



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

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA EM
RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Dalbergia spruceana* Benth.

HELENA GARCIA RAMOS

Manaus/AM
Agosto/2023

HELENA GARCIA RAMOS

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA EM
RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Dalbergia spruceana* Benth.

MARIA DA PAZ LIMA
Orientadora

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química de Produtos Naturais.

Manaus/AM
Agosto/2023

Ficha Catalográfica

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

R175i Ramos, Helena Garcia
Investigação fitoquímica e atividade biológica em resíduos
madeireiros de *Dalbergia spruceana* Benth. / Helena Garcia Ramos
. 2023
115 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria da Paz Lima
Dissertação (Mestrado em Química de Prod. Naturais) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Fabaceae. 2. rmn. 3. Isoflavonoides. 4. Inseticida . I. Lima,
Maria da Paz. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA EM
RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Dalbergia spruceana Benth.*

Helena Garcia Ramos

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

Aprovada em, 29 de Agosto de 2023.



MARIA DA PAZ LIMA (PPGQ/UFAM)

Presidente/Orientadora



MARIA LUCIA BELÉM PINHEIRO (PPGQ/UFAM)

Membro Interno



LYEGE MAGALHÃES OLIVEIRA (DQ/IFAM)

Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 29 de agosto de 2023.

Ao Pai Celestial, fonte de toda sabedoria e inspiração. Reconheço sua presença em cada aspecto da minha vida e sei que toda a minha compreensão é um tributo à tua grandeza.

Aos meus pais, Eufrasio Ramos (in memoriam) e Zenilde Garcia por moldarem a pessoa que sou hoje. Reconheço que cada conquista que alcancei é um reflexo do amor, educação e orientação que me proporcionaram ao longo dos anos.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela dádiva da vida, as pessoas maravilhosas que colocaste em meu caminho, as oportunidades que surgiram e surgem, pelas portas que se abrem, pelos desafios que me permitem crescer e amadurecer. Agradeço também pelas lições que aprendo, mesmo quando as circunstâncias não são fáceis.

Ao meu pai, Eufrasio Terço Ramos (*in memoriam*) por cada lição, conselho e sorriso que compartilhamos. Embora você esteja fisicamente distante, sinto sua presença em minha vida de maneiras profundas e significativas. Seu legado vive em mim, inspirando-me a ser a melhor versão de mim mesma e enfrentar cada desafio com coragem.

A minha mãe, Zenilde Garcia Ramos, por todos os sacrifícios silenciosos, por cada abraço quentinho de conforto e pelas palavras de incentivos que tornaram meus dias melhores. Seu amor incondicional foi e continua sendo a âncora que me sustenta em meio às tempestades da vida. Te amo, mãe!

A minha orientadora Dra. Maria da Paz Lima por compartilhar seus conhecimentos e por me guiar com paciência e dedicação em cada etapa do nosso projeto de pesquisa. Suas sugestões contribuíram significativamente para o aprimoramento do meu trabalho.

A cada membro da família, pelos laços que nos unem, pelo apoio e compreensão oferecidos nos momentos de alegria e dificuldades durante essa jornada.

Ao Dr. Henrique Cativo, que teve alguns dias de sua vida reduzida (risos), devido ao estresse que causei em algumas análises. Agradeço a sua dedicação em ensinar um pouco do seu conhecimento, por estar sempre disponível quando precisei. Reconheço e valorizo imensamente tudo o que fez por mim. Obrigada.

Aos meus amigos do laboratório LQPN: Davi Santos, Jennifer Lima, Henrique Santos e Paulo Duarte, por todos os momentos felizes que criamos juntos, pelas lembranças que construímos ao longo dos anos e pelas risadas compartilhadas durante o café da tarde juntos com os macaquinhos. Cada momento vivido ao lado de vocês tornou a realização deste trabalho mais agradável.

As minhas amigas que eu trouxe do IFAM para vida: Sâmia Dourado, Lesliê de Azevedo e Daniele Roque, por estarem ao meu lado nos momentos bons e ruins, por ouvirem minhas preocupações, compartilharem minhas risadas e serem o apoio que sempre posso contar. Cada uma de vocês traz uma cor única para a minha vida, tornando-a mais rica e significativa.

Ao meu querido amigo Elte Soares, por todos os conselhos e apoio durante esta jornada

A todos os professores do programa de pós-graduação em Química (PPGQ) por seu compromisso com a educação. Vocês são verdadeiramente admiráveis e dignos de reconhecimento. Minha profunda gratidão a cada um de vocês.

Ao Marcelo Victor, por realizar o ensaio inseticida com *Bemisia tabaci*.

Aos técnicos da central analítica: Magno Muniz e Sabrina Morais (CA-LTQPN/INPA), Samuel Oliveira e Kidney Neves (CAM/UFAM) pelas obtenções dos espectros de RMN e EM.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pelo auxílio financeiro.

OBRIGADA, A TODOS.

RESUMO

Na literatura científica, as partes vegetativas comumente utilizadas em estudos fitoquímicos e farmacológicos são as folhas, cascas, frutos, galhos, raízes e flores. A madeira, por sua vez, não chega a ser constantemente explorada nestes estudos, devido a sua escassez em grupos de pesquisas, que são justificadas pelas leis de proteção ambiental. Desta forma, em trabalho de parceria com o Laboratório de Tecnologia da Madeira, as sobras (serragem) de *Dalbergia spruceana* Benth oriundas dos estudos de propriedades tecnológicas da madeira foram disponibilizadas para investigação fitoquímica, as quais passaram por moagem e extração à frio com os solventes hexano e metanol, para obtenção dos extratos brutos. As obtenções das substâncias foram realizadas por fracionamentos em cromatografia de coluna aberta com diferentes suportes (sephadex LH-20, sílica gel de 70-230 e 230-400 *mesh*) e cromatografia planar em escala preparativa (sílica gel 60 F₂₅₄, fase normal). Os estudos fitoquímicos dos extratos em hexano e metanol de *D. spruceana* resultaram em substâncias de classes diferentes, tais como ácido graxo (lignocérico), esteroides (β -sitosterol e estigmaterol), fenilpropanoide (elemicina), neoflavonoide (dalbergina) e os flavonoides (maackiaina, 8-hidroxi-7-metoxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano, 8,4,2' trihidroxi-7,4'-dimetoxiisoflavol e 3',4'-dihidroxi-7,8,2'-trimetoxiisoflavana), as duas últimas não apresentam relatos na literatura. As substâncias foram caracterizadas por Ressonância Magnética Nuclear 1D e 2D, Espectrometria de Massas e comparação com modelos na literatura. A avaliação biológica da substância majoritária (maackiaina) frente ao inseto *Bemisia tabaci* resultou em 35% no efeito de mortalidade, apresentando diferença de apenas 7% quando comparado com Evidence 700 WG® (42%), droga comercial utilizada ao combate do inseto.

Palavras-chave: Fabaceae, RMN, isoflavonoides, inseticida.

LISTA DE ESQUEMA

Esquema 1. Obtenção dos extratos de <i>D. spruceana</i>	35
Esquema 2. Fracionamento do extrato hexano de <i>D. spruceana</i> DSH.	36
Esquema 3. Fracionamento da fração DSH-16.....	39
Esquema 4. Fracionamento do extrato metanólico de <i>D. spruceana</i> (DSM).	41
Esquema 5. Fracionamento da fração DSM-46.....	43
Esquema 6. Fracionamento das frações DSM-61 e DSM-61.15.....	44
Esquema 7. Fracionamento da fração DSM-61.17.....	46
Esquema 8. Fracionamento da fração DSM-71, DSM-73 e DSM-73.5.	47

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Classificação taxonômica da família Fabaceae.	19
Tabela 2. Reunião das frações do extrato hexano de <i>D. spruceana</i> (DSH).	37
Tabela 3. Reunião das frações obtidas da fração DSH-8.	38
Tabela 4. Reunião das frações obtidas da fração DSH-16.	39
Tabela 5. Reunião das frações obtidas do extrato metanólico (DSM).	42
Tabela 6. Reunião das frações obtidas da fração DSM-27.	42
Tabela 7. Reunião das frações obtidas da fração DSM-46.	43
Tabela 8. Reunião das frações obtidas da fração DSM-61.	45
Tabela 9. Reunião das frações obtidas da fração DSM-61.15.	45
Tabela 10. Reunião das frações obtidas da fração DSM-61.17.	46
Tabela 11. Reunião das frações obtidas.	48
Tabela 12. reunião das obtidas da fração DSM-73.5.	48
Tabela 13. Reunião das frções obtidas da fraçãoDSM-73.8.	48
Tabela 14. Rendimento dos extratos obtidos após a maceração.	51
Tabela 15. Dados de RMN ¹ H mistura das misturas 1 e 2 (CDCl ₃).	54
Tabela 16. Dados de RMN ¹ H e ¹³ Cda substância 3 em (acetona-D ₆).	57
Tabela 17. Dados de RMN da substância 4 em CDCl ₃	67
Tabela 18. Dados de RMN da substância 5 (CDCl ₃).	76
Tabela 19. Dados de RMN da substância 6 (Acetona).	85
Tabela 20. Dados de RMN da substância 7 (CDCl ₃).	94
Tabela 21. Dados de RMN da substância 8 (CDCl ₃).	103
Tabela 22. Taxa de mortalidade obtida no teste de sensibilidade frente a <i>Bemisia tabaci</i>	111

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Ocorrência mundial da família Fabaceae.	17
Figura 2. Esqueletos dos Flavonoides (Dewick, 2009, p.176).	18
Figura 3. Esqueletos básicos de flavonoides e isoflavonoides.	20
Figura 4. Substâncias encontradas em <i>D. spruceana</i> (Kite et al., 2010)	29
Figura 5. Ciclo de vida <i>Bemisia tabaci</i> (mosca branca).	30
Figura 6. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do ácido lignocérico.	51
Figura 7. Placa de CCD da substância 1 e 2.	52
Figura 8. Estrutura das substâncias β-sitosterol (1) e estigmaterol.	52
Figura 9. Expansão 7,0-1,0 ppm de espectro de RMN ¹ H de 1 e 2 (300 MHz,) ..	53
Figura 10. Placa de CCD da substância 3 (DSH-16. P1).	55
Figura 11. Estrutura da substância 3 maackiaina.	57
Figura 12. Espectro de RMN ¹ H de 3 (300 MHz, Acetona).	58
Figura 13. Espectro de RMN ¹³ C da substância 3 (75 MHz, Acetona).	59
Figura 14. Espectro de RMN DEPT de 3 (75 MHz, Acetona).	60
Figura 15. Mapa de correlação HSQC de 3 (300/75 MHz, acetona)	61
Figura 16. Mapa de correlação HMBC de 3 (300/75 MHz, acetona).	61
Figura 17. Expansão do HMBC na região δ _H 5,8-5,1 e δ _C 160- 60 de 3.	62
Figura 18. Expansão do HMBC na região δ _H 6,4-6,3 δ _C 160- de 3.	62
Figura 19. Expansão do HMBC na região δ _H 8,8-8,7 e δ _C 160-100 de 3.	63
Figura 20. Expansão do HMBC na região δ _H 7,0-6,8 e δ _C 160-70 de 3.	63
Figura 21. Espectro de massas de 3 DSH-16.P1 (ESI/EM, modo negativo)	64
Figura 22. Placa CCD da substância 4 (DSM-46.P1).	65
Figura 23. Estrutura da substância 4.	66
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H de 4 (300 MHz, CDCl ₃).	68
Figura 25. Espectro de RMN ¹³ C de 4 (75 MHz, CDCl ₃)	69
Figura 26. Espectro de DEPT de 4 (75 MHz, CDCl ₃).	70
Figura 27. Mapa de correlação HSQC de 4 (300/75 MHz, CDCl ₃)	71
Figura 28. Mapa de correlação HMBC de 4 (300/75 MHz, CDCl ₃)	71
Figura 29. Expansão do HMBC na região δ _H 6,7-6,2 δ _C 150-40 de 4.	72
Figura 30. Expansão do HMBC na região δ _H 6,0-5,9 δ _C 130-20 de 4.	72
Figura 31. Expansão do HMBC, da região δ _H 4,1-3,8 δ _C 170-120 de 4.	73
Figura 32. Placa CCD da substância 5 (DSM-61.17. P1).	74
Figura 33. Estrutura da 8-hidroxi-7-metoxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano.	75
Figura 34. Espectro de RMN ¹ H da substância 5 (300 MHz, CDCl ₃).	77
Figura 35. Espectro de RMN ¹³ C de 5 (75 MHz, CDCl ₃).	78
Figura 36. Espectro de DEPT de 5 (75 MHz, CDCl ₃).	79
Figura 37. Mapa de correlações de HSQC de 5 (300/75 MHz, CDCl ₃).	80
Figura 38. Mapa de correlações de HMBC de 5 (300/75 MHz, CDCl ₃).	80
Figura 39. Expansão do HMBC, da região δ _H 4,0-3,8 e δ _C 180-110 de 5.	81
Figura 40. Expansão do HMBC, da região δ _H 6,2-7,0 e δ _C 160-60 de 5.	81
Figura 41. Espectro de massas de 5 DSM-61.17.P1 (ESI/EM, modo negativo)..	82
Figura 42. Placa CCD da substância 6 (DSM-61.15. 6).	83
Figura 43. Estrutura de 6 8,4,2' trihidroxi-7,4'-dimetoxiisoflavonol.	84

Figura 44. Dados de RMN ¹ H de 6 (Acetona).....	86
Figura 45. Espectro de RMN ¹³ C de 6 (75 MHz, acetona).....	87
Figura 46. Espectro de DEPT de 6 (75 MHz, acetona).	88
Figura 47. Mapa de correlação HSQC de 6 (300/75 MHz, acetona).	89
Figura 48. Mapa de correlação HMBC de 6 (300/75 MHz, acetona).....	89
Figura 49. Expansão do HMBC na região δ _H 5,8-5,4 δ _C 140-70 a substância 6..	90
Figura 50. Expansão do HMBC na região δ _H 7,0-6,8 δ _C 160-80 de 6.....	90
Figura 51. Expansão do HMBC na região δ _H 7,3-7,0 δ _C 160-20 de 6.....	91
Figura 52. Expansão do HMBC na região δ _H 3,9-3,7 δ _C 170-10 de 6.....	91
Figura 53. Placa CCD da substância 7 (DSM-71.16)	92
Figura 54. Estrutura da substância dalbergina	93
Figura 55. Espectro de RMN ¹ H de 7 (500 Hz, CDCl ₃).	95
Figura 56. Espectro de RMN ¹³ C de 7 (125 MHz, CDCl ₃).....	96
Figura 57. Mapa de correlação HSQC de 7 (500/125 MHz, CDCl ₃).	97
Figura 58. Mapa de correlação HMBC de 7 (500/125 MHz, CDCl ₃).....	97
Figura 59. Expansão do HMBC na região δ _H 6,3-6,20 δ _C 160-100 de 7.....	98
Figura 60. Expansão do HMBC na região δ _H 7,4-6,8 e δ _C 165-135 de 7.....	98
Figura 61. Espectro de massas de 7 DSM-71.16 (ESI/EM, modo negativo).	99
Figura 62. Placa CCD da substância 8 (DSM-73.5.3).	100
Figura 63. Estrutura de 8 3',4'-dihidroxi-7,8,2'-trimetoxiisoflavana.	102
Figura 64. Espectro de RMN ¹ H de 8 (500 MHz, CDCl ₃)	104
Figura 65. Espectro de RMN ¹³ C de 8 (125 MHz, CDCl ₃).....	105
Figura 66. Espectro de RMN DEPT 135 de 8 (125 MHz, CDCl ₃).....	106
Figura 67. Mapa de correlação HSQC de 8 (500/125 MHz, CDCl ₃).	107
Figura 68. Mapa de correlação HMBC de 8 (500/125 MHz, CDCl ₃).....	107
Figura 69. Expansão do HMBC na região δ _H 3.2–2.9 δ _C 120-10 de 8.	108
Figura 70. Expansão do HMBC na região δ _H 6,7-6,5 δ _C 140-10 de 8.....	108
Figura 71. Expansão do HMBC na região δ _H 4,0-3,8 δ _C 150-135 de 8.....	109
Figura 72. Espectro de massas de 8 DSM-73.5.3 (ESI/EM, modo positivo)	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt – Acetato de etila

CC – Cromatografia em Coluna

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CCDP – Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CDCl_3 – Clorofórmio deuterado

d – dubleto

dd – duplo dubleto

m – multiplete

DCM - Diclorometano

DEPT 135° – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer - ângulo 135°

EM – Espectrometria de massas

EMAR – Espectrometria de Massas de Alta Resolução

ESI – Eletrospray h – Altura Hex – Hexano

HMBC – Heteronuclear Multiple-Bond Correlation

HSQC – Heteronuclear Single-Quantum Correlation

HSQC edit – Heteronuclear Single-Quantum Correlation Editado

Hz – Hertz J – Constante de acoplamento

LQPN – Laboratório de Química de Produtos Naturais

LTM – Laboratório de Tecnologia da Madeira

MOBOT – Missouri Botanical Garden *m* – multiplete

MeOH – Metanol

MeOD – Metanol deuterado

m/z – Relação massa/carga

DSH – *Dalbergia spruceana* Hexânico

DSM – *Dalbergia spruceana* Metanólico

RMN de ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN de ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

s – singleto

dl – dubleto largo

t – tripleto

δ – Deslocamento químico em parte por milhão

Φ – Diâmetro 1D – unidimensional 2D – bidimensional

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Família Fabaceae.....	17
3.1.1	Aspectos taxonômico e químico da família Fabaceae	19
3.1.2	Subfamília Papilionoideae	20
3.2	O gênero <i>Dalbergia</i>	21
3.3	Espécie <i>Dalbergia spruceana</i> Benth.....	27
3.4	Aspectos Morfológicos de <i>Bemisia tabaci</i> (mosca branca)	30
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	33
4.1	 Materiais	33
4.2	 Equipamentos e acessórios	34
4.3	 Obtenção do material vegetal	34
4.4	 Processamento da amostra e preparação dos extratos	35
	Esquema 1. Obtenção dos extratos de <i>D. spruceana</i>.	35
4.5	 Extrato hexânico de <i>Dalbergia spruceana</i> (DSH)	36
4.6	 Extrato metanólico de <i>Dalbergia spruceana</i> (DSM)	40
5	ENSAIOS BIOLÓGICOS	49
5.1	Ensaio inseticida	49
5.1.2	Teste de mortalidade	49
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
6.1	Rendimentos dos extratos.....	51
6.2	Determinação das substâncias 1 e 2.....	52
6.3	Determinação da substância 3	55
6.5	Determinação da substância 5	74
6.6	Determinação da substância 6	83
6.7	Determinação estrutural da substância 7	92
6.8	Determinação estrutural da substância 8	100
7	Atividade inseticida.....	111
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	112
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo compreendendo cerca de 10 a 20% do território nacional, onde a biodiversidade vegetal ocupa o primeiro lugar, com mais de 50 mil espécies de árvores e arbustos. Dentre as diversas famílias botânicas distribuídas e catalogadas, a Fabaceae ocupa a terceira posição em número de espécies.

Fabaceae abriga seis subfamílias com destaque para a Papilionideae (Faboideae) que é considerada a mais evoluída dentre as leguminosas, as quais, desempenham um papel fundamental para a economia do país, visto que, apresenta espécies fornecedoras de alimentos, cereais, fibras, madeira de grande valor comercial e metabólitos secundários biologicamente ativos. Dentre as espécies desta família, encontra-se *Dalbergia spruceana* utilizada na medicina popular e sua madeira empregada na fabricação de móveis e instrumentos musicais.

De acordo com a literatura, os estudos fitoquímicos são comumente realizados com cascas, folhas, sementes, frutos, flores, raízes, porém em relação à madeira há uma certa carência. Dessa forma, o grupo de pesquisa Plantas da Amazônia: Química, Quimiossistemática e Atividade Biológica em parceria com o Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), vem realizando projetos multidisciplinares com estudos fitoquímicos de diversas espécies oriundas de resíduos madeireiros.

Dentre os estudos realizados por esse grupo de pesquisa, Rodrigues e colaboradores (2022) avaliaram os resíduos madeireiros de *Roupala montana* e obtiveram a substância identificada como etildehidrogravipano que apresentou atividade antifúngicas próxima droga Anfotericina B e Fluconazol frente aos fungos *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* (MIC de 5 e 10 $\mu\text{g. mL}^{-1}$) e inibiu a forma promastigota de *Leishmania amazonensis* (IC₅₀ = 47,0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$).

Considerando a escassez de estudos químicos/biológicos com a madeira de *Dalbergia spruceana*, aliada à necessidade de criar estratégias de

aproveitamento desses resíduos, este estudo visa realizar estudos fitoquímicos e avaliar perspectivas de aproveitamento dos resíduos de *D. spruceana*.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Realizar estudos fitoquímicos e biológicos dos resíduos madeireiros da espécie *Dalbergia spruceana* Benth (Fabaceae) em busca de substâncias promissoras com propriedades biológicas.

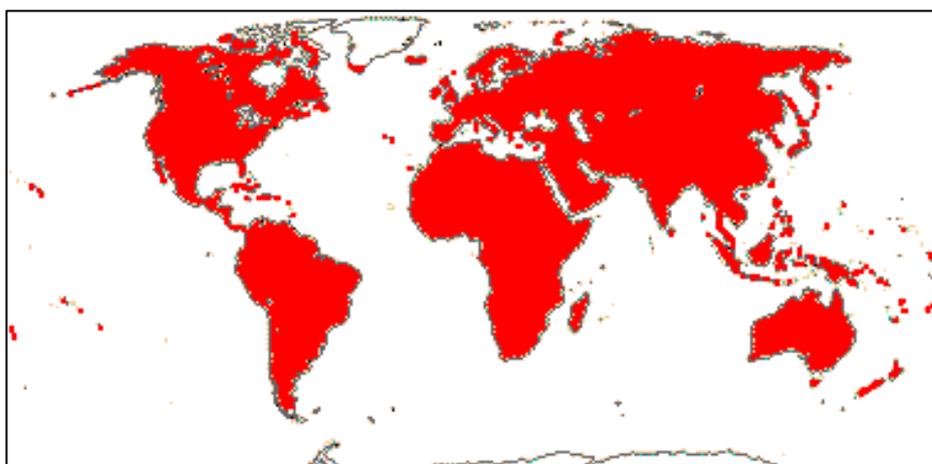
Objetivos específicos

- Realizar o fracionamento cromatográfico dos extratos hexânico e metanólico de *D. spruceana*;
- Identificar e/ou elucidar as estruturas químicas das substâncias isoladas por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas;
- Avaliar a atividade inseticida da substância majoritária frente as ninfas de *Bemisia tabaci*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Família Fabaceae

A família Fabaceae (Leguminosae) é considerada a terceira maior família de Angiospermas com distribuição cosmopolita (Figura 1), com formações vegetais em florestas tropicais, secas ou úmidas de praticamente todos os continentes (exceto na Antártida), compreendendo cerca de 766 gêneros e aproximadamente 19.580 espécies (LAVIN *et al.* 2005; APG XIV, 2023).



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

Figura 1. Ocorrência mundial da família Fabaceae.

No Brasil, a família é representada por aproximadamente 252 gêneros e cerca de 3.026 espécies (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023), sendo considerada a mais abundante nos biomas da Floresta Amazônica e na Caatinga, seguidos por Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal (BFG, 2015). Do ponto de vista econômico, as espécies de Fabaceae se destacam principalmente pelo potencial alimentar e medicinal. Além de serem fornecedoras de madeira de alto valor comercial, são também essenciais na agricultura devido à fixação biológica do nitrogênio da biosfera através da simbiose entre a bactéria *Rhizobium* e leguminosas (GRIESMANN *et al.*, 2018), que resulta em um processo alternativo mais sustentável e com redução de custo e produção, pois substitui os fertilizantes químicos.

A química da família Fabaceae é muito rica em metabólitos secundários com alto potencial bioativo, incluindo alcaloides, antraquinonas, taninos, fenóis, triterpenoides, peptídeos, açúcares redutores e principalmente pela predominância

de flavonoides, os quais apresentam uma variedade de esqueletos químicos, como descrito na figura 2.

Os flavonoides são muito referenciados na literatura por apresentarem uma gama de propriedades farmacológicas, tais como antioxidante, citotóxica, inseticida, antibacteriana, antimicrobiana (CARVALHO, 2020; FEITOZA, 2021). Alguns flavonoides são empregados como marcadores químicos para resolver problemas de classificação e identificação de espécies através da quimiosistemática.

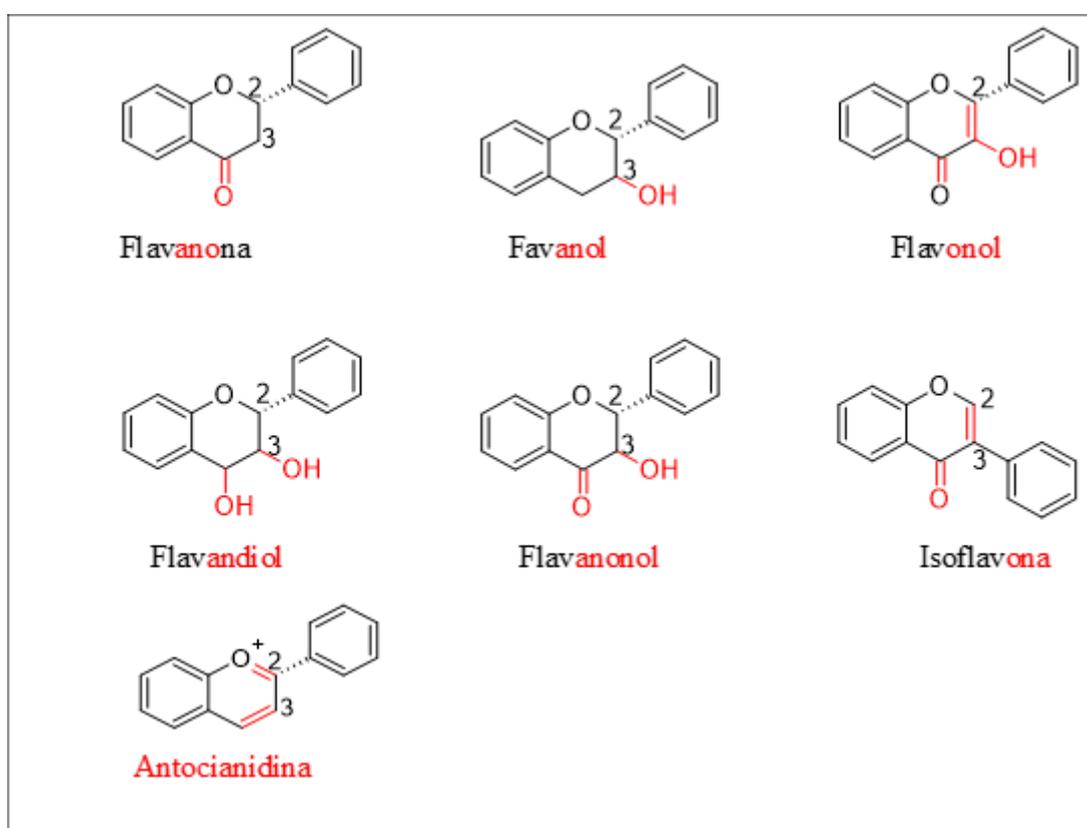


Figura 2. Esqueletos dos Flavonoides (Dewick, 2009, p.176).

3.1.1 Aspectos taxonômico e químico da família Fabaceae

Os avanços dos estudos filogenéticos associados aos estudos taxonômicos, moleculares e fortalecimento cladístico foram de grande importância para a evolução dos modelos taxonômicos atuais como mostra a tabela 1.

Tabela 1. Classificação taxonômica da família Fabaceae.

	ENGLER (1964)	CRONQUIST (1981)	APG. II (2003)	APG. XIV (2023); LPWG (2017)
Divisão	Angiospermae	Magnoliophyta	----	----
Classe	Dicotyledoneae	Magnoliopsida	----	----
Subclasse	Archichlamydeae	Rosidae	----	----
Ordem	Rosales	Fabales	Fabales	Fabales
Família	Leguminosae	Fabaceae Caesalpiniaceae Mimosaceae	Fabaceae	Fabaceae Detarioideae Duparquetioideae Cercidoideae Dialioideae Faboideae Caesalpinioideae
Subfamília	Faboideae; Caesalpinioideae; Mimosoideae;	----	Faboideae; Caesalpinioideae; Mimosoideae.	

Os dados taxonômicos descritos na tabela 1, evidenciam que a família Leguminosae no sistema de classificação de Engler (1964) era formada por três subfamílias: Papilionoideae (ou Faboideae), Caesalpinioideae e Mimosoideae. Já no sistema apresentado por Cronquist (1981), estas subfamílias foram elevadas à categoria de famílias, tais como Fabaceae, Caesalpiniaceae e Mimosaceae, respectivamente. No entanto, esse sistema não ganhou muito espaço na comunidade científica. Com os avanços dos estudos moleculares e filogenéticos,

as três famílias pelo sistema de Cronquist passaram a compor uma única família, Fabaceae, como descrito no APG II (2003).

No sistema de classificação mais moderno do APG IV (2023), a família Fabaceae consiste em seis subfamílias (Detarioidea, Duparquetioidea, Cercidoideae, Dialioideae, Faboideae e Caesalpinioideae) que foi apresentada pelo grupo Legume Phylogeny Working Group em 2017 com base em análises filogenéticas fundamentadas em sequências de genes dos gêneros e espécies conhecidas (LPWG, 2017).

3.1.2 Subfamília Papilionoideae

A Papilionoideae é considerada a maior subfamília da Fabaceae, distinguindo-se das outras subfamílias por sua morfologia vegetal (flores e frutos). Atualmente, apresenta cerca de 503 gêneros e aproximadamente 14.000 espécies LPWG (2017). Do ponto de vista químico, esta subfamília é considerada a maior produtora de isoflavonoides (VEITCH, 2013). Estruturalmente a subclasse dos isoflavonoides (esqueleto I) é diferenciada dos flavonoides (esqueletos II) (Figura 3), devido a característica particular do grupo fenil migrar para a posição C-3 do anel pirano, em vez de posicionada em C-2 como em outros flavonoides.

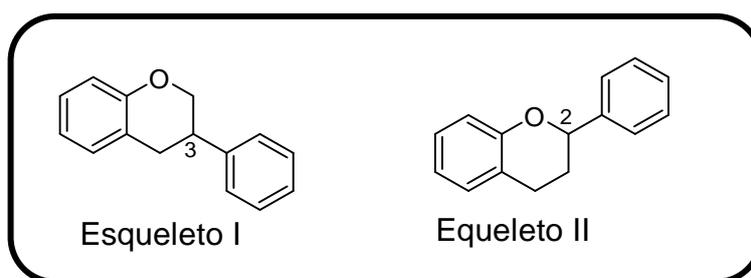


Figura 3. Esqueletos básicos de flavonoides e isoflavonoides.

A subfamília Papilionoideae simbolizam grande parte da diversidade das leguminosas que compõem a flora brasileira com aproximadamente 152 gêneros (BFG, 2018; FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023). Dentre estes, o gênero *Dalbergia* é de grande importância para a população ribeirinha devido ao uso medicinal de suas espécies.

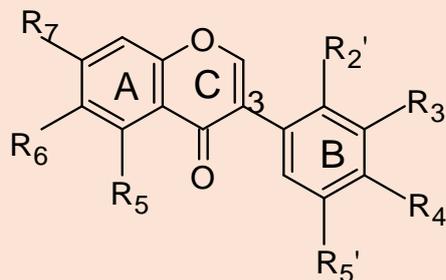
3.2 O gênero *Dalbergia*

O gênero *Dalbergia* atualmente possui cerca de 250 espécies distribuídas principalmente em regiões tropicais. No Brasil, existem aproximadamente 39 espécies sendo que na região Norte são encontradas nos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023).

Do ponto de vista econômico, as espécies de *Dalbergia* apresentam madeira de alto valor comercial que foi muito usada na construção de móveis de luxo e na construção civil devido a sua durabilidade, maleabilidade e resistência ao ataque de fungos e insetos. Essas características são muito apreciadas na construção de instrumentos musicais (HASSOLD *et al.*, 2016; BARRET *et al.*, 2010; BLANCA, *et al.*, 2004).

Nos relatos medicinais encontrados na literatura, muitas espécies são citadas com uso tradicional na região amazônica e na população chinesa. Na região amazônica, por exemplo, são utilizadas como analgésica, antidiabética, anti-inflamatória, antimicrobiana e no tratamento de diarreia (SILVA, 2021; MUJUMDAR *et al.*, 2005). Na medicina tradicional chinesa, algumas espécies são usadas no tratamento de artrite, gonorreia e reumatismo (HAJARE *et al.*, 2001; SONGSIANG *et al.*, 2009).

A química do gênero *Dalbergia* é representada por diterpenos, triterpenos, esteroides, cumarinas, fenilpropanoides e principalmente pela abundância de flavonoides, especialmente os isoflavonoides que tem ocorrência predominante em 31 espécies de *Dalbergia* (CARVALHO *et al.*, 2020). As subclasses de isoflavonoides mais encontradas no gênero são representadas pelas isoflavonas que possuem estudos fitoquímicos com cerne, raízes, cascas, ramos, folhas e galhos (Quadro 1). Seguido das isoflavanonas (quadro 2), isoflavanas (quadro 3) e pterocarpano (quadro 4).

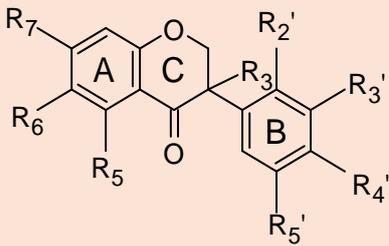
Quadro 1. Isoflavonas do gênero *Dalbergia*.

N°	Substância	R _{2'}	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	R ₅	R ₆	R ₇	Ocorrência
1	Cajanina	OH	H	OH	H	OH	H	MeO	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
2	Khrinona B	OH	H	Me O	OH	OH	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ²]
3	Daidzeína	H	H	OH	H	H	H	OH	<i>D. frutescens</i> [Fo, R ³]
4	Formononetina	H	H	Me O	H	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce, Ga ⁴]
5	3'-hidroxidaidzeína	H	OH	OH	H	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Fo, R ³]
6	Calicosina	H	OH	Me O	H	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ²]
7	Orobol	H	OH	OH	H	OH	H	OH	<i>D. tonkinensis</i> [Fo, R ³]
8	3'-O-metilorobol	H	MeO	OH	H	OH	H	OH	<i>D. velutina</i> [Ca ⁵]
9	5,7,5'-trihidroxí- 2',4'- dimetoxiisoflavona	MeO	H	Me O	OH	OH	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ga ⁶]
10	Khrinona C	MeO	OH	Me O	OH	OH	H	H	<i>D. parviflora</i> [Ce ²]
11	Metoxidaidzeína	H	MeO	OH	H	H	H	OH	<i>D. odorifera</i> [Ce ⁷] <i>D. parviflora</i> [Ce ¹]

12	Pseudobaptigenina	H	$\begin{array}{c} \text{OCH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	H	H	H	H	OH	<i>D. frutescens</i> [Ca ⁸] <i>D. velutina</i> [Ca ⁵]
13	Biochanina A 7-O- β -D- glc	H	H	$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{O} \end{array}$	H	OH	H	O- β -D- glc	<i>D. sisso</i> [Ra ⁹]
14	Tectorigenina	H	H	OH	H	OH	MeO	OH	<i>D. odorifera</i> [F ¹⁰] <i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
15	Olibergina B	H	H	$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{O} \end{array}$	H	OH	H	OH	<i>D. olivari</i> [Ca ¹¹]
16	Olibergina A	MeO	H	OH	$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{O} \end{array}$	OH	H	OH	<i>D. olivari</i> [Ca ¹¹]
17	6,2'-dimetoxi-7,4'- dihidroxiisoflavona	H	H	OH	H	OH	MeO	OH	<i>D. vacciniifolia</i> [Ce ¹⁰]
18	Biochanina A	H	H	$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{O} \end{array}$	H	OH	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]

¹UMEHARA *et al.*, 2009; ²CASTELLANO *et al.*, 2015; ³SON, 2019; ⁵ KAENNAKAM *et al.*, 2019; ⁶SONGSIANG *et al.*,2009; ⁷Yahara *et al.*, 1989; ⁸KHAN *et al.*,2000; ⁹SARG.,1999; ¹⁰LI *et al.*, 2016; ¹¹ITO *et al.*, 2003; ¹²INNOCENT *et al.*,2010.
[Ce]- cerne; [R]- raízes; [Ca]- cascas; [Ra]- ramos; [Fo]- folhas; [Ga]- galhos.

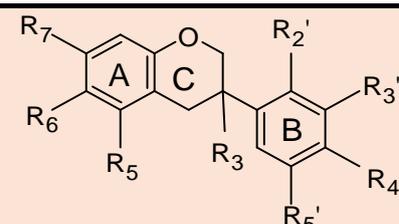
Quadro 2. Isoflavanonas do gênero *Dalbergia*.

