

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA “PROFESSOR
DELBY FERNANDES DE MEDEIROS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS

GABRIELA LEMOS DE AZEVEDO MAIA

Estudo fitoquímico da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*
(Griseb.) Reis (Fabaceae)

JOÃO PESSOA
2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

GABRIELA LEMOS DE AZEVEDO MAIA

**Estudo fitoquímico da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.)
Reis (Fabaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho

**JOÃO PESSOA
2008**

M271e Maia, Gabriela Lemos de Azevedo.

Estudo fitoquímico de *Anadenanthera colubrina* var.
cebil (Griseb.) Reis (Fabaceae)/Gabriela Lemos de Azevedo Maia.
João Pessoa, 2008.

151p.

Orientador: José Maria Barbosa Filho.

Dissertação (mestrado) – UFPB/ CCS/ LTF

1. Produtos naturais. 2. *Anadenanthera*

UFPB/ BC

CDU: 547.9 (043)

GABRIELA LEMOS DE AZEVEDO MAIA

**Estudo fitoquímico da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.)
Reis (Fabaceae)**

Dissertação aprovada em 28 / 02 / 2008

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho

Universidade Federal da Paraíba- Orientador

Prof. Dr. Vicente Toscano de Araújo Júnior

Universidade Federal do Rio Grande do Norte-Examinador externo

Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

Universidade Federal da Paraíba- Examinador interno

Muitas vezes, as pessoas são egocêntricas, ilógicas e insensatas.
Perdoe-as, assim mesmo.

Se você é gentil, as pessoas podem acusá-lo de egoísta, interesseiro.
Seja gentil, assim mesmo.

Se você é um vencedor, terá alguns falsos amigos e inimigos verdadeiros.
Vença, assim mesmo.

Se você é honesto e franco, as pessoas podem enganá-lo.
Seja honesto e franco, assim mesmo.

Se você tem paz e é feliz, as pessoas podem sentir inveja.
Seja feliz, assim mesmo.

O bem que você faz hoje, pode ser esquecido amanhã.
Faça o bem, assim mesmo.

Dê ao mundo o melhor de você, mas isso pode nunca ser o bastante.
Dê o melhor de você, assim mesmo.

Veja você que, no final das contas,

É ENTRE VOCÊ E DEUS.

Nunca, entre você e as outras pessoas!

(Madre Teresa de Calcutá)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade da vida, pela proteção constante, pela fé e pela graça de poder amar e ser amada.

Aos meus pais Gerônimo e Petinha e meus avós Lívio e Abigail por não medirem esforços para me ajudar, pela dedicação constante, pelo incentivo, por serem porto seguro, anjos guardiões, enfim obrigada por muito me amarem.

Aos meus tios Pedro e Marli, por todo o carinho que me dedicam desde que cheguei a João Pessoa para cursar a minha graduação.

Ao Prof. José Maria Barbosa Filho expresse meus sinceros agradecimentos pela orientação deste trabalho, pela liberdade com que permitiu que o mesmo fosse conduzido e por todos os ensinamentos que foram de grande valia para meu aprendizado.

A todos os meus familiares, meus irmãos, Thiago e Daniel, meus tios, Anselmo, Lina, Selma e Lula e primos Paula, Myriam, Christianne e Maurício por cada um a sua maneira ter me dado forças pra chegar até aqui.

À Hermano pelo carinho e companheirismo.

Ao Prof. Josean Fachine Tavares amigo e fonte de consulta indispensável para realização desta dissertação.

Aos Professores Jackson e Xirley por todos os ensinamentos na bancada e pela amizade.

Aos alunos de iniciação científica Ana Silvia, Camila, Daysianne, Fábio, Ricardo, Taísa, Carine, Priscila, Isis, Helane, Ana Livia, Mariana pela ajuda e pela deliciosa convivência. Em especial à Kamila pelo apoio direto na realização deste trabalho.

A todos os meus colegas de turma, em especial a Adriana, Camila, Ana Cláudia, Daniele, Narlize, Roosevelt, Rafael, Steno, Sócrates, Vanine, e Viviane por que amizade de vocês minimizou as dificuldades e multiplicou as vitórias.

A todos os colegas de laboratório em especial a José Guedes e AnaLúcia pela amizade e pela troca de conhecimento.

À Raimundo Nonato pelas ajudas constantes na bancada e a Vicente Carlos pela obtenção dos espectros de RMN, especialmente agradeço aos dois por todas as vezes que para ajudar trabalharam nos fins de semanas e nas férias.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pela ajuda na minha formação acadêmica, especialmente ao professor Marcelo Sobral pela valiosa contribuição a este trabalho, passando ensinamentos e sempre tirando dúvidas quando precisei.

À professora Maria de Fátima Agra pela identificação do material botânico.

A todos os funcionários do LTF, pelos diversos serviços prestados.

A todos os cidadãos brasileiros, que com o pagamento dos seus impostos, financiaram os meus estudos e o desenvolvimento deste trabalho.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

RESUMO

O presente trabalho descreve o isolamento e a identificação estrutural de alguns constituintes químicos das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Reis, com o objetivo de ampliar o conhecimento químico sobre o gênero *Anadenanthera*, bem como da família Fabaceae. O fracionamento cromatográfico das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila das cascas do caule resultou no isolamento de oito substâncias: lupeol, álcool betulínico, calenduladiol, 2,4-diidroxibenzóico metílico (fase hexânica) ácido betulínico, lupenona, β -sitosterol glicosilado (fase clorofórmica) e epicatequina (fase acetato de etila). Os constituintes químicos foram identificados através da análise de dados obtidos por métodos espectroscópicos como IV e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, além de comparação com valores da literatura. Dentre as substâncias isoladas os triterpenos álcool betulínico e calenduladiol e os compostos fenólicos epicatequina e ácido atrárico estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Anadenanthera*.

ABSTRACT

The present work described the isolation and structural identification of some chemical compounds from the stem bark of *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Reis, in order to extend the chemical knowledge of *Anadenanthera* genus as well as the Fabaceae family. The chromatographic fractioning of the hexane, chloroform and ethyl acetate phases resulted in the isolation of eight substances: lupeol, betulinic acid, methyl-2,4-dihydroxy-3,6-dimethylbenzoate (atraric acid), calenduladiol (hexane phase), betulinic acid, lupenone, β -sitosterol glucoside (chloroform phase) and epicatechin (ethyl acetate phase). The structural identification of the isolated chemical constituents was held by spectroscopic methods such as Infrared, ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance, with the add of two-dimensional techniques, besides comparisons made with models of literature. Among the isolated compounds the triterpenes betulinic alcohol and calenduladiol and the phenolic compounds epicatechin and atraric acid are being described for the first time at the *Anadenanthera* genus.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Anadenanthera</i>	32
FIGURA 2. Mapa de distribuição da espécie <i>Anadenanthera colubrina</i> no mundo.....	37
FIGURA 3. Fotos da espécie <i>A. colubrina</i>	38
FIGURA 4. Representação esquemática da biossíntese de triterpenos.....	42
FIGURA 5. Classes de flavonóides.....	49
FIGURA 6. Catequina, epicatequina e seus enantiômeros.....	51
FIGURA 7. Representação esquemática da biossíntese de flavonóides.....	56
FIGURA 8. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-1 (50 MHz, CDCl_3).....	71
FIGURA 9. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-1 (50 MHz, CDCl_3).....	72
FIGURA 10. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-1 (50 MHz, CDCl_3).....	73
FIGURA 11. Espectro de RMN de ^1H de Ac-1 (200 MHz, CDCl_3).....	74
FIGURA 12. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-1 (200 MHz, CDCl_3).....	75
FIGURA 13. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-1 (200 MHz, CDCl_3).....	76
FIGURA 14. Espectro na região do infravermelho de Ac-2 (pastilha de KBr).....	81
FIGURA 15. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-2 (50 MHz, CDCl_3).....	82
FIGURA 16. Espectro de RMN de ^1H de Ac-2 (200 MHz, CDCl_3).....	83
FIGURA 17. Espectro de RMN de ^1H de Ac-2 (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-D}_2\text{O}$).....	84
FIGURA 18. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de Ac-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente).....	85
FIGURA 19. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de Ac-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente).....	86
FIGURA 20. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de Ac-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente).....	87
FIGURA 21. Espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3).....	90

FIGURA 22. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3).....	90
FIGURA 23. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3).....	91
FIGURA 24. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-3 (50 MHz, CDCl_3).....	92
FIGURA 25. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-3 (50 MHz, CDCl_3).....	93
FIGURA 26. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-3 (50 MHz, CDCl_3).....	94
FIGURA 27. Espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3).....	98
FIGURA 28. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3).....	99
FIGURA 29. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3).....	99
FIGURA 30. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3).....	100
FIGURA 31. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl_3).....	101
FIGURA 32. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl_3).....	102
FIGURA 33. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl_3).....	103
FIGURA 34. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl_3).....	104
FIGURA 35. Espectro de RMN de ^1H de Ac-5 (200 MHz, CDCl_3).....	107
FIGURA 36. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-5 (200 MHz, CDCl_3).....	108
FIGURA 37. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-5 (200 MHz, CDCl_3).....	109
FIGURA 38. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-5 (50 MHz, CDCl_3).....	110
FIGURA 39. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-5 (50 MHz, CDCl_3).....	111
FIGURA 40. Espectro de RMN de ^1H de Ac-6 (200 MHz, CDCl_3).....	112
FIGURA 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-6 (200 MHz, CDCl_3).....	114
FIGURA 42. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-6 (200 MHz, CDCl_3).....	115
FIGURA 43. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-6 (50 MHz, CDCl_3).....	115
FIGURA 44. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-5 (50 MHz, CDCl_3).....	116
FIGURA 45. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-6 (50 MHz, CDCl_3).....	117
FIGURA 46. Espectro de RMN de ^1H de Ac-7 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	120

FIGURA 47. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-7 (200 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	121
FIGURA 48. Espectro de RMN de ^{13}C de Ac-7 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	122
FIGURA 49. . Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-5 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	123
FIGURA 50. Espectro na região do infravermelho de Ac-8 (pastilha de KBr).....	127
FIGURA 51. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-8 (50 MHz, CD_3OD).....	128
FIGURA 52. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-8 (50 MHz, CD_3OD).....	129
FIGURA 53. Espectro de RMN de ^1H de Ac-8 (200 MHz, CD_3OD).....	130
FIGURA 54. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-8 (200 MHz, CD_3OD).....	131
FIGURA 55. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-8 (200 MHz, CD_3OD).....	132

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-1 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura (CDCl_3) (δ em ppm, J em Hz).....	70
TABELA 2. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (2D) de Ac-2 (200 e 50 MHz) em CDCl_3 (δ em ppm).....	79
TABELA 3. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Ac-2 (200 e 50 MHz, CDCl_3) em comparação com dados da literatura [(CDCl_3) (SILVA, 2004)] (δ em ppm).....	80
TABELA 4. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-3 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura (CDCl_3) (δ em ppm e J em Hz).....	89
TABELA 5. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) para Ac-4 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura (CDCl_3) (δ em ppm e J em Hz).....	97
TABELA 6. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-5 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura (CDCl_3) (δ em ppm e J em Hz).....	106
TABELA 7. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-6 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura (CDCl_3) (δ em ppm e J em Hz).....	113
TABELA 8. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-7 em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (δ em ppm e J em Hz).....	119
TABELA 9. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C da substância Ac-8 em CD_3OD com valores encontrados na literatura (CD_3OD) (δ em ppm e J em Hz).....	126

LISTA DE QUADROS

- QUADRO 1.** Constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Anadenanthera*.....30
- QUADRO 2.** Enzimas envolvidas nos processos biossintéticos de várias classes de flavonóides.....55
- QUADRO 3.** Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.....63
- QUADRO 4.** Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.....65

LISTA DE FLUXOGRAMAS

- FLUXOGRAMA 1.** Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.....61
- FLUXOGRAMA 2.** Fracionamento da fase hexânica do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.....62
- FLUXOGRAMA 3.** Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.....64
- FLUXOGRAMA 4.** Fracionamento da fase acetato de etila do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.....66

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

ATP: Adenosine triphosphate

ACC: Acetil –CoA carboxilase

CC: Cromatografia em Coluna

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP: Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

d: Duplete

DAP: diâmetro à altura do peito

dd: Duplo duplete

DMAPP: dimetilalil pirofosfato

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EtOH: Etanol

FDA: Food and Drug Administration

Fig.: Figura

FM: Fórmula Molecular

HA: Hidroalcoólica

Hex.: Hexano

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

IP: isoprene

IPP: isopentenil pirofosfato

IV: Infravermelho

J: constante de acoplamento

m: multiplete

MeO: Metoxila

MeOH: Metanol

nm: nanômetro

NADH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

PA: *per analysis* (expressão latina= Para Análise)

Pág.: página

PAL: Fenilalanina amônia liase

PM: Peso Molecular

ppm: partes por milhão

Rf: Retention factor (Fator de retenção)

RMN de ^1H : Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN de ^{13}C : Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN-2D: Ressonância Magnética Nuclear bi-dimensional

s: Simpleto

t: tripleto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
3.1 Considerações sobre a família Fabaceae	26
3.2 Considerações sobre o gênero <i>Anadenanthera</i>	28
3.3 Considerações sobre a espécie <i>Anadenanthera colubrina</i>	36
3.3.1 Características botânicas de <i>Anadenanthera colubrina</i>	37
3.4 Considerações sobre Terpenóides	38
3.4.1 Aspectos Químicos	39
3.4.2 Atividades Biológicas de Terpenóides	39
3.4.3 Considerações gerais sobre triterpenos	39
3.4.4 Aspectos gerais da biossíntese de triterpenos	40
3.5 Considerações gerais sobre Fitoesteróides	45
3.6 Considerações gerais sobre compostos fenólicos	45
3.6.1 Compostos fenólicos do tipo não flavonóide	47
3.6.2 Flavonóides	47
3.6.3 Flavan-3-ol	50
3.6.4 Atividades biológicas dos flavonóides	51
3.6.5 Aspectos biossintéticos dos flavonóides	52
4 PARTE EXPERIMENTAL	57
4.1 Estudo fitoquímico	58
4.1.1 Material vegetal	58

4.1.2 Métodos de análise.....	58
4.1.2.1 Métodos cromatográficos.....	58
4.1.2.2 Métodos espectrométricos.....	59
4.1.2.3 Pontos de fusão.....	59
4.1.3 Processamento das cascas do caule de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i>	60
4.1.3.1 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB).....	60
4.1.4 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica das cascas do caule de <i>Anadenanthera colubrina</i>	62
4.1.5 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica das cascas do caule de <i>Anadenanthera colubrina</i>	64
4.1.6 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das cascas do caule de <i>Anadenanthera colubrina</i>	65
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	68
5.1 Identificação estrutural de Ac-1.....	68
5.2 Identificação estrutural de Ac-2.....	77
5.3 Identificação estrutural de Ac-3.....	88
5.4 Identificação estrutural de Ac-4.....	95
5.5 Identificação estrutural de Ac-5.....	105
5.6 Identificação estrutural de Ac-6.....	112
5.7 Identificação estrutural de Ac-7.....	118
5.8 Identificação estrutural de Ac-8.....	124
6 CONCLUSÃO.....	133
REFERÊNCIAS.....	135

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais vêm sendo, há muito tempo, utilizadas pela população mundial como matéria-prima para o tratamento, cura e prevenção de seus males. Seu uso ocorre desde o início da civilização, quando o homem tomou consciência da necessidade de combater as doenças que afligiam o corpo e chegou aos tempos atuais, tornando-se, muitas vezes, o único recurso terapêutico eficaz disponível em muitas comunidades (DI STASI, 1996).

Em épocas remotas, a utilização de uma planta como medicamento se dava de modo empírico ou a partir da observação da natureza. O comportamento dos animais, por exemplo, foi uma fonte importante de informações sobre o potencial terapêutico das plantas. A ingestão de ervas por animais doentes ou a capacidade dos animais silvestres de distinguir entre plantas propícias ao consumo e plantas tóxicas foram dois aspectos comportamentais que chamaram a atenção e auxiliaram o homem na identificação de possíveis agentes terapêuticos de origem vegetal (DI STASI, 1996). Muitas das propriedades terapêuticas das plantas que são relatadas pela população, são confirmadas, em sua maioria, pelos estudos científicos comprovando, portanto, a importância da pesquisa etnofarmacológica (SIMÕES et al., 2002).

As primeiras descrições sobre plantas medicinais feitas pelo homem remontam às sagradas escrituras e ao papiro de Ebers. Este papiro foi descoberto e publicado por Georg Ebers, sendo traduzido pela primeira vez, em 1890, por H. Joachin e enumera mais ou menos 100 doenças e descreve um grande número de drogas de natureza animal e vegetal. Durante o período anterior à era cristã que ficou conhecido como civilização grega, vários filósofos podem ser destacados por suas obras sobre história natural. Dentre esses, sobressaem-se Hipócrates (350 aC), considerado o pai da medicina moderna, que se caracterizou por tomar a natureza como guia na escolha dos remédios (*Natura medicatrix*) e Teofrasto (372 aC), discípulo de Aristóteles, que escreveu vários livros sobre a história das plantas. Porém o isolamento das primeiras substâncias puras do reino vegetal começa a acontecer no século XVIII. Este século, juntamente com o XIX, caracteriza-se pelos trabalhos de extração, principalmente de ácidos orgânicos e de alcalóides. É desta época o isolamento de morfina (1806), quinina e estriquinina (1820) (PINTO et al., 2002).

Atualmente é notório que os produtos naturais desempenharam um importante papel no processo de descoberta de fármacos. Observando-se a história do desenvolvimento da aspirina, por exemplo, modelo do paradigma ocidental de fármaco considerado como uma molécula pura com efeitos definidos pode-se compreender este fato. No entanto, os produtos naturais, especialmente após a Segunda Guerra Mundial, foram esquecidos, acreditando-se

obter fármacos somente através da síntese de um grande número de compostos e seu teste ao acaso, sem nenhuma orientação. Somente por volta de 1970, quando a Organização Mundial de Saúde reconheceu os benefícios da medicina chinesa (paradigma oriental a base de extratos = misturas), e com o surgimento de alguns importantes medicamentos obtidos de fontes naturais, foi que cientistas e indústrias voltaram a se interessar por esse ramo. Pode-se, assim, observar que, atualmente, os produtos naturais são responsáveis, direta ou indiretamente, por cerca de 40% de todos os fármacos disponíveis na terapêutica moderna e, se considerarmos os usados como antibióticos e antitumorais, esta porcentagem é de aproximadamente 70% (CALIXTO; YUNES, 2001).

Na medicina moderna os compostos de origem natural desempenham quatro papéis importantes. Em primeiro lugar, fornecem alguns medicamentos extremamente úteis, cuja produção e comercialização na forma sintética é difícil, se não impossível. Entre eles estão grupos tão diversificados de substâncias como os alcalóides da papoula produtora de ópio, do esporão do centeio, a maioria dos antibióticos e todos os soros, vacinas e produtos afins. De fontes naturais também são retirados compostos básicos que podem ser ligeiramente modificados para tornarem-se mais eficazes ou menos tóxicos; exemplo disso são as numerosas variações da molécula da morfina. O terceiro papel desempenhado pelos produtos naturais é a sua utilidade como protótipo ou modelo para medicamentos sintéticos que tenham atividades fisiológicas semelhantes às dos originais; a procaína e os anestésicos locais costumam ser citados como representantes desta categoria.

Há um quarto papel desempenhado pelos produtos naturais, bem diferente dos acima citados, mas não menos importante. Alguns produtos naturais contêm compostos que apresentam atividade pequena ou nula em si mesmos, mas que podem ser modificados por métodos químicos ou biológicos para produzir drogas potentes, não obtidas facilmente por outros métodos. Por exemplo, o tratamento químico e biológico do estigmasterol, que ocorre em abundância no óleo de soja, permite a produção em larga escala da hidrocortisona ou de corticosteróides afins, compostos estes que ocorrem em pequenas quantidades na natureza. Não se poderá estimar devidamente o valor dos produtos naturais como precursores de medicamentos importantes (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997).

Nos países em desenvolvimento, bem como nos mais desenvolvidos, os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam a cada dia. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que mais da metade dos habitantes da Terra especialmente nos países pobres e em desenvolvimento fazem uso de ervas medicinais na busca de alívio de sintomatologia dolorosa ou desagradável, e que desse total pelo menos 30%

as utilizam por indicação médica (ESTRELA, 1995). O Brasil é o país com maior potencial para pesquisa com espécies vegetais, pois detém a maior e mais rica biodiversidade do planeta, distribuída em seis biomas distintos (NOLDIN et al., 2006). O país tem mais de 56.000 espécies de plantas distribuídas em cinco diferentes ecossistemas, constituindo cerca de 19% da flora mundial (GUILIETTI et al., 2005). Entretanto, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas (VEIGA-JUNIOR et al., 2005). O panorama para a fitoquímica é muito mais importante e decisivo para o Brasil, num futuro próximo, ao considerarmos sua grande riqueza vegetal ainda sem estudo, e as possibilidades que observamos para o desenvolvimento de novos medicamentos (CECHINEL-FILHO; YUNES, 2001).

A utilização de plantas medicinais está em contínua expansão em nível mundial. A crescente busca por agentes terapêuticos derivados de espécies vegetais justifica-se pelo surgimento de doenças ainda sem tratamento apropriado, e pelo crescimento do conhecimento científico a respeito dos fitoterápicos, como importantes alternativas terapêuticas (GUARRERA, 2005). Trabalhos de Cragg et al. (2003) indicam que cerca de 25% das prescrições dispensadas nos Estados Unidos durante os últimos 25 anos estavam relacionadas a medicamentos que continham princípios ativos de origem natural ou semi-sintética, normalmente oriundos de plantas superiores; cerca de 13% relativas a medicamentos de fontes microbianas e 2,7% de origem animal. O mesmo autor descreve ainda resultados de análise de novos fármacos aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration) e por entidades reguladoras de outros países, no período de 1983 a 1994, indicativos de que os medicamentos recomendados para tratamento de doenças infecciosas e do câncer atingiram 520 novos medicamentos com este perfil terapêutico no período, dos quais 78% na classe dos antibacterianos e 61% na classe dos antineoplásicos eram de origem natural.

Embora cerca de 100 mil compostos oriundos de plantas, e aproximadamente 20 mil compostos obtidos de microorganismos, tenham sido determinados, as fontes de metabólitos secundários parecem ser inesgotáveis em relação às possibilidades de se encontrar novas e diferentes estruturas com atividades de extrema importância a química medicinal e à agricultura (CECHINEL-FILHO; YUNES, 2001).

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 a espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Reis planta pertencente à família Fabaceae. Esta espécie é bastante utilizada como antireumática e no tratamento de doenças respiratórias, sendo rica em compostos, como triterpenos, alcalóides, flavonóides e esteróides (GUTIERREZ-LUGO et al., 2004; MIYAUCHI; YOSHIMOTO; MINAMI, 1976). Embora esta espécie já tenha sido submetida a alguns estudos, 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 planta.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o estudo quimiotaxonômico do gênero *Anadenanthera*, através do estudo químico da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Reis.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar fitoquimicamente as cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*, através de métodos de extração, isolamento e purificação dos constituintes químicos.
- Identificar e/ou elucidar a estrutura dos constituintes químicos isolados através de técnicas de IV, e RMN (uni e bidimensionais).
- Obter extratos e substâncias ativas para posterior avaliação da sua atividade biológica e preparação de derivados químicos destas substâncias.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre a família Fabaceae

A família Fabaceae pertence à divisão Angiospermae, maior divisão do reino vegetal, que compreende as plantas superiores que contém sementes encerradas no ovário e, portanto podem formar frutos. Esse grupo domina a flora terrestre, sendo reconhecidas 344 famílias agrupadas em duas classes, as monocotiledôneas e as dicotiledôneas, compreendendo mais de 200.000 espécies (JOLY, 2002).

As dicotiledôneas compreendem 48 ordens, representadas por 291 famílias dentre as quais se encontra a família Fabaceae, que é a terceira maior deste grupo, sendo superada apenas por Asteraceae e Orchidaceae, sendo ainda a maior família dentro da ordem Rosales (VARELA et al., 2004).

Três subgrupos são geralmente reconhecidos como pertencentes à família Fabaceae: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Faboideae (= Papilionoideae). Em muitas classificações, estas são consideradas como subfamílias, mas elas são algumas vezes tratadas como famílias separadas. Dentre estes três subgrupos, Faboideae apresenta-se como o maior, sendo constituída por cerca de 430 gêneros e 12.615 espécies, seguido por Caesalpinioideae com cerca de 150 gêneros e 2.700 espécies e de Mimosoideae com 40 gêneros e aproximadamente 2.500 espécies (JUDD et al., 1999).

As Mimosoideae constituem-se na menor sub-família das Leguminosae com espécies distribuídas nos trópicos, subtropicos e regiões de clima temperado, sendo a América Tropical, África e Ásia-Austrália centros de grande diversidade do grupo, com gêneros e espécies representativos no ecossistema caatinga, no nordeste brasileiro (SILVA; BARBOSA, 2000).

A família Fabaceae (classificada pelos botânicos mais antigos como Leguminosae) é rica em plantas de grande importância para o homem, como plantas ornamentais ou como fonte de corantes e madeira. São plantas de grande importância econômica; as vagens e sementes de muitas das espécies herbáceas são fonte de alimentação para humanos e animais, pertencem a esta família todos os nossos legumes, a maioria constituída por plantas cultivadas tais como *Phaseolus vulgaris* L. (feijão), *Pisum sativum* L. (ervilha), *Lens culinaris* Medik. (lentilha), *Vicia faba* L. (fava), *Cicer arietinum* L. (grão-de-bico), *Glycine max* L. (soja) e

Arachis hypogaea L. (amendoim). São fontes ricas de proteínas bem como de conteúdo mineral, sendo, portanto, de alto valor em áreas deficientes de tais constituintes. Na indústria são muito utilizadas *Indigofera anil* L. e *Indigofera hirsuta* L. (anil) e *Astragalus gummifer* (goma-arábica). Como madeiras importantes têm *Myroxylon balsamum* L. (cabriúva ou bálsamo), *Dalbergia brasiliensis* Vog. e *Dalbergia nigra* All. (caviúna), *Machaerium ocutifolium* Vog. e *Machaerium scleroxylon* Tul. (jacarandá), *Centrolobium microchaete* Mart., *Centrolobium robustum* Mart. e *Centrolobium tomentosum* Guill. (araribá), *Bowdichia nitida* Spruce., *Bowdichia virgilioides* H. B. K. e *Bowdichia martiusii* Benth. (sucupira), *Andira bahiensis* N. (angelim) e *Dipteryx odorata* Aubl. (cumarú da Amazônia). Como plantas forrageiras destacam-se *Melilotus alba* e *Medicago sativa* L. (alfafa) (JOLY, 2002; Da SILVA; SOUZA; CARREIRA, 2004). Algumas espécies são usadas como fertilizantes e aumentam largamente os níveis de nitrogênio do solo (HEYWOOD, 1996). Muitas espécies são também cultivadas apenas para uso ornamental, devido principalmente a suas belas flores como, por exemplo, *Lathyrus odoratus* L. (ervilha de cheiro), *Spartium junceum* L. (giesta), *Lupinus polyphyllus* Lindl. (lupino), certas espécies de *Phaeseolus*, *Erythrina crista-galli* L., *Erythrina falcata* Benth., *Erythrina glauca* Willd., *Erythrina mulungu* Mart., *Erythrina velutina* Willd e *Erythrina verna* Vell. (sanduba, maçaranduba, suína, corticeira-do-litoral e mulungu) e *Wisteria floribunda* D. C. e *Wisteria sinensis* Sweet. (glícia) que são trepadeiras de flores roxas (JOLY, 2002; Da SILVA; SOUZA; CARREIRA, 2004). Boa parte destas plantas pertence, originariamente, à flora brasileira.

O aparelho vegetativo desta família é muito variável. Há árvores, arbustos, ervas e trepadeiras, tanto escandentes como volúveis. Quase sempre apresentam flores compostas, alternantes, com estípulas (SCHULTZ, 1984).

A família Fabaceae encontra-se entre um dos grupos botânicos mais avaliados tanto do ponto de vista químico como farmacológico. Os gêneros que se apresentam como plantas herbáceas, considerados sob o ponto de vista quimiotaxonômico, são mais difundidas nas regiões temperadas, enquanto que as plantas lenhosas são mais representativas nas regiões tropicais e subtropicais. De modo geral, caracterizam-se como ervas anuais ou perenes, eretas, prostadas, difusas ou escandentes, subarbustos, arbustos eretos e árvores de pequeno, médio e grande porte, com sistema radicular bem desenvolvido e predominância da raiz principal sobre suas ramificações.

Espécies da família Fabaceae são reputadas pelo grande número de ocorrências de flavonóides, em especial isoflavonóides, sendo que muitos deles apresentam atividade antimicrobiana (DEWICK, 1994), como também pela presença de alcalóides com atividade

cardioativa (CORDELL; QUINN-BEATTIE; FARNSWORTH, 2001). Também podem ser encontrados taninos, alguns glicosídeos cianogênicos, cristais de proteínas e grãos de amido (JUDD et al., 1999).

3.2 Considerações sobre o gênero *Anadenanthera*

O gênero *Anadenanthera* Spegazzini faz parte do subgrupo Mimosoideae, pertencente à família Fabaceae, ordem Fabales. A primeira descrição científica apareceu em 1737 no Hortus Cliffortianus, especialmente no Jardim Clifort na Holanda. Safford (1916) acreditava que as primeiras sementes teriam vindo da Índia ou da América do Sul.

O gênero *Anadenanthera* foi estabelecido em 1955 por J. P. M. Brenan, e inicialmente fazia parte da seção Niopa do gênero *Piptadenia* compreendendo cinco espécies. Brenan fez uma revisão do gênero *Piptadenia* e utilizando critérios com a estrutura das sementes, dividiu este gênero em oito gêneros, dentre eles o gênero *Anadenanthera*. Siri Von Reis Altschul (1964) estabeleceu em sua revisão que este gênero é composto por duas espécies, *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina*, e que cada uma destas espécies possui duas variedades. *Anadenanthera peregrina* é composta por *Anadenanthera peregrina* var. *peregrina* Reis e *A. peregrina* var. *falcata* (Benth) e *A. colubrina* compreende as variedades *A. colubrina* var. *colubrina* Reis e *A. colubrina* var. *cebil* (Griseb) Reis. Esta classificação tem por critérios características morfológicas e localização geográfica (TORRES; REPKE, 2006).

Este gênero é encontrado no continente Sul Americano e nas Antilhas. As espécies têm preferência pelas savanas embora suas sementes se adaptem a variadas altitudes.

Evidências encontradas em diversos sítios arqueológicos na Argentina, Peru, Bolívia, Chile e Colômbia demonstram o uso destas espécies em rituais e cerimônias por milhares de anos. Os utensílios usados no preparo das plantas e pinturas encontradas demonstram que nestes rituais as plantas eram inaladas ou fumadas produzindo efeitos alucinógenos (TORRES; REPKE, 2006).

As espécies de *Anadenanthera* cultivadas ou selvagens tem grande importância econômica sendo empregadas como corantes na indústria têxtil, como celulose na fabricação de papel (BARBOSA, 1980). Além disso, estas plantas são fontes de um agente medicinal conhecido com goma-resina de angico, que é utilizada no tratamento de infecções

respiratórias como bronquite e pneumonia, como abortiva e na cura de constipação e dores de cabeça (HOEHNE, 1939). Entretanto o mais interessante aspecto do gênero está no seu uso na preparação de várias drogas cicatrizantes utilizadas pela população em toda a América do Sul (RIZZINI, 1971).

Praticada por séculos a arte e a ciência de curtir e tingir couro levou a uma extensa procura por todo o mundo de agentes capazes de realizar tal função. As espécies de *Anadenanthera* apresentam-se ricas em tanino, substância que quando combinada com proteína animal, impede sua putreficação e a converte em couro. Estudos relatam que a percentagem de tanino no caule de *A. peregina* var. *falcata* é de 15 a 25% e de *A. colubrina* var. *cebil* 15 a 20 % e nas sementes desta última a percentagem é de 3% (BRANDÃO, 1992). Pesquisas anteriores relatam que os taninos presentes nas madeiras tropicais são do tipo condensado formados por unidades de catequinas e flavan-3, 4-diois (DOAT, 1978).

Quase todas as plantas deste gênero já foram estudadas do ponto de vista da fitoquímica. Um número considerável de esteróides como o β -sitosterol e o ácido palmítico, assim como vários triterpenóides (lupeol e lupenona) e cumarinas (dalbergin e kulmannim) já foram encontrados no cerne da madeira (MIYAUCH et al., 1976). Das folhas foram isolados C-flavonóides como orientina e vitexina, ciclitols (inositol, pinitol, bornesitol, ononitol) (PARIS; SAINT-FIRMIN; ETCHEPARE, 1967), diversos aminoácidos como ácido 5-hidroxi-pipecolinico, L-albizina e ácido djencolico, além de alcalóides indólicos. Alcalóide é a classe de metabólito secundário mais investigadas neste gênero, sendo relatado presença de alcalóides em sementes, folhas, caules, raízes, vagens e ramos (SHULTES et al., 1977). As sementes possuem grande quantidade de três alcalóides, bufotenina, *N,N*-dimetiltriptamina e 5-hidroxi-*N*-monometiltriptamina (IACOBUCCI; RUVEDA, 1964). O Quadro 1 (pág. 30) mostra os constituintes químicos isolados de espécies deste gênero (pág. 30). As estruturas dos compostos isolados são mostradas na Figura 1 (pág. 32).

TIPO DE COMPOSTO	País (parte usada)	Referências
	<i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil	
Alcalóide		
Bufotenina	Bolívia (sementes)	RENDON; WILLY, 1985
Benzenóide		
Ácido 4-hidroxibenzóico	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Cumarinas		
Dalbergina	Japão (caule)	MIYAUCHI et al., 1976
Kuhlmannina	Japão (caule)	MIYAUCHI et al., 1976
Benzoquinona		
3,4-Dimetoxidalbergiona	Japão (caule)	MIYAUCHI et al., 1976
Esteróides		
β-Sitosterol	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Estigmasterol	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
β-Sitosterol palmitato	Japão (caule)	MIYAUCHI et al., 1976
β-Sitosterol glicosilado	Japão (caule)	MIYAUCHI et al., 1976
Fenilpropanóide		
Ácido cinâmico	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Flavonóides		
Anadanthoflavona	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Anadanthosideo	Bolívia (caule)	PIACENTE et al., 1999
Apigenina	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
3,3',4',8,9-Pentahidroflavona	Japão (caule)	MIYAUCHI et al., 1976

QUADRO 1. Constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Anadenanthera*.*Continuação do QUADRO 1.***Triterpenos**

Alnusenol	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
α -Amirina	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
β -Amirina	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Ácido betulínico	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Lupenona	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004
Lupeol	Argentina (partes aéreas)	GUTIERREZ-LUGO et al., 2004

Anadenanthera colubrina**var. colubrina****Alcalóide**

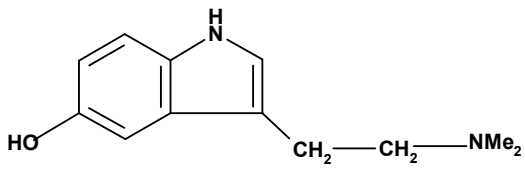
Bufotenina	Estados unidos (semente)	PACHTER et al., 1959
------------	--------------------------	----------------------

Anadenanthera peregrina**var. peregrina****Alcalóides**

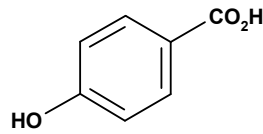
Bufotenina	Venezuela (sementes)	DE BUDOWSKI et al., 1974
Bufotenina oxido	Haiti (sementes)	PARIS et al., 1967
2-Metil-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina	Brasil (caule)	AGURELL et al., 1968
1,2-Dimetil-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina	Brasil (caule)	AGURELL et al., 1968
2-Metil-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina	Porto Rico (sementes)	SCHULTES et al., 1977
5-Metoxidimetilriptamina	Porto Rico (sementes)	SCHULTES et al., 1977
	Brasil (Folhas e caule)	AGURELL et al., 1968
<i>N,N</i> -Dimetilriptamina	Porto Rico (sementes e raiz)	SCHULTES et al., 1977
	Brasil (Folhas e caule)	AGURELL et al., 1968
<i>N</i> -metilriptamina	Brasil (caule)	AGURELL et al., 1968

Anadenanthera peregrina**var. falcata****Alcalóide**

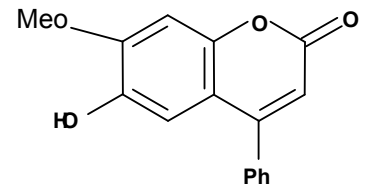
Bufotenina	Brasil (sementes)	GIESBRECHT et al., 1960
------------	-------------------	-------------------------



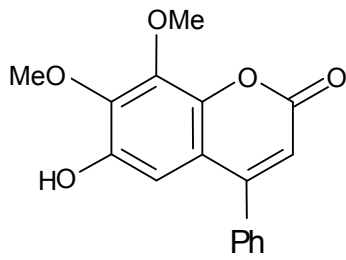
Bufotenina



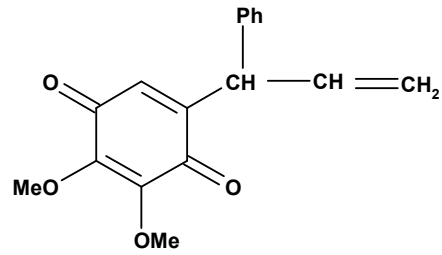
Ácido 4-hidroxibenzóico



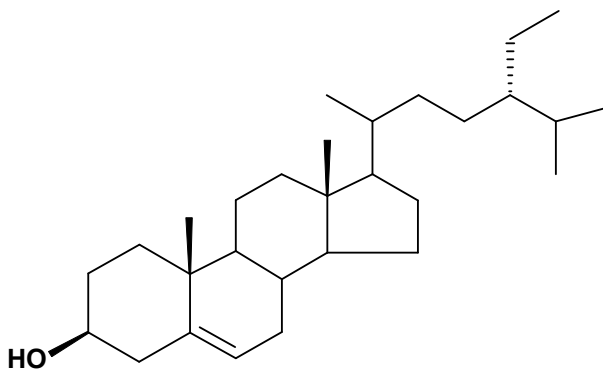
Dalbergina



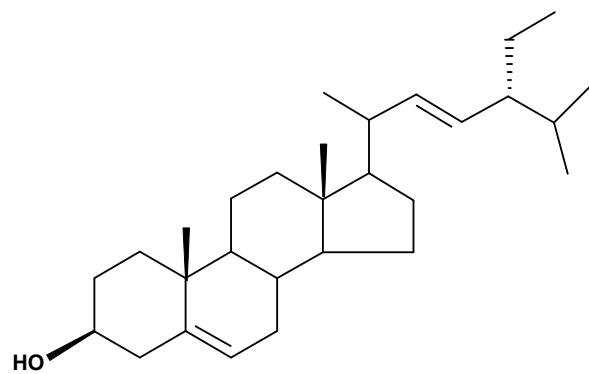
Kuhlmannina



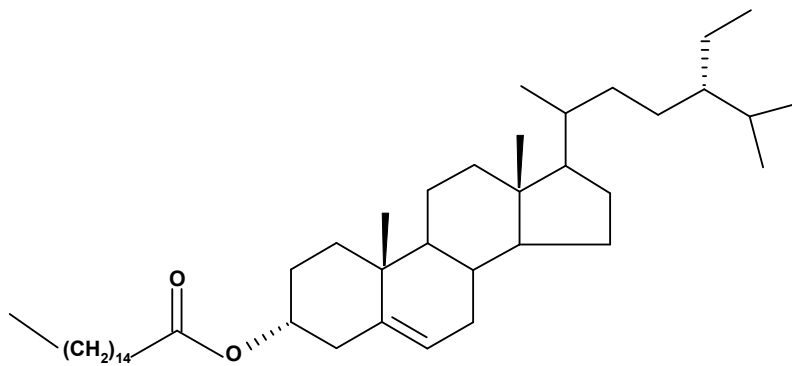
3,4-Dimetoxidalbergina



β-Sitosterol



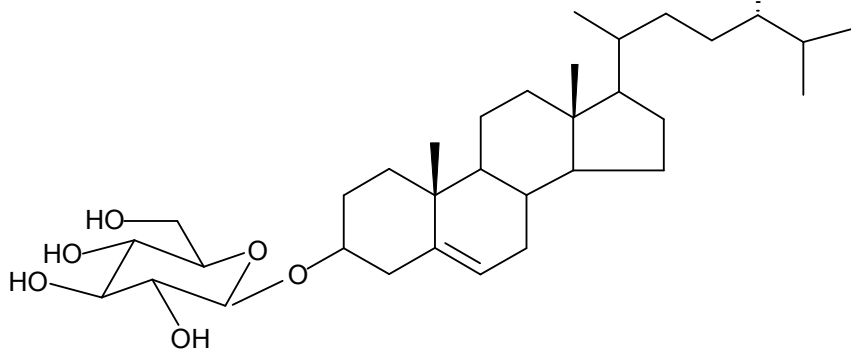
Esigmasterol



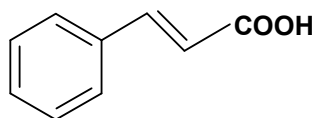
β-Sitosterol palmitato

FIGURA 1. Constituintes químicos isolados das espécies do gênero *Anadenanthera*.

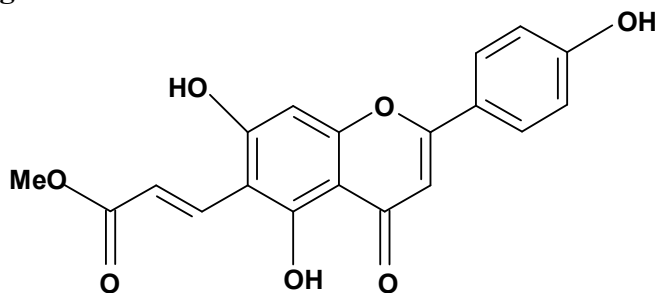
Continuação da Figura 1.



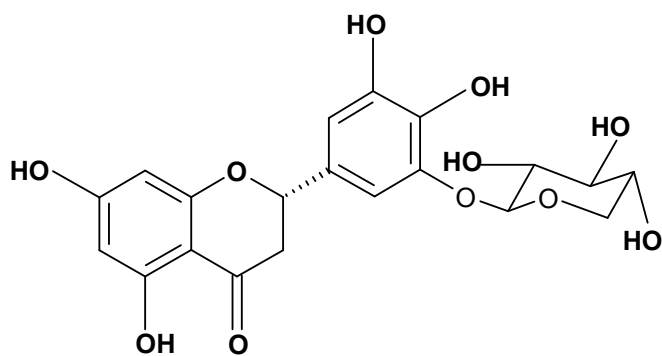
β -Sitosterol glicosilado



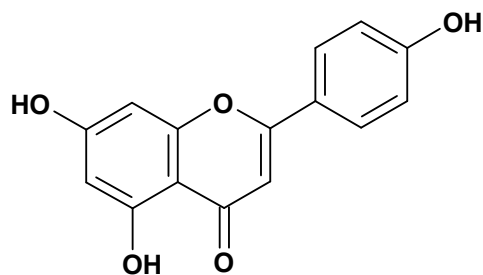
Ácido cinâmico



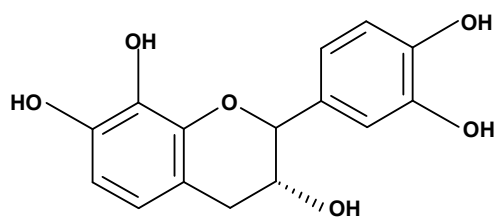
Anadanthoflavona



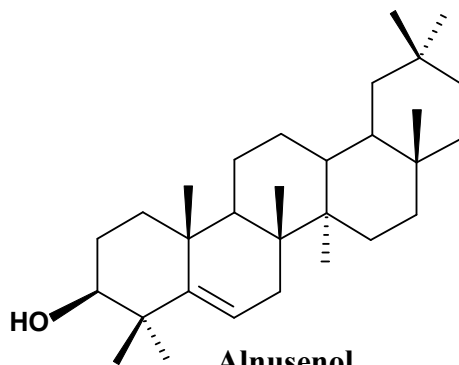
Anadanthosideo



Apigenina

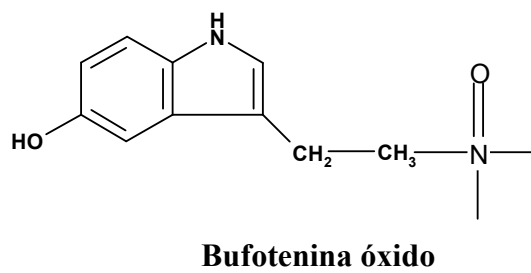
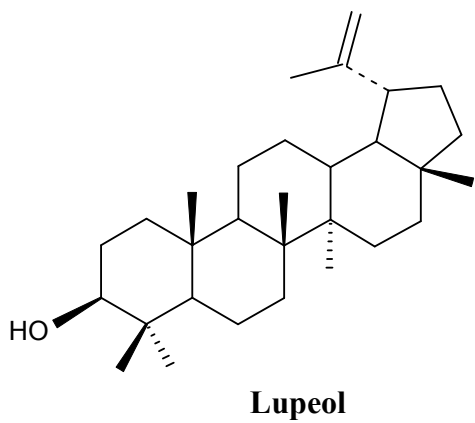
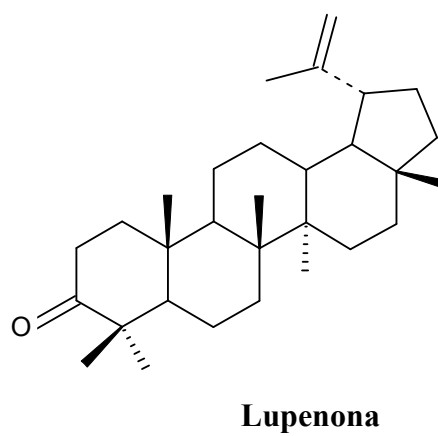
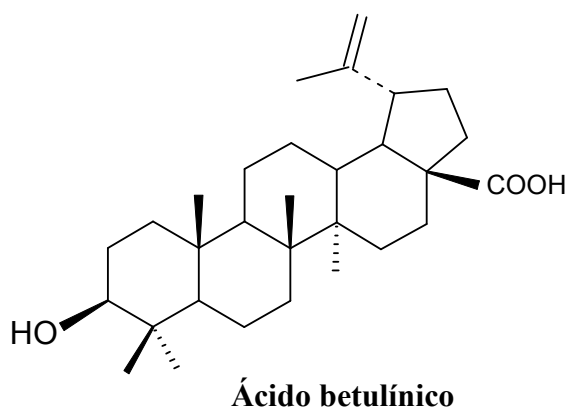
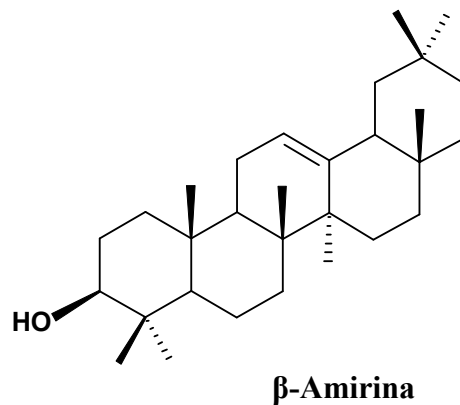
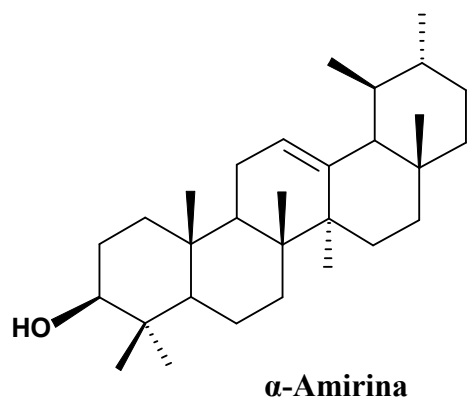


3,3',4',8,9-pentahidroxi flavana

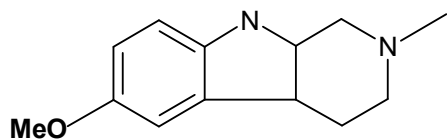


Alnusenol

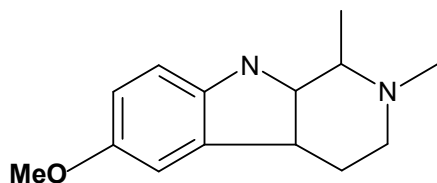
Continuação da Figura 1.



