



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSÉ DUVILARDO FLORÊNCIO DE OLIVEIRA

ESTUDO QUÍMICO DE *MAR CETIA MACROPHYLLA*
WURDACK (MELASTOMATACEAE)

FORTALEZA

2012

JOSÉ DUVILARDO FLORÊNCIO DE OLIVEIRA

ESTUDO QUÍMICO DE *MAR CETIA MACROPHYLLA* WURDACK
(MELASTOMATACEAE)

Dissertação submetida à
Coordenação do Curso de Pós-
Graduação em Química, da
Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em
Química. Área de concentração:
Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Nilce
Viana Gramosa Pompeu de Sousa
Brasil.

FORTALEZA

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- O47e Oliveira, José Duvilardo Florêncio de.
Estudo químico de *Marcetia Macrophylla* Wurdack (Melastomataceae) / José Duvilardo Florêncio de Oliveira – 2012.
96 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Mestrado (Dissertação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciência, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Mestrado em Química, Fortaleza, 2012.
Área de Concentração: Química Orgânica.
Orientação: Profa. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil.
1. *Marcetia Macrophylla*. 2. Melastomataceae. 3. Flavonóide. 4. Isoflavona. I. Título.

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.



José Duvilardo Florêncio de Oliveira

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 31/08/2012

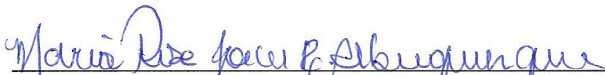
EXAMINADORES:



Prof. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Daniel Esdras de Andrade Uchoa
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Maria Rose Jane Ribeiro Albuquerque
Universidade Estadual Vale do Acaraú– UVA

Aos meus pais, Alice e
José Geraldo (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Geraldo (*in memorian*) e Alice, pela excelente criação, educação, amor, sabedoria e, sobretudo, pela oportunidade da vida.

Aos meus irmãos Dorenildo, Dorivando e Dorivaldo pelos exemplos de pessoa, pelo companherismo e amizade.

À Professora Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil por ter-me aceitado como seu orientando, pela primorosa orientação, pela amizade, pela paciência, pelo exemplo de pessoa e pelos conhecimentos transmitidos tanto no aspecto científico quanto humano.

Aos professores Francisco José Queiroz Monte, Marcos Carlos de Matos, Telma Leda G. Lemos e Gilvandete Pinheiro Santiago pelas aulas teórica e práticas que muito contribuíram para meu desenvolvimento intelectual e rendimento acadêmico.

Aos professores da minha banca, Daniel Esdras de Andrade Uchoa e Maria Rose Jane Ribeiro Albuquerque, pelas considerações, sugestões e críticas que muito contribuíram para meu conhecimento acadêmico e para o engrandecimento deste trabalho.

Às professoras Mary Anne Souza Lima e Otilia Deusdênia Loiola Pessoa pelos conhecimentos transmitidos e que sempre estavam presentes para auxiliar ou tirar dúvidas.

Ao professor Edilberto Rocha Silveira pelos conhecimentos transmitidos, pela coleta do material botânico e as fotos da espécie em estudo.

Aos autores dos livros e periódicos que forneceram conhecimento e alicerce para este trabalho.

Aos operadores Nilce Viana, Daniel Esdras, Mariano, Honório, Renata, Gustavo, Patrícia, Karísia, Naiara, Regivaldo, Karine, Ticiane, Ceíça, Isabel que operaram instrumentos fundamentais para a execução deste trabalho e que sempre estavam presentes e dispostos a ajudar inclusive nas determinações estruturais.

Aos amigos e companheiros de laboratório João Vito, Mariano, Vanessa e Paulo Victor pelo auxílio no meu trabalho e pelos bons momentos juntos.

Aos outros amigos dos LAFIPLAMs 1, 2 e 3: Milton, Paulo, Paula, Honório, Antônio Neto, Débora, Daniel, Regivaldo, Antônia, Patrícia, Karísia, Naiara, Zelina,

Karine, Isabel, Ceiça, Ticiania, Gustavo, Max, Patrícia Hosana, Chaguinha pela amizade e boa convivência durante o tempo que passamos juntos..

Aos amigos em especial Janete, Paulo Henrique, João Vito, César, Francivaldo e Joabis pelos momentos divertidos, pela fiel amizade e cumplicidade e que estiveram sempre presentes fornecendo o “ombro amigo” quando necessário.

Aos meus amigos da turma de mestrado: Max, Felipe, Juliana, Carlos, Elaine, Irvila e Jeison, pela atenção, apoio e momentos divertidos que passamos juntos.

A todos os demais colegas do Curso de Pós-Graduação em Química.

Aos funcionários da UFC, Raimunda, Aurilana, Sr. Paulo e Célia que forneceram condições adequadas para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos órgãos financiadores CNPq, CAPES e FUNCAP.

A todos que por ventura não foram citados, mas que contribuíram de uma forma ou de outra para a execução deste trabalho.

“No caso do indivíduo, a tarefa da educação é a seguinte: torná-lo tão firme e seguro que, como um todo, ele já não possa ser desviado de sua rota”

(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

Marcetia macrophylla é uma planta endêmica da Bahia pertencente à família Melastomataceae. O extrato hidroalcoólico das folhas de *M. macrophylla* foi submetido a sucessivas cromatografias resultando no isolamento e identificação de seis metabólitos secundários: o triterpeno esqualeno, a mistura esteroidal β -sitosterol e estigmasterol, o flavonóide quercetina, a isoflavona 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona e o derivado do ácido gálico, galato de etila. Os metabólitos foram isolados através de métodos cromatográficos clássicos, tais como: cromatografia de adsorção em coluna, partição líquido-líquido e cromatografia de exclusão. A elucidação estrutural foi efetuada através dos métodos espectroscópicos IV, EM e RMN ^1H e ^{13}C , uni e bidimensional, e comparação com os dados descritos na literatura. Este é o primeiro relato do estudo fitoquímico de *M. macrophylla*.

Palavras-chave: *Marcetia macrophylla*. Melastomataceae. Flavonóide. Isoflavona.

ABSTRACT

Marcetia macrophylla is an endemic plant of Bahia belonging to the Melastomataceae family. The hydroalcoholic extract of *Marcetia macrophylla* leaves was subjected to successive chromatographic analysis to afford six secondary metabolites: the triterpene squalene, the steroidal mixture of β -sitosterol and stigmasterol, the flavonoid quercetin, the isoflavone 4',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone and the gallic acid derived, ethyl gallate. The metabolites were isolated by conventional chromatographic methods such as adsorption column chromatography, liquid-liquid partition and exclusion chromatography. The identification of these compounds was possible by IR, MS and ^1H and ^{13}C NMR, uni and bidimensional, and comparison with literature data. This is the first report of phytochemical studies of *Marcetia macrophylla*.

Keywords: *Marcetia macrophylla*. Melastomataceae. Flavonoid. Isoflavone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 -	Fotos de <i>Marcetia macrophylla</i> Wurdack.....	22
Figura 02 -	Ilustração de <i>Marcetia macrophylla</i> Wurdack.....	23
Figura 03 -	Estrutura química do esqualeno.....	36
Figura 04 -	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de MMA-1.....	36
Figura 05 -	Espectro de RMN ¹³ C-CPD (125 MHz, CDCl ₃) de MMA-1.....	36
Figura 06 -	Espectro de RMN ¹³ C DEPT-135 (125 MHz, CDCl ₃) de MMA-1.....	37
Figura 07 -	Espectro de Massas (70 eV) de MMA-1.....	37
Figura 08 -	Estruturas químicas do β-sitosterol e estigmasterol (respectivamente).....	40
Figura 09 -	Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-2.....	40
Figura 10 -	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de MMA-2.....	40
Figura 11 -	Espectro de RMN ¹³ C-CPD (75 MHz, CDCl ₃) de MMA-2.....	41
Figura 12 -	Espectro de RMN ¹³ C DEPT-135 (75 MHz, CDCl ₃) de MMA-2.....	41
Figura 13 -	Estrutura básica de um flavonóide.....	43
Figura 14 -	Hidrogênios aromáticos: (a) sistema ABX; (b) hidrogênios aromáticos metapositionados.....	44
Figura 15 -	Subestruturas mostrando as correlações do HSQC entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos.....	44
Figura 16 -	Subestruturas mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico.....	45
Figura 17 -	Estrutura química da quercetina.....	46
Figura 18 -	Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-3.....	47
Figura 19 -	Espectro de RMN ¹³ C-CPD (125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3.....	47
Figura 20 -	Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135 (125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3.....	48
Figura 21 -	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3.....	48
Figura 22 -	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3 (expansão).....	49
Figura 23 -	Espectro COSY (500 x 500 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3.....	49
Figura 24 -	Espectro HSQC (500 X 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3 e sua expansão.....	50
Figura 25 -	Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3.....	50
Figura 26 -	Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-3 (expansão).....	51
Figura 27 -	Estrutura básica de uma isoflavona.....	54

Figura 28 -	Subestrutura de sistema aromático para-dissubstituído.....	54
Figura 29 -	Subestrutura de isoflavona mostrando a correlação HSQC entre hidrogênio em δ 8,12 e seu respectivo carbono.....	55
Figura 30 -	Subestrutura de isoflavona mostrando as correlações HSQC entre os hidrogênios aromáticos do anel para-dissubstituído e seus respectivos carbonos.....	55
Figura 31 -	Subestruturas da isoflavona mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico.....	56
Figura 32 -	Subestrutura mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios metílicos em δ_H 2,23 e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico.....	57
Figura 33 -	Subestrutura mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios metílicos em δ_H 2,12 e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico.....	57
Figura 34 -	Estrutura química da 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona.....	58
Figura 35 -	Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-4.....	60
Figura 36 -	Espectro de Massas de MMA-4 (IE, 70 eV).....	60
Figura 37 -	Espectro de RMN 1H (500 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4.....	60
Figura 38 -	Espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4.....	61
Figura 39 -	Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4.....	61
Figura 40 -	Espectro COSY (500 x 500 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4.....	62
Figura 41 -	Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4.....	62
Figura 42 -	Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4 (expansão).....	63
Figura 43 -	Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4.....	63
Figura 44 -	Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4 (expansões 1).....	64
Figura 45 -	Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de MMA-4 (expansões 2).....	64
Figura 46 -	Fragmentos presentes na estrutura de MMA-5: (a) anel benzênico; (b) carbonila; (c) etoxila.....	67
Figura 47 -	Subestruturas mostrando as correlações do HSQC entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos: (a) no anel aromático; (b) no grupo etoxila.....	67

Figura 48 -	Subestruturas mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios e carbonos a duas e três ligações, contendo os valores de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C , para os fragmentos: (a) δ_{H} 7,05 e (b) δ_{H} 1,34 e δ_{H} 4,27.....	68
Figura 49 -	Estrutura química do galato de etila.....	69
Figura 50 -	Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-5.....	70
Figura 51 -	Espectro de Massas de MMA-5 (IE, 70 eV).....	70
Figura 52 -	Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de MMA-5.....	70
Figura 53 -	Espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CD_3OD) de MMA-5.....	71
Figura 54 -	Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (75 MHz, CD_3OD) de MMA-5.....	71
Figura 55 -	Espectro COSY (300 x 300 MHz, CD_3OD) de MMA-5.....	72
Figura 56 -	Espectro HSQC (300 x 75 MHz, CD_3OD) de MMA-5.....	72
Figura 57 -	Espectro HMBC (300 x 75 MHz, CD_3OD) de MMA-5.....	73

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 - Isolamento de MMA-1.....	80
Fluxograma 2 - Isolamento de MMA-2.....	82
Fluxograma 3 - Isolamento de MMA-3 e MMA-4.....	85
Fluxograma 4 - Isolamento de MMA-5.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 -	Espécies medicinais da família Melastomataceae no Brasil e seus usos.....	25
Tabela 02 -	Atividades Biológicas de Espécies da família Melastomataceae no Brasil.....	26
Tabela 03 -	Substâncias isoladas da família Melastomataceae no Brasil.....	28
Tabela 04 -	Deslocamentos químicos RMN ^{13}C -CPD de MMA-1 com padrão de hidrogenação.....	35
Tabela 05 -	Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 x 125 MHz, CDCl_3) de MMA-1 comparados com os dados da literatura ^a para o Esqualeno.....	35
Tabela 06 -	Dados de RMN ^{13}C de MMA-2 comparados com os dados da literatura para os esteróides β -sitosterol e estigmasterol.....	39
Tabela 07 -	Deslocamento químico de MMA-3 com padrão de hidrogenação.....	42
Tabela 08 -	Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC de MMA-3, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para a quercetina..	46
Tabela 09 -	Valores de deslocamento químico de ^{13}C de MMA-4 com padrão de hidrogenação.....	53
Tabela 10 -	Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC de MMA-4, comparados com os da 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona.....	59
Tabela 11 -	Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de MMA-5 e padrão de hidrogenação.....	66
Tabela 12 -	Dados de RMN ^1H e ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC de MMA-5, comparado com os valores da literatura para o galato de etila.....	69
Tabela 13 -	Particionamento do extrato hidroalcoólico MMAFEA.....	77
Tabela 14 -	Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAH.....	78
Tabela 15 -	Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAH-H.....	79
Tabela 16 -	Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAH-D.....	81
Tabela 17 -	Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAD.....	83
Tabela 18 -	Frações da coluna cromatográfica da fração 4 de MMAFEAD.....	84
Tabela 19 -	Frações reunidas da coluna sephadex da fração MMAFEAAE (CS-1).....	86
Tabela 20 -	Frações reunidas da coluna cromatográfica CS-2 e suas massas.....	87
Tabela 21 -	Frações da coluna cromatográfica da fração 7-8 de CS-2.....	88
Tabela 22 -	Frações reunidas da coluna cromatográfica da fração 7-8 de CS-2.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CPD	Composite Pulse Decoupling
COSY	Correlation Spectroscopy
CS-1	Coluna Sephadex 1
CS-2	Coluna Sephadex 2
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsufóxido
EM	Espectrometria de Massas
FM	Fórmula Molecular
HMBC	Heteronucler Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio
IE	Impacto Eletrônico
IV	Infravermelho
MMA-1	Esqualeno
MMA-2	Mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol
MMA-3	Quercetina
MMA-4	4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona
MMA-5	Galato de Etila
MMAFEA	Extrato Hidroalcoólico das Folhas de <i>Marcetia macrophylla</i>
MMAFEAAE	Fração Acetato de Etila da Partição de MMAFEA
MMAFEAAQ	Fração Aquosa da Partição de MMAFEA
MMAFEAB	Fração n-Butanólica da Partição de MMAFEA
MMAFEAD	Fração Diclorometânica da Partição de MMAFEA
MMAFEAH	Fração Hexânica da Partição de MMAFEA
MMAFEAH-AE	Fração Acetato de Etila do Fracionamento Cromatográfico de MMAFEAH
MMAFEAH-D	Fração Diclorometânica do Fracionamento Cromatográfico de MMAFEAH
MMAFEAH-H	Fração Hexânica do Fracionamento Cromatográfico de MMAFEAH

MMAFEAH-M	Fração Metanólica do Fracionamento Cromatográfico de MMAFEAH
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
ppm	Partes por milhão
Rf	Fator de Retenção
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética de Carbono-13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética de Hidrogênio
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
δ	Deslocamento Químico

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	18
1	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.....	20
1.1	Considerações gerais sobre a família Melastomataceae.....	20
1.2	Considerações gerais sobre o gênero <i>Marcetia</i>	20
1.3	Considerações gerais sobre a espécie <i>Marcetia macrophylla</i> Wurdack.....	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1	Estudos Etnomedicinais de plantas da família Melastomataceae no Brasil.....	24
2.2	Atividades Biológicas em plantas da família Melastomataceae no Brasil.....	26
2.3	Constituintes Químicos de plantas da família Melastomataceae no Brasil.....	27
3	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	34
3.1	Determinação estrutural de MMA-1.....	34
3.2	Determinação estrutural de MMA-2.....	38
3.3	Determinação estrutural de MMA-3.....	42
3.4	Determinação estrutural de MMA-4.....	52
3.5	Determinação estrutural de MMA-5.....	65
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	74
4.1	Métodos Cromatográficos.....	74
4.1.1	Cromatografia Líquida em Coluna (CC).....	74
4.1.2	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	74
4.1.3	Cromatografia de Exclusão.....	74
4.2	Métodos Espectroscópicos.....	75
4.2.1	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV).....	75
4.2.2	Espectrometria de Massas (EM).....	75
4.2.3	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	75
4.3	Estudo dos constituintes fixos de <i>Marcetia macrophylla</i>	76
4.3.1	Coleta do Material.....	76
4.3.2	Obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de <i>Marcetia macrophylla</i> - MMAFEA.....	76
4.3.3	Tratamento cromatográfico de MMAFEA.....	77
4.3.4	Fracionamento cromatográfico de MMAFEAH.....	77
4.3.4.1	Isolamento de MMA-1.....	78
4.3.4.2	Isolamento de MMA-2.....	81

4.3.5	Fracionamento cromatográfico de MMAFEAD.....	83
4.3.5.1	Isolamento de MMA-3 e MMA-4.....	83
4.3.6	Fracionamento cromatográfico de MMAFEAAE.....	86
4.3.6.1	Isolamento de MMA-5.....	87
5	CONCLUSÃO.....	90
	REFERÊNCIAS.....	91

INTRODUÇÃO

Diferentes civilizações antigas da Ásia, África, Europa e América já mostravam um profundo conhecimento no uso de plantas para fins terapêuticos (GALLARDO *et al.*, 2004). A importância das plantas, contudo, vai além de seu uso para fins medicinais. Destacam-se também como matérias primas para fabricação de tintas e cosméticos, bem como seu uso na indústria de alimentos (PINTO *et al.*, 2002).

O Brasil é detentor de um litoral riquíssimo e da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, concentrando uma grande diversidade de produtos naturais. A Química de Produtos Naturais é, dentro da Química brasileira, a área mais antiga, mas que ainda continua sendo bastante promissora (PINTO *et al.*, 2002).

Dentre as famílias de Angiospermas do Brasil, a Melastomataceae é a sexta maior, com 68 gêneros e mais de 1.500 espécies, apresentando uma boa distribuição geográfica no território brasileiro (ROMERO; MARTINS, 2002). No mundo, esta família tem distribuição pantropical, sendo constituída por cerca de 170 gêneros e 4.500 espécies, onde são conhecidas cerca de 3000 espécies (RENNER, 1993).

Algumas espécies desta família são empregadas na medicina popular, dentre elas, destacam-se: *Miconia albicans* (Sw.) Tr., usada contra reumatismo; *Mouriri guianensis* Aubl., utilizada em banhos pós-parto e contra ulcerações e infecções vaginais; *Macairea radla* (Bonpl.) DC., usada contra escabiose e dermatoses; *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack., utilizada contra dores de garganta e *Tibouchina semidecandra* F., usada como cicatrizante e contra dores de cabeça (MORS *et al.*, 2000 apud CRUZ; KAPLAN, 2004). Entretanto, existem poucos estudos etnomedicinais, fitoquímicos e farmacológicos desta família (CRUZ; KAPLAN, 2004).

Plantas da família Melastomataceae apresentaram atividades farmacológicas de seus extratos e metabólitos secundários, como: atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de *Miconia albicans* e *Miconia rubiginosa* (CELOTTO *et al.*, 2003); atividade antioxidante e citotóxica de flavonóides presentes em *Melastoma malabathricum* L. (SUSANTI *et al.*, 2007); atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico de *Miconia langsdorffii* Cogn. e de triterpenos isolados da mesma espécie (PEIXOTO *et al.*, 2011); também apresenta plantas como *Miconia ligustroides*, da qual seu extrato hexânico possui importante efeito analgésico (CUNHA *et al.*, 2003).

Na literatura, para a família Melastomataceae, foram encontrados relatos de flavonóides isolados de *Melastoma malabathricum* L. (SUSANTI *et al.*, 2007); elagitaninos das espécies *Osbeckia chinensis* e *Tibouchina semidecandra* (YOSHIDA; AMAKURA; YOSHIMURA, 2010) e triterpenos das espécies *Miconia ligustroides* e *Miconia langsdorffii* Cogn. (CUNHA *et al.*, 2003; PEIXOTO *et al.*, 2011).

Foram observados alguns estudos fitoquímicos e farmacológicos para o gênero *Marcetia* do qual pertence a espécie em estudo. Relatos anteriores mostraram a presença do triterpeno β -amirina em *Marcetia velutina* (COSTA *et al.*, 2007); em *Marcetia latifolia* foi possível observar flavonóides polimetoxilados através de espectroscopia no ultravioleta (BARBOSA *et al.*, 2009). No extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia mucugensis* foram isolados 4 flavonóides polimetoxilados [5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4',5'-hexametoxiflavona (digicitrina), 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4',5'-heptametoxiflavona (gardenina A), 5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona, 5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona], um flavonóide polihidroxilado (quercetina) e um triterpeno (esqualeno)(QUEIROZ, 2011). Para *Marcetia canescens*, *M. latifolia*, *M. macrophylla* e *M. taxifolia*, foi relatada atividade antimicrobiana (LEITE *et al.*, 2008).

Dentro desse contexto, o presente trabalho tem como objetivo contribuir para o conhecimento químico do gênero *Marcetia*, a partir do isolamento e caracterização dos metabólitos secundários presentes nas folhas de *Marcetia macrophylla* Wurdack. Esta espécie nunca foi estudada do ponto de vista químico, deste modo, este trabalho contribui para a classificação quimiosistemática desta espécie.

1 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

1.1 Considerações gerais sobre a família Melastomataceae

A família Melastomataceae possui distribuição pantropical, com aproximadamente 170 gêneros e 4500 espécies, das quais dois terços são neotropicais. Constitui uma das principais famílias da flora brasileira, com cerca de 68 gêneros e mais de 1.500 espécies, presentes nos mais variados ecossistemas (ROMERO; MARTINS, 2002).

De acordo com Giulietti *et al.* (2009), a família Melastomataceae é formada por:

Árvores, arbustos, lianas ou ervas. Folhas opostas, geralmente curvinérveas, com uma nervura central e nervuras laterais subparalelas levemente arqueadas da base em direção ao ápice. Flores actinomorfas, dialipétalas, monoclinas, diplostêmones, com hipanto desenvolvido; estames frequentemente com anteras de deiscência poricida, geralmente falciformes e/ou com o conectivo conspicuo. Frutos capsulares ou bacáceos, em geral com numerosas sementes.

1.2 Considerações gerais sobre o gênero *Marcetia*

Plantas deste gênero têm uma forte preferência por habitat rupestre e muitas manifestam uma forte tendência em apresentar distribuições endêmicas. São descritas 28 espécies pertencentes a este gênero, sendo a Bahia o estado em que a maioria delas é endêmica (LEITE *et al.*, 2008). A maioria das espécies cresce na Cadeia do Espinhaço e principalmente na Chapada Diamantina-BA, onde 80% das espécies são endêmicas (KRUCKEBERG; RABINOWITZ, 1985).

Segundo Martins (1989), o gênero *Marcetia* se apresenta como:

Arbustos e subarbustos eretos, prostrados, raramente ervas, com xilopódio algumas vezes bem desenvolvidos. Caule e ramos quadrangulares a subcilíndricos. Folhas opostas, decussadas, raramente em pseudo-fascículos, pecioladas ou sésseis. Inflorescências muito variadas, dispostas nos ápices de ramos principais ou laterais, raramente ao longo de todo o ramo com flores isoladas ou reunidas.

1.3 Considerações gerais sobre a espécie *Marcetia macrophylla* Wurdack

A espécie é endêmica da Bahia, tem distribuição restrita a campos rupestres situados em altitudes entre 700 e 1000 m (FIGURA 1, p. 22). É encontrada em Andaraí, Lençóis, Mucugê e Palmeiras (Bahia). *M. macrophylla* floresce e frutifica principalmente de novembro a março. A espécie tem uma característica bem peculiar que é a presença de pêlos bem densos e seríceos, formando faixas ao longo das nervuras principais na face inferior das folhas e a presença também de pêlos na metade superior da pétala, estes são glandulares e esparsos (MARTINS, 1989).

É uma planta que se apresenta como um subarbusto ou arbusto ereto, com cerca de 1 a 2 m de altura e muito ramificado. Possui folhas ovaladas, coriáceas e elípticas, geralmente em torno de 9 nervuras. Apresenta flores tetrâmeras, com pétalas róseas e anteras amarelas de ápice tubuloso. Fruto com hipanto constrito no ápice (MARTINS, 1989) (FIGURA 2, p. 23).

Figura 1 - Fotos de *Marcetia macrophylla* Wurdack: (a) planta em seu habitat natural; (b) e (c) detalhe para as folhas e inflorescências.



(a)



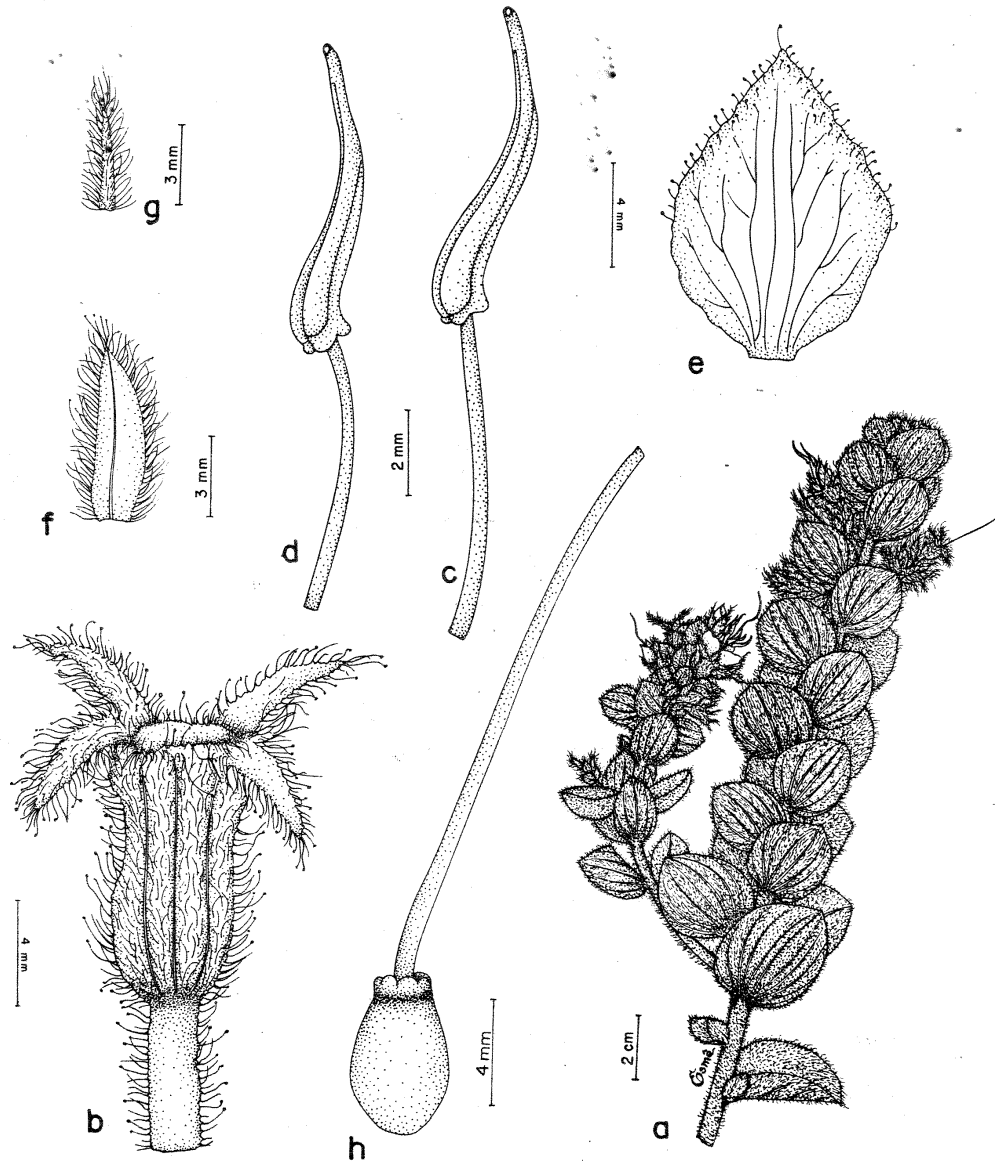
(b)



(c)

Fonte: Prof. Edilberto Rocha Silveira.

