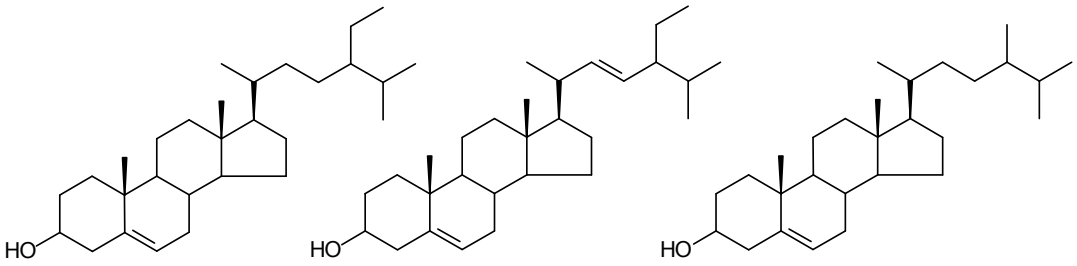
Tabela 4: Dados de RMN 1H (400 MHz) e 13C (100 MHz) de (4), (5) e (6) em $CDCl_3$.

	4		**5**		**6**	
C	δ_H	δ_C	δ_H [*mult*; ^nJ (Hz)]	δ_C	δ_H	δ_C
5		171,86		171,86		171,86
10		38,59		38,59		38,59
13		42,35		42,35		42,35
CH						
3		199,79		199,79		199,79
4	5,72 (s)	123,70	5,72 (s)	123,70	5,72 (s)	123,70
6		32,94		32,94		32,94
8		35,57		36,09		35,57
9		53,77		53.77		53,77
14		55,94		55,94		55,94
17		55,84		55,84		55,84
20		35,57		40,48		35,57
22		-	5,12 (dd; 14,3; 8,1)	138,12	-	-
23		-	5,01 (dd; 14,3; 8,1)	129,39	-	-
24		45,77		51,20		45,77
25		29,07		31,85		29,07
CH_2						
1		39,57		35.64		39,57
2		32,01		33,83		32,01
7		33,96		31,87		33,96
11		20,98		20,98		20,98
12		39,57		39,48		39,57
15		25,98		24,20		25,98
16		29,69		28.86		29,69
22		35,64		-		35,64
23		28,18		-		28,18
28		-		25,39		24,16
CH_3						
18		11,93		12,24		11,93
19		18,90		19,81		18,90
21		18,67		21,10		18,67
26		17,36		21,14		17,36
27		17,36		19,81		17,36
28		23,00		-		-
29		-		12,20		11,93

4.6 Determinação Estrutural dos Esteróides (7), (8) e (9)



(7) (8) (9)

As substâncias sitosterol (**7**)**,** estigmasterol (**8**) **e** campesterol (**9**) constituem um mistura de esteróides e são substâncias que ocorrem comumente no reino vegetal. Estes esteróides foram identificados através de seus espectros de CG/EM e RMN de ^{1}H e ^{13}C.

A análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa indicou a presença de três substâncias com picos de íon molecular, [M^{+}], em m/z: 414 (**7**), 412 (**8**) e 400 (**9**).

O espectro de RMN ^{1}H é bem característico apresentando sinais entre δ_H 0,6 – 2,0 de grupos metílicos, um multipleto em δ_H 3,53 para o hidrogênio carbinólico H-3 e um dubleto em δ_H 5,35 correspondente ao hidrogênio olefínico H-6. A presença do estigmasterol é evidenciada pela presença dos multipletos em torno de δ_H 5,1 – 5,3 referentes aos hidrogênios olefínicos H-22 e H-23. Estes valores estão de acordo com a literatura (FORGO e KOVÉR, 2004; MACARI e col., 1990; KONTIZA e col., 2006).

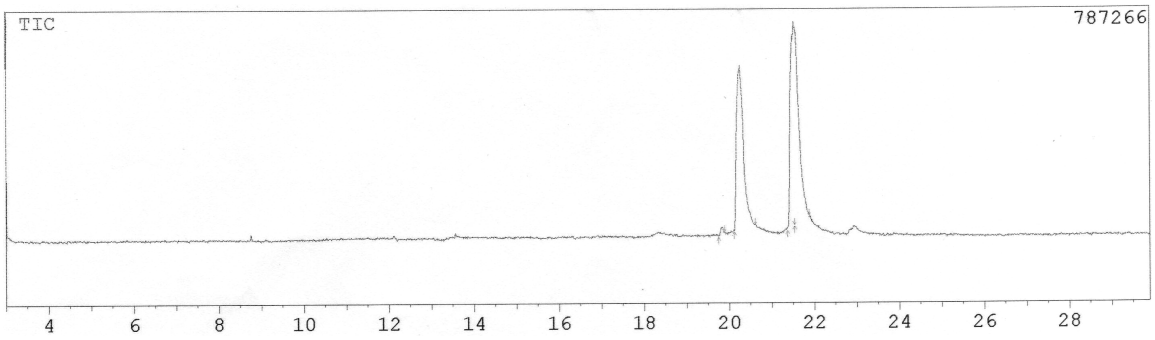
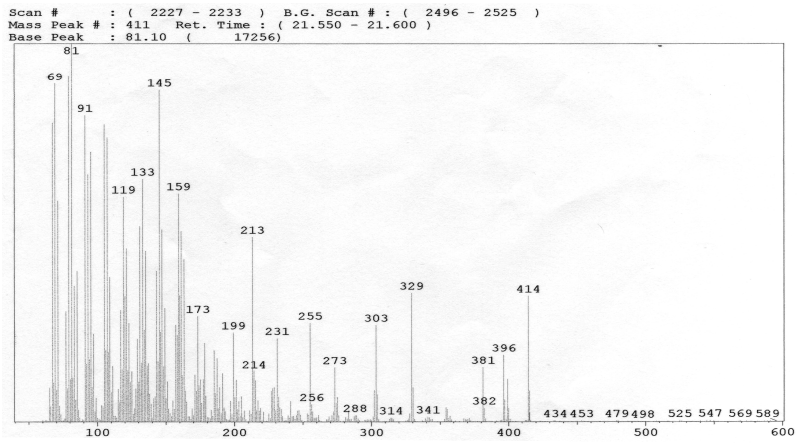
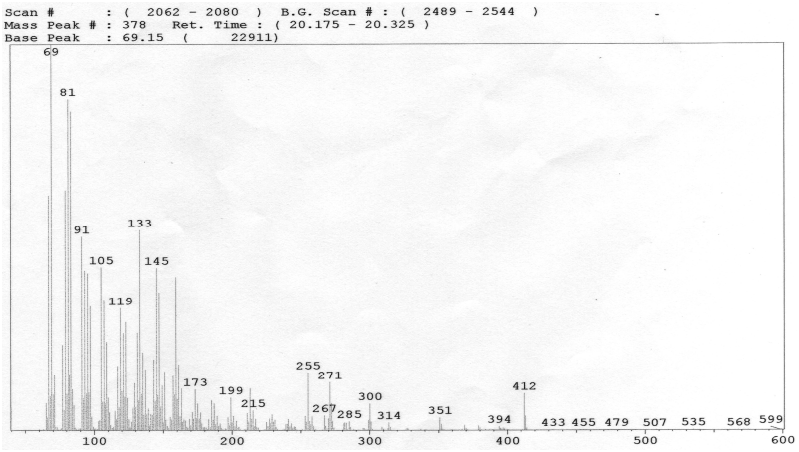


Figura 45: Cromatograma gasoso da mistura de esteróides (7), (8) e (9).





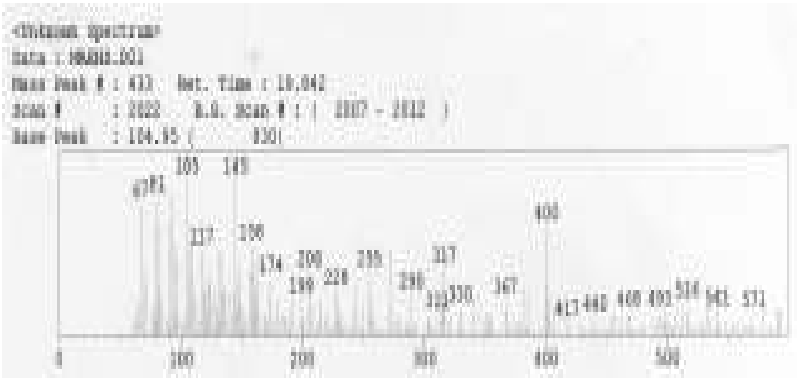


Figura 46: Espectro de massas obtido por impacto de elétrons (70 eV) de (7), (8) e (9).

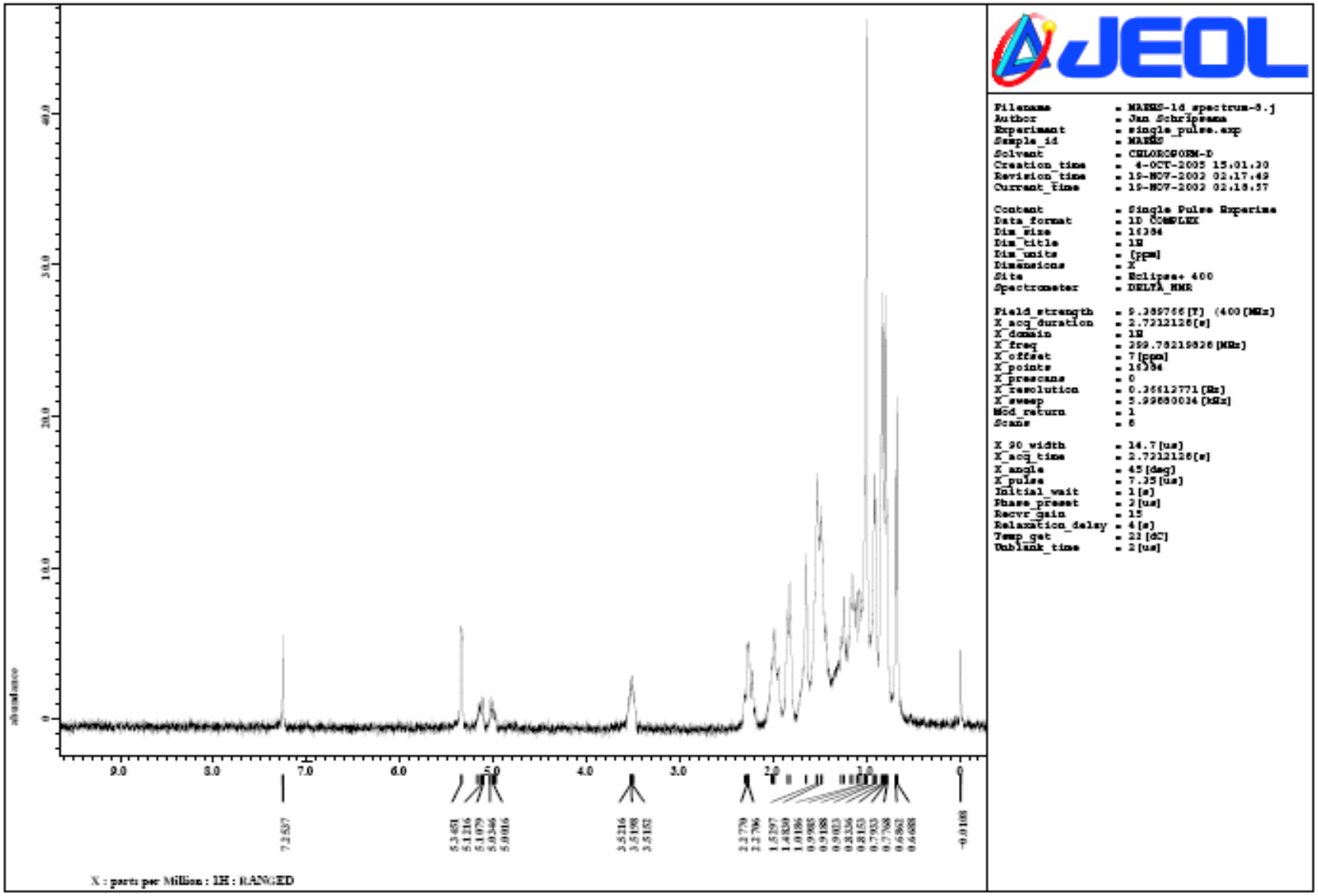


Figura 47: Espectro de RMN ^{1}H (400 MHz) da mistura de 7, 8 e 9.

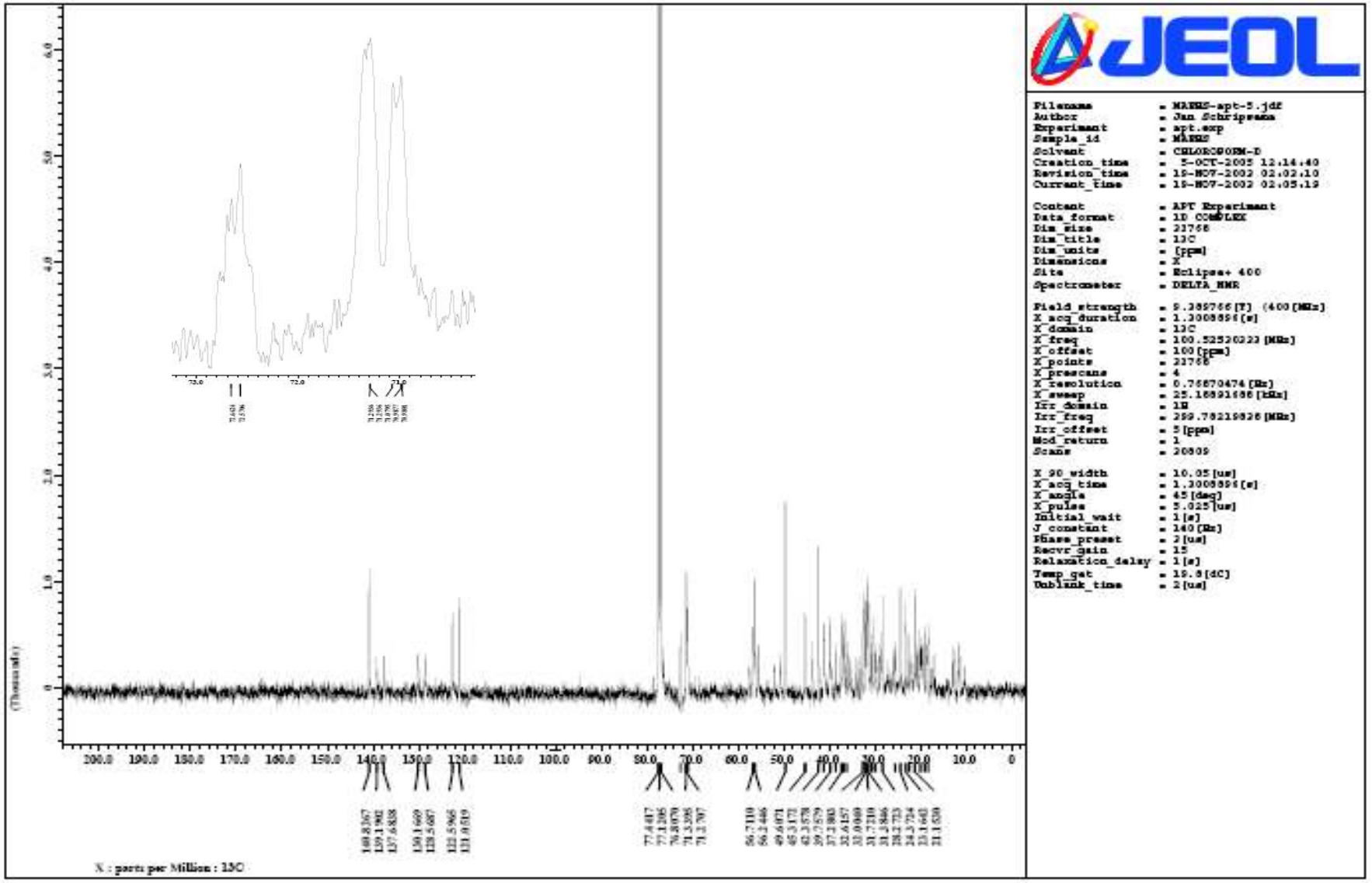


Figura 48: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) da mistura de 7, 8 e 9. No detalhe, a ampliação dos sinais entre δ_C 70,9-72,6.

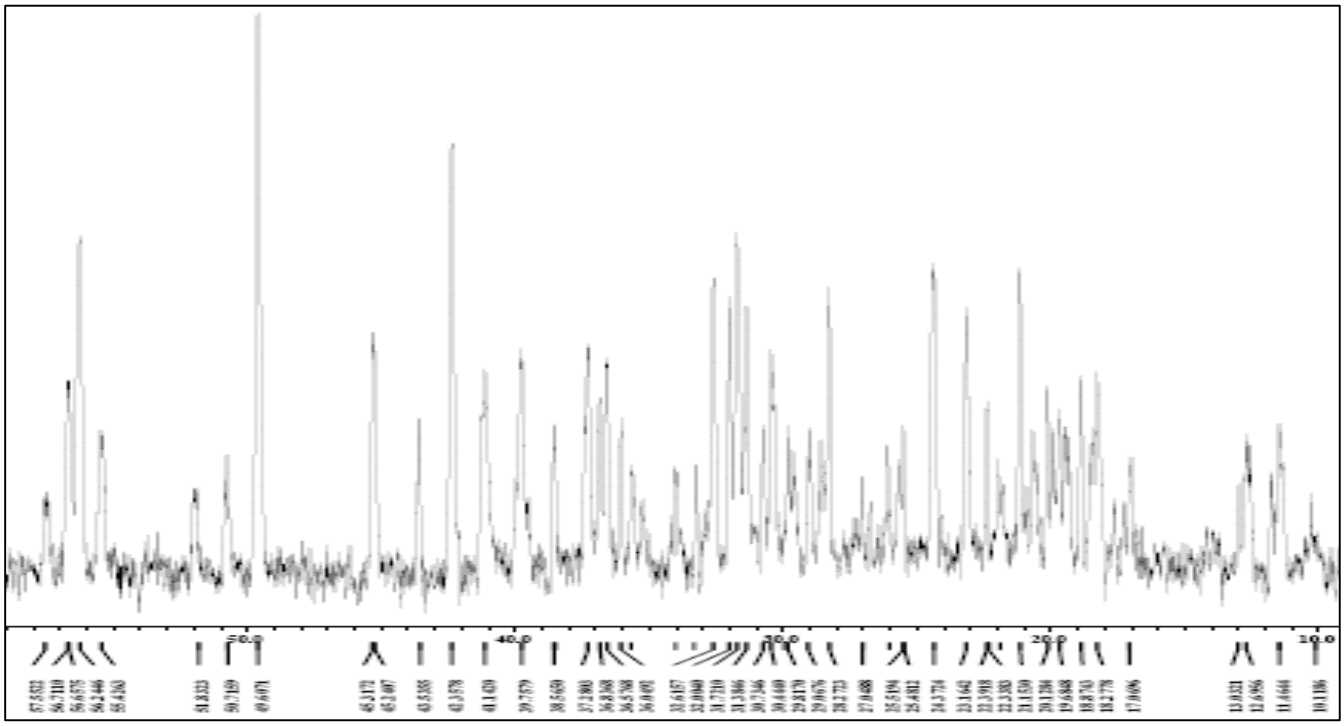
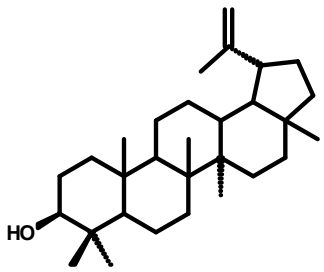


Figura 49: Ampliação de espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) da mistura de 7, 8 e 9.

4.7 Determinação Estrutural da Substância (10)



(10)

A identificação estrutural do triterpeno lupeol (**10**) foi feita através de análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM), IV, RMN de ^{1}H e ^{13}C.

O espectro na região do infravermelho (Figura 50) de (**10**) apresentou bandas de absorção em: 3346,64 cm^{-1} característica de deformação axial de ligação OH; 3066,95 cm^{-1} da deformação axial do C-H da ligação dupla; 2941,57 cm^{-1}, 2872,13 cm^{-1} e 2872,00 cm^{-1} da deformação axial de CH_3, CH_2 e CH sp^3; 1637,63 cm^{-1} da deformação axial C=C e 1450,53 e 1379,16 de deformação angular de C-H.

A análise cromatográfica acoplada a espectrometria de massas revelou um sinal de uma substância com tempo de retenção igual a 22,275 minutos (Figura 51) apresentando $[M^+]$ em m/z 426 compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$, seguidos dos picos a m/z 218, m/z 207, m/z 189 e m/z 175 (Figura 52). O padrão de fragmentação segue o registrado na literatura para este triterpeno (Figura 55).

O espectro de RMN ^{1}H (Figura 53) de (**10**) apresentou sinais simples entre δ_H 0,76 e 1,68. Na região de hidrogênios olefínicos foram observados um sinal duplo largo em δ_H 4,68 e um sinal múltiplo em δ_H 4,57. O duplo sinal duplo em δ_H 3,19 também está de acordo com o hidrogênio (H-3) ligado ao carbono que sustenta a hidroxila. O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 53) apresentou sinais em δ_C 78,3 (C-3), 150,9 (C-20) e 109,3 (C-29) típicos para esqueleto lupânico. A confirmação da estrutura proposta foi feita por comparação dos dados de RMN de ^{13}C obtidos para a substância isolada e os dados de RMN de ^{13}C registrados na literatura para o lupeol (Tabela 5) (COSTA et al., 2008; MAHATO e KUNDU, 1994).

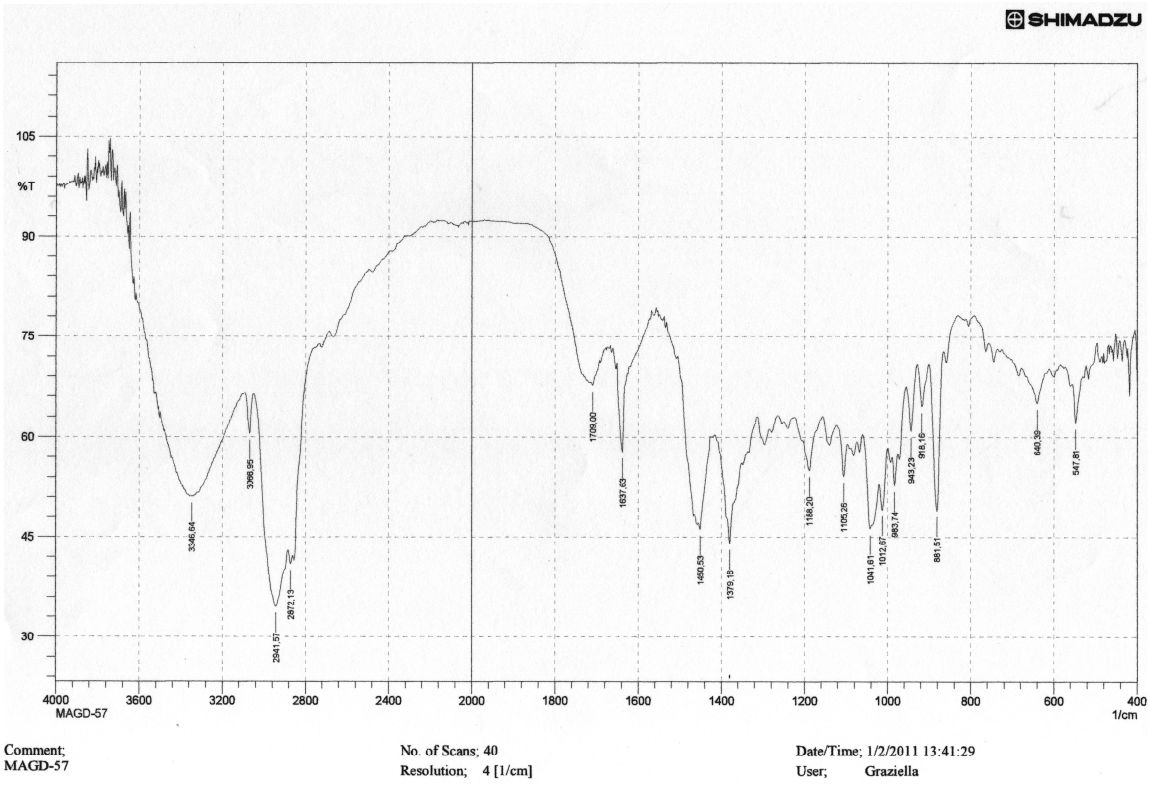


Figura 50: Espectro na região do infravermelho de (10).

*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : MAGD5057.D01 99/09/10 10:03:58
Sample : MAGD5057
ID : MAGD5057
Sample Amount : 0
Dilution Factor : 0
Type :
Operator : Ildomar
Method File Name : ALK2.MET
Vial No. : 0
Barcode :

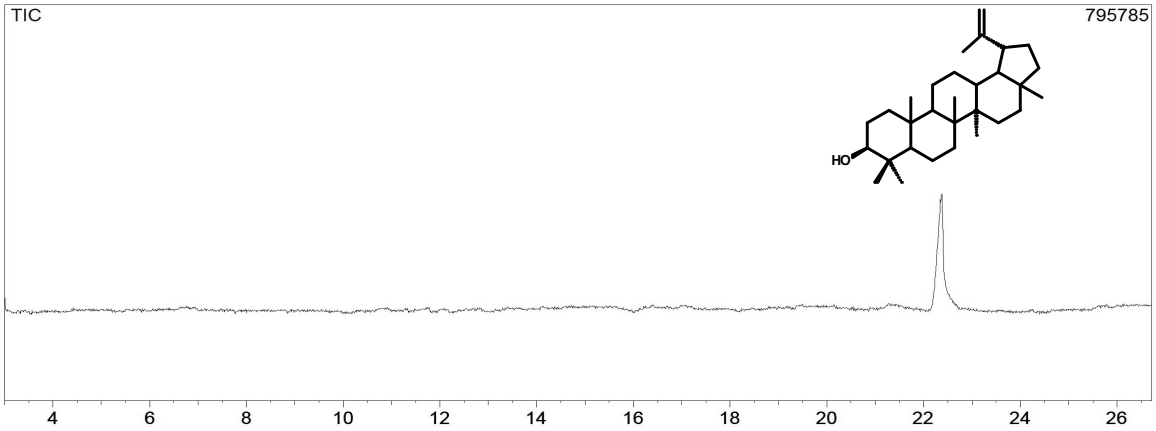


Figura 51: Cromatograma gasoso do lupeol (<u>10</u>).

Scan # : 2314 B.G. Scan # : (2398 - 2634)
Mass Peak # : 377 Ret. Time : 22.275
Base Peak : 93.05 (3452)

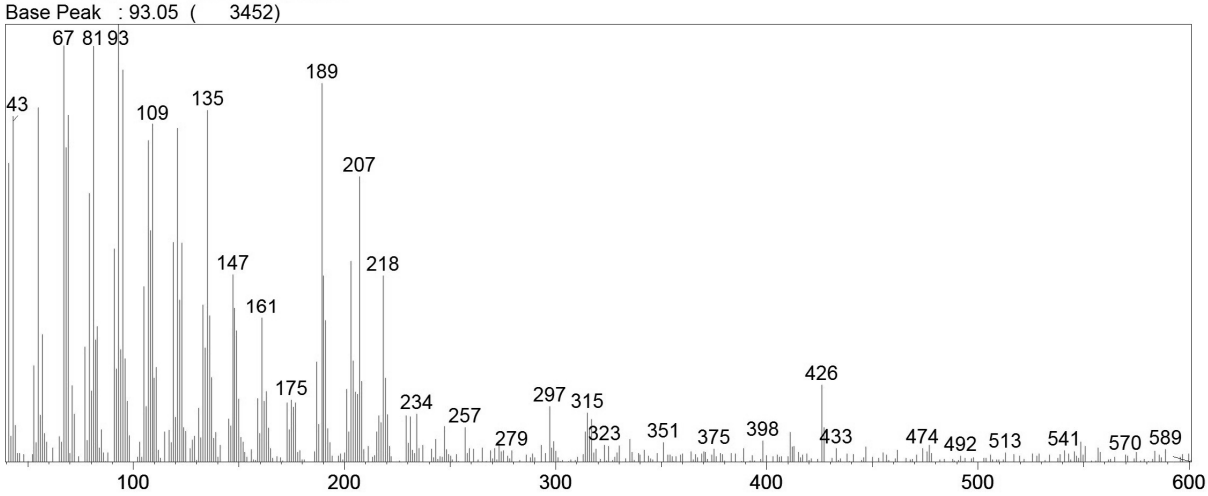


Figura 52: Espectro de massas do lupeol (<u>10</u>), obtido por impacto de elétrons (70 eV).

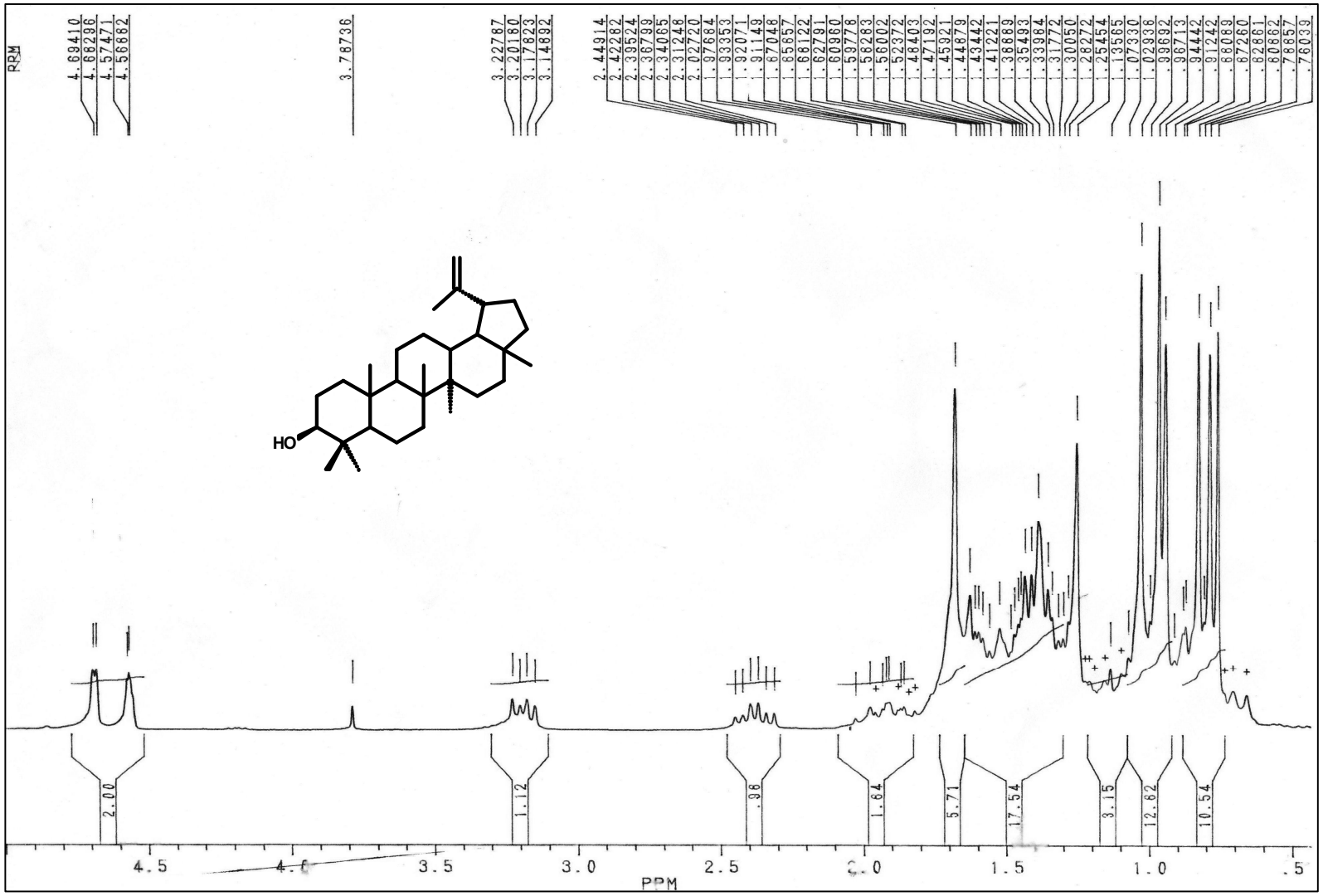


Figura 53: Espectro de RMN ^{1}H (200 MHz) do lupeol (<u>10</u>).

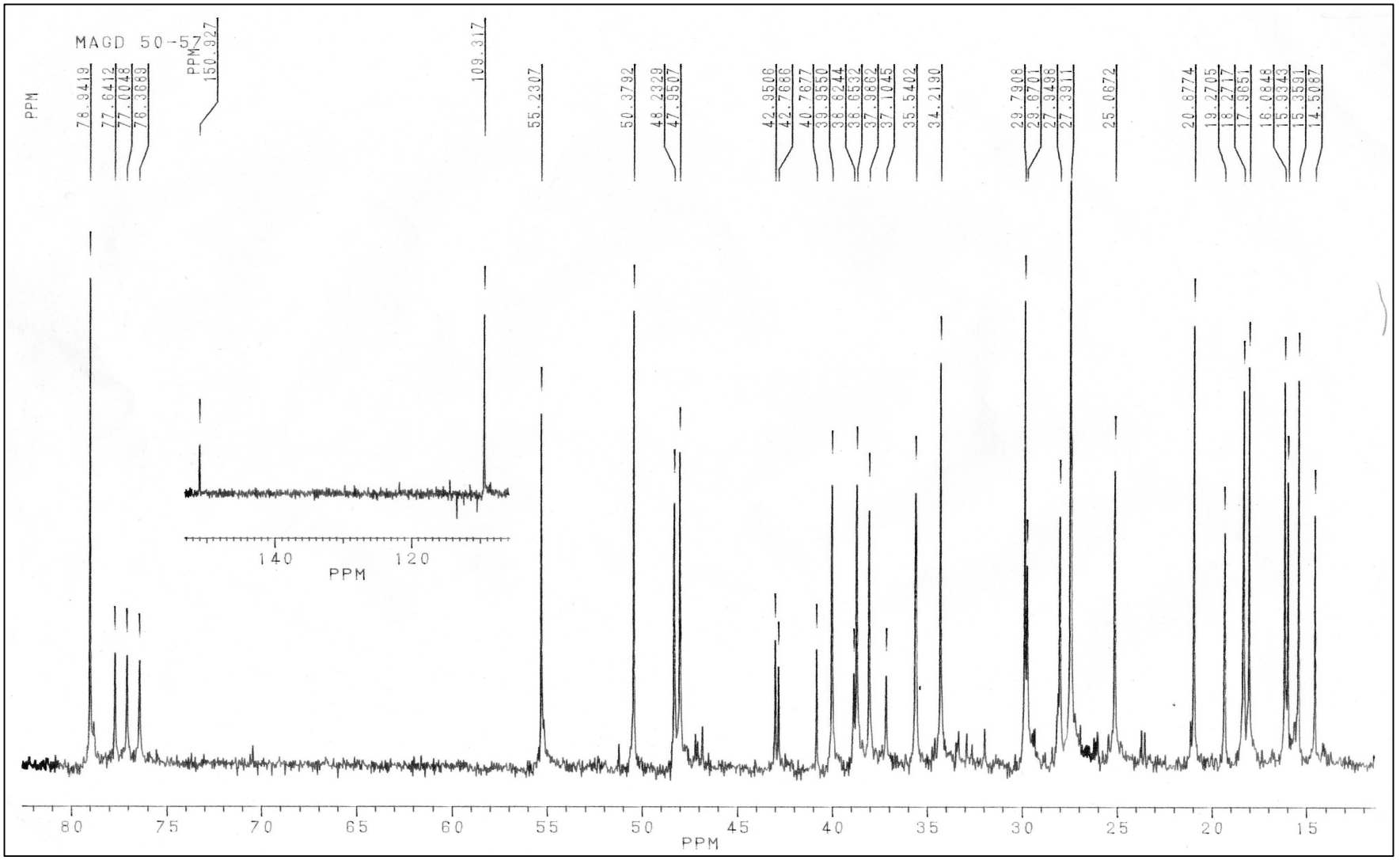


Figura 54: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) do lupeol (<u>10</u>).