								
N°	Substâncias	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₃	R ₅	R ₇	Ocorrência
19	7,3'-dihidroxi- 4'-metoxi- isoflavanona	H	OH	MeO	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
20	Vestitona	OH	H	MeO	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹] <i>D. odorífera</i> [Ce ²] <i>D. odorifera</i> [Ce ²]
21	Sativanona	MeO	H	MeO	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
22	Soforol	OH	H	OCH ₂ O	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
23	Onogenina	MeO	H	OCH ₂ O	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce, Ga ^{1,3}] <i>D. oliveri</i> [Ca ⁴]
24	Violanona	MeO	OH	MeO	OH	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ^{1,3}] <i>D. odorifera</i> , [Ce ^{2,3}]
25	3'-O- metilviolanona	MeO	MeO	MeO	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ^{1,3}]
26	Dalparvina B	OH	MeO	MeO	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
27	Kenusanona G	H	MeO	MeO	H	OH	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]
28	Secundiflorol H	MeO	OH	MeO	H	OH	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce, Ga ^{5,3}]
29	Dalparvina C	OH	MeO	MeO	OH	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]

30	3,5-dihidroxi-2',7-dimetoxi-2",2"dimetilpirano [5",6":3',4'] isoflavanona	MeO	2"dimetilpirano [5",6":3',4']		OH	OH	MeO	<i>D. melanoxylon</i> [Ca ⁶]
31	3,4',5-trihidroxi-2',7-dimetoxi3'preni lisoflavanona	MeO	Prenila	OH	OH	OH	MeO	<i>D. melanoxylon</i> [Ca ⁶]
32	Dalparvina A	MeO	H	MeO	H	H	OH	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]

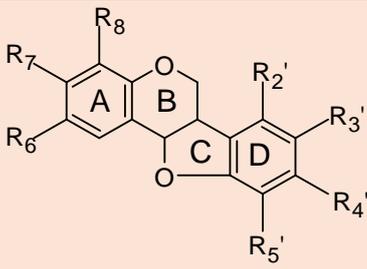
¹UMEHARA *et al.*, 2009; ²ZHAO *et al.*,2013; ³CASTELLANO *et al.*, 2015; ⁴ITO *et al.*, 2003; ⁵SONGSIANG *et al.*, 2011; ⁶MUTAI *et al.*, 2013.
[Ce]- cerne; [Ca]- cascas; [Ga]- galhos.

Quadro 3. Isoflavanas do gênero *Dalbergia*.

								
Nº	Substância	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	R ₇ '	R ₈ '	Ocorrência
33	Vestitol	OH	H	MeO	H	OH	H	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹] <i>D. odorifera</i> [Ce ²] <i>D. tonkinensis</i> [Fo, R ³]
34	Mucronulatol	OH	Meo	MeO	H	OH	H	<i>D. parviflora</i> [Ce ⁵] <i>D. oliveri</i> , [Ca ⁴]
35	8-demetilduartina	MeO	OH	MeO	H	OH	OH	<i>D. odorifera</i> [Ce ⁶] <i>D. parviflora</i> [Ce ⁵]
36	3'-hidroxi-8-metoxivestito	OH	OH	MeO	H	OH	MeO	<i>D. velutina</i> [R ⁷]
37	Duartina	MeO	OH	MeO	H	OH	MeO	<i>D. parviflora</i> [Ga ⁶]
38	4'-O-metilpreglabridina	OH	H	MeO	H	OH	Prenila	<i>D. parviflora</i> [Ce ¹]

¹UMEHARA *et al.*, 2009; ²Yahara *et al.*, 1989; ³SON, 2019; ⁴ITO *et al.*, 2003; ⁵CASTELLANO *et al.*, 2015; ⁶CHOI *et al.*, 2010; ⁷KAENNAKAM *et al.*,2017; ⁸SONGSIANG *et al.*,2009.
[Ce]- cerne; [R]- raízes; [Ca]- cascas; [Fo]- folhas; [Ga]- galhos.

Quadro 4. Pterocarpano do gênero *Dalbergia*.

								
Nº	Substância	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	R ₆	R ₇	R ₈	Ocorrência
39	Medicarpina	H	MeO	H	H	OH	H	<i>D. spruceana</i> [Ce ²] <i>D. tonkinensis</i> [Fo, Ra ¹]
40	2-Metoximediacarpina	H	MeO	H	MeO	OH	H	<i>D. odorífera</i> [Ce ³] <i>D. oliveri</i> [Ce ⁴]
41	Odoricarpina	H	MeO	OH	H	MeO	MeO	<i>D. spruceana</i> [Ce ²] <i>D. odorífera</i> [Ce ⁵]
42	4-hidroxi-3-metoxi-8,9-Metilenodioxipterocarpano	OCHO		H	H	MeO	H	<i>D. candenatensis</i> [Ce ⁷] <i>D. parviflora</i> [Ce ⁵]
43	Maackiaina	OCHO		H	H	OH	H	<i>D. boehmii</i> [Ce ⁵] <i>D. spruceana</i> [Ce ²]

¹SON, 2019; ²Cook *et al.*, 1978; ³ZHAO *et al.*, 2013; ⁴ITO *et al.*, 2003; ⁵Goda *et al.*, 1985; ⁶SONGSIANG *et al.*, 2011; ⁷CHEENPRACHA *et al.*, 2009.

3.3 Espécie *Dalbergia spruceana* Benth

A *Dalbergia spruceana* é conhecida popularmente como jacarandá-do-pará ou timbó-pau, possui sinonímia botânica *Miscolobium spruceanum* Benth e é encontrada em floresta úmida com matas secas não muito altas e campos cobertos, todos em solo arenoso (RIZZINI, 1978). No Brasil, a espécie pode ser encontrada nos estados do Amazonas, Amapá, Acre, Rondônia e Pará (SOUZA, 2012).

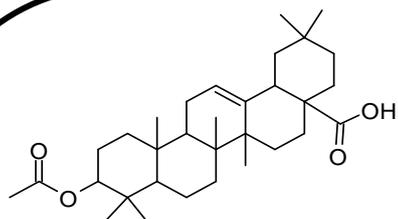
A espécie possui altura arbórea de pequeno a médio porte com tronco tortuoso e provido de caneluras longitudinais profundas e irregulares. Apresenta madeira de coloração alaranjada ou marrom avermelhada e flores azuis roxeadas (LOUREIRO *et al.*, 1979; PARROTA *et al.*, 1995). Devido a dureza, peso e força associada com a textura uniforme, a madeira foi muito utilizada na fabricação de móveis, objetos de decoração, adornos, caixas e bandejas (PARROTA *et al.*, 1995; RIZZINI, 1971).

Os estudos químicos de *D. spruceana* são muitos escassos na literatura, pois encontram-se apenas dois relatos utilizando a madeira dessa espécie. No estudo fitoquímico do extrato metanólico apresentado por Cook *et al.* (1978) é descrito o isolamento de triterpeno, fenilpropanoides e principalmente flavonoides como apresentados na (figura 4). As substâncias maackiaina e 8-hidroxi-7-metoxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano, são reportadas na literatura por apresentarem atividades biológicas contra células cancerígenas de carcinoma epidermóide de boca (KB) (SONGSIANG *et al.*, 2011).

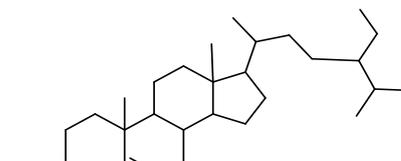
Ressalta-se a importância dos estudos químicos de Kite *et al.* (2010) para distinguir as espécies *Dalbergia nigra* e *D. spruceana* que são muito confundidas na literatura, devido as semelhanças anatômicas da madeira. Os extratos metanólicos do cerne e alburno das duas espécies foram submetidos em análise de Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas (LC/MS) e os resultados constatados se direcionam na identificação de um marcador taxonômico conhecido como pseudobaptigenina (figura 4) em *D. spruceana*, que não foi detectado em extratos de madeira de *D. nigra*.

Os isoflavonoides de *Dalbergia spruceana*, bem como de outras espécies encontradas no gênero, apresentam relatos na literatura de várias atividades biológicas, tais como estrogênica, citotóxica, antioxidante, antimicrobiana e

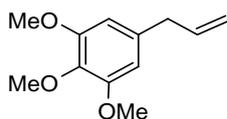
também atividades inseticidas (CARVALHO *et. al.* 2020; ARRUDA *et. al.* 2018), as quais constituem um dos objetivos desse trabalho.



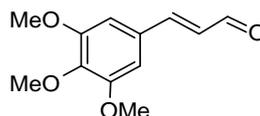
ácido 0-acetilolanólico



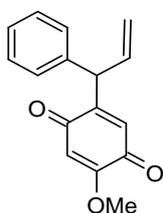
sitosterol



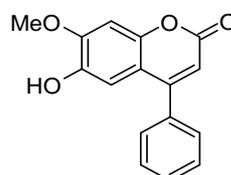
elemicina



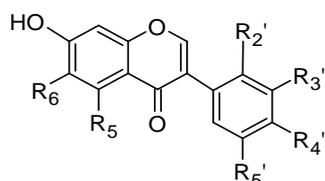
3,4,5 trimetoxicinamaldeído



4-metoxidalbergiona



dalbergina

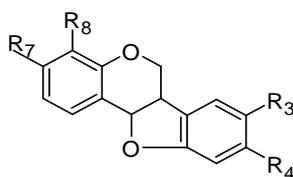


$R_5 = \text{OH}$, $R_6 = \text{OMe}$, $R_2 = \text{OMe}$, $R_3 = \text{H}$, $R_4 = \text{OMe}$, $R_5 = \text{OMe}$ caviunina

$R_5 = R_6 = \text{H}$, $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_5 = \text{H}$ pseudobaptigenina

$R_5 = \text{OH}$, $R_6 = R_2 = R_3 = \text{H}$, $R_4 = \text{OMe}$, $R_5 = \text{H}$ biochanina-A

$R_5 = R_6 = R_2 = \text{H}$, $R_3 = R_4 = \text{OMe}$, $R_5 = \text{H}$ formononetina



$R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_7 = \text{OH}$, $R_8 = \text{H}$ maackiaina

$R_3 = \text{H}$, $R_4 = \text{OH}$, $R_7 = \text{OH}$, $R_8 = \text{H}$ medicarpina

$R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_7 = \text{OMe}$, $R_8 = \text{OH}$ 8-hidroxi-7metoxi-3',4'metilenodioxipterocarpano

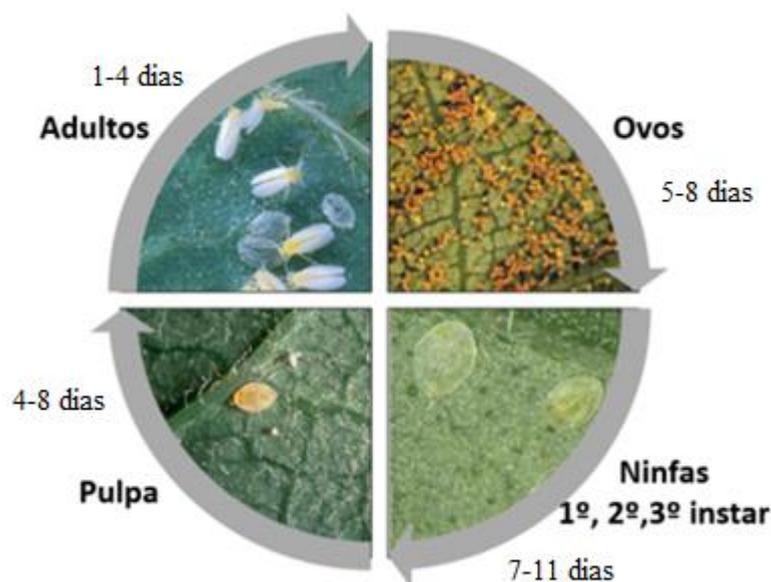
$R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_7 = \text{OH}$, $R_8 = \text{OMe}$ 7-hidroxi-8metoxi-3',4'metilenodioxipterocarpano

$R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_7 = \text{OH}$, $R_8 = \text{OH}$ 8,7 dihidroxila-3',4'metilenodioxipterocarpano

Figura 4. Substâncias encontradas em *D. spruceana* (Kite et al., 2010)

3.4 Aspectos Morfológicos de *Bemisia tabaci* (mosca branca)

O inseto *Bemisia tabaci* (mosca branca) é considerado uma praga agrícola com ocorrência mundial. As características morfológicas desse inseto incluem um corpo relativamente pequeno e delicado na coloração branca ou amarela, que depende do ambiente. O seu corpo possui asas membranosas, seis patas e uma cabeça com olhos compostos, antenas e um órgão alongado conhecido como estilete que é usado para perfurar os tecidos vegetais e extrair a seiva (GALLO, 2002). Seu ciclo biológico é dividido em ovo, ínstares (estágios de ninfas I, II e III), pulpa e fase adulta (ALBERGARIA, 2003; GALLO, 2002), como ilustrado na Figura 5.



Fonte: <http://genica.provisorio.ws/pragas/mosca-branca>

Figura 5. Ciclo de vida *Bemisia tabaci* (mosca branca).

O ciclo de vida completo pode variar entre 17 e 50 dias, dependendo das condições ambientais, como temperatura e a disponibilidade de alimentos (GALLO, 2002). Vale ressaltar que, essa capacidade de reprodução elevada contribui para a habilidade do inseto de causar prejuízos econômicos e agrícola em uma variedade de plantas cultivadas e espécies vegetais. Alguns dos principais impactos, incluem o custo de controle, desafio de manejo e perda nas exportações (PADILHA *et al.* 2021). Estes impactos estão relacionados a capacidade do inseto

desenvolver resistência a inseticidas ou a fácil adaptação em diferentes culturas agrícolas nas mais diversificadas condições climáticas, além dos problemas econômicos resultantes das restrições comerciais e sanções de países importadores que buscam evitar a entrada de pragas em suas fronteiras (PADILHA *et al.* 2021).

Os danos diretos e indiretos causados por *Bemisia tabaci* nas plantas acontecem durante a alimentação de ninfas e adultos (BALDIN *et al.*, 2017). A exemplos de danos diretos, encontram-se a sucção de seiva e transmissão de patógenos (Suekane, 2013). Os danos relacionados a sucção de seiva causam redução no crescimento, desenvolvimento inadequado e até morte das plantas. Na transmissão de patógenos, o inseto age como um vetor de muitos vírus vegetais transmitindo doenças às plantas hospedeiras enquanto se alimenta, por exemplo deformações foliares, queda de frutos e necrose. Os danos indiretos mais comum estão relacionados a produção e qualidades de frutas, secreção de melada e desenvolvimento de resistência (PADILHA *et al.* 2021; EMBRAPA,2022; GALLO, 2002).

O Brasil, desde 1923 encontram-se relatos de mosca branca em lavouras de feijão, soja, tomate, algodão, repolho e plantas daninhas (EMBRAPA, 2022). No estado do Amazonas, entre as principais culturas atacadas por este inseto encontram-se a couve-flor, uma das culturas essenciais para a economia local. No ano de 2020, por exemplo os municípios de Careiro do Várzea e Iranduba, a produção atingiu aproximadamente 2.200 toneladas dessa hortaliça, conforme dados do IDAM (2021).

No processo de cultivo de couve, por exemplo, um dos problemas enfrentados pelos agricultores é o ataque de pragas, entre elas a *B. tabaci* que prejudica sua produção. Na tentativa de minimizar o ataque deste inseto, são utilizados vários métodos de controle, entre eles, o manejo integrado, barreiras físicas e o inseticida comercial que é o mais utilizado. No entanto, o uso indiscriminado destes produtos comerciais causa danos à saúde e ao meio ambiente, além de facilitar o desenvolvimento de insetos cada vez mais resistentes, como relatado por Dângelo *et al.* (2018) e Horowitz *et al.* (2020).

Desta, torna-se imperativo o desenvolvimento de estratégias de controle sustentável para atenuar os danos provocados por essa praga nas culturas agrícolas. As substâncias naturais surgem como uma opção mais benéfica quando comparadas a alguns inseticidas sintéticos, uma vez que apresentam menor impacto ambiental. No entanto, é crucial considerar os possíveis efeitos sobre organismos não-alvo e o ecossistema. Nesse contexto, os pesquisadores direcionam seus esforços para investigar a atividade biológica de diversas classes de substâncias. Um estudo conduzido por Carvalho e colaboradores (2020) revela que os isoflavonoides estão associados a uma ampla gama de atividades biológicas. Por exemplo, a rotenona é utilizada em formulações líquidas, compreendendo 8% da substância, juntamente com 15% de outros rotenoides, em plantações de alface e tomate (Carvalho et al., 2020; Shepard, 1951; Hollingworth et al., 1994). No grupo de isoflavonoides, destacam-se também os pterocarpanos, como a (-) medicarpina e a mackiaina, que apresentam atividades inseticidas e fungicidas, respectivamente (Carvalho et al., 2020; Morimoto et al., 2014; Simmonds, 2001).

Considerando os relatos biológicos dos flavonoides e a predominância dessas substâncias no gênero *Dalbergia*, em conjunto com a carência de estudos com a madeira. Este trabalho foi direcionado para a investigação fitoquímica da madeira de *Dalbergia spruceana* e avaliação biológica frente ao inseto *Bemisia tabaci* (mosca branca).

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A investigação fitoquímica foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) no INPA. As serragens foram obtidas do Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) e ambos os laboratórios estão localizados na Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTEI). As análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram realizadas no laboratório de Ressonância Magnética Nuclear Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CALTPQN), localizado no Instituto Nacional de Pesquisa da Amazonia (INPA) e a central analítica localizado na Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

4.1 Materiais

Solventes comerciais: nas análises cromatográficas utilizaram-se solventes orgânicos comerciais (hexano, acetato de etila, diclorometano, acetona e metanol) destilados no LQPN-INPA.

Solventes deuterados: para os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear foram utilizados os solventes deuterados: metanol, clorofórmio, acetona e piridina (Sigma Aldrich).

Cromatografia em coluna (CC): Os fracionamentos cromatográficos tanto dos extratos quanto das frações foram efetuados em coluna de vidro, variando comprimentos e diâmetros de acordo com a quantidade de amostra a ser fracionada.

Fases Estacionárias para Cromatografia em Coluna: Sílica gel 60 com partícula (70-230 *mesh*, 230-400 *mesh*) - Merck; Sephadex LH-20 - Sigma-Aldrich e celulose microcristalina - Merck.

Cromatografia em Camada Delgada (CCD): para as análises em CCD foram realizadas em cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60 tendo como indicador de fluorescência F25 e 0,2 mm de espessura (Merck).

Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP): sílica gel, com tamanho 20 x 10 e 20 x 20 cm com espessura de sílica gel de 1,0 mm e

ativando-se a placa por 30 minutos em estufa a 100 °C. A recuperação da amostra foi efetuada utilizando os solventes: diclorometano, acetona, metanol.

Reveladores: a revelação das faixas (spots) foi feita por meio de radiação ultravioleta (254 nm e 365 nm) e em solução alcoólica de vanilina sulfúrica com aquecimento em chapa aquecedora.

4.2 Equipamentos e acessórios

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

Moinho – Marconi, macro moinho tipo Wiley modelo MA-340.

Evaporador rotativo – Buchi, modelo Rotavapor R-3 acoplado a um banho ultratermostatizado Marconi, modelo MA-184.

Chapa de aquecimento – Fisatom, modelo 753 A.

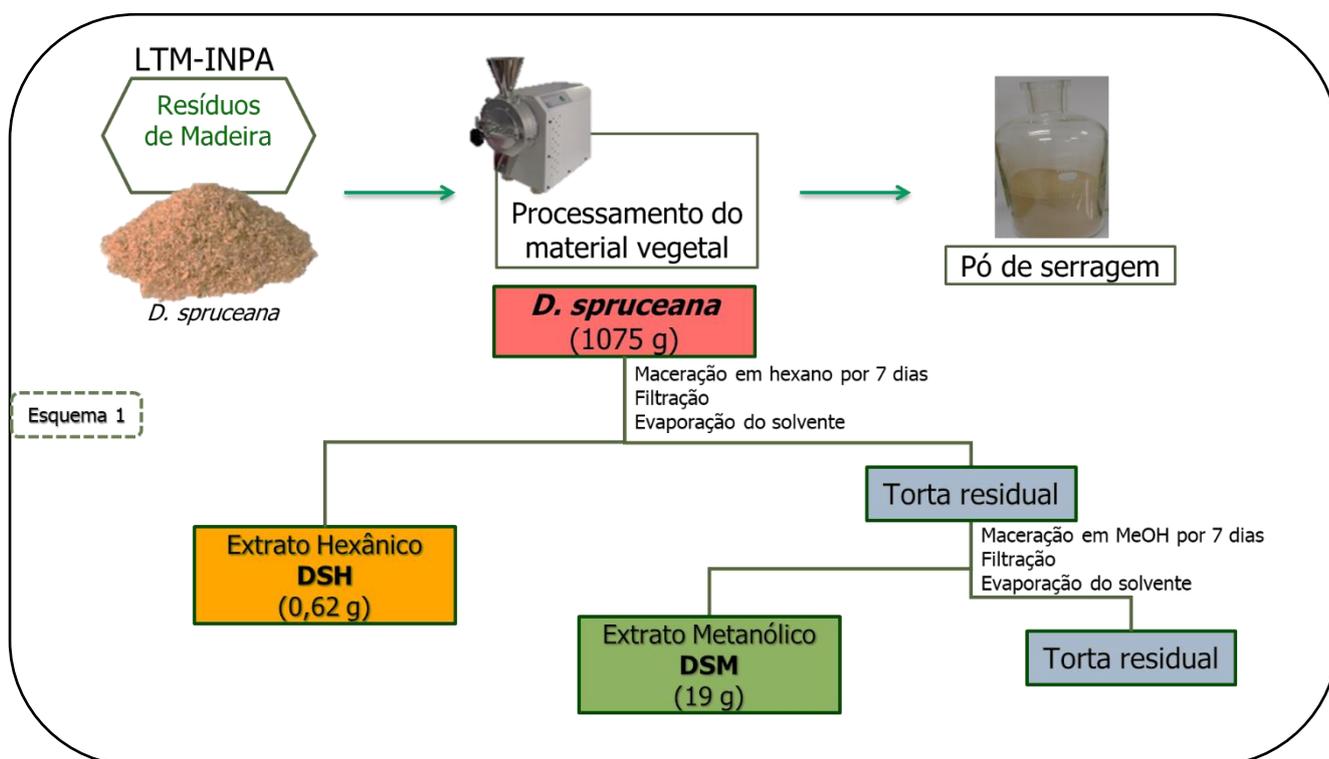
Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear – Os espectros de RMN obtiveram-se em espectrômetros da Bruker, Fourier-300 (300 MHz - ^1H e 75 MHz - ^{13}C) Bruker, Fourier-500 (500 MHz - ^1H e 150 MHz - ^{13}C) CALTQPN do INPA e CAM da (UFAM) respectivamente.

4.3 Obtenção do material vegetal

Os resíduos madeireiros (serragem) de *Dalbergia spruceana* foram fornecidos pelo Laboratório de Engenharia de Artefatos de Madeira da (COTEI) em parceria com Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), no âmbito do projeto Madeiras da Amazônia. A identificação da espécie foi realizada por comparação das características macroscópicas com padrões da Xiloteca do LTM, sob a responsabilidade do anatomista e pesquisador Jorge Alves de Freitas.

4.4 Processamento da amostra e preparação dos extratos

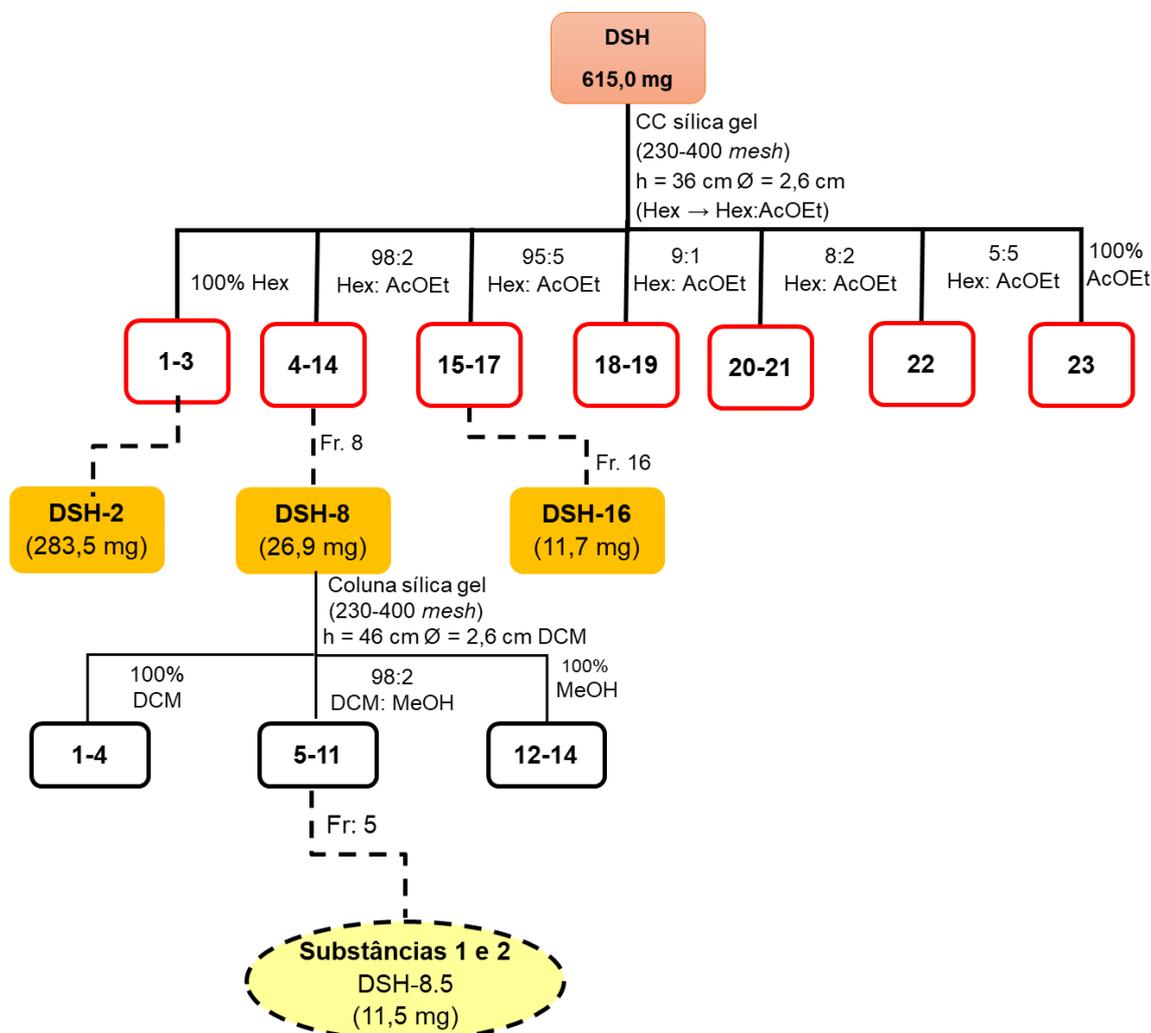
A amostra dos resíduos madeireiros foi processada em um moinho de quatro facas, pesada, e posteriormente submetida a maceração à frio em frasco Mariotte, com solventes orgânicos por ordem crescente de polaridade (hexano e metanol) por 7 dias em cada solvente. As soluções resultantes após filtração foram concentradas sob vácuo em evaporador rotativo, obtendo o extrato hexano (DSH) e metanólico (DSM), conforme mostra o Esquema 1.



Esquema 1. Obtenção dos extratos de *D. spruceana*.

4.5 Extrato hexânico de *Dalbergia spruceana* (DSH)

O extrato hexânico DSH (615 mg) foi previamente analisado em CCD, o qual foi submetido em coluna de sílica gel (230-400 *mesh*) e eluída com gradiente crescente de polaridade com hexano e acetato de etila (Esquema 2). O fracionamento forneceu 23 frações, as quais foram reunidas conforme similaridades apresentadas em CCD, resultando nas frações DSH-2, DSH-8 e DSH-16 como as mais promissoras (Tabela 2). A fração DSH-2 mostrou em CCD característica de ácidos graxos. As frações DSH-8 e DSH-16 foram selecionadas para novos fracionamentos, devido às fortes absorções na luz ultravioleta (254 e 365 nm).



Esquema 2. Fracionamento do extrato hexano de *D. spruceana* DSH.

A fração 8 (DSH-8) com 26,9 mg, foi submetida ao refracionamento empregando-se sílica gel (230-400 *mesh*) eluída em DCM:MeOH com gradiente

crescente de polaridade conforme o esquema 2. Deste fracionamento cromatográfico obteve-se 14 subfrações (Tabela 3), que foram analisadas por CCD da qual a subfração 8.5 forneceu as substâncias **1 e 2**.

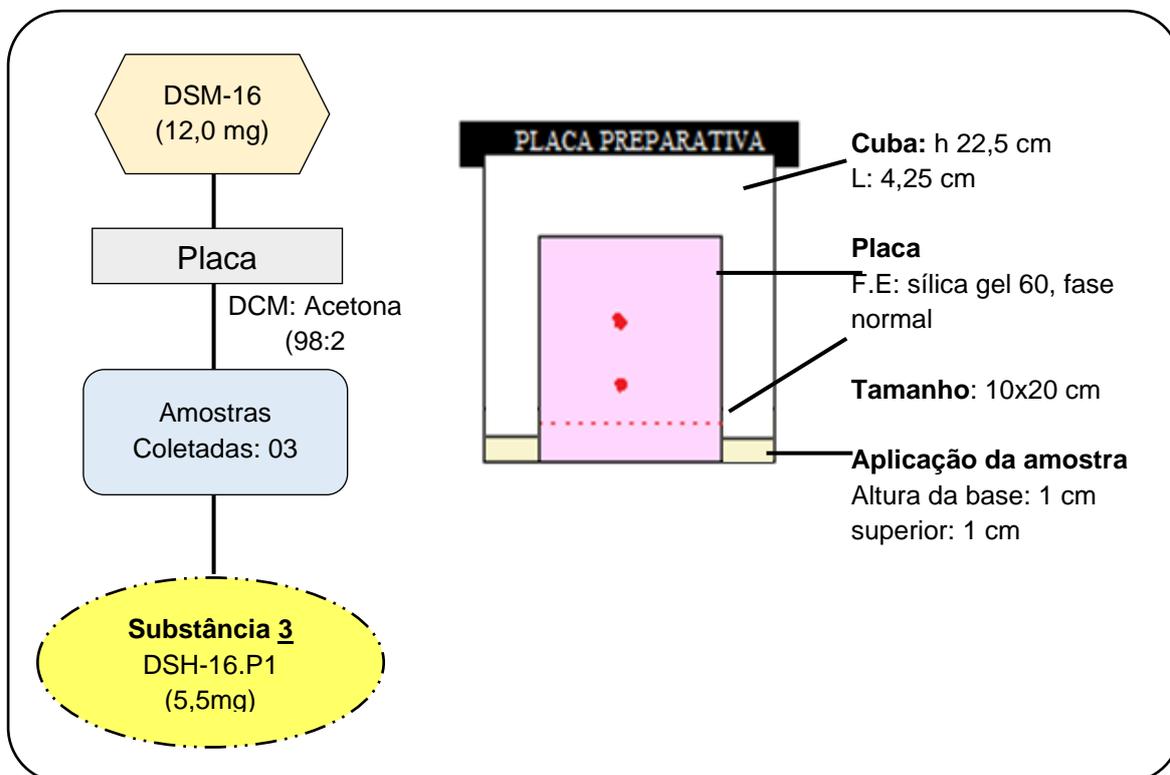
Tabela 2. Reunião das frações do extrato hexano de *D. spruceana* (DSH).

Frações reunidas	Códigos	Massa (mg)
1	DSH-1	0,5
2	DSH-2	282,3
3	DSH-3	32,1
4	DSH-4	69,0
5	DSH-5	13,6
6	DSH-6	8,4
7	DSH-7	5,7
8-11	DSH-8	26,9
12-13	DSH-12	51,6
14	DSH-14	12,0
15	DSH-15	10,2
16	DSH-16	12,0
17	DSH-17	10,1
18	DSH-18	8,2
19	DSH-19	6
20	DSH-20	11,3
21	DSH-21	2,8
22	DSH-22	3,7
23	DSH-23	12,7

Tabela 3. Reunião das frações obtidas da fração DSH-8.

Frações reunidas	Códigos	Massa (mg)
1	DSH-8.1	0,3
2	DSH-8.2	1,9
3	DSH-8.3	2,1
4	DSH-8.4	2,0
5-11	DSH-8.5	11,5
12	DSH-8.6	2,3
13	DSH-8.7	2,1
14	DSH-8.8	3,3

A fração DSH-16 (12,0 mg) foi fracionada em placa por Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) em sílica gel, tendo como eluente DCM: acetona (98:2) revelado na luz UV (254 nm). Após análise em CCD obteve-se a **substância 3**, conforme ilustrado no esquema 3.



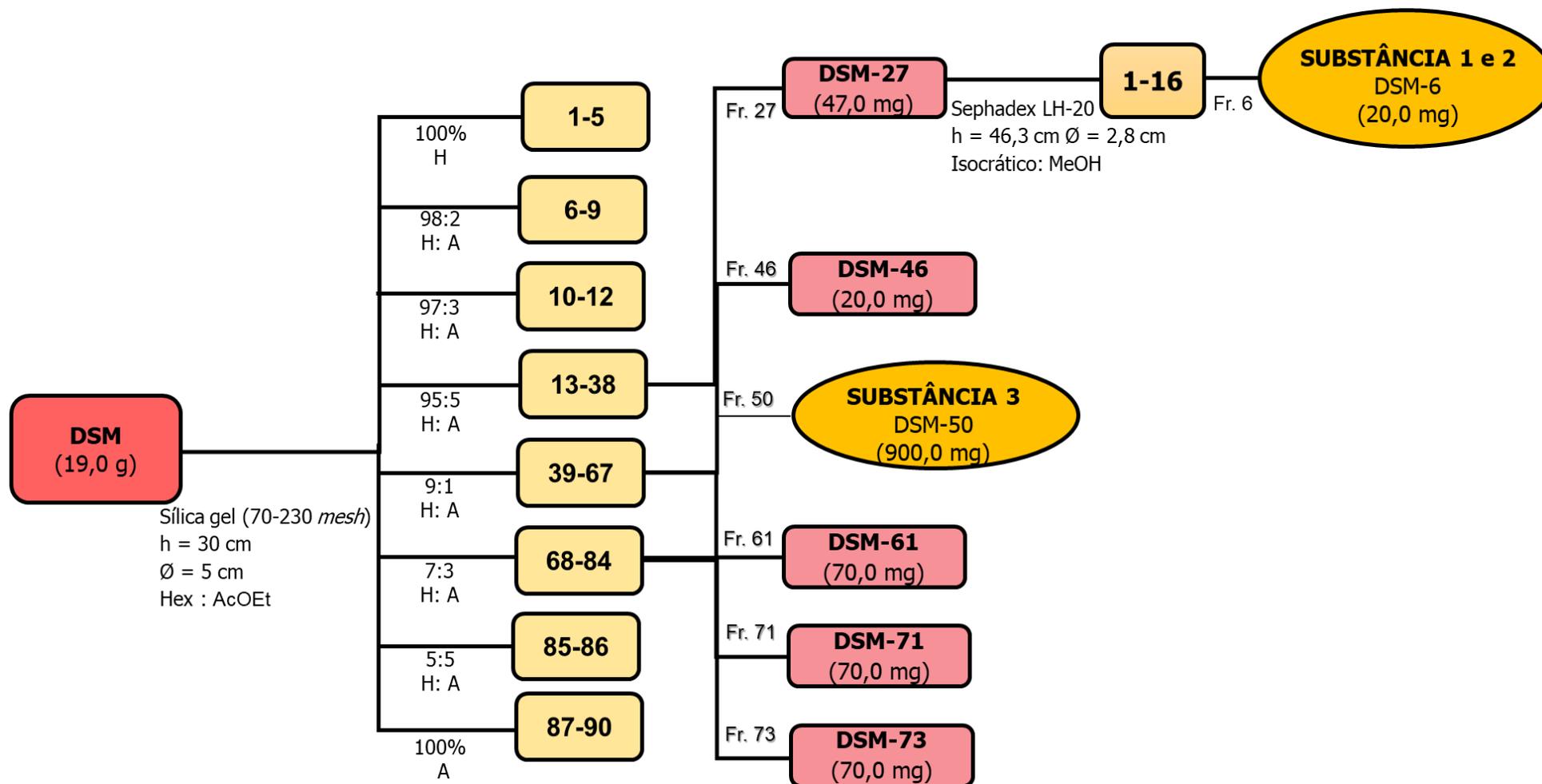
Esquema 3. Fracionamento da fração DSH-16.

Tabela 4. Reunião das frações obtidas da fração DSH-16.

Frações	Códigos	Massa (mg)
1	DSM-16. P1	5,5
2	DSM-16. P2	2,8
3	DSM-16. P3	2,5

4.6 Extrato metanólico de *Dalbergia spruceana* (DSM)

O extrato metanólico codificado como DSM (19 g) foi fracionado em coluna de sílica gel 70-230 *mesh* (Esquema 4), eluída em hexano e acetato de etila com gradientes crescentes de polaridade originando 90 frações e reunidas conforme análise em CCD (Tabela 5). A fração DSM-50 apresentou o mesmo R_f da substância 3. As frações DSM-27, DSM-46 e DSM-61 foram submetidas a novos fracionamentos. A fração 27 (DSM-27) foi refracionada (Esquema 4) em coluna Sephadex LH-20 eluída em metanol, obtendo 16 subfrações (Tabela 6) que foram reunidas de acordo com similaridades em CCD. A subfração DSM-27.6 mostrou o mesmo R_f das misturas das substâncias 1 e 2 isoladas no extrato hexânico.



Esquema 4. Fracionamento do extrato metanólico de *D. spruceana* (DSM).