Figura 2 – Ilustração de *Marcetia macrophylla* Wurdack: a) aspecto do ramo; b) hipanto e cálice; c) estame do ciclo externo, em vista lateral; d) estame do ciclo interno, em vista lateral; e) pétala; f) bráctea; g) bractéola; h) gineceu.



Fonte: MARTINS, 1989.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste levantamento bibliográfico são apresentados estudos etnomedicinais, de atividade biológica e químicos realizados em espécies da família Melastomataceae no Brasil. Os dados fornecidos foram coletados de artigos publicados até março de 2012 através de pesquisas realizadas nos sites científicos <http://www.scifinder.cas.org> e <http://www.webofscience.com> e, também, de teses e dissertações da Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações através do site da biblioteca da UFC www.biblioteca.ufc.br.

2.1 Estudos Etnomedicinais de plantas da família Melastomataceae no Brasil

A abordagem etnofarmacológica consiste em combinar as informações adquiridas de usuários de plantas medicinais (comunidade e especialistas tradicionais), com estudos químicos e farmacológicos. Este método permite a formulação de hipóteses quanto à atividade farmacológica e às substâncias ativas (ELISABETSKY, 2003).

Os estudos etnomedicinais descritos nesta revisão dizem respeito aos usos, na medicina popular, de espécies desta família, existentes no Brasil. Observando estudos na família Melastomataceae (TABELA 1, p. 25), foi possível afirmar que as indicações populares mais comuns são: o combate a dores e a afecções na pele, como formulação tópica. Os gêneros que merecem mais destaque em relação ao uso popular foram: *Tibouchina*, *Clidemia* e *Miconia*.

Tabela 1 – Espécies medicinais da família Melastomataceae no Brasil e seus usos

ESPÉCIE	PARTE	USOS	REFERÊNCIA
<i>Aciotis longifolia</i> Tr.	folhas	eripisela	AMOROZO, 1997 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Bellucia grossularioides</i> (L.) Tr.	folhas, frutos	leucorréia, vermes intestinais	MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Clidemia blepharoides</i> DC.	folhas	ulcerações	MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Clidemia hirta</i> (L.) G. Don	folhas, flores e frutos	palpitações, males dos rins, bexiga, leucorréia	PIVA, 2002 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Leandra lacunosa</i> Cogn.	folhas	adstringente	MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Macairea radula</i> (Bonpl.) DC.	folhas	escabiose, dermatoses	MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Tr.	folhas	eupéptico, reumatismo	ALBUQUERQUE MELLO, 1971; MORS <i>et al.</i> , 2000; VIEIRA; MARTINS, 2000; STALCUP, 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Miconia cinnmonifolia</i> (DC.) Naudin	folhas	resfriado, febre	BOSCOLO, 2003 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Mouriri guianensis</i> Aubl.	folhas, cascas	ulcerações, banhos pós- parto, infecções vaginais	BERG, 1993; MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Nepsera aquatica</i> Naud.	folhas	hematúria	MORS <i>et al.</i> , 2000; AMOROZO, 2002 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Tibouchina aspera</i> Aubl.	folhas, flores	sedativa, béquica	MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Tibouchina clavata</i> (Pers.) Wurdack	folhas	dores de garganta	MORS <i>et al.</i> , 2000 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Tibouchina semidecandra</i> F.	folhas	dores de cabeça, cicatrizante	PIVA, 2002 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004
<i>Tibouchina urvilleana</i> (DC.) Cogn.	folhas	dores em geral	MARODIN <i>et al.</i> , 2001 <i>apud</i> CRUZ; KAPLAN, 2004

FONTE: CRUZ; KAPLAN, 2004.

2.2 Atividades Biológicas em plantas da família Melastomataceae no Brasil

As atividades biológicas mostradas neste levantamento referem-se a extratos, frações ou compostos puros. Apenas os gêneros *Marcetia* e *Miconia* têm atividade biológica documentada, de acordo com o levantamento realizado (TABELA 2). Observou-se, também, que as atividades biológicas mais comuns nesta família são antimicrobiana, antioxidante e analgésica (TABELA 2).

Tabela 2 – Atividades Biológicas de Espécies da família Melastomataceae no Brasil

ESPÉCIE	SUBSTRATO	ATIVIDADE	REFERÊNCIA
<i>Marcetia canecens</i>	folhas ¹	antimicrobiana	LEITE <i>et al.</i> , 2011
<i>Marcetia latifolia</i>	folhas ¹	antimicrobiana	LEITE <i>et al.</i> , 2011
<i>Marcetia macrophylla</i>	folhas ¹	antimicrobiana	LEITE <i>et al.</i> , 2011
<i>Marcetia taxifolia</i>	folhas ¹	antimicrobiana	LEITE <i>et al.</i> , 2011
<i>Miconia albicans</i>		antioxidante	PIERONI <i>et al.</i> , 2011
<i>Miconia cabucu</i>	folhas ²	antimicrobiana, analgésica	RODRIGUES, 2007; RODRIGUES <i>et al.</i> , 2008
<i>Miconia fallax</i>	ácidos ursólico e oleanólico	antioxidante, citotóxica	FURTADO <i>et al.</i> , 2008
<i>Miconia langsdorffii</i>	extrato hidroalcoólico; ácidos ursólico e oleanólico	antileishmania	PEIXOTO <i>et al.</i> , 2011
<i>Miconia ligustroides</i>	extrato hexânico ³ e diclorometânico ⁴ ; ácidos ursólico e oleanólico	analgésica, antimicrobiana	CUNHA <i>et al.</i> , 2003; CUNHA <i>et al.</i> , 2010
<i>Miconia rubiginosa</i>	folhas ²	antimicrobiana, antituberculose, analgésica no SNC	RODRIGUES, 2007; RODRIGUES <i>et al.</i> , 2008
<i>Miconia stenostachya</i>	folhas ²	antimicrobiana	RODRIGUES <i>et al.</i> , 2008

1- Extrato das folhas com a mistura dos solventes metanol, hexano e acetato de etila;

2- Extrato das folhas com a mistura dos solventes metanol e clorofórmio;

3- O extrato hexânico das partes aéreas apresentou atividade analgésica (CUNHA, 2003);

4- O extrato diclorometânico das partes aéreas apresentou atividade antimicrobiana (CUNHA, 2010).

2.3 Constituintes Químicos de plantas da família Melastomataceae no Brasil

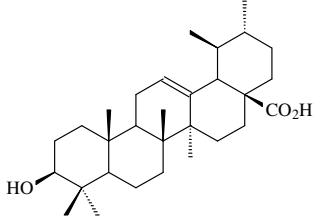
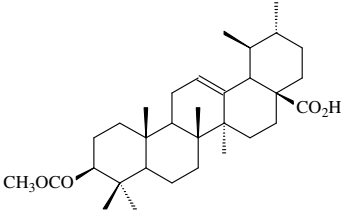
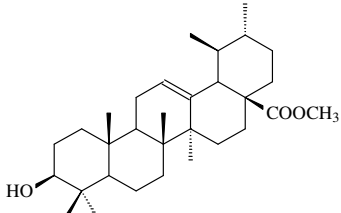
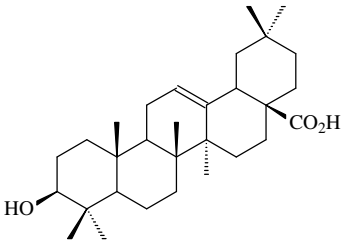
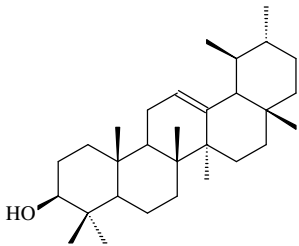
Este levantamento sobre a química de Melastomataceae apresenta as substâncias químicas isoladas de espécies desta família no Brasil (TABELA 3, p. 28). Os gêneros em que se observaram estudos químicos foram: *Marcetia*, *Miconia* e *Trembleya*. Estudos realizados, até a presente data, revelaram que as classes de compostos fitoquímicos mais comuns nas espécies da família Melastomataceae no Brasil são: flavonóides (58,0 %); triterpenos (29,0 %); esteróides (6,5 %); ácido gálico e derivados, por exemplo, taninos e elagitaninos (6,5 %) (TABELA 3, p. 28). É importante destacar que estes dados estão condizentes com os da literatura a respeito das classes fitoquímicas mais freqüentes nesta família no mundo. Dentre as quais se destacam: os flavonóides, os triterpenos, os esteróides e os taninos e elagitaninos (SIRAT *et al.*, 2010).

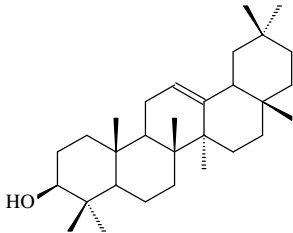
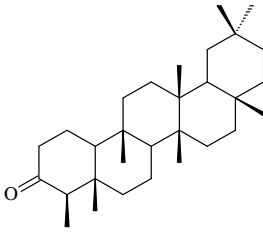
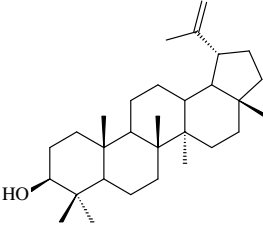
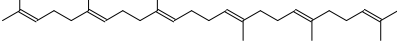
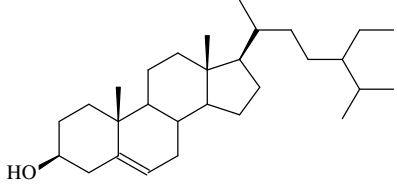
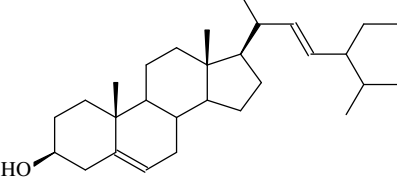
Com relação aos flavonóides, pôde-se observar que houve uma predominância de flavonóides polimetoxilados em espécies do gênero *Marcetia*. Já no gênero *Miconia*, os flavonóides em sua maioria estão conjugados com uma ou mais unidades de açúcar (TABELA 3).

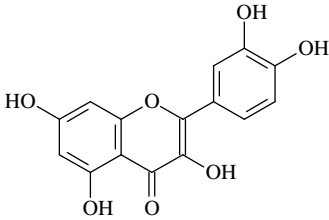
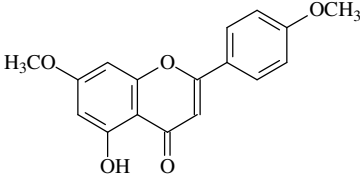
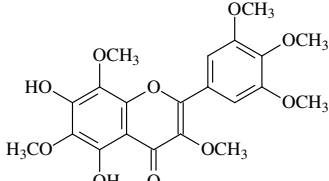
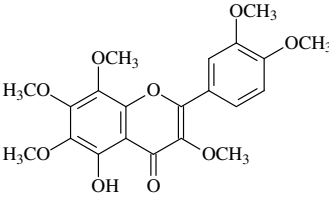
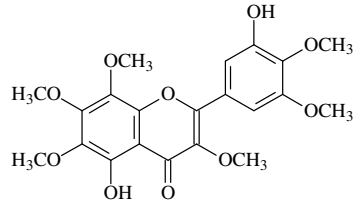
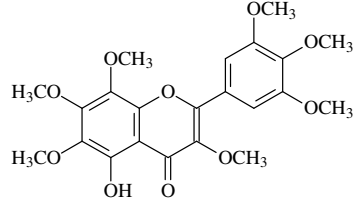
Os triterpenos ocorreram nos gêneros *Miconia*, *Trembleya* e *Marcetia*. Os triterpenos do gênero *Miconia* encontrados foram, em sua maioria, de esqueleto ursano e oleanano. Já os do gênero *Trembleya*, tinham esqueleto ursano, oleanano e lupano. Verificou-se, em *Marcetia*, a presença de um triterpeno de cadeia aberta (esqualeno) e um pentacíclico (fridelina) (TABELA 3).

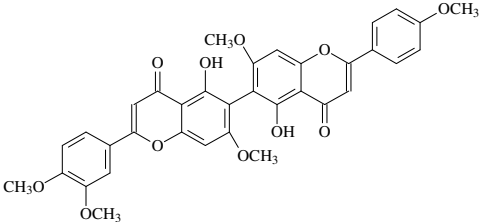
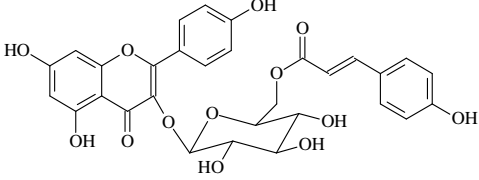
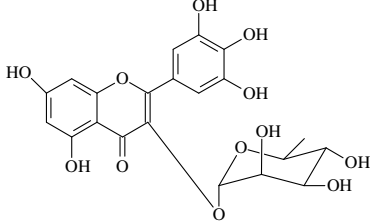
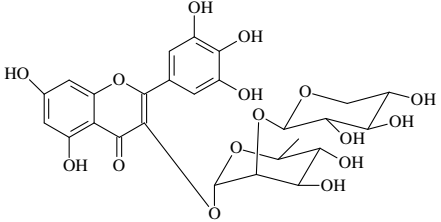
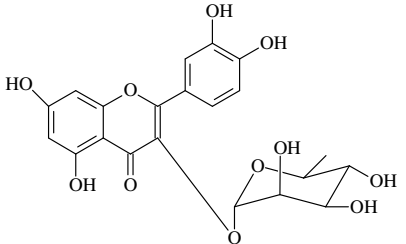
Foram relatados esteróides apenas no gênero *Trembleya*, assim como, derivados do ácido gálico apenas em *Miconia* (TABELA 3).

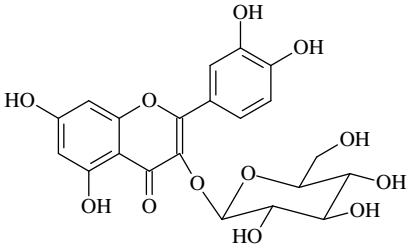
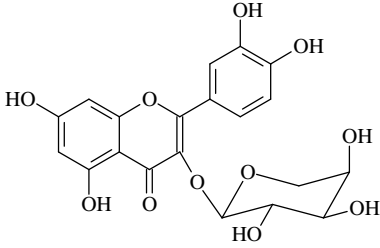
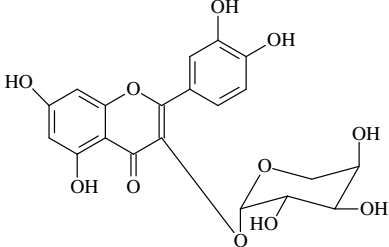
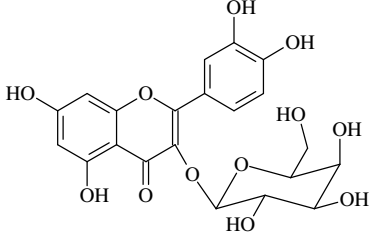
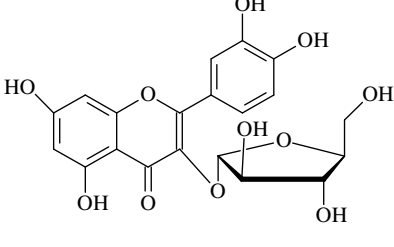
Tabela 3 – Substâncias isoladas da família Melastomataceae no Brasil

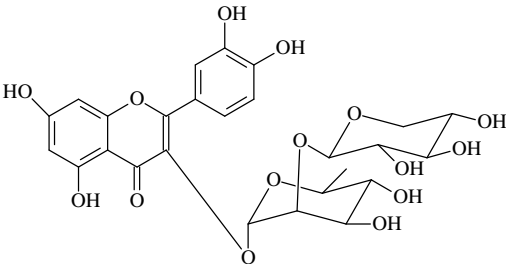
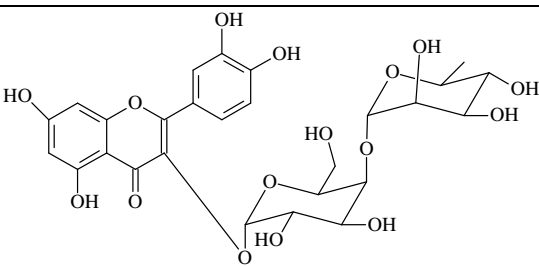
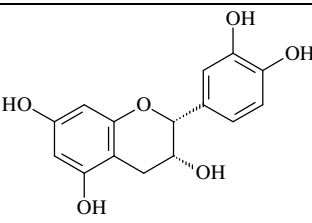
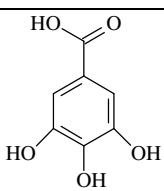
SUBSTÂNCIA	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
	<i>Miconia fallax</i> <i>Miconia langsdorffii</i> <i>Miconia ligustroides</i>	FURTADO <i>et al.</i> , 2008 PEIXOTO <i>et al.</i> , 2011 CUNHA <i>et al.</i> , 2010
ácido ursólico (1)		
	<i>Miconia ligustroides</i>	CUNHA <i>et al.</i> , 2010
ácido 3- <i>O</i> -acetil ursólico (2)		
	<i>Miconia ligustroides</i>	CUNHA <i>et al.</i> , 2010
ursolato de metila (3)		
	<i>Miconia fallax</i> <i>Miconia langsdorffii</i> <i>Miconia ligustroides</i>	FURTADO <i>et al.</i> , 2008 PEIXOTO <i>et al.</i> , 2011 CUNHA <i>et al.</i> , 2010
ácido oleanólico (4)		
	<i>Trembleya laniflora</i>	VENTURA <i>et al.</i> , 2007
α-amirina (5)		

SUBSTÂNCIA	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
 <p data-bbox="420 485 581 520">β-amirina (6)</p>	<i>Trembleya laniflora</i>	VENTURA <i>et al.</i> , 2007
 <p data-bbox="428 789 573 825">fridolina (7)</p>	<i>Marcetia formosa</i>	ROCHA <i>et al.</i> , 2007
 <p data-bbox="444 1094 558 1129">lupeol (8)</p>	<i>Trembleya laniflora</i>	VENTURA <i>et al.</i> , 2007
 <p data-bbox="420 1220 584 1255">esqualeno (9)</p>	<i>Marcetia mucugensis</i>	QUEIROZ, 2011
 <p data-bbox="404 1482 600 1518">β-sitosterol (10)</p>	<i>Trembleya laniflora</i>	VENTURA <i>et al.</i> , 2007
 <p data-bbox="391 1749 612 1785">estigmasterol (11)</p>	<i>Trembleya laniflora</i>	VENTURA <i>et al.</i> , 2007

SUBSTÂNCIA	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
 <p data-bbox="500 478 683 510">quercetina (12)</p>	<i>Marcetia mucugensis</i>	QUEIROZ, 2011
 <p data-bbox="375 732 808 764">5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (13)</p>	<i>Trembleya laniflora</i>	VENTURA <i>et al.</i> , 2007
 <p data-bbox="280 1003 902 1035">5,7-dihidroxi-3,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona (14)</p>	<i>Marcetia mucugensis</i>	QUEIROZ, 2011
 <p data-bbox="310 1276 873 1308">5-hidroxi-3,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona (15)</p>	<i>Marcetia mucugensis</i>	QUEIROZ, 2011
 <p data-bbox="500 1556 683 1587">digicitrina (16)</p>	<i>Marcetia mucugensis</i>	QUEIROZ, 2011
 <p data-bbox="488 1839 695 1871">gardenina A (17)</p>	<i>Marcetia mucugensis</i>	QUEIROZ, 2011

SUBSTÂNCIA	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES, 2007
<p>5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona-(6-C-6'')-5''-hidroxi-7'',3''',4'''-trimetoxiflavona (18)</p>		
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES, 2007
<p>canferol-3-O-β-(6''-cumaroil)-glicopiranosideo (19)</p>		
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES, 2007
<p>miricetina-3-O-α-ramnopiranosideo (20)</p>		
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES, 2007
<p>miricetina-3-O-α-ramnopiranosil-(2\rightarrow1)-O-β-xilopiranosideo (21)</p>		
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES,
<p>quercetina-3-O-α-ramnopiranosideo (22)</p>	<i>Miconia rubiginosa</i>	2007 RODRIGUES, 2007

SUBSTÂNCIA	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES, 2007
quercetina-3- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo (23)		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES, 2007
quercetina-3- <i>O</i> - β -arabinopiranosídeo (24)		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES, 2007
quercetina-3- <i>O</i> - α -arabinopiranosídeo (25)		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES, 2007
quercetina-3- <i>O</i> - β -galactopiranosídeo (26)		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES, 2007
quercetina-3- <i>O</i> - α -arabinofuranosídeo (27)		

SUBSTÂNCIA	ESPÉCIE(S)	REFERÊNCIA(S)
	<i>Miconia cabucu</i>	RODRIGUES, 2007
<p>quercetina-3-<i>O</i>-α-ramnopiranosil-(2→1)-<i>O</i>-β-xilopiranosídeo (28)</p>		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES, 2007
<p>quercetina-3-<i>O</i>-α-galactopiranosil-(4→1)-<i>O</i>-α-ramnopiranosídeo (29)</p>		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES, 2007
<p>epicatequina (30)</p>		
	<i>Miconia rubiginosa</i>	RODRIGUES,
<p>ácido gálico (31)</p>	<i>Miconia cabucu</i>	2007 RODRIGUES, 2007

3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

3.1 Determinação estrutural de MMA-1

O tratamento cromatográfico da fração hexânica (MMAFEAH), obtida a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marctia macrophylla* resultou na obtenção de 24,1 mg de um óleo incolor, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD, denominado de MMA-1.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de MMA-1 apresentou sinais em δ_{H} 5,12, sugerindo a presença de hidrogênios olefínicos; sinais em δ_{H} 2,04 sugerindo a presença de hidrogênios metilênicos; 2 simpletos em δ_{H} 1,69 (s, 3H) e δ_{H} 1,61 (s, 3H) atribuídos a hidrogênios de carbonos metílicos (FIGURA 4, p. 36).

O espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de MMA-1 (FIGURA 5, p. 36) apresentou 15 linhas espectrais, que ao serem comparadas com os dados fornecidos pelo espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (FIGURA 6, p. 37) foi possível a identificação de 3 sinais correspondentes a carbonos não-hidrogenados (δ_{C} 135,32; 135,12; e 131,46), 3 sinais referentes a carbonos metínicos (δ_{C} 124,65; 124,55; e 124,51), 5 sinais referentes a carbonos metilênicos (δ_{C} 39,99; 39,97; 28,51; 27,01; 26,90) e 4 sinais referentes a carbonos metílicos (δ_{C} 25,92; 17,90; 16,27; 16,23). Através destes dados foi possível deduzir a fórmula mínima $\text{C}_{15}\text{H}_{25}$ para o composto (TABELA 4, p. 35).

Através do espectro de massas (FIGURA 7, p. 37), verificou-se que o pico íon-molecular de MMA-1 tem um valor m/z 410, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$, exatamente o dobro do valor da fórmula mínima calculada. Sugerindo que este composto se trata de uma estrutura simétrica. Para esta fórmula molecular, tem-se um IDH igual a 6, justificado pela presença de 6 ligações duplas. Desta forma, foi possível correlacionar à estrutura de MMA-1 a um triterpeno de cadeia aberta.

De acordo com as informações acima discutidas e comparando-as com os dados descritos na literatura (CURSINO *et al.*, 2009) (TABELA 5, p. 35), foi possível propor que o referido composto trata-se do triterpeno esqualeno (FIGURA 3, p. 36), precursor biossintético de esteróides e triterpenos cíclicos (MOSSI *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2004), isolado anteriormente na espécie *Marctia mucugensis* (QUEIROZ, 2011).

Tabela 4 - Deslocamentos químicos RMN ^{13}C -CPD de MMA-1 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -CPD e DEPT-135; 125 MHz, CDCl_3)

C	CH	CH ₂	CH ₃
135,32	124,65	39,99	25,92
135,12	124,55	39,97	17,90
131,46	124,51	28,51	16,27
		27,01	16,23
		26,90	
3C	3CH	5CH ₂	4CH ₃
Fórmula molecular mínima: $\text{C}_{15}\text{H}_{25}$			

Tabela 5 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 x 125 MHz, CDCl_3) de MMA-1 comparados com os dados da literatura^a para o Esqualeno

C	MMA-1		esqualeno	
	δ_{C}	δ_{H}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$
1 = 24	25,92	1,68 (s; 3H)	25,29	1,8
2 = 23	131,46	-	131,43	-
3 = 22	124,65	5,12 (m; 1H)	124,65	5,0
4 = 21	26,90	2,04 (m; 2H)	26,90	2,0
5 = 20	39,99	2,04 (m; 2H)	39,98	2,0
6 = 19	135,32	-	135,30	-
7 = 18	124,55	5,12 (m; 1H)	124,54	5,0
8 = 17	27,01	2,04 (m; 2H)	27,01	2,0
9 = 16	39,97	2,04 (m; 2H)	39,96	2,0
10 = 15	135,12	-	135,10	-
11 = 14	124,51	5,12 (m; 1H)	124,52	5,0
12 = 13	28,51	2,04 (m; 2H)	28,50	2,0
25 = 30	17,90	1,58 (s; 3H)	17,89	1,7
26 = 29	16,27	1,58 (s; 3H)	16,26	1,7
27 = 28	16,23	1,58 (s; 3H)	16,21	1,7

^aCURSINO *et al.*, 2009 (300 x 75 MHz, CDCl_3)

Figura 3 – Estrutura química do esqualeno

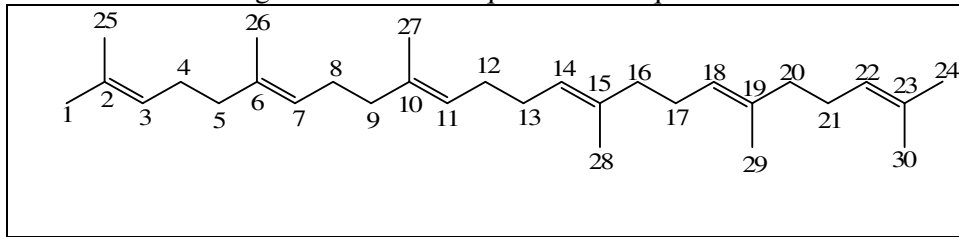
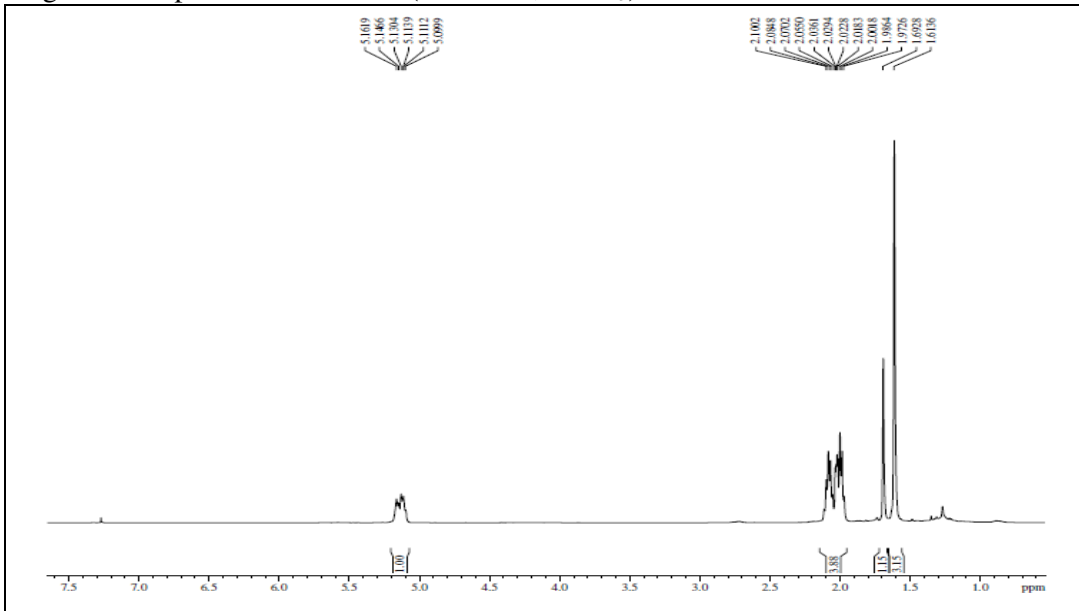
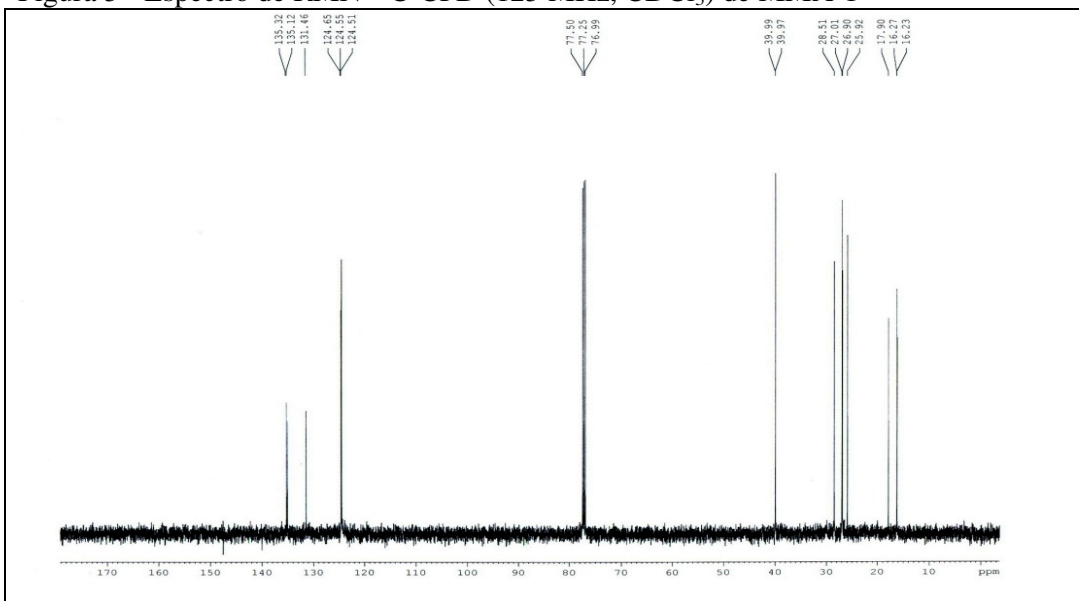
Figura 4 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de MMA-1Figura 5 - Espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CDCl_3) de MMA-1