Tabela 5: Dados de RMN de ^{1}H (200 MHz) e ^{13}C PND (50 MHz) de (10) obtidos em $CDCl_3$.

	δ_C	δ_H	$\delta_{Cliteratura}$
C			
1	38,8		38,7
2	27,3		27,4
3	78,3	3,1 (dd; 9,9 e 5,2)	78,9
4	38,8		38,8
5	55,2		55,3
6	18,2		18,3
7	34,2		34,2
8	40,7		40,8
9	50,3		50,4
10	37,1		37,1
11	20,8		20,9
12	25,0		25,1
13	37,9		38,0
14	42,7		42,8
15	27,9		27,4
16	35,5		35,5
17	42,9		43,0
18	48,2		48,2
19	47,3	2,3 (*ddd*; 10,8; 10,8; 5,3)	47,9
20	150,9		150,9
21	29,7		29,8
22	39,7		40,0
23	28,6		28,0
24	15,3		15.4
25	16,0		16,1
26	15,9		15,9
27	14,5		14,5
28	17,9		18,0
29	109,3	4,6 (dl; 2,2), 4,5 (m)	109,3
30	19,2	1,6 (sl)	19,1

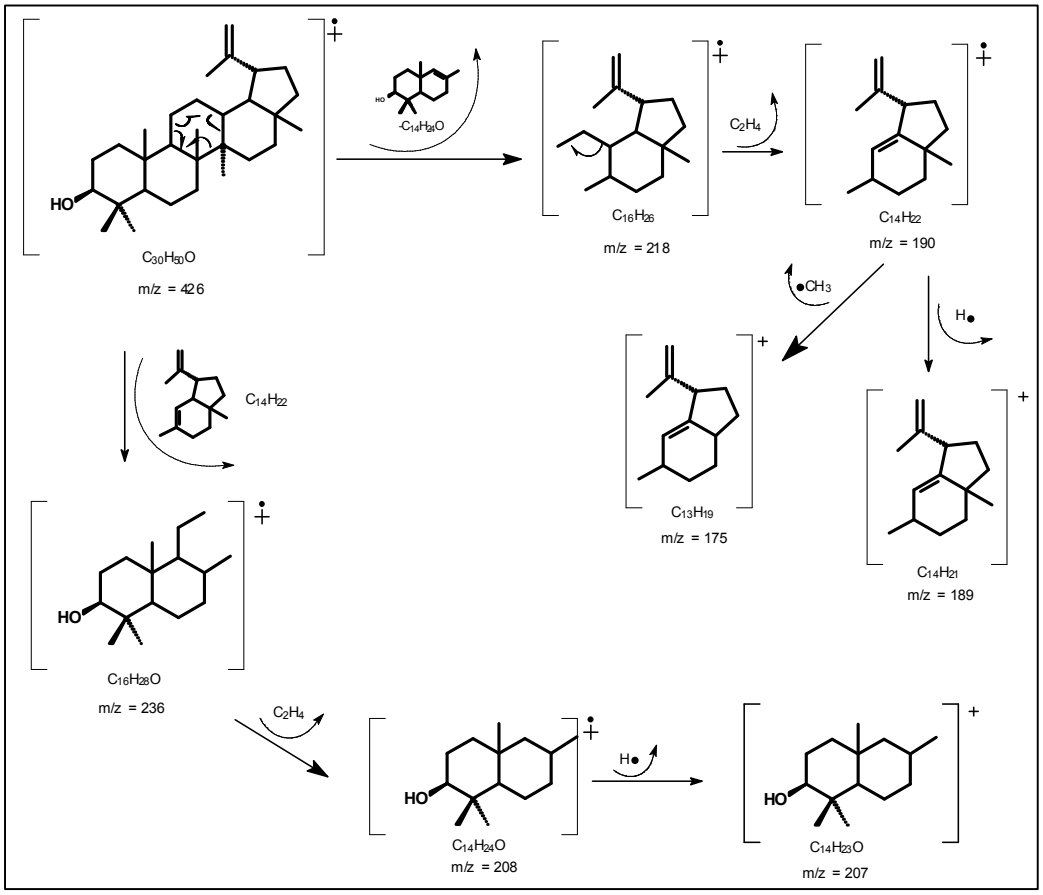
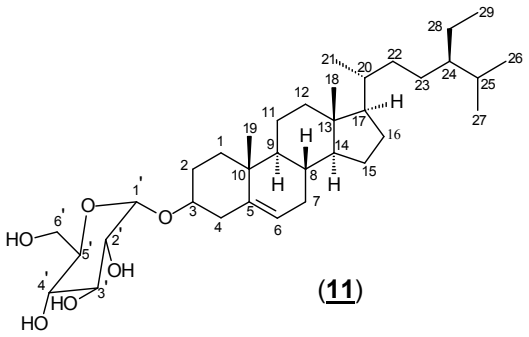


Figura 55: Proposta de fragmentação de massa da substância (<u>10</u>).

4.8 Determinação Estrutural da Saponina Esteroidal (11)



(**11**)

O espectro de infravermelho de (**11**) (Figura 56) revela uma banda de absorção em: 3402,58 cm^{-1} (larga) referente à deformação axial de OH; 2958,93 cm^{-1}, 2933,85 cm^{-1} e 2968, 27 cm^{-1} representando as deformações axiais de carbonos CH, CH_2 e CH_3 sp^3; 1462,11, 1377,26 e 1367,59 de deformação angular de C-H e em 1165,05 da deformação axial C-O.

O esqueleto não glicosídico de (**11**) foi sugerido mediante a presença, no espectro de RMN ^1H (FIGURAS 57 e 58), dos sinais simples correspondentes as metilas em δ_H 0,71 (3H-18) e 1,04 (3H-19) e sinais múltiplos em δ_H 0,82 (3H-27); 0,84 (3H-26); 0,86 (3H-24) e 0,95 (3H-21). O si

nal simples e largo em δ_H 5,37 representa o H-6, típico dessa classe de fitoesteróides. O resíduo de glicosídeo foi definido de acordo com as evidências: um sinal duplo em δ_H 4,39 (J= 9,4 Hz) que pode ser assinalado para o hidrogênio anomérico (H-1') acoplando com o hidrogênio H-2' *trans-diaxial* e os demais sinais referentes aos H-3', H-4', H-5' e H-6' onde as interações são assinaladas no espectro bidimensional de RMN ^1H COSY (Figura 59 e 60). O espectro de RMN ^{13}C APT (Figuras 61 e 62) que mostra sinais para carbonos não glicosídicos, seis R-CH-OH e um R-CH_2OH, sendo um em δ_C 101,1 de CH anomérico, δ_C 78,6 do CH-3 da aglicona, 4 x CH glicosídicos [C-2' (73,6), C-3' (76,4), C-4' (70,3), C-5' (76,6) e um -CH_2- da glicose em δ_C 61,5 (C-6)]. Os sinais de carbono sp^2 em δ_C 140,4 e 121,7 demonstram compatibilidade com os carbonos C-5 e C-6, respectivamente, da ligação dupla do sitosterol. As atribuições dos demais sinais estão de acordo com a literatura. O espectro de HSQC (Figuras 63 e 64) permitiu estabelecer as correlações diretas ($^1J_{CH}$) C-6/H-6; C-1'/H-1'; C-2'/H-2'; C-3'/H-3'; C-4'/H-4'; C-5'/H-5'; C-6'/2H-6'; C-18/3H-18; C-19/3H-19; C-21/3H-21. O espectro de HMBC confirma a posição da unidade carboidrática apresentando um sinal de correlação entre C-3/H-1' (Figuras 65 e 66). Na tabela 6 estão listados as valores de δ de RMN ^1H e ^{13}C de (**11**) comparados com dados da literatura (COSTA e col., 2008; MAHATO e KUNDU, 1994).

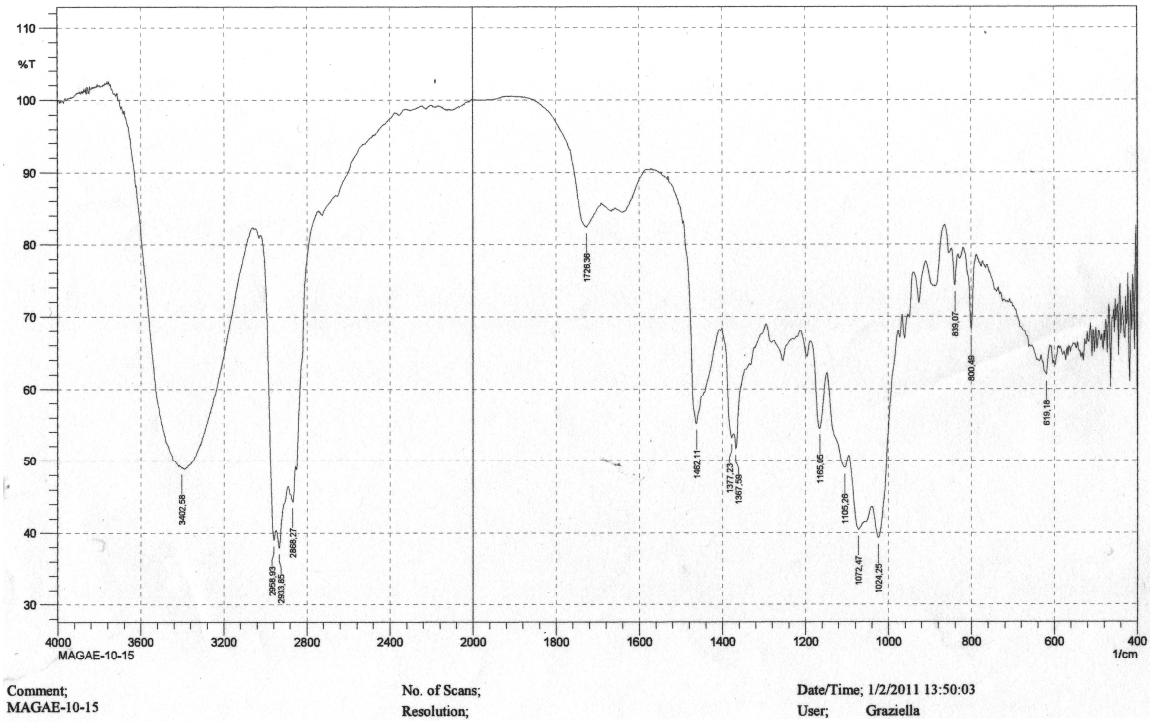


Figura 56: Espectro de infravermelho da saponina esteroidal (11) obtido por ATR.

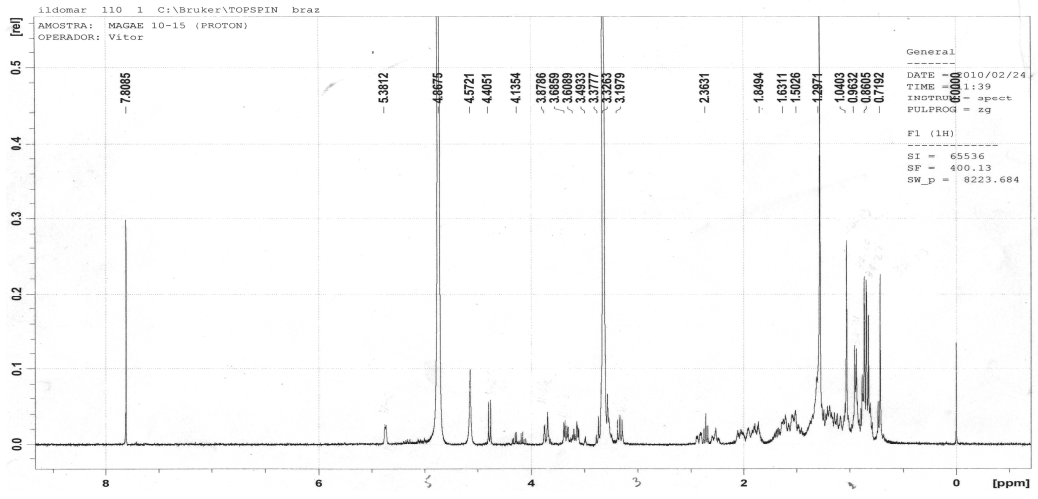


Figura 57: Espectro de RMN ^{1}H (400 MHz) de (<u>11</u>) em CD_3OD + $CDCl_3$.

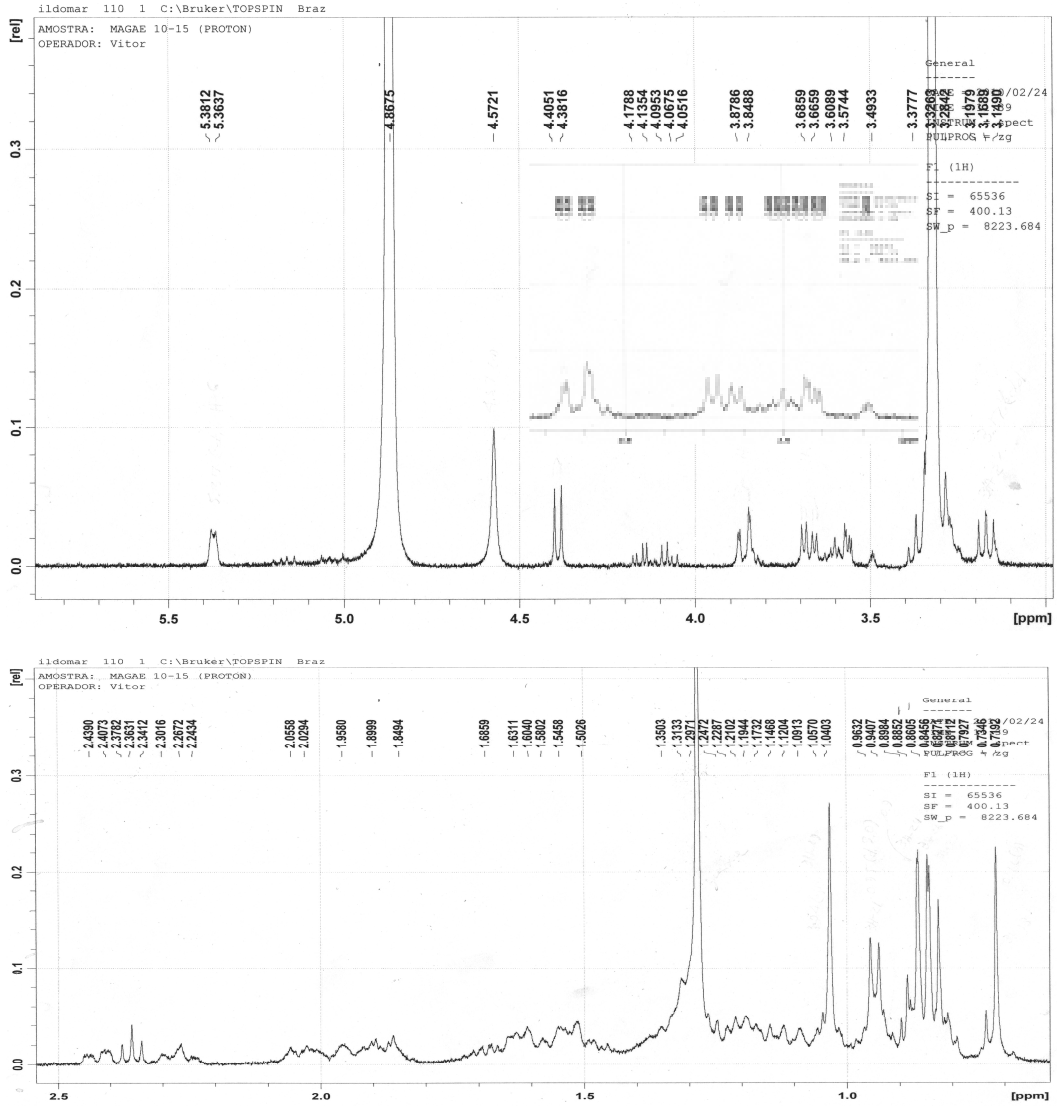


Figura 58: Ampliações do espectro de RMN ^{1}H de (<u>11</u>).

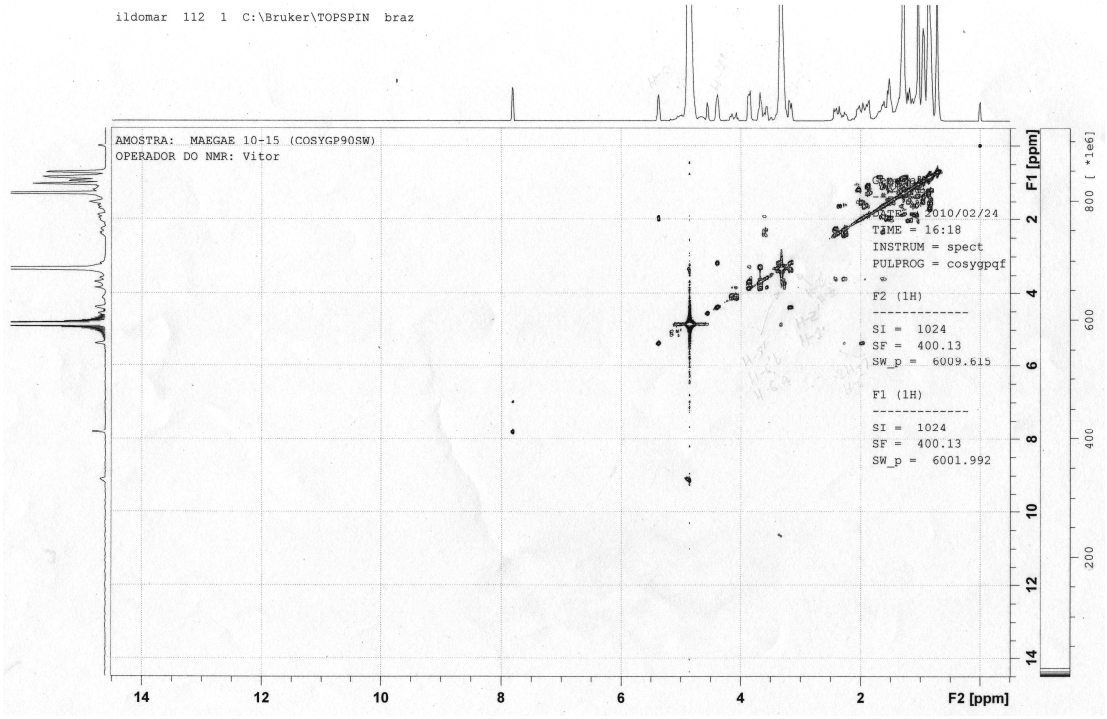


Figura 59: Espectro de RMN $^{1}HX^{1}H$ COSY (400 MHz) de (11) em CD_3OD + $CDCl_3$.

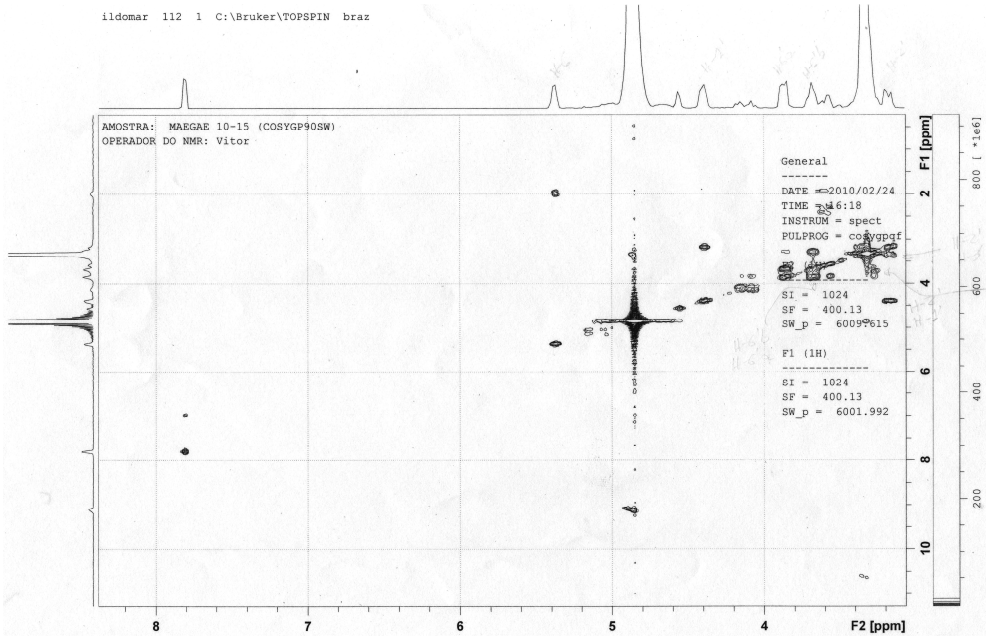


Figura 60: Ampliação do espectro de RMN ^{1}H X ^{1}H COSY (11) em CD_3OD + $CDCl_3$.

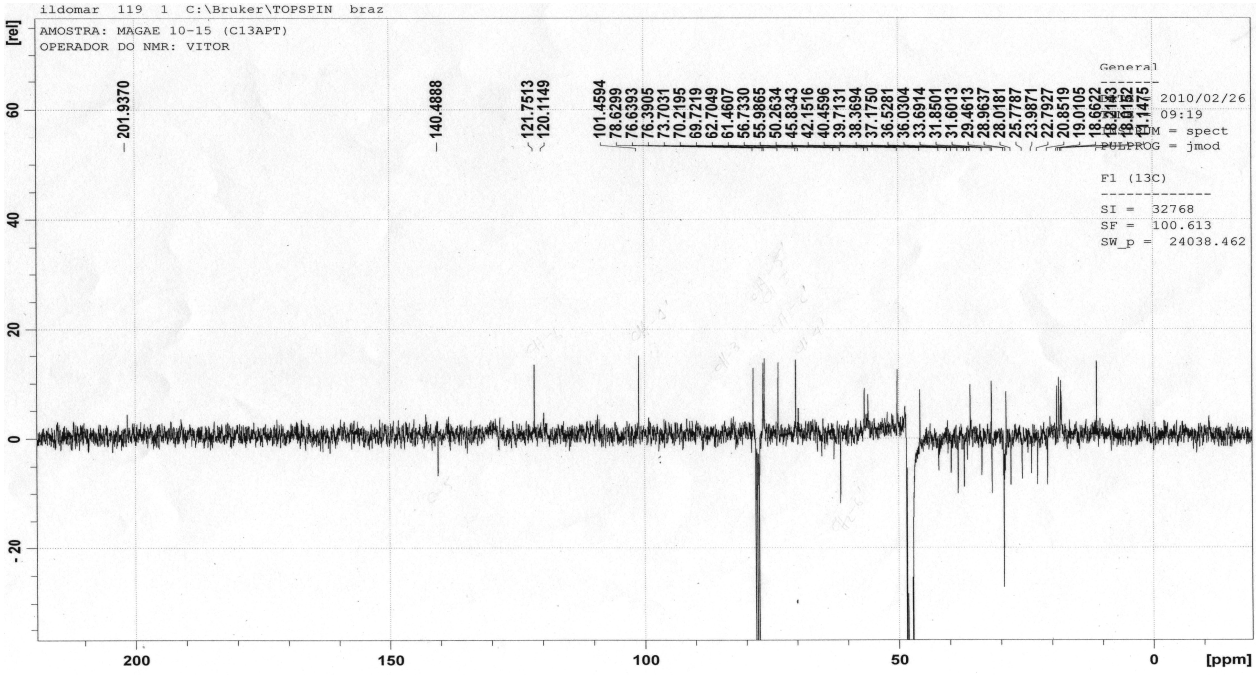


Figura 61: Espectro de ^{13}C APT (100 MHz) de (11) obtido em $CD_3OD + CDCl_3$.

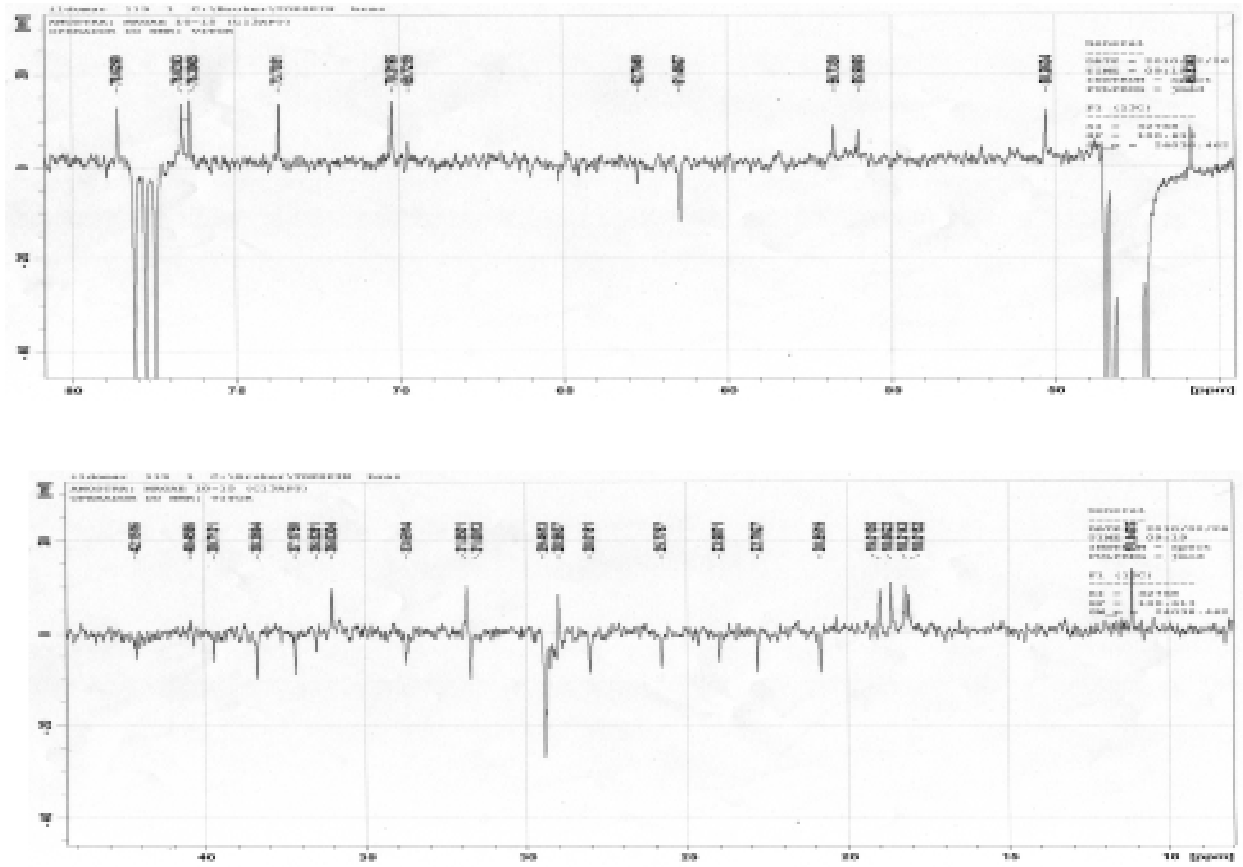


Figura 62: Ampliações do espectro de ^{13}C APT de (<u>11</u>).

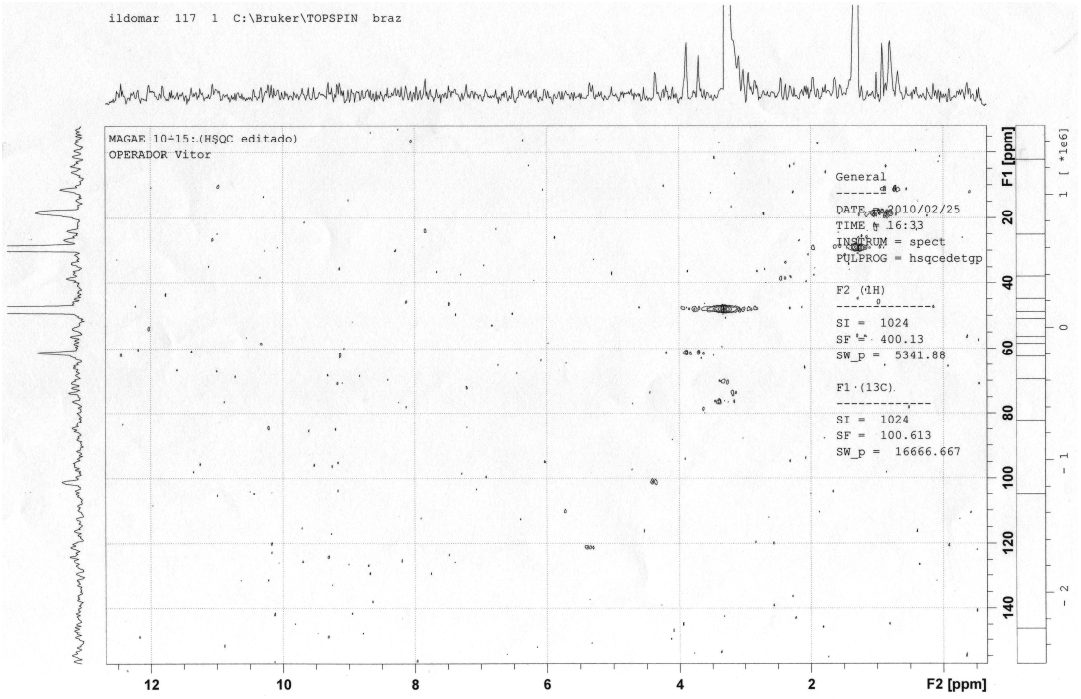


Figura 63: Espectro de bidimensional HSQC (400 MHz) de (<u>11</u>) em CD_3OD + $CDCl_3$.

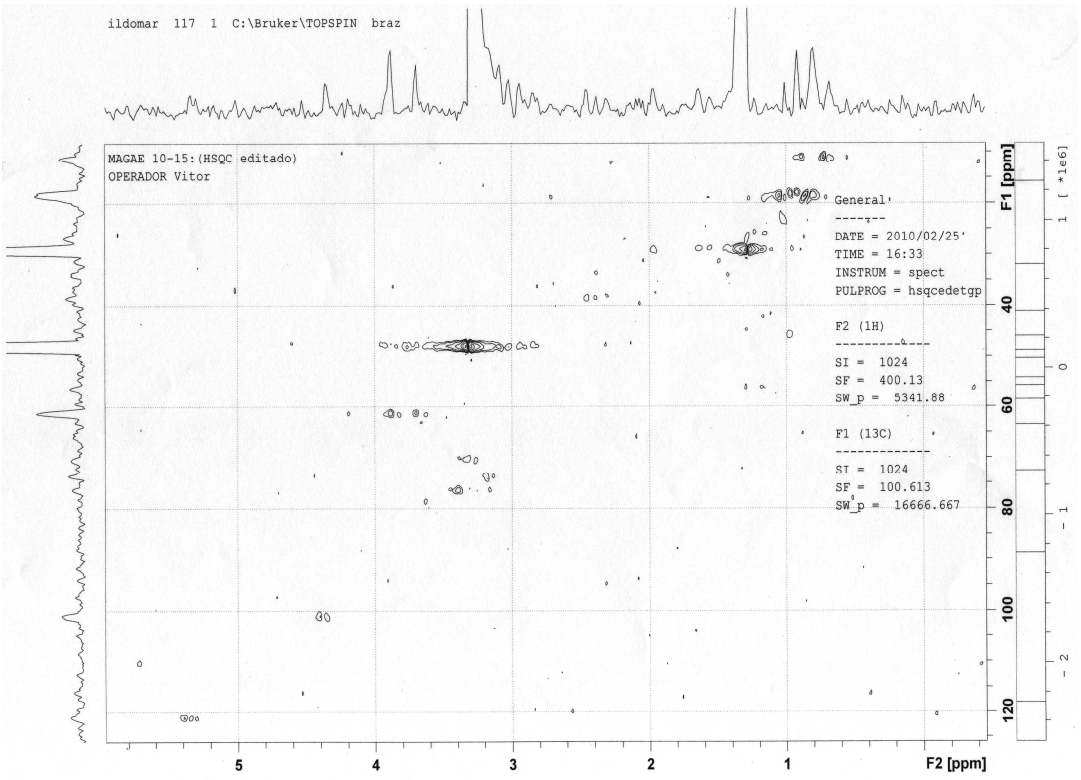


Figura 64: Ampliação do espectro bidimensional HSQC (400 MHz) de (11) em CD_3OD + $CDCl_3$.

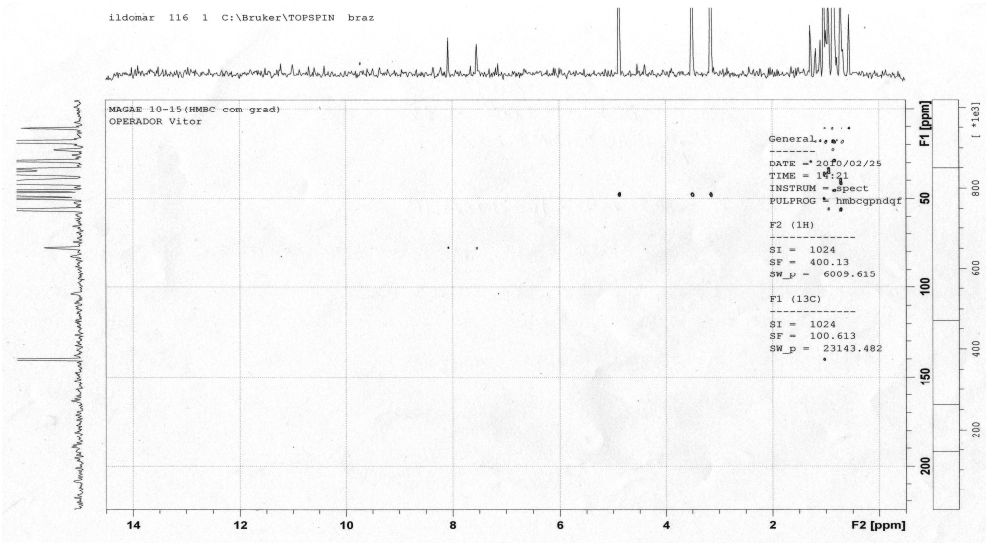


Figura 65: Espectro bidimensional HMBC de (11) obtido em CD_3OD + $CDCl_3$.

