

XIRLEY PEREIRA NUNES

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS PARTES AÉREAS DE *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
“PROF. DELBY FERNANDES DE MEDEIROS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS
E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

**JOÃO PESSOA
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

XIRLEY PEREIRA NUNES

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS PARTES AÉREAS DE *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros”, Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de DOUTOR EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de Concentração: FARMACOQUÍMICA

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho

JOÃO PESSOA

2008

X000 x Nunes, Xirley Pereira.

Constituintes Químicos das partes aéreas de
Mimosa paraibana Barneby e *Mimosa tenuiflora* (Willd)
Poir. / Xirley Pereira Nunes. – João Pessoa, 2008.

000 f.: il.

Orientador: José Maria Barbosa Filho

Tese (doutorado) - UFPB / CCS / LTF

1. Constituintes Químicos. 2. *Mimosa paraibana*
Barneby. 3. *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.

UFPB / BC

CDU: 0000 (000)

XIRLEY PEREIRA NUNES

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Mimosa paraibana* Barneby e
Mimosa tenuiflora (Willd) Poir.**

Aprovado em ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho
(Universidade Federal da Paraíba)
Orientador

Prof. Dr. Davi Antas e Silva
(Universidade Federal Rural de Pernambuco)
Examinador Externo

Profa. Dra. Vanusia Cavalcanti França
(Universidade Estadual da Paraíba)
Examinadora Externa

Profa. Dra. Celidarque da Silva Dias
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinadora Interna

Prof. Dr. Eduardo de Jesus Oliveira
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador Interno

Aos meus pais, José Olímpio de Queiroga Nunes e Hozanana Pereira Nunes, ao meu esposo Julianeli Tolentino de Lima e a minha filha Brenda Pereira Tolentino Nunes e Lima.

Agradeço a Deus pela força nos momentos difíceis e orientação na busca pelos melhores caminhos a serem seguidos.

Ao meu pai, José Olímpio de Queiroga Nunes, pela educação e a minha mãe, Hozanana Pereira Nunes, pelo amor, educação e estímulo;

Ao meu esposo Julianeli Tolentino de Lima pelo apoio e ajuda neste trabalho e compreensão nos momentos que mais precisei. A minha filha, Brenda Pereira Tolentino Nunes e Lima, pelo amor, paciência e por já compreender alguns momentos de ausência;

Aos meus irmãos, Xenusa Pereira Nunes e Xirlenyo Olímpio Pereira Nunes, pelo carinho e apoio;

A D. Socorro, Juliene e Jullyanne pelo apoio nas horas que precisei. E a seu Antonino José de Lima (*in memoriann*) pela força e estímulo;

Ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho, pela convivência durante estes 10 anos, pelos ensinamentos, confiança e por acreditar no meu trabalho;

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz Filho, pela colaboração na obtenção dos espectros e pela ajuda nas determinações estruturais;

À Profa. Dra. Maria de Fátima Agra, por ter coletado, fornecido e identificado o material botânico;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do LTF/UFPB, principalmente, aos que me ajudaram, discutindo a teoria e a prática relacionada ao meu trabalho: Dr. Eduardo Jesus de Oliveira, Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha, Dra. Maria de Fátima Vanderlei; Dr. Aderson de Farias Dias, Dr. Jananabrata Battacharyya e Dr. Marcelo Sobral da Silva;

A Profa. Dra. Bagnólia Araújo Silva pela força e incentivo nas horas de conversa;

Aos colegas e amigos do Laboratório de Farmacoquímica, Thaíse, Camila, José Guedes, Marcos, Stanley, pelo apoio, ajuda e convívio em todos os momentos, o que foi importante para o meu crescimento pessoal e profissional;

Aos colegas de pós-graduação, Josean, Fernando e Albanita pelo convívio durante as disciplinas;

Às amigas, Ana Silvia, Daysianne e Gabriela sem cuja ajuda e amizade teria sido impossível vencer as dificuldades e desafios;

A Jackson Roberto pelo apoio na minha chegada a UNIVASF e pela ajuda nas horas que precisei me ausentar;

Ao amigo Vicente Carlos de Oliveira Costa, não apenas pelo apoio técnico, mas principalmente pela amizade, ajuda e compreensão em todos os momentos que precisei;

Ao amigo, Raimundo Nonato pelo apoio incondicional no laboratório durante todas as fases desse trabalho e também pela amizade e conversas durante estes 10 anos de convivência;

Ao Sr. Severino (Seu Bil) pela destilação dos solventes utilizados;

A Dinho por sempre está disponível e também pelo carinho;

A todos os funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, nos seus mais diversos setores, em especial à Tânia Araújo, Francisca Barreto, Piodéssimo Almeida e Gilmar Araújo, pelo apoio permanente durante todo o período em que fiz parte dessa equipe;

Aos membros da Banca de Qualificação e da Banca Examinadora, pelas dicas, correções, críticas e sugestões que ajudaram a enriquecer este trabalho;

Ao Governo Federal, e todos que pagam seus impostos em dia, por terem patrocinado meus estudos;

Ao Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e à Universidade Federal da Paraíba, pela infra-estrutura;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro concedido na forma de bolsa de estudos e ainda da “taxa de bancada”, que me auxiliou na apresentação dos resultados, aqui descritos, em eventos científicos regionais, nacionais e internacionais em todo o Brasil;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela disponibilização de artigos científicos com livre acesso no Portal Periódicos;

E a Glória Maria, funcionária do LTF, que me apresentou ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho em setembro de 1998, onde tudo começou e onde aqui encerro minha caminhada como aluna de pós-graduação.

RESUMO

Duas espécies da família Mimosaceae, *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir., foram submetidas a estudo fitoquímico. Através de métodos cromatográficos, isolou-se da fase clorofórmica obtida a partir das partes aéreas de *Mimosa paraibana*, seis constituintes químicos, sendo eles β -sitosterol, estigmasterol, 15¹-hidroxi-feofitina a, 5,7-dihidroxi-flavanona, 3,4,5-trihidroxibenzoato de etila e o ácido *p*-cumárico, todos descritos pela primeira vez na espécie em estudo. Das partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* foram isolados da fase clorofórmica sete constituintes químicos, 4',5-dihidroxi-3',7'-trimetoxiflavona, 5,7-dihidroxi-3,4',6-trimetoxiflavona, 4',5-dihidroxi-7-metoxiflavanona, 4',5-dihidroxi-3',6,7-trimetoxiflavona, 4',5-dihidroxi-7-metoxiflavona, 4',5-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona e 3',4',5-trihidroxi-7-metoxiflavanona, também descritos pela primeira vez na espécie em estudo. A identificação estrutural dos constituintes químicos isolados foi realizada através de métodos espectroscópicos como Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono-13, com o auxílio de técnicas bidimensionais, HOMOCOSY, NOESY, HMQC e HMBC.

Palavras-chave: *Mimosa paraibana*, *Mimosa tenuiflora*, constituintes químicos

ABSTRACT

A phytochemical study was accomplished with two members of Mimosaceae family, *Mimosa paraibana* Barneby and *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. From the aerial parts of *Mimosa paraibana* six compounds were isolated using chromatographic methods: β -sitosterol, stigmasterol, 15¹-hydroxyphaeophytin a, 5,7-dihydroxyflavanone, ethyl 3,4,5-trihydroxybenzoate and *p*-coumaric acid. All of these compounds were isolated for the first time from this species. The phytochemical investigation of *Mimosa tenuiflora* led to the isolation of five flavones: 4',5-dihydroxy-3,3',7-trimethoxyflavone, 5,7-dihydroxy-3,4',6-trimethoxyflavone, 4',5-dihydroxy-3',6,7-trimethoxyflavone, 4',5-dihydroxy-7-methoxyflavone, 4',5-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone and two flavanones: 4',5-dihydroxy-7-methoxyflavanone and 3',4',5-trihydroxy-7-methoxyflavanone, reported here for the first time in the species under study. The structural identification of all compounds was made by means of spectroscopic methods such as Fourier-transform Infrared Spectroscopy and ¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance, with the aid of two dimensional techniques, such as HOMOCOSY, NOESY, HMQC and HMBC.

Keywords: *Mimosa paraibana*, *Mimosa tenuiflora*, chemical constituents

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Foto da exsicata de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby (A), detalhes das folhas e inflorescências (B) e do código de registro no Herbário LTF (C).....	37
Figura 02. Foto da exsicata de <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd. (A), detalhes das folhas e frutos (B) e do código de registro no Herbário LTF (C).....	38
Figura 03. Constituintes Químicos de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	49
Figura 04. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-01.....	54
Figura 05. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-01.....	55
Figura 06. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-01.....	55
Figura 07. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Mp-01.....	56
Figura 08. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Mp-01.....	57
Figura 09. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Mp-01.....	57
Figura 10. Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de Mp-02.....	63
Figura 11. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-02.....	64
Figura 12. Expansão do espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) de Mp-02.....	65
Figura 13. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-02.....	65
Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Mp-02.....	66
Figura 15. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Mp-02.....	67
Figura 16. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Mp-02.....	67
Figura 17. Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02.....	68
Figura 18. Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02 ..	69
Figura 19. Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02.....	70
Figura 20. Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02 ..	

Figura 21. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02.....	72
Figura 22. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02.....	73
Figura 23. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02.....	74
Figura 24. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02.....	75
Figura 25. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02.....	76
Figura 26. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03	81
Figura 27. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03.....	82
Figura 28. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03.....	83
Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Mp-03	84
Figura 30. Espectro de COSY (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03	85
Figura 31. Expansão do espectro de COSY (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03	86
Figura 32. Expansão do espectro de COSY (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03	86
Figura 33. Espectro HMQC (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03.....	87
Figura 34. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, MeOD) de Mp-04.....	91
Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, MeOD) de Mp-04.....	92
Figura 36. Espectro HMQC (200 MHz, MeOD) de Mp-04	93
Figura 37. Espectro de RMN de ^1H de Mp-05 (MeOD, 200 MHz)	95
Figura 38. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Mp-05 (MeOD, 200 MHz).....	96
Figura 39. Constituintes Químicos de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir.....	97
Figura 40. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01	103
Figura 41. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01.....	104

Figura 42. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de Mt-01	105
Figura 43. Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01	106
Figura 44. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01.....	107
Figura 45. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01	108
Figura 46. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01.....	109
Figura 47. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01.....	110
Figura 48. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01	111
Figura 49. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02	117
Figura 50. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02.....	118
Figura 51. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de Mt-02	119
Figura 52. Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02.....	120
Figura 53. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02.....	121
Figura 54. Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02	122
Figura 55. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02.....	123
Figura 56. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02	124
Figura 57. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02.....	125
Figura 58. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02	126
Figura 59. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02.....	127
Figura 60. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03	132

Figura 61. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	133
Figura 62. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03	133
Figura 63. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03	134
Figura 64. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03	135
Figura 65. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03	136
Figura 66. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	137
Figura 67. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	137
Figura 68. Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	138
Figura 69. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	139
Figura 70. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	139
Figura 71. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	140
Figura 72. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03.....	141
Figura 73. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-03.....	141
Figura 74. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04.....	146
Figura 75. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04	147
Figura 76. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04	148
Figura 77. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04	149
Figura 78. Expansão do espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04.....	150
Figura 79. Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04	151

Figura 80. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04.....	152
Figura 81. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	157
Figura 82. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	158
Figura 83. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	158
Figura 84. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	159
Figura 85. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	160
Figura 86. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	161
Figura 87. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	161
Figura 88. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	162
Figura 89. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	163
Figura 90. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	164
Figura 91. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05.....	164
Figura 92. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	169
Figura 93. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	170
Figura 94. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	170
Figura 95. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	171
Figura 96. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	172
Figura 97. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	172
Figura 98. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	173

Figura 99. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	174
Figura 100. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	174
Figura 101. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06	175
Figura 102. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	176
Figura 103. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	176
Figura 104. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06	177
Figura 105. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	178
Figura 106. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06.....	178
Figura 107. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	183
Figura 108. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	184
Figura 109. Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07	184
Figura 110. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	185
Figura 111. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	186
Figura 112. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07	186
Figura 113. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07	187
Figura 114. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	188
Figura 115. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	188
Figura 116. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07	189

Figura 117. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	190
Figura 118. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07	191
Figura 119. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07.....	192
Figura 120. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-07.....	192
Figura 121. Biossíntese de flavonóides.....	193
Figura 122. Estrutura Básica dos Flavonóides.....	194
Figura 123. Diferentes classes de flavonóides.....	195
Figura 124. Esquema das posições de modificações freqüentes observadas em flavonóides.....	196

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Mp-01a/Mp-01b.....	52
Tabela 02. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mp-01a/Mp-01b (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com dados da literatura (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990).....	53
Tabela 03. Dados de RMN ^1H e ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de Mp-02.....	61
Tabela 04. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Mp-02 (200 MHz, CDCl_3) com modelo da literatura (300 MHz, CDCl_3).....	62
Tabela 05. Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Mp-03.....	79
Tabela 06. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mp-03 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com dados da literatura (δ , DMSO-d_6), (AGRAWAL, 1989).....	80
Tabela 07. Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Mp-04	89
Tabela 08. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mp-04 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com dados da literatura (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990).	90
Tabela 09. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H de Mp-05 em MeOD com os da literatura (MIHARA et al, 2004).....	94
Tabela 10. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-01 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{\text{CH}}$), duas ($^2J_{\text{CH}}$) e três ($^3J_{\text{CH}}$) ligações ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em CDCl_3	101
Tabela 11. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-01 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO-d_6), (AGRAWAL, 1989).....	102
Tabela 12. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-02 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de	

uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em $CDCl_3$	115
Tabela 13. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-02 (δ , $CDCl_3$, 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).....	116
Tabela 14. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-03 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O	130
Tabela 15. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-03 (δ , C_3D_6O , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).....	131
Tabela 16. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-04 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O	144
Tabela 17. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-04 (δ , C_3D_6O , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).....	145
Tabela 18. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-05 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O	155
Tabela 19. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-05 (δ , C_3D_6O , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).....	156
Tabela 20. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-06 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O	167
Tabela 21. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-06 (δ , C_3D_6O , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (HASE, et al., 1995).....	168

Tabela 22. Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-07 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O181

Tabela 23. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-07 (δ , C_3D_6O , 100 MHz) com dados da literatura ($CDCl_3$ e $DMSO-d_6$), (AGRAWAL, 1989).....182

LISTA DE QUADROS

Quadro 01. Constituintes químicos de algumas espécies do gênero <i>Mimosa</i>	29
Quadro 02. Dados referentes à triagem fitoquímica realizada com o extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	42
Quadro 03. Dados referentes à triagem fitoquímica realizada com o extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd.....	42
Quadro 04. Procedimento cromatográfico em coluna de sílica gel da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	46
Quadro 05. Procedimento cromatográfico em coluna de sílica gel da fase clorofórmica II do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir.....	48

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 01. Obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby	41
Fluxograma 02. Obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd.	41
Fluxograma 03. Fracionamento do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	43
Fluxograma 04. Fracionamento do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd.....	44
Fluxograma 05. Particionamento cromatográfico da fase clorofórmica de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	46
Fluxograma 06. Particionamento cromatográfico da fase clorofórmica II de <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

CC: Cromatografia em Coluna

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP: Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

COSY: Correlation Spectroscopy

d: Duplete

dd: Duplo duplete

DMSO_{d6}: Dimetilsulfóxido deuterado

EtOH: Etanol

FM: Fórmula Molecular

HA: Hidroalcoólica

Hex.: Hexano

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

IV: Infravermelho

J: constante de acoplamento

m: Multiplete

MeO: Metoxila

MeOH: Metanol

NOESY: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

PM: Peso Molecular

ppm: Partes por milhão

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RMN-2D: Ressonância Magnética Nuclear bi-dimensional

s: Simpleto

u.m.a.: Unidades de massa atômica

OBS: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	26
2.1 Considerações sobre a família Fabaceae, a subfamília Mimosoideae e o gênero <i>Mimosa</i>	26
2.2 Considerações sobre <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	33
2.3 Considerações sobre <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poiret.....	34
2.3.1 Considerações botânicas de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poiret.....	34
2.3.2 Constituintes químicos de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poiret.....	35
2.3.3 Atividades farmacológicas de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poiret.....	35
3 OBJETIVOS	36
3.1 Geral	36
3.2 Específicos	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 MATERIAL VEGETAL	37
4.2 MÉTODOS DE ANÁLISE	38
4.2.1 Métodos cromatográficos	38
4.2.2 Métodos espectrométricos	39
4.2.3 Pontos de fusão	40
4.3 PROCESSAMENTO DAS PARTES AÉREAS DE <i>MIMOSA PARAIBANA</i> BARNEBY E <i>MIMOSA TENUIFLORA</i> WILLD.....	40
4.3.1 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby e <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd.	40
4.3.2 Avaliação fitoquímica preliminar dos constituintes químicos	41
4.3.3 Fracionamento do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby... ..	43
4.3.4 Fracionamento do extrato etanólico bruto de <i>Mimosa tenuiflora</i> Willd	44

4.3.5 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	45
4.3.6 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica II de <i>Mimosa tenuiflora</i> Will.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Constituintes químicos isolados da fase clorofórmica de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	49
5.2 Identificação dos constituintes químicos de <i>Mimosa paraibana</i> Barneby.....	50
5.2.1 Identificação estrutural de Mp-01	50
5.2.2 Identificação estrutural de Mp-02.....	58
5.2.3 Identificação estrutural de Mp-03	77
5.2.4 Identificação estrutural de Mp-04.....	88
5.2.5 Identificação estrutural de Mp-05	94
5.3 Constituintes químicos isolados da fase clorofórmica de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir.....	97
5.4 Identificação dos constituintes químicos de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir...98	
5.4.1 Identificação estrutural de Mt-01	98
5.4.2 Identificação estrutural de Mt-02	112
5.4.3 Identificação estrutural de Mt-03	128
5.4.4 Identificação estrutural de Mt-04	142
5.4.5 Identificação estrutural de Mt-05	153
5.4.6 Identificação estrutural de Mt-06	165
5.4.7 Identificação estrutural de Mt-07	179
5.5 Considerações químicas sobre flavonóides.....	193
6 CONCLUSÕES	199
REFERÊNCIAS.....	201
APÊNDICE.....	217

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca por alívio e cura de doenças através da ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações oriental e ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa. A medicina tradicional chinesa desenvolveu-se com tal grandiosidade e eficiência que até hoje muitas espécies e preparados vegetais medicinais são estudados na busca pelo entendimento de seu mecanismo de ação e no isolamento dos princípios ativos (VIEGAS et al., 2006).

A aplicação das plantas medicinais na terapêutica é vasta e abrange desde o combate ao câncer até a microrganismos patogênicos (SILVA; CARVALHO, 2004; CALIXTO, 2000). As plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos, para a obtenção de vários fármacos, até hoje amplamente utilizados na clínica, como a emetina, a vincristina, a colchicina e a rutina. A cada momento são relacionadas na literatura novas moléculas, algumas de relevante ação farmacológica como a forskolina, o taxol e a artemisinina (CECHINEL FILHO, 1998).

Até meados do século XX, as plantas medicinais e seus derivados constituíam a base da terapêutica medicamentosa, quando a síntese química, que teve início no final do século XIX, iniciou uma fase de desenvolvimento vertiginoso. Atualmente cerca de 50 % dos medicamentos utilizados são de origem sintética e cerca de 25 % são de origem vegetal, isolados ou produzidos por semi-síntese (CALIXTO, 2000). No entanto, durante os últimos 20 anos, os fármacos de origem natural que surgiram no mercado são, quase que na totalidade, oriundos das pesquisas científicas de países como China, Coréia e Japão, sendo que a contribuição dos outros países é bem menor (YUNES; CECHINEL FILHO, 2001).

A pesquisa em produtos naturais é uma das áreas mais tradicionais da química no Brasil, devido a fatores históricos e à grande biodiversidade do país. A formação científica dos pesquisadores e a infraestrutura dos laboratórios são bastante adequadas para o desenvolvimento de pesquisa de qualidade na área. A maioria dos trabalhos está voltada para o isolamento e a identificação de substâncias, muitas vezes associada a ensaios biológicos ou estudos quimiotaxonômicos. Estes trabalhos têm gerado um número significativo de publicações em revistas indexadas internacionais e nacionais, além de contribuir expressivamente para a formação de recursos humanos competentes na área de produtos naturais (PUPO et al., 2007).

A pesquisa em produtos naturais tem se inserido tradicionalmente na interface entre química e biologia. A maioria dos trabalhos em produtos naturais envolve a busca de novas substâncias e moléculas bioativas. Tais trabalhos sempre terão espaço, uma vez que muitas das fontes de produtos naturais são ainda pouco exploradas (PUPO et al., 2007).

A pesquisa fitoquímica tem por objetivo conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar sua presença em tais espécies. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre as espécies de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar o grupo de metabólitos secundários relevante da mesma. Caso o interesse esteja restrito a uma classe específica de constituintes ou às substâncias responsáveis por uma certa atividade biológica, a investigação deverá ser direcionada para o isolamento e a elucidação estrutural da mesma (SIMÕES et al., 1999).

O panorama para a fitoquímica é muito mais importante e decisivo para o Brasil, ao considerarmos sua grande riqueza vegetal ainda sem estudo e as possibilidades para o desenvolvimento de novos medicamentos. Torna-se, portanto, necessária à implantação de um programa comprometido, contínuo e eficiente, como o requerido para qualquer conquista de valor na área científico-tecnológica (YUNES; CECHINEL FILHO, 2001).

Dentro deste aspecto, cabe ressaltar a necessidade de uma atuação multidisciplinar que o estudo com as plantas exige, incluindo desde o ponto de vista fitoquímico, até estudos abordando os aspectos agrotecnológico, microbiológico, farmacológico e biotecnológico, de tal forma que esta

integração possa propiciar uma ampliação nas possibilidades na busca de novas moléculas ativas (FOGLIO et al., 2006).

Diante destas justificativas, evidenciamos a importância do estudo das plantas medicinais para a obtenção de novas moléculas bioativas, obtendo-se, portanto, protótipos para a síntese de novas moléculas ou para adaptar as moléculas já existentes, tornando-as mais potentes ou ativas.

Contribuindo com os estudos de plantas do Nordeste brasileiro para a descoberta de novas substâncias químicas, tomou-se como objeto de estudo as espécies *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret, plantas pertencentes à Família Fabaceae (Leguminosae) e a subfamília Mimosoideae. A espécie *Mimosa paraibana* é encontrada em várias áreas do estado da Paraíba e conhecida popularmente como “jurema”. Não foi encontrado nenhum estudo químico nem farmacológico envolvendo esta espécie, justificando assim o estudo fitoquímico com a espécie em questão. Já *Mimosa tenuiflora*, é conhecida na medicina popular como “jurema-preta” (ANDRADE-LIMA 1989; LEWIS 1998), e as casca do caule desta espécie é utilizada tradicionalmente para fins medicinais para tratamento de úlceras externas e a casca de sua raiz usada nas cerimônias religiosas para elaboração de um vinho (ALBUQUERQUE, 1997). Embora esta espécie já tenha sido submetida a alguns estudos fitoquímicos (DOMINGUEZ et al., 1989; AMECKES-LOZOYA, 1990 ; LEON et al., 2004), sua grande utilização pela população, principalmente no Nordeste, justifica a importância de novos estudos com o propósito de se conhecer detalhadamente a composição química e possibilitar a segurança e eficácia na utilização desta espécie.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Fabaceae, a subfamília Mimosoideae e o gênero *Mimosa*

A Fabaceae é uma grande família de ervas, arbustos e árvores com grande variedade de habitats, incluindo aquáticas, xerófitas e trepadeiras. Tem distribuição cosmopolita nas zonas tropicais, subtropicais e temperadas (HEYWOOD, 1996) e é constituída por 476 gêneros e 13.855 espécies (STEVENS, 2001).

Segundo Stevens (2001), a família Fabaceae (Leguminosae) é dividida nas subfamílias *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* e *Faboideae* (*Papilionideae*). As espécies das subfamílias *Caesalpinioideae* e *Mimosoideae* são encontradas principalmente nas regiões tropicais, enquanto que os representantes das *Faboideae* estão, preferencialmente, em regiões temperadas (BARROSO, 1991).

A subfamília Mimosoideae possui cerca de 82 gêneros e mais de 4000 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, especialmente nas áreas áridas (STEVENS, 2001). Esta família caracteriza-se botanicamente como árvores, arbustos (principalmente) ou ervas (raramente), resinosas ou não resinosas. Suas folhas são verdes o ano inteiro, suas flores pequenas, bissexuais ou raramente unissexuais e seu fruto é usualmente um legume (NEILSON, 1992).

Dentre gêneros desta subfamília os mais conhecidos são *Acácia*, *Albizia*, *Calliandra* e *Mimosa*. Numerosos membros desta família são importantes economicamente, especialmente nas regiões áridas e nos continentes pouco desenvolvidos. São usadas como fonte de madeira para construção, forragem para ração animal e como ornamentais (NEILSON, 1992).

Do ponto de vista químico, esta subfamília é caracterizada pela presença de alcalóides, flavonóides e terpenóides.

Mimosa L. é um gênero de leguminosas pantropical, constando de cerca de 480 espécies, com uma maior concentração na América do Sul (NEILSON,

1992). As espécies deste gênero apresentam-se como ervas ou arbustos, raramente árvores, com folhas bipinadas, frequentemente sensíveis ao toque, flores pequenas, aglomeradas, hermafroditas, nas cores branca, rósea ou amarela, fruto em forma de vagem com 3 a 4 sementes. Na caatinga nordestina este gênero está representado por 40 espécies. Algumas espécies como *Mimosa pudica* L., *M. quadrivalvis* L. var. *leptocarpa* (DC.) Barneby, *M. pigra* L. e *M. invisá* Mart. var. *invisá* são conhecidas, na Malásia, como ervas daninhas que infestam grandes áreas agrícolas, residenciais, recreacionais, margens de estradas, áreas abandonadas e terras de mineração (UMI et al., 2003).

Algumas espécies de *Mimosa* são bem conhecidas pelo homem devido aos seus diversos usos, desde ornamentais até seu uso comercial. Vários estudos farmacológicos também têm sido realizados, dando ênfase aos seus usos populares na medicina folclórica, na tentativa de elucidar os mecanismos de ação responsáveis pelas propriedades curativas das plantas deste gênero.

Espécies deste gênero possuem grande importância etnofarmacológica, como *Mimosa ophthalmocentra* Mart., espécie bastante difundida em todo o Nordeste pelo seu uso em práticas místico-religiosas e na medicina popular como antisséptico e antiinflamatório (BATISTA, 1993).

Uma das espécies mais estudadas desde gênero tanto do ponto de vista químico como farmacológico é *Mimosa pudica* L., conhecida como sendo uma planta sensitiva, devido ao movimento rápido de suas folhas quando estimulada pelas mãos e dedos. Este movimento notável já é bem conhecido desde a era pré-cristã. O primeiro relato do movimento-folha de *Mimosa* foi feito na era de Alexandre na Grécia. Este movimento periódico das folhas é chamado de movimento nictinástico, cujo controle é realizado por um relógio biológico: as folhas abrem de dia e fecham à noite. Contudo, no começo do século 18, um cientista descobriu que o movimento nictinástico continua mesmo na escuridão (MINORU; SHOSUKE, 1999). Suas folhas e cascas são usadas, na Índia, contra veneno de escorpião e o extrato de suas raízes contra picada de cobra. Em laboratório, o extrato aquoso das raízes desta espécie apresentou atividade dose dependente em inibir a hialuronidase e proteases de venenos de serpentes indianas (GIRISH et al., 2004). Já o decocto das folhas

apresentou atividade anticonvulsivante em camundongos (NGO BUM et al., 2004). O extrato etanólico das folhas mostrou efeito hiperglicemiante em camundongos (AMALRAJ; IGNACIMUTHU, 2002). Desta espécie ainda são relatadas atividade diurética (PILLAI et al., 1978), antimalárica e citotóxica (TRAN et al., 2003), antiespasmódica (BHAKUNI et al., 1969), bactericida (SAMY et al., 1998), antiinflamatória (AGRAWAL; KAPADIA, 1982), dentre outras.

Podemos citar ainda *Mimosa pigra*, tradicionalmente usada na medicina popular para o tratamento de diarreias e outras infecções. Seus extratos metanólico e aquoso mostraram atividade antimicrobiana *in vitro* contra *Pseudomonas aeruginosa* (ROSADO-VALLADO et al., 2000).

Já *Mimosa verrucosa* Benth. é utilizada como agente antiinflamatório no estado da Bahia e apresentou atividade antioxidante *in vitro* (DESMARCHELIER et al., 1999).

De *Mimosa caesalpiniaefolia*, *Mimosa pigra*, *Mimosa pudica* e *Mimosa tenuiflora* foram citadas atividades antitumoral (MORAES et al., 1997), moluscicida (OKUNJI; IWU, 1988), diurética (PILLAI et al., 1978) e antibacteriana (MECKES-LOZOYA et al., 1990), respectivamente.

Um levantamento bibliográfico realizado no NAPRALERT (Natural Products ALERT, banco de dados da Universidade de Illinois) revelou a presença de vários tipos de compostos em espécies do gênero *Mimosa*. As classes de maior ocorrência no gênero são: alcalóides, saponinas, terpenóides e flavonóides e estão apresentadas no Quadro 01 (pág. 29).

QUADRO 01: Constituintes químicos de algumas espécies do gênero *Mimosa*.

Classe/Composto	Espécie/Parte utilizada	Referências
Derivado Proteico		
N-acetil-ácido djenólico	<i>M. acanthocarpa</i> (SE)	GMELIN et al., 1962
Albizina	<i>M. hemendyta</i> (C) <i>M. palmeri</i> (C)	GMELIN et al., 1959 GMELIN et al., 1959
Mimosina	<i>M. pudica</i> (NE)	TIWARI et al., 1967
Carotenóide		
Beta-caroteno		
Criptoxantina		
Epóxido luteína		
Luteoxantina	<i>M. biuncifera</i> (F)	KUDRITSKAYA et al., 1988
Neoxantina		
Taraxantina		
Violaxantina		
Beta-zeacaroteno		
Luteína	<i>M. invisá</i> (F) <i>M. biuncifera</i> (F)	LARGO et al., 1997 KUDRITSKAYA et al., 1988
Fenilpropanóide		
Ácido cinâmico	<i>M. caesalpiniaefolia</i> (F)	DE ALENCAR et al., 1976
Ácido <i>para</i> -cumárico	<i>M. pudica</i> (F)	KIRK et al., 2003
Triterpeno		
Ácido morúlico	<i>M. caesalpiniaefolia</i> (F)	DE ALENCAR et al., 1976
β -amirina	<i>M. rubicaulis</i> (R)	KUMAR; SEN, 1975
Friedelina	<i>M. rubicaulis</i> (R)	KUMAR; SEN, 1975
Lupeol	<i>M. tenuiflora</i> (C) <i>M. invisá</i> (PA)	ANTON et al., 1993 AGUIAR et al., 2007
Saponina		
3-O-alfa-L-arabinosideo do ácido morúlico	<i>M. caesalpiniaefolia</i> (F)	DE ALENCAR et al., 1976
Mimonosideo A	<i>M. tenuiflora</i> (C) <i>M. hamata</i> (R)	JIANG et al., 1992 ANTON et al., 1993 JIANG et al., 1991a JAIN et al., 1997a
Mimonosideo B	<i>M. hamata</i> (R)	JAIN et al., 1997a

Continuação	<i>M. tenuiflora</i> (C)	JIANG et al., 1992 ANTON et al., 1993 JAIN et al., 1997a
Mimonosídeo C	<i>M. hamata</i> (R) <i>M. tenuiflora</i> (C)	JAIN et al., 1997a JIANG et al., 1992 ANTON et al., 1993 JIANG et al., 1991b
Saponina A mimosa 3-O-L-arabinosil-D- glicosil do ácido morúlico	<i>M. hamata</i> (R)	JAIN et al., 1997
3-β-O-[α-L- raminopiranosil(1,1)-β- D-glicopiranosil(1,2)-β- D-glicopiranosil(1,4)[α- L-arabinopiranosil(1,3)]- β-D-xilopiranosil]-21-β- cis-trans-4-metoxi- cinamoil-oxi, ácido oleano-12-en-28-oico	<i>M. pigra</i> (CC)	ENGLERT et al., 1995
3-β-O-[α-L- raminopiranosil(1,2)-β- D-glicopiranosil(1,2)-β- D-glicopiranosil(1,4)[α- L-arabinopiranosil(1,3)]- β-D-xilopiranosil[2-β- trans-cinamoil-oxi ácido oleano-12-en-28-oico	<i>M. pigra</i> (CC)	ENGLERT et al., 1995
campesterol 3-O-β-D- glicopiranosídeo- stigmasterol 3-O-β-D- glicopiranosídeo-	<i>M. tenuiflora</i> (C)	ANTON et al., 1993
Benzenóide Ácido gálico	<i>M. hamata</i> (PA)	HUSSAIN et al., 1979
Éster metílico do ácido gálico	<i>M. hamata</i> (PA)	HUSSAIN et al., 1979
Éter-4-etílico do ácido gálico	<i>M. hamata</i> (FL) <i>M. rubicaulis</i> (FL)	MEHTA et al., 1988 MEHTA et al., 1988

continua

continuação		
Ácido gentísico	<i>M. pudica</i> (F)	GRIFFITHS, 1959
Fenol,4-(24'-metoxi-24'-metil-1'-oxo-5'-N-propil-tetracosanil	<i>M. pudica</i> (F)	JOSEWIN et al., 1999
Ácido 4-hidroxi-3-metoxi benzóico	<i>M. invisá</i> (PA)	AGUIAR et al., 2007
Esteróide		
Beta-sitosterol	<i>M. hamata</i> (R) <i>M. rubicaulis</i> (R) <i>M. pudica</i> (F) <i>M. tenuiflora</i> (C)	JAIN et al., 1997 KUMAR; SEN, 1975 JOSEWIN et al., 1999 ANTON et al., 1993
Daucosterol	<i>M. pudica</i> (F)	JOSEWIN et al., 1999
Estigmasterol	<i>M. tenuiflora</i> (C)	ANTON et al., 1993
Campesterol	<i>M. tenuiflora</i> (C)	ANTON et al., 1993
Sitosterol	<i>M. invisá</i> (PA)	AGUIAR et al., 2007
Diterpeno		
Labdano-8(17)-en-15-ol	<i>M. hostilis</i> (F)	FUKUYAMA et al., 1999
Labdano-8-15-diol	<i>M. hostilis</i> (F)	FUKUYAMA et al., 1999
Alcalóide		
<i>N,N</i> -dimetil-triptamina	<i>M. hostilis</i> (R) <i>M. ophthalmocentra</i> (R) <i>M. scabrella</i> (C) <i>M. somnians</i> (PI) <i>M. verrucosa</i> (C) <i>M. tenuiflora</i> (CC)	PACHTER et al., 1959 WILLAMAN; LI, 1970 SMITH, 1977 BATISTA et al., 1999 DE MORAES et al., 1990 GUPTA et al., 1979 SMITH, 1977 AMECKES-LOZOYA, 1990
Hordenina	<i>M. ophthalmocentra</i> (R)	BATISTA et al., 1999
<i>N</i> -metil-triptamina	<i>M. ophthalmocentra</i> (R) <i>M. scabrella</i> (C) <i>M. somnians</i> (PI)	BATISTA et al., 1999 DE MORAES et al., 1990 GUPTA et al., 1979
Triptamina	<i>M. scabrella</i> (C) <i>M. somnians</i> (PI)	DE MORAES et al., 1990 GUPTA et al., 1979
continua		

Continuação		
Nor-epinefrina	<i>M. pudica</i> (PI)	APPLEWHITE, 1973
1,2,3,4-Tetrahidro-2-metil β -carbolina	<i>M. scabrella</i> (C)	DE MORAES et al., 1990
Bufotenina	<i>M. somnians</i> (PI)	GUPTA et al., 1979
<i>N,N</i> -Dimetil-5-metoxi-triptamina	<i>M. somnians</i> (PI)	GUPTA et al., 1979
5-hidroxi-triptamina	<i>M. somnians</i> (PI) <i>M. tenuiflora</i> (CC)	GUPTA et al., 1979 AMECKES-LOZOYA, 1990
Flavonol		
Avicularina	<i>M. pudica</i> (PA)	LOBSTEIN et al., 2002
Hiperosideo		
Miricetina		
Quercitrina		
Isoquercitrina		
Flavona		
Cassiaocidentalina B	<i>M. pudica</i> (PA)	LOBSTEIN et al., 2002
Cosmosina		
4-Hidroxi maisina		
Orientina		
Isoorientina		
2-O-raminosil-isoorientina	<i>M. pudica</i> (R)	ENGLERT et al., 1994
2-O-raminosil-orientina		
3',5,7-Trihidroxi-4',5',6-trimetoxi:3'-O- α -L-raminopiranosideo, flavona	<i>M. rubicaulis</i> (F)	YADAVA et al., 1998
4',5',7'-Trihidroxi-3',5',6-trimetoxi:7-O- α -L-arabinopiranosil(1,6)-O- β -D-glicopiranosideo, flavona	<i>M. rubicaulis</i> (R)	YADAVA; AGRAWAL, 1998
3',4',7-trihidroxi-3,8-dimetoxiflavona	<i>M. pudica</i> (F)	KIRK et al., 2003
Sesquiterpeno		
Ácido jasmônico	<i>M. pudica</i> (PI)	TSURUM; ASAHI, 1985
		continua

Continuação		
Carboidrato D-pinitol	<i>M. pudica</i> (F)	SCHILDKNECHT; IYENGAR, 1975
Flavonóide Cuculcanina A Cuculcanina B	<i>M. tenuiflora</i> (C)	DOMINGUEZ et al., 1989
Cromonas Tenuiflorina A Tenuiflorina B Tenuiflorina C 6-dimetoxicapilarisina 6-dimetoxi-4'-O- metilcapilarisina	<i>M. tenuiflora</i> (F)	LEON et al., 2004

Legenda: C = Caule, CC = Casca do caule, F = Folhas, FL = Flores, NE = Não especificado, PA = Partes áreas, PI = Planta inteira, R = Raízes, SE = Semente.

FONTE: NAPRALERT (Natural PRoducts ALERT, banco de dados da Universidade de Illinois)

2.2 Considerações sobre *Mimosa paraibana* Barneby

Mimosa paraibana Barneby é encontrada em várias áreas do estado da Paraíba e conhecida popularmente como “jurema”. Em levantamento bibliográfico feito no Chemical Abstracts, Biological Abstracts, banco de dados NAPRALERT (NATURAL PRoducts ALERT), bem como, em diversos “sites” de busca na internet até o ano de 2008, não foi encontrado nenhum estudo químico envolvendo esta espécie. Portanto este estudo fitoquímico é pioneiro com a espécie em questão.

Em relação a estudos farmacológicos, a avaliação da bioatividade do extrato etanólico bruto e das fases das partes aéreas de *Mimosa paraibana* foi realizada frente à *Artemia salina* Leach por Nunes e colaboradores (2006) no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (Ver Apêndice). No mesmo ano Siqueira e colaboradores observaram a ação dual de *M. paraibana*, relatando um efeito espasmogênico e espasmolítico do extrato etanólico bruto em íleo isolado de cobaia (Ver Apêndice).

2.3 Considerações sobre *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poiret, sinonímia *Mimosa hostilis* (Mart.) Benth., é conhecida na medicina popular como “jurema-preta”, “calumbi” ou simplesmente “jurema”. É uma árvore típica da caatinga (ANDRADE-LIMA 1989; LEWIS 1998), ocorrendo em quase todo o Nordeste brasileiro, principalmente nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, sul do Piauí, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (LORENZI, 1998).

Além do Brasil, possui distribuição por outros países da América, como México, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicarágua, Panamá, Colômbia e Venezuela (CAMARGO; LUCIA, 2000). No México é popularmente conhecida como “Tepescohuite” sendo utilizada para o tratamento de lesões de pele (RIVERA-ARCE et al., 2007).

A casca do caule de *Mimosa tenuiflora* é utilizada tradicionalmente para fins medicinais e a casca de sua raiz usada nas cerimônias religiosas. Os índios empregavam a “jurema-preta” na elaboração de um vinho, hoje sacralizado nos sistemas de crença afro-brasileiros. Entre os indígenas havia o hábito de beber “jurema”, o que pode ser, também, entendido como o ato de inalar a fumaça por meio do cachimbo, que era feito com a raiz da própria planta. Em relação à composição do “vinho da jurema”, a partir do momento em que deixou o ambiente indígena, onde eram utilizadas apenas a casca do caule e da raiz acrescida de mel, agora se sabe que nos novos ambientes onde esta bebida se impõe com seu valor sacral, outros ingredientes são acrescentados (ALBUQUERQUE, 1997).

2.3.1 Considerações botânicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret

É uma planta de 4-6 m de altura, de ramos novos com pelos viscosos. Tronco levemente inclinado, de 20-30 cm de diâmetro, revestido de casca grosseira que se desprende em lâminas estreitas que se levantam nas extremidades deixando mostrar em baixo uma superfície vermelha. Bem adaptada para um clima seco, possui folhas pequenas alternas, compostas e bipinadas com uma ou muitos pares de pinas opostas. Possui espinhos e

apresenta bastante resistência às secas com grande capacidade de rebrota durante todo o ano. As inflorescências são subterminais, em espigas isoladas ou geminadas, de 4-8 cm de comprimento, com flores brancas. Floresce durante um longo período do ano, predominando, entretanto, nos meses de setembro-janeiro e os frutos amadurecem principalmente em fevereiro-abril (BRAGA, 1976).

Possui uma madeira pesada que apresenta diferença de cor entre rosa e castanho, sem odor característico e sabor ligeiramente amargo, brilho e textura mediana e hilo entrecruzado, as zonas de crescimento estão marcadas por bandas de parênquima axial (BARNEBY, 1991). Essa madeira é muito utilizada como fonte de energia (FARIA, 1984; OLIVEIRA, 2003), tendo assim um bom potencial para a produção de carvão vegetal (LORENZI, 1998), além de ser também muito utilizada como forrageira (CARVALHO FILHO; SALVIANO, 1992).

2.3.2 Constituintes químicos de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret

Em relação aos constituintes químicos desta espécie já foram isolados esteróides, triterpenos, saponinas (ANTON et al., 1993; JIANG et al., 1991) e flavonóides (DOMINGUEZ et al., 1989) do caule, alcalóides (AMECKES-LOZOYA, 1990) das cascas do caule e cromonas (LEON et al., 2004) das folhas (Quadro 1, pág. 09).

2.3.3 Atividades farmacológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret

Quanto a atividades farmacológicas desta espécie foi relatada atividade antibacteriana frente a *E. coli* (HODGSON; KENNEDY 2005), *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei* e *Staphylococcus aureus* (GONÇALVES et al., 2005), antitumoral (LIMA et al., 2006), antifúngica (LOZOYA et al., 1989), antiinflamatória (BORK et al., 1997), estimulante de músculos lisos (MECKES-LOZOYA et al., 1990) e citotóxica (VILLARREAL et al., 1991).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Contribuir para o estudo quimiotaxonômico da família Mimosaceae e em especial do gênero *Mimosa*, através do estudo químico das espécies *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* Will Poir.

3.2 Específicos

Analisar fitoquimicamente as partes aéreas das espécies *Mimosa paraibana* e *Mimosa tenuiflora*, através de métodos de extração, isolamento e purificação dos constituintes químicos.

Identificar e/ou elucidar as estruturas dos seus constituintes químicos presentes na fase clorofórmica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas de *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* Willd foram coletadas separadamente no município de Serra Branca, Estado da Paraíba, em abril de 2005. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra, do Setor de Botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” (LTF/UFPB). Exsicatas de *M. paraibana* e *M. tenuiflora* estão depositadas no Herbário LTF, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) sob o código Agra et al 6460 (Figura 01) e Agra et al. 1751, respectivamente (Figura 02, p. 38).

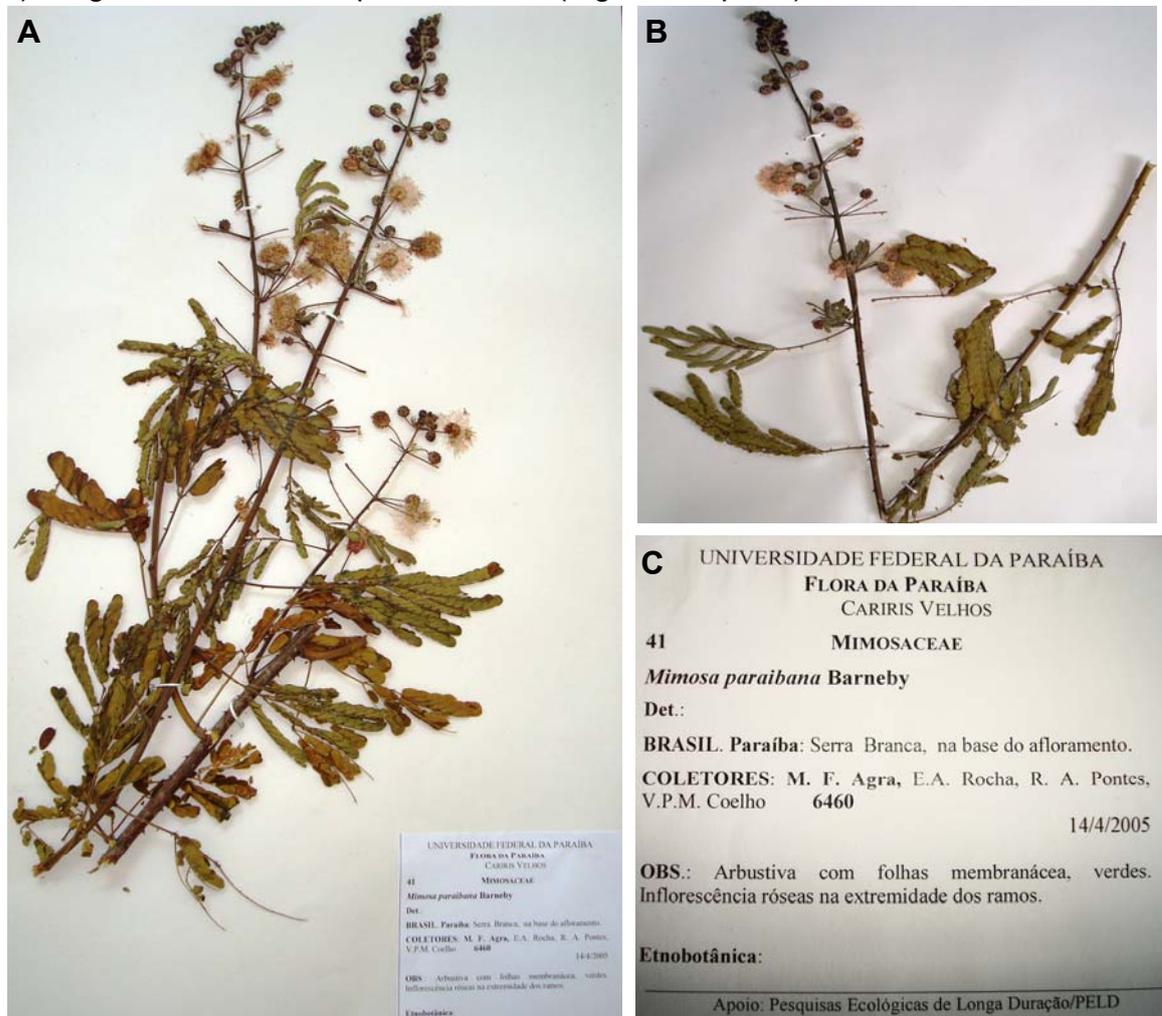


Figura 01. Foto da exsicata de *Mimosa paraibana* Barneby (A), detalhes das folhas e inflorescências (B) e do código de registro no Herbário LTF (C).



Figura 02. Foto da exsicata de *Mimosa tenuiflora* Willd. (A), detalhes das folhas e frutos (B) e do código de registro no Herbário LTF (C).

4.2 MÉTODOS DE ANÁLISE

4.2.1 Métodos cromatográficos

Na cromatografia de adsorção em coluna (CC) foi utilizada sílica gel 60, ART 7734 da MERCK, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm e na cromatografia de exclusão Sephadex LH -20. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras a serem

utilizadas. Para cromatografia em camada delgada (CCD), foi usada sílica gel 60 PF₂₅₄, ART 7749 da MERCK.

As revelações das substâncias nas CCD analíticas foram executadas pela exposição das placas à lâmpada de irradiação ultravioleta com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm) e/ou pela pulverização com o reagente anisaldeído sulfúrico. Também foi utilizado como revelador câmara saturada com vapores de iodo. O grau de pureza das substâncias foi evidenciado por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), determinando-se a pureza quando observada uma única mancha após revelação, em pelo menos três tipos de sistemas de eluição diferentes; como também pela determinação do ponto de fusão das substâncias (o critério de pureza adotado é que a diferença entre o início e o fim da fusão não seja maior que 3 °C).

Como fase móvel foram usados os solventes hexano, clorofórmio e metanol, (MERCK ou VETEC) isoladamente ou em misturas binárias em gradiente crescente de polaridade.

4.2.2 Métodos espectrométricos

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados em pastilha de KBr, em espectrofotômetro marca SHIMADZU.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H (RMN de ¹H) e Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C (RMN de ¹³C), uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro VARIAN Mercury 200, operando na frequência do hidrogênio a 200 MHz e do carbono a 50 MHz e espectrômetro JEOL 400, operando na frequência do hidrogênio a 400 MHz e do carbono a 100 MHz. As amostras para análise foram preparadas dissolvendo-se pequena quantidade das mesmas em solvente deuterado da MERCK (CDCl₃, MeOD e C₃D₆O). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e foram referenciados para RMN de ¹H pelos picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas destes solventes: clorofórmio ($\delta_H = 7,24$), metanol ($\delta_H = 3,30$) e acetona ($\delta_H = 2,04$). Para os espectros de RMN de ¹³C, estes mesmos parâmetros foram utilizados: clorofórmio ($\delta_C = 77,00$), metanol ($\delta_C = 49,00$) e acetona ($\delta_C = 29,80$).

As multiplicidades das bandas de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (simpleto), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *m* (multiplete).

4.2.3 Pontos de fusão

Os pontos de fusão das amostras foram determinados em aparelho para ponto de fusão com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kofler”, marca REICHERT, modelo R3279, com temperatura que varia de 0-350 °C. Os valores obtidos não foram corrigidos.

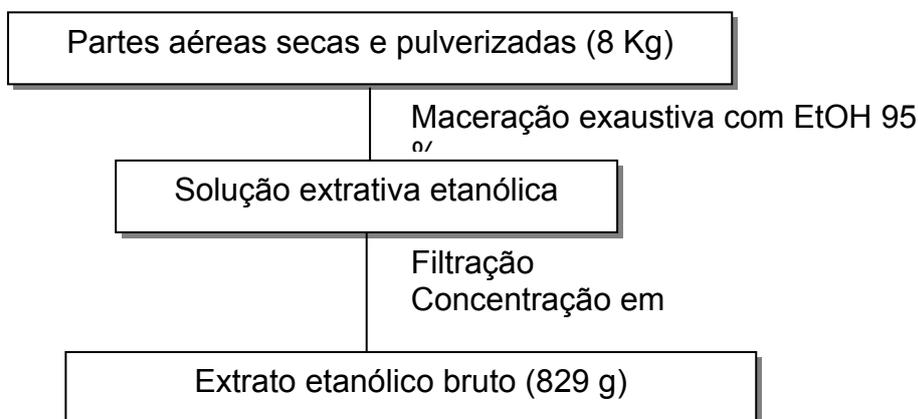
4.3 PROCESSAMENTO DAS PARTES AÉREAS DE *MIMOSA PARAIBANA* BARNEBY E *MIMOSA TENUIFLORA* WILLD.

As partes aéreas de *Mimosa paraibana* e *Mimosa tenuiflora* foram secas, separadamente, em estufa com ar circulante à temperatura média de 40 °C durante 3 a 4 dias. Após a secagem, o material vegetal foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 8 kg de pó de *Mimosa paraibana* e 1 Kg de pó de *Mimosa tenuiflora*.

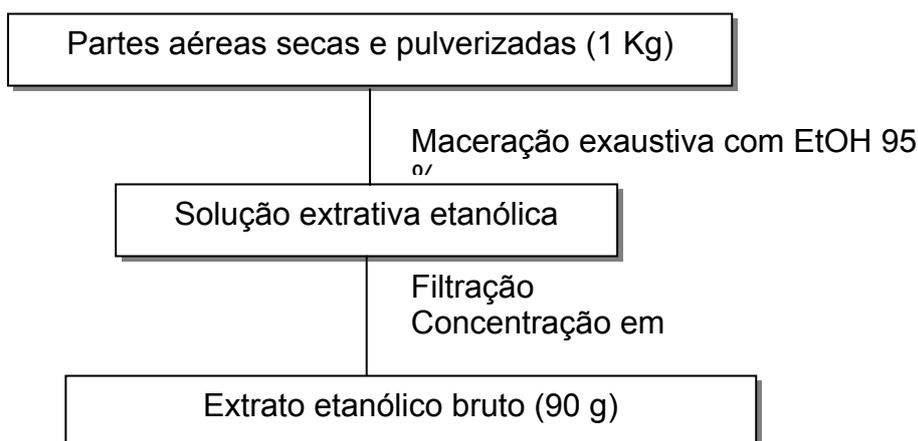
4.3.1 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) de *Mimosa paraibana* Barneby e *Mimosa tenuiflora* Willd.

O material vegetal seco e pulverizado de cada espécie foi submetido à maceração exaustiva com etanol (EtOH) a 95 %, em um recipiente de aço inoxidável. Foram feitos vários processos de extração em intervalo de 72 horas entre eles, para garantir uma máxima extração dos constituintes químicos. A solução etanólica obtida foi filtrada, fazendo-se, em seguida, a evaporação do solvente com o auxílio de um rotaevaporador a uma temperatura média de 50 °C. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se 829 g de EEB de *Mimosa paraibana* (Fluxograma 01, p. 41) e 90 g de EEB de *Mimosa tenuiflora* (Fluxograma 02, p. 41). Uma parte de cada extrato foi retirado para a avaliação fitoquímica preliminar.

FLUXOGRAMA 01. Obtenção do extrato etanólico bruto de *Mimosa paraibana* Barneby



FLUXOGRAMA 02. Obtenção do extrato etanólico bruto de *Mimosa tenuiflora* Willd.



4.3.2 Avaliação fitoquímica preliminar dos constituintes químicos

Esta triagem procura sistematizar, ou rastrear os principais grupos de constituintes químicos que compõem um extrato vegetal. É um exame rápido e qualitativo através de reagentes de coloração ou precipitação que irão revelar ou não a presença de metabólitos secundários presentes em um extrato. A triagem fitoquímica preliminar foi realizada com o extrato etanólico bruto de cada espécie, utilizando a metodologia descrita por Matos (1997). Os

resultados da triagem fitoquímica encontram-se sumarizados no Quadro 02 e 03 abaixo.

QUADRO 02. Dados referentes à triagem fitoquímica realizada com o extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Mimosa paraibana* Barneby.

Grupos químicos	Testes aplicados	Resultados
Alcalóides	Bouchardat	-
	Mayer	-
	Dragendorff	-
	Ácido sílico-tungstico	-
Esteróides e terpenóides	Lieberman-Buchard	++
Taninos	Cloreto férrico 2 %	++
Flavonóides	Shinoda	++
	Oxalo-bórico	++
Saponinas	Teste de espuma	-

(-) Reação negativa; (+) reação fracamente positiva; (++) reação positiva; (+++) reação fortemente positiva.

QUADRO 03. Dados referentes à triagem fitoquímica realizada com o extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* Willd.

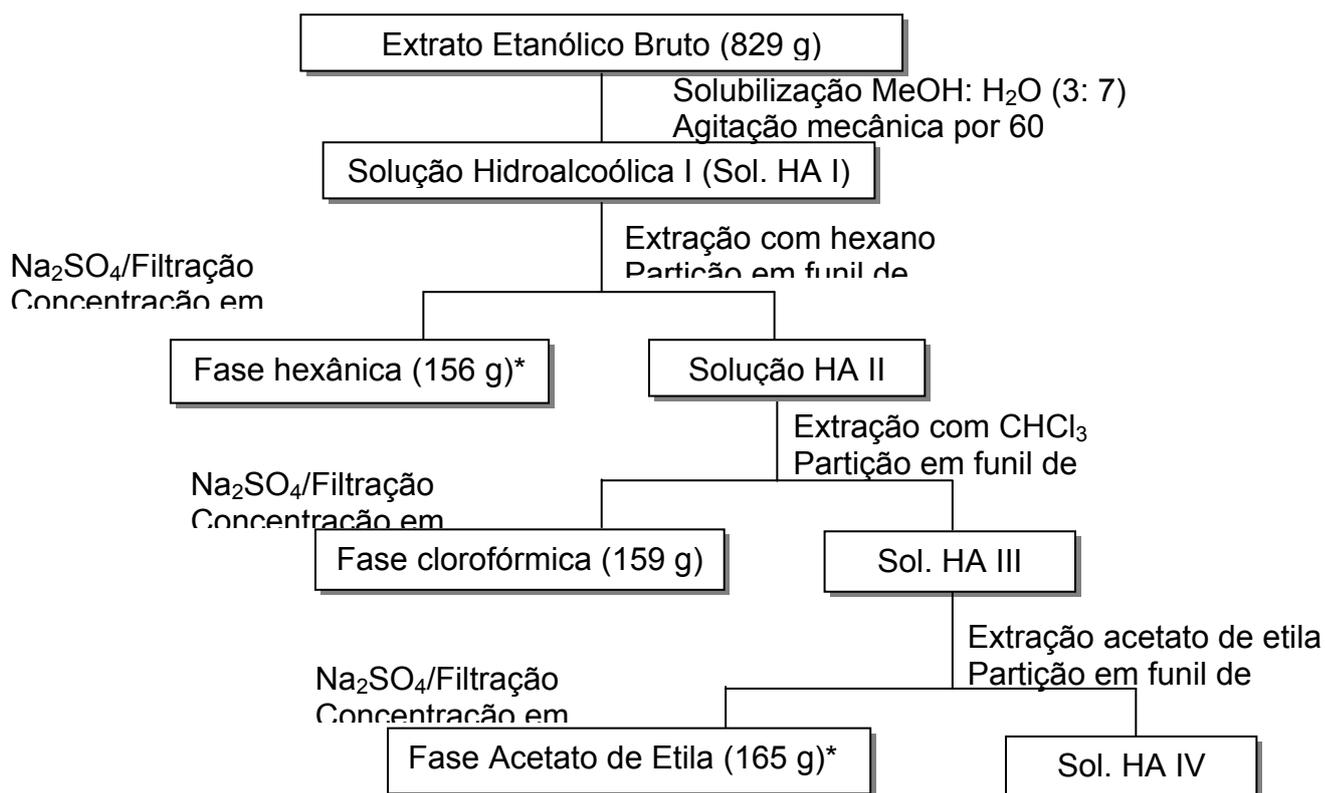
Grupos químicos	Testes aplicados	Resultados
Alcalóides	Bouchardat	++
	Mayer	+
	Dragendorff	++
	Ácido sílico-tungstico	+
Esteróides e terpenóides	Lieberman-Buchard	+
Taninos	Cloreto férrico 2 %	+++
Flavonóides	Shinoda	+
	Oxalo-bórico	+
Saponinas	Teste de espuma	-

(-) Reação negativa; (+) reação fracamente positiva; (++) reação positiva; (+++) reação fortemente positiva.

4.3.3 Fracionamento do extrato etanólico bruto de *Mimosa paraibana* Barneby

O extrato etanólico bruto foi solubilizado numa mistura MeOH : H₂O (3:7 v/v) sob agitação mecânica por 60 minutos, obtendo-se a solução hidroalcoólica I. Esta foi submetida a uma extração líquido/líquido, em ampola de separação, sob agitação manual, de forma exaustiva com hexano, clorofórmio e acetato de etila. As soluções obtidas foram tratadas com Na₂SO₄ anidro e submetidas à filtração sob vácuo. Após esse processo, os solventes foram evaporados em rotaevaporador a uma temperatura média de 50 °C, fornecendo as fases: hexânica; clorofórmica e acetato de etila (Fluxograma 03).

FLUXOGRAMA 03. Fracionamento do extrato etanólico bruto de *Mimosa paraibana* Barneby



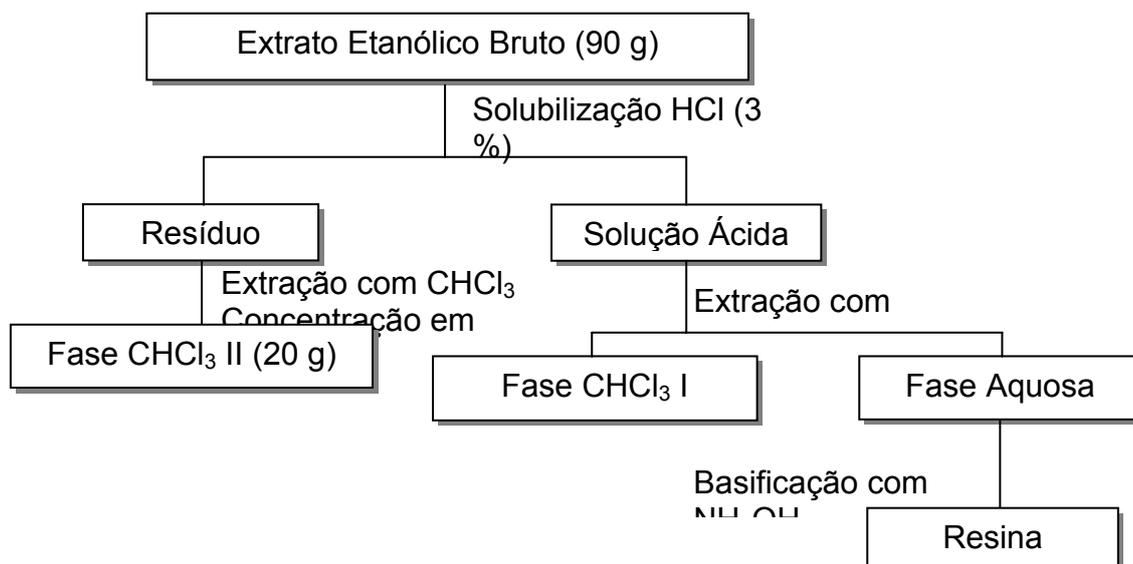
* Fases reservadas para estudos posteriores

4.3.4 Fracionamento do extrato etanólico bruto de *Mimosa tenuiflora* Willd

O extrato etanólico bruto foi tratado com ácido clorídrico a 3 %, sob agitação mecânica, e em seguida filtrado em celite, fornecendo um resíduo e uma solução ácida. A solução ácida foi extraída várias vezes com CHCl_3 fornecendo uma fase clorofórmica I e uma fase aquosa ácida. A fase aquosa foi alcalinizada, a frio, com uma solução de hidróxido de amônio até pH 8,0, mas ao início do processo o material resinificou e não foi possível a extração dos alcalóides.

O resíduo retido na celite foi então extraído com CHCl_3 fornecendo uma solução clorofórmica que foi seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e concentrada a vácuo a 40 °C, originando uma fase clorofórmica II, que então foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica gel como fase estacionária (Fluxograma 04).

FLUXOGRAMA 04. Fracionamento do extrato etanólico bruto de *Mimosa tenuiflora* Willd.



4.3.5 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica de *Mimosa paraibana* Barneby

A fase clorofórmica (159 g) foi submetida à cromatografia de adsorção em coluna (CC), utilizando sílica gel 60 (Artigo 7734 MERCK®), e como eluentes, os solventes hexano, clorofórmio e metanol puros ou em misturas binárias, em grau crescente de polaridade, obtendo-se 226 frações de 100 mL, que foram concentradas em rotavapor e reunidas após CCDA de acordo com seu fator de retenção (Rf) (Quadro 04, Fluxograma 05, pág. 46).

As frações 25/29 foram reunidas e recristalizadas em hexano, resultando em cristais brancos, que se apresentaram como uma única mancha após análise de CCDA, sendo codificada como **Mp-01**.

As frações 64/91 foram reunidas e submetidas à cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP), resultando em um sólido amorfo verde que se apresentou como uma única mancha após análise de CCDA, sendo codificada como **Mp-02**.

As frações 137/163 foram reunidas e cromatografadas em coluna de Sephadex LH-20 eluídas com misturas binárias de clorofórmio e metanol, obtendo-se um pó fino amarelo escuro, que após análise por CCDA mostrou-se como uma única mancha, resultando na substância codificada como **Mp-03**.

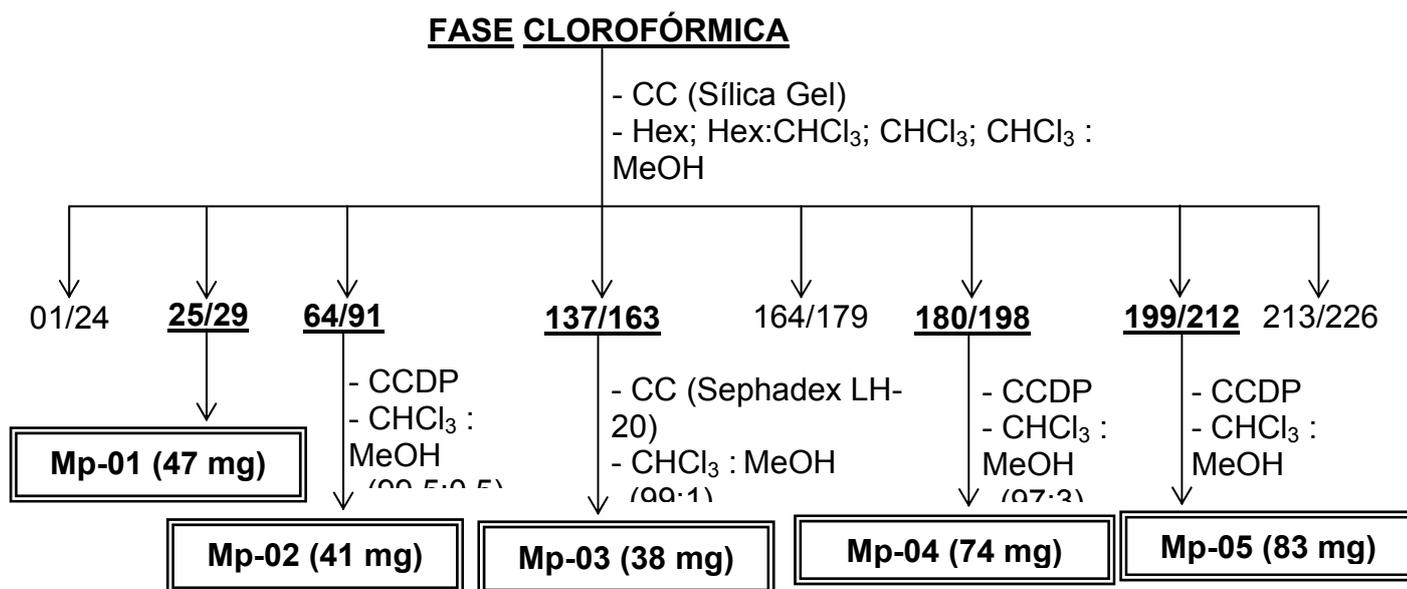
As frações 180/198 foram reunidas e submetidas à CCDP, resultando em um sólido branco que se apresentou como uma única mancha após análise de CCDA, sendo codificada como **Mp-04**.

As frações 199/212 foram reunidas e submetidas à CCDP, resultando em um sólido branco que se apresentou como uma única mancha após análise de CCDA, sendo codificada como **Mp-05**.

QUADRO 04. Procedimento cromatográfico em coluna de sílica gel da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto de *Mimosa paraibana* Barneby.

Eluente	Proporção	Frações obtidas
Hex	100	01-09
Hex:CHCl ₃	90:10	10-18
Hex:CHCl ₃	80:20	19-24
Hex:CHCl ₃	70:30	25-29
Hex:CHCl ₃	50:50	30-48
Hex:CHCl ₃	20:80	49-63
CHCl ₃	100	64-91
CHCl ₃ : MeOH	99:1	92-136
CHCl ₃ : MeOH	97:3	137-163
CHCl ₃ : MeOH	95:5	164-179
CHCl ₃ : MeOH	90:10	180-198
CHCl ₃ : MeOH	85:15	199-212
CHCl ₃ : MeOH	75:25	212-226

FLUXOGRAMA 05. Particionamento cromatográfico da fase clorofórmica de *Mimosa paraibana* Barneby



4.3.6 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica II de *Mimosa tenuiflora* Will.

A fase clorofórmica II (90 g) foi submetida à cromatografia de adsorção em coluna (CC), utilizando sílica gel 60 (Artigo 7734 MERCK®) e como eluentes, os solventes clorofórmio e metanol puros ou em misturas binárias, em grau crescente de polaridade, obtendo-se 182 frações de 100 mL, que foram concentradas em rotavapor e reunidas após CCDA de acordo com seu fator de retenção (Rf) (Quadro 05, Fluxograma 06, p. 48).

As frações 64/70 foram reunidas e recristalizadas com hexano e gotas de clorofórmio, obtendo-se cristais amarelo claro, que após análise por CCDA mostrou-se como uma única mancha, resultando na substância codificada como **Mt-01**.

As frações 71/85 foram reunidas e recristalizadas com hexano e gotas de clorofórmio, obtendo-se um pó amarelo, que após análise por CCDA mostrou-se como uma única mancha, resultando na substância codificada como **Mt-02**.

As frações 88/94 foram reunidas e cromatografadas em coluna de sílica gel e eluídas com misturas binárias de hexano, clorofórmio e metanol fornecendo 62 subfrações. As subfrações 26/51 foram reunidas e submetidas à CCDP, obtendo-se cristais brancos, que após análise por CCDA mostrou-se como uma única mancha, resultando na substância codificada como **Mt-03**. As subfrações 52/62 foram reunidas e submetidas à CCDP, obtendo-se cristais amarelo claro, que após análise por CCDA mostrou-se como uma única mancha, resultando na substância codificada como **Mt-04**.

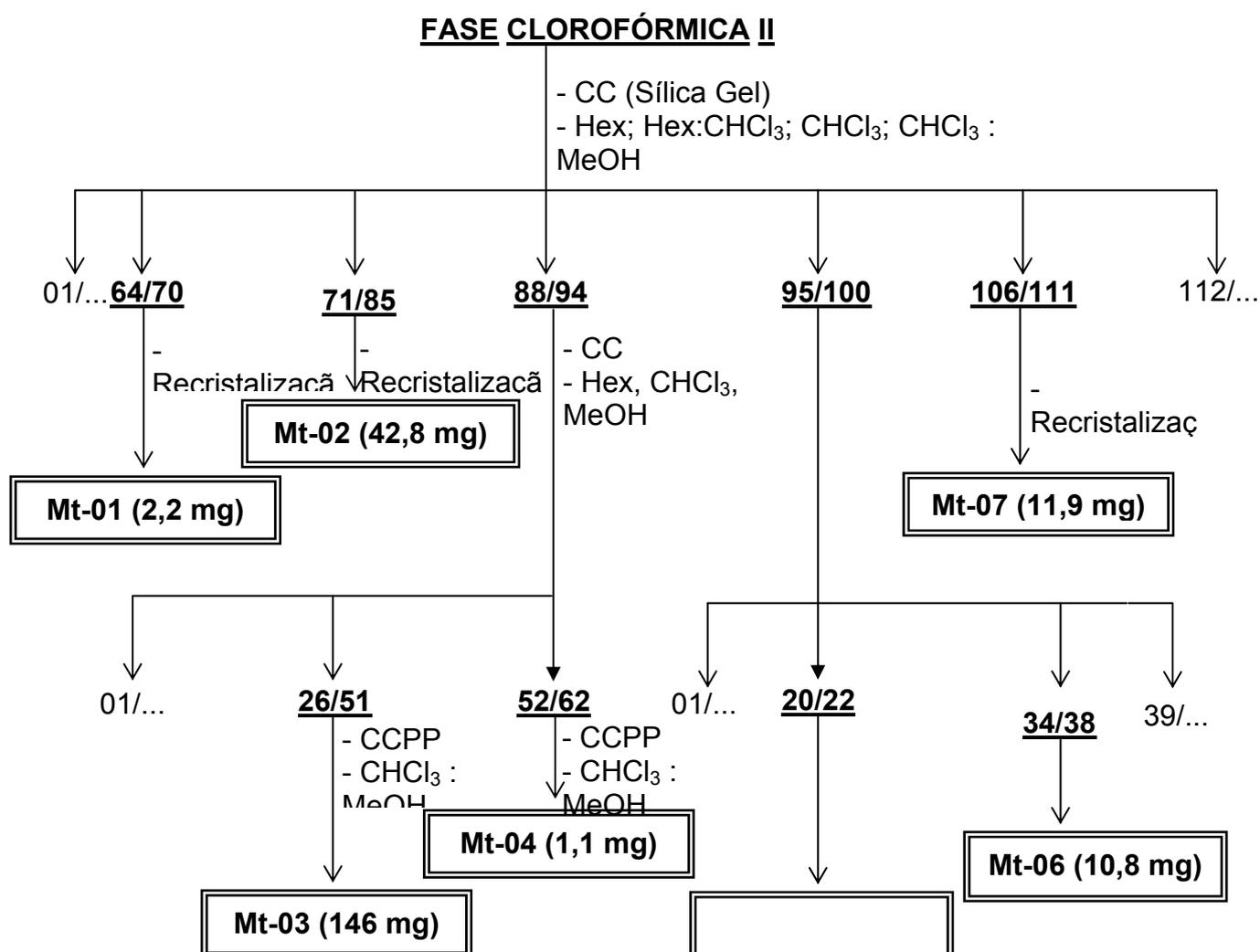
As frações 95/100 foram reunidas e cromatografadas em coluna de sílica gel e eluídas com misturas binárias de hexano, clorofórmio e metanol, fornecendo 43 subfrações. As subfrações 20/22 e 34/38 foram reunidas, obtendo-se um pó amarelo e cristais brancos, que após análise por CCDA mostraram-se como uma única mancha, resultando nas substâncias codificadas como **Mt-05** e **Mt-06**, respectivamente.

As frações 106/111 foram reunidas e recristalizadas com hexano e gotas de clorofórmio, resultando em um pó branco que se apresentou como uma única mancha após análise de CCDA, sendo codificada como **Mt-07**.

QUADRO 05. Procedimento cromatográfico em coluna de sílica gel da fase clorofórmica II do extrato etanólico bruto de *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir.

Eluente	Proporção	Frações obtidas
CHCl ₃	100	01-70
CHCl ₃ : MeOH	99:1	71-94
CHCl ₃ : MeOH	97:3	95-142
CHCl ₃ : MeOH	95:5	143-182

FLUXOGRAMA 06. Particionamento cromatográfico da fase clorofórmica II de *Mimosa tenuiflora* Willd.



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Constituintes químicos isolados da fase clorofórmica de *Mimosa paraibana* Barneby

Da fase clorofórmica de *Mimosa paraibana* foram isolados e purificados, por meio de técnicas cromatográficas, seis constituintes químicos, sendo dois esteróides, uma feofitina, um flavonóide, um derivado do ácido gálico e um derivado do ácido cinâmico (Fig. 03). A identificação estrutural das substâncias foi realizada por meio de métodos espectroscópicos, tais como IV e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais.

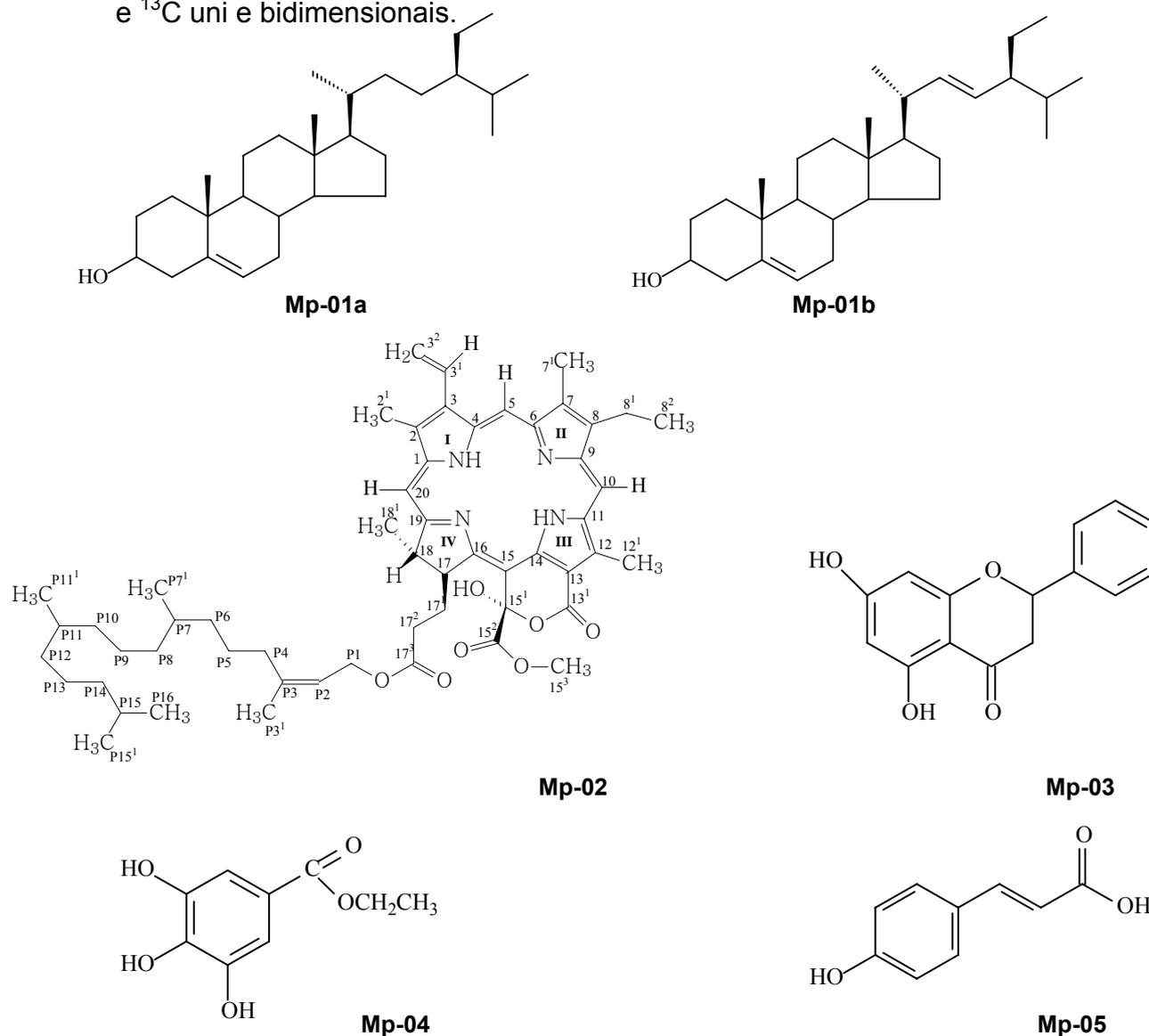


Figura 03 - Constituintes Químicos de *Mimosa paraibana* Barneby

5.2 Identificação dos constituintes químicos de *Mimosa paraibana* Barneby

5.2.1 Identificação estrutural de Mp-01

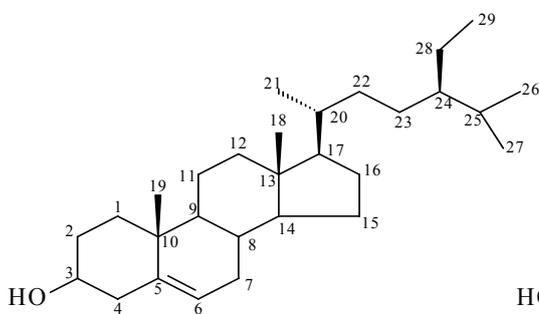
A substância Mp-01 apresentou-se na forma de cristais brancos, solúvel em clorofórmio.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 04, p. 54) e suas expansões (Fig. 05 e 06, p. 55) de Mp-01 mostraram absorções simples e múltiplas na região entre δ 0,65 e δ 1,49 características de hidrogênios metílicos e metilênicos de carbono sp^3 presentes em estruturas como triterpenos e esteróides (KOJIMA et al., 1990). Em δ 3,48 (Fig. 04, p. 54) pôde-se verificar a presença de um multipletto que pode ser atribuído a hidrogênio da posição 3 de núcleo esteroidal (KOJIMA et al., 1990), e um dupletto em δ 5,32 típico de hidrogênio olefínico na posição 6 de fitoesteróides (AHMED et al., 1992), juntamente com as absorções em δ 0,65 e δ 1,49 possibilitou sugerir que Mp-1 possui o núcleo esteroidal (Tabela 01, p. 52).

