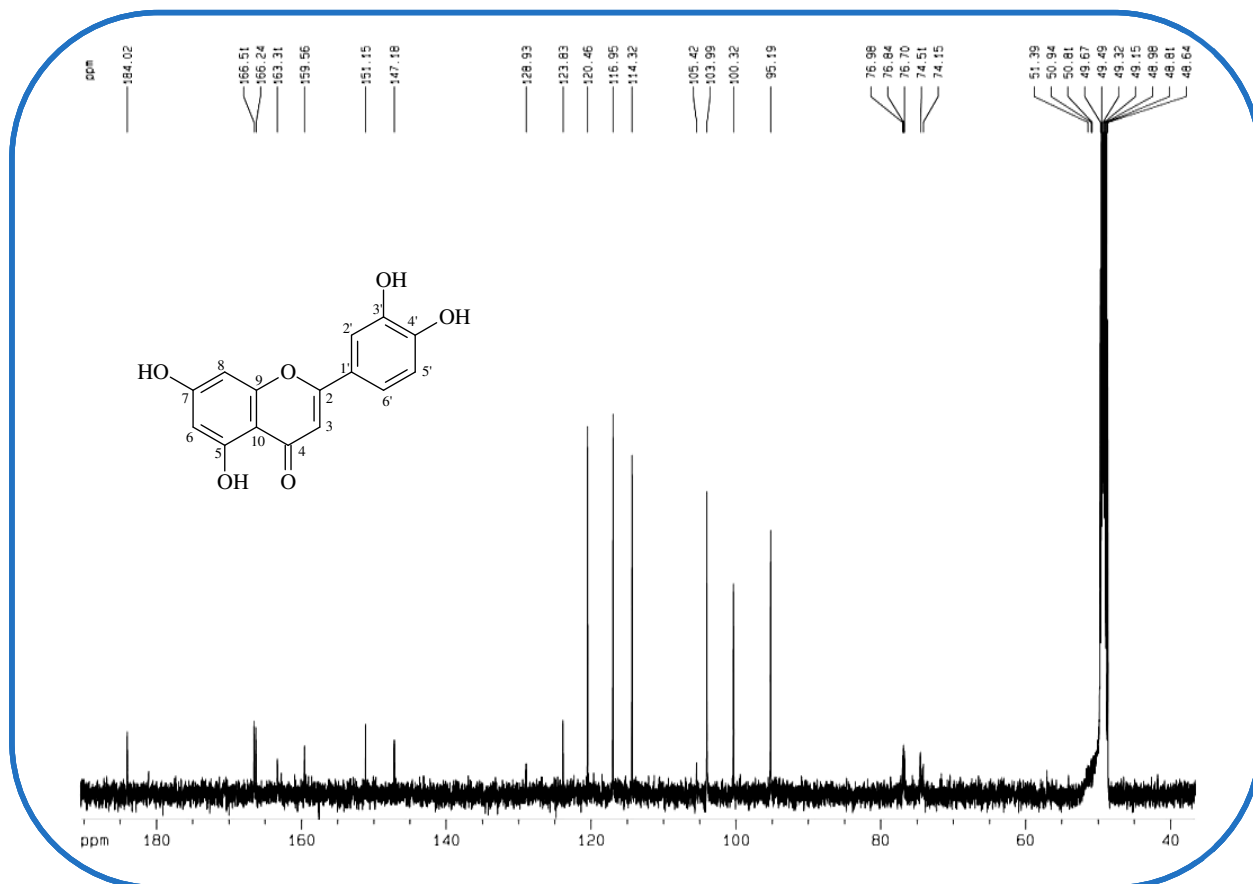


Figura 19 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de TTP-1

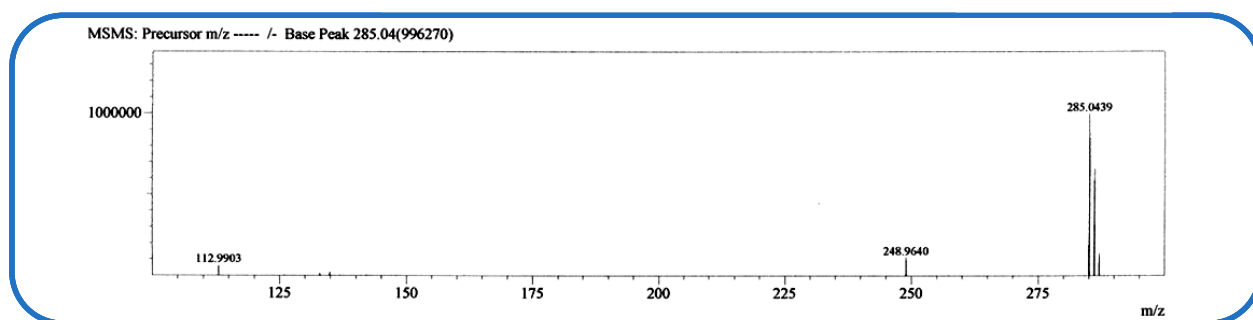


Figura 20 - Espectro de massa de TTP-1

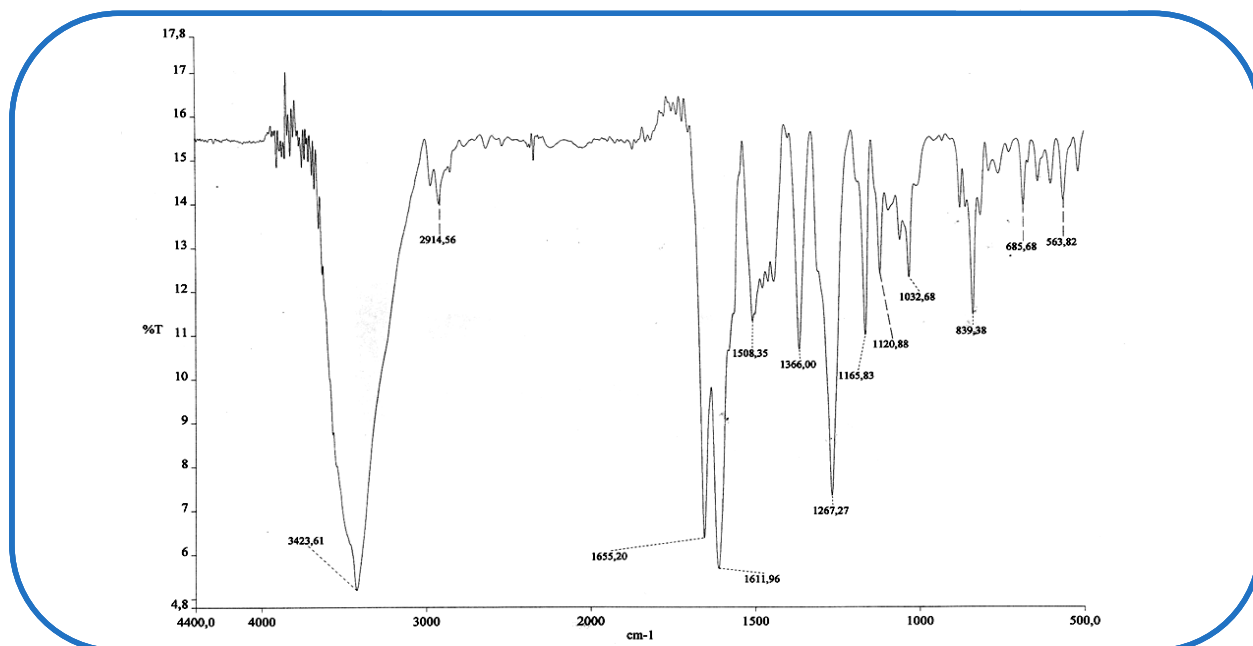


Figura 21 - Espectro no infravermelho de TTP-1

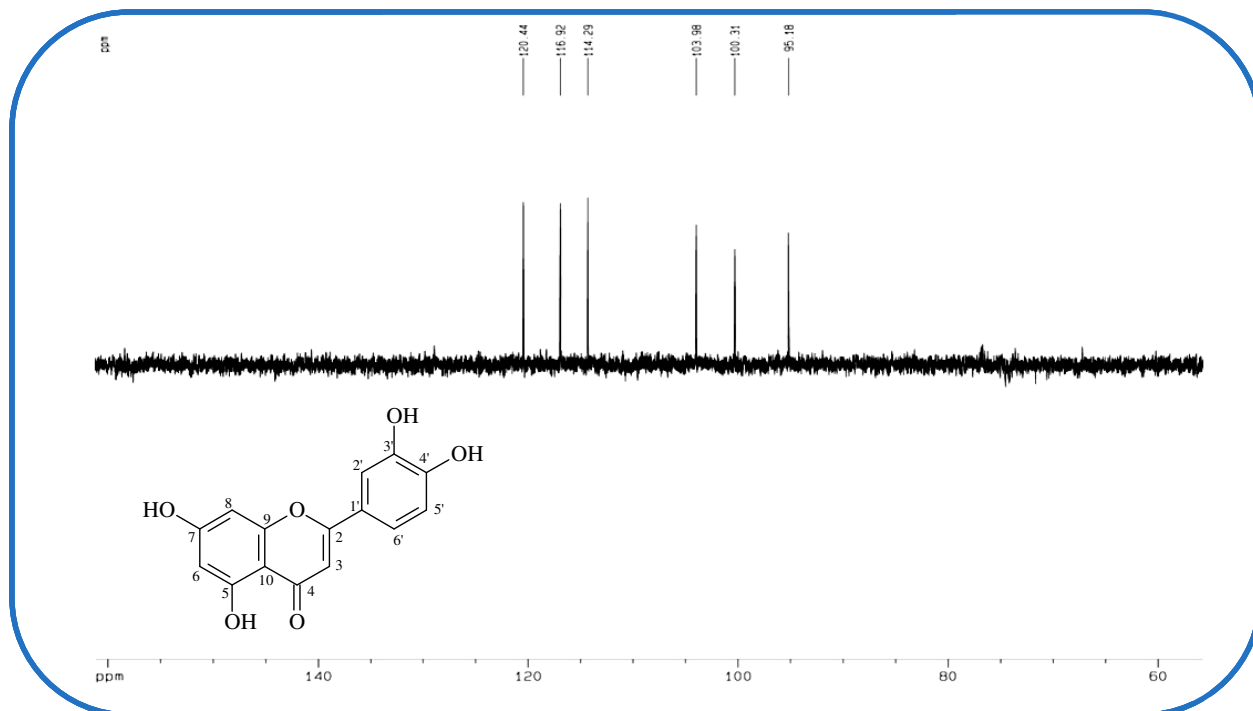


Figura 22 - Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de TTP-1

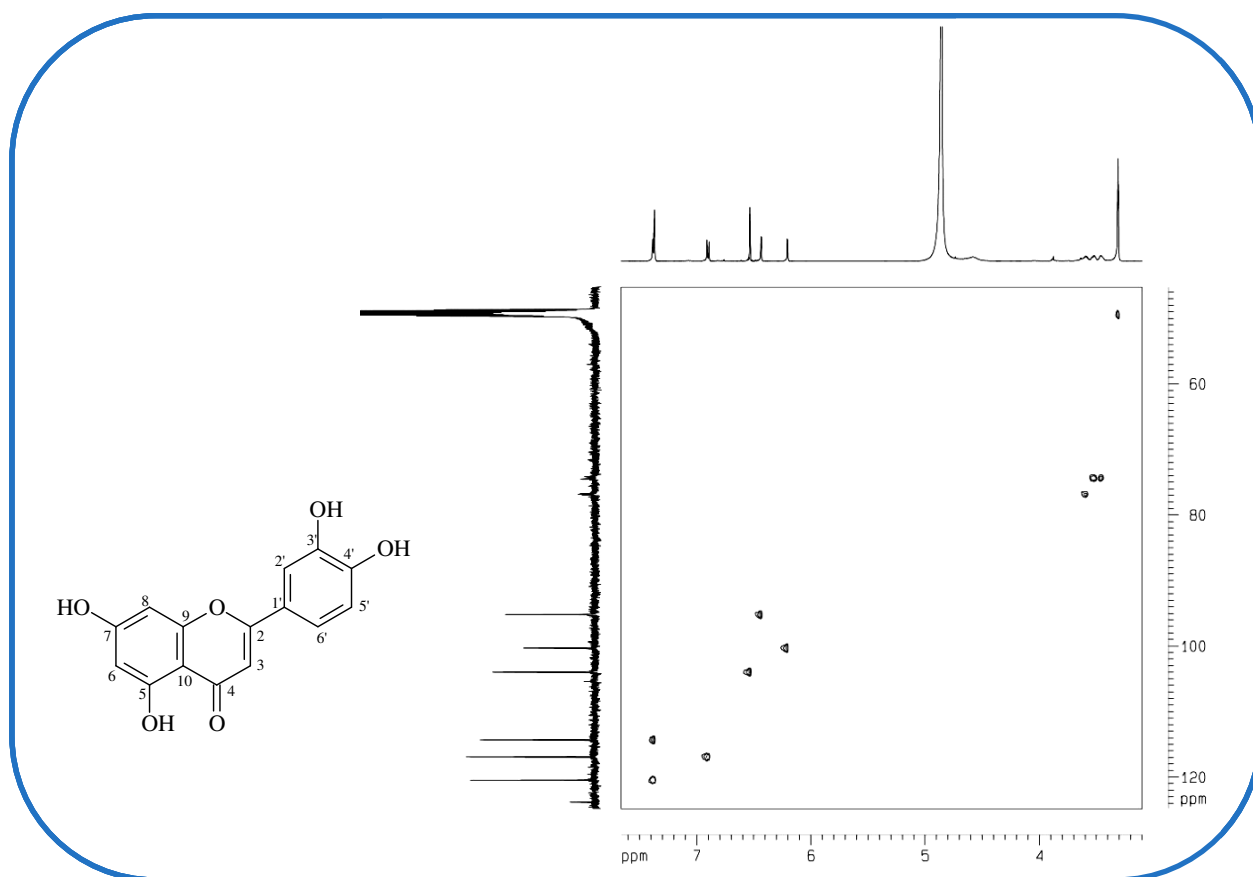


Figura 23 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-1

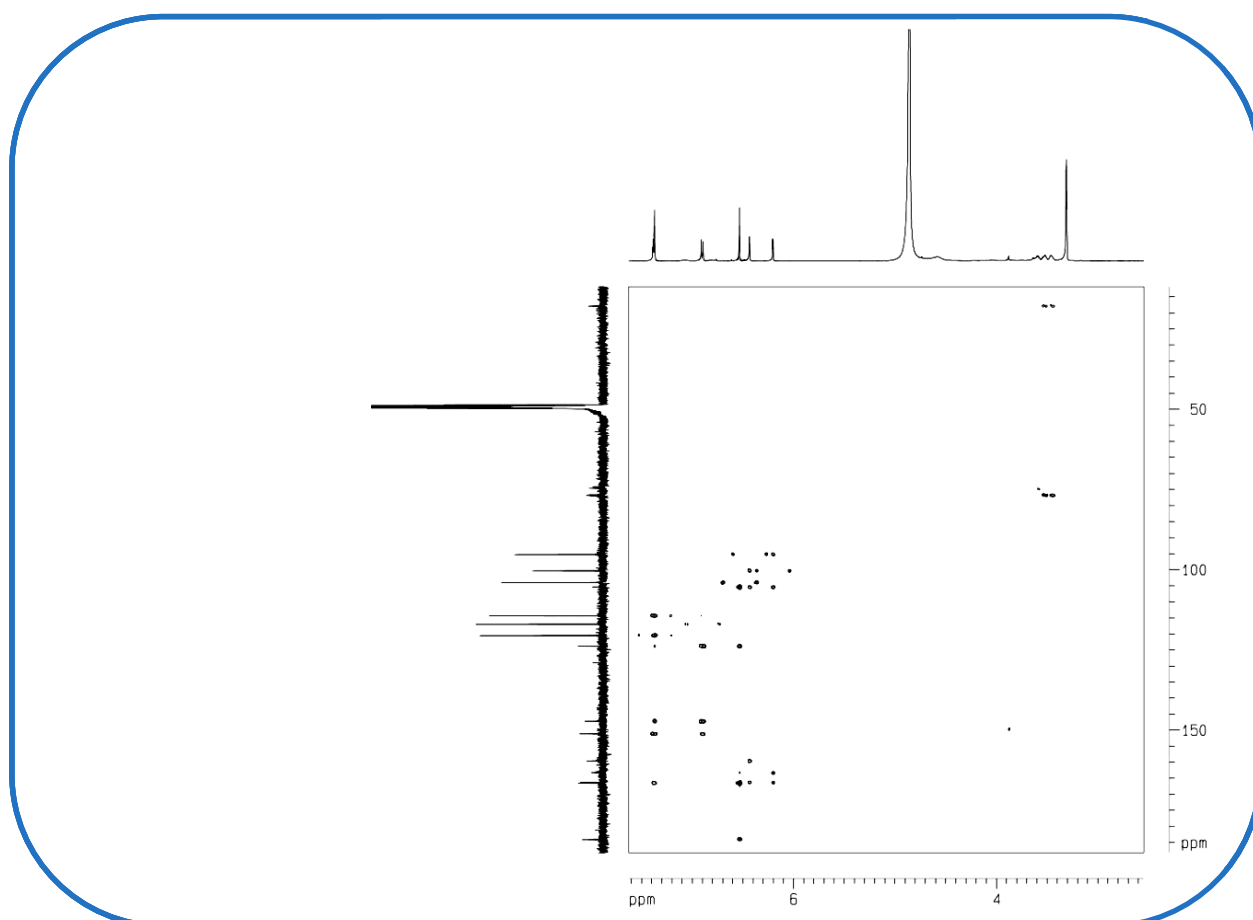


Figura 24 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-1

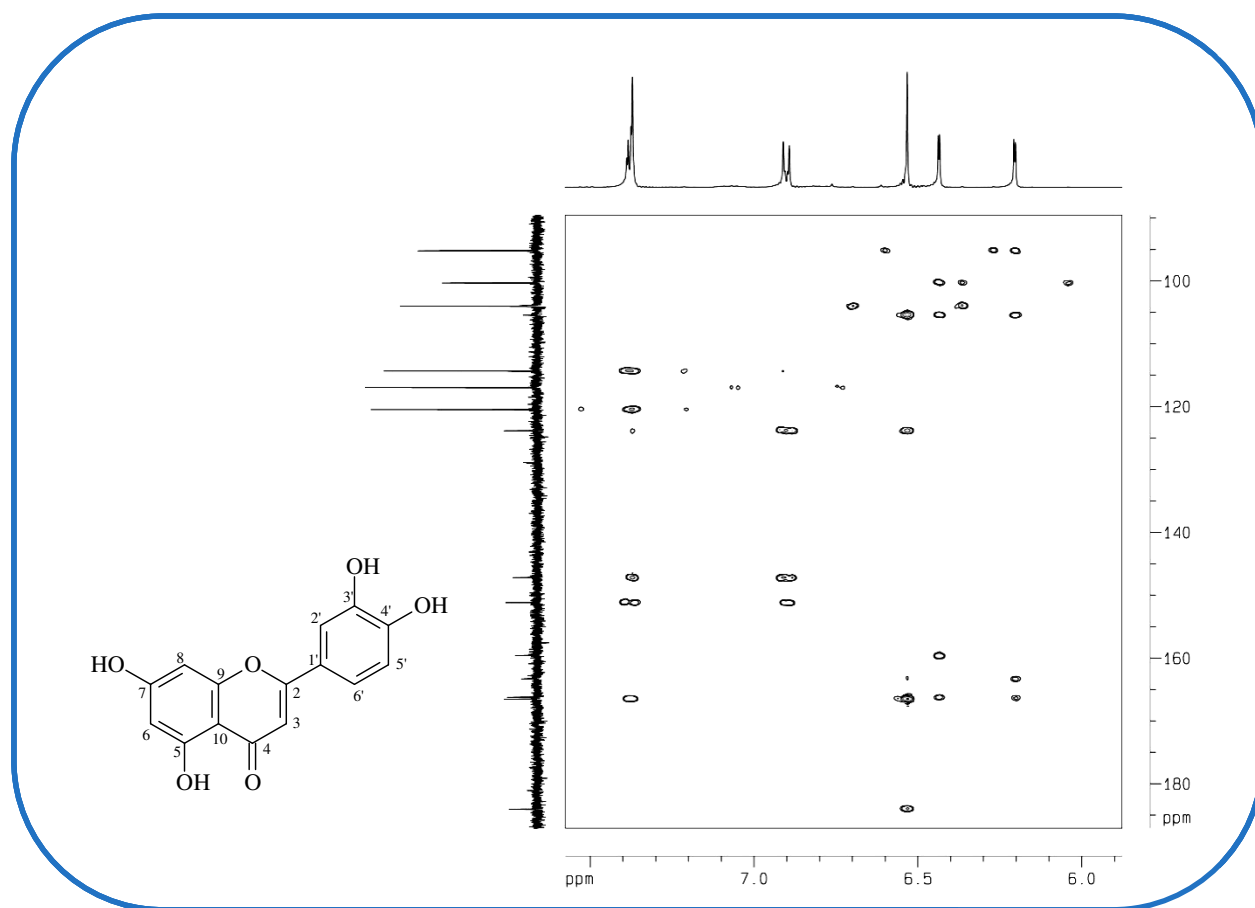


Figura 25 - Expansão do espectro bidimensional – HMBC de TTP-1

4.3. Determinação estrutural de TTP-5

O processo de cromatografia de TTRAFA em gel de sílica (item 5.5.5.3. p. 138) deu origem a um sólido amarelado, de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 119,8 - 121,2 °C, denominado TTP-5. Seu espectro de massa (Fig. 31, p. 60) mostrou pico íon molecular com m/z igual a 322 Da.

O espectro de absorção na região do infravermelho IV de TTP-5 (Fig. 34, p. 62) apresentou uma banda em 2923 cm^{-1} relacionada a deformação axial ($\nu_{\text{C-H}}$); uma banda de absorção forte em 1644 cm^{-1} , associada a deformação axial da ligação C=O, sugerindo a presença de carbonila α,β -insaturada ($\nu_{\text{C=O}}$); uma banda em 1590 cm^{-1} referente a deformação axial de ligação C=C de anel aromático ($\nu_{\text{C=C}}$); bandas próximas a 1374 cm^{-1} associadas à deformações angulares de CH_3 ; e em 1160 e 1115 cm^{-1} bandas características de deformação axial de ligação C-O ($\nu_{\text{C-O}}$).

O espectro de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$, obtido em CDCl_3 (Fig. 33, p. 61), apresentou 18 sinais espectrais. O sinal em δ 195,9 confirmou a presença da carbonila sugerida no espectro no IV. Três sinais em δ 157,0, δ 162,5 e δ 164,0 foram atribuídos a carbonos sp^2 oxigenados. Observou-se ainda 09 sinais de δ 97,9 a δ 138,7 relacionados a carbonos sp^2 não oxigenados. Sinais em δ 78,4 e δ 79,3 foram atribuídos a carbonos sp^3 oxigenados, e o sinal em δ 43,5 foi atribuído a um carbono metilênico.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 32, p. 61) mostrou sinais em δ 1,44 e δ 1,46 (3H, s), os quais foram atribuídos a grupos metila geminais; apresentou também sinais característicos de um sistema do tipo ABX a δ 2,84 (1H, dd, $J = 17,1$ e $3,0 \text{ H}_{\text{eq}}$), δ 3,06 (1H, dd, $J = 17,1$ e $13,0 \text{ H}_{\text{ax}}$) e δ 5,44 (1H, dd, $J = 13,0$ e $3,0 \text{ Hz}$; H-2_{ax}); dupletos em δ 5,48 e 6,56 (1H, $J = 10,0 \text{ Hz}$), cujos acoplamentos foram confirmados pelo espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (Fig. 35, p. 62). Evidenciou-se também um sinal em δ 6,02 (1H, s), além de sinais múltiplos integrados para cinco hidrogênios, compatíveis com a ocorrência de anel aromático monossustituído entre δ 7,40 e δ 7,48. O espectro de RMN ^1H mostrou ainda, em região desblindada, um sinal em δ 12,11 (1H, s), referente a hidroxila quelatogênica.

A análise do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC, (Fig. 36, p. 63) permitiu associar os sinais de carbonos em δ 28,5 e δ 28,7 aos sinais dos hidrogênios metílicos em δ 1,44 e δ 1,46 (3H, s). Foram observadas as correlações dos sinais de hidrogênio em δ 2,84 (dd, $J = 17,1$ e $3,0$ Hz) e δ 3,06 (dd, $J = 17,1$ e $13,0$ Hz) com o carbono em δ 43,5 sugerindo tratar-se de hidrogênios anisócronos confirmando o padrão de hidrogenação sugerido anteriormente para este carbono. Observou-se ainda a correlação do hidrogênio em δ 6,02 (s) com o carbono em δ 97,9 sugerindo, de acordo com comparação de dados da literatura (JANG *et al.*, 2003), tratar-se do hidrogênio (H-6) do anel A pentassubstituído de um sistema flavonoídico.

Sinais em δ 28,5, δ 28,7, δ 78,4, δ 126,7 e δ 115,8 vistos no espectro de RMN ^{13}C , associados às observações feitas no espectro de RMN ^1H , permitiram sugerir na estrutura de TTP-5, a presença do esqueleto 6'',6''- dimetilcromeno (Fig. 26), como substituinte prenílico, freqüentemente encontrado em compostos flavonoídicos que ocorrem em plantas do gênero *Tephrosia* (TARUS *et al.*, 2002).

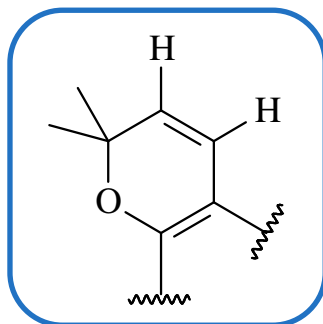


Figura 26 - Sistema 6'',6''- dimetilcromeno

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC permitiu associar os átomos de hidrogênios olefínicos em δ 5,48 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) e δ 6,56 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) com os átomos de carbonos em δ 126,7 e δ 115,8, respectivamente, confirmando a sugestão do sistema 6'',6''- dimetilcromeno. Todos os dados até aqui descritos permitiram sugerir duas estruturas isoméricas para TTP-5, nas quais o anel 6'',6''- dimetilcromeno estaria em posição angular ou linear, levando a dois compostos distintos (Fig. 27, p. 58).

A determinação inequívoca da estrutura de TTP-5 foi feita através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (Fig. 37, p. 63), no qual observou-se acoplamento a três ligações (^3J) do hidrogênio da hidroxila fenólica (δ 12,11) com o carbono hydrogenado (C-6), em δ 97,6. Como é ilustrado na Figura 27.

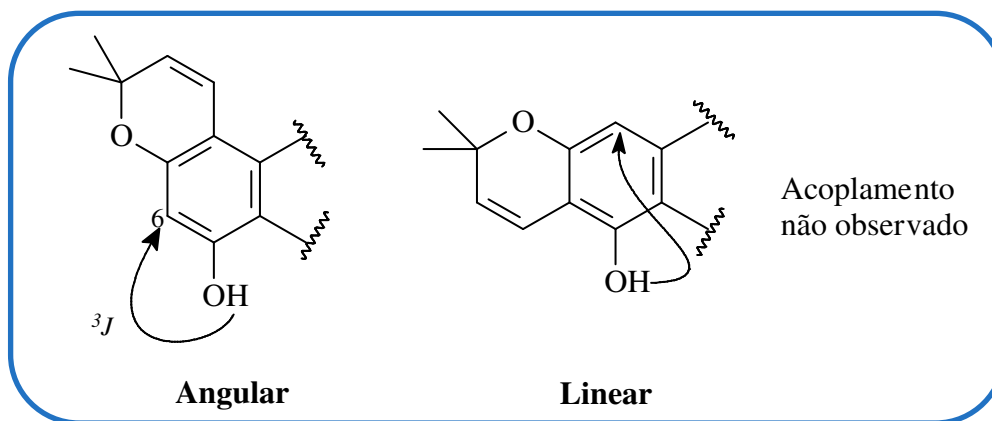
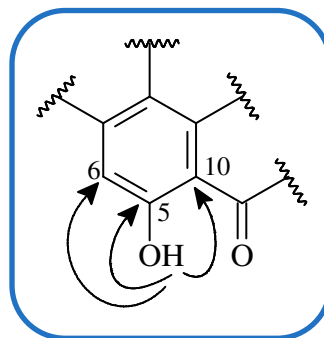


Figura 27 – Acoplamento da hidroxila fenólica com o carbono hydrogenado nas estruturas angular e linear

As correlações observadas no experimento de HMBC corroboraram para a estrutura angular de TTP-5. Foi observada correlação do hidrogênio fenólico (δ 12,11) a três ligações (^3J) com o carbono hydrogenado (C-6) em δ 97,9 e com o carbono (C-10) em δ 103,1; e a duas ligações (^2J) com o carbono (C-5) em δ 164,0.



De acordo com os dados obtidos e em comparação com os descritos na literatura (ANDREI *et al.*, 2000), foi possível identificar TTP-5 como sendo a obovatina (5-hidroxi-6'',6''-dimetilcromeno-[2'',3'':7,8]-flavanona) (Fig. 28, p. 59), substância isolada anteriormente de *T. pentaphylla* (DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989), *T. tunicata* (ANDREI *et al.*, 2000) e *T. elata* (MUIVA *et al.*, 2009). No entanto, foi observada uma divergência no assinalamento dos carbonos 5, 7 e 9 descritos na literatura. A análise detalhada do espectro de HMBC possibilitou atribuir de forma inequívoca os deslocamentos para estes carbonos. O acoplamento do hidrogênio da hidroxila com o carbono em δ 164,0 confirma este valor para C-5, ao invés de δ 157,0. O acoplamento de H-4'' (^3J) com os carbonos em δ 157,0 e 162,5 associados ao

acoplamento de H-6 (^2J) com δ 162,5 permitiu confirmar o assinalamento dos carbonos C-7 e C-9 como sendo δ 162,5 e 157,0 respectivamente (Tab. 06, p. 60).

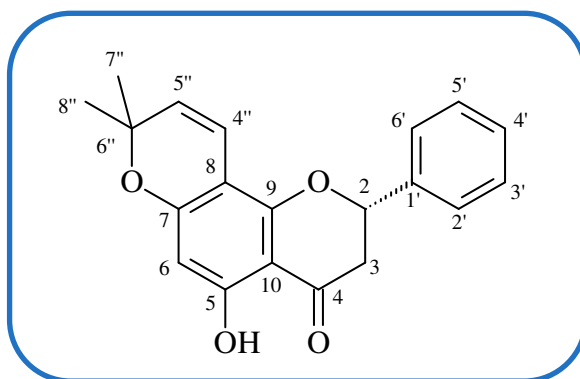


Figura 28 – Estrutura de TTP-5

(5-hidroxi-6'',6''-dimetilcromeno-[2'',3'': 7, 8]-flavanona / obovatina)

A confirmação da estereoquímica relativa do carbono C-2 pôde ser obtida através dos valores das constantes de acoplamento (J) observadas entre o hidrogênio deste carbono e os hidrogênios do carbono C-3. Para H-2 foram reveladas duas constantes de acoplamento de 3,0 e 13,0 Hz. Para que H-2 apresente $J = 13$ Hz torna-se necessário que este esteja localizado em posição pseudo-axial. Diante desta consideração, o grupo fenila deve estar obrigatoriamente em posição pseudo-equatorial como mostrado na Figura 29.

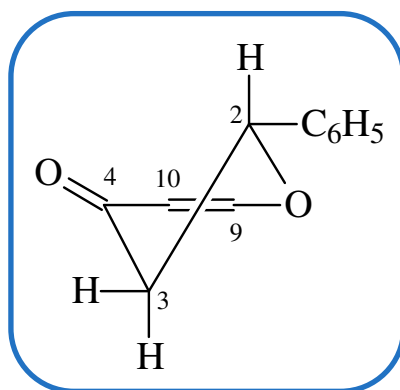
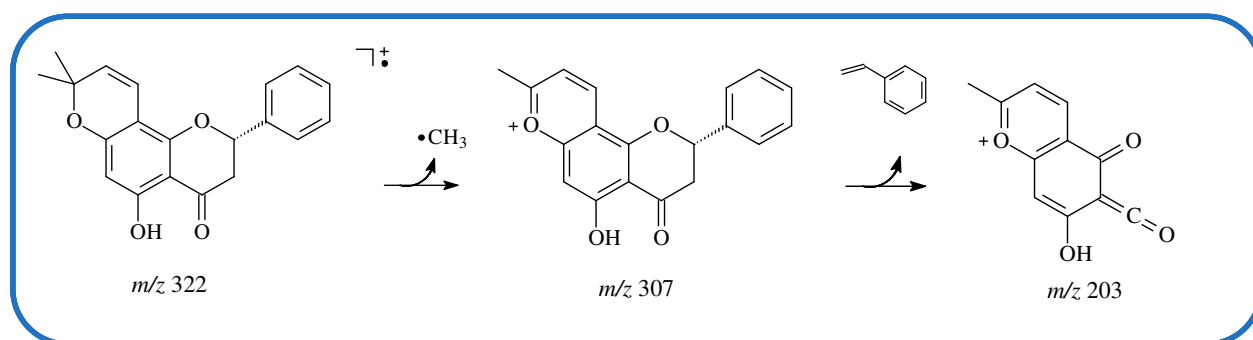
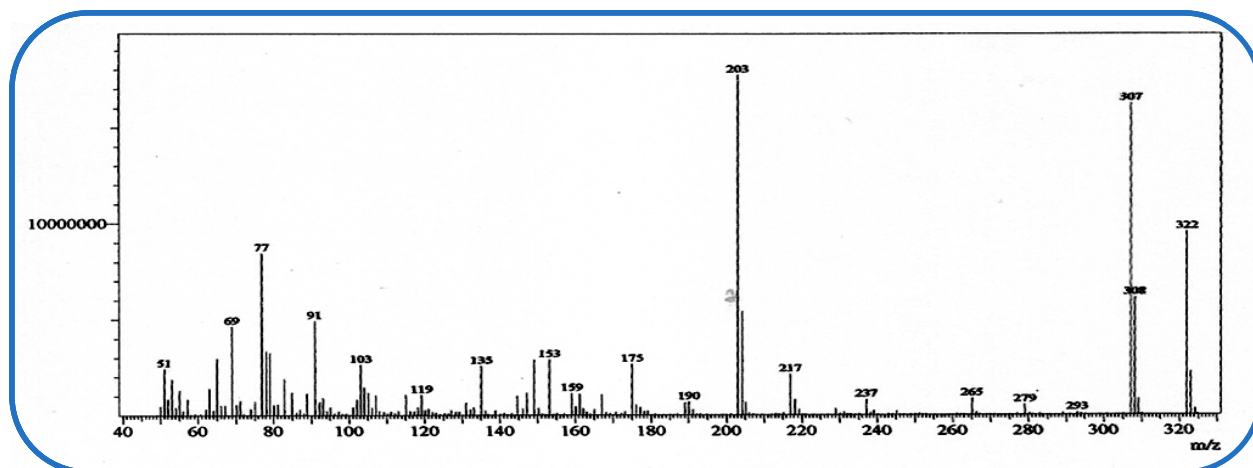


Figura 29 – Representação conformacional do anel C de TTP-5

Tabela 06 - Dados espectroscópicos de TTP-5 comparados com a literatura (ANDREI *et al.*, 2000) / CDCl₃

C	TTP-5		HMBC		LIT.	
	δ H (mult., J / Hz)	δ ¹³ C	² J _{C-H}	³ J _{C-H}	δ H	δ ¹³ C
2	5,44 (dd, 13,0 e 3,0)	79,3	C-1'	C-4; C-9; C-2'-6'	5,45 (dd, 12,5 e 3,3)	78,97
3	3,06 (dd, 17,1 e 13,0 H _{ax}) 2,84 (dd, 17,1 e 3,0 H _{eq})	43,5	C-2; C-4 C-4	C-1' C-10; C-1'	3,10 (dd, 16,7 e 12,5 H _{ax}) 2,81 (dd, 16,7 e 3,3 H _{eq})	43,19
4	-	195,9			-	196,00
5	-	164,0			-	157,00
6	6,02 (s)	97,9	C-7	C-8; C-10	5,99 (s)	97,55
7	-	162,5			-	164,00
8	-	102,2			-	102,00
9	-	157,0			-	162,00
10	-	103,1			-	103,00
1'	-	138,7			-	139,00
2', 6'	7,40 – 7,48 (m)	126,2		C-2	7,40 – 7,44 (m)	125,91
3', 5'	7,40 – 7,48 (m)	129,0		C-1'	7,40 – 7,44 (m)	128,72
4'	7,40 – 7,48 (m)	129,0			7,40 – 7,44 (m)	128,66
4''	6,56 (d, 10,0)	115,8	C-8	C-7; C-9; C-6''	6,53 (d, 10,1)	115,48
5''	5,48 (d, 10,0)	126,7	C-6''	C-8; C-7''; C-8''	5,40 (d, 10,1)	126,39
6''	-	78,4			-	78,08
7''	1,44 (s)	28,5	C-6''	C-5''	1,41 (s)	28,18
8''	1,46 (s)	28,7	C-6''	C-5''	1,43 (s)	28,42
OH	12,11 (s)	-	C-5	C-10; C-6	12,11 (s)	-

**Figura 30** – Proposta de fragmentações de massa de TTP-5**Figura 31** - Espectro de massa de TTP-5

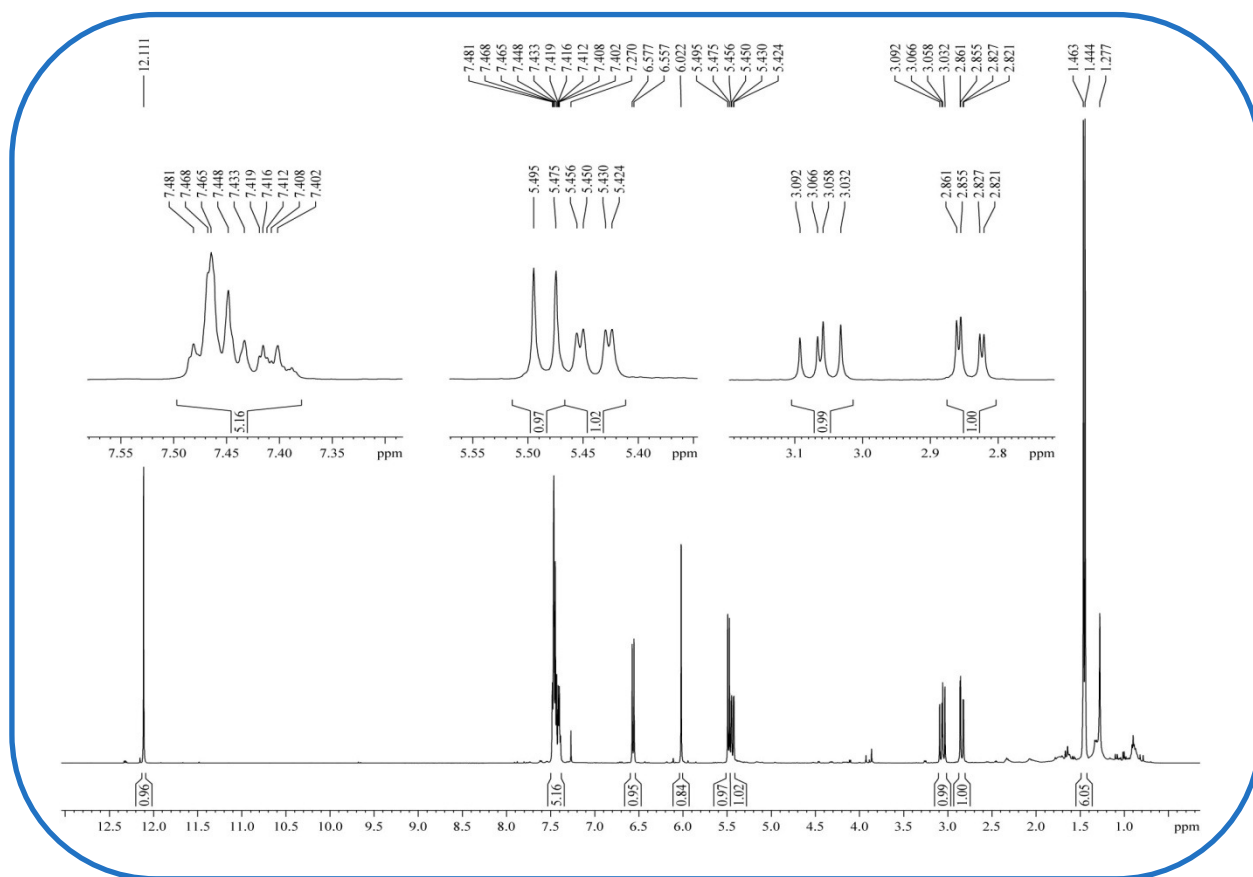


Figura 32 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-5

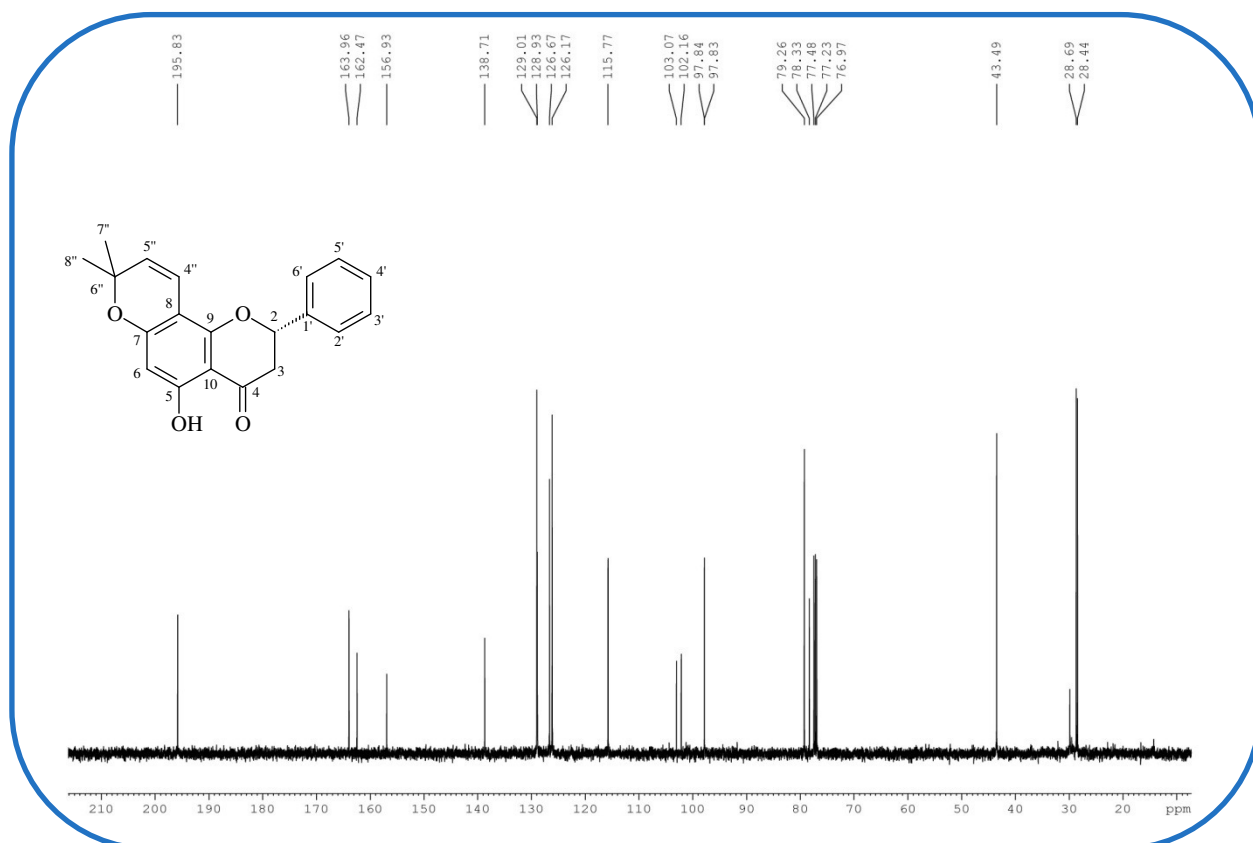


Figura 33 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-5

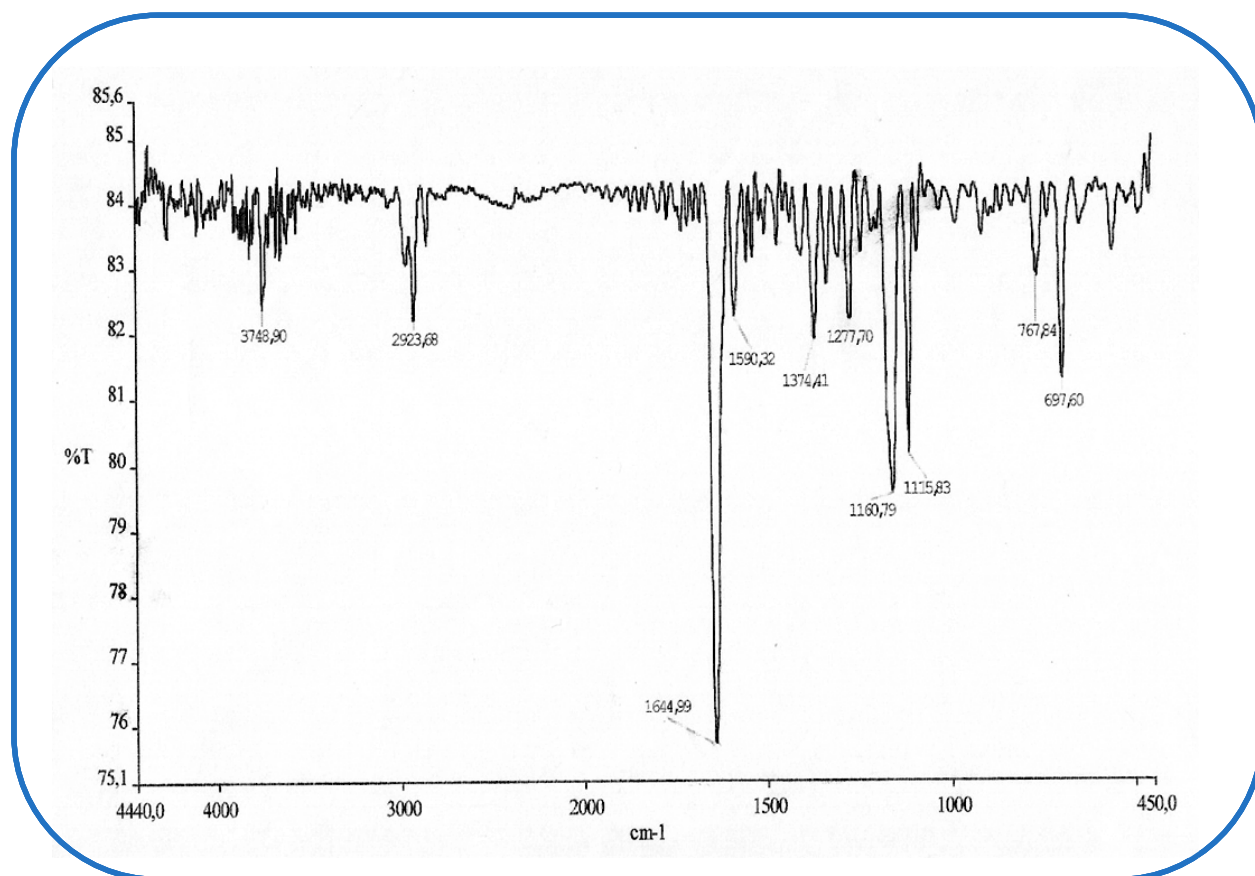


Figura 34 - Espectro no infravermelho de TTP-5

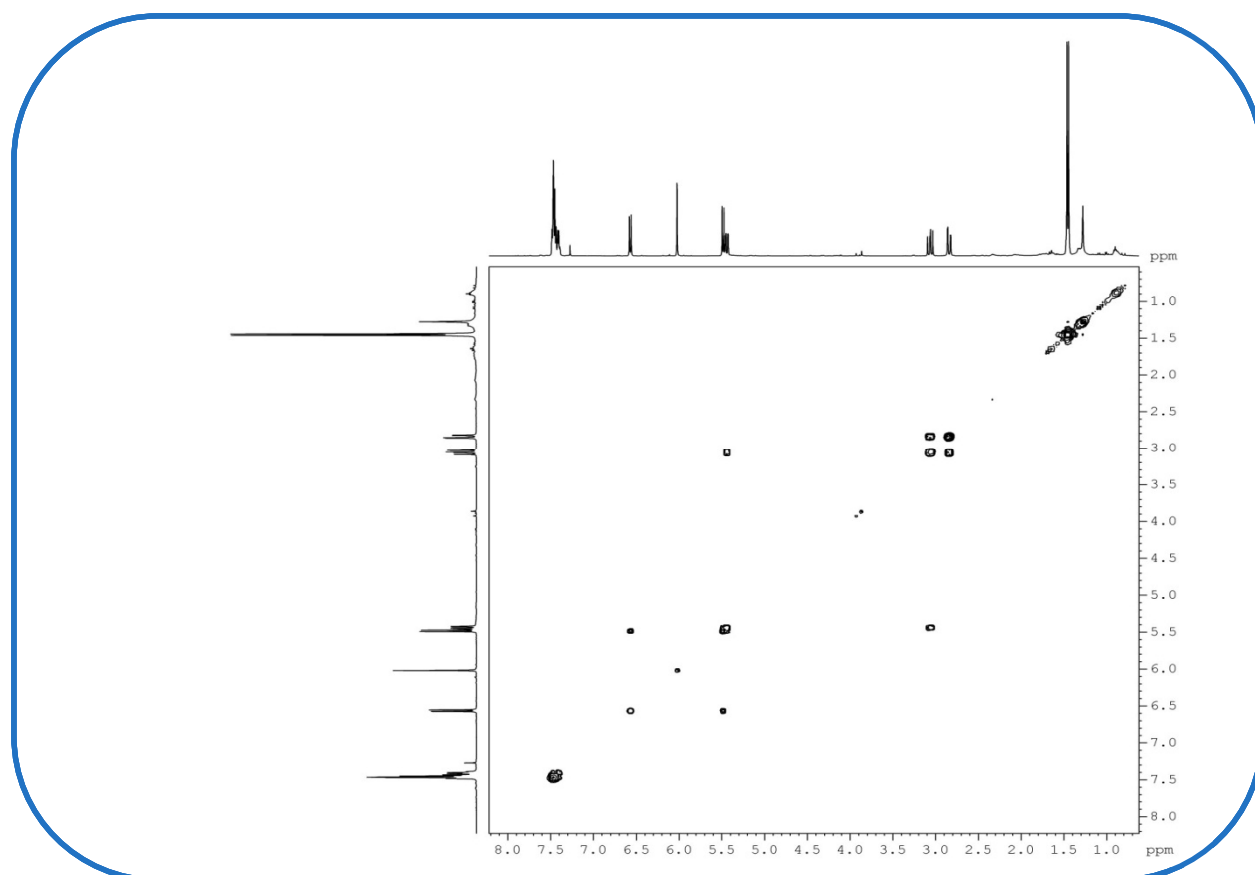


Figura 35 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-5

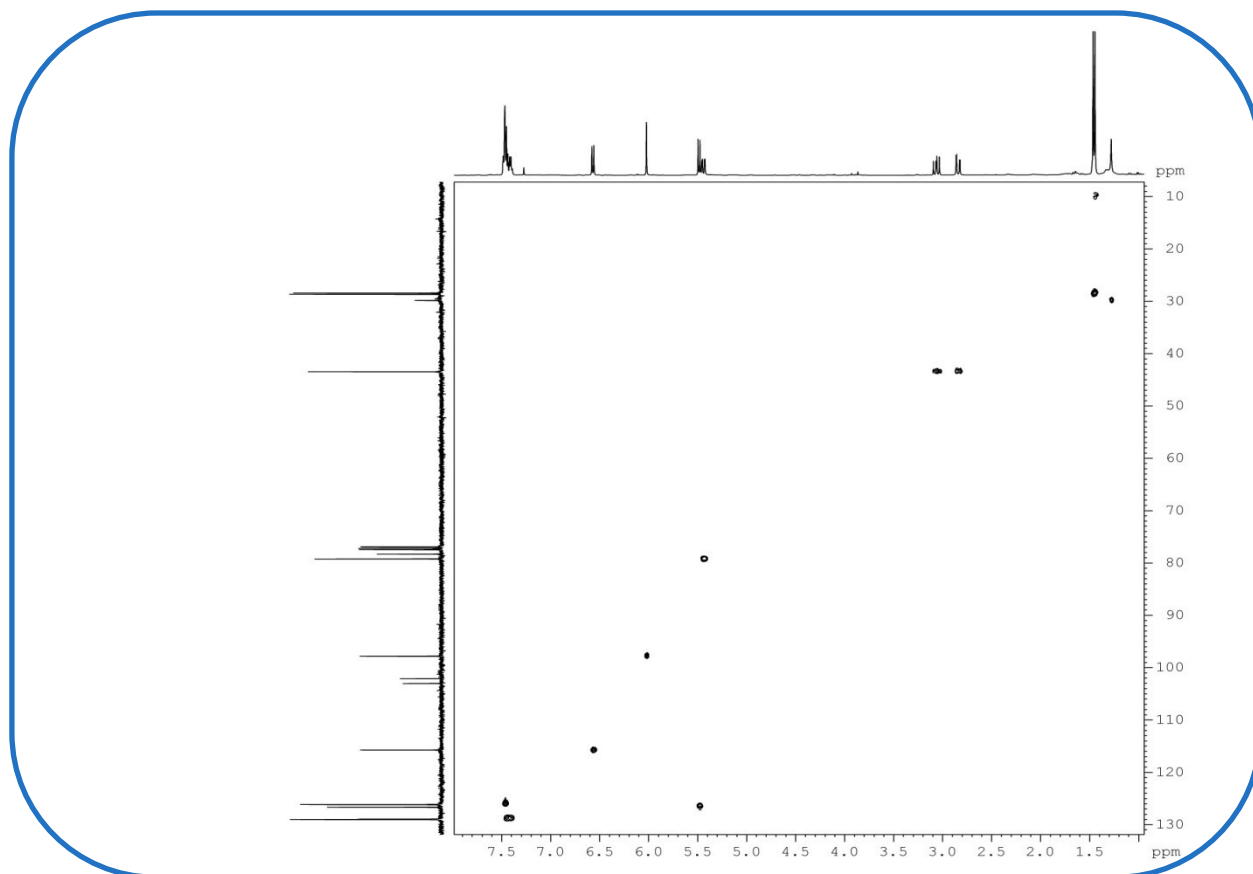


Figura 36 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-5

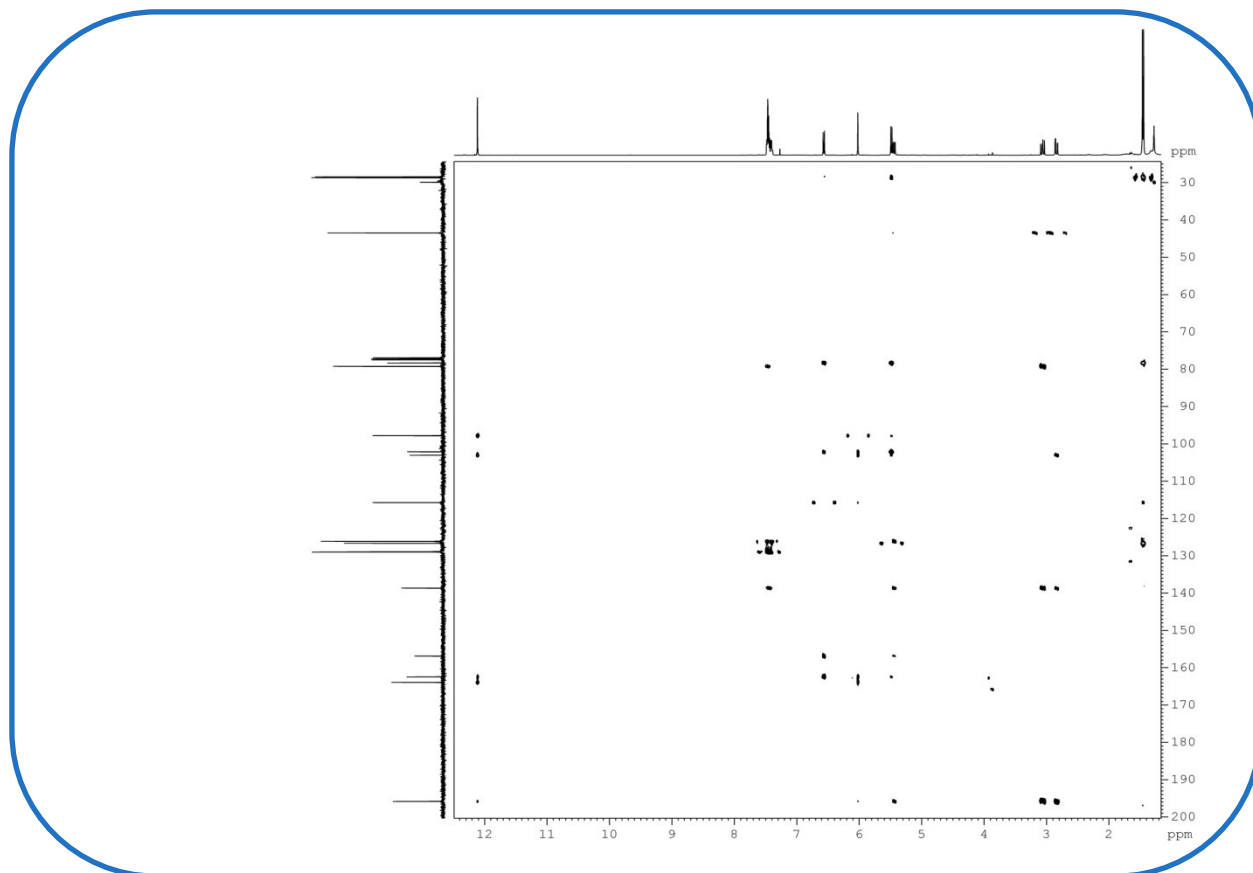


Figura 37 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-5

4.4. Determinação estrutural de TTP-6

Tratamentos cromatográficos sucessivos em gel de sílica de TTRAFA (item 5.5.5.5. p. 140) e TTRASEC (item 5.5.5.7., p. 142) forneceram um sólido amarelo amorfo, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 153,4 - 156,2 °C, denominado TTP-6. O seu espectro de massa (Fig. 42, p. 68) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 394 Da.

Seu espectro no infravermelho IV (Fig. 46, p. 69) apresentou bandas próximas a 2928 cm^{-1} relacionadas à presença de carbonos saturados sp^3 ($\nu_{\text{C-H}}$); uma banda de absorção em 1672 cm^{-1} , associada a deformação axial da ligação C=O, sugerindo a presença de carbonila α,β -insaturada ($\nu_{\text{C=O}}$); apresentou ainda bandas entre 1597, 1509 e 1446 cm^{-1} referentes a deformação axial de ligação C=C de anel aromático ($\nu_{\text{C=C}}$); bandas entre 1111 e 1015 cm^{-1} características de deformação axial de ligação C–O ($\nu_{\text{C-O}}$) e uma banda em 736 cm^{-1} associadas a deformação angular fora do plano de ligação $\text{C}_{\text{arom}}\text{-H}$.

Vinte e três (23) sinais espectrais foram exibidos no seu espectro de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$, obtido em CDCl_3 (Fig. 45, p. 69). A teoria de deslocamento químico (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000) permitiu a atribuição do sinal em δ 189,5 a uma carbonila, já sugerida anteriormente pelo espectro no IV. Uma análise comparativa com o espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (Fig. 47, p. 70) permitiu a verificação da existência de quatro carbonos metílicos (CH_3), um carbono metilênico (CH_2), oito carbonos metínicos (CH) e, portanto, dez átomos de carbonos não hidrogenados (C). Os sinais em δ 44,6; 72,8; 101,2; 110,6; 111,7; 116,0; 128,8 e 128,9 foram relacionados a carbonos metínicos; o sinal em δ 72,8 a um carbono sp^3 oxigenado e hidrogenado; o sinal em δ 66,5 a um carbono metilênico e os sinais em δ 105,0; 109,4 e 113,0 a carbonos insaturados não hidrogenados. Os sinais em δ 144,1; 147,7; 149,8; 157,2 e 160,3 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados; e o sinal em δ 77,9 foi atribuído a um carbono sp^3 oxigenado não hidrogenado.

Os sinais em δ 28,4 e δ 28,5, atribuídos a sinais de metilas, correlacionaram com os sinais em δ 1,39 e 1,46 (3H, s), respectivamente. O espectro de RMN ^1H (Fig. 43, p. 68) mostrou dupletos em δ 5,56 e 6,65 (1H, $J = 10,0$ Hz), com constante de

acoplamento (J) característica de hidrogênios olefínicos em posição *cis*, semelhante ao visto nos dados de TTP-5 (obovatina). Esses dupletos são indicativos da presença do sistema dimetilcromeno (Fig. 26, p. 57) na estrutura do composto. Os sinais, no espectro de RMN ^{13}C , em δ 77,9 (C), δ 128,9 (CH) e δ 116,0 (CH) permitiram reforçar a proposição.

Os sinais em δ 56,1 e δ 56,6 evidenciaram a presença de carbonos sp^3 oxigenados de grupos metoxila ligados a anel aromático sem compressão estérica (FURUKAWA; YOGO; WU, 1983), sendo associados aos sinais em δ 3,81 e 3,78 (3H, s) no espectro de RMN ^1H , os quais foram confirmados pela correlação observada entre os referidos sinais no espectro de HSQC (Fig. 49, p. 71). Este espectro mostrou também correlações do carbono metilênico em δ 66,2 com os sinais em δ 4,19 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) e 4,64 (1H, dd, $J = 3,1$ e $12,0$), atribuídos a um grupamento oximetileno.

No espectro de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY (Fig. 48, p. 70) foram observadas correlações do sinal de hidrogênio em δ 4,19 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) com o sinal em δ 4,64 (1H, dd, $J = 3,1$ e $12,0$ Hz), sugerindo acoplamento geminal entre os mesmos. Observou-se ainda correlação entre o sinal em δ 4,92 (1H, tl, $J = 3,1$ Hz), com os hidrogênios em δ 4,64 e 3,85 (1H, d, $J = 3,9$ Hz), sugerindo para tal fato acoplamentos tipo pseudo-axial-equatorial entre eles. Essas correlações sugerem a presença, na estrutura de TTP-6, de um sistema como o mostrado abaixo:

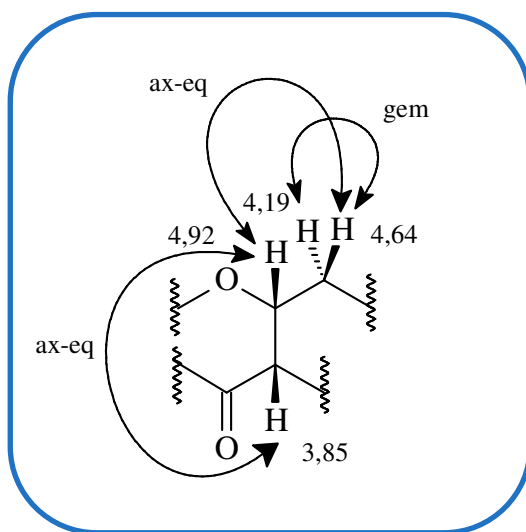


Figura 38 – Unidade estrutural de TTP-6

O espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Fig. 50, p. 71), mostrou correlações entre o sinal em δ 6,80 com os carbonos em δ 144,1 (^2J), 44,6, 147,7 e 149,8 (^3J); entre o sinal δ 6,47 com os carbonos em δ 147,7 e 149,8 (^2J), 105,0 e 144,1 (^3J). Mostrou ainda correlações entre os sinais em δ 3,78 e 3,81 e os carbonos em δ 144,1 e 149,8, respectivamente. Essas correlações sugerem a presença de um anel aromático 2,3,5,6-tetrassubstituído, como mostrado abaixo:

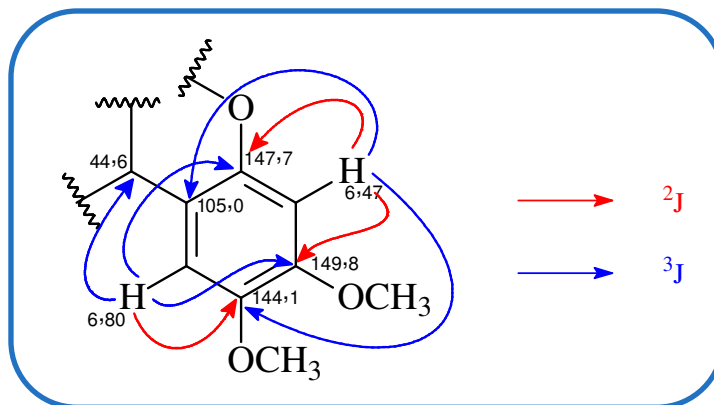


Figura 39 - Estrutura do anel aromático 2,3,5,6 - tetrassubstituído de TTP-6

Estes dados permitem propor tratar-se de um rotenoide, classe de flavonoide presente nas espécies do gênero *Tephrosia* (LIMA, 2005). Dois dupletos, em δ 6,47 e 7,75 (1H, $J = 9,2$ Hz), atribuídos aos hidrogênios H-10 e H-11 de um rotenoide, aliados às demais unidades estruturais propostas permitem identificar o composto como sendo a deguelina, flavonoide ainda não isolado de *T. toxicaria*. A comparação dos dados obtidos com os da literatura deu suporte à proposição estrutural (Tab. 07, p. 67).