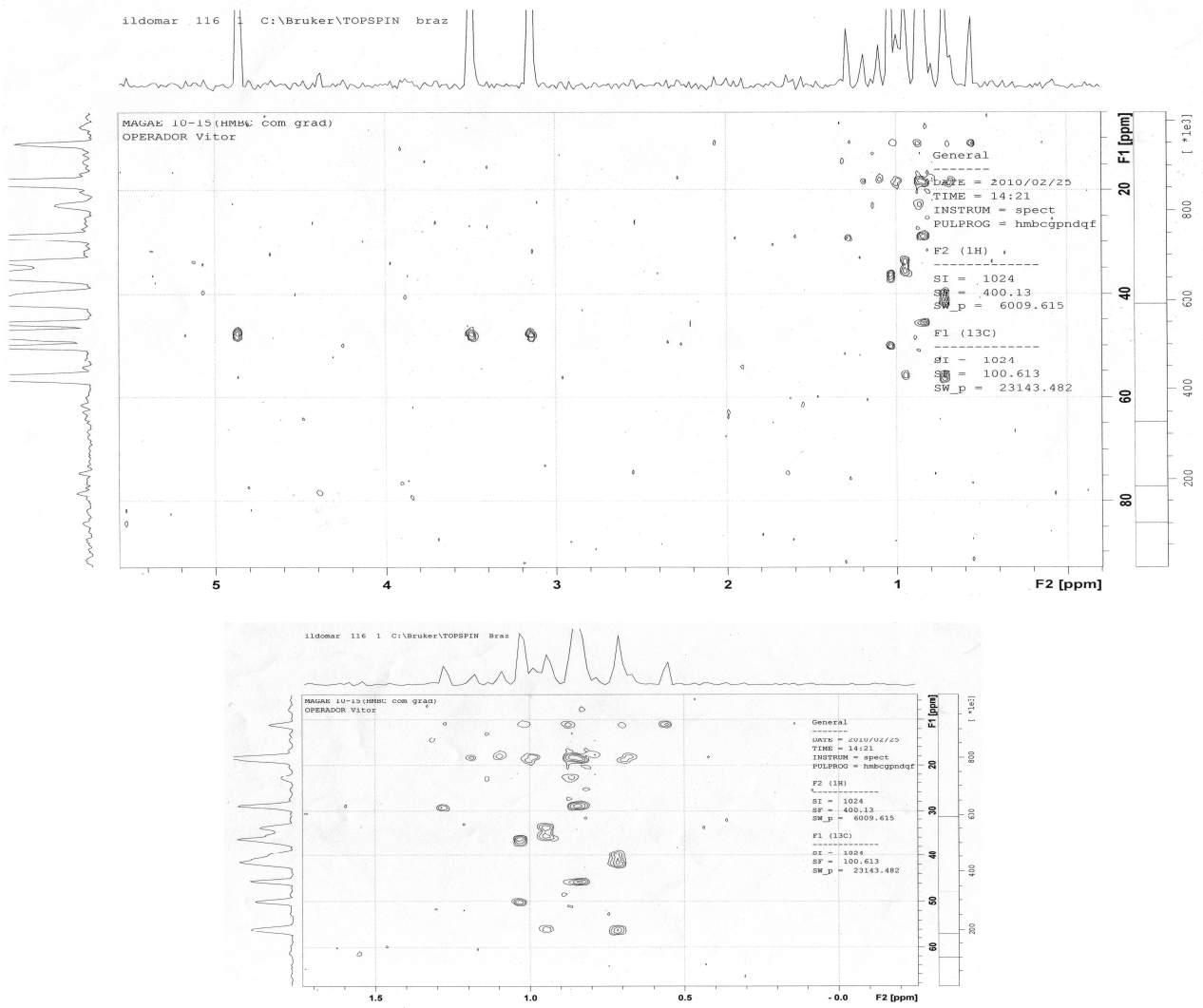


Figura 66: Ampliações de espectro bidimensional HMBC de (11).

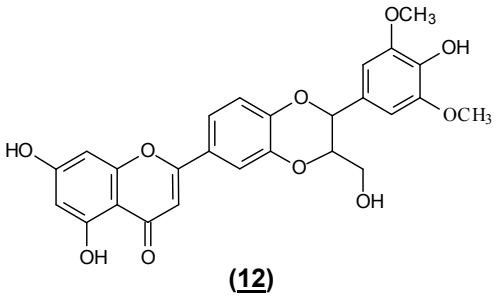
Tabela 6: Dados de RMN ^{1}H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) de (11) obtidos em CD_3OD + $CDCl_3$.

		(**11**)	Literatura
C	δ_C	δ_H [mult; *J*(Hz); *n*H]	
5	140		140,5
10	36,5		36,2
13	42,1		41,8
CH			
3	78,6		70,1
6	121,7	5,38 (*d*)	121,6
8	31,8		31,4
9	50,2		49,6
14	56,7		56,3
17	55,9		55,3
20	36,0		35,5
24	28,9		28,7
25	45,8		45,2
1'	101,4	4,40 (*d*; 9,4 Hz; 1H)	100,8
2'	73,6	3,17 (*dd*)	73,5
3'	76,4		76,9
4'	70,3		70,1
5'	76,6		76,8
6'	61,4	3,85 (H-6'**a**); 3,67 (H-6'**b**)	61,1
CH_2			
1	37,1		36,8
2	29,4		31,3
4	38,3		41,8
7	31,6		31,3
11	20,8		20,6
12	39,7		39,2
15	23,9		24,9

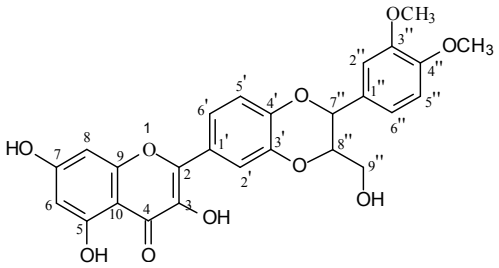
Tabela 6. Continuação

16	28,0		29,3
22	33,7		33,4
23	25,7		25,5
28	22,7		22,6
CH_3			
18	11,1	0,71 (*s*; 3H)	11,7
19	18,2	1,04 (*s*; 3H)	19,1
21	18,6	0,95 (*d*; 3H)	18,6
26	19,0	0,84 (*d*; 3H)	19,8
27	18,0	0,82 (*d*; 3H)	18,6
29	11,1	0,86 (*d*; 3H)	12,1

4.9 Determinação Estrutural das Flavonolignanas (12) e (13)



(12)



(13)

As substâncias (**12**) e (**13**) foram identificadas através de seus espectros de IV, unidimensionais: de RMN ^{1}H, ^{13}C APT e NOESY (1D) e bidimensionais ^{1}H X ^{1}H COSY, HSQC, HMBC e NOESY, incluindo a comparação com dados da literatura. Dessa forma foi possível realizar a atribuição de todos os dados de RMN de ^{1}H e ^{13}C na mistura. (GUZ e col., 2001; PAN, e col., 2009; GUZ e col., 2000; PETTIT e col., 2003; HARBORNE e MABRY, 1976).

O espectro na região do infravermelho (Figura 67) de (**12**+**13**) apresentou bandas de absorção em: 3425 cm^{-1} (deformação axial de OH), 2922,59 e 2848,91 (deformação axial de CH, CH_2 e CH_3 sp^3), 1657,23 (deformação axial de carbonila conjugada a anel aromático), 1621,41 e 1436,46 (deformação axial C=C (aril)).

O espectro de RMN ^{1}H (Figuras 68, 69, 70 e 71) da substância **12** apresentou um sinal em δ_H 6,87 característico de H-3 de flavonas. Esse sinal apresentou acoplamento a uma ligação com o sinal em δ_C 104,5 observada no espectro de HSQC. O espectro de RMN ^{1}H exibiu um sistema ABX em δ_H 7,08 (d; *J*= 8,8; H-5'), 7,67 (sl; H-2') e 7,60 (dl; *J*=8,8 Hz; H-6'). Esses sinais estão consistentes com um anel B trissubstituído de uma flavona cujos acoplamentos foram confirmados através do espectro bidimensional $^{1}Hx^{1}H$ COSY (Figura 72). Os sinais simples e largos em δ_H 6,20 e 6,52, referentes aos H-6 e H-8, respectivamente, são consistentes com o anel A de um flavonóide 5,7-dioxigenado. Estes hidrogênios apresentaram sinais de correlação com carbonos em δ_C 99,55 (C-6) e 94,70 (C-8) no espectro de HSQC (Figuras 77 e 78), respectivamente. A análise do espectro bidimensional de correlação $^{1}Hx^{1}H$ COSY revelou um sistema de acoplamento que permitiu sugerir a presença dos hidrogênios metínicos e metilênicos oxigenados (H-7'', H-8'' e H-9''a,b). Permitindo sugerir que estes hidrogênios pertencem a um fragmento de propanol que forma um anel dioxanico ligado a um anel aromático. A análise do espectro bidimensional HSQC permitiu observar que estes hidrogênios, apresentaram sinais de acoplamento a uma ligação com os carbonos δ_C 77,26 (C-7"); 78,59 (C-8") e 60,67 (C-9"), respectivamente. Estes sinais permitiram propor a presença da substância **12** na mistura que foi confirmada pelas informações adicionais descritas a seguir. O sinal simples em δ_H 3,72 foi atribuído aos hidrogênios das metoxilas ligadas em C-3", 5" de (**12**). Na **Tabela 7** estão as atribuições de todos os sinais de ^{1}H e ^{13}C e as correlações observadas para (**12**). O

espectro de massas de **12** (Figura 85) apresentou picos em *m/z*: 494,1172 ($M^{\cdot+}$), 464,1120 ($M^{\cdot+}$ perda de CH_2O), 463,1048 ($M^{\cdot+}$ perda de H e de CH_2O, 100%), 283,0301 [$M^{\cdot+}$-211,0970, (perda de H e de $C_{11}H_{14}O_4$)] confirmando a proposta da estrutura. O experimento NOESY 1D (82) obtido através da irradiação em δ_H 7,67 (H-2') que forneceu nOe no sinal em δ_H 6,87 (H-3) confirmando a posição proposta para os hidrogênios referentes a esses sinais; o espectro bidimensional NOESY apresentou sinal de interação espacial entre a metoxila em δ_H 3,72 e H-2'', 6'' (δ_H 6,75). O espectro de carbono-13 PENDANT (Figuras 73, 74, 75 e 76), apresentou, além dos sinais já atribuídos a **12**, sinais adicionais em δ_C: 148,57 (C-3"), 136,80 (C-3), 124,30 (C-1') 118,10 (C-2"), 77,95 (C-7") e 56,32 (2 X H_3CO-). Esses sinais permitiram sugerir a presença da substância **13**, conforme relacionado na Tabela 2, que apresenta os dados de RMN ^1H e ^{13}C da mesma. Os sinais de três hidrogênios em δ_H 7,04 (sl), 6,82 (d; *J*= 7,6Hz) e 6,88 (dl; *J*= 8,8 Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-2", H-5" e H-6", respectivamentes, do anel aromático 1,3,4-trissubstituído da substância **13**. Os sinais dubleto em δ_H 5,02 (H-7"; *J*=7,6 Hz), multipleto em 4,29 e 3,59 observados no espectro de ^1H RMN e ^1H-^1H-COSY representam os hidrogênios ligados aos carbonos sp^3 da unidade C_6C_3 proposta. Esta proposta foi confirmada pela análise do espectro HSQC $^1J_{HC}$ de 7" (5,02/76,95), 8" (4,29/78,59) e 9" (3,59/60,67). Os valores das constantes de acoplamento entre os hidrogênios 7" e 8" (*J*= 7,6 Hz) permitiu definir a configuração relativa *trans* no sistema dioxânico de **13**. O espectro bidimensional HMBC (Figuras 79 e 80) foi útil na atribuição dos deslocamentos químicos dos demais carbonos através da identificação de sinais de acoplamentos à longa distância $^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$, (**Tabela 8**). O singleto em δ_H 3,78 (6H) foi atribuído aos hidrogênios das metoxilas em C-3'' e C-4'' de **13**. A análise do espectro de NOESY 1D cuja irradiação no sinal em 3,78 gerou nOe nos sinais de H-2'' e H-5'', confirmou a posição das metoxilas vizinhas ao H-2'' e H-5'' (Figuras 81). O espectro de massas de **13** **(**Figura 86**)** apresentou picos em m/z: 495,1274 $[M+1]^{\cdot+}$; 465,1169 (perda de CH_2O, 100%) e 301,0469 (perda de 194,0942, $C_{11}H_{14}O_3$) estando de acordo com a estrutura proposta. A análise detalhada da integração do espectros de hidrogênio permitiu propor a percentagem relativa de **12** (32,6 %) e **13** (67,4 %) na fração analisada.

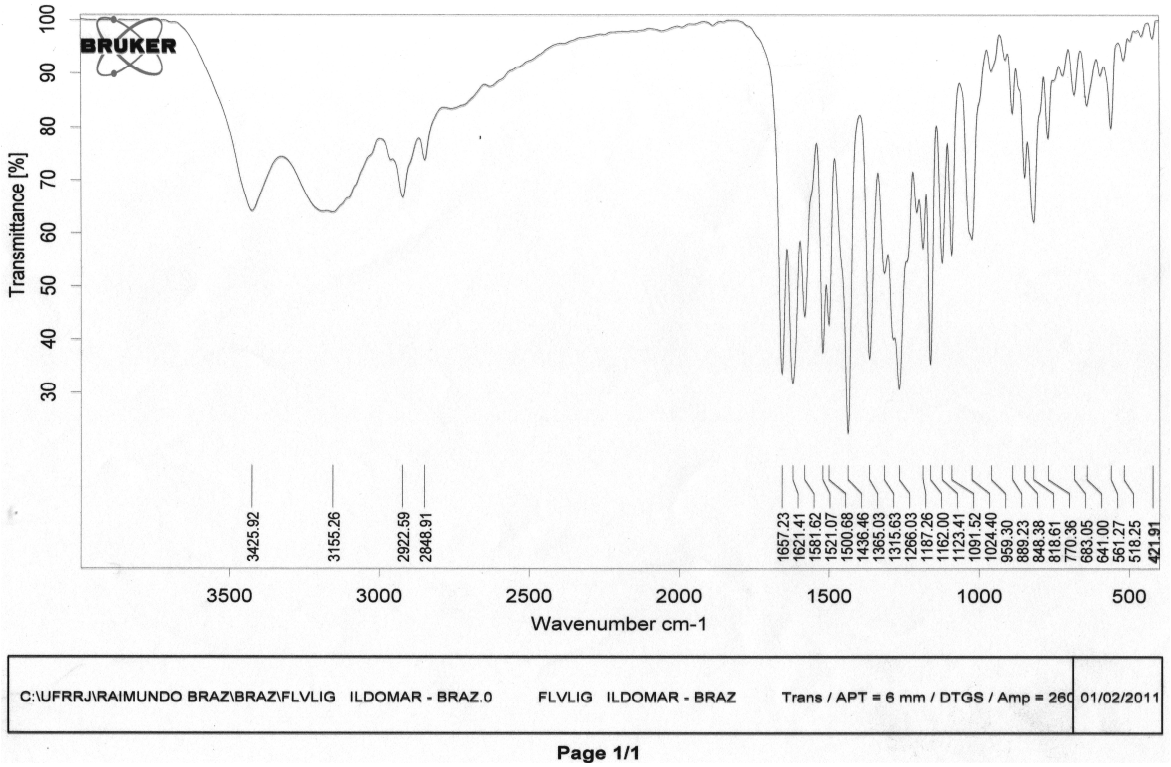


Figura 67: Espectro de infravermelho das flavonolignanas (12) e (13) em pastilha de KBr.

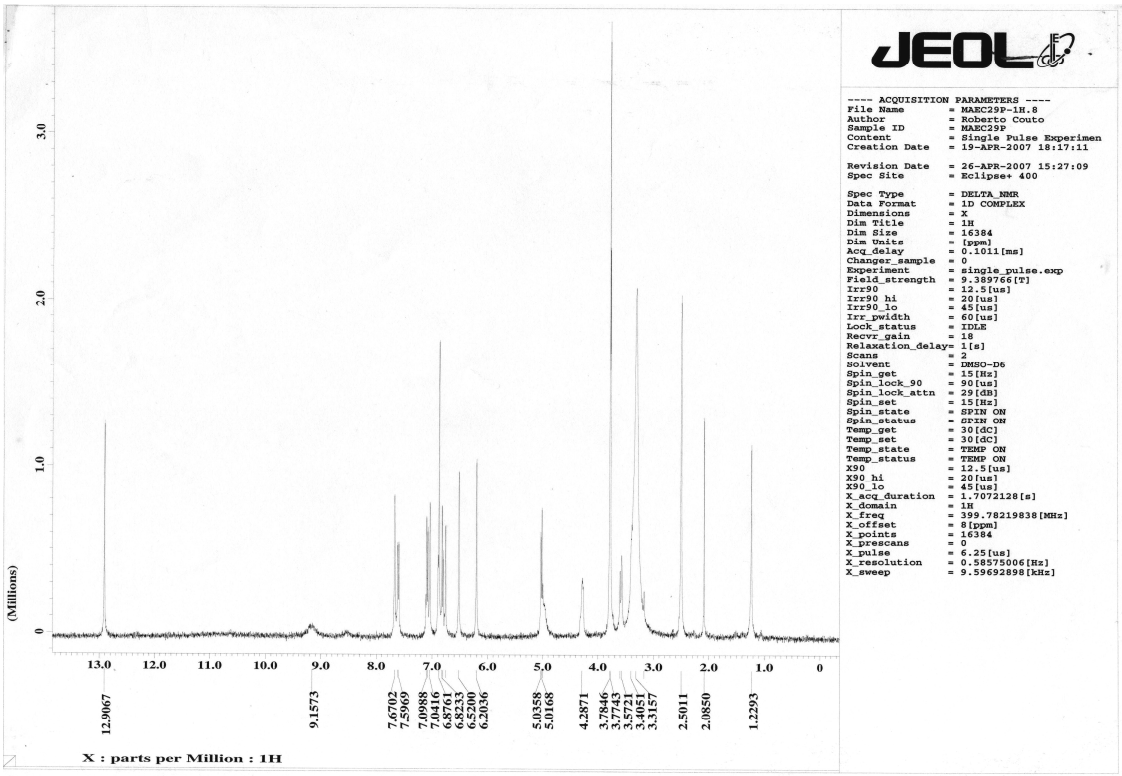


Figura 68: Espectro de RMN ^{1}H (400 MHz) obtido em DMSO-*d*$_6$ de (12 + 13).

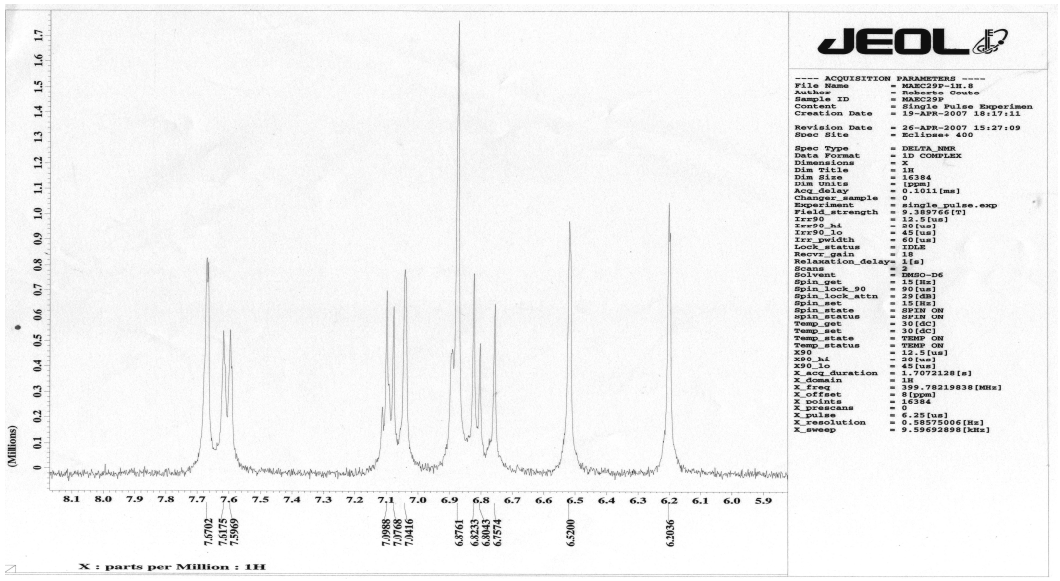


Figura 69: Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H de (12 + 13).

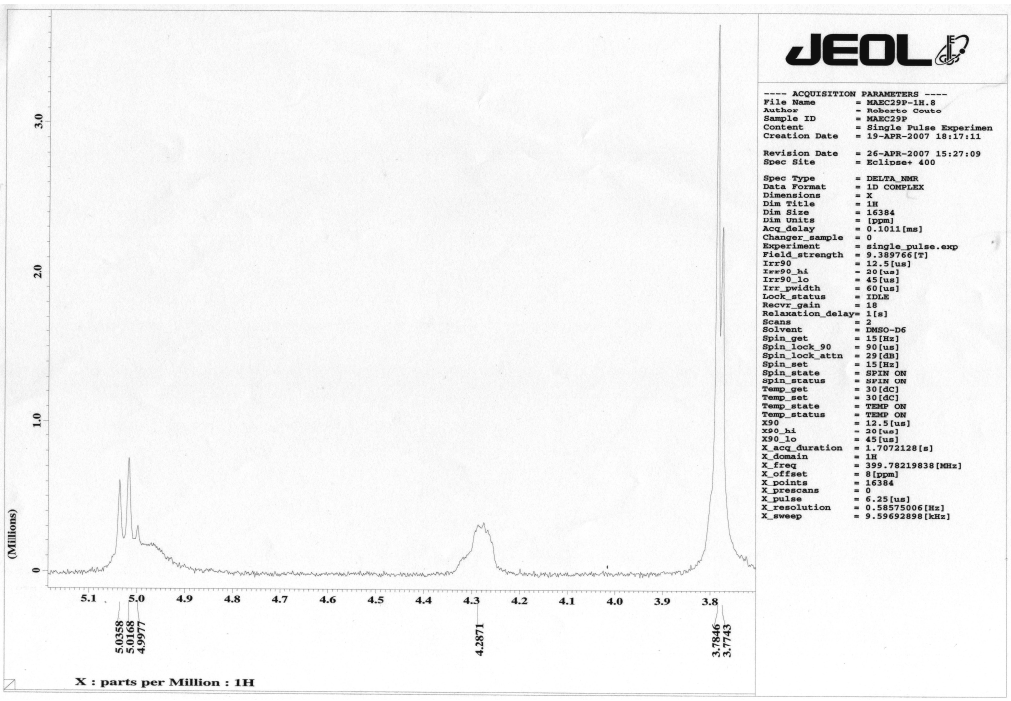


Figura 70: Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H (<u>12</u> + <u>13</u>).

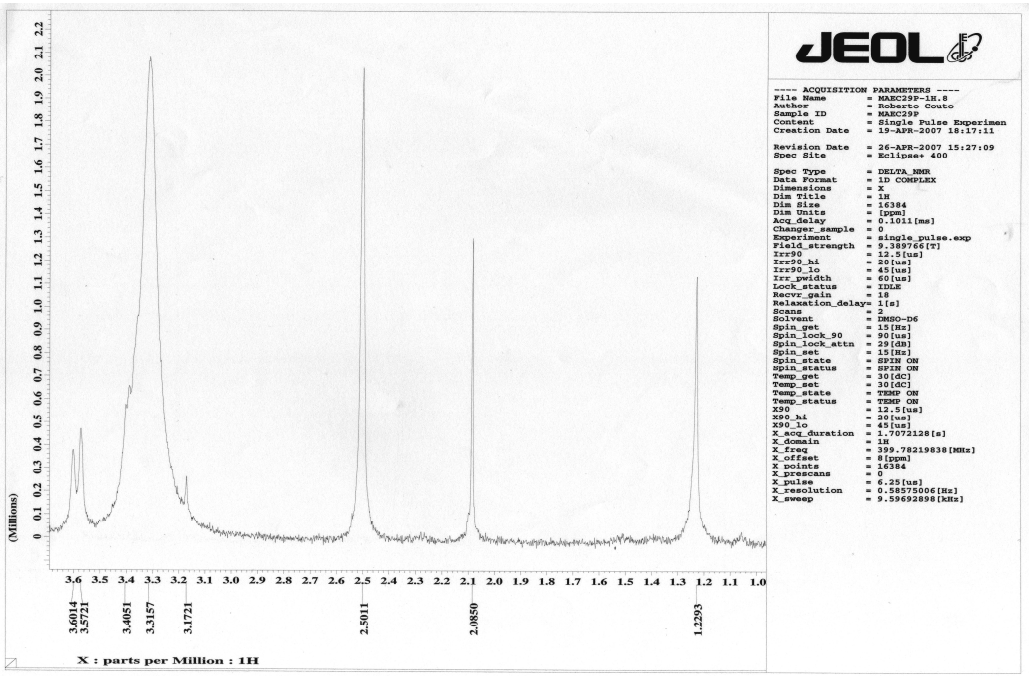


Figura 71: Ampliação do Espectro de RMN ^{1}H (<u>12</u> + <u>13</u>).

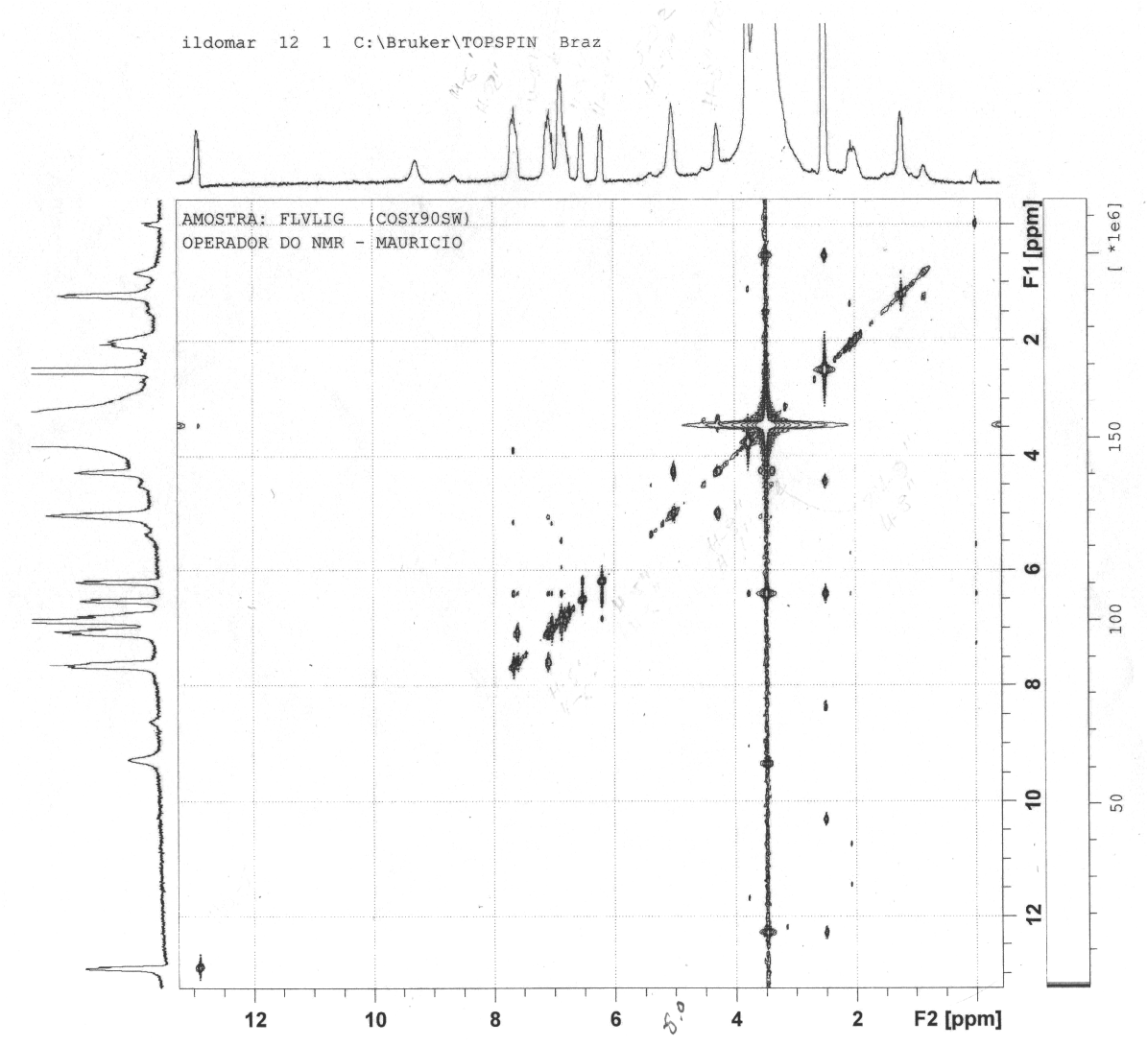


Figura 72: Espectro bidimensional ^{1}H X ^{1}H COSY (400 MHz) de (<u>12</u> + <u>13</u>) obtido em DMSO-d_6.

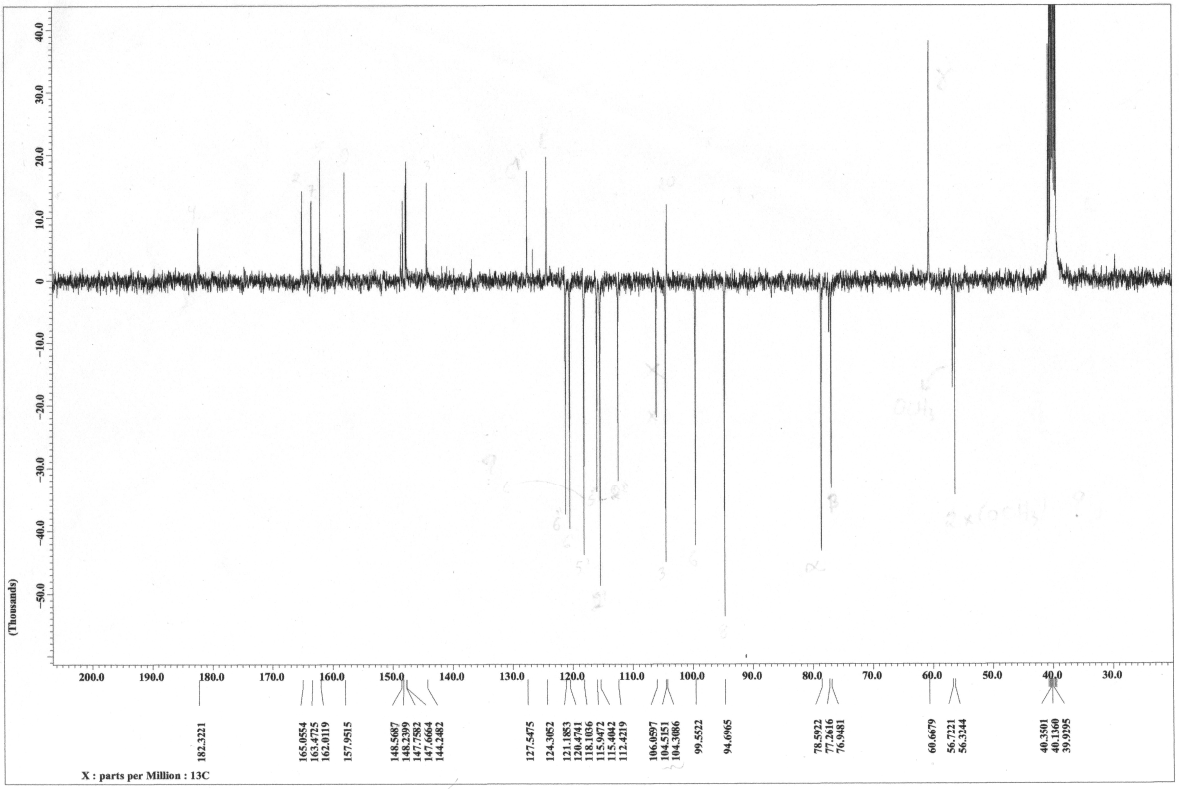


Figura 73: Espectro de RMN ^{13}C PENDANT (100 MHz) de (12 + 13) em DMSO-d_6.

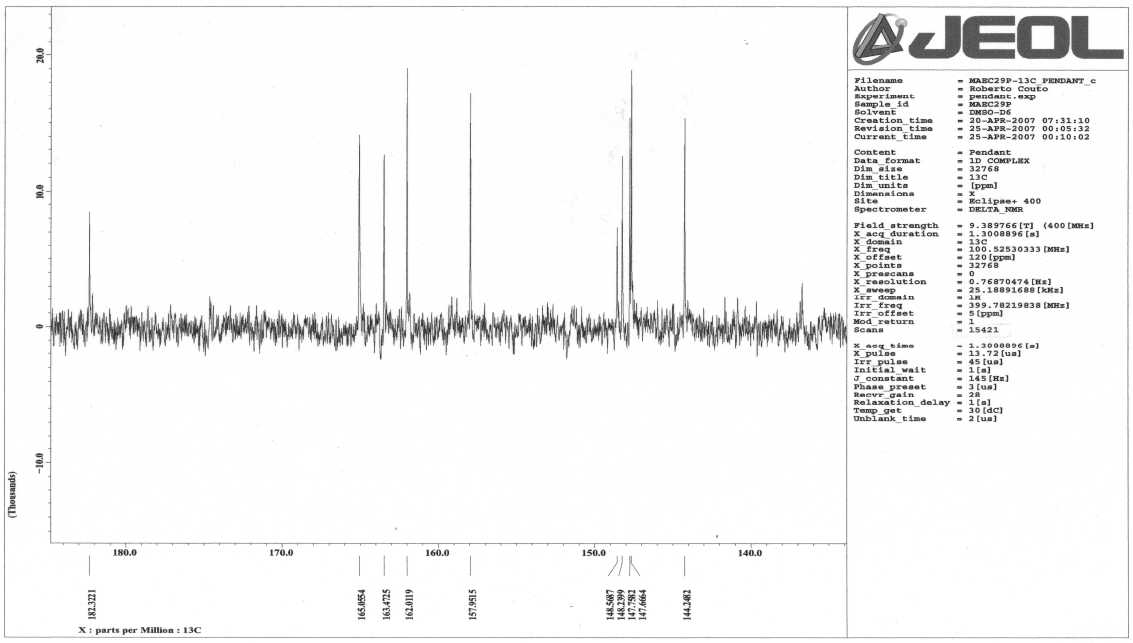


Figura 74: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C PENDANT (100 MHz) de (12 + 13).