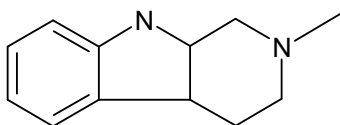
Continuação da Figura 1.



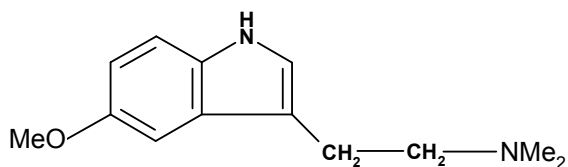
2-Metil-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-β-carbonila



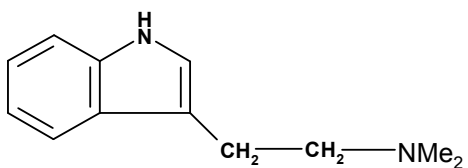
1,2-Dimetil-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-β-carbonila



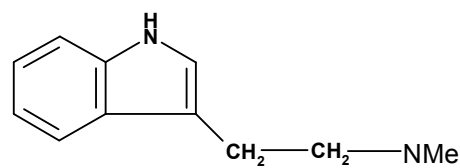
2-Metil-1,2,3,4-tetrahidro-β-carbonila



5-Metoxidimetiltriptamina



N,N-Dimetiltriptamina



N-Metiltriptamina

3.3 Considerações sobre a espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Reis.

A espécie *Anadenanthera colubrina* pertence à família Fabaceae e possui como sinonímia científica os nomes *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan, *Niopa macrocarpa* (Bentham) Brit & Rose e *Piptadenia macrocarpa* Bentham (TORRES; REPKE, 2006).

Esta espécie pode ser encontrada na Argentina, Bolívia, Paraguai e Brasil. Em nosso país ela é a espécie de angico com maior abrangência geográfica estando presente nos estados da Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Sergipe e São Paulo (FIGURA 2, pág. 37).

Anadenanthera colubrina é uma espécie arbórea com até 20 m de altura, bastante representativa nas caatingas, com utilização muito diversificada. Popularmente é conhecida por uma gama de denominações como angico, angico-vermelho, cebil colorado, yopo, angico-verdadeiro, guarapiraca, brincos-de-sagui entre outros (CARVALHO, 1994). Tem grande importância econômica por apresentar uma madeira pesada com elevada resistência mecânica e durabilidade sendo utilizada na construção rural, naval e civil, além de possuir um alto teor de lignina, sendo considerada excelente para a produção de álcool e coque. O angico é usado como planta ornamental em parques e na arborização rodoviária e é recomendado no reflorestamento de mata ciliar em locais com ausência de inundação. Fornece pólen e néctar sendo importante na apicultura e quando fenadas e secas suas folhas constituem boa forragem (CANDIDO; GOMES, 1996).

Quando ferido, o tronco de *A. colubrina* exsuda em abundância uma goma-resina amarelada, sem sabor e cheiro, semelhante às gomas do cajueiro e arábica. A composição desta goma, um heteropolissacarídeo, contém arabinose (67,8%), galactose (24,1%), ácido urônico (5,9%) e traços de ramnose, apresentando baixa viscosidade e sendo empregada como adesivo e no tratamento de problemas respiratórios (PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997; SILVA; RODRIGUES; PAULA, 1998).

Na medicina popular a casca é usada em infusos, xaropes, maceração e tinturas e tem propriedades hemostáticas (GONZALEZ; SILVA, 1987), depurativa, adstringente e peitoral (DESMARCHELIER et al., 1999). O uso da resina e folhas, na forma de xarope e chá, é

considerado depurativo do sangue (GONZALEZ; SILVA, 1987), ainda é recomendada para reumatismo e bronquite (DESMARCHELIER et al., 1999).

Vários estudos químicos já foram realizados com esta espécie, sendo relatado o isolamento de terpenóides, flavonóides, iridóides, bezenóides, polifenóis e alcalóides (GUTIERREZ-LUGO et al., 2004; MIYAUCHI; YOSHIMOTO; MINAMI, 1976). As sementes de *A. colubrina* encerram boa quantidade do alcalóide indólico bufotenina que possui propriedades alucinógenas. (RATCLIFFE, 1971).

Os extratos aquosos e metanólicos de *A. colubrina* apresentaram atividade antioxidante *in vitro* (DESMARCHELIER et al., 1999).

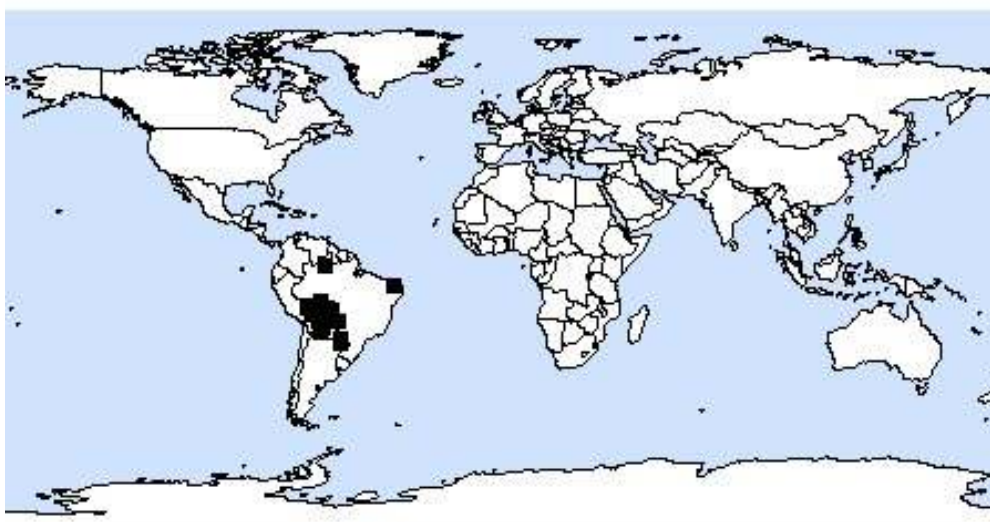


FIGURA 2. Mapa de distribuição da espécie *Anadenanthera colubrina*, representada em preto (www.mobot.org).

3.3.1 Características botânicas de *Anadenanthera colubrina*.

Apresenta-se como uma árvore comumente com 8 a 20 m de altura e 30 a 50 cm de diâmetro à altura do peito (DAP), podendo atingir até 30 m de altura e 90 cm de DAP na floresta estacional (FIGURA 3, pág. 38). No Cerrado e na Caatinga, o angico-vermelho apresenta porte menor, com altura variando de 3 m a 15 m. O tronco é reto ou tortuoso, fuste com até 13 m de altura. Copa abaulada com os galhos apresentando acúleos e lenticelas. Casca: com espessura de até 30 mm. Casca externa geralmente parda-grisácea e acinzentada e com muitas variações em sua morfologia, como a) completamente coberta de acúleos, escura,

profundamente gretada, áspera, apresentando arestas salientes; b) com poucos acúleos e c) pode ser lisa, totalmente desprovida de acúleos e ter fissuras longitudinais pouco profundas. Casca interna esbranquiçada. Folhas: bipinadas com até 30 pares de folíolos opostos e 60-80 pares de foliólulos; pecíolo com glândula preta elipsóide, localizada junto à inserção e mais algumas menores entre os últimos pares de folíolos. Flores: hermafroditas; brancas, pequenas, reunidas em capítulos globosos axilares ou terminais. Fruto: folículo achatado, deiscente, coriáceo, castanho-avermelhado, com superfície rugosa e dotada de pequenas excrescências, com 15 cm a 32 cm de comprimento por 2 cm a 3 cm de largura. Cada fruto contém 8 a 15 sementes. Semente: castanha a pardo-avermelhada escura, brilhante, orbicular, lisa, sem asa, comprimida ou achatada, com pequena reentrância hilar. com 2 cm de comprimento e 1,5 cm de largura (CARVALHO, 1994).



FIGURA 3: Fotos da espécie *A. colubrina* var. *cebil* (Adaptada de Silva, 1999).

3.4 Considerações sobre Terpenóides

Os terpenóides constituem uma classe de metabólitos secundários distribuídos na flora e fauna, marinha e terrestre ocorrendo na forma livre ou em forma de ester, éter e glicosídeo (MAHATO; KUNDU, 1994). São conhecidos pelas suas importantes funções biológicas e fisiológicas e, por isso, muitos são utilizados na área farmacêutica (DEWICK, 2002).

3.4.1 Aspectos Químicos

Os terpenóides constituem uma grande família de metabólitos secundários, compreendendo cerca de 30.000 terpenos, classificados de acordo com o número de unidades de isopreno, que vão se ligando entre si, orientadas em sentido inverso (cabeça-cauda): hemiterpenóides, C₅; monoterpenóides, C₁₀; sesquiterpenóides, C₁₅; diterpenóides, C₂₀; sesterpenos, C₂₅; triterpenóides, C₃₀; e tetraterpenóides C₄₀ (DUBEY et al., 2003). O isopreno (IP) é produzido naturalmente, mas não está envolvido diretamente na formação dos produtos pertencentes a estas classes. As unidades bioquimicamente ativas de isopreno são na realidade o dimetilalil pirofosfato (DMAPP) e o isopentenil pirofosfato (IPP) (NIERO; MALHEIROS, 2007).

3.4.2 Atividades Biológicas de Terpenóides

Os terpenóides apresentam funções variadas nos vegetais e de modo geral possuem diversas atividades farmacológicas (NIERO; MALHEIROS, 2007).

Os monoterpenos são os principais constituintes dos óleos voláteis, importantes comercialmente no fabrico de sabões, detergentes, cosméticos e perfumaria, além de serem atrativos dos polinizadores. Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto muitos diterpenóides dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenóides e seus derivados esteroidais apresentam uma gama de funções como proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos, outros atuam na germinação das sementes e na inibição do crescimento da raiz (NIERO; MALHEIROS, 2007).

3.4.3 Considerações gerais sobre triterpenos

Os triterpenos são metabólitos secundários muito difundidos na natureza, principalmente no Reino Vegetal, especialmente nos látex e resinas como glicosídeos, ésteres

ou livres, e são constituídos por múltiplas unidades isoprênicas (C5). Ocorrem também no Reino Animal como é o caso do esqualeno, obtido do óleo de fígado de tubarão.

De acordo com os esqueletos básicos são divididos em seis grupos: damarano, gamacerano, lanostano, lupano, oleanano e ursano, onde cada grupo apresenta uma variedade estrutural em decorrência de perda ou adição de grupos metilênicos, abertura de anel ou formação de novos e, principalmente, rearranjos de grupos metílicos do esqueleto padrão (MAHATO; KUNDU, 1994).

Recentemente, têm-se isolado alguns triterpenos com novos esqueletos, porém com uma única via biossintética. Muitos com ciclização incompleta ou com ciclização dentro da cadeia, ou ainda, com duas ciclizações consecutivas sendo que essa ciclização inicia-se desde o final da cadeia (MAHATO; SEM, 1997)

Eles apresentam diversas propriedades medicinais, destacando-se os efeitos antiinflamatórios, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (NIERO; MALHEIROS, 2007). A betulina, triterpeno mais abundante na natureza, é o precursor na biossíntese do ácido betulínico, sendo este o composto biologicamente mais ativo deste grupo. Estes compostos têm apresentado várias atividades biológicas, entre as quais destaca-se a atividade antiinflamatória. Trabalhos recentes também têm demonstrado que os ácidos ursólico e oleanólico exercem inúmeras atividades biológicas, dentre as quais atividade antiinflamatória, analgésica, antitumoral, anti-HIV e tripanossomicida, além de serem inibidores da acetilcolinesterase, podendo ser utilizados no tratamento do Mal de Alzheimer. Estes são apenas alguns exemplos da importância desta classe de compostos presentes, principalmente, em plantas superiores, muitas delas, encontradas na flora brasileira (NIERO; MALHEIROS, 2007).

3.4.4 Aspectos gerais da biossíntese de triterpenos

Os triterpenos são formados a partir de unidades isoprênicas. Inicialmente ocorre formação da acetoacetil CoA através de condensação do tipo cabeça-cauda, sendo catalisada pela enzima tiolase. Uma terceira molécula de acetil CoA adiciona-se ao grupo carbonila na posição três da acetoacetil CoA para formar 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA. Este é, então, reduzido a ácido mevalônico, sendo provavelmente precedido pelo intermediário ácido

mevárdico. Como a reação é praticamente irreversível o ácido mevalônico deve ser o precursor direto para compostos isoprenóides (LUCKNER, 1969).

A enzima mevaldate redutase transfere um hidrogênio estereoespecificamente do lado “A” do NADH ou NADPH para o substrato. O ácido mevalônico formado é, então, fosforilado no grupo alcoólico primário para formar o ácido mevalônico monofosfato e em uma segunda etapa da reação o ácido pirofosfato. O isopentenil pirofosfato é obtido de um composto posterior por descarboxilação e eliminação de uma molécula de água. A reação requer a presença de ATP (LUCKNER, 1969).

A polimerização do pirofosfato de isopentenila inicia-se com a ionização da ligação C-O do pirofosfato de dimetilalila (o qual é formado por isomerização do pirofosfato de isopentenila) resultando em um centro catiônico que sofre adição de uma molécula de pirofosfato de isopentenila gerando pirofosfato de geranila, que na etapa reacional seguinte recebe outra molécula de pirofosfato de isopentenila produzindo o pirofosfato de farnesila (LUCKNER, 1969).

A formação do esqualeno ocorre através da condensação tipo cabeça-cauda entre moléculas de pirofosfato de farnesila. Trata-se de uma reação estereoespecífica, em que um átomo de hidrogênio do carbono 1 de um dos dois grupos farnesila é recolocado por um átomo de hidrogênio originado do NADPH (LUCKNER, 1969).

Inicialmente ocorre substituição de um dos dois grupos farnesila por um grupo carregado negativamente, seguido de eliminação do grupo pirofosfato, o que resulta na formação de um derivado de nerolidol. Este derivado na substituição nucleofílica da segunda molécula de pirofosfato de farnesila com a eliminação do grupo difosfato e inversão de configuração no átomo de carbono 1. Como a dupla ligação no derivado de nerolidila é deslocada, uma carga positiva forma-se no carbono 2 desta molécula, a qual é neutralizada pelo substituinte X e, então, removido da molécula o próton do carbono 2 que encontra-se no plano é eliminado. Durante a sequência de deslocamento da dupla ligação do carbono 2 e 3 para os carbonos 3 e 4 da porção nerolidila associado com a eliminação do grupo X, um átomo de hidrogênio de NADPH é introduzido na molécula e o esqualeno é formado (LUCKNER, 1969).

A formação dos sistemas de anéis triterpênicos cíclicos a partir do esqualeno inicia-se com a oxidação do composto isoprenóide a esqualeno-2,3-epóxido. O anel epóxido é rompido pela ação de prótons formando o grupo hidroxila no carbono 3 e uma carga positiva no carbono 2. O 3-hidroxi-esqualeno formado cicliza-se espontaneamente. O número e a

conformação dos anéis formados dependem das dobras da cadeia do esqualeno (LUCKNER, 1969).

O cátion esteróide (XI) sofre um rearranjo Wagner-Meerwein alargando o anel D. Depois, fecha-se um anel adicional seguido de rearranjo Wagner-Meerwein, em que novamente ocorre alargamento construindo o anel E. Esta estrutura, cátion lupenil, é o material de partida para a síntese dos triterpenos pentacíclicos das séries lupano, friedelano, oleanano e ursano por eliminação de prótons (DEWICK, 2002) (FIGURA 4, pág. 42)

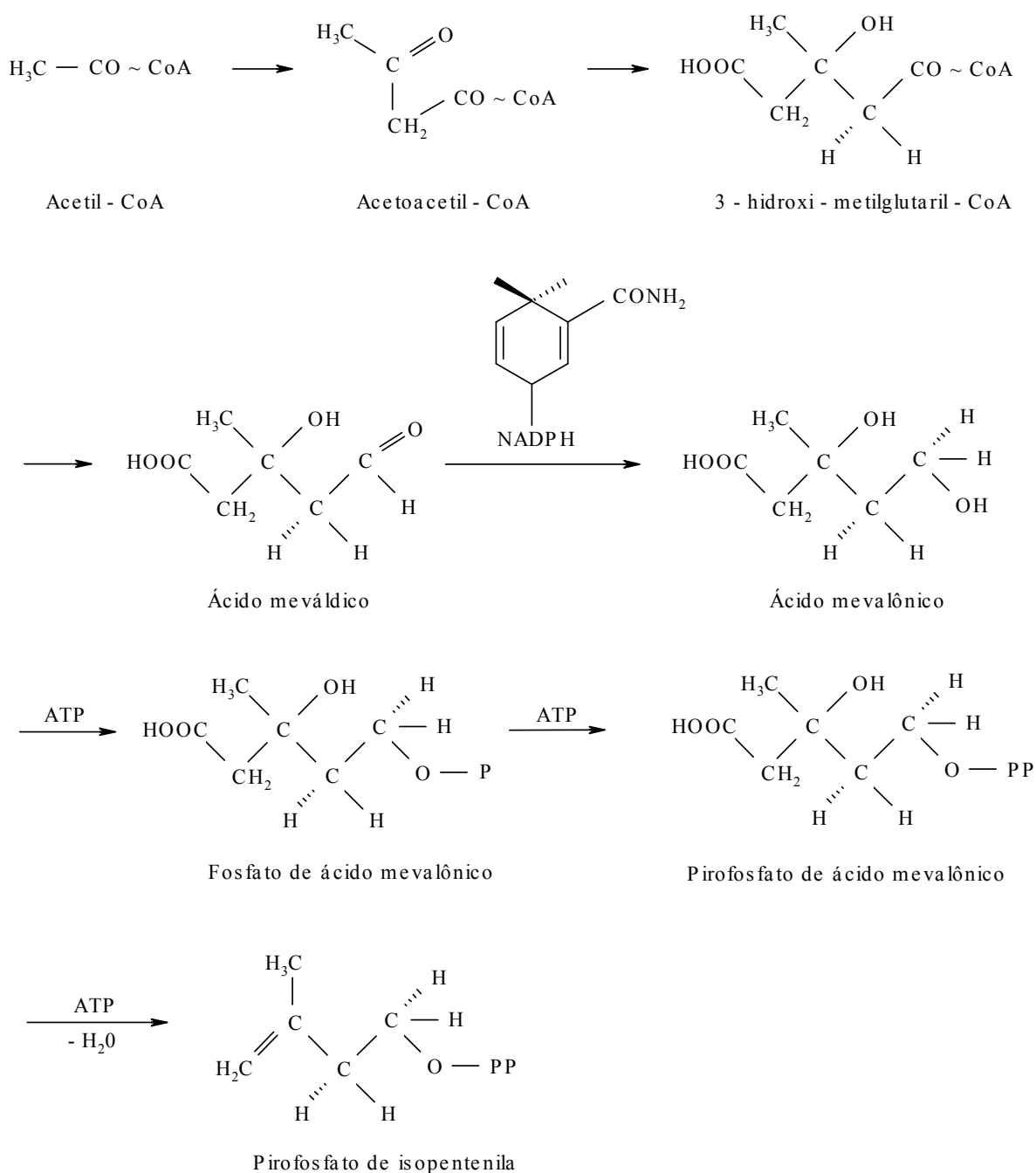
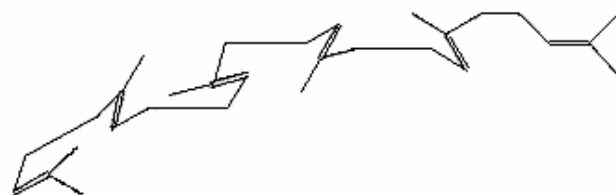
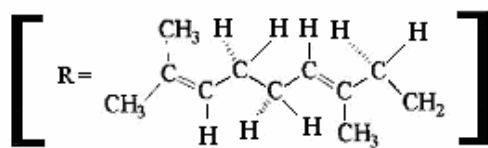
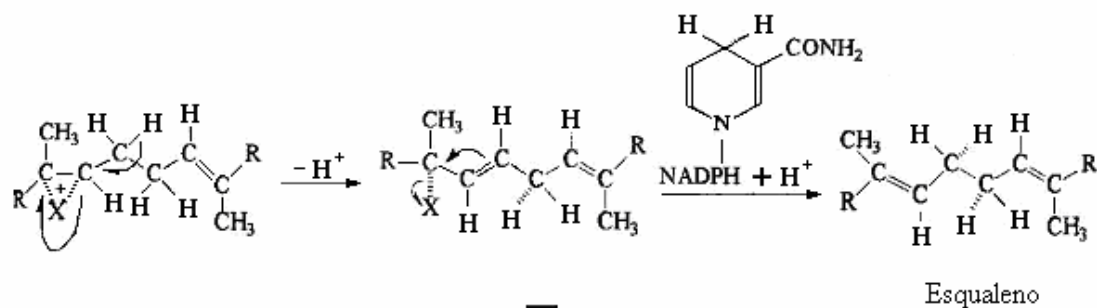
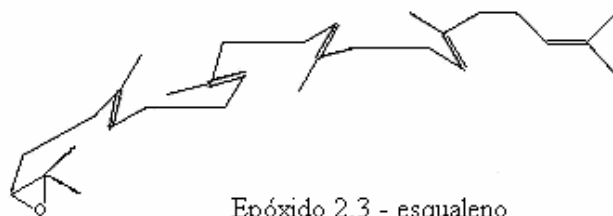


FIGURA 4. Representação esquemática da biossíntese de triterpenos.

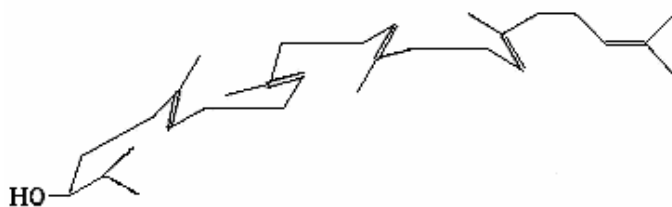
Continuação da FIGURA 4.



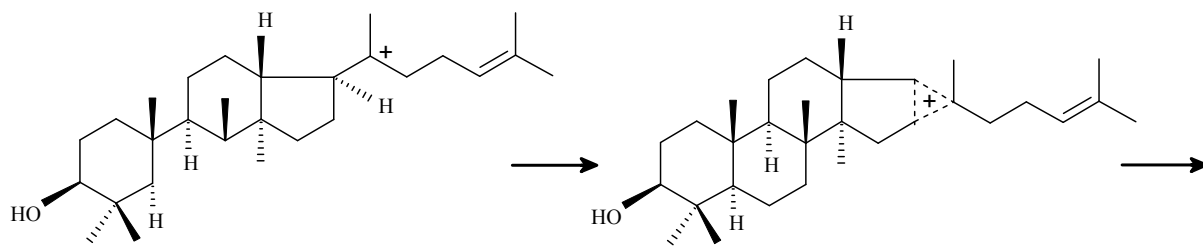
Esqualeno



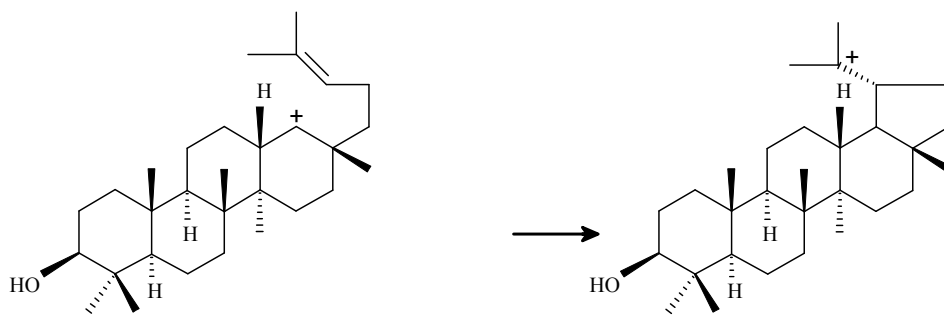
Epóxido 2,3 - esqualeno



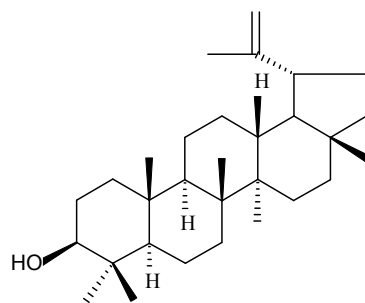
Continuação da FIGURA 4.



Cátion esteróide



Cátion lupenil



Lupeol

3.5 Considerações gerais sobre Fitoesteróides

Os fitosteróides constituem um grupo de metabólicos secundários formados via ciclização do eualeno. Possuem o esqueleto tetracíclico do peridrosciclopentanofenantreno e não são considerados triterpenos verdadeiros, visto que possuem em seus esqueletos um número de átomos de carbono menor que C_{30} (27 a 29 átomos de carbono), devido à degradação que ocorre durante a sua formação. Em sua maioria, compreendem uma grande variedade estrutural de esteróis, glicosídeos cardiotônicos, saponinas, saponinas esteroidais e hormônios sexuais. Essa diversidade resulta principalmente de alterações nas cadeias laterais e diferenças na substituição e do grau de insaturação do núcleo (MANN; DAVIDSON; HARBONE, 1994).

Esteróides de plantas são importantes produtos agrícolas para indústrias farmacêuticas e alimentícias. Eles são emulsificantes úteis para a indústria de cosméticos e suprem a maior parte de intermediários esteroidais e precursores para a produção de hormônios farmacêuticos. Alguns com estruturas específicas inibem a deterioração oxidativa de óleos servindo como potentes agentes antipolimerizantes para óleos de fritura. Atividades hipocolesterolêmicas de alguns fitoesteróis (por exemplo, esteróides da soja, componentes de óleos vegetais e sitosterol) foram documentadas. Os análogos saturados dos fitoesteróis e seus ésteres foram sugeridos como agentes efetivos para baixar o nível de colesterol do sangue oferecendo benefícios cardiológicos (ABIDI, 2001).

3.6 Considerações gerais sobre compostos fenólicos

Os compostos fenólicos compreendem desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligado a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998). Ribéreau-Gayon (1968) adotou a seguinte classificação para estes compostos: pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza.

Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza estão os fenólicos encontrados geralmente em todo reino vegetal, mas às vezes podem estar localizados em uma só planta.

Os compostos fenólicos de fontes vegetais podem se divididos em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais. Os denominados de flavonóides são os que apresentam a estrutura química descrita como C6-C3-C6. Já os denominados de não flavonóides são classificados como: os derivados das estruturas químicas C6-C1 específicas dos ácidos hidroxibenzoico, gálico e elágico; os derivados das estruturas químicas C6-C3 específicas dos ácidos cafeico e p-cumárico, hidroxicinamatos e os derivados das estruturas químicas C6-C2-C6 específicas do trans resveratrol, cis-resveratrol e trans-resveratrol-glicosídeo. (MELO; GUERRA, 2002; BURNS et al., 2001)

A presença dos compostos fenólicos em plantas tem sido muito estudada pelo fato destes apresentarem atividades farmacológicas e por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (NAGEN et al., 1992; GAMACHE et al., 1993; IVANOVA et al., 1997; AZIZ et al., 1998; FERNANDEZ; SAENZ; GARCIA, 1998; HOLLMAN; KATAN, 1998), além de participarem de processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (PELEG; BODINE; NOBLE, 1998).

As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha/azul, são as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Especialmente os derivados do ácido hidroxibenzoico e do ácido hidroxicinâmico dentre estes cita-se: as antocianinas, os flavonóis, as catequinas e os taninos (hidrolisados ou condensados) nas quais estão freqüentemente presentes. Muitos destes compostos apresentam uma gama de efeitos biológicos, incluindo ações antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora. Estes compostos fenólicos apresentam diversas funções de defesa para as plantas, não somente contra agentes do meio ambiente (luz, temperatura e umidade), mas para fatores internos incluindo diferenças genéticas, nutrientes, hormônios, contribuindo para a sua síntese (AHERNE; O'BRIEN, 2002; BURNS et al., 2001; KÄHKÖNEN, HOPIA; HEINONEN, 2001; SELLAPAN, AKOH; KREWER, 2002; SLUIS et al., 2001; ZHENG; WANG, 2001)

Diversos pesquisadores têm trabalhado no isolamento, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, além de englobarem uma gama de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas), eles são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas (KING; YOUNG, 1999).

3.6.1 Compostos fenólicos do tipo não flavonóide

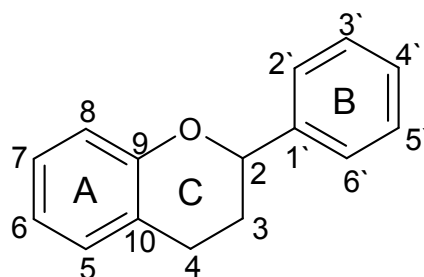
Os ácidos fenólicos estão reunidos em dois grupos, a saber: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzóico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico são compostos fenólicos de ocorrência natural que possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por 3 carbonos ligada ao anel. Os ácidos p-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais comuns na natureza. Estes ácidos existem nas plantas, usualmente na forma de ésteres, a exemplo do ácido clorogênico, éster do ácido quínico, cuja molécula é constituída pelo ácido quínico esterificado ao ácido caféico. Também são encontrados na forma de glicosídeos ou ligados a proteínas e a outros polímeros da parede celular e, raramente, como ácidos livres. Isômeros do ácido clorogênico e do ácido caféico são descritos com antioxidantes (BELITZ; GROSCH, 1988; DURÁN; PADILLA, 1993; HARBORNE, 1973).

No grupo dos ácidos hidroxibenzóicos, compostos que possuem grupo carboxílico ligado ao anel aromático, destacam-se os ácidos procatecuíco, vanílico, siríngico, gentísico, salicílico, elágico e gálico. Esses dois grupos de ácidos fenólicos têm apresentado propriedades antioxidantes (HARBORNE, 1973). Embora outras características também contribuam para a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e seus ésteres, esta é, geralmente, determinada pelo número de hidroxilas presentes na molécula (RAJALAKSMI; NARASIMHAN, 1995).

Os ácidos sináptico, ferúlico e p-cumárico são antioxidantes mais ativos do que os derivados do ácido benzóico, tais como ácido procatecuíco, siríngico e vanílico. Isso se deve à dupla ligação presente na molécula dos derivados do ácido cinâmico ($-\text{HC}=\text{CHCOOH}$), que participa da estabilização do radical por ressonância de deslocamento do elétron desemparelhado, enquanto que os derivados do ácido benzóico não apresentam essa característica (WANASUNDARA; AMAROWICZ; SHAHIDI, 1994).

3.6.2 Flavonóides

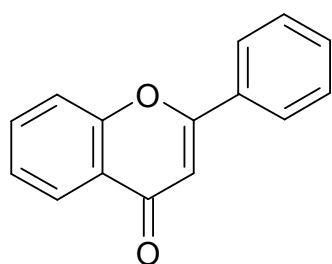
Os flavonóides são compostos de baixo peso molecular, contendo 15 átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), que são denominados A, B e C. Um outro aspecto estrutural comum é a ligação de dois grupos fenila a uma cadeia de três carbonos, isto é, derivados difenilpropânicos.



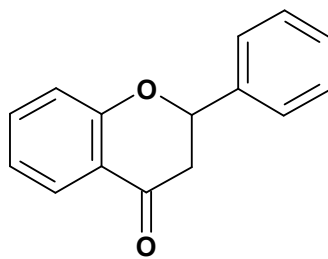
As várias classes de flavonóides diferem no grau de oxidação e de substituição do anel C, enquanto que compostos individuais em uma classe diferem quanto à substituição dos anéis A e B (PIETTA, 2000) (FIGURA 5, pág. 49). Nos compostos tricíclicos, as unidades carbônicas são denominadas núcleos A, B e C e os carbonos recebem numeração com números ordinários para os núcleos A e C, e os mesmos números, seguidos de uma linha (') para o núcleo B. Alguns autores substituem a numeração 9 e 10 nos flavonóides por 8a e 4a, respectivamente.

Estas substâncias são usualmente oxigenadas e possuem substituintes hidroxila, metoxila, metilendioxila e prenila. São isolados de um grande número de plantas vasculares, com aproximadamente 8.000 compostos individuais conhecidos (PIETTA, 2000).

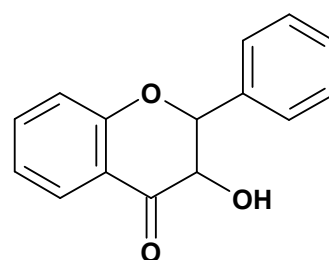
Um grande número de flavonóides ocorre como O-glicosídios, no qual um ou mais dos grupos hidroxila do flavonóide estão ligados a um açúcar ou açúcares. Esta forma, chamada conjugada, também é conhecida como heterosídio. Nos flavonóides C-glicosídios o açúcar está ligado a um átomo de carbono. Quando o metabólito ocorre sem conjugação com esses carboidratos ou então quando é submetido à hidrólise ácida, é denominado aglicona ou genina (ZUANAZZI, 1999).



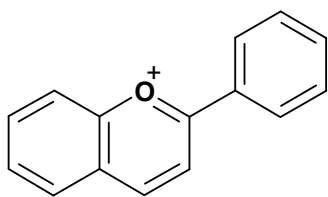
Flavona



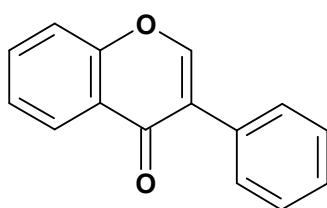
Flavonona



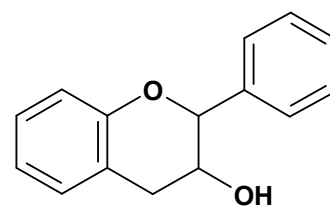
Flavonol



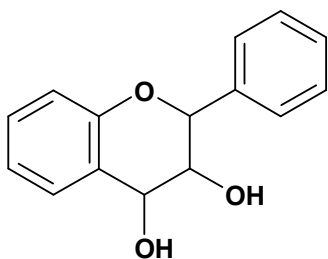
Antocianidina



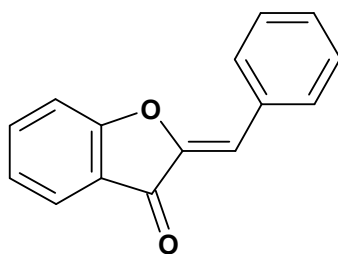
Isoflavona



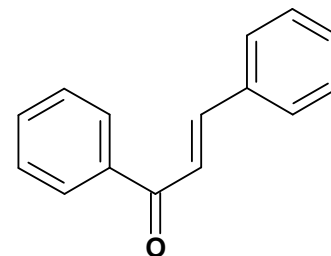
Catequina



Leucocianidina



Aurona



Chalcona

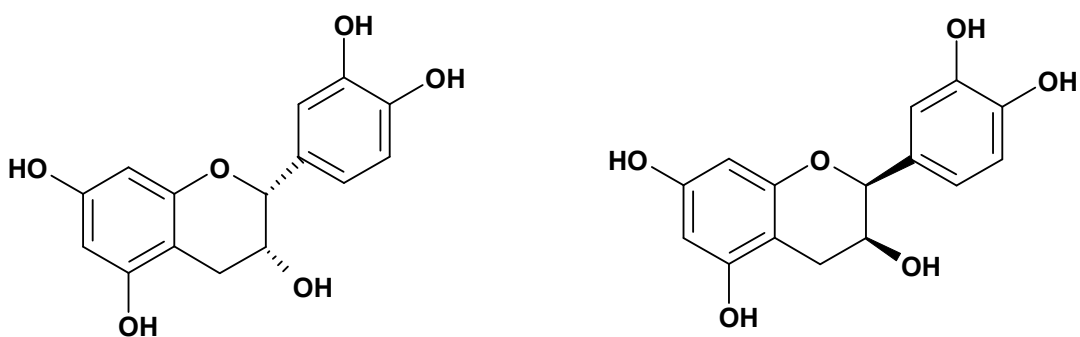
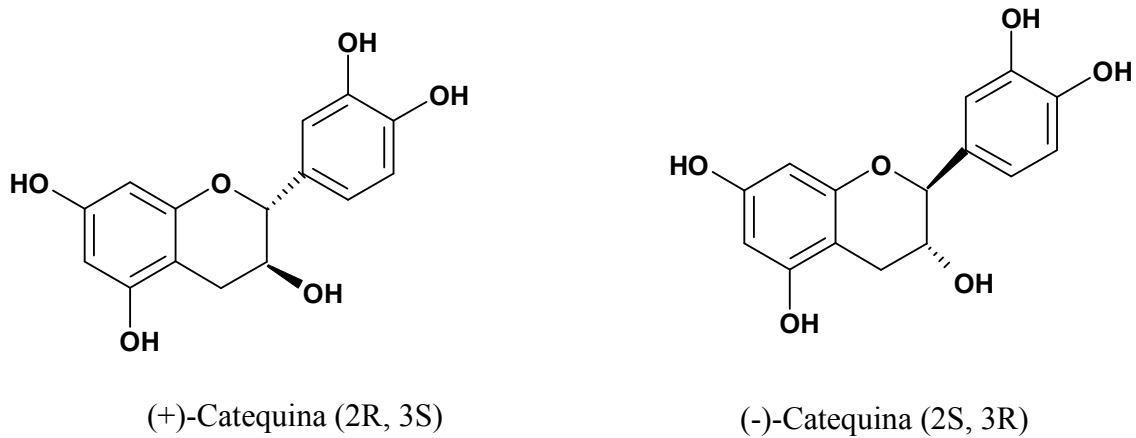
FIGURA 5: Classes de flavonóides

Flavonóides podem ser utilizados como marcadores taxonômicos. Isto é devido, sobretudo a: abundância relativa em quase todo o reino vegetal, sua especificidade em algumas espécies, sua relativa facilidade de identificação, sua relativa estabilidade e seu acúmulo com menor influência do meio ambiente (VON-POSER; MENTZ, 1999).

3.6.3 Flavan-3-ol

Os Flavan-3-ols também denominados de catequinas, pertencem à classe dos flavanóides que não possuem o grupo 4-C=O nem conjugação entre os anéis A e B. Esta classe tem recebido grande importância nos últimos anos por ser as unidades constituintes de proantocianidinas. (PORTER, 1988; FERREIRA; BEKKER, 1996; FERREIRA; LI, 2000).

Devido aos seus diferentes efeitos fisiológicos, o grupo flavan - 3 - ol é de grande interesse. Nas plantas podem agir como sinais químicos para atrair ou dissuadir insetos e proporcionar uma defesa contra agentes patogênicos e tensões ambientais (TREUTTER, 2006). No que diz respeito à sua saúde humana, eles mostram atividades cardiovasculares, anticancerígenas e efeitos antivirais (FRIEDMAN, 2006; KERMENZ, 2006). No entanto, apesar de catequina e epicatequina terem sido analisadas por diferentes métodos analíticos e testado em vários modelos, alguns aspectos não foram investigadas ainda (DONOVAN, 2006; VISON, 2006). No que diz respeito à sua estrutura, catequina, epicatequina possuem dois centros quiral. Portanto, é importante lembrar que as propriedades de substâncias com centro quiral como (+) - catequina e (-) - epicatequina e seus enantiômeros (FIGURA 6, pág. 51) depende da conformação das moléculas. Conseqüentemente, alguns estudos têm mostrado efeitos fisiológicos totalmente diferentes para cada enantiômero (DONOVAN et al., 2006; NYFELER et al., 1983; CAO et al., 2006). Durante a biossíntese catequina, epicatequina são predominantemente sintetizados como (+) - catequina e (-) - epicatequina (PFEIFFER et al., 2006). Os enantiômeros (-) - catequina e (+) - epicatequina, frequentemente referidos como *ent*- catequina e *ent* - epicatequina, raramente ocorrem na natureza e sua presença parece ser induzida por ações enzimáticas (ELLIS; YEAP ; PORTER, 1983). Ultimamente, a ocorrência natural de todos os enantiômeros de flavan - 3 - ol, tanto (+/-)- catequina e (+/-)- epicatequina foi descrito em sementes do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) (KOFINK.; PAPAGIANNPOULOS; GALENSA, 2007).



FIGUR. (-)-Epicatequina (2R, 3R) seus enantiômer (+)-Epicatequina (2S, 3S)

3.6.4 Atividades biológicas dos flavonóides

Flavonóide é um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural, sendo amplamente distribuído no reino vegetal. Encontrados em plantas principalmente sob a forma de glicosídeos, são os pigmentos amarelos, laranjas, azuis e vermelhos das flores, reponsáveis também pela cor amarela das folhas no outono. São importantes para o crescimento normal, desenvolvimento e defesa das plantas. Atuam como atrativos visuais favorecendo a polinização, como um mecanismo de defesa diante do ataque de insetos e microorganismos e como protetores da radiação ultravioleta por suas propriedades antioxidantes (MUCHIETTI; MARTINO, 2006). Em adição, os flavonóides estão envolvidos na transferência de energia, morfogênese e determinação do sexo, níveis de respiração e fotossíntese, ação de hormônios de crescimento e reguladores da planta (SMITH; BANK, 1986), expressão de genes e comportamento.

São importantes constituintes da dieta humana, apesar de não serem considerados nutrientes. Encontram-se em uma grande variedade de vegetais, bebidas como chá e vinho tinto, e em frutas, especialmente as cítricas. O fato de que estejam presentes na dieta e que se atribua a eles uma grande variedade de atividades biológicas (PIETTA, 2000). Por exemplo, eles podem ser utilizados como proteção para a integridade vascular (BERETZ; CAZENAVE, 1988), como agentes antiosteoporóticos (EVANS, 1994) e por suas propriedades antihepatotóxicas (SOIKE; PESCHLOW, 1987). Alguns flavonóides foram examinados para a verificação da sua atividade em modelos experimentais de tumores do cólon *in vitro* e *in vivo* (DESCHNER et al., 1991). Certos flavonóides inibiram a atividade de enzimas tais como a aldose-redutase (IWU et al., 1990) e xantina-oxidase (PATHAK et al., 1991). Os flavonóides também foram reportados por atuar no trato gastrintestinal como agentes antiúlcera (DI CARLO et al., 1999), antiespasmódico (CAPASSO et al., 1991), anti-secretório e antidiarréico (DI CARLO et al., 1993). Os flavonóides também são conhecidos pelos seus efeitos antialérgicos. Estes efeitos são em parte atribuídos à influência dos flavonóides sobre a produção de histamina (BERG; DANIEL, 1988).

Os flavonóides também podem prevenir catarata diabética por inibir a aldose-redutase óptica (CHAUDRY et al., 1983). As ações de alguns flavonóides podem estar relacionadas com a sua capacidade de interagir com o óxido nítrico (NO), que é um mediador de vários sistemas biológicos (MONCADA et al., 1991). Outras atividades importantes como agentes antioxidantes e anti-radicais livres (BURDA; OLESZEK, 2001) também são relatadas.

Os flavonóides estão presentes também em muitas plantas medicinais e em muitos medicamentos em todo o mundo. Alguns deles e algumas das drogas que os contêm adquiriram importância terapêutica, como por exemplo, o etilrutósídeo e a diosmina empregados no tratamento de afecções circulatórias (MUCHIETTI; MARTINO, 2006).