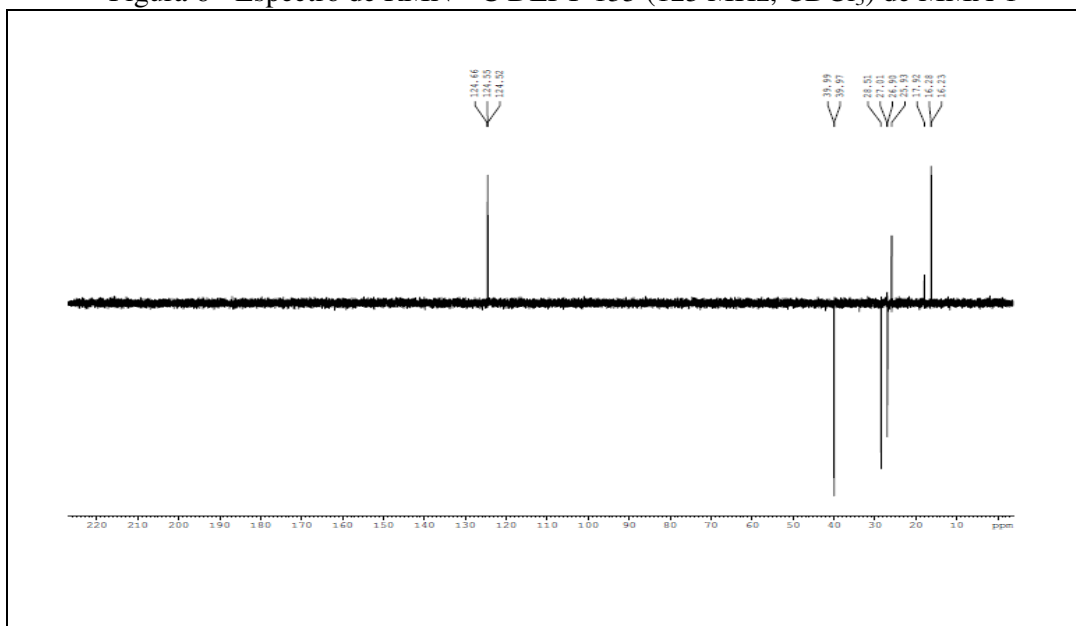
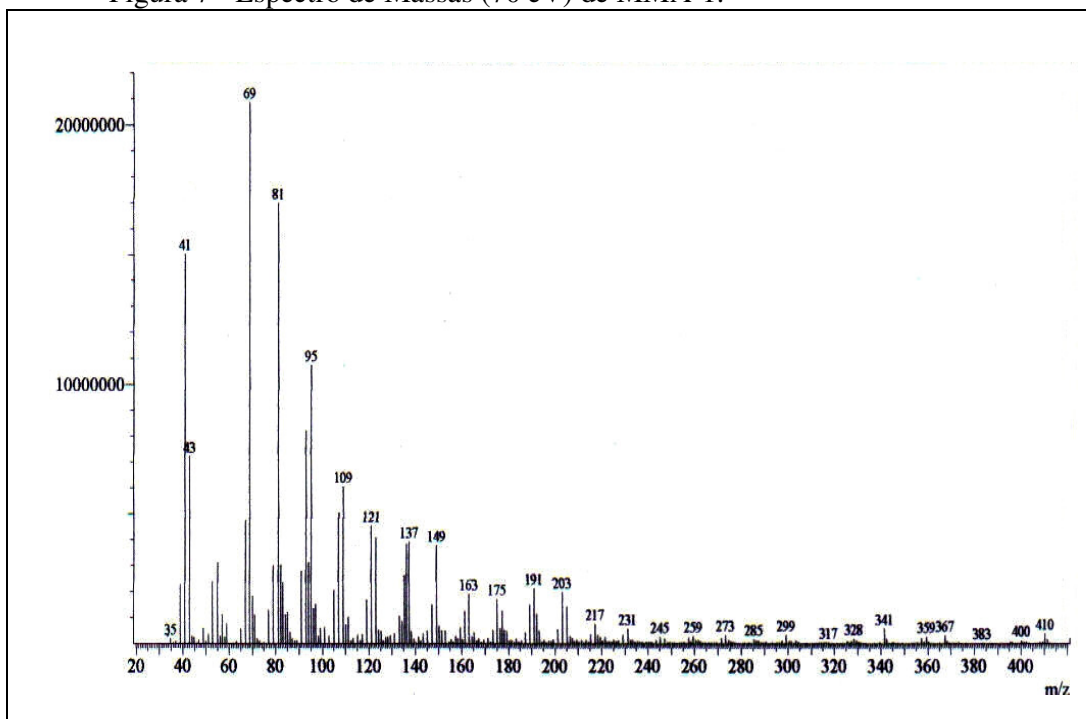
Figura 6 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) de MMA-1

Figura 7 - Espectro de Massas (70 eV) de MMA-1.



3.2 Determinação estrutural de MMA-2

MMA-2 foi obtido pelo tratamento cromatográfico da fração hexânica do extrato hidroalcoólico das folhas de *M. macrophylla* e se apresentou como um sólido amorfo, branco e solúvel em clorofórmio com massa de 10,0 mg.

O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 9, p. 40) apresentou uma banda larga em 3400 cm^{-1} compatível com deformação axial de ligação O-H; absorções em 2934 e 2866 cm^{-1} características de deformação axial de ligação $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$; uma banda de absorção fraca em 1667 cm^{-1} que pode ser associada à deformação axial $\text{C}=\text{C}$ de alceno; além da banda em 1047 cm^{-1} , compatível com deformação axial de C-O.

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de MMA-2 (FIGURA 10, p. 40) mostrou vários sinais na faixa de δ 0,65 a 2,35 de hidrogênios de grupos metílicos e metilênicos possivelmente de núcleo triterpênico ou esteroidal. Foram visualizados também dois duplos dupletos na região de hidrogênios olefínicos δ 5,16 (1H, dd, $J= 15$ e 9 Hz) e 5,02 (1H, dd, $J= 15$ e 9 Hz). Também na região de hidrogênios olefínicos, foi observado um sinal em δ 5,35 (d, $J= 3$ Hz, H-6).

O espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CDCl_3) de MMA-2 (FIGURA 11, p. 41) mostrou sinais em δ 141,0 e 121,9 atribuídos a carbonos de ligação dupla trissubstituída, enquanto que os sinais em δ 138,5 e 129,5 foram atribuídos a ligação dupla dissustituída. Observou-se ainda, um sinal em δ 72,0 atribuído a carbono carbinólico. Foram observadas, ao todo, 38 linhas espectrais e, em análise comparativa com o espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (FIGURA 12, p. 41), foi possível identificar a presença de 3 carbonos não hidrogenados (C), 14 carbonos metínicos (CH), 14 carbonos metilênicos (CH_2) e 7 carbonos metílicos (CH_3). Pensou-se, pela grande quantidade de átomos de carbono e o padrão do espectro de RMN ^1H , que MMA-2 possa se tratar de uma mistura de esteróides.

Com os dados de infravermelho, RMN ^1H , RMN ^{13}C -CPD e RMN ^{13}C DEPT-135 e em comparação com os dados da literatura (LUCIANO, 2009) (TABELA 6, p. 39), foi possível identificar MMA-2 como sendo a mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol (FIGURA 8, p. 40). Eles são os fitoesteróis mais comuns em vegetais e têm sua importância na redução da absorção do colesterol, diminuindo, desta forma, os riscos de doenças cardiovasculares (LOTTENBERG, 2009). Eles já foram encontrados em Melastomataceae, na espécie *Trembleya laniflora* (VENTURA *et al.*, 2007).

Tabela 6 - Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de MMA-2 comparados com os dados da literatura^a para os esteróides β -sitosterol e estigmasterol

C	DEPT-135	δ_{C} MMA-2	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ β -sitosterol	δ_{C} MMA-2	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ estigmasterol
1	CH ₂	37,5	37,5	37,5	37,5
2	CH ₂	29,1	29,1	29,1	29,1
3	CH	72,0	72,0	72,0	72,0
4	CH ₂	42,5	42,5	42,5	42,5
5	C	141,0	140,9	141,0	140,9
6	CH	121,9	121,9	121,9	121,9
7	CH ₂	31,9	31,9	31,9	31,9
8	CH	32,1	32,1	32,1	32,1
9	CH	50,4	50,4	50,4	50,4
10	C	36,7	36,7	36,7	36,7
11	CH ₂	21,3	21,3	21,3	21,3
12	CH ₂	39,9	39,9	40,0	39,9
13	C	42,5	42,5	42,5	42,5
14	CH	57,0	57,1	57,1	57,1
15	CH ₂	24,5	24,6	24,5	24,6
16	CH ₂	28,5	29,1	29,1	29,1
17	CH	56,3	56,2	56,3	56,2
18	CH ₃	12,1	12,0	12,1	12,3
19	CH ₃	19,6	19,6	19,6	19,6
20	CH	36,7	36,7	40,7	40,7
21	CH ₃	19,3	19,3	19,3	19,3
22	CH ₂ /CH	34,2	32,1	138,5	138,5
23	CH ₂ /CH	26,3	25,6	129,5	129,5
24	CH	46,1	46,1	51,5	51,5
25	CH	29,4	29,1	29,4	29,1
26	CH ₃	19,0	19,2	19,2	19,2
27	CH ₃	21,4	21,3	21,4	21,4
28	CH ₂	23,3	23,3	25,6	25,6
29	CH ₃	12,2	12,2	12,2	12,4

^a - LUCIANO, 2009 (CDCl_3 , 75 MHz)

Figura 8 – Estruturas químicas do β -sitosterol e estigmasterol (respectivamente)

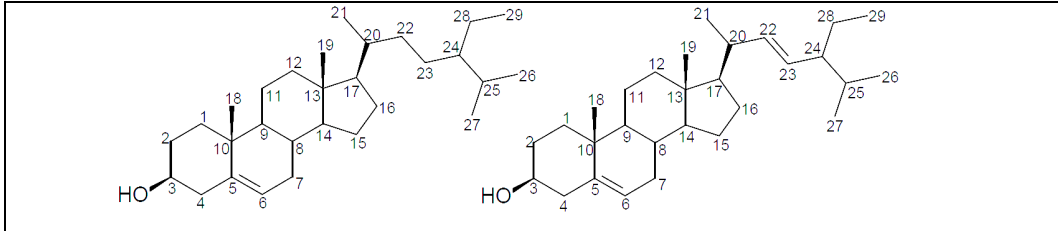


Figura 9 - Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-2

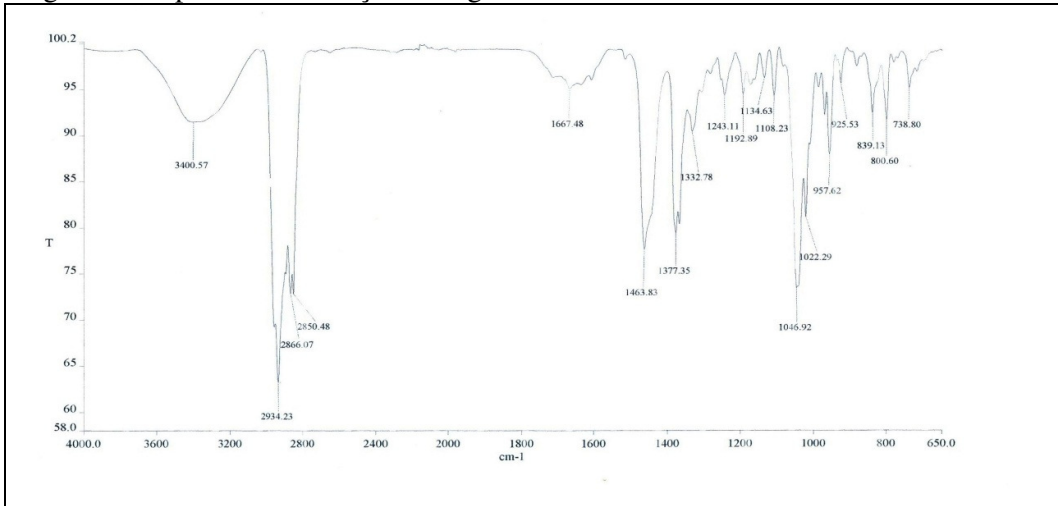


Figura 10 - Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de MMA-2

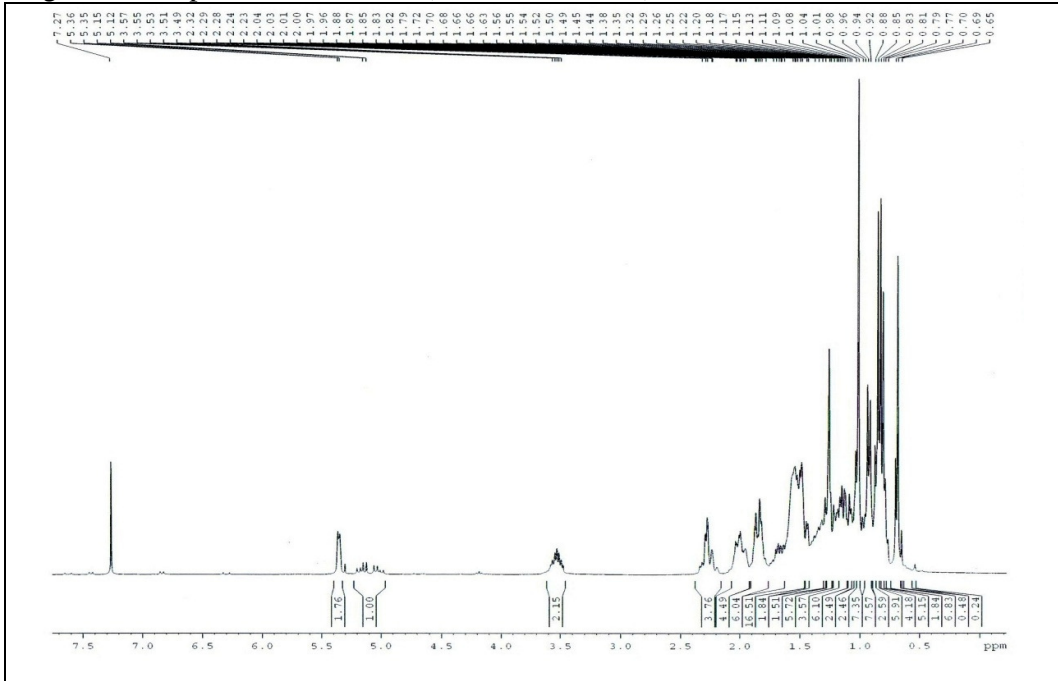


Figura 11 - Espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CDCl_3) de MMA-2

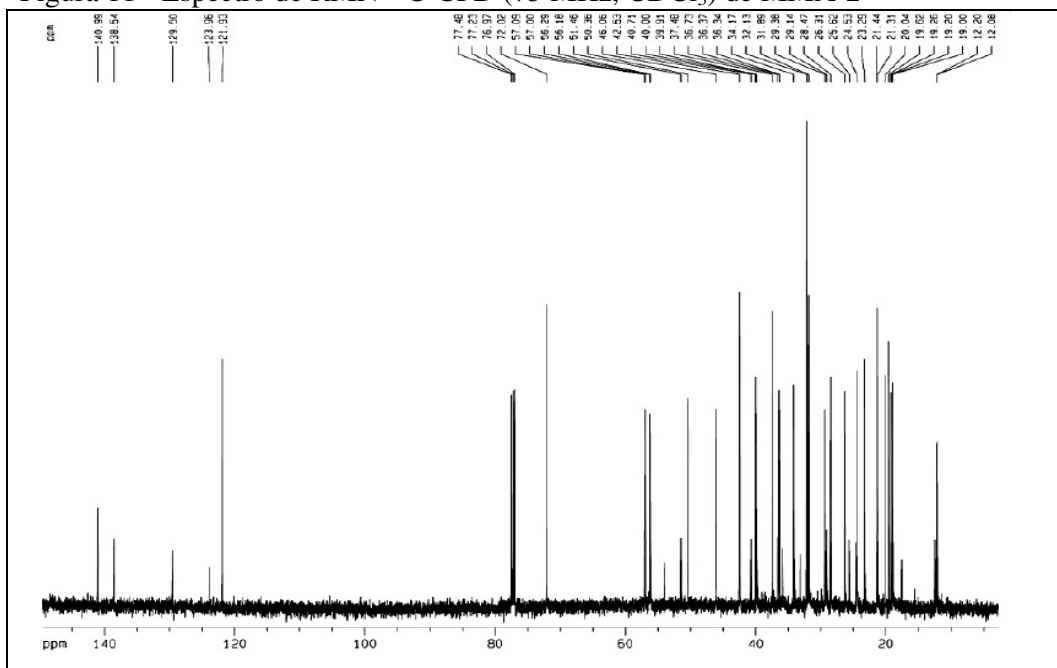
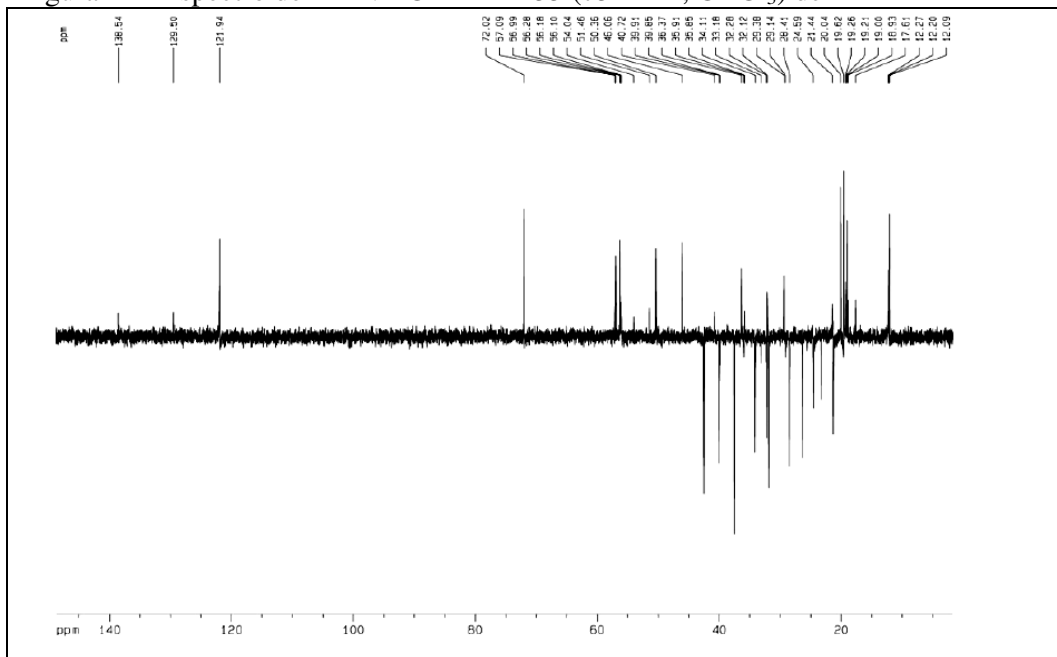


Figura 12 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (75 MHz, CDCl_3) de MMA-2



3.3 Determinação estrutural de MMA-3

A partir de sucessivas cromatografias de adsorção da fração MMAFEAD, foi possível isolar 42,5 mg de um sólido amarelo solúvel em metanol denominado MMA-3.

O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 18, p. 47) exibiu uma banda larga em 3283 cm^{-1} característica de deformação axial de ligação OH, uma banda em 1660 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C=O e as bandas em 1614, 1510 e 1457 cm^{-1} compatíveis com deformação axial de C=C de anel aromático.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD de MMA-3 (125 MHz, CD_3OD) (FIGURA 19, p. 47) exibiu quinze linhas espectrais, sendo todas referentes a carbonos sp^2 . A absorção em δ 177,5 foi atribuída à carbonila de cetona conjugada, enquanto os deslocamentos em δ 165,7; 162,6; 158,4; 148,9; 148,2; 146,4; 137,4 foram associados a carbonos oxigenados (TABELA 7).

Através da comparação do espectro de RMN ^{13}C -CPD com o de RMN ^{13}C -DEPT 135 (FIGURA 20, p. 48) foi verificado que dos 15 carbonos da estrutura, 10 são não-hidrogenados e 5 são carbonos metínicos (TABELA 7).

Tabela 7 - Deslocamento químico de MMA-3 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , MeOD, 125 MHz)]

C	CH
177,5 (C=O)	121,8
165,7 (C-O)	116,4
162,6 (C-O)	116,2
158,4 (C-O)	99,4
148,9 (C-O)	94,6
148,2 (C-O)	
146,4 (C-O)	
137,4 (C-O)	
124,3	
104,7	
10C	5CH

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) (FIGURAS 21, p. 48, e 22, p. 49) mostrou um conjunto de sinais em δ 7,72 (1H, d, $J= 2,0$ Hz); δ 7,62 (1H, dd, $J= 8,5$ e 1,9 Hz) e δ 6,88 (1H, d, $J= 8,5$ Hz); δ 6,37 (1H, d, $J= 1,8$ Hz) e δ 6,17 (1H, d, $J= 1,9$ Hz). Verificou-se que todos os 5 sinais presentes no espectro de RMN de ^1H de MMA-3 estão na região de hidrogênios aromáticos.

Analisando-se conjuntamente os espectros de RMN ^1H e COSY (500 MHz, CD_3OD) (FIGURA 23, p. 49), pôde-se constatar um acoplamento entre os hidrogênios de deslocamento δ 7,72 (1H, d, $J= 2,0$ Hz) e δ 7,62 (1H, dd, $J= 8,5$ e 1,9 Hz), bem como, deste último com o hidrogênio em δ 6,88 (1H, d, $J= 8,5$ Hz), sugerindo, assim, um sistema de spins ABX (FIGURA 14a, p. 44). Foi possível verificar também o acoplamento entre dois dupletos em δ 6,37 (1H, d, $J= 1,8$ Hz) e δ 6,17 (1H, d, $J= 1,9$ Hz), compatíveis com hidrogênios aromáticos meta-posicionados (FIGURA 14b, p. 44).

Inferiu-se, desta forma, através dos dados fornecidos pelos espectros de absorção na região do infravermelho (a presença dos grupos funcionais hidroxila e carbonila, bem como, a presença de anel aromático) e pelos espectros de RMN de ^1H e COSY (evidenciando a presença de hidrogênios ligados a anel aromático), ^{13}C -CPD e RMN ^{13}C -DEPT 135 (a presença de 15 átomos de carbono na molécula, sendo 10 C e 5 CH), que o esqueleto base da substância MMA-3 pode se tratar de um flavonóide (FIGURA 13).

Figura 13 - Estrutura básica de um flavonóide

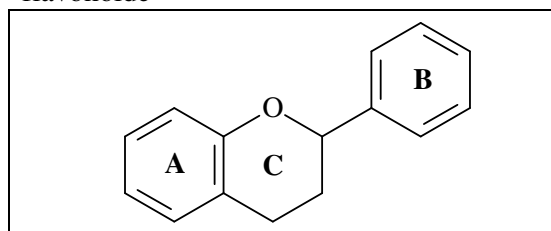
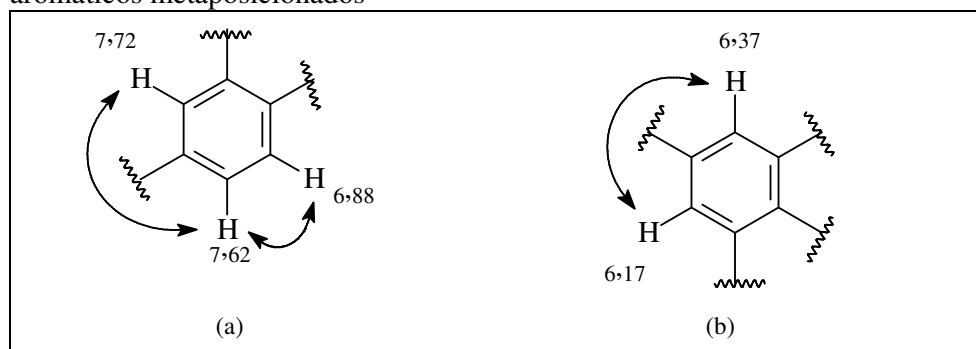
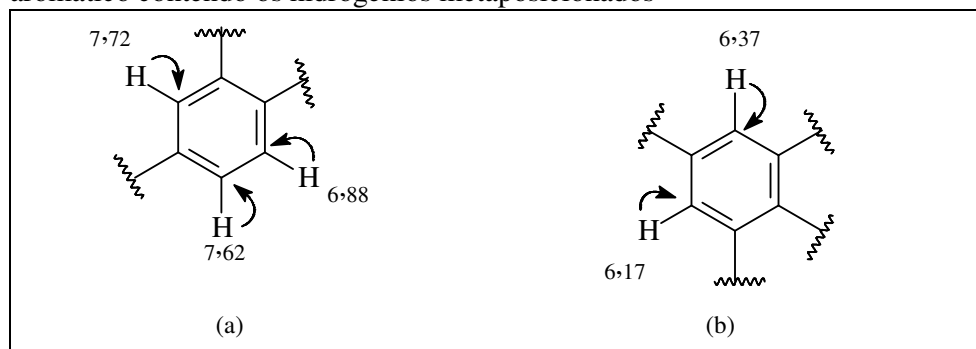


Figura 14 – Hidrogênios aromáticos: (a) sistema ABX; (b) hidrogênios aromáticos metapositionados



O espectro bidimensional HSQC (500 x 125 MHz, CD₃OD) (FIGURA 24, p. 50) possibilitou correlacionar os sinais dos hidrogênios aromáticos em δ_H 7,72; 7,62 e 6,88 com os seus respectivos carbonos em δ_C 116,2; 121,8 e 116,2 (FIGURA 15a); bem como, os dos hidrogênios em δ_H 6,37 e 6,17 com os carbonos δ_C 94,6 e 99,4; respectivamente (FIGURA 15b).