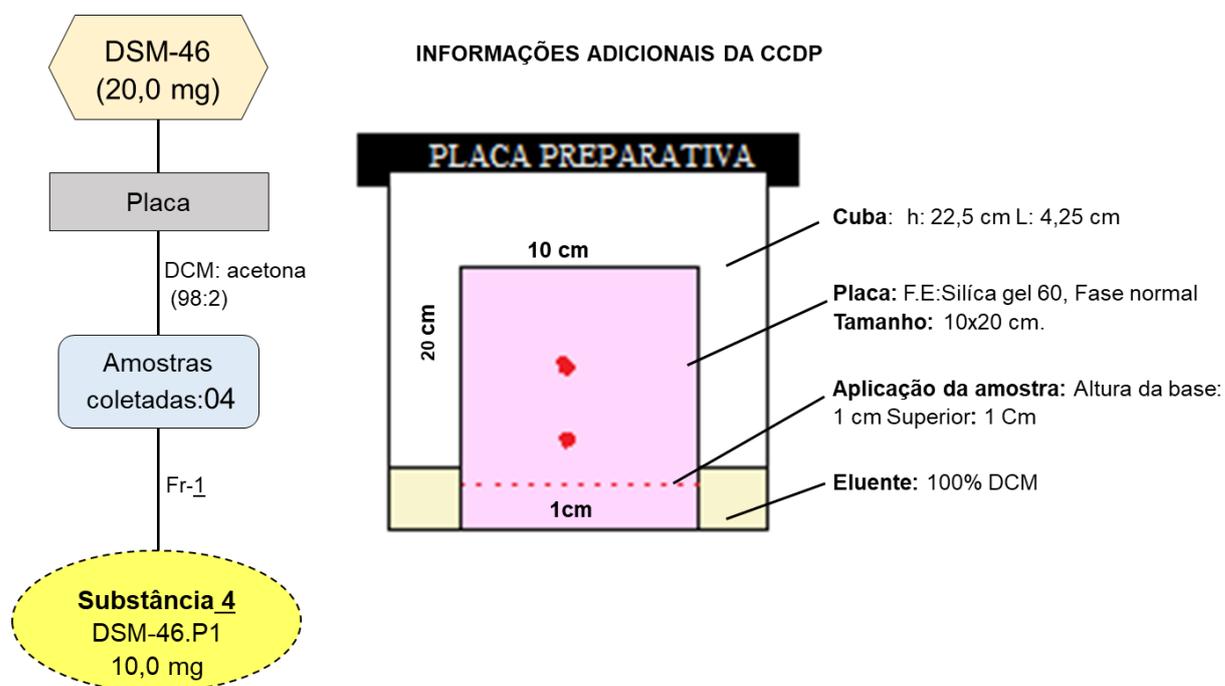
Tabela 5. Reunião das frações obtidas do extrato metanólico (DSM).

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1-2	DSM-1	2,5
3	DSM-3	5,6
4	DSM-4	17,4
5-10	DSM-5	6,1
11-12	DSM-11	20
13-14	DSM-13	10,5
15-16	DSM-15	10,0
17-18	DSM-17	40,0
19-20	DSM-19	34,1
21-25	DSM-21	13,5
26-31	DSM-27	47,0
32-37	DSM-32	33,0
38-41	DSM-38	27,0
42-45	DSM-42	53,0
46	DSM-46	20,0
47-49	DSM-47	42,0
50-60	DSM-50	900,0
61	DSM-61	70,0
62-64	DSM-62	600,0
69-74	DSM-69	500,0
75-81	DSM-75	610,0
82-90	DSM-82	534,0

Tabela 6. Reunião das frações obtidas da fração DSM-27.

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	DSM-27.1	1,5
2-3	DSM-27.2	4,4
4	DSM-27.3	3,5
5	DSM-27.4	1,5
7	DSM-27.5	1,0
6-10	DSM-27.6	20
11-14	DSM-27.7	3,5
14-16	DSM-27.8	3,0

A fração DSM-46 (20 mg) foi fracionada em placa por Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) em sílica gel, tendo como eluente DCM (100%) e revelada na luz UV (254 nm). Após análises em CCD de fase normal, obteve-se a substância **4** conforme esquema 5.

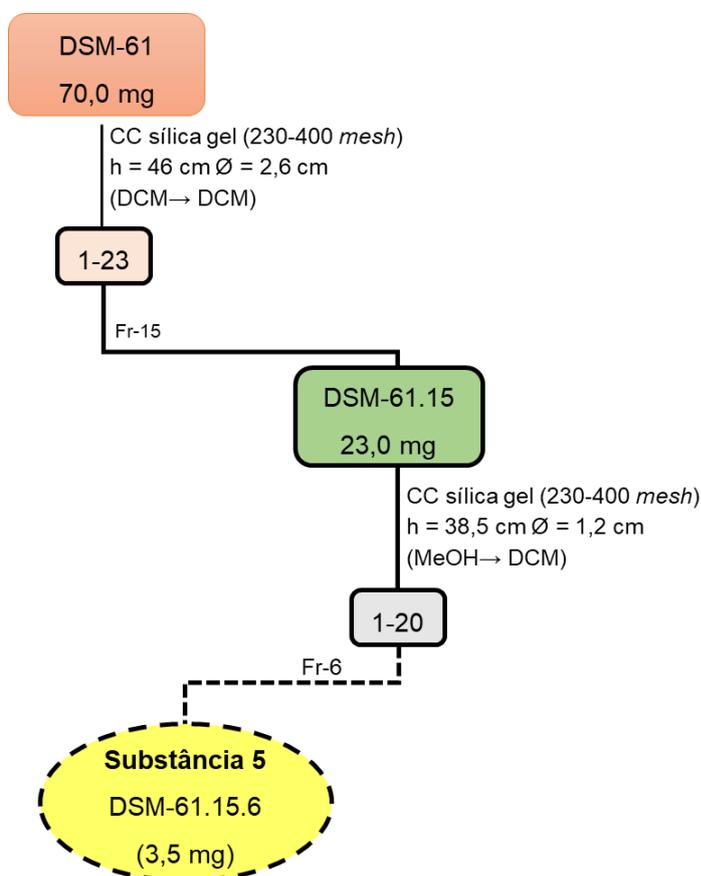


Esquema 5. Fracionamento da fração DSM-46.

Tabela 7. Reunião das frações obtidas da fração DSM-46.

Frações	Código	Massa (mg)
1	DSM-46.P1	10,0
2	DSM-46.P2	1,8
3	DSM-46.P3	2,5
4	DSM-46.P4	2,1

A fração DSM-61 (70 mg) foi fracionada conforme o Esquema 6 em sílica gel (230-400 *mesh*) com eluição isocrática em DCM, resultando em 23 subfrações, estas foram reunidas de acordo com análises em CCD (Tabela 8). As frações 15 (DSM-61.15) e 17 (DSM-61.17) concentraram maior massa, sendo selecionadas para novos fracionamentos. A fração DSM-61.15 seguiu os procedimentos do esquema 6 fornecendo a substância **5**. Enquanto a fração DSM-61.17 (35 mg) foi fracionada em placa por CCDP em sílica gel, tendo como eluente DCM:MeOH (98:2), obtendo a substância **6** (Esquema 7).



Esquema 6. Fracionamento das frações DSM-61 e DSM-61.15.

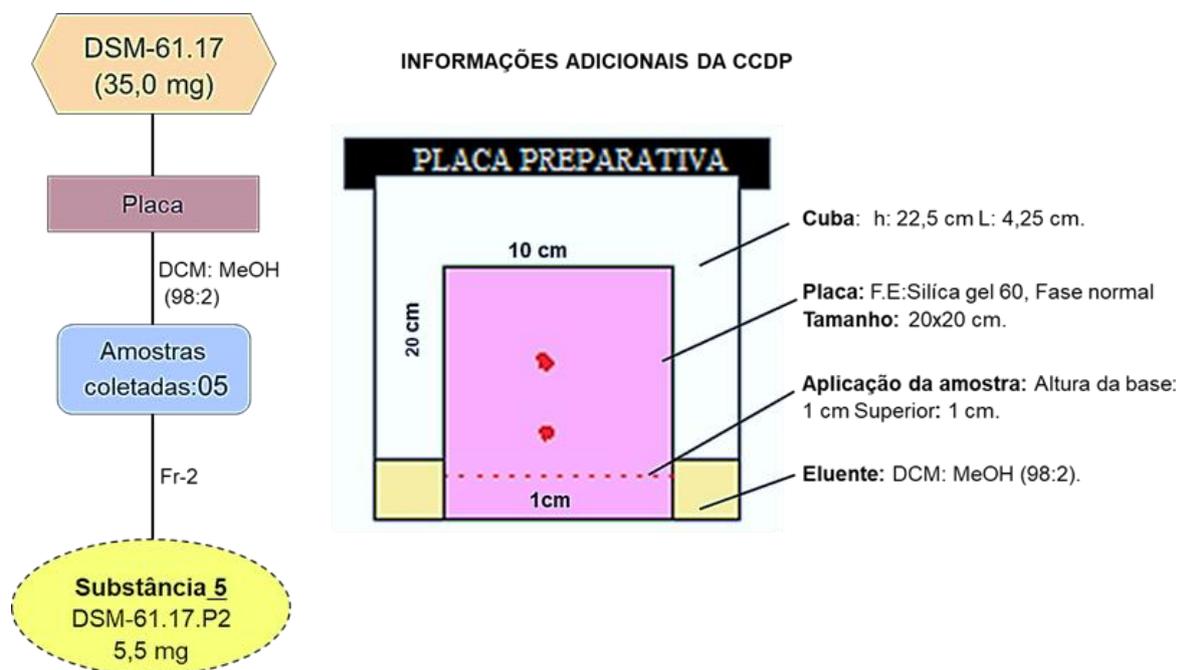
Tabela 8. Reunião das frações obtidas da fração DSM-61.

Fração Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1-7	DSM-61.1	1,8
8-11	DSM-61.8	0,9
12-14	DSM-61.12	0,5
15-16	DSM-61.15	23,2
17	DSM-61.17	40
18-21	DSM-61.21	0,6
23	DSM-61.25	0,8
22	DSM-61.24	1,9

Tabela 9. Reunião da fração DSM-

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1-2	DSM-61.15.1	2,0
3	DSM-61.15.2	1,0
4	DSM-61.15.3	2,1
6-8	DSM-61.15.6	3,5
9-12	DSM-61.15.9	1,3
13-15	DSM-61.15.13	3,5
16	DSM-61.15.16	2,8
17-18	DSM-61.15.17	4,7
19	DSM-61.15.19	5,5
20	DSM-61.15.20	2,5

das frações obtidas 61.15.



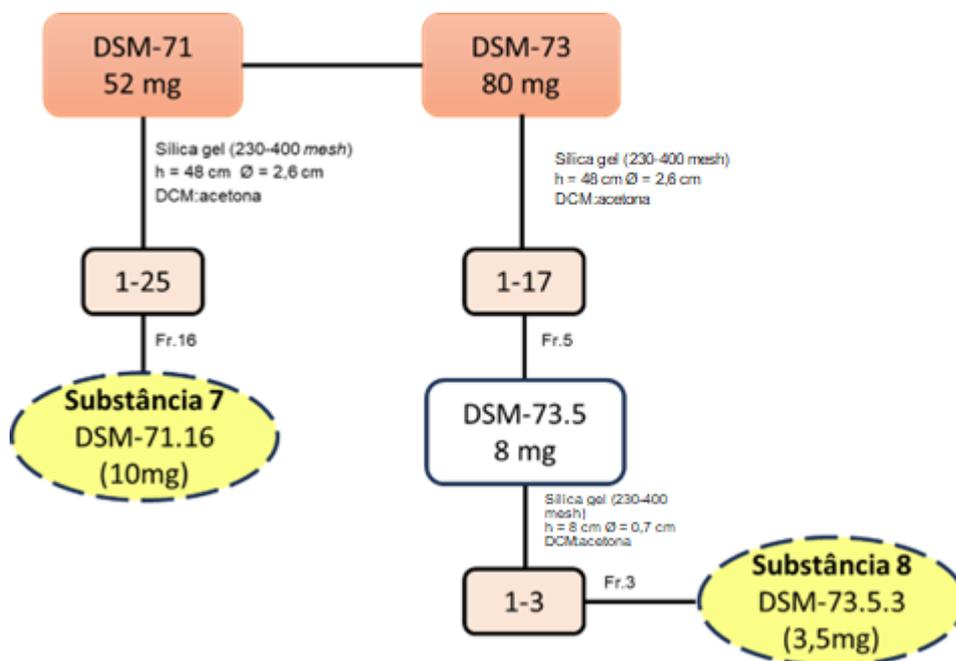
Esquema 7. Fracionamento da fração DSM-61.17.

Tabela 10. Reunião das frações obtidas da fração DSM-61.17.

Frações	Códigos	Massa (mg)
1	DSM-61.17. P1	1,8
2	DSM-61.17. P2	5,5
3	DSM-61.17. P3	1,4
4	DSM-61.17. P4	11,9
5	DSM-61.17. P5	2,2

O fracionamento da fração DSM-71 (52 mg) optou-se por coluna de sílica gel (230-400 *mesh*) com eluição isocrática em DCM:acetona (98:2), conforme o esquema 8, em resumo o procedimento cromatográfico resultou em 25 subfrações (tabela 11), as quais foram analisadas em CCD de fase normal e constatou-se um isolado na subfração 16 (substância 7).

No último fracionamento do extrato metanólico, a fração DSM-73 (80 mg) foi submetida em coluna de sílica gel (230-400 *mesh*) com eluição isocrática em DCM:acetona (98:2), resultando em 17 subfrações, estas foram reunidas de acordo com análises em CCD de fase normal (Tabela 12). A fração 5 (DSM-73.5) foi refracionada em uma pipeta com sílica com a mesma fase estacionária resultando, em 3 subfrações, sendo que a subfração DSM-73.5.3 resultou na substância 8 (esquema 8, tabela 13).



Esquema 8. Fracionamento da fração DSM-71, DSM-73 e DSM-73.5.

Tabela 11. Reunião das frações obtidas

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1-4	DSM-71.1.	4,0
4-5	DSM-71.4	6,0
6-9	DSM-71.6-	3,1
10-15	DSM-61.10.6	6,5
16	DSM-71.16	10,0
17-18	DSM-71.17	2,5
19-21	DSM-71.19	2,8
22	DSM-71.22	3,7
23-24	DSM-71.23	3,5
25	DSM-71.25	5,5

Tabela 12. reunião das obtidas da fração DSM-73.5.

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1-2	DSM-73.1	6,0
3	DSM-73.3	4,5
4	DSM-73.4	7,8
5-8	DSM-73.5	8,8
9-12	DSM-73.9	15,0
13-17	DSM-73. 13	17,6,

Tabela 13. Reunião das frções obtidas da fraçãoDSM-73.8

Frações	Código	Massa (mg)
1	DSM-73.5.1	1,5
2	DSM-73.5.2	2,0
3	DSM-5.3	3,5

5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.1 Ensaio inseticida

O experimento inseticida com *Bemisia tabaci* (mosca branca) foi conduzido no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola (LEAA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

5.1.1 Criação estoque de *Bemisia tabaci*

A criação estoque do inseto foi realizada na casa de vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da UFAM, por processo de infestação induzida, na qual plantas saudáveis de couve-de-folhas foram infestadas por mudas contendo o inseto adulto de *Bemisia tabaci*. Vale ressaltar que, as plantas couve-de-folha foram preparadas em tubete de 4 cm de diâmetro (55 cm³) com substrato comercial da marca Trosprato HT Hortaliças® e mantidos em uma gaiola revestida com microtela (0,8 × 0,8 × 1,5 m) para impedir o ataque de outros predadores. A seleção das mudas para o teste de mortalidades após 7 dias seguiu o critério de maior infestação das folhas, com ninfas marcadas em um círculo de 3 cm de diâmetros entre os estágios de ninfas II e III.

5.1.2 Teste de mortalidade

A substância **3** foi selecionada para avaliação da atividade inseticida devido ao alto rendimento encontrado na espécie *D. spruceana*. Na aplicação de forma homogênea de 1 mg/mL de substância/folha foi utilizada uma torre de Potter Berkard scientific® calibrada a 5 lbf/pol². Ressalta-se que a aplicação foi realizada em sextuplicata, sendo que cada folha de couve foi equivalente a uma repetição. A substância **3** (6 mg) foi dissolvida em 6 mL de acetona e o controle positivo aplicado foi o produto comercial Evidence WG700®. Após pulverização da substância, a unidade experimental foi realocada para a casa de vegetação (FCA) em condição de semi-campo. A avaliação de mortalidade causada pela substância **3** após 7 dias

baseou-se na quantidade de ninfas mortas. Nas análises estatísticas, os percentuais de mortalidade foram transformados em $\text{rcsen}[\{(x+0.5)/100\}^{0.5}]$, submetidos ao programa a ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Rendimentos dos extratos

Os rendimentos do extrato hexano e metanólico dos resíduos madeireiros de *D.albergia spruceana* são descritos na tabela 14.

Tabela 14. Rendimento dos extratos obtidos após a maceração.

Espécie	Massa do resíduo (g)	Massa dos Extratos		Rendimentos (%)
		Código	Massa (g)	
<i>D. spruceana</i>	1.117	DSH	0,62	0,05
		DSM	19,00	3,67

Os estudos fitoquímicos iniciais com o extrato hexânico resultaram na predominância de material graxo na fração DSH-2 com 282,3 mg. Na confirmação estrutural, 19 mg desse material foi submetido ao experimento de RMN de ^1H e as informações espectrais corroboraram para a substância ácido lignocérico (figura 6) com base em dados de Rappoport (2000).

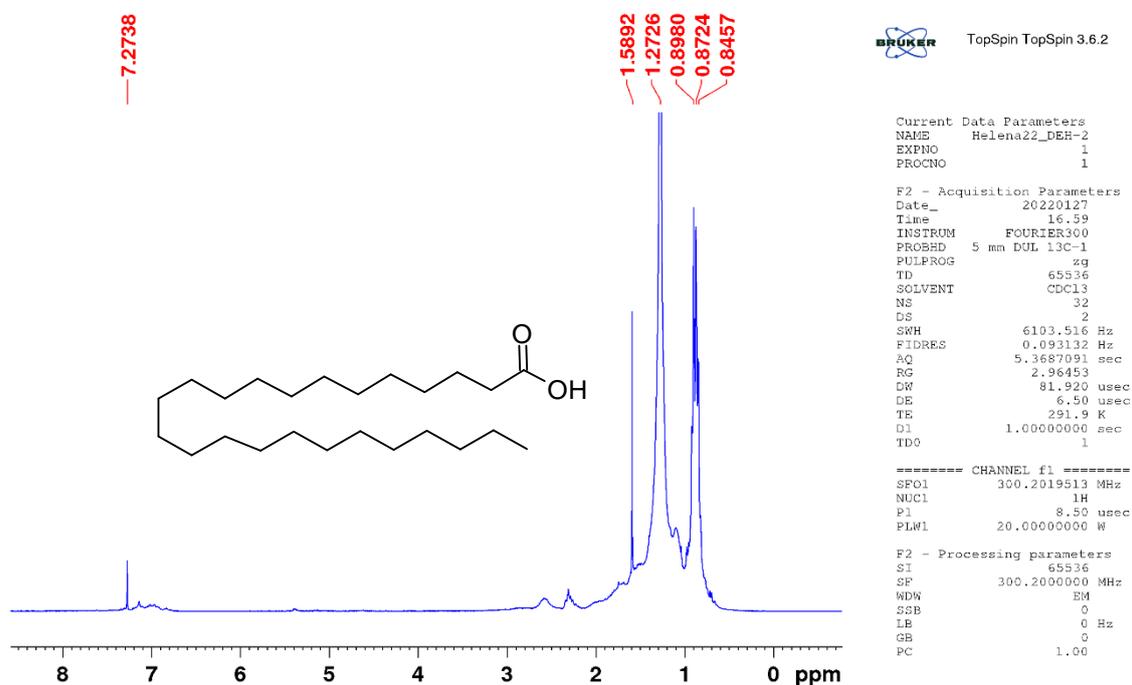


Figura 6. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do ácido lignocérico.

6.2 Determinação das substâncias 1 e 2

As substâncias **1** e **2** foram analisadas em CCD (Figura 6) e comparadas com o padrão de β -sitosterol, onde observou-se características idênticas, tais como mancha roxa e $R_f = 0,4$, quando revelada em vanilina sulfúrica. A determinação estrutural dos esteroides foi confirmada pelo experimento de RMN de ^1H .



Figura 7. Placa de CCD da substância 1 e 2.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 8) confirmou a presença do β -sitosterol e do estigmasterol em menor proporção, devido as observações de sinais característicos dos esteroides. A exemplo, o duplete da dupla olefínica em δ 5,37 (H-6) e um multiplete referente ao hidrogênio oximetínico em δ 3,53 (H-3), comum as duas substâncias **1** e **2**. O estigmasterol foi confirmado pela presença do duplo duplete do H-22 e H-23 ressoando em δ 5,06 ($J = 15,1$ e $8,5$ Hz) e δ 5,20 ($J = 15,0$ e $8,4$ Hz), respectivamente. As metilas foram observadas na região entre δ 0,68-1,03, como mostra a tabela 12.

Os dados estão em conformidades com os modelos apresentados por Chaturvedula e Prakash (2012) e confirmam que **1** e **2** são referentes ao β -sitosterol e estigmasterol, respectivamente (Figura 7). Estes são bastantes comum no reino vegetal, inclusive já foram identificados em *D. spruceana* por Cook (1978).

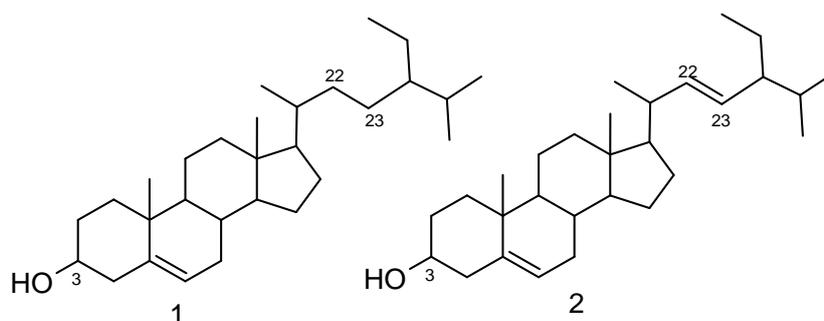
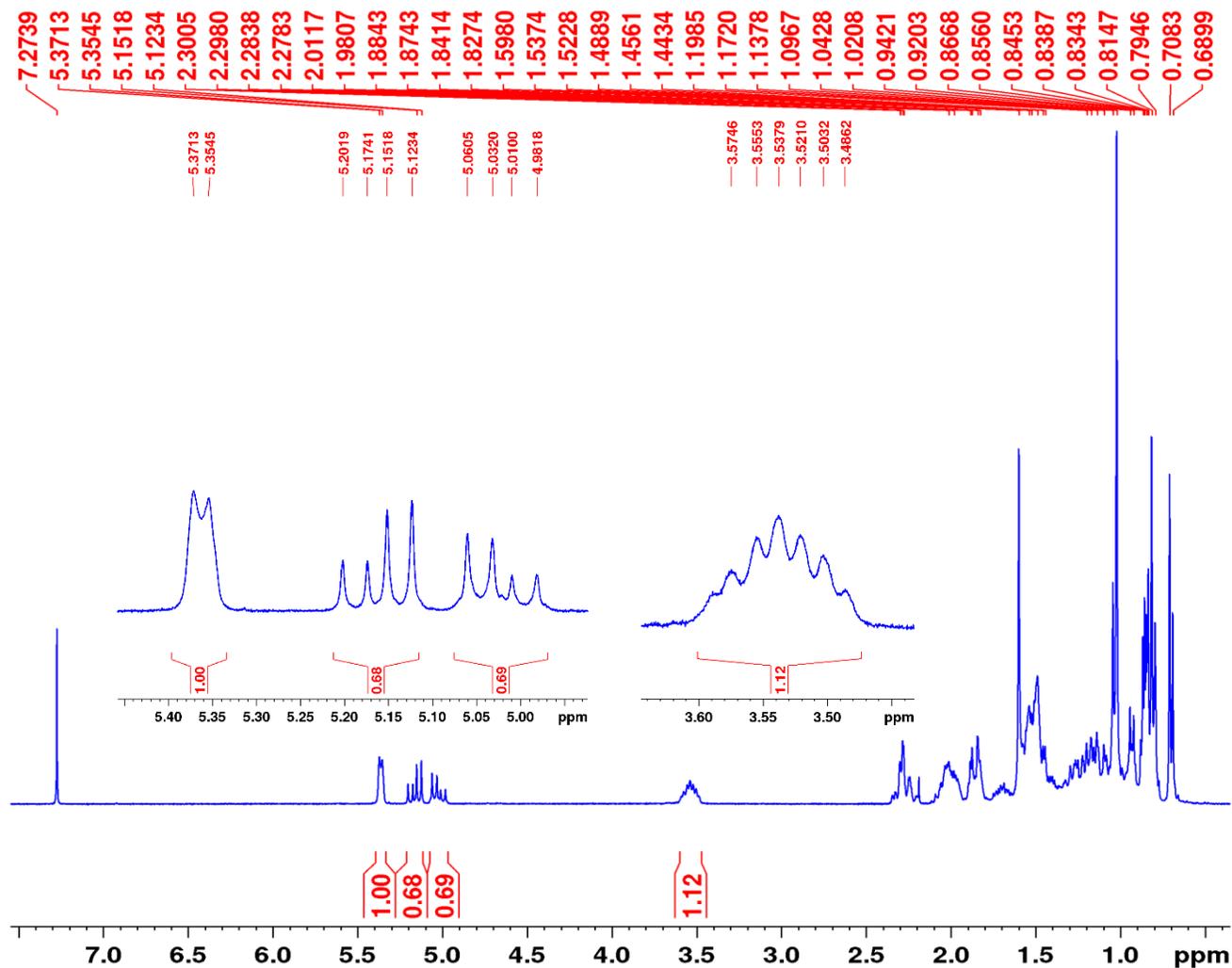


Figura 8. Estrutura das substâncias β -sitosterol (1) e estigmasterol.



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME Helena22_DHE-8.5a
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20220308
 Time_ 14.14
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 32
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.093132 Hz
 AQ 5.3687091 sec
 RG 16.0209
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 980.8 K
 D1 1.0000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.2019513 MHz
 NUC1 1H
 P1 8.50 usec
 PLW1 20.0000000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.2000000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 9. Expansão 7,0-1,0 ppm de espectro de RMN ^1H de 1 e 2 (300 MHz,)

Tabela 15. Dados de RMN ¹H mistura das misturas 1 e 2 (CDCl₃).

N	RMN ¹ H	RMN ¹ H
	δ (ppm); multi; J (Hz)	δ (ppm); multi; J (Hz)
	Substância 1	Substância 2
3	3,53 <i>m</i>	3,53 <i>m</i>
6	5,37 <i>dl</i> (5,0)	5,37 <i>dl</i> (5,0)
22	---	5,06 <i>dd</i> (15,1; 8,43)
23	----	5,20 <i>dd</i> (15,03; 8,5)
Me-18	1,04 <i>s</i>	1,04 <i>s</i>
Me-19	0.70 <i>s</i>	0,68 <i>s</i>
Me-21	0,94 <i>d</i> (6,54)	0,94 <i>d</i> (6,54)
Me-26	0,83 <i>d</i> (6,5)	0,83 <i>d</i> (6,5)
Me-27	0,84 <i>d</i> (6,54)	0,84 <i>d</i> (6,54)
Me-29	0,81 <i>t</i> (6,6)	0,81 <i>t</i> (6,6)

6.3 Determinação da substância 3

O isolado na fração (DSH-16.P1; 5,5 mg) apresentou-se como sólido branco cristalino. Em placa de CCD de fase normal, usando um sistema de eluição com DCM:Acetona (98:2) mostrou absorção no UV em 254 nm e mancha rosa quando revelada em vanilina sulfúrica (Figura 9).

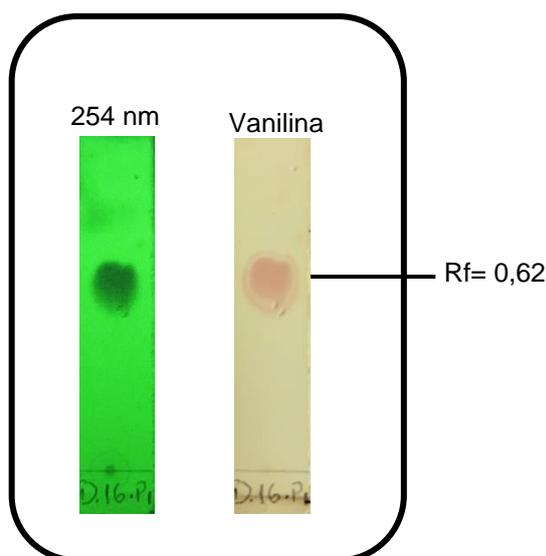


Figura 10. Placa de CCD da substância 3 (DSH-16. P1).

No espectro de RMN de ^1H (figura 11, tabela 16) da substância **3** foram evidenciados cinco sinais de hidrogênios aromáticos. Para o anel A, um dubleto em *orto* na região de δ 7,31 (H-5), um duplo dubleto *orto/meta* em 6,57 (H-6) e um dubleto em *meta* em 6,36 (H-8). Para o anel D, dois singletos em δ 6,90 (H-2') e 6,40 (H-5'). No anel B, dois sinais de hidrogênios metínicos foram vistos em δ 5,50 (H-4) e 3,57 (H-3) e dois metilênicos em δ (4,29/3,65) (H-2a / H-2b).) (VELOSO,2012). O anel aromático A trissubstituído revelou a presença de um sistema ABX, verificando-se hidrogenio de um dubleto em δ 7,31 (d, J 8,37 Hertz, H-5), acoplado em *orto* com o de um duplo dubleto em δ 6,57 (dd, J 8,4 e 2,4 Hertz, H-6), o qual também acopla, em *meta*, com um hidrogenio em δ 6,36 (d, J 2,4 Hertz, H-8). Dois simpletos em δ 6,90 (H-2') e δ 6,40 (H-5'), foram atribuídos ao anel D, enquanto dois dubletos em δ 5,93 e o sinal em δ 8,64, indicaram, respectivamente, um grupo metilenodioxi e

um hidrogênio hidroxílico.

O espectro de ^{13}C (figura 12, tabela 16) associado ao experimento de DEPT 135 (figura 13) mostram sinais de doze carbonos aromáticos (δ 93,0-158,8), dois metínicos em δ 78,4 (C-4) e 40,1 (C-3) e metilênico em δ 66,0 (C-2), além do metilenodioxí em δ 101,2 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{O}$). Todas as correlações diretas 1J (C-H) foram atribuídas pela correlação de HSQC (figura 14)

No HMBC (figura 15) o sinal de hidrogênio em δ 5,50 d (H-4) mostrou correlações a longa distância com carbonos aromáticos em δ 156,7 (C-9), δ 132,1 (C-5), δ 111,8 (C-10) e com o carbono em δ 66,0 (C-2) pertencente ao anel B (figura 16). Esses sinais aromáticos foram definidos no anel A pela conectividade do hidrogênio em δ 6,36 (H-8) com os carbonos em δ 158,8 (C-7), δ 156,7 (C-9), δ 111,8 (C-10) e 109,5 (C-6) (figura 17). O grupo hidroxila foi posicionado em C-7 pelas correlações do sinal de hidrogênio em δ 8,64 com os carbonos aromáticos em δ 158,8 (C-7), δ 109,5 (C-6), 103,0 (C-8) como ilustrado na figura 18. No anel D, o sinal aromático de hidrogênio em 6,9 (H-2') fez correlações a 3J com o carbono 40,1 (C-3) do anel C que também se correlacionou com os carbonos aromáticos em 154,4 (C-6'), 147,9 (C-4'), 141,5 (C-3'). Um grupo metileno dióxido foi posicionado no anel D, em função das correlações a 3J dos hidrogênios 5,93 d (H-4') com os carbonos aromáticos 147,9 (C-4') e 141,5 (C-3'), todas as atribuições do sistema aromático D e dos grupos substituintes são mostradas na figura 19.

A presença do anel C foi confirmada com auxílio do espectro de ESI/EM de alta resolução (modo negativo de ionização, figura 20) que apresentou um pico em m/z 283,06 [M-1] consistente com a fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$,

Portanto, as análises de RMN e EM abordados acima e com a literatura (JUNG, 2005; SWAPAN, 1995) permitiram identificar a substância 3 como maackiaina (figura 10). Essa substância pertence a classe dos isoflavonoides e está inserida na subclasse dos pterocarpanos. Ela já teve relato em *Dalbergia sprucena* *D. odorífera* (COOK, 1978; GODA, 1985). Nas investigações biológicas, as mais comuns são referentes a ensaios citotóxicos (SONGSIANG et al., 2011).

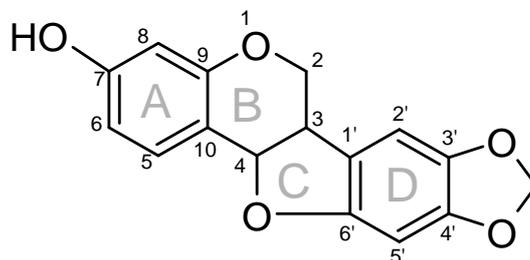
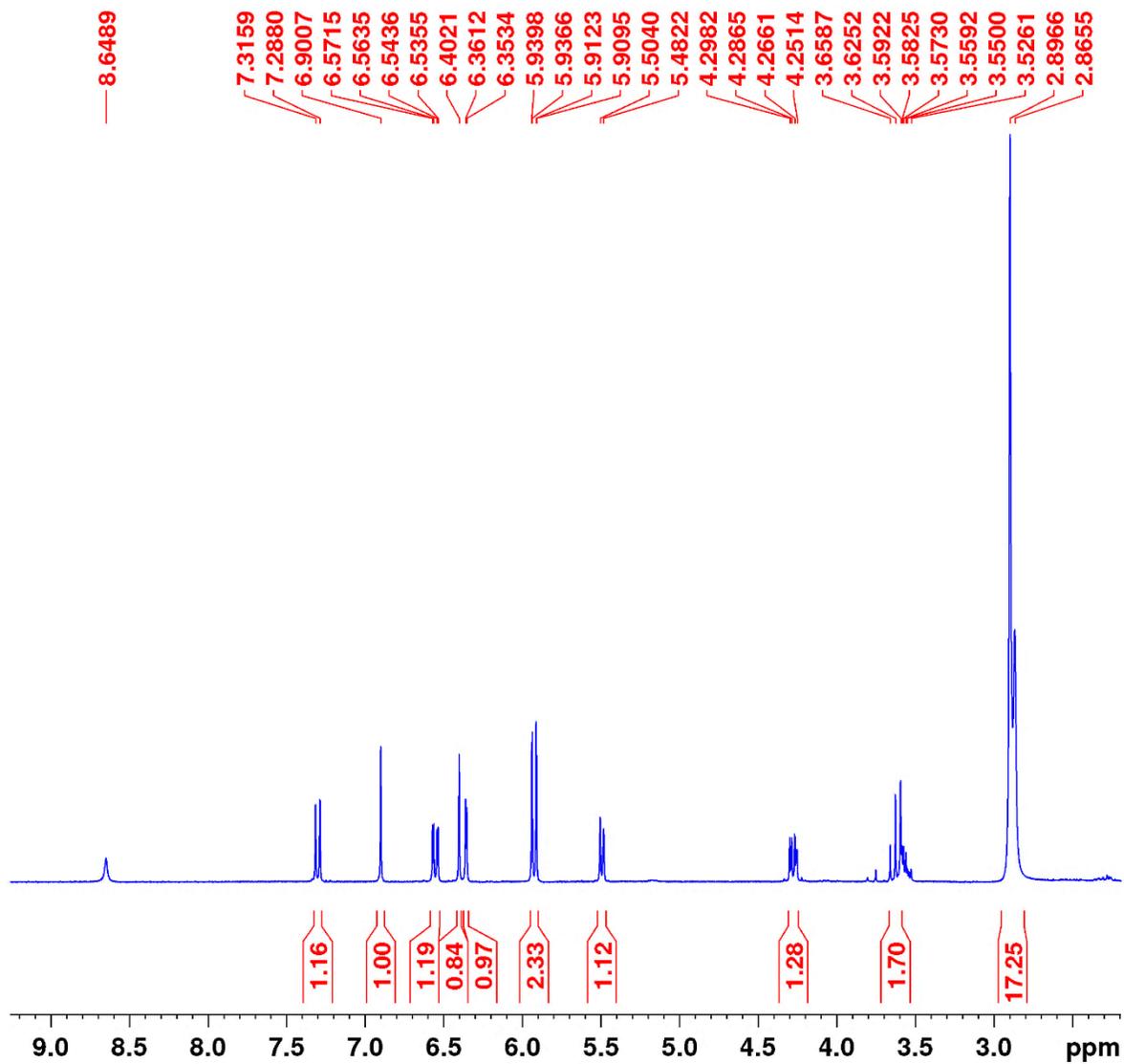


Figura 11. Estrutura da substância 3 maackiaina.

Tabela 16. Dados de RMN ^1H e ^{13}C da substância 3 em (acetona- D_6).