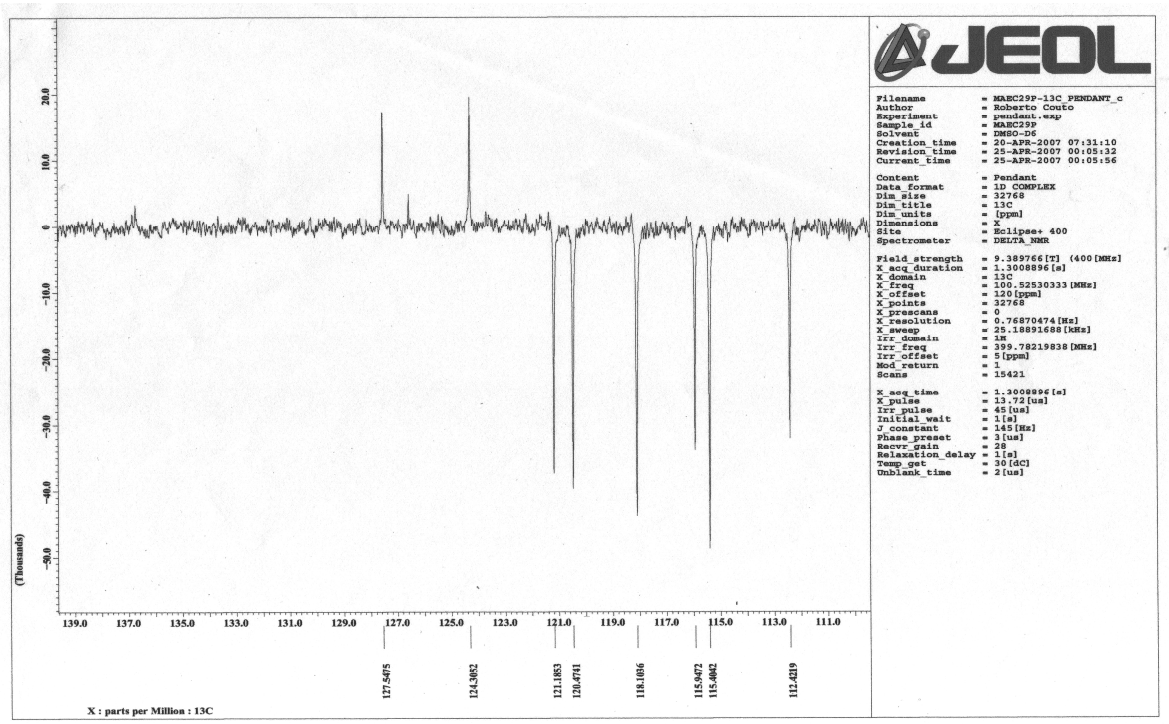


Figura 75: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C PENDANT (100 MHz) de (12 + 13).

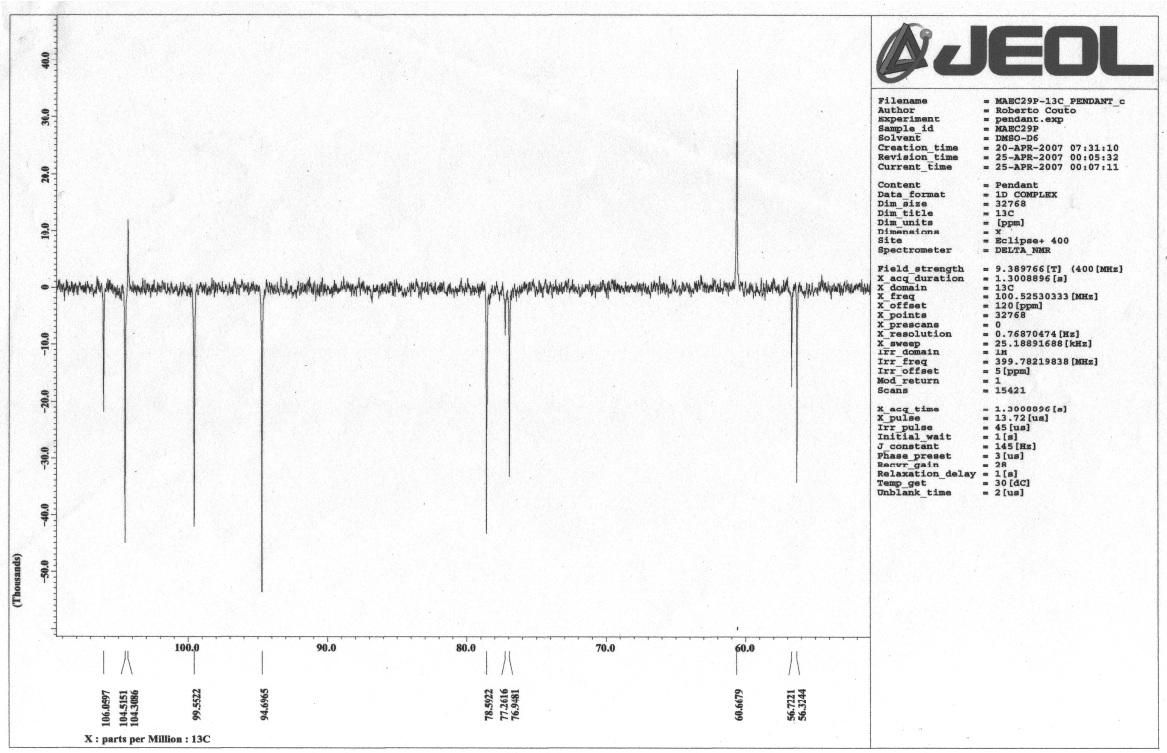


Figura 76: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C PENDANT (100 MHz) de (12 + 13).

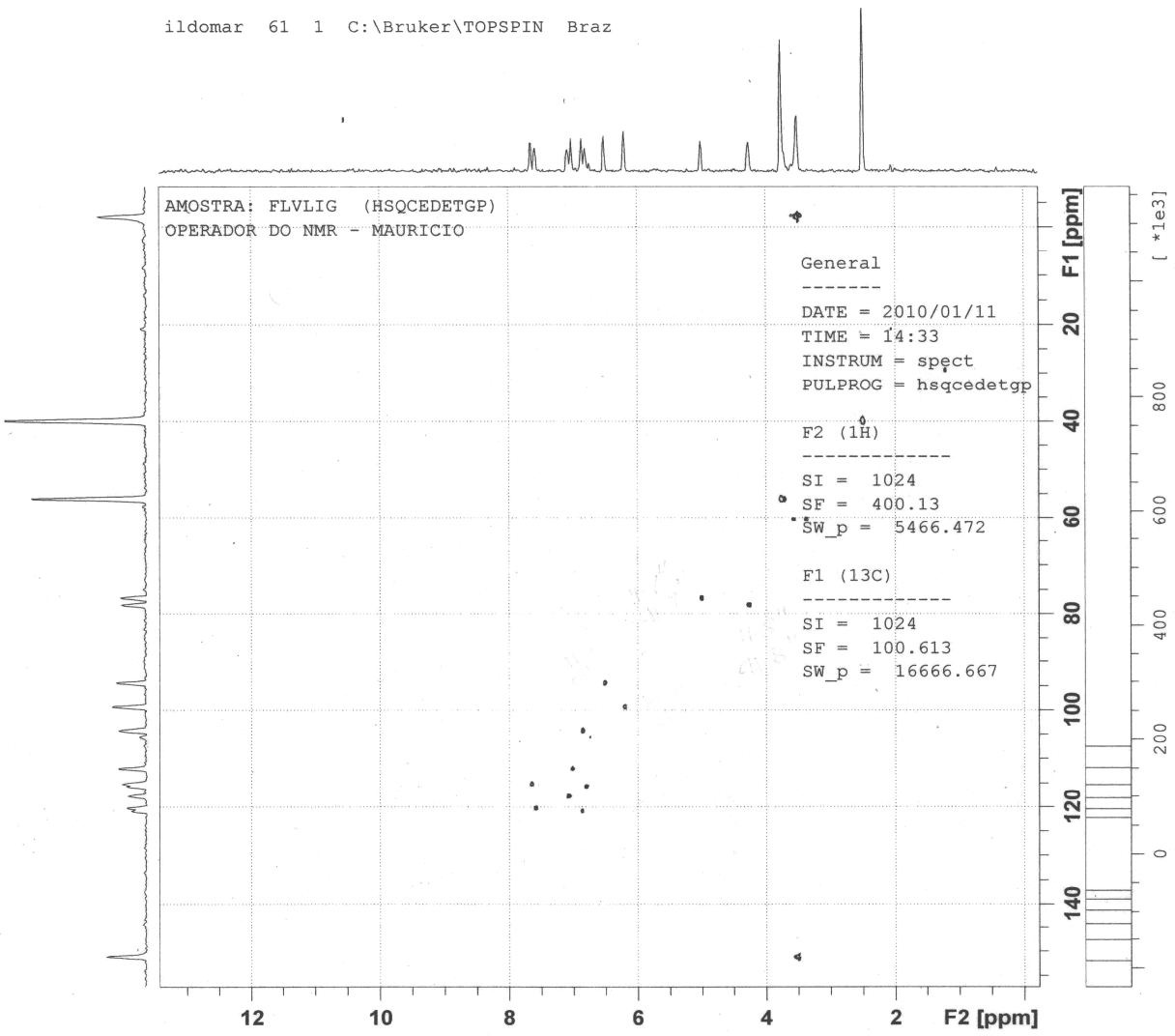


Figura 77: Espectro bidimensional HSQC (400 MHz) de (12 + 13) em DMSO-d_6.

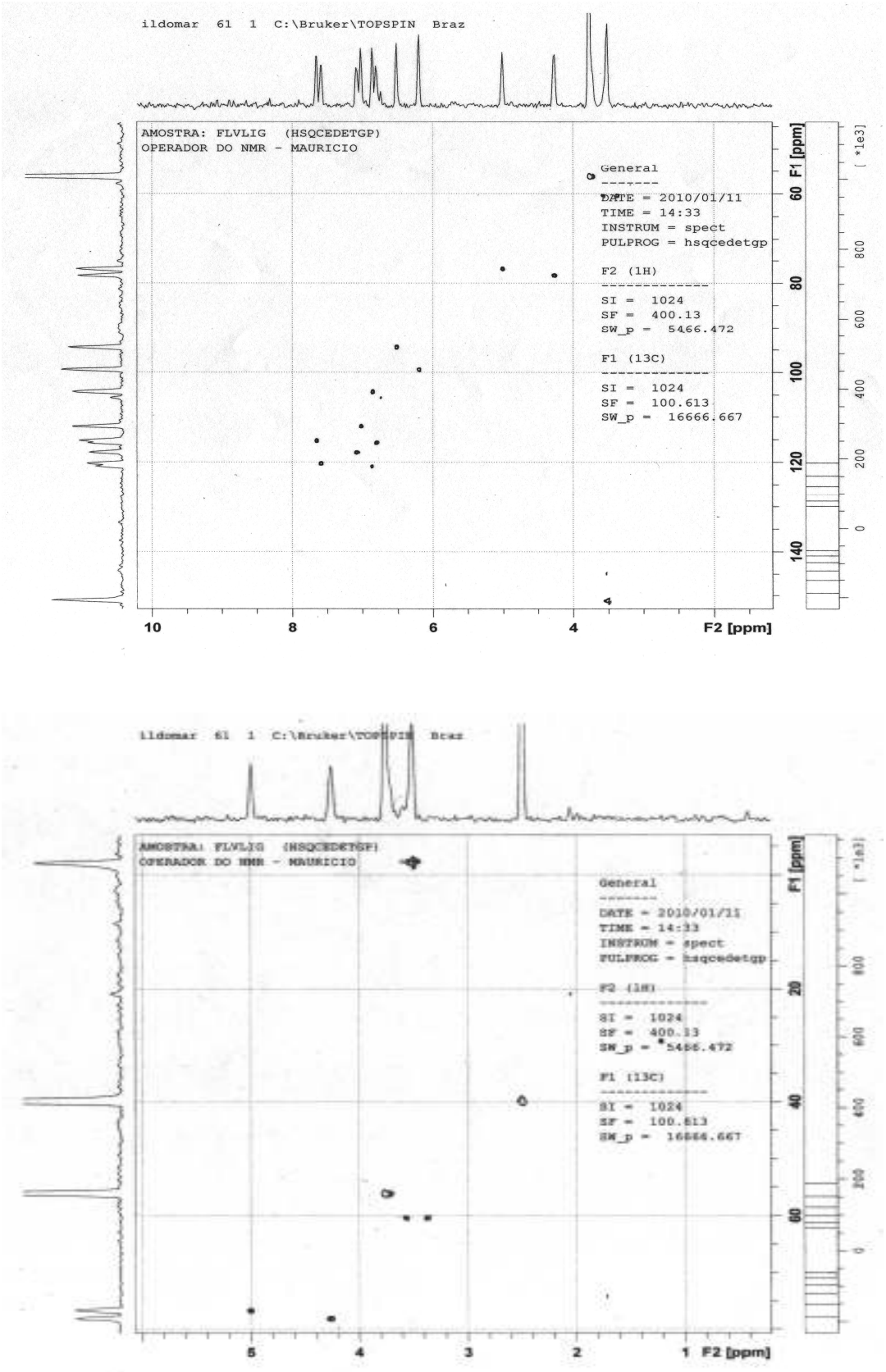


Figura 78: Ampliações do espectro bidimensional HSQC de (<u>12</u> + <u>13</u>).

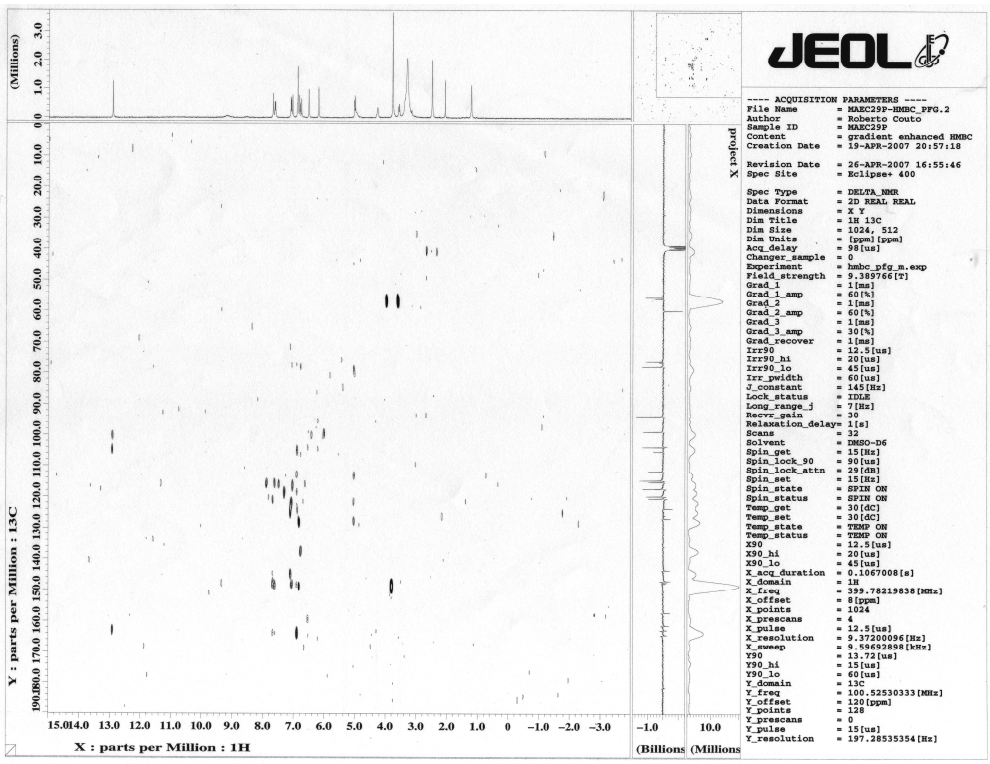


Figura 79: Espectro bidimensional HMBC (400 MHz) de (<u>12</u> + <u>13</u>) em DMSO-d_6.

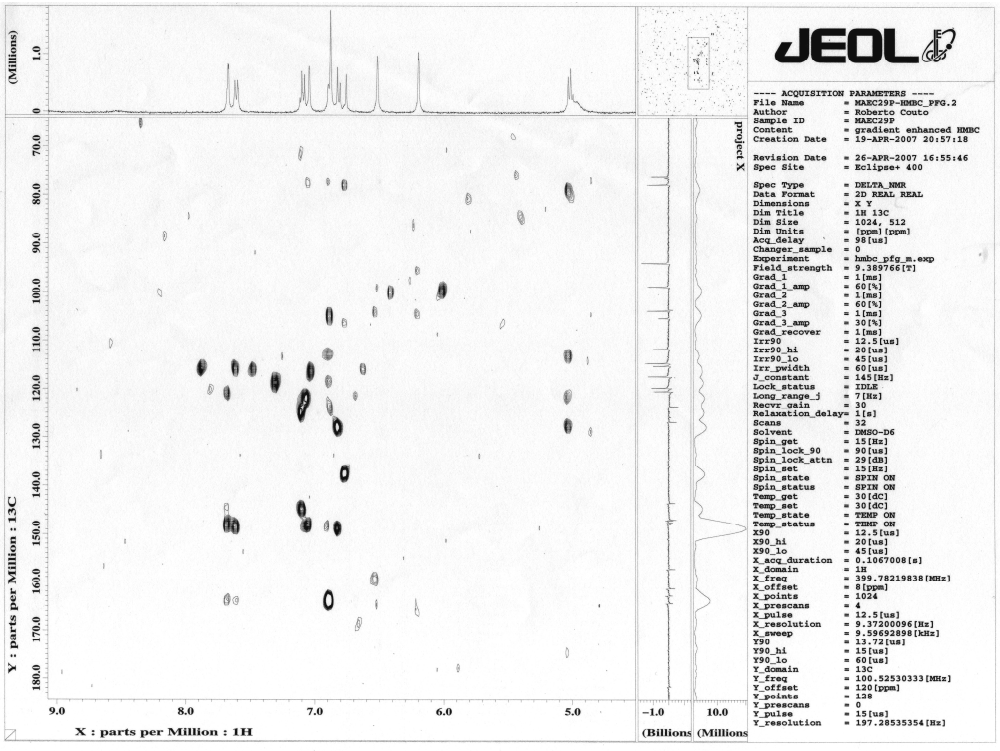


Figura 80: Ampliação do espectro bidimensional HMBC (400 MHz) de (<u>12</u> + <u>13</u>) em DMSO-d_6.

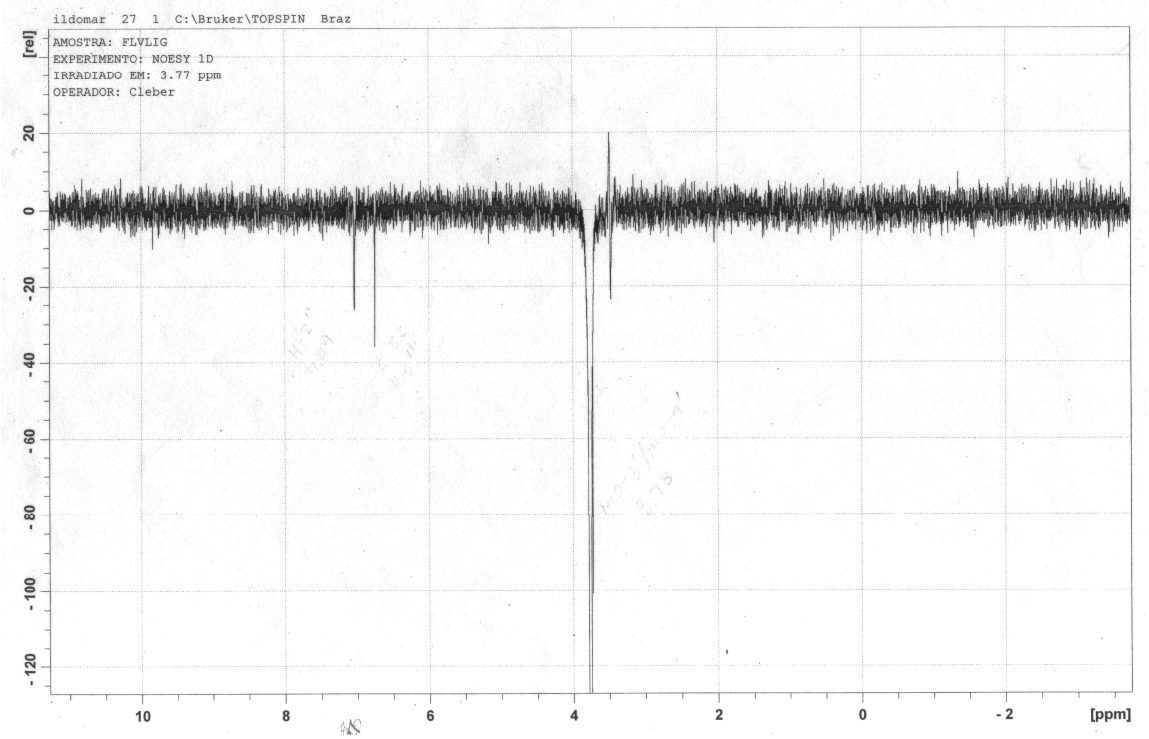


Figura 81: Espectro de NOESY 1D (400 MHz) de (12 + 13) obtido em DMSO-d_6. A irradiação no sinal δ_H 3,77 (3'', 4''-OCH_3) resultou em nOe nos sinais em δ_H 6,82 (H-5'') e δ_H 7,04 (H-2'').

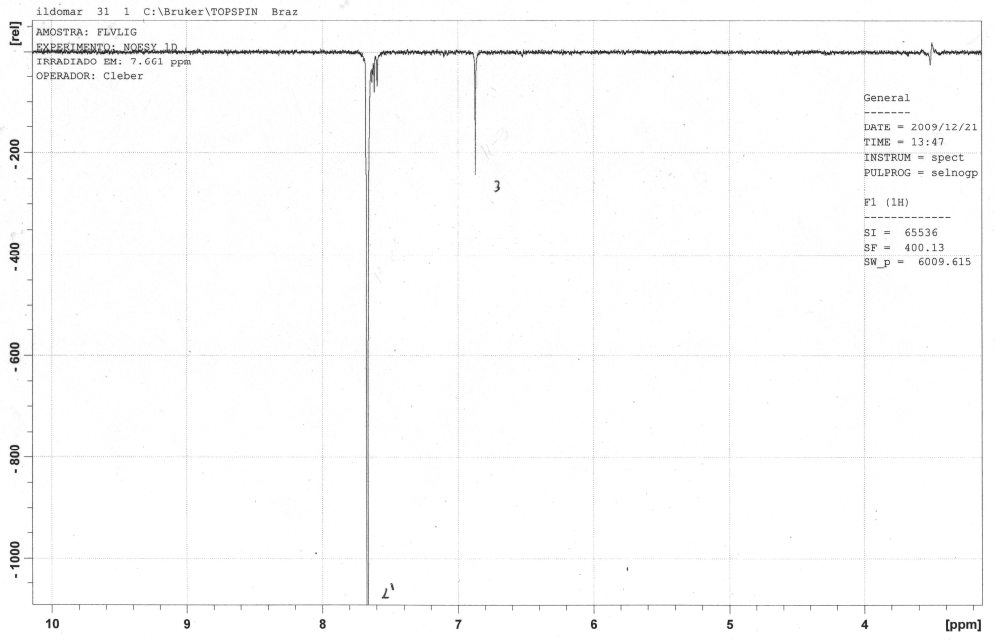


Figura 82: Espectro NOESY 1D (400 MHz) de (12 + 13) obtido em DMSO-d_6. A irradiação no sinal em δ_H 7,661 (H-2') provocou nOe no sinal em δ_H 6,87 (H-3).

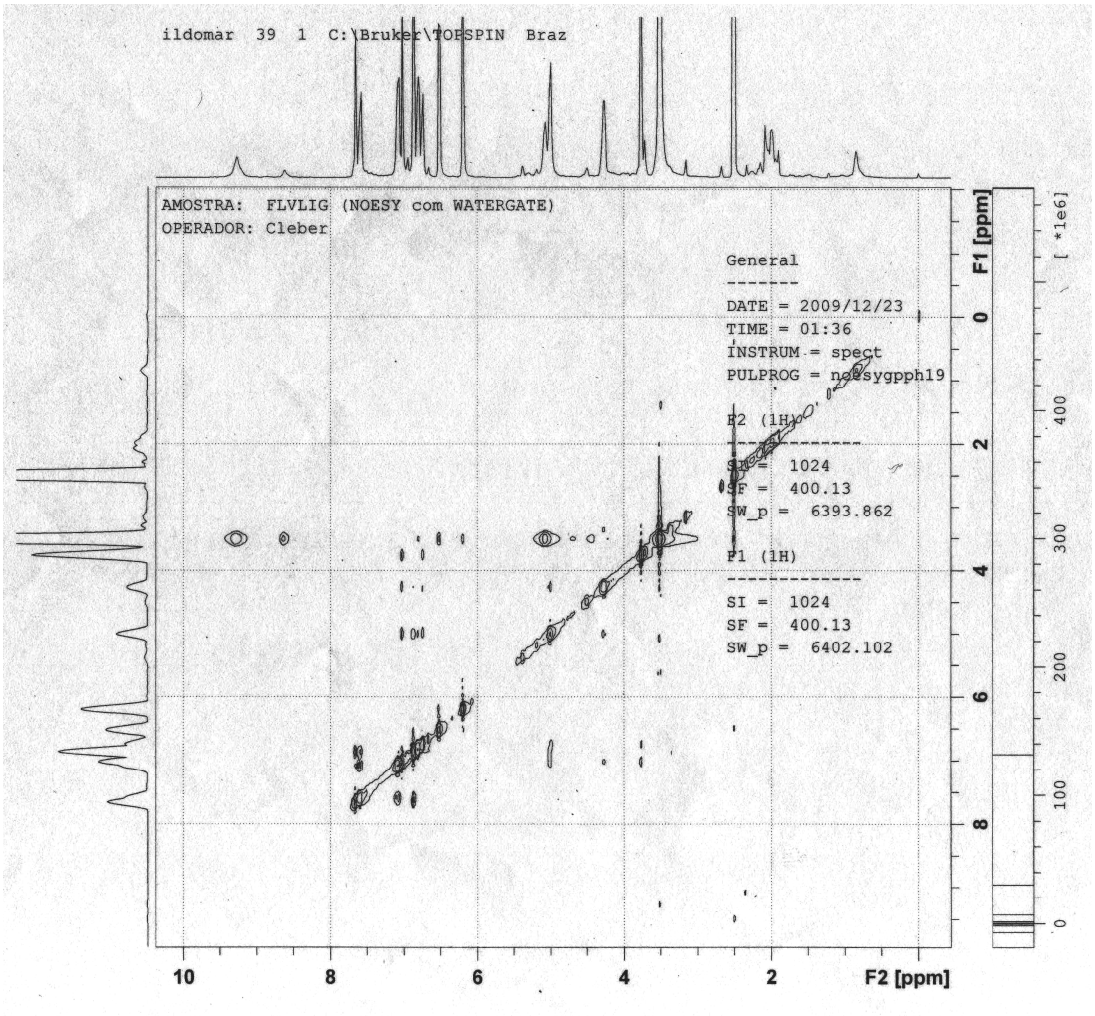


Figura 83: Espectro bidimensional NOESY (400 MHz) de (<u>12</u> + <u>13</u>) em DMSO-d_6.

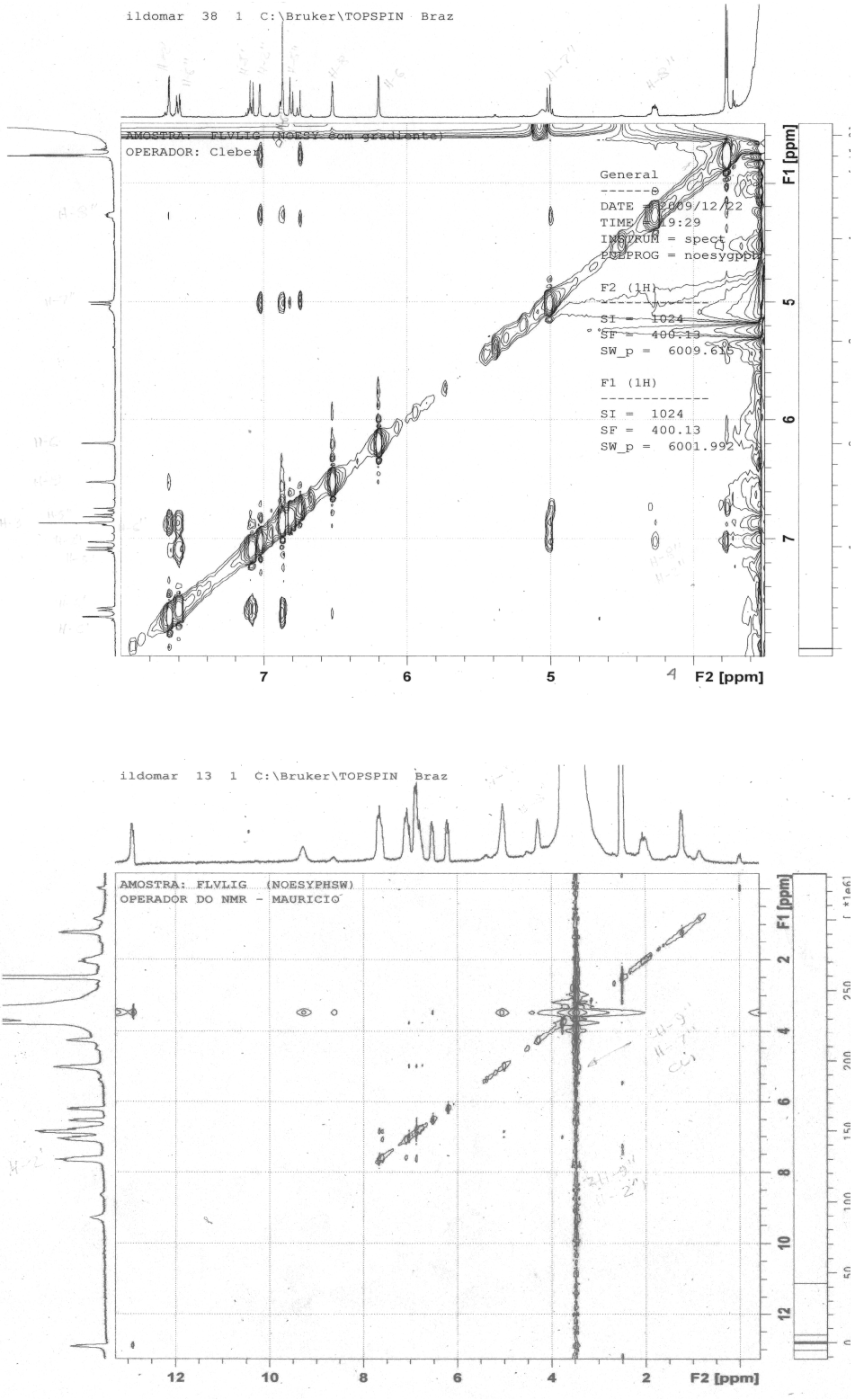


Figura 84: Ampliações do espectro bidimensional NOESY (400 MHz) de (<u>12</u> + <u>13</u>).

Tabela 7: Dados de RMN ^{1}H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) referentes a substância (12) obtidos em DMSO-d_6.

	HMQC		HMBC	
C	δ_C	δ_H	$^{2}J_{CH}$	$^{3}J_{CH}$
2	162,01	-	H-3	H-2'; H-6'
4	182,32	-		
5	163,47	-	HO-5	
7	165,05	-		
9	157,95	-	H-8	
10	104,31	-		H-3; HO-5; H-6; H-8
1'	124,3	-		H-3; H-5'
3'	144,25	-		H-5'
4'	147,76	-		H-2'; H-6'
1''	126,80	-	H-7''	H-5''
3''	148,57	-	H-2''	
4''	136,60	-		H-2''; H-6''
5''	148,57		H-6''	
CH				
3	104,51	6,87 (*s*)		
6	99,55	6,20 (*sl*)		HO-5; H-8
8	94,70	6,52 (*sl*)		H-6
2'	115,40	7,67 (*sl*)		H-6'
5'	112,42	7,08 (*d*; J= 8,8 Hz)		
6'	120,47	7,60 (dl; J= 8,8 Hz)		H-2'
2''	106,05	6,75 (s)		
6''	106,05	6,75 (s)		H-2''; H-7''
7''	77,26	5,02 (d; J= 7,6 Hz)		
8''	78,59	4,29 (m)	H-7''	
CH_2				
9''	60,67	3,59 (d; J= 11,7 Hz)		
MeO				
3'',5''	56,72	3,72 (s)		
HO-5				
		12,91 (s)		

Tabela 8: Dados de RMN ^{1}H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) referentes a substância (13) obtidos em DMSO-d_6.

	HMQC		HMBC	
C	**δ_C**	**δ_H**	**$^{2}J_{CH}$**	**$^{3}J_{CH}$**
2	162,01	-	H-3	H-2'; H-6'
3	136,80	-		
4	182,32	-		
5	163,47	-	HO-5	
7	165,05	-		
9	157,95	-	H-8	
10	104,31	-		H-3; HO-5; H-6; H-8
1'	124,3	-		H-3; H-5'
3'	144,25	-		H-5'
4'	147,76	-		H-2'; H-6'
1''	127,55	-	H-7''	H-5''
3''	148,57	-	H-2''	MeO-3''; H-5''
4''	148,24	-		H-2''; MeO-4''; H-6''
CH				
6	99,55	6,20 (*sl*)		HO-5; H-8
8	94,70	6,52 (*sl*)		H-6
2'	115,40	7,67 (*sl*)		H-6'
5'	112,42	7,08 (*d*; J= 8,8 Hz)		
6'	120,47	7,60 (dl; J= 8,8 Hz)		H-2'
2''	118,10	7,04 (sl)		
5''	115,95	6,82 (d; J= 7,6 Hz)		
6''	121,18	6,88 (dl; J= 8,8 Hz)		H-2''; H-7''
7''	76,95	5,02 (d; J= 7,6 Hz)		
8''	78,59	4,29 (m)	H-7''	
CH_2				
9''	60,67	3,59 (d; J= 11,7 Hz)		
MeO				
3''	56,32	3,78 (s)		
4''	56,32	3,78 (s)		
HO-5				
		12,91 (s)		

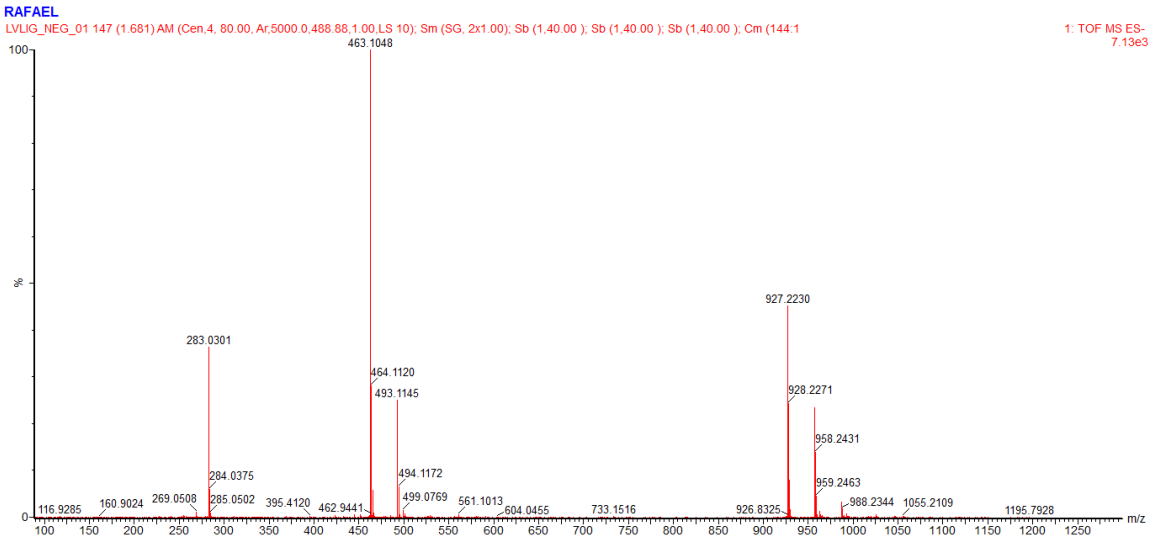


Figura 85: Espectro de massas de alta resolução de 12.