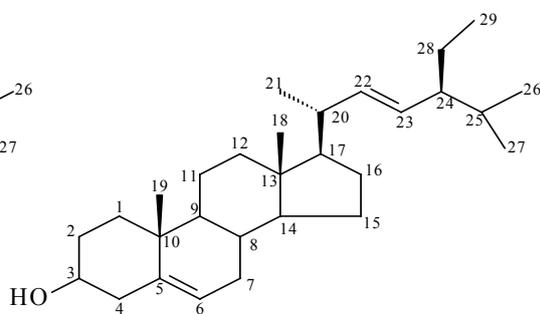
A análise espectral de RMN ^{13}C (Fig. 07, p. 56) e suas expansões (Fig. 08 e 09; p. 57) demonstrou a presença de metilas esteroidais ou triterpênicas pelo conjunto de absorções entre δ 11,84 e δ 21,20, características destes grupos, reforçando, portanto, a proposta de núcleo esteroidal, dada pelo espectro de RMN ^1H , para Mp-1. O número de absorções presentes no espectro de RMN ^{13}C e seus respectivos deslocamentos químicos (Tabela 01, p. 52) permitiram propor que Mp-1 era composta por duas substâncias distintas que passaram a ser codificadas como Mp-01a e Mp-01b. Os sinais para carbonos mais intensos em δ 121,72 (2C) e δ 140,73 (2C) são condizentes com dupla ligação nas posições 5 e 6 do β -sitosterol e do estigmasterol, e as absorções menores em δ 129,22 e δ 138,32 são pertinentes aos carbonos olefínicos (C-23 e C-22) do estigmasterol.

Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mp-01a e Mp-01b com modelo da literatura (KOJIMA et al., 1990) (Tabela 02, p. 53) tornaram possível identificar as substâncias como sendo o β -sitosterol (Mp-

01a) e o estigmasterol (Mp-01b), cuja presença é bem característica em várias espécies vegetais, sendo descrita pela primeira vez na espécie em estudo.

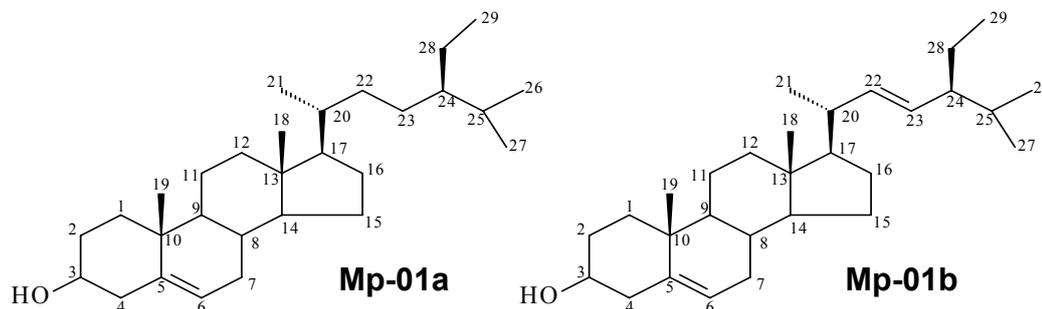


B-Sitosterol



Estigmasterol

Tabela 01: Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Mp-01a/Mp-01b



Carbonos	Mp-01a		Mp-01b	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
5	140,73	-	140,73	-
10	36,48	-	36,48	-
13	42,17	-	42,17	-
CH				
3	71,78	3,48(m)	71,78	3,48(m)
6	121,72	5,32(d)	121,72	5,32(d)
8	31,89	-	31,89	-
9	50,11	-	50,11	-
14	56,83	-	56,83	-
17	56,01	-	55,90	-
20	36,12	-	40,50	-
22	-	-	138,32	-
23	-	-	129,22	-
24	45,78	-	51,22	-
25	29,09	-	29,09	-
CH₂				
1	37,22	-	37,22	-
2	31,63	-	31,63	-
4	42,27	-	42,27	-
7	31,89	-	31,86	-
11	21,05	-	21,05	-
12	39,73	-	39,65	-
15	24,27	-	24,34	-
16	28,23	-	28,91	-
22	33,90	-	-	-
23	25,99	-	-	-
28	23,02	-	25,40	-
CH₃				
18	11,96	0,65(s)	12,03	0,67(s)
19	19,39	0,98(s)	19,39	0,98(s)
21	18,76	-	21,20	-
26	19,81	0,89(d)	21,09	0,89(d)
27	19,00	0,78(d)	18,76	0,78(d)
29	12,25	0,81(t)	12,25	0,81(t)

Tabela 02: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mp-01a/Mp-01b (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com dados da literatura (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990).

Carbonos	Mp-01a	Literatura (β -Sitosterol)	Mp-01b	Literatura (Estigmasterol)
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
5	140,73	140,7	140,73	140,7
10	36,48	36,5	36,48	36,5
13	42,17	42,3	42,17	42,3
CH				
3	71,78	71,8	71,78	71,8
6	121,72	121,7	121,72	121,7
8	31,86	31,9	31,86	31,9
9	50,11	50,1	50,11	50,1
14	56,83	56,8	56,83	56,8
17	56,01	56,0	55,90	55,9
20	36,12	36,1	40,50	40,5
22	-	-	138,32	138,3
23	-	-	129,22	129,2
24	45,78	45,8	51,22	51,2
25	29,09	29,1	29,09	*
CH₂				
1	37,22	37,2	37,22	37,2
2	31,63	31,6	31,63	31,6
4	42,27	42,3	42,27	42,3
7	31,89	31,9	31,86	31,9
11	21,05	21,1	21,05	21,1
12	39,73	39,8	39,65	39,7
15	24,27	24,3	24,34	24,4
16	28,23	28,2	28,91	28,9
22	33,90	33,9	-	-
23	25,99	26,0	-	-
28	23,02	23,0	25,40	*
CH₃				
18	11,96	11,9	12,03	12,0
19	19,39	19,4	19,39	19,4
21	18,76	18,8	21,20	21,2
26	19,81	19,8	21,09	*
27	19,00	19,0	18,76	*
29	12,25	12,0	12,25	*

* Ausência de dados na referência

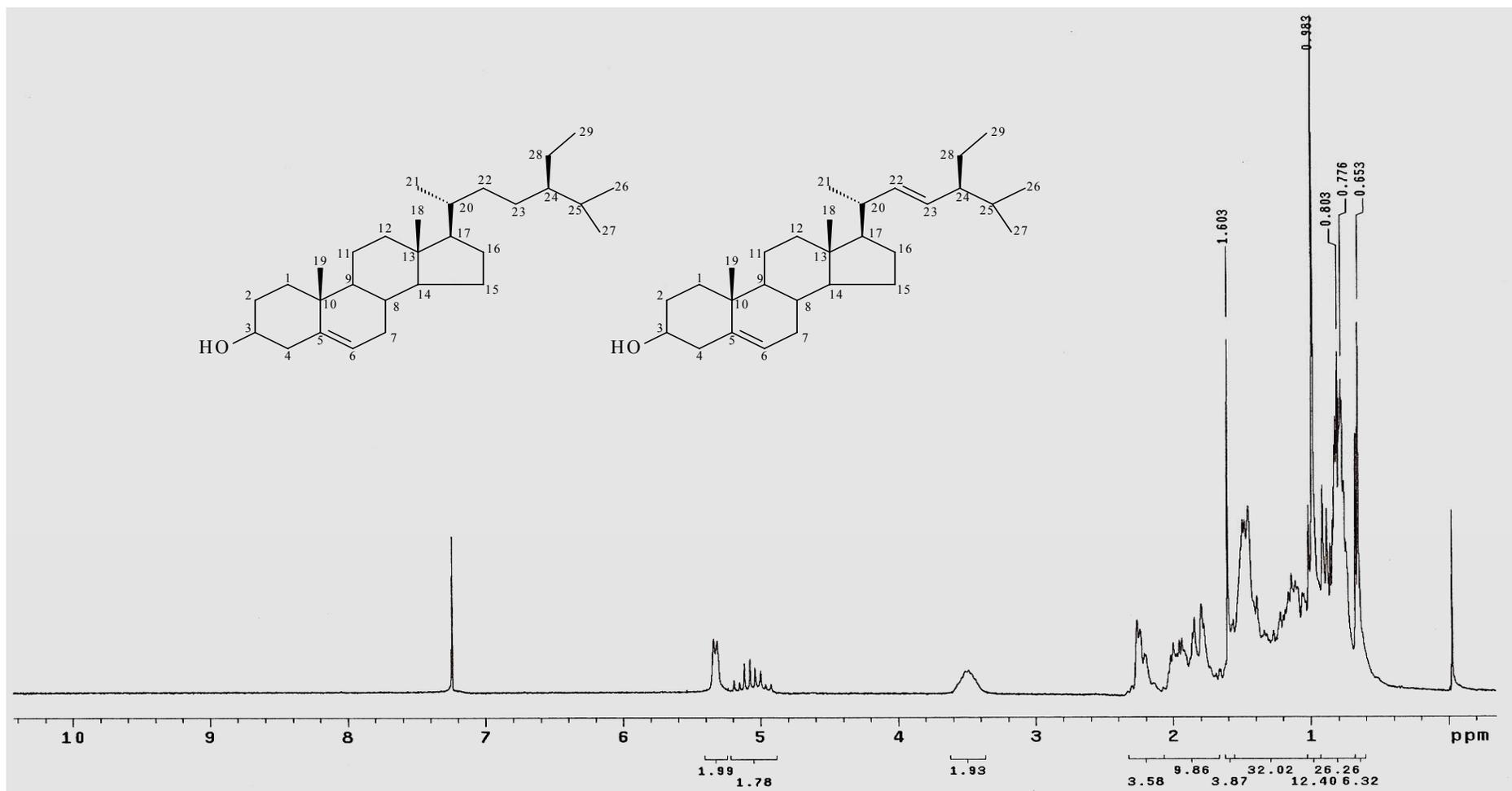


Figura 04 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-01

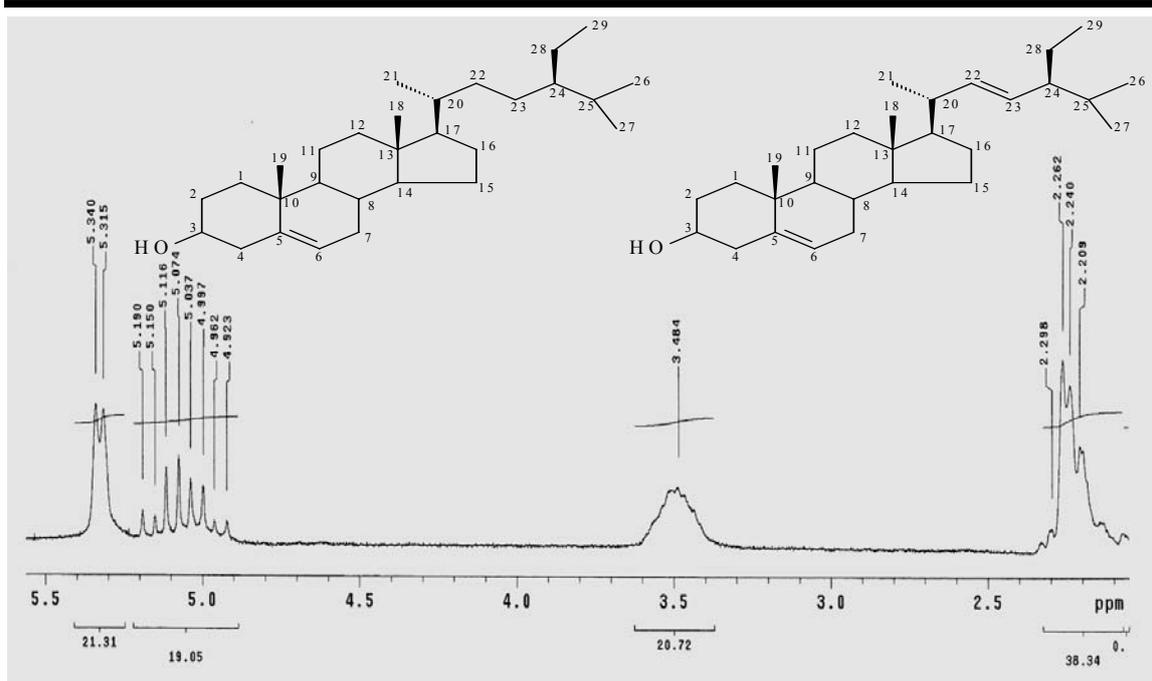


Figura 05 – Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-01

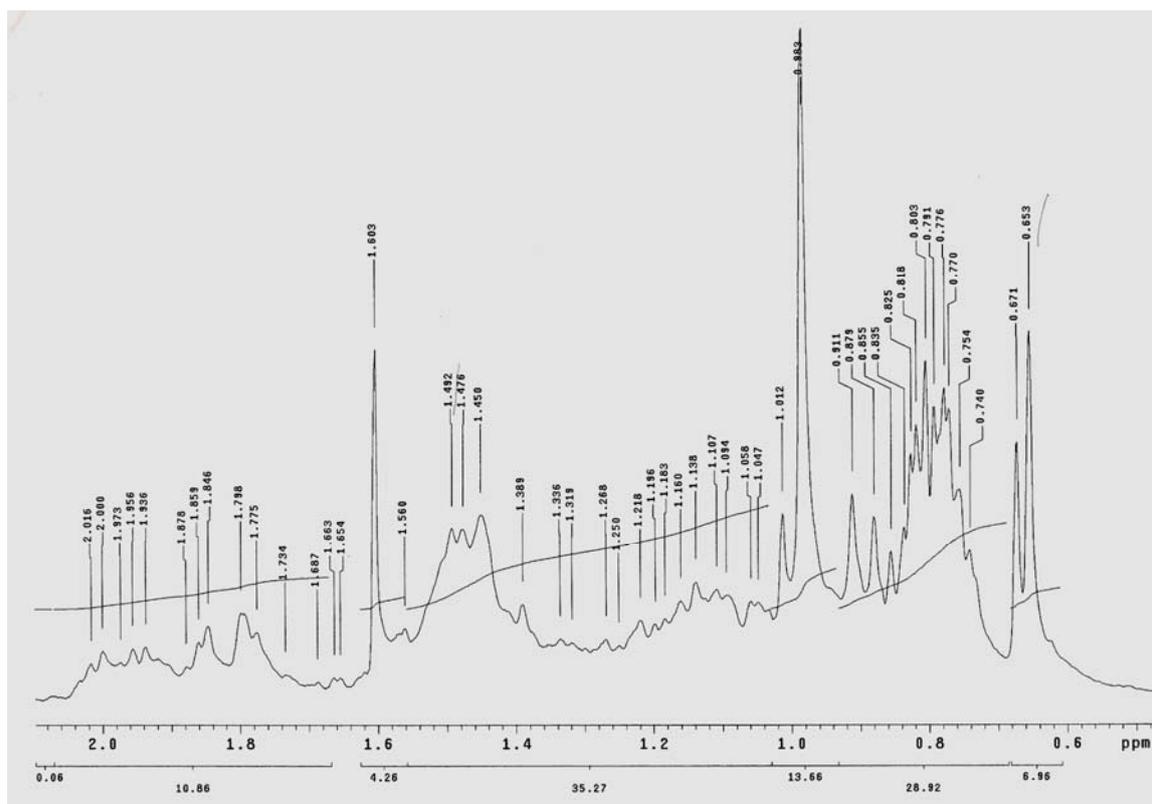


Figura 06 – Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-01

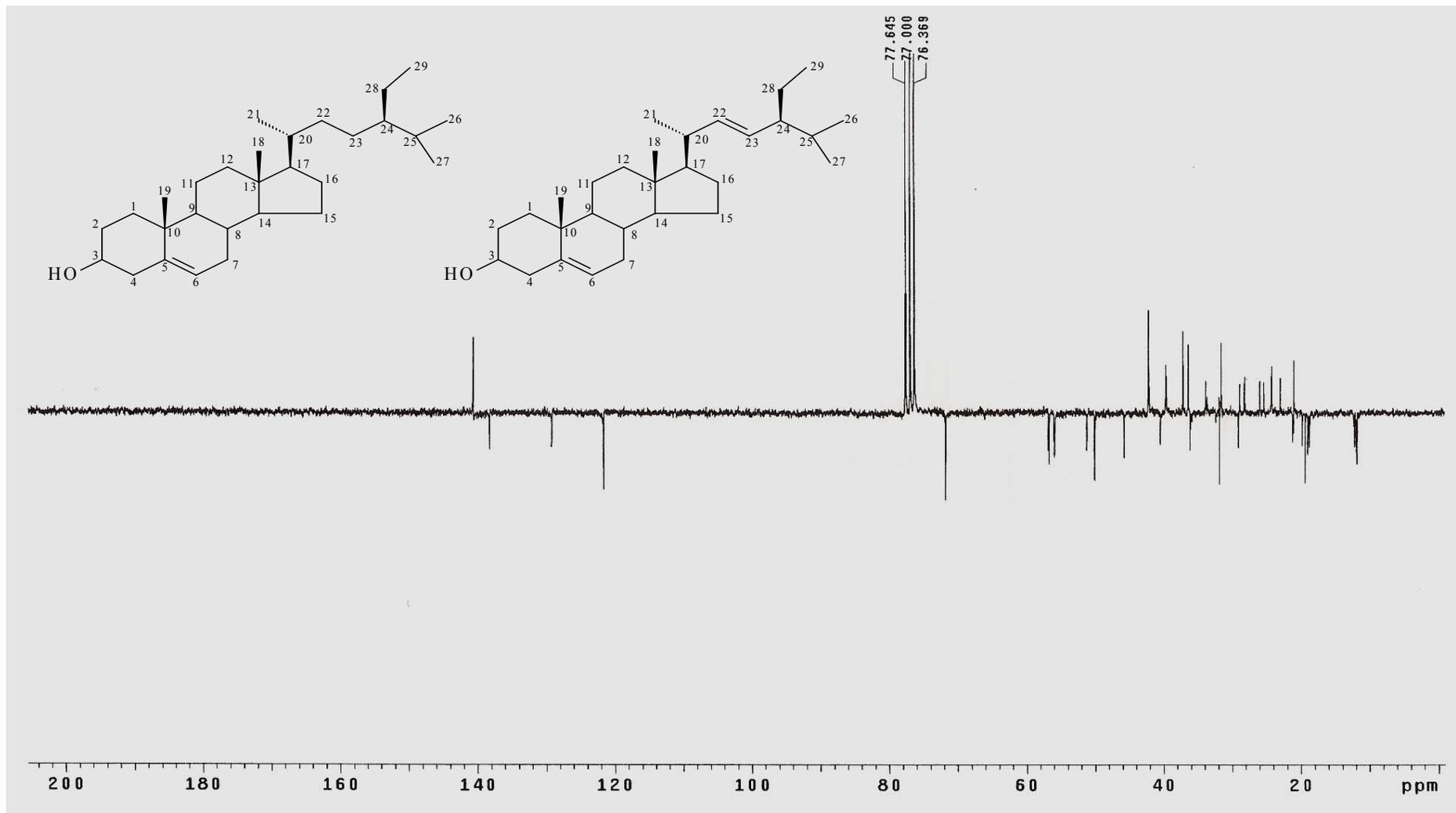


Figura 07 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl₃) de Mp-01

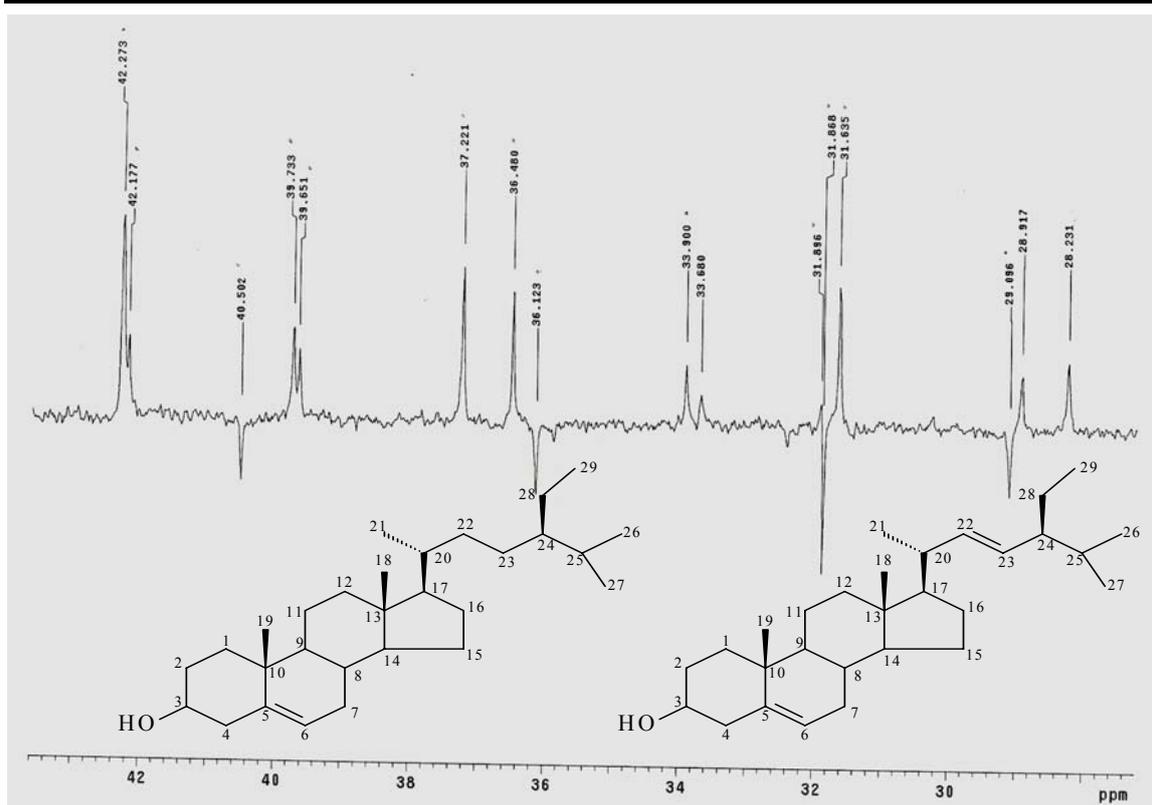


Figura 08 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Mp-01

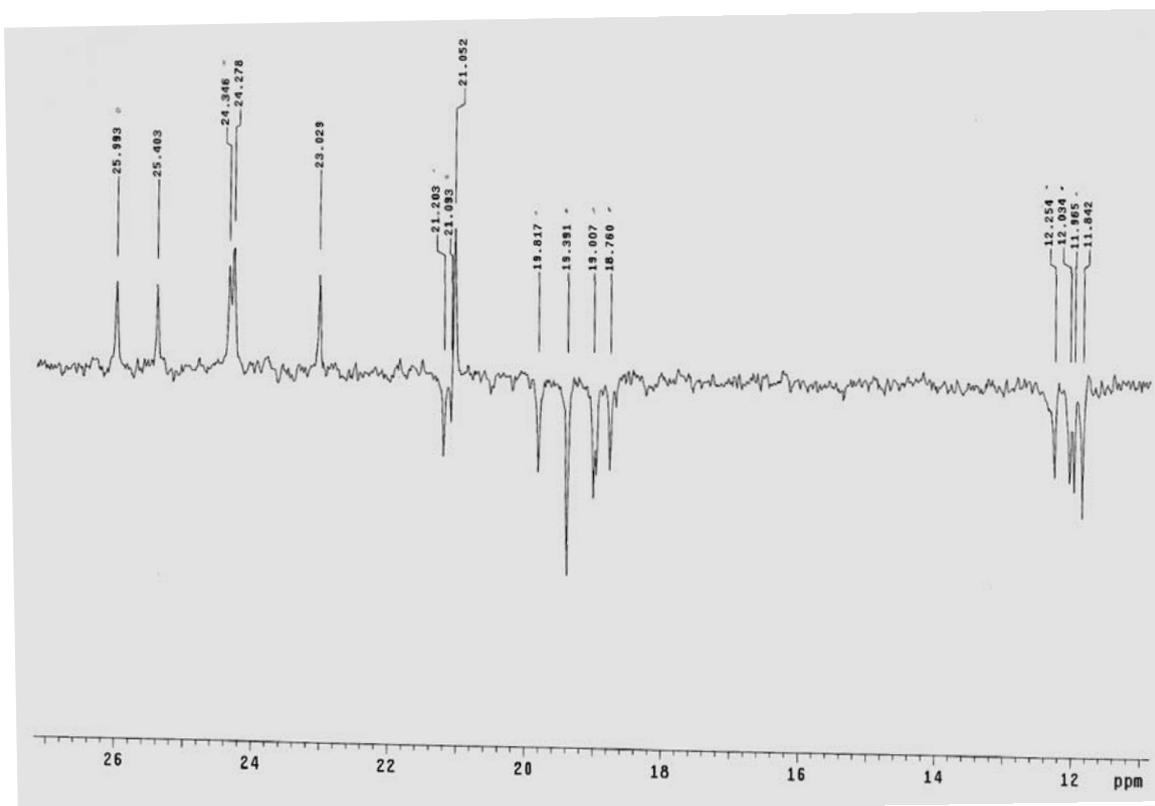


Figura 09 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Mp-01

5.2.2 Identificação estrutural de Mp-02

A substância Mp-02 mostrou-se como um sólido amorfo verde, solúvel em clorofórmio e apresentando ponto de fusão de 171 °C.

O espectro de IV (Fig. 10, p. 63) desta substância mostrou bandas características de estiramento de CH, CH₂ e CH₃ alifático em 2955, 2925 e 2866 cm⁻¹, bem como bandas em 3476 e 3414 cm⁻¹, as quais sugeriram tratar-se de deformação axial de N-H de aminas ou OH. Uma outra banda, observada em 1347 cm⁻¹, fortaleceu a sugestão da presença de grupo amino, por tratar-se de deformação axial de ligação C-N conjugada. Esta observação, aliada à presença de uma banda em 1615 cm⁻¹, condizente com a absorção de ligação dupla em sistemas conjugados, está de acordo com estruturas contendo núcleo porfirínico (SILVERSTEIN et al., 1994). Em 1737 e 1638 cm⁻¹ observaram-se duas bandas de absorção que remetem à deformação axial de grupo carbonílico não conjugado e conjugado, respectivamente (SILVERSTEIN et al., 1994).

Os espectros de RMN ¹H e suas expansões (Figs. 11, 12 e 13, p. 64 e 65, Tabela 03, p. 61) de Mp-02 revelaram absorções referentes a três metilas olefínicas em δ 3,21, δ 3,41 e δ 3,74 nas posições 7¹, 2¹ e 12¹ respectivamente, um grupo de hidrogênios vinílicos em δ 7,92 (dd, J=18,0 e 12,0 Hz), δ 6,30 (dd, J=18,0 Hz) e δ 6,15 (dd, J=12,0 Hz) e três hidrogênios olefínicos em δ 9,40, δ 9,70 e δ 8,69, condizentes com absorções dos hidrogênios 5, 10 e 20 do núcleo porfirínico das feofitinas (MATSUO et al., 1996; DUAN et al., 2002) o que descartou a presença de O-H de álcool na molécula e corroborou para sugerir que as bandas em 3476 e 3414 cm⁻¹ observadas no IV fossem atribuídas à deformação axial de NH, o que contribuiu para a proposta de um núcleo porfirínico. Adicionalmente a esses dados, observou-se um conjunto de deslocamentos químicos para hidrogênios metoxílicos em δ 3,87.

O espectro de RMN ¹³C utilizando a técnica APT e suas expansões (Figs. 14, 15 e 16, p. 66 e 67, Tabela 03, p. 61) mostrou picos para 57 átomos de carbonos, destacando-se dois carbonos vinílicos em δ 128,92 e δ 122,70, típicos dos carbonos C-3¹ e C-3², respectivamente, referentes ao grupo vinila terminal de núcleo

porfirínico. Entre os carbonos metílicos, pode-se destacar um valor em δ 53,67, típico de metoxila de éster.

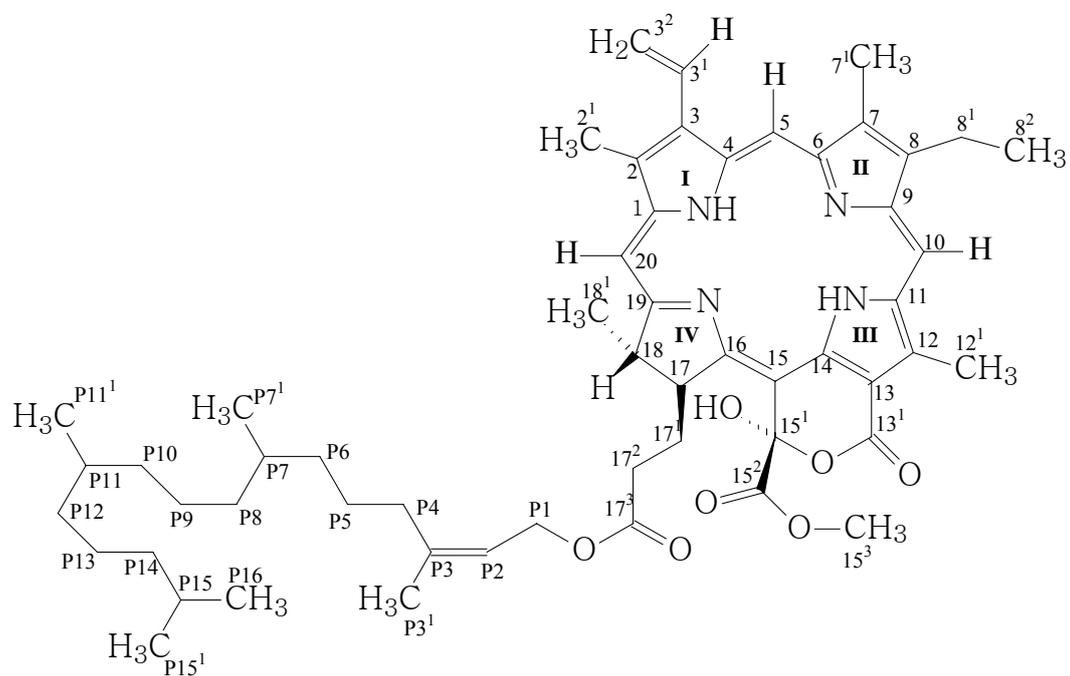
O espectro de correlação homonuclear (HOMOCOSY) (Fig. 22, 23 e 24, p. 73, 74 e 75) de Mp-02 permitiu confirmar os deslocamentos observados no espectro unidimensional de RMN ^1H ao mostrar correlação entre os hidrogênios em δ 7,92 (3^1) e δ 6,30 e δ 6,15 ($\text{H-}3^2$), caracterizando o grupo vinila terminal. Observou-se ainda a correlação entre os hidrogênios etílicos em δ 1,67 ($\text{H-}8^2$) e δ 3,70 ($\text{H-}8^1$).

O espectro de correlação heteronuclear direta (J^1)-HMQC (Fig. 17, 18 e 19, p. 68, 69 e 70) revelou as correlações a uma ligação entre os hidrogênios H-5 (9,40 δ), H-10 (9,70 δ), H-20 (8,69 δ), $\text{H-}3^2$ (6,30 δ) e H-P2 (4,43 δ) com os carbonos C-5 (99,59 δ), C-10 (104,05 δ), C-20 (93,86 δ), $\text{C-}3^2$ (122,70 δ) e C-P2 (117,69 δ), respectivamente.

A análise do espectro de correlação heteronuclear a duas e três ligações (J^2 , J^3 -HMBC) (Fig. 20 e 21, p. 71 e 72), permitiu estabelecer o grupo vinílico na posição 3 por mostrar a correlação J^3 entre $\text{H-}3^2$ (6,30 δ /6,15 δ) e C-3 (136,46 δ). Outras correlações observadas foram: H-5 (9,40 δ) com C-3 (136,46 δ) e C-7 (135,98 δ) (J^3) e H-10 (9,70 δ) com C-11 (138,69 δ) (J^2) e C-8 (145,50 δ), C-12 (131,45 δ) (J^3).

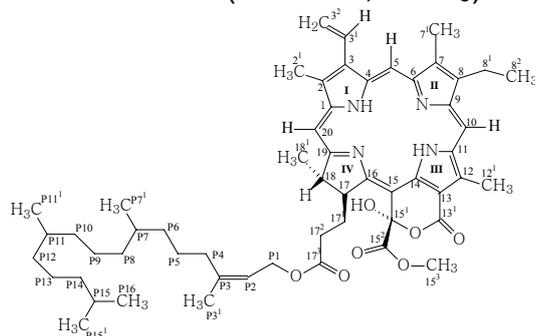
Através da análise do espectro bidimensional NOESY (Fig. 25, p. 76) foi possível atribuir as posições dos substituintes na estrutura de Mp-02, que mostrou as seguintes correlações espaciais: $\text{H-}3^1$ (7,92 δ) com H-5 (9,40 δ) e deste com CH_3 -7 1 (3,21 δ); H-10 (9,70 δ) com CH_3 -12 1 (3,74 δ); H-20 (8,69 δ) com CH_3 -2 1 (3,41 δ).

Os dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de Mp-02 quando comparados com os da literatura (MA L. e DOLPHIN, 1996) (Tabela 04, p. 62) permitiram fazer a maioria das atribuições. As demais foram feitas com base na análise dos espectros bidimensionais, que deram suporte para caracterizar Mp-02 como sendo a 15 1 hidroxifeofitina a. Esta substância está sendo descrita pela primeira vez na espécie em estudo.



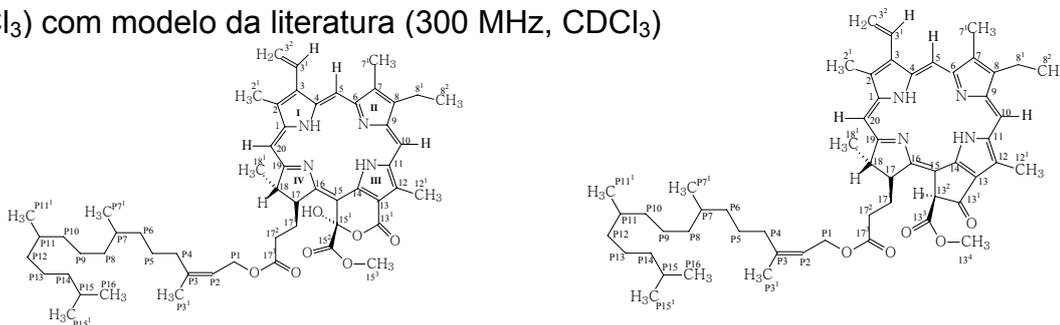
15¹ hidroxi-feofitina a

Tabela 03 - Dados de RMN ¹H e ¹³C (200 MHz, CDCl₃) de Mp-02



C	δ_C	HMBC	
		J^1	J^2 J^3
		δ_H	
1	141,18		
2	131,45		
3	136,46		
4	135,98		
6	155,71		
7	134,75		
8	145,51		
9	149,49		
11	138,70		
12	131,45		
13	131,45		
13 ¹	166,30		
14	149,94		
15	111,29		
15 ¹	101,95		
15 ²	170,87		
16	161,06		
17 ³	171,30		
19	171,12		
P3	142,86		
CH			
3 ¹	128,93	7,98 (dd, J=11,2 e 17,6 Hz)	C-3
5	99,59	9,48 (s)	C-4
10	104,10	9,71 (s)	C-11
17	53,68	4,07 (m)	
18	50,12	4,43 (m)	
20	93,87	8,70 (s)	C-19
P2	117,70	5,13 (t, J= 7,4 Hz)	C-P3 ¹ , C-P4
CH₂			
3 ²	122,71	6,30 (d, J=17,8 Hz) e 6,15 (d, J=11,4 Hz)	C-3 ¹
8 ¹	19,51	3,69 (q, J= 8,0 e 15,6 Hz)	C-8 ²
17 ¹	29,69	1,24 (m)	
17 ²	31,29	1,87 (t, J= 7,2 Hz)	
P1	61,45	4,43 (m)	C-P2
CH₃			
2 ¹	12,13	3,42 (s)	C-2
7 ¹	11,24	3,22 (s)	C-7
8 ²	17,58	1,68 (t, J=7,6 Hz)	C-8 ¹
12 ¹	12,43	3,87 (s)	C-12
15 ³	54,15	3,75 (s)	C-15 ²
18 ¹	22,70	1,61 (t)	C-17

Tabela 04 - Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Mp-02 (200 MHz, CDCl_3) com modelo da literatura (300 MHz, CDCl_3)



C	Mp-01		(MA L. & DOLPHIN D. 1996)	
	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H
1	141,18		142,0	
2	131,45		131,8	
3	136,46		136,5	
4	135,98		136,2	
6	155,71		155,5	
7	134,75		136,1	
8	145,51		145,2	
9	149,49		151,0	
11	138,70		137,9	
12	131,45		129,1	
13	131,45		129,0	
13 ¹	166,30		189,6	
14	149,94		150,0	
15	111,29		105,2	
15 ¹	101,95		-	
15 ²	170,87		-	
16	161,06		161,3	
17 ³	173,30		172,0	
19	171,12		170,0	
CH				
3 ¹	128,93	7,98 (dd, J=11,2 e 17,6 Hz)	129,0	7,95 (dd, J=15,19 e 11,39 Hz)
5	99,59	9,48 (s)	97,5	9,36 (s)
10	104,10	9,71 (s)	104,4	9,50 (s)
17	53,68	4,07 (m)	-	-
18	50,12	4,43 (m)	50,1	4,46 (m)
20	93,87	8,70 (s)	93,1	8,55 (s)
P2	117,70	5,13 (t, J = 7,4 Hz)	-	-
CH₂				
3 ²	122,71	6,30 (d, J=17,8 Hz) 6,15 (d, J=11,4 Hz)	122,8	6,15 (dd, J=11,39 e 2,28 Hz) 6,25 (dd, J=15,19 e 2,29 Hz)
8 ¹	19,51	3,69 (q, J= 8,0 e 15,6 Hz)	19,7	3,66 (q)
17 ¹	29,69	1,24 (m)	29,8	
17 ²	31,29	1,87 (t, J = 7,2 Hz)	31,2	
P1	61,45	4,43 (m)	-	
CH₃				
2 ¹	12,13	3,42 (s)	12,1	3,39 (s)
7 ¹	11,24	3,22 (s)	11,2	3,15 (s)
8 ²	17,58	1,68 (t, J=7,6 Hz)	17,3	1,68 (t)
12 ¹	12,43	3,87 (s)	12,2	3,65 (s)
15 ³	54,15	3,75 (s)	53,0	3,88 (s)
18 ¹	22,70	1,61 (m)	14,0	1,80 (d)

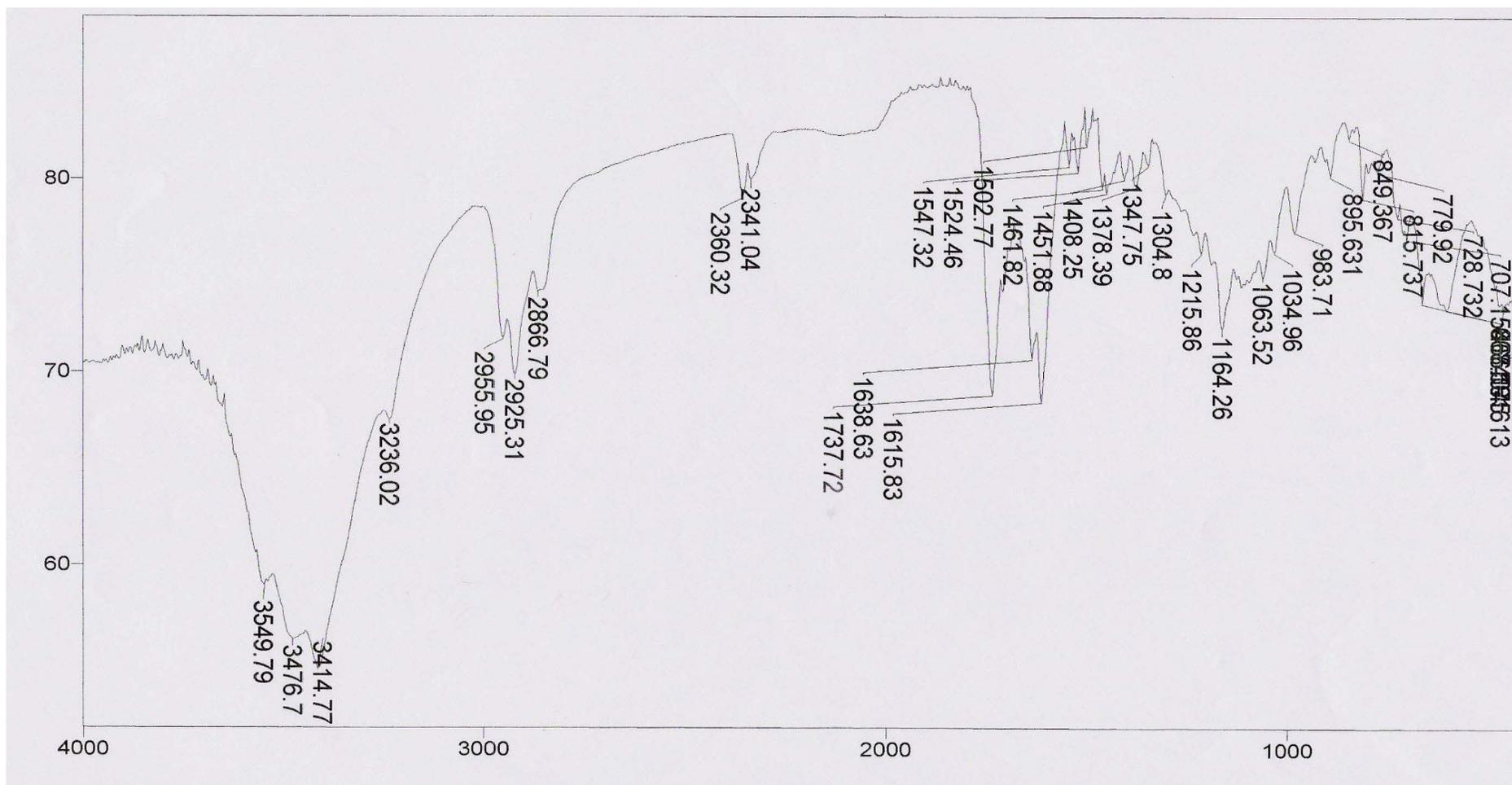


Figura 10 - Espectro de IV (KBr, cm⁻¹) de Mp-02

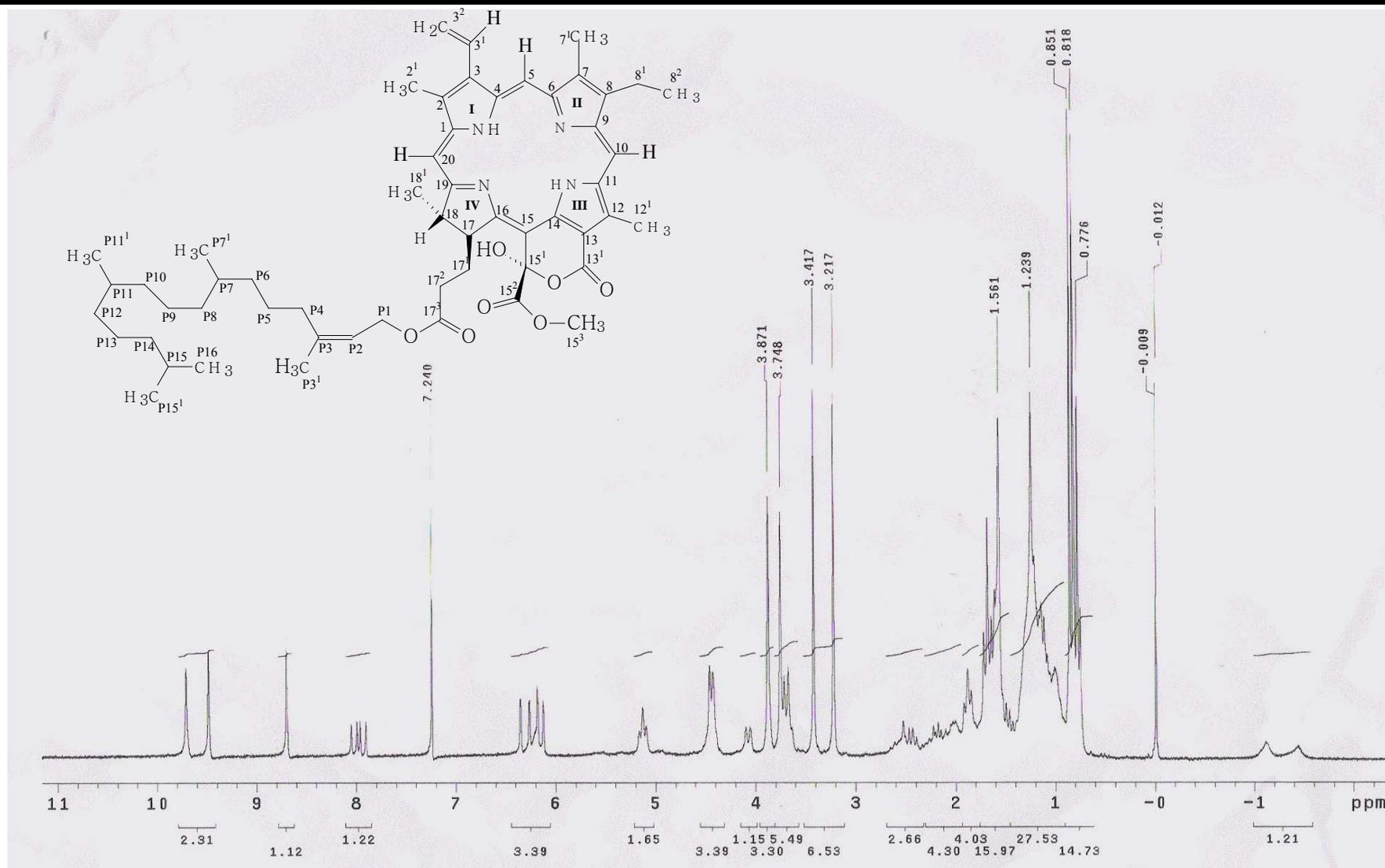


Figura 11 - Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de Mp-02

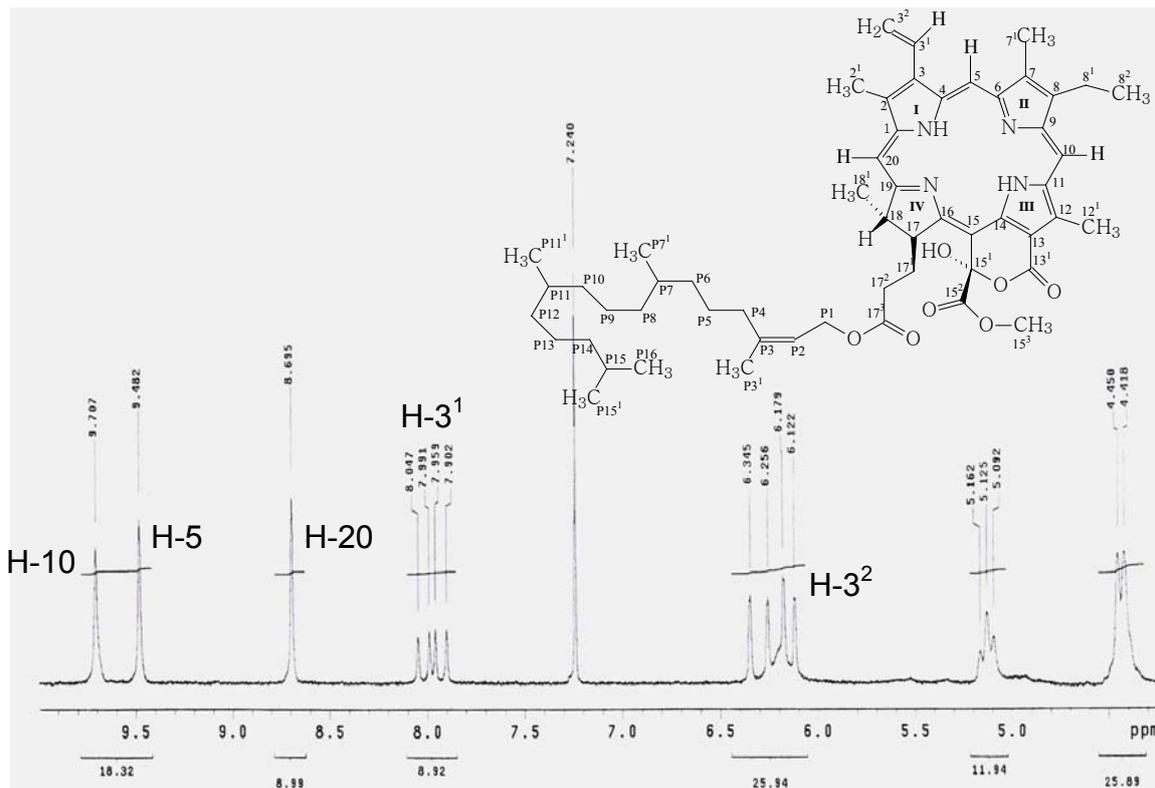


Figura 12 - Expansão do espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) de Mp-02

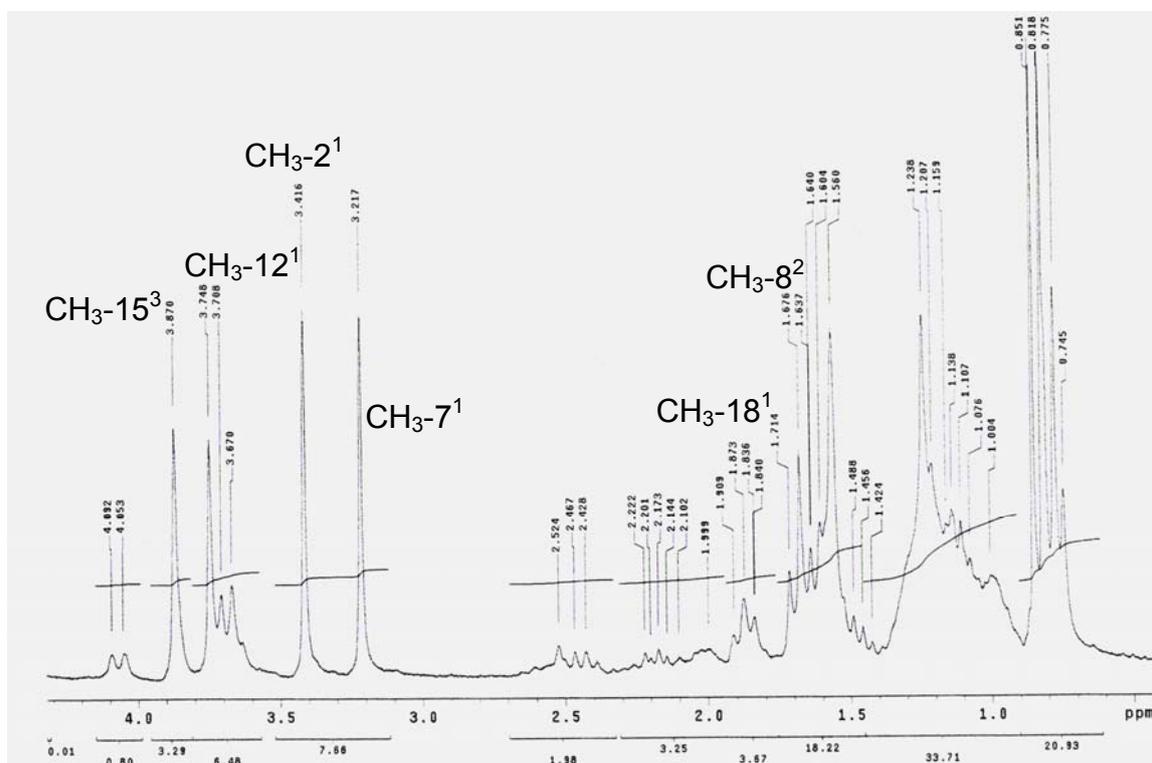


Figura 13 - Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-02

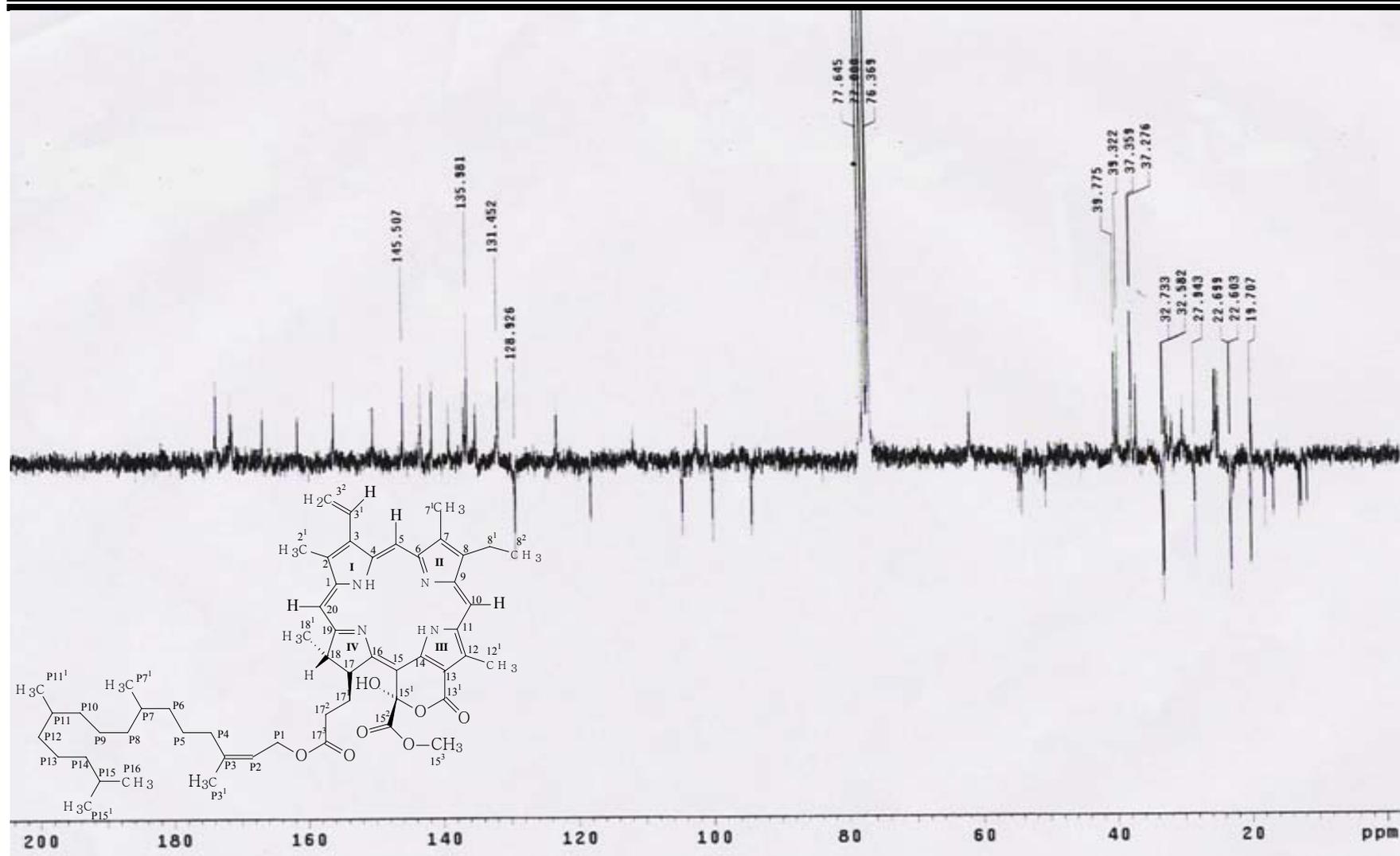


Figura 14 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl₃, 50 MHz) de Mp-02

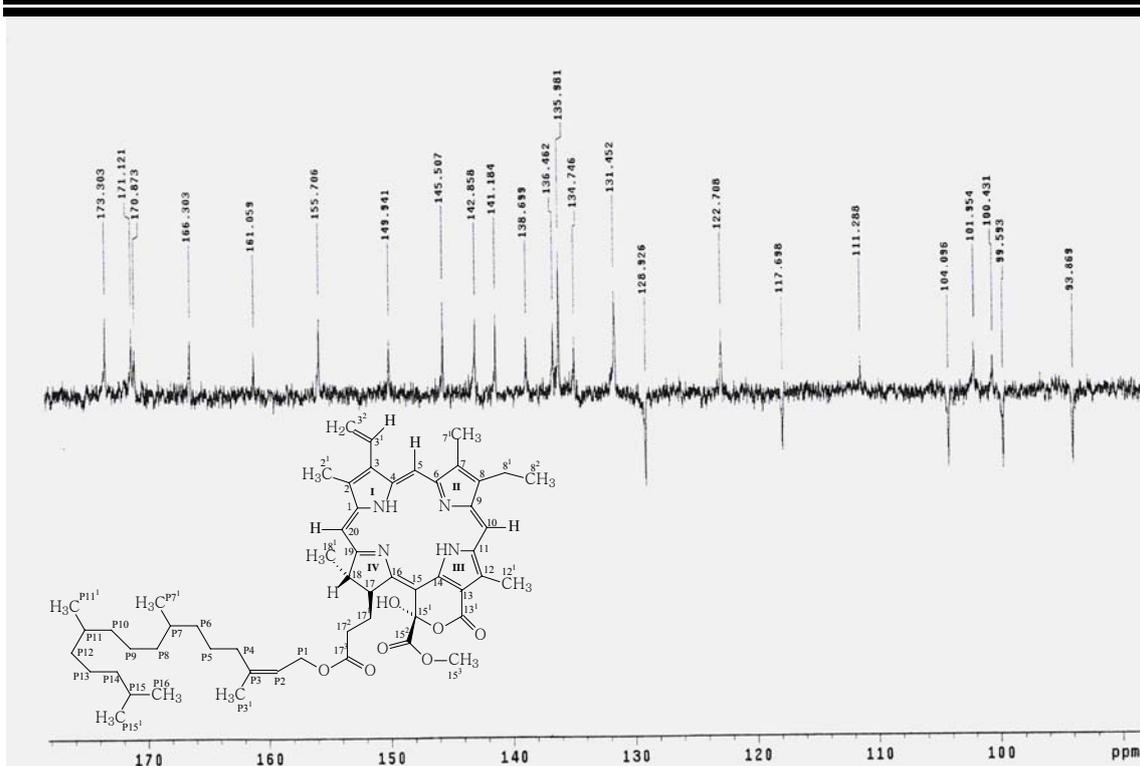


Figura 15 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Mp-02

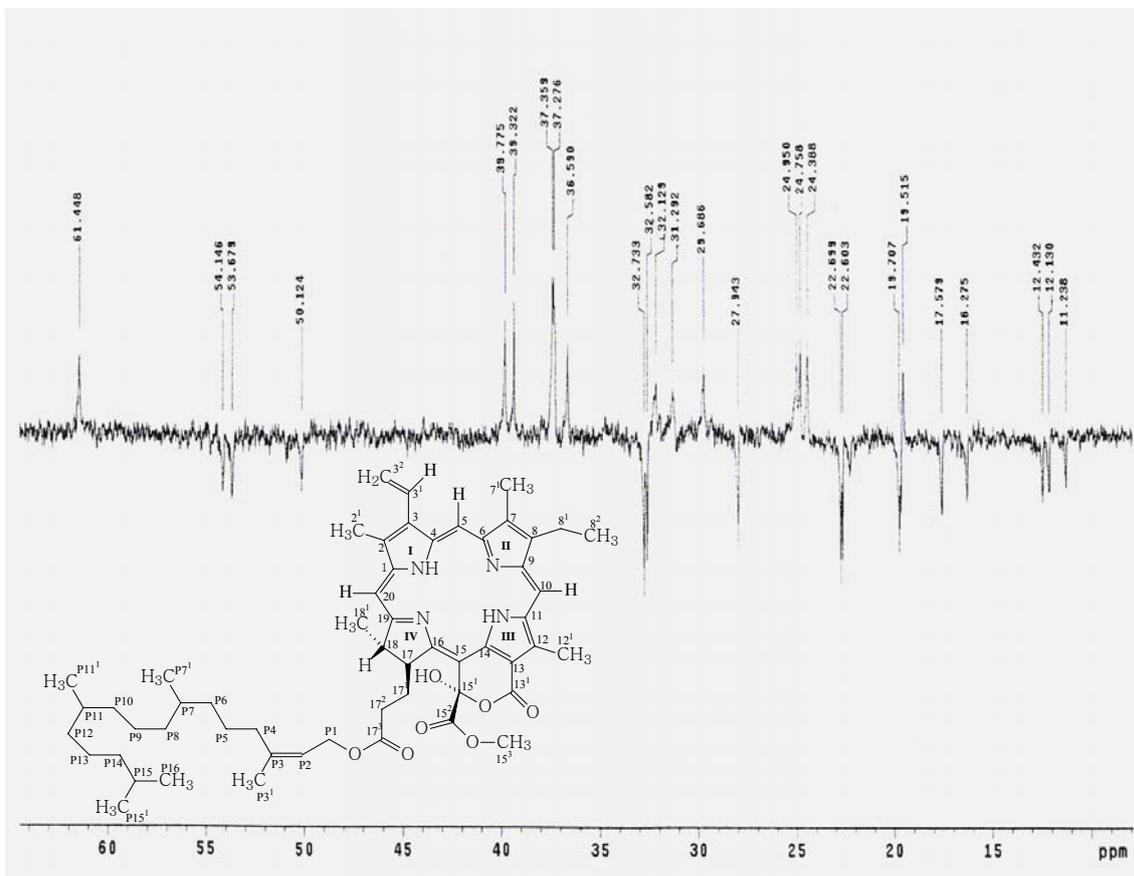


Figura 16 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Mp-02

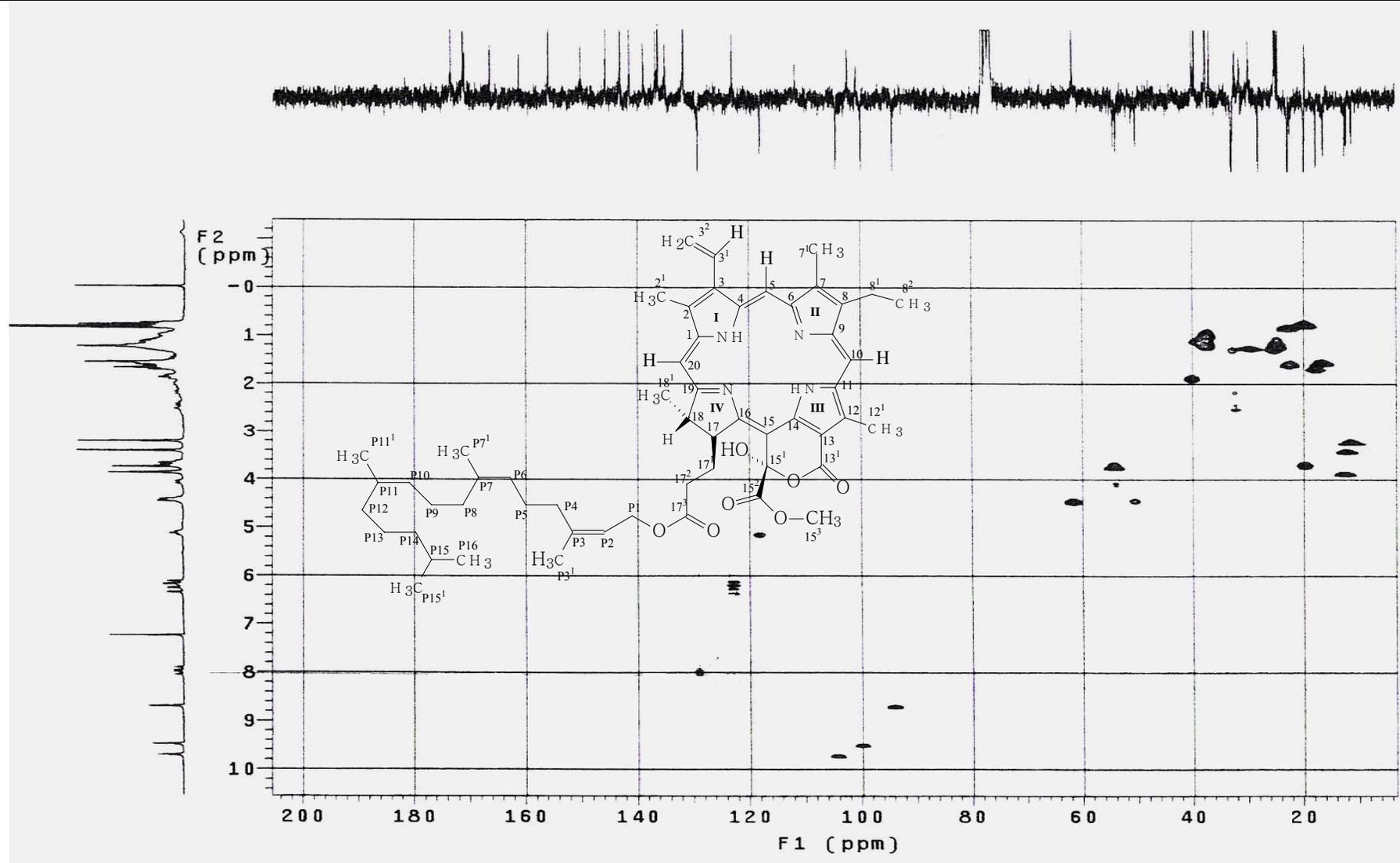


Figura 17 - Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02

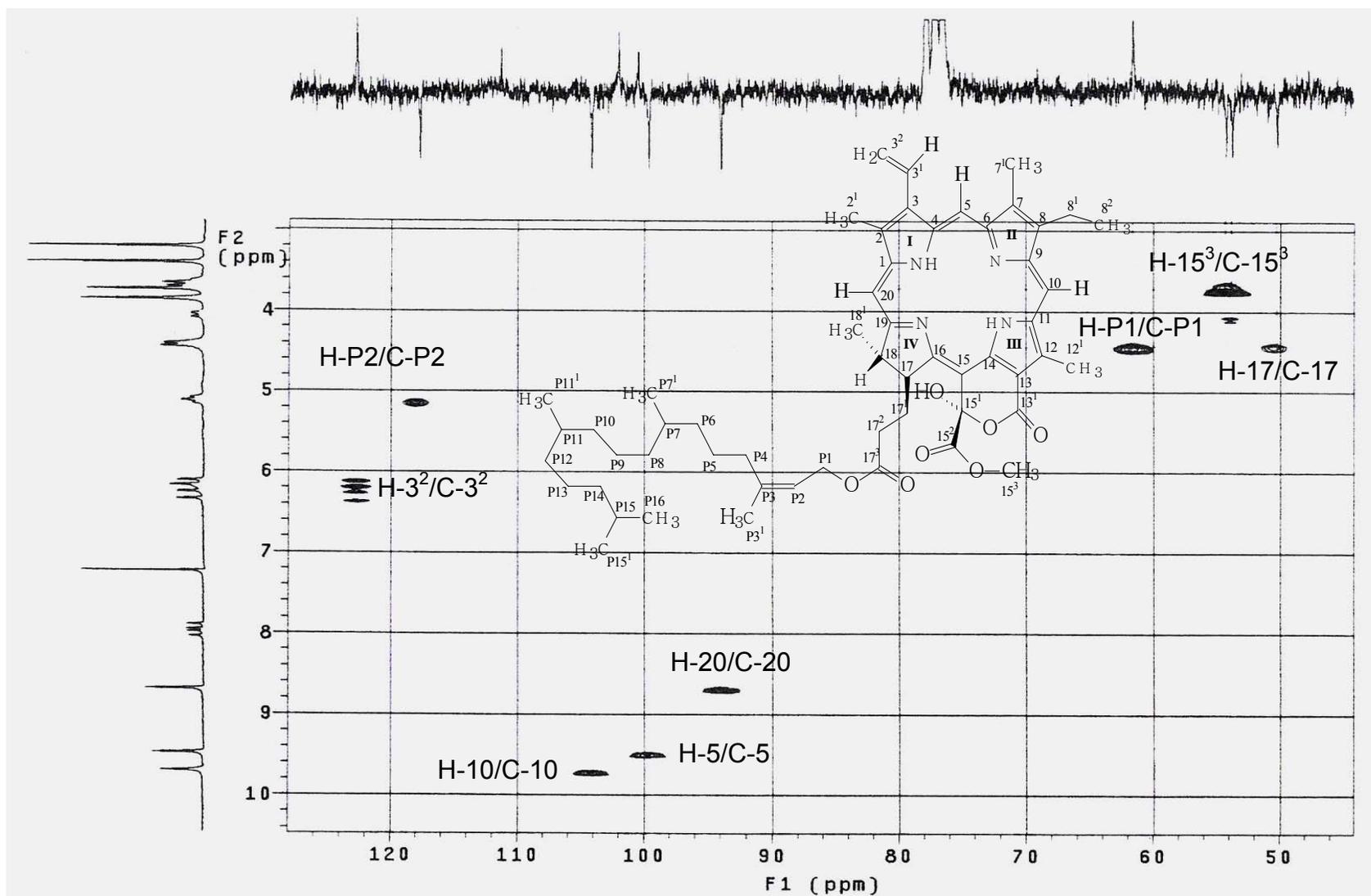


Figura 18 - Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02

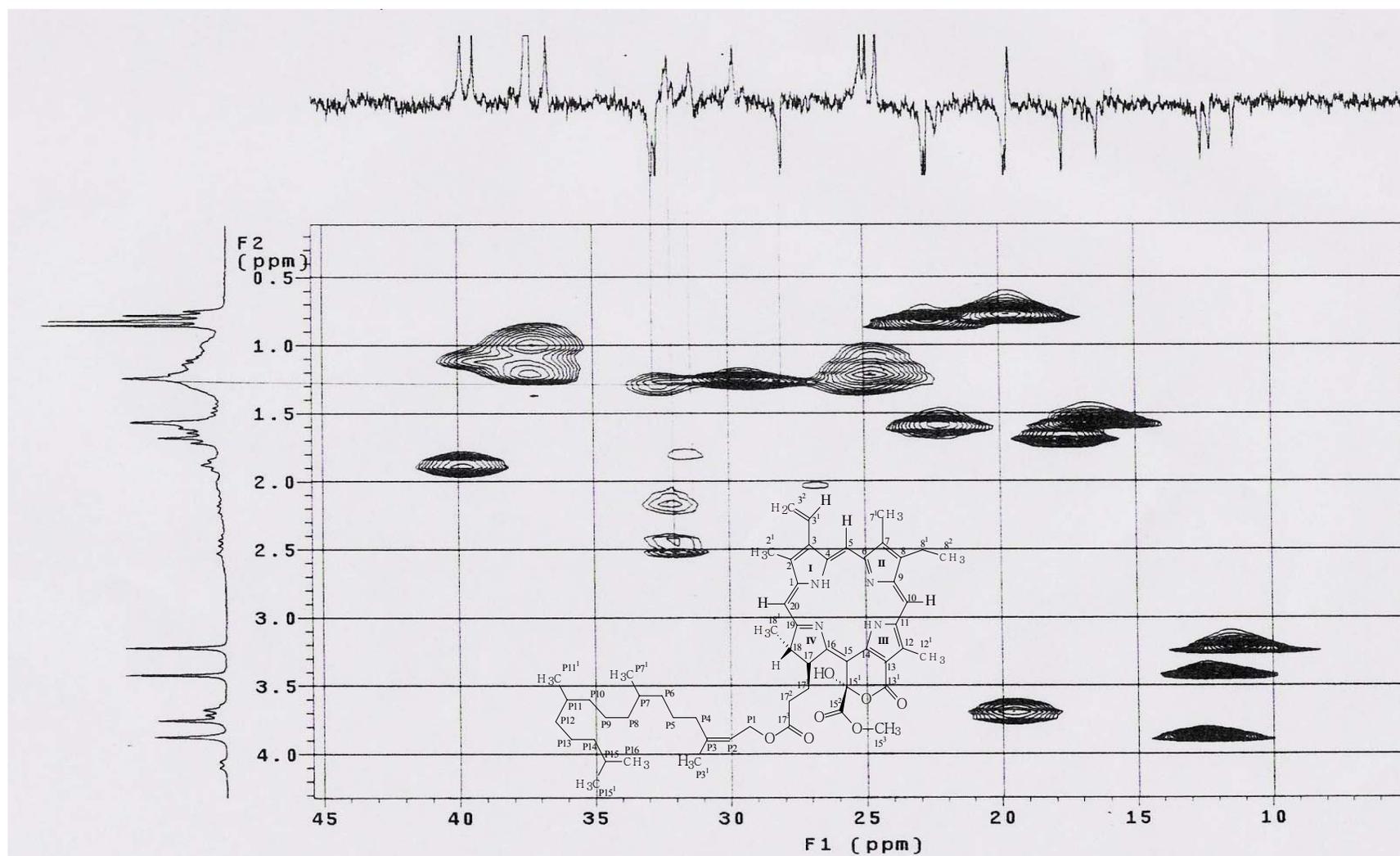


Figura 19 - Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02

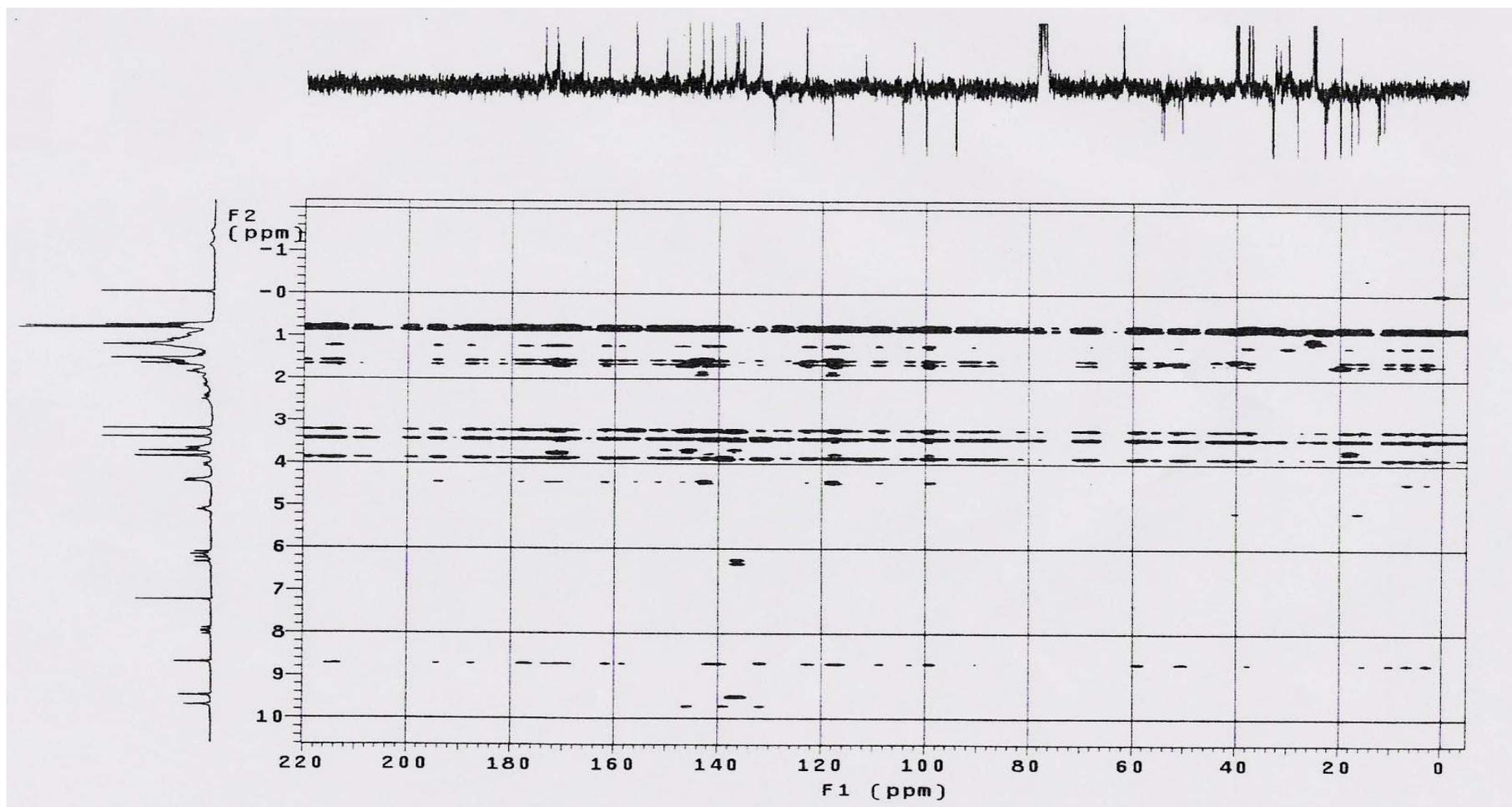


Figura 20 - Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02

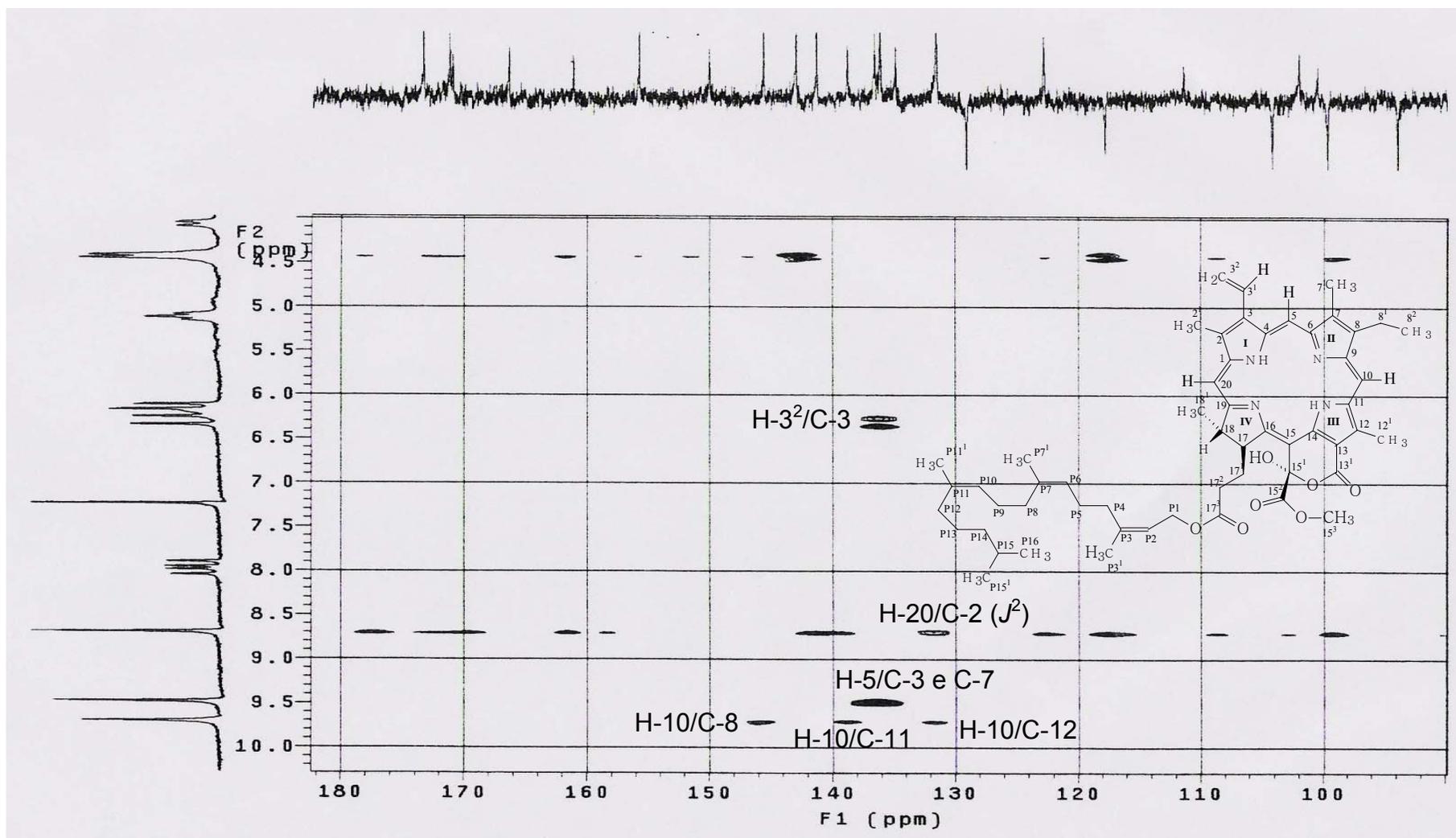


Figura 21 - Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Mp-02

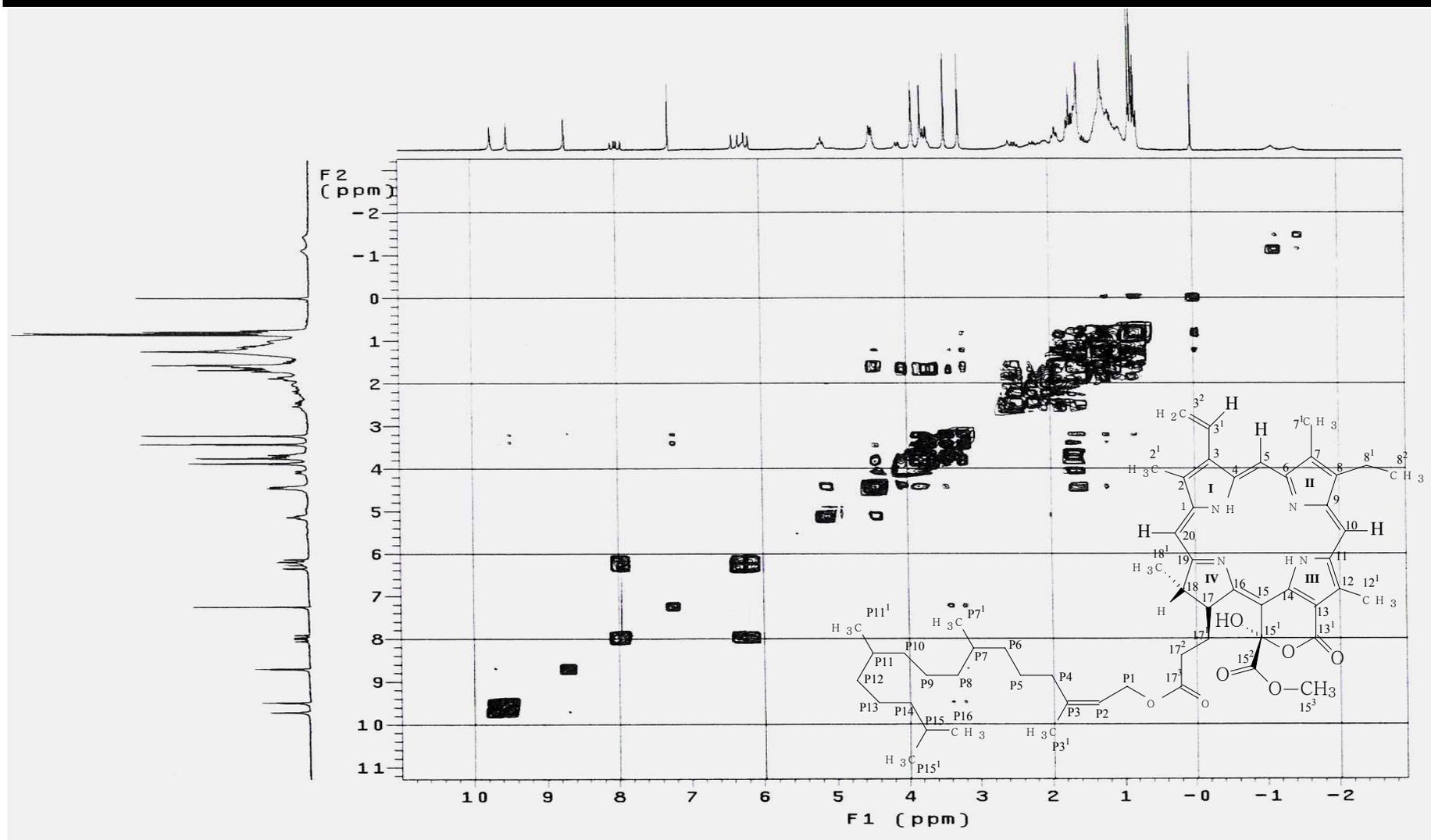


Figura 22 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02

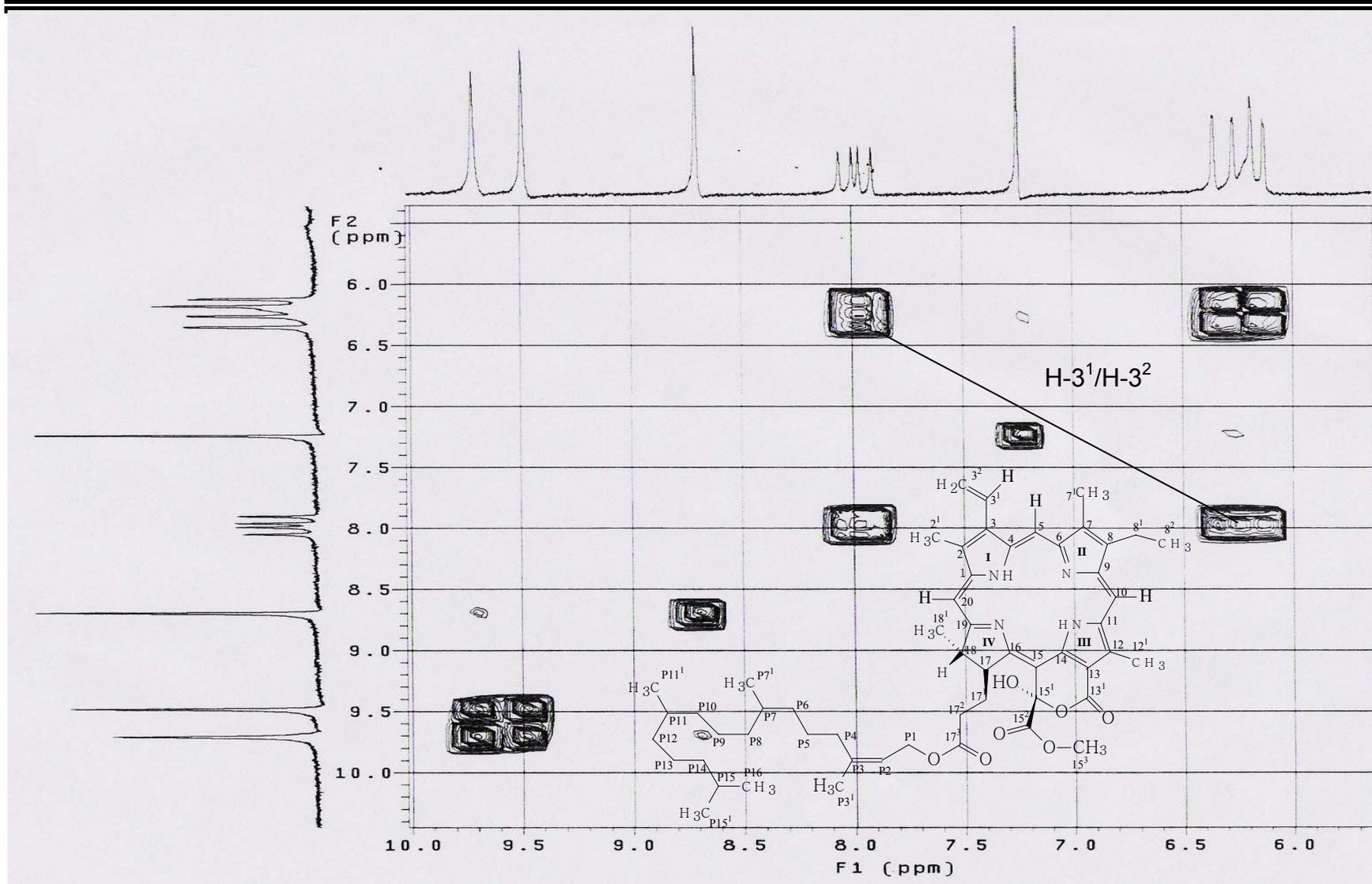


Figura 23 - Expansão do espectro de RMN ¹H x ¹H-COSY (δ, CDCl₃, 200 MHz) de Mp-02