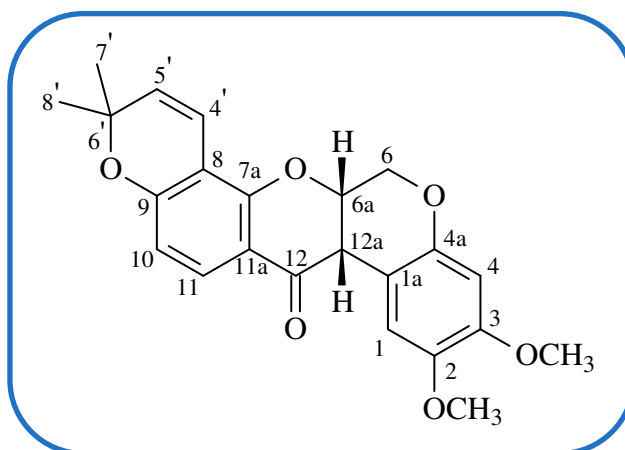
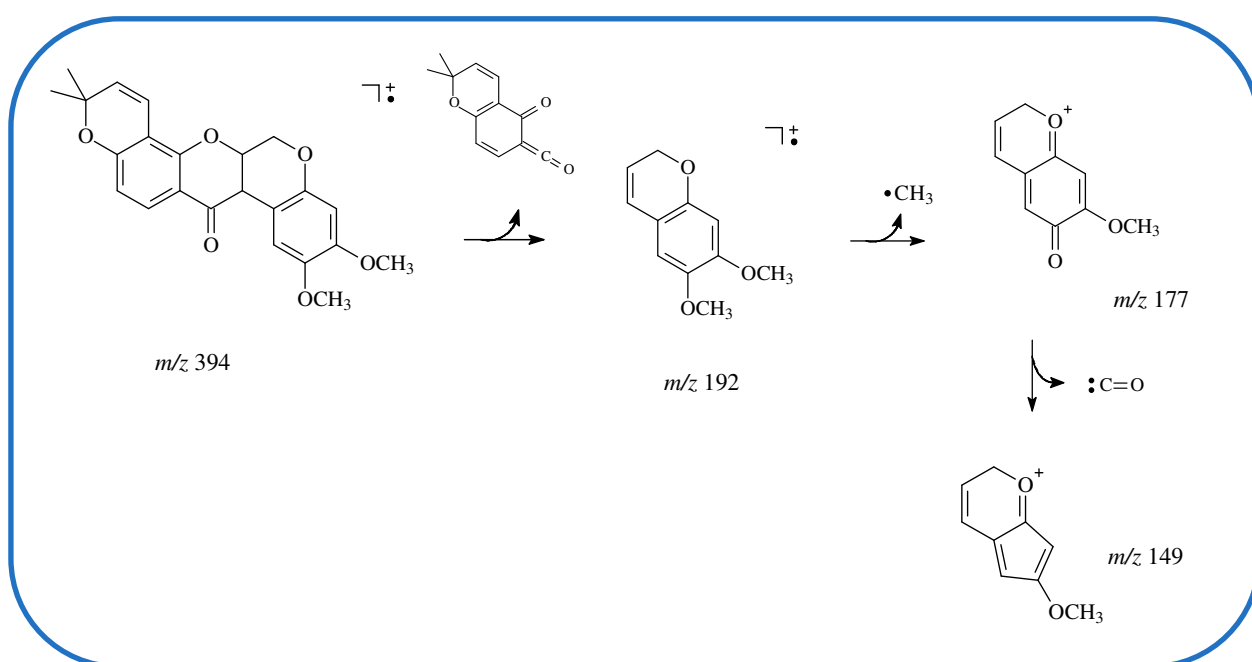


Figura 40 – Estrutura de TTP-6 (deguelina)

Tabela 07 - Dados espectroscópicos de TTP-6 comparados com a literatura (ANDREI *et al.*, 1997) / CDCl₃

C	TTP-6	$\delta^{13}\text{C}$	HMBC		LIT.	$\delta^{13}\text{C}$
	δH (mult., J / Hz)		$^2J_{\text{C-H}}$	$^3J_{\text{C-H}}$	δH	
1a	-	105,0			-	105,0
1	6,80 (s)	110,8	C-1a; C-2	C-12a; C-4a	6,72 (s)	110,7
2	-	144,1			-	144,1
3	-	149,8			-	149,8
4	6,47 (s)	101,2	C-4a; C-3	C-1a; C-2	6,38 (s)	101,2
4a	-	147,7			-	147,7
6	4,64 (dd, 3,1 e 12,0 H _{ax}) 4,19 (d, 12,0 H _{eq})	66,5	C-6a C-6a	C-12a; C-4a C-12a	4,56 (dd, 12,4 e 3,2 H _{ax}) 4,11 (d, 12,4 H _{eq})	66,5
6a	4,92 (t, 3,1)	72,8			4,84 (m)	72,7
7a	-	157,2			-	158,0
8	-	109,4			-	109,4
9	-	160,3			-	160,3
10	6,47 (d, 9,2)	111,7		C-8; C-11a	6,38 (d, 8,8)	111,7
11	7,75 (d, 9,2)	128,8		C-7a; C-12; C-9	7,67 (d, 8,8)	128,8
11a	-	113,0			-	113,0
12	-	189,5			-	189,4
12a	3,85 (d, 3,9)	44,6	C-1a; C-12		3,77 (d, 4,0)	44,6
4'	6,65 (d, 10,0)	116,0	C-8	C-7a, C-9; C-6'	6,57 (d, 10,0)	116,0
5'	5,56 (d, 10,0)	128,9	C-6'		5,48 (d, 10,0)	128,9
6'	-	77,9			-	77,9
7'	1,39 (s)	28,4	C-6'	C-5'	1,32 (s)	-
8'	1,46 (s)	28,5	C-6'	C-5'	1,38 (s)	-
OCH₃ (2)	3,78 (s)	56,6		C-2	3,70 (s)	-
OCH₃ (3)	3,81 (s)	56,1		C-3	3,73 (s)	-

**Figura 41** – Proposta de fragmentações de massa de TTP-6

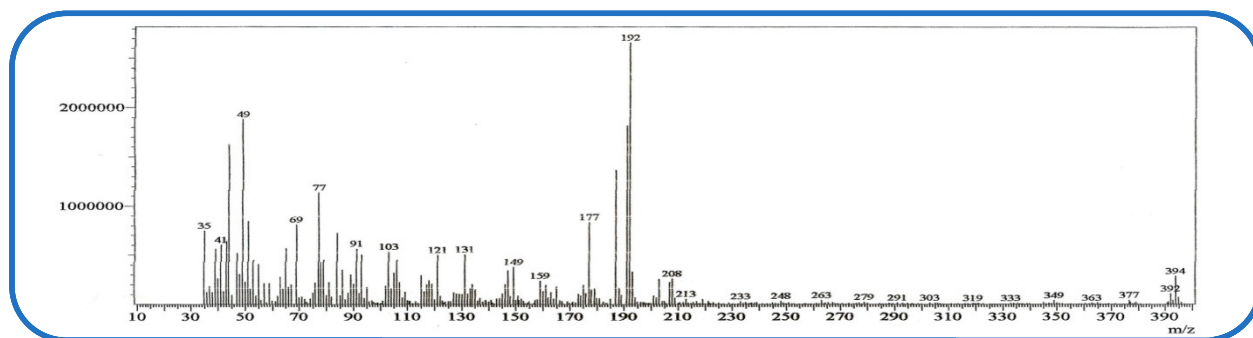
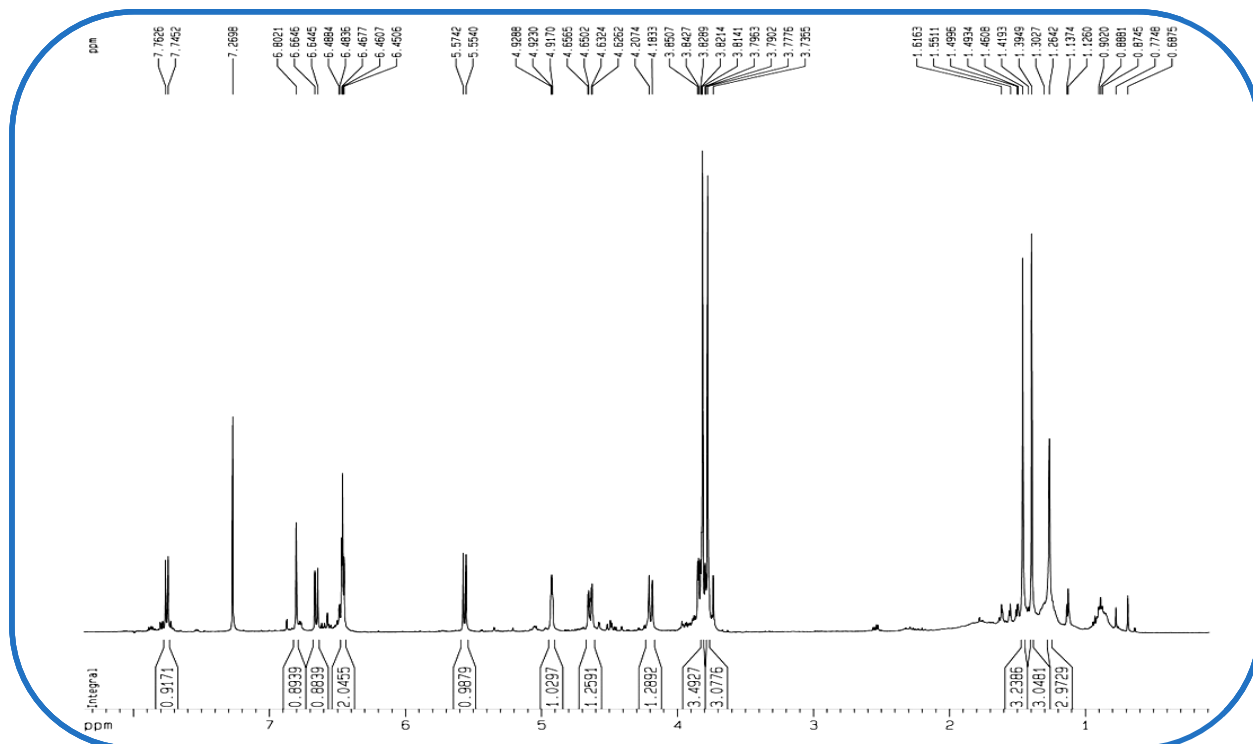
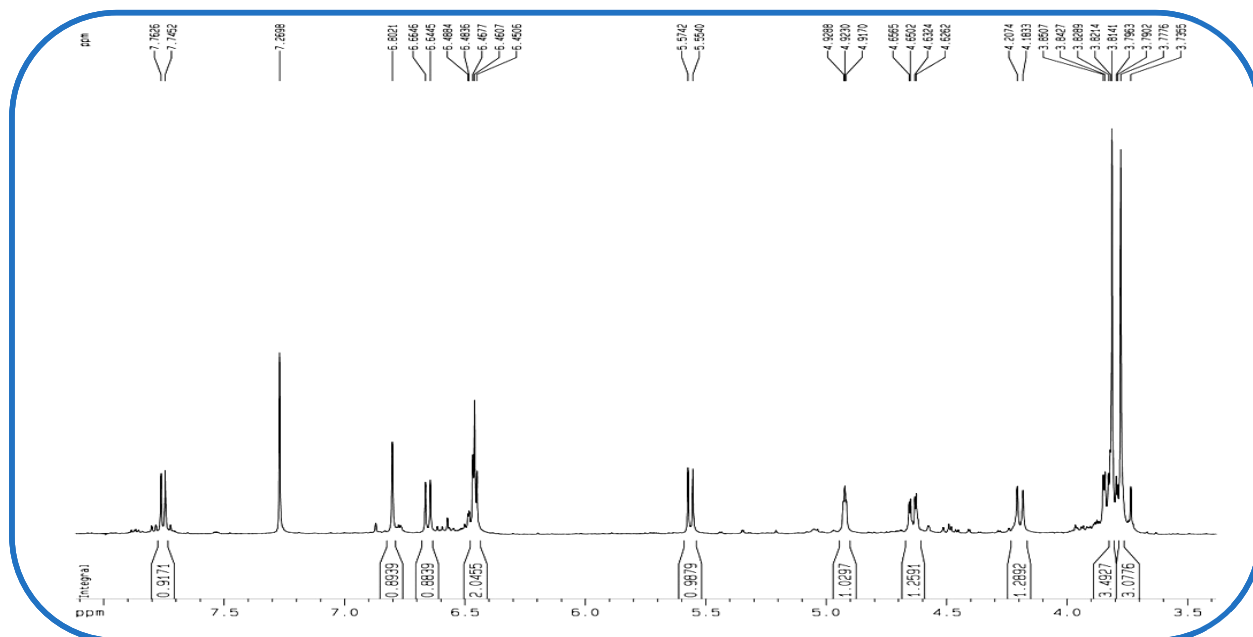


Figura 42 - Espectro de massa de TTP-6

Figura 43 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-6Figura 44 - Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-6

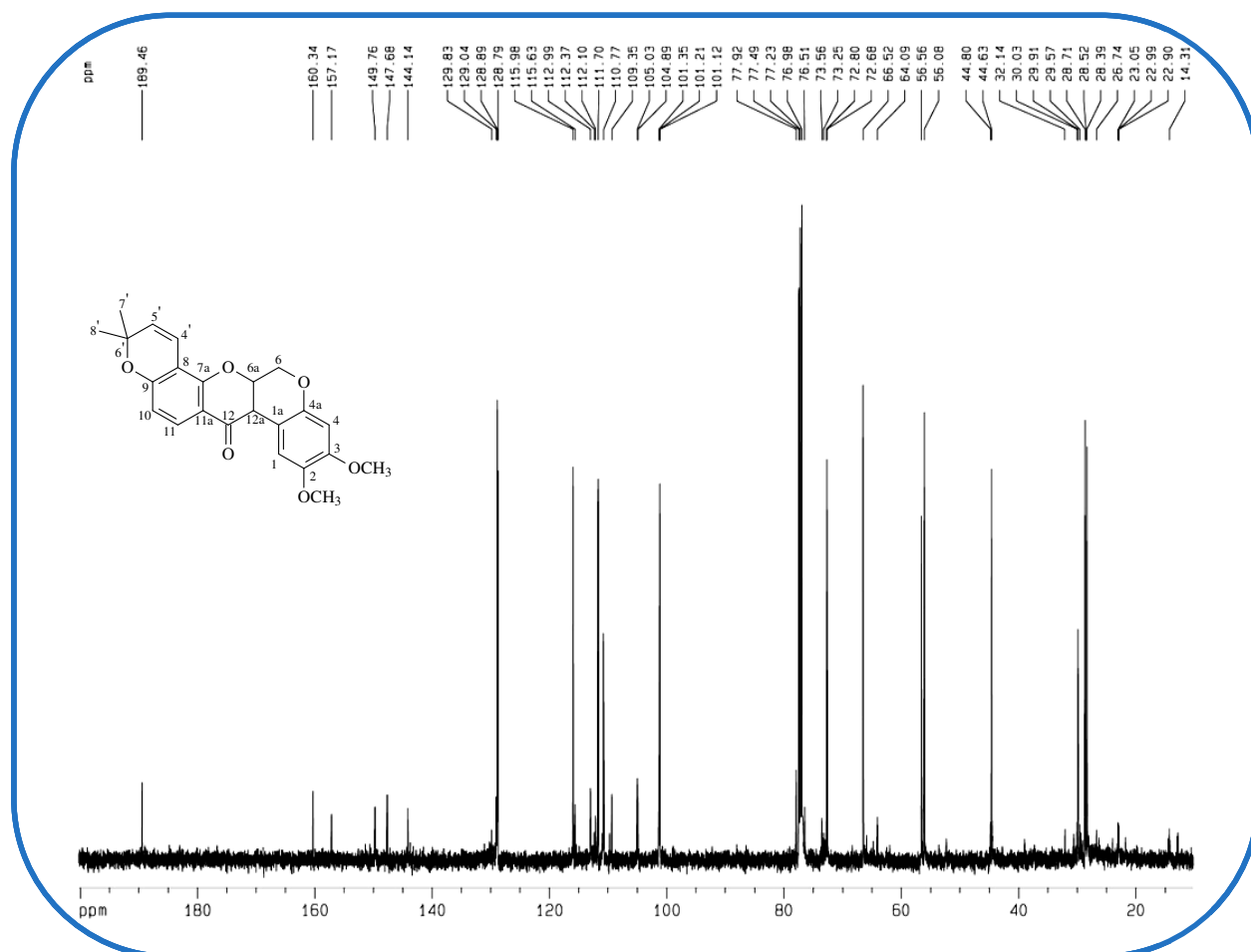


Figura 45 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-6

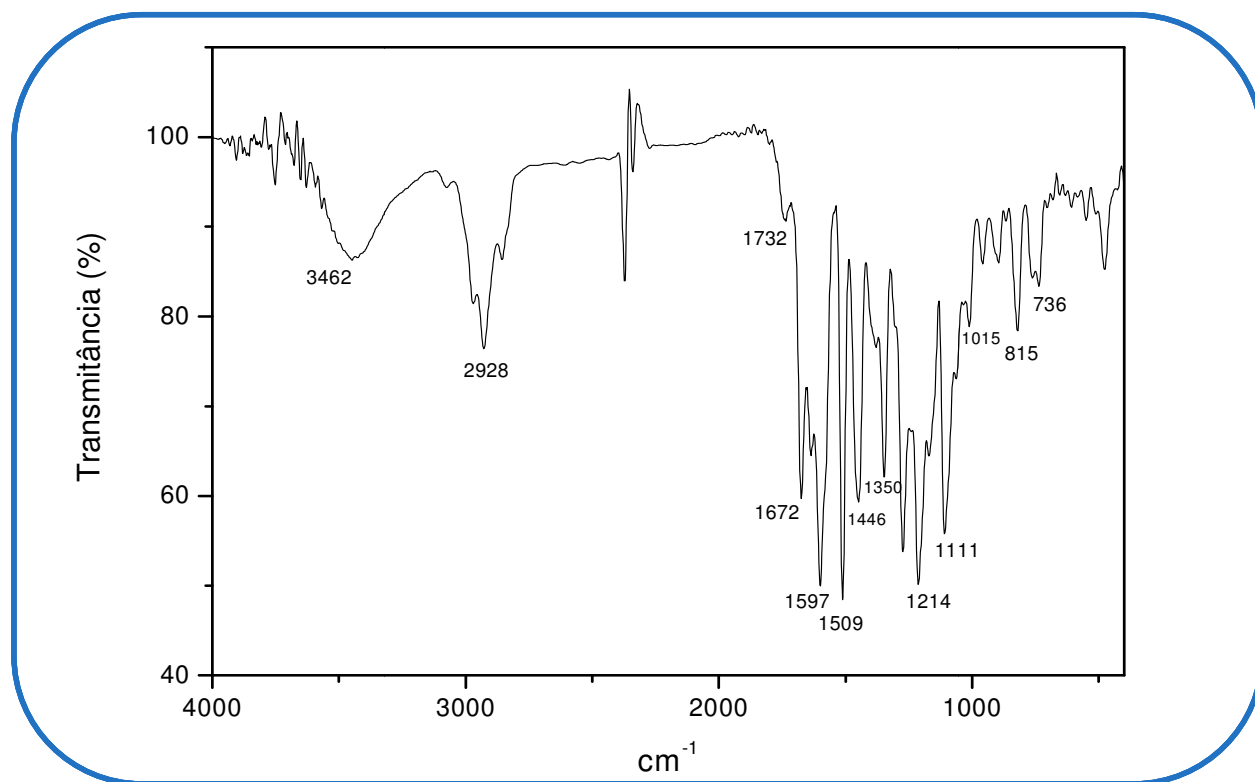


Figura 46 - Espectro no infravermelho de TTP-6

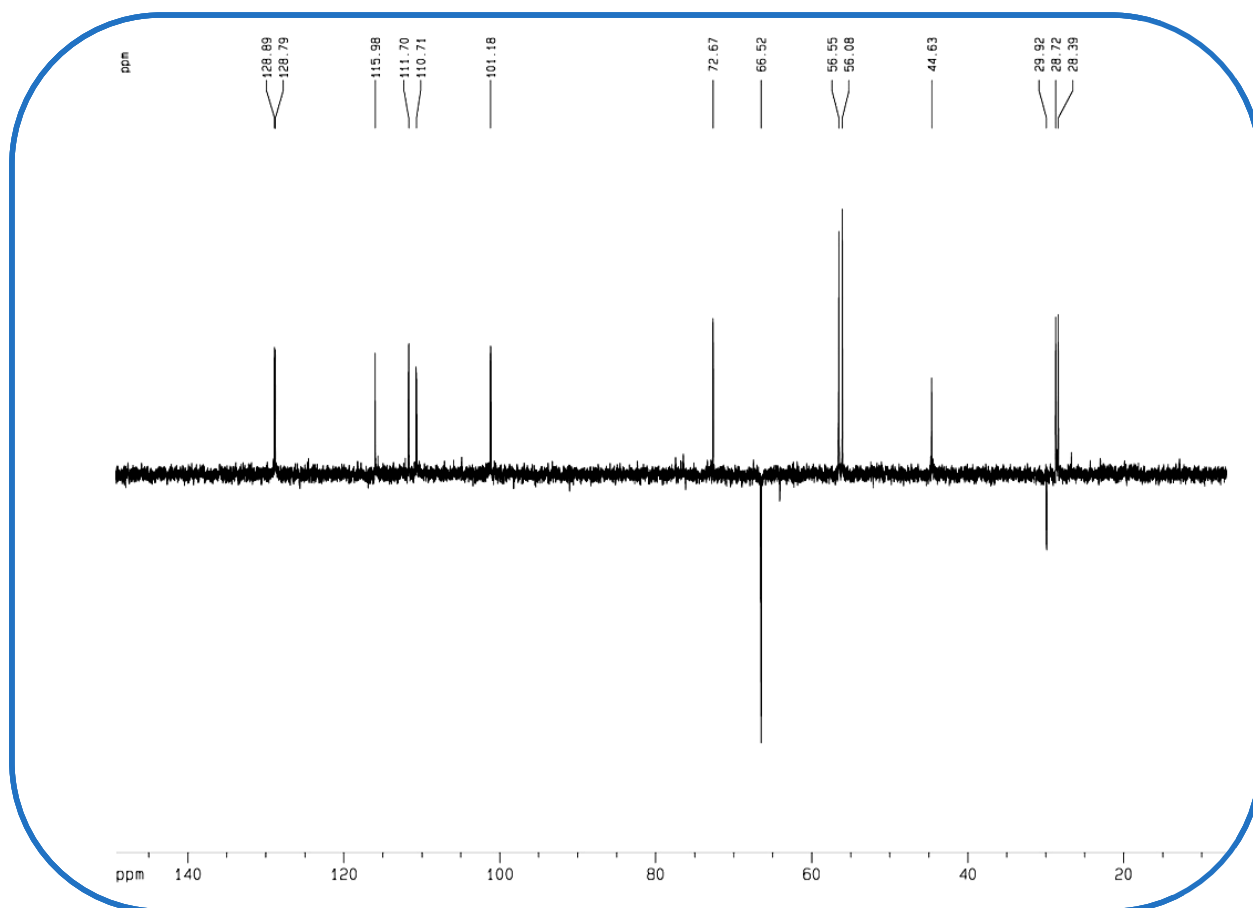


Figura 47 - Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-6

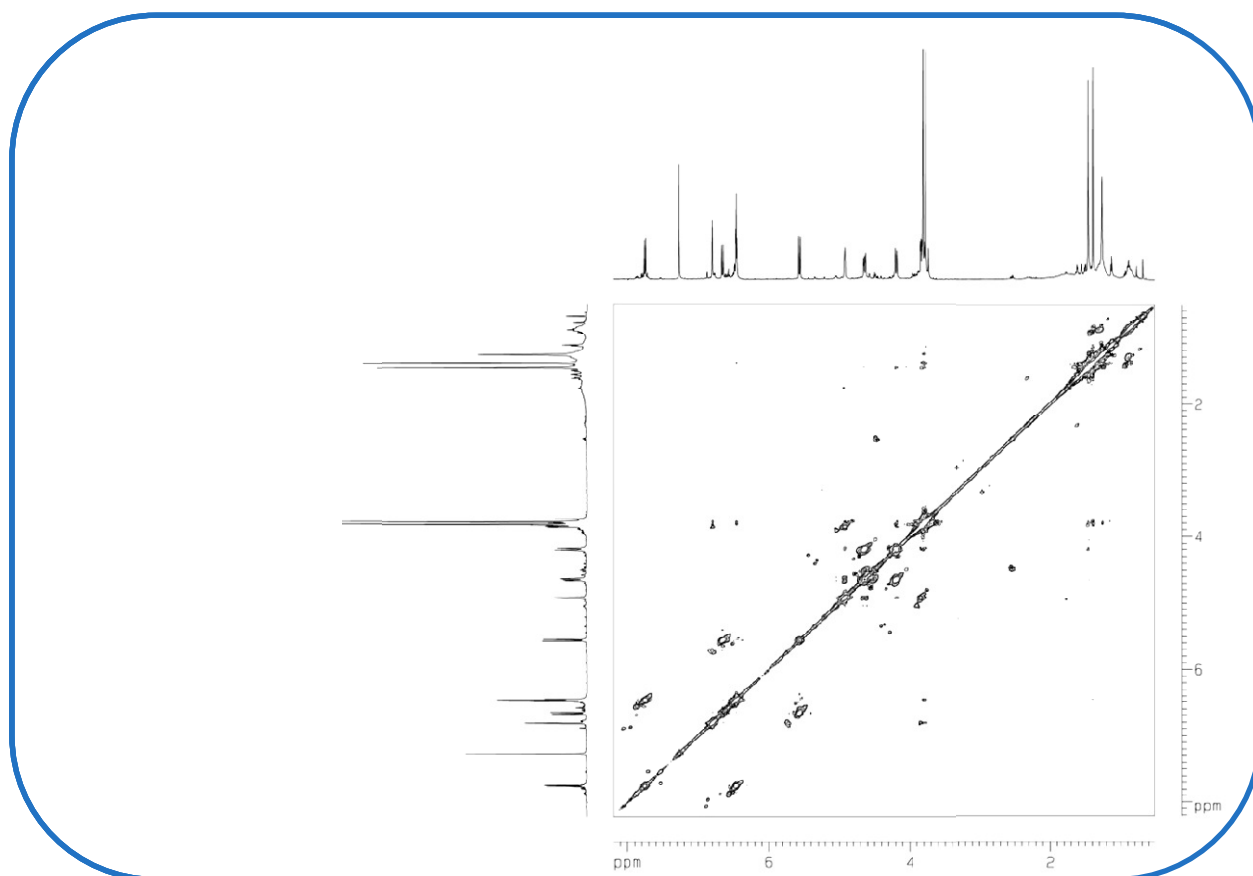


Figura 48 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de TTP-6

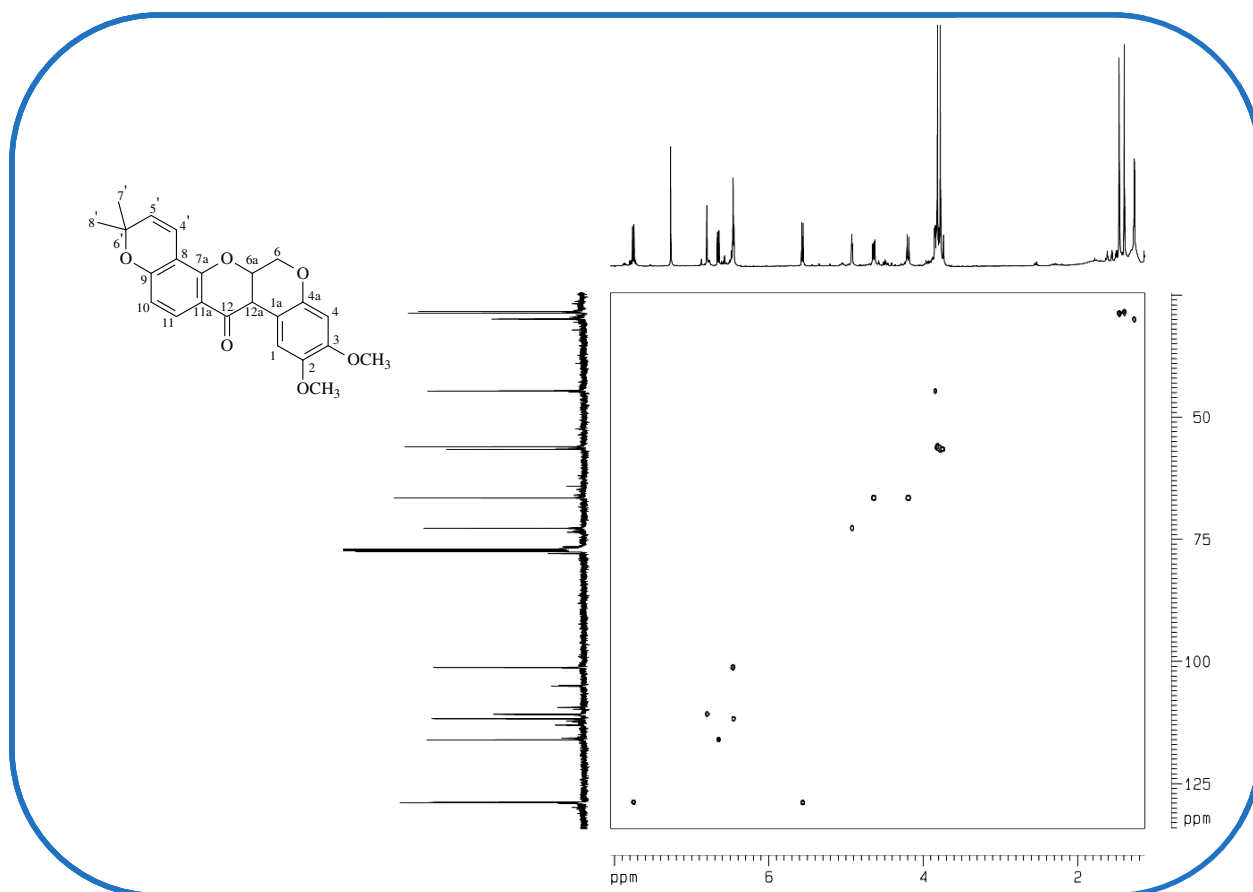


Figura 49 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-6

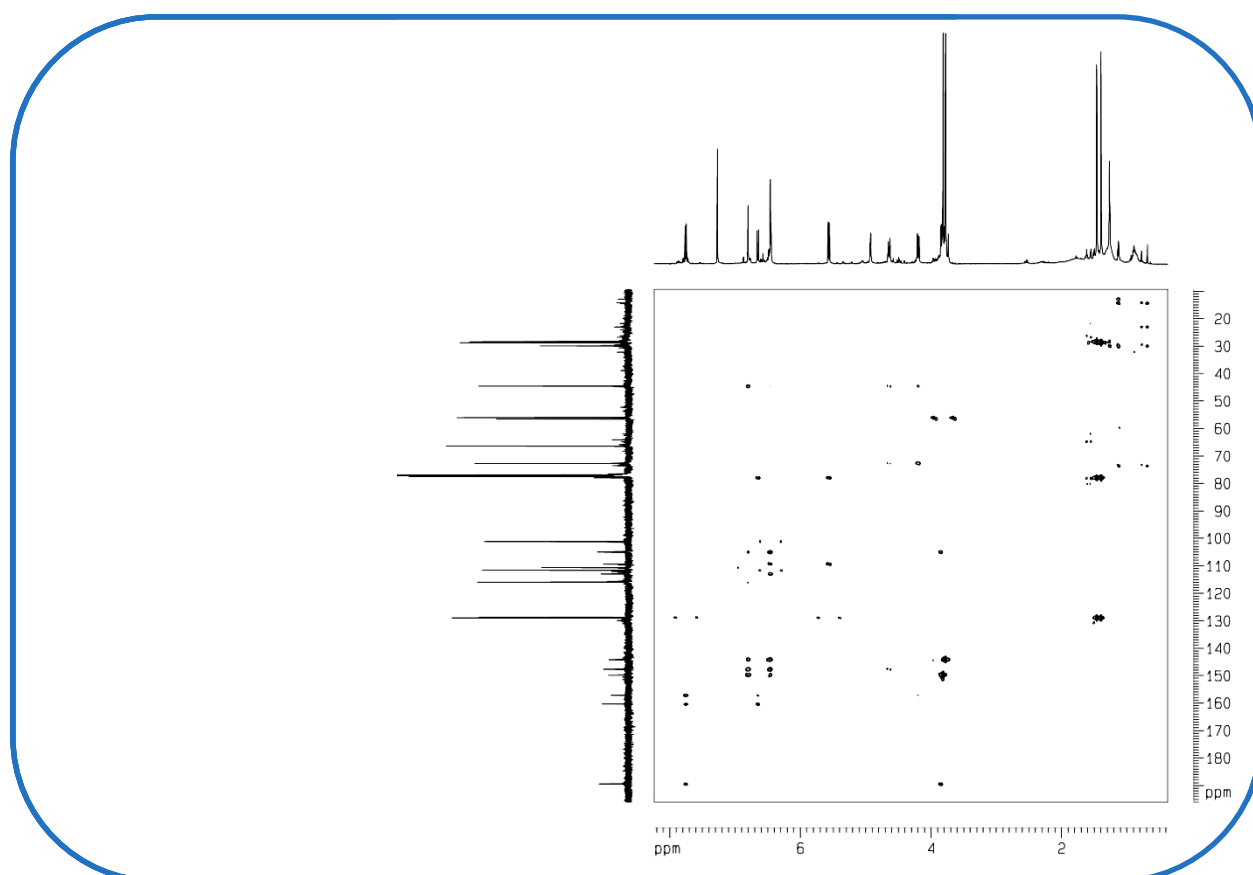


Figura 50 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-6

4.5. Determinação estrutural de TTP-4

A substância TTP-4, precipitado amarelo de aspecto cristalino, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 192,6 - 194,8 °C foi obtida através do tratamento cromatográfico em gel de sílica de TTRASA (item 5.5.5.1. p. 137) e da coleta do pico 4 da separação por CLAE (item 5.5.5.10., p. 145). O seu espectro de massa (Fig. 54, p. 75) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 410 Da.

Seu espectro de infravermelho IV (Fig. 59, p. 78) apresentou bandas em 2963 e 2927 cm^{-1} relacionadas à presença de carbonos saturados sp^3 ($\nu_{\text{C-H}}$); uma banda de absorção forte em 1642 cm^{-1} , associada a deformação axial da ligação C=O, sugerindo a presença de carbonila α,β -insaturada ($\nu_{\text{C=O}}$); a presença de hidroxila pôde ser também sugerida através da absorção em 3420 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$); apresentou ainda bandas entre 1588, 1512 e 1450 cm^{-1} referentes a deformação axial de ligação C=C de anel aromático ($\nu_{\text{C=C}}$); bandas entre 1161 e 1071 cm^{-1} características de deformação axial de ligação C-O ($\nu_{\text{C-O}}$) e bandas compreendidas entre 908 e 778 cm^{-1} associadas a deformação angular fora do plano de ligação $\text{C}_{\text{arom}}\text{-H}$.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 55, p. 76) apresentou um sinal em δ 12,19 (1H, s) característico de sinal de hidroxila quelatogênica; observou-se ainda, três sinais em δ 5,96 (1H, s), δ 6,47 (1H, s) e δ 6,88 (1H, s) atribuídos a hidrogênios de sistemas aromáticos. Dupletos em δ 5,47 e 6,56 (1H, $J = 10,0$ Hz) característicos de hidrogênios olefínicos *cis* posicionados, semelhante ao observado nos dados de TTP-5 (obovatina), evidenciaram a presença do anel 6',6'- dimetilcromeno em TTP-4.

Seu espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$, obtido em CDCl_3 (Fig. 57, p. 77), mostrou 23 sinais espectrais. A comparação dos dados desse, com os obtidos no espectro de RMN $^{13}\text{C} - \text{DEPT } 135^\circ$ (Fig. 58 p. 77), permitiu verificar o padrão de hidrogenação dos átomos de carbono presentes na estrutura de TTP-4, mostrando a existência de quatro carbonos metílicos (CH_3), um metilênico (CH_2), sete metínicos (CH) e onze de carbonos não hidrogenados (C). Os sinais em δ 98,0, 101,3, 110,6, 115,7 e 126,6 foram relacionados a carbonos metínicos insaturados; o sinal em δ 72,2 a carbono sp^3 oxigenado e hidrogenado; o sinal em δ 66,2 a um carbono metilênico; e os sinais em δ 101,4, 102,0 e 104,7, atribuídos a carbonos insaturados não hidrogenados. Os seis

sinais de δ 144,3 a 164,8 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados; e o sinal em δ 78,6, um carbono sp^3 oxigenado não hidrogenado.

Em δ 194,4 observou-se um sinal característico de carbonila, confirmando a sugestão da mesma pelo espectro no IV. Os sinais em δ 56,1 e 56,6, com deslocamentos químicos característicos de metoxilas, correlacionaram, no espectro correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC (Fig. 61, p. 79), com os sinais em δ 3,80 e 3,82 (3H, s).

O espectro HSQC mostrou ainda correlações entre os sinais em δ 28,6 e 28,8 com os sinais em δ 1,38 e 1,44 (3H, s), respectivamente, que foram atribuídos aos sinais das duas metilas do anel dimetilcromeno. Mostrou também acoplamentos do carbono oximetilênico em δ 66,2 com os sinais em δ 4,18 (1H, d, $J = 12,1$ Hz) e δ 4,62 (1H, dd, $J = 3,2$ e $12,1$ Hz).

O espectro de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY (Fig. 60, p. 78) mostrou correlação entre o sinal de hidrogênio em δ 4,18 (1H, d, $J = 12,1$ Hz) e o sinal em δ 4,62 (1H, dd, $J = 3,2$ e $12,1$ Hz). Mostrou ainda correlações entre o sinal em δ 4,87 (1H, tl, $J = 3,2$ Hz), e os sinais em δ 4,62 (dd, $3,2$ e $J = 12,1$ Hz) e δ 3,85 (d, $J = 4,1$ Hz), sugerindo acoplamentos tipo pseudo-axial-equatorial entre eles. Estes sinais sugerem uma unidade estrutural semelhante à de TTP-6.

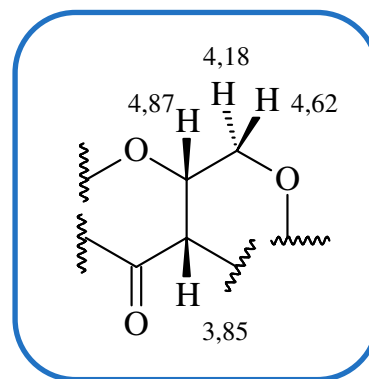


Figura 51 – Unidade estrutural de TTP-4

A comparação dos dados espectroscópicos de TTP-4, com os de TTP-6 mostrou o desaparecimento dos dois dupletos atribuídos aos hidrogênios H-10 e H-11 e o surgimento de dois sinais em δ 5,96 (1H, s) e δ 12,19 (1H, s). A semelhança entre os dados permitiu propor que se tratava do rotenoide α -toxicarol (Fig. 52), já isolado de *T. toxicaria*. Dados de RMN ^{13}C da literatura dão suporte à proposição estrutural (ANDREI *et al.*, 1997). Correlações vistas no espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Fig. 62, p. 79), onde verificou-se correlações a duas (^2J) e três ligações (^3J) reforçaram a proposta estrutural (Tab. 08, p. 74).

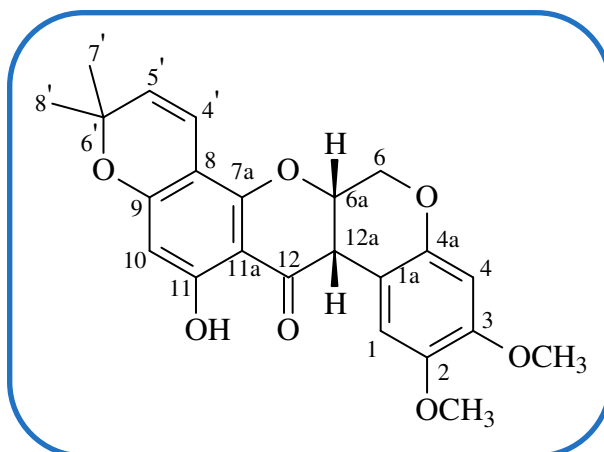


Figura 52 – Estrutura de TTP-4 (α -toxicarol)

Tabela 08 - Dados espectroscópicos de TTP-4 comparados com a literatura (ANDREI *et al.*, 1997) / CDCl₃

	TTP-4	HMBC			LIT.	
C	δ H (mult., J / Hz)	δ ¹³ C	² J _{C-H}	³ J _{C-H}	δ H	δ ¹³ C
1a	-	104,7			-	104,4
1	6,88 (s)	110,6	C-1a; C-2	C-12a; C-4a; C-3	6,86 (s)	110,3
2	-	144,3			-	143,9
3	-	150,0			-	149,6
4	6,47 (s)	101,3	C-4a; C-3	C-1a; C-2	6,46 (s)	101,0
4a	-	147,6			-	147,3
6	4,62 (dd, 3,2 e 12,1 H _{ax}) 4,18 (d, 12,1 H _{eq})	66,2	C-6a C-6a	C-12a; C-4a C-12a	4,60 (dd, 12,03 e 3,2 H _{ax}) 4,16 (d, 12,0 H _{eq})	66,0
6a	4,87 (t, 3,2)	72,2		C-1a	4,87 (t, 3,2)	71,9
7a	-	156,2			-	155,9
8	-	102,0			-	101,8
9	-	163,1			-	162,8
10	5,96 (s)	98,0	C-9; C-11	C-11a; C-8	5,95 (s)	97,8
11	-	164,8			-	164,5
11a	-	101,4			-	101,2
12	-	194,5			-	194,3
12a	3,85 (d, 4,1)	43,8	C-1a; C-12	C-11a; C-1; C-4a	3,84 (d, 4,0)	43,51
4'	6,56 (d, 10,0)	115,7	C-8	C-6'; C-7a; C-9	6,55 (d, 10,0)	115,4
5'	5,47 (d, 10,0)	126,6	C-6'	C-7'; C-8'; C-8	5,47 (d, 10,0)	126,4
6'	-	78,6			-	78,3
7'	1,38 (s)	28,6	C-6'	C-5'	1,37 (s)	-
8'	1,44 (s)	28,8	C-6'	C-5'	1,43 (s)	-
OCH ₃ (2)	3,80 (s)	56,6			3,79 (s)	-
OCH ₃ (3)	3,82 (s)	56,1			3,81 (s)	-
OH	12,19 (s)	-			12,19 (s)	-

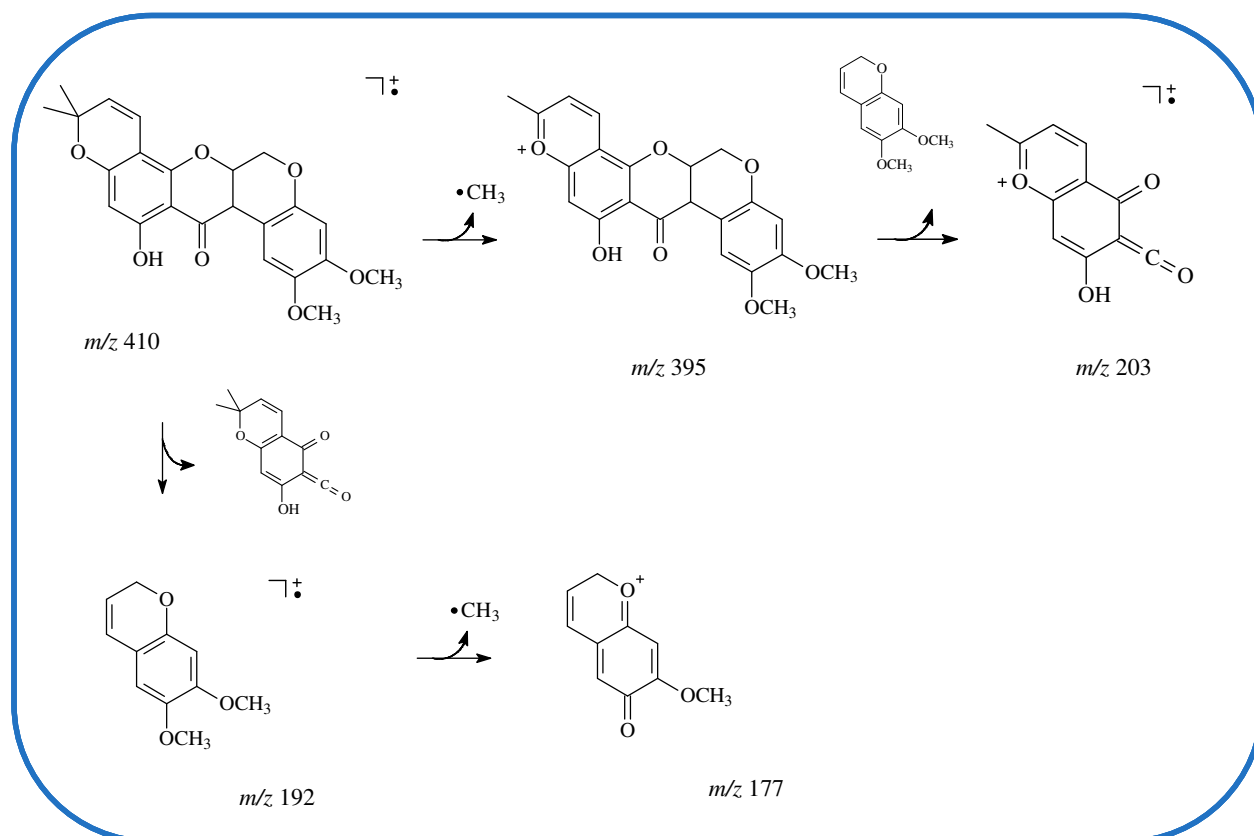


Figura 53 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-4

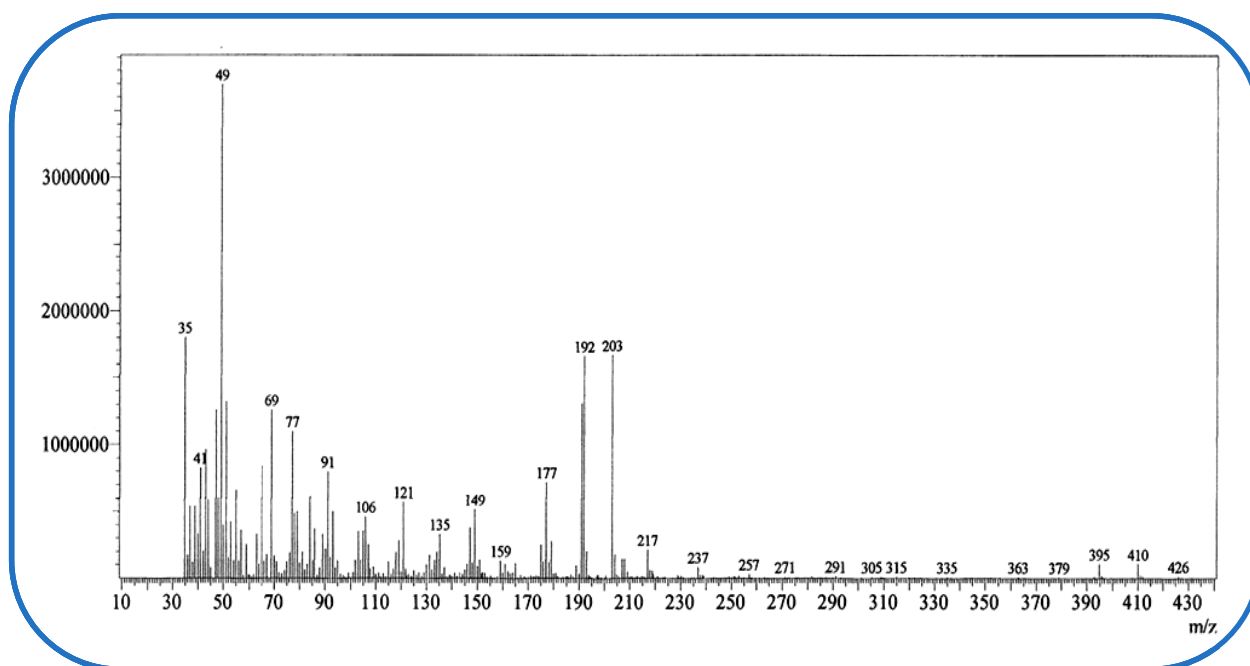


Figura 54 - Espectro de massa de TTP-4

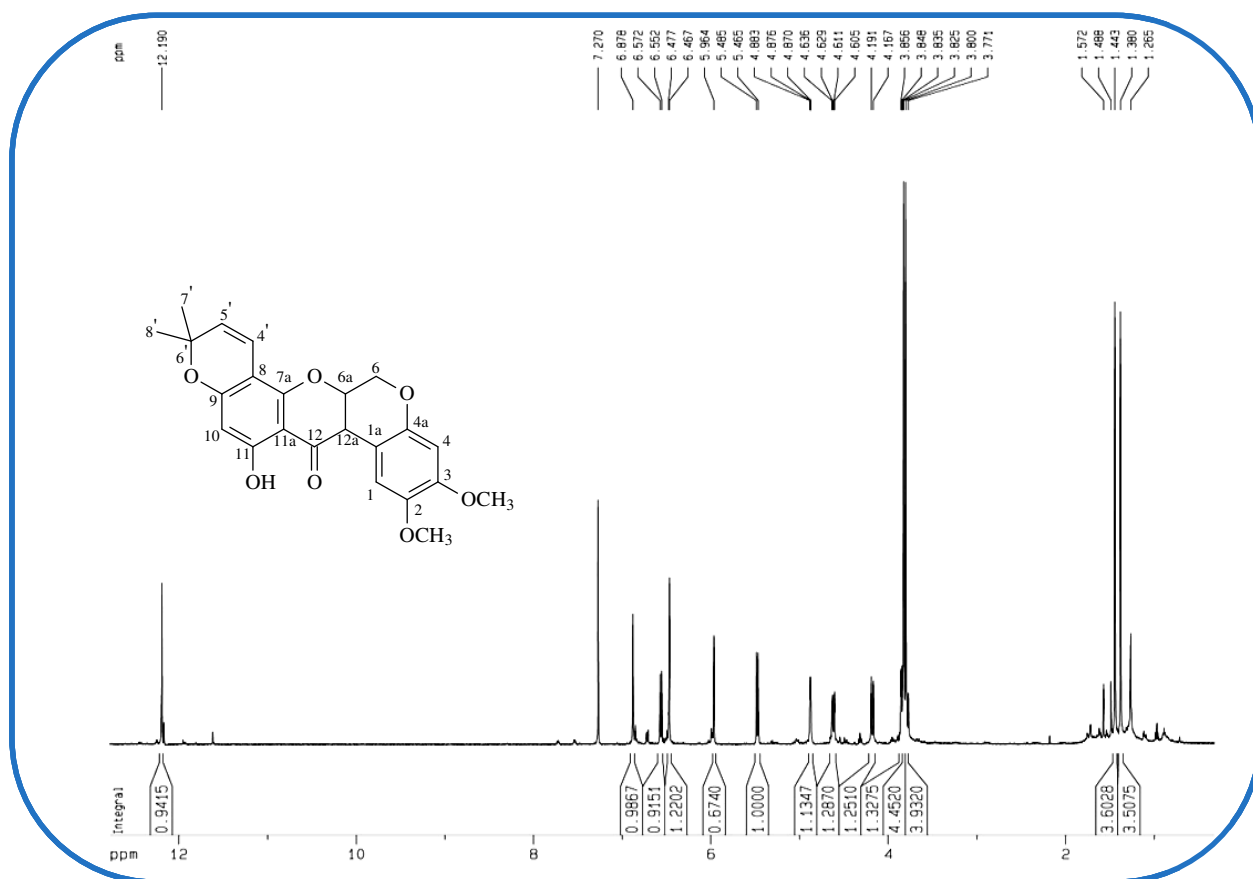


Figura 55 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-4

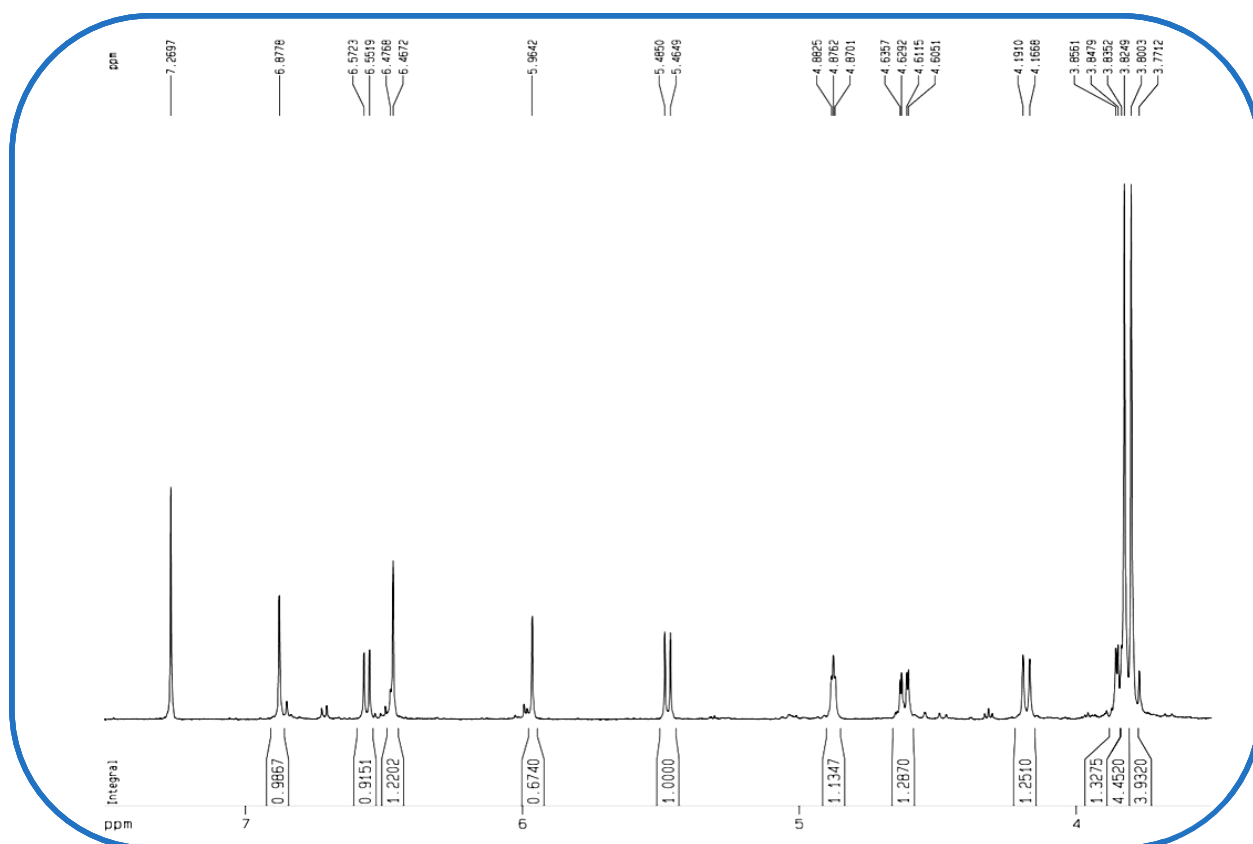
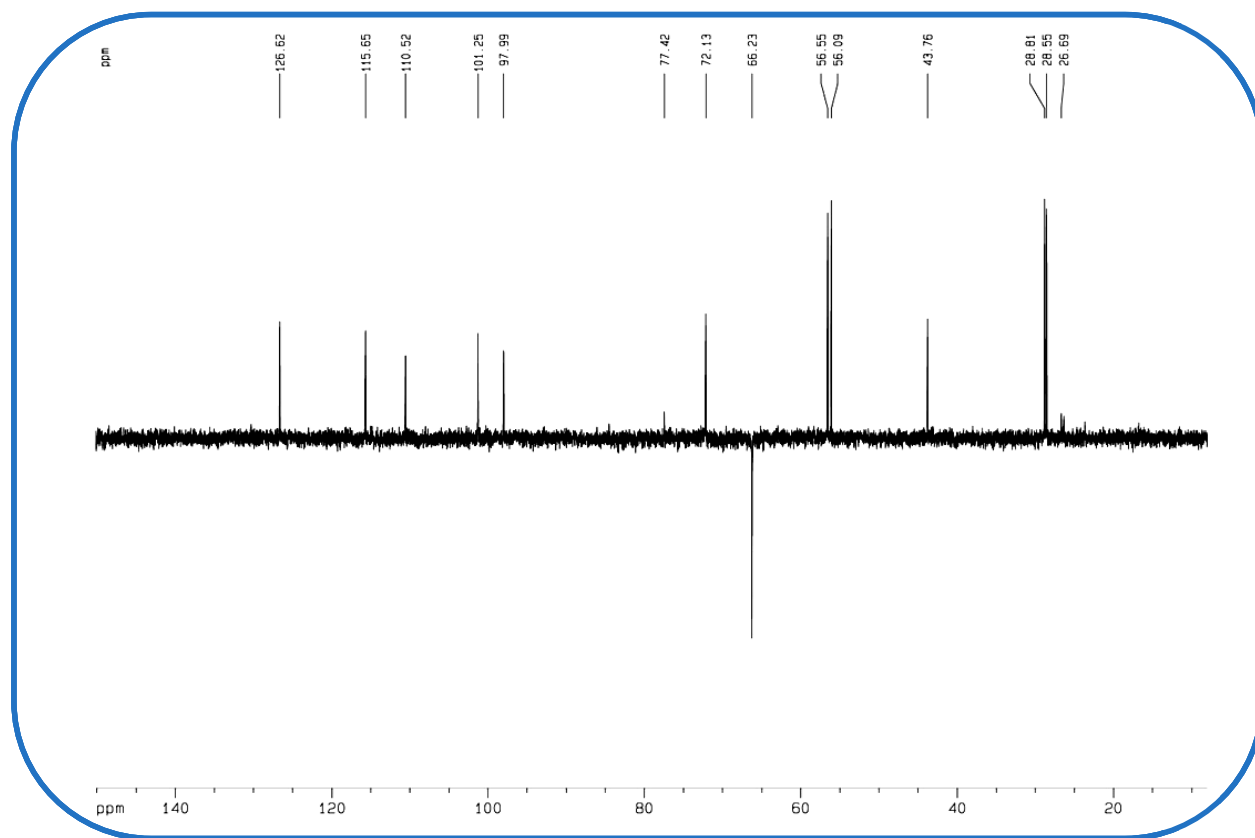
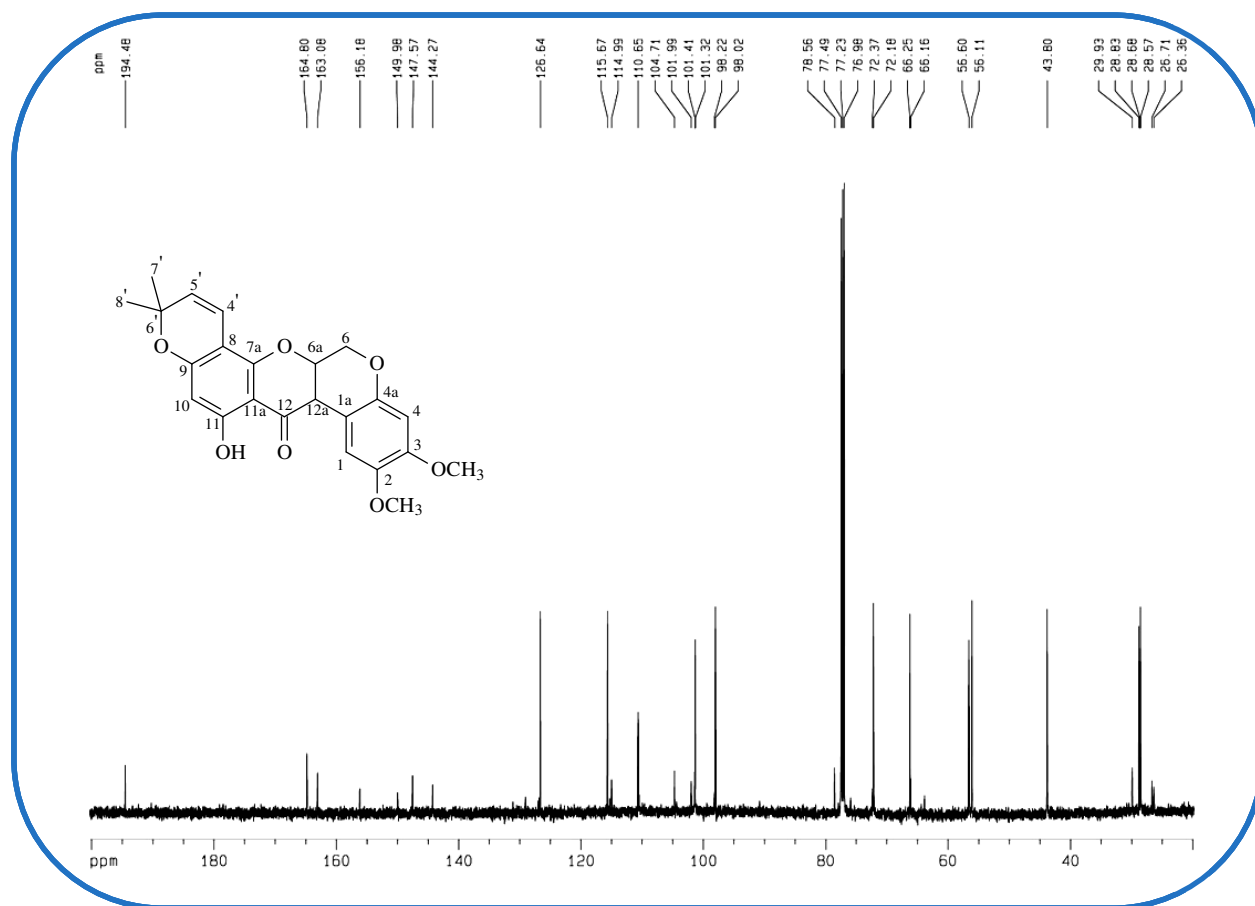
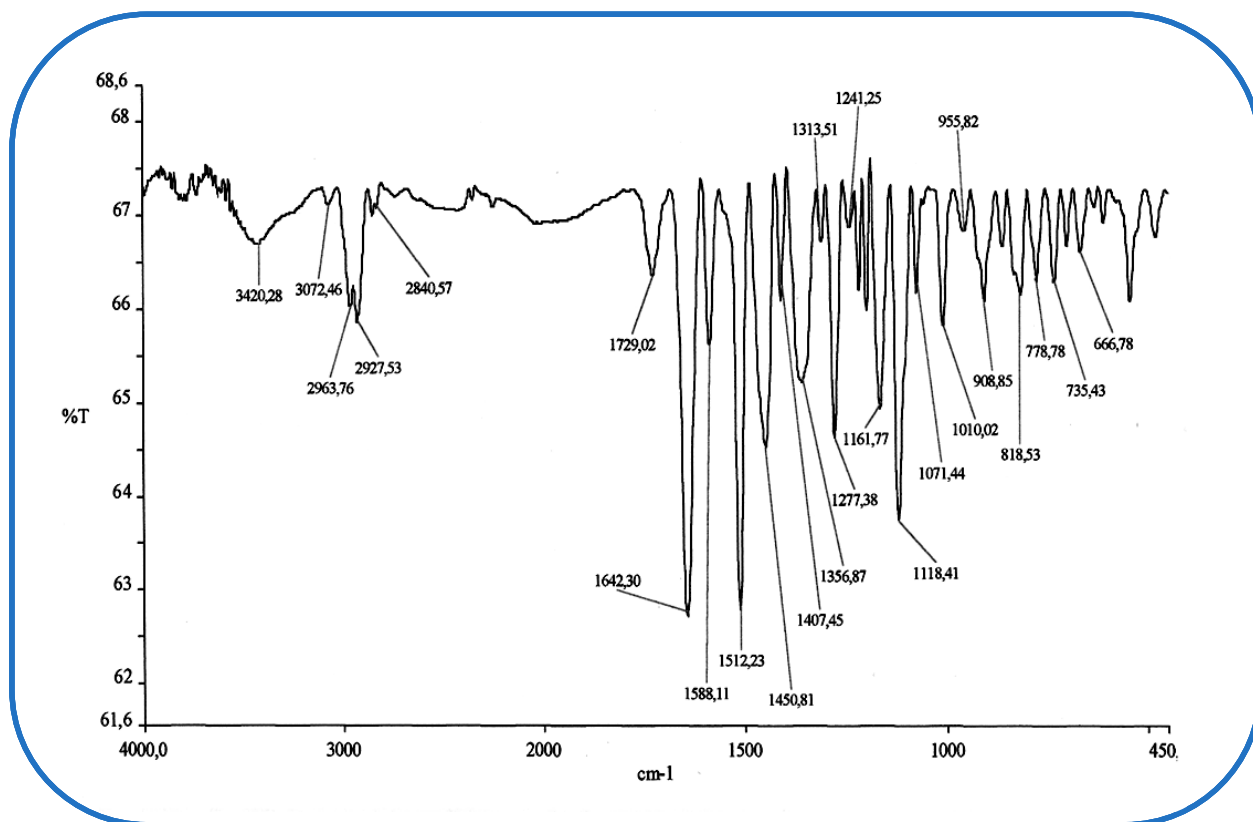
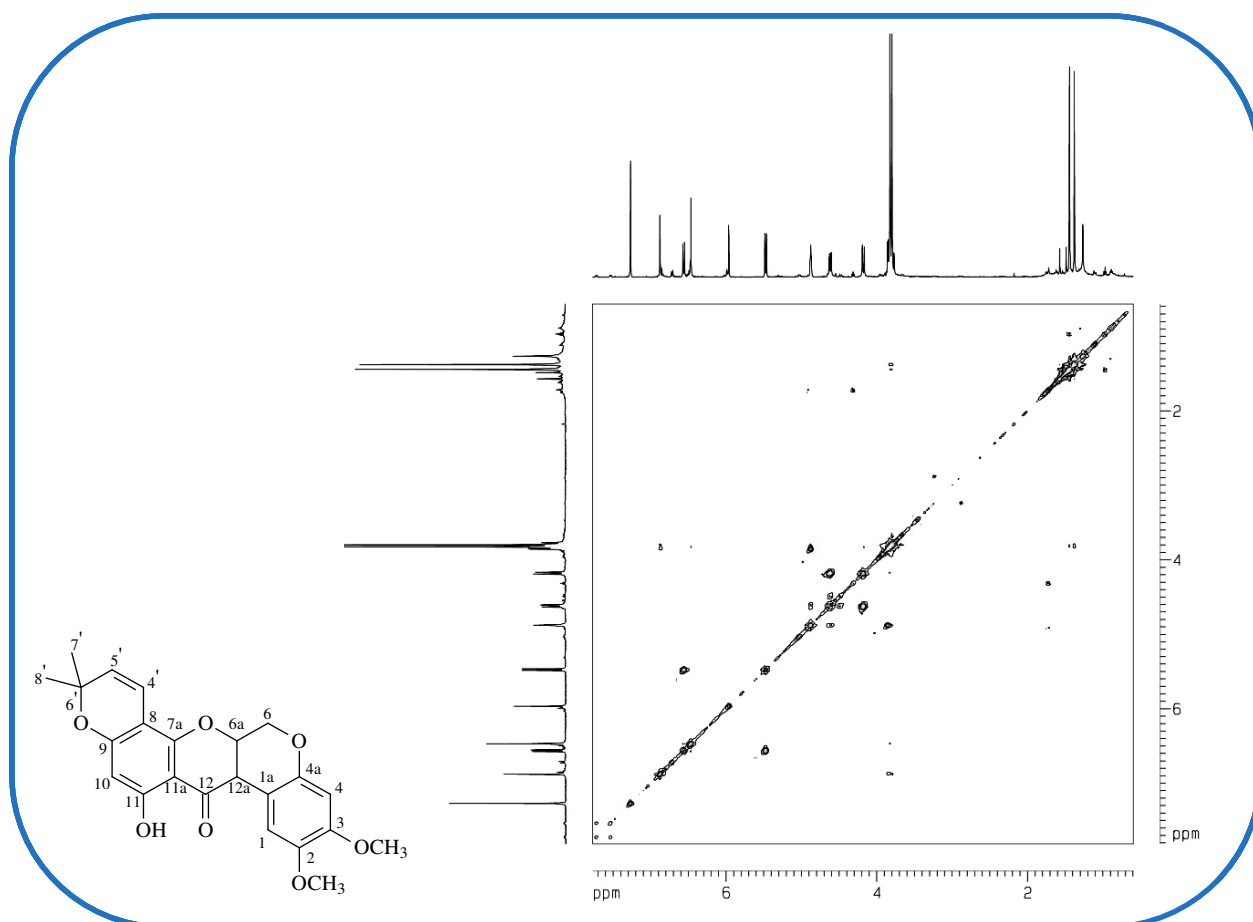