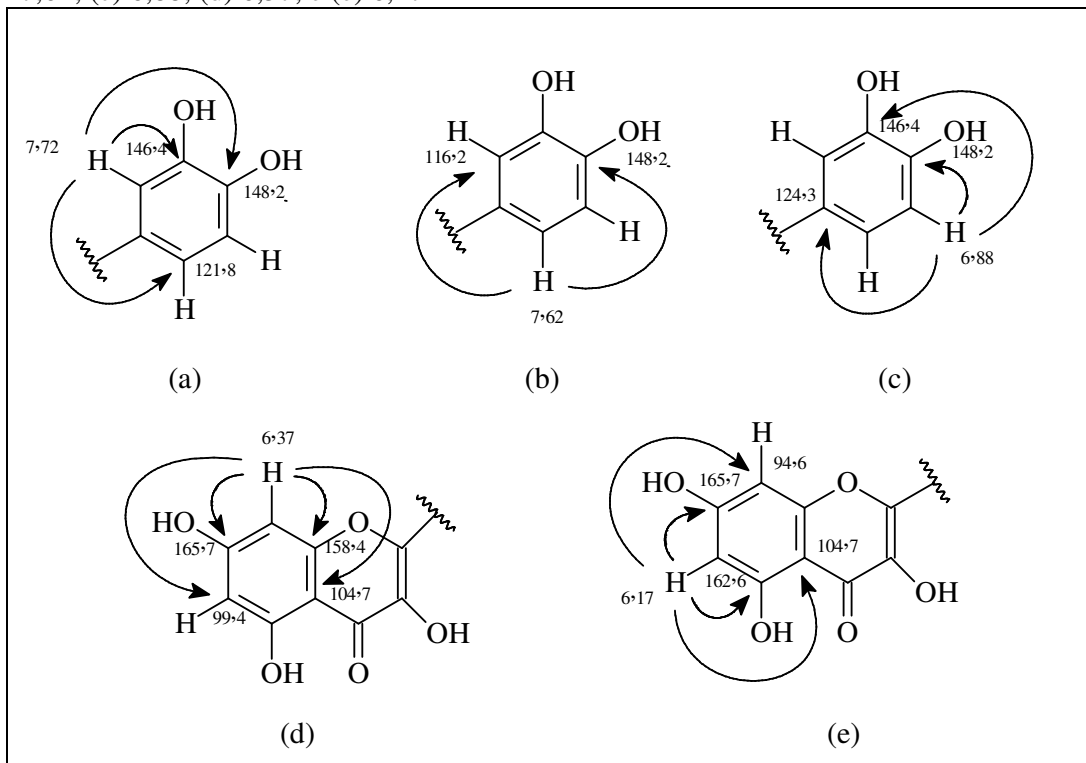
Figura 15 - Subestruturas mostrando as correlações do HSQC entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos: (a) no sistema ABX; (b) no anel aromático contendo os hidrogênios metapositionados



Com base no espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) (FIGURAS 25, p. 50, e 26, p. 51) foi possível determinar o acoplamento de hidrogênios aromáticos com carbonos. O hidrogênio em δ_H 7,72 (H-2') com os carbonos em δ_C 148,2 (C-4'); 146,4 (C-3') e 121,8 (C-6'). Do hidrogênio em δ_H 7,62 (H-6') com os carbonos em δ_C 148,2 (C-4') e 116,2 (C-2'). Do hidrogênio em δ_H 6,88 (H-5') com os carbonos δ_C 148,2 (C-4'); 146,4 (C-3') e 124,3 (C-1'). Do hidrogênio em δ_H 6,37 (H-8) com os carbonos em δ_C 165,7 (C-7); 158,4 (C-9); 104,7 (C-10) e 99,4 (C-6). E, por último, do hidrogênio δ_H

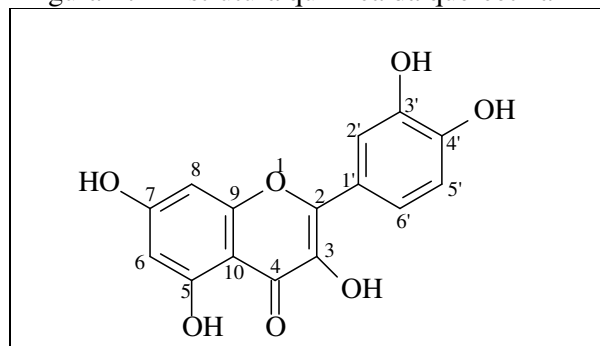
6,17 (H-6) com os carbonos em δ_c 165,7 (C-7); 162,6 (C-5); 104,7 (C-10) e 94,6 (C-8) (FIGURA 16, p. 45) (TABELA 8, p. 46).

Figura 16 – Subestruturas mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico, evidenciando as correlações dos hidrogênios de deslocamento químico: (a) 7,72; (b) 7,62; (c) 6,88; (d) 6,37; e (e) 6,17



De acordo com os dados espectroscópicos apresentados do composto em questão e com base na análise comparativa dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C descritos na literatura (AGRAWAL, 1989; QUEIROZ, 2011) (TABELA 8, p. 44), foi possível caracterizar o composto MMA-3 como o flavonol quercetina (FIGURA 17, p. 46). É um importante flavonol que pode ser encontrado em muitos alimentos comuns, incluindo maçãs, nozes, repolho e muitos outros (LAKHANPAL; RAI, 2007); com importantes atividades comprovadas, como: antioxidante, antiinflamatória, antiviral, antitumoral e antiúlcera (SIMÕES *et al.*, 2004). Já foi anteriormente isolada na espécie *Marctetia mucugensis* (QUEIROZ, 2011).

Figura 17 – Estrutura química da quercetina

Tabela 8 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CD_3OD) de MMA-3, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para a quercetina.

#C	MMA-3				quercetina (literatura)	
	HSQC		HMBC		a	b
	δ_c	δ_H	2J	3J	δ_c	δ_H
2	148,9	-	-	-	147,5	-
3	137,4	-	-	-	136,5	-
4	177,5	-	-	-	176,5	-
5	162,6	-	H-6	-	161,0	-
6	99,4	6,17 (1H; d; $J = 1,9$ Hz)	-	H-8	99,5	6,18 (1H; d; $J = 1,7$ Hz)
7	165,7	-	H-8, H-6	-	166,0	-
8	94,6	6,37 (1H; d; $J = 1,8$ Hz)	-	H-6	94,5	6,39 (1H; d; $J = 1,7$ Hz)
9	158,4	-	H-8	-	156,7	-
10	104,7	-	-	H-8, H-6	104,0	-
1'	124,3	-	-	H-5'	123,0	-
2'	116,2	7,72 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	-	H-6'	116,0	7,73 (1H; d; $J = 1,8$ Hz)
3'	146,4	-	H-2'	H-5'	145,7	-
4'	148,2	-	H-5'	H-2', H-6'	148,1	-
5'	116,4	6,88 (1H; d; $J = 8,5$ Hz)	-	-	116,5	6,88 (1H; d; $J = 8,5$ Hz)
6'	121,8	7,62 (1H; dd; $J = 8,5$ Hz; 1,9 Hz)	-	H-2'	121,0	7,63 (1H; dd; $J = 8,5$ Hz; 1,8 Hz)

^a - AGRAWAL, 1989 (CD_3OD)^b - QUEIROZ, 2011 (500 x 125 MHz, CD_3OD)

Figura 18 - Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-3

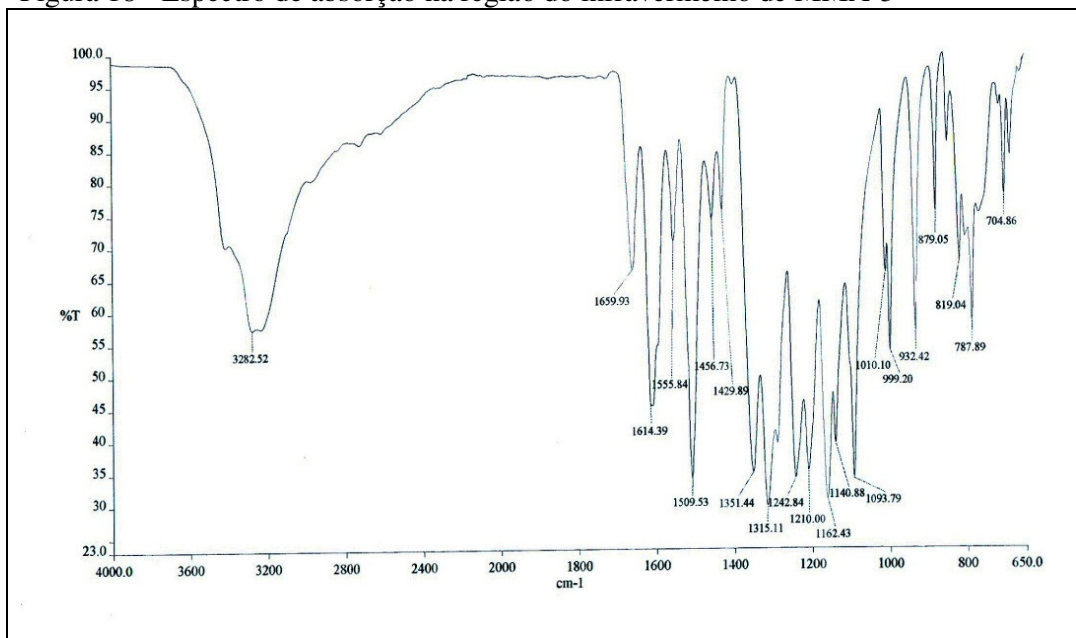
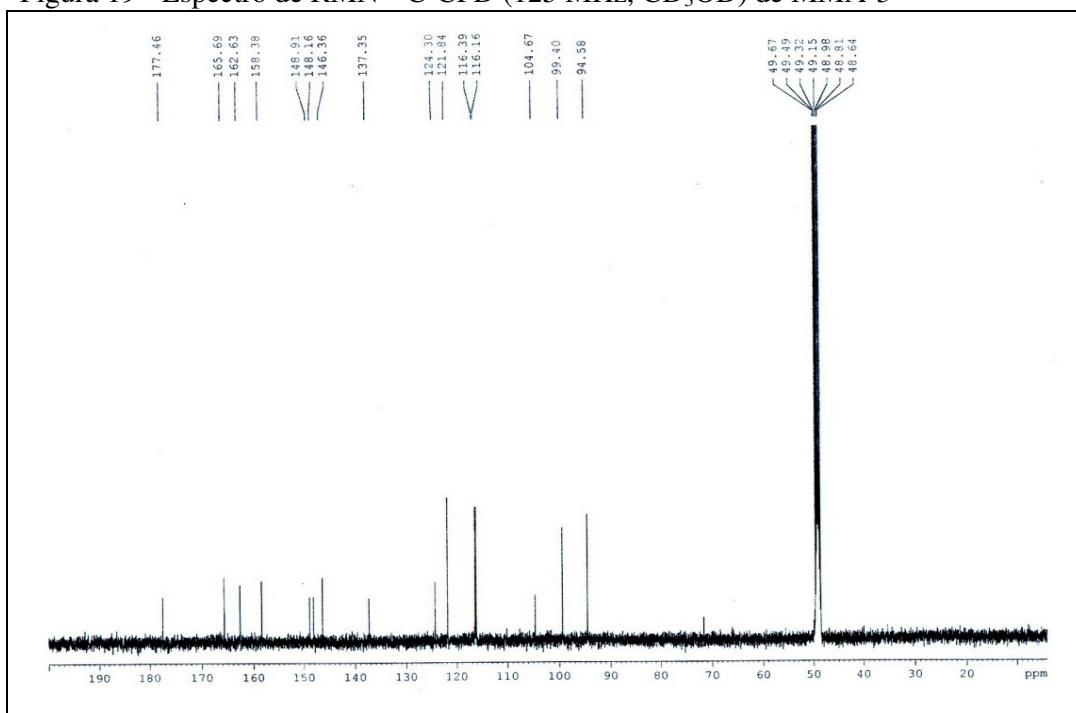
Figura 19 - Espectro de RMN ¹³C-CPD (125 MHz, CD₃OD) de MMA-3

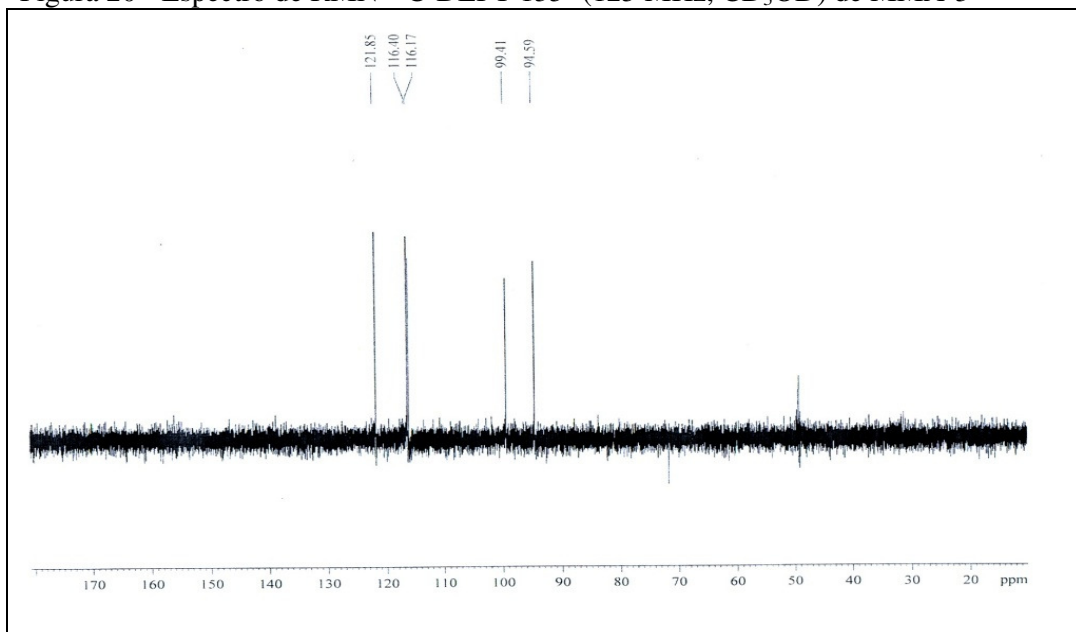
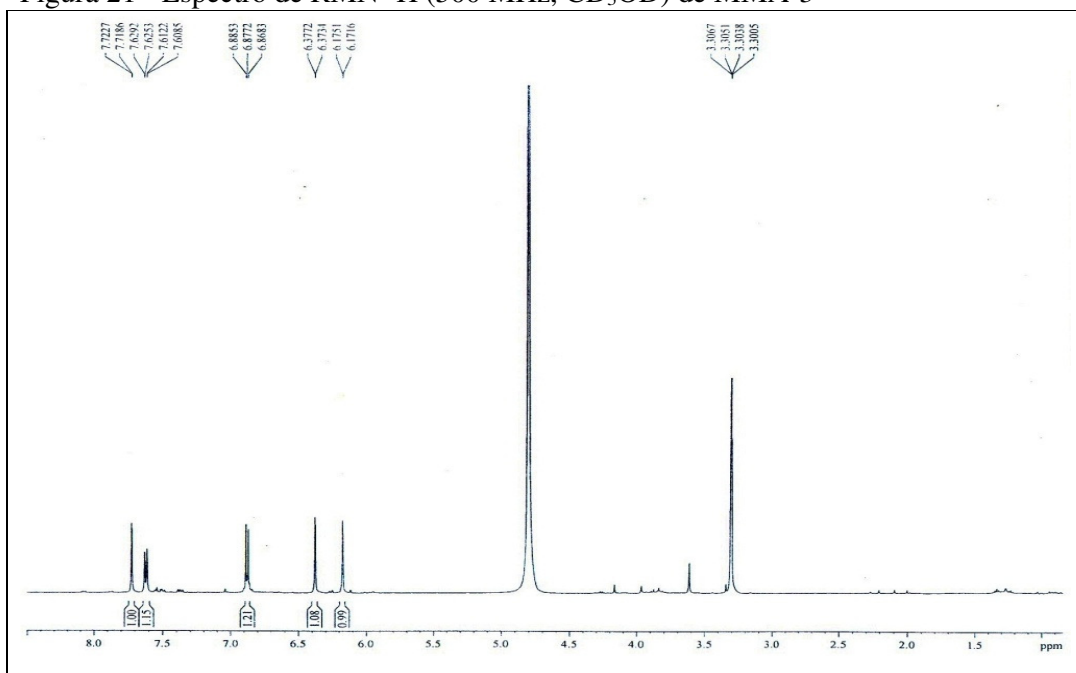
Figura 20 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de MMA-3Figura 21 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de MMA-3

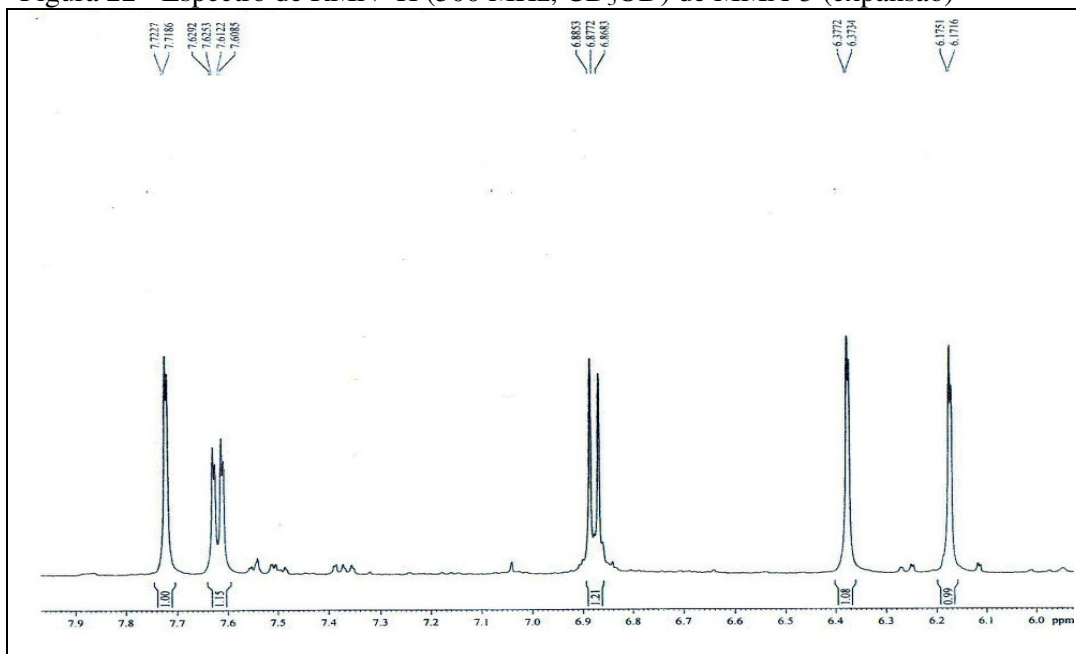
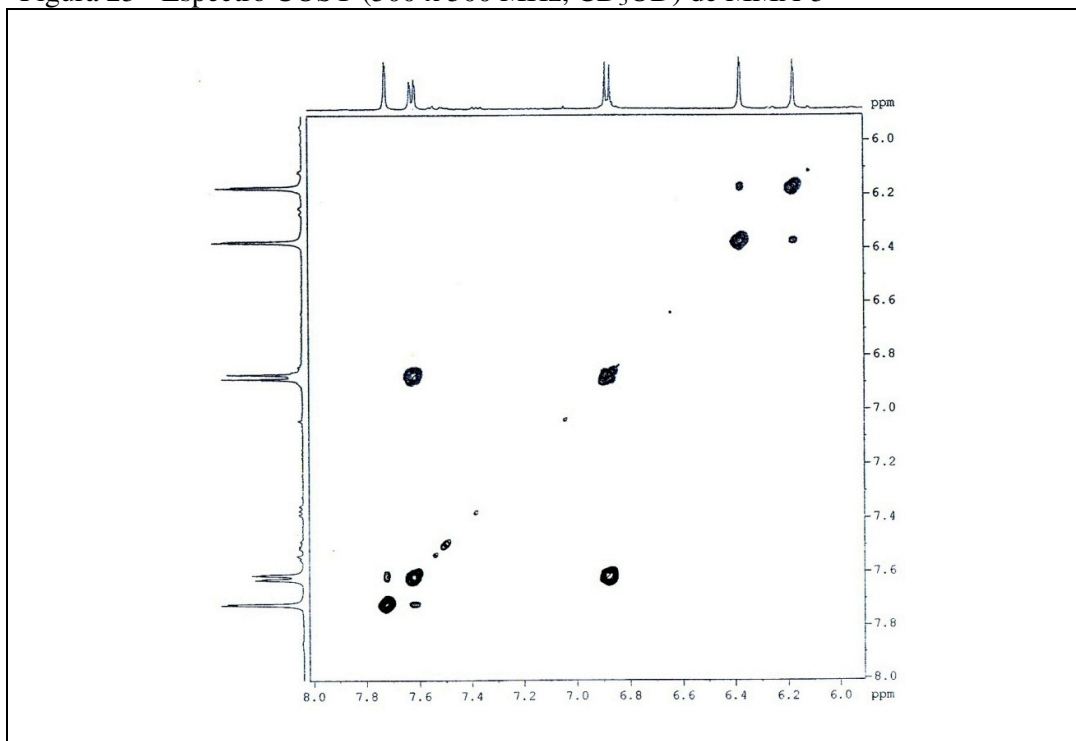
Figura 22 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de MMA-3 (expansão)Figura 23 - Espectro COSY (500 x 500 MHz, CD_3OD) de MMA-3

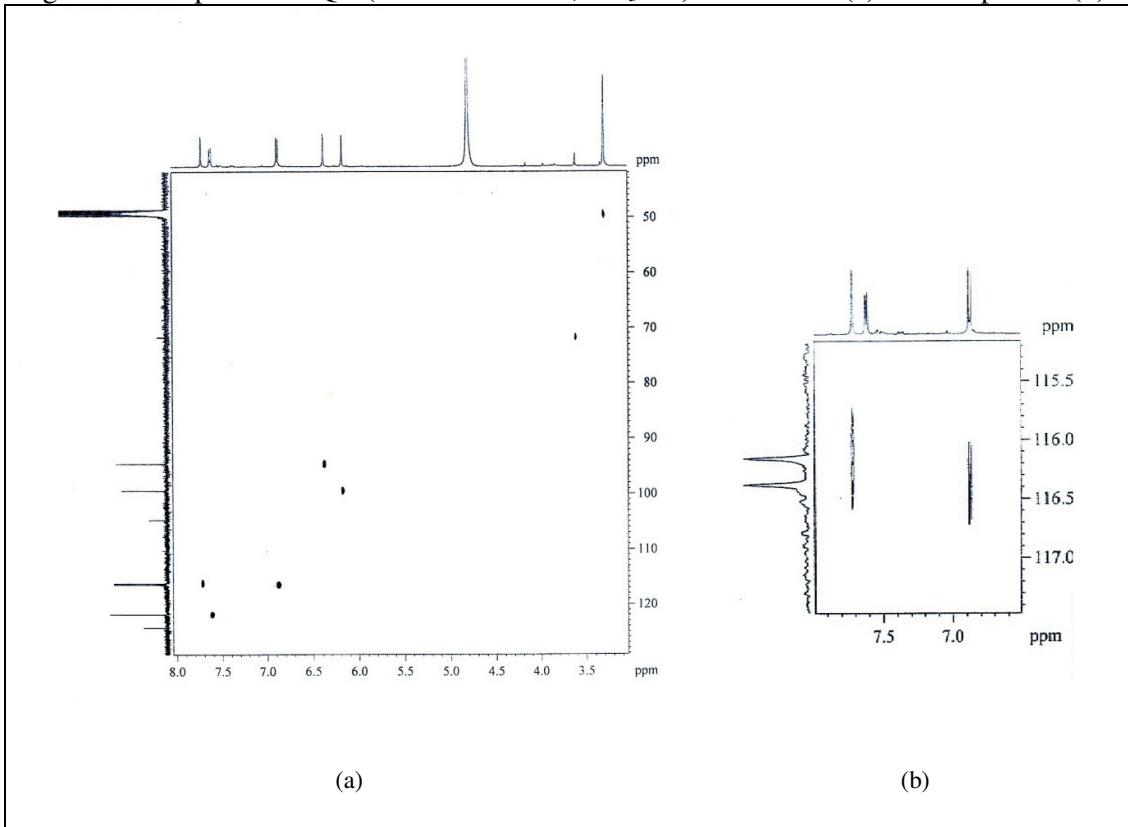
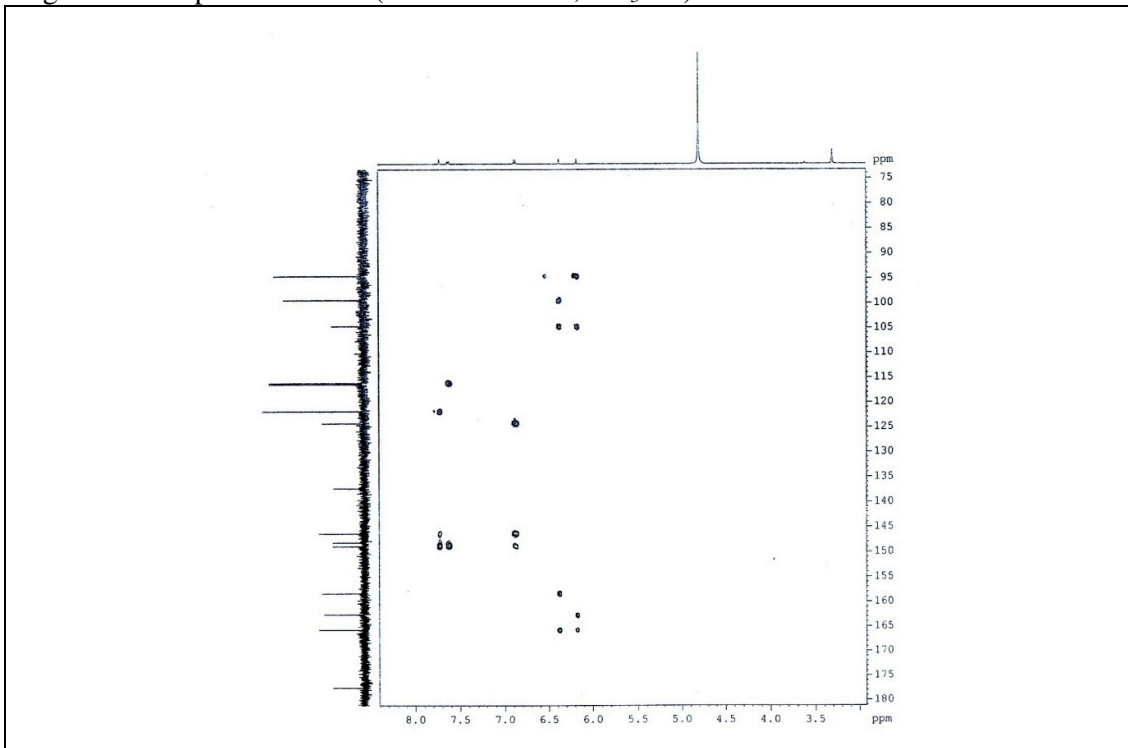
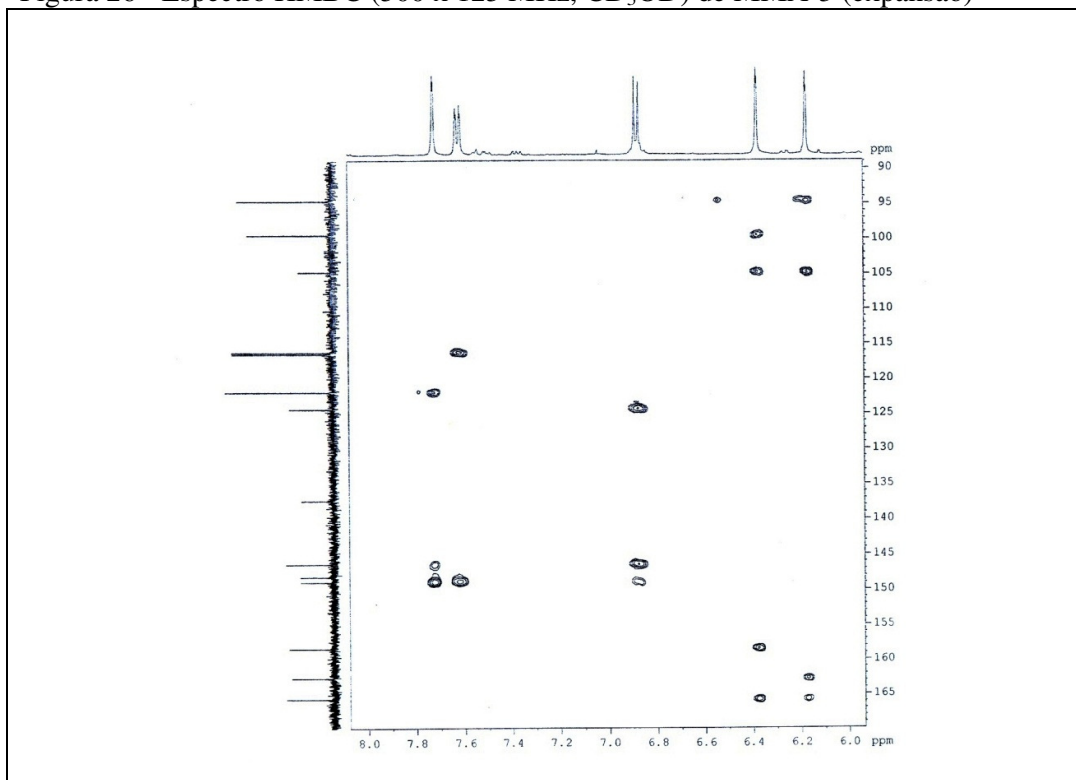
Figura 24 – Espectro HSQC (500 X 125 MHz, CD₃OD) de MMA-3 (a) e sua expansão (b)Figura 25 – Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-3

Figura 26 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-3 (expansão)

3.5 Determinação estrutural de MMA-4

Através de cromatografias de adsorção com sílica gel da fração MMAFEAD, produzida por particionamento do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marctetia macrophylla*, foi possível o isolamento de 9,3 mg de um sólido amarelo denominado MMA-4.