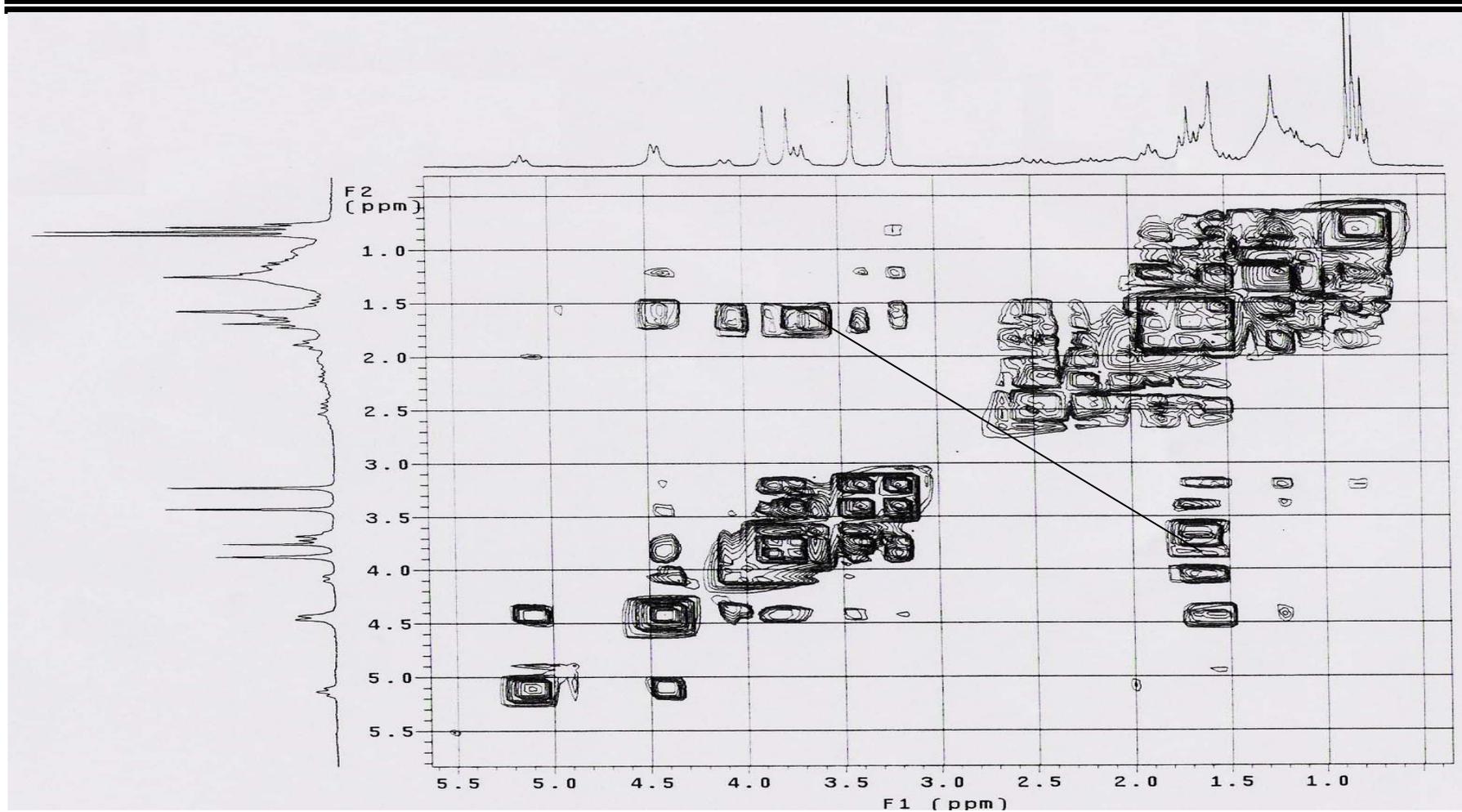


Figura 24 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02

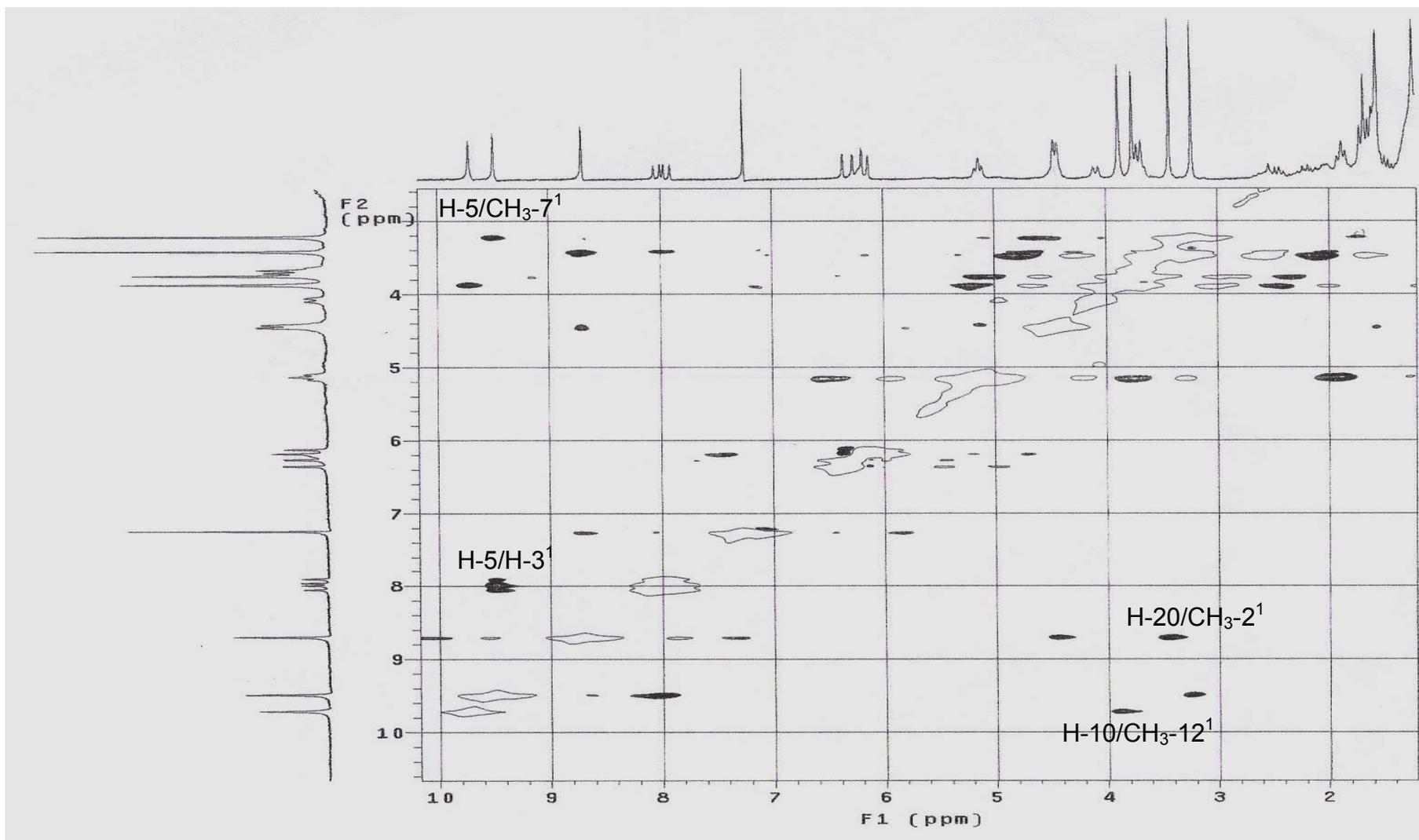


Figura 25 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Mp-02

5.2.3 Identificação estrutural de Mp-03

A substância Mp-03 apresentou-se na forma de pó fino amarelo escuro, solúvel em clorofórmio.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 29, p. 84) (Tabela 05, p. 79) utilizando a técnica APT (50 MHz, CDCl_3) apresentou doze sinais. Os sinais em δ 126,14 e 128,88 correspondem a dois e três carbonos, respectivamente, totalizando 15 carbonos. Dos 12 sinais 7 foram atribuídos a carbonos metínicos sp^2 , 1 a carbono metínico sp^3 , 1 a carbono metilênico sp^3 e 6 a carbonos não-hidrogenados. Os deslocamentos químicos dos carbonos em δ 79,21 (oximetínico) e δ 43,30 (metilênico) são compatíveis com os dados descritos na literatura para esqueleto de flavanonas (AGRAWAL, 1989). O sinal em δ 195,81 é sugestivo da presença de grupamento carbonila na molécula.

O espectro de RMN de ^1H e suas expansões (Figs. 26, 27 e 28, p. 81, 82 e 83) mostrou sinais em δ 5,40 (dd, $J = 12,6$ Hz e 3,2 Hz), δ 2,79 (dd, $J = 3,2$ Hz e 17 Hz) e em δ 3,07 ppm (dd, $J = 12,6$ Hz e 17 Hz) compatíveis com átomos de hidrogênios metínico e metilênico do núcleo C de flavanonas. Os valores de constante de acoplamento (J) de 12,6 Hz, 17 Hz e 3,2 Hz referem-se aos acoplamentos cis (H-2/H-3), geminal (H-3a/H-3b) e trans (H-2/H-3), respectivamente, dos hidrogênios metínico e metilênicos do núcleo C de flavanonas. O espectro HMQC (Fig. 33, p. 87), confirma esses assinalamentos pelas correlações com os carbonos δ 79,21 (C-2) e δ 43,30 (C-3), respectivamente. Absorções em δ 7,44-7,38 (m, 5H) e 5,99 (s, 2H) ppm foram atribuídos aos hidrogênios metínicos H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-6 e H-8 e confirmados pela correlação HMQC (Fig. 33, p. 87) com os carbonos δ 126,14 (C-2'/C-6'), δ 128,88 (C-3'/C-4'/C-5'), δ 96,75 (C-6) e δ 95,48 (C-8). A absorção em δ 7,44-7,38 ainda foi confirmada pelo espectro de correlação homonuclear - COSY devido ao acoplamento vicinal dos prótons H-2', H-3', H-4', H-5' e H-6' (Figs. 30, 31 e 32, p. 85 e 86) sugerindo assim um anel B não-substituído.

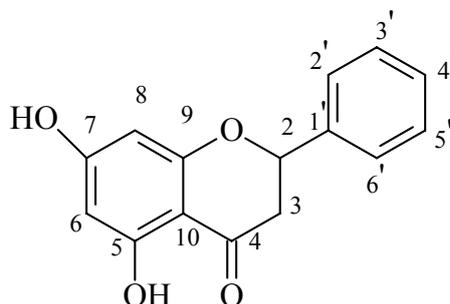
O espectro de correlação homonuclear - COSY (Figs. 30, 31 e 32, p. 85 e 86) mostrou ainda o acoplamento entre o hidrogênio metínico em δ 5,40 com os hidrogênios metilênicos em δ 2,79 e δ 3,07, e ainda que estes últimos estão

acoplado entre si com um $J=17$ Hz. Estes dados confirmam um esqueleto de flavanona para a molécula.

No espectro de RMN ^{13}C - APT (Fig. 29, p. 84), os deslocamentos químicos em δ 164,72 e δ 164,29 ppm são compatíveis com flavonóides oxigenados nas posições C-5 e C-7 (AGRAWAL, 1989). O deslocamento químico em δ 12,02 ppm no espectro de RMN de ^1H (Fig. 26, p. 81) compatível com hidroxila quelada na posição C-5 do anel A de flavonóides corroborou com a localização de um substituinte oxigenado em C-5.

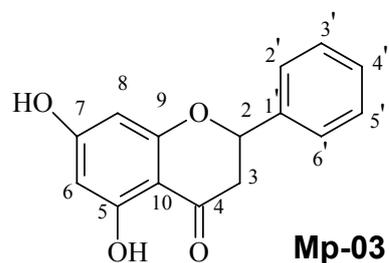
A ausência de valores na região de hidrogênios metoxílicos no espectro de RMN ^1H levou à proposta de uma hidroxila no carbono 7, já que no espectro de HMQC (Fig. 33, p. 87) foram observadas as correlações diretas entre os carbonos 6 e 8 com seus respectivos hidrogênios.

Os dados discutidos acima a partir da análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C e dos experimentos bidimensionais HMQC e HOMOCOSY permitiu sugerir para Mp-03 a seguinte estrutura:



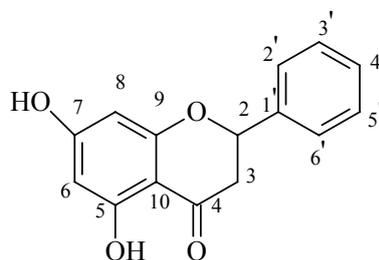
Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mp-03 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 06, p. 80) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 5,7-dihidroxi-flavanona, conhecida como Pinocembrina, descrita pela primeira vez na espécie em estudo e também no gênero *Mimosa*.

Tabela 05: Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Mp-03.



C	δ_{C}	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC	
		$^1J_{\text{CH}}$	δ_{H}
4	195,81	-	-
5	164,29	-	-
7	164,72	-	-
9	163,14	-	-
10	103,14	-	-
1'	138,24	-	-
CH			
2	79,21	5,40 (<i>dd</i> , $J=12,6$ e $3,2$ Hz)	
6	96,75	5,99 (<i>sl</i>)	
8	95,48	5,99 (<i>sl</i>)	
2'	126,14	7,44-7,38 (<i>m</i>)	
3'	128,88	7,44-7,38 (<i>m</i>)	
4'	128,88	7,44-7,38 (<i>m</i>)	
5'	128,88	7,44-7,38 (<i>m</i>)	
6'	126,14	7,44-7,38 (<i>m</i>)	
CH₂			
3	43,30	3,07 (<i>dd</i> , $J=12,6$ e 17 Hz)	
		2,79 (<i>dd</i> , $J=3,2$ e 17 Hz)	
OH-5	-	12,02 (<i>s</i>)	

Tabela 06: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mp-03 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com dados da literatura (δ , DMSO-d_6), (AGRAWAL, 1989).



Mp-03

	Mp-03 δ_{C}	Literatura δ_{C}
C		
4	195,81	195,80
5	164,29	163,60
7	164,72	166,60
9	163,14	162,70
10	103,14	101,90
1'	138,24	138,00
CH		
2	79,21	78,40
6	96,75	96,10
8	95,48	95,10
2'	126,14	126,50
3'	128,88	128,50
4'	128,88	128,50
5'	128,88	128,50
6'	126,14	126,50
CH₂		
3	43,30	42,2

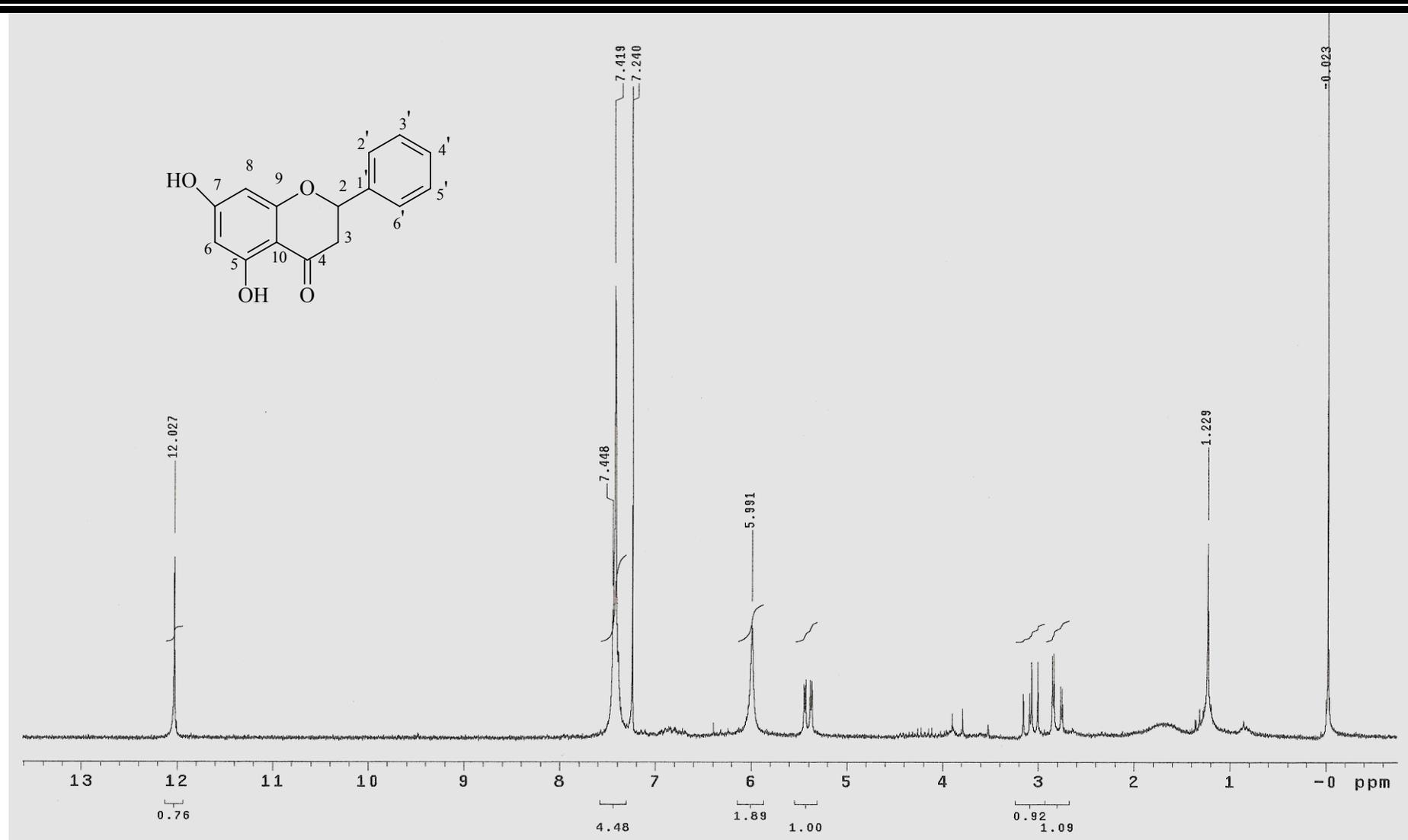


Figura 26 - Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de Mp-03

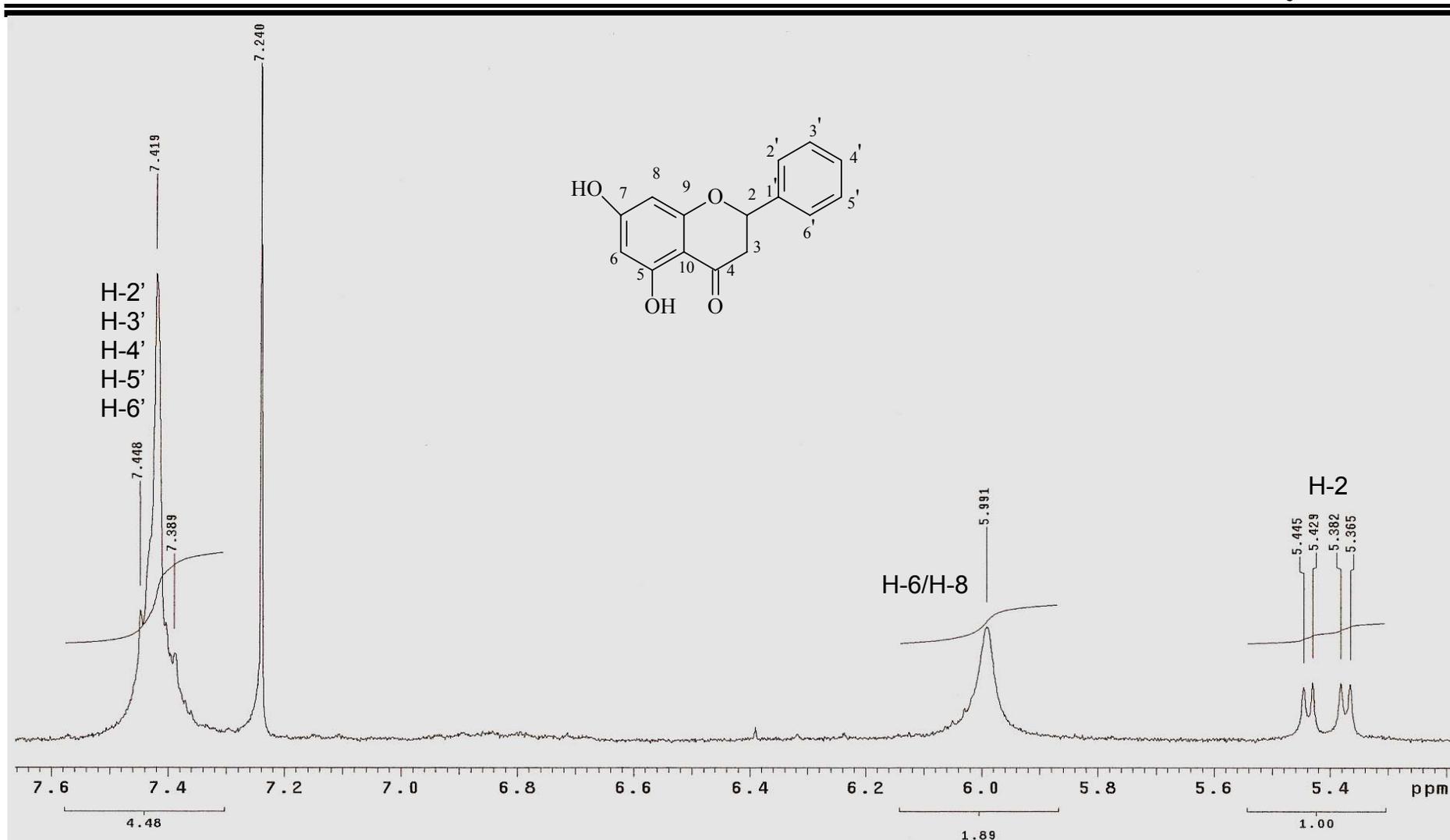


Figura 27 – Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03

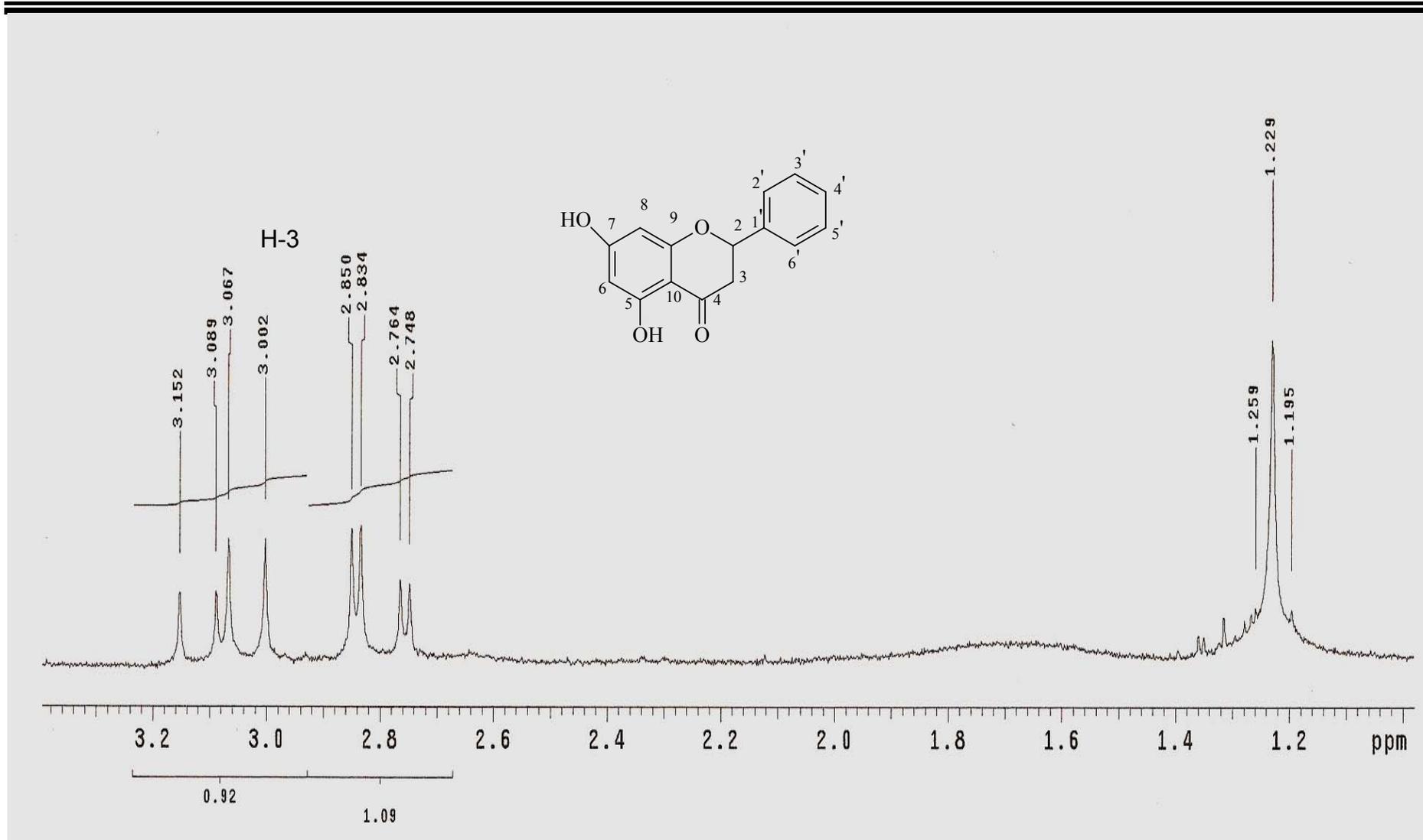


Figura 28 - Expansão do espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de Mp-03

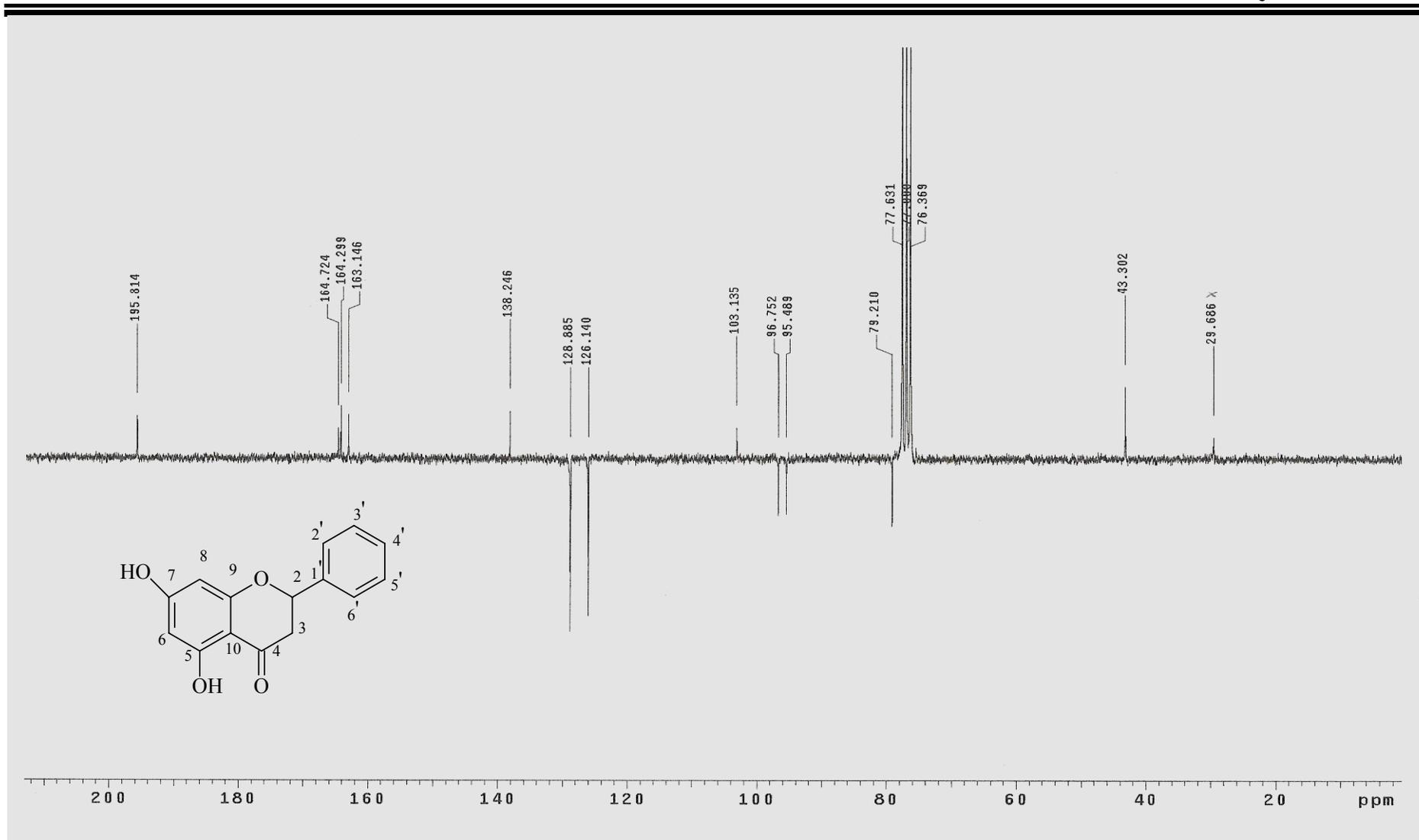


Figura 29 - Espectro de RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) de Mp-03

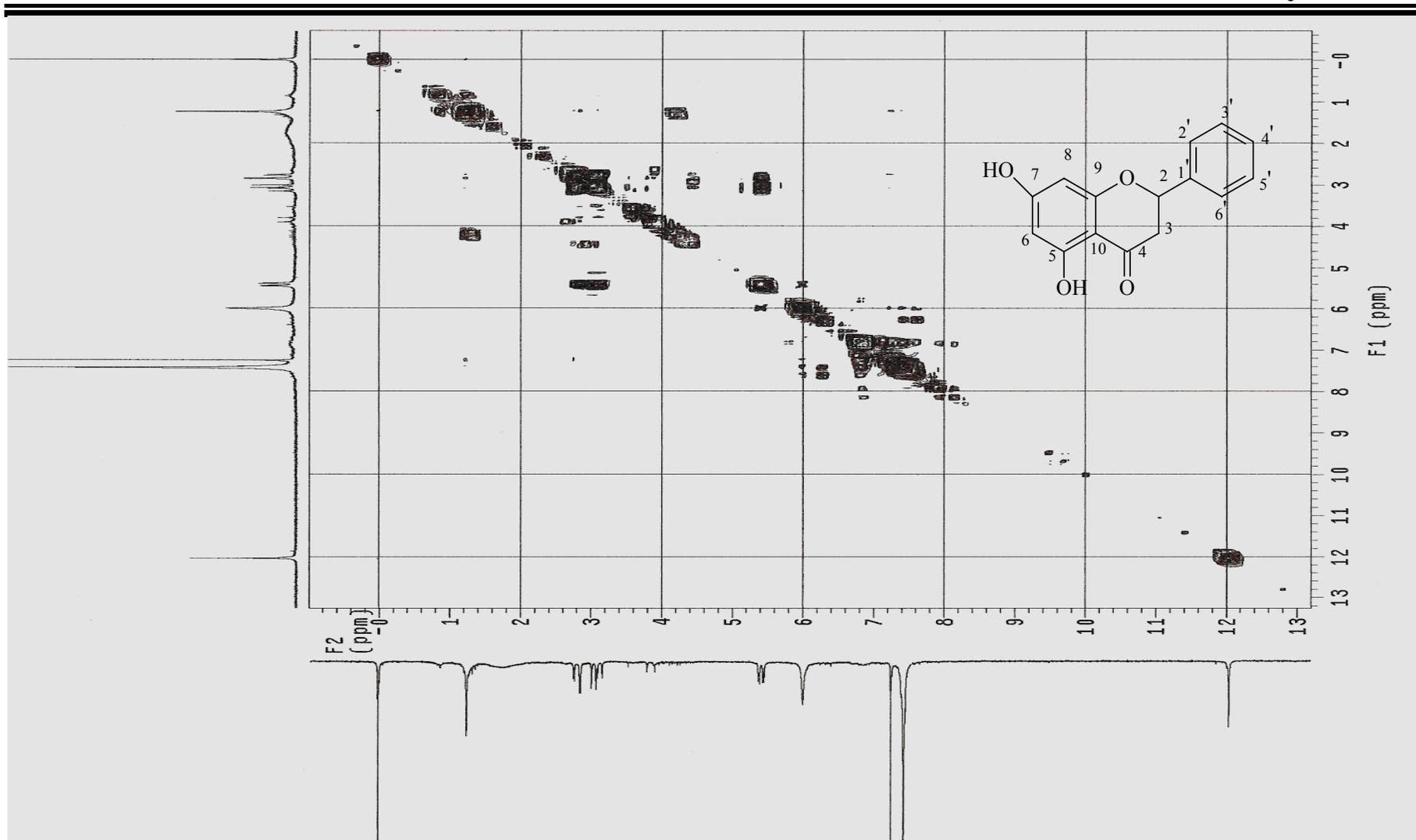


Figura 30 - Espectro de COSY (200 MHz, CDCl_3) de Mp-03

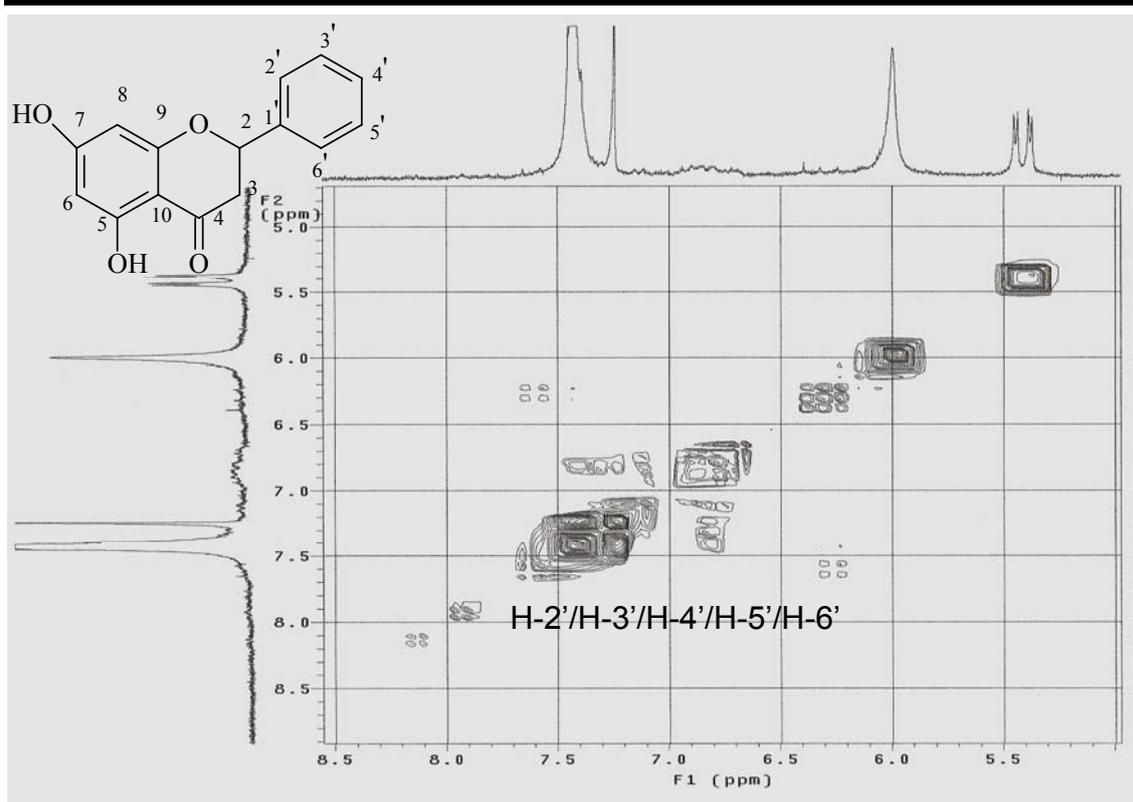


Figura 31 – Expansão do espectro de COSY (200 MHz, CDCl₃) de Mp-03

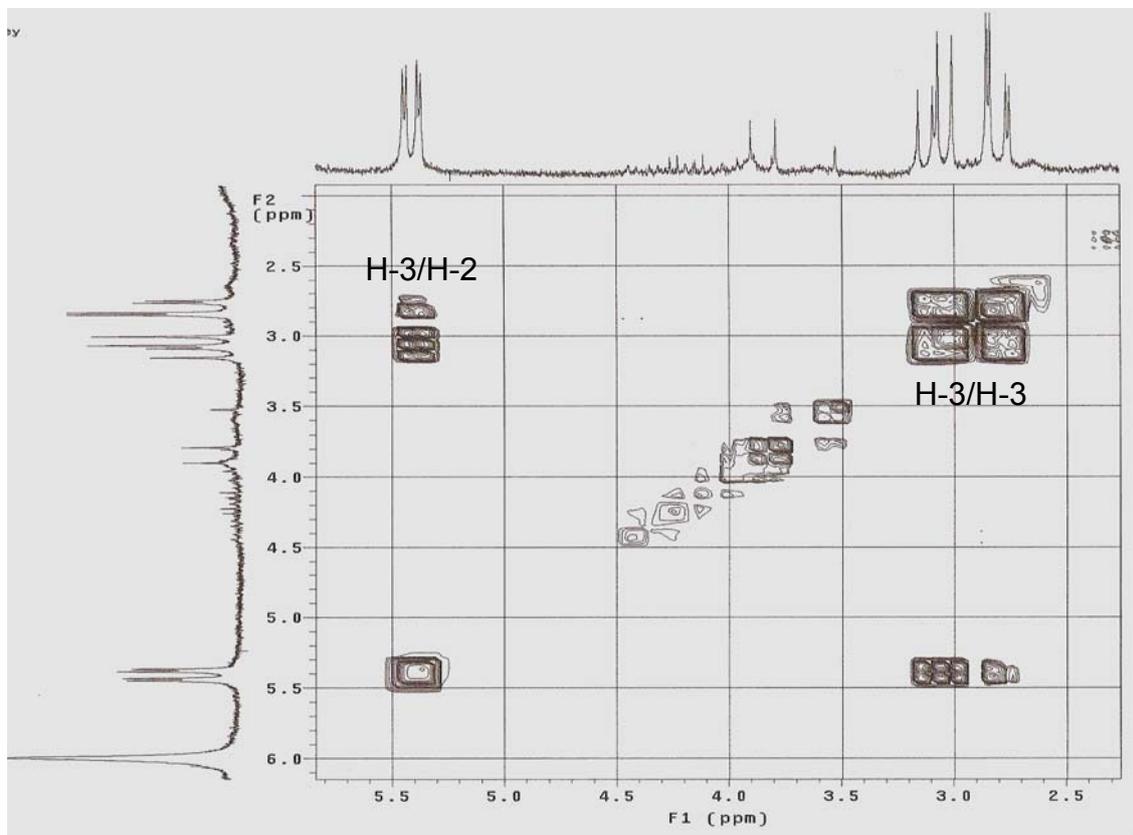


Figura 32 – Expansão do espectro de COSY (200 MHz, CDCl₃) de Mp-03

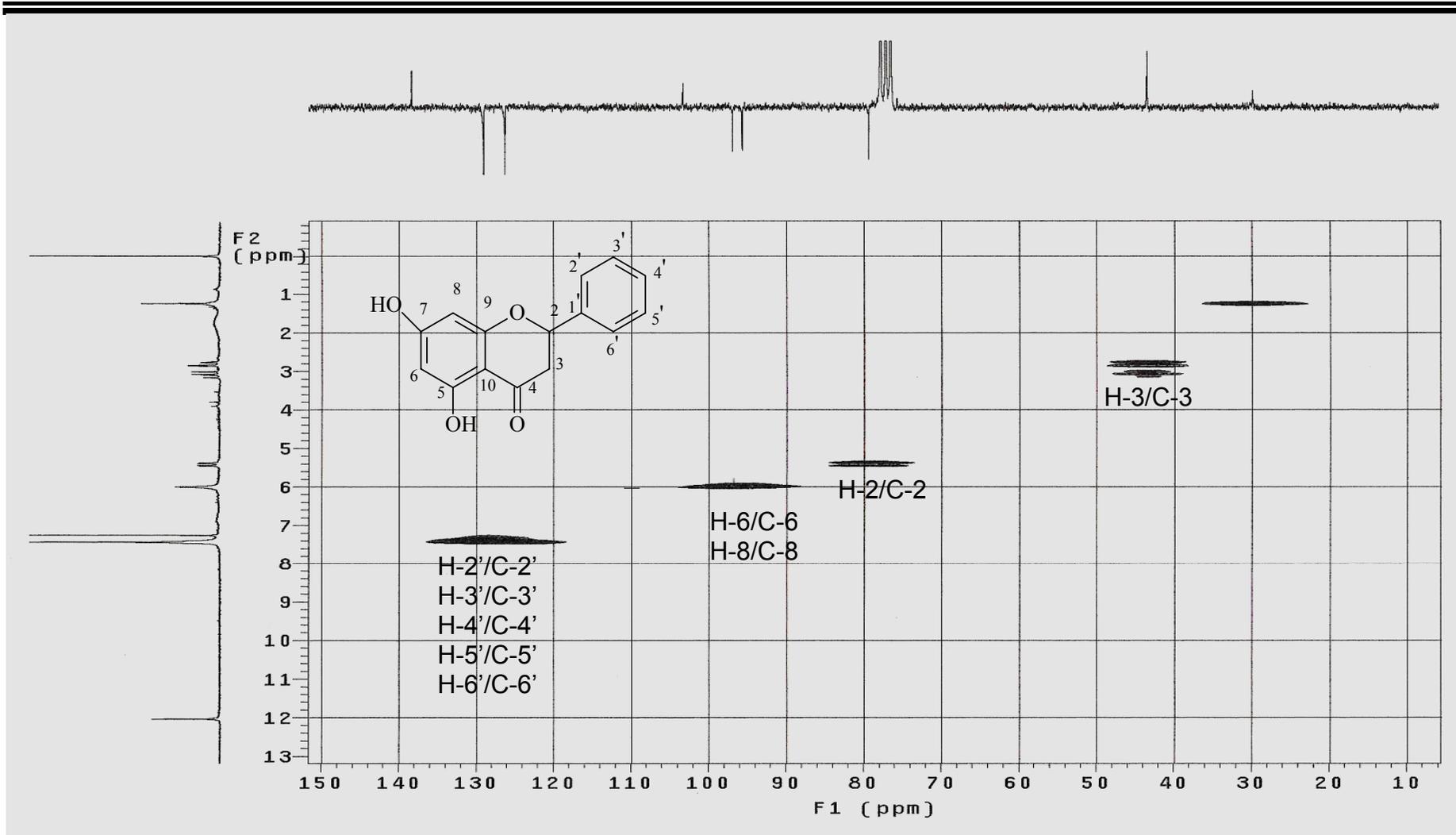


Figura 33 – Espectro HMQC (200 MHz, CDCl₃) de Mp-03

5.2.4 Identificação estrutural de Mp-04

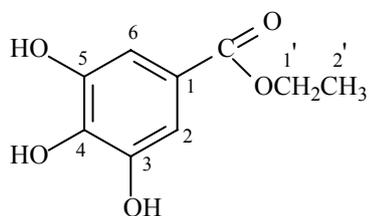
A substância Mp-04 apresentou-se como sólido amorfo branco, solúvel em metanol.

O espectro de RMN de ^1H (Fig. 34, p. 91) mostrou um simpleto largo na região de hidrogênios aromáticos em δ 7,04, um quarteto em δ 4,23 e um tripleto em δ 1,30. O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 35, p. 92, Tabela 07, p. 89) utilizando a técnica APT revelou a presença de sete sinais de carbono, sugerindo tratar-se de uma substância com anel aromático, possivelmente com quatro substituintes, pelo fato de mostrar uma absorção em δ 168,51 indicativo de deslocamento químico de carbonila de ácidos aromáticos, bem como absorções em δ 146,33 e δ 139,56, sugerindo carbonos com grupo substituinte oxigenado (SILVERSTEIN et al., 1994). Além destas absorções, observou-se ainda outro valor referente a carbono não hidrogenado (δ 121,63) e um carbono metínico (δ 109,93/2C), o que reforça a sugestão de quatro substituintes no anel.

Analisando-se o espectro de correlação bidimensional HMQC (Fig. 36, p. 93) foi possível observar as correlações diretas dos hidrogênios metínicos com seus respectivos carbonos metínicos (H-2/C-2 e H-6/C-6). Também observou-se as correlações dos hidrogênios alifáticos (H-1' e H-2') com seus respectivos carbonos C-1' e C-2'. Estas interações nos permitiram sugerir que Mp-04 tratava-se de um anel aromático tri-substituído, contendo um grupo carbonila, conforme sugerido pelo espectro de RMN ^{13}C /APT (Fig. 35, p. 92, Tabela 07, p. 89). As outras substituições seriam três grupos hidroxilas, pois não se observaram absorções referentes à hidrogênios e carbonos para metoxilas e/ou outros substituintes no espectro de RMN ^1H (Fig. 34, p. 91).

A partir dos dados discutidos acima foi possível identificar a substância Mp-04 como sendo o 3,4,5-trihidroxibenzoato de etila ou éster etílico do ácido gálico, descrito pela primeira vez na espécie em estudo. Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mp-04 com modelo da literatura (SDBS Information, 2008) (Tabela 08, p. 90) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias.

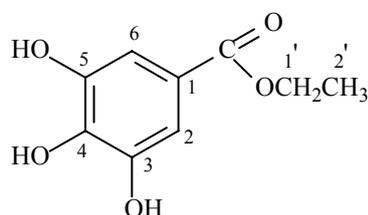
Tabela 07: Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , MeOD, 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Mp-04



Mp-04

	δ_{C}	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC $^1J_{\text{CH}}$ δ_{H}
C		
1	121,63	-
3	146,33	-
4	139,56	-
5	146,33	-
CH		
2	109,93	7,04 (s)
6	109,93	7,04 (s)
CH₂		
1'	61,66	4,23 (q)
CH₃		
2'	14,55	1,30 (t)
CO	168,51	

Tabela 08: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mp-04 (δ , MeOD, 50 MHz) com dados da literatura (δ , DMSO- d_6 , 100 MHz), (SDBS Information, 2008).



Mp-04

	Mp-04	Literatura
	δ_c	δ_c
C		
1	121,63	119,72
3	146,33	145,57
4	139,56	138,34
5	146,33	145,57
CH		
2	109,93	108,57
6	109,93	108,57
CH₂		
1'	61,66	60,0
CH₃		
2'	14,55	14,22
CO	168,51	165,85

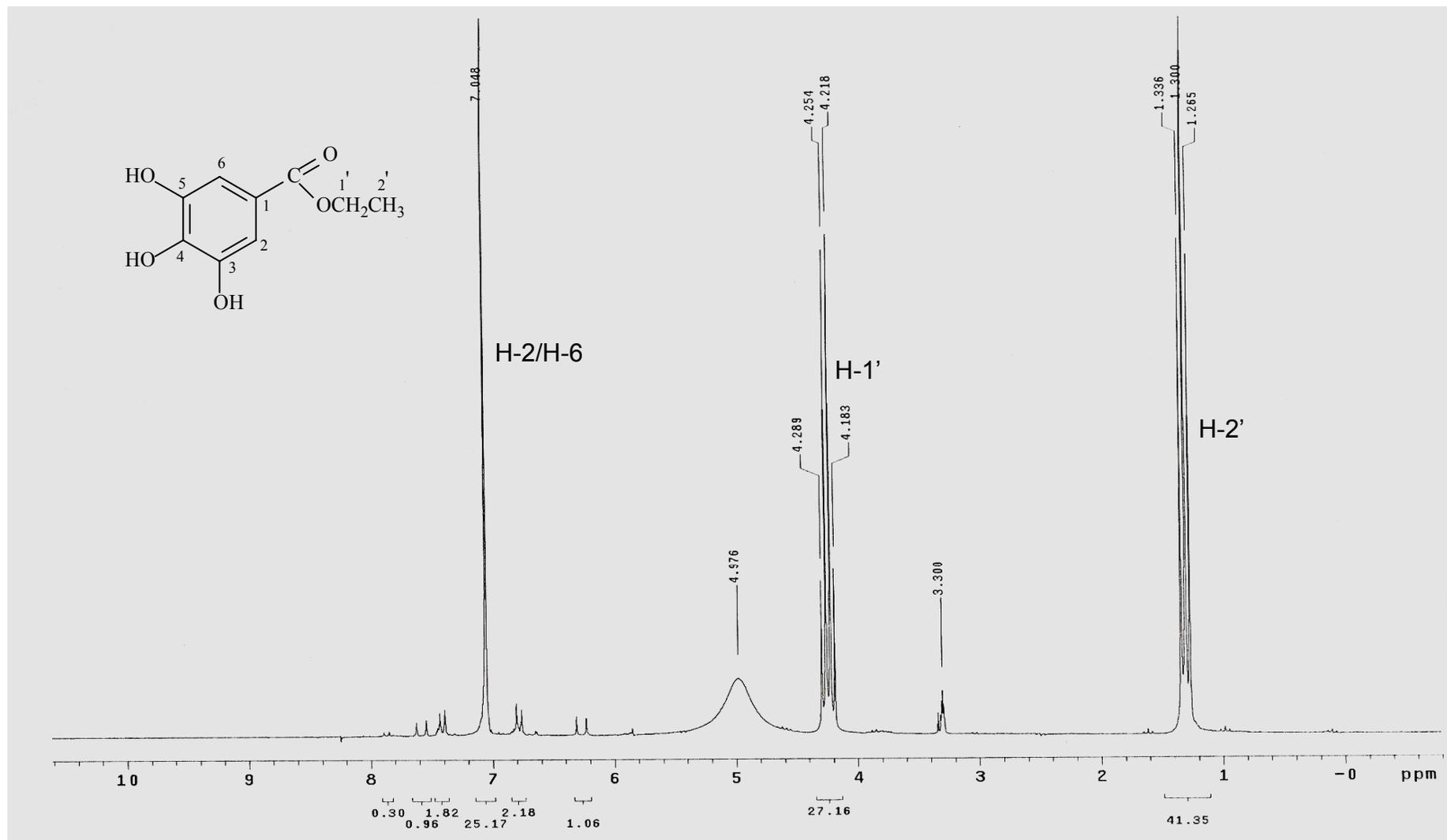


Figura 34 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, MeOD) de Mp-04

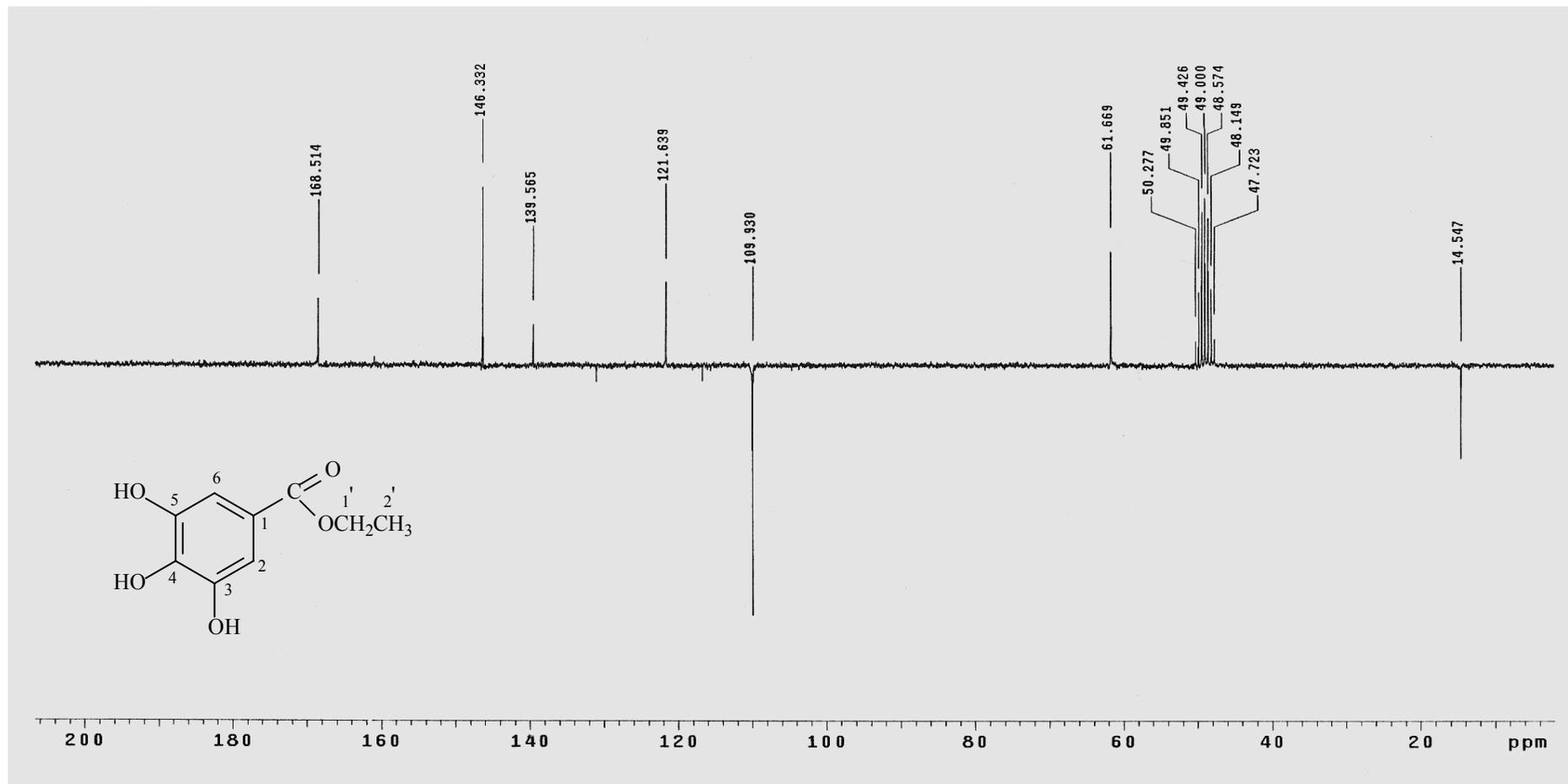


Figura 35 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, MeOD) de Mp-04

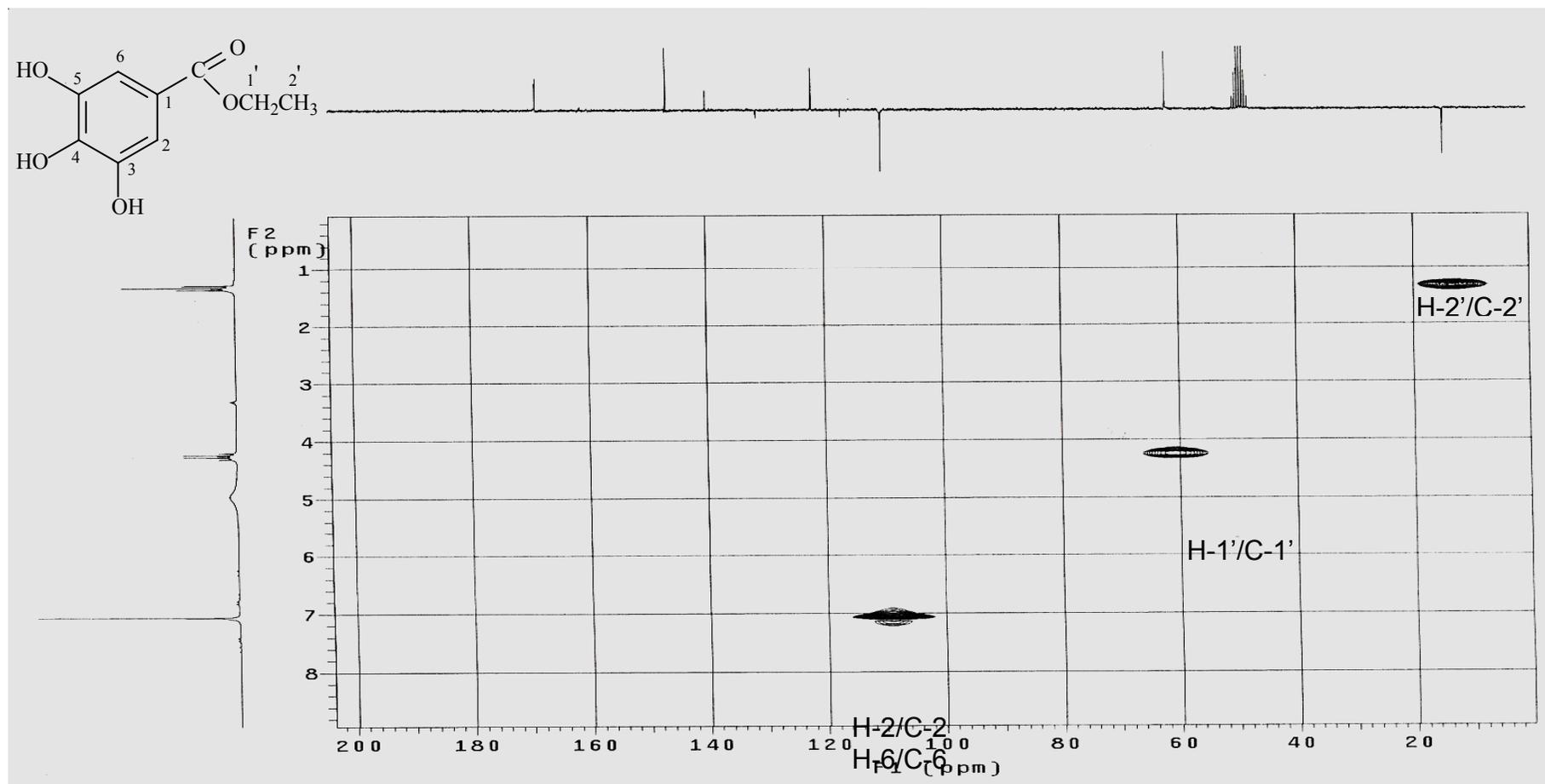
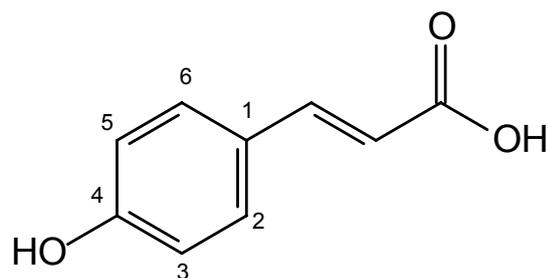


Figura 36 – Espectro HMQC (200 MHz, MeOD) de Mp-04

5.2.5 Identificação estrutural de Mp-05

A substância Mp-05 apresentou-se como sólido amorfo branco, solúvel em metanol, e apresentando ponto de fusão 210-213 °C.

O espectro de RMN ^1H (200 MHz) (Fig. 37, p. 95) mostrou a presença de quatro sinais de hidrogênios. Na região de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos observou-se em δ_{H} 7,43 e 6,79 dois dubletos integrado para dois hidrogênios cada, cujo valores de $J= 8,6$ Hz sugere acoplamento *orto* entre os dois pares de hidrogênios. A expansão do espectro de RMN ^1H (Fig. 38, p. 96) mostrou também dois dubletos em δ_{H} 7,59 e 6,27 exibindo acoplado *trans* ($J= 16$ Hz) referentes aos hidrogênios H- β e H- α , respectivamente. Comparações entre os dados de RMN ^1H da literatura (MIHARA et al, 2004) com os dados de Mp-05 (Tabela 09, p. 94) foram suficientes para identificar Mp-05 como sendo o ácido *p*-cumárico.



Mp-05

Tabela 09. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H de Mp-05 em MeOD com os da literatura (MeOD) (MIHARA et al, 2004).

	Mp-05	Literatura
	δ_{H}	δ_{H}
H-2	7,43 (<i>d</i> , $J=8,6$ Hz)	7,45 (<i>dd</i> , $J=8,6$ Hz)
H-3	6,79 (<i>d</i> , $J=8,6$ Hz)	6,81 (<i>dd</i> , $J=8,6$ Hz)
H-5	6,79 (<i>d</i> , $J=8,6$ Hz)	6,81(<i>dd</i> , $J=8,6$ Hz)
H-6	7,43 (<i>d</i> , $J=8,6$ Hz)	7,45 (<i>dd</i> , $J=8,6$ Hz)
H- α	6,27 (<i>d</i> , $J= 16$ Hz)	6,28 (<i>d</i> , $J= 15,8$ Hz)
H- β	7,59 (<i>d</i> , $J=16$ Hz)	7,53 (<i>d</i> , $J= 15,8$ Hz)

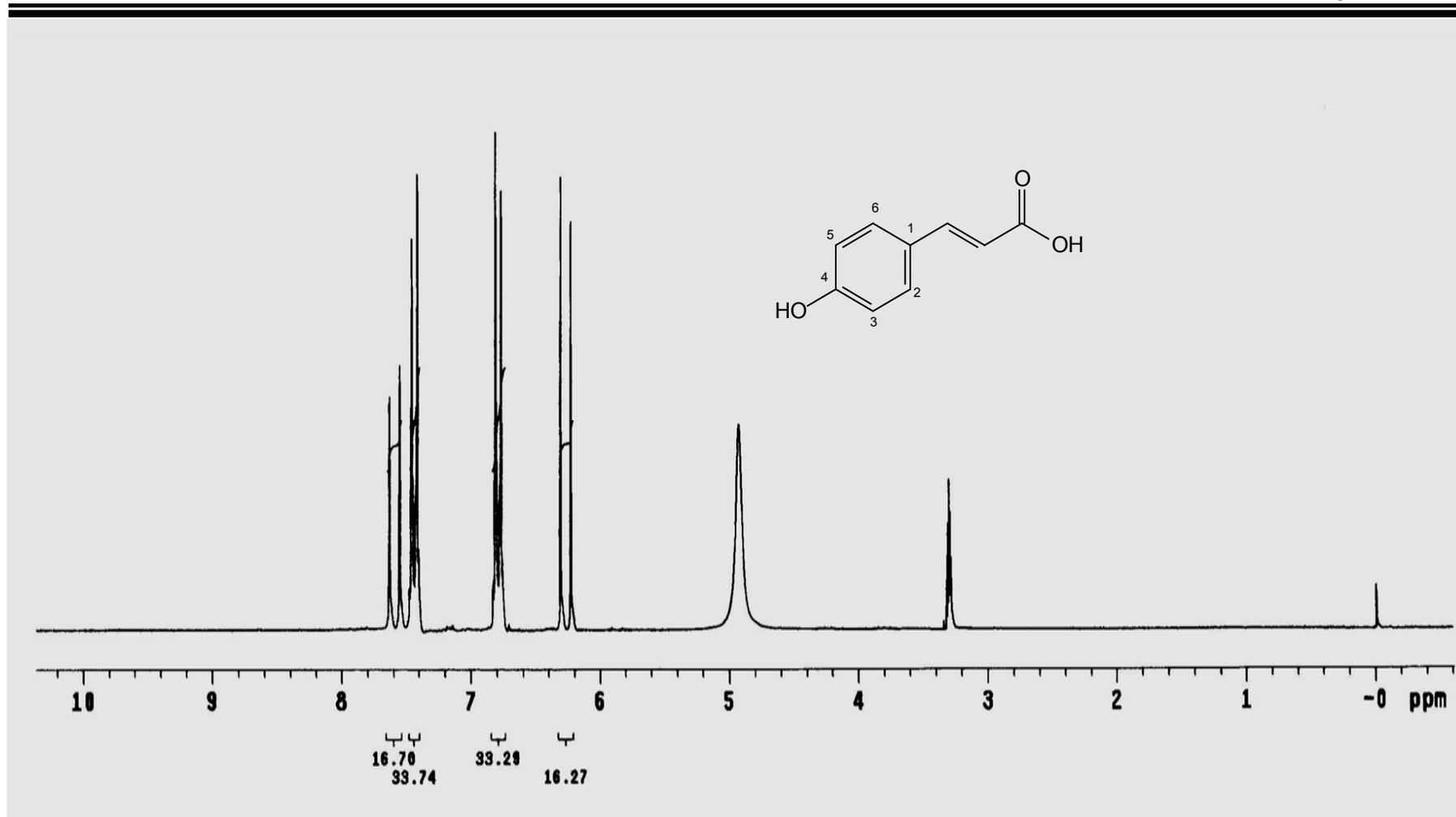


Figura 37 - Espectro de RMN de ^1H de Mp-05 (MeOD, 200 MHz)

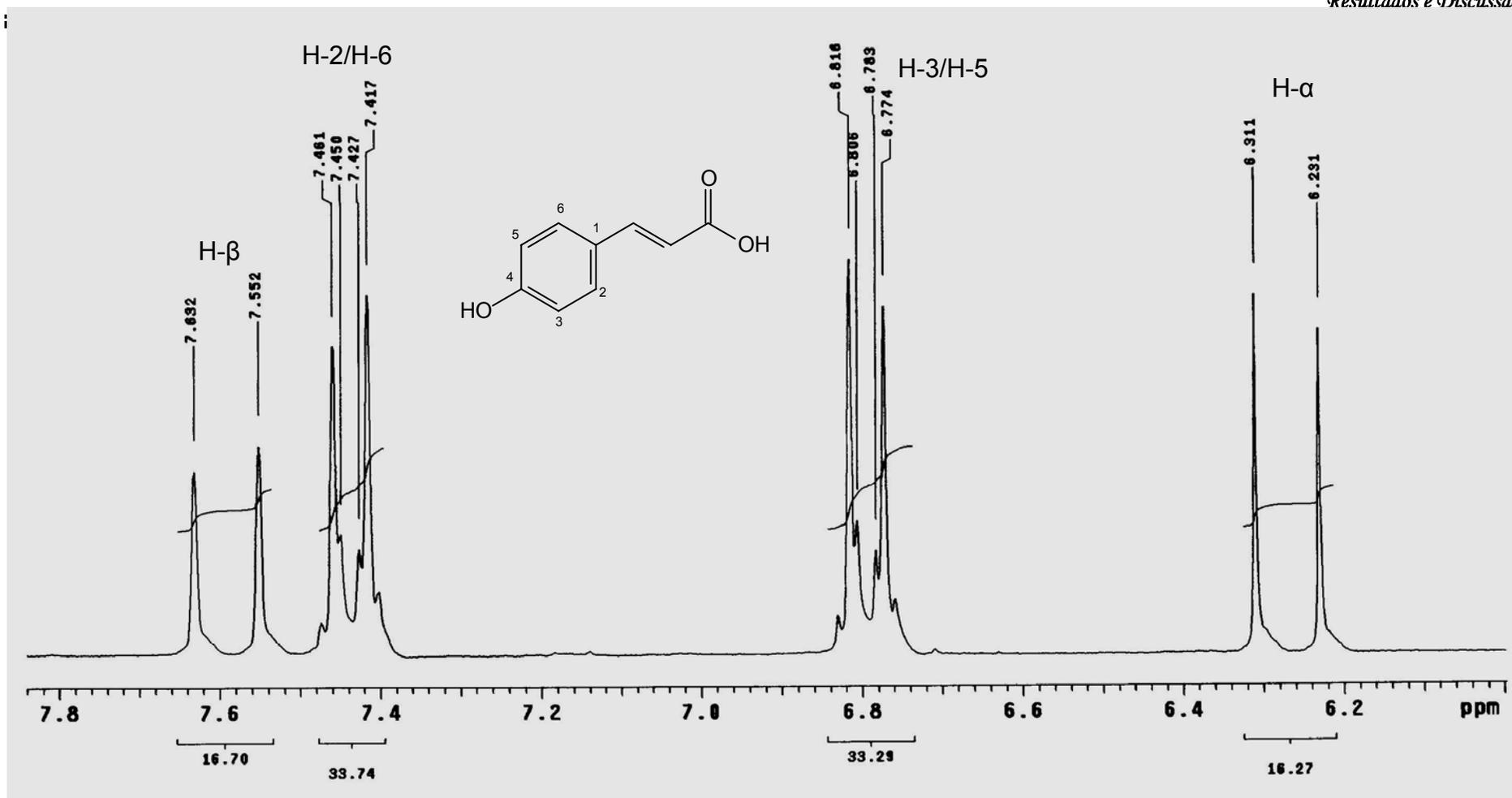


Figura 38 - Expansão do espectro de RMN de ^1H de Mp-05 (MeOD, 200 MHz)

5.3 Constituintes químicos isolados da fase clorofórmica de *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir.

Da fase clorofórmica de *Mimosa tenuiflora* foram isolados e purificados, por meio de técnicas cromatográficas, sete constituintes químicos, sendo todos flavonóides (Fig. 39). A identificação estrutural das substâncias foi realizada por meio de métodos espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais.