Figura 56 - Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-4



**Figura 59** - Espectro no infravermelho de TTP-4**Figura 60** - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-4

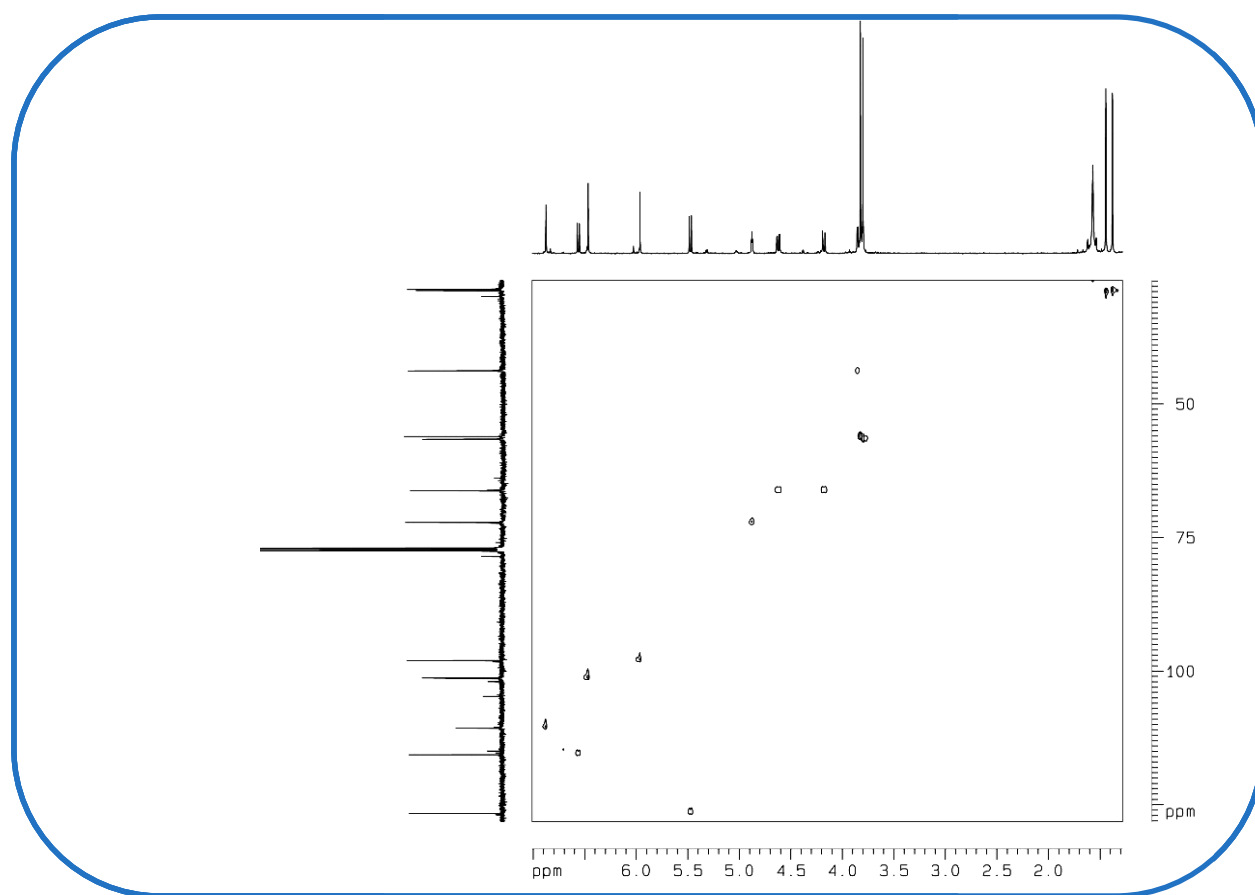


Figura 61 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-4

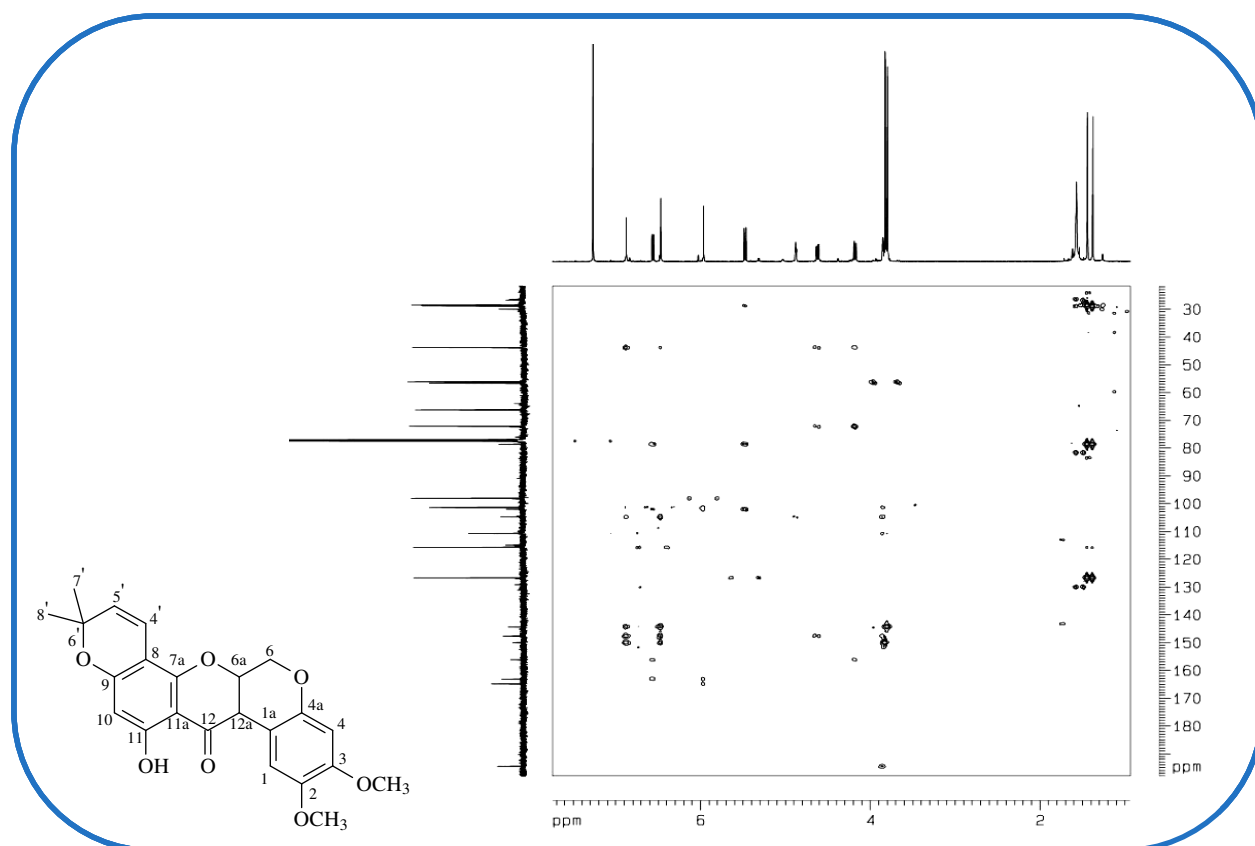


Figura 62 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-4

4.6. Determinação estrutural de TTP-12

Fracionamentos cromatográficos seguidos de tratamento por CLAE do extrato TTRASEC (Fluxograma 06, p. 149) originou um material amarelo com aspecto de resina, solúvel em clorofórmio, denominado TTP-12. Seu espectro de massa (Fig. 66, p. 83) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 410 Da.

Seu espectro de RMN ^{13}C – $\{^1\text{H}\}$, obtido em CDCl_3 (Fig. 68, p. 84), apresentou 23 sinais espectrais. Uma análise comparativa desses dados com os obtidos no espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (Fig. 69, p. 85), possibilitou a verificação do padrão de hidrogenação dos átomos de carbono de TTP-12. Foram observados quatro carbonos metílicos (CH_3), um metilênico (CH_2), sete metínicos (CH) e onze de carbonos não hidrogenados (C). Os sinais em δ 101,3, 109,8, 112,0, 115,5, 128,7 e 128,9 foram relacionados a carbonos metínicos insaturados; o sinal em δ 76,5 a um carbono sp^3 oxigenado e hidrogenado; o sinal em δ 64,0 a um carbono metilênico também oxigenado e os sinais em δ 111,3, 109,3 e 108,8, atribuídos a carbonos insaturados não hidrogenados e não oxigenados. Os cinco sinais – e não seis como no α -toxicarol (TTP-4) – de δ 144,1 a 160,9 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados; e o sinal em δ 78,1, indicou a presença de um carbono sp^3 oxigenado não hidrogenado. A semelhança desses dados com os dos dois compostos anteriormente descritos, permitiu propor que se tratava de um outro rotenoide.

Verificou-se a presença do sistema 6',6'- dimetilcromeno (Fig. 26, p. 57) devido aos sinais, no espectro de RMN ^1H (Fig. 67, p. 84), em δ 5,55 e δ 6,60 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) característicos do referido anel. Sinais, no espectro de RMN ^{13}C , em δ 28,4, δ 28,7, δ 78,1, δ 115,5 e δ 128,9 evidenciaram a proposição. Observou-se ainda, dois singletos em δ 6,57 (1H) e δ 6,48 (1H) que foram atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-4, do esqueleto de um rotenoide, respectivamente. Dois dupletos em δ 6,47 e δ 7,73 (1H, $J = 9,0$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-10 e H-11 do referido flavonoide, semelhante ao observado em TTP-6 (deguelina).

O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ mostrou um sinal em δ 191,5, característico de carbonila. A presença de duas metoxilas foi observada devido aos sinais em δ 56,0 e 56,5, que mostraram correlações – no espectro HSQC (Fig. 71, p. 86) – com os sinais em δ 3,81 e 3,73 (3H, s). Este espectro mostrou também correlações entre os sinais em δ 28,4 e δ 28,7 com os sinais em δ 1,45 e 1,39 (3H, s), respectivamente, que foram atribuídos às metilas do anel dimetilcromeno. Mostrou também acoplamentos do carbono oximetilênico em δ 64,0 com os sinais em δ 4,50 (1H, dd, $J = 12,0$ e $1,0$ Hz) e 4,63 (1H, dd, $J = 2,5$ e $12,0$ Hz).

O espectro COSY (Fig. 70, p. 85) mostrou acoplamento do tipo geminal entre os hidrogênios em δ 4,50 (1H, d, $J = 1,0$ e $12,0$ Hz) e δ 4,63 (1H, dd, $J = 2,5$ e $12,0$ Hz), ambos com valores das constantes de acoplamento (J) característicos do referido tipo de acoplamento. Os valores de J observados para o sinal em δ 4,57 (1H, dd, $J = 1,0$ e $2,5$ Hz) sugerem acoplamentos entre este e os dois sinais anteriormente citados. Um sinal centrado em δ 4,44 (1H, s), sinal que não mostrou correlação no espectro HSQC e que foi atribuído a um sinal de hidrogênio de hidroxila, complementa e possibilita a determinação da unidade estrutural abaixo:

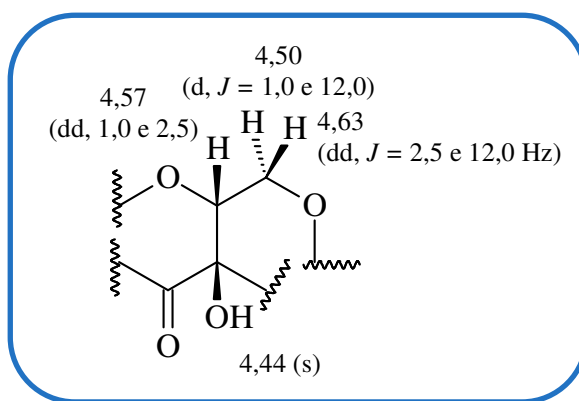


Figura 63 – Unidade estrutural de TTP-12

A análise dos dados espectroscópicos de TTP-12 e a comparação destes com os de TTP-6 (deguelina) mostrou uma pequena diferença entre as duas estruturas. O surgimento de um sinal em δ 4,44, referente a uma hidroxila, e o desaparecimento do duplete em δ 3,85, da deguelina, permitiu propor que se tratava do rotenoide tephrosina (Fig. 64), já isolado de *T. candida* (AHMAD *et al.*, 1999; ANDREI *et al.*, 1997), *T. vogelii* (MARSTON; MSONTHI; HOSTETTMAN, 1984) e *T. purpurea* (KHATRI; GARG; AGRAWAL, 2009) e ainda não isolado de *T. toxicaria*. Dados de RMN ^{13}C da literatura deram suporte à proposição estrutural (AHMAD *et al.*, 1999). Correlações

observadas a duas (^2J) e três ligações (^3J), no espectro de HMBC (Fig. 72 p. 86), reforçaram a proposta estrutural (Tab. 09).

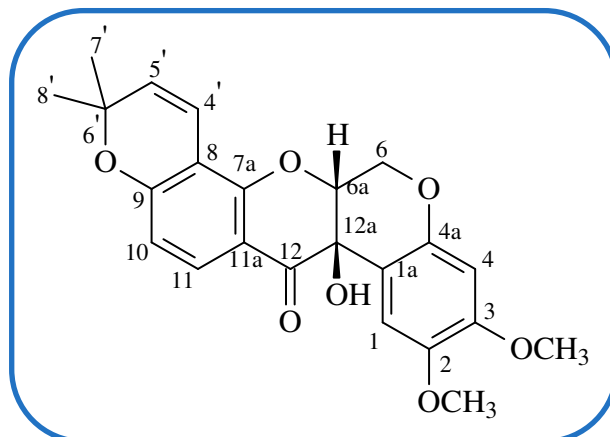


Figura 64 – Estrutura de TTP-12 (tephrosina)

Tabela 09 - Dados espectroscópicos de TTP-12 comparados com a literatura (AHMAD *et al.*, 1999) / CDCl_3

C	TTP-12		HMBC		LIT.	
	δ H (mult., J / Hz)	δ ^{13}C	$^2J_{\text{C-H}}$	$^3J_{\text{C-H}}$	δ H	δ ^{13}C
1a	-	108,8			-	108,7
1	6,57 (s)	109,8	C-1a; C-2	C-4a	6,55 (s)	109,7
2	-	144,2			-	144,0
3	-	151,4			-	151,2
4	6,48 (s)	101,3	C-3; C-4a	C-1a; C-2	6,47 (s)	101,1
4a	-	148,6			-	148,4
6	4,50 (dd, 12,0 e 1,0 H_{eq}) 4,63 (dd, 12,0 e 2,5 H_{ax})	64,0	C-6a C-6a	C-12a C-12a	4,46 (dd, 12 e 0,9) 4,63 (dd, 12 e 2,4)	63,9
6a	4,57 (dd, 2,5 e 1,0)	76,5	C-12a	C-1a	4,55 (dd, 2,4 e 0,9)	76,3
7a	-	156,8			-	156,6
8	-	109,3			-	109,1
9	-	160,9			-	160,7
10	6,47 (d, 9,0)	112,0	C-9	C-8; C-11a	6,44 (d, 8,7)	111,8
11	7,73 (d, 9,0)	128,7		C-9; C-12	7,70 (d, 8,8)	128,5
11a	-	111,3			-	111,1
12	-	191,5			-	191,0
12a (OH)	4,44 (s)	67,6			-	67,4
4'	6,60 (d, 10,0)	115,5	C-8	C-9; C-7a	6,57 (d, 10,1)	115,4
5'	5,55 (d, 10,0)	128,9	C-6'	C-8; C-7'; C-8'	5,53 (d, 10,1)	128,7
6'	-	78,1			-	77,9
7'	1,45 (s)	28,4			1,44 (s)	28,0
8'	1,39 (s)	28,7			1,38 (s)	28,0
OCH₃ (2)	3,78 (s)	56,0		C-2	3,71 (s)	56,4
OCH₃ (3)	3,81 (s)	56,5		C-3	3,80 (s)	55,8

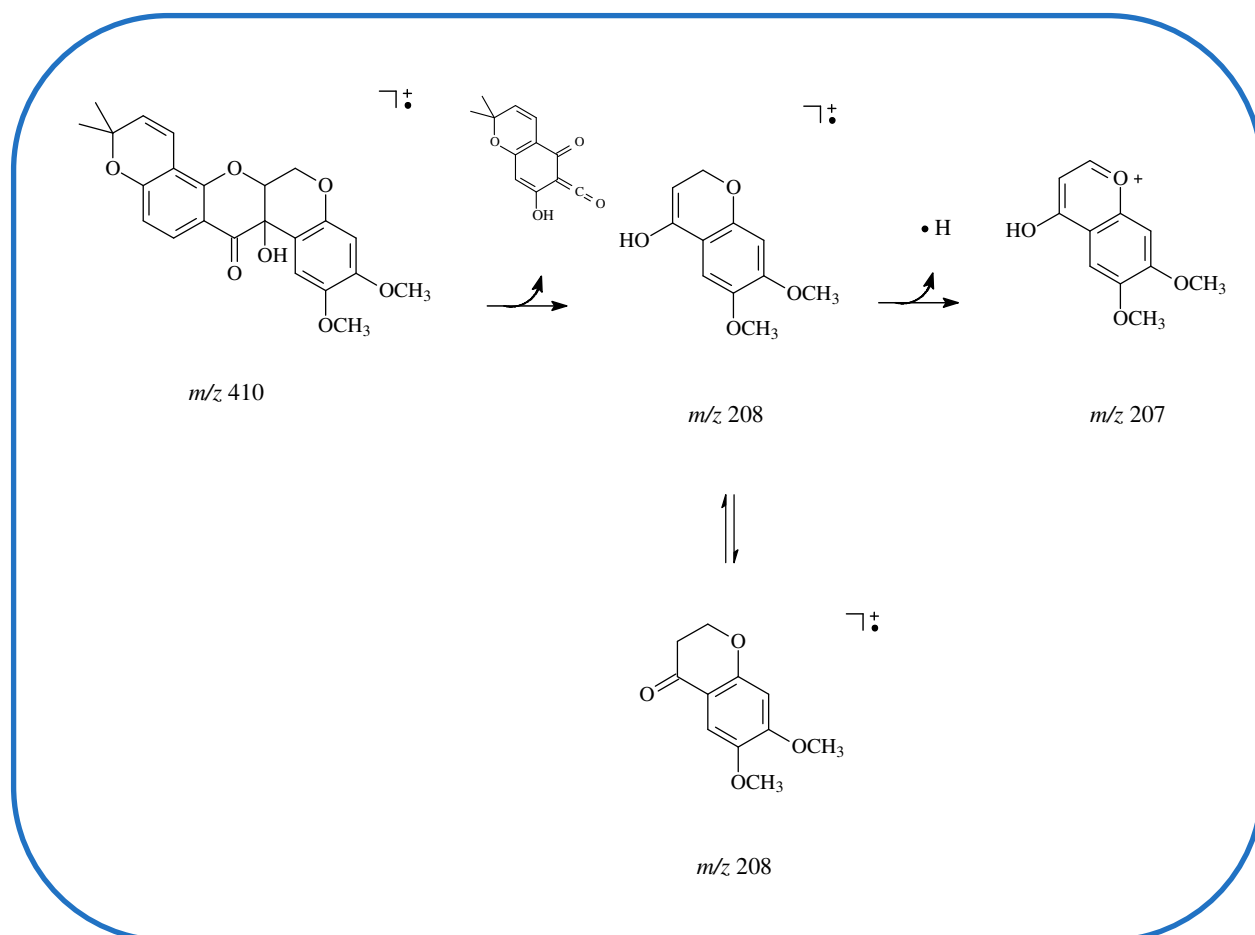


Figura 65 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-12

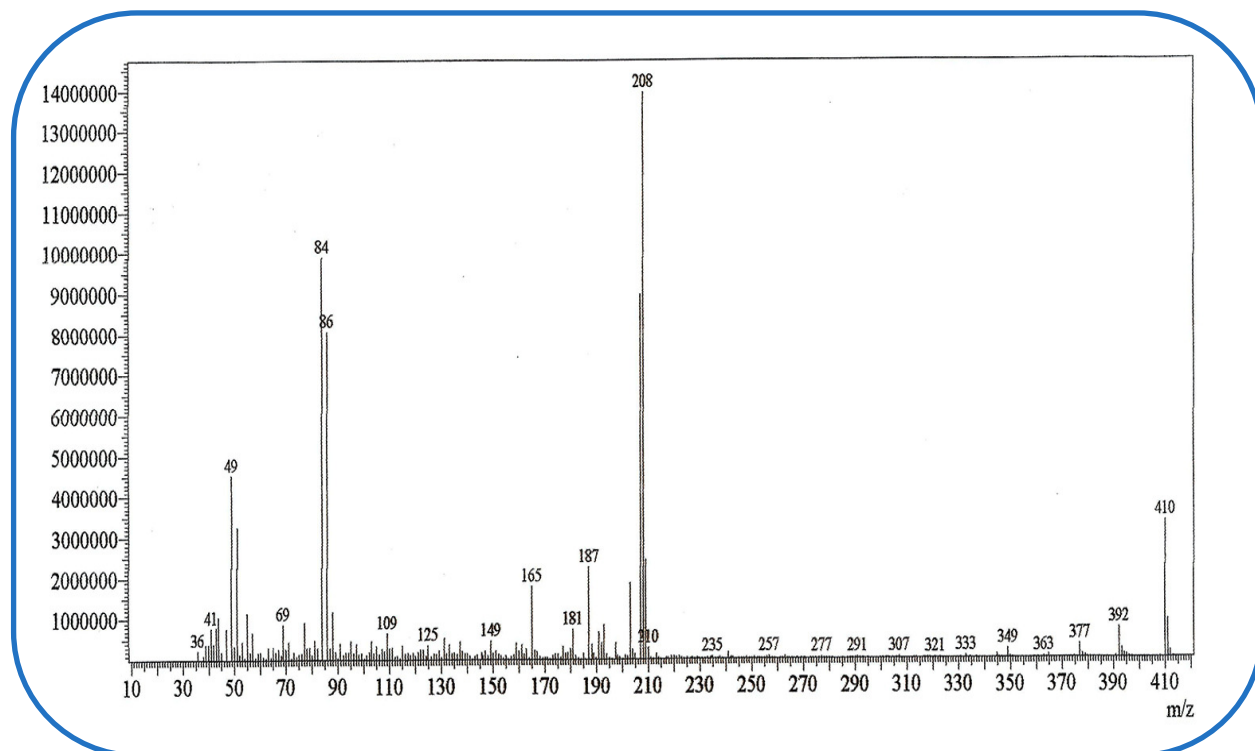


Figura 66 - Espectro de massa de TTP-12

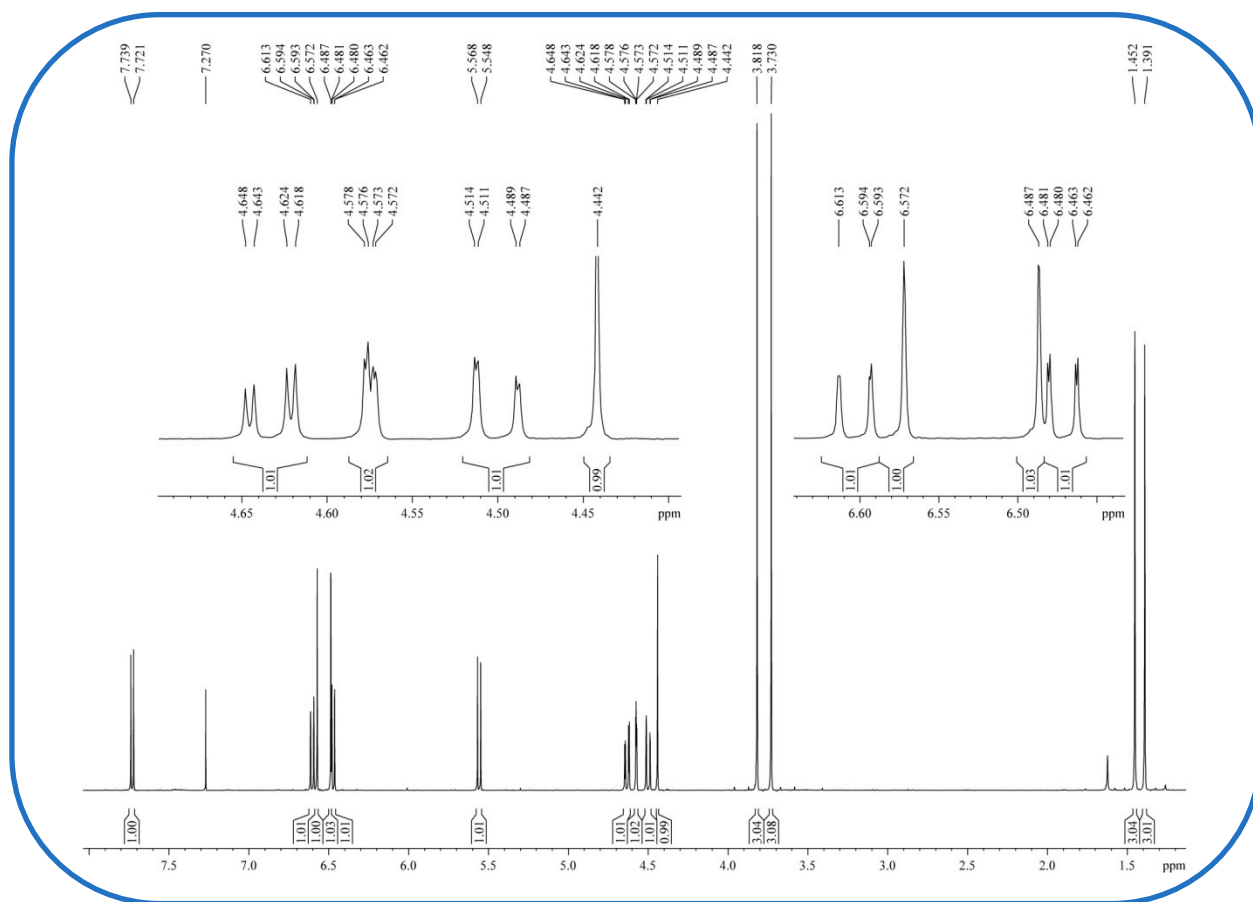


Figura 67 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-12

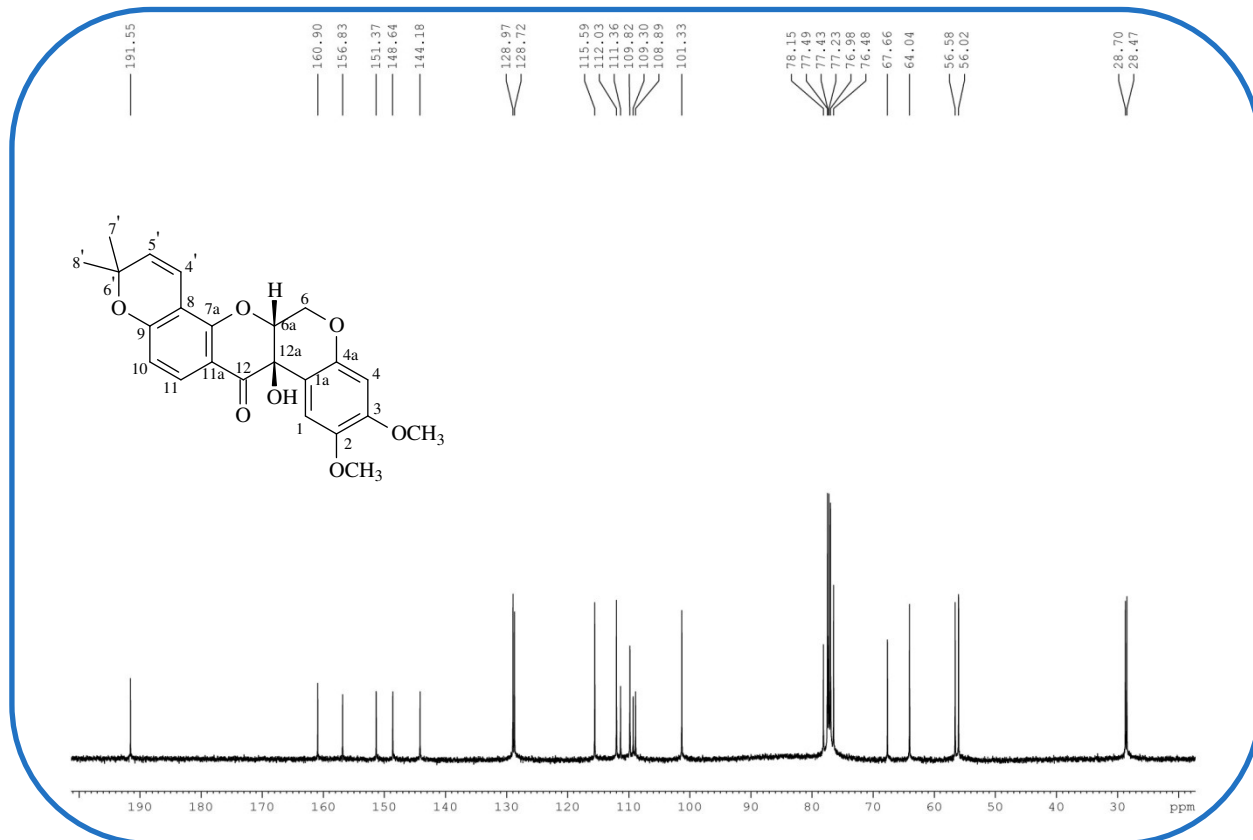


Figura 68 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-12

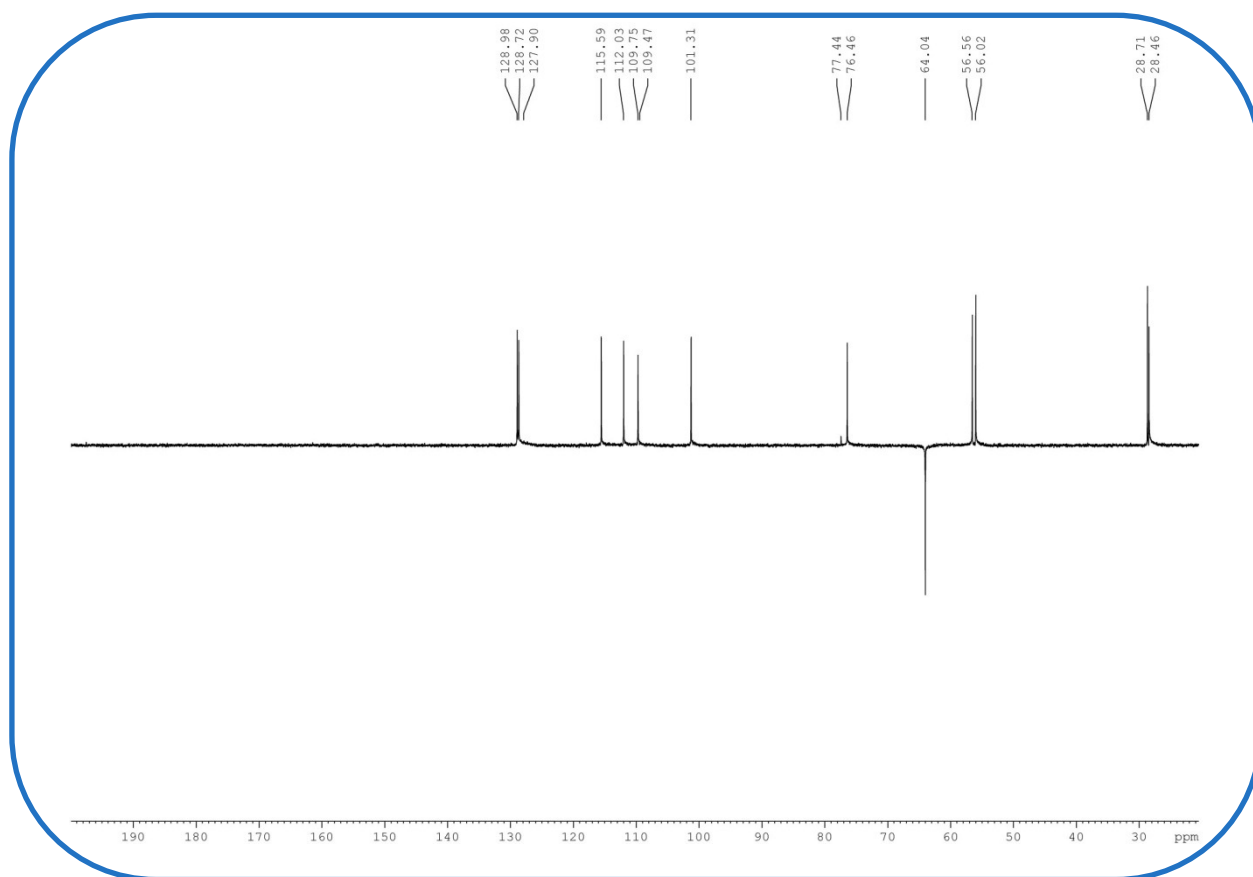


Figura 69 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-12

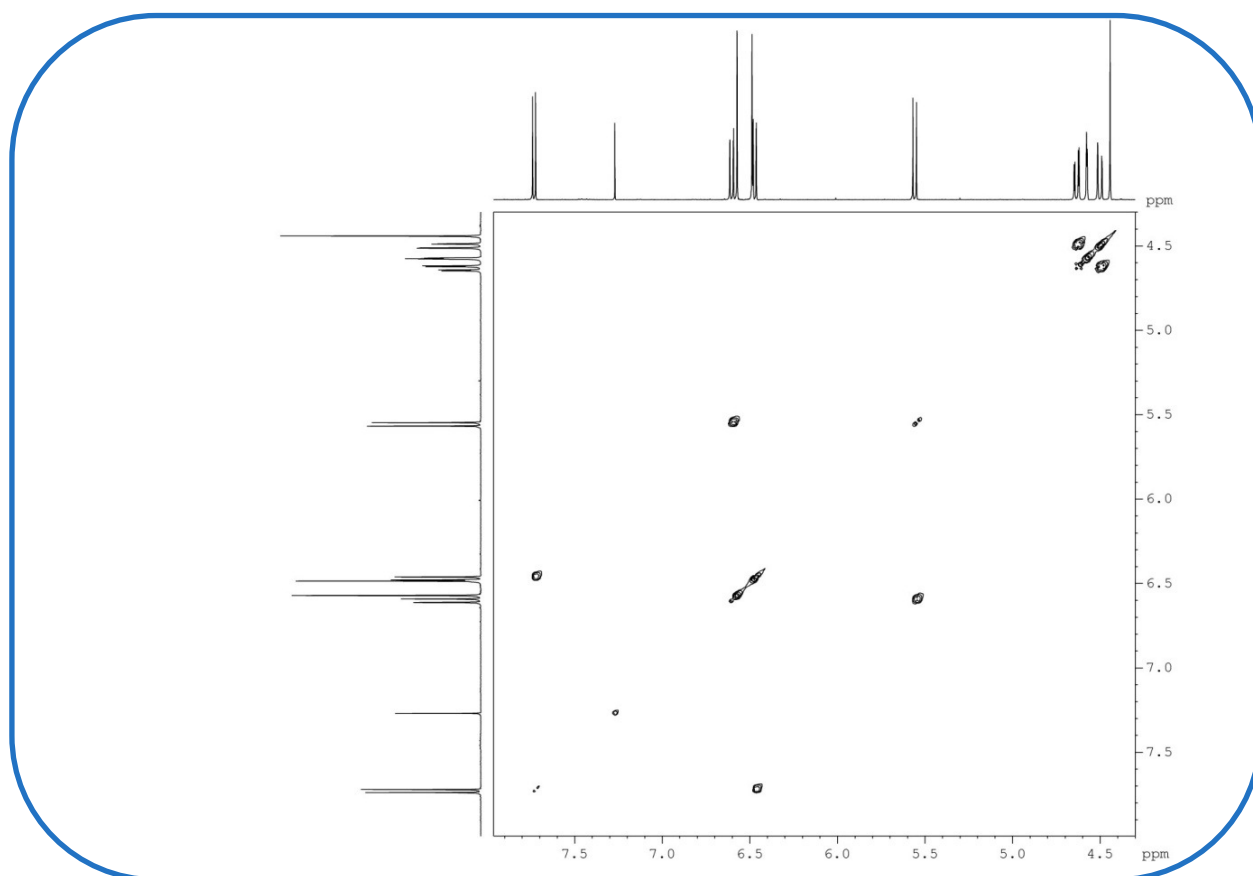


Figura 70 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-12

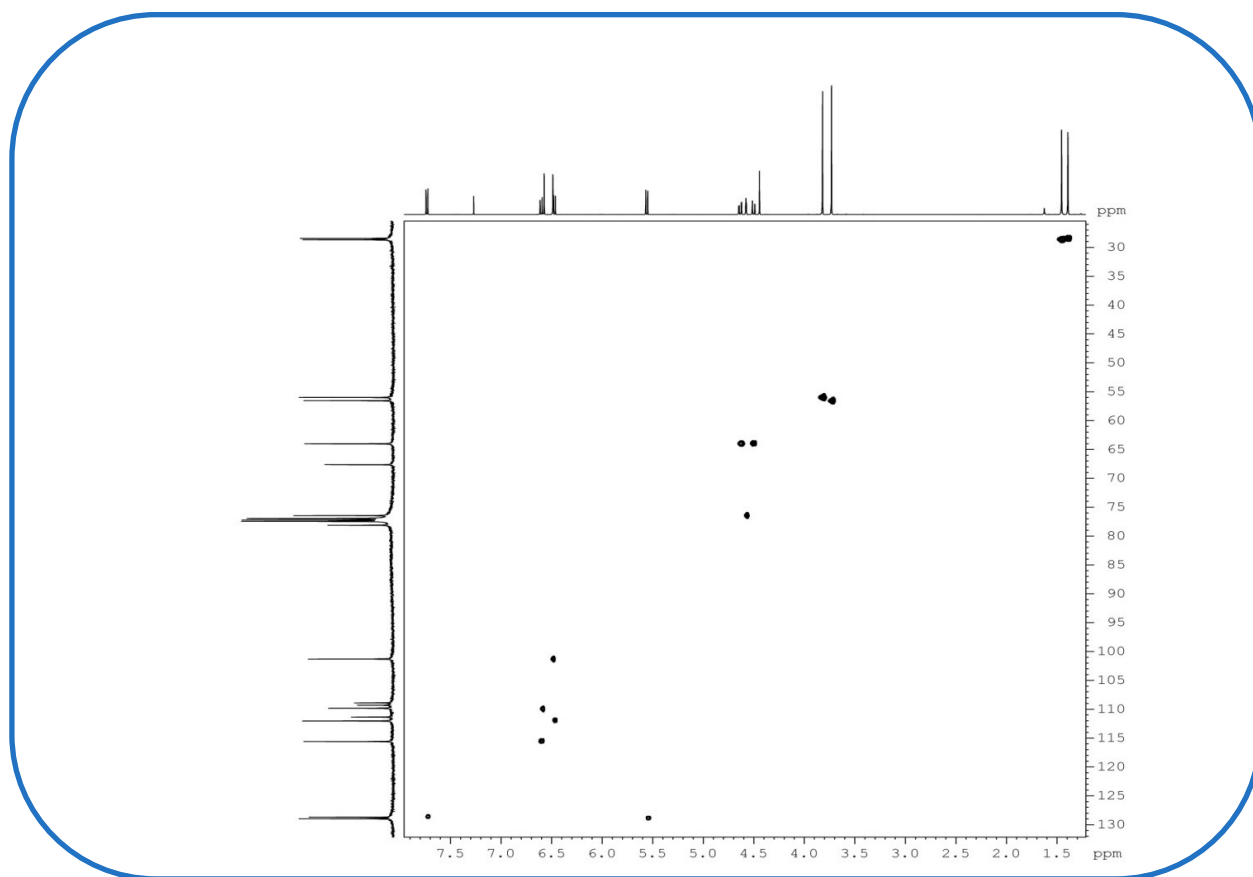


Figura 71 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-12

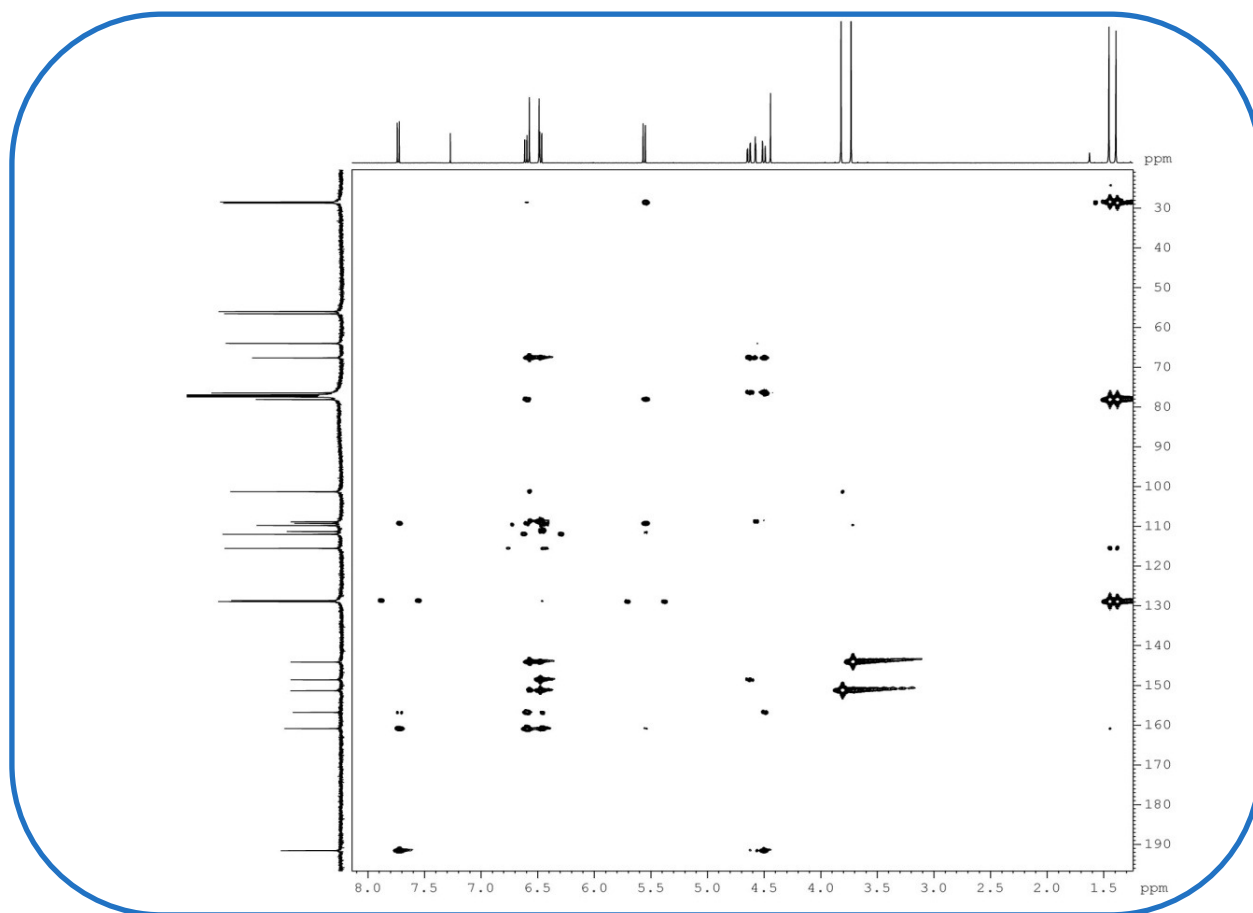


Figura 72 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-12

4.7. Determinação estrutural de TTP-9

Sucessivos fracionamentos cromatográficos de TTRASEC utilizando sílica e CLAE (item 5.5.5.10. p. 145) originou um sólido amarelo de aspecto cristalino, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 133,6 - 134,8 °C denominado TTP-9. Seu espectro de massa (Fig. 75, p. 90) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 426 Da.

O espectro de RMN ^1H de TTP-9, obtido em CDCl_3 (Fig. 76, p. 90), evidenciou a presença do sistema 6',6' - dimetilcromeno, devido a presença dos sinais em δ 5,47 e δ 6,51 (1H, d, $J = 10,0$ Hz). Sinais, no espectro de RMN ^{13}C (Fig. 77, p. 90), em δ 28,6, δ 28,8, δ 78,8, δ 115,2 e δ 126,8 confirmaram a proposição.

O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ mostrou 23 sinais espectrais assim como os demais rotenoides. A comparação desses dados com os obtidos no espectro de RMN $^{13}\text{C} - \text{DEPT } 135^\circ$ (Fig. 78, p. 91) permitiu a verificação de quatro carbonos metílicos (CH_3), um metilênico (CH_2), sete metínicos (CH) e onze de carbonos não hidrogenados (C). Os sinais em δ 98,1, 101,4, 109,6, 115,2 e 126,8, foram relacionados a carbonos metínicos insaturados; o sinal em δ 75,9 a um carbono sp^3 oxigenado e hidrogenado; o sinal em δ 63,8 a um carbono metilênico também oxigenado e os sinais em δ 110,1, 102,2 e 108,6, atribuídos a carbonos insaturados não hidrogenados e não oxigenados. Seis sinais de δ 144,2 a 164,2 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados; e os sinais em δ 78,1 e δ 67,0, a carbonos sp^3 oxigenados não hidrogenados.

O espectro de RMN ^{13}C mostrou ainda um sinal em δ 195,0 característico de carbonila; e sinais em δ 56,0 e 56,6, referentes a grupos metoxila, que mostraram correlações com os sinais em δ 3,82 e 3,75 (3H, s) no espectro de HSQC (Fig. 80, p. 92). Correlações entre os sinais em δ 28,6 e 28,8 com os sinais em δ 1,36 e 1,43 (3H, s), respectivamente, que foram atribuídos aos sinais das metilas do anel dimetilcromeno; e correlações de um carbono oximetilênico em δ 63,8 com os hidrogênios em δ 4,47 (1H, dd, $J = 0,5$ e 12,0 Hz) e 4,60 (1H, dd, $J = 2,5$ e 12,0 Hz).

Um sinal em δ 11,63 (1H, s) foi atribuído a uma hidroxila quelatogênica (OH-11). Foram observados três sinais em δ 5,97 (1H, s), δ 6,48 (1H, s) e δ 6,72 (1H, s) e atribuídos aos hidrogênios de anel aromático H-10, H-4 e H-1, respectivamente.

Uma unidade estrutural semelhante à de TTP-12 (tephrosina) – Figura 60 – pôde ser proposta para a estrutura de TTP-9. O espectro COSY (Fig. 79, p. 91) mostrou acoplamento geminal entre os hidrogênios em δ 4,47 (1H, dd, $J = 0,5$ e 12,0 Hz) e δ 4,60 (1H, dd, $J = 2,5$ e 12,0 Hz). Observou-se ainda um sinal em δ 4,54 (1H, d, $J = 1,5$ Hz). Um sinal em δ 4,17 (1H, s), que não mostrou correlação no espectro de HSQC, foi atribuído a sinal de hidrogênio de hidroxila. Esses dados confirmam a presença da estrutura parcial sugerida.

A avaliação dos dados espectroscópicos de TTP-9 e a comparação destes com os de TTP-4 (α -toxicarol) mostraram uma pequena diferença entre as duas estruturas. O surgimento de um sinal em δ 4,17 (1H, s), referente um sinal de hidrogênio de hidroxila, e o desaparecimento do duplete em δ 3,85 (H-12a), do α -toxicarol, permitiram propor que se tratava do também rotenoide 12a-hidroxi- α -toxicarol, já isolado de *T. toxicaria* (JANG *et al.*, 2003). Dados de RMN ^{13}C da literatura corroboram com a proposta (ANDREI *et al.*, 1997). Correlações vistas no espectro de HMBC (Fig. 81, p. 92), a duas (^2J) e três ligações (^3J), reforçaram a proposição estrutural (Tab. 10, p. 89).