3.6.5 Aspectos biossintéticos dos flavonóides

O esqueleto básico dos flavonóides, dois anéis aromáticos conectados por uma ponte de três carbonos (C6-C3-C6), resulta de rotas biossintéticas separadas: a do ácido chiquímico e a do acetato, via ácido mevalônico (FIGURA 7, pág. 56). O anel B e a parte heterocíclica do esqueleto flavônico são originados a partir de um éster do ácido hidroxicinâmico, ordinariamente denominado de 4-cumaril-CoA, ao passo que o núcleo A se origina de três

unidades de acetato, via malonil-CoA. Ambos precursores derivam de carboidratos (metabolismo primário). A malonil-CoA é formada do acetil-CoA e CO₂ catalisado pela enzima acetil-CoA carboxilase (ACC). 4-Cumaril-CoA e ésteres dos ácidos hidroxicinâmicos relacionados, são supridos pelos primeiros passos da via geral dos fenilpropanóides. Esta via inicia-se a partir do aminoácido aromático fenilalanina, sendo este, por sua vez, sintetizado através da via chiquimato. A chave dessa reação é a desaminação da fenilalanina catalisada pela fenilalanina amônia liase (PAL). Esta enzima liga o metabolismo primário com a via dos fenilpropanóides, sendo que nas plantas está sob o controle de vários fatores internos e externos, tais como: hormônios, níveis de nutrição, luz, infecção por fungos, lesões, entre outros. O produto da reação, *trans*-cinamato, é hidroxilado ao 4-cumarato pela 4-hidroxilase cinamato, um citocromo P450 monoxigenase de função mista. A ativação do 4-cumarato pela formação do éster CoA é catalisada pela ligase de 4-cumarato-CoA. O 4-cumaril-CoA pode ser hidroxilado na posição 3 para cafeoil-CoA, que pode servir como substrato para a formação de chalconas (GOTTLIEB; BORIN, 1998).

A principal enzima envolvida na formação do esqueleto flavônico é a chalcona sintetase (CHS), este substrato catalisa a condensação gradual de três unidades de acetato malonil-CoA com 4-cumaril-CoA ao C15 intermediário 2',4',6',4-tetrahidroxichalcona. O composto 6'-deoxichalcona, isoliquiritigenina, é um similar sintetizado a partir do malonil-CoA e do 4-cumaril-CoA via CHS, envolvendo nessa reação uma redutase dependente (NADPH). Os dois tipos de chalcona citados podem ser precursores diretos das auronas e de outros fenilpropanóides. Mas, em particular o 6-hidroxi e 6-deoxichalcona são os genitores imediatos de todos os tipos de flavonóides e isoflavonóides. Contudo, as enzimas envolvidas nesta etapa ainda não são conhecidas.

A ligação estereoespecífica da chalcona, catalisada pela enzima chalcona isomerase (CHI), provê a 2S-flavanona com o esqueleto flavonóide típico. Dois tipos de CHI são conhecidos, um catalisa a ciclização de 6'-hidroxichalcona a 5-hidroxi-flavanona; a outra CHI conhecida é o substrato chave na isomerização da 6'-hidroxi e 6'-deoxichalcona para a 5-hidroxi e 5-deoxichalcona, respectivamente (HELLER; FORKMANN, 1994).

Flavanonas são precursores diretos da maioria das classes de flavonas e isoflavonas, como também na formação de dois flavonóides intermediários: 4-flavanol e o dehidroflavanol (BOHM, 1994).

Flavonas são biossintetizadas a partir de flavanonas pela introdução de uma dupla ligação entre C-2 e C-3. Dois tipos de enzimas, a flavona sintase I-2-oxoglutarato dioxigenase dependente (FNS I) e a flavona sintase II (FNS II) são os catalizadores dessa reação.

A formação de isoflavonas a partir de flavanonas se dá pela participação da 2-hidroxi-isoflavanona sintase (IFS), um citocromo P450 monoxigenase de função mista. Esta enzima aceita tanto 5-hidroxi como 5-deoxiflavanonas como substrato. A reação em questão envolve um rearranjo oxidativo da flavanona, incluindo a troca do anel da posição 2 para a posição 3 (DEWICK, 1994).

DEWICK (1994), a partir de experimentos realizados com *Cicer arietinum* (Fabaceae), postulou que a síntese de pterocarpanos procede a partir de isoflavonas, através de um intermediário pterocarpeno. Esse processo é mediado pela enzima pterocarpano sintase (PTS) e envolve a formação de um intermediário pterocarpeno. A transformação de pterocarpanos hidroxilados na posição 6a se dá a partir de ação específica da enzima pterocarpano 6a-hidroxilase (P6aH). As prenilações nesta classe de isoflavonóides são bem freqüentes e ocorrem pela presença de uma enzima específica, a pterocarpano prenil transferase (PTP).

A redução do grupo carbonila das flavonas origina compostos com esqueleto 4-flavanol. Esta reação é catalisada pela flavanona 4-redutase (FNR) e provê os precursores imediatos para a formação de 3-deoxiantocianinas, que, por sua vez, ocorrem em um número restrito de plantas.

Finalmente, as flavanonas podem se hidroxiladas na posição 3, formando dehidroflavonóis, que são intermediários biossintéticos na formação de flavanóis, catequinas, procianidinas e antocianidinas. Esta reação é catalisada pela 3-flavanona hidroxilase (FHT), uma 2-oxoglutarato dioxigenase dependente.

Dehidroflavonóis são substratos diretos para a abundante classe dos flavonóis, como também para a formação de substâncias com esqueleto 3,4-dióis, conhecidos como leucocianidinas. Flavonóis são formados a partir de dehidroflavonóis por introdução de uma dupla ligação entre os carbonos 2 e 3, reação esta catalisada pela enzima flavonol sintase (FLS), outra 2-oxoglutarato dioxigenase dependente. A redução de dehidroflavonóis na posição 4, catalisada pela enzima 4-dehidroflavonol redutase (DFR), leva à formação de compostos do tipo *cis*-dióis, que são, por sua vez, intermediários na formação de catequinas, procianidinas e antocianidinas (HELLER; FORKMANN, 1994). As principais enzimas envolvidas nos processos biossintéticos das várias classes de flavonóides são mostradas no Quadro 2 (pág. 55) .

Enzima	Sigla	Numeração
Acetil-CoA carboxilase	ACC	I
Fenilalanina amônia liase	PAL	II
Cinamato-4-hidroxilase ligase	C4H	III
4-Cumarato-CoA ligase	4CL	IV
4-Cumaril-CoA 3-hidroxilase	CC3H	V
Chalcona sintase	CHS	1
Policetidio redutase	PKR	2
Chalcona isomerase	CHI	3
2-Hidroxiisoflavanona sintase	IFS	4
2-Hidroxiisoflavanone desidrase	IFD	5
Flavona sintase I	FNS I	6
Flavona sintase II	FNS II	
Flavanona 4-redutase	FNR	7
Flavanona 3-hidroxilase	FHT	8
Flavonol sintase	FLS	9
Dehidroflavonol 4-redutase	DFR	10
Leucoantocianidina 4-redutase	LAR	11
Antocianidina sintase	ANS	12
Flavonóide 3- <i>O</i> -glucosil transferase	AGT	13
Pterocarpano sintase	PTS	14
Pterocarpano 6a-hidroxilase	P6aH	15
Prenil-pterocarpano transferase	PTP	-
Prenil transferase	PT	-
2'-Hidroxilase isoflavona	2'H	-
Isoflavona redutase	IFR	-
S-Adenosil Metionina	SAM	-
2-Hidroxiisoflavanona desidrase	2HFR	-
3',5'-hidroxilase	3',5'-H	-

QUADRO 2. Enzimas envolvidas nos processos biossintéticos de várias classes de flavonóides.

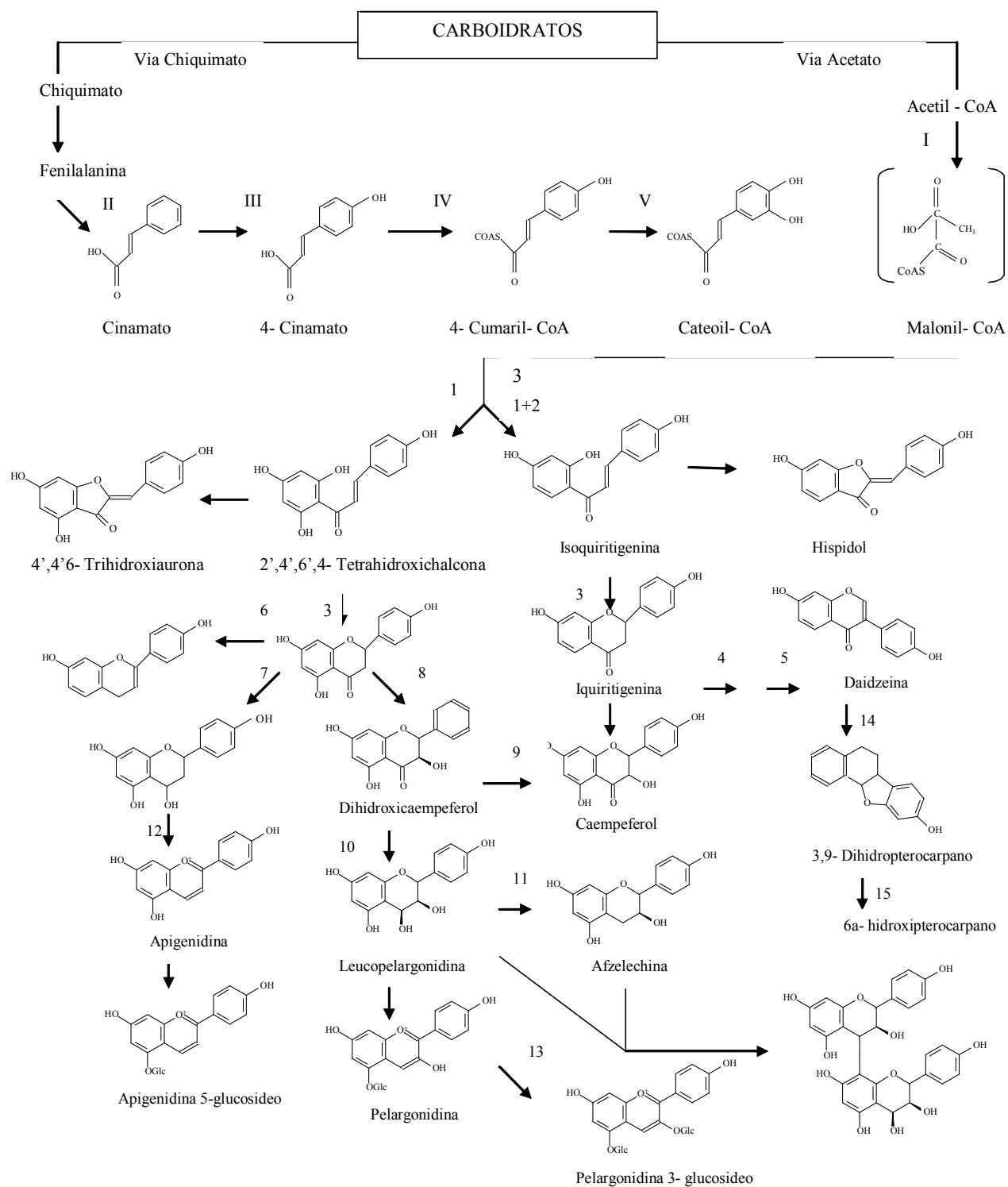


FIGURA 7. Representação esquemática da biossíntese de flavonóides, segundo Dewick (1994).

PARTE EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Estudo fitoquímico

4.1.1 Material vegetal

O material vegetal, cascas do caule, foi coletado no município de Santa Rita, Estado da Paraíba, em fevereiro de 2006, e identificado pela botânica Profa. Maria de Fátima Agra do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba (LTF/UFPB). Uma exsicata desta espécie encontra-se catalogada no Herbário JPB/UFPb. Coleção de M. F. Agra et al. 6805 (JPB).

4.1.2 Métodos de análise

4.1.2.1 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. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras e as quantidades de sílica 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) por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58 e/ou pela pulverização com o reagente vanilina clorídrica. 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 variação do ponto de fusão das substâncias (o critério de pureza adotado é que a diferença entre o ponto de fusão final e o ponto de fusão inicial não seja maior que 3 °C).

Como fase móvel foram usados os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, isoladamente ou em misturas binárias em gradiente crescente de concentração.

4.1.2.2 Métodos espectrométricos

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados em pastilha de KBr, em espectrofotômetro marca BOMEM, modelo MB 100.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN de ^{13}C) uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro da marca MERCURY-VARIAN (LTF/UFPB) operando a 200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C) e VARIAN- NMR-SYSTEM (LTF/UFPB) operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C). As amostras para análise foram preparadas dissolvendo-se cerca de 10 mg das mesmas em solvente deuterado da Cambridge Isotope Laboratories (CDCl_3 , CD_3OD e $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). 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 ($\delta_{\text{H}} = 7,24$), metanol ($\delta_{\text{H}} = 3,30$ ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , estes mesmos parâmetros foram utilizados: clorofórmio ($\delta_{\text{C}} = 77,0$), metanol ($\delta_{\text{C}} = 49,00$ ppm).

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

4.1.2.3 Pontos de fusão

Os pontos de fusão das amostras foram determinados em aparelho digital para ponto de fusão, marca Microquímica, modelo MQAPF-302, 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.

4.1.3 Processamento das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.

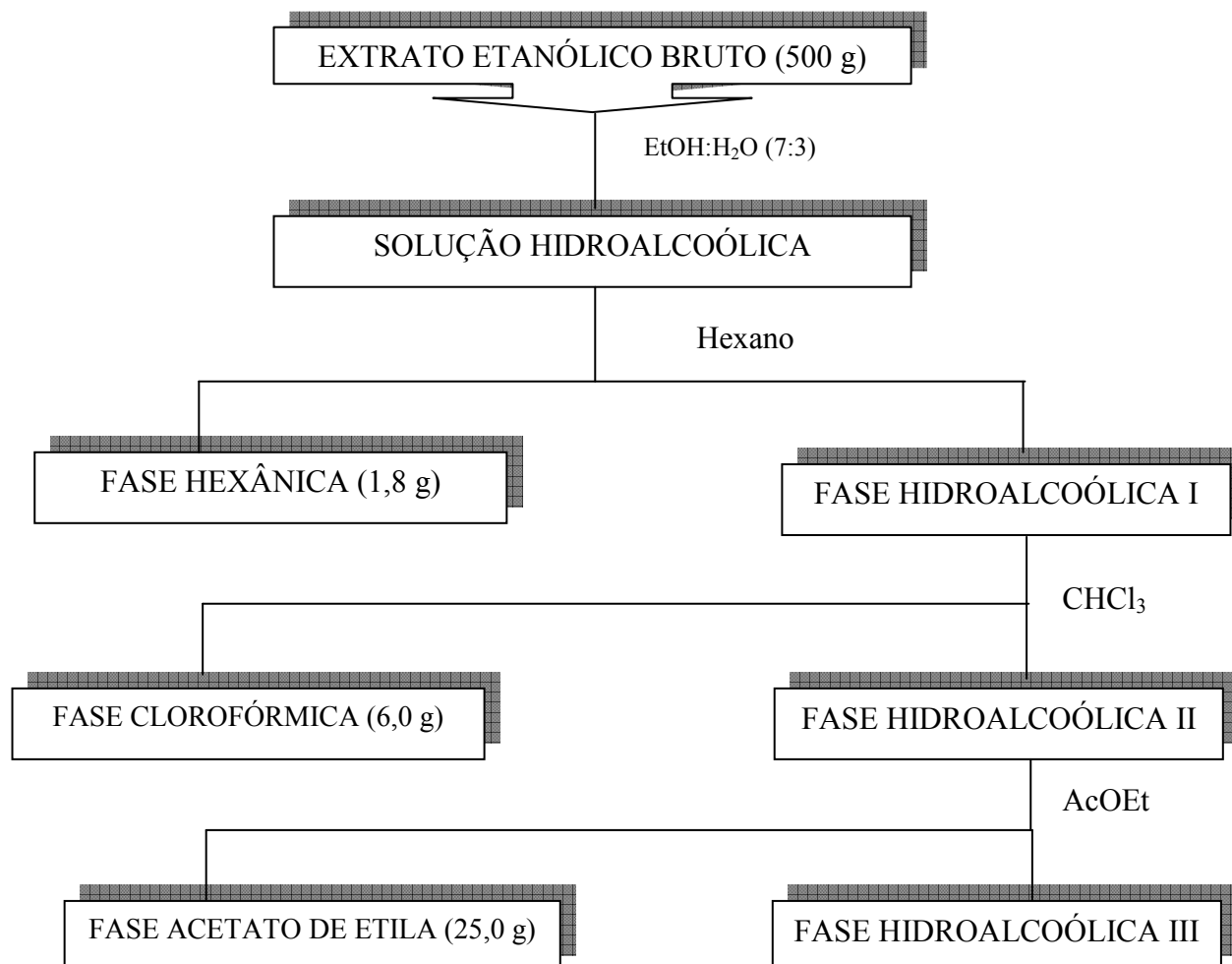
As cascas do caule de *Anadenanthera colubrina* foram secas em estufa com ar circulante à temperatura média de 45 °C durante 3 a 4 dias. Após a secagem, o material vegetal foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico tipo Harley, obtendo-se 10 kg de pó seco.

4.1.3.1 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB)

O material vegetal seco e pulverizado foi submetido à maceração exaustiva com etanol (EtOH) a 95 %, em um recipiente de aço inoxidável. Foram feitos três processos de extração num 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 rotavapor a uma temperatura média de 50 °C. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), que pesou 2,5 kg (25 % em relação ao peso seco da planta).

Uma parte do extrato etanólico bruto (500 g) foi suspenso em uma solução de etanol/água (7:3 v/v) sob agitação mecânica, obtendo-se uma solução hidroalcoólica. Esta foi submetida a uma extração líquido/líquido, em uma ampola de separação, sob agitação manual de forma exaustiva e sucessiva, utilizando seguidamente os solventes hexano, clorofórmio e acetato de etila. As soluções obtidas foram tratadas com Na₂SO₄ anidro e submetidas à filtração a vácuo. Após esse processo, os solventes foram evaporados em evaporador rotativo a uma temperatura média de 50 °C, fornecendo as fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila (FLUXOGRAMA 1, pág. 61).

FLUXOGRAMA 1. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Anadenanthera colubrina*.



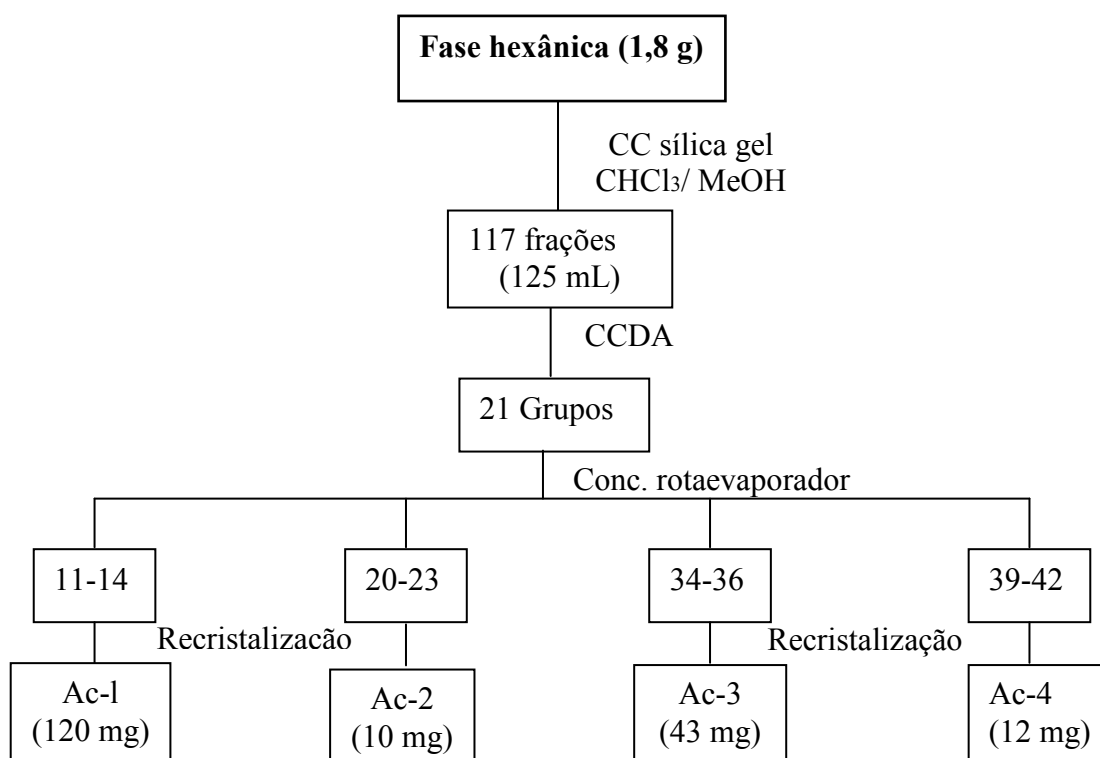
4.1.4 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.

A fase hexânica (1,8 g) foi submetida à coluna cromatográfica (CC), utilizando como adsorvente sílica-gel e como eluentes hexano, clorofórmio e metanol puros ou em misturas binárias, obedecendo um grau crescente de polaridade. Conseguiu-se um total de 117 frações que foram coletadas a cada 125 ml e concentradas no evaporador rotativo.

Todas as frações foram monitoradas através de (CCDA) em diversos sistemas de solventes, e foram reunidas de acordo com os seus Rf, após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara de vapores de iodo. As frações foram reunidas em 18 grupos como mostrado no QUADRO 3 (pág.63).

As frações reunidas foram monitoradas através de CCDA. As frações 11-14, 20-23, 34-36 e 39-42 após concentração em evaporador rotativo, apresentaram-se como sólidos brancos cristalinos que após sucessivas recristalizações com hexano e gotas de clorofórmio, forneceram a substâncias codificadas como **Ac-1**, **Ac-2**, **Ac-3** e **Ac-4** respectivamente sendo encaminhadas para análise espectral. O esquema geral para o isolamento dessas substâncias é mostrado no FLUXOGRAMA 2, abaixo.

FLUXOGRAMA 2. Fracionamento da fase hexânica do extrato etanólico bruto de *Anadenanthera colubrina*.



Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex	100	01-05	01-05
Hex:CHCl ₃	80:20	06-14	06-10 11-14
Hex:CHCl ₃	60:40	15-16	15 16-18 19
Hex:CHCl ₃	50:50	17-30	20-23 24-30
Hex:CHCl ₃	40:60	31-38	31-33 34-36 37-38
Hex:CHCl ₃	30:70	39-52	39-42 43-52
CHCl ₃	100	53-59	53-59
CHCl ₃ :MeOH	99:01	60-71	60-62 64-71
CHCl ₃ :MeOH	95:05	72-95	72-95
CHCl ₃ :MeOH	90:10	96-117	96-117

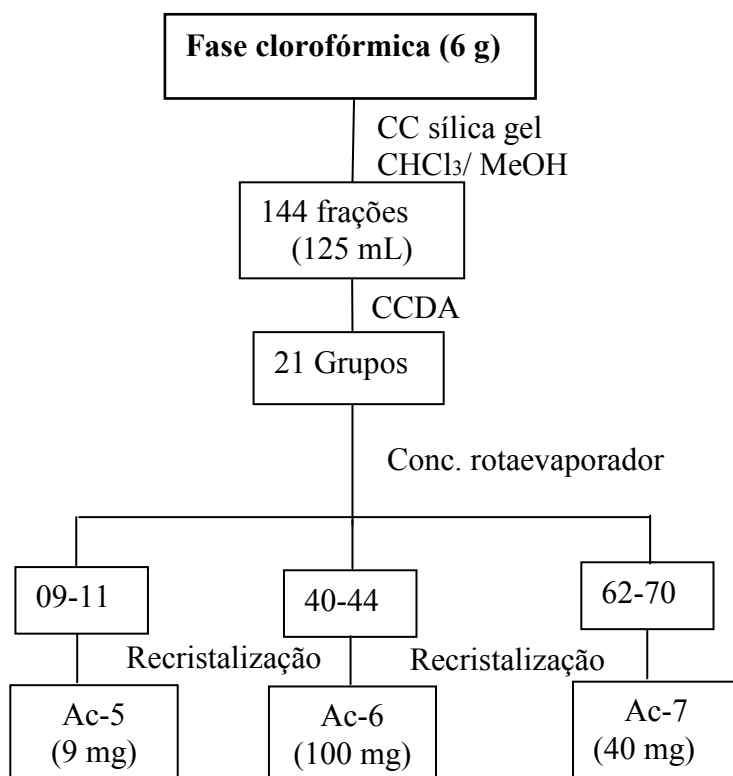
QUADRO 3. Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto de *Anadenanthera colubrina*.

4.1.5 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.

A fase clorofórmica (6 g) foi submetida à coluna cromatográfica (CC), utilizando como adsorvente sílica-gel e como eluentes hexano, acetato de etila e metanol em misturas binárias ou sendo apenas o solvente puro, obedecendo a um grau crescente de polaridade. Conseguiu-se um total de 144 frações que foram coletadas a cada 125 ml e concentradas no evaporador rotativo.

Todas as frações foram submetidas à cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) sendo analisadas e reunidas as frações que possuíam R_f semelhantes (QUADRO 4, pág. 65). As frações 09-11 e 40-44 apresentaram-se como sólidos brancos cristalinos que após sucessivas recristalizações com hexano e gotas de clorofórmio, forneceram a substâncias codificadas como Ac-5 e Ac-6. A fração 62-70 apresentou-se como um sólido branco cristalino que após sucessivas recristalizações com metanol, forneceu a substância codificada como Ac-7 (FLUXOGRAMA 3). Ac-5, Ac-6 e Ac-7 foram encaminhadas para análise espectral.

FLUXOGRAMA 3. Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto de *Anadenanthera colubrina*.



Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:CHCl ₃	50:50	01-23	01-08 09-11 12-15 16-20 21-23
Hex: CHCl ₃	40:60	24-29	24-29
Hex: CHCl ₃	30:70	30-52	30-39 40-44 45-52
CHCl ₃	100	53-59	53-59
CHCl ₃ : MeOH	99:01	60-89	60-61 62-70 71-89 90-99
CHCl ₃ : MeOH	95:05	90-119	100-110 111-119
CHCl ₃ : MeOH	90:10	120-144	120-144

QUADRO 4. Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto de *Anadenanthera colubrina*.

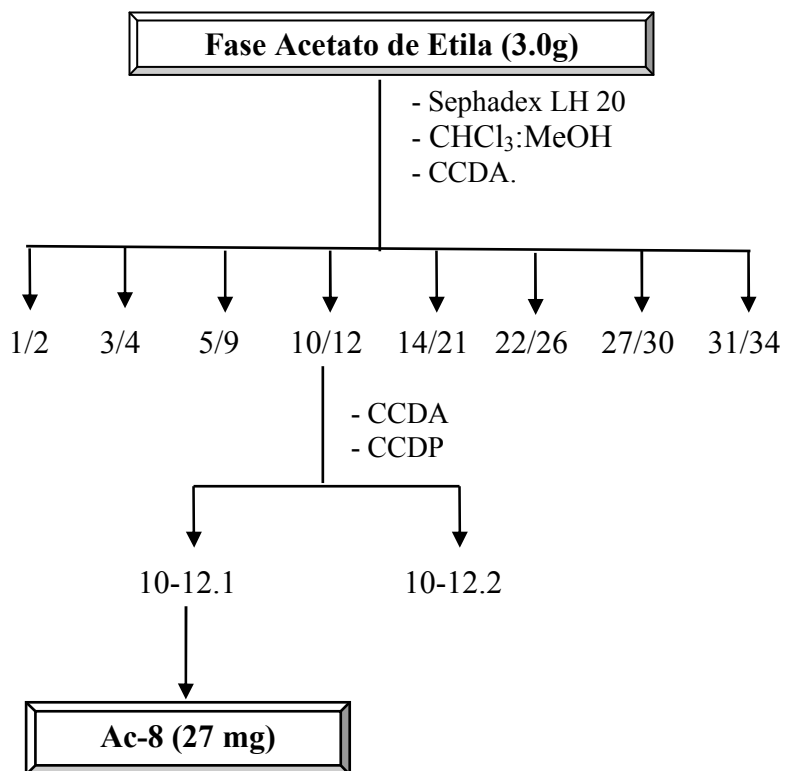
4.1.6 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das cascas do caule de *Anadenanthera colubrina*.

Uma alíquota da fase acetato de etila (3,0 g) foi submetida à CC, utilizando como fase estacionária sephadex LH 20 e como fase móvel clorofórmio e metanol na proporção 1:1. Conseguiu-se um total de 34 frações.

Todas as frações foram submetidas à cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) sendo analisadas e reunidas as frações que possuíam mesmo Rf (Fr. 01 -02, Fr. 03-04, Fr. 05 - 09, Fr. 10 -12, Fr. 14-21, Fr. 22- 26, Fr. 27-30, Fr.28-34) . O grupo 10-12, após análise em CCDA, foi submetido à Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP), utilizando-se acetato de etila e metanol (9:1) como eluentes, obtendo-se duas subfrações: 10-12.1 e 10-12.2. A subfração 10-12.1, apresentou-se como sólido avermelhado, que após

análise por CCDA mostrou-se como única mancha, resultando na substância codificada como Ac-8, que foi encaminhada para análise espectral (FLUXOGRAMA 4, pág. 66).

FLUXOGRAMA 4. Fracionamento da fase acetato de etila do extrato etanólico bruto de *Anadenanthera colubrina*.



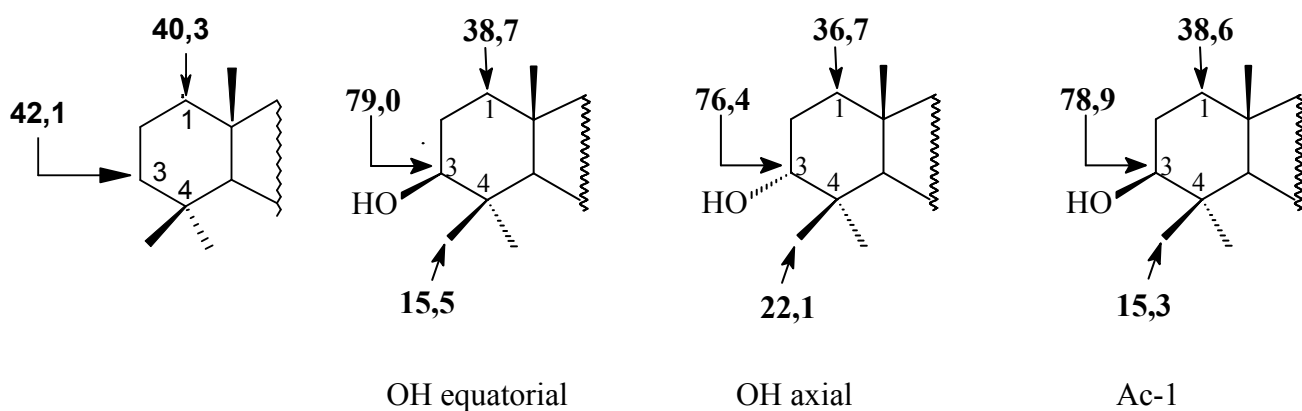
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural de Ac-1

O composto codificado como Ac-1 foi obtido na forma de cristais brancos com ponto de fusão entre 220-222 °C e rendimento 0,006%.

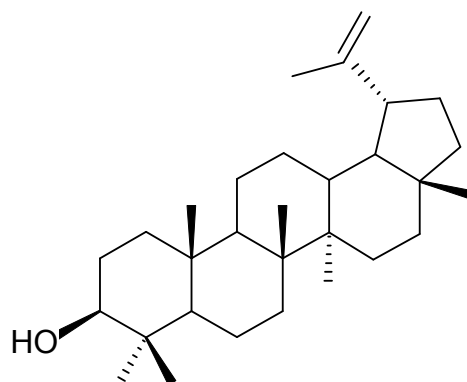
O espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) (FIGURA 8, pág. 71) revelou a presença de trinta sinais, dos quais seis são referentes a carbonos não hidrogenados, seis a carbonos metínicos, onze a carbonos metilênicos e sete a metílicos, sugerindo tratar-se de um esqueleto terpênico. Dentre os carbonos mono-hidrogenados observou-se um sinal em δ_{C} 78,95 que sugere a presença de carbono carbinólico (FIGURA 9, pág. 72). A inserção do grupo hidroxila no C-3 foi realizada com base em informações da literatura (MAHATO; KUNDU, 1994) de que triterpenos onde a hidroxila está ausente nessa posição o C-3 absorve em δ_{C} 42,1 e C-1 em δ_{C} 40,3 já quando o C-3 está hidroxilado este absorve entre δ_{C} 79,0-76,0 e C-1 devido ao efeito γ -gauche absorve entre δ_{C} 38,0-36,0. Para definirmos a estereoquímica da hidroxila novamente recorremos a literatura que apresenta dados indicando que quando a hidroxila de C-3 está em posição equatorial este carbono fica menos protegido que o C-3 com hidroxila axial, e ainda a metila axial ligada a C-4 é protegida cerca de δ_{C} 6,5 e o grupo metileno na posição 1 é desprotegido δ_{C} 2,0 ppm em comparação com o isômero axial devido ao efeito γ -gauche.



Adicionalmente observaram-se sinais para carbonos sp^2 em δ_C 150,95 e δ_C 109,31 cujos valores de deslocamento químico são característicos de triterpenos pentacíclicos da série lupano com insaturação entre C-20 e C-29 (OLEA; ROQUE, 1990) (FIGURA 9, pág. 72).

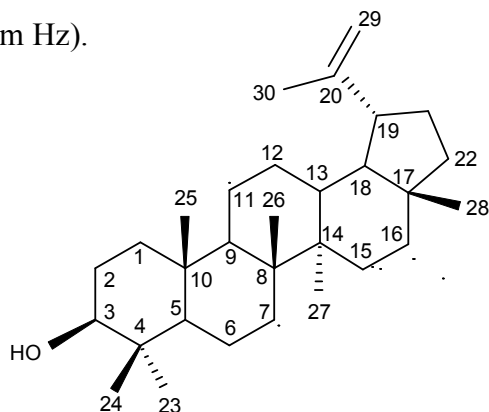
O espectro de RMN de 1H de Ac-1 (200 MHz, $CDCl_3$) (FIGURA 11, pág. 74) apresentou um simpleto em δ_H 1,65 característico de metila ligada a carbono olefínico e sinais simples condizentes com a presença de seis metilas quaternárias (δ_H 0,73; 0,76; 0,80; 0,91; 0,93; 1,00) (FIGURA 12, pág. 75). O multiplete em δ_H 3,15 é atribuído a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico. Também foi observado um duplete em δ_H 4,65 e um multiplete em δ_H 4,53 atribuídos a hidrogênios olefínicos (FIGURA 13, pág.76) . Estas informações confirmam a presença de estrutura de um triterpeno pentacíclico da série lupano.

Estas informações, em conjunto com os valores de RMN ^{13}C descritos na literatura (Tabela 1, pág. 70) permitiram identificar Ac-1 como sendo o triterpeno da série lupano, Lup-20(29)-en-3-ol também denominado Lupeol.



O triterpeno lupeol, ocorre naturalmente em muitas plantas, apresenta várias atividades farmacológicas dentre elas demonstrou atividade sobre a proliferação de queratinócitos na pele, atividades nefro-protetoras tanto na exposição crônica ao cádmio, quanto na redução da excreção de oxalato em determinadas patologias que causaria danos no túbulo renal (NAGARAJ et al., 2000). Atividades anti-tumorais (MORIARITY et al., 1998), antioxidantes (MOREIRA; CARLOS; VILEGA, 2001) e liberadores de mediadores da resposta imunológica (RAJIC et al., 2000) também são efeitos farmacológicos deste composto.

TABELA 1. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-1 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura [(CDCl_3) (MAHATO; KUNDU, 1994)] (δ em ppm e J em Hz).



	Lupeol	Ac-1	
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}
C			
4	38,8	38,82	
8	40,8	40,78	
10	37,1	37,11	
14	42,8	42,78	
17	43,0	42,96	
20	150,9	150,95	
CH			
3	78,9	78,95	3,15 (m)
5	55,3	55,25	
9	50,4	50,39	
13	38,0	37,99	
18	48,2	48,25	
19	47,9	47,95	2,33 (m)
CH ₂			
1	38,7	38,65	
2	27,4	27,37	
6	18,3	18,28	
7	34,2	34,23	
11	20,9	20,88	
12	25,1	25,08	
15	27,4	27,37	
16	35,5	35,54	
21	29,8	29,80	
22	40,0	39,97	
29	109,3	109,31	4,65(d, $J = 2,2$) 4,53 (m)
CH ₃			
23	28,0	27,95	0,73 (s)
24	15,4	15,35	0,76 (s)
25	16,1	16,09	0,80 (s)
26	15,9	15,93	0,91 (s)
27	14,5	14,52	0,93 (s)
28	18,0	17,97	1,00 (s)
30	19,3	19,27	1,65 (s)

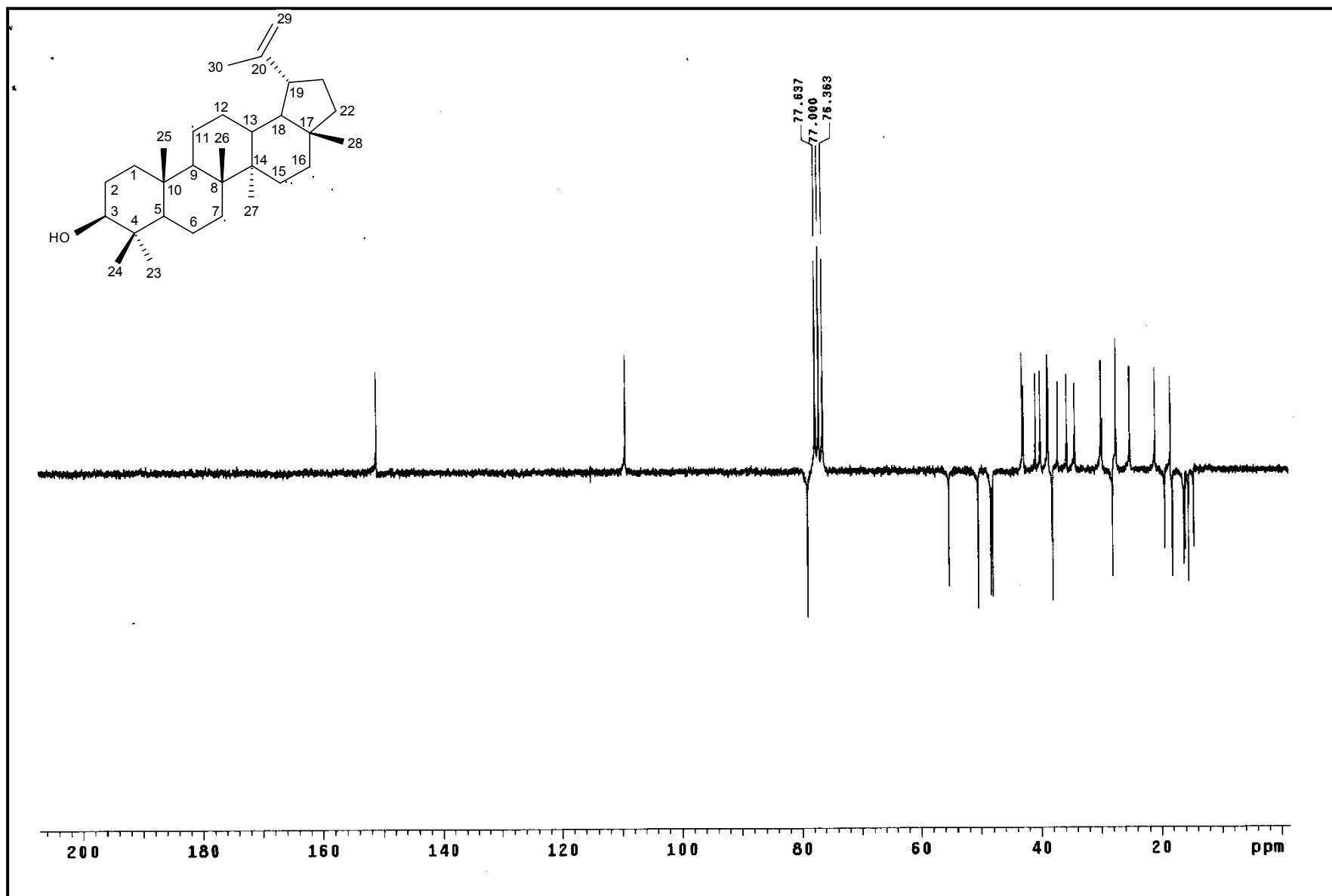


FIGURA 8. Espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-1(50 MHz, CDCl₃).

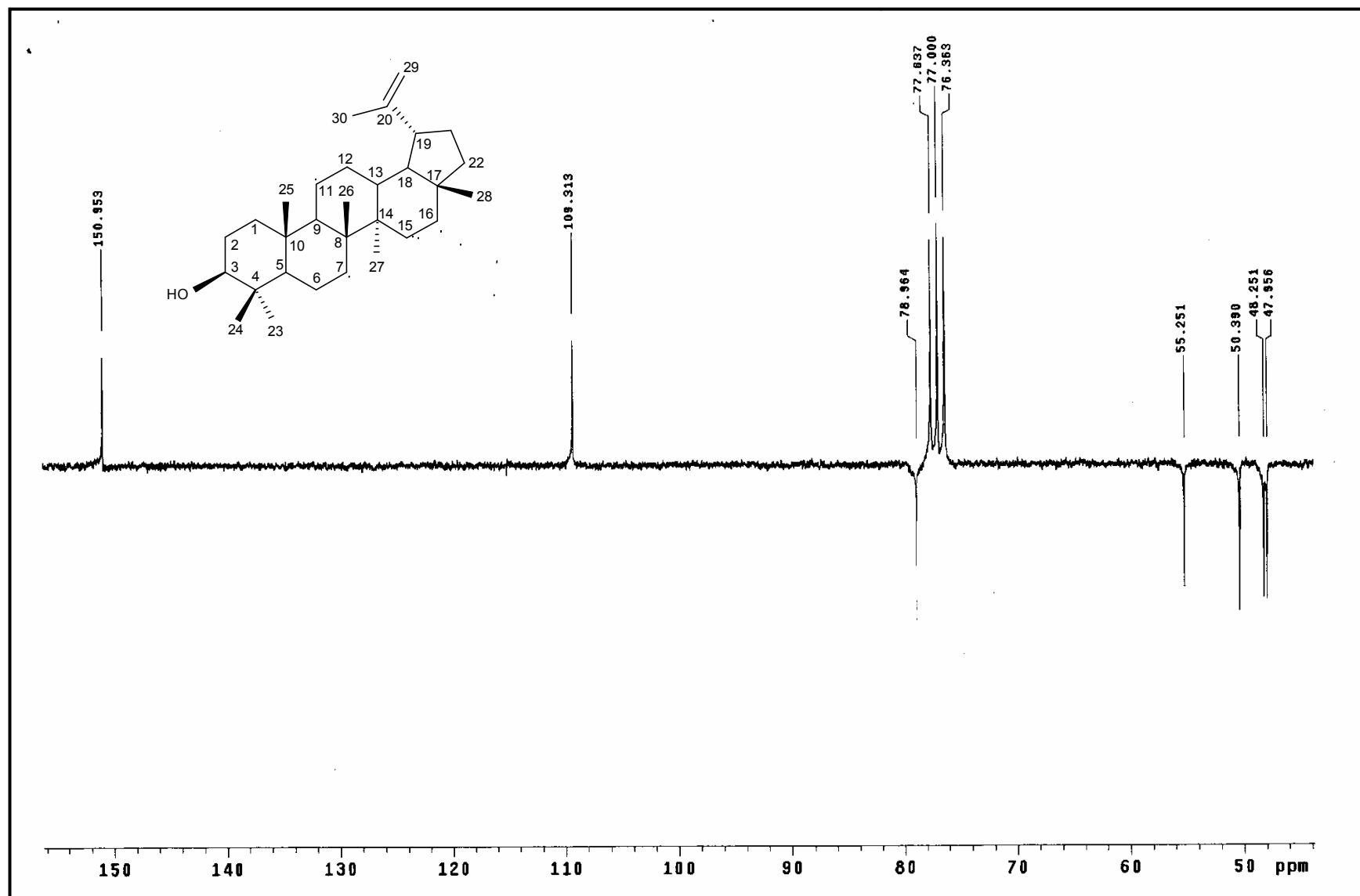


FIGURA 9. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-1(50 MHz, CDCl_3).

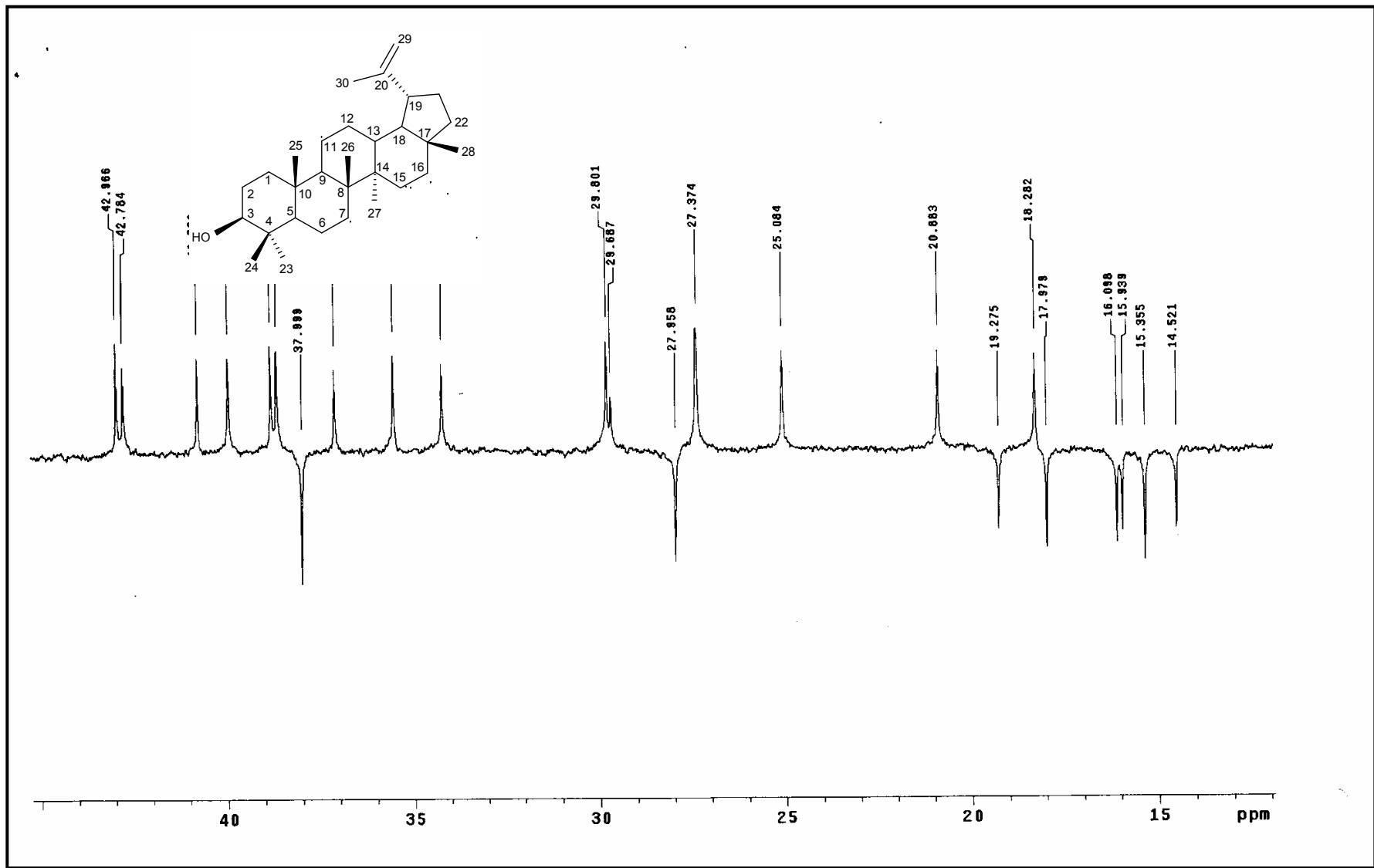


FIGURA 10. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-1(50 MHz, CDCl_3).