Substância 3				Literatura (JUNG, 2005)	
N	RMN ^1H	RMN ^{13}C	HMBC	RMN ^1H	RMN ^{13}C
	δ multi; J (Hz)	δ (ppm)		δ multi; J (Hz)	δ (ppm)
1	----	----	----	----	----
2	4,29 <i>dd</i> (10,53 e 3,96) 3,65 <i>t</i> (9,97)	66,07	C-3, C-4, C-1', C-9	4.10 <i>dd</i> (10.5, 4.3) 3.44 <i>t</i> (10.4)	66,4
3	3,57 <i>m</i>	40,12	C-2, C-1', C-6', C-9	3.34 <i>ddd</i> (11.0, 6.8 e 4.3)	40,1
4	5,50 <i>d</i> (6,54)	78,47	C-2, C-10, C-5, C-9	5.32 <i>d</i> (6.7)	78,5
5	7,31 <i>d</i> (8,37)	132,12	C-4, C-9, C-7	7.14 <i>d</i> (8.4)	132,1
6	6,57 <i>dd</i> (8,37 e 2,40)	109,58	C-8, C10	6.37 <i>dd</i> (8.4 e 2,4)	109,8
7		158,82			157,1
8	6,36 <i>d</i> (2,34)	103,00	C-6, C-10, C-9, C-7	6.19 <i>d</i> (2.3)	103,6
9		156,78			156,6
10		111,88			112,5
1'		118,61			117,9
2'	6,90 <i>s</i>	105,04	C-3, C-3', C-4', C-6'	6.68 <i>s</i>	104,7
3'		141,55			141,7
4'		147,99			148,1
5'	6,40 <i>s</i>	93,07	C-1', C-3', C-6'	6.26 <i>s</i>	93,8
6'		154,40			154,2
(3',4') - OCH ₂ O	5,93 <i>d</i> (8,19)	101,20	C-3', C-4'	5.76 <i>d</i> (1.0)	101,3
	5,93 <i>d</i> (8,19)			5.74 <i>d</i> (1.0)	
7-OH	8,64 <i>s</i>		C-6, C-7, C-8		



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters

NAME Helena22_DHE-16P1
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20220505
 Time_ 11.24
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 TD 65536
 SOLVENT Acetone
 NS 32
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.093132 Hz
 AQ 5.3687091 sec
 RG 26.5974
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 996.4 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

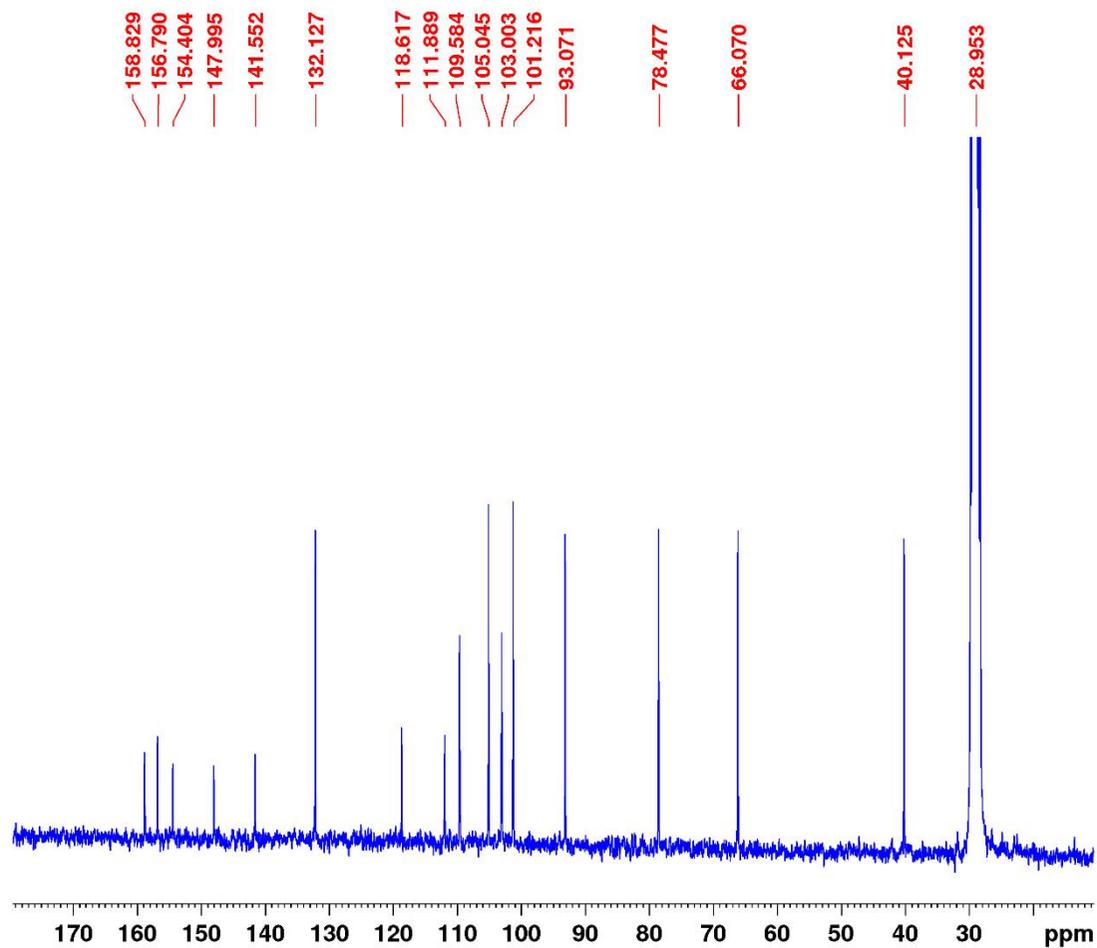
===== CHANNEL f1 =====

SFO1 300.2019513 MHz
 NUC1 1H
 P1 8.50 usec
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters

SI 65536
 SF 300.2000000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 12. Espectro de RMN ^1H de 3 (300 MHz, Acetona).



BRUKER TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
NAME Helena22_DHE-16P1
EXPNO 2
PROCNO 1

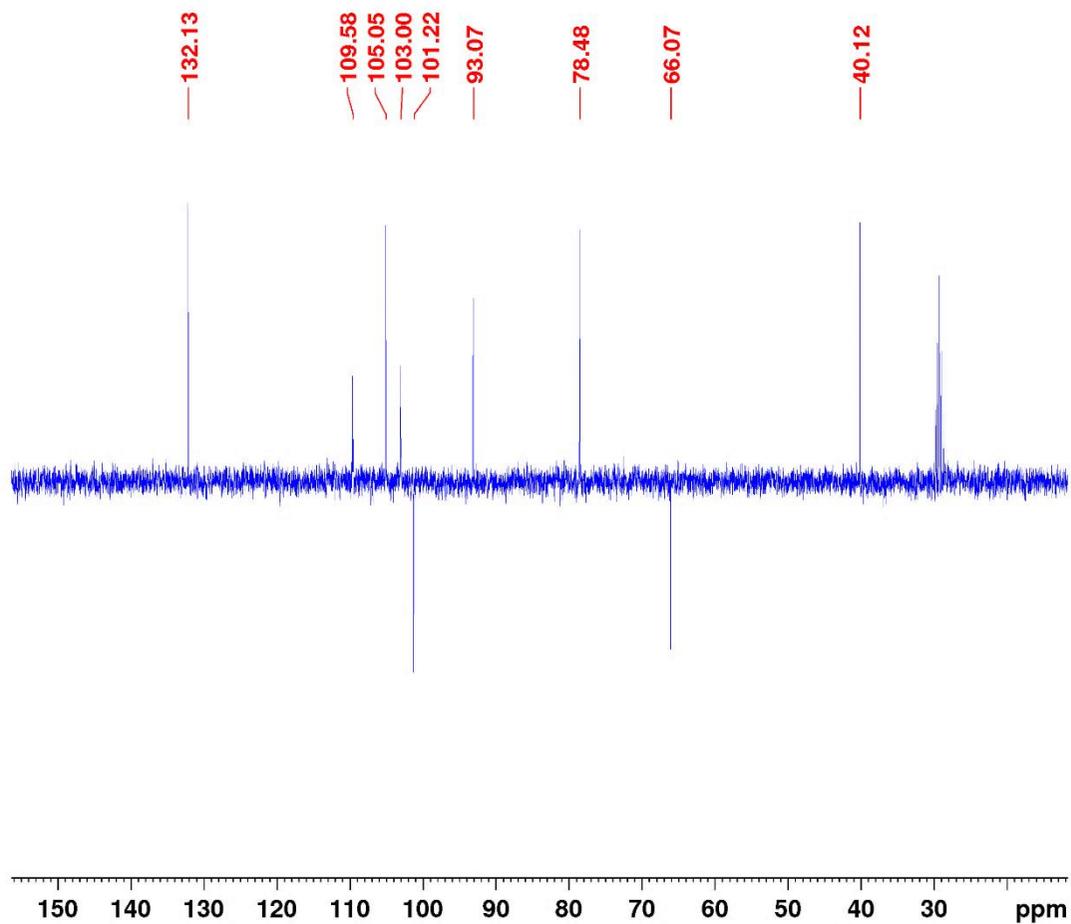
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220515
Time 13.19
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT Acetone
NS 107520
DS 0
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 10.00 usec
TE 297.5 K
D1 0.1000000 sec
D11 0.0300000 sec
D31 0.0000075 sec
D40 0.03084430 sec
L4 20
L5 2
P32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 13C
P1 8.75 usec
PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 1H
CPDPRG[2] waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 20.00000000 W
PLW12 0.17839999 W
PLW13 0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4853500 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C da substância 3 (75 MHz, Acetona).



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME Helena22_DHE-16P1
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20220511
 Time 10.17
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT Acetone
 NS 6144
 DS 0
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 10.00 usec
 TE 1023.6 K
 CNST2 145.0000000
 D1 1.00000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D14 0.00001114 sec
 D33 0.00000850 sec
 D34 0.00344003 sec
 D35 0.00345303 sec
 L4 40
 P32 90.00 usec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4928978 MHz
 NUC1 13C
 P1 8.75 usec
 P2 17.50 usec
 PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.2012008 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 P3 8.50 usec
 P4 17.00 usec
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 20.0000000 W
 PLW12 0.17839999 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4853500 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 14. Espectro de RMN DEPT de 3 (75 MHz, Acetona).

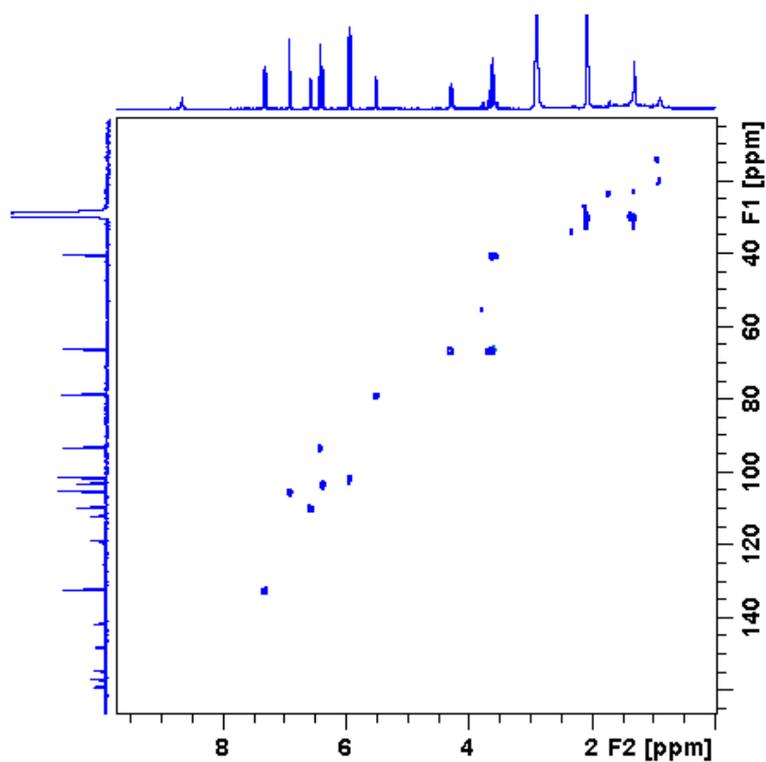


Figura 15. Mapa de correlação HSQC de 3 (300/75 MHz, acetona)

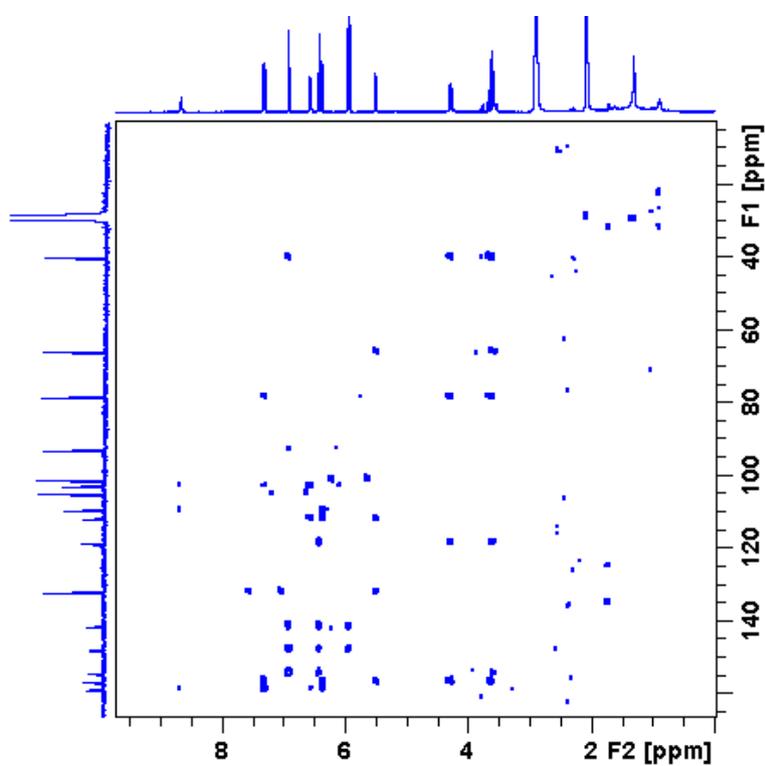


Figura 16. Mapa de correlação HMBC de 3 (300/75 MHz, acetona).

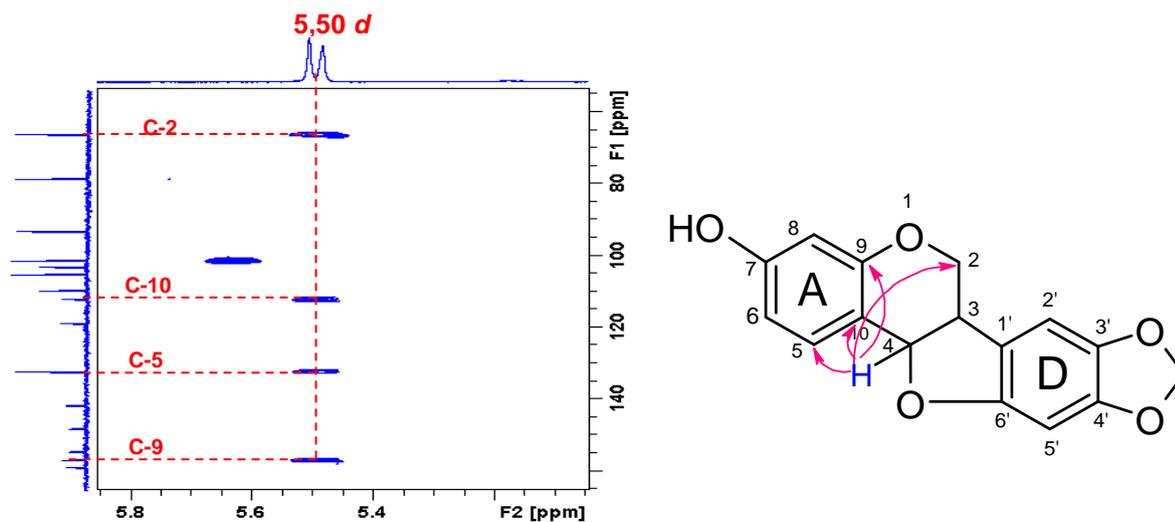


Figura 17. Expansão do HMBC na região δ_H 5,8-5,1 e δ_C 160- 60 de 3.

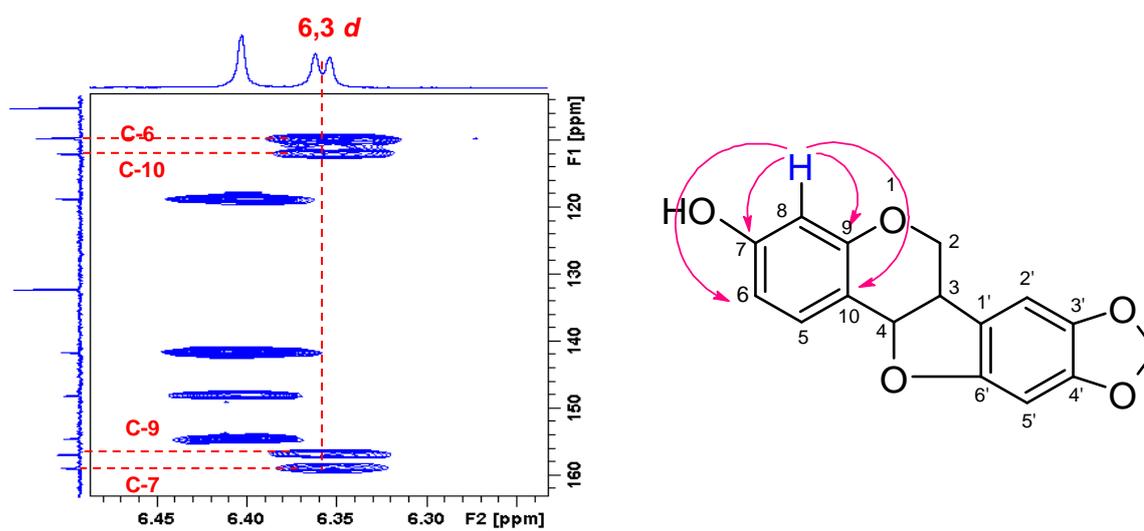


Figura 18. Expansão do HMBC na região δ_H 6,4-6,3 δ_C 160- de 3.

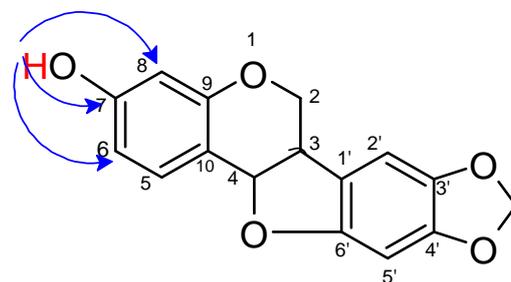
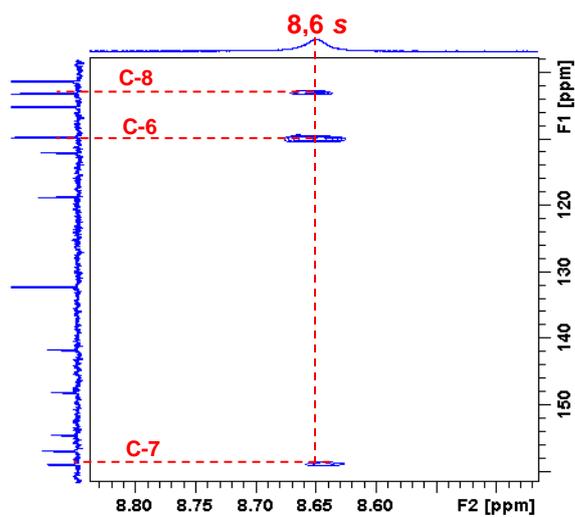


Figura 19. Expansão do HMBC na região δ_H 8,8-8,7 e δ_C 160-100 de 3.

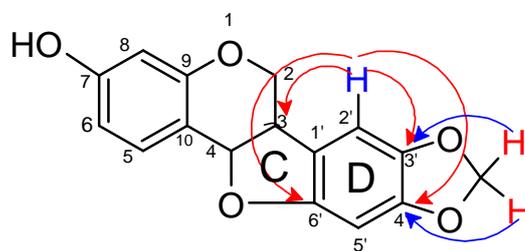
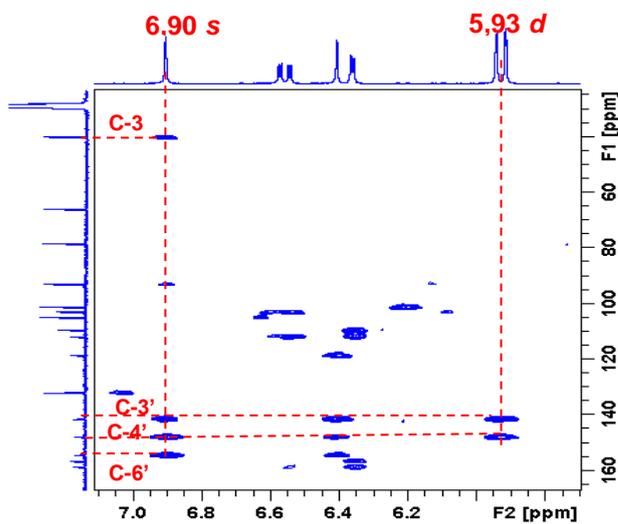
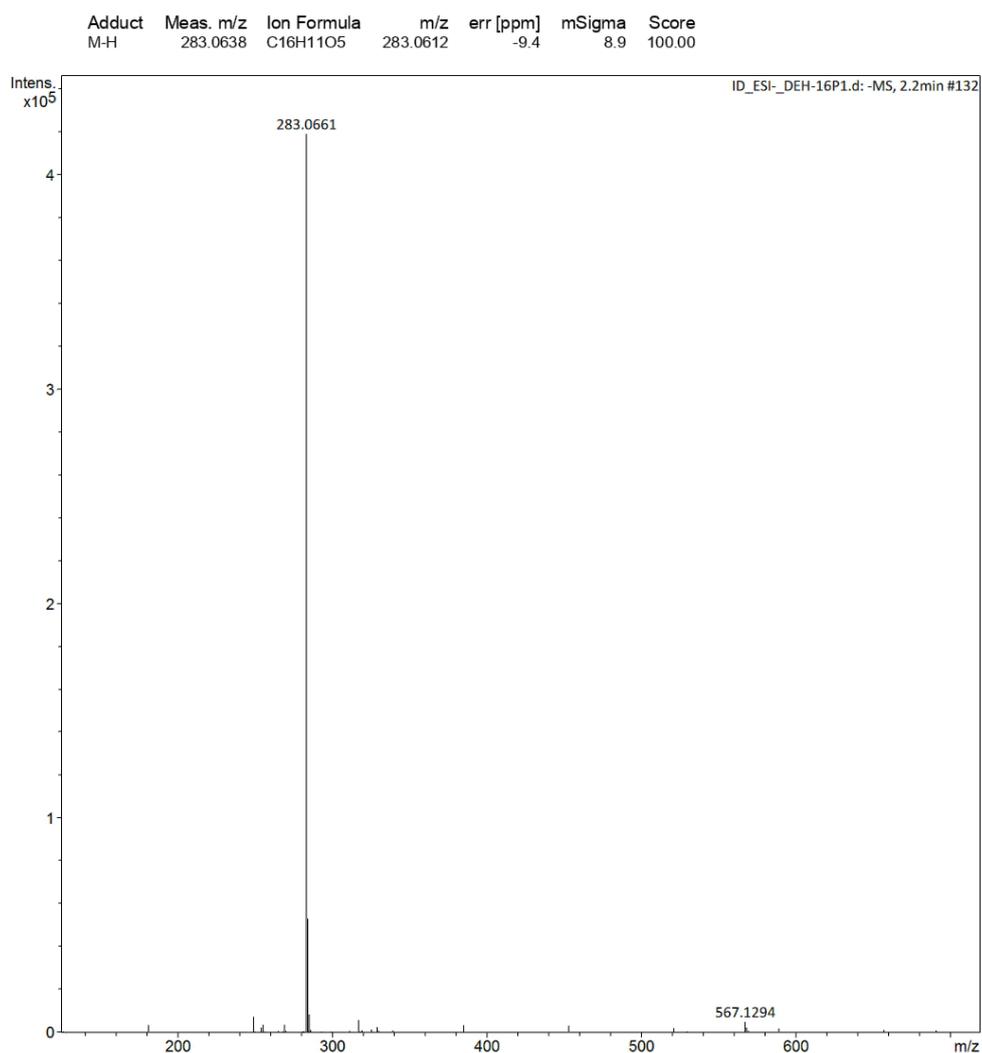


Figura 20. Expansão do HMBC na região δ_H 7,0-6,8 e δ_C 160-70 de 3.

Generic Display Report

Analysis Info Acquisition Date 6/14/2022 7:23:49 PM
Analysis Name D:\Data\Usuarios\2022\DaPaz\Alunos\Helena\MS\14-06-2022\ID_ESI-DEH-16P1.d
Method TuneLow_ESI-_NaFo_50-900_10mM_Padrão.m Operator BDAL@DE
Sample Name ID_ESI-DEH-16P1 Instrument micrOTOF-Q
Comment Diluição = 20uL (1mg/mL - Acetonitrila) + 980 uL Acetonitrila



Bruker Compass DataAnalysis 4.2

printed: 6/14/2022 7:47:29 PM

by: BDAL@DE

Page 1 of 1

Figura 21. Espectro de massas de 3 DSH-16.P1 (ESI/EM, modo negativo)

6.4 Determinação da substância 4

A substância **4**, isolada na fração (DSM-46.P1, 10,0 mg) com aspecto de um sólido marrom. Em placa de CCD fase normal, usando um sistema de eluição com DCM (100%), mostrou absorção no UV em 254 nm e mancha marrom vanilina sulfúrica (figura 21).

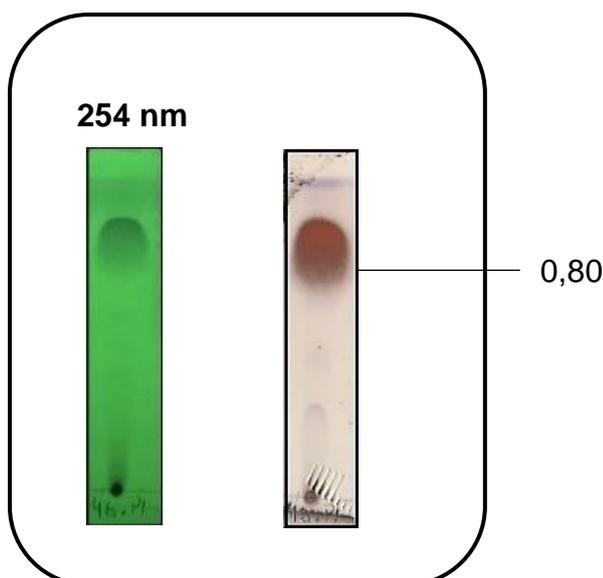


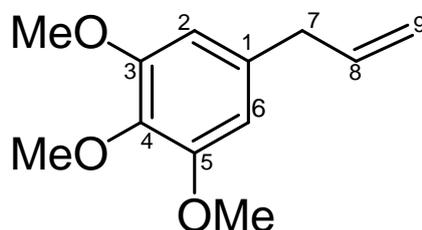
Figura 22. Placa CCD da substância 4 (DSM-46.P1).

O espectro de RMN de ^1H (figura 23 e tabela 17) da substância **4**, revelou sinais típicos de derivado fenilpropanóide. Foi observado um singleto largo em δ 6,43 (H-2 e H-6), integrando para dois hidrogênios que provavelmente seja a sobreposição de dois dubletos em meta. Estes sinais foram atribuídos ao sistema aromático que indicaram uma tetra substituição. Um grupo propileno foi visto em δ 3,36 (C-7), 5,97 (C-8) e 5,11 (C-9) atribuídos à cadeia lateral contendo um metileno terminal na substância. Nota-se também, os deslocamentos químicos de três grupos metoxílicos em δ 3,84 s e 3,87 s, sendo que o último apresentou sinal duplicado, integrando para 6 H.

Os sistemas aromáticos no espectro de ^{13}C (figura 24, tabela 17) são visualizados de δ 105,4-153,1. Os sinais do grupo propileno foram observados em δ 40,5 (C-7), δ 116,0 (C-9) e 137,2 (C-8), sendo que o C-7 e C-9 foram observado como metilênicos (CH_2) no experimento de DEPT-135 (figura 25). Todos as correlações diretas foram concretizadas pelo espectro de HSQC (figura 26).

No HMBC (figura 27) o sinal de hidrogênio duplicado em δ 6,43 (H-2 e H-6) acoplou com os carbonos aromáticos em δ 153,18 (C-3/C-5), 136,27 (C-4), 105,02 (C-2 e C-6) e com o deslocamento em δ 40,55 (C-7) do grupo propileno (figura 28). Estas correlações estabelecem conexões entre o anel aromático e o grupo propileno que também é sustentado pelo hidrogênio olefínico em δ 5,97 devido a correlação a 2J com os carbonos 40,5 (C-7) e a 3J com o aromático em δ 135,8 C-1 (figura 29). Três grupos metóxicos foram posicionados no anel aromático, pelas correlações dos hidrogênios δ 3,84 s (H-4) com o carbono δ 136,27 (C-4) e sinal em δ 3,87 s (H-3/H-5) correlacionando a 3J com os carbonos em δ 153,18 (C-3/C-5) (figura 30) visto que, o último apresentou sinal equivalente

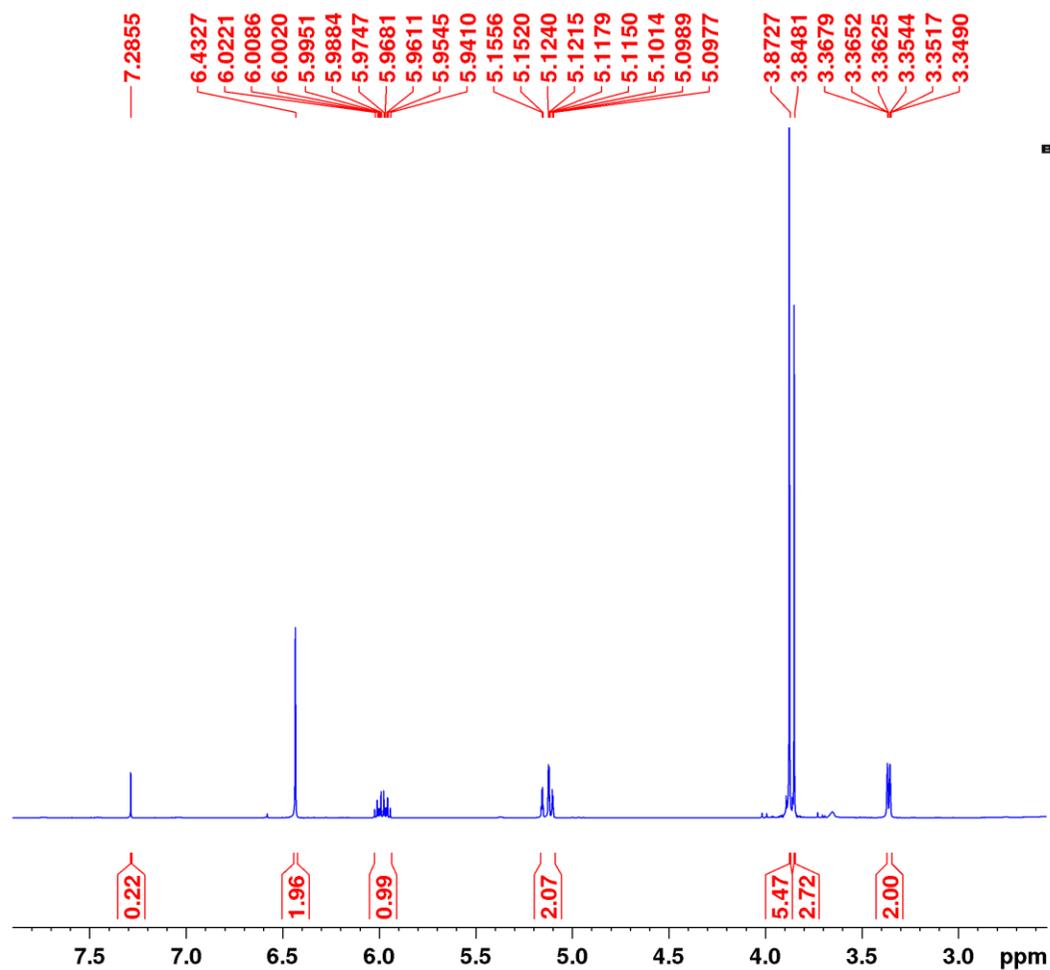
Com base nos dados de RMN uni e bidimensionais abordados acima e com a literatura (GARCEZ, 2009) constatou-se a identidade da substância **4** como elemicina (figura 22). Essa substância pertence a classe dos fenilpropanoides. A mesma já teve relato na espécie *Dalbergia sprucena* (COOK, 1978). As investigações biológicas da substância elemicina apresentaram atividade antifúngica (GARCEZ, 2009).



. **Figura 23.** Estrutura da substância 4.

Tabela 17. Dados de RMN da substância 4 em CDCl₃.

N	Composto (4)			Literatura (GARCEZ, 2009)	
	RMN ¹ H δ multi; J (Hz)	RMN ¹³ C δ (ppm)	HMBC	RMN ¹ H δ multi; J (Hz)	RMN ¹³ C δ (ppm)
1	----	135,8	----	----	136,0
2	6,43 s	105,4	C-3, C-4, C-6, C-7	6,42 s	105,6
3	----	153,1		---	153,0
4	-----	136,2		---	136,4
5	-----	153,1		---	153,0
6	6,43 s	105,4	C-2, C-4, C-5, C-7	6,42 s	105,6
7	3,36 <i>d</i> (6,7)	40,55		3,34 <i>d</i> (6,7)	40,8
8	5,97 <i>m</i>	137,2	C-1, C-7	5,97 <i>m</i>	137,2
9	5,11 <i>m</i>	116,0		5,10 <i>m</i>	116,0
OMe-3	3,87 s	56,0		3,86 s	56,0
OMe-4	3,84 s	60,8		3,83 s	60,8
OMe-5	3,87 s	56,0	C-3, C-3', C-4', C-6'	3,86 s	56,0



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME NMR-883-22_HELENA GARCIA
 EXPNO 1
 PROCNO 1

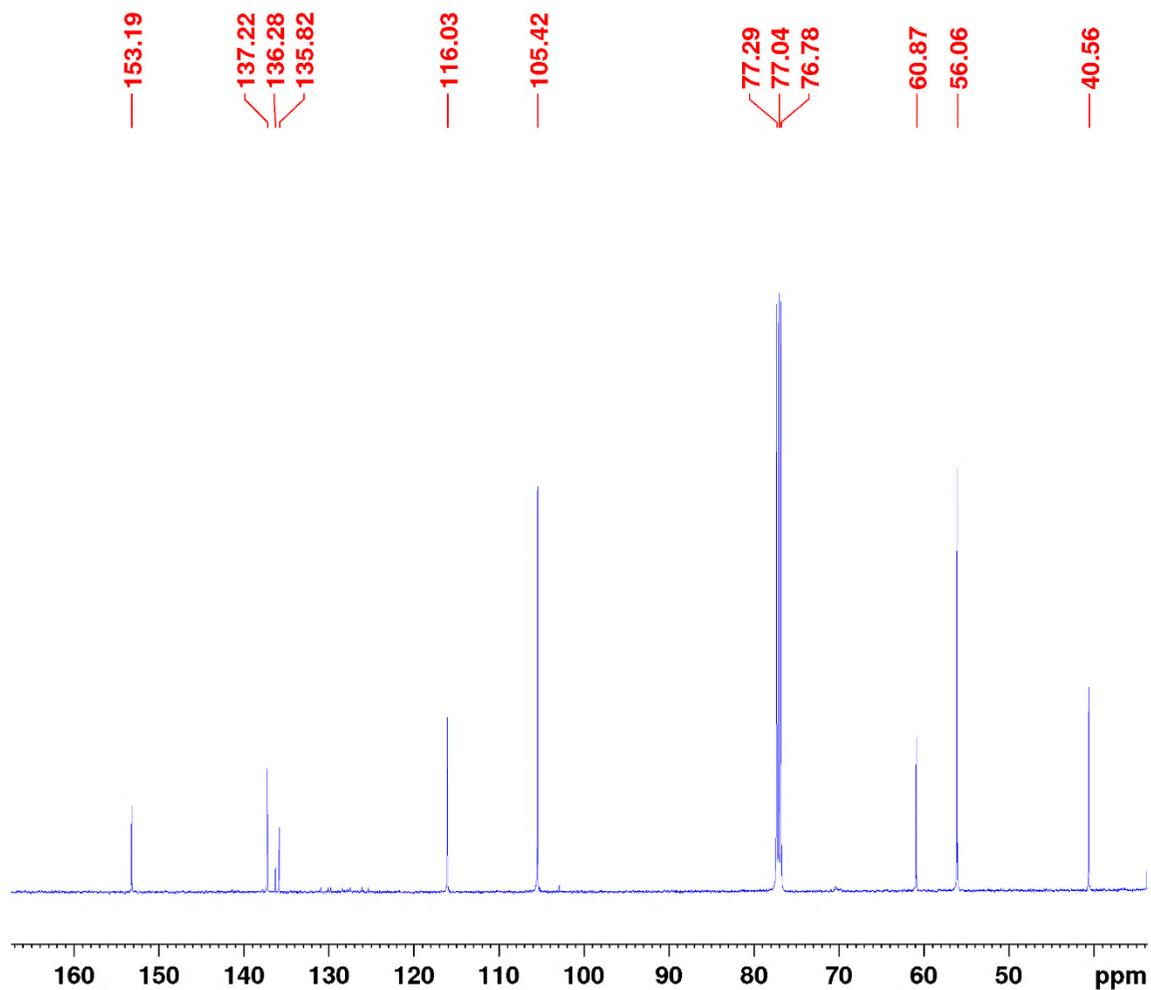
F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20220830
 Time 15.34 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 (
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 2
 SWH 10000.000 Hz
 FIDRES 0.305176 Hz
 AQ 3.2767999 sec
 RG 91.63
 DW 50.000 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.0 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1
 SFO1 500.1330883 MHz
 NUC1 1H
 P0 3.33 usec
 P1 10.00 usec
 PLW1 20.32299995 W

F2 - Processing parameters

SI 131072
 SF 500.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 24. Espectro de RMN ^1H de 4 (300 MHz, CDCl_3).