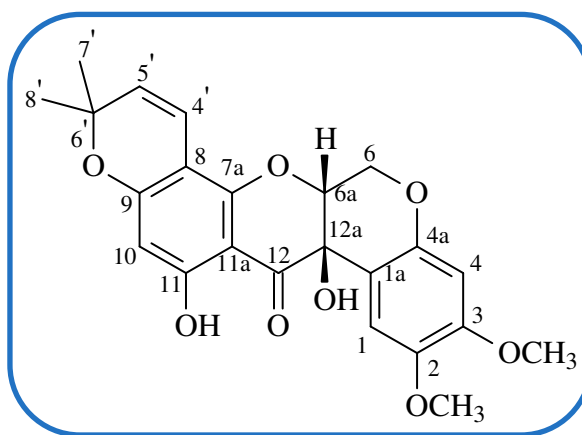
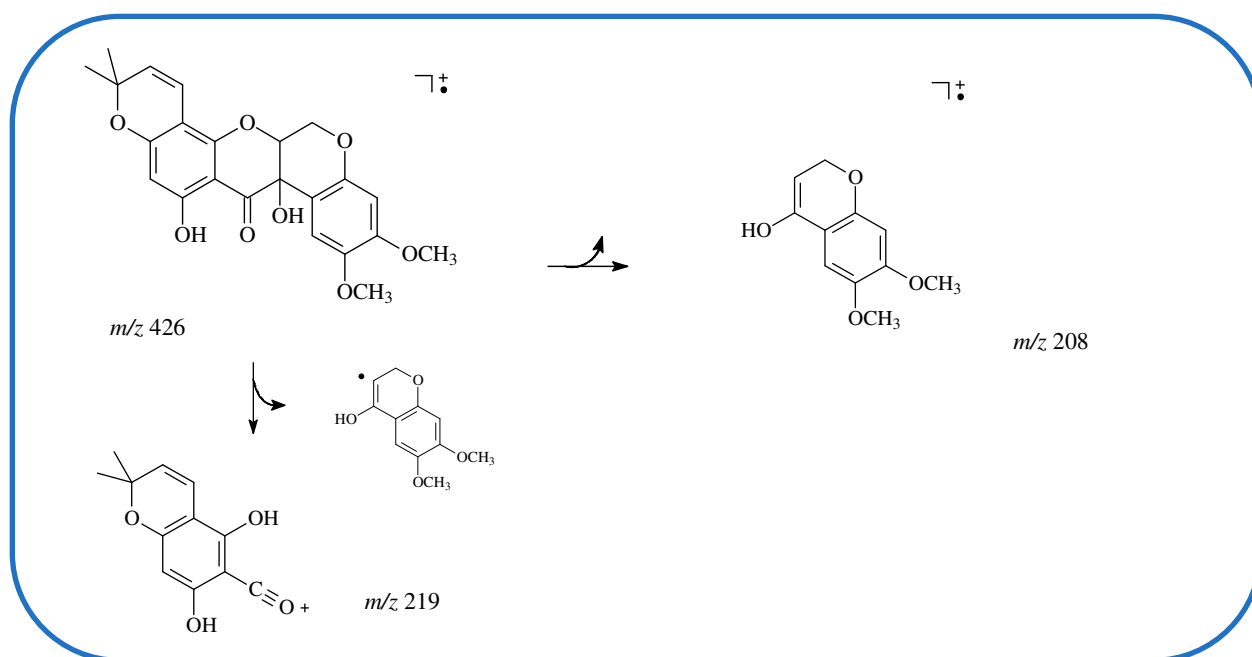


Figura 73 – Estrutura de TTP-9 (12a-hidroxi- α -toxicarol)

Tabela 10 - Dados espectroscópicos de TTP-9 comparados com a literatura (ANDREI *et al.*, 1997) / CDCl₃

C	TTP-9	$\delta^{13}\text{C}$	HMBC		LIT.	$\delta^{13}\text{C}$
	δH (mult., J / Hz)		$^2J_{\text{C-H}}$	$^3J_{\text{C-H}}$	δH	
1a	-	108,6			-	108,4
1	6,72 (s)	109,6	C-1a; C-2	C-12a; C-3	6,72 (s)	109,4
2	-	144,2			-	144,1
3	-	151,5			-	151,4
4	6,48 (s)	101,4	C-4a; C-3	C-1a; C-2	6,49 (s)	101,2
4a	-	148,5			-	148,4
6	4,60 (dd, 12,0 e 2,5 H_{ax}) 4,47 (dd, 12,0 e 0,5 H_{eq})	63,8	C-6a C-6a	C-12a; C-4a C-12a	4,61 (dd, 12,0 e 2,4 H_{ax}) 4,54 (dd, 12,0 e 0,8 H_{eq})	63,6
6a	4,54 (d, 1,5)	75,9	C-6; C-12a	C-1a; C-12	4,48 (dd, 2,4 e 0,8)	75,7
7a	-	155,7			-	155,5
8	-	102,2			-	102,0
9	-	163,7			-	163,6
10	5,97 (s)	98,1	C-9	C-8; C-11a	5,98 (s)	98,0
11 (OH)	11,63 (s)	164,2			11,61 (s)	164,0
11a	-	100,1			-	99,9
12	-	195,0			-	194,8
12a (OH)	4,17 (s)	67,0	C-12a	C-1a; C-12	-	66,7
4'	6,51 (d, 10,0)	115,2	C-8	C-7a; C-9; C-6'	6,52 (d, 10,0)	115,1
5'	5,47 (d, 10,0)	126,8	C-6'	C-7'; C-8	5,47 (d, 10,0)	126,6
6'	-	78,8			-	78,6
7'	1,36 (s)	28,6	C-6'	C-5'	1,37 (s)	-
8'	1,43 (s)	28,8	C-6'	C-5'	1,44 (s)	-
OCH₃ (2)	3,75 (s)	56,6		C-2	3,77 (s)	-
OCH₃ (3)	3,82 (s)	56,0		C-3	3,83 (s)	-

**Figura 74** – Proposta de fragmentações de massa de TTP-9

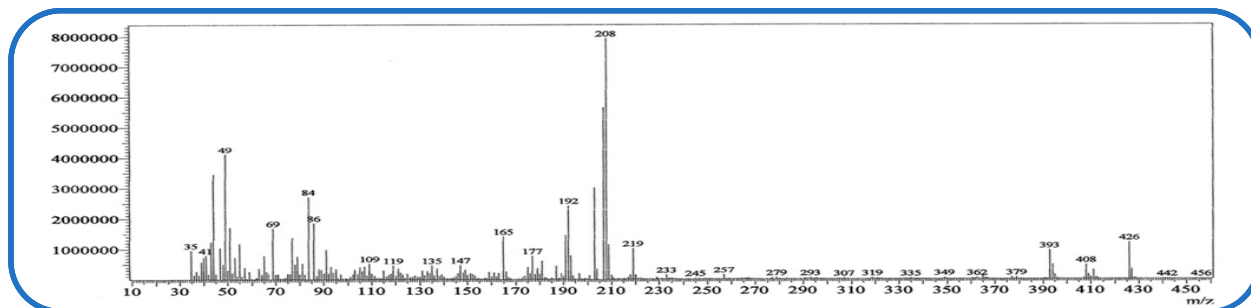


Figura 75 - Espectro de massa de TTP-9

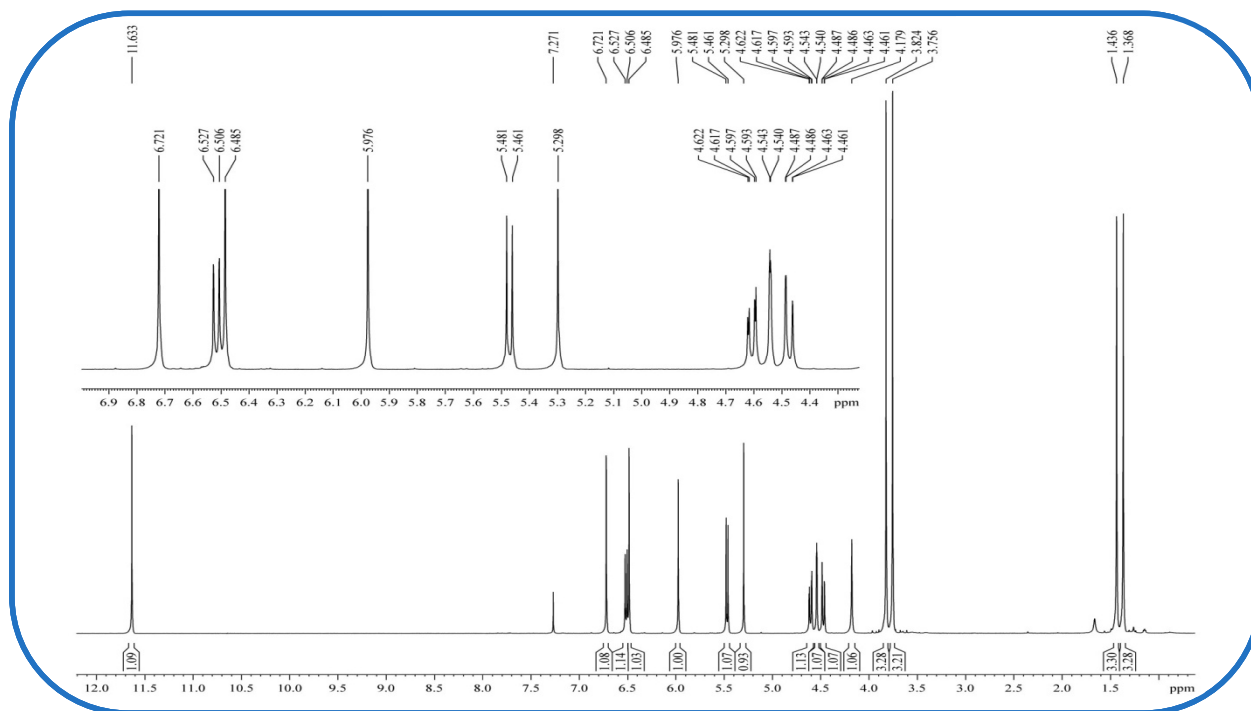


Figura 76 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-9

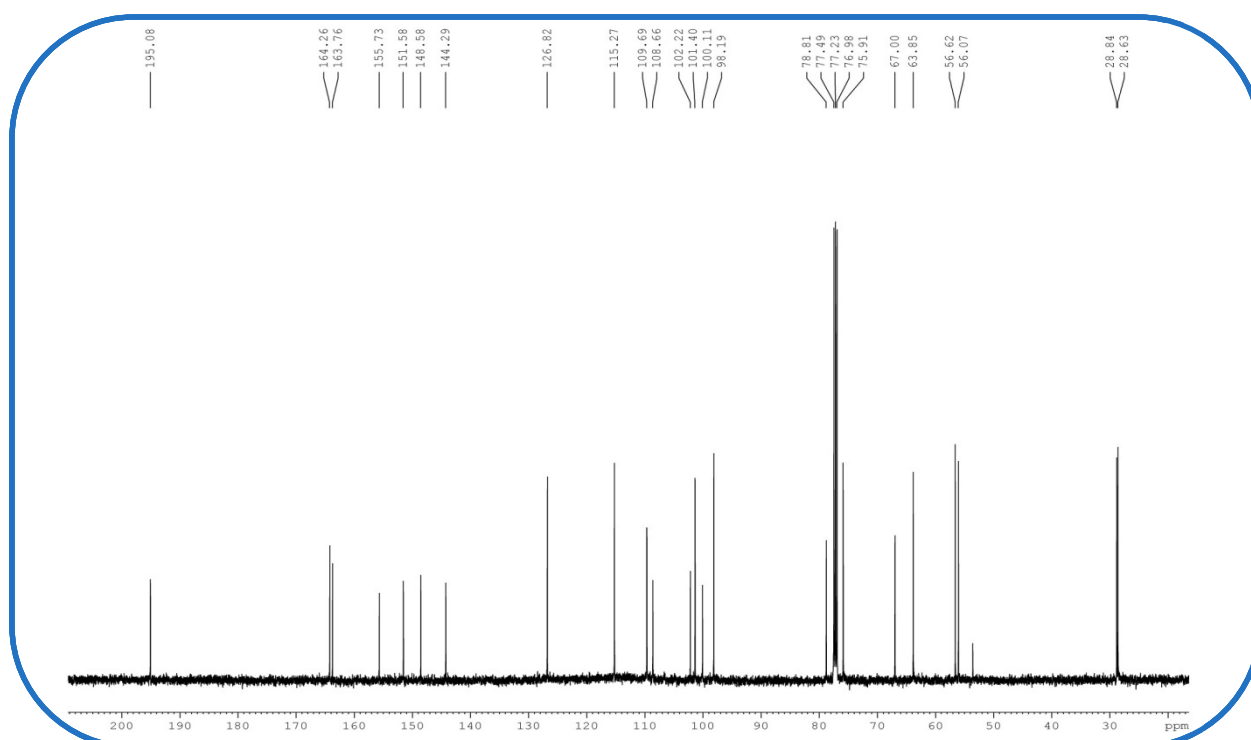


Figura 77 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-9

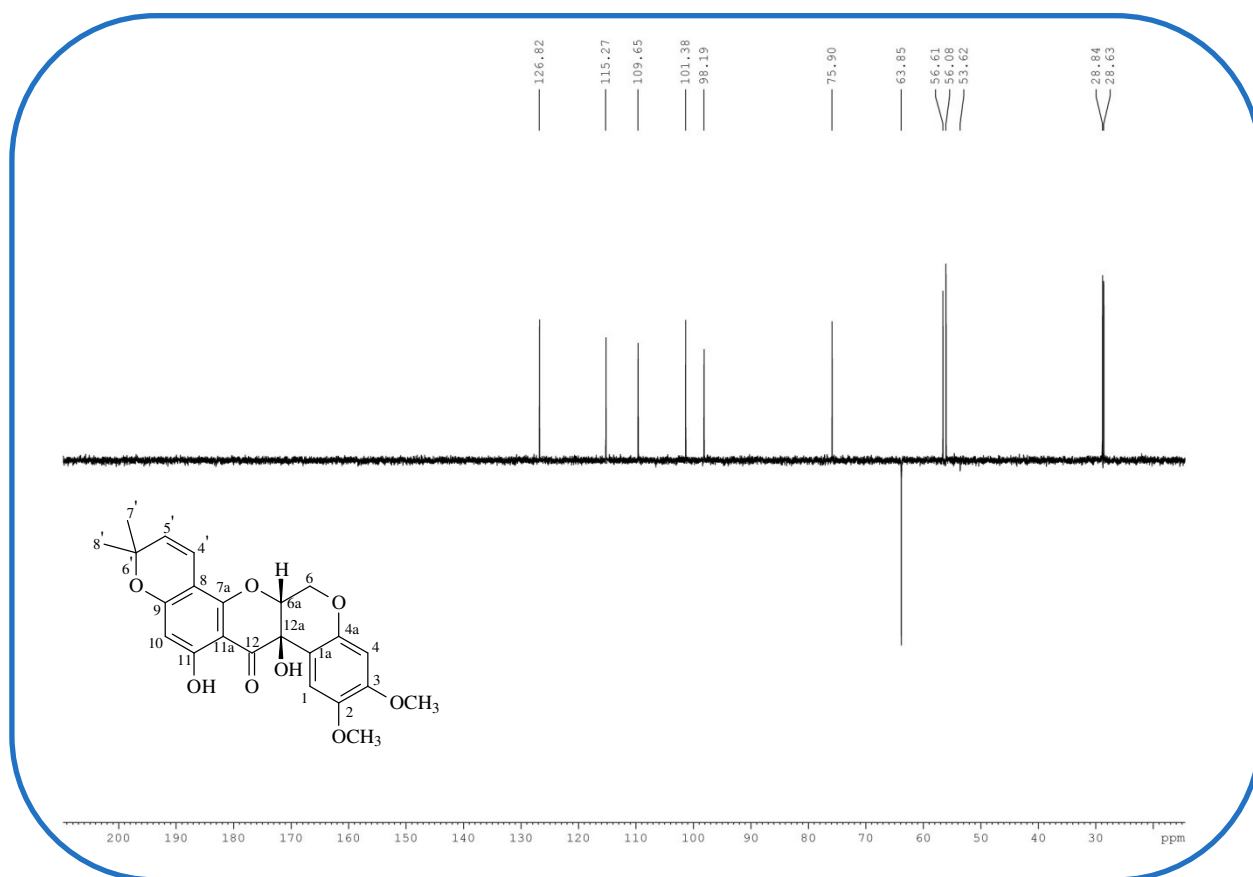


Figura 78 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-9

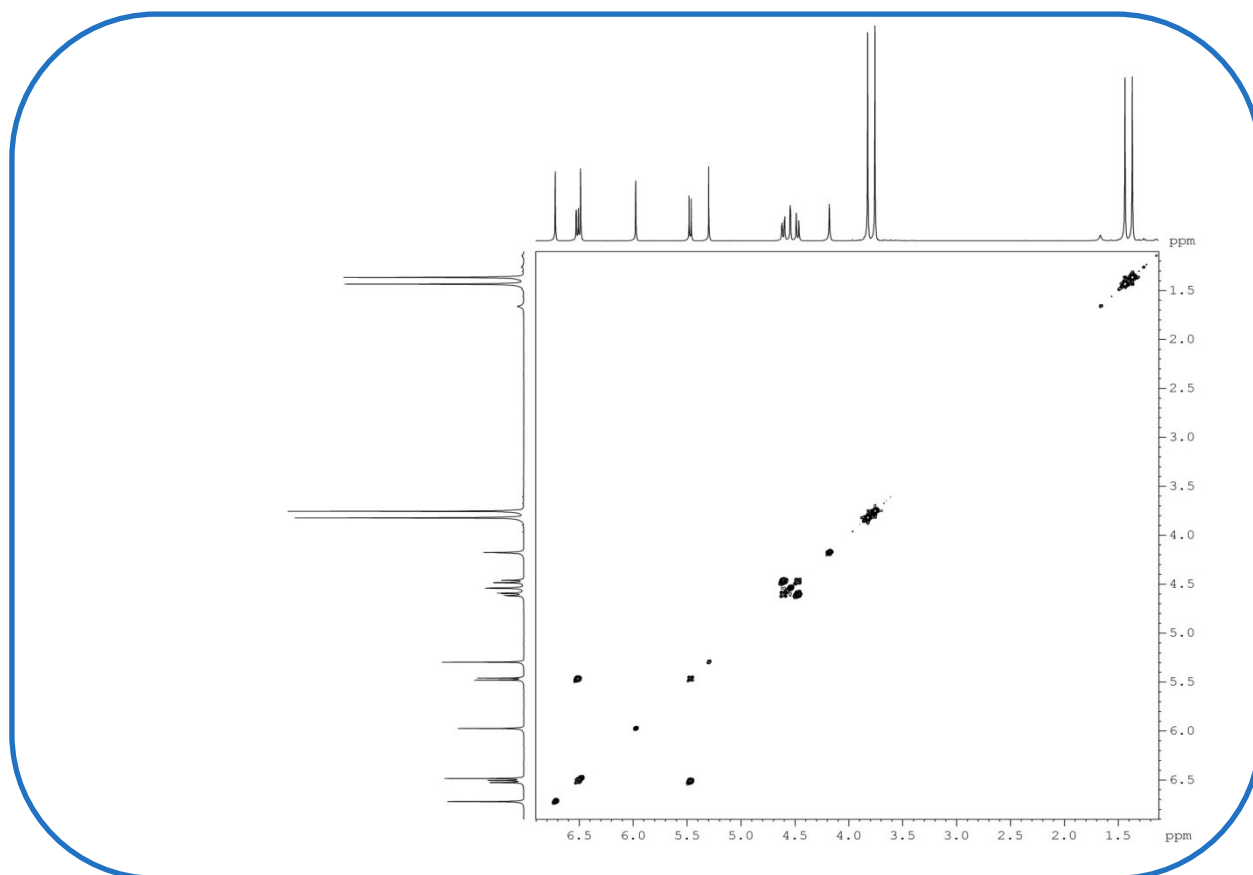


Figura 79 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-9

4.8. Determinação estrutural de TTP-3

Tratamentos cromatográficos sucessivos em gel de sílica de TTVEC (item 5.5.4.5. p. 135) forneceram um sólido amorfo amarelo, solúvel em clorofórmio, denominado TTP-3 e apresentou faixa de fusão de 219,8 - 221,6 °C . Seu espectro de massa (Fig. 85, p. 96) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 408 Da.

O seu espectro na região do infravermelho (Fig. 89, p. 97) apresentou uma absorção em 3435 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$), sugerindo a presença de hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$); uma banda em 2931 cm^{-1} relativa a deformação axial assimétrica de ligação $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$; uma banda de absorção forte em 1658 cm^{-1} , referente a deformação axial da ligação C=O , sugerindo a presença de carbonila α,β -insaturada ($\nu_{\text{C=O}}$); as bandas em 1577, 1513 e 1451 cm^{-1} referentes a deformação axial de ligação C=C de anel aromático ($\nu_{\text{C=C}}$); uma banda em 1155 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação C-O ($\nu_{\text{C-O}}$).

O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$, obtido em CDCl_3 (Fig. 88, p. 97), mostrou 22 sinais espectrais. A análise comparativa com o espectro de RMN $^{13}\text{C} - \text{DEPT } 135^\circ$ (Fig. 90, p. 98) permitiu a verificação da existência de quatro carbonos metílicos (CH_3), um carbono metilênico (CH_2), cinco carbonos metínicos (CH) e, portanto, doze átomos de carbonos não hidrogenados (C). Os sinais em δ 100,8; 100,9; 110,2; 114,6 e 128,0 foram atribuídos a carbonos hidrogenados insaturados; os em δ 101,3; 106,2; 110,0; 111,1; 144,5; 146,5; 149,5; 151,1; 157,0; 159,6 e 162,6 a átomos de carbonos insaturados e não hidrogenados; e o sinal em δ 78,3 a um carbono sp^3 oxigenado, não hidrogenado.

A atribuição do sinal em δ 179,6 a um sinal de carbonila seguiu a teoria do deslocamento químico (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). Os sinais entre δ 144,5 e 162,6 indicaram a presença de sete átomos de carbonos sp^2 oxigenados. Observou-se ainda dois sinais, em δ 56,2 e δ 56,6, característicos de carbonos sp^3 oxigenados de grupos metoxila, que mostraram correlação com os sinais em δ 3,89 e 3,96 (3H, s), no espectro de HSQC (Fig. 91, p. 98). O espectro mostrou ainda correlações entre o sinal de carbono em δ 28,4 e o sinal de hidrogênio em δ 1,48 (6H, s), correspondendo, assim, a duas metilas quimicamente e magneticamente equivalentes. Esta informação associada à presença de dois sinais em δ 5,60 e δ 6,64 (1H, d, $J = 10,0\text{ Hz}$), característicos de

hidrogênios olefínicos acoplados entre si em posição *cis*, e dos sinais – no espectro de RMN ^{13}C – em δ 78,3 (C), 128,0 (CH) e 114,6 (CH) permitiu sugerir a presença do esqueleto 6',6'-dimetilcromeno em TTP-3.

Uma correlação, vista no espectro de HSQC, entre o sinal de carbono em δ 65,0 e o sinal de hidrogênio em δ 5,00 (2H, s), confirmou o padrão de hidrogenação deste carbono observado no espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135°.

No espectro de RMN ^1H (Fig. 86, p. 96), foi observado um sinal em δ 13,00 (1H, s) característico de sinal de hidroxila quelatogênica; e três sinais em δ 6,30, δ 6,57 e δ 8,28 (1H, s) atribuídos a hidrogênios de sistemas aromáticos.

O espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Fig. 92, p. 99), mostrou correlação entre o sinal em δ 8,28 (1H, s) e os carbonos em δ 144,5 (^2J), 111,0, 146,5 e 149,5 (^3J); entre o sinal δ 6,57 (1H, s) e os carbonos em δ 146,5 e 149,5 (^2J), 110,2 e 144,5 (^3J). Mostrou ainda correlações entre os sinais em δ 3,89 e 3,95 (3H, s) e os carbonos em δ 149,5 e δ 144,5, respectivamente. Essas correlações sugerem a presença de um anel aromático 2,3,5,6-tetrassubstituído, como o mostrado na Figura 82.

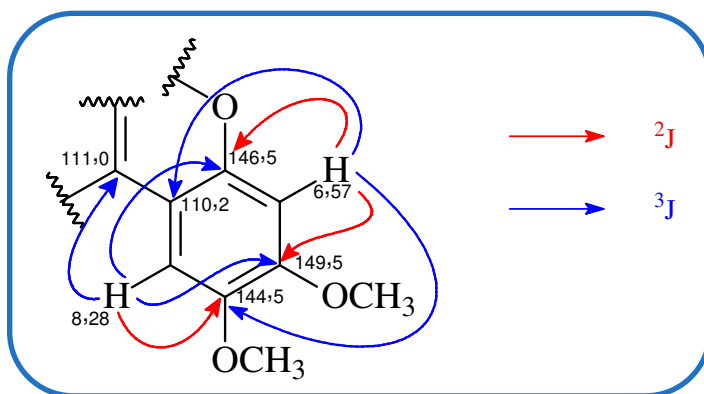


Figura 82 - Estrutura do anel aromático 2,3,5,6 - tetrassubstituído de TTP-3

A partir dos dados obtidos, foi possível propor na estrutura de TTP-3 a presença de um sistema do tipo 6',6'-dimetilcromeno, um grupo metilênico oxigenado, uma hidroxila quelatogênica, um anel aromático 2,3,5,6-tetrassubstituído com a presença de duas metoxilas, uma carbonila α,β -insaturada e 8 carbonos sp^2 . Estes dados, associados à ocorrência comum de flavonoides do tipo rotenoides, no gênero *Tephrosia*, permitiram sugerir que se tratava de mais um deles.

A confirmação da estrutura foi realizada com base nas correlações observadas no espectro de HMBC e ainda por comparação dos dados obtidos com os do rotenoide 6a,12a-desidro- α -toxicarol (Fig. 83) citados na literatura (ANDREI *et al.*, 1997).

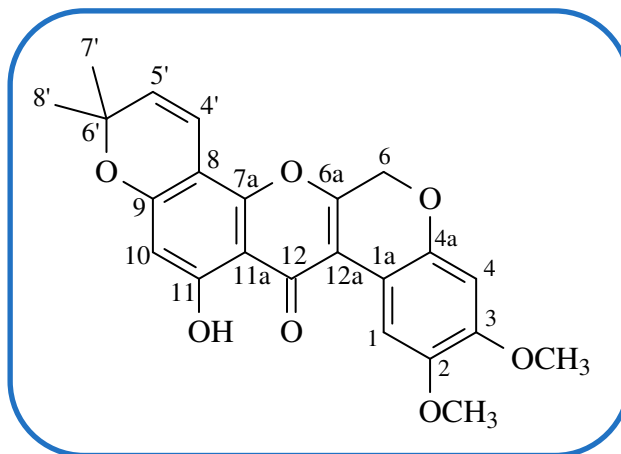


Figura 83 – Estrutura de TTP-3 (6a,12a-desidro- α -toxicarol)

Tabela 11 - Dados espectroscópicos de TTP-3 comparados com os da literatura (ANDREI *et al.*, 1997) / CDCl₃

C	TTP-3				LIT.	
	δ H (mult., J / Hz)	δ ¹³ C	² J _{C-H}	³ J _{C-H}	δ H	δ ¹³ C
1a	-	110,0			-	109,9
1	8,28 (s)	110,2	C-2	C-12a; C-4a; C-3	8,26 (s)	109,7
2	-	144,5			-	144,2
3	-	149,5			-	149,2
4	6,57 (s)	100,9	C-4a; C-3	C-1a; C-2	6,54 (s)	100,5
4a	-	146,5			-	146,3
6	5,00 (s)	65,0	C-6a	C-12a; C-4a	4,98 (s)	64,7
6a	-	157,0			-	156,8
7a	-	151,1			-	150,9
8	-	101,3			-	101,1
9	-	159,6			-	159,3
10	6,30 (s)	100,8			6,28 (s)	100,6
11	-	162,6			-	162,3
11a	-	106,2			-	106,0
12	-	179,6			-	179,3
12a	-	111,0			-	110,8
4'	6,64 (d, 10,0)	114,6		C-6'	6,62 (d, 10,0)	114,4
5'	5,60 (d, 10,0)	128,0	C-6'	C-8	5,59 (d, 10,0)	127,7
6'	-	78,3			-	78,1
7' e 8'	1,48 (s)	28,4	C-6'	C-5'	1,47 (s)	-
OCH ₃ (2)	3,95 (s)	56,6		C-2	3,87 (s)	-
OCH ₃ (3)	3,89 (s)	56,2		C-3	3,94 (s)	-
OH	13,00 (s)	-			12,99 (s)	-

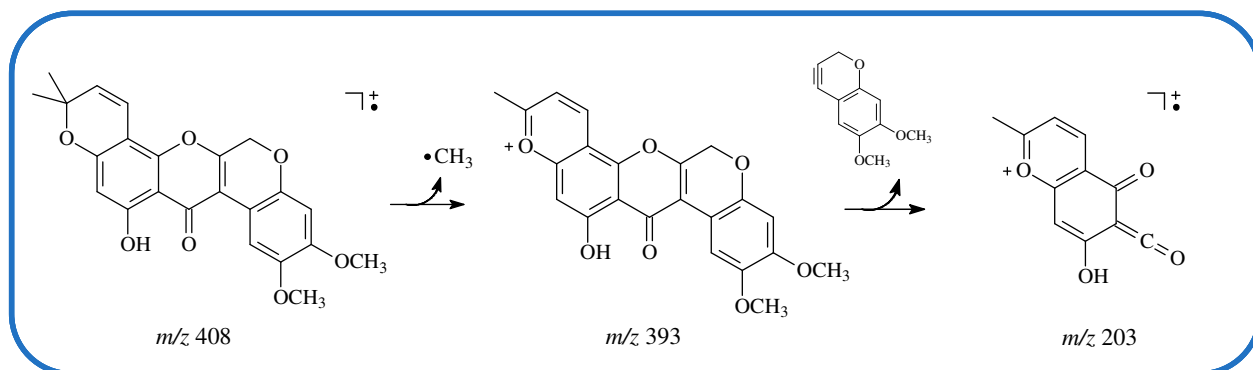


Figura 84 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-3

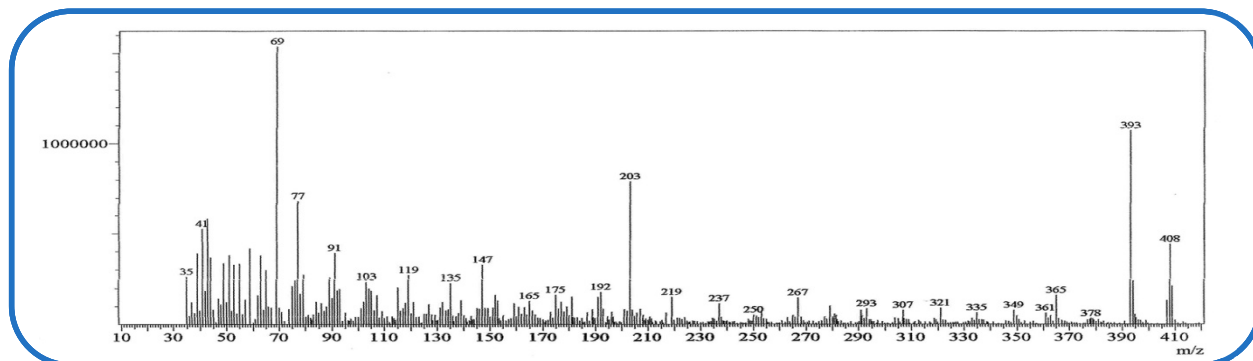


Figura 85 – Espectro de massa de TTP-3

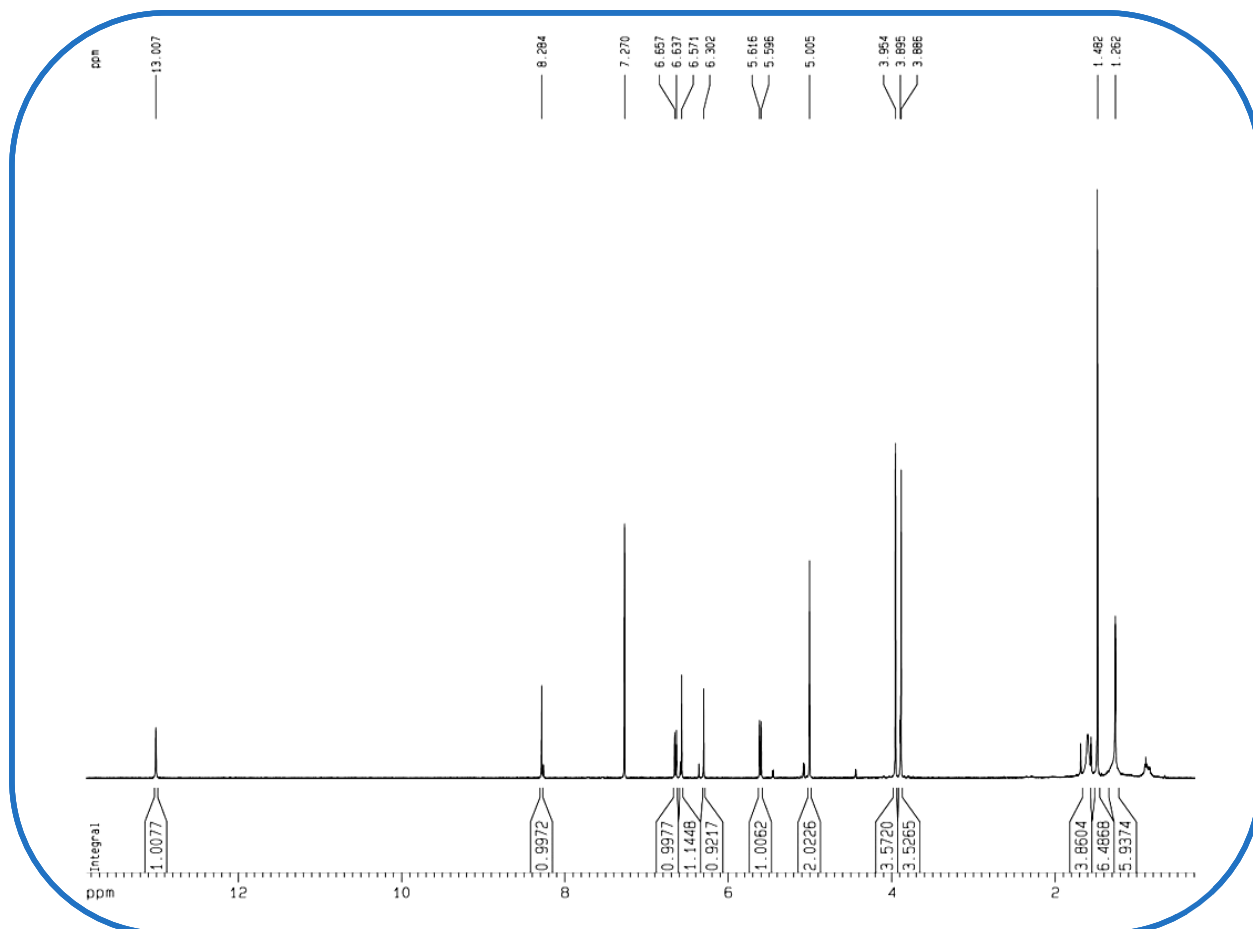


Figura 86 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-3

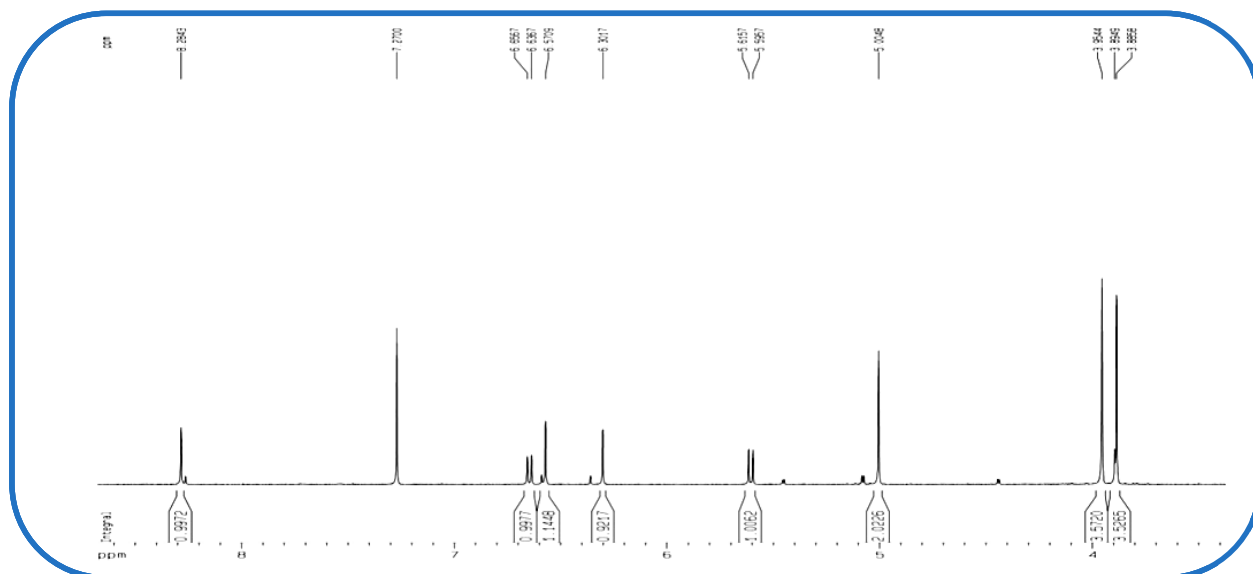


Figura 87 - Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-3

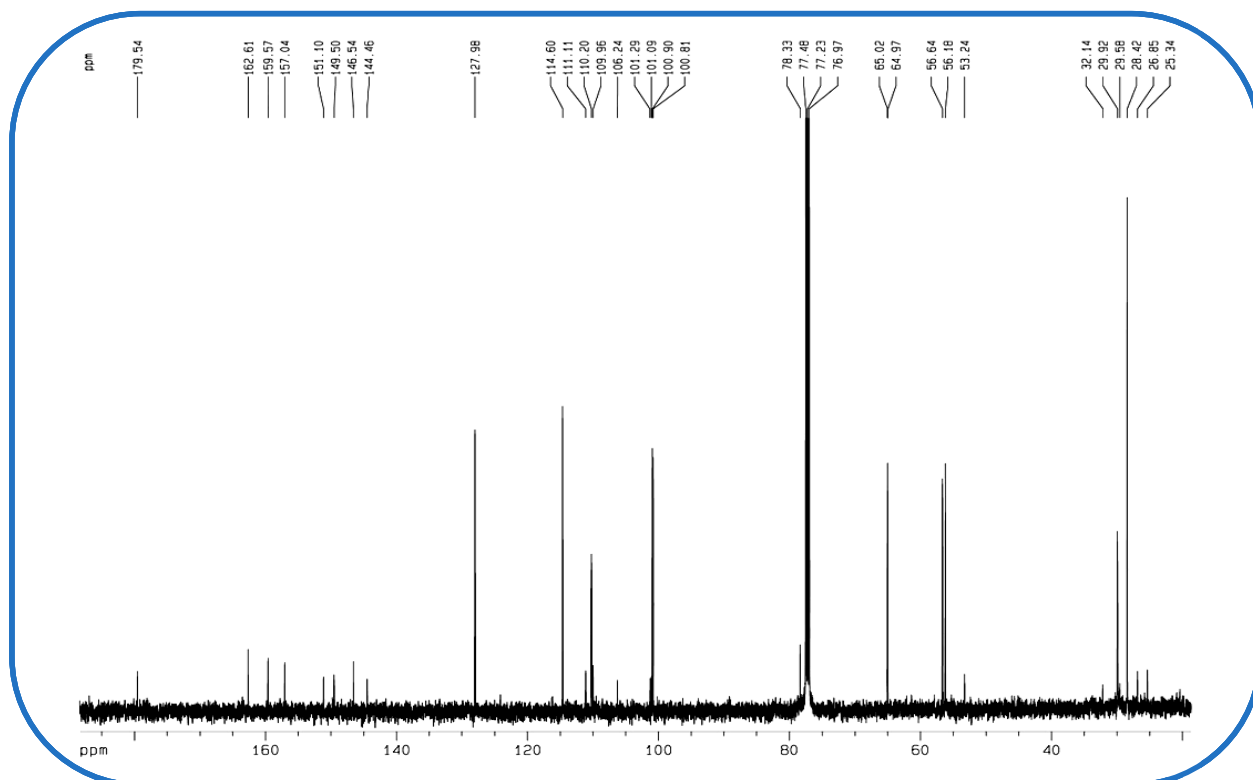


Figura 88 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-3

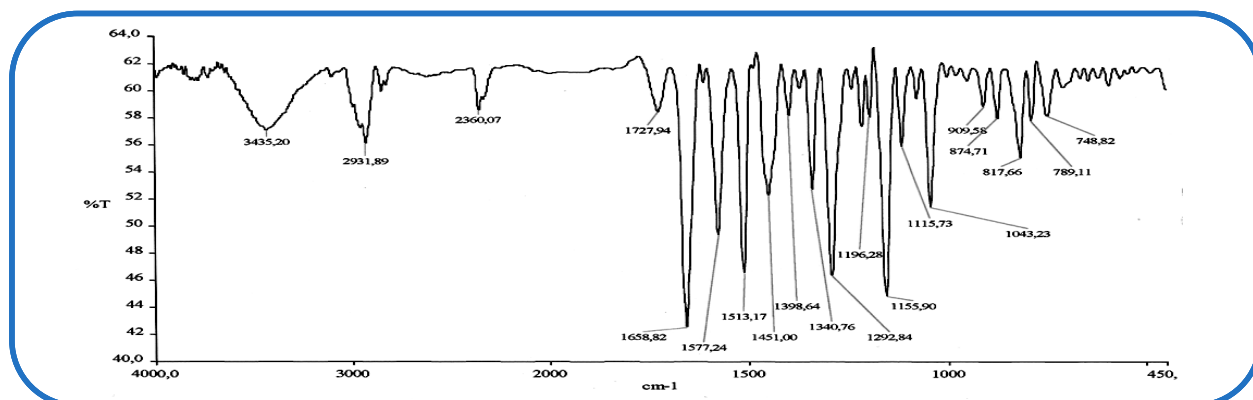


Figura 89 - Espectro no infravermelho de TTP-3

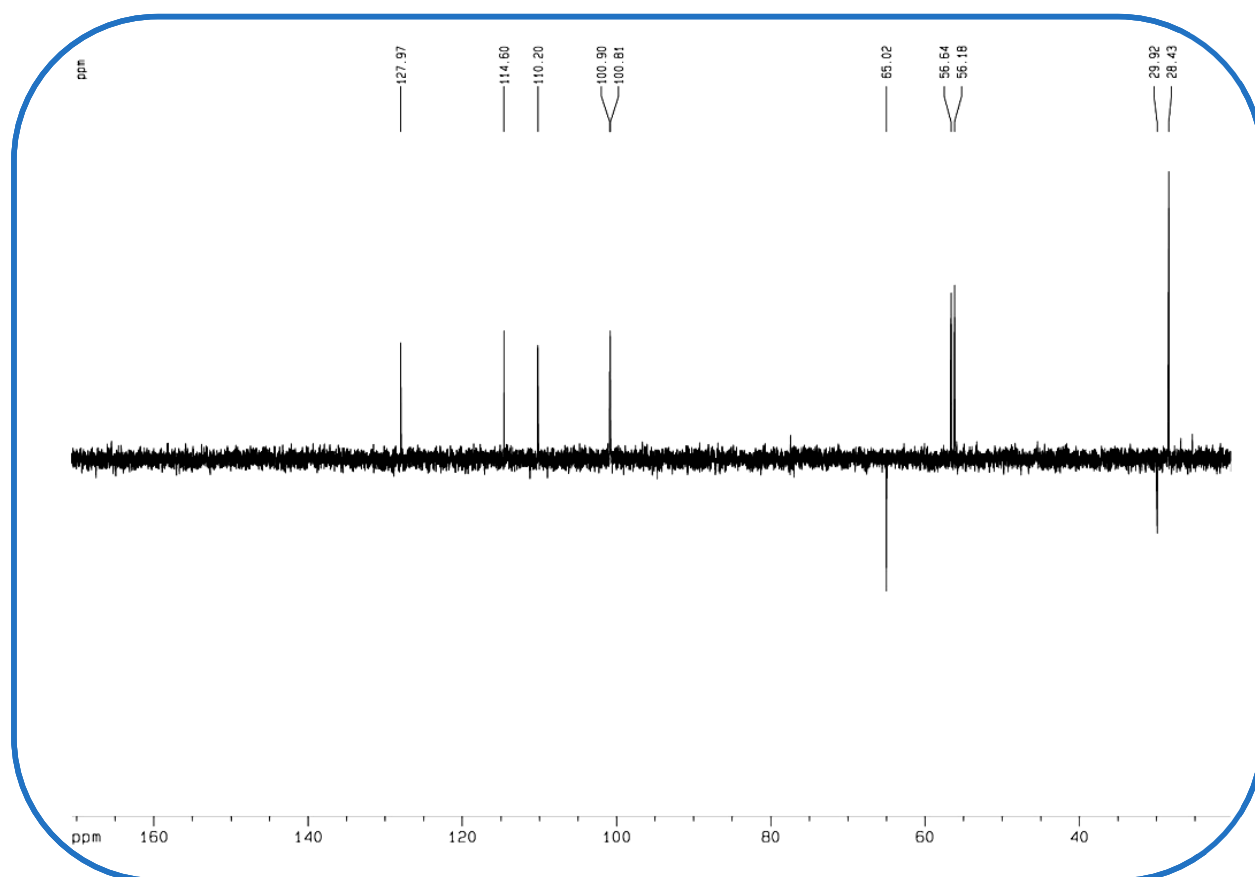


Figura 90 - Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-3

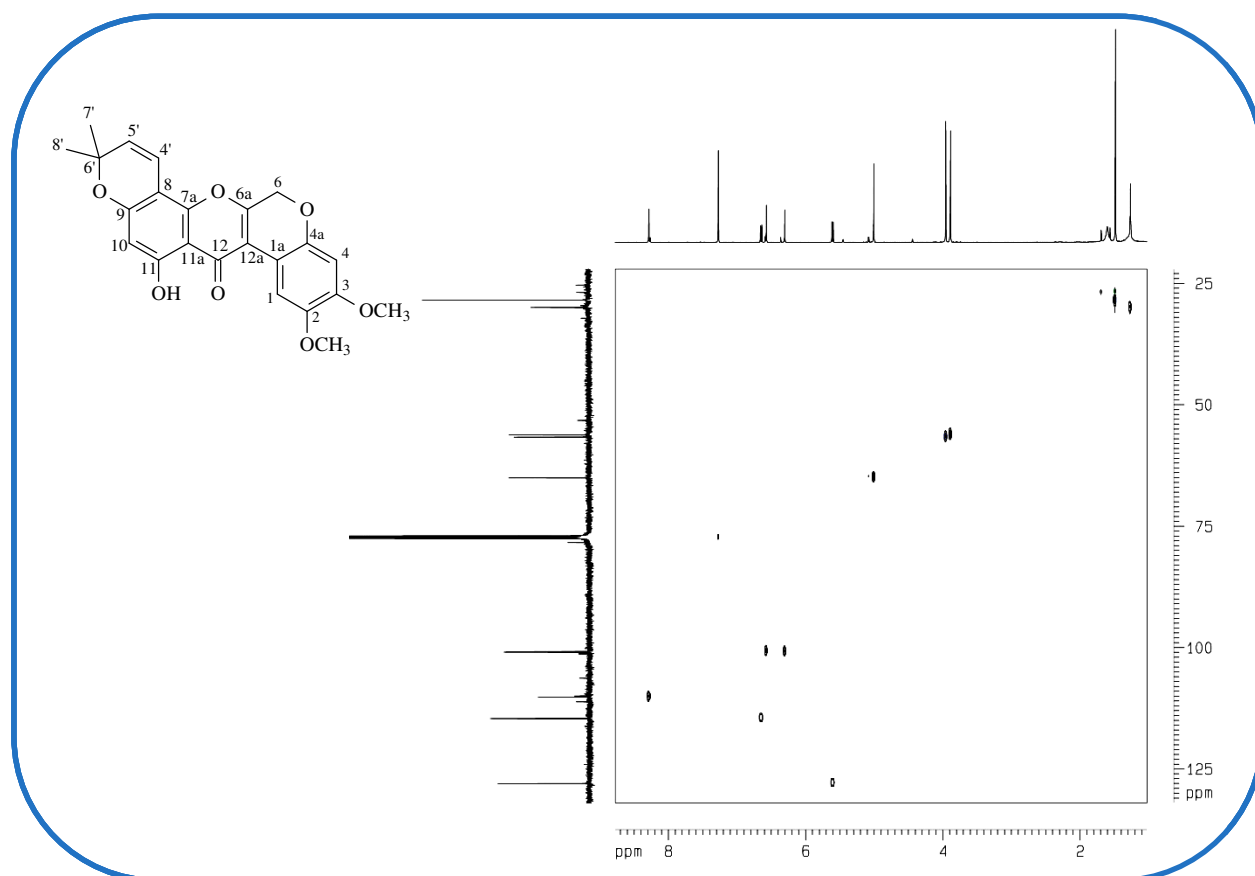


Figura 91 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-3

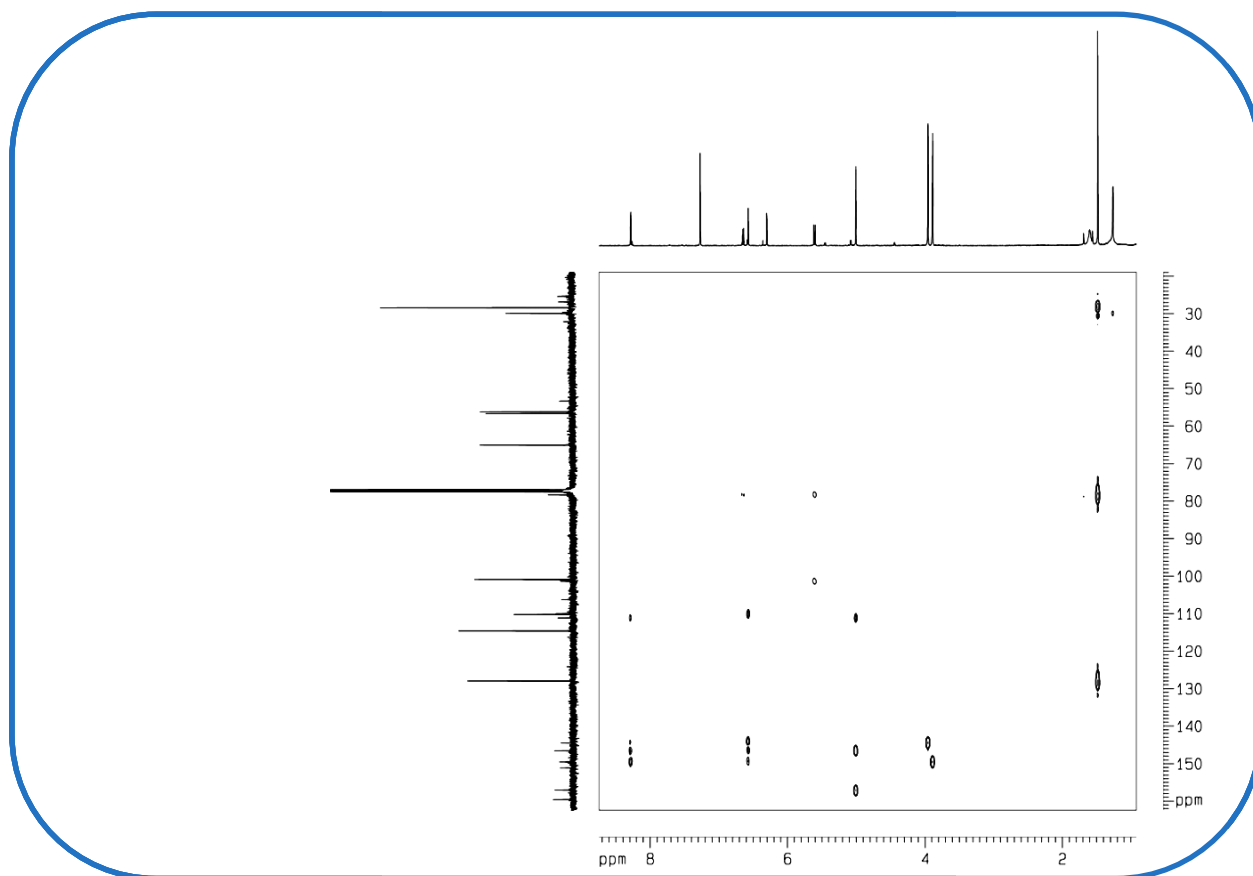


Figura 92 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-3

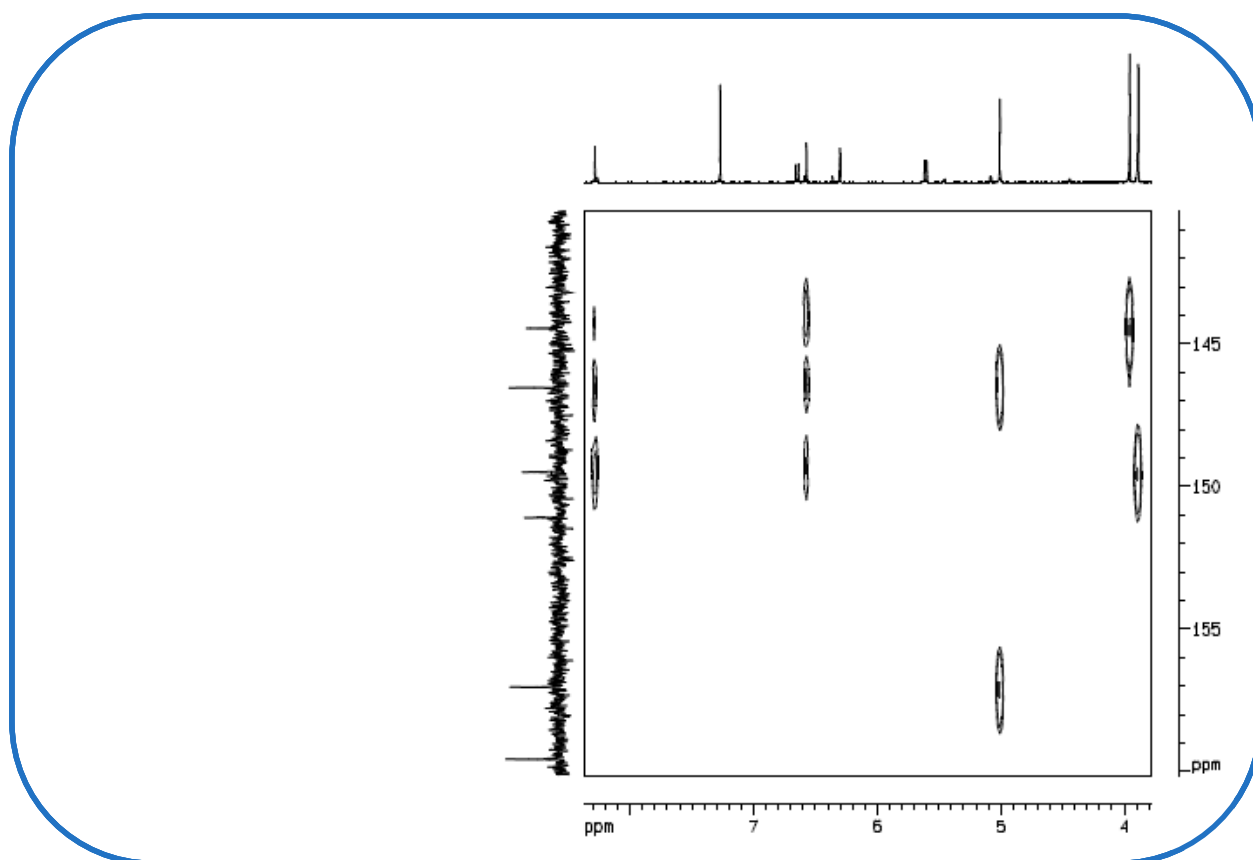


Figura 93 – Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC de TTP-3

4.9. Determinação estrutural de TTP-10

TTP-10 apresentou-se como um sólido amarelo de aspecto cristalino, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 213,6 - 215,1 °C. A amostra foi obtida do fracionamento cromatográfico de TTRASEC por CLAE (item 5.5.5.10. p. 145). Seu espectro de massa (Fig. 98, p. 103) mostrou pico íon molecular com m/z igual a 410 Da.

O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ (125 MHz, CDCl_3 , Fig. 100, p. 104) também mostrou 23 sinais espectrais, assim como os outros rotenoides. A análise comparativa desses dados com os obtidos no espectro DEPT 135° (Fig. 101, p. 105) permitiu a verificação de três carbonos metílicos (CH_3), três metilênicos (CH_2), seis metínicos (CH) e, portanto onze carbonos não hidrogenados (C). Baseado na teoria do deslocamento químico (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000) foi possível atribuir o sinal em δ 193,8 a um carbono carbonílico. Os sinais em δ 92,1, 101,4 e 110,9 foram relacionados a carbonos metínicos insaturados; os sinais em δ 88,4 e δ 72,0 a carbonos sp^3 oxigenados e hidrogenados; o sinal em δ 66,3 a um carbono metilênico também oxigenado e os sinais em δ 101,5, 104,3 e 105,0, atribuídos a carbonos insaturados não hidrogenados e não oxigenados. Seis sinais de δ 144,4 a 169,6 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 99, p. 104) mostrou um sinal em δ 12,42 (1H, s), característico de hidrogênio de hidroxila quelatogênica. Mostrou ainda dois singletos em δ 3,82 e δ 3,79, que correlacionaram no espectro de HSQC (Fig. 103, p. 106) com os sinais em δ 56,1 e δ 56,7. A semelhança desses valores com outros de compostos já descritos permitiu sugerir que se tratava das metoxilas ligadas aos carbonos C-2 e C-3 do esqueleto de um rotenoide. Sinais centrados em δ 6,87 e δ 6,46, referentes aos hidrogênios aromáticos H-1 e H-4, possibilitaram a proposta de um anel aromático 2,3,5,6-tetrassubstituído (Fig. 39, p. 66), unidade estrutural já vista nas demais estruturas. Este espectro mostrou ainda acoplamentos do carbono oximetilênico em δ 66,3 com os sinais dos hidrogênios em δ 4,17 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) e δ 4,59 (1H, dd, $J = 3,0$ e $12,0$ Hz). Um outro grupamento metilênico foi confirmado pelas correlações dos sinais de hidrogênio em δ 2,86 (1H, dd, $J = 8,0$ e $15,0$ Hz) e δ 3,24 (1H, dd, $J = 9,5$ e $15,0$ Hz) com o sinal de carbono em δ 30,8.

O sinal em δ 1,75 (3H, s), que correlacionou com o carbono em δ 17,3, confirmou a presença de uma metila. As correlações dos sinais em δ 5,06 (1H, s) e δ 4,93 (1H, s) com o sinal em δ 112,8 evidenciaram a presença de um carbono olefínico terminal em TTP-10. A ausência dos dupletos com J de 10 Hz característicos da presença do sistema dimetilcromeno nos levou a propor uma outra unidade estrutural como substituinte prenílico para o esqueleto do rotenoide. Correlações vistas no espectro de HMBC (Fig. 104, p. 106) permitiram sugerir a presença de um sistema isoprenilfurânico (Fig. 94), anel frequentemente encontrado em compostos flavonoídicos que ocorrem em plantas do gênero *Tephrosia* (LIMA, 2005).

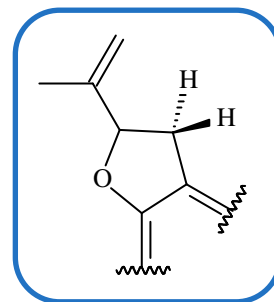


Figura 94 – Sistema isoprenilfurânico

Correlações entre o hidrogênio metilênico em δ 2,86 com os carbonos em δ 88,3 (^2J), 104,3 (^2J) e 143,2 (^3J); e entre o hidrogênio em δ 3,24 e os carbonos em δ 88,3 (^2J), 104,3 (^2J), 143,2 (^3J), 156,5 (^3J) e 169,6 (^3J). Tais correlações confirmam a sugestão da unidade estrutural proposta. Outras correlações são mostradas na Tabela 12 (p. 103).

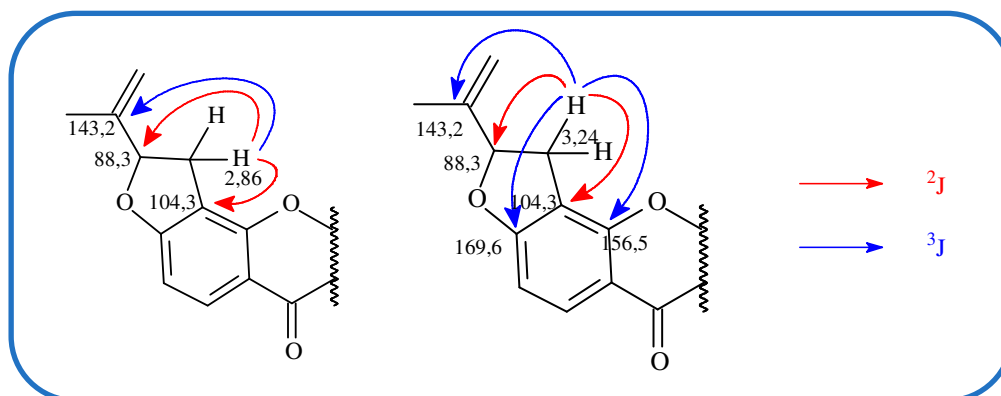


Figura 95 – Correlações de HMBC dos hidrogênios metilênicos (H-4')

Uma unidade estrutural semelhante à de TTP-4 (α -toxicarol) – Figura 52, p. 74 – pôde ser proposta para TTP-10. O espectro COSY (Fig. 102, p. 105) mostrou acoplamento geminal entre os hidrogênios centrados em δ 4,59 (1H, dd, J = 3,0 e 12,0 Hz) e δ 4,17 (1H, d, J = 12,0 Hz). Foi observado também um tripleto em δ 4,88 (1H, J = 3,0 Hz), e um duplete em δ 3,85 (1H, J = 4,0 Hz).

A análise dos dados espectroscópicos de TTP-10, aliada a comparação dos mesmos com dados descritos na literatura (BLATT *et al.*, 2002; DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989), permitiram afirmar que se tratava do rotenoide sumatrol, já

isolado de *T. toxicaria* (JANG *et al.*, 2003). Correlações vistas no espectro de HMBC a duas (^2J) e três ligações (^3J) dão suporte à proposta estrutural. No entanto, observou-se uma diferença no assinalamento dos carbonos 11 e 9 descritos na literatura. A análise detalhada do espectro de HMBC permitiu a atribuição de forma inequívoca dos deslocamentos para estes carbonos. O acoplamento do hidrogênio hidroxílico (δ 12,42) com o carbono em δ 166,4 confirma este valor para C-11, ao invés de δ 169,7. O acoplamento de H-4' (δ 3,24) a três ligações (^3J) com o carbono em 169,6 permitiu confirmar que esse era o carbono C-9, e não δ 166,4 (Tab. 12, p. 103).

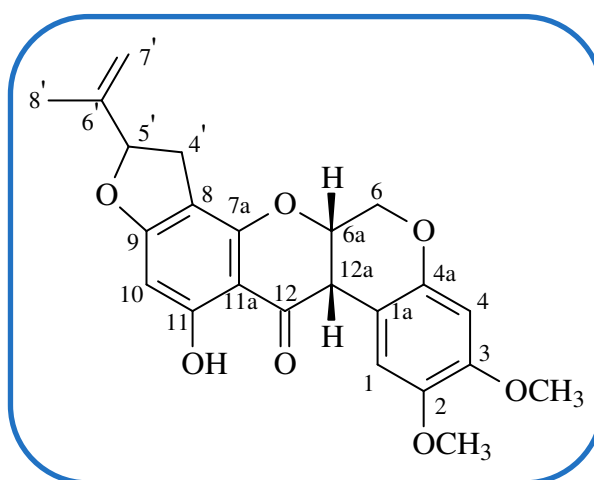


Figura 96 – Estrutura de TTP-10 (sumatrol)

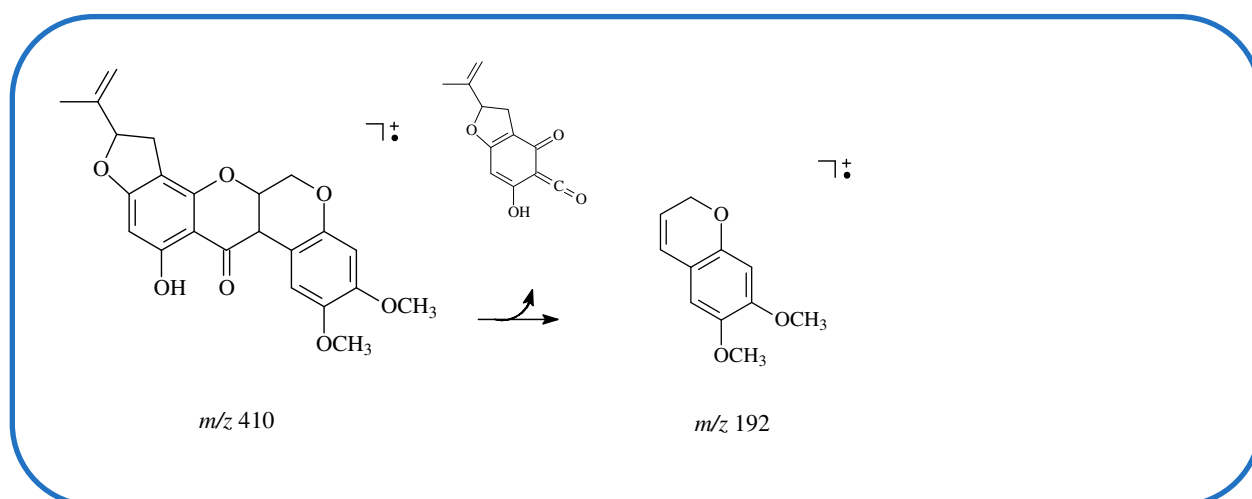
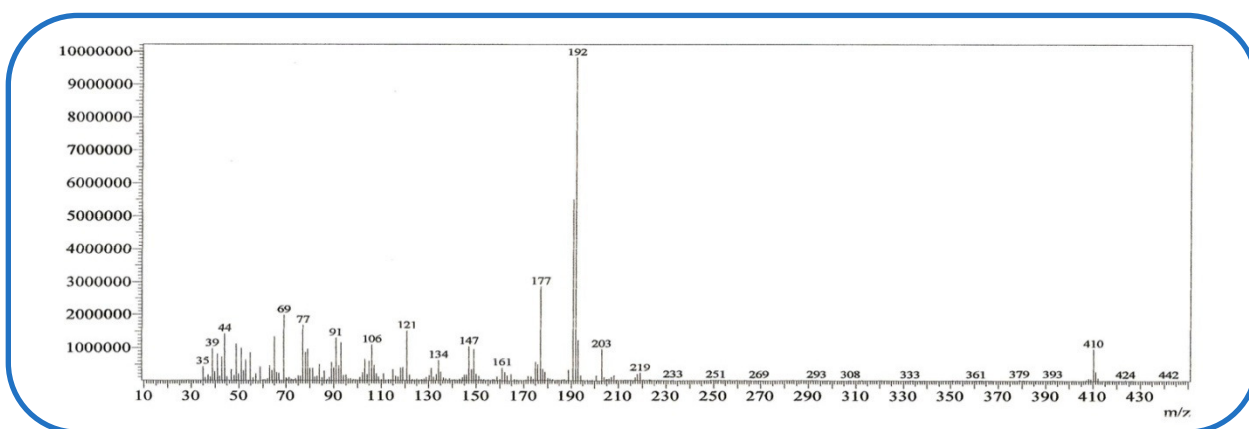


Figura 97 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-10

Tabela 12 - Dados espectroscópicos de TTP-10 comparados com os da literatura / CDCl₃

C	TTP-10				LIT. ¹	LIT. ²
	δ H (mult., J / Hz)	δ ¹³ C	² J _{C-H}	³ J _{C-H}	δ H	δ ¹³ C
1a	-	105,0			-	105,0
1	6,87 (s)	110,9	C-1a; C-2	C-12a; C-3	6,86 (s)	110,6
2	-	144,4			-	144,3
3	-	150,1			-	150,0
4	6,46 (s)	101,4	C-4a; C-3	C-1a; C-2	6,46 (s)	101,3
4a	-	147,6			-	147,6
6	4,59 (dd, 12,0 e 3,0 H _{ax}) 4,17 (d, 12,0 H _{eq})	66,3	C-6a C-6a	C-12a; C-4a C-12a	4,59 (dd, 12,2 e 2,8 H _{ax}) 4,15 (d, 12,2 H _{eq})	66,4
6a	4,88 (t, 3,0)	72,0			4,88 (t, 3,6)	72,1
7a	-	156,5			-	156,6
8	-	104,3			-	104,5
9	-	169,6			-	166,4
10	6,02 (s)	92,1	C-9; C-11	C-11a; C-8	6,01 (s)	92,3
11 (OH)	12,42 (s)	166,4	C-11	C-10; C-11a	12,40 (s)	169,7
11a	-	101,5			-	101,6
12	-	193,8			-	194,0
12a	3,85 (d, 4,0)	44,0	C-12; C-1a	C-11a; C-1	3,84 (d, 3,6)	44,0
4'	2,86 (dd, 15,0 e 8,0) 3,24 (dd, 15,0 e 9,5)	30,9	C-5'; C-8	C-6'; C-7a; C-9	2,85 (dd, 15,9 e 8,3) 3,23 (dd, 15,9 e 9,8)	30,9
5'	5,20 (t, 8,5)	88,4		C-7'	5,20 (t, 8,3)	88,5
6'	-	143,2			-	143,3
7'	4,93 (s) 5,06 (s)	112,8		C-8'; C-5'	4,93 (s) 5,06 (s)	113,1
8'	1,75 (s)	17,3	C-6'	C-5'; C-7'	1,75 (s)	17,4
OCH₃ (2)	3,79 (s)	56,7		C-2	3,79 (s)	56,7
OCH₃ (3)	3,82 (s)	56,2		C-3	3,82 (s)	56,2

¹ DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989² BLATT *et al.*, 2002**Figura 98** - Espectro de massa de TTP-10