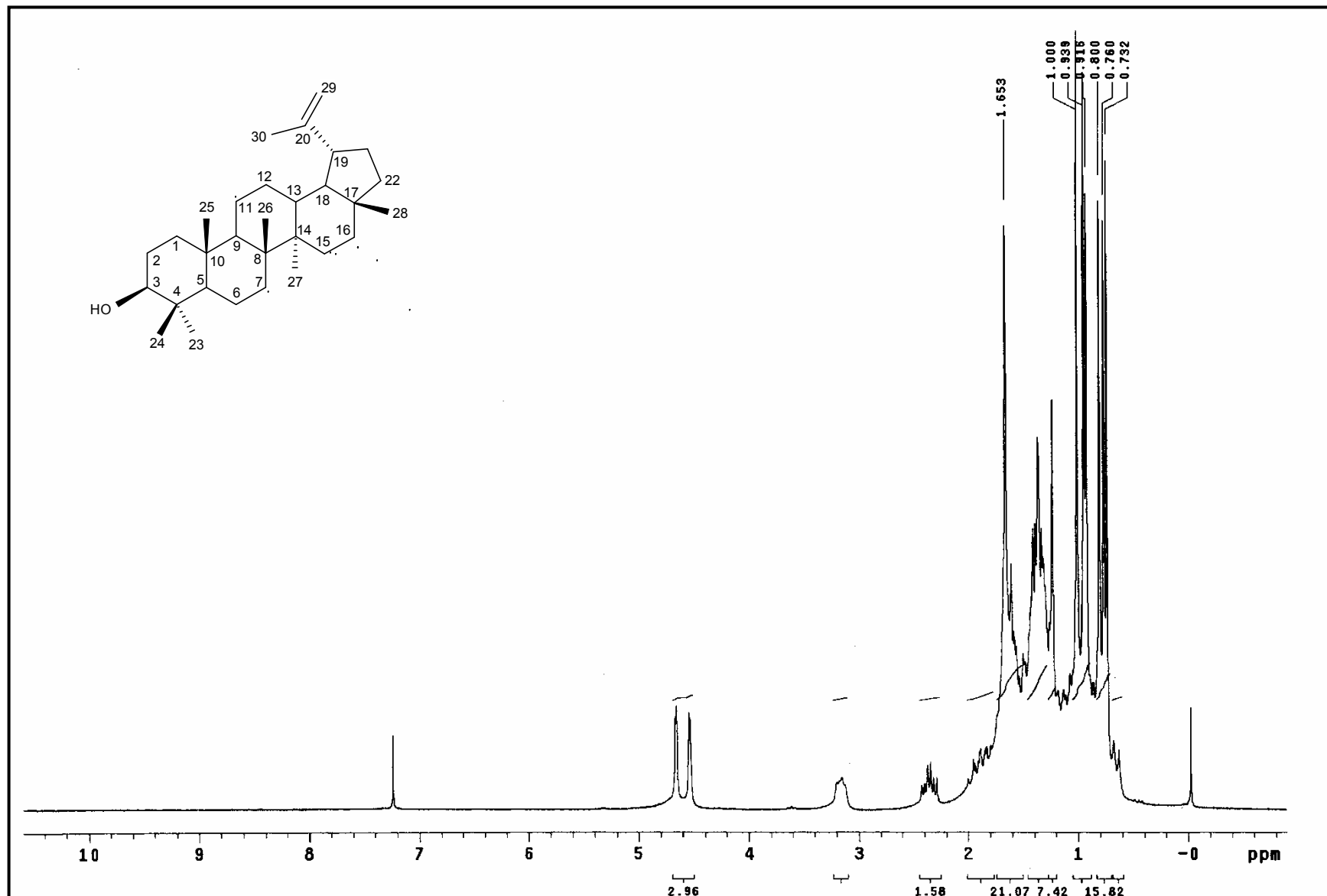


FIGURA 11. Espectro de RMN de ¹H de Ac-1 (200 MHz, CDCl₃)

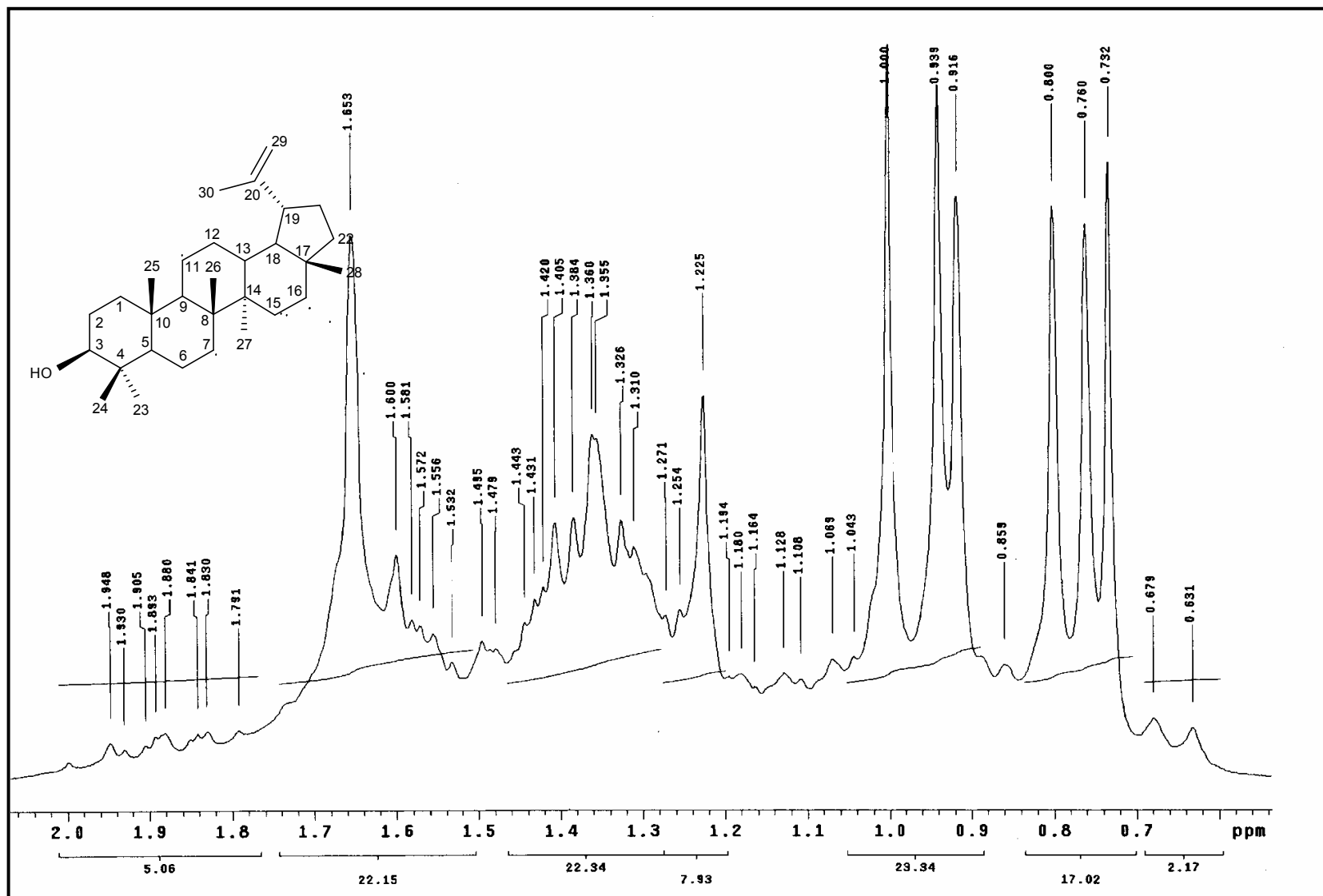


FIGURA 12. Expansão do espectro de RMN de ¹H de Ac-1 (200 MHz, CDCl₃)

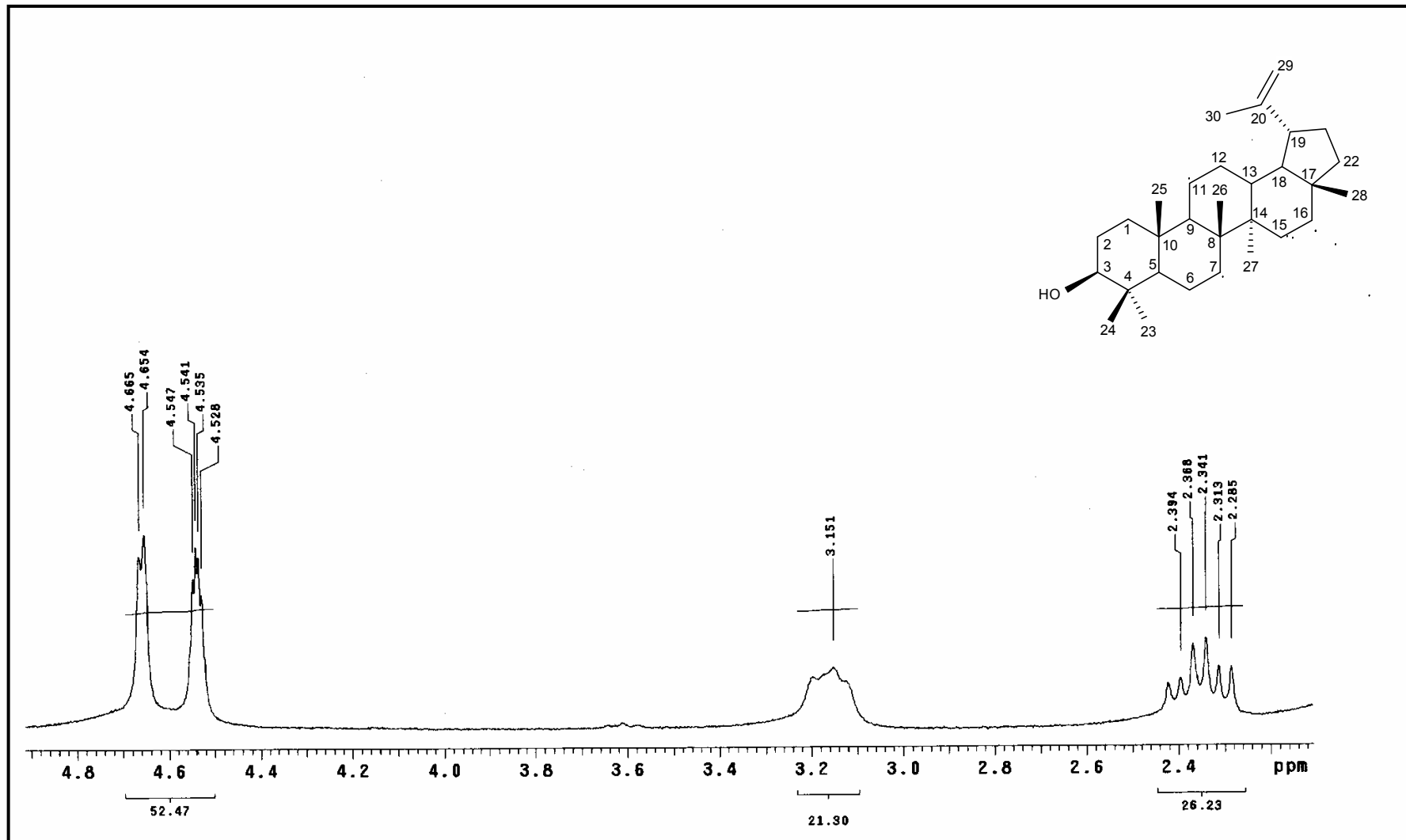


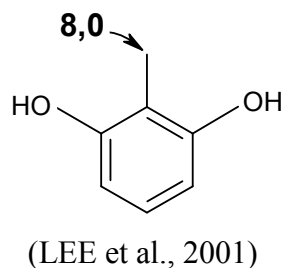
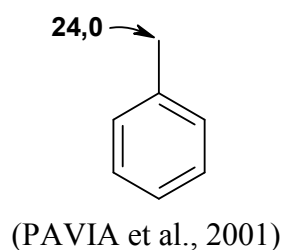
FIGURA 13. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-1 (200 MHz, CDCl_3)

5.2 Identificação Estrutural de Ac-2

O composto codificado como Ac-2 foi obtido como cristais brancos com ponto de fusão entre 116-118 °C e rendimento 0,0005%.

No espectro de absorção na região do infravermelho realizado em pastilhas de KBr (FIGURA 14, pág. 81) observou-se bandas de absorção na região de 1626-1446 cm^{-1} referentes a deformação axial da ligação carbono-carbono de anel aromático, bem como uma banda em 3398 cm^{-1} , que sugere a presença de grupo OH na molécula (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) (FIGURA 15, pág. 82) mostrou 10 sinais. A presença de um sinal referente a carbono metínico e cinco referentes a carbonos não hidrogenados, sugeriram para Ac-2 a estrutura de um anel aromático pentassubstituído. Sinais para carbonos não hidrogenados em δ_{C} 172,58 e metílico em δ_{C} 51,82, sugeriu a existência de grupo metil éster. A presença de sinais em δ_{C} 157,37 e δ_{C} 163,14 sugere a existência de carbonos hidroxilados (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Adicionalmente observa-se a presença de dois sinais para carbonos metílicos um em δ_{C} 24,10 e outro em δ_{C} 7,64 de acordo com valores da literatura esses deslocamentos referem-se a metilas ligadas a anel aromático, sendo que em δ_{C} 7,64 a metila encontra-se posicionada entre duas hidroxilas.



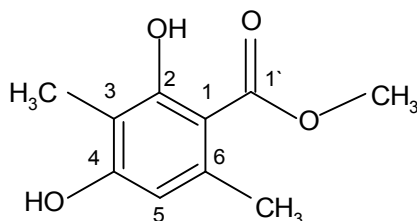
O espectro de RMN de ^1H de Ac-2 (200 MHz, CDCl_3) (FIGURA 16, pág. 83) mostrou sinal para hidrogênio aromático em δ_{H} 6,18 (s, 1H), reforçando a presença de anel aromático pentassubstituído. Observou-se sinal para hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 3,90 (s, 3H) e metílicos ligados a núcleos aromáticos em δ_{H} 2,08 (s, 3H) e δ_{H} 2,44 (s, 3H). O sinal em δ_{H} 12,02 (s, 1H) indicando a presença de hidrogênio em ponte intramolecular e o sinal em δ_{H} 5,15 (s, 1H) sugeriu a existência de hidroxila. Para confirmar estas informações realizou-se um espectro de RMN de ^1H em CDCl_3 com gotas de D_2O , observando-se então o total

desaparecimento do sinal em δ_H 5,15 e a diminuição da intensidade do sinal em δ_H 12,02 confirmando tratar-se de sinais referentes a duas hidroxilas (FIGURA 17, pág. 84).

Com o intuito de confirmar as posições dos substituintes do anel aromático pentasubstituído de Ac-2 utilizamos o espectro de RMN 1H e ^{13}C -HMBC (200 MHz, $CDCl_3$) que mostrou correlação a três ligações entre o hidrogênio em δ_H 6,18 (H-5) e o carbono em δ_C 24,10, definindo o grupo metílico vizinho ao hidrogênio aromático. Correlação entre os hidrogênios em δ_H 2,43 a duas ligações com o carbono em δ_C 140,13 (C-6) e a três ligações com os carbonos em δ_C 105,0 (C-1) e δ_C 110,49 (C-5) confirma os deslocamentos dos carbonos 6, 1 e 5 respectivamente. De maneira análoga a correlação entre os hidrogênios em δ_H 2,08 (3- CH_3) e o carbono em δ_C 108,44 a duas ligações e a três ligações com os carbonos em δ_C 157,37 (C-4) e δ_C 163,14 (C-2) definiu os deslocamentos dos carbonos 3, 4 e 2 respectivamente (FIGURA 18 e 19, pág 85 e 86). Todas as correlações obtidas no espectro HMBC estão representadas na Tabela 2 (pág. 79)

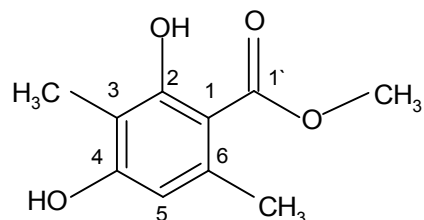
O espectro HMQC mostrou correlação direta entre o hidrogênio em δ_H 6,18(H-5) e o carbono δ_C 110,49 (C-5); entre o hidrogênio em δ_H 3,90 (OCH_3) e o carbono em δ_C 51,82 (OCH_3), entre os hidrogênios em δ_H 2,43 (6- CH_3) e o carbono em δ_C 24,10 (6- CH_3), e entre os hidrogênios em δ_H 2,08 (3- CH_3) e o carbono em δ_C 7,64 (3- CH_3) (Tabela 2, pág 79; FIGURA 20, pág. 87). Confirmando os dados dos espectros anteriores.

A compilação dos dados de RMN de 1H e ^{13}C obtidos nos experimentos uni e bidimensionais para o composto Ac-2 em comparação com dados da literatura (Tabela 3, pág 80) permitiram identificá-lo como o 2,4-diidroxí-6,3-dimetil-benzoato de metila também denominado de ácido atrárico.



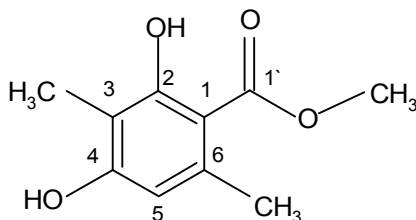
O ácido atrárico é um metabólico raramente encontrado em plantas superiores (Dictionary of Natural Products, 2002) e apresenta atividade nematocida (AHAD et al., 1991) e potente atividade antifúngica contra os fitopatógenos *Curvularia* sp., *colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *Corynespora cassicola* e *Fusarium* sp.(ATHUKORALAGE et al., 2001).

Tabela 2. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (2D) de Ac-2 (200 e 50 MHz) em CDCl_3 (δ em ppm).



	HMQC		HMBC
	δ_{C}	δ_{H}	$^3J_{\text{CH}}$
C			
1	105,00		H-5, 6-CH ₃ , 2-OH
2	163,14		2-OH 3-CH ₃
3	108,44		3-CH ₃ 2-OH, 4-OH, H-5
4	157,37		H-5, 4-OH 3-CH ₃
6	140,13		6-CH ₃
1'	172,58		OCH ₃
CH			
5	110,49	6,18(s)	6-CH ₃ , 4-OH
CH ₃			
3-CH ₃	7,64	2,08(s)	
6-CH ₃	24,10	2,43(s)	H-5
OCH ₃	51,82	3,90(s)	
OH			
2-OH		12,02(s)	
4-OH		5,15(s)	

Tabela 3. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de Ac-2 (200 e 50 MHz, CDCl_3) em comparação com dados da literatura [(CDCl_3) (SILVA, 2004)] (δ em ppm).



	Ácido atrário o	δ_{H}	Ac-2 δ_{C}	δ_{H}
C	δ_{C}			
1	104,60		105,00	
2	162,87		163,14	
3	108,87		108,44	
4	158,70		157,37	
6	139,88		140,13	
1`	172,58		172,58	
CH				
5	110,55	6,18 (s)	110,49	6,18 (s)
CH ₃				
3-CH ₃	7,74	2,08 (s)	7,64	2,08 (s)
6-CH ₃	24,07	2,43 (s)	24,10	2,43 (s)
OCH ₃	51,74	3,90 (s)	51,82	3,90 (s)
OH				
2-OH		12,02 (s)		12,02 (s)
4-OH		5,15 (s)		5,15 (s)

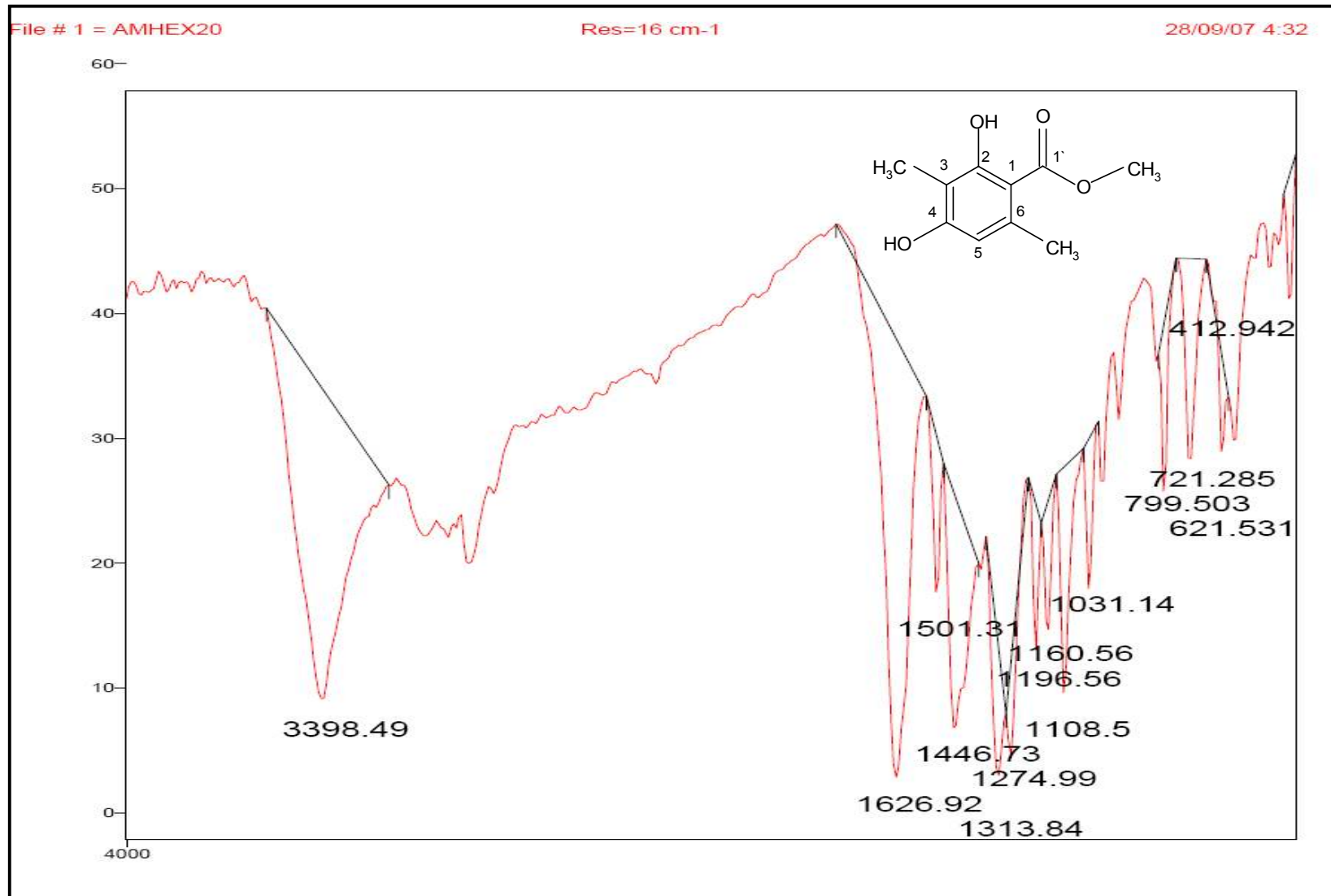


FIGURA 14. Espectro na região do infravermelho de Ac-2 (Pastilhas de KBr)

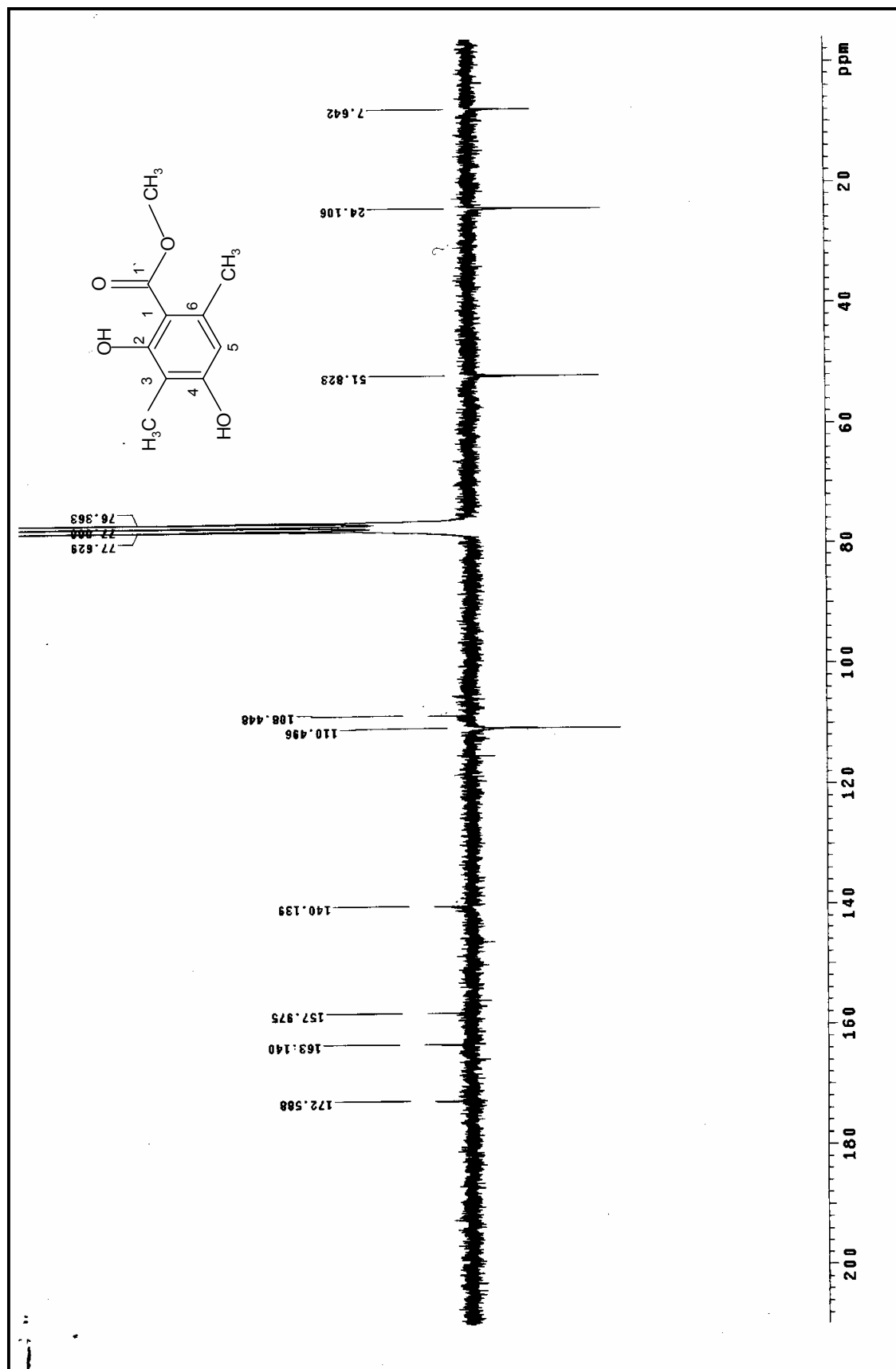


FIGURA 15. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-2(50 MHz, CDCl_3).

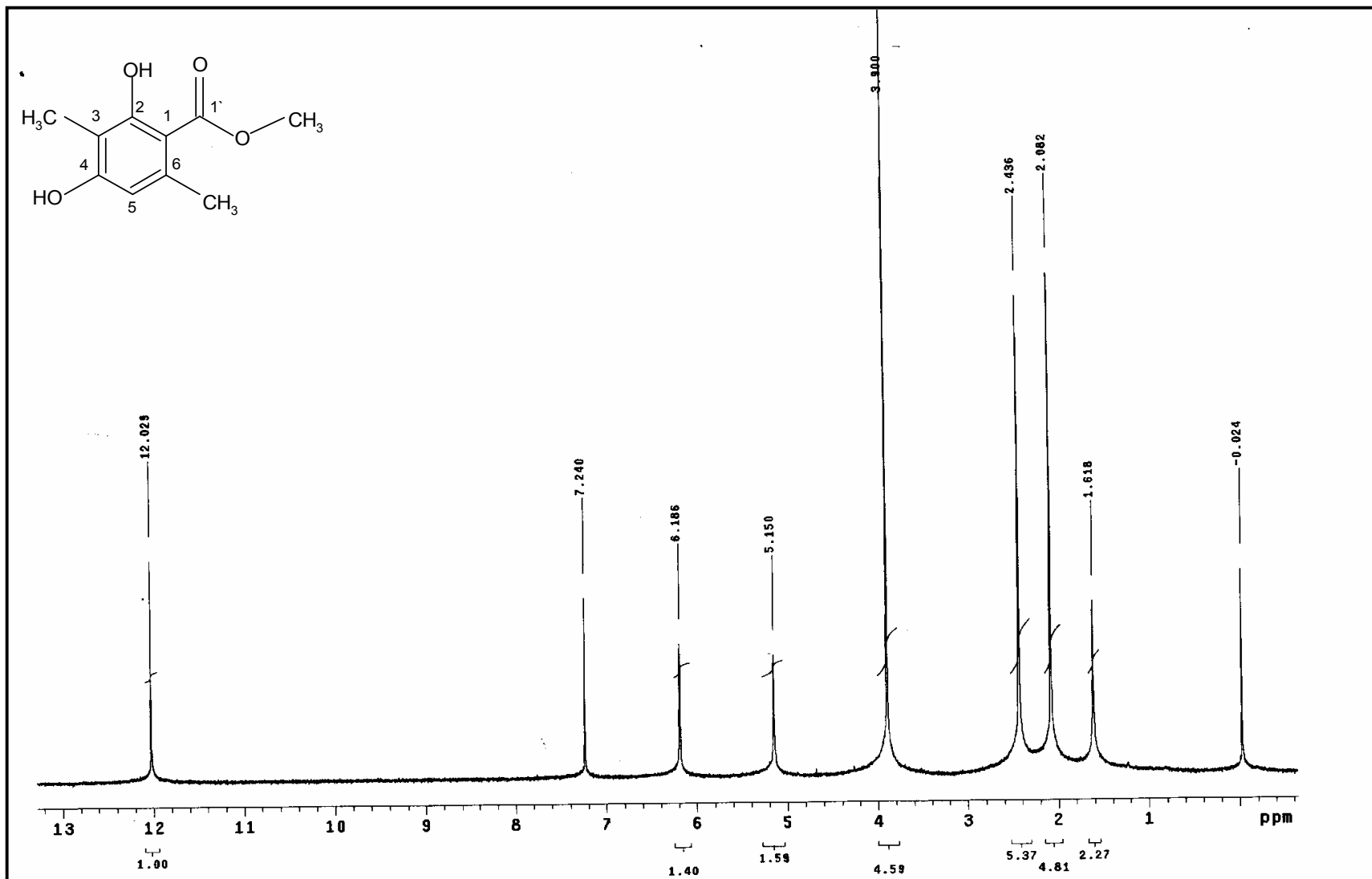


FIGURA 16. Espectro de RMN de ¹H de Ac-2 (200 MHz, CDCl₃)

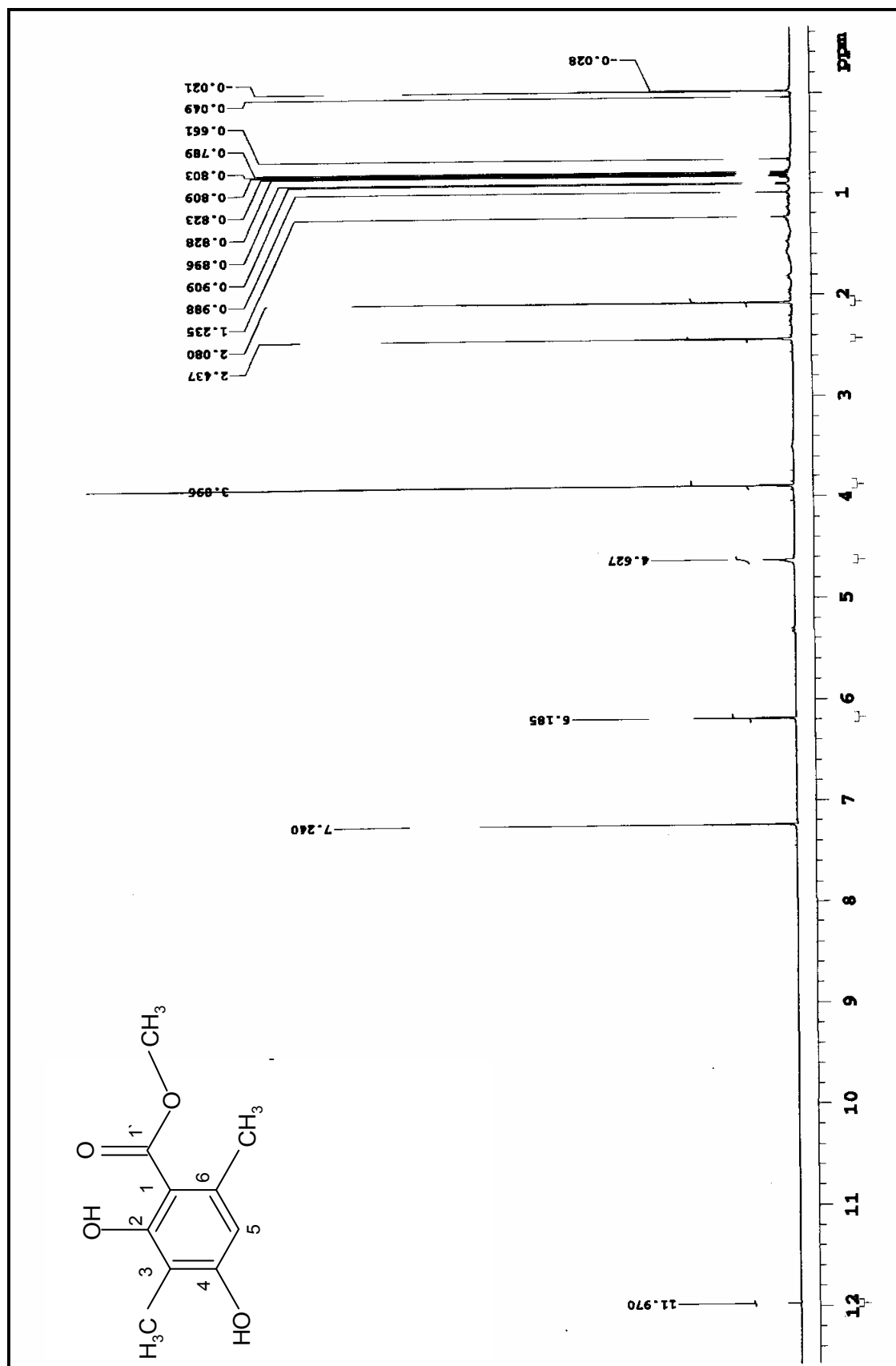


FIGURA 17. Espectro de RMN de ¹H de Ac-2 (500 MHz, CDCl₃).

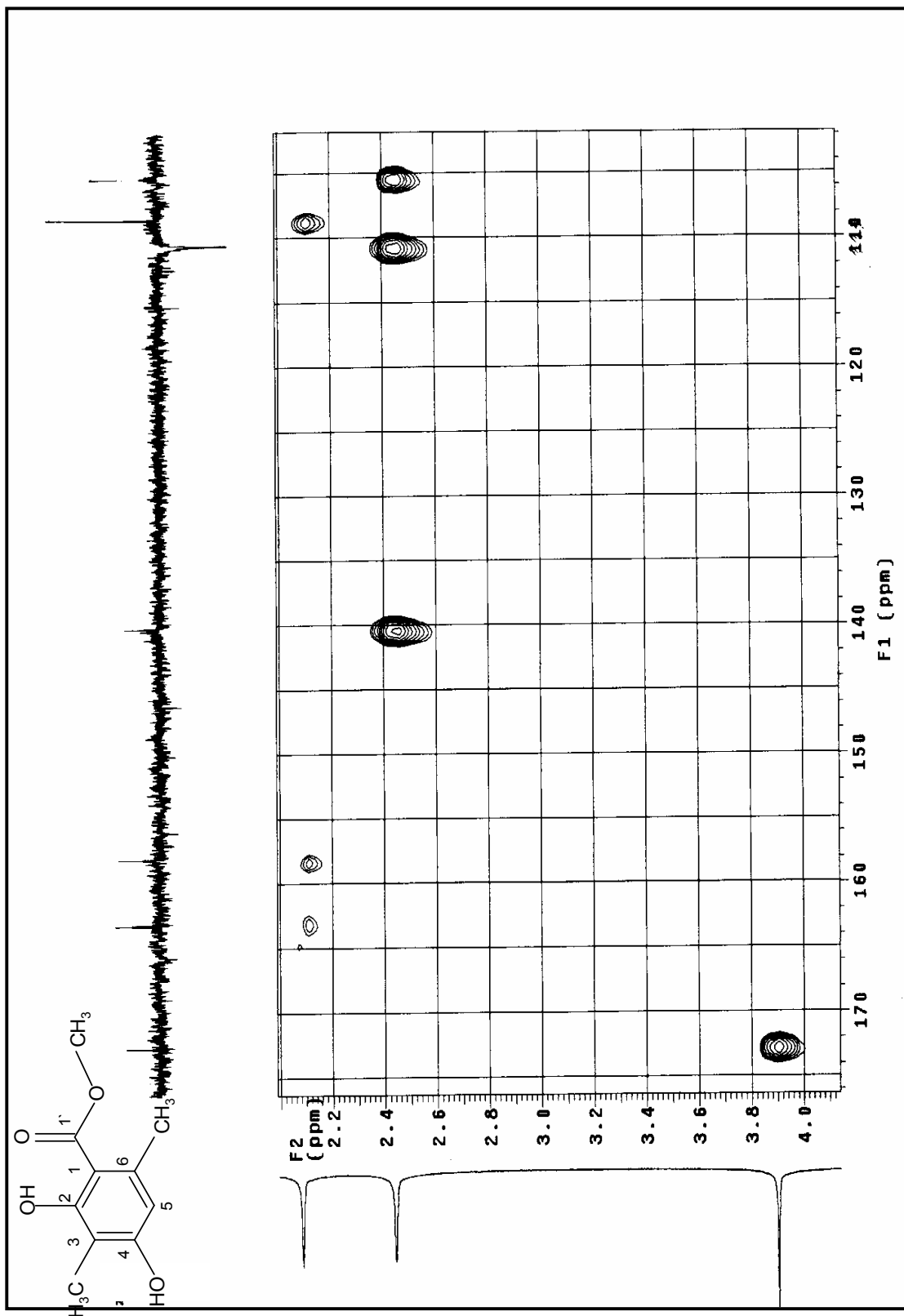


FIGURA 18. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMBC de Ac-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente).

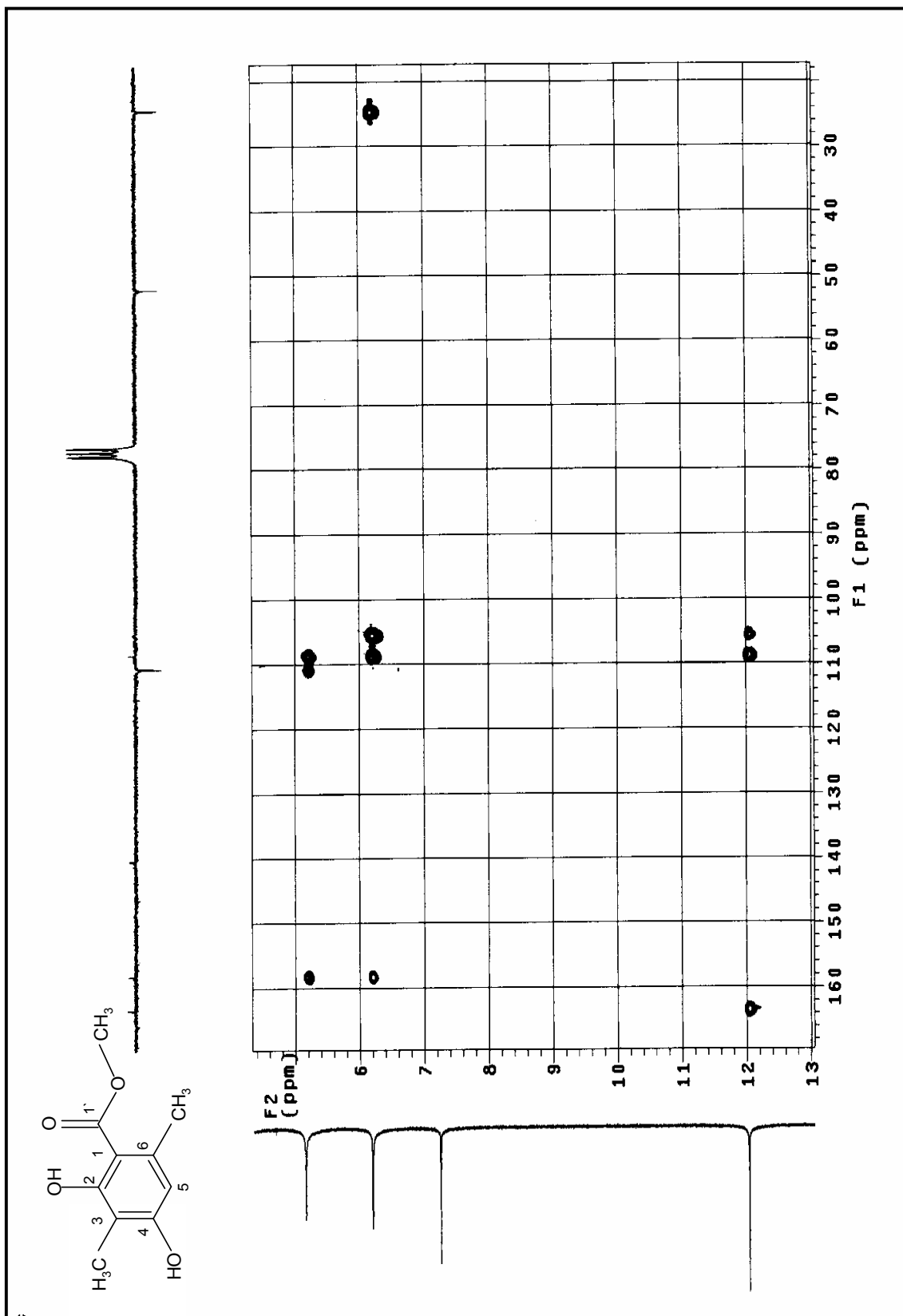


FIGURA 19. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Ac-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente).

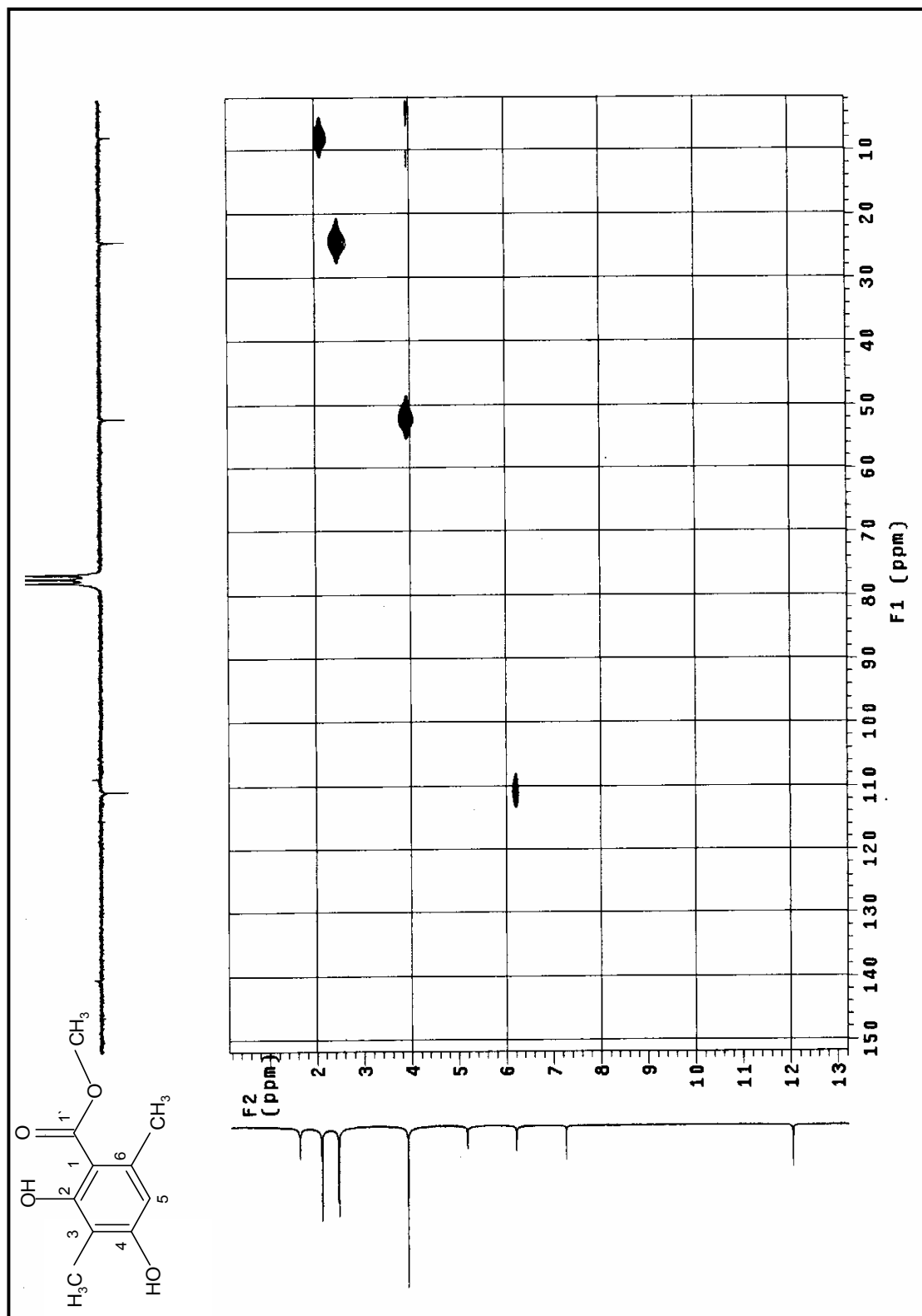


FIGURA 20. Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C -HMQC de Ac-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente).