O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 35, p. 60) exibiu uma banda larga em 3368 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação OH; uma banda em 1650 cm^{-1} , referente à deformação axial de ligação C=O, revelou ainda, bandas em 1613 , 1553 e 1430 cm^{-1} , compatíveis com deformação axial de C=C de anel aromático.

Na análise do espectro de massas de MMA-4 (FIGURA 36, p. 60), verificou-se um valor de m/z 298 para o pico do íon molecular.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) (FIGURA 37, p. 60) mostrou um conjunto de sinais em δ 7,37 (2H, d, $J= 8,6\text{ Hz}$) e δ 6,85 (2H, d, $J= 8,6\text{ Hz}$), com padrão de hidrogênios aromáticos para-dissubstituídos (PAVIA *et al.*, 2010), bem como um simpleto bastante desprotegido em δ 8,12 (1H, s).

Verificou-se, também, pelo espectro de RMN ^1H (FIGURA 37, p. 60), a presença de dois simpletos δ 2,23 (3H, s) e δ 2,12 (3H, s), que, baseado nos valores das integrais para cada e nos valores de deslocamentos químicos, possivelmente se tratam de dois hidrogênios metílicos diferentes sofrendo algum efeito desprotetor. Estes valores de deslocamento químico são compatíveis com hidrogênios metílicos ligados a anel aromático (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

O espectro de RMN ^{13}C -CPD de MMA-4 (125 MHz, CD_3OD) (FIGURA 38, p. 61) exibiu quatorze linhas espectrais, sendo treze pertencentes a carbonos sp^2 e uma pertencente a carbono sp^3 . A absorção em δ 182,8 foi atribuída à carbonila de cetona conjugada, enquanto que os deslocamentos em δ 161,7; 158,9; 158,4; 155,1; 154,9 foram associados a carbonos oxigenados (TABELA 9, p. 53). Uma absorção em δ 8,1 foi atribuída a carbono metílico, entretanto verificou-se pelo espectro de RMN ^1H a existência de duas metilas, o que leva a supor que o valor de δ 8,1 seja referente a dois carbonos com o mesmo valor de deslocamento químico. Desta forma, chega-se a um total de 17 átomos de carbono para a molécula de MMA-4.

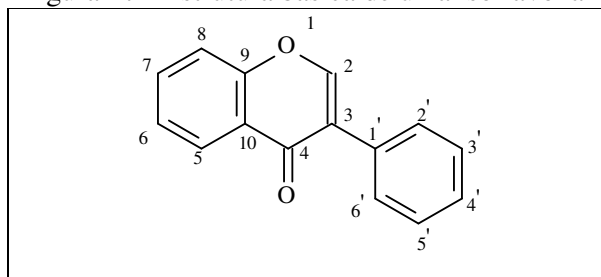
Através da comparação do espectro de RMN ^{13}C -CPD com o de RMN ^{13}C -DEPT 135 (FIGURAS 38 e 39, p. 61) foi verificado que, dos 17 carbonos da estrutura, 10 são não-hidrogenados, 5 são carbonos metínicos e 2 metílicos (TABELA 9).

Tabela 9 - Valores de deslocamento químico de ^{13}C de MMA-4 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , MeOD, 125 MHz)]

C	CH	CH₃
182,8 (C=O)	154,9 (C-O)	8,1
161,7 (C-O)	131,6	8,1
158,9 (C-O)	131,6	
158,4 (C-O)	116,4	
155,1 (C-O)	116,4	
124,4		
123,8		
108,7		
106,3		
103,2		
10C	5CH	2 CH ₃

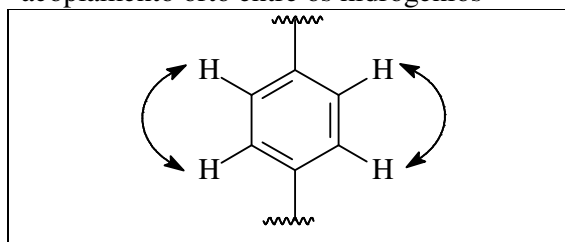
Pelos dados fornecidos pelos espectros de absorção na região do infravermelho (a presença dos grupos funcionais hidroxila e carbonila, bem como a presença de anel aromático) e pelos espectros de RMN de ^1H (evidenciando a presença de hidrogênios ligados a anel aromático), ^{13}C -CPD e RMN ^{13}C -DEPT 135 (a presença de 17 átomos de carbono na molécula, sendo 10 C e 5 CH), pôde-se pensar num esqueleto tipo flavonóide. Entretanto, o fato de o espectro de RMN de ^1H apresentar um simpleto de deslocamento químico muito desprotegido (δ 8,12) pode indicar que a estrutura se trate na verdade de uma isoflavona (FIGURA 27, p. 54), pois essa classe de produtos naturais apresenta como característica essencial, além dos hidrogênios aromáticos, um simpleto muito desprotegido em torno de δ 8,3 bem peculiar (CALDERÓN *et al.*, 2002).

Figura 27 - Estrutura básica de uma isoflavona



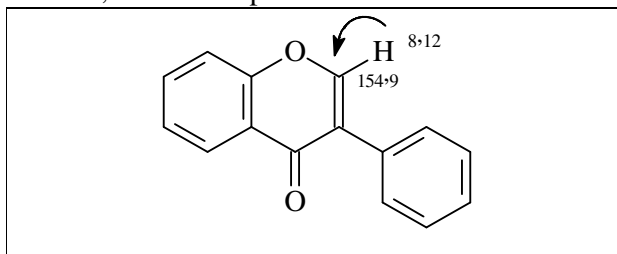
Analisando-se conjuntamente os espectros de RMN ^1H e COSY (500 X 500 MHz, CD_3OD) (FIGURAS 37, p. 60, e 40, p. 62), pôde-se constatar um acoplamento orto entre os hidrogênios de deslocamento em δ 7,37 (2H, d, $J= 8,6$ Hz) e δ 6,85 (2H, d, $J= 8,6$ Hz), compatível com um sistema aromático para-dissubstituído (FIGURA 28).

Figura 28 – Subestrutura de sistema aromático para-dissubstituído evidenciando acoplamento orto entre os hidrogênios



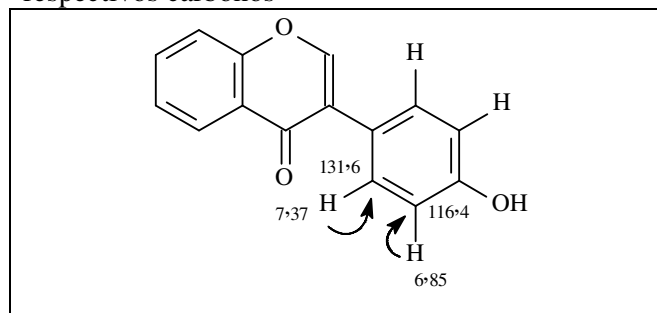
O espectro bidimensional HSQC (500 x 125 MHz, CD_3OD) (FIGURAS 41, p. 62, e 42, p. 63) possibilitou correlacionar o simpleto do hidrogênio em δ 8,12 (H-2) ao seu respectivo carbono em δ 154,9 (C-2) (FIGURA 29, p. 55), carbono anteriormente identificado como oxigenado, reforçando a idéia da estrutura de MMA-4 se tratar de uma isoflavona.

Figura 29 – Subestrutura de isoflavona mostrando a correlação HSQC entre hidrogênio em δ 8,12 e seu respectivo carbono.



Foi possível também, através do espectro de HSQC (FIGURAS 41, p. 62, e 42, p. 63), relacionar os sinais dos hidrogênios do anel aromático para-dissubstituído em δ_H δ 7,37 (H-2' e H-6') e 6,85 (H-3' e H-5') com os seus respectivos carbonos em δ_C 131,6 (C-2' e C-6') e 116,4 (C-3' e C-5'). Partindo da hipótese de MMA-4 ser uma isoflavona, os dois substituintes do anel para-dissubstituído seriam: o carbono 3 da isoflavona, ligado ao 1' do anel para-dissubstituído, e algum grupo protetor orto-para ligado na extremidade 4' do anel para-dissubstituído, certamente uma hidroxila, para justificar os deslocamentos relativamente distantes dos hidrogênios aromáticos (FIGURA 30).

Figura 30 – Subestrutura de isoflavona mostrando as correlações HSQC entre os hidrogênios aromáticos do anel para-dissubstituído e seus respectivos carbonos



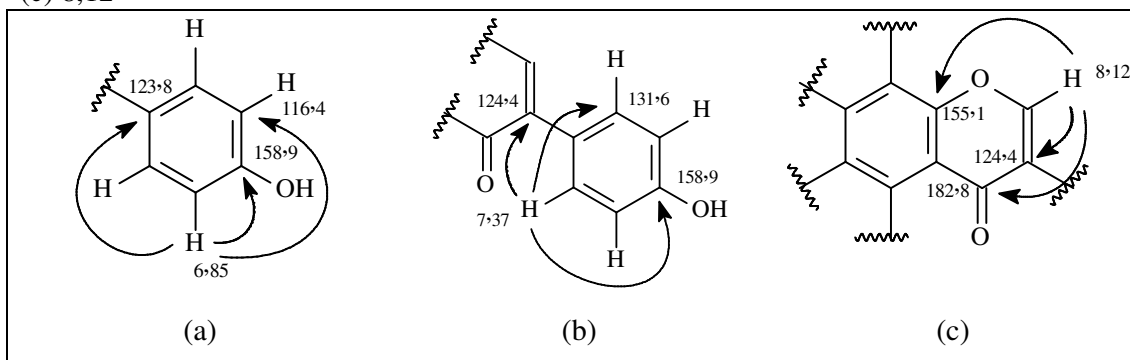
O espectro de HSQC (FIGURAS 41 e 42) também mostrou as correlações entre os hidrogênios metílicos δ 2,23 (3H, s) e δ 2,12 (3H, s) com o sinal em δ 8,1, indicando dois carbonos com o mesmo deslocamento químico. Partindo-se da hipótese que estas duas metilas estão ligadas a anel aromático, como foi sugerido anteriormente, e que elas não pertencem ao anel aromático para-dissubstituído; elas deverão pertencer, desta

forma, ao outro anel aromático presente na isoflavona, restando saber a localização delas e dos outros possíveis substituintes que poderão estar presentes na estrutura.

Com base no espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) (FIGURAS 43, 44, p. 63, e 45, p. 64) foi possível observar o acoplamento de hidrogênios aromáticos com carbonos. O hidrogênio em δ_H 6,85 (H-3' e H-5') com os carbonos em δ_C 158,9 (C-4'), 123,8 (C-1') e 116,4 (C-3' e C-5') (FIGURA 31a). Do hidrogênio em δ_H 7,37 (H-2' e H-6') com os carbonos em δ_C 158,9 (C-4'), 131,6 (C-2' e C-6') e 124,4 (C-3); este acoplamento com o carbono em 124,4 (C-3) é mais provável para os hidrogênios mais próximos (H-2' e H-6'), pois os hidrogênios H-3' e H-5' estão a 4 ligações do carbono C-3 (FIGURA 31b).

O hidrogênio de deslocamento δ_H 8,12 acopla com o carbono carbonílico em δ_C 182,8 (C-3); com o carbono oxigenado de deslocamento δ_C 155,1 (C-9) e com um carbono não-hidrogenado em 124,4 (C-3). Sendo confirmada, assim, sua posição como hidrogênio H-2, ligado ao carbono C-2 da isoflavona (FIGURA 31c) (TABELA 10, p. 59).

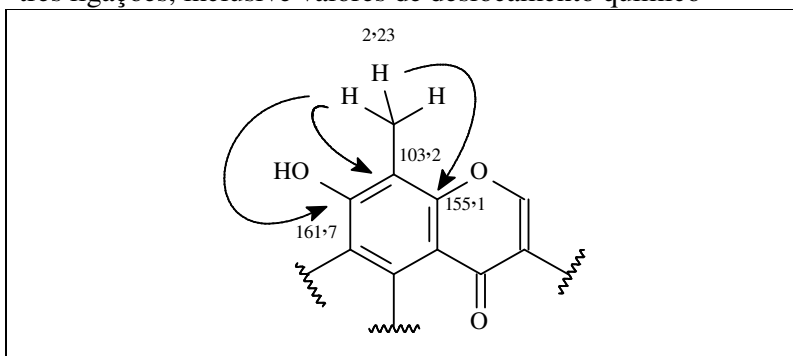
Figura 31 – Subestruturas da isoflavona mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico, evidenciando as correlações dos hidrogênios de deslocamento químico: (a) 6,85; (b) 7,37; (c) 8,12



Os hidrogênios metílicos de deslocamento químico δ_H 2,23 acoplam com o carbono δ_C 155,1 (C-9). Esta informação é importantíssima, conferindo a esta metila uma localização no carbono 8, pois é o único local (a distância de duas ou três ligações) onde um substituinte metílico do anel aromático poderia acoplar com o carbono C-9. Os hidrogênios desta metila acoplam também com o carbono não-hidrogenado de deslocamento químico δ_C 103,2 (C-8), indicando que está diretamente ligado a metila.

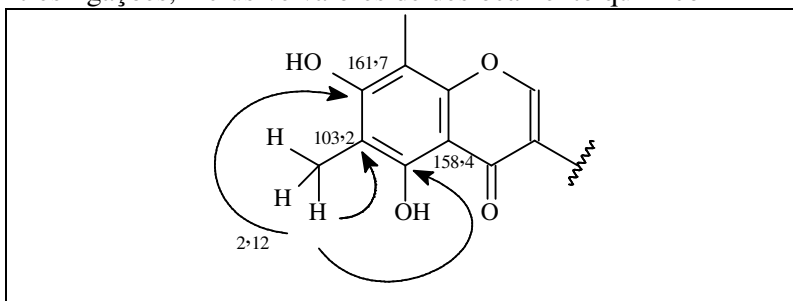
Existe ainda um outro acoplamento destes hidrogênios metílicos com um carbono oxigenado δ_c 161,7 (C-7), que pelas informações de deslocamento químico se trata de um carbono hidroxilado (FIGURA 32).

Figura 32 – Subestrutura mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios metílicos em δ_H 2,23 e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico



Os hidrogênios metílicos de deslocamento químico δ_H 2,12 acoplam com o carbono δ_c 161,7 (C-7), um carbono hidroxilado. Os hidrogênios desta metila acoplam também com o carbono não-hidrogenado de deslocamento químico δ_c 108,7 (C-6). Existe ainda um outro acoplamento destes hidrogênios metílicos com um carbono oxigenado δ_c 158,4 (C-5), que pelas informações de deslocamento químico se trata de um carbono hidroxilado (FIGURA 33).

Figura 33 – Subestrutura mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios metílicos em δ_H 2,12 e carbonos a duas e três ligações, inclusive valores de deslocamento químico



De acordo com os dados espectroscópicos do composto em questão apresentados e também através de comparação com os dados de RMN de ^{13}C e ^1H descritos na literatura (CALDERÓN *et al.*, 2002) (TABELA 10, p. 59), foi possível caracterizar o composto MMA-4 como a isoflavona 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona (FIGURA 34).

Esta substância tem caráter inédito no gênero *Marcetia*, entretanto já foi encontrada em Melastomataceae, na espécie *Henriettella fascicularis* (CALDERÓN *et al.*, 2002). Segundo a literatura, esta isoflavona possui atividade antiestrogênica (CALDERÓN *et al.*, 2002).

Figura 34 – Estrutura química da 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona

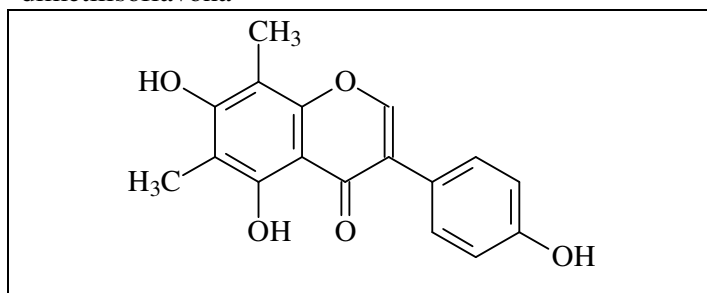


Tabela 10 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (500 x 125 MHz, CD_3OD) de MMA-4, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para a 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona.

MMA-4					4',5,7-trihidroxi-6,8-isoflavona (literatura ^a)	
#C	HSQC		HMBC		δ_c	δ_H
	δ_c	δ_H	2J	3J		
2	154,9	8,12 (1H; s)	-	-	153,8	8,35 (1H; s)
3	124,4	-	-	-	121,4	-
4	182,8	-	-	-	180,5	-
5	158,4	-	H-6	-	152,8	-
6	108,7	-	-	H-8	107,0	-
7	161,7	-	H-8, H-6	-	159,9	-
8	103,2	-	-	H-6	101,5	-
9	155,1	-	H-8	-	156,5	-
10	106,3	-	-	H-8, H-6	104,3	-
1'	123,8	-	-	H-5'	121,8	-
2',6'	131,6	7,37 (2H; d; $J = 8,6$ Hz)	-	H-6'	130,1	7,36 (2H; d; $J = 8,6$ Hz)
3',5'	116,4	6,85 (2H; d; $J = 8,6$ Hz)	H-2'	H-5'	115,0	6,85 (2H; d; $J = 8,6$ Hz)
4'	158,9	-	H-5'	H-2', H-6'	156,5	-
CH ₃ -6	8,1	2,12 (3H; s)			7,9	2,10 (3H; s)
CH ₃ -8	8,1	2,23 (3H; s)			8,0	2,20 (3H; s)

^a - CALDERÓN *et al.*, 2002 (500 x 125 MHz, DMSO-d_6)

Figura 35 - Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-4

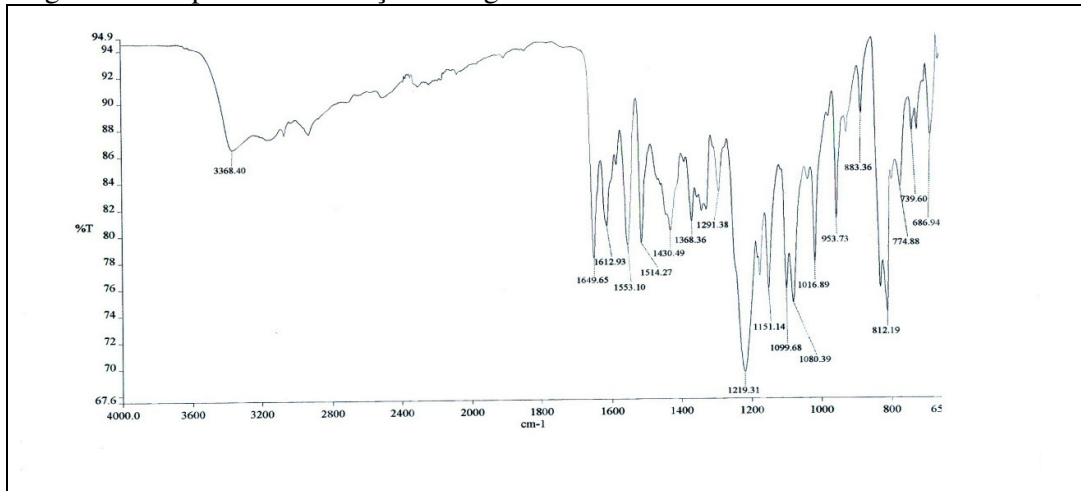


Figura 36 - Espectro de Massas de MMA-4 (IE, 70 eV)

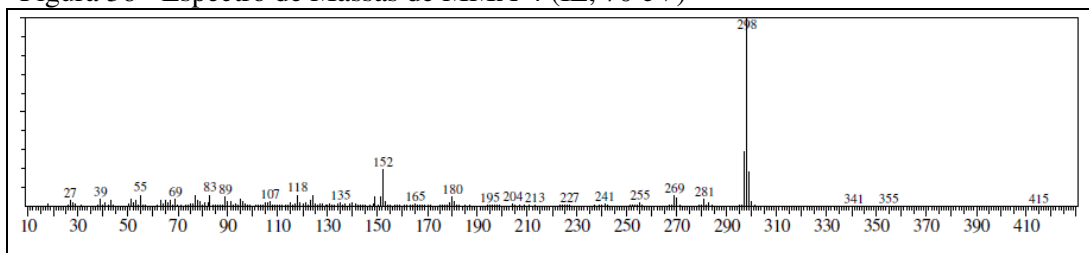


Figura 37 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de MMA-4

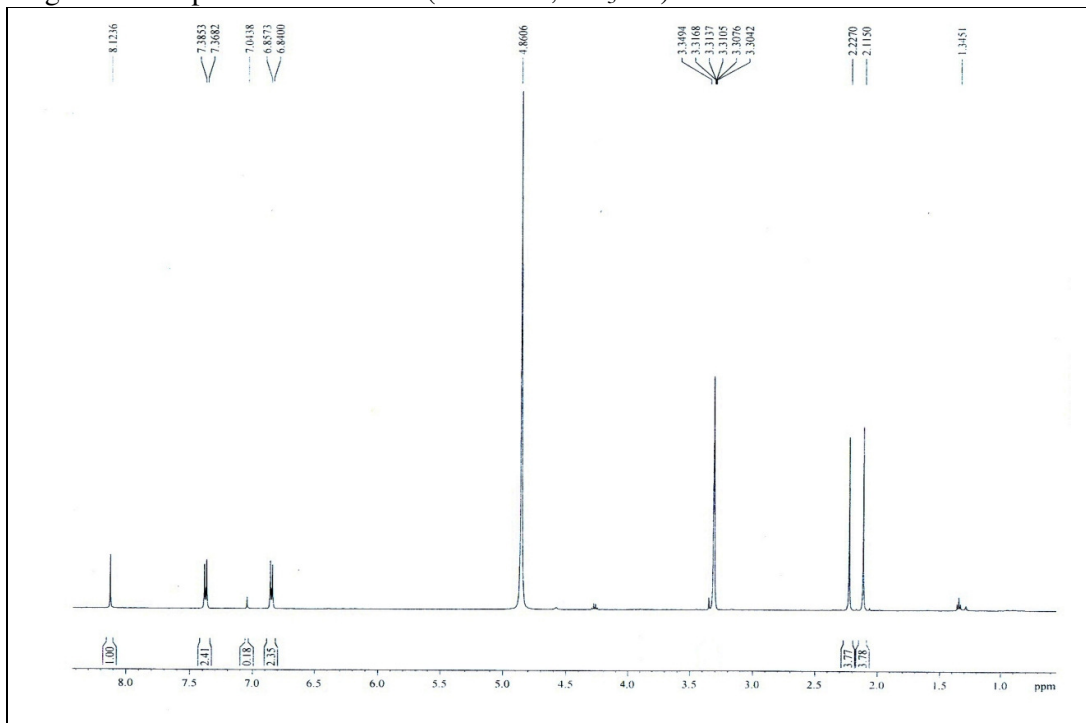


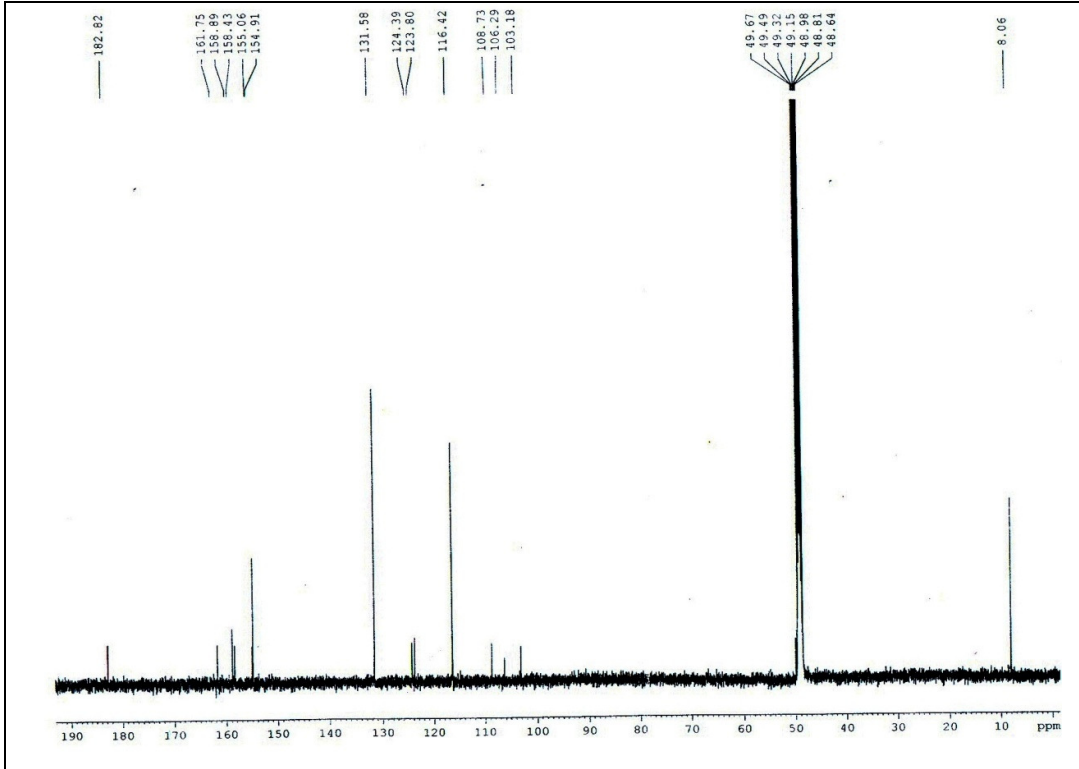
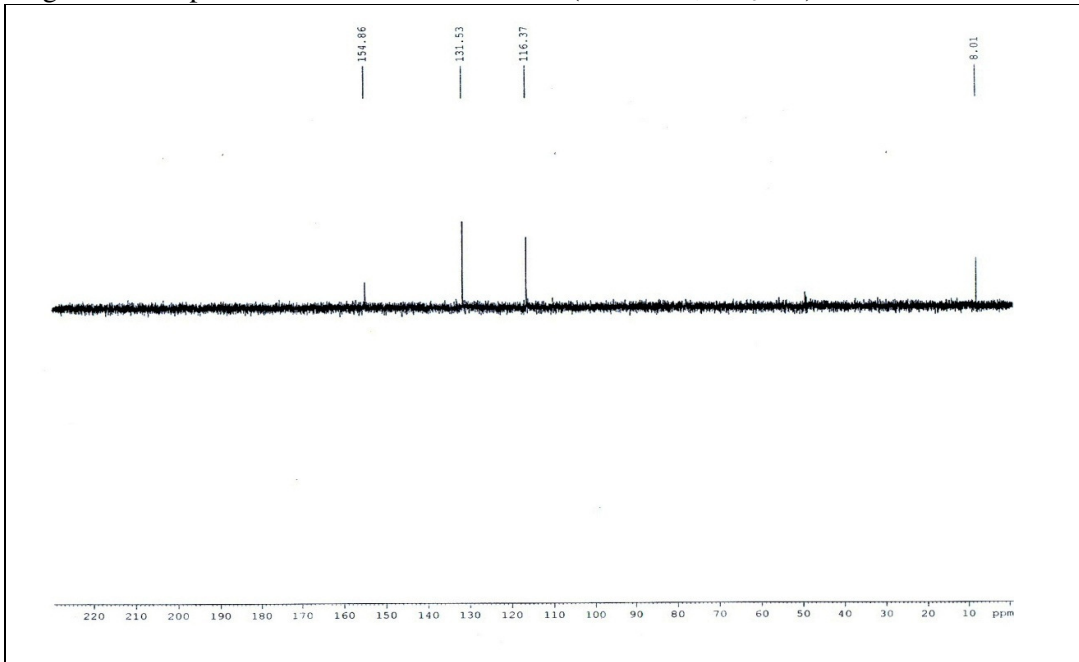
Figura 38 - Espectro de RMN ^{13}C -CPD (125 MHz, CD_3OD) de MMA-4Figura 39 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (125 MHz, CD_3OD) de MMA-4