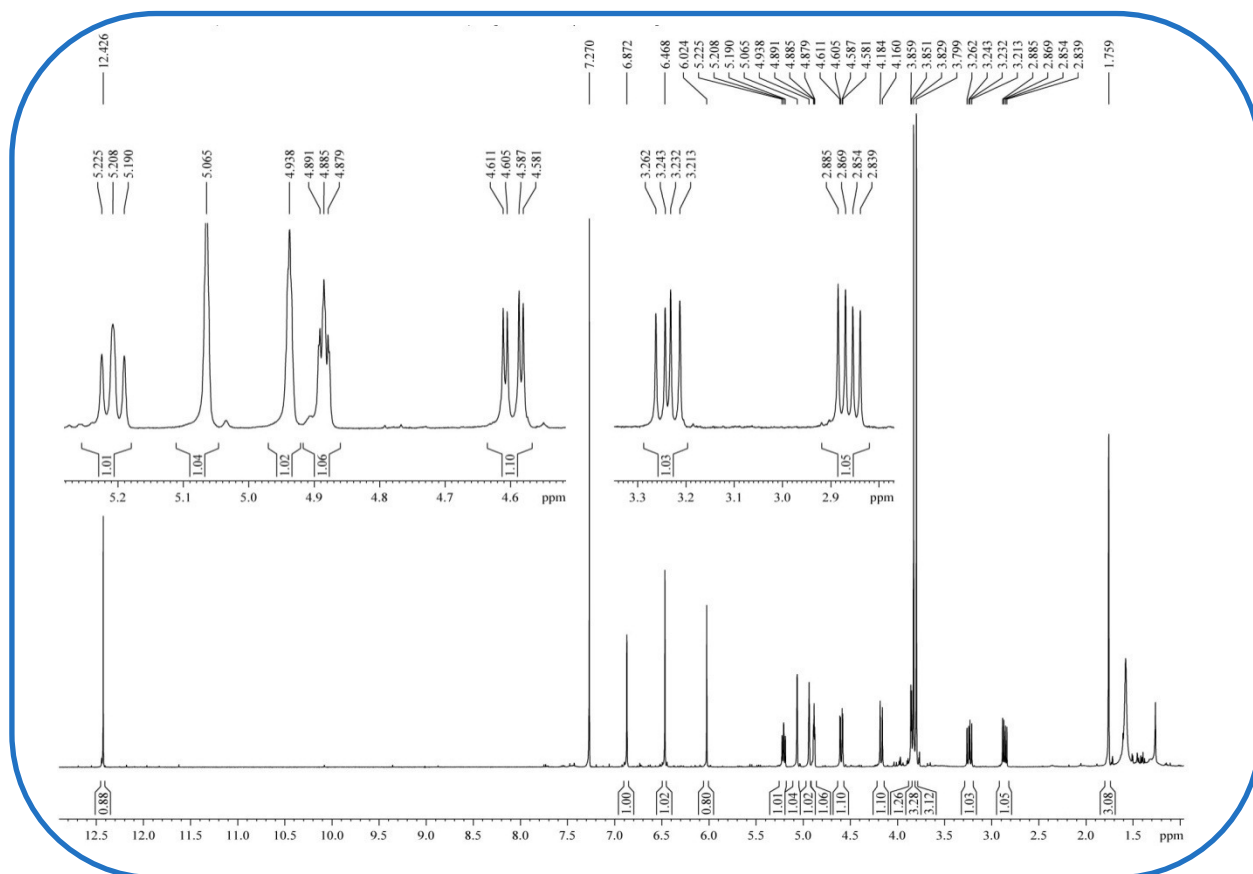


Figura 99 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-10

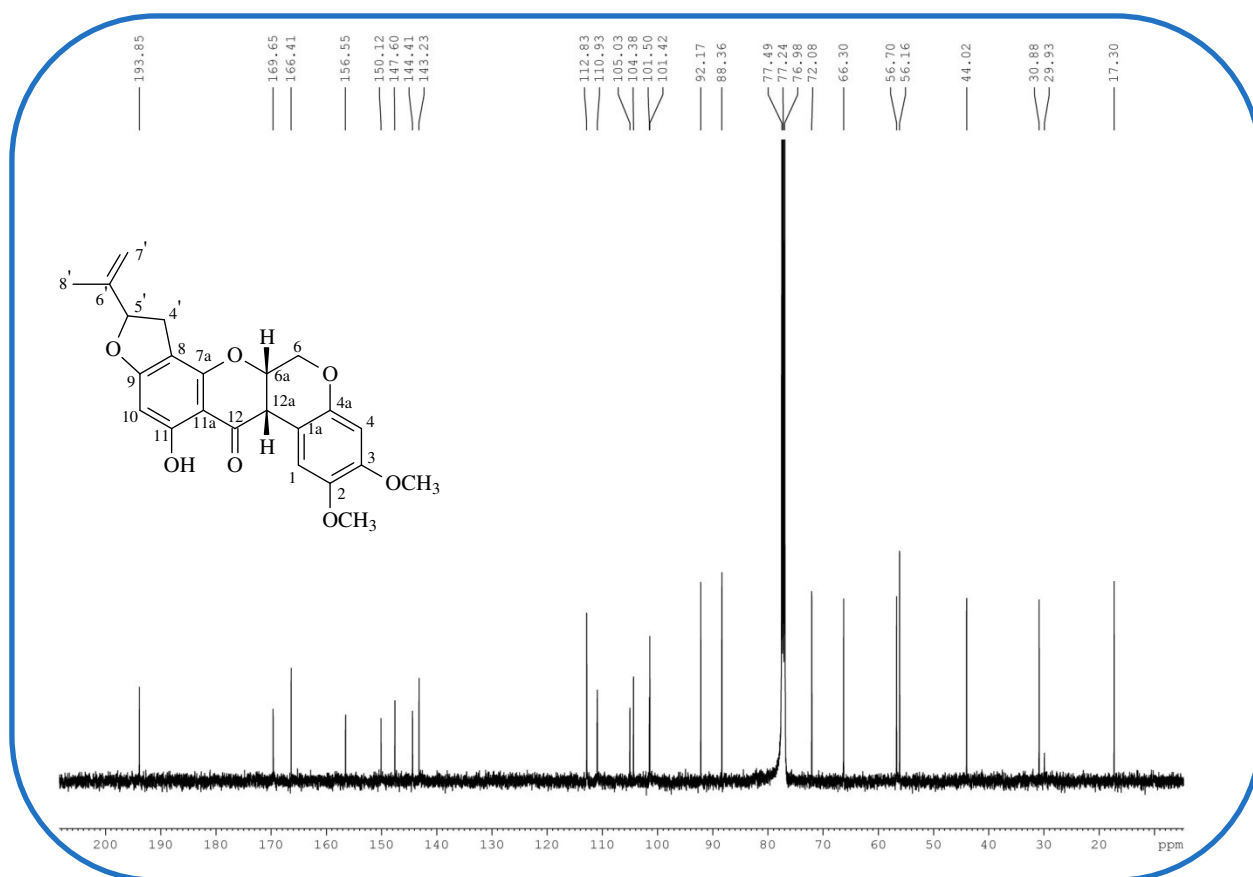


Figura 100 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-10

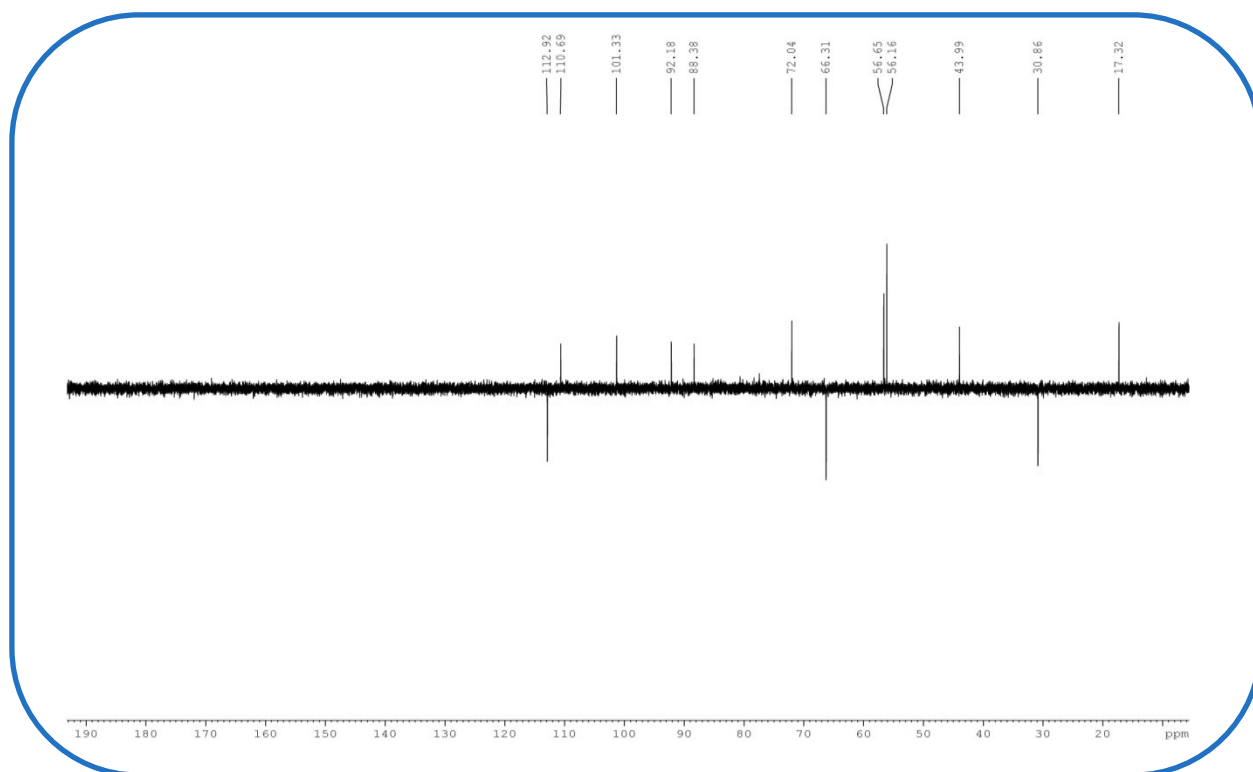


Figura 101 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-10

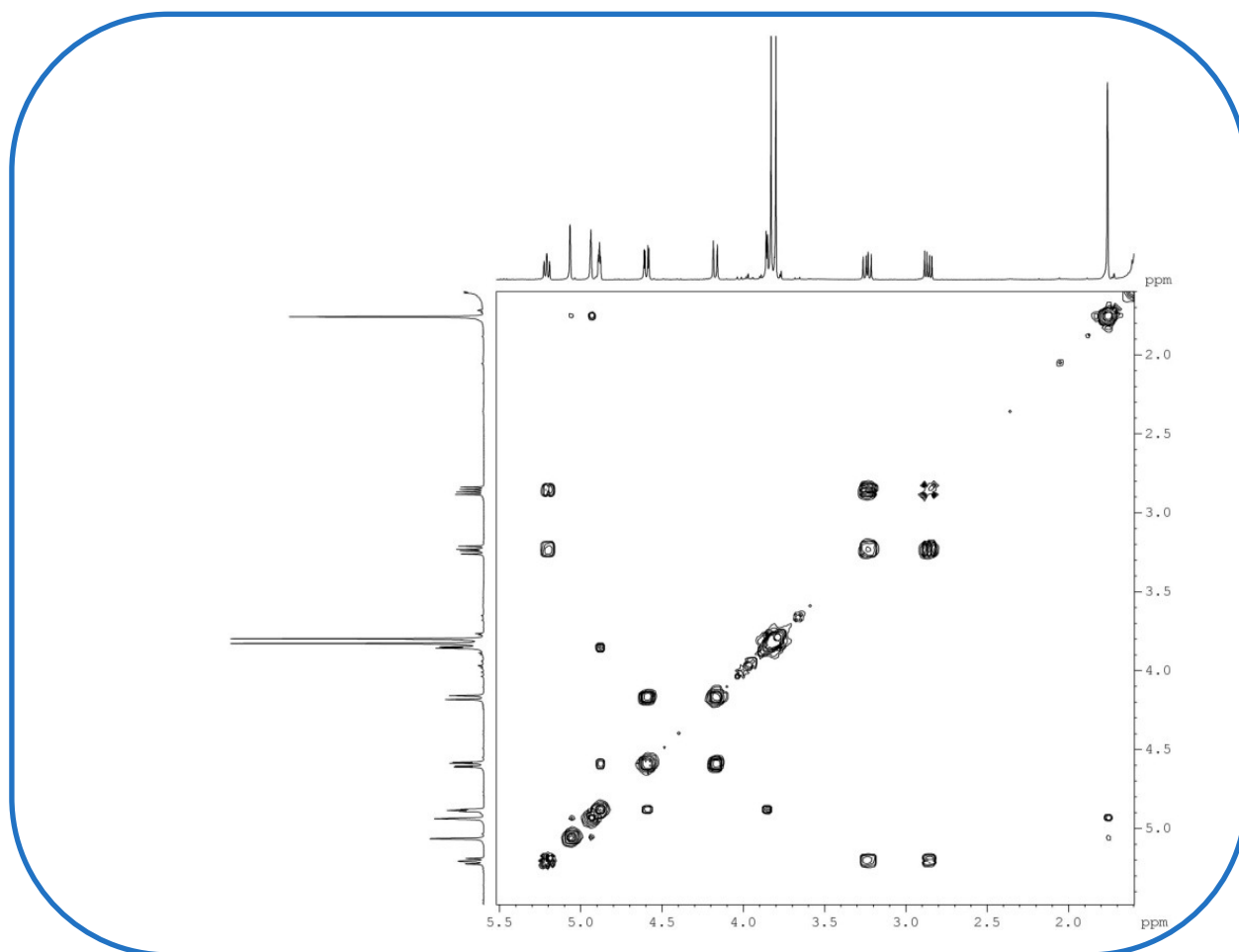


Figura 102 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-10

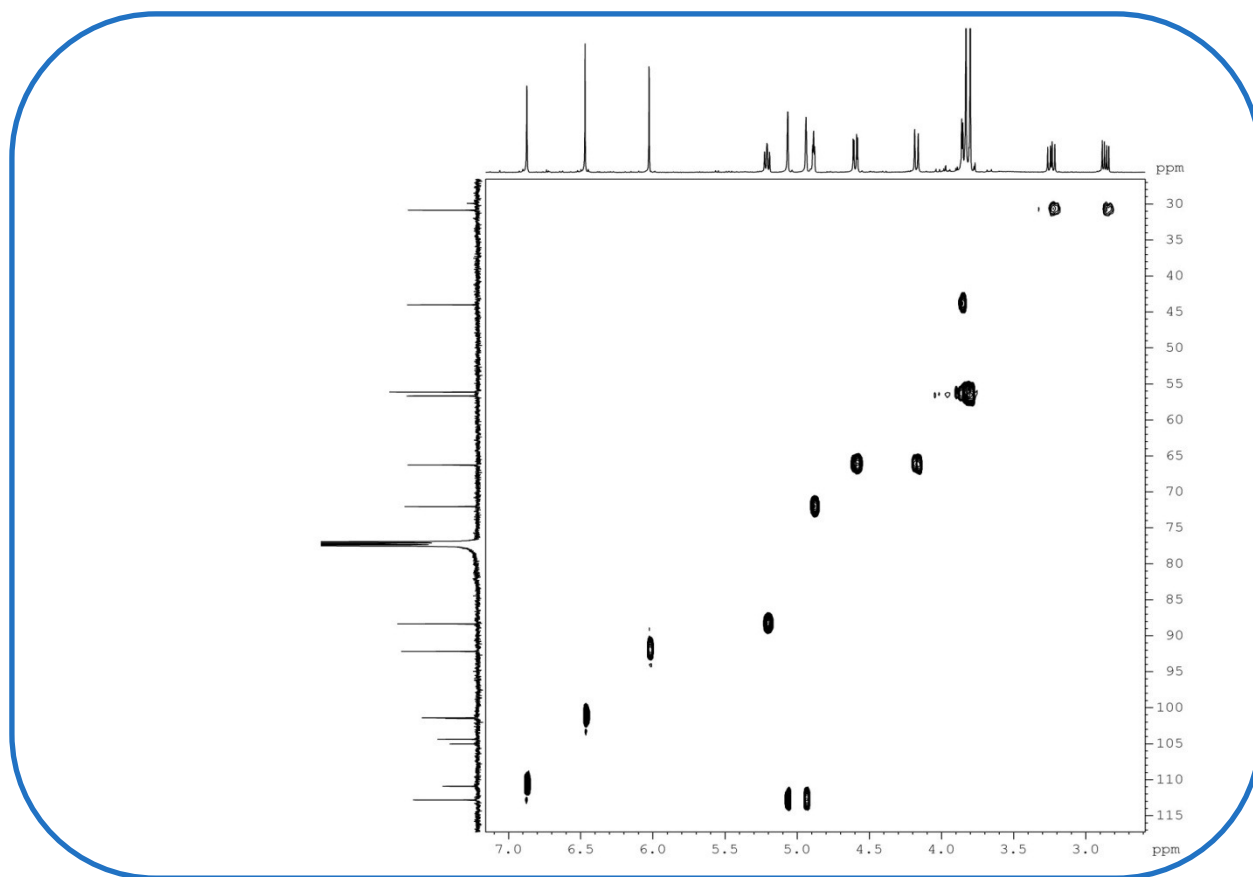


Figura 103 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-10

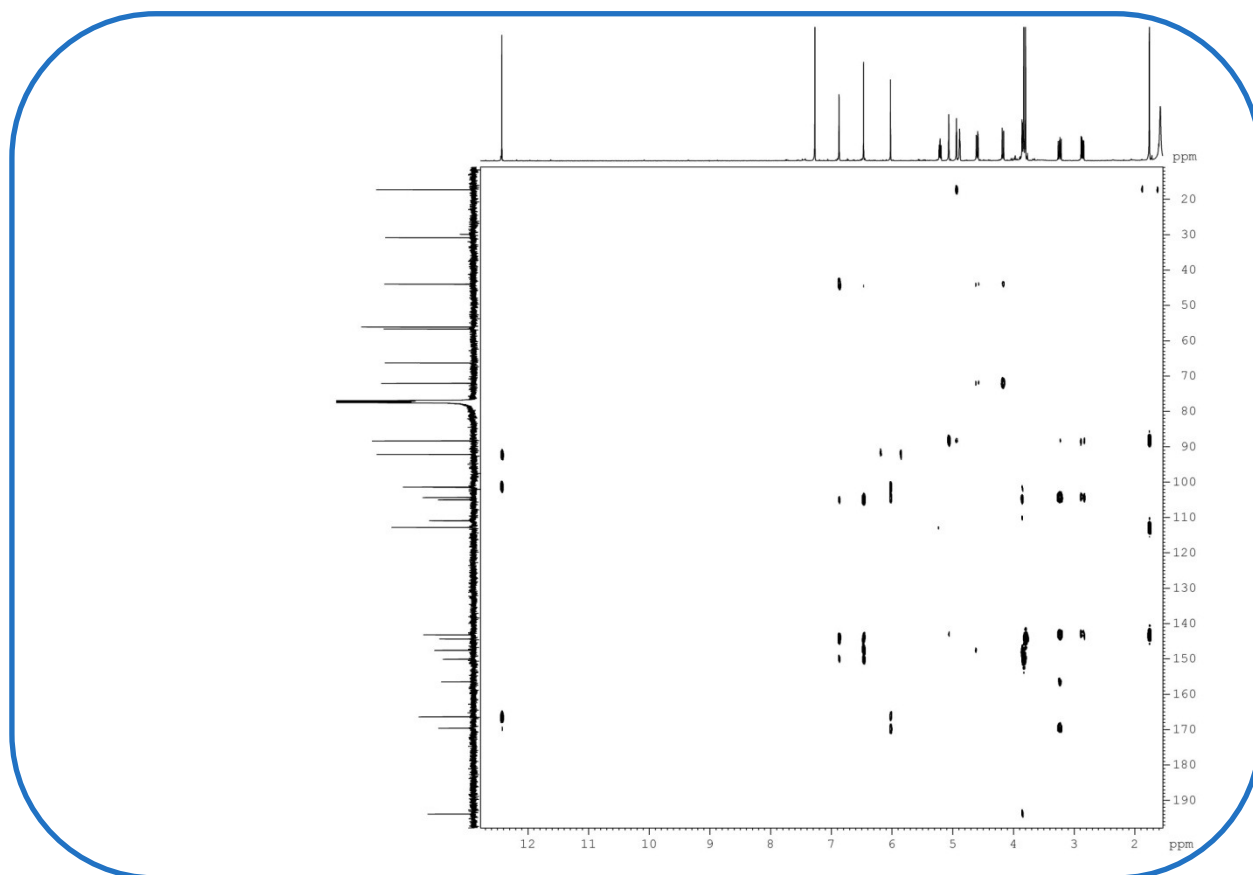


Figura 104 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-10

4.10. Determinação estrutural de TTP-11

Sucessivas separações em gel de sílica e por CLAE do extrato TTRASEC conduziram ao isolamento de um composto sólido amarelo de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 152,2 - 153,7 °C denominado TTP-11 (item 5.5.5.12., p. 147). O seu espectro de massa (Fig. 107, p. 109) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 410 Da.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , Fig. 108, p. 110) de TTP-11 mostrou dois sinais em δ 2,94 e δ 3,29 (1H, dd, $J = 9,0$ e $16,0$ Hz), que correlacionaram no espectro de HSQC (Fig. 112, p. 110) com o sinal de carbono em δ 31,4 ppm. Mostrou ainda sinais em δ 1,76 (3H, s), δ 4,94 (1H, s) e 5,07 (1H, s); e um tripleto em δ 5,24 (1H, $J = 9$ Hz). Esses sinais sugerem a presença de um sistema isoprenilfurânico (Fig. 94, p. 101) semelhante ao de TTP-10 (sumatrol).

Seu espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ (Fig. 109, p. 110) também mostrou 23 sinais espectrais, assim como os outros rotenoides. O padrão de hidrogenação dos mesmos foi verificado pela análise do espectro bidimensional HSQC. O sinal em δ 191,3 foi atribuído a um carbono carbonílico; sinais em δ 101,4, 105,5, 110,0 e 130,3 foram relacionados a carbonos metínicos insaturados; em δ 76,4 e δ 88,2 carbonos sp^3 oxigenados e hidrogenados; o sinal em δ 64,1 a um carbono metilênico também oxigenado; e os sinais em δ 109,1, 112,0 e 113,4, atribuídos a carbonos insaturados não hidrogenados e não oxigenados. Cinco sinais de δ 144,4 a 168,3 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados.

O espectro de RMN ^1H mostrou ainda dois sinais em δ 6,55 (1H, s) e δ 6,49 (1H, s), sinais atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-4, respectivamente, do esqueleto de um rotenoide. Dois dupletos em δ 6,54 e δ 7,83 (1H, $J = 8,5$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-10 e H-11 do referido flavonoide, semelhante ao observado em TTP-6 (deguelina). Dois singletos em δ 3,82 e δ 3,79, que correlacionaram no espectro de HSQC com os sinais em δ 56,1 e δ 56,7 foram atribuídos às metoxilas ligadas aos carbonos C-2 e C-3. Esses sinais possibilitaram a proposta de um anel aromático 2,3,5,6-tetrassubstituído (Fig. 39, p. 66) como o proposto para as demais estruturas.

Foi proposta uma unidade estrutural semelhante à de TTP-12 (Fig. 64, p. 82) devido a presença dos sinais em δ 4,50 (1H, d, $J = 12,0$), δ 4,61 (1H, dd, $J = 2,5$ e $12,0$), δ 4,59 (m) e δ 4,46 (s). O espectro COSY (Fig. 110, p. 111) confirmou os acoplamentos.

A avaliação dos dados espectroscópicos de TTP-11 e a comparação destes com os de TTP-6 (sumatrol) mostraram uma pequena diferença entre as duas estruturas. O surgimento dos dupletos em δ 6,54 e 7,83 e o desaparecimento do sinal referente à hidroxila quelatogênica, do sumatrol; o desaparecimento do duplete em δ 3,85 acompanhado do surgimento de um sinal em δ 4,46 (1H, s), permitiram propor que se tratava do também rotenoide 12a-hidroxirotenona, isolado de *T. uniflora* (ABREU; LUIS, 1996), *T. pentaphylla* (DAGNE; YENESEW; WATERMAN, 1989), *T. candida* (PARMAR, *et al.*, 1988) e ainda não isolado de *T. toxicaria*. Dados de RMN ^{13}C da literatura corroboram com a proposta (PHRUTIVORAPONGKUL *et al.*, 2002). Correlações vistas no espectro de HMBC (Fig. 112, p. 112), a duas (^2J) e três ligações (^3J), reforçaram a proposição estrutural (Tab. 13, p. 109).

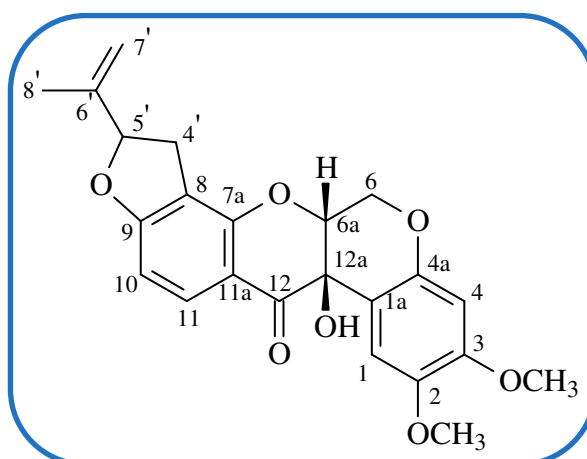


Figura 105 – Estrutura de TTP-11 (12a-hidroxirotenona)

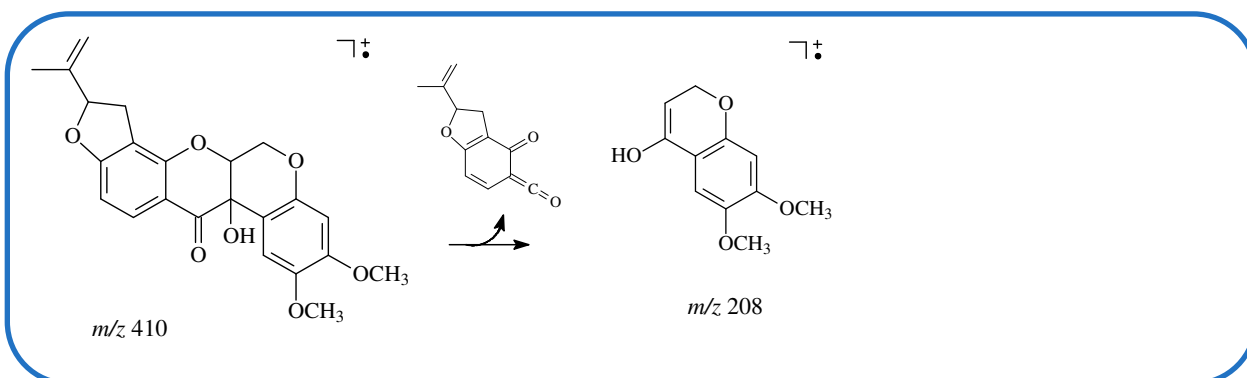


Figura 106 – Proposta de fragmentações de massa de TTP-11

Tabela 13 - Dados espectroscópicos de TTP-11 comparados com os da literatura (PHRUTIVORAPONGKUL *et al.*, 2002)/ ^{*} CDCl₃

C	TTP-11				LIT.	
	δ H (mult., J / Hz)	δ ¹³ C	² J _{C-H}	³ J _{C-H}	δ H	δ ¹³ C
1a	-	109,1			-	108,7
1	6,55 (s)	110,0	C-1a; C-2	C-12a; C-3	6,55 (s)	109,3
2	-	144,1			-	143,9
3	-	151,5			-	151,1
4	6,49 (s)	101,4	C-4a; C-3	C-1a; C-2	6,48 (s)	101,0
4a	-	148,7			-	148,3
6	4,50 (d, 12,0 H _{eq}) 4,61 (dd, 12,0 e 2,5 H _{ax})	64,1	C-6a C-6a	C-12a C-4a	4,50 (m) 4,62 (m)	63,8
6a	4,59 (m)	76,4			4,58 (m)	76,0
7a	-	157,9			-	157,7
8	-	113,4			-	113,2
9	-	168,3			-	168,0
10	6,54 (d, 8,5)	105,5	C-9	C-11a; C-8	6,53 (d, 8,5)	105,3
11	7,83 (d, 8,5)	130,3		C-9; C-12	7,82 (d, 8,5)	130,1
11a	-	112,0			-	111,7
12	-	191,3			-	191,1
12a (OH)	4,46 (s)	67,8	C-12a	C-2	-	67,5
4'	2,94 (dd, 16,0 e 9,0) 3,29 (dd, 16,0 e 9,0)	31,4	C-5'; C-8	C-6'; C-7a; C-9	2,94 (dd, 16 e 9) 3,29 (dd, 16 e 9)	31,1
5'	5,24 (t, 9,0)	88,2	C-6'	C-7'; C-8'	5,24 (t, 9,0)	87,9
6'	-	143,1			-	142,8
7'	4,94 (s) 5,07 (s)	112,8	C-6'	C-5'; C-8'	4,94 (s) 5,07 (s)	112,7
8'	1,76 (s)	17,3	C-6'	C-5'; C-7'	1,76 (s)	17,1
OCH₃ (2)	3,73 (s)	56,7		C-2	3,72 (s)	56,3
OCH₃ (3)	3,83 (s)	56,1		C-3	3,82 (s)	55,8

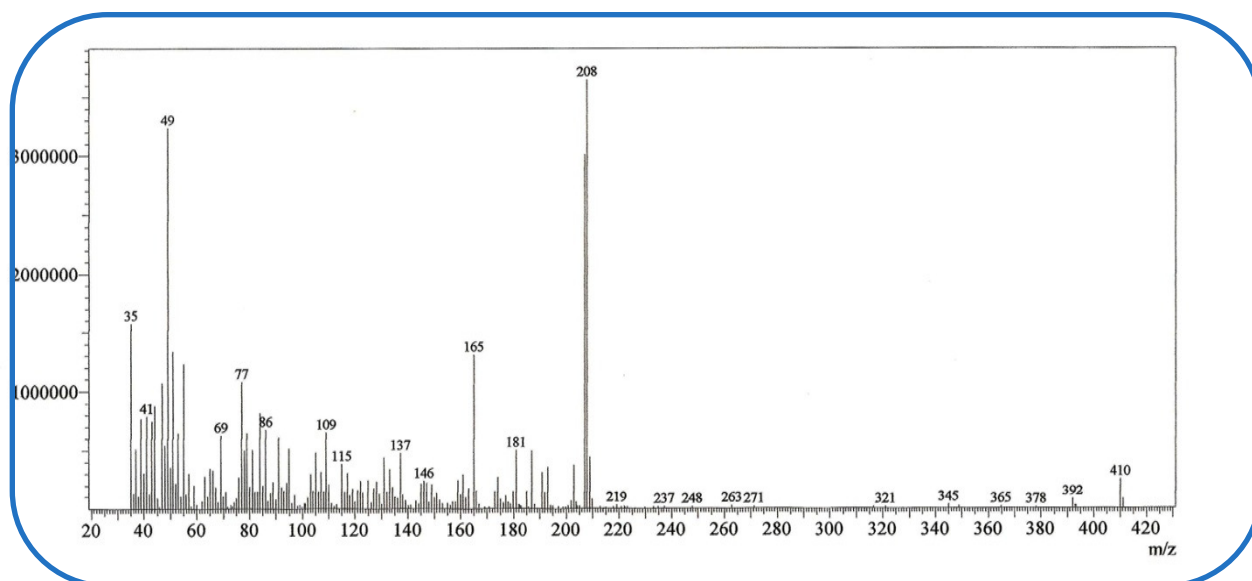


Figura 107 - Espectro de massa de TTP-11

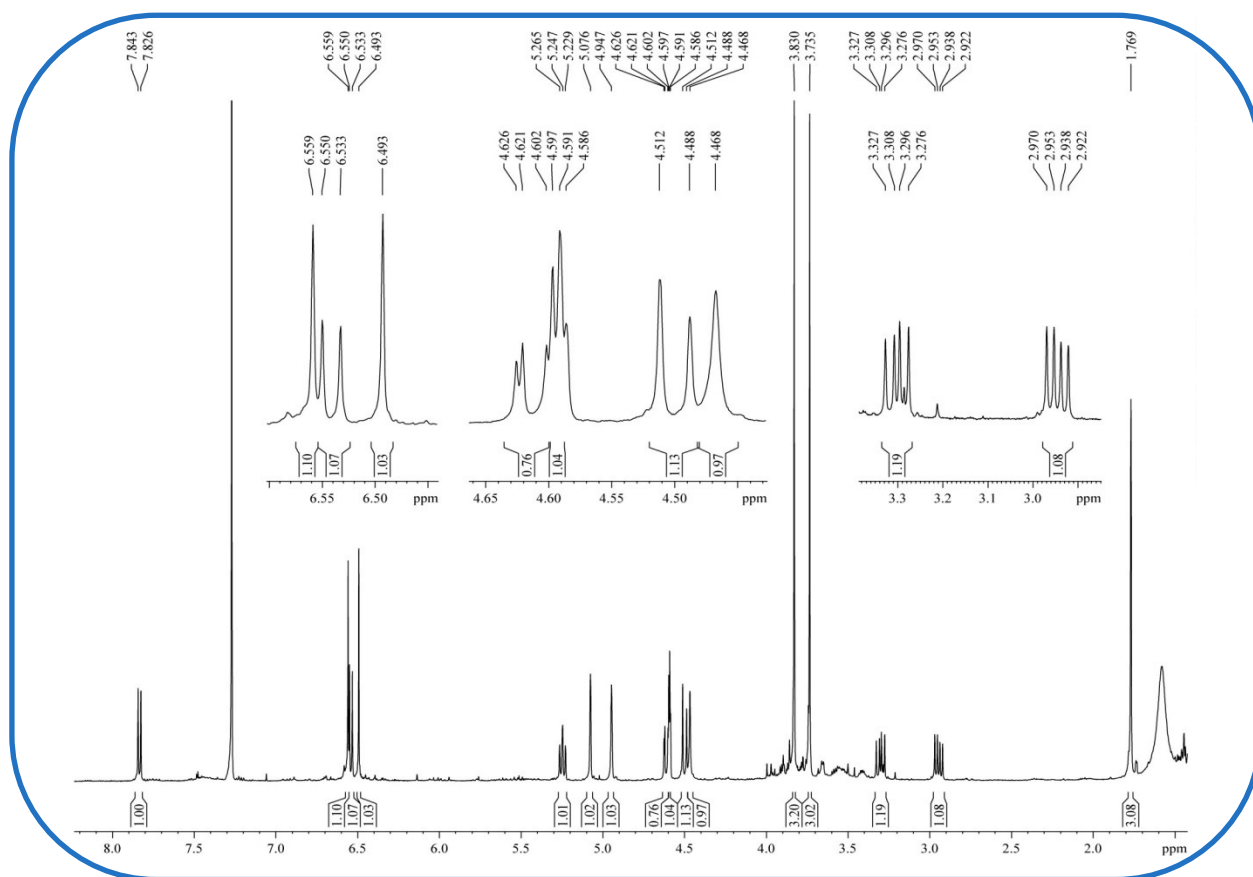


Figura 108 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-11

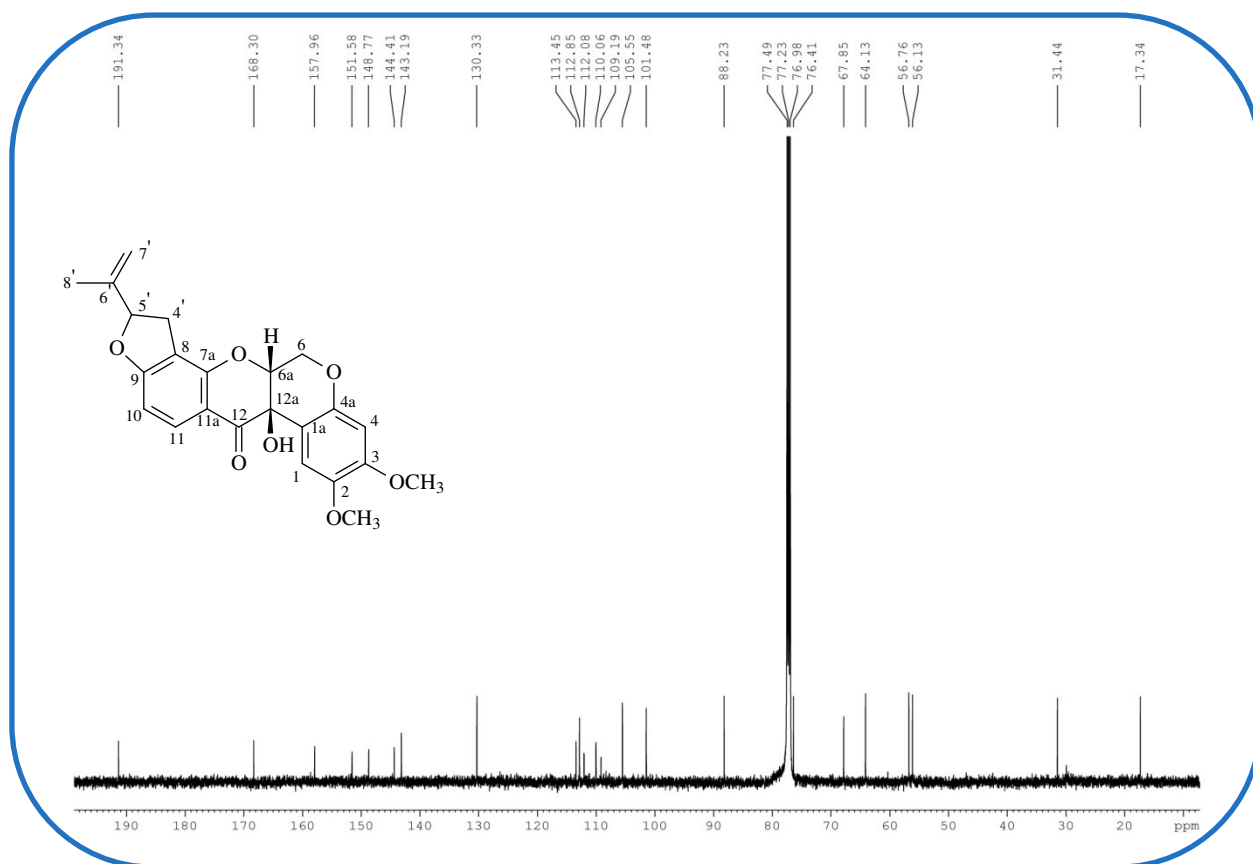


Figura 109 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-11

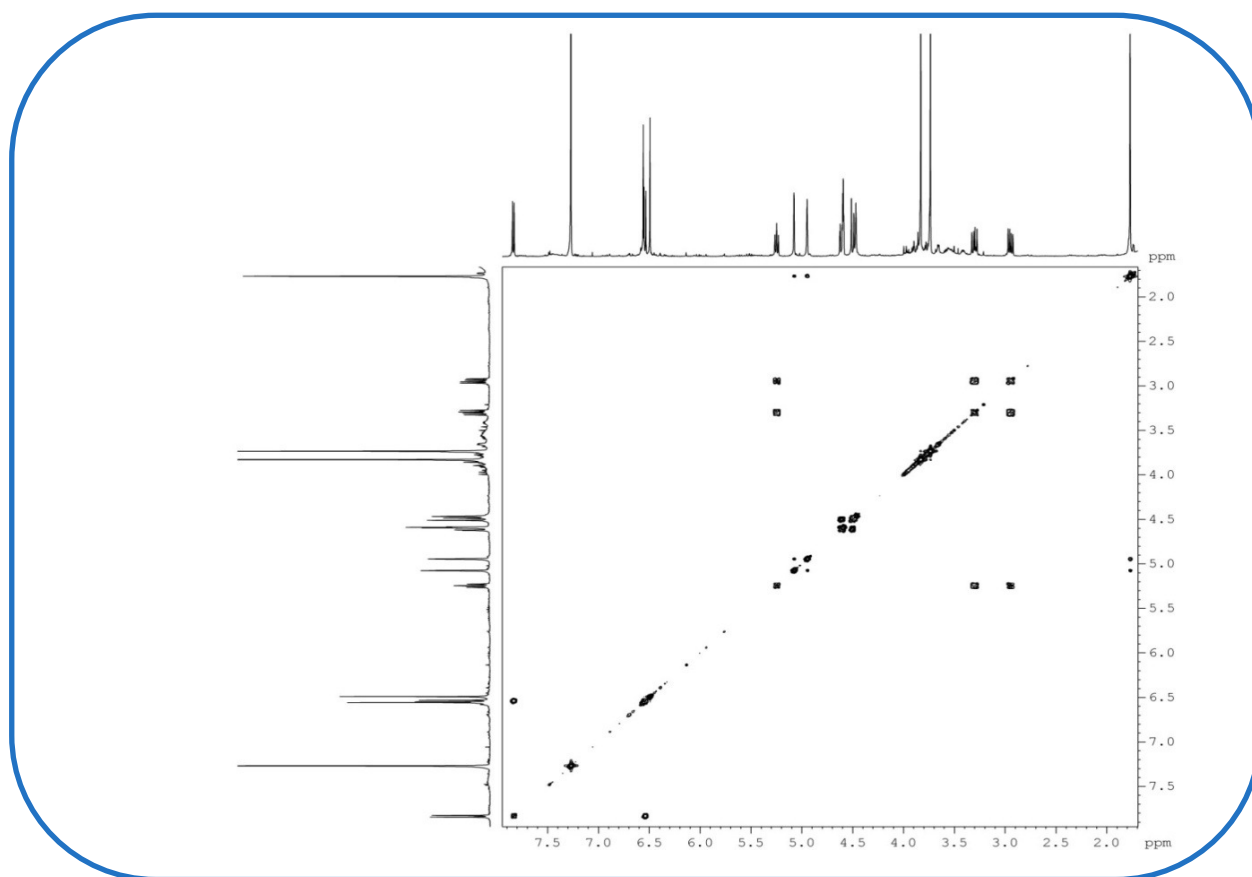


Figura 110 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-11

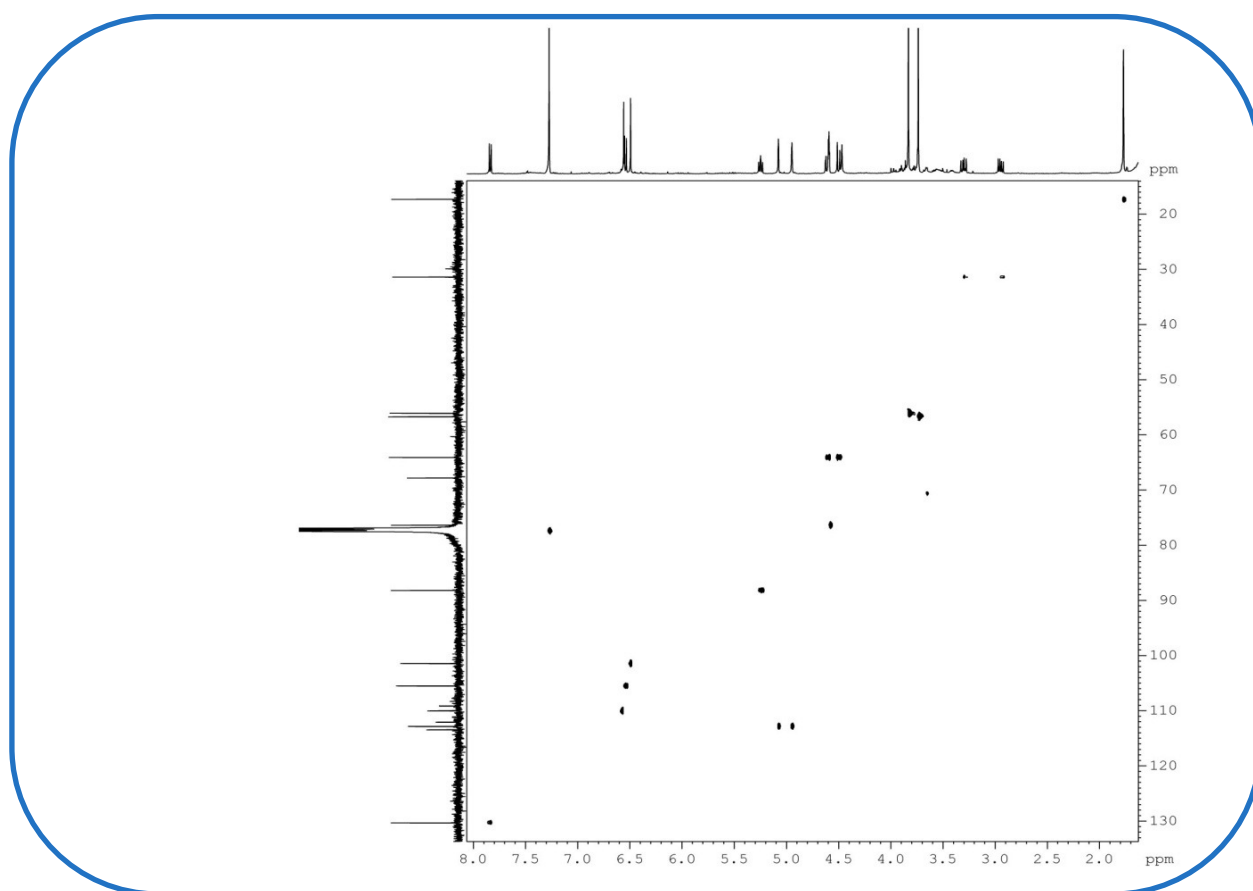


Figura 111 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-11

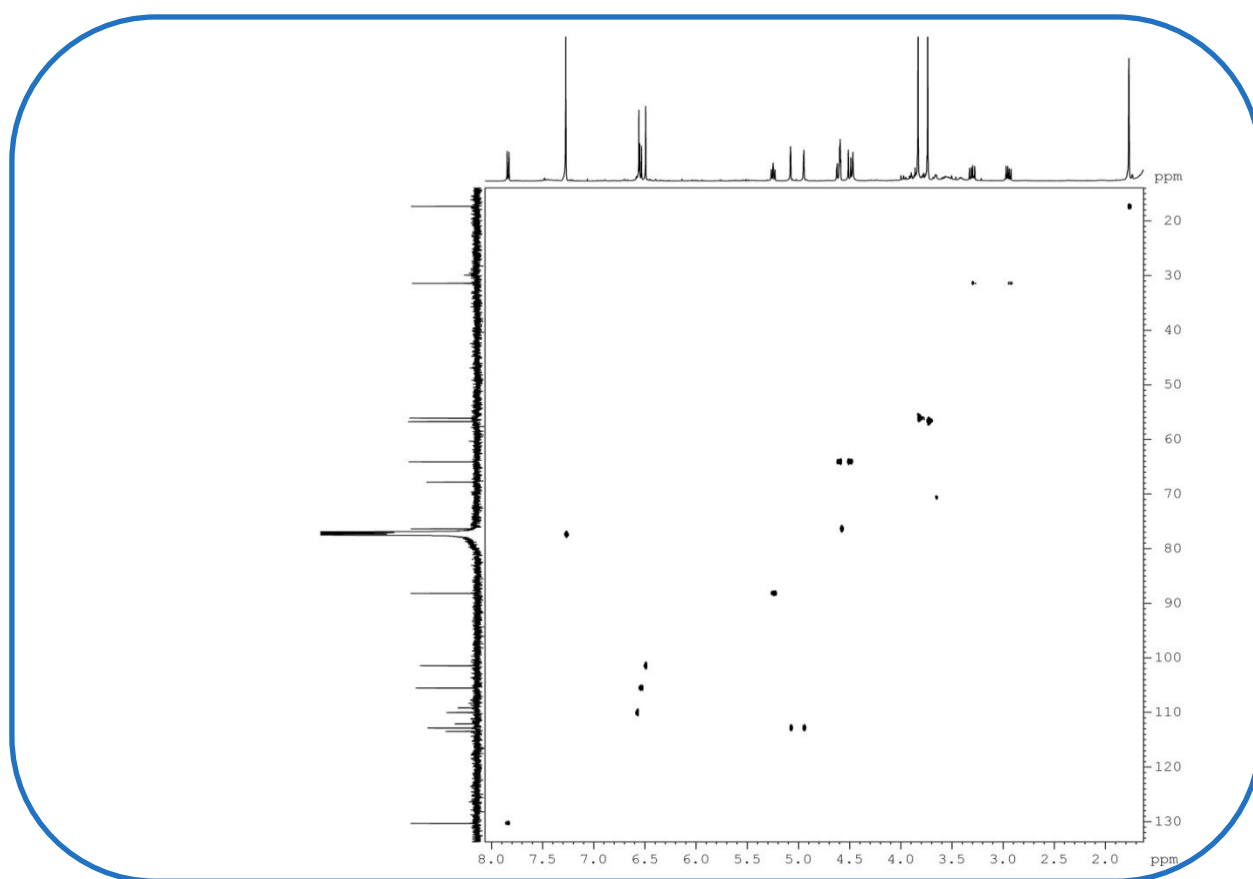


Figura 112 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-11

4.11. Determinação estrutural de TTP-8

Obtido por vários fracionamentos cromatográficos de TTRASEC em gel de sílica e por CLAE (item 5.5.5.12. p. 147), TTP-8 mostrou-se como um sólido alaranjado, de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio. O seu espectro de massa (Fig. 115, p. 116) mostrou o pico íon molecular com m/z igual a 426 Da.

O seu espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ (125 MHz, CDCl_3 , Fig. 117, p. 116) também mostrou 23 sinais espectrais, assim como os demais rotenoides. A comparação desses dados com os obtidos no espectro DEPT 135° (Fig. 118, p. 117) permitiu verificar a existência de três carbonos metílicos (CH_3), três metilênicos (CH_2), seis metínicos (CH) e portanto onze carbonos não hidrogenados (C). O sinal em δ 194,4 foi atribuído a um carbono carbonílico; sinais em δ 92,5, 101,4 e 109,7 foram relacionados a carbonos metínicos insaturados; em δ 75,8 e δ 88,7 carbonos sp^3 oxigenados e hidrogenados; o sinal em δ 63,9 a um carbono metilênico também oxigenado; e os sinais em δ 100,2, 105,0 e 109,0 atribuídos a carbonos insaturados não hidrogenados e não oxigenados. Seis sinais de δ 144,4 a 170,4 indicaram a presença de carbonos sp^2 oxigenados.

Seu espectro de RMN ^1H (Fig. 116, p. 116) mostrou dois sinais em δ 2,84 e δ 3,20 (1H, dd, $J = 9,5$ e $15,0$ Hz), que mostraram correlações com o carbono em δ 30,8 ppm, no espectro de HSQC (Fig. 120, p. 118); sinais em δ 1,74 (3H, s), δ 4,93 (1H, s) e 5,05 (1H, s); e um tripleto em δ 5,20 (1H, $J = 8,5$ Hz), sinais que sugeriram a presença do sistema isoprenilfurânico (Fig. 94, p. 101) semelhante ao de TTP-10 (sumatrol).

O espectro de RMN ^1H mostrou ainda um sinal em δ 11,83 (1H, s), atribuído a hidrogênio de hidroxila quelatogênica; sinais em δ 3,76 e δ 3,83 (3H, s), que correlacionaram no espectro de HSQC com os sinais em δ 56,7 e δ 56,2, respectivamente, atribuídos às metoxilas ligadas aos carbonos C-2 e C-3 de um rotenoide. Foi proposto um anel aromático 2,3,5,6-tetrassubstituído (Fig. 39, p. 66), semelhante ao dos demais rotenoides, e os sinais em δ 6,49 e δ 6,71, atribuídos aos hidrogênios aromáticos H-1 e H-4. O espectro de HSQC mostrou também acoplamentos do carbono oximetilênico em δ 63,9 com os hidrogênios em δ 4,47 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) e δ 4,58 (1H, dd, $J = 2,5$ e $12,0$ Hz).

Uma unidade estrutural semelhante à de TTP-12 (Fig. 64, p. 82) foi proposta devido a presença dos sinais em δ 4,47 (1H, d, $J = 12,0$ Hz), δ 4,58 (1H, dd, $J = 2,5$ e $12,0$ Hz), δ 4,55 (sl) e δ 4,18 (s).

A análise dos dados espectroscópicos de TTP-8 e a comparação destes com os de TTP-11 (12a-hidroxirotenona) mostraram uma pequena diferença entre as duas estruturas. O desaparecimento dos dupletos em δ 6,54 e 7,83 – de TTP-11 – e o surgimento do sinal da hidroxila quelatogênica permitiram propor que se tratava do também rotenoide villosinol, ainda não isolado de *T. toxicaria*. Dados de RMN ^1H da literatura corroboram com a proposta (KRUPADANAM *et al.*, 1977). Correlações vistas no espectro de HMBC (Fig. 121, p. 118), a duas (^2J) e três ligações (^3J), reforçaram a proposição estrutural (Tab. 14, p. 115). Seus dados de RMN ^{13}C estão sendo descritos pela primeira vez.

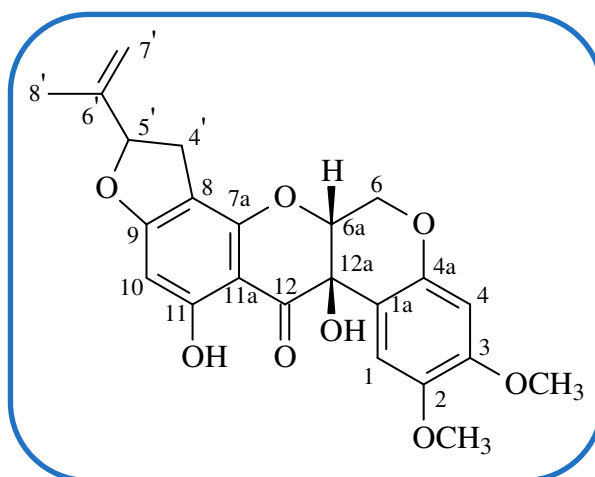
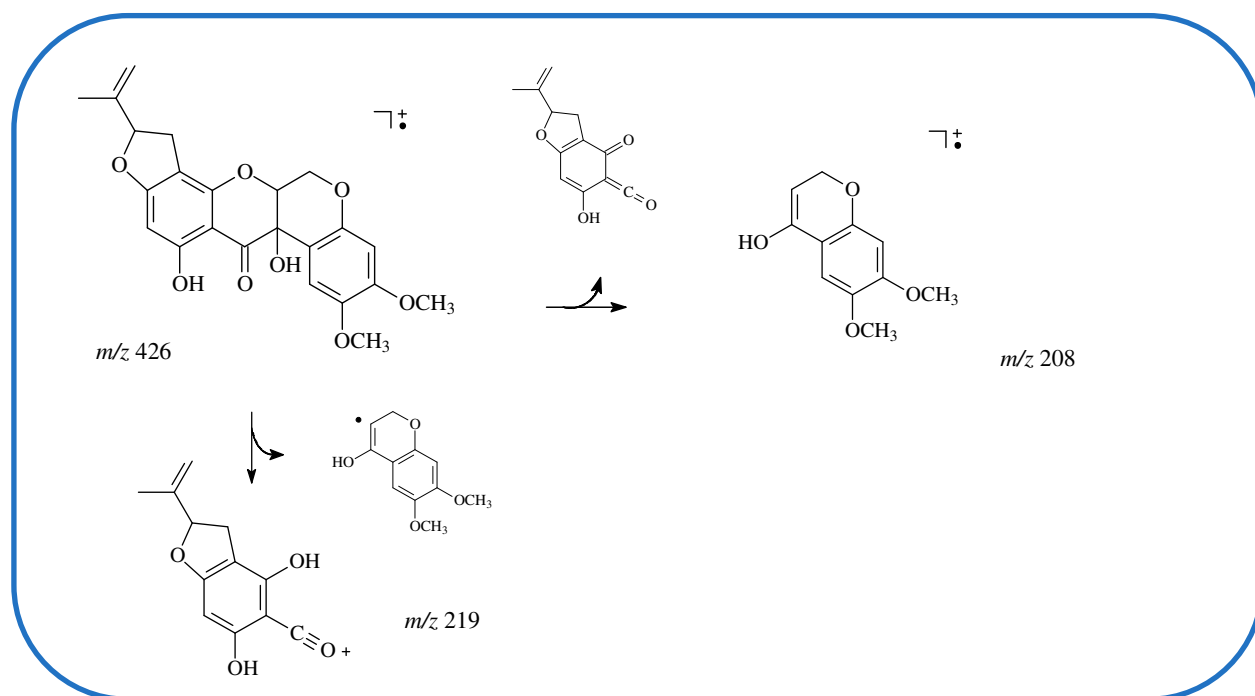


Figura 113 – Estrutura de TTP-8 (villosinol / 12a-hidroxisumatrol)

Tabela 14 - Dados espectroscópicos de TTP-8 comparados com a literatura (KRUPADANAM *et al.*, 1977)/DMSO-*d*₆

C	TTP-8	$\delta^{13}\text{C}$	HMBC		LIT.
	δH (mult., <i>J</i> / Hz)		$^2J_{\text{C-H}}$	$^3J_{\text{C-H}}$	δH
1a	-	109,0			-
1	6,71 (s)	109,7	C-1a; C-2	C-12a; C-3	6,40 (s)
2	-	144,4			-
3	-	151,6			-
4	6,49 (s)	101,4	C-3; C-4a	C-1a; C-2	6,12 (s)
4a	-	148,7			-
6	4,47 (d, 12,0 <i>H</i> _{eq}) 4,58 (dd, 12,0 e 2,5 <i>H</i> _{ax})	63,9	C-6a	C-12a C-12a	4,42
6a	4,55 (sl)	75,8			5,52(m)
7a	-	156,1			-
8	-	105,0			-
9	-	170,4			-
10	6,04 (s)	92,5	C-11; C-9	C-8; C-11a	5,97 (s)
11 (OH)	11,83 (s)	166,1			12,30 (s)
11a	-	100,2			-
12	-	194,4			-
12a (OH)	4,18 (s)	67,1	C-12a	C-6a	7,36 (sl)
4'	2,84 (dd, 15,0 e 7,5) 3,20 (dd, 15,0 e 9,5)	30,8	C-5'; C-8	C-6'; C-7a; C-9	2,74 (q) 3,23 (q)
5'	5,20 (t, 8,5)	88,7		C-7'	4,42
6'	-	143,1			-
7'	4,93 (s) 5,05 (s)	113,2		C-5'	5,52
8'	1,74 (s)	17,3	C-6'	C-5'; C-7'	1,66 (s)
OCH ₃ (2)	3,76 (s)	56,7		C-2	3,66 (s)
OCH ₃ (3)	3,83 (s)	56,2		C-3	3,44 (s)