5.3 Identificação Estrutural de Ac-3

O composto codificado como Ac-3 foi obtido na forma de cristais brancos com ponto de fusão entre 227-228 °C e rendimento 0,0021%.

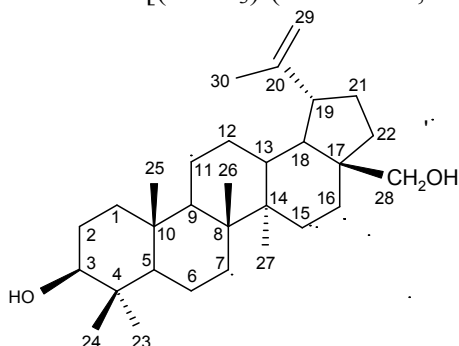
O espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3) (FIGURA 21, pág. 90) mostrou um envelope de absorções entre 0,7 e 2,0 ppm, característico de terpenóides. Dentro desta região observou-se simpletos referentes a cinco metilas quaternárias (δ_{H} 0,73; δ_{H} 0,79; δ_{H} 0,94; δ_{H} 0,95; δ_{H} 0,99) e um simpleto em δ_{H} 1,65 característico de metila olefínica (FIGURA 22, pág. 90). Um duplo duplete em δ_{H} 3,16 ($J = 6,0$ e $10,0$ Hz) atribuído a hidrogênio oximetínico (H-3). Observou-se ainda um duplete em δ_{H} 4,65 ($J = 1,6$ Hz) e um multiplete em δ_{H} 4,55 com integração relativa para um hidrogênio cada atribuídos a hidrogênios olefínicos característico de absorções de grupo vinílico terminal de esqueleto de um triterpeno da série lupano (GOMES, 1998). Adicionalmente observou-se a presença de dois dupletos em δ_{H} 3,77 ($J = 10,2$ Hz) e δ_{H} 3,30 ($J = 10,4$ Hz) referentes à hidrogênios do grupo metilênico ligado à hidroxila (FIGURA 23, pág. 91).

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) (FIGURA 24, pág. 92) revelou a presença de 30 sinais, dos quais seis são não hidrogenados, onze são metilênicos, sete referentes a metínicos e seis a carbonos metílicos, sugerindo um esqueleto triterpênico. Observa-se um sinal em δ_{C} 78,97 sugerindo, semelhante a Ac-1 a presença de um grupo hidroxila em posição equatorial no C-3. Adicionalmente foram observados sinais para carbonos sp^2 em δ_{C} 150,46 e δ_{C} 109,67 que indicam a existência de uma ligação dupla e foram atribuídos a C-20 e C-29 respectivamente reforçando a sugestão de esqueleto triterpenos pentacíclicos da série lupano. Também foi observado um sinal em δ_{C} 60,52 coerente com carbono alifático desprotegido por estar ligado a grupo hidroxila, sendo atribuído a C-28 (FIGURA 25, pág. 93).

Assim através da análise dos dados expostos acima e por comparação com a literatura (MAHATO; KUNDU, 1994) pode-se afirmar que a substância Ac-3 trata-se do álcool betulínico (Lup-20(29)-ene-3,28-diol) Os dados de RMN ^1H e ^{13}C de Ac-3 estão compilados na tabela 4 (pág. 89).

O álcool betulínico apresenta atividade antitumoral, antiinflamatória e antiviral (frente ao vírus HIV-1) (ACHREM-ACHREMOWICZ; JANECKO, 2003), além de ser hepatoprotetor frente à citotoxicidade do cádmio e do acetaminifeno (SZUSTER-CIESIELSKA; KANDEFER-SZERSZEN, 2005).

TABELA 4. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-3 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura [(CDCl_3) (MAHATO; KUNDU, 1994)] (δ em ppm e J em Hz)



	Álcool Betulínico	Ac-3	
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}
C			
4	38,9	38,83	
8	40,9	40,88	
10	37,2	37,12	
14	42,7	42,68	
17	47,8	47,77	
20	150,6	150,46	
CH			
3	78,9	78,97	3,16 (d, $J=6,0$ e $10,0$)
5	55,3	55,25	
9	50,4	50,36	
13	37,3	37,27	
18	48,8	47,75	
19	47,8	48,72	2,30 (m)
CH ₂			
1	38,8	38,67	
2	27,2	27,34	
6	18,3	18,28	
7	34,3	34,20	
11	20,9	20,80	
12	25,3	25,17	
15	27,0	27,01	
16	29,2	29,14	
21	29,8	29,71	
22	34,0	33,94	
28	60,2	60,52	
29	109,6	109,67	4,65 (d, $J=1,6$) 4,55 (m)
CH ₃			
23	28,0	27,95	0,73 (s)
24	15,4	15,34	0,79 (s)
25	16,1	16,09	0,94 (s)
26	16,0	15,95	0,95 (s)
27	14,8	14,74	0,99 (s)
30	19,1	19,06	1,65 (s)

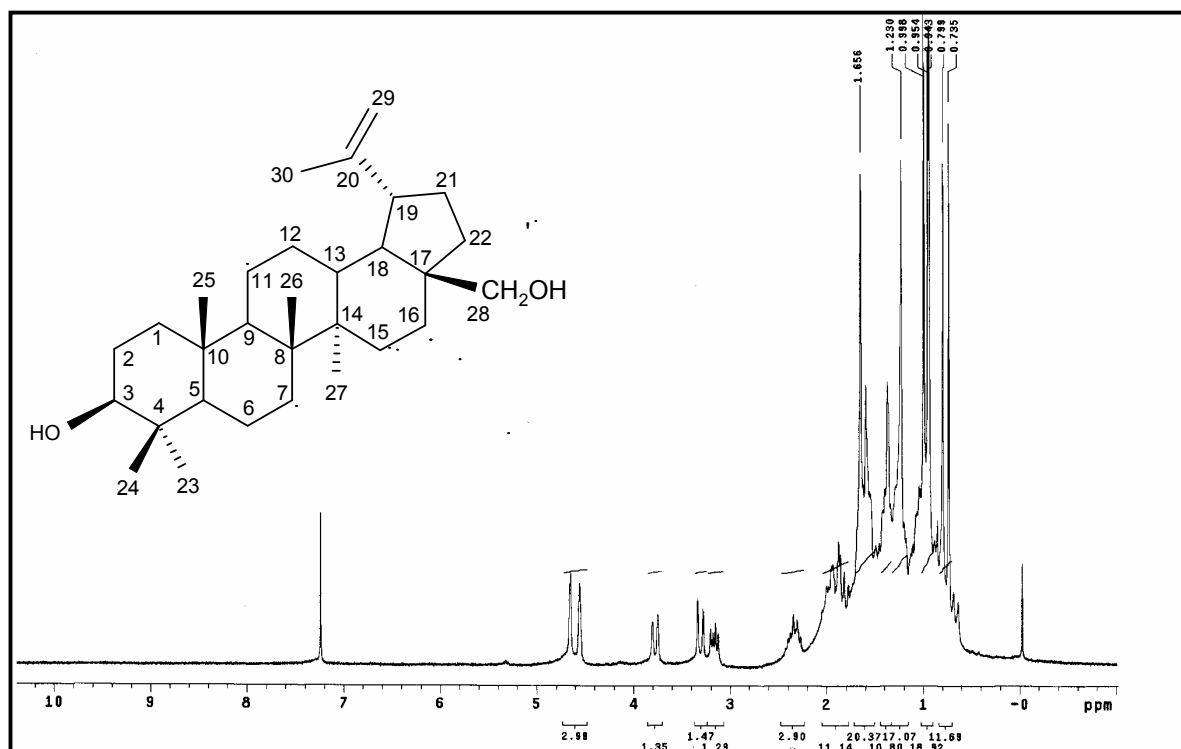


FIGURA 21. Espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3)

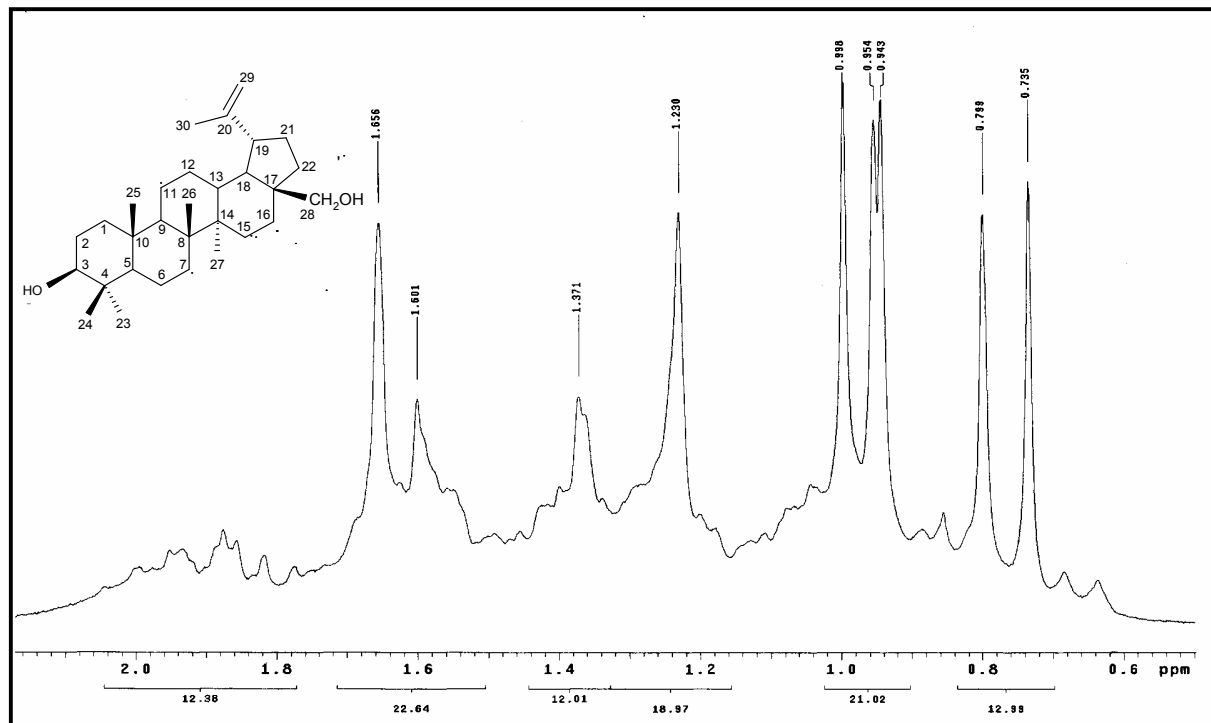


FIGURA 22. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3)

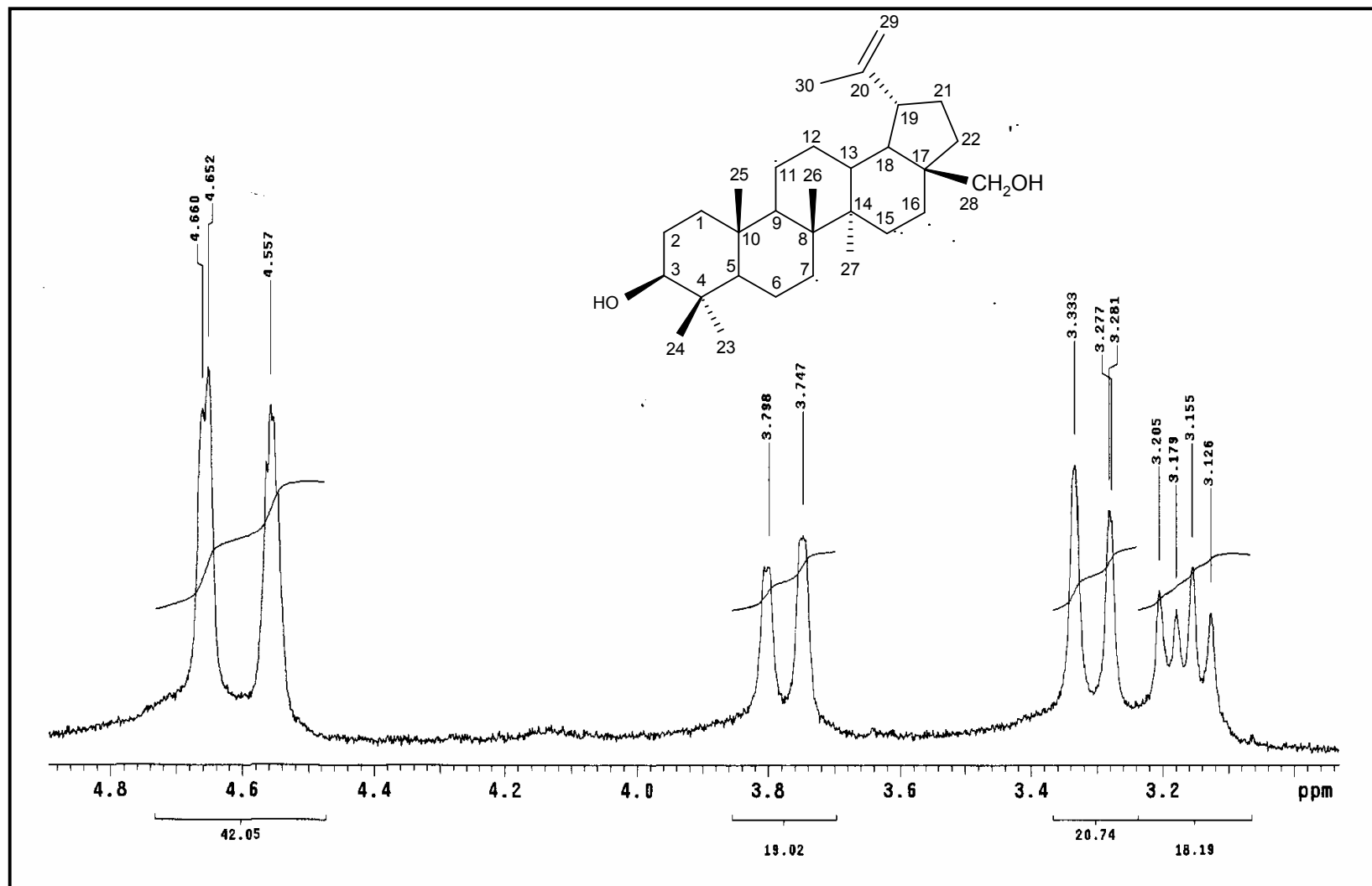


FIGURA 23. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-3 (200 MHz, CDCl_3)

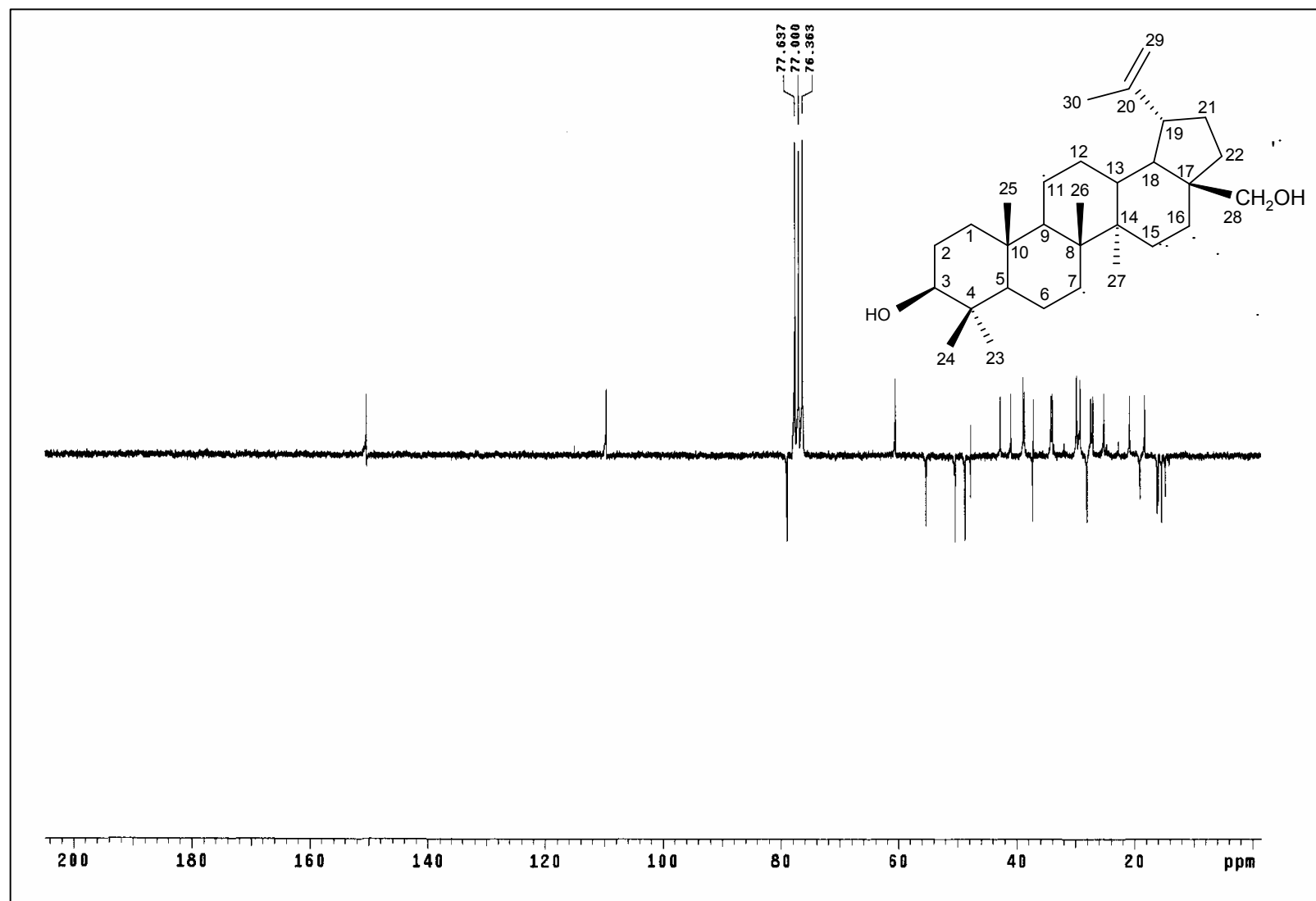


FIGURA 24. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-3 (50 MHz, CDCl_3).

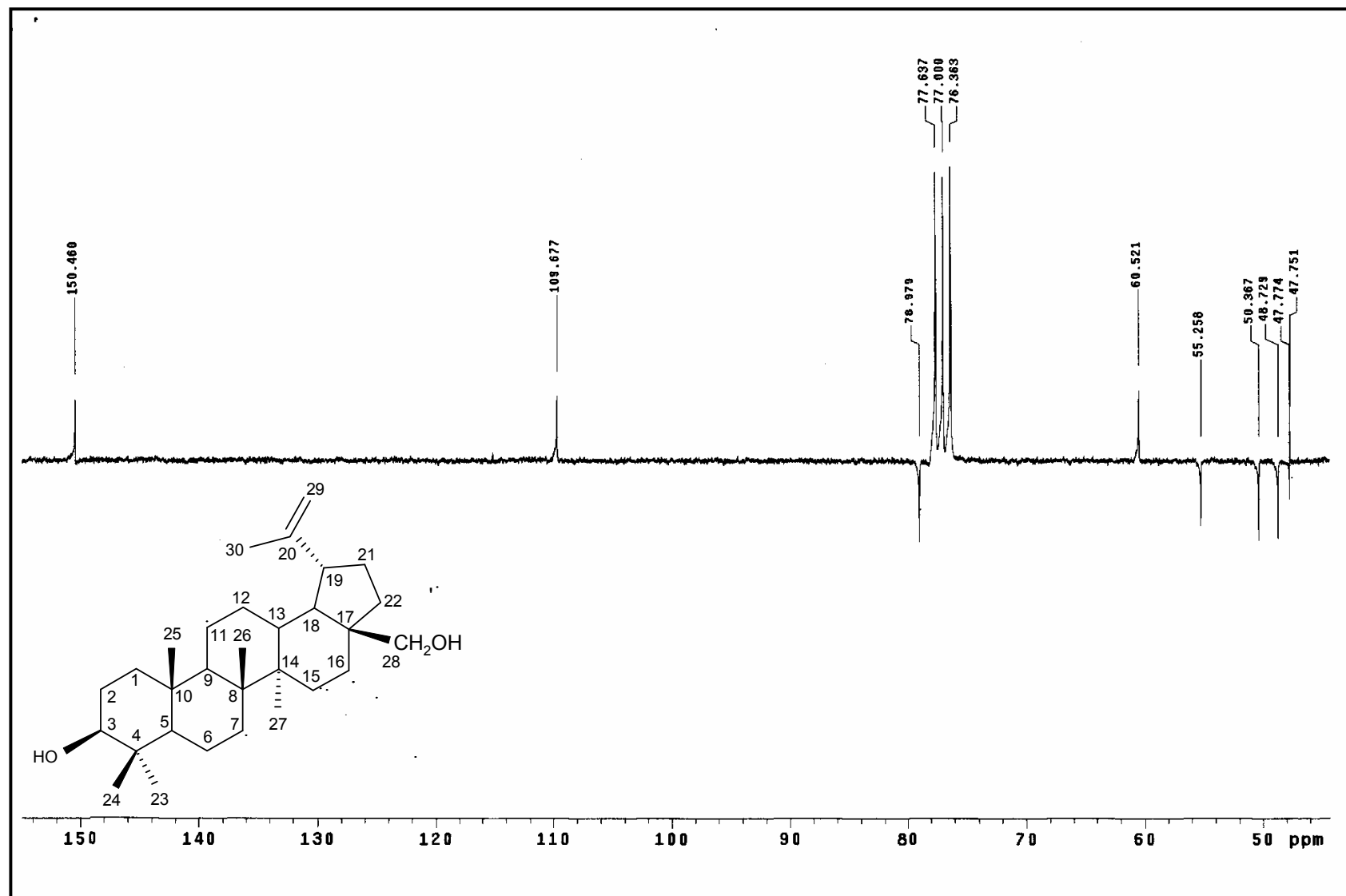


FIGURA 25. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-3 (50 MHz, CDCl_3).

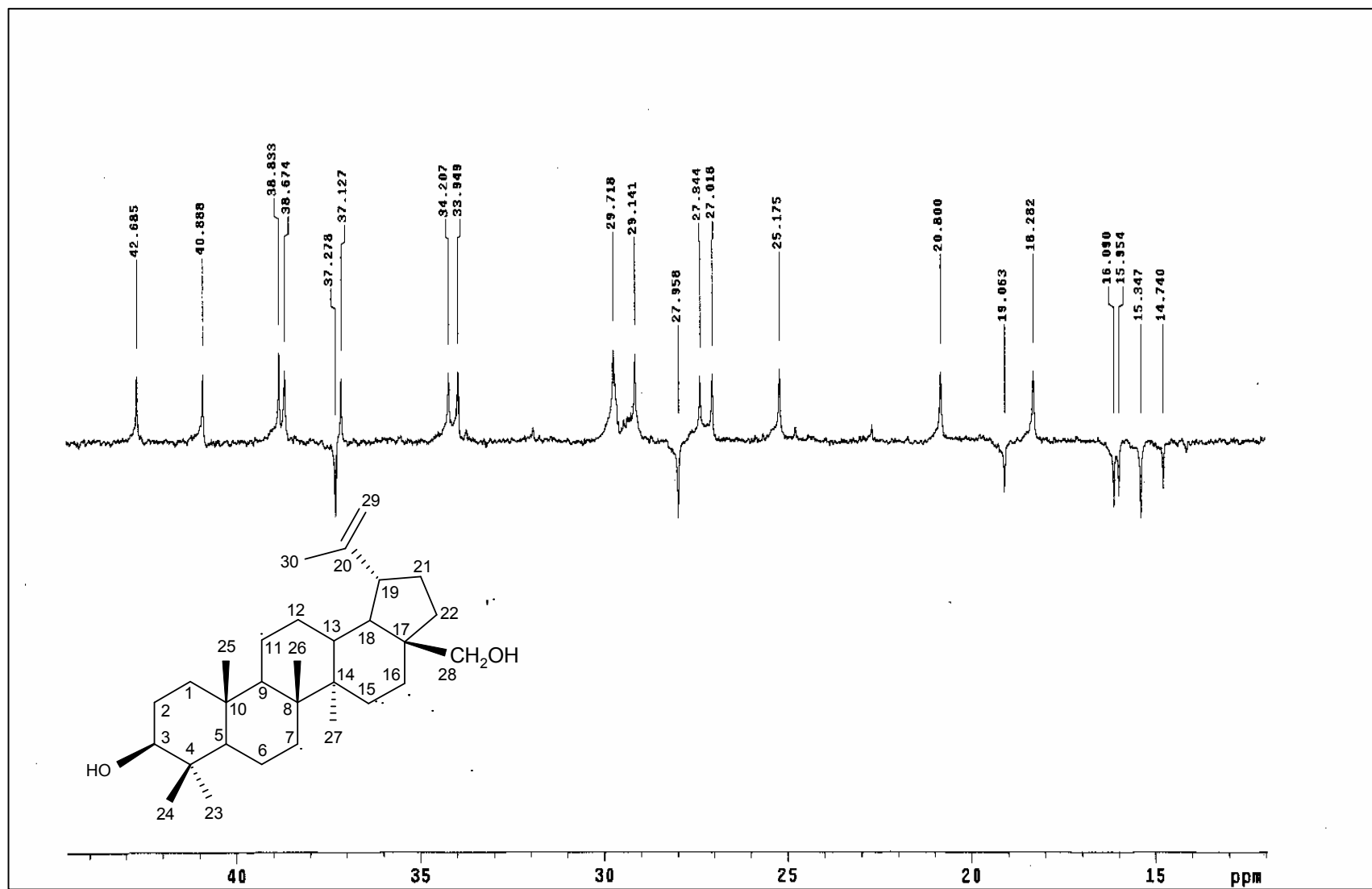


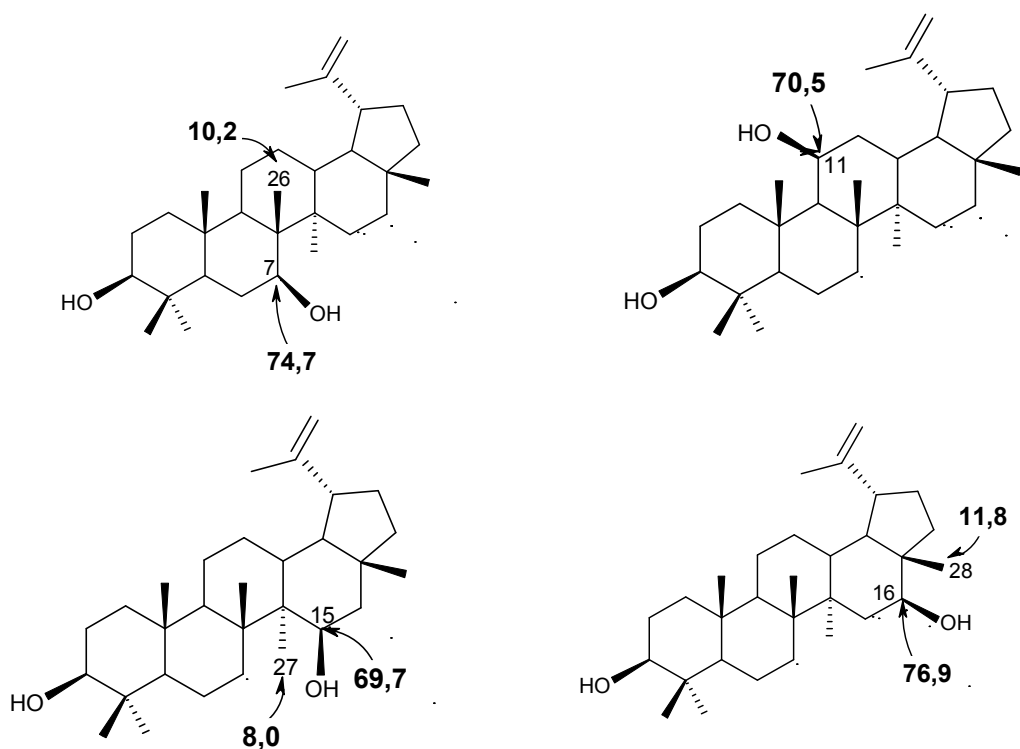
FIGURA 26. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-3 (50 MHz, CDCl_3).

5.4 Identificação Estrutural de Ac-4.

O composto codificado como Ac-4 foi obtido na forma de cristais brancos com ponto de fusão entre 210-212 °C e rendimento 0,0006%.

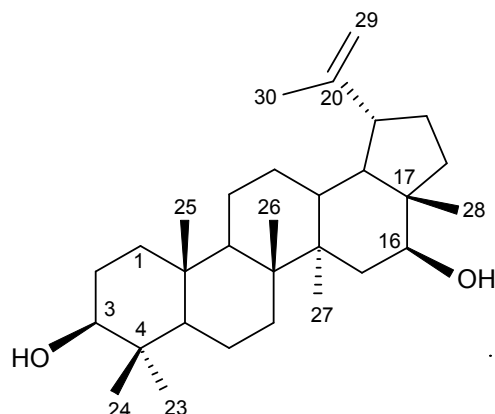
O espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3) (FIGURA 27, pág. 98) também mostrou um envelope de absorções entre 0,7 e 2,0 ppm, característico de terpenóides onde se encontra simpletos referentes a seis metilas quaternárias (δ_{H} 0,73; δ_{H} 0,77; δ_{H} 0,81; δ_{H} 0,94; δ_{H} 0,97; δ_{H} 1,01) e um simpleto em δ_{H} 1,65 característico de metila olefínica (FIGURA 28, pág. 99). Dois duplos dupletos um em δ_{H} 3,16 ($J = 5,0$ e $11,0$ Hz) e outro em δ_{H} 3,58 ($J = 5,0$ e $11,0$ Hz) foram sugeridos para hidrogênios oximetínicos (H-3 e H-16). Observou-se ainda um duplete em δ_{H} 4,68 ($J = 2,5$ Hz) e um multiplete em δ_{H} 4,57, com integração relativa para um hidrogênio cada atribuídos a hidrogênios olefínicos característico de absorções de grupo vinílico terminal de esqueleto de triterpenos da série lupano (GOMES, 1998) (FIGURA 30, pág. 100).

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) revelou a presença de trinta sinais referentes a trinta carbonos, dos quais seis são não hidrogenados, sete são metínicos, dez são metilênicos e sete referentes à metílicos, reforçando a sugestão de esqueleto triterpênico. Sinais para carbonos sp^2 em δ_{C} 150,00 e δ_{C} 109,77 indicam a existência de uma ligação dupla e foram atribuídos a C-20 e C-29 respectivamente sugerindo presença de esqueleto de triterpenos pentacíclicos da série lupano (FIGURA 32 e 33, pág. 102 e 103). Observou-se também dois sinais referentes a carbonos carbinólicos um em δ_{C} 78,98 que como relatado em Ac-1 refere-se à presença de um grupo hidroxila em posição equatorial (C-3) e outro em δ_{C} 77,00 (FIGURA 34, pág. 104) cuja posição foi definida observando os dados da literatura (MAHATO; KUNDU, 1994) mostrando que quando posicionada no C-7 este carbono apresenta deslocamento químico em δ_{C} 74,7 e devido ao efeito gama-gauche protege a metila 26 que absorve em δ_{C} 10,2; se posicionada no C-11 este aparece em δ_{C} 70,5 não havendo efeito substancial sobre as metilas; na posição 15 a hidroxila leva o carbono ao qual está ligada a absorver em δ_{C} 69,7 e por efeito gama-gauche protege a metila 27 que apresenta deslocamento químico em δ_{C} 8,0 e se ligada ao C-16 este carbono apresenta-se em δ_{C} 76,9 e devido o efeito gama a metila 28 absorve em δ_{C} 11,8.



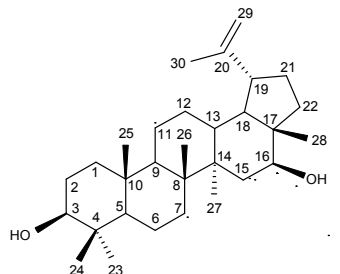
Assim observando-se o deslocamentos de carbono hidroxilado em δ_C 77,0 e de metila protegida em δ_C 11,70 para Ac-4 e comparando com os dados da literatura pudemos dizer que em Ac-4 esta hidroxila encontra-se no C-16.

A análise dos dados expostos e comparação com a literatura podemos afirmar que a substância Ac-4 trata-se do Lup-20(29)-ene-3,16-diol também conhecido como calenduladiol. Os dados de RMN ^1H e ^{13}C de Ac-4 estão compilados na tabela 5 (pág. 95).



Este composto é bastante comum na família Asteraceae, principalmente na espécie *Calendula officinalis* L. e já possui comprovado efeito anti-tumoral (UKYA et al., 2002) e antiinflamatório em ratos (YSSUCAWA et al., 1996).

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) para Ac-4 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura [(CDCl_3) (MAHATO; KUNDU, 1994)] (δ em ppm e J em Hz).



	Calenduladiol δ_{C}	Ac-4 δ_{C}	δ_{H}
C			
4	38,9	38,86	
8	41,0	40,96	
10	37,1	37,14	
14	44,1	44,10	
17	48,6	48,59	
20	149,8	150,00	
CH			
3	78,8	78,98	3,16 (dd, $J=5,0$ e $11,0$)
5	55,4	55,33	
9	50,0	50,04	
13	37,3	37,28	
16	76,9	77,12	3,58 (dd, $J=5,0$ e $11,0$)
18	47,7	47,75	
19	47,6	47,95	2,47 (m)
CH ₂			
1	38,9	38,76	
2	27,4	27,37	
6	18,3	18,31	
7	34,3	34,27	
11	20,9	20,89	
12	24,9	24,82	
15	36,9	36,92	
21	30,0	29,93	
22	37,8	39,72	
29	109,6	109,77	4,68(d, $J=2,5$) 4,57(m)
CH ₃			
23	28,0	27,98	0,73 (s)
24	15,4	15,37	0,77 (s)
25	16,1	15,99	0,81 (s)
26	16,1	16,12	0,94 (s)
27	16,1	16,18	0,97 (s)
28	11,8	11,70	1,01 (s)
30	19,4	19,33	1,65 (s)

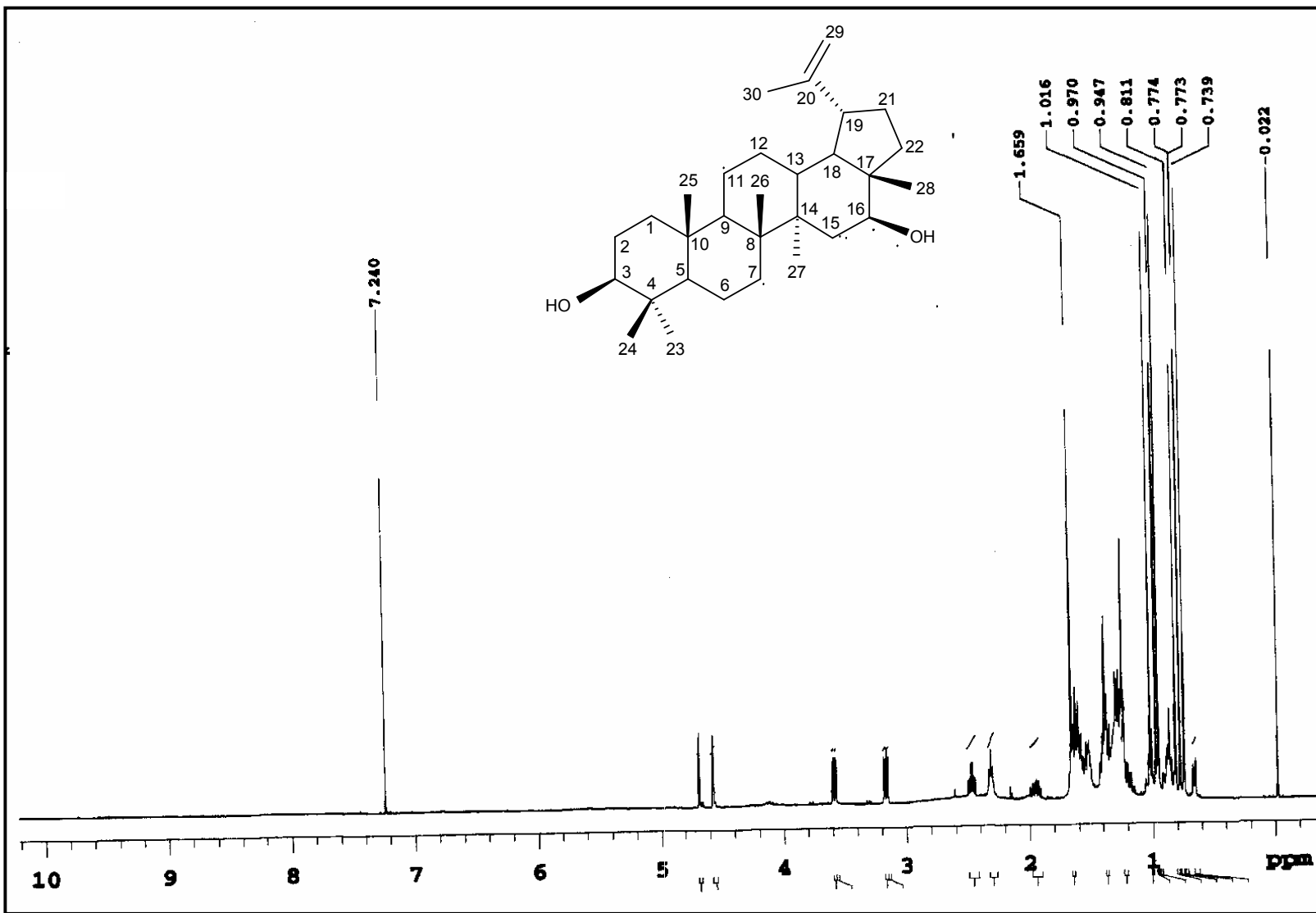


FIGURA 27. Espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3)

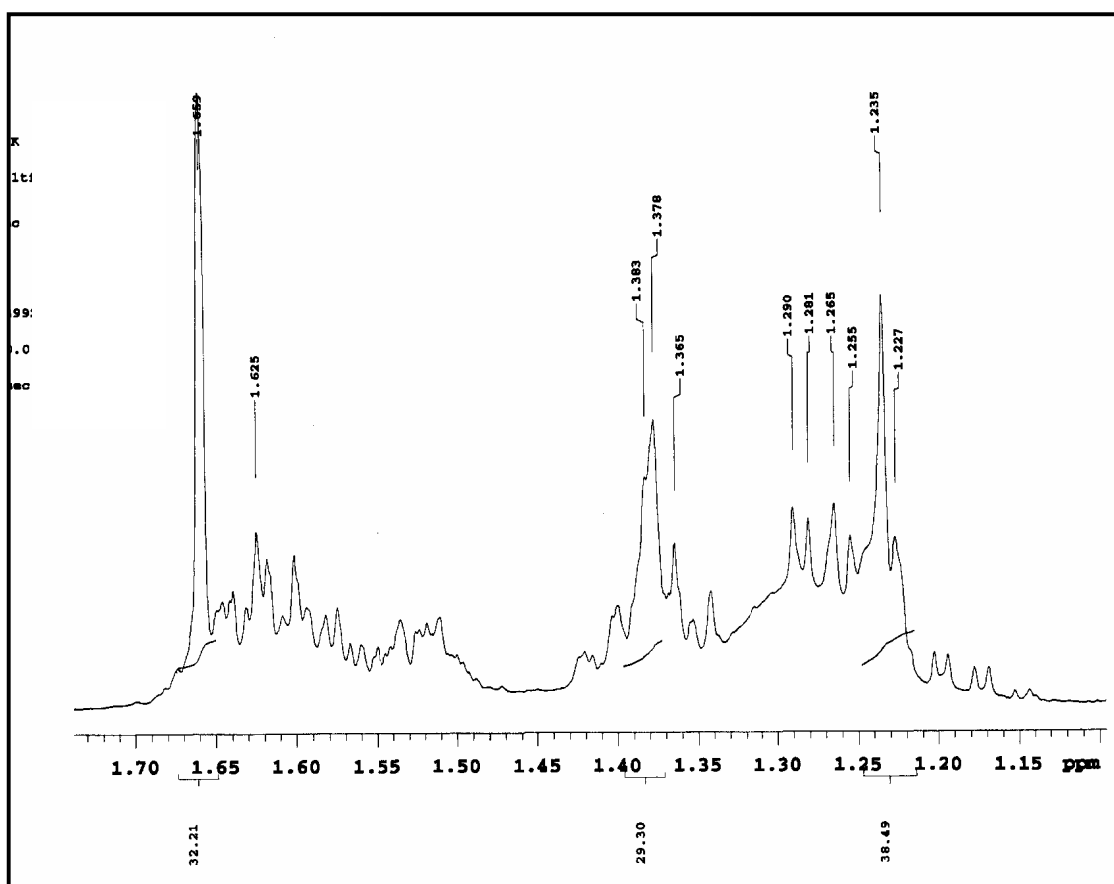


FIGURA 28. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (200 MHz, CDCl_3)

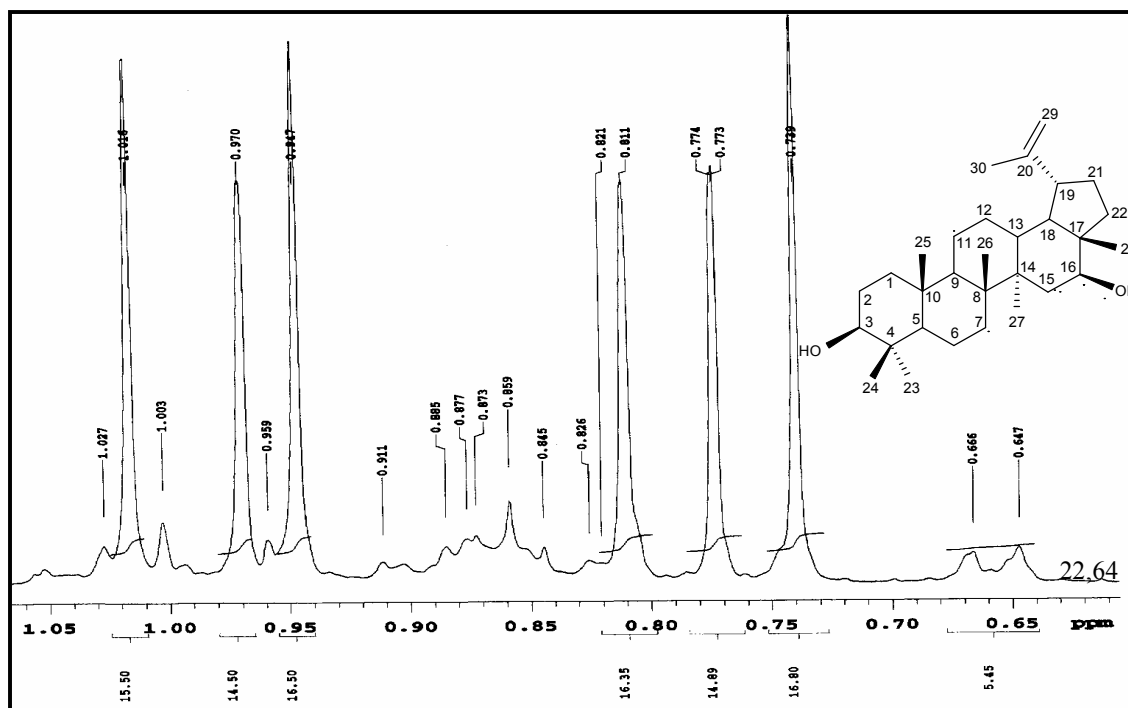


FIGURA 29. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3)