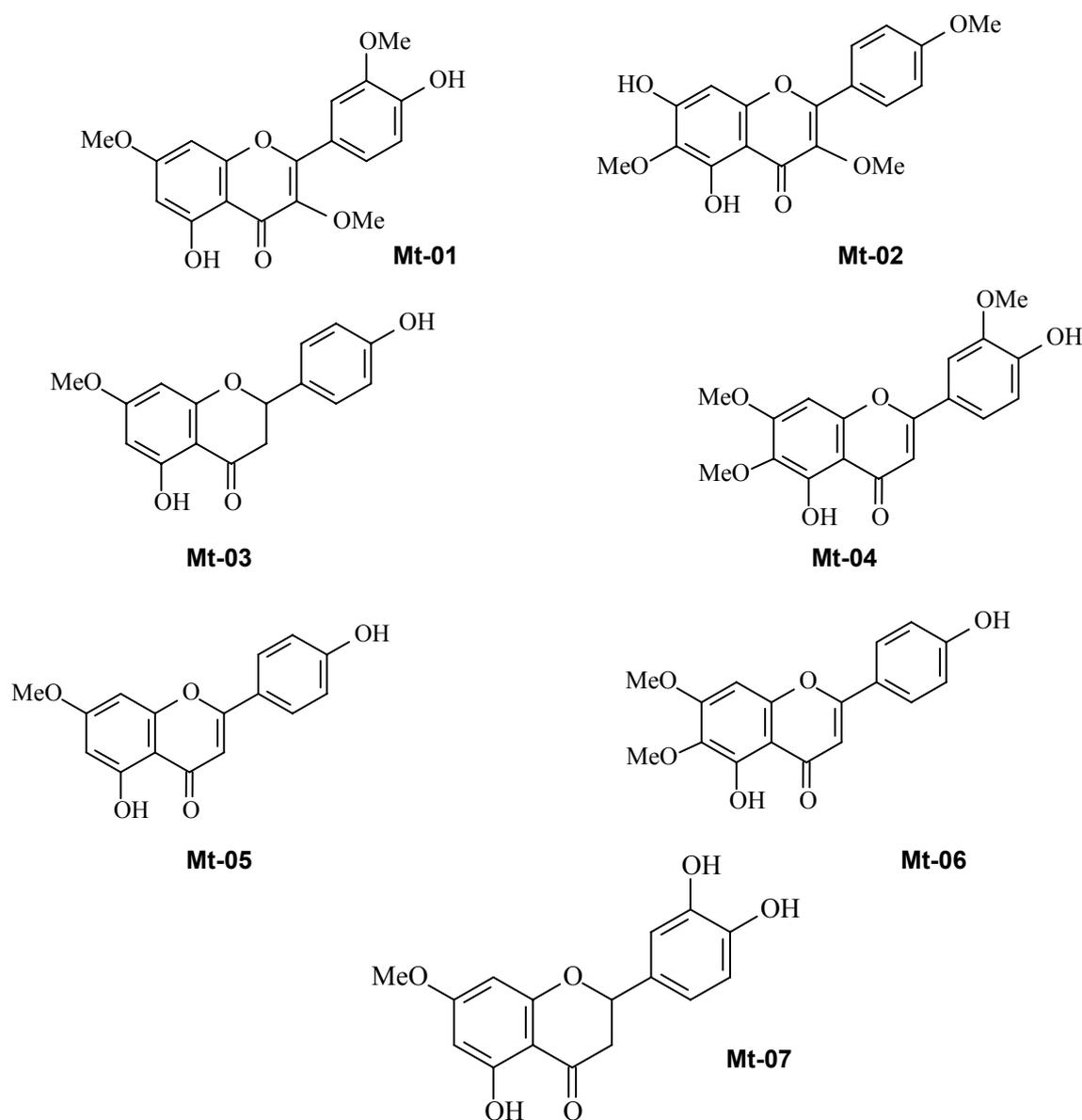


Figura 39 - Constituintes Químicos de *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir.

5.4 Identificação dos constituintes químicos de *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir.

5.4.1 Identificação estrutural de Mt-01

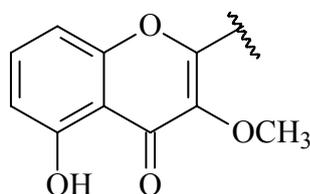
A substância Mt-01 apresentou-se na forma de cristais amarelo claro, solúvel em clorofórmio e apresentando ponto de fusão entre 160,5-162,4 °C.

O espectro de RMN ¹H (Fig. 40, p. 103) e sua expansão (Fig. 41, p. 104) de Mt-01 mostrou absorções na região de hidrogênios e metoxilas aromáticas na faixa de δ 6,36-7,70 e δ 3,86-3,98, respectivamente, sugerindo natureza aromática para a molécula. Um absorção em campo baixo, localizada em δ 12,63, corresponde ao valor típico de hidroxila quelada, normalmente observada em espectros de hidrogênio de flavonóides (KINOSHITA & FIRMAN, 1996), propondo a presença deste grupo para Mt-01. A presença na molécula de um sistema ABX pode ser sugerida por um conjunto de sinais correspondentes a um duplo duplete em δ 7,67 com acoplamento *orto* e *meta*, um duplete em δ 7,04 com acoplamento *orto* e outro duplete em δ 7,70, mostrando acoplamento *meta* (D'AGOSTINO et al., 1990). Este sistema pode ser devido às prováveis substituições nos carbonos 3' e 4' do anel B de flavonóides. A presença de dois dupletos em δ 6,36 e δ 6,44 referem-se aos hidrogênios 6 e 8, respectivamente, normalmente decorrentes de substituição por funções oxigenadas nos carbonos 5 e 7.

A análise do espectro de RMN ¹³C (Fig. 42, p. 105, Tabela 10, p. 101) mostrou 18 absorções de carbonos, sendo três carbonos metoxílicos, cinco metínicos e dez carbonos não hidrogenados. Observou-se que as absorções em δ 138,84, δ 146,35, δ 148,33, δ 162,02 e δ 165,44, atribuídos aos carbonos 3, 3', 4', 5 e 7, respectivamente, são comumente encontrados em esqueletos de flavonas penta-substituídas, particularmente as 3-hidroxi-flavonas, que se evidenciam principalmente pelo valor em δ 138,84, referente à substituição na posição 3 (AGRAWAL, 1989).

O deslocamento da carbonila do C-4 (δ 178,74) para campo baixo corroborou com a proposta de uma hidroxila no C-5 do esqueleto flavonoídico de Mt-01. A presença desta hidroxila pode ser sugerida pela absorção em δ

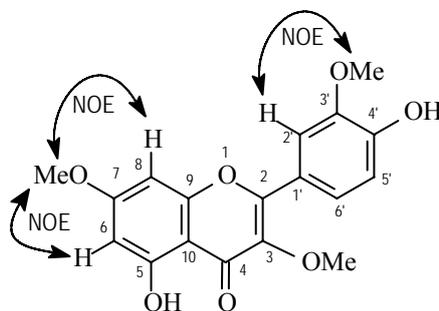
12,64 no espectro de RMN ^1H (Fig. 40, p. 103). Contudo, um grupo metoxila no C-3 promove um deslocamento químico da carbonila C-4 para campo alto, de maneira que esta passa a absorver entre δ 178,5 e δ 179,0. Em Mt-01, esta proposta de grupo metoxila em C-3 pode ser fortalecida, haja vista que o C-4 absorveu em δ 178,74. A absorção em δ 60,16 também corroborou com a presença de uma metoxila em C-3, valor comumente observado para tal substituinte nesta posição (ROITMAN & JAMES, 1985; RASHID et al., 1992). Estas observações suportaram a sugestão da presença de grupos hidroxila e metoxila nas posições 5 e 3, respectivamente, permitindo propor a estrutura seguinte para os anéis A e C de Mt-01:



O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 42, p. 105) mostrou ainda duas outras absorções referentes à metoxilas aromáticas, cujos picos se encontram em δ 56,11 e δ 55,81, de onde se pode inferir que as mesmas estariam estericamente desimpedidas. Como foi observado nos espectros de RMN ^1H (Figs. 40 e 41, p. 103 e 104), a presença de dois dupletos em δ 6,36 e δ 6,44 com acoplamento *meta*, remetem a um padrão 5,7-dissubstituído para o anel A. As outras absorções na região de hidrogênios aromáticos, ao sugerirem um sistema ABX, levaram a propor a presença de dois substituintes oxigenados nas posições 3' e 4'.

O espectro bidimensional NOESY (Figs. 43, 44, p. 106 e 107) mostrou a correlação entre o hidrogênio H-2' e a metoxila em C-3', confirmando assim a posição da metoxila em C-3' do anel C, sendo portanto, o outro substituinte oxigenado do anel C localizado na posição 4', já que como visto anteriormente, este anel possui um sistema ABX nas posições 5' e 6', restando apenas a posição 4' para localização deste substituinte oxigenado, que como visto pelo espectro de RMN ^1H , trata-se de uma hidroxila. O mesmo espectro também

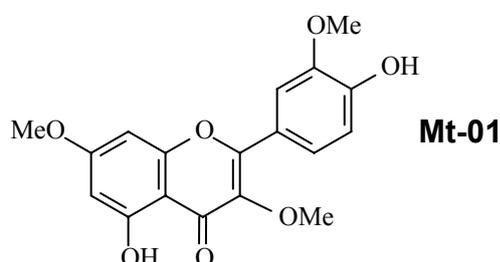
mostrou a correlação entre os hidrogênios 6 e 8 com a metoxila em C-7, confirmando então a posição da metoxila em C-7 do anel A.



A proposta estrutural de localização das metoxilas e hidroxilas da molécula ainda teve sua confirmação feita através do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figs. 45, 46 e 47, p. 108 a 110, Tabela 10, p. 101), que mostrou correlações entre carbonos e hidrogênios a duas e três ligações. Por meio deste espectro foi possível observar que a metoxila estericamente desimpedida (δ 55,81) estaria na posição 7, por ser evidente a correlação a três ligações entre os hidrogênios metoxílicos em δ 3,87 e o carbono 7 em δ 165,44. A metoxila no carbono 3' foi então confirmada pela interação 3J dos hidrogênios em δ 3,98 com o carbono 3' (δ 146,35). As confirmações de carbonos e hidrogênios do anel A foram feitas através das seguintes interações: H-6 (δ 6,36) a duas e três ligações com os carbonos 5 (δ 162,02) e 10 (δ 106,03), respectivamente; H-8 (δ 6,44) com os carbonos 7 (δ 165,44) e 9 (δ 156,71) a duas ligações e com o carbono 6 (δ 97,84) a três ligações. Para o anel B este mesmo espectro mostrou as seguintes correlações: H-5' (δ 7,04) a três ligações com os carbonos 1' (δ 122,46) e 3' (δ 146,35) e H-2' (δ 7,70) a 3J com os carbonos 2 (δ 155,91), C-4' (δ 148,33) e C-6' (δ 122,67). As atribuições de carbono e hidrogênios da metoxila sugerida para a posição 3 foram confirmadas a partir da correlação a três ligações entre as absorções δ 3,85 e δ 138,84 (C-3). A proposta estrutural da molécula ainda teve sua confirmação feita através do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (Fig. 48, p. 111, Tabela 10, p. 101), que mostrou correlações entre carbonos e hidrogênios a uma ligação.

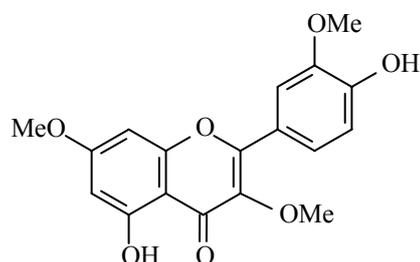
Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-01 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 11, p. 102) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 4',5-dihidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona, conhecida como pachipodol ou ainda quercetina-3,7,3'-trimetil éter. Este composto está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.

Tabela 10: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-01 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{\text{CH}}$), duas ($^2J_{\text{CH}}$) e três ($^3J_{\text{CH}}$) ligações ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em CDCl_3 .



	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
2	155,91	-		H-2'; H-6'
3	138,84	-		MeO-3
4	178,74	-		
5	162,02	-	HO-5; H-6	
7	165,44	-	H-6; H-8	
9	156,71	-	H-8	
10	106,03	-		HO-5; H-6; H-8
1'	122,46	-		H-5'
3'	146,35	-	H-2'	MeO-3'; H-5'
4'	148,33	-	H-5'	H-2'; H-6'
CH	-			
6	97,84	6,36 (d, 1,8)		HO-5; H-8
8	92,18	6,44 (d, 1,8)		H-6
2'	110,90	7,70 (d, 1,8)		H-6'
5'	114,58	7,04 (d, 8,4)		
6'	122,67	7,67 (dd, 8,4; 1,8)		H-2'
MeO				
3	60,16	3,85 (s)		
3'	56,11	3,98 (s)		
7	55,81	3,87 (s)		
HO-5	-	12,64 (s)		

Tabela 11: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-01 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO-d_6), (AGRAWAL, 1989).



Mt-01

Carbonos	Mt-01	Literatura
C	δ_{C}	δ_{C}
2	155,91	155,80
3	138,84	137,90
4	178,74	178,00
5	162,02	160,90
7	165,44	165,10
9	156,71	156,30
10	106,03	105,20
1'	122,46	120,70
3'	146,35	147,50
4'	148,33	150,00
CH		
6	97,84	97,80
8	92,18	92,40
2'	110,90	112,10
5'	114,58	115,70
6'	122,67	122,30
MeO		
3	60,16	-
3'	56,11	-
7	55,81	-

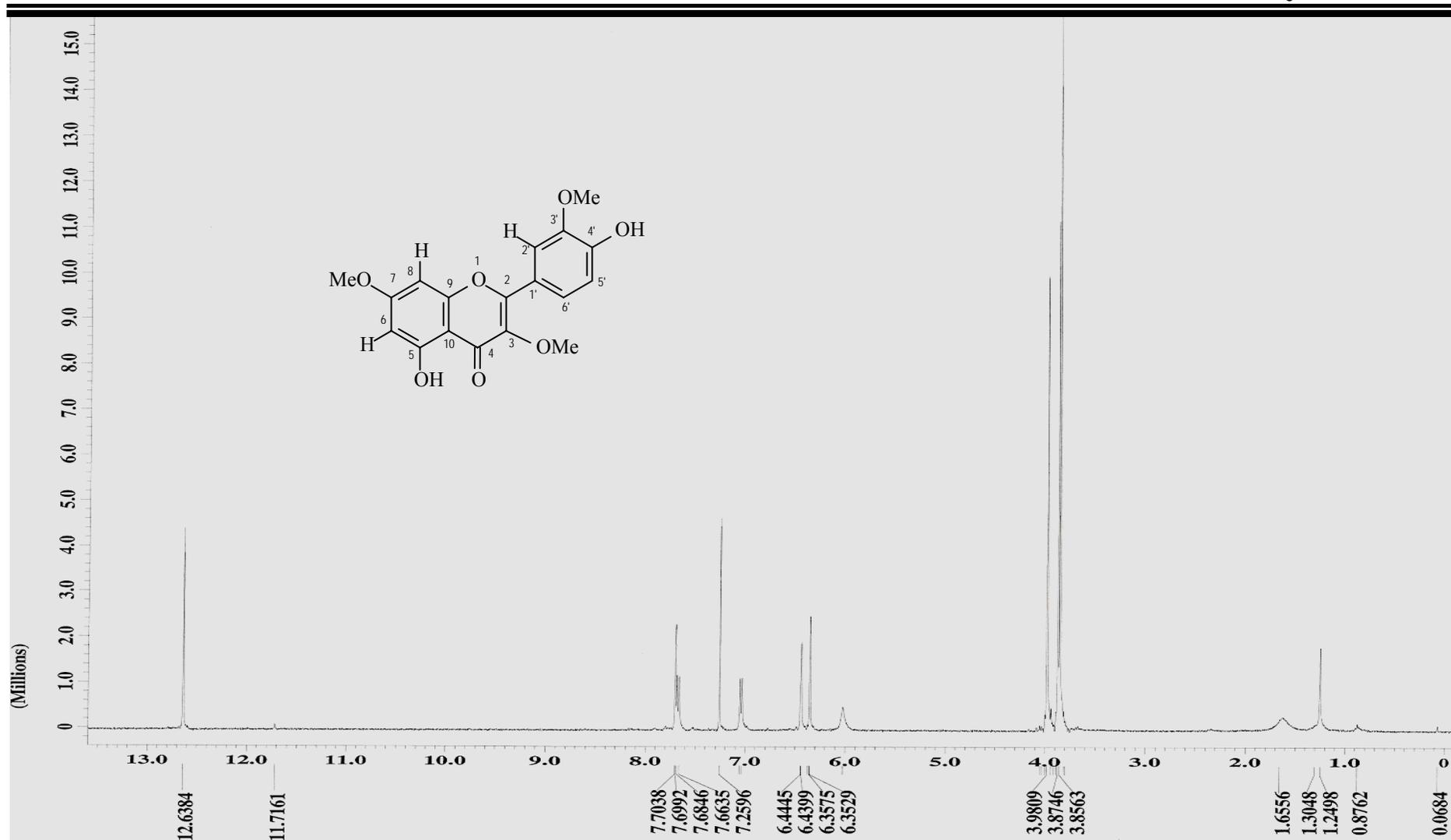


Figura 40 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

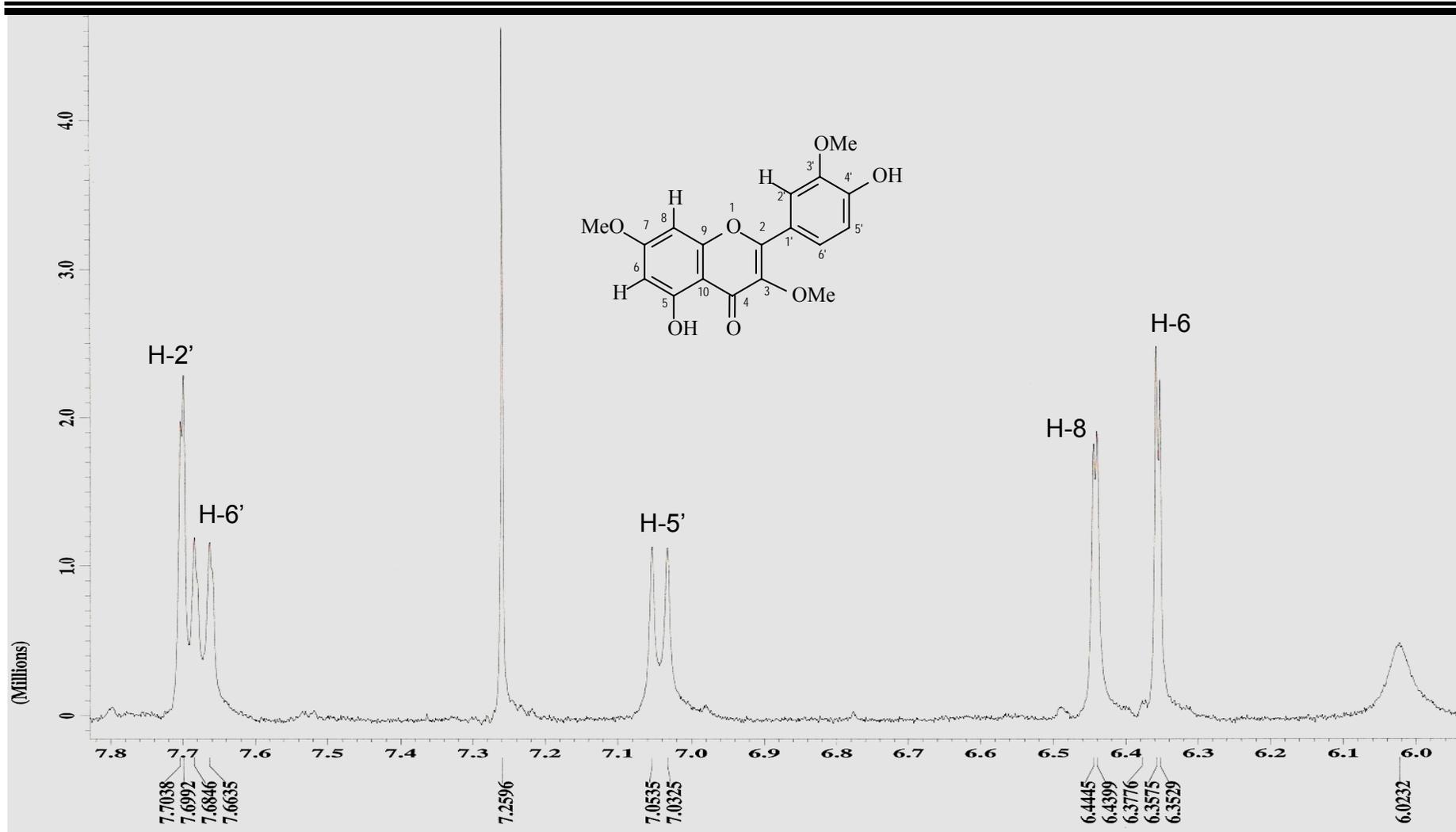


Figura 41 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

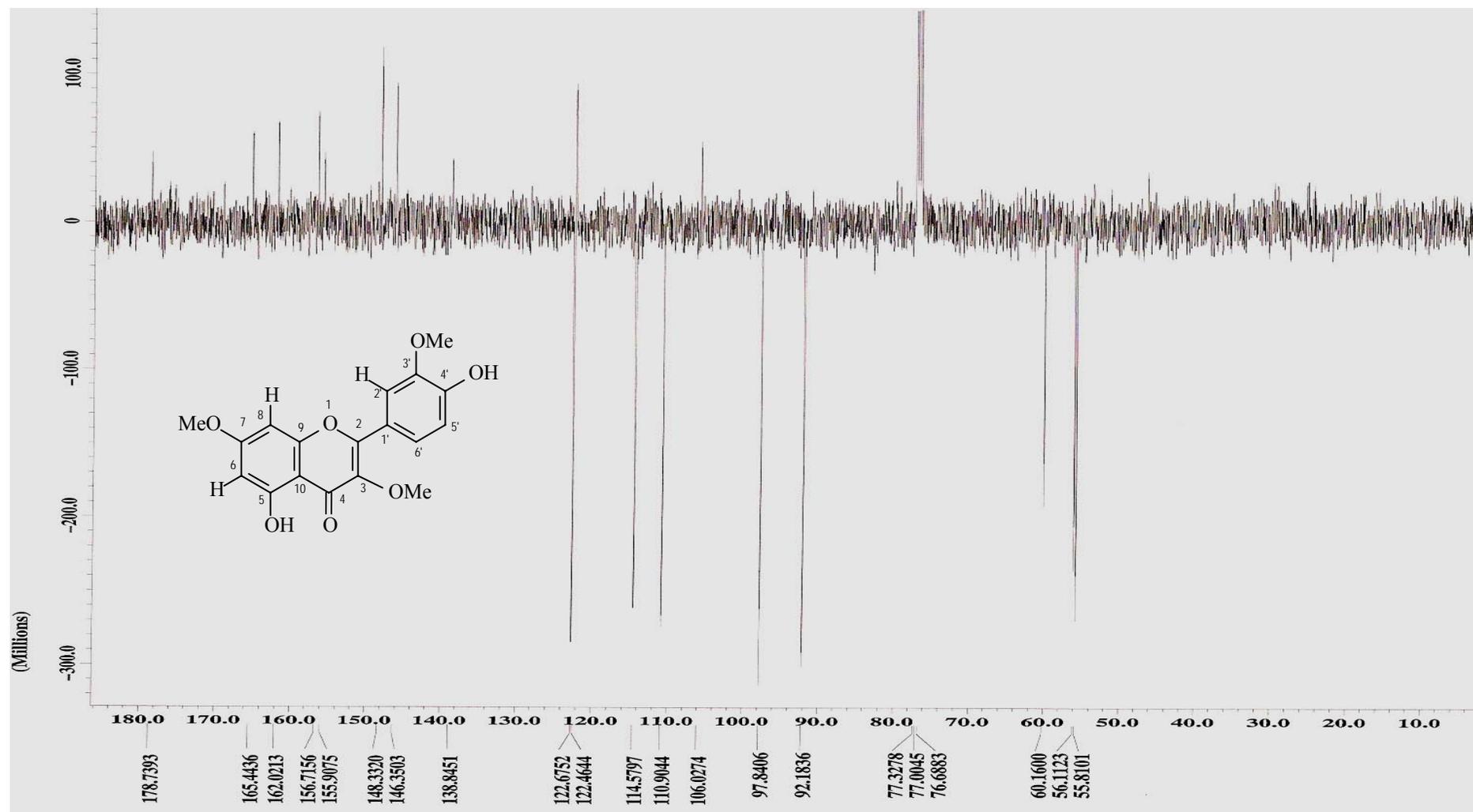


Figura 42 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de Mt-01

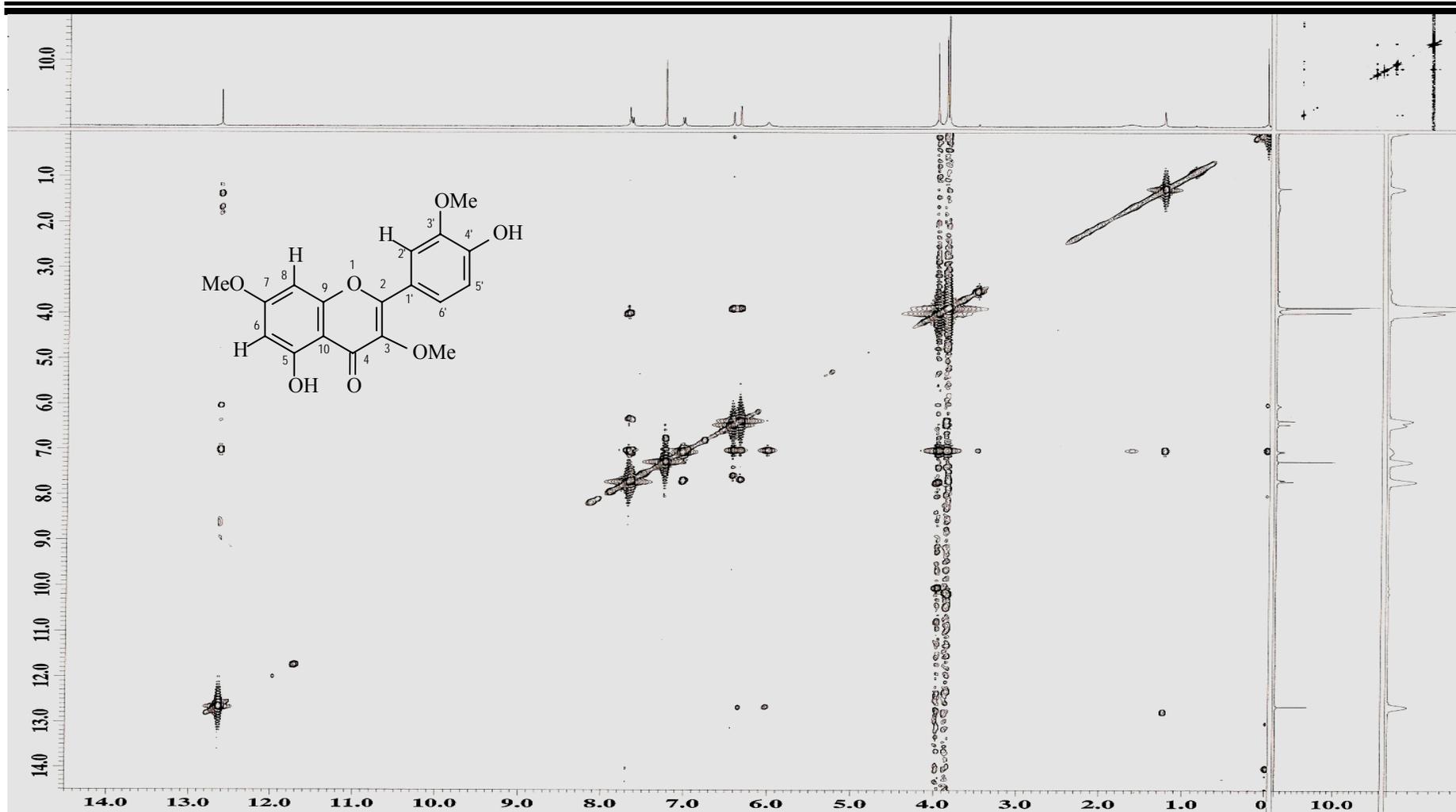


Figura 43 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

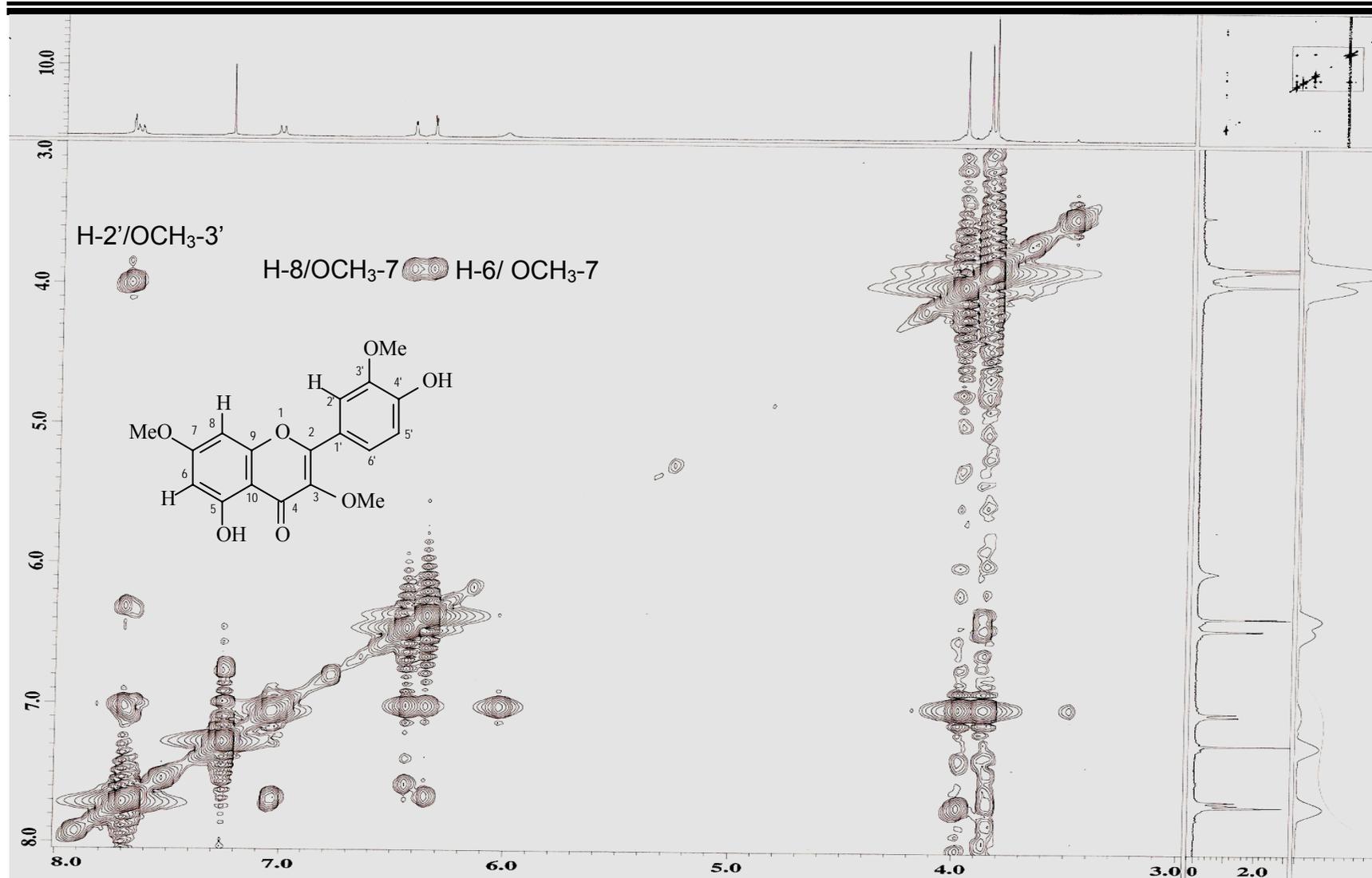


Figura 44 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

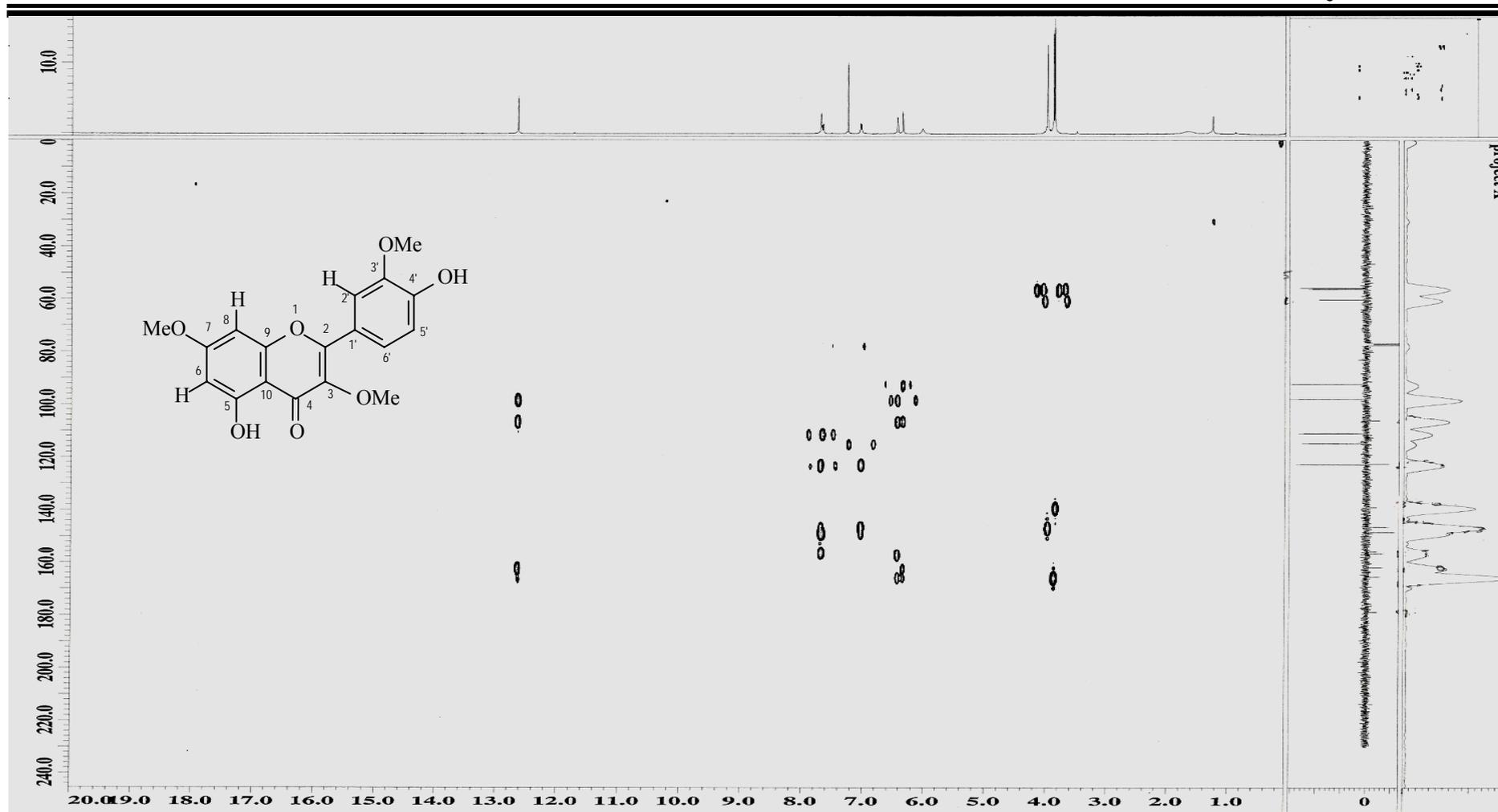


Figura 45 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

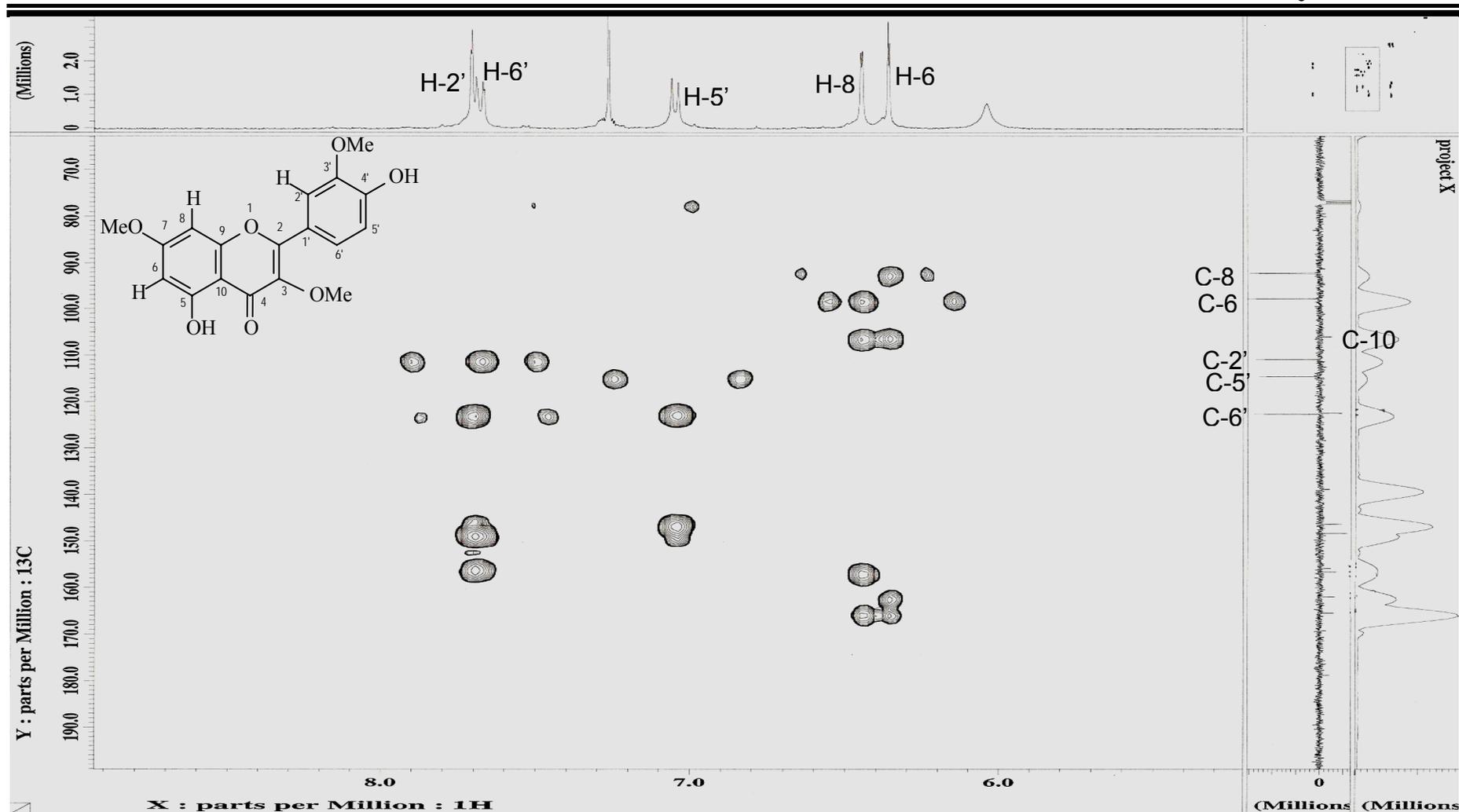


Figura 46 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

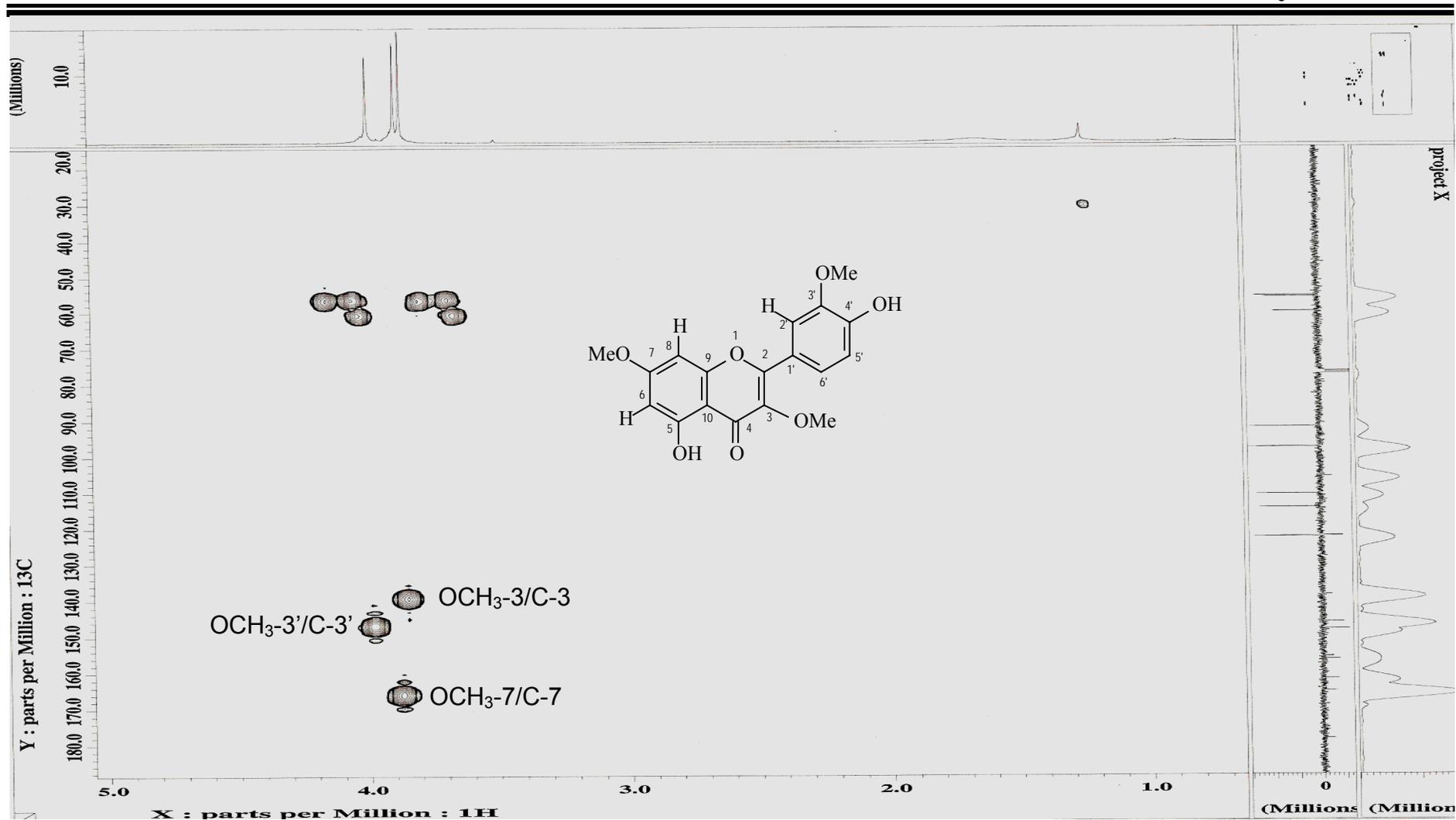


Figura 47 – Expansão do espectro de RMN ¹H x ¹³C-HMBC (400 MHz, CDCl₃) de Mt-01

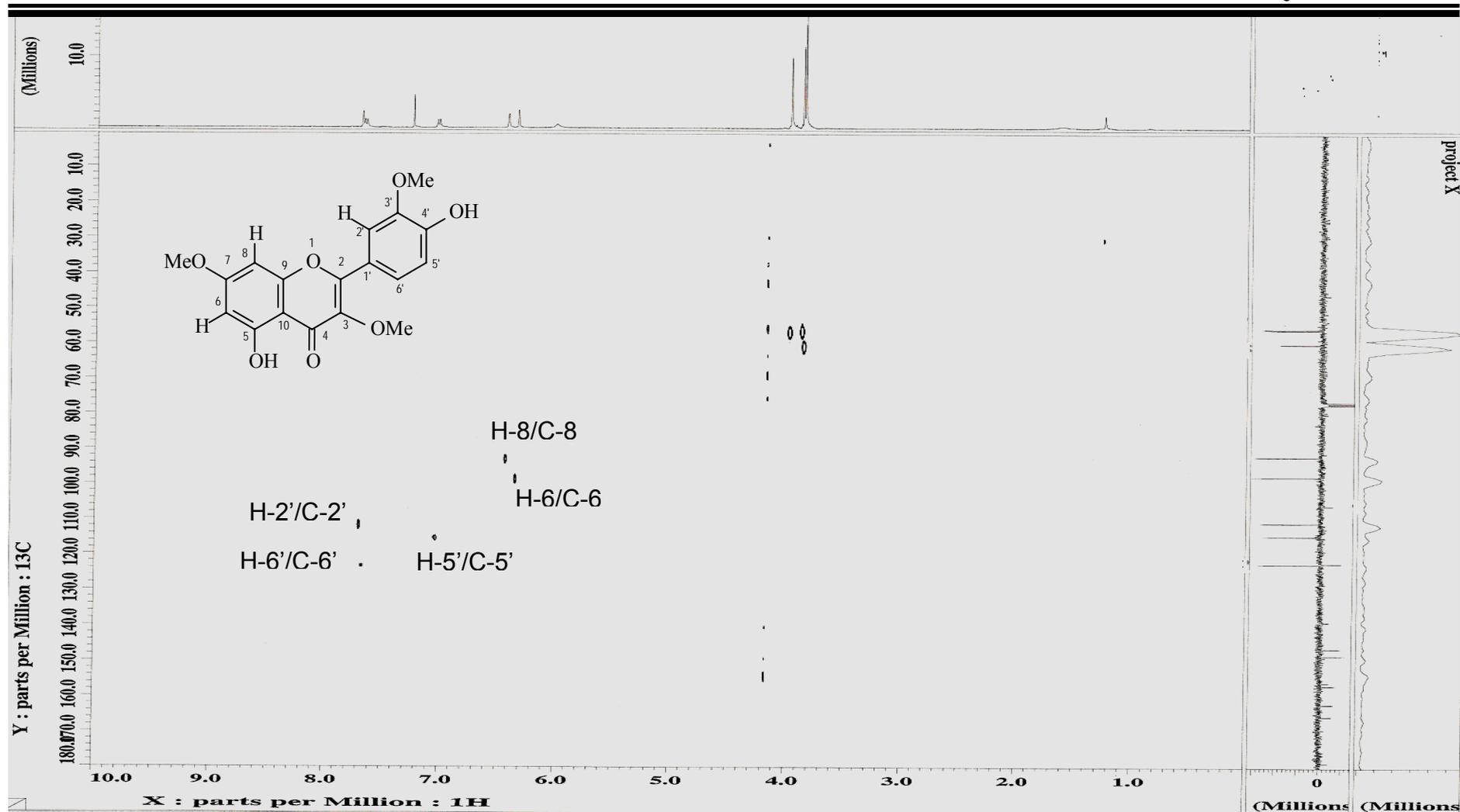


Figura 48 – Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-01

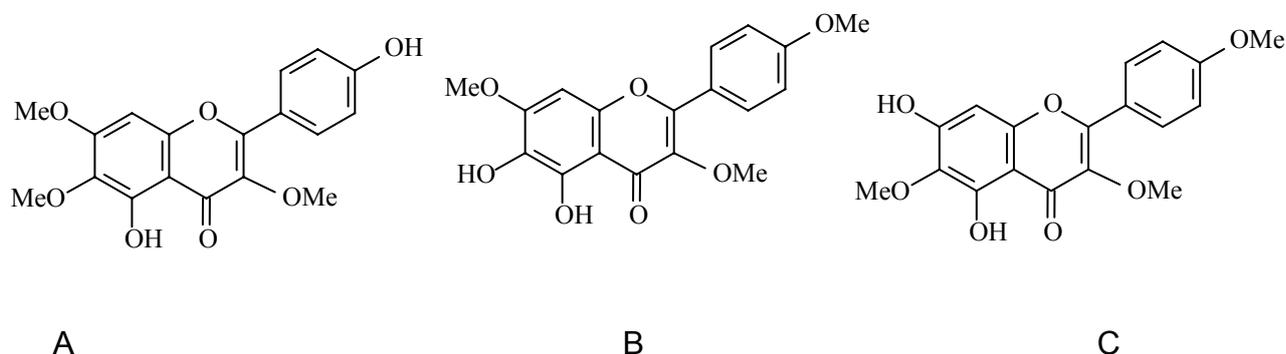
5.4.2 Identificação estrutural de Mt-02

A substância Mt-02 apresentou-se na forma de pó amarelo escuro, solúvel em clorofórmio e apresentando ponto de fusão entre 148,4 - 150,1 °C.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 51, p. 119) (Tabela 12, p. 115) utilizando a técnica APT (100 MHz, CDCl_3) apresentou dezesseis sinais. Os sinais em δ 114,06 e 130,17 correspondem a dois carbonos cada, totalizando 18 carbonos. Dos 16 sinais 5 foram atribuídos a carbonos metínicos sp^2 , 10 a carbonos não-hidrogenados e 3 a carbonos metoxílicos. Semelhantemente a Mt-01, Mt-02 apresentou deslocamento químico em δ 138,40, compatível com carbono C-3 de esqueleto de flavonas que sustentam metoxila (AGRAWAL, 1989). A absorção em δ 60,14 também corroborou com a presença de uma metoxila em C-3, valor comumente observado para tal substituinte nesta posição (ROITMAN & JAMES, 1985; RASHID et al., 1992). O sinal em δ 179,18 é sugestivo da presença de grupamento carbonila na molécula.

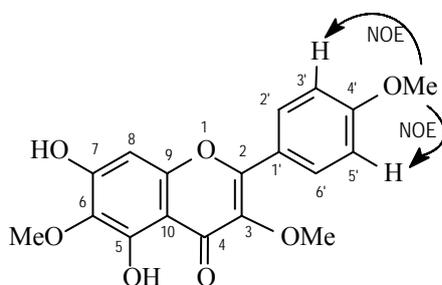
O espectro de RMN de ^1H e suas expansões (Figs. 49 e 50, p. 117 e 118) de Mt-02 sugere um sistema AA'BB' ao evidenciar a presença de dois dupletos em δ 7,02 e δ 8,07 ($J = 8,8$) compatíveis com os hidrogênios 3'/5' e 2'/6' do núcleo B de flavonóides, sugerindo assim uma substituição em C-4'. Um simpleto em δ 6,55 é compatível com o hidrogênio 8 do anel A de flavonóides quando estão substituídos nas posições 5, 6 e 7 (AGRAWAL, 1989). Três simpletos em δ 3,85, 3,90 e 4,04 são compatíveis com a presença de três metoxilas na molécula. Um absorção em campo baixo localizada em δ 12,93, corresponde ao valor típico de hidroxila quelada, normalmente observada em espectros de hidrogênio de flavonóides (KINOSHITA & FIRMAN, 1996), propondo a presença deste grupo para Mt-02. O deslocamento da carbonila do C-4 para campo baixo corroborou com a proposta de uma hidroxila no C-5 do esqueleto flavonoídico de Mt-02. Contudo, um grupo metoxila no C-3 promove um deslocamento químico da carbonila C-4 para campo alto, de maneira que esta passa a absorver entre δ 178,5 e δ 179,0. Em Mt-02, esta proposta de grupo metoxila em C-3 pode ser fortalecida, haja vista que o C-4 absorveu em δ 179,18.

Estas observações permitiram propor as seguintes estruturas para Mt-02:



O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 51, p. 119) (Tabela 12, p. 115) revelou uma absorção em δ 55,42 compatível com metoxila aromática estericamente desimpedida, e absorções em δ 60,14 e δ 60,89 compatíveis com metoxilas estericamente impedidas. A proposta B foi descartada, pois apenas a metoxila localizada em C-3 seria compatível com metoxila estericamente impedida. A proposta C foi confirmada pela correlação no espectro de HMBC (Figs. 56 e 57, p. 124 e 125) a J^2 de H-3'/H-5' (δ 7,02) e J^3 de H-2'/H-6' (δ 8,07) com C-4' (δ 161,70) confirmando assim C-4'. E a posição da metoxila em C-4' foi então confirmada pela interação 3J dos hidrogênios em δ 3,90 com C-4' (δ 161,70). A partir das correlações no espectro de HMBC discutidas acima a proposta A foi então descartada.

O espectro bidimensional NOESY (Figs. 52 e 53, p. 120 e 121) mostrou a correlação entre os hidrogênios H-3' e H-5' (δ 7,02) e a metoxila em C-4' (δ 55,42), confirmando assim a posição da metoxila em C-4' do anel B.



O espectro bidimensional COSY (Figs. 54 e 55, p. 122 e 123) mostrou as correlações entre os hidrogênios H-3'/H-5' (δ 7,02) e os H-2'/H-6' (δ 8,07), confirmando mais uma vez as atribuições feitas para o anel B.

Pelo espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figs. 56 e 57, p.124 e 125, Tabela 12, p. 115) foi possível observar também as correlações a J^3 de H-8 (δ 6,55) com C-6 (δ 129,95) confirmando assim C-6 e que a metoxila estericamente impedida (δ 60,89) estaria na posição 6, por ser evidente a correlação J^3 entre os hidrogênios metoxílicos em δ 4,04 e C-6 (δ 129,95). Ainda foram observadas as correlações de H-8 (δ 6,55) com C-7 (δ 154,90) a J^2 ; OH-5 (δ 12,93) com C-5 (δ 151,77) a J^2 e com C-6 (δ 129,95) e C-10 (δ 106,20) a J^3 ; MeO-3 (δ 3,85) com C-3 (δ 138,40) a J^3 .

A proposta estrutural da molécula ainda teve sua confirmação feita através do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (Figs. 58 e 59, p.126 e 127, Tabela 12, p. 115), que mostrou as correlações entre H-8 e C-8; H2'/H-6' e C-2'/C-6'; H-3'/H-5' e C-3'/C-5' a uma ligação.

Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-02 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 13, p. 116) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 5,7-dihidroxi-3,4',6-trimetoxiflavona conhecida como centaureidina ou santina. Este composto está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.

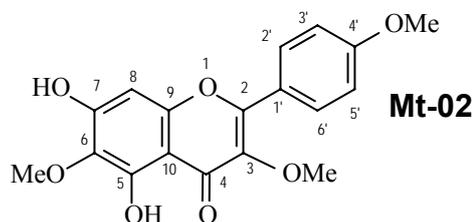
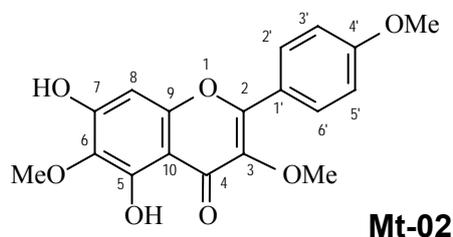


Tabela 12: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-02 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em $CDCl_3$.



	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
2	156,11	-		H-2'/H-6'
3	138,40	-		MeO-3
4	179,18	-		
5	151,77	-	HO-5	
6	129,95	-		HO-5; MeO-6; H-8
7	154,90	-	H-8	
9	152,23	-	H-8	
10	106,20	-		HO-5; H-8
1'	122,76	-		H-3'/H-5'
4'	161,70	-	H-3'/H-5'	H-2'/H-6'; MeO-4'
CH				
8	93,04	6,55 (s)		
2'/6'	114,06	8,07 (d, 8,8)		
3'/5'	130,17	7,02 (d, 8,8)		
MeO				
3	60,14	3,85 (s)		
6	60,89	4,04 (s)		
4'	55,42	3,90 (s)		
HO-5	-	12,93 (s)		

Tabela 13: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-02 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) com dados da literatura (DMSO-d_6), (AGRAWAL, 1989).

Carbonos	Mt-02	Literatura
C	δ_{C}	δ_{C}
2	156,11	155,10
3	138,40	137,60
4	179,18	178,10
5	151,77	152,20
6	129,95	131,30
7	154,90	158,00
9	152,23	151,70
10	106,20	104,30
1'	122,76	122,40
4'	161,70	150,20
CH		
8	93,04	94,00
2'/6'	114,06	114,90/120,30
3'/5'	130,17	146,40/111,90
MeO		
3	60,14	-
6	60,89	-
4'	55,42	-