**Figura 114** – Proposta de fragmentações de massa de TTP-8

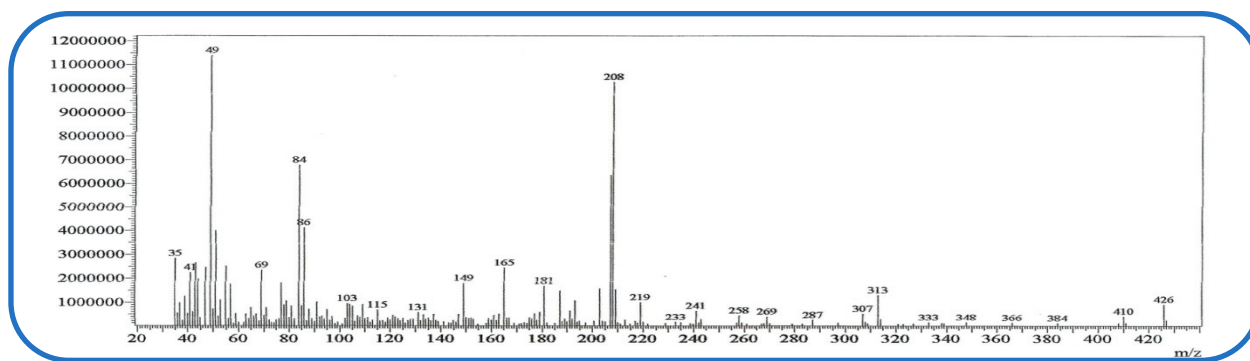


Figura 115 - Espectro de massa de TTP-8

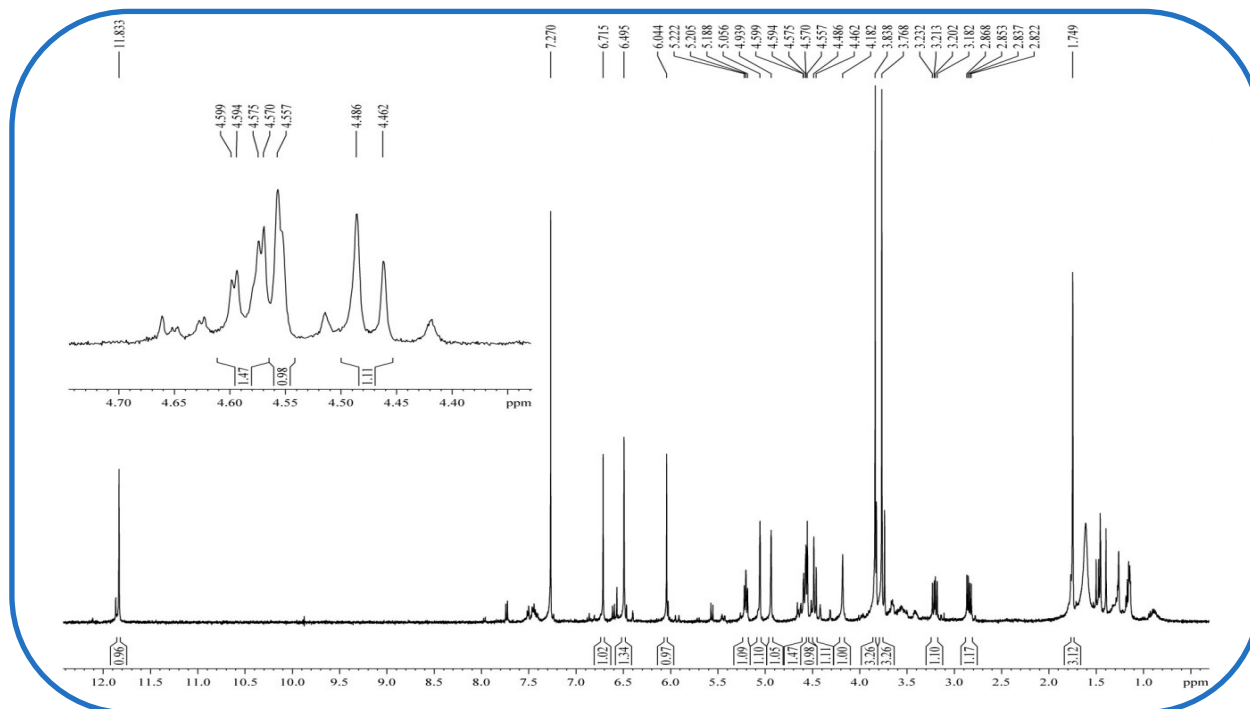


Figura 116 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-8

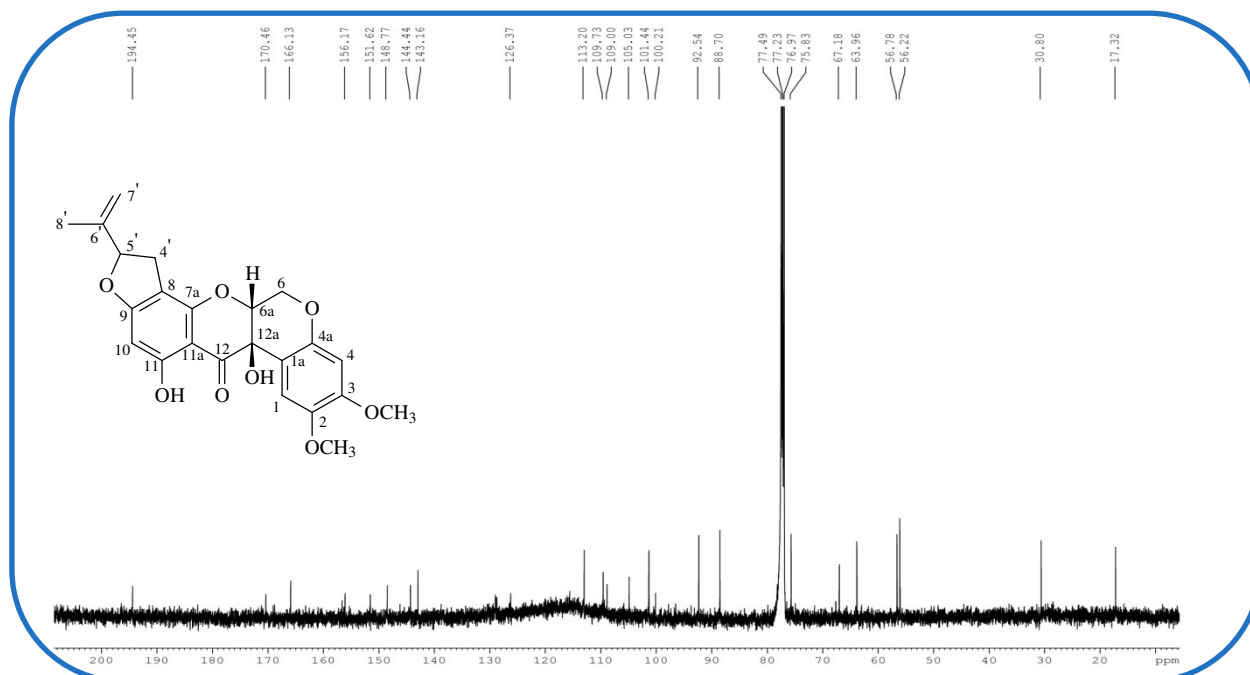


Figura 117 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-8

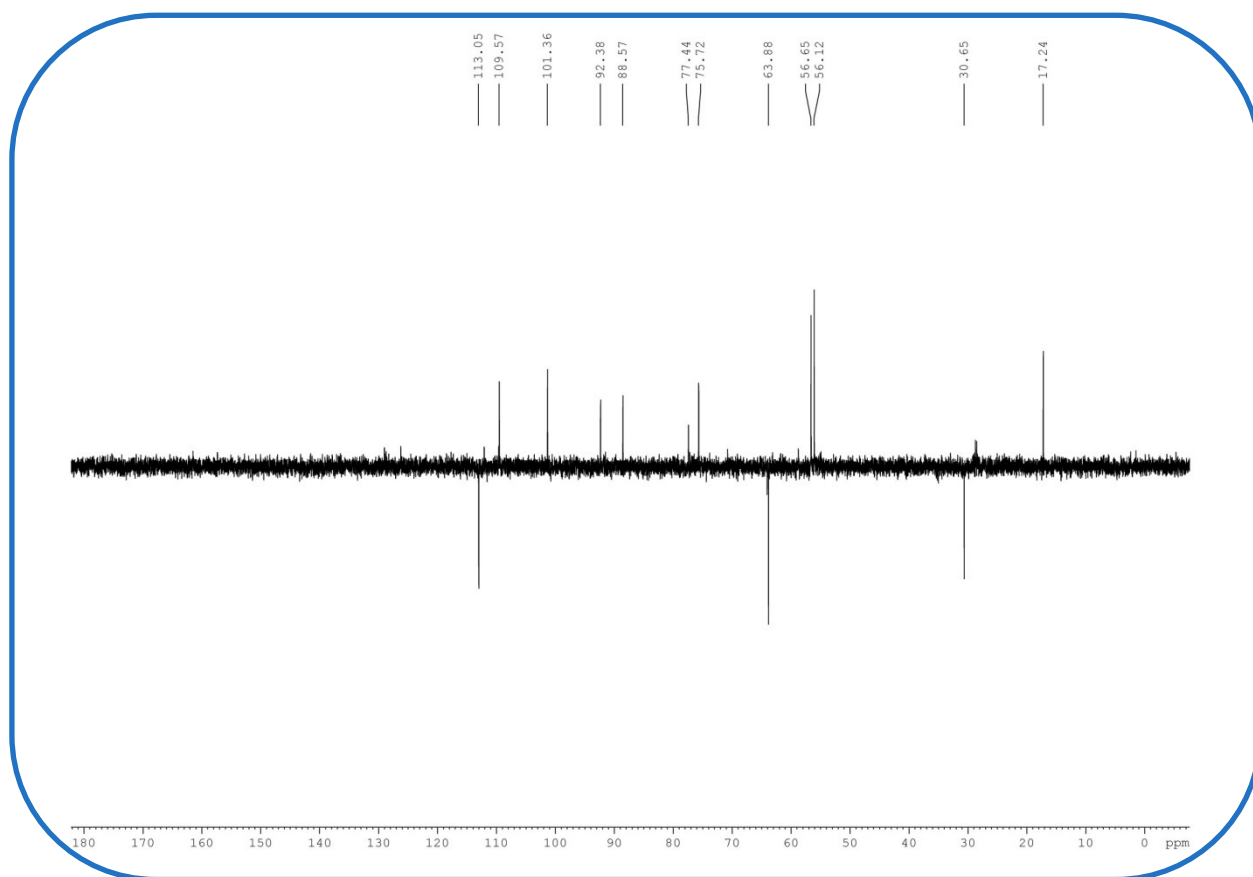


Figura 118 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-8

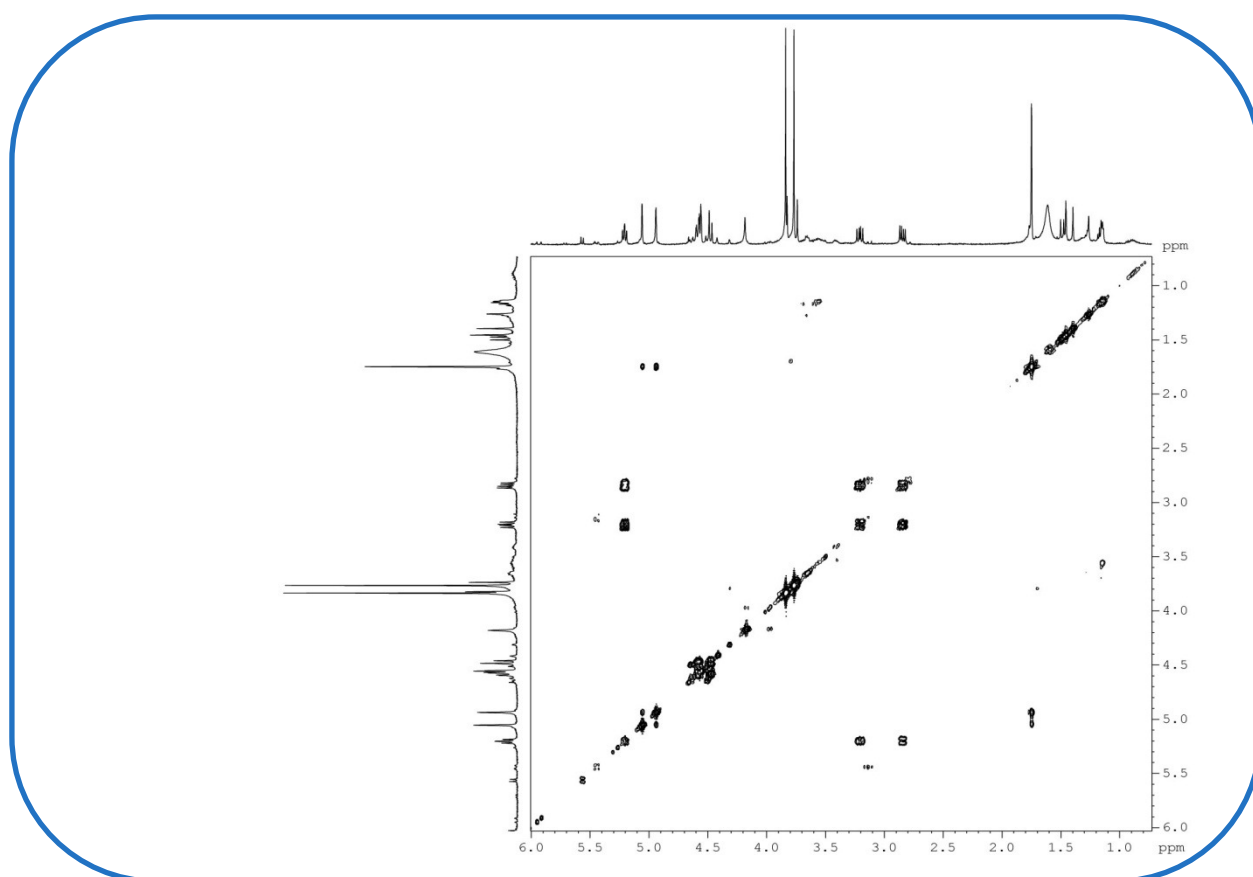


Figura 119 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de TTP-8

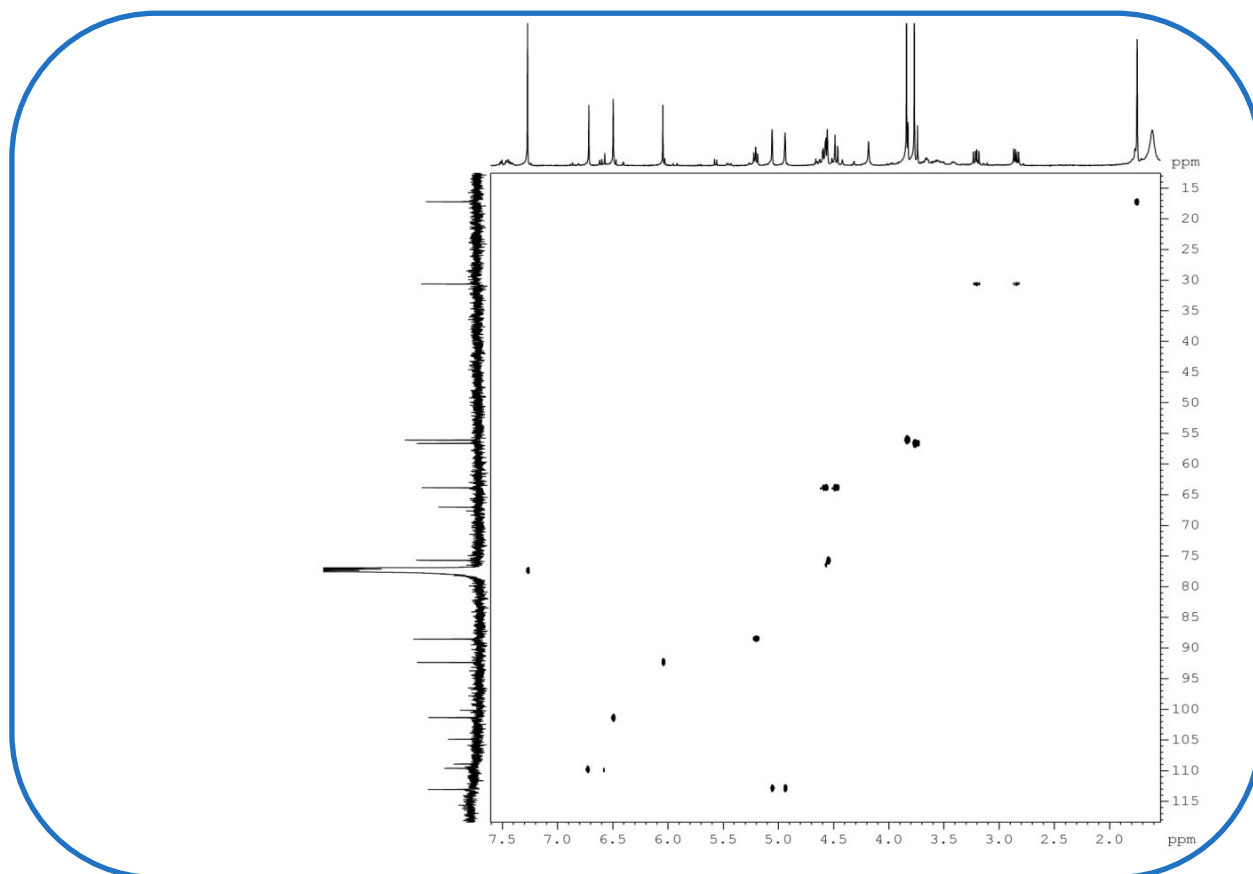


Figura 120 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de TTP-8

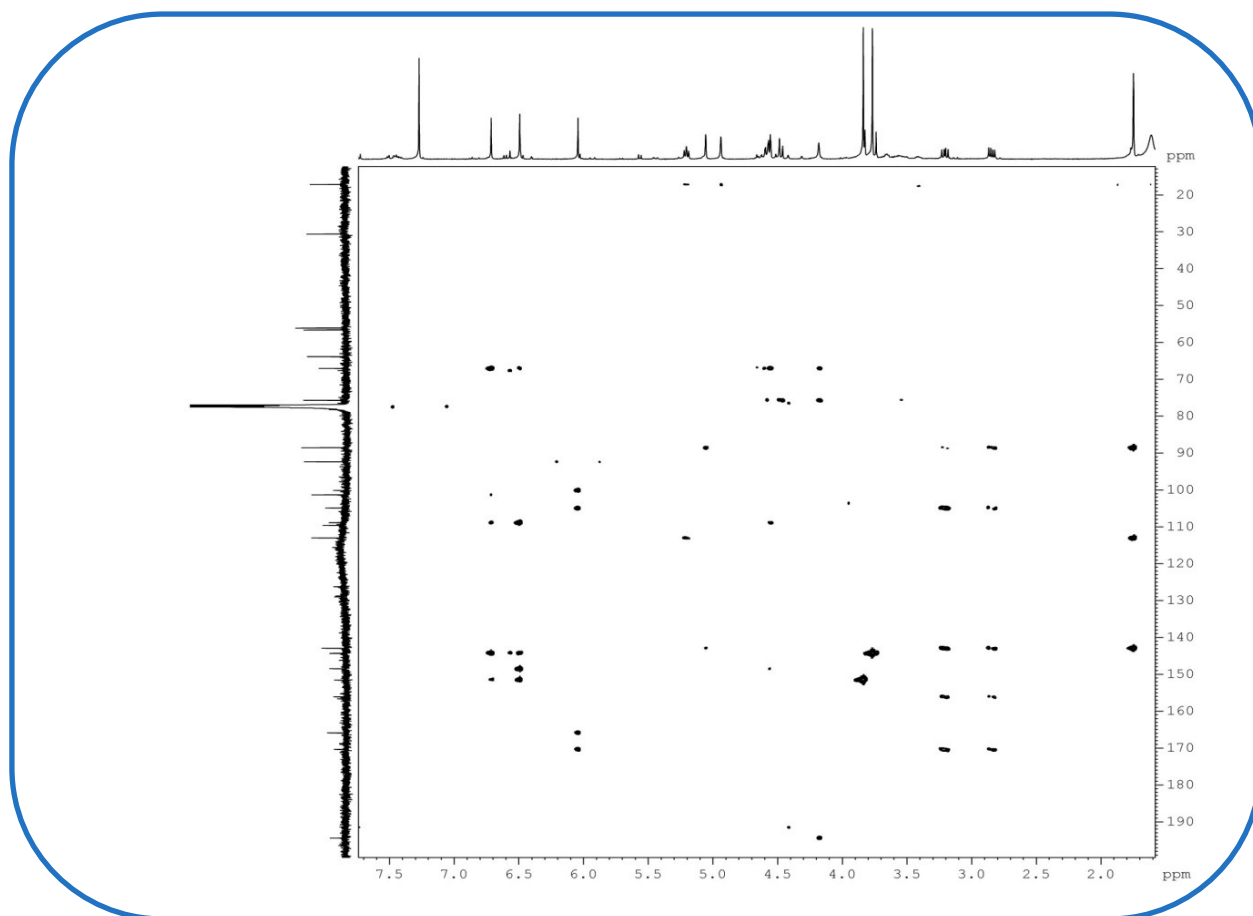


Figura 121 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de TTP-8

4.12. Determinação estrutural de TTP-2

Tratamentos cromatográficos sucessivos em gel de sílica de TTVEC (item 5.5.4.4., p. 134) forneceram um sólido cristalino - em forma de agulhas - incolor, solúvel em clorofórmio, denominado TTP-2.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-2 (Fig. 123, p. 121), mostrou sinais em δ 5,36 (1H, d, $J = 4,8$ Hz) e δ 3,53 (1H, sep). Esses sinais são característicos dos hidrogênios H-6 e H-3, respectivamente, presentes nos esteroides sitosterol e estigmasterol. Mostrou ainda, sinais em δ 5,14 (dd) e δ 5,03 (dd) dos hidrogênios vinílicos do estigmasterol (H-22 e H-23, respectivamente); e sinais entre δ 0,70 e 2,30, atribuídos a hidrogênios metílicos e metilênicos do núcleo esteroidal.

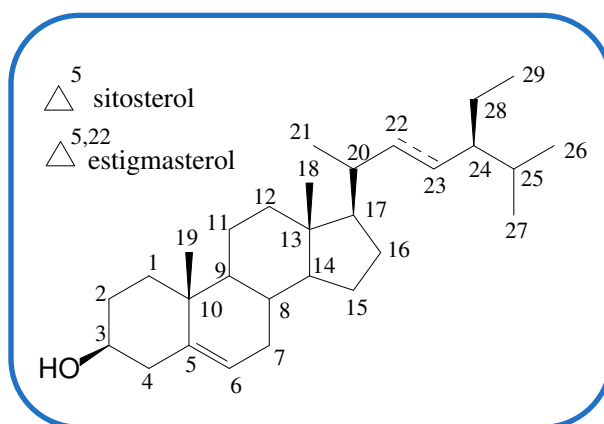
O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ (125 MHz) de TTP-2, obtido em CDCl_3 (Fig. 125, p. 122) apresentou 40 sinais espectrais. Os sinais em δ 141,0 e 121,9 foram atribuídos aos carbonos da ligação dupla existente entre C-5 e C-6 dos esteroides citados. Em δ 138,5 e 129,5 observou-se sinais característicos da ligação dupla entre C-22 e C-23 do estigmasterol. Observou-se ainda um sinal em δ 72,0 atribuído ao carbono carbinólico C-3. A análise comparativa com o espectro de RMN $^{13}\text{C} - \text{DEPT } 135^\circ$ (Fig. 126, p. 122) permitiu identificar o padrão de hidrogenação dos átomos de carbono presentes nas estruturas dos dois esteroides (Tab. 15, p. 120).

A identificação da estrutura de TTP-2 foi realizada pela comparação dos dados obtidos com dados da literatura para a mistura esteroidal composta pelos esteroides sitosterol e estigmasterol (GOAD, 1991), como mostrado na Tabela 15.

A verificação da proporção relativa dos esteroides sitosterol e estigmasterol em TTP-2 pode ser prevista através das integrações dos sinais referentes aos hidrogênios olefínicos exclusivos de cada metabólito. A razão entre os esteroides se dá através dos valores de integração (0,35 H) dos hidrogenios olefinicos H-22 e H-23 do estigmasterol, exclusivos deste esteroide. A metade de 0,356 (0,178) representa um próton do estigmasterol. Subtraiu-se o valor 0,178 de 1,000 (H-6) e obteve-se 0,822, correspondente a um próton da molécula do sitosterol. As intensidades relativas permitiram deduzir que a mistura esteroidal contém aproximadamente 18% de estigmasterol e 82% de sitosterol.

Tabela 15 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C - BB de TTP-2 com os dos esteroides sitosterol e estigmasterol (GOAD, 1991)

C	DEPT	Sitosterol		Estigmasterol	
		TTP-2	LIT.	TTP-2	LIT.
1	CH ₂	37,5	37,3	37,5	37,3
2	CH ₂	31,9	31,6	31,9	31,7
3	CH	72,0	71,7	72,0	71,8
4	CH	42,5	42,3	42,5	42,4
5	C	141,0	140,8	141,0	140,8
6	CH	121,9	121,6	121,9	121,7
7	CH ₂	32,1	31,9	32,1	31,9
8	CH	32,1	31,9	32,13	31,9
9	CH	50,4	50,2	50,4	50,2
10	C	36,4	36,5	36,7	36,6
11	CH ₂	21,3	21,1	21,3	21,1
12	CH ₂	40,0	39,8	39,9	39,7
13	C	42,5	42,3	42,5	42,4
14	CH	57,1	56,8	57,0	56,9
15	CH ₂	24,5	24,3	24,5	24,4
16	CH ₂	28,4	28,3	29,1	29,0
17	CH	56,3	56,1	56,3	56,1
18	CH ₃	12,1	11,9	12,2	12,1
19	CH ₃	19,6	19,4	19,6	19,4
20	CH	36,3	36,2	40,7	40,5
21	CH ₃	19,0	18,8	21,3	21,1
22	CH ₂ /CH	34,2	33,9	138,5	138,4
23	CH ₂ /CH	26,3	26,1	129,5	129,3
24	CH	46,1	45,9	51,5	51,3
25	CH	29,4	29,2	32,3	31,9
26	CH ₃	19,0	19,8	21,4	21,3
27	CH ₃	19,3	19,1	19,2	19,0
28	CH ₂	23,3	23,1	25,6	25,4
29	CH ₃	12,3	12,3	12,3	12,3

**Figura 122** - Estruturas dos componentes da mistura TTP-2 (sitosterol e estigmasterol)

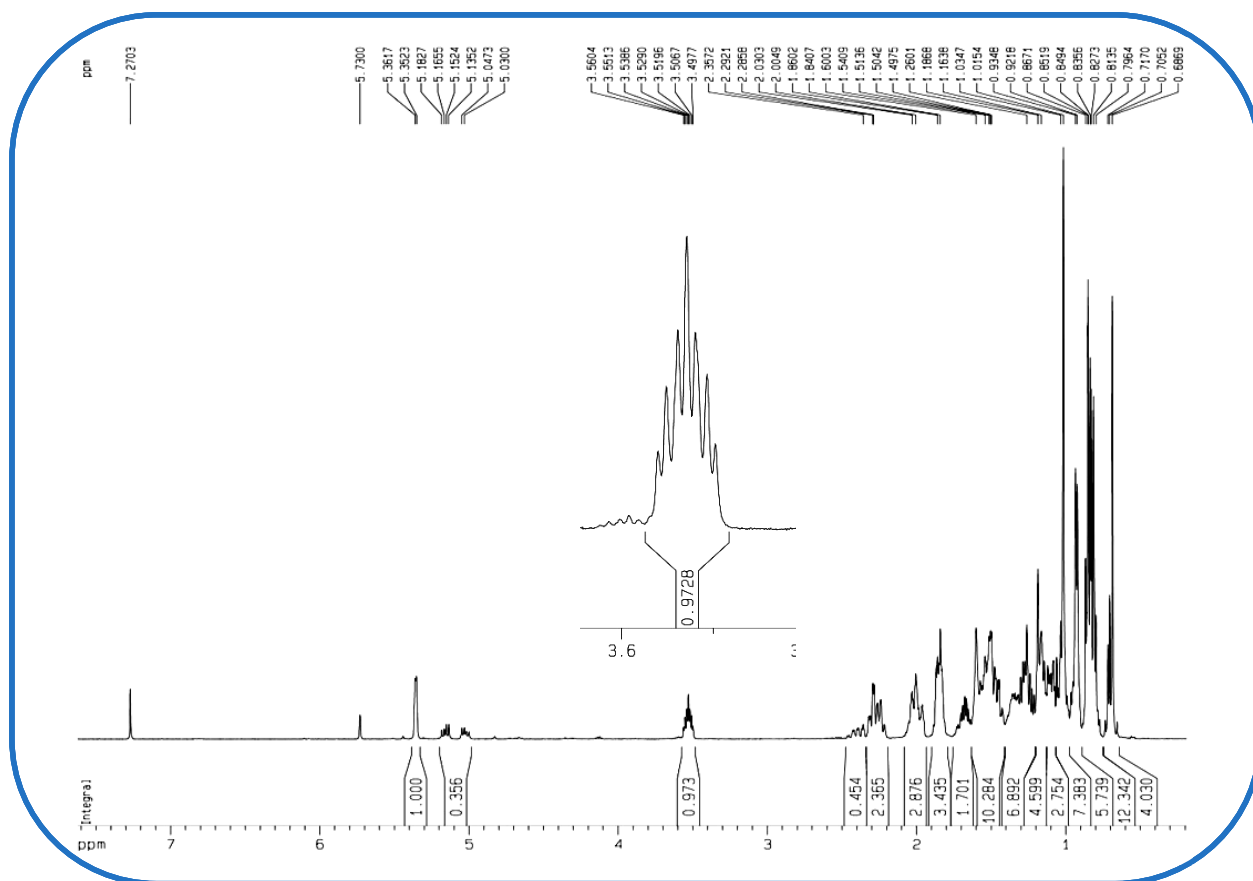


Figura 123 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-2

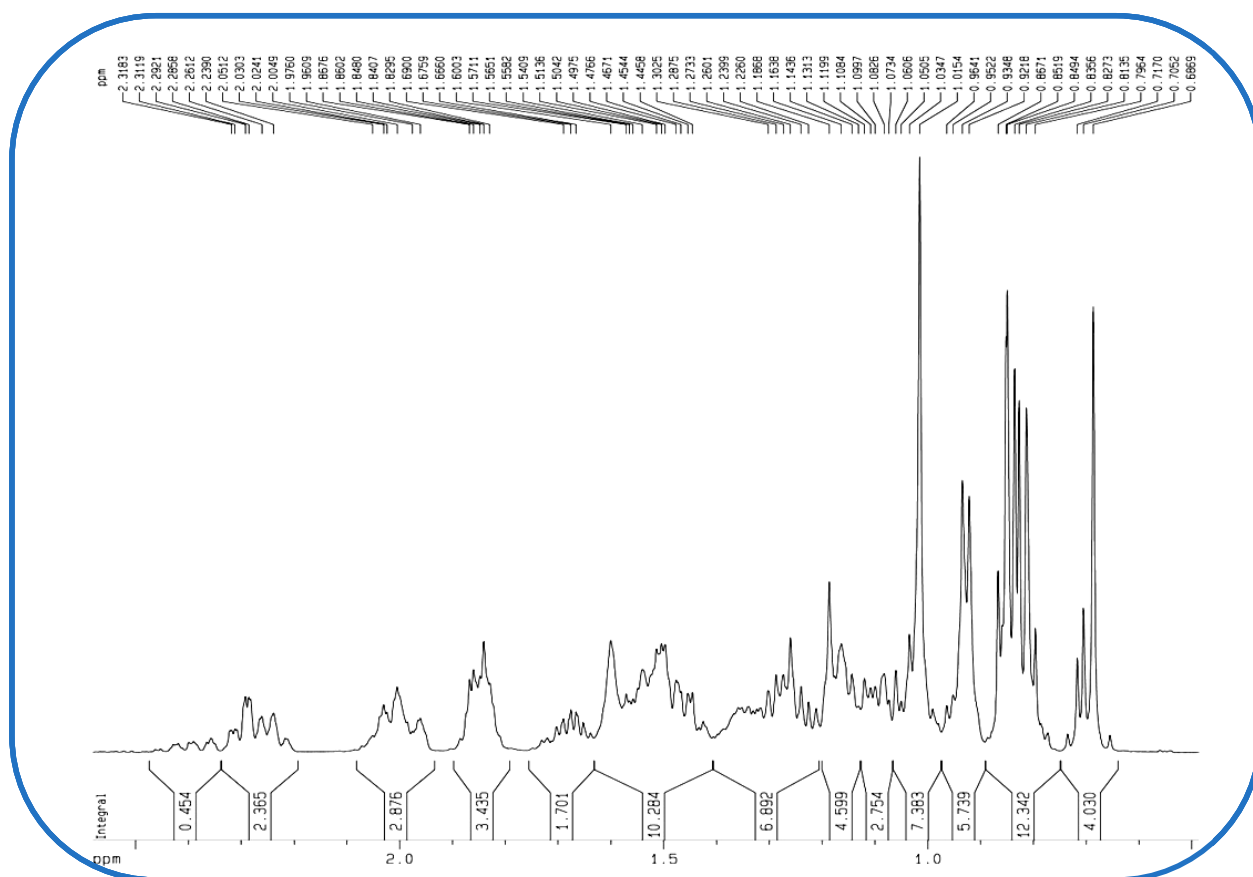


Figura 124 - Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de TTP-2

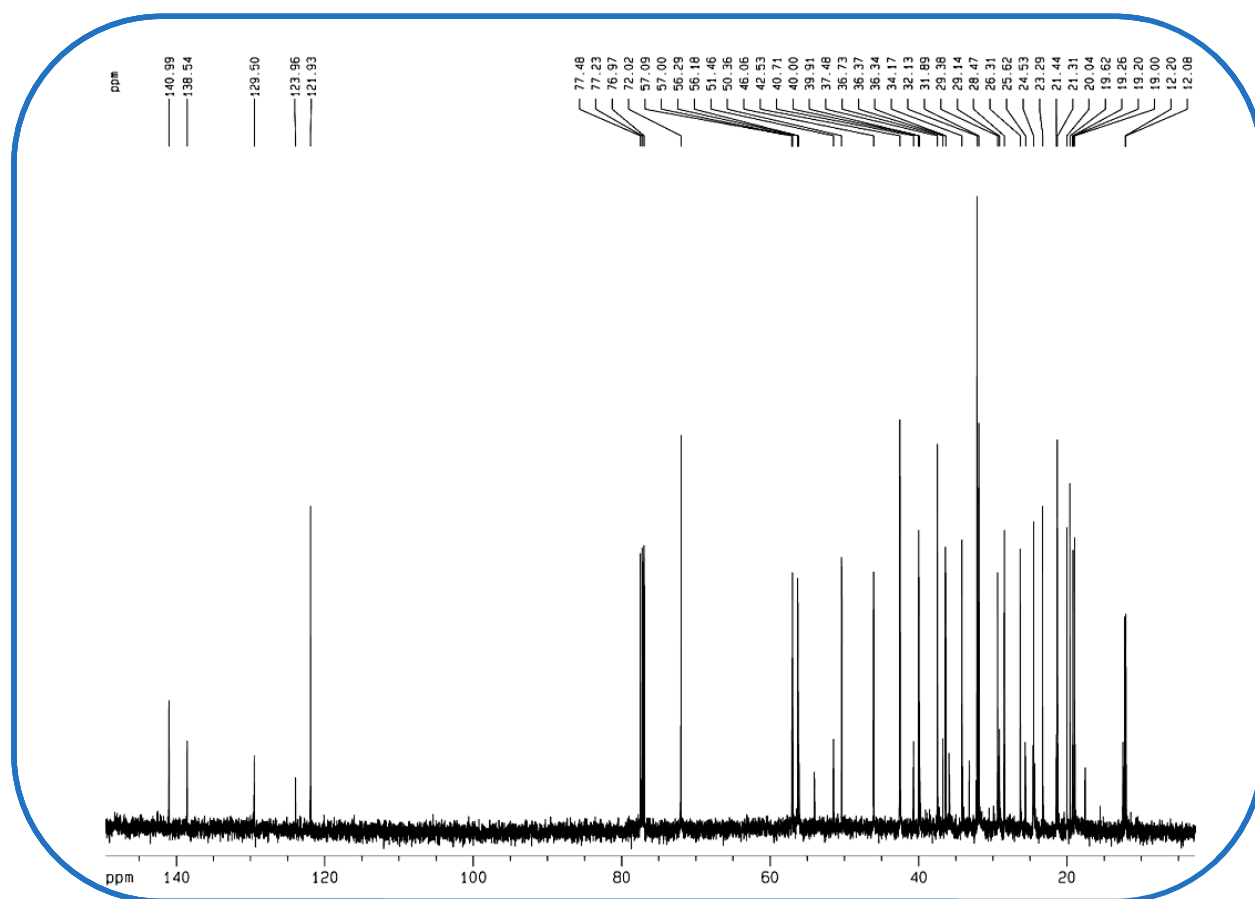


Figura 125 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de TTP-2

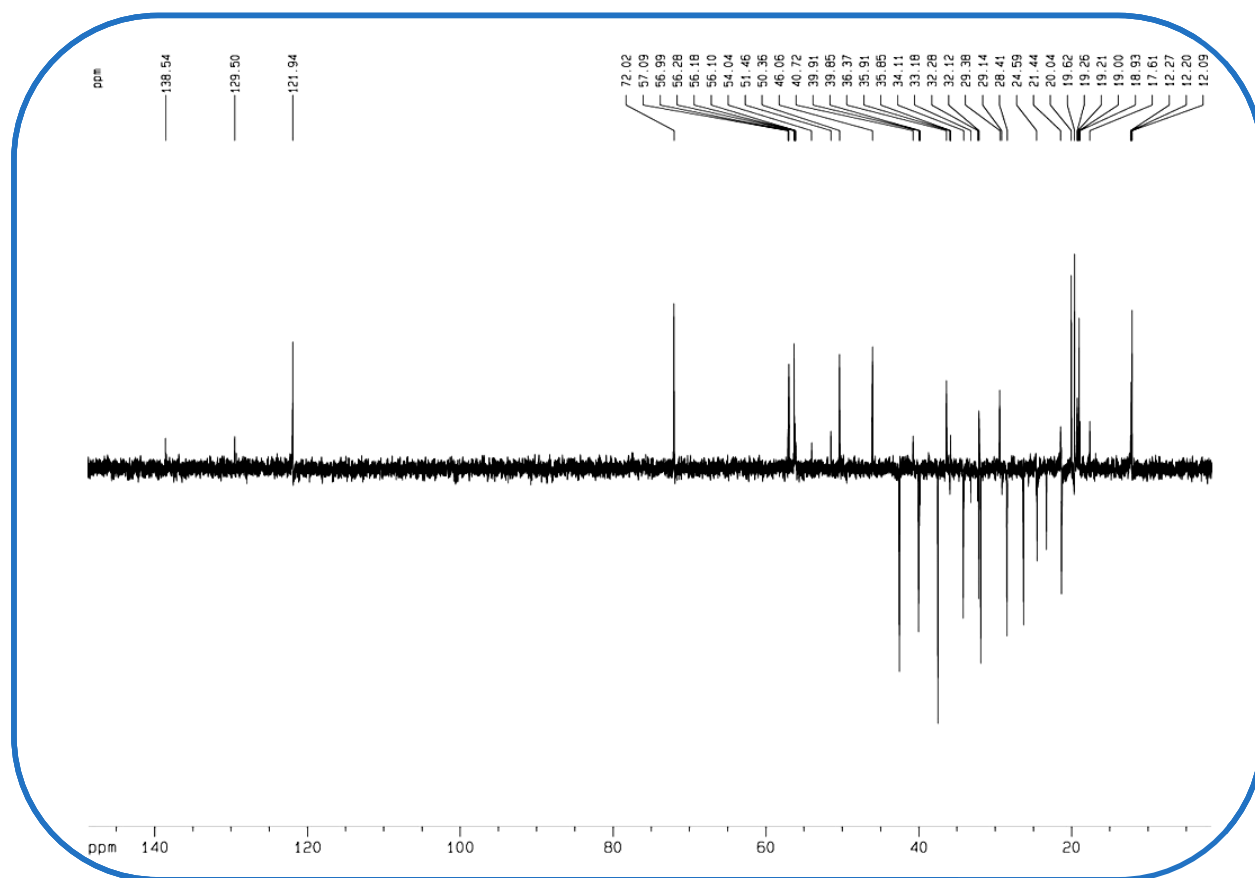
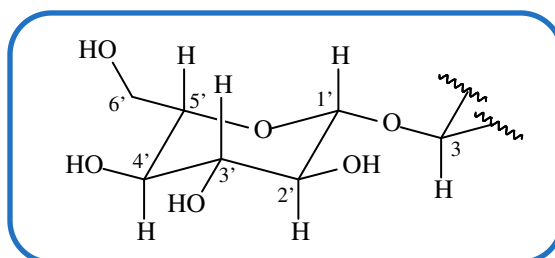


Figura 126 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de TTP-2

4.13. Determinação estrutural de TTP-7

O tratamento com acetona da fração TTRASEA (item 5.5.5.6. p. 141), forneceu um material sólido amorfo branco, solúvel em piridina que foi denominado TTP-7.

Seu espectro de RMN ^1H (Fig. 128, p. 125), obtido em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, mostrou, além de sinais referentes a hidrogênios de sistema esteroidal, entre δ 0,69 - 2,74; sinais característicos de hidrogênios de natureza glicosídica, entre δ 3,99 - 5,06 ppm, permitindo propor a glicose como sendo o monossacarídeo ligado à estrutura esteroidal. Um sinal em δ 5,06 (1H, sl, H-1'), diaxial entre H-1' e H-2', permitiu a atribuição inequívoca da configuração β da glicose. Observou-se ainda um sinal em δ 5,38 (sl), característico do hidrogênio olefínico H-6 do esteroide sitosterol.



O espectro de RMN $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$ de TTP-7 (Fig. 129, p. 125) apresentou 39 sinais espectrais. Os sinais em δ 141,5 e 122,4 caracterizam carbonos sp^2 da ligação dupla entre C-5 e C-6 do esteroide citado. Sinais em δ 139,3 e 130,0 foram atribuídos aos carbonos C-22 e C-23, respectivamente, do estigmasterol.

No espectro de RMN $^{13}\text{C} - \text{DEPT } 135^\circ$ (Fig. 131, p. 126) observou-se um sinal, com amplitude negativa, em δ 63,4 (C-6') que foi atribuído a um carbono metilênico oxigenado, característico do sistema glicosídico anteriormente proposto.

A análise dos dados obtidos e a comparação com dados da literatura (Tab. 16, p. 124) (ALAM *et al.*, 1996) foi possível concluir que TTP-7 tratava-se da mistura esteroidal de sitosterol e estigmasterol em suas formas glicosiladas.

Tabela 16 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C - BB de TTP-7 com os dos esteroides sitosterol e estigmasterol nas formas glicosiladas (ALAM *et al.*, 1996)

C	Sitosterol		Estigmasterol	
	TTP-7	LIT.	TTP-7	LIT.
1	38,02	37,0	38,02	37,0
2	32,70	31,6	32,70	31,6
3	79,11	79,0	79,11	79,0
4	40,50	39,5	40,50	39,5
5	141,47	141,4	141,47	140,4
6	122,44	122,2	122,44	121,1
7	30,56	31,6	30,56	31,6
8	32,61	31,7	32,61	31,7
9	50,90	50,0	50,90	50,0
10	36,92	36,5	37,47	36,5
11	21,82	20,8	21,82	20,8
12	39,88	38,5	39,88	38,5
13	43,03	42,1	43,03	42,1
14	57,38	56,5	57,38	56,5
15	25,05	24,5	25,05	24,5
16	29,07	28,7	29,07	28,7
17	56,80	55,8	56,80	55,8
18	12,51	12,0	12,51	12,0
19	19,95	19,0	19,76	19,0
20	37,47	36,0	37,47	36,0
21	19,55	18,5	19,55	18,5
22	34,76	34,0	139,34	137,9
23	26,96	28,0	130,02	128,8
24	46,60	45,7	46,60	45,7
25	30,79	28,9	30,79	28,9
26	20,51	19,5	19,95	19,5
27	19,76	18,7	19,72	18,7
28	23,95	22,8	23,95	22,8
29	13,05	12,0	12,70	12,0
1'	103,11	100,9	103,11	100,9
2'	75,85	73,3	75,85	73,3
3'	78,96	76,2	78,96	76,2
4'	72,25	70,0	72,25	70,0
5'	78,70	75,4	78,70	75,4
6'	63,37	61,7	63,37	61,7

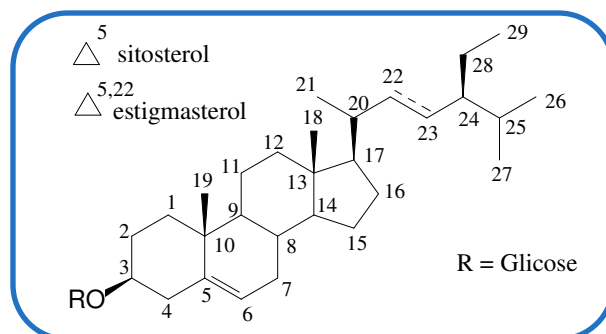


Figura 127 – Estruturas dos componentes da mistura TTP-7 (sitosterol e estigmasterol glicosilados)

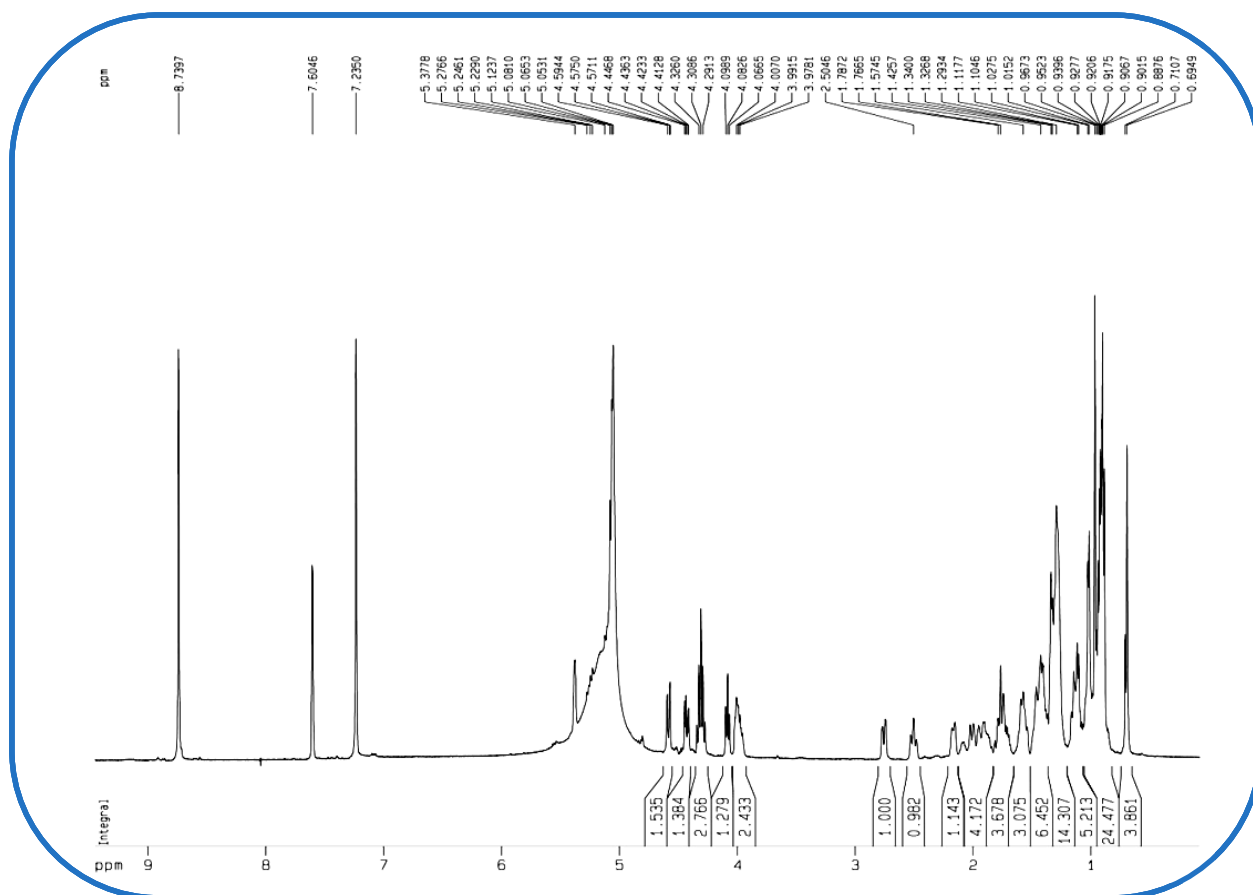


Figura 128 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7

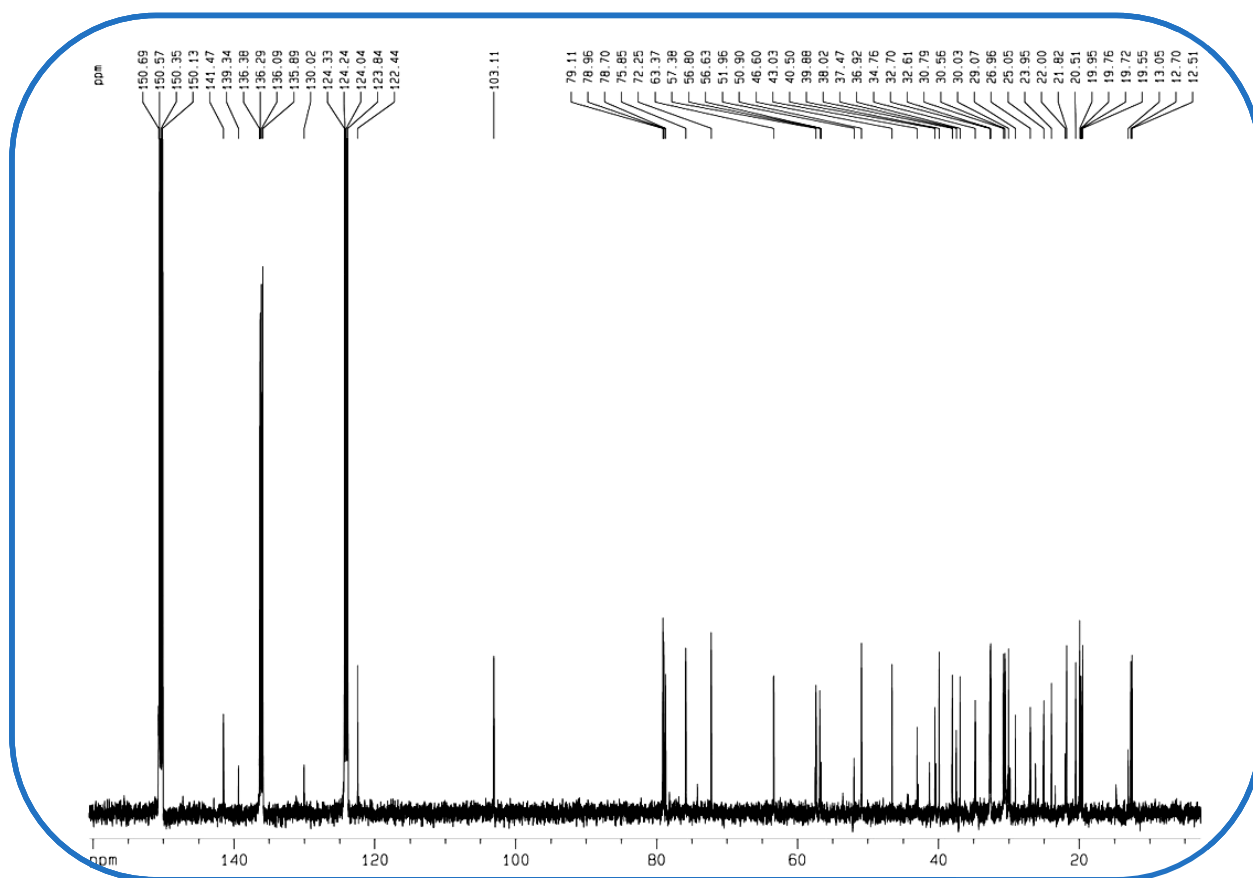


Figura 129 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7

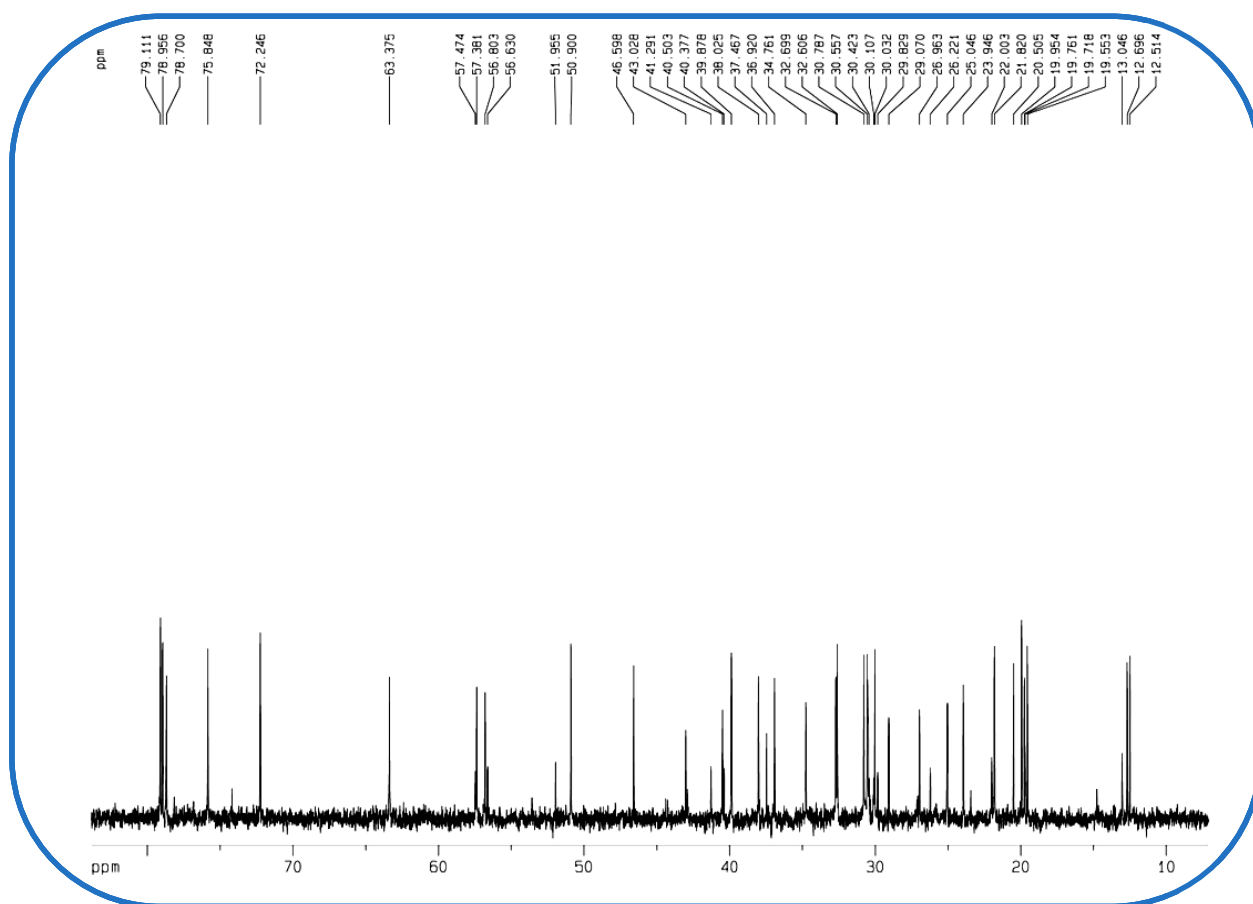


Figura 130 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7

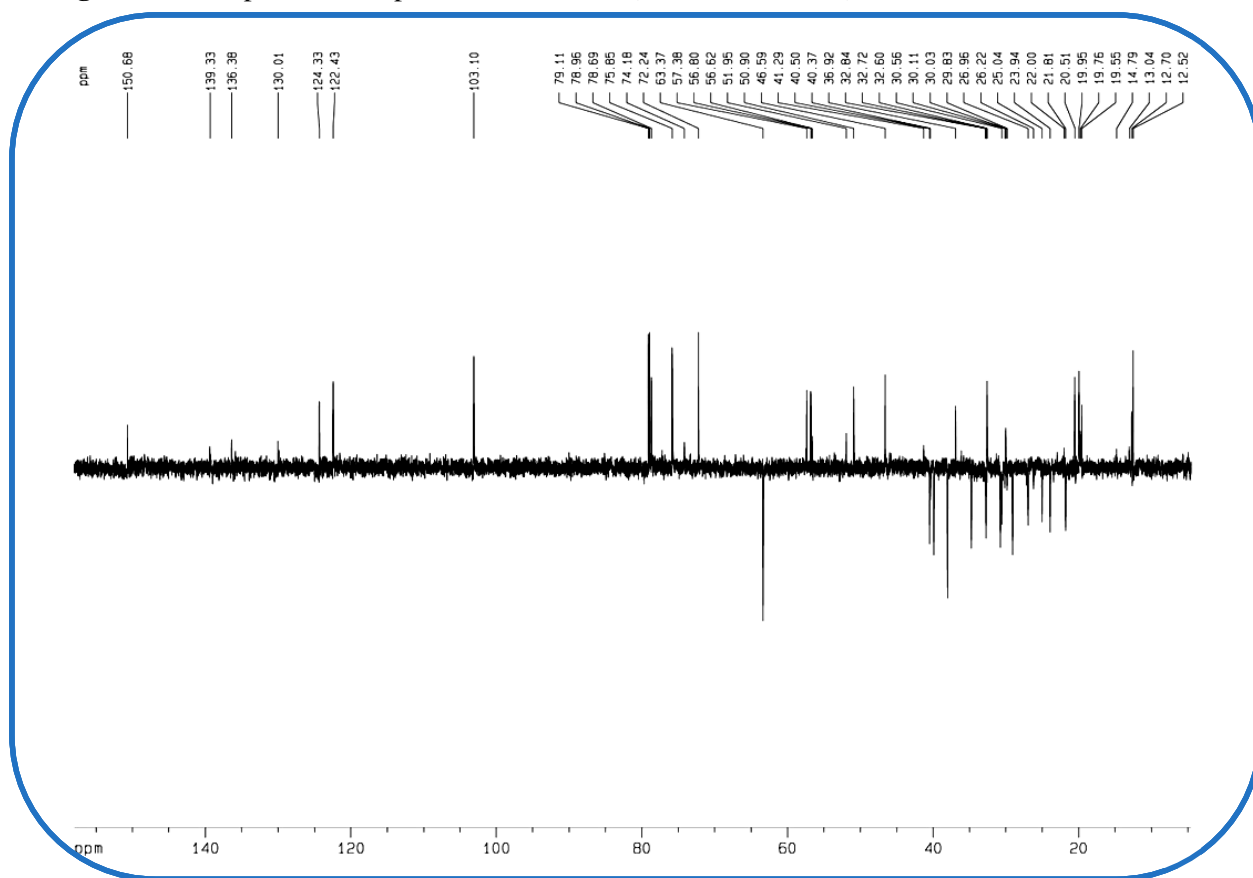


Figura 131 - Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de TTP-7

P A R T E
E X P E R I M E N T A L
Capítulo 5

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Material botânico (*Tephrosia toxicaria* Pers.)

Duas coletas foram realizadas para a obtenção dos espécimes estudados de *Tephrosia toxicaria* Pers., ambas no município de Guaraciaba do Norte - CE, sendo a primeira em 10 de agosto de 2006 e a posterior em 09 de maio de 2008, pela Professora Ângela Martha Campos Arriaga do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI / UFC).

Os espécimes estudados foram identificados pelo Professor Edson P. Nunes do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. Sua exsicata encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra daquele Departamento, sob o número de registro 32.139.

5.2. Métodos cromatográficos

5.2.1. Cromatografia de adsorção

Nas cromatografias de adsorção em coluna (CAC) foram empregados gel de sílica 60 (Φ 0,063 - 0,200 mm) da VETEC[®]; e sílica 60 para cromatografia “flash” (Φ 0,040 - 0,063 mm) da MERCK[®]. Os tamanhos das colunas (comprimento e diâmetro) variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas.

Nas cromatografias de adsorção sob pressão média (cromatografia “flash”) utilizou-se colunas de vidro resistente à pressão que continham bulbos no ápice, para armazenamento do solvente. Foi empregada, nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalatec Plus (Ref.: 6600) da NEVONI[®].

Nas cromatografias de camada delgada (CCD) utilizou-se gel de sílica 60 G para cromatografia em camada fina da VETEC[®]; e cromatofolhas de plástico e/ou de alumínio de gel de sílica 60 F₂₅₄, da MERCK[®].

As revelações das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foram realizadas através da exposição à irradiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm), emitidos por lâmpada modelo VL-4.LC da VILBER LOURMAT[®] e/ou por imersão em solução de vanilina (C₈H₈O₃) 5g / 100 mL de ácido perclórico (HClO₄)

0,75M / 100 mL de etanol, seguido de aquecimento em soprador térmico HL-500, da STEINEL® à aproximadamente 150 °C, por alguns segundos.

Foram empregados solventes previamente destilados ou de qualidade PA (SYNTH®) tais como hexano, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila e metanol, isocráticos ou em misturas, em ordem crescente de polaridade.

5.2.2. Cromatografia de exclusão

Os fracionamentos realizados por cromatografia de exclusão foram efetuados em gel de Sephadex LH-20 da PHARMACIA FINE CHEMICALS®, utilizando-se metanol como fase móvel.

5.2.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As frações pré-cromatografadas de *T. toxicaria* foram analisadas num aparelho de CLAE, constituído de uma bomba ternária SHIMADZU® LC-20AT e um detector SHIMADZU® SPD-M20A. As separações foram realizadas em uma coluna PHENOMENEX® RP-18 (250 x 10 mm, 5 µm), mantida num forno a temperatura ambiente.

Foram empregados solventes de grau CLAE (MeOH [TEDIA®], ácido fórmico 85% PA [QEEL®] e H₂O [MILLI-Q®]), que foram previamente filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45 µm (PHENOMENEX®). As amostras foram dissolvidas nas fases móveis empregadas em cada análise e filtradas em membranas de teflon com poros de 0,45 µm (WATERS®).

5.3. Métodos Espectrométricos

5.3.1. Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em Espectrômetro PERKIN ELMER®, modelo FT-IR Spectrum 1000 da Central Analítica do DQOI / UFC, utilizando pastilhas de KBr para análise das amostras.

5.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de prótio (RMN ^1H) e carbono - 13 (RMN ^{13}C), uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro BRUKER[®], modelo DRX - 500, operando na frequência de 500 MHz para hidrogênio e 125 MHz para carbono - 13. O tipo de sonda variou conforme o tipo de técnica: foi utilizada sonda dual de 5 mm com detecção direta para experimentos unidimensionais; e sonda multinuclear de 5 mm com detecção inversa para os experimentos bidimensionais.

Foram utilizados solventes deuterados (CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e CD_3OD) na dissolução das amostras e seus deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de prótio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não-deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ 7,27), metanol (δ 3,31) e piridina (δ 8,74; 7,58; 7,22). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ 77,23), metanol (δ 49,17) e piridina (δ 150,35; 135,91; 123,87).

As multiplicidades das absorções foram indicadas segundo a convenção: singlete (s), singlete largo (sl), duplete (d), duploduplete (dd), tripleto (t), quarteto (q), septeto (sep) e multiplete (m).

Para a aquisição dos dados foram utilizados os seguintes microprogramas: ^1H (zg), ^{13}C -BBD (zgpg), ^{13}C -DEPT 135 (dept 135), gs-COSY (cosygp), gs-HSQC (hsqcgpph) e gs-HMBC (hmbclpndqf).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de nutação de 135° (CH e CH_3 com amplitude positiva e CH_2 com negativa). Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais espectrais observados no espectro BBD / $\{^1\text{H}\}$ (Broadband Decoupled).

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos em aparelhos do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN – UFC).

5.3.3. Espectrometria de massa

Os espectros de massa de baixa resolução dos flavonoides foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV em espectrômetro de massa SHIMADZU®, modelo QP 5000, DI-50 (DQOI / UFC).

O espectro de massa de alta resolução do constituinte **TTP-1** foi obtido por ionização por *electrospray* (ESI) em espectrômetro de massa modelo LCMS-IT-TOF (225-07100-34) – SHIMADZU®, pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste (LEMANOR – DQOI / UFC).

5.4. Método físico de análise

5.4.1. Determinação do ponto de fusão (p.f.)

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento da Microquímica® Equipamentos Ltda modelo MQAPF, a uma taxa de aquecimento de 3^o C/min.

5.5. Estudo fitoquímico de *Tephrosia toxicaria* Pers.

5.5.1. Obtenção dos extratos etanólicos das folhas, talos, raízes e vagens de *T. toxicaria*

Os materiais botânicos das folhas, talos, raízes e vagens de *T. toxicaria* – obtidos na primeira coleta – foram separados, secos e submetidos, separadamente, a extração com etanol à temperatura ambiente. A solução resultante de cada um deles foi filtrada e evaporada à pressão reduzida em evaporador rotatório e deu origem aos extratos citados na Tabela 17.

Tabela 17 - Dados da obtenção dos extratos etanólicos de *T. toxicaria*

Sigla do Extrato	Material Botânico / (g)	Quantidade de extrato / (g)
TTFE (Folhas)	443	16,1
TTTE (Talos)	550	26,0
TTRE (Raízes)	710	78,9
TTVE (Vagens)	180	8,7

5.5.2. Fracionamento cromatográfico de TTTE (cromatografia filtrante)

Depois de adsorvido em aproximadamente 20 g de sílica gel e pulverizado em gral de porcelana, o extrato etanólico dos talos de *T. toxicaria* – TTTE (26,0 g) – foi submetido a cromatografia do tipo filtrante em funil de vidro sinterizado ($\phi = 10$ cm). A eluição aconteceu de forma isocrática, utilizando 1L de cada solvente (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol), em ordem crescente de polaridade. As frações obtidas são descritas na Tabela 18.

Tabela 18 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTTE

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA / (g)
hexano	TTTEH	4,5
clorofórmio	TTTEC	5,2
acetato de etila	TTTEA	2,1
metanol	TTTEM	10,3
TOTAL		22,1

5.5.3. Fracionamento cromatográfico de TTRE (cromatografia filtrante)

O extrato etanólico das raízes – TTRE (16,1 g) – foi adsorvido em aproximadamente 20 g de gel de sílica, pulverizado em gral de porcelana e cromatografado em funil de vidro sinterizado ($\phi = 10$ cm). O procedimento cromatográfico aconteceu de forma semelhante ao descrito no item anterior e as frações resultantes são descritas na Tabela 19.

Tabela 19 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRE

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA / (mg)
hexano	TTREH	0,92
clorofórmio	TTREC	6,47
acetato de etila	TTREA	1,03
metanol	TTREM	5,72
TOTAL		14,14

5.5.4. Fracionamento cromatográfico de TTVE (cromatografia filtrante)

TTVE (8,7 g) – extrato etanólico das vagens – foi adsorvido em aproximadamente 10 g de gel de sílica, pulverizado em gral de porcelana e cromatografado em funil de vidro sinterizado ($\phi = 10$ cm). A eluição aconteceu de forma isocrática, utilizando 1L de cada solvente, em ordem crescente de polaridade. Utilizou-se como eluente os seguintes solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, resultando nas frações contidas na Tabela abaixo:

Tabela 20 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVE

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA / (mg)
hexano	TTVEH	401
clorofórmio	TTVEC	2.153
acetato de etila	TTVEA	911
metanol	TTVEM	4.034
TOTAL		7.499

5.5.4.1. Fracionamento cromatográfico de TTVEA

Uma alíquota de TTVEA (800 mg), material sólido de coloração marrom, foi submetida à fracionamento por exclusão molecular em Sephadex numa coluna cromatográfica ($L = 52$ e $\phi = 3$ cm), utilizando metanol como eluente. Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações obtidas e reuni-las em 04 novas frações, sumarizadas na Tabela abaixo:

Tabela 21 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEA

FRAÇÃO	MASSA / (mg)
TTVEA – 1	164,4
TTVEA – 2	252,1
TTVEA – 3	25,6
TTVEA – 4	126,0
TOTAL	568,1

5.5.4.2. Fracionamento cromatográfico de TTVEA – 4 e isolamento de TTP-1

A fração TTVEA – 4 (126,0 mg), quando analisada por CCD (eluente: diclorometano / acetato de etila 50%), apresentou apenas dois componentes ao ser revelada em solução de vanilina. A mesma foi cromatografada em gel de sílica para cromatografia “flash” (L = 30 e ϕ = 1,5 cm) e os dados cromatográficos, tais como os solventes utilizados e suas respectivas frações são mostrados na Tabela 22.

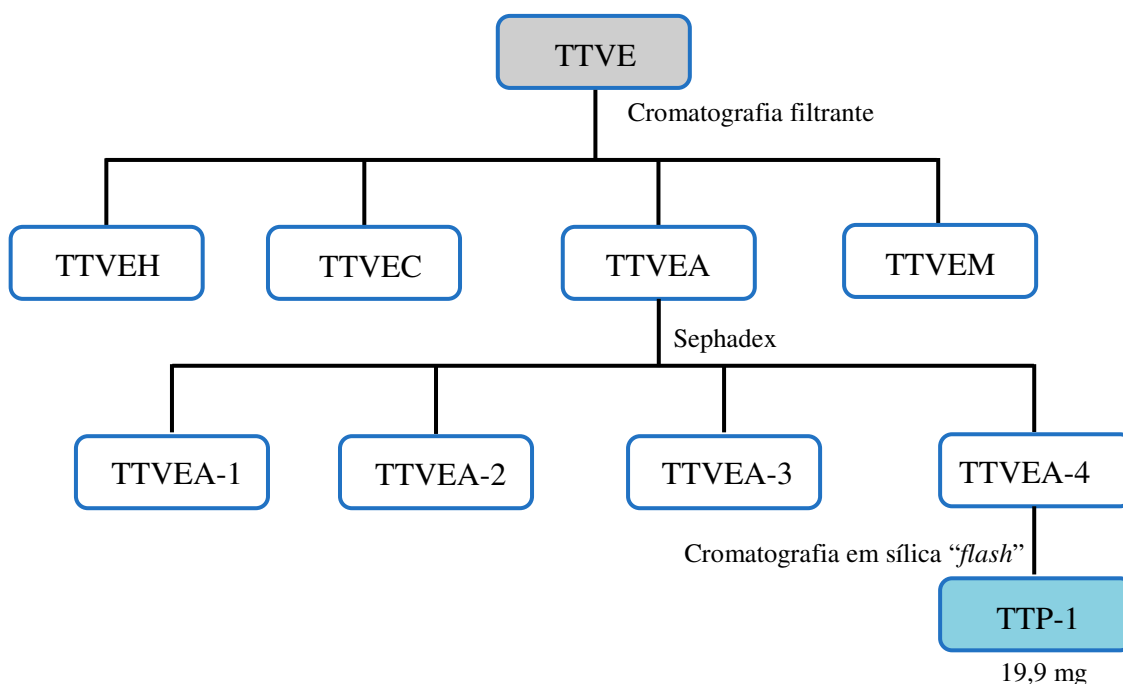
Tabela 22 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEA – 4

ELUENTE	FRAÇÕES	V / (mL)
diclorometano / acetato de etila 9:1	1	125
diclorometano / acetato de etila 4:1	2	125
diclorometano / acetato de etila 7:3	3	125
diclorometano / acetato de etila 3:2	4	125
diclorometano / acetato de etila 1:1	5	125
diclorometano / acetato de etila 2:3	6	50
diclorometano / acetato de etila 3:7	7-11	10
acetato de etila / metanol 9:1	12-15	10

A fração 09 continha 19,9 mg de um sólido amarelo amorfo, solúvel em

metanol, o qual recebeu denominação de TTP-1. O composto foi caracterizado estruturalmente como sendo a flavona luteolina.

