



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS



AMANDA AMONA QUEIROZ BRÁS

Estudo fitoquímico e de potenciais atividades biológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.

João Pessoa – PB

2017

**AMANDA AMONA QUEIROZ BRÁS**

**Estudo fitoquímico e de potenciais atividades biológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.**

**Área de concentração: Farmacoquímica**

Orientador: Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha

Coorientadora: Profa Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

**João Pessoa-PB**

**2017**

B823e

Brás, Amanda Amona Queiroz.

Estudo fitoquímico e de potenciais atividades biológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. / Amanda Amona Queiroz Brás. - João Pessoa, 2017.

181 f.

Orientador: Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha.

Coorientadora: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS

1. Farmacoquímica. 2. Jurema preta. 3. Fitoquímica. 4. Flavonóides. 5. Chalconas. 6. Fenoxicromonas. I. Título.

UFPB/BC

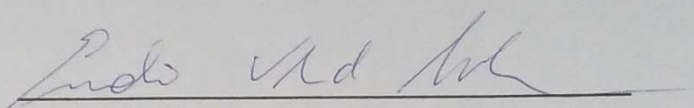
CDU: 615:54(043)

AMANDA AMONA QUEIROZ BRÁS

**Estudo fitoquímico e de potenciais atividades biológicas de  
*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.**

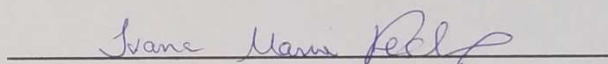
Dissertação aprovada em: 20 / 02 / 2017

COMISSÃO EXAMINADORA



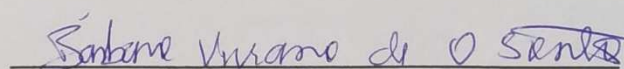
**Prof. Dr. Emidio Vasconcelos Leitão da Cunha**

Doutor em Ciências Farmacêuticas  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB  
(ORIENTADOR)



**Profa. Dra. Ivana Maria Fachine**

Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos  
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB  
(MEMBRO EXTERNO)



**Profa. Dra. Barbara Viviana de Oliveira Santos**

Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB  
(MEMBRO INTERNO)

*Aos meus amados pais José de Arimatéia Brás e Maria da Penha Brás,  
que sempre me apóiam e são fundamentais na realização dos meus  
sonhos. Aos meus queridos irmãos Ana Karolina e Aislán Pedro, por  
sempre me oferecerem o amor fraterno. Ao meu querido e amado esposo  
Welmisson Silva, pelo amor, apoio e companheirismo oferecido, por  
sempre andar ao meu lado e sonhar meus sonhos.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu amado DEUS, por me permitir a realização de mais um sonho, algo tão desejado por mim e que sem o seu consentimento não teria alcançado.

Ao professor Dr. Emídio Cunha, pela confiança depositada em mim, pela oportunidade que me ofereceu e pela parceria durante toda essa jornada.

A toda a equipe Fátima Vanderlei de Souza. A ela por toda orientação oferecida, pelo conselhos e amizade. Aos demais, agradeço pelas ajudas sempre disponíveis e pelas risadas que me deram animo para concluir cada dia de trabalho.

Ao professor Dr. Josean Fachine, por me auxiliar e me ajudar com dúvidas.

Ao professor Dr. Marcos Scotti, pela parceria na realização dos testes in sílico.

A professora Dra. Tatjana Keesen, pela parceria na realização dos testes leishmanicidas.

A todos os professores do programa pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB) pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

A secretária Caroline Manguiera pelo trabalho e disposição sempre oferecidos.

A minha amiga Sallett Rocha, por todo apoio dado, por ter me ensinado tudo e pela amizade oferecida.

As minhas amigas de bancada Diégina Fernandes e Renata Barros, pelas conversas jogadas fora, pelas gargalhadas e pelo companherismo, vocês foram especiais para mim.

A minha amiga Juliana Rocha, pelas palavras doces que sempre diz, pelo carinho e força que sempre me deu e pelo ombro amigo em dias tristes.

A companheira Cinthya Nobrega, por ter disponibilizado seu precioso tempo para me auxiliar nos testes farmacológicos.

Ao meu amigo Flávio Borges por ter conseguido meu primeiro mililitro de solvente, algo tão “precioso”, mesmo assim me ofereceu com todo carinho.

Ao meu amigo Luiz André por ter dedicado horas do seu precioso tempo me ensinando a usar os softwares complicados.

Ao companheiro Yure Nascimento, pelos conselhos e apoio.

Ao mais que técnico Raimundo Nonato (seu nonato), por toda ajuda. Participou de todas as conquistas e sempre está a disposição para ajudar no que for preciso. Sem essa ajuda nada teria sido possível.

Aos meus pais, que mesmo sem terem conhecimento acadêmico, conseguiram me apoiar, mais uma vez, na minha jornada profissional. O amor de vocês é tudo para mim.

Aos meus irmão e familiares por confiar e acreditar em mim.

Ao meu esposo, por todo apoio, dedicação, paciência, companheirinho, por todos puxões de orelha, por me abrir os olhos, por me mostrar o caminho, por me encorajar a seguir em frente, por acreditar em mim, pelo amor oferecido, pelas palavras nos dias difíceis. Esse sonho só se tornou realidade porque você acreditou nele junto comigo e por que você abriu mão de muita coisa para que eu pudesse me dedicar integralmente a ele, você foi essencial nessa conquista, por isso ela também é sua.

Aos meus cunhados e cunhadas pela alegria que trazem a minha vida.

**Obrigada**

**Amanda Brás**

*Se quiseres conhecer uma pessoa, não lhe pergunte o que  
pensa, mas sim o que ama.*

*(Santo Agostinho)*

## RESUMO

BRÁS, A.A.Q. **Estudo fitoquímico e de potenciais atividades biológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.** 2017 181p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

A família Fabaceae apresenta cerca 727 gêneros e cerca de 20.000 espécies, é a terceira maior família botânica entre as Angiospermas. No Brasil, representa uma das famílias que possui maior diversidade entre os biomas, com cerca de 3.200 espécies distribuídas em 176 gêneros, distribuem-se ao longo das regiões Norte, Nordeste, Centro – oeste, Sudeste e Sul (LEWIS et al., 2005; QUEIROZ et al., 2009). A espécie *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir é popularmente conhecida como “Jurema preta”, presente em regiões de secas periódicas como a Caatinga. Jurema preta é popularmente utilizada para o tratamento de infecções, queimaduras e lesões. Neste trabalho descrevemos o isolamento e elucidação estrutural dos flavonóides, chalconas e fenoxicromonas das partes aéreas da *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir. Para isso o material foi submetido a secagem e pulverização, passou pelo processo de extração, partição e cromatografia, para obter o isolamento de constituintes químicos. A estrutura química dos constituintes isolados foi determinada por métodos espectroscópicos de Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais, além de espectroscopia de correlação COSY e NOESY. Da fase diclorometano foram isolados 6 constituintes químicos, sendo duas chalconas: 2', 4' – diidroxí-3',4 dimetoxichalcona e 2', 4' – diidroxí- 4 dimetoxichalcona, duas fenoxicromonas: Tenuiflorina C e Tenuiflorina D e dois flavonóides: 4'-5 diidroxí-7-metoxiflavanona e 4'-5 diidroxí-3,3',7-trimetoxiflavona, sendo a Tenuiflorina D descrita pela primeira vez na literatura. Foram realizados, testes antileishmania com as substâncias: Pachipodol, Tenuiflorina C, Tenuiflorina D, Sakuranetina e 2', 4' – diidroxí-3',4 dimetoxichalcona, porém as substâncias testadas não inibiram a forma promastigota de *L. amazonensis* nas concentrações testadas. Desta forma, os resultados alcançados contribuíram para aumento do conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Mimosa*.

**Palavras-chave:** Jurema preta, fitoquímica, flavonóides, chalconas, fenoxicromonas.

## ABSTRACT

BRÁS, A.A.Q. **Phytochemical study and potential biological activities of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.** 2017 181p. Master's Thesis (Graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactive) – Center of Health Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa.

The Fabaceae family presents about 727 genera and about 20,000 species; it is the third largest botanical family among the Angiosperms. In Brazil, they represent the families that present the greatest diversity among biomes, with about 3,200 species distributed in 176 genera, distributed in North, Northeast, Midwest, Southeast and South regions (LEWIS et al., 2009). The specie *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir is popularly known as the "Jurema preta", very present in regions that present periodic sections like Caatinga, is popularly used for treatment of infections burns and lesions. This work describes the isolation and structural elucidation of flavonoids, chalcones and phenoxchromones from the aerial parts of *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir. For this, the material was subjected to drying and pulverization, underwent extraction, partition and chromatography, for the isolation of chemical constituents. The chemical structure of the isolated substances was determined by Infrared, Nuclear Magnetic Resonance ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ ) as well as COSY and NOESY correlation spectroscopy. From the dichloromethane phase, 6 chemical constituents are isolated, two chalcones: 2',4'-dihydroxy-3',4'-dimethoxychalcone and 2',4'-dihydroxy-4-dimethoxychalcone, two phenoxchromones: Tenuiflorin C and Tenuiflorin D and two flavonoids: 4'-5-dihydroxy-7-methoxyflavanone And 4'-5-dihydroxy-3,3', 7-trimethoxyflavone, Tenuiflorin D description being the first time in the literature. Antileishmania tests were performed with the substances: Pachipodol, Tenuiflorin C, Tenuiflorin D, Sakuranetine and 2', 4'-dihydroxy-3', 4-dimethoxychalcon, but the substances tested did not inhibit the promastigote form of *L. amazonensis* at the concentrations tested. In this way, the results obtained contribute to the increase of the chemotaxonomic knowledge of the *Mimosa* genus.

**Keywords:** Black jurema, Phytochemical, flavonoids, chalcones, phenoxchromone

## Lista de abreviatura, siglas e fórmulas

**NOESY** Nuclear overhauser enhancement spectroscopy

**Rf** Fator de retenção

**RMN** Ressonância magnética Nuclear

**KBr** Brometo de potássio

**HMQC** Heteronuclear multiple quantum correlation

**HMBC** Heteronuclear multiple bond correlation

**<sup>1</sup>H** Hidrogênio

**EEB** Extrato etanólico bruto

**dd** Duplo dubleto

**d** Dubleto

**<sup>13</sup>C** Carbono 13

**CDCl<sub>3</sub>** Clorofórmio deuterado

**CCDA** Cromatografia em camada delgada analítica

**CC** Cromatografia em coluna

**AcOEt** Acetato de etila

**APT** Attached proton test

**IV** Infravermelho

**COSY** Correlation Spectroscopy

**UFPB** Universidade Federal da Paraíba

**MeOH** Metanol

**H<sub>2</sub>O** Água

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** Diclorometano

**CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>** Acetona deuterada

**S** Singleto

**CD<sub>3</sub>OD** Metanol deuterado

**MTT** Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H tetrazólio

**DMSO** Dimetilsulfóxido

**CLIOC** Coleção de Leishmania do Instituto Oswaldo Cruz

## Lista de figuras

<b>Figura 1:</b> Imagem de folhas e flores da <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir.....	32
<b>Figura 2:</b> Distribuição geográfica da <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir.....	33
<b>Figura 3:</b> Estrutura química dos flavonoides .....	45
<b>Figura 4:</b> Rota Biosintética de compostos fenólicos .....	46
<b>Figura 5:</b> Biossíntese de flavonoides .....	46
<b>Figura 6:</b> estrutura básica da flavona .....	47
<b>Figura 7:</b> estrutura básica da flavanona .....	47
<b>Figura 8:</b> estrutura básica do flavonol .....	48
<b>Figura 9:</b> estrutura básica do flavanonol .....	48
<b>Figura 10:</b> estrutura básica da flavana .....	48
<b>Figura 11:</b> estrutura básica do isoflavonoide .....	49
<b>Figura 12:</b> estrutura básica do neoflavonoide .....	49
<b>Figura 13:</b> estrutura básica das chalconas .....	50
<b>Figura 14:</b> Substâncias isoladas de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	64
<b>Figura 15:</b> Amostra <b>TF-01</b> .....	65
<b>Figura 16:</b> Correlação de NOESY da amostra <b>TF-01</b> .....	67
<b>Figura 17:</b> Estrutura da amostra 2',4'-dihidroxi-3',4'-dimetoxichalcona .....	69
<b>Figura 18:</b> Estrutura da amostra 2',4'-dihidroxi-3',4'-dimetoxichalcona .....	69
<b>Figura 19:</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de <b>TF-01</b> .....	72
<b>Figura 20:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ em $\text{CDCl}_3$ (125 MHz) de <b>TF-01</b> .....	73
<b>Figura 21:</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ em $\text{CDCl}_3$ (125 MHz) de <b>TF-01</b> .....	74
<b>Figura 22:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-01</b> .....	75
<b>Figura 23:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-01</b> .....	76
<b>Figura 24:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-01</b> .....	77
<b>Figura 25:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC de <b>TF-01</b> .....	78
<b>Figura 26:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-01</b> .....	79
<b>Figura 27:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-01</b> .....	80
<b>Figura 28:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-01</b> .....	81

<b>Figura 29:</b> Espectro de NOESY em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-01</b> .....	82
<b>Figura 30:</b> Estrutura proposta para a amostra <b>TF-02</b> .....	84
<b>Figura 31:</b> Principais correlações observadas no espectro de HMBC de <b>TF-02</b> .....	85
<b>Figura 32:</b> Correlação observada no espectro de NOESY da amostra <b>TF-02</b> .....	86
<b>Figura 33:</b> Correlação observada no espectro de COSY da amostra <b>TF-02</b> .....	86
<b>Figura 35:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	90
<b>Figura 36:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	91
<b>Figura 37:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	92
<b>Figura 38:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C em CDCl <sub>3</sub> (125 MHz) de <b>TF-02</b> .....	93
<b>Figura 40:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C em CDCl <sub>3</sub> (125 MHz) de <b>TF-02</b> .....	95
<b>Figura 41:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – HMQC em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	96
<b>Figura 42:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – HMBC em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	97
<b>Figura 43:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – HMBC de <b>TF-02</b> .....	98
<b>Figura 44:</b> Espectro de NOESY em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	99
<b>Figura 45:</b> Espectro de COSY em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-02</b> .....	100
<b>Figura 46:</b> Amostra <b>TF-04</b> .....	101
<b>Figura 47:</b> Sinais característicos de RMN de Carbono de uma flavanona .....	102
<b>Figura 48:</b> Correlação observada no espectro de NOESY da amostra <b>TF-04</b> .....	102
<b>Figura 49:</b> Correlação observada no espectro de COSY da amostra <b>TF-04</b> .....	103
<b>Figura 50:</b> Correlação observada no espectro de NOESY da amostra <b>TF-04</b> .....	104
<b>Figura 51:</b> Principais correlações observadas no espectro que HMBC de <b>TF-04</b> .....	105
<b>Figura 52:</b> 4'-5 dihidroxi-7-metoxiflavanona (Sakuranetina) .....	105
<b>Figura 53:</b> Espectro de Infravermelho (KBr, cm <sup>-1</sup> ) de <b>TF-04</b> .....	108
<b>Figura 54:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C em CDCl <sub>3</sub> (125 MHz) de <b>TF-04</b> .....	109
<b>Figura 55:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	110
<b>Figura 56:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	111
<b>Figura 57:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	112
<b>Figura 58:</b> Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	113
<b>Figura 59:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – HMQC em CDCl <sub>3</sub> (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	114

<b>Figura 60:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC em $\text{CDCl}_3$ de <b>TF-04</b> .....	115
<b>Figura 61:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	116
<b>Figura 62:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-04</b> .....	117
<b>Figura 63:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-04</b> .....	118
<b>Figura 64:</b> Espectro de NOESY em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	119
<b>Figura 65:</b> Espectro de COSY em $\text{CDCl}_3$ (500 MHz) de <b>TF-04</b> .....	120
<b>Figura 66:</b> Amostra <b>TF-05</b> .....	121
<b>Figura 67:</b> Absorções características de RMN de $^{13}\text{C}$ para chalconas.....	122
<b>Figura 68:</b> Correlação de Noesy da amostra <b>TF-05</b> .....	123
<b>Figura 69:</b> Correlação de NOESY da amostra <b>TF-05</b> .....	124
<b>Figura 70:</b> Correlação de COSY da amostra <b>TF-05</b> .....	125
<b>Figura 71:</b> 2'-4' diidroxí- 4-metoxichalcona .....	125
<b>Figura 72:</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de <b>TF-05</b> .....	128
<b>Figura 73:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-05</b> .....	129
<b>Figura 74:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-05</b> .....	130
<b>Figura 75:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (125 MHz) de <b>TF-05</b> .....	131
<b>Figura 76:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC de <b>TF-05</b> .....	132
<b>Figura 77:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC de <b>TF-05</b> .....	133
<b>Figura 78:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-05</b> .....	134
<b>Figura 79:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC de <b>TF-05</b> .....	135
<b>Figura 80:</b> Espectro de NOESY em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-05</b> .....	136
<b>Figura 81:</b> Espectro de COSY em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-05</b> .....	137
<b>Figura 82:</b> Amostra <b>TF-06</b> .....	138
<b>Figura 83:</b> Correlação de NOESY da amostra <b>TF-06</b> .....	141
<b>Figura 84:</b> Tenuiflorina C.....	142
<b>Figura 85:</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de <b>TF-06</b> .....	145
<b>Figura 86:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-06</b> .....	146
<b>Figura 87:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>TF-06</b> .....	147
<b>Figura 88:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>TF-06</b> .....	148

<b>Figura 89:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (125 MHz) de <b>TF-06</b> .....	149
<b>Figura 90:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC de <b>TF-06</b> .....	150
<b>Figura 91:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC de <b>TF-06</b> .....	151
<b>Figura 92:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-06</b> .....	152
<b>Figura 93:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC de <b>TF-06</b> .....	153
<b>Figura 94:</b> Espectro de NOESY em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-06</b> .....	154
<b>Figura 95:</b> Espectro de COSY em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-06</b> .....	155
<b>Figura 96:</b> Amostra <b>TF-03</b> .....	156
<b>Figura 97:</b> Correlação de NOESY da amostra <b>TF-03</b> .....	159
<b>Figura 98:</b> Tenuiflorina D .....	159
<b>Figura 99:</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de <b>TF-03</b> .....	162
<b>Figura 100:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-03</b> .....	163
<b>Figura 101:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>TF-03</b> .....	164
<b>Figura 102:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>TF-03</b> .....	165
<b>Figura 103:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (125 MHz) de <b>TF-03</b> .....	166
<b>Figura 104:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC de <b>TF-03</b> .....	167
<b>Figura 105:</b> Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de <b>TF-03</b> .....	168
<b>Figura 106:</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC de <b>TF-03</b> .....	169
<b>Figura 107:</b> Espectro de NOESY em $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ (500 MHz) de <b>TF-03</b> .....	170

## Lista de tabelas

- Tabela 1:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-01** em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) e da 2',4'-dihidroxi-3',4 dimetoxichalcona ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{CDCl}_3$ ) Dominguez, 1989 e Majumder, 1994.....70
- Tabela 2:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-01**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais. .... 71
- Tabela 3:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-02** em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) e da 4'-5-dihidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona -Pachipodol ( $\text{CDCl}_3$ ) Nunes, 2008 e Barreto,2013. .... 88
- Tabela 4:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-02**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais. .... 89
- Tabela 5:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-04** em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) e da **4'-5 dihidroxi-7-metoxiflavanona** em  $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$  ( 400 e 500MHz), Nunes, 2008 e Oliveira, 2012.106
- Tabela 6:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-04**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais. .... 107
- Tabela 7:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-05** em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) e da 2'-4' diidroxi- 4-metoxichalcona..... 126
- Tabela 8:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-05**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais. .... 127
- Tabela 9:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-06** em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) com a 5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-chromona – Tenuiflorina C em  $\text{CDCl}_3$  – $\text{DMSO-d}_3$  (300MHz) (León, 2004)..... 143
- Tabela 10:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-06**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais. .... 144
- Tabela 11:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-03** em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) com a 5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-chromona – Tenuiflorina C em  $\text{CDCl}_3$  – $\text{DMSO-d}_3$  (300MHz) (León, 2004)..... 160
- Tabela 12:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-03**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais. .... 161
- Tabela 11:** Atividade antileishmania das substâncias isoladas de *Mimosa tenuiflora* .....171

## **Lista de esquemas**

<b>Esquema 1:</b> Partição líquido – líquido para obtenção de fases fracionadas .....	55
<b>Esquema 2:</b> Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano .....	59

## Lista de quadros

<b>Quadro 1:</b> Constituintes químicos de algumas espécies do gênero <i>Mimosa</i> L.....	31
<b>Quadro 2 :</b> Taxonomia da espécie <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir .....	35
<b>Quadro 3:</b> Constituintes químicos isolados da <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir .....	35
<b>Quadro 4 :</b> Resultados da triagem fitoquímica do EEB de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	56
<b>Quadro 5:</b> Frações obtidas da filtração a vácuo e sistemas de solventes utilizados.....	58
<b>Quadro 6:</b> Frações obtidas da CC da fração 5.....	60

## Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS.....	27
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>27</b>
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	29
<b>3.1 Considerações sobre a família Fabaceae (Leguminosae).....</b>	<b>29</b>
<b>3.2 Considerações sobre o Gênero <i>Mimosa</i> .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Considerações sobre a espécie <i>Mimosa tenuiflora</i> (Will) Poir.....</b>	<b>32</b>
<b>3.4 Flavonoides .....</b>	<b>45</b>
<b>3.5 Chalconas .....</b>	<b>49</b>
<b>3.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....</b>	<b>50</b>
<b>3.7 Espectroscopia de Infravermelho (IV).....</b>	<b>51</b>
<b>3.8 Leishmaniose .....</b>	<b>51</b>
5 EXPERIMENTAL .....	54
<b>5.1 Levantamentos Bibliográficos .....</b>	<b>54</b>
<b>5.2 Coleta e identificação do material botânico .....</b>	<b>54</b>
<b>5.3 Processamento da planta .....</b>	<b>54</b>
<b>5.4 Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas e galhos.....</b>	<b>55</b>
<b>5.5 Avaliação fitoquímica preliminar dos constituintes químicos .....</b>	<b>55</b>
<b>5.6 Métodos cromatográficos.....</b>	<b>56</b>
<b>5.7 Métodos espectroscópicos .....</b>	<b>56</b>
5.7.1 Espectroscopia de Infravermelho (IV) .....	56
5.7.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	57
<b>5.8 Ponto de fusão .....</b>	<b>57</b>
<b>5.9 Isolamento e purificação dos constituintes químicos.....</b>	<b>57</b>
<b>5.10 Atividade antileishmania.....</b>	<b>61</b>
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	64
<b>6.1 Avaliação fitoquímica.....</b>	<b>64</b>
<b>6.2 Determinação Estrutural de TF- 01 .....</b>	<b>65</b>
<b>6.3 Determinação Estrutural de TF- 02 .....</b>	<b>83</b>
<b>6.4 Determinação Estrutural de TF-04 .....</b>	<b>101</b>
<b>6.5 Determinação estrutural de TF-05.....</b>	<b>121</b>
<b>6.6 Determinação estrutural de TF-06.....</b>	<b>138</b>

<b>6.7 Determinação estrutural de TF-03.....</b>	<b>156</b>
<b>6.8 Triagem farmacológica .....</b>	<b>171</b>
7 CONCLUSÕES.....	173
8 REFERÊNCIAS .....	175

# Introdução

---

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de produtos de origem vegetal tem sido ao longo dos anos, ferramenta para o tratamento de diversas condições clínicas, seja ela de baixo ou alto risco. Esse uso se faz baseado na tradicionalidade de uso da planta, no qual o conhecimento dos seus benefícios é transmitido de geração para geração, ou baseado no conhecimento científico, podendo o material vegetal ser utilizado como fonte de moléculas ativas (PIRIZ et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014).

A princípio, as plantas medicinais, eram utilizadas oralmente na forma de pó, infusão (chá) ou decocto e depois foram surgindo o uso por via tópica, na forma de preparações à base de água ou óleo para unguentos e cataplasmas (VIEIRA, 2010)

Mesmo com a evolução dos tratamentos alopáticos a partir da segunda metade do século XX, existem limitações para o uso desses tratamentos pela população carente, seja pela falta de acesso aos serviços médicos ou recursos para a obtenção de medicamentos. Essa carência de acesso a medicamentos, juntamente com a facilidade de aquisição e tradicionalidade de uso das plantas medicinais, motivam a sua utilização pela população de países em desenvolvimento (VEIGA, 2005; GONÇALVES et al. 2013; SOUZA-MOREIRA, 2010).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 70 a 95% da população de países em desenvolvimento dependem da utilização de plantas medicinais, principalmente no serviço de assistência básica à saúde (WHO, 2011). Semelhantemente, no Brasil cerca de 80% da população utilizam produtos à base de plantas medicinais, se fundamentando no conhecimento popular ou orientada pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS) (RODRIGUES et al., 2011; FERREIRA, 2014).

Para a sobrevivência e evolução da planta ela precisa se defender de ataques seja de herbívoros, patógenos ou até mudanças no meio em que vive. As plantas desenvolveram a capacidade de se defender biossintetizando substâncias químicas para alvos específicos, por isso a sua composição química é tão complexa. Essas substâncias químicas, biossintetizadas para sua defesa, são chamadas de metabólitos secundários, que são produzidas para modular seu metabolismo e que são alvos de inúmeros estudos, com o objetivo de serem utilizadas em doenças humanas em determinados alvos terapêuticos (FERREIRA et al., 2010).

No tocante a pesquisas científicas sobre plantas medicinais, é observada, entre os pesquisadores do ocidente, uma prevalência em isolar os constituintes químicos da planta com atividade farmacológica, na tentativa de obter apenas seus princípios ativos. As plantas medicinais são as melhores fontes para a obtenção de constituintes químicos com ação farmacológica, daí a importância dos estudos de substâncias biologicamente ativas, isoladas de plantas. (SILVA et al., 2014; VASCONCELLOS, 2002)

A pesquisa de plantas medicinais e seus extratos são de ampla importância, dos medicamentos modernos aprovados pela FDA, entre 1981 a 2006, 50% são diretamente derivadas de plantas, ou são análogos sintéticos construídos a partir de isolados de plantas, tanto para a obtenção de fármacos modificados quimicamente (menos tóxicos e mais eficazes), quanto de adjuvantes e fitofármacos (ZAMBRANA, 2005; USTULIN, 2009; FERREIRA et al., 2010)

Diversas áreas estão envolvidas na pesquisa de novas substâncias farmacologicamente ativas derivadas de plantas, sendo elas: a fitoquímica, que tem como objetivo o isolamento, purificação e caracterização de ativos; a farmacologia e toxicologia, que estudam os efeitos farmacológicos e toxicológicos desses ativos; como também a etnobotânica e etnofarmacologia que avaliam povos e etnias (MACIEL et al., 2002; VENDRUSCOLO et. al., 2005). No Brasil, várias pesquisas são realizadas todos os anos, contribuindo de forma proeminente com a comunidade científica e a população (ALBUQUERQUE, 2006).

Em geral os medicamentos sintéticos geralmente apresentam em sua composição um único princípio ativo, que promove um efeito farmacológico. Já os extratos vegetais são constituídos por misturas complexas de substâncias químicas, que podem atuar ou não em alvos terapêuticos (FERREIRA et al., 2010). Daí a importância de se isolar um componente químico para avaliação de sua ação farmacológica, mesmo que esse componente químico não passe em todos os testes, ele pode ser utilizado como modelo, para síntese de um novo candidato a fármaco.

No Brasil, a química de produtos naturais sempre foi uma das áreas que lideraram o desenvolvimento de medicamentos, e tem alcançado importantes avanços com a implantação de tecnologias para elucidação estrutural como: Ressonância Magnética Nuclear, Espectroscopia de Massa, Infravermelho, etc. (FERREIRA et al., 2010).

Sendo assim, o estudo fitoquímico realizado para obtenção de extratos, frações e compostos isolados para o uso em formulações medicamentosas é de crucial importância. É com o objetivo de engrandecer os conhecimentos fitoquímicos e avaliar suas atividades farmacológicas que o Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da UFPB desenvolve estudos com diversas espécies vegetais da flora brasileira.

A espécie *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir pertence à família Fabaceae é popularmente conhecida como “Jurema preta” e será utilizada no estudo, a fim de se conhecer seus principais constituintes fitoquímicos e ativos farmacológicos.

# *Objetivos*

---

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Realizar o estudo fitoquímico da espécie *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir., e realizar estudos farmacológico de seus componentes isolados.

### 2.2 Objetivos específicos

- Extrair, Isolar e purificar os constituintes químicos da *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir, utilizando métodos cromatográficos adequados;
- Caracterizar estruturalmente os constituintes químicos isolados, utilizando técnicas espectroscópicas convencionais, como: IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  unidimensionais e bidmencionais de correlação como: NOESY, COSY, HMQC, HMBC.
- Realizar estudos antileishmania dos constituintes isolados

# Fundamentação teórica

---

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Considerações sobre a família Fabaceae (Leguminosae)

A família Fabaceae é dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Faboideae, sendo esta última a maior das subfamílias. A família apresenta cerca 727 gêneros e cerca de 20.000 espécies, é a terceira maior família botânica entre as Angiospermas e apresenta grande importância econômica, sendo encontrada em praticamente todos os continentes (CONEGLIAN, 2006; LEWIS et al., 2005).

A Família possui representantes dos mais diversos tipos: árvores conhecidas como o pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) e o jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth.), arbustos como o topete-de-cardeal (*Calliandra tweediei* Benth), lianas como o estojo-de-luneta (*Dioclea violacea* Mart. ex Benth) e até plantas aquáticas como a *Neptunia pubescens* Benth (SILVEIRA, 2013).

Suas espécies apresentam uma alta metabolização de compostos de nitrogênio e aminoácidos, geralmente devido a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio nos seus nódulos radiculares (QUEIROZ, 2009), o que confere às espécies elevado potencial para recuperação de áreas degradadas (AMARAL, 2015).

No Brasil, representa uma das famílias que possui maior diversidade entre os biomas, com cerca de 3.200 espécies distribuídas em 176 gêneros, constituindo a família mais diversa no bioma da caatinga, com 86 gêneros e 320 espécies que se distribuem ao longo das regiões: Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul (LEWIS et al., 2005; QUEIROZ et al., 2009).

Muitas sementes das espécies da família Fabaceae são utilizadas para alimentação humana devido ao seu alto valor nutritivo, são exemplos: Grão de bico, feijão, lentilha, ervilha e soja. Outras espécies são utilizadas para alimentação animal, usadas também para a obtenção de vernizes, tintas e corantes (ILDIS, 2016).

Em relação à constituição química de seus metabólitos secundários a família Fabaceae apresenta uma gama de constituintes ativos com importantes atividades farmacológicas, dentre os mais importantes estão os alcaloides, flavonoides,

terpenos, taninos, fenóis, saponinas, dentre outros (NEVES, 2015; NOGUEIRA, 2015).

Dentre as atividades farmacológicas mais destacadas estão: atividade antioxidante, antiinflamatória e analgésica (OLIVEIRA, 2011; SILVA, 2010).

### **3.2 Considerações sobre o Gênero *Mimosa***

*Mimosa* L. é o segundo maior gênero da subfamília Mimosideae, com mais de 540 espécies, distribuídas nos mais variados tipos de ambientes e campos vegetacionais principalmente nas Américas, especialmente no Brasil, México, Paraguai, Uruguai e Argentina, sendo muitas delas nativas do Brasil, o restante está distribuído na África e Ásia. Entre as leguminosas, esse gênero é o que representa maior variedade na Caatinga (QUEIROZ, 2009; LEWIS 2005; SILVA, 2011).

A primeira referência do gênero foi feita no Species Plantarum por Linnaeus em 1753 que incluiu 53 espécies. As espécies de *Mimosa* são herbáceas, subarbustivas, arbustivas, arbustivo-escandentes ou, raramente, arbóreas, armadas ou inermes (SILVA, 2008).

Algumas de suas espécies são utilizadas popularmente para o tratamento de doenças com ação sedativa, antidiarréica, antiinflamatória, expectorante (contra bronquite e tosse) e com ação narcótica (OLIVEIRA, 2011). O quadro 1 apresenta os principais constituintes químicos de espécies do gênero *Mimosa* L.

**Quadro 1:** Constituintes químicos de algumas espécies do gênero *Mimosa* L.

<b>Compostos</b>	<b>Espécies</b>	<b>Referências</b>
<b>SAPONINA</b>		
Mimosideo A	<i>M. tenuiflora</i> / <i>M. hamata</i>	ANTON et al., 1993
Mimosideo B	<i>M. tenuiflora</i> / <i>M. hamata</i>	ANTON et al., 1993
Mimosideo C	<i>M. tenuiflora</i> / <i>M. hamata</i>	ANTON et al., 1993
<b>ESTEROIDE</b>		
Beta – sitosterol	<i>M. tenuiflora</i> / <i>M. hamata</i> / <i>M. pudica</i>	NUNES, 2008
Daucosterol	<i>M. pudica</i>	NUNES, 2008
Esfignosterol	<i>M. tenuiflora</i>	ANTON et al., 1993
Campostero	<i>M. tenuiflora</i>	ANTON et al., 1993
Sitosterol	<i>M. invisa</i>	NUNES, 2008
<b>DITERPENO</b>		
Labdano -8 (17)-en-15-ol	<i>M. hostilis</i>	FUKUYAMA, 1999
Labdano -8 -15 – diol	<i>M. hostilis</i>	FUKUYAMA, 1999
<b>ALCALOIDE</b>		
<i>N,N</i> – dimetil-triptamina (DMT)	<i>M. hostilis</i>	PACHTER, 1959
<i>N</i> -metil- triptamina	<i>M. scrabella</i> / <i>M. somnians</i> / <i>M. ophthalmocentra</i>	NUNES, 2008
Triptamina	<i>M. scrabella</i> / <i>M. somnians</i> /	NUNES, 2008
5-hidroxitriptamina (5HT)	<i>M. tenuiflora</i>	MECKES-LOZOYA. 1990
<b>BENZENOIDE</b>		
Ácido gálico	<i>M. hamata</i>	NUNES, 2008
Ácido gentísico	<i>M. pudica</i>	NUNES, 2008
<b>FLAVONOIDES</b>		
(2R,3R) – 5,7,2',5' – tetrahidroxiflavan-3-ol (pinocembrina)	<i>M. pudica</i>	CRUZ, 2013
5 -7-di-hidroxiflavanona	<i>M. paraibana</i>	CRUZ, 2013
Flavonolignana	<i>M. artemisia</i>	CRUZ, 2013

TRITERPENO		
Friedelina	<i>M. ribicualis</i>	ANTON et al., 1993
Lupeol	<i>M. tenuiflora/ M. invisa</i>	ANTON et al., 1993

### 3.3 Considerações sobre a espécie *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir.

*Mimosa tenuiflora* (Will) Poir é uma espécie encontrada no Brasil, muito presente em regiões que apresentam secas periódicas como a Caatinga. A espécie apresenta altura de 2 a 6 metros, tronco levemente inclinado revestido de casca de cor castanho escuro, apresenta também ramos novos de pelos viscosos. Suas folhas são pequenas e estão dispostas de forma alternada, a planta possui espinhos e está bem adaptada a climas secos, suas flores são de cor branca a creme e seu fruto é do tipo vagem craspédio, como mostra a figura 1 (BRAGA, 1989; LORENZI, 2002; QUEIROZ, 2009).



Fonte: <http://www.tropicos.org/ImageSearch.aspx>

**Figura 1:** Imagem de folhas e flores da *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir.

*Mimosa tenuiflora* (Will) Poir, está presente em vários países da América, como: México, El salvador, Honduras, Panamá, Colômbia, Venezuela e Brasil, como mostra a distribuição geográfica representada na figura 2 (SOUZA, 2008). No Brasil está presente em praticamente todo nordeste, principalmente nos estados do Ceará,

Piauí, Paraíba, Pernambuco, Rio grande no Norte, Alagoas, Sergipe e Bahia (LORENZI, 2002).



Fonte: <http://www.tropicos.org/ImageSearch.aspx>

**Figura 2:** Distribuição geográfica de *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir no mundo, representada pelos pontos brancos.

A espécie em destaque apresenta uma série de sinônimos, que são eles: *Mimosa hostilis* (Mart.) Benth., *Acacia hostilis* Mart., *Acacia tenuiflora* Willd., *Acacia tenuifolia* (L.) Willd., *Mimosa cabrera* H. Karst., *Mimosa limana* Rizzini e *Mimosa nigra* Huber. (STEVENS, 2001; LEWIS, 1987; GREYER, 1988; BRITTON, 1928) é popularmente conhecida como “Jurema preta” ou “Calumbi”, o Quadro 2 mostra a taxonomia da espécie (LIMA, 2006; CRONQUIST, 1981).

A casca do caule é utilizada popularmente como fins medicinais para o tratamento de acne, inflamações, infecções e queimaduras. A casca da raiz é utilizada ao longo dos anos para fins religiosos (MAIA, 2004). No nordeste brasileiro tribos indígenas fazem uso do “vinho da jurema” ou “ajucá” devido a sua atividade psicoativa. A substância responsável por essa atividade psicoativa é o alcaloide *N,N* – dimetiltriptamina (DMT) (SOUZA, 2008). Para fins psicoativos a raiz é utilizada na forma de fumaça inalatória por meio de um cachimbo, já que é inativada quando administrada por via oral (ALBUQUERQUE, 2006).

Em estudos fitoquímicos anteriores, além de alcaloides, foram também encontrados flavonoides (DOMINGUEZ et al., 1989), Diterpenos (FUKUYAMA et al.,

1999), Saponinas, Mimosídeos (OHSAKI et al., 2006), esteróides e terpenos (ANTON et al., 1993).

*Mimosa tenuiflora* é muito utilizada como alimento para bovinos no período de seca na Caatinga, seu caule é utilizado para produção de madeiras, lenhas e carvão, sendo consideradas de excelente qualidade, suas cascas são empregadas para curtir couro (BRAGA, 1989; GOMES, 1977).

Jurema preta é popularmente utilizada para o tratamento de infecções (HEINRICH et al., 1992), queimaduras e lesões (TELLEZ et al., 1990), e atividade antimicrobiana (LOZOYA et al., 1989; MECKES-LOZOYA et al., 1990), também já foram relatados usos contra a perda de cabelo, dores de cabeça, e dor de dente; problemas de estômago como: acidez, gastrite, úlceras duodenais e pépticas, colite, e hemorroidas, como também herpes, acne e doenças parasitárias (CAMARGO-RICALDE, 2000).

Vários estudos farmacológicos utilizando extratos ou substâncias isoladas de *Mimosa tenuiflora* foram realizados nos últimos anos, dentre os mais destacados estão:

- ✓ Atividade antiprotozoária contra *Entamoeba histolítica* e *Giardia lamblia*, nos quais foram testadas o extrato e oito flavonoides, incluído as tenuiflorinas B e C, os resultados foram moderados (BAUTISTA et al., 2011)
- ✓ Ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, nos quais foram testados os extratos. O resultado demonstrou ação antimicrobiana frente à cepa estudada (BEZERRA et al., 2009; PADILHA et al., 2010).
- ✓ Atividade antinociceptiva, testando o extrato aquoso das folhas (OLIVEIRA, 2011).
- ✓ Atividade antioxidante, anticolinesterásica, antiinflamatória (CRUZ, 2013).

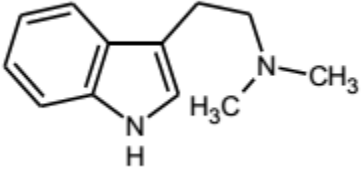
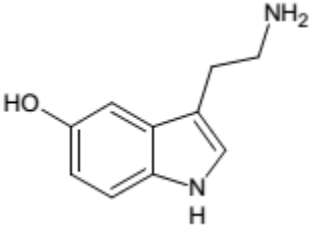
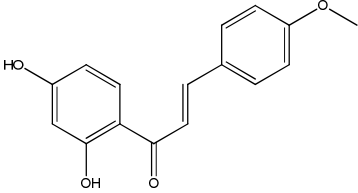
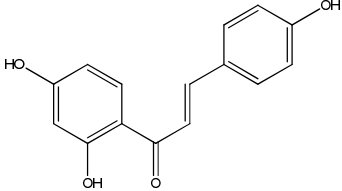
**Quadro 2** :Taxonomia da espécie *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir

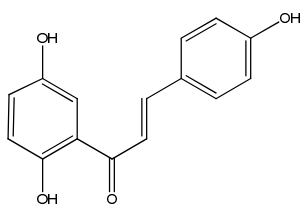
- **Reino:** Plantae
- **Filo:** Tracheophyta
- **Classe:** Equisetopsida C. Agardh
- **Subclasse:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **Super ordem:** Rosanae Takht.
- **Ordem:** Fabales Bromhead
- **Família:** Fabaceae Lindl.
- **Gênero:** *Mimosa* L.
- **Nome científico:** *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir

Disponível em: <http://www.tropicos.org>. Acesso: 20/12/16.

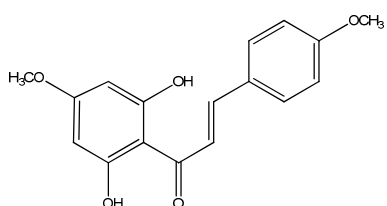
Estudos fitoquímicos realizados em algumas espécies do gênero *Mimosa* L., mostram a ampla distribuição dos metabólitos secundários isolados, o quadro 3 mostra as principais classes isoladas e os principais ativos.

**Quadro 3:** Constituintes químicos isolados da *Mimosa tenuiflora* (Will) Poir

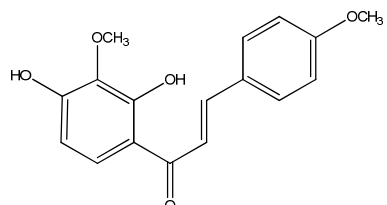
Compostos	Referencias
<b>ALCALOIDE</b>	
 <p data-bbox="295 705 718 750"><b>N,N – dimetil-triptamina (DMT)</b></p>	<p data-bbox="997 560 1189 593">PACHTER,1959</p>
 <p data-bbox="327 1120 686 1153"><b>5-hidroxitriptamina (5HT)</b></p>	<p data-bbox="933 1008 1244 1041">MECKES-LOZOYA, 1990</p>
<b>CHALCONAS</b>	
 <p data-bbox="255 1624 758 1668"><b>2',4' -Di-hidroxi -4 - metoxichalcona</b></p>	<p data-bbox="997 1500 1181 1534">OHSAKI, 2006</p>
 <p data-bbox="311 1982 702 2027"><b>2',4',4 –Tri-hidroxi-chalcona</b></p>	<p data-bbox="997 1904 1181 1937">OHSAKI, 2006</p>



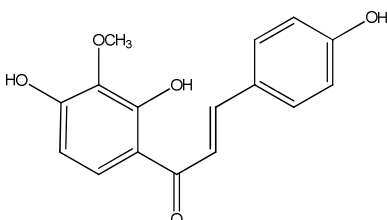
OHSAKI, 2006

**2',5',4 -Tri-hidroxicalcona**

OHSAKI, 2006

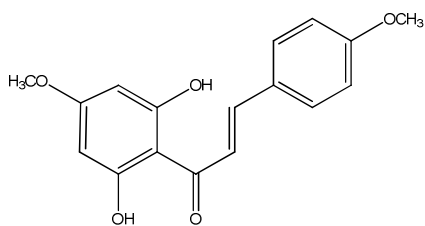
**2',6' -Di-hidroxi - 4',4 Dimetoxicalcona**

DOMINGUEZ, 1989

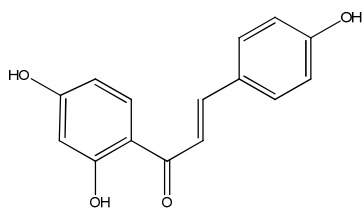
**2',4' -Di-hidroxi - 3',4 Dimetoxicalcona**

DOMINGUEZ, 1989

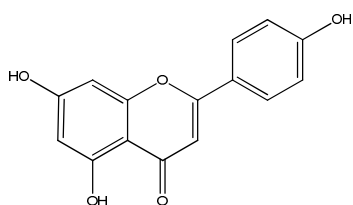
**2',4',4 -Tri-hidroxi - 3' - metoxicalcona**



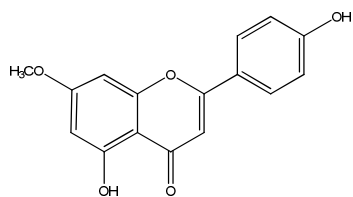
OHSAKI, 2006

**2',6' -Di-hidroxi -4',4 Dimetoxichalcona**

OHSAKI, 2006

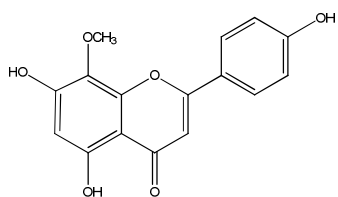
**2',4',4' -Tri-hidroxichalcona****FLAVONAS**

OHSAKI, 2006

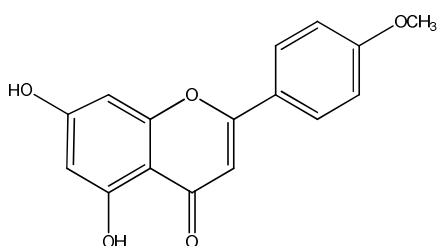
**5,7,4' –Tri-hidroxi-flavona  
(apigenina)**

OHSAKI, 2006

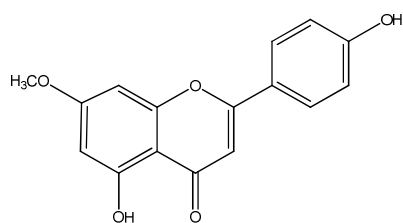
**5,4' - di-hidroxi – 7- metoxi-flavona**



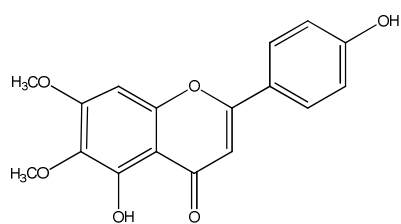
OHSAKI, 2006

**5,7,4' – tri-hidroxi-8-metoxi-flavona**

OHSAKI, 2006

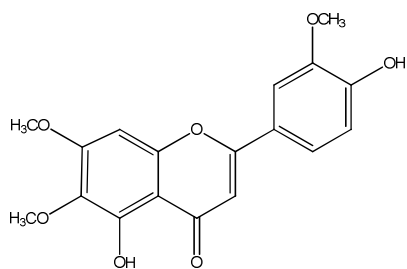
**5,7 - di-hidroxi – 4'- metoxi-flavona**

NUNES, 2009

**5,4' - di-hidroxi – 7- metoxi-flavona**

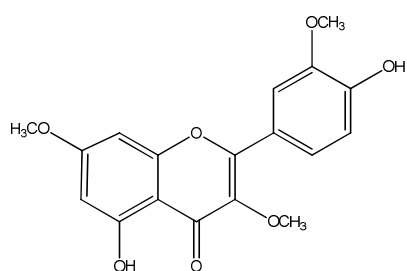
NUNES, 2009

**5,4' - di-hidroxi – 6,7- di-metoxi-flavona**



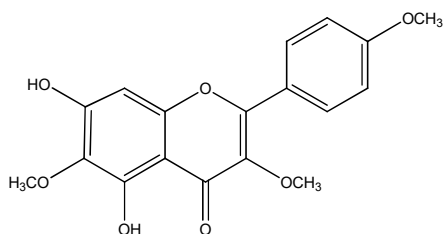
NUNES, 2009

**5,4' - di-hidroxi – 6,7,3'- tri-metoxi-  
flavona**



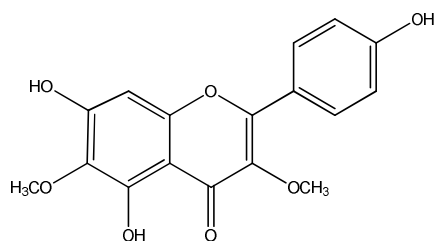
NUNES, 2009

**5,4' - di-hidroxi – 7,3,3'- tri-metoxi-  
flavona**



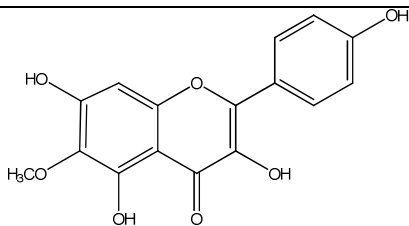
NUNES, 2009

**5,7 - di-hidroxi – 6,3,4'- tri-metoxi-  
flavona**

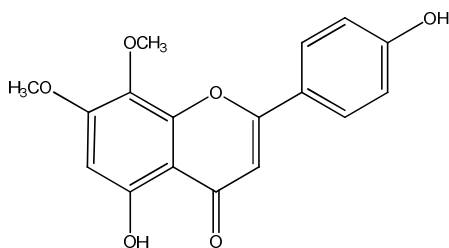


BAUTISTA et al. 2011

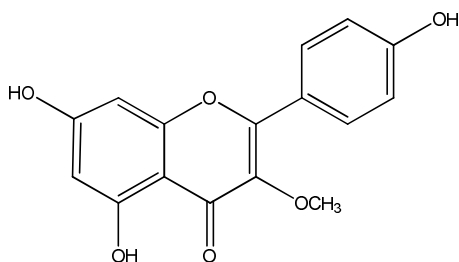
**5,7,4' – tri-hidroxi-6,3-di-metoxi-flavona**



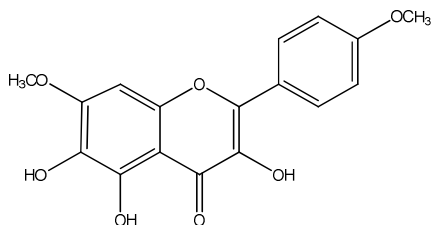
BAUTISTA et al. 2011

**5,7,3,4' – tetra-hidroxi-6-metoxi-flavona**

CRUZ, 2013

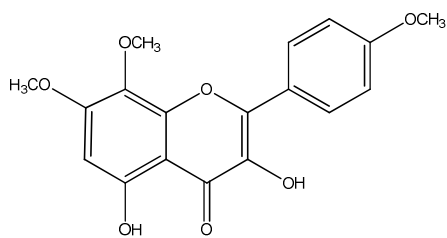
**5,4' - di-hidroxi – 7,8- di-metoxi-flavona**

CRUZ, 2013

**5,7,4' – tri-hidroxi-3-metoxi-flavona**

CRUZ, 2013

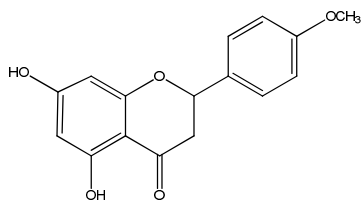
**5,6,3 – tri-hidroxi-7,4'-di-metoxi-flavona**



CRUZ, 2013

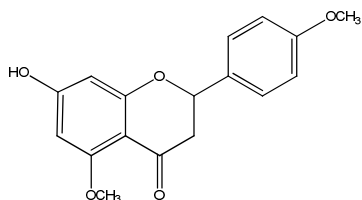
**5,3 - di-hidroxi – 7,8,4'- tri-metoxi  
flavona**

### FLAVANONAS



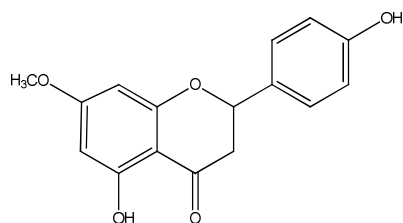
OHSAKI, 2006

**5,7 - di-hidroxi – 4'- metoxi-flavanona**



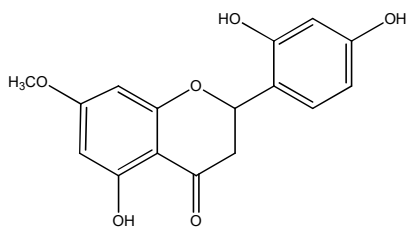
OHSAKI, 2006

**7 - hidroxi – 5, 4'- di-metoxi-flavanona**

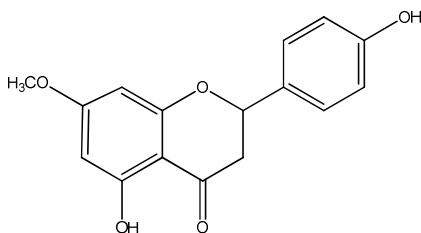


OHSAKI, 2006

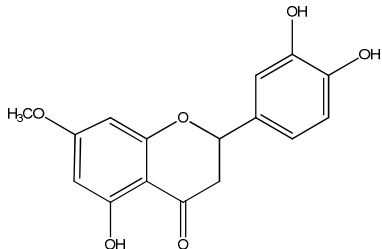
**5,4' - di-hidroxi – 7- metoxi-flavanona**



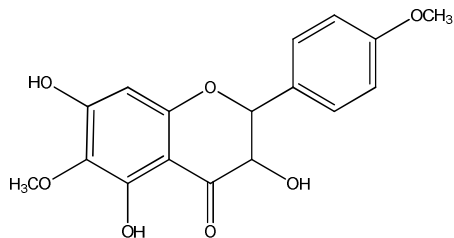
OHSAKI, 2006

**5,2',4' – tri-hidroxi-7-metoxi-flavonona**

NUNES, 2009

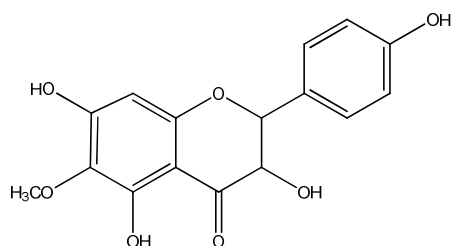
**5,4' - di-hidroxi – 7- metoxi-flavanona**

NUNES, 2009

**5,3',4' – tri-hidroxi-7-metoxi-flavonona**

BAUTISTA et al. 2011

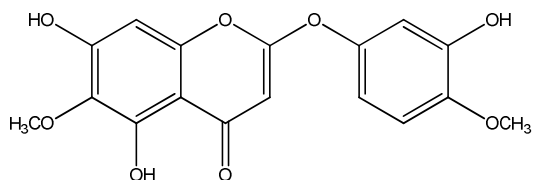
**5,7,3 – tri-hidroxi-6,4'- di- metoxi  
flavonona**



BAUTISTA et al. 2011

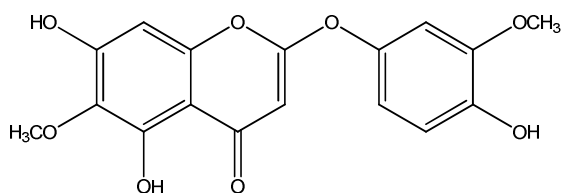
**5,7,3,4' – tetra-hidroxi-6- metoxi  
flavonona**

### FENOXICROMONAS



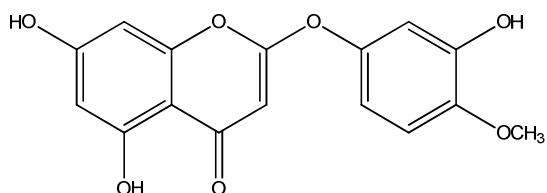
LEON, 2004

**Tenuiflorina A**



LEON, 2004

**Tenuiflorina B**



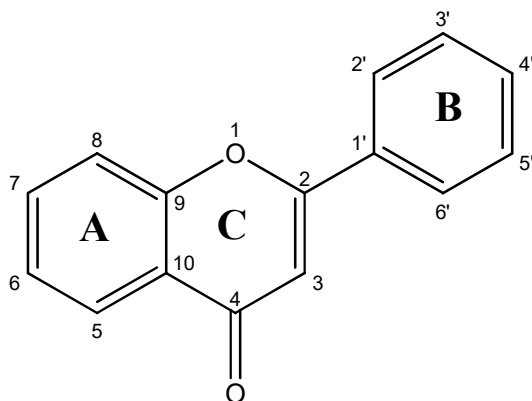
LEON, 2004

**Tenuiflorina C**

### 3.4 Metabólitos secundários de *Mimosa tenuiflora*

#### 3.4.1 Flavonoides

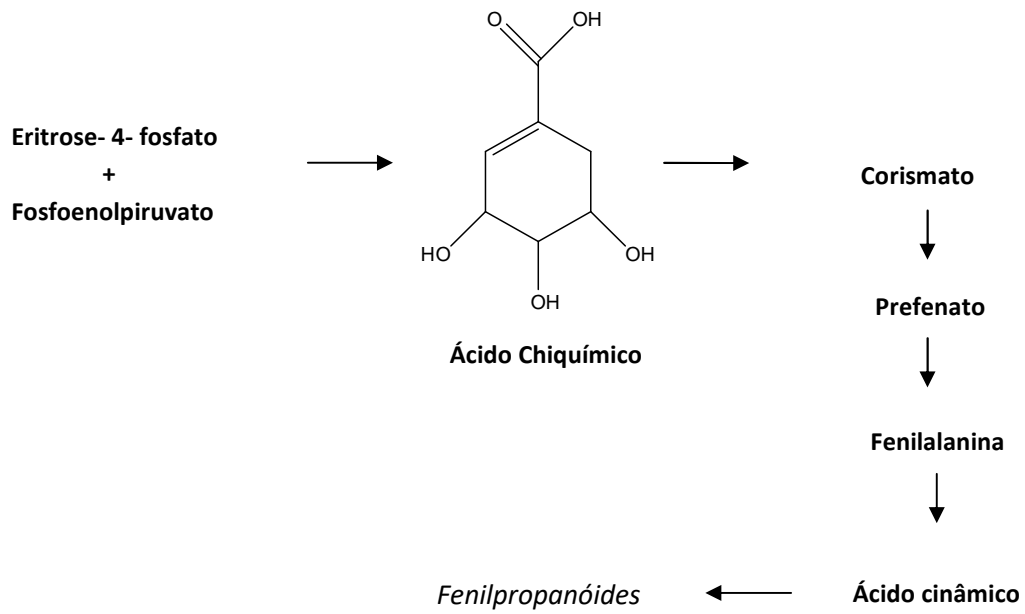
Os flavonoides são metabólitos secundários que apresentam a estrutura básica (Figura 3) com quinze átomos de carbonos, arranjados em três anéis, sendo dois anéis aromáticos (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Os dois anéis aromáticos são classificados como A e B, entre esses dois anéis se localiza o anel C, formado por uma estrutura de três carbonos (SILVA, 2003). Os Flavonoides são hidroxilados e podem conter substituintes metoxilados ou podem ser glicosilados (NUNES, 2009).