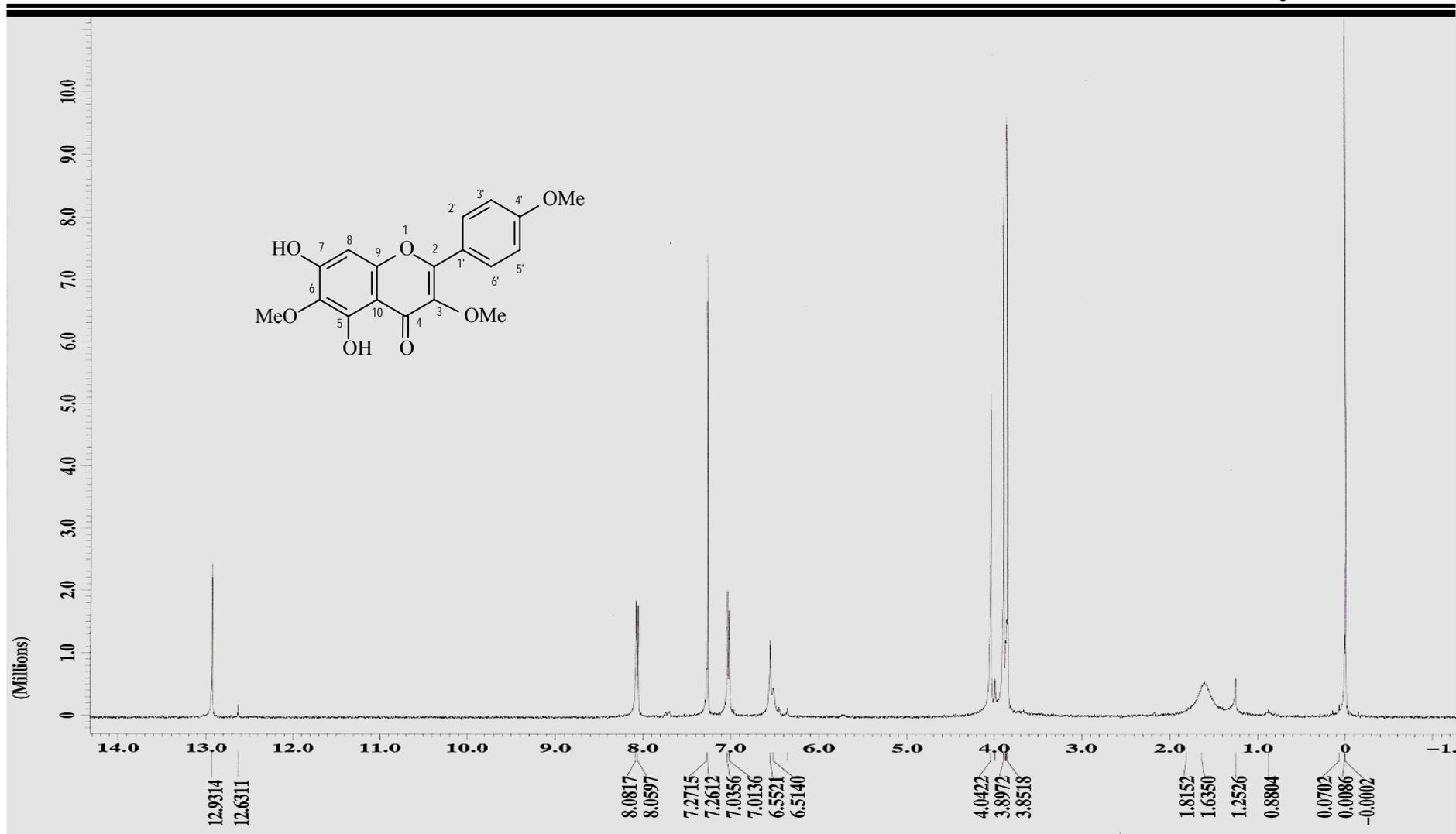


Figura 49 - Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de Mt-02

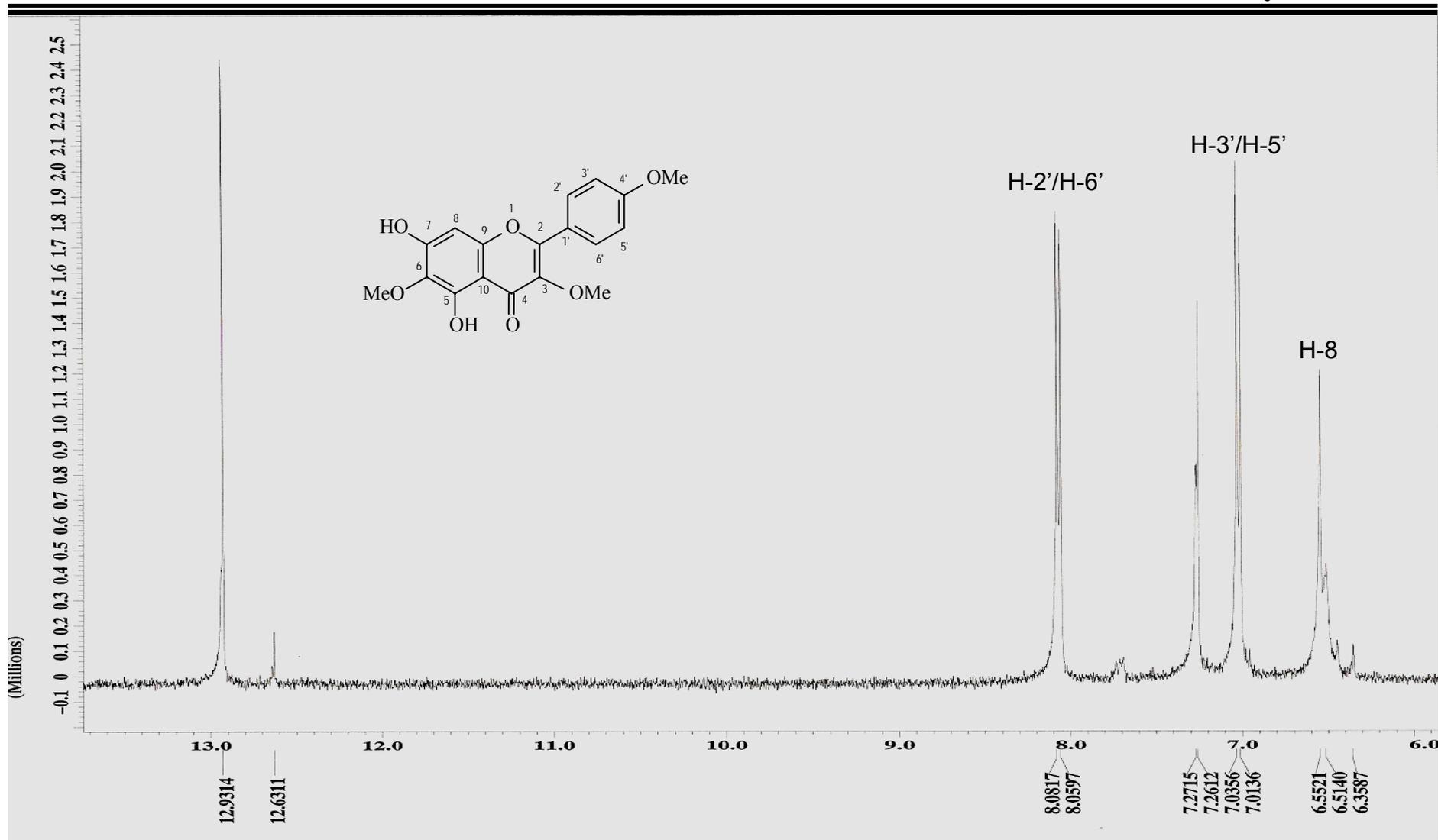


Figura 50 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

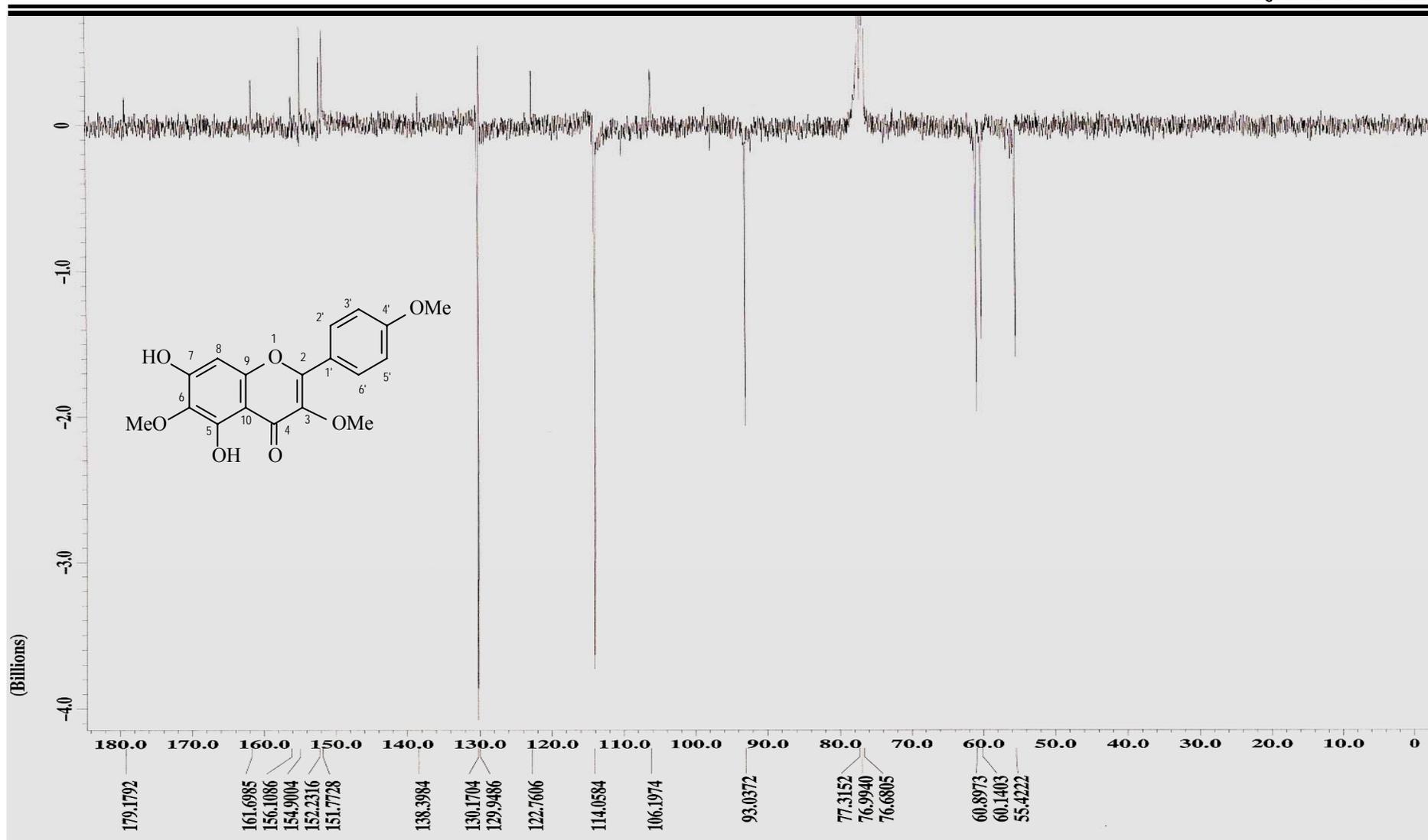


Figura 51- Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de Mt-02

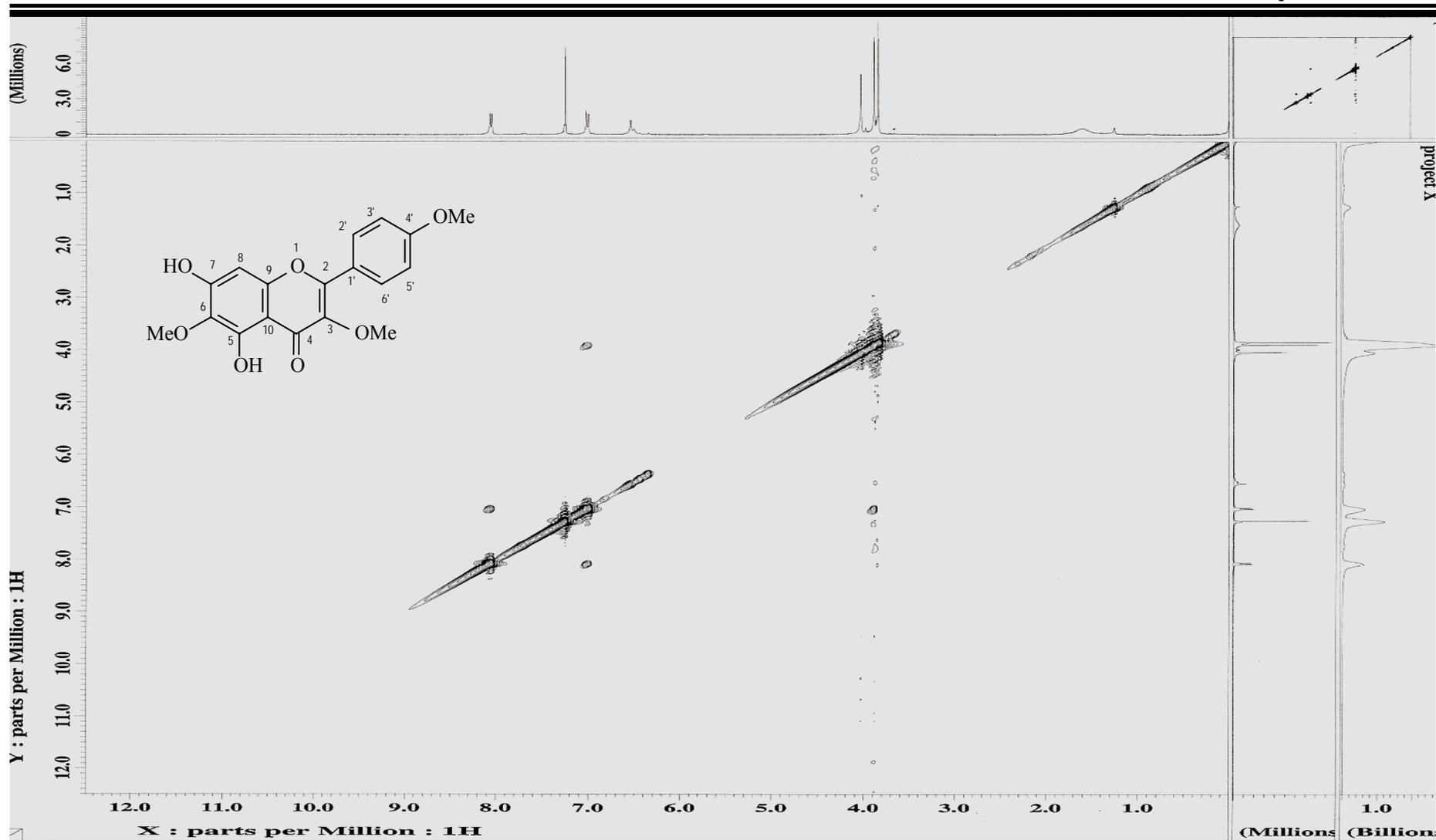


Figura 52 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

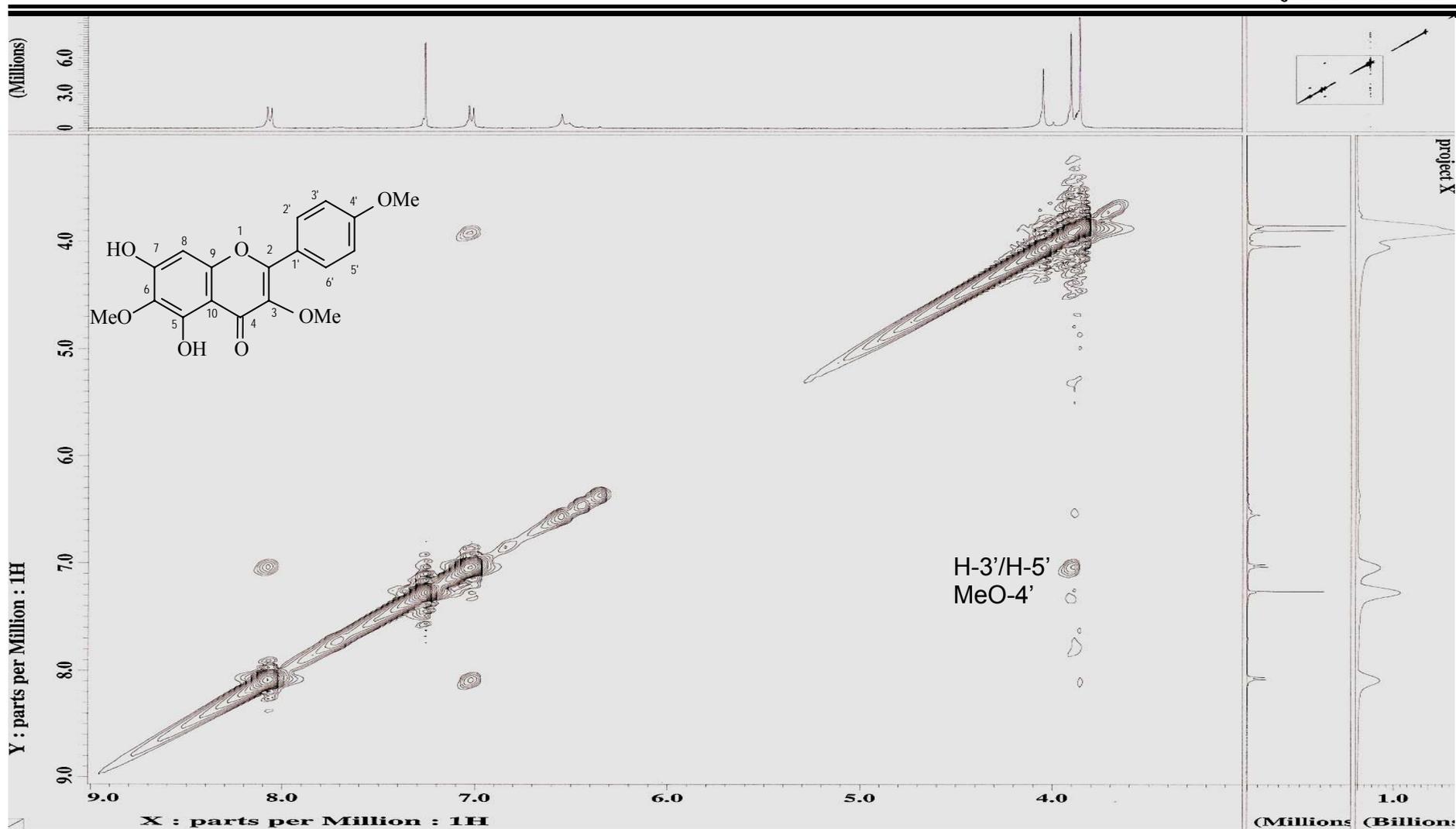


Figura 53 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

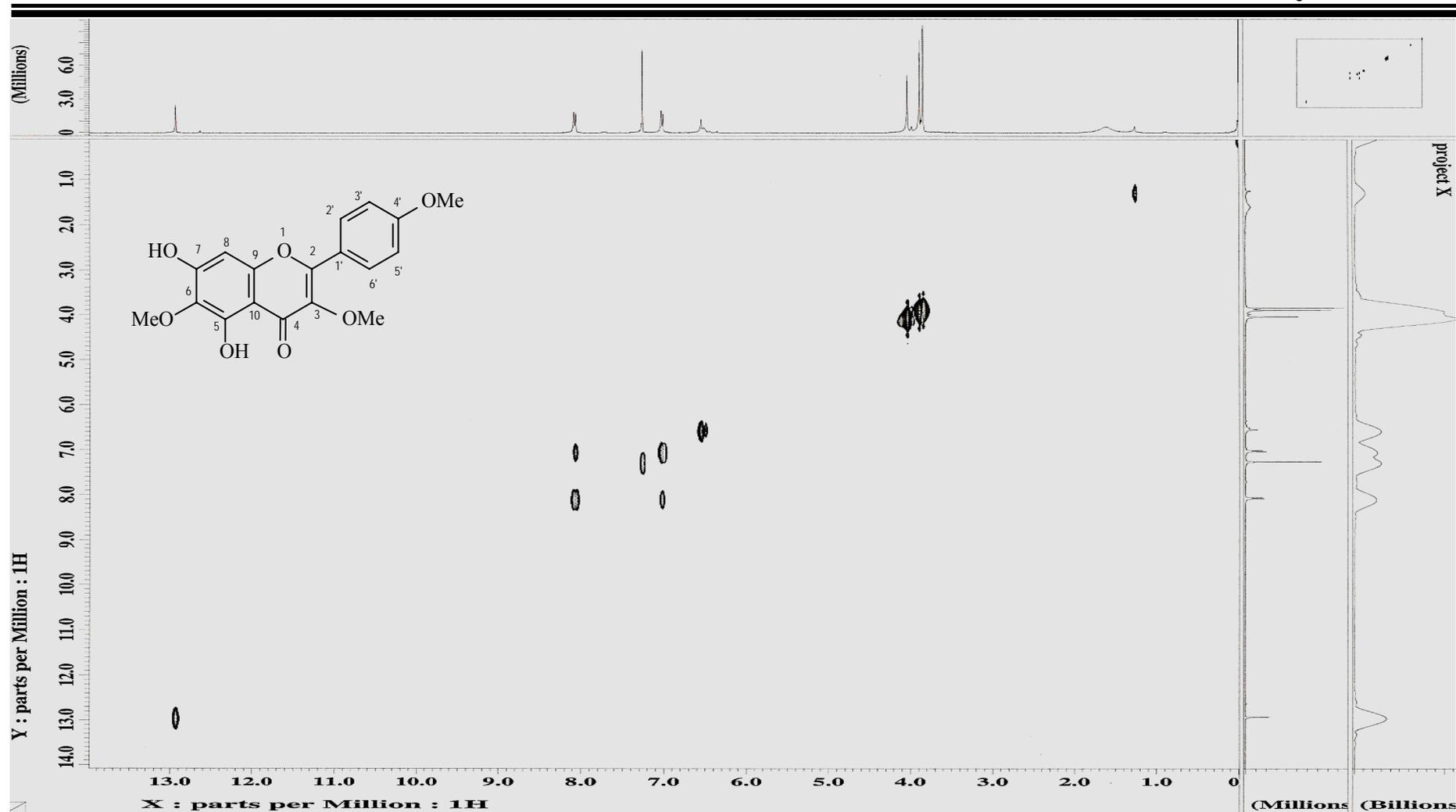


Figura 54 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

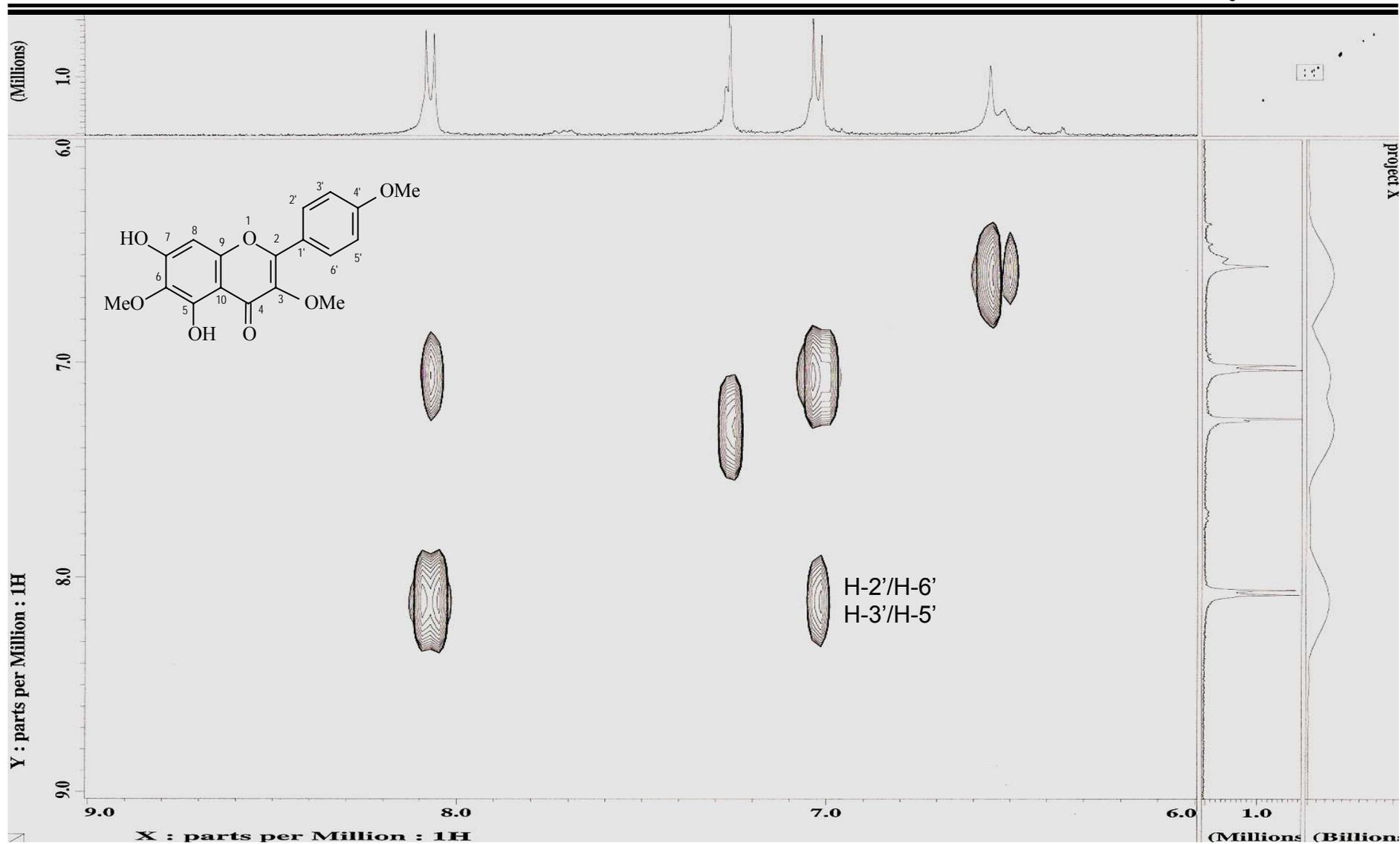


Figura 55 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

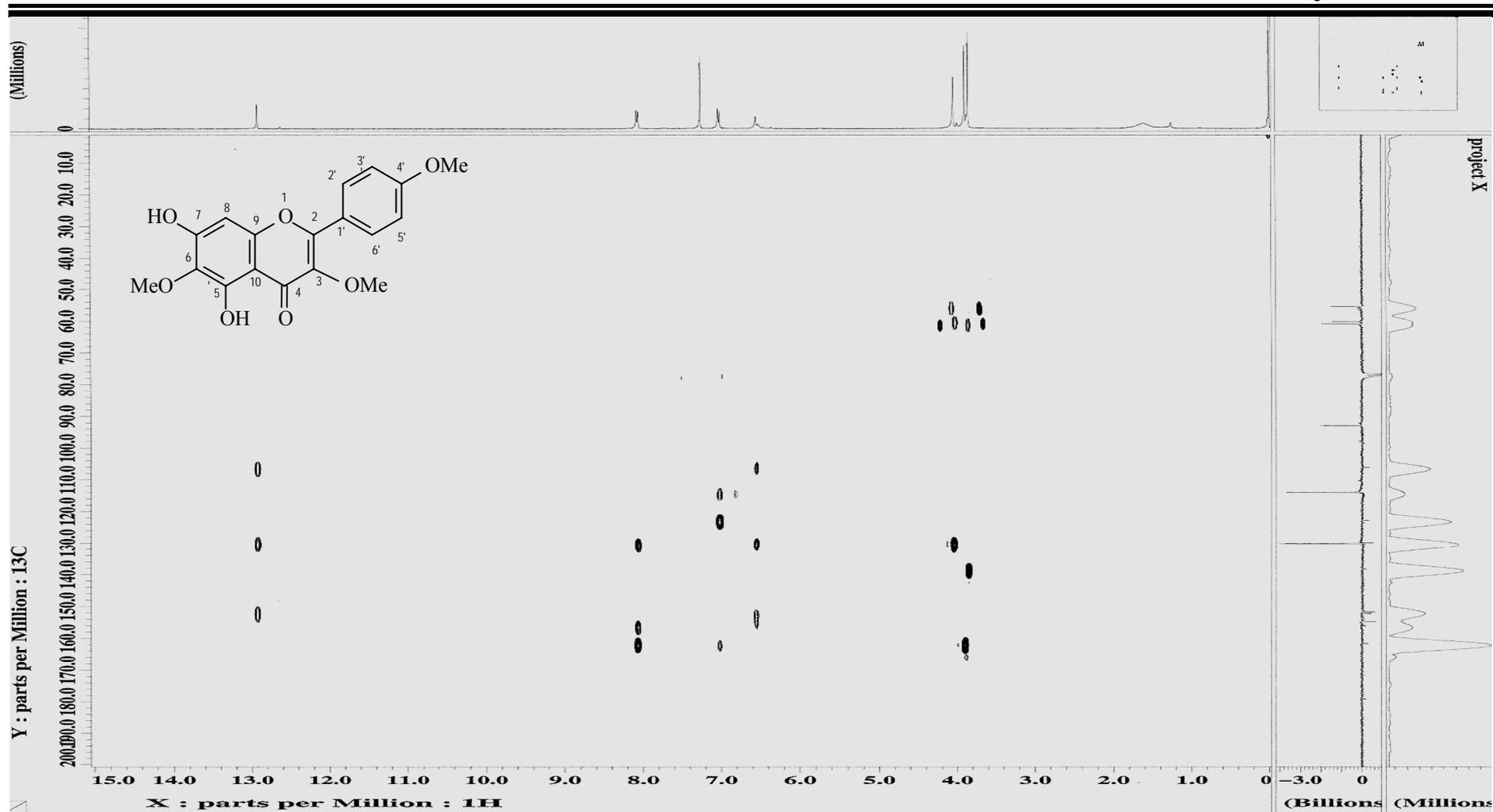


Figura 56 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

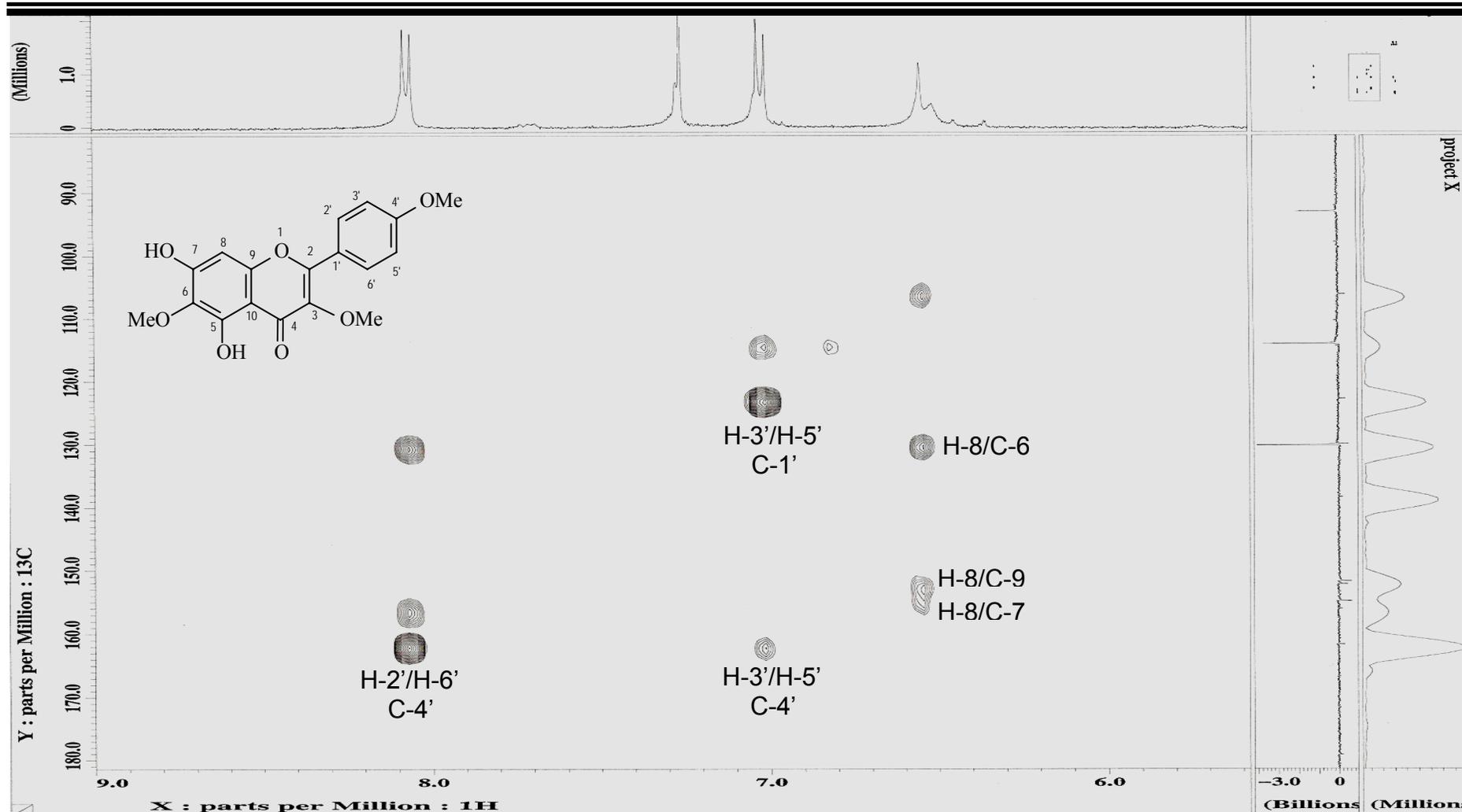


Figura 57 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

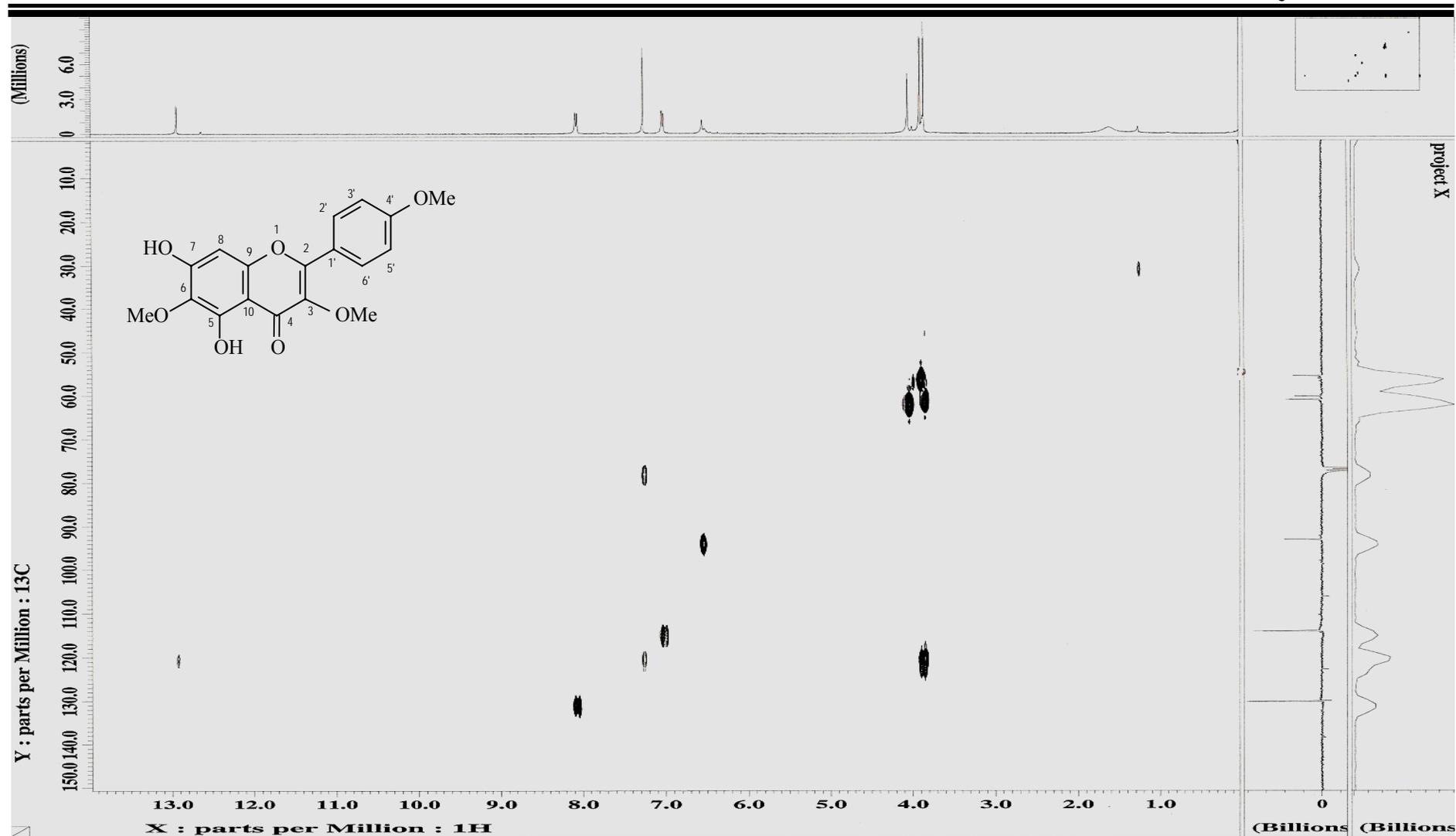


Figura 58 – Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

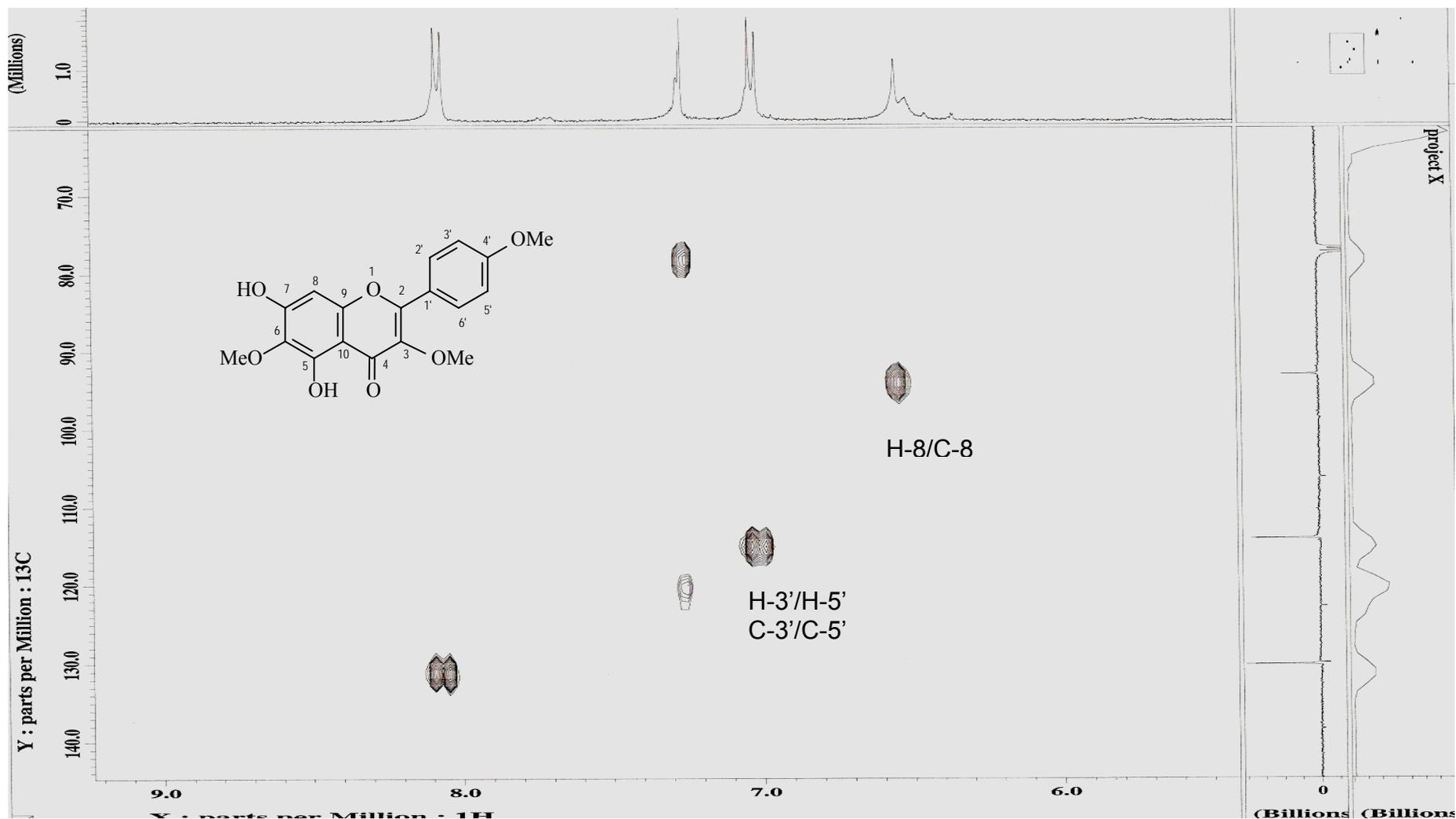


Figura 59 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-02

5.4.3 Identificação estrutural de Mt-03

A substância Mt-03 apresentou-se na forma de cristais brancos, solúvel em acetona e apresentando ponto de fusão entre 79,7 - 81,4 °C.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 64, p. 135) (Tabela 14, p. 130) utilizando a técnica APT (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) apresentou quatorze sinais. Os sinais em δ 116,18 e 128,98 correspondem a dois carbonos cada, totalizando 16 carbonos. Dos 16 sinais, 6 foram atribuídos a carbonos metínicos sp^2 , 1 a carbono metínico sp^3 , 1 a carbono metilênico sp^3 e 7 a carbonos não-hidrogenados. Semelhantemente a Mp-03, Mt-03 apresentou deslocamentos químicos compatíveis com carbono oximetínico (δ 79,98) e metilênico (δ 43,42) descritos na literatura para esqueleto de flavanonas (AGRAWAL, 1989). O sinal em δ 197,60 é sugestivo da presença de grupamento carbonila na molécula.

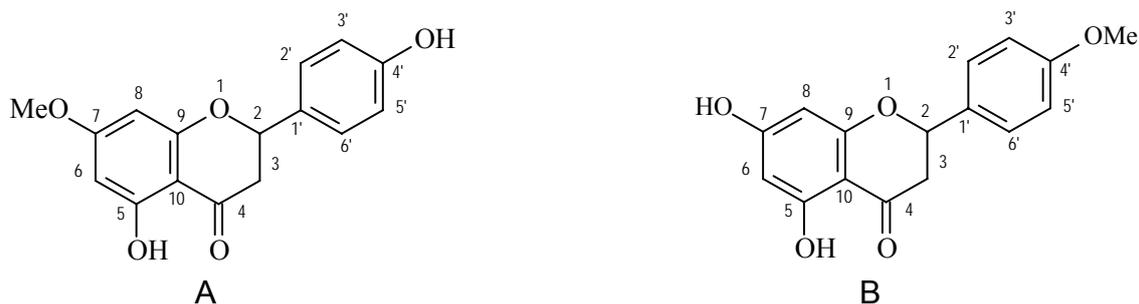
O espectro de RMN de ^1H e suas expansões (Figs. 60, 61, 62 e 63, p. 132 a 134) de Mt-03 mostraram o mesmo padrão de sinais que o apresentado para Mp-03 compatíveis com átomos de hidrogênios metínico e metilênico do núcleo C de flavanonas (Tabela 14, p. 130). O espectro HMQC (Figs. 65, 66 e 67, p. 136 e 137), confirma esses assinalamentos pelas correlações com os carbonos oximetínico e metilênico e seus hidrogênios correspondentes. Um sistema AA'BB' pode ser observado para Mt-03 pela presença de dois dupletos em δ 6,89 e δ 7,37 ($J = 8,4$ Hz) compatíveis com os hidrogênios 3'/5' e 2'/6' do núcleo B de flavonóides, sugerindo assim uma substituição em C-4'. Um simpleto em δ 3,83 é compatível com a presença de uma metoxila na molécula.

Da mesma maneira como observado para Mp-03, o espectro de correlação homonuclear - COSY de Mt-03 (Figs. 68, 69 e 70, p. 138 e 139) revelou as correlações do hidrogênio metínico em δ 5,44 com os hidrogênios metilênicos em δ 2,73 e δ 3,18, e ainda que estes últimos estão acoplando entre si com um $J=16,8$ Hz. Estes dados confirmam um esqueleto de flavanona para a molécula.

No espectro de RMN ^{13}C - APT (Fig. 64, p. 135), os deslocamentos químicos em δ 164,91 e δ 168,79 ppm são compatíveis com flavonóides oxigenados nas posições C-5 e C-7 (AGRAWAL, 1989). O deslocamento químico em δ 12,13 ppm no espectro de RMN de ^1H (Fig. 60, p. 132) é

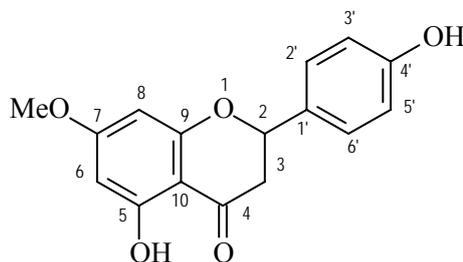
compatível com hidroxila quelada na posição C-5 do anel A de flavonóides, o que corroborou com a localização de um substituinte oxigenado em C-5. A posição da hidroxila em C-5 foi confirmada pelas correlações no espectro de HMBC (Fig. 71, p. 140) de OH-5 com os carbonos C-6 (δ 95,45), C-10 (δ 103,70) a três ligações.

Estas observações permitiram propor as seguintes estruturas para Mt-03:



A proposta A foi confirmada pelas correlações no espectro de HMBC (Figs. 71, 72 e 73, p. 140 e 141) de H-8 (δ 6,03) e H-6 (δ 6,02) com C-7 (δ 168,79) a J^2 confirmando assim C-7 e de C-7 com os hidrogênios da metoxila em (δ 3,83) a J^3 .

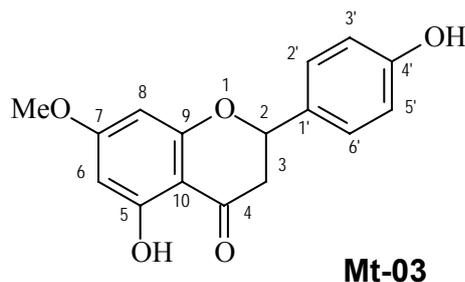
Os dados discutidos acima a partir da análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C e dos experimentos bidimensionais HMQC, HMBC e HOMOCOSY permitiram sugerir para Mt-03 a seguinte estrutura:



Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-03 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 15, p. 131) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 4',5-dihidroxi-7-

metoxiflavanona, conhecida como sakuranetina ou ainda 7-O-metilnaringenina, descrita pela primeira vez na espécie em estudo.

Tabela 14: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-03 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O .



	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
4	197,60	-	H-3	
5	164,91	-		
7	168,79	-	H-6; H-8	MeO-7
9	164,12	-		
10	103,70	-		HO-5; H-6; H-8
1'	130,50	-		H-3'/H-5'
4'	158,75	-	H-3'/H-5'	H-2'/H-6'
CH				
2	79,98	5,44 (<i>dd</i> , 13,2; 2,9)	H-3	H-2'/H-6'
6	95,43	6,02 (<i>d</i> , 2,2)		HO-5
8	94,54	6,03 (<i>d</i> , 2,2)		
2'	128,98	7,37 (<i>d</i> , 8,4)		
3'	116,18	6,89 (<i>d</i> , 8,4)		
5'	116,18	6,89 (<i>d</i> , 8,4)		
6'	128,98	7,37 (<i>d</i> , 8,4)		
CH₂				
3	43,42	3,18 (<i>dd</i> , 16,8; 13,2) 2,73 (<i>dd</i> , 16,8; 2,9)		
MeO				
7	56,19	3,83 (<i>s</i>)		
HO-5	-	12,13 (<i>s</i>)		

Tabela 15: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-03 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).

Carbonos	Mt-03	Literatura
C	δ_{C}	δ_{C}
4	197,60	197,90
5	164,91	164,90
7	168,79	169,10
9	164,12	164,30
10	103,70	103,80
1'	130,50	130,70
4'	158,75	158,70
CH		
2	79,98	80,20
6	95,43	95,70
8	94,54	95,00
2'	128,98	128,90
3'	116,18	116,30
5'	116,18	116,30
6'	128,98	128,90
CH₂		
3	43,42	43,80
MeO		
7	56,1	-

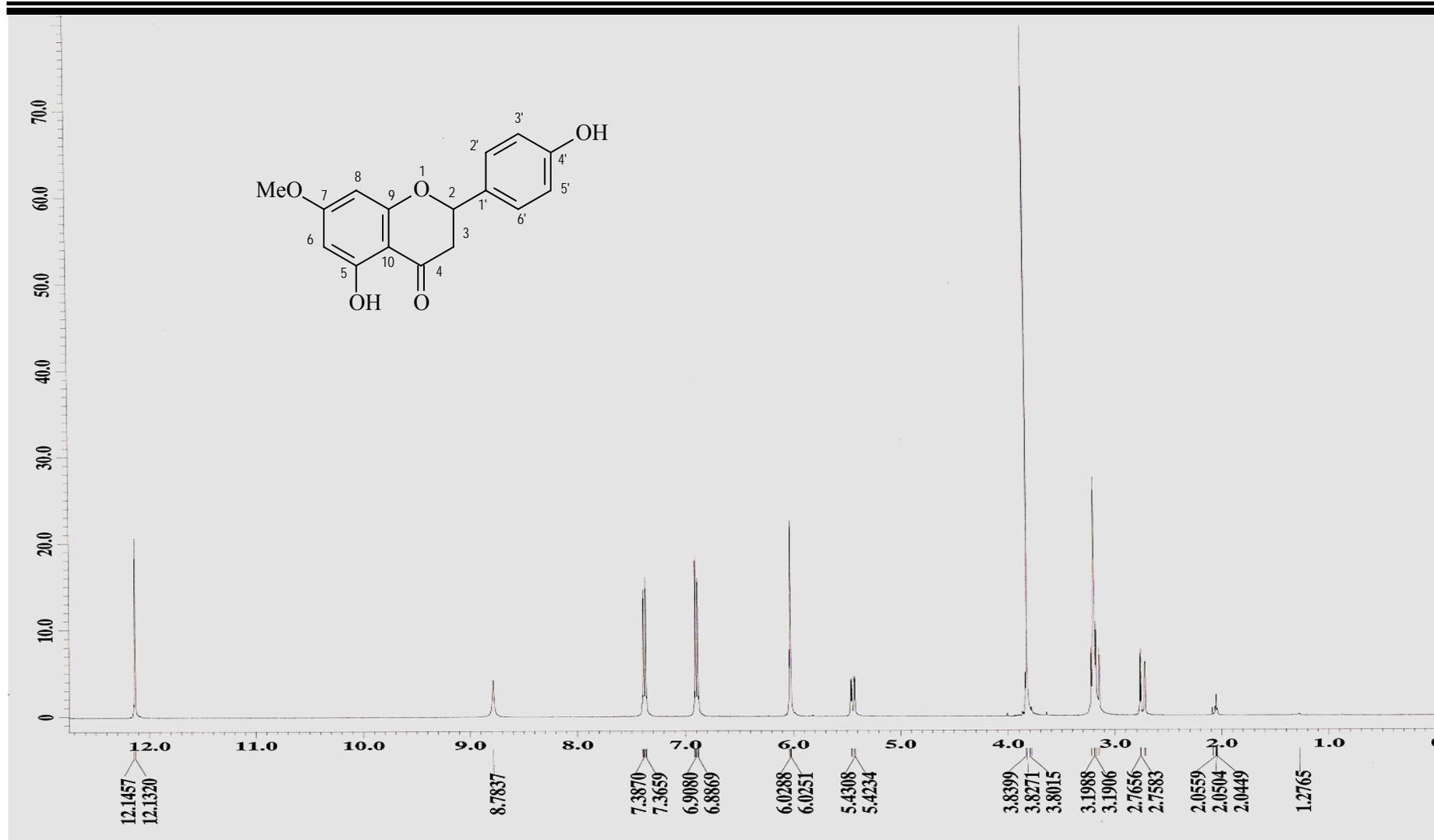


Figura 60 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03

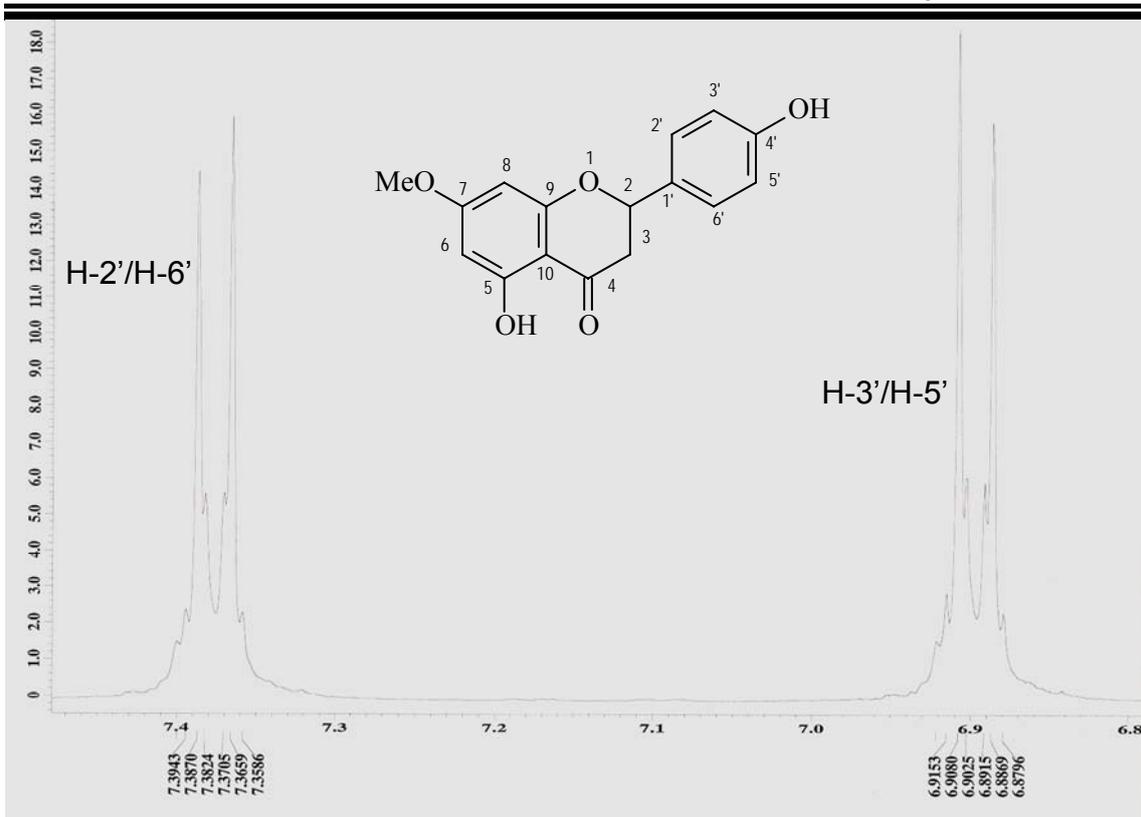


Figura 61 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) de Mt-03

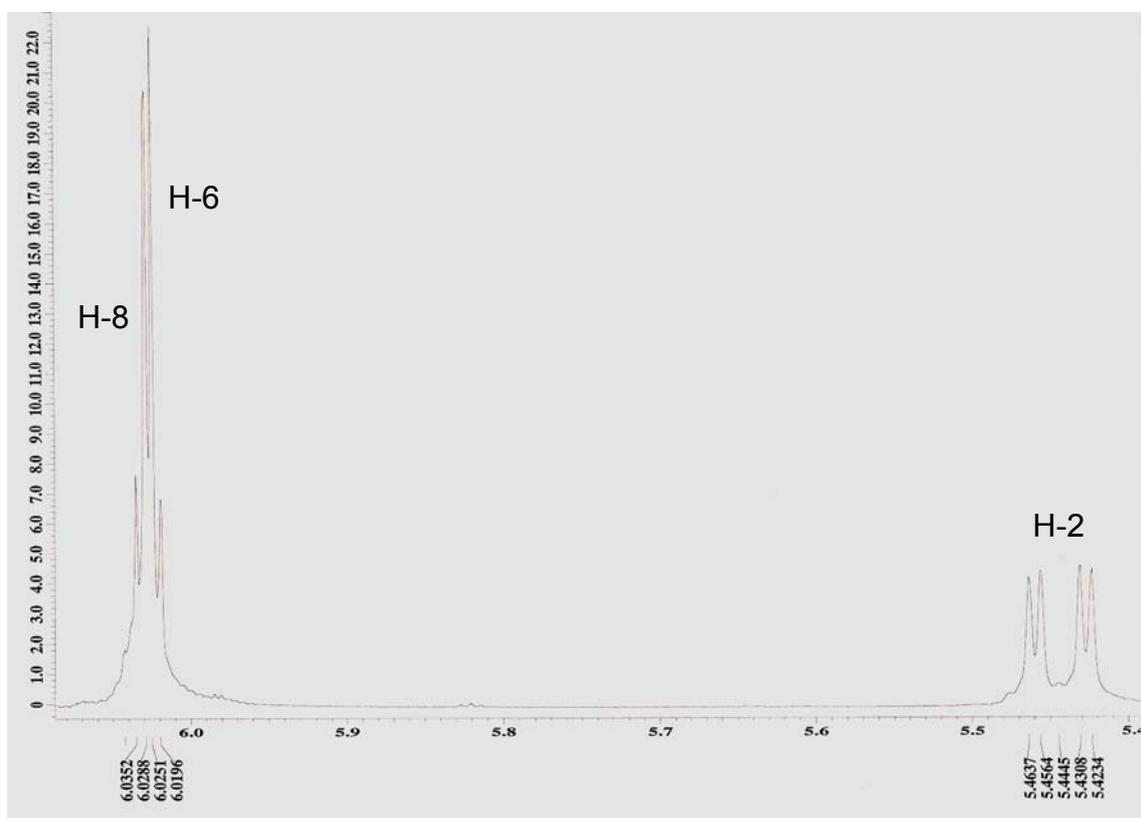


Figura 62 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) de Mt-03

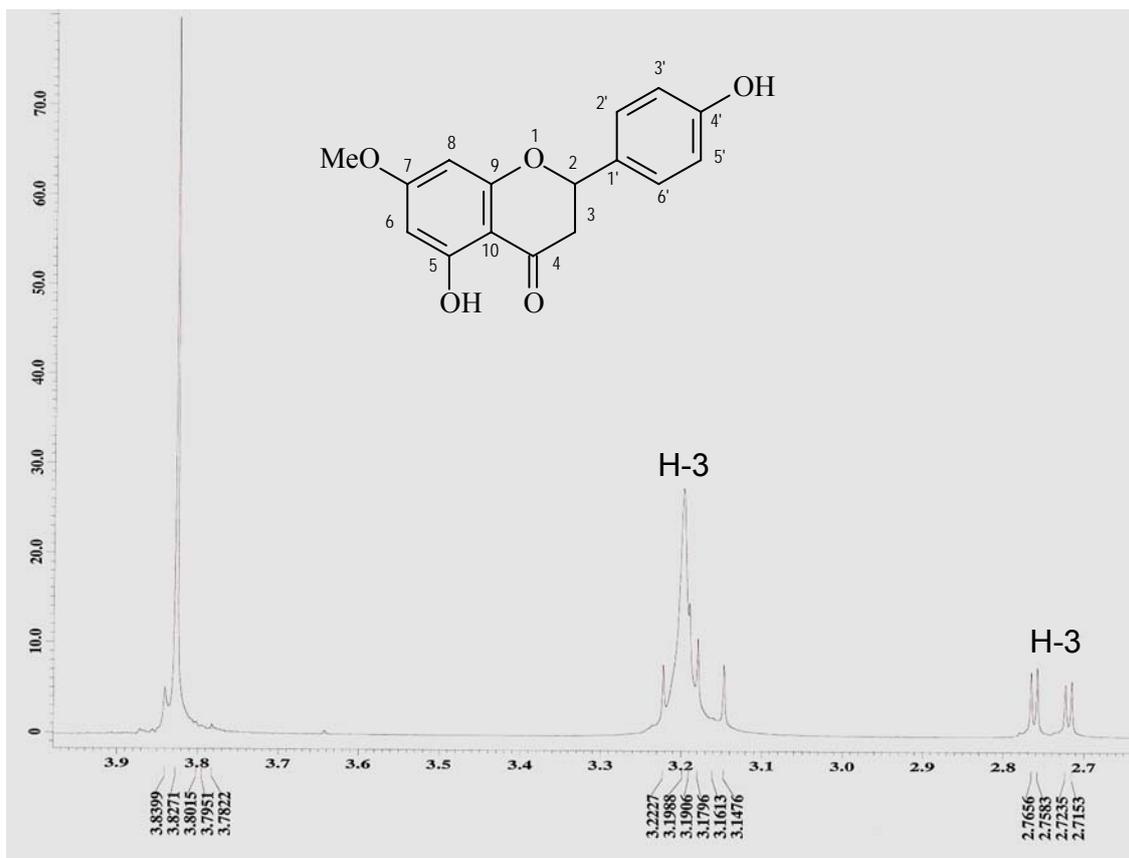


Figura 63 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) de Mt-03

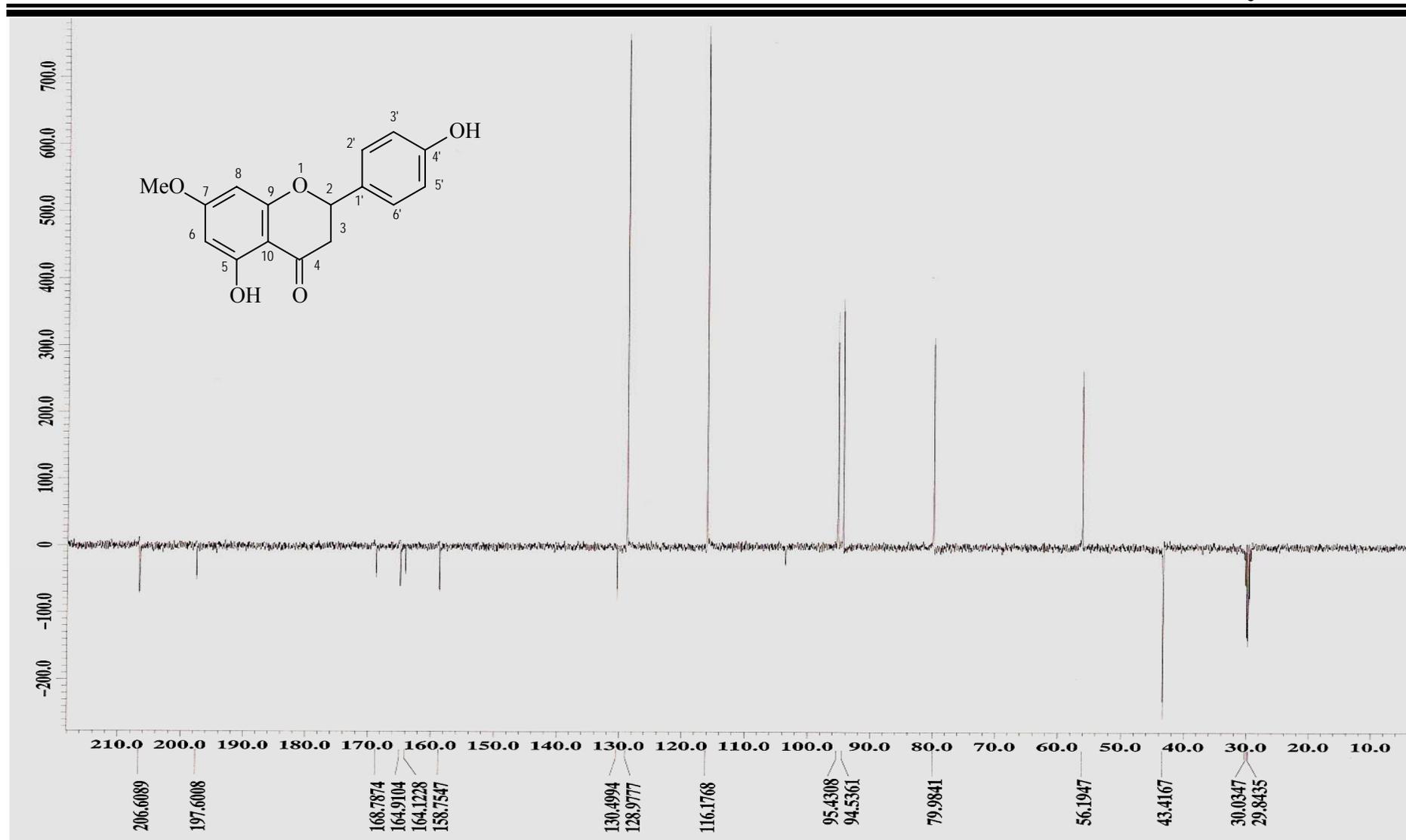


Figura 64 - Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, C₃D₆O) de Mt-03

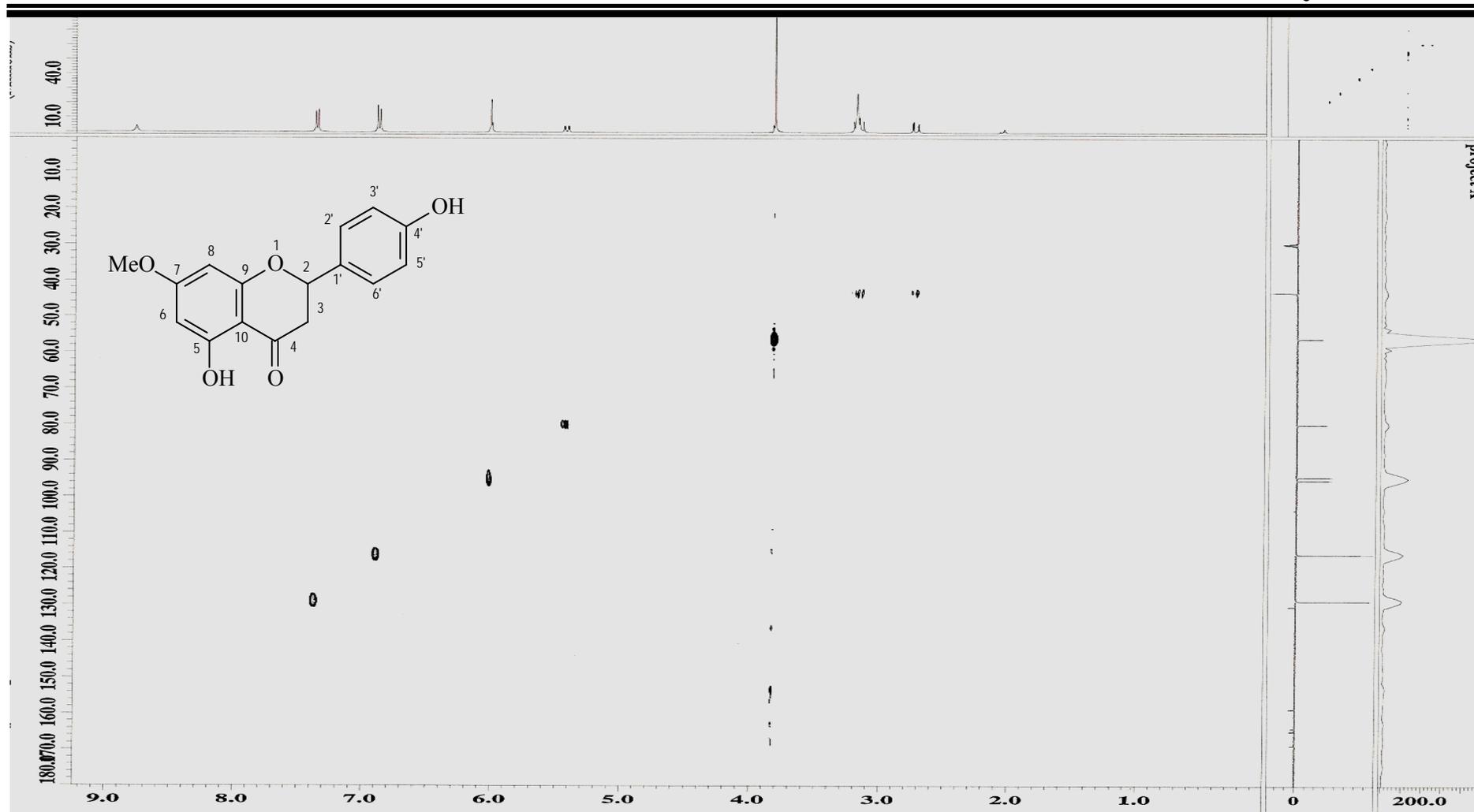


Figura 65 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03

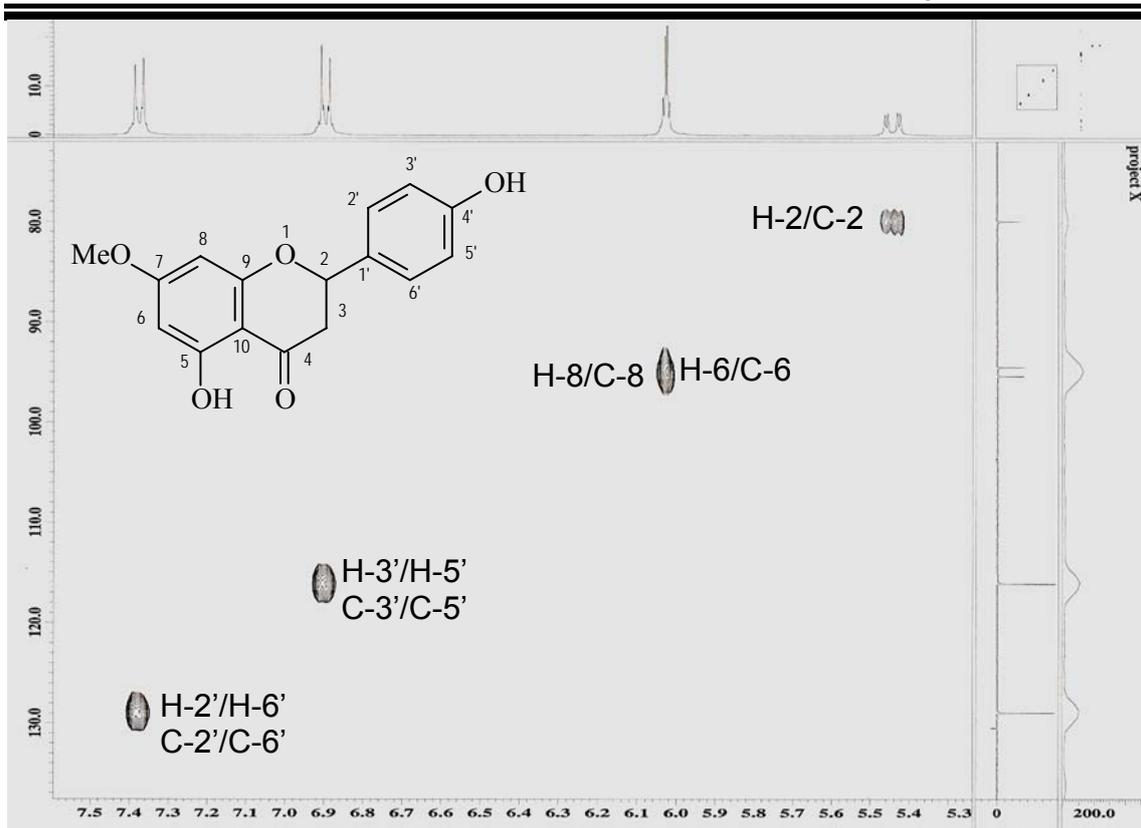


Figura 66 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03

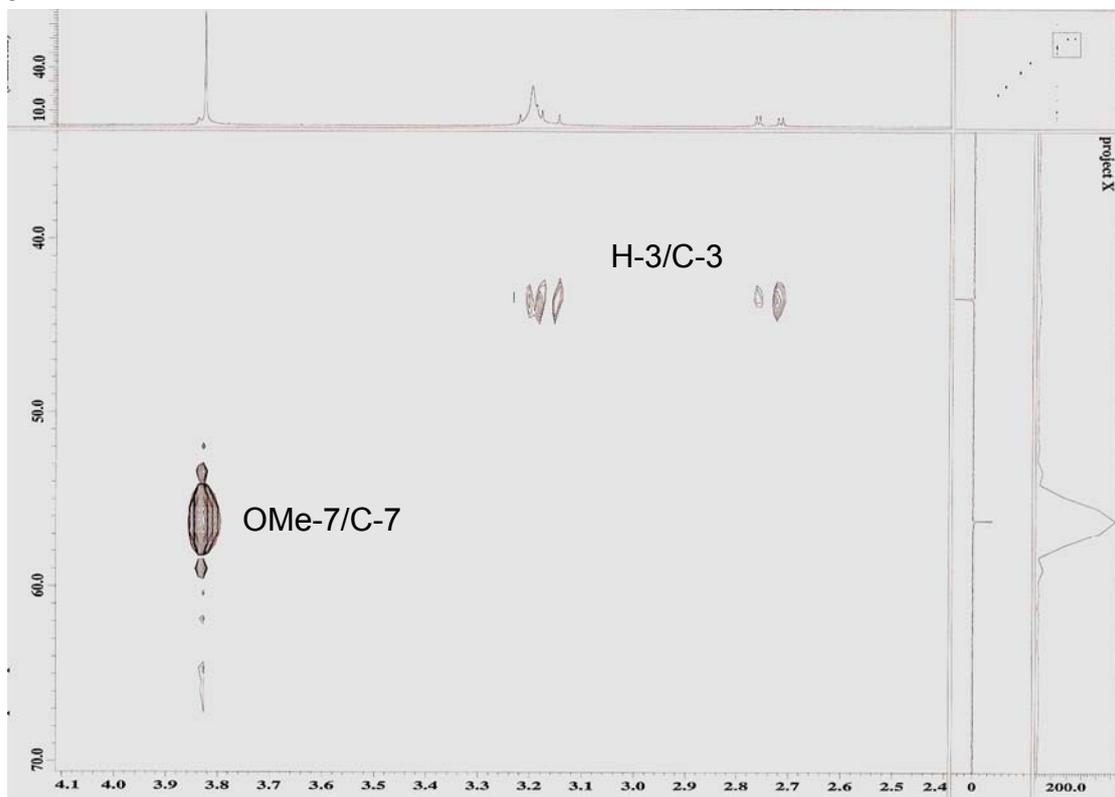


Figura 67 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03

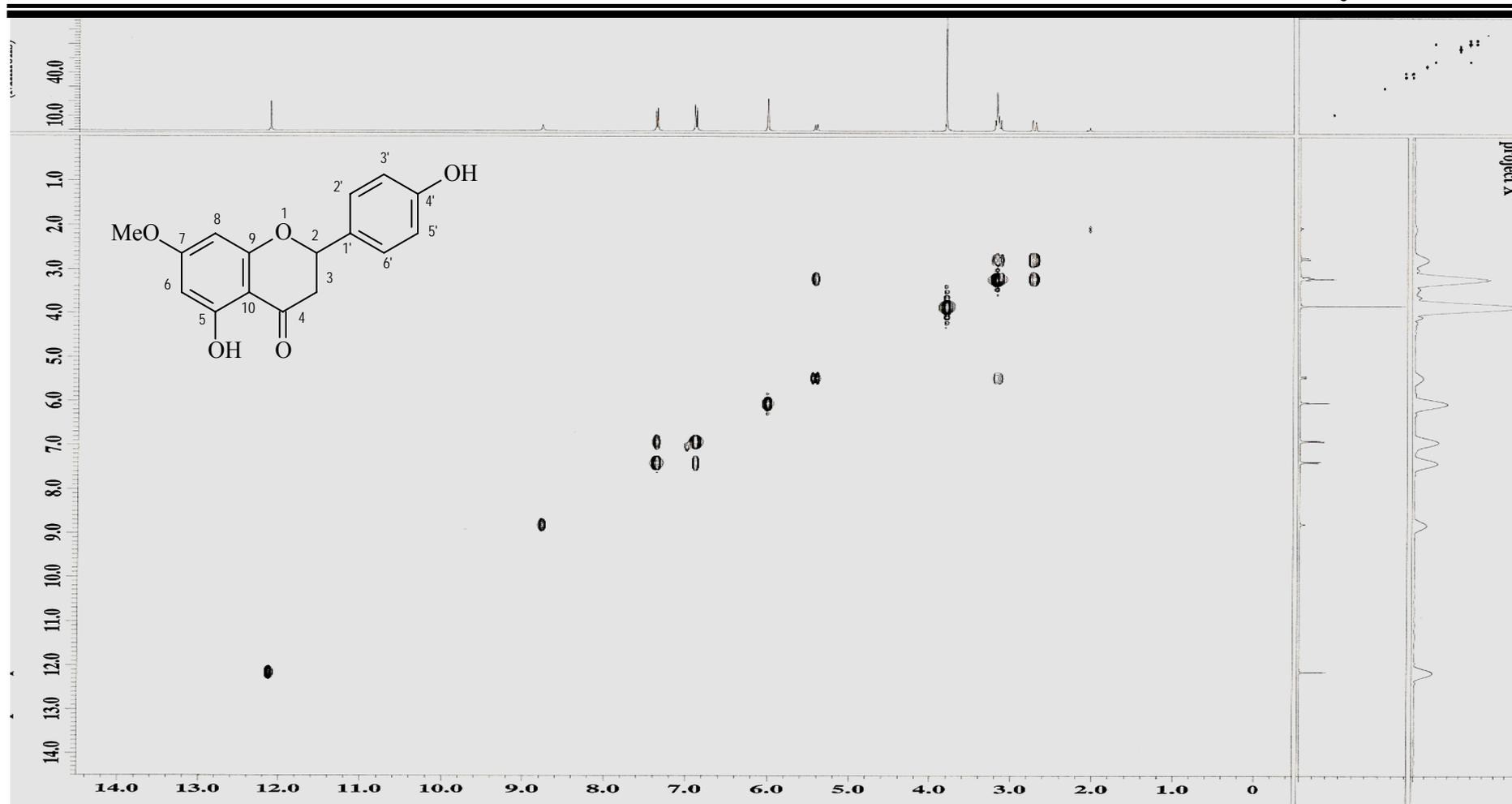


Figura 68 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03

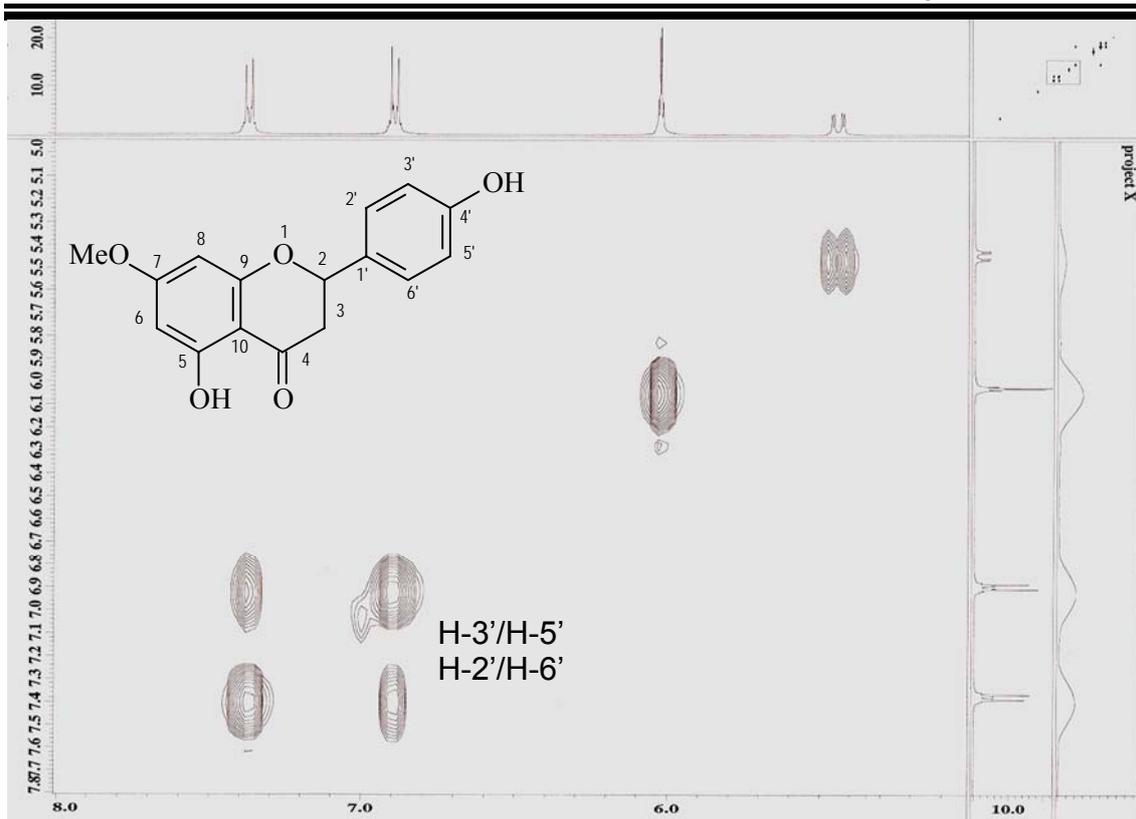


Figura 69 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

03

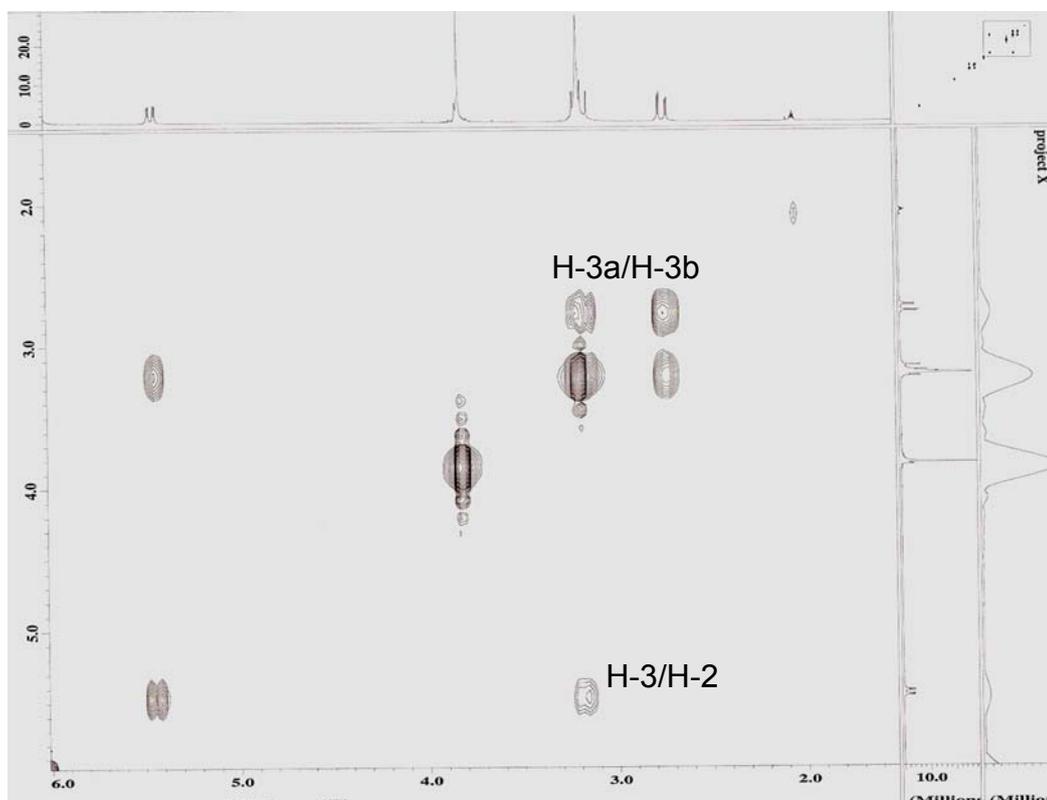


Figura 70 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

03

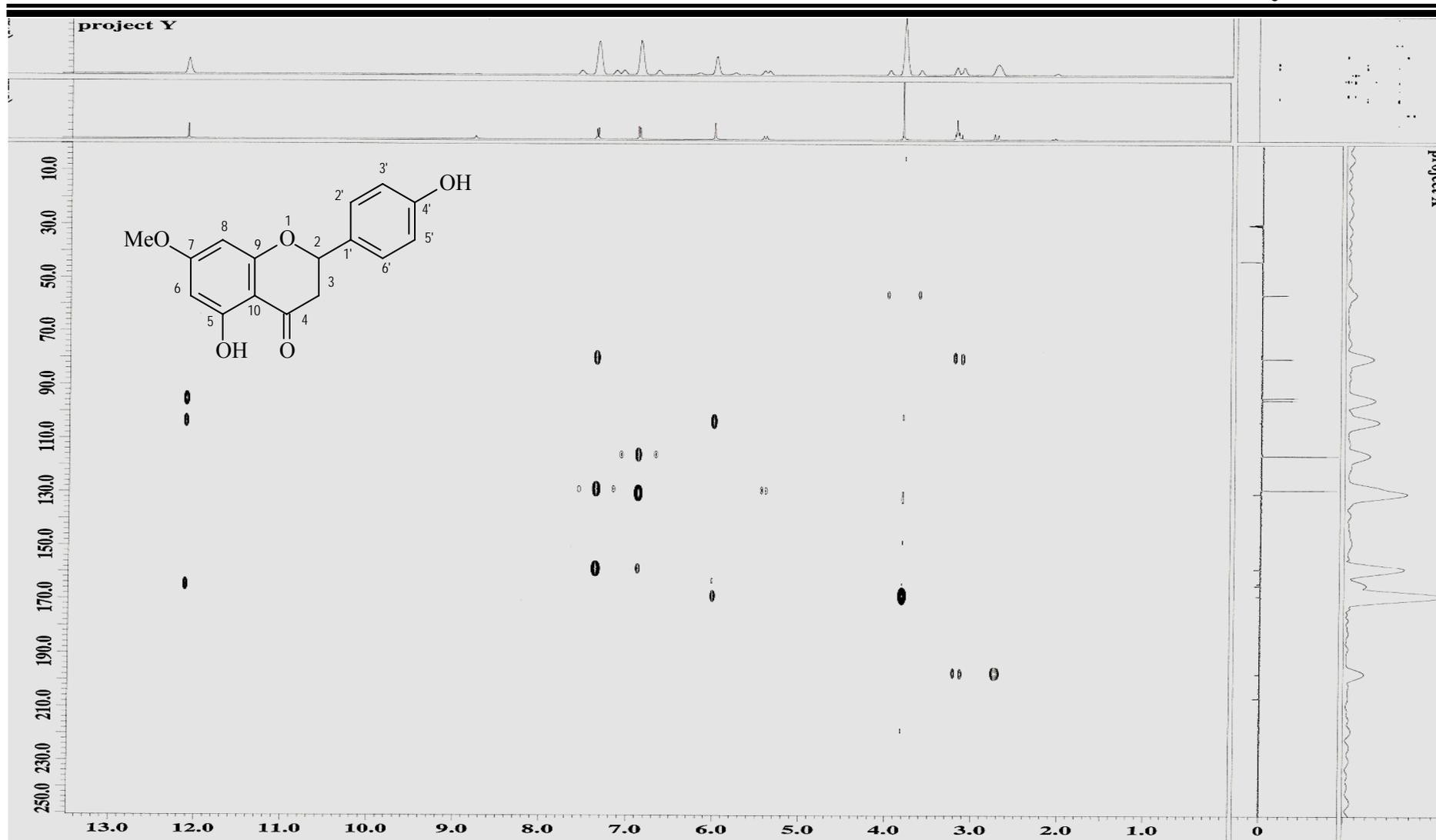


Figura 71 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-03

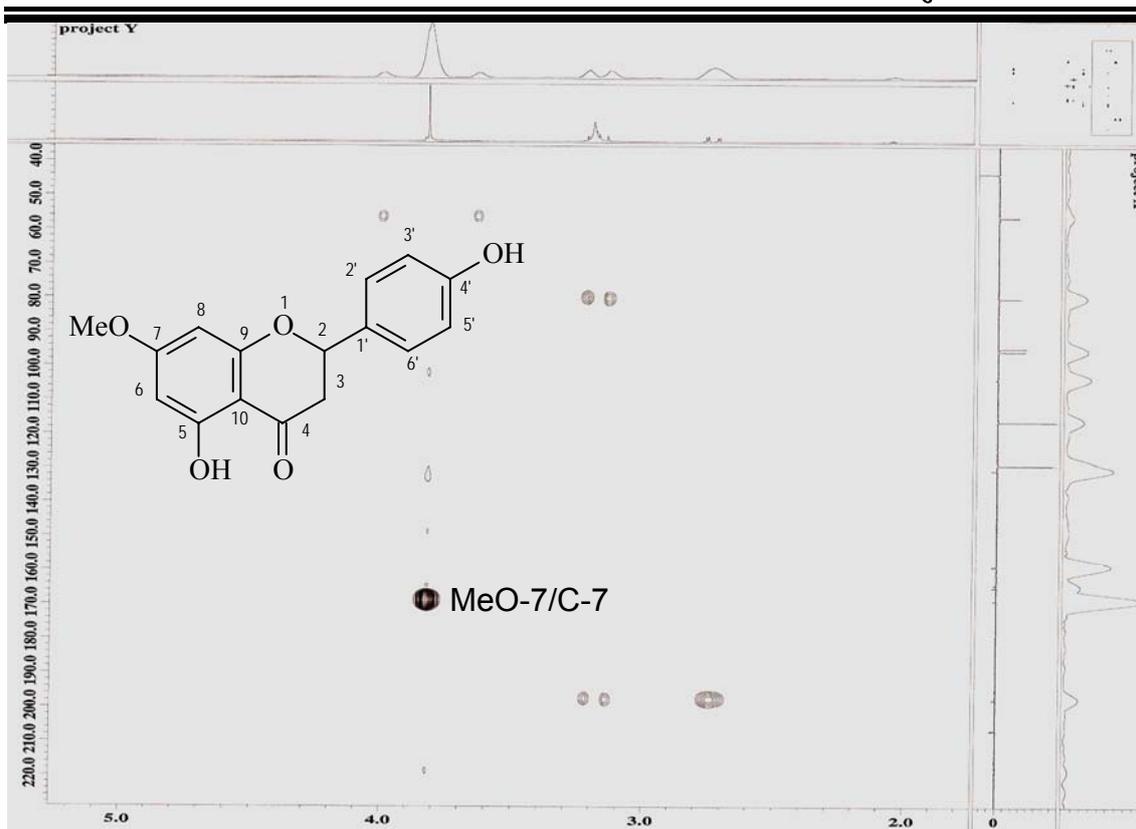


Figura 72 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

03

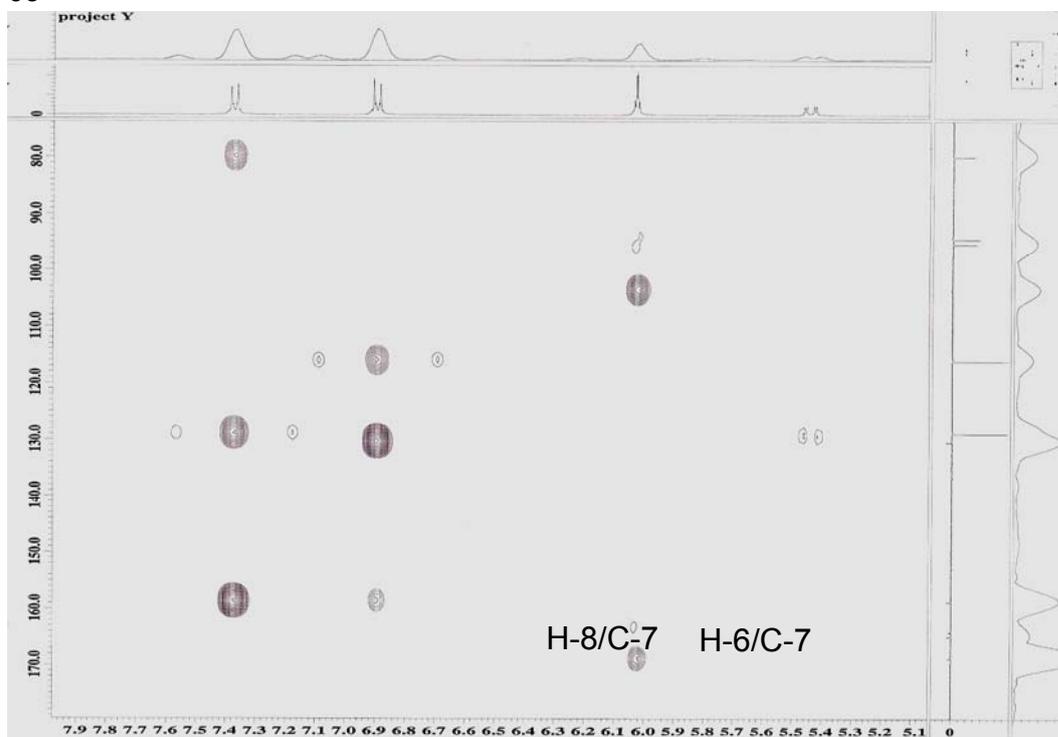


Figura 73 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de Mt-

03

5.4.4 Identificação estrutural de Mt-04

A substância Mt-04 apresentou-se na forma de cristais amarelo claro, solúvel em acetona e apresentando ponto de fusão entre 203 – 206 °C.

O espectro de RMN ¹H (Fig. 74, p. 146) e sua expansão (Fig. 75, p. 147) de Mt-04 revelou uma absorção em δ 12,96, corresponde ao valor típico de hidroxila quelada, normalmente observada em espectros de hidrogênio de flavonóides (KINOSHITA & FIRMAN, 1996), propondo a presença deste grupo para Mt-04. Semelhantemente a Mt-01, Mt-04 apresenta um sistema ABX para o anel B, devido a presença dos seguintes sinais: *dd* (δ 7,63), *d* (δ 7,01) e *d* (δ 7,65) (Tabela 16, p. 144). A presença de um simpleto em δ 6,86 referente ao hidrogênio 8 é sugestivo de substituição por funções oxigenadas nos carbonos 5, 6 e 7. Outro simpleto em δ 6,75 foi atribuído ao hidrogênio 3. Observa-se ainda no espectro de RMN ¹H (Fig. 74, p. 146) três simpletos (δ 3,99, δ 3,98 e δ 3,80) característicos de metoxilas aromáticas.

A análise do espectro de RMN ¹³C (Fig. 76, p. 148, Tabela 16, p. 144) mostrou 18 absorções de carbonos, sendo três carbonos metoxílicos, cinco metínicos e dez carbonos não hidrogenados. Observou-se as absorções em δ 104,23, δ 116,38, δ 151,70, δ 154,59, δ 134,08 e δ 161,05, atribuídas aos carbonos 3, 3', 4', 5, 6 e 7, respectivamente, comumente encontradas em esqueletos de flavonas tetra-substituídas, onde a posição 3 encontram-se não substituída, o qual se evidencia principalmente pelo valor em δ 104,23, referente a C-3.

O espectro de RMN ¹³C (Fig. 76, p. 148) mostrou ainda três outras absorções referentes à metoxilas aromáticas, cujos picos se encontram em δ 60,53, δ 56,81 e δ 56,63. Como foi observado no espectro de RMN ¹H (Fig. 74, p. 146), a presença de um simpleto em δ 6,86 remete a um padrão 5,6,7-trissubstituído para o anel A. As outras absorções na região de hidrogênios aromáticos, ao sugerirem um sistema ABX, levaram a propor a presença de dois substituintes oxigenados nas posições 3' e 4'. Os dados discutidos acima levaram a sugerir a presença de substituintes oxigenados nas posições 3', 4', 5, 6 e 7.

A proposta estrutural de localização das metoxilas e hidroxilas da molécula teve sua confirmação feita através do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (Fig. 78, p. 150, Tabela 16, p. 144), que mostrou correlações entre carbonos e hidrogênios a duas e três ligações. Por meio deste espectro foi possível observar a correlação de H-8 (δ 6.86) com C-7 (δ 161,05) a J^2 e com C-6 (δ 134,08) a J^3 , confirmando assim os deslocamentos para C-6 e C-7. A metoxila em (δ 56,81) foi confirmada na posição 7, por ser evidente a correlação a três ligações entre os hidrogênios metoxílicos em δ 3,98 e C-7 (δ 161,05). A metoxila no C-3' foi então confirmada pela interação 3J dos hidrogênios em δ 3,99 com C-3' (δ 148,81) e a metoxila no C-6 foi confirmada pela interação 3J dos hidrogênios em δ 3,80 com C-6 (δ 134,08). As atribuições de carbonos e hidrogênios do anel B foram feitas através das seguintes correlações: H-5' (δ 7,01) a três ligações com C-1' (δ 123,98) e C-3' (δ 148,81) e H-2' (δ 7,65) a 3J com C-2 (δ 167,58), C-4' (δ 151,70) e C-6' (δ 121,38). A atribuição da hidroxila sugerida para a posição 5 foi confirmada a partir da correlação a 3J entre a absorção δ 12,96 e os C-10 (δ 104,30) e C-6 (δ 134,08) e a 2J com C-5 (δ 154,59). O espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (Figs. 79 e 80, p. 151 e 152, Tabela 16, p. 144) mostrou as correlações entre carbonos e hidrogênios a uma ligação.

Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-04 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 17, p. 145) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 4',5-dihidroxi-3',6,7-trimetoxiflavona, conhecida como anisomelina. Este composto está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.

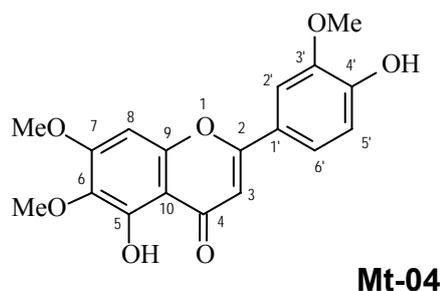
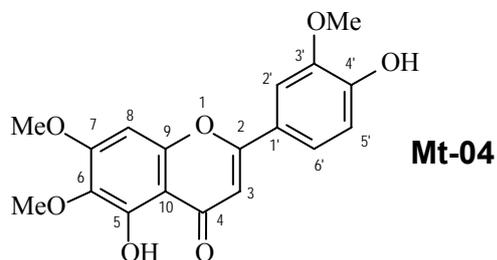


Tabela 16: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-04 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O .



	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
2	167,58	-	H-3	H-2'; H-6'
4	-	-		
5	154,59	-	HO -5	
6	134,08	-		
7	161,05	-	H-8	MeO-7
9	154,59	-	H-8	
10	104,30	-		H-3; HO-5; H-8
1'	123,98	-		H-3; H-5'
3'	148,81	-	H-2'	H-5'; MeO-3'
4'	151,70	-		H-2'; H-6'
CH				
3	104,23	6,75 (s)		
8	91,94	6,86 (s)		
2'	110,52	7,65 (d)		H-6'
5'	116,38	7,01 (d, 8,4)		
6'	121,38	7,63 (dd)		H-2'
MeO				
3'	56,63	3,99 (s)		
6	60,53	3,80 (s)		
7	56,81	3,98 (s)		
HO-5	-	12,91 (s)		

Tabela 17: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-04 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).