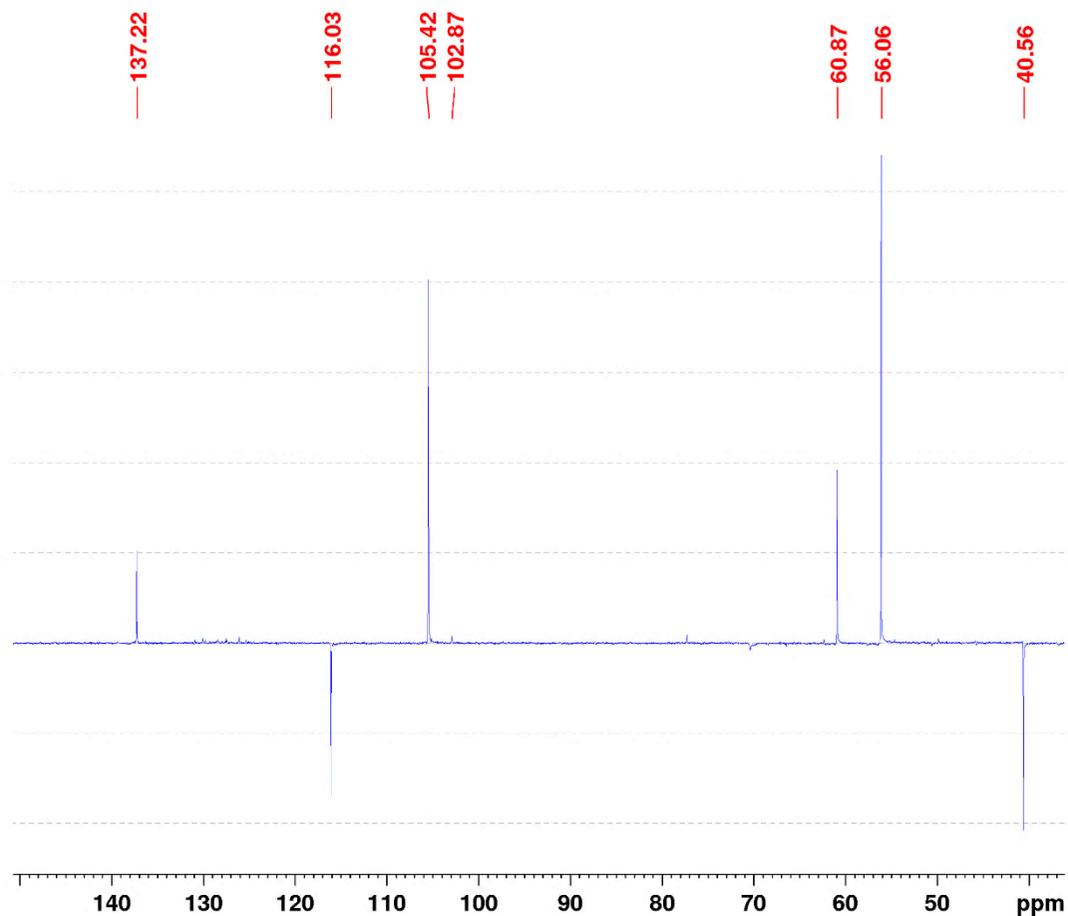
TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME NMR-883-22_HELENA GARCIA
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20220830
 Time 20.18 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 (
 PULPROG zgpg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 18432
 DS 4
 SWH 29761.904 Hz
 FIDRES 1.816522 Hz
 AQ 0.5505024 sec
 RG 187.25
 DW 16.800 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.0 K
 D1 0.20000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TD0 1
 SFO1 125.7716219 MHz
 NUC1 13C
 P0 3.33 usec
 P1 10.00 usec
 PLW1 76.11100006 W
 SFO2 500.1320005 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 PCPD2 80.00 usec
 PLW2 20.32299995 W
 PLW12 0.31755000 W
 PLW13 0.15972000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 125.7577885 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 3.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C de 4 (75 MHz, CDCl_3)



BRUKER TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME NMR-883-22_HELENA GARCIA
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date 20220831
 Time 2.13 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 (
 PULPROG deptsp135
 TD 32768
 SOLVENT CDCI3
 NS 8192
 DS 8
 SWH 29761.904 Hz
 FIDRES 1.816522 Hz
 AQ 0.5505024 sec
 RG 137.25
 DW 16.800 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.0 K
 CNST2 145.0000000
 D1 2.00000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D12 0.00002000 sec
 TD0 1
 SFO1 125.7716219 MHz
 NUC1 13C
 P1 10.00 usec
 P13 2000.00 usec
 PLW0 0 W
 PLW1 76.11100006 W
 SPNAM[5] Crp60comp.4
 SPOAL5 0.500
 SPOFFS5 0 Hz
 SPW5 11.62899971 W
 SFO2 500.1320005 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 P3 10.00 usec
 P4 20.00 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PLW2 20.32299995 W
 PLW12 0.31755000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 125.7577885 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 3.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 26. Espectro de DEPT de 4 (75 MHz, CDCl_3).

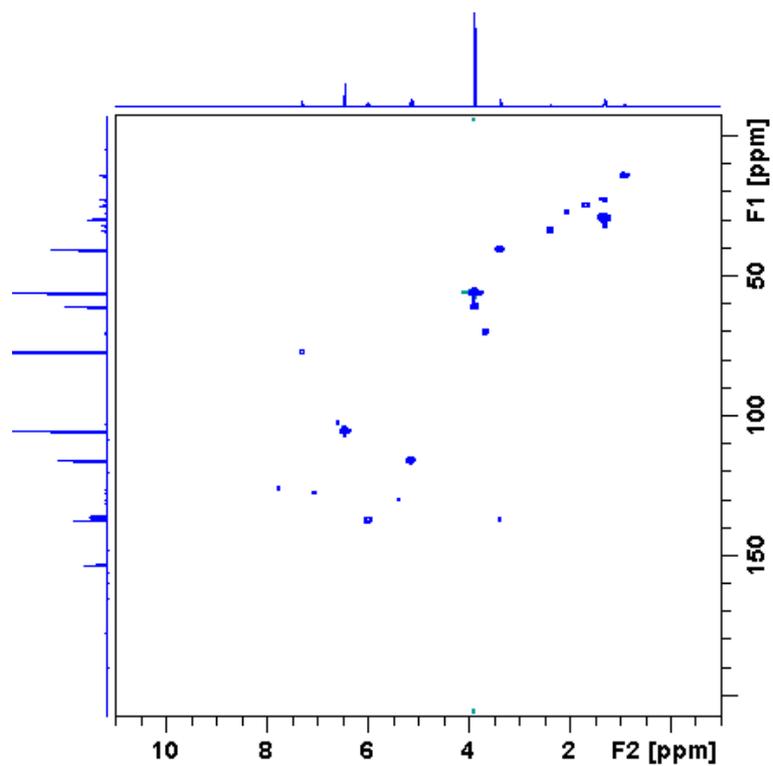


Figura 27. Mapa de correlação HSQC de 4 (300/75 MHz, CDCl₃)

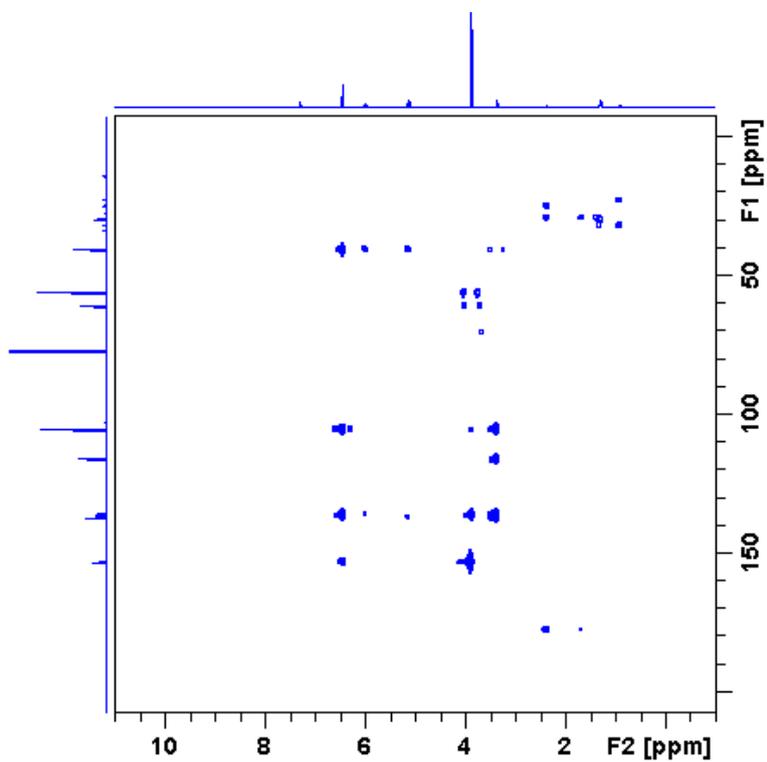


Figura 28. Mapa de correlação HMBC de 4 (300/75 MHz, CDCl₃)

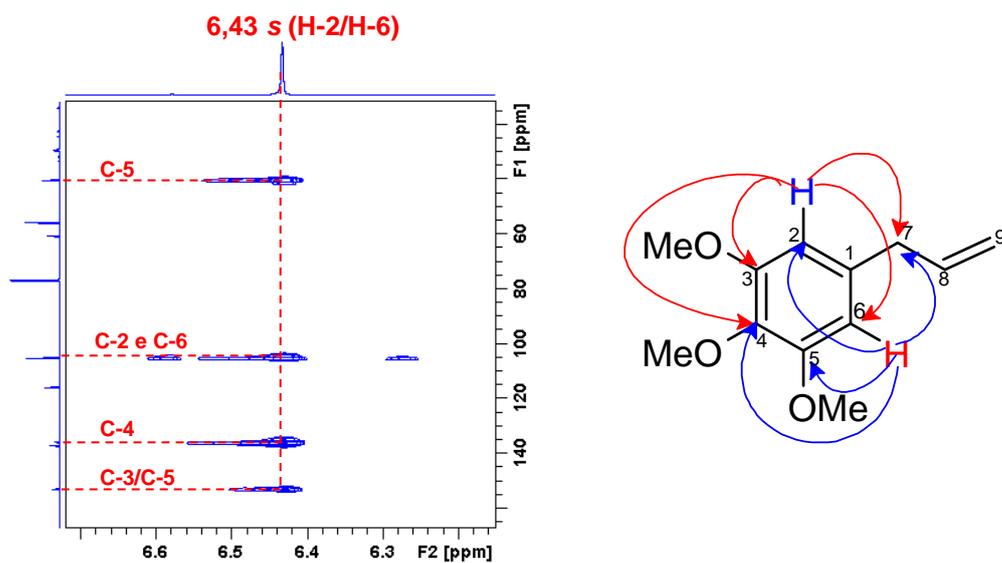


Figura 29. Expansão do HMBC na região δ_H 6,7-6,2 δ_C 150-40 de 4.

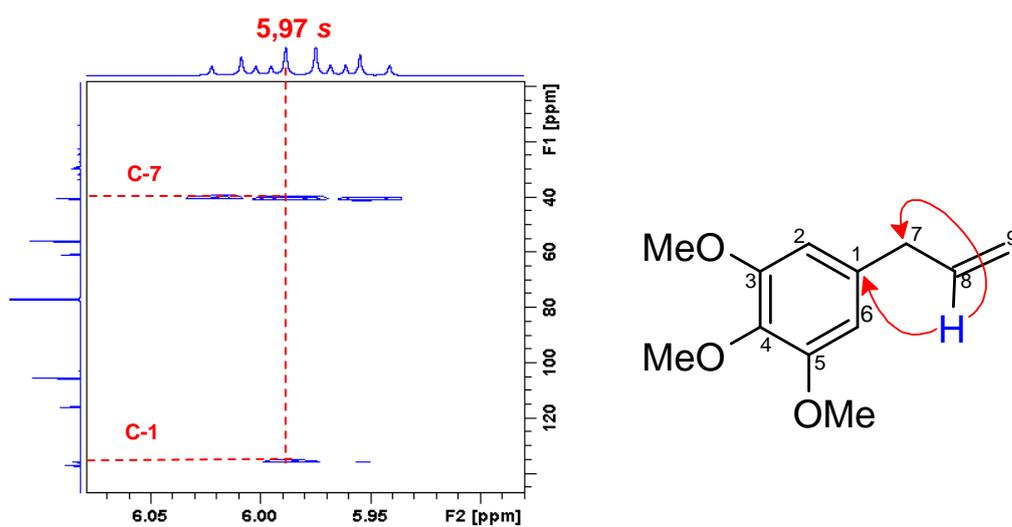


Figura 30. Expansão do HMBC na região δ_H 6,0-5,9 δ_C 130-20 de 4.

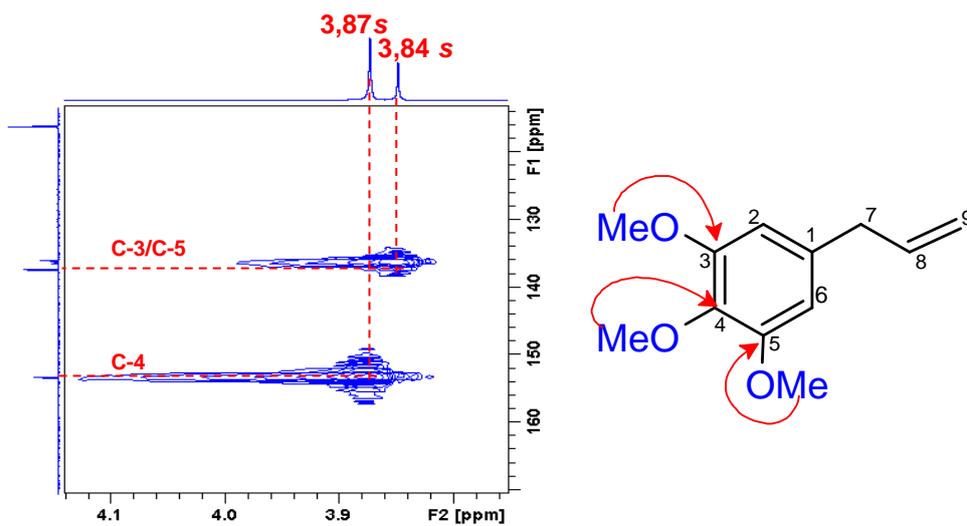


Figura 31. Expansão do HMBC, da região δ_H 4,1-3,8 δ_C 170-120 de 4.

6.5 Determinação da substância 5

A substância isolada na fração (DSH-61.17 P1, 3,5 mg) apresentou-se como um sólido branco cristalino. Em placa de CCD de fase normal usando um sistema de eluição DCM (100%) apresentou o Rf 0,74, absorção na luz UV em 254 nm e mancha roxa quando revelada em vanilina sulfúrica (figura 31).

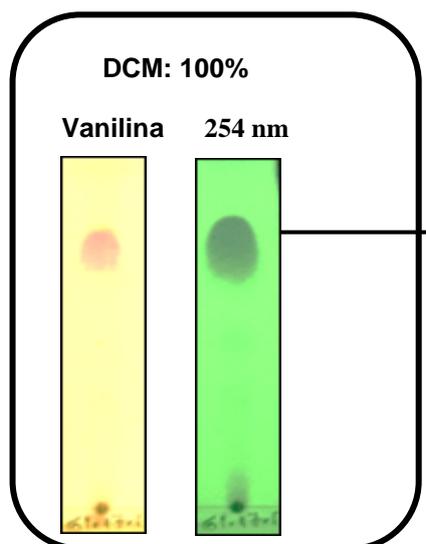


Figura 32. Placa CCD da substância 5 (DSM-61.17. P1).

Ao analisar os espectros de RMN da substância **5**, observa-se sinais de ^1H (Figura 33) e ^{13}C similares a substância 3 (Figura 9). A exemplo, temos a presença de dois sistemas aromáticos entre δ 7,06 – 6,44, um grupo hidroxílico em δ 5,51 (8-OH), dois sinais metínicos em δ 5,54 (H-4) e 3,57 (H-3) do anel B, além de dois metilênicos em δ 4,38/3,74 (H-2a / H-2b) e outro em δ 5,93/5,94 (OCH_2O).

No espectro de ^{13}C (figura 34, tabela 18) e DEPT-135 (figura 35) os sinais de carbonos aromáticos ressoaram entre (δ 121,0 – 93,8), enquanto, o metileno dióxido foi observado em δ 101,3. As diferenças estruturais foram observadas no anel A, devido as mudanças de acoplamentos no sistema aromático com a presença de dois hidrogênios do tipo orto em δ 6,69 d ($J = 8,6$ Hz) e 7,06 d ($J = 8,6$ Hz). Essas informações, juntamente com a presença de um sinal de hidrogênio em δ 3,90 fazendo correlação a 1J com o carbono 56,3 (7-OMe), no

mapa de HSQC (figura 36), firmou-se a existência do grupo metoxila nesta substância.

No HMBC (figura 37) o sinal de hidrogênio em δ 3,90 (7-OMe) confirmou o posicionamento da metoxila no anel A, pela conectividade com o carbono em δ 147,3 (C-7) como mostra a expansão (figura 38). O posicionamento da metoxila é reforçado na posição (C-7), pela correlação do hidrogênio 7,06 (H-5) a 3J com o carbono (C-9) e com (C-4) do anel C (figura 39).

O espectro de ESI/EM de alta resolução (modo negativo de ionização, figura 40) que apresentou o pico íon m/z 313,07 [M-1] consistente com a fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_6$, confirma a presença dos anéis B/C/D fundidos

As análises dos dados espectrais de RMN, EM e comparações com o modelo da literatura (JUNG, 2005) afirmam a identidade da substância **5** (figura 32) como 8-hidroxi-7-metoxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano. Essa substância já foi encontrada em três espécies do gênero *Dalbergia* (*D. spruceana*, *D. parviflora*, e *D. candenatensis*) em galhos e cernes (COOK, 1978; CHEENPRACHA, 2009; SONGSIANG, 2011). Há relato sobre sua atividade citotóxica contra as linhas celulares KB, MCF-7 e NCI-H187 de acordo com SONGSIANG *et al.*, (2011).

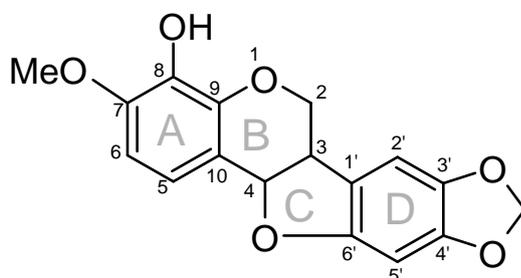


Figura 33. Estrutura da 8-hidroxi-7-metoxi-3',4'-metilenodioxipterocarpano.

Tabela 18. Dados de RMN da substância 5 (CDCl₃).

N°	Substância (5)			Literatura (JUNG, 2005)	
	RMN ¹ H	RMN ¹³ C	HMBC	RMN ¹ H	RMN ¹³ C
	δ multi; J (Hz)	δ (ppm)		δ multi; J (Hz)	δ (ppm)
1	----	----	----	----	----
	4,38 <i>dd</i> (10,8 e 4,9)	66,87	C-1', C-9, C-4	4.34 <i>dd</i> (10.9 e 5,0)	66.9
2	3,74 <i>t</i> (10,8)		C-3, C-4, C-1', C-9	3.70 <i>t</i> (10.9)	
3	3,57 <i>m</i>	40,26	C-2, C-1', C-6'	3.52 <i>m</i>	40.3
4	5,54 <i>d</i> (7,0)	78,38	C-2, C-10, C-5	5.52 <i>d</i> (6.9)	78.4
5	7,06 <i>d</i> (8,6)	121,02	C-4, C-9, C-7	7.04 <i>d</i> (8.6)	121.0
6	6,69 <i>d</i> (8,6)	105,34	C-8, C-10	6.67 <i>d</i> (8.6)	105.4
7		147,35			147.3
8		133,95			134.0
9		143,22			143.3
10		113,92			113.9
1'		117,69			117.7
2'	6,44 <i>s</i>	93,84	C-1', C-3', C-4', C-6'	6.73 <i>s</i>	93.8
3'		141,77			141.8
4'		148,15			148.2
5'	6,74 <i>s</i>	104,78	C-3', C-4', C-6'	6.44 <i>s</i>	104.8
6'		154,20			154.2
MeO	3,90 <i>s</i>	56,33		3.91 <i>s</i>	56.3
(3',4')-OCH ₂ O	5,94 <i>d</i> (8,8 Hz) 5,93 <i>d</i> (8,8 Hz)	101,32	C-3', C-4'	5.91 <i>d</i> (12.9)	101.3

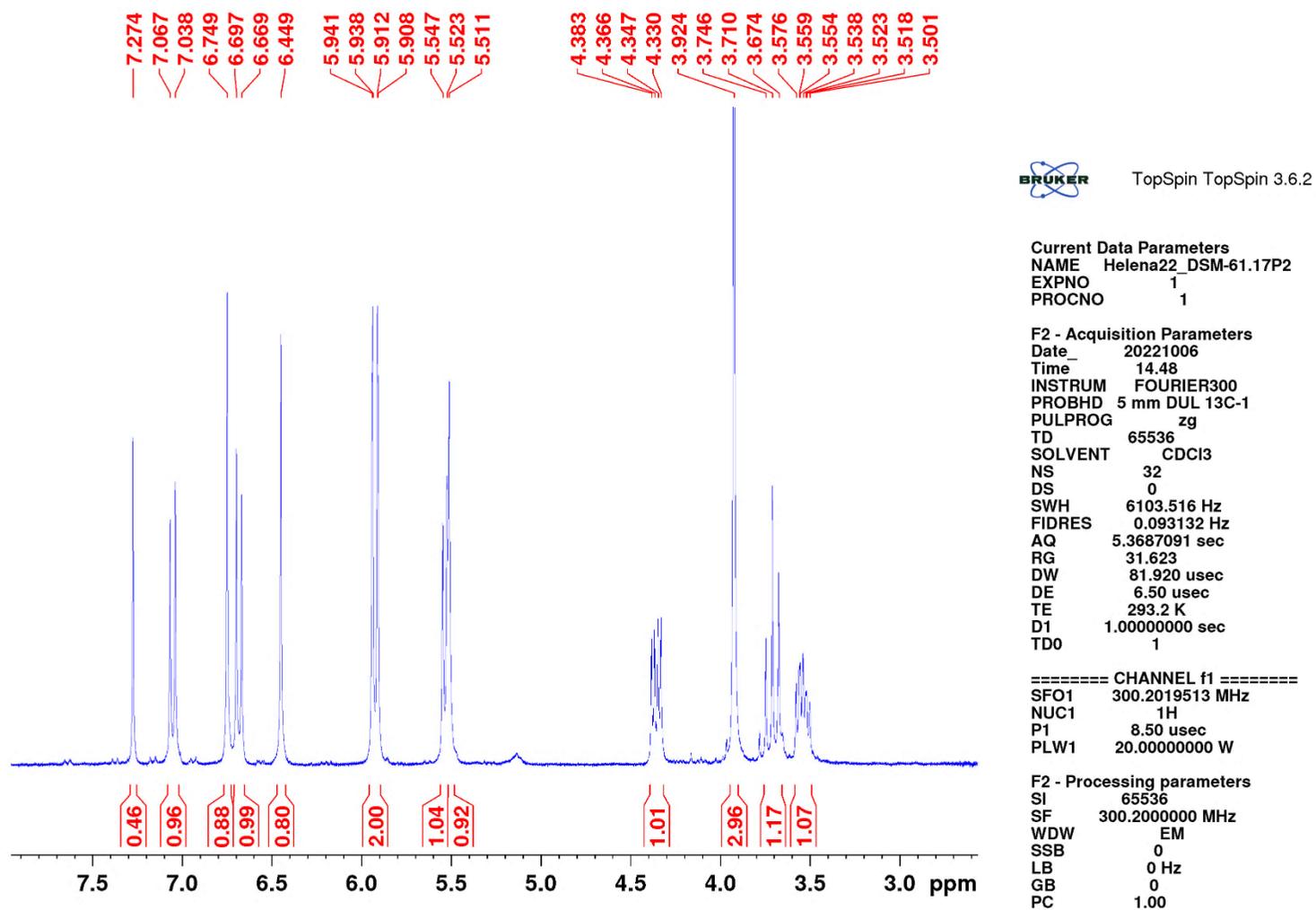
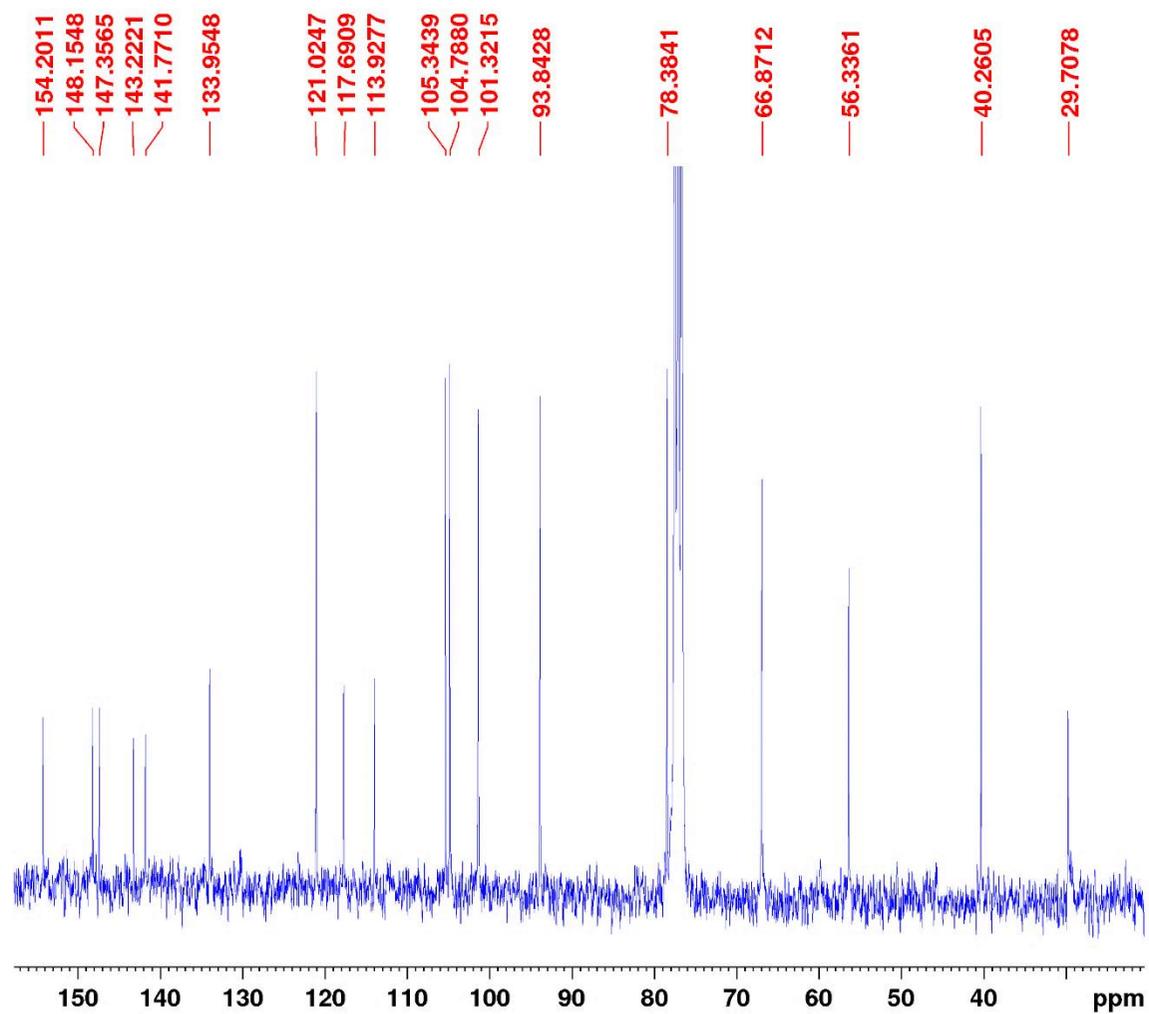


Figura 34. Espectro de RMN ^1H da substância 5 (300 MHz, CDCl_3).



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
NAME Helena22_DSM-61.17P2
EXPNO 2
PROCNO 1

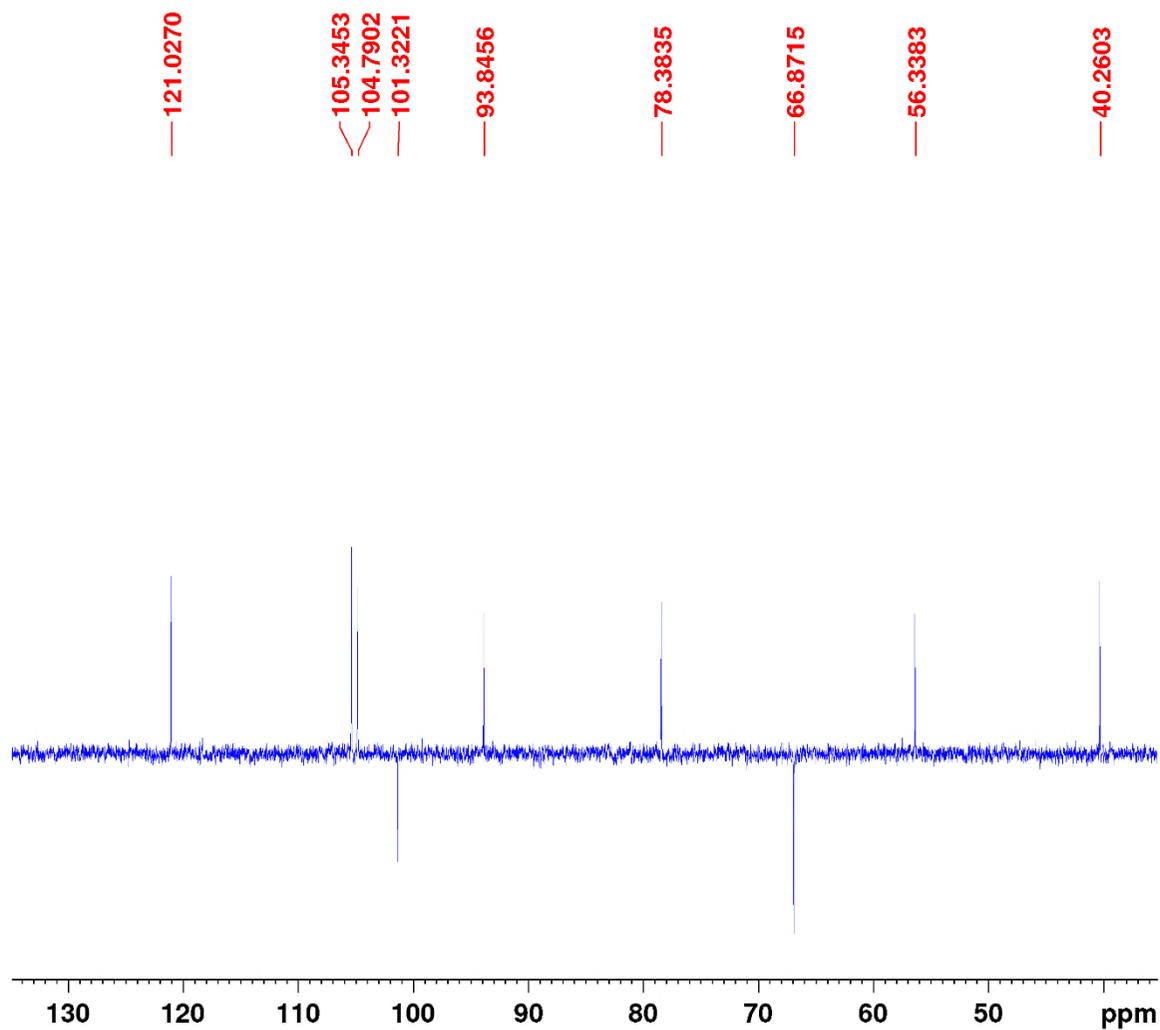
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20221020
Time 4.08
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 22696
DS 0
SWH 24414.063 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 10.00 usec
TE 1024.6 K
D1 0.10000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00000875 sec
D40 0.03084430 sec
L4 20
L5 2
P32 90.00 usec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 13C
P1 8.75 usec
PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 1H
CPDPRG2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 20.00000000 W
PLW12 0.17839999 W
PLW13 0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4853500 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C de 5 (75 MHz, CDCl_3).



BRUKER TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME Helena22_DSM-61.17P2
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20221019
 Time 13.34
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 3517
 DS 0
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 10.00 usec
 TE 1024.6 K
 CNST2 145.0000000
 D1 1.0000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D14 0.00001114 sec
 D33 0.00000850 sec
 D34 0.00344003 sec
 D35 0.00345303 sec
 L4 40
 P32 90.00 usec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4825978 MHz
 NUC1 13C
 P1 8.75 usec
 P2 17.50 usec
 PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.2012008 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 P3 8.50 usec
 P4 17.00 usec
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 20.0000000 W
 PLW12 0.17839999 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4853500 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 36. Espectro de DEPT de 5 (75 MHz, CDCl₃).

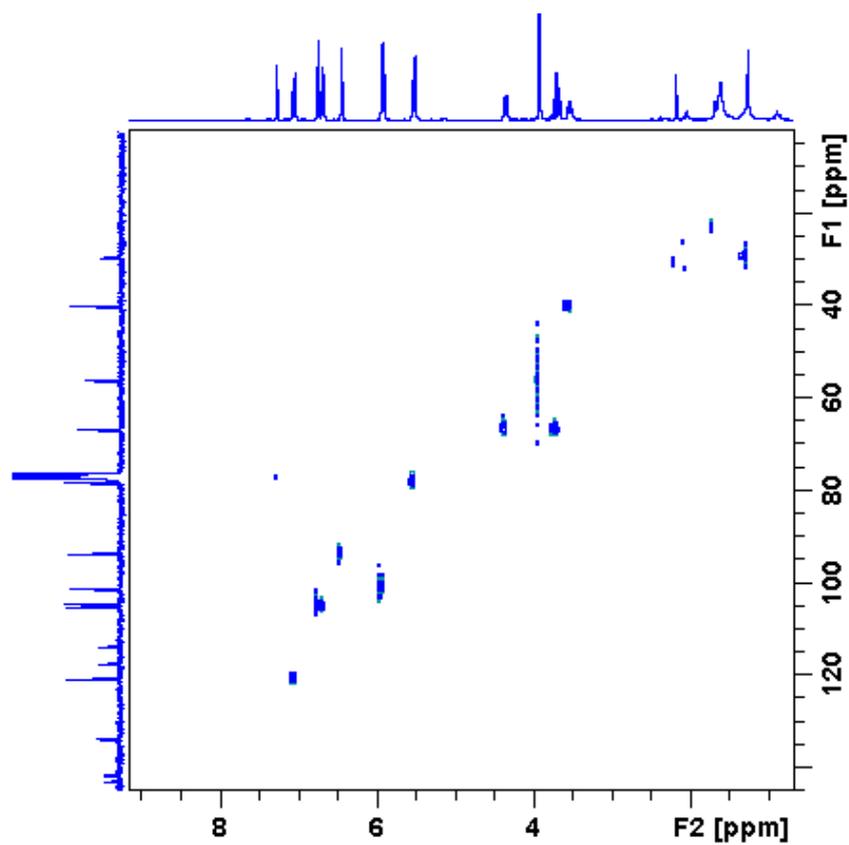


Figura 37. Mapa de correlações de HSQC de 5 (300/75 MHz, CDCl₃).