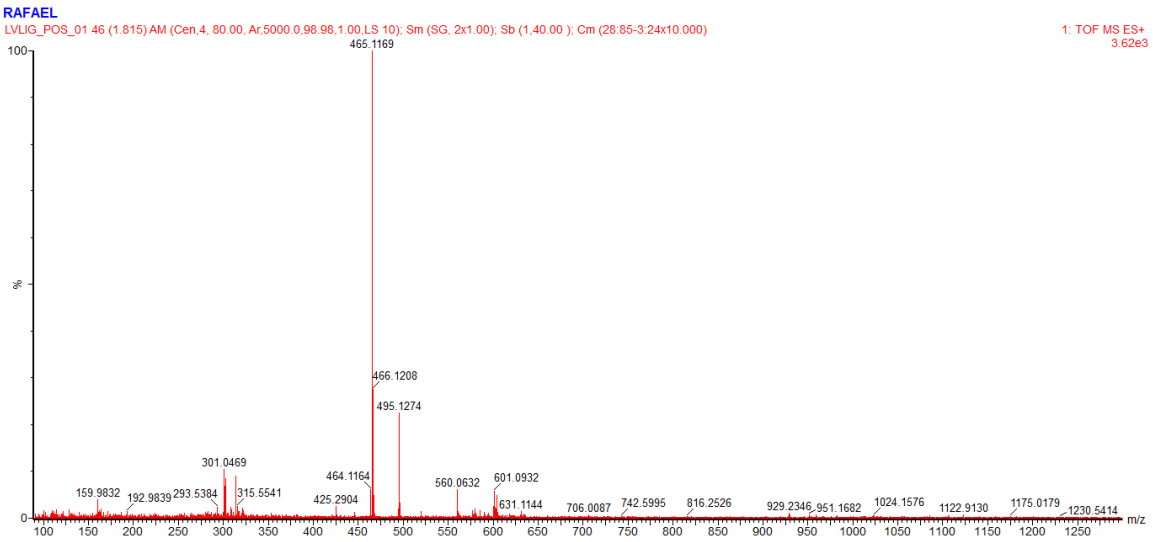
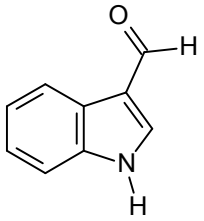


Figura 86: Espectro de massas de alta resolução de 13.

4.10 Determinação Estrutural da Substância (14).



O espectro de infravermelho de (**14**) (Figura 87) apresentou bandas de absorção em 2190 cm^{-1}, 2916,49 cm^{-1}, 2848,98 cm^{-1}, 1631,85 cm^{-1}, 144,75 cm^{-1}, 1242,21 cm^{-1}.

A análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (Figura 88) apresentou os seguintes picos (m/z): 145,15 ([M^+], 80%), 144 ([$M^{+\cdot}$] - H;100%), 116 (perda de C=O), 89 (perda de HCN).

A análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (**14**) estão consistentes com os valores descritos na literatura para o indol-3-carboxialdeído (YUE e col., 2000; LIN e col., 2006).

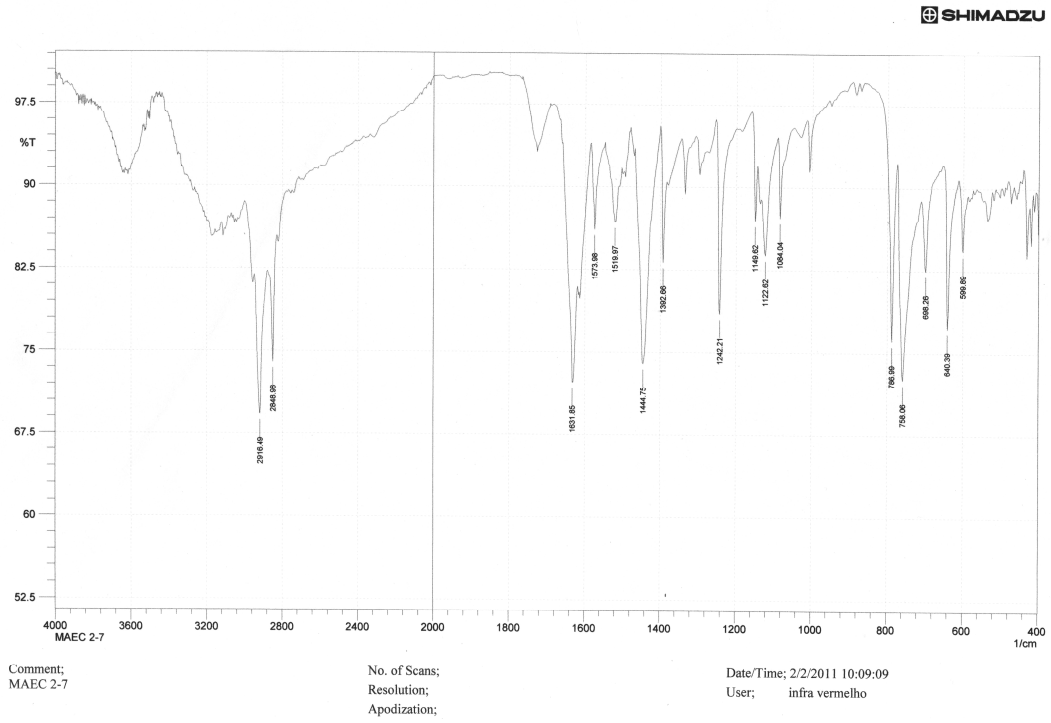


Figura 87: Espectro de infravermelho de (14) obtido em KBr.

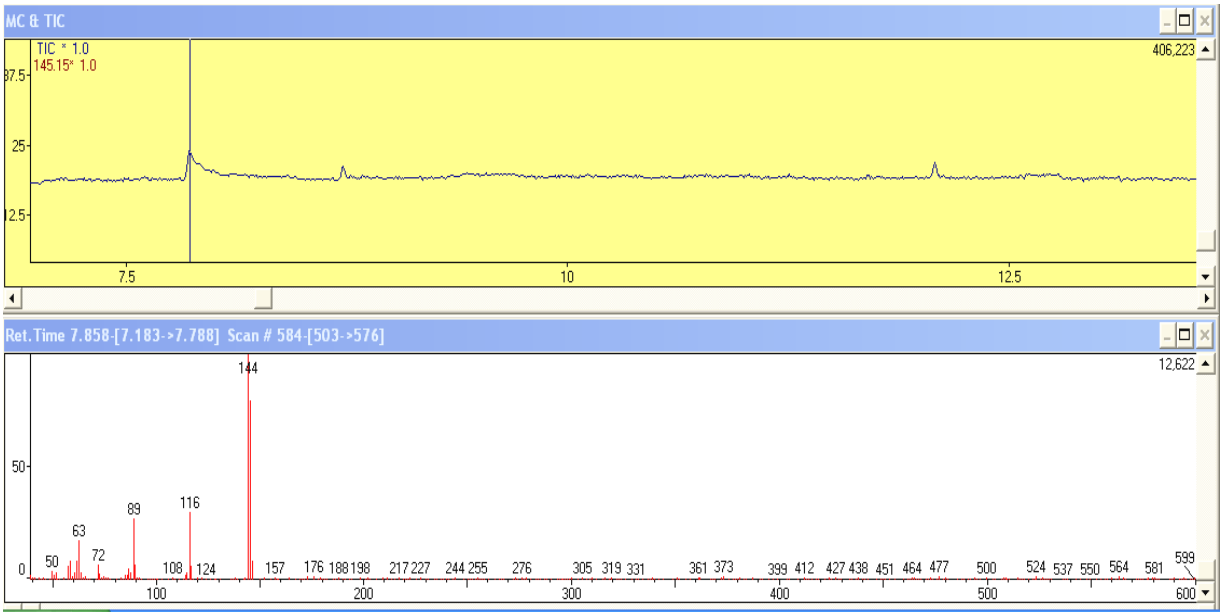


Figura 88: Cromatograma e espectro de massas (IE, 70 eV) de (14).

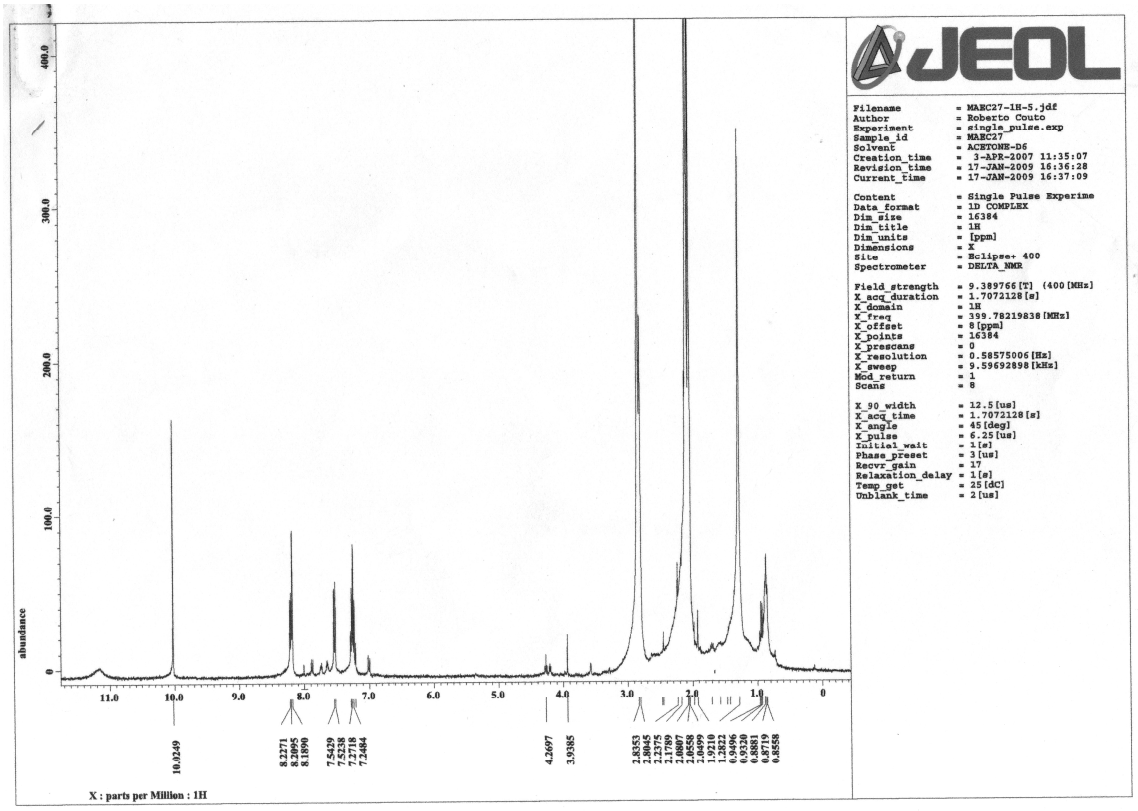


Figura 89: Espectro de RMN de 1H de (14) obtido em acetona-*d6*.

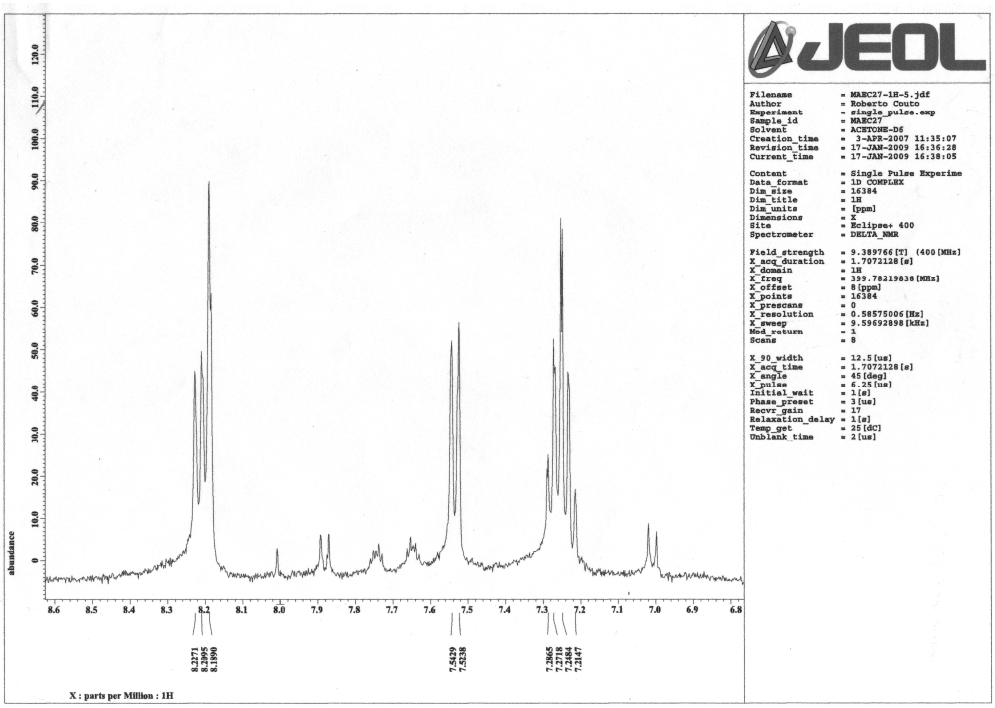


Figura 90: Ampliação do espectro de RMN de 1H de (14).

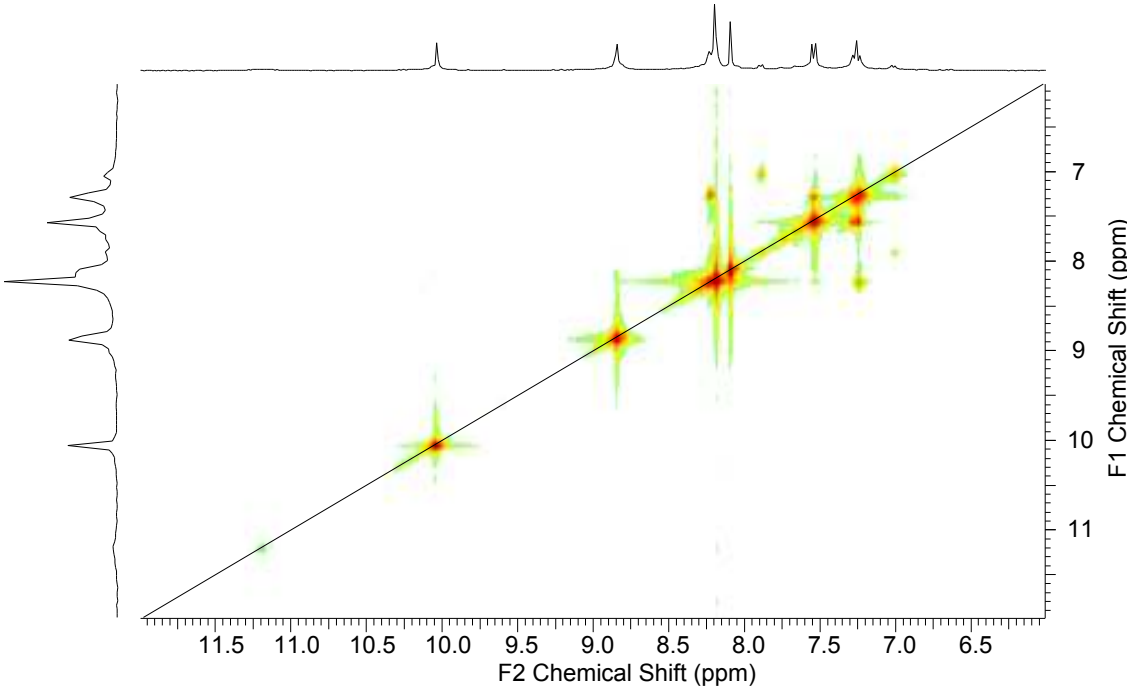


Figura 91: Espectro de RMN de ^{1}Hx^{1}H COSY de (14).

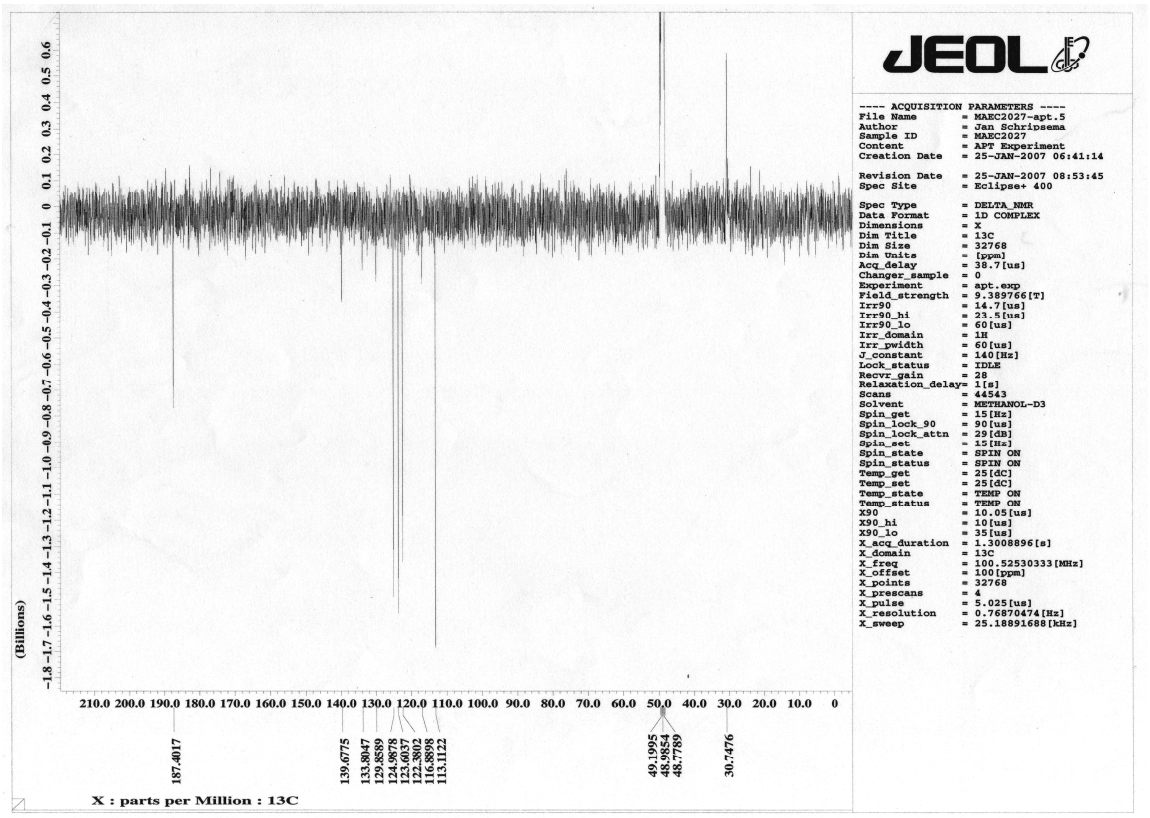


Figura 92: Espectro de 13C APT de (<u>14</u>) obtido em acetona-d_6.

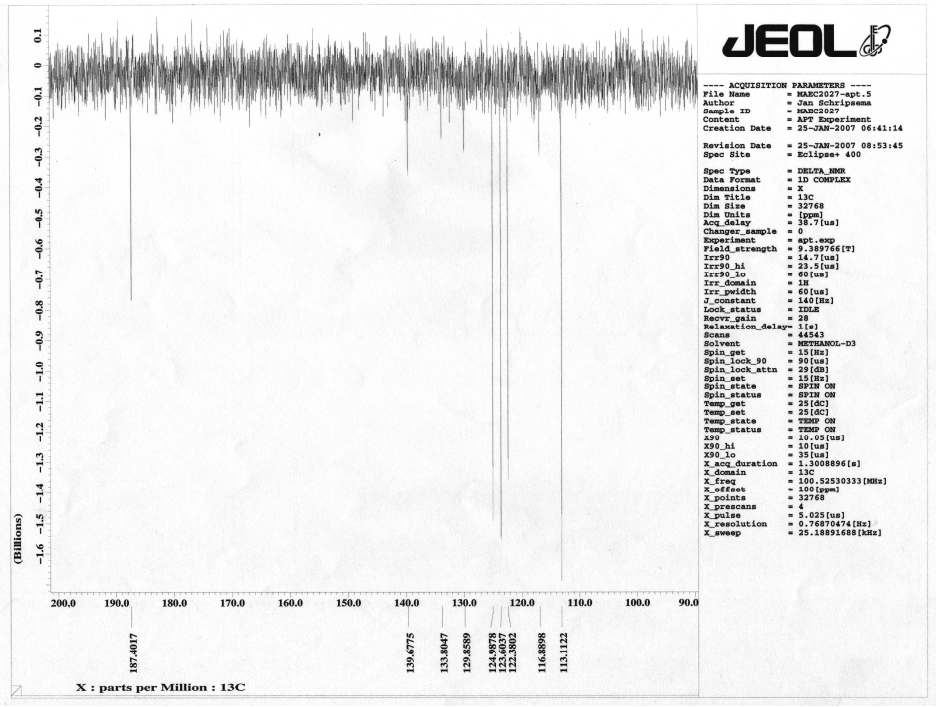


Figura 93: Ampliação do espectro de 13C APT de (<u>14</u>) obtido em acetona-d_6.

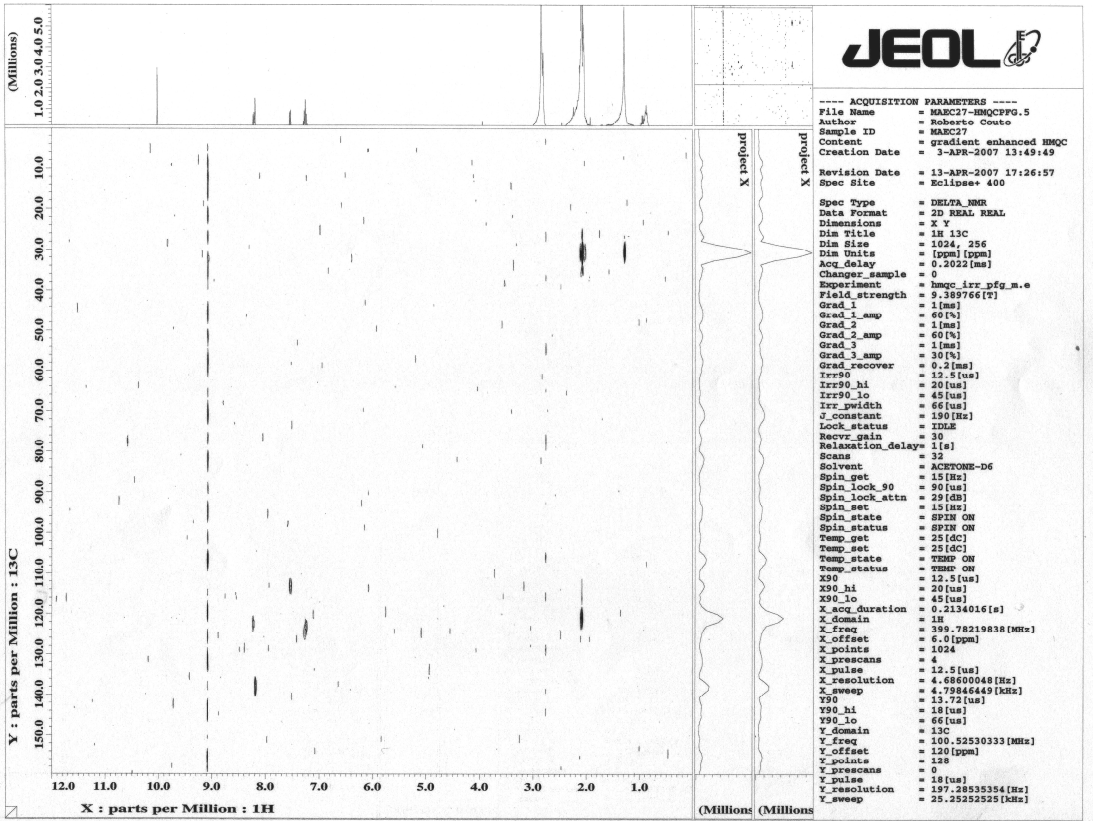


Figura 94: Espectro de HMQC de (<u>14</u>) obtido em acetona-d_6.

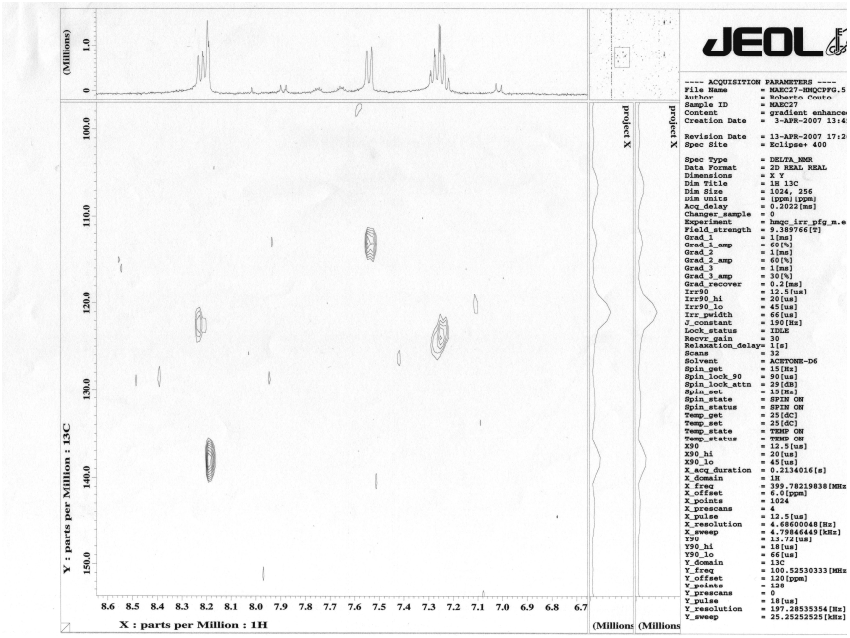


Figura 95: Ampliação do spectro de HMQC de (<u>14</u>) obtido em acetona-d_6.

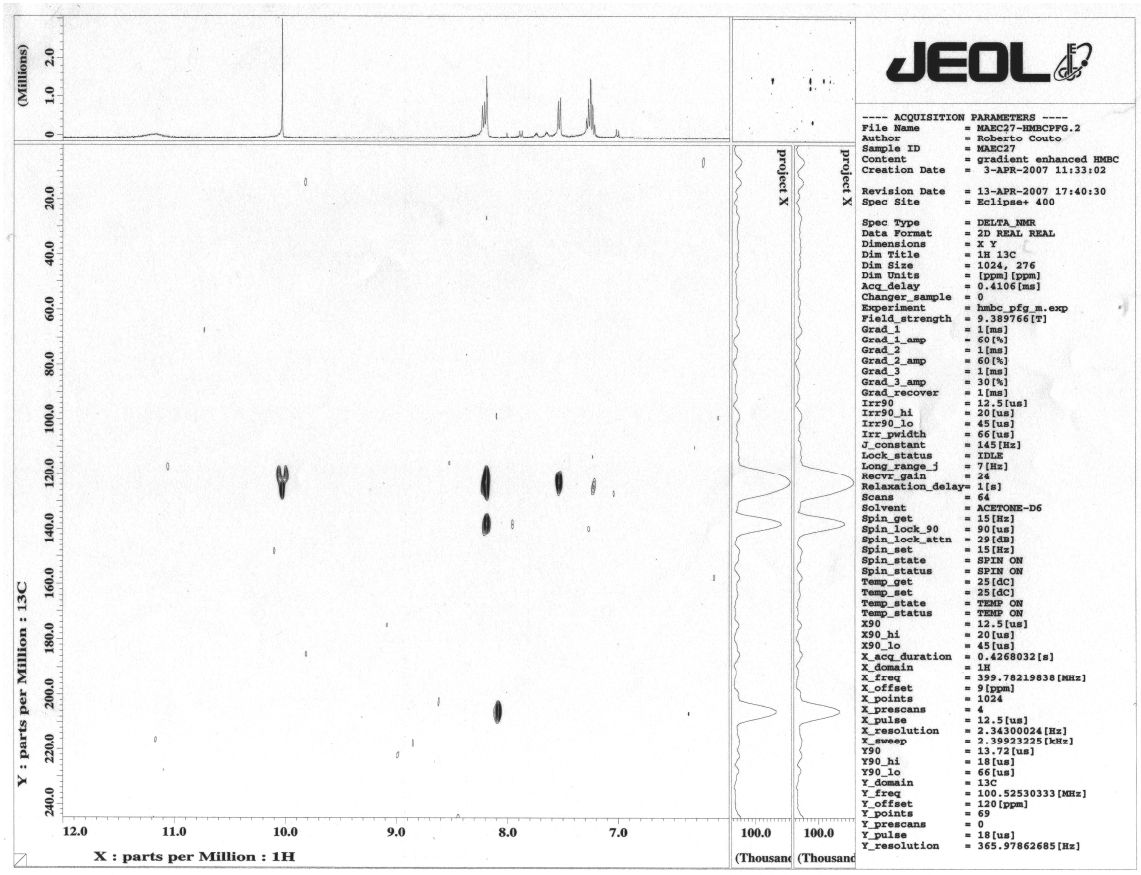
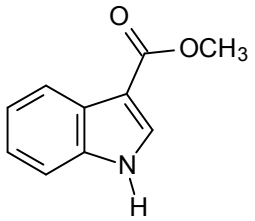


Figura 96: Ampliação do espectro de HMQC de (14) obtido em acetona-d_6.

4.11 Determinação Estrutural da Substância (15).



A estrutura da substância (**15**) foi elucidada com base nos seus dados de Infravermelho, Espectrometria de Massas, RMN ^{1}H e ^{13}C uni e bidimensionais.

O espectro de infravermelho de (**15**) (Figura 97) apresentou bandas de absorção em 3228,98 cm^{-1} (NH), 2916,49 e 2848,98 (CH sp^3), 1666,57 (C=O), 1126,48 e 1057,04 (C-O).

O espectro de massas de (**15**) (Figura 98) apresentou picos em m/z: 175 ($M^{+\cdot}$), 144 ($M^{+\cdot}$ – OCH_3); 116 (144 – C=O); 89 (116 – HCN).

Os dados de RMN ^{1}H e ^{13}C (**15**) uni e bidimensionais (Figuras 99-111) estão de acordo com os valores descritos na literatura para o éster metílico do indol-3-ácido carboxílico. As atribuições foram confirmadas com os espectros bidimensionais.

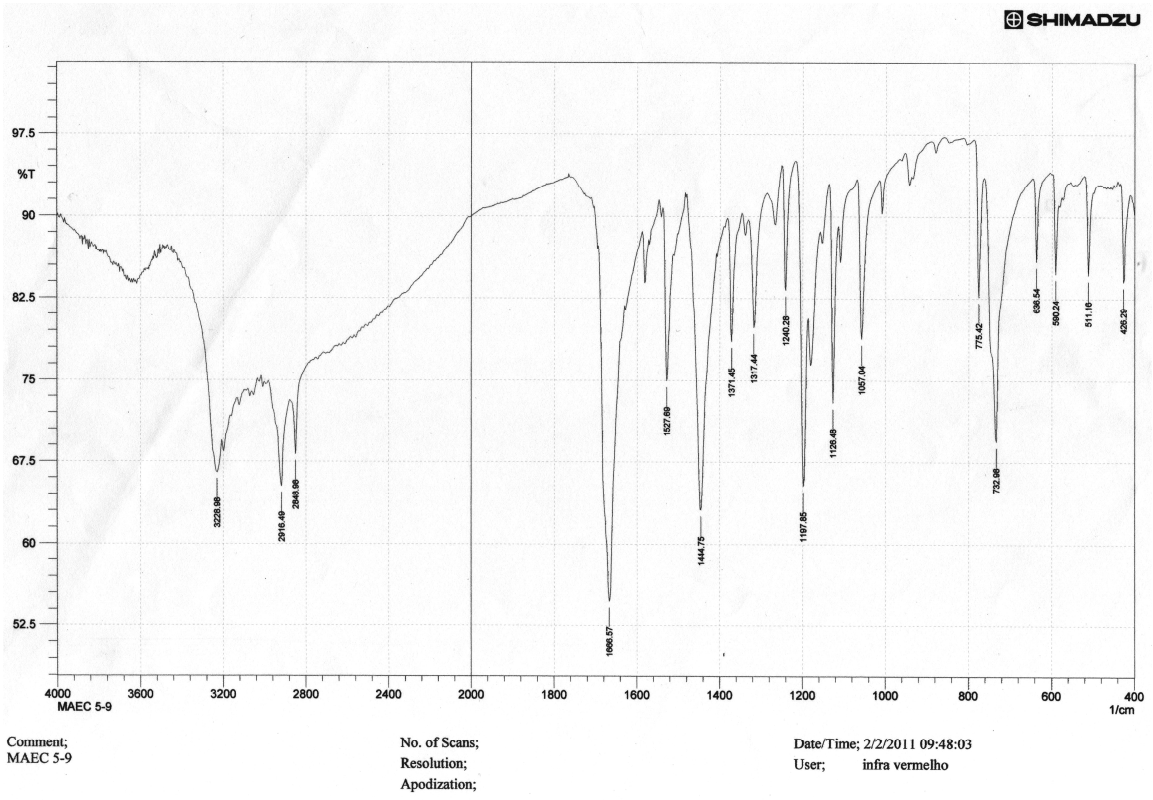


Figura 97: Espectro de infravermelho de (15) obtido em KBr.