Fluxograma 01 – Isolamento de TTP-1



5.5.4.3. Fracionamento cromatográfico de TTVEC

Uma alíquota da fração TTVEC (2,0 g) foi submetida à cromatografia com gel de sílica em coluna cromatográfica ($L = 25$ e $\phi = 3$ cm), utilizando a série de eluentes descrita na Tabela 23. As frações obtidas foram reunidas, após análise por CCD, resultando em 31 novas frações.

Tabela 23 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEC

ELUENTE	FRAÇÕES	V / (mL)
hexano / diclorometano 1:1	1 e 2	125
hexano / diclorometano 2:3	3 e 4	50
hexano / diclorometano 1:4	5-28	10
hexano / diclorometano 1:9	29-72	10
diclorometano	73-90	10
diclorometano / acetato de etila 9:1	91-96	10
diclorometano / acetato de etila 7:3	97-124	10
diclorometano / acetato de etila 1:1	125-145	10
diclorometano / acetato de etila 3:7	146-157	10
diclorometano / acetato de etila 1:9	158-168	10
acetato de etila	169-190	10
metanol	191-193	100

5.5.4.4. Fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75)

A fração TTVEC (46-75) ao ser analisada por CCD (eluente: hexano / diclorometano 75%) mostrou três componentes fluorescentes ao ser irradiada por luz UV nos comprimentos de onda 254 e 365 nm e ao ser revelada em solução de vanilina. Esta fração (74,6 mg) foi cromatografada sobre uma camada de gel de sílica para cromatografia “flash” ($L = 26$ e $\phi = 2,5$ cm).

Os dados cromatográficos, tais como os solventes utilizados e suas respectivas frações são mostrados na Tabela 24 (p. 135).

Tabela 24 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75)

ELUENTE	FRAÇÕES	V / (mL)
hexano / diclorometano 3:7	1-4	50
hexano / diclorometano 1:4	5-61	10
hexano / diclorometano 1:9	62-69	10
diclorometano / acetato de etila 8:2	70-87	10
acetato de etila	88	125
metanol	89-93	125

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível verificar o perfil cromatográfico das frações obtidas e reuni-las em 09 novas frações.

A fração 14-22 continha 8,8 mg de um sólido cristalino incolor, solúvel em clorofórmio, o qual foi denominado **TTP-2** e identificado como sendo a mistura esteroideal de sitosterol e estigmasterol.

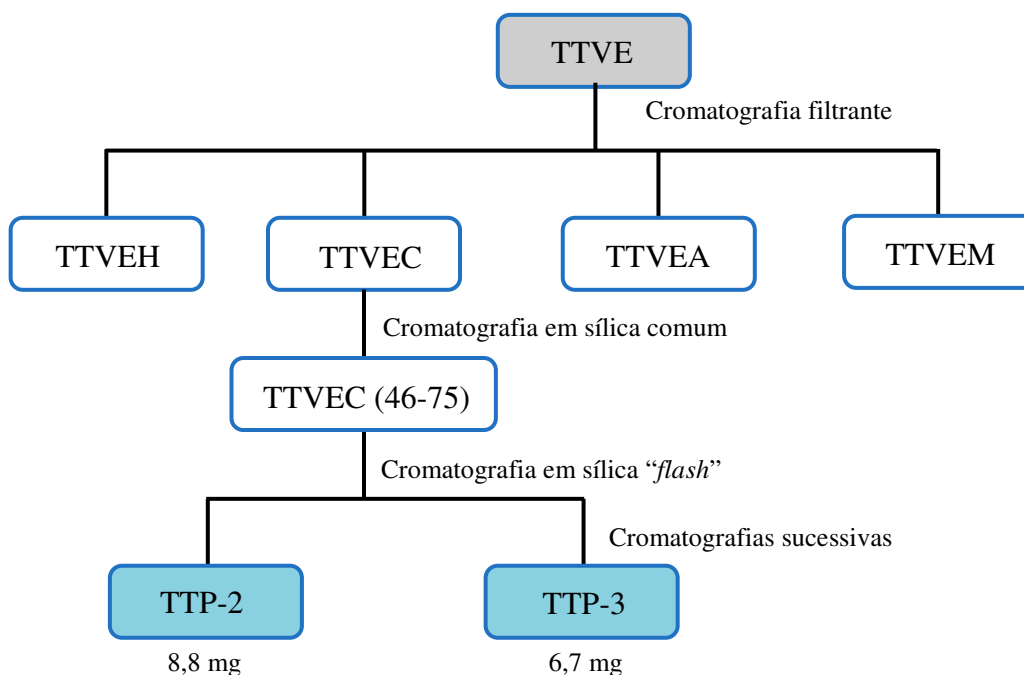
5.5.4.5. Fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75)/(23-83) e isolamento de TTP-3

Visando dar continuidade ao tratamento cromatográfico das frações obtidas no item 5.5.4.4., realizou-se o tratamento cromatográfico de TTVEC (46-75)/(23-83). O material (69,0 mg) foi misturado a uma pequena quantidade de sílica gel e pulverizado em gral de porcelana. A mistura foi acondicionada sobre uma camada de gel de sílica para cromatografia “*flash*” (L = 21 e ϕ = 1 cm). O fracionamento cromatográfico foi realizado com a série de eluentes citada na Tabela 25 (p. 136), onde foram coletadas frações de 10 mL.

Posterior análise por CCD permitiu verificar o perfil cromatográfico das frações obtidas e reuni-las. A fração 47-56 continha 6,7 mg de um sólido amarelo de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **TTP-3**. A análise dos seus dados espectrométricos e a comparação dos mesmos com os da literatura permitiram caracterizá-lo como sendo o rotenoide 6a,12a-desidro- α -toxicarol.

Tabela 25 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTVEC (46-75)/(23-83)

ELUENTE	FRAÇÕES
hexano / diclorometano 1:1	1-82
hexano / diclorometano 2:3	83-89
hexano / diclorometano 3:7	90-96
hexano / diclorometano 1:4	97-102
hexano / diclorometano 1:9	103-107
diclorometano	108-112
diclorometano / acetato de etila 98:2	113-117
diclorometano / acetato de etila 96:4	118-121
diclorometano / acetato de etila 1:1	122-132
acetato de etila	133-141
metanol	142-143

Fluxograma 02 – Isolamento de TTP-2 e TTP-3

5.5.5. Obtenção dos extratos aquosos das raízes de *T. toxicaria*

O material botânico das raízes de *T. toxicaria* (1000 g) – obtido na segunda coleta – foi triturado, seco, dividido em duas amostras de 500 g e submetido a extração com água destilada por extração em aparelho Soxhlet e a frio.

5.5.5.1. Obtenção dos extratos aquosos das raízes por extração em Soxhlet e isolamento de TTP-4

Com uma das amostras de 500 g de raiz, foram preparados quatro cartuchos em aparelho Soxhlet, que foram extraídos por aproximadamente 4 horas utilizando 2,5 L de água. O material botânico, após a extração, foi filtrado e seco, originando 260 g de material que foi posteriormente submetido a extração com etanol e deu origem ao extrato denominado TTRASE (16,0 g).

O extrato aquoso obtido foi dividido em duas alíquotas de aproximadamente 1000 mL. Uma delas foi liofilizada e denominada TTRAS (5,2 g) e a outra extraída com acetato de etila, dando origem ao extrato denominado TTRASA (1,3 g).

O extrato TTRASA apresentou um precipitado, que ao ser extraído exaustivamente com metanol a baixa temperatura deu origem a 7,4 mg de um sólido amarelo, de aspecto cristalino, solúvel em clorofórmio, denominado **TTP-4** e identificado como sendo o rotenoide α -toxicarol.

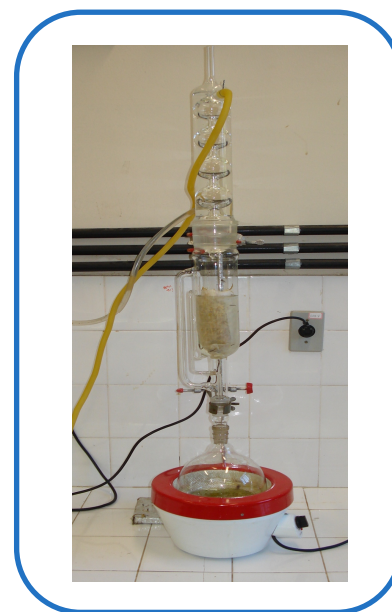
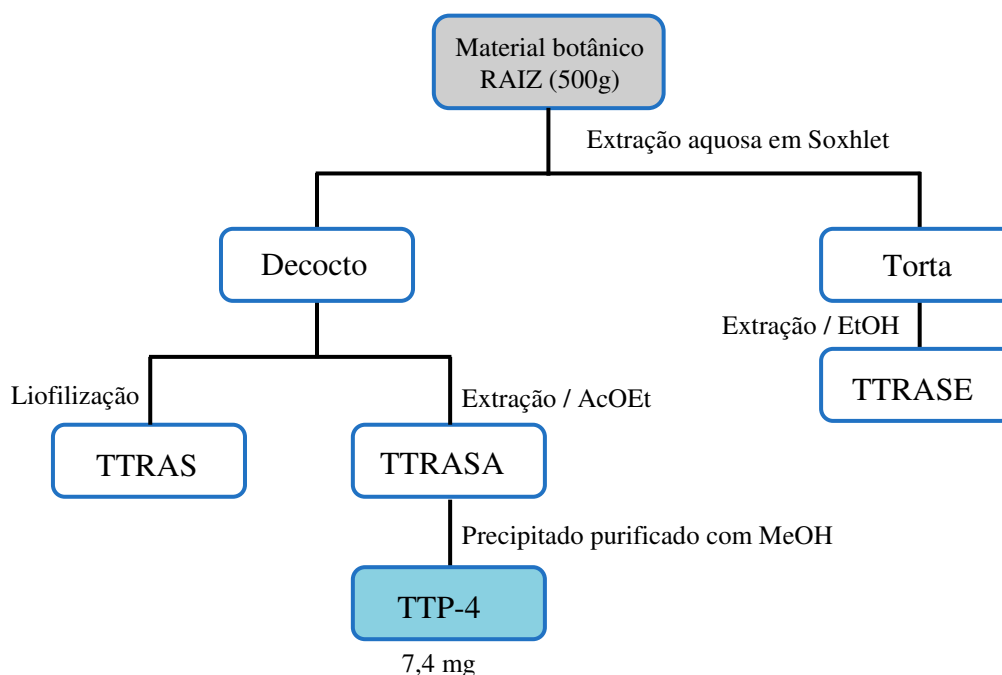


Figura 132 – Sistema Soxhlet

Fluxograma 03 – Isolamento de TTP-4



5.5.5.2. Obtenção dos extratos aquosos das raízes por extração a frio

A outra amostra de 500 g de raiz foi submetida a extração a frio por aproximadamente 24 horas em kitassato contendo 2,5 L de água.

O extrato aquoso obtido foi dividido em duas alíquotas de aproximadamente 1000 mL. Uma delas foi liofilizada e denominada TTRAF (2,2 g) e a outra extraída com acetato de etila, dando origem ao extrato denominado TTRAFA (1,2 g).



O material botânico, após a extração, foi filtrado e seco, originando 344 g de material, que, ao ser submetido a extração com etanol, deu origem ao extrato denominado TTRAFA (14,2 g).



5.5.5.3. Fracionamento cromatográfico de TTRAFA e isolamento de TTP-5

O extrato TTRAFA (1025 g), obtido no item 5.5.5.2., foi misturado a uma pequena quantidade de gel de sílica e pulverizado em grau de porcelana e posteriormente submetido a cromatografia em gel de sílica comum ($L = 7,5$ e $\phi = 3$ cm). Utilizou-se a série de eluentes descrita na Tabela 26 (p. 139), onde foram coletadas frações de aproximadamente 10 e 50 mL, resultando em um total de 126 frações.

Posterior análise por CCD permitiu a verificação do perfil cromatográfico das frações obtidas e a reunião das mesmas em 11 novas frações, como mostrado na Tabela 26. A fração 3-4 (13,2 mg), um sólido amarelo de aspecto cristalino, apresentou-se como uma mancha homogênea e foi denominado **TTP-5**. A caracterização estrutural da mesma nos levou à flavanona obovatina.

Tabela 26 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRAFA

ELUENTE	FRAÇÕES	V / (mL)
hexano	1	50
hexano / diclorometano 1:1	2-6	50
hexano / diclorometano 1:1	7-12	10
hexano / diclorometano 2:3	13-20	10
hexano / diclorometano 1:4	21-42	10
diclorometano	43-62	10
diclorometano / acetato de etila 95:5	63-73	10
diclorometano / acetato de etila 9:1	74-105	10
diclorometano / acetato de etila 4:1	106-113	10
diclorometano / acetato de etila 1:1	114 e 115	50
acetato de etila	116-118	50
acetato de etila / metanol 1:1	119-122	50
metanol	123-126	50

Tabela 27 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de TTRAFA

FRAÇÃO	MASSA / (mg)	FRAÇÃO	MASSA / (mg)
3-4	13,2	66-69	8,6
7-20	22,1	70-75	15,5
21-24	19,6	76-82	14,9
25-43	119,5	84-92	22,0
44-55	58,6	93-113	82,4
56-65	23,8	TOTAL	599,1

5.5.5.4. Fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)

Continuando o fracionamento cromatográfico de TTRAFA, a fração TTRAFA (25-43), obtida no item 5.5.5.3. (119,5 mg), foi submetida a cromatografia do tipo “flash” em coluna cromatográfica ($L = 30$ e $\phi = 1$ cm). O resultado do fracionamento cromatográfico e a série de eluentes utilizada são mostrados na Tabela 28 (p. 140).

Tabela 28 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)

ELUENTE	FRAÇÕES	V / (mL)
diclorometano	1 e 2	50
diclorometano	3-49	10
diclorometano / acetato de etila 98:2	50-60	10
diclorometano / acetato de etila 96:4	61-70	10
diclorometano / acetato de etila 9:1	71-79	10
diclorometano / acetato de etila 1:1	80-85	10
acetato de etila	86-89	10
acetato de etila / metanol 1:1	90-98	10
metanol	99	100

As frações foram reunidas pelo perfil apresentado por CCD, resultando em 09 novas frações, como mostrado abaixo:

Tabela 29 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)

FRAÇÃO	MASSA / (mg)	FRAÇÃO	MASSA / (mg)
8-13	2,7	45-58	5,6
14-30	69,4	59-66	1,9
31-39	5,5	91 e 92	9,1
40-44	2,7	TOTAL	96,9

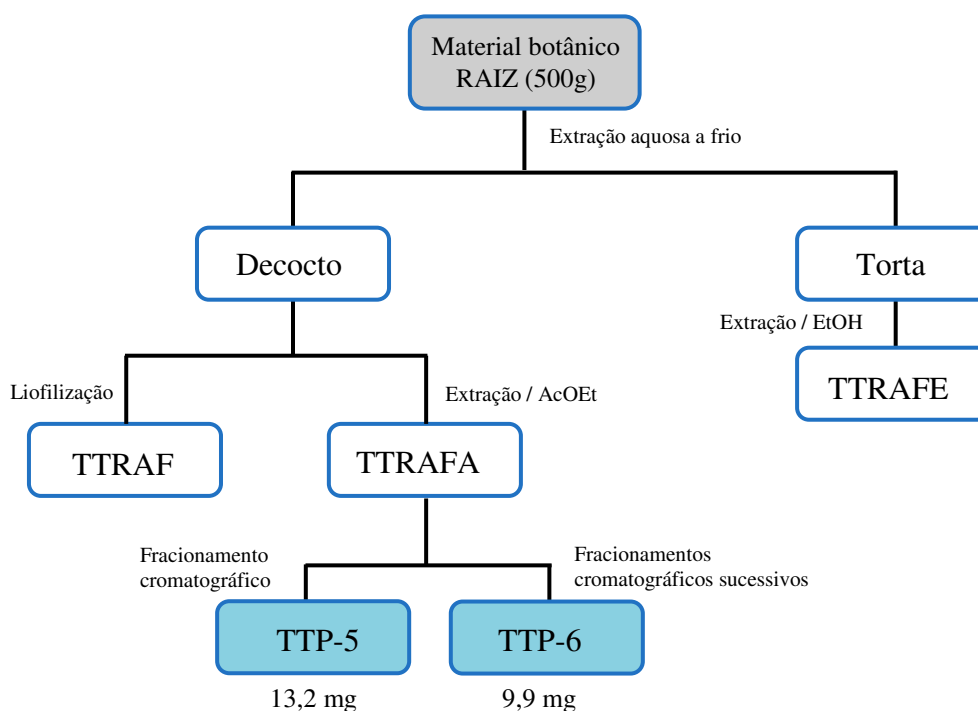
5.5.5.5. Fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)/(14-30) e isolamento de TTP-6

TTRAFA (25-43)/(14-30), 69,4 mg, foi misturado a uma pequena quantidade de gel de sílica e pulverizado em gral de porcelana. A mistura foi cromatografada sobre uma camada de gel de sílica para cromatografia “flash” (L = 23 e ϕ = 1,5 cm). A série de eluentes utilizada no fracionamento cromatográfico é citada na Tabela 30 (p. 141).

Posterior análise por CCD permitiu verificar o perfil cromatográfico das frações obtidas e reuni-las. A fração 29-41 continha 9,9 mg de um sólido amarelo de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **TTP-6**. Sua caracterização estrutural se deu com análise de dados espectrométricos e por comparação com dados da literatura. TTP-6 foi caracterizado como sendo o rotenoide deguelina.

Tabela 30 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRAFA (25-43)/(14-30)

ELUENTE	FRAÇÕES	V / (mL)
hexano / diclorometano 4:1	1-3	50
hexano / diclorometano 1:4	4-24	10
hexano / diclorometano 1:9	25-34	10
diclorometano	35-38	10
diclorometano / acetato de etila 1:1	39-50	10
acetato de etila	51	50
metanol	52	50

Fluxograma 04 – Isolamento de TTP-5 e TTP-6

5.5.5.6. Fracionamento cromatográfico de TTRASE e isolamento de TTP-7

O extrato TTRASE (15,0 g) foi adsorvido em aproximadamente 20 g de gel de sílica, pulverizado em gral de porcelana e cromatografado em funil de vidro sinterizado ($\phi = 10$ cm). A eluição aconteceu de forma isocrática, utilizando 1L de cada solvente, em ordem crescente de polaridade. O fracionamento cromatográfico foi realizado com a série de eluentes descrita na Tabela 31, resultando nas frações descritas na mesma.

Tabela 31 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRASE

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA / (g)
hexano	TTRASEH	4,718
clorofórmio	TTRASEC	8,033
acetato de etila	TTRASEA	0,305
metanol	TTRASEM	1,771
TOTAL		14,827

A fração TTRASEA apresentou um precipitado, que foi purificado com acetona, e deu origem a um sólido branco de aspecto amorfo (9,8 mg), solúvel em piridina, denominado **TTP-7** e caracterizada como sendo a mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol nas suas formas glicosiladas.

5.5.5.7. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC

Uma alíquota da fração TTRASEC (7,0 g) foi adsorvida em sílica comum e cromatografada em coluna ($\phi = 6$ cm) sobre uma camada de 5 cm de gel de sílica. A eluição com gradiente de uma mistura binária de solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade, coletando amostras de 50 mL, forneceu 40 novas frações (Tab. 32, p. 143).

A análise comparativa por CCD das frações obtidas possibilitou a reunião das semelhantes, cujo resultado encontra-se na Tabela 32.

A fração 6 (545,2 mg), um sólido amarelo de aspecto amorfo, solúvel em clorofórmio, apresentou dados espectrométricos semelhantes aos de **TTP-6** (deguelina), e foi caracterizada como sendo o mesmo composto.

Tabela 32 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRASEC

ELUENTE	FRAÇÕES
hexano	1
hexano / diclorometano 4:1	2 e 3
hexano / diclorometano 1:1	4
hexano / diclorometano 3:7	5 e 6
diclorometano	7-11
diclorometano / acetato de etila 9:1	12-22
diclorometano / acetato de etila 7:3	23-26
diclorometano / acetato de etila 1:1	27-30
diclorometano / acetato de etila 3:7	31-34
acetato de etila	35 e 36
acetato de etila / metanol 1:1	37 e 38
metanol	39 e 40

Tabela 33 - Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC

FRAÇÃO	MASSA / (mg)	FRAÇÃO	MASSA / (mg)
1-2	11,0	15	451,9
3	14,5	16-17	574,6
4	177,5	18-24	423,2
5	520,1	25-26	60,3
6	545,2	27-28	118,9
7	648,8	29-32	129,4
8-14	2.330,9	TOTAL	5.946,3

5.5.5.8. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)

TTRASEC (5), 520,1 mg, foi recromatografada sobre uma camada de gel de sílica “flash” em coluna cromatográfica (L = 22 e ϕ = 2 cm) sob pressão, utilizando gradientes de eluição em ordem crescente de polaridade, segundo Tabela 34.

Tabela 34 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)

ELUENTE	FRAÇÕES	V / mL
hexano/diclorometano 3:2	1 – 52	10
hexano/diclorometano 1:1	53 – 57	10
hexano/diclorometano 4:6	58 – 85	10
hexano/diclorometano 2:8	86 – 97	10
diclorometano/acetato de etila 9:1	98 – 108	10
diclorometano/acetato de etila 7:3	109 – 126	10
acetato de etila	127 – 132	10
metanol	133 e 134	100

As frações foram analisadas por CCD e reunidas conforme sua semelhança, dando origem a 09 novas frações (Tabela 35).

Tabela 35 - Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)

FRAÇÃO	MASSA / (mg)	FRAÇÃO	MASSA / (mg)
1 – 10	1,0	86 – 107	156,0
11 – 23	10,9	108 – 111	30,7
24 – 49	72,5	112 – 120	15,2
50 – 79	89,0	121 – 134	17,6
80 – 85	23,1	TOTAL	416,0

A identificação da fração (11–23) revelou que a mesma era semelhante a **TTP-3** (6a,12a-desidro- α -toxicarol); e a fração (86-107) foi caracterizada como sendo novamente o rotenoide **TTP-6** (deguelina).

5.5.5.9. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)/(50-79)

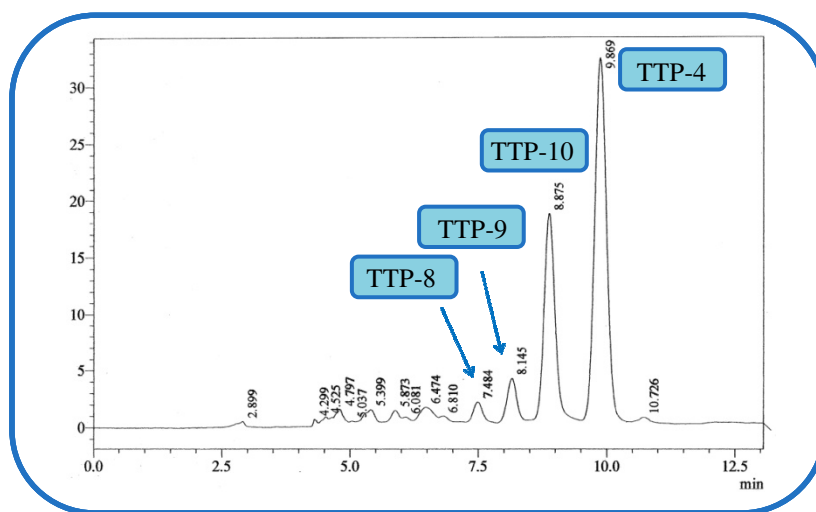
A cromatografia “flash” da fração TTRASEC (5)/(50-79), 89 mg, utilizando coluna cromatográfica de 1,5 cm de diâmetro, altura de 28 cm e mistura binária dos solventes hexano/diclorometano 3:7, forneceu 20 novas frações. A posterior análise por CCD (eluente: diclorometano) resultou em 3 outras frações, agrupadas conforme suas semelhanças (Tab. 36, p. 145).

Tabela 36 - Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)/(50-79)

FRAÇÃO	MASSA / (mg)
1 – 2	1,7
3 – 14	39,1
15 – 20	9,6
TOTAL	50,4

5.5.5.10. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (5)/(50-79)/(3-14) e isolamento de TTP-8, TTP-9 e TTP-10

A fração foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna semi-preparativa (RP-18) operando em modo reverso, utilizando octadecilsilano como fase estacionária, e solução de metanol / ácido fórmico 0,1% (4:1) como fase móvel, com detecção em arranjo de fotodiodos (DAD). O método utilizado é semelhante ao descrito por Ye *et al.* (2008), para o isolamento e purificação de rotenoides e o cromatograma (Fig. 133) apresentou ótima resolução.

**Figura 133** – Cromatograma de CLAE de TTRASEC (5)/(50-79)/(3-14)

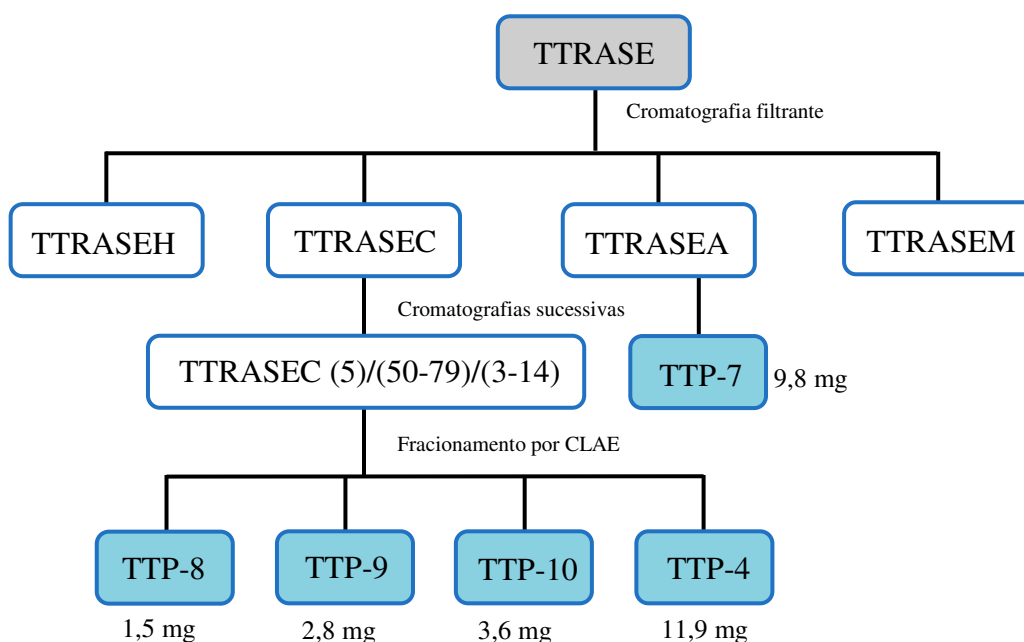
O material (39,1 mg) foi dissolvido em aproximadamente 2 mL da fase móvel e as injeções realizadas em alíquotas de 200 μ L (*loop*) de solução previamente filtrada, a um fluxo de 1 mL/min. A detecção foi realizada na região de 210 – 400 nm (Max Plot) onde foram detectados e coletados os 4 picos majoritários. As amostras obtidas foram

caracterizadas por técnicas espectroscópicas e identificadas como sendo uma série de rotenoides (Capítulo 04).

Tabela 37 - Dados referentes ao fracionamento por CLAE de TTRASEC (5)/(50-79)/(3-14)

PICO	t _R (min.)	DENOMINAÇÃO	ROTENOIDE	MASSA (mg)
1	7,48	TTP-8	villosinol	1,5
2	8,14	TTP-9	12a-hidroxi- α -toxicarol	2,8
3	8,87	TTP-10	sumatrol	3,6
4	9,86	TTP-4	α -toxicarol	11,9

Fluxograma 05 – Isolamento de TTP-7, TTP-8, TTP-9, TTP-10 e TTP-4



5.5.5.11. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (8-14)

Uma alíquota de 310 mg da fração TTRASEC (8-14) foi previamente misturada a uma pequena quantidade de gel de sílica “flash” e recromatografada em coluna ($L = 33$ e $\phi = 2$ cm). A eluição aconteceu de forma isocrática utilizando diclorometano e foram obtidas 26 frações (10 mL), que foram reunidas segundo a semelhança do perfil cromatográfico apresentado (Tab. 38, p. 147).

Tabela 38 - Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (8-14)

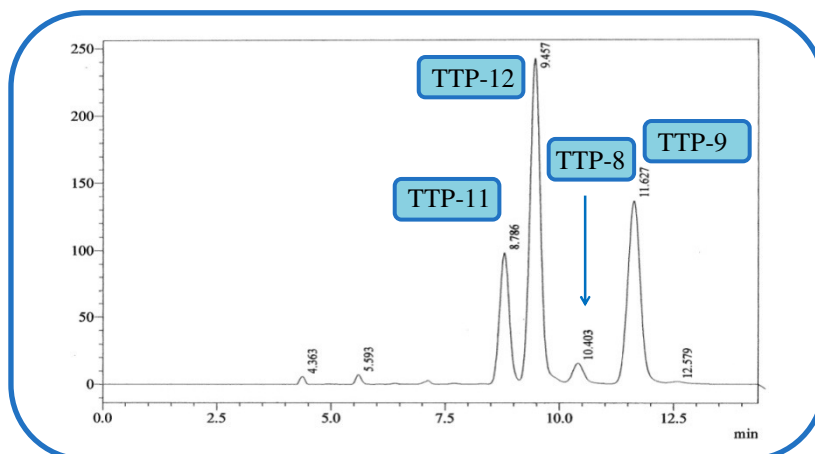
FRAÇÃO	MASSA / (mg)
1 – 7	21,7
8 – 13	10,1
14 – 26	177,5
TOTAL	209,3

5.5.5.12. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (8-14)/(14-26) e isolamento de TTP-11 e TTP-12

Através de um *loop* de 200 μ L, 177,5 mg da fração TTRASEC (8-14)/(14-26) foi injetada sucessivas vezes num aparelho de CLAE, numa coluna semi-preparativa (RP-18) de fase reversa. Como fase móvel utilizou-se solução de metanol / ácido fórmico 0,1% (4:1) mantendo-se um fluxo constante de 3 mL/min. O método utilizado foi semelhante ao descrito anteriormente no item 5.5.5.11.. O cromatograma (Fig. 134), vizualizado na faixa de 210 – 400 nm, mostrou a separação de 4 picos majoritários, de onde foram isolados os rotenoides descritos na Tabela 39. As substâncias foram caracterizadas quimicamente por RMN, IV e EM.

Tabela 39 - Dados referentes ao fracionamento por CLAE de TTRASEC (8-14)/(14-26)

PICO	t _R (min.)	DENOMINAÇÃO	ROTENOIDE	MASSA (mg)
1	8,78	TTP-11	12a-hidroxirotenona	27,8
2	9,45	TTP-12	tephrosina	62,0
3	10,40	TTP-8	villosinol	5,0
4	11,62	TTP-9	12a-hidroxi- α -toxicarol	30,0

**Figura 134** – Cromatograma de CLAE de TTRASEC (8-14)/(14-26)

5.5.5.13. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (16-17)

A fração TTRASEC (16-17) – 574,6 mg – foi dissolvida em metanol e submetida a cromatografia de exclusão em Sephadex ($L = 50$ e $\phi = 3$ cm), utilizando-se o mesmo solvente como fase móvel. Foram coletadas 80 frações, de 10 mL cada, que foram analisadas por CCD e reunidas segundo perfil cromatográfico semelhante (Tab. 40).

Tabela 40 - Frações resultantes do fracionamento cromatográfico de TTRASEC (16-17)

FRAÇÃO	MASSA / (MG)	FRAÇÃO	MASSA / (MG)
1 – 39	106,3	69 – 74	106,9
40 – 56	82,3	75 – 80	46,1
57 – 68	76,2	TOTAL	417,8

5.5.5.14. Fracionamento cromatográfico de TTRASEC (16-17)/(69-74) e isolamento de TTP-13

Uma alíquota de 100,0 mg da fração TTRASEC (16-17)/(69-74) foi purificada por CLAE, realizando-se sucessivas injeções de 200 μ L da amostra previamente filtrada, utilizando como eluente uma solução de metanol / ácido fórmico 0,1% (3:1), a um fluxo de 4,7 mL/min. A eluição aconteceu de forma isocrática numa coluna semi-preparativa (RP-18). O cromatograma (Fig. 135, p. 149), visualizado na faixa de 210 – 400 nm, mostrou uma mistura de vários picos, dos quais apenas 3 (três) foram escolhidos para serem coletados (Tab. 41). Foram obtidos uma cromona (**TTP-13**) e dois rotenoides já isolados no item 5.5.5.12..

Tabela 41 - Dados referentes ao fracionamento por CLAE de TTRASEC (16-17)/(69-74)

PICO	t_R (min.)	DENOMINAÇÃO	ROTENOIDE	MASSA (mg)
1	3,57	TTP-13	6,7-dimetoxicromona	2,0
2	7,62	TTP-11	12a-hidroxirotenona	3,0
4	8,35	TTP-12	tephrosina	11,0

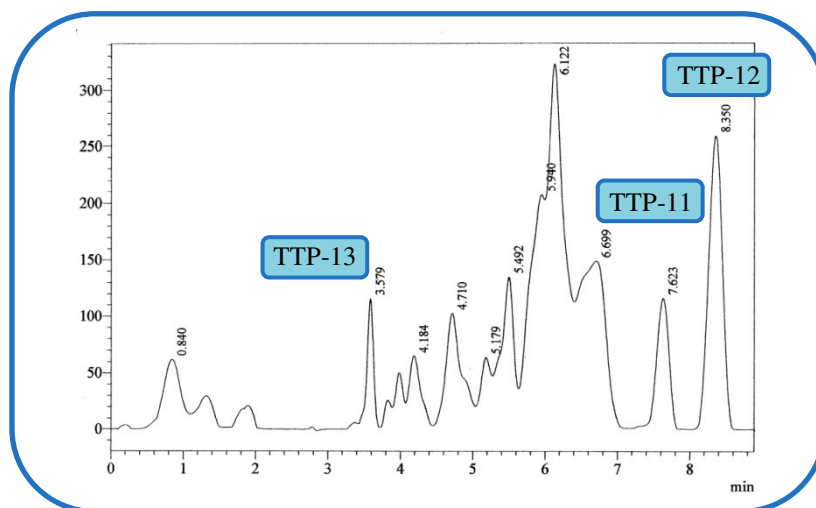
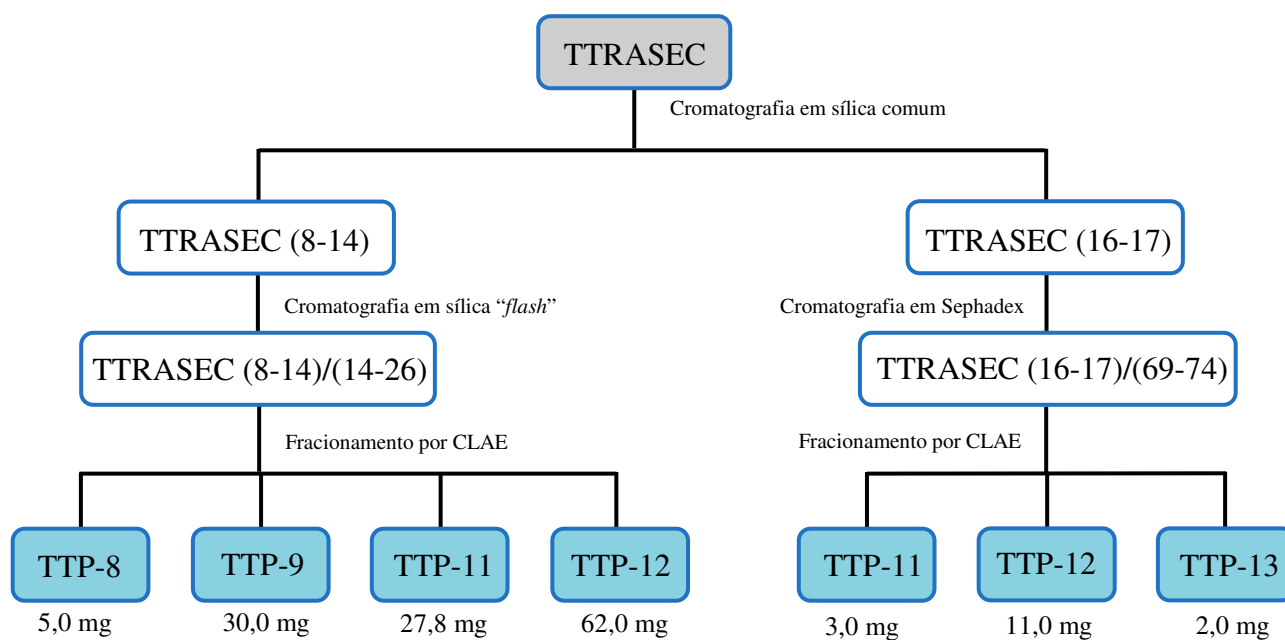


Figura 135 – Cromatograma de CLAE de TTRASEC (16-17)/(69-74)

Fluxograma 06 – Isolamento de TTP-8, TTP-9, TTP-11, TTP-12 e TTP-13



5.6. Atividades biológicas

5.6.1. Teste de atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Os testes de atividade larvicida frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti* foram feitos em parceria com o Laboratório de Entomologia do Núcleo de Endemias da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (NUEND - SESA), em convênio com a Universidade Federal do Ceará, sob orientação da Profa. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago.

Alíquotas das amostras (10 a 1mg) foram, inicialmente, dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e transferidas para um béquer com capacidade de 50 mL. Posteriormente, foram adicionados 19,7 mL de água, juntamente com 50 larvas no estágio III (GADELHA; TODA, 1985).

Após 24 horas, foi realizada a contagem da quantidade de larvas mortas. Os resultados são mostrados em concentração (ppm) da amostra capaz de matar 50% da população de larvas (CL_{50}) (OLIVEIRA *et al.*, 2002). Os bioensaios foram realizados em triplicata e os resultados são mostrados na Tabela 42 (p. 154) juntamente com o cálculo de desvio padrão dos mesmos. Paralelamente foram realizados testes em branco, utilizando água e DMSO a 1,5%. Como padrões positivos do teste foram utilizados o temephos[®] e a rotenona (Pestanal - SIGMA[®]).

5.6.2. Teste de atividade antioxidante

5.6.2.1. Teste qualitativo (β -caroteno)

Ensaio antioxidantes preliminares foram realizados, no Laboratório de Biotransformações e Produtos Naturais (LBPN) da Universidade Federal do Ceará, com extratos de *T. toxicaria*, utilizando o β -caroteno (SIGMA[®]). As soluções das amostras (1000 ppm) foram colocadas em cromatofolhas que foram borrifadas com uma solução de β -caroteno 0,05 % em CH_2Cl_2 (CARDOSO *et al.*, 2005). Posteriormente foram submetidas, por 24 horas, à presença de luz natural até descoloração. A persistência da coloração amarela indica a presença de substâncias antioxidantes. Os resultados são mostrados na Figura 138 (p. 156). O teste foi realizado em duplicata e utilizou-se como padrões positivos o Trolox[®] e a vitamina C.

5.6.2.2. Teste quantitativo (DPPH)

As atividades antioxidantes de extratos e substâncias foram averiguadas por testes específicos utilizando o DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila), no LBPN - UFC. Foi utilizada metodologia do seqüestro de radicais livres (HEGAZI; ABD EL HADY, 2002). Adicionou-se em uma cubeta 1mL de DPPH, previamente preparado na concentração de 60 mmol/L, 1mL de etanol e realizou-se leitura em espectrofotômetro UV com absorbância de 520 nm. Em seguida, foi feita uma leitura testando as amostras em diferentes concentrações. Realizou-se o mesmo procedimento com os padrões Trolox[®] e vitamina C, compostos já descritos como antioxidantes efetivos. Os resultados, descritos em CI₅₀ (mg/mL), são mostrados na Tabela 43 (p. 157).

ENSAIOS BIOLÓGICOS

Capítulo 6

6. ENSAIOS BIOLÓGICOS

6.1. Teste de atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Os mosquitos são vetores de diversas doenças como a dengue, a febre amarela e a malária, causando sérios problemas de saúde pública (LOMONACO *et al.*, 2009). Esse fato tem despertado o interesse na busca por compostos capazes de combatê-los, que sejam eficientes e não acarretem danos à saúde do homem.

O *Aedes aegypti* é a espécie de mosquito responsável pela transmissão tanto da dengue como da febre amarela, doenças endêmicas na África, Ásia e América do Sul. Estimativas recentes sugerem que ocorrem anualmente, 50 milhões de casos, sendo 500.000 correspondentes ao tipo mais grave, a dengue hemorrágica (CALLAWAY, 2007).

Desde 1986 são notificados os casos de dengue no Ceará. Nesses 23 anos a doença se manifestou de forma endêmica com o registro de quatro picos epidêmicos nos anos de 1987 (22.519 casos), 1994 (47.789), 2001 (34.390) e 2008 (44.244). Destacam-se as epidemias de 1994, pelo maior número de casos confirmados, e de 2008, com o maior número de casos hemorrágicos (43). No ano de 2008 o Ceará apresentou o segundo maior número de casos de dengue desde 1986, chamando atenção o mês de abril, com quase 13.000 casos confirmados; e em 2009, foram confirmados apenas 4.811 casos (SESA, 2010).



Figura 136 – Foto do *Aedes aegypti*

Como não existe vacina contra a dengue, a maneira de diminuir a incidência desta doença é a erradicação do mosquito. O desenvolvimento de resistência frente a inseticidas sintéticos e a problemática da poluição ambiental vêm impulsionando a busca por medidas alternativas de controle e eliminação desse mosquito. Os produtos naturais obtidos de plantas podem ser uma fonte alternativa de agentes inseticidas de baixa toxicidade, uma vez que, plantas podem produzir diferentes compostos bioativos (YANG *et al.*, 2002).

O DDT (diclorodifeniltricloroetano - Fig. 137), inseticida sintético mais conhecido dentre os organoclorados, apresenta uma atividade larvicida elevada, mas é bastante tóxico, vindo a ser proibido pelo Governo Federal em 1985, juntamente com os demais produtos organoclorados, sendo permitidos somente em campanhas de saúde pública no combate à malária e leishmaniose, bem como em uso emergencial na agricultura, a critério do Ministério da Agricultura (D'AMATO; TORRES; MALM, 2002).

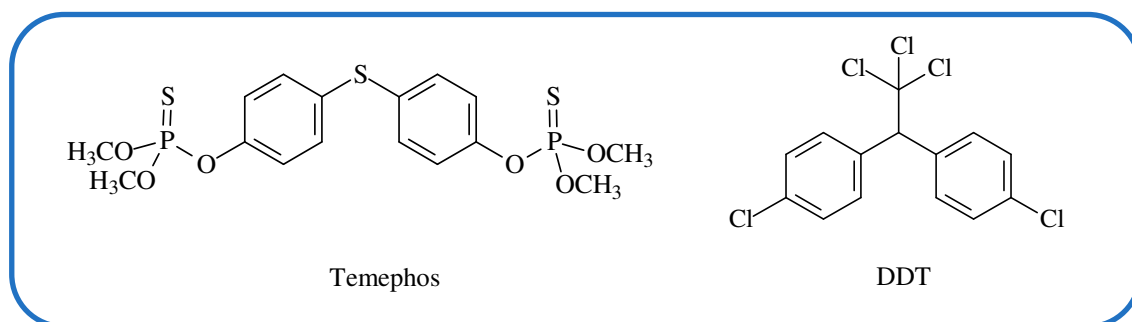


Figura 137 – Estruturas do Temephos® e DDT

Sabendo que as espécies do gênero *Tephrosia* são ricas em rotenoides e que estes compostos apresentam atividade larvicida (YENESEW *et al.*, 2006), realizaram-se testes com os extratos e substâncias isoladas de *T. toxicaria*. Amostras apresentando valores de $CL_{50} < 100$ ppm foram consideradas ativas (CHENG *et al.*, 2003) e constituem-se em fortes candidatas ao combate do mosquito.

A Tabela 42 (p. 154) mostra os resultados dos testes larvicidas. Dentre os extratos das folhas, talos, raízes e vagens de *T. toxicaria* testados, observou-se que o extrato etanólico das vagens (TTVE) foi o mais ativo ($CL_{50} = 26,88$). Da partição clorofórmio (TTVEC / $CL_{50} = 6,52$), isolou-se o rotenoide 6a,12a-desidro- α -toxicarol (TTP-3), que não apresentou atividade. O extrato etanólico das raízes (TTRE / $CL_{50} = 47,86$) também apresentou um bom resultado. Duas frações obtidas deste extrato apresentaram alta atividade (TTREH / $CL_{50} = 23,99$ e TTREC / $CL_{50} = 13,80$). Do extrato TTRASA ($CL_{50} = 91,57$) foi isolado o rotenoide α -toxicarol (TTP-4 / $CL_{50} = 24,55$), que mostrou-se ativo. O extrato etanólico obtido da extração aquosa em Soxhlet (TTRASE) também apresentou alta atividade, com um valor de CL_{50} de 16,67 ppm.

O extrato aquoso de *T. toxicaria* é utilizado como defensivo agrícola natural. O estudo do extrato aquoso, feito por dois métodos de extração, mostrou que os extratos mais polares obtidos (TTRASE e TTRAFA) apresentaram as melhores atividades quando comparados com outros menos polares (TTRASA e TTRAFA), comprovando o uso do extrato aquoso nas lavouras.

A atividade larvicida de rotenoides é discutida por Yenesew (2003b). Ele observou que a presença das metoxilas nos carbonos C-2 e C-3 é bastante importante para a atividade, visto que em um composto semelhante contendo um grupo metilenodioxí nos referidos carbonos, a atividade diminuiu consideravelmente. Verificou ainda que a ausência da ligação dupla entre os carbonos C-6a e C-12a, pode justificar a maior atividade do α -toxicarol (TTP-4 / CL_{50} = 24,55) quando comparada com outros rotenoides, como o exemplo do 6a,12a-desidro- α -toxicarol (TTP-3 / CL_{50} > 50), nos quais a junção entre os anéis B/C é insaturada. Outros três rotenoides (TTP-6, TTP-9 e TTP-12) que não possuem tal insaturação apresentaram valores de CL_{50} próximos ao da rotenona (CL_{50} = 3,16 ppm), rotenoide utilizado como padrão positivo do teste, sugerindo *T. toxicaria* como uma promissora fonte de agentes larvicidas naturais biodegradáveis.

Tabela 42 - Resultados dos testes larvicida sobre *Aedes aegypti*

Amostra	CL_{50} / ppm	Amostra	CL_{50} / ppm
TTFE	$218,78 \pm 1,50$	TTRAS	> 500
TTTE	$275,90 \pm 1,25$	TTRASA	$91,57 \pm 1,34$
TTTEH	> 500	TTRASE	$16,67 \pm 0,28$
TTTEC	$269,49 \pm 1,93$	TTRAF	$40,56 \pm 0,64$
TTVE	$26,88 \pm 0,21$	TTRAFA	$110,15 \pm 0,80$
TTVEH	> 500	TTRAFA	$59,40 \pm 0,70$
TTVEC	$6,52 \pm 0,00$	TTP-3	> 50
TTVEA	$326,75 \pm 1,84$	TTP-4	$24,55 \pm 0,13$
TTVEM	> 500	TTP-6	$3,38 \pm 2,02$
TTRE	$47,86 \pm 2,75$	TTP-9	$3,22 \pm 1,37$
TTREH	$23,99 \pm 1,05$	TTP-12	$6,31 \pm 0,69$
TTREC	$13,80 \pm 0,80$	Rotenona	$3,16 \pm 1,53$
TTREA	$95,50 \pm 1,48$	Temephos®	$1,40 \pm 0,20$
TTREM	> 500		

6.2. Teste de atividade antioxidante

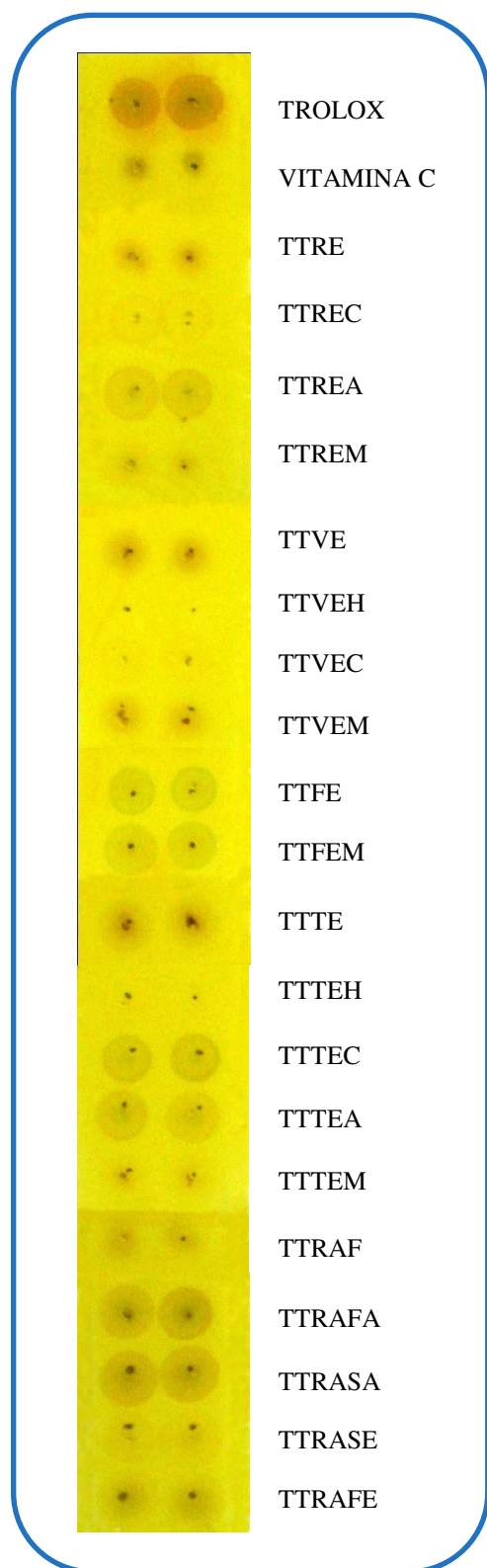
Processos oxidativos acontecem em todos os organismos vivos e, portanto, são mantidos sob rigoroso controle por vários mecanismos celulares. Porém, a produção excessiva de radicais livres e o desequilíbrio dos mecanismos de proteção antioxidante resultam no surgimento de inúmeras doenças, pela aceleração do envelhecimento (SLUSARCZYK *et al.*, 2009).

Os radicais livres, espécies químicas altamente reativas, podem danificar os lipídios, as proteínas e o DNA. Desta forma, várias doenças estão associadas à presença destes compostos, como por exemplo, o câncer, doenças cardiovasculares, declínio do sistema imunológico, catarata, deficiência orgânica do cérebro e a doença de Alzheimer (HUGON *et al.*, 1996).

Substâncias flavonoídicas são relatadas na literatura por sua capacidade de capturar estes radicais (ABDELWAHED *et al.*, 2007; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; ARRIAGA *et al.*, 2009b). Elas agem como capturadores de várias espécies oxidantes, como radicais hidroxila ou radicais peróxidos. Um grupo carbonila na posição C-4 e uma dupla ligação entre os carbonos C-2 e C-3 são características importantes para atividade antioxidante elevada em flavonoides (DAS; PEREIRA, 1990). Alguns trabalhos também relatam que misturas de flavonoides agindo como sinergistas possam ser responsáveis pela alta atividade observada em extratos (HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

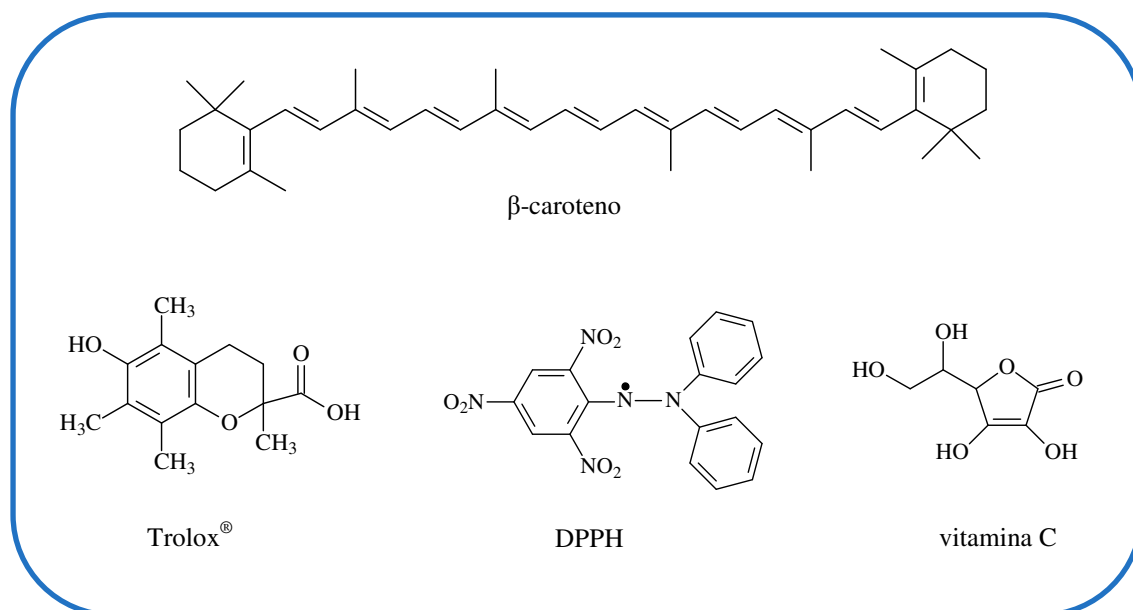
Há muito tempo vêm se buscando soluções para minimizar os efeitos dos radicais livres. Então, a busca por antioxidantes naturais, principalmente para utilização na indústria alimentícia, nos motivou a investigar novas fontes potenciais de substâncias oriundas de plantas do Nordeste Brasileiro.

O teste de atividade antioxidante é baseado na capacidade de uma determinada substância capturar um radical livre, de forma que quanto maior a possibilidade de captura de radicais, maior será sua atividade antioxidante. Considerando-se que o uso de compostos com atividade antioxidante de origem sintética não é muito recomendado uma vez que podem promover efeitos colaterais diversos, observa-se uma tendência favorável para o uso daqueles oriundos de fontes naturais.



Foi realizado teste qualitativo (Fig. 138) preliminarmente, utilizando o β -caroteno, com vinte (20) amostras de extratos obtidos segundo as metodologias descritas no Capítulo 04. Destas, foram selecionadas dez (10), para serem analisadas pelo método do DPPH (HEGAZI; ABD EL HADY, 2002). Cinco extratos (TTTEA, TTVE, TTFE, TTFEM, TTRASA) apresentaram valores de CI_{50} próximos aos dos padrões utilizados (Tab. 43, p. 157). Quatro amostras de substâncias foram testadas e a luteolina (TTP-1) mostrou-se bem mais ativa que a vitamina C, um dos padrões. Os resultados obtidos sugerem *T. toxicaria* como uma potencial fonte de agentes antioxidantes e a presença de flavonoides nos extratos vem a reforçar os resultados encontrados.

Figura 138 – Fotografia da cromatofolha do teste antioxidante utilizando o β -caroteno

**Figura 139** – Estruturas do β -caroteno, Trolox[®], DPPH e vitamina C**Tabela 43** – Resultados do teste antioxidante utilizando o DPPH

Amostra	CI ₅₀ (mg / mL)
TTTE	$6,18.10^{-2} \pm 7,9.10^{-3}$
TTTEA	$5,27.10^{-2} \pm 1,0.10^{-2}$
TTTEC	$7,28.10^{-2} \pm 1,2.10^{-2}$
TTVE	$5,15.10^{-2} \pm 1,1.10^{-2}$
TTVEM	$9,33.10^{-2} \pm 3,9.10^{-3}$
TTFE	$4,84.10^{-2} \pm 1,0.10^{-2}$
TTFEM	$5,67.10^{-2} \pm 1,0.10^{-2}$
TTRASA	$4,28.10^{-2} \pm 8,0.10^{-3}$
TTRAFA	$7,60.10^{-2} \pm 1,6.10^{-3}$
TTRE	$0,456 \pm 0,18$
TTP-1	$1,81.10^{-2} \pm 1,0.10^{-3}$
TTP-2	---
TTP-3	$0,51 \pm 7,6.10^{-2}$
TTP-4	$0,56 \pm 4,2.10^{-2}$
Trolox [®]	$2,6.10^{-3} \pm 2,3.10^{-4}$
Vitamina C	$4,3.10^{-2} \pm 1,9.10^{-2}$

CONCLUSÃO

Capítulo 7

7. CONCLUSÃO

O estudo químico de *Tephrosia toxicaria* Pers. permitiu a confirmação do perfil quimiotaxonômico encontrado para a família Fabaceae (Leguminosae), através do isolamento de dez flavonoides, sendo eles a flavona luteolina (**TTP-1**), a flavanona obovatina (**TTP-5**), os rotenoides 6a,12a-desidro- α -toxicarol (**TTP-3**), α -toxicarol (**TTP-4**), deguelina (**TTP-6**), villosinol (**TTP-8**), 12-hidroxi- α -toxicarol (**TTP-9**), sumatrol (**TTP-10**), 12a-hidroxirotenona (**TTP-11**) e tephrosina (**TTP-12**). Foram isolados ainda a mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol (**TTP-2**), bem como estes nas suas formas glicosiladas (**TTP-7**) e a cromona 6,7-dimetoxicromona (**TTP-13**). Os rotenoides apresentam como padrão estrutural o sistema dimetilcromeno, originado da ciclização do grupo 3,3-dimetilalila (isoprenila), ou anel isoprenilfurânico, sistemas encontrados frequentemente nas substâncias isoladas do gênero *Tephrosia*. No entanto, a utilização destas substâncias como marcadoras para a espécie ou gênero torna-se inviável, devido à ocorrência destas em outros gêneros pertencentes à família Fabaceae.

A técnica CLAE mostrou-se uma ferramenta bastante útil no estudo fitoquímico, possibilitando o isolamento de compostos com grandes semelhanças estruturais, sendo alguns deles com potencial larvicida promissor.

Os resultados obtidos nos ensaios de atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*, corroboram com a utilização das raízes desta espécie como defensivo agrícola. Os extratos das raízes e vagens mostraram-se bastante ativos e a atividade dos mesmos pode ser atribuída à presença de rotenoides como a deguelina e o 12a-hidroxi- α -toxicarol, compostos que apresentaram atividade semelhante à da rotenona, produto natural utilizado como padrão positivo do teste. A avaliação da atividade veio a confirmar o potencial larvicida de *T. toxicaria*.

A presença de flavonoides em *T. toxicaria* reforça os resultados encontrados nos ensaios de atividade antioxidante. O teste qualitativo preliminar realizado com β -caroteno mostrou que diversos extratos e frações apresentaram persistência da coloração amarela, indicativa da presença de substâncias antioxidantes. O teste quantitativo realizado com o DPPH veio a confirmar os resultados previstos, e cinco extratos (TTTEA, TTVE, TTFE, TTFEM, TTRASA) apresentaram valores de CI_{50}

próximos aos dos padrões utilizados. Das substâncias testadas, a luteolina (**TTP-1**) mostrou-se bem mais ativa que a vitamina C, um dos padrões utilizados, reforçando que *T. toxicaria* é uma fonte potencial de agentes antioxidantes.

Os resultados aqui apresentados asseguram que uma importante contribuição química e biológica foi dada à espécie *T. toxicaria*, espécie vegetal utilizada como defensivo agrícola natural nas lavouras, porém vislumbra-se a necessidade de estudos relacionados à toxicidade dos rotenoides ativos, visando a padronização de extratos para utilização como um biolarvicida.

*CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS
E DATOS
ESPECTROMÉTRICOS*
Capítulo 8

8. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

TTP-1 (3',4',5,7 - tetrahidroxiflavona / luteolina)

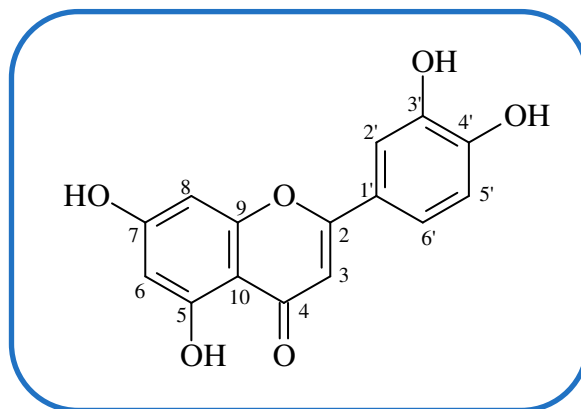
F.M. – $C_{15}H_{10}O_6$

P.M. (g/mol) – 286

Aspecto – sólido amarelado de aspecto amorfo

Solubilidade – metanol

P.f. – 315,3 - 316,6 °C



Espectroscopia na região de absorção do IV (KBr, cm^{-1}) – 3423, 2914, 1655, 1611, 1366, 1267, 1165 e 1120.

Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 7,38 (dd, $J = 9,0$ e $2,1$); 7,37 (d, $J = 2,1$); 6,90 (d, $J = 9,0$); 6,56 (s); 6,44 (d, $J = 2,1$); 6,20 (d, $J = 2,1$).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 166,5 (C, C-2); 104,0 (CH, C-3); 184,0 (C, C-4); 163,3 (C, C-5); 100,3 (CH, C-6); 166,2 (C, C-7); 95,2 (CH, C-8); 159,6 (C, C-9); 105,4 (C, C-10); 123,8 (C, C-1'); 114,3 (CH, C-2'); 147,2 (C, C-3'); 151,2 (C, C-4'); 116,9 (CH, C-5'); 120,5 (CH, C-6').