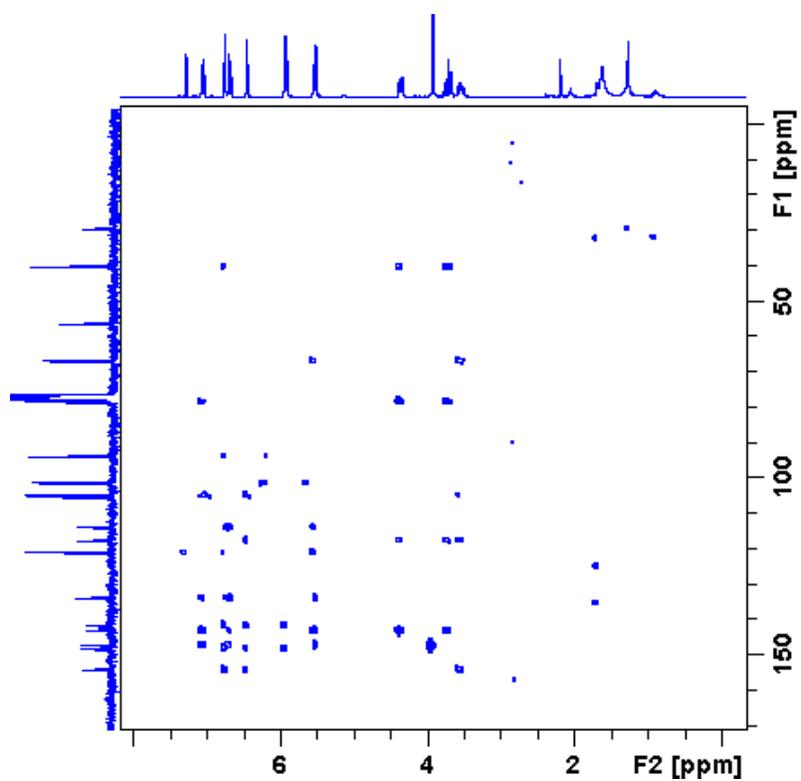


Figura 38. Mapa de correlações de HMBC de 5 (300/75 MHz, CDCl₃).

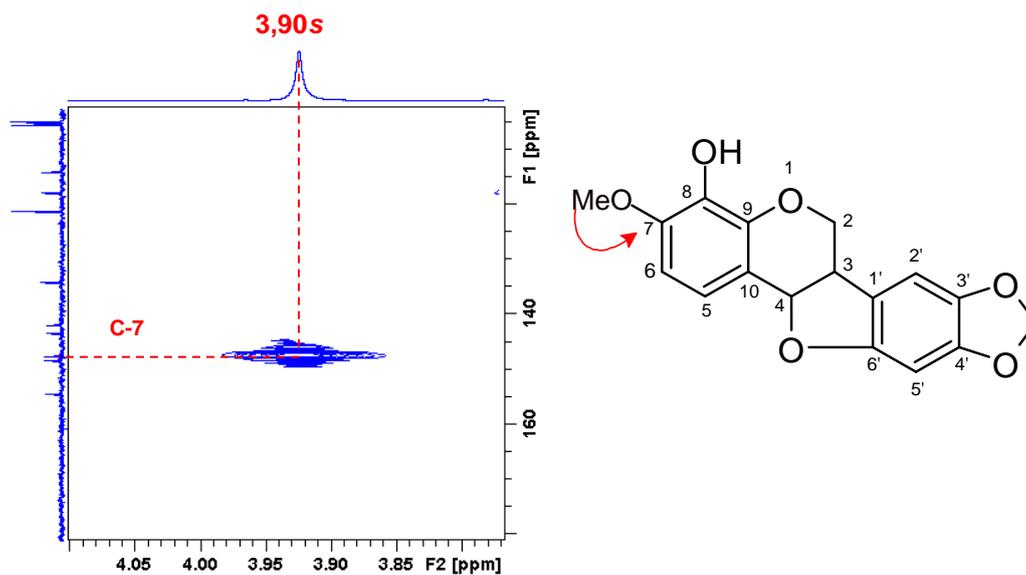


Figura 39. Expansão do HMBC, da região $\delta_{\text{H}} 4,0-3,8$ e $\delta_{\text{C}} 180-110$ de 5.

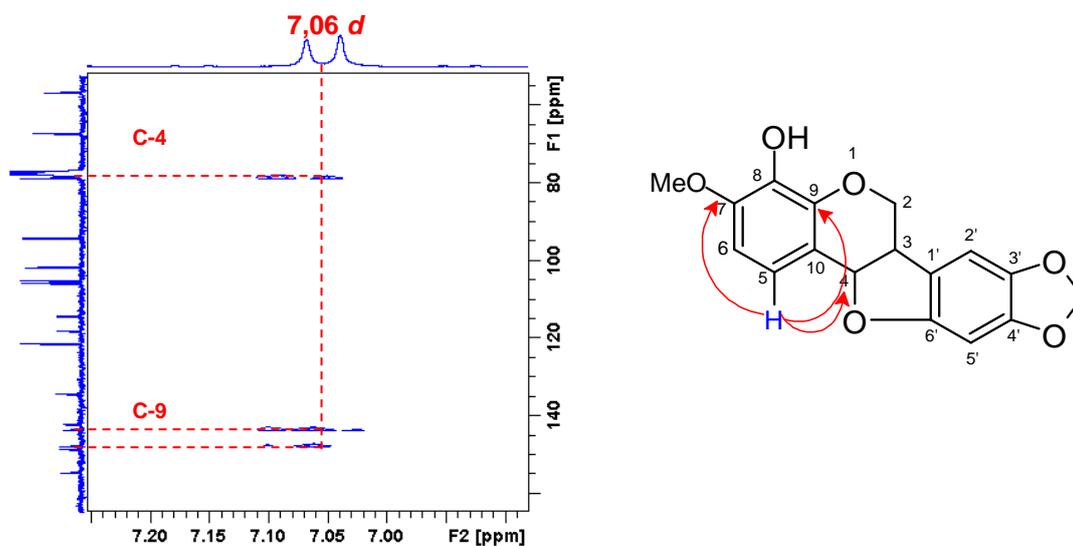
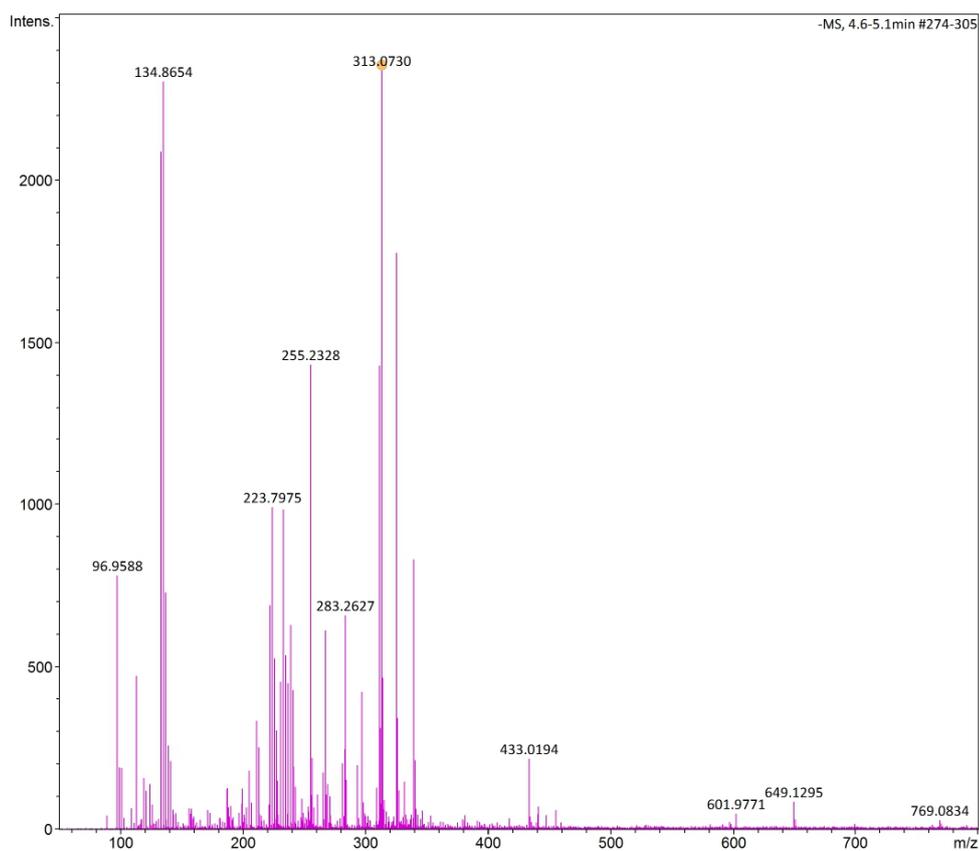


Figura 40. Expansão do HMBC, da região $\delta_{\text{H}} 6,2-7,0$ e $\delta_{\text{C}} 160-60$ de 5.

Generic Display Report

Analysis Info Acquisition Date 7/21/2023 3:09:41 PM
Analysis Name D:\Data\Usuarios\2023\DaPaz\Alunos\Helena\MS\21-07-2023\ID_ESI-_DSM_61A.P2.d
Method TuneLow_ESI-_NaFo_SActive_50-1200_10mM_Padrão2023.m Operator BDAL@DE
Sample Name ID_ESI-_DSM_61A.P2 Instrument micrOTOF-Q
Comment

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
313.0730	1	C17H13O6	313.0718	-4.0	9.1	56.56
	2	C18H9N4O2	313.0731	0.3	10.1	100.00



Bruker Compass DataAnalysis 4.2

printed: 7/21/2023 7:18:42 PM

by: BDAL@DE

Page 1 of 1

Figura 41. Espectro de massas de 5 DSM-61.17.P1 (ESI/EM, modo negativo)

6.6 Determinação da substância 6

A substância **6** (5,5 mg), isolada na fração (DSM-61.15.6) como um sólido amarelo cristalino. Mostrou em placa de CCD de fase normal, usando um sistema de eluição com DCM: acetona (98:2), absorção no UV em 254 nm e mancha roxa quando revelada em vanilina sulfúrica (figura 41).

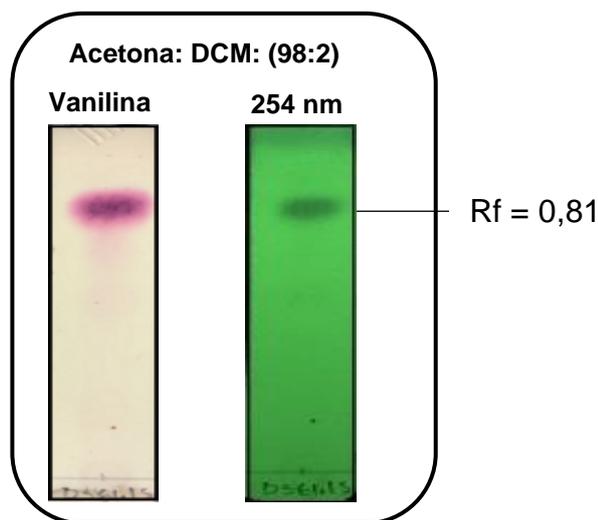


Figura 42. Placa CCD da substância 6 (DSM-61.15.6).

Os espectros de ressonância nuclear magnética revelaram um conjunto de características de estruturas de flavonoides. No espectro de RMN ^1H (figura 43 e tabela 19) da substância **6**, foi possível observar cinco sinais de hidrogênios aromáticos. Dois pares de dubletos em *orto* em δ 6,97 ($J = 8,5$ Hz), 6,74 ($J = 8,5$ Hz), foram atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-5 e H-6 do anel A tetrassubstituído. No anel B, um sistema trissubstituído foi caracterizado pela presença de dois dubletos em δ 6,38 ($J = 2,3$ Hz) e 7,26 ($J = 8,1$ Hz) e um duplo dubleto em 6,47 ($J = 8,1$ e 2,2 Hz), que são referentes aos hidrogênios H-3', H-6' e H-5', respectivamente. Nota-se ainda um metilênico em δ 4,34/3,63 (H-2) e também dois hidrogênios metínicos em δ 3,65 (H-3) e 5,58 (H-4). Os sinais observados como singletos em δ 3,84 s (C-7) e 3,74 s (C-4) foram atribuídos aos grupos metoxilícos.

O espectro de ^{13}C (figura 44, tabela 19) associado ao experimento de DEPT-135 (figura 45), mostram sinais na região entre δ 161,0-96,2, atribuídos aos carbonos aromáticos, carbono metínico em δ 39,6 (C-3'), carbinólico em δ 78,6 (C-4) e metilênico em δ 66,5 (C-2). Como substituinte verificou-se a presença de duas

metoxila em δ 55,7 (C-7) e 54,8 (C-4'). Todas as correlações diretas foram caracterizadas pelo espectro de HSQC (figura 46).

No HMBC (figura 47) o sinal do hidrogênio carbinólico em δ 5,58 d (H-4) mostrou correlações a longa distância com os carbonos aromáticos do anel A em δ 144,2 (C-9), δ 120,5 (C-5), δ 114,5 (C-10) e com o carbono metilênico em δ 66,5 (C-2) pertencente ao anel C (figura 48). Outros carbonos aromáticos foram evidenciados pela conectividade do hidrogênio em δ 6,97 (H-8) com os carbonos em δ 148,1 (C-7), δ 144,2 (C-9) e 78,6 (C-4) (figura 49). No anel B, o sinal aromático δ 7,26, correlacionando a 3J com o carbono δ 39,67 (C-3) do anel C e também se correlacionou com os carbonos sp² em 161,18 (C-4') e δ 160,86 (C-2') (figura 50). Uma das metoxilas foi posicionada no anel A, conectada ao C-7, devido a correlação de δ 3,84 com o carbono em δ 148,10 (C-7) e o outro grupo metoxila foi posicionado no anel B, devido as correlações do hidrogênio δ 3,74 (H-4'), com o carbono δ 161,18 (C-4') (figura 51)

As análises de RMN sugeriram que a substância 6 (figura 42) em questão trata-se de um flavonoide do tipo isoflavanol que foi elucidada como 8,4,2' trihidroxi-7,4'-dimetoxiisoflavanol. Essa substância apresenta os primeiros relatos na literatura.

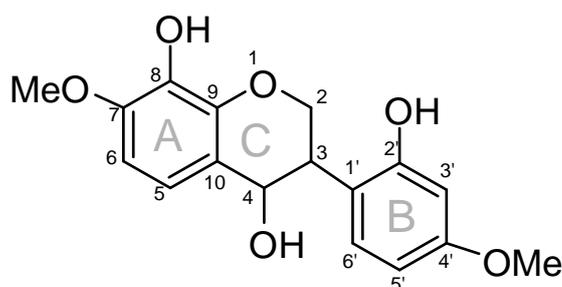


Figura 43. Estrutura de 8,4,2' trihidroxi-7,4'-dimetoxiisoflavanol.

Tabela 19. Dados de RMN da substância 6 (Acetona).

N	RMN ¹ H δ (ppm); multi; J (Hz)	RMN ¹³ C δ (ppm)	HMBC
	Substância 6		
1	----	----	----
2	4,34	66,51	C-3, C-4, C-1'
	3,65		
3	3,65 m	39,67	C-3, C-4, C-1'
4	5,58 d (J = 6,7)	78,64	C-4, C-1'
5	6,97 d (J= 8,6)	120,54	C-2, C-5, C-9, C-10
6	6,69 d (J = 8,5)	105,87	C-4, C-7, C-9
7		148,1	C-5, C-7, C-8, C-10
8		135,06	
9		144,22	
10		114,53	
1'		119,43	
2'		160,86	
3'		96,25	
4'		161,18	
5'	6,47 dd (8,1 e 2,2)	106,03	C-6, C-1', C-3', C-5'
6'	7,26 d (8.1)	125,02	
MeO	3,84 s	55,7	C-7
MeO	3,74 s	54,82	C-2', C-4'

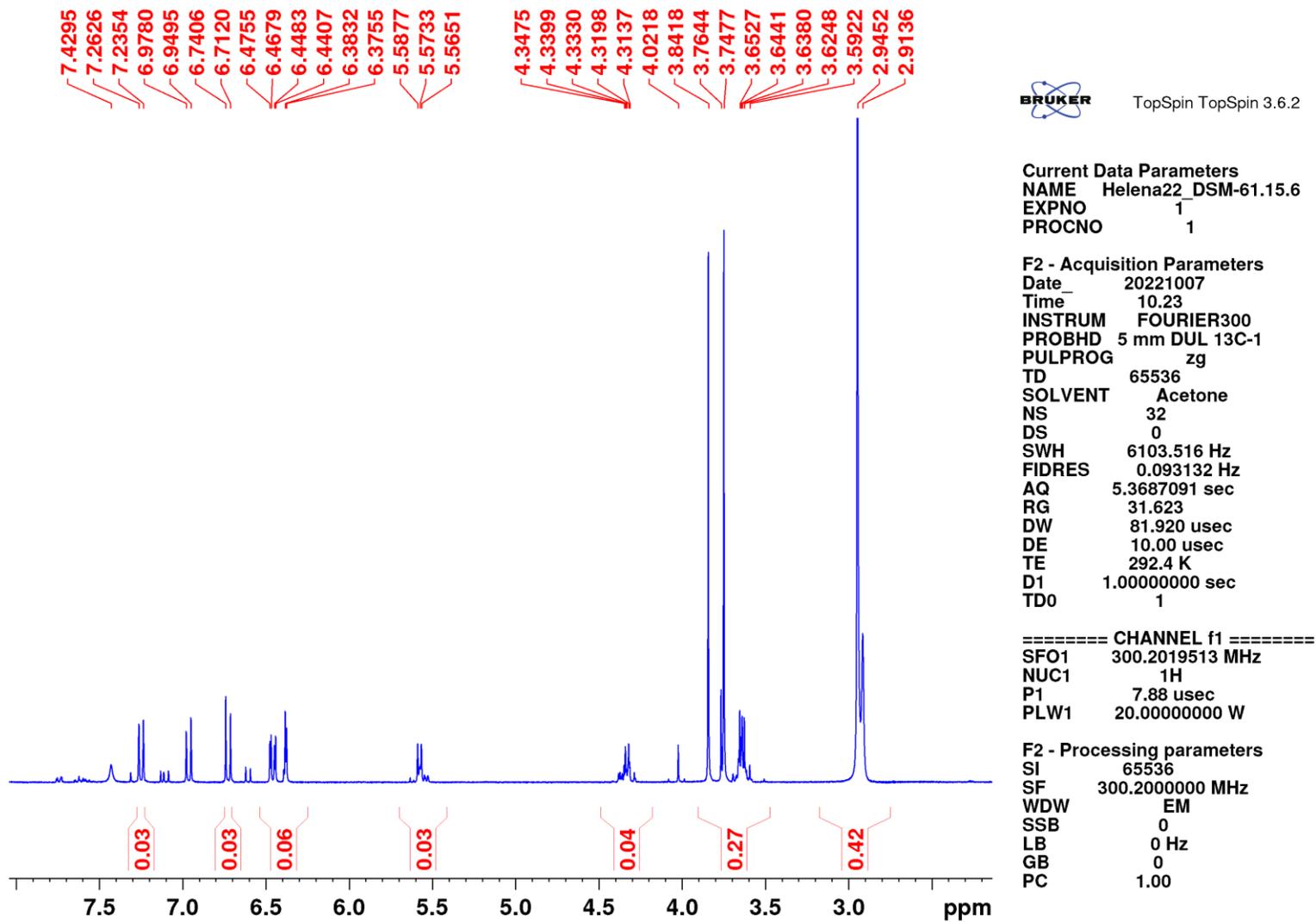


Figura 44. Dados de RMN ^1H de 6 (Acetona).

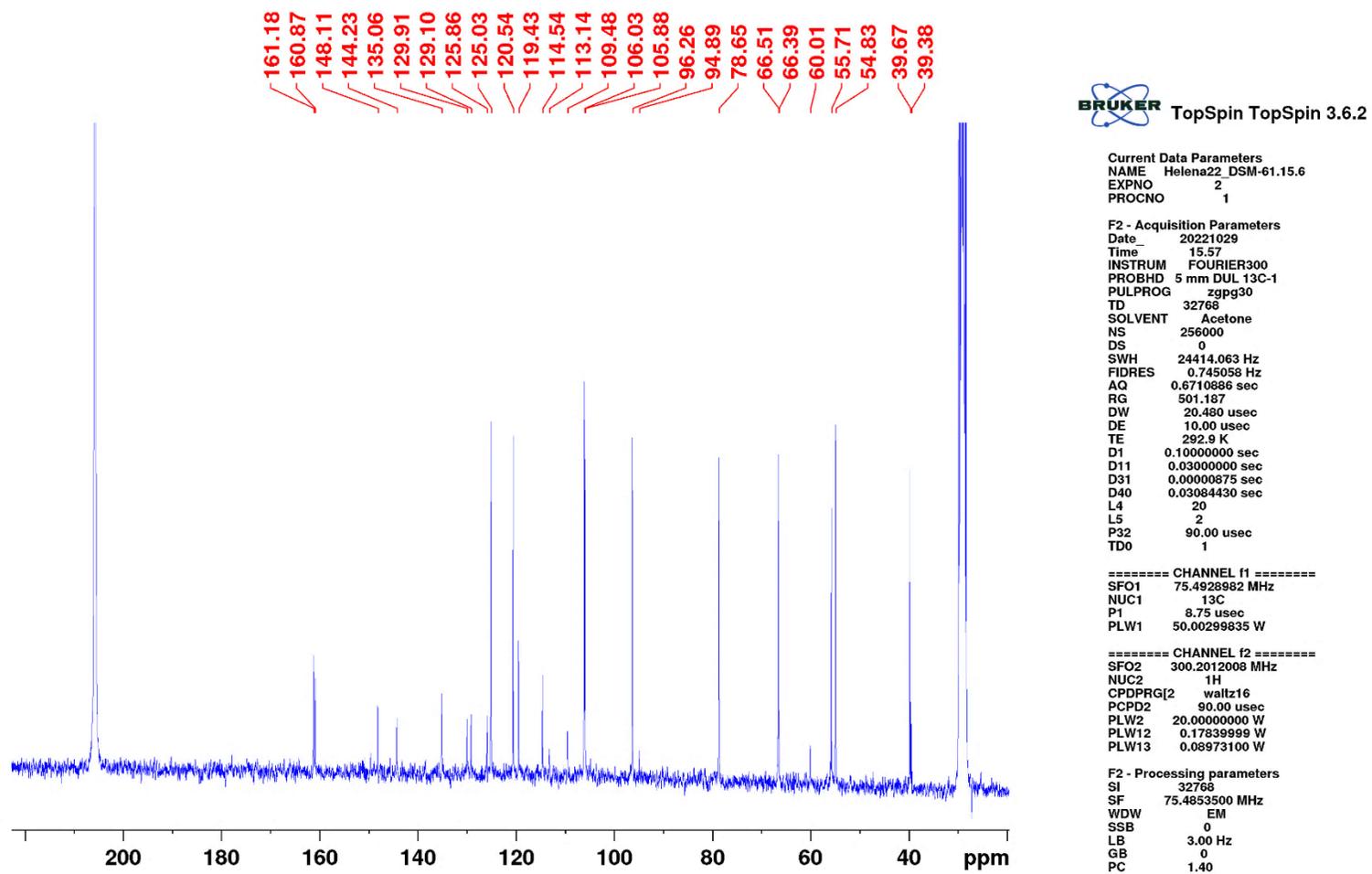
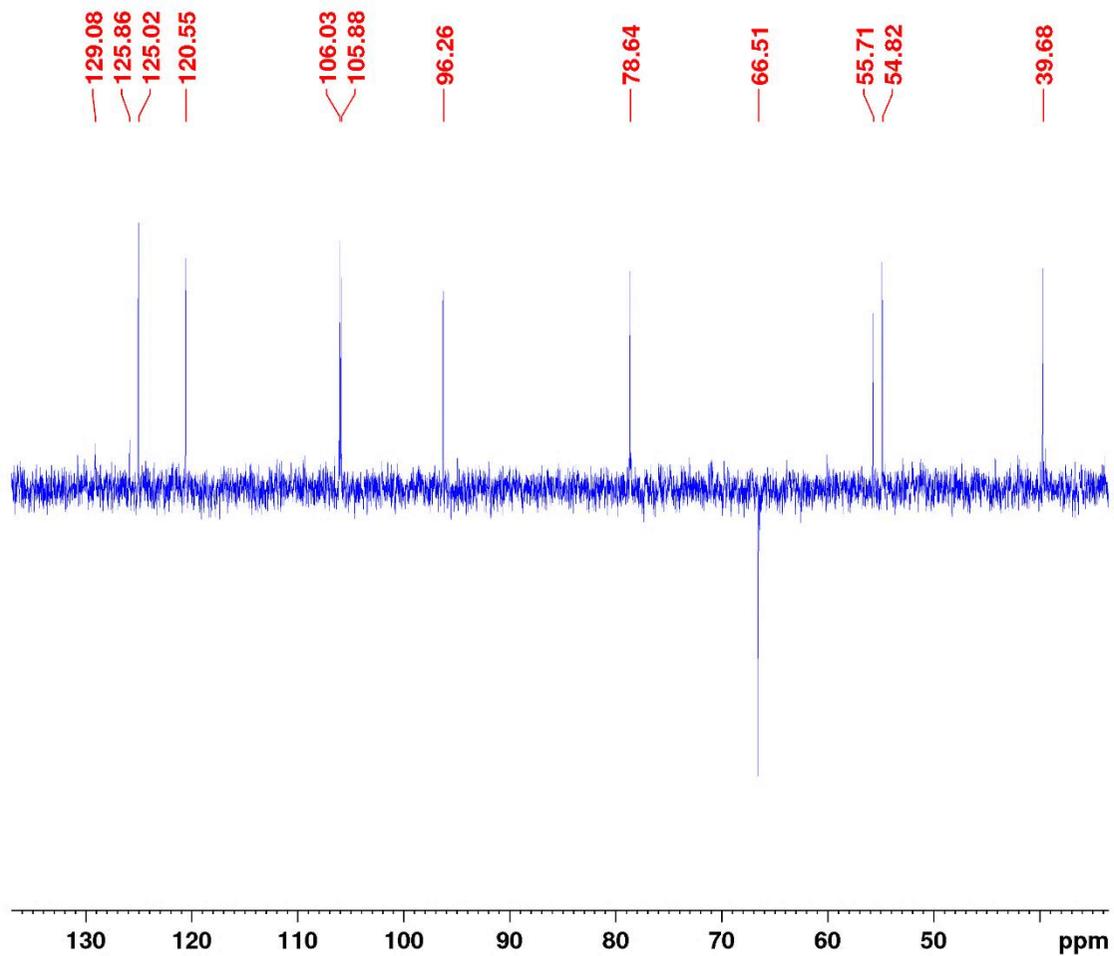


Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C de 6 (75 MHz, acetona).



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME Helena22_DSM-61.15.6
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20221027
 Time 13.46
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG dept135
 TD 65536
 SOLVENT Acetone
 NS 8192
 DS 0
 SWH 24414.063 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 501.187
 DW 20.480 usec
 DE 10.00 usec
 TE 294.0 K
 CNST2 145.0000000
 D1 1.00000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D14 0.00001114 sec
 D33 0.00000850 sec
 D34 0.00344003 sec
 D35 0.00345303 sec
 L4 40
 P32 90.00 usec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 75.4928978 MHz
 NUC1 13C
 P1 8.75 usec
 P2 17.50 usec
 PLW1 50.00299635 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 300.2012008 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 P3 8.50 usec
 P4 17.00 usec
 PCPD2 90.00 usec
 PLW2 20.00000000 W
 PLW12 0.17839999 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 75.4853500 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 46. Espectro de DEPT de 6 (75 MHz, acetona).

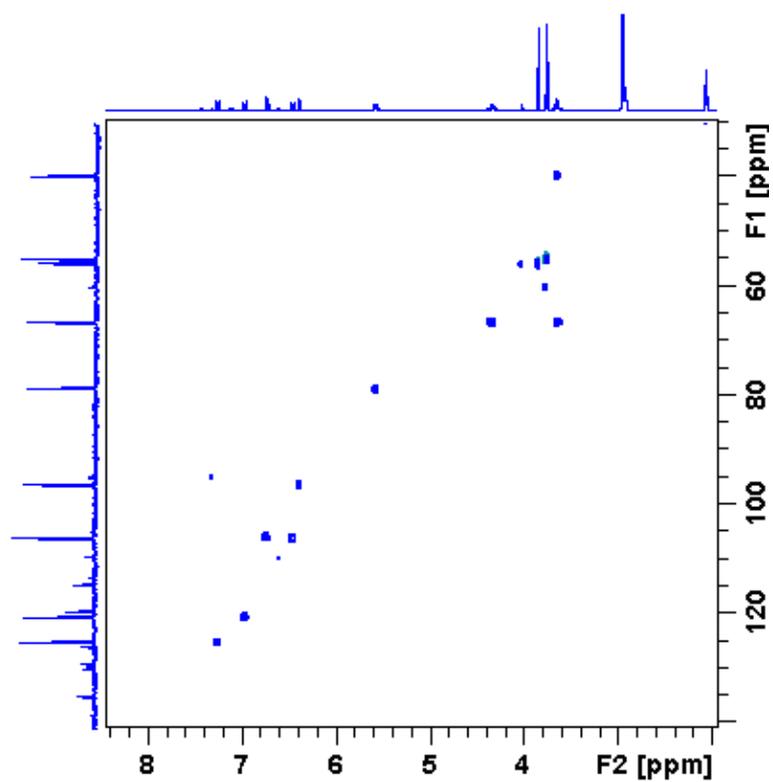


Figura 47. Mapa de correlação HSQC de 6 (300/75 MHz, acetona).

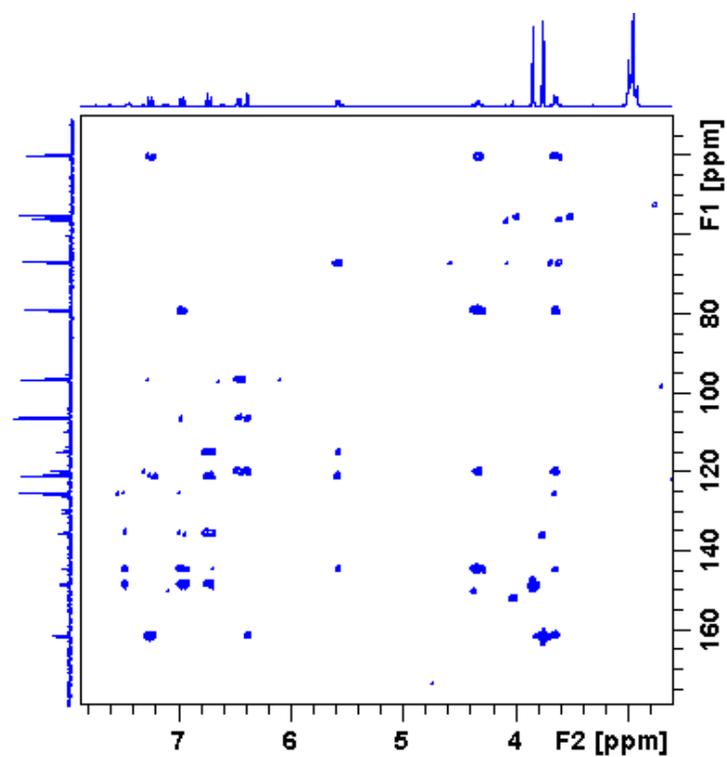


Figura 48. Mapa de correlação HMBC de 6 (300/75 MHz, acetona).

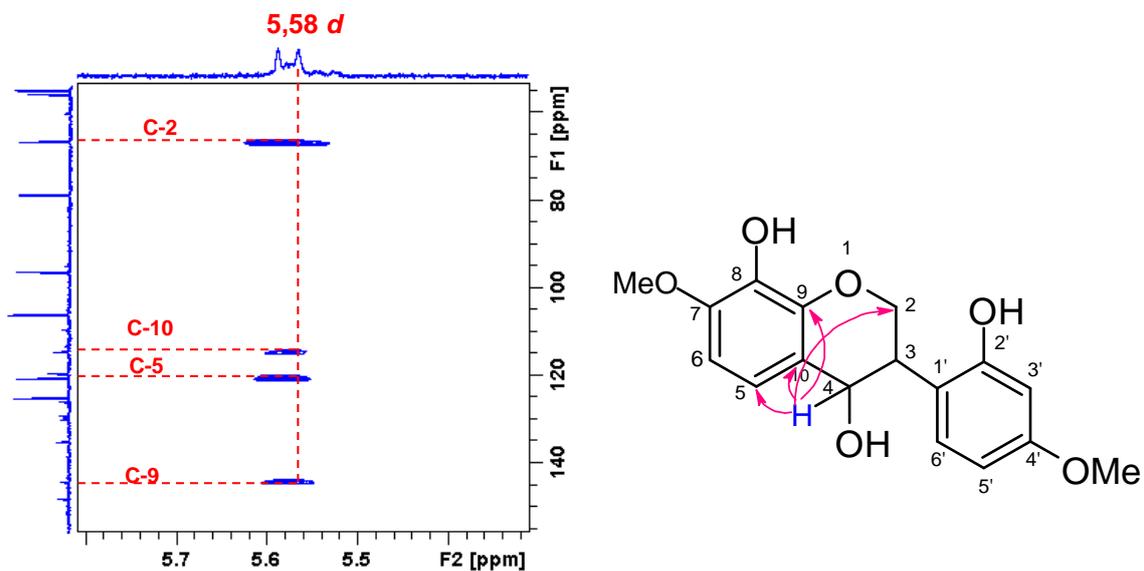


Figura 49. Expansão do HMBC na região δ_H 5,8-5,4 δ_C 140-70 a substância 6.

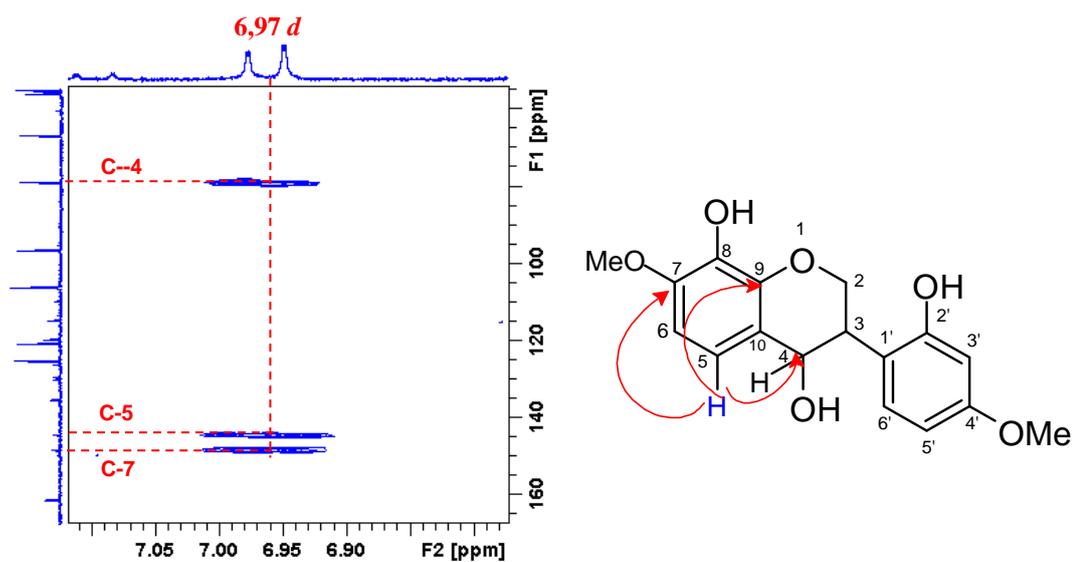


Figura 50. Expansão do HMBC na região δ_H 7,0-6,8 δ_C 160-80 de 6.

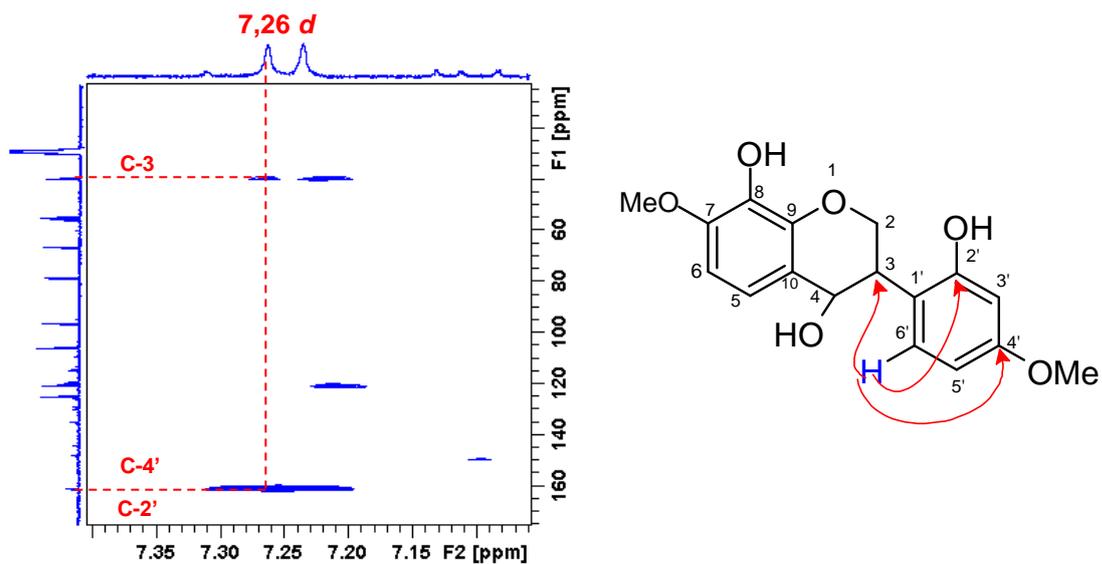


Figura 51. Expansão do HMBC na região δ_H 7,3-7,0 δ_C 160-20 de 6.