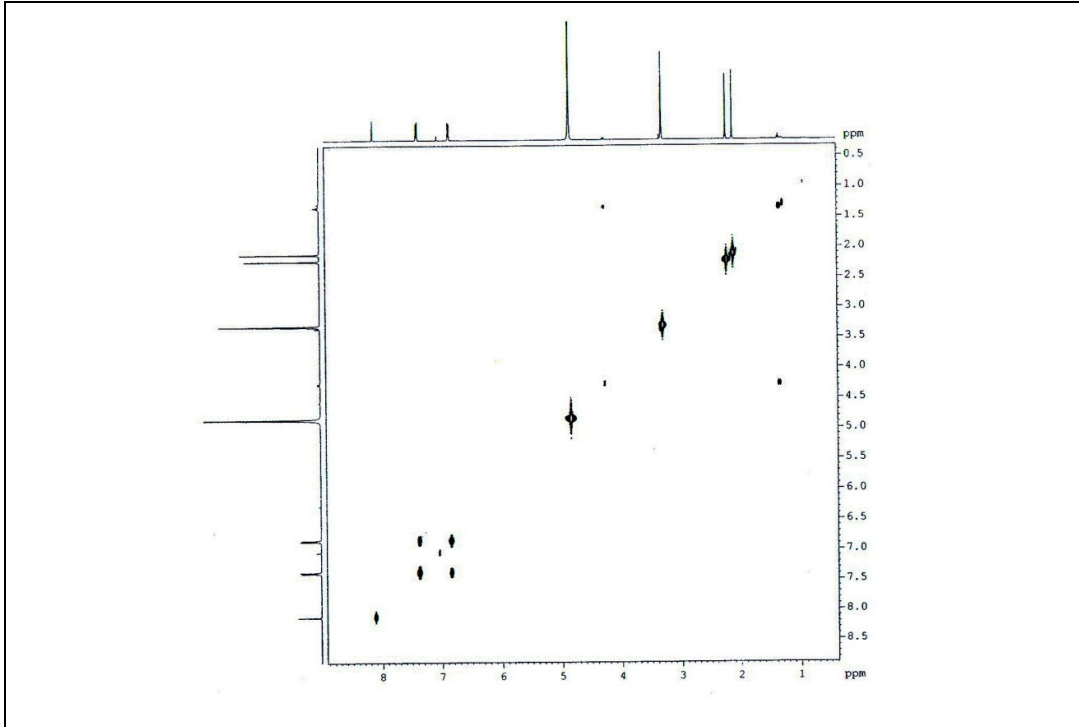
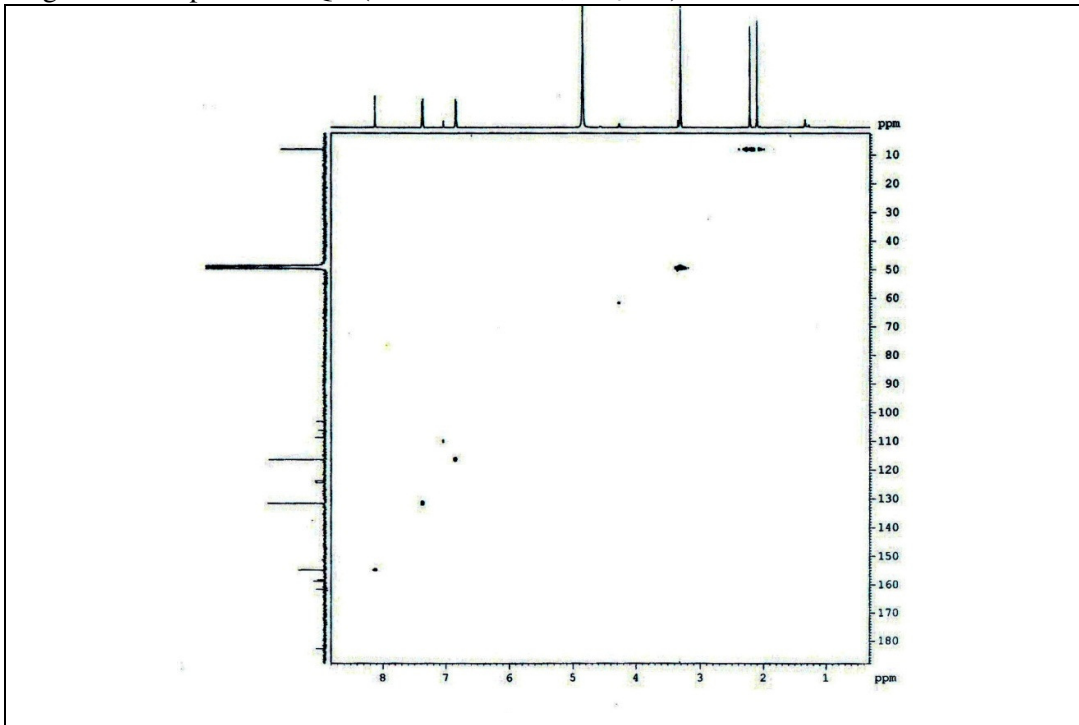
Figura 40 - Espectro COSY (500 x 500 MHz, CD₃OD) de MMA-4Figura 41 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-4

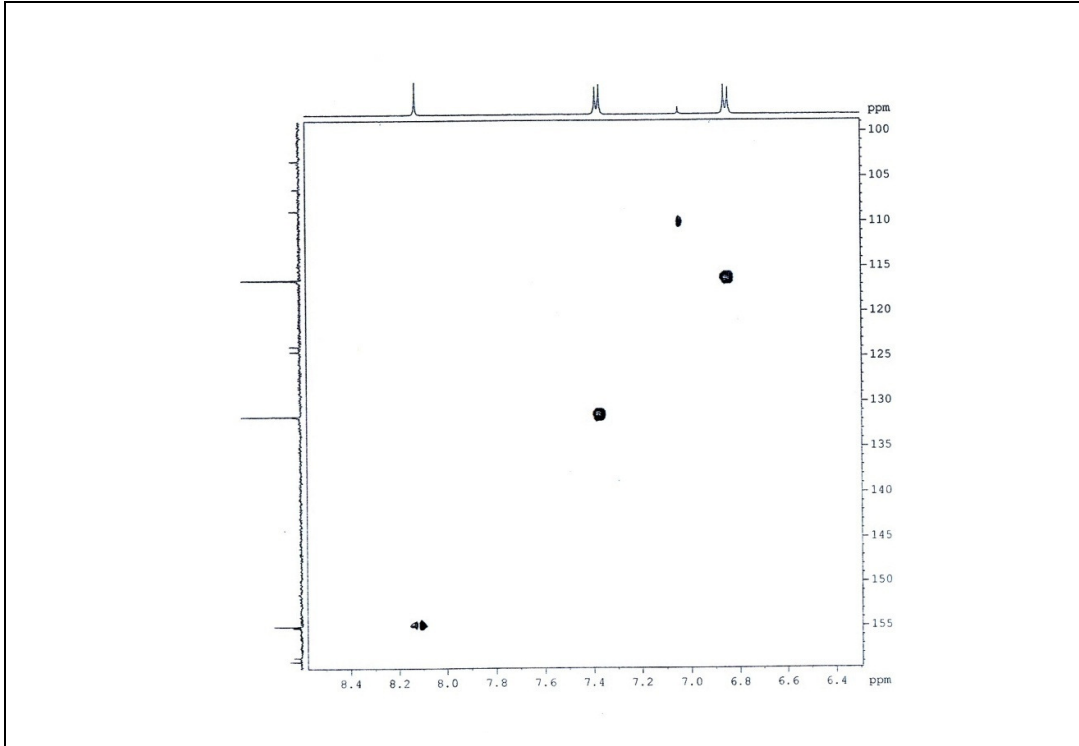
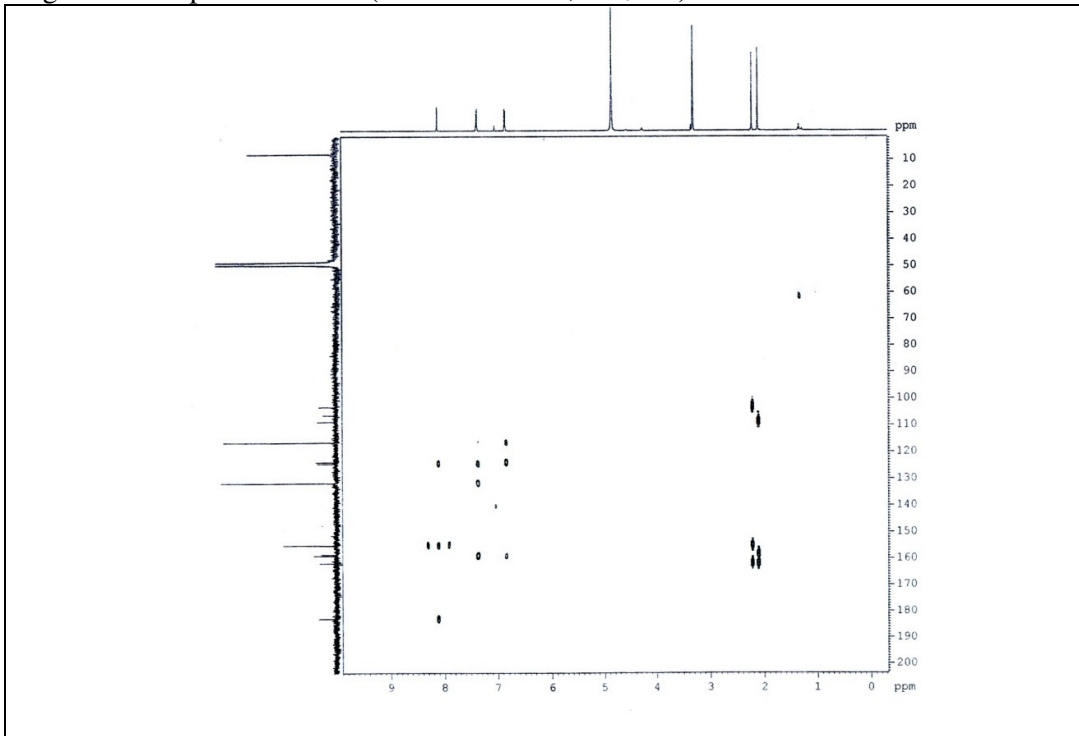
Figura 42 - Espectro HSQC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-4 (expansão)Figura 43 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-4

Figura 44 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-4 (expansões 1)

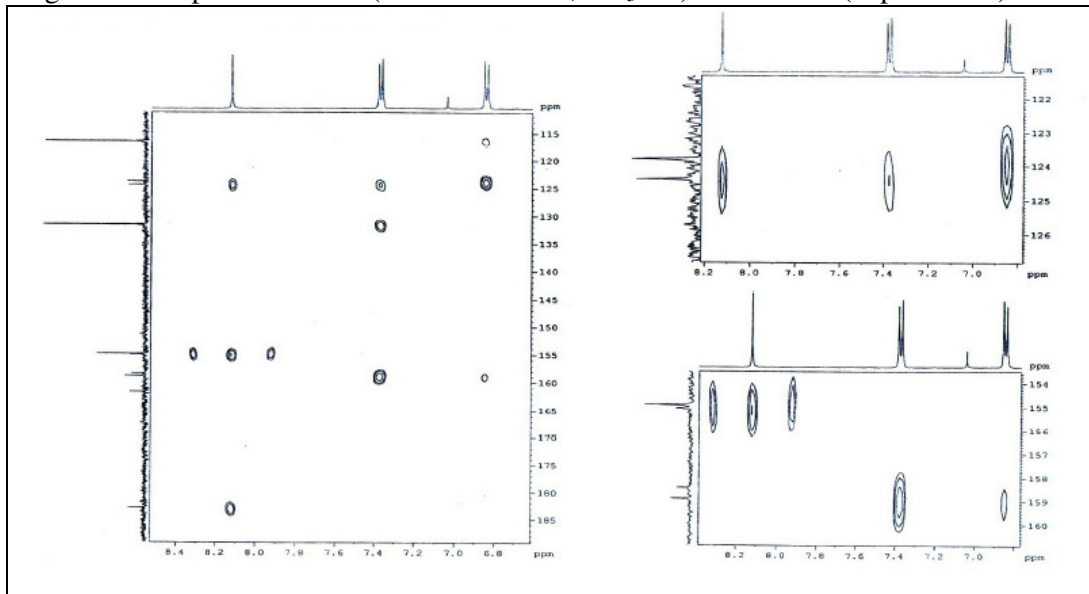
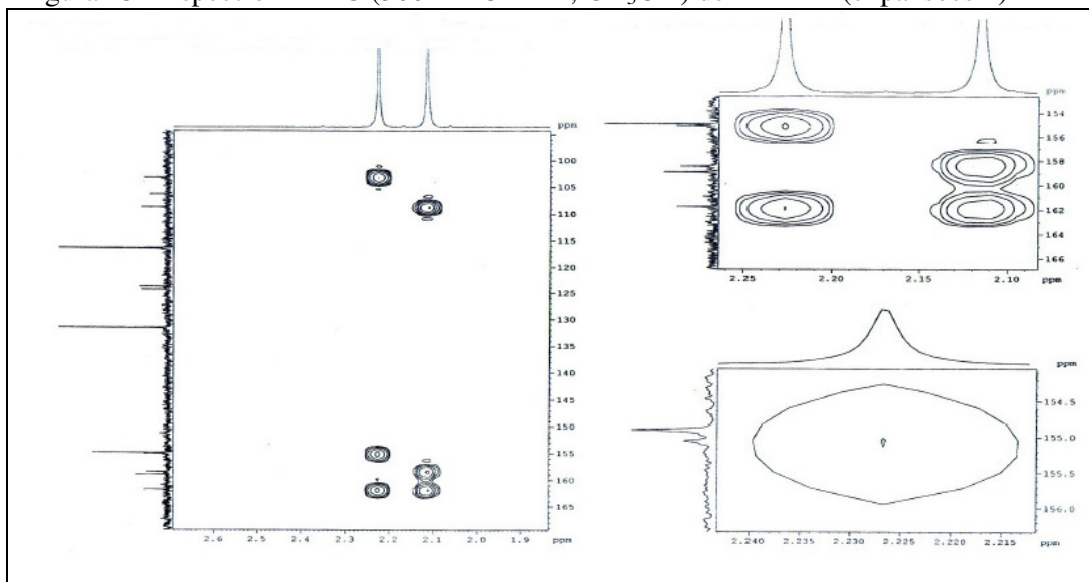


Figura 45 - Espectro HMBC (500 x 125 MHz, CD₃OD) de MMA-4 (expansões 2)



3.4 Determinação estrutural de MMA-5

Através de sucessivas cromatografias, utilizando resina de sephadex LH-20 e sílica gel, da fração acetato de etila obtida do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia macrophylla*, foi possível o isolamento de 28,7 mg de um sólido amorfo de cor marrom denominado MMA-5.

O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 50, p. 70) exibiu uma banda larga em 3290 cm^{-1} característica de deformação axial de ligação OH, uma banda em 1704 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação C=O e bandas em 1614, 1520 e 1468 cm^{-1} compatíveis com deformação axial de C=C de anel aromático.

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) (FIGURA 52, p. 70) mostrou apenas 3 sinais. Um simpleto, um tripleto e um quarteto. O tripleto tem deslocamento químico δ 1,34 ppm e integração para 3 hidrogênios, e o quarteto tem deslocamento δ 4,27 ppm e integração para 2 hidrogênios. Pela integração, sugere-se que o tripleto (δ 1,34) corresponda a hidrogênios de um grupo CH_3 e que o quarteto (δ 4,27) seja de um CH_2 . Ambos, o tripleto e o quarteto, têm acoplamento vicinal ($J= 6\text{ Hz}$ e $J= 7\text{ Hz}$, respectivamente). Isto evidencia que os hidrogênios do tripleto e do quarteto acoplam entre si, sugerindo, assim, a presença de um grupo etila na molécula. Outro fator interessante é o deslocamento químico dos hidrogênios em δ 4,27 ppm. Esta região é bem característica de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados. Pode-se deduzir, então, que a referida substância apresenta um grupo etoxila na molécula.

Ainda na análise do espectro de RMN ^1H , foi possível observar a presença de um simpleto, como já anteriormente citado, que apresenta deslocamento químico na região de hidrogênios aromáticos em δ 7,05 com integração para 2 hidrogênios. Sugerindo, assim, a presença de anel aromático na molécula.

O espectro de RMN ^{13}C -CPD de MMA-5 (75 MHz, CD_3OD) (FIGURA 53, p. 71) exibiu sete linhas espectrais, sendo que, cinco estão na região de carbono sp^2 e duas estão na região de carbono sp^3 . O espectro apresentou uma absorção em δ 168,7 ppm referente a grupamento carbonílico. Apresentou também quatro picos na região de carbonos aromáticos, sendo dois associados a carbonos oxigenados (δ 146,6 e δ 139,8) e dois a carbonos não oxigenados (δ 122,0 e δ 110,2). Mostrando-se, à primeira vista, incompatível com anel benzênico, pois para isto deveriam existir seis carbonos aromáticos. Pensou-se, então, na possibilidade de o anel benzênico ter alguma simetria.

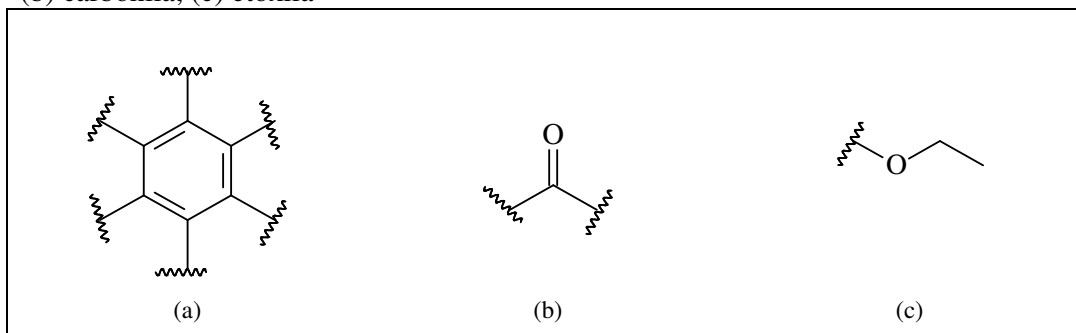
Através da comparação do espectro de RMN ^{13}C -CPD com o de RMN ^{13}C -DEPT 135 (FIGURA 54, p. 71), foi verificada a presença de um pico associado a carbono metílico e um pico associado a carbono metilênico, confirmando o que foi previsto pela análise do espectro de RMN ^1H . Verificou-se, também, a presença de um pico para carbono metínico (δ 110,2); entretanto, pelo espectro de RMN ^1H , viu-se que existem dois hidrogênios aromáticos e não um como se verifica no espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135. Percebeu-se, então, que o pico referente a carbono metínico (δ 110,2) no espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 se refere a dois carbonos e que existe sim anel benzênico, que se apresenta com simetria, como pensado anteriormente. Baseado nisto, deverá existir mais um pico no espectro de RMN ^{13}C -CPD que corresponde a 2 carbonos equivalentes (TABELA 11).

Tabela 11 - Deslocamento químico de RMN ^{13}C -CPD de MMA-5 com padrão de hidrogenação [(RMN ^{13}C -CPD e DEPT ($\theta = 135$), δ , MeOD, 75 MHz)]

C	CH	CH ₂	CH ₃
168,7 (C=O)	110,2 (CH)(x2)	61,8 (OCH ₂)	14,8 (CH ₃)
146,6 (C-O)(x2)			
139,8 (C-O)			
122,0 (C)			
5C 4O	2CH	1CH ₂ 1O	1CH ₃

Com as observações feitas até o momento, foi verificada a presença dos seguintes grupos: um anel aromático, um grupo carbonila e um grupo etoxila (FIGURA 46, p. 67). Isto permite encontrar um IDH de 5 para esta molécula. Como existem ao todo 9 carbonos na molécula, encontra-se, através do IDH, que o número de hidrogênios é 10. Sabendo-se que o número de oxigênios na molécula é 5 (TABELA 11), chega-se a uma fórmula molecular $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$. Isto pode ser confirmado pelo espectro de massas da molécula (FIGURA 51, p. 70), que mostra um pico íon molecular de massa m/z 198, correspondendo, assim, à fórmula molecular prevista.

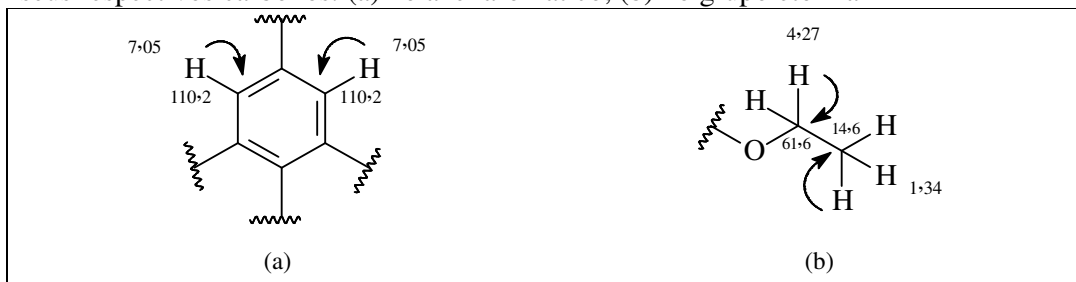
Figura 46 – Fragmentos presentes na estrutura de MMA-5: (a) anel benzênico; (b) carbonila; (c) etoxila



Analisando-se o espectro COSY (300 MHz, CD₃OD) (FIGURA 55, p. 72), pôde-se constatar um acoplamento entre os hidrogênios de deslocamento δ 4,27 (2H, q, $J= 7,0$ Hz) e δ 1,34 (3H, t, $J= 6,0$ Hz). Confirmando o que se havia sugerido pela análise do espectro de RMN ¹H.

O espectro bidimensional HSQC (300 x 75 MHz, CD₃OD) (FIGURA 56, p. 72) possibilitou correlacionar os sinais de hidrogênio em δ_H 7,05 (H-2 e H-6); 4,27 (H-8) e 1,34 (H-9) com os seus respectivos carbonos em δ_C 110,2 (C-2 e C-6); 61,8 (C-8) e 14,8 (C-9) (FIGURA 47) (TABELA 12, p. 69).

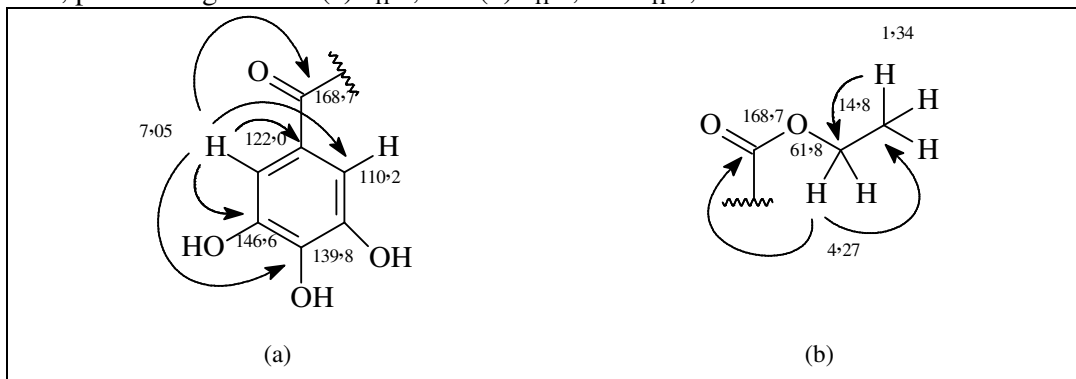
Figura 47 – Subestruturas mostrando as correlações do HSQC entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos: (a) no anel aromático; (b) no grupo etoxila



Com base no espectro HMBC (300 x 75 MHz, CD₃OD) (FIGURA 57, p. 73) foi possível determinar o acoplamento de hidrogênios com carbonos a uma distância de duas e três ligações, bem como, a posição das hidroxilas na molécula. Foi possível verificar os acoplamentos a duas ligações do grupo etila, sendo que os hidrogênios do grupo CH₃ acoplam com o carbono do CH₂ e vice-versa- hidrogênios em δ_H 1,34 (C-9)

com o carbono em δ_c 61,8 (C-8); hidrogênios em δ_H 4,27 (C-8) com o carbono em δ_c 14,8 (C-9). Um acoplamento importante é do hidrogênio em δ_H 1,34 (C-9) com o carbono carbonílico em δ_c 168,7 (C-7); evidenciando a presença de um grupo éster na molécula. Os hidrogênios aromáticos da molécula em δ_H 7,05 (H-2 e H-6) acoplam com todos os carbonos aromáticos: δ_c 146,6 (C-3 e C-5); 122,0 (C-1); 139,8 (C-4) e 110,2 (C-2 e C-6). Ele acopla também com o carbono carbonílico em δ_c 168,7 (C-7), evidenciando que a carbonila está diretamente ligada ao anel aromático (FIGURA 48) (TABELA 12, p. 69).

Figura 48 - Subestruturas mostrando as correlações do HMBC entre os hidrogênios e carbonos a duas e três ligações, contendo os valores de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C , para os fragmentos: (a) δ_H 7,05 e (b) δ_H 1,34 e δ_H 4,27.



A partir da análise dos dados espectroscópicos do composto em questão foi possível caracterizar o composto MMA-5 como o galato de etila (FIGURA 49, p. 69), um composto derivado do ácido gálico. A estrutura caracterizada foi confirmada através de comparação com dados da literatura (OOSHIRO *et al.*, 2009).

O galato de etila apresenta atividade antimicrobiana (OOSHIRO *et al.*, 2009) e, apesar de derivados de ácido gálico, taninos e elagitaninos serem comuns em Melastomataceae (ISAZA; ITO; YOSHIDA, 2004; YOSHIDA; AMAKURA; YOSHIMURA, 2010), este é o primeiro relato no gênero *Marcetia*. É razoável, entretanto, considerar a hipótese que este composto possa se tratar de um artefato produzido durante a obtenção do extrato, em virtude de os solventes utilizados terem sido etanol e água e do composto obtido ter sido um composto etoxilado (PIZZOLATTI *et al.*, 2002).