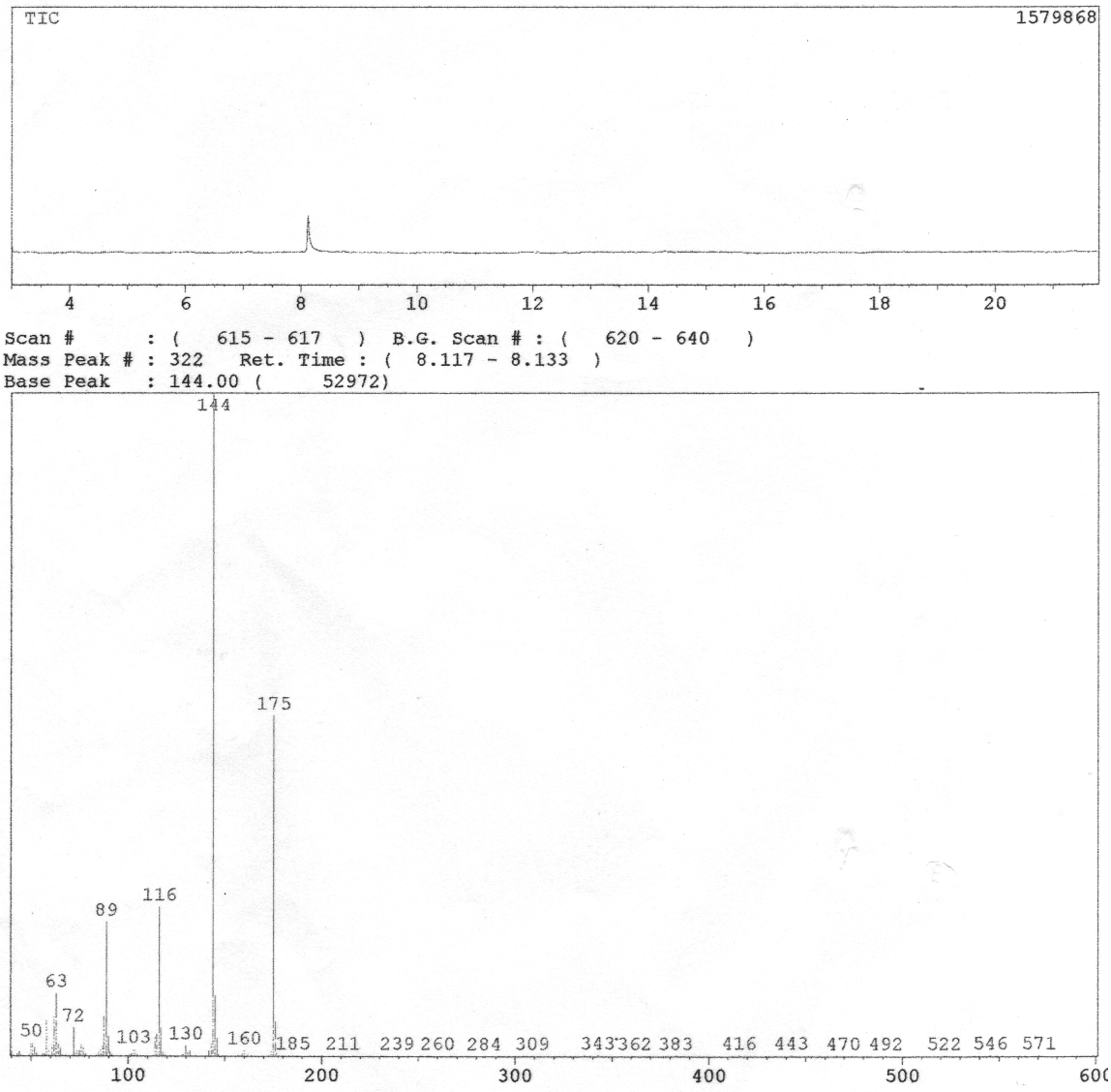


Figura 98: Cromatograma gasoso e espectro de massas de (IE, 70 eV) de (15).

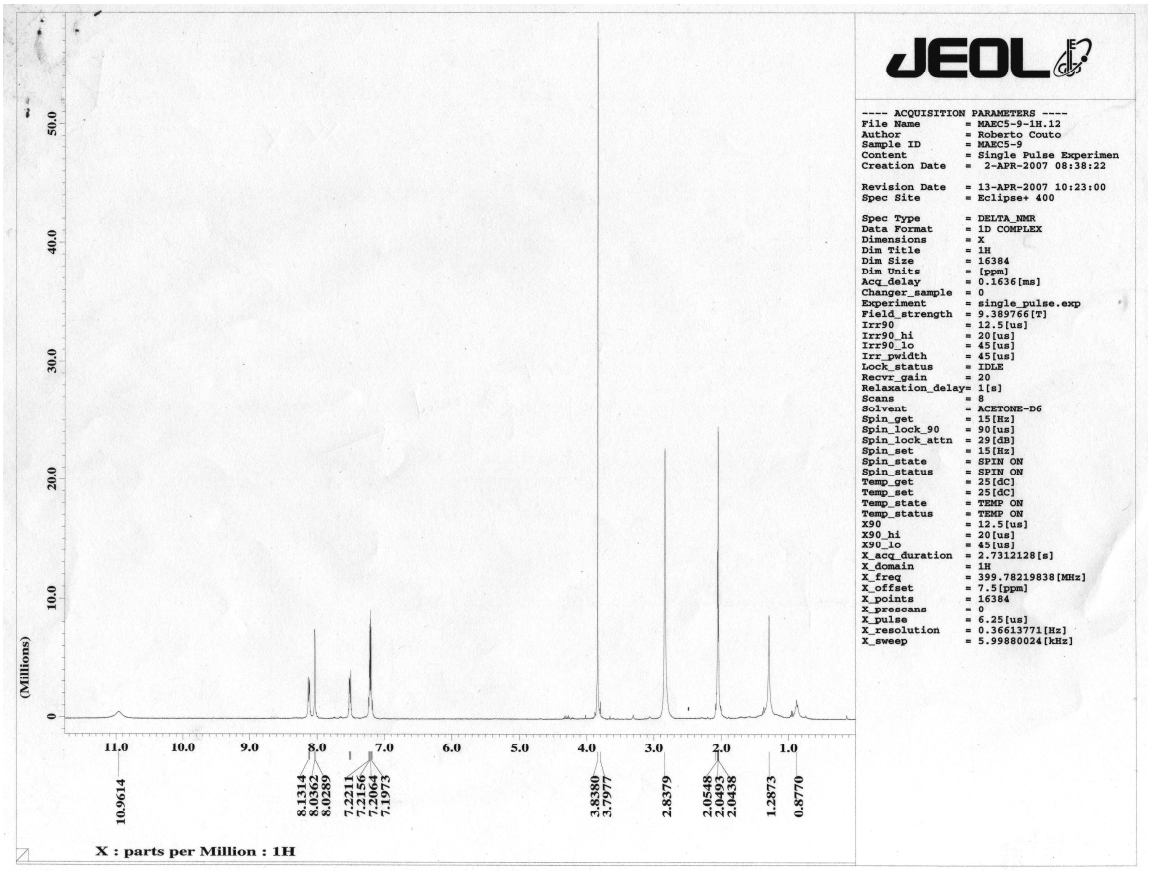


Figura 99: Espectro de RMN 1H (400 MHz) de (15).

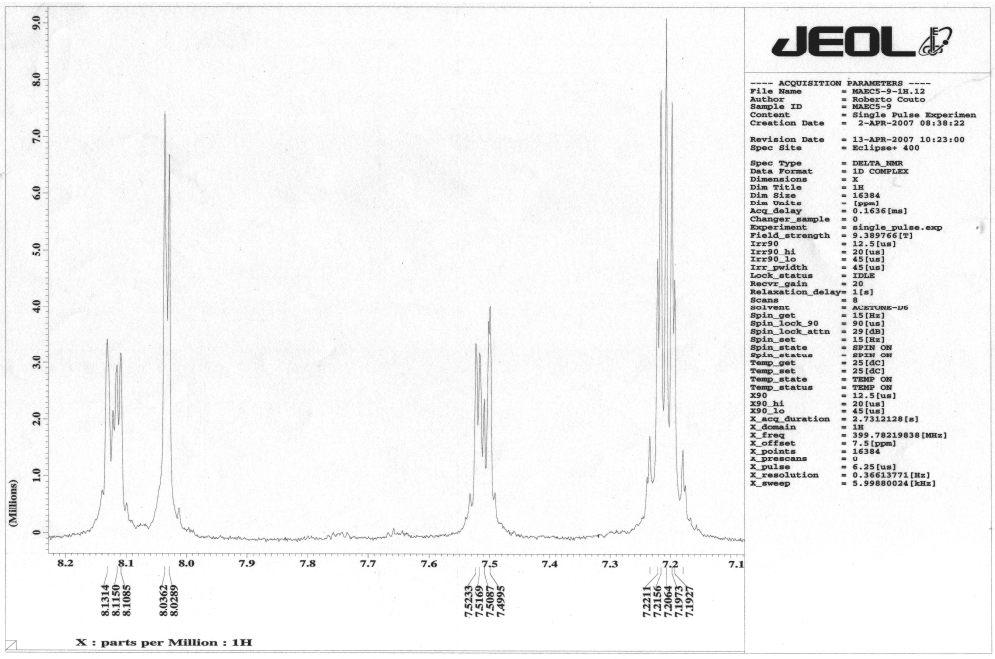


Figura 100: Ampliação do espectro de RMN 1H (<u>15</u>).

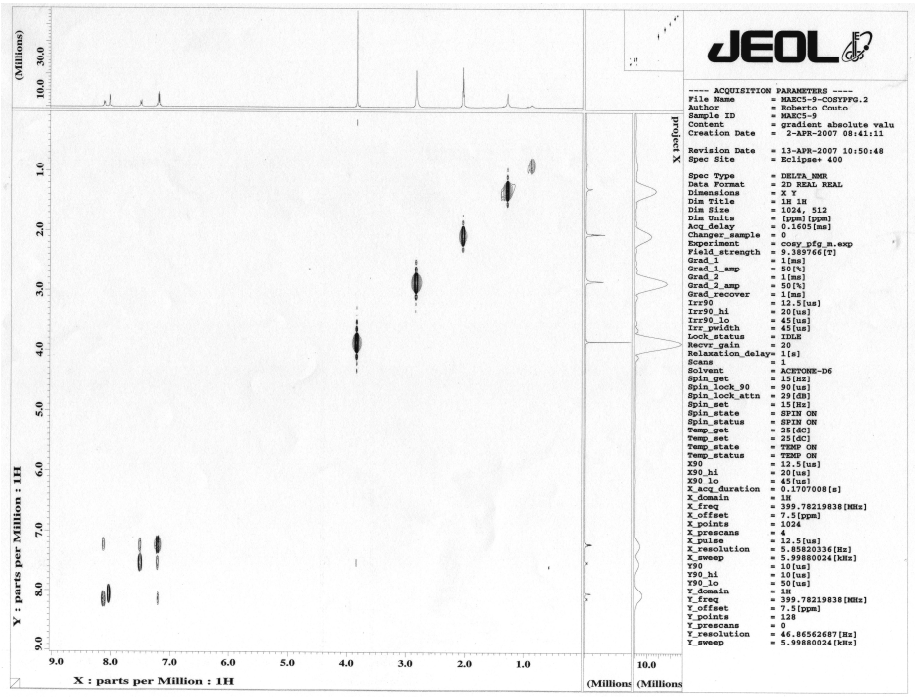


Figura 101: Espectro de ^{1}HX^{1}H COSY de (15).

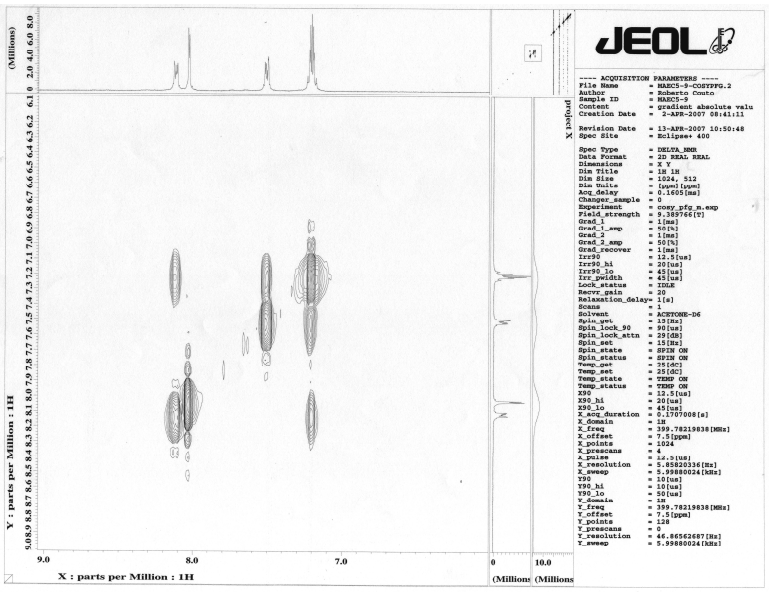


Figura 102: Ampliação do espectro 1HX1H COSY de (15).

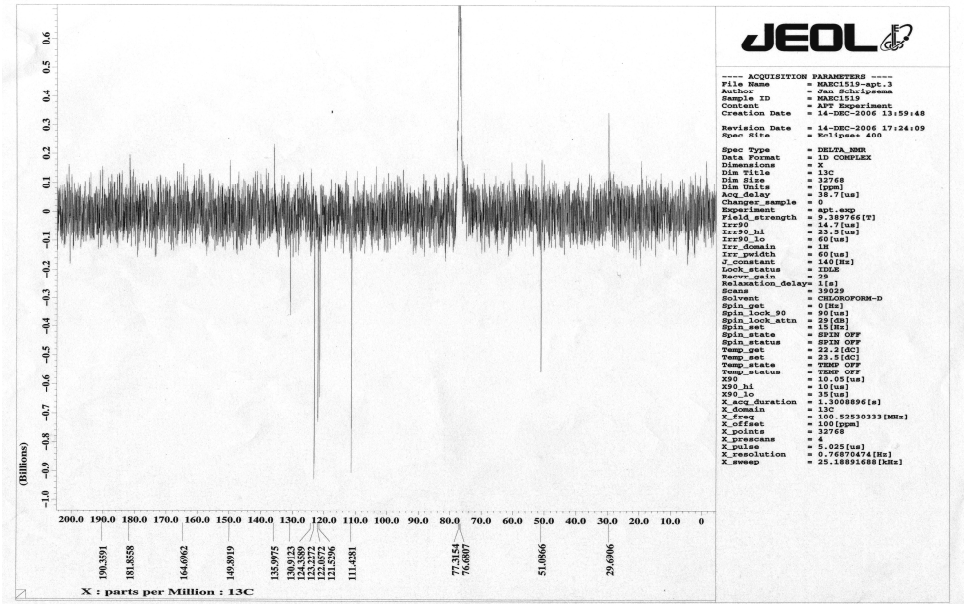


Figura 103: Espectro de ^{13}C APT (100 MHz) de (15).

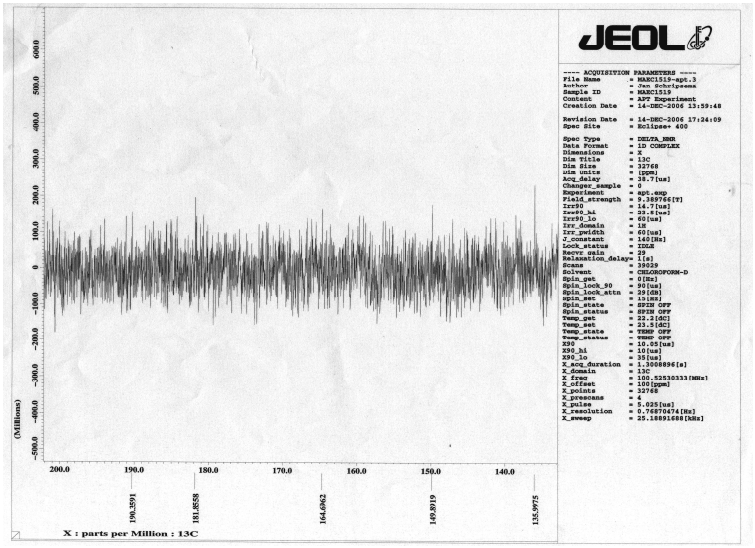


Figura 104: Ampliação doe espectro de ^{13}C APT (100 MHz) de (15).

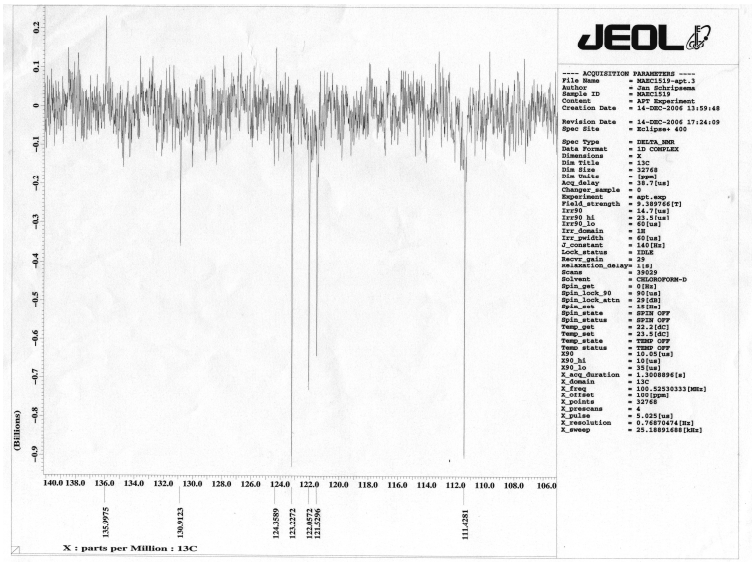


Figura 105: Ampliação doe espectro de ^{13}C APT (100 MHz) de (15).

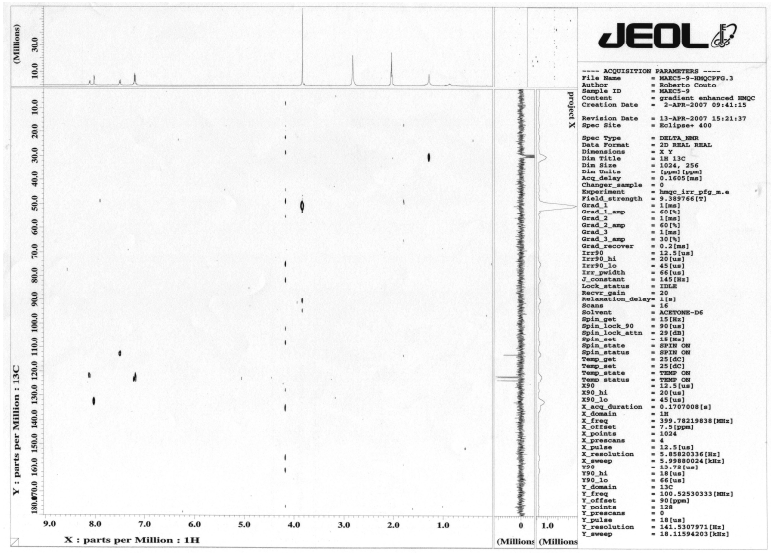


Figura 106: Espectro de HMQC de (15).

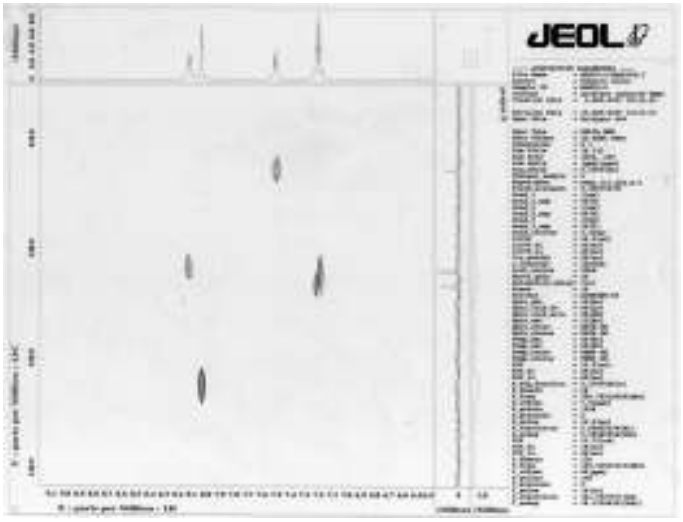


Figura 107: Ampliação do espectro de HMQC de (15).

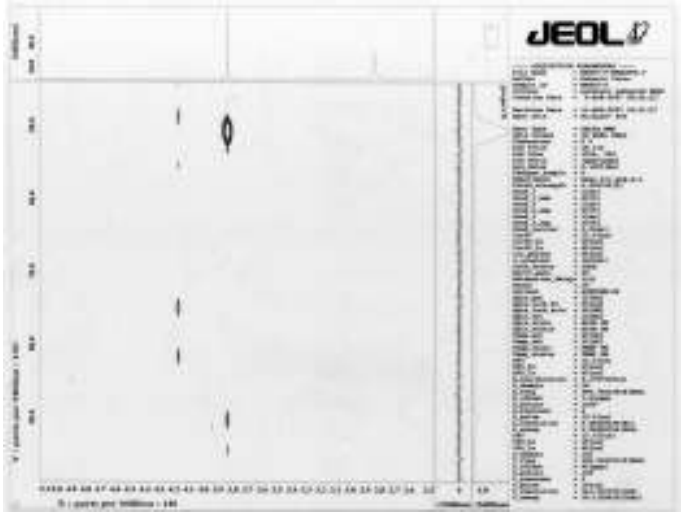


Figura 108: Ampliação do espectro de HMQC de (15).

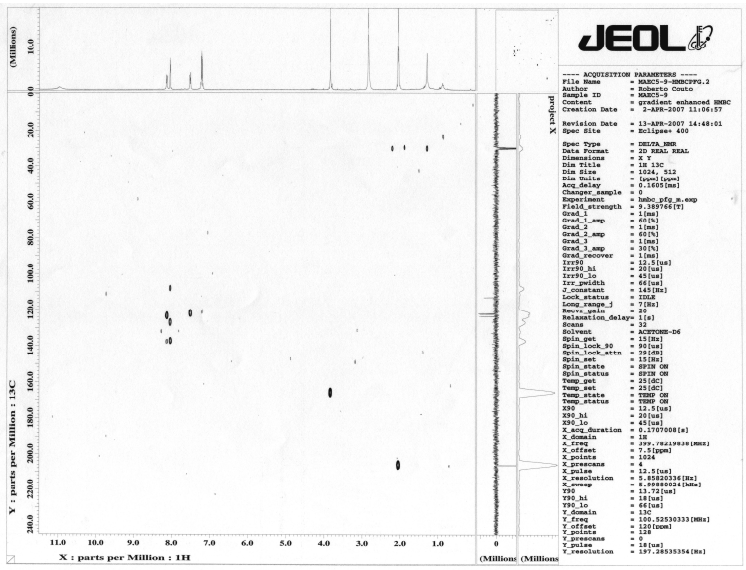


Figura 109: Espectro de HMBC de (15).

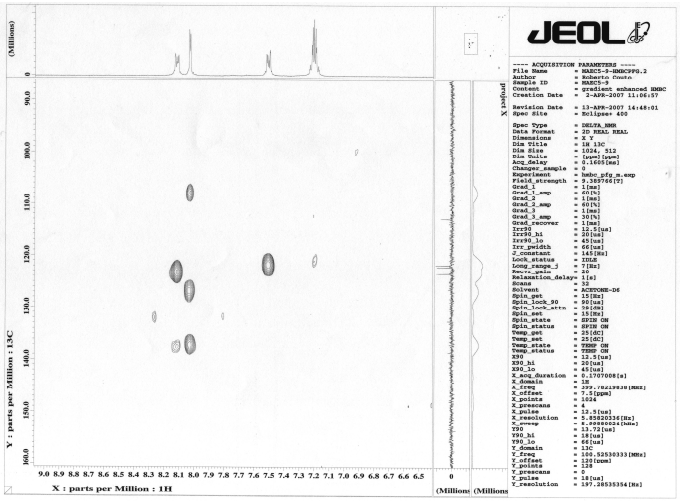


Figura 110: Ampliação do espectro de HMBC de (15).

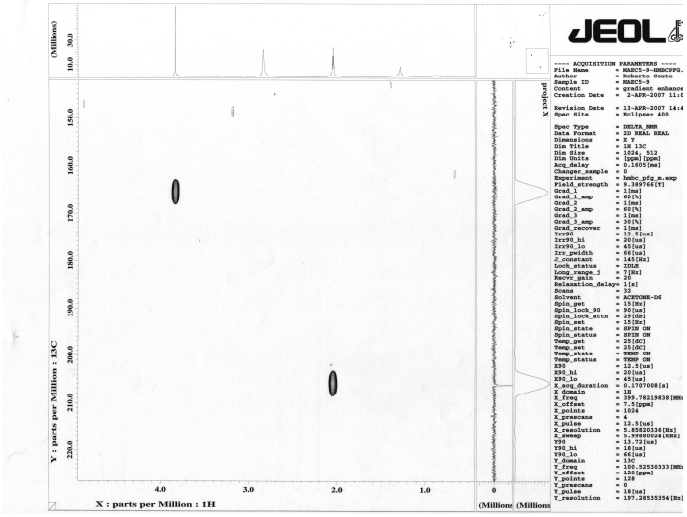
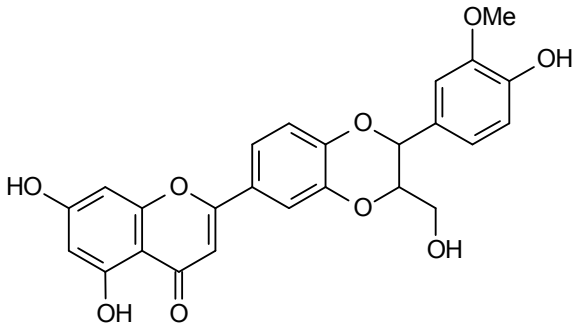


Figura 111: Ampliação do espectro de HMBC de (15).

4.12 Determinação da Substância (16)



A substância foi identificada na fração MAEC 16-21. A proposta foi baseada na análise por Cromatografia Liquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas de Alta Resolução e análise dos espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C (uni e bidimensionais). O cromatograma (Figura 112) da amostra revelou tratar-se de uma mistura com 4 substâncias. Os sinais estão assinalados com os números 1, 2, 3 e 4. O sinais 1 e 3 correspondem as substâncias (**13**) e (**12**) discutidas previamente. Os espectros de massas gerados para esses sinais são apresentados nas Figuras 113 e 114, respectivamente.

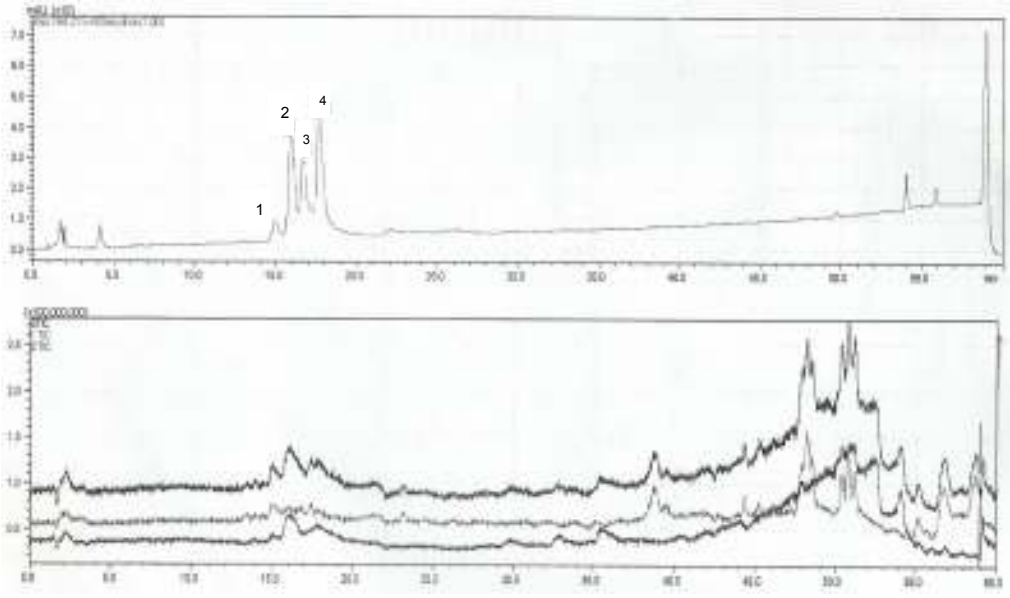


Figura 112: Cromatograma de alta eficiência da mistura MAEC16-21.

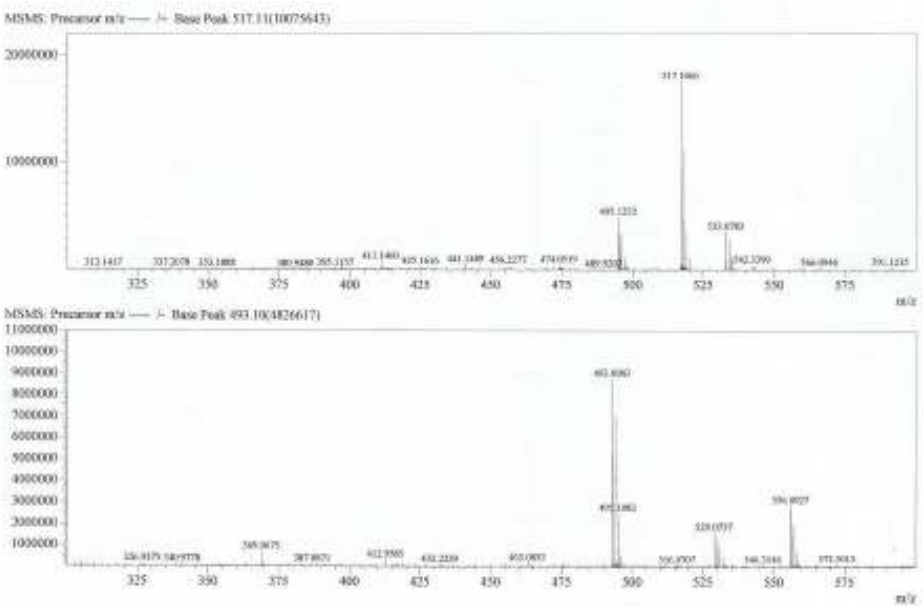
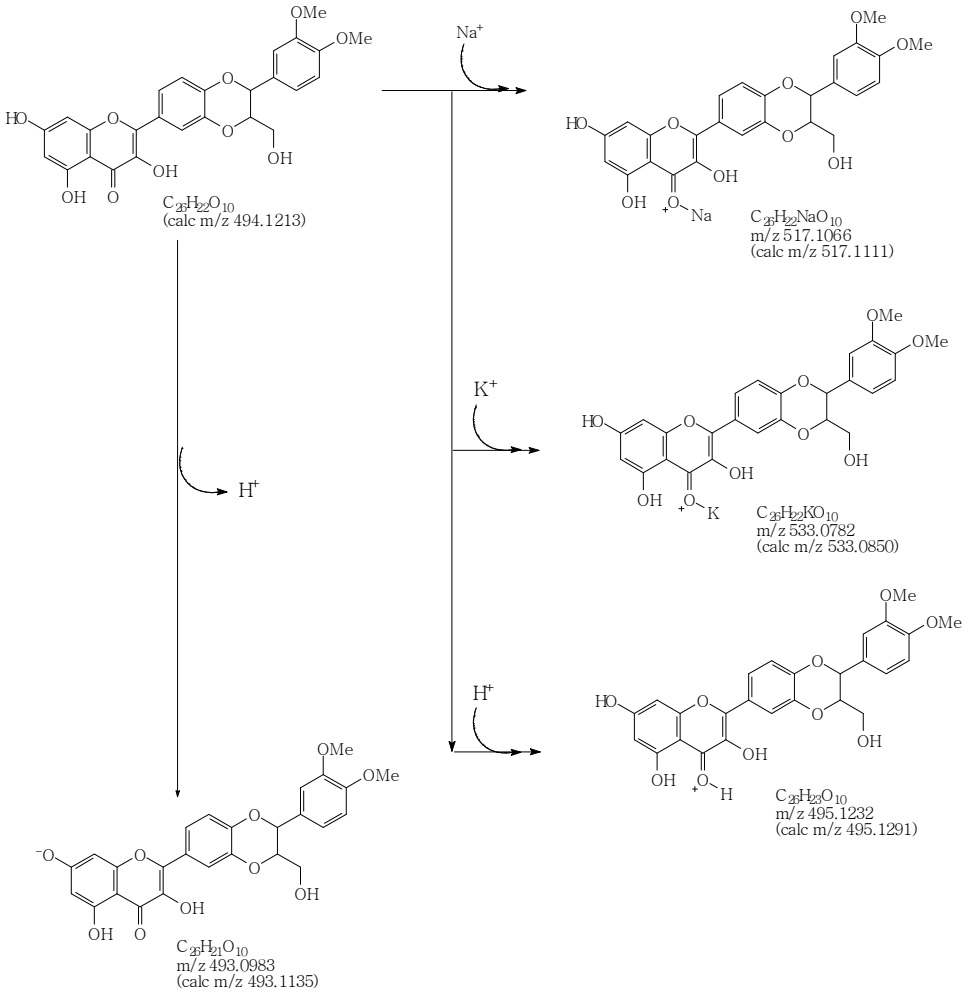


Figura 113: Espectro de massas de alta resolução do correspondente ao sinal 1 do cromatograma.

Com base nos picos observados no espectro de massa foi possível sugerir os seguintes íons-fragmentos.