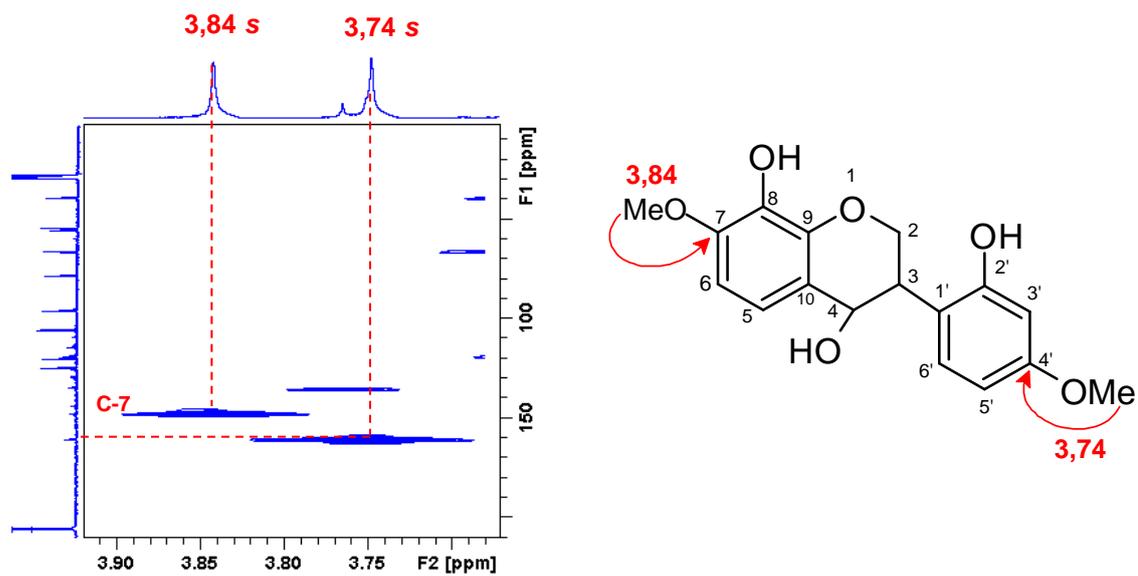


Figura 52. Expansão do HMBC na região δ_H 3,9-3,7 δ_C 170-10 de 6.

6.7 Determinação estrutural da substância 7

O espectro de massas de alta resolução (ESI/EM) da substância 7 apresentou um pico em m/z 267,07 [M-1], consistente com a fórmula molecular $C_{16}H_{12}O_4$, (figura 59). Este experimento, aliado às análises de RMN unie bidimensionais sugeriram a presença de um neoflavonoide.

O isolado 7, presente na fração DSM-71.16 (10 mg) apresentou-se como sólido cristalino na cor amarela. Em placa de CCD de fase normal, mostrou intensa absorção no UV (365 e 254 nm) e não revelou em vanilina sulfúrica. A proporção (98:2) de DCM: acetona foi utilizado como o sistema de eluição da corrida cromatográfica (figura 52).

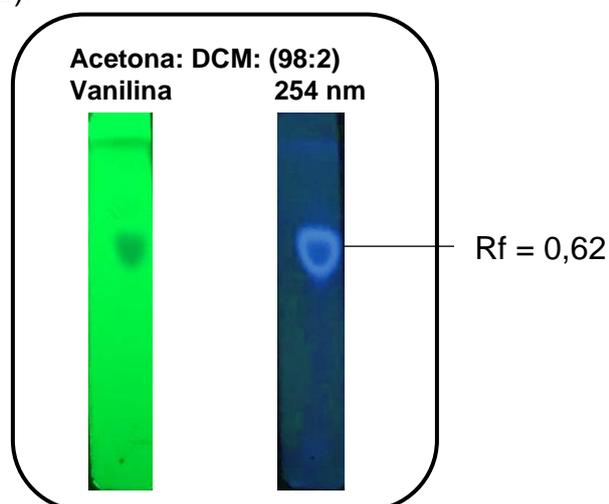


Figura 53. Placa CCD da substância 7 (DSM-71.16)

A substância 7 tem em seus espectros de RMN de 1H (figura 54, tabela 20), um sinal singleto em δ 6,27 que corresponde ao hidrogênio vinílico H-3. Sinais aromáticos foram observados como dois singletos em δ 6,92 e 7,01 atribuídos ao anel A. No anel B, os sinais de hidrogênios aromáticos têm seus sinais observados em região congestionada no intervalo de δ 7,45-7,01 ppm. A presença de um sinal metoxi foi evidenciada em δ 4,01s (7-OMe).

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 55, tabela 20) observa-se a presença de 16 sinais de átomos de carbono, sendo que, os sinais δ 128,32 e 128,82 apresentam duplicidade. A carbonila do anel lactônico (C-2) e a dupla ligação olefínica C-3 ressoaram em δ 161,46 e 112,54, respectivamente. Os carbonos aromáticos encontram-se no intervalo de δ 99,62-150,19. Todas as outras

atribuições para a identificação da substância **7** estão listadas na tabela 20 e foram atribuídas através do mapa de correlação HSQC Figura 56.

No espectro de HMBC (figura 56), o singlete vinílico em δ 6,27 correlacionou-se com o sinal da carbonila em δ 161,48 (C-2) e com o sinal aromático em δ 135,62 (C-1') como mostra o espectro ampliado (figura 57). O hidrogênio aromático do anel A em δ 7,01 s (H-5) fez correlação com o carbono em δ 155,77 (C-4) do anel C e também com sinais de carbonos aromáticos em δ 149,33 (C-9), 150,19 (C-7) e 142,55 (C-6) como mostra na expansão da figura 54. O grupo metoxílico foi posicionado no anel A, devido à correlação 3J do sinal metílico em δ 4,01 com o carbono 150,19 (C-7) (Figura 58).

A identificação estrutural da substância **7**, além das análises de RMN uni e bidimensionais foi também corroborada pelo experimento de massas de alta resolução (ESI/EM) na qual apresentou o pico do íon molecular esperado à m/z 267,07 [M-1] e fórmula molecular $C_{16}H_{11}O_4$, como ilustrado na figura 59.

O conjunto das análises dos dados de RMN, EM e literatura de Nha *et al.* (2022) confirmam que a substância **7** (Figura 53) pertence a classe dos neoflavonoides e teve sua estrutura identificada como dalbergina. Essa substância já foi relatada previamente em *D. spruceana* por Cook (1978). Em relação as atividades biológicas, há relatos de atividade citotóxica contra a células RAW 264.7 de acordo com a literatura de Nha *et al.* (2022).

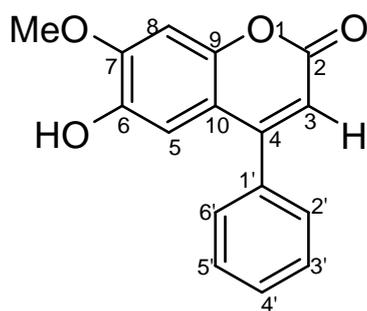
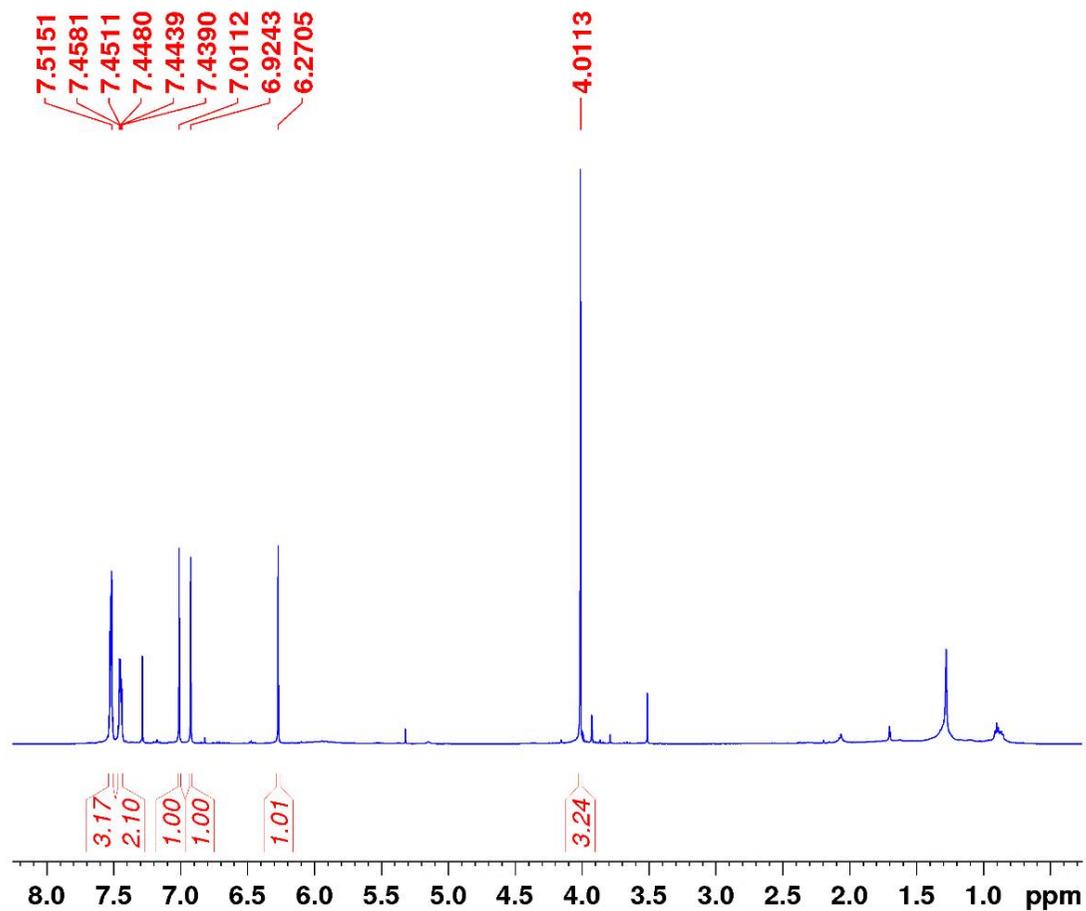


Figura 54. Estrutura da substância dalbergina

Tabela 20. Dados de RMN da substância 7 (CDCl₃).

N°	Substância 7			Literatura (Nhan-2022)	
	RMN ¹ H δ multi; J (Hz)	RMN ¹³ C δ (ppm)	HMBC	RMN ¹ H δ multi; J (Hz)	RMN ¹³ C δ (ppm)
1	----	----	----	----	----
2	---	161,48	----		163.8
3	6,27 (s)	112,54	C-1', C-2	6.21 (s)	12.3
4	---	155,77	----	----	158.2
5	7,01 (s)	110,57	C-6, C-7, C-1'	6.88 (s)	111.9
6	---	142,53	----		, 145.2
7	----	150,19	----		153.6
8	6,92 (s)	99,62	C-7, C-9, C-10	7.06 (s)	101.1
9	----	149,33	----		150.4
10	----	112,33	----		113.1
1'	----	135,62	----		137.1
2'	7,45 (m)	128,32	C-4'	7.51 (m)	129.5
3'	7,52 (m)	128,82	C-1'. C-2'	7.57 (m)	129.9
4'	7,52 (m)	129,55	C-6'	7.57 (m)	130.8
5'	7,52 (m)	128,82	C-1', C-6'	7.57 (m)	129.9
6'	7,45 (m)	128,32	C-4	7.51 (m)	29.5
MeO	4,01 (s)	56,44	C-7	3.99 (s)	56.8



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME NMR-357-23_HELENA GARCIA/
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230509
 Time_ 10.02 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 (
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 2
 SWH 10000.000 Hz
 FIDRES 0.305176 Hz
 AQ 3.2767999 sec
 RG 119.26
 DW 50.000 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.1 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1
 SFO1 500.1330883 MHz
 NUC1 1H
 P0 3.33 usec
 P1 10.00 usec
 PLW1 20.32299995 W

F2 - Processing parameters
 SI 131072
 SF 500.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 55. Espectro de RMN ¹H de 7 (500 Hz, CDCl₃).

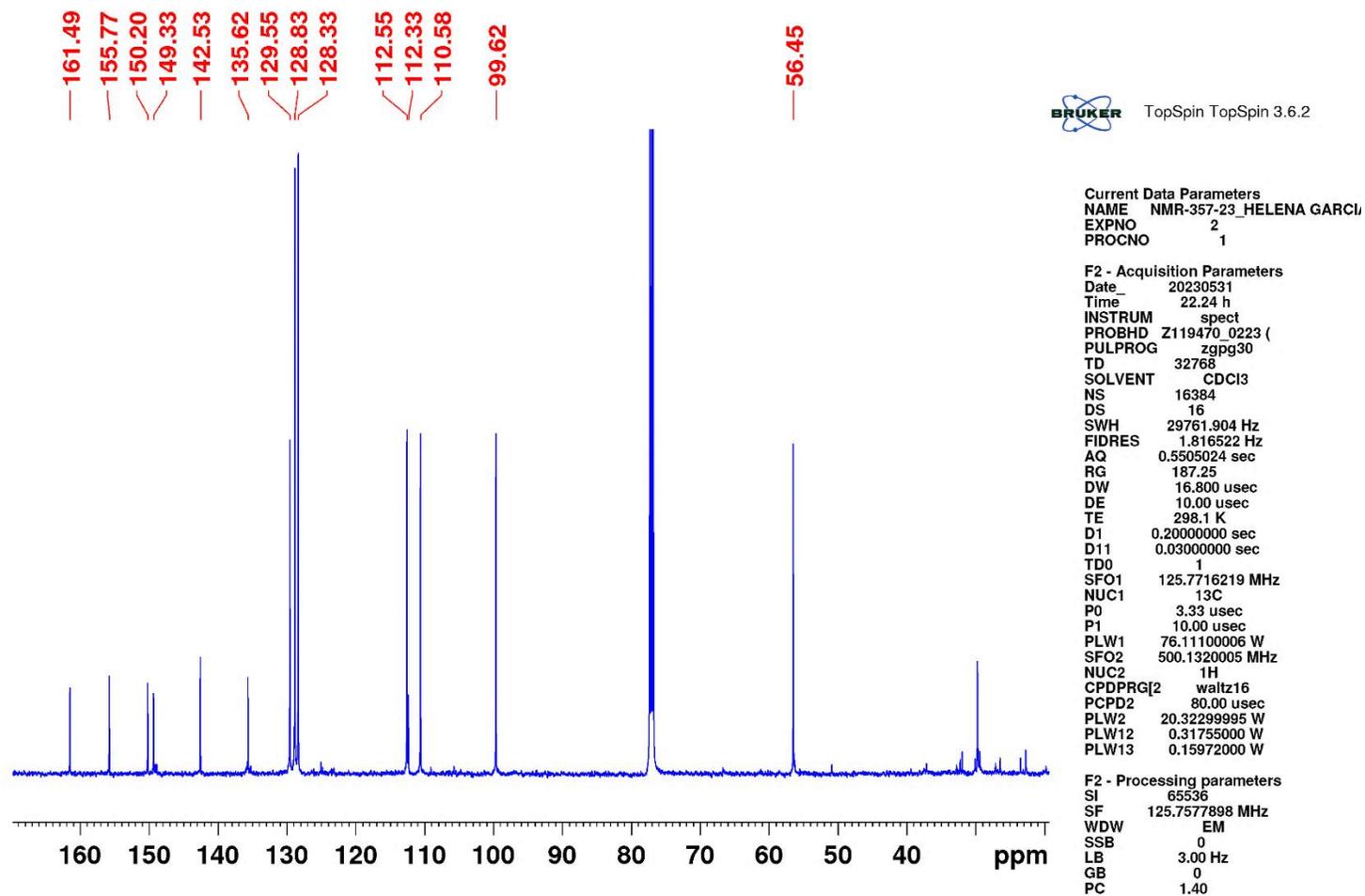


Figura 56. Espectro de RMN ^{13}C de 7 (125 MHz, CDCl_3).

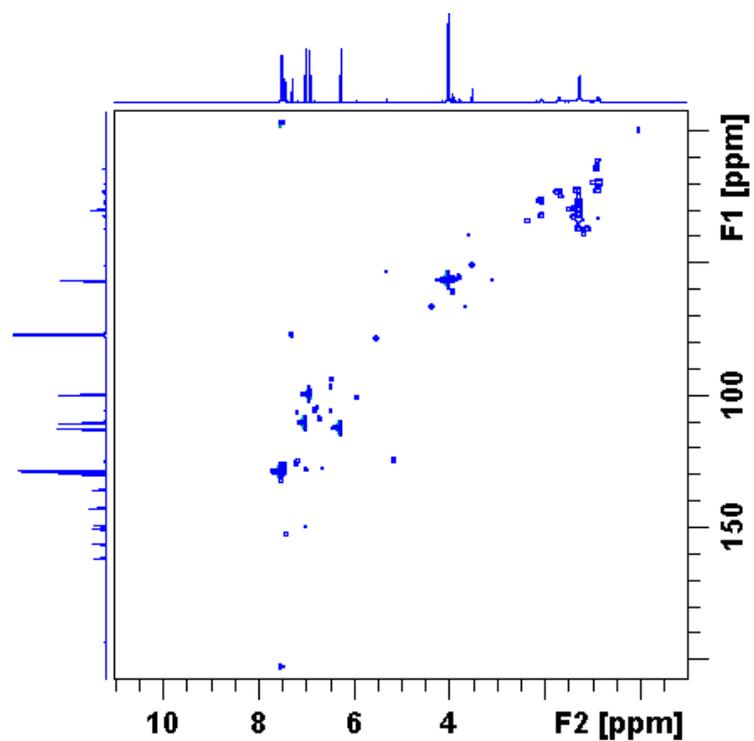


Figura 57. Mapa de correlação HSQC de 7 (500/125 MHz, CDCl₃).

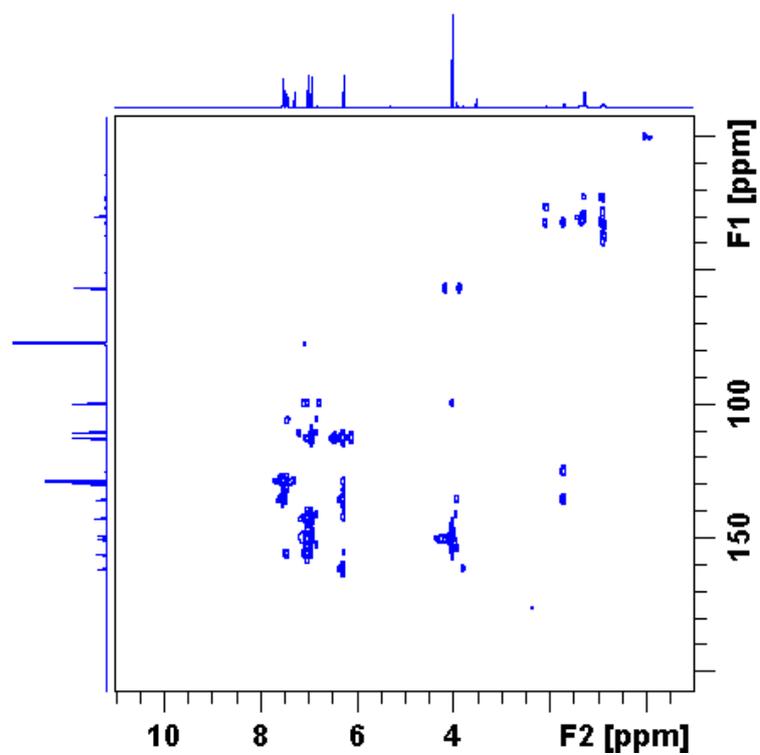


Figura 58. Mapa de correlação HMBC de 7 (500/125 MHz, CDCl₃).

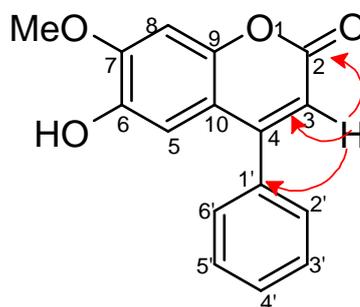
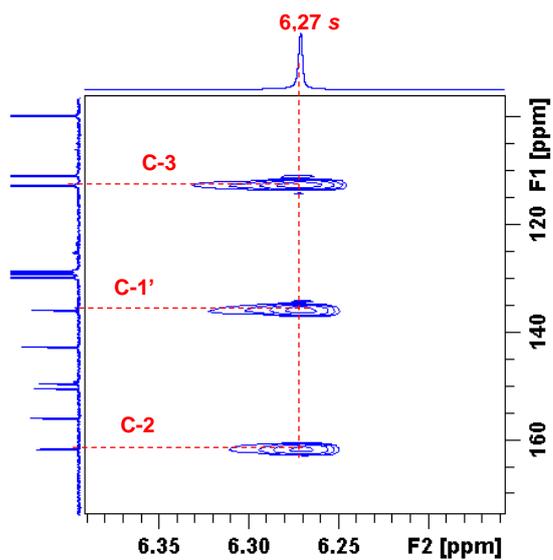


Figura 59. Expansão do HMBC na região δ_H 6,3-6,20 δ_C 160-100 de 7.

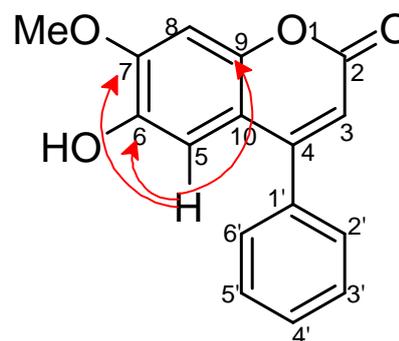
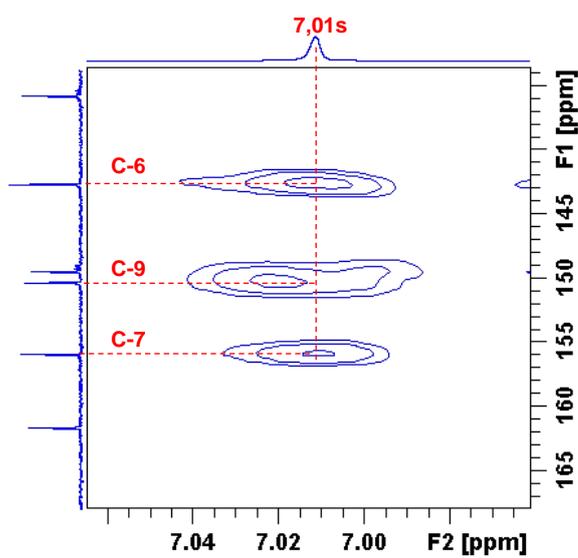
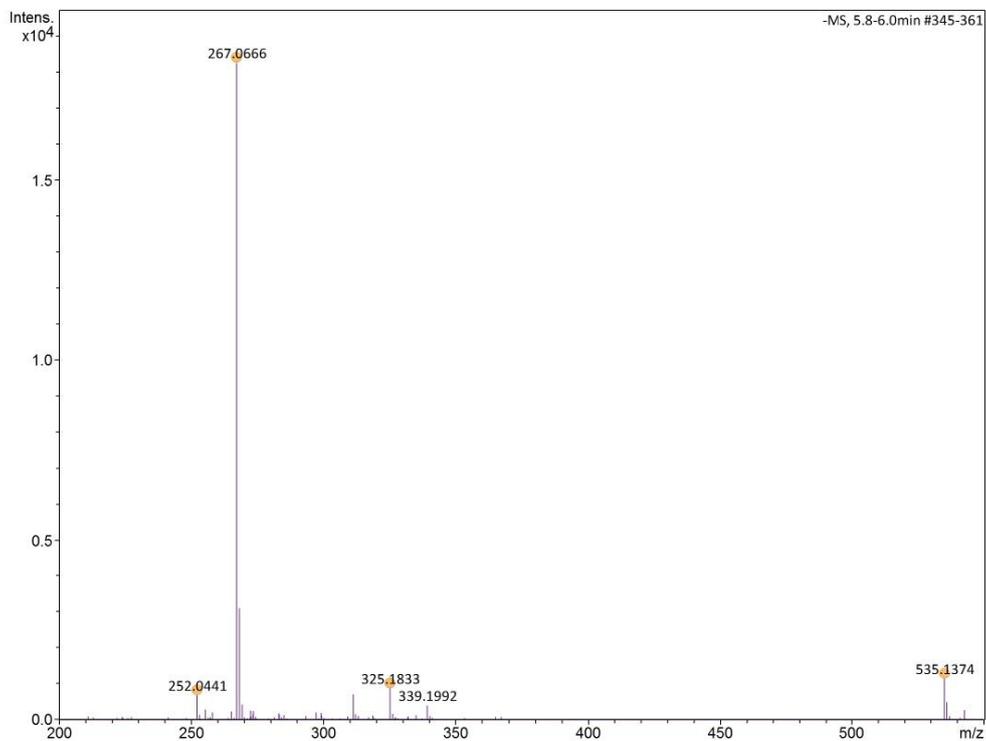


Figura 60. Expansão do HMBC na região δ_H 7,4-6,8 e δ_C 165-135 de 7.

Generic Display Report

Analysis Info		Acquisition Date 7/21/2023 2:47:17 PM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2023\DaPaz\Alunos\Helena\MS\21-07-2023\ID_ESI-_DSM_71.16a.d		
Method	TuneLow_ESI-_NaFo_SActive_50-1200_10mM_Padrão2023.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_ESI-_DSM_71.16a	Instrument	micrOTOF-Q
Comment			

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
252.0441	1	C18H6NO	252.0455	5.3	8.3	100.00
	2	C13H6N3O3	252.0415	-10.7	19.2	28.77
267.0666	1	C16H11O4	267.0663	-1.3	3.9	100.00
325.1833	1	C14H29O8	325.1868	10.8	21.6	31.71
	2	C11H21N10O2	325.1854	6.7	26.8	100.00
	3	C21H25O3	325.1809	-7.2	30.5	79.71
535.1374	1	C39H19O3	535.1340	-6.4	8.5	76.36
	2	C32H23O8	535.1398	4.6	36.4	100.00



Bruker Compass DataAnalysis 4.2

printed: 7/21/2023 5:29:12 PM

by: BDAL@DE

Page 1 of 1

Figura 61. Espectro de massas de 7 DSM-71.16 (ESI/EM, modo negativo).

6.8 Determinação estrutural da substância 8

A substância **8**, codificada na fração DSM-73.5.3 (3,5mg) como sólido branco, mostrou em placa de CCD (figura 61) de fase normal uma leve absorção no UV em 254 nm e ao ser revelada em vanilina sulfúrica apresentou mancha rosa, usando sistema de eluição DCM:acetona (98:2)

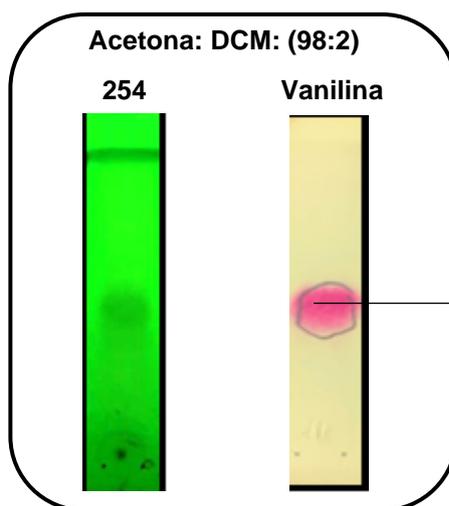


Figura 62. Placa CCD da substância 8 (DSM-73.5.3).

O isolado da fração DSM-73.5.3 foi submetido a experimentos de espectrometria de massas (EM) e 5 de RMN 1D (^1H , ^{13}C e DEPT 135), 2D (HSQC e HMBC), que indicaram estrutura típica de um flavonoide. O espectro de massas (ESI/EM) apresentou um pico em m/z 333,13 $[\text{M}+1]$ consistente com a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (Figura 71). No espectro de RMN de ^1H (Figura 63, Tabela 21) foram evidenciados quatro sinais de hidrogênios aromáticos na região entre δ 7,55-6,73, todos apresentando acoplamento em *orto*, sugerindo dessa forma a presença de dois grupos arila tetrasubstituído. No A anel do sistema aromático foram atribuídos os dubletos 6,55 ($J = 8,35$ Hz) e 6,73 ($J = 8,35$ Hz) correspondente aos hidrogênios H-6 e H-5, respectivamente. O mesmo padrão de acoplamento em *orto* foi verificado para o anel B, com sinais em δ 6,63 (H-6') e 6,67 (H-5'). Os três grupos metoxilícos substituintes ressoaram em δ 3,94 s (8-OMe), 3,91 s (7-OMe) e 3,92 s (OMe-2'). No anel C, a presença do sinal metínico em δ 3,57 (H-3) e sinais metilênicos em δ 4,03 e 4,42 (H-2a e H-2b) e 2,92 e 2,95 (H-4a e H-4b) são indicativos de flavonoide do tipo isoflavana.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 64, Tabela 21) foram detectados 18 átomos de carbono, ressaltando que o sinal em δ 147,56 mostrou duplicidade devido a diferença de intensidade quando comparado com os demais carbonos desidrogenados. A presença de dois carbonos metilênicos ressoaram em δ 70,54 (C-2) e 31,50 (C-4) que foram sustentados pelo espectro de DEPT 135 (Figura 65) e juntamente com o sinal metínico em δ 31,59 (C-3) representam os deslocamentos químicos do anel pirano (anel C). Os demais dados de carbonos aromáticos e dos seus grupos substituintes podem ser observados na tabela 21.

No espectro de correlação a longa distância HMBC (Figura 66) os sinais de hidrogênios metilênicos H-4 (2,92 e 2,95) correlacionaram-se com os carbonos δ 70,54 (C-2), 31,59 (C-3) do anel pirano e também com os carbonos aromáticos em δ 115,35 (C-10) e 124,37 (C-5) do anel A (figura 67). O hidrogênio aromático do anel A em δ 6,73 (H-5) fez correlação a 3J com o carbono metilênico em δ 31,50 (C-4) e com o sinal duplicado em δ 147,56 (C-7/C-9). O anel B foi posicionado em C-3 devido a correlação a 3J do hidrogênio 6,63 (H-6') com o carbono em 31,59 (C-3), o mesmo sinal do hidrogênio também fez correlação com o carbono aromático em 145,73 (C-2'), como ilustrado no mapa expandido de HMBC (Figura 68). Os grupos metoxilicos em δ 3,91 (7-OMe) e 3,94 (8-OMe) foram posicionados no anel A, devido a correlação a 3J com os carbonos 147,56 (C-7) e 134,97 (C-8), respectivamente (figura 69). O grupo metoxi em δ 3,92 (2'-OMe) foi posicionado no anel B, pela conectividade com o carbono em δ 145,73 (C-2'). Vale ressaltar que, o posicionamento dos grupos hidroxí (3'-OH e 4'-OH) no anel B foram em consonância com os dados de espectrometria de massas (Figura 70), padrão de substituição do sistema aromático e por comparação na literatura com a substância duartina (CARVALHO e BRAZ FILHO, 1992).

Os conjuntos de dados de RMN discutidos acima e as informações do EM, permitiram propor para a sustância **8** uma estrutura similar a isoflavana duartina, apresentada por Carvalho e Braz-Filho (1992). As diferenças estruturais com a duartina estão direcionadas na troca dos grupos substituintes 7-OMe e 4'-OMe na substância **8**, permitindo dessa forma propor a identidade da substância como 3',4'-dihidroxi-7,8,2'-trimetoxiisoflavana (figura 62), que até o presente momento tem seus primeiros relatos na literatura.

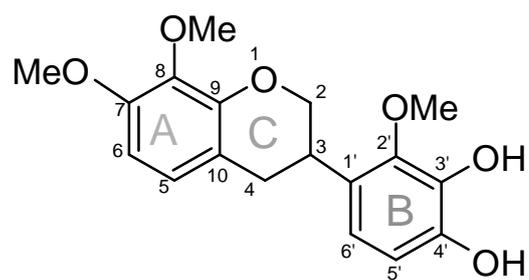
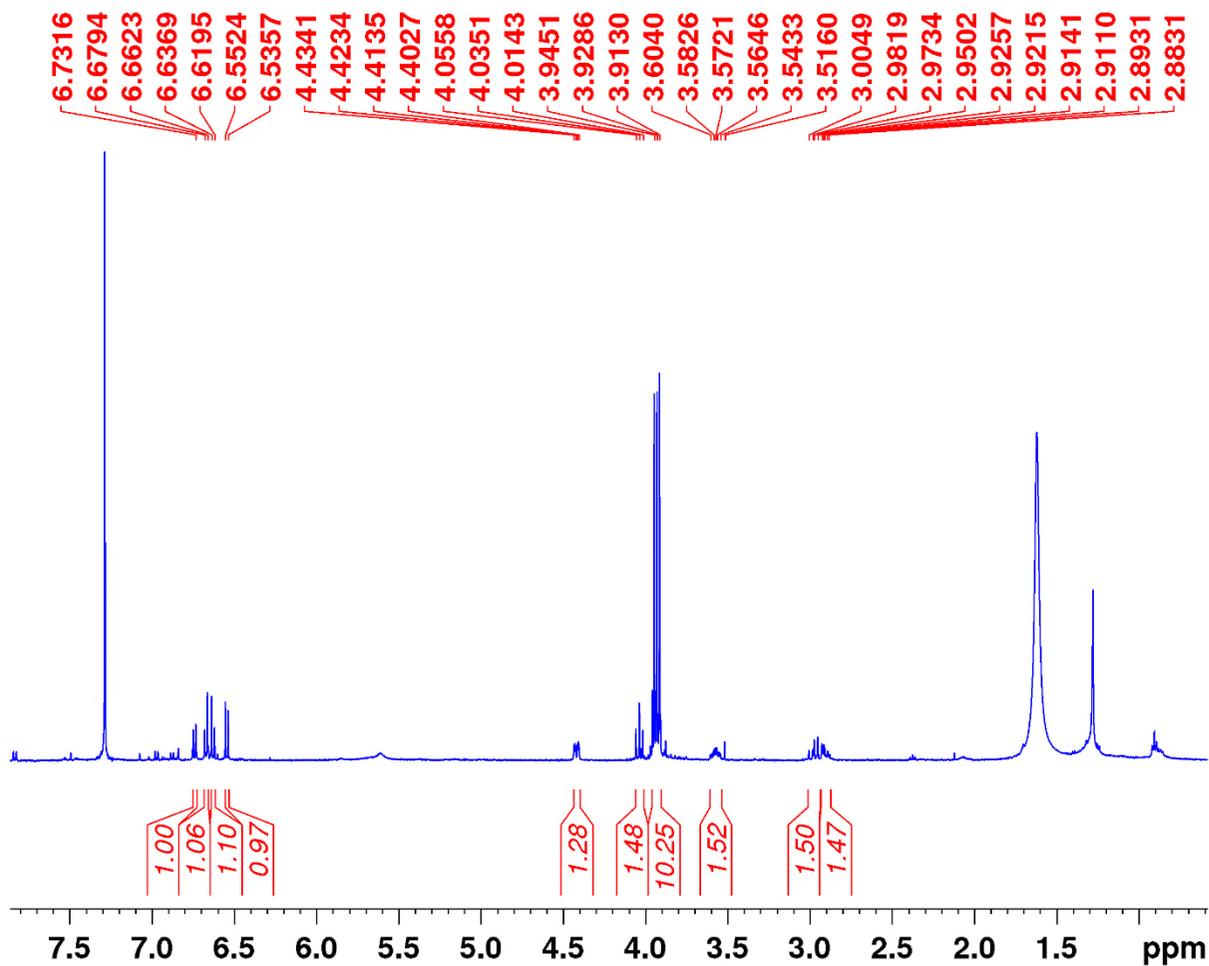


Figura 63. Estrutura de 8-(3',4'-dihidroxi-7,8,2'-trimetoxiisoflavana).

Tabela 21. Dados de RMN da substância 8 (CDCl₃).