Figura 49 - Estrutura química do galato de etila

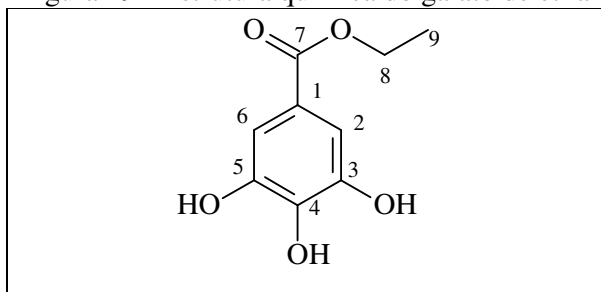


Tabela 12 - Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de HSQC e HMBC (2J e 3J) (300 x 75 MHz, CD_3OD) de MMA-5, comparado com os valores da literatura de RMN ^1H e ^{13}C para o galato de etila.

MMA-5					galato de etila (Literatura) ^a	
#C	HSQC		HMBC		δ_c	δ_H
	δ_c	δ_H	2J	3J		
1	122,0	-	H-2,6	-	121,8	-
2,6	110,2	7,05 (2H; s)	-	H-2,6	110,0	7,04 (2H; s)
3,5	146,6	-	H-2,6	-	146,5	-
4	139,8	-	-	H-2,6	139,8	-
7(CO)	168,7	-	-	H-8; H-2,6	168,6	-
8(CH_2)	61,8	4,27 (2H; q; $J = 7,0$ Hz)	H-9	-	61,6	4,26 (2H; q; $J = 7,3$ Hz)
9(CH_3)	14,8	1,34 (3H; t; $J = 6,0$ Hz)	H-8	-	14,6	1,33 (3H; t; $J = 7,3$ Hz)

^a - OOSHIRO *et al.*, 2009 (600,05 x 150,80 MHz, CD_3OD)

Figura 50 - Espectro de absorção na região do infravermelho de MMA-5

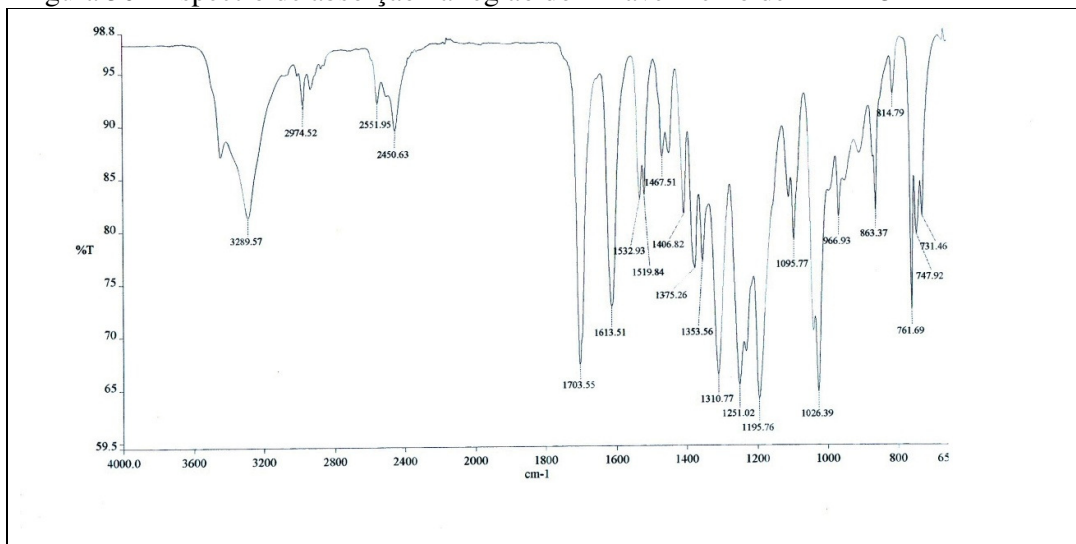


Figura 51 - Espectro de Massas de MMA-5 (IE, 70 eV)

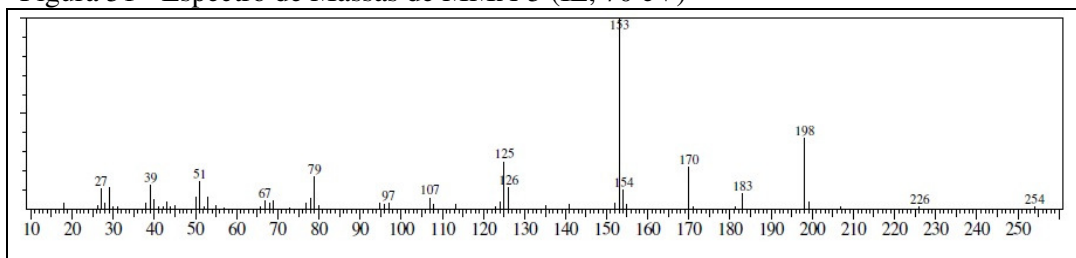


Figura 52 - Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) de MMA-5

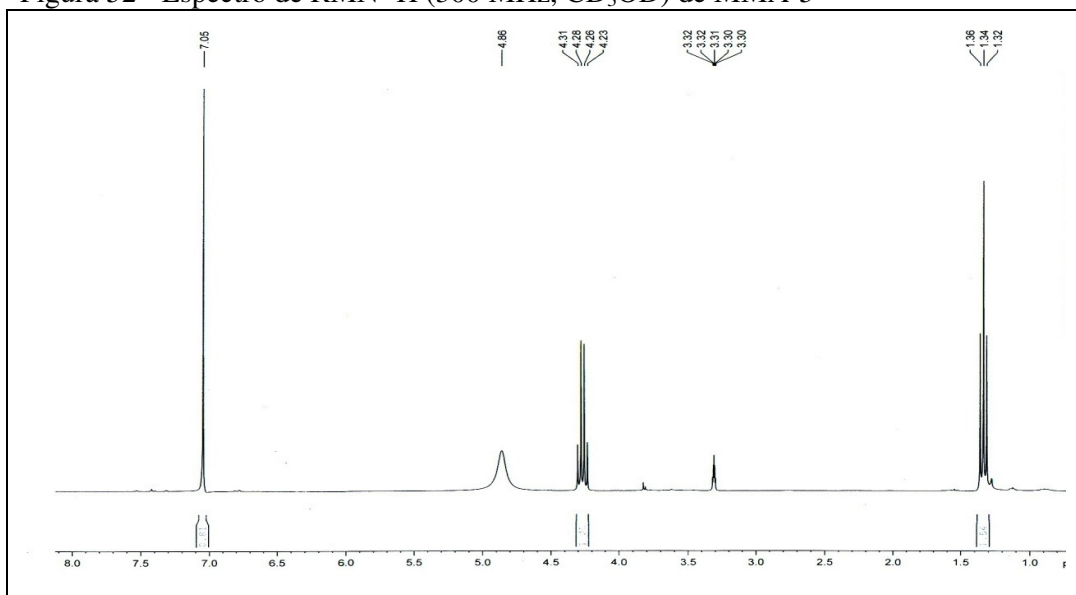


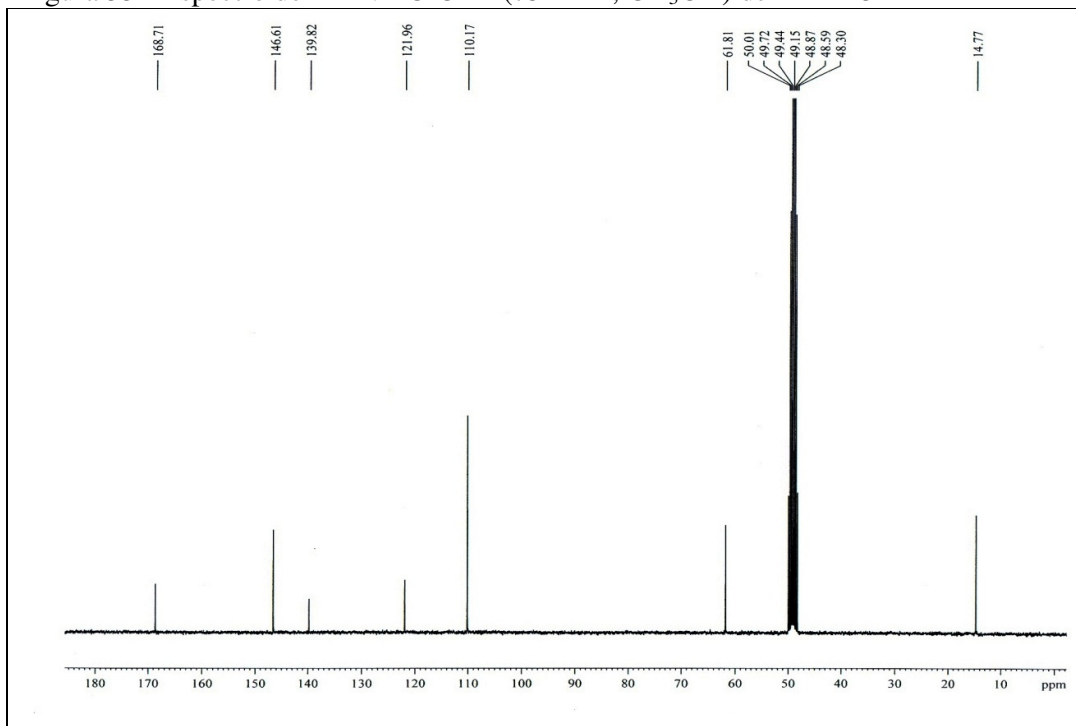
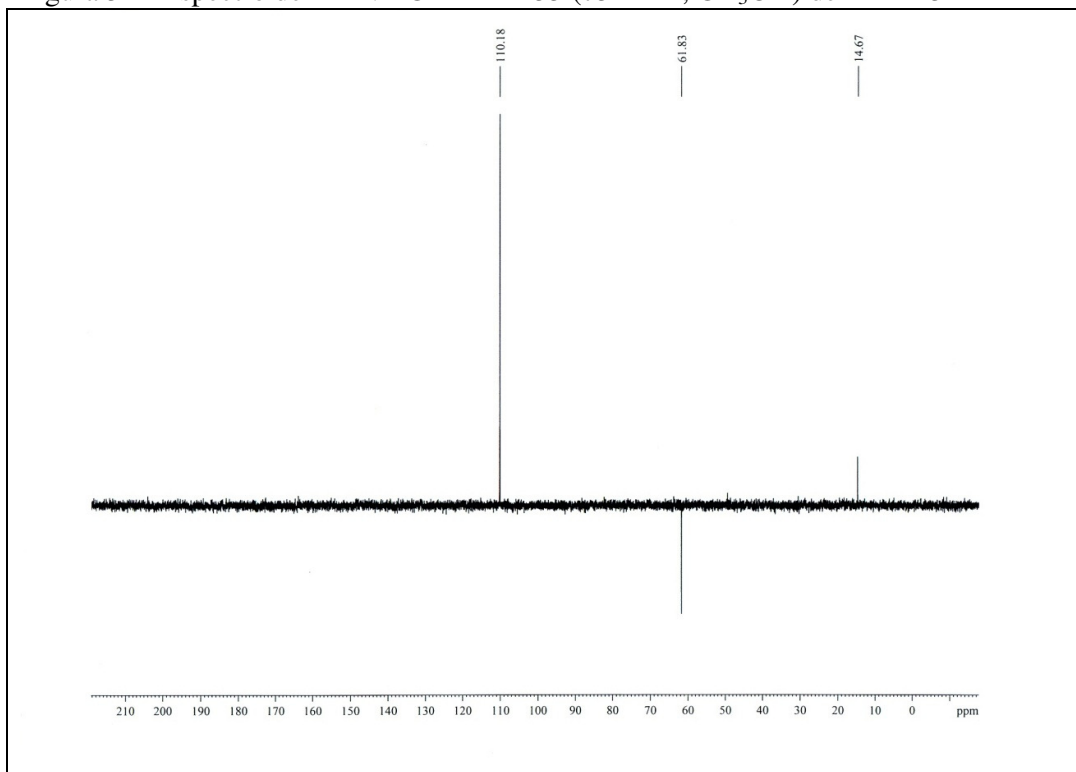
Figura 53 - Espectro de RMN ^{13}C -CPD (75 MHz, CD_3OD) de MMA-5Figura 54 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (75 MHz, CD_3OD) de MMA-5

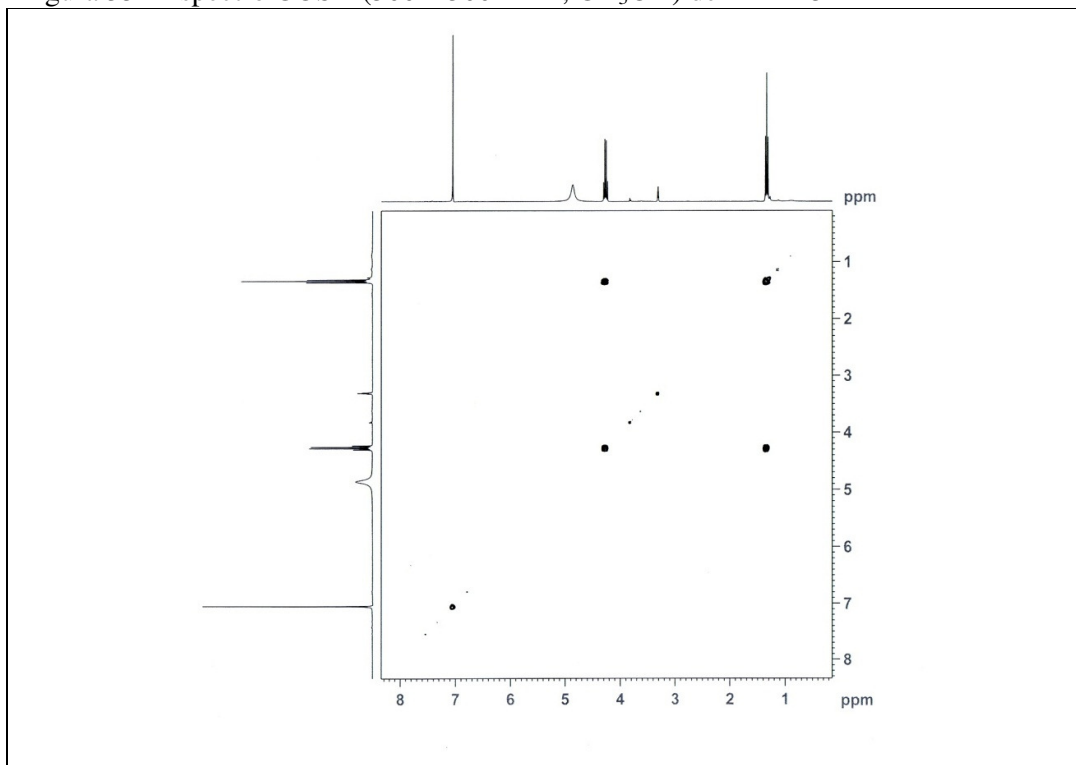
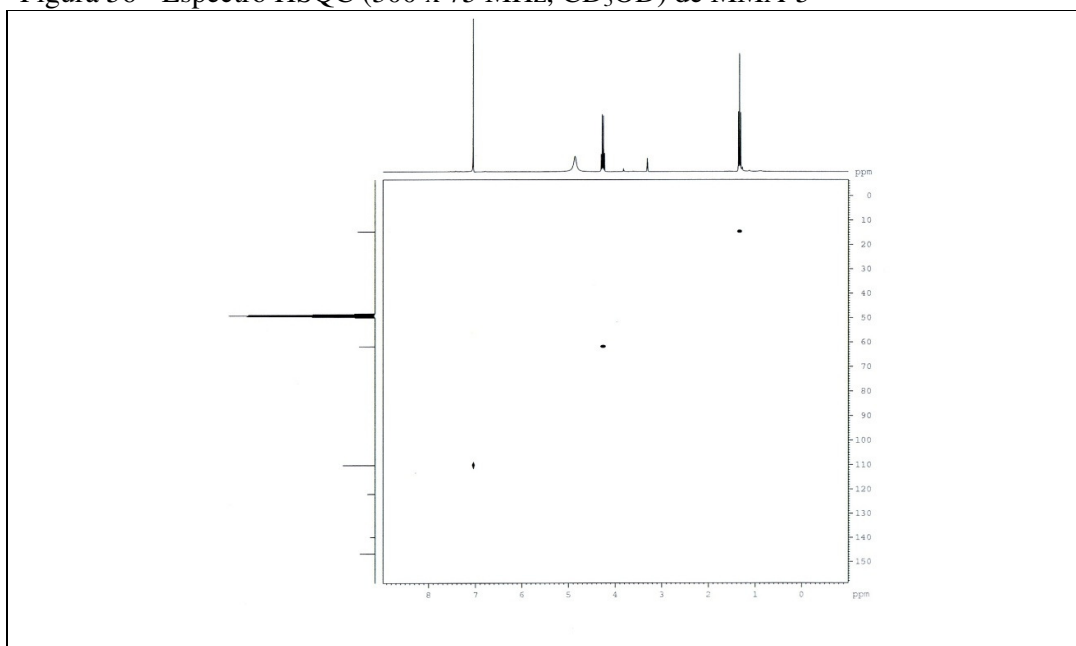
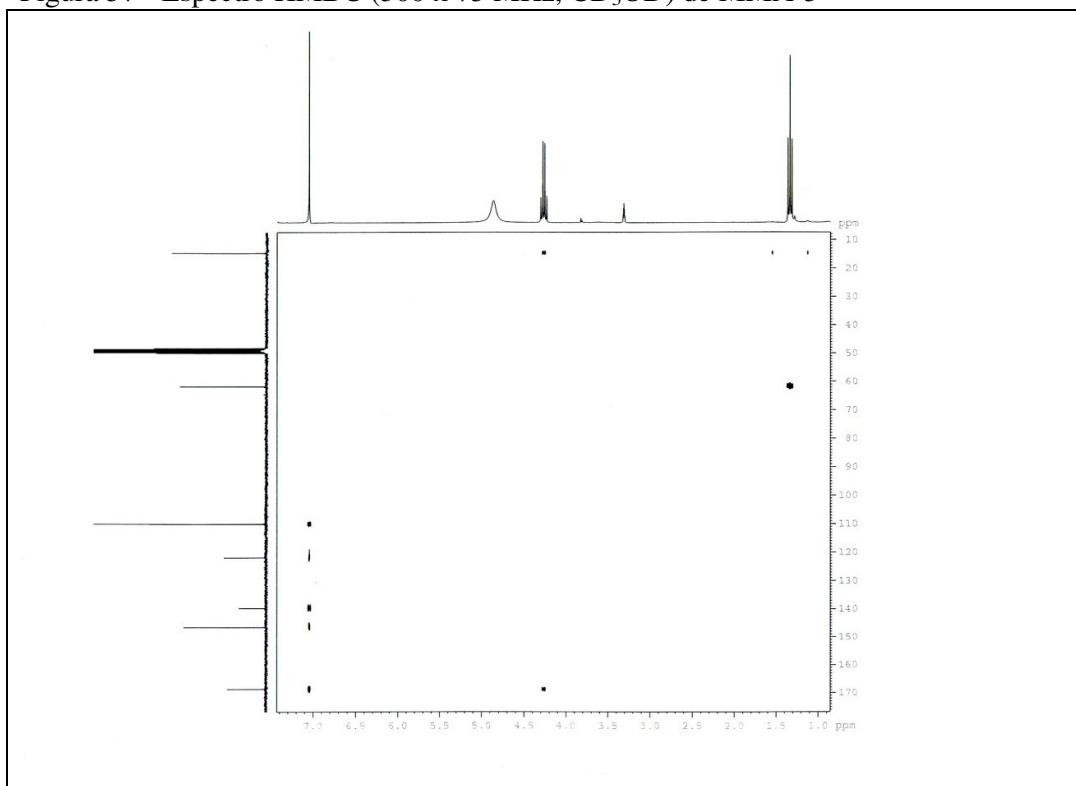
Figura 55 - Espectro COSY (300 x 300 MHz, CD₃OD) de MMA-5Figura 56 - Espectro HSQC (300 x 75 MHz, CD₃OD) de MMA-5

Figura 57 - Espectro HMBC (300 x 75 MHz, CD₃OD) de MMA-5

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Métodos Cromatográficos

4.1.1 Cromatografia Líquida em Coluna (CC)

As cromatografias de adsorção foram realizadas utilizando-se gel de sílica 60 (Φ 63-200 μm), da Vetec para a cromatografia em coluna e gel sílica 60 (Φ 40-63 μm) da Merck para cromatografia sob média pressão (cromatografia flash). Os comprimentos e os diâmetros das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e as quantidades de sílica a serem utilizadas. Para a eluição foram utilizados os solventes: hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol assim como misturas binárias desses solventes em ordem crescente de polaridade. Todos os solventes eram de qualidade P. A.

4.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Foram utilizadas cromatoplasmas de gel de sílica 60 (Φ $2 - 25 \mu\text{m}$) sobre alumínio da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm). Utilizou-se também CCD em placas de vidro empregadas de dimensões 10 x 5 cm, que foram feitas utilizando-se gel de sílica 60 (Φ $2 - 25 \mu\text{m}$).

A revelação das substâncias foi feita por exposição à irradiação na faixa do ultravioleta (UV) em aparelho Spectroline modelo ENF 240 C/F, com dois comprimentos de onda (365 e 312 nm) e por aspensão com solução de vanilina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) em ácido perclórico (HClO_4) e etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), seguida de aquecimento em chapa elétrica a 100°C por aproximadamente 5 minutos.

4.1.3 Cromatografia de Exclusão

Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram feitos em gel de dextrana Sephadex LH-20, utilizando-se metanol puro como fase móvel.

4.2 Métodos Espectroscópicos

4.2.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do IV foram obtidos em Espectrômetro Perckin Elmer modelo FT-IR Spectrum 100 no Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste (LEMANOR) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando filme de KBr para análise de amostras líquidas e acessório de refletância total atenuada (ATR) para amostras sólidas.

4.2.2 Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massas foram obtidos em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa (CG-EM) Shimadzu, modelo QP 2010 através de impacto eletrônico a 70 eV, do Laboratório de Bioinorgânica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

4.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Carbono-13 (RMN ^{13}C), unidimensionais e bidimensionais foram obtidos à temperatura ambiente, em espectrômetros Bruker, modelos Avance DPX-300 e Avance DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), operando na frequência do hidrogênio a 300,13 MHz e 500,13 MHz, e na frequência do carbono a 75,47 MHz e 125,75 MHz, respectivamente.

Os espectros unidimensionais de RMN ^{13}C -CPD foram efetuados sob desacoplamento total de hidrogênios. Quantidades variadas de amostra foram dissolvidas em 0,6 mL de solvente deuterado (CDCl_3 ou CD_3OD) e acondicionadas em tubos de RMN de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados para o RMN ^1H pelo picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes clorofórmio (δ 7,27) e metanol (δ 3,31). Nos experimentos de RMN ^{13}C , os deslocamentos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes clorofórmio (δ 77,23) e metanol (49,17).

As multiplicidades das bandas de absorção dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), t (tripleto), q (quarteto) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C foi determinado a partir da utilização da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) variando o ângulo de nutação (θ) de 135° , descrito segundo a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT 135° do espectro de BC-CPD.

4.3 Estudo dos constituintes fixos de *Marcetia macrophylla*

4.3.1 Coleta do Material

As folhas de *Marcetia macrophylla*, selecionadas para o estudo, foram coletadas na Chapada Diamantina- Bahia em fevereiro de 2009, pelo Prof. Edilberto Rocha Silveira do DQOI-UFC. A classificação botânica foi realizada pela Profa. Maria Lenise Silva Guedes do Instituto de Biologia do Departamento de Botânica da Universidade Federal da Bahia. A exsicata referente à coleta encontra-se depositada no Herbário Alexandre Leal Costa, no Departamento de Biologia da Universidade Federal da Bahia, sob o registro de número 94836.

4.3.2 Obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia macrophylla* – MMAFEA

Na preparação do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia macrophylla*, 1,49 Kg das folhas secas e trituradas foram extraídas com solução de etanol-água (7:3) por sete dias, seguidos por duas extrações com etanol. O extrato bruto foi obtido a partir da remoção do solvente em rota-evaporador sob pressão reduzida, dando 133,38 g (8,95%) de um material marrom escuro, viscoso denominado MMAFEA.

4.3.3 Tratamento cromatográfico de MMAFEA

Uma alíquota de 101,86 g do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia macrophylla* foi dissolvida em 900 mL da mistura de solventes metanol/água destilada (7:3) e fracionada por partição utilizando: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. Foram obtidas 5 frações, que foram concentradas em rota-evaporador sob pressão reduzida e analisadas por CCD. As frações obtidas foram denominadas MMAFEAH, MMAFEAD, MMAFEAAE, MMAFEAB e MMAFEAAQ (TABELA 13).

Tabela 13 - Particionamento do extrato hidroalcoólico MMAFEA

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (g)
MMAFEAH	Hexano	9,7
MMAFEAD	Diclorometano	8,3
MMAFEAAE	Acetato de Etila	13,6
MMAFEAB	<i>n</i> -Butanol	10,7
MMAFEAAQ	Água	33,6
TOTAL		75,9
RENDIMENTO		74,5 %

4.3.4 Fracionamento cromatográfico de MMAFEAH

Uma alíquota de 9,0 g de MMAFEAH foi adsorvida em 44,0 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 7,5 cm sobre 81,4 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. Foram obtidas 4 frações que foram concentradas sob pressão reduzida em rota-evaporador e, posteriormente, foram pesadas (TABELA 14, p. 78).

Tabela 14 - Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAH

FRAÇÃO	SIGLA	ELUENTE	VOLUME (mL)	PESO (g)
1	MMAFEAH-H	H	500	1,8
2	MMAFEAH-D	D	900	4,4
3	MMAFEAH-AE	AE	300	1,8
4	MMAFEAH-M	M	700	0,7

Legenda: H=Hexano; D=Diclorometano; AE= Acetato de Etila; M=Metanol

4.3.4.1 Isolamento de MMA-1

A fração 1 (MMAFEAH-H, 1,8 g) foi adsorvida em 3,7 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 3,0 cm sobre 37,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, utilizando os solventes puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 64 frações de 8 mL, que após análise comparativa por CCD foram reunidas em 16 frações, conforme suas semelhanças de Rf (TABELA 15, p. 79).