TTP-2 – sitosterol e estigmasterol

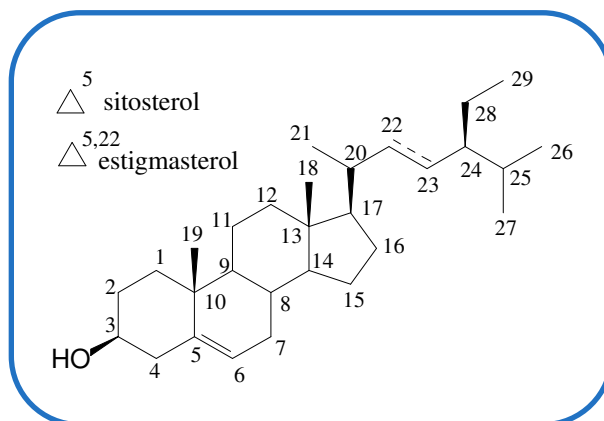
F.M. – $C_{29}H_{50}O$ (sitosterol)

$C_{29}H_{48}O$ (estigmasterol)

P.M. (g/mol) – 414 (sitosterol)

412 (estigmasterol)

Aspecto – sólido cristalino incolor, em forma de agulhas

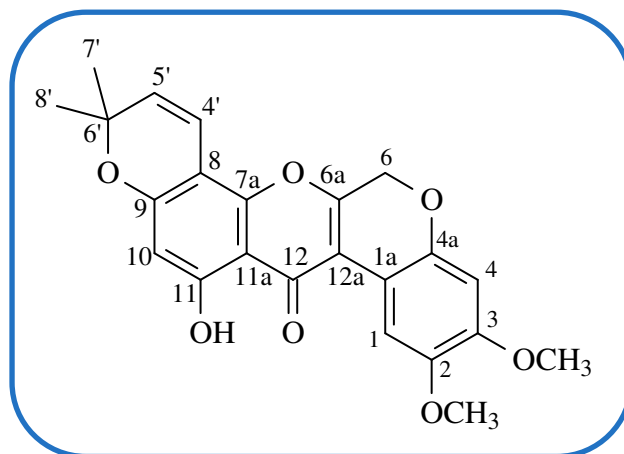


Solubilidade – clorofórmio

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (correlação estrutural) –

Sitosterol – 37,5 (C-1); 31,9 (C-2); 72,0 (C-3); 42,5 (C-4); 141,0 (C-5); 121,9 (C-6); 32,1 (C-7); 32,1 (C-8); 50,4 (C-9); 36,4 (C-10); 21,3 (C-11); 40,0 (C-12); 42,5 (C-13); 57,1 (C-14); 24,5 (C-15); 28,4 (C-16); 56,3 (C-17); 12,1 (C-18); 19,6 (C-19); 36,3 (C-20); 19,0 (C-21); 34,2 (C-22); 26,3 (C-23); 46,1 (C-24); 29,4 (C-25); 19,0 (C-26); 19,3 (C-27); 23,3 (C-28); 12,3 (C-29).

Estigmasterol - 37,5 (C-1); 31,9 (C-2); 72,0 (C-3); 42,5 (C-4); 141,0 (C-5); 121,9 (C-6); 32,1 (C-7); 32,1 (C-8); 50,4 (C-9); 36,7 (C-10); 21,3 (C-11); 39,9 (C-12); 42,5 (C-13); 57,0 (C-14); 24,5 (C-15); 29,1 (C-16); 56,3 (C-17); 12,2 (C-18); 19,6 (C-19); 40,7 (C-20); 21,3 (C-21); 138,5 (C-22); 129,5 (C-23); 51,5 (C-24); 32,3 (C-25); 21,4 (C-26); 19,2 (C-27); 25,6 (C-28); 12,3 (C-29).

TTP-3 – 6a,12a-desidro- α -toxicarol**F.M.** – $C_{23}H_{20}O_7$ **P.M. (g/mol)** – 408**Aspecto** – sólido amarelado de aspecto amorfo**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 219,8 - 221,6 °C**Espectroscopia na região de absorção do IV (KBr, cm^{-1})** – 3435, 2931, 1658, 1577, 1513, 1451 e 1155.**Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$)** – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 13,00 (s); 8,28 (s); 6,64 (d, $J = 10,0$); 6,57 (s); 6,30 (s); 5,60 (d, $J = 10,0$); 5,00 (s); 3,95 (s); 3,89 (s); 1,48 (s).**Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$)** – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 110,0 (C, C-1a); 110,2 (CH, C-1); 144,5 (C, C-2); 149,5 (C, C-3); 100,9 (CH, C-4); 146,5 (C, C-4a); 65,0 (CH_2 , C-6); 157,0 (C, C-6a); 151,1 (C, C-7a); 101,3 (C, C-8); 159,6 (C, C-9); 100,8 (CH, C-10); 162,6 (C, C-11); 106,2 (C, C-11a); 179,6 (C, C-12); 111,0 (C, C-12a); 114,6 (CH, C-4'); 128,0 (CH, C-5'); 78,3 (C, C-6'); 28,4 (CH_3 , C-7'); 28,4 (CH_3 , C-8'); 56,6 ($OCH_{3(2)}$); 56,2 ($OCH_{3(3)}$).

Estrutura de TTP-4 – α -toxicarol

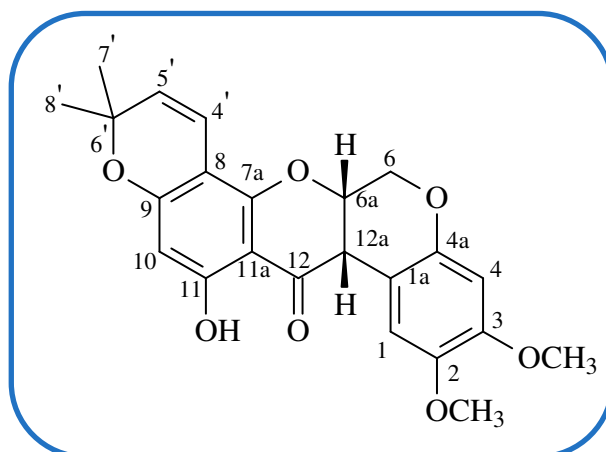
F.M. – $C_{23}H_{22}O_7$

P.M. (g/mol) – 410

Aspecto – sólido amarelo de aspecto cristalino

Solubilidade – clorofórmio

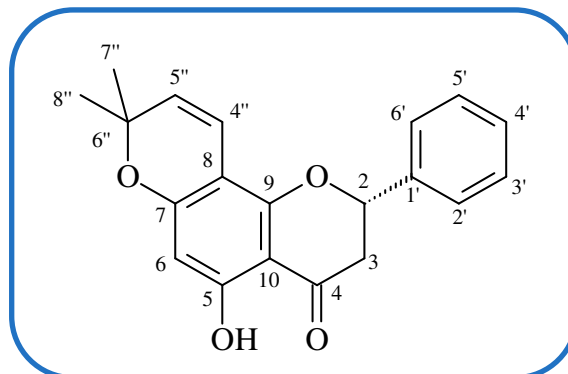
P.f. – 192,6 - 194,8 °C

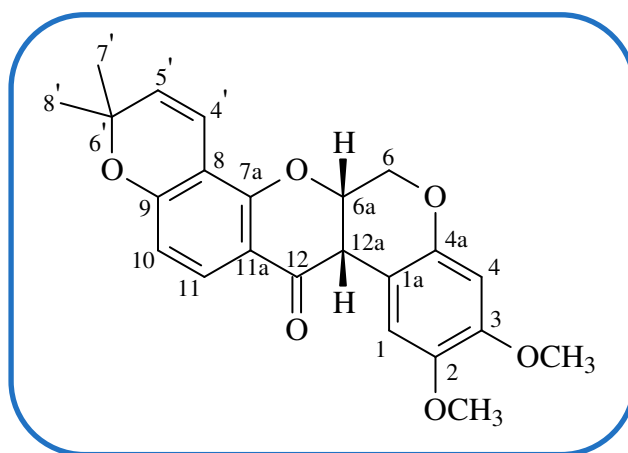


Espectroscopia na região de absorção do IV (KBr, cm^{-1}) – 3420, 2963, 2927, 1642, 1588, 1512, 1450, 1161, 1071, 908 e 778.

Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 12,19 (s); 6,88 (s); 6,56 (d, $J = 10,0$); 6,47 (s); 5,96 (s); 5,47 (d, $J = 10,0$); 4,87 (t, $J = 3,2$); 4,62 (dd, $J = 12,1$ e $3,2$); 4,18 (d, $J = 12,1$); 3,85 (d, $J = 4,1$); 3,82 (s); 3,80 (s); 1,44 (s); 1,38 (s).

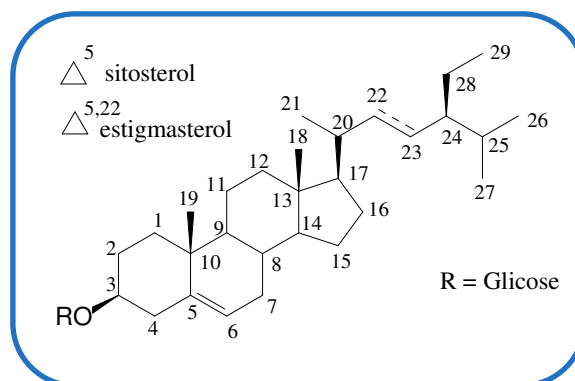
Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 104,7 (C, C-1a); 110,6 (CH, C0-1); 144,3 (C, C-2); 150,0 (C, C-3); 101,3 (CH, C-4); 147,6 (C, C-4a); 66,2 (CH_2 , C-6); 72,2 (CH, C-6a); 156,2 (C, C-7a); 102,0 (C, C-8); 163,1 (C, C-9); 98,0 (CH, C-10); 164,8 (C, C-11); 101,4 (C, C-11a); 194,5 (C, C-12); 43,8 (CH, C-12a); 115,7 (CH, C-4'); 126,6 (CH, C-5'); 78,6 (C, C-6'); 28,6 (CH_3 , C-7'); 28,8 (CH_3 , C-8'); 56,6 ($OCH_3(2)$); 56,1 ($OCH_3(3)$).

TTP-5 - obovatina**F.M.** – C₂₀H₁₈O₄**P.M. (g/mol)** – 322**Aspecto** – sólido amarelado de aspecto amorfo**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 119,8 - 121,2 °C**Espectroscopia na região de absorção do IV (KBr, cm⁻¹)** – 2923, 1644, 1590, 1374, 1160 e 1115.**Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)** – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 12,11 (s); 7,40-7,48 (m); 6,56 (d, $J = 10$); 6,02 (s); 5,48 (d, $J = 10$); 5,44 (dd, 13,0 e 3,0); 3,06 (dd, 17,1 e 13,0); 2,84 (dd, 17,1 e 3,0); 1,46 (s); 1,44 (s);.**Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)** – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 79,3 (CH, C-2); 43,5 (CH₂, C-3); 195,9 (C, C-4); 164,0 (C, C-5); 97,9 (CH, C-6); 162,5 (C, C-7); 102,2 (C, C-8); 157,0 (C, C-9); 103,1 (C, C-10); 138,7 (C, C-1'); 126,2 (CH, C-2' e C-6'); 129,0 (CH, C-3' e C-5'); 129,0 (CH, C-4'); 115,8 (CH, C-4''); 126,7 (CH, C-5''); 78,4 (C, C-6''); 28,5 (CH₃, C-7''); 28,7 (CH₃, C-8'').

TTP-6 - deguelina**F.M.** – $C_{23}H_{22}O_6$ **P.M. (g/mol)** – 394**Aspecto** – sólido amarelo de aspecto amorfo**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 153,4 - 156,2 °C**Espectroscopia na região de absorção do IV (KBr, cm^{-1})** – 2928, 1672, 1597, 1509, 1446, 1111, 1015 e 736.**Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$)** – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 7,75 (d, $J = 9,2$); 6,80 (s); 6,65 (d, $J = 10,0$); 6,47 (s); 6,47 (d, $J = 9,2$); 5,56 (d, $J = 10,0$); 4,92 (t, $J = 3,1$); 4,64 (dd, $J = 12,0$ e 3,1); 4,19 (d, $J = 12,0$); 3,85 (d, $J = 3,9$); 3,81 (s); 3,78 (s); 1,46 (s); 1,39 (s).**Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$)** – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 105,0 (C, C-1a); 110,8 (CH, C-1); 144,1 (C, C-2); 149,8 (C, C-3); 101,2 (CH, C-4); 147,7 (C, C-4a); 66,5 (CH_2 , C-6); 72,8 (CH, C-6a); 157,2 (C, C-7a); 109,4 (C, C-8); 160,3 (C, C-9); 111,7 (CH, C-10); 128,8 (CH, C-11); 113,0 (C, C-11a); 189,5 (C, C-12); 44,6 (CH, C-12a); 116,0 (CH, C-4'); 128,9 (CH, C-5'); 77,9 (C, C-6'); 28,4 (CH_3 , C-7'); 28,5 (CH_3 , C-8'); 56,6 (OCH_3 ₍₂₎); 56,1 (OCH_3 ₍₃₎).

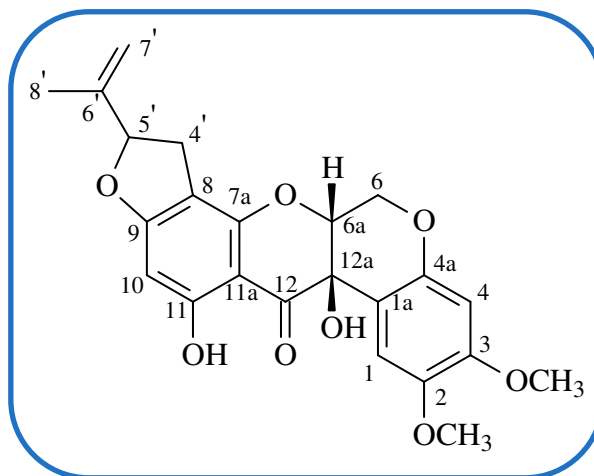
TTP-7 – sitosterol e estigmasterol glicosilados**F.M.** – $C_{35}H_{58}O_6$ (sitosterol glicosilado) $C_{35}H_{56}O_6$ (estigmasterol glicosilado)**P.M. (g/mol)** – 574 (sitosterol glicosilado)

572 (estigmasterol glicosilado)

Aspecto – sólido amorfo branco**Solubilidade** – piridina**Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, C_5D_5N) – δ – (correlação estrutural) –**

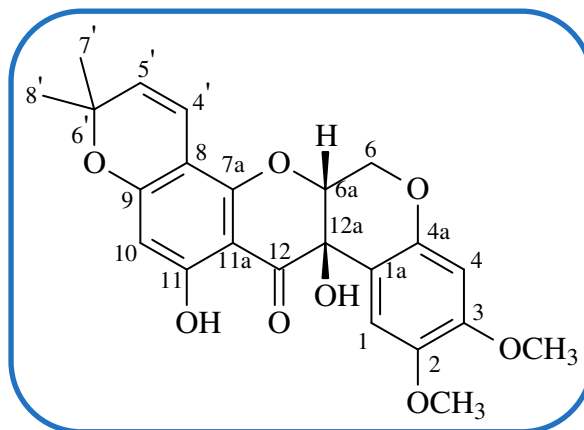
Sitosterol glicosilado – 37,0 (C-1); 31,6 (C-2); 79,0 (C-3); 39,5 (C-4); 141,4 (C-5); 122,2 (C-6); 31,6 (C-7); 31,7 (C-8); 50,0 (C-9); 36,5 (C-10); 20,8 (C-11); 38,5 (C-12); 42,1 (C-13); 56,5 (C-14); 24,5 (C-15); 28,7 (C-16); 55,8 (C-17); 12,0 (C-18); 19,0 (C-19); 36,0 (C-20); 18,5 (C-21); 34,0 (C-22); 28,0 (C-23); 45,7 (C-24); 28,9 (C-25); 19,5 (C-26); 18,7 (C-27); 22,8 (C-28); 12,0 (C-29); 100,9 (C-1'); 73,3 (C-2'); 76,2 (C-3'); 70,0 (C-4'); 75,4 (C-5'); 61,7 (C-6').

Estigmasterol glicosilado – 37,0 (C-1); 31,6 (C-2); 79,0 (C-3); 39,5 (C-4); 140,4 (C-5); 121,1 (C-6); 31,6 (C-7); 31,7 (C-8); 50,0 (C-9); 36,5 (C-10); 20,8 (C-11); 38,5 (C-12); 42,1 (C-13); 56,5 (C-14); 24,5 (C-15); 28,7 (C-16); 55,8 (C-17); 12,0 (C-18); 19,0 (C-19); 36,0 (C-20); 18,5 (C-21); 137,9 (C-22); 128,8 (C-23); 45,7 (C-24); 28,9 (C-25); 19,5 (C-26); 19,7 (C-27); 22,8 (C-28); 12,0 (C-29); 100,9 (C-1'); 73,3 (C-2'); 76,2 (C-3'); 70,0 (C-4'); 75,4 (C-5'); 61,7 (C-6').

TTP-8 – villosinol / 12a-hidroxisumatrol**F.M.** – $C_{23}H_{22}O_8$ **P.M. (g/mol)** – 426**Aspecto** – sólido alaranjado de aspecto amorfo**Solubilidade** – clorofórmio

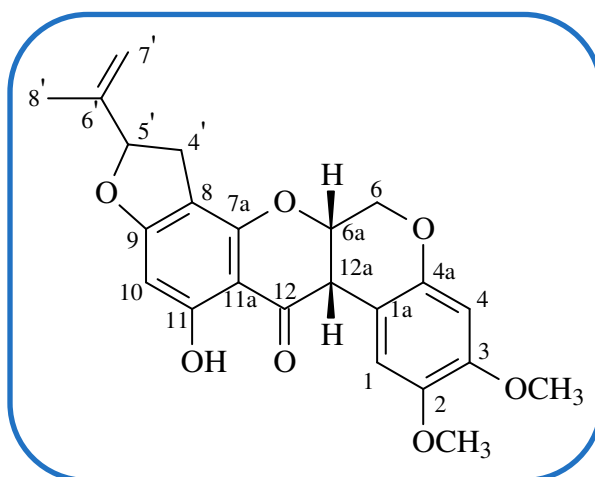
Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 11,83 (s); 6,71 (s); 6,49 (s); 6,04 (s); 5,20 (t, $J = 8,5$); 5,05 (s); 4,93 (s); 4,58 (dd, $J = 12,0$ e 2,5); 4,55 (sl); 4,47 (d, $J = 12,0$); 4,18 (s); 3,83 (s); 3,76 (s); 3,20 (dd, $J = 15,0$ e 9,5); 2,84 (dd, $J = 15,0$ e 7,5); 1,74 (s).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 109,0 (C, C-1a); 109,7 (CH, C-1); 144,4 (C, C-2); 151,6 (C, C-3); 101,4 (CH, C-4); 148,7 (C, C-4a); 63,9 (CH_2 , C-6); 75,8 (CH, C-6a); 156,1 (C, C-7a); 105,0 (C, C-8); 170,4 (C, C-9); 92,5 (CH, C-10); 166,1 (C, C-11); 100,2 (C, C-11a); 194,4 (C, C-12); 67,1 (C, C-12a); 30,8 (CH_2 , C-4'); 88,7 (CH, C-5'); 143,1 (C, C-6'); 113,2 (CH_2 , C-7'); 17,3 (CH_3 , C-8'); 56,7 (OCH_3 ₍₂₎); 56,2 (OCH_3 ₍₃₎).

TTP-9 - 12a-hidroxi- α -toxicarol**F.M.** – $C_{23}H_{22}O_8$ **P.M. (g/mol)** – 426**Aspecto** – sólido amarelo de aspecto cristalino**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 133,6 - 134,8°C

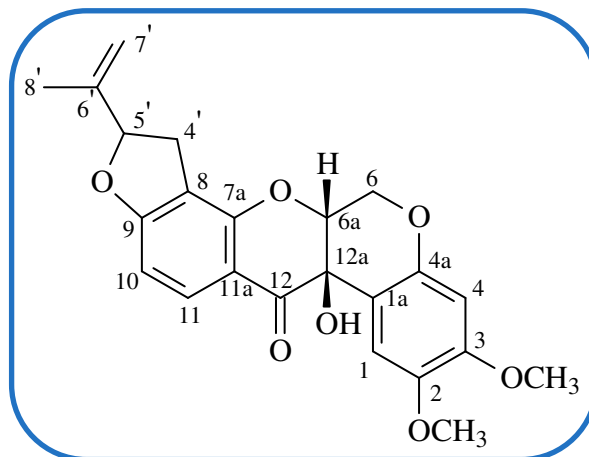
Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 11,63 (s); 6,72 (s); 6,51 (d, $J = 10,0$); 6,48 (s); 5,97 (s); 5,47 (d, $J = 10,0$); 4,60 (dd, $J = 12,0$ e 2,5); 4,54 (d, $J = 1,5$); 4,47 (dd, $J = 12,0$ e 0,5); 4,17 (s); 3,82 (s); 3,75 (s); 1,43 (s); 1,36 (s).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 108,6 (C, C-1a); 109,6 (CH, C-1); 144,2 (C, C-2); 151,5 (C, C-3); 101,4 (CH, C-4); 148,5 (C, C-4a); 63,8 (CH_2 , C-6); 75,9 (CH, C-6a); 155,7 (C, C-7a); 102,2 (C, C-8); 163,7 (C, C-9); 98,1 (CH, C-10); 164,2 (C, C-11); 100,1 (C, C-11a); 195,0 (C, C-12); 67,0 (C, C-12a); 115,2 (CH, C-4'); 126,8 (CH, C-5'); 78,8 (C, C-6'); 28,6 (CH_3 , C-7'); 28,8 (CH_3 , C-8'); 56,6 (OCH_3 ₍₂₎); 56,0 (OCH_3 ₍₃₎).

TTP-10 – sumatrol**F.M.** – $C_{23}H_{22}O_7$ **P.M. (g/mol)** – 410**Aspecto** – sólido amarelo de aspecto cristalino**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 213,6 - 215,1°C

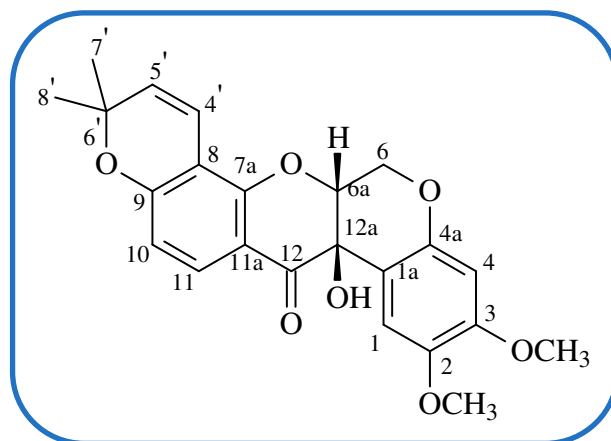
Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 12,42 (s); 6,87 (s); 6,46 (s); 6,02 (s); 5,20 (t, $J = 8,5$); 5,06 (s); 4,93 (s); 4,88 (t, $J = 3,0$); 4,59 (dd, $J = 12,0$ e $3,0$); 4,17 (d, $J = 12,0$); 3,85 (d, $J = 4,0$); 3,82 (s); 3,79 (s); 3,24 (dd, $J = 15,0$ e $9,5$); 2,86 (dd, $J = 15,0$ e $8,0$); 1,75 (s).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 105,0 (C, C-1a); 110,9 (CH, C-1); 144,4 (C, C-2); 150,1 (C, C-3); 101,4 (CH, C-4); 147,6 (C, C-4a); 66,3 (CH₂, C-6); 72,0 (CH, C-6a); 156,5 (C, C-7a); 104,3 (C, C-8); 169,6 (C, C-9); 92,1 (CH, C-10); 166,4 (C, C-11); 101,5 (C, C-11a); 193,8 (C, C-12); 44,0 (CH, C-12a); 30,9 (CH₂, C-4'); 88,4 (CH, C-5'); 143,2 (C, C-6'); 112,8 (CH₂, C-7'); 17,3 (CH₃, C-8'); 56,7 (OCH₃₍₂₎); 56,2 (OCH₃₍₃₎).

TTP-11 – 12a-hidroxirotenona**F.M.** – $C_{23}H_{22}O_7$ **P.M. (g/mol)** – 410**Aspecto** – sólido amarelo de aspecto amorfo**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 152,2 - 153,7°C

Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 7,83 (d, $J = 8,5$); 6,55 (s); 6,54 (d, $J = 8,5$); 6,49 (s); 5,24 (t, $J = 9,0$); 5,07 (s); 4,94 (s); 4,61 (dd, $J = 12,0$ e 2,5); 4,59 (m); 4,50 (d, $J = 12,0$); 4,46 (s); 3,83 (s); 3,73 (s); 3,29 (dd, $J = 16,0$ e 9,0); 2,94 (dd, d, $J = 16,0$ e 9,0); 1,76 (s).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 109,1 (C, C-1a); 110,0 (CH, C-1); 144,1 (C, C-2); 151,5 (C, C-3); 101,4 (CH, C-4); 148,7 (C, C-4a); 64,1 (CH_2 , C-6); 76,4 (CH, C-6a); 157,9 (C, C-7a); 113,4 (C, C-8); 168,3 (C, C-9); 105,5 (CH, C-10); 130,3 (CH, C-11); 112,0 (C, C-11a); 191,3 (C, C-12); 67,8 (C, C-12a); 31,4 (CH_2 , C-4'); 88,2 (CH, C-5'); 143,1 (C, C-6'); 112,8 (CH_2 , C-7'); 17,3 (CH_3 , C-8'); 56,7 ($OCH_{3(2)}$); 56,1 ($OCH_{3(3)}$).

TTP-12 – tephrosina**F.M.** – $C_{23}H_{22}O_7$ **P.M. (g/mol)** – 410**Aspecto** – sólido amarelo com aspecto de resina**Solubilidade** – clorofórmio

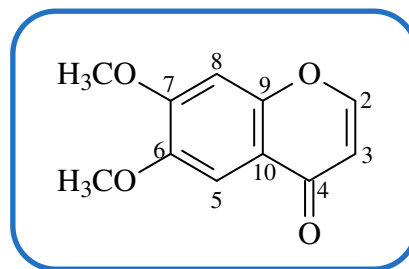
Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 7,73 (d, $J = 9,0$); 6,60 (d, $J = 10,0$); 6,57 (s); 6,48 (s); 6,47 (d, $J = 9,0$); 5,55 (d, $J = 10,0$); 4,63 (dd, $J = 12,0$ e 2,5); 4,57 (dd, $J = 2,5$ e 1,0); 4,50 (dd, $J = 12,0$ e 1,0); 4,44 (s); 3,81 (s); 3,78 (s), 1,45 (s); 1,39 (s).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 108,8 (C, C-1a); 109,8 (CH, C-1); 144,2 (C, C-2); 151,4 (C, C-3); 101,3 (CH, C-4); 148,6 (C, C-4a); 64,0 (CH_2 , C-6); 76,5 (CH, C-6a); 156,8 (C, C-7a); 109,3 (C, C-8); 160,9 (C, C-9); 112,0 (CH, C-10); 128,7 (CH, C-11); 111,3 (C, C-11a); 191,5 (C, C-12); 67,6 (C, C-12a); 115,5 (CH, C-4'); 128,9 (CH, C-5'); 78,1 (C, C-6'); 28,4 (CH_3 , C-7'); 28,7 (CH_3 , C-8'); 56,0 ($OCH_3(2)$); 56,5 ($OCH_3(3)$).

TTP-13 – 6,7-dimetoxicromona**F.M.** – $C_{11}H_{10}O_4$ **P.M. (g/mol)** – 206**Aspecto** – sólido alaranjado de aspecto amorfo**Solubilidade** – clorofórmio**P.f.** – 171,1 - 172,4°C

Espectroscopia de RMN ^1H (500 MHz, $CDCl_3$) – δ – (multiplicidade, constante de acoplamento / Hz) – 7,81 (d, $J = 5,5$); 7,55 (s); 6,88 (s); 6,31 (d, $J = 5,5$); 3,99 (s); 3,98 (s).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 154,6 (CH, C-2); 112,7 (CH, C-3); 176,9 (C, C-4); 104,9 (CH, C-5); 148,0 (C, C-6); 154,8 (C, C-7); 100,0 (CH, C-8); 152,9 (C, C-9); 118,7 (C, C-10); 56,6 ($OCH_{3(6)}$); 56,6 ($OCH_{3(7)}$).



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABDELWAHED, A.; BOUHLEL, I.; SKANDRANI, I.; VALENTI, K.; KADRI, M.; GUIRAUD, P.; STEIMAN, R.; MARIOTTE, A.; GHEDIRA, K.; LAPORTE, F.; DIJOUX-FRANCA, M.; CHEKIR-GHEDIRA, L. Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* Confirmation by microarray expression profiling. **Chem. Biol. Interact.**, v. 165, p. 1-13, 2007.
- ABREU, P. M.; LUIS, M. H. Constituents of *Tephrosia uniflora*. **Nat. Prod. Lett.**, v. 9, n. 2, p. 81-86, 1996.
- AGRAWAL, P. K.; Carbon - 13 NMR of flavonoids; Elsevier, 1989.
- AGUIAR-MENEZES, E. L., Inseticidas botânicos: Seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005 – ISSN: 1517-8498.
- AHMAD, V. U.; ALI, Z.; HUSSAINI, S. R.; IQBAL, F.; ZAHID, M.; ABBAS, M.; SABA, N. Flavonoids of *Tephrosia purpurea*. **Fitoterapia**, v. 70, p. 443-445, 1999.
- AHMED-BELKACEM, A.; MACALOU, S.; BORRELLI, F.; CAPASSO, R.; FATTORUSSO, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O.; DI PIETRO, A. Nonprenylated Rotenoids , a New Class of Potent Breast Cancer Resistance Protein Inhibitors. **J. Med. Chem.**, v. 50, n. 8, p. 1933-1938, 2007.
- ALAM, M. S.; CHOPRA, N.; ALI, M.; NIWA, M. Oleanen and stigmasterol derivatives from *Ambroma augusta*. **Phytochemistry**, v. 41, p. 1197, 1996.
- ANDEL, T. V. The diverse uses of fish-poison plants in Northwest Guyana. **Econ. Botany**, v. 54, n. 4, p. 500-512, 2000.
- ANDREI, C. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. D. F.; FO, E. R. Dimethylchromene rotenoids from *Tephrosia candida*. **Phytochemistry**, v.46, p. 1081-1085, 1997.
- ANDREI, C. C.; FERREIRA, D. T.; FACCIONE, M.; de MORAES, L. A. B.; de CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. C-prenyllflavonoids from roots of *Tephrosia tunicata*, v. 55, p. 799-804, 2000.

- ANDREI, C. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; RODRIGUES, E., New Spiro rotenoids from *Tephrosia candida*, **Z. Naturforsch.**, v. 57c, p. 418-422, 2002.
- ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas Medicinais De Uso Caseiro - Conhecimento Popular e Interesse Por Cultivo Comunitário. Revista Espaço para a Saúde, v. 6, p. 1-6, 2005.
- ARRIAGA, A. M. C.; LIMA, J. Q.; VASCONCELOS, J. N.; DE OLIVEIRA, M. C. F.; ANDRADE-NETO, M.; SANTIAGO, G. M. P.; UCHOA, D. E. A.; MALCHER, G. T.; MAFEZOLI, J.; BRAZ-FILHO, R. Unequivocal assignments of flavonoids from *Tephrosia* sp. (Fabaceae). **Magn. Reson. Chem.**, v. 47, n. 6, p. 537-540, 2009a.
- ARRIAGA, A. M. C.; LIMA, J. Q.; VASCONCELOS, J. N.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; FONSECA, A. M.; MALCHER, G. T.; SANTIAGO, G. M. P.; MAFEZOLI, J.; BRAZ-FILHO, R. Antioxidant and Larvicidal Activities of *Tephrosia egregia* Sandw against *Aedes aegypti*, **Nat. Prod. Comm.**, v. 4, n. 4, p. 529-530, 2009b.
- ARUNA, V.; BABU, G. J.; NAIDU, K. C.; SATYANARAYANA, T. Flavonoid compounds from the stem and leaves of *Tephrosia procumbens*. **J. Med. Arom. Plant Sci.**, v. 21, n. 2, p. 331-334, 1999.
- BEGLEY, M. J.; CROMBIE, L.; ROSSITER, J.; SANDERS, M.; WHITING, D. A. Prochirality transfer in the enzymic conversion of (E)-(6aS,12aS)-rot-2'-enonic-4'-13C acid into (6aS,12aS)-deguelin: restricted stereoselectivity in an electrocyclization. **J. Chem. Soc., Chemical Communications**, v. 4, p. 353-356, 1986.
- BENTLEY, M. D.; HASSANALI, A.; LWANDE, W.; NJOROGI, P. E. W.; OLE S. E. N.; YATAGAI, M. Insect antifeedants from *Tephrosia elata* deflers. **Insect Sci. Appl.**, v. 8, n. 1, p. 85-88, 1987.
- BLATT, C. T. T.; CHAVEZ, D.; CHAI, H.; GRAHAM, J. G.; CABIESES, F.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic flavonoids from the stem bark of *Lonchocarpus aff. fluvialis*. **Phytother. Res.**, v. 16, n. 4, p. 320-325, 2002.
- BORRELLI, F.; MILIC, N.; ASCIONE, V.; CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F.; PETRUCCI, F.; VALENTE, R.; FATTORUSSO, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O. Isolation of new rotenoids from *Boerhaavia diffusa* and evaluation of their effect on intestinal motility. **Planta Med.**, v. 71, n. 10, p. 928-932, 2005.

- BORELLI, F.; ASCIONE, V.; CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; FATTORUSSO, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O. Spasmolytic Effects of Nonprenylated Rotenoid Constituents of *Boerhaavia diffusa* Roots. **J. Nat. Prod.**, v. 69, n. 6, p. 903-906, 2006.
- BOSE, P. K.; GANGULY, S. N. "Wallichin" - a new rotenoid from the leaves of *Tephrosia wallichii* Gaertn. **N. Beng. Univ. Review**, v. 2, n. 1-2, p. 79, 1981.
- CALLAWAY, E. Dengue fever climbs the social ladder. **Nature**, v. 448, p. 734-735, 2007.
- CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S. New Biflavonoid and Other Flavonoids from the Leaves of *Chimarrhis turbinata* and their Antioxidant Activities. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, 6B, p. 1353-1359, 2005.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chem.**, v. 113, p. 859-871, 2009.
- CHAKRABORTI, K. K.; HANDA, S. S. Antihepatotoxic activity of *Boerhaavia diffusa*. **Indian Drugs**, v. 27, n. 3, p. 161-166, 1989.
- CHANDRASEKHARAN, I.; AMALRAJ, V. A.; KHAN, H. A.; GHANIM, A. An insecticide from *Tephrosia villosa* Pers. **Transactions of Indian Society of Desert Technology and University Centre of Desert Studies**, v. 8, n. 1, p. 101-103, 1983.
- CHEENPRACHA, S.; KARALAI, C.; PONGLIMANONT, C.; CHANTRAPROMMA, K. Cytotoxic rotenoloids from the stems of *Derris trifoliata*. **Canadian J. Chem.**, v. 85, n. 12, p. 1019-1022, 2007.
- CHEN, Y.; HSU, H. Constituents of *Tephrosia* species in Taiwan. I. Active principle of *Tephrosia obovata*. **1. Yakugaku Zasshi**, v. 78, p. 198-200, 1958.
- CHENG, S.; CHANG, H.; CHANG, S.; TSAI, K.; CHEN, W. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Biores. Technol.**, v. 89, p. 99-102, 2003.
- CHIBBER, S. S.; DUTT, S. K.; SHARMA, R. P.; SHARMA, A. Pongachin: a new pyranoflavanone from seeds of *Tephrosia candida*. **Indian J. Chem. B**, v. 20B, n. 7, p. 626-627, 1981.

CHIU, S. F.; LIN, S.; CHUI, Y. S. Insecticidal action of *Millettia pachycarpa* Benth. **J. Econ. Entomol.**, v. 35, p. 80-82, 1942.

CHUN, K.; KOSMEDER, J. W.; SUN, S.; PEZZUTO, J. M.; LOTAN, R.; HONG, W. K.; LEE, H. Effects of Deguelin on the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Pathway and Apoptosis in Premalignant Human Bronchial Epithelial Cells. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 95, p. 291-302, 2003.

CLARK, E.P. Toxicarol, a constituent of the South American fish poison cracca (*Tephrosia*) *toxicaria*. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 5L, n. 6, p. 2461-2464, 1930.

CLARK, E. P. Deguelin. I. the preparation, purification and properties of deguelin, a constituent of certain tropical fish-poisoning plants. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 53, n.1, p. 313-317, 1931.

CORRÊA, M.P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro, 1974.

COSTA, S.M.O., Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste: *Lippia sidoides*. **Tese (Doutorado em Química Orgânica)**, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2001.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoids: potential therapeutic agents for the inflammatory process. **Rev. Virtual Quim.**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CROMBIE, L.; GREEN, C. L.; WHITING, D. A. Biosynthesis of Rotenoids: The origin of C-6 and C-6a. **J. Chem. Soc.**, p. 3029-3032, 1968.

CROMBIE, L.; DEWICK, P. M.; WHITING, D. A. Biosynthesis of the Rotenoid Amorphigenin: Incorporation of 2'-[¹⁴C]-methoxylated isoflavone by Germinating *Amorpha* Seeds. **Chem. Comm.**, p. 1469, 1970.

CROMBIE, L.; KILBEE, G. W.; WHITING, D. A. Carbon - 13 magnetic resonance spectra of natural rotenoids and their relatives. **J. Chem. Soc., Perk. T. 1**, v. 15, p. 1497-1499, 1975.

CROMBIE, L.; ROSSITER, J.; WHITING, D. A. Biosynthetic origin of the 2,2-dimethylchromen ring: formation of deguelin by a cyclase enzyme from *Tephrosia vogellii*. **J. Chem. Soc.**, Chemical Communications, v. 4, p. 352-353, 1986.

CROMBIE, L.; WHITING, D. A. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1479-1507, 1998

DAGNE, E.; YENESEW, A.; WATERMAN, P. G. Flavonoids and isoflavonoids from *Tephrosia fulvinervis* and *Tephrosia pentaphylla*, **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3207-3210, 1989.

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (Dicloro difenil tricloroetano): Toxicidade e contaminação ambiental – Uma revisão, **Quim. Nova**, v. 6, p. 995-1002, 2002.

DAS, N. P.; PEREIRA, T. A., Effects of flavonoids on thermal auto-oxidation of palm oil: structure activity relationships, **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 67, p. 255-258, 1990.

DELFEI, N. E.; TALLENT, W. H.; CARLSON, D. G.; WOLFF, I. A. Distribution of rotenone and deguelin in *Tephrosia vogelii* and separation of rotenoid-rich fractions. **J. Agric. Food Chem.**, v. 18, n. 3, p. 385-390, 1970.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach. 2^a Ed., Wiley, 2003.

FANG, N.; CASIDA, J. E. Cube Resin Insecticide: Identification and Biological Activity of 29 Rotenoid Constituents. **J. Agr. Food Chem.**, v.47, n. 5, p. 2130-2136, 1999.

FURUKAWA, H.; YOGO, M.; WU, T. Acridone alkaloids. X. ¹³C- Nuclear magnetic resonance spectra of acridone alkaloids. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 31, n. 9, p. 3084–3099, 1983.

GADELHA, D.P.; TODA, A.T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Rev. Brasil. Malariol. D. Trop.** v.37, p. 29-36, 1985.

GANAPATY, S.; NYAMATHULLA, S.; SRILAKSHMI, G. V. K.; PRASAD, K. V. N. M. Chemical and antimicrobial studies of the roots of *Tephrosia villosa* (L) Pers. **Asian J. Chem.**, v. 20, n. 6, p. 4498-4502, 2008a.

GANAPATY, S.; NYAMATHULLA, S.; SRILAKSHMI, G. V. K.; KUMAR, P. V. R. Iridoid compounds and antimicrobial activity of the roots of *Tecoma stans* (L) Juss. **Asian J. Chem.**, v. 20, p. 4493-4497, 2008b.

GANAPATY, S.; LAKSHMINARAYANA, K.; LAKSHMI, P.; THOMAS, P. S. Antiprotozoal and cytotoxicity assays of the isolates of *Tephrosia tinctoria*. **Asian J. Chem.**, v. 21, n. 2, p. 1007-1010, 2009.

GHANIM, A.; JAYARAMAN, I. Chemical components of *Tephrosia falsiformis*. **Indian J. Chem. B**, v. 17B, n. 6, p. 648, 1979.

GOAD, L. J. Methods in Plant Biochemistry. Liverpool, Academic Press Limited, 1991.

GOMES, A.; FERNANDES, E.; LIMA, J. L. F. C.; MIRA, L.; CORVO, M. L. Molecular mechanisms of anti-inflammatory activity mediated by flavonoids. **Curr. Med. Chem.**, v. 15, p. 1586-1605, 2008.

GOMEZ, F.; CALDERON, J.; QUIJANO, L.; CRUZ, O.; RIOS, T. Nitenin: a new flavan from *Tephrosia nitens* Beth. **Chem. Ind-London**, v. 17, p. 632, 1984.

GOMEZ, F.; CALDERON, J. S.; QUIJANO, L.; DOMINGUEZ, M.; RIOS, T. Viridiflorin, an isoflavone from *Tephrosia viridiflora*. **Phytochemistry (Elsevier)**, v. 24, n. 5, p. 1126-1128, 1985.

GOMEZ-GARIBAY, F.; QUIJANO, L.; PARDO, J. S. C.; AGUIRRE, G.; RIOS, T. Abbottin and tephrobbottin: two new flavonoids from *Tephrosia abbottiae*. **Chem. Ind-London**, v. 23, p. 827, 1986.

GOMEZ-GARIBAY, F.; TELLEZ-VALDEZ, O.; MORENO-TORRES, G.; CALDERON, J. S. Flavonoids from *Tephrosia* species - part 11. Flavonoids from *Tephrosia major*. A new prenyl- β -hydroxychalcone. **Z. Naturforsch. C**, v. 57, n. 7-8, p. 579-583, 2002.

GRANADOS-COVARRUBIAS, E. H.; MALDONADO, L. A. Protected Cyanohydrins in the Synthesis of Rotenoids: ($\pm$)-Munduserone and ($\pm$)-*cis*-12a-Hydroxymunduserone. **J. Org. Chem.**, v. 74, p. 5097-5099, 2009.

HAGEMANN, J. W.; PEARL, M. B.; HIGGINS, J. J.; DELFEL, N. E.; EARLE, F. R. Rotenone and deguelin in *Tephrosia vogelii* at several stages of maturity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 20, n. 4, p. 906-908, 1972.

HANRIOT. The Action of Tephrosine. **Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de Ses Filiales**, v. 62, n. 527-529, 1907.

HARBORNE, J. B.; The flavonoids; Chapman and Hall Ltd, 1988.

HARBORNE, J. H.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoids research since 1992. **Phytochemistry**, v. 25, p. 481-504, 2000.

HARPER, H. The Active Principles of Leguminous Fish-poison Plants. Part V. *Derris malaccensis* and *Tephrosia toxicaria*. **J. Chem Soc.**, p. 1178-1184, 1940.

HEGAZI, A. G.; ABD EL HADY, F. K. Z., **Z.** Egyptian propolis: 3. Antioxidant, antimicrobial activities and chemical composition of propolis from reclaimed lands. **Naturforsch C**, v. 57, n. 3-4, p. 395-402, 2002.

HUANG, D.; WANG, T.; LIANG, Z.; FENG, Y.; QIAO, X.; SUN, S. A study on proteasomal activity in the rotenone models of Parkinson's disease. **Zhongfeng Yu Shenjing Jibing Zazhi**, v. 23, n. 2, p. 175-177, 2006.

HUGON, J.; HUGON, F.; ESCLAIRE, F.; LESORT, M. ; DIOP, A. G., The presence of calbindin in rat cortical neurons protects in vitro from oxydative stress, **Brain Research**, v. 707, p. 288-292, 1996.

HUSSAINI, F. A.; SHOEB, A. A new epoxyflavanone from *Tephrosia hamiltonii*. **Planta Med.**, v. 53, n. 2, p. 220-221, 1987.

ITO, C.; ITOIGAWA, M.; KOJIMA, N.; TAN, H. T.-W.; TAKAYASU, J.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; FURUKAWA, H. Cancer chemopreventive activity of rotenoids from *Derris trifoliata*. **Planta Med.**, v. 70, n. 6, p. 584-588, 2004.

JAIN, A.; SINGHAI, A. K.; DIXIT, V. K. A comparative study of ethanol extract of leaves of *Tephrosia purpurea* Pers and the flavonoid isolated for hepatoprotective activity. **Indian J. Pharm. Sci.**, v. 68, n. 6, p. 740-743, 2006.

JANG, D. S.; PARK, E. J.; KANG, Y.; HAWTHORNE, E.; VIGO, J. S.; GRAHAN, J. G.; CABIESES, F.; FONG, H. H. S.; MEHTA, R. G.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Potential cancer chemopreventive flavonoids from the stems of *Tephrosia toxicaria*. **J. Nat. Prod.**, v.66, p.1166-1170, 2003.

JOLY, A. B., **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**, vol. 4, 7ª Ed., 1985.

JONES, H. A.; SULLIVAN, W. N. Chemical and insecticidal tests of samples of *Tephrosia toxicaria*. **J. Econ. Entomol.**, v. 30, p. 679-680, 1937.

JÚNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

KAMAL, R.; JAIN, S. C. *Tephrosia falciformis* - a new source of rotenóides. **Planta Med.**, v. 33, n. 4, p. 418-419, 1978.

KAMAL, R.; JAIN, S. C. Occurrence of rotenoids in *Tephrosia strigosa*. **Agr. Biol. Chem. Tokio**, v. 44, n. 12, p. 2985, 1980.

KAMAL, R.; MATHUR, N. Rotenoids from *Parkinsonia aculeata* L and their in vitro amoebicidal activity. **Asian J. Exp. Sci.**, v. 21, n. 2, p. 317-323, 2007.

KARE, M.; KONE, M. E. K.; BOULANGER, A.; NIASSY, B.; LENOUE, D.; MUCKENSTURM, B.; NONGONIERMA, A. Isolation, identification and antibacterial tests of chalcones and rotenoids of *Tephrosia deflexa* Baker. **Journal de la Societe Ouest-Africaine de Chimie**, v. 11, n. 22, p. 41-52, 2006.

KHATRI, A.; GARG, A.; AGRAWAL, S. S. Evaluation of hepatoprotective activity of aerial parts of *Tephrosia purpurea* L. and stem bark of *Tecomella undulate*. **J. Ethnopharmacol.**, v.122, p. 1-5, 2009.

KIUCHI, F.; CHEN, X.; TSUDA, Y.; KONDO, K.; KUMAR, V. Studies on crude drugs effective on visceral larva migrans. VI. Identification of nematocidal principles in *Tephrosia purpurea* Pers. **Shoyakugaku Zasshi**, v. 43, n. 1, p. 42-49, 1989.

KOLE, R. K.; SATPATHI, C.; CHOWDHY, A.; GHOSH, M. R.; ADITYACHAUDHURY, N. Isolation of amorpholone, a potent rotenoid insecticide from *Tephrosia candida*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, n. 7, p. 1208-1210, 1992.

KONOSHIMA, T.; TERADA, H.; KOKUMAI, M.; KOZUKA, M.; TOKUDA, H.; ESTES, J. R.; LI, L.; WANG, H.; LEE, K., Studies on inhibitors of skin tumour promotion, XII. Rotenoids from *Amorpha fruticosa*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, p. 843-848, 1993.

KRUPADANAM, G. L. D.; SARMA, P. N.; SRIMANNARAYANA, G.; SUBBA ROA, N. V. New C-6 oxygenated rotenoids from *Tephrosia villosa* - villosin, villosone, villol, and villinol. **Tetrahedron Lett.**, v. 24, p. 2125-2128, 1977.

KRUPADANAM, G. L. D.; SRIMANNARAYANA, G.; RAO, N. V. S. Photochemical studies on rotenoids isolated from *Tephrosia villosa*. **Indian J. Chem. B**, v. 16B, n. 9, p. 770-772, 1978.

LEITÃO FILHO, H. F. Observações sobre alguns gêneros de Leguminosae – Papilionoideae. Campinas: Instituto Agronômico, 2009 – ISSN: 1809-7944.

LI, L.; WANG, H.; CHANG, J.; MCPHAIL, A. T.; MCPHAIL D. R. H.; KONOSHIMA, T.; KOKUMAI, M.; KOZUKA, M.; ESTES, J. R.; LEE, K. H., Antitumour agents, 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, p. 690-698, 1993.

LI, Y.; XU, H. Insecticidal activities and active compounds of *Derris cavaleriei*. **Zhongguo Nongye Kexue** (Beijing, China), v. 40, n. 8, p. 1688-1696, 2007.

LIMA, J., Q. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste do Brasil: Estudo químico e biológico de *Tephrosia egregia* Sandw. (Fabaceae)** Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 2005.

LIN, L. J.; RUANGRUNGSI, N.; CORDELL, G. A.; SHIEH, H. L.; YOU, M.; PEZZUTO, J. M. Traditional medicinal plants of Thailand. Part 18. 6-Deoxyclitoriacetal from *Clitoria macrophylla*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 12, p. 4329-4331, 1992.

LIN, Y-M.; FLAVIN, M. T.; CASSIDY, C. S.; MAR, A.; CHEN, F-C. Biflavonoids as novel antituberculosis agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 2101-2104, 2001.

LIN, Y.; SHI, R.; WANG, X.; SHEN, H. Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy. **Curr. Cancer Drug Targets**, v. 8, p. 634-646, 2008.

LOMONACO, D.; SANTIAGO, G. M. P.; FERREIRA, Y. S.; ARRIAGA, A. M. C.; MAZZETTO, S. E.; MELE, G.; VASAPOLLO, G. Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. **Green Chem.**, v. 11, p.31-33, 2009.

LWANDE, W.; GREENE, C. S.; BENTLEY, M. D. Flavonoids from the roots of *Tephrosia elata*. **J. Nat. Prod.**, v. 48, n. 6, p. 1004-1005, 1985.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; GRIYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MANN, J., **Secondary metabolism**, 2ª Ed., Oxford Science Publication, 1987.

MARSTON, A.; MSONTHI, J. D.; HOSTETTMAN, K. On the reported molluscicidal activity from *Tephrosia vogelii* leaves. **Phytochemistry**, v. 23, n. 8, p. 1824-1825, 1984.

MARTÍN, C., **Principios ativos**. Disponível em:
<<http://personal.redestb.es/martin/activos.htm>>. Acesso em: 25 out. 2005.

MASCARO, U. C. P.; RODRIGUES, L. A.; BASTOS, J. K.; SANTOS, E.; CHAVES DA COSTA, J. P. Valores de DL₅₀ em peixes e no rato tratados com pó de raízes de *Derris* spp e suas implicações ecotoxicológicas. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 18, n. 2, p. 53-56, 1998.

MATHUR, V.; VATS, S.; JAIN, M.; BHOJAK, J.; KAMAL, R. Antimicrobial activity of bioactive metabolites isolated from selected medicinal plants. **Asian J. Exp. Sci.**, v. 21, n. 2, p. 267-272, 2007.

MATSUDA, H.; YOSHIDA, K.; MIYAGAWA, K.; ASAO, Y.; TAKAYAMA, S.; NAKASHIMA, S.; XU, F.; YOSHIKAWA, M. Rotenoids and flavonoids with anti-invasion of HT1080, anti-proliferation of U937, and differentiation-inducing activity in HL-60 from *Erycibe expansa*. **Bioorgan. Med. Chem.**, v. 15, n. 3, p. 1539-1546, 2007.

MERAGELMAN, T. L.; RENTERIA, B. S.; SILVA, G. L.; SOTOMAYOR, C.; GIL, R. R. Modified secoiridoid from *Acicarpha tribuloides* and inhibition of nitric oxide production in LPS-activated macrophages. **Phytochemistry**, v. 67, p. 1534–1538, 2006.

MITSCHER, L. A.; AL-SHAMMA, A.; HAAS, T.; HUDSON, P. B.; HAN PARK, Y. Antimicrobial agents from higher plants. A new rotenoid, 11-hydroxytephrosin, from *Amorpha fruticosa*. **Heterocycles**, v. 12, n. 8, p. 1033-1035, 1979.

MORING, S. E.; MCCHESENEY, J. D. High pressure liquid chromatographic separation of rotenoids from plant extracts. **J. Assoc. Off. Ana. Chem.**, v. 62, n. 4, p. 774-781, 1979.

MORS, W. B.; DO NASCIMENTO, M. C.; RIBEIRO DO VALLE, J.; ARAGAO, J. A. Ichthyotoxic activity of plants of the genus *Derris* and compounds isolated therefrom. *Ciencia e Cultura* (Sao Paulo), v. 25, n. 7, p. 647-648, 1973.

MUIVA, L. M.; YENESEW, A.; DERESE, S.; HEYDENREICH, M.; PETER, M. G.; AKALA, H. M.; EYASE, F.; WATERS, N. C.; MUTAI, C.; KERIKO, J. M.; WALSH, D. Antiplasmodial β -hydroxydihydrochalcone from seedpods of *Tephrosia elata*. **Phytochemistry Lett.**, v. 2, p. 99-102, 2009.

NIASSY, B.; LOBSTEIN, A.; UM, B. H.; ANTON, R.; KONE, M. E. K. Flavonoids from *Tephrosia deflexa* and *T. albifoliolis*. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 33, n. 3, p. 309-312, 2005.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T.L.G.; MATTOS, M.C.; SEGUNDO, T.A.; SANTIAGO, G.M.P.; FILHO, R.B. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. **An. Acad. Bras. Cienc.** v. 74, n. 2, p. 211-221, 2002.

OWEN, R. W.; HAUBNER, R.; MIER, W.; GIACOSA, A.; HULL, W. E.; SPIEGELHALDER, B.; BARTHSCH, H. Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. **Food Chem. Toxicol.**, v. 41, p. 703-717, 2003.

PANCHAROEN, O.; ATHIPORNCHAI, A.; PANTHONG, A.; TAYLOR, W. C. Isoflavones and rotenoids from the leaves of *Millettia brandisiana*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 56, n. 6, p. 835-838, 2008.

PANCHEVA, S.; MANOLOVA, N.; GAGOV, I.; MAKSIMOVA, V. Antiviral effect of some natural rotenoids and their derivatives. **Acta Microbiol. Bulg.**, v. 10, p. 11-14, 1982.

- PARMAR, V. S.; JAIN, R.; GUPTA, S. R.; BOLL, P. M.; MIKKELSEN, J. M. Phytochemical investigation of *Tephrosia candida*: HPLC separation of tephrosin and 12a-hydroxyrotenone. **J. Nat. Prod.**, v. 51, n. 1, p. 185-186, 1988.
- PHRUTIVORAPONGKUL, A.; LIPIUN, V.; RUANGRUNNGSI, N.; WATANABE, T.; ISHIKAWA, T. Studies on the constituents of seeds of *Pachyrrhizus erosus* and their anti herpes simplex virus (HSV) activities. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 50, n. 4, p. 534-537, 2002.
- PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.
- PRASHANT, A.; KRUPADANAM, G. L. D. A new prenylated dehydrorotenoid from *Tephrosia villosa* seeds. **J. Nat. Prod.**, v. 56, n. 5, p. 765-766, 1993a.
- PRASHANT, A.; KRUPADANAM, G. L. D. Dehydro-6-hydroxyrotenoid and lupenone from *Tephrosia villosa*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 2, p. 484-486, 1993b.
- RANASWAMI, S.; SASTRY, B. V. R. Chemical examination of the seeds of *Tephrosia vogelii*. **Indian J. Pharm.**, v. 18, p. 339-342, 1956.
- RAO, E. V.; PRASAD, Y. R. Flavonoids of *Tephrosia pentaphylla*. **Fitoterapia**, v. 63, n. 5, p. 473, 1992.
- REDDY, B. A. K.; KHALIVULLA, S. I.; GUNASEKAR, D. A new prenylated isoflavone from *Tephrosia tinctoria*. **Indian J. Chem. B**, v. 46B, n. 2, p. 366-369, 2007.
- RIBEIRO, W. H. F., **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste do Brasil: *Tephrosia toxicaria* Pers. e *Guarea tuberculata* Vell.** Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 2004.
- RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T., Analytical separation and detection methods for flavonoids, **J. Chromatogr. A**, v. 1112, p. 31 – 63, 2006.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. Colômbia: Editorial Premier, p. 352, 1997.

ROMUSSI, G.; CIARALLO, G. Spectral properties of mono-and dihydroxychromones. **J. Heterocyclic Chem.**, v. 13, p. 211-220, 1976.

ROY, M.; BHATTACHARYA, P. K.; PAL, S.; CHOWDHURI, A.; ADITYACHAUDHURY, N. Dehydrodihydrorotenone and flemichapparin B in *Tephrosia candida*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 8, p. 2423-2424, 1987.

SALEEM, M.; AHMED, S.; ALAM, A.; SULTANA, S. *Tephrosia purpurea* alleviates phorbol ester induced tumor promotion response in murine skin. **Pharm. Res.**, v. 43, n. 2, p. 135-144, 2001.

SANTOS, R. **Síntese, modelagem molecular e avaliação da atividade inseticida de novos piretróides do tipo éter de oxima**. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2006.

SARMA, P. N.; SRIMANNARAYANA, G.; RAO, N. V. S. Constitution of villosol and villosinol, two new rotenoids from *Tephrosia villosa* (Linn.) pods. **Indian J. Chem. B**, v. 14B, n. 3, p. 152-156, 1976.

SESA-CE, Informe Semanal Dengue - 2009. Disponível em: <<http://www.saude.ce.gov.br/site/>>. Acesso em: 27 jan. 2010.

SILVA, B. P.; PARENTE, J. P. Antiinflammatory activity of rotenoids from *Clitoria fairchildiana*. **Phytother. Res.**, v. 16, n. 2, p. S87-S88, 2002.

SIMIN, K.; ALI, Z.; KHALIQ-UZ-ZAMAN, S. M.; AHMAD, V. U. Structure and biological activity of a new rotenoid from *Pongamia pinnata*. **Nat. Prod. Lett.**, v. 16, n. 5, p. 351-357, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento, Porto Alegre/Florianópolis, Ed. Universidade / UFRGS / Ed. da UFSC, p. 489-516 / 820, 1999.

SINHA, B.; NATU, A.A.; NANAVATI, D.D. Prenylated flavonoids from *Tephrosia purpurea* seeds. **Phytochemistry**, v. 21, n. 6, p. 1468-1470, 1982.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos. 6ª Ed., Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 2000.

SLUSARCZYK, S.; HAJNOS, M.; SKALICKA-WOZNIAK, K.; MATKOWSKI, A. Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. **Food Chemistry**, v. 113, p. 134-138, 2009.

SUDJAROEN, Y.; HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; WULL, W. E.; ERBEN, G.; SPIEGELHALDER, B.; CHANGBUMRUNG, S.; BARTHSCH, H.; OWEN, R. W. Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. **Food Chem. Toxicol.**, v. 43, p. 1673-1682, 2005.

TAKASHIMA, J.; CHIBA, N.; YONEDA, K.; OHSAKI, A. Derrisin, a new rotenoid from *Derris malaccensis* Planch and anti-Helicobacter pylori activity of its related constituents. **J. Nat. Prod.**, v. 65, n. 4, p. 611-613, 2002.

TARUS, P. K.; MACHOCHO, A. K.; LANG'AT-THORUWA, C. C.; CHHABRA, S. C. Flavonoids from *Tephrosia aequilata*. **Phytochemistry**, v. 60, p. 375-379, 2002.

TEWTRAKUL, S.; CHEENPRACHA, S.; KARALAI, C. Nitric oxide inhibitory principles from *Derris trifoliata* stems. **Phytomedicine**, v. 16, n. 6-7, p. 568-572, 2009.

UDEANI, G. O.; GERHAUSER, C.; THOMAS, C. F.; MOON, R. C.; KOSMEDER, J. W.; KINGHORN, A. D.; MORIARTY, R. M.; PEZZUTO, J. M. Cancer chemopreventive activity mediated by deguelin, a naturally occurring rotenoid. **Cancer Res.**, v. 57, n. 16, p. 3424-3428, 1997.

VASCONCELOS, J. N. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: Estudo químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers.** (Fabaceae). Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 2006.

VANCONCELOS, J. N.; LIMA, J. Q.; LEMOS, T. L. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; ALMEIDA, M. M. B.; ANDRADE-NETO, M.; MAFEZOLI, J.; ARRIAGA, A. M. C.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. Chemical and biological study of the *Tephrosia toxicaria* Pers. **Quim. Nova**, v. 32, n. 2, p. 382-386, 2009.

VENKATARATNAM, G.; RAO, E. V.; VILAIN, C. Flavonoids of *Tephrosia procumbens* - revised structure for praecansone A and conformation of praecansone B. **J. Chem. Soc. Perk. T. 1**, v. 12, p. 2723-2727, 1987.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. **Plantas Inseticidas**. In: SIMÕES, C. M. O., coord. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC, p.739-754, 821p, 1999.

VIEIRA, P. C. Estratégias Para O Isolamento De Princípios Ativos De Plantas. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/57ra/programas/CONF_SIMP/textos/paulocezavieira-conf.htm> Acesso em: 04 nov. 2008.

VIJAYAN, S., GURUPRASAD, L., KIRTI, P. B. Prokaryotic expression of a constitutively expressed *Tephrosia villosa* defensin and its potent antifungal activity. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 80, p. 1023-1032, 2008.

WANGENSTEEN, H.; MIRON, A.; ALAMGIR, M.; RAJIA, S.; SAMUELSEN, A. B.; MALTERUD, K. E. Antioxidant and 15-lipoxygenase inhibitory activity of rotenoids, isoflavones and phenolic glycosides from *Sarcolobus globosus*. **Fitoterapia**, v. 77, n. 4, p. 290-295, 2006.

WATSON, L.; DALL WITZ, M.J., The families of flowering plants descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Disponível em: <<http://biodiversity.uno.edu/delta/angio/images/bmag60.jpg>> Acesso em: 08 out. 2005.

WERE, O.; MUNAVU, R. M.; LWANDE, W.; NYANDAT, E. Flavonoids from *Tephrosia interrupta* and *T. linearis*. **Fitoterapia**, v. 61, n. 4, p. 372, 1990.

YANG, Y.C.; LEE, S.G.; LEE, H.K.; KIM, M.K.; LEE, S.H.; LEE, H.S. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 13, p. 3765-3767, 2002.

YE, H.; CHEN, L.; Li, Y.; PENG, A.; FU, A.; SONG, H.; TANG, M.; LUO, H.; LUO, Y.; XU, Y.; SHI, J.; WEI, Y. Preparative isolation and purification of three rotenoids and one isoflavone from the seeds of *Millettia pachycarpa* Benth by high-speed countercurrent chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 1178(1-2), p. 101-107, 2008.

YENESEW, A.; DERESE, S.; MIDIWO, J. O.; OKETCH-RABAH, H. A.; LISGARTEN, J.; PALMER, R.; HEYDENREICH, M.; PETER, M. G.; AKALA, H.; WANGUI, J.; LIYALA, P.; WATERS, N. C. Anti-plasmodial activities and X-ray crystal structures of rotenoids from *Millettia usaramensis* subspecies *usaramensis*. **Phytochemistry (Elsevier)**, v.64, n.3, p. 773-779, 2003a.

YENESEW, A.; DERESE, S.; MIDIWO, J. O.; HEYDENREICH, M.; PETER, M. G. Effect of rotenoids from the seeds of *Millettia dura* on larvae of *Aedes aegypti*. **Pest. Manag. Sci.**, v. 59, p. 1159-1161, 2003b.

YENESEW, A.; MUSHIBE, E. K.; INDULI, M.; DERESE, S.; MIDIWO, J. O.; KABARU, J. M.; HEYDENREICH, M.; KOCH, A.; PETER, M. G. 7a-O-methyldeguelol, a modified rotenoid with an open ring-C, from the roots of *Derris trifoliata*. **Phytochemistry (Elsevier)**, v. 66, n. 6, p. 653-657, 2005.

YENESEW, A.; KIPLAGAT, J. T.; DERESE, S.; MIDIWO, J. O.; KABARU, J. M.; HEYDENREICH, M.; PETER, M. G., Two unusual rotenoid derivatives, 7a-O-methyl-12a-hydroxydeguelol and spiro-13-homo-13-oxaelliptone, from the seeds of *Derris trifoliata*, **Phytochemistry**, v. 67, p. 988-991, 2006.

YU, S. J. The Toxicology and Biochemistry of Insecticides. Taylor & Francis Group, LLC, p. 52, 2008.

ZHANG, Y.; XU, H.; HUANG, J.; CHIN, S. The main insecticidal components of *Tephrosia vogelii* Hook. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 12, n. 6, p. 6-12, 2000.

ZIPCODEZOO, *Tephrosia* (Genus). Disponível em: <http://zipcodezoo.com/Key/Plantae/Tephrosia_Genus.asp>. Acesso em: 18 jan. 2010.