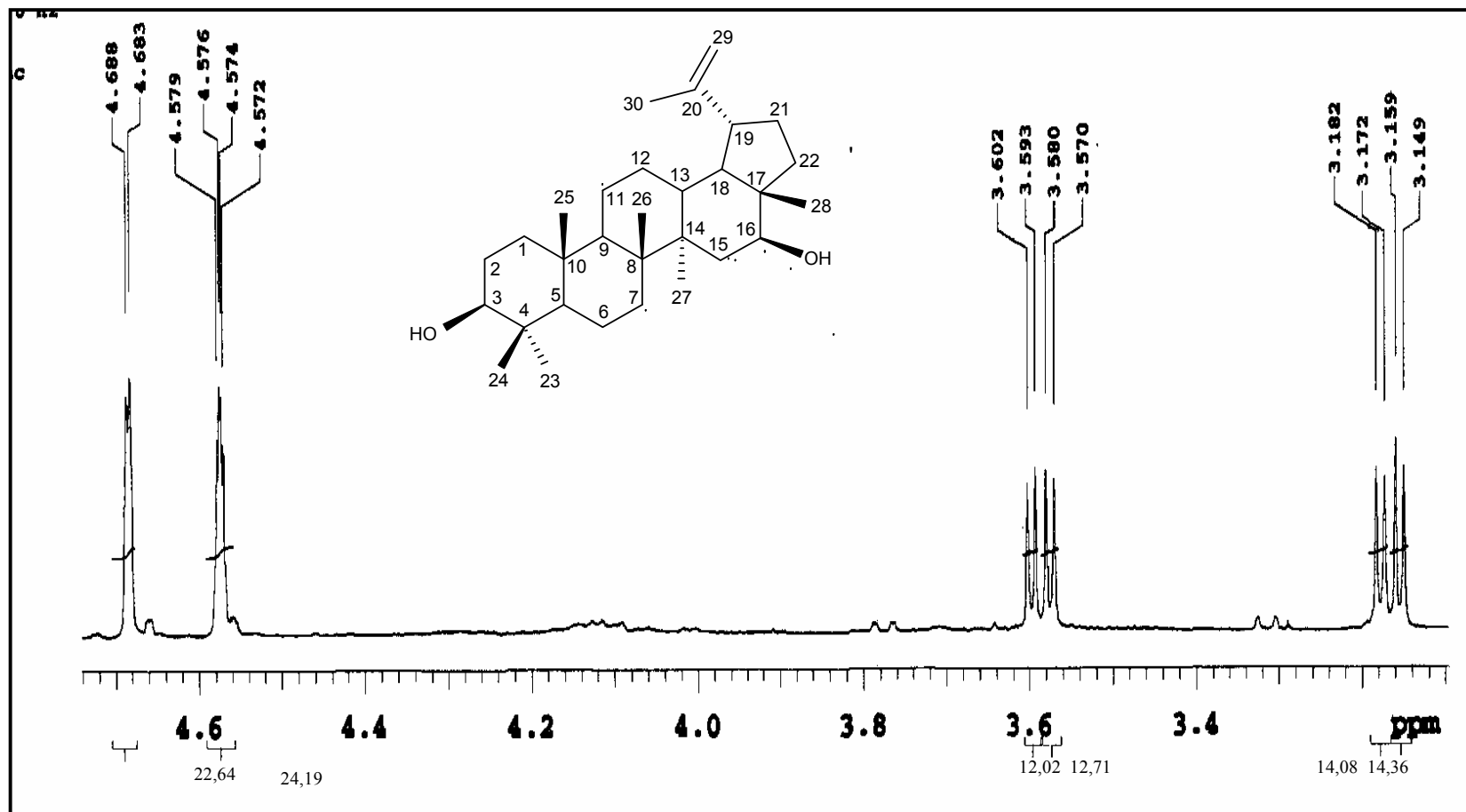


FIGURA 30. Expansão do espectro de RMN de ¹H de Ac-4 (500 MHz, CDCl₃)

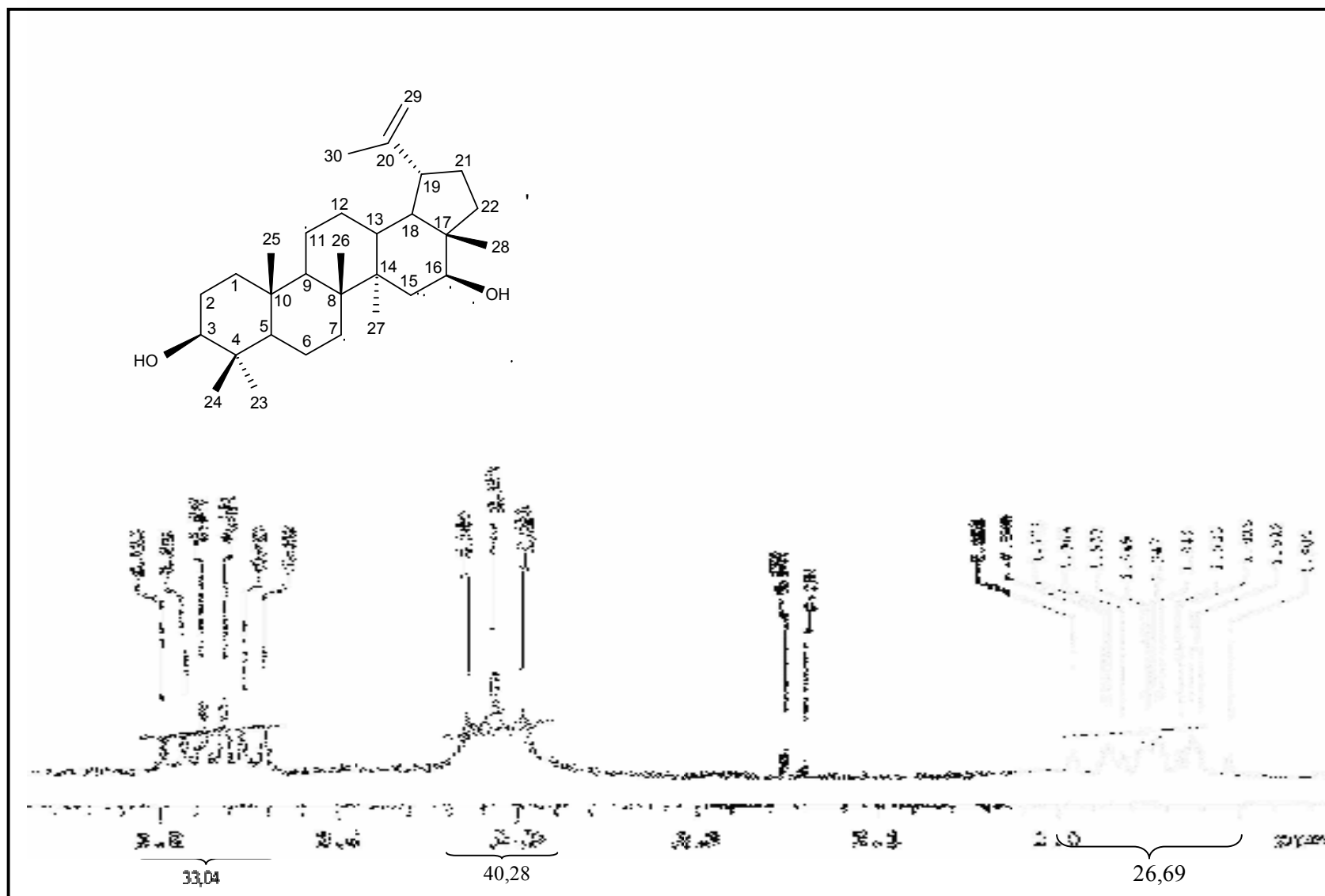


FIGURA 31. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-4 (500 MHz, CDCl_3)

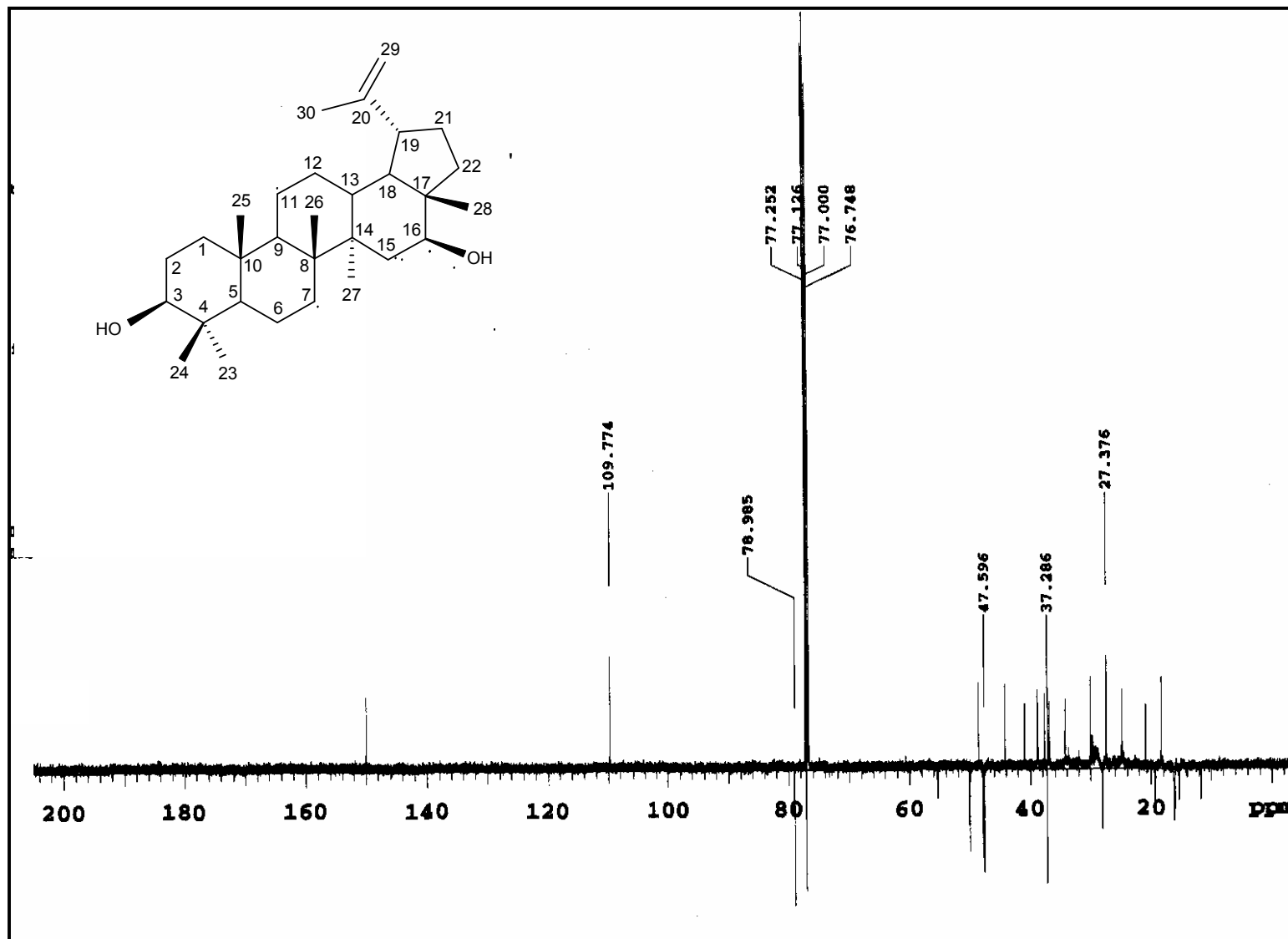


FIGURA 32. Espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl₃).

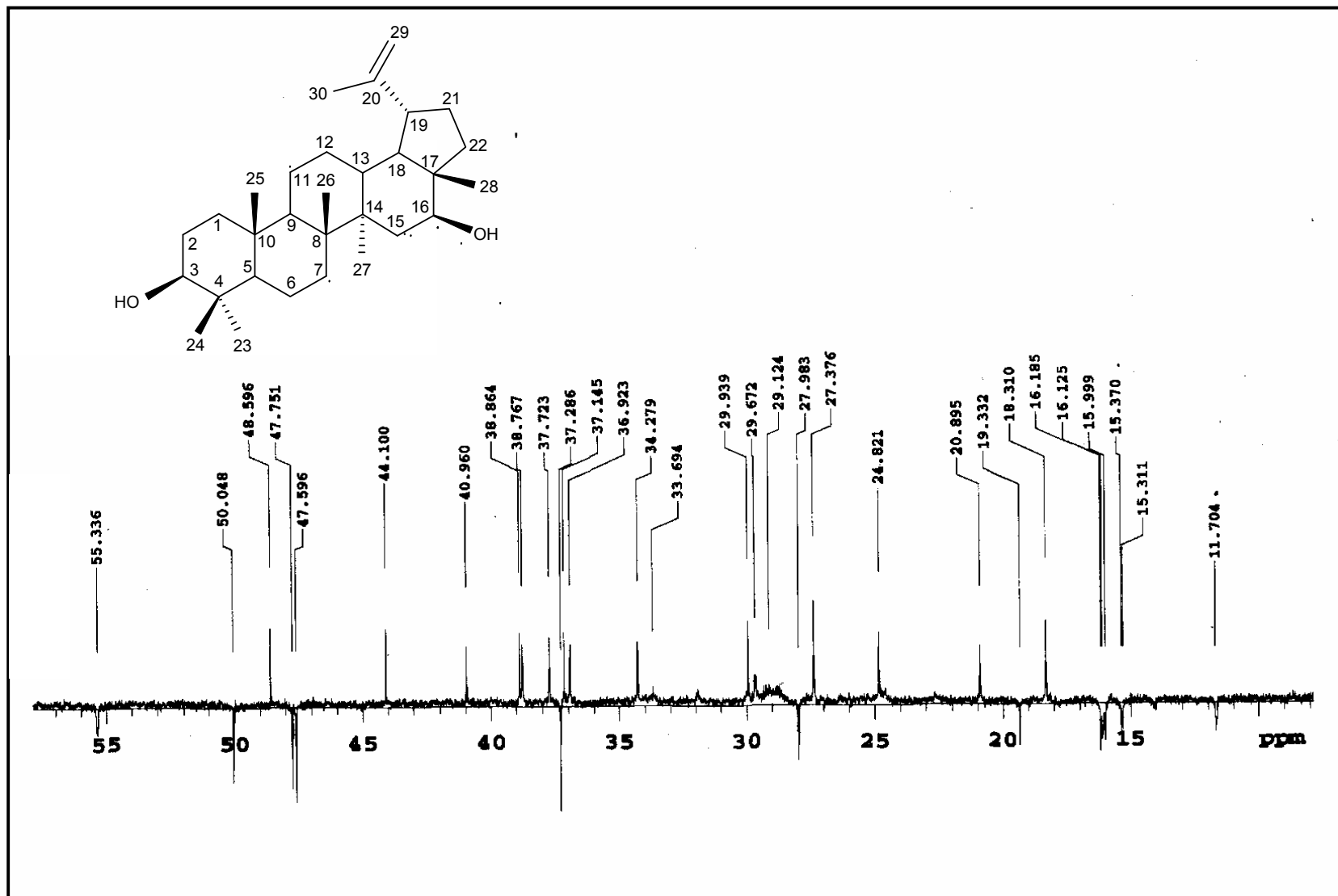


FIGURA 33. Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl₃).

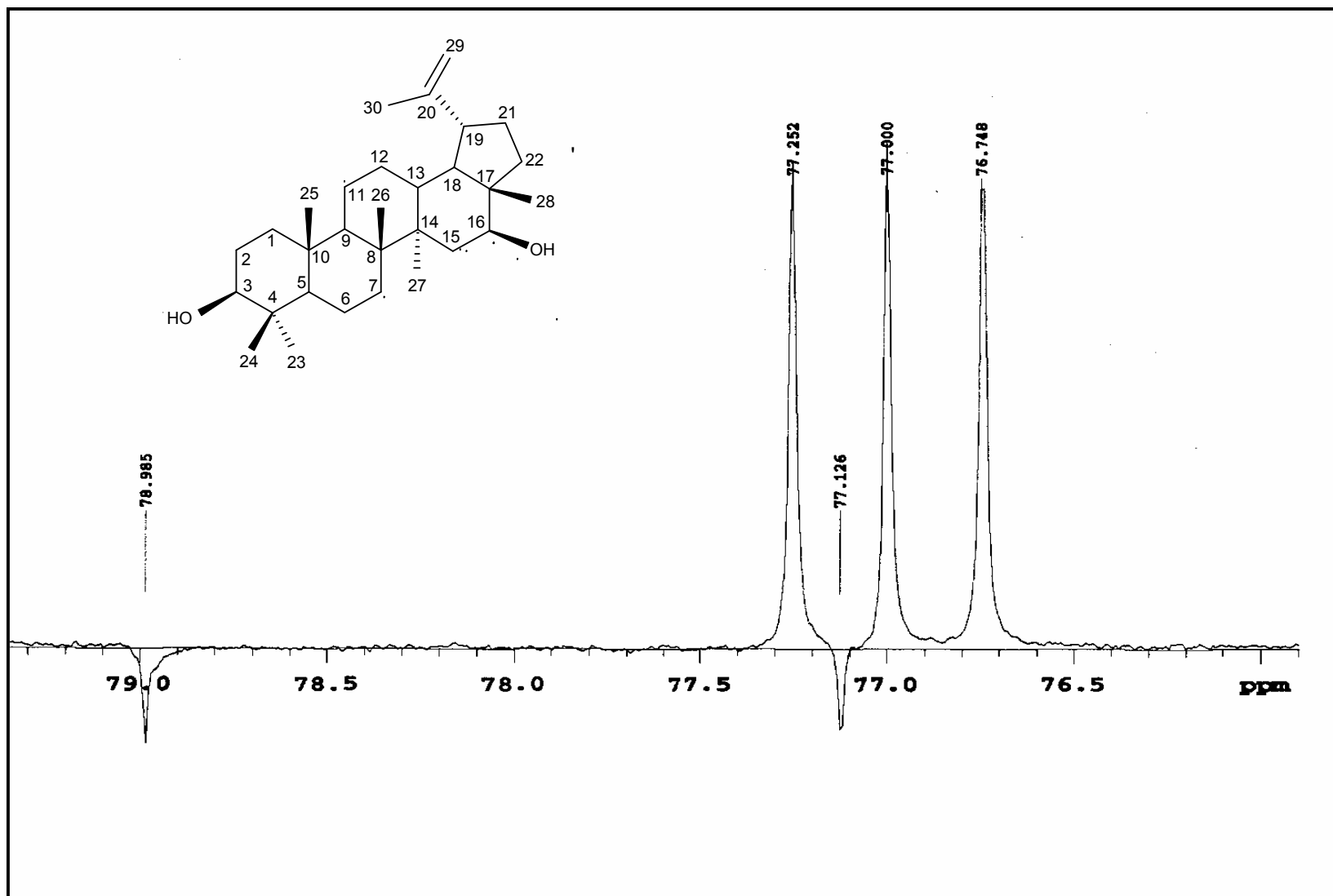


FIGURA 34. Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-4 (125 MHz, CDCl₃).

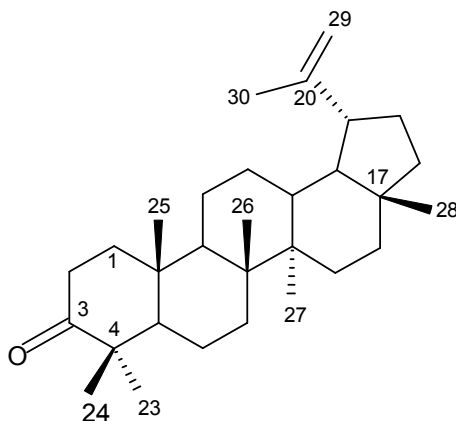
5.5 Identificação Estrutural de Ac-5

O composto codificado com Ac-5 apresentou-se na forma de cristais amarelados com Ponto de fusão 169-170 °C e rendimento 0,00045% .

O espectro de RMN de ^1H de Ac-5 (200 MHz, CDCl_3) (FIGURA 35, pág. 107) mostrou a presença de sete metilas (simpletos), destacando-se dentre estes o sinal da metila ligada a carbono sp^2 em δ_{H} 1,65 que, juntamente com o duplete em δ_{H} 4,66 e o multiplete em δ_{H} 4,54 atribuídos aos dois hidrogênios olefínicos, caracterizam o grupo isopropenil. Nesse espectro foi também observada a presença de um multiplete em δ_{H} 2,38 atribuído a dois hidrogênios α -carbonílicos. A ausência de sinal entre 3,0 e 4,0 ppm retrata a inexistência do grupo CH-OH na posição três (FIGURA 36 e 37, pág. 109 e 109).

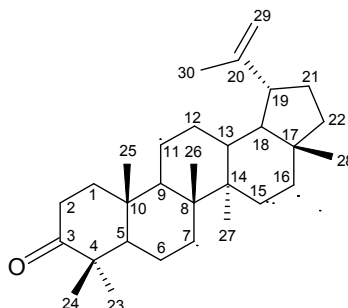
O espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) (FIGURA 38, pág. 110) revelou a presença de 30 sinais, dos quais seis são não hidrogenados, seis são metínicos, onze são metilênicos e sete referentes a metílicos, sugerindo um esqueleto triterpênico. A presença do sinal em δ_{C} 218,28 e a ausência do sinal do carbono oximetínico ($\delta_{\text{C}} \sim 79,0$) indicou a presença de uma carbonila em C-3. Adicionalmente observou-se sinais para carbonos sp^2 em δ_{C} 150,89 e δ_{C} 109,38 (CH_2), cujos valores de deslocamento químico são característicos de triterpenos pentacíclicos da série lupano com insaturação entre C-20 e C-29.

Comparação dos deslocamentos químicos encontrados com dados da literatura permitiu identificar Ac-6 como sendo o triterpeno Lup-20(29)-en-3-one, também denominada de Lupenona (Tabela 6, pág. 106).



A lupenona apresenta comprovada atividade antiviral (MADUREIRA et al., 2003) e antileucêmica (HATA et al., 2003).

TABELA 6. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-5 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura [(CDCl_3) (AHMAD; ATTA-UR-RAHMAN, 1994)] (δ em ppm e J em Hz).



	Lupenona δ_{C}	Ac-5 δ_{C}	δ_{H}
C			
4	47,3	47,32	
8	40,9	40,74	
10	36,8	36,85	
14	42,9	42,86	
17	42,9	42,87	
20	150,6	150,89	
CH			
3	217,9	218,28	
5	55,0	54,88	
9	49,8	49,76	
13	36,2	38,12	
18	48,3	48,19	
19	47,3	47,94	
CH ₂			
1	39,6	39,59	
2	34,1	34,15	2,38 (m)
6	19,6	19,65	
7	33,6	33,52	
11	21,5	21,43	
12	25,2	25,10	
15	27,4	27,39	
16	35,6	35,48	
21	29,9	29,79	
22	40,0	39,94	
29	109,2	109,38	4,66 (d, $J=5,5$) 4,54 (m)
CH ₃			
23	26,6	26,62	0,77 (s)
24	21,0	21,02	0,90 (s)
25	15,8	15,76	0,93 (s)
26	15,9	15,96	1,00 (s)
27	14,4	14,45	1,04 (s)
28	18,0	17,99	1,04 (s)
30	19,3	19,28	1,65 (s)

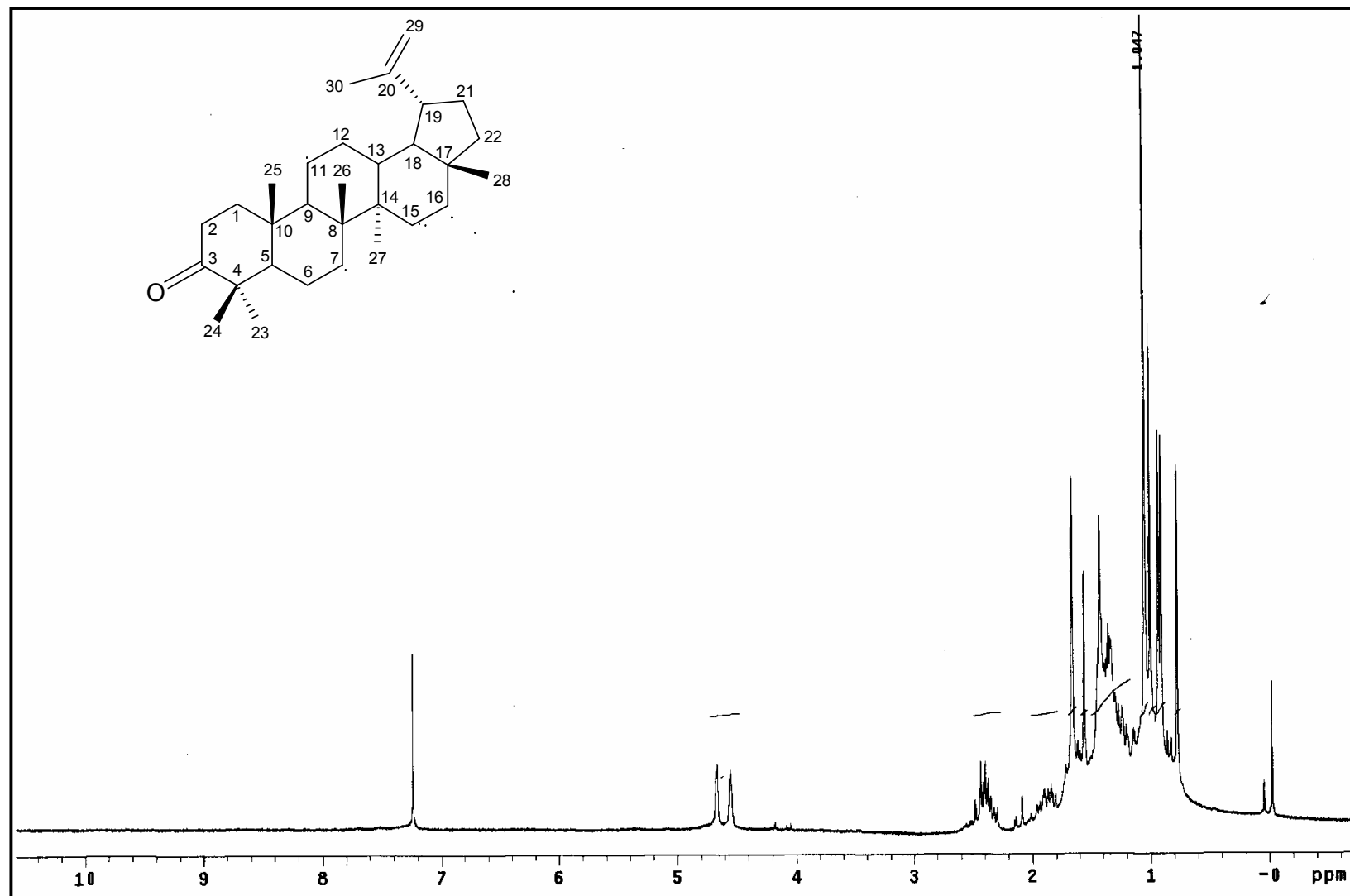


FIGURA 35. Espectro de RMN de ^1H de Ac-5 (200 MHz, CDCl_3)

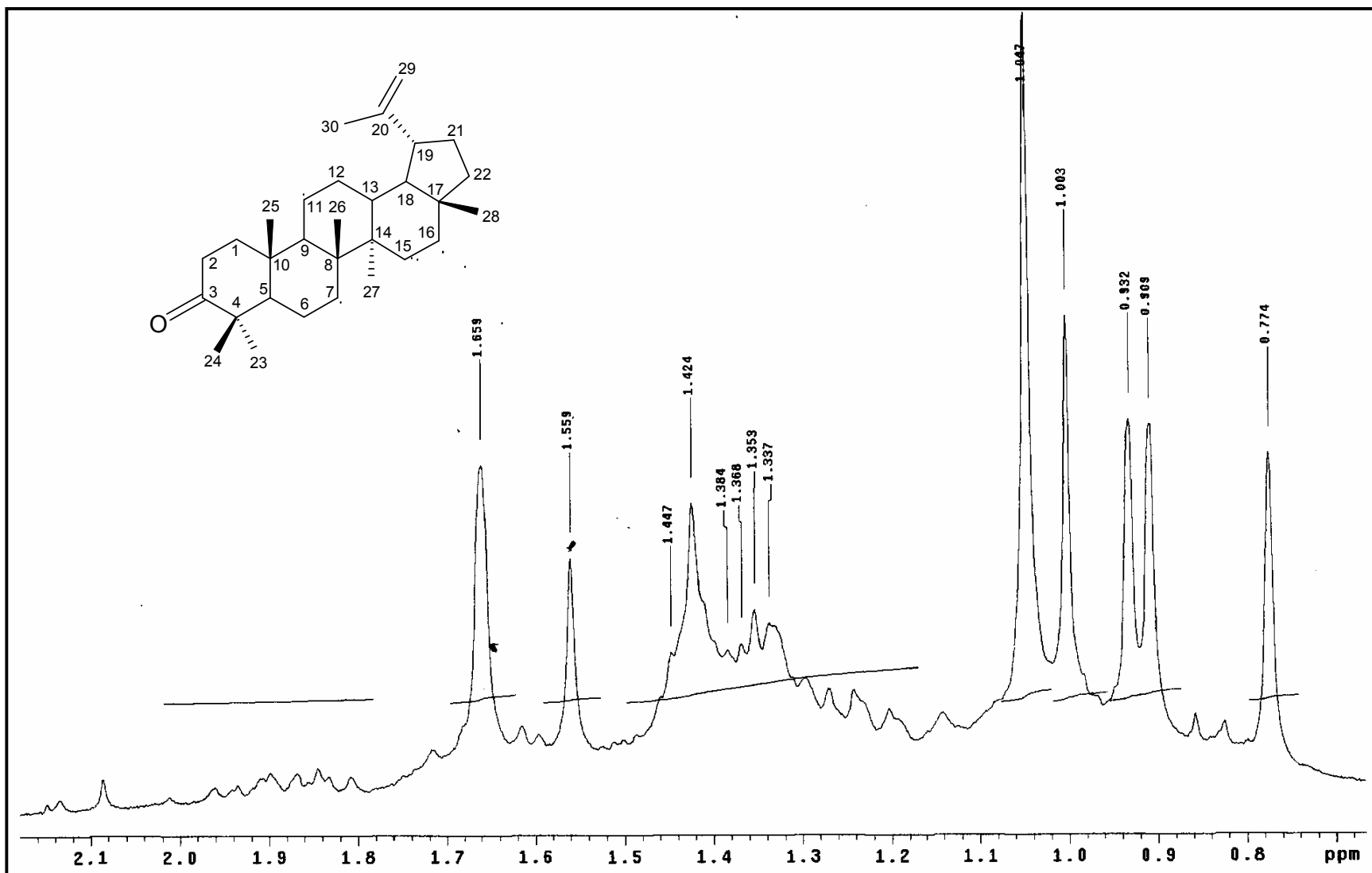


FIGURA 36. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-5 (200 MHz, CDCl_3)

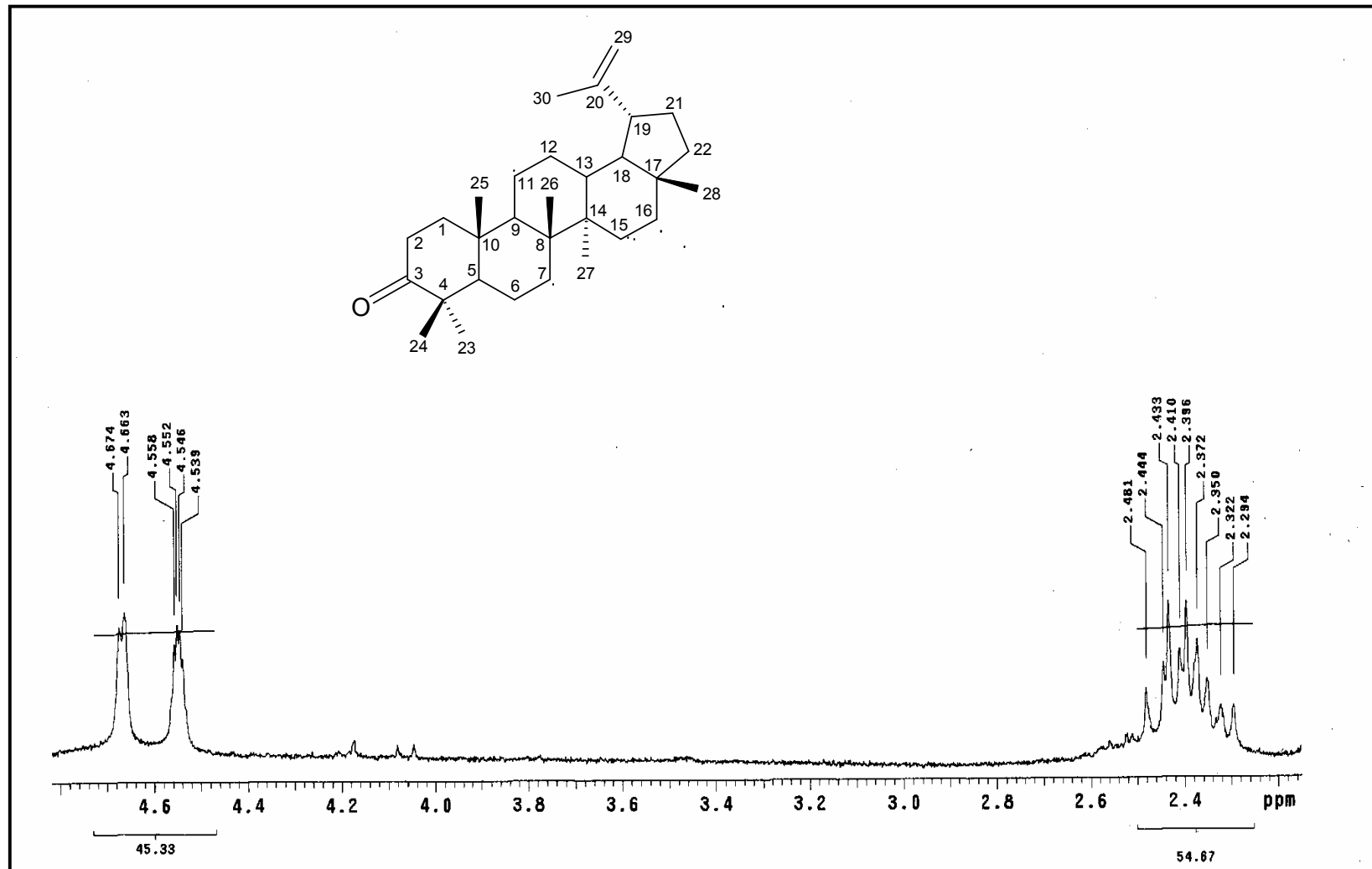


FIGURA 37. Expansão do espectro de RMN de ¹H de Ac-5 (200 MHz, CDCl₃)

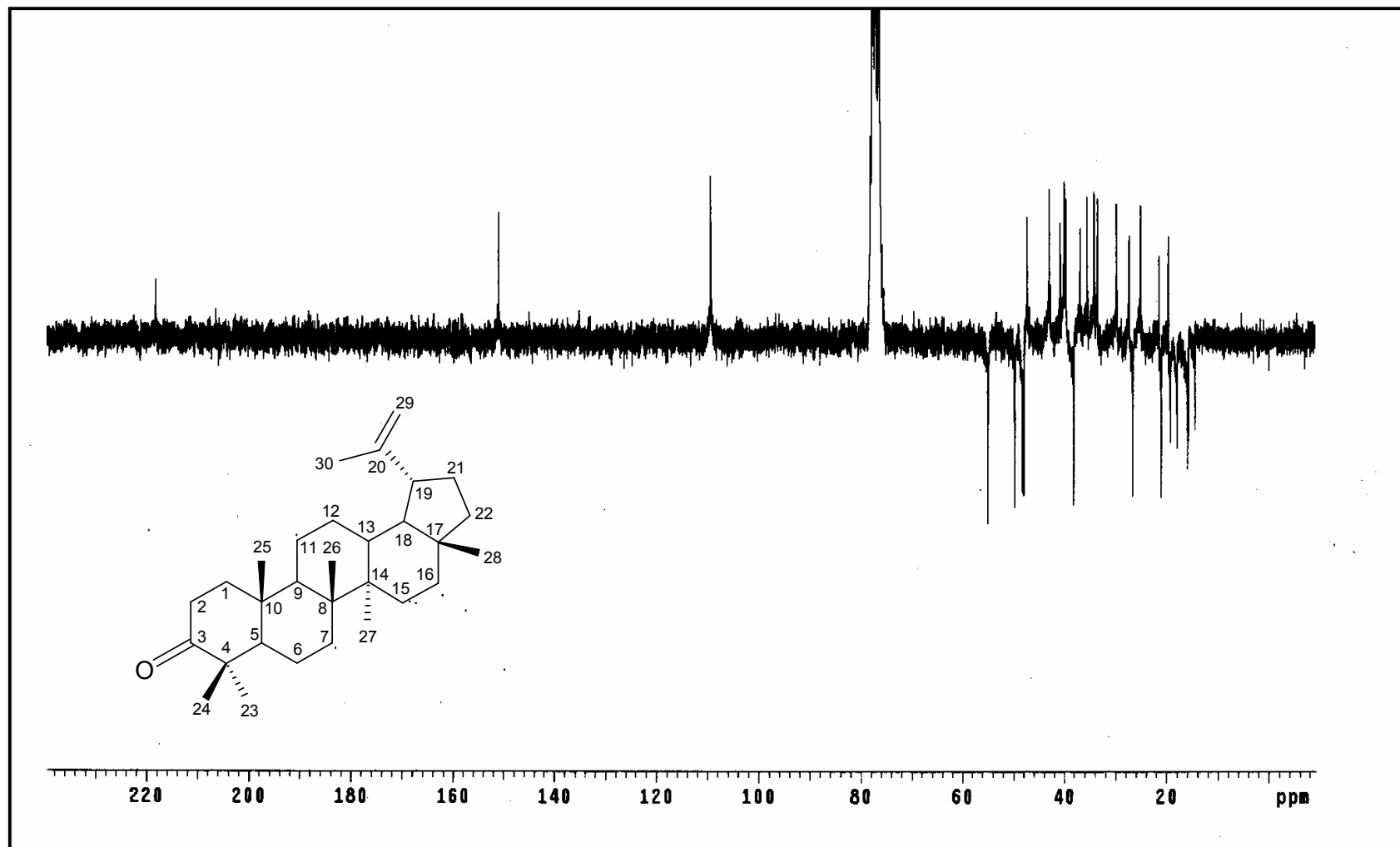


FIGURA 38. Espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-5 (50 MHz, CDCl₃).

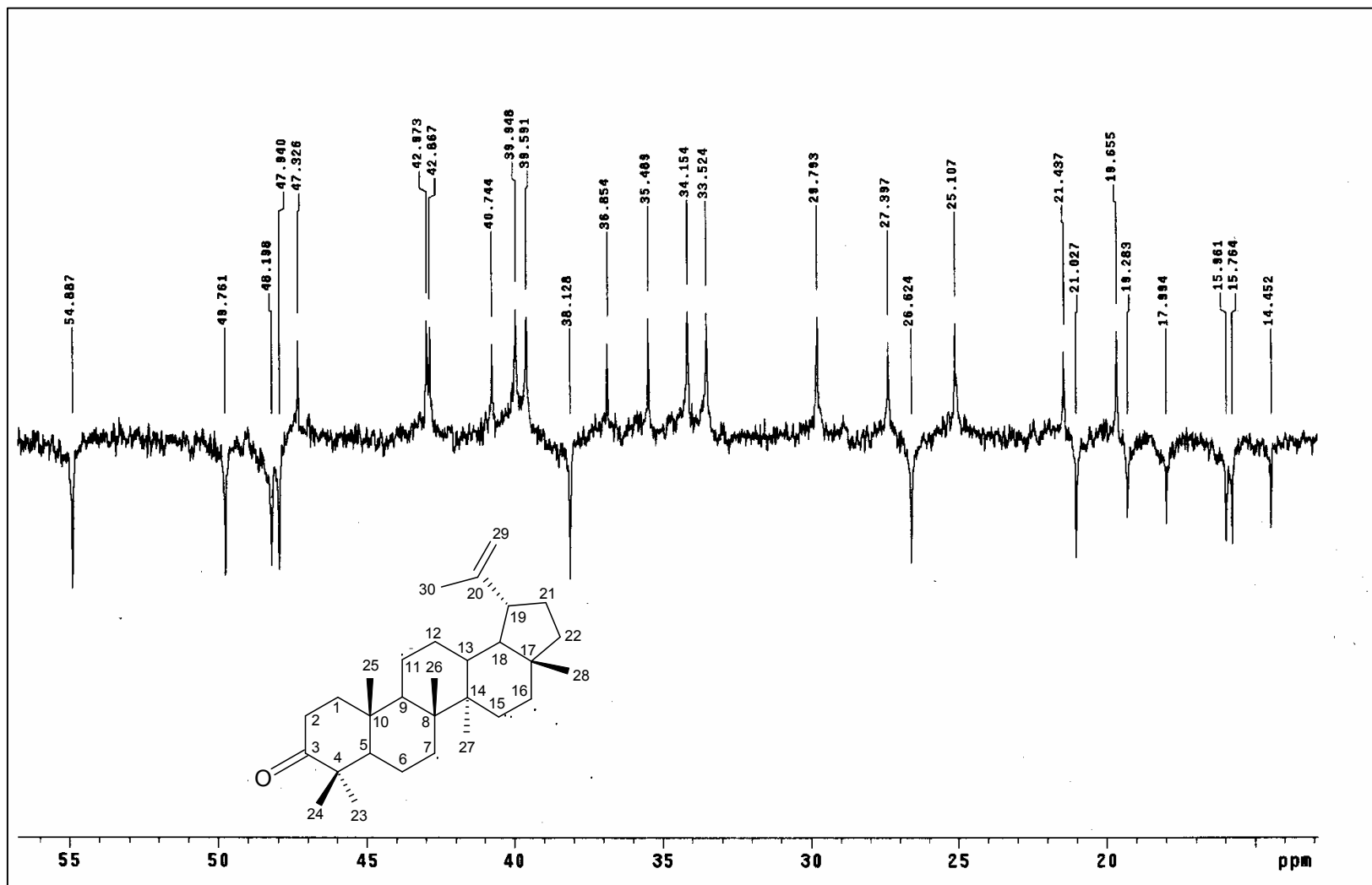


FIGURA 39. Expansão do espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-5 (50 MHz, CDCl₃).

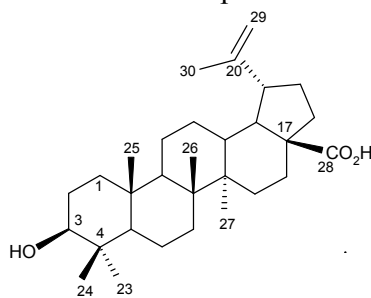
5.6 Identificação Estrutural de Ac-6

O composto codificado como Ac-6 foi obtido na forma de cristais brancos com ponto de fusão entre 262-264 °C e rendimento 0,02%.

O espectro de RMN de ^1H de Ac-6 (200 MHz, CDCl_3) (FIGURA 40, pág. 114) assim como Ac-1 mostrou um envelope de absorções entre 0,7 e 2,0 ppm, característico de terpenóides. Dentro desta região observa-se simpletos referentes a cinco metilas quaternárias (δ_{H} 0,68; δ_{H} 0,75; δ_{H} 0,87; δ_{H} 0,89; δ_{H} 0,90) e um simpleto em δ_{H} 1,62 característico de metila olefínica (FIGURA 41, pág. 114). Observou-se ainda um multiplete em δ_{H} 3,11 indicando a presença de um hidrogênio oximetínico e dois simpletos largos em δ_{H} 4,65 e δ_{H} 4,53 atribuídos a hidrogênios olefínicos (FIGURA 42, pág. 115).

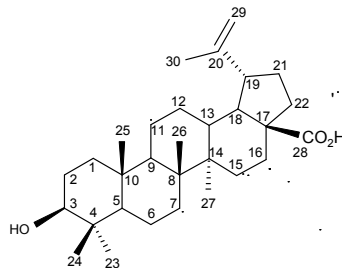
O espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) (FIGURA 43, pág.115) revelou a presença de 30 sinais, dos quais sete são não hidrogenados, seis são metínicos, onze são metilênicos e seis referentes à metílicos, reforçando a sugestão de um esqueleto triterpenico. O sinal em δ_{C} 179,58 foi referente à presença de carbono de um grupo carboxílico. Adicionalmente foram observados deslocamentos em δ_{C} 78,81 sugerindo a presença de um grupo hidroxílico em posição equatorial e em δ_{C} 150,58 e δ_{C} 109,42 característicos de triterpenos pentacíclicos da série lupano com insaturação entre C-20 e C-29 (FIGURA 44 e 45, pág. 116 e 117).

Através da análise dos dados espectrais e por comparação com a literatura pode-se afirmar que a substância Ac-6 trata-se do ácido lup-20(29)-en-28-oico, conhecido como ácido betulínico. Os dados de RMN ^1H e ^{13}C de Ac-3 estão compilados na tabela 7 (pág. 113).



Pesquisas realizadas com o apoio do Instituto Nacional do Câncer revelaram que o Ácido betulínico constitui um inibidor seletivo de melanomas em seres humanos, bem como revelou potente inibição contra HIV em células linfócitas H9 (FUJIOKA et al., 1994). Além disso, na concentração de 5 μmol , inibiu a atividade antitumoral exercida pelo 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno (MAHATO, 1997).