Carbonos	Mt-04	Literatura
C	δ_{C}	δ_{C}
2	167,58	163,90
5	154,59	152,00
6	134,08	131,70
7	161,05	152,50
9	154,59	158,50
10	104,30	105,20
1'	123,98	121,30
3'	148,81	148,00
4'	151,70	150,80
CH		
3	104,23	103,00
8	91,94	91,60
2'	110,52	110,20
5'	116,38	115,70
6'	121,38	120,40
MeO		
3'	56,63	-
6	60,53	-
7	56,81	-

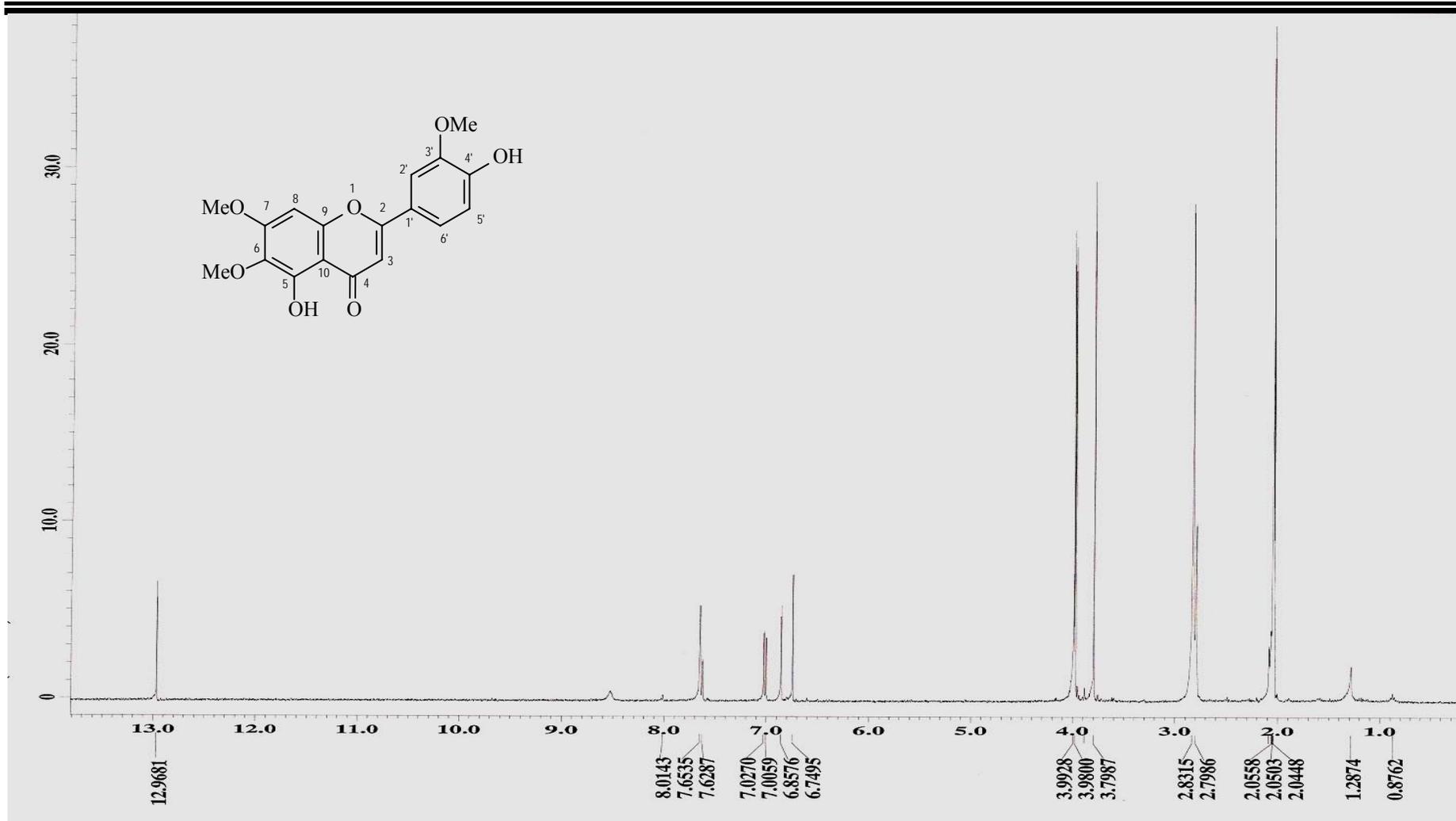


Figura 74 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04

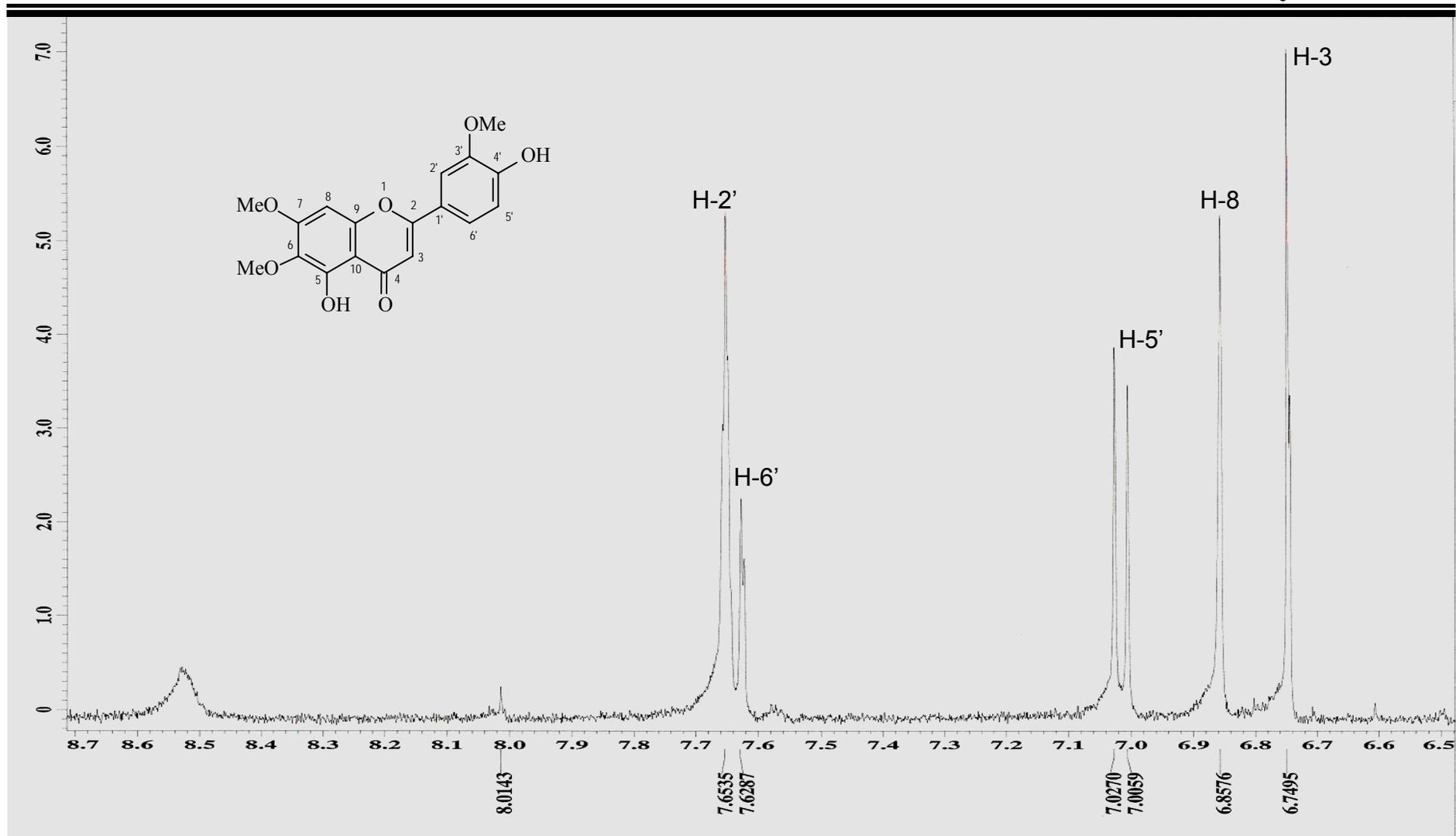


Figura 75 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) de Mt-04

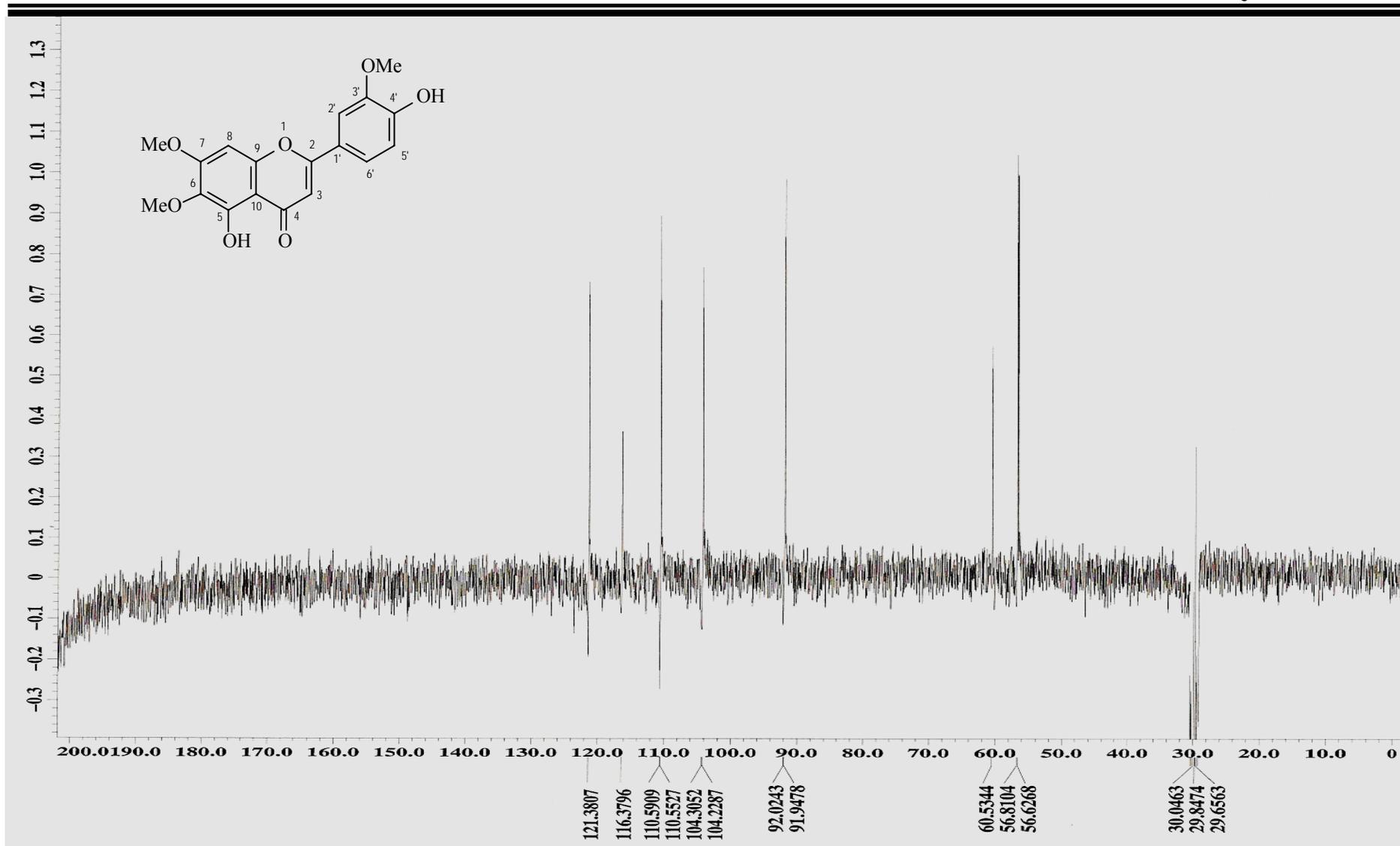


Figura 76 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04

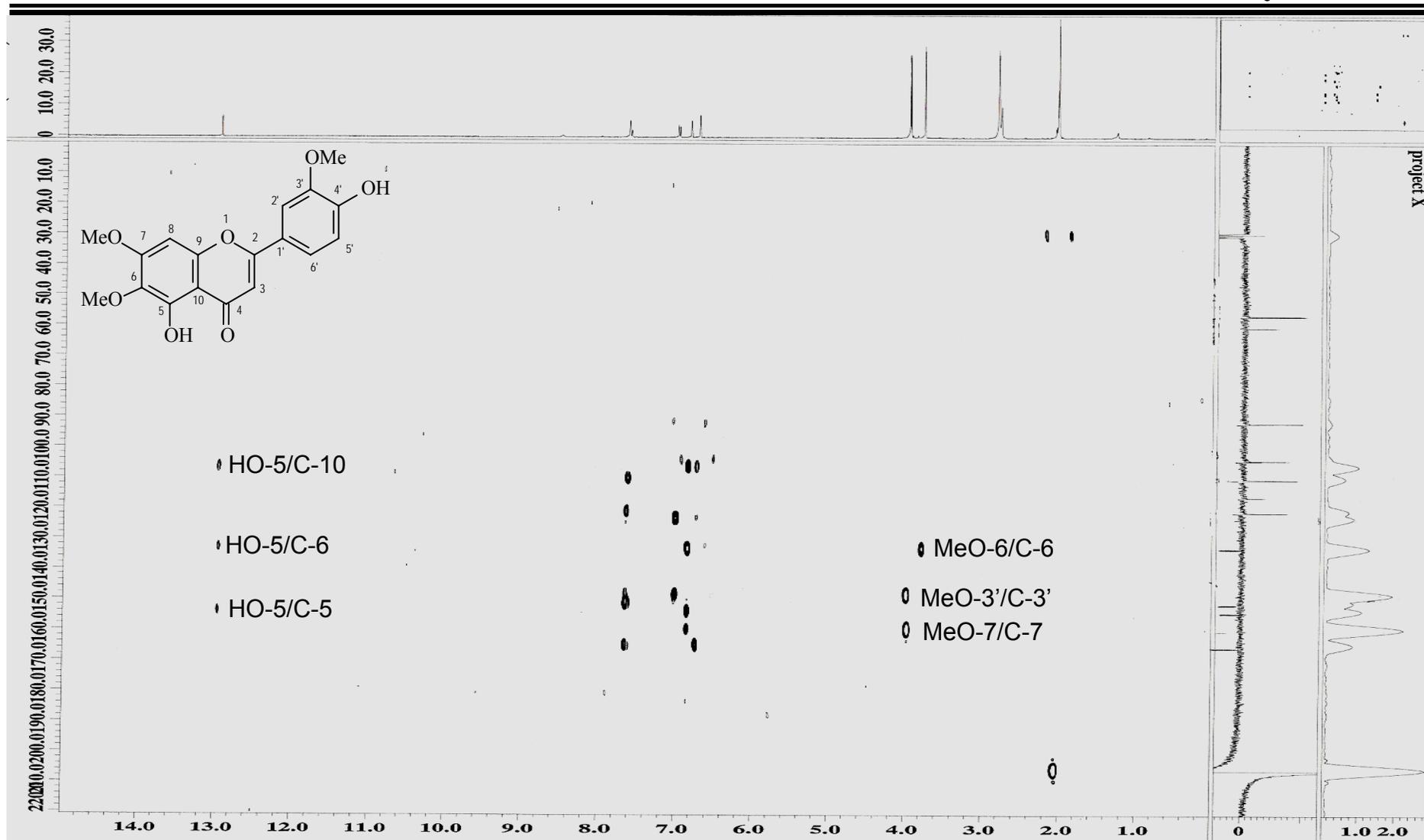


Figura 77 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04

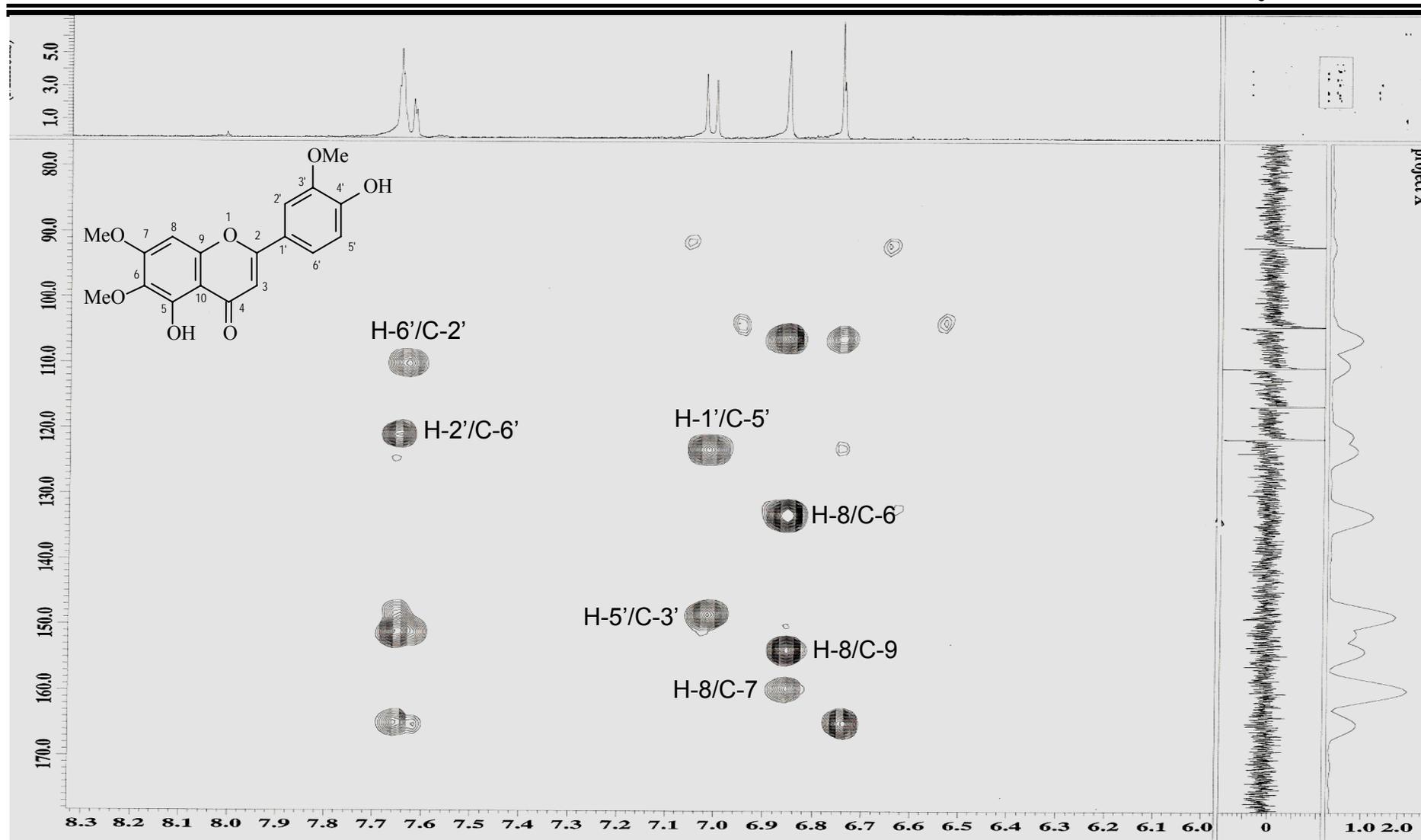


Figura 78 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04

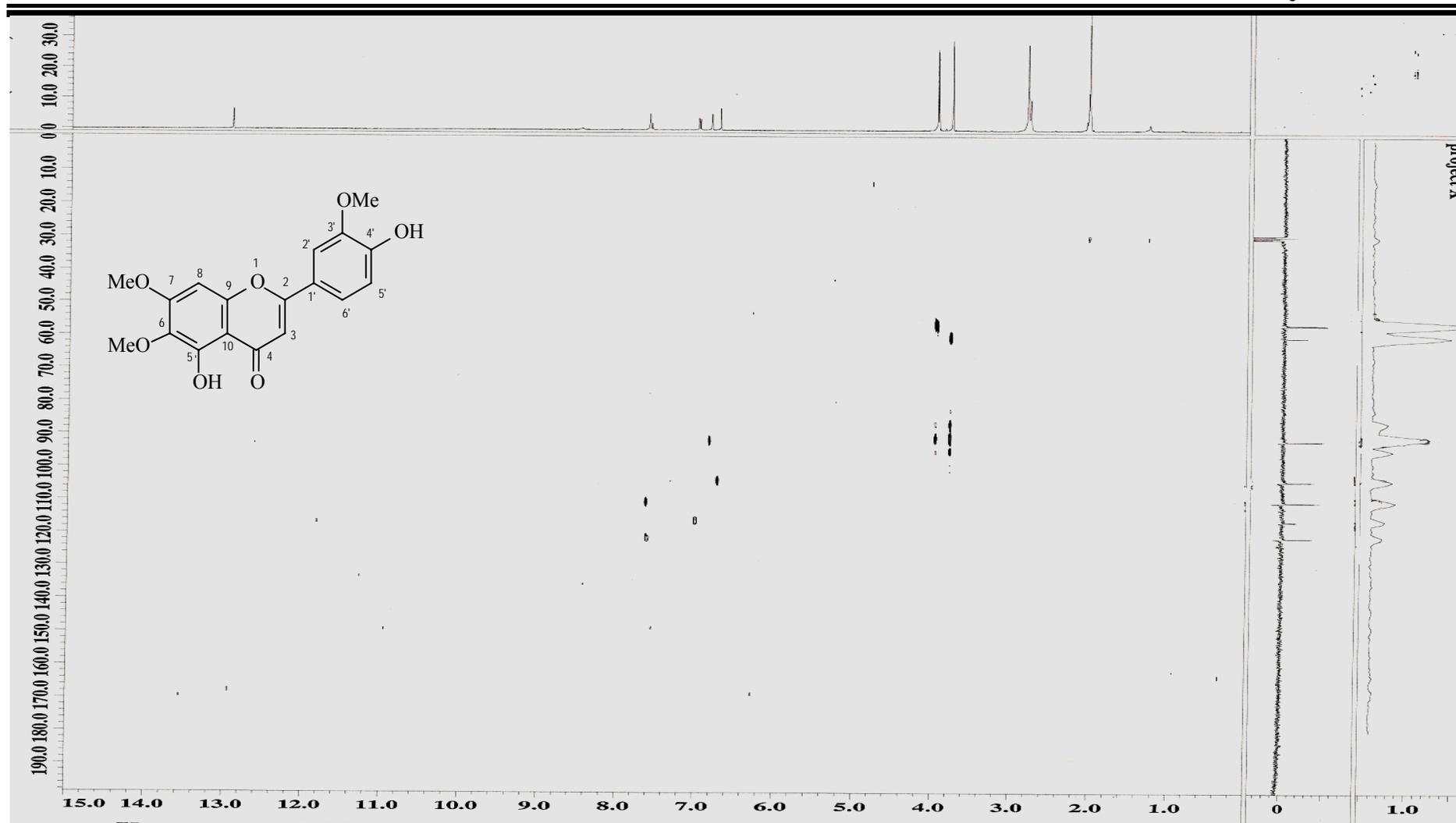


Figura 79 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04

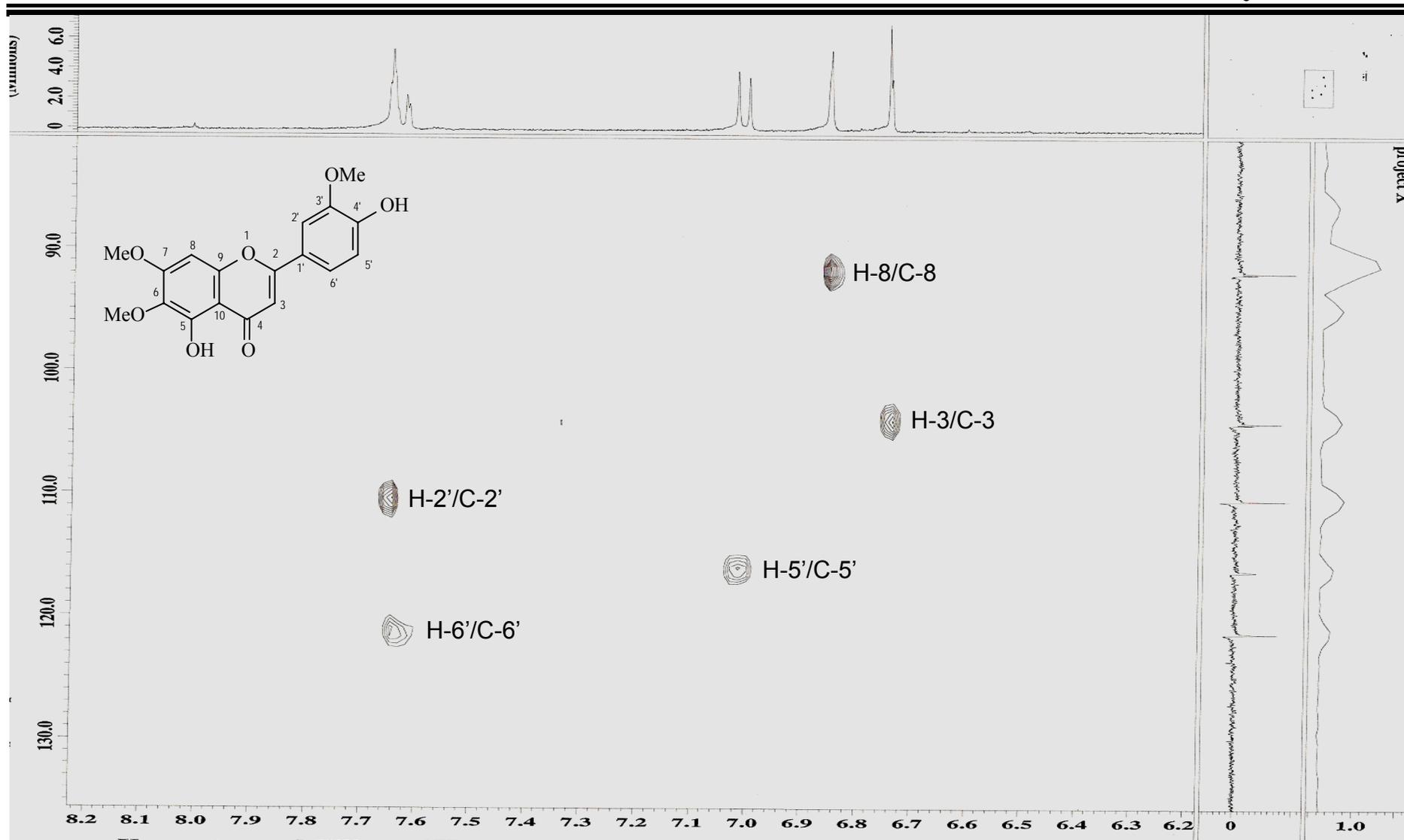


Figura 80 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMPC (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-04

5.4.5 Identificação estrutural de Mt-05

A substância Mt-05 apresentou-se na forma de pó amarelo, solúvel em acetona e apresentando ponto de fusão entre 287,2 - 289,4 °C.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 81, p. 157) e suas expansões (Figs. 82 e 83, p. 158) de Mt-05 mostrou algumas semelhanças com o observado para Mt-04: uma absorção em δ 12,98 característico de hidroxila quelada e um simpleto em δ 6,67 atribuído a H-3. Estas informações sugerem um esqueleto de uma flavona para Mt-05. Semelhantemente a Mt-02, Mt-05 revelou a presença de dois dupletos em δ 7,03 e δ 7,96 com acoplamento *orto*, sugerindo assim um sistema AA'BB' no anel B correspondente aos hidrogênios 3'/5' e 2'/6', sugerindo uma provável substituição em C-4'. O espectro ainda revelou dois dupletos em δ 6,33 e δ 6,32 referentes aos H-8 e H-6, respectivamente, sugerido substituições por função oxigenadas em C-5 e C-7 e um simpleto em δ 3,92 característico de metoxila aromática.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Fig. 84, p. 159, Tabela 18, p. 155) mostrou 10 absorções de carbonos, sendo um carbono metoxílico, cinco metínicos e quatro carbonos não hidrogenados. Não foi possível observar quatro valores para carbonos quaternários pelo espectro de RMN de ^{13}C devido à pequena quantidade de amostra. Os deslocamentos químicos em δ 104,21, δ 116,89, δ 129,33, δ 98,71 e δ 93,31 foram atribuídos a C-3, C-3'/5', C-2'/6', C-6 e C-8, respectivamente, e são comumente encontrados em esqueletos de flavonas di-substituídas, onde a posição 3 encontra-se não substituída, o que se evidencia principalmente pelo valor em δ 104,21, referente a C-3. O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 84, p. 159) mostrou ainda uma absorção em δ 56,42 compatível com metoxila estericamente desimpedida.

Os dados discutidos acima levaram a sugerir a presença de substituintes oxigenados nas posições 4', 5 e 7.

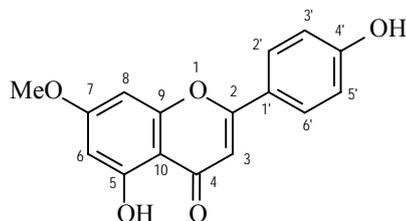
A proposta estrutural de localização da metoxila da molécula teve sua confirmação feita através do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figs. 85, 86 e 87, p. 160 e 161, Tabela 18, p. 155), que mostrou correlações entre carbonos e hidrogênios a duas e três ligações. Por meio deste espectro foi possível observar que a metoxila (δ 56,42) estaria na posição 7, por ser evidente a

correlação a três ligações entre os hidrogênios metoxílicos em δ 3,92 e o C-7 (δ 164,00). As confirmações do anel B foram feitas a partir das seguintes correlações: H-2'/H-6' (δ 7,96) a J^3 com C-2 (δ 162,00) e H-3'/5' (δ 7,03) a J^3 com C-1' (δ 122,00).

O espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (Figs. 88 e 89, p. 162 e 163, Tabela 18, p. 155), mostrou as correlações diretas entre H-3 (δ 6,67), H-6 (δ 6,32), H-3'/5' (δ 7,03) e H-2'/6' (δ 7,96) com C-3 (δ 104,21), C-6 (δ 98,71), C-3'/5' (δ 116,89) e C-2'/6' (δ 129,33), respectivamente.

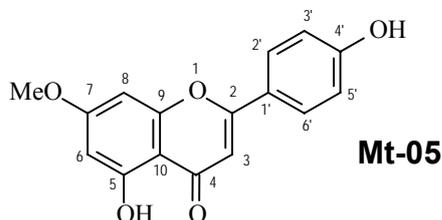
O espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Figs. 90 e 91, p. 164) mostrou as interações entre os hidrogênios vicinais 3'/5' e 2'/6', confirmando assim a presença do sistema AA'BB' no anel B da molécula.

Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-05 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 19, p. 156) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 4',5-dihidroxi-7-metoxiflavona, conhecida como 7-metilapigenina. Este composto está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.



Mt-05

Tabela 18: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-05 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O .



	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
2	162,00	-		H-2'/H-6'
4	183,23	-		
5	-	-		
7	164,00	-		MeO-7
9	-	-		
10	-	-		
1'	122,00	-		H-3'/H-5'
4'	-	-		
CH				
3	104,21	6,67 (s)		
6	98,71	6,32 (d, 1,8)		
8	93,31	6,33 (d, 1,8)		
2'	129,33	7,96 (d, 8,8)		
3'	116,89	7,03 (d, 8,8)		
5'	116,89	7,03 (d, 8,8)		
6'	129,33	7,96 (d, 8,8)		
MeO				
7	56,42	3,92 (s)		
HO-5	-	12,98 (s)		

Tabela 19: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-05 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).

Carbonos	Mt-05	Literatura
	δ_c	δ_c
C		
2	162,00	164,60
4	183,23	182,30
5	-	157,70
7	164,00	165,60
9	-	161,80
10	-	105,00
1'	122,00	121,60
4'	-	161,80
CH		
3	104,21	103,40
6	98,71	98,20
8	93,31	92,90
2'	129,33	128,80
3'	116,89	116,30
5'	116,89	116,30
6'	129,33	128,80
MeO		
7	56,42	-

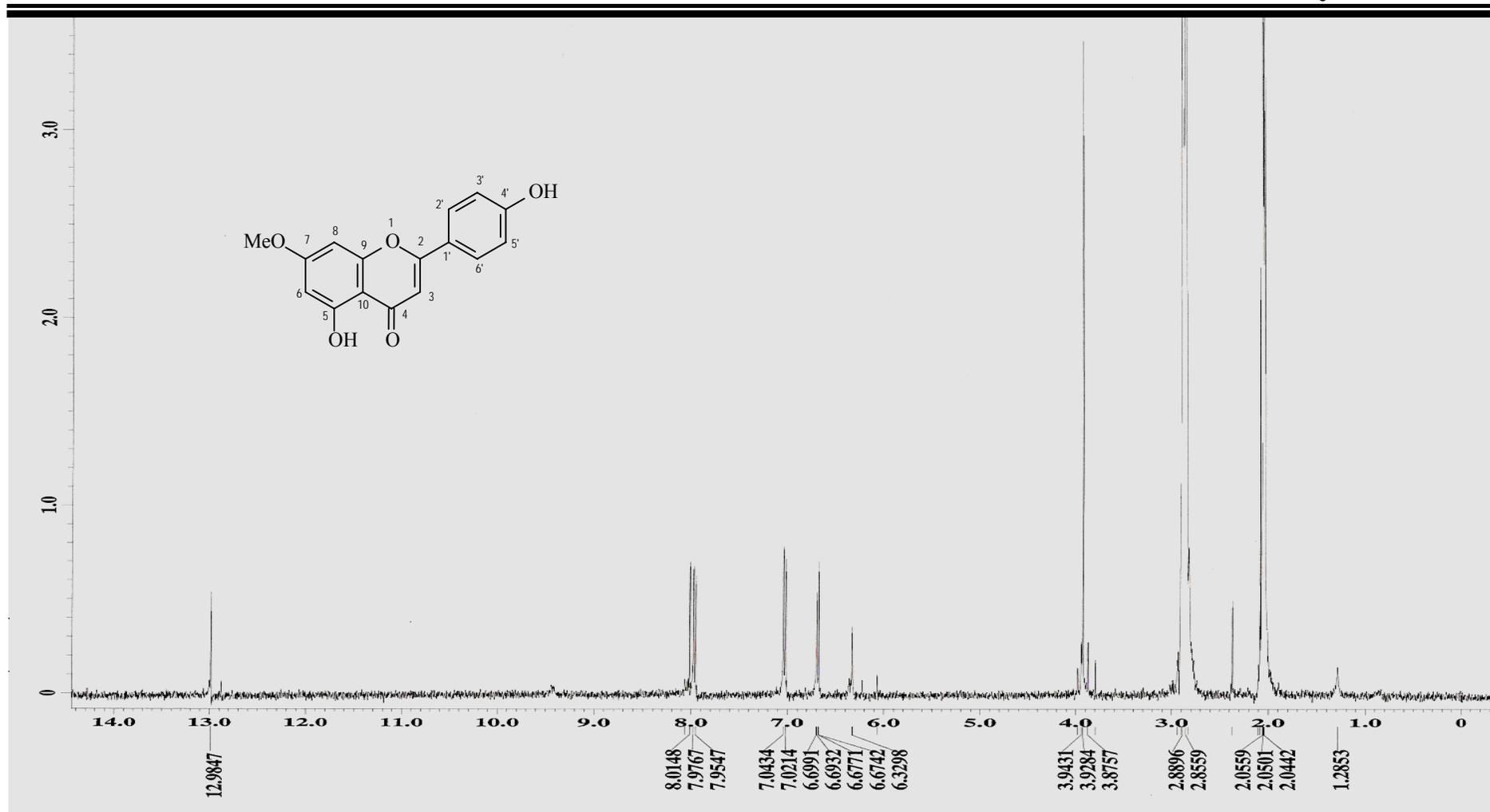


Figura 81 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

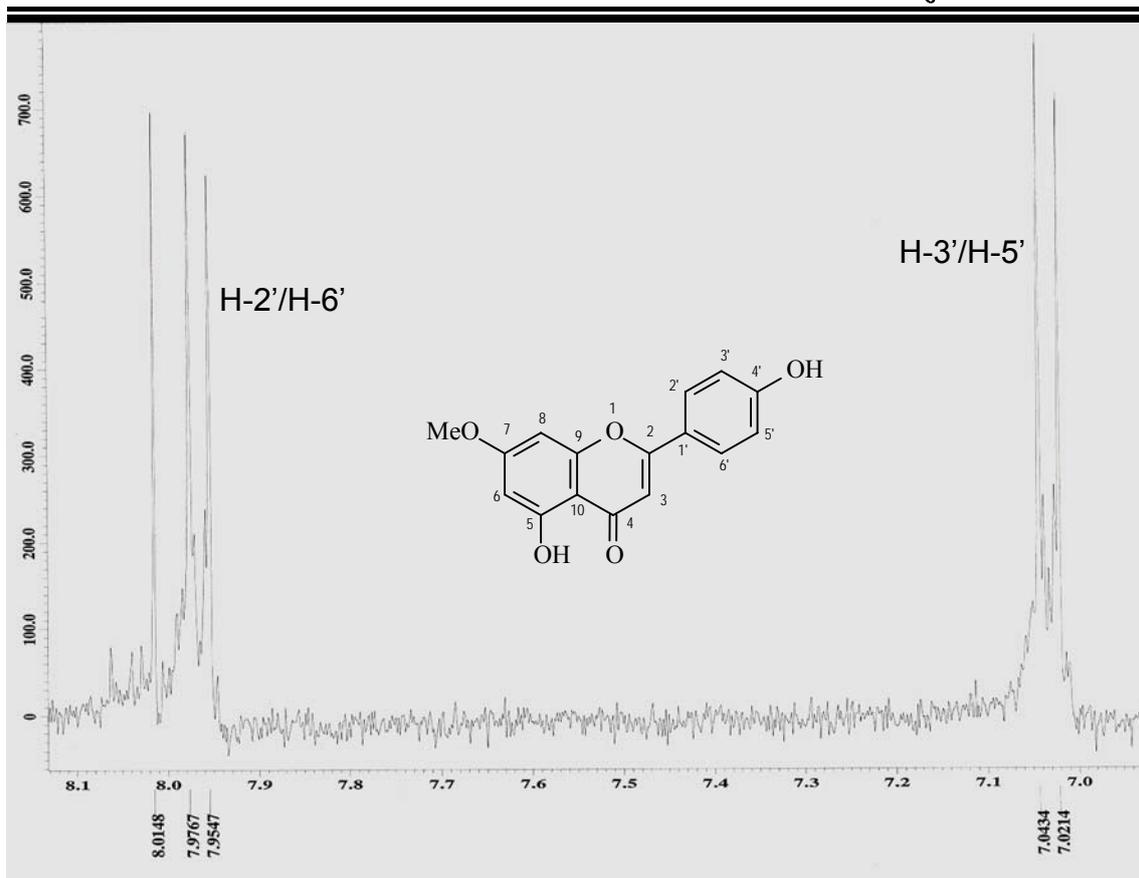


Figura 82 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

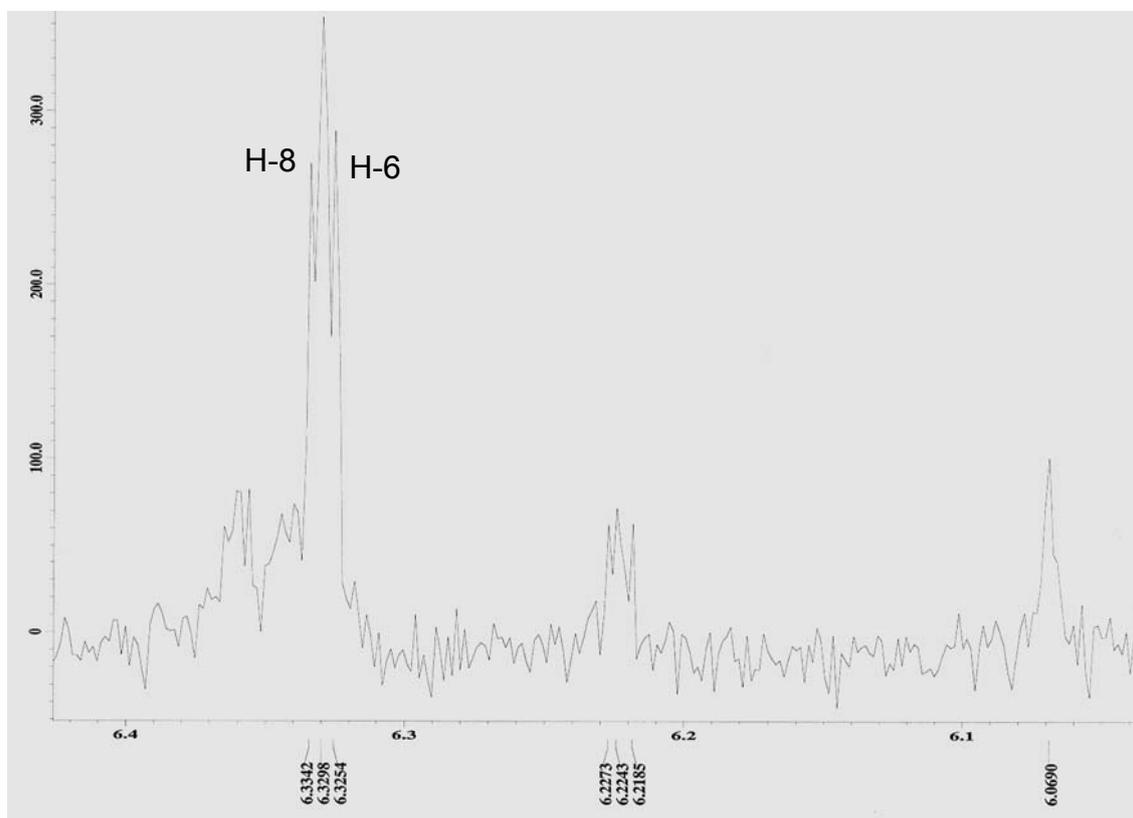


Figura 83 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

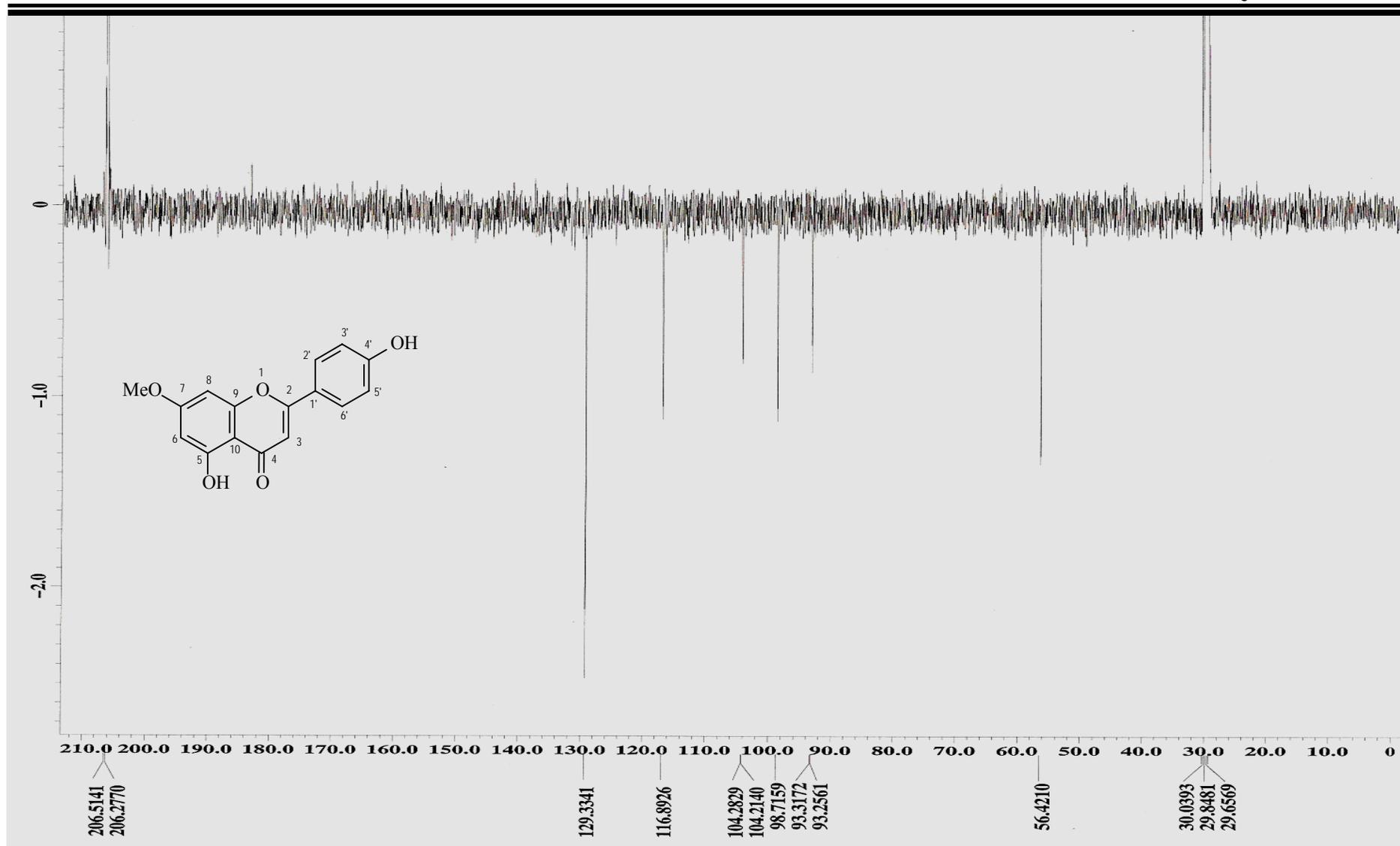


Figura 84 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

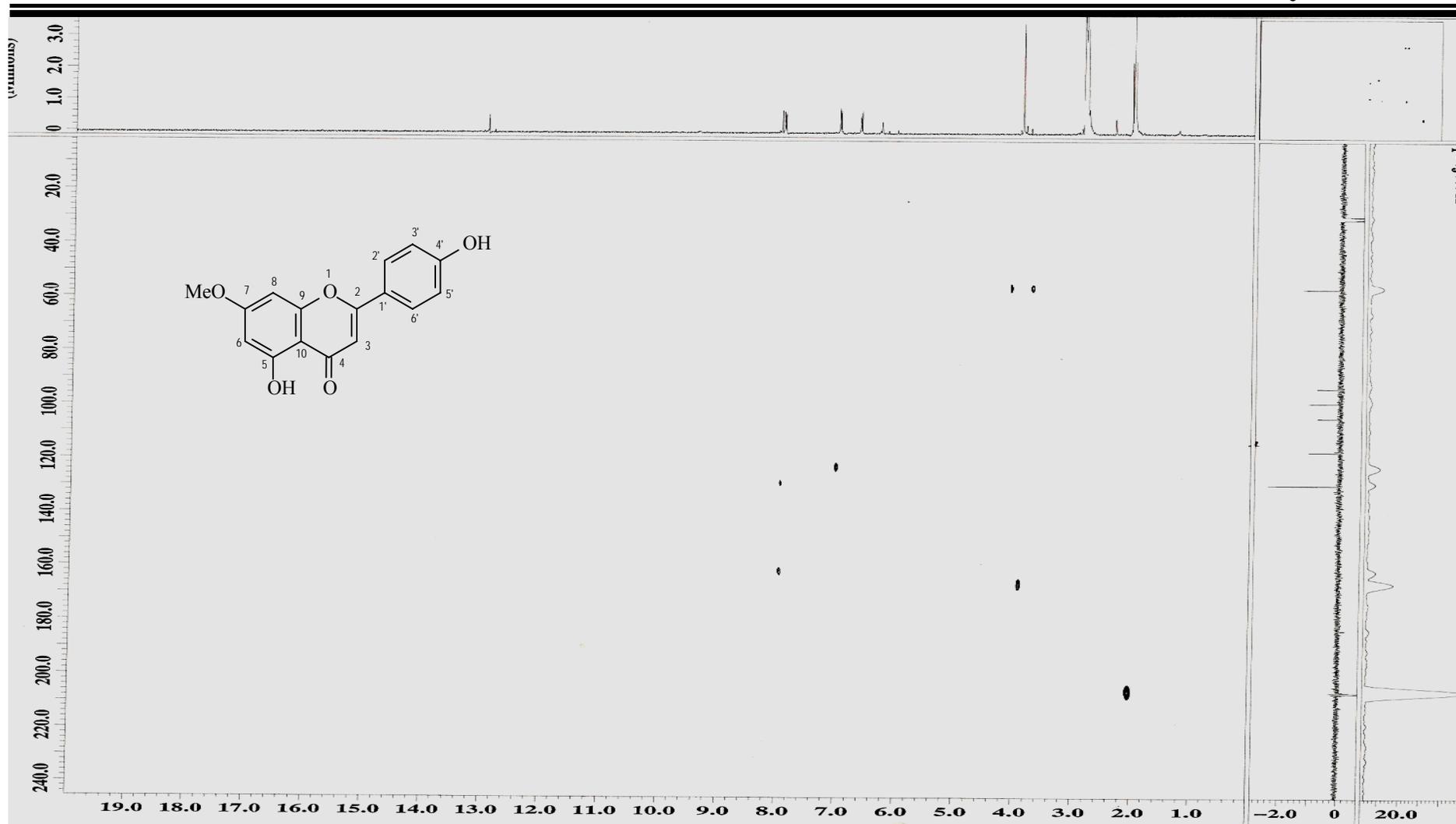


Figura 85 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

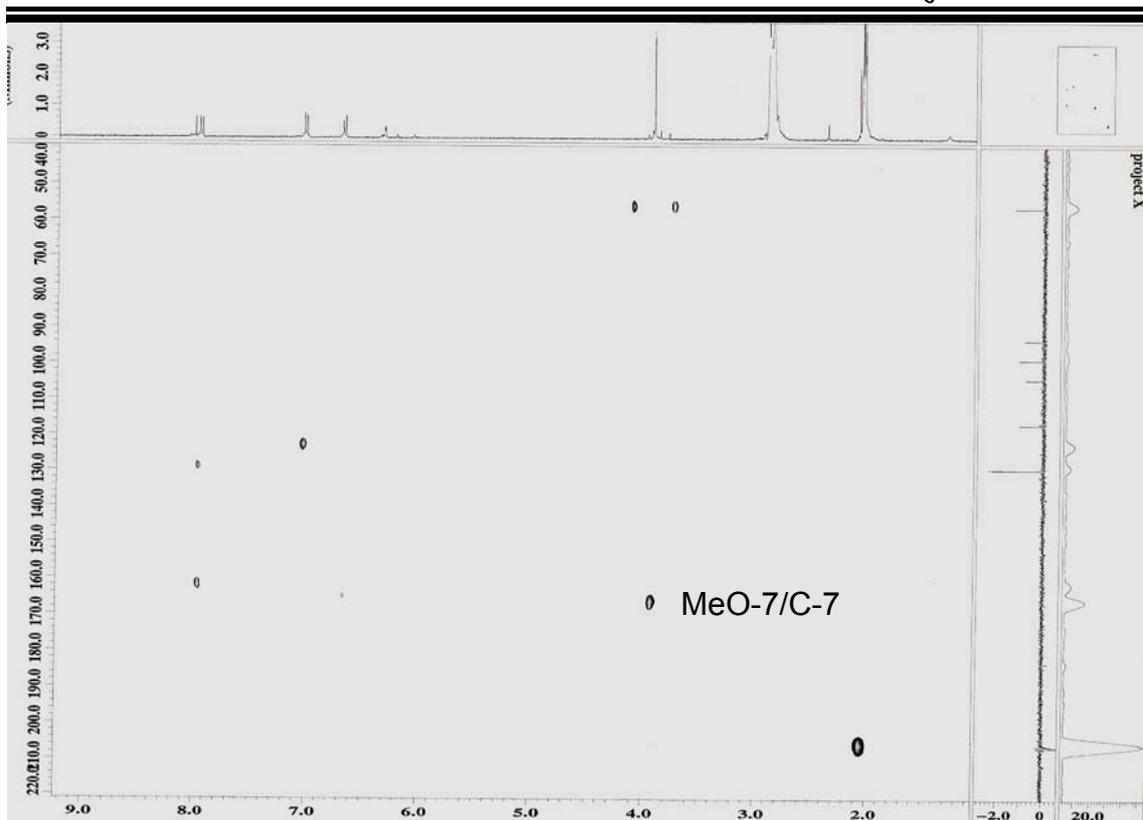


Figura 86 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

05

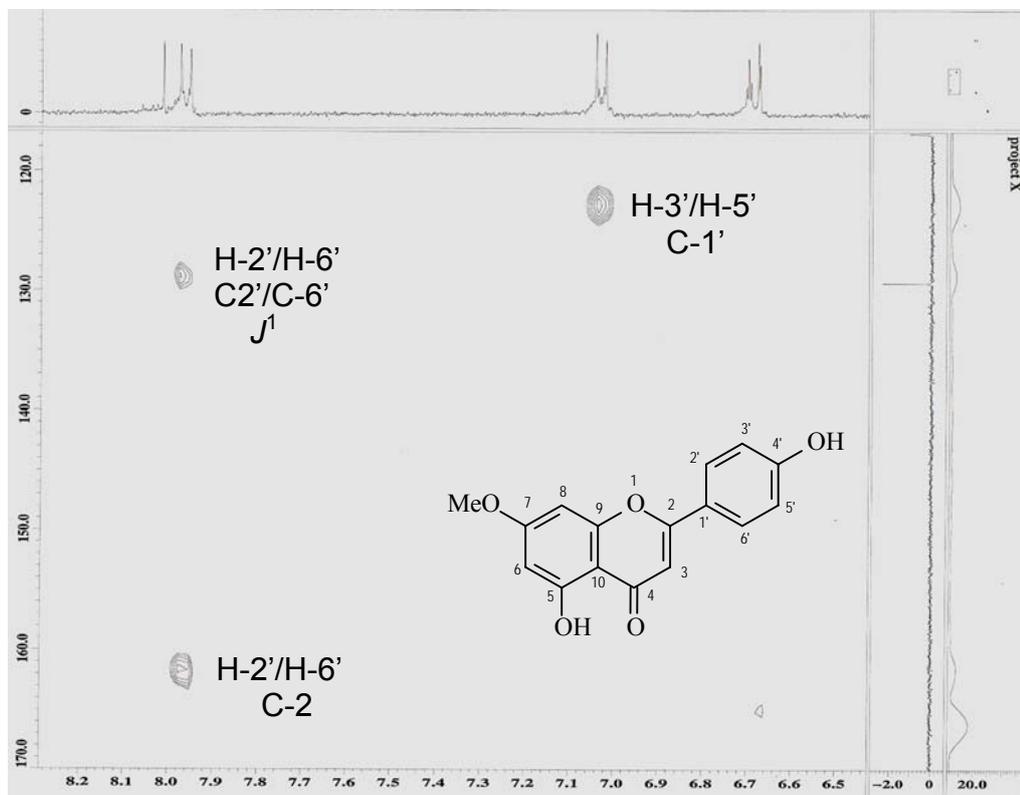


Figura 87 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

05

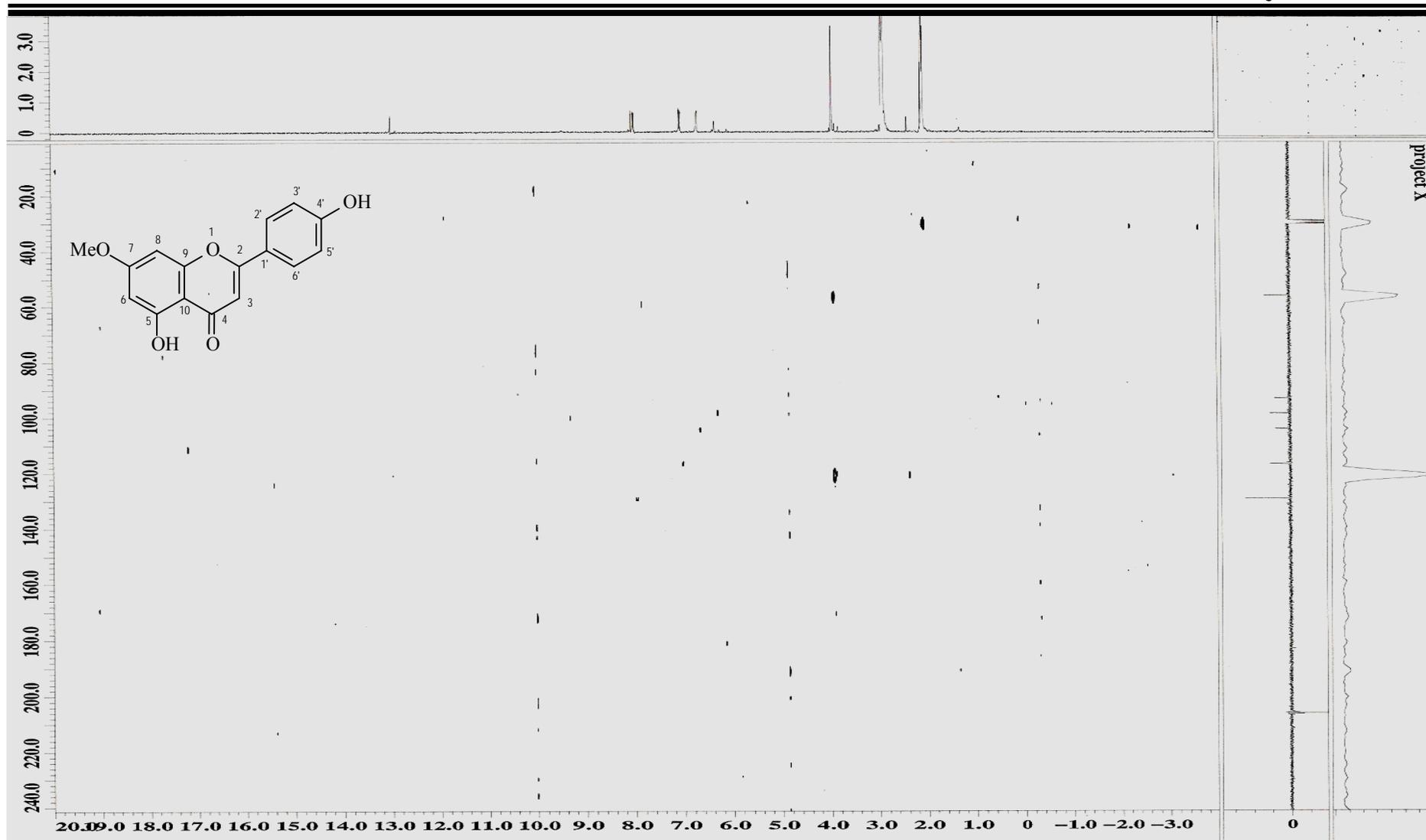


Figura 88 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

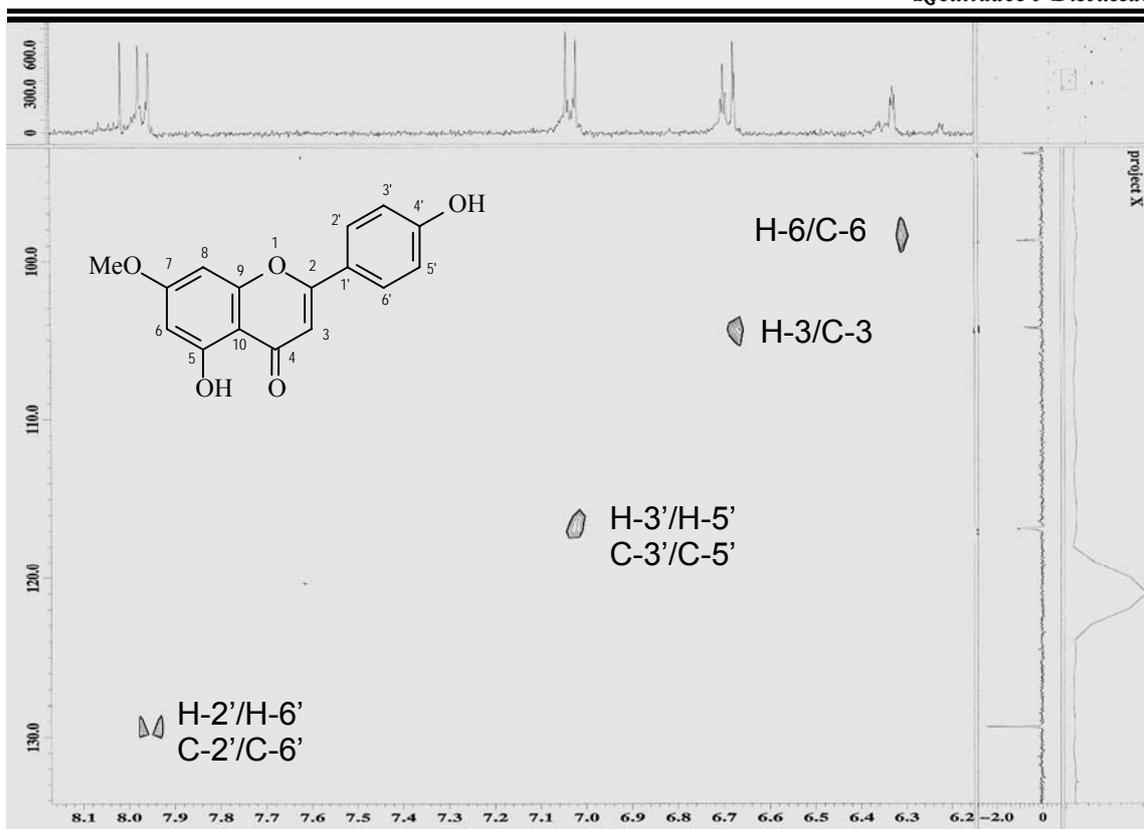


Figura 89 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

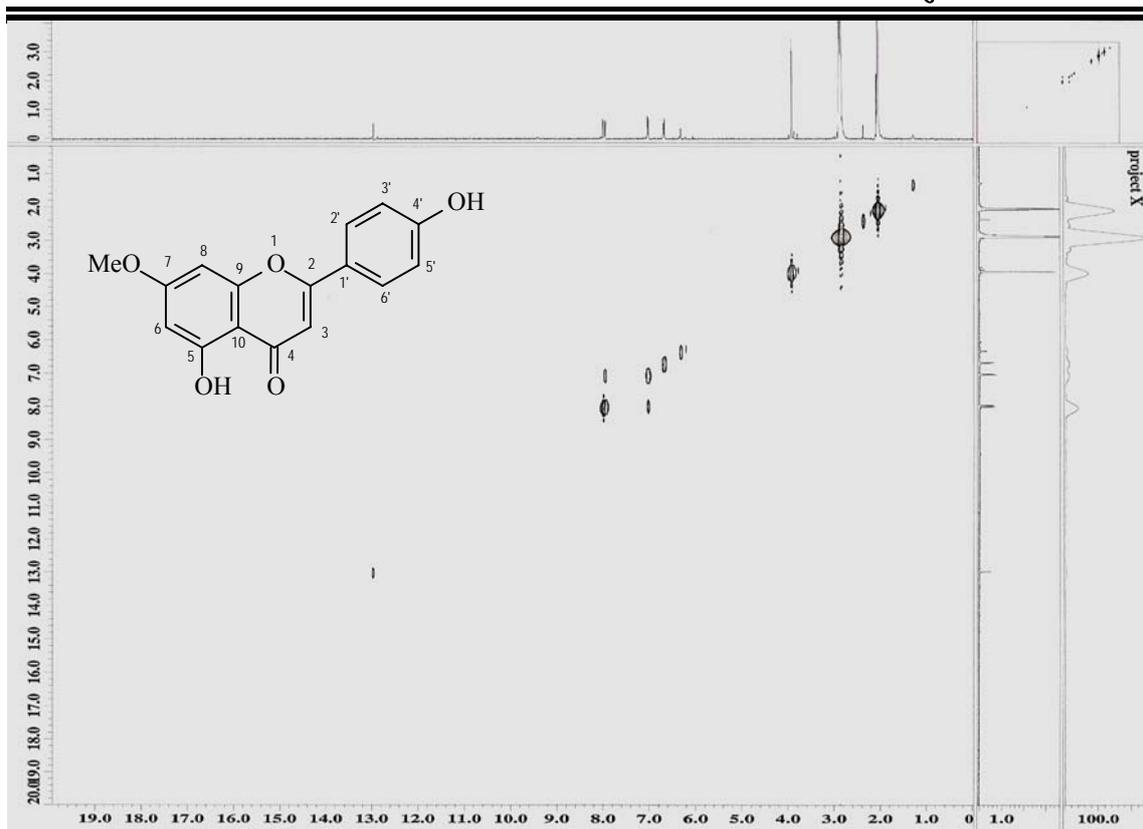


Figura 90 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05



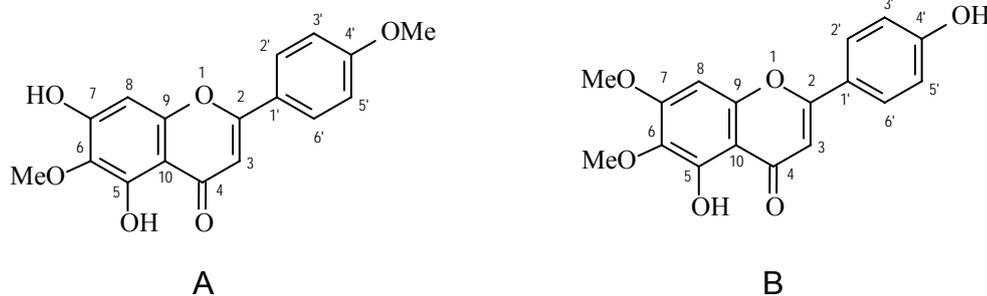
Figura 91 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-05

5.4.6 Identificação estrutural de Mt-06

A substância Mt-06 apresentou-se na forma de cristais brancos, solúvel em acetona e apresentando ponto de fusão entre 287,2 - 289,4 °C.

A substância Mt-06 apresentou o mesmo padrão de sinais no espectro de RMN ^1H (Figs. 92, 93 e 94, p.169 e 170) dos anéis A e C quando comparado a Mt-04. (Tabela 20, p. 167). Foi ainda observado neste mesmo espectro dois dupletos em δ 7,03 e δ 7,96 com acoplamento *orto*, atribuídos aos hidrogênios 3'/5' e 2'/6', respectivamente, sugerindo um sistema AA'BB' para o anel B de Mt-06 e dois simpletos em δ 3,99 e δ 3,80 característicos de metoxilas aromáticas.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 95, 96 e 97, p. 171 e 172) mostrou uma absorção em δ 56,79 compatível com metoxila estericamente desimpedida e uma absorção em δ 60,52 compatível com metoxila estericamente impedida. Os dados discutidos acima levaram a sugerir as seguintes estruturas para Mt-06:



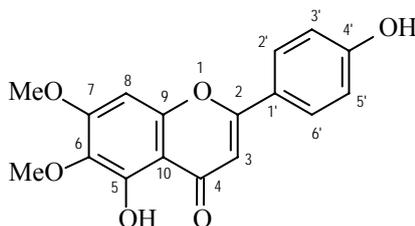
A proposta B foi confirmada ao observar as correlações no espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figs. 98, 99 e 100, p. 173 e 174, Tabela 20, p. 167) de H-8 (δ 6,84) com C-7 (δ 160,06) a J^2 confirmando assim o deslocamento químico de C-7 e dos hidrogênios metoxílicos em δ 3,99 com C-7 (δ 160,06). A metoxila em C-6 também foi confirmada por este espectro ao observamos a correlação de H-8 (δ 6,84) com C-6 (δ 133,54) a J^3 e dos hidrogênios metoxílicos em δ 3,80 com C-6 (δ 133,54). As confirmações do anel B foram feitas a partir das seguintes correlações: H-2'/H-6' (δ 7,96) a 3J com C-2 (δ 165,29) e C-4' (δ 161,99); H-3'/H-5' (δ 7,03) a 3J com C-1' (δ 123,27) e a 2J com C-4' (δ 161,99).

Por este espectro também foi possível observar a correlação do H-3 (δ 6,78) com C-2 a 2J .

O espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (Figs. 101, 102 e 103, p. 175 e 176, Tabela 20, p. 167), mostrou as correlações diretas entre H-3 (δ 6,78), H-8 (δ 6,84), H-3'/H-5' (δ 7,03) e H-2'/H-6' (δ 7,96) com C-3 (δ 103,90), C-8 (δ 91,91), C-3'/C-5' (δ 116,88) e C-2'/C-6' (δ 129,28), respectivamente.

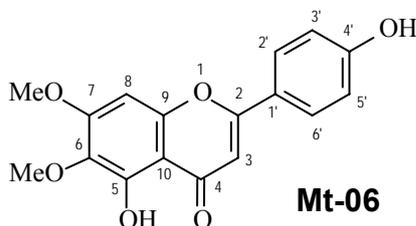
O espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Figs. 104, 105 e 106, p. 177 e 178) mostrou as interações entre os hidrogênios vicinais 3'/5' e 2'/6', confirmando assim a presença do sistema AA'BB' no anel B da molécula.

Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-06 com modelo da literatura (HASE, et al., 1995) (Tabela 21, p. 168) permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 4',5-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona, conhecida também como circimaritina, cirsumaritina, cirsitakaogenina, cirsumaritina, scrofuleina ou skrofuleina. Este composto está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.



Mt-06

Tabela 20: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-06 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O .



	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
2	165,29	-	H-3	H-2'/H-6'
4	183,51	-		
5	154,05	-	HO-5	
6	133,54	-		HO-5; MeO-6; H-8
7	160,06	-	H-8	MeO-7
9	153,95	-	H-8	
10	106,48	-		H-3; HO-5; H-8
1'	123,27	-		H-3'/H-5'
4'	161,99	-	H-3'/H-5'	H-2'/H-6'
CH				
3	103,90	6,78 (s)		
8	91,91	6,84 (s)		
2'	129,28	7,96 (d, 8,8)		
3'	116,88	7,03 (d, 8,8)		
5'	116,88	7,03 (d, 8,8)		
6'	129,28	7,96 (d, 8,8)		
MeO				
6	60,52	3,80 (s)		C-6
7	56,79	3,99 (s)		C-7
HO-5	-	12,96 (s)		

Tabela 21: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-06 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (HASE, et al., 1995).