Sinal 1 do cromatograma (Correspondendo a substância **<u>13</u>**)



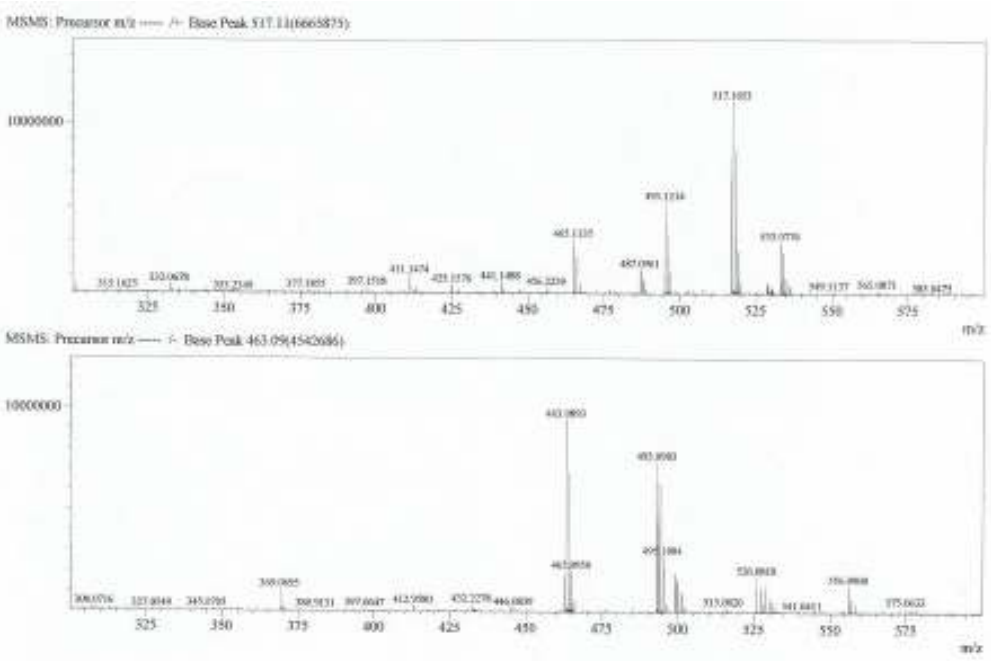
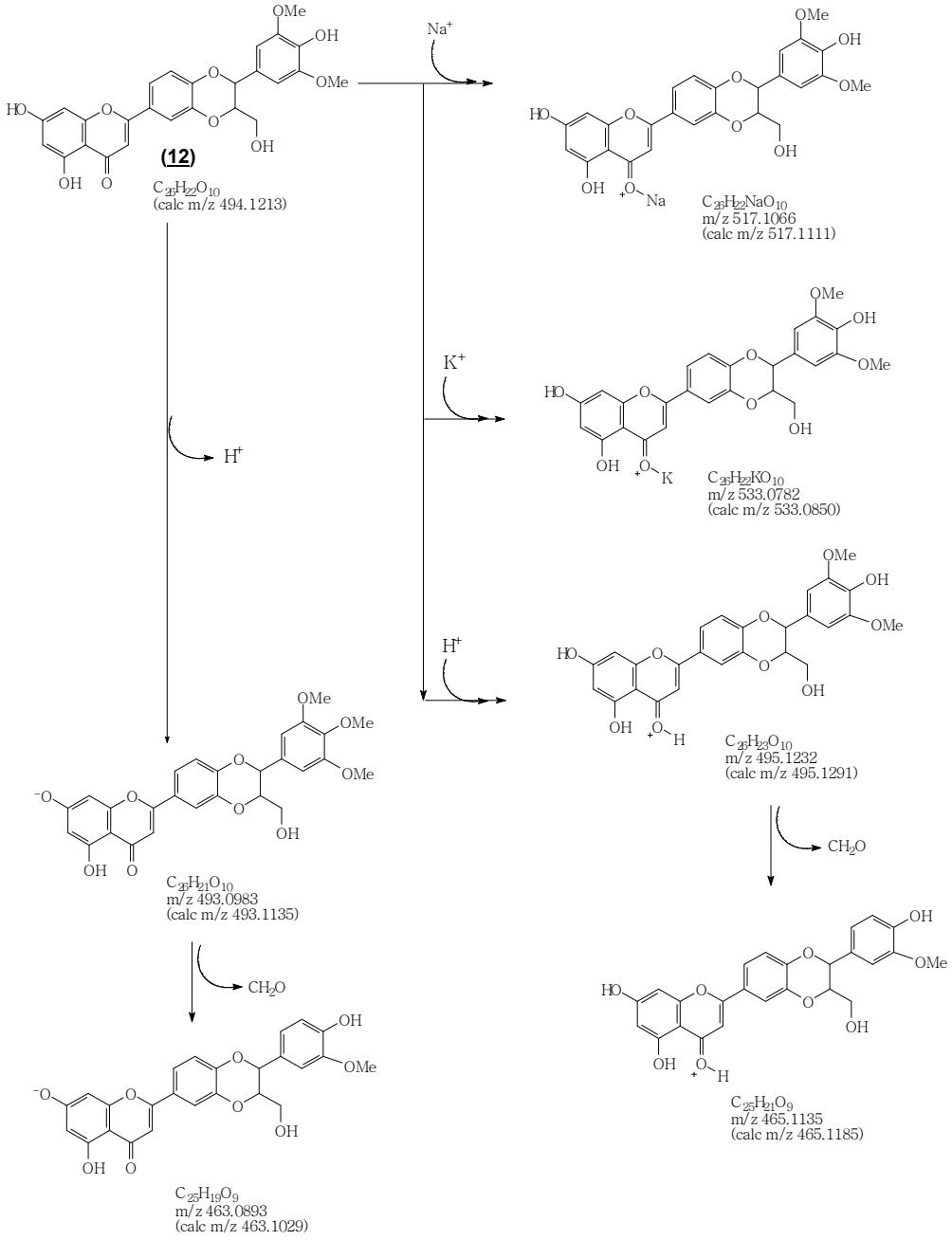


Figura 114: Espectro de massas correspondente ao sinal 3 do cromatograma.

Para o espectro de massa correspondente ao sinal 3 do cromatograma foi possível sugerir os seguintes íons-fragmentos.



O sinal 4 majoritário no cromatograma gerou o espectro de massa representado na Figura 115. A razão massa-carga calculada é m/z 464.1107, sendo esse valor 30 *u.m.a* menor que as substâncias (**13**) e (**12**) (perda de CH_2O), sugerindo que a substância possui uma metoxila a menos.

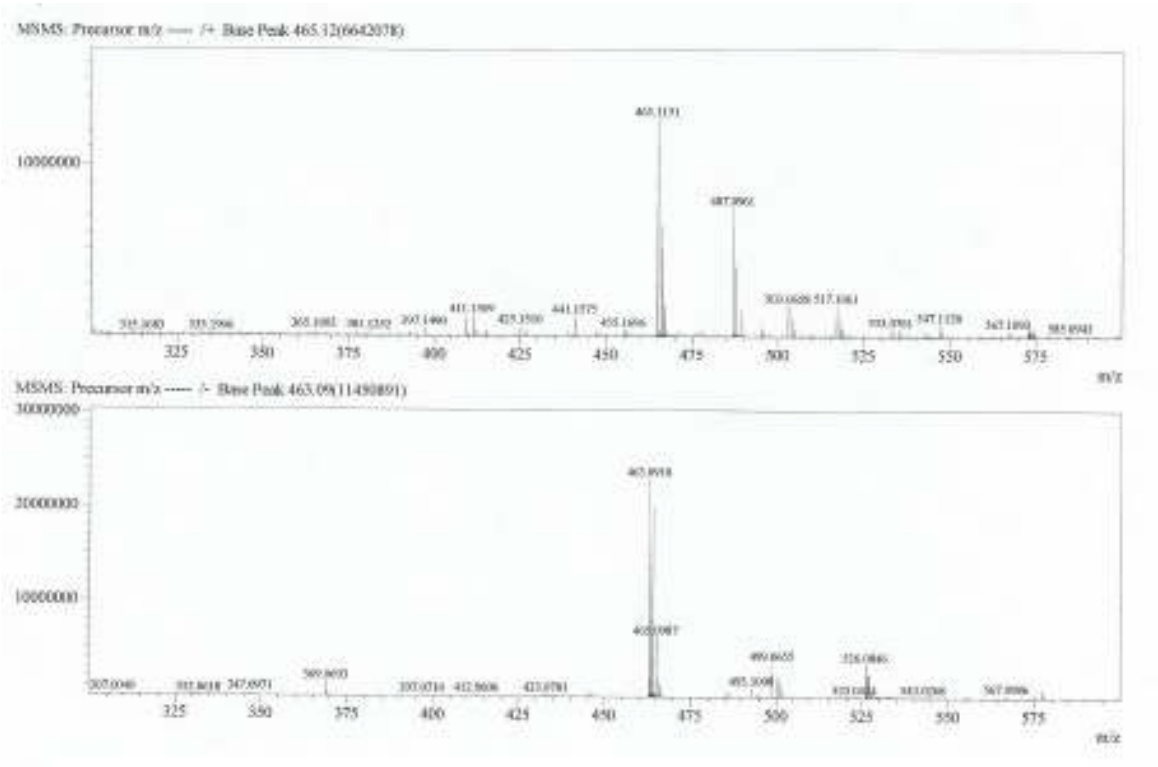
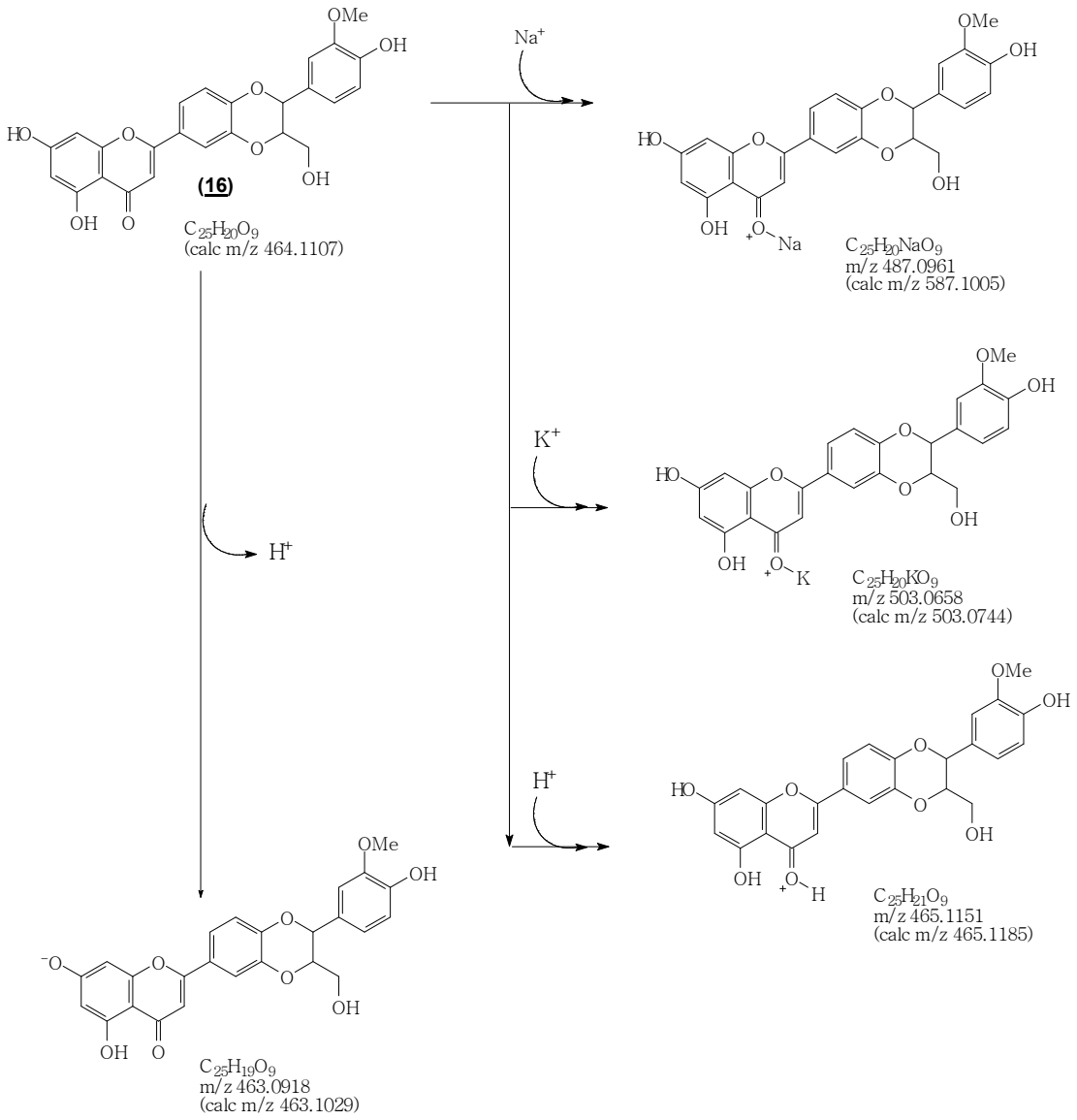


Figura 115: Espectro de massas correspondente ao sinal 4 do cromatograma.

Os fragmentos-íons sugeridos para a substância (**16**) estão representados abaixo.



Através dos espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C mistura foi possível realizar as atribuições dos sinais de hidrogênio e carbono de (**16**) A presença de um sinal em δ_H 6,58 sugere a existência de H-3 de flavonas. Esse sinal apresentou marca de correlação indicando acoplamento a uma ligação (J_1) com o sinal em δ_C 102,92 observada no espectro de HSQC (Figura 122). O espectro de RMN ^{1}H (Figura 116 e 117)exibiu um sistema ABX em δ_H 7,12 (d; H-5'), 7,63 (d; H-2') e 7,53 (dl; H-6'). Esses sinais estão consistentes com um anel C trissubstituído de uma flavona. Os acoplamentos foram confirmados através do espectro bidimensional $^{1}Hx^{1}H$ COSY (Figura 120 e 121). Os sinais simples e largos em δ_H 6,35 e 6,44 referentes aos H-6 e H-8, respectivamente, são consistentes com o anel A de um flavonóide 5,7-dioxigenado. Estes hidrogênios apresentaram sinais de correlação com carbonos em δ_C 100,66 (C-6) e 95,12 (C-8) no espectro de HSQC (Figura 122), respectivamente. A análise do espectro bidimensional de correlação $^{1}Hx^{1}H$ COSY revelou um sistema de acoplamento que permitiu sugerir a presença dos hidrogênios metínicos e metilênicos oxigenados (H-7'', H-8'' e H-9''a,b). Permitindo sugerir que estes hidrogênios pertencem a um fragmento de propanol que forma um anel dioxanico ligado a um anel aromático. A análise do espectro bidimensional HSQC permitiu observar que estes hidrogênios, apresentaram sinais de acoplamento a uma ligação com os carbonos δ_C 76,82 (C-7"); 79,09 (C-8") e 60,56 (C-9"), respectivamente. O sinal em δ_H 3,92 foi atribuído aos hidrogênios da metoxila ligadas em C-3" de (**16**). O experimento bidimensional NOESY (Figura 124) foi útil para confirmar a posição da metoxila. É possível observar um marca de correlação entre o sinal em δ_H 3,92 e o sinal δ_H 7,09 (H-2"). Essa interação espacial confirma a vizinhança entre os núcleos. Na **Tabela 9** estão as atribuições de todos os sinais de ^{1}H e ^{13}C sugeridas e as correlações observadas para (**16**).

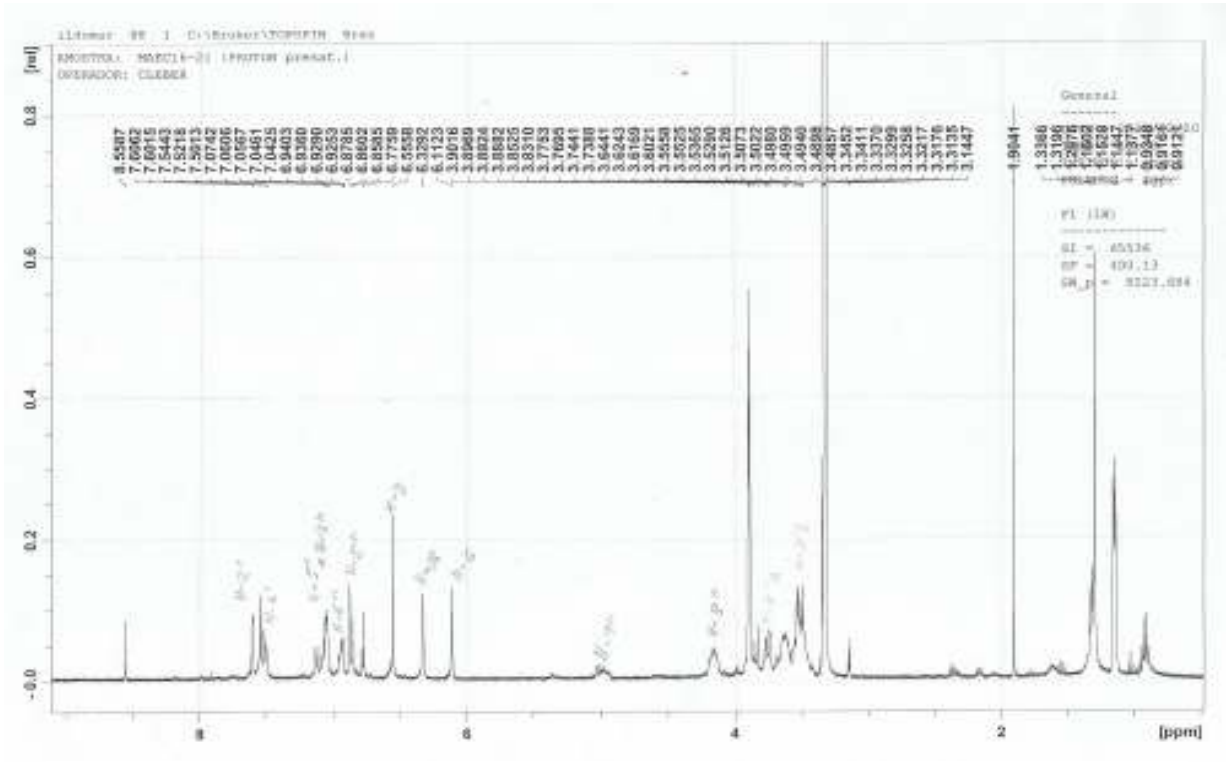


Figura 116: Espectro de RMN ^{1}H (500 MHz) de MAEC16-21 em metanol-*d*$_4$.

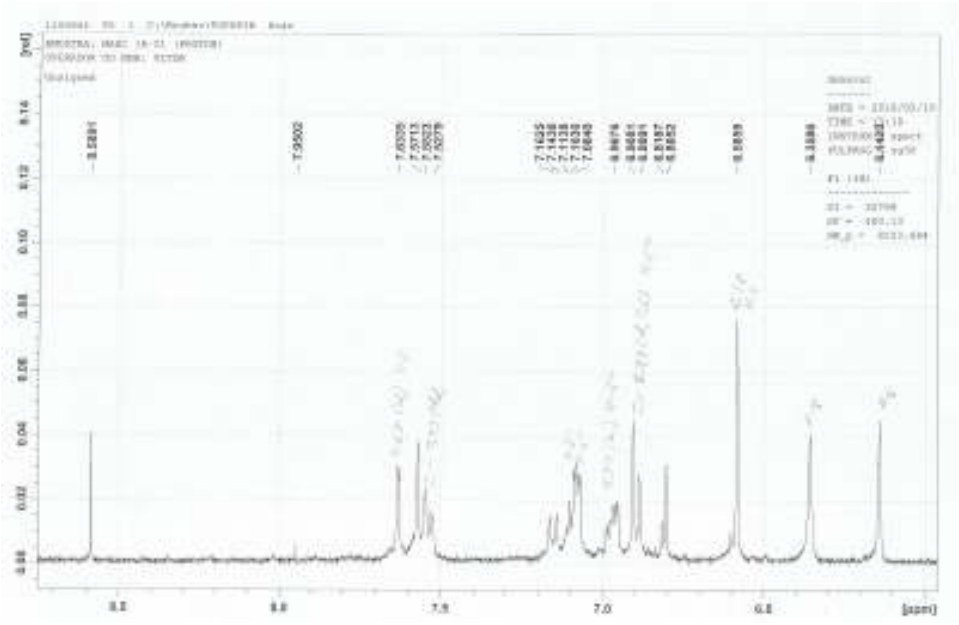


Figura 117: Espectro de RMN ^{1}H (500 MHz) de MAEC16-21 em metanol-*d*$_4$.

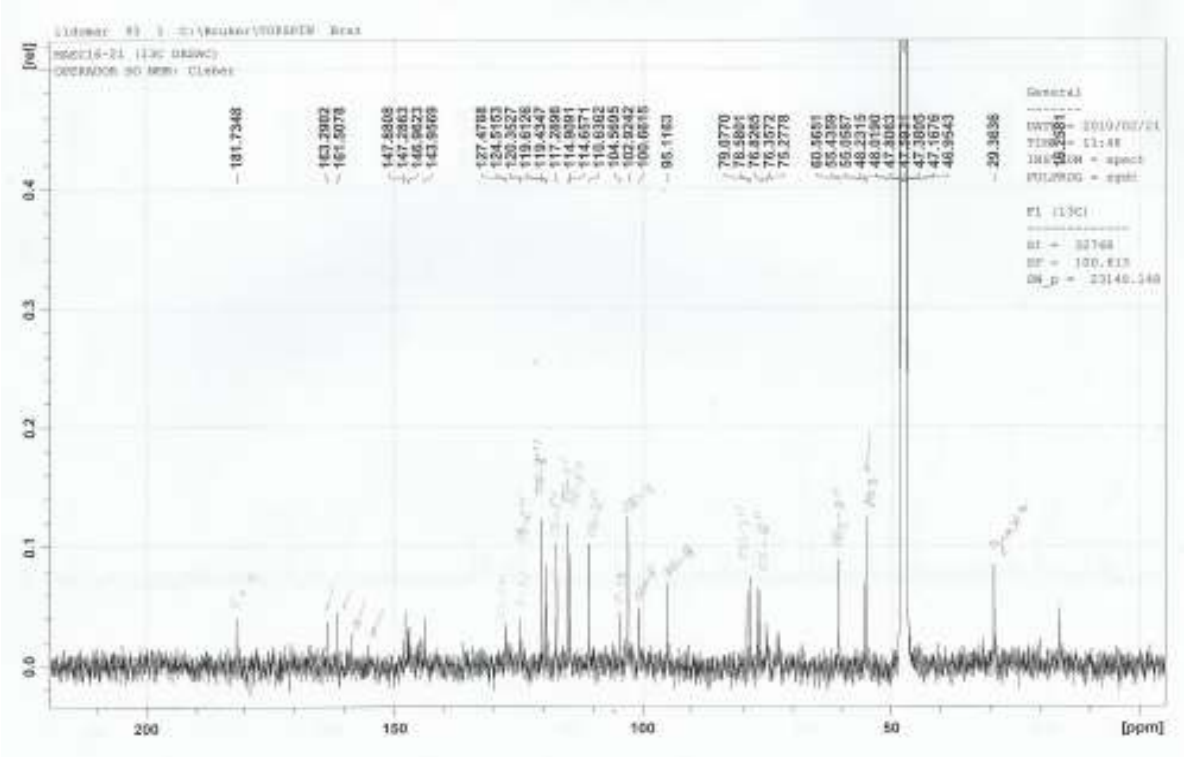


Figura 118: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) de MAEC16-21 em metanol-*d*$_4$.

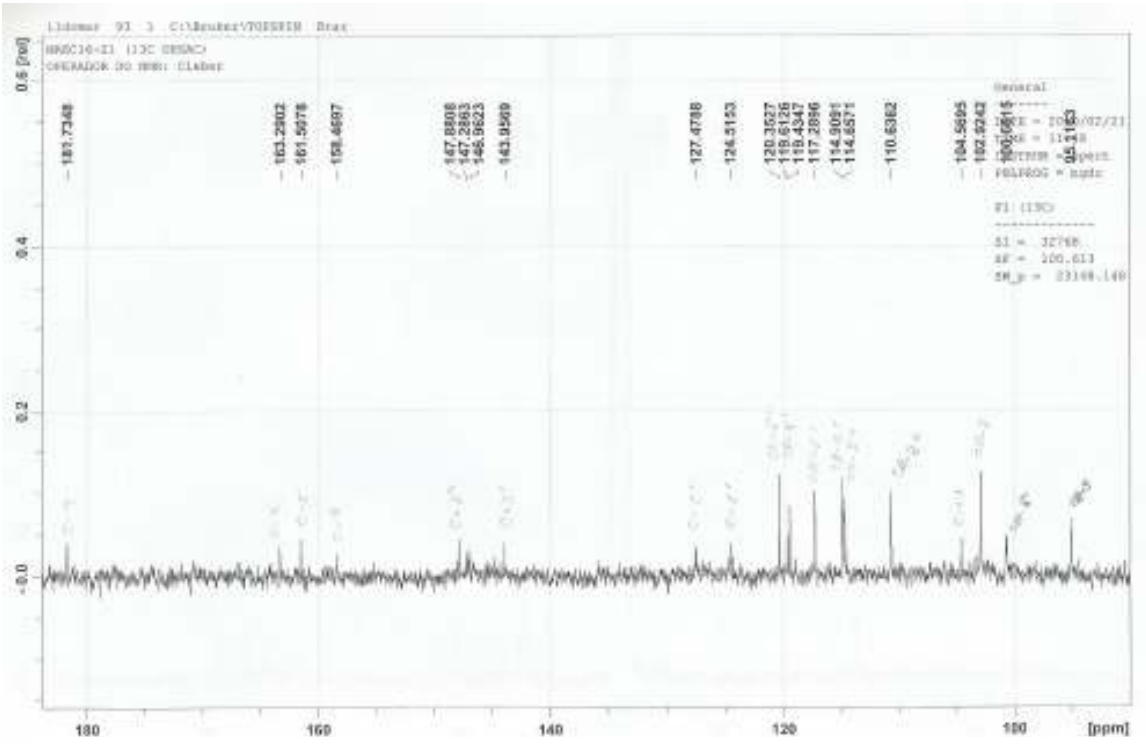


Figura 119: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) de MAEC16-21 em metanol-*d*$_4$.

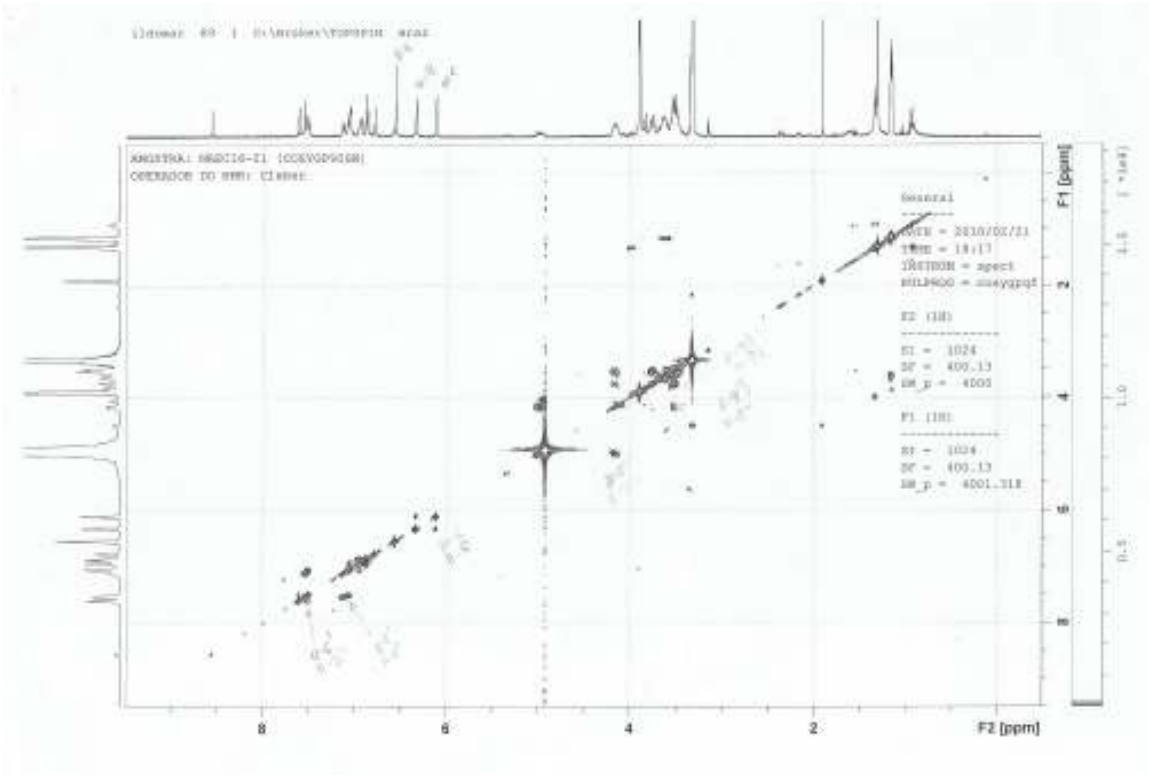


Figura 120: Espectro de RMN ^{1}HX^{1}H (125 MHz) de MAEC16-21 em metanol-*d*$_4$.

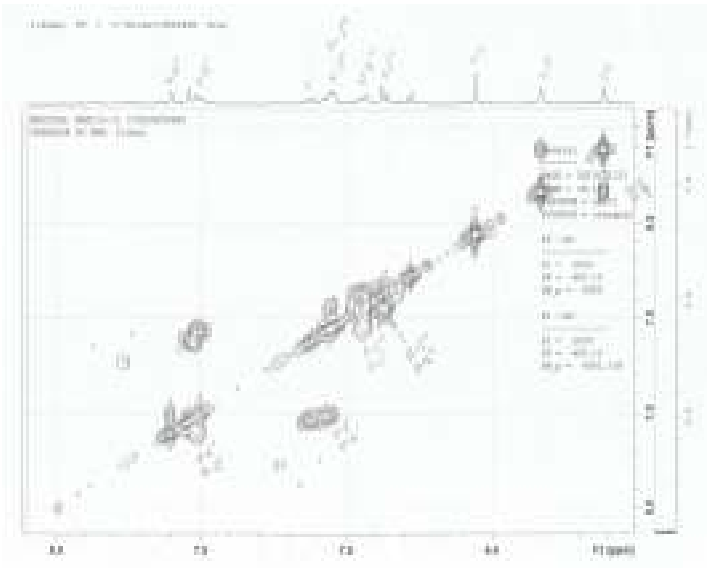


Figura 121: Ampliação do espectro de RMN ^{1}HX^{1}H COSY (125 MHz) de MAEC16-21 em metanol-*d*$_4$.

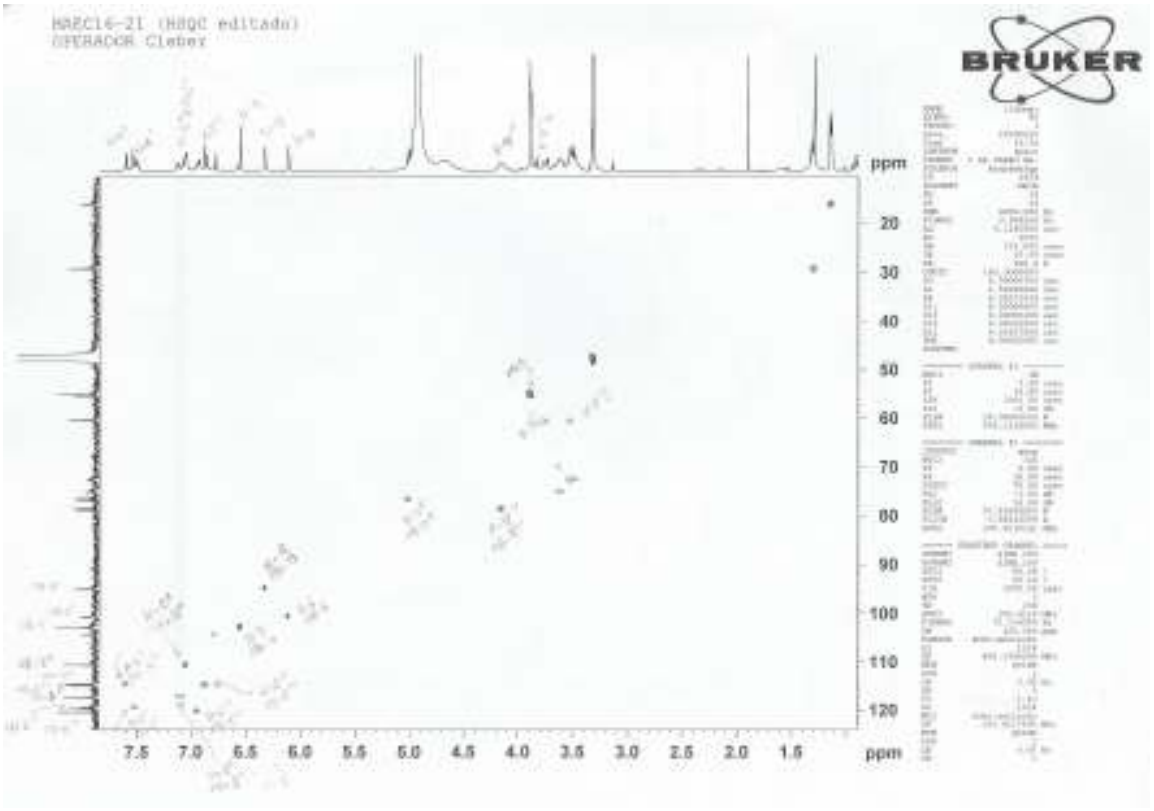


Figura 122: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HSQC de MAEC16-21 em metanol-d_4.

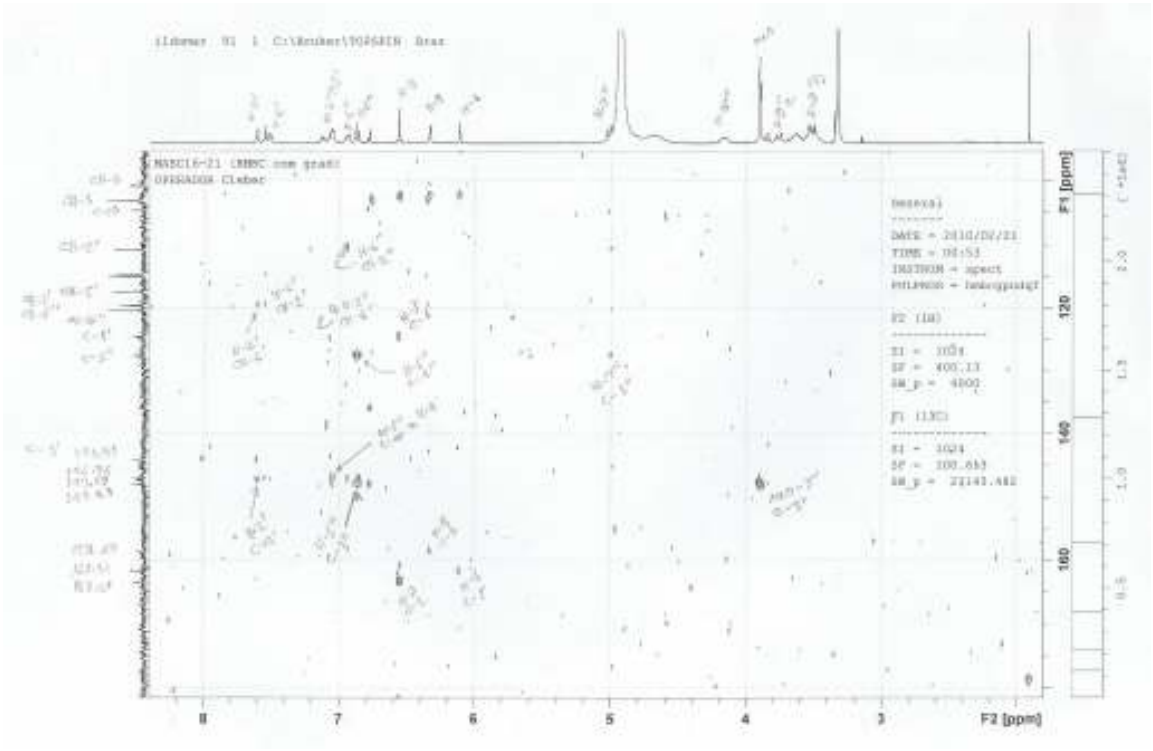


Figura 123: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC de MAEC16-21 em metanol-d_4.