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-6 em CDCl_3 e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura [(CDCl_3) (MAHATO; KUNDU, 1994)] (δ em ppm e J em Hz)



C	Ácido betulínico δ_{C}	Ac-6 δ_{C}	δ_{H}
4	38,8	38,71	
8	40,7	40,56	
10	37,2	37,06	
14	42,4	42,32	
17	56,3	56,13	
20	150,3	150,58	
28	180,5	179,58	
CH			
3	78,9	78,81	3,11 (m)
5	55,3	55,24	
9	50,5	50,42	
13	38,4	38,21	
18	46,8	46,85	
19	49,2	49,11	
CH ₂			
1	38,7	38,62	
2	27,4	27,01	
6	18,3	18,18	
7	34,3	34,22	
11	20,8	20,77	
12	25,5	25,41	
15	30,5	30,48	
16	32,1	32,13	
21	29,7	29,58	
22	37,0	37,06	
29	109,6	109,42	4,65 (sl) 4,53 (sl)
CH ₃			
23	27,9	27,82	0,68 (s)
24	15,3	15,24	0,75 (s)
25	16,0	15,83	0,87 (s)
26	16,1	15,99	0,89 (s)
27	14,7	14,55	0,90 (s)
30	19,4	19,21	1,62 (s)

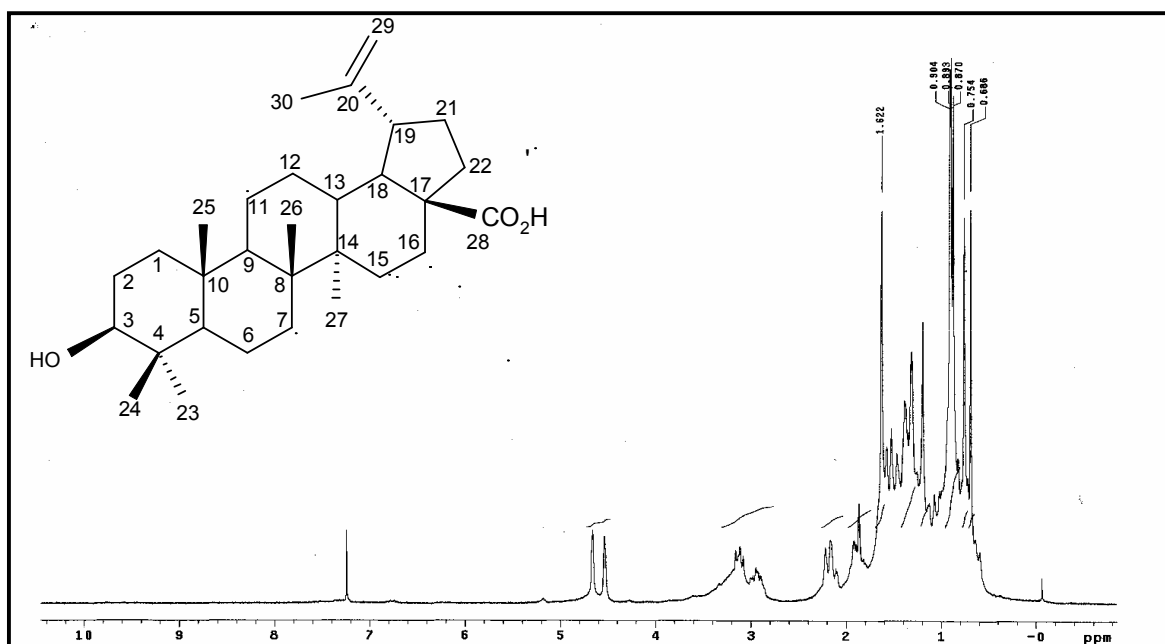


FIGURA 40. Espectro de RMN de ^1H de Ac-6 (200 MHz, CDCl_3)

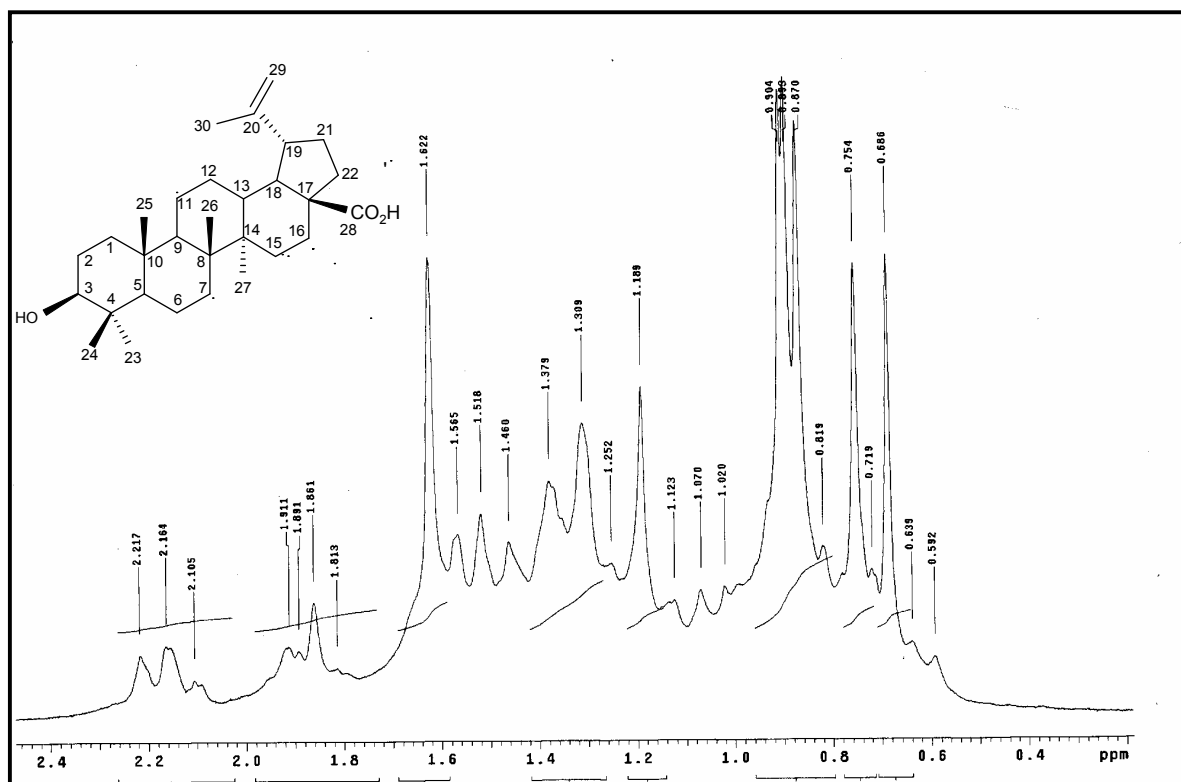


FIGURA 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-6 (200 MHz, CDCl_3)

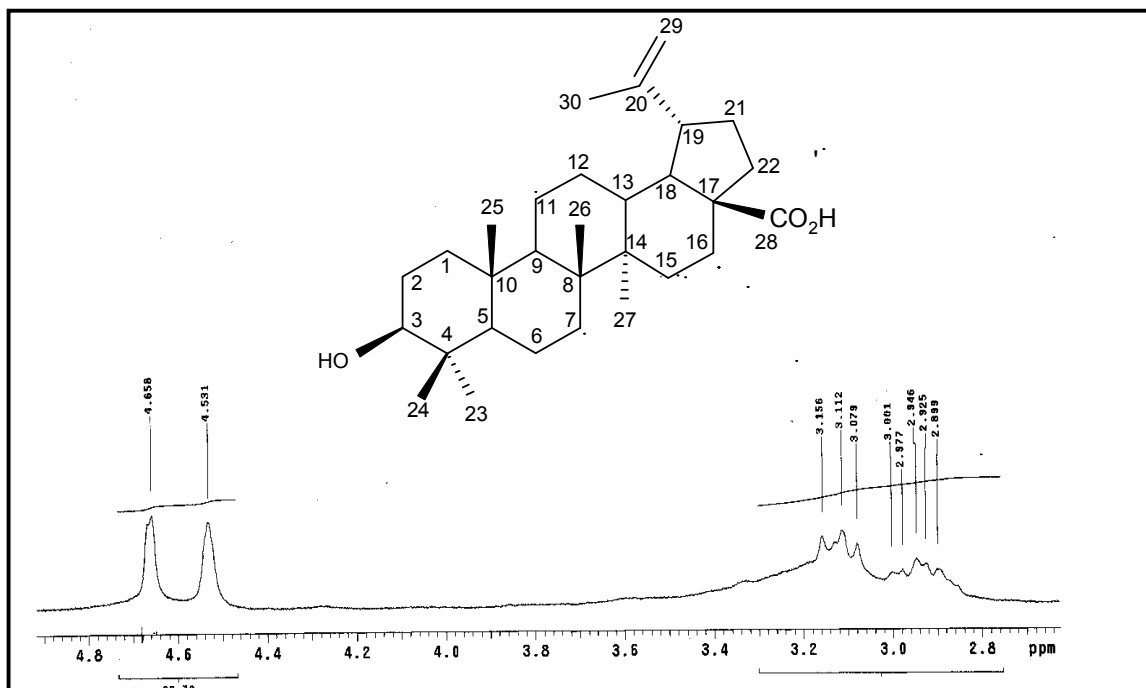


FIGURA 42. Expansão do espectro de RMN de ¹H de Ac-6 (200 MHz, CDCl₃)

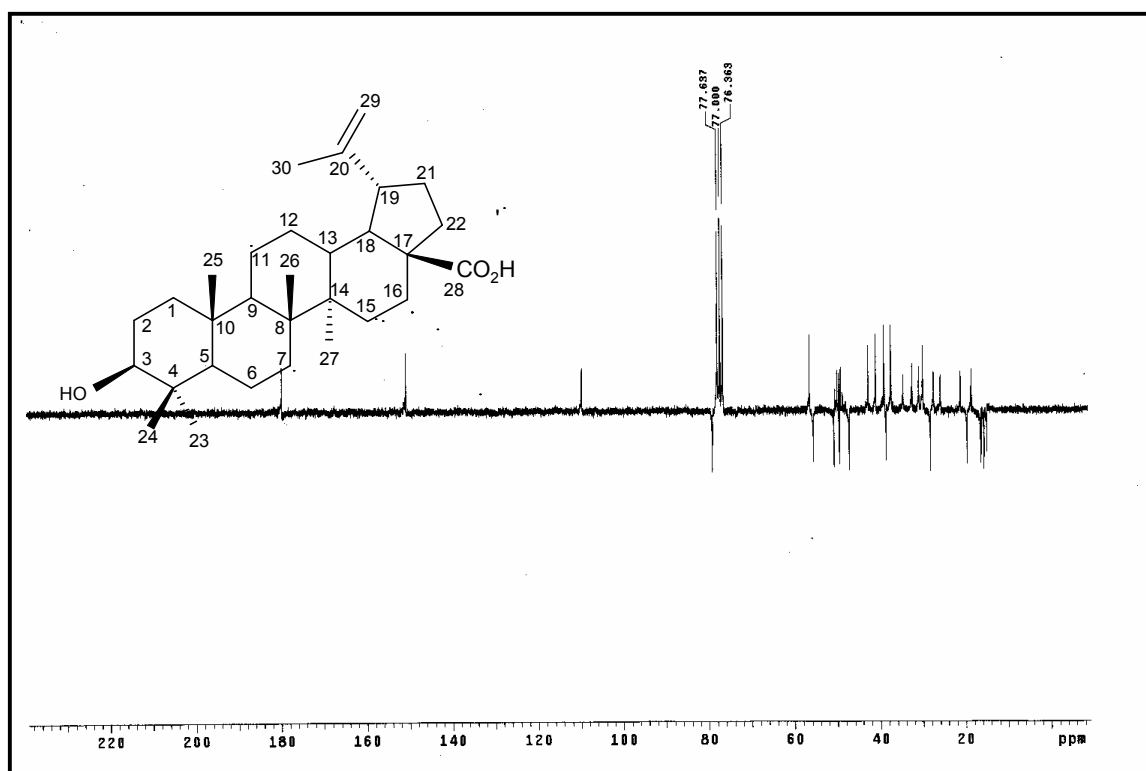


FIGURA 43. Espectro de RMN de ¹³C de Ac-6 (50 MHz, CDCl₃)

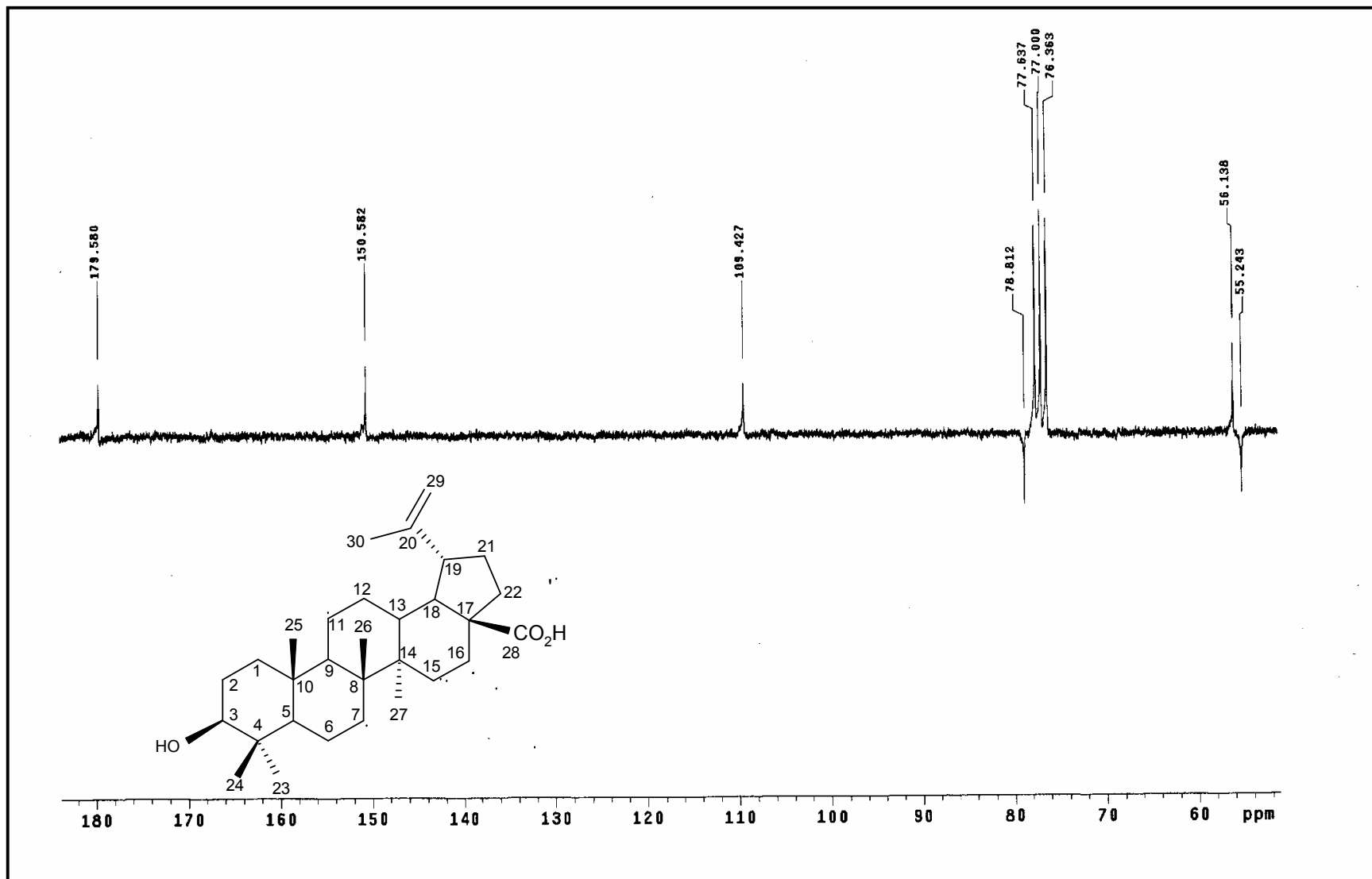


FIGURA 44. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-6 (50 MHz, CDCl_3).

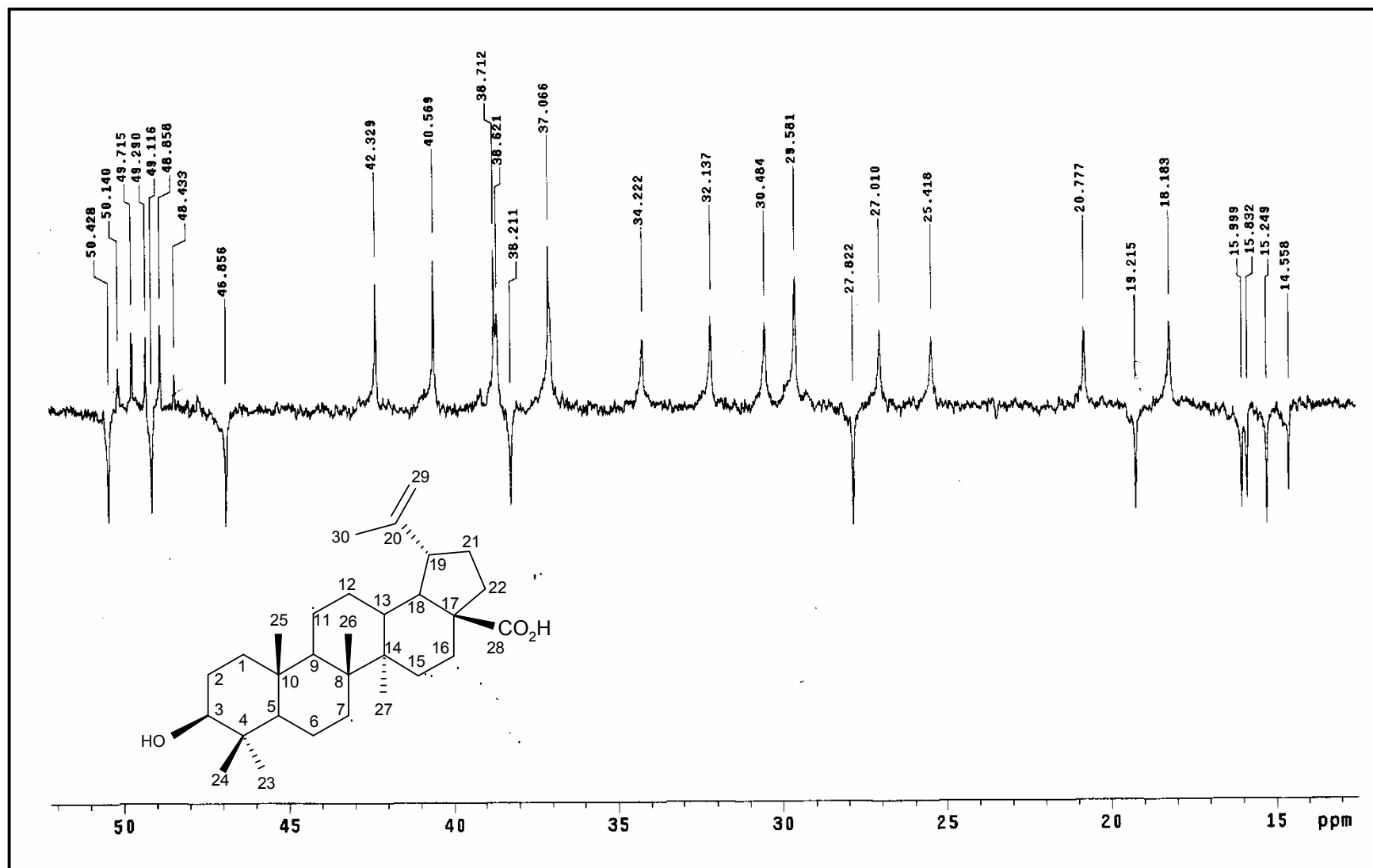


FIGURA 45. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-6 (50 MHz, CDCl_3).

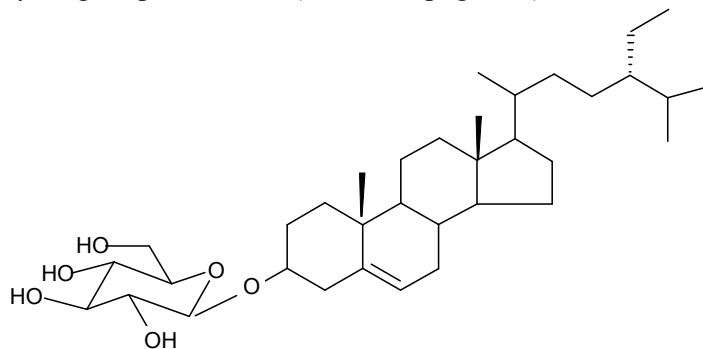
5.7 Identificação Estrutural de Ac-7

O composto Ac-7 apresentou-se com um pó branco com ponto de fusão 271-274 °C e rendimento 0,004%.

Na análise do espectro de RMN ^1H de Ac-7 (FIGURA 46, pág. 120) foi observado um envelope de absorções entre δ_{H} 0,6 e 2,7 característico de núcleo esteroidal ou triterpênico. A presença de unidade osídica foi sugerida por um conjunto de absorções entre δ_{H} 4,0 e δ_{H} 4,5 típicos de hidrogênios oximetínicos da referida unidade (KASAI et al., 1987). Um multiplete em δ_{H} 3,98 referente ao hidrogênio carbinólico, permitiu propor presença de unidade osídica no C-3, tendo em vista seu deslocamento para campo baixo em Ac-7 quando comparado com o mesmo hidrogênio (H-3) em Ac-1, que absorve em δ_{H} 3,15 (FIGURA 47, pág. 121)

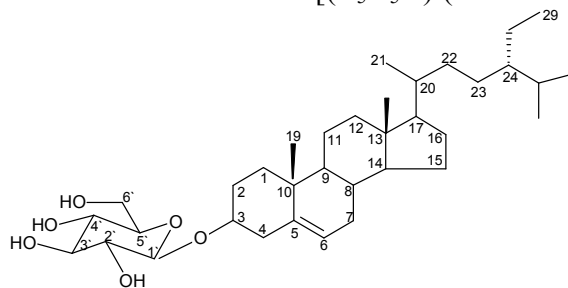
O espectro de RMN ^{13}C obtidos utilizando a técnica APT (FIGURA 48, pág. 122) corroboram com a proposta anterior da presença da unidade osídica, ao mostrar um sinal em δ_{C} 102,42 referente ao carbono anomérico (C-1') (AQUIMO et al., 1988), bem como absorções na região entre δ_{C} 71,52 e δ_{C} 78,35 condizentes com absorções de carbonos carbinólicos. Uma absorção em δ_{C} 62,66 referente a carbono metilênico oxigenado, confirma que a unidade osídica trata-se da glicose. Observou-se também sinais entre δ_{C} 11,85 e δ_{C} 19,86, característicos de carbonos metílicos de esteróides (BREITMAIER; VOELTER, 1990) (FIGURA 49, pág.123). Absorções em δ_{C} 140,77 e δ_{C} 124,20 correspondem, respectivamente, aos carbonos 5 e 6 do esqueleto de esteróides como o sitosterol.

A compilação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para o composto Ac-7 e comparação com valores da literatura (KOJIMA et al., 1990), permitiram identificá-lo como Sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo (Tabela 8, pág. 119).



Estudos *in vivo* em animais demonstraram que o β -sitosterol glicosilado apresenta atividades antiinflamatória, antineoplásica, antipirética e imuno modulatória (BOUIC et al., 1999).

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) para Ac-7 em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e comparação com os dados de RMN de ^{13}C da literatura [$(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$] (KOJIMA et al., 1990) (δ em ppm e J em Hz).



	Sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo	Ac-7
C	δ_{C}	δ_{C}
5	141,00	140,77
10	37,00	36,78
13	42,40	42,33
CH		
3	78,30	78,35
6	122,00	124,02
8	32,10	32,00
9	50,40	50,17
14	56,30	56,69
17	56,50	56,08
20	36,50	36,25
24	46,10	45,88
25	29,50	29,30
1'	102,60	102,42
2'	75,40	75,19
3'	78,70	78,35
4'	71,70	71,52
5'	77,50	77,98
CH ₂		
1	37,60	37,33
2	30,30	30,11
4	39,40	39,18
7	32,20	32,05
11	21,40	21,13
12	40,00	39,55
15	24,60	24,38
16	28,70	28,43
22	34,30	34,00
23	26,40	26,20
28	23,40	23,24
6'	62,90	62,66
CH ₃		
18	12,00	11,88
19	19,30	19,30
21	19,10	19,07
27	19,50	19,30
27	20,10	19,86
29	12,20	11,85

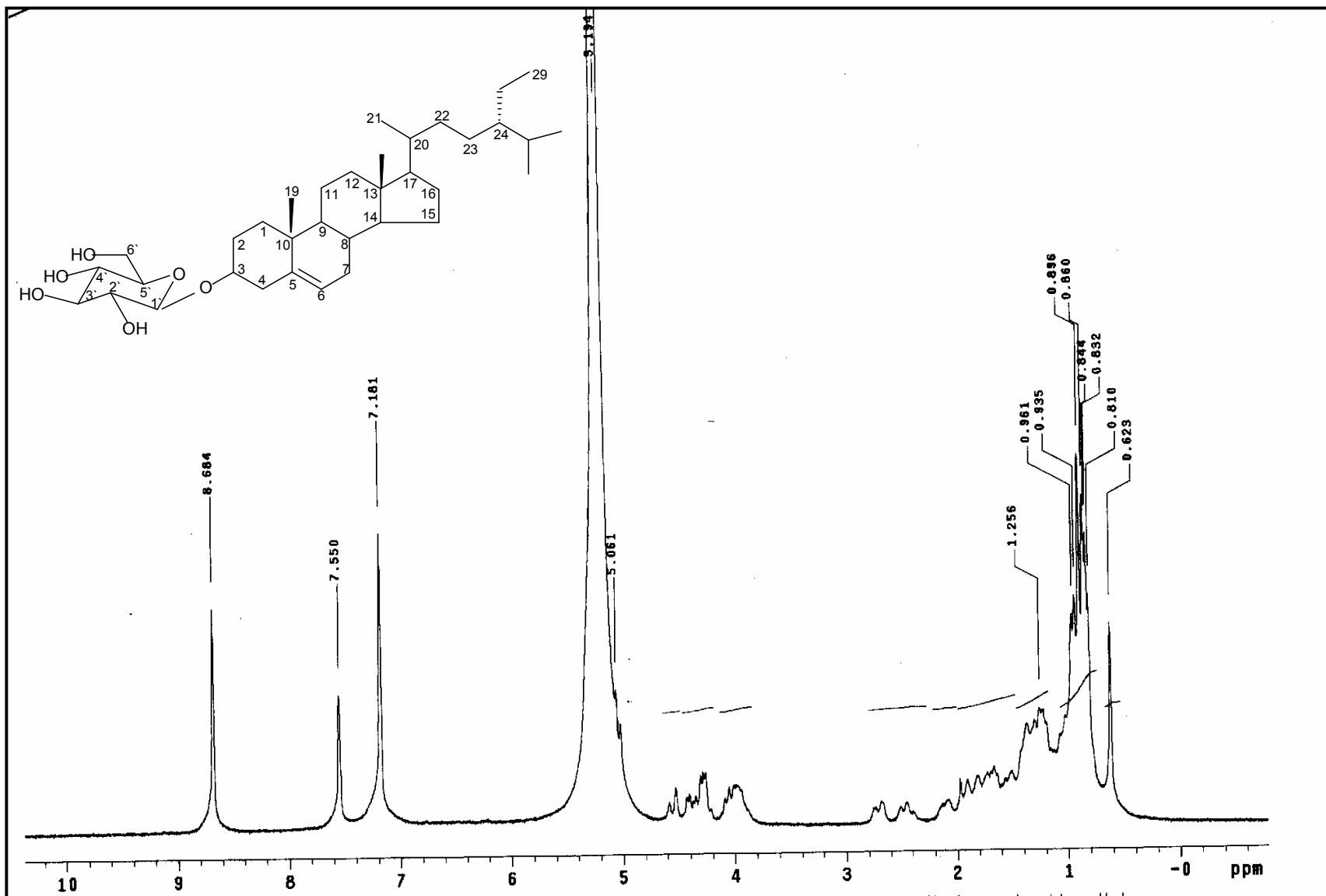


FIGURA 46. Espectro de RMN de ¹H de Ac-7 (200 MHz, C₅D₅N)

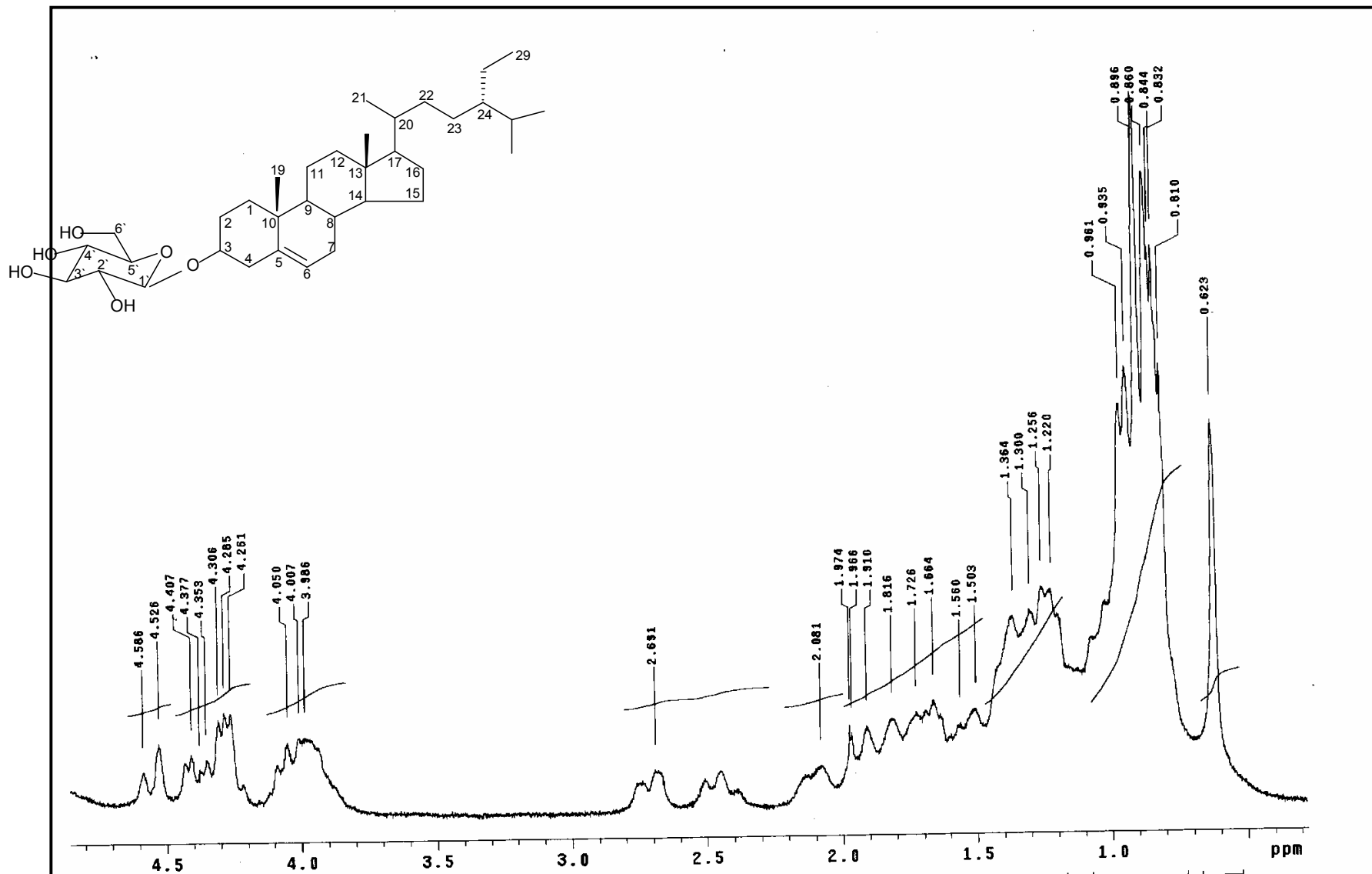


FIGURA 47. Expansão do espectro de RMN de ¹H de Ac-7 (200 MHz, C₅D₅N)

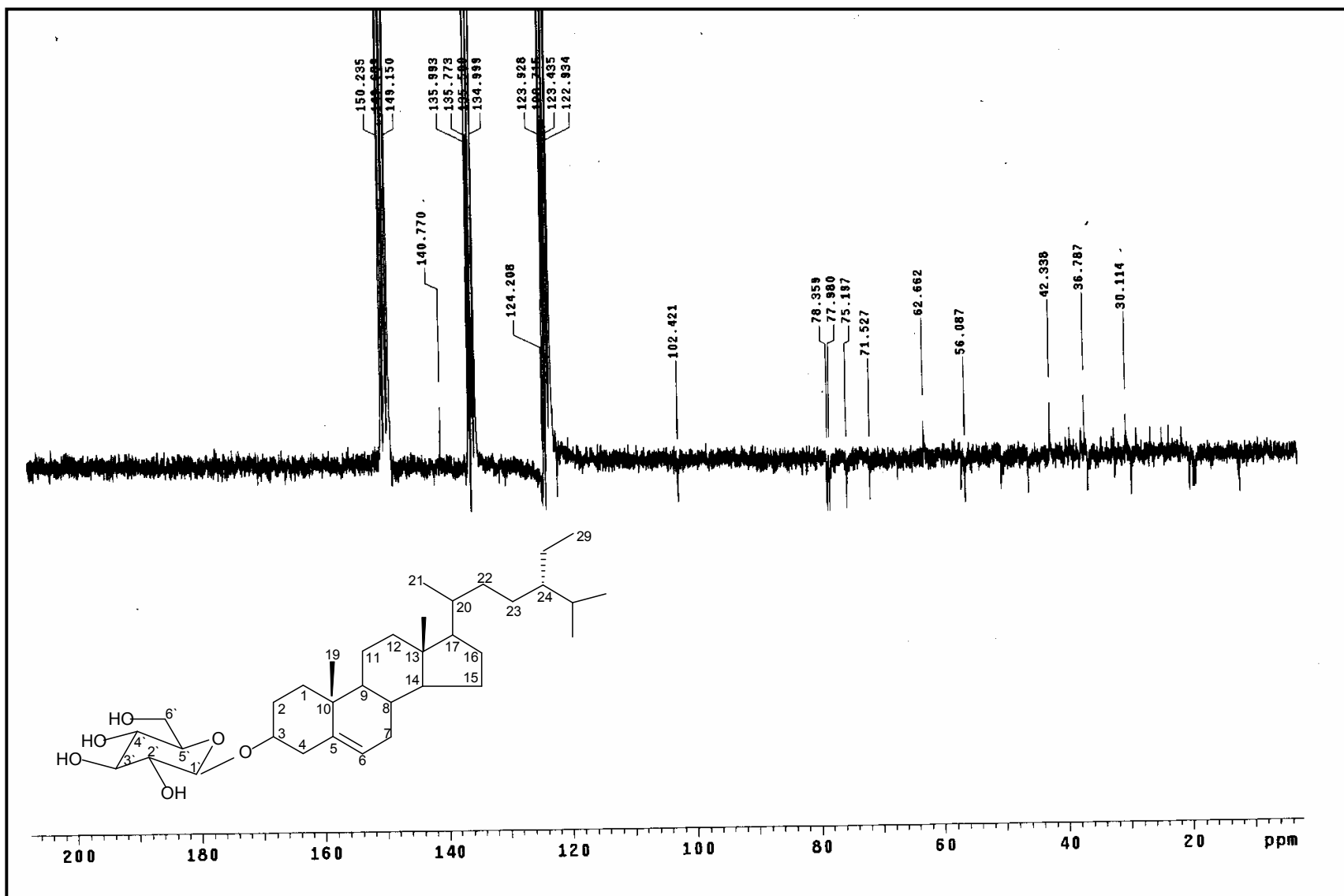


FIGURA 48. Espectro de RMN de ¹³C-APT de Ac-7 (50 MHz, C₅D₅N).

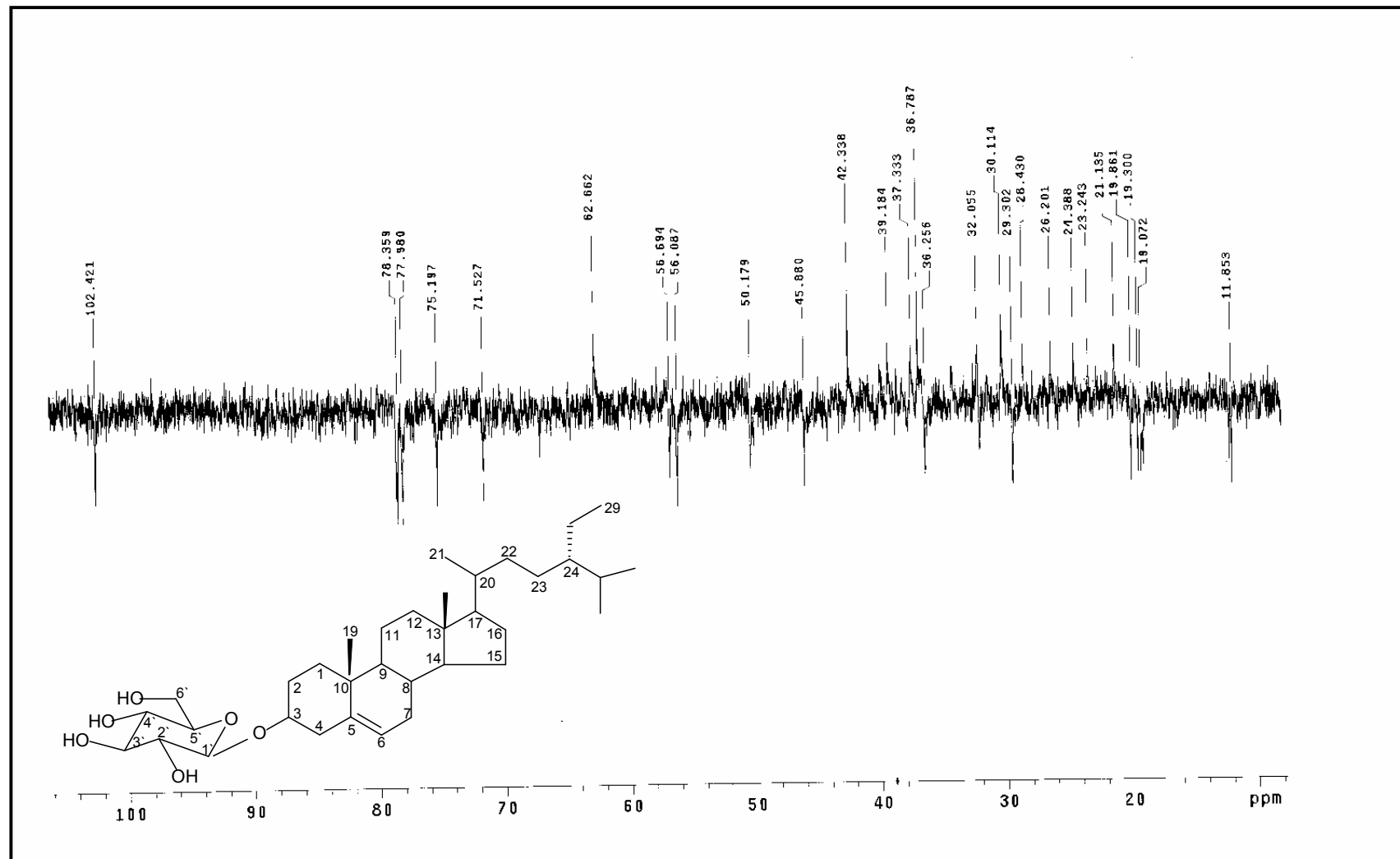


FIGURA 49. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-7 (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

5.8 Identificação Estrutural de Ac-8

O composto codificado como Ac-8 foi obtido como um sólido avermelhado, solúvel em metanol, com ponto de fusão 176 °C, pesando 27 mg e com rendimento 0,0027%.

No espectro de absorção na região do infravermelho realizado em pastilhas de KBr (FIGURA 50, pág. 127) observou-se bandas de absorção na região de 1613-1447 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação carbono-carbono de anel aromático e deformações em torno de 1285-1000 cm^{-1} e 824-785 cm^{-1} indicativas da presença de anel aromático, bem como uma banda em 3307 cm^{-1} , que sugere a presença de grupo OH na molécula. (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) (FIGURA 51 e 52, pág. 128 e 129) revelou a presença de quinze sinais, sendo sete não hidrogenados, sete metínicos e um metilênico. A presença de 15 carbonos associada ao fato de doze destes estarem na região de absorção de aromático (entre δ_{C} 95,85 e 158,0) sugeriu a presença de esqueleto de flavonóide ($\text{C}_6\text{C}_3\text{C}_6$). A observação de três sinais referentes a carbonos saturados em δ_{C} 79,86 referente a um carbono oxibenzílico; δ_{C} 67,48 atribuído a carbono oximetínico e em δ_{C} 29,26 atribuído a um carbono metilênico benzílico aliado a ausência de bandas referente a carbonila (1700 cm^{-1}) no espectro de infravermelho indica que Ac-8 trata-se de um flavonóide pertencente a classe flavan-3-ol, grupo que não possui carbonila na posição quatro nem conjugação entre os anéis A e B.

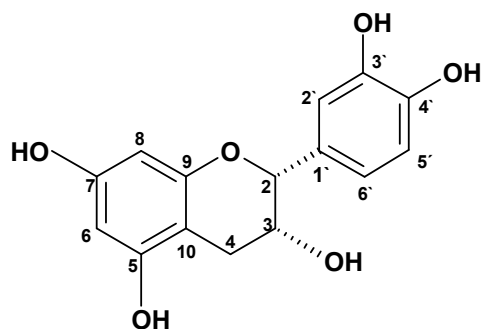
No espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) (FIGURA 53, pág. 130) observaram-se sinais característicos de hidrogênios aromáticos entre δ_{H} 5,90 (d, $J=2.4$ Hz) e 6,96 (d, $J=1,6$ Hz). Os sinais atribuídos a dois hidrogênios em δ_{H} 2,71 (H-4eq) e 2,86 (H-4ax) ligados ao carbono C-4 e o sinal em δ_{H} 4,16 (H-3) reforçou a proposta de que Ac-8 trata-se de um flavan-3-ol (FIGURA 54, pág. 131).

Os sinais de RMN de ^1H em δ 5,93 (d, $J=2.4$ Hz) e δ 5,90 (d, $J=2.4$ Hz) acoplado num sistema AX de spins sugeriu que o anel A encontrava-se hidroxilado nas posições C-5 e C-7 (FIGURA 54, pág.131).

Comparando os dados espectrais de Ac-8 com valores encontrados na literatura (BAE et al., 1994; CUI et al., 1992) podemos confirmar que Ac-8 trata-se da 3,3,4',5,7-pentahidroxiavana.

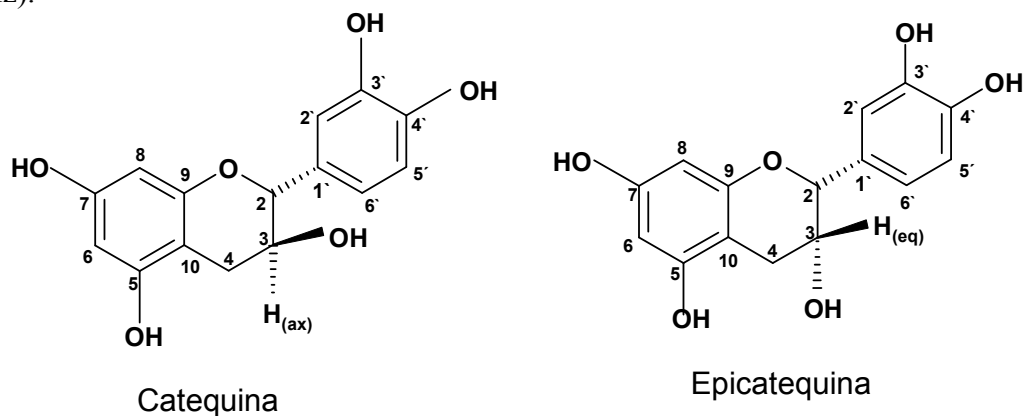
Os dados da literatura relatam a existência de dois isômeros para a substância do 3,3',4',5,7- pentahidroxi flavana : a epicatequina onde a hidroxila ligada a C-3 encontra-se em posição axial e a catequina onde esta hidroxila encontra-se em posição equatorial e esclarece como diferencial entre elas o fato de que no espectro de RMN de ^1H o H-3eq na epicatequina encontra-se mais desprotegido ($\delta \sim 4,01$) que o H-ax da catequina ($\delta \sim 3,83$) e que o hidrogênio metilênico benzílico H-4ax embora protegido em ambas, é ligeiramente mais protegido na catequina e no espectro de RMN de ^{13}C a diferença epimérica entre catequina/epicatequina é $\Delta\delta +3,4$ (C-2), $\Delta\delta +2,1$ (C-3) e $\Delta\delta -0,7$ (C-4) (Tabela 9) (AGRAWAL; BANSAL, 1989).

Assim através da análise de todos os dados expostos acima pode-se afirmar que a substância Ac-8 trata-se do isômero epicatequina. Os dados de RMN ^1H e ^{13}C de Ac-8 estão compilados na tabela 9 (pág. 126).



A epicatequina possui várias propriedades farmacológicas comprovadas dentre elas atividade relaxante vascular (XU et al., 2007), antioxidante (REN; HALAWEISH, 2007), inibidor do citocromo P450 3^a (KUO; HSIONG; HU, 2007) e antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus* (SHIN; CHUNG, 2007).

TABELA 9. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C da substância Ac-8 em CD_3OD com valores encontrados na literatura (BAE et al., 1994; CUI et al., 1992) (δ em ppm e J em Hz).