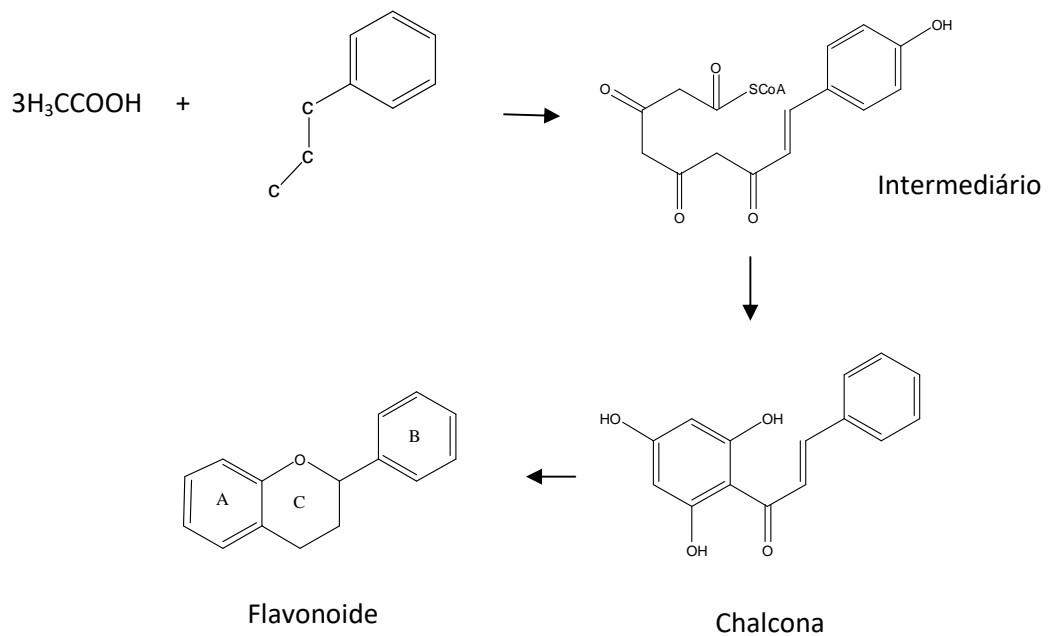
**Figura 3:** Estrutura química dos flavonoides

Os flavonoides são considerados um dos grupos mais importantes e diversificados dos produtos de origem vegetal, derivados de substâncias polifenólicas e amplamente encontrados em tecidos vasculares das plantas, incluído: frutas, pólen, raízes e caules (MACHADO, 2008; NUNES, 2009).

Os flavonoides são biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides (Figura 4) e formados da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via metabólica do ácido chiquímico) e ácido acético (SIMÕES, 2000). Um derivado do ácido cinâmico (fenilpropano), sintetizado a partir do ácido chiquímico, age como precursor na síntese de um intermediário, ao qual são adicionados três resíduos de acetato com posterior ciclização da estrutura, as posteriores hidroxilações e reduções produzem as diferentes formas de flavonoides (Figura 5) (NUNES, 2009; SILVA, 2003).



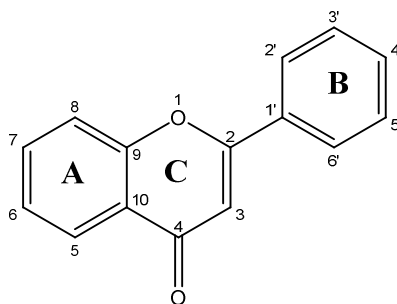
**Figura 4:** Rota Biosintética de compostos fenólicos



**Figura 5:** Biossíntese de flavonoides

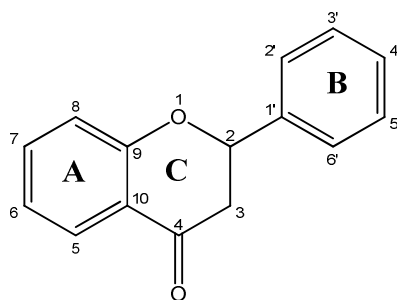
Há várias classes de flavonoides que diferem entre si no nível de oxidação da molécula e no modelo de substituição do anel C. Entre as classes mais importantes temos: flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, flavonol, flavana e antocianidinas (NUNES, 2009).

- a) **Flavonas:** caracterizada pela presença da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 e ausência da hidroxila na posição 3.



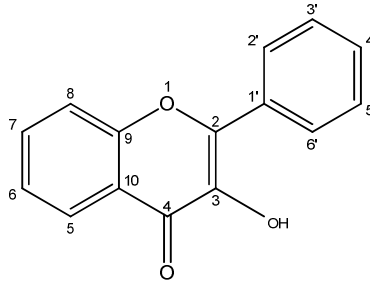
**Figura 6:** estrutura básica da flavona

- b) **Flavanonas:** caracterizada pela presença da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 e ausência da hidroxila na posição 3.



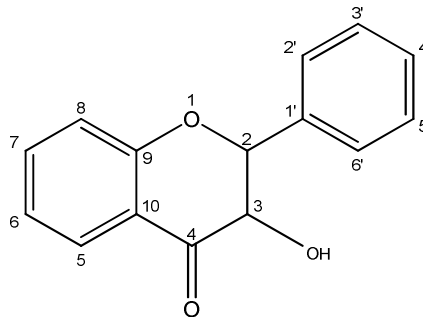
**Figura 7:** estrutura básica da flavanona

- c) **Flavonol:** caracterizada pela presença da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 e presença da hidroxila na posição 3.



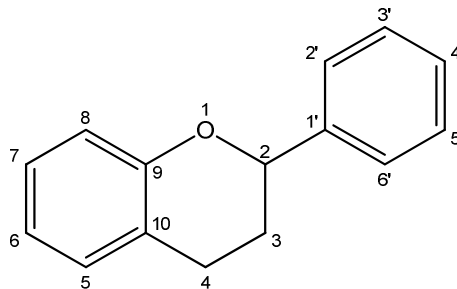
**Figura 8:** estrutura básica do flavonol

- d) **Flavanonol:** caracterizada pela ausência da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 e presença da hidroxila na posição 3.



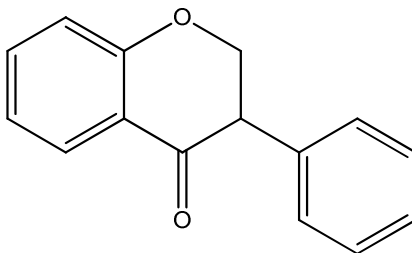
**Figura 9:** estrutura básica do flavanonol

- e) **Flavana:** caracterizada pela ausência da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 e do grupo cetona no anel C.



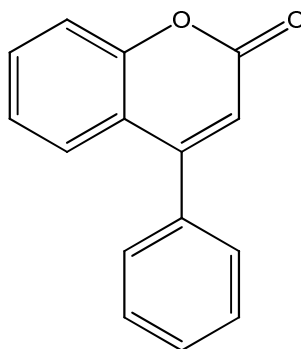
**Figura 10:** estrutura básica da flavana

f) **Isoflavonoide:** o núcleo B se liga ao anel C na posição 3



**Figura 11:** estrutura básica do isoflavonoide

g) **Neoflavonoide:** quando o anel B se liga ao núcleo C através da posição 4

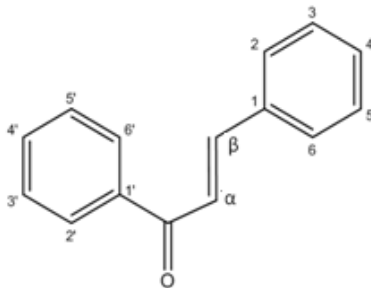


**Figura 12:** estrutura básica do neoflavonoide

As principais funções biológicas dos flavonoides são: antimicrobiana, antioxidante, antitumoral e antiinflamatória (MECKES-LOZOYA, 1990)

### 3.4.2 Chalconas

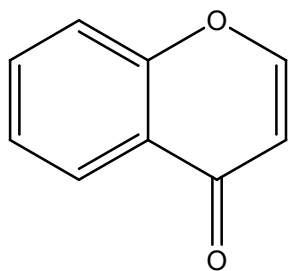
São intermediários essenciais na biossíntese dos flavonoides, normalmente apresentam coloração amarela. São definidas como cetonas aromáticas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas, formadas por 2 anéis benzênicos, interligados por uma ponte de 3 carbonos (CRUZ, 2013). Diferente dos flavonoides as chalconas não possuem anel pirânico.



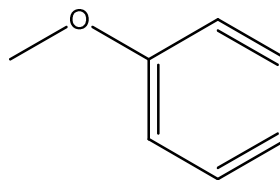
**Figura 13:** estrutura básica das chalconas

### 3.4.3 Fenoxicromonas

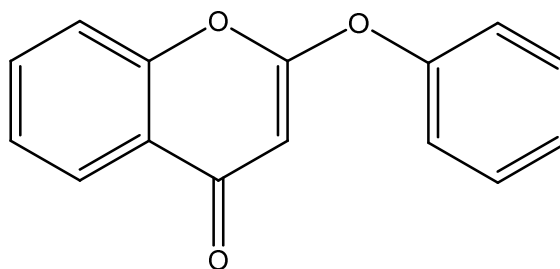
Também conhecidos como flavonoides atípicos são formados pela junção de um grupamento fenoxi e um grupamento cromona.



Cromona



Fenoxi



**Figura 14:** estrutura básica das fenoxicromonas

### **3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Técnica instrumental rápida e não destrutiva utilizada para a determinação estrutural de substâncias baseada na espectroscopia de absorção, indispensável principalmente para os químicos. Sob condições apropriadas em um campo magnético, uma amostra pode absorver radiação eletromagnética na região de radiofrequência, em uma frequência dependente das características estruturais da amostra, essa absorção é função de alguns núcleos da molécula (SILVERSTEIN, 2007).

O espectro de RMN nada mais é do que o registro gráfico das frequências dos picos de absorções versus sua intensidade, que auxilia na determinação do esqueleto carbono – hidrogênio. Hoje podem ser realizados RMN de hidrogênio, carbono treze, nitrogênio quinze, flúor dezenove, e fósforo trinta e um, entre outros (PAVIA, 2010).

### **3.6 Espectroscopia de Infravermelho (IV)**

Espectroscopia de absorção quantizada em que a energia absorvida pela molécula se encontra na região do infravermelho vibracional ( $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ), pode ser utilizada para identificar compostos e investigar a composição de uma amostra. Baseia-se no fato de as ligações químicas das substâncias apresentarem frequência de absorções específicas. Quando essas moléculas absorvem radiação no infravermelho, são excitadas para atingir seu estado de maior energia e vibram com energias específicas, sendo possível a identificação dos grupamentos (SILVERSTEIN, 2007; PAVIA, 2010).

### **3.7 Atividade biológica dos compostos isolados**

#### **3.7.1 leishmaniose**

As leishmanioses são um complexo de doenças tropicais endêmicas, infecto-parasitárias, não contagiosas, causadas pelo protozoário do gênero *Leishmania*. O

gênero é classificado filogeneticamente na família dos tripanossomatídeos, com cerca de trinta espécies conhecidas, divididas nos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* (FRAGA et al., 2010).

Doença tropical considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a segunda doença protozoária mais comum do mundo, com morbidade e mortalidade extensa na maioria dos países em desenvolvimento e que pode apresentar manifestações clínicas nas formas tegumentar e visceral (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Elas estão inseridas dentro do grupo de “Doenças Tropicais Negligenciadas”, as quais atingem principalmente a parte da população com condições socioeconômicas desfavoráveis. Acometem as populações pobres da Ásia, África e América Latina, levando a óbito cerca de dois milhões e meio de pessoas por ano em todo o mundo (LINDOSO, 2009; DAVID; CRAFT, 2009; FEASEY et al., 2010; WHO, 2015).

Patologia negligenciada que compõe um problema de saúde pública devido a incidência, ampla distribuição geográfica e presença de seqüelas desfigurantes, destrutivas e incapacitantes (RAZERA; BLANCO; BONAMIGO, 2005). No Brasil é encontrada a maior prevalência de todo continente Americano, estimando-se 65.000 novos casos por ano (MOTA; MIRANDA, 2011).

*Experimental*

---

## **4 EXPERIMENTAL**

### **4.1 Levantamentos Bibliográficos**

O levantamento bibliográfico para realização deste trabalho foi realizado nos bancos de dados Chemical Abstracts, Web of Science, Science Direct, Scopus, Biological Abstract, NAPRALERT (Natural Products Alert), Scifinder, Google acadêmico, entre outros, dos anos de 1900 a 2016.

### **4.2 Coleta e identificação do material botânico**

A coleta do material vegetal da espécie *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir, foi realizada na reserva legal do Assentamento “cachoeira” localizado no município de São José de Espinharas no sertão do estado da Paraíba no ano de 2011, no sertão do estado da Paraíba nas seguintes coordenadas geográficas: 6°48'33,11”, 6°47'09,94” de latitude sul, e 37°19'53,64”, 37°19'23,66”, de latitude oeste, distando aproximadamente 6 km de distância da zona urbana do referido município e a 32,6km de Patos - Paraíba.

Em seguida foi identificada pelo Engenheiro florestal – Dr. Pierre Farias de Souza, do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande – Campus: Patos, sendo uma exsicata depositada no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR/UFCG) sob o número 2.259.

### **4.3 Processamento da planta**

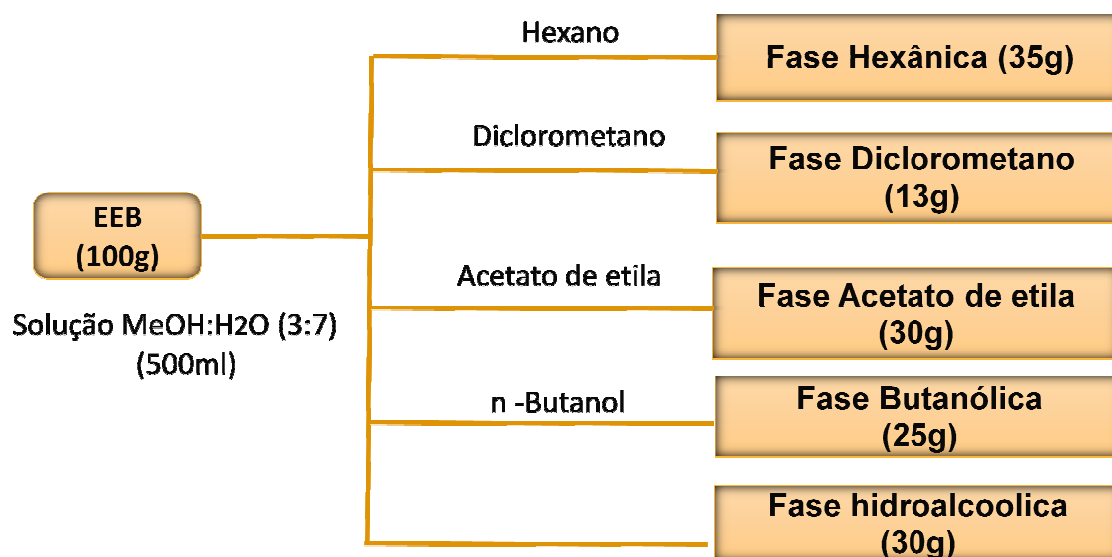
No Centro de Biotecnologia (CBiotec) da UFPB, 1,22kg do materiais vegetal (folhas e galhos) foram separados e secos em estufa com ar circulante à temperatura de 40-45 °C, e em seguida triturados e moídos em moinho mecânico. Os pós obtidos foram submetidos à maceração com etanol a 95% por três dias consecutivos. Após extração exaustiva, as soluções extrativas foram concentradas

em rotaevaporador sob pressão reduzida a temperatura de 40-45°C obtendo-se o extrato bruto (292,62 g).

#### 4.4 Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas e galhos

Uma porção de 100g do extrato etanólico bruto foi solubilizado em uma solução de 500 mL de MeOH:H<sub>2</sub>O (3:7) e homogeneizado sob agitação mecânica, obtendo-se uma solução hidroalcoólica que foi particionada em funil de separação, segundo um gradiente crescente de polaridade, com os solventes orgânicos: hexano (2100mL), diclorometano (1020mL), acetato de etila (2500ml) e n-butanol (500mL), para obtenção de suas respectivas fases e a fase hidroalcoólica.

**Esquema 1:** Partição líquido – líquido para obtenção de fases fracionadas



#### 4.5 Avaliação fitoquímica preliminar dos constituintes químicos

A triagem fitoquímica preliminar foi realizada com o EEB, com a intenção de avaliar as possíveis naturezas químicas dos compostos presentes, utilizando a metodologia indicada por Matos (1997). Os resultados estão descritos no quadro 4 abaixo:

**Quadro 4** : Resultados da triagem fitoquímica do EEB de *Mimosa tenuiflora*.

Grupo químico	Reagente	Resultados
Flavonóides	Shinoda	+++
Alcalóides	Bouchardat Dragendorff	++
Taninos	Cloreto férrico 2%	+
Saponinas	Teste de espuma	+

Legenda: reação negativa (-), reação fracamente positiva (+), reação positiva (++) , reação fortemente positiva (+++).

#### 4.6 Métodos cromatográficos

Os métodos cromatográficos utilizados para separação e isolamento dos constituintes químicos foram: Cromatografia de adsorção em coluna (CC), utilizando como fase estacionária a sílica gel, ART 7734 da MERCK de partículas com demissões entre 0,063-0,200 mm. A dimensão e comprimento da coluna dependiam da quantidade de material a ser cromatografado.

O acompanhamento das frações e compostos obtidos das colunas, foram realizados utilizando a Cromatografia de Camada Delgada Analítica (CCDA) utilizando sílica gel PF254 (ART 7749 da MERCK). Para revelação das placas foram utilizados indicadores fluorescentes e reveladores físicos como a lâmpada UV de curto e longo comprimento de onda (254 -366nm), por meio de um aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL – 58.

Como fase móvel foram utilizados tanto na CC como na CCDA os solventes orgânicos com alto grau de pureza: hexano, diclorometano ou clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias sempre seguindo o gradiente crescente de polaridade.

#### 4.7 Métodos espectroscópicos

##### 4.7.1 Espectroscopia de Infravermelho (IV)

As análises de infravermelho foram obtidas na região 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  utilizando o espectrofotômetro da marca SHIMADZU, modelo IRPrestige 21,

localizado no CBIOTEC/UFPB. Os espectros foram registrados em pastilhas de KBr, utilizando de 1 a 3 mg da amostra, tendo a frequência medida em  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.7.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de RMN foram realizadas no espectrofotômetro de marca VARIAN-NMR-SYSTEM operando em uma frequência de 200MHz ou 500MHz para a análise de RMN de  $^1\text{H}$  e 50 MHz ou 125 MHz para a análise de RMN de  $^{13}\text{C}$ , localizados no Núcleo de Caracterização e Análise (NUCAL) da UFPB. As amostras a serem analisadas foram dissolvidas em: clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e acetona deuterada ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ). Também foram utilizadas técnicas de RMN bidimensionais, conforme a necessidade: HMQC, HMBC, COSY, NOESY.

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz. As multiplicidades dos sinais de hidrogênio foram expressas como: *s* (singleto), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *m* (multiplete). Já os espectros de carbono, foram realizados pela técnica do APT e foram adotadas as seguintes conversões: os sinais de carbono não hidrogenados (C) e metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) se localizaram acima da linha base e os sinais de carbono metínicos (CH) e metílicos ( $\text{CH}_3$ ), se localizaram abaixo da linha base.

#### 4.8 Ponto de fusão

O ponto de fusão das substâncias isoladas foi medido utilizando o fusiômetro digital, modelo: MQAPF -302, com variação de temperatura na faixa de 25 – 350°C.

#### 4.9 Isolamento e purificação dos constituintes químicos

Parte da fase diclorometano (13g) foi submetida a filtração sob vácuo utilizando-se sílica como adsorvente e solventes orgânicos ( hexano, acetato de etila e metanol) puros e em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Desse processo foram obtidos 20 frações de 400ml cada, que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e quando semelhantes, foram reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos e fator de retenção ( $R_f$ ), o que resultou em 13 grupos (Quadro 5).

**Quadro 5:** Frações obtidas da filtração a vácuo e sistemas de solventes utilizados

Fração	Sistema de eluição	Sistema de proporção
1 e 2	Hexano	100%
3	Hex: AcOEt	80:20 v/v
4	Hex: AcOEt	70:30 v/v
5	Hex: AcOEt	60:40 v/v
6	Hex: AcOEt	50:50 v/v
7	Hex: AcOEt	40:60 v/v
8	Hex: AcOEt	30:70 v/v
9	Hex: AcOEt	10:90 v/v
10	AcOEt	100%
11	AcOEt:MeOH	97:3 v/v
12	AcOEt:MeOH	95:5 v/v
13	AcOEt:MeOH	92:8 v/v
14	AcOEt:MeOH	89:12 v/v
15	AcOEt:MeOH	80:20 v/v
16	AcOEt:MeOH	75:25 v/v
17	AcOEt:MeOH	50:50 v/v
18	AcOEt:MeOH	30:70 v/v
19	AcOEt:MeOH	10:90 v/v
20	MeOH	100%

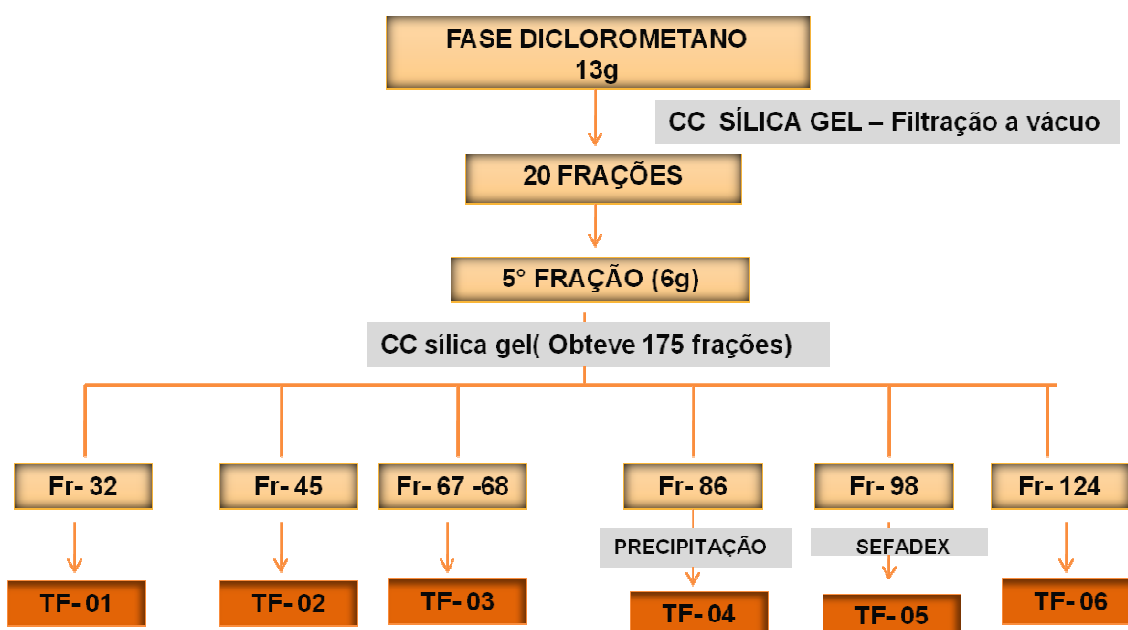
As frações reunidas foram:

- 1, 2 e 3
- 10, 11 e 12
- 14, 15 e 16
- 18 e 19

Após análise do perfil cromatográfico, a fração 5 (6g) foi a selecionada para passar pelo processo cromatográfico (CC), utilizando como fase estacionária sílica

em gel e como fase móvel solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) puros e em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Desse processo foram obtidos 175 frações (Esquema 2), que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e quando semelhantes, foram reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos e fator de retenção (Rf) (Quadro 6).

**Esquema 2:** Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano



**Quadro 6:** Frações obtidas da CC da fração 5

Sistema de eluição	Fração coletada	Fração reunida
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (90:10)	1-5	1-5
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (70:30)	6-10	6-10
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (50:50)	11-15	11-15
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (45:55)	16-19	16-19
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (40:60)	21-44	21,22-25; 26,27,28, 29-31, <b>32</b> , 33-37;40,41,42-44
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (50:50)	45-57	<b>45</b> ,46-49; 50-55, 56, 57
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (40:60)	58-62	58-62
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (30:70)	63-66	63-66
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (20:80)	67-78	<b>67-68</b> , 69, 70-72; 73-78
Hex: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (10:90)	79- 87	79-82; 83-85, 86s, <b>86p</b> , 87
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	88-92	88-90; 91-92
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt (95:5)	93- 95	
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt (90:10)	96-97	93-96, 97
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt (85:15)	98-99	98
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt (75:25)	100-129	99-103; 104, 105-106, 107-113, 114, 115-116, 117,118,119,120,121,122,123,124s, <b>124 p</b> ,125, 126-129
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt (50:50)	130-137	
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt (25:75)	138-141	130-138
AcOEt	142-144	139-143, 144
AcOEt: MeOH (95:5)	145-150	144-148
AcOEt: MeOH (90:10)	151-161	149-158
AcOEt: MeOH (50:50)	162 - 175	159-175

Na análise de CCDA a fração 32 apresentou-se como mancha única, sendo assim, a mesma foi codificada como **TF-01** (40mg). Da mesma forma a fração 45, que foi codificada como **TF-02** (5mg).

As frações 67 e 68 foram reunidas e também analisadas em CCDA, apresentou-se como uma mancha única e foi codificada como **TF-03** (4mg).

A fração 86 formou um precipitado branco que foi separado e lavado com metanol, após análise em CCDA apresentou-se como mancha única e foi codificado como **TF-04** (11,4mg).

A fração 98 apresentou-se com manchas escuras na análise de CCDA, porém apenas uma mancha se destacava e apresentava-se distante das outras, sendo assim a fração foi submetida a uma separação por CC, utilizando como fase móvel o metanol e fase estacionária o Sefadex, foram obtidas 8 frações e a fração 8 continha a substância desejada. Esta foi codificada como **TF-05** (30mg).

A fração 124 formou um precipitado branco, que foi separado e codificado como **TF-06** (20mg).

O uso em conjunto de técnicas espectrais como: IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , associadas a técnicas bidimensionais de HMBC, HMQC, NOESY E COSY, permitiu propor a estrutura das substâncias isoladas.

#### 4.10 Atividade antileishmania

O parasita *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/1967/PH8) na sua forma promastigota foi utilizado para triar a atividade antiLeishmania dos seis compostos isolados da *Mimosa tenuiflora*. Esses parasitos foram obtidos da Coleção de *Leishmania* do Instituto Oswaldo Cruz (CLIOC), os quais foram mantidos, *in vitro*, no Laboratório de Imunologia de Doenças Infecciosas da Universidade Federal da Paraíba. As formas promastigotas de *L. amazonensis* foram cultivadas em meio Schneider® (Sigma, USA), suplementado com 20% de soro fetal bovino (SBF), 2% de urina humana masculina e antibióticos (penicilina 200U/mL e estreptomicina 0.1mg/mL) (Gibco, BR), mantidos incubados em estufa de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.) a 26 °C para a realização dos testes de atividade anti-*Leishmania*.

Para tal avaliação foi utilizando o teste colorimétrico do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-zil]-2,5-difeniltetrazolio). Esse método é baseado na atividade de enzimas desidrogenases citosólicas e mitocondriais, que são capazes de reduzir o MTT (coloração amarela) e formar um produto de coloração azul, insolúvel em água, um sal de formazan. Em placa de 96 poços serão adicionados 100  $\mu\text{L}$  de meio

---

Schneider (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e cerca de  $1 \times 10^6$  promastigotas de *L. amazonensis* por poço. Posteriormente, foram adicionadas as substâncias-teste em triplicata, previamente diluídas em meio Schneider suplementado, para um volume final de 100  $\mu$ L em cada poço nas concentrações de 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,12  $\mu$ g/mL. Em seguida serão incubadas por 72 horas em estufa de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.) a temperatura de 26 °C. Ao final da incubação, foi adicionado 10  $\mu$ L de MTT diluído em PBS a uma concentração final de 5 mg/mL. Foram incubados por mais 4 h em estufa de demanda biológica de oxigênio a 26 °C, e em seguida foi adicionado 50  $\mu$ L de SDS a 10%. A placa permaneceu em overnight para dissolução do formazan e por último, foi realizado a leitura da absorvância, de cada poço, utilizando um espectrofotômetro (Biotek modelo ELx800) a 550 nm. O controle negativo foi realizado com meio Schneider suplementado a 0,2% de DMSO. O controle positivo foi realizado na presença de anfotericina B como fármaco de referência. Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidas três vezes em dias diferentes.

# Resultados e Discussão

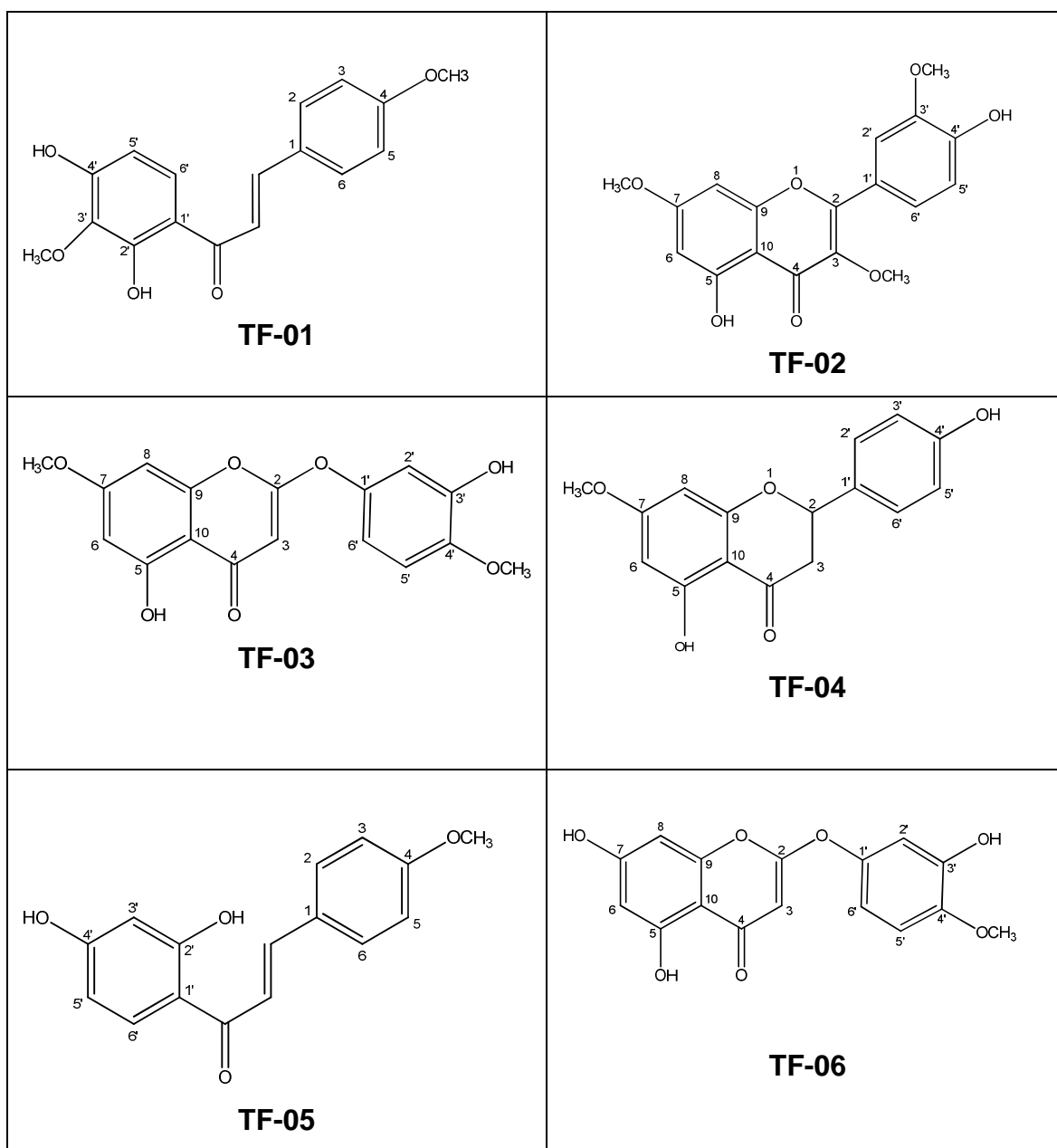
---

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação fitoquímica

O fracionamento do extrato diclorometano de *Mimosa tenuiflora* permitiu o isolamento e identificação de 6 moléculas, sendo duas chalconas, dois flavonóides e duas fenoxicromonas.

**Figura14:** Substâncias isoladas de *Mimosa tenuiflora*



## 5.2 Determinação Estrutural de TF- 01

A substância codificada como TF- 01 apresentou-se na forma de cristais de coloração amarela (Figura15), solúvel em diclorometano, peso em massa de 40mg e ponto de fusão entre: 185°C - 187°C, compatível com a literatura (RAJU et. al., 1992 e DOMINGUEZ, 1989). A mesma foi identificada utilizando dados de espectrometria de Infravermelho, RMN de Carbono 13 e Hidrogênio, uni e bidimensionais.



**Figura 15:** Amostra TF-01

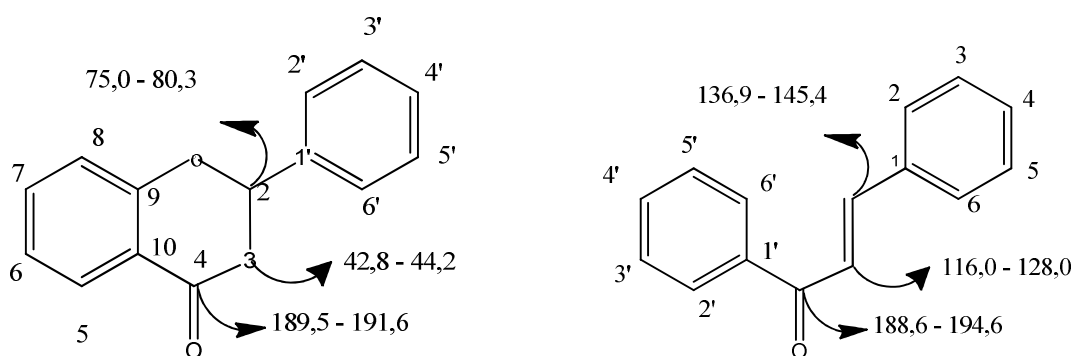
A amostra foi submetida à espectrofotometria de Infravermelho, obtendo-se o espectro ilustrado na Figura 19. Analisando-se os dados, foi possível observar sinais de hidroxila fenólica, devido à presença de uma banda de grande intensidade em  $3424\text{ cm}^{-1}$ . A banda em  $1635\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a C=O de cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada, que devido ao fato dessas bandas estarem deslocadas para uma frequência menor, sugere que a hidroxila esteja quelada, como também, que os hidrogênios  $\alpha$  e  $\beta$  estão em conformação *trans* (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010).

Ainda do espectro de infravermelho, observou-se um estiramento de C=C de anel aromático em  $1604\text{ cm}^{-1}$ , além de duas bandas fortes, uma referente ao estiramento simétrico C-O-C em  $1258\text{ cm}^{-1}$  e outra referente a um estiramento simétrico em  $1031\text{ cm}^{-1}$ , que sugere a presença de um éter arílico (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010). Foi observada também, uma banda forte em  $823\text{ cm}^{-1}$ , caracterizando que um dos anéis aromáticos encontra-se *para* substituído.

Na análise espectral dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), (Figuras 20 e 21) foram observadas 13 sinais, referentes a 15 carbonos, os sinais em  $\delta_c$  114,54 e 130,57 encontram-se dobrados, o que sugeriu a possibilidade de se

tratar de um flavonóide, já que atenderia a característica da unidade básica de um flavonóide  $C_6C_3C_6$ , sendo 7 sinais referentes a carbonos não hidrogenados, 8 metínicos, 2 metílicos.

Dados fornecidos pelo espectro de RMN de  $^{13}C$  comparados a dados da literatura de Pelter et.al.1976 e Wagner et. al. 1976 (informados abaixo), corroborou para a determinação do esqueleto estrutural da amostra TF-01.



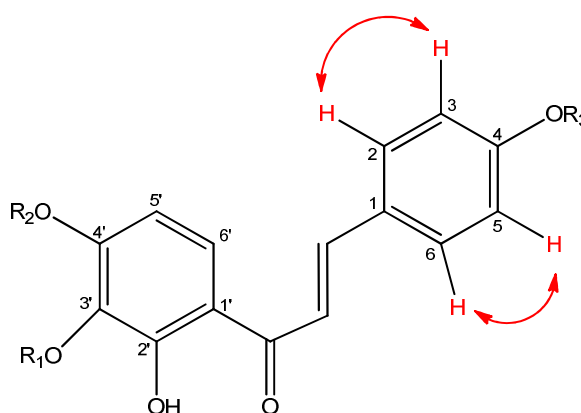
As chalconas são precursoras imediatas de flavonóides na via biosintética, se tratando de uma cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas, no qual dois anéis aromáticos estão unidos por três unidades de carbonos e geralmente apresentam coloração do amarelo ao laranja (DHAR, 1981).

Diante dessas informações, incorporada à análise do espectro de RMN de  $^{13}C$  da amostra, foi possível averiguar a presença de sinais característicos de um esqueleto estrutural de chalcona em  $\delta_c$  117,85 e 144,67 referentes aos carbonos C- $\alpha$  e C- $\beta$ , respectivamente. O sinal em  $\delta_c$  192,75, foi relacionado ao carbono carbonílico, que em geral, quando estão  $\alpha$ ,  $\beta$ - insaturados sofre blindagem, absorvendo entre 188,6 – 194,6 (NOQUEIRA, 2015). O sinal em  $\delta_c$  115,20 de carbono não hidrogenado, foi atribuído ao carbono C-1'.

Observou-se também, a presença de sinais metílicos em  $\delta_c$  55,60 e  $\delta_c$  60,94, o primeiro referente a uma metoxila estericamente desimpedida e o segundo correspondente a uma metoxila estericamente impedida, que sofre desproteção, provavelmente por estar cercada de hidroxilas. Tais hidroxilas são responsáveis pela diminuição da nuvem eletrônica ao redor da metoxila, desblindando a mesma.

Quando feita a análise de espectro de RMN de  $^1H$  e sua expansão

(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 22 e 23) evidenciou-se a presença de sinais característicos de um sistema aromático *para* dissustituído, representados por dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,59 (2H) e 6,93 (2H), correspondentes aos pares de hidrogênio H2' / H6' e H3' / H5', acoplados através da integração spin-spin em *orto* ( $J= 8.4$  Hz) formado um típico sistema AA'BB', que foi confirmado pela presença de sinais intensos em  $\delta_{\text{C}}$  114,64 e 130,57, sugerindo assim, uma substituição em C4'. Além desses sinais, o espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – NOESY (Figura 29) mostrou interação entre hidrogênios vicinais 3'/5' e 2'/6', confirmando também, um sistema AA'BB' no anel B da molécula.

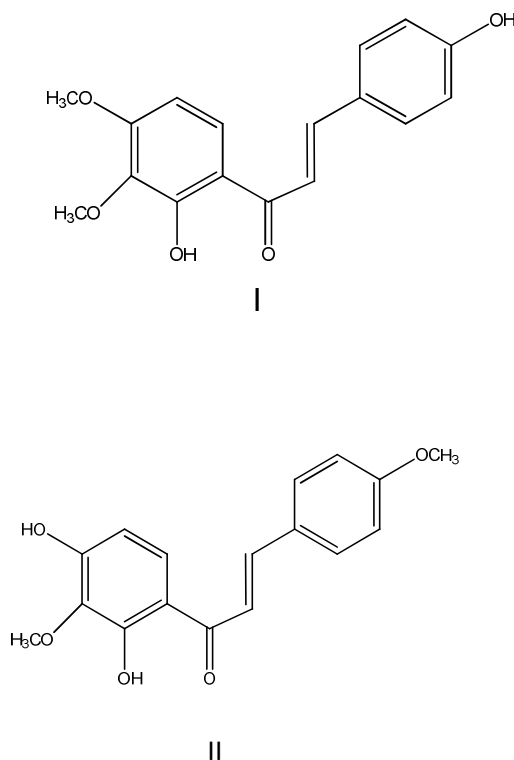


**Figura16:** Correlação de NOESY da amostra TF-01

Ainda no espectro de hidrogênio, foi observada a presença de dois singletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,85 e 4,00 referentes a duas metoxilas, confirmando os sinais observados no espectro de carbono. Dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,85 e 7,43, ambos com integral para 1 hidrogênio, foram relacionados aos hidrogênios  $\alpha$  e  $\beta$ , acoplado *trans* entre si ( $J=15,5\text{Hz}$ ).

Observou-se também dois dubletos, ambos com integral para um hidrogênio, com absorções em  $\delta_{\text{H}}$  6,53 ( $J=8,9\text{Hz}$ ) e 7,62 ( $J=8,6\text{Hz}$ ) acoplado *orto* entre si, que foram associados aos hidrogênios 5' e 6' respectivamente. A presença de um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  13,95 característico de hidroxila quelada, juntamente com os dados anteriores caracterizou a presença de um anel A tetra substituído.

A partir desses dados foram sugeridas duas estruturas:



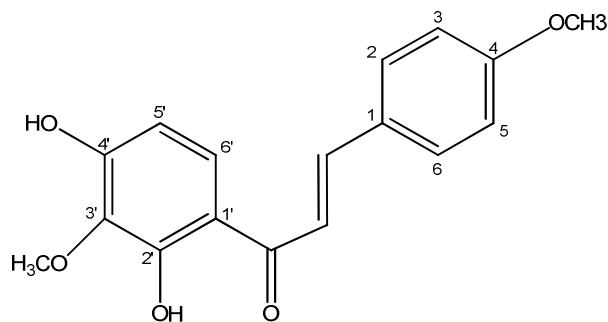
Avaliando os dados de correlação direta, observados no espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC (Figuras 24 e 25) os sinais de carbono hidrogenados  $\delta_{\text{C}}$  106,4; 114,6; 117,7; 126,4; 130,3; 144,3 foram atribuídos aos carbonos C5', C3/C5, C $\alpha$ , C6', C2/C6, C $\beta$  respectivamente. ( $\delta_{\text{H}}$  6,56 /  $\delta_{\text{C}}$  106,4 ;  $\delta_{\text{H}}$  6,93 /  $\delta_{\text{C}}$  114,6;  $\delta_{\text{H}}$  7,43 /  $\delta_{\text{C}}$  117,7;  $\delta_{\text{H}}$  7,62 /  $\delta_{\text{C}}$  126,4;  $\delta_{\text{H}}$  7,59 /  $\delta_{\text{C}}$  130,3 ;  $\delta_{\text{H}}$  7,85 /  $\delta_{\text{C}}$  144,3 ). Mostrou-se também correlação direta entre  $\delta_{\text{H}}$  3,85 /  $\delta_{\text{C}}$  55,43 e  $\delta_{\text{H}}$  4,01 /  $\delta_{\text{C}}$  60,77.

O espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC (Figuras 26, 27 e 28) mostrou correlação a duas ( $^2J$ ) ligações da hidroxila ( $\delta_{\text{H}}$  13,67) com o carbono C2' ( $\delta_{\text{C}}$  134,4) e três ligações ( $^3J$ ) com o carbono C1' ( $\delta_{\text{C}}$  115,2) e C3' ( $\delta_{\text{C}}$  157,8). A correlação ( $^3J$ ) a três ligação da metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  3,85) com o carbono 4 ( $\delta_{\text{C}}$  162) e a correlação ( $^2J$ ) a duas ligações do hidrogênio  $\delta_{\text{H}}$  6,93 como o carbono 4, sugeriu a presença da metoxila no anel B como um substituinte.

Ainda no espectro HMBC, foi observada a correlação a ( $^2J$ ) entre o hidrogênio 6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,62) com o carbono da carbonila ( $\delta_{\text{C}}$  192,0), e uma correlação a ( $^4J$ ) entre o hidrogênio da metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  4,00) com o carbono 2' ( $\delta_{\text{C}}$  134,0), que juntamente com os dados anteriores confirmam que a substância TF-01 corresponde a estrutura III.

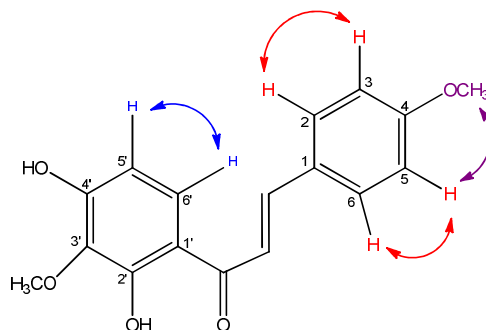
Comparação entre os dados espectrais de RMN  $^{13}\text{C}$  de TF-01 com modelos da literatura (DOMINGUEZ, 1989 e MAJUMDER, 1994) (Tabela 1) confirmam a identidade estrutural entre as substâncias, podendo afirmar que a substância TF-01,

com fórmula molecular  $C_{17}H_{16}O_5$ , se trata da substância, 2',4'-dihydroxy-3',4'-dimethoxychalcona conhecida como Kukulkanin A, isolada da espécie *Mimosa tenuiflora* pela primeira vez em 1989 por Dominguez e Garcia .



**Figura 17:** Estrutura da amostra 2',4'-dihidroxi-3',4'-dimetoxichalcona

Essa Hipótese foi confirmada ainda, com os dados espectrais de correlação homonuclear  $^1H \times ^1H - NOESY$ , ilustrado abaixo.

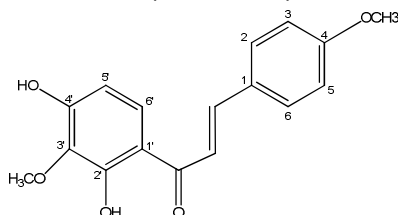


**Figura 18:** Estrutura da amostra 2',4'-dihidroxi-3',4'-dimetoxichalcona

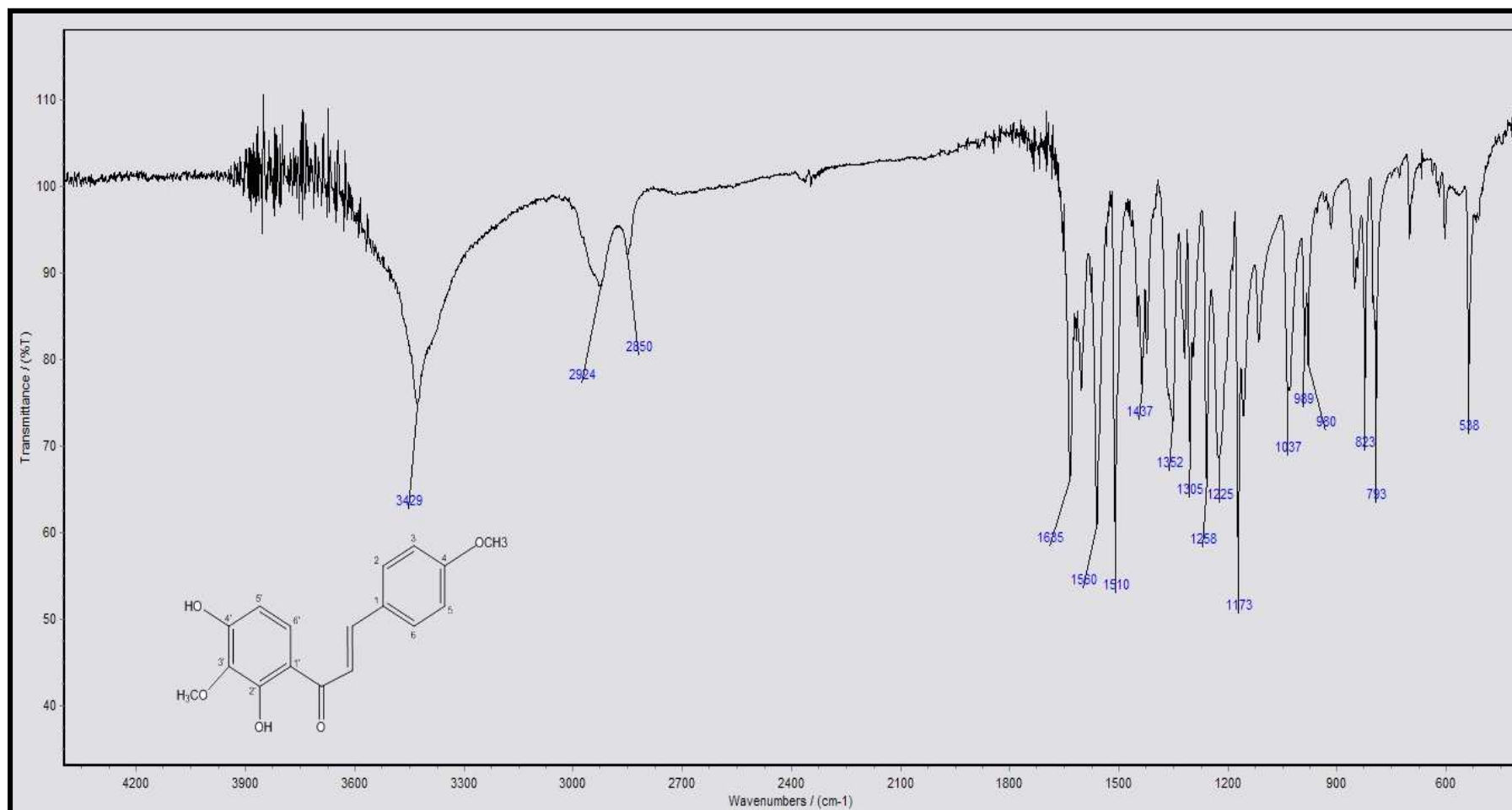
**Tabela 1:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-01** em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) e da 2',4'-dihidroxi-3',4 dimetoxichalcona ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{CDCl}_3$ ) e modelos da literatura de Dominguez, 1989 e Majumder, 1994.

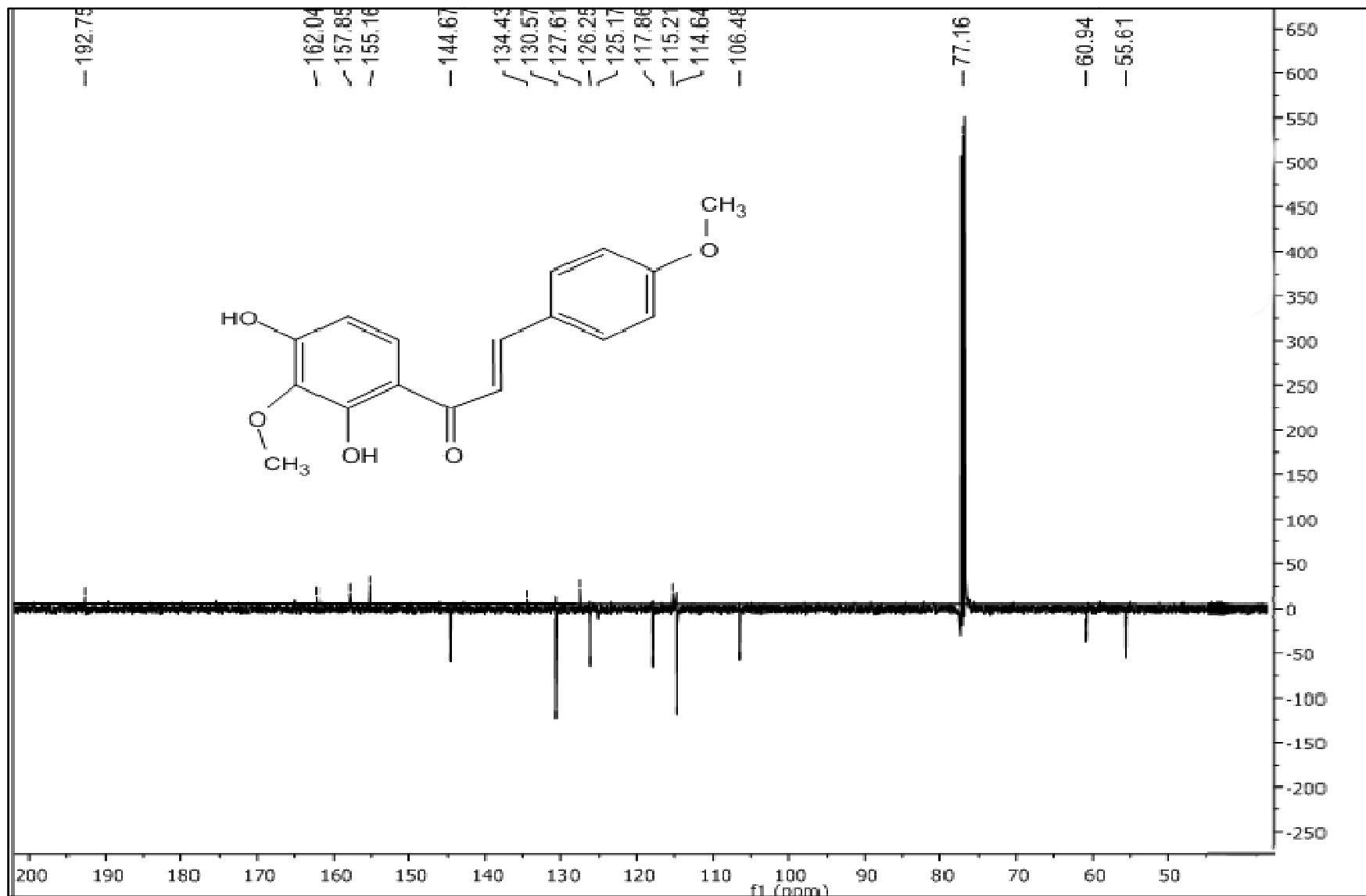
	<b>TF-01</b> ( $\text{CDCl}_3$ )	<b>Literatura</b> (Dominguez, 1989) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	<b>Literatura</b> (Majumder, 1994) ( $\text{CDCl}_3$ )			
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>1</b>	127,6	-	126,5	-	128,0	-
<b>2</b>	130,5	7,59(d), J= 8,4Hz	130,5	7,86(d), J=8,7Hz	131,5	-
<b>3</b>	114,6	6,93 (d), J= 2,1Hz	114,0	7,01 (m)	115,2	-
<b>4</b>	162,0	-	162,0	-	160,0	-
<b>5</b>	114,6	6,93 (d), J= 2,1Hz	114,0	7,01 (m)	115,0	-
<b>6</b>	130,5	7,59(d), J= 8,4Hz	130,5	7,86 (d), J=8,7Hz	131,5	-
<b>1'</b>	115,2	-	114,6	-	115,6	-
<b>2'</b>	134,4	-	134,2	-	134,2	-
<b>3'</b>	157,8	-	158,0	-	156,8	-
<b>4'</b>	155,0	-	157,0	-	155,0	-
<b>5'</b>	106,5	6,53 (d), J= 8,9Hz	107,0	6,47(d), J= 9,0Hz	106,5	-
<b>6'</b>	126,3	7,62(d), J=8,6Hz	126,7	7,60 (d), J=9,0Hz	126,3	-
<b><math>\alpha</math></b>	117,8	7,43 (d), J=15,5	118,0	7,80(d), J=15,3	119,0	-
<b><math>\beta</math></b>	144,7	7,85(d), J=15,5	143,3	7,77(d), J=15,3	144,8	-
<b>C=O</b>	192,7	-	191,4	-	193,3	-

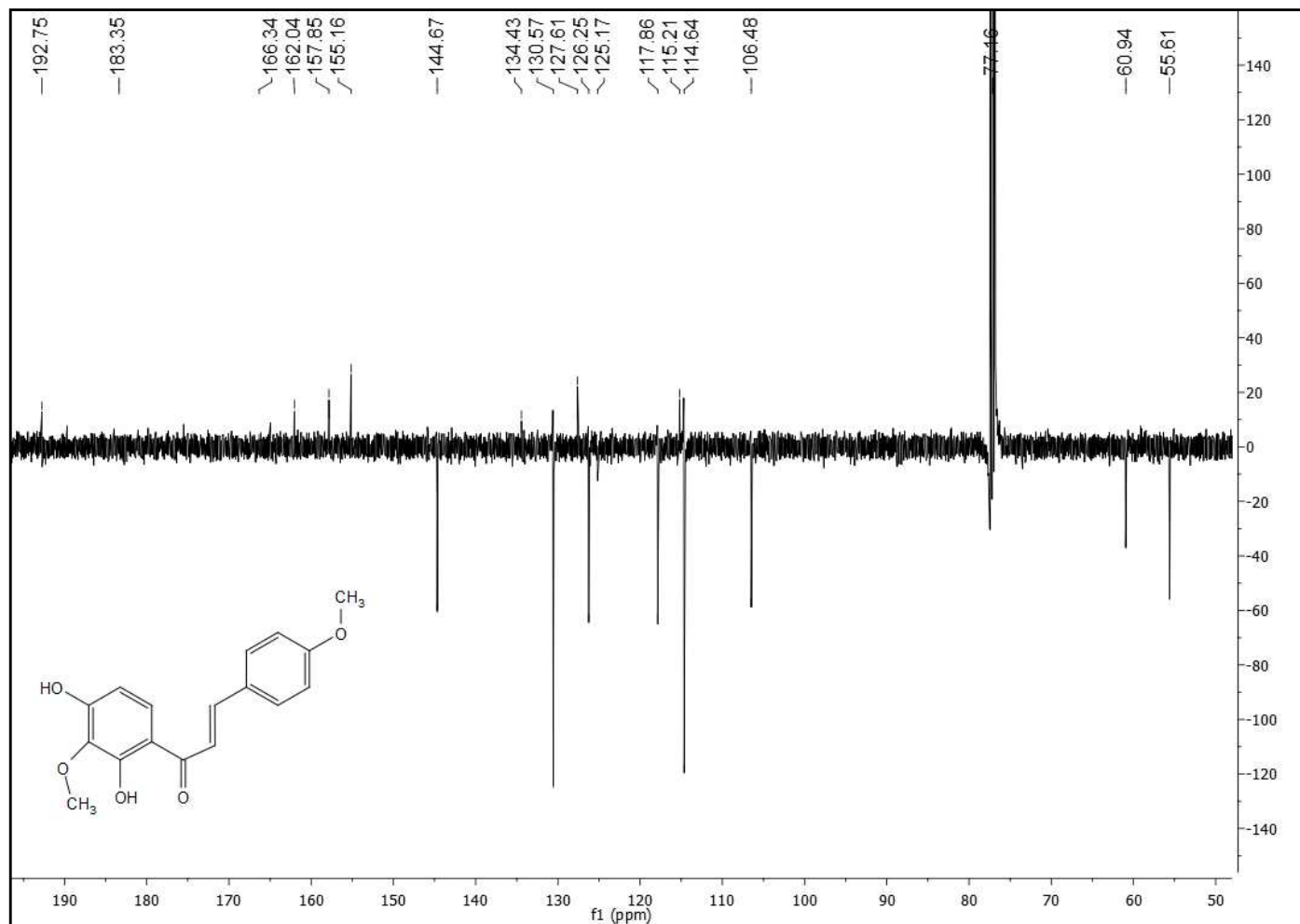
**Tabela 2:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-01**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais.

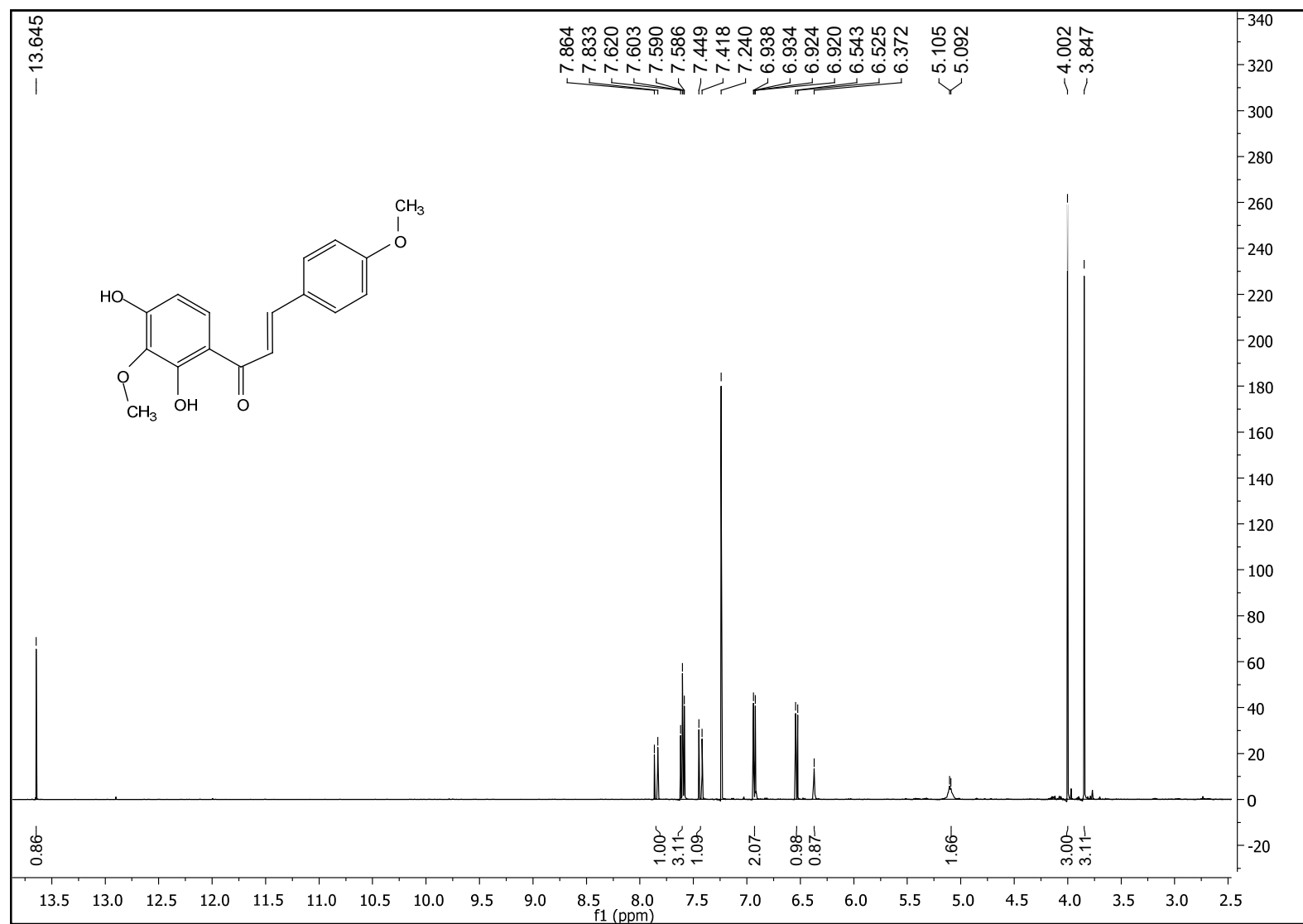


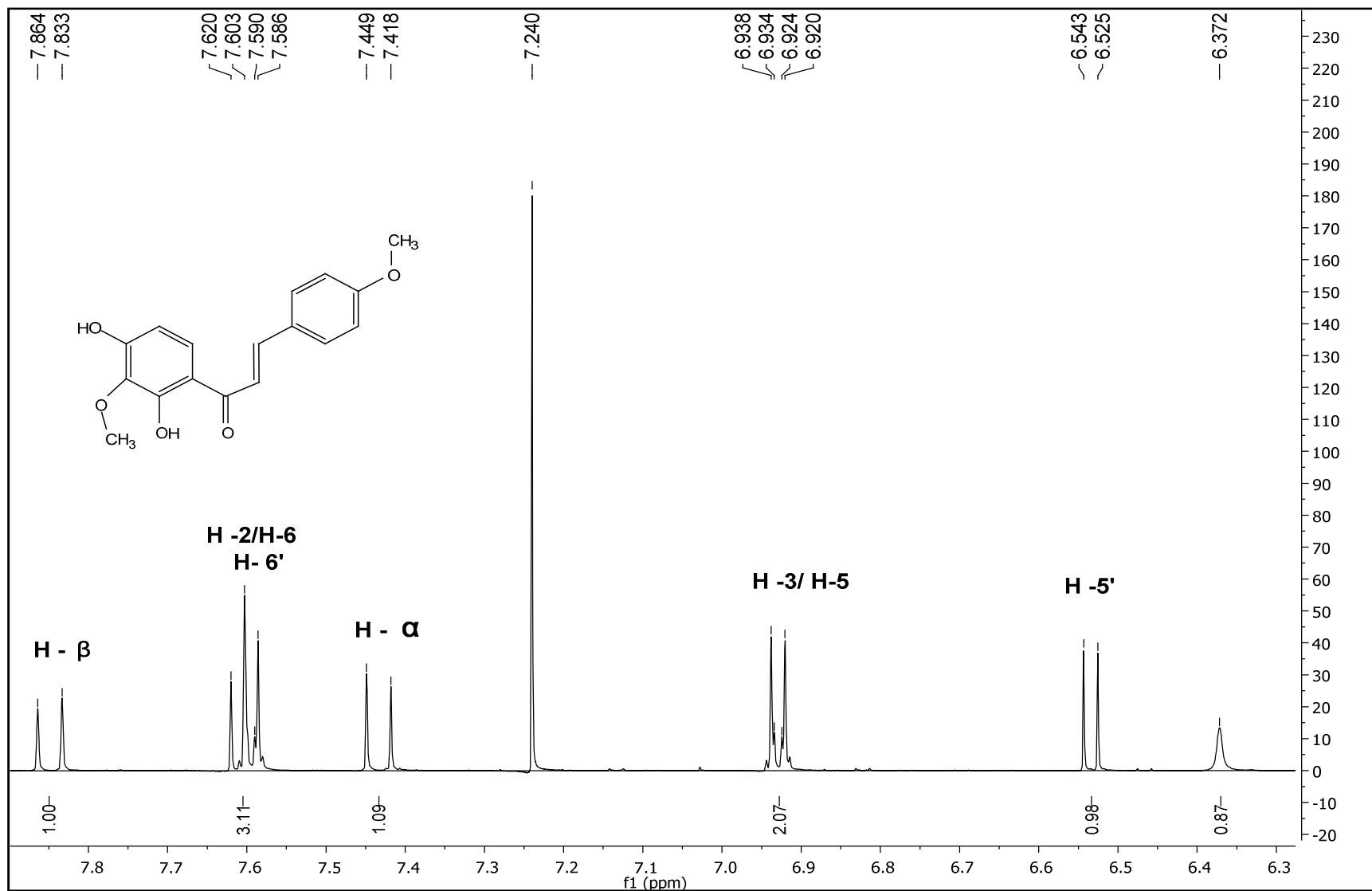
C	$\delta_{\text{C}}$	HMQC		HMBC			NOESY
		$\delta_{\text{H}}$	$^1J_{\text{CH}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	
1	127,6	-					
1'	115,2	-					
2'	134,4	-					
3'	157,8	-					
4'	155,0	-					
<b>CH</b>							
2	130,5	7,59(d, 1H, J= 8,4 Hz)			C-4	H-3	
3	114,6	6,92 (d, 1H, J= 2,1 Hz)				H-2	
5	114,6	6,94 (d, 1H, J= 2,1 Hz)				H-6/H5-CH <sub>3</sub> O	
6	130,5	7,59(d, 1H, J= 8,4 Hz)			C-4	H-5	
5'	106,5	6,53 (d,1H, J= 8,9 Hz)		C-1'	C-2'	H-6'	
6'	126,3	7,62(d,1H, J=8,6 Hz)			C=O	H-5'	
$\alpha$	117,8	7,43 (d,1H, J=15,5 Hz)		C=O			
$\beta$	144,7	7,85(d,1H, J=15,5 Hz)			C=O		
<b>CH<sub>3</sub>O</b>							
CH <sub>3</sub> O-4	55,60	3,85 (s,3H)		C-4		H-5	
CH <sub>3</sub> O-3'	60,94	4,00(s,3H)			C-2'		
<b>OH</b>							
OH-2'	-	13.65(s,1H)		C2'	C1'/ C3'		
OH-4'	-	6,37 (s,1H)		C4'	C5'		
<b>C=O</b>	192,7	-	-	-	-		

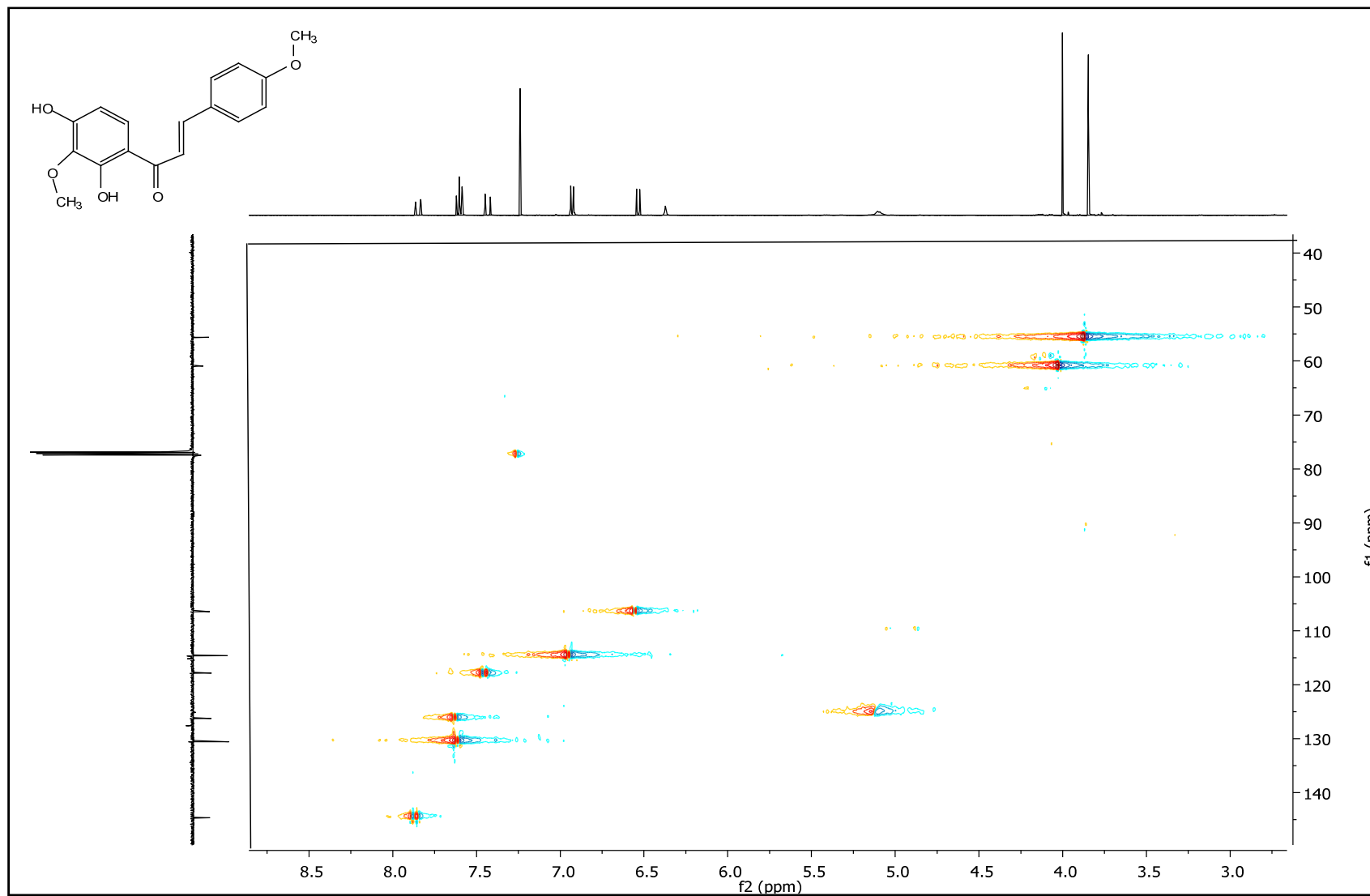
**Figura19:** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de TF-01

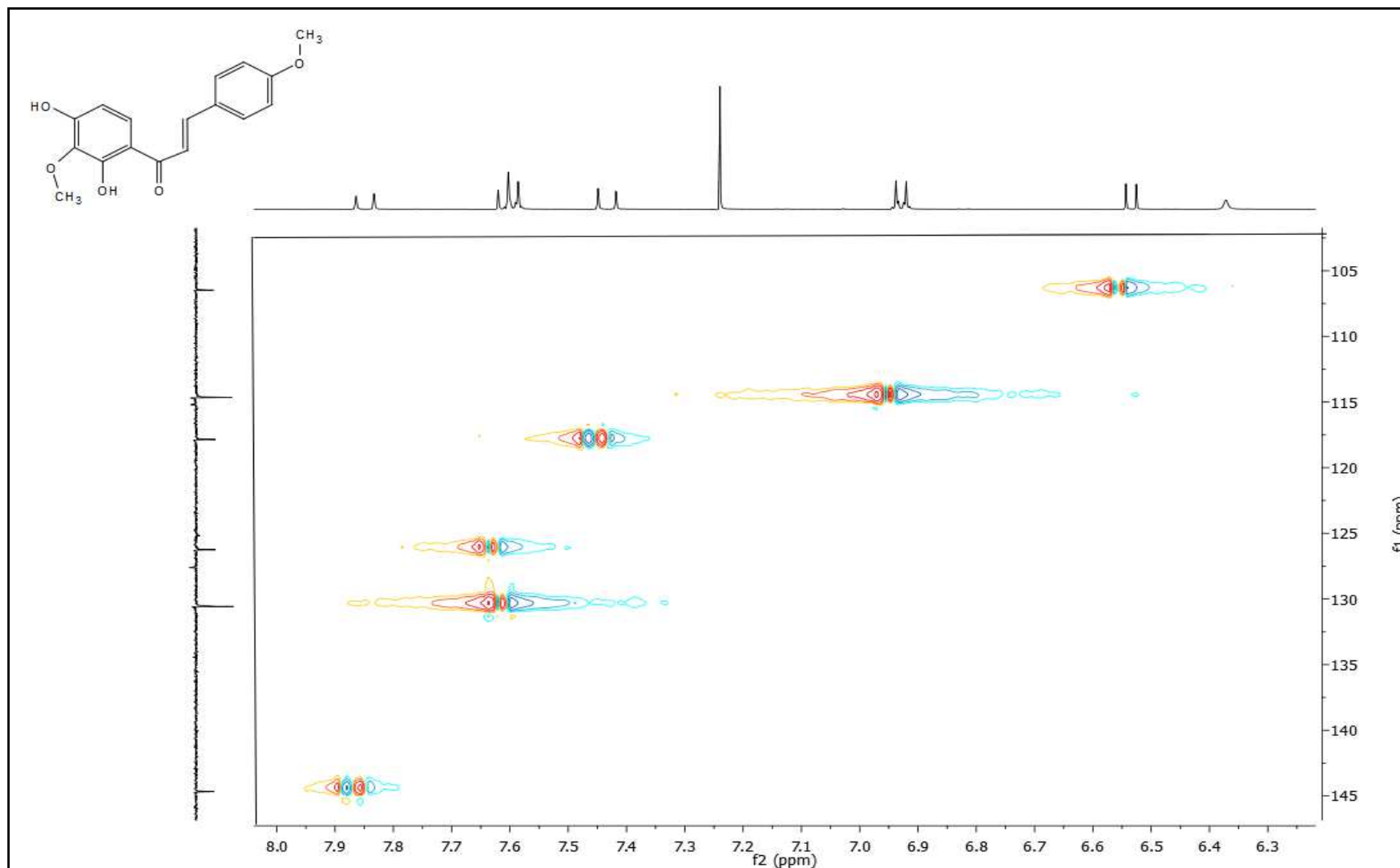
**Figura 20:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz) de **TF-01**

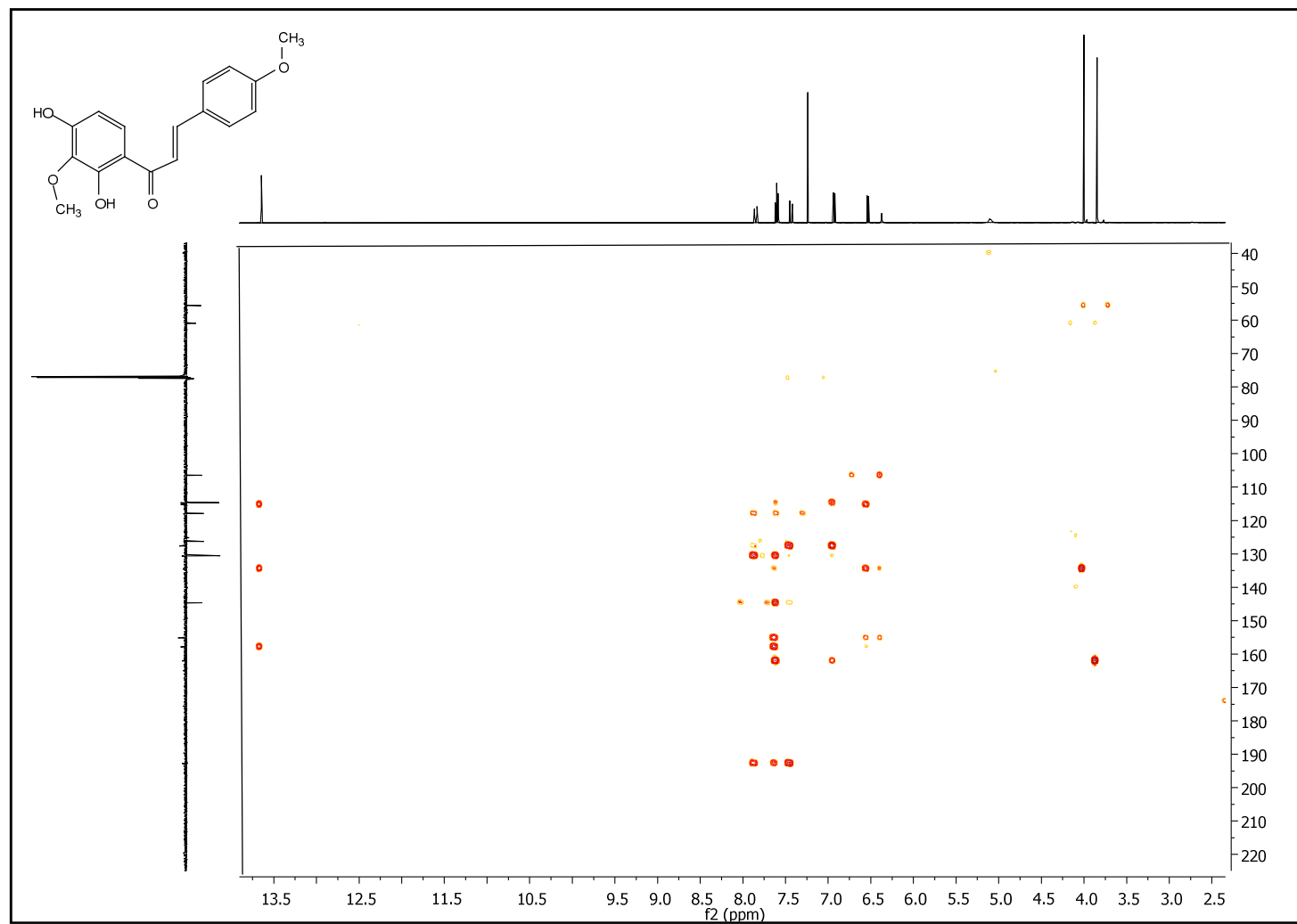
**Figura 21:** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz) de **TF-01**

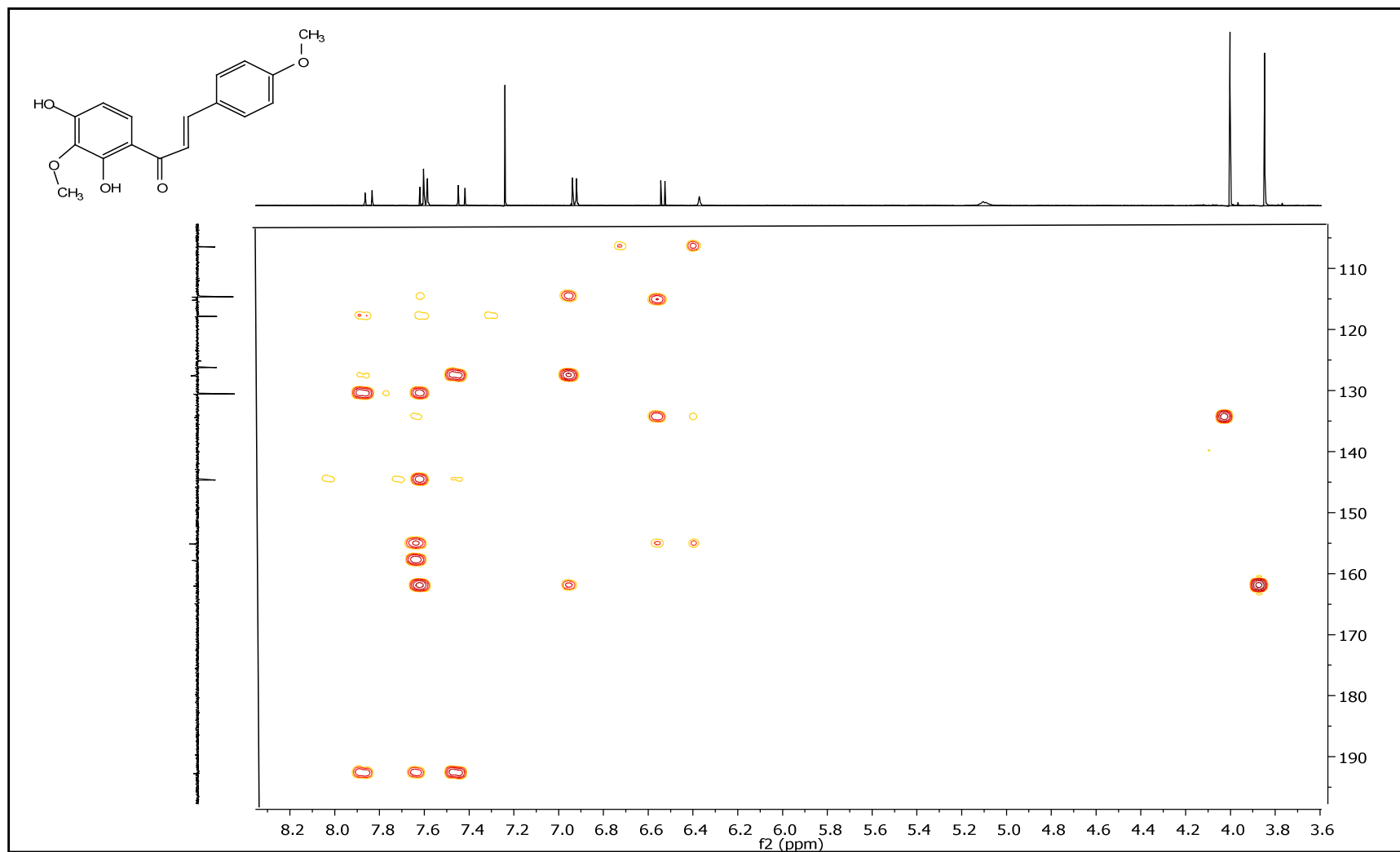
**Figura 22:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

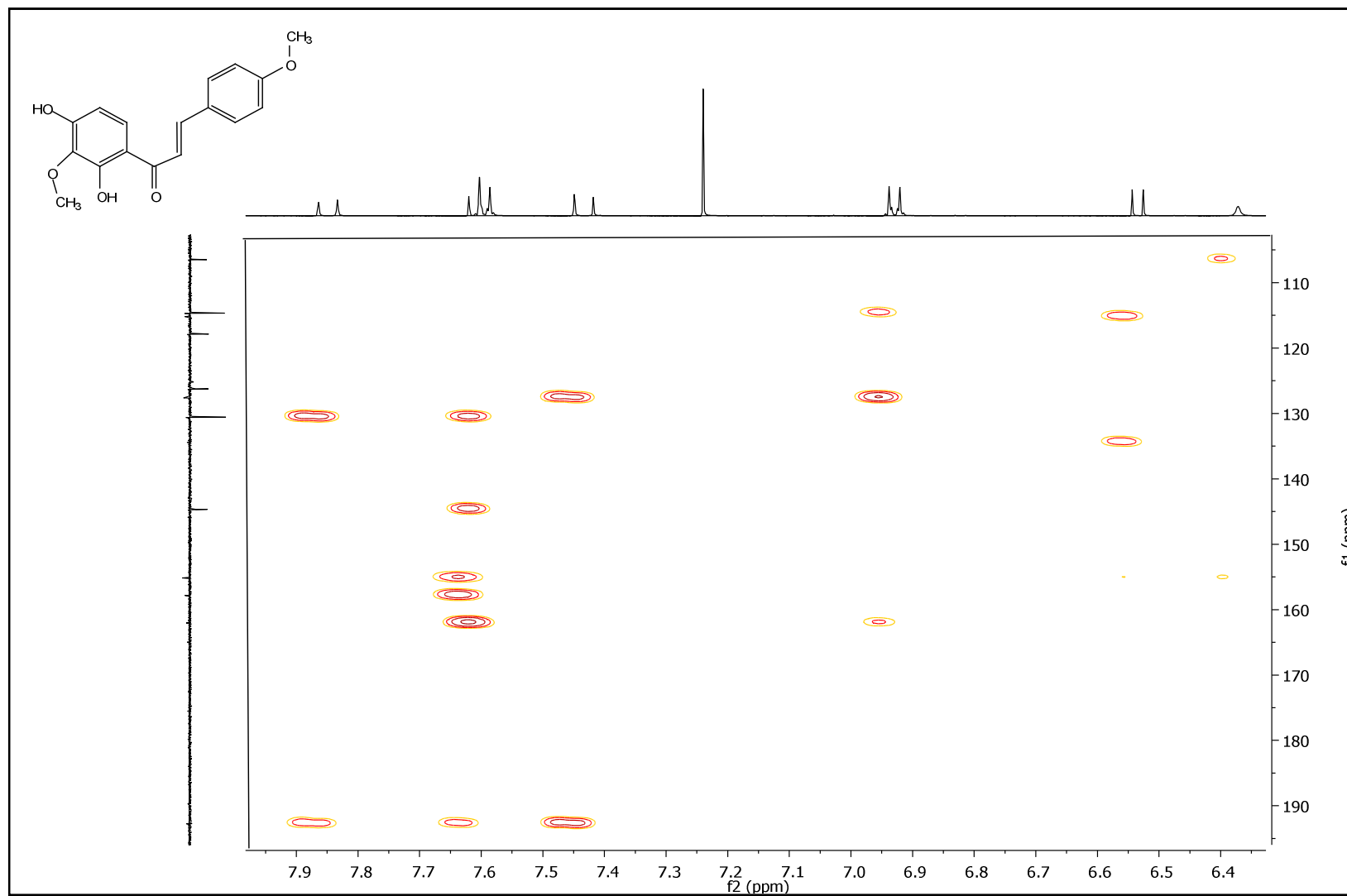
**Figura 23:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

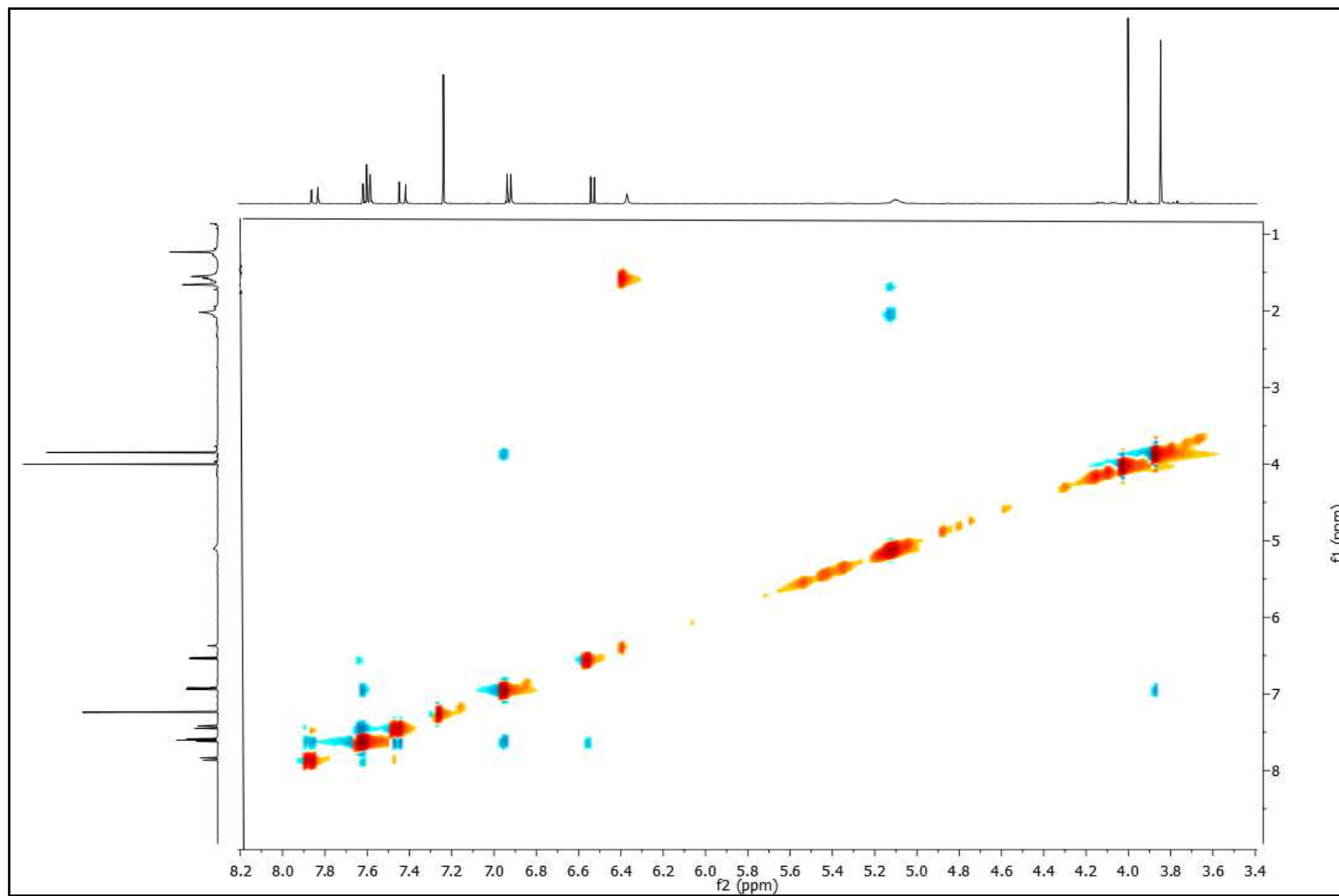
**Figura 24:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

**Figura 25:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

**Figura 26:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de TF-01

**Figura 27:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

**Figura 28:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

**Figura 29:** Espectro de NOESY em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-01**

### 5.3 Determinação Estrutural de TF- 02

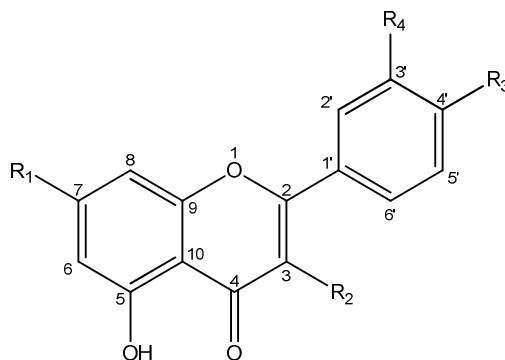
A substância codificada como TF-02 apresentou-se na forma de cristais de coloração amarelo claro, solúvel em clorofórmio, peso em massa de 5mg, ponto de fusão entre: 167°C – 169°C.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e sua expansão (Figuras 35, 36 e 37) (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amostra TF-02 mostra absorções na região de hidrogênios aromáticos na faixa entre  $\delta_{\text{H}}$  6,5 a 8,0 (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010).

Foram observados também, absorções para três metoxilas em  $\delta_{\text{H}}$  3,84 (s, 3H), 3,86 (s, 3H) e em 3,97 (s, 3H). Uma absorção no campo baixo do espectro de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  12,62 caracteriza que a molécula apresenta uma hidroxila aromática quelada, sugerindo a presença desse grupo na molécula.

No espectro de hidrogênio foi possível identificar a presença de um sistema ABX, sugerido pela presença de um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,03 (1H,  $J= 8,4\text{Hz}$ ) acoplado em *orto*, um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,66 (1H,  $J= 8,4\text{Hz}$  e 2,0Hz) acoplado *orto* e *meta*, e outro dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,69 (1H,  $J= 2,0\text{Hz}$ ) acoplado *meta* entre si. Dois dubletos um em  $\delta_{\text{H}}$  6,34 (1H,  $J=2,2\text{ Hz}$ ) e em  $\delta_{\text{H}}$  6,42 (1H,  $J=2,2\text{Hz}$ ), ambos acoplado *meta* entre si, sugere que o anel A esteja substituído nas posições 5 e 7, já o singlete em  $\delta_{\text{H}}$  5,96 (1H) foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila, uma vez que ao realizar os espectros bidimensionais foi possível observar correlação entre esse hidrogênio e hidrogênios do anel B da molécula.

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 38,39 e 40), mostrou picos específicos para flavonas substituídas na posição 3, os sinais foram:  $\delta_{\text{C}}$  138,9; 155,19; 178,73; referentes aos carbonos  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , respectivamente (AGRAWAL, 1989). Sendo assim, a estrutura se trata de uma trimetoxiflavona dihidroxilada, com substituições nas posições mostrada na figura abaixo.



**Figura 30:** Estrutura proposta para a amostra **TF-02**

Devido à quantidade restrita de substância isolada, alguns sinais no espectro de carbono aparentavam-se muito pequenos, porém, por ser tratar de uma estrutura já conhecida, ao confrontar os dados com a literatura e ampliar o espectro, não foi difícil identificar os picos característicos.

Sendo assim, foi possível identificar sinais claros dos carbonos das metoxilas em  $\delta_C$  55,81; 56,13; e 60,17; este ultimo referente a uma metoxila estericamente impedida. Foram observados também sinais de carbono hidrogenado em  $\delta_C$  92,20; 97,84; 110,92; 114,58; 122,69 e de carbonos não hidrogenados em  $\delta_H$  106,07; 122,50; 138,81; 146,39; 148,33; 155,90; 156,73; 165,46 e 178,57 sendo este último referente à carbonila.

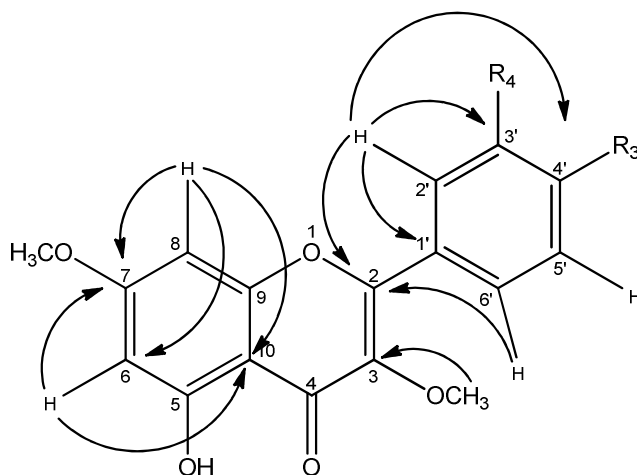
O espectro de correlação direta bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC (Figura 41) evidenciou correlações entre os carbonos metoxilados  $\delta_C$  55,81; 56,13; 60,17 com os hidrogênios  $\delta_H$  3,84,  $\delta_H$  3,86 e  $\delta_H$  3,97 respectivamente. Os carbonos  $\delta_C$  92,20; 97,84; 110,92; 114,58; 122,69; foram relacionados com os respectivos hidrogênios  $\delta_H$  6,43;  $\delta_H$  6,34;  $\delta_H$  7,69;  $\delta_H$  7,03;  $\delta_H$  7,66; sendo estes sinais de carbonos atribuídos aos carbonos:  $C_8, C_6, C_2, C_5, C_6'$

O espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC (Figuras 42 e 43) mostrou correlação a duas ( $^2J$ ) ou a três ( $^3J$ ) ligações da hidroxila ( $\delta_H$  12,62) com os respectivos carbonos  $C_6$  ( $\delta_C$  97,84)  $C_{10}$  ( $\delta_C$  106,07),  $C_5$  ( $\delta_C$  165,46).

Correlação no espectro de HMBC do hidrogênio da metoxila  $\delta_H$  3,86 com o carbono  $\delta_C$  165,46 e dos hidrogênios  $\delta_H$  6,34 e 6,43 com o carbono  $\delta_C$  165,46 que juntamente com dados do espectro de NOESY, sugerem que a metoxila é o substituinte na posição 7 do anel A. A correlação direta entre o hidrogênio  $\delta_H$  3,84

com o carbono  $\delta_C$  138,81 deixa clara que o substituinte na posição 3 do anel C também é uma metoxila, conseqüentemente a posição da terceira metoxila se localiza no anel B, hipótese essa confirmada através da correlação entre o hidrogênio da metoxila  $\delta_H$  3,97 e o carbono  $\delta_C$  146,39, porém, sua posição exata só foi confirmada com o espectro de NOESY.

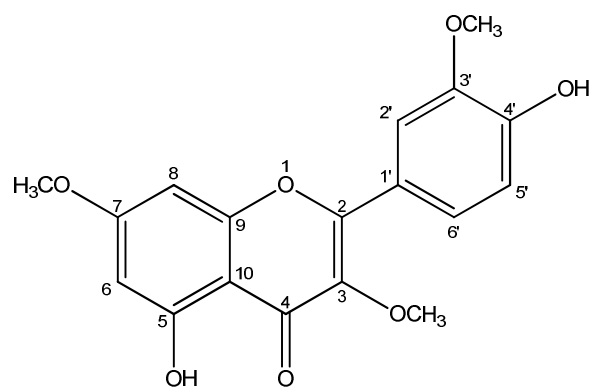
Outras correlações são evidenciadas na Figura abaixo:



**Figura 31:** Principais correlações observadas no espectro que HMBC da amostra **TF-02**

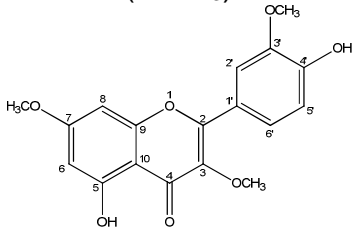
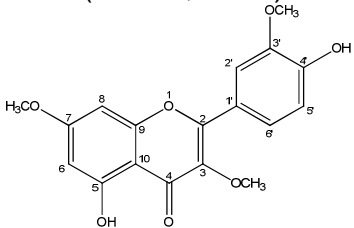
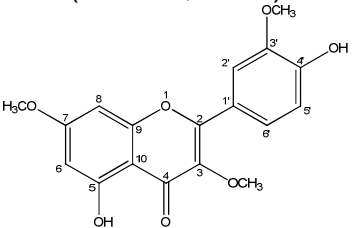
A partir de dados do espectro homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – NOESY (Figura 44), confrontados com os dados do espectro homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – COSY (Figura 45), foi possível confirmar a posição exata da metoxila no anel B, no NOESY mostra uma correlação do hidrogênio H2'  $\delta_H$  7,69 com o hidrogênio  $\delta_H$  3,97 da metoxila, sugerindo assim, que a metoxila está ligada ao carbono C3'. Com temos dois substituintes no anel B da molécula, formando um sistema ABX e na posição 3' temos uma metoxila, fica clara que a hidroxila está ligada ao carbono C4'.





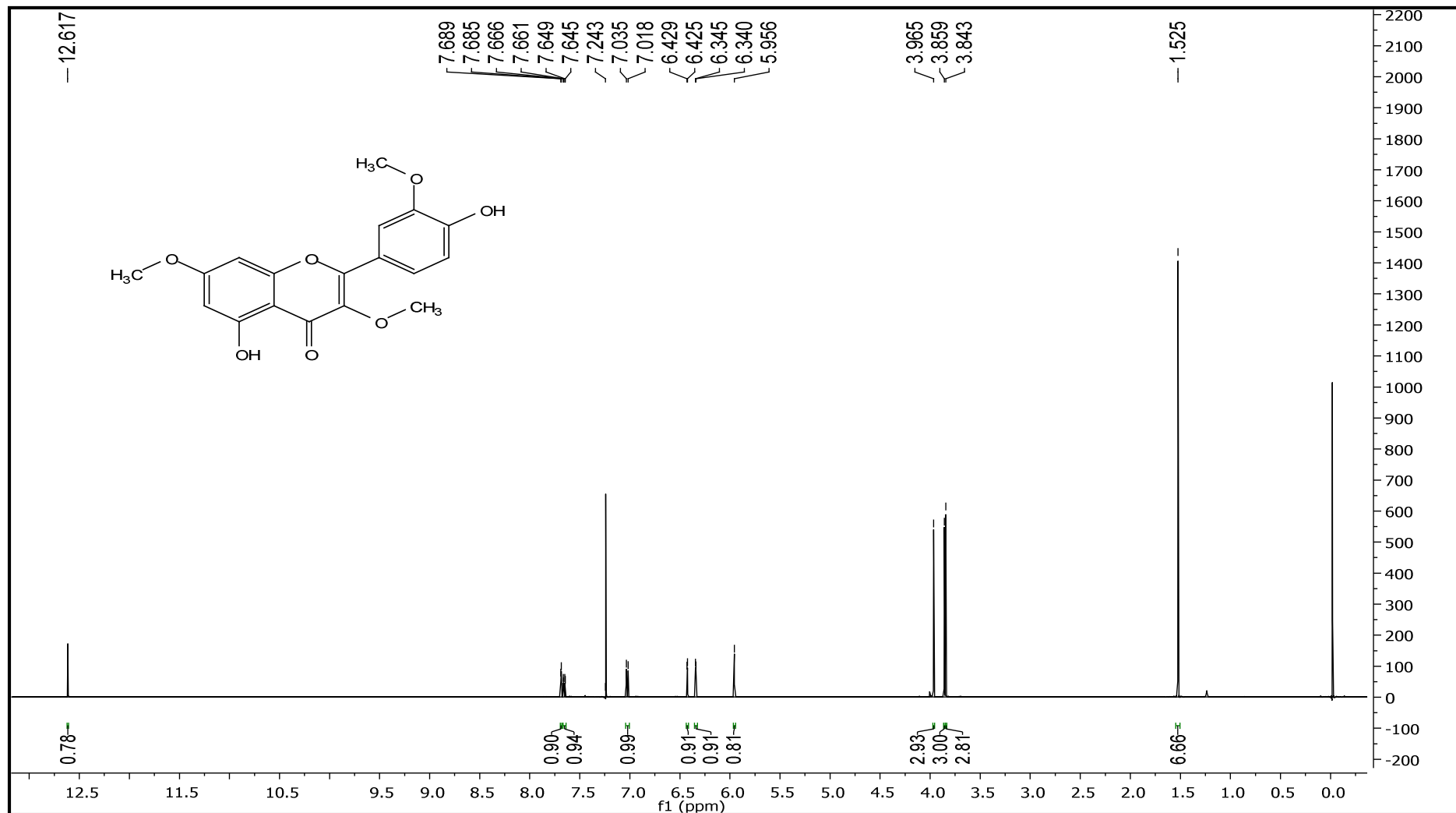
**Figura 34:** 4'-5-dihidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona (Pachipodol)

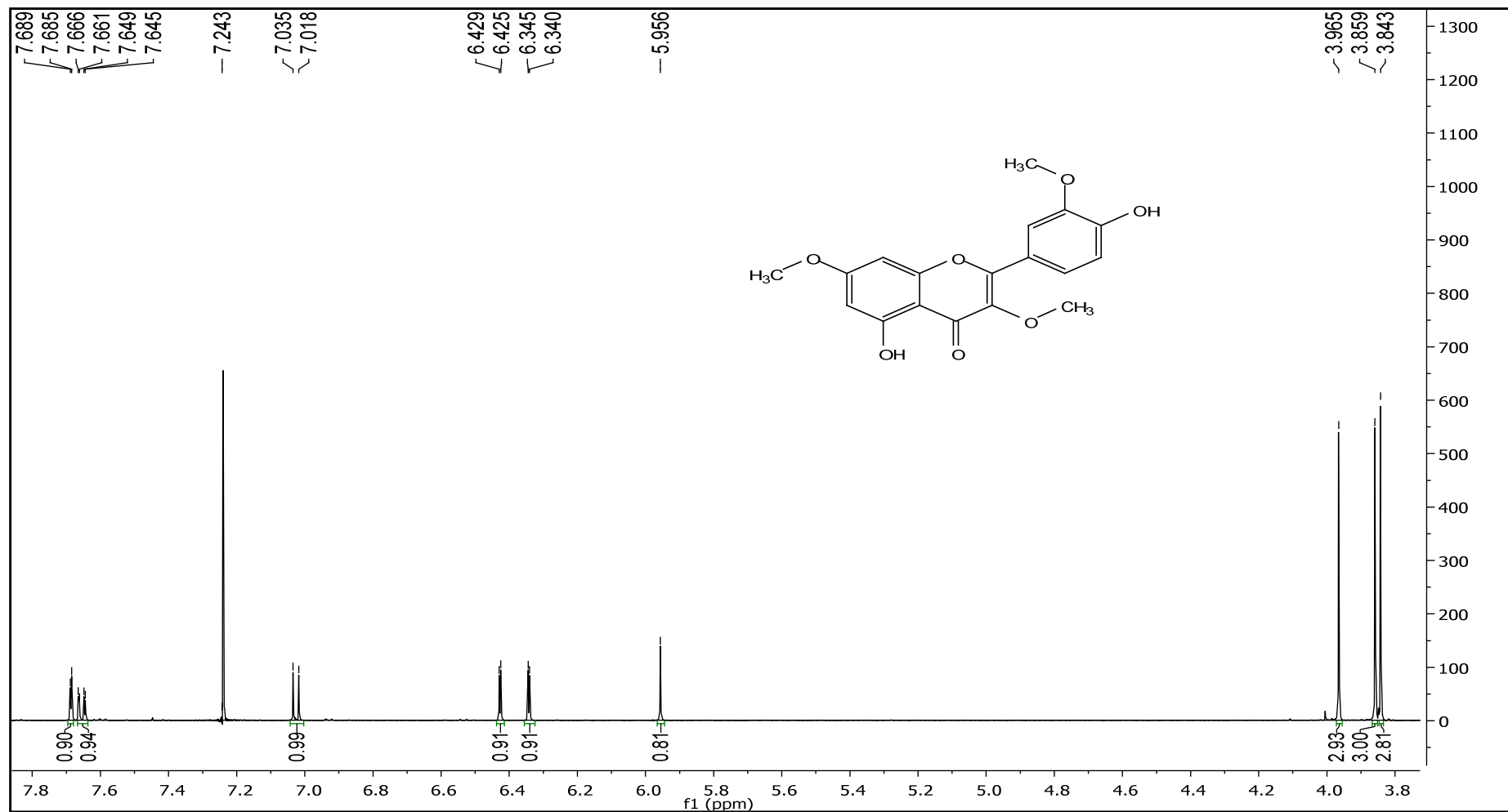
**Tabela 3:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-02** em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) e da 4'-5-dihidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona - Pachipodol ( $\text{CDCl}_3$ ) com modelos da literatura de Nunes, 2008 e Barreto,2013.

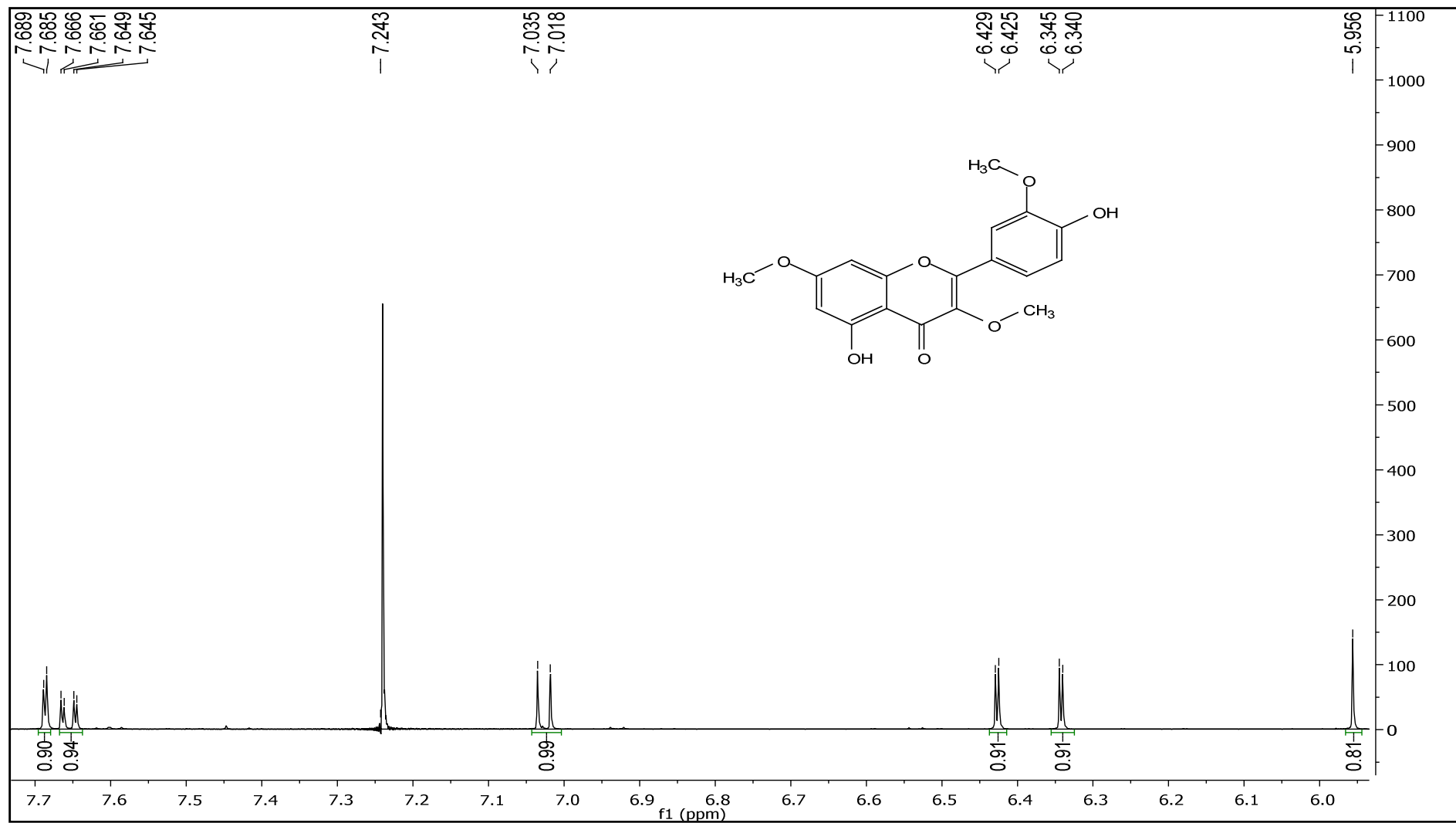
	<b>TF-02</b> ( $\text{CDCl}_3$ )		<b>Literatura</b> (Nunes, 2008)		<b>Literatura</b> (Barreto, 2013)	
						
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>2</b>	155,90	-	155,91	-	156,20	-
<b>3</b>	138,80	-	138,84	-	139,10	-
<b>4</b> <b>(C=O)</b>	178,57	-	178,74	-	179,00	-
<b>5</b>	162,11	-	162,02	-	162,03	-
<b>6</b>	97,84	6,34(d), 1H, J=2,2Hz	97,84	6,36(d), 1H, J=1,8Hz	98,00	6,37(d), 1H J= 2,1Hz
<b>7</b>	165,46	-	165,44	-	165,70	-
<b>8</b>	92,20	6,43(d), 1H, J=2,2Hz	92,18	6,44(d), 1H, J=1,8Hz	92,04	6,45(d), 1H, J=2,1Hz
<b>9</b>	156,73	-	156,71	-	157,00	-
<b>10</b>	106,07	-	106,03	-	106,03	-
<b>1'</b>	122,50	-	122,46	-	122,70	-
<b>2'</b>	110,92	7,69(d), 1H, J=2,0Hz	110,90	7,70(d), 1H, J=1,8Hz	111,00	7,71(d), 1H, J=1,8Hz
<b>3'</b>	146,34	-	146,35	-	146,60	-
<b>4'</b>	148,33	-	148,33	-	148,60	-
<b>5'</b>	114,58	7,03(d), 1H, J=8,4	114,58	7,04(d), 1H, J=8,4Hz	114,80	7,05(d), 1H, J=8,4Hz
<b>6'</b>	122,69	7,66(d), 1H, J=8,4	122,67	7,67(d), 1H, J=8,4Hz	122,90	7,68(d), 1H, J= 8,5Hz

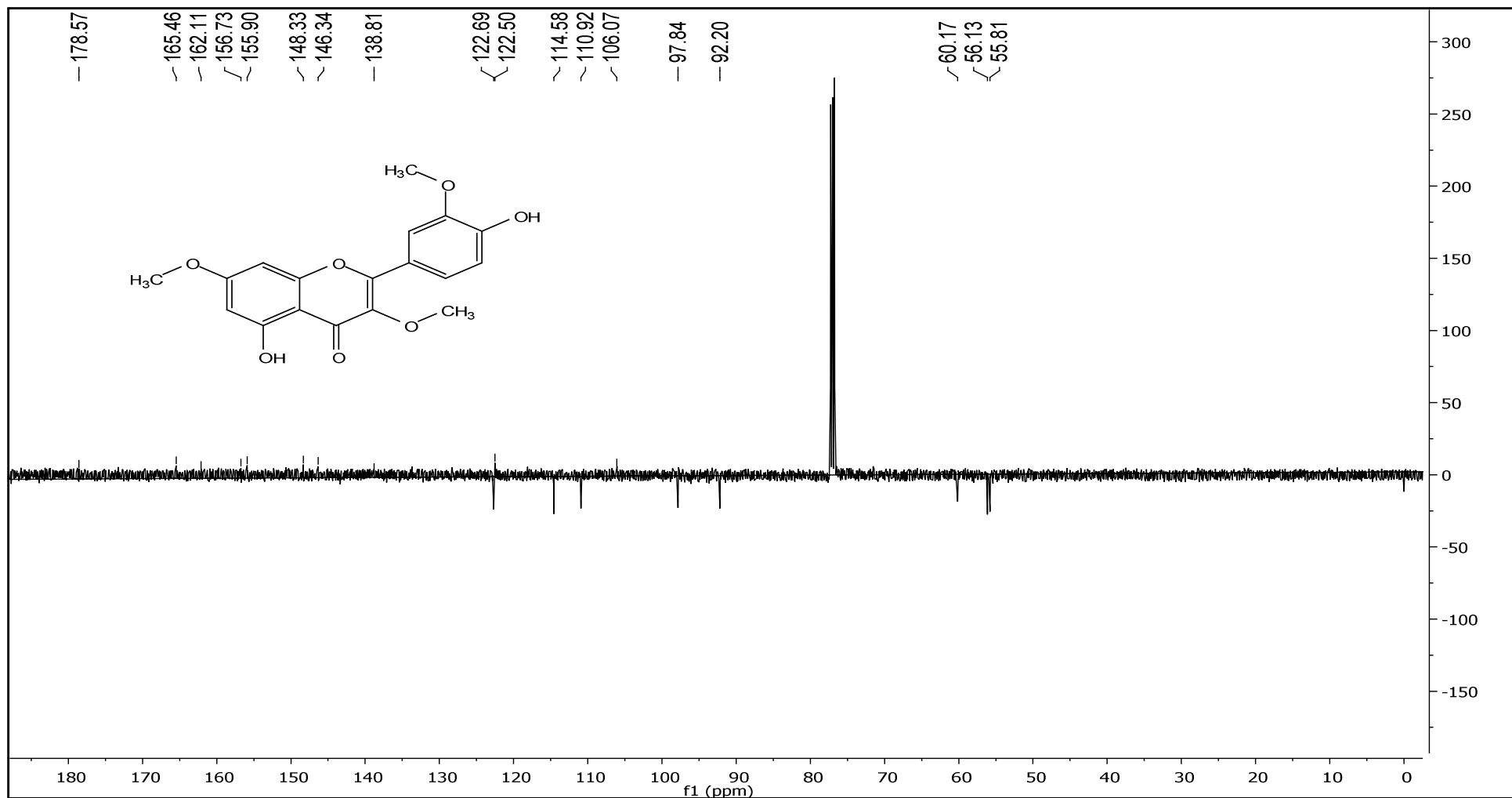
**Tabela 4:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-02**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais.

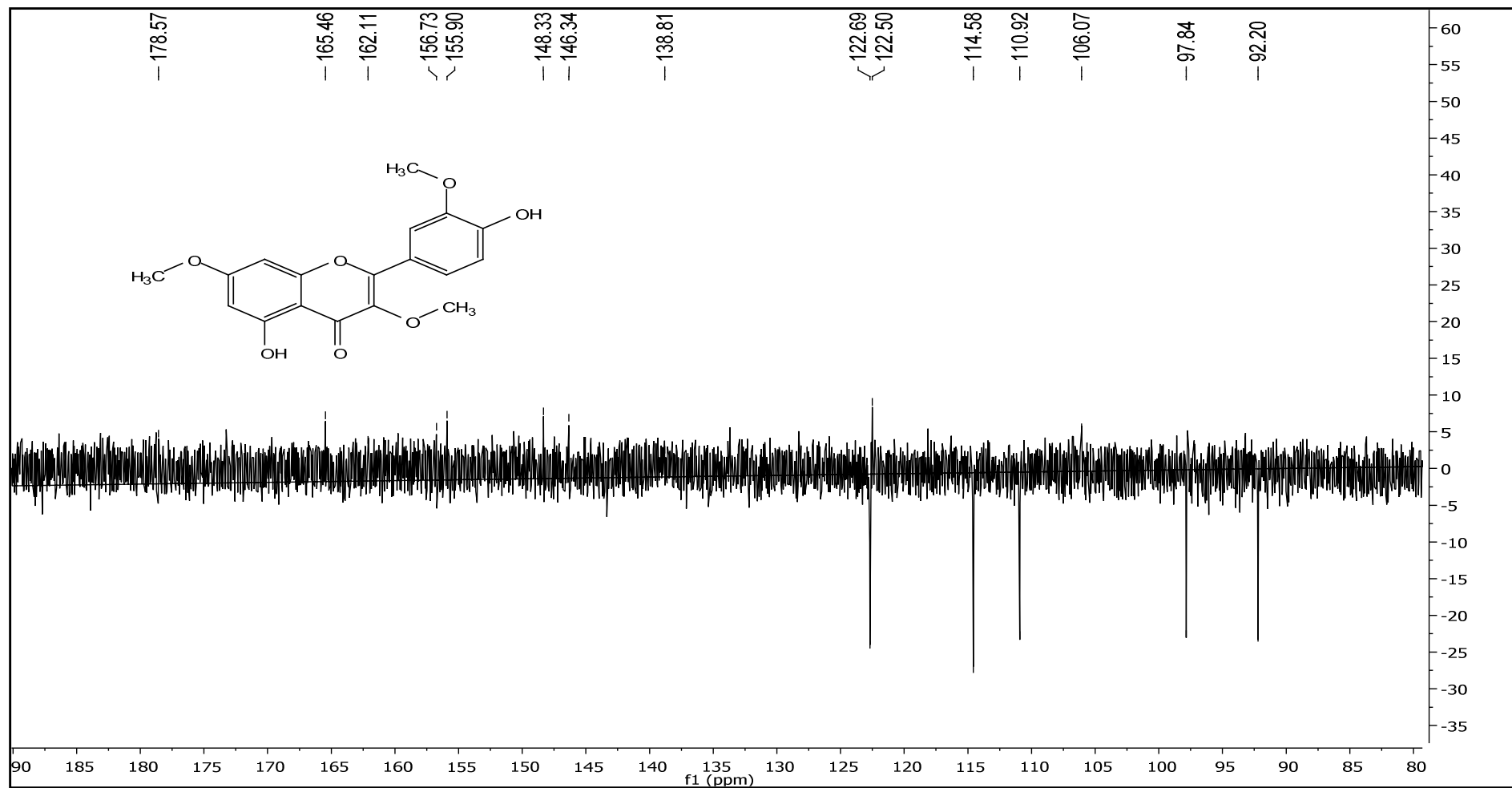
C	$\delta_{\text{C}}$	HMQC	HMBC			NOESY	COSY
		$\delta_{\text{H}}$	$^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1'	122,50	-					
3'	146,34	-					
4'	148,33	-					
2	155,90	-					
3	138,80	-					
5	162,11	-					
7	165,46	-					
9	156,73	-					
10	106,07	-					
<b>CH</b>							
2'	110,92	7,69(d), 1H, J=2,0Hz	C-6'	C-3'/C-2	C-4'	MeO-3'	
5'	114,58	7,03(d), 1H, J=8,4				H-6'	H-6'
6'	122,69	7,66(dd), 1H, J=8,4	C-2'		C-2	H-5'	H-5'
6	97,84	6,34(d), 1H, J=2,2Hz		C-7	C-10/C-8		
8	92,20	6,43(d), 1H, J=2,2Hz		C-7	C-10	MeO-7	
<b>CH<sub>3</sub>O</b>							
CH <sub>3</sub> O-3	60,17	3,84(s), 3H		C-7			
CH <sub>3</sub> O-7	55,81	3,86(s), 3H				H-6, H-8	
CH <sub>3</sub> O-3'	56,13	3,96(s), 3H				H-2'	
<b>OH</b>							
OH-5		12,61(s), 1H		C-5	C-6/C-10		
OH-4'		5,95(s), 1H		C-4'	C-5'		
<b>C=O</b>							
	178,57						

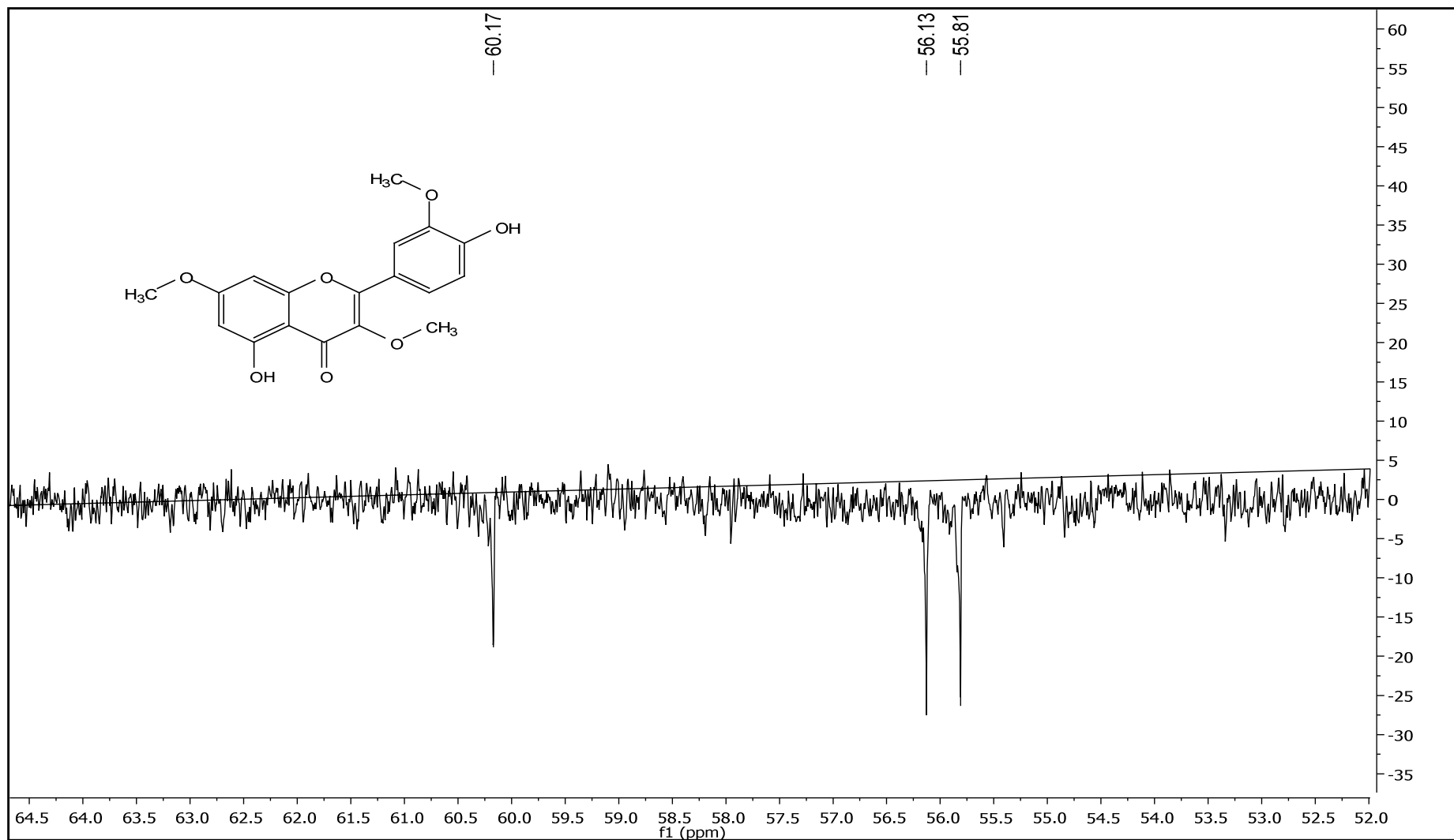
Figura 35: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de TF-02

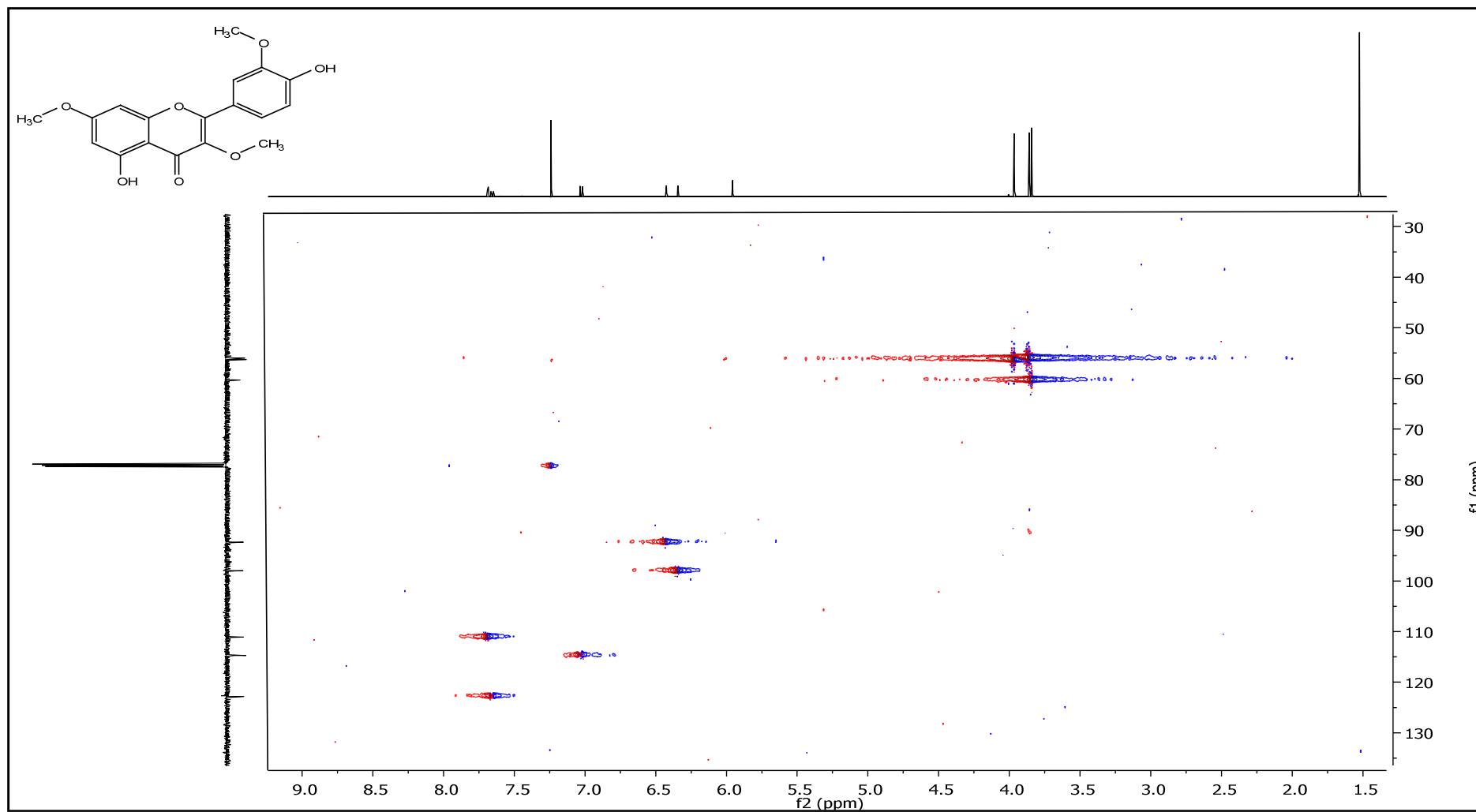
**Figura 36:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-02**

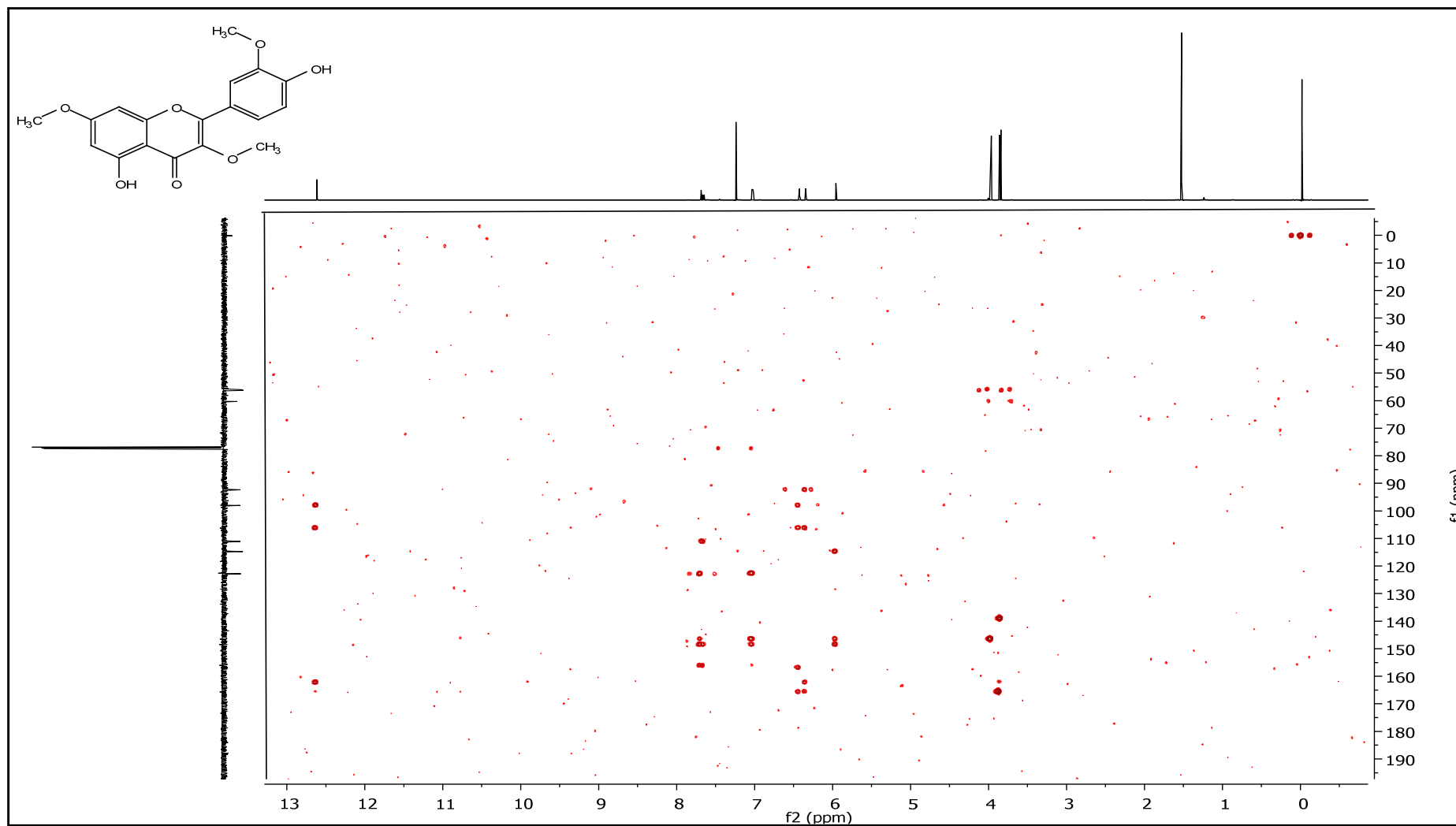
**Figura 37:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-02**

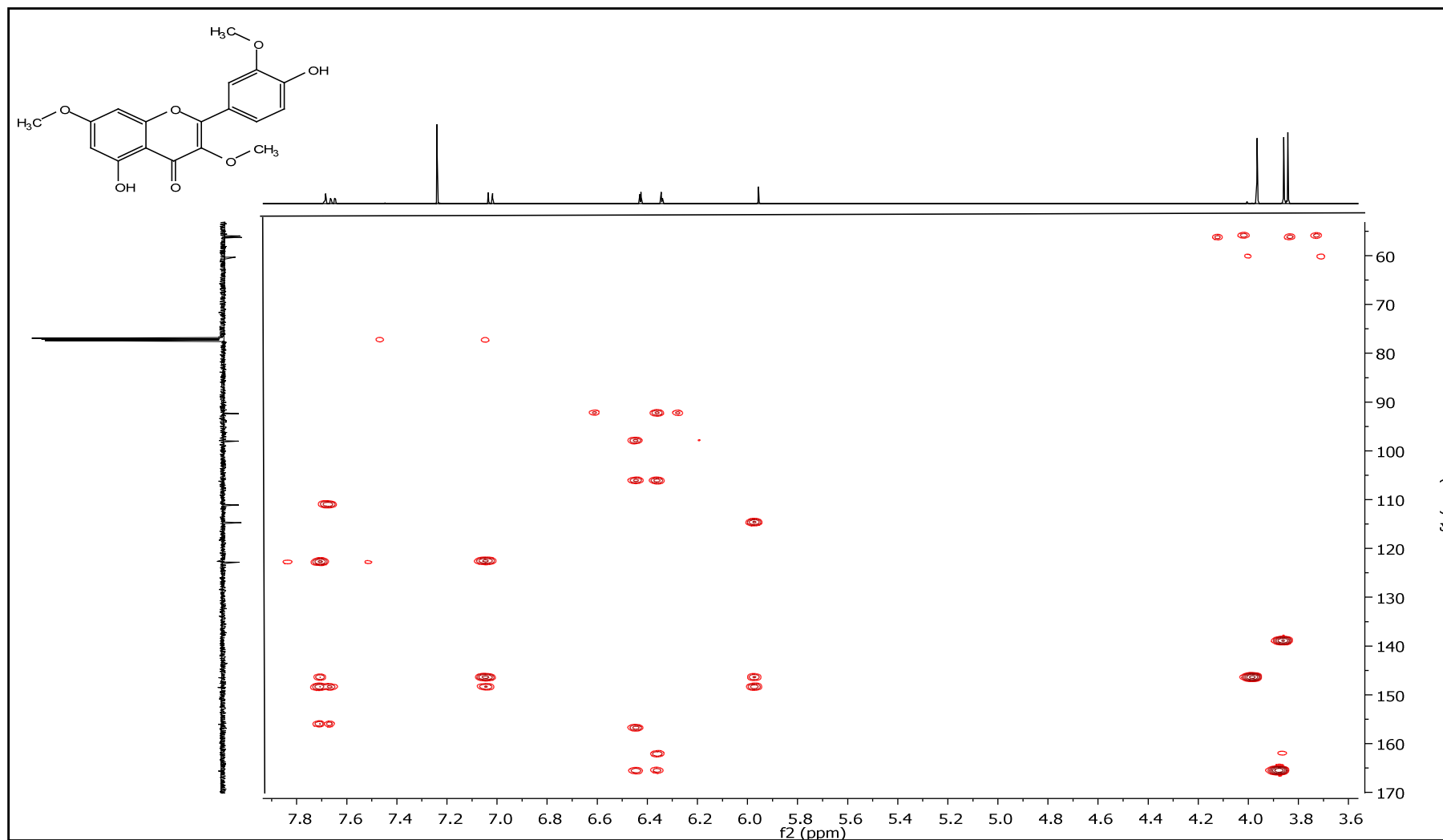
**Figura 38:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz) de **TF-02**

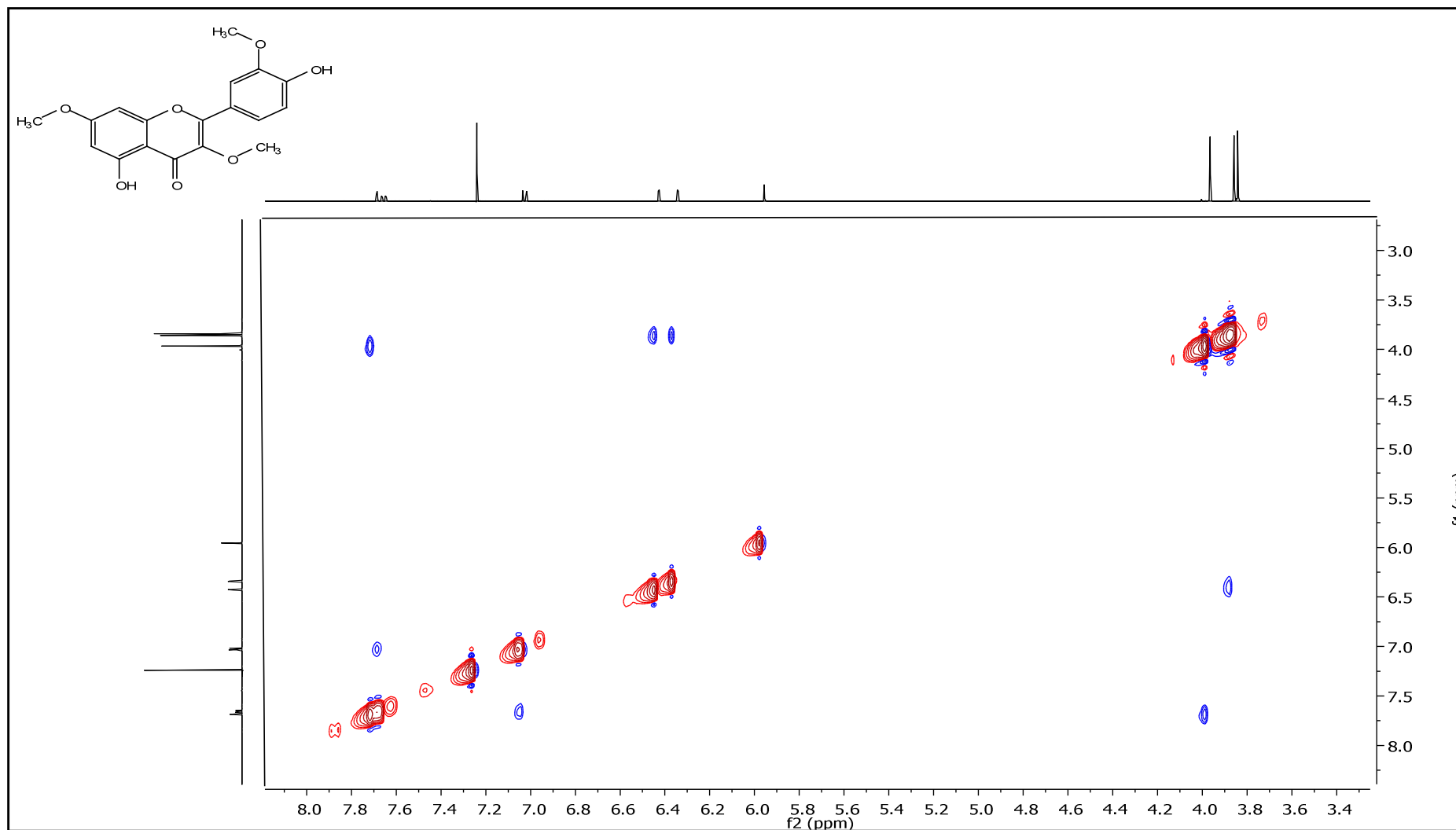
**Figura 39:** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz) de **TF-02**

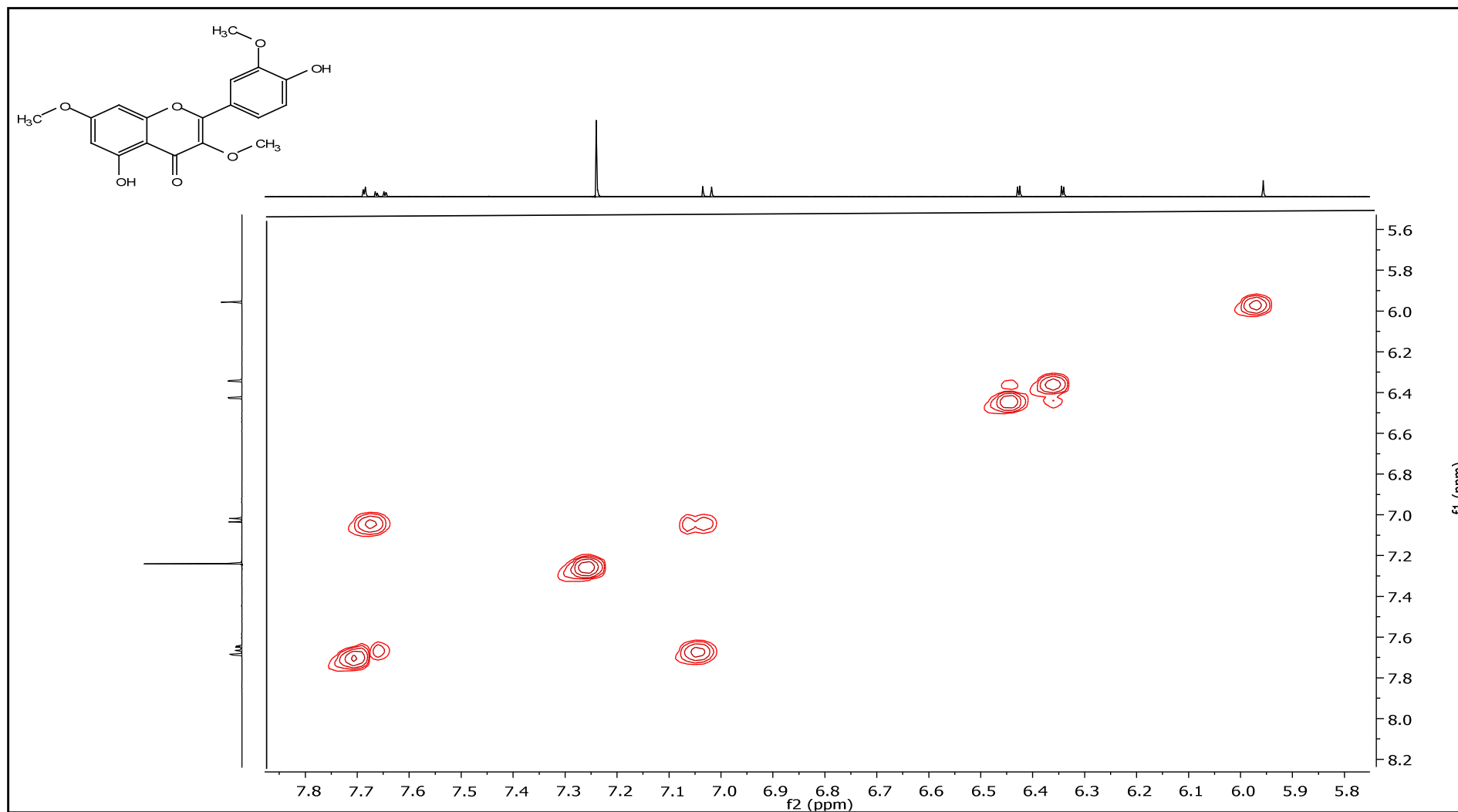
**Figura 40:** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz) de **TF-02**

**Figura 41:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-02**

**Figura 42:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-02**

**Figura 43:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-02**

**Figura 44:** Espectro de NOESY em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-02**

**Figura 45:** Espectro de COSY em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de TF-02

#### 5.4 Determinação Estrutural de TF-04

A substância codificada como **TF-04** foi isolada na forma de cristais de coloração branca (Figura 46), solúvel em clorofórmio, peso em massa de 11,4 mg e ponto de fusão entre: 80°C – 82°C, compatível com a literatura (NUNES, 2008).



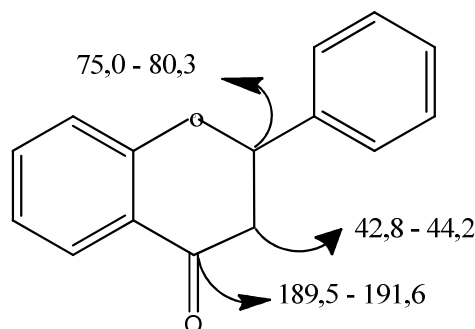
**Figura 46:** Amostra TF-04

A amostra foi submetida à espectrofotometria de infravermelho, como ilustrada na figura 53. Ao avaliar os dados, foi possível averiguar duas bandas: uma em 3528  $\text{cm}^{-1}$  e outra em 3447  $\text{cm}^{-1}$ , referentes a deformação axial da ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila na molécula. A banda em 1635  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída à deformação axial de C=O de carbonila conjugada; as bandas em 1617  $\text{cm}^{-1}$  e em 1570  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas à deformação C=C de anel aromático (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010).

Foram observadas também bandas fortes, uma referente ao estiramento simétrico C-O-C em 1294  $\text{cm}^{-1}$  e outra referente a um estiramento simétrico em 1085  $\text{cm}^{-1}$ , que indicam a presença de um éter arílico na molécula. O sinal em 832  $\text{cm}^{-1}$  foi referido a *para* substituição de um anel aromático (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010).

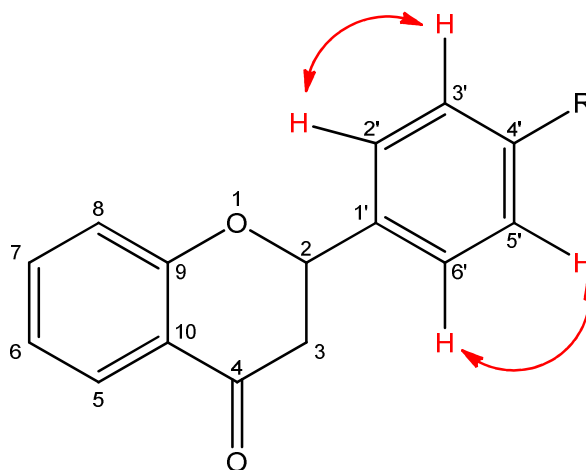
A análise espectral dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 54) mostrou a presença de 14 sinais, os sinais em  $\delta_c$  128,01 e 115,83 encontram-se duplicados, totalizando 16 sinais; 7 sinais referentes a carbonos não hidrogenados, 5 metínicos, 1 metílicos e 1 metilênico. A presença de sinais metílicos em  $\delta_c$  55,84 foi referida a uma metoxila desimpedida estericamente.

Com os dados fornecidos pelo espectro de  $^{13}\text{C}$ , foi possível determinar que a amostra trata-se de uma flavanona, já que apresentava sinais característicos para a carbonila, carbono  $\text{C}_3$  e carbono  $\text{C}_2$  oximetínico (Figura abaixo)  $\delta_c$  196,19 ( $\text{C}=\text{O}$ ),  $\delta_c$  43,36 ( $\text{C}_3$ ) e  $\delta_c$  79,11 ( $\text{C}_2$ ).



**Figura 47:** Sinais característicos de RMN de Carbono de uma flavanona (PELTER et.al.1976)

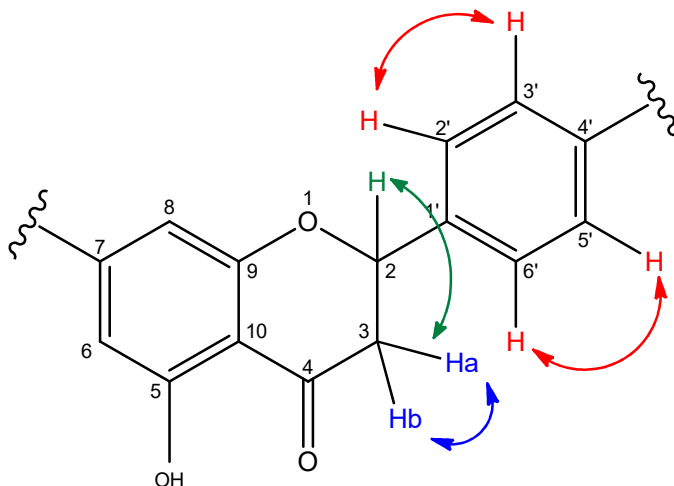
Ao avaliar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e sua expansão (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 56,57,58 e 59), foi possível observar sinais característicos de um sistema aromático *para* dissustituído. Tais sinais foram representados por dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,31 (2H) e  $\delta_{\text{H}}$  6,86 (2H) ( $J= 8,7\text{Hz}$ ) acoplando *orto* entre si, referentes aos pares de hidrogênio  $\text{H}_{2'}/\text{H}_{6'}$  e  $\text{H}_{3'}/\text{H}_{5'}$ , sugerindo assim, a presença de um sistema  $\text{AA}'\text{BB}'$  na molécula e conseqüentemente uma substituição no  $\text{C}_4$ . O sistema  $\text{AA}'\text{BB}'$  no anel B da molécula, também foi confirmado no espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – NOESY (Figura 64) que evidenciou interação entre hidrogênios vicinais  $3'/5'$  e  $2'/6'$ .



**Figura 48:** Correlação observada no espectro de NOESY da amostra TF-04

Ainda no espectro de hidrogênio, foi observada a presença de um singlete em  $\delta_H$  3,78 (3H), referente a uma metoxila, confirmando o dado do espectro de carbono. Dois dubletos em  $\delta_H$  6,05 e 6,03, ambos com integral para um hidrogênio, acoplado *meta* entre si ( $J=2,3\text{Hz}$ ), foram relacionados aos hidrogênios 6 e 8, já que um singlete em  $\delta_H$  12,00 sugere a presença de uma hidroxila quelada no anel A da molécula.

A presença de duplos dubletos, no espectro de hidrogênio, em  $\delta_H$  5,34,  $\delta_H$  3,07 e 2,77, todos com integral para um hidrogênio, os dois últimos acoplado entre si ( $J=17,0\text{ Hz}$ ), foram relacionados aos hidrogênios 2, 3a e 3b, hipótese essa que foi confirmada com o espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY (Figura 65), que mostra correlações entre os sinais descritos.



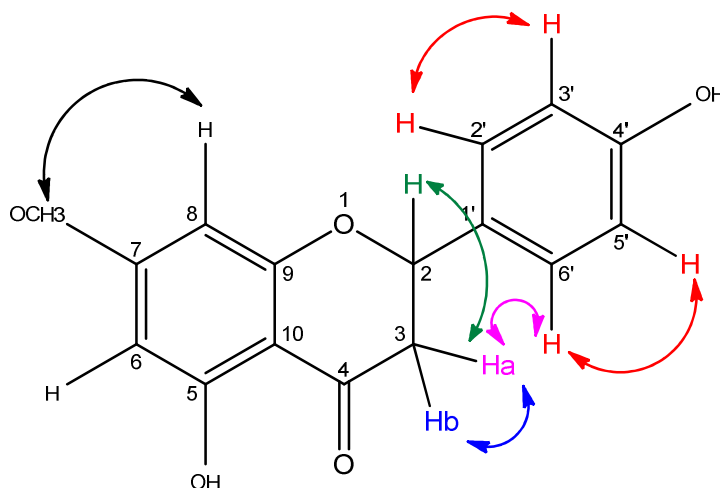
**Figura 49:** Correlação observada no espectro de COSY da amostra **TF-04**

Os dados de correlação direta, observados no espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC (Figuras 59 e 60) correlacionaram os sinais de carbono hidrogenados  $\delta_C$  43,1; 79,1; 94,4; 95,2; 115,8; 128,1; que foram atribuídos aos carbonos C2,C3,C8, C6, C3'/C5', C2'/C6' respectivamente, devido a correlações entre:  $\delta_H$  2,73 e 3,07 /  $\delta_C$  43,1 ;  $\delta_H$  5,34 /  $\delta_C$  79,1 ;  $\delta_H$  6,03 /  $\delta_C$  94,4;  $\delta_H$  6,05 /  $\delta_C$  95,2;  $\delta_H$  6,86 /  $\delta_C$  115,8;  $\delta_H$  7,31 /  $\delta_C$  128,1. Mostrou também correlação direta entre  $\delta_H$  3,78 /  $\delta_C$  55,83.

O espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC (Figuras 61,62 e 63) mostrou correlação a duas ( $^2J$ ) ou a três ( $^3J$ ) ligações da hidroxila ( $\delta_H$  12,01) com os carbonos C<sub>6</sub> ( $\delta_C$  95,2) C<sub>10</sub> ( $\delta_C$  103,0), C<sub>5</sub> ( $\delta_C$  164,91). Como o carbono  $\delta_C$  168,2 é não

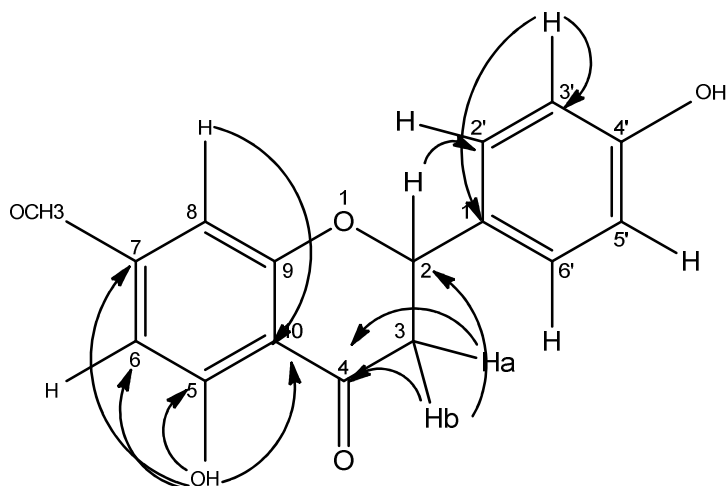
hidrogenado, fica implícito que o substituinte no anel A está diretamente ligado a ele.

Ao observar a correlação no espectro de NOESY entre os hidrogênios  $\delta_H$  6,03, que está ligado diretamente ao carbono C8, com o hidrogênio  $\delta_H$  3,80 da metoxila, fica confirmada a posição da metoxila no anel A, estando essa ligada ao carbono C7. Devido a confirmação da posição da metoxila na estrutura, fica claro que o substituinte do anel B se trata de uma hidroxila.



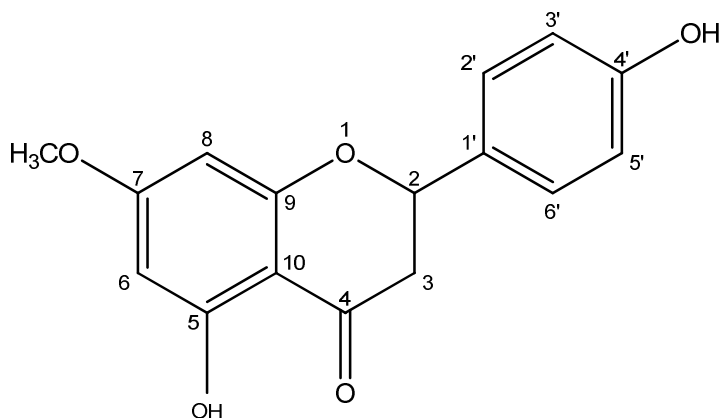
**Figura 50:** Correlação observada no espectro de NOESY da amostra **TF-04**

Ainda no HMBC foram observadas correlações de duas ligação ( $^2J$ ) dos hidrogênios 3a e 3b ( $\delta_H$  2,73; 3,07) com a carbonila ( $\delta_C$  196,01), além de correlação entre o hidrogênio H6 ( $\delta_H$  6,05) com o carbono C7 ( $\delta_C$  168,0). Acoplamentos entre os hidrogênios 2 e 3 ( $\delta_H$  5,34; 3,07) com C1' ( $\delta_C$  130,0) também foram observados. Principais correlações são mostradas na figura 51.



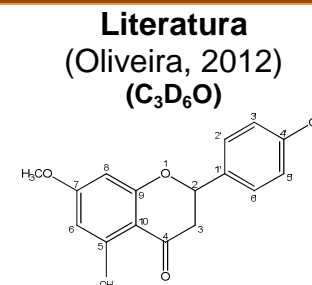
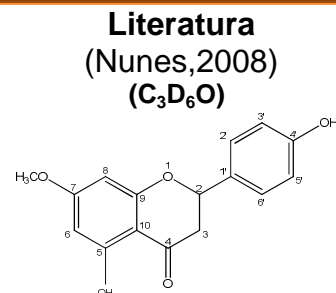
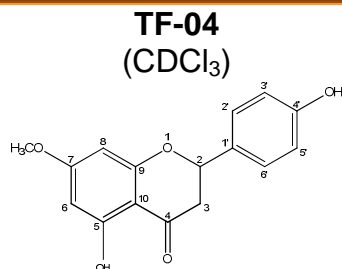
**Figura 51:** Principais correlações observadas no espectro que HMBC da amostra **TF-04**

Com base nos dados espectrais e comparação com modelos descritos na Literatura (Nunes, 2008; Oliveira, 2012) foi possível identificar a estrutura de TF-04 como sendo **4'-5 dihidroxi-7-metoxiflavanona**, conhecida como Sakuranetina ou ainda 7-O-metilnaringenina, isolada pela primeira vez na espécie em estudo por Nunes em 2008.



**Figura 52:** 4'-5 dihidroxi-7-metoxiflavanona (Sakuranetina)

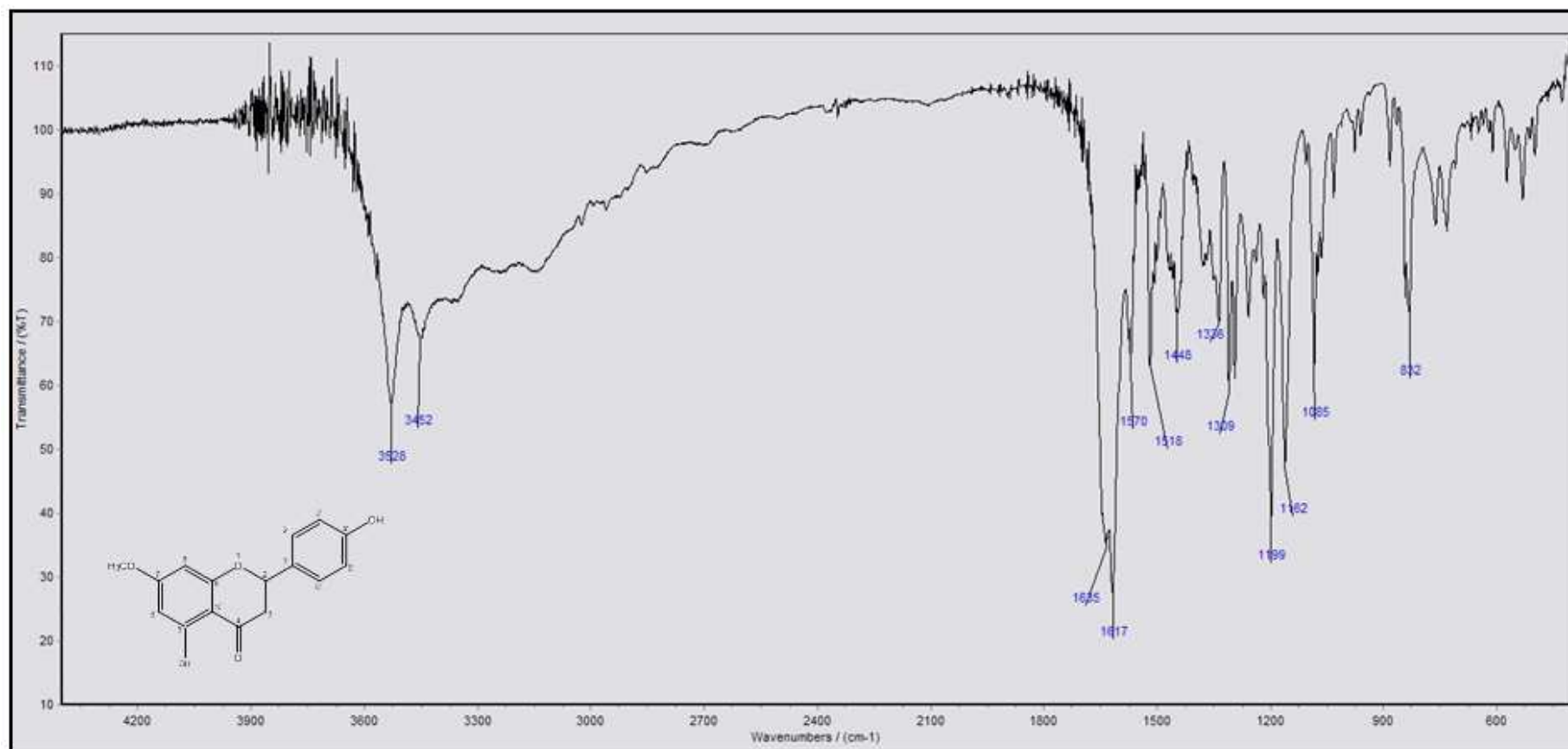
**Tabela 5:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-04** em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) e da **4'-5 dihidroxi-7-metoxiflavanona** em  $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$  (400 e 500MHz) com modelos da literatura de Nunes, 2008 e Oliveira, 2012.

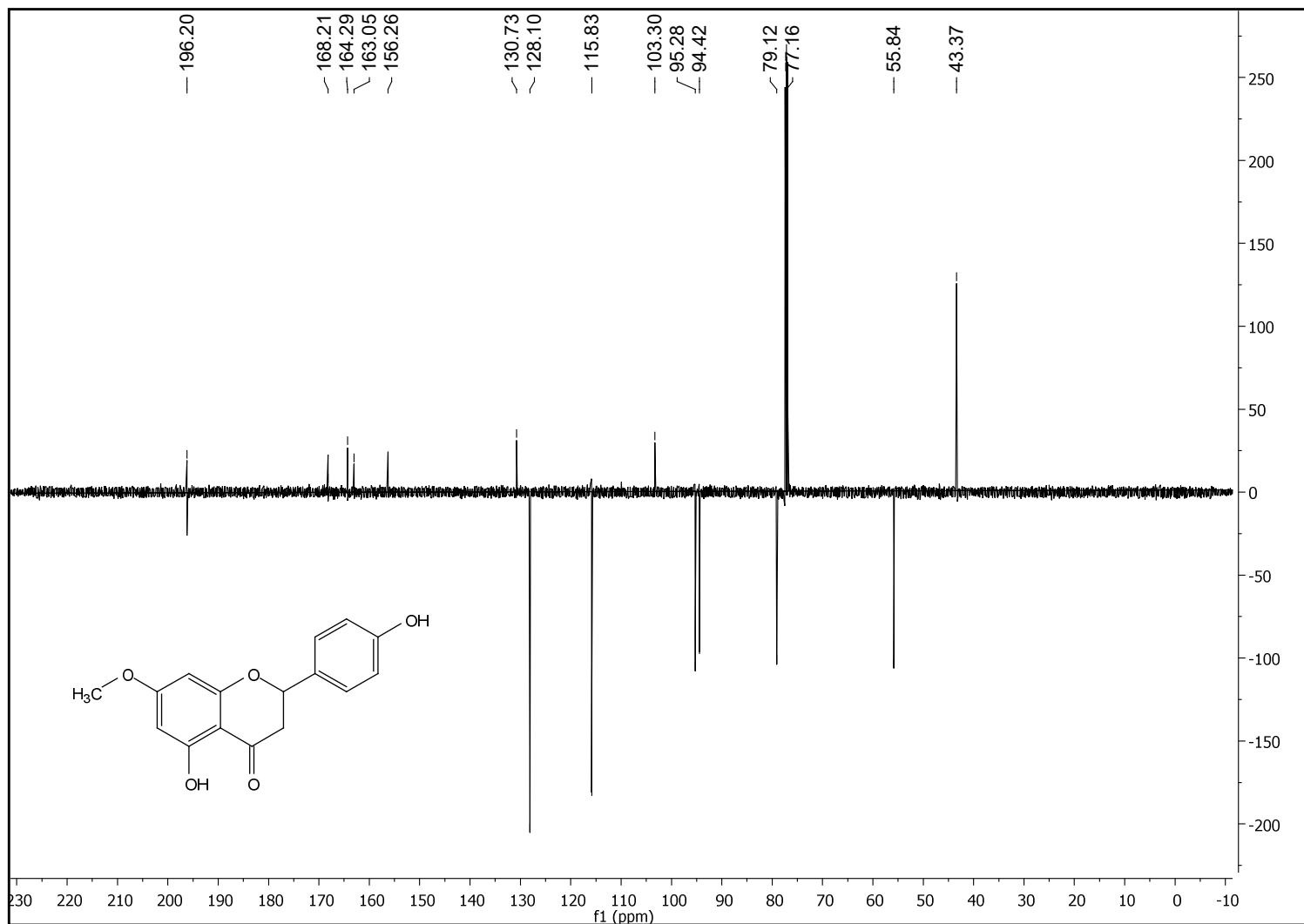


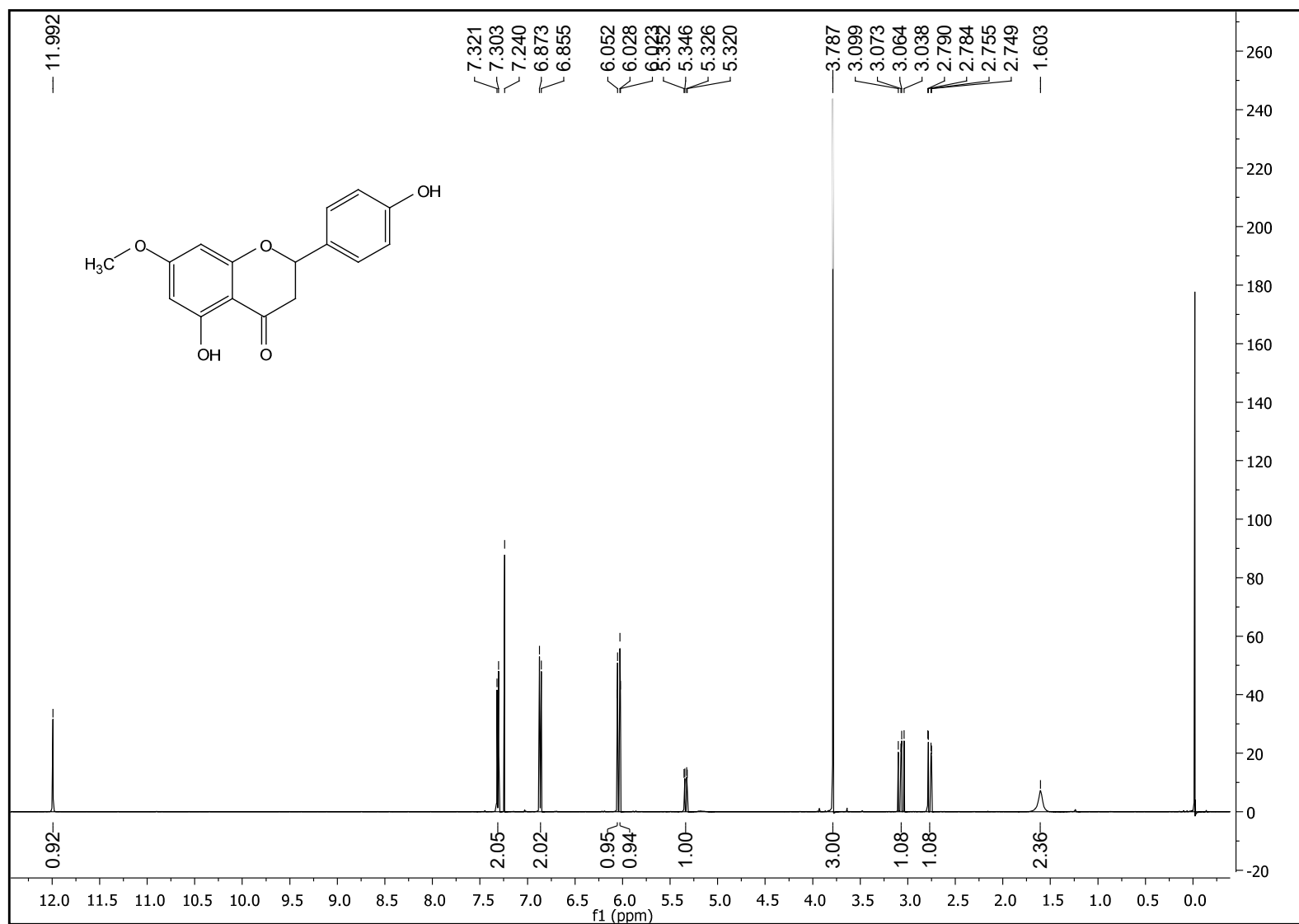
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>2</b>	79,11	5,34 (dd, 1H, J= 13,0 Hz)	79,98	5,44(dd, 1H, J=13,2 e 2,9Hz)	79,20	5,46(dd, 1H, J=12,8 e 3,0Hz)
<b>3</b>	43,36	2,77(dd, 1H, J=17,2 e 3,0 Hz) 3,07(dd, 1H, J=17,2 e 13,0 Hz)	43,42	2,73(dd, 1H, J=16,8 e 2,9Hz) 3,18(dd, 1H, J=16,8 e 13,0Hz)	43,60	2,75(dd, 1H, J=17,1 e 3,0Hz) 3,20(dd, 1H, J=17,1 e 12,0Hz)
<b>4 (C=O)</b>	196,19	-	197,00	-	196,80	-
<b>5</b>	164,30	-	164,91	-	164,10	-
<b>6</b>	95,28	6,05 (d, 1H, J=2,3 Hz)	95,43	6,02 (d, 1H, J= 2,2Hz)	94,06	6,03 (d, 1H, J= 2,0Hz)
<b>7</b>	168,20	-	168,79	-	168,00	-
<b>8</b>	94,41	6,03(d, 1H, J= 2,3Hz)	94,54	6,03 (d, 1H, J=2,2Hz)	94,00	6,04 (d, 1H, J=2,0Hz)
<b>9</b>	163,05	-	164,12	-	163,3	-
<b>10</b>	103,30	-	103,70	-	103,00	-
<b>1'</b>	130,73	-	130,50	-	130,00	-
<b>2'</b>	128,10	7,31 (d, 2H, J=8,8Hz)	128,98	7,37(d, 2H, J= 8,4Hz)	128,10	7,39(d, 2H, J= 8,4Hz)
<b>3'</b>	115,83	6,86 (d, 2H, J= 8,8Hz)	116,00	6,89 (d, 2H, J= 8,4Hz)	115,30	6,90 (d, 2H, J= 8,4Hz)
<b>4'</b>	156,29	-	158,75	-	157,90	-
<b>5'</b>	115,83	6,86 (d, 2H, J= 8,8Hz)	115,00	6,89 (d, 2H, J= 8,4Hz)	115,3	6,90 (d, 2H, J= 8,4Hz)
<b>6'</b>	128,10	7,31 (d, 2H, J=8,8Hz)	128,90	7,37(d, 2H, J= 8,4Hz)	128,10	7,39(d, 2H, J= 8,4Hz)
<b>MeO</b>	55,83	3,78 (s, 3H)	56,19	3,83 (s, 3H)	55,04	3,84(s, 3H)

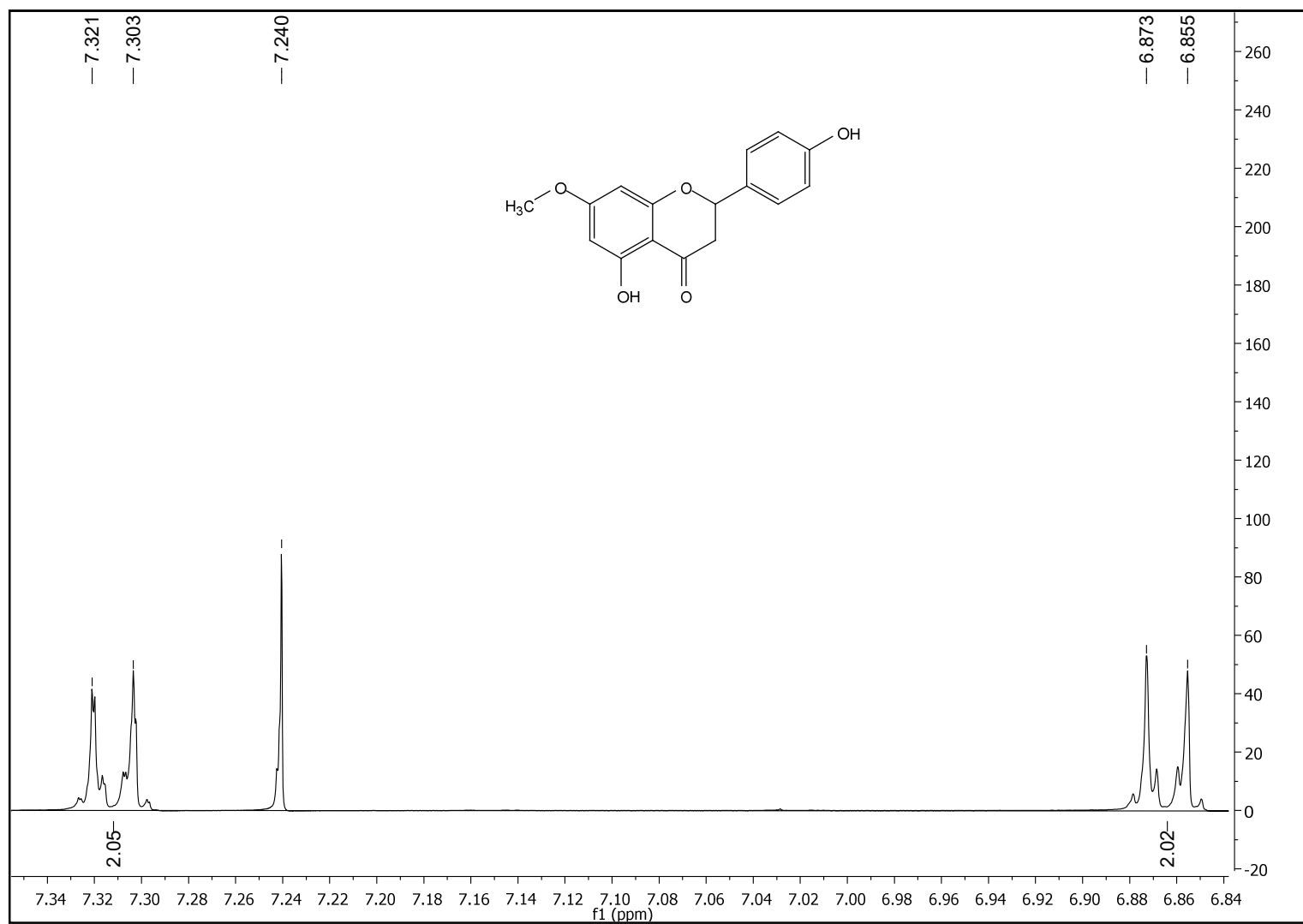
**Tabela 6:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-04**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais.

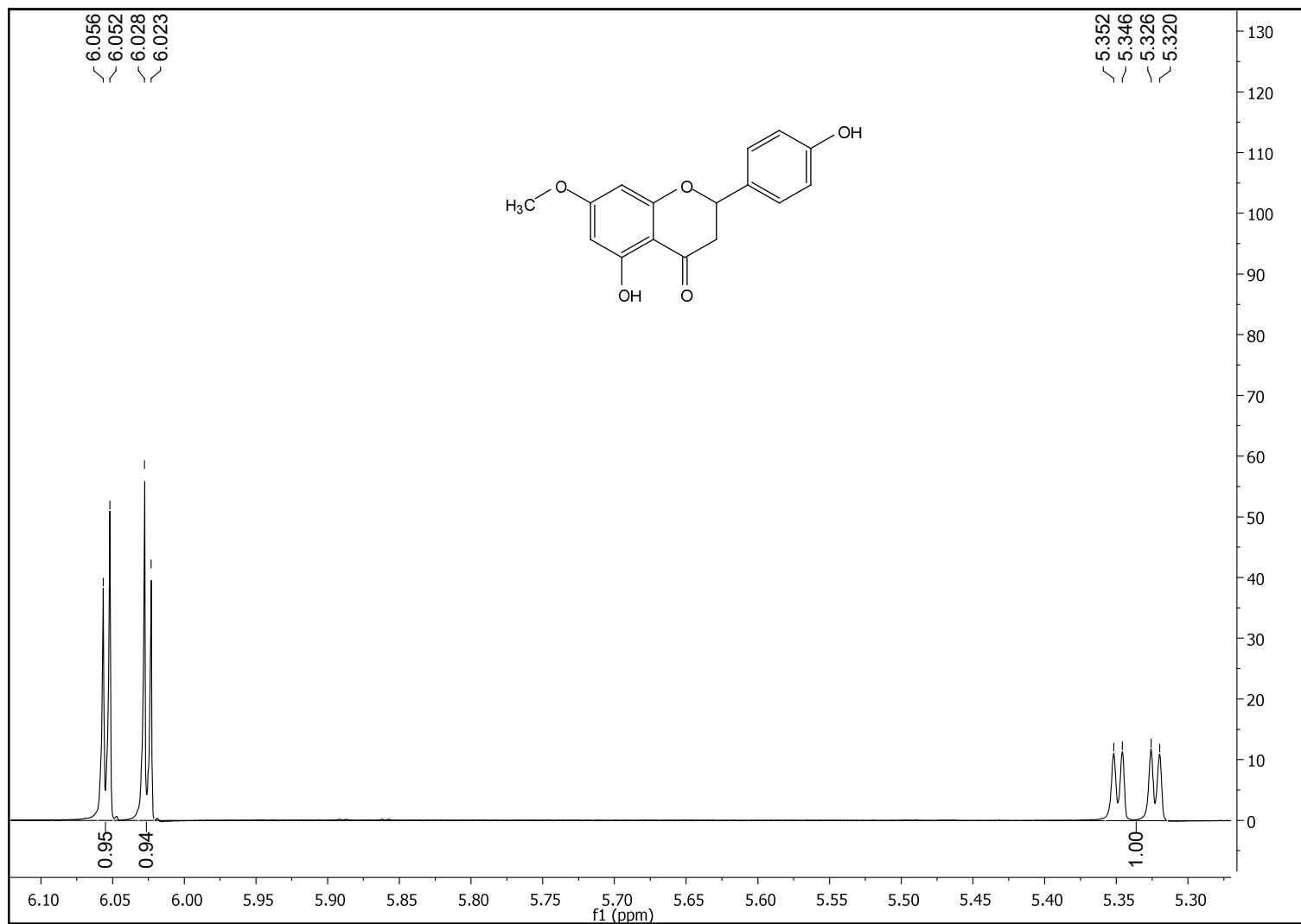
C	$\delta_{\text{C}}$	HMQC	HMBC			NOESY	COSY
		$\delta_{\text{H}}$	$^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1'	130,73	-					
4'	156,29	-					
5	164,30	-					
7	168,20	-					
9	163,05	-					
10	103,30	-					
<b>CH</b>							
2'	128,10	7,31 (d, 2H, J=8,8Hz)		C-2			H-3'
3'	115,83	6,86 (d, 2H, J= 8,8Hz)		C-1'		H-6'	H-2'
5'	115,83	6,86 (d, 2H, J= 8,8Hz)					H-6'
6'	128,10	7,31 (d, 2H, J=8,8Hz)			C-2	H-3/H-2	H-5'
2	79,11	5,34 (dd, 1H, J= 13,0 Hz)	C-1'	C-2'		H-3/H-6'	H-3
3	43,36	2,77(dd, 1H, J=17,2 e 3,0 Hz) 3,07(dd,1H, J=17,2 e 13,0 Hz)		C-2/C-4	C-1'	H-2	H-3a /H-3b H-2
6	95,28	6,05 (d, 1H, J=2,3 Hz)	C-7	C-10/C-8			
8	94,41	6,03(d, 1H, J= 2,3Hz)	C-9			H-Me	
<b>CH<sub>3</sub>O</b>							
CH <sub>3</sub> O-7	55,83	3,78 (s, 3H)		C-7		H-8	
<b>OH</b>							
OH-5	-	12,00 (s,1H)			C-10/C-6		
OH-4'	-	-					
<b>C=O</b>	196,19	-					

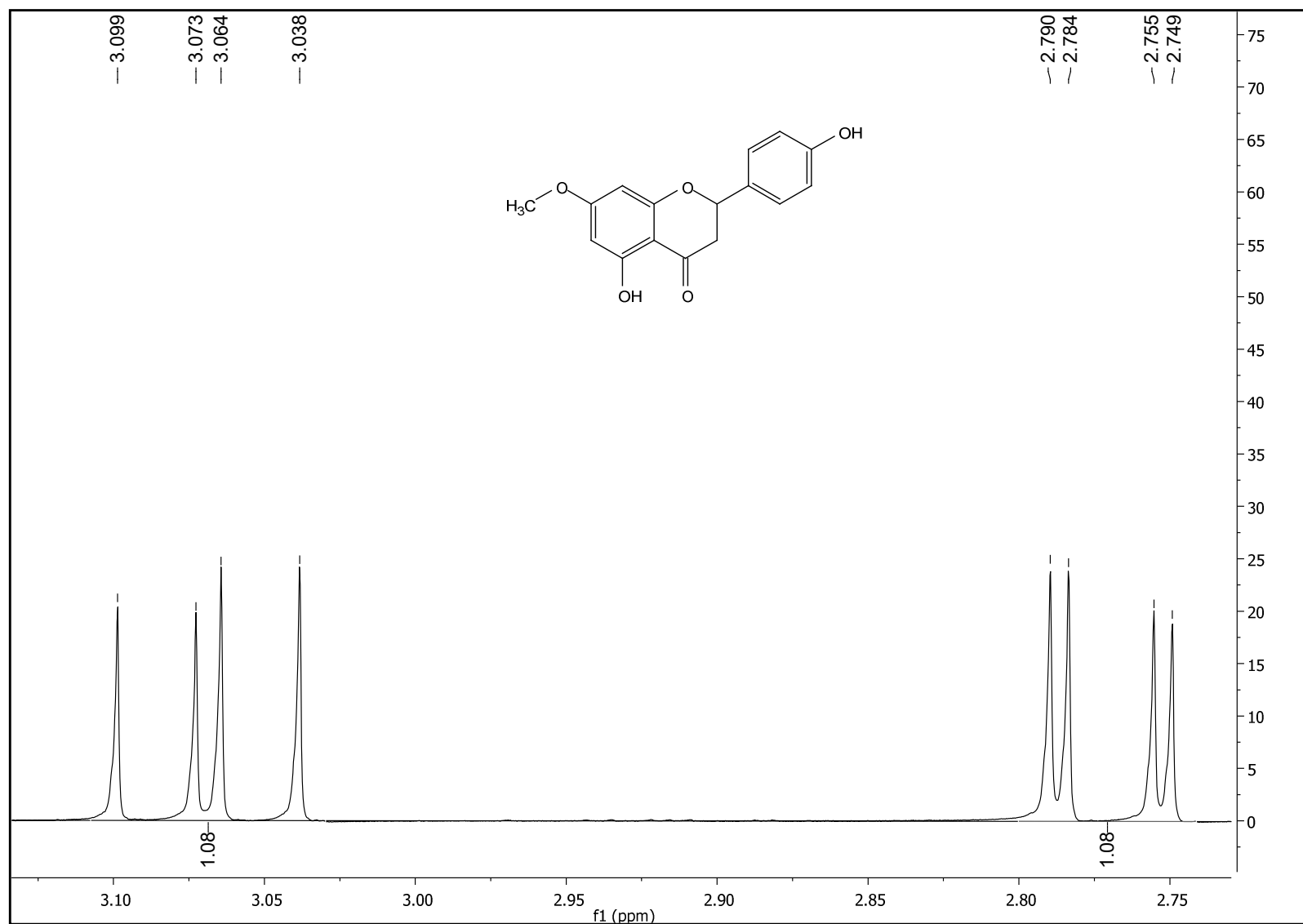
**Figura 53:** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de **TF-04**

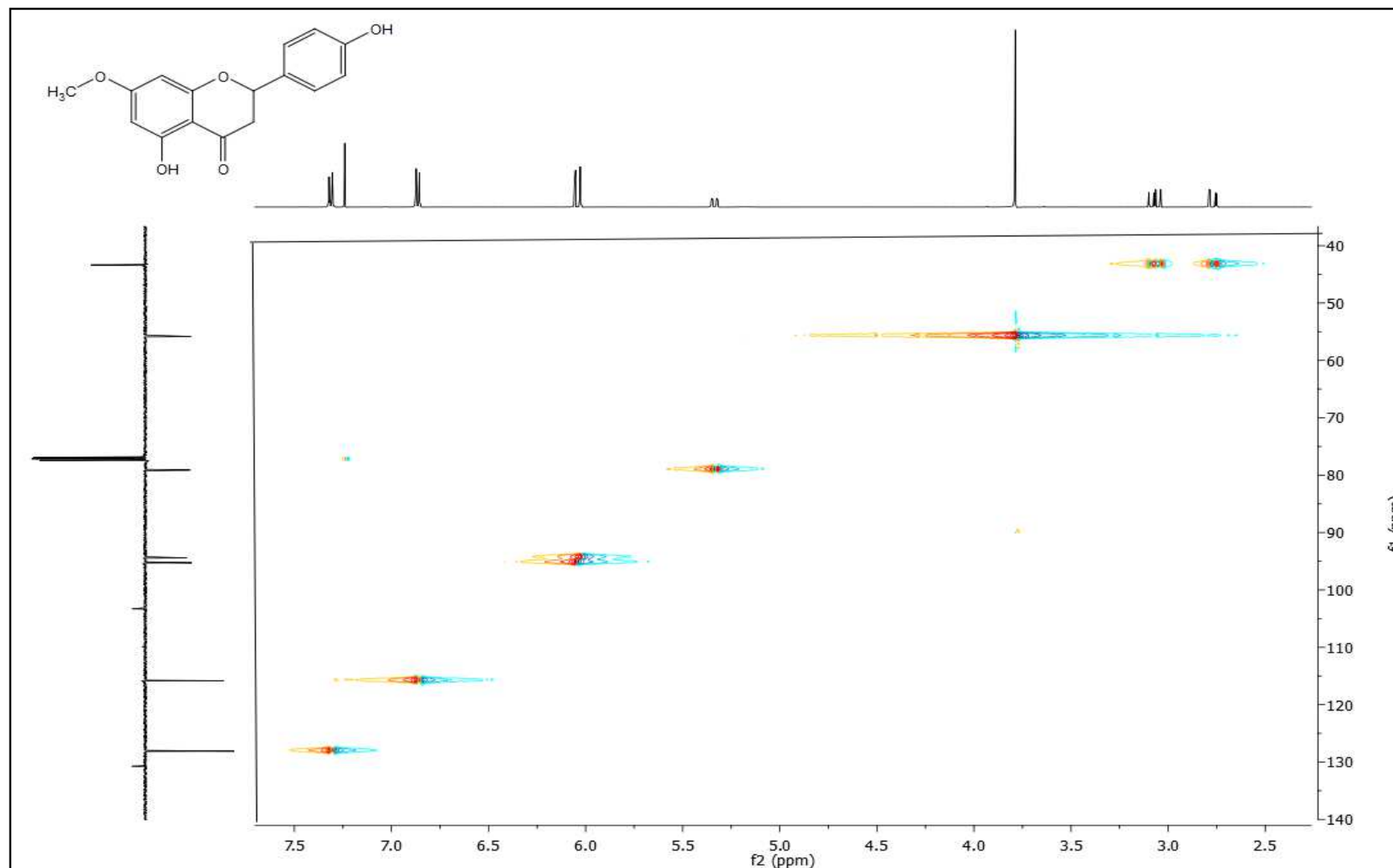
**Figura 54:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (125 MHz) de **TF-04**

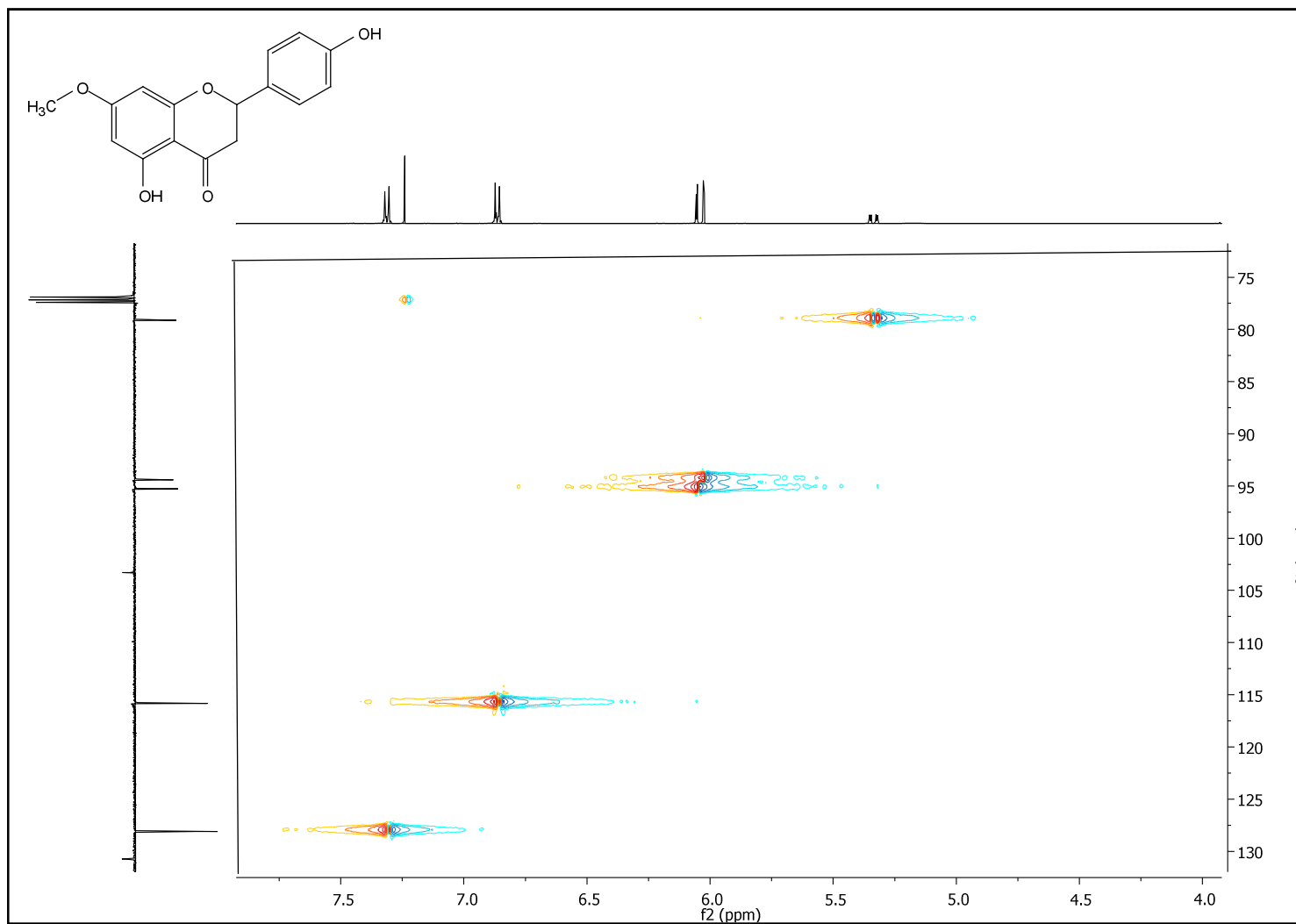
**Figura 55:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

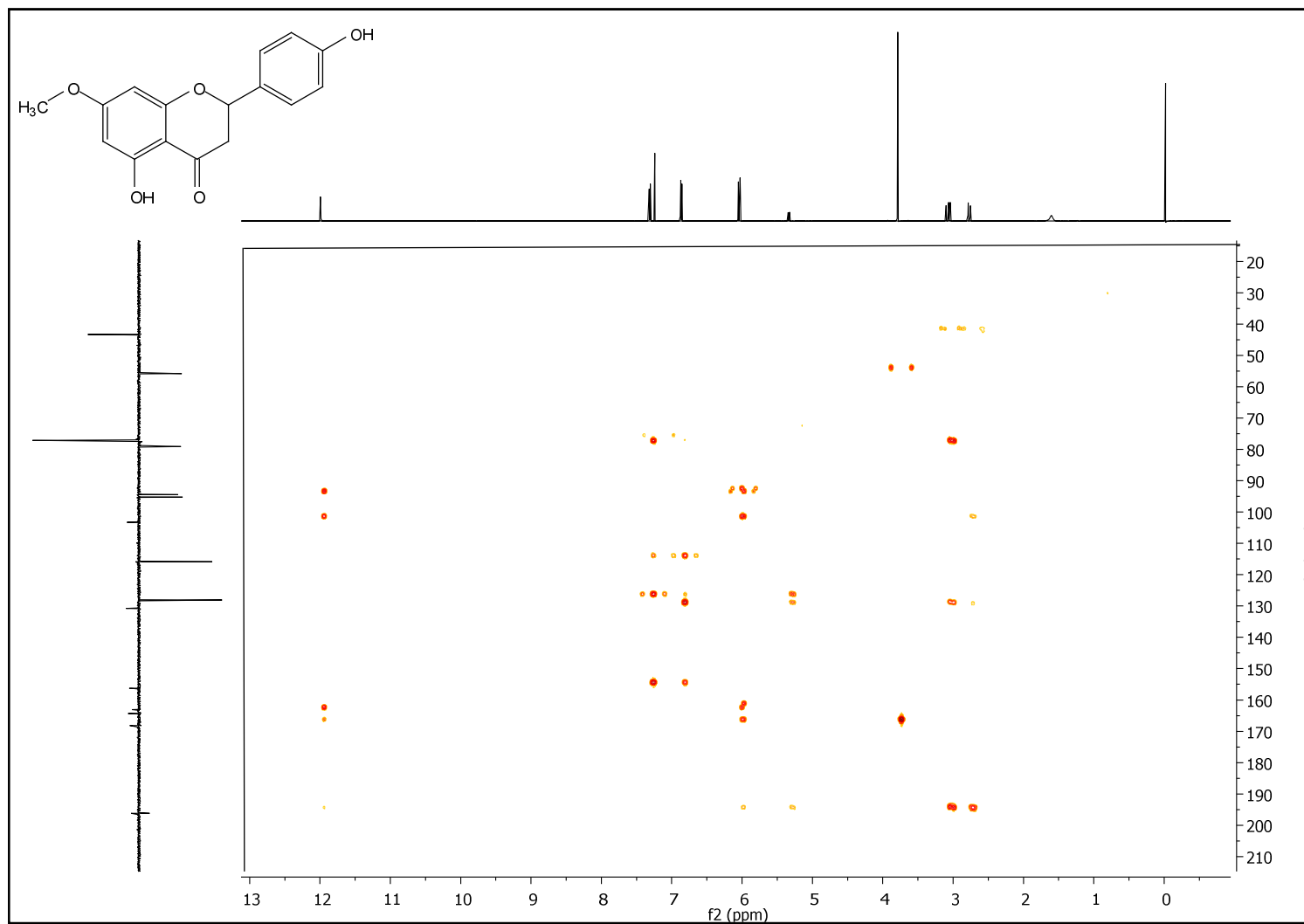
**Figura 56:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

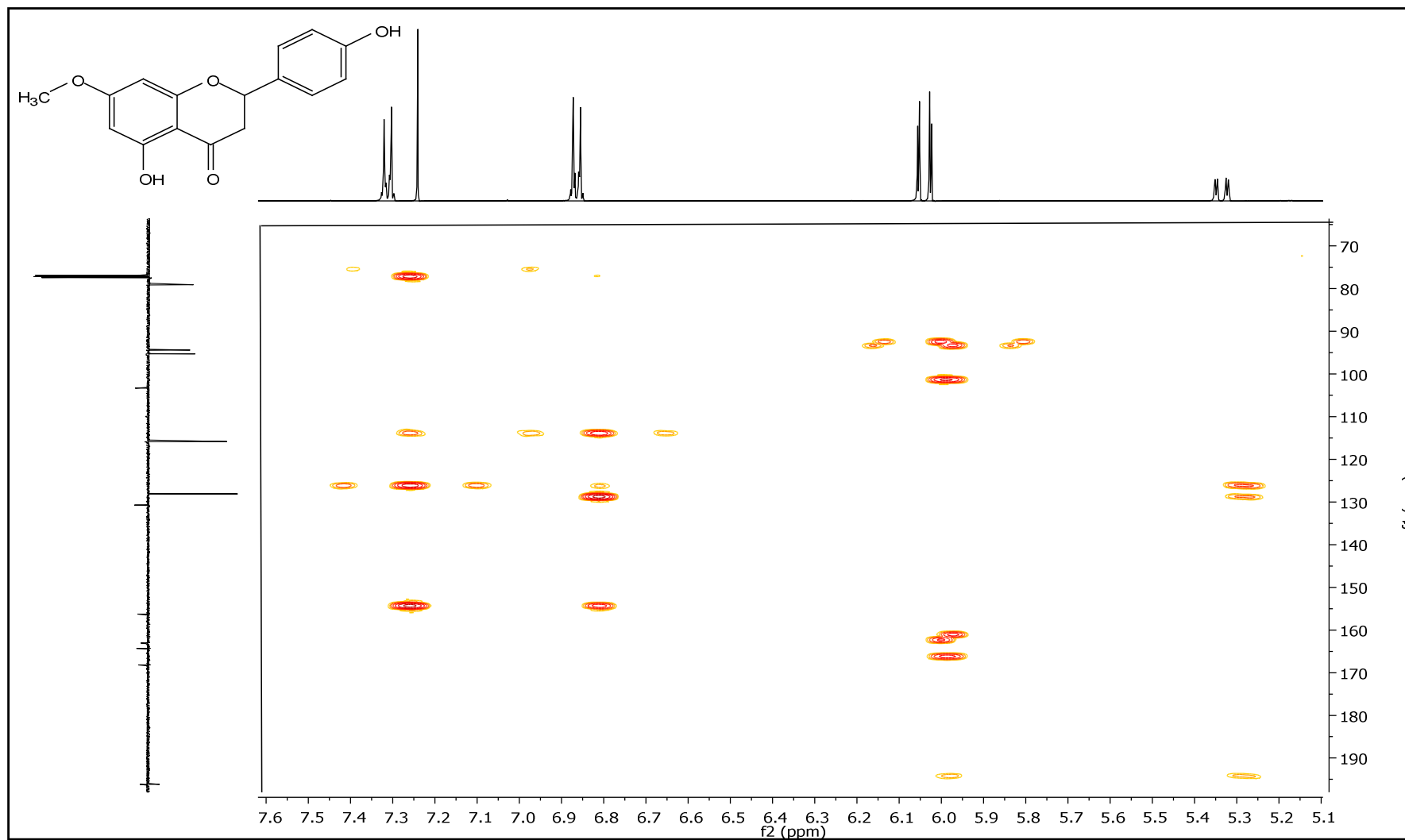
**Figura 57:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

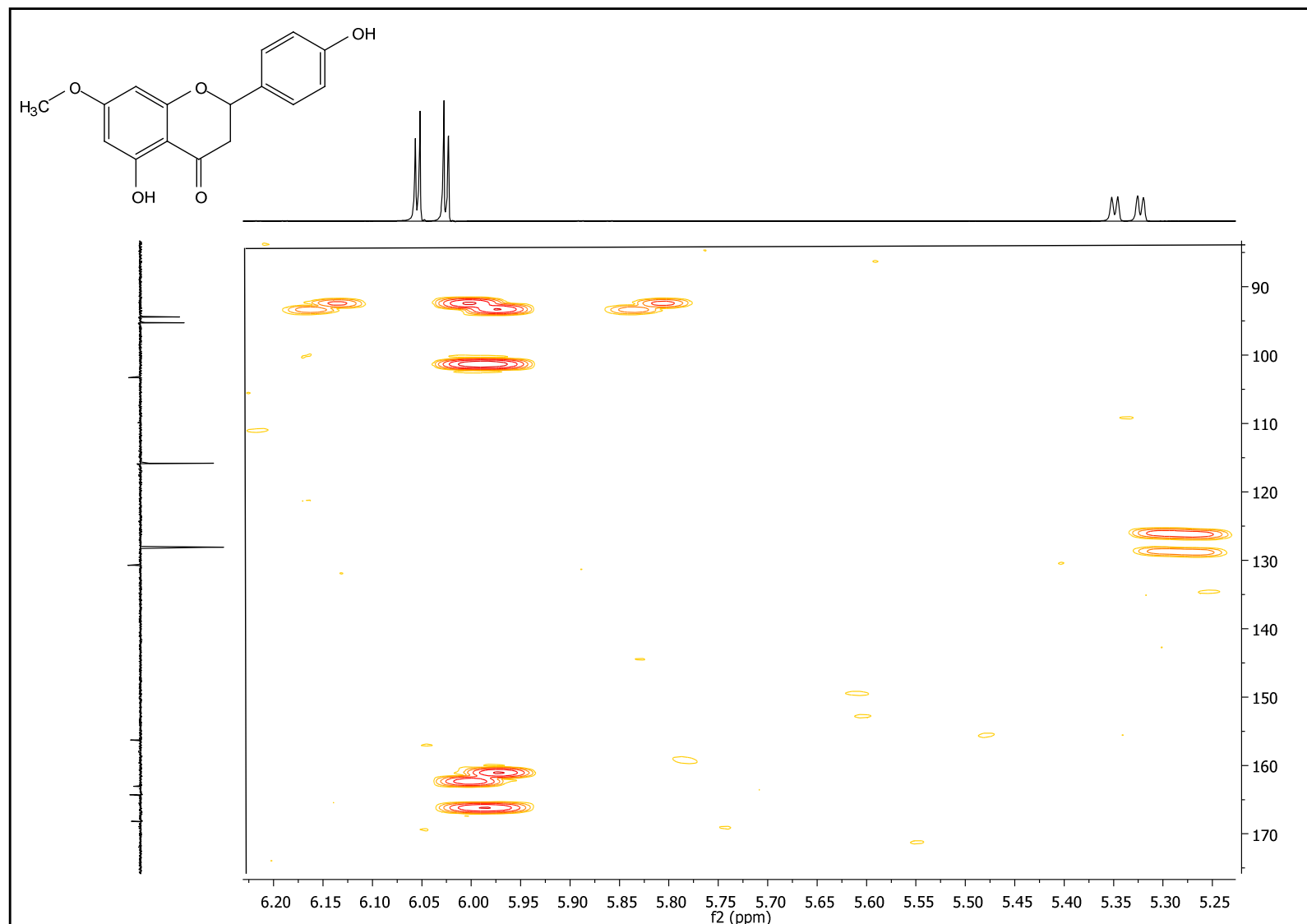
**Figura 58:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

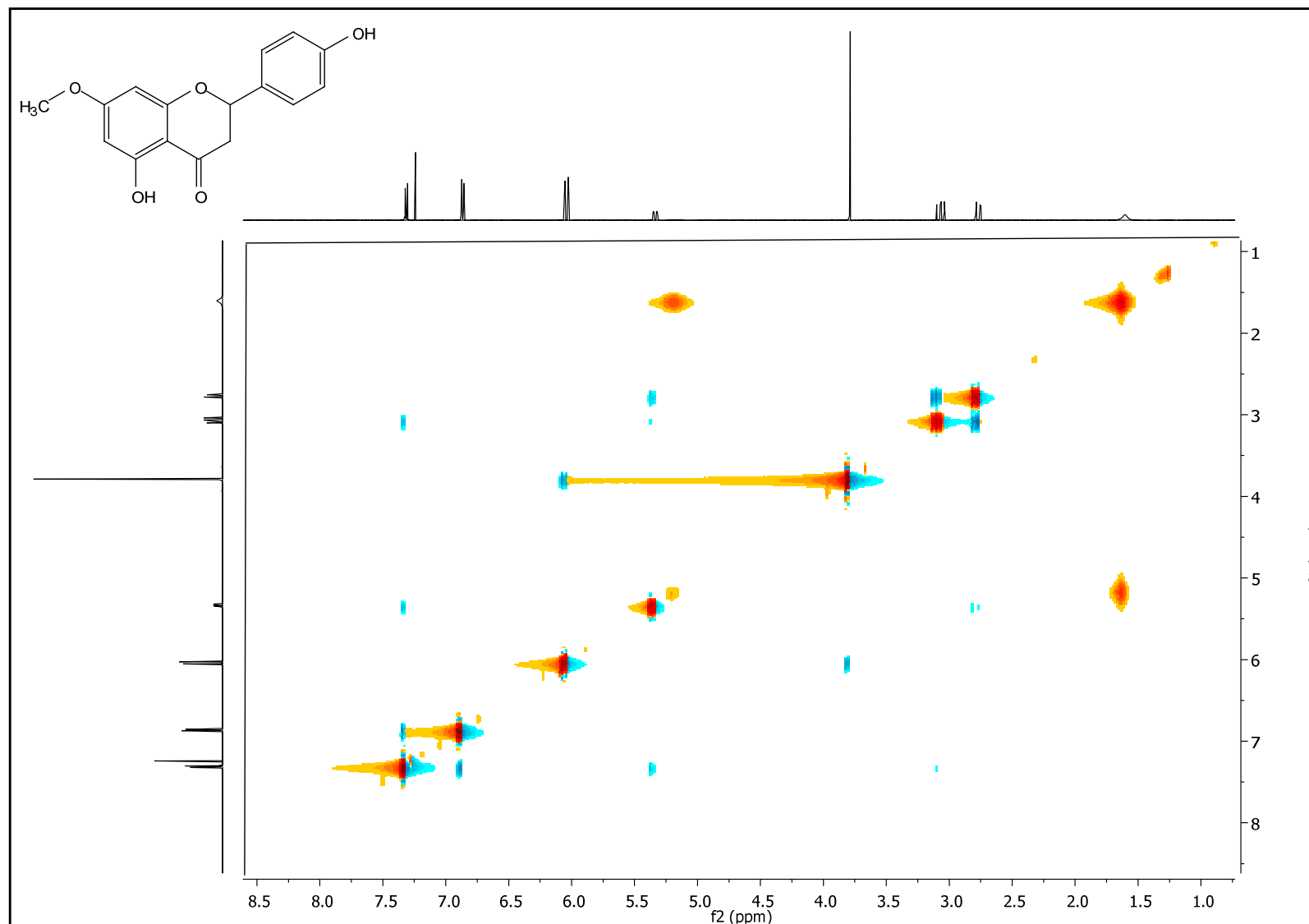
**Figura 59:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

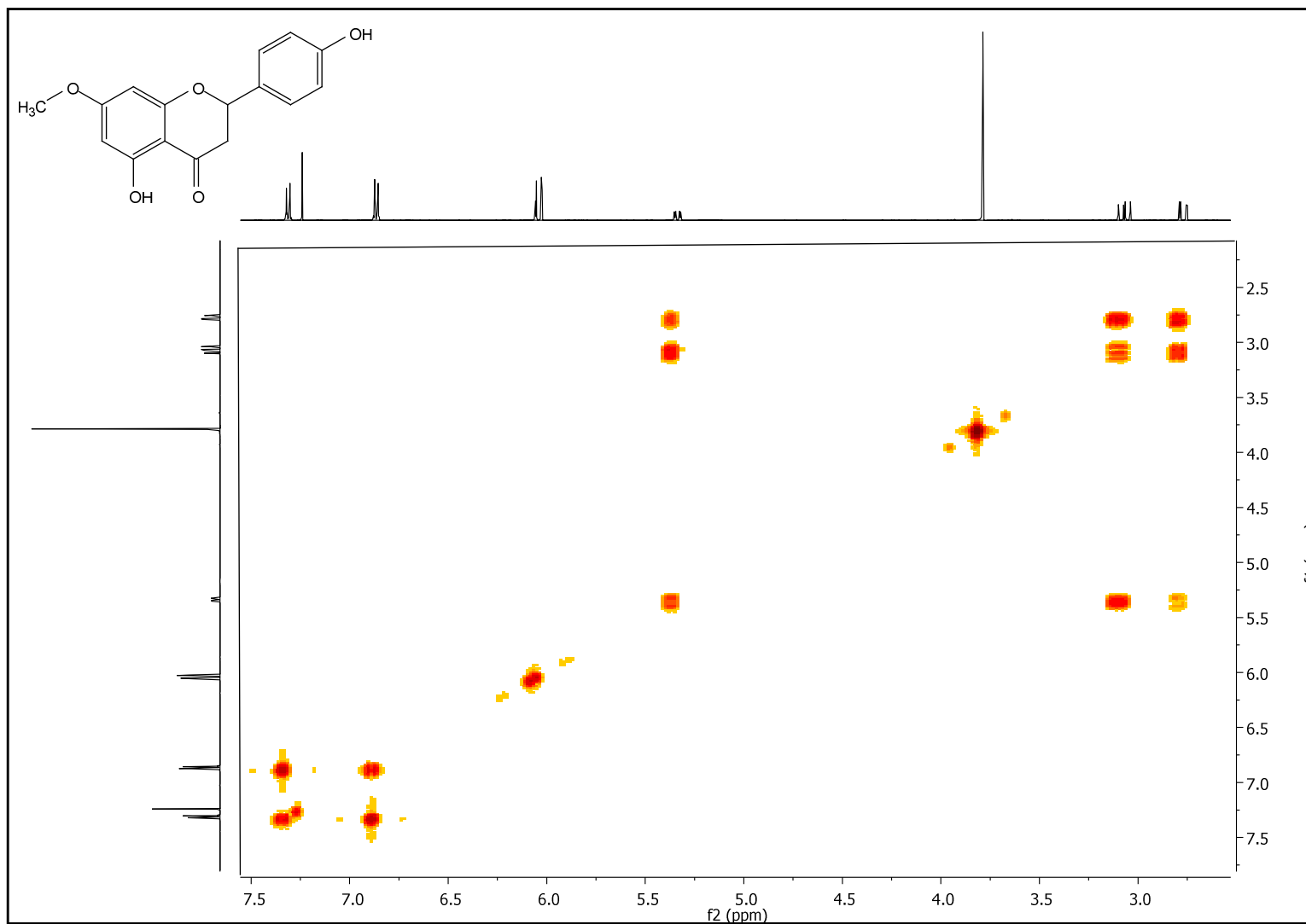
**Figura 60:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

**Figura 61:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

**Figura 62:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

**Figura 63:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

**Figura 64:** Espectro de NOESY em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de TF-04

**Figura 65:** Espectro de COSY em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **TF-04**

### 5.5 Determinação estrutural de TF-05

A amostra codificada como TF-05, foi isolada na forma de cristais de coloração amarela (Figura 66), solúvel em acetona, apresentando peso em massa de 30mg e ponto de fusão na faixa de 184°C - 187°C.



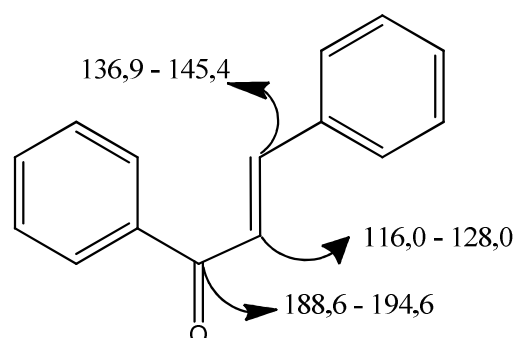
**Figura 66:** Amostra TF-05

A fração foi submetida à espectroscopia de infravermelho, obtendo-se o espectro ilustrado na figura 72. A análise do espectro mostrou como principais bandas: uma deformação em torno de  $3304\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação O-H, não impedida estericamente, sugerindo a presença de hidroxila na amostra; a banda em  $1635\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a C=O de cetona  $\alpha, \beta$  insaturada na conformação *trans* e a banda em  $1603\text{ cm}^{-1}$  foi referenciada ao estiramento C=C de anel aromático. (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010).

Ainda no espectro de infravermelho, foram observados também: estiramento C-O de fenóis representados pela banda em  $1218\text{ cm}^{-1}$ , estiramento simétrico C-O, sugestivo a presença de um éter arílico, representados por duas bandas fortes em  $1260\text{ cm}^{-1}$  e em  $1034\text{ cm}^{-1}$ ; como também, uma banda forte em  $801\text{ cm}^{-1}$  e outra média em  $978\text{ cm}^{-1}$ , sugere a presença de um anel aromático trissubstituído na posição 1,3 e 4, já a absorção notada em  $825\text{ cm}^{-1}$  sugere ainda a presença de um anel *para* substituído na amostra (SILVERSTEIN et. al, 2007; PAVIA et. al, 2010).

Na análise espectral dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ) (Figuras 75) foram observadas 12 sinais referentes a 15 carbonos, os sinais em  $\delta_c$  115,28 ; 131,50 e 162,85 encontram-se dobrados, sendo 6 referentes a carbonos não hidrôgenados, 8 metínicos, 1 metílico.

Como já foi citado anteriormente na determinação estrutural da amostra TF6 o esqueleto básico de uma chalcona apresenta picos característicos para os carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  e também para a carbonila (Figura 67).



**Figura 67:** Absorções características de RMN de  $^{13}\text{C}$  para chalconas (WAGNER et.al 1976)

Ao avaliar os dados espectrais de RMN de carbono, foi observado um pico característico em  $\delta_c$  192.73, referente a carbonila, e picos em  $\delta_c$  119.20 e 144.62, referentes aos carbonos C- $\alpha$  e C- $\beta$  respectivamente, o nos levou a acreditar na possibilidade de se tratar de uma chalcona. Ainda no espectro de carbono foi observado um pico em  $\delta_c$  55.83 referente a uma metoxila não impedida estericamente.

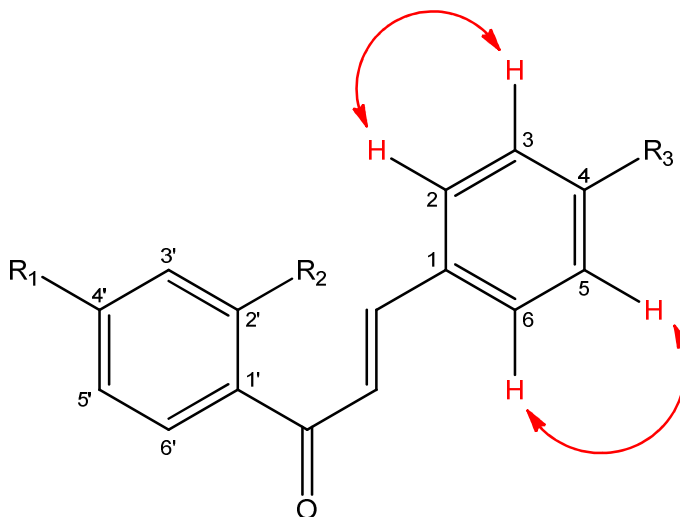
Ao analisar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e sua expansão (500MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ) (Figuras 73 e 74) foram observados sinais de hidrogênios acoplado entre si, um na posição *meta*, representado pelo sinal em  $\delta_H$  6.37(1H,  $J = 2,4\text{Hz}$ ), outro na posição *orto e meta*, representado por um duplo dubleto em  $\delta_H$  6.47 (1H,  $J = 8,9$  e  $2,3$  Hz) e um terceiro na posição *orto* representado pelo sinal  $\delta_H$  8.10 (1H,  $J = 8,9\text{Hz}$ ).

Observou-se também, a presença de sinais característicos de um sistema aromático *para* dissustituído, formando um sistema AA'BB' representados por

dubletos em  $\delta_H$  7.01 (2H,  $J=8,7\text{Hz}$ ) e 7.81 (2H,  $J=8,7\text{Hz}$ ) correspondentes aos pares de hidrogênio H2' / H6' e H3' / H5', que foi confirmada pela presença de sinais intensos, no espectro de carbono, em  $\delta_C$  115.28 e 131.50, sugerindo assim, uma substituição em C4'.

No espectro de hidrogênio os sinais referentes aos hidrogênios  $\alpha$  e  $\beta$  na posição *trans* de chalconas, absorveram na região de  $\delta_H$  7.80 e 7.82 (2H,  $J=15,4\text{Hz}$ ), junto com um dos dubletos do sistema AA'BB', o conjunto de picos formou integral para quatro hidrogênios facilitando a diferenciação. Tais dados, juntamente com os dados de carbono e da literatura, possibilitaram a confirmação do esqueleto estrutural da molécula. Nenhum sinal de singlete de hidroxila quelada na região de  $\delta_H$  12 a 14 foi observado no espectro, sugerindo a ausência dessa conformação na molécula.

Para obtermos uma confirmação ainda mais convincente da presença do sistema AA'BB', foram realizados espectros bidimensionais de NOESY (Figura 80) que confirmam a interação entre os hidrogênios vicinais 2/3 e 5/6.



**Figura 68:** Correlação de Noesy da amostra TF-05

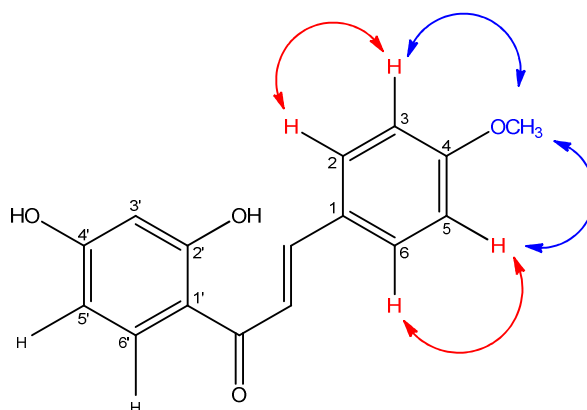
Ainda no espectro de hidrogênio foi observado um singlete em  $\delta_H$  3,86 com integral para três hidrogênios, referente a uma metoxila não impedida estericamente.

Sendo assim, teríamos três substituintes na molécula, sendo um deles uma metoxila.

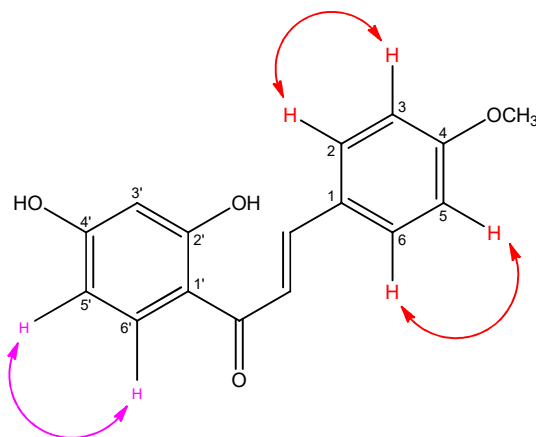
Ao analisar os dados de correlação direta, observados no espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC (Figuras 76 e 77) os sinais de carbono hidrogenados  $\delta_{\text{C}}$  103.68; 108.88; 115.28; 119.20; 131.50; 133.31 e 144.62 foram atribuídos aos carbonos C3', C5', C3/C5, C $\alpha$ , C2/C6, C6', C $\beta$  respectivamente. ( $\delta_{\text{H}}$  6.37 /  $\delta_{\text{C}}$  103.68;  $\delta_{\text{H}}$  6.47 /  $\delta_{\text{C}}$  108.88;  $\delta_{\text{H}}$  7.01 /  $\delta_{\text{C}}$  115.28;  $\delta_{\text{H}}$  7.80 /  $\delta_{\text{C}}$  119.20;  $\delta_{\text{H}}$  7.81 /  $\delta_{\text{C}}$  131.50;  $\delta_{\text{H}}$  8.10 /  $\delta_{\text{C}}$  133.31;  $\delta_{\text{H}}$  7.82 /  $\delta_{\text{C}}$  144.62). Mostrou-se também, correlação direta entre  $\delta_{\text{H}}$  3.86 e  $\delta_{\text{C}}$  55.83.

O espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC (Figuras 78 e 79), mostrou correlação entre o hidrogênio H- 6' ( $\delta_{\text{H}}$  8.10) com os carbonos C-1' e C-5' ( $\delta_{\text{C}}$  114.31 e 108.88), mostrou também, correlação entre os hidrogênios H- 2 e H- 5 com os carbonos C3/C5 e também com o carbono C1.

No HMBC também foram observadas correlação entre o hidrogênio da metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  3.86) com o carbono C4 ( $\delta_{\text{C}}$  162.85) e dos hidrogênios 3 e 5 com o carbono C4, sugerindo assim, que o substituinte do anel B é a metoxila e que conseqüentemente o anel A possui duas hidroxilas como substituintes. Tal sugestão foi confirmada pela presença de interação entre o hidrogênio 5' e os hidrogênios da metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  3.86) no espectro bidimensional de  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – NOESY e COSY.

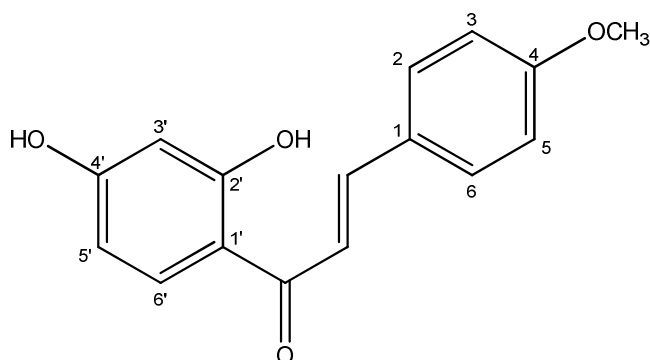


**Figura 69:** Correlação de NOESY da amostra TF-05



**Figura 70:** Correlação de COSY da amostra TF-05

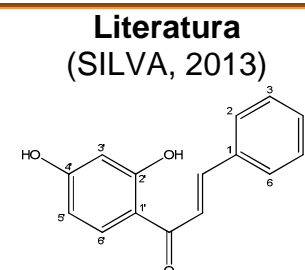
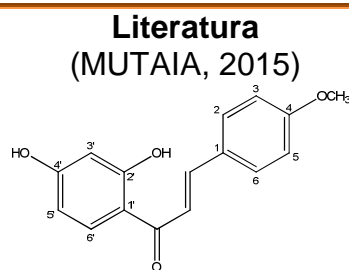
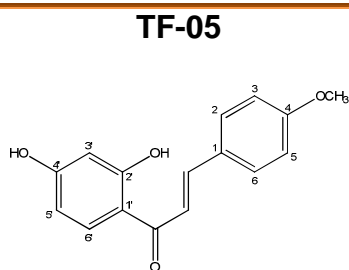
Comparação dos dados espectrais da amostra TF-05 com dados da literatura (MUTAI, 2015; SILVA, 2013; ZHAO, 2011), permitiu identificar a amostra como sendo a 2'-4' diidroxí- 4-metoxichalcona.



**Figura 71:** 2'-4' diidroxí- 4-metoxichalcona

Tal substância foi isolada nesta conformação, sem formação de ponte entre a hidroxila e carbonila, pela primeira vez na espécie. Foi isolada na espécie por Ohsaki em 2006, porém na conformação apresentando ponte de hidrogênio entre a hidroxila em H-2' e a cetona.

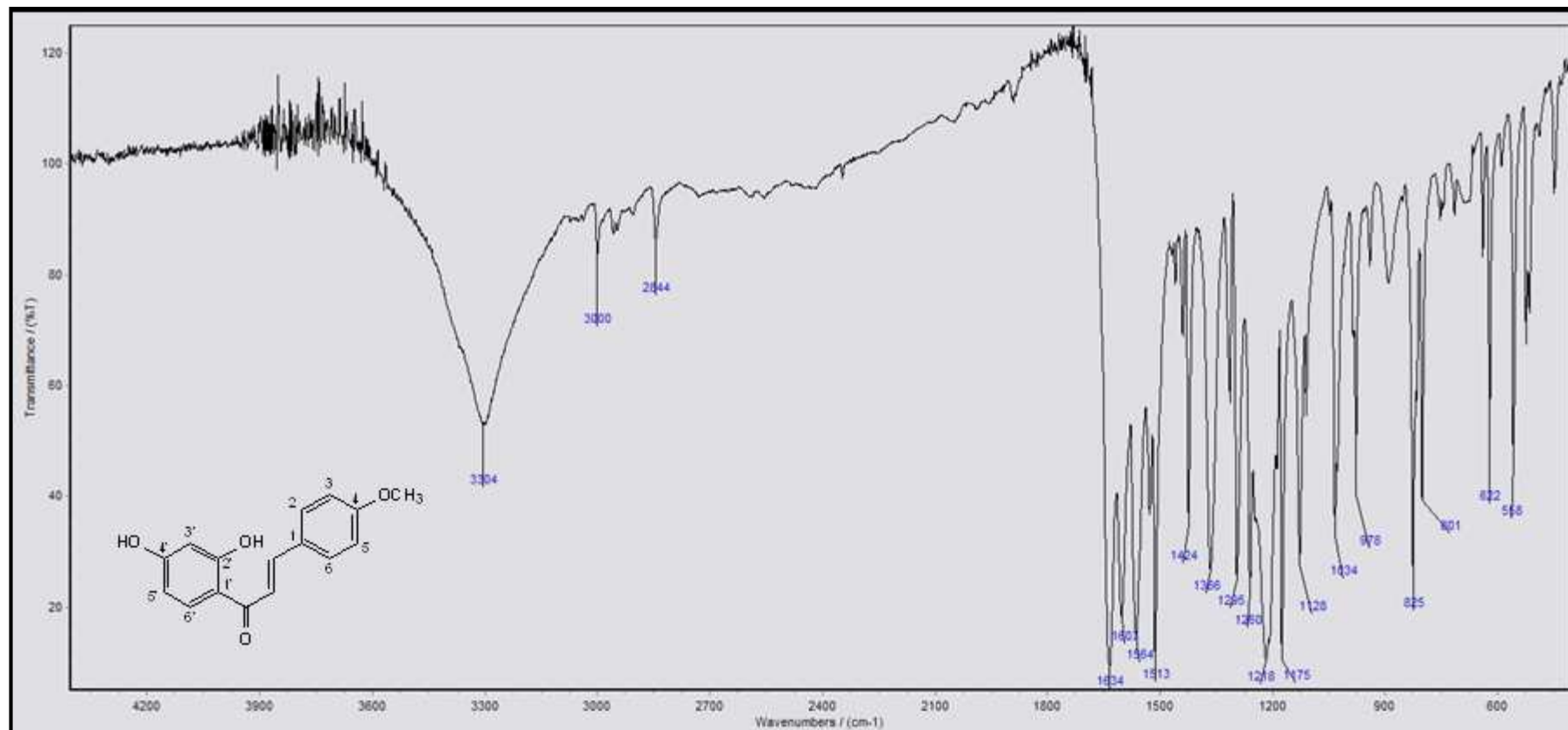
**Tabela 7:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-05** em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) e da 2'-4' diidroxí- 4-metoxichalcona em  $\text{CD}_3\text{OD}$  (400 MHz) (MUTAIA, 2015) e da 2'-4' diidroxichalcona em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) (SILVA, 2013)

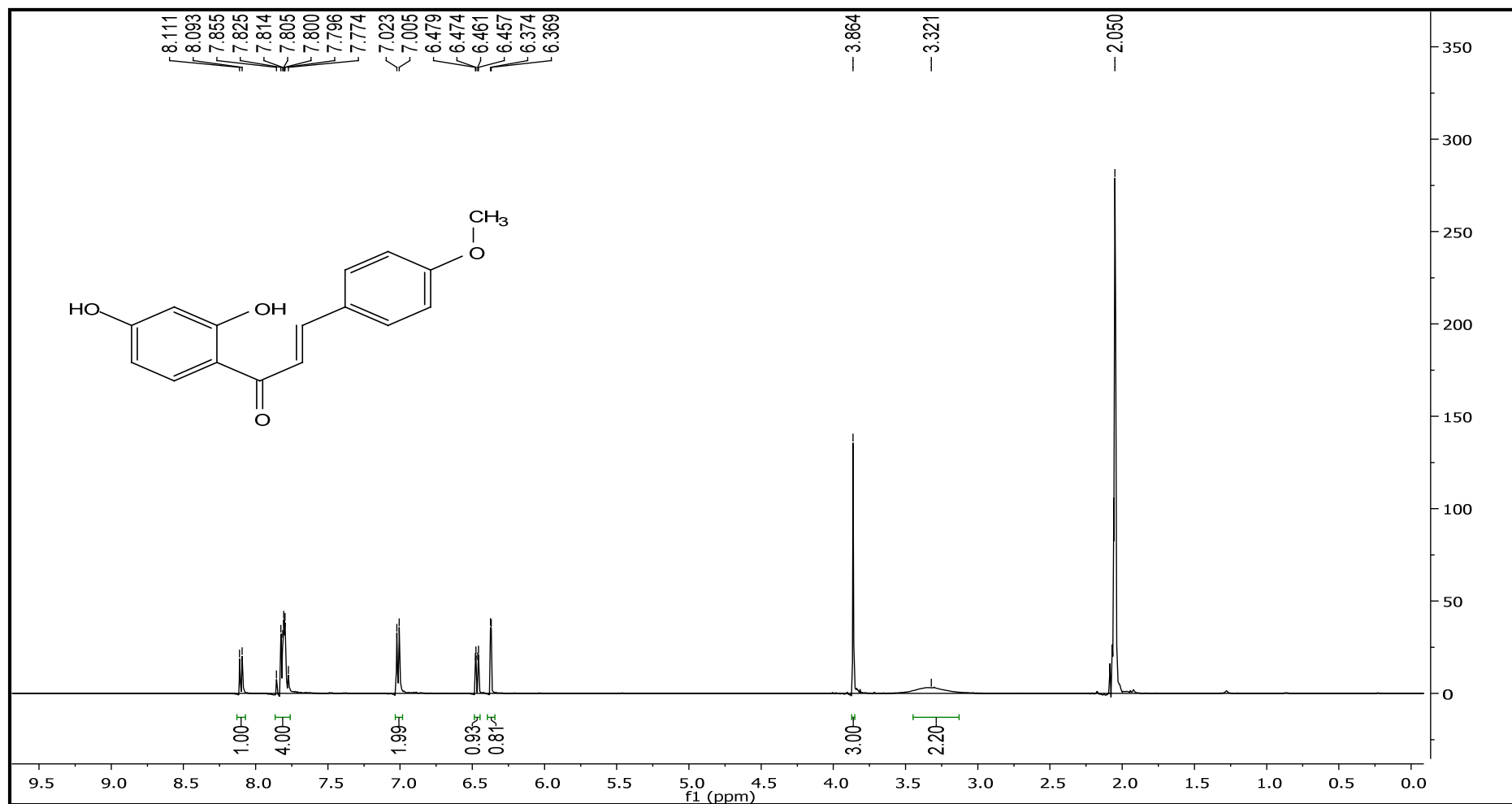


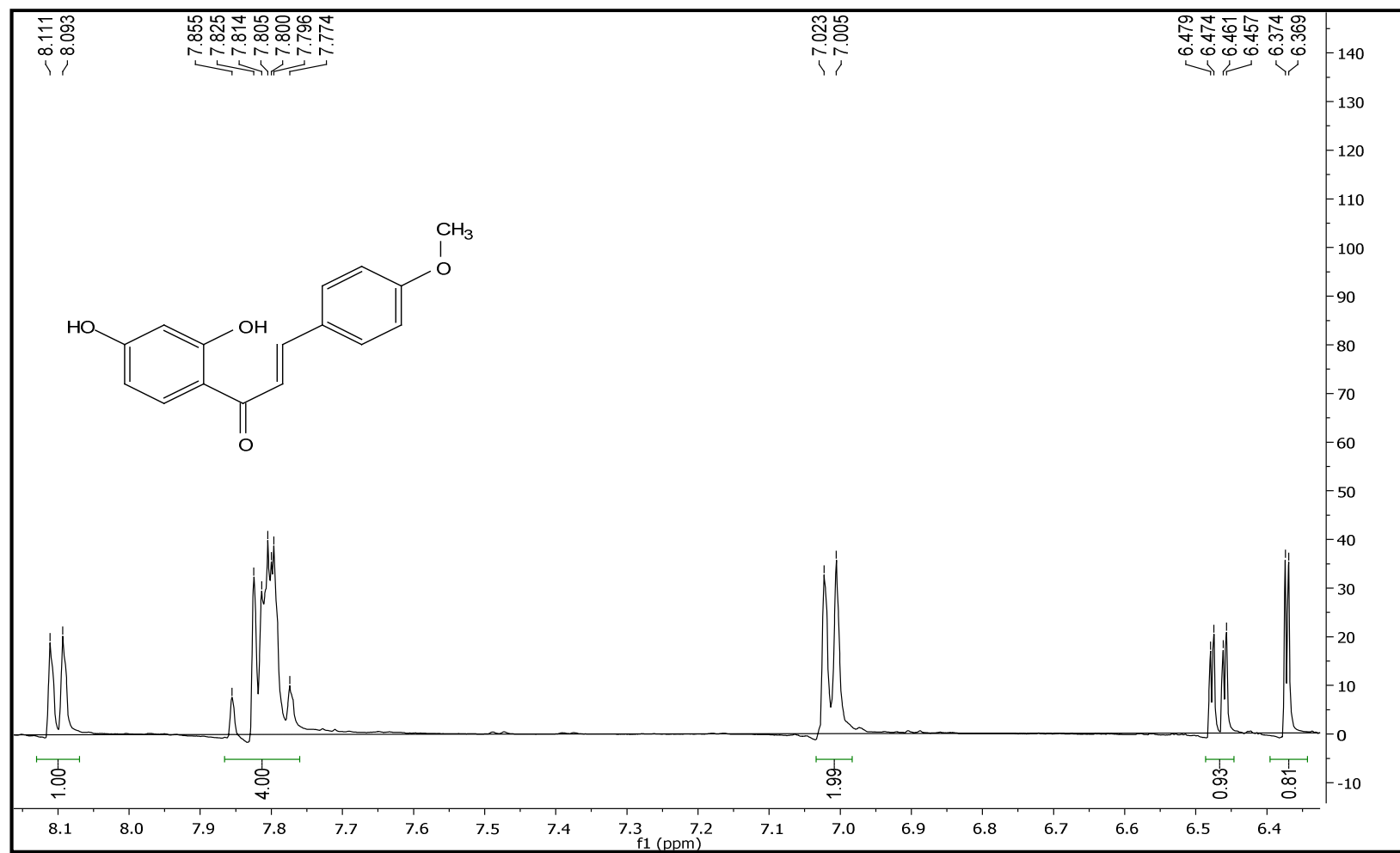
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>1'</b>	114.31	-	113.20	-	144.00	-
<b>2'</b>	166.04	-	166.20	-	166.00	-
<b>3'</b>	103.68	6.37 (d, 1H, J=2,4Hz)	102.50	6.29 (d, 1H, J = 2.4 Hz)	103.00	6.39(d, 1H, J=2,5Hz)
<b>4'</b>	162.85	-	162.00	-	162.00	-
<b>5'</b>	108.88	6.47(dd, 1H, J=8,9 e 2,3Hz)	107.80	6.41 (dd, 1H, J = 9.0, 2.4 Hz)	108.00	6.48(dd, 1H, J=9,0 e 2,5Hz)
<b>6'</b>	133.31	8.10(d, 1H, J=8,9 Hz)	132.00	7.95 (d, 1H, J = 9.0 Hz)	133.00	8.15 (d, 1H, J=9,0 Hz)
<b>C=O</b>	192.73	-	192.10	-	192.90	-
<b><math>\alpha</math></b>	119.20	7.80(d, 1H, J=15,5Hz)	118.90	7.79 (d, 1H, J = 15.4 Hz)	120.00	7.95 (d, 1H, J=15,5Hz)
<b><math>\beta</math></b>	144.62	7.82(d, 1H, J=15,5Hz)	143.80		144.00	7.87(d, 1H, J=15,5Hz)
<b>1</b>	128.58	-	127.70	-	-	-
<b>2</b>	131.50	7.81 (d, 2H)	130.20	7.80 (d, 2H, J = 8.7 Hz)	-	-
<b>3</b>	115.28	7.00 (d, 2H)	114.10	6.97 (d, 2H, J = 8.7 Hz)	-	-
<b>4</b>	162.85	-	163.10	-	-	-
<b>5</b>	115.28	7.00 (d, 2H)	114.10	6.97 (d, 2H, J = 8.7 Hz)	-	-
<b>6</b>	131.50	7.81 (d, 2H)	130.20	7.80 (d, 2H, J = 8.7 Hz)	-	-
<b>MeO</b>	55.83	3.86 (s, 3H)	54.50	3.83 (s, 3H)	-	-

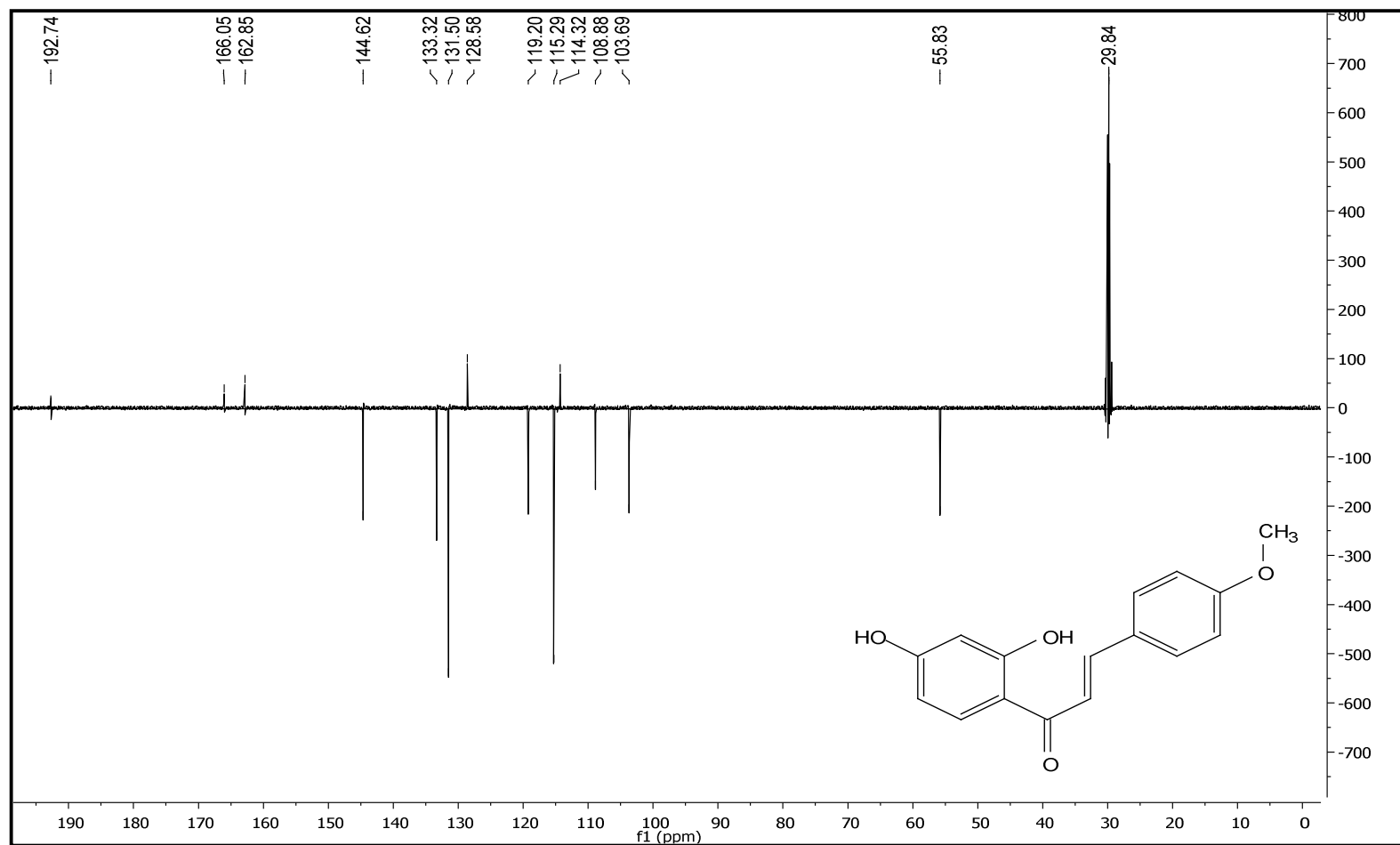
**Tabela 8:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-05**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais.

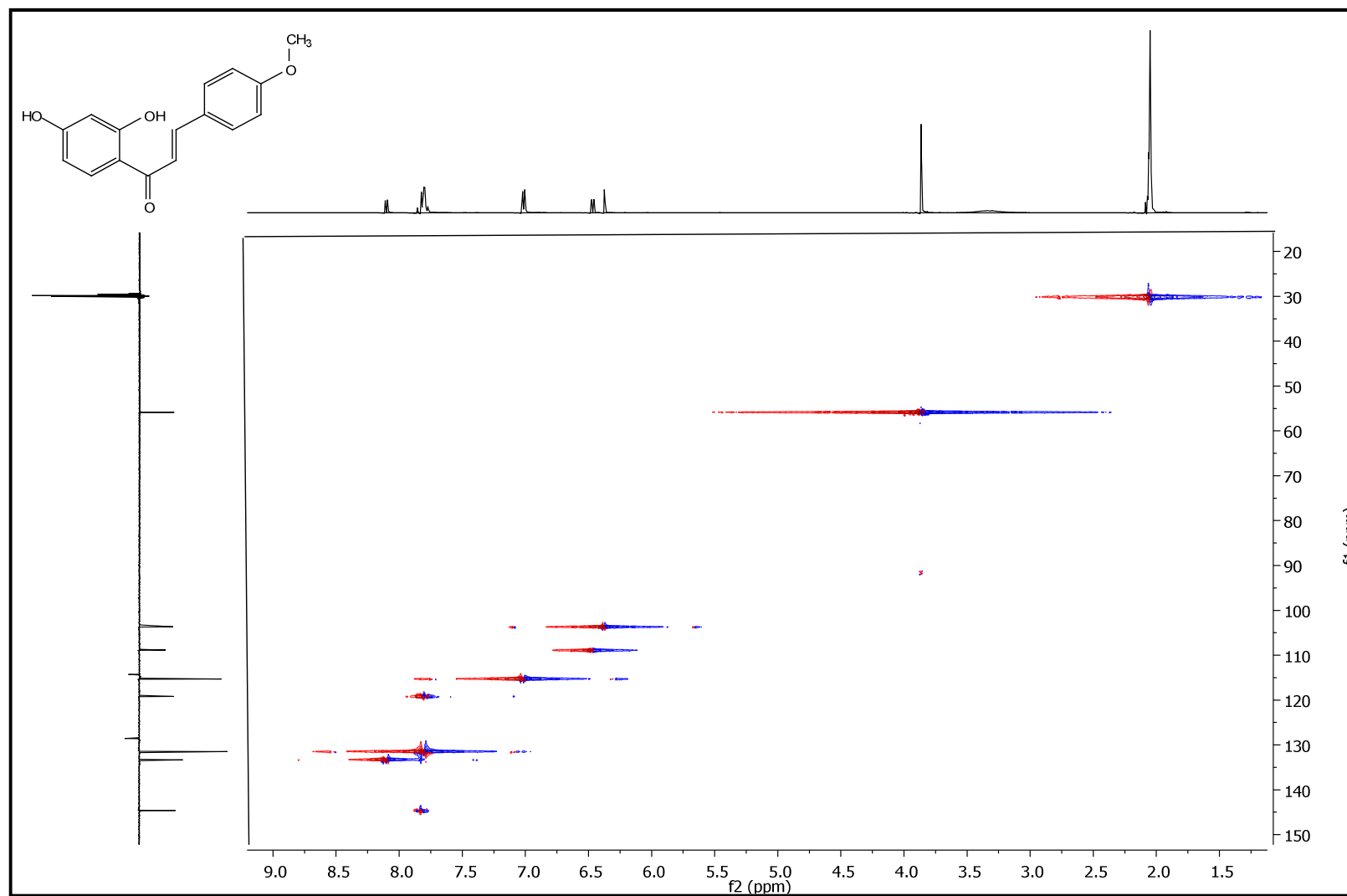
C	$\delta_{\text{C}}$	HMQC			HMBC		NOESY	COSY
		$\delta_{\text{H}}$	$^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	
1'	114.31	-						
2'	166.04	-						
4'	162.85	-						
1	128.58	-						
4	162.85	-						
<b>CH</b>								
3'	103.68	6.37 (d, 1H, J=2,4Hz)						
5'	108.88	6.47(dd, 1H, J=8,9 e 2,3Hz)					H-6'	H-6'
6'	133.31	8.10(d, 1H, J=8,9 Hz)		C-1'/C-5'	C-2'/C=O		H-5'	H-5'
$\alpha$	119.20	7.80(d, 1H, J=15,5Hz)			C=O			
$\beta$	144.62	7.82(d, 1H, J=15,5Hz)		C- $\alpha$	C-1			
2	131.50	7.81 (d, 2H)	C-2	C-3	C-4			
3	115.28	7.00 (d, 2H)		C-4	C-1		MeO-4	
5	115.28	7.00 (d, 2H)					H-6	H-6
6	131.50	7.81 (d, 2H)					H-5	H-5
<b>CH<sub>3</sub>O</b>								
CH <sub>3</sub> O-4	55.83	3.86 (s, 3H)		C-4			H-3	
<b>OH</b>								
OH-2'	-	-						
OH-4'	-	-						
<b>C=O</b>								
	192.73	-						

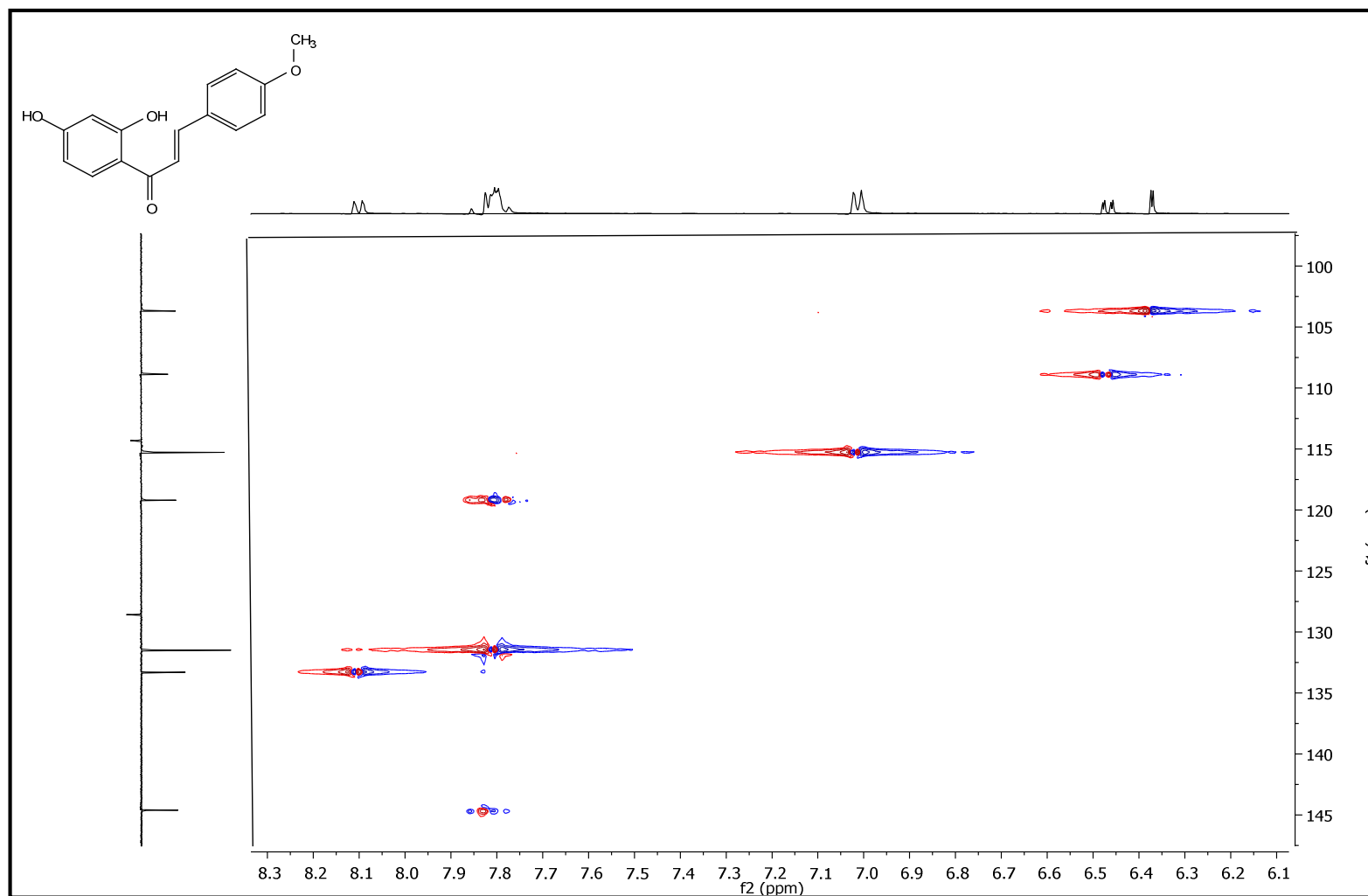
**Figura 72:** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de **TF-05**

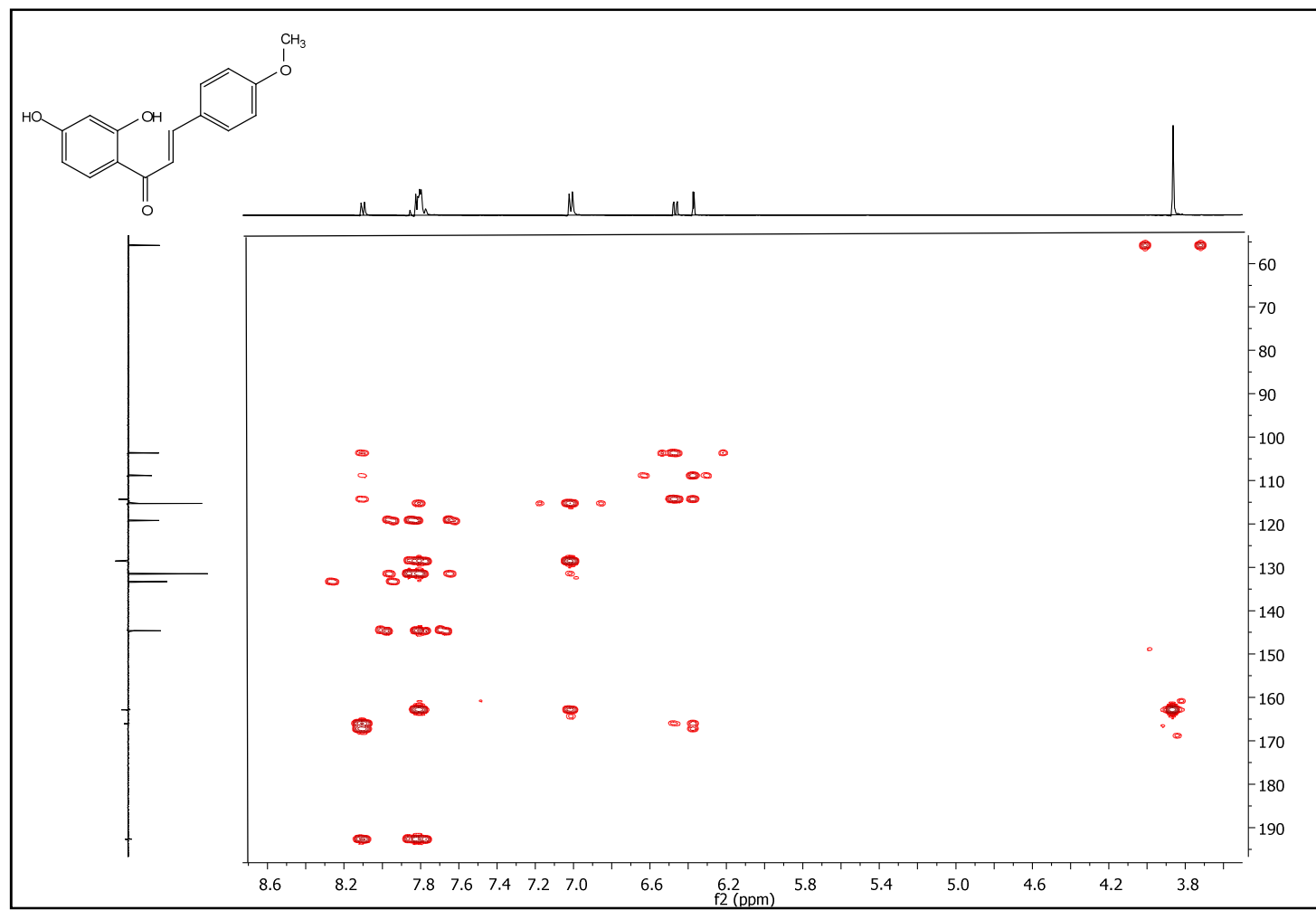
**Figura 73:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-05**

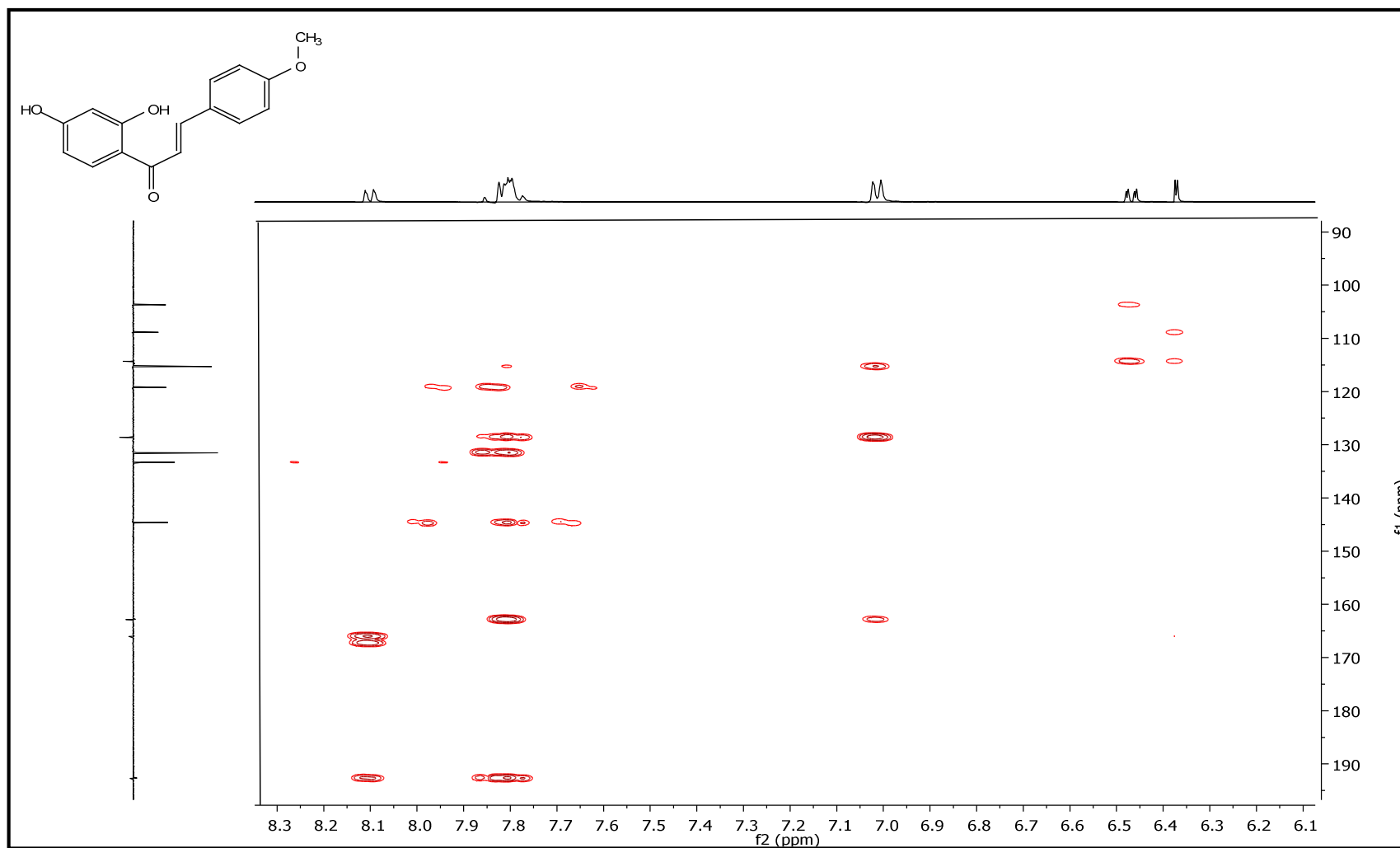
**Figura 74:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-05**

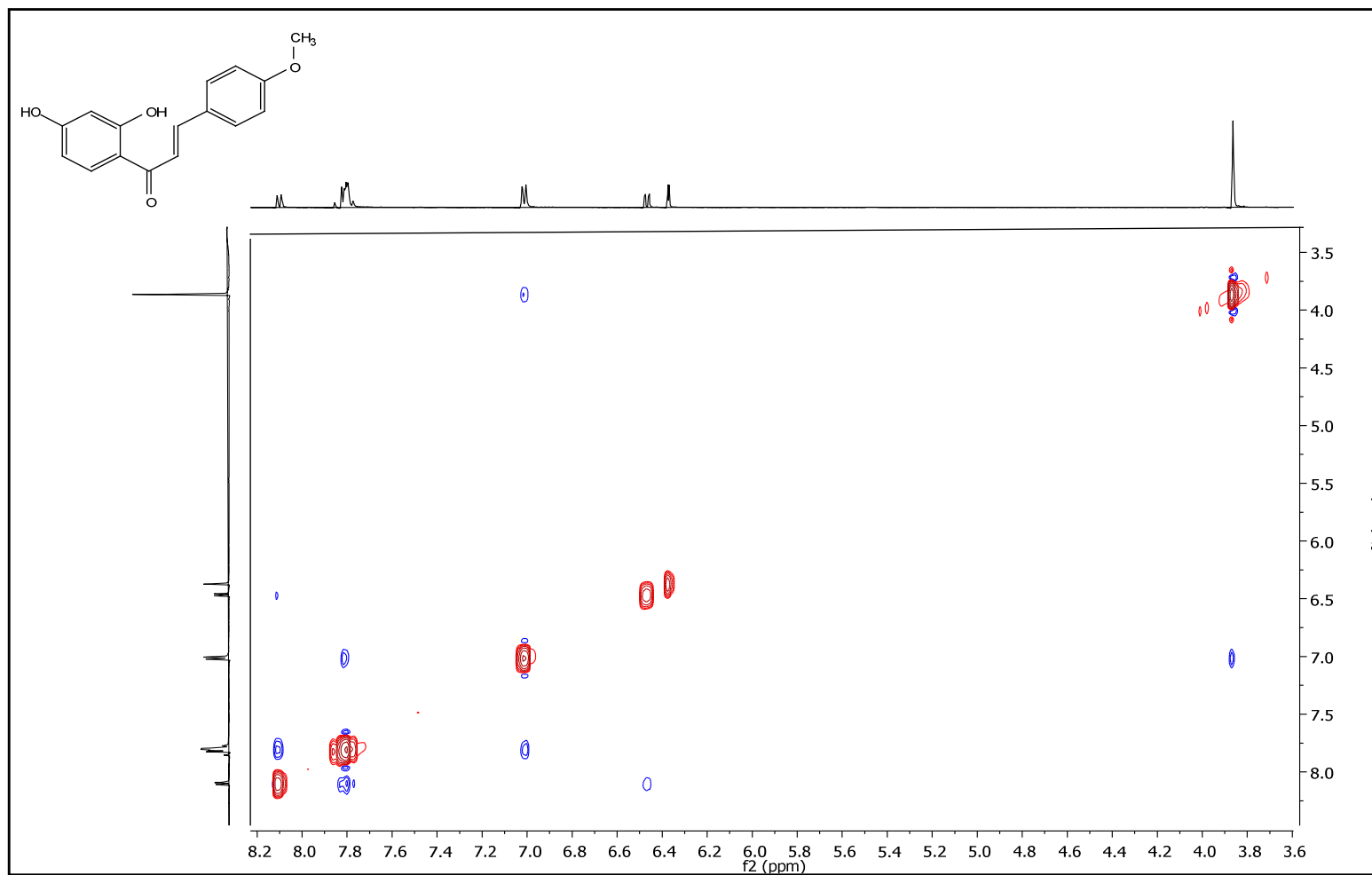
**Figura 75:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (125 MHz) de **TF-05**

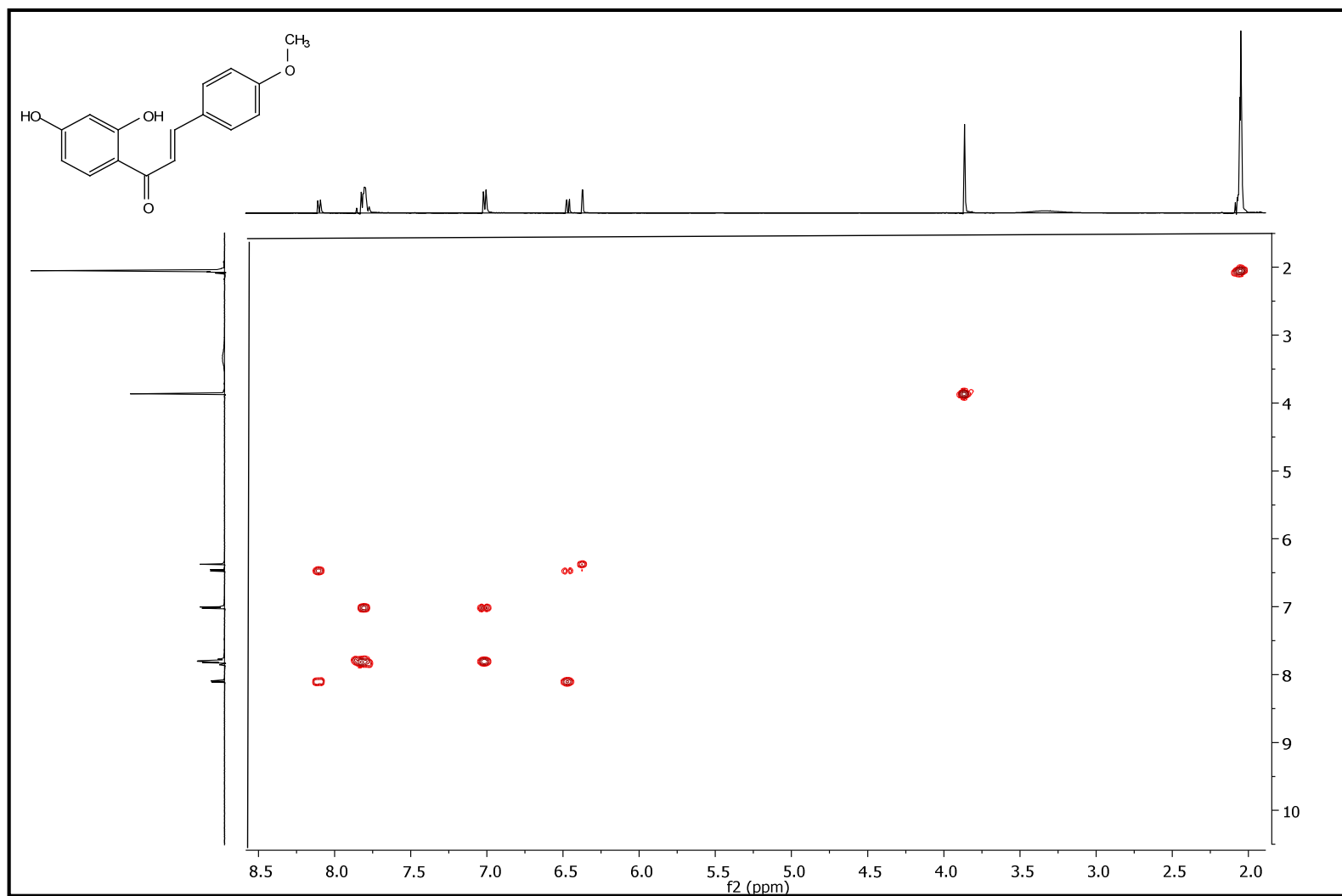
**Figura 76:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de TF-05

**Figura 77:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-05**

**Figura 78:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-05**

**Figura 79:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-05**

**Figura 80:** Espectro de NOESY em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de TF-05

**Figura 81:** Espectro de COSY em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-05**

## 5.6 Determinação estrutural de TF-06

A substância codificada como **TF-06** apresentou-se na forma de pó de coloração branca (Figura 82), solúvel em acetona e peso em massa de 20mg. A mesma foi identificada utilizando dados de Infravermelho, RMN de Carbono 13 e Hidrogênio, uni e bidimensionais.



**Figura 82:** Amostra TF-06

A fração foi submetida à espectroscopia de Infravermelho, obtendo-se o espectro ilustrado na figura 85. Ao analisar os dados observaram-se sinais de hidroxila fenólica, caracterizada pela presença de uma banda de grande intensidade em  $3437\text{ cm}^{-1}$ . A banda em  $1654\text{ cm}^{-1}$  presente no espectro, foi atribuída a C=O de cetona  $\alpha, \beta$  insaturada, já a banda  $1617\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento C=C de anel aromático (SILVERSTEIN et. al., 2007; PAVIA et. al., 2010).

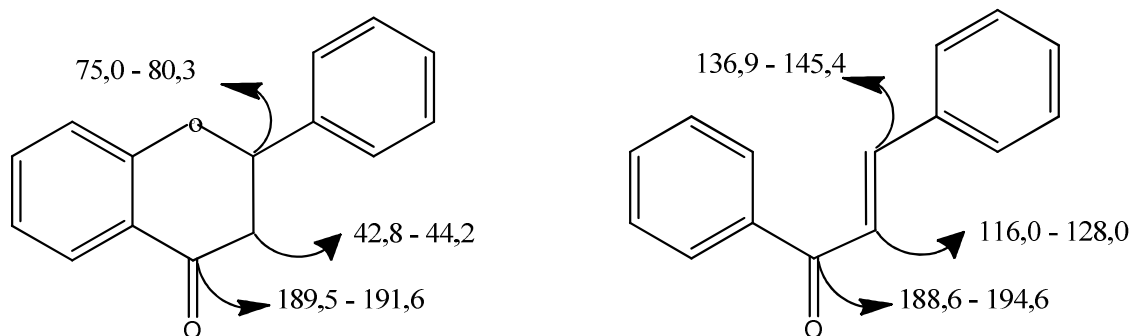
Ainda analisando o espectro de infravermelho, foram observadas duas bandas fortes, uma referente ao estiramento simétrico C-O-C em  $1234\text{ cm}^{-1}$  e outra referente a um estiramento simétrico em  $1023\text{ cm}^{-1}$ , que sugere a presença de um éter arílico na molécula. Uma banda forte em  $808\text{ cm}^{-1}$  e outra média em  $973\text{ cm}^{-1}$ , sugere a presença de um anel aromático trissubstituído na posição 1,3 e 4 (SILVERSTEIN et. al., 2007; PAVIA et. al., 2010).

Na análise espectral dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), (Figura 89) foram observadas 16 sinais, sendo 9 sinais referentes, a carbonos não hidrogenados, 6 metínicos, 1 metílicos.

A princípio foi sugerida a possibilidade de a molécula se tratar de um flavonóide, já que atenderia a característica da unidade básica de um flavonóide  $C_6C_3C_6$ .

Continuando a análise do espectro de carbono, foram observados sinais na região de carbonos oxigenados  $\delta_c$  146.07; 147.51; 148.95; 156.37; 163.17; 164.87; 169.17, como também na região de metoxila  $\delta_c$  56.67 e carbonila  $\delta_c$  184.50.

Ao comparar os dados fornecidos pelo espectro de RMN de  $^{13}C$  com dados da literatura de Pelter et.al.1976, Wagner et. al. 1976 e Agrawal, 1989 (informados abaixo), foi descartada a possibilidade de a amostra se tratar de uma chalcona, já que o espectro não apresentava valores de picos característicos para tais grupos. O valor de absorção para carbonila ( $\delta_c$  184.50) não atendia ao esperado, como também os valores para os carbonos  $\alpha$  ( $\delta_c$  88.00) e  $\beta$  ( $\delta_c$  169.17) a carbonila.

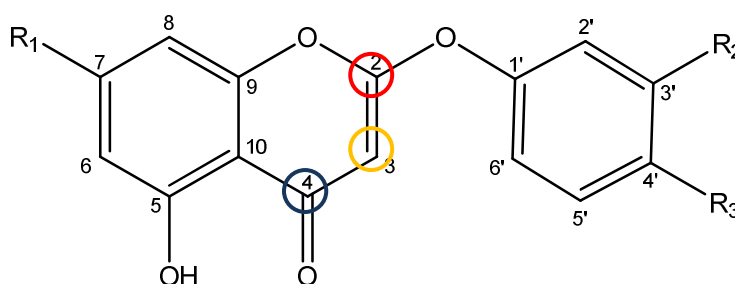


Passamos então a avaliar o espectro de RMN de  $^1H$  e sua expansão (500MHz,  $CD_3COCD_3$ ) (Figuras 86, 87 e 88), que mostrou a presença de um singlete na região  $\delta_H$  3.88 (3H) referente a uma metoxila e um singlete  $\delta_H$  5.13 (1H), referente a um hidrogênio não aromático.

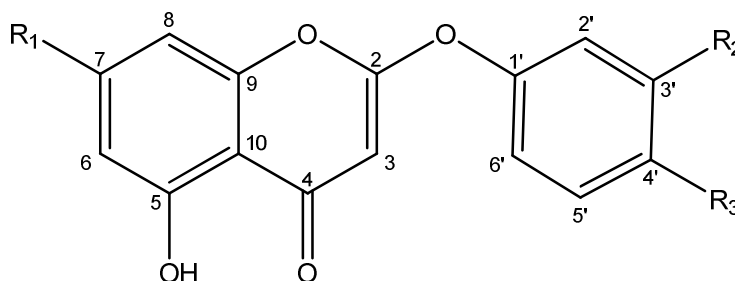
O espectro de hidrogênio apresentou também, dois dubletos na região de aromáticos, acoplado na posição *meta* entre si, representado pelo sinal em  $\delta_H$  6.24 (1H,  $J = 2,1Hz$ ) e  $\delta_H$  6.37 (1H,  $J = 2,1Hz$ ), mostra a presença de um anel aromático na molécula, com quatro substituições. O espectro mostra também, a presença de um anel aromático trissubstituído, formando um sistema ABX, representado pelos duplos dubletos em  $\delta_H$  6.78 (1H,  $J = 8,5$  e  $2,9 Hz$ ), um dubleto em  $\delta_H$  6.84 (1H,  $J = 2,9Hz$ ) e outro dubleto em  $\delta_H$  7.06 (1H,  $J = 8,7Hz$ ). Um singlete em  $\delta_H$  12.85 (1H) sugere a presença de uma hidroxila quelada na molécula.

Sendo assim, baseado nos dados analisados, teríamos na molécula: dois anéis aromáticos, uma carbonila, uma hidroxila quelada e uma metoxila, além de um hidrogênio não aromático. Teríamos uma estrutura similar a uma flavona, porém ainda era preciso a justificativa para a diferença nos picos da carbonila e carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  (Imagem abaixo), que se encontram divergentes aos valores característicos de uma flavona.

Como o carbono  $\beta$  está desprotegido, sugeri que algo ligado ao grupo cromona e ao anel B promova essa desproteção.



Ao realizar pesquisas na literatura (LEÓN, 2004; POLASEK, 2013; VASILEV, 2006) evidenciamos que a molécula tratava-se de uma fenoxicromona (Flavonóides incomuns), compostos esses, que um substituinte arilo é ligado ao núcleo cromona através de um átomo de oxigênio. Sendo assim, teríamos o seguinte esqueleto estrutural:

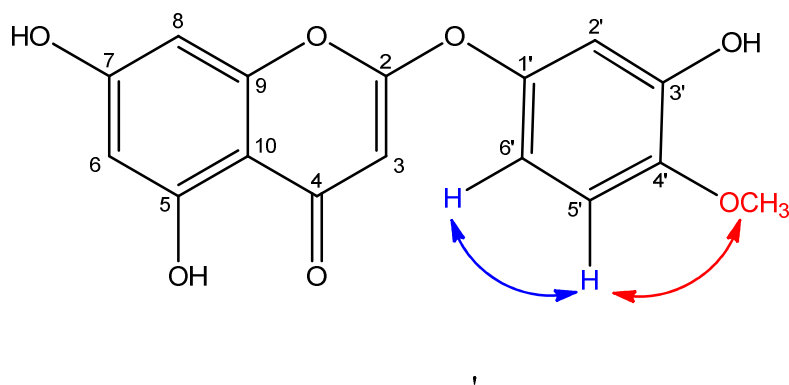


Ao analisar os dados de correlação direta, observados no espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC (Figura 94) os sinais de carbono hidrogenados  $\delta_{\text{C}}$  88.00; 94.63; 100.16; 109.02; 111.96; 113.22, foram atribuídos aos carbonos: C3,

C8, C6, C3', C6' e C5' respectivamente. ( $\delta_H$  5.12 /  $\delta_C$  88.00;  $\delta_H$  6,37/  $\delta_C$  94.63;  $\delta_H$  6.24 /  $\delta_C$  100.16;  $\delta_H$  6.84 /  $\delta_C$  109.02;  $\delta_H$  6.77 /  $\delta_C$  111.96;  $\delta_H$  7.06 /  $\delta_C$  113.22). Mostrou-se também correlação direta entre  $\delta_H$  3.88 e  $\delta_C$  56.67.

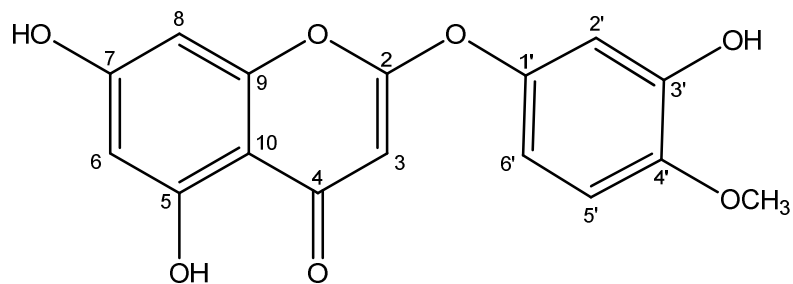
O espectro bidimensional  $^1H \times ^{13}C$  - HMBC (Figuras 92 e 93), mostrou correlações entre o hidrogênio da hidroxila quelada ( $\delta_H$  12.84) com os carbonos C6, C10 e C5 ( $\delta_C$  100.16; 103.43; 163.17), como também correlação da metoxila ( $\delta_H$  3.88) com o carbono C4' ( $\delta_C$  147.51). Outras principais correlações observadas formam a do hidrogênio H-3 ( $\delta_H$  5.13) com o carbono C10 ( $\delta_C$  103.43) e com o carbono da carbonila ( $\delta_C$  184.50), além de correlações do hidrogênio H-5' ( $\delta_H$  7,06) com o carbono C-1' ( $\delta_C$  146.07) e como o carbono C-4' ( $\delta_C$  147.51).

O espectro bidimensional de NOESY (Figura 94) confirma a interação entre os hidrogênios vicinais 5'/6' e do hidrogênio 5' com os hidrogênios da metoxila, evidenciando que a metoxila é o substituinte do anel B na posição 4'.



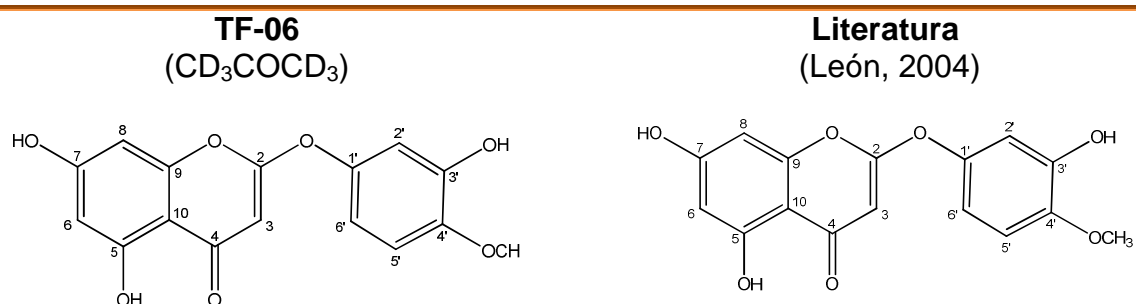
**Figura 83:** Correlação de NOESY da amostra TF-06

A partir dos dados expostos e comparação com dados da literatura identificamos a substância TF-06 como sendo a Tenuiflorina C (5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-chromona), isolada pela primeira vez na espécie por León et. al. em 2004.



**Figura 84:** Tenuiflorina C

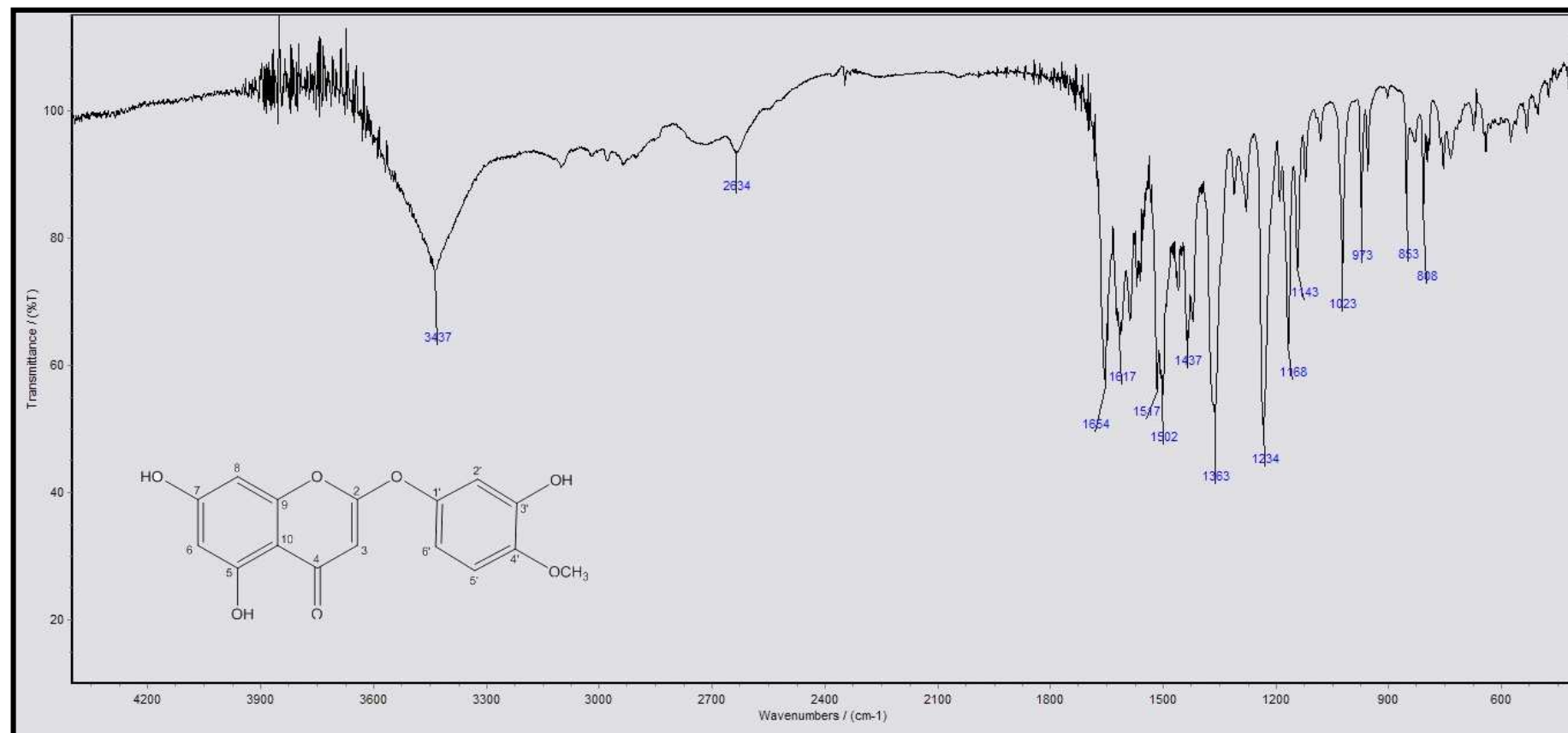
**Tabela 9:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-06** em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) com a 5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-chromona – Tenuiflorina C em  $\text{CDCl}_3$ -DMSO- $d_3$  (300MHz) (León, 2004).

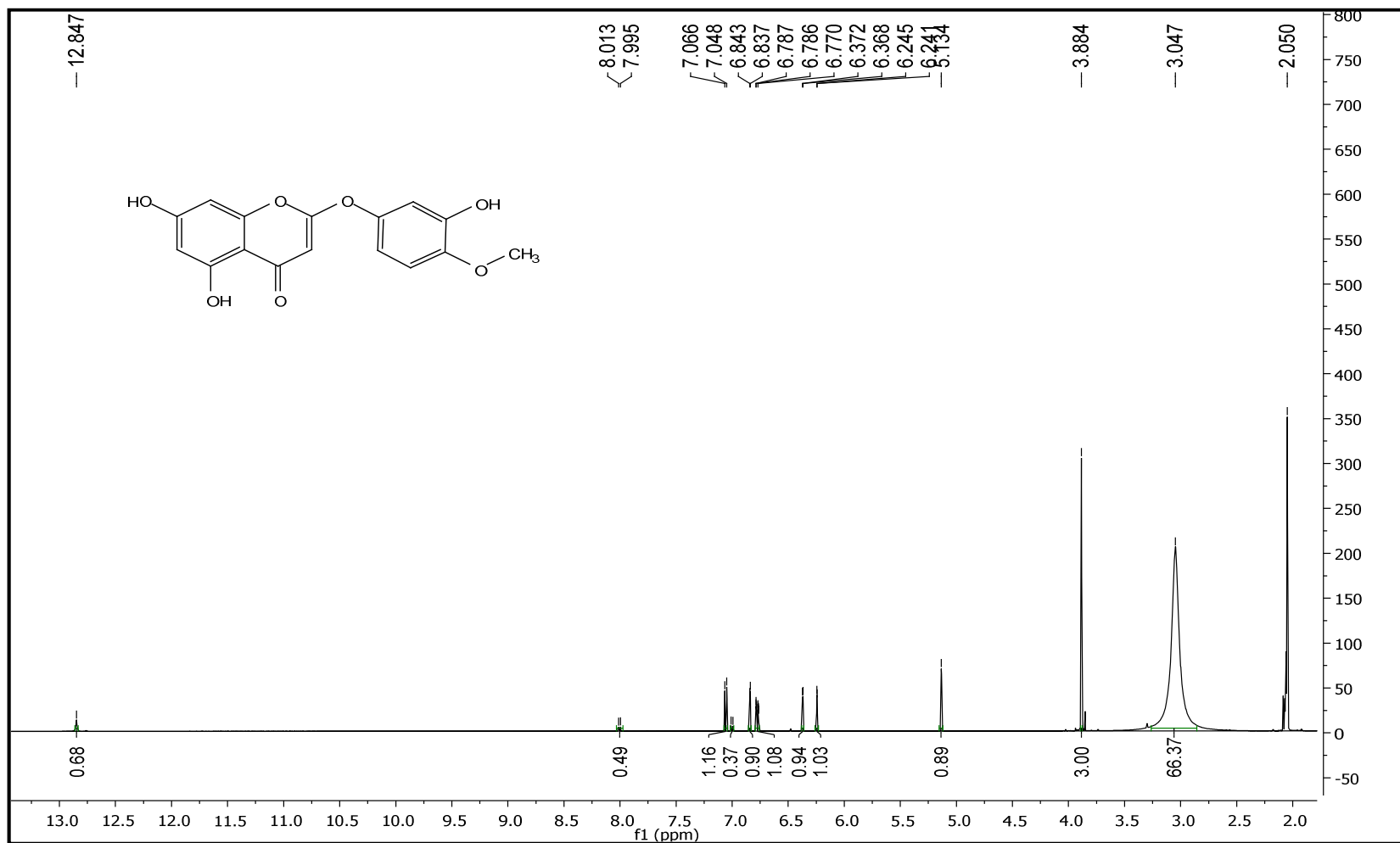


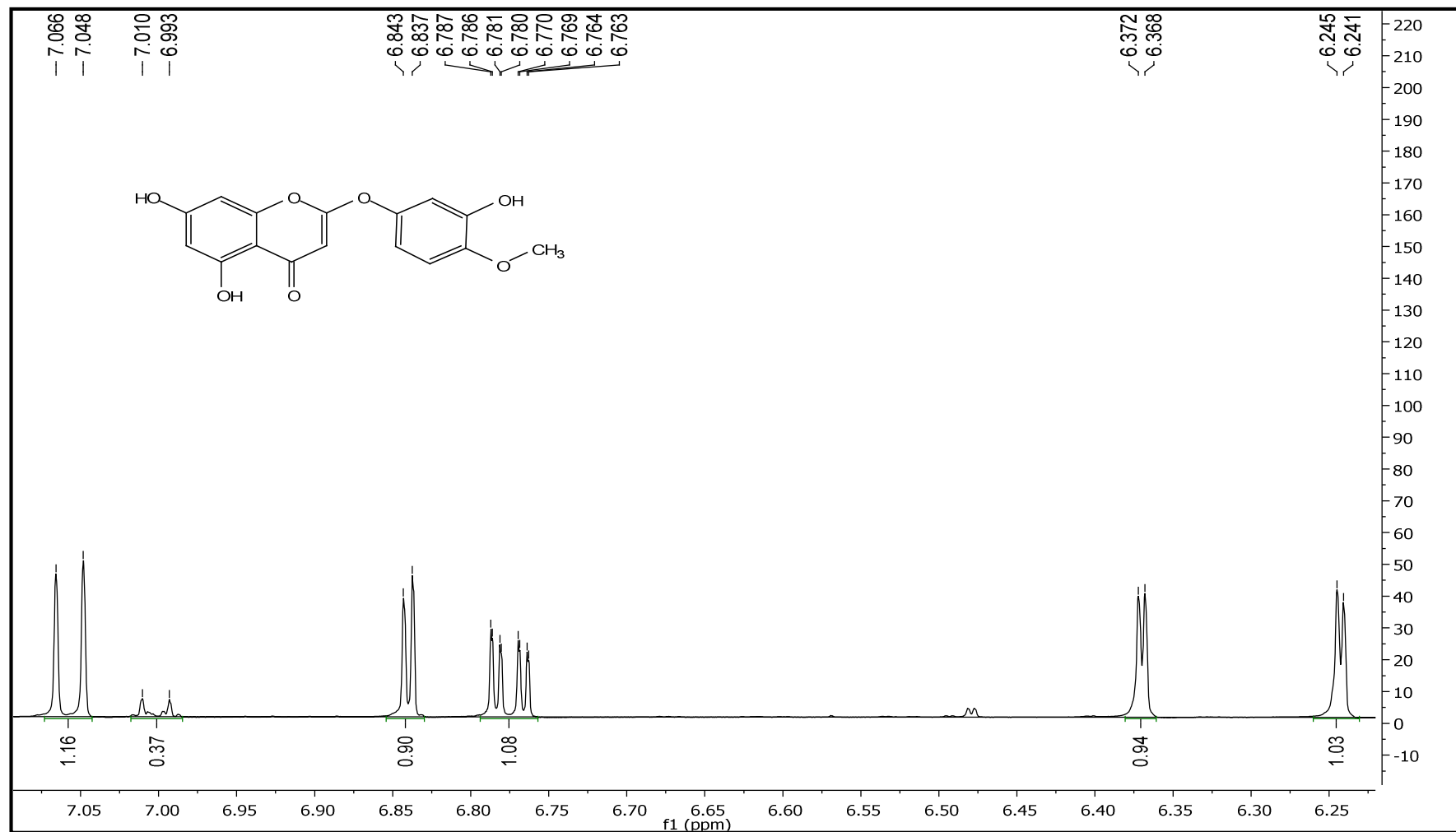
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>2</b>	169.17	-	167.80	-
<b>3</b>	88.00	5.12 (s, 1H)	87.00	5.12 (s, 1H)
<b>4</b> (C=O)	184.50	-	183.00	-
<b>5</b>	163.17	-	162.00	-
<b>6</b>	100.16	6.24 (d, 1H, J=2,1Hz)	99.10	6.20 (d, 1H, J=2,0Hz)
<b>7</b>	164.87	-	163.50	-
<b>8</b>	94.63	6.37(d, 1H, J=2,1Hz)	93.60	6.32(d, 1H, J=2,0Hz)
<b>9</b>	156.37	-	155.00	-
<b>10</b>	103.43	-	102.00	-
<b>1'</b>	146.07	-	144.20	-
<b>2'</b>	109.02	6.84(d, 1H, J=2,9Hz)	108.00	6.73(d, 1H, J=3,0Hz)
<b>3'</b>	148.95	-	147.06	-
<b>4'</b>	147.51	-	146.20	-
<b>5'</b>	113.22	7.06 (d, 1H, J=8,7 Hz)	112.00	6.92 (d, 1H, J=8,7 Hz)
<b>6'</b>	111.96	6.78(dd, 1H, J=8,5 e 2.9 Hz)	110.30	6.65(dd, 1H, J=8,5 e 3.0 Hz)
<b>MeO</b>	56.67	3.88 (s, 3H)	55.07	3.88 (s, 3H)

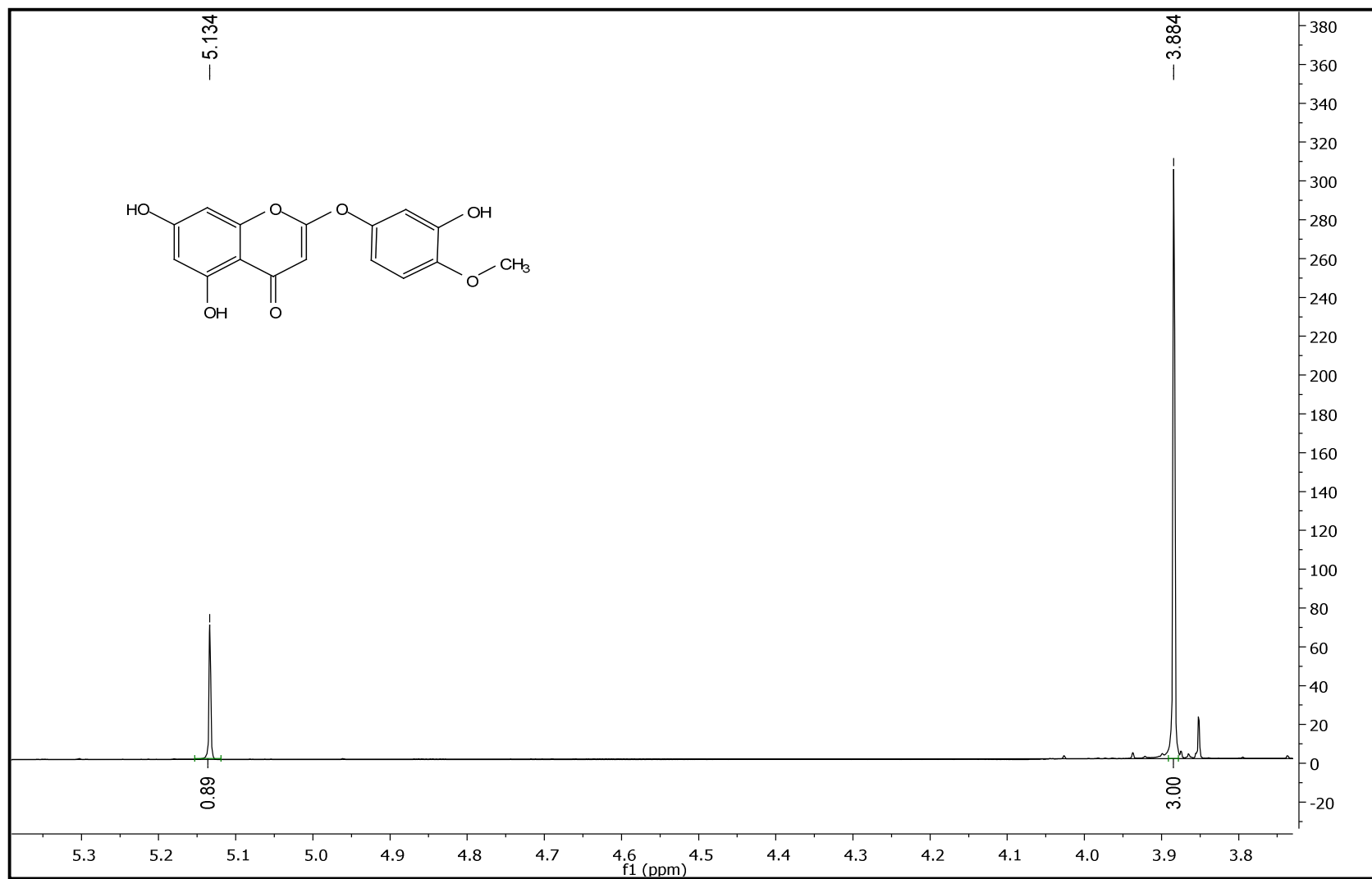
**Tabela 10:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-06**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais.

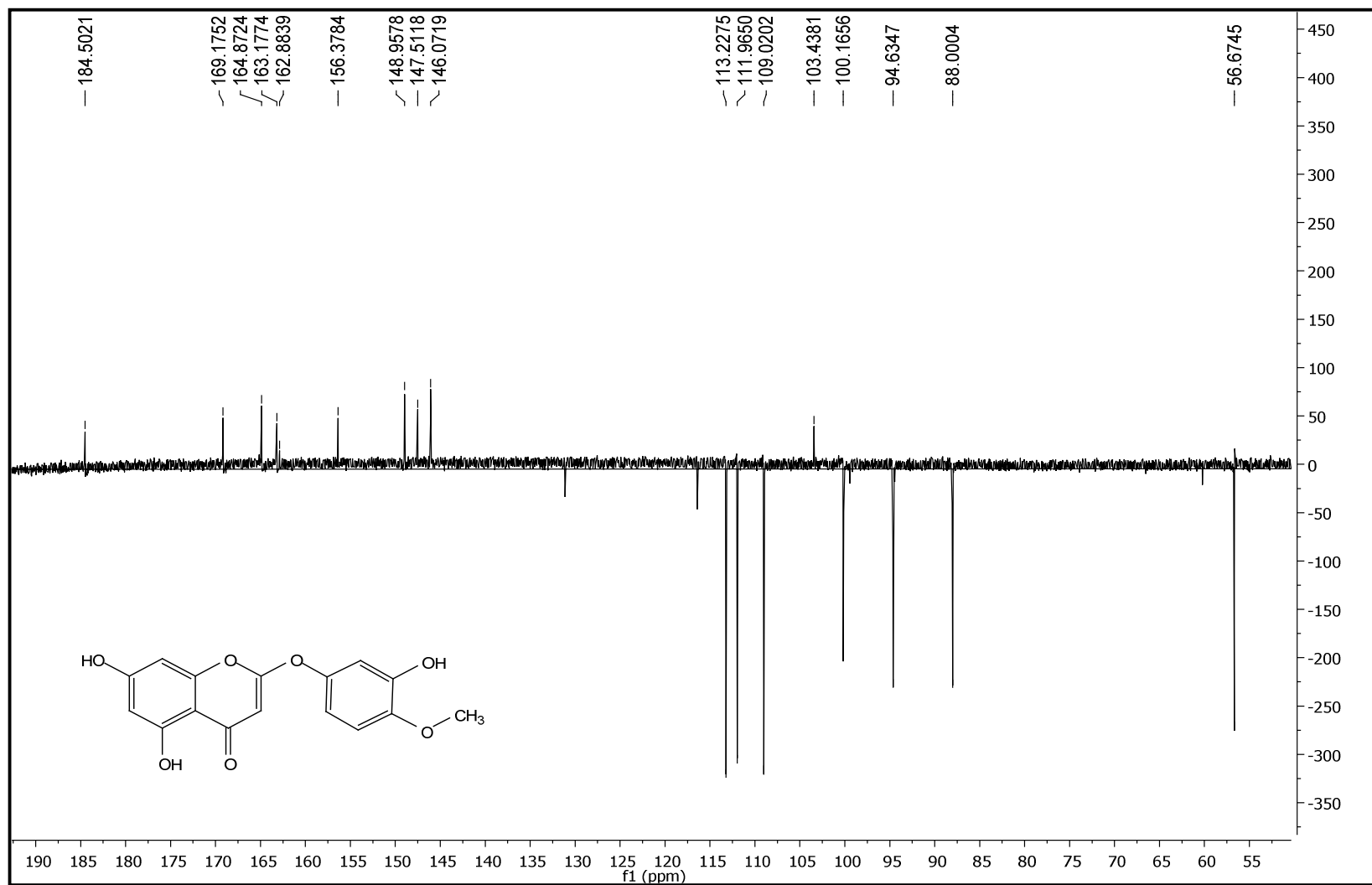
C	$\delta_{\text{C}}$	HMQC	HMBC			NOESY	COSY
		$\delta_{\text{H}}$	$^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1'	146.07	-					
3'	148.95	-					
4'	147.51	-					
2	169.17	-					
5	163.17	-					
7	164.87	-					
9	156.37	-					
10	103.43	-					
<b>CH</b>							
2'	109.02	6.84(d, 1H, J=2,9Hz)		C-6'			
5'	113.22	7.06 (d, 1H, J=8,7 Hz)	C-4'	C-3'		MeO-4'/ H-6'	MeO-4'/ H-6'
6'	111.96	6.78(dd, 1H, J=8,5 e 2.9 Hz)		C-2'		H-5'	H-5'
3	88.00	5.12 (s, 1H)	C=O	C-10			
6	100.16	6.24 (d, 1H, J=2,1Hz)	C-5/C-7	C-8/ C-10			
8	94.63	6.37(d, 1H, J=2,1Hz)	C-9/C-7	C-6/ C-10			
<b>CH<sub>3</sub>O</b>							
CH <sub>3</sub> O-4'	56.67	3.88 (s, 3H)	C-4			H-5'	H-5'
<b>OH</b>							
OH-5	-	12.85 (s,1H)	C-5	C-10/C-6			
<b>C=O</b>	184.50	-					

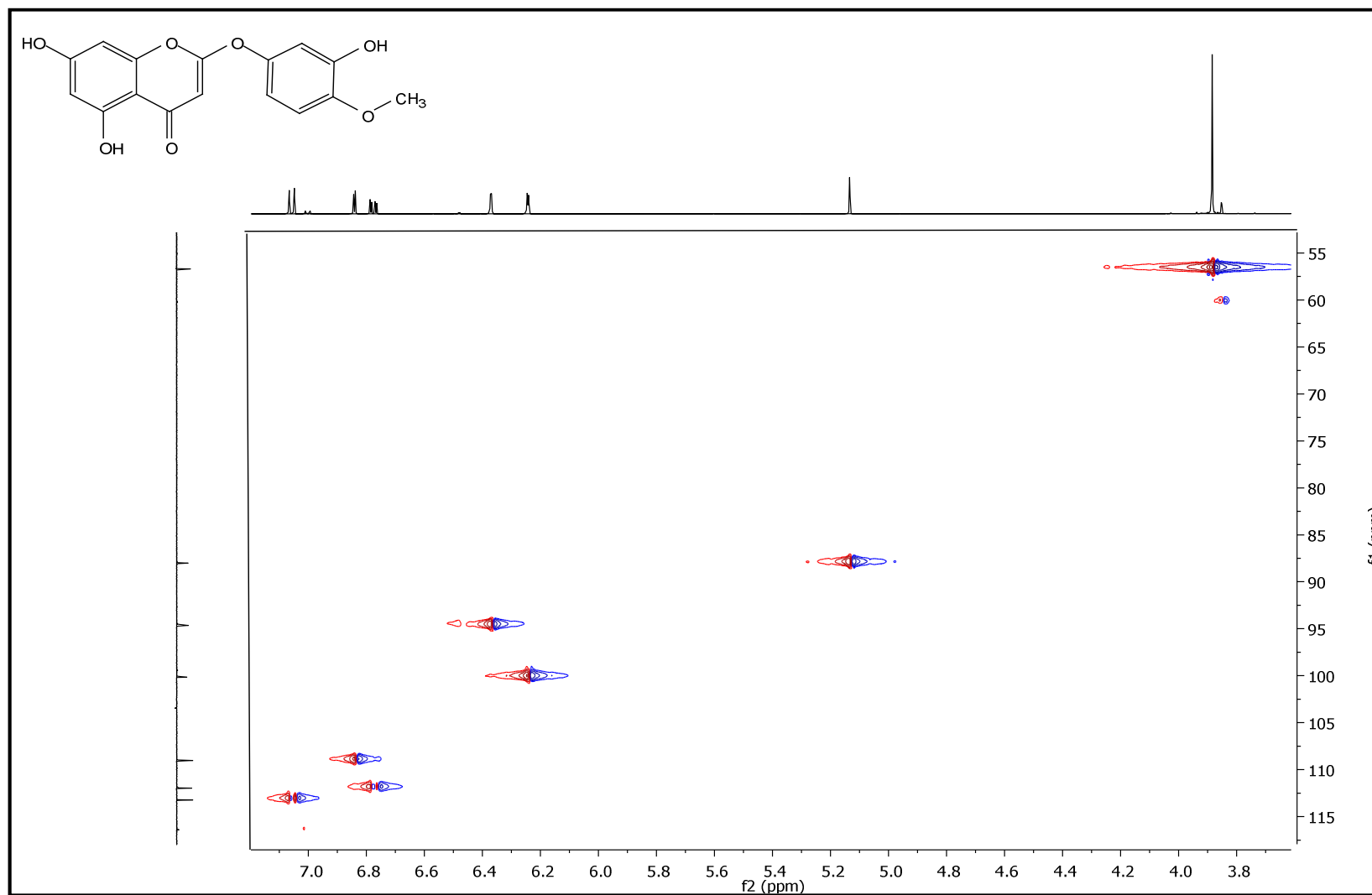
**Figura 85:** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de **TF-06**

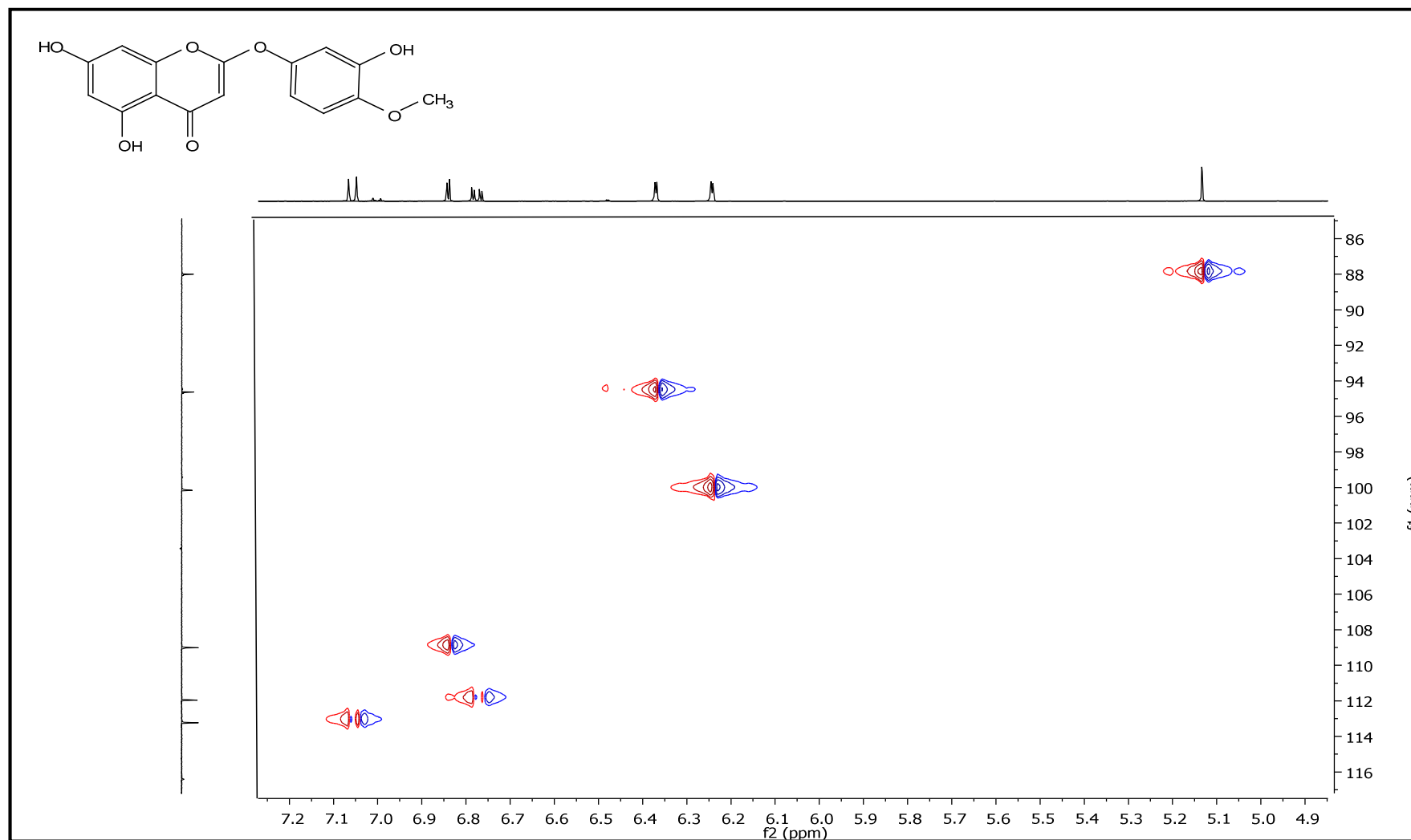
**Figura 86:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

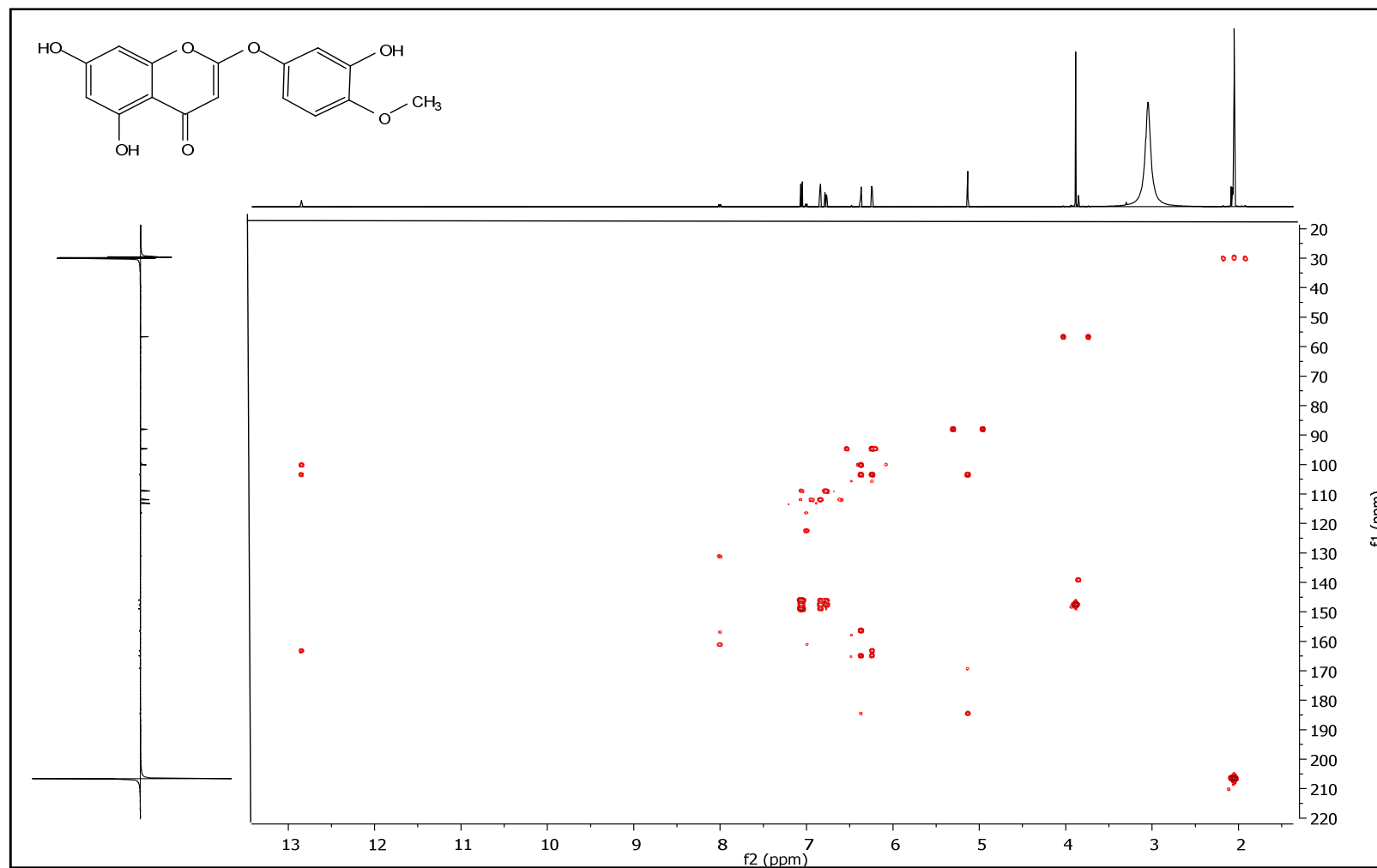
**Figura 87:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

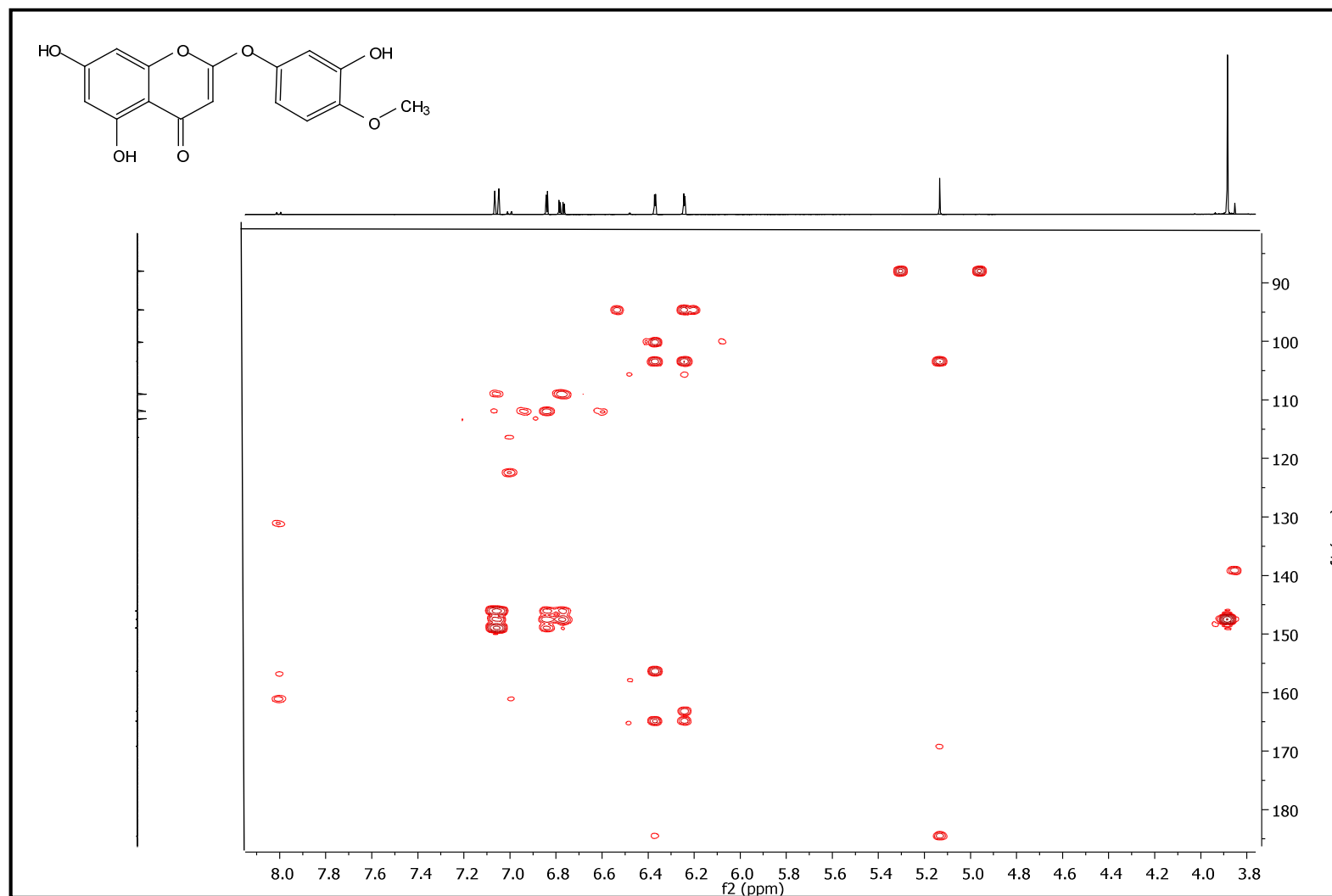
**Figura 88:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

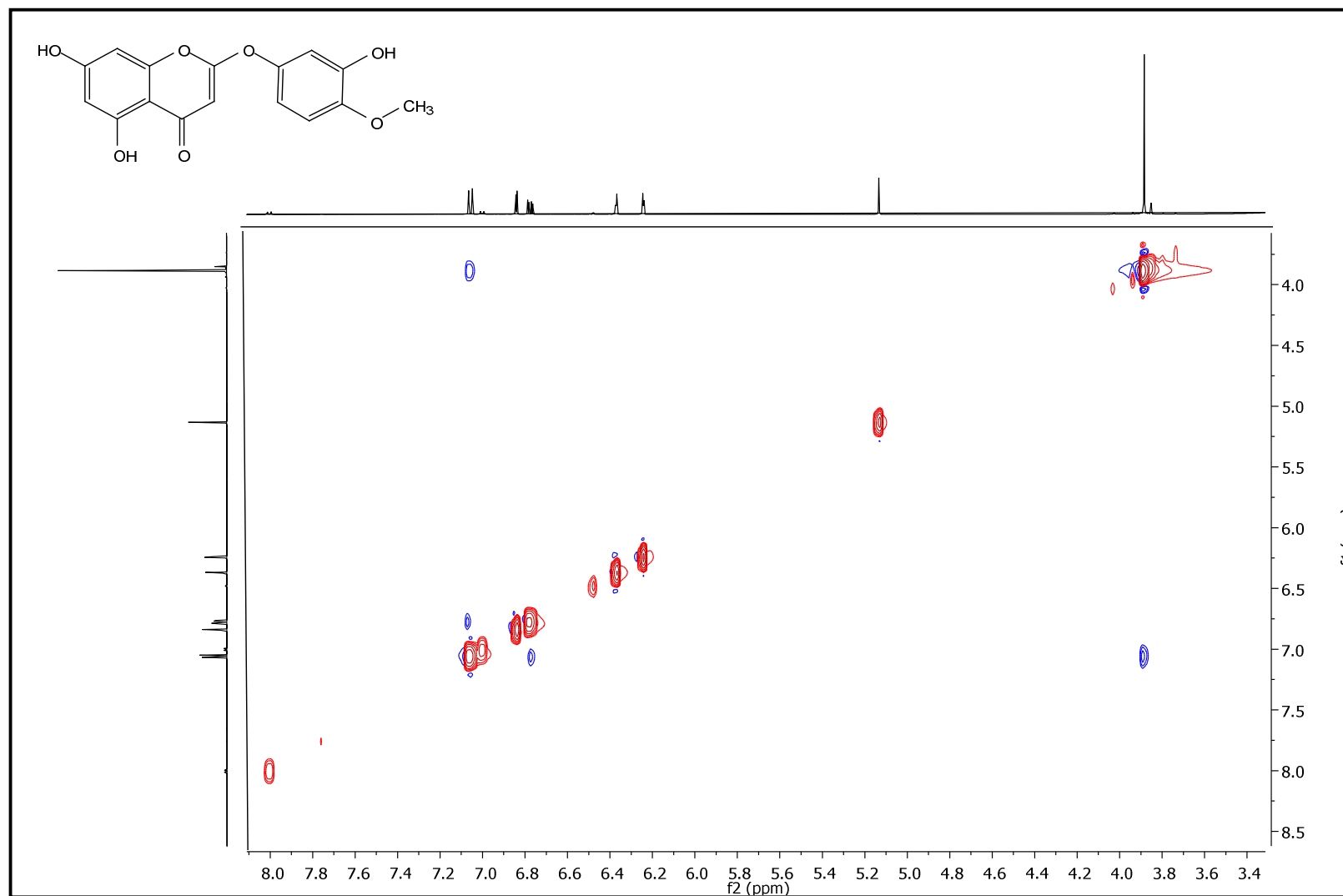
**Figura 89:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (125 MHz) de **TF-06**

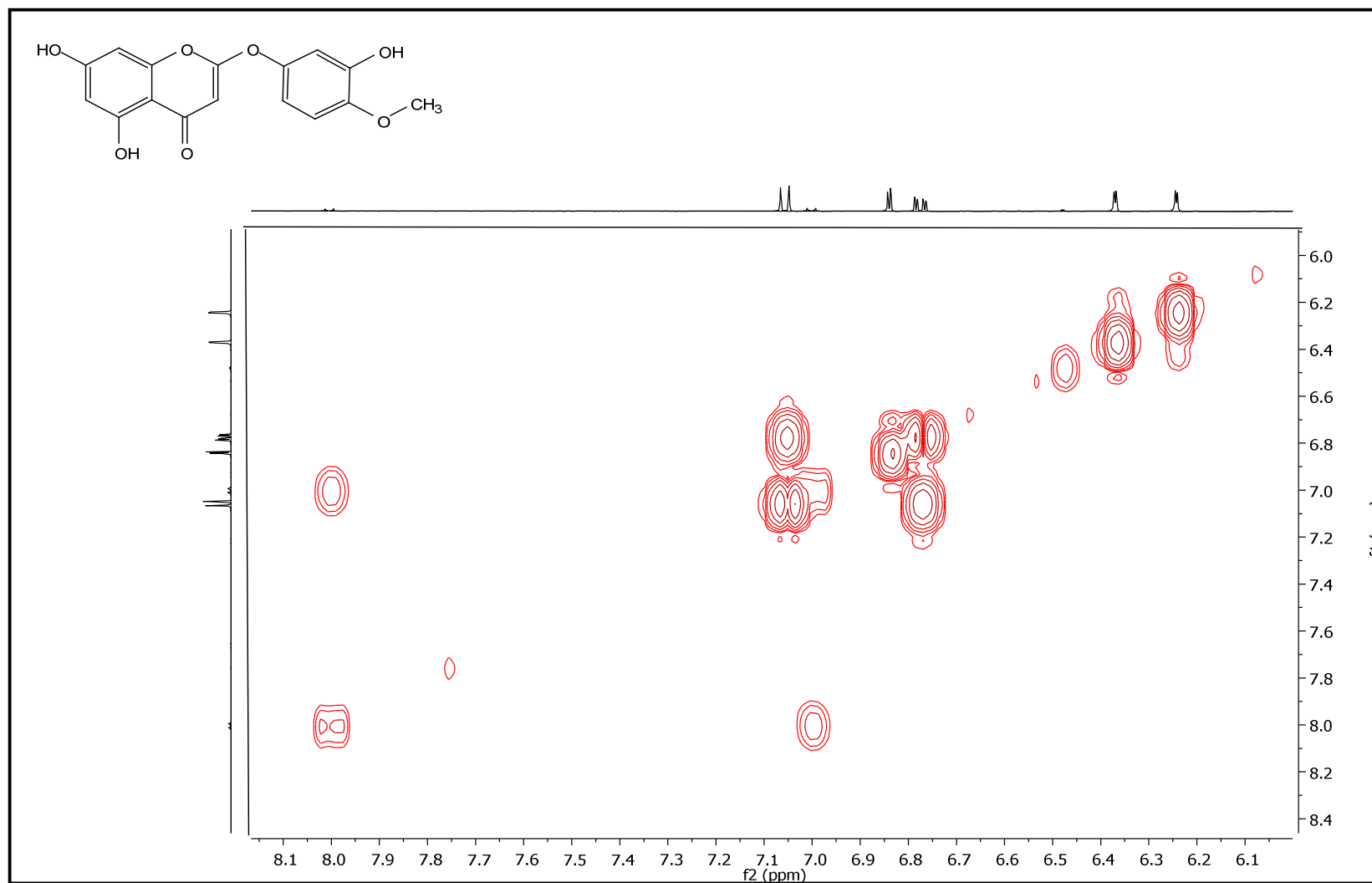
**Figura 90:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

**Figura 91:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

**Figura 92:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

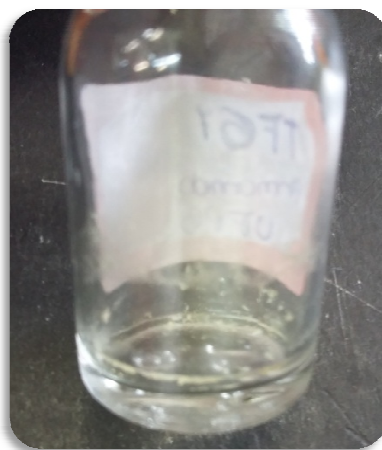
**Figura 93:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

**Figura 94:** Espectro de NOESY em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de TF-06

**Figura 95:** Espectro de COSY em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-06**

### 5.7 Determinação estrutural de TF-03

A substância codificada como **TF-03** foi isolada na forma de cristais de coloração branca (Figura 96), solúvel em acetona, peso em massa de 4mg e ponto de fusão na faixa de 183°C – 185°C. A mesma foi identificada utilizando dados de Infravermelho, RMN de Carbono 13 e Hidrogênio, uni e bidimensionais.



**Figura 96:** Amostra TF-03

O espectro de Infravermelho, como ilustrado na Figura 49, apresentou sinais de hidroxila fenólica caracterizada pela presença de uma banda de grande intensidade em  $3447\text{ cm}^{-1}$ . A banda em  $1662\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a C=O de cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada, já a banda  $1604\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento C=C de anel aromático (SILVERSTEIN et. al., 2007; PAVIA et. al., 2010).

O infravermelho apresentou também, duas bandas fortes: uma referente ao estiramento simétrico C-O-C em  $1231\text{ cm}^{-1}$  e outra referente a um estiramento simétrico em  $1033\text{ cm}^{-1}$ , que sugere a presença de um éter arílico na molécula; uma banda forte em  $823\text{ cm}^{-1}$  e outra média em  $967\text{ cm}^{-1}$ , sugere a presença de um anel aromático trissubstituído na posição 1,3 e 4 (SILVERSTEIN et. al., 2007; PAVIA et. al., 2010).

Na análise espectral dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), (Figura 103) foram observadas 17 sinais, sendo 9 sinais referentes a carbonos não hidrogenados, 6 sinais referentes a carbonos metínicos e 2 sinais referente a carbono metílicos. Ao analisar os valores das absorções do espectro

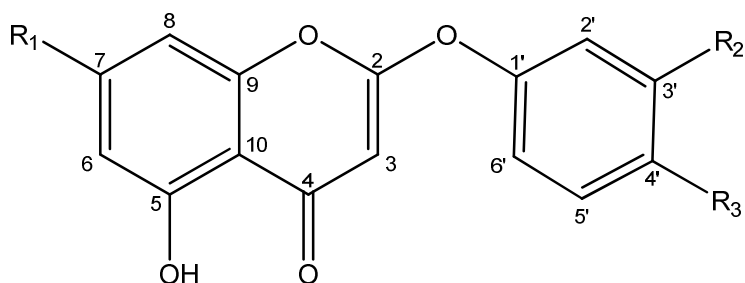
ficou claro que a amostra apresenta o mesmo esqueleto estrutural da TF-06, facilitando assim a elucidação estrutural da amostra TF-03, se tratando de uma fenoxicromona, porém com a presença de uma metoxila a mais na estrutura.

Ainda o espectro de carbono treze, foi observado sinais na região de carbonos oxigenados ( $\delta_c$  146.01; 147.58; 149.00; 156.23; 162.92; 166.29; 169.34), na região de metoxila ( $\delta_c$  56.47 e 56.67) como também, na região de carbonila ( $\delta_c$  184.59). As mesmas absorções observadas na amostra TF-06, discutida anteriormente.

Ao analisar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e sua expansão (500MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ) (Figuras 100, 101 e 102), evidenciamos a presença de dois singletos na região  $\delta_H$  3.88 (3H) e 3.89 (3H) referente a duas metoxilas, como também um singlete  $\delta_H$  5.18 (1H), referente a um hidrogênio não aromático.

Ainda no espectro de hidrogênio, observou-se a presença de dois dubletos na região de aromáticos, acoplado na posição *meta* entre si, representado pelo sinal em  $\delta_H$  6.33 (1H,  $J = 1,8\text{Hz}$ ) e  $\delta_H$  6.52 (1H,  $J = 1,8\text{Hz}$ ), que mostra a presença de um anel aromático na molécula com quatro substituições, igualmente como na substância TF-06.

O espectro de hidrogênio mostra também, a presença de um anel aromático trissubstituído, formando um sistema ABX, representado pelo duplo dubleto em  $\delta_H$  6.78 (1H,  $J = 8,7$  e  $1,7$  Hz), um dubleto em  $\delta_H$  6.84 (1H,  $J = 1,7\text{Hz}$ ) e outro dubleto em  $\delta_H$  7.06 (1H,  $J = 8,7\text{Hz}$ ). Um singlete em  $\delta_H$  12.85 (1H) sugere a presença de uma hidroxila quelada na molécula. Sendo assim, teríamos o mesmo esqueleto da amostra TF-06, restando apenas avaliar a posição dos substituintes.

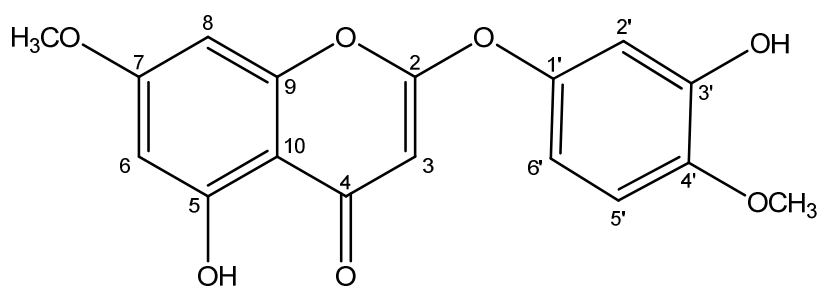


Os dados de correlação direta, observados no espectro bidimensional  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC (Figuras 104) mostraram os sinais de carbono hidrogenados  $\delta_c$  88.24; 93.28; 99.02; 109.01; 111.93; 113.24, que foram atribuídos aos carbonos: C3, C8,

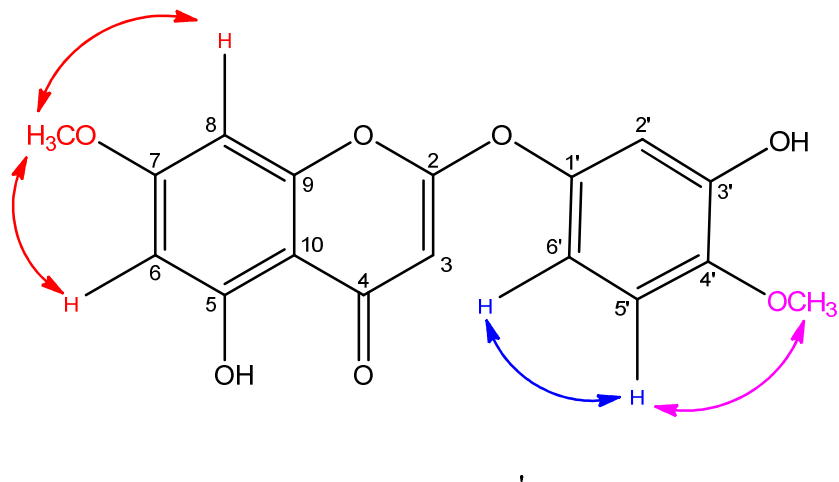
C6, C3', C6' e C5' respectivamente. ( $\delta_H$  5.18 /  $\delta_C$  88.24;  $\delta_H$  6,52/  $\delta_C$  93.28;  $\delta_H$  6.33 /  $\delta_C$  99.02;  $\delta_H$  6.84 /  $\delta_C$  109.01;  $\delta_H$  6.78 /  $\delta_C$  111.93;  $\delta_H$  7.06 /  $\delta_C$  113.24). Mostrou-se também correlação direta entre  $\delta_H$  3.88 com o  $\delta_C$  56.47 e do  $\delta_H$  3.89 como o  $\delta_C$  56.67.

O espectro bidimensional  $^1H \times ^{13}C$  - HMBC (Figuras 105 e 106), mostrou correlações da metoxila ( $\delta_H$  3.88) com o carbono C4' ( $\delta_C$  147.58) e da metoxila ( $\delta_H$  3.89) com o carbono C7 ( $\delta_C$  166.29). Outras principais correlações observadas foi a do hidrogênio H-3 ( $\delta_H$  5.13) com o carbono C-10 ( $\delta_C$  104.24) e com o carbono da carbonila ( $\delta_C$  184.54), como também do hidrogênio H- 5' como o carbono C-1' ( $\delta_C$  146.01) e como o carbono C-4' ( $\delta_C$  147.58).

A partir desses dados é possível sugerir que a segunda metoxila da amostra seja o substituinte do anel A da molécula, como ilustrado abaixo.

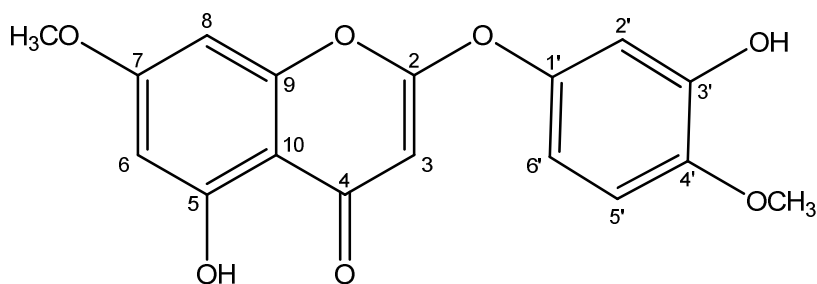


Para confirmar tal estrutura, foram avaliados os espectros de NOESY e COSY. O NOESY mostra correlação entre os hidrogênios vicinais 5'/6' e do 5' com o hidrogênio da metoxila ( $\delta_H$  3.88), comprovando a posição do substituinte no anel B. Mostra também correlação entre a metoxila ( $\delta_H$  3.89) e os hidrogênios H8 e H6, confirmando a posição do substituinte no anel A.



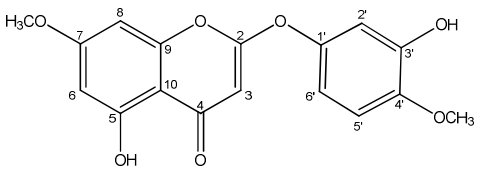
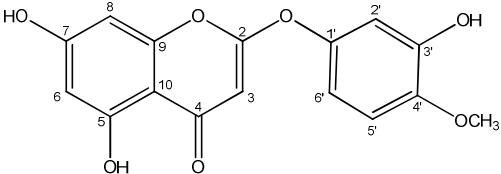
**Figura 97:** Correlação de NOESY da amostra TF-03

Confirmado os dados, fica clara a estrutura da molécula, sendo a mesma relatada pela primeira vez na literatura. Denominamos a amostra de **Tenuiflorina D** (5-hidroxi, 7- Metoxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-cromona), complementando o grupo de fenoxicromonas isoladas da folhas de *Mimosa tenuiflora* por León et.al. em 2004.



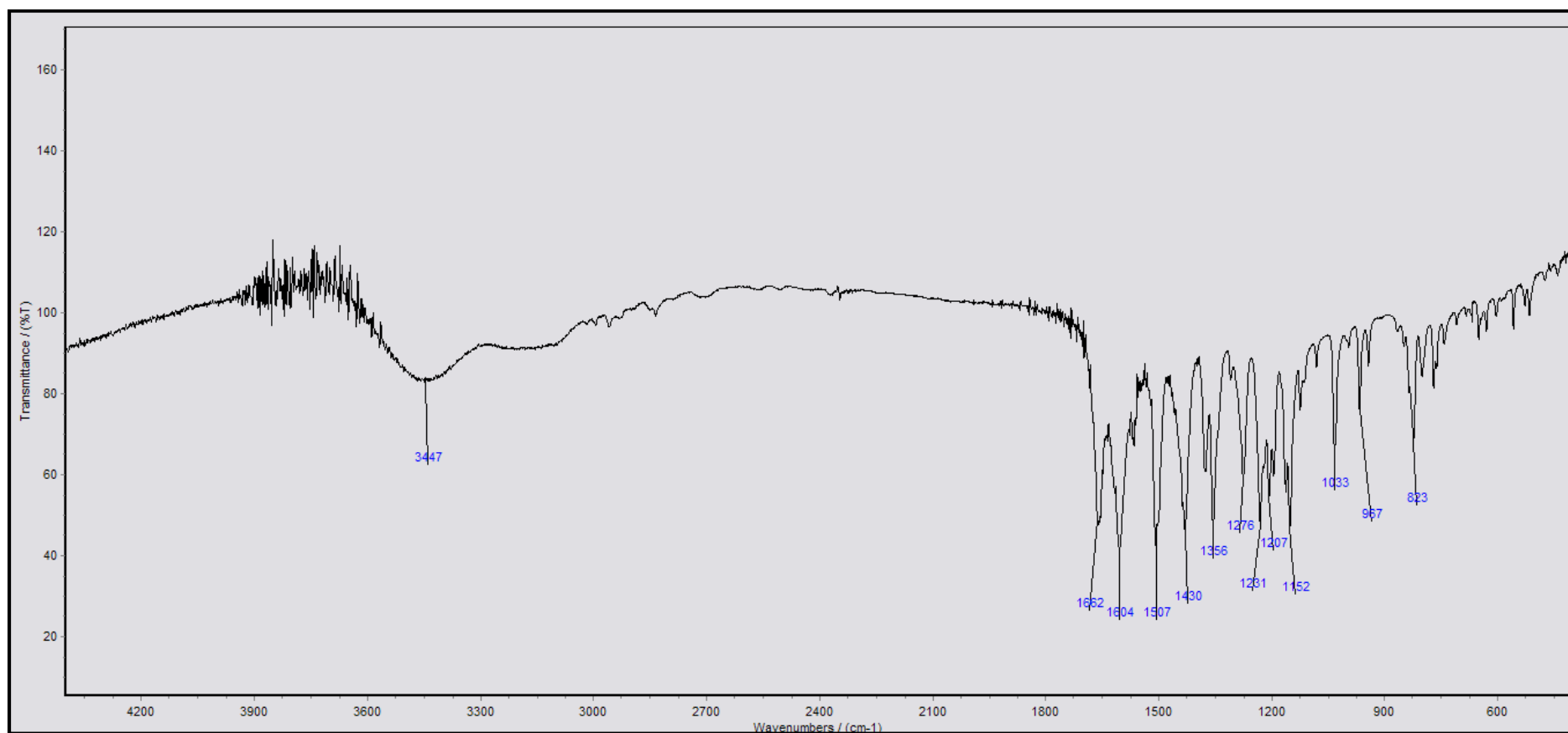
**Figura 98:** Tenuiflorina D

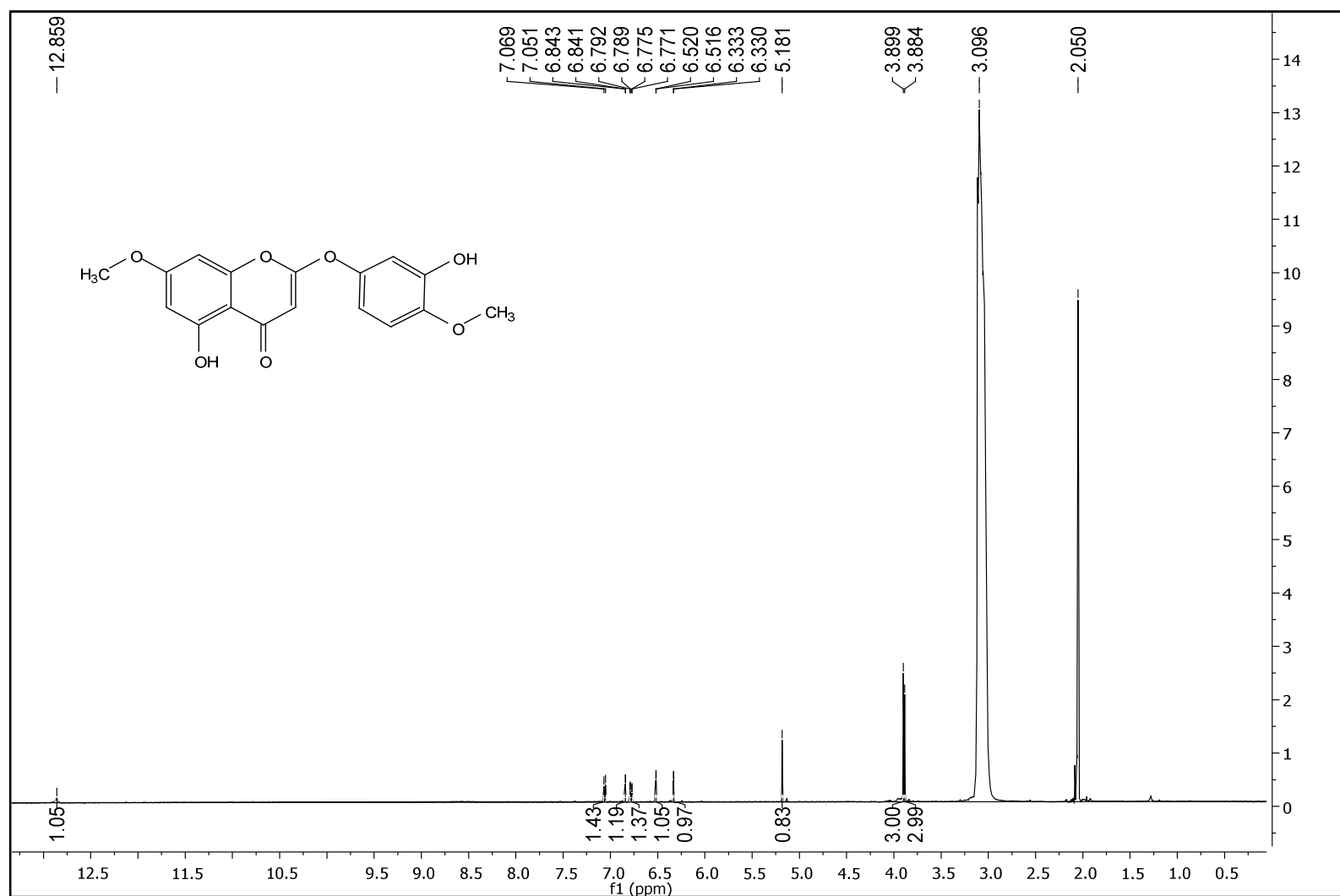
**Tabela 11:** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de **TF-03** em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) com a 5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenoxi)-chromona – Tenuiflorina C em  $\text{CDCl}_3$ -DMSO- $d_3$  (300MHz) (León, 2004).

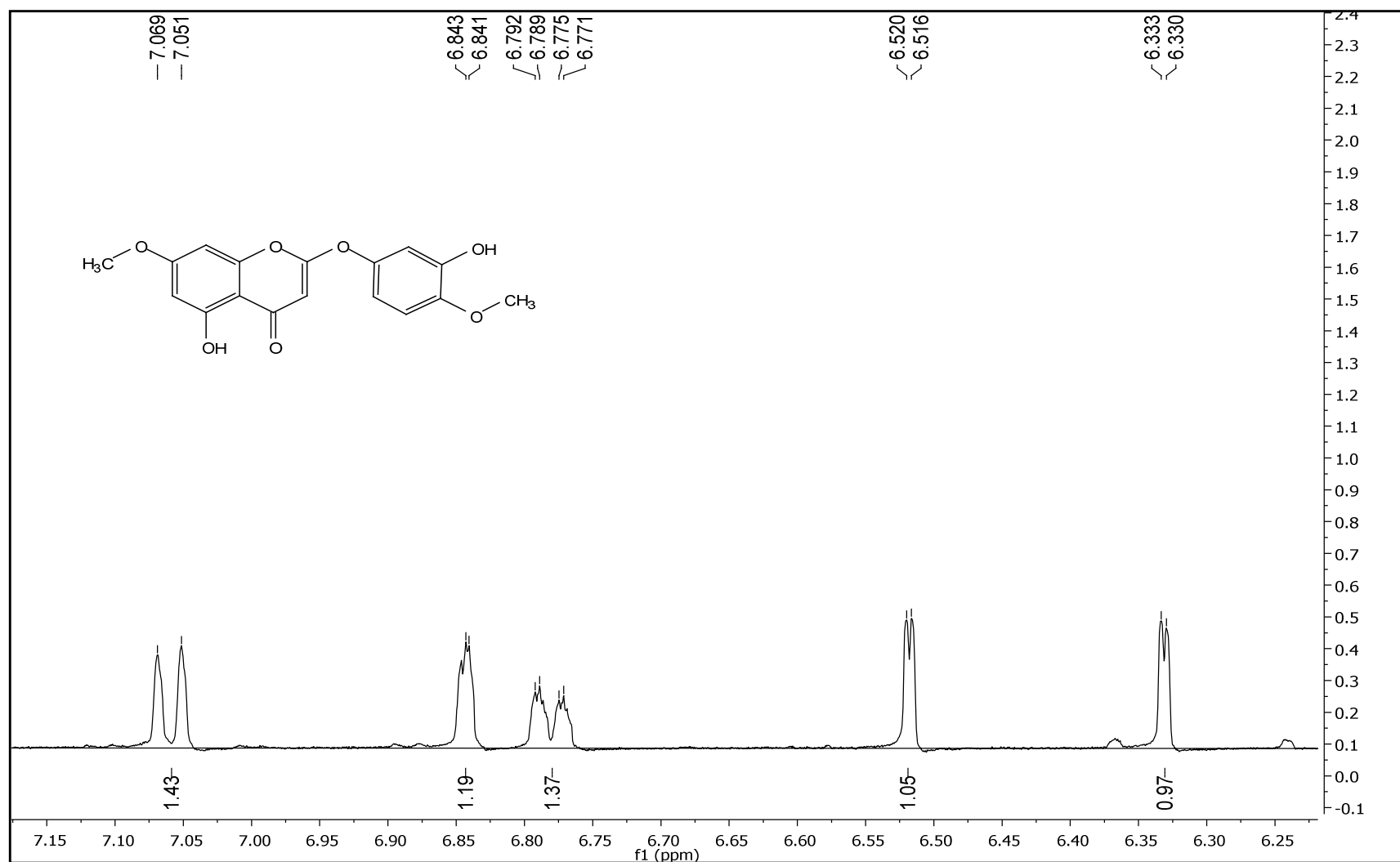
	<b>TF-03</b> ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )		<b>Literatura</b> (León, 2004)	
				
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>2</b>	169.34	-	167.80	-
<b>3</b>	88.24	5.18 (s, 1H)	87.00	5.12 (s, 1H)
<b>4</b> <b>(C=O)</b>	184.59	-	183.00	-
<b>5</b>	162.96	-	162.00	-
<b>6</b>	99.02	6.33 (d, 1H, J=1,8 Hz)	99.10	6.20 (d, 1H, J=2,0Hz)
<b>7</b>	166.29	-	163.50	-
<b>8</b>	93.28	6.52 (d, 1H, J=1,8 Hz)	93.60	6.32(d, 1H, J=2,0Hz)
<b>9</b>	156.23	-	155.00	-
<b>10</b>	104.23	-	102.00	-
<b>1'</b>	146.01	-	144.20	-
<b>2'</b>	109.01	6.84(d, 1H, J=2,8Hz)	108.00	6.73(d, 1H, J=3,0Hz)
<b>3'</b>	149.00	-	147.06	-
<b>4'</b>	147.58	-	146.20	-
<b>5'</b>	113.24	7.06 (d, 1H, J=8,7 Hz)	112.00	6.92 (d, 1H, J=8,7 Hz)
<b>6'</b>	111.93	6.78(dd, 1H, J=8,7 e 1,8 Hz)	110.30	6.65(dd, 1H, J=8,5 e 3.0 Hz)
<b>MeO-4'</b>	56.67	3.88 (s, 3H)	55.07	3.88 (s, 3H)
<b>MeO-7</b>	56.47	3.89 (s, 3H)	-	-

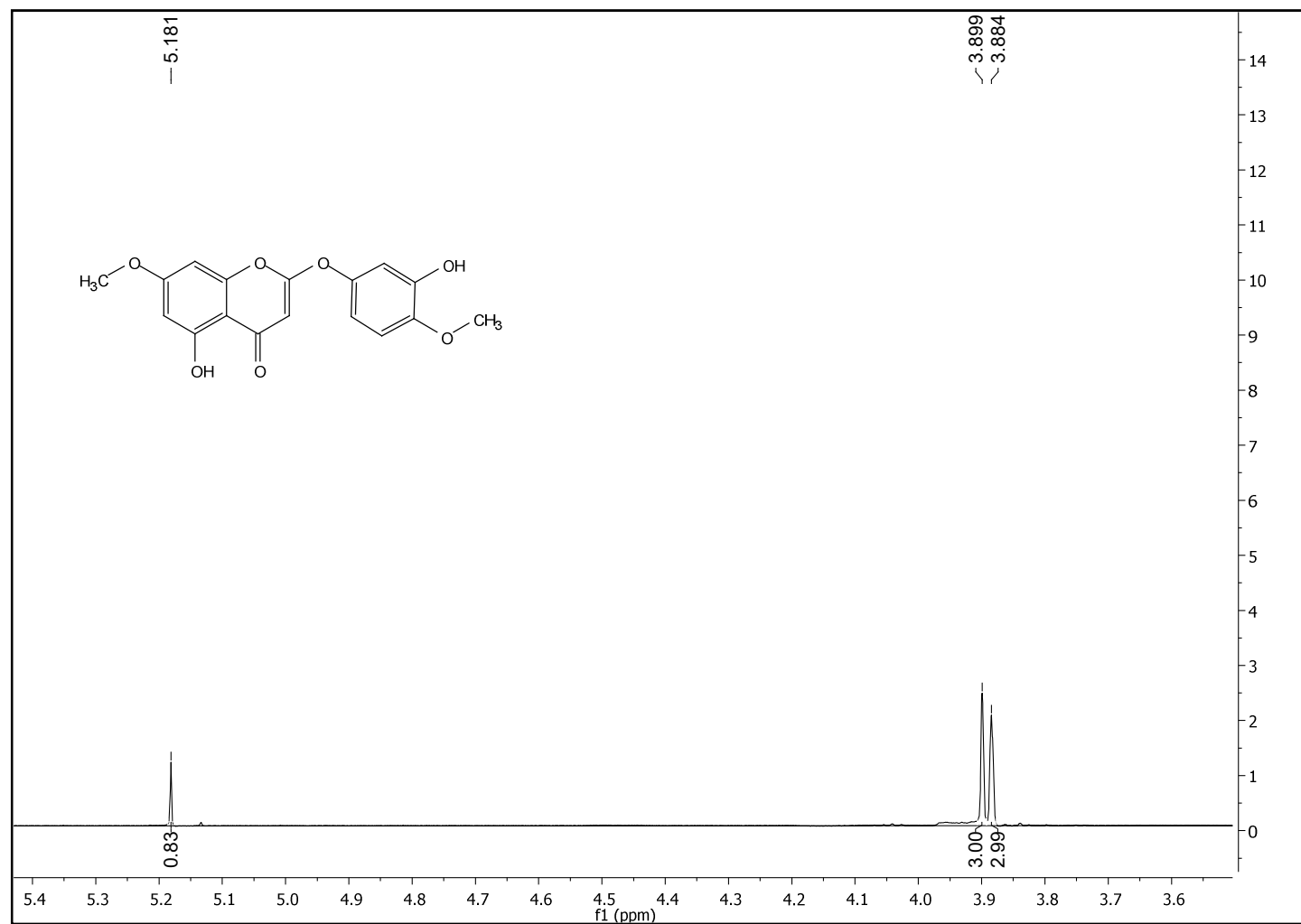
**Tabela 12:** Deslocamentos químicos e correlações para **TF-03**, verificados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) uni e bidimensionais.

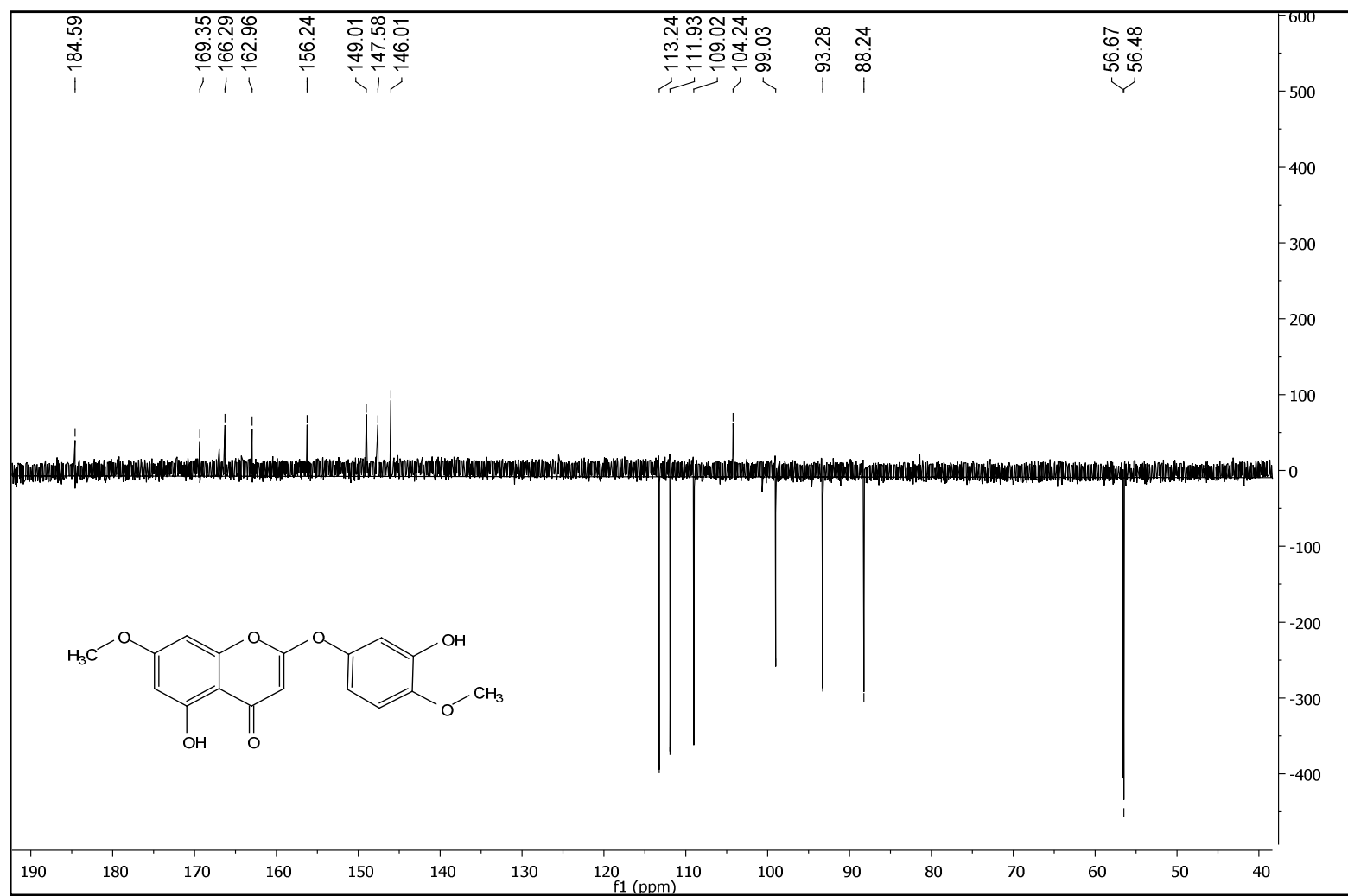
C	$\delta_{\text{C}}$	HMQC	HMBC			NOESY	COSY
		$\delta_{\text{H}}$	$^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1'	146.01	-					
3'	149.00	-					
4'	147.58	-					
2	169.34	-					
5	162.96	-					
7	166.29	-					
9	156.23	-					
10	104.23	-					
<b>CH</b>							
2'	109.01	6.84(d, 1H, J=2,8Hz)		C-6'			
5'	113.24	7.06 (d, 1H, J=8,7 Hz)	C-4'	C-3'/C-1'		MeO-4'/ H-6'	H-6'
6'	111.93	6.78(dd, 1H, J=8,7 e 1,8 Hz)		C-2'		H-5'	H-5'
3	88.24	5.18 (s, 1H)	C=O	C-10			
6	99.02	6.33 (d, 1H, J=1,8 Hz)	C-5/C-7	C-8/ C-10		MeO-7'	
8	93.28	6.52 (d, 1H, J=1,8 Hz)	C-9/C-7	C-6/ C-10		MeO-7'	
<b>CH<sub>3</sub>O</b>							
CH <sub>3</sub> O-4'	56.67	3.88 (s, 3H)	C-4'			H-5'	
CH <sub>3</sub> O-7	56.47	3.89 (s, 3H)	C-7			H-6/H-8	
<b>OH</b>							
OH-5		12.85 (s, 1H)	C-5	C-10/C-6			
<b>C=O</b>	184.59	-					

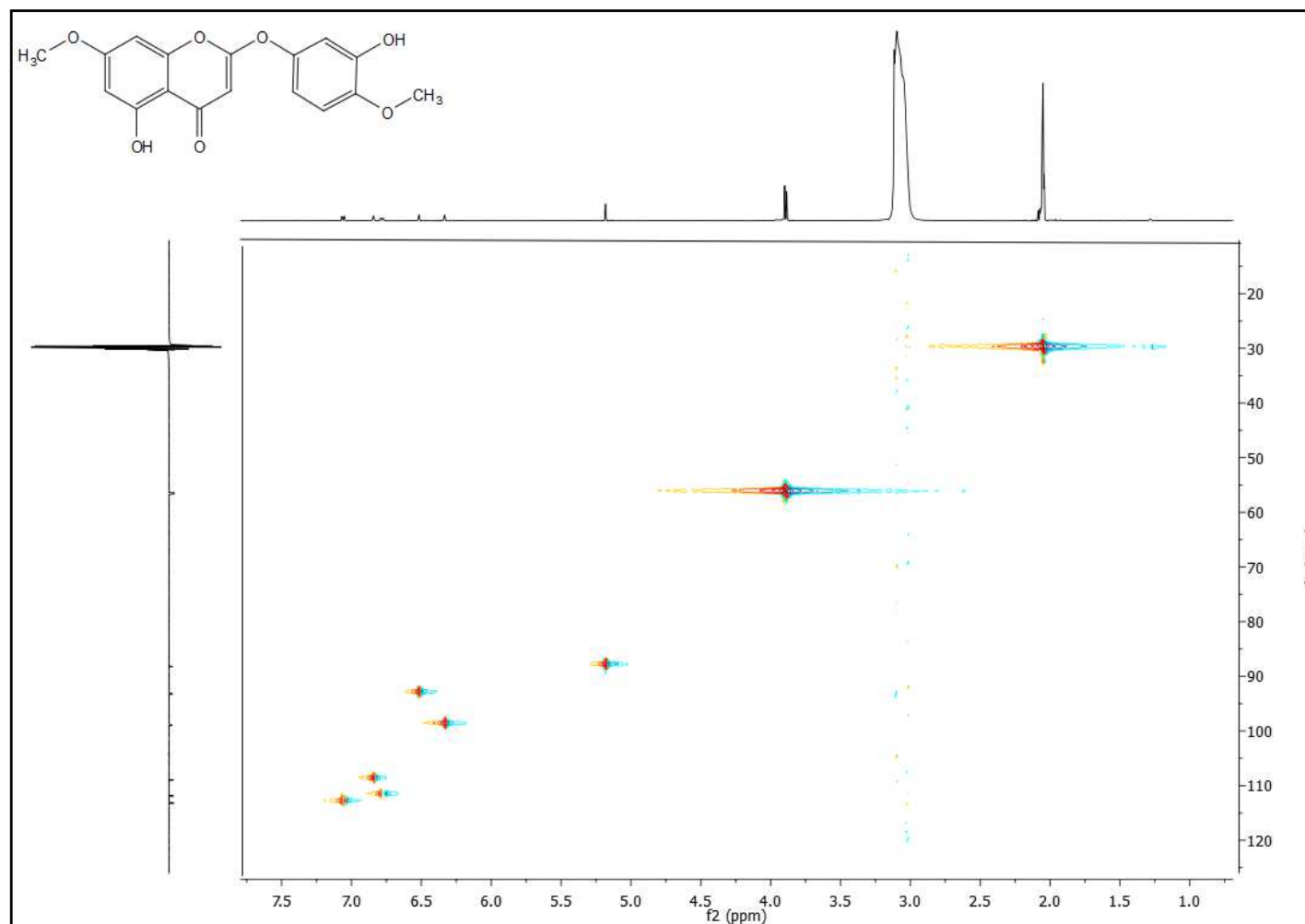
**Figura 99:** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de TF-03

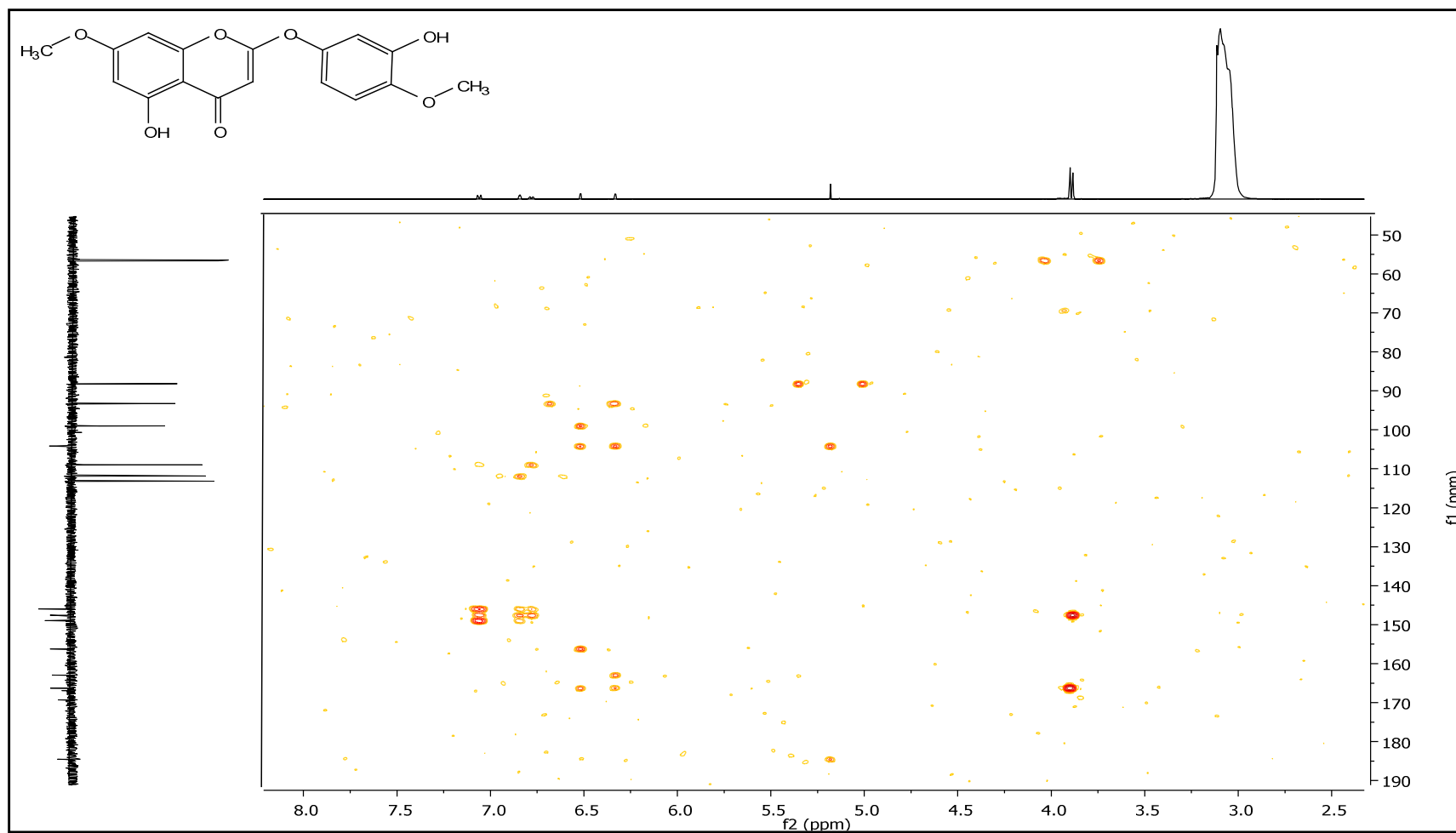
**Figura 100:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-03**

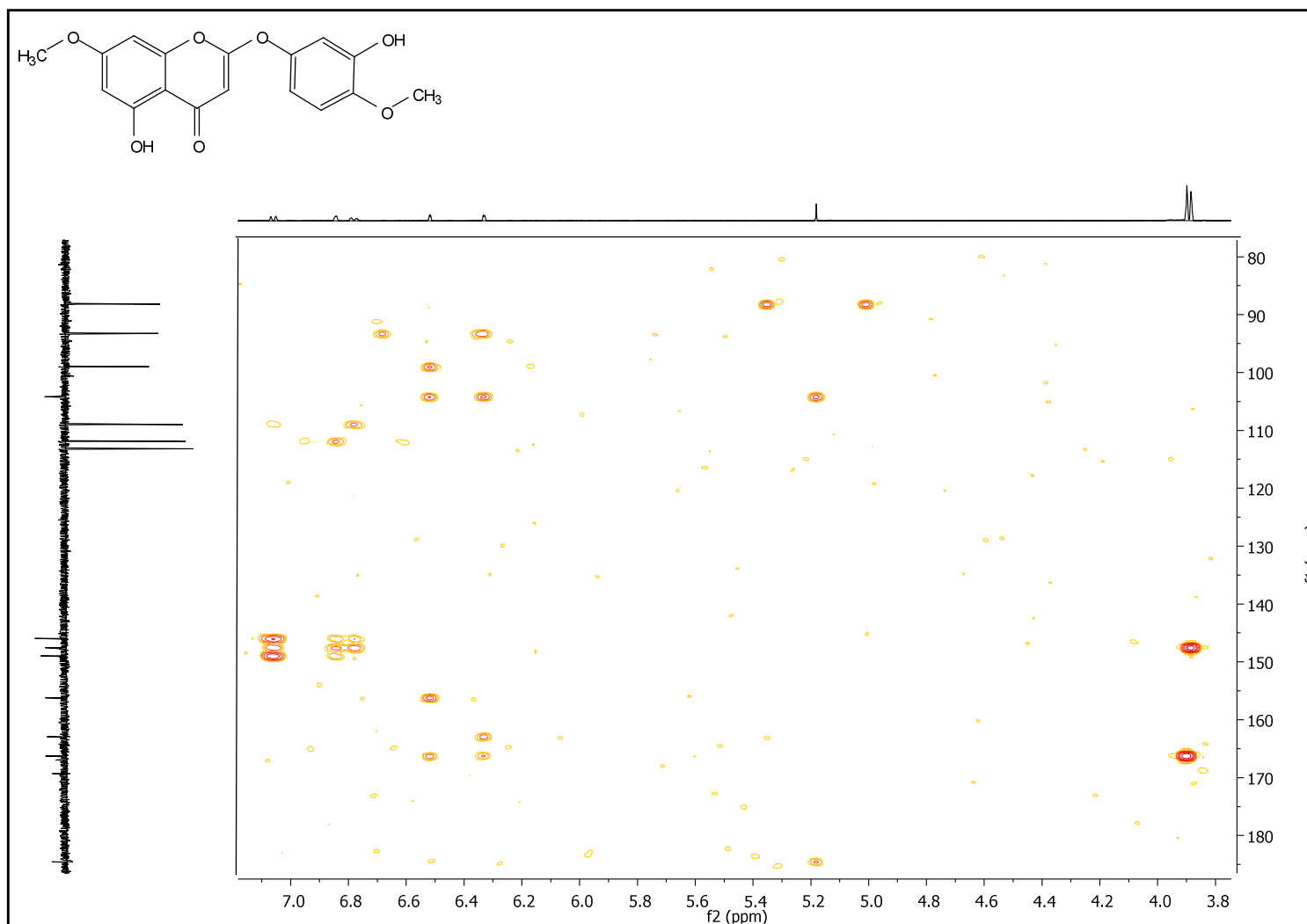
**Figura 101:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-03**

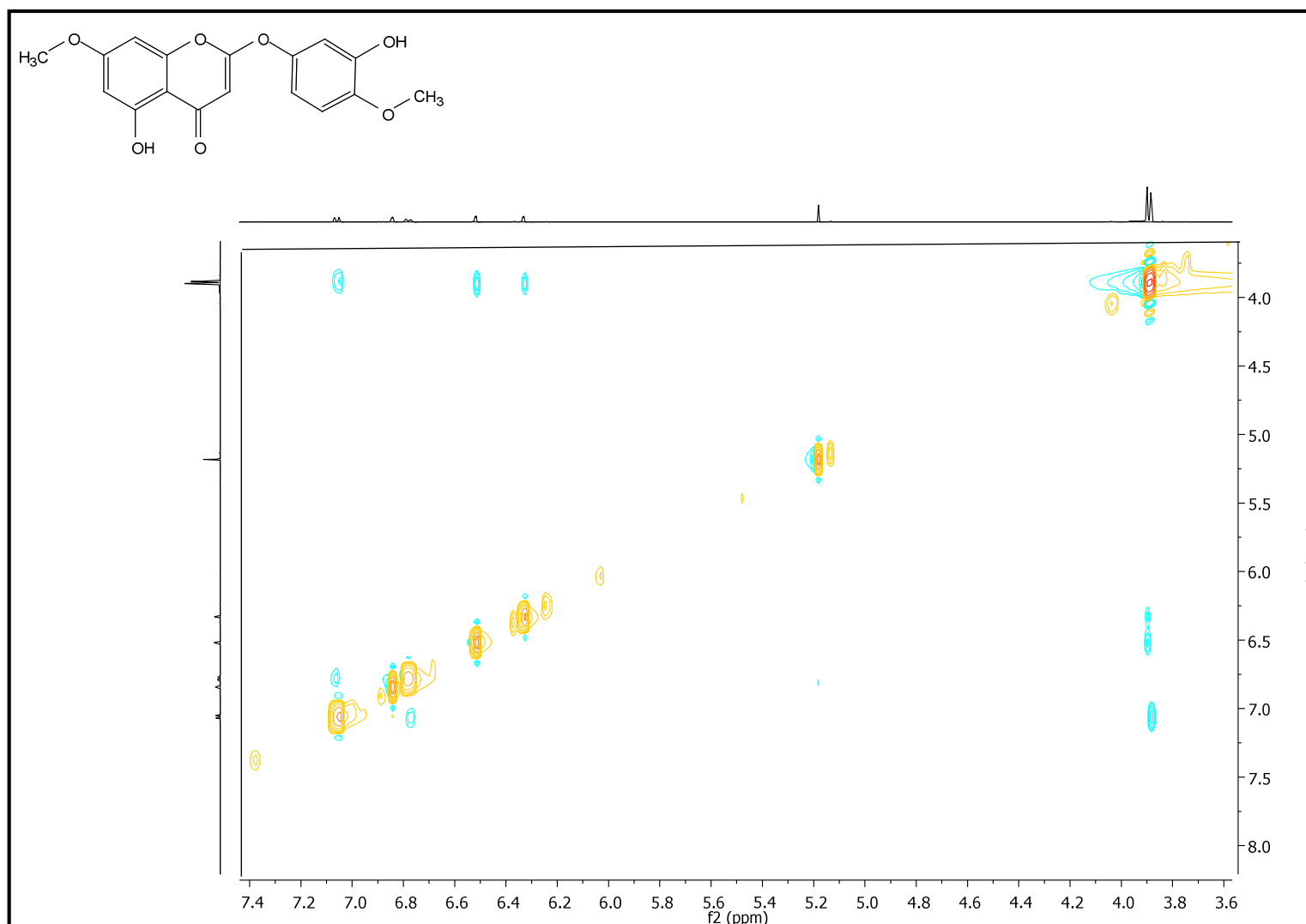
**Figura 102:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-03**

**Figura 103:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (125 MHz) de **TF-03**

**Figura 104:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-03**

**Figura 105:** Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de TF-03

**Figura 106:** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-03**

**Figura 107:** Espectro de NOESY em  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  (500 MHz) de **TF-03**

## 5.8 Triagem farmacológica

Visto que tanto os flavonóides como os ativos isolados de *Mimosa tenuiflora* apresentam atividades farmacológicas comprovadas ou potencial atividade farmacológica (antimicrobiana, antiparasitária, antioxidante, antitumoral e antiinflamatória) e que o teste farmacológico das substâncias isoladas (Pachipodol, Tenuiflorina C, Tenuiflorina D, Sakuranetina e 2',4'-dihidroxi-3',4-dimetoxichalcona) contra o leishmaniose não tinha sido relatado na literatura, foi realizado uma triagem preliminar frente a cepa *L. amazonensis*.

As substâncias isoladas de *Mimosa tenuiflora* : Pachipodol, Tenuiflorina C, Tenuiflorina D, Sakuranetina e 2',4'-dihidroxi-3',4-dimetoxichalcona não inibiram o crescimento de formas promastigotas de *L. amazonensis* nas concentrações testadas. Com isso, a triagem *in vitro* dessa atividade anti-*Leishmania* foi maior do que 400 µg/mL, sendo essa a maior concentração testada (Tabela 11). O resultado obtido não foi considerado um resultado favorável para testes farmacológicos mais aprofundados, já que o aumento da dose pode significar toxicidade e não uma ação farmacológica positiva.

**Tabela 11:** Atividade antileishmania das substâncias isoladas de *Mimosa tenuiflora*

Substância	Atividade antileishmania (µg/mL)
Pachipodol	> 400
Tenuiflorina C	> 400
Tenuiflorina D	> 400
Sakuranetina	> 400
2',4'-dihidroxi-3',4-dimetoxichalcona	> 400

Conclusão

---

## 6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Mimosa tenuiflora* permitiu o isolamento de 6 substâncias sendo uma delas relatada pela primeira vez na literatura, as mesmas foram identificadas utilizando dados espectrais de Infravermelho e RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  uni e bidimensionais (HMQC, HMBC, COSY e NOESY).

As substâncias isoladas formam duas fenoxicromonas (Tenuiflorina C e Tenuiflorina D) duas chalconas (2',4'-dihidroxi-3',4'-dimetoxochalcona, 2'-4'-diidroximetoxichalcona) uma flavona (4'-5'-dihidroxi-3,3',7'-trimetoxiflavona) e uma flavanona (4'-5'-dihidroxi-7'-metoxiflavanona). A Tenuiflorina D foi relatada pela primeira vez na literatura.

As substâncias avaliadas não inibiram o crescimento de formas promastigotas de *L. amazonensis* nas concentrações testadas. Com isso, a triagem *in vitro* dessa atividade anti-*Leishmania* foi maior do que 400  $\mu\text{g/mL}$ .

Considerando os dados apresentados o presente trabalho vem contribuir para o estudo da espécie em questão, além de trazer dados e informações espectrais de uma substância que ainda não tinha sido relatada na literatura.

# Referências

---

## 8 REFERÊNCIAS

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

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etno dirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 678-689, 2006.

AMARAL, Gisele Muller et al. Aspectos da distribuição de Mimosoideae (Fabaceae) arbóreas no planalto de Santa Catarina, sul do Brasil. **Neotropical Biology And Conservation**, Santa Catarina, v. 10, n. 2, p.74-84, 2015.

ANTON, R; Jiang, Y; WENIGER, B. Pharmacognosy of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. **J. Ethnopharmacol**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p.153-157, 1993.

BARRETO, Milena. Flavonoides e terpenoides de *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Quím. Nova [online]**. 2013, vol.36, n.5, pp.675-679. ISSN 0100-4042.

BAUTISTA, Elihú et al. Antiprotozoal Activity of Flavonoids Isolated from *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae) Antiprotozoal Activity of Flavonoids Isolated from *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae). **Sociedad Química de México**, México, v. 55, n. 4, p.251-253, set. 2011.

BEZERRA, Denise A. C. et al. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 4, p.814-817, dez. 2009.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente no Ceará**. Natal: Coleção Mossoroense, UFRN, v. CCCXV, 4ª ed., p. 311 - 312, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária **Resolução da Diretoria Colegiada** - RDC N° 26, de 13 de Maio de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário nacional de fitoterápicos da farmacopeia brasileira**. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2011. 224 p.

BRITTON, N. L. & J. N. Rose. Mimosaceae (Conclusio). 23(3): 137–194. In N.L. Britton (ed.) *N. Amer. Fl.* **New York Botanical Garden**, Bronx, 1928.

CAMARGO-RICALDE, S. L. Descripción, distribución, anatomía, composición química y usos de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae) em México. **Revista Biologica Tropical**, v.48, p.939-954, 2000.

CONEGLIAN, INARA REGIANE MOREIRA; OLIVEIRA, DENISE MARIA TROMBERT. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). **Revista Brasil. Bot.**, V.29, n.2, p.193-207, abr.-jun. 2006

CRONQUIST, A.. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. **Columbia University Press**. New York, 1981.

CRUZ, Mariluze Peixoto. **Isolamento e identificação de compostos bioativos de *Mimosa hostilis* BENTH.** 2013. 205. Tese (doutorado) – Curso Pós graduação em química, Química, Universidade Federal da Bahia. Salvador. 2013.

DAVID, C. V.; Craft, N. 2009. **Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. Dermatologic Therapy**, v. 22, p. 491-502.

DHAR, D. N. **The chemistry of chalcones and related compounds.** [S.l.]: John Wiley & Sons, 1981.

DOMINGUEZ, Xorge A.; GARCIAS, Sergio. Kukulkanins A and B, new chalcones from *Mimosa Tenuefolia*. **Journal Ofnatural Products**, México, v. 52, n. 4, p.864-857, 1989.

FEASEY, N.; Wansbrough-Jones, M.; Mabey, D. C. W.; Solomon, A. W. 2010. Neglected tropical diseases. **British Medical Bulletin**, v. 93, p. 179-200.

FERREIRA, V.F; PINTO, A.C.A. Fitoterápia no mundo atual. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 9, p.1829-1829, 2014.

FERREIRA, Vitor F.; PINTO, Angelo C.. A fitoterapia no mundo atual. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 9, p.1829-1829, 2010.

FRAGA, J.; Montalvo, A. M.; Doncker, S.; Dujardin, J.; Auwera, G. V. 2010. Phylogeny of Leishmania species based on heat-shock protein 70 gene. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, p. 238-245.

FUKUYAMA, Y.; YOKOYAMA, R.; OHSAKI, A.; TKAHASHI, H. e MINAMI, H. Na example of the co-ocurrence of enantiomeric labdane-type diterpenes in the leaves of *Mimosa hostilis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 47, p. 454-455, 1999.

GOMES, R.P. **Forragens Fartas na Seca.** 4ª ed. São Paulo: Técnica Ltda. 1977.

GONÇALVES, Nylza Maria Tavares; VILA, Marta Maria Duarte Carvalho; GERENUTTI, Marli. Políticas de Saúde para a Fitoterapia no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, São Paulo, v. 18, n. 4, p.632-637, 2013.

GONTIJO, Bernardo; CARVALHO, Maria de Lourdes Ribeiro de. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p.71-80, Não é um mês valido! 2003. Anual.

GRETHER, R. Nota sobre la identidad del tepescohuite en Mexico. **Bol. Soc. Bot. México** 48: 151–152, 1988.

HEINRICH, M.; KUHNT, M.; WRIGHT, C. W.; RIMPLER, H.; PHILLIPSON, J. D.; SCHANDELMAIER, A.; and WARGURST, D. C. Parasitological and Microbiological Evaluation of Mixe Indian Medicinal Plants (Mexico). **J Ethnopharmacol.**, 36, 81-85, 1992.

INTERNACIONAL LEGUME DATABASE AND INFORMACION SERVICE (ILDIS), Legume Web. Disponível em: <www.ildis.org/LegumeWeb>. Acesso em: 02.02.2016.

LÉON, Letícia. Tenuiflorin A-C: New 2-Phenoxychromones from the Leaves of *Mimosa tenuiflora*. **Natural Product Chemistry**, New York, v. 70, n. 1, p.536-539, mar. 2004.

LEWIS, G. P.. Legumes of Bahia. 1–369. **Royal Botanic Gardens**, Kew, 1987.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the world. Kew: **Royal Botanic Gardens**. 577p, 2005.

LIMA, D.P.A et al. Estudo da toxicidade aguda e atividade antitumoral de *Mimosa hostilis* Benth. **Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. Salvador, 2006.

LINDOSO, J. A. L.; Lindoso, A. A. B. P. 2009. Neglected Tropical Diseases in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 51, n. 5, p. 247-253.

LORENZI H, Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2ed. **Nova Odessa: Plantarum**. v.2, p 192, 2002.

LOZOYA, X.; NAVARRO, V.; ARNASON, J. T.; KOURANY, E., Experimental evaluation of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Tepescohuite) I. screening of the antimicrobial properties of bark extracts. **Archivos de Investigación Médica**, 20, 87-93. 1989.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MAIA, G. N. Caatinga: árvores e arbustos e suas utilizadas. **D&Z**, São Paulo, 2004.

MAJUMDER, P. L.; LAHIRI, S.; MUKHOTI, N.. Chalcone and dihydrochalcone derivatives from the orchid *Luscia volucris*. **Phytochemistry**, India, v. 40, n. 1, p.271-274, dez. 1994.

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

MECKES-LOZOYA, M.; LOZOYA, X.; GONZALEZ, J. Propiedades farmacológicas in vitro de algunos extractos de *Mimosa tenuiflora* (tepescohuite). **Archivos de Investigacion Medica**, 21, 163-169, 1990.

MONTANARI JÚNIOR, I. Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas. 2002. Disponível em: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/index.html>>. Acesso em: 15 janeiro de 2014.

MOTA, Luiz Alberto Alves; MIRANDA, Roberta Ribeiro. Manifestações dermatológicas e otorrinolaringológicas na Leishmaniose. **Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia (impresso)**, [s.l.], v. 15, n. 3, p.376-381, set. 2011. FapUNIFESP (SciELO).

MUTAIA, Peggoty et al. Synthesis, antimycobacterial evaluation and pharmacophore modeling of analogues of the natural product formononetin. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, South Africa, v. 25, n. 12, p.2510-2513, abr. 2015.

NEVES, Maiane dos Santos. **Estudo fitoquímico e avaliação a atividade anticolinesterásica de extratos da casca da raiz da Mimosa Tenuiflora (willd.)Poiret**. 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

NOGUEIRA, Raquel Bezerra de Sá de Sousa. **Estudo fitoquímico pioneiro de Mimosa acutipula Mart. Benth e atividade antimicrobiana da espécie do gênero Mimosa (Fabaceae)**. 2015. 272 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Farmácia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

NUNES, Xirley Pereira. **Constituintes químicos das partes aéreas de Mimosa Paraibana Barneby e Mimosa tenuiflora (Will.) Poir**. 2008. 230 f. Tese (Doutorado) - Curso de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Farmácia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

OHSAKI, A.; YOKOYAMA, R.; MIYATAKE, H. e FUKUYAMA, Y. Two Diterpene Rhamnosides, Mimosasides B and C, from *Mimosa hostilis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, p. 1728-1729, 2006.

OLIVEIRA, Francisco Carlos. **Estudo de investigação química da espécie Lippia rigida Schauer**. 2012. 205 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

OLIVEIRA, Helaine B. de; KFFURI, Carolina W. and CASALI, Vicente W. D. Ethnopharmacological study of medicinal plants used in Rosário da Limeira, Minas Gerais, Brazil. **Rev. bras. farmacogn. [online]**. vol.20, n.2, pp. 256-260. ISSN 0102-695X. 2010.

OLIVEIRA, L.; MACHADO, R; RODRIGUES, A. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 16, n. 1, p.32-40, 2014.

OLIVEIRA, Lucileide Batista de. **Avaliação de atividades farmacológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.)Poir.**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 2011.

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

PADILHA, Itácio Q. M. et al. Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. from Northeast Brazil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 20, n. 1, p.45-47, mar. 2010.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S. **Introdução a Espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PELTER, A.; WARD, R.,S.; GRAY, T.I. The Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Flavonoids and related compounds. **Jornal of the chemical society**, Perkin Transaction 1, N°23, p. 2475 – 2483, 1976.

PIRIZ et al. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Rev. Bras. Pl. Med**, Campinas, v. 16, n. 3, p.628-636, 2014.

POLASEK, Johanne et al. Peltogynoids and 2-Phenoxychromones from *Peltophorum pterocarpum* and Evaluation of Their Estrogenic Activity. **Planta Med**, Geneva, v. 79, n. 1, p.480-486, fev. 2013.

QUEIROZ et al. Leguminosae. In: GIULIETTI et al. (Orgs.). **Plantas raras do Brasil**. Belo Horizonte: Conservação Internacional, p. 212 – 237, 2009.

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2009.

RAJU, Vegesna S et al. Synthesis of kukulkanins a and b - methoxy chalcones from *Mimosa Tenuifolia*. **Tetrahedron**, Great Britain, v. 48, n. 39, p.8347-8352, 1992.

RAZERA, Fernanda; BLANCO, Luiz Felipe de Oliveira; BONAMIGO, Renan Rangel. Leishmaniose tegumentar americana: primeiros casos autóctones notificados no Rio Grande do Sul desde 2001 e revisão da literatura. **Amrigs**, Porto Alegre, v. 49, n. 3, p.165-170, jul. 2005. Trimestral.

RODRIGUES, A.g; SANTOS, M.g; SIMONI, C. de. Fitoterapia na saúde da família. **Sociedade Brasileira de Medicina da Família e Comunidade: Artmed/Panamericana**, Porto Alegre. p.31-65, 2011.

SILVA, Anne Dayse Soares da. **Flavonóides da *Zornia brasiliensis* e atividade antinociceptiva da 7- metoxiflavona.**2013. 156 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

SILVA, Antonio Adailson de Sousa; FERREIRA JÚNIOR, José Milton; MORAIS, Selene Maia de. Estudo fitoquímico e atividades biológicas do limãozinho *Zanthoxylum syncarpum* Tull. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Ceará, v. 8, n. 2, p.37-53, 2014.

SILVA, Juliana Santos; SALES, Margareth Ferreira de. O gênero *Mimosa* (Leguminosae-Mimosoideae) na microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 59, n. 3, p.435-448, 2008. Published by: **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**.

SILVA, L. L. S. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Dioclea grandiflora* Mart. Ex. Benth., Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 208-214, 2010.

SILVA, Rosilene Rodrigues and TOZZI, Ana Maria Goulart de Azevedo. Uma nova espécie de *Mimosa* L. (Leguminosae, Mimosoideae) do Centro-Oeste do Brasil. **Hoehnea [online]**. Vol.38, n.1, pp. 143-146. ISSN 2236-8906, 2011.

SILVA, Saulo Luiz. **Modelagem molecular de derivados fenilpiranzólicos e flavonóides inibidores da xantina oxidase. 2003.** Tese (Doutorado) – Curso de biologia, Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia, Campinas – SP, 2003.

SILVA, Wanderson Luiz da Silva e et al. Inventário e distribuição geográfica de leguminosae no arquipélago de Marajó, PA, Brasil. **Hoehnea**, Marajó, v. 40, n. 4, p.627-647, 2013.

SILVEIRA, Fernanda Schmidt; MIOTTO, Silvia Teresinha Sfoggia. A família Fabaceae no Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil: aspectos taxonômicos e ecológicos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 1, n. 1, p.1679-1679, 2013.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J.. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 2ª ed. rev. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed Universidade /UFRGS/ Ed. Universidade/ UFSC, 2000.

SOUZA, Rafael Sampaio Octaviano de; ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino de; MONTEIRO, Júlio Marcelino. Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora* [Willd.] Poir.): a Review of its Traditional Use, Phytochemistry and Pharmacology. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, Brasil, v. 51, n. 5, p.937-947, 2008.

SOUZA-MOREIRA, Tatiana M.; SALGADO, Hérída R. N.; PIETRO, Rosemeire C. L. R.. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacognosia. [online]**, vol.20, n.3, pp. 435-440. ISSN 0102-695X. 2010.

STEVENS, W. D., C. Ulloa Ulloa, A. Pool & O. M. Montiel. Flora de Nicaragua. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 85: i–xlii, 2001.

TELLEZ, P. J. and DUPOY de Guitard, J., Pharmaceutical preparation containing *Mimosa tenuiflora* extract with skin-regenerating properties. **Patent Eur Pat Appl.** 349, 469,1990.

TROPICOS. Banco de Dados. Disponível em: <http://www.tropicos.org>. Acesso em: 02.02.2016.

USTULIN, Mirella et al. Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande-MS. **Rev. bras. farmacogn. [online]**. vol.19, n.3, pp. 805-813. ISSN 0102-695X. 2009.

VASCONCELLOS, Alexandre G.; BRANQUINHO, Fátima B.; SÁNCHEZ, Celso. Fitofármaco, fitoterápico, plantas medicinais: o reducionismo e a complexidade na produção do conhecimento científico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p.103-105, 2002.

VASILEV, S. A.; GARAZD, M. M.; KHILYA, V. P.. 3-Phenoxychromones: natural distribution, synthetic and modification methods, biological properties. **Chemistry Of Natural Compounds**, Ucrânia, v. 42, n. 3, p.201-211, maio 2006.

VEIGA, Valdir F.; PINTO, Angelo C.. PLANTAS MEDICINAIS: CURA SEGURA? **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p.519-528, 2005.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 361 -372, 2005.

VIEIRA, Silvia C. Heredia; SOLON, Soraya; VIEIRA, Maria do C.; ZARATE, Néstor A. Heredia. Levantamento de fitoterápicos manipulados em farmácias magistrais de Dourados-MS. **Rev. bras. farmacognosia. [online]**, vol.20, n.1, pp. 28-34. ISSN 0102-695X. 2010.

WAGNER, Hildebert; CHARl, Vedantha Mohan; SONNENBICHLER, Johann. C-NMR-SPEKTREN NATURLICH VORKOMMENDER FLAVONOIDE. **Tetrahedron Letters**, Great Britain, v. 1, n. 21, p.1799-1802, abr. 1976.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - Media centre. Leishmaniasis. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/index.html>> Acesso em: 20 abr. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world medicines situation traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva. 2011.

ZAMBRANA ALVAREZ, Teresita. Beneficios de la fitoterapia. **Rev Cubana Plant Med [online]**. vol.10, n.2, pp. 0-0. ISSN 1028-4796. 2005.

ZHAO, Zhong-xiang et al. Two new chalcone glycosides from the stems of *Entada phaseoloides*. **Fitoterapia**, China, v. 1, n. 82, p.1102-1105, jul. 2011.