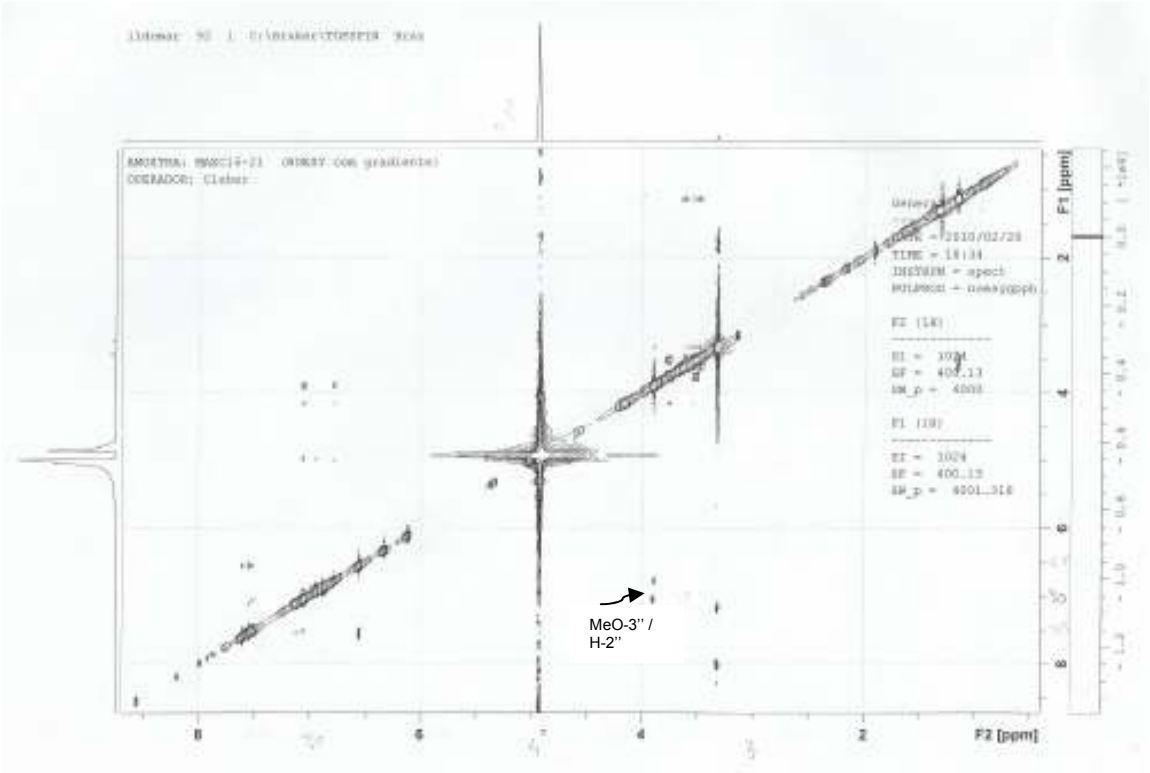


Figura 124: Espectro bidimensional NOESY apresentando NOE entre a MeO-3'' e o H-2''.

Tabela 9: Dados de RMN ^{1}H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) referentes a substância (16) obtidos em Metanol-*d_4*.

	HMQC		HMBC	
C	**δ_C**	**δ_H**	**$^{2}J_{CH}$**	**$^{3}J_{CH}$**
2	163,29	-	H-3	
4	181,13	-		
5	161,51	-	H-6	
7	163,29	-		
9	158,17	-	H-8	
10	104,57	-		
1’	124,51	-		H-3
3’	143,91	-		
4’	146,96	-		
1’’	127,48	-	H-7’’	H-5’’
3’’	147,88	-		MeO-3’’; H-5’’
4’’	147,29	-		
CH				
3	102,92	6,58 (*s*)		
6	100,66	6,85 (*sl*)		
8	95,12	6,44 (*sl*)		
2’	114,91	7,73 (*d*)		H-6’
5’	117,29	7,12 (*d*)		
6’	119,64	7,53 (*dl*)		H-2’
2’’	110,64	7,09 (*m*)		
5’’	114,66	6,29 (*d*)		H-6’’
6’’	120,35	6,97 (*m*)		H-2’’
7’’	77,26	5,02 (*d*)		
8’’	78,58	4,19 (m)		
CH_2				
9’’	60,56	3,78 (*dd*); 3,53 (*m*)		
MeO				
3’’	56,72	3,92 (s)		
HO-5				

5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DE *M. artemisiana*.

5.1 Introdução

A literatura tem citado os radicais livres como coadjuvantes responsáveis pelo desencadeamento de doenças como câncer, arteriosclerose e também por reações que ocorrem no nosso organismo, tendo inclusive uma grande participação nos processos de envelhecimento precoce ou natural. Os radicais livres são definidos como moléculas que contem elétrons desemparelhados no seu orbital e são geralmente instáveis e altamente reativos, podendo-se citar como exemplos de radicais livres oxigenados: superóxidos, hidroxila, peroxil (RO_2^-), alcoxil (RO^-), hidroxiperoxil (HO_2^-), óxido e dióxido de nitrogênio (Zhong e col., 2002).

Embora atualmente a etiologia de várias doenças humanas ainda permaneça desconhecida, varias linhas de pesquisa sugerem que a toxicidade de radicais livres tenha papel importante na origem destas patologias. Assim, o interesse na descoberta de antioxidantes eficientes e seguros aumentou significativamente nos últimos anos (Halliwel *et al*., 1990). Desta forma, foi escolhido um teste simples para avaliar a atividade antioxidante dos extratos brutos de *M. artemisiana*, programando a investigação de atividade antioxidante de cada um dos extratos e testes posteriores para determinar a substância responsável pelo caráter antioxidante, utilizando para isso o radical livre DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazil). No teste com DPPH a eficiência da atividade antioxidante é medida a temperatura ambiente, o que deiminui o risco de degradação térmica das moléculas testadas. Contudo, o mecanismo de reação entre o antioxidante e o DPPH, depende da conformação estrutural do antioxidante. Alguns compostos reagem muito rápido com DPPH reduzindo um numero de moléculas de DPPH igual ao numero de grupos hidroxilas disponíveis. No entanto, com a maioria das substâncias testadas, a reação é lenta e o mecanismo parece ser mais complexo (Bondet et al., 1997).

Muitos antioxidantes naturais já foram isolados de diferentes tipos de materiais provenientes de plantas. Sobre a ação de antioxidantes naturais podem ser citados os compostos fenólicos devido a sua capacidade supressora de radicais livres derivados de oxigênio por doação de átomo de hidrogênio ao elétron do radical livre. Também foi observado que substâncias fenólicos tem bloqueado radicais livres em vários sistemas modelos, incluindo vitaminas, pigmentos e flavonóides (Shon *et,al*.,2003).

Outro exemplo de emprego de antioxidantes é na industria alimentícia. Os antioxidantes são substâncias capazes de adiar, retardar ou prevenir o processo de oxidação lipídica, permitindo assim, o armazenamento de produtos alimentícios por longos períodos sem os danos nutricionais, organolépticos ou tóxicos. Com a aplicação destas substâncias em alimentos é possível aumentar a vida útil destes em até 200% (Schirch et al, 2000, Mc Carthy et al, 2001).

5.2- Metodologia

- Estantes com tubos de ensaios;
- Béquer para descarte;
- Pipeta automática;
- Espectrofotômetro de luz Ultravioleta 482 FEMTO faixa espectral (240 - 1000nm);
- DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazil) (Aldrich);
- Álcool etílico PA (VETEC);
- Rutina (SIGMA)
- Os extratos das folhas de *M. artemisiana* testados foram:

  1) MAEH: (Extrato em hexano obtido diretamente das folhas por maceração exaustiva);

  2) MAEA: (Partição do extrato metanólico bruto com acetato de etila);

  3) MAEB: (Partição do extrato metanólico bruto com álcool n-butílico);

  4) MAEM: (Extrato metanólico bruto obtido diretamente das folhas por maceração exaustiva).

A metodologia utilizada para avaliar o potencial antioxidante dos extratos foi o método da atividade seqüestrante do radical livre DPPH (2.2-difenil-1-picril-hidrazil). As análises foram realizadas reagindo-se 1 mL de solução etanólica de DPPH 0,3 mM com 2,5 mL da amostra solubilizada em etanol nas seguintes concentrações 25,0;.50,0; 125,0; e 250,0 μg/mL. Após 30 minutos mediu-se os valores da absorbância em espectrofotômetro de luz ultravioleta no comprimento de onda de 518 nm. Os valores da absorbâncias foram convertidos para porcentagem de atividade antioxidante (%AA) usando a seguinte formula:

$$\mathbf{AA\% = \frac{100 - (Abs\ amostra - Abs\ branco) x 100}{Abs\ controle}}$$

Todas as análises foram realizadas em triplicata. O controle negativo foi feito com 1,0 mL de solução de DPPH e 2,5 mL de etanol. A leitura em branco foi realizada com 2,5 mL de solução das amostras mais 1,0 mL de etanol. A substância utilizada como padrão foi a rutina, um flavonóide glicosilado com atividade antioxidante já descrita na literatura. (Mensor *et al*., 2001).

A AA% foi calculada através de média aritmética e o valor da EC_{50} foi deduzida através da equação da reta retirada do gráfico plotado, onde a abcissa representa as concentrações da amostra testada e a ordenada a porcentagem de atividade antioxidante (AA%) (**Figura 1**). Obtendo-se os gráficos de cada um dos extratos testados, e após substituição do EC_{50} na equação da reta obtém-se assim o EC_{50} para cada um dos extratos testados (**Tabela: 1**)

5.3 Resultados da Atividade Antioxidante dos Extratos das Folhas de *M. artemisiana*:

Os resultados preliminares da avaliação do potencial antioxidante dos extratos das folhas de pelo método DPPH indicam uma boa atividade dos extratos MAEA, MAEB e MAEM quando comparados com a referência rutina, uma substância que já possui atividade antioxidante reconhecida. Os valores da atividade foram expressos em EC_{50} (**Tabela 1**). O extrato MAEH foi considerado como possuidor de atividade por ter apresentado EC_{50} bastante elevada quando comparado com o padrão.

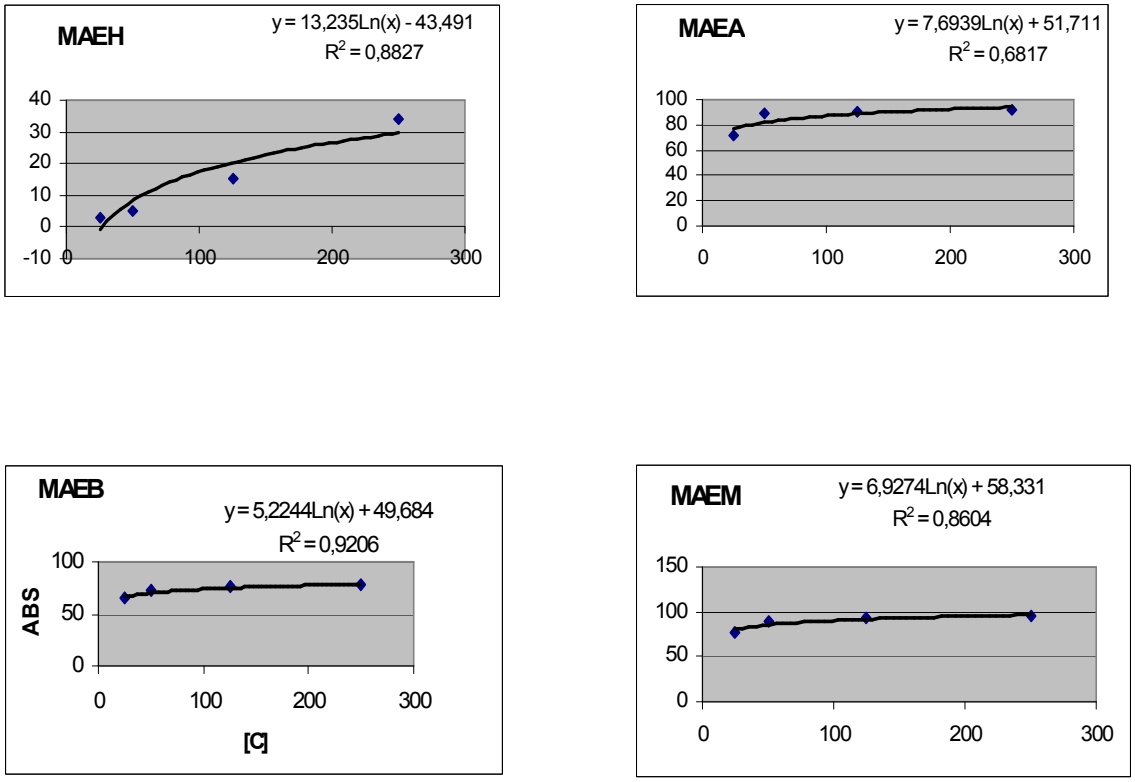


Figura 125: Gráficos da avaliação da atividade antioxidante dos extratos das folhas de *M. artemisiana*.

Tabela 10: Avaliação da capacidade antioxidante de extratos brutos e frações de extratos das folhas de *M. artemisiana*.

Extrato (folhas) Testado	EC_{50} (□g/mL)
MAEH	1169,02
MAEA	0,80
MAEB	4,98
MAEM	0,30

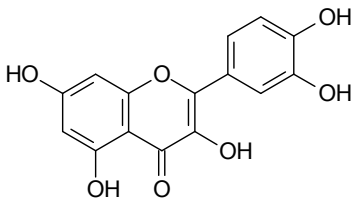
Padrão utilizado: rutina, EC_{50} (□g/mL)= 0,012.

6 - AVALIAÇÃO DO TEOR DE FLAVONÓIDES TOTAIS (TFT) NOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Mimosa artemisiana*.

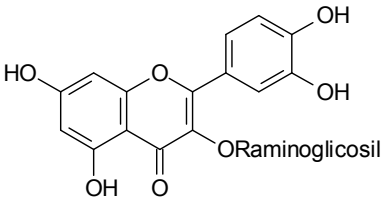
A utilização de $AlCl_3$ para detecção da presença de alguns grupamentos químicos foi realizada pela primeira vez para diagnosticar antocianidinas. Da década de 60 em diante, esse passou a ser largamente empregado como um reagente de desvios (*shift reagent*) em espectrometria no UV-visível para a determinação estrutural de flavonóides.

Em 1954, Harborne sugeriu o uso de cloreto de alumínio para a determinação espectrofotométrica da presença de certos grupamentos químicos em flavonóides. Nos últimos anos, o cloreto de alumínio tem sido utilizado largamente para a determinação e quantificação de flavonóides totais em plantas utilizando como padrão de o flavonóide quercetina.

Uma vez que o cátion alumínio forma complexos estáveis com alguns flavonóides em metanol, ao realizar uma análise espectofotométrica com tais substâncias, observa-se um desvio batocrômico e uma intensificação da absorção o que torna possível a determinação do teor de flavonóides evitando a interferência de outras substâncias fenólicas. Isso porque, outras substâncias fenólicas como os ácidos fenólicos mesmo formando complexos com cloreto de alumínio absorvem em comprimento de ondas inferiores. Porem, não é um método exato de determinação do teor de flavonóides totais. Isso se deve ao fato de o comprimento de onda selecionado 425 nm corresponder a banda de absorção do complexo quercetina-Al. Assim, o valor medido e o valor real são mais próximos quanto maior a proporção de flavonóis e menor a proporção de flavonas e isoflavonas existentes na planta.

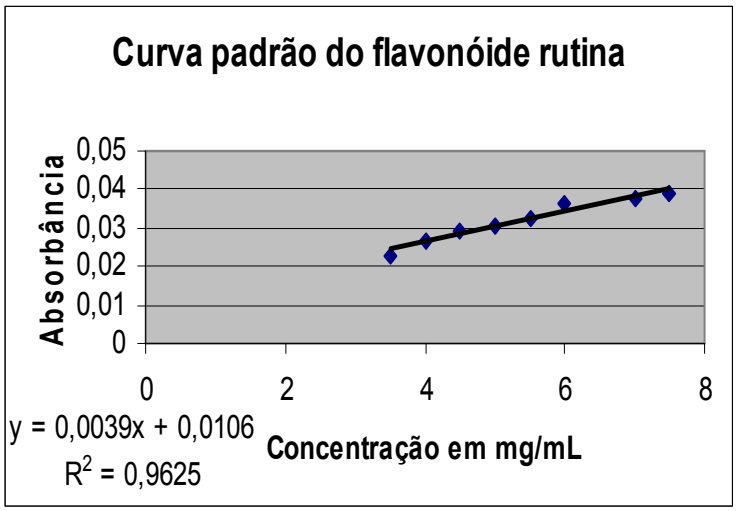


Quercetina



Rutina

Os teores de flavonóides totais dos extratos testados foram calculadas a partir da (Equação 1), obtida por regressão linear dos valores experimentais da solução padrão de rutina, sendo que no eixo da abscissa foram colocadas as concentrações da amostra e no eixo das ordenadas as absorbâncias medidas em 425 nm. A equação obtida por regressão linear apresentou um bom coeficiente de correlação ($R^2 = 0,9625$). Os dados de no mínimo três experimentos independentes foram tratados estatisticamente onde a media obtida foi utilizada.



Equação 1: y = 0,0039x + 0,0106

Onde:

Y - valor da absorbância encontrado experimentalmente.

X - permite o cálculo da concentração de flavonóides totais dos extratos brutos testados.

Os resultados do teste de quantificação do teor de flavonóides totais estão descrito na Tabela 10:

Tabela 11. Teor de Flavonóides Totais (TFT)

Espécie	**Extrato**	**TFT μg/mL**
M. artemisiana (F)	*n*-BuOH	1845,4
M. artemisiana (F)	MeOH	43,5
M. artemisiana (F)	AcOEt	84,5
M. artemisiana (F)	$CHCl_3$	1060,4
M. artemisiana (G)	AcOEt	2294,7

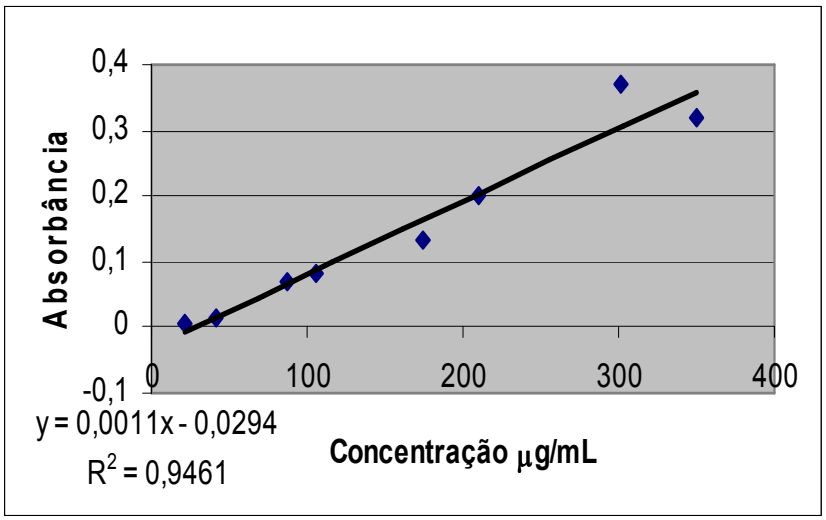
7 AVALIAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas. Realizou-se um método indireto de determinação da atividade antioxidante, para determinação do teor de fenólicos totais para isso fez-se o ensaio com o reagente de Folin-Ciocalteau (realizada por meio de espectrometria na região do UV. O ensaio foi realizado através da comparação das absorbâncias dos extratos brutos após reação com (RFC), com o padrão ácido gálico.

O teste de Folin-Ciocalteau baseia-se na reação de oxidação-redução em que os íons fenolatos são oxidados enquanto os reagentes fosfotungistico e fosfomolibidico são reduzidos. A produção de um cromóforo de cor azul é atribuída ao complexo fosfotungístico-fosfomolibidico de estrutura indefinida e o mecanismo químico desta reação ainda não é bem compreendido, porém, a concentração destes compostos nas frações testadas é proporcional a intensidade da cor azul.

Após a reação do ácido gálico com (RFC) foram feitas leituras das absorbâncias cujos valores permitiram traçar o gráfico Absorbância x Concentração de ácido gálico. A quantidade de fenóis totais do extrato bruto de *M. artemisiana* foi calculada a partir da Equação 2 obtida por regressão linear dos valores experimentais da solução padrão do ácido gálico sendo no eixo da abcissa, colocadas as concentrações da amostra e no eixo das ordenadas as absorbâncias medidas. A equação obtida por regressão linear mostrou um bom coeficiente de correlação (R^2 = 0,9641). Os dados de no mínimo três experimentos independentes foram tratados estatisticamente, sendo que o valor médio obtido foi utilizado. A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos.

Curva padrão do ácido gálico.



Equação 2: **y = 0,0011x - 0,0294**

Onde:

Y - é o valor da absorbância encontrado experimentalmente.

X - permite o cálculo da concentração de fenólicos totais dos extratos brutos testados.

Tabela 12 - Resultados obtidos do doseamento (FT).

Extratos testados	Teor de FT (μg/mL)
MAEC	2,94
AcOEt	4,16
MAEM	3,74
MAGAEM	3,87
MAGM	4,24

FT = Fenólicos totais

8 CONCLUSÕES

Esse foi o primeiro estudo químico da espécie *Mimosa artemisiana*. O presente trabalho contribui para o conhecimento químico da espécie *Mimosa artemisiana* Heringer e Paula uma espécie nativa da do território nacional.

Foram identificadas 16 substâncias na espécie estudada das quais três substâncias são inéditas no gênero Mimosa.

Dos extratos que apresentaram atividade antioxidante e forneceram elevados teores de flavonóides e de taninos foram isolados flavonóides e flavonolignanas substâncias com potencial antioxidante comprovado na literatura.

As informações registradas e relatadas neste trabalho poderão ser úteis na realização de outros estudos sobre a espécie.

9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, P.K.; *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Ed. Elsevier: Amsterdam, 1989.

AMBIKABOTHY, J.; IBRAHIM, H.; AMBU, S.; CHAKRAVARTHI, S.; AWANG, K.; VEJAYAN, J. Efficacy evaluations of *Mimosa pudica* tannin isolate (MPT) for its anti-ophidian properties. ***Journal of Ethnopharmacology***. 2011. ***137***; 257-262.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. ***Ciência e Cultura***. 2003, Vol. 55; no 3.

CAMARGO, L. M. M.; FÉRÉZOU, J. P.; TINOCO, L. W.; KAISER. C. R.; COSTA, S. S. Flavonoids from *Mimosa Xanthocentra* (Leguminosae-Mimosoideae) and molecular modeling studies for isovitexin-2''-O-a-L-rhamnopyranoside rotamers. ***Phytochemistry Letters***. 2012. **5**(3) 427-431.

CHRESTANI, F.; SIERAKOWSKI, M. R.; UCHOA, D. E. DE A.; NOZAWA, C.; SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; ONO, L. *In vitro* antiherpetic and antirotaviral activities of a sulfate prepared from *Mimosa scabrella* galctomannan. ***International Journal of Biological Macromolecules***. 2009. **45**, 453-457.

CÓRDOVA, W. H. P.; MESA, L. G.; HILL, A. L. P.; LIMA, C. N.; LAMAS, G. D.; SUÁREZ, M. O.; DOMINGUEZ, R. S. Antimicrobial activity of crude extracts and flavonoids from leaves of *Pluchea carolinensis* (Jacq.) G. Don. ***Pharmacologyonline***. 2006, **3**, 757-761.

COSTA, H. N. R.; SANTOS, M. C.; ALCÂNTARA, A. F. C.; SILVA, M. C.; FRANÇA, R. C.; PILÓ-VELOSO, D. Constituintes químicos e atividade antiedematogênica de *Peltodon radicans*. ***Quimica Nova***. 2008, **31**, 744-750.

DESMARCHELIER, C.; ROMÃO, R. L.; COUSSIO, J. AND CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. ***Journal of Ethnopharmacology*** **67** (1999) 69–77.

DOMINGUEZ, X. A.; GARCIA, S.; WILLIAMS, H. J .; ORTIZ, C.; AND SCOTT, A. I. Kukulkanins A and B, new chalcones from *Mimosa tenuefolia.* ***Journal of Natural Products.*** **53** (1989) 4, 865-867.

DUTRA, V. F.; GARCIA, F. C. P.; LIMA, H. C. DE. Mimosoideae (Leguminosae) nos campos rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil. ***Rodriguésia***. 2008. **59** (3): 573-585.

ENGLERT, J.; WENIGER, B.; LOBSTEIN, A. AND ANTON, R. Triterpenoid saponins from *Mimosa pigra*. ***Journal of Natural Products***. **58***, (1995)*, 8 *1265-1269.*

FORGO, P.; KÖVÉR, K. E. Gradient enhanced selective experiments in the ^{1}H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. ***Steroids***. 2004, **69**, 43-50.
GERENGI, H.; SCHAEFER, K.; SAHIN, H. I.; Corrosion-inhibiting of *Mimosa* extract on brass-MM55 corrosion in 0,5 M H_2SO_4 acidic media. ***Journal of Industrial and Engineering Chemistry***. 2012. **18**; 2204-2210.

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

GUPTA, M. P. AND ARIAS, T. D. The occurrence of tryptamine and n-methyltryptamine in *Mimosa somnians*. ***Journal of Natural Products*** **42** (1979) 2, 234-236.

GUZ, N. R.; STERMITZ, F. R. Synthesis and structures of regioisomeric hydnocarpin-type flavonolignans. ***Journal of Natural Products***. 2000, **63**, 1140-1145.

GUZ, N. R.; STERMITZ, F. R.; JOHNSON, J. B.; BEESON, T. D.; WILLEN, S.; HSIANG, J. F.; LEWIS, K. Flavonolignan and flavone inhibitors of a *Staphylococcus aureus* multidrug resistance pump structure-activity relationships. ***Journal of Medicinal Chemistry***. 2001, **44**, 261-268.

HALLIWELL, B. E GUTTERIDGE, J. M. C. ***Methods Enzymol***. 1990, **186** (part B), 1.
HARBONE, J. B.; MABRY, T. J.; ***The Flavonoids – Advances Reserch***. Chapman and Hill: London, 1976.

JIANG, Y.; BERRURIER, M. H. AND ANTON, R. Structure of a new saponin from the bark of *Mimosa tenuiflora*. ***JournaI of NaturaI Products*** **54** (1991) 5, 1247-1253.

KIRK, L. F.; MØLLER, M. V.; CHRISTENSEN, J.; STAERK, D.; EKPE, P.; JAROSZEWSKI, J. W. A 5-deoxyflavonol derivative in *Mimosa pudica*. ***Biochemical Systematics and Ecology*** **31** (2003) 103–105.

KONTIZA, I.; ABATIS, D.; MALAKATE, K.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. 3-Keto steroids from the marine organisms *Dendrophyllia cornigera* and *Cymodocea nodosa*. ***Steroids,*** 2006, **71**, 177-181.

LIN, C. F.; HUANG, Y. L.; CHENG, L. Y.; SHEU, S.; CHEN, C. C.; ***Zhong Yi Xue Bao***. 2006**, 17**, 103-112.

LOBSTEIN, A.; WENIGER, B.; UM B. H.; STEINMETZ, M.; DECLERCQ, L. AND ANTON, R. 4-Hydroxymaysin and cassiaoccidentalin B, two unusual C-glycosylflavones from *Mimosa pudica* (Mimosaceae). ***Biochemical Systematics and Ecology*** **30** (2002) 375–377.

MACARI, P .A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. S. Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador. ***Quimica Nova***. 1990, **13**, 260-262.

MAHANTA, M. AND MUKHERJEE, A. K. Neutralisation of lethality, myotoxicity ond toxic enzimes of *Naja kaouthia* by *Mimosa pudica* root extracts. ***Journal of Ethnopharmacology*** **75** (2001) 55-60.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ^{13}NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids- a complication and some salient features. *Phytochemistry*. 1994, **37**, 1517-1573.

MAHMOUD, I. I.; MARZOUK, M. S. A.; MOHARRAM, F. A.; EL-GIND, M. R.; HASSAN, A. M. K. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves; ***Phytochemistry***. 2001, **58**, 1239-1244.

MORAIS, S. M. e BRAZ FILHO, R. ***Produtos Naturais: Estudos Químicos e Biológicos***. Ed. UECE, 2007.

NASCIMENTO, I. A. DO E CARVALHO, M. G. de Estudo Químico da Madeira de *Schizolobium parahybae* (Vell.) Blake Leguminosae-Caesalpinioideae. *Dissertaçao de Mestrado*. UFRRJ, **2003**.

NGO BUM, E.; DAWACK, D.L.; SCHMUTZ, M.; RAKOTONIRINA, A.; S.V. RAKOTONIRINA, PORTET, C.; JEKER; A.; OLPE, H.-R. AND HERRLING, P. Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* Decoction. ***Fitoterapia*** **75** (2004) 309–314.

NOLETO, G. R.; PETKOWICZ, C. L. O.; MERCÊ, A. L. R.; NOSEDA, M. D.; MÉNDEZ-SÁNCHES, S. C.; REICHER, F.; OLIVEIRA, M. B. M. Two galactomannan preparations from seeds from *Mimosa scabrella* (bracatinga): complexation with oxovanadium (IV/V) and cytotoxicity on HeLA cells. ***Journal of Inorganic Biochemistry***. 2009. **103**; 749-757.

NUNES, X. P.; MESQUITA, R. F.; SILVA, D. A.; LIRA, D. P.; COSTA, V. C. O.; SILVA, M. V. B.; XAVIER, A. L.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. de F. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de ***Mimosa paraibana*** Barneby (Mimosaceae). ***Brazilian Journal of Pharmacognosy***. 2008. **18**(Supl.) 718-723.

OHSAKI, A.; YOKOYAMA, R.; MIYATAKE, H.; FUKUYAMA, Y. Two diterpene rhaminosides, mimosasides B and C, from *Mimosa hostilis*. ***Chemical and Pharmaceutical Bulletin***. 2006. **54**(12) 1728-1729.

PACHTER, I. J.; ZACHARIAS, D. E. AND RIBEIRO, O. Indole Alkaloids of *Acer saccharinum* (the Silver Maple), *Dictyoloma incanescens, Piptadenia colubrina,* and *Mimosa hostilis*. ***Journal of Organic Chemistry***. **24** (1959) 9, 1285-1287.

PAN, L.; CHIN, Y.W.; CHAI, H. B.; NINH, T. N.; SOEJARTO, D. D; KINGHORN, A. D. Bioactivity-guided isolation of cytotoxic constituents of *Brucea javanica* collected in Vietnam. ***Bioorganic and Medicinal Chemistry***. 2009, **17**, 2219-2224.

PANDEY, R.; MAURYA, R.; SINGH, G.; SATHIAMOORTHY, B.; NAIK, S.;. Immunosupressive properties of flavonoids isolated from *Boerhaavia diffusa* Linn. ***International Immunopharmacology***. 2005, **5**, 541-553.

PETTIT, G. R.; MENG, Y.; CLARE, A. S.; DOUBEK, D. L.; KNIGHT, J. C.; CICHACZ, Z.; PETTIT, R. K.; CHAPUIS, J-C; SCHMIDT, J. M. Isolation and structure of palstatin from the Amazon tree *Hymeneae palustris*. ***Journal of Natural Products***. 2003, **66**, 259-262.

RAKOTOMALALA, G.; AGARD, C.; TONNERRE, P.; TESSE, A.; DERBRÉ, S.; MICHALET, S.; HAMZAOUI, J.; RIO, M. CARIO-TOUMANIANTZ, C.; RICHOMME, P.; CHARREAU, B.; LOIRAND, G.; PACAUD, P. Extract from *Mimosa pigra* attenuates chronic experimental pulmonary hypertension. ***Journal of Ethnopharmacology***. 2013. **148** (1) 106-116.

SANTOS, P. M.L.; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R. M.; Flavonoides *O*-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae) ***Revista Brasileira. de Farmacognosia***. 2005, **15**, 321-325.

SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. ***Farmacognosia: Da Planta Ao Medicamento***. PORTO ALEGRE/FLORIANÓPOIS. Editora da UFRGS /Editora da UFSC. 3ª Edição. 2001.

SOUSA, J. DOS S. DE; BASTOS, M. DE N. DO C.; ROCHA, A. E. S. Mimosoideae (Leguminosae) do litoral paraense. ***Acta Amazonica***. 2009. 39 (**4**), 799-811.

UEDA, M. AND YAMAMURA, S. Leaf-opening substance of *Mimosa pudica* l. Chemical studies on the other leaf movement of mimosa. ***Tetrahedron Letters***. **40** (1999) 353-356.

UEDA, M.; SHIGEMORI, H.; SATA N. AND YAMAMURA, S. The diversity of chemical substances controlling the nyctinastic leaf-movement in plants. ***Phytochemistry*** **53** (2000) 39-44.

WEI, X.; HUANG, H.; LIDONG, L.; WU, P.; CAO, H.; YE, W. Phenolic constituents from *Mikania micrantha*. ***Biochemical Systematics and Ecology***. 2004, **32**, 1091-1096.

YADAVA, R. N.; YADAV, S. A novel buffadienolide from the seed of Mimosa pudica Linn. ***Asian Journal of. Chemistry***. 2001. **13**, 1157-1160.

YANG, E. J.; LEE, J.S.; YUN, C. Y.; RYANG, Y. S.; KIM, J. B.; KIM, I. S. Supression of ovalbumin-induced airway inflammatory responses in a mouse modelo for asthma by *Mimosa pudica* extract. ***Phytotherapy Research***. 2011. **25**; 59-66.

YOKOZAWA, T.; CHEN, C. P.; DONG, E. AND TANAKA, T. *Biochemical **Pharmacology***. **56** (1998) 213.

YUE , Q.; MILLER, C. J.; WHITE, J. F. JR.; RICHARDSON, M. D. Isolation and characterization of fungal inhibitors from *Epichloe festucae*. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***. 2000**,** ***48,*** 4687-4692.

YUSUF, U. K.; ABDULLAH, A.; BAKAR, B.; ITAM, K.; ABDULLAH, F. AND SUKARI, M. A. Flavonoid glycoside in the leaves of *Mimosa* species. ***Biochemical Systematics and Ecology*** **31** (2003) 443-445.