N°	Substância 8			Literatura (Carvalho, 1992)	
	RMN ¹ H	RMN ¹³ C	HMBC	RMN ¹ H	RMN ¹³ C
	δ multi; J (Hz)	δ (ppm)		δ multi; J (Hz)	δ (ppm)
1	----	----	---	----	---
2a	4,42 (m) e	70,51	31,50; 31,59	4,37 t (10,4)	70,4
2b	4,03 t (10,3)			3,99 t (10,4)	
3	3,59 (m)	31,59		3,6-3,4 (m)	31,48
4a	2,92 (m)	31,50	31,59; 115,34	2,02 dd (15,0 e 5,0)	31,49
4b	2,95 (m)			2,92 dd (15 e 10)	
5	6,73 d (8,35)	124,27	31,50; 147,56	6,70 d (8,3)	124,15
6	6,55 d (8,35)	107,01	115,34; 134,97	6,50 d (8,3)	107,02
7	----	147,56	----	----	147,49
8	----	134,97	----	----	134,78
9	----	147,56	----	----	147,07
10	----	115,34	----	----	115,23
1'	----	127,27	----	-----	127,18
2'	----	145,73	----	-----	145,25
3'	----	138,71	----	-----	138,61
4'	----	139,19	----	-----	146,64
5'	6,67 d (8,57)	106,48	127,27; 138,71; 139,19	6,58 d (8,6)	106,44
6'	6,63 d (8,70)	116,98	31,59; 145,73	6,62 d (8,6)	116,86
MeO	3,94 (s)	61,03	134,97	3,87 (s)	60,89
MeO	3,92 (s)	60,97	145,73	3,86	56,10
MeO	3,91 (s)	56,23	147,56	3,88	60,84



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters

NAME NMR-512-23_HELENA GARCIA
 EXPNO 1
 PROCNO 1

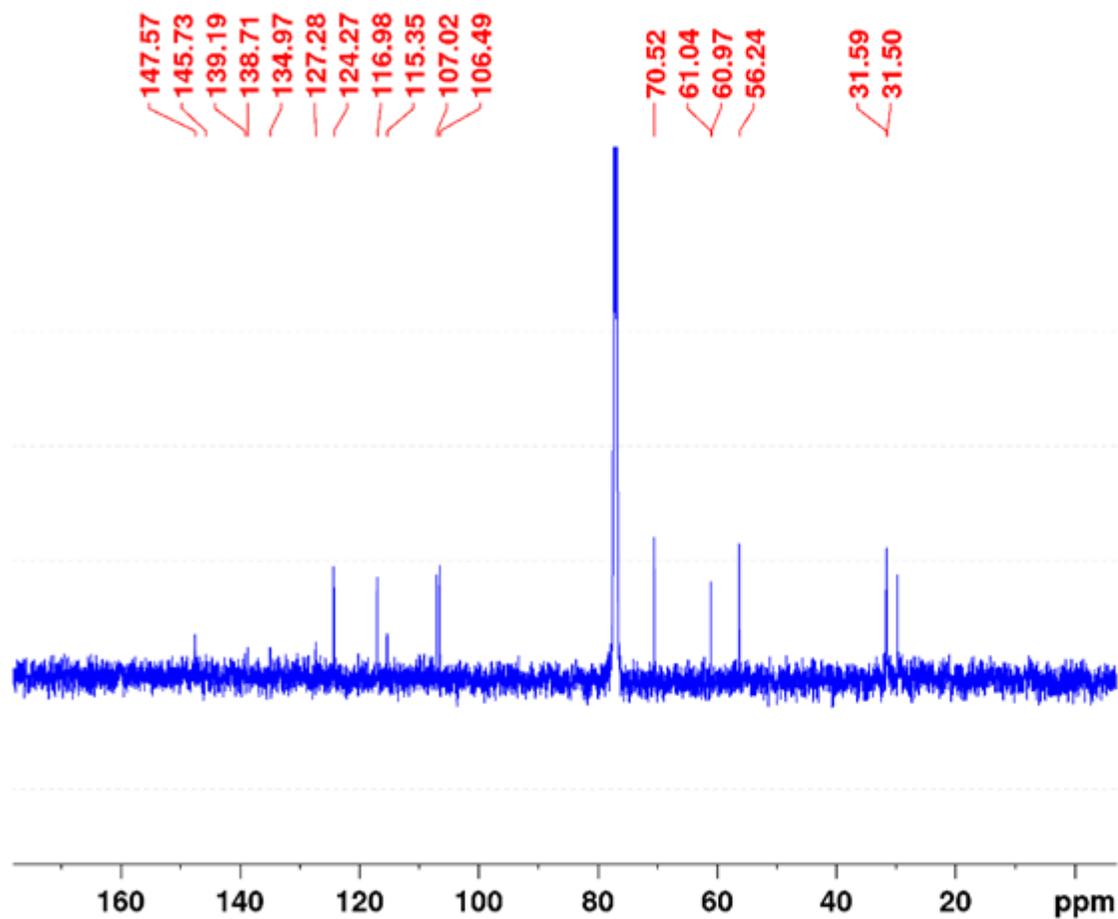
F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20230614
 Time 15.27 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 (
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 2
 SWH 10000.000 Hz
 FIDRES 0.305176 Hz
 AQ 3.2767999 sec
 RG 187.25
 DW 50.000 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.2 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1
 SFO1 500.1330883 MHz
 NUC1 1H
 P0 3.33 usec
 P1 10.00 usec
 PLW1 20.32299995 W

F2 - Processing parameters

SI 131072
 SF 500.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 64. Espectro de RMN ^1H de 8 (500 MHz, CDCl_3)



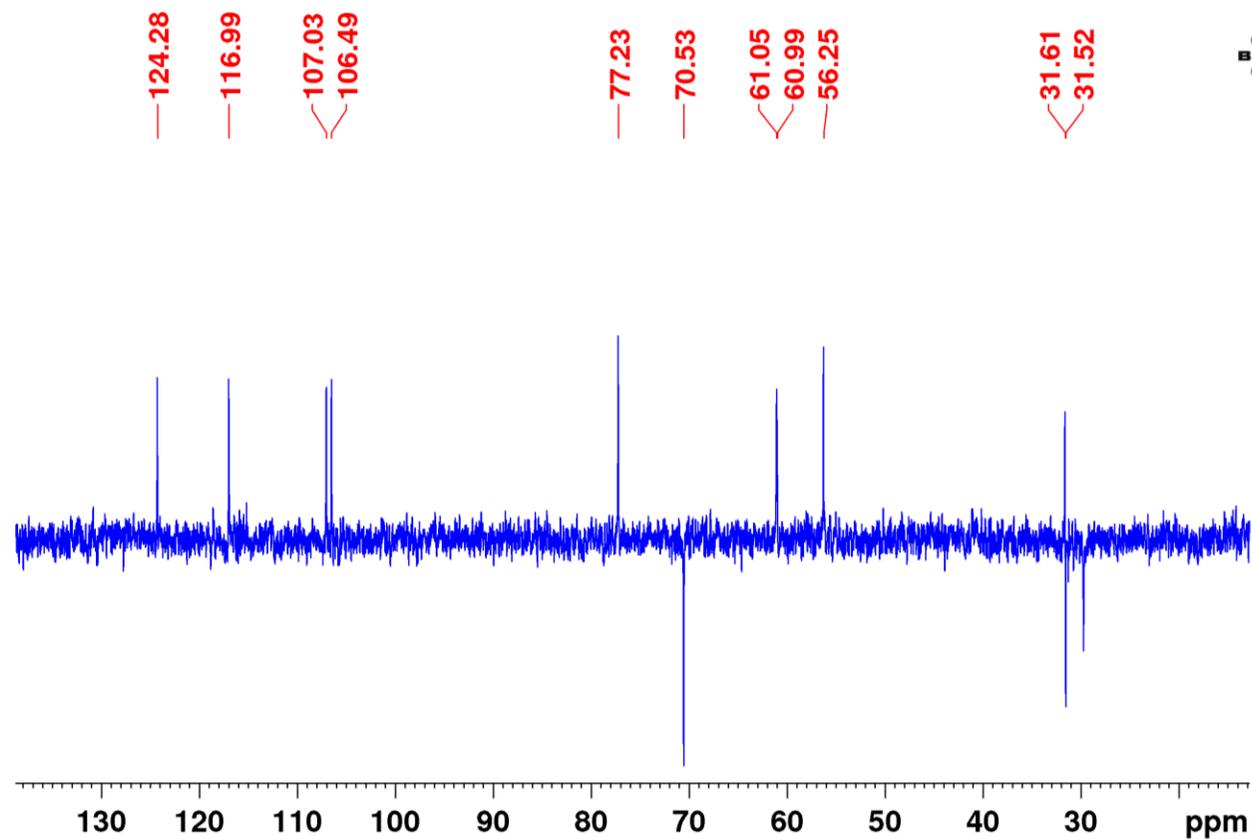
BRUKER TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME NMR-512-23_HELENA GARCIA
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230614
 Time 20.28 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 ()
 PULPROG zgpg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 16384
 DS 16
 SWH 29761.904 Hz
 FIDRES 1.816522 Hz
 AQ 0.5505024 sec
 RG 187.25
 DW 16.800 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.1 K
 D1 0.20000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TD0 1
 SFO1 125.7716219 MHz
 NUC1 13C
 P0 3.33 usec
 P1 10.00 usec
 PLW1 76.11100006 W
 SFO2 500.1320005 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 PCPD2 80.00 usec
 PLW2 20.32299995 W
 PLW12 0.31755000 W
 PLW13 0.15972000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 125.7577898 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 3.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 65. Espectro de RMN ^{13}C de 8 (125 MHz, CDCl_3)



TopSpin TopSpin 3.6.2

Current Data Parameters
 NAME NMR-512-23_HELENA GARCIA
 EXPNO 3
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20230615
 Time 0.54 h
 INSTRUM spect
 PROBHD Z119470_0223 (
 PULPROG deptsp135
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 6144
 DS 8
 SWH 29761.904 Hz
 FIDRES 1.816522 Hz
 AQ 0.5505024 sec
 RG 187.25
 DW 16.800 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.1 K
 CNST2 145.000000
 D1 2.00000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D12 0.00002000 sec
 TD0 1
 SFO1 125.7716219 MHz
 NUC1 13C
 P1 10.00 usec
 P13 2000.00 usec
 PLW0 0 W
 PLW1 76.11100006 W
 SPNAM[S] Crp60comp.4
 SPOAL5 0.500
 SPOFFS5 0 Hz
 SPW5 11.62899971 W
 SFO2 500.1320005 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 P3 10.00 usec
 P4 20.00 usec
 PCPD2 80.00 usec
 PLW2 20.32299995 W
 PLW12 0.31755000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 125.7577885 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 3.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 66. Espectro de RMN DEPT 135 de 8 (125 MHz, CDCl₃)

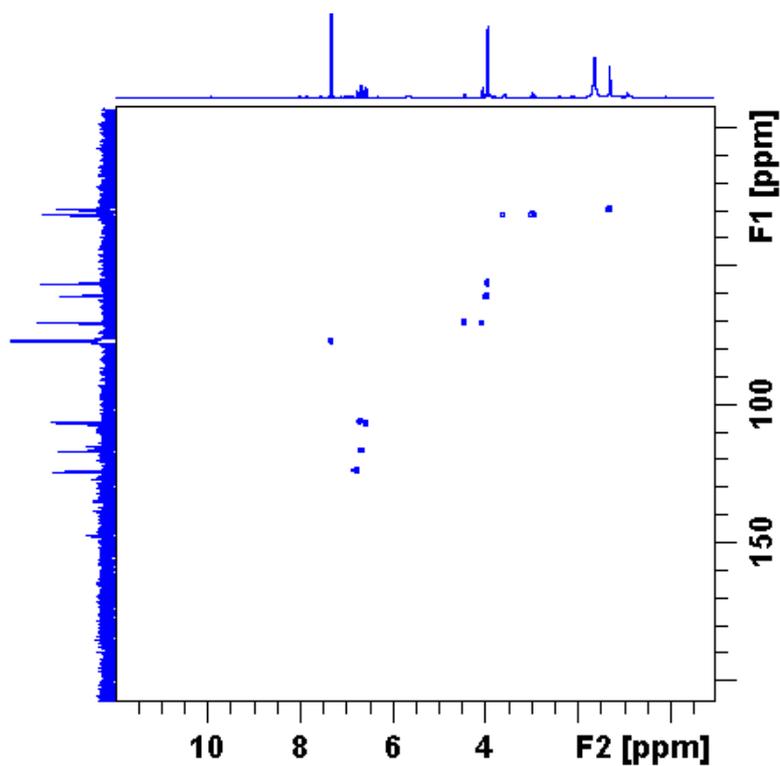


Figura 67. Mapa de correlação HSQC de 8 (500/125 MHz, CDCl₃).

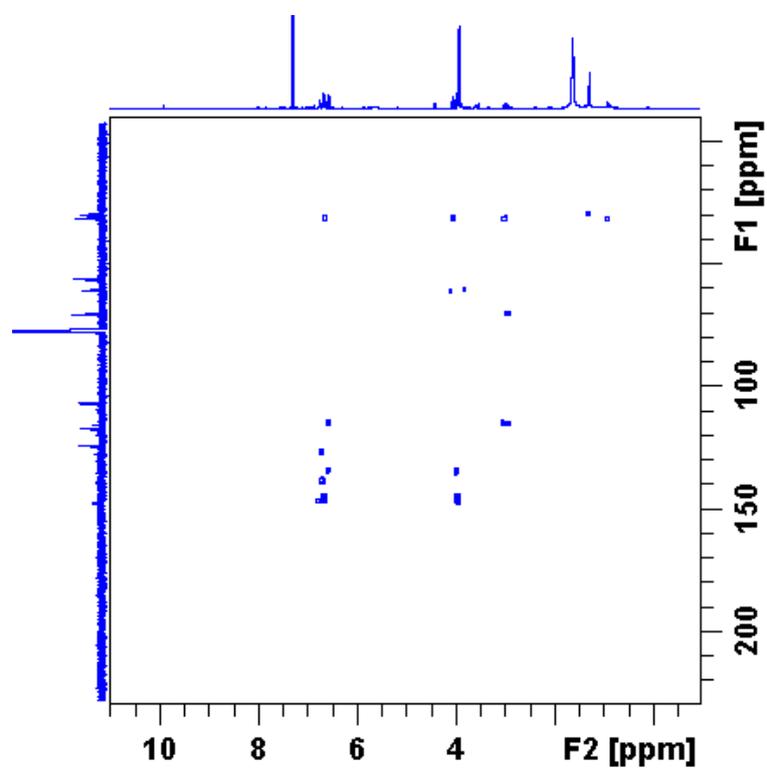


Figura 68. Mapa de correlação HMBC de 8 (500/125 MHz, CDCl₃).

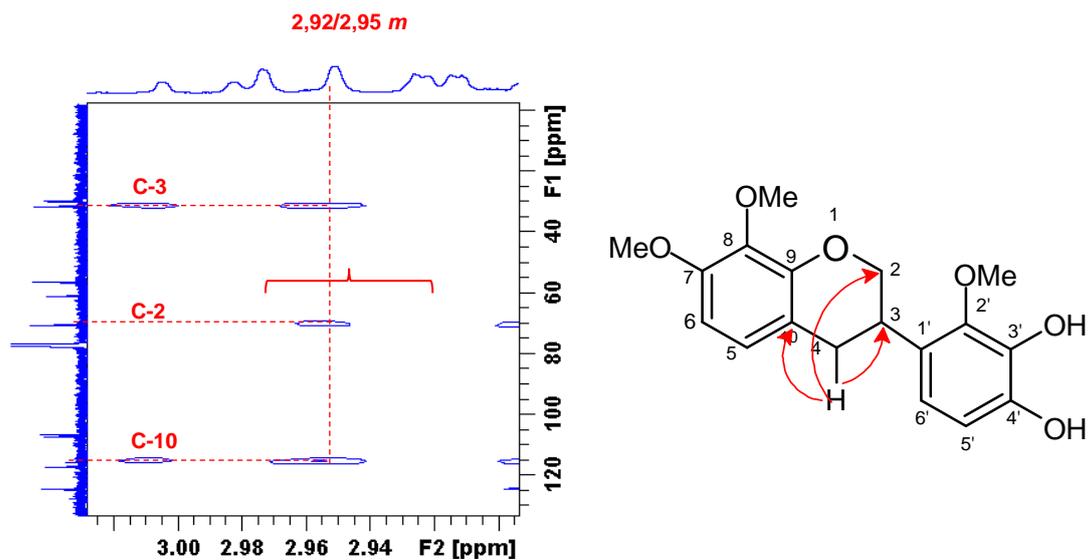


Figura 69. Expansão do HMBC na região δ_H 3.2–2.9 δ_C 120-10 de 8.

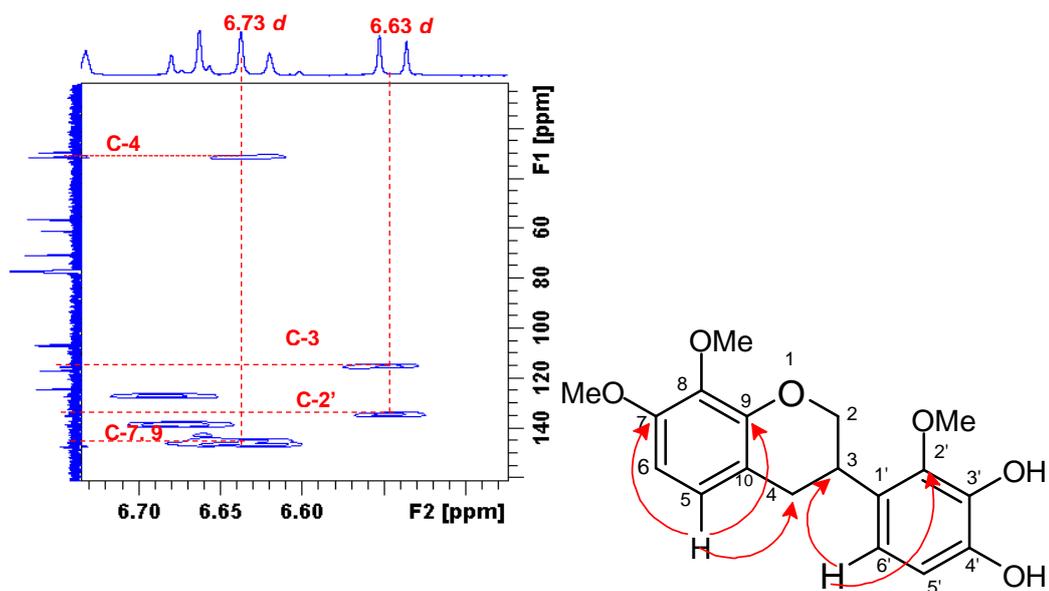


Figura 70. Expansão do HMBC na região δ_H 6,7-6,5 δ_C 140-10 de 8.

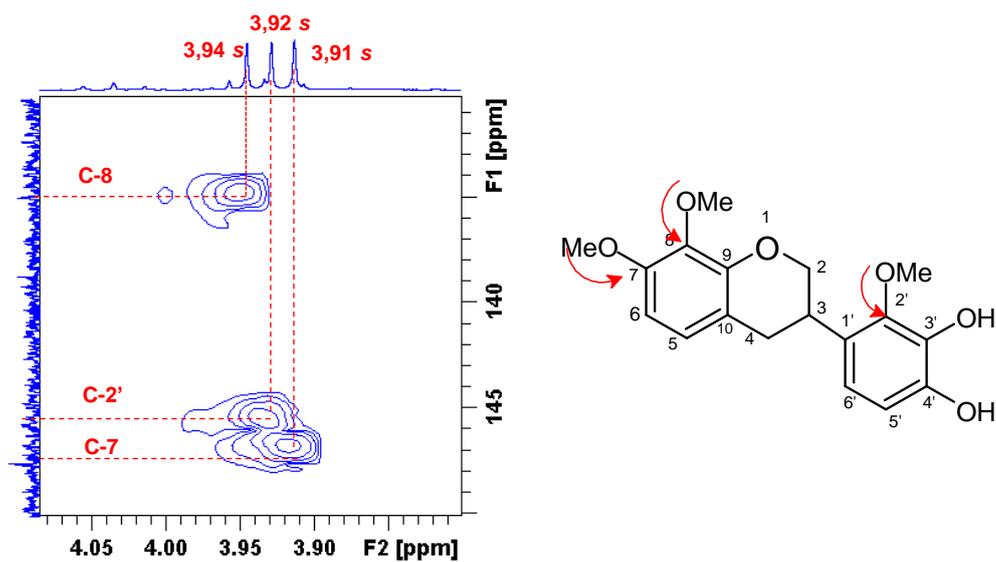
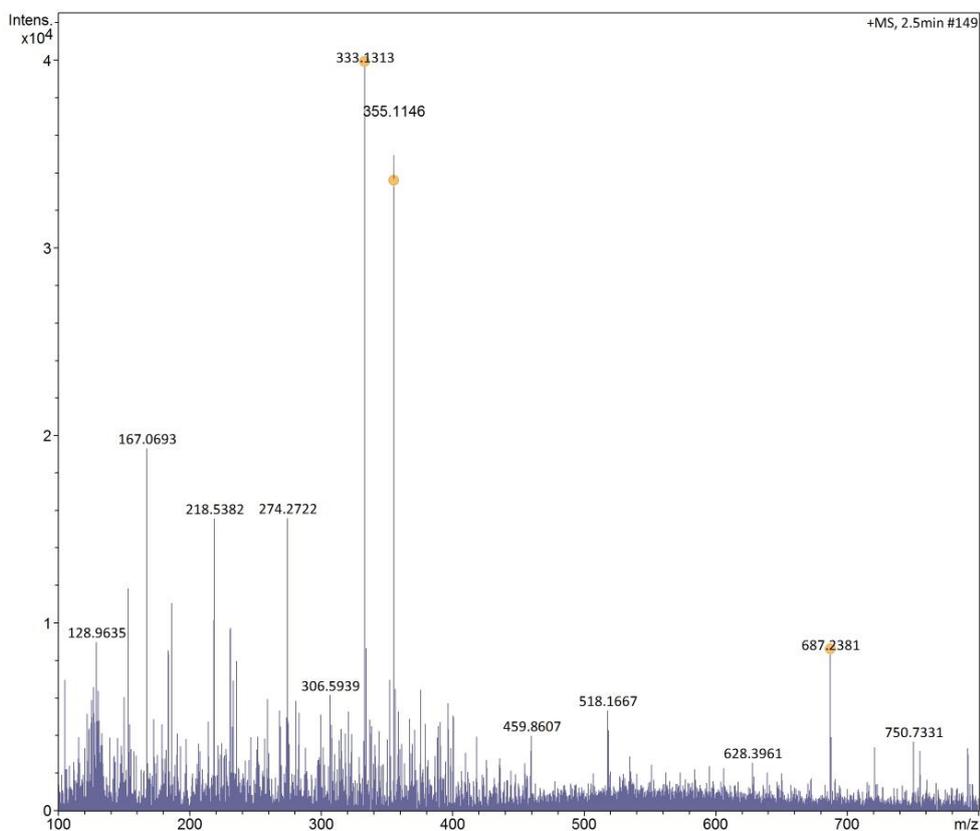


Figura 71. Expansão do HMBC na região δ_H 4,0-3,8 δ_C 150-135 de 8.

Generic Display Report

Analysis Info Acquisition Date 8/1/2023 1:07:25 PM
Analysis Name D:\Data\Usuarios\2023\DaPaz\Alunos\Helena\MS\31-07-2023\ID_ESI+_DSM_73_53 CA.d
Method TuneLow_ESI+_NaFo_SActive_50-1200_10mM_Padrão2023.m Operator BDAL@DE
Sample Name ID_ESI+_DSM_73_53 CA Instrument micrOTOF-Q
Comment

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
333.1313	1	C18H21O6	333.1333	5.8	11.4	100.00
355.1146	1	C18H20NaO6	355.1152	1.7	2.8	100.00
687.2381	1	C36H40NaO12	687.2412	4.5	38.6	41.20



Bruker Compass DataAnalysis 4.2

printed: 8/1/2023 1:25:39 PM

by: BDAL@DE

Page 1 of 1

Figura 72. Espectro de massas de 8 DSM-73.5.3 (ESI/EM, modo positivo)

7 Atividade inseticida

O resultado de mortalidade obtido no teste *in vitro* da substância maackiaina (3) frente ao inseto *Bemisia tabaci* são apresentados na tabela 22. Em resumo o tratamento demonstra que o isoflavonoide (3) obteve um resultado expressivo ao efeito de mortalidade causado nas ninfas com 35,74%, mostrando uma diferença de apenas 7% com a controle comercial utilizado (Evidence WG700®). Esse é o primeiro relato de atividade inseticida com o isoflavonoide maackiaina.

Tabela 22. Taxa de mortalidade obtida no teste de sensibilidade frente a *Bemisia tabaci*.

Taxas de mortalidade dos insetos	
Princípios testados	(% e D.P.)
Evidence	42,7 ± 1,07
Maackiaina	35,7 ± 0,89
Acetona	16,9 ± 0,4

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos fitoquímicos dos extratos em hexano e metanol de *Dalbergia spruceana*, permitiram o isolamento de oito substâncias. No extrato hexano, foram obtidos esteroides (sitosterol e estigmaterol), flavonoide (maackiaina) e o ácido graxo lignocérico que foi majoritário do extrato.

No extrato metanólico as classes de substâncias isoladas foram fenilpropanoide (elemicina), neoflavonoide (dalbergina) e quatro flavonoides (8-hidroxi-7-metoxi-3',4'-metilendioxipterocarpano, maackiaina, 8,4,2' trihidroxi-7,4'-dimetoxiisoflanovol e 3',4'-dihidroxi-7,8,2'-trimetoxiisoflavana). Vale ressaltar que as duas últimas substâncias são inéditas na literatura. É importante ressaltar que, os flavonoides estão sendo predominantes no extrato metanólico, especialmente a maackiaina. Os flavonoides representam uma classe importante de metabólitos secundários, com grande variedade de atividades biológicas relatadas na literatura. Diante disso, foi realizado ensaio inseticida frente ao inseto *Bemisia tabaci* (Mosca branca) com a substância majoritária maackiaina e os resultados mostram uma diferença de 7% mortalidade, quando comparado com a droga comercial Evidence WG700®.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERGARIA, N. M., CIVIDANES, F. J., & DÓRIA, H. O. 2003. Tabela de vida ecológica de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, 32, 559-563.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group). 2023. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>, Acesso em: 02 jan. 2023.
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399-436
- ARRUDA, R. F., ALVES-OLHER, V. G., VANDRESEN, F., SCHUQUEL, I. T. A., BERSANI-AMADO, C. A., NAKAMURA, C. V., & SILVA, C. C. 2018. Estudo Químico e Avaliação das Atividades Anti-Inflamatória, Antitumoral e Antioxidante das Partes Aéreas de *Aeschynomene sensitiva*. *Virtual Química*, 10, 684-697.
- BALDIN, E.L.L.; CRUZ, P. L.; MORANDO, R.; SILVA, I.F.; BENTIVENHA, J.P.F.; TOZIN, L.R.S.; RODRIGUES, T. M. 2017. Characterization of Antixenosis in Soybean Genotypes to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype B. *Journal of Economic Entomology*
- BLANCA, E. B.; PERALTA-CRUZ, J.; GONZALÉZ-LAREDO, R. F.; KARCHESY, J. 2004. Neocaandenate, na isoflavan-cinnamylphenol quinone methide pigment from *Dalbergia congestiflora*. *Phytochemistry*, 65, 925-928.
- CARVALHO A. A.; SANTOSA L. R.; FREITASA J. S.; CHAVES, M. H. 2020. Isoflavonoides da Tribo Dalbergieae: uma Contribuição Quimiosistemática para a Subfamília Papilionoideae, *Química Nova*, 9, 1294-131.
- Carvalho, M. D., & BRAZ FILHO, R. 1993. Novas técnicas de RMN e os deslocamentos químicos dos átomos de ¹H e ¹³C da isoflavana duartina. *Química Nova*, 16, 89-94.
- CASTELLANO, G.; TORRENS, F. 2015. Quantitative Structure-Antioxidant Activity Models of Isoflavonoids: A Theoretical Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 12891–12906.
- CHEENPRACHA, S.; KARALAI, C.; PONGLIMANONT, C.; KANJANA-OPAS, A. 2009. Candenateins A–F, Phenolic Compounds from the Heartwood of *Dalbergia candenatensis*. *Journal of Natural Products*, 72, 1395–1398.
- CHOI, C. W. Choi, Y. H., Cha, M. R., Yoo, D. S., Kim, Y. S., Yon, G. H., ... & Ryu, S. Y. 2010. Yeast α -Glucosidase Inhibition by Isoflavones from Plants of Leguminosae as an *in Vitro* Alternative to Acarbose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9988–9993.
- COOK. J. T.; OLLIS. D. W. SUTHERLAND. L. O.; GOTTLIEB. O.R. 1978. Pterocarpans from *Dalbergia spruceana*. *Phytochemistry*, 17, 1419–1422.

- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, 262p.
- DÂNGELO, R.A.C.; MICHEREFF-FILHO, M.; CAMPOS, M.R.; DA SILVA, P.S.; GUEDES, R.N.C. 2017. Insecticide resistance and control failure likelihood of the whitefly *Bemisia tabaci* (MEAM1; B biotype): a Neotropical scenario. *Annals of Applied Biology*, 1, 234
- EMBRAPA tomate, Manejo Integrado de Mosca Branca. ISSN 1414-9850 comunicado de alerta Brasília: Embrapa tomate 2005
- ENGLER, A. 1964. Syllabus der Pflanzenfamilien. Berlin: Gerbruder Borntraeger, 193p.
- FEITOZA, R. B. B.; LIMA, H. R. P. 2021. Chemosystematic and evolutionary trends of the genistoid clade sensu stricto (Papilionoideae, Fabaceae). *Phytochemistry*, 183, 112-616.
- Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 02 jan. 2023.
- GALLO, DOMINGOS. Entomologia agrícola. Entomologia agrícola. FEALQ. 2002. Gênica Inovação Biotecnológica. Disponível em: <http://genica.provisorio.ws/pragas/mosca-branca>,
- GODA, Y. 1985. Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from *Dalbergia odorifera*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 33, 5606–560.
- GRIESMANN, M.; *et al.* 2018. Phylogenomics reveals multiple losses of nitrogen-fixing root nodule symbiosis. *Science*, 361, 1-17.
- HAJARE, S. W.; CHANDRA, S.J.; TANDAN, S. K.; LAL, J.; TELANG, A. G. 2001. Antiinflammatory activity of *Dalbergia sissoo* leaves. *Fitoterapia*, 72, 131-139.
- HASSOLD, S.; *et al* 2016. DNA Barcoding of Malagasy Rosewoods: Towards a Molecular Identification of CITES-Listed *Dalbergia Species*. *PLOS ONE*, 11, 157-881.
- HOROWITZ, A. RAMI; GHANIM, MURAD; RODITAKIS, EMMANOUIL; NAUEN, RALF; ISHAAYA, ISAAC. 2020. Inseticida resistance and its management in *Bemisia tabaci species*. *Journal of Pest Scie*, 93, 893-910.
- IDAM - Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. Disponível em: http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2021/09/RAIDAM2020_web_vfinal.pdf
- ITO, C.; *et al.* 2003. Isoflavonoids from *Dalbergia olivari*. *Phytochemistry*, 64, 1265–1268.
- JUNG, H. J.; KANG, S. S.; HYUN, S. K.; CHOI, J. S. 2005. In Vitro Free Radical and ONOO-Scavengers from *Sophora flavescens*, *Archives of Pharmacal Research*, 28, 534–540.

- KAENNAKAM, S.; SIRIPONG, P.; TIP-PYANG, S. 2017. Cytotoxicities of two new isoflavanes from the roots of *Dalbergia velutina*. *Journal of Natural Medicines*, 71, 310–314.
- KAENNAKAM, S.; SUKANDAR, E. R.; RASSAMEE, K.; SIRIPONG, P.; Tip-pyang, S. 2019. Cytotoxic chalcones and isoflavones from the stems of *Dalbergia velutina*. *Phytochemistry Letters*, 3, 187–191.
- KHAN, I. A.; AVERY, M. A.; BURANDT, C. L.; GOINS, D. K.; MIKELL, J. R.; NASH, T. E.; AZADEGAN, A.; WALKER, L. A. 2000. Antigiardial Activity of Isoflavones from *Dalbergia frutescens*, Bark. *Journal of Natural Products*, 63, 1414–1416.
- KITE, G. C.; Green P. W.C.; Veitch N. C.; GROVES, M. C.; Gasson P. E.; Simmonds M. S.J. 2010. Dalnigrin, a neoflavonoid marker for the identification of Brazilian rosewood (*Dalbergia nigra*) in *CITES enforcement*. 71, 1122–1131.
- LAVIN, M.; HERENDEEN, P.; W, MARTIN 2005. Evolutionary Rates Analysis of Leguminosae Implicates a Rapid Diversification of Lineages during the Tertiary. *Systematic Biology*, 54, 575–594.
- LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B; MACKINDER, B.; LOCK, M. 2005. Legumes of the world. *Royal Botanic Gardens, Kew*, 577p.
- LOUREIRO, A. A.; SILVA, M.F.; ALENCAR, J. C. 1979. Essências madeireiras da Amazônia. Manaus: CNPq/INPA/SUFRAMA. *Boletim de Pesquisa*, v. 1, p. 245.
- MORIMOTO, Masanori; FUKUMOTO, Hiromi; HIRATANI, Masaru; CHAVASIRI, Warinthorn; KOMAI, Koichiro. 2006. *Insect Antifeedants, Pterocarpanes and Pterocarpol, in Heartwood of Pterocarpus macrocarpus Kruz.. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70, 1864–1868.
- MUJUMDAR, A. M.; MISAR, A. V.; UPADHYE, A. S. 2005. Antidiarrhoeal activity of ethanol extract of the bark of *Dalbergia lanceolaria*. *Journal of ethnopharmacology*, 102, 213-216.
- MUTAI, P.; HEYDENREICH, M.; THOITHI, G.; MUGUMBATE, G.; CHIBALE, K.; YENESEW, A. 2013. 3-Hydroxyisoflavanones from the stem bark of *Dalbergia melanoxylon*: Isolation, antimycobacterial evaluation and molecular docking studies. *Phytochemistry Letters*, 6, 671–675.
- Nhan, N. T., Nguyen, P. H., Hanh, D. T. B., My, D. T. T., Nguyen, N. P. D., Phong, T. B., ... & To, D. C. 2022. Anti-inflammatory activity of ingredients from the heartwood of Vietnamese *Dalbergia oliveri* Gamble ex Prain. *European Journal of Inflammation*, 20, 172-172
- NNOCENT, E.; MAGADULA, J. J.; KIHAMPA, C.; HEYDENREICH, M. 2010. Bioactive Isoflavones from *Dalbergia vacciniifolia* (Fabaceae). *Natural Product Communications*, 5, 903 – 906.
- Padilha, G., Pozebon, H., Patias, L. S., Ferreira, D. R., Castilhos, L. B., Forgiarini, S. E., ... & Arnemann, J. A. 2021. Damage assessment of Bemisia tabaci and economic injury level on soybean. *Crop Protection*, 143, 105542.

- PARROTA, J. A. FRANCIS, J. K.; ALMEIDA, R. R. 1995. Trees of the Tapajós: a photographic field guide. Río Piedras: *USDA Forest Service*, 370p.
- RAPPOPORT, ZVI. 2000. CRC: handbook of tables for organic compound identification. *Boca raton*, 478p.
- RIZZINI, C.T. 1971. Árvores e madeiras úteis do Brasil. São Paulo: *Edgar Blucher*, 240p.
- RODRIGUES, D. R. S. ; SANTIAGO, W. O. ; SANTOS, H. C. ;_NASCIMENTO, C. C. ; SOUZA, J. V. B. ; CORTEZ, A. C. A. ; JENSEN, B. B. ; COMANDOLLI-WYREPKOWSKI, C. D. ; PEREIRA, A. MLIVIN. R. F. ; LIMA, MARIA P. 2022. 5-Alkylresorcinols From Roupala montana Aubl. Wood Residues And Their Leishmanicidal And Antifungal Activities.. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 13, 145-150.
- SARG, T.; ATEYA, A-M.; ABDEL-GHANI, A.; BADR, W.; SHAMS, G. 1999. Phytochemical and Pharmacological Studies of Dalbergia sissoo Growing in Egypt. *Pharmaceutical Biology*, 37, 54–62.
- SHEPARD, HAROLD HENRY. The chemistry and action of insecticides. The chemistry and action of insecticides. New York: *McGraw-Hill Book Co., Inc.* 1951.
- SILVA, E. L., MOREIRA, L. L. P. F., CARDOSO, W. C., KITAGAWA, R. R., BORGES, K. B., VIEIRA, P. C., ... & BORGES, W. S. 2021. Inhibitory Activity and Docking Studies of Cathepsin V for Isoflavanoids from Dalbergia miscolobium Benth, *Virtual de química*, 13, 136-145.
- SON, N. MUJUMDAR T.; KAMIJI, M.; HUONG, T. T.; KUBO, M.; CUONG, N. M.; FUKUYAMA, Y. 2019. Chemical constituents of the Vietnamese plants Dalbergia tonkinensis Prain and Cratoxylum formosum (Jack) Dyer in Hook and their DPPH radical scavenging activities. *Medicinal Chemistry Research*, 28,1441–1447
- SONGSIANG, U.; WANICH, S.; PITCHUANCHOM, S.; NETSOPA, S.; UANORN, K.; YENJAI, C. 2009. Bioactive constituents from the stems of *Dalbergia parviflora*. *Fitoterapia*, 80, 427-431.
- SOUZA, L.A.G. Guia da biodiversidade de Fabaceae do Alto Rio Negro. Manaus, 2012. 118 p
- SUEKANE R, DEGRANDE P. E, LIMA JUNIOR IS, QUEIROZ MVBM, RIGONI E. R. 2013. Danos da mosca-branca Bemisia tabaci (Genn.) e distribuição vertical das ninfas em cultivares de soja em casa de vegetação. *Instituto Biológico* 80, 151-158.
- SWAPAN, C. K.; HUANG, L.; FEKADU, F.; BROWN, D. M.; WANI, M. C.; WALL, M. E.; TUCKER, J. C. BEECHER, C. W. W.; KINGHORN, A. D. 1995. Isolation and Structure Identification of an Active DNA Strand-Scission Agent, (+)-3,4-di-hydroxy-8,9-Methylenedioxypterocarpan. *Journal of Natural Products*, 58, 1966–1969.
- UMEHARA, K. NEMOTO, K, MATSUSHITA, A., TERADA, E., MONTHAKANTIRAT, O., DE-EKNAMKUL, W., ... & NOGUCHI, H. 2009. Flavonoids from the Heartwood of the Thai Medicinal Plant Dalbergia parviflora and Their Effects on Estrogenic-

VEITCH, N. C. 2013. Isoflavonoids of the Leguminosae. *Natural Product Reports*, 30, 988-1027.

YAHARA, S; OGATA, T., SAIJO, R., KONISHI, R., YAMAHARA, J., MIYAHARA, K., & NOHARA, T. 1989 Isoflavan and Related Compounds from *Dalbergia odorifera*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, , 37, 979.

ZHAO, C; LIU, Y., CONG, D., ZHANG, H., YU, J., JIANG, Y., ... & SUN, J. 2013. Screening and determination for potential glucosidase inhibitory constituents from *Dalbergia odorifera* T. Chen using ultrafiltration-LC/ESI-MS. *Biomedical Chromatography*, 27, 1621–1629.