	Catequina		Epicatequina		Ac-8	
CH	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
2	82,85	4,57	79,85	4,81	79,86	4,80 (m)
3	68,82	3,98	67,48	4,17	67,48	4,16 (m)
6	96,37	5,93	96,46	5,95	95,85	5,93 (d, $J=2.4$ Hz)
8	95,58	5,87	95,95	5,93	96,35	5,90 (d, $J=2.4$ Hz)
2'	115,29	6,84	115,34	6,98	115,30	6,96 (d, $J=1.6$ Hz)
5'	116,15	6,76	115,95	6,76	115,87	6,76 (d, $J=8.0$ Hz)
6'	120,09	6,72	119,46	6,80	119,37	6,79 (dd, $J=1.6$ e 8.0 Hz)
C						
5	157,58	-	157,97	-	158,00	-
7	157,82	-	157,63	-	157,66	-
9	156,93	-	157,36	-	157,35	-
10	100,89	-	100,13	-	100,03	-
1'	132,25	-	132,29	-	132,27	-
3'	146,23	-	145,91	-	145,93	-
4'	146,25	-	145,75	-	145,77	-
CH₂						
4ax.	28,49	2,51	29,25	2,86	29,26	2,86 (dd, $J=5.0$ e 17.2 Hz)
4eq.		2,85		2,74		2,71 (dd, $J=2.8$ e 16.6 Hz)

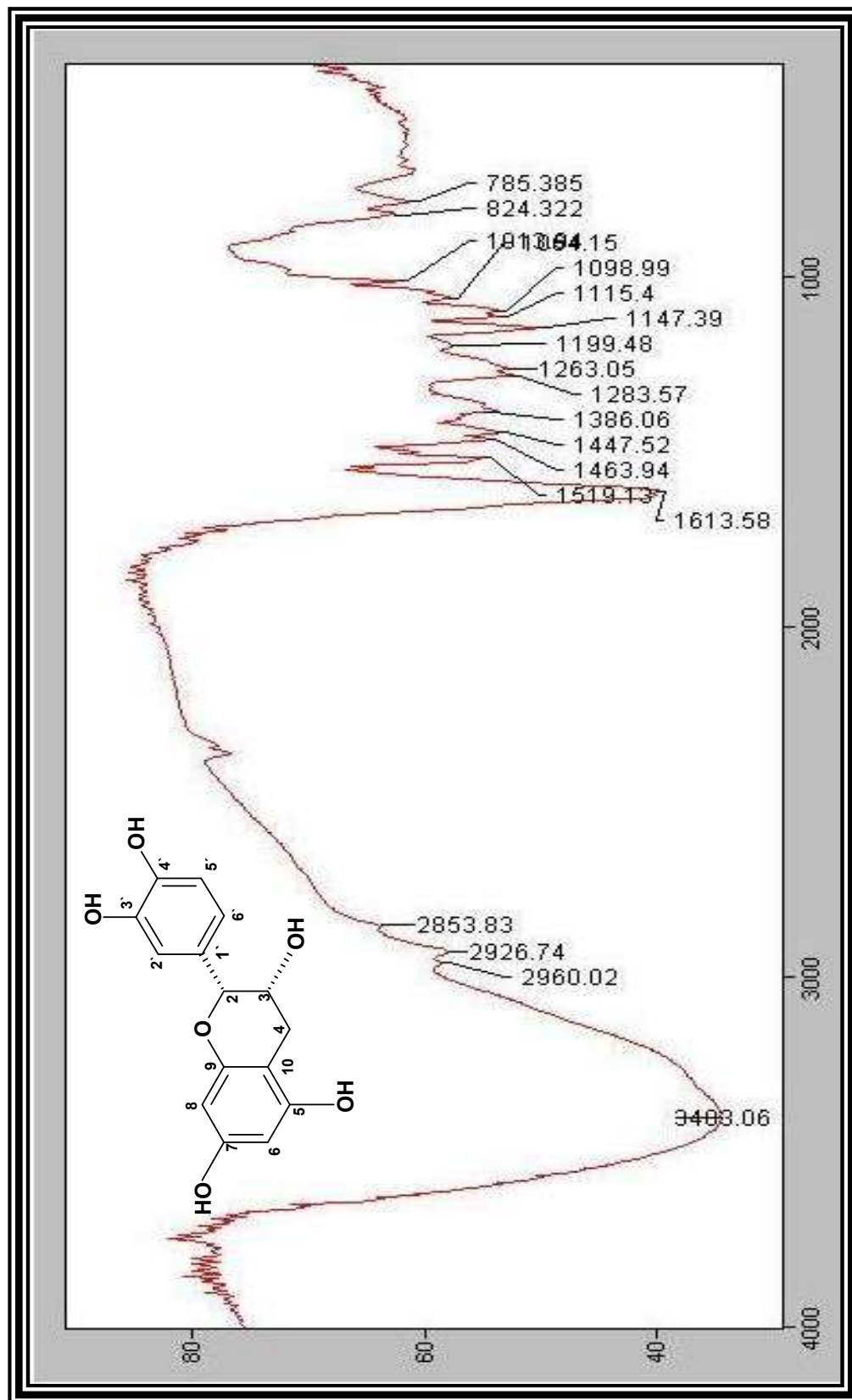


FIGURA 50: Espectro na região do infravermelho de Ac-8 (Pastilhas de KBr)

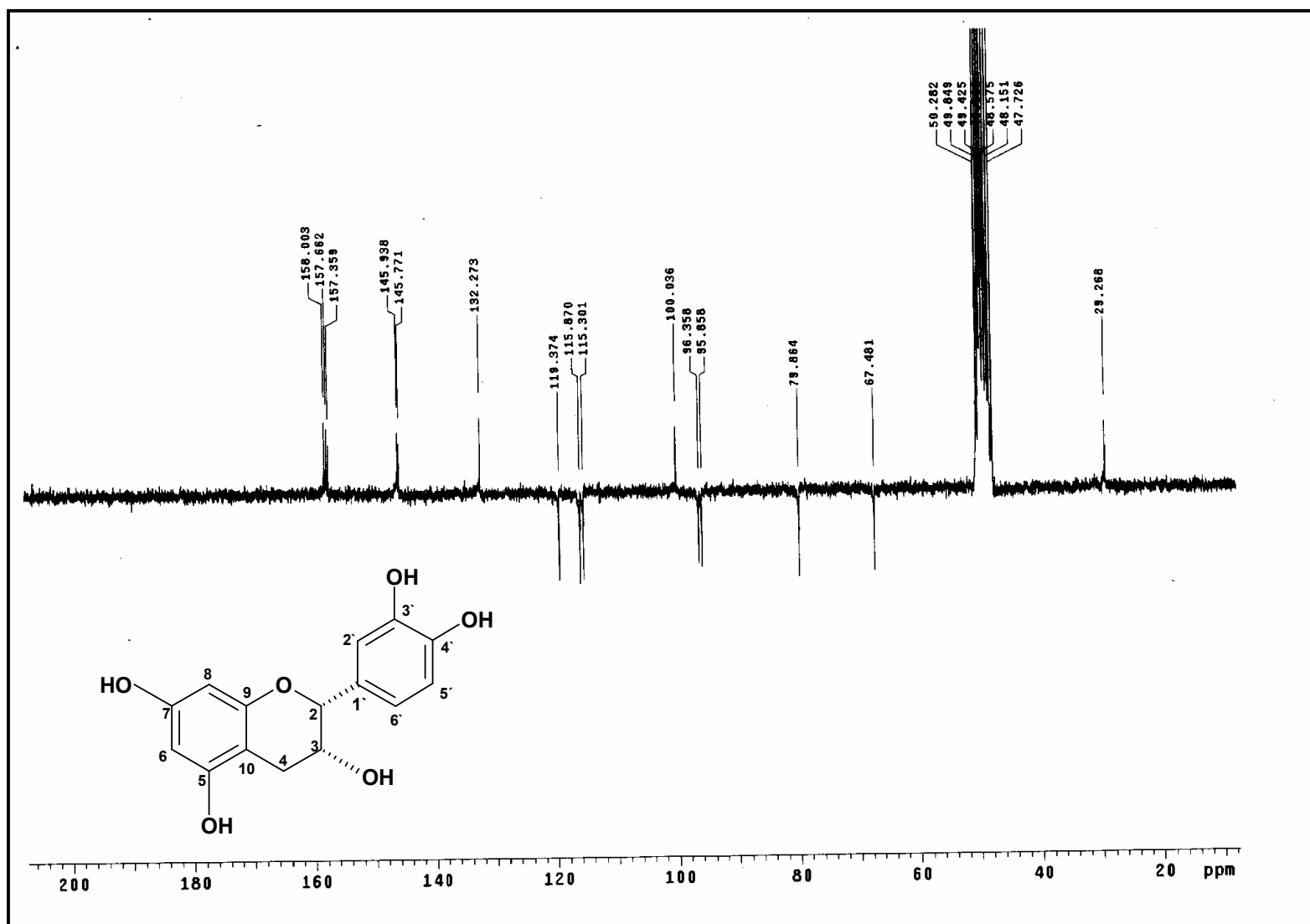


FIGURA 51. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-8 (50 MHz, CD_3OD).

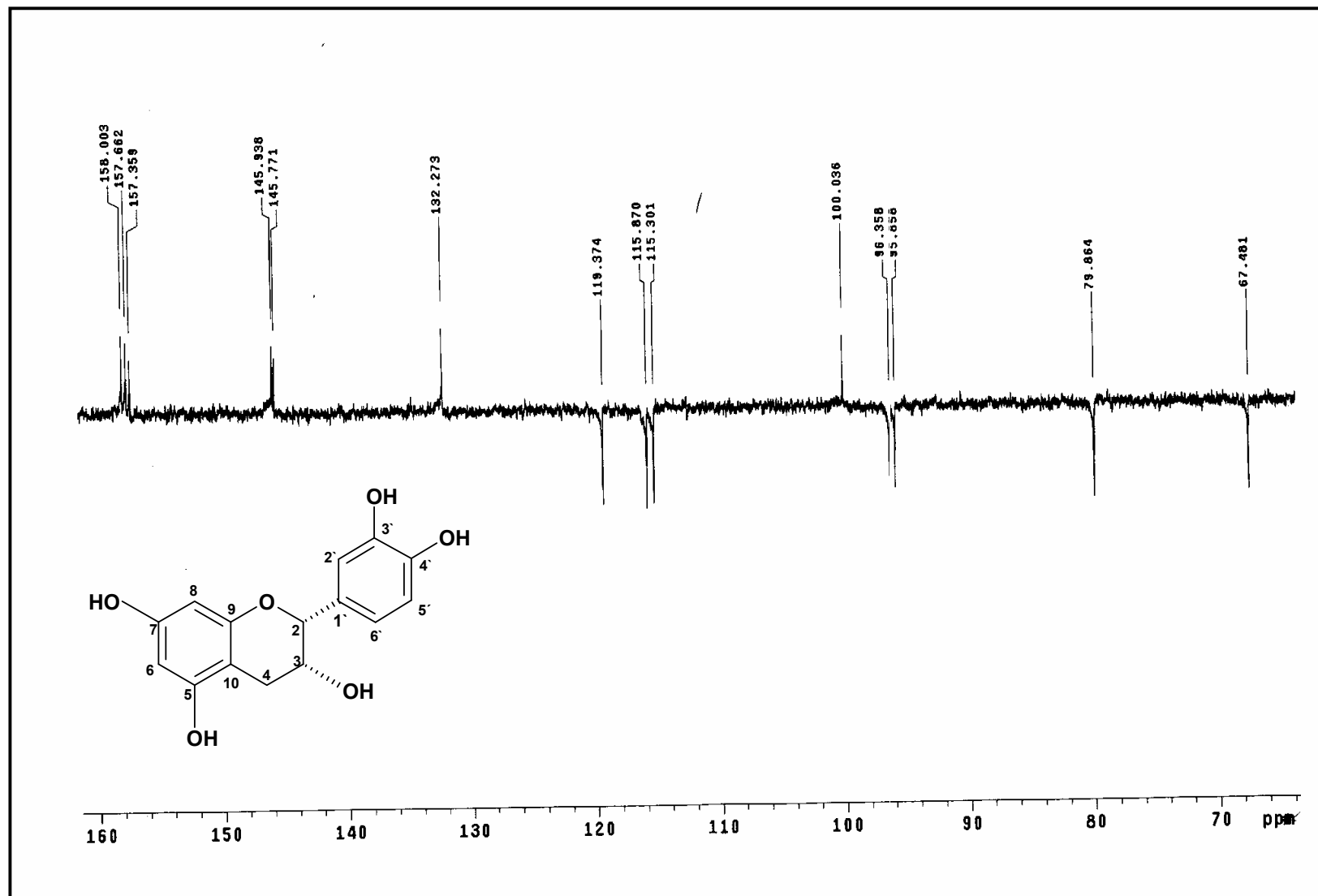


FIGURA 52. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Ac-8 (50 MHz, CD_3OD).

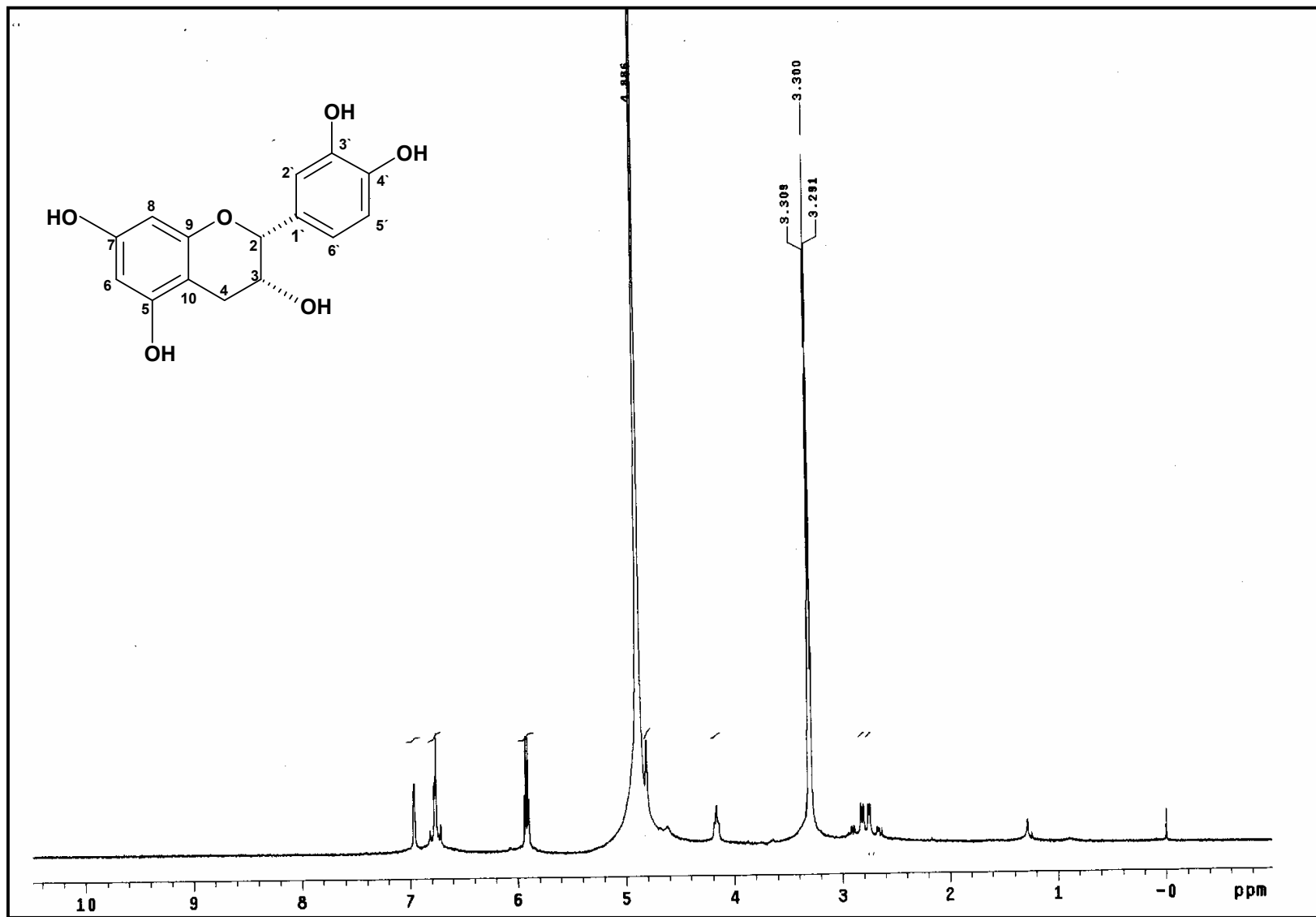


FIGURA 53. Espectro de RMN de ^1H de Ac-8 (200 MHz, CD_3OD)

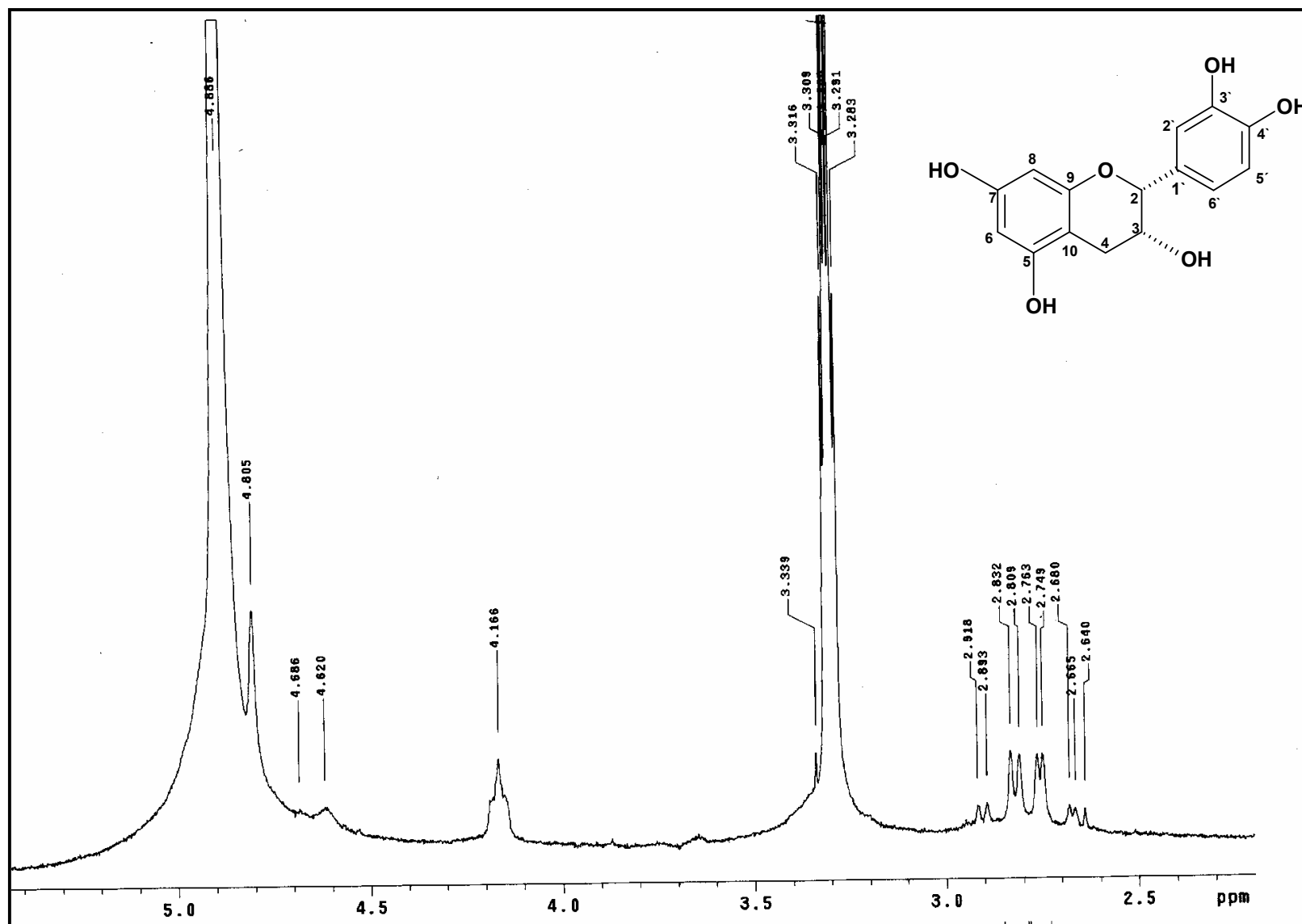


FIGURA 54. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Ac-8 (200 MHz, CD_3OD)

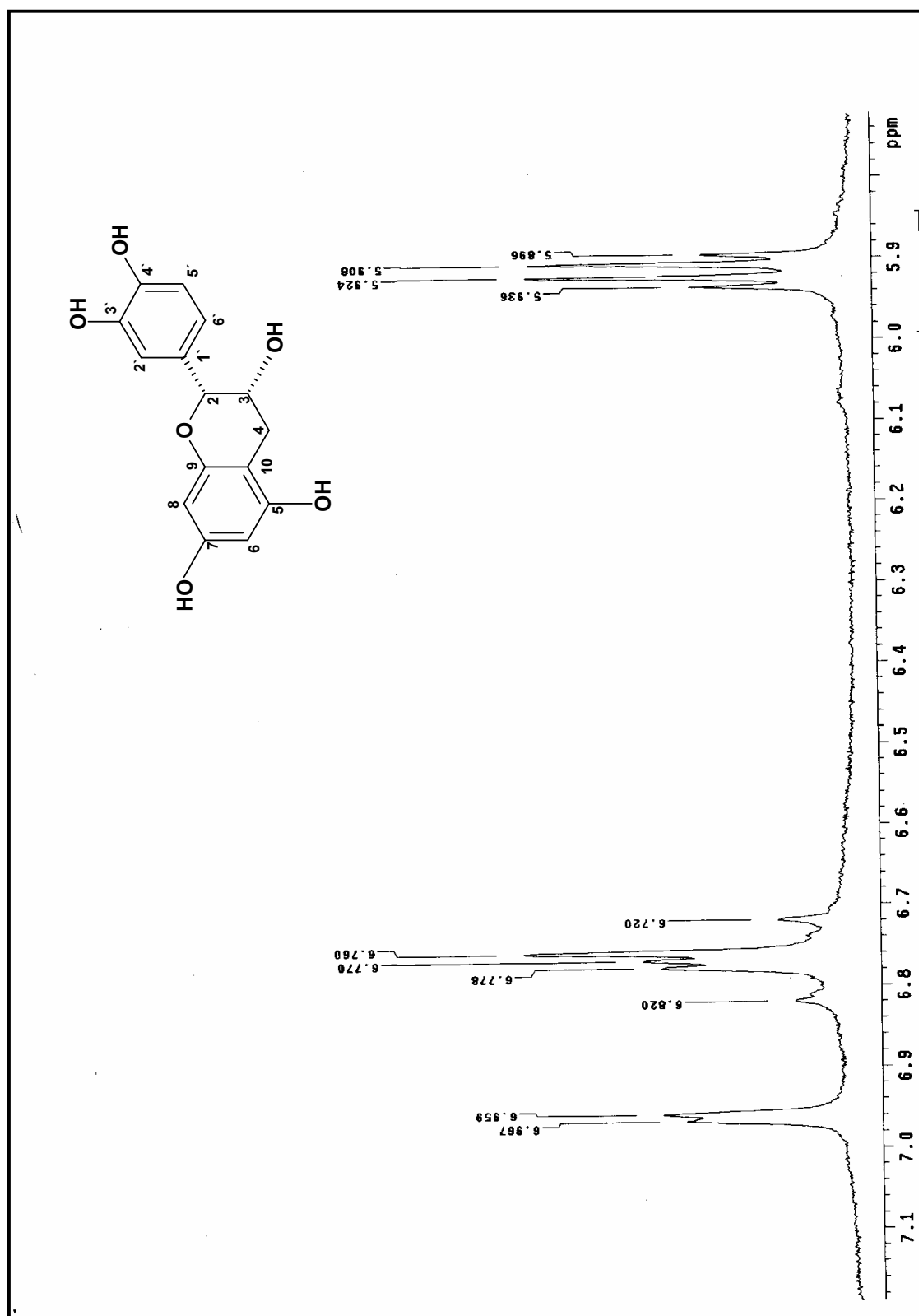


FIGURA 55. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Am-8 (200 MHz, CD_3OD)

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

- O presente trabalho atingiu o objetivo principal que se fundamentaria na ampliação do conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Anadenanthera*, utilizando cascas do caule da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*;
- O estudo fitoquímico da fase hexânica de *A. colubrina* levou ao isolamento e identificação de três triterpenos, o lupeol, o álcool betulínico e o calenduladiol, e de um composto fenólico, o ácido atrárico. Com exceção do lupeol todas as demais substâncias estão sendo descritas pela primeira vez no gênero;
- O estudo fitoquímico da fase clorofórmica de *A. colubrina* resultou no isolamento de dois triterpenos, a lupenona e o ácido betulínico e um esteróide, o β -sitosterol glicosilado;
- O estudo fitoquímico da fase acetato de etila de *A. colubrina* proporcionou o isolamento e identificação de um flavan-3-ol, a epicatequina que está sendo relatada pela primeira vez no gênero em estudo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABIDI, S.L. Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v. 935, p. 173-201, 2001.

ACHREM-ACHREMOWICZ, J.; JANECKO, Z. Betulin - a pentacyclic triterpene. **Wiadomosci Chemiczne**, v. 57, p. 223-246, 2003.

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

AGURELL, S.; HOLMSTEDT, B.; LINDGREN, J. E.; SCHULTES, R. E. Alkaloids in certain species of *Virola* and other South American plants of ethnopharmacologic interest. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 23, p. 903-916, 1969.

AHAD, A. M.; GOTO, Y. ; KIUCHI, F.; TSUDA, Y.; KONDO, K.; SATO, T. Nematocidal priciplesin oakmoss absolute and nematocidal activity of 2,4-dihydroxybenzoates. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, p. 1043-1046, 1991.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**, v. 18, p. 75-81, 2002.

AHMAD, V. U.; ATTA-UR-RAHMAN. **Handbook of Natural Products Data**, vol. 2, p. 1000-1029, Nova York, 1994.

ALTSCHUL, S. V. S. **Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University. A Taxonomic Study of the Genus *Anadenanthera***, v. 193, p. 1-65, 1964.

AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CERRI, R.; MELOO, J.F. Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*. **Phytochemistry**, v. 27, p. 2927-2930, 1988.

ATHUKORALAGE, P. S.; HARATH, H. M. T. B.; DERANIYAGALA, S. A.; WIJESUNDERA; R. L. C.; WEERASINGHIE, P. A. Antifungal constituent from *Gordonia dassanayakei*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 565-567, 2001.

AZIZ, N. H.; FARAG, S. E.; MOUSA, L. A.; ABO-ZAID, M. A. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. **Microbios**, v.93, p. 43-54, 1998.

BAE, Y. S.; BURGER, J. F.; STEYNBERG, J. P.; FERREIRA, D.; HEMINGWAY, R. W. Flavan and procyanidin glycosides from the bark of blackjack oak. **Phytochemistry**, v. 35, p. 473-478, 1994.

BARBOSA, D. C. A. **Estudos ecofisiológicos em *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. Aspectos da germinação e crescimento.** 1980. Tese (Doutorado), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**, p. 645- 656, 1988.

BERETZ, A.; CAZENAVE, J. P. **Plant Flavonoids in Biology and Medicine II: Progress in Clinical and Biological Research.** New York: Alan R. Liss, v. 280, p. 187-200, 1988.

BERG, P. A.; DANIEL, P. T. **Plant Flavonoids in Biology and Medicine II: Progress in Clinical and Biological Research.** New York: Alan R. Liss, v. 280, p. 157-171, 1988.

BOHM, B. A. **The minor Flavonoids.** In: HARBORNE, J. B. (ed.). *The Flavonoids: Advances in research since 1986.* London: Chapman & Hall, p. 387-433, 1994.

BOUIC, P. J. D.; LAMPRECHT, J. H. Plant sterol and sterolins: A review of their immune - modulating properties. **Alternative Medicine Review**, v. 4, p. 170-177, 1999.

BRANDÃO, M. Plantas produtoras de tanino nos cerrados mineiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, p. 33-39, 1992.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. **Carbono-13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry**. 3. completely rev. ed.- Weinheim, New York: VHC, 1990.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 2001.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, D. D.; LEAN, M. E. J. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p. 5797-5808, 2001.

CÂNDIDO, J. F.; GOMES, J. M. Angico vermelho. **Boletim de Extensão**. Viçosa, 3ª Ed. Imp. Universitária, 1996.

CAO, Y., LIANG, R.; YANG, B.; WANG, L.; YANG, Q.; WANG, Y. Protection of (-)-catechin gallate and (+)-epicatechin on xanthine-xanthine oxidase system injury in cultered cardiomyocytes. **Zhongguo Shiyan Fangjixue Zazhi**, v. 12, p. 36-38, 2006.

CAPASSO, A.; PINTO, A.; SORRENTINO, R.; CAPASSO, F. Inhibitory effects of quercetin and other flavonoids on electrically- induced contractions of guinea pig isolated ileum. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 34, p. 279-281, 1991.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras: Recomendações Silviculturais, Potencialidades e uso da Madeira**. Colombo: Embrapa-CNPQ, 1994.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármacos segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (ed.). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos Ed. Universitária, p. 17- 42, 2001.

CHAUDRY, P. S.; CABRERA, J.; JULIANI, H. R.; VARMA, S. D. Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indometacin. **Biochemical Pharmacology**, v. 32, p. 1195-1198, 1983.

CORDELL, G. A.; QUINN-BEATTIE, M. L.; FARNSWORTH, N. R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 183-205, 2001.

CRAGG, G. M.; NEWMANN, D. J.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal Natural Products**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 854, p. 435-442, 1998.

CUI, C. B.; TEZUKA, Y.; KIKUCHI, T.; NAKANO, H.; TAMAOKI, T.; PARK, J. H. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, p. 889-898, 1992.

DA SILVA, M. F.; SOUZA, L. A. G.; CARREIRA, L. M. M. **Nomes Populares das Leguminosas do Brasil**. Manaus: EDUA- Editora da Universidade Federal do Amazonas, 2004.

DE BUDOWSKI, J.; MARINI-BETTOLO, G. B.; DELLE MONACHE, F.; FERRARI, F. On the alkaloid composition of the snuff drug Yopo from upper Orinoco (Venezuela). **Farmaco**, v. 29, p. 574, 1974.

DESCHNER, E. E.; RUPERTO, J.; WONG, G. ; NEWMARK, H. L. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. **Carcinogenesis**, v. 12, p. 1193-1196, 1991.

DESMARCHELIER, C. ; RIMAO, R. L. ; COUSSIO, J. ; CICCIA, G. Antiooxidany and free radical scavening activities in exctracts from medical trees used in the 'Caatinga' region in the northastern Brazil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 67, p. 69-77, 1999.

DEWICK, P. M. Isoflavonoids. In: HARBORNE, J. B. (ed.). **The Flavonoids: advances in research since 1986**. London: Chapman & Hall, p. 117-237, 1994.

DEWICK, P. M. The mevalonate and deoxyxylulose phosphate pathwais: Terpenoids and Steroids. Jonh Willey & Sons Ltda. **Medicinal Natural Products**, p. 168, 2002.

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

DI CARLO, G.; AUTORE, G.; IZZO, A. A.; MAIOLINO, N. P. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationship. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 45, p. 1054-1059, 1993.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. Editora UNESP, São Paulo, 1996.

Dictionary of Natural Products em CD-ROM, versão 11:1. Chapman e Hall, 2002.

DOAT, J. Les Tanins dans les bois Tropicaux. **Revue Bois et Florêt des Tropiques**. Nogent, v. 182, p. 37-35, 1978.

DONOVAN, J. L.; CRESPIY, V.; OLIVEIRA, M.; COOPER K. A.; GIBSON, B. B.; WILLIAMSON, G. (+)-Catechins more bioavailable than (-)-catechin: Relevance to the bioavailability of catechin from cocoa. **Free Radical Researcher**, v. 40, p. 1029-1034, 2006.

DUBEY, V. S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R. An Overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. **Journal of Biosciences**, v. 28, p. 637, 2003.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.

ELLIS, C. J.; YEAP FOO L.; PORTER, L. J. Enantiomerism: A characteristic of the proanthocyanidin chemistry of the Monocotyledonae. **Phytochemistry**, v. 22, p. 483-487, 1983.

ESTRELA, E. **Plantas Medicinales Amazônicas: Realidad y Perspectivas**, Lima: TCA, 1995.

EVANS, J. E. Osteoporosis and the role of diet. **British Journal of Biomedical Science**, v. 51, p. 358-370, 1994.

FERNANDEZ M. A.; SAENZ, M. T.; GARCIA, M. D. Antiinflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 50, n. 10, p. 1183- 1186, 1998.

FERREIRA, D.; BEKKER, R. Oligomeric proanthocyanidins: Naturally-occurring *O*-heterocycles. **Natural Product Reports**, 13, p. 411-433, 1996.

FERREIRA, D.; LI, X-C. Oligomeric proanthocyanidins: Naturally-occurring *O*-heterocycles. **Natural Product Reports**, v. 17, p. 193-212, 2000.

FRIEDMAN, M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of teaflavonoids and teas. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, p.116-134, 2006.

FUJIOKA, T.; KASHIWADA, Y.; KILKUSKIE, R. E.; CONSENTINO, L. M.; BALAS, L. M.; JIANG, J. B.; JAZEN, W. P.; CHEN, I.; LEE, K. Anti-aids agents. Betulinic acid and platonin

acid as Anti-HIV principles from *Syzigium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids. **Journal Natural Products**, v. 57, p. 243, 1994.

GAMACHE, P.; RYAN, E.; ACWORTH, I. N. Analysis of phenolic and flavonoid compounds in juice beverages using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection. **Journal of Chromatography**, v. 635, p. 143-150, 1993.

GIESBRECHT, A. M. Bufotenine occurrence in *Piptadenia falcata* seeds. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v.19, p. 117-19, 1960.

GOMES, A. Y. S. **Isolamento e Identificação de Compostos de *Herissanthia Tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e Avaliação do Efeito Espasmolítico de seus Isômeros Triterpênicos Tipo Damarano em Ílio Isolado de Cobaia**. 1998. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

GONZALEZ, F.; SILVA, M. A survey of plants with antifertility properties described in the South American folk medicine. **Abstract Princess Congress**, v. 10-13 p. 20, 1987.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. Quantitative chemical biology IV: analogies of metabolic mechanism and biological evolution. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 70, p. 719-726, 1998.

GUARRERA, M. P. Traditional phytotherapy in central Italia. **Fitoterapia**, v. 76, p. 1-25, 2005.

GUILIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação da flora brasileira. **Megadiversidade**, v.1, p. 52-60, 2005.

GUTIERREZ-LUGO, M. T.; DESCHAMPS, J. D.; HOLMAN, T. R.; SUAREZ, E.; TIMMERMANN, B. N. Lipxygenase inhibition by anadanthoflavone, a new flavonoid from the aerial parts of *Anadenanthera colubrina*. **Planta Medica**, v. 70, p. 263-265, 2004.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical Methods**, p. 33-88, 1973.

HATA, K.; HORI, K.; OGASAWARA, H.; TAKAHASHI, S. Anti-leukemia activities of Lup-28-al-20(29)-en-3-one, a lupane triterpene. **Toxicology Letters**, v. 143, p. 1-7, 2003.

HELLER, W.; FORKMANN, G. Biosynthesis of flavonoids. In: HARBORNE, J. B. (ed.). **The Flavonoids**. London: Chapman & Hall, p. 499-536, 1994.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants of the World**. Londres: BT Batsford, 1996.

HOEHNE, F. C. **Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Medicinais**. São Paulo : Graphicars, , p. 355, 1939.

HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Bioavailability and health effects of dietary flavonoids in man. **Archives of Toxicology Supplement**, v. 20, p. 237-248, 1998.

IACOBUCCI, A. G.; RUVEDA, A. E. Baesderived from tryptamine in Argentine *Piptadenia* species. **Phytochemistry**, v. 3, p. 465-467, 1964.

IVANOVA, A.; MILKOVA, T.; GALABOV, A. S.; NIKOLAEVA, L.; VOYNOVA, E. Transformation of cholanic acid derivatives into pharmacologically active esters of phenolic acids by heterogeneous Wittig reaction. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 36, p. 516-521, 1997.

IWU, M. M.; Igboko, O. A.; Okunji, C. O.; Tempesta, M. S. Antidiabetic and aldose reductase activities of biflavanones of *Garcinia kola*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 42, p. 290-292, 1990.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal**. 13^a ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional, 2002.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics: a Phylogenetic Approach**. Sinauer Associates, USA, 1999.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p. 4076-4082, 2001.

KASAI, R.; MATSUMOTO, K.; NIE, R. L.; MORITA, T.; AWAZU, A.; ZHOU, A.; ZHOU, J.; TANAKA, O. Sweet and bitter cucurbitane glycosides from *Hemsleya carnosiflora*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 1371-1376, 1987.

KERMEZ, Z.; CHETRIT, D.; SHOSEYOV, O.; REGEV-SHOSANI, G. Protection of lipids from oxidation by epicatechin, trans-resveratrol, and gallic and caffeic acids in intestinal model systems. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 54, p. 10288-10293, 2006.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 213-218, 1999.

KOFINK, M.; PAPAGIANNPOULOS, M.; GALENSA, R. Enantioseparation of catechin and epicatechin in plant food by chiral capillary electrophoresis. **European Food Research Technology**, v. 225, p. 569-577, 2007.

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

KUO, P.; HSIONG, C.; HU, Y. Activity inhibitor of cytochrome p450 3a. Taiwan. **Patent TW 2000-89117134**, p. 4, 2007.

LEE, S.; CHANG, S.; CHEN, C. Chemical constituents from *Alseodaphne andersonii*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 1548-1551, 2001.

LUCKNER, M. **Secondary Metabolism in Plants and Animals**. Published by Science Paperbacks. Great Britain, p. 122-151, 1969.

MADUREIRA, A. M.; ASCENSO, J. R.; VALDEIRA, L.; DUARTE, A.; FRADE, J. P.; FREITAS, G.; FERREIRA, M. J. U. Evaluation of the antiviral and antimicrobial activities of triterpenes isolated from *Euphorbia segetalis*. **Natural Product Research**, v. 17, p. 375-380, 2003.

MAHATO, S. B. Advances in triterpenoid research. **Phytochemistry**, v. 44, p. 1185, 1997.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids- a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, p. 1517, 1994.

MAHATO, S. B.; SEM, S. Advances in Triterpenoid research. **Phytochemistry**, v. 44, p. 1185, 1997.

MANN, J.; DAVIDSON, J. B.; HARBONE, J. B. **Natural products-Their chemistry and Biological Significance**. Longman Scientific e technical, 1994.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MIYAUCHI, Y.; TOMOTAKA, M.; MINAMI, K. Extractives of hardwood of *Piptadenia* sp. **Mokuzai Gakkaishi**, v. 22, p. 47-50, 1976.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric oxide- physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 43, p. 109-142, 1991.

MOREIRA, R. R.; CARLOS, I. Z.; VILEGA, W. Release of intermediate reactive hydrogen peroxide by macrophage cells activated by natural products. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, vol. 24. p. 201, 2001.

MORIARITY, D. M.; HUANG, J.; YANCEY, C.; ZHANG, P.; SETZER, W.; LAWTON, R. O.; BATES, R. B.; CALDERA, S. Lupeol is the cytotoxic principle in the leaf extract of *Dendropanax querceti*. **Planta Medica**, v. 64, p. 370-372, 1998.

MUCHINETTI, L. V.; MARTINO, V. S. Atividades biológicas do flavonóides naturais. In: YUNES, R. A.; FILHO, V. C. (org.) **Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia**, editora univali, 2006.

NAGARAJ, M.; SUNITHA, S.; VARALAKSHMI, P. Effect of lupeol, a pentacyclic triterpene, on the lipid peroxidation and antioxidant status in rat kidney after chronic cadmium exposure. **Journal of Applied Toxicology**, v. 20, p.413, 2000.

NAGEN, T. J.; ALBUQUERQUE, T. T. O.; MIRANDA, L. C. G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 35, n. 1, p. 129-138, 1992.

NIERO, R.; MALHEIROS, A. Principais Aspectos Químicos e Biológicos de Terpenos. In: Cechinel Filho, V.; Yunes, R. A.(eds.). **Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia**, Editora Univali, Capítulo X, p. 239-257, 2007.

NOLDIN, V. F.; ISAIAS, D. B.; CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Química Nova**, v. 29, p. 549-554, 2006.

NYFELER, F.; MOSER, U. K.; WALTER, P. Stereospecific effects of (+)- and (-)-catechin on glycogen metabolism in isolated rat hepatocytes. **Biochemical et Biophysica Acta**, v. 763, p. 50-57, 1983.

OLEA, R. S.; ROQUE, N. F. Análise de mistura de triterpenos por RMN de ¹³C. **Química Nova**, v. 13, p. 278, 1990.

PACHTER, I. J.; ZACHARIUS, D. E.; RIBEIRO, O. Indole alkaloids of *Acer saccharinum* (silver maple), *Dictyoloma incanescens*, *Piptadenia colubrine*, and *Mimosa hostilis*. **Journal of Organic Chemistry**, v.24, p.1285-7, 1959.

PARIS, R. R.; SAINT-FIRMIN, A.; ETCHEPARE, S. Alkaloids and flavonoids of *Piptadenia peregrina* from Haiti. Absence of alkaloids in *Piptadenia africana*. **Annales Pharmaceutiques Francaises**, v. 25, p. 509-513, 1967.

PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents- recent advances. **Fitoterapia**, v. 62, p. 371-389, 1991.

PAULA, R. C. M.; BUDD, P. M.; RODRIGUES, J. F. **Polymer International**, v. 44, p. 55, 1997.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. 3 ed. Washington: Saunders College Publishing, 2001.

PELEG, H.; BODINE, K. K.; NOBLE, A. C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, v. 23, n. 3, p. 371-378, 1998.

PFEIFFER, J.; KÜHNEL, C.; BRANDT, J.; DUY, D.; PUNYASIRI, P. A. N.; FORKMANN, G.; FISCHER, T. C. Biosynthesis of flavan-3-ols by leucoanthocyanidin 4-reductase and anthocyanidin reductase in leaves of grape (*Vitis vinifera* L.), apple (*Malus x domestica* Borkh.) and other crops. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 323-334, 2006.

PIACENTE, S.; BALDERRAMA, L.; DE TOMMASI, N.; MORALES, L.; VARGAS, L.; PIZZA, C. Anadanthoside: a flavanol-3-O-Beta-D-xylopyranoside from *Andenanthera macrocarpa*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 709-711, 1999.

PIETA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, p. 45-61, 2002.

PORTER, L. J. Flavans and proanthocyanidins. In: Harborne, J. B.(ed.). **The Flavonoids, Advances in Research Since**, London: Chapman & Hall, p. 27, 1988.

RAJALAKSMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: sources and methods of evaluation. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. (eds.) **Food Antioxidants – Technological, Toxicological and Health Perspectives**, p. 65-157, 1995.

RAJIC, A.; KWEIFIO-OKAI, G.; MACRIDES, G.; SANDEMAN, T.; CHANDLER, D. S.; POLYA, G. M. Inhibition of serine proteases by anti-inflammatory triterpenoids. **Planta Medica**, v. 66, p. 206-210, 2000.

RATCLIFFE, F. Effect of mescaline and bufotenine on some central actions of noradrenaline. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie**, v. 194, p.147-57, 1971.

REN, Y.; HALAWEISH, F. Antibacterial and antioxidant phenolic compounds from lead plant, a native american herb. **Abstracts, 42nd Midwest Regional Meeting of the American Chemical Society**, p. 7-10, 2007.

RENDON, P.; WILLY, J. Isolation of bufotenine from seeds of the *Piptadenia macrocarpa* Benth. **Revista Boliviana de Química**, v. 5, p. 39-43, 1985.

RIBÉREAU-GAYON, P. **Les Composés Phénoliques dès Végétaux**. Paris: Dunod, p. 254, 1968.

RIZZINI, C. T. **Plantas do Brasil. Árvores e Madeiras Úteis do Brasil. Manual de Dendrologia Brasileira**. São Paulo: Ed. Edgar Blücher, 1971.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo, Editorial Premier, 1977.

SAFFORD, W. E. Narcotic plants and stimulants of the ancient Americas. **Annual Report of the Smithsonian Institution**, p. 378-424, 1916.

SCHULTES, R. E.; HOLMSTEDT, B.; LINDGREN, J. E.; RIVIER, L. Comments on toxic plants of the tropical new world XVIII. Phytochemical examination of Spruce 's ethnobotanical collection of *Anadenanthera peregrina*. **Botanical Museum Leaflets**, v. 25, p. 273-87, 1977.

SCHULTZ, A. R. H. **Introdução à Botânica Sistemática**. 4. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1984.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 2432-2438, 2002.

SHIN, J.; CHUNG, H. Antibacterial activities of phenolic components from *Camellia sinensis* L. on pathogenic microorganisms. **Journal of Food Science and Nutrition**, v. 12, p.135-140, 2007.

SILVA, A. G.; RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 1998.

SILVA, L. M. B.; BARBOSA, D. C. A. Crescimento e sobrevivência de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan (Leguminosae), em uma área de Caatinga, Alagoinha, PE. **Acta Botanica Brasilica**, v.14, n.3, p.251-261, 2000.

SILVA, S. A. S. **Investigação Fitoquímica de Espécies o Gênero *Cordia* L. da Flora Paraibana (Boraginaceae)**. 2004. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SILVA, T. S. S. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e esgoto.** Dissertação (Mestrado). Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, 1999.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 7⁰ edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento.** 4^a ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS, 2002.

SLUIS, A. A.; DEKKER, M.; DE JADER, A.; JONGEN, W. M. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p. 3606-3613, 2001.

SMITH, D. A.; BANK, S. W. **Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure- activity Relationship.** New York: Alan R. Liss, p. 113-124, 1986.

SOIKE, H.; PESCHLOW, E. L. Characterization of flavonoids from *Bacharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Medica**, v. 53, p. 37-39, 1987.

SZUSTER-CIESIELSKA, A.; KANDEFER-SZERSZEN, M. Protective effects of betulin and betulinic acid against ethanol-induced cytotoxicity in hepG2 cells. **Pharmacological Reports**, v. 57, p. 588-595, 2005.

TORRES, C. M.; REPKE, D. B. **Anadenanthera: Visionary Plant of Ancient South America.** U.S :Haworth Press Inc., 2006.

TREUTTER, D. Significance of flavonoids in plant resistance: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 4, p. 147-157, 2006.

UKYA, M.; AKIHISA, T.; TOKUDA, H.; SUZUKI, H.; MUKAINAKA, T.; ICHIISHI, E.; YASUKAWA, K.; KASAHARA, Y.; NISHINO, H. Constituents of Compositae plants III. anti-tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpene diols and triols from edible *Chrysanthemum* flowers. **Cancer Letters**, v. 177, p. 7-12, 2002.

VARELA, E. S.; LIMA, J. P. M. S.; GALDINO, A. S.; PINTO, L. S.; BEZERRA, W. M.; NUNES, E. P.; ALVES, M. A. O.; GRANGEIRO, T. B. Relationships in subtribe Dicleinae (Leguminosae; Papilionoideae) inferred from internal transcribed spacer sequences from nuclear ribosomal DNA. **Phytochemistry**, v. 65, p. 59-69, 2004.

VIEGA-JÚNIOR, C.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VON-POSER, G. L.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (ed.). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, p. 61-74, 1999.

WANASUNDARA, U.; AMAROWICZ, R.; SHAHIDI, F. Isolation and identification of an **antioxidative component in canola**. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 42, p. 1285-1290, 1994.

XU, Y. C.; LEUNG, S. W. S.; YEUNG, D. K. Y.; HU, L. H.; CHEN, G. H.; CHE, C. M.; MAN, R. Y. K. Structure-activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1179-1188, 2007.

YASUKAWA, K.; AKIHISA, T.; OINUMA, H.; KASAHARA, Y.; KIMURA, Y.; YANOUCHI, S.; KUMAKI, K.; TAMURA, T.; TAKIDO, M. Inhibitory effect of di- and trihydroxy triterpenes from the flowers of compositae on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation in mice. **Biological and Pharmaceutical Bull.** *Etin*, v. 19, p. 1329-31, 1996.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos Ed. Universitária, p. 13, 2001.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p. 5165-5170, 2001.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (ed.). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, p. 489-516, 1999.

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](#)