Carbonos	Mt-06	Literatura
	δ_{C}	δ_{C}
C		
2	165,29	163,20
4	183,51	182,10
5	154,05	152,70
6	133,54	131,30
7	160,06	157,20
9	153,95	152,40
10	106,48	104,10
1'	123,27	122,80
4'	161,99	162,20
CH		
3	103,90	103,00
8	91,91	94,20
2'	129,28	128,20
3'	116,88	114,50
5'	116,88	114,50
6'	129,28	128,20
MeO		
6	60,52	59,90
7	56,79	55,50

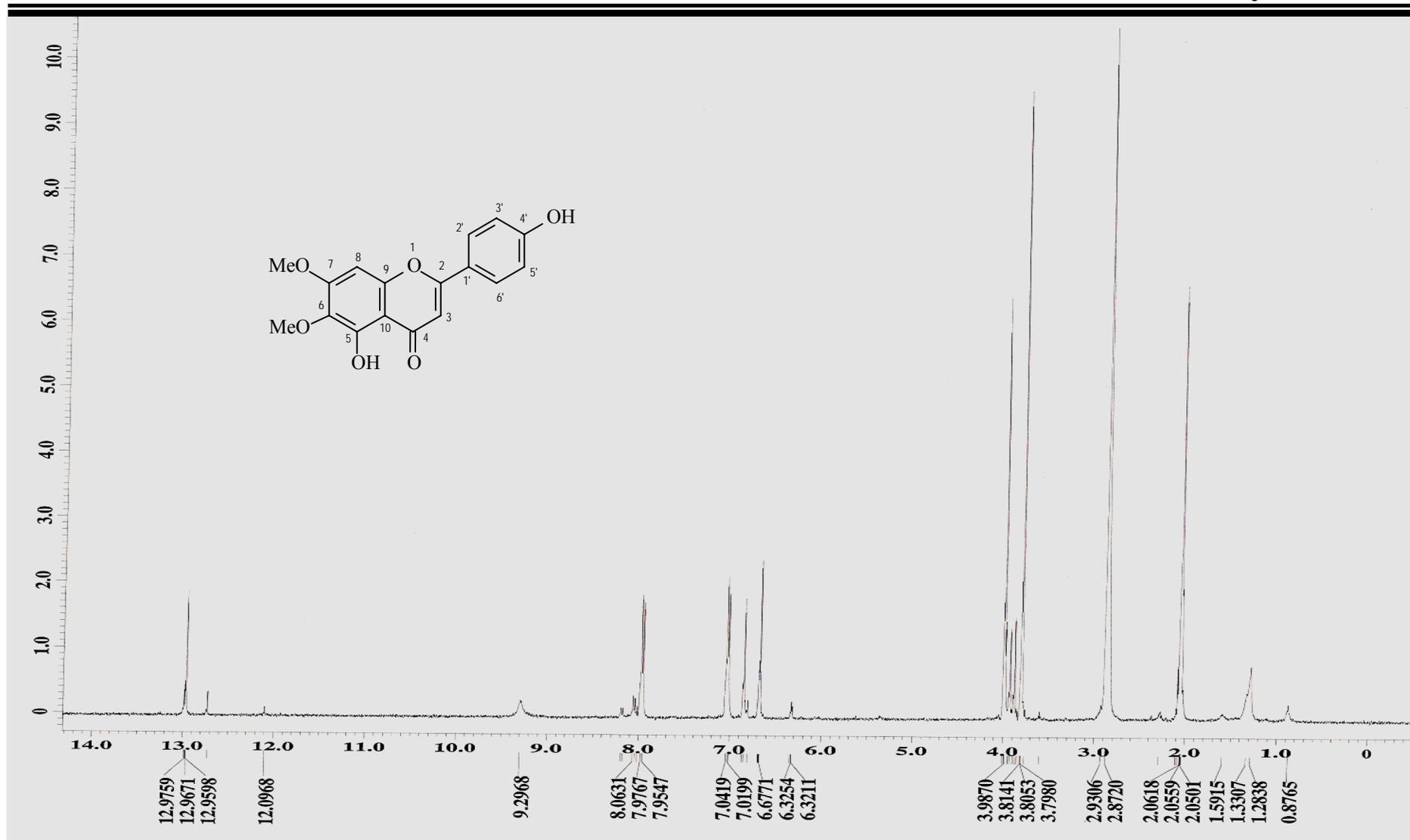


Figura 92 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

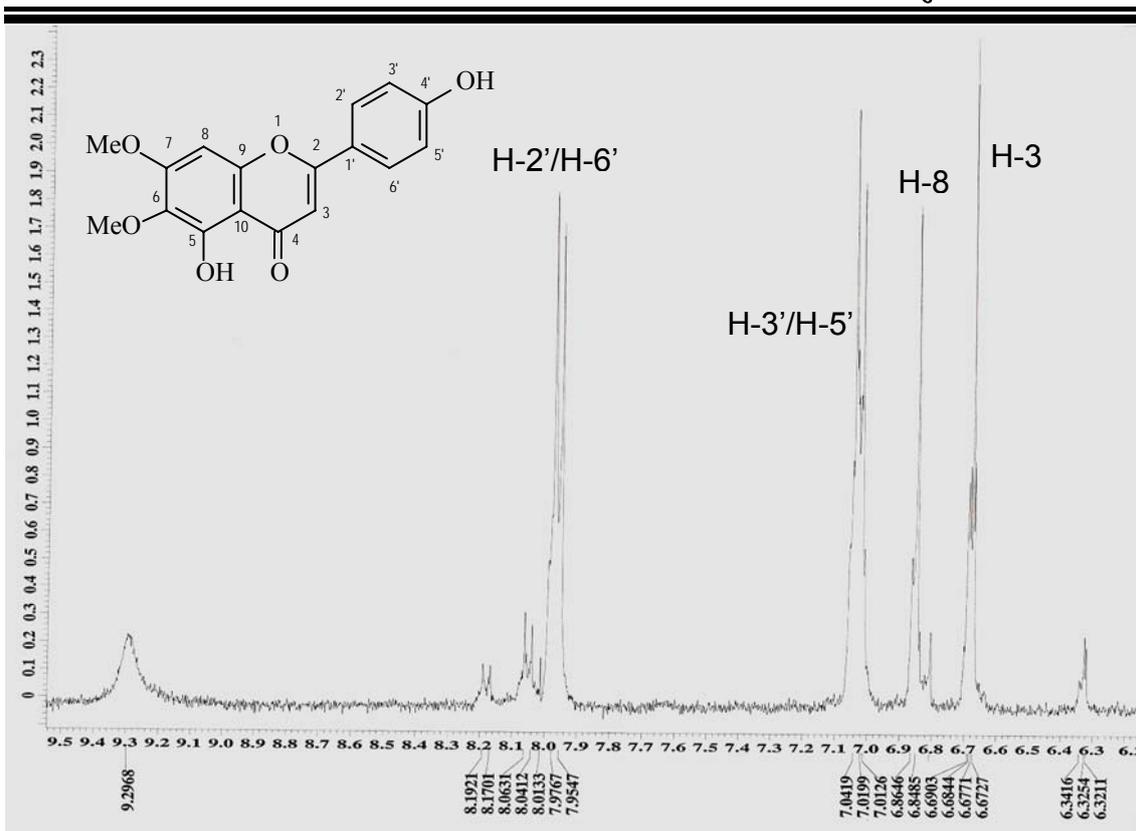


Figura 93 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

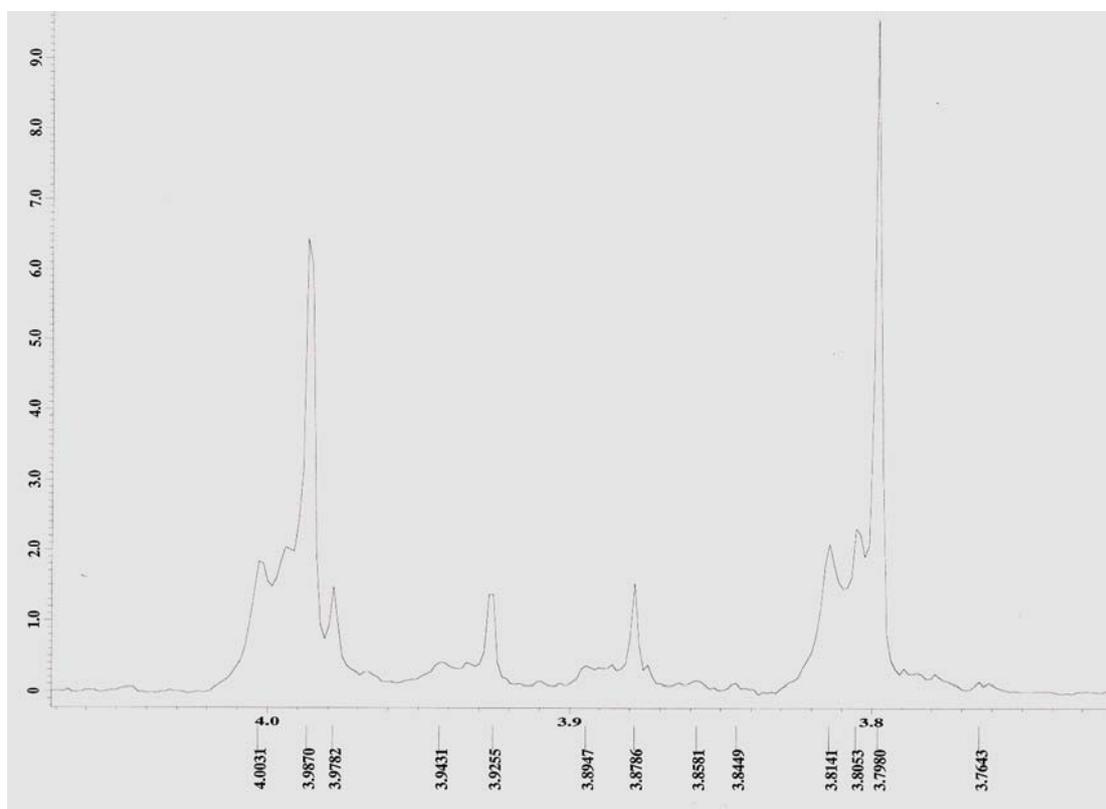


Figura 94 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

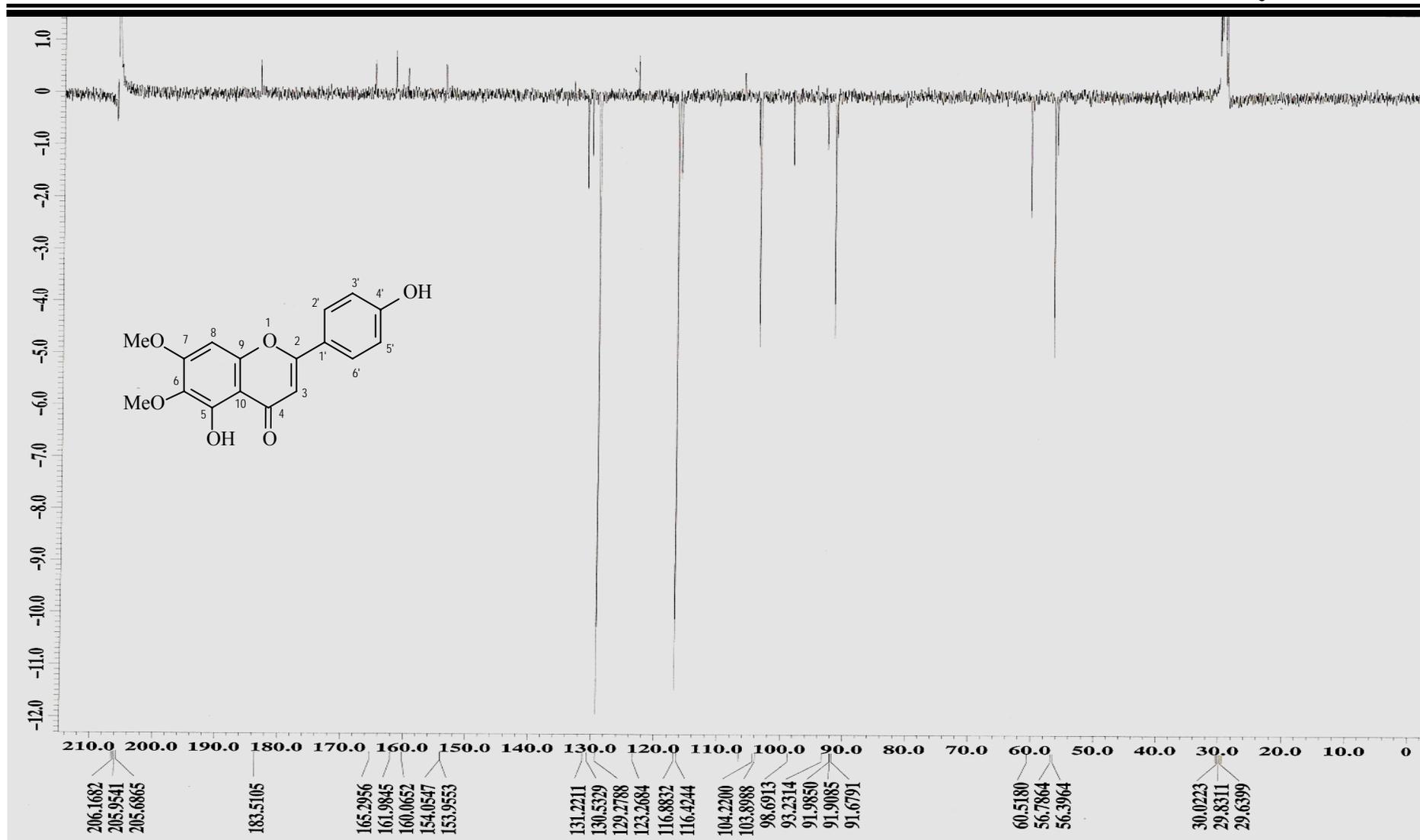


Figura 95 - Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, C₃D₆O) de Mt-06

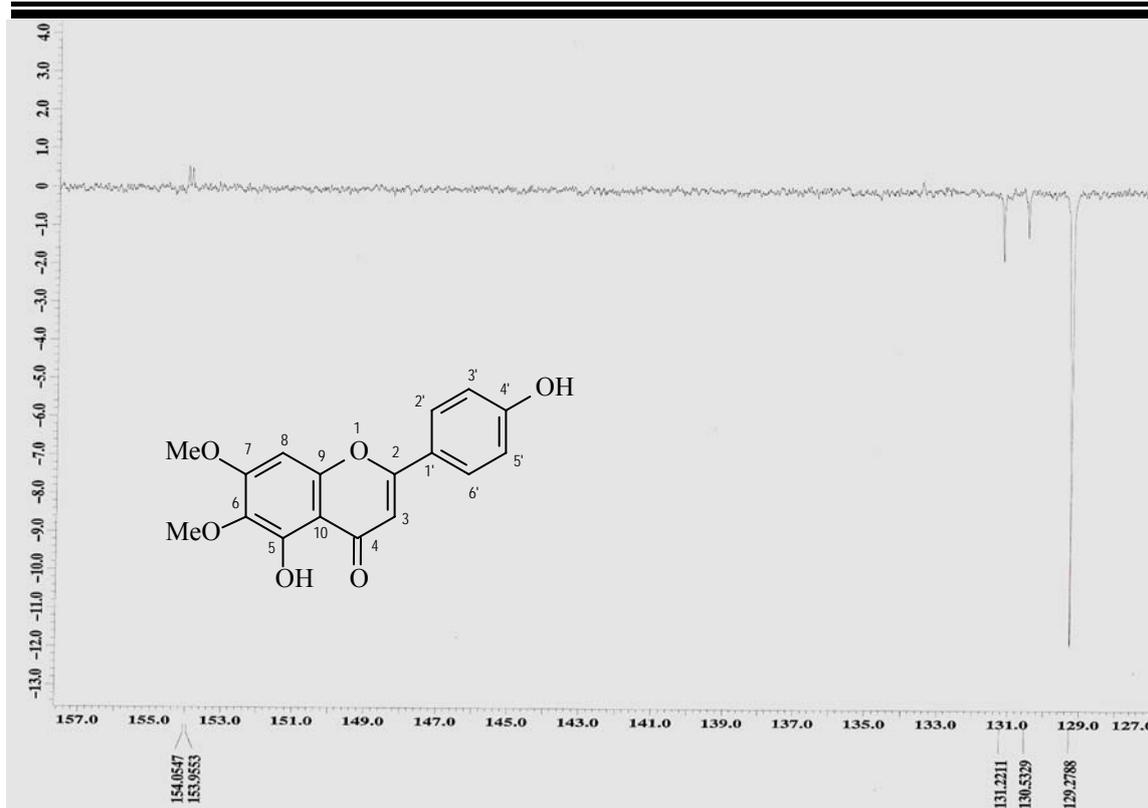


Figura 96 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

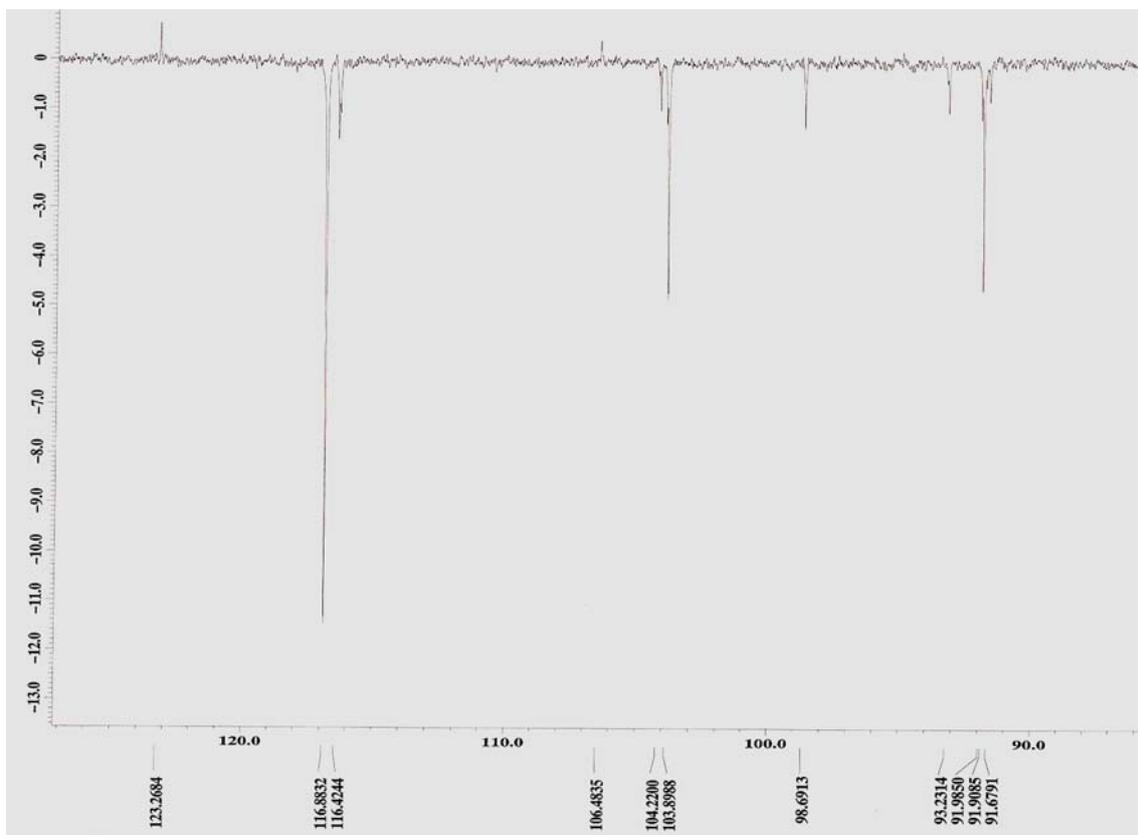


Figura 97 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

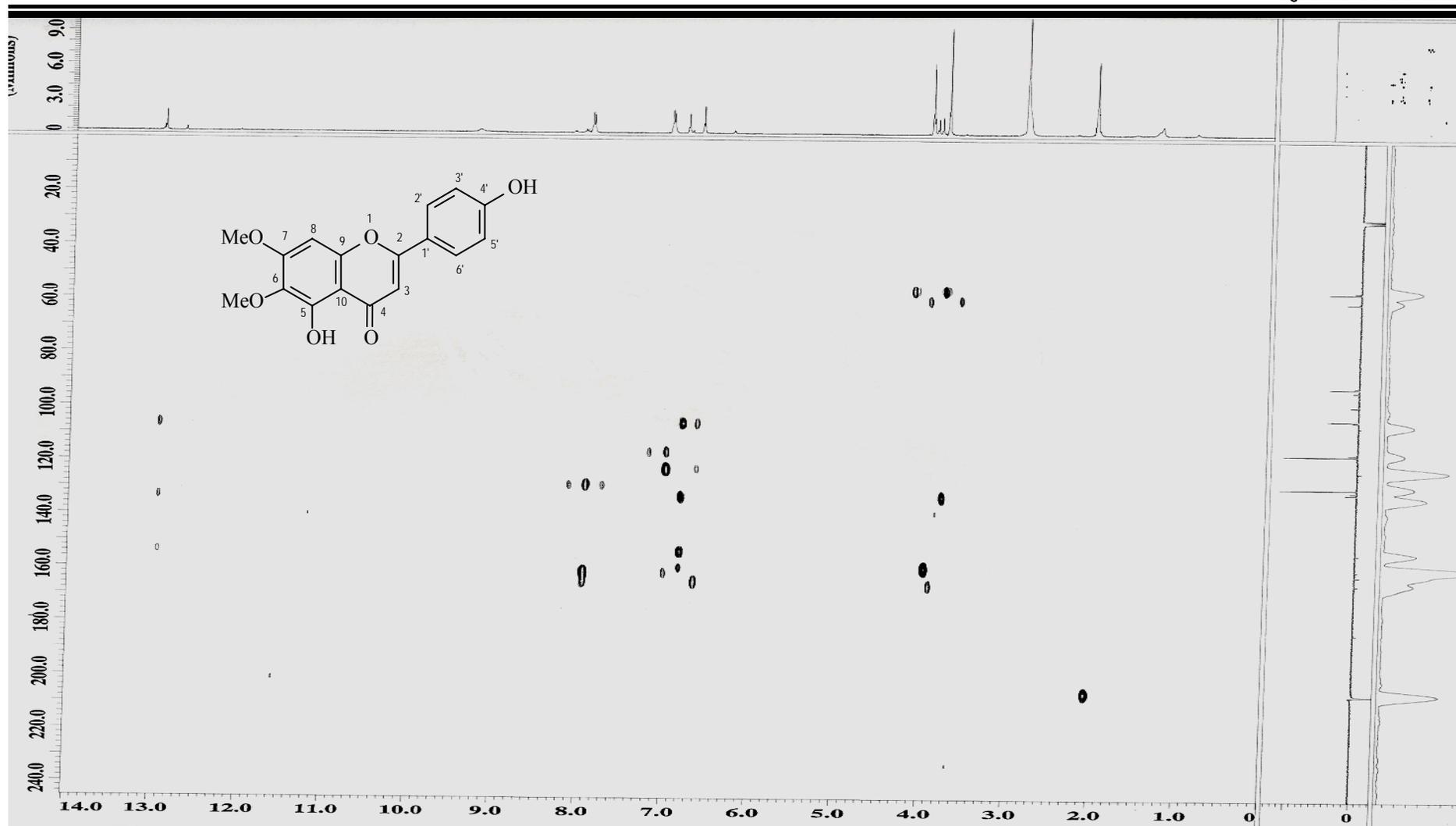


Figura 98 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

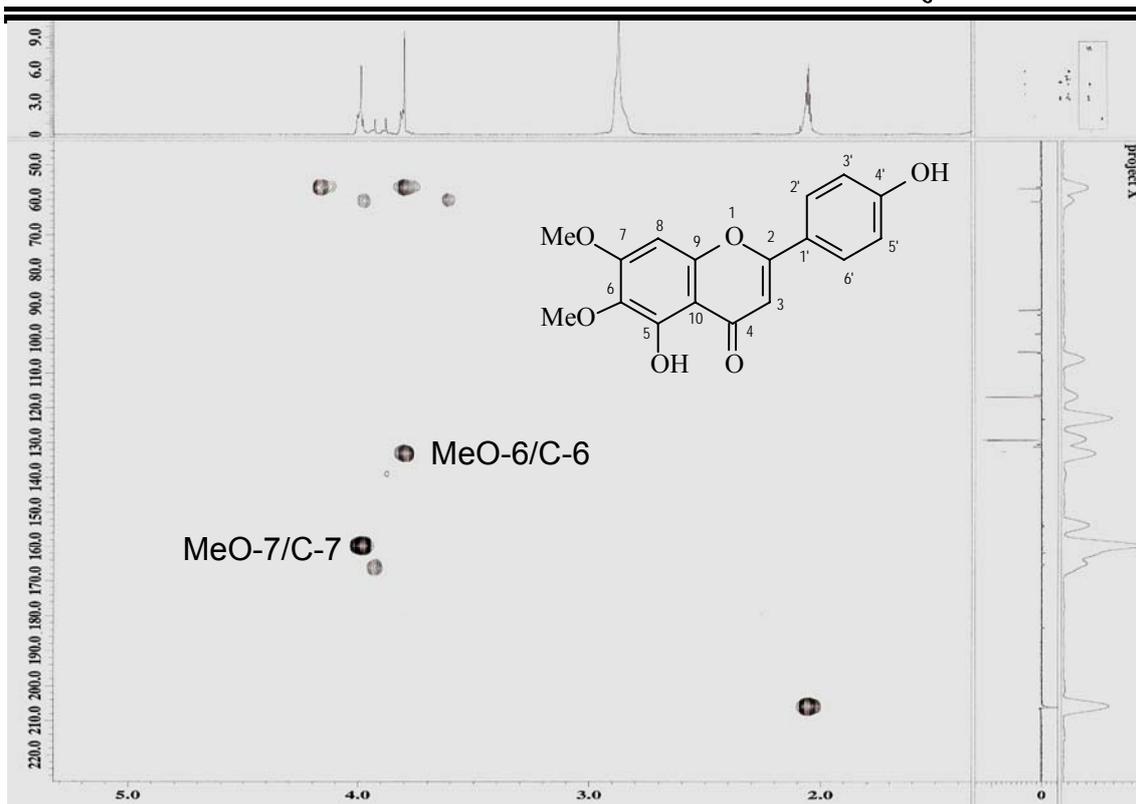


Figura 99 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

06

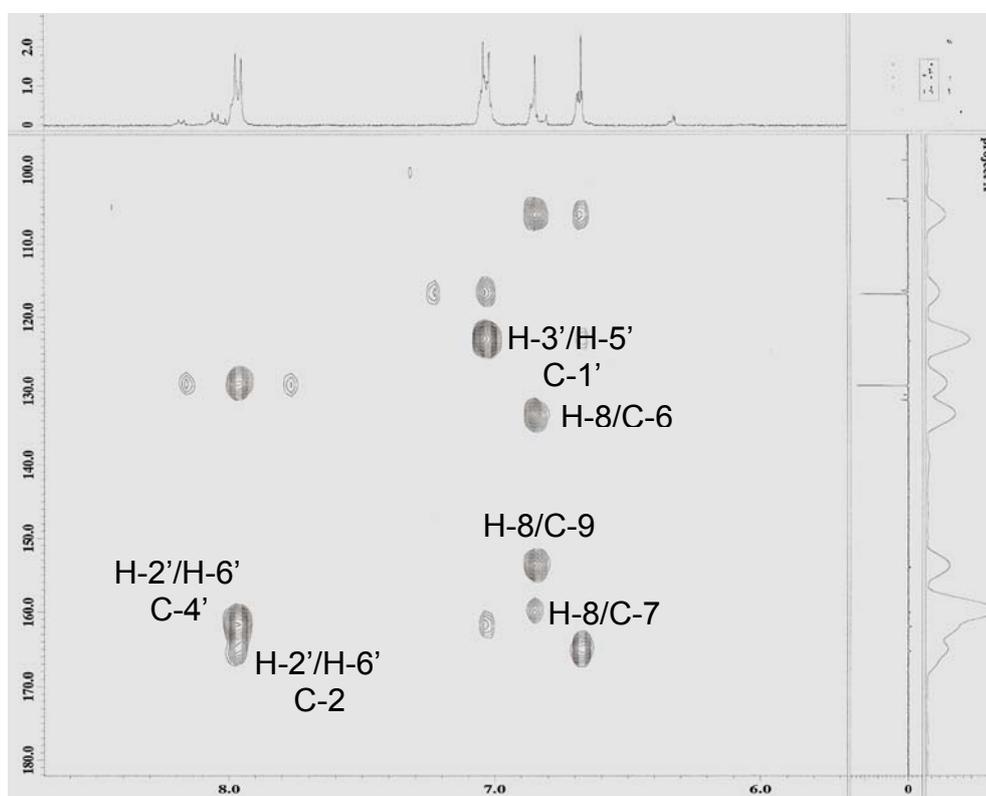


Figura 100 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de

Mt-06

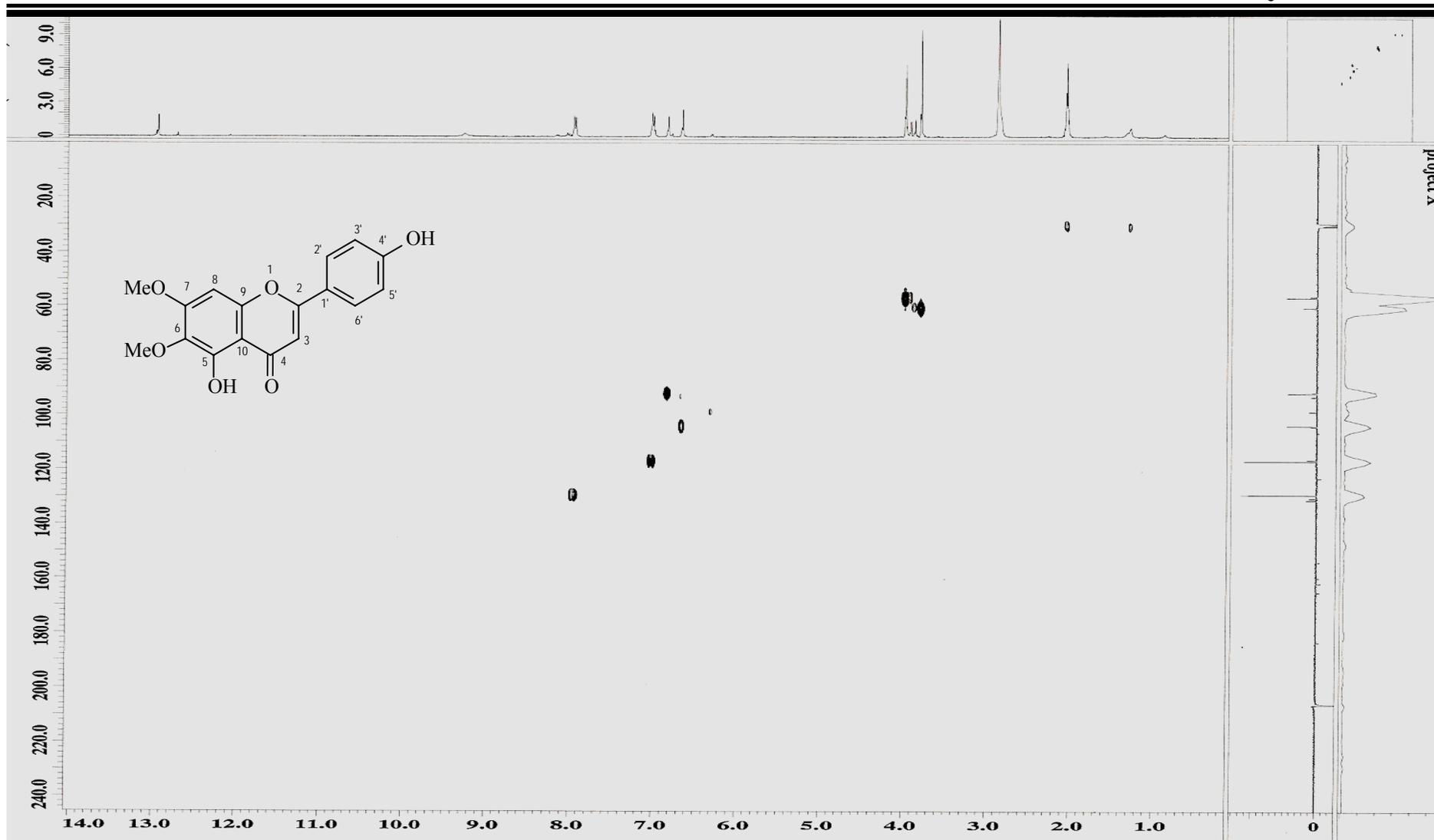


Figura 101 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

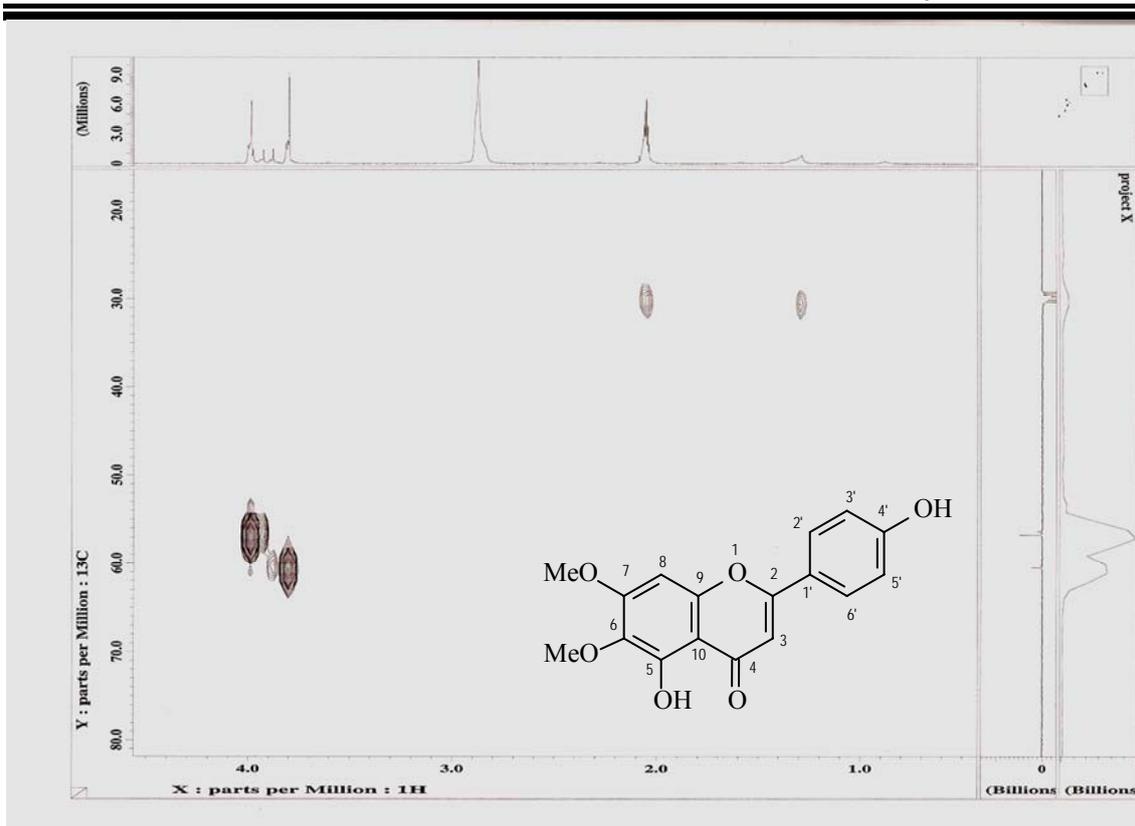


Figura 102 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

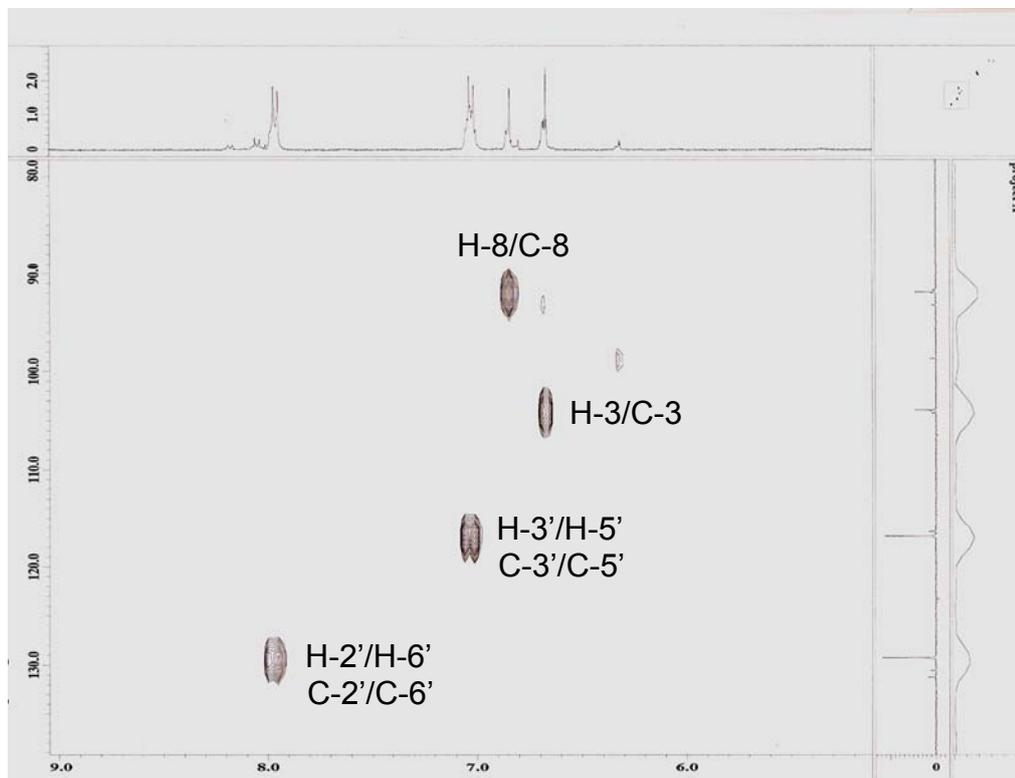


Figura 103 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

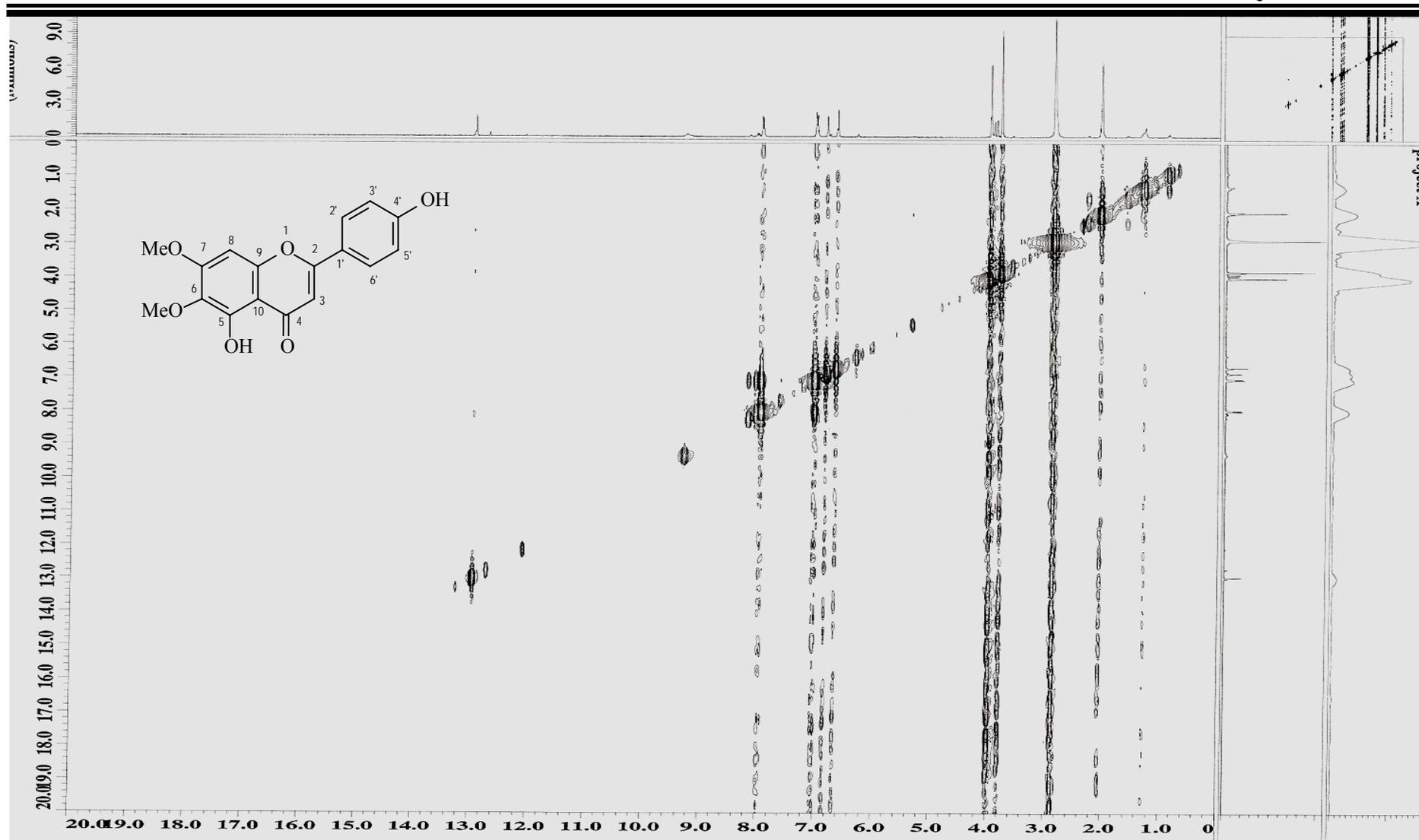


Figura 104 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-06

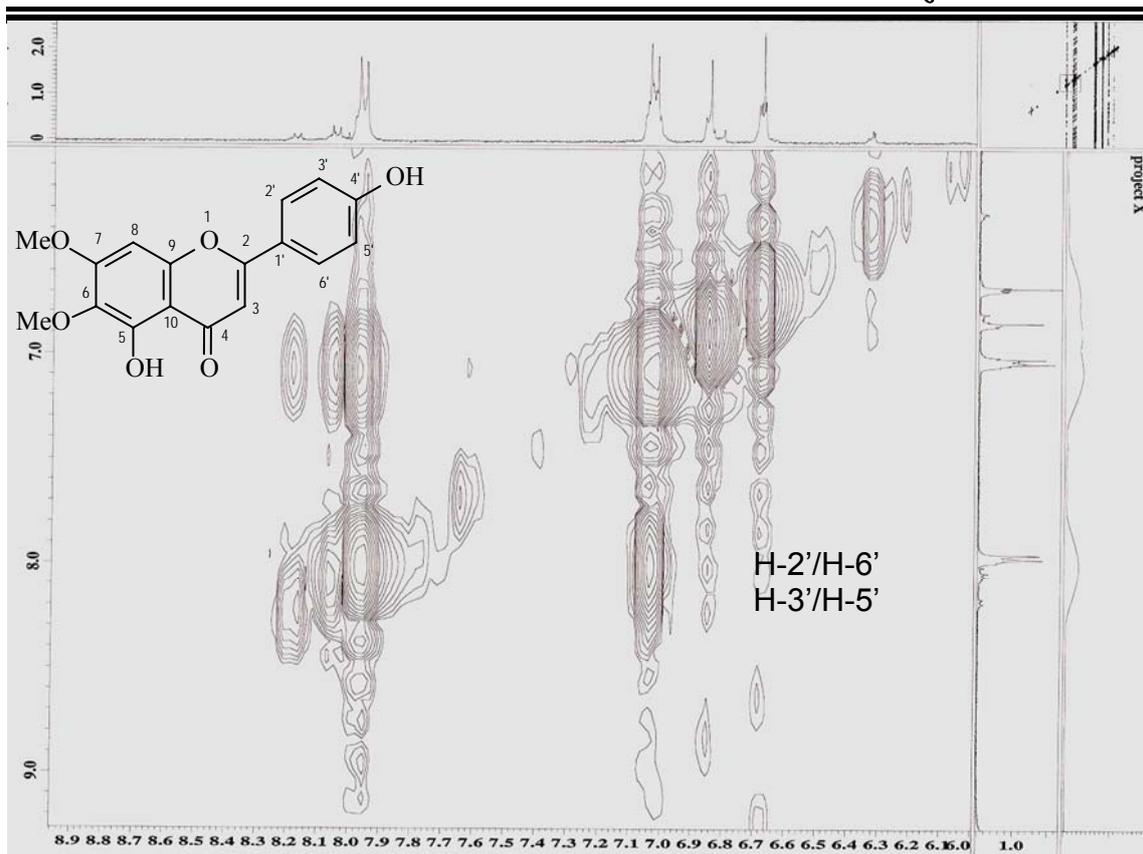


Figura 105 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

06

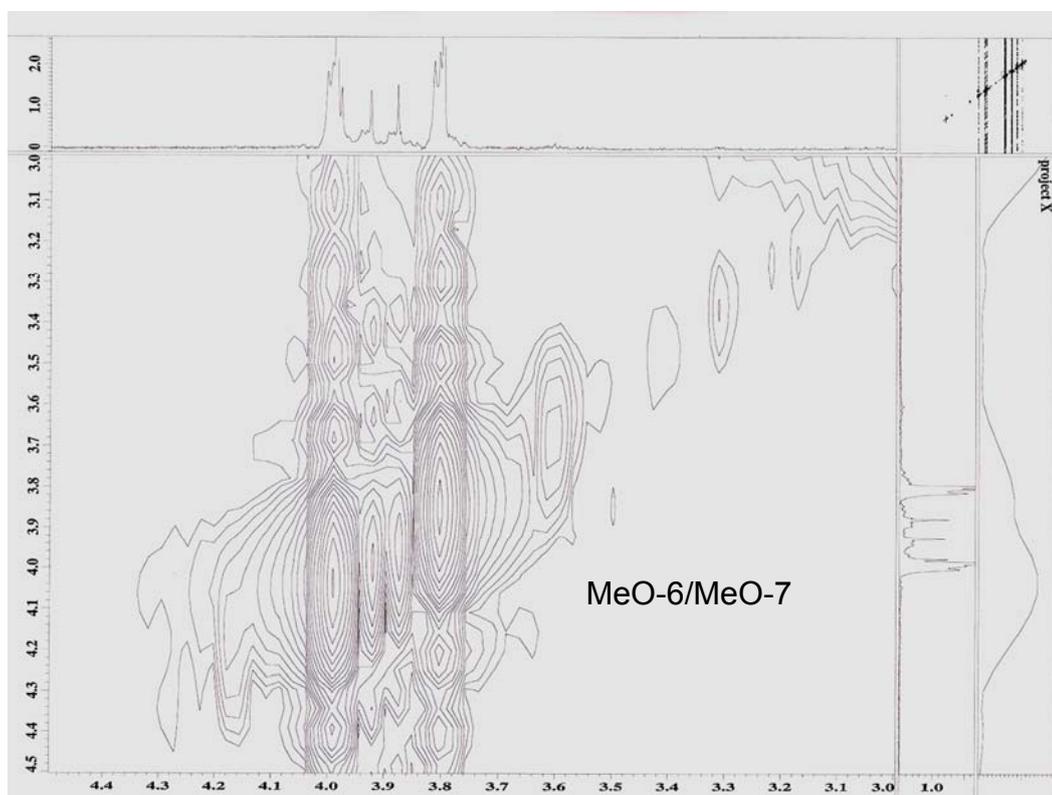


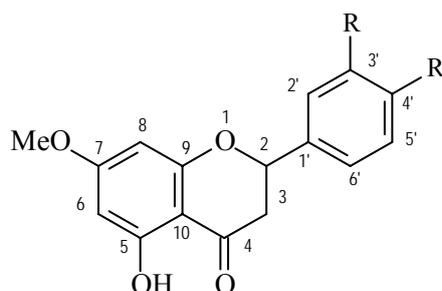
Figura 106 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

06

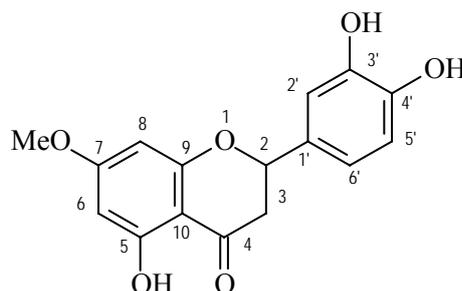
5.4.7 Identificação estrutural de Mt-07

A substância Mt-07 apresentou-se na forma de pó branco, solúvel em acetona e apresentando ponto de fusão entre 79,7 - 81,4 °C.

A substância Mt-07 apresentou o mesmo padrão sinais no espectro de RMN ^1H (Fig. 107, 108 e 109, p.183 e 184) para os anéis A e C quando comparado a Mt-03. (Tabela 22, p. 181). Por meio deste mesmo espectro foi possível observar dois dupletos em δ 6,87 e δ 6,88 com acoplamento *orto*, atribuídos aos hidrogênios 5' e 6', respectivamente, e um simpleto em δ 7,03 atribuído ao hidrogênio 2', sugerindo assim um sistema ABX para o anel B de Mt-07. As observações acima permitiram propor a seguinte estrutura para Mt-07:



Como o espectro de RMN ^{13}C (Fig. 110, p. 185) revelou apenas uma absorção em δ 56,25 compatível com metoxila, foi proposto a seguinte estrutura para Mt-07:



A proposta estrutural de localização dos hidrogênios, carbonos e metoxila da molécula teve a confirmação feita através do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figs. 118, 119 e 120, p. 191 e 192, Tabela 22, p. 181), que mostrou correlações entre carbonos e hidrogênios a duas e três ligações. Por meio

deste espectro foi possível observar a correlação entre H-8 (δ 6,04) e C-7 (δ 168,85), confirmando assim o C-7 e que a metoxila (δ 56,25) estaria na posição 7, por ser evidente a correlação a J^3 entre os hidrogênios metoxílicos em δ 3,84 e o C-7 (δ 168,85). As confirmações do anel A foram feitas a partir das seguintes correlações: H-8 (δ 6,04) a J^3 com C-10 (δ 103,76) e a J^2 com C-9 (δ 161,00); H-6 (δ 6,02) a J^2 com C-7 (δ 168,85) e C-5 (δ 162,00) e a J^3 com C-8 (δ 94,57). Já as confirmações do anel B foram feitas a partir das seguintes correlações: H-2' (δ 7,03) a J^3 com C-4' (δ 146,00), C-6' (δ 119,27) e C-2 (δ 80,07); H-5' (δ 6,87) a 3J com o C-1' (δ 131,48); H-6' (δ 6,88) a J^3 com C-2 (δ 80,07). Por este espectro também foi possível observar a correlação do H-3 (δ 3,16) com o C-2 a J^2 e dos hidrogênios em δ 3,16 e δ 2,75 com C-4 a J^3 .

O espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (HOMOCOSY, Figs. 116 e 117, p. 189 e 190) mostrou o acoplamento entre o hidrogênio absorvendo em δ 5,42 ($J=2,9$ Hz e 12,3 Hz) com o hidrogênio absorvendo em δ 3,16, e mostra ainda que os hidrogênios em δ 2,75 e δ 3,16 estão acoplado entre si com um $J=17,0$ Hz.

As correlações diretas entre os carbonos e hidrogênios da molécula podem ser observadas no espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (Figs. 113, 114 e 115, p. 187 e 188, Tabela 22, p. 181).

Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de Mt-07 com modelo da literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 23, p. 182) confirmaram a identidade estrutural entre as substâncias e permitiu a determinação inequívoca da estrutura proposta como sendo a 3',4',5-trihidroxi-7-metoxiflavanona. Este composto está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.

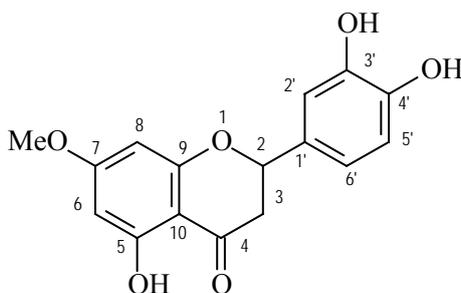
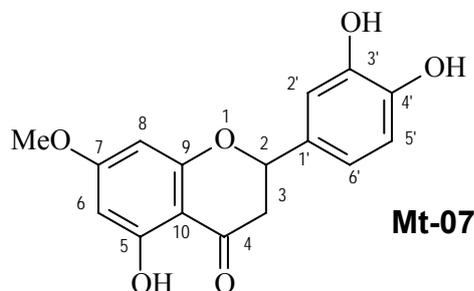


Tabela 22: Dados de carbonos e hidrogênios da substância Mt-07 com base nos espectros de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênio através de uma ($^1J_{CH}$), duas ($^2J_{CH}$) e três ($^3J_{CH}$) ligações ($^1H \times ^{13}C$ -HMQC e HMBC, 400 MHz) em C_3D_6O .



	δ_C	HMQC	HMBC
		δ_H	$^2J_{CH}$ $^3J_{CH}$
C			
4	198,00	-	2H-3
5	162,00	-	H-6
7	168,85	-	H-6; H-8
9	161,00	-	MeO-7
10	103,76	-	H-6; H-8
1'	131,48	-	H-5'
3'	146,43	-	
4'	146,00	-	H-2'
CH			
2	80,07	5,42 (<i>dd</i> , 12,3; 2,9)	H-2'; H-6'
6	95,43	6,02 (<i>d</i> , 2,4)	H-8
8	94,57	6,04 (<i>d</i> , 2,4)	H-6
2'	114,76	7,03 (<i>s</i>)	
5'	116,06	6,87 (<i>d</i> , 8,2)	
6'	119,27	6,88 (<i>d</i> , 8,2)	
CH₂			
3	43,57	3,16 (<i>dd</i> , 17,0; 12,3) 2,75 (<i>dd</i> , 17,0; 2,9)	H-2'
MeO			
7	56,25	3,84 (<i>s</i>)	
HO-5	-	12,13 (<i>s</i>)	

Tabela 23: Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Mt-07 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 100 MHz) com dados da literatura (DMSO- d_6), (AGRAWAL, 1989).

Carbonos	Mt-07	Literatura
	δ_{C}	δ_{C}
C		
4	198,00	196,20
5	162,00	163,90
7	168,85	167,80
9	161,00	163,00
10	103,76	103,00
1'	131,48	129,70
3'	146,43	145,20
4'	146,00	145,60
CH		
2	80,07	79,20
6	95,43	94,80
8	94,57	94,00
2'	114,76	113,90
5'	116,06	115,60
6'	119,27	118,10
CH₂		
3	43,59	43,00
MeO		
7	56,25	-

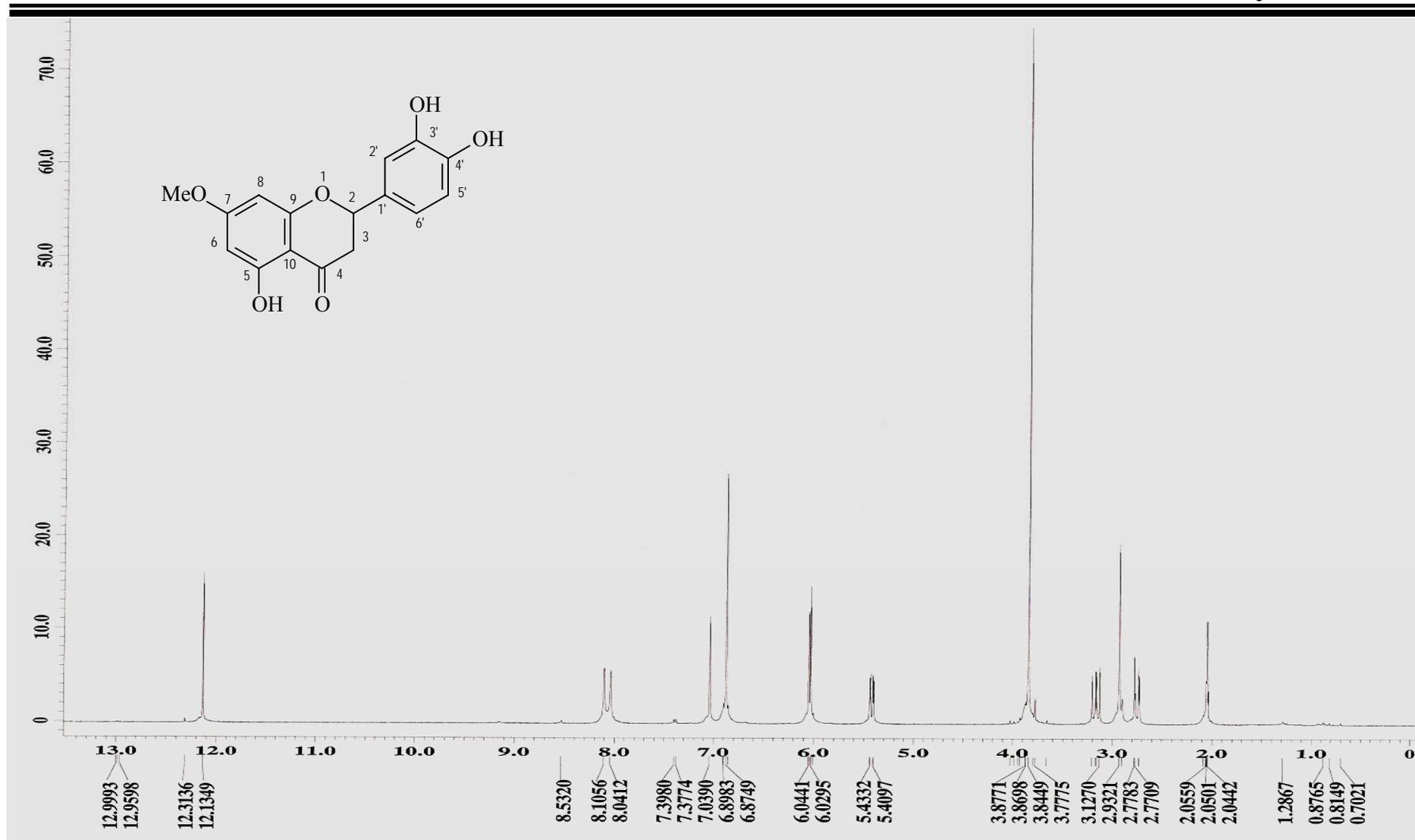


Figura 107 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

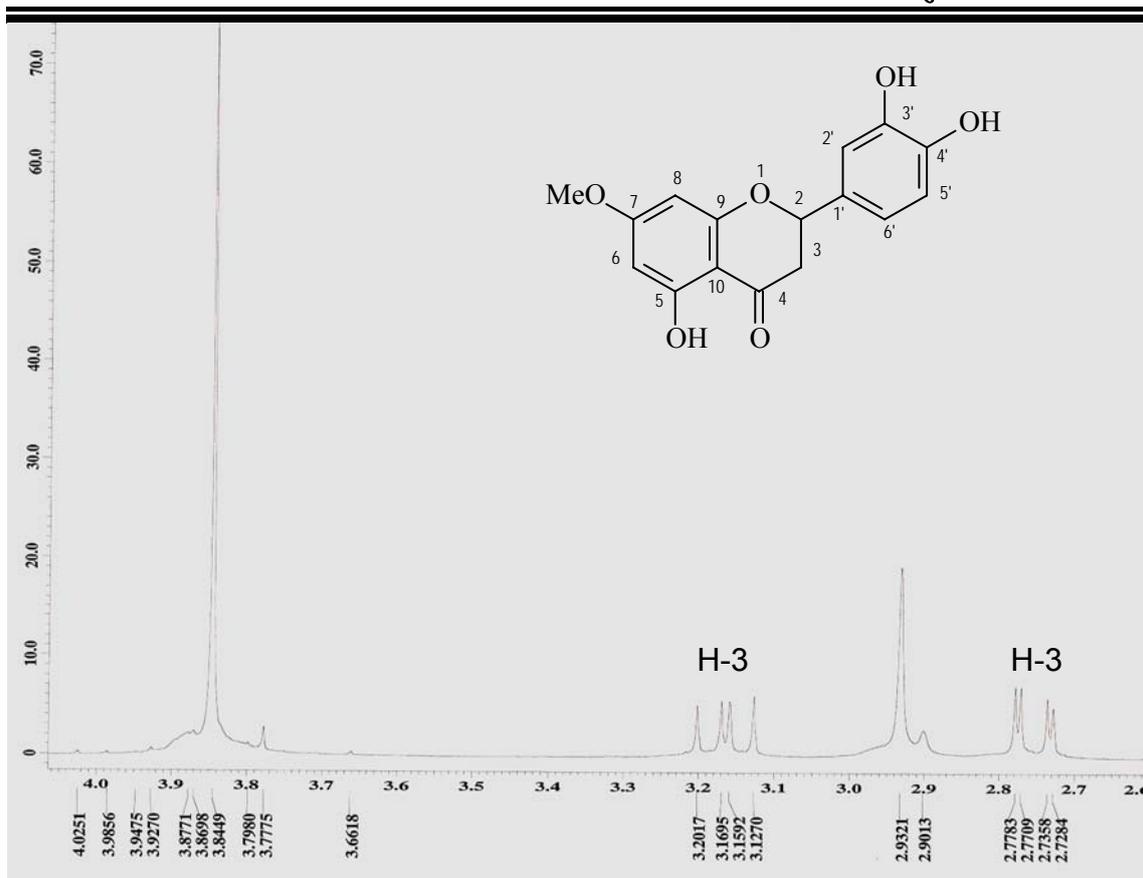


Figura 108 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) de Mt-07

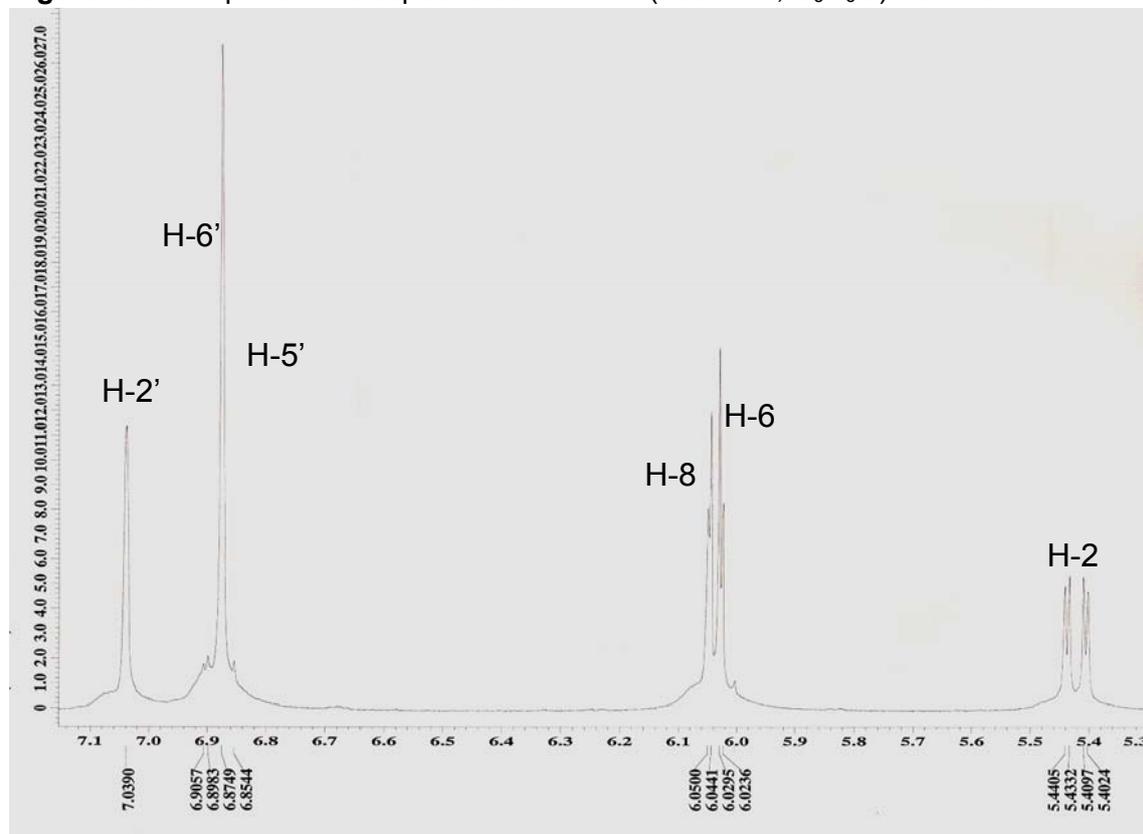


Figura 109 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₃D₆O) de Mt-07

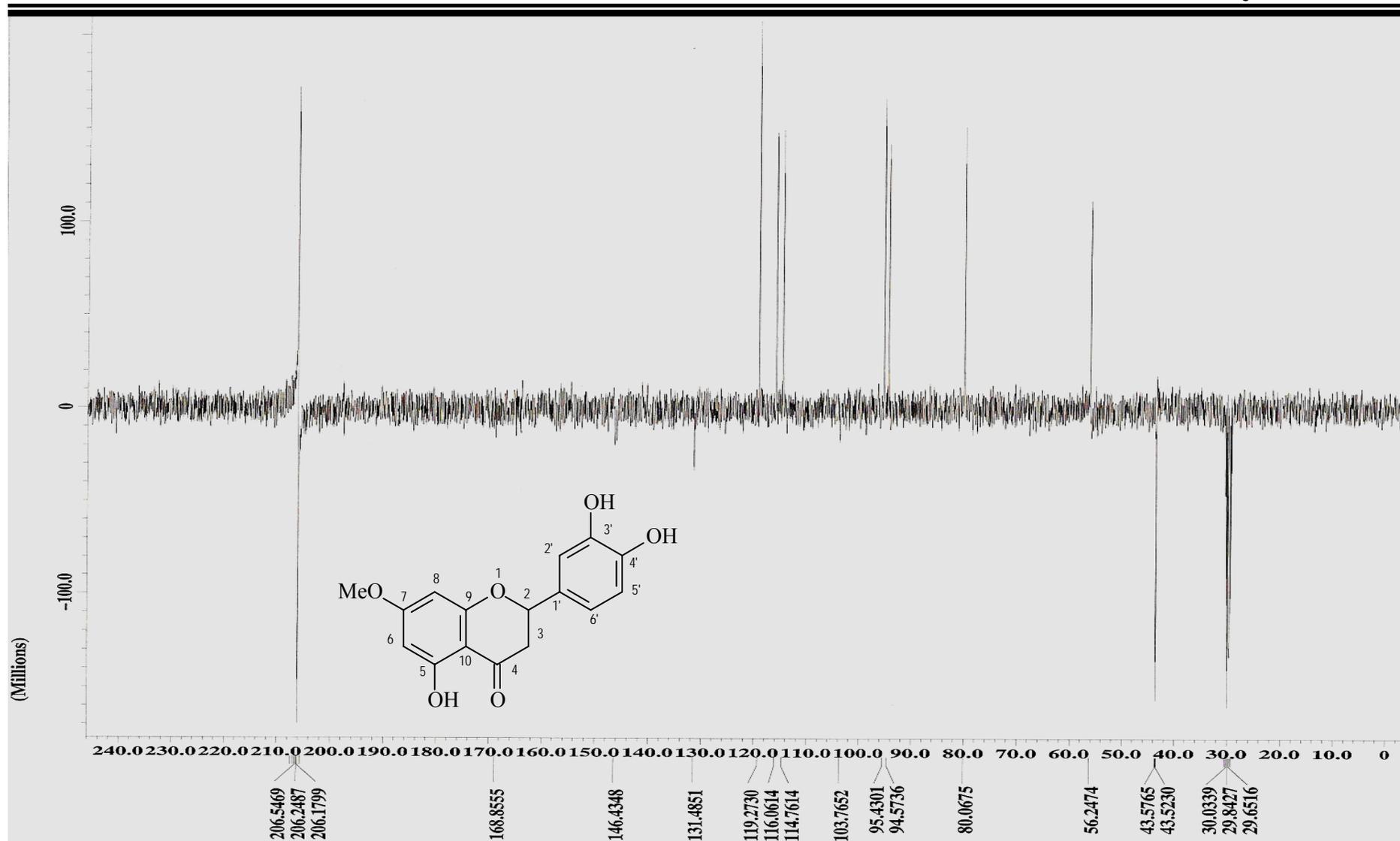


Figura 110 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

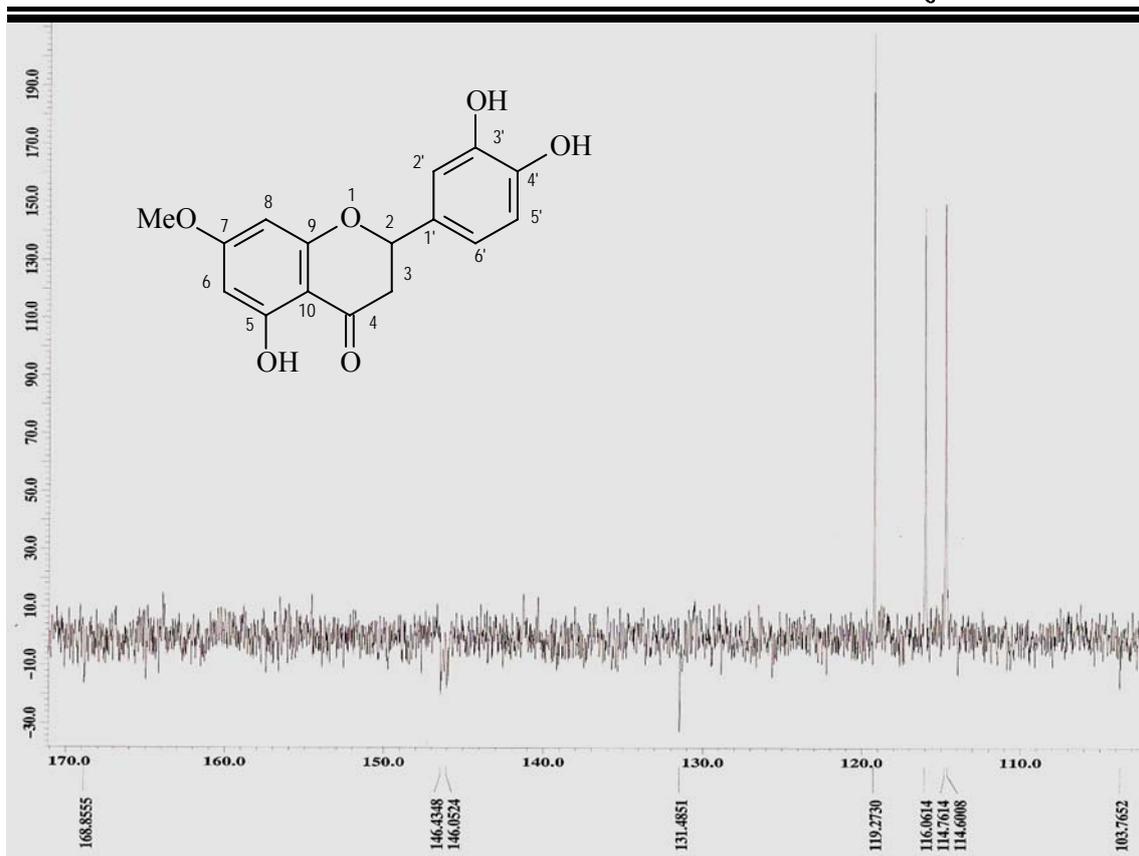


Figura 111 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

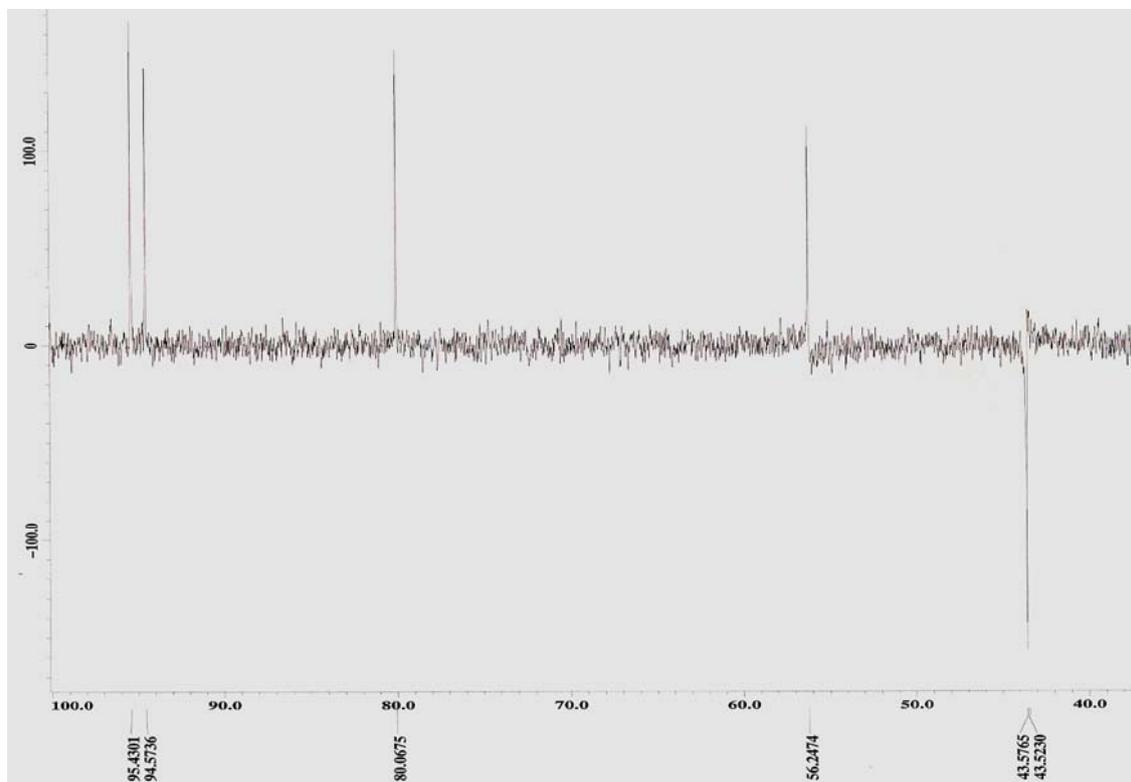


Figura 112 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

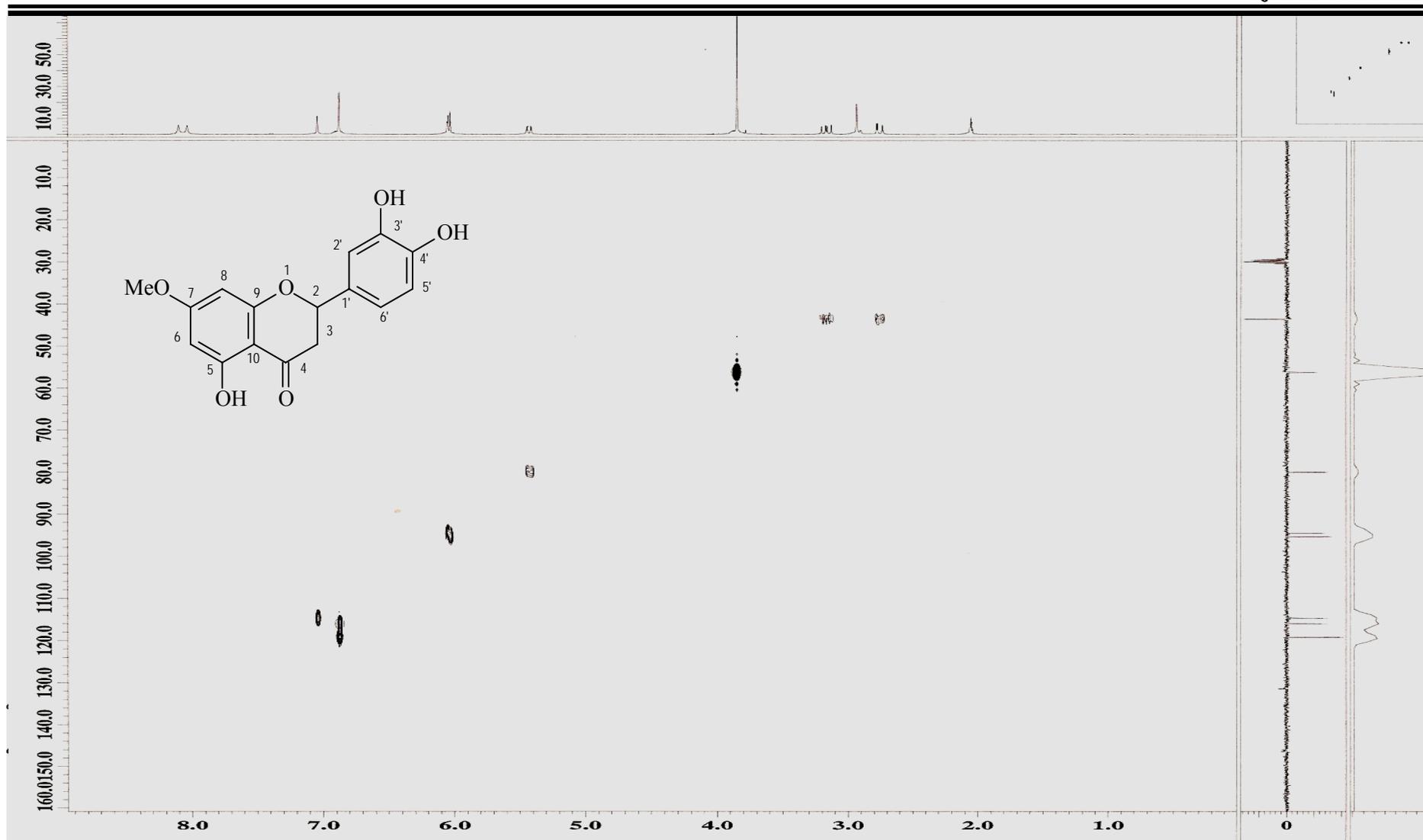


Figura 113 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

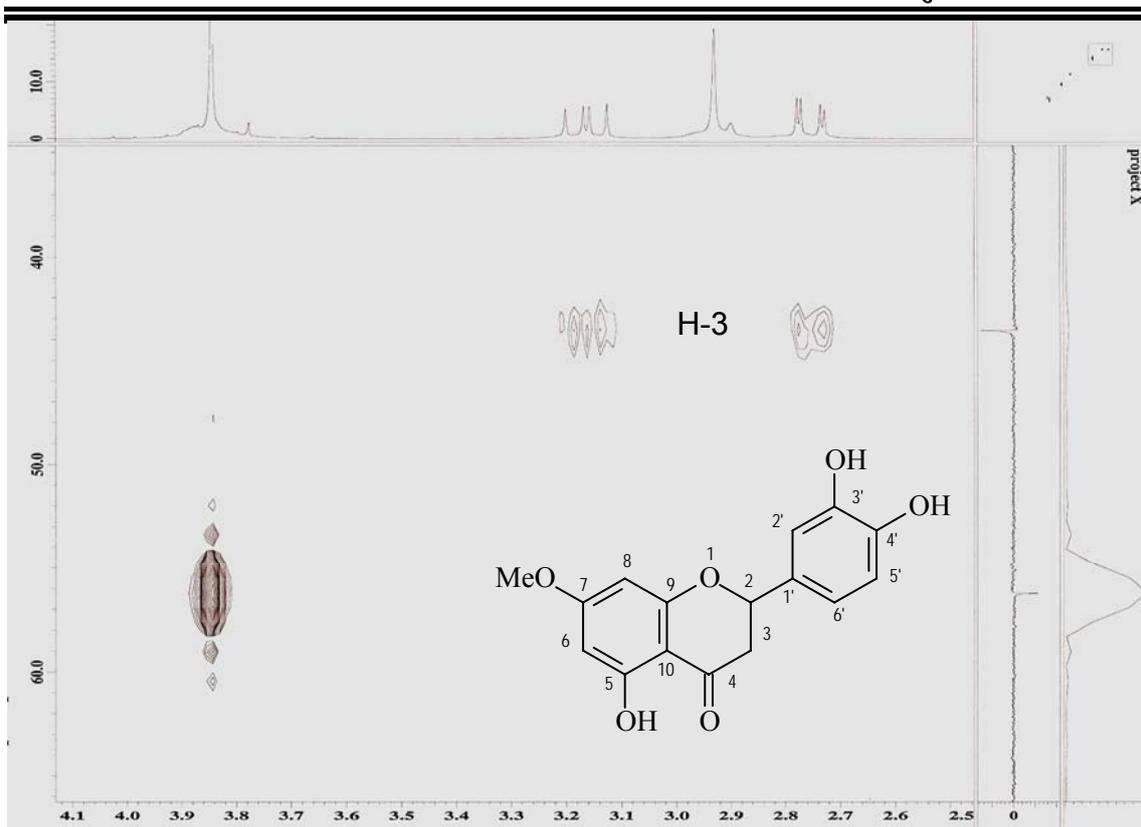


Figura 114 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

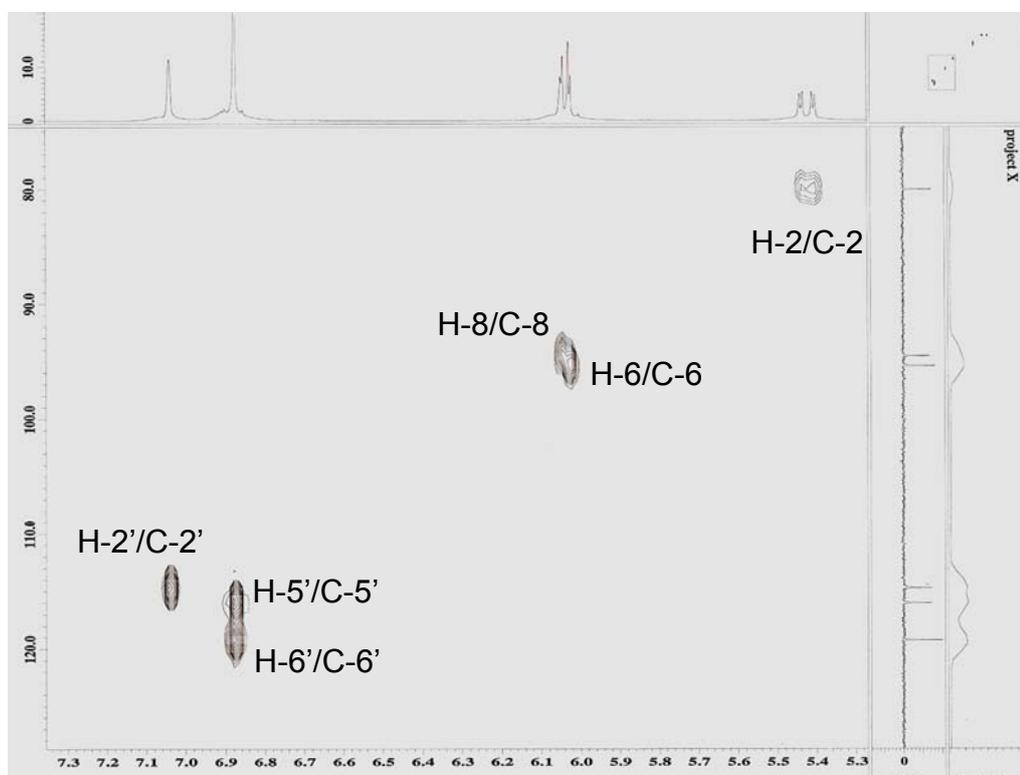


Figura 115 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

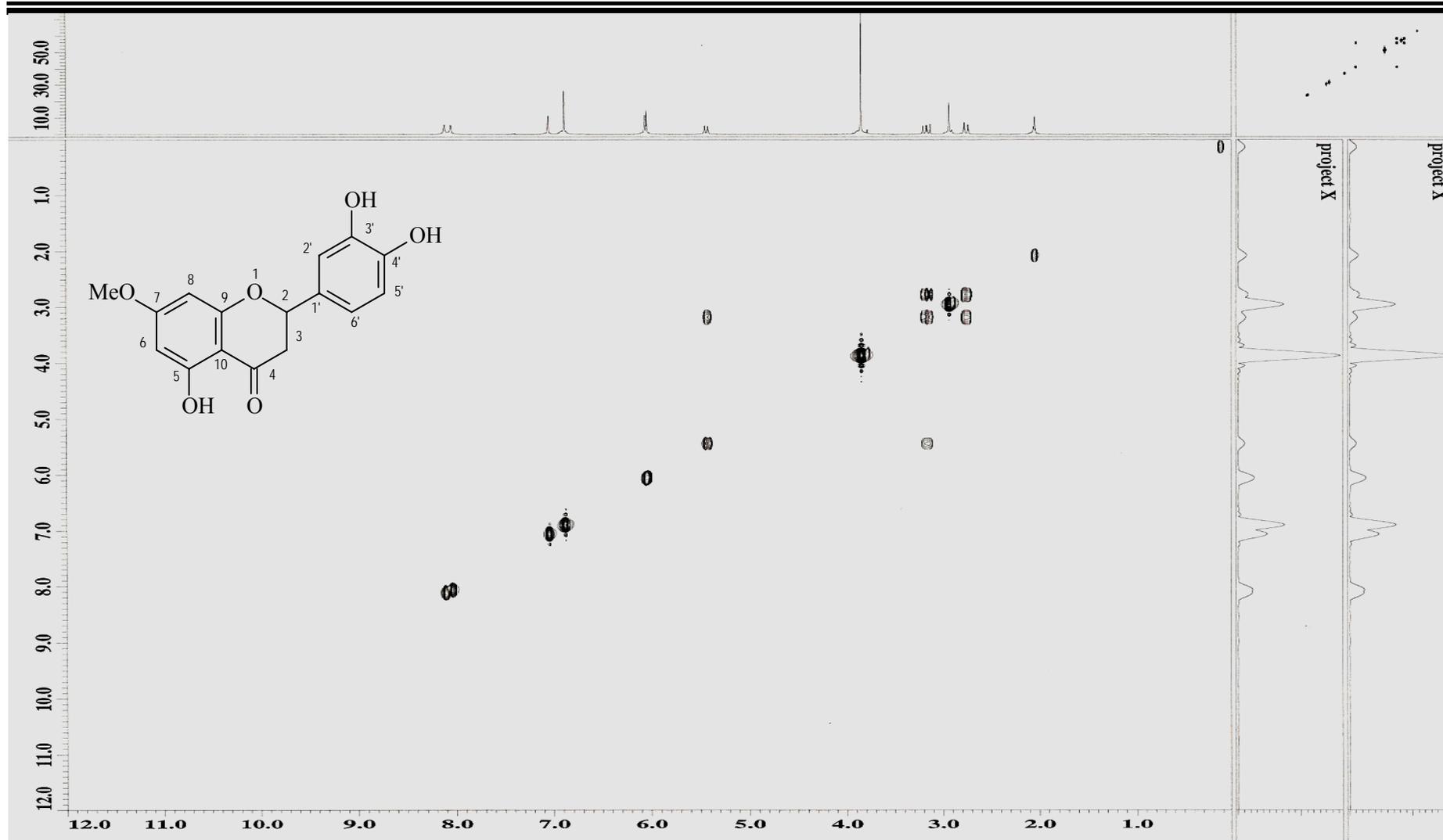


Figura 116 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

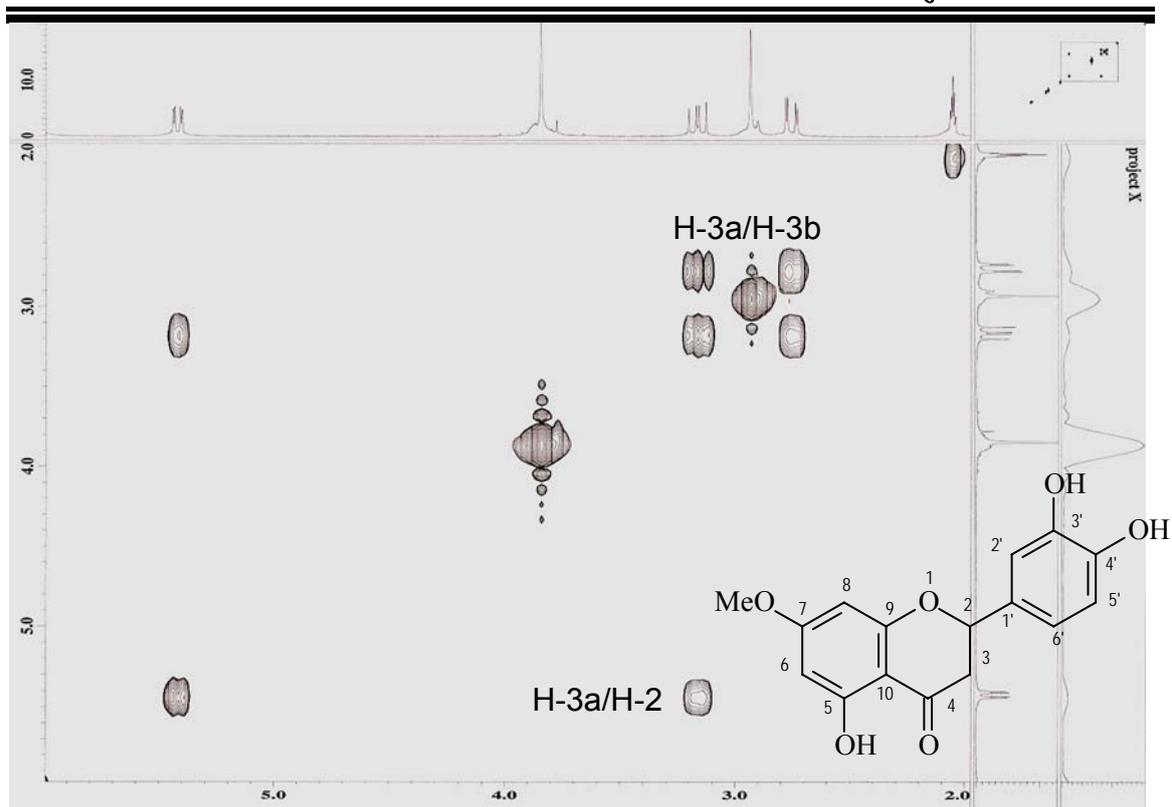


Figura 117 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-

07

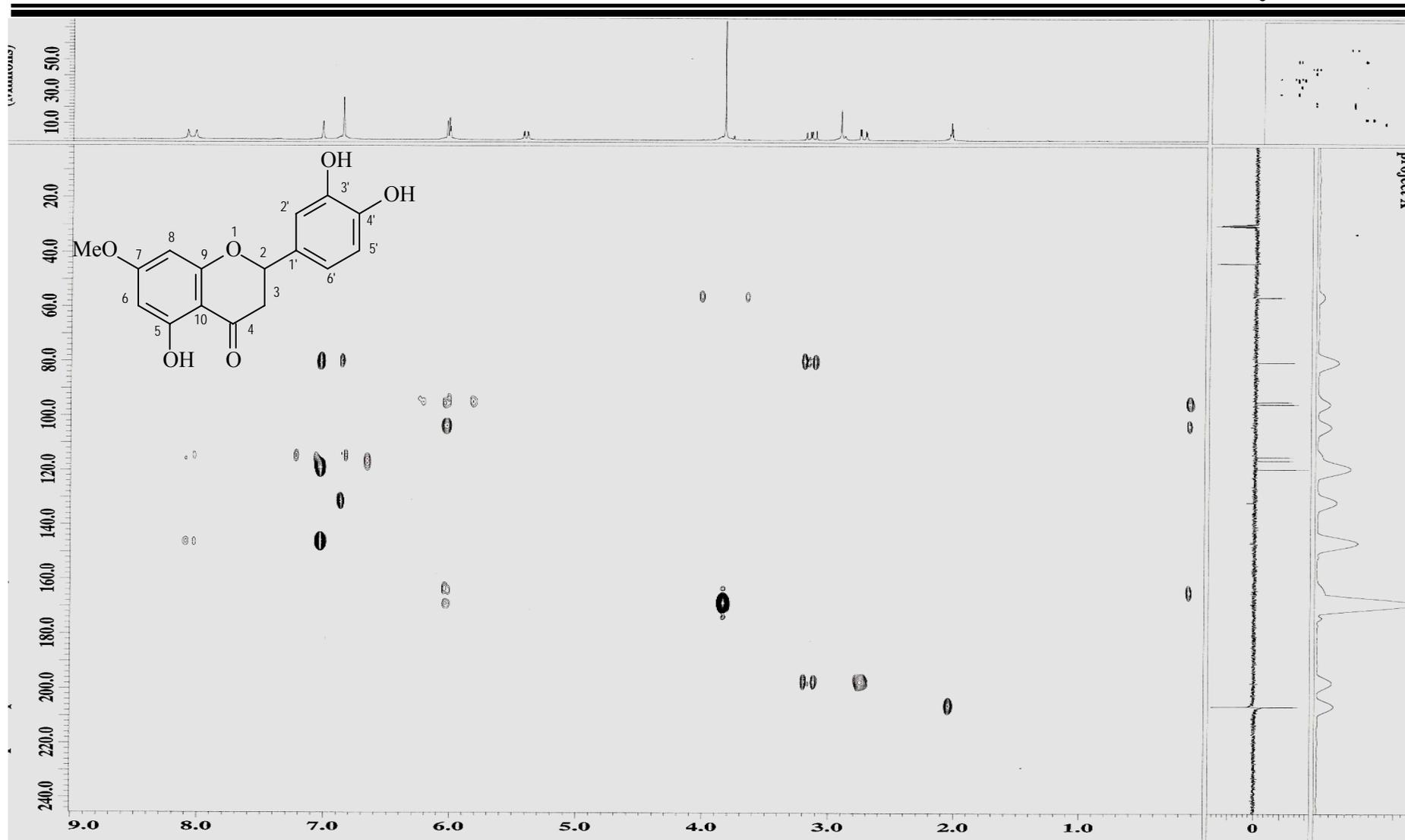


Figura 118 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Mt-07

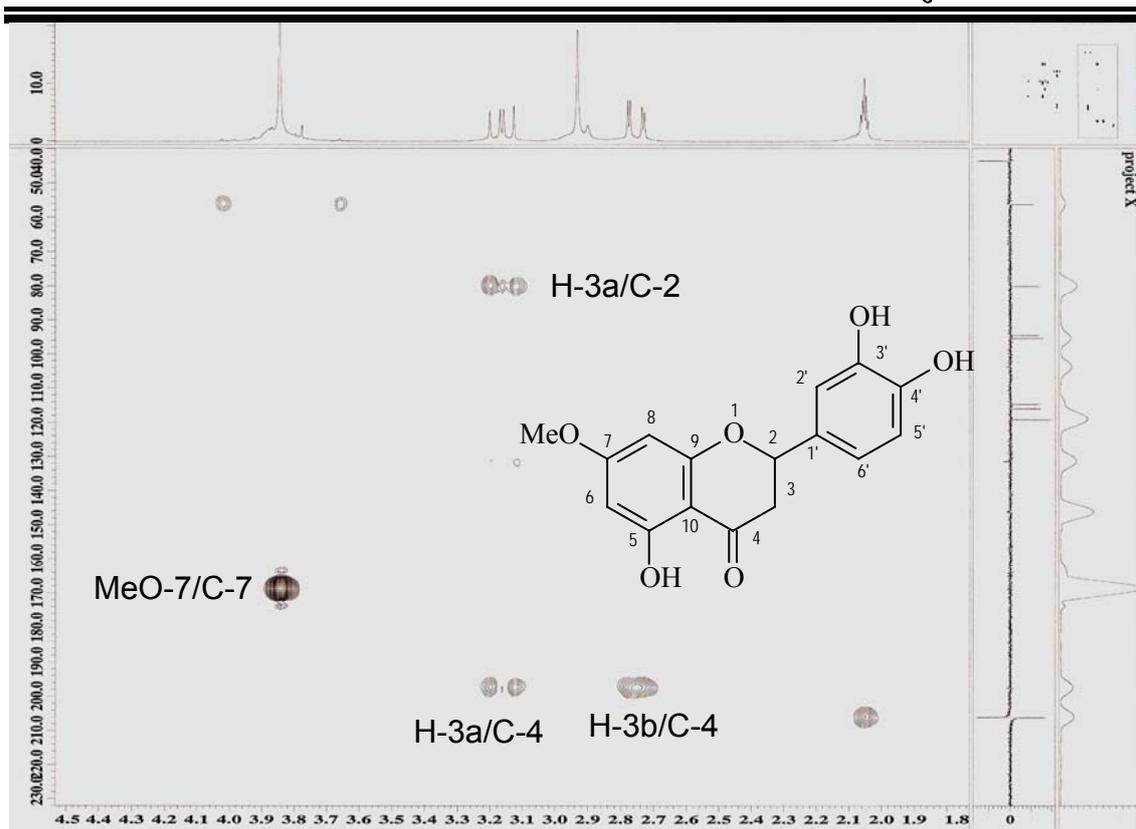


Figura 119 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de

Mt-07

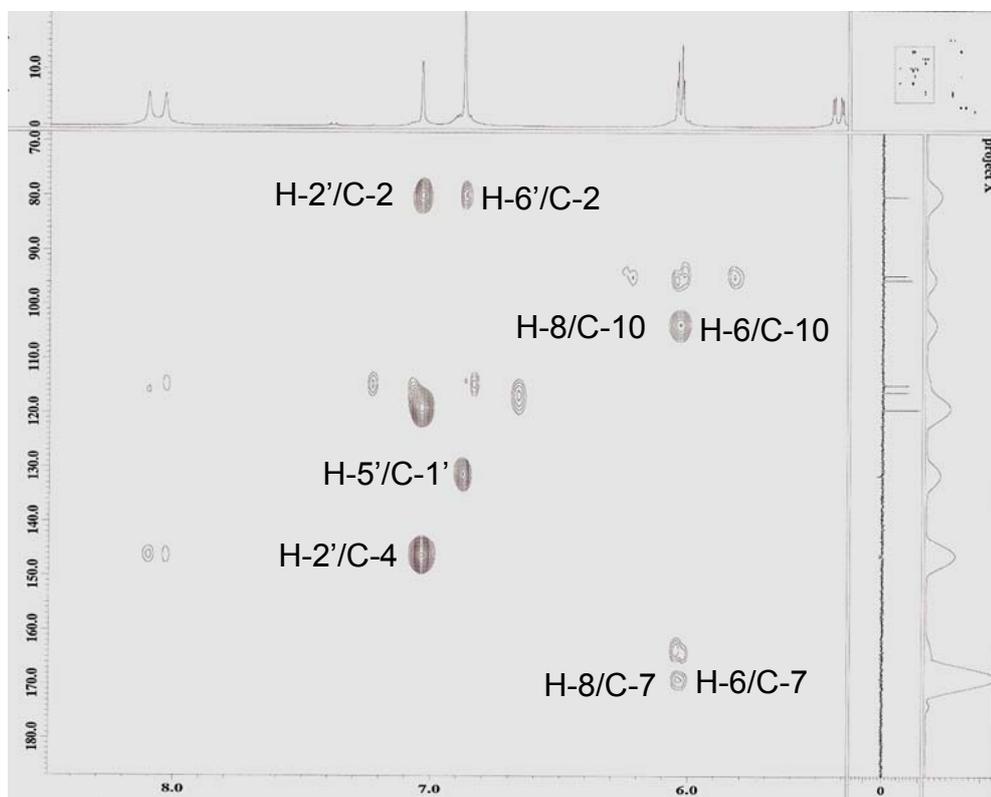


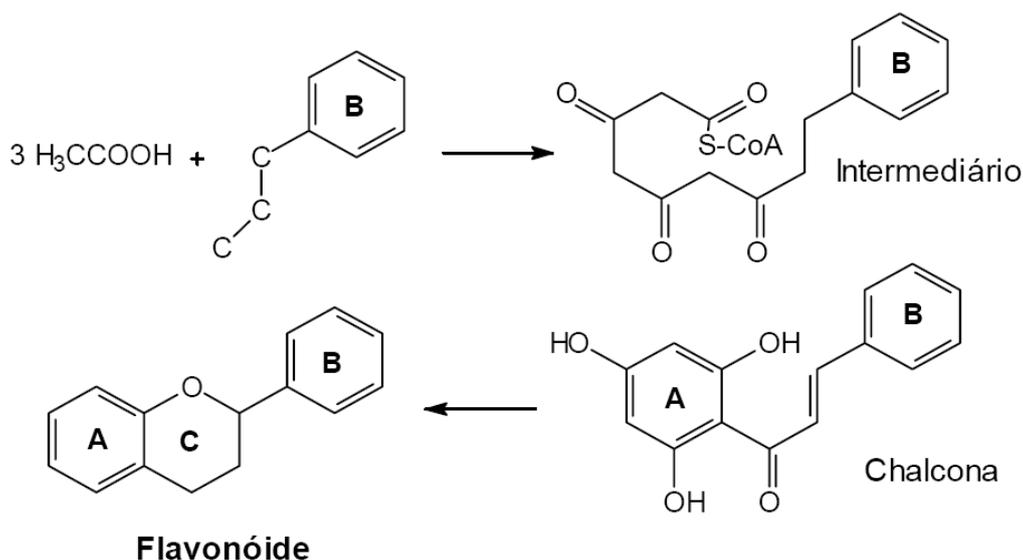
Figura 120 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz, CDCl_3) de

Mt-07

5.5 Considerações químicas sobre flavonóides

Dentre os treze compostos isolados e identificados neste trabalho oito pertencem à classe dos flavonóides, assim iremos abordar alguns aspectos químicos relevantes a estes compostos.

Flavonóides são compostos fenólicos amplamente encontrados em tecidos vasculares de plantas, incluindo frutas, pólen, raízes e caules (DI CARLO et al., 1999; PIETTA, 2000; ANDLAUER e FURST, 1998). Com mais de 8000 compostos individuais conhecidos, os flavonóides são biossintetizados pela combinação dos ácidos chiquímico e acilpolimalonato. Um derivado do ácido cinâmico (fenilpropano), sintetizado a partir do ácido chiquímico, age como precursor na síntese de um intermediário ao qual são adicionados três resíduos de acetato com posterior ciclização da estrutura (DI CARLO et al., 1999) (Fig. 121). As subseqüentes hidroxilações e reduções produzem diferentes formas de flavonóides (PIETTA, 2000).



FONTE: DI CARLO et al., 1999.

Figura 121 - Biossíntese de flavonóides

A estrutura básica dos flavonóides consiste num núcleo flavano, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C₆-C₃-C₆) (DI CARLO et al., 1999), sendo dois anéis fenólicos substituídos (**A** e **B**) e um

pirano (cadeia heterocíclica **C**) acoplado ao anel A (Fig. 122). Os anéis A e B são hidroxilados e podem conter substituintes metoxílicos (HERRMANN, WILLEMS e JANKE, 2001).

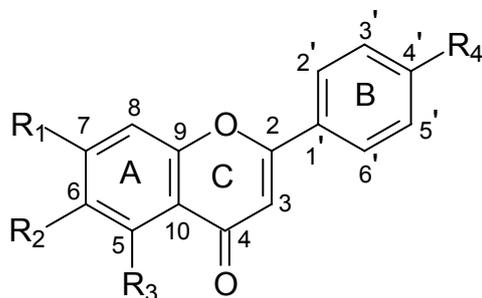


Figura 122 - Estrutura Básica dos Flavonóides

As várias classes de flavonóides diferem no nível de oxidação e no modelo de substituição da cadeia heterocíclica C. Algumas classes de flavonóides de interesse são flavonas (**1**), flavonóis (**2**), flavanonas (**3**), flavan-3-ol (**4**), isoflavonas (**5**), antocianidinas (**6**) e flavanolol (**7**) (Fig. 123, p. 195) (DI CARLO et al., 1999; PIETTA, 2000; PETERSON e DWYER, 1998).

Flavonóides geralmente ocorrem em plantas como derivados glicosilados, contribuindo para o brilho do azul, do vermelho e do laranja nas folhas, flores e frutos. Também estão associados com diferentes propriedades biológicas. *Flavanonas* são encontradas predominantemente em frutas cítricas e *flavonas* em ervas aromáticas e grãos de cereais, enquanto *isoflavonas* ocorrem em legumes e sementes oleaginosas (como a soja). *Antocianidinas* e suas formas glicosiladas (*antocianinas*) são pigmentos naturais encontrados em uvas. As *flavan-3-ol* (como as catequinas, epicatequina e seus galatoésteres) podem ser verificadas em frutas e folhas de chá. Já os *flavonóis* ocorrem em todas as frutas e vegetais (DI CARLO et al., 1999; PIETTA, 2000; PETERSON e DWYER, 1998; PARK et al., 2001abc; CARRÃO-PANIZZI e BORDIGNON, 2000). Tem-se ainda *flavanolol* como a taxifolina, encontrada em frutas cítricas (PIETTA, 2000). Todos esses flavonóides podem ser isolados mediante diferentes técnicas cromatográficas (cromatografia em coluna aberta, cromatografia a líquido de alta eficiência, cromatografia em camada delgada de

alta eficiência) e identificados por espectrometria de massas ou ressonância magnética nuclear (PARK e LEE, 1996).

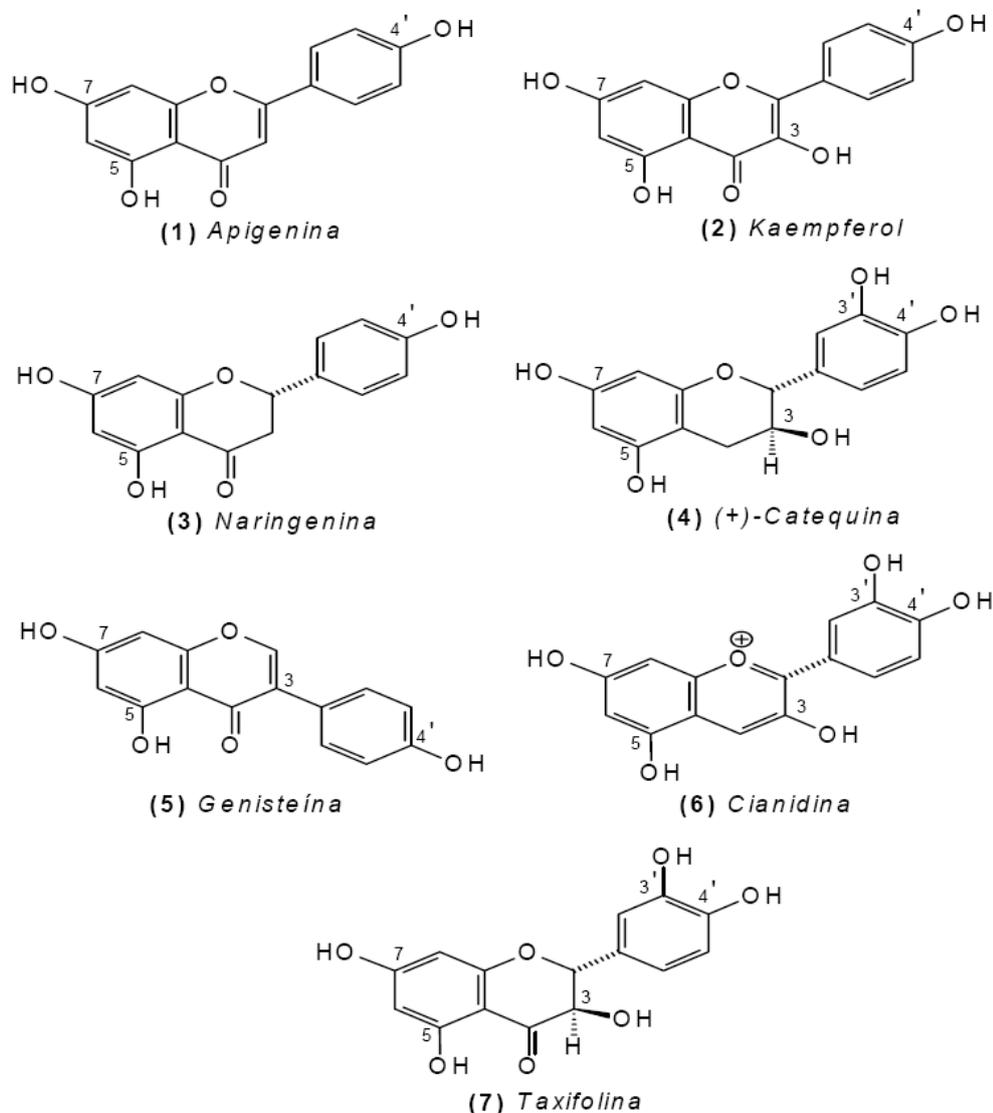


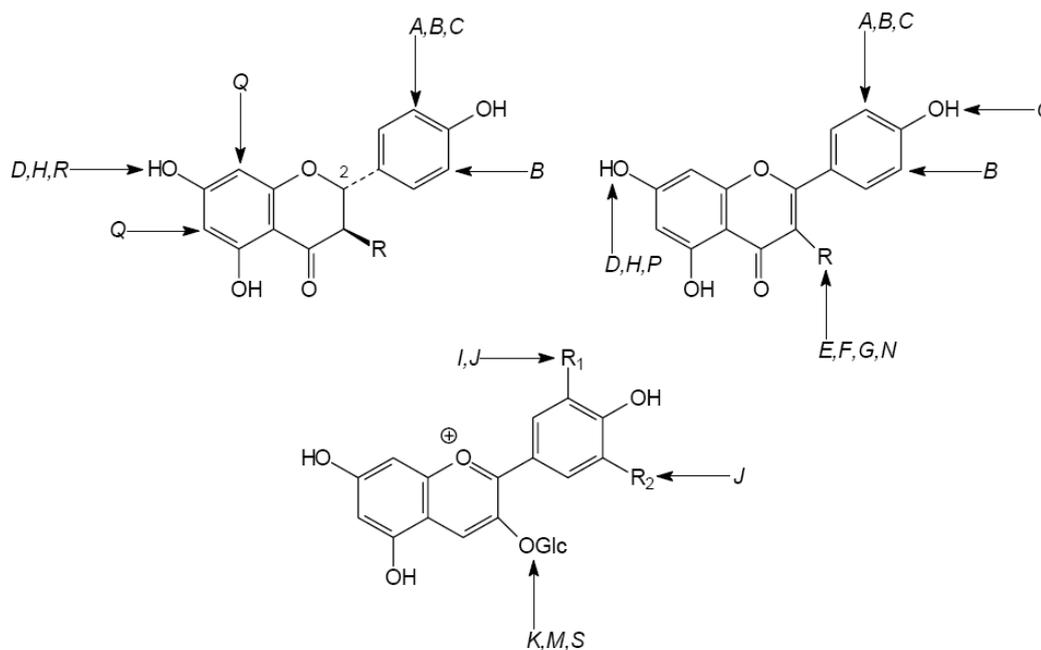
Figura 123 - Diferentes classes de flavonóides

Apesar da abundância de flavonóides em vegetais, o processamento pode diminuir seu conteúdo em até 50% pela lavagem ou remoção de partes da planta. Tais compostos também estão sujeitos a modificações químicas e enzimáticas de suas estruturas.

Muitos microrganismos são capazes de metabolizar flavonóides e suas estruturas modificadas têm sido encontradas. Flavonóides podem ser transformados por diferentes reações, sendo que hidroxilação, metilação, glicosilação e acetilação ocorrem com quase todas as classes de flavonóides.

Reações como, sulfatação e prenilação, são mais restritas a certos grupos de flavonóides (HELLER e FORKMANN, 1988).

As transformações microbianas de flavonóides ocorrem com freqüência e podem gerar produtos com maior interesse que seus precursores. Essas transformações estão associadas com diferentes enzimas (de origem microbiana ou vegetal), ou ao metabolismo humano. São capazes de transformar os flavonóides utilizando diversos intermediários de sua biossíntese, bem como alguns produtos finais (flavonas, isoflavonas, flavonóis e antocianidinas). As enzimas exibem, em geral, altas especificidades pelo substrato, o que implica em um número definido de reações. Algumas das enzimas envolvidas nas transformações de flavonóides são apresentadas na Figura 124.



Enzimas: (A) flavonóide 3'-hidroxilase, (B) flavonóide 3',5'-hidroxilase, (C) flavonóide 3'-O-metiltransferase, (D) flavonóide 7-O-glicosiltransferase, (E) flavonol 3-O-glicosiltransferase, (F) flavonol 3-O-metiltransferase, (G) flavonol 3-O-glicosil-6''-maloniltransferase, (H) flavonóide 7-O-glicosil-6''-maloniltransferase, (I) antocianidina 3'-O-metiltransferase, (J) antocianidina 3',5'-O-metiltransferase, (K) antocianidina 3-O-glicosiltransferase, (L) antocianidina 3-O-glicosil-5-Oglicosiltransferase, (M) antocianidina 3-O-glicosil-aciltransferase, (N) flavonol 3-O-sulfotransferase, (O) flavonol 4'-O-sulfotransferase, (P) flavonol 7-O-sulfotransferase, (Q) 2-hidroxiflavanona-C-glicosiltransferase, (R) flavanona 7-Oglicosil-2''-O-ramnosiltransferase e (S) antocianidina 3-glicosil-aciltransferase.

FONTE: NARIKAWA et al., 1998.

Figura 124 - Esquema das posições de modificações freqüentes observadas em flavonóides

5.5.1 Hidroxilação

Os grupos hidroxílicos do anel A nas posições 5 e 7 são formados durante a síntese do flavonóide, embora outras hidroxilas nas posições 6 e 8 possam ser encontradas (FORKMANN, 1991). A hidroxilação da posição 4' do anel B ocorre pela ação da chalcona sintase sobre 4-coumaril-CoA. Estudos enzimáticos sobre plantas geneticamente modificadas têm revelado que a hidroxilação no anel B nas posições 3' e 5' é possível com enzimas específicas (HELLER e FORKMANN, 1988). Flavonóide 3'-hidrolase e flavonóide 3',5'-hidrolase promovem a hidroxilação de naringenina e dihidrokaempferol nas posições 3' e 3', 5', respectivamente. Outros flavonóides passíveis de hidroxilação na posição 3' são apigenina e kaempferol (STICK, EBERMANN e FORKMANN, 1988). Enquanto a origem dos grupos hidroxílicos nas posições 3', 4' e 5' do anel B é bem conhecida, o mecanismo que leva à hidroxilação na posição 2' de flavonas e flavonóis ainda não foi esclarecido (WOLLENWEBER et al., 1989). O interesse de pesquisadores sobre a hidroxilação de flavonóides reside no fato da presença de grupos hidroxílicos na estrutura do flavonóide aumentar sua atividade antioxidante, principalmente na posição 3 (PIETTA, 2000).

5.5.2 Metilação

A metilação, outra das transformações bioquímicas observadas em flavonóides, pode ser catalisada por enzimas como a O-metiltransferase, que transfere o grupo metil da S-adenosilmetionina para grupos hidroxílicos de flavonóides (EBEL e GRISEBACH, 1988). No caso de flavonóis e flavonas, O-metiltransferases têm catalisado a metilação das posições hidroxiladas do anel A (posições 5, 6, 7, 8), do anel B (posições 2', 3', 4', 5') e da cadeia heterocíclica C na posição 3. Além disso, as enzimas demonstram alta especificidade pelo substrato. A metilação na posição 3 de flavonóides é promovida pela flavonol-3-O-metiltransferase e na posição 6 pela flavonol-6-O-metiltransferase. Já na posição 7 tem-se a flavonol-7-O-metiltransferase e na posição 4' a flavonol-4'-O-metiltransferase. Metiltransferases para a posição 3'

de flavonóides têm sido isoladas de *Zea mays* (LARSON, 1989). Outras metiltransferases foram isoladas de *Cicer arietinum* e *Medicago sativa* (HARBORNE, 1993). De *Medicago sativa* também foi isolada metiltransferase específica para a posição 2' de chalconas 2',4'-dihidroxiladas, denominada chalcona 2'-O-metiltransferase (MAXWELL, EDWARDS e DIXON, 1992).

Com as novas tendências de aplicação dos flavonóides na prevenção de diferentes enfermidades, como tumores e doenças ligadas aos processos oxidativos na célula, torna-se cada vez mais freqüente o estudo desses compostos e suas transformações enzimáticas. Essas transformações podem formar muitas vezes flavonóides com maior atividade biológica.

6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico com a fase clorofórmica obtida das partes aéreas de *Mimosa paraibana* Barneby resultou no isolamento e identificação de seis compostos, dentre os quais, dois esteróides, um flavonóide, uma feofitina a, um derivado do ácido gálico e um derivado do ácido cinâmico.

Os esteróides **Mp-01a** e **Mp-01b**, sitosterol e estigmasterol foram anteriormente isolados de *M. invisá* (AGUIAR et al., 2007) e *M. tenuiflora* (ANTON et al., 1993), respectivamente, sendo esta a primeira vez em que tais compostos são relatados em *M. paraibana*.

Os compostos **Mp-02**, 15¹ hidroxifeofitina a, **Mp-03**, 5,7-dihidroxi-flavanona, e **Mp-04**, 3,4,5-trihidroxibenzoato de etila estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Mimosa*.

O composto **Mp-05**, ácido *p*-cumárico, mostrou-se presente nas folhas de *M. pudica* (KIRK et al., 2003) e está sendo relatado pela primeira vez em *M. paraibana*.

O estudo fitoquímico com a fase clorofórmica obtida das partes aéreas de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. resultou no isolamento e identificação de sete compostos flavonóidicos, dentre os quais, duas flavanonas, 4',5-dihidroxi-7-metoxiflavanona (**Mt-03**); 3',4',5-trihidroxi-7-metoxiflavanona (**Mt-07**) e cinco flavonas, 4',5-dihidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona (**Mt-01**); 5,7-dihidroxi-3,4',6-trimetoxiflavona (**Mt-02**); 4',5-dihidroxi-3',6,7-trimetoxiflavona (**Mt-04**); 4',5-dihidroxi-7-metoxiflavona (**Mt-05**); 4',5-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona (**Mt-06**). Este é o segundo relato de flavonóides em *M. tenuiflora*, sendo descrito antes apenas o isolamento de dois flavonóides por Dominguez e col. (1989).

O estudo químico de *Mimosa paraibana* e *Mimosa tenuiflora* e o conseqüente isolamento desses compostos contribuem para uma maior compreensão da quimiosistemática do gênero *Mimosa* e da família Mimosoideae.

O estudo químico com *Mimosa paraibana* é pioneiro e de grande relevância para o mapeamento dos metabólitos especiais produzidos por espécies de *Mimosa*. O isolamento de compostos pertencentes ao grupo dos flavonóides em *Mimosa tenuiflora* é bastante interessante já que na literatura

os compostos majoritários para esta espécie são pertencentes aos grupos dos alcalóides.

Vale salientar que, provavelmente, as atividades farmacológicas já descritas para *M. tenuiflora* como antibacteriana (HODGSON; KENNEDY 2005; GONÇALVES et al., 2005), antitumoral (LIMA et al., 2006), antifúngica (LOZOYA et al., 1989), antiinflamatória (BORK et al., 1997), estimulante de músculos lisos (MECKES-LOZOYA et al., 1990) e citotóxica (VILLARREAL et al., 1991) podem ser, em parte, devido aos flavonóides isolados neste trabalho.

Estudos farmacológicos, biotecnológicos e biossintéticos subseqüentes devem ser realizados para maior apreciação das potencialidades clínicas e industriais dos flavonóides de *Mimosa tenuiflora*.

REFERÊNCIAS

AGRAWAL, P. K. Carbon-13 NMR of Flavonoids: Studies in Organic Chemistry 39. Lucknov, India: Elsevier, 1989.

AGRAWAL, P. K.; BANSAL, M. C. Isoflavonoids. In: AGRAWAL, P. K. (ed.). **Carbon-¹³ NMR of Flavonoids**. New York: Elsevier, p. 182-235, 1989.

AGRAWAL, R. C.; KAPADIA, L. A. Treatment of piles with indigenous drugs- pilex tablets and ointment along with styplon. **Probe**, v. 213, p. 201-204, 1982.

AGUIAR, R. M.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Fenólicos do extrato clorofórmico de *Mimosa invisa*. **25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ**, 2007.

AHMED, W.; AHMAD, Z.; MALIK, A. Stigmasterol galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.

ALBUQUERQUE, U. P. Etnobotânica de uma bebida cerimonial no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 78, n. 4, p. 86-89, 1997.

AMALRAJ, T.; IGNACIMUTHU, S. Hyperglycemic effect of leaves of *Mimosa pudica* Linn. **Fitoterapia**, v. 73, p. 351-352, 2002.

AMECKES-LOZOYA, M.; LOZOYA, X.; MARLES, R.; SOUCY-BREAU, C.; SEM, A.; ARNASON, J. T. *N,N*-dimethyltryptamine alkaloid in *Mimosa tenuiflora* bark. **Arch. Invest. Méd.**, v. 212, p. 175-177, 1990.

ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Antioxidative power of phytochemicals with special reference to cereals. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 43, p. 356-360, 1998.

ANDRADE-LIMA, D. **Plantas das Caatingas**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 1989.

ANON. Properties and cosmetic applications of *Mimosa tenuiflora*. **Cosmet. News**, v. 1794, p. 31-35, 1994.

ANTON, R.; JIANG, Y.; WENIGER, B.; BECK, J. P.; RIVIER, L. Pharmacognosy of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret. **J. Ethnopharmacol.**, v. 38, n. 2-3, p. 153-157, 1993.

APPLEWHITE, P. B. Serotonin and norepinephrine in plant tissues. **Phytochemistry**, v. 12, p. 191, 1973.

ATTAWECHKUL, W.; PANICHWITHITKUL, C. Hypoglycemic activity of *Mimosa pudica*. **Undergraduate special projet report, Fac Med, (Siriraj Hosp), Mahidol Univ, Bangkok, Thailand** v. 16, 1979.

BACKER, R. **Organic Chemical of Biological Compounds**. New Jersey: FMB, 1971.

BARNEBY, R. C. *Sensitivae censitae*: a description of the genus *Mimosa* Linnaeus (Mimosaceae) in the New World. **Mem. New York Bot. Gard.** v. 65, p. 135, 1991.

BARRETT, B. Medicinal plants of Nicaraguas atlantic coast. **Econ. Bot.**, v. 48, n. 1, p. 8-20, 1994.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa da Universidade Federal de Viçosa, v. 2, p. 15-70, 1991.

BATISTA, L. M.; ALMEIDA, R. N.; DA CUNHA, E. V. L.; DA SILVA, M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Isolation and identification of putative hallucinogenic constituents from the root of *Mimosa ophthalmocentra*. **Pharm. Biol.**, v. 37, n. 1, p. 50-53, 1999.

BHAKUNI, O. S.; DHAR, M. L.; DHAR, M. M.; DHAWAN, B. N.; MEHROTRA, B. N. Screening of indian plants for biological activity. **Indian J. Exp. Biol.**, v. 7, p. 250-262, 1969.

BORK, P. M.; SCHMITZ, M. L.; KUHNT, M.; ESCHER, C.; HEINRICH, M. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF-KB. **Febs Lett.**, v. 1, p. 85-90, 1997.

BRACKE, M. E.; PESTEL, G.; GASTRONOVO, G.; UYNCKE, B.; FOIDART, J. M.; VAKAET, L. C. A.; MARCEL, M. M. **Plant flavonoids in biology and medicine II: progress in clinical and biological research**. V. Cody, E. Middleton and J. B. Liss, New York, 1988.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste: Especialmente do Ceará**. 4.ed. Natal: ESAM, 540p, 1976.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian J. Biol. Research**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CAMARGO, R.; LUCIA, S. Descripción, distribución, anatomía, composición química y usos de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae) en México. **Rev. Biol. Trop.**, p. 212, 2000.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; BORDIGNON, J.R. Activity of beta-glucosidase and levels of isoflavone glucosides in soybean cultivars affected by the environment. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35. p. 873-876, 2000.

CARVALHO FILHO, O. M.; SALVIANO, L. M. C. **Evidências de ação inibidora da jurema-preta na fermentação “in vitro” de gramíneas forrageiras**. Petrolina: EMBRAPA, 15 p., 1992.

CECHINEL FILHO, V. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade, **Quím. Nova**, v. 21, No. 1, 1998.

COE, F. G.; ANDERSON, G. J. Screening of medicinal plants used by the garifuna of eastern Nicaragua for bioactive compounds. **J. Ethnopharmacol.**, v. 53, p. 29-50, 1996.

D'AGOSTINO, M.; DE SIMEONE, F.; DINI, A.; RAIMUNDO, E.; ZOLLO. Flavonol glycosides from *Eupatorium tinifolium*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 1, p. 353-354, 1990.

DE ALENCAR, J. W.; BRAZ, F. R.; MADRUGA, M. L. 3-O-Arabinosylmorolic acid from *Mimosa caesalpiniaefolia*. **Rev. Latinoamer. Quím.**, v. 71 p. 44, 1976.

DE MORAES, E. H. F.; ALVARENGA, M. A.; FERREIRA, Z. M. G. S.; AKISUE, G. Nitrogenated bases of *Mimosa scabrella*. **Quím. Nova**, v. 13, n. 4, p. 308-309, 1990.

DESMARCHELIER, C.; ROMÃO, R. L.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 67, p. 69-77, 1999.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci.**, Tucson, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.

DINIZ, C. E. F.; PAES, J. B.; MARINHO, I. V. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. In: **Anais do VIII Congresso Florestal Brasileiro**, 2003, São Paulo.

DOMINGUEZ, X. A.; GARCIA, S.; WILLIAMS, H. J.; ORTIZ, C.; SCOTT, A. I.; REIBENSPIES, J. H. Kukulkanins A and B, new chalcones from *Mimosa tenuifolia*. **J. Nat. Prod.**, v. 52, n. 4, p. 864-867, 1989.

DUAN, H.; TAKAISHI, Y.; MOMOTA, H.; OHMOTO, Y.; TAKI, T. Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 1, p. 85-90, 2002.

EBEL, J.; GRISEBACH, H. Defense strategies of soybean against the fungus *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*: a molecular analysis. **Trends Biochem. Sci.**, London, v. 13, n. 1, p. 23-27, 1988.

ENGLERT, J.; JIANG, Y. L.; CABALION, P.; OULAD-ALID, A.; ANTON, R. C-Glycosylflavones from aerial parts of *Mimosa pudica*. **Planta Med.**, v. 60, n. 2, p. 194, 1994.

ENGLERT, J.; WENIGER, B.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R.; KREMPP, E.; GUILLAUME, D.; LEROY, Y. Triterpenoid saponins from *Mimosa pigra*. **J. Nat. Prod.**, v. 58, n. 8, p. 1265 -1269, 1995.

FARIA, W. L. F. A Jurema-preta (*Mimosa hostilis* Benth.) como fonte energética do semi-árido do Nordeste – Carvão. 1984. 113 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)** – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1984.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. **MultiCiência**, 7 de outubro de 2006.

FORKMANN, G. Flavonoids as flower pigment: the formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. **Plant Breeding**, Kiel, v. 106, p. 1-26, 1991.

FUKUYAMA, Y.; YOKOYAMA, R.; OHISAKI, A.; TAKAHASHI, H.; MINAMI, H. An example of the co-occurrence of Enantiomeric labdane-type diterpenes in the leaves of *Mimosa hostilis*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 47, n. 3, p. 454-455, 1999.

GIRISH, K. S.; MOHANAKUMARI, H. P.; NAGARAJU, S.; VISHWANATH, B. S.; KEMPARAJU, K. Hyaluronidase and protease activities from Indian snake venoms: neutralization by *Mimosa pudica* root extract. **Fitoterapia**, v. 75, p. 378-380, 2004.

GMELIN, R.; KJAER, A.; OLESEN LARSEN, P. *N*-acetyl-L-Djenkolic Acid, a novel amino acid isolated from *Acacia farnesiana*. **Phytochemistry**, v. 1, p. 233-236, 1962.

GMELIN, R.; STRAUSS, G.; HASEMAIER, G. A new amino acid from Mimosaceae. **Z. Physiol. Chem.**, v. 314, p. 28, 1959.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, v. 72, n.3, p. 353-358, 2005.

GRIFFITHS, L. A. On the distribution of gentisic acid in green plants. **J. Exp. Biol.**, v. 10, p. 437, 1959.

GUPTA, M. P.; ARIAS, T. D.; ETHEART, J.; HATFIELD, G. M. The occurrence of tryptamine and *N*-methyltryptamine in *Mimosa somnians*. **J. Nat. Prod.**, v. 42, n. 2, p. 234, 1979.

HARBORNE, J.B. **The Flavonoids**: advances in research since 1986. London: Chapman and Hall, 1993. p. 543.

HASE, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; PICHEANSOONYHON, C. Revised structure for hortensin, a flavonoid from *Millingtonia hortensis*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 1, p. 287-290, 1995.

HELLER, W.; FORKMANN, G. **The Flavonoids**: advances in research since 1980. London: Chapman and Hall, 1988. p. 399.

HERRMANN, A.P.; WILLEMS, M.; JANKE, H.D. Degradation of natural polyphenols by methanogenic consortia enriched from digested municipal sludge. **Water Research**, Lyngby, v. 35, n. 11, p. 2575-2582, 2001.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants of the World**. B. T. Batsford Ltd -London, p. 149-152, 1996.

HODGSON, A.; KENNEDY, J. F. The antibacterial effect of *Mimosa tenuiflora*. **Memorial High School**, Metuchen, NJ, May, 2005.

HUSSAIN, N.; MODAN, M. H.; SHABBIR, S. G.; ZAIDI, S. A. H. Antimicrobial principles in *Mimosa hamata*. **J. Nat. Prod.**, v. 42, n. 5, p. 525-527, 1979.

JAIN, R.; ARORA, R. 3-O-L-Arabinosyl-D-glucosylmorolic acid from *Mimosa hamata*. **J. Med. Aromat. Plant Sci.**, v. 19, n. 1, p. 22-23, 1997a.

JAIN, R.; ARORA, R.; JIAN, S. C. Saponins from the roots of *Mimosa hamata* Willd. **Indian J. Chem.**, v. 36, n. 1, p. 61-64, 1997b.

JIANG, Y. L.; HAAG-BERRURIER, M.; ANTON, R.; MASSIOT, G.; LAVAUD, C.; TEULON, J. M.; GUECHOT, C. Structure of a new saponin from the bark of *Mimosa tenuiflora*. **J. Nat. Prod.**, v. 54, n. 5, p. 1247-1253, 1991a.

JIANG, Y. L.; MASSIOT, G.; LAVAUD, C.; TEULON, J. M.; GUECHOT, C.; HAG-BERRURIER, M.; ANTON, R. Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2357-2360, 1991b.

JIANG, Y. L.; WENIGER, B.; HAAG-BERRURIER, M.; ANTON, R.; BECK, J. P.; ITALIANO, L. Effects of saponins from *Mimosa tenuiflora* on lymphoma cells and lymphocytes. **Phytother. Res.**, v. 6, n. 6, p. 310-313, 1992.

JOSEWIN, B.; RAMACHANDRAPAI, M.; SUSEELAN, M. S. A new phenolic ketone from the leaves of *Mimosa pudica* Linn. **Indian J. Chem.**, v. 38, n. 2, p. 251 - 253, 1999.

KINOSHITA, T.; FIRMAN, K. Highly oxygenated flavonoids from *Murraya paniculata*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 4, p. 1207-1210, 1996.

KIRK, L. F.; MOLLER, M. V.; CHRISTENSEN, J.; STAERK, D.; EKPE, P.; JAROSZEWSKI, J. W. A 5-deoxyflavonol derivative in *Mimosa pudica*. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 31, n. 1, p. 103-105, 2003.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A. OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KUDRITSKAYA, S. E.; FISHMAN, G. M.; ZAGORODSKAYA, L. M.; CHIKOVANI, D. M. Carotenoids from leaves of *Mimosa biuncifera*. **Chem. Nat. Comp.**, v. 242, p. 258, 1988.

KUMAR, P.; SEN, P. Study of the unsaponifiable matter from the root oil of *Mimosa rubicaulis*. **Curr. Sci.**, v. 44. p. 889, 1975.

LARGO, J. R. G.; RIDEOUT, J. A.; RAGASA, C. Y. Abioactive carotenoid from *Mimosa invisa*. **Philipp. J. Sci.**, v. 126, n. 1, p. 107-115, 1997.

LARSON, R. L. Flavonoid 3'-O-methylation by a *Zea mays* L. preparation. **Biochem. Physiol. Pflanzen**, Bielefeld, v. 184, p. 453-460, 1989.

LEON, L.; MALDONADO, E.; CRUZ, A.; ORTEGA, A. Tenuiflorins A-C: New 2-phenoxychromones from the leaves of *Mimosa tenuiflora*. **Planta Med.**, v. 70, n. 6, p. 536-539, 2004.

LEWIS, G. P. *Caesalpinia*: A Revision of the *Poincionella* - *Erythrostemon* group. **Royal Botanical Gardens**, Kew, 1998.

LIMA, D. P. A.; GRANGEIRO, A. R. S.; LIMA, C. M. P.; SOUZA, I. A. Estudo da toxicidade aguda e atividade antitumoral de *Mimosa hostilis* Benth. **Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**, Salvador, 2006.

LOBSTEIN, A.; WENIGER, B.; UM, B. H.; STEINMETZ, M.; DECLEREQ, L.; ANTON, R. 4"-Hydroxymaysin and cassiaoccidental B, two unusual C-glycosylflavones from *Mimosa pudica* (Mimosaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 30, n. 4, p. 375-377, 2002.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2 ed., Nova Odessa, SP. Editora Plantarum, 1998.

LOZOYA, X.; NAVARRO, V.; ARNASON, J. T.; KOURANY, E. Experimental evaluation of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. (Tepescohuite) I. - Screening of antimicrobial properties of bark extracts. **Arch. Invest. Med.**, v. 20, p. 87-93, 1989.

MA L.; DOLPHIN D. Stereoselective synthesis of new chlorophyll a related antioxidants isolated from marine organisms. **J. Org. Chem.**, v. 61, p. 2501, 1996.

MANANDHAR, N. P. An inventory of some vegetable drug resources of Makawanpur District Nepal. **Fitoterapia**, v. 66, n. 3, p. 231-238, 1995.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MATSUO, A.; ONO, K.; HAMASAKI, K.; NOZAKI, H. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 427-430, 1996.

MAXWELL, C.A, EDWARDS, R; DIXON, R.A. Identification, purification, and characterization of S-adenosyl-L-methionine: isoliquiritigenin 2'-O-methyltransferase from alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Arch. Biochem. Biophysic.**, Heidelberg, v. 293, p. 158-166, 1992.

MECKES - LOZOYA, M.; LOZOYA, X.; GONZALEZ, J.; MARTINEZ, M. The effect produced by alkaloidal fraction of *Mimosa tenuiflora* upon the peristaltic reflex in guinea pig's ileum. **Arch. Invest. Med.**, v. 21, p. 171-174, 1990.

MEHTA, B. K.; SHARMA, K. S.; DUBEY, A. 4-Ethylgallic acid from two *Mimosa* species. **Phytochemistry**, v. 27, n. 9, p. 3004-3005, 1988.

MIHARA, R.; MITSUNAGA, T.; FUKUI, Y.; NAKAI, M.; YAMAJI, N.; SHIBATA, H. A novel acylated quercetin tetraglycoside from oolong tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Tetrahedron Lett.**, v. 45, p. 5077-5080, 2004.

MINORU, U.; SHOSUKE, Y. The chemistry of leaf-movement in *Mimosa pudica*. **Tetrahedron**, v. 55, p. 10937-10948, 1999.

MORAES, M. O.; FONTELES, M. C.; MORAES, M. E. A.; MACHADO, M. L.; MATOS, F. J. A. Screening for anticancer activity of plants from the northeast of Brazil. **Fitoterapia**, v. 3, p. 235-239, 1997.

MUKERJEE, T.; BHALLA, N.; SINGH AULAKH, G.; JAIN, H. C. Herbal drugs for urinary stones. **Indian Drugs**, v. 216, p. 224-228, 1984.

NARIKAWA, T.; KARAKI, Y.; SHINOYAMA, H.; FUJII, T. Rutin degradation by culture filtrates from penicillia. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, Tokyo, v. 72, p. 473-479, 1998.

NEILSON, I.C. **Mimosaceae (Leguminosae - Mimosoideae)**. Flora Malesiana. vol. 11, Part 1. Rijksherbarium, Leiden, 1992.

NGO BUM, E.; DAWACK, D. L.; SCHUMUTZ, M.; RAKOTONIRINA, A.; RAKOTONIRINA, S. V.; PORTET, C.; JEKER, A.; OLPE, H. R.; HERRLING, P. Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* decoction. **Fitoterapia**, v. 75, p. 309-314, 2004.

NUNES, X. P.; LIRA, D. P.; SILVA, M. V.; XAVIER, A.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M. Avaliação da bioatividade do extrato etanólico bruto e fases de *Mimosa paraibana* Barneby sobre *Artemia salina* Leach. **Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Salvador, 2006.

OKUNJI, C. O.; IWU, M. M. Control of schistosomiasis using Nigerian medicinal plants as molluscicides. **Int. J. Crude Drug Res.**, v. 26, n. 4, p. 246 -252, 1988.

OLIVEIRA, E. Características anatômicas, químicas e térmicas da madeira de três espécies de maior ocorrência no semi-árido nordestino. 2003. 122 f. **Tese (Doutorado em Ciências Florestais)** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

PACHTER, I. J.; ZACHARIUS, D. E.; RIBEIRO, O. Índole alkaloids of *acer Saccharinum* (Silver Maple), *Dictyoloma incanescens*, *Poptadenia colubrine*, and *Mimosa hostilos*. **J. Org. Chem.**, v. 24, p. 1285-1287, 1959.

PARK, Y.K.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; MASCARENHAS, H.A.A.; SCAMPARINI, A.R.P. Survey of isoflavone contents in Brazilian soybean. **Ciencia y Tecnologia Alimentaria**, Vigo, n. 3, n. 3, p. 156-160, 2001c.

PARK, Y.K.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P. Biotransformação de isoflavonas de soja. **Biotechnology, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 4, p. 12-14, 2001b.

PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; NERY, I.A.; AGUIAR, C.L.; SATO, H.H. Enrichment of isoflavone aglycones in extracted soybean isoflavones by heat and fungal beta-glucosidase. **Food Sci. Industry**, Seoul, v. 34, n. 4, p. 14-19, 2001a.

PARK, Y.K.; LEE, C.Y. Identification of isorhamnetin-4'-glucoside in onions. **J. Agricult. Food Chemistry**, Columbus, v. 44, p. 34-36, 1996.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrit. Research**, West Lafayette, v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Products**, Columbus, v. 63, n. 7, p. 1035- 1042, 2000.

PILLAI, N. R.; UMA, R.; THYAGARAJAN, R.; VENUGOPAL, P. M. Preliminary studies on the diuretic activity of *Mimosa pudica* Linn in experimental animals. **J. Res. Indian Med. Yoga Homeopathy**, v. 13, n. 2, p. 114-117, 1978.

PUPO, M. T.; GALLO, M. B. C.; VIEIRA, P. C. Biologia Química: uma estratégia moderna para a pesquisa em produtos naturais. **Quím. Nova**, vol. 30, No. 6, 1446-1455, 2007.

RASHID, M. A.; ARMSTRONG, J. A.; GRAY, A. I.; WATERMANS, P. G. Alkaloids, flavonóides and coumarins from *Drummondita hassellii* and *D. calida*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 4, p. 1265-1269, 1992.

RIVERA-ARCE, E.; CHÁVEZ-SOTO, M. A.; HERRERA-ARELLANO, A.; ARZATE, S.; AGÜERO, J.; FERIA-ROMERO, I. A.; CRUZ-GUZMÁN, A.; LOZOYA, X. Therapeutic effectiveness of a *Mimosa tenuiflora* cortex extract in

venous leg ulceration treatment. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, n. 3, p. 523-528, 2007.

ROITMAN, J. N.; JAMES, L. F. Chemistry of toxic range plants. Highly oxygenated flavonol methyl ethers from *Gutierrezia microcephala*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 4, p. 835-848, 1985.

ROSADO-VALLADO, M.; BRITO-LOEZA, W.; MENA-REJÓN, G. J.; QUINTERO-MARMOL, E.; FLORES-GUIDO, J. S. Antimicrobial activity of Fabaceae species used in Yucatan traditional medicine. **Fitoterapia**, v. 71, p. 570-573, 2000.

SAMY, R. P.; IGNACIMUTHU, S.; SEN, A. Screening of 34 indian medicinal plants for antibacterial properties. **J. Ethnopharmacol.**, v. 62, n. 2, p. 173-182, 1998.

SCHILDKNECHT, H.; IYENGAR, D. S. P. On the biological chemistry of Mimosaceae. D-pinitol from *Mimosa pudica*. **Naturwiss. Ten.**, v. 62, p. 533, 1975.

SCHULTES, R. E. Botanical sources of the new world narcotics. **Psychodelic Rev.**, v. 1, p. 145-166, 1963.

SCHWIKKARD, S. L.; MULHOLLAND, A.; HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fischeri*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2391-2394, 1998.

SDBS Information, 2008. Spectral Database for Organic Compounds. Acesso em: http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng.

SILVA, M. C.; CARVALHO, J. C. T. Plantas Medicinais: In: J. C. T. Carvalho, **Fitoterápicos Antiinflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto, SP, Tecmedd, 480 p., 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5ª ed. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 1994.

SIMÕES, O. M. C.; SCHENKEL, R. P.; GOSMANN, G.; MELLO, P. C. J.; MENTZ, A. L.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta medicamento**. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999.

SIQUEIRA, S.; SANTOS, R. F.; CAVALCANTE, F. A.; RIBEIRO, L. A. A.; NUNES, X. P.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, B. A. Ação dual de *Mimosa paraibana* (Mimosaceae) em íleo isolado de cobaia: efeitos espasmogênico e espasmolítico. **Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Salvador, 2006.

SMITH, T. A. Tryptamine and related compounds in plants. (Review). **Phytochemistry**, v. 16, p. 171-175, 1977.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website, 2001**. Version 9, June 2008. Disponível em : <<http://www.mobot.org>>

STICK, K.; EBERMANN, R.; FORKMANN, G. Einfluß cytochrom P-450-spezifischer inhibitoren auf die aktivität von flavonoid 3'-hydroxylase und flavon synthase II bei verschiedenen Pflanzen. **Phyton**, Horn, v. 28, p. 237-247, 1988.

TIWARI, H. P.; PENROSE, W. R.; SPENSER, I. D. Biosynthesis of Mimosine. Incorporation of serine and alpha-aminoadipic acid. **Phytochemistry**, v. 6, p. 1245-1248, 1967.

TRAN, Q. L.; TEZUKA, Y.; UEDA, J. Y.; NGUYEN, N. T.; MARUYAMA, Y.; BEGUM, K.; WATAYA, Y.; TRAN, Q. K.; KADOTAS, S. In vitro antiplasmodial activity of antimalarial medicinal plants used in vietnamese traditional medicine. **J. Ethnopharmacol.**, v. 86, n. 2-3, p. 249-252, 2003.

TSURUM, S.; ASAHI, Y. Identification of jasmonic acid *Mimosa pudica* and its inhibitory effect on auxin-and light-induced opening opening of the pulvinules. **Physiol. Plant**, v. 64, n. 2, p. 207-211, 1985.

UMI, K. Y.; NORIHA, A. A.; BAKI, B. B. KHAIRUDDIN, I.; FARIDAH, A. A.; MOHD, A. S. Flavonoid glycosides in the leaves of *Mimosa* species. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 31 p. 443 - 445, 2003.

VEPSALAINEN, J. J.; AURIOLA, S.; TUKIAINEN, M.; ROPPONEN, N.; CALLAWAY, J. C. Isolation and characterization of yuremamine, a new phytoindole. **Planta Med.**, v. 71, n. 11, p. 1053-1057, 2005.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quim. Nova**, vol. 29, No. 2, 326-337, 2006.

VILLARREAL, M. L.; NICASIO, P.; ALONSO-CORTÉS, D. Effects of *Mimosa tenuiflora* bark extracts on WI38 and KB human cells in culture, **Arch. Invest. Med.**, v. 22, p. 163–169, 1991.

WILLAMAN, J. J.; LI, H. L. Alkaloid-Bearing plants and their contained alkaloids. **Lloydia**, v. 33, n. 1, p. 1-286, 1970.

WOLLENWEBER, E.; MANN, K.; INUMA, M.; TANAKA, T.; MIZUNO, M. 8,22 - Dihydroxyflavone from *Primula pulverulenta*. **Phytochemistry**, Pullman, v. 27, n. 5, p. 1483-1486, 1989.

YADAVA, R. N.; AGRAWAL, P. K. A new flavonóide glycoside: 5,7,4'-trihydroxy-6,3',5'-trimethoxyflavone-7-O-alpha-L-arabinopyranosyl-(1-6)-O-beta-D-glucopyranoside from the roots of *Mimosa rubicaulis*. **J. Asian Nat. Prod. Res.**, v. 11, p. 15-19, 1998.

YADAVA, R. N.; AGRAWAL, P.K.; SINGH, R. K. A novel flavone glycoside: 5,7,3'-trihydroxy-6,4',5'-trimethoxyflavone-3'-O-alpha-L-rhamnopyranoside from the leave of *Mimosa rubicaulis*. **Asian J. Chem.**, v. 103, p. 522-526, 1998.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: **Plantas Medicinais: sob a ótica da química medicinal moderna**. Yunes, R. A. e Calixto, J. B. (Eds), p. 41, Argos, Chapecó-SC, 2001.

YUSUF, U. K.; ABDULLAH, N.; BAKAR, B.; ITAM, K.; ABDULLH, F.; SUKARI, M. A. Flavonoids glycosides in the leaves of *Mimosa* species. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 31, p. 443-445, 2003.

Apêndice

Constituintes químicos, avaliação da atividade citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae)

Xirley P. Nunes,^{*1,2} Rafael F. Mesquita,¹ Davi A. Silva,² Daysianne P. Lira,² Vicente C. O. Costa,² Marianna V. B. Silva,² Aline L. Xavier,² Margareth F. F. M. Diniz,² Maria de Fátima Agra²

¹Colegiado de Medicina, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Caixa Postal 252,

56306-205 Petrolina-PE, Brasil,

²Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, Caixa Postal 5009, 58051-970 João Pessoa-PB, Brasil

RESUMO: *Mimosa paraibana* Barneby foi submetida a um estudo fitoquímico para o isolamento de seus constituintes químicos, através de métodos cromatográficos usuais, e posterior identificação estrutural, utilizando-se métodos espectroscópicos de RMN ¹H e ¹³C uni e bidimensionais, além de comparações com modelos da literatura. Deste estudo pioneiro foram isolados e identificados cinco constituintes da fase clorofórmica: uma mistura dos esteróides, β-sitosterol e stigmaterol, a 15¹ hidroxifeofitina a, a 5,7-dihidroxiflavanona, o 3,4,5-trihidroxibenzoato de etila e o ácido *p*-cumárico. A atividade antioxidante das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila foi avaliada utilizando o radical estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) e os resultados comparados com o padrão ácido ascórbico. A avaliação da citotoxicidade das fases foi realizada empregando-se o ensaio de letalidade contra *Artemia salina*.

Unitermos: *Mimosa paraibana*, Mimosaceae, *Artemia salina*, atividade antioxidante.

ABSTRACT: The phytochemical study of *Mimosa paraibana* Barneby led to the isolation of its chemical constituents, through the usual chromatographic methods, and further structural identification, using ¹H and ¹³C NMR spectroscopic methods based on one and two-dimensional techniques, in addition to comparison with literature data. From this pioneering investigation with *M. paraibana* five constituents were isolated and identified from the chloroform extracts: a mixture of β-sitosterol and stigmaterol, 15¹-hydroxy-phaeophytin a, 5,7-dihydroxyflavanone, ethyl 3,4,5-trihydroxybenzoate and *p*-coumaric acid. The antioxidant activity of the hexane, chloroform and ethyl acetate extracts of *M. paraibana* were measured using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay and the results compared with standard ascorbic acid. The toxicity activity of the extracts were performed using the bioassay of *Artemia salina*.

Keywords: *Mimosa paraibana*, Mimosaceae, *Artemia salina*, antioxidant activity.

* E-mail: xirleypn@gmail.com, Tel./Fax +55-87-38629394

INTRODUÇÃO

A família Mimosaceae possui cerca de 60 gêneros distribuídos em mais de 4000 espécies encontradas nas regiões tropicais e subtropicais, especialmente nas regiões áridas. As plantas desta família são principalmente arbustos que apresentam suas folhas verdes praticamente o ano inteiro e seus frutos são geralmente legume. *Mimosa* é um gênero de leguminosas pantropical, constando de cerca de 480 espécies, com uma maior concentração de espécies na América do Sul (Neilson, 1992).

Mimosa paraibana Barneby é encontrada em vários lugares do estado da Paraíba e popularmente conhecida como “jurema”. Este estudo relata o primeiro estudo químico e farmacológico envolvendo esta espécie.

Desde o início da vida no planeta, a toxicidade do oxigênio atmosférico tem sido o principal desafio à sobrevivência dos organismos vivos. As oxidações biológicas geram espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres que podem provocar lesões celulares, muitas vezes irreparáveis (Gouvêa, 2004).

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias antioxidantes contra os danos moleculares causados por ERO. Os compostos fenólicos compreendem o principal grupo de compostos antioxidantes de origem vegetal. Entre os fenóis, os flavonóides constituem o grupo mais importante. Os antioxidantes naturais são bem indicados para atenuar os efeitos deletérios do estresse oxidativo celular. Estudos recentes mostram que vários extratos de plantas exercem ação antioxidante. A partir da perspectiva do valor potencial dos antioxidantes, as pesquisas buscam extratos e substâncias naturais com potente atividade antioxidante e baixa citotoxicidade (Gouvêa, 2004).

A fim de estabelecer a toxicidade de novos produtos naturais, muitos ensaios podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (Meyer et al., 1982; Nick et al., 1995), mas que também pode ser utilizado para expressar a toxicidade de produtos naturais, como extratos de plantas e de produtos marinhos. Adicionalmente, alguns trabalhos mostram uma boa correlação entre o ensaio de letalidade com larvas de *A. salina* e a citotoxicidade em linhagens de células humanas para esses produtos (McLaughlin, 1995; Carballo et al., 2002).

A avaliação da bioatividade de extratos de plantas, medida pela toxicidade frente *Artemia salina*, pode fornecer informações valiosas ao trabalho de químicos de produtos naturais e farmacólogos, indicando fontes vegetais com importantes atividades biológicas. Neste contexto, a utilização de bioensaios para o monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas vem crescendo consideravelmente nos laboratórios de pesquisa em nível mundial como método alternativo para o uso de animais de laboratório. *Artemia salina* Leach é um microcrustáceo amplamente conhecido como indicador de toxicidade em um bioensaio que utiliza a CL_{50} (concentração letal média) como parâmetro de avaliação da atividade biológica.

Este trabalho descreve os metabólitos secundários da fase clorofórmica de *M. paraibana*, a avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico bruto e fases sobre *Artemia salina* Leach e a atividade antioxidante das fases através da metodologia do radical livre estável DPPH.

MATERIAL E MÉTODOS

Equipamentos

Os espectros de RMN (^1H , ^{13}C , HMQC, HMBC, COSY, NOESY) foram obtidos em espectrômetro Mercury Varian operando a 200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C), no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os dados de RMN foram mensurados em CDCl_3 ou MeOD e os deslocamentos químicos foram expressos em ppm com o sinal do solvente como referência.

Material vegetal

As partes aéreas de *Mimosa paraibana* Barneby foram coletadas no município de Serra Branca, estado da Paraíba, em abril de 2005. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra. Uma exsiccata da espécie está depositada no Herbário do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) sob o código Agra et al 6460.

Extração e isolamento

O material vegetal foi seco em estufa com ar circulante à temperatura média de 40 °C durante 4 dias. Após a secagem, foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 8 kg de pó. Em seguida o pó foi submetido à maceração exaustiva com etanol (EtOH) a 95 %. A solução etanólica obtida foi filtrada e evaporada com o auxílio de um rotaevaporador a uma temperatura média de 50 °C, obtendo-se 829 g de extrato etanólico bruto (EEB). O EEB foi solubilizado numa mistura MeOH :H₂O (3:7 v/v) sob agitação mecânica, obtendo-se uma solução hidroalcoólica I, que foi submetida a uma extração líquido/líquido com solventes de polaridade crescente fornecendo as fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila.

A fase clorofórmica (159 g) foi submetida à cromatografia em coluna, utilizando sílica gel 60, como fase estacionária, e como eluentes, os solventes hexano, clorofórmio e metanol puros ou em misturas binárias, em grau crescente de polaridade. As frações foram concentradas em rotaevaporador rotatório e reunidas após cromatografia em camada delgada analítica. As frações 25/29 foram reunidas e recristalizadas em hexano, resultando em cristais brancos (**1**) (47 mg). As frações 64/91 foram reunidas e submetidas à cromatografia em camada delgada preparativa (CCPD), resultando em um sólido amorfo verde (**2**) (41 mg). As frações 137/163 foram reunidas e cromatografadas em coluna de Sephadex LH-20 e eluídas com misturas binárias de clorofórmio e metanol, obtendo-se um pó fino amarelo escuro (**3**) (38 mg). As frações 180/198 e 199/212 foram reunidas e submetidas à CCDP, resultando em um sólido branco (**4**) (74 mg) e um sólido amorfo branco (**5**) (83 mg), respectivamente.

Ensaio de letalidade com *Artemia salina*

A atividade citotóxica do extrato etanólico bruto e das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila de *M. paraibana* foi avaliada através do teste de letalidade contra *Artemia salina* Leach, de acordo com o método proposto por Meyer et al. (1982), com algumas modificações. Ovos de *Artemia salina* foram incubados em água do mar artificial a temperatura ambiente por 48 horas. Com a ajuda de uma fonte de luz, as larvas foram atraídas e coletadas. Soluções do extrato e fases foram preparadas em Tween 80 ou DMSO (Dimetil sulfóxido) e água do mar em concentrações variando de 20-1000 µg/mL. Cerca de 13 a 15 metanúplios foram

transferidos para tubos de ensaio contendo 5 mL de cada uma das soluções a serem testadas. Um grupo controle foi preparado contendo apenas os solventes e as larvas. Os ensaios foram realizados em triplicata. A contagem do número de larvas mortas foi realizada após 24 horas e esse número foi usado para o cálculo da CL₅₀ utilizando-se o programa Microcal Origin versão 4.1. Os extratos com CL₅₀ maiores que 1000 ppm foram considerados inativos.

Dosagem da atividade antioxidante

A dosagem de atividade antioxidante das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila de *M. paraibana* foi realizada pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) obtido da SIGMA. Nesse método é preparada uma solução de 45 µg/mL de DPPH em metanol. As amostras são preparadas adicionando-se 1 mL desta solução de DPPH a 2,5 mL de soluções das fases diluídas em metanol a concentrações de 5, 10, 25, 50, 125 e 250 µg/mL. Como branco foi utilizado 1 mL de DPPH e 2,5 mL de metanol. Como controle positivo foi utilizado o ácido L-(+)-ascórbico (Merck).

A solução de DPPH possui uma coloração roxa intensa e a ação antioxidante de um extrato ou fase pode ser visualizada pelo progressivo descoloramento da solução, ao final do qual a mesma torna-se amarelada. Quinze minutos após a adição de DPPH às amostras, é feita a leitura em um espectrofotômetro de Ultravioleta UV-Vis Shimadzu UV 1601 em 517 nm. Todas as leituras foram realizadas em triplicata e, com a média dos dados obtidos foi calculada a diferença de absorbância entre a amostra e o controle negativo e as atividades antioxidantes percentuais foram obtidas por regressão linear, logarítimo ou exponencial para cada fase, chegando-se assim à concentração necessária para se obter 50 % do efeito antioxidante máximo estimado de 100 % (CE₅₀) (Mensor et al., 2001).

As atividades sequestrantes de DPPH das fases foram expressas em porcentagem, segundo a equação:

$$\text{Atividade sequestrante de DPPH} \\ (\%) = 100 - \left[\frac{(\text{Ac} - \text{At})}{\text{Ac}} \times 100 \right]$$

Onde, Ac é a absorbância do controle, que não foi incubado com as fases e At a absorbância das amostras incubadas com diferentes concentrações das fases.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

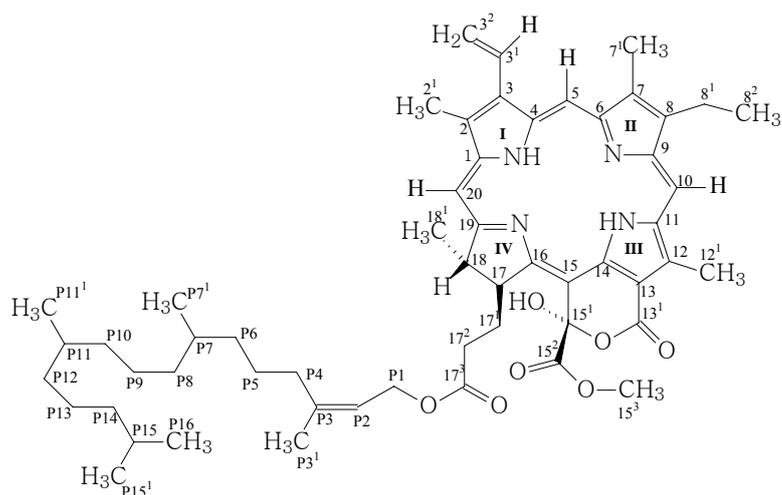
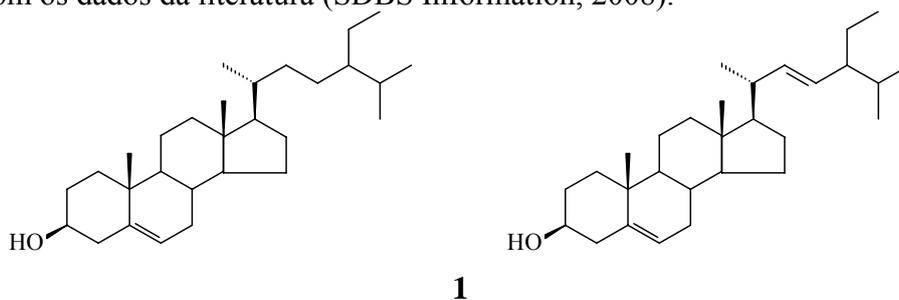
A análise dos dados espectrais e comparação com valores da literatura permitiram identificar a substância **1** como sendo uma mistura dos esteróides β-sitosterol e estigmasterol (Kojima et al., 1990), a substância **2** como a 15¹ hidroxifeofitina a, a substância **3** como a 5,7-dihidroxi-flavanona, a substância **4** como o 3,4,5-trihidroxibenzoato de etila e a substância **5** como o ácido *p*-cumárico (Fig. 1) (Mihara et al, 2004).

15¹ hidroxifeofitina a (**2**): RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ_H (H; mult.; *J* em Hz): 7,98 (H-3¹; *dd*, 11,2 e 17,6), 9,48 (H-5; *s*), 9,71 (H-10; *s*), 4,07 (H-17; *m*), 5,13 (P2; *t*, 7,4), 8,70 (H-20; *s*), 6,30 (H-3²; *d*; 17,8), 6,15 (H-3²; *d*; 11,4), 3,69 (H-8¹; *q*, 8,0 e 15,6), 3,42 (2¹; *s*), 3,22 (7¹; *s*), 1,68 (8²; *t*; 7,6), 3,87 (12¹; *s*), 3,75 (15³; *s*), 1,61 (18¹; *t*; 7,2). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ_C: 141,18 (C-1), 131,45 (C-2), 136,46 (C-3), 135,98 (C-

4), 155,71 (C-6), 134,75 (C-7), 145,51 (C-8), 149,49 (C-9), 138,70 (C-11), 131,45 (C-12), 131,45 (C-13), 166,30 (C-13¹), 149,94 (C-14), 111,29 (C-15), 101,95 (C-15¹), 170,87 (C-15²), 161,06 (C-16), 171,30 (C-17³), 171,12 (C-19), 142,86 (C-P3), 128,93 (C-3¹), 99,59 (C-5), 104,10 (C-10), 53,68 (C-17), 50,12 (C-18), 93,87 (C-20), 117,70 (C-P2), 122,71 (C-3²), 19,51 (C-8¹), 29,69 (C-17¹), 31,29 (C-17²), 61,45 (C-P1), 12,13 (C-2¹), 11,24 (C-7¹), 17,58 (C-8²), 12,43 (C-12¹), 54,15 (C-15³), 22,70 (C-18¹). Todos os valores estão de acordo com os dados da literatura (MA L. e DOLPHIN, 1996).

5,7-Dihidroxi flavanona (3). RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ_H (H; mult.; J em Hz): 5,40 (H-2; *dd*; 12,6 e 3,2), 5,99 (H-6; *sl*), 5,99 (H-8; *sl*), 7,44-7,38 (H-2'; *m*), 7,44-7,38 (H-3'; *m*), 7,44-7,38 (H-4'; *m*), 7,44-7,38 (H-5'; *m*), 7,44-7,38 (H-6'; *m*), 3,07 (H-3; *dd*; 12,6 e 17), 2,79 (H-3; *dd*; 3,2 e 17). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ_C: 195,81 (C-4), 164,29 (C-5), 164,72 (C-7), 163,14 (C-9), 103,14 (C-10), 138,24 (C-1'), 79,21 (C-2), 96,75 (C-6), 95,48 (C-8), 126,14 (C-2'), 128,88 (C-3'), 128,88 (C-4'), 128,88 (C-5'), 126,14 (6'), 43,30 (C-3). Todos os valores estão de acordo com os dados da literatura (Agrawal, 1989).

3,4,5-trihidroxibenzoato de etila (4). RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ_H (H; mult.; J em Hz): 7,04 (H-2; *s*), 7,04 (H-6; *s*), 4,23 (H-1'; *q*), 1,30 (H-2'; *t*). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ_C: 121,63 (C-1), 146,33 (C-3), 139,56 (C-4), 146,33 (C-5), 109,93 (C-2), 109,33 (C-6), 61,66 (C-1'), 14,55 (C-2'), 168,51 (CO). Todos os valores estão de acordo com os dados da literatura (SDBS Information, 2008).



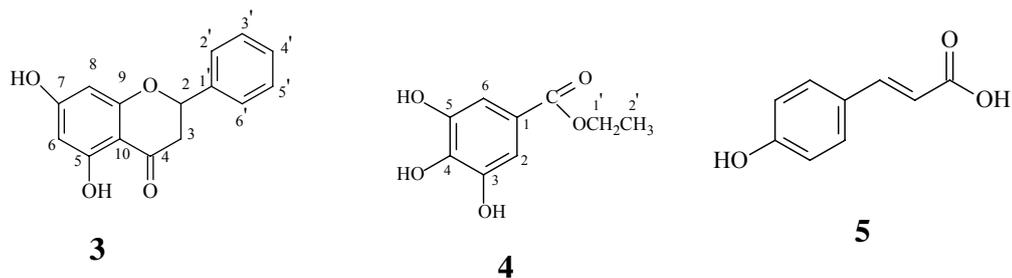


Figura 1. Constituintes químicos isolados da fase clorofórmica de *Mimosa paraibana*.

No ensaio de toxicidade com *Artemia salina* os valores médios de CL_{50} para o extrato etanólico e fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila de *M. paraibana* foram de 602,5 $\mu\text{g/mL}$, 1054,0 $\mu\text{g/mL}$, 778,8 $\mu\text{g/mL}$ e 293,4 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Portanto, das amostras testadas, apenas a fase hexânica apresentou baixa toxicidade ($CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$). A toxicidade com *A. salina* mostra boa correlação com atividades antitumoral, inseticida (Meyer et al., 1982; Mclaughlin et al., 1995) e anti-*Trypanosoma cruzi* (Alves et al., 2000) para substâncias com $CL_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Por outro lado, uma baixa toxicidade pode ser considerada uma característica interessante para utilização de extratos vegetais em ambientes naturais, por exemplo, para o controle da população de caramujos.

A análise dos resultados da atividade antioxidante considera como valor de referência a CE_{50} do ácido ascórbico (2,910 $\mu\text{g/mL}$) para comparar a atividade antioxidante das fases testadas. Foi escolhido o ácido ascórbico como parâmetro porque ele possui alta atividade antioxidante (Mensor et al., 2001).

A partir dos resultados apresentados na Figura 2 e Tabela 1 pode-se observar que a fase clorofórmica, quando comparada com o ácido ascórbico, possui uma CE_{50} igual a 1,014 $\mu\text{g/mL}$, indicando uma atividade antioxidante (AAO) cerca de 2,87 vezes maior do que a apresentada pelo padrão ácido ascórbico. Esse fato se deve provavelmente às substâncias fenólicas presentes nessa fase.

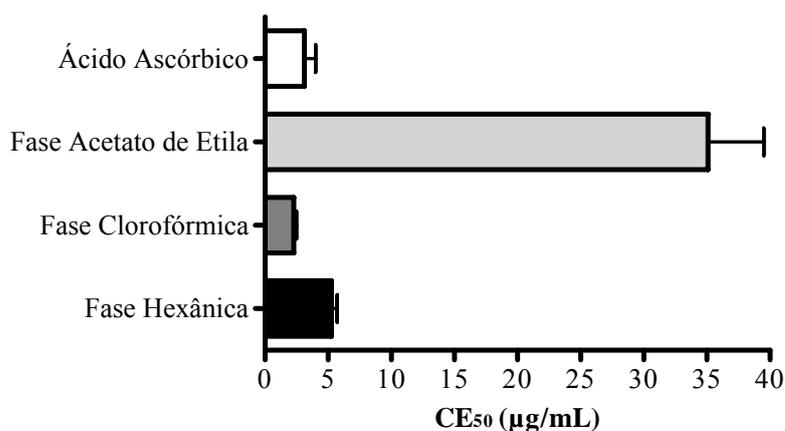


Figura 2. Comparação dos valores de CE50 das diferentes fases obtidas de *Mimosa paraibana*. Os resultados são expressos como a média \pm SEM (n = 3).

Tabela 1. Atividade antioxidante das diferentes fases de *Mimosa paraibana* utilizando o radical DPPH.

[] $\mu\text{g/mL}$	Fase Hexânica	Fase Clorofórmica	Fase Acetato de Etila	Ácido Ascórbico
5	26,036 \pm 3,830	12,633 \pm 2,126	66,379 \pm 4,256	71,855 \pm 3,737
10	35,447 \pm 2,465	22,697 \pm 2,215	65,872 \pm 4,287	78,082 \pm 1,678
25	58,555 \pm 2,198	53,274 \pm 4,186	72,709 \pm 2,865	92,123 \pm 1,077
50	73,068 \pm 1,449	57,248 \pm 3,510	77,400 \pm 2,766	93,796 \pm 0,744
125	71,334 \pm 1,231	54,073 \pm 3,893	85,062 \pm 1,791	93,711 \pm 1,133
250	67,108 \pm 1,990	43,988 \pm 4,278	83,817 \pm 1,593	94,424 \pm 0,698
CE ₅₀	5,214	1,014	35,78	2,910

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e RENORBIO pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Agrawal PK 1989. *Carbon-13 NMR of Flavonoids: Studies in Organic Chemistry* 39. Lucknov, Índia: Elsevier.
- Alves TMD, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Smânia EFA, Smânia A, Zani CL 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 367-373.
- Carballo JL, Hernández-Inda ZL, Pérez P, García-Grávalos MD 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnol* 2: 1-5.
- Gouvêa CMCP 2004. Oxidações biológicas e atividade vegetal. In: *Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas*. Carvalho, J.C.T. coord. Ribeirão Preto: Tecmedd, p. 101-124.
- Kojima H, Sato N, Hatano A, Ogura H 1990. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* 29: 2351-2355.
- Ma L, Dolphin D 1996. Stereoselective synthesis of new chlorophyll a related antioxidants isolated from marine organisms. *J Org Chem* 61: 2501.
- Mclaughlin JL, Saizarbitori T-C, Anderson JE 1995. Tres bioensayos simples para químicos de productos naturales. *Rev Soc Venez Quim* 18: 13-18.
- Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, dos Santos TC, Coube CS, Leitão SG 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res* 15: 127-130.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL 1982. Brine shrimp, a convenient general bioassay for active-plant constituents. *Planta Med* 45: 31-34.

- Mihara R, Mitsunaga T, Fukui Y, Nakai M, Yamaji N, Shibata 2004. A novel acylated quercetin tetraglycoside from oolong tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Tetrahedron Lett* 45: 5077-5080.
- Neilson IC 1992. *Mimosaceae (Leguminosae - Mimosoideae)*. Flora Malesiana. Vol. 11, Part 1. Rijksherbarium, Leiden.
- Nick A, Rali T, Sticher O 1995. Biological screening of traditional medicinal plants from Papua New Guinea. *J Ethnopharmacol* 49: 147-156.
- Schwikkard SL, Mulholland A, Hutchings A 1998. Phaeophytins from *Tapura fischeri*. *Phytochemistry* 49: 2391-2394.
- Spectral Database for Organic Compounds, SDDBS. Acesso em: http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)