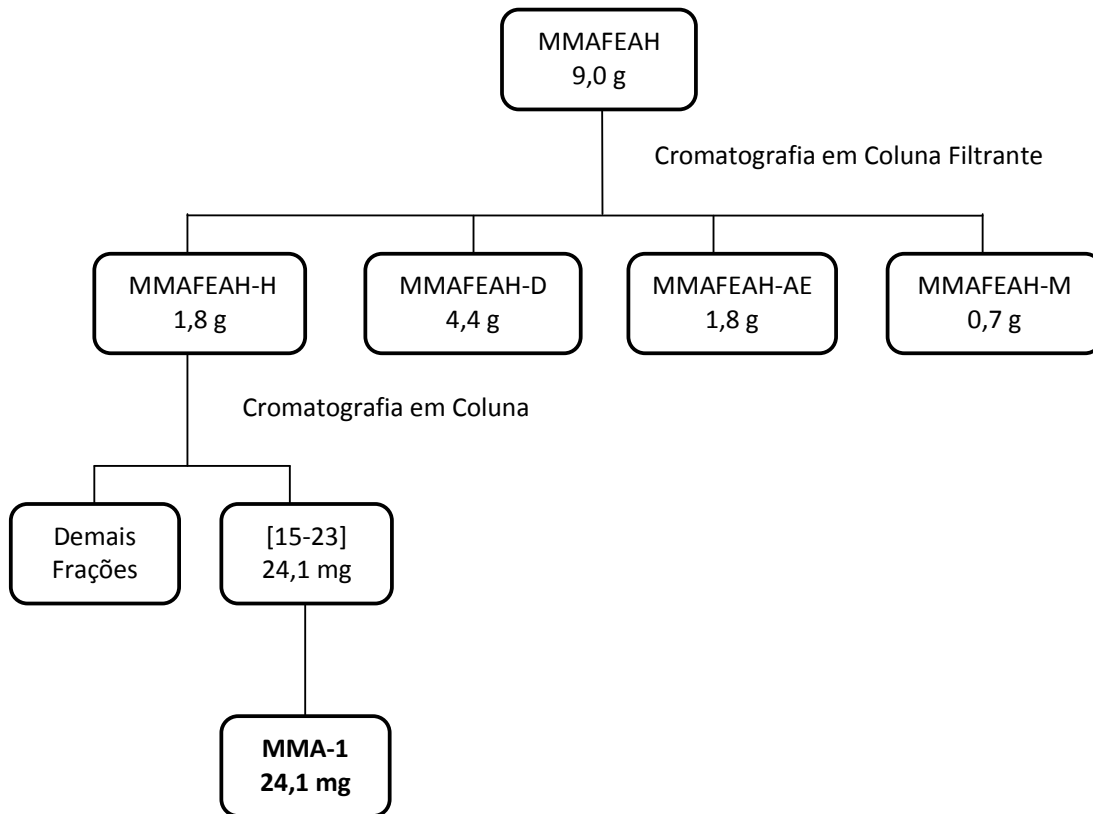
Tabela 15 - Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAH-H

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-2	H-100%	0,4
3	H-100%	2,5
4	H-100%	15,7
5-8	H-100%	17,1
9-12	H-100%	1,3
13-14	H/D-5%	6,3
15-23	H/D-5%	24,1
24-27	H/D-10%	1,8
28-29	H/D-20%	1,0
30	H/D-20%	1,5
31-32	H/D-20%	75,5
33-38	H/D-50%	582,5
39-45	H/D-50%	726,9
46-47	D-100%	21,4
48-57	D-100%	61,9
58-64	D/AE-50%	13,0

Legenda: H=Hexano; D=Diclorometano; AE= Acetato de Etila

A fração 15-23 (24,1 mg) denominada MMA-1, apresentou-se como um óleo incolor, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD. Análise por RMN ^1H e ^{13}C (unidimensionais) e comparação com dados obtidos da literatura permitiu identificá-la como sendo o triterpeno esqualeno. O fluxograma 1 (p. 80) mostra o isolamento de MMA-1.

Fluxograma 1 - Isolamento de MMA-1



4.3.4.2 Isolamento de MMA-2

A fração 2 (MMAFEAH-D, 4,4 g) foi adsorvida em 3,5 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 4,5 cm sobre 24,9 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, utilizando os solventes puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 48 frações de 15 mL, que após análise comparativa por CCD foram reunidas em 14 frações, conforme suas semelhanças de Rf (TABELA 16).

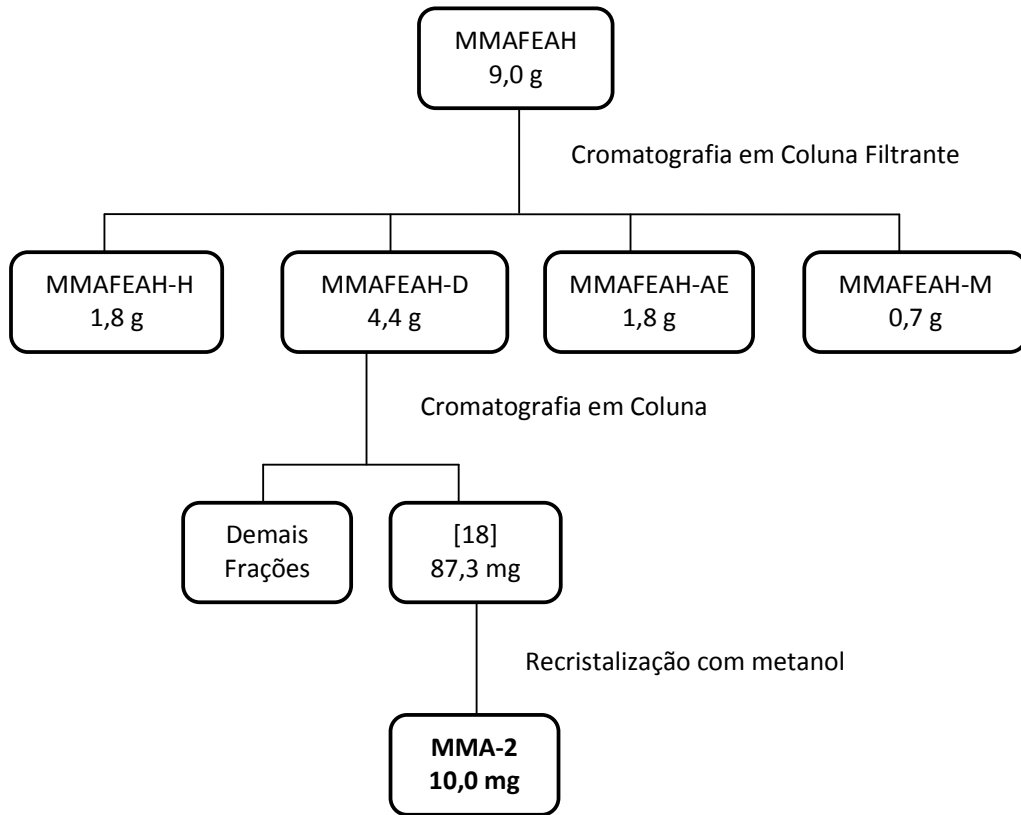
Tabela 16 - Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAH-D

FRAÇÃO	ELUENTE	MASSA (mg)
1	H/D-50%	0,1
2	H/D-50%	60,4
3	H/D-50%	144,2
4-8	H/D-75%	232,4
9-13	H/D-75%	803,3
14-17	D-100%	500,0
18	D-100%	87,3
19	D/AE-20%	12,3
20	D/AE-20%	61,8
21	D/AE-20%	31,3
22-23	D/AE-20%	852,5
24-30	D/AE-50%	441,4
31-41	AE/M-50%	156,3
42-48	M-100 %	42,7

Legenda: H=Hexano; D=Diclorometano; AE= Acetato de Etila; M=Metanol

A fração 18 foi submetida a uma recristalização utilizando metanol como solvente, resultando em 10,0 mg de um sólido branco, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD, que passou a ser denominado MMA-2. Análise por CCD, RMN ¹H, infravermelho e comparação com dados obtidos da literatura permitiu identificá-la como sendo a mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol. O fluxograma 2 (p. 82) mostra o isolamento de MMA-2.

Fluxograma 2 - Isolamento de MMA-2



4.3.5 Fracionamento cromatográfico de MMAFEAD

6,9 g de MMAFEAD foram adsorvidos em 15,0 g de gel de sílica e acondicionados em uma coluna de diâmetro interno de 4,0 cm sobre 58,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água, utilizando os solventes puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade (TABELA 17). Foram obtidas um total de 8 frações.

Tabela 17 - Frações da coluna cromatográfica de MMAFEAD

FRAÇÃO	ELUENTE	VOLUME (mL)	MASSA (mg)
1	H – 100 %	200	15,6
2	H/D – 50 %	200	10,8
3	D – 100 %	500	211,0
4	D/AE – 50 %	500	2622,7
5	AE – 100 %	900	1277,0
6	AE/M - 50 %	400	2182,4
7	M - 100 %	800	259,8
8	M/A – 50 %	500	41,7

H: Hexano; D: Diclorometano; AE: Acetato de Etila; M: Metanol; A: Água

4.3.5.1 Isolamento de MMA-3 e MMA-4

2,6 g da fração 4 resultante da coluna de fracionamento de MMAFEAD (TABELA 17) foram adsorvidos em 8,6 g de gel de sílica e acondicionados em uma coluna de diâmetro interno de 4,3 cm sobre 17,8 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, utilizando os solventes puros e misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 8 frações (TABELA 18, p. 84).

Tabela 18 - Frações da coluna cromatográfica da fração 4 de MMAFEAD

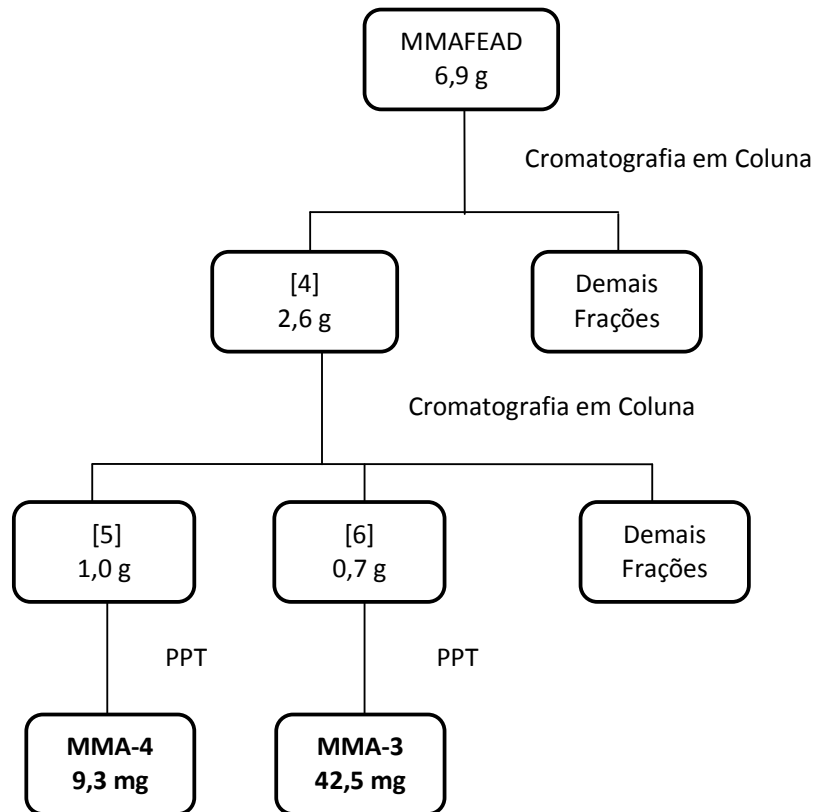
FRAÇÃO	ELUENTE	VOLUME (mL)	MASSA (mg)
1	H – 100 %	75	2,6
2	H/AE – 10 %	50	1,1
3	H/AE – 20 %	50	1,2
4	H/AE – 35 %	100	511,0
5	H/AE – 50 %	100	1006,8
6	AE - 100 %	50	708,7
7	AE - 100 %	50	71,4
8	M – 100 %	100	44,0

H: Hexano; D: Diclorometano; AE: Acetato de Etila; M: Metanol

Percebeu-se que, na fração 6, houve a formação de um precipitado no fundo do frasco o qual continha a mistura dos solventes hexano e acetato de etila. Separou-se, por filtração simples, o sólido da mistura de solventes e, como resultado, foram obtidos 42,5 mg de um sólido de cor amarelada, solúvel em metanol, de aspecto homogêneo em CCD denominado MMA-3. Através da análise na região dos espectros de infravermelho, RMN ^1H e ^{13}C , Uni e Bidimensionais, e comparação com dados obtidos da literatura (AGRAWAL, 1989; QUEIROZ, 2011), foi possível identificar MMA-3 como o flavonol quercetina (FLUXOGRAMA 3, p. 85).

A fração 5 também apresentou-se como um precipitado em hexano e acetato de etila. A mistura de solventes foi separada do sólido utilizando uma pipeta de Pasteur com algodão na ponta, resultando, assim, em 9,3 mg de um sólido amarelado, solúvel em metanol e de única mancha em cromatoplaça. Este sólido foi denominado MMA-4. Por meio de análises na região do infravermelho, espectrometria de massas, RMN ^1H e ^{13}C , Uni e Bidimensionais, e comparação com dados obtidos da literatura (CALDERÓN *et al.*, 2002), foi possível identificar MMA-4 como a isoflavona: 4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona (FLUXOGRAMA 3, p. 85).

Fluxograma 3 - Isolamento de MMA-3 e MMA-4



4.3.6 Fracionamento cromatográfico de MMAFEAAE

O fracionamento cromatográfico de MMAFEAAE foi realizado utilizando cromatografia de exclusão com resina de Sephadex LH-20, em que 6,0 g do material foram dissolvidos em metanol e eluídos em metanol 100 %, numa coluna de 5,5 cm de diâmetro interno e 19,4 cm de altura da fase fixa. Foram obtidas 40 frações coletadas em volumes variados, da seguinte forma: fração 1- 100 mL; frações 2 a 17- 30 mL cada; frações 18 a 36- 50 mL cada; fração 37- 200 mL; fração 38- 500 mL; fração 39- 500 mL; fração 40- 2000 mL. As frações semelhantes foram reunidas após análise por cromatografia de camada delgada. Este fracionamento cromatográfico foi denominado de Coluna Sephadex 1 ou, simplesmente, CS-1 (TABELA 19).

Tabela 19 - Frações reunidas da coluna cromatográfica sephadex da fração MMAFEAAE (CS-1) e suas massas

FRAÇÃO	MASSA (mg)
1	24,5
2	22,1
3-4	554,6
5-7	1008,0
8	469,7
9-12	1147,8
13-16	815,0
17-21	400,3
22-26	260,9
27-29	71,0
30-36	126,3
37-39	184,8
40	182,8

A fração 8 obtida de CS-1 (469,7 mg) foi dissolvida em metanol, acondicionada numa coluna de 2,2 cm de diâmetro interno e 17,0 cm de altura da fase fixa (resina de Sephadex LH-20) e eluída com metanol. Foram obtidas 23 frações que foram coletadas em volumes de 10 mL, com exceção da última fração (fração 23) que foi coletada em volume de 50 mL. Após análise por cromatografia de camada delgada, as frações de

RF's semelhantes foram reunidas e posteriormente pesadas. Este fracionamento cromatográfico foi denominado de Coluna Sephadex 2 ou CS-2 (TABELA 20).

Tabela 20 - Frações reunidas da coluna cromatográfica CS-2 e suas massas

FRAÇÃO	MASSA (mg)
1-4	9,7
5-6	32,0
7-8	122,6
9	65,5
10-11	147,6
12-13	52,4
14-17	14,5
18-23	3,8

4.3.6.1 Isolamento de MMA-5

A fração 7-8 de CS-2 (122,6 mg) foi adsorvida em 660 mg de gel de sílica e, em seguida, acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 2,4 cm sobre 33,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, utilizando os solventes puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 30 frações (TABELA 21, p. 88). Após análise por cromatografia de camada delgada, as frações de Rf's semelhantes foram reunidas e posteriormente pesadas (TABELA 22, p. 88).

A fração 6-8 desta coluna cromatográfica apresentou-se como um sólido marrom, homogêneo em cromatoplaça, solúvel em metanol que foi, posteriormente, denominado de MMA-5. Por meio da análise dos espectros de infravermelho, massas, RMN ^1H e ^{13}C , Uni e Bidimensionais, e comparação com dados obtidos da literatura (OOSHIRO *et al.*, 2009), foi possível identificar MMA-5 como o galato de etila, um éster derivado do ácido gálico (FLUXOGRAMA 4, p. 89).

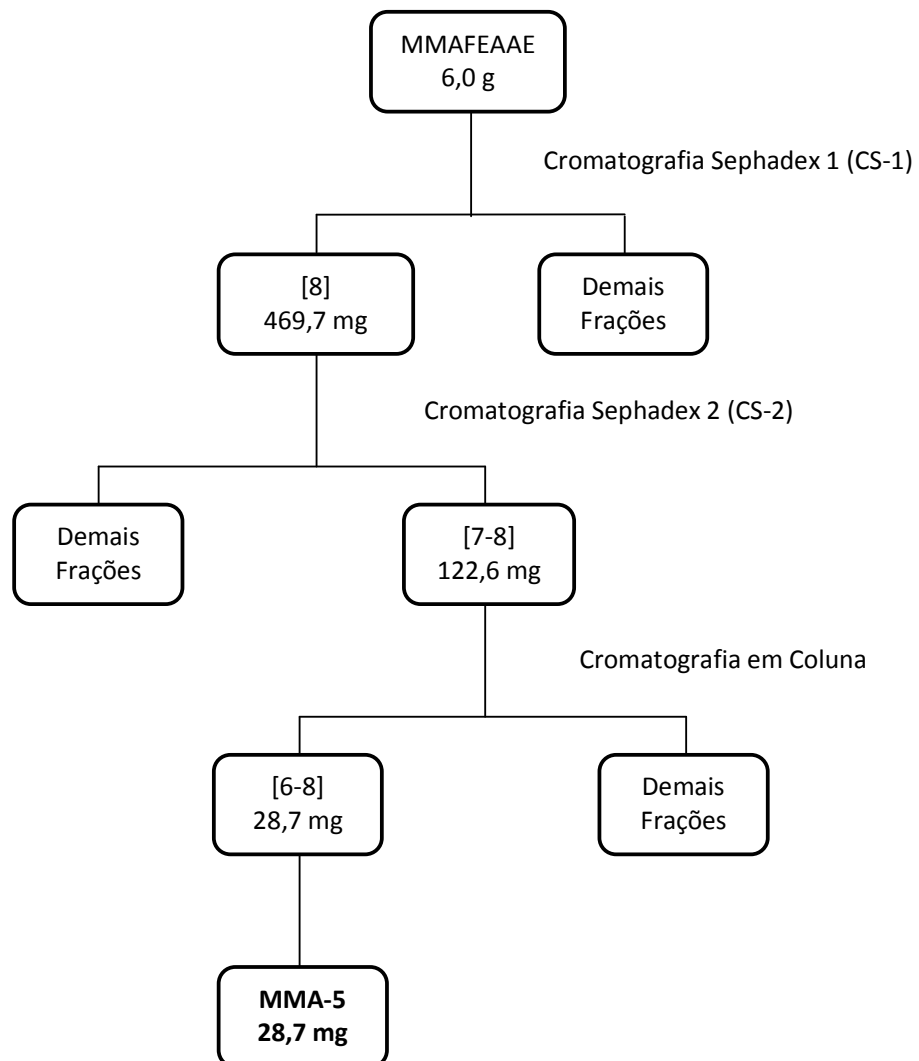
Tabela 21 - Frações da coluna cromatográfica da fração 7-8 de CS-2

FRAÇÃO	ELUENTE	VOLUME
1	H/AE-50%	50 mL
2	D-100%	50 mL
3	D-100%	50 mL
4	D/M-5%	50 mL
5	D/M-10%	50 mL
6-15	D/M-30%	10 mL por fração
16-26	D/M-50%	10 mL por fração
27-30	M-100%	50 mL por fração

Tabela 22 - Frações reunidas da coluna cromatográfica da fração 7-8 de CS-2 e suas massas

FRAÇÃO	MASSA (mg)
1-5	5,5
6-8	28,7
9-10	11,9
11	5,9
12-14	6,0
15-17	4,5
18-20	4,0
21-23	5,6
24-26	4,2
27-29	3,4
30	19,2

Fluxograma 4 - Isolamento de MMA-5



5 CONCLUSÃO

O estudo químico do extrato hidroalcoólico das folhas de *Marcetia macrophylla*, através de métodos cromatográficos, resultou no isolamento e identificação de seis metabólitos secundários.

Os constituintes isolados da planta estudada foram: o triterpeno esqualeno; a mistura dos esteróides, β -sitosterol e estigmasterol; o flavonóide quercetina; a isoflavona, 4',5,7-trihidroxí-6,8-dimetilisoflavona; e um derivado do ácido gálico, galato de etila. Embora as seis substâncias já tenham sido descritas na literatura, todas elas são relatadas pela primeira vez na espécie *Marcetia macrophylla*. A mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol, o galato de etila e a 4',5,7-trihidroxí-6,8-dimetilisoflavona são relatados pela primeira vez no gênero *Marcetia*.

Os resultados confirmam a presença de flavonóides e triterpenos na família Melastomataceae e sugerem *M. macrophylla* como fonte promissora destes metabólitos secundários.

REFERÊNCIAS

AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids**. Amsterdam Netherlands: Elsevier Science Publisher B. V., 1989.

BARBOSA, J. S.; CASSIANO, D. S. A.; BRANCO, A.; BRANDÃO, H. N.; SANTOS, A. K. A.; SILVA, T. R. S. Análise dos flavonóides da cera epicuticular de *Marcetia latifolia* Naud. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza-CE. **Anais da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. Disponível em:<<http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0950-2.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2011.

CALDERÓN, A. I.; TERREAUX, C.; SCHENK, K.; PATTISON, P.; BURDETTE, J. E.; PEZZUTO, J. M.; GUPTA, M. P.; HOSTETTMANN, K. Isolation and Structure Elucidation of an Isoflavone and a Sesterterpenoic Acid from *Henriettella fascicularis*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 12, p. 1749-1753, 2002.

CELOTTO, A. C.; NAZARIO, D. Z.; SPESSOTO, M. A.; MARTINS, C. H. G.; CUNHA, W. R. Evolution of the *in vitro* antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 339-340, 2003.

COSTA, K. O.; SILVA, T. R. S.; LUCCHESI, A. M.; ROCHA, S. F.; BRANCO, A. Isolamento e caracterização de triterpenóides de *Marcetia velutina* (Melastomataceae) por CG-EM. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30., 2007, Águas de Lindóia-SP. **Anais da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. Disponível em:<<http://sec.s bq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T1220-1.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2011.

CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n.1, p. 47-52, 2004.

CUNHA, W. R.; MATOS, G. X. de; SOUZA, M. G. M.; TOZANTTI, M. G.; ANDRADE e SILVA, M. L.; MATINS, C. H. G.; SILVA, R. da; SILVA FILHO, A. A. da. Evaluation of the antibacterial activity of the methylene chloride extract of *Miconia ligustroides*, isolated triterpenes acids, and usolic acids derivatives. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 2, p. 166-169, 2010.

CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; TURATTI, I. C. C.; FERREIRA, D. S.; BETARELLO, H. L. Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 84, n. 2, p. 47-49, 2003.

CURSINO, L. M. C.; MESQUITA, A. S. S.; MESQUITA, D. W. O.; FERNANDES, C. C.; PEREIRA JUNIOR, O. L.; AMARAL, I. L.; NUNEZ, C. V. Triterpenos das folhas de *Minuartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). **Acta Amazonica**, v. 39, n. 1, p. 181-186, 2009.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, São Paulo, 2003.

FURTADO, R. A.; RODRIGUES, E. P.; ARAÚJO, F. R. R.; OLIVEIRA, W. L.; FURTADO, M. A.; CASTRO, M. B.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Ursolic Acid and Oleanoic Acid Suppress Preneoplastic Lesions Induced by 1,2-Dimethylhydrazine in Rat Colon. **Toxicology Pathology**, v. 36, p. 576-580, 2008.

GALLARDO, V. C.; CEJA, J. P. M.; ARROYO, M. H.; AUREOLES, G. A.; GALVÁN, D. E.; LANDA, J. F. R. Farmacognosia: breve historia de sus Orígenes y su relación com las ciencias médicas. **Revista Biomedica**, v. 15, p. 123-136, 2004.

GIULIETTI, A. M.; RAPINI, A.; ANDRADE, M. J. G.; QUEIROZ, L. P.; SILVA, J. M. C. **Plantas raras do Brasil**. 1. ed. Belo Horizonte, MG: Conservação Internacional, 2009.

ISAZA, J. H.; ITO, H.; YOSHIDA, T. Oligomeric hydrolysable tannins from *Monochaetum multiflorum*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 359-367, 2004.

KRUCKEBERG, A. R.; RABINOWITZ, D. Biological aspects of endemism in higher plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 16, p. 447-479, 1985.

LAKHANPAL, P.; RAI, D. K. Quercetin: A Versatile Flavonoid. **Internet Journal of Medical Update**, v. 2, n. 2, 2007.

LEITE, T. C. C.; SENA, A. R.; MAGALHÃES-GADÉA, S. F.; OLIVEIRA, B. M.; UETANABARO, A. P. T.; BRANCO, A. Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies do gênero *Marctia* (Melastomataceae). **III Seminário de Resistência Bacteriana e II Seminário de Resistência Microbiana**, 2008. Disponível em: < <http://www.inib.com.br/eventos/srb3/download.php> >. Acesso em: 20 jul. 2011.

LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, v. 53, 2009.

LUCIANO, J. H. S. **Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Alibertia myrcifolia* Spruce Ex K. Schum. e *Alibertia rigida* K. Schum.** p. 51. Tese (Doutorado) – Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2009.

MARTINS, A. B. **Revisão taxonômica do gênero *Marctia* DC. (Melastomataceae).** 1989. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T., PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brazil.** 1. ed. Michigan, USA: Reference Publications, 2000.

MOSSI, A. J.; MAZUTTI, M. A.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, D. de; OLIVEIRA, J. V. de; DALLAGO, R.; LEONTIEV-ORLOV, O.; TREICHEL, H. Variabilidade Química de Compostos Orgânicos Voláteis e Semivoláteis de Populações Nativas de *Maytenus ilicifolia*. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1067-1070, 2010.

OOSHIRO, A.; HIRADATE, S.; KAWANO, S.; TAKUSHI, T.; FUJII, Y.; NATSUME, M.; ABE, H. Identification and activity of ethyl gallate as an antimicrobial produced by *Geranium carolinianum*. **Weed Biology and Management**, v. 9, p. 169-172, 2009.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEIXOTO, J. A.; SILVA, M. L. A.; CROTTI, A. E. M.; VENEZIANI, R. C. S.; GIMENEZ, V. M. M.; JANUÁRIO, A. H.; GROppo, M.; MAGALHÃES, L. G.; SANTOS, F. F.; ALBUQUERQUE, S.; SILVA FILHO, A. A.; CUNHA, W. R. Antileishmanial Activity of the Hydroalcoholic Extract of *Miconia langsдорffii*, Isolated Compounds, and semi-Synthetic Derivates. **Molecules**, v. 16, p. 1825-1883, 2011.

PIERONI, L. G.; REZENDE, F. M. de; VALDECIR, F. X.; DOKKEDAL, A. L. Antioxidant Activity and Total Phenols from the Methanolic Extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana Leaves. **Molecules**, v. 16, p. 9439-9450, 2011.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.

PIZZOLATTI, M. G.; CRISTIANO, R.; MONACHE, F. D.; BRANCO, A. Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 21-26, 2002.

QUEIROZ, V. A. **Estudo Químico de *Marcetia mucugensis* Wurdack (Melastomataceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2011.

RENNER, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, v. 13, p. 519-540, 1993.

ROCHA, S. F.; BRANCO, A.; SILVA, T. R. S.; CORREIA, M. B.; PINTO, A. C. Isolamento e Identificação do triterpeno fridolina de *Marcetia formosa* (Melastomataceae). *In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 30. 2007, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química, 2007.

RODRIGUES, J.; MICHELIN, D. C.; RINALDO, D.; ZOCCOLO, G. J.; SANTOS, L. C. dos; VILEGAS, W.; SALGADO, H. R. N. Antimicrobial Activity of *Miconia* Species (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 1, p. 120-128, 2008.

RODRIGUES, J. **Uso sustentável da biodiversidade brasileira: prospecção químico-farmacológica em plantas superiores: *Miconia* spp.** 2007. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara- SP, 2007.

ROMERO, R. **A Família Melastomataceae no Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil.** 2000. Tese (Doutorado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas- SP, 2000.

ROMERO, R.; MARTINS, A. B. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 19-24, 2002.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 7. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2004.

SIRAT, H. M.; SUSANTI, D.; AHMAD, F.; TAKAYAMA, H.; KITAJIMA, M. Amides, triterpenes and flavonoids from leaves of *Melastoma malabathricum* L. **Journal of Natural Medicines**, v. 64, p. 492-495, 2010.

SUSANTI, D.; SIRAT, H. M.; AHMAD, F.; ALI, R. M.; AIMI, N.; KITAJIMA, M. Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of *Melastoma malabathricum* L. **Food Chemistry**, v. 103, p. 710-716, 2007.

VENTURA, C. P.; SOUZA FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. B. de; BRAGA, F. C. A flavanone and other constituents of the Brazilian endemic species *Trembleya laniflora* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 40-41, 2007.

YOSHIDA, T.; AMAKURA, Y.; YOSHIMURA, M. Structural Features and Biological Properties of Ellagitannins in Some Plant Families of the Order Myrtales. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 79-